

【發明說明書】

【中文發明名稱】KLK5 拮抗劑用於治療疾病之用途

【英文發明名稱】USE OF KLK5 ANTAGONISTS FOR TREATMENT OF A DISEASE

【技術領域】

【0001】 本文提供治療個體之方法、預測個體之反應及選擇罹患諸如氣喘或內瑟頓氏症候群(Netherton Syndrome)等與 KLK5 相關之疾病之個體的方法。特定而言，本文提供 KLK5 拮抗劑之用途，其用於治療或診斷氣喘或內瑟頓氏症候群，該等 KLK5 拮抗劑係例如抗體或結合多肽以及包含其之醫藥調配物。

【先前技術】

【0002】 氣喘係與遺傳及環境風險因素二者相關之臨床異質性病症。來自氣喘雙生子研究之遺傳性估計值自 35%至 80%變化，此指示遺傳風險之重要作用。例如，參見 Ullemar 等人，Allergy 71, 230-238 (2016)。已針對氣喘及氣喘有關表型實施若干次大規模 GWAS，且多個所鑑別之基因座(例如靠近 ORMDL3、IL13、IL1RL1 及 TSLP 基因之彼等基因座)已在多個研究群體中確認。例如，參見 Bonnelykke 等人，Nat Genet 46, 51-55 (2014)。該等研究使疾病之遺傳學基礎及氣喘之病理生理學二者增加，但經由已公開之 GWAS 鑑別之常見變異體極少涉及總體遺傳風險。此「缺失遺傳性」之概念已深入論述及辯論，且已假定係由於若干因素造成，包括偵測基因-基因相互作用之能力不足、有限之結構變異分析及罕見變異之潛在貢獻。參見 Manolio 等人，Nature 461, 747-753 (2009)。揭示常見疾病遺傳易感性之另一策略係經由選擇表型上相似之子組，且已提出，在追求更全面地理解氣喘遺傳結構時此策略將係有用的。參見 Bonnelykke 及 Ober，J Allergy Clin Immunol 137, 667-679 (2016)。影響氣喘患者總體風險之基因可促成單獨且獨立之生物過程，該等過程一起影響疾病結果。在減少樣品大小

的同時經由亞表型分析使研究群體均一化，可揭示在該患者子集中富集之變異體。

【0003】 已顯示 2 型發炎之若干種生物標記有效界定其中疾病係由 2 型發炎驅動之彼等氣喘患者。參見 Wan 及 Woodruff, Immunol Allergy Clin North Am 36, 547-557 (2016)。自該等生物標記獲得之知識已引至對新穎治療之鑑別，該等新穎治療在罹患 2 型發炎驅動之疾病之氣喘患者中顯示改良之效能。參見 Corren 等人, N Engl J Med 365, 1088-1098 (2011)。然而，圍繞低 2 型氣喘之知識較為缺乏，且該等患者很可能將佔今後重度氣喘尚未滿足之醫療需求之大部分。例如，參見 Arron 等人, Clin Immunol 161, 11-22 (2015)。

【0004】 下游 2 型生物標記中之一者骨膜素係由支氣管上皮細胞及肺纖維母細胞分泌，且可由 Th2 細胞介素(包括 IL-13)誘導。參見 Takayama 等人, J Allergy Clin Immunol 118, 98-104 (2006)。骨膜素對於治療前血清骨膜素含量較高之患者係富含抗 IL-13 (萊比克珠單抗(lebrikizumab))臨床反應之預測性生物標記；相反，治療前血清骨膜素含量較低之患者臨床獲益明顯較少。參見 Corren 等人, N Engl J Med 365, 1088-1098 (2011)。由於外周骨膜素含量對於界定具有不同治療反應之氣喘亞群有效，因此假定此生物標記亦可將異質性氣喘研究群體分層以增加遺傳研究中之強度。大多數氣喘 GWAS 專注於氣喘群體，而不考慮 2 型發炎狀態。

【0005】 氣喘鑑別特徵在於可逆性氣流阻塞、支氣管高反應性及氣道發炎之廣泛的呼吸有關症狀。氣喘嚴重程度在患者之間差異較大，且患者中之分子異質性已有詳細記錄。業內需要針對氣喘、特定而言伴低程度之 2 型氣道發炎之中度-重度氣喘之改良治療。

【發明內容】

【0006】 本文提供治療個體氣喘之方法，其包括向該個體投與有效量之 KLK5

拮抗劑。

【0007】 本文進一步提供預測罹患氣喘之個體對包含 KLK5 拮抗劑之治療之反應的方法，該方法包括(a) 量測來自該個體之生物樣品中之 KLK5 含量，(b) 將該樣品中所偵測到之 KLK5 含量與參考含量進行比較，及(c) 當該樣品中所量測之 KLK5 含量與參考含量相比升高時，預測該個體將對治療有反應，且當該樣品中所量測之 KLK5 含量與參考含量相比降低時，預測該個體將對治療無反應。

【0008】 本文進一步提供選擇罹患氣喘之個體進行包含 KLK5 拮抗劑之治療之方法，其包括確定來自該個體之生物樣品中位於 KLK5 基因體序列中之遺傳變異存在或不存在，其中該遺傳變異之存在指示該個體適於用 KLK5 拮抗劑治療。

【0009】 本文進一步提供偵測指示罹患氣喘之個體適於用 KLK5 拮抗劑治療之 KLK5 基因體序列中之遺傳變異存在或不存在之方法，其包括(a) 使來自該個體之樣品與能夠偵測位於 KLK5 基因體序列中之該遺傳變異存在或不存在之試劑接觸；及(b) 確定該遺傳變異存在或不存在，其中該遺傳變異之存在指示該個體適於用 KLK5 拮抗劑治療。

【0010】 在該等方法中之任一者之一些實施例中，氣喘與升高含量之 KLK5 相關。在該等方法中之任一者之一些實施例中，氣喘與升高含量之嗜中性白血球相關。在該等方法中之任一者之一些實施例中，氣喘係選自由以下組成之群：低 2 型氣喘、低骨膜素性氣喘及低嗜酸性白血球性氣喘。在該等方法中之任一者之一些實施例中，氣喘與內瑟頓氏症候群不相關。在該等方法中之任一者之一些實施例中，氣喘與 SPINK5 之活性降低相關。在該等方法中之任一者之一些實施例中，氣喘與編碼 SPINK5 或其基因產物之基因中之一或多種遺傳變異不相關。在該等方法中之任一者之一些實施例中，針對氣喘對個體之治療係基於遺傳變異之存在或不存在。在該等方法中之任一者之一些實施例中，氣喘與位於

KLK5 基因體序列中之遺傳變異有關。在一些實施例中，該遺傳變異係 SNP。在一些實施例中，該遺傳變異係 SNP rs117639512。

【0011】 在該等方法中之任一者之一些實施例中，KLK5 拮抗劑藉由結合至 KLK5 之活性位點來抑制 KLK5。在該等方法中之任一者之一些實施例中，KLK5 拮抗劑藉由結合至結合區來抑制 KLK5，該結合區包含選自由在未處理之全長 KLK5 (亦即，包括信號肽)之位置 108、147、150、153、168 及 245 處之胺基酸殘基組成之群之 KLK5 胺基酸殘基中之一或多者。在該等方法中之任一者之一些實施例中，KLK5 拮抗劑抑制 KLK5 之絲胺酸蛋白酶活性。

【0012】 在該等方法中之任一者之一些實施例中，KLK5 拮抗劑係選自由以下組成之群：抗體、結合多肽、多核苷酸及小分子。在一些實施例中，抗體係單株抗體。在一些實施例中，抗體係人類、人類化或嵌合抗體。在一些實施例中，抗體係全長 IgG1 抗體。在一些實施例中，抗體之 IC₅₀ 為小於約 50 μ M - 1 μ M、小於約 1 μ M - 500 nM、小於約 500 nM - 100 nM、小於約 100 nM - 10 nM、小於約 10 nM - 1 nM 或小於約 1000 pM - 100 pM。在一些實施例中，抗體之 IC₅₀ 為小於約 10 nM - 1 nM。在一些實施例中，抗體之 IC₅₀ 為小於約 2 nM - 1 nM。在一些實施例中，IC₅₀ 係藉由如本文所述之直接分析或偶合分析來測定。

【0013】 在一些實施例中，結合多肽係 KLK5 結合多肽。在一些實施例中，KLK5 結合多肽係融合多肽。在一些實施例中，融合多肽係 SPINK 融合多肽。在一些實施例中，融合多肽係 SPINK Fc 融合多肽。在一些實施例中，融合多肽係 SPINK Fc 融合多肽。在一些實施例中，SPINK Fc 融合多肽包含一或多個 SPINK5 之結構域。在一些實施例中，該一或多個 SPINK5 之結構域包含 SEQ ID NO:17 (E421-A695)。在一些實施例中，該一或多個來自 SPINK5 之結構域包含 SEQ ID NO:22 (M293-R355)。在一些實施例中，該一或多個來自 SPINK5 之結構域係來自小鼠來源。在一些實施例中，該一或多個 SPINK5 之結構域包含 SEQ ID

NO:15 (E490-Y757)。在一些實施例中，該一或多個來自 SPINK5 之結構域包含 SEQ ID NO:20 (R291-R352)。在一些實施例中，該一或多個來自 SPINK5 之結構域係人類來源。在一些實施例中，SPINK Fc 融合多肽包含 SPINK9 之一個結構域。在一些實施例中，SPINK9 之一個結構域包含 SEQ ID NO:28 (I20-C86.C22S.H48R.M49E)。在一些實施例中，SPINK9 之一個結構域係來自人類來源。

【0014】 在一些實施例中，小分子係蛋白酶抑制劑。在一些實施例中，蛋白酶抑制劑係亮抑酶肽。

【0015】 在該等方法中之任一者之一些實施例中，樣品係選自由以下組成之群：支氣管肺泡灌洗、肺實質、支氣管上皮下膜(sub-epithelium)、腦脊髓液、血液、血清、痰液、唾液、黏膜刮擦物、組織生檢、淚液分泌物、精液或汗液。

【0016】 本文進一步提供 KLK5 拮抗劑，其用於醫學治療或診斷，包括氣喘之療法及/或治療。

【0017】 本文進一步提供 SPINK 融合多肽。在一些實施例中，該 SPINK 融合多肽係 SPINK Fc 融合多肽。在一些實施例中，該 SPINK Fc 融合多肽抑制 KLK5 之活性。在一些實施例中，該 SPINK Fc 融合多肽包含一或多個 SPINK5 之結構域。在一些實施例中，該一或多個 SPINK5 之結構域包含 SEQ ID NO:17 (E421-A695)。在一些實施例中，該一或多個來自 SPINK5 之結構域包含 SEQ ID NO: 22 (M293-R355)。在一些實施例中，該一或多個來自 SPINK5 之結構域係來自小鼠來源。在一些實施例中，該一或多個 SPINK5 之結構域包含 SEQ ID NO:15 (E490-Y757)。在一些實施例中，該一或多個來自 SPINK5 之結構域包含 SEQ ID NO:20 (R291-R352)。在一些實施例中，該一或多個來自 SPINK5 之結構域係人類來源。在一些實施例中，該 SPINK Fc 融合多肽包含 SPINK9 之一個結構域。在一些實施例中，SPINK9 之一個結構域包含 SEQ ID NO:28

(I20-C86.C22S.H48R.M49E)。在一些實施例中，SPINK9 之一個結構域係來自人類來源。

【0018】 在一些實施例中，SPINK 融合多肽之 IC_{50} 為小於約 $50\ \mu\text{M}$ - $1\ \mu\text{M}$ 、小於約 $1\ \mu\text{M}$ - $500\ \text{nM}$ 、小於約 $500\ \text{nM}$ - $100\ \text{nM}$ 、小於約 $100\ \text{nM}$ - $10\ \text{nM}$ 、小於約 $10\ \text{nM}$ - $1\ \text{nM}$ 或小於約 $1000\ \text{pM}$ - $100\ \text{pM}$ 。在一些實施例中，SPINK 融合多肽之 IC_{50} 為小於約 $10\ \text{nM}$ - $1\ \text{nM}$ 。在一些實施例中，SPINK 融合多肽之 IC_{50} 為小於約 $3\ \text{nM}$ - $1\ \text{nM}$ 。在一些實施例中， IC_{50} 係藉由如本文所述之直接分析或偶合分析來測定。

【0019】 本文進一步提供如本文所述之 SPINK 融合多肽，其用於醫學治療或診斷，包括與 KLK5 相關之疾病之療法及/或治療。

【0020】 本文進一步提供醫藥調配物，其包含醫藥學活性量之如本文所述之 SPINK 融合多肽及醫藥學上可接受之載劑。

【0021】 本文進一步提供治療個體之與 KLK5 相關之疾病之方法，其包括向該個體投與有效量之如本文所述之 SPINK 融合多肽。

【0022】 在 SPINK 融合多肽中之任一者之一些實施例中，與 KLK5 相關之疾病係與個體樣品中升高含量之 KLK5 相關。在一些實施例中，與 KLK5 相關之疾病係與個體樣品中升高數目之嗜中性白血球相關。在一些實施例中，與 KLK5 相關之疾病係內瑟頓氏症候群。在一些實施例中，樣品係選自由以下組成之群：支氣管肺泡灌洗、肺實質及支氣管上皮下膜。在一些實施例中，個體係人類。

【圖式簡單說明】

【0023】 圖 1A 及 1B. 高骨膜素(圖 1A)及低骨膜素(圖 1B)子組與對照之比較。基因座係藉由富集同類群組來繪製。八個基因座顯示無明顯差異且並未示出。對於每一基因座，繪製 OR 且在列示對照比較之情形下繪製 P 值。

【0024】 圖 2. 以曼哈頓圖(Manhattan plot)之形式顯示整合分析中全基因體關

聯結果之彙總。在 667 名成人非 2 型發炎性氣喘患者及 1,887 名對照中實施全基因體單一變異體分析。 $P < 5 \times 10^{-8}$ 之全基因體顯著性程度係由上線(由「X」標記)指示，且提示顯著性($P < 1 \times 10^{-5}$)係由下線(由「XX」標記)指示。

【0025】 圖 3. 彙總染色體 19 上 KLK 基因座之結果之 LocusZoom39 圖。藉由變異體與該區中最強關聯之 SNP rs117639512 之間的連鎖不平衡之程度對該等變異體進行色彩編碼。

【0026】 圖 4A 及 4B. 氣喘支氣管肺泡灌洗中之 KLK5 增加與骨膜素含量無關。圖 4A)健康志願者或重度氣喘患者之支氣管肺泡灌洗中 KLK5 結合多肽之含量；圖 4B)重度氣喘患者中 KLK5 之含量與所預測 FEV1 值之關聯。

【0027】 圖 5A 及 5B. 重組 KLK5 誘導嗜中性白血球外滲及肺上皮細胞介素產生。圖 5A)將 WT 或 SA 突變 KLK5 (每隻小鼠 2 μ g)鼻內遞送至小鼠中且藉由流式細胞術分析來量化嗜中性白血球細胞數量(藉由 Ly6G+CD11b+細胞量化)。圖 5B)用 2 μ g/ml SA 突變異體或 WT 或在 10 μ g SPINK5 Fc 融合多肽之存在下處理肺上皮細胞。Tslp、Tnfa、IL-8 及 Icam1 之轉錄物係藉由即時 RT-PCR 來量化。

【0028】 圖 6A、6B 及 6C. 重組 KLK5 活性在直接分析中受 SPINK Fc 融合多肽抑制。將 KLK5 與 SPINK5 M293-R355 (圖 6A)、SPINK5 E421-A695 (圖 6B)或 SPINK9 (I20-C86.C22S.H48R.M49E)-Fc (本文中亦稱為 SPINK9.SRE.Fc) (圖 6C)一起預培育 30 分鐘，之後添加螢光受質 Boc-VPR-AMC。使用 PHERAstar® Plus 讀數儀監測反應。RFU/s 反應速率係藉由線性範圍內讀數之線性回歸來計算。IC₅₀ 參數係自其各別曲線之四參數擬合來確定。

【0029】 圖 7A、7B 及 7C. 重組 KLK5 活性在前 KLK7 偶合分析中受 SPINK Fc 融合多肽抑制。將 KLK5 與 SPINK5 M293-R355 (圖 7A)、SPINK5 E421-A695 (圖 7B)或 SPINK9.SRE.Fc (圖 7C)一起預培育 30 分鐘，之後添加前 KLK7 及螢光受質 Suc-LLVY-AMC (SEQ ID NO:29)。使用 PHERAstar® Plus 讀數儀監測反應。

RFU/s 反應速率係藉由線性範圍內讀數之線性回歸來計算。 IC_{50} 參數係自其各別曲線之四參數擬合來確定。

【0030】 圖 8A、8B、8C 及 8D. 重組 KLK7 活性部分地由 SPINK Fc 融合多肽抑制，但不受 SPINK9.SRE.Fc 或 mAb1108 抑制。將 KLK5 與 SPINK5 M293-R355 (圖 8A)、SPINK5 E421-A695 (圖 8B)、SPINK9.SRE.Fc (圖 8C)或 mAb1108 (圖 8D) 一起預培育 50 分鐘，之後添加前 KLK7 及螢光受質 Suc-LLVY-AMC (SEQ ID NO:29)。使用 PHERAstar® Plus 讀數儀監測反應。RFU/s 反應速率係藉由線性範圍內讀數之線性回歸來計算。 IC_{50} 參數係自其各別曲線之四參數擬合來確定。

【0031】 圖 9A、9B、9C 及 9D. 市售抗體 mAb1108 係人類 KLK5 之部分抑制劑。將 20 nM (圖 9A)、10 nM (圖 9B)、5 nM (圖 9C)及 2.5 nM (圖 9D) KLK5 與 mAb1108 一起培育 30 分鐘，之後添加螢光受質 Boc-VPR-AMC。使用 PHERAstar® Plus 讀數儀監測反應。RFU/s 反應速率係藉由線性範圍內讀數之線性回歸來計算。 IC_{50} 值係自各別曲線之四參數擬合來確定。

【0032】 圖 10A 及 10B. SPINK9.SRE.Fc 融合蛋白在直接分析中係 KLK5 之強效抑制劑。將 KLK5 與 SPINK9.SRE.Fc 融合(圖 10A)或 mAb1108 (圖 10B)一起培育 30 分鐘，之後添加螢光受質 Boc-VPR-AMC。使用 PHERAstar® Plus 讀數儀監測反應。RFU/s 反應速率係藉由線性範圍內讀數之線性回歸來計算。 IC_{50} 參數係自其各別曲線之四參數擬合來確定。

【0033】 圖 11A 及 11B. SPINK9.SRE.Fc 融合蛋白在前 KLK7 偶合分析中係 KLK5 之強效抑制劑。在前 KLK7 偶合分析中，將 KLK5 與 SPINK9.SRE.Fc 融合(圖 11A)或 mAb1108 (圖 11B)一起培育 30 分鐘，之後添加前 KLK7 及螢光受質 Suc-LLVY-AMC (SEQ ID NO:29)。使用 PHERAstar® Plus 讀數儀監測反應。RFU/s 反應速率係藉由線性範圍內讀數之線性回歸來計算。 IC_{50} 值係自各別曲線之四參數擬合來確定。

【0034】 圖 12A、12B、12C 及 12D. SPINK9.SRE.Fc (圖 12A 及 12C)及 mAb1108 (圖 12B 及 12D)劑量依賴性地抑制重組 KLK5 自前 KLK7 (圖 12A 及 12B)及前 KLK1 (圖 12C 及 12D)裂解信號肽。藉由 LC/MS 偵測 KLK7 及 KLK1 信號肽。在將 5 nM KLK5 與 15 nM 前 KLK7 培育 2 小時之前或在將 0.5 nM KLK5 與 300 nM (圖 12C)或 355 nM (圖 12D)前 KLK1 培育 20 分鐘之前，將 SPINK9.SRE.Fc 或 mAb1108 與 KLK5 預培育。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0035】 本申請案主張於 2017 年 4 月 21 日提出申請之美國臨時專利申請案第 62/488,515 號之優先權，其全部內容係以引用的方式併入本文中。

序列表

【0036】 本申請案含有序列表，其已以 ASCII 格式電子提交，且係以全文引用的方式併入本文中。於 2018 年 4 月 11 日創建之該 ASCII 拷貝命名為 P34247-WO_SL.txt 且大小為 93 個千位元組。

【0037】 本文提供使用 KLK5 拮抗劑之治療方法。在一些實施例中，本文提供使用 KLK5 拮抗劑治療氣喘之方法。特定而言，本文提供藉由向個體投與有效量之 KLK5 拮抗劑治療氣喘之方法。本文亦提供基於偵測 KLK5 中遺傳變異之存在或不存在預測個體之反應或選擇罹患氣喘之個體用於以 KLK5 拮抗劑治療之方法。在一些實施例中，本文提供使用 KLK5 拮抗劑治療內瑟頓氏症候群之方法。特定而言，本文提供使用 KLK5 拮抗劑治療內瑟頓氏症候群之方法，其中該 KLK5 拮抗劑係 SPINK 融合多肽(例如，SPINK Fc 融合多肽)。本文亦提供用於治療或診斷氣喘之 KLK5 拮抗劑以及包含其之醫藥調配物。

I. 定義

【0038】 除非另有指示，否則如本文所用之術語「KLK5」及「血管舒緩素-5

(Kallikrein-5)」係指來自任何脊椎動物來源之任何天然 KLK5，該脊椎動物來源包括哺乳動物，例如靈長類動物(例如人類)及嚙齒類動物(例如，小鼠及大鼠)。該術語涵蓋未經處理之「全長」KLK5 以及自處理細胞產生之 KLK5 之任何形式。該術語亦涵蓋 KLK5 之天然變異體，例如，剪接變異體或等位基因變異體。在一些實施例中，例示性人類 KLK5 之胺基酸序列係 UNIPROT Q9Y337。在一些實施例中，例示性人類 KLK5 之胺基酸序列係選自由以下組成之群：SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3 (N153D 變異體)、SEQ ID NO:5 (G55R 變異體)及 SEQ ID NO:7 (G55R, N153D 變異體)。在一些實施例中，例示性人類 KLK5 之胺基酸序列係 UNIPROT Q9Y337 之胺基酸殘基 23-293 (減去信號肽)且示於 SEQ ID NO:2 中。在一些實施例中，例示性人類 KLK5 之胺基酸序列係示於 SEQ ID NO:4 中之 N153D 變異體之胺基酸殘基 23-293 (減去信號肽)。在一些實施例中，例示性人類 KLK5 之胺基酸序列係示於 SEQ ID NO:6 中之 G55R 變異體之胺基酸殘基 23-293 (減去信號肽)。在一些實施例中，例示性人類 KLK5 之胺基酸序列係示於 SEQ ID NO:8 中之 G55R, N153D 變異體之胺基酸殘基 23-293 (減去信號肽)。

【0039】 此段落中以下之編號係關於未處理之全長 KLK5。在一些實施例中，人類 KLK5 之胺基酸序列包含在位置 153 處之胺基酸 N。在一些實施例中，人類 KLK5 之胺基酸序列包含在位置 153 處之胺基酸 D。在一些實施例中，人類 KLK5 之胺基酸序列包含在位置 55 處之胺基酸 G。在一些實施例中，人類 KLK5 之胺基酸序列包含在位置 55 處之胺基酸 R。在一些實施例中，人類 KLK5 之胺基酸序列包含在位置 55 處之胺基酸 G 及在位置 153 處之胺基酸 N。在一些實施例中，人類 KLK5 之胺基酸序列包含在位置 55 處之胺基酸 G 及在位置 153 處之胺基酸 D。在一些實施例中，人類 KLK5 之胺基酸序列包含在位置 55 處之胺基酸 R 及在位置 153 處之胺基酸 N。在一些實施例中，人類 KLK5 之胺基酸序列包含在位置 55 處之胺基酸 R 及在位置 153 處之胺基酸 D。

【0040】 此段落中以下之編號係關於未處理之全長 KLK5。在一些實施例中，人類 KLK5 之核酸序列包含在位置 153 處編碼 N 之序列。在一些實施例中，人類 KLK5 之核酸序列包含在位置 153 處編碼 D 之序列。在一些實施例中，人類 KLK5 之核酸序列包含在位置 55 處編碼 G 之序列。在一些實施例中，人類 KLK5 之核酸序列包含在位置 55 處編碼 R 之序列。在一些實施例中，人類 KLK5 之核酸序列包含在位置 55 處編碼 G 之序列及在位置 153 處編碼 N 之序列。在一些實施例中，人類 KLK5 之核酸序列包含在位置 55 處編碼 G 之序列及在位置 153 處編碼 D 之序列。在一些實施例中，人類 KLK5 之核酸序列包含在位置 55 處編碼 R 之序列及在位置 153 處編碼 N 之序列。在一些實施例中，人類 KLK5 之核酸序列包含在位置 55 處編碼 R 之序列及在位置 153 處編碼 D 之序列。

【0041】 除非另有指示，否則如本文所用之術語「SPINK5」及「絲胺酸蛋白酶抑制劑 5 型 Kazal」係指來自任何脊椎動物來源之任何天然 SPINK5，該脊椎動物來源包括哺乳動物，例如靈長類動物(例如人類)及嚙齒類動物(例如小鼠及大鼠)。該術語涵蓋未經處理之「全長」SPINK5 以及自處理細胞產生之 SPINK5 之任何形式。該術語亦涵蓋 SPINK5 之天然變異體，例如，剪接變異體或等位基因變異體。在一些實施例中，例示性人類 SPINK5 之胺基酸序列係 UNIPROT Q9NQ38 且示於 SEQ ID NO:9 中。在一些實施例中，例示性人類 SPINK5 之胺基酸序列係 UNIPROT Q9NQ38 之胺基酸殘基 23-1064 (減去信號肽)且示於 SEQ ID NO:10 中。在一些實施例中，例示性小鼠 SPINK5 之胺基酸序列係 UNIPROT Q5K5D4 且示於 SEQ ID NO:11 中。在一些實施例中，例示性小鼠 SPINK5 之胺基酸序列係 UNIPROT Q5K5D4 之胺基酸殘基 23-1064 (減去信號肽)且示於 SEQ ID NO:12 中。

【0042】 除非另有指示，否則如本文所用之術語「SPINK9」或「絲胺酸蛋白酶抑制劑 9 型 Kazal」係指來自任何脊椎動物來源之任何天然 SPINK9，該脊椎

動物來源包括哺乳動物，例如靈長類動物(例如人類)及嚙齒類動物(例如小鼠及大鼠)。該術語涵蓋未經處理之「全長」SPINK9 以及自處理細胞產生之 SPINK9 之任何形式。該術語亦涵蓋 SPINK9 之天然變異體，例如，剪接變異體或等位基因變異體。在一些實施例中，例示性人類 SPINK9 之胺基酸序列係 UNIPROT Q5DT21 且示於 SEQ ID NO:23 中。在一些實施例中，例示性人類 SPINK9 之胺基酸序列係 UNIPROT Q5DT21 之胺基酸殘基 20-86 (減去信號肽)且示於 SEQ ID NO:24 中。

【0043】 「KLK5 之拮抗劑」、「KLK5 拮抗劑」、「KLK5 之抑制劑」或「KLK5 抑制劑」係干擾 KLK5 之活化或功能之藥劑，例如，部分或完全阻斷、抑制或中和由 KLK5 調介之生物活性。舉例而言，KLK5 之拮抗劑可係指部分或完全阻斷、抑制或中和由 KLK5 調介之生物活性之任何分子。KLK5 拮抗劑之實例包括抗體(例如，抗 KLK5 抗體)、結合多肽(例如，KLK5 結合多肽，例如 SPINK Fc 融合多肽)、多核苷酸(例如，KLK5 多核苷酸拮抗劑，例如短干擾 RNA (siRNA) 或規律成簇間隔短回文重複 RNA (CRISPR-RNA 或 crRNA，包括具有 crRNA 及 tracrRNA 序列之單導向 RNA (sgRNA))及小分子(例如，KLK5 小分子拮抗劑，例如小分子蛋白酶抑制劑)。在一些實施例中，拮抗劑係結合至 KLK5 之抗體或小分子。

【0044】 如本文中所互換使用之「多核苷酸」或「核酸」係指任何長度之核苷酸之聚合物，且包括 DNA 及 RNA。核苷酸可為去氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、經修飾之核苷酸或鹼基及/或其類似物或可藉由 DNA 或 RNA 聚合酶或藉由合成反應併入至聚合物中之任何受質。多核苷酸可包含經修飾之核苷酸，例如甲基化核苷酸及其類似物。若存在，則可在聚合物組裝之前或之後賦予對核苷酸結構之修飾。核苷酸序列可藉由非核苷酸組分中斷。多核苷酸可在合成後藉由(例如)與標記偶聯來進一步修飾。其他類型之修飾包括(例如)「帽子」、用類

似物取代天然核苷酸中之一或多者、核苷酸間修飾，例如具有不帶電連接(例如，磷酸甲基酯、磷酸三酯、胺基磷酸酯、胺基甲酸酯等)及具有帶電連接(例如，硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯等)之彼等修飾、含有側接部分(例如，蛋白質(例如，核酸酶、毒素、抗體、信號肽、聚-L-離胺酸等)之彼等修飾、具有嵌入劑(例如，吡啶、補骨脂素等)之彼等修飾、含有螯合劑(例如，金屬、放射性金屬、硼、氧化金屬等)之彼等修飾、含有烷基化劑之彼等修飾、具有經修飾連接(例如， α 變旋異構核酸等)之彼等修飾以及多核苷酸之未經修飾形式。此外，通常存在於糖中之羥基中之任一者均可由(例如)磷酸酯基團、磷酸酯基團置換，由標準保護基團保護，或經活化以製備與額外核苷酸之額外連接，或可偶聯至固體或半固體載體。5'及 3'末端 OH 可經胺或 1 至 20 個碳原子之有機封端基團部分磷酸化或取代。其他羥基亦可衍生化成標準保護基團。多核苷酸亦可含有業內通常已知之核糖或去氧核糖糖之類似形式，包括(例如) 2'-O-甲基-、2'-O-烯丙基、2'-氟-或 2'-疊氮基-核糖、碳環糖類似物、 α -變旋異構糖、差向異構糖(例如阿拉伯糖、木糖或來蘇糖(lyxose))、吡喃糖糖、呋喃糖糖、景天庚酮糖(sedoheptulose)、非環類似物及無鹼基核苷類似物(例如甲基核苷)。一或多個磷酸二酯連接可由替代連接基團置換。該等替代連接基團包括(但不限於)以下實施例：其中磷酸酯由 $P(O)S$ (「硫代酯」)、 $P(S)S$ (「二硫代酯」)、 $(O)NR_2$ (「醯胺化物」)、 $P(O)R$ 、 $P(O)OR'$ 、CO 或 CH_2 (「甲乙縮醛」)置換，其中每一 R 或 R'獨立地係 H 或視情況含有醚(-O-)連接之經取代或未經取代之烷基(1-20 個 C)、芳基、烯基、環烷基、環烯基或芳烷基(araldyl)。並非多核苷酸中之所有連接均需要相同。前述說明適於本文中所提及之所有多核苷酸，包括 RNA 及 DNA。

【0045】 除非另有指示，否則如本文所用之術語「多肽」係指來自任何脊椎動物來源之所關注之任何天然多肽(例如，KLK5、SPINK5 或 SPINK9)，該脊椎動物來源包括哺乳動物，例如靈長類動物(例如，人類)及嚙齒類動物(例如，小

鼠及大鼠)。該術語涵蓋未經處理之「全長」多肽以及自處理細胞產生之多肽之任何形式。該術語亦涵蓋多肽之天然變異體，例如，剪接變異體或等位基因變異體。

【0046】 如本文所用之術語「SPINK 融合多肽」係指其中 SPINK 多肽或其片段(例如，SPINK 多肽之某些結構域(例如，SPINK5 及/或 SPINK9)直接或間接地連接至另一多肽(例如，非 SPINK 多肽)之融合多肽。

【0047】 如本文所用之術語「SPINK Fc 融合多肽」係指其中 SPINK 多肽或其片段(例如，SPINK 多肽之某些結構域(例如，SPINK5 及/或 SPINK9)直接或間接地連接至 Fc 區之融合多肽。在一些實施例中，Fc 區係選自由以下組成之群：IgG1 Fc 區、IgG2a Fc 區及 IgG4 Fc 區。在一些實施例中，Fc 區係 IgG2a Fc 區。在一些實施例中，IgG2a Fc 區係小鼠 IgG2a Fc 區。在一些實施例中，Fc 區係 IgG1 Fc 區。在一些實施例中，IgG1 Fc 區係人類 IgG1 Fc 區。在一些實施例中，Fc 區係 IgG4 Fc 區。在一些實施例中，IgG4 Fc 區係人類 IgG4 Fc 區。在一些實施例中，SPINK 多肽或其片段係人類 SPINK 多肽或其片段。在一些實施例中，SPINK 多肽或其片段係小鼠 SPINK 多肽或其片段。應理解，本文中提供微小序列變化形式(例如插入、缺失、取代)、尤其不影響 SPINK 多肽、SPINK 結構域或 SPINK Fc 融合多肽之功能及/或活性之 SPINK 多肽、SPINK 結構域或 Fc 之保守胺基酸取代。在一些實施例中，本文所提供之 SPINK Fc 融合多肽可結合至 KLK5，其可導致 KLK5 之抑制。在一些實施例中，SPINK 多肽或其片段係 SPINK 5。在一些實施例中，SPINK 多肽或其片段係 SPINK 9。SPINK Fc 融合多肽之功能及/或活性可藉由業內已知之方法來分析，該等方法包括(但不限於) ELISA、配體-受體結合分析及 Stat3 螢光素酶分析。

【0048】 在一些實施例中，SPINK Fc 融合多肽之 Fc 區不具有效應物活性(例如，不結合至 FcγIIIR)或展現實質上低於全 IgG 抗體之效應物活性。在一些實施

