



(45)授权公告日 2018.06.15

序列表36页 附图45页

[illegible]

1. 一种分离的人源化抗体,其特异性结合补体组分C1s蛋白内的表位,其中该抗体包含:

包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体轻链可变区的CDR-1、CDR-2和CDR-3区和包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体重链可变区的CDR-1、CDR-2和CDR-3区。

2. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述抗体包含重和轻链CDR,其包含:

a) SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6;或

b) SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36。

3. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述抗体包含:

包含SEQ ID NO:39中所列氨基酸序列的抗体重链可变区和包含SEQ ID NO:43中所列氨基酸序列的抗体轻链可变区;

包含SEQ ID NO:39中所列氨基酸序列的抗体重链可变区和包含SEQ ID NO:44中所列氨基酸序列的抗体轻链可变区;

包含SEQ ID NO:39中所列氨基酸序列的抗体重链可变区和包含SEQ ID NO:45中所列氨基酸序列的抗体轻链可变区;

包含SEQ ID NO:40中所列氨基酸序列的抗体重链可变区和包含SEQ ID NO:43中所列氨基酸序列的抗体轻链可变区;

包含SEQ ID NO:40中所列氨基酸序列的抗体重链可变区和包含SEQ ID NO:44中所列氨基酸序列的抗体轻链可变区;

包含SEQ ID NO:40中所列氨基酸序列的抗体重链可变区和包含SEQ ID NO:45中所列氨基酸序列的抗体轻链可变区;

包含SEQ ID NO:41中所列氨基酸序列的抗体重链可变区和包含SEQ ID NO:43中所列氨基酸序列的抗体轻链可变区;

包含SEQ ID NO:41中所列氨基酸序列的抗体重链可变区和包含SEQ ID NO:44中所列氨基酸序列的抗体轻链可变区;

包含SEQ ID NO:41中所列氨基酸序列的抗体重链可变区和包含SEQ ID NO:45中所列氨基酸序列的抗体轻链可变区;

包含SEQ ID NO:42中所列氨基酸序列的抗体重链可变区和包含SEQ ID NO:43中所列氨基酸序列的抗体轻链可变区;

包含SEQ ID NO:42中所列氨基酸序列的抗体重链可变区和包含SEQ ID NO:44中所列氨基酸序列的抗体轻链可变区;或

包含SEQ ID NO:42中所列氨基酸序列的抗体重链可变区和包含SEQ ID NO:45中所列氨基酸序列的抗体轻链可变区。

4. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述抗体包含包含SEQ ID NO:42所列氨基酸序列的抗体重链可变区和包含SEQ ID NO:44所示氨基酸序列的轻链可变区。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的抗体,其中所述抗体以小于 10×10^{-9} M的IC₅₀抑制补体介导的细胞裂解和/或以小于 50×10^{-9} M的IC₅₀抑制C4激活。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的抗体,其中所述抗体以高亲合力结合C1复合物中

的补体组分C1s。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的抗体,其中所述抗体是人源化单克隆抗体。

8. 根据权利要求1-7中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合人补体C1s蛋白,大鼠补体C1s蛋白,或猴补体C1s蛋白,或其中所述抗体结合人补体C1s蛋白、大鼠补体C1s蛋白和猴补体C1s蛋白。

9. 根据权利要求1-7中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含人源化轻链框架区和/或人源化重链框架区。

10. 根据权利要求9所述的抗体,其中所述人源化轻链框架区包含表8中所示的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18种氨基酸置换,或其中所述人源化重链框架区包含表7中所示的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12种氨基酸置换。

11. 根据权利要求1-7中任一项所述的抗体,其中所述抗体选自由Ig单体、Fab片段、F(ab')₂片段、Fd片段、scFv、scAb、dAb、Fv、单结构域重链抗体和单结构域轻链抗体组成的组。

12. 根据权利要求1-7中任一项所述的抗体,其中所述抗体选自由单特异性抗体、双特异性抗体和多特异性抗体组成的组。

13. 根据权利要求1-7中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含在单独的多肽中存在的轻链区和重链区,或其中所述抗体包含在单一多肽中存在的轻链区和重链区。

14. 根据权利要求1-7中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含Fc区。

15. 根据权利要求1-7中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含:

i) 具有氨基酸序列SEQ ID NO:1的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:2的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:3的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:4的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的CDR-H2和具有氨基酸序列SEQ ID NO:6的CDR-H3;或

ii) 具有氨基酸序列SEQ ID NO:32的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:33的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:34的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:35的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:36的CDR-H2和具有氨基酸序列SEQ ID NO:37的CDR-H3。

16. 根据权利要求1-15中任一项所述的抗体,其中所述抗体被包封在脂质体中,或其中所述抗体包含共价连接的非肽合成聚合物,或其中所述抗体是与促进穿越血脑屏障的试剂一起配制的,或其中所述抗体直接地或通过连接子与促进穿越血脑屏障的化合物融合,其中所述化合物选自由载体分子、肽或蛋白质组成的组。

17. 一种核酸,其包含编码根据权利要求1-15中任一项所述的抗体的核苷酸序列。

18. 一种重组载体,其包含根据权利要求17所述的核酸。

19. 一种重组细胞,其包含根据权利要求17所述的核酸或根据权利要求18所述的重组载体。

20. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1-16中任一项所述的抗体和药学上可接受的赋形剂。

21. 一种无菌容器,其包含根据权利要求20所述的药物组合物。

22. 根据权利要求21所述的无菌容器,其中所述容器选自由瓶子和注射器组成的组。

23. 根据权利要求1-16中任一项所述的抗体或根据权利要求20所述的药物组合物制造用于在个体中治疗补体介导的疾病或病症的药物的用途。

24. 根据权利要求23所述的用途,其中所述个体是哺乳动物。
25. 根据权利要求23所述的用途,其中所述个体是人。
26. 根据权利要求23-25中任一项所述的用途,其中所述药物是通过静脉内施用,皮下施用,或鞘内施用来施用的。
27. 根据权利要求23-26中任一项所述的用途,其中所述抗体是以提供 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 至 $1\text{mg}/\text{ml}$ 的峰血清水平的量施用的。