例中，SPINK Fc 融合多肽之 Fc 區不觸發細胞毒性，例如抗體依賴性細胞毒性 (ADCC)或補體依賴性細胞毒性(CDC)。除非另有指定，否則「SPINK Fc 融合」、「SPINK Ig 融合多肽」、「SPINK Fc 融合多肽」或「SPINK Fc」在整個本申請案中可互換使用。

【0049】 術語「小分子」係指分子量為約 2000 道耳頓(dalton)或更小、較佳地約 500 道耳頓或更小之任何分子。

【0050】 「親和力」或「結合親和力」係指分子(例如，抗體、結合多肽、多核苷酸、小分子)之單一結合位點與其結合搭配物(例如，抗原)之間之非共價相互作用之總強度。除非另有指示，否則如本文所用之「結合親和力」係指固有結合親和力，其反映結合對之成員(例如，抗體、結合多肽、多核苷酸、小分子及抗原中之任一者)之間之 1:1 相互作用。分子 X 對於其搭配物 Y 之親和力通常可表示為解離常數(Kd)。親和力可藉由業內已知之常見方法來量測，該等方法包括本文所述之彼等方法(例如，肽受質分析、直接分析或偶合分析)。

【0051】 術語「抗體」在本文中係以最廣泛意義使用且涵蓋各種抗體結構，包括(但不限於)單株抗體、多株抗體、多特異性抗體(例如，雙特異性抗體)及抗體片段，只要其展現期望抗原結合活性即可。

【0052】 「抗體片段」係指除完整抗體以外之分子，其包含完整抗體中結合完整抗體所結合之抗原的一部分。抗體片段之實例包括(但不限於) Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、雙價抗體(diabody)、直鏈抗體、單鏈抗體分子(例如 scFv)及自抗體片段形成之多特異性抗體。

【0053】 「結合至相同表位之抗體」或「結合至相同結合區之抗體」作為參考抗體係指在競爭分析中將參考抗體與其結合搭配物(例如，抗原)之結合阻斷 50%或更多之抗體，且相反地，參考抗體在競爭分析中將抗體與其結合搭配物之結合阻斷 50%或更多。

【0054】 術語「抗 KLK5 抗體」及「結合至 KLK5 之抗體」係指能夠以足夠親和力結合 KLK5，從而使得該抗體可用作靶向 KLK5 之診斷劑及/或治療劑之抗體。在一些實施例中，抗 KLK5 抗體與無關多肽(除 KLK5 以外之多肽)結合之程度低於該抗體與 KLK5 結合之約 10%，如藉由(例如)放射免疫分析(RIA)所量測。在一些實施例中，結合至 KLK5 之抗體之解離常數(Kd)係 $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{ nM}$ 、 $\leq 10\text{ nM}$ 、 $\leq 1\text{ nM}$ 、 $\leq 0.1\text{ nM}$ 、 $\leq 0.01\text{ nM}$ 或 $\leq 0.001\text{ nM}$ (例如 10^{-8} M 或更低，例如 10^{-8} M 至 10^{-13} M ，例如 10^{-9} M 至 10^{-13} M)。在一些實施例中，抗 KLK5 抗體結合至在 KLK 多肽之不同種類中保守之 KLK5 之結合區(例如表位)。

【0055】 「阻斷性」抗體或「拮抗劑抗體」係抑制或降低其所結合抗原之生物活性之抗體。較佳之阻斷性抗體或拮抗劑抗體實質上或完全地抑制抗原之生物活性。

【0056】 術語「嵌合」抗體係指其中重鏈及/或輕鏈之一部分源自特定來源或物種、而重鏈及/或輕鏈之其餘部分源自不同來源或物種之抗體。

【0057】 抗體之「類別」係指其重鏈所具有之恆定結構域或恆定區之類型。存在 5 大類抗體：IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM，且該等類別中之若干種可進一步分成子類(同型)，例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 及 IgA2。對應於不同類別之免疫球蛋白之重鏈恆定結構域分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。

【0058】 「結合區」係指 KLK5 拮抗劑(例如抗體、結合多肽、多核苷酸、小分子)選擇性結合之結合搭配物(例如，抗原)之部分。對於結合多肽結合搭配物，線性結合區可係約 4-15 個(例如，4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 或 15 個)胺基酸殘基之肽部分。非線性構形結合區可包含在結合多肽結合搭配物之三維(3D)結構中緊密靠近之多肽序列之殘基。

【0059】 術語「全長抗體」、「完整抗體」及「全抗體」在本文中可互換使用，以指具有實質上與天然抗體結構類似之結構或具有含有 Fc 區之重鏈的抗體

(例如，抗 KLK5 抗體)。

【0060】 「人類抗體」係具有對應於如下抗體之胺基酸序列之胺基酸序列之抗體：其係由人類或人類細胞產生或源自利用人類抗體譜或其他編碼人類抗體之序列之非人類來源。此人類抗體之定義明確排除包含非人類抗原結合殘基之人類化抗體。

【0061】 「人類化」抗體係指包含來自非人類 HVR 之胺基酸殘基及來自人類 FR 之胺基酸殘基之嵌合抗體。在一些實施例中，人類化抗體將包含實質上全部之至少一個、且通常兩個可變結構域，其中全部或實質上全部之 HVR(例如，CDR)對應於非人類抗體之彼等 HVR，且全部或實質上全部之 FR 對應於人類抗體之彼等 FR。人類化抗體視情況可包含源自人類抗體之抗體恆定區之至少一部分。抗體之「人類化形式」(例如非人類抗體)係指已經受人類化之抗體。

【0062】 如本文所用之術語「超變區」或「HVR」係指抗體可變結構域之序列(「互補決定區」或「CDR」)超變及/或形成在結構上經定義之環(「超變環」)及/或含有抗原接觸殘基(「抗原觸點」)之區中之每一者。通常，抗體包含 6 個 HVR：3 個在 VH 中(H1、H2、H3)，且 3 個在 VL 中(L1、L2、L3)。本文中之例示性 HVR 包括：

- (a) 超變環，其出現於胺基酸殘基 26-32 (L1)、50-52 (L2)、91-96 (L3)、26-32 (H1)、53-55 (H2)及 96-101 (H3)處(Chothia 及 Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))；
- (b) CDR，其出現於胺基酸殘基 24-34 (L1)、50-56 (L2)、89-97 (L3)、31-35b (H1)、50-65 (H2)及 95-102 (H3)處(Kabat 等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第 5 版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))；
- (c) 抗原觸點，其出現於胺基酸殘基 27c-36 (L1)、46-55 (L2)、89-96 (L3)、30-35b (H1)、47-58 (H2)及 93-101 (H3)處(MacCallum 等人，J. Mol. Biol. 262: 732-745

(1996))；及

(d) (a)、(b)及/或(c)之組合，包括 HVR 胺基酸殘基 46-56 (L2)、47-56 (L2)、48-56 (L2)、49-56 (L2)、26-35 (H1)、26-35b (H1)、49-65 (H2)、93-102 (H3)及 94-102 (H3)。

【0063】 除非另有指示，否則可變結構域中之 HVR 殘基及其他殘基(例如，FR 殘基)在本文中係根據 Kabat 等人，上文文獻編號。

【0064】 如參考抗體、結合多肽、多核苷酸或小分子所用之術語「經分離」係已自其自然環境之組分分離者。在一些實施例中，將抗體、結合多肽、多核苷酸或小分子純化至大於 95%或 99%之純度，如藉由(例如)電泳(例如，SDS-PAGE、等電聚焦(IEF)、毛細管電泳)或層析(例如，離子交換或反相 HPLC)所測定。

【0065】 如本文所用之術語「單株抗體」係指自實質上同源抗體群體獲得之抗體，亦即，包含該群體之個別抗體相同及/或結合相同結合區(例如，表位)，可能之變異體抗體除外，例如，含有天然突變或在產生單株抗體製劑期間產生，此等變異體通常以較小量存在。與通常包括針對不同決定簇(表位)之不同抗體之多株抗體製劑相比，單株抗體製劑之每一單株抗體針對抗原上之單一決定簇。因此，修飾語「單株」指示如自抗體之實質上同源群體獲得之抗體特徵，且不應解釋為需要藉由任何特定方法產生抗體。舉例而言，本文所述之單株抗體可藉由多種技術製得，包括(但不限於)雜交瘤方法、重組 DNA 方法、噬菌體展示方法及利用含有所有或一部分人類免疫球蛋白基因座之轉基因動物之方法，此等方法及用於製備單株抗體之其他例示性方法。

【0066】 術語「可變區」或「可變結構域」係指抗體重鏈或輕鏈中參與抗體與抗原結合之結構域。天然抗體之重鏈及輕鏈之可變結構域(分別為 VH 及 VL)通常具有類似結構，其中每一結構域包含四個保守框架區(FR)及三個超變區(HVR)。(例如，參見 Kindt 等人，Kuby Immunology，第 6 版，W.H. Freeman

及 Co.，第 91 頁(2007)。(單一 VH 或 VL 結構域可足以賦予抗原結合特異性。此外，結合特定抗原之抗體可使用來自結合該抗原之抗體之 VH 或 VL 結構域分離以分別篩選互補 VL 或 VH 結構域文庫。例如，參見 Portolano 等人，J. Immunol. 150:880-887 (1993)；Clarkson 等人，Nature 352:624-628 (1991)。

【0067】 「相關(correlate 或 correlating)」意指以任何方式對第一分析或方案之性能及/或結果與第二分析或方案之性能及/或結果進行比較。舉例而言，可使用第一分析或方案之結果來進行第二方案及/或可使用第一分析或方案之結果來確定是否應實施第二分析或方案。關於多核苷酸分析或方案之實施例，可使用多核苷酸表現分析或方案之結果來確定是否應實施特定治療方案。

【0068】 「升高之表現」、「升高之表現程度」或「升高之含量」係指相對於對照(例如未罹患疾病或病症(例如，氣喘)之一或多個個體或內部對照(例如，管家生物標記))，個體中生物標記之表現增加或含量增加。

【0069】 術語「管家生物標記」係指通常類似地存在於所有細胞類型中之生物標記或生物標記組(例如，多核苷酸及/或多肽)。在一些實施例中，管家生物標記係「管家基因」。「管家基因」在本文中係指編碼其活性對維持細胞功能至關重要且通常類似地存在於所有細胞類型中之蛋白質之基因或基因組。

【0070】 如本文所用之術語「KLK5 基因體序列」係指 KLK5 基因之 cDNA 及/或基因體形式，其可包括內含子以及上游及下游調控序列。

【0071】 術語「表現之程度」或「表現程度」一般而言可互換使用，且通常係指生物樣品中生物標記之量。「表現」通常係指資訊(例如，基因編碼及/或後生)轉化成存在於細胞中且在細胞中運行之結構之過程。因此，如本文所用，「表現」可係指轉錄成多核苷酸、轉譯成多肽或甚至多核苷酸及/或多肽修飾(例如，多肽之轉譯後修飾)。所轉錄多核苷酸、所轉譯多肽或多核苷酸及/或多肽修飾(例如，多肽之轉譯後修飾)之片段亦應視為表現，不論其係源自藉由選擇式剪接產

生之轉錄物或降解之轉錄物，抑或源自多肽之轉譯後處理(例如，藉由蛋白分解)。「經表現基因」包括轉錄成作為 mRNA 之多核苷酸且接著轉譯成多肽之彼等基因，亦及轉錄成 RNA 但不轉譯成多肽之彼等基因(例如，轉送及核糖體 RNA)。

【0072】 與個體之增加的臨床益處相關之生物標記之「存在」、「量」或「含量」係生物樣品中之可偵測含量。該等量可藉由熟習此項技術者已知亦及本文所揭示之方法來量測。所評價之生物標記之表現程度或量可用來確定對治療之反應。

【0073】 「降低之表現」、「降低之表現程度」或「降低之含量」係指相對於對照(例如未罹患疾病或病症(例如，氣喘)之個體或內部對照(例如，管家生物標記))，個體中生物標記之表現減少或含量減少。

【0074】 如本文所用之「參考樣品」、「參考細胞」、「參考組織」、「對照樣品」、「對照細胞」或「對照組織」係指用於比較目的之樣品、細胞、組織、標準或程度。在一個實施例中，參考樣品、參考細胞、參考組織、對照樣品、對照細胞或對照組織係自同一個體之身體之健康及/或無疾病部分(例如，組織或細胞)獲得。舉例而言，毗鄰病變細胞或組織之健康及/或無疾病之細胞或組織(例如，毗鄰腫瘤之細胞或組織)。在另一實施例中，參考樣品係自同一個體之身體之未經處理組織及/或細胞獲得。在另一實施例中，參考樣品、參考細胞、參考組織、對照樣品、對照細胞或對照組織係自另一個體之身體之健康及/或無疾病部分(例如，組織或細胞)獲得。在甚至另一實施例中，參考樣品、參考細胞、參考組織、對照樣品、對照細胞或對照組織係自另一個體之身體之未經處理組織及/或細胞獲得。

【0075】 如本文所用之術語「樣品」係指自所關注個體獲得或源自該個體之調配物，其含有已基於(例如)物理、生物化學、化學及/或生理特性表徵及/或鑑

別之細胞及/或其他分子實體。舉例而言，片語「病變樣品」及其變化形式係指自所關注個體獲得之任何樣品，其將預期或已知含有待表徵之細胞及/或分子實體。樣品包括(但不限於)原代或培養細胞或細胞系、細胞上清液、細胞溶解物、血小板、血清、血漿、玻璃體液、淋巴液、滑液、濾泡液、精液、羊水、乳、全血、血液源細胞、尿、腦脊髓液、唾液、痰液、淚液、汗液、黏液、腫瘤溶解物及組織培養基、組織提取物(例如均質化組織)、腫瘤組織、細胞提取物及其組合。

【0076】 「組織樣品」或「細胞樣品」意指自個體之組織獲得之類似細胞之集合。組織或細胞樣品之來源可係如來自新鮮、冷凍及/或保藏器官、組織樣品、活檢及/或吸出物之固體組織；血液或任何血液成分，例如血漿；體液，例如腦脊髓液、羊膜液、腹膜液或間隙液；來自個體妊娠期或發育之任何時間之細胞。組織樣品亦可係原代或培養細胞或細胞系。視情況，組織或細胞樣品係自病變組織/器官獲得。組織樣品可含有不與天然組織天然混合之化合物，例如防腐劑、抗凝血劑、緩衝劑、固定劑、營養素、抗生素或諸如此類。

【0077】 藥劑(例如，醫藥調配物)之「有效量」係指在所需時間段內以所需劑量有效達成期望治療結果之量。

【0078】 「個體」係哺乳動物。哺乳動物包括(但不限於)家養動物(例如，牛、綿羊、貓、狗及馬)、靈長類動物(例如，人類及非人類靈長類動物，例如猴子)、兔及嚙齒類動物(例如，小鼠及大鼠)。在一些實施例中，個體係人類。

【0079】 如本文所用之術語「患者」係指動物，例如哺乳動物。在一個實施例中，患者係指人類。

【0080】 術語「醫藥調配物」係指如下製劑：其所呈現形式容許其中所含活性成分之生物活性有效，且不含對將投與該調配物之個體具有不可接受毒性之額外組分。

【0081】 「醫藥學上可接受之載劑」係指醫藥調配物中除活性成分以外之成分，其對個體無毒。醫藥學上可接受之載劑包括(但不限於)緩衝劑、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

【0082】 如本文所用之術語「高 Th2 性氣喘」係指展現高含量之一或多種 Th2 細胞有關細胞介素(例如，IL13、IL4、IL9、IL5)或展現 Th2 細胞介素相關發炎之氣喘。在一些實施例中，術語高 Th2 性氣喘可與高嗜酸性白血球性氣喘互換使用。在一些實施例中，高 Th2 性氣喘係 Th2 驅動之氣喘。在一些實施例中，氣喘患者已確定為嗜酸性白血球性發炎陽性(EIP)。例如，參見國際專利申請公開案第 WO 2015/061441 號，其係以全文引用的方式併入本文中。在一些實施例中，與對照或參考含量相比，已確定個體具有升高含量之至少一種嗜酸性白血球性標誌基因。參見 WO2015/061441。在一些實施例中，高 Th2 性氣喘係高骨膜素性氣喘。在一些實施例中，個體具有高血清骨膜素。在一些實施例中，個體為 18 歲或以上。在一些實施例中，與對照或參考含量相比，已確定個體具有升高含量之血清骨膜素。在一些實施例中，對照或參考含量係群體中骨膜素之中值含量。在一些實施例中，已確定個體具有 20 ng/ml 或更高之血清骨膜素。在一些實施例中，已確定個體具有 25 ng/ml 或更高之血清骨膜素。在一些實施例中，已確定個體具有 50 ng/ml 或更高之血清骨膜素。在一些實施例中，血清骨膜素之對照或參考含量係 20 ng/ml、25 ng/ml 或 50 ng/ml。在一些實施例中，氣喘係高嗜酸性白血球性氣喘。在一些實施例中，與對照或參考含量相比，已確定個體具有升高之嗜酸性白血球計數。在一些實施例中，對照或參考含量係群體之中值含量。在一些實施例中，已確定個體具有 150 或更高之嗜酸性白血球計數/ μ l 血液。在一些實施例中，已確定個體具有 200 或更高之嗜酸性白血球計數/ μ l 血液。在一些實施例中，已確定個體具有 250 或更高之嗜酸性白血球計數/ μ l 血液。在一些實施例中，已確定個體具有 300 或更高之嗜酸性白血球計數/ μ l

血液。在一些實施例中，已確定個體具有 350 或更高之嗜酸性白血球計數/ μ l 血液。在一些實施例中，已確定個體具有 400 或更高之嗜酸性白血球計數/ μ l 血液。在一些實施例中，已確定個體具有 450 或更高之嗜酸性白血球計數/ μ l 血液。在一些實施例中，已確定個體具有 500 或更高之嗜酸性白血球計數/ μ l 血液。在一些較佳實施例中，已確定個體具有 300 或更高之嗜酸性白血球計數/ μ l 血液。在一些實施例中，嗜酸性白血球係末梢血嗜酸性白血球。在一些實施例中，嗜酸性白血球係痰液嗜酸性白血球。在一些實施例中，個體展現升高含量之 FeNO (呼出硝酸分數)及/或升高含量之 IgE。舉例而言，在一些情況下，個體展現高於以下中任一者之 FeNO 值：約 5 ppb (十億分率)、10 ppb、15 ppb、20 ppb、25 ppb、30 ppb、35 ppb、40 ppb、45 ppb、50 ppb、60 ppb、70 ppb、80 ppb、90 ppb 及 100 ppb。在一些情況下，個體之 IgE 含量高於 50 IU/ml。

【0083】 如本文所用之術語「低 Th2 性氣喘」、「非高 Th2 性氣喘」、「低 2 型氣喘」、「低 T2 性氣喘」、「非嗜酸性白血球性氣喘」、「乏粒細胞性 (pauci-granulocytic)氣喘」或「乏發炎性氣喘」係指展現低含量之一或多種 Th2 細胞有關細胞介素(例如 IL13、IL4、IL9、IL5)或展現非 Th2 細胞介素相關發炎之氣喘。在一些實施例中，術語低 Th2 性氣喘可與低嗜酸性白血球性氣喘互換使用。在一些實施例中，已確定氣喘患者為嗜酸性白血球性發炎陰性(EIN)。例如，參見 WO 2015/061441。在一些實施例中，低 Th2 性氣喘係 Th17 驅動之氣喘。在一些實施例中，低 Th2 性氣喘係低骨膜素性氣喘。在一些實施例中，個體為 18 歲或以上。在一些實施例中，與對照或參考含量相比，已確定個體具有降低含量之血清骨膜素。在一些實施例中，對照或參考含量係群體中骨膜素之中值含量。在一些實施例中，已確定個體具有少於 20 ng/ml 之血清骨膜素。在一些實施例中，氣喘係低嗜酸性白血球性氣喘。在一些實施例中，與對照或參考含量相比，已確定個體具有降低之嗜酸性白血球計數。在一些實施例中，對

照或參考含量係群體之中值含量。在一些實施例中，已確定個體具有少於 150 個嗜酸性白血球計數/ μl 血液。在一些實施例中，已確定個體具有少於 100 個嗜酸性白血球計數/ μl 血液。在某些較佳實施例中，已確定個體具有少於 300 個嗜酸性白血球計數/ μl 血液。

【0084】 「治療」(及諸如「治療(treat 或 treating)」等變化形式)係指試圖改變所治療個體或細胞之自然過程之臨床干預。治療之期望效應包括以下中之一或多者：預防疾病發生或復發、緩和症狀、減弱疾病之任何直接或間接病理結果、穩定(亦即不惡化)疾病狀態、降低疾病進展速率、改善或緩和疾病狀態、若未接受治療則與預期存活期相比延長存活及改良預後。

【0085】 除非本文另有指示或上下文明顯矛盾，否則在闡述本文實施例之上下文中使用術語「一(a 及 an)」及「該(the)」及類似術語均應解釋為涵蓋單數及複數二者。除非另有註明，否則術語「包含」、「具有」、「包括」及「含有」應解釋為開放性術語(亦即，意指「包括(但不限於)」)。應理解，本文所提供之態樣及實施例包括「由態樣及實施例組成」及/或「基本上由態樣及實施例組成」。

【0086】 如熟習此項技術者所理解，在提及「約」時，本文中之值或參數包括(及描述)關於該值或參數本身之實施例。舉例而言，關於「約 X」之說明包括對「X」之說明。

【0087】 片語「實質上不同」係指兩個數值(通常一個數值與分子相關且另一數值與參考/對比分子相關)之間具有足夠高差異度，從而使得熟習此項技術者將認為該兩個值之間之差異在藉由該等值(例如 K_d 值)所量測生物學特性之背景下具有統計學顯著性。該兩個值之間之差異可(例如)大於約 10%、大於約 20%、大於約 30%、大於約 40%及/或大於約 50%，其隨參考/對比分子之值而變化。

【0088】 如本文所用之片語「實質上類似」係指兩個數值(通常一個數值與分子相關且另一數值與參考/對比分子相關)之間具有足夠高類似度，從而使得熟習

此項技術者將認為該兩個值之間之差異在藉由該等值(例如 Kd 值)所量測生物學特性之背景下不具統計學顯著性。該兩個值之間之差異可(例如)小於約 20%、小於約 10%及/或小於約 5%，其隨參考/對比值而變化。片語「實質上正常」係指實質上類似於參考(例如，正常參考)。

II. 使用 KLK5 拮抗劑之方法

【0089】 本文提供使用 KLK5 拮抗劑用於抑制 KLK5 之方法。舉例而言，本文提供治療個體氣喘之方法，其包括向該個體投與有效量之 KLK5 拮抗劑。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑抑制 KLK5 之絲胺酸蛋白酶活性。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑係選自由以下組成之群：抗體(例如抗 KLK5 抗體)、結合多肽(例如，KLK5 結合多肽，例如 SPINK Fc 融合多肽)、多核苷酸(例如，KLK5 多核苷酸拮抗劑，例如 siRNA 或 CRISPR-RNA，包括具有 CRISPR-RNA 及 tracrRNA 序列之 sgRNA)及小分子(例如，KLK5 小分子拮抗劑，例如小分子蛋白酶抑制劑)。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑係抗體(例如，單株抗體)。

【0090】 本文進一步提供預測罹患氣喘之個體對包含 KLK5 拮抗劑之治療之反應的方法，該方法包括(a)量測來自該個體之生物樣品中之 KLK5 含量，(b)將該樣品中所偵測到之 KLK5 含量與參考含量進行比較，及(c)當該樣品中所量測之 KLK5 含量與參考含量相比升高時，預測該個體將對治療有反應，且當該樣品中所量測之 KLK 含量與參考含量相比降低時，預測該個體將不對治療有反應。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑抑制 KLK5 之絲胺酸蛋白酶活性。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑係選自由以下組成之群：抗體(例如，抗 KLK5 抗體)、結合多肽(例如，KLK5 結合多肽，例如 SPINK Fc 融合多肽)、多核苷酸(例如，KLK5 多核苷酸拮抗劑，例如 siRNA 或 CRISPR-RNA，包括具有 CRISPR-RNA 及 tracrRNA 序列之 sgRNA)及小分子(例如，KLK5 小分子拮抗劑，例如小分子蛋白酶抑制劑)。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑係抗體(例如，單株抗體)。

【0091】 本文進一步提供選擇罹患氣喘之個體進行包含 KLK5 拮抗劑之治療之方法，其包括確定來自該個體之生物樣品中位於 KLK5 基因體序列中之遺傳變異存在或不存在，其中該遺傳變異之存在指示該個體適於用 KLK5 拮抗劑治療。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑抑制 KLK5 之絲胺酸蛋白酶活性。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑係選自由以下組成之群：抗體(例如，抗 KLK5 抗體)、結合多肽(例如，KLK5 結合多肽，例如 SPINK Fc 融合多肽)、多核苷酸(例如，KLK5 多核苷酸拮抗劑，例如 siRNA 或 CRISPR-RNA，包括具有 CRISPR-RNA 及 tracrRNA 序列之 sgRNA)及小分子(例如，KLK5 小分子拮抗劑，例如小分子蛋白酶抑制劑)。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑係抗體(例如，單株抗體)。

【0092】 本文進一步提供偵測指示罹患氣喘之個體適於用 KLK5 拮抗劑治療之 KLK5 基因體序列中之遺傳變異存在或不存在之方法，其包括(a)使來自該個體之樣品與能夠偵測位於 KLK5 基因體序列中之該遺傳變異存在或不存在之試劑接觸；及(b)確定該遺傳變異存在或不存在，其中該遺傳變異之存在指示該個體適於用 KLK5 拮抗劑治療。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑抑制 KLK5 之絲胺酸蛋白酶活性。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑係選自由以下組成之群：抗體(例如，抗 KLK5 抗體)、結合多肽(例如，KLK5 結合多肽，例如 SPINK Fc 融合多肽)、多核苷酸(例如，KLK5 多核苷酸拮抗劑，例如 siRNA 或 CRISPR-RNA，包括具有 CRISPR-RNA 及 tracrRNA 序列之 sgRNA)及小分子(例如，KLK5 小分子拮抗劑，例如小分子蛋白酶抑制劑)。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑係抗體(例如，單株抗體)。在一些實施例中，試劑係選自寡核苷酸、DNA 探針、RNA 探針及核酶。在一些實施例中，試劑經標記。

【0093】 本文進一步提供選擇用於治療與 KLK5 相關之疾病之化合物的方法，其包括確定測試化合物是否係 KLK5 拮抗劑，其中為 KLK5 拮抗劑之測試化合物適宜作為治療與 KLK5 相關之疾病之化合物。在一些實施例中，KLK5 拮

抗劑抑制 KLK5 之絲胺酸蛋白酶活性。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑係選自由以下組成之群：抗體(例如，抗 KLK5 抗體)、結合多肽(例如，KLK5 結合多肽，例如 SPINK Fc 融合多肽)、多核苷酸(例如，KLK5 多核苷酸拮抗劑，例如 siRNA 或 CRISPR-RNA，包括具有 CRISPR-RNA 及 tracrRNA 序列之 sgRNA)及小分子(例如，KLK5 小分子拮抗劑，例如小分子蛋白酶抑制劑)。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑係抗體(例如，單株抗體)。

【0094】 在該等方法中之任一者之一些實施例中，氣喘與來自該個體之樣品中 KLK5 之含量升高相關。在一些實施例中，氣喘與來自該個體之樣品中 SPINK5 之活性降低相關。在一些實施例中，氣喘與來自該個體之樣品中嗜中性白血球含量升高相關。在一些實施例中，氣喘係選自由以下組成之群：低 2 型氣喘、低骨膜素性氣喘及低嗜酸性白血球性氣喘。在一些實施例中，氣喘與內瑟頓氏症候群不相關。在一些實施例中，氣喘與編碼 SPINK5 或其基因產物之基因中之一或多種遺傳變異不相關。在一些實施例中，氣喘與位於 KLK5 基因體序列中之遺傳變異有關。在一些實施例中，該方法進一步包含基於遺傳變異之存在治療個體之氣喘。在一些實施例中，該遺傳變異係 SNP。在一些實施例中，該遺傳變異係 SNP rs117639512。

【0095】 在該等方法中之任一者之一些實施例中，氣喘係持續性慢性重度氣喘，伴隨可威脅生命之惡化症狀之急性事件(加劇或眩暈)。在一些實施例中，氣喘係特應性(亦稱為過敏性)氣喘、非過敏性氣喘(例如，通常由呼吸道病毒感染(例如，流感病毒、副流感病毒、鼻病毒、人類間質肺炎病毒及呼吸道融合病毒)或吸入刺激物(空氣污染物、煙霧、柴油顆粒、揮發性化學品及室內或室外氣體)或甚至由乾冷空氣觸發)。在一些實施例中，氣喘係由於急性或慢性首次或二次暴露於「菸」(通常香菸、雪茄、菸斗)、吸入或「霧吸(vaping)」(菸草、大麻或其他此等物質)所致之間歇性或運動誘發之氣喘或由近期服用阿司匹林(aspirin)

或相關 NSAID 觸發之氣喘。在一些實施例中，氣喘係輕度或皮質類固醇初始氣喘、新診斷且未經治療之氣喘或先前不需要長期使用吸入之局部或全身類固醇來控制症狀(咳嗽、喘鳴、呼吸短促/呼吸暫停或胸痛)之氣喘。在一些實施例中，氣喘係慢性皮質類固醇抗性氣喘、皮質類固醇難治性氣喘、不受皮質類固醇或其他慢性氣喘控制藥劑控制之氣喘。在一些實施例中，氣喘係中度至重度氣喘。在一些實施例中，氣喘係高 Th2 性氣喘。在一些實施例中，氣喘係重度氣喘。在一些實施例中，氣喘係特應性氣喘、過敏性氣喘、非過敏性氣喘(例如，由於感染及/或呼吸道融合病毒(RSV)所致)、運動誘發之氣喘、阿司匹林敏感/加劇氣喘、輕度氣喘、中度至重度氣喘、皮質類固醇初始氣喘、慢性氣喘、皮質類固醇抗性氣喘、皮質類固醇難治性氣喘、新診斷且未經治療之氣喘、由於吸菸所致之氣喘、不受皮質類固醇控制之氣喘。在一些實施例中，氣喘係 2 型輔助性 T 淋巴球(Th2)或 2 型(Th2)高或 2 型(T2)驅動之氣喘。在一些實施例中，氣喘係嗜酸性白血球性氣喘。在一些實施例中，氣喘係過敏性氣喘。在一些實施例中，已確定個體為嗜酸性白血球性發炎陽性(EIP)。參見 WO2015/061441。在一些實施例中，氣喘係高骨膜素性氣喘(例如，骨膜素含量為至少約 20 ng/mL、25 ng/mL 或 50 ng/mL 血清中之任一者)。在一些實施例中，氣喘係高嗜酸性白血球性氣喘(例如，至少約 150、200、250、300、350、400 個嗜酸性白血球計數/ml 血液中之任一者)。在一些實施例中，氣喘係低 Th2 性氣喘或非 Th2 驅動之氣喘。在一些實施例中，已確定個體為嗜酸性白血球性發炎陰性(EIN)。參見 WO2015/061441。在一些實施例中，氣喘係低骨膜素性氣喘(例如，骨膜素含量少於約 20 ng/mL 血清)。在一些實施例中，氣喘係低嗜酸性白血球性氣喘(例如，少於約 150 個嗜酸性白血球計數/ μ l 血液或少於約 100 個嗜酸性白血球計數/ μ l 血液)。

【0096】 在該等方法中之任一者之一些實施例中，樣品係選自由以下組成之

群：腦脊髓液、血液、血清、痰液、唾液、黏膜刮擦物、組織生檢、淚液分泌物、精液及汗液。在一些實施例中，樣品係選自由以下組成之群：支氣管肺泡灌洗、肺實質及支氣管上皮下膜。

【0097】 生物標記之存在及/或表現程度/量可基於業內已知之任何適宜準則定性及/或定量地測定，該準則包括(但不限於) DNA、mRNA、cDNA、多肽、多肽片段及/或基因拷貝數。在一些實施例中，第一樣品中生物標記之存在及/或表現程度/量與第二樣品中之存在/不存在及/或表現程度/量相比增加。在一些實施例中，第一樣品中生物標記之存在/不存在及/或表現程度/量與第二樣品中之存在及/或表現程度/量相比減少。在一些實施例中，第二樣品係參考樣品、參考細胞、參考組織、對照樣品、對照細胞或對照組織。用於測定基因之存在/不存在及/或表現程度/量之額外揭示內容闡述於本文中。在一些實施例中，KLK5 可用作生物標記。在一些實施例中，SPINK5 可用作生物標記。

【0098】 在該等方法中之任一者之一些實施例中，KLK5 拮抗劑係與額外治療劑組合投與個體。在一些實施例中，該額外治療劑係 IL-13 軸結合拮抗劑、IL-5 軸結合拮抗劑、IL-33 軸結合拮抗劑、M1 prime 拮抗劑、IgE 拮抗劑、TRPA1 拮抗劑、CRT2 拮抗劑、支氣管擴張劑或氣喘症狀控制藥劑、免疫調節劑、皮質類固醇、Th2 路徑抑制劑、酪胺酸激酶抑制劑或磷酸二酯酶抑制劑。在一些實施例中，IL-13 軸結合拮抗劑係抗 IL-13 抗體。在一些實施例中，抗 IL-13 抗體係萊比克珠單抗。在一些實施例中，IL-5 軸結合拮抗劑係 IL-5 結合拮抗劑或 IL-5 受體結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 軸結合拮抗劑係 IL-33 結合拮抗劑或 ST2 結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 結合拮抗劑係抗 IL-33 抗體。在一些實施例中，M1 prime 拮抗劑係奎立珠單抗(quilizumab)。

【0099】 在該等方法中之任一者之一些實施例中，KLK5 拮抗劑係以皮下、靜脈內、肌內、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、藉由植入、藉由吸入、鞘內、

室內或鼻內方式投與。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑係以皮下方式投與。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑係用於人類個體中。