抗补体C1s抗体和其用途

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求2012年11月2日提交的美国临时专利申请No.61/721,916、2013年1月18日提交的美国临时专利申请No.61/754,123、2013年3月13日提交的美国临时专利申请No.61/779,180和2013年7月15日提交的美国临时专利申请No.61/846,402的权益,所述申请以引用的方式整体并入本文中。

[0003] 引言

[0004] 补体系统是众所周知的免疫响应的效应机制,其不仅提供针对病原体和其它有害剂的保护,而且提供从损伤中恢复。补体途径包括许多通常以非活性形式存在于体内的蛋白质。经典补体途径是通过补体的第一组分的激活来触发,所述第一组分被称为C1复合物,其由C1q、C1r和C1s蛋白组成。在C1结合于免疫复合物或其它激活物后,C1s组分,即氟代磷酸二异丙酯(DFP)敏感性丝氨酸蛋白酶,裂解补体组分C4和C2以启动经典补体途径的激活。所述经典补体途径似乎在许多疾病和病症中发挥作用。

[0005] 本领域中需要治疗补体介导的疾病或病症的化合物。还需要可以检测或监测此类疾病或病症的化合物。此外需要制备和使用此类化合物和其组合物的方法。

[0006] 概述

[0007] 本公开提供结合补体C1s蛋白的抗体;和编码此类抗体的核酸分子。本公开还提供包含此类抗体的组合物,和制备和使用此类抗体、核酸分子和组合物的方法。

[0008] 本公开提供抑制补体组分C4裂解的分离的人源化单克隆抗体,其中所述抗体不抑制补体组分C2的裂解。在一些情况下,所述抗体抑制经典补体途径的组分;在一些情况下,所述经典补体途径成分是C1s。在一些情况下,所述抗体不抑制C1s的蛋白酶活性。

[0009] 本公开提供特异性结合涵盖补体组分1s (C1s) 的结构域IV和V的区域内的表位的分离的人源化单克隆抗体。在一些情况下,所述抗体抑制C1s与补体组分4 (C4) 的结合。在一些情况下,所述抗体不抑制C1s的蛋白酶活性。在一些情况下,由本公开的分离的人源化单克隆抗体结合的表位是构象表位。

[0010] 本公开提供以高亲和力结合C1复合物中的补体组分C1s的分离的人源化单克隆抗体。

[0011] 本公开提供分离的人源化单克隆抗体,其对补体组分C1s具特异性并且以小于 10×10^{-9} M的IC50抑制补体介导的细胞裂解和/或以小于 50×10^{-9} M的IC50抑制C4激活。

[0012] 在任何本公开的实施方案中,所述抗体可包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体轻链可变区的一个或多个互补决定区(CDR)或含有氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体重链可变区的一个或多个

[0013] CDR。

[0014] 在任何本公开的实施方案中,所述抗体可包含:a)具有选自由SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6组成的组的氨基酸序列的互补决定区(CDR);或b)具有选自由SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36组成的组的氨基酸序列的CDR。

[0015] 在任何本公开的实施方案中,所述抗体可包含:a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体轻链可变区的轻链CDR或包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体重链可变区的重链CDR;或b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的抗体轻链可变区的轻链CDR或包含氨基酸序列SEQ ID NO:38的抗体重链可变区的重链CDR。

[0016] 在任何本公开的实施方案中,所述抗体可包含:a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体轻链可变区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体重链可变区的重链CDR;或b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的抗体轻链可变区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:38的抗体重链可变区的重链CDR。

[0017] 在任何本公开的实施方案中,所述抗体可包含具有选自a) SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的氨基酸序列的重链和轻链互补决定区(CDR);和b)具有选自SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的氨基酸序列的CDR。

[0018] 本公开提供特异性结合补体组分1s(C1s)的人源化抗体,其中所述抗体与包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体轻链可变区的一个或多个CDR或含有氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体重链可变区的一个或多个CDR的抗体竞争结合所述表位。

[0019] 本公开提供特异性结合补体组分1s(C1s)的人源化抗体,其中所述抗体选自由以下组成的组:a)特异性结合所述补体C1s蛋白内的表位的人源化抗体,其中所述抗体与包含具有选自由SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6组成的组的氨基酸序列的CDR的抗体竞争结合所述表位;和b)特异性结合所述补体C1s蛋白内的表位的人源化抗体,其中所述抗体与包含具有选自由SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36组成的组的氨基酸序列的CDR的抗体竞争结合所述表位。

[0020] 本公开提供结合补体C1s蛋白的人源化抗体,其中所述抗体特异性结合所述补体C1s蛋白内的表位,其中所述抗体与包含以下的抗体竞争结合所述表位:a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:37的抗体轻链可变区的轻链CDR;或b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:38的抗体重链可变区的重链CDR。

[0021] 本公开提供结合补体C1s蛋白的人源化抗体,其中所述抗体特异性结合所述补体C1s蛋白内的表位,其中所述抗体与包含以下的抗体竞争结合所述表位:a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:37的抗体轻链可变区的轻链CDR;和b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:38的抗体重链可变区的重链CDR。在一些情况下,所述抗体与包含含有以下的重链和轻链CDR的抗体竞争结合所述表位:a) SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6;或b) SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36。

[0022] 在任何本公开的实施方案中,所述抗体可结合人补体C1s蛋白。在任何本公开的实施方案中,所述抗体可结合大鼠补体C1s蛋白。在任何本公开的实施方案中,所述抗体可结合猴补体C1s蛋白。在任何本公开的实施方案中,所述抗体可结合人补体C1s蛋白、大鼠补体C1s蛋白和猴补体C1s蛋白。在任何本公开的实施方案中,所述抗体可包含人源化轻链框架区。例如,所述人源化轻链框架区可包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18种在表8中所示的氨基酸置换。在任何本公开的实施方案中,所述抗体可包含人源化重链