【0100】 在該等方法中之任一者之一些實施例中，升高之表現係指藉由標準技術已知方法(例如本文所述之彼等方法)偵測之生物標記(例如，多肽或核酸(例如，基因或 mRNA))之含量與參考樣品、參考細胞、參考組織、對照樣品、對照細胞或對照組織相比總體增加約 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更大中之任一者。在一些實施例中，升高之表現係指樣品中生物標記之表現程度/量增加，其中該增加為參考樣品、參考細胞、參考組織、對照樣品、對照細胞或對照組織中各別生物標記之表現程度/量之至少約 1.5X、1.75X、2X、3X、4X、5X、6X、7X、8X、9X、10X、25X、50X、75X 或 100X 中之任一者。在一些實施例中，升高之表現係指與參考樣品、參考細胞、參考組織、對照樣品、對照細胞、對照組織或內部對照(例如，管家基因)相比，總體增加大於約 1.5 倍、約 1.75 倍、約 2 倍、約 2.25 倍、約 2.5 倍、約 2.75 倍、約 3.0 倍或約 3.25 倍。在一些實施例中，生物標記係參與 KLK5 路徑之分子。在一些實施例中，該分子係 SPINK5。在一些實施例中，該分子係 KLK5。在一些實施例中，該分子係 KLK5 之生物學受質。在一些實施例中，生物學受質係選自由以下組成之群：KLK7、KLK8、KLK14、PAR2 及整聯蛋白/組織基質蛋白。

【0101】 在該等方法中之任一者之一些實施例中，降低之表現係指藉由標準技術已知方法(例如本文所述之彼等方法)偵測之生物標記(例如，多肽或核酸(例如，基因或 mRNA))之含量與參考樣品、參考細胞、參考組織、對照樣品、對照細胞或對照組織相比總體降低約 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更大中之任一者。在一些實施例中，降低之表現係指樣品中生物標記之表現程度/量減少，其中該減少為參考樣品、

參考細胞、參考組織、對照樣品、對照細胞或對照組織中各別生物標記之表現程度/量之至少約 0.9X、0.8X、0.7X、0.6X、0.5X、0.4X、0.3X、0.2X、0.1X、0.05X 或 0.01X 中之任一者。

【0102】 樣品中各種生物標記之存在及/或表現程度/量可藉由數種方法來分析，該等方法中之多者為業內所已知且為熟習此項技術者所理解，包括(但不限於)免疫組織化學(「IHC」)、西方墨點(Western blot)分析、免疫沈澱、分子結合分析、ELISA、ELIFA、螢光活化細胞分選(「FACS」)、MassARRAY、蛋白質體學、基於血液之定量分析(例如血清 ELISA)、生物化學酶促活性分析、原位雜交、南方(Southern)分析、北方(Northern)分析、全基因體定序、聚合酶鏈式反應(「PCR」)(包括定量即時 PCR (「qRT-PCR」)及其他擴增型偵測方法，例如分枝 DNA、SISBA、TMA 及諸如此類)、RNA-Seq、FISH、微陣列分析、基因表現譜及/或基因表現之系列分析(「SAGE」)以及可由多肽、基因及/或組織陣列分析實施之眾多種分析中之任一者。評估基因狀態及基因產物之典型方案參見(例如) Ausubel 等人編輯，1995, Current Protocols In Molecular Biology, 第 2 單元(北方印漬)、第 4 單元(南方印漬)、第 15 單元(免疫印漬)及第 18 單元(PCR 分析)中。亦可使用多重免疫分析，例如可自 Rules Based Medicine 或 Meso Scale Discovery (「MSD」)獲得之彼等分析。

III. KLK5 拮抗劑

【0103】 本文提供用於本文所述之任何方法(例如治療或診斷氣喘或內瑟頓氏症候群之方法)中之 KLK5 拮抗劑。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑係選自由以下組成之群：抗體(例如，抗 KLK5 抗體)、結合多肽(例如，KLK5 結合多肽，例如 SPINK Fc 融合多肽)、多核苷酸(例如，KLK5 多核苷酸拮抗劑，例如 siRNA 或 CRISPR-RNA，包括具有 CRISPR-RNA 及 tracrRNA 序列之 sgRNA)及小分子(例如，KLK5 小分子拮抗劑，例如小分子蛋白酶抑制劑)。在一些實施例中，抗

體係單株抗體。在一些實施例中，抗體係人類、人類化或嵌合抗體。在一些實施例中，抗體係全長 IgG1 抗體。KLK5 拮抗劑之詳細描述可參見本文下文之部分 A. - E.。

【0104】 舉例而言，根據以上實施例中任一者之 KLK5 拮抗劑結合至選自由以下組成之群之胺基酸序列中任一者之一或多個殘基：SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7 及 SEQ ID NO:8。在 KLK5 拮抗劑中任一者之一些實施例中，KLK5 拮抗劑結合至選自由以下組成之群之胺基酸序列中之任一者：SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7 及 SEQ ID NO:8。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑結合至胺基酸序列 SEQ ID NO:1 之一或多個殘基(UniProt 號 Q9Y337 之胺基酸殘基 1-293)。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑結合至胺基酸序列 SEQ ID NO:1 (UniProt 號 Q9Y337 之胺基酸殘基 1-293)。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑結合至 KLK5 上之特定結合區。在一些實施例中，該結合區係位於 KLK5 之活性位點內。在一些實施例中，該結合區包含 KLK5 之約 1、2、3、4、5、6、7、8、9 及/或 10 個胺基酸殘基中之任一者。在一些實施例中，該結合區包含 KLK5 之胺基酸殘基中之一或多者，該等殘基係選自由未處理之全長 KLK5 (亦即，包括信號肽)之位置 108、147、150、153、168 及 245 處之胺基酸殘基組成之群。

【0105】 在一些實施例中，該結合區包含在 KLK5 拮抗劑之任一原子約以下中任一者內之胺基酸殘基：10 Å、9 Å、8 Å、7 Å、6 Å、5 Å、4 Å、3 Å、2 Å 及/或 1 Å。在一些實施例中，該結合區包含在 KLK5 拮抗劑之任一原子小於以下中任一者內之胺基酸殘基：10 Å、9 Å、8 Å、7 Å、6 Å、5 Å、4 Å、3 Å、2 Å 及/或 1 Å。在一些實施例中，該結合區包含在 KLK5 拮抗劑之任一原子介於以下任一者之間內之胺基酸殘基：10-9 Å、9-8 Å、8-7 Å、7-6 Å、6-5 Å、5-4 Å、4-3 Å、

3-2 Å 及/或 2-1 Å。在一些實施例中，該結合區包含在 KLK5 拮抗劑之任一原子約以下中任一者內之胺基酸殘基：9.5 Å、9 Å、8.5 Å、8 Å、7.5 Å、7 Å、6.5 Å、6 Å、5.5 Å、5 Å、4.5 Å、4 Å、3.5 Å、3 Å、2.5 Å、2 Å、1.5 Å 及/或 1 Å。接觸結合區之 KLK5 拮抗劑之胺基酸殘基(亦即，互補位(paratope))可藉由(例如)測定與結合區複合之 KLK5 拮抗劑之晶體結構或藉由實施氫/氘交換來確定。

【0106】 此外，根據以上實施例中任一者之 KLK5 拮抗劑實質上或完全抑制 KLK5 之生物活性。在一些實施例中，KLK5 之生物活性為絲胺酸蛋白酶活性。在一些實施例中，KLK5 之生物活性為胰蛋白酶樣絲胺酸蛋白酶活性。在一些實施例中，KLK5 之生物活性為 KLK5 促進之人類平滑肌細胞增殖及收縮。在一些實施例中，KLK5 之生物活性為 KLK5 誘導之發炎性細胞介素、趨化介素及黏附分子之上皮表現。在一些實施例中，KLK5 之生物活性為 KLK5 誘導之嗜中性白血球趨化性細胞介素之上皮產生及嗜中性白血球流入至肺組織中。在一些實施例中，KLK5 之生物活性抑制至少約以下中之任一者：20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%及/或更多。在一些實施例中，KLK5 之生物活性抑制約以下中之任一者：20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%及/或更多。在一些實施例中，KLK5 之生物活性抑制介於以下中之任一者之間：20%-30%、30%-40%、40%-50%、50%-60%、60%-70%、70%-80%、80%-90%及/或 90%-100%。

【0107】 在 KLK5 拮抗劑中任一者之一些實施例中，KLK5 拮抗劑實質上或完全抑制 SPINK5 與 KLK5 之結合。在一些實施例中，SPINK5 與 KLK5 之結合抑制至少約以下中之任一者：20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%及/或更多。在一些實施例中，SPINK5 與 KLK5 之結合抑制約以下中之任一者：20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%及/或更多。在一些實施例中，SPINK5 與 KLK5 之結合抑制介於以下中任一者之間：20%-30%、30%-40%、40%-50%、50%-60%、60%-70%、70%-80%、80%-90%及/或 90%-100%。

【0108】 在 KLK5 拮抗劑中任一者之一些實施例中，KLK5 拮抗劑對 KLK5 之結合親和力(解離常數)為小於約以下中之任一者： 10^{-7} nM、 10^{-8} nM、 10^{-9} nM、 10^{-10} nM、 10^{-11} nM、 10^{-12} nM 及/或 10^{-13} nM。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑對 KLK5 之結合親和力為小於以下中之任一者： 10^{-7} nM、 10^{-8} nM、 10^{-9} nM、 10^{-10} nM、 10^{-11} nM、 10^{-12} nM 及/或 10^{-13} nM。

【0109】 在 KLK5 拮抗劑中任一者之一些實施例中，KLK5 拮抗劑之 IC_{50} 為小於約以下中之任一者：1000 nM、500 nM、100 nM、50 nM、10 nM、5nM、1 nM、500 pM、100 pM、50 pM、10 pM、5 pM 及/或 1 pM。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑之 IC_{50} 為小於以下中之任一者：1000 nM、500 nM、100 nM、50 nM、10 nM、5nM、1 nM、500 pM、100 pM、50 pM、10 pM、5 pM 及/或 1 pM。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑之 IC_{50} 為介於約以下中任一者之間：50 μ M - 1 μ M、1 μ M - 500 nM、500 nM - 100 nM、100 nM - 10 nM、10 nM - 1 nM、1000 pM - 500 pM、500 pM - 200 pM、200 pM - 150 pM、150 pM - 100 pM、100 pM - 10 pM 及/或 10 pM - 1 pM。

A. 抗體

【0110】 本文提供用於本文所述方法中之經分離抗 KLK5 抗體。在以上實施例中之任一者中，抗 KLK5 抗體經人類化。此外，根據以上實施例中任一者之抗 KLK5 抗體係單株抗體，包括嵌合、人類化或人類抗體。在一些實施例中，抗-KLK5 抗體係抗體片段，例如 Fv、Fab、Fab'、scFv、雙價抗體或 F(ab')₂ 片段。在一些實施例中，抗 KLK5 抗體係全長 IgG1 抗體。在一些實施例中，抗 KLK5 抗體係單株小鼠 IgG2B 抗體。在一些實施例中，單株小鼠 IgG2B 抗體係 mAb1108 (純系編號 193318, R & D Systems, Minneapolis, MN)。

【0111】 在另一態樣中，根據以上實施例中任一者之抗 KLK5 抗體可單獨或組合併入任一特徵，如下文部分中所闡述：

1. 親和力

【0112】 在一些實施例中，本文所提供之抗 KLK5 抗體之解離常數(Kd)為 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 100 \text{ nM}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.01 \text{ nM}$ 及/或 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (例如， 10^{-8} M 或更低，例如 10^{-8} M 至 10^{-13} M ，例如 10^{-9} M 至 10^{-13} M)。在一實施例中，Kd 係藉由放射標記抗原結合分析(RIA)來量測。在一個實施例中，RIA 係利用抗 KLK5 抗體之 Fab 形式及其抗原來實施。舉例而言，Fab 對抗原之溶液結合親和力係藉由以下來量測：在滴定系列之未標記抗原存在下，利用最低濃度之(^{125}I)標記之抗原平衡 Fab，接著利用抗 Fab 抗體包覆之盤捕獲所結合抗原(例如，參見 Chen 等人，J. Mol. Biol. 293:865-881(1999))。為確立該分析之條件，利用 50 mM 碳酸鈉(pH 9.6)中之 5 $\mu\text{g/ml}$ 捕獲用抗 Fab 抗體(Cappel Labs)將 MICROTITER[®] 多孔盤(Thermo Scientific)包覆過夜，且隨後在室溫下(大約 23°C)利用 PBS 中之 2% (w/v)牛血清白蛋白封阻 2 至 5 小時。在非吸附性盤(Nunc 編號 269620)中，將 100 pM 或 26 pM [^{125}I]抗原與所關注 Fab 之連續稀釋液混合(例如，與 Presta 等人，Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)中對抗 VEGF 抗體 Fab-12 之評價一致)。接著將所關注 Fab 培育過夜；然而，可繼續培育較長時間(例如約 65 小時)以確保達到平衡。之後，將混合物轉移至捕獲盤以在室溫下進行培育(例如 1 小時)。接著去除溶液且利用於 PBS 中之 0.1%聚山梨醇酯 20 (TWEEN-20[®])將盤洗滌 8 次。在盤已乾燥時，添加 150 μl /孔之閃爍體(MICROSCINT-20[™]；Packard)，且在 TOPCOUNT[™] γ 計數器(Packard)上經 10 分鐘對該等盤進行計數。選擇得到小於或等於 20%之最大結合之每一 Fab 之濃度用於競爭性結合分析。

【0113】 根據另一實施例，使用 BIACORE[®]表面電漿共振分析來量測 Kd。舉例而言，使用 BIACORE[®]-2000 或 BIACORE[®]-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)之分析係在 25°C 下利用固定化抗原 CM5 晶片以約 10 個反應單位(RU)實施。在一個實施例中，根據供應商說明使用 N-乙基-N'-(3-二甲基胺基丙基)-碳二亞胺鹽

酸鹽(EDC)及 N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)來活化羧甲基化之右旋糖酐生物感測器晶片(CM5, BIACORE, Inc.)。利用 10 mM 乙酸钠(pH 4.8)將抗原稀釋至 5 $\mu\text{g/ml}$ (約 0.2 μM)，之後以 5 $\mu\text{l/分鐘}$ 之流速注射以達成大約 10 個反應單位(RU)之偶合多肽。在注射抗原後，注射 1 M 乙醇胺以阻斷未反應之基團。對於動力學量測，在 25°C 下以大約 25 $\mu\text{l/min}$ 之流速注射於含有 0.05% 聚山梨醇酯 20 (TWEEN-20™)表面活性劑之 PBS (PBST)中之 Fab 之兩倍連續稀釋物(0.78 nM 至 500 nM)。使用簡單一對一 Langmuir 結合模型(BIACORE®評估軟體 3.2 版)藉由同時擬合締合及解離感測圖來計算締合速率($k_{\text{締合}}$)及解離速率($k_{\text{解離}}$)。平衡解離常數(K_d)係計算為比率 $k_{\text{解離}}/k_{\text{締合}}$ 。例如，參見 Chen 等人，J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)。若藉由上文表面電漿共振分析測得之締合速率超過 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ，則締合速率可藉由使用螢光淬滅技術來測定，該技術在 25°C 下在增加濃度之抗原存在下量測於 PBS (pH 7.2)中之 20 nM 抗-抗原抗體(Fab 形式)之螢光發射強度之增加或減少(激發= 295 nm；發射= 340 nm，16 nm 帶通)，如在分光光度計(例如具有攪拌比色杯之停流裝備之分光光度計(Aviv Instruments)或 8000-系列 SLM-AMINCO™分光光度計(ThermoSpectronic))中所量測。

2. 抗體片段

【0114】 在一些實施例中，本文所提供之抗 KLK5 抗體係抗體片段。抗體片段包括(但不限於) Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv 及 scFv 片段及下文所述之其他片段。關於某些抗體片段之綜述，參見 Hudson 等人，Nat. Med. 9:129-134 (2003)。關於 scFv 片段之綜述，例如參見 Pluckthün，The Pharmacology of Monoclonal Antibodies，第 113 卷，Rosenburg 及 Moore 編輯(Springer-Verlag, New York)，第 269-315 頁(1994)；亦參見 WO 93/16185；及美國專利第 5,571,894 號及第 5,587,458 號。關於包含補救受體結合表位殘基且具有增加活體內半衰期之 Fab 及 F(ab')₂ 片段之論述，參見美國專利第 5,869,046 號。

【0115】 雙價抗體係具有兩個抗原結合位點之可為二價或雙特異性之抗體片段。例如，參見 EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson 等人，Nat. Med. 9:129-134 (2003)；及 Hollinger 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)。三價抗體及四價抗體亦闡述於 Hudson 等人，Nat. Med. 9:129-134 (2003)中。

【0116】 單一結構域抗體係包含抗體中重鏈可變結構域之全部或一部分或輕鏈可變結構域之全部或一部分之抗體片段。在一些實施例中，單一結構域抗體係人類單一結構域抗體(Domantis, Inc., Waltham, MA；例如，參見美國專利第 6,248,516 號)。

【0117】 抗體片段可藉由各種技術來製得，該等技術包括(但不限於)蛋白水解消化完整抗體以及藉由重組宿主細胞(例如大腸桿菌(*E. coli*)或噬菌體)來產生，如本文所述。

3. 嵌合及人類化抗體

【0118】 在一些實施例中，本文所提供之抗 KLK5 抗體係嵌合抗體。某些嵌合抗體闡述於(例如)美國專利第 4,816,567 號及 Morrison 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984))中。在一個實例中，嵌合抗體包含非人類可變區(例如，源自小鼠、大鼠、倉鼠、兔或非人類靈長類動物(例如猴子)之可變區)及人類恆定區。在另一實例中，嵌合抗體係其中類別或亞類已自親代抗體之類別或亞類發生變化之「類別切換」抗體。嵌合抗體包括其抗原結合片段。

【0119】 在一些實施例中，嵌合抗體係人類化抗體。通常，將非人類抗體人類化以降低對人類之免疫原性，同時保留親代非人類抗體之特異性及親和力。通常，人類化抗體包含一或多個可變結構域，其中 HVR (例如，CDR)(或其部分)係源自非人類抗體，且 FR(或其部分)係源自人類抗體序列。人類化抗體視情況亦將包含人類恆定區之至少一部分。在一些實施例中，人類化抗體中之一些 FR 殘基經來自非人類抗體(例如，產生 HVR 殘基之抗體)之相應殘基取代以(例如)

恢復或改良抗體特異性或親和力。

【0120】 人類化抗體及其製備方法綜述於(例如) Almagro 及 Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)中, 且進一步闡述於(例如)以下文獻中: Riechmann 等人, *Nature* 332:323-329 (1988); Queen 等人 *Proc.Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); 美國專利第 5,821,337 號、第 7,527,791 號、第 6,982,321 號及第 7,087,409 號; Kashmiri 等人, *Methods* 36:25-34 (2005)(闡述特異性決定區(SDR)接枝); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991)(闡述「表面重塑」); Dall'Acqua 等人, *Methods* 36:43-60 (2005)(闡述「FR 改組」); 及 Osbourn 等人, *Methods* 36:61-68 (2005)及 Klimka 等人, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (闡述 FR 改組之「引導選擇」方法)。

【0121】 可用於人類化之人類框架區包括(但不限於): 使用「最佳擬合」方法選擇之框架區(例如, 參見, Sims 等人, *J. Immunol.* 151:2296 (1993)); 源自輕鏈或重鏈可變區之特定亞組之人類抗體之共有序列的框架區(例如, 參見, Carter 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); 及 Presta 等人, *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)); 人類成熟(體細胞突變)框架區或人類種系框架區(例如, 參見, Almagro 及 Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); 及源自篩選 FR 文庫之框架區(例如, 參見, Baca 等人, *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997)及 Rosok 等人, *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996))。

4. 人類抗體

【0122】 在一些實施例中, 本文所提供之抗 KLK5 抗體係人類抗體。人類抗體可使用業內已知之各種技術來產生。人類抗體概述於 van Dijk 及 van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001)及 Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)中。

【0123】 可藉由向轉基因動物投與免疫原來製備人類抗體, 該轉基因動物已

經改良以產生完整人類抗體或具有因應抗原性攻擊之人類可變區之完整抗體。此等動物通常含有人類免疫球蛋白基因座之全部或一部分，該等基因座替代內源性免疫球蛋白基因座，或存在於染色體外或隨機整合至動物染色體中。在此等轉基因小鼠中，內源性免疫球蛋白基因座通常已不活化。關於自轉基因動物獲得人類抗體之方法之綜述，參見 Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005)。例如，亦參見美國專利第 6,075,181 號及第 6,150,584 號，其闡述 XENOMOUSE™ 技術；美國專利第 5,770,429 號，其闡述 HuMab® 技術；美國專利第 7,041,870 號，其闡述 K-M MOUSE® 技術；及美國專利申請公開案第 US 2007/0061900 號，其闡述 VelociMouse® 技術。可進一步(例如)藉由與不同人類恆定區組合來修飾由此等動物產生之完整抗體之人類可變區。

【0124】 人類抗體亦可藉由基於雜交瘤之方法來製備。已闡述用於產生人類單株抗體之人類骨髓瘤及小鼠-人類異源骨髓瘤細胞系。(例如，參見 Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984)；Brodeur 等人，Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications，第 51-63 頁(Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)；及 Boerner 等人，J. Immunol., 147: 86 (1991)。)經由人類 B 細胞雜交瘤技術產生之人類抗體亦闡述於 Li 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006) 中。其他方法包括闡述於(例如)美國專利第 7,189,826 號(闡述來自雜交瘤細胞系之單株人類 IgM 抗體之產生)及 Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006) (闡述人類-人類雜交瘤)中之彼等方法。人類雜交瘤技術(Trioma technology)亦闡述於 Vollmers 及 Brandlein, Hist. & Histopath., 20(3):927-937 (2005)及 Vollmers 及 Brandlein, Methods Find Exp. Clin. Pharmacol., 27(3):185-91 (2005)中。

【0125】 人類抗體亦可藉由分離選自人類源噬菌體展示文庫之 Fv 純系可變結構域序列來產生。此等可變結構域序列可然後與期望之人類恆定結構域進行組合。自抗體文庫選擇人類抗體之技術闡述於下文中。

5. 文庫源抗體

【0126】 抗 KLK5 抗體可藉由篩選組合文庫中具有一或多種期望活性之抗體來分離。舉例而言，業內已知用於產生噬菌體展示文庫及自此等庫篩選具有期望結合特性之抗體之多種方法。此等方法綜述於(例如) Hoogenboom 等人，*Methods Mol. Biol.* 178:1-37 (O'Brien 等人編輯，Human Press, Totowa, NJ, 2001) 且進一步闡述於(例如) McCafferty 等人，*Nature* 348:552-554；Clackson 等人，*Nature* 352: 624-628 (1991)；Marks 等人，*J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992)；Marks 及 Bradbury，*Methods Mol. Biol.* 248:161-175 (Lo 編輯，Human Press, Totowa, NJ, 2003)；Sidhu 等人，*J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004)；Lee 等人，*J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004)；Fellouse，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004)；及 Lee 等人，*J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004) 中。

【0127】 在某些噬菌體展示方法中，藉由聚合酶鏈式反應(PCR)來單獨選殖 VH 及 VL 基因之譜且將其隨機重組於噬菌體文庫中，其可然後篩選抗原結合噬菌體，如 Winter 等人，*Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994)中所闡述。噬菌體通常展示呈單鏈 Fv (scFv)片段或呈 Fab 片段之抗體片段。來自免疫化來源之文庫可向免疫原提供高親和力抗體而無需構築雜交瘤。或者，可選殖天然譜(例如，自人類)以向各種無任何免疫之非自體抗原以及自體抗原提供單一來源之抗體，如 Griffiths 等人，*EMBO J*, 12: 725-734 (1993)所闡述。最終，亦可藉由以下方式以合成方式製得天然文庫：選殖來自幹細胞之未重排 V-基因區段，且使用含有隨機序列之 PCR 引子編碼高度可變 CDR3 區且在活體外完成重排，如 Hoogenboom 及 Winter，*J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)中所闡述。描述人類抗體噬菌體文庫之專利公開案包括例如：美國專利第 5,750,373 號及美國專利公開案第 2005/0079574 號、第 2005/0119455 號、第 2005/0266000 號、第 2007/0117126

號、第 2007/0160598 號、第 2007/0237764 號、第 2007/0292936 號及第 2009/0002360 號。

【0128】 本文中將自人類抗體文庫分離之抗體或抗體片段視為人類抗體或人類抗體片段。

6. 多特異性抗體

【0129】 在一些實施例中，本文所提供之抗 KLK5 抗體係多特異性抗體，例如雙特異性抗體。多特異性抗體係對至少兩個不同位點具有結合特異性之單株抗體。在一些實施例中，結合特異性中之一者係 KLK5 且另一者係關於任一其他抗原。在一些實施例中，雙特異性抗體可結合至 KLK5 之兩個不同表位。雙特異性抗體亦可用於將細胞毒性劑局域化至表現 KLK5 之細胞。雙特異性抗體可以全長抗體或抗體片段形式來製備。

【0130】 製備多特異性抗體之技術包括(但不限於)重組共表現兩個具有不同特異性之免疫球蛋白重鏈-輕鏈對(參見 Milstein 及 Cuello, Nature 305: 537 (1983))、WO 93/08829 及 Traunecker 等人，EMBO J. 10: 3655 (1991))及「隆凸於孔洞中(knob-in-hole)」改造(例如，參見美國專利第 5,731,168 號)。多特異性抗體亦可藉由以下方式來製備：改造用於製備抗體 Fc-異源二聚分子之靜電牽引效應(WO 2009/089004A1)；使兩個或更多個抗體或片段交聯(例如，參見美國專利第 4,676,980 號及 Brennan 等人，Science 229: 81 (1985))；使用白胺酸拉鏈產生雙特異性抗體(例如，參見 Kostelny 等人，J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992))；使用用於製備雙特異性抗體片段之「雙價抗體」技術(例如，參見 Hollinger 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993))；及使用單鏈 Fv (sFv)二聚體(例如，參見 Gruber 等人，J. Immunol. 152:5368 (1994))；及製備三特異性抗體(例如，如 Tutt 等人，J. Immunol. 147: 60 (1991)中所闡述)。

【0131】 本文亦包括具有三個或更多個功能抗原結合位點之經改造抗體，包

括「章魚抗體(Octopus antibodies)」(例如，參見 US 2006/0025576A1)。

【0132】 本文之抗體或片段亦包括「雙重作用之 FAb」或「DAF」，其包含結合至所關注多肽(例如 KLK5)以及另一不同抗原之抗原結合位點(例如，參見 US 2008/0069820)。

B. KLK5 結合多肽

【0133】 亦提供結合 KLK5 之結合多肽(KLK5 結合多肽)以用於本文所述之方法中。在一些實施例中，KLK5 結合多肽係 KLK5 拮抗劑。在一些實施例中，KLK5 結合多肽係融合多肽。在一些實施例中，融合多肽係 SPINK 融合多肽。在一些實施例中，SPINK 融合多肽係 SPINK Fc 融合多肽。在一些實施例中，SPINK Fc 融合多肽包含 2 個 SPINK 多肽或其片段。在結合多肽中任一者之一些實施例中，該 2 個 SPINK 多肽中之每一者或其片段包含一或多個 SPINK5 之結構域。在一些實施例中，該 2 個 SPINK5 多肽中之每一者或其片段包含 1、2、3、4、5、6、7 及/或 8 個 Kazal 結構域。在一些實施例中，該 2 個 SPINK5 多肽中之每一者或其片段包含 1 個 Kazal 結構域(亦即，每個 SPINK5 Fc 融合多肽 2 個 Kazal 結構域)。在一些實施例中，該 2 個 SPINK5 多肽中之每一者或其片段包含 4 個 Kazal 結構域(亦即，每個 SPINK5 Fc 融合多肽 8 個 Kazal 結構域)。在一些實施例中，該 4 個 Kazal 結構域係 Kazal 結構域 6、7、8 及/或 9。在一些實施例中，Kazal 結構域 6、7、8 及/或 9 係來自小鼠 SPINK5 (UNIPROT Q5K5D4)。在一些實施例中，Kazal 結構域 6、7、8 及/或 9 包含來自小鼠 SPINK5 (UNIPROT Q5K5D4)之胺基酸殘基 E421-A695。在一些實施例中，SPINK5 Fc 融合多肽包含 SPINK5 胺基酸序列 SEQ ID NO:17。在一些實施例中，SPINK5 Fc 融合多肽之 Fc 區係選自由以下組成之群：IgG1 Fc 區、IgG2a Fc 區及 IgG4 Fc 區。在一些實施例中，Fc 區係 IgG2a Fc 區。在一些實施例中，IgG2a Fc 區係小鼠 IgG2a Fc 區。在一些實施例中，SPINK5 Fc 融合多肽包含胺基酸序列 SEQ ID NO:16。在一些

實施例中，該 2 個 SPINK5 多肽中之每一者或其片段包含 1 個 Kazal 結構域(亦即，每個 SPINK5 Fc 融合多肽 2 個 Kazal 結構域)。在一些實施例中，該 1 個 Kazal 結構域係 Kazal 結構域 4。在一些實施例中，Kazal 結構域 4 係來自小鼠 SPINK5 (UNIPROT Q5K5D4)。在一些實施例中，Kazal 結構域 4 包含來自小鼠 SPINK5 (UNIPROT Q5K5D4)之胺基酸殘基 M293-R355。在一些實施例中，SPINK5 Fc 融合多肽之 Fc 區係選自由以下組成之群：IgG1 Fc 區、IgG2a Fc 區及 IgG4 Fc 區。在一些實施例中，Fc 區係 IgG2a Fc 區。在一些實施例中，IgG2a Fc 區係小鼠 IgG2a Fc 區。在一些實施例中，SPINK5 Fc 融合多肽包含 SPINK5 胺基酸序列 SEQ ID NO:22。在一些實施例中，SPINK5 Fc 融合多肽包含胺基酸序列 SEQ ID NO:21。在一些實施例中，該 4 個 Kazal 結構域係 Kazal 結構域 8、9、10 及/或 11。在一些實施例中，Kazal 結構域 8、9、10 及/或 11 係來自人類 SPINK5 (UNIPROT Q9NQ38)。在一些實施例中，Kazal 結構域 8、9、10 及/或 11 包含來自人類 SPINK5 (UNIPROT Q9NQ38)之胺基酸殘基 E490-Y757。在一些實施例中，SPINK5 Fc 融合多肽包含 SPINK5 胺基酸序列 SEQ ID NO:15。在一些實施例中，SPINK5 Fc 融合多肽之 Fc 區係選自由以下組成之群：IgG1 Fc 區、IgG2a Fc 區及 IgG4 Fc 區。在一些實施例中，Fc 區係 IgG1 Fc 區。在一些實施例中，IgG1 Fc 區係人類 IgG1 Fc 區。在一些實施例中，人類 IgG1 Fc 區在位置 356 處具有胺基酸 E。在一些實施例中，人類 IgG1 Fc 區在位置 358 處具有胺基酸 M。在一些實施例中，SPINK5 Fc 融合多肽包含胺基酸序列 SEQ ID NO:13。在一些實施例中，Fc 區係 IgG4 Fc 區。在一些實施例中，IgG4 Fc 區係人類 IgG4 Fc 區。在一些實施例中，人類 IgG4 Fc 區在位置 228 處具有胺基酸 S。在一些實施例中，人類 IgG4 Fc 區在位置 228 處具有胺基酸 P。在一些實施例中，SPINK5 Fc 融合多肽包含胺基酸序列 SEQ ID NO:14。在一些實施例中，該 2 個 SPINK5 多肽中之每一者或其片段包含 1 個 Kazal 結構域(亦即，每個 SPINK5 Fc 融合多肽 2 個 Kazal 結構域)。在一些實施

例中，該 1 個 Kazal 結構域係 Kazal 結構域 5。在一些實施例中，Kazal 結構域 5 係來自人類 SPINK5 (UNIPROT Q9NQ38)。在一些實施例中，Kazal 結構域 5 包含來自人類 SPINK5 (UNIPROT Q9NQ38)之胺基酸殘基 R291-R352。在一些實施例中，SPINK5 Fc 融合多肽之 Fc 區係選自由以下組成之群：IgG1 Fc 區、IgG2a Fc 區及 IgG4 Fc 區。在一些實施例中，Fc 區係 IgG1 Fc 區。在一些實施例中，IgG1 Fc 區係人類 IgG1 Fc 區。在一些實施例中，人類 IgG1 Fc 區在位置 356 處具有胺基酸 E。在一些實施例中，人類 IgG1 Fc 區在位置 358 處具有胺基酸 M。在一些實施例中，SPINK5 Fc 融合多肽包含 SPINK5 胺基酸序列 SEQ ID NO:20。在一些實施例中，SPINK5 Fc 融合多肽包含胺基酸序列 SEQ ID NO:18。在一些實施例中，Fc 區係 IgG4 Fc 區。在一些實施例中，IgG4 Fc 區係人類 IgG4 Fc 區。在一些實施例中，人類 IgG4 Fc 區在位置 228 處具有胺基酸 S。在一些實施例中，人類 IgG4 Fc 區在位置 228 處具有胺基酸 P。在一些實施例中，SPINK5 Fc 融合多肽包含胺基酸序列 SEQ ID NO:19。

【0134】 在結合多肽中任一者之一些實施例中，該 2 個 SPINK 多肽中之每一者或其片段包含 1 個 SPINK9 結構域。在一些實施例中，該 2 個 SPINK9 多肽中之每一者或其片段包含 1 個 Kazal 結構域(亦即，每個 SPINK9 Fc 融合多肽 2 個 Kazal 結構域)。在一些實施例中，該 1 個 Kazal 結構域係 Kazal 結構域 1。在一些實施例中，Kazal 結構域 1 係來自人類 SPINK9 (UNIPROT Q5DT21)。在一些實施例中，Kazal 結構域 1 包含來自人類 SPINK9 (UNIPROT Q5DT21)之胺基酸殘基 I20-C86。在一些實施例中，來自人類 SPINK9 之 I20-C86 在位置 22 處包含胺基酸 C。在一些實施例中，來自人類 SPINK9 之 I20-C86 在位置 22 處包含胺基酸 S。在一些實施例中，來自人類 SPINK9 之 I20-C86 在位置 48 處包含胺基酸 H。在一些實施例中，來自人類 SPINK9 之 I20-C86 在位置 48 處包含胺基酸 R。在一些實施例中，來自人類 SPINK9 之 I20-C86 在位置 49 處包含胺基酸 M。在