框架区。例如,所述人源化重链框架区可包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12种在表7中所示的氨基酸置换。在任何本公开的实施方案中,所述抗体可为结合补体C1s蛋白的抗原结合片段。在任何本公开的实施方案中,所述抗体选自由Ig单体、Fab片段、F(ab')₂片段、Fd片段、scFv、scAb、dAb、Fv、单结构域重链抗体和单结构域轻链抗体组成的组。在任何本公开的实施方案中,所述抗体选自由单特异性抗体、双特异性抗体和多特异性抗体组成的组。在任何本公开的实施方案中,所述抗体可包含在单独的多肽中存在的轻链区和重链区。在任何本公开的实施方案中,所述抗体可包含在单一多肽中存在的轻链区和重链区。在任何本公开的实施方案中,所述抗体可包含Fc区。在任何本公开的实施方案中,所述轻链和重链CDR选自由以下组成的组:a) SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6;和b) SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36。

[0023] 本公开提供结合补体C1s蛋白的抗体,其中所述抗体包含具有选自由SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6组成的组的氨基酸序列的互补决定区(CDR)。在一些实施方案中,所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的轻链可变区。在一些实施方案中,所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的重链可变区。在一些实施方案中,所述抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:1的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:2的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:3的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:4的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的CDR-H2和具有氨基酸序列SEQ ID NO:6的CDR-H3。

[0024] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与氨基酸序列SEQ ID NO:7具有90%同一性的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与氨基酸序列SEQ ID NO:8具有90%同一性的氨基酸序列的重链可变区。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:7的轻链可变区。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:8的重链可变区。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与氨基酸序列SEQ ID NO:7具有90%同一性的氨基酸序列的轻链可变区和含有与氨基酸序列SEQ ID NO:8具有90%同一性的氨基酸序列的重链可变区。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:7的轻链可变区和含有氨基酸序列SEQ ID NO:8的重链可变区。

[0025] 本公开提供结合补体C1s蛋白的抗体,其中所述抗体特异性结合所述补体C1s蛋白内的表位,其中所述抗体与包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体轻链可变区的轻链CDR和含有氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体重链可变区的重链CDR的抗体竞争结合所述表位。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体轻链可变区的轻链CDR和含有氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体重链可变区的重链CDR。

[0026] 在任何上述实施方案中,本公开的抗C1s抗体结合人补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体结合大鼠补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制由补体C1s蛋白裂解的至少一种底物的裂解。在一些实施方案中,所述底物选自由补体C2和补体C4组成的组。

[0027] 在任何上述实施方案中,本公开的抗C1s抗体可包含人源化轻链框架区。在任何上述实施方案中,本公开的抗C1s抗体可包含人源化重链框架区。

[0028] 在任何上述实施方案中,本公开的抗C1s抗体可为结合补体C1s蛋白的Ig单体或其抗原结合片段。在任何上述实施方案中,本公开的抗C1s抗体可为结合补体C1s蛋白的抗原结合片段。在任何上述实施方案中,本公开的抗C1s抗体选自由Ig单体、Fab片段、F(ab')₂片段、Fd片段、scFv、scAb、dAb、Fv、单结构域重链抗体和单结构域轻链抗体组成的组。在任何上述实施方案中,本公开的抗C1s抗体选自由单特异性抗体、双特异性抗体和多特异性抗体组成的组。

[0029] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含在单独的多肽中存在的轻链区和重链区。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含在单一多肽中存在的轻链区和重链区。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含Fc区。

[0030] 本公开提供竞争结合由抗体IPN003(在本文中也称为“IPN-M34”或“M34”或“TNT003”)结合的表位的抗体。本公开提供包含抗体IPN003的可变结构域的抗体。本公开提供抗体IPN003。

[0031] 本公开提供由包括重组制备的方法制备的抗C1s抗体。

[0032] 本公开提供结合补体C1s蛋白的抗体,其中所述抗体被包封在脂质体中。

[0033] 本公开提供结合补体C1s蛋白的抗体,其中所述抗体包含共价连接的非肽合成聚合物。在一些实施方案中,所述合成聚合物是聚(乙二醇)聚合物。

[0034] 本公开提供结合补体C1s蛋白的抗体,其中所述抗体是与促进穿越血脑屏障的试剂一起配制的。

[0035] 本公开提供结合补体C1s蛋白的抗体,其中所述抗体直接地或通过连接子与促进穿越血脑屏障的化合物融合,其中所述化合物选自由载体分子、肽或蛋白质组成的组。

[0036] 本公开提供编码本文公开的任何实施方案的抗C1s抗体的核酸分子。在一些实施方案中,本公开提供包含此类核酸分子的重组载体。在一些实施方案中,本公开提供包含此类核酸分子的重组分子。在一些实施方案中,本公开提供包含此类重组分子的重组细胞。

[0037] 本公开提供包含本文公开的任何实施方案的抗C1s抗体和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。一些实施方案包括包含此类药物组合物的无菌容器。在一些实施方案中,所述容器选自由瓶子和注射器组成的组。

[0038] 本公开提供治疗具有补体介导的疾病或病症的个体的方法,所述方法包括向所述个体施用本文公开的任何实施方案的抗C1s抗体或其药物组合物。在一些实施方案中,所述个体是哺乳动物。在一些实施方案中,所述个体是人。在一些实施方案中,所述施用是静脉内施用。在一些实施方案中,所述施用是鞘内施用。在一些实施方案中,所述施用导致选自由以下组成的组的结果:(a)补体激活的降低;(b)认知功能的提高;(c)神经元损失的减少;(d)神经元中的磷酸化Tau水平的降低;(e)神经胶质细胞活化的降低;(f)淋巴细胞浸润的减少;(g)巨噬细胞浸润的减少;(h)抗体沉积的减少;(i)神经胶质细胞损失的减少;(j)少突胶质细胞损失的减少;(k)树突状细胞浸润的减少;(l)嗜中性粒细胞浸润的减少;(m)红血细胞裂解的减少;(n)红血细胞吞噬作用的降低;(o)血小板吞噬作用的降低;(p)血小板裂解的减少;(q)移植物存活率的提高;(r)巨噬细胞介导的吞噬作用的降低;(s)视力的改善;(t)运动控制的改善;(u)血栓形成的改善;(v)凝血的改善;(w)肾功能的改善;(x)抗体介导的补体激活的减少;(y)自身抗体介导的补体激活的减少;(z)贫血的改善;(aa)脱髓鞘的减少;(ab)嗜酸粒细胞增多的降低;(ac)C3在红血细胞上的沉积的减少(例如,C3b、iC3b