一些實施例中，來自人類 SPINK9 之 I20-C86 在位置 49 處包含胺基酸 E。在一些實施例中，來自人類 SPINK9 之 I20-C86 包含 SPINK9 胺基酸序列 SEQ ID NO:28。在一些實施例中，SPINK9 Fc 融合多肽之人類 Fc 區係選自由以下組成之群：IgG1 Fc 區、IgG2a Fc 區及 IgG4 Fc 區。在一些實施例中，Fc 區係 IgG1 Fc 區。在一些實施例中，IgG1 Fc 區係人類 IgG1 Fc 區。在一些實施例中，人類 IgG1 Fc 區在位置 356 處具有胺基酸 E。在一些實施例中，人類 IgG1 Fc 區在位置 358 處具有胺基酸 M。在一些實施例中，SPINK9 Fc 融合多肽包含胺基酸序列 SEQ ID NO:25。在一些實施例中，Fc 區係 IgG2a Fc 區。在一些實施例中，IgG2a Fc 區係人類 IgG2a Fc 區。在一些實施例中，SPINK9 Fc 融合多肽包含胺基酸序列 SEQ ID NO:27。在一些實施例中，Fc 區係 IgG4 Fc 區。在一些實施例中，IgG4 Fc 區係人類 IgG4 Fc 區。在一些實施例中，人類 IgG4 Fc 區在位置 228 處具有胺基酸 S。在一些實施例中，人類 IgG4 Fc 區在位置 228 處具有胺基酸 P。在一些實施例中，SPINK9 Fc 融合多肽包含胺基酸序列 SEQ ID NO:26。

【0135】 KLK5 結合多肽可使用已知多肽合成方法學來化學合成或可使用重組技術來製備及純化。KLK5 結合多肽之長度通常為至少約 5 個胺基酸，或者長度為至少約 10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95 及/或 100 個胺基酸及/或更多，其中此等 KLK5 結合多肽能夠結合、較佳地特異性地結合至 KLK5。

【0136】 KLK5 結合多肽可使用熟知技術無需過多實驗來鑑別。就此而言，應注意，用於篩選多肽文庫以結合能夠特異性結合至 KLK5 之多肽的技術為業內所熟知(例如，參見美國專利第 5,556,762 號、第 5,750,373 號、第 4,708,871 號、第 4,833,092 號、第 5,223,409 號、第 5,403,484 號、第 5,571,689 號、第 5,663,143 號；PCT 公開案第 WO 84/03506 號及第 WO84/03564 號；Geysen 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81:3998-4002 (1984)；Geysen 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.,

82:178-182 (1985) ; Geysen 等人 , Synthetic Peptides as Antigens, 130-149 (1986) ; Geysen 等人 , J. Immunol. Meth., 102:259-274 (1987) ; Schoofs 等人 , J. Immunol., 140:611-616 (1988) ; Cwirla, S. E.等人 , (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6378 ; Lowman, H.B.等人 , (1991) Biochemistry, 30:10832 ; Clackson, T.等人 , (1991) Nature 352: 624 ; Marks, J. D.等人 , (1991), J. Mol. Biol., 222:581 ; Kang, A.S.等人 , (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:8363 及 Smith, G. P. (1991) Current Opin. Biotechnol., 2:668) 。

【0137】 產生肽文庫及篩選該等文庫之方法亦揭示於美國專利第 5,723,286 號、第 5,432,018 號、第 5,580,717 號、第 5,427,908 號、第 5,498,530 號、第 5,770,434 號、第 5,734,018 號、第 5,698,426 號、第 5,763,192 號及第 5,723,323 號中。

C. KLK5 小分子拮抗劑

【0138】 本文提供用作 KLK5 小分子拮抗劑之小分子，其用於上文所闡述之方法中。在一些實施例中，該小分子拮抗劑實質上或完全抑制 KLK5 生物活性。在一些實施例中，生物活性係絲胺酸蛋白酶活性。在一些實施例中，生物活性係胰蛋白酶樣絲胺酸蛋白酶活性。在一些實施例中，KLK5 小分子拮抗劑係蛋白酶抑制劑。在一些實施例中，蛋白酶抑制劑係亮抑酶肽。

【0139】 小分子較佳係除如本文所定義之結合多肽或抗體以外之有機分子，其較佳地特異性結合至如本文所述之 KLK5。結合有機小分子可使用已知方法學來鑑別及化學合成(例如，參見 PCT 公開案第 WO00/00823 號及第 WO00/39585 號)。結合有機小分子之大小通常小於約 2000 道耳頓，或者大小小於約 1500、750、500、250 或 200 道耳頓，其中能夠結合、較佳地特異性結合至如本文所述之多肽之此等有機小分子可使用熟知技術無需過多實驗來鑑別。就此而言，應注意，用於篩選能夠結合至所關注多肽之分子之有機小分子文庫之技術為業內所熟知(例如，參見 PCT 公開案第 WO00/00823 號及第 WO00/39585 號)。結合有

機小分子可係(例如)醛、酮、肟、腙、縮胺基脲、卡肼、一級胺、二級胺、三級胺、N-取代之肼、醯肼、醇、醚、硫醇、硫醚、二硫化物、羧酸、酯、醯胺、脲、胺基甲酸酯、碳酸酯、縮酮、縮硫酮、縮醛、縮硫醛、芳基鹵、芳基磺酸鹽、烷基鹵、烷基磺酸鹽、芳香族化合物、雜環化合物、苯胺、烯烴、炔烴、二醇、胺基醇、噁唑啉、噁唑啉、噻唑啉、噻唑啉、烯胺、磺醯胺、環氧化物、氮丙啶、異氰酸酯、磺醯氯、重氮化合物、酸性氯化物或諸如此類。

D. KLK5 拮抗劑多核苷酸

【0140】 本文亦提供用於本文所述方法中之 KLK5 多核苷酸拮抗劑。KLK5 多核苷酸拮抗劑可係反義核酸及/或核酶。反義核酸包含與 KLK5 之 RNA 轉錄物之至少一部分互補之序列。然而，絕對互補性儘管較佳，但並不需要。

【0141】 KLK5 多核苷酸拮抗劑可係在嚴格條件下與 KLK5 核酸序列雜交之核酸(例如，siRNA 及 CRISPR-RNA，包括具有 CRISPR-RNA 及 tracrRNA 序列之 sgRNA)。參見 Mali 等人，Science. 339: 823-26, (2013)。

【0142】 本文所提及之「與 RNA 之至少一部分互補」之序列意指具有足夠互補性以能夠與 RNA 雜交從而形成穩定雙鏈體之序列；在雙鏈反義核酸之情形下，可由此測試雙鏈體 DNA 之單鏈，或可分析三鏈體形成。雜交能力將取決於互補性程度及反義核酸長度二者。通常，雜交核酸愈大，則其可含有愈多之與 RNA 之鹼基錯配且仍形成穩定之雙鏈體(或視情形而定三鏈體)。熟習此項技術者藉由使用測定雜交複合物熔點之標準程序可確定錯配之可容忍度。

【0143】 與訊息之 5'端互補之多核苷酸(例如，5'未經轉譯之序列直至且包括 AUG 起始密碼子)應在抑制轉譯方面最有效地起作用。然而，與 mRNA 之 3'未經轉譯序列互補之序列亦已顯示有效抑制 mRNA 之轉譯。概言之參見 Wagner, R., 1994, Nature 372:333-335。因此，與基因之 5'-或 3'-非轉譯、非編碼區互補之寡核苷酸可用於反義方法中以抑制內源 mRNA 之轉譯。與 mRNA 之 5'未經轉譯

區互補之多核苷酸應包括 AUG 起始密碼子之互補序列。與 mRNA 編碼區互補之反義多核苷酸係有效性較低之轉譯抑制劑。無論設計為與 mRNA 之 5'-、3'-或編碼區雜交，反義核酸之長度應為至少六個核苷酸，且較佳係長度在 6 至約 50 個核苷酸範圍內之寡核苷酸。在特定態樣中，寡核苷酸為至少 10 個核苷酸、至少 17 個核苷酸、至少 25 個核苷酸或至少 50 個核苷酸。

E. 本文所述抗體及結合多肽之變異體

1. 糖基化變異體

【0144】 在以上實施例中之任一者中，改變本文所提供之抗體(例如，抗 KLK5 抗體)或結合多肽(例如，KLK5 結合多肽)以增加或降低抗體或結合多肽糖基化之程度。多肽糖基化位點之添加或缺失可藉由改變胺基酸序列從而使得產生或移除一或多個糖基化位點來便捷地完成。

【0145】 倘若抗體或結合多肽包含 Fc 區，則其所附接之碳水化合物可改變。由哺乳動物細胞產生之天然抗體通常包含具支鏈、二分枝寡醣，其通常藉由 N-連接附接至 Fc 區之 CH2 結構域之 Asn297。例如，參見 Wright 等人，TIBTECH 15:26-32 (1997)。該寡醣可包括各種碳水化合物，例如甘露糖、N-乙酰基葡萄糖胺 (GlcNAc)、半乳糖及唾液酸以及附接至二分枝寡醣結構之「主幹」中之 GlcNAc 之海藻醣。在一些實施例中，可對如本文所述之抗體或結合多肽中之寡醣進行修飾以產生具有某些改良性質之變異體。

【0146】 在一個實施例中，提供具有缺乏附接(直接或間接)至 Fc 區之海藻醣之碳水化合物結構之抗體或結合多肽變異體。舉例而言，此抗體或 Fc 融合多肽中海藻醣之量可係 1%至 80%、1%至 65%、5%至 65%或 20%至 40%。海藻醣之量係藉由計算糖鏈內 Asn297 處之海藻醣相對於附接至 Asn 297 之所有糖結構(例如複合、雜合及高甘露糖結構)之總和的平均量來測定，如藉由 MALDI-TOF 質譜法所量測，如 (例如)WO 2008/077546 中所闡述。Asn297 係指位於 Fc 區中約

位置 297 處之天冬醯胺殘基(Fc 區殘基之 Eu 編號)；然而，因抗體或結合多肽中之微小序列變化，故 Asn297 亦可位於位置 297 上游或下游之約 ± 3 個胺基酸處，亦即，介於位置 294 與位置 300 之間。此等海藻糖基化變異體可具有改良之 ADCC 功能。例如，參見美國專利公開案第 US 2003/0157108 號(Presta, L.)；US 2004/0093621(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。與「去海藻糖基化」或「海藻醣缺乏」抗體變異體有關之公開案之實例包括：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki 等人，J. Mol. Biol. 336: 1239-1249 (2004)；Yamane-Ohnuki 等人，Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)。能夠產生去海藻糖基化抗體之細胞系之實例包括缺乏多肽海藻糖基化之 Lec13 CHO 細胞(Ripka 等人，Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986)；美國專利申請案第 US 2003/0157108 A1 號，Presta, L；及 WO 2004/056312 A1，Adams 等人，尤其在實例 11 中)及基因剔除細胞系，例如 α -1,6-海藻醣基轉移酶基因 FUT8 剔除 CHO 細胞(例如，參見 Yamane-Ohnuki 等人，Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)；Kanda, Y. 等人，Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006)；及 WO2003/085107)。

【0147】 進一步提供二等分寡醣之抗體變異體，例如，其中附接至抗體 Fc 區之二分枝寡醣由 GlcNAc 二等分。此等抗體變異體可具有降低之海藻糖基化及/或改良之 ADCC 功能。此等抗體變異體之實例闡述於(例如) WO 2003/011878 (Jean-Mairet 等人)、美國專利第 6,602,684 號(Umana 等人)及 US 2005/0123546 (Umana 等人)中。亦提供在附接至 Fc 區之寡醣中具有至少一個半乳糖殘基之抗體變異體。此等抗體變異體可具有改良之 CDC 功能。此等抗體變異體闡述於(例如) WO 1997/30087 (Patel 等人)、WO 1998/58964 (Raju, S.)及 WO 1999/22764

(Raju, S.)中。

2. Fc 區變異體

【0148】 在一些實施例中，可將一或多個胺基酸修飾引入至抗體(例如，抗 KLK5 抗體)或結合多肽(例如，KLK5 結合多肽)之 Fc 區中。Fc 區變異體可包含人類 Fc 區序列(例如人類 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 Fc 區)，該序列在一或多個胺基酸位置包含胺基酸修飾(例如取代)。

【0149】 在一些實施例中，提供具有一些但非所有效應物功能之抗體變異體或結合多肽變異體，此情況使其成為多個應用之合意的候選物，在該等應用中抗體或結合多肽之活體內半衰期較為重要，但某些效應物功能(例如補體及 ADCC)係不必要或有害的。可進行活體外及/或活體內細胞毒性分析來確認 CDC 及/或 ADCC 活性之降低/消耗。舉例而言，可進行 Fc 受體(FcR)結合分析以確保抗體或結合多肽缺乏 FcγR 結合(因此可能缺乏 ADCC 活性)，但保留 FcRn 結合能力。調介 ADCC 之主要細胞 NK 細胞僅表現 Fc(RIII)，而單核球表現 Fc(RI)、Fc(RII)及 Fc(RIII)。FcR 於造血細胞上之表現彙總於 Ravetch 及 Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-492 (1991)之第 464 頁上之表 3 中。評價所關注分子之 ADCC 活性之活體外分析之非限制性實例闡述於美國專利第 5,500,362 號(例如，參見 Hellstrom, I.等人，*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986))及 Hellstrom, I 等人，*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 5,821,337 (參見 Bruggemann, M.等人，*J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))中。或者，可採用非放射性分析方法(例如，參見用於流式細胞術之 ACTITM 非放射性細胞毒性分析(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA)及 CytoTox 96® 非放射性細胞毒性分析(Promega, Madison, WI))。可用於此等分析之效應細胞包括末梢血單核細胞(PBMC)及天然殺手(NK)細胞。或者或另外，可在活體內評價所關注分子之 ADCC 活性，例如在諸如 Clynes 等人，*Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)中所揭示之動

物模型中。亦可實施 C1q 結合分析以確認抗體不能結合 C1q 且因此缺乏 CDC 活性。例如，參見 WO 2006/029879 及 WO 2005/100402 中之 C1q 及 C3c 結合 ELISA。為評價補體活化，可實施 CDC 分析(例如，參見 Gazzano-Santoro 等人，*J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)；Cragg, M.S.等人，*Blood* 101:1045-1052 (2003)；及 Cragg, M.S.及 M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004))。亦可使用業內已知之方法來實施 FcRn 結合及活體內清除/半衰期測定(例如，參見 Petkova, S.B.等人，*Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006))。

【0150】 具有降低效應物功能之抗體包括具有 Fc 區殘基 238、265、269、270、297、327 及 329 中之一或多者的取代之彼等抗體(美國專利第 6,737,056 號)。此等 Fc 突變異體包括在胺基酸位置 265、269、270、297 及 327 中之兩者或更多者處具有取代之 Fc 突變異體，包括在殘基 265 及 297 處取代為丙胺酸之所謂的「DANA」Fc 突變異體(美國專利第 7,332,581 號)。

【0151】 闡述具有經改良或減小之與 FcR 結合之某些抗體或結合多肽變異體。(例如，參見美國專利第 6,737,056 號、WO 2004/056312 及 Shields 等人，*J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001))。在一些實施例中，抗體變異體或結合多肽變異體包含具有一或多個改良 ADCC 之胺基酸取代之 Fc 區，例如在 Fc 區之位置 298、333 及/或 334 處之取代(殘基之 EU 編號)。在一些實施例中，在 Fc 區中作出改變，從而改變(亦即，改良或減小)C1q 結合及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)，例如，如美國專利第 6,194,551 號、WO 99/51642 及 Idusogie 等人，*J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)中所闡述。

【0152】 具有延長之半衰期及與新生 Fc 受體(FcRn) (其負責將母體 IgG 轉移至胎中)(Guyer 等人，*J. Immunol.* 117:587 (1976)及 Kim 等人，*J. Immunol.* 24:249 (1994))之改良結合之抗體闡述於 US2005/0014934A1 (Hinton 等人)中。彼等抗體包含具有一或多個改良 Fc 區與 FcRn 之結合之取代的 Fc 區。此等 Fc 變異體包

括在以下 Fc 區殘基之一或多者處具有取代之彼等變異體：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424 或 434，例如，取代 Fc 區殘基 434 (美國專利第 7,371,826 號)。亦參見 Duncan 及 Winter，Nature 322:738-40 (1988)；美國專利第 5,648,260 號；美國專利第 5,624,821 號；及關於 Fc 區變異體之其他實例之 WO 94/29351。

3. 半胱胺酸改造之變異體

【0153】 在一些實施例中，可期望產生半胱胺酸改造之抗體(例如抗 KLK5 抗體)或結合多肽(例如，KLK5 結合多肽)，其中一或多個殘基經半胱胺酸殘基取代。在具體實施例中，經取代殘基係在抗體或結合多肽之可及位點處出現。藉由用半胱胺酸取代彼等殘基，反應性硫醇基團藉此位於抗體之可及位點處且可用於使抗體或結合多肽偶聯至其他部分(例如藥物部分或連接子-藥物部分)，以產生免疫偶聯物，如本文進一步所闡述。在一些實施例中，以下殘基中之任一者或多者可經半胱胺酸取代：輕鏈之 V205 (Kabat 編號)；重鏈之 A118 (EU 編號)；及重鏈 Fc 區之 S400 (EU 編號)。半胱胺酸改造之抗體或 Fc 融合多肽可如(例如)美國專利第 7,521,541 號中所述來產生。

4. 胺基酸變異體抗體變異體

【0154】 在一些實施例中，涵蓋本文所提供之抗體(例如，抗 KLK5 抗體)或結合多肽(例如，KLK5 結合多肽)之胺基酸序列變異體。舉例而言，可期望改良抗體或結合多肽之結合親和力及/或其他生物學性質。抗體或結合多肽之胺基酸序列變異體可藉由將適當修飾引入至編碼抗體或結合多肽之核苷酸序列中或藉由肽合成來製備。此等修飾包括(例如)抗體或結合多肽之胺基酸序列內殘基之缺失及/或插入及/或取代。可實施缺失、插入及取代之任一組合以達成最終構築體，條件係最終構築體具有期望特性，例如抗原結合性。

【0155】 在一些實施例中，提供具有一或多個胺基酸取代之抗體變異體或結

合多肽變異體。用於取代突變誘發之所關注位點包括 HVR 及 FR。保守取代示於表 1 中之「較佳取代」標題下。更多實質性變化提供於表 1 之「例示性取代」標題下，且如下文參考胺基酸側鏈類別進一步所闡述。可將胺基酸取代引入至抗體或結合多肽及經篩選具有期望活性之產物中，該期望活性係(例如)保留/改良之抗原結合、降低之免疫原性或經改良之 ADCC 或 CDC。

表 1

原始殘基	例示性取代	較佳取代
Ala (A)	Val ; Leu ; Ile	Val
Arg (R)	Lys ; Gln ; Asn	Lys
Asn (N)	Gln ; His ; Asp, Lys ; Arg	Gln
Asp (D)	Glu ; Asn	Glu
Cys (C)	Ser ; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn ; Glu	Asn
Glu (E)	Asp ; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn ; Gln ; Lys ; Arg	Arg
Ile (I)	Leu ; Val ; Met ; Ala ; Phe ; 正白胺酸	Leu
Leu (L)	正白胺酸 ; Ile ; Val ; Met ; Ala ; Phe	Ile
Lys (K)	Arg ; Gln ; Asn	Arg
Met (M)	Leu ; Phe ; Ile	Leu
Phe (F)	Trp ; Leu ; Val ; Ile ; Ala ; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val ; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr ; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp ; Phe ; Thr ; Ser	Phe
Val (V)	Ile ; Leu ; Met ; Phe ; Ala ; 正白胺酸	Leu

【0156】 可根據常見側鏈性質將胺基酸分組：

(1) 疏水性：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

(2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

(3) 酸性：Asp、Glu；

(4) 鹼性：His、Lys、Arg；

(5) 影響鏈定向之殘基：Gly、Pro；

(6) 芳香族殘基：Trp、Tyr、Phe。

【0157】 非保守性取代將使得需要將該等類別中一者之成員交換為另一類別。

5. 衍生物

【0158】 在一些實施例中，本文所提供之抗體(例如，抗 KLK5 抗體)或結合多肽(例如，KLK5 結合多肽)可進一步經修飾以含有業內已知且容易獲得之其他非蛋白質性部分。適用於衍生抗體或結合多肽之部分包括(但不限於)水溶性聚合物。水溶性聚合物之非限制性實例包括(但不限於)聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇之共聚物、羧甲基纖維素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯基吡咯啉酮、聚-1,3-二氧雜環戊烷、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/馬來酸酐共聚物、聚胺基酸(均聚物或隨機共聚物)及葡聚糖或聚(n-乙基基吡咯啉酮)聚乙二醇、聚丙二醇均聚物、聚環氧丙烷/環氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化之多元醇(例如，甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛可因其在水中具有穩定性而在製造方面具有優勢。聚合物可具有任何分子量，且可為具支鏈或非具支鏈。附接至抗體及/或結合多肽之聚合物的數量可有所變化，且若附接一個以上之聚合物，則其可為相同或不同分子。一般而言，衍生所用聚合物之數量及/或類型可基於包括(但不限於)以下之考慮因素來確定：欲改良之抗體及/或結合多肽之具體性質或功能、抗體衍生物及/或結合多肽衍生物是否將用於界定條件下之療法等。

【0159】 在另一實施例中，提供抗體及/或結合多肽與非蛋白質性部分之偶聯物，其可藉由暴露於輻射來選擇性加熱。在一個實施例中，非蛋白質性部分係

碳奈米管(Kam 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005))。輻射可具有任何波長, 且包括(但不限於)如下波長之輻射: 其並不危害正常細胞, 但將非蛋白質性部分加熱至可將毗鄰抗體及/或結合多肽-非蛋白質性部分之細胞殺死之溫度。

IV. 醫藥調配物及投與方法

【0160】 如本文所述之 KLK5 拮抗劑之醫藥調配物係藉由將具有期望純度之此等拮抗劑與一或多種可選之醫藥學上可接受之載劑以凍乾調配物或水溶液形式混合來製備。參見 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 16 版, Osol, A. 編輯 (1980)。在一些實施例中, 本文所提供之 KLK5 拮抗劑係抗體(例如, 抗 KLK5 抗體)、結合多肽(例如, KLK5 結合多肽)、多核苷酸(例如, KLK5 多核苷酸拮抗劑, 例如 siRNA 或 CRISPR-RNA, 包括具有 CRISPR-RNA 及 tracrRNA 序列之 sgRNA)及小分子(例如, 小分子蛋白酶抑制劑)。

【0161】 醫藥學上可接受之載劑通常在所用劑量及濃度下對接受者無毒, 且包括(但不限於): 緩衝劑, 例如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸; 抗氧化劑, 包括抗壞血酸及甲硫胺酸; 防腐劑(例如十八烷基二甲基苄基氯化銨; 六甲氯銨; 苯紮氯銨(benzalkonium chloride); 苄索氯銨(benzethonium chloride); 酚、丁基醇或苄基醇; 對羥基苯甲酸烷基酯, 例如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯; 兒茶酚; 間苯二酚; 環己醇; 3-戊醇; 及間甲酚); 低分子量(少於約 10 個殘基)多肽; 蛋白質, 例如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白; 親水性聚合物, 例如聚乙烯吡咯啶酮; 胺基酸, 例如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸; 單醣、二醣及其他碳水化合物, 包括葡萄糖、甘露糖或糊精; 螯合劑, 例如 EDTA; 糖, 例如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇; 鹽形成相對離子, 例如鈉; 金屬錯合物(例如 Zn-蛋白質錯合物); 及/或非離子型表面活性劑, 例如聚乙二醇(PEG)。本文之例示性醫藥學上可接受之載劑進一步包括間質性藥物分

散劑，例如可溶性中性活性透明質酸酶糖蛋白(sHASEGP)，例如，人類可溶性 PH-20 透明質酸酶糖蛋白，例如 rHuPH20(HYLENEX[®], Baxter International, Inc.)。某些例示性 sHASEGP 及使用方法(包括 rHuPH20)闡述於美國專利公開案第 2005/0260186 號及第 2006/0104968 號中。在一個態樣中，將 sHASEGP 與一或多種額外糖胺多糖酶(例如軟骨素酶)組合。

【0162】 例示性凍乾調配物闡述於美國專利第 6,267,958 號中。水性抗體調配物包括闡述於美國專利第 6,171,586 號及 WO2006/044908 中之彼等調配物，後者調配物包括組胺酸-乙酸鹽緩衝液。

【0163】 本文之調配物亦可視需要含有一種以上用於所治療特定適應症之活性成分，較佳為具有彼此不會產生不利影響之補充活性之彼等成分。此等活性成分適宜地以有效地用於預期目的之量以組合形式存在。

【0164】 活性成分亦可分別裝入藉由(例如)凝聚技術或介面聚合製備之微膠囊(例如，羥甲基纖維素或明膠微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊)中、膠質藥物遞送系統(例如，脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米顆粒及奈米膠囊)或粗滴乳液中。參見 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 16 版, Osol, A. 編輯(1980)。

【0165】 可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之適宜實例包括含有 KLK5 拮抗劑之固體疏水性聚合物之半透性基質，該等基質呈成形物件之形式，例如膜或微膠囊。

【0166】 欲用於活體內投與之調配物通常為無菌的。無菌性可藉由(例如)經由無菌過濾膜進行過濾來容易地完成。

【0167】 本文進一步提供用於本文所述方法中之包含 KLK5 拮抗劑之醫藥調配物。在一些實施例中，該調配物包含醫藥學上可接受之載劑、佐劑或媒劑。在一些實施例中，該調配物包含有效地可量測地抑制 KLK5 蛋白酶活性之量之化合物。在一些實施例中，該調配物經調配用於向有需要之個體投與。

【0168】 包含 KLK5 拮抗劑之調配物可以以下方式投與：經口、非經腸、藉由吸入噴霧、局部、經皮、經直腸、經鼻、經頰、舌下、經陰道、腹膜內、肺內、皮內、硬膜外或經由植入型藥盒(implanted reservoir)。如本文所用之術語「非經腸」包括皮下、靜脈內、肌內、關節內、滑膜內、胸骨內、鞘內、肝內、病灶內及顱內注射或輸注技術。

【0169】 對於任何特定個體之具體劑量及治療方案將取決於多種因素，包括年齡、體重、一般健康、性別、飲食、投與時間、排泄速率、藥物組合、治療醫師之判斷及所治療特定疾病之嚴重程度。調配物中所提供 KLK5 拮抗劑之量亦將取決於調配物中之特定化合物。

【0170】 在一個實施例中，每劑量中投與之 KLK5 拮抗劑之有效量將在約 0.01 mg/kg-100 mg/kg 範圍內、或者為約 0.1 mg/kg 個體體重/天至 20 mg/kg 個體體重/天，其中所用化合物之典型初始範圍為 0.3 mg/kg/天至 15 mg/kg/天。

【0171】 KLK5 拮抗劑可單獨使用或與如上文所述之用於治療之其他藥劑組合使用。舉例而言，醫藥組合調配物或投用方案中之第二藥劑可具有與 KLK5 拮抗劑之互補活性，從而使得其彼此不會產生不利影響。該等化合物可於單一醫藥調配物中一起投與或分開投與。

【0172】 術語「共投與」係指同時投與或任何方式之分開依序投與 KLK5 拮抗劑及另外之一或多種活性醫藥成分。若投與不同時，則在彼此極其接近之時間內投與化合物。此外，化合物是否以相同劑型投與無所謂，例如，一種化合物可局部投與且另一化合物可經口投與。

【0173】 通常，任何具有針對所治療之疾病或病狀之活性的藥劑可共投與。此等藥劑之實例可參見 Cancer Principles and Practice of Oncology, V.T. Devita 及 S. Hellman (編輯), 第 6 版(2001 年 2 月 15 日), Lippincott Williams & Wilkins Publishers。熟習此項技術者應能夠基於該等藥物之具體特性及所涉及疾病辨別

出可使用何種藥劑組合。

V. 篩選及/或鑑別具有期望功能之 KLK5 拮抗劑之方法

【0174】 用於本文所述方法中之其他 KLK5 拮抗劑(包括抗體(例如，抗 KLK5 抗體)、結合多肽(例如，KLK5 結合多肽)、多核苷酸(例如，KLK5 多核苷酸拮抗劑，例如 siRNA 或 CRISPR-RNA，包括具有 CRISPR-RNA 及 tracrRNA 序列之 sgRNA)及小分子(例如，KLK5 小分子拮抗劑，例如小分子蛋白酶抑制劑))可藉由業內已知之各種分析來鑑別、針對其物理學/化學性質及/或生物活性進行篩選或表徵。

【0175】 候選 KLK5 拮抗劑可藉助一系列步驟進行計算評估及設計，其中針對與 KLK5 上個別結合靶向位點之締合能力來篩選及選擇化學實體或片段。熟習此項技術者可使用若干方法中之一者針對與 KLK5、且更特定而言與 KLK5 上之靶向位點締合之能力來篩選化學實體或片段。該過程可基於 KLK5 坐標或業內已知之彼等坐標之子集藉由對(例如)電腦螢幕上之靶向位點進行視覺檢查來開始。

【0176】 在篩選及/或鑑別方法中之任一者之一些實施例中，候選 KLK5 拮抗劑係抗 KLK5 抗體、KLK5 結合多肽(例如，SPINK5 Fc 融合多肽或 SPINK9 Fc 融合多肽)、KLK5 多核苷酸拮抗劑或 KLK5 小分子拮抗劑。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑實質上或完全抑制 KLK5 之生物活性。在一些實施例中，生物活性係絲胺酸蛋白酶活性。在一些實施例中，生物活性係胰蛋白酶樣絲胺酸蛋白酶活性。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑結合至 KLK5 上之特定結合區。在一些實施例中，KLK5 拮抗劑結合至 KLK5 之活性位點。

【0177】 本文所提供之抗 KLK5 抗體、KLK5 結合多肽、KLK5 多核苷酸拮抗劑及/或 KLK5 小分子拮抗劑可藉由業內已知之各種分析來鑑別、針對其物理學/化學性質及/或生物活性進行篩選或表徵。

【0178】 在一態樣中，針對本文所提供之抗 KLK5 抗體、KLK5 結合多肽、KLK5 多核苷酸拮抗劑及/或 KLK5 小分子拮抗劑之 KLK5 結合活性對其進行測試，例如藉由諸如 ELISA、西方印漬分析、Scatchard 細胞表面結合或表面電漿共振等已知方法。在另一態樣中，可使用競爭分析來鑑別與本文所提供之抗 KLK5 抗體或 KLK5 結合多肽競爭與 KLK5 結合之抗體。在另一態樣中，本文所提供之抗 KLK5 抗體或 KLK5 結合多肽可用於偵測生物樣品中 KLK5 之存在或生物樣品中所存在之 KLK5 的量。在一些實施例中，首先用非特異性同型對照抗體來封阻生物樣品以使樣品中之任何 Fc 受體飽和。

【0179】 在一態樣中，提供用於鑑別本文所提供之抗 KLK5 抗體或 KLK5 結合多肽之生物活性之分析。在一些實施例中，用於鑑別生物活性之此等分析係(例如)肽受質分析或偶合分析。抗 KLK5 抗體或 KLK5 結合多肽之生物活性可包括(例如)與 KLK5 之結合且藉此降低 KLK5 之生物活性。在一些實施例中，抗 KLK5 抗體或 KLK5 結合多肽之生物活性可包括與 KLK 多肽之其他種類(例如，KLK7、KLK8 及 KLK14)之結合且藉此降低其生物活性。

VI. 製品

【0180】 在另一態樣中，提供含有可用於治療、預防及/或診斷上文所述病症之材料之製品。該製品包含容器及位於該容器上或與該容器相連之標籤或包裝插頁。適宜容器包括(例如)瓶、小瓶、注射器、IV 溶液袋等。該等容器可自諸如玻璃或塑膠等多種材料形成。容器裝有自身或與另一有效治療、預防及/或診斷病狀之調配物組合之調配物，且可具有無菌存取通道(例如，該容器可為靜脈內溶液袋或具有可由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶)。調配物中之至少一種活性劑係如本文所述之 KLK5 拮抗劑。標籤或包裝插頁指示調配物用於治療所選病狀。此外，該製品可包含(a) 其中含有調配物之第一容器，其中該調配物包含 KLK5 拮抗劑及(b) 其中含有調配物之第二容器，其中該調配物包含氣喘治療劑。

【0181】 在一些實施例中，該製品包含容器、該容器上之標籤及該容器內所含之調配物；其中該調配物包括一或多種試劑(例如，結合至一或多種生物標記或探針之一級抗體及/或針對本文所述生物標記中之一或多者之引子)，容器上之標籤指示該調配物可用於評估樣品中一或多種生物標記之存在，及使用該等試劑用於評估樣品中一或多種生物標記之存在之說明書。該製品可進一步包含一組用於製備樣品及利用試劑之說明書及材料。在一些實施例中，該製品可包括諸如一級及二級抗體二者等試劑，其中二級抗體偶聯至標記(例如，酶標記)。在一些實施例中，該製品一或多種針對本文所述生物標記中之一或多者之探針及/或引子。

【0182】 在製品中任一者之一些實施例中，KLK5 拮抗劑係如本文所提供之抗 KLK5 抗體、KLK5 結合多肽、KLK5 多核苷酸拮抗劑及/或 KLK5 小分子拮抗劑。

【0183】 此實施例中之製品可進一步包含指示調配物可用於治療特定病狀之包裝插頁。在一些實施例中，該包裝插頁包含用於投與 KLK5 拮抗劑作為氣喘治療劑之說明書。或者或另外，該製品可進一步包含第二(或第三)容器，該容器包含醫藥學上可接受之緩衝劑，例如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)及右旋糖溶液。其可進一步包括自商業及使用者角度來看期望之其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

【0184】 該製品中之其他可選組分包括一或多種緩衝液(例如，封阻緩衝液、洗滌緩衝液、受質緩衝液等)、諸如藉由酶標記化學改變之受質(例如，色素原)、表位修復溶液、對照樣品(陽性及/或陰性對照)、對照玻片等其他試劑。

實例

【0185】 以下係方法及調配物之實例。應理解，鑒於上文所提供之一般描述可實踐各種其他實施例。除非在申請專利範圍中另外明確陳述，否則本文所提供之任何及所有實例或例示性語言(例如「例如」)之使用意欲僅更好地說明實施

例且不一定加以任何限制。本文中所引用之所有文件均係以全文引用的方式併入。

實例1

材料及方法

【0186】 所有機構研究均由當地機構審查委員會(institutional review board)審查並批准。另外，所有個體在基因分型之前均給予知情同意。基因分型係在表 2 中所彙總之多個不同平台上完成。

表 2

數據集_名稱	全基因體_SNP_陣列_ID
A1	未知
A2	未知
A3	HumanOmni25M-8v1-1_B.bpm
C1	未知
C2	HumanOmni2.5M-8v1-1_B.bpm
C3	未知
E	HumanOmni2.5-8v1-Multi_A.bpm
B	HumanOmni2.5-8v1-Multi_A.bpm
MI	HumanOmni2.5-8v1-Multi_A.bpm
V	HumanOmni2.5-8v1-Multi_A.bpm
MO	HumanOmni2.5-8v1-Multi_A.bpm
L	HumanOmni2.5-8v1-Multi_A.bpm
CG	HumanHap550v3
NY	HumanHap550v3

【0187】 以此順序實施樣品 QC：(1) 檢出率(Call rate)< 95% (去除 N=84) (2) 雜合性(去除 N=82) (3) 相關性/重複/IBD (去除 N=22) (4) 血統異常值(去除 N=262)。對於每一單獨之數據集，以 HapMap 樣品運行 EIGENSTRAT 分析，且若樣品係關於歐洲(CEPH 及 TSI)組(N=383)之異常值，則將其排除。

【0188】 實施 SNP QC，若其(1) 檢出率< 95%，(2) 係單形態的且(3)自 Hardy-Weinberg 平衡嚴重偏離($P < 1 \times 10^{-7}$)，則排除 SNP。對於未與該構建對齊之數據集，實施至 hg19 之轉換(liftover)。另外，填補(imputation)管線需要所有

數據集與正鏈對齊，此乃因 HapMap 數據係在正鏈上。使用 Shapeit 來檢查鏈問題且在可以時翻轉至正鏈。最後，選擇 chr1-chr22 中用於填補之 SNP。合併之發現數據集具有 299,784 個與氣喘病例數據集及基於群體之數據集重疊之 SNP。存在 230,853 個與構成複製數據集之 8 個不同病例及對照數據集重疊之 SNP。

【0189】 使用 HapMap 參考單倍型及通過品質控制作為推斷之基因型數據實施全基因體填補。在 SNPTESTv2 中之邏輯回歸模型中使用後填補基因型概率。另外，藉由調整重要主要組分來針對群體分層及複製數據集對發現數據集進行調整；選擇解釋>1%方差之 PC (參見下文)。填補資訊<0.6 之 SNP 自分析排除。額外之分析後 QC 包括去除對照中 $MAF < 2\%$ 之任何 SNP 及組合病例及對照中 $HWE\ p\text{ 值} < 1E^{-10}$ 之 SNP。接著使用 PLINK 對發現及複製結果運行整合分析。使用 0.1 之異質性 p 值截止值來確定是否應將固定效應或隨機效應模型用於整合分析。

【0190】 此分析中所使用之 GTEx 數據係自線上 GTEx 門戶 (<http://www.gtexportal.org/home/testyourown>) 獲得。搜索於 2016 年 11 月 11 日進行；針對 KLK5 輸入之命令係：rs117639512, KLK5, Esophagus_Gastroesophageal_Junction; rs117639512, KLK5, Esophagus_Muscularis; rs117639512, KLK5, Skin_Not_Sun_Exposed_Suprapubic; rs117639512, KLK5, Skin_Sun_Exposed_Lower_leg。針對 KLK4 輸入之命令係：rs117639512, KLK4, Prostate; rs117639512, KLK4, Uterus。

【0191】 SPINK9 與 KLK5 之結合親和力係使用 BIAcore™-T200 儀器藉由表面電漿共振(SRP)來量測。藉由蛋白質 A 生物感測器晶片(GE Healthcare，目錄號 29127557)捕獲內部表現之具有鼠類 IgG2a 片段可結晶區(Fc)之 SPINK9 以達成大約 100 個反應單位(RU)。對於動力學量測，將人類 KLK5 結合多肽之四倍連續

稀釋液(200 nM 至 0.1953 nM)在 25°C 下以 30 µl/min 之流速注射於 HBS-T 緩衝液中。締合速率($k_{\text{締合}}$)及解離速率($k_{\text{解離}}$)係使用簡單一對一 Langmuir 結合模型 (BIAcore Evaluation T200 軟體 2.0 版)來計算。平衡解離常數(K_D)計算為比率 $k_{\text{解離}}/k_{\text{締合}}$ 。

整合分析中所用之個體

【0192】 整合分析中使用總計 1,350 名成人氣喘患者及 3,690 名對照。在該等中，在品質控制量測後，667 名氣喘患者係在低 2 型氣喘(稱為低骨膜素)組中，且 626 名係在 2 型發炎性(稱為高骨膜素)組中。病例之平均年齡為 45 歲(SD = 15) 且對照為 41 歲(SD = 15)。所有個體均係歐洲高加索人(Caucasian)後裔。個體之大多數(57.8%)為女性。在病例中所預測之平均 FEV1% 為 72.9 (SD = 17)且在對照中為 101.6 (SD = 8)。將病例及對照分成兩個同類群組。同類群組 1 包括自 Genentech 對萊比克珠單抗(抗 IL-13)及 Xolair (抗 IgE)之觀察及臨床試驗獲得之氣喘患者 DNA 樣品(總 N=520)。同類群組 2 包括自 Genentech 針對萊比克珠單抗之臨床試驗(N=234)及自在昆士蘭醫學研究所(Queensland Institute for Medical Research)(N=774)及芝加哥大學(University of Chicago)(N=226)確定之成人氣喘患者獲得之完全獨立之 DNA 樣品組。將樣品與基於遺傳學上確定之祖先(同類群組 1；N=3,120)選擇之對照進行比較，且由肺臟學家篩選為氣喘陰性(同類群組 2；N=1,146)。分析來自同類群組 2 之所有病例及對照之血清骨膜素含量，且使用中值蛋白質含量將個體分為低骨膜素及高骨膜素子組。每一同類群組之特性示於表 3 中。該表僅包括通過 QC 且包括在分析中之樣品。

表 3

	同類群組 1		同類群組 2	
	病例	對照	病例	對照
N	468	2808	882	882
年齡，平均值(SD)	43.95 (13.1)	*	46.08 (15.2)	40.20 (14.9)

性別，N(%)女性	299 (63.9%)	1437 (47.9%)	585 (66.3%)	580 (65.7%)
所預測之 FEV1% ， 平均值(SD)	70.8 (13.4)	-	75.1 (20.4)	101.6 (7.7)

*) 年齡數據係在以下範圍內：69 ≤ 54 歲、489 = 55-59 歲、761 = 60-64 歲、810 = 65-69 歲、503 = 70-74 歲、153 ≥ 75 歲。

已知氣喘風險等位基因分析

【0193】 目前，2 型發炎與低 2 型氣喘患者間之遺傳異質性程度未知。如所述基於骨膜素含量使研究群體分層。參見 Corren 等人，N Engl J Med 365, 1088-1098 (2011)。首先在高骨膜素病例(N=626)與對照(N=1,696)之間及低骨膜素病例(N=667)與對照(N=1,887)之間比較已知氣喘風險等位基因之等位基因頻率。測定高骨膜素及低骨膜素子組與對照相比之效應值富集。結果示於圖 1 及表 4 中。若干個已知氣喘基因(例如，TSLP、IL4、IL4R、IL6R)在子組之間顯示無差異。若干 Th2 相關基因座(例如，GATA3 及 IL33)之比值比(OR)在高骨膜素子組中富集。PDE4D 基因座在高骨膜素子組中顯示基本上為零之 OR (OR=0.96)且在低骨膜素子組中富集(P=6.0×10⁻⁴；OR=1.3)。此基因座係直接顯示低及高骨膜素病例間之等位基因頻率統計學上不同之唯一基因座(P=0.02)。因此，所觀察到的許多公開之氣喘基因座係泛氣喘基因座，其鑒於該等研究並未區分基於 2 型發炎狀態之個體而係直觀的。然而，其他基因座在子組之間具有差異，此表明在按骨膜素狀態劃分氣喘群體時新穎基因座將顯現。鑒於上文所提及之知識缺乏及所預測之圍繞此患者群體之尚未滿足的醫學需求，關注低骨膜素性氣喘子組。

表 4

SNP	基因	CH R	BP	等 位 基因	風險 等位 基因	高骨膜素		低骨膜素	
						OR	P	OR	P
rs1800629	TNF	6	31543031	G/A	A	1.246	0.021	0.937	0.485
rs1775551	GATA 3	10	9053043	C/A	C	1.471	2.75E -05	1.189	0.051

rs2073643	SLC22 A5	5	131723288	T/C	C	0.946	0.752	0.800	0.002
rs72699186	IL33	9	6175855	A/T	T	1.212	0.048	1.078	0.412
rs3771166	IL18R 1/IL1A 1	2	102986222	G/A	A	0.883	0.098	0.764	0.031
rs2305480	GDSM B	17	38062196	G/A	A	0.906	0.169	0.791	0.001
rs2378383	TLE4	9	82039362	A/G	G	0.972	0.795	0.859	0.185
rs1540339	VDR	12	48257326	C/T	C	1.059	0.452	0.954	0.511
rs17294280	SMAD 3	15	67468285	A/G	G	1.265	0.009	1.190	0.047
rs2284033	IL2RB	22	37534034	G/A	A	0.948	0.470	0.884	0.092
rs1837253	TSLP	5	110401872	T/C	C	1.310	0.001	1.265	0.004
rs1295686	IL13	5	131995843	T/C	T	1.153	0.410	1.116	0.209
rs2057768	IL4R	16	27322095	C/T	T	1.127	0.139	1.122	0.140
rs11071557	RORA	15	61068954	T/C	C	0.892	0.296	0.902	0.327
rs2243300	IL4	5	132004086	G/T	T	1.095	0.523	1.109	0.719
rs1063355	HLA- DQ	6	32627714	T/G	T	0.738	3.42E -05	0.810	0.003
rs4129267	IL6R	1	154426264	C/T	T	0.934	0.347	1.054	0.447
rs2786098	DENN D1B	1	197325908	T/G	T	0.953	0.576	1.080	0.366
rs4795405	ORMD L3	17	38088417	T/C	T	1.096	0.207	1.243	0.002
rs1588265	PDE4 D	5	59369794	A/G	G	0.956	0.566	1.292	0.001

低骨膜素性氣喘對對照 GWAS

【0194】 使用具有血清骨膜素含量量測值之健康對照(N=790)，使用骨膜素作為連續性狀實施 GWAS，且發現無基因座達到全基因體顯著性。此表明正常對照中之骨膜素含量未受到強烈之遺傳影響。因此使用低骨膜素性氣喘(N=667)對對照(N=1,887) GWAS 中之整個對照群體。測試在此分析中達到與對照中骨膜素含量相關聯之全基因體顯著性之所有令人關注之 SNP，以確定該(等)SNP 係與 2 型低發炎氣喘特異性相關，而非簡單地與外周骨膜素之含量相關。總計觀察到一個針對 SNP rs117639512 之關聯超過全基因體顯著性之臨限值($P=2.75\times10^{-8}$ ，OR = 0.33，圖 2)。 $P<1\times10^{-5}$ (LD 修剪)之 SNP 之完整列表示於表 5 中。SNP rs117639512 之詳細資訊示於表 6 中。在具有骨膜素量測值之對照子組中，rs117639512 SNP 與外周骨膜素含量不相關($P=0.99$)。另外，亦針對嗜酸性白血

球(EOS)含量對群體進行分層(低 EOS 含量<300 ng/mL)以查看在低 EOS 氣喘患者中是否亦發現低骨膜素性氣喘患者中之關聯。二者均係 2 型活性之指標，但不完全相關($p=0.23$)。參見 Arron 等人，Ann Am Thorac Soc 10 增刊, S206-213 (2013)。測試與對照($N=1,768$)相比，SNP rs117639512 在低 EOS 氣喘病例($N=390$)中之關聯，發現效應方向與低骨膜素分析($P=0.008$ ；OR= 0.51)中所觀察到之效應方向類似。SNP rs117639512 係位於在 500 kb DNA 段(stretch)內含有 11 個 KLK 之較大血管舒緩素(KLK)基因簇基因座中(圖 3)。此 SNP 係位於 KLK5 基因體序列中。該關聯似乎對於低 2 型氣喘係特異性的，此乃因 P 值在 2 型高發炎患者中並不顯著(表 6：rs117639512 之詳細關聯分析， $P=0.63$ ，OR= 1.11)。

表 5

C H R	BP	SNP	發現				複製				整合		基因
			病例 MAF	對照 MAF	OR	P	病例 MAF	對照 MAF	OR	P	OR	P	
1 9	5142 3524	rs1176 39512	0.014	0.032	0.44	2.82E -02	0.014	0.054	0.25	4.64E -06	0.33	2.75E -08	KLK4, KLK5
5	1675 3493 0	rs3400 4678	0.004	0.021	0.19	9.40E -03	0.013	0.036	0.36	1.23E -03	0.27	1.39E -07	ODZ2
1 5	4667 2108	rs1145 40406	0.889	0.818	1.79	1.15E -04	0.857	0.807	1.43	2.29E -03	1.60	3.00E -07	SNORD 11
1 3	1058 9782 3	rs1696 6163	0.009	0.033	0.26	3.58E -03	0.017	0.035	0.49	2.83E -02	0.35	8.60E -07	DAOA
1 1	1180 6810 0	rs1793 161	0.802	0.717	1.59	8.99E -05	0.773	0.719	1.33	1.24E -02	1.46	1.95E -06	AMICA1
2 2	3331 5675	rs1305 3593	0.027	0.064	0.40	1.29E -03	0.039	0.062	0.62	2.65E -02	0.49	3.66E -06	SYN3
1	2181 0357 0	rs7273 2806	0.028	0.063	0.43	1.94E -03	0.042	0.068	0.60	1.66E -02	0.50	4.55E -06	IQCH
4	2799 465	rs1143 53093	0.006	0.027	0.22	2.96E -03	0.013	0.027	0.47	1.17E -02	0.30	5.24E -06	SH3BP2
3	1333 0622	rs7495 73	0.084	0.129	0.62	3.55E -03	0.094	0.149	0.60	3.48E -04	0.61	6.56E -06	IQSEC1 ; NUP210 ; HDAC11
1 4	2514 0803	rs1500 36235	0.005	0.021	0.25	1.32E -02	0.009	0.027	0.32	2.96E -03	0.28	7.13E -06	GZMH ; GZMB ; CTSG ; CMA1 ; STXBP6
9	1652	rs7862	0.033	0.062	0.52	1.06E	0.032	0.065	0.48	3.52E	0.50	7.27E	MGC241

	9849	214				-02				-03		-06	03 ; BNC2
4	1009 0265 3	rs7680 070	0.965	0.936	1.92	1.14E -02	0.956	0.918	1.94	5.01E -04	1.93	7.50E -06	RP11-15 B17.1
5	1591 8348 2	rs5004 535	0.216	0.164	1.41	4.22E -03	0.200	0.135	1.60	3.99E -04	1.50	8.54E -06	AC0086 91.1
3	5691 6581	rs1138 04724	0.076	0.128	0.56	9.28E -04	0.105	0.142	0.71	2.19E -02	0.63	8.79E -06	ARHGE F3
5	1105 0330 1	rs6543 54	0.559	0.633	0.73	1.87E -03	0.563	0.638	0.73	1.81E -03	0.73	9.07E -06	TSLP
1 3	7303 0348	rs1050 7803	0.009	0.021	0.41	5.74E -02	0.011	0.035	0.29	2.53E -04	0.34	9.92E -06	SNORD 37 ; SNORA 68 ; RPL18A P17

表 6

表型	發現				複製				整合	
	病例 MAF	對照 MAF	OR	P	病例 MAF	對照 MAF	OR	P	O R	P
PERI-LO _CTRL	0.014	0.032	0.44	0.03	0.014	0.054	0.25	4.64x 10 ⁻⁶	0.3 3	2.75x 10 ⁻⁸
PERI-HI _CTRL	0.031	0.029	1.05	0.86	0.038	0.033	1.15	0.60	1.1 1	0.632 8
ALL_CT RL	0.022	0.031	0.69	0.11	0.026	0.043	0.59	3.94x 10 ⁻³	0.6 3	1.17x 10 ⁻³
	外周 高	外周 低	OR	P	外周 高	外周 低	OR	P	O R	P
PERI-HI _PERI-LO	0.031	0.014	2.16	0.07	0.038	0.014	2.76	1.58x 10 ⁻³	2.5 7	3.72x 10 ⁻⁴

KLK5 係此基因座之候選基因

【0195】 為鑑別此基因座中之相關基因，首先檢查 mRNA 表現模式。使用公開可獲得之資料庫，KLK4 主要表現於前列腺及子宮內膜中，而 KLK5 主要表現於食管及皮膚中。參見 Wu 等人，Nucleic Acids Res 44, D313-316 (2016)。查詢 GTEx 門戶資料庫(參見 Consortium，Science 348, 648-660 (2015))以研究 rs117639512 對主要表現組織中 KLK4 及 KLK5 mRNA 含量之可能的功能性效應。rs117639512 對 KLK4 之效應不能在前列腺或子宮中進行評價，此乃因在 GTEx 資料庫中其在該兩個組織中均為單形態的。GTEx 含有總計四種食管及皮膚組織(食管-胃食管連接處及肌層；曝露於陽光及不曝露於陽光之皮膚)。KLK5

eQTL 在該等組織中之任一者中並未達到統計學顯著性(曝露於陽光之皮膚中最低 $P=0.051$)，此至少部分地係由於 SNP 之較低的次要等位基因頻率(歐洲高加索人群體中 0.01-0.05，參見 Genomes Project, Auton 等人，Nature 526, 68-74 (2015))。此係人類遺傳變異之全球性參考。與主要等位基因純合子相比，所有組織(食管-GE 連接處除外)在雜合子中均顯示較低之 KLK5 之 mRNA 含量。資料庫中無用於比較之次要等位基因純合子。因此，看起來 rs117639512 之次要等位基因與較低之 KLK5 mRNA 含量相關，然而，由於 rs117639512 之較低的次要等位基因頻率，因此需要更大之資料庫以證實此假設。感興趣的是，內瑟頓氏症候群係由基因 SPINK5 中之突變引起。參見 Descargues 等人，Nat Genet 37, 56-65 (2005)。SPINK5 編碼 LEKTI，其係 KLK5 及 KLK7 之絲胺酸蛋白酶抑制劑。參見 Schechter 等人，Biol Chem 386, 1173-1184 (2005)。SPINK5 中之突變導致高度上調之 KLK5 表現，其進而經由 PAR2 (蛋白酶活化受體 2)依賴性及獨立性路徑誘導發炎。參見 Hovnanian, A.，Cell Tissue Res 351, 289-300 (2013)。儘管內瑟頓氏症候群最常見與皮膚病症相關，但在一些情形下共患氣喘。參見 Judge 等人，Br J Dermatol 131, 615-621 (1994)。因此，基於連鎖不平衡、表現模式及症候群性共病，KLK5 係此基因座中最相關之候選基因。此外，來自 eQTL 分析之效應方向與此 SNP 之保護性 OR 一致，使得較低之 KLK5 含量似乎對氣喘風險具有保護作用。

用於測定 KLK5 抑制之分析

【0196】 使用重組 KLK5 直接活性分析來量測 KLK5 抑制劑(例如 SPINK Fc 融合多肽及 mAb1108)對人類血管舒緩素 5 (KLK5)之抑制。將重組人類 KLK5 (Genentech)於直接分析緩衝液(75 mM Tris (pH 8.0)、150 mM NaCl 及 0.01% Tween 20)中稀釋至 5 nM，且與抗 KLK5 抗體合併於 384 孔分析盤中(384 孔低體積，黑色，圓底，Corning，目錄號 4514)。抗體係於磷酸鹽樣品緩衝液(70 mM 磷酸鈉 (pH 6)、200 mM NaCl 及 0.01% Tween-20)或檸檬酸鹽/Tris 樣品緩衝液(10 mM 檸

檬酸、30 mM Tris (pH 6)及 0.01% Tween 20)中供應。抗體稀釋液係於適當樣品緩衝液或直接分析緩衝液中製得。將盤在周圍溫度下培育 30 分鐘。將螢光肽受質 Boc-VPR-AMC (Bachem, 部件號 I-1120)直接添加至分析盤。最終孔內濃度為 50 μ M Boc-VPR-AMC、5 nM 重組人類 KLK5 及 0.19-100 nM 抗 KLK5 抗體。使用 PHERAstar® Plus 讀數儀, 使用 340 nm 激發/460 nm 發射模組以每 102 s 檢查盤 30-60 分鐘。RFU/s 反應速率係藉由線性範圍內讀數之線性回歸來計算, 通常在 204 s 時開始且持續直至分析結束。單獨之緩衝液及 100 nM 最終 SPINK9.SRE.Fc (Genentech)分別用作 100%及 0%活性對照。抗 KLK5 抗體之 IC₅₀ 係自其各別曲線之四參數擬合來確定。

【0197】 使用偶合之前 KLK7 螢光肽分析來量測抗 KLK5 抗體對人類血管舒緩素 5 (KLK5)之抑制。若抗體樣品係於檸檬酸鹽/Tris 樣品緩衝液中, 則將重組人類 KLK5 (Genentech)於前 KLK7 檸檬酸鹽/Tris 偶合緩衝液(50 mM Tris (pH 7.5)、150 mM NaCl 及 0.01% Tween 20)中稀釋至 5 nM, 或若抗體樣品係於磷酸鹽樣品緩衝液中, 則將重組人類 KLK5 (Genentech)於前 KLK7 磷酸鹽偶合緩衝液(50 mM Tris (pH 8.0)、150 mM NaCl 及 0.01% Tween 20)中稀釋至 5 nM。接著將經稀釋之 KLK5 與抗 KLK5 抗體合併於 384 孔分析盤(384 孔低體積, 黑色, 圓底, Corning, 目錄號 4514)中。抗體稀釋液係如針對直接 KLK5 分析所闡述來製得。將盤在周圍溫度下培育 30 分鐘。將螢光肽受質 suc-LLVY-AMC (Bachem, 部件號 I-1395)及前 KLK7 (Genentech)直接添加至分析盤且在周圍溫度下培育。最終孔內濃度為 100 μ M suc-LLVY-AMC、125 nM 前 KLK7、5 nM 重組人類 KLK5 及 0.19-100 nM 抗 KLK5 抗體。24 小時後, 每 102 s 進行螢光讀數達 30-60 min, 且 RFU 終點值係藉由對最後 5 次讀數取平均值來計算。單獨之緩衝液及 100 nM 最終 SPINK9.SRE.Fc (Genentech)分別用作 100%及 0%活性對照。抗 KLK5 抗體之 IC₅₀ 係自其各別曲線之四參數擬合來確定。

【0198】 使用重組 KLK7 螢光肽分析來測定 KLK5 抑制劑之選擇性。於前 KLK7 磷酸鹽偶合緩衝液(50 mM Tris (pH 8.0)、150 mM NaCl 及 0.01% Tween 20) 中利用 KLK5 活化重組人類 KLK7 (Genentech)。接著將經稀釋之 KLK7 與 KLK5 抑制劑合併於 384 孔分析盤(384 孔低體積，黑色，圓底，Corning，目錄號 4514) 中。抑制劑稀釋液係如針對直接 KLK5 分析所闡述來製得。將盤在周圍溫度下 培育 50 分鐘。將螢光肽受質 suc-LLVY-AMC (Bachem，部件號 I-1395)及前 KLK7 (Genentech)直接添加至分析盤且在周圍溫度下培育。最終孔內濃度為 100 μ M suc-LLVY-AMC、125 nM 前 KLK7、5 nM 重組人類 KLK5 及 0.19-100 nM KLK5 抑制劑。24 小時後，每 102 s 進行螢光讀數達 30-60 min，且 RFU 終點值係藉由 對最後 5 次讀數取平均值來計算。單獨之緩衝液及 100 nM 最終 SPINK9.SRE.Fc (Genentech)分別用作 100%及 0%活性對照。KLK5 抑制劑之 IC_{50} 係自其各別曲線 之四參數擬合來確定。

【0199】 使用 KLK5 源裂解肽偵測藉由 LC/MS 實施前 KLK7 分析以用於 IC_{50} 測定。為實施前 KLK7 分析，藉由與液相層析耦合之質譜法偵測來自酶 KLK5 與受質前 KLK7 間之反應之產物肽 EEAQGDK (SEQ ID NO:30)。所有化合物均 經 50 mM 碳酸氫銨緩衝液(Powder/Certified, Fisher Chemical, A643-500)稀釋，其 中分析中之最終濃度為 5 nM KLK5 (Genentech)且抑制劑係在 0.01 nM 至 12 nM 範圍內，其稀釋於 96 孔盤(Biorad，硬殼 96 孔 PCR 盤，低廓形，薄壁，有緣， 藍色/透明編號 HSP9631)中。所使用之抑制劑係 SPINK9.SRE.Fc (Genentech)及 mAb1108 (單株小鼠 IgG2b 純系編號 193318, R & D Systems, Minneapolis, MN)。 將盤在室溫下培育 30 分鐘。之後，將 15 nM 受質前 KLK7 (Genentech)添加至酶 加抑制劑中。2 小時後，使用 0.5 μ L 甲酸(99.5+%, Optima™ LC/MS 級, Fisher Chemical, A117-10X1AMP)將反應物淬滅。在 QTRAP 6500 LC-MS/MS 質譜儀 (Sciex, Framingham, MA)中使用以下質量之組合對肽進行偵測：Q1, 388.7 m/z 及

Q3, 319.0 m/z。使用合成 KLK7 肽校準曲線來量測所產生肽之定量。IC₅₀ 值係使用 Prism 6 軟體(GraphPad Software, La Jolla, CA)來確定。

【0200】 使用 KLK5 源裂解肽偵測藉由 LC/MS 實施前 KLK1 分析以用於 IC₅₀ 測定。為實施前 KLK1 分析，藉由與液相層析耦合之質譜法偵測來自酶 KLK5 與受質前 KLK1 間之反應之產物肽 APPIQSR (SEQ ID NO:31)。所有化合物均經 50 mM 碳酸氫銨緩衝液(Powder/Certified, Fisher Chemical, A643-500)稀釋，其中分析中之最終濃度為 0.5 nM KLK5 (Genentech)且抑制劑係在 0.01 nM 至 12 nM 範圍內，其稀釋於 96 孔盤中(Biorad，硬殼 96 孔 PCR 盤，低廓形，薄壁，有緣，藍色/透明編號 HSP9631)。所使用之抑制劑係 SPINK9.SRE.Fc (Genentech)及 mAb1108 (單株小鼠 IgG2b 純系編號 193318, R & D Systems, Minneapolis, MN)。將盤在室溫下培育 60 分鐘。之後，將 300 nM 受質前 KLK1 (Genentech)添加至酶加抑制劑中。20 分鐘後，使用 0.5 uL 甲酸(99.5+%, Optima™ LC/MS 級, Fisher Chemical, A117-10X1AMP)將反應物淬滅。在 QTRAP 6500 LC-MS/MS 質譜儀 (Sciex, Framingham, MA)中使用以下質量之組合對肽進行偵測：Q1, 384.7 m/z 及 Q3, 600.3 m/z。IC₅₀ 值係使用峰面積及 Prism 6 軟體(GraphPad Software, La Jolla, CA)來確定。

實例 2-氣喘中 KLK5 之表徵

KLK5 在氣喘患者肺組織中表現且升高

【0201】 檢查 KLK5 在肺組織中之表現。開發敏感性免疫分析以量測健康供體(MAST-A 同類群組)及皮質類固醇難治性氣喘患者(BOBCAT 同類群組)之支氣管肺泡灌洗(BAL)中之 KLK5。參見 Jia 等人，J Allergy Clin Immunol 130, 647-654 e610 (2012)及 Sun 等人，Sci Signal 8, ra122 (2015)。與健康志願者相比，氣喘患者中 KLK5 之平均含量升高約四倍(圖 4)。另外，氣喘患者 BAL 中 KLK5 之含量與預測之強力呼氣容積 1 (FEV1)呈負相關 (P<0.05)，從而指示 KLK5 增加

之患者可罹患更嚴重之支氣管阻塞及氣道疾病。肺中 KLK5 之含量與血清 Th2 生物標記(骨膜素及血液嗜酸性白血球)不相關，且高骨膜素及低骨膜素氣喘患者均具有相似含量之 BAL KLK5。為理解 KLK5 之細胞來源，在各種原代肺駐留細胞中比較 KLK5 轉錄物含量。KLK5 mRNA 由支氣管上皮細胞強力表現，且在肺平滑肌、纖維母細胞、內皮細胞或單核細胞中偵測不到。為原位檢查 KLK5 表現，藉由使用 KLK5 啟動子之開放閱讀框中具有 LacZ 之 KLK5-LacZ 報導基因小鼠系來檢查其表現。LacZ 陽性細胞主要限於支氣管上皮細胞。綜上所述，該等數據表明，支氣管上皮細胞可能係肺中 KLK5 之主要細胞來源且造成支氣管肺泡灌洗中之 KLK5。

重組 KLK5 誘導之肺嗜中性白血球外滲及肺上皮細胞介素產生

【0202】 接下來，產生重組 KLK5 且表徵其生物化學功能。具有 C 末端 his 標籤之重組全長 KLK5 表現於 293 個細胞中。經分泌 KLK5 之前序列(aa23-66)去除且係以位置 67 處之 N 末端異白胺酸開始。位置 245 處之絲胺酸至丙胺酸突變(S245A)消除 KLK5 催化活性，且 S245A KLK5 突變異體具有完整 N 末端前序列。結果表明，自活化及信號肽去除可能係 KLK5 自身固有的。

【0203】 為研究 KLK5 在肺中之效應，以鼻內方式向小鼠投與重組 KLK5。在 KLK5 投與後 24 小時，觀察到支氣管肺泡灌洗液中嗜中性白血球之數量增加大於 10 倍(圖 5A)。嗜酸性白血球、巨噬細胞或淋巴球之數量無顯著變化。肺實質之組織切片中嗜中性白血球之選擇性募集亦增加且該等顆粒球定位至支氣管上皮下膜。鼻內投與催化性突變異體 KLK5 並不導致嗜中性白血球外滲。因此，KLK5 募集嗜中性白血球至肺隔室中之能力高度依賴於蛋白酶之酶活性。

【0204】 為理解 KLK5 如何影響嗜中性白血球募集，將重組 KLK5 添加至 A549 肺上皮細胞系中且經由定量 PCR 檢查發炎細胞介素及趨化介素之表現。KLK5 (但不係其催化非活性突變異體)快速誘導促發炎基因轉錄物，包括 Tslp、

Tnfa、Il8 及 Icam1 (圖 5B)。Tslp、Tnfa、IL-8 及 Icam1 之誘導亦見於原代經分離之支氣管上皮細胞。此外，SPINK5 Fc 融合多肽抑制 KLK5 刺激之發炎細胞介素及趨化介素產生。

實例 3-直接分析及偶合分析中 KLK5 之抑制

【0205】 為評估 SPINK Fc 融合多肽之抑制譜，開發監測 KLK5 裂解螢光肽受質之活體外分析。簡言之，KLK5 裂解受質 Boc-VPR-AMC 之末端精胺酸間之肽鍵，釋放 7-胺基-4-甲基香豆素(AMC)，從而導致螢光增加。在添加螢光受質之前，將 KLK5 與 SPINK5 M293-R355 (圖 6A)、SPINK5 E421-A695 (圖 6B)或 SPINK9.SRE.Fc (圖 6C)一起培育導致由於 KLK5 鈍化所致之螢光信號降低。因此，SPINK Fc 融合多肽係 KLK5 之強效抑制劑，如藉由 Boc-VPR-AMC 裂解所監測。

【0206】 如圖 6 中所展示，SPINK Fc 融合多肽係 KLK5 之強效抑制劑，如藉由小肽受質之裂解所監測。為進一步評估該等 SPINK Fc 融合多肽之抑制譜，開發利用前 KLK7 及特異性 KLK7 螢光肽受質 Suc-LLVY-AMC 之偶合分析(圖 7)。簡而言之，將 KLK5 與前 KLK7 一起培育導致 KLK7 前結構域之裂解及去除。前結構域之去除使 KLK7 活化，其然後能夠作用於螢光受質以釋放 AMC 螢光團。類似於使用小肽受質(圖 6)之數據，將 KLK5 與 SPINK5 M293-R355 (圖 7A)、SPINK5 E421-A695 (圖 7B)或 SPINK9.SRE.Fc (圖 7C)一起培育導致強效抑制前 KLK7 之活化及 KLK7 特異性肽受質之隨後裂解。綜上所述，圖 6 及 7 展示使用肽或巨分子(前 KLK7)受質，SPINK Fc 融合多肽係 KLK5 之強效抑制劑。

【0207】 為評估 SPINK Fc 融合多肽之特異性，針對經活化之 KLK7 分析抑制劑，且監測螢光肽受質 Suc-LLVY-AMC 之裂解(圖 8)。作為 KLK 特異性之對照，亦分析市售抗 KLK5 抗體 mAb1108。由於此抗體對 KLK5 具有特異性，預期其不應抑制 KLK7 或受質之裂解。如圖 8 中可見，SPINK5 M293-R355 (圖 8A)及