等在RBC上的沉积的减少); (ad) C3在血小板上的沉积的减少(例如, C3b、iC3b等在血小板上的沉积的减少); (ae) 过敏毒素(例如, C3a、C4a、C5a)产生的降低; (af) 自身抗体介导的水疱形成的减少; (ag) 自身抗体诱发的瘙痒的减少; (ah) 自身抗体诱发的红斑狼疮的减少; (ai) 自身抗体介导的皮肤糜烂的减少; (aj) 由于输液反应所致的红血细胞破坏的减少; (ak) 由于异体抗体所致的红血细胞裂解的减少; (al) 由于输液反应所致的溶血的减少; (am) 异体抗体介导的血小板裂解的减少; (an) 由于输液反应所致的血小板裂解的减少; (ao) 肥大细胞活化的减少; (ap) 肥大细胞组织胺释放的减少; (aq) 血管渗透性的降低; (ar) 水肿的减少; (as) 补体在移植物内皮上的沉积的减少; (at) 在移植物内皮中的过敏毒素产生的降低; (au) 真皮表皮交界的分离的减少; (av) 真皮表皮交界中的过敏毒素产生的降低; (aw) 在移植物内皮中的异体抗体介导的补体激活的降低; (ax) 神经肌肉交界处的抗体介导的损失的减少; (ay) 神经肌肉交界处的补体激活的降低; (az) 神经肌肉交界处的过敏毒素产生的降低; (ba) 神经肌肉交界处的补体沉积的减少; (bb) 麻痹减少; (bc) 麻木减少; (bd) 增加的膀胱控制; (be) 增加的排便控制; (bf) 与自身抗体相关的死亡率的降低; 和 (bg) 与自身抗体相关的发病率的降低。在一些实施方案中, 神经胶质细胞活化的降低包括星形细胞活化的降低或小胶质细胞活化的降低。

[0039] 本公开提供抑制具有补体介导的疾病或病症的个体中的补体激活的方法, 所述方法包括向所述个体施用本文公开的任何实施方案的抗C1s抗体或其药物组合物。在一些实施方案中, 所述个体是哺乳动物。在一些实施方案中, 所述个体是人。在一些实施方案中, 所述施用是静脉内施用。在一些实施方案中, 所述施用是鞘内施用。在一些实施方案中, 所述施用是皮下施用。在一些实施方案中, 所述施用导致选自以下组成的组的结果: (a) 补体激活的降低; (b) 认知功能的提高; (c) 神经元损失的减少; (d) 神经元中的磷酸化Tau水平的降低; (e) 神经胶质细胞活化的降低; (f) 淋巴细胞浸润的减少; (g) 巨噬细胞浸润的减少; (h) 抗体沉积的减少; (i) 神经胶质细胞损失的减少; (j) 少突胶质细胞损失的减少; (k) 树突状细胞浸润的减少; (l) 嗜中性粒细胞浸润的减少; (m) 红血细胞裂解的减少; (n) 红血细胞吞噬作用的降低; (o) 血小板吞噬作用的降低; (p) 血小板裂解的减少; (q) 移植物存活率的提高; (r) 巨噬细胞介导的吞噬作用的降低; (s) 视力的改善; (t) 运动控制的改善; (u) 血栓形成的改善; (v) 凝血的改善; (w) 肾功能的改善; (x) 抗体介导的补体激活的减少; (y) 自身抗体介导的补体激活的减少; (z) 贫血的改善; (aa) 脱髓鞘的减少; (ab) 嗜酸粒细胞增多的降低; (ac) C3在红血细胞上的沉积的减少(例如, C3b、iC3b等在RBC上的沉积的减少); (ad) C3在血小板上的沉积的减少(例如, C3b、iC3b等在血小板上的沉积的减少); (ae) 过敏毒素产生的降低; (af) 自身抗体介导的水疱形成的减少; (ag) 自身抗体诱发的瘙痒的减少; (ah) 自身抗体诱发的红斑狼疮的减少; (ai) 自身抗体介导的皮肤糜烂的减少; (aj) 由于输液反应所致的红血细胞破坏的减少; (ak) 由于异体抗体所致的红血细胞裂解的减少; (al) 由于输液反应所致的溶血的减少; (am) 异体抗体介导的血小板裂解的减少; (an) 由于输液反应所致的血小板裂解的减少; (ao) 肥大细胞活化的减少; (ap) 肥大细胞组织胺释放的减少; (aq) 血管渗透性的降低; (ar) 水肿的减少; (as) 补体在移植物内皮上的沉积的减少; (at) 在移植物内皮中的过敏毒素产生的降低; (au) 真皮表皮交界的分离的减少; (av) 真皮表皮交界中的过敏毒素产生的降低; (aw) 在移植物内皮中的异体抗体介导的补体激活的降低; (ax) 神经肌肉交界处的抗体介导的损失的减少; (ay) 神经肌肉交界处的补体激活的降低;

(az) 神经肌肉交界处的过敏毒素产生的降低；(ba) 神经肌肉交界处的补体沉积的减少；(bb) 麻痹减少；(bc) 麻木减少；(bd) 增加的膀胱控制；(be) 增加的排便控制；(bf) 与自身抗体相关的死亡率的降低；和 (bg) 与自身抗体相关的发病率的降低。在一些实施方案中，神经胶质细胞活化的降低包括星形细胞活化的降低或小胶质细胞活化的降低。