SPINK5 E421-A695 (圖 8B)二者部分地抑制 KLK7，而 SPINK9.SRE.Fc (圖 8C) 及 mAb1108 (圖 8D)展示無抑制。此指示 SPINK9.SRE.Fc 及 mAb1108 特異性地相互作用且抑制 KLK5，而 SPINK5 M293-R355 及 SPINK5 E421-A695 可係混雜之 KLK 抑制劑。

【0208】 為表徵抗 KLK5 抗體 mAb1108 之抑制譜，測定各種 KLK5 濃度(圖 9)下之直接分析中之 IC_{50} 值(圖 6)。不同於 SPINK Fc 融合多肽，mAb1108 係 KLK5 之部分抑制劑，使得螢光肽受質裂解降低約 30% (圖 9)。另外，mAb1108 之 IC_{50} 值展示對 KLK5 濃度之依賴性，此表明抗體可能係 KLK5 之緊密結合抑制劑。

【0209】 為進一步評估 mAb1108 之抑制譜，在直接(圖 6)及前 KLK7 偶合(圖 7)分析二者中針對 SPINK9 Fc 融合多肽分析市售抗體。在直接分析(圖 10)中，SPINK9 Fc 融合多肽係 KLK5 裂解螢光肽受質之強效抑制劑，而 mAb1108 展示部分抑制。在偶合分析(圖 11)中使用巨分子受質前 KLK7，SPINK9 Fc 融合多肽及 mAb1108 二者均係 KLK5 活性之強效抑制劑。綜上所述，該等數據指示，雖然 mAb1108 在直接分析(圖 8 及 9)中確實展示 KLK5 之部分抑制且在偶合分析(圖 11B)中完全抑制，但 SPINK9 Fc 融合多肽在直接(圖 6 及 10)及偶合分析(圖 7 及 11)二者中均係 KLK5 之強效抑制劑。

實例 4- 藉由 LC/MS 之 KLK5 源裂解肽偵測以用於 IC_{50} 測定

【0210】 使用監測 KLK5 源裂解產物肽之 LC/MS 分析來評價 SPINK9.SRE.Fc 及 mAb1108 藉由重組 KLK5 抑制前 KLK7 或前 KLK1 之蛋白分解之能力。在 KLK7 分析中，SPINK9.SRE.Fc 及 mAb1108 完全抑制 KLK5 (5 nM)裂解前 KLK7， IC_{50} 值分別為 1.13 nM (圖 12A)或 1.86 nM (圖 12 B)。然而在 KLK1 分析中，儘管 SPINK9.SRE.Fc 及 mAb1108 二者均抑制 KLK5 (0.5 nM)裂解前 KLK1，但僅 SPINK9.SRE.Fc 完全抑制 KLK5， IC_{50} 為 0.58 nM (圖 12C)，而 mAb1108 展現最大約 40%之 KLK5 抑制， IC_{50} 為 0.34 nM (圖 12 D)。

結論

【0211】 綜上所述，該等數據表明，KLK5 誘導嗜中性白血球趨化性細胞介素之上皮產生及嗜中性白血球流入至肺組織中。本文提供來自專門專注於低骨膜素或低 2 型發炎氣喘患者之第一次 GWAS 之結果。鑑別出 KLK4/5 基因座處之 SNP，其在低骨膜素性氣喘群體中對於氣喘風險具有保護作用。此發現亦在低嗜酸性白血球性氣喘患者中觀察到。19q13 處之血管舒緩素基因座先前經由連鎖研究及 GWAS 與氣喘相關。參見 Myers 等人，J Allergy Clin Immunol 130, 1294-1301 (2012)。經由 GWAS 鑑別出之 SNP rs1061477 位於 KLK3 之內含子 2 中，其位於 SNP rs117639512 之大約 63 kb 3'處。該等 SNP 彼此不處於連鎖不平衡中($r^2=0.004$, $D'=0.293$)。其他人則已研究嗜酸性白血球含量之遺傳學。參見 Gudbjartsson 等人，Nat Genet 41, 342-347 (2009)。發現 IL13 及 IL33 基因座處之 SNP 與嗜酸性白血球含量相關。該等亦係充分複製之氣喘風險基因座。然而，在任一研究中，KLK4/5 區 1 MB 內無 SNP 鑑別為達到所提出之顯著性。此顯示，此基因座可對低骨膜素或低 2 型氣喘具有特異性。

【0212】 SNP rs117639512 係基因內的，位於 KLK4 與 KLK5 之間。由於此 SNP 之頻率相對較低，因此不能在在線資料庫中測試對 KLK4 之功能，且不能觀察到關於 KLK5 之不同 mRNA 含量之統計學顯著性。然而，在所測試之大多數組織中，觀察到導致次要等位基因攜帶者之 KLK5 之 mRNA 含量較低之類似效應方向。此與 SNP 所見之保護性 OR 組合，指示 KLK5 之較低含量對於氣喘風險具有保護性。此與來自內瑟頓氏症候群患者之發現一致，其中嚴重上調之 KLK5 含量導致許多特應性表型，包括氣喘。內瑟頓氏症候群與 KLK5 調節子 SPINK5 中之功能喪失突變相關。評價影響 SPINK5 之 mRNA 含量的 SNP 之 GTEx 資料庫。SNP rs1363727 處之最強命中與替代等位基因攜帶者之 GTEx 資料庫中之顯著較低之 SPINK5 mRNA 含量相關(10 個組織中 $P<1.2\times 10^{-8}$)。在低骨膜素性

氣喘群體中測試此 SNP，且其並未達到氣喘風險之統計學顯著性($P=0.063$ ； $OR=1.14$)，但與 KLK4/KLK5 基因座 SNP 相比具有相反之效應方向。此指示較低含量之 SPINK5 可增加發生氣喘之風險。SPINK5 之功能降低及 KLK5 之活性增加與來自內瑟頓氏症候群之發現一致。因此，遺傳學證據表明，在內瑟頓氏症候群背景之外，降低 KLK5 含量可對氣喘具有保護作用。

【0213】 KLK5 結合多肽含量在重度氣喘患者之支氣管肺泡灌洗液中升高，且與預測之 FEV1 呈負相關($p < 0.05$)，此支持 KLK5 可在支氣管阻塞及氣喘發病機理中起致病作用之假設。KLK5 在氣喘以及其他過敏性疾病中之調節尚不清楚。KLK5 與 2 型發炎生物標記(例如，骨膜素、FeNO 及血液嗜酸性白血球計數)之間無相關性。KLK5 主要由肺上皮表現。氣喘患者具有頻繁之損傷及上皮障壁喪失，其與涉及誘導之生長因子、修復處理及組織重塑之再生過程相關。重度氣喘中失調之上皮細胞活化、再生過程及組織重塑可歸因於氣喘患者肺隔室中之異常 KLK5 含量。

【0214】 SPINK5 經由直接結合至其催化活性位點係 KLK5 之天然可逆抑制劑。SPINK5 由許多黏膜組織表現，包括皮膚、肺、食管及胃腸道。在內瑟頓氏症候群中，SPINK5 缺乏導致 KLK5 活性增加、皮膚發炎及過敏性症狀。參見 Briot 等人，J Exp Med 206, 1135-1147 (2009)。發現 SPINK5 直接由發炎性細胞介素、特定而言介白素 IL-13 誘導(數據未顯示)。與此觀察一致，與高 Th2 性氣喘患者相比，低 Th2 性氣喘患者中 SPINK5 轉錄物減少。主要由 SPINK5 表現降低驅動之 KLK5/SPINK5 之較高比率可促成低 Th2 性氣喘患者中之氣喘病理學。

【0215】 產生 KLK5 之重組形式，且發現少量之酶活性 KLK5 強效誘導嗜中性白血球流入至支氣管肺泡灌洗及肺組織中。由於無催化活性之 KLK5 (或熱不活化之 KLK5，數據未顯示)，嗜中性白血球不會外滲至動物肺中，故催化活性對於嗜中性白血球募集至關重要。此與 KLK5 轉基因小鼠在皮膚病灶中具有大

量嗜中性白血球浸潤之報導一致。參見 Furio 等人，J Exp Med 211, 499-513 (2014)。KLK5 誘導發炎細胞介素、趨化介素及黏附分子之上皮表現。特定而言，IL-8 係關鍵嗜中性白血球趨化性細胞介素。ICAM-1 經由其與 CD11b/CD18 整聯蛋白之相互作用係嗜中性白血球黏附之關鍵黏附分子。TNF- α 誘導血管滲漏且促進細胞外滲至周圍組織中。由 KLK5 誘導之發炎性細胞介素、趨化介素及黏附分子可共同作用以促進嗜中性白血球流入至局部組織中。發炎性趨化介素/細胞介素之快速誘導指示可存在一或多種細胞表面受體以調介細胞信號傳導事件。

【0216】 總之，本文提供顯示 KLK5 基因座處之 SNP 與氣喘風險之遺傳關聯之數據，該氣喘風險係特定於低骨膜素或低 2 型發炎氣喘病例。此外，所呈現之數據描述 KLK5 對氣喘症狀及亞表型之效應。本文中所呈現之結果表明，降低 KLK5 活性可對氣喘具有保護性效應。

【0217】 SEQ ID NO:1 >splQ9Y337|KLK5_人類血管舒緩素-5 OS=智人 GN=KLK5 PE=1 SV=2，(全長 KLK5，包括加下劃線之信號肽胺基酸 1-22)
MATARPPWMWVLCALITALLGVTEHVLANNDVSCDHPSNTVPSGSNQDLGAGAGEDAR
SDDSSSRIINGSDCDMHTQPWQAALLLRPNQLYCGAVLVHPQWLLTAAHCRKKVFRVRLG
HYSLSPVYESGQQMFQGVKSIPHPGYSHPGHSNLMMLIKLNRRI RPTKDVRPINVSSHCP
SA GTKCLVSGWGTTKSPQVHF PKVLQCLNISVLSQKRCEDAYPRQIDDTMFCAGDKAGR
DSC QGDSGGPVVCNGSLQGLVSWGDYPCARPNRPGVYTNLCKFTKWIQETIQANS

【0218】 SEQ ID NO:2 KLK5 之成熟形式(減去信號肽胺基酸 1-22)
VTEHVLANNDVSCDHPSNTVPSGSNQDLGAGAGEDARSDDSSSRIINGSDCDMHTQPWQA
ALLLRPNQLYCGAVLVHPQWLLTAAHCRKKVFRVRLGHYSLSPVYESGQQMFQGVKSIP
HPGYSHPGHSNLMMLIKLNRRI RPTKDVRPINVSSHCP
SAGTKCLVSGWGTTKSPQVHF PKVLQCLNISVLSQKRCEDAYPRQIDDTMFCAGDKAGR
DSC QGDSGGPVVCNGSLQGLVSWGDYPCARPNRPGVYTNLCKFTKWIQETIQANS

【0219】 SEQ ID NO:3 |KLK5_人類血管舒緩素-5 (包括加下劃線之信號肽胺基酸 1-22 在內之全長 KLK5 之 N153D 變異體)

MATARPPWMWVLCALITALLLGVTEHVLANNDVSCDHPSNTVPSGSNQDLGAGAGEDAR
SDDSSSRIINGSDCDMHTQPWQAALLLRPNQLYCGAVLVHPQWLLTAAHCRKKVFRVRLG
HYSLSPVYESGQQMFQGVKSIPHPGYSHPGHSNDLMLIKLNRIRPTKDVRPINVSSHCP
SA
GTKCLVSGWGTTKSPQVHFVKVLQCLNISVLSQKRCEDAYPRQIDDTMFCAGDKAGR
DSC
QGDSGGPVVCNGSLQGLVSWGDYPCARPNRPGVYTNLCKFTKWIQETIQANS

【0220】 SEQ ID NO:4 KLK5 之成熟形式(N153D 變異體，減去信號肽胺基
酸 1-22)

VTEHVLANNDVSCDHPSNTVPSGSNQDLGAGAGEDARSDDSSSRIINGSDCDMHTQPWQA
ALLLRPNQLYCGAVLVHPQWLLTAAHCRKKVFRVRLGHYSLSPVYESGQQMFQGVKSIPH
PGYSHPGHSNDLMLIKLNRIRPTKDVRPINVSSHCP
SAGTKCLVSGWGTTKSPQVHFVKVL
QCLNISVLSQKRCEDAYPRQIDDTMFCAGDKAGR
DSCQGDSGGPVVCNGSLQGLVSWGD
YPCARPNRPGVYTNLCKFTKWIQETIQANS

【0221】 SEQ ID NO:5 IKLK5_人類血管舒緩素-5 (包括加下劃線之信號肽
胺基酸 1-22 在內之全長 KLK5 之 G55R 變異體)

MATARPPWMWVLCALITALLLGVTEHVLANNDVSCDHPSNTVPSGSNQDLGAGARE
DARSDDSSSRIINGSDCDMHTQPWQAALLLRPNQLYCGAVLVHPQWLLTAAHCRKKVFRVRLG
HYSLSPVYESGQQMFQGVKSIPHPGYSHPGHSNNLMLIKLNRIRPTKDVRPINVSSHCP
SA
GTKCLVSGWGTTKSPQVHFVKVLQCLNISVLSQKRCEDAYPRQIDDTMFCAGDKAGR
DSC
QGDSGGPVVCNGSLQGLVSWGDYPCARPNRPGVYTNLCKFTKWIQETIQANS

【0222】 SEQ ID NO:6 KLK5 之成熟形式(G55R 變異體，減去信號肽胺基
酸 1-22)

VTEHVLANNDVSCDHPSNTVPSGSNQDLGAGARE
DARSDDSSSRIINGSDCDMHTQPWQA
ALLLRPNQLYCGAVLVHPQWLLTAAHCRKKVFRVRLGHYSLSPVYESGQQMFQGVKSIPH
PGYSHPGHSNNLMLIKLNRIRPTKDVRPINVSSHCP
SAGTKCLVSGWGTTKSPQVHFVKVL
QCLNISVLSQKRCEDAYPRQIDDTMFCAGDKAGR
DSCQGDSGGPVVCNGSLQGLVSWGD
YPCARPNRPGVYTNLCKFTKWIQETIQANS

【0223】 SEQ ID NO:7 IKLK5_人類血管舒緩素-5 (包括加下劃線之信號肽
胺基酸 1-22 在內之全長 KLK5 之 G55R, N153D 變異體)

MATARPPWMWVLCALITALLLGVTEHVLANNDVSCDHPSNTVPSGSNQDLGAGAREDAR
SDDSSSRINGSDCDMHTQPWQAALLLRPNQLYCGAVLVHPQWLLTAAHCRKKVFRVRLG
HYSLSPVYESGQQMFQGVKSIPHPGYSHPGHSNDLMLIKLNRRI RPTKDVRPINVSSHCP
SA
GTKCLVSGWGTTKSPQVHFPKVLQCLNISVLSQKRCEDAYPRQIDDTMFCAGDKAGR
DSC
QGDSSGGPVVCNGSLQGLVSWGDYPCARPNRPGVYTNLCKFTKWIQETIQANS

【0224】 SEQ ID NO:8 KLK5 之成熟形式(G55R, N153D 變異體，減去信號肽

胺基酸 1-22)

VTEHVLANNDVSCDHPSNTVPSGSNQDLGAGAREDARSDDSSSRINGSDCDMHTQPWQA
ALLLRPNQLYCGAVLVHPQWLLTAAHCRKKVFRVRLGHYSLSPVYESGQQMFQGVKSIP
HPGYSHPGHSNDLMLIKLNRRI RPTKDVRPINVSSHCP
SAGTKCLVSGWGTTKSPQVHFPKVL
QCLNISVLSQKRCEDAYPRQIDDTMFCAGDKAGR
DSCQGDSSGGPVVCNGSLQGLVSWGD
YPCARPNRPGVYTNLCKFTKWIQETIQANS

【0225】 SEQ ID NO:9 >splQ9NQ38ISK5_人類絲胺酸蛋白酶抑制劑 5 型 Kazal

OS=智人 GN=SPINK5 PE=1 SV=2 (全長人類 SPINK5，包括加下劃線之信號肽胺

基酸 1-22)

MKIATVSVLLPLALCLIQDAASKNEDQEMCHEFQAFMKNGKLFCPQDKKFFQSLDGMFI
NKCATCKMILEKEAKSQKRARHLARAPKATAPTELNCDDFKKGERDGD
FICPDYYEAVCG
TDGKTYDNR
CALCAENAKTGSQIGVKSEGECKSSNPEQDVCSAFRPFVRD
GRLGCTREND
PVLGPDGKTHGNKCAMCAELFLKEAENAKREGETRIRNAEKDFC
KEYEKQVRNGRLFCT
RESDPVRGPDGRMHGNKCALCAEIFKQRFSEENSKTDQNLGKAEEKTKVKREIVKLC
SQY
QNQAKNGILFCTRENDPIRGPDGKMHGNLCSMCQAYFQAENEKKKAEARARNKRES
GK
A

TSYAELCSEYRKLVRNGKLA|CTRENDPIQGPDGKVHGNTCSMCEVFFQAEKKKKKEGK
SRNKRQSKSTASFEELCSEYRKS SRKNGRLFCTRENDPIQGPDGKMHGNTCSMCEAFFQQE
ERARAKAKREA AKEICSEFRDQVRNGTLICTREHNPVRGPDGKMHGNTCAMCASVFKLEE
EEKKNDKEEK GKVEAEKV KREAVQELCSEYRHYVRNGRLPCTRENDPIEGLDGKIHGNTC
SMCEAFFQQEAKEKERAEPRAKVKREAEKETCDEFRRLLQNGKLFCTRENDPVRGPDGKT
HGNKCAMCKAVFQKENEERKRKEEEDQRNAAGHGSSGGGGGNTQDECAEYREQMKNGR
LS
CTRES DPVRDADGKSYNNQCTMCKAKLEREAERKNEYSRSRNGTGSESGKDTCDEFRSQ
MKN GKLICTRES DPVRGPDGKTHGNKCTMCKEKLEREA AEKKKKKEDEDRSNTGERSNTG
E
RSNDKEDLCREFRSMQRNGKLICTREN NPVRGPY GKM HINKCAMCQSIFDREANERKKKD
EEKSSSKPSNNAKDECSEFRNYIRNNELICPRENDPVHGADGKFYTNKCYMCRAVFLTEA
LERAKLQEKPSHV RASQEEDSPDSFSSLDSEMCKDYRVLPRIGYLCPKDLKPVC GDDGQT
YNNPCMLCHENLIRQTNTHIRSTGKCEESSTPGTTAASMPPSDE

【0226】 SEQ ID NO:10 人類 SPINK5 之成熟形式(減去信號肽胺基酸 1-22)
KNEDQEMCHEFQAFMKNGKLFQPDKKFFQSLDGMFINKCATCKMILEKEAKSQKRARH
LARAPKATAPTELNCDDFKKGERDGFICPDYYEAVCGTDGKTYDNRCALCAENAKTGSQ
IGVKSEGECKSSNPEQDVCSAFRPFVRDGR LGCTRENDPVLGPDGKTHGNKCAMCAELFL
KEAENAKREGETRIRRNAEKDFCKEYKQVRNGRLFCTRES DPVRGPDGRMHGNTKCALC
AEIFKQRFSEENSKTDQNLGKAEEKTKVKREIVKLCSQYQNQAKNGILFCTRENDPIRGPDG
KMHGNTCSMCQAYFQAENEEKKKA EARARNKRESGKATSYAELCSEYRKLVRNGKLACT
RENDPIQGPDGKVHGNTCSMCEVFFQAEKKKKKEGKSRNKRQSKSTASFEELCSEYRKS
RKNGRLFCTRENDPIQGPDGKMHGNTCSMCEAFFQQE
ERARAKAKREA AKEICSEFRDQVRNGTLICTREHNPVRGPDGKMHGNTCAMCASVFKLEE
EEKKNDKEEK GKVEAEKV KREAVQELCSEYRHYVRNGRLPCTRENDPIEGLDGKIHGNTC
SMCEAFFQQEAKEKERAEPRAKVKREAEKETCDEFRRLLQNGKLFCTRENDPVRGPDGKT
HGNKCAMCKAVFQKENEERKRKEEEDQRNAAGHGSSGGGGGNTQDECAEYREQMKNGR
LSCTRES DPVRDADGKSYNNQCTMCKAKLEREAERKNEYSRSRNGTGSESGKDTCDEFR
SQMKN GKLICTRES DPVRGPDGKTHGNKCTMCKEKLEREA AEKKKKKEDEDRSNTGERSNT
GERSNDKEDLCREFRSMQRNGKLICTREN NPVRGPY GKM HINKCAMCQSIFDREANERKK
KDEEKSSSKPSNNAKDECSEFRNYIRNNELICPRENDPVHGADGKFYTNKCYMCRAVFLTE
ALERAKLQEKPSHV RASQEEDSPDSFSSLDSEMCKDYRVLPRIGYLCPKDLKPVC GDDGQT
YNNPCMLCHENLIRQTNTHIRSTGKCEESSTPGTTAASMPPSDE

【0227】 SEQ ID NO:11 >tr|Q5K5D4|Q5K5D4_小鼠 Spink5 蛋白質 OS=家鼯鼠

(Mus musculus) GN=Spink5 PE=2 SV=1 (全長小鼠 SPINK5，包括加下劃線之信號
肽胺基酸 1-22)

MKTATVPMLLTLAFYLTQDAAGEKGNQDPCMKFQAQMKNGLTTCPKGNNSSQSLNDIIFQ
SECILCKRALEQGAPTKIMNVKVL SRANRATDPAKLNCESFKQRRKDGD FICPSDTSSVCGT
DGKTYRGRCELCAENAKSQNHVDVKSEGE CGSSHLETD MCSDFRANVQDGRLGCTRES D
PILGPDGRTHGNRCAMCAELFLKEAKENATRNR SRIRDAEKELCKEFENQVRNGRLFCT
RES DPIRGP DGKMHGNKCALCAE IFMRQFTEEKGKAEKNQKDAEERAKAKMEIQKRCSEF
QDRARNGTLFCTRENDPIRGLDGKTHGNLCSMCQAFFKTEAE EKKA EAGSRNRRGSE ESET
YAKLCDEYRKARKNGQLYCTRENAPIRGP DGKIHGNTCSMCQAFFIQEDKARAKVKREAA
KEMCSEFRNQARNGMLMCTRENDPVVGP DGK RHSNKCAMCASVFLLEEEEEKKKDDKTE
KVDAGKAKKEAVQELCRKYHTQLRNGPLRCTR RNNPIEGLDGKMYKNACFCMCWAFFQQ
EAKKSGAGFRPKVKREVKVDCSEYLALSKRGEIFCTRENDPVRGP DGKTHGNKCAMCKA
VFKKENEERKRKEGENQRITSGESSSGGNPKAKDECAQYRESMKH GQLSCTRES DPVRGV
DGEHYNNKCV MCKELLQKEMEETNKNSASRSNGTGSATGKDVCDQFRSQMKNGKLLCT
RES DPTRGP DGAMHGNKCAMCKERLEKEAAEKKKKEDEEKRNTETNKS DKEDKCHEYRS
MQLDGRLICTRENDPVRDADGKMHVNKCAMCQMMFERE ANERKMREENSR SQPTNEAK
DQCGEVHNSVEDAKPRPARSSLPSIRGISKDECSEFQNL MKNEKLTCPETDDPVRGADGTF
YQNKCHMCRDVLKNEAMKRSGLQE KSSDIRSTKEGDPEFSSSSRDS DMCKNYRILPRMGY
LCPKNLNPVCGDDGQTYSNPCMLCHENLMRQTNTRIHNP GACEESSNLKTVSTGTPASEK
MMQ

【0228】 SEQ ID NO:12 小鼠 SPINK5 之成熟形式(減去信號肽胺基酸 1-22)
EKG NQDPCMKFQAQMKNGLTTCPKGNNSSQSLNDIIFQSECILCKRALEQGAPTKIMNVKV
LSRANRATDPAKLNCESFKQRRKDGD FICPSDTSSVCGTDGKTYRGRCELCAENAKSQNH
VDVKSEGE CGSSHLETD MCSDFRANVQDGRLGCTRES DPILGPDGRTHGNRCAMCAELFL
KEAKENATRNR SRIRDAEKELCKEFENQVRNGRLFCTRES DPIRGP DGKMHGNKCALC
AEIFMRQFTEEKGKAEKNQKDAEERAKAKMEIQKRCSEFQDRARNGTLFCTRENDPIRGLD
GKTHGNLCSMCQAFFKTEAE EKKA EAGSRNRRGSE ESETYAKLCDEYRKARKNGQLYCT
RENAPIRGP DGKIHGNTCSMCQAFFIQEDKARAKVKREAAKEMCSEFRNQARNGMLMCTR

ENDPVV'GPDGKRHSNKCAMCASVFLLEEEKKKDDKTEKVDAGKAKKEAVQELCRKYH
TQLRNGPLRCTRNNPIEGLDGKMYKNACFMCWAFFQQEAKKSGAGFRPKVKREVKVDC
SEYLALSKRGEIFCTRENDPVRGPDGKTHGNKCAMCKAVFKKENEERKRKEGENQRITSG
ESSSGGNPKAKDECAQYRESMKHGQLSCTRESDPVRGVDGEHYNNKCVMKELLQKEME
ETNKNASRSNGTGSATGKDVCQFRSQMKNGKLLCTRESDPTRGPDGAMHGNNKCAMCK
ERLEKEAAEKKKKKEDEEKRNTETNKSDKEDKCHEYRSMQLDGRLLCTRENDPVRDADGK
MHVNNKCAMCQMMFEREANERKMREENSRSQPTNEAKDQCGEVHNSVEDAKPRPARSSLP
SIRGISKDECSEFQNLMKNEKLTCPETDDPVRGADGTFYQNKCHMCRDVLKNEAMKRSGL
QEKSSDIRSTKEGDPEFSSSSRDSMCKNYRILPRMGYLCPKNLNPVCGDDGQTYSNPCML
CHENLMRQTNTRIHNPGACEESSNLKTVSTGTPASEKMMQ

【0229】 SEQ ID NO:13 (Hu SPINK5 (E490-Y757 , Kazal 結構域 D8-D11 ; 加

雙下劃線：連接子；加下劃線：Fc 人類 IgG1 E356.M358)

EAAKEICSEFRDQVRNGTLICTREHNPVRGPDGKMHGNNKCAMCASVFKLEEEKKNDKEE
KGKVEAEKVKREAVQELCSEYRHYVRNGRLPCTRENDPIEGLDGKIHGNTCSMCEAFFQQ
EAKEKERAEPRAKVKREAEKETCDEFRRLLQNGKLFCTRENDPVRGPDGKTHGNKCAMC
KAVFQKENEERKRKEEEDQRNAAGHGSSGGGGGNTQDECAEYREQMKNGRLSCTRESDP
VRDADGKSYNNQCTMCKAKLREAEERKNEYGNSVTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0230】 SEQ ID NO:14 ; (Hu SPINK5 (E490-Y757 , Kazal 結構域 D8-D11 ; 加

雙下劃線：連接子；加下劃線：Fc 人類 IgG4.S228P)

EAAKEICSEFRDQVRNGTLICTREHNPVRGPDGKMHGNNKCAMCASVFKLEEEKKNDKEE
KGKVEAEKVKREAVQELCSEYRHYVRNGRLPCTRENDPIEGLDGKIHGNTCSMCEAFFQQ
EAKEKERAEPRAKVKREAEKETCDEFRRLLQNGKLFCTRENDPVRGPDGKTHGNKCAMC
KAVFQKENEERKRKEEEDQRNAAGHGSSGGGGGNTQDECAEYREQMKNGRLSCTRESDP
VRDADGKSYNNQCTMCKAKLREAEERKNEYGNSVTISKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVFQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSLGLK

【0231】 SEQ ID NO:15 (Hu SPINK5 (E490-Y757 , Kazal 結構域 D8-D11)

EAAKEICSEFRDQVRNGTLICTREHNPVRGPDGKMHGKNCAMCASVFKLEEEEEKKNDKEE
KKGVEAEKVKREAVQELCSEYRHYVRNGRLPCTRENDPIEGLDGKIHGNTCSMCEAFFQQ
EAKEKERAEPRAKVKREAEKETCDEFRRLLQNGKLFCTRENDPVRGPDGKTHGKNCAMC
KAVFQKENEERKRKEEEDQRNAAGHGSSGGGGGNTQDECAEYREQMKNRGLSCTRES DP
VRDADGKSYNNQCTMCKAKLEREAERKNEY

【0232】 SEQ ID NO:16 (Mu SPINK5 (E421-A695)-Fc, (Kazal 結構域 D6-D9 ;

加雙下劃線：連接子；加下劃線：Fc 小鼠 IgG2a)

EAAKEMCSEFRNQARNGLMCTRENDPVVGPDGKRHSNKCAMCASVFLLEEEEEKKKDD
KTEKVDAGKAKKEAVQELCRKYHTQLRNGPLRCTRRNNPIEGLDGKMYKNACFCMCWAF
FQQEAKKSGAGFRPKVKREV KVDCEYLALSKRGEIFCTRENDPVRGPDGKTHGKNCAMC
KAVFKKENEERKRKEGENQRITSGESSGGNPKAKDECAQYRESMKHGQLSCTRES DPVR
GVDGEHYNNKCV MCKELLQKEMEETNKN SASRSNGTGSAGNSRAQVTDKKIEPRGPTIKP
CPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHT
AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWM SGKEFKCKVNNKDL PAPIERTISKPKGSVRAPQ
VYVLPPEEEMTKKQVTLTCMV TDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM
YSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

【0233】 SEQ ID NO:17 (Mu SPINK5 (E421-A695 , Kazal 結構域 D6-D9)

EAAKEMCSEFRNQARNGLMCTRENDPVVGPDGKRHSNKCAMCASVFLLEEEEEKKKDD
KTEKVDAGKAKKEAVQELCRKYHTQLRNGPLRCTRRNNPIEGLDGKMYKNACFCMCWAF
FQQEAKKSGAGFRPKVKREV KVDCEYLALSKRGEIFCTRENDPVRGPDGKTHGKNCAMC
KAVFKKENEERKRKEGENQRITSGESSGGNPKAKDECAQYRESMKHGQLSCTRES DPVR
GVDGEHYNNKCV MCKELLQKEMEETNKN SASRSNGTGSA

【0234】 SEQ ID NO:18 (Hu SPINK5 (R291-R352 ; Kazal 結構域 D5 ; 加雙下

劃線：連接子；加下劃線：Fc 人類 IgG1 E356.M358)

REIVKLCSQYQNQA KNGILFCTRENDPIRGPDGKMHGNLCSMCQAYTQAENEEKKKAEAR
ARGNSVTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDILMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTP
PVLDS DGSFFLYSKLTV DKS R WQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0235】 SEQ ID NO:19 (Hu SPINK5 (R291-R352 ; Kazal 結構域 D5 ; 加雙下

劃線：連接子；加下劃線：Fc 人類 IgG4.S228P)

REIVKLCSQYQNQAKNGILFCTRENDPIRGPDKMHGNCSCMCQAYFQAENEEKKKAEAR
ARGNSVTSKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

【0236】 SEQ ID NO:20 (Hu SPINK5 (R291-R352 ; Kazal 結構域 D5)

REIVKLCSQYQNQAKNGILFCTRENDPIRGPDKMHGNCSCMCQAYFQAENEEKKKAEAR
 AR

【0237】 SEQ ID NO:21 (Mu SPINK5 (M293-R355 ; Kazal 結構域 D4 ; 加雙下

劃線：連接子；加下劃線：Fc 小鼠 IgG2a)

MEIQKRCSEFQDRARNGTLFCTRENDPIRGLDGKTHGNLCSMCQAFFKTEAEEKKAEAGSR
NRGNSRAQVTDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVV
 DVSEDDPDVQISWVFNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKV
 NNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNN
 GKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFRT
 PGK

【0238】 SEQ ID NO:22 (Mu SPINK5 (M293-R355 ; Kazal 結構域 D4)

MEIQKRCSEFQDRARNGTLFCTRENDPIRGLDGKTHGNLCSMCQAFFKTEAEEKKAEAGSR
 NR

【0239】 SEQ ID NO:23 >spQ5DT21IISK9_人類絲胺酸蛋白酶抑制劑 9 型

Kazal OS=智人 GN=SPINK9 PE=1 SV=1 (全長人類 SPINK9，包括加下劃線之信號肽氨基酸 1-19)

MRATAIVLLALTLATMFSIECAKQTKQMVDCSHYKKLPQGQRFCHHMYDPICGSDGKT
 YKNDCCFFCSKVKKTDGTLKFVHFGKC

【0240】 SEQ ID NO:24 人類 SPINK9 之成熟形式(減去信號肽氨基酸 1-19)

IECAKQTKQMVDCHSHYKKLPQGQRFCHHMYDPICGSDGKTYKNDCCFFCSKVKKTDGTL
 KFHVHFGKC

【0241】 SEQ ID NO:25 (Hu SPINK9 (I20-C86.C22S.H48R.M49E ; 加雙下劃

線：連接子；加下劃線：Fc 人類 IgG1 E356.M358)

IESAKQTKQMVD^{CSHYKKLPPGQQR}FCHREYDPICGSDGKTYKNDCFFCSKVKKTDGTLK
FVHFGKCCGNSVTDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0242】 SEQ ID NO:26 (Hu SPINK9 (I20-C86.C22S.H48R.M49E)；加雙下劃

線：連接子；加下劃線：Fc 人類 IgG4.S228P)

IESAKQTKQMVD^{CSHYKKLPPGQQR}FCHREYDPICGSDGKTYKNDCFFCSKVKKTDGTLK
FVHFGKCCGNSVTSKYGGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQE
DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKG
LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

【0243】 SEQ ID NO:27 (Hu SPINK9 (I20-C86.C22S.H48R.M49E)；加雙下劃

線：連接子；加下劃線：Fc 小鼠 IgG2a)

IESAKQTKQMVD^{CSHYKKLPPGQQR}FCHREYDPICGSDGKTYKNDCFFCSKVKKTDGT
LKFFVHFGKCCGNSRAQVTDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSP
IVTCVVVDVSEDDPDVQISWFNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGK
EFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTD^{FMPEDIY}
VEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVHEGLHNHHT
TKSFSRTPGK

【0244】 SEQ ID NO:28 (Hu SPINK9 (I20-C86.C22S.H48R.M49E))

IESAKQTKQMVD^{CSHYKKLPPGQQR}FCHREYDPICGSDGKTYKNDCFFCSKVKKTDGTLK
FVHFGKC

【符號說明】

無

【序列表】

〈110〉 美商建南德克公司

〈120〉 KLK5 拮抗劑用於治療疾病之用途

<130> P34247-W0

<140>

<141>

<150> 62/488, 515

<151> 2017-04-21

<160> 31

<170> PatentIn version 3.5

 $\langle 210 \rangle$ 1

<211> 293

<212> PRT

〈213〉 智人

 $\langle 400 \rangle$ 1

Met Ala Thr Ala Arg Pro Pro Trp Met Trp Val Leu Cys Ala Leu Ile
1 5 10 15

Thr Ala Leu Leu Leu Gly Val Thr Glu His Val Leu Ala Asn Asn Asp
20 25 30

Val Ser Cys Asp His Pro Ser Asn Thr Val Pro Ser Gly Ser Asn Gln
35 40 45

Asp Leu Gly Ala Gly Ala Gly Glu Asp Ala Arg Ser Asp Asp Ser Ser
50 55 60

Ser Arg Ile Ile Asn Gly Ser Asp Cys Asp Met His Thr Gln Pro Trp
65 70 75 80

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

Gly Leu Val Ser Trp Gly Asp Tyr Pro Cys Ala Arg Pro Asn Arg Pro
260 265 270

Gly Val Tyr Thr Asn Leu Cys Lys Phe Thr Lys Trp Ile Gln Glu Thr
275 280 285

Ile Gln Ala Asn Ser
290

<210> 2
<211> 271
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2
Val Thr Glu His Val Leu Ala Asn Asn Asp Val Ser Cys Asp His Pro
1 5 10 15

Ser Asn Thr Val Pro Ser Gly Ser Asn Gln Asp Leu Gly Ala Gly Ala
20 25 30

Gly Glu Asp Ala Arg Ser Asp Asp Ser Ser Ser Arg Ile Ile Asn Gly
35 40 45

Ser Asp Cys Asp Met His Thr Gln Pro Trp Gln Ala Ala Leu Leu Leu
50 55 60

Arg Pro Asn Gln Leu Tyr Cys Gly Ala Val Leu Val His Pro Gln Trp
65 70 75 80

Leu Leu Thr Ala Ala His Cys Arg Lys Lys Val Phe Arg Val Arg Leu
85 90 95

Gly His Tyr Ser Leu Ser Pro Val Tyr Glu Ser Gly Gln Gln Met Phe
100 105 110

Gln Gly Val Lys Ser Ile Pro His Pro Gly Tyr Ser His Pro Gly His
115 120 125

Ser Asn Asn Leu Met Leu Ile Lys Leu Asn Arg Arg Ile Arg Pro Thr
130 135 140

Lys Asp Val Arg Pro Ile Asn Val Ser Ser His Cys Pro Ser Ala Gly
145 150 155 160

Thr Lys Cys Leu Val Ser Gly Trp Gly Thr Thr Lys Ser Pro Gln Val
165 170 175

His Phe Pro Lys Val Leu Gln Cys Leu Asn Ile Ser Val Leu Ser Gln
180 185 190

Lys Arg Cys Glu Asp Ala Tyr Pro Arg Gln Ile Asp Asp Thr Met Phe
195 200 205

Cys Ala Gly Asp Lys Ala Gly Arg Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly
210 215 220

Gly Pro Val Val Cys Asn Gly Ser Leu Gln Gly Leu Val Ser Trp Gly
225 230 235 240

Asp Tyr Pro Cys Ala Arg Pro Asn Arg Pro Gly Val Tyr Thr Asn Leu
245 250 255

Cys Lys Phe Thr Lys Trp Ile Gln Glu Thr Ile Gln Ala Asn Ser
260 265 270

<210> 3
<211> 293

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成
多肽"

<400> 3
Met Ala Thr Ala Arg Pro Pro Trp Met Trp Val Leu Cys Ala Leu Ile
1 5 10 15

Thr Ala Leu Leu Leu Gly Val Thr Glu His Val Leu Ala Asn Asn Asp
20 25 30

Val Ser Cys Asp His Pro Ser Asn Thr Val Pro Ser Gly Ser Asn Gln
35 40 45

Asp Leu Gly Ala Gly Ala Gly Glu Asp Ala Arg Ser Asp Asp Ser Ser
50 55 60

Ser Arg Ile Ile Asn Gly Ser Asp Cys Asp Met His Thr Gln Pro Trp
65 70 75 80

Gln Ala Ala Leu Leu Leu Arg Pro Asn Gln Leu Tyr Cys Gly Ala Val
85 90 95

Leu Val His Pro Gln Trp Leu Leu Thr Ala Ala His Cys Arg Lys Lys
100 105 110

Val Phe Arg Val Arg Leu Gly His Tyr Ser Leu Ser Pro Val Tyr Glu
115 120 125

Ser Gly Gln Gln Met Phe Gln Gly Val Lys Ser Ile Pro His Pro Gly
130 135 140

Tyr Ser His Pro Gly His Ser Asn Asp Leu Met Leu Ile Lys Leu Asn
145 150 155 160

Arg Arg Ile Arg Pro Thr Lys Asp Val Arg Pro Ile Asn Val Ser Ser
165 170 175

His Cys Pro Ser Ala Gly Thr Lys Cys Leu Val Ser Gly Trp Gly Thr
180 185 190

Thr Lys Ser Pro Gln Val His Phe Pro Lys Val Leu Gln Cys Leu Asn
195 200 205

Ile Ser Val Leu Ser Gln Lys Arg Cys Glu Asp Ala Tyr Pro Arg Gln
210 215 220

Ile Asp Asp Thr Met Phe Cys Ala Gly Asp Lys Ala Gly Arg Asp Ser
225 230 235 240

Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Val Val Cys Asn Gly Ser Leu Gln
245 250 255

Gly Leu Val Ser Trp Gly Asp Tyr Pro Cys Ala Arg Pro Asn Arg Pro
260 265 270

Gly Val Tyr Thr Asn Leu Cys Lys Phe Thr Lys Trp Ile Gln Glu Thr
275 280 285

Ile Gln Ala Asn Ser
290

<210> 4
<211> 271
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註釋="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 4

Val Thr Glu His Val Leu Ala Asn Asn Asp Val Ser Cys Asp His Pro
1 5 10 15

Ser Asn Thr Val Pro Ser Gly Ser Asn Gln Asp Leu Gly Ala Gly Ala
20 25 30

Gly Glu Asp Ala Arg Ser Asp Asp Ser Ser Ser Arg Ile Ile Asn Gly
35 40 45

Ser Asp Cys Asp Met His Thr Gln Pro Trp Gln Ala Ala Leu Leu Leu
50 55 60

Arg Pro Asn Gln Leu Tyr Cys Gly Ala Val Leu Val His Pro Gln Trp
65 70 75 80

Leu Leu Thr Ala Ala His Cys Arg Lys Lys Val Phe Arg Val Arg Leu
85 90 95

Gly His Tyr Ser Leu Ser Pro Val Tyr Glu Ser Gly Gln Gln Met Phe
100 105 110

Gln Gly Val Lys Ser Ile Pro His Pro Gly Tyr Ser His Pro Gly His
115 120 125

Ser Asn Asp Leu Met Leu Ile Lys Leu Asn Arg Arg Ile Arg Pro Thr
130 135 140

Lys Asp Val Arg Pro Ile Asn Val Ser Ser His Cys Pro Ser Ala Gly

145150155160

Thr Lys Cys Leu Val Ser Gly Trp Gly Thr Thr Lys Ser Pro Gln Val

165170175

His Phe Pro Lys Val Leu Gln Cys Leu Asn Ile Ser Val Leu Ser Gln

180185190

Lys Arg Cys Glu Asp Ala Tyr Pro Arg Gln Ile Asp Asp Thr Met Phe

195200205

Cys Ala Gly Asp Lys Ala Gly Arg Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly

210215220

Gly Pro Val Val Cys Asn Gly Ser Leu Gln Gly Leu Val Ser Trp Gly

225230235240

Asp Tyr Pro Cys Ala Arg Pro Asn Arg Pro Gly Val Tyr Thr Asn Leu

245250255

Cys Lys Phe Thr Lys Trp Ile Gln Glu Thr Ile Gln Ala Asn Ser

260265270

<210> 5
<211> 293
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 5

Met Ala Thr Ala Arg Pro Pro Trp Met Trp Val Leu Cys Ala Leu Ile

151015

Thr Ala Leu Leu Leu Gly Val Thr Glu His Val Leu Ala Asn Asn Asp
20 25 30

Val Ser Cys Asp His Pro Ser Asn Thr Val Pro Ser Gly Ser Asn Gln
35 40 45

Asp Leu Gly Ala Gly Ala Arg Glu Asp Ala Arg Ser Asp Asp Ser Ser
50 55 60

Ser Arg Ile Ile Asn Gly Ser Asp Cys Asp Met His Thr Gln Pro Trp
65 70 75 80

Gln Ala Ala Leu Leu Leu Arg Pro Asn Gln Leu Tyr Cys Gly Ala Val
85 90 95

Leu Val His Pro Gln Trp Leu Leu Thr Ala Ala His Cys Arg Lys Lys
100 105 110

Val Phe Arg Val Arg Leu Gly His Tyr Ser Leu Ser Pro Val Tyr Glu
115 120 125

Ser Gly Gln Gln Met Phe Gln Gly Val Lys Ser Ile Pro His Pro Gly
130 135 140

Tyr Ser His Pro Gly His Ser Asn Asn Leu Met Leu Ile Lys Leu Asn
145 150 155 160

Arg Arg Ile Arg Pro Thr Lys Asp Val Arg Pro Ile Asn Val Ser Ser
165 170 175

His Cys Pro Ser Ala Gly Thr Lys Cys Leu Val Ser Gly Trp Gly Thr
180 185 190

Thr Lys Ser Pro Gln Val His Phe Pro Lys Val Leu Gln Cys Leu Asn
195 200 205

Ile Ser Val Leu Ser Gln Lys Arg Cys Glu Asp Ala Tyr Pro Arg Gln
210 215 220

Ile Asp Asp Thr Met Phe Cys Ala Gly Asp Lys Ala Gly Arg Asp Ser
225 230 235 240

Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Val Val Cys Asn Gly Ser Leu Gln
245 250 255

Gly Leu Val Ser Trp Gly Asp Tyr Pro Cys Ala Arg Pro Asn Arg Pro
260 265 270

Gly Val Tyr Thr Asn Leu Cys Lys Phe Thr Lys Trp Ile Gln Glu Thr
275 280 285

Ile Gln Ala Asn Ser
290

<210> 6
<211> 271
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 6
Val Thr Glu His Val Leu Ala Asn Asn Asp Val Ser Cys Asp His Pro
1 5 10 15

Ser Asn Thr Val Pro Ser Gly Ser Asn Gln Asp Leu Gly Ala Gly Ala

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

		195						200								205	
Cys	Ala	Gly	Asp	Lys	Ala	Gly	Arg	Asp	Ser	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Gly		
	210					215					220						
Gly	Pro	Val	Val	Cys	Asn	Gly	Ser	Leu	Gln	Gly	Leu	Val	Ser	Trp	Gly		
225					230					235					240		
Asp	Tyr	Pro	Cys	Ala	Arg	Pro	Asn	Arg	Pro	Gly	Val	Tyr	Thr	Asn	Leu		
				245					250					255			
Cys	Lys	Phe	Thr	Lys	Trp	Ile	Gln	Glu	Thr	Ile	Gln	Ala	Asn	Ser			
			260					265					270				
<210>	7																
<211>	293																
<212>	PRT																
<213>	人工序列																
<220>																	
<221>	來源																
<223>	/註釋=“人工序列之描述：合成多肽”																
<400>	7																
Met	Ala	Thr	Ala	Arg	Pro	Pro	Trp	Met	Trp	Val	Leu	Cys	Ala	Leu	Ile		
1				5				10						15			
Thr	Ala	Leu	Leu	Leu	Gly	Val	Thr	Glu	His	Val	Leu	Ala	Asn	Asn	Asp		
		20					25					30					
Val	Ser	Cys	Asp	His	Pro	Ser	Asn	Thr	Val	Pro	Ser	Gly	Ser	Asn	Gln		
	35						40					45					
Asp	Leu	Gly	Ala	Gly	Ala	Arg	Glu	Asp	Ala	Arg	Ser	Asp	Asp	Ser	Ser		
50					55						60						

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

Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Val Val Cys Asn Gly Ser Leu Gln
245 250 255

Gly Leu Val Ser Trp Gly Asp Tyr Pro Cys Ala Arg Pro Asn Arg Pro
260 265 270

Gly Val Tyr Thr Asn Leu Cys Lys Phe Thr Lys Trp Ile Gln Glu Thr
275 280 285

Ile Gln Ala Asn Ser
290

<210> 8
<211> 271
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 8
Val Thr Glu His Val Leu Ala Asn Asn Asp Val Ser Cys Asp His Pro
1 5 10 15

Ser Asn Thr Val Pro Ser Gly Ser Asn Gln Asp Leu Gly Ala Gly Ala
20 25 30

Arg Glu Asp Ala Arg Ser Asp Asp Ser Ser Ser Arg Ile Ile Asn Gly
35 40 45

Ser Asp Cys Asp Met His Thr Gln Pro Trp Gln Ala Ala Leu Leu Leu
50 55 60

Arg Pro Asn Gln Leu Tyr Cys Gly Ala Val Leu Val His Pro Gln Trp

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

Cys Lys Phe Thr Lys Trp Ile Gln Glu Thr Ile Gln Ala Asn Ser

260265270

<210>9<211>1064<212>PRT<213>智人<400>9Met Lys Ile Ala Thr Val Ser Val Leu Leu Pro Leu Ala Leu Cys Leu15Ile Gln Asp Ala Ala Ser Lys Asn Glu Asp Gln Glu Met Cys His Glu202530Phe Gln Ala Phe Met Lys Asn Gly Lys Leu Phe Cys Pro Gln Asp Lys354045Lys Phe Phe Gln Ser Leu Asp Gly Ile Met Phe Ile Asn Lys Cys Ala505560Thr Cys Lys Met Ile Leu Glu Lys Glu Ala Lys Ser Gln Lys Arg Ala65707580Arg His Leu Ala Arg Ala Pro Lys Ala Thr Ala Pro Thr Glu Leu Asn859095Cys Asp Asp Phe Lys Lys Gly Glu Arg Asp Gly Asp Phe Ile Cys Pro100105110Asp Tyr Tyr Glu Ala Val Cys Gly Thr Asp Gly Lys Thr Tyr Asp Asn115120125

Arg	Cys	Ala	Leu	Cys	Ala	Glu	Asn	Ala	Lys	Thr	Gly	Ser	Gln	Ile	Gly
130						135					140				
Val	Lys	Ser	Glu	Gly	Glu	Cys	Lys	Ser	Ser	Asn	Pro	Glu	Gln	Asp	Val
145					150					155					160
Cys	Ser	Ala	Phe	Arg	Pro	Phe	Val	Arg	Asp	Gly	Arg	Leu	Gly	Cys	Thr
			165					170						175	
Arg	Glu	Asn	Asp	Pro	Val	Leu	Gly	Pro	Asp	Gly	Lys	Thr	His	Gly	Asn
		180						185					190		
Lys	Cys	Ala	Met	Cys	Ala	Glu	Leu	Phe	Leu	Lys	Glu	Ala	Glu	Asn	Ala
	195						200					205			
Lys	Arg	Glu	Gly	Glu	Thr	Arg	Ile	Arg	Arg	Asn	Ala	Glu	Lys	Asp	Phe
	210					215					220				
Cys	Lys	Glu	Tyr	Glu	Lys	Gln	Val	Arg	Asn	Gly	Arg	Leu	Phe	Cys	Thr
225					230					235					240
Arg	Glu	Ser	Asp	Pro	Val	Arg	Gly	Pro	Asp	Gly	Arg	Met	His	Gly	Asn
			245						250					255	
Lys	Cys	Ala	Leu	Cys	Ala	Glu	Ile	Phe	Lys	Gln	Arg	Phe	Ser	Glu	Glu
		260						265					270		
Asn	Ser	Lys	Thr	Asp	Gln	Asn	Leu	Gly	Lys	Ala	Glu	Glu	Lys	Thr	Lys
	275						280					285			
Val	Lys	Arg	Glu	Ile	Val	Lys	Leu	Cys	Ser	Gln	Tyr	Gln	Asn	Gln	Ala
	290					295					300				

Lys	Asn	Gly	Ile	Leu	Phe	Cys	Thr	Arg	Glu	Asn	Asp	Pro	Ile	Arg	Gly
305					310					315					320
Pro	Asp	Gly	Lys	Met	His	Gly	Asn	Leu	Cys	Ser	Met	Cys	Gln	Ala	Tyr
				325					330					335	
Phe	Gln	Ala	Glu	Asn	Glu	Glu	Lys	Lys	Lys	Ala	Glu	Ala	Arg	Ala	Arg
			340					345						350	
Asn	Lys	Arg	Glu	Ser	Gly	Lys	Ala	Thr	Ser	Tyr	Ala	Glu	Leu	Cys	Ser
		355					360					365			
Glu	Tyr	Arg	Lys	Leu	Val	Arg	Asn	Gly	Lys	Leu	Ala	Cys	Thr	Arg	Glu
	370					375					380				
Asn	Asp	Pro	Ile	Gln	Gly	Pro	Asp	Gly	Lys	Val	His	Gly	Asn	Thr	Cys
385					390					395					400
Ser	Met	Cys	Glu	Val	Phe	Phe	Gln	Ala	Glu	Glu	Glu	Glu	Lys	Lys	Lys
				405					410					415	
Lys	Glu	Gly	Lys	Ser	Arg	Asn	Lys	Arg	Gln	Ser	Lys	Ser	Thr	Ala	Ser
			420					425						430	
Phe	Glu	Glu	Leu	Cys	Ser	Glu	Tyr	Arg	Lys	Ser	Arg	Lys	Asn	Gly	Arg
		435						440					445		
Leu	Phe	Cys	Thr	Arg	Glu	Asn	Asp	Pro	Ile	Gln	Gly	Pro	Asp	Gly	Lys
	450					455					460				
Met	His	Gly	Asn	Thr	Cys	Ser	Met	Cys	Glu	Ala	Phe	Phe	Gln	Gln	Glu
465					470					475					480

Glu	Arg	Ala	Arg	Ala	Lys	Ala	Lys	Arg	Glu	Ala	Ala	Lys	Glu	Ile	Cys	
				485					490					495		
Ser	Glu	Phe	Arg	Asp	Gln	Val	Arg	Asn	Gly	Thr	Leu	Ile	Cys	Thr	Arg	
			500					505					510			
Glu	His	Asn	Pro	Val	Arg	Gly	Pro	Asp	Gly	Lys	Met	His	Gly	Asn	Lys	
		515					520					525				
Cys	Ala	Met	Cys	Ala	Ser	Val	Phe	Lys	Leu	Glu	Glu	Glu	Glu	Lys	Lys	
	530					535					540					
Asn	Asp	Lys	Glu	Glu	Lys	Gly	Lys	Val	Glu	Ala	Glu	Lys	Val	Lys	Arg	
545					550				555						560	
Glu	Ala	Val	Gln	Glu	Leu	Cys	Ser	Glu	Tyr	Arg	His	Tyr	Val	Arg	Asn	
			565						570					575		
Gly	Arg	Leu	Pro	Cys	Thr	Arg	Glu	Asn	Asp	Pro	Ile	Glu	Gly	Leu	Asp	
		580						585					590			
Gly	Lys	Ile	His	Gly	Asn	Thr	Cys	Ser	Met	Cys	Glu	Ala	Phe	Phe	Gln	
		595					600					605				
Gln	Glu	Ala	Lys	Glu	Lys	Glu	Arg	Ala	Glu	Pro	Arg	Ala	Lys	Val	Lys	
	610					615					620					
Arg	Glu	Ala	Glu	Lys	Glu	Thr	Cys	Asp	Glu	Phe	Arg	Arg	Leu	Leu	Gln	
625				630					635						640	
Asn	Gly	Lys	Leu	Phe	Cys	Thr	Arg	Glu	Asn	Asp	Pro	Val	Arg	Gly	Pro	
			645						650					655		

Asp	Gly	Lys	Thr	His	Gly	Asn	Lys	Cys	Ala	Met	Cys	Lys	Ala	Val	Phe	
			660					665						670		
Gln	Lys	Glu	Asn	Glu	Glu	Arg	Lys	Arg	Lys	Glu	Glu	Glu	Asp	Gln	Arg	
		675					680						685			
Asn	Ala	Ala	Gly	His	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Asn	Thr	Gln	
	690						695						700			
Asp	Glu	Cys	Ala	Glu	Tyr	Arg	Glu	Gln	Met	Lys	Asn	Gly	Arg	Leu	Ser	
705					710					715					720	
Cys	Thr	Arg	Glu	Ser	Asp	Pro	Val	Arg	Asp	Ala	Asp	Gly	Lys	Ser	Tyr	
				725					730					735		
Asn	Asn	Gln	Cys	Thr	Met	Cys	Lys	Ala	Lys	Leu	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu	
		740						745						750		
Arg	Lys	Asn	Glu	Tyr	Ser	Arg	Ser	Arg	Ser	Asn	Gly	Thr	Gly	Ser	Glu	
		755					760						765			
Ser	Gly	Lys	Asp	Thr	Cys	Asp	Glu	Phe	Arg	Ser	Gln	Met	Lys	Asn	Gly	
	770					775						780				
Lys	Leu	Ile	Cys	Thr	Arg	Glu	Ser	Asp	Pro	Val	Arg	Gly	Pro	Asp	Gly	
785					790					795					800	
Lys	Thr	His	Gly	Asn	Lys	Cys	Thr	Met	Cys	Lys	Glu	Lys	Leu	Glu	Arg	
				805					810					815		
Glu	Ala	Ala	Glu	Lys	Lys	Lys	Lys	Glu	Asp	Glu	Asp	Arg	Ser	Asn	Thr	
			820					825					830			

Gly Glu Arg Ser Asn Thr Gly Glu Arg Ser Asn Asp Lys Glu Asp Leu
835 840 845

Cys Arg Glu Phe Arg Ser Met Gln Arg Asn Gly Lys Leu Ile Cys Thr
850 855 860

Arg Glu Asn Asn Pro Val Arg Gly Pro Tyr Gly Lys Met His Ile Asn
865 870 875 880

Lys Cys Ala Met Cys Gln Ser Ile Phe Asp Arg Glu Ala Asn Glu Arg
885 890 895

Lys Lys Lys Asp Glu Glu Lys Ser Ser Ser Lys Pro Ser Asn Asn Ala
900 905 910

Lys Asp Glu Cys Ser Glu Phe Arg Asn Tyr Ile Arg Asn Asn Glu Leu
915 920 925

Ile Cys Pro Arg Glu Asn Asp Pro Val His Gly Ala Asp Gly Lys Phe
930 935 940

Tyr Thr Asn Lys Cys Tyr Met Cys Arg Ala Val Phe Leu Thr Glu Ala
945 950 955 960

Leu Glu Arg Ala Lys Leu Gln Glu Lys Pro Ser His Val Arg Ala Ser
965 970 975

Gln Glu Glu Asp Ser Pro Asp Ser Phe Ser Ser Leu Asp Ser Glu Met
980 985 990

Cys Lys Asp Tyr Arg Val Leu Pro Arg Ile Gly Tyr Leu Cys Pro Lys
995 1000 1005

Asp Leu Lys Pro Val Cys Gly Asp Asp Gly Gln Thr Tyr Asn Asn
1010 1015 1020

Pro Cys Met Leu Cys His Glu Asn Leu Ile Arg Gln Thr Asn Thr
1025 1030 1035

His Ile Arg Ser Thr Gly Lys Cys Glu Glu Ser Ser Thr Pro Gly
1040 1045 1050

Thr Thr Ala Ala Ser Met Pro Pro Ser Asp Glu
1055 1060

<210> 10
<211> 1042
<212> PRT
<213> 智人

<400> 10
Lys Asn Glu Asp Gln Glu Met Cys His Glu Phe Gln Ala Phe Met Lys
1 5 10 15

Asn Gly Lys Leu Phe Cys Pro Gln Asp Lys Lys Phe Phe Gln Ser Leu
20 25 30

Asp Gly Ile Met Phe Ile Asn Lys Cys Ala Thr Cys Lys Met Ile Leu
35 40 45

Glu Lys Glu Ala Lys Ser Gln Lys Arg Ala Arg His Leu Ala Arg Ala
50 55 60

Pro Lys Ala Thr Ala Pro Thr Glu Leu Asn Cys Asp Asp Phe Lys Lys
65 70 75 80

Gly Glu Arg Asp Gly Asp Phe Ile Cys Pro Asp Tyr Tyr Glu Ala Val

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

260										265										270									
Lys	Leu	Cys	Ser	Gln	Tyr	Gln	Asn	Gln	Ala	Lys	Asn	Gly	Ile	Leu	Phe														
275										280										285									
Cys	Thr	Arg	Glu	Asn	Asp	Pro	Ile	Arg	Gly	Pro	Asp	Gly	Lys	Met	His														
290										295										300									
Gly	Asn	Leu	Cys	Ser	Met	Cys	Gln	Ala	Tyr	Phe	Gln	Ala	Glu	Asn	Glu														
305										310										315									
Glu	Lys	Lys	Lys	Ala	Glu	Ala	Arg	Ala	Arg	Asn	Lys	Arg	Glu	Ser	Gly														
325										330										335									
Lys	Ala	Thr	Ser	Tyr	Ala	Glu	Leu	Cys	Ser	Glu	Tyr	Arg	Lys	Leu	Val														
340										345										350									
Arg	Asn	Gly	Lys	Leu	Ala	Cys	Thr	Arg	Glu	Asn	Asp	Pro	Ile	Gln	Gly														
355										360										365									
Pro	Asp	Gly	Lys	Val	His	Gly	Asn	Thr	Cys	Ser	Met	Cys	Glu	Val	Phe														
370										375										380									
Phe	Gln	Ala	Glu	Glu	Glu	Glu	Lys	Lys	Lys	Lys	Glu	Gly	Lys	Ser	Arg														
385										390										395									
Asn	Lys	Arg	Gln	Ser	Lys	Ser	Thr	Ala	Ser	Phe	Glu	Glu	Leu	Cys	Ser														
405										410										415									
Glu	Tyr	Arg	Lys	Ser	Arg	Lys	Asn	Gly	Arg	Leu	Phe	Cys	Thr	Arg	Glu														
420										425										430									
Asn	Asp	Pro	Ile	Gln	Gly	Pro	Asp	Gly	Lys	Met	His	Gly	Asn	Thr	Cys														

435					440					445					
Ser	Met	Cys	Glu	Ala	Phe	Phe	Gln	Gln	Glu	Glu	Arg	Ala	Arg	Ala	Lys
450					455					460					
Ala	Lys	Arg	Glu	Ala	Ala	Lys	Glu	Ile	Cys	Ser	Glu	Phe	Arg	Asp	Gln
465				470				475				480			
Val	Arg	Asn	Gly	Thr	Leu	Ile	Cys	Thr	Arg	Glu	His	Asn	Pro	Val	Arg
485					490					495					
Gly	Pro	Asp	Gly	Lys	Met	His	Gly	Asn	Lys	Cys	Ala	Met	Cys	Ala	Ser
500				505				510							
Val	Phe	Lys	Leu	Glu	Glu	Glu	Glu	Lys	Lys	Asn	Asp	Lys	Glu	Glu	Lys
515				520				525							
Gly	Lys	Val	Glu	Ala	Glu	Lys	Val	Lys	Arg	Glu	Ala	Val	Gln	Glu	Leu
530				535				540							
Cys	Ser	Glu	Tyr	Arg	His	Tyr	Val	Arg	Asn	Gly	Arg	Leu	Pro	Cys	Thr
545				550				555				560			
Arg	Glu	Asn	Asp	Pro	Ile	Glu	Gly	Leu	Asp	Gly	Lys	Ile	His	Gly	Asn
565					570					575					
Thr	Cys	Ser	Met	Cys	Glu	Ala	Phe	Phe	Gln	Gln	Glu	Ala	Lys	Glu	Lys
580				585				590							
Glu	Arg	Ala	Glu	Pro	Arg	Ala	Lys	Val	Lys	Arg	Glu	Ala	Glu	Lys	Glu
595				600				605							
Thr	Cys	Asp	Glu	Phe	Arg	Arg	Leu	Leu	Gln	Asn	Gly	Lys	Leu	Phe	Cys

610					615					620									
Thr	Arg	Glu	Asn	Asp	Pro	Val	Arg	Gly	Pro	Asp	Gly	Lys	Thr	His	Gly				
625					630					635					640				
Asn					Lys					Cys					Ala				
					645					650					655				
Arg					Lys					Arg					Lys				
					660					665					670				
Ser					Ser					Gly					Gly				
					675					680					685				
Arg					Glu					Gln					Met				
690					695					700									
Pro					Val					Arg					Asp				
705					710					715					720				
Cys					Lys					Ala					Lys				
					725					730					735				
Arg					Ser					Arg					Ser				
					740					745					750				
Asp					Glu					Phe					Arg				
755					760					765									
Glu					Ser					Asp					Pro				
770					775					780									
Cys					Thr					Met					Cys				

785 790 795 800

Lys Lys Glu Asp Glu Asp Arg Ser Asn Thr Gly Glu Arg Ser Asn Thr
805 810 815

Gly Glu Arg Ser Asn Asp Lys Glu Asp Leu Cys Arg Glu Phe Arg Ser
820 825 830

Met Gln Arg Asn Gly Lys Leu Ile Cys Thr Arg Glu Asn Asn Pro Val
835 840 845

Arg Gly Pro Tyr Gly Lys Met His Ile Asn Lys Cys Ala Met Cys Gln
850 855 860

Ser Ile Phe Asp Arg Glu Ala Asn Glu Arg Lys Lys Lys Asp Glu Glu
865 870 875 880

Lys Ser Ser Ser Lys Pro Ser Asn Asn Ala Lys Asp Glu Cys Ser Glu
885 890 895

Phe Arg Asn Tyr Ile Arg Asn Asn Glu Leu Ile Cys Pro Arg Glu Asn
900 905 910

Asp Pro Val His Gly Ala Asp Gly Lys Phe Tyr Thr Asn Lys Cys Tyr
915 920 925

Met Cys Arg Ala Val Phe Leu Thr Glu Ala Leu Glu Arg Ala Lys Leu
930 935 940

Gln Glu Lys Pro Ser His Val Arg Ala Ser Gln Glu Glu Asp Ser Pro
945 950 955 960

Asp Ser Phe Ser Ser Leu Asp Ser Glu Met Cys Lys Asp Tyr Arg Val

975

Leu Pro Arg Ile Gly Tyr Leu Cys Pro Lys Asp Leu Lys Pro Val Cys
980 985 990

Gly Asp Asp Gly Gln Thr Tyr Asn Asn Pro Cys Met Leu Cys His Glu
995 1000 1005

Asn Leu Ile Arg Gln Thr Asn Thr His Ile Arg Ser Thr Gly Lys
1010 1015 1020

Cys Glu Glu Ser Ser Thr Pro Gly Thr Thr Ala Ala Ser Met Pro
1025 1030 1035

Pro Ser Asp Glu
1040

<210> 11

<211> 1017

<212> PRT

〈213〉 家鼠

<400> 11

Met Lys Thr Ala Thr Val Pro Met Leu Leu Thr Leu Ala Phe Tyr Leu
1 5 10 15

Thr Gln Asp Ala Ala Gly Glu Lys Gly Asn Gln Asp Pro Cys Met Lys
20 25 30

Phe Gln Ala Gln Met Lys Asn Gly Thr Leu Thr Cys Pro Lys Gly Asn
35 40 45

Asn Ser Ser Gln Ser Leu Asn Asp Ile Ile Phe Gln Ser Glu Cys Ile
50 55 60

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

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

Lys	Val	Lys	Arg	Glu	Ala	Ala	Lys	Glu	Met	Cys	Ser	Glu	Phe	Arg	Asn	
			420					425					430			
Gln	Ala	Arg	Asn	Gly	Met	Leu	Met	Cys	Thr	Arg	Glu	Asn	Asp	Pro	Val	
			435					440					445			
Val	Gly	Pro	Asp	Gly	Lys	Arg	His	Ser	Asn	Lys	Cys	Ala	Met	Cys	Ala	
			450					455					460			
Ser	Val	Phe	Leu	Leu	Glu	Glu	Glu	Glu	Lys	Lys	Lys	Asp	Asp	Lys	Thr	
465						470				475						480
Glu	Lys	Val	Asp	Ala	Gly	Lys	Ala	Lys	Lys	Glu	Ala	Val	Gln	Glu	Leu	
				485						490					495	
Cys	Arg	Lys	Tyr	His	Thr	Gln	Leu	Arg	Asn	Gly	Pro	Leu	Arg	Cys	Thr	
			500						505					510		
Arg	Arg	Asn	Asn	Pro	Ile	Glu	Gly	Leu	Asp	Gly	Lys	Met	Tyr	Lys	Asn	
			515					520					525			
Ala	Cys	Phe	Met	Cys	Trp	Ala	Phe	Phe	Gln	Gln	Glu	Ala	Lys	Lys	Ser	
			530					535				540				
Gly	Ala	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Val	Lys	Arg	Glu	Val	Lys	Val	Asp	Cys	
545						550				555					560	
Ser	Glu	Tyr	Leu	Ala	Leu	Ser	Lys	Arg	Gly	Glu	Ile	Phe	Cys	Thr	Arg	
				565						570					575	
Glu	Asn	Asp	Pro	Val	Arg	Gly	Pro	Asp	Gly	Lys	Thr	His	Gly	Asn	Lys	
				580					585					590		