[0040] 本公开提供任何实施方案的抗C1s抗体或其药物组合物在治疗具有补体介导的疾病或病症的个体中的用途。

[0041] 本公开提供任何实施方案的抗C1s抗体在制造供治疗具有补体介导的疾病或病症的个体的药物中的用途。

[0042] 本公开提供任何实施方案的抗C1s抗体或其药物组合物在抑制补体C1s活性中的用途，其中“抑制补体C1s活性”包括抑制补体激活，例如抑制C4b2a（即，补体C4b和C2a复合物；也称为“C3转化酶”）的产生。在一些实施方案中，本公开提供任何实施方案的抗C1s抗体或其药物组合物在抑制具有补体介导的疾病或病症的个体中的补体激活中的用途。

[0043] 本公开提供任何实施方案的抗C1s抗体或其药物组合物在制造供抑制补体激活的药物中的用途。在一些实施方案中，本公开提供任何实施方案的抗C1s抗体或其药物组合物在制造供抑制具有补体介导的疾病或病症的个体中的补体激活的药物中的用途。

[0044] 本公开提供用于医学治疗中的任何实施方案的抗C1s抗体或其药物组合物。

[0045] 本公开提供用于治疗具有补体介导的疾病或病症的个体的任何实施方案的抗C1s抗体或其药物组合物。

[0046] 本公开提供用于抑制补体激活的任何实施方案的抗C1s抗体或其药物组合物。本公开提供用于抑制具有补体介导的疾病或病症的个体中的补体激活的任何实施方案的抗C1s抗体或其药物组合物。

[0047] 本公开提供诊断个体中的补体介导的疾病或病症的方法，所述方法包括：(a) 测定从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的量，其中所述测定步骤包括：(i) 使所述生物样品与任何实施方案的抗C1s抗体接触；和(ii) 定量所述抗体与在所述生物样品中存在的补体C1s蛋白的结合；和(b) 将所述生物样品中的所述补体C1s蛋白的量与指示正常对照个体中的补体C1s蛋白的量的正常对照值进行比较，其中所述生物样品中的C1s蛋白的量与所述正常对照值之间的显著差异指示所述个体具有补体介导的疾病或病症。在一些实施方案中，所述生物样品选自由血液、血清、血浆、尿液、唾液、脑脊髓液、间质液、眼液、滑液、固体组织样品、组织培养样品和细胞样品组成的组。

[0048] 本公开提供监测个体中的补体介导的疾病或病症的进展的方法，所述方法包括：(a) 在第一时间点测定从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的第一量；(b) 在第二时间点测定从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的第二量；和(c) 比较补体C1s蛋白的所述第二量与补体C1s蛋白的所述第一量。所述测定步骤包括：(i) 使所述生物样品与任何实施方案的抗C1s抗体接触；和(ii) 定量所述抗体与在所述生物样品中存在的补体C1s蛋白的结合。在一些实施方案中，所述第一时间点是在治疗方案开始之前的时间点，并且所述第二时间点是在治疗方案开始之后的时间点。在一些实施方案中，所述生物样品选自由血液、血清、血浆、尿液、唾液、脑脊髓液、间质液、眼液、滑液、固体组织样品、组织培养样品和细胞样品组成的组。

[0049] 本公开提供检测从个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的体外方法，所述方法

包括：(a) 使所述生物样品与任何实施方案的抗C1s抗体接触；和(b) 检测所述抗体与在所述生物样品中存在的补体C1s蛋白的结合。在一些实施方案中，所述生物样品选自由血液、血清、血浆、尿液、唾液、脑脊髓液、间质液、眼液、滑液、固体组织样品、组织培养样品和细胞样品组成的组。在一些实施方案中，所述方法是定量的。

[0050] 本公开提供在体内检测活的个体中的补体C1s蛋白的方法，所述方法包括：(a) 向所述个体施用任何实施方案的抗C1s抗体；和(b) 使用成像方法检测所述抗体与所述个体中的补体C1s蛋白的结合。在一些实施方案中，在所述个体中被补体介导的疾病或病症改变的位点处检测所述结合。在一些实施方案中，在所述个体的脑部中检测所述结合。在一些实施方案中，所述抗体包含适用于成像方法中的造影剂。在一些实施方案中，所述成像方法选自由磁共振成像、正电子发射断层扫描和IVIS仪器检测组成的组。在一些实施方案中，所述方法是定量的。

[0051] 在一些实施方案中，所述生物样品选自由血液、血清、血浆、尿液、唾液、脑脊髓液、间质液、眼液、滑液、固体组织样品、组织培养样品和细胞样品组成的组。

[0052] 在一些实施方案中，本公开的方法提供：所述个体疑似具有补体介导的疾病或病症，已经被诊断为具有补体介导的疾病或病症，或者具有患上补体介导的疾病或病症的遗传倾向。

[0053] 本公开提供一种组合物，其包含：(a) 任何实施方案的抗C1s抗体；和(b) 包含保存预期移植到接受者个体中的器官或组织的一种或多种试剂的溶液。在一些实施方案中，所述溶液是器官保存液或组织保存液。在一些实施方案中，所述溶液是器官灌注液或组织灌注液。在一些实施方案中，所述溶液包含：i) 盐；ii) 减少水肿的药剂；iii) 氧自由基清除剂；和iii) 供能系统组分。在一些实施方案中，所述组合物包含乳糖酸钾、 KH_2PO_4 、 MgSO_4 、棉子糖、腺苷、谷胱甘肽、别嘌呤醇和羟乙基淀粉。

[0054] 本公开提供包含任何实施方案的抗C1s抗体或其药物组合物的器官或组织保存液。

[0055] 本公开提供包含任何实施方案的抗C1s抗体或其药物组合物的器官或组织灌注液。

[0056] 本公开提供用于保存用于移植的器官或组织的方法，所述方法包括使所述器官或所述组织与组合物接触，所述组合物包含：(a) 任何实施方案的抗C1s抗体；和(b) 任何实施方案的器官或组织保存液或者任何实施方案的器官或组织灌注液。