Cys	Ala	Met	Cys	Lys	Ala	Val	Phe	Lys	Lys	Glu	Asn	Glu	Glu	Arg	Lys	
	595						600					605				
Arg	Lys	Glu	Gly	Glu	Asn	Gln	Arg	Ile	Thr	Ser	Gly	Glu	Ser	Ser	Ser	
	610					615					620					
Gly	Gly	Asn	Pro	Lys	Ala	Lys	Asp	Glu	Cys	Ala	Gln	Tyr	Arg	Glu	Ser	
625					630					635					640	
Met	Lys	His	Gly	Gln	Leu	Ser	Cys	Thr	Arg	Glu	Ser	Asp	Pro	Val	Arg	
			645						650					655		
Gly	Val	Asp	Gly	Glu	His	Tyr	Asn	Asn	Lys	Cys	Val	Met	Cys	Lys	Glu	
		660						665					670			
Leu	Leu	Gln	Lys	Glu	Met	Glu	Glu	Thr	Asn	Lys	Asn	Ser	Ala	Ser	Arg	
	675						680					685				
Ser	Asn	Gly	Thr	Gly	Ser	Ala	Thr	Gly	Lys	Asp	Val	Cys	Asp	Gln	Phe	
	690					695					700					
Arg	Ser	Gln	Met	Lys	Asn	Gly	Lys	Leu	Leu	Cys	Thr	Arg	Glu	Ser	Asp	
705				710						715					720	
Pro	Thr	Arg	Gly	Pro	Asp	Gly	Ala	Met	His	Gly	Asn	Lys	Cys	Ala	Met	
			725						730					735		
Cys	Lys	Glu	Arg	Leu	Glu	Lys	Glu	Ala	Ala	Glu	Lys	Lys	Lys	Lys	Glu	
		740						745					750			
Asp	Glu	Glu	Lys	Arg	Asn	Thr	Glu	Thr	Asn	Lys	Ser	Asp	Lys	Glu	Asp	
	755					760						765				

Lys	Cys	His	Glu	Tyr	Arg	Ser	Met	Gln	Leu	Asp	Gly	Arg	Leu	Ile	Cys	
770						775					780					
Thr	Arg	Glu	Asn	Asp	Pro	Val	Arg	Asp	Ala	Asp	Gly	Lys	Met	His	Val	
785						790				795					800	
Asn	Lys	Cys	Ala	Met	Cys	Gln	Met	Met	Phe	Glu	Arg	Glu	Ala	Asn	Glu	
				805					810					815		
Arg	Lys	Met	Arg	Glu	Glu	Asn	Ser	Arg	Ser	Gln	Pro	Thr	Asn	Glu	Ala	
			820					825					830			
Lys	Asp	Gln	Cys	Gly	Glu	Val	His	Asn	Ser	Val	Glu	Asp	Ala	Lys	Pro	
	835						840					845				
Arg	Pro	Ala	Arg	Ser	Ser	Leu	Pro	Ser	Ile	Arg	Gly	Ile	Ser	Lys	Asp	
	850					855					860					
Glu	Cys	Ser	Glu	Phe	Gln	Asn	Leu	Met	Lys	Asn	Glu	Lys	Leu	Thr	Cys	
865					870					875					880	
Pro	Glu	Thr	Asp	Asp	Pro	Val	Arg	Gly	Ala	Asp	Gly	Thr	Phe	Tyr	Gln	
				885					890					895		
Asn	Lys	Cys	His	Met	Cys	Arg	Asp	Val	Leu	Lys	Asn	Glu	Ala	Met	Lys	
			900					905					910			
Arg	Ser	Gly	Leu	Gln	Glu	Lys	Ser	Ser	Asp	Ile	Arg	Ser	Thr	Lys	Glu	
	915						920					925				
Gly	Asp	Pro	Glu	Phe	Ser	Ser	Ser	Ser	Arg	Asp	Ser	Asp	Met	Cys	Lys	
	930					935					940					

Asn Tyr Arg Ile Leu Pro Arg Met Gly Tyr Leu Cys Pro Lys Asn Leu
945 950 955 960

Asn Pro Val Cys Gly Asp Asp Gly Gln Thr Tyr Ser Asn Pro Cys Met
965 970 975

Leu Cys His Glu Asn Leu Met Arg Gln Thr Asn Thr Arg Ile His Asn
980 985 990

Pro Gly Ala Cys Glu Glu Ser Ser Asn Leu Lys Thr Val Ser Thr Gly
995 1000 1005

Thr Pro Ala Ser Glu Lys Met Met Gln
1010 1015

<210> 12
<211> 995
<212> PRT
<213> 家鼠

<400> 12
Glu Lys Gly Asn Gln Asp Pro Cys Met Lys Phe Gln Ala Gln Met Lys
1 5 10 15

Asn Gly Thr Leu Thr Cys Pro Lys Gly Asn Asn Ser Ser Gln Ser Leu
20 25 30

Asn Asp Ile Ile Phe Gln Ser Glu Cys Ile Leu Cys Lys Arg Ala Leu
35 40 45

Glu Gln Gly Ala Pro Thr Lys Ile Met Asn Val Lys Val Leu Ser Arg
50 55 60

Ala Asn Arg Ala Thr Asp Pro Ala Lys Leu Asn Cys Glu Ser Phe Lys

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

				420					425							430			
Arg	His	Ser	Asn	Lys	Cys	Ala	Met	Cys	Ala	Ser	Val	Phe	Leu	Leu	Glu				
		435					440					445							
Glu	Glu	Glu	Lys	Lys	Lys	Asp	Asp	Lys	Thr	Glu	Lys	Val	Asp	Ala	Gly				
		450				455						460							
Lys	Ala	Lys	Lys	Glu	Ala	Val	Gln	Glu	Leu	Cys	Arg	Lys	Tyr	His	Thr				
465					470					475					480				
Gln	Leu	Arg	Asn	Gly	Pro	Leu	Arg	Cys	Thr	Arg	Arg	Asn	Asn	Pro	Ile				
				485					490					495					
Glu	Gly	Leu	Asp	Gly	Lys	Met	Tyr	Lys	Asn	Ala	Cys	Phe	Met	Cys	Trp				
			500					505					510						
Ala	Phe	Phe	Gln	Gln	Glu	Ala	Lys	Lys	Ser	Gly	Ala	Gly	Phe	Arg	Pro				
		515					520					525							
Lys	Val	Lys	Arg	Glu	Val	Lys	Val	Asp	Cys	Ser	Glu	Tyr	Leu	Ala	Leu				
		530				535					540								
Ser	Lys	Arg	Gly	Glu	Ile	Phe	Cys	Thr	Arg	Glu	Asn	Asp	Pro	Val	Arg				
545					550					555					560				
Gly	Pro	Asp	Gly	Lys	Thr	His	Gly	Asn	Lys	Cys	Ala	Met	Cys	Lys	Ala				
				565					570						575				
Val	Phe	Lys	Lys	Glu	Asn	Glu	Glu	Arg	Lys	Arg	Lys	Glu	Gly	Glu	Asn				
			580					585					590						
Gln	Arg	Ile	Thr	Ser	Gly	Glu	Ser	Ser	Ser	Gly	Gly	Asn	Pro	Lys	Ala				

595										600										605									
Lys	Asp	Glu	Cys	Ala	Gln	Tyr	Arg	Glu	Ser	Met	Lys	His	Gly	Gln	Leu														
610					615					620																			
Ser	Cys	Thr	Arg	Glu	Ser	Asp	Pro	Val	Arg	Gly	Val	Asp	Gly	Glu	His														
625					630					635					640														
Tyr	Asn	Asn	Lys	Cys	Val	Met	Cys	Lys	Glu	Leu	Leu	Gln	Lys	Glu	Met														
645					650					655																			
Glu	Glu	Thr	Asn	Lys	Asn	Ser	Ala	Ser	Arg	Ser	Asn	Gly	Thr	Gly	Ser														
660					665					670																			
Ala	Thr	Gly	Lys	Asp	Val	Cys	Asp	Gln	Phe	Arg	Ser	Gln	Met	Lys	Asn														
675					680					685																			
Gly	Lys	Leu	Leu	Cys	Thr	Arg	Glu	Ser	Asp	Pro	Thr	Arg	Gly	Pro	Asp														
690					695					700																			
Gly	Ala	Met	His	Gly	Asn	Lys	Cys	Ala	Met	Cys	Lys	Glu	Arg	Leu	Glu														
705					710					715					720														
Lys	Glu	Ala	Ala	Glu	Lys	Lys	Lys	Lys	Glu	Asp	Glu	Glu	Lys	Arg	Asn														
725					730					735																			
Thr	Glu	Thr	Asn	Lys	Ser	Asp	Lys	Glu	Asp	Lys	Cys	His	Glu	Tyr	Arg														
740					745					750																			
Ser	Met	Gln	Leu	Asp	Gly	Arg	Leu	Ile	Cys	Thr	Arg	Glu	Asn	Asp	Pro														
755					760					765																			
Val	Arg	Asp	Ala	Asp	Gly	Lys	Met	His	Val	Asn	Lys	Cys	Ala	Met	Cys														

770					775					780					
Gln	Met	Met	Phe	Glu	Arg	Glu	Ala	Asn	Glu	Arg	Lys	Met	Arg	Glu	Glu
785					790					795					800
Asn	Ser	Arg	Ser	Gln	Pro	Thr	Asn	Glu	Ala	Lys	Asp	Gln	Cys	Gly	Glu
				805					810					815	
Val	His	Asn	Ser	Val	Glu	Asp	Ala	Lys	Pro	Arg	Pro	Ala	Arg	Ser	Ser
			820					825					830		
Leu	Pro	Ser	Ile	Arg	Gly	Ile	Ser	Lys	Asp	Glu	Cys	Ser	Glu	Phe	Gln
		835					840					845			
Asn	Leu	Met	Lys	Asn	Glu	Lys	Leu	Thr	Cys	Pro	Glu	Thr	Asp	Asp	Pro
	850						855					860			
Val	Arg	Gly	Ala	Asp	Gly	Thr	Phe	Tyr	Gln	Asn	Lys	Cys	His	Met	Cys
865					870					875					880
Arg	Asp	Val	Leu	Lys	Asn	Glu	Ala	Met	Lys	Arg	Ser	Gly	Leu	Gln	Glu
				885						890				895	
Lys	Ser	Ser	Asp	Ile	Arg	Ser	Thr	Lys	Glu	Gly	Asp	Pro	Glu	Phe	Ser
			900						905					910	
Ser	Ser	Ser	Arg	Asp	Ser	Asp	Met	Cys	Lys	Asn	Tyr	Arg	Ile	Leu	Pro
		915					920					925			
Arg	Met	Gly	Tyr	Leu	Cys	Pro	Lys	Asn	Leu	Asn	Pro	Val	Cys	Gly	Asp
	930						935				940				
Asp	Gly	Gln	Thr	Tyr	Ser	Asn	Pro	Cys	Met	Leu	Cys	His	Glu	Asn	Leu

945 950 955 960

Met Arg Gln Thr Asn Thr Arg Ile His Asn Pro Gly Ala Cys Glu Glu
965 970 975

Ser Ser Asn Leu Lys Thr Val Ser Thr Gly Thr Pro Ala Ser Glu Lys
980 985 990

Met Met Gln
995

<210> 13
<211> 500
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 13
Glu Ala Ala Lys Glu Ile Cys Ser Glu Phe Arg Asp Gln Val Arg Asn
1 5 10 15

Gly Thr Leu Ile Cys Thr Arg Glu His Asn Pro Val Arg Gly Pro Asp
20 25 30

Gly Lys Met His Gly Asn Lys Cys Ala Met Cys Ala Ser Val Phe Lys
35 40 45

Leu Glu Glu Glu Glu Lys Lys Asn Asp Lys Glu Glu Lys Gly Lys Val
50 55 60

Glu Ala Glu Lys Val Lys Arg Glu Ala Val Gln Glu Leu Cys Ser Glu
65 70 75 80

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

Lys	Leu	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu	Arg	Lys	Asn	Glu	Tyr	Gly	Asn	Ser	Val	
			260						265						270	
Thr	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	
			275						280						285	
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	
			290						295						300	
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	
							310								320	
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	
Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	
Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	
Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
435 440 445

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
450 455 460

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
465 470 475 480

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
485 490 495

Ser Pro Gly Lys
500

- <210> 14
- <211> 501
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <221> 來源
- <223> /註釋="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 14
Glu Ala Ala Lys Glu Ile Cys Ser Glu Phe Arg Asp Gln Val Arg Asn
1 5 10 15

Gly Thr Leu Ile Cys Thr Arg Glu His Asn Pro Val Arg Gly Pro Asp
20 25 30

Gly Lys Met His Gly Asn Lys Cys Ala Met Cys Ala Ser Val Phe Lys
35 40 45

Leu Glu Glu Glu Glu Lys Lys Asn Asp Lys Glu Glu Lys Gly Lys Val

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

225 230 235 240

Asp Ala Asp Gly Lys Ser Tyr Asn Asn Gln Cys Thr Met Cys Lys Ala
245 250 255

Lys Leu Glu Arg Glu Ala Glu Arg Lys Asn Glu Tyr Gly Asn Ser Val
260 265 270

Thr Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
275 280 285

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
290 295 300

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
305 310 315 320

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
325 330 335

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
340 345 350

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

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
370 375 380

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
385 390 395 400

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

405

410

415

Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala
			420					425					430		
Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr
		435					440					445			
Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu
	450						455					460			
Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser
465					470					475					480
Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser
				485					490					495	
Leu	Ser	Leu	Gly	Lys											
			500												

<210>

15

<211>

268

<212>

PRT

<213>

智人

<400>

15

Glu	Ala	Ala	Lys	Glu	Ile	Cys	Ser	Glu	Phe	Arg	Asp	Gln	Val	Arg	Asn
1				5					10					15	

Gly	Thr	Leu	Ile	Cys	Thr	Arg	Glu	His	Asn	Pro	Val	Arg	Gly	Pro	Asp
			20					25					30		

Gly	Lys	Met	His	Gly	Asn	Lys	Cys	Ala	Met	Cys	Ala	Ser	Val	Phe	Lys
	35						40					45			

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

Met Lys Asn Gly Arg Leu Ser Cys Thr Arg Glu Ser Asp Pro Val Arg
225 230 235 240

Asp Ala Asp Gly Lys Ser Tyr Asn Asn Gln Cys Thr Met Cys Lys Ala
245 250 255

Lys Leu Glu Arg Glu Ala Glu Arg Lys Asn Glu Tyr
260 265

<210> 16
<211> 520
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 16
Glu Ala Ala Lys Glu Met Cys Ser Glu Phe Arg Asn Gln Ala Arg Asn
1 5 10 15

Gly Met Leu Met Cys Thr Arg Glu Asn Asp Pro Val Val Gly Pro Asp
20 25 30

Gly Lys Arg His Ser Asn Lys Cys Ala Met Cys Ala Ser Val Phe Leu
35 40 45

Leu Glu Glu Glu Glu Lys Lys Lys Asp Asp Lys Thr Glu Lys Val Asp
50 55 60

Ala Gly Lys Ala Lys Lys Glu Ala Val Gln Glu Leu Cys Arg Lys Tyr
65 70 75 80

His Thr Gln Leu Arg Asn Gly Pro Leu Arg Cys Thr Arg Arg Asn Asn

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

260										265										270																			
Gly	Ser	Ala	Gly	Asn	Ser	Arg	Ala	Gln	Val	Thr	Asp	Lys	Lys	Ile	Glu																								
275										280										285																			
Pro	Arg	Gly	Pro	Thr	Ile	Lys	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Lys	Cys	Pro	Ala																								
290										295										300																			
Pro	Asn	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Ile																								
305										310										315										320									
Lys	Asp	Val	Leu	Met	Ile	Ser	Leu	Ser	Pro	Ile	Val	Thr	Cys	Val	Val																								
325										330										335																			
Val	Asp	Val	Ser	Glu	Asp	Asp	Pro	Asp	Val	Gln	Ile	Ser	Trp	Phe	Val																								
340										345										350																			
Asn	Asn	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln	Thr	His	Arg	Glu	Asp																								
355										360										365																			
Tyr	Asn	Ser	Thr	Leu	Arg	Val	Val	Ser	Ala	Leu	Pro	Ile	Gln	His	Gln																								
370										375										380																			
Asp	Trp	Met	Ser	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys	Lys	Val	Asn	Asn	Lys	Asp																								
385										390										395										400									
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Arg	Thr	Ile	Ser	Lys	Pro	Lys	Gly	Ser	Val																								
405										410										415																			
Arg	Ala	Pro	Gln	Val	Tyr	Val	Leu	Pro	Pro	Pro	Glu	Glu	Glu	Met	Thr																								
420										425										430																			
Lys	Lys	Gln	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Met	Val	Thr	Asp	Phe	Met	Pro	Glu																								

445

Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr
450 455 460

Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr
465 470 475 480

Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr
485 490 495

Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys
500 505 510

Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
515 520

<210> 17

<211> 275

<212> PRT

〈213〉 家鼠

<400> 17

Glu Ala Ala Lys Glu Met Cys Ser Glu Phe Arg Asn Gln Ala Arg Asn
1 5 10 15

Gly Met Leu Met Cys Thr Arg Glu Asn Asp Pro Val Val Gly Pro Asp
20 25 30

Gly Lys Arg His Ser Asn Lys Cys Ala Met Cys Ala Ser Val Phe Leu
35 40 45

Leu Glu Glu Glu Glu Lys Lys Lys Asp Asp Lys Thr Glu Lys Val Asp
50 55 60

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

Glu His Tyr Asn Asn Lys Cys Val Met Cys Lys Glu Leu Leu Gln Lys
245 250 255

Glu Met Glu Glu Thr Asn Lys Asn Ser Ala Ser Arg Ser Asn Gly Thr
260 265 270

Gly Ser Ala
275

<210> 18
<211> 294
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 18
Arg Glu Ile Val Lys Leu Cys Ser Gln Tyr Gln Asn Gln Ala Lys Asn
1 5 10 15

Gly Ile Leu Phe Cys Thr Arg Glu Asn Asp Pro Ile Arg Gly Pro Asp
20 25 30

Gly Lys Met His Gly Asn Leu Cys Ser Met Cys Gln Ala Tyr Phe Gln
35 40 45

Ala Glu Asn Glu Glu Lys Lys Lys Ala Glu Ala Arg Ala Arg Gly Asn
50 55 60

Ser Val Thr Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
65 70 75 80

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

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

260 265 270

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

275 280 285

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

290

<210> 19

<211> 295

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註釋="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 19

Arg Glu Ile Val Lys Leu Cys Ser Gln Tyr Gln Asn Gln Ala Lys Asn

1 5 10 15

Gly Ile Leu Phe Cys Thr Arg Glu Asn Asp Pro Ile Arg Gly Pro Asp

20 25 30

Gly Lys Met His Gly Asn Leu Cys Ser Met Cys Gln Ala Tyr Phe Gln

35 40 45

Ala Glu Asn Glu Glu Lys Lys Lys Ala Glu Ala Arg Ala Arg Gly Asn

50 55 60

Ser Val Thr Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

65 70 75 80

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

85 90 95

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

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
275 280 285

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
290 295

<210> 20
<211> 62
<212> PRT
<213> 智人

<400> 20
Arg Glu Ile Val Lys Leu Cys Ser Gln Tyr Gln Asn Gln Ala Lys Asn
1 5 10 15

Gly Ile Leu Phe Cys Thr Arg Glu Asn Asp Pro Ile Arg Gly Pro Asp
20 25 30

Gly Lys Met His Gly Asn Leu Cys Ser Met Cys Gln Ala Tyr Phe Gln
35 40 45

Ala Glu Asn Glu Glu Lys Lys Lys Ala Glu Ala Arg Ala Arg
50 55 60

<210> 21
<211> 308
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 21
Met Glu Ile Gln Lys Arg Cys Ser Glu Phe Gln Asp Arg Ala Arg Asn
1 5 10 15

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

Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln
195 200 205

Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val
210 215 220

Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val
225 230 235 240

Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu
245 250 255

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg
260 265 270

Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val
275 280 285

Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg
290 295 300

Thr Pro Gly Lys
305

- <210> 22
- <211> 63
- <212> PRT
- <213> 家鼠

<400> 22
Met Glu Ile Gln Lys Arg Cys Ser Glu Phe Gln Asp Arg Ala Arg Asn
1 5 10 15

Gly Thr Leu Phe Cys Thr Arg Glu Asn Asp Pro Ile Arg Gly Leu Asp

202530

Gly Lys Thr His Gly Asn Leu Cys Ser Met Cys Gln Ala Phe Phe Lys

354045

Thr Glu Ala Glu Glu Lys Lys Ala Glu Ala Gly Ser Arg Asn Arg

505560

<210> 23

<211> 86

<212> PRT

<213> 智人

<400> 23

Met Arg Ala Thr Ala Ile Val Leu Leu Leu Ala Leu Thr Leu Ala Thr

151015

Met Phe Ser Ile Glu Cys Ala Lys Gln Thr Lys Gln Met Val Asp Cys

202530

Ser His Tyr Lys Lys Leu Pro Pro Gly Gln Gln Arg Phe Cys His His

354045

Met Tyr Asp Pro Ile Cys Gly Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Lys Asn Asp

505560

Cys Phe Phe Cys Ser Lys Val Lys Lys Thr Asp Gly Thr Leu Lys Phe

65707580

Val His Phe Gly Lys Cys

85

<210> 24

<211> 67

<212> PRT

<213> 智人

<400> 24
Ile Glu Cys Ala Lys Gln Thr Lys Gln Met Val Asp Cys Ser His Tyr
1 5 10 15

Lys Lys Leu Pro Pro Gly Gln Gln Arg Phe Cys His His Met Tyr Asp
20 25 30

Pro Ile Cys Gly Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Lys Asn Asp Cys Phe Phe
35 40 45

Cys Ser Lys Val Lys Lys Thr Asp Gly Thr Leu Lys Phe Val His Phe
50 55 60

Gly Lys Cys
65

<210> 25
<211> 299
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 25
Ile Glu Ser Ala Lys Gln Thr Lys Gln Met Val Asp Cys Ser His Tyr
1 5 10 15

Lys Lys Leu Pro Pro Gly Gln Gln Arg Phe Cys His Arg Glu Tyr Asp
20 25 30

Pro Ile Cys Gly Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Lys Asn Asp Cys Phe Phe
35 40 45

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

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
225 230 235 240

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
245 250 255

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
260 265 270

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
275 280 285

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
290 295

<210> 26
<211> 300
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 26
Ile Glu Ser Ala Lys Gln Thr Lys Gln Met Val Asp Cys Ser His Tyr
1 5 10 15

Lys Lys Leu Pro Pro Gly Gln Gln Arg Phe Cys His Arg Glu Tyr Asp
20 25 30

Pro Ile Cys Gly Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Lys Asn Asp Cys Phe Phe
35 40 45

Cys Ser Lys Val Lys Lys Thr Asp Gly Thr Leu Lys Phe Val His Phe

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

225 230 235 240

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
245 250 255

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu
260 265 270

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
275 280 285

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
290 295 300

<210> 27
<211> 312
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 27
Ile Glu Ser Ala Lys Gln Thr Lys Gln Met Val Asp Cys Ser His Tyr
1 5 10 15

Lys Lys Leu Pro Pro Gly Gln Gln Arg Phe Cys His Arg Glu Tyr Asp
20 25 30

Pro Ile Cys Gly Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Lys Asn Asp Cys Phe Phe
35 40 45

Cys Ser Lys Val Lys Lys Thr Asp Gly Thr Leu Lys Phe Val His Phe
50 55 60

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

Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr
245 250 255

Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr
260 265 270

Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr
275 280 285

Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys
290 295 300

Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
305 310

<210> 28
<211> 67
<212> PRT
<213> 智人

<400> 28
Ile Glu Ser Ala Lys Gln Thr Lys Gln Met Val Asp Cys Ser His Tyr
1 5 10 15

Lys Lys Leu Pro Pro Gly Gln Gln Arg Phe Cys His Arg Glu Tyr Asp
20 25 30

Pro Ile Cys Gly Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Lys Asn Asp Cys Phe Phe
35 40 45

Cys Ser Lys Val Lys Lys Thr Asp Gly Thr Leu Lys Phe Val His Phe
50 55 60

Gly Lys Cys

65

<210> 29
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註釋="人工序列之描述：合成肽"

<400> 29
 Leu Leu Val Tyr
 1

<210>	30
<211>	7
<212>	PRT
<213>	人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註釋="人工序列之描述：合成肽"

<400> 30
Glu Glu Ala Gln Gly Asp Lys
1 5

<210> 31
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成肽"

<400> 31
Ala Pro Pro Ile Gln Ser Arg
1 5



201841656

【發明摘要】**【中文發明名稱】** KLK5 拮抗劑用於治療疾病之用途**【英文發明名稱】** USE OF KLK5 ANTAGONISTS FOR TREATMENT OF A
DISEASE**【中文】**

本文提供治療個體之方法、預測個體之反應及選擇罹患諸如氣喘或內瑟頓氏症候群(Netherton Syndrome)等與 KLK5 相關之疾病之個體的方法。特定而言，本文提供 KLK5 拮抗劑之用途，其用於治療或診斷氣喘或內瑟頓氏症候群，該等 KLK5 拮抗劑係例如抗體或 Fc 融合多肽以及包含其之醫藥調配物。

【英文】

Provided herein are methods of treating a subject, methods of predicting the response of a subject and selecting a subject suffering from a disease associated with KLK5, such as asthma or Netherton Syndrome. In particular, provided herein are uses of KLK5 antagonists for the treatment or diagnosis of asthma or Netherton Syndrome, such as an antibody or an Fc fusion polypeptide as well as pharmaceutical formulations comprising the same.

【指定代表圖】 圖 5A**【代表圖之符號簡單說明】**

無

【發明申請專利範圍】

【第 1 項】一種 KLK5 拮抗劑之用途，其用於製備治療個體氣喘之藥劑。

【第 2 項】一種預測罹患氣喘之個體對包含 KLK5 拮抗劑之治療之反應的方法，該方法包括：

(a) 量測來自該個體之生物樣品中之 KLK5 含量，

(b) 將該樣品中所偵測到之該 KLK5 含量與參考含量進行比較，且

(c) 當該樣品中所量測之該 KLK5 含量與該參考含量相比升高時，預測該個體將對該治療有反應，且當該樣品中所量測之該 KLK 含量與該參考含量相比降低時，預測該個體將不對該治療有反應。

【第 3 項】一種選擇罹患氣喘之個體進行包含 KLK5 拮抗劑之治療之方法，其包括確定來自該個體之生物樣品中位於 KLK5 基因體序列中之遺傳變異存在或不存在，其中該遺傳變異之存在指示該個體適於用 KLK5 拮抗劑治療。

【第 4 項】一種偵測 KLK5 基因體序列中之遺傳變異存在或不存在以指示罹患氣喘之個體適於用 KLK5 拮抗劑治療之方法，其包括：

(a) 使來自該個體之樣品與能夠偵測位於該 KLK5 基因體序列中之該遺傳變異存在或不存在之試劑接觸；且

(b) 確定該遺傳變異存在或不存在，其中該遺傳變異之存在指示該個體適於用 KLK5 拮抗劑治療。

【第 5 項】如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之方法或用途，其中氣喘與位於 KLK5 基因體序列中之遺傳變異有關。

【第 6 項】如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之方法或用途，其中氣喘與升高含量之 KLK5 相關。

【第 7 項】如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之方法或用途，其中氣喘與升高含量之嗜中性白血球相關。

- 【第 8 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之方法或用途，其中氣喘係選自由以下組成之群：低 2 型氣喘(type 2 low asthma)、低骨膜素性氣喘(periostin low asthma)及低嗜酸性白血球性氣喘(eosinophil low asthma)。
- 【第 9 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之方法或用途，其中氣喘與內瑟頓氏症候群(Netherton Syndrome)不相關。
- 【第 10 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之方法或用途，其中氣喘與 SPINK5 之活性降低相關。
- 【第 11 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之方法或用途，其中氣喘與編碼 SPINK5 或其基因產物之基因中之一或多種遺傳變異不相關。
- 【第 12 項】 如申請專利範圍第 3 項或第 4 項之方法，其中針對該個體之氣喘之治療係基於該遺傳變異之存在或不存在。
- 【第 13 項】 如申請專利範圍第 3 項或第 4 項之方法，其中該遺傳變異係 SNP。
- 【第 14 項】 如申請專利範圍第 3 項或第 4 項之方法，其中該遺傳變異係 SNP rs117639512。
- 【第 15 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之方法或用途，其中該 KLK5 拮抗劑藉由結合至 KLK5 之活性位點來抑制 KLK5。
- 【第 16 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之方法或用途，其中該 KLK5 拮抗劑藉由結合至結合區來抑制 KLK5，該結合區包含 KLK5 胺基酸殘基中之一或多者，其選自由在未處理之全長 KLK5 之位置 108、147、150、153、168 及 245 處之胺基酸殘基組成之群。
- 【第 17 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之方法或用途，其中該 KLK5 拮抗劑抑制 KLK5 之絲胺酸蛋白酶活性。
- 【第 18 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之方法或用途，其中該 KLK5 拮抗劑係選自由以下組成之群：抗體、結合多肽、多核苷酸及小分子。

- 【第 19 項】 如申請專利範圍第 18 項之方法或用途，其中該 KLK5 拮抗劑係抗體。
- 【第 20 項】 如申請專利範圍第 19 項之方法或用途，其中該抗體係單株抗體。
- 【第 21 項】 如申請專利範圍第 19 項之方法或用途，其中該抗體係人類、人類化或嵌合抗體。
- 【第 22 項】 如申請專利範圍第 19 項之方法或用途，其中該抗體係全長 IgG1 抗體。
- 【第 23 項】 如申請專利範圍第 18 項之方法或用途，其中該結合多肽係 Fc 融合多肽。
- 【第 24 項】 如申請專利範圍第 23 項之方法或用途，其中該 Fc 融合多肽包含一或多個 SPINK5 之結構域。
- 【第 25 項】 如申請專利範圍第 23 項之方法或用途，其中該 Fc 融合多肽包含 SEQ ID NO: 16 或 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列。
- 【第 26 項】 如申請專利範圍第 23 項之方法或用途，其中該 Fc 融合多肽包含 SPINK9 之一個結構域。
- 【第 27 項】 如申請專利範圍第 23 項之方法或用途，其中該 Fc 融合多肽包含 SEQ ID NO:27 之胺基酸序列。
- 【第 28 項】 如申請專利範圍第 18 項之方法或用途，其中該小分子係蛋白酶抑制劑。
- 【第 29 項】 如申請專利範圍第 28 項之方法或用途，其中該蛋白酶抑制劑係亮抑酶肽(leupeptin)。
- 【第 30 項】 如申請專利範圍第 2 項至第 4 項中任一項之方法，其中該樣品係選自由以下組成之群：支氣管肺泡灌洗(bronchial alveolar lavage)、肺實質(lung parenchyma)、支氣管上皮下膜(bronchial sub-epithelium)、腦脊髓液、

血液、血清、痰液、唾液、黏膜刮擦物、活組織切片(tissue biopsy)、淚液分泌物、精液或汗液。

- 【第 31 項】 一種 KLK5 拮抗劑，其用於醫學治療或診斷，包括氣喘之療法及/或治療。
- 【第 32 項】 一種 SPINK Fc 融合多肽，其中該 SPINK Fc 融合多肽抑制 KLK5 之活性。
- 【第 33 項】 如申請專利範圍第 32 項之 SPINK Fc 融合多肽，其中該 SPINK Fc 融合多肽包含一或多個來自 SPINK5 或 SPINK9 之結構域。
- 【第 34 項】 如申請專利範圍第 33 項之 SPINK Fc 融合多肽，其中該一或多個來自 SPINK5 之結構域包含選自由 SEQ ID NO:17 及 SEQ ID NO:22 組成之群之序列。
- 【第 35 項】 如申請專利範圍第 33 項之 SPINK Fc 融合多肽，其中該一或多個來自 SPINK9 之結構域包含 SEQ ID NO:28。
- 【第 36 項】 如申請專利範圍第 33 項至第 35 項中任一項之 SPINK Fc 融合多肽，其中該一或多個結構域係來自小鼠或人類來源。
- 【第 37 項】 如申請專利範圍第 33 項至第 35 項中任一項之 SPINK Fc 融合多肽，其中該 SPINK Fc 融合多肽抑制 KLK5 至少約 50%。
- 【第 38 項】 一種醫藥調配物，其包含醫藥學活性量之如申請專利範圍第 32 項至第 37 項中任一項之 Fc 融合多肽及醫藥學上可接受之載劑。
- 【第 39 項】 如申請專利範圍第 32 項至第 35 項中任一項之 SPINK Fc 融合多肽，其用於醫學治療或診斷，包括與 KLK5 相關之疾病之療法及/或治療。
- 【第 40 項】 一種如申請專利範圍第 32 項至第 37 項中任一項之 Fc 融合多肽之用途，其用於製備治療個體之與 KLK5 相關之疾病之藥劑。
- 【第 41 項】 如申請專利範圍第 40 項之用途，其中該與 KLK5 相關之疾病係

與該個體樣品中升高含量之 KLK5 相關。

【第 42 項】 如申請專利範圍第 40 項之用途，其中該與 KLK5 相關之疾病係與該個體樣品中升高數目之嗜中性白血球相關。

【第 43 項】 如申請專利範圍第 41 項或第 42 項之用途，其中該與 KLK5 相關之疾病係內瑟頓氏症候群。

【第 44 項】 如申請專利範圍第 41 項或第 42 項之用途，其中該樣品係選自由以下組成之群：支氣管肺泡灌洗(bronchial alveolar lavage)、肺實質(lung parenchyma)及支氣管上皮下游膜(bronchial sub-epithelium)。

【第 45 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 4 項及第 40 項至第 42 項中任一項之方法或用途，其中該個體係人類。