[0057] 本公开提供保存在组合物中的分离的器官或组织，所述组合物包含：(a) 任何实施方案的抗C1s抗体；和(b) 任何实施方案的器官或组织保存液或者任何实施方案的器官或组织灌注液。在一些实施方案中，所述器官选自由眼睛、心脏、肠、肾脏、肝脏、肺、胰脏、胃和胸腺组成的组。在一些实施方案中，所述组织选自由骨骼、骨髓、角膜、心脏瓣膜、朗格汉斯胰岛(islet of Langerhans)、肌腱、皮肤和静脉组成的组。

[0058] 本公开提供用于抑制器官或组织中的补体激活的体外方法，所述方法包括使所述器官或所述组织与任何实施方案的抗C1s抗体、包含任何实施方案的抗C1s抗体的溶液或包含任何实施方案的抗C1s抗体的药物组合物接触。

[0059] 本发明的某些方面在以下编号的段落(0056-0076)中进行定义。

[0060] 结合补体C1s蛋白的抗体，其中所述抗体包含具有选自由SEQ ID NO:1、SEQ ID

NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6组成的组的氨基酸序列的互补决定区(CDR)。

[0061] 第0056段落的抗体,其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的轻链可变区。第0056段落的抗体,其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的重链可变区。

[0062] 第0056段落的抗体,其中所述抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:1的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:2的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:3的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:4的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的CDR-H2和具有氨基酸序列SEQ ID NO:6的CDR-H3。

[0063] 第0056段落的抗体,其中所述抗体包含含有与氨基酸序列SEQ ID NO:7具有90%同一性的氨基酸序列的轻链可变区。第0056段落的抗体,其中所述抗体包含含有与氨基酸序列SEQ ID NO:8具有90%同一性的氨基酸序列的重链可变区。第0056段落的抗体,其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:7的轻链可变区。第0056段落的抗体,其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:8的重链可变区。

[0064] 第0056段落的抗体,其中所述抗体包含含有与氨基酸序列SEQ ID NO:7具有90%同一性的氨基酸序列的轻链可变区和含有与氨基酸序列SEQ ID NO:8具有90%同一性的氨基酸序列的重链可变区。第0056段落的抗体,其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:7的轻链可变区和含有氨基酸序列SEQ ID NO:8的重链可变区。

[0065] 结合补体C1s蛋白的抗体,其中所述抗体特异性结合所述补体C1s蛋白内的表位,其中所述抗体与包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体轻链可变区的轻链CDR和含有氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体重链可变区的重链CDR的抗体竞争结合所述表位。

[0066] 第0061段落的抗体,其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体轻链可变区的轻链CDR和含有氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体重链可变区的重链CDR。

[0067] 第0056-0062段落中任一个的抗体,其中所述抗体结合人补体C1s蛋白。第0056-0062段落中任一个的抗体,其中所述抗体结合大鼠补体C1s蛋白或猴补体C1s蛋白。

[0068] 第0056-0063段落中任一个的抗体,其中所述抗体抑制由补体C1s蛋白裂解的至少一种底物的裂解。

[0069] 第0064段落的抗体,其中所述底物选自由补体C2和补体C4组成的组。

[0070] 第0056-0065段落中任一个的抗体,其中所述抗体包含人源化轻链框架区。第0056-0065段落中任一个的抗体,其中所述抗体包含人源化重链框架区。

[0071] 第0056-0066段落中任一个的抗体,其中所述抗体选自由结合补体C1s蛋白的Ig单体和其抗原结合片段组成的组。

[0072] 第0056-0066段落中任一个的抗体,其中所述抗体是结合补体C1s蛋白的抗原结合片段。

[0073] 第0056-0066段落中任一个的抗体,其中所述抗体选自由Ig单体、Fab片段、F(ab')₂片段、Fd片段、scFv、scAb、dAb、Fv、单结构域重链抗体和单结构域轻链抗体组成的组。

[0074] 第0056-0066段落中任一个的抗体,其中所述抗体选自由单特异性抗体、双特异性抗体和多特异性抗体组成的组。第0056-0066段落中任一个的抗体,其中所述抗体包含在单

独的多肽中存在的轻链区和重链区。第0056-0066段落中任一个的抗体,其中所述抗体包含在单一多肽中存在的轻链区和重链区。

[0075] 第0056-0066段落和第0070段落中任一个的抗体,其中所述抗体包含Fc区。

[0076] 第0056-0071段落中任一个的抗体,其中所述抗体被包封在脂质体中。

[0077] 第0056-0071段落中任一个的抗体,其中所述抗体包含共价连接的非肽合成聚合物。

[0078] 第0073段落的抗体,其中在所述合成聚合物中的是聚(乙二醇)聚合物。

[0079] 第0056-0071段落中任一个的抗体,其中所述抗体是与促进穿越血脑屏障的试剂一起配制的。

[0080] 第0056-0071段落中任一个的抗体,其中所述抗体直接地或通过连接子与促进穿越血脑屏障的化合物融合,其中所述化合物选自由载体分子、肽或蛋白质组成的组。

附图说明

[0081] 图1描绘智人补体C1s蛋白的氨基酸序列(SEQ ID NO:9)。

[0082] 图2提供表2。

[0083] 图3描绘IPN003 (M34) 对于M81与人C1s结合的竞争。

[0084] 图4描绘IPN003对于人补体蛋白C4的C1s介导的激活的抑制。

[0085] 图5描绘使用标准溶血测定测定的IPN003对于完整经典补体级联的激活的影响。

[0086] 图6和图7描绘IPN003对于来自两个猴物种的血清中的补体的抑制。

[0087] 图8描绘IPN003对C1s的特异性。

[0088] 图9提供表4。

[0089] 图10描绘IPN003和M81与大鼠C1s的结合。

[0090] 图11描绘IPN003对于大鼠C1s介导的人C4裂解的抑制。

[0091] 图12描绘IPN003对于大鼠C1s介导的人C4裂解的抑制和IPN003对于人C1s介导的人C4裂解的抑制。

[0092] 图13描绘IPN003对于患者血清介导的人红血细胞溶血的影响。

[0093] 图14描绘IPN003对于患者血清介导的在人红血细胞上的C3b沉积的影响。

[0094] 图15提供IPN003 VL和VH区、IPN003 VL CDR和IPN003 VH CDR的氨基酸序列。

[0095] 图16描绘人源化IPN003 VH变体1的氨基酸序列;和编码所述氨基酸序列的核苷酸序列(SEQ ID NO:46)。

[0096] 图17描绘人源化IPN003 VH变体2的氨基酸序列;和编码所述氨基酸序列的核苷酸序列(SEQ ID NO:47)。

[0097] 图18描绘人源化IPN003 VH变体3的氨基酸序列;和编码所述氨基酸序列的核苷酸序列(SEQ ID NO:48)。

[0098] 图19描绘人源化IPN003 VH变体4的氨基酸序列;和编码所述氨基酸序列的核苷酸序列(SEQ ID NO:49)。

[0099] 图20描绘人源化IPN003 Vκ变体1的氨基酸序列;和编码所述氨基酸序列的核苷酸序列(SEQ ID NO:50)。

[0100] 图21描绘人源化IPN003 Vκ变体2的氨基酸序列;和编码所述氨基酸序列的核苷酸

序列 (SEQ ID NO:51)。

[0101] 图22描绘人源化IPN003 V_K变体3的氨基酸序列;和编码所述氨基酸序列的核苷酸序列 (SEQ ID NO:52)。

[0102] 图23提供表7,其示出亲本IPN003 VH与示例性VH变体之间的氨基酸差异;和表8,其示出亲本IPN003 VL与示例性VL变体之间的氨基酸差异。

[0103] 图24提供表9和表10,其示出人源化IPN003变体与激活的C1s和pro-C1s的结合特性。

[0104] 图25描绘IPN003的人源化变体对于与IPN003竞争结合C1s的IC₅₀。

[0105] 图26描绘IPN003的人源化变体对于补体经典途径的抑制。

[0106] 图27A和图27B描绘3种人源化IPN003变体对于经典补体途径 (图27A) 和替代补体途径 (图27B) 的激活的影响。

[0107] 图28描绘人源化IPN003变体对于补体介导的溶血和对于抗体致敏红血细胞 (RBC) 上的C3b沉积的影响。

[0108] 图29描绘IPN003或人源化IPN003变体 (hu-IPN003) 对于冷凝集素病 (CAD) 患者血浆介导的溶血的抑制。

[0109] 图30描绘IPN003或hu-IPN003对于过敏毒素产生的抑制。

[0110] 图31描绘IPN003对于CAD患者血浆介导的在人RBC上的C3b沉积的抑制。

[0111] 图32描绘IPN003对于CAD患者血浆介导的在人RBC上的C3b沉积的浓度依赖性抑制。

[0112] 图33A和图33B描绘对于人源化IPN003变体 (图33A) 和对于嵌合抗C1s抗体 (图33B) 的增殖响应。

[0113] 图34描绘TNT003对于由冷凝集素病 (CAD) 患者的血浆中存在的自身抗体介导的补体依赖性溶血的影响。

[0114] 图35描绘TNT003对于由CAD患者的血浆中存在的自身抗体介导的补体依赖性C3b沉积的影响。

[0115] 图36描绘TNT003对于由CAD患者的血浆中存在的自身抗体介导的补体依赖性吞噬作用的影响。

[0116] 图37A-C描绘TNT003对于由CAD患者的血浆中存在的自身抗体介导的补体依赖性C3a、C4a和C5a产生的影响。

[0117] 图38A和图38B描绘TNT003在施用至非人灵长类动物后对于溶血和C3b沉积的离体活性。

[0118] 图39描绘TNT003在施用至非人灵长类动物后对于C4a产生的体内影响。

[0119] 图40描绘TNT003与人C1s片段的结合。

[0120] 图41描绘D343和D357的突变对于TNT003抑制C1s活性的影响。

[0121] 图42描绘TNT003对人C1s活性的抑制。

[0122] 图43A和图43B描绘TNT003与C1复合物中存在的C1s的结合。

[0123] 图44描绘TNT003和TNT003片段对于人C1s的抑制。

[0124] 图45描绘TNT003与人C1s在非还原条件下的结合。

[0125] 图46描绘TNT003对于补体C4激活、而非补体C2激活的抑制。

[0126] 图47描绘来自健康志愿者和来自CAD患者的血浆样品中的C1s水平。

[0127] 定义

[0128] 术语“抗体”和“免疫球蛋白”包括保持与抗原特异性结合的任何同种型的抗体或免疫球蛋白、抗体片段,包括但不限于Fab、Fv、scFv和Fd片段、嵌合抗体、人源化抗体、单链抗体(scAb)、单结构域抗体(dAb)、单结构域重链抗体、单结构域轻链抗体、双特异性抗体、多特异性抗体,和包含抗体和非抗体蛋白的抗原-结合(在本文中也称为抗原结合)部分的融合蛋白。抗体可例如用放射性同位素、产生可检测产物的酶、荧光蛋白等可检测地标记。抗体可进一步缀合至其它部分,诸如特异性结合对的成员,例如生物素(生物素-抗生物素蛋白特异性结合对的成员)等。抗体还可结合至固体支撑物,包括但不限于聚苯乙烯板或珠粒等。所述术语还涵盖Fab'、Fv、F(ab')₂和或保持与抗原特异性结合的其它抗体片段,和单克隆抗体。如本文所用,单克隆抗体是由一组相同的细胞产生的抗体,其全部是由单细胞通过重复的细胞复制而产生。也就是说,细胞的克隆只产生单一抗体种类。虽然单克隆抗体可使用杂交瘤制备技术来制备,但还可以使用本领域技术人员已知的其它制备方法(例如,源自抗体噬菌体展示文库的抗体)。抗体可以是单价的或二价的。抗体可以是Ig单体,其为由以下四条多肽链组成的“Y形”分子:通过二硫键连接的两条重链和两条轻链。

[0129] 如本文所用的术语“人源化免疫球蛋白”是指包含不同来源的免疫球蛋白部分的免疫球蛋白,其中至少一个部分包含人来源的氨基酸序列。例如,人源化抗体可包含源自具有必要特异性的非人来源(诸如小鼠)的免疫球蛋白的部分和源自人来源的免疫球蛋白序列的部分(例如嵌合免疫球蛋白),其通过常规技术(例如,合成)以化学方式接合在一起或者使用基因工程技术以连续多肽形式制备(例如,可表达编码嵌合抗体的蛋白质部分的DNA以产生连续多肽链)。人源化免疫球蛋白的另一个实例是含有包含源自非人来源的抗体的CDR和源自人来源的轻链和/或重链的框架区的一个或多个免疫球蛋白链的免疫球蛋白(例如,具有或不具有框架变化的CDR移植抗体)。术语人源化免疫球蛋白也涵盖嵌合或CDR移植单链抗体。参见例如Cabilly等人,美国专利No.4,816,567;Cabilly等人,欧洲专利No.0,125,023 B1;Boss等人,美国专利No.4,816,397;Boss等人,欧洲专利No.0,120,694 B1;Neuberger,M.S.等人,WO 86/01533;Neuberger,M.S.等人,欧洲专利No.0,194,276 B1;Winter,美国专利No.5,225,539;Winter,欧洲专利No.0,239,400 B1;Padlan,E.A.等人,欧洲专利申请No.0,519,596 A1。关于单链抗体,也参见Ladner等人,美国专利No.4,946,778;Huston,美国专利No.5,476,786;和Bird,R.E.等人,Science,242:423-426(1988))。

[0130] 例如,可使用合成和/或重组核酸来制备编码所需的人源化链的基因(例如cDNA)而产生人源化免疫球蛋白。例如,可使用PCR诱变方法以改变编码人或人源化链的DNA序列来构建编码人源化可变区的核酸(例如DNA)序列,诸如来自先前人源化可变区的DNA模板(参见例如Kamman,M.,等人,Nucl.Acids Res.,17:5404(1989));Sato,K.,等人,Cancer Research,53:851-856(1993);Daugherty,B.L.等人,Nucleic Acids Res.,19(9):2471-2476(1991);以及Lewis,A.P.和J.S.Crowe,Gene,101:297-302(1991))。使用这些或其它合适的方法,还可以容易地制备变体。例如,可对克隆的可变区进行诱变处理,并且可选择编码具有所需特异性的变体的序列(例如,来自噬菌体文库;参见例如Krebber等人,美国专利No.5,514,548;Hoogenboom等人,WO 93/06213,公布于1993年4月1日)。

[0131] “抗体片段”包含完整抗体的一部分,例如,完整抗体的抗原结合区或可变区。抗体

片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段；双抗体；线性抗体(Zapata等人,Protein Eng. 8 (10):1057-1062 (1995))；结构域抗体(dAb;Holt等人,(2003) Trends Biotechnol. 21:484)；单链抗体分子；和由抗体片段形成的多特异性抗体。抗体的木瓜蛋白酶消化产生两个相同的抗原结合片段,称为“Fab”片段,各自具有单一抗原结合位点,和残余的“Fc”片段,这是反映容易结晶的能力的名称。胃蛋白酶处理得到F(ab')₂片段,其具有两个抗原结合位点并且仍然能够交联抗原。

[0132] “Fv”是含有完全的抗原识别位点和抗原结合位点的最小抗体片段。这个区域由紧密、非共价缔合的一条重链和一条轻链可变结构域的二聚体组成。在这种构型中,每个可变结构域的三个CDR相互作用以限定V_H-V_L二聚体表面上的抗原结合位点。总的来说,六个CDR赋予抗体以抗原结合特异性。然而,即使单个可变结构域(或只包含三个对抗原具特异性的CDR的一半Fv)也具有识别和结合抗原的能力,但亲和力相比于整个结合位点较低。

[0133] “Fab”片段也含有轻链的恒定结构域和重链的第一恒定结构域(CH₁)。Fab片段与Fab'片段的不同之处在于在包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸的重链CH₁结构域的羧基端添加几个残基。Fab'-SH是本文中对于其中恒定结构域的半胱氨酸残基带有游离巯基的Fab'的名称。F(ab')₂抗体片段最初是以Fab'片段对的形式产生,所述Fab'片段之间具有铰链半胱氨酸。抗体片段的其它化学偶联也是已知的。

[0134] 来自任何脊椎动物物种的抗体(免疫球蛋白)的“轻链”可根据其恒定结构域的氨基酸序列而指派为两种明显不同的类型(称为κ和λ)之一。免疫球蛋白可根据其重链的恒定结构域的氨基酸序列而指派为不同的类别。存在五种主要类别的免疫球蛋白:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,并且这些类别中的几种可以进一步分成子类(同种型),例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA和IgA2。所述子类可进一步分成类型,例如IgG2a和IgG2b。

[0135] “单链Fv”或“sFv”或“scFv”抗体片段包含抗体的V_H和V_L结构域,其中这些结构域存在于单一多肽链中。在一些实施方案中,Fv多肽进一步包含在V_H与V_L结构域之间的多肽连接子,其能够使sFv形成抗原结合所需的结构。关于sFv的综述,参见Pluckthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷,Rosenburg和Moore编,Springer-Verlag, New York,第269-315页(1994)。

[0136] 术语“双抗体”是指具有两个抗原结合位点的小的抗体片段,所述片段包含在同一多肽链中连接至轻链可变结构域(V_L)的重链可变结构域(V_H) (V_H-V_L)。通过使用过短以致于不允许同一链上的两个结构域之间配对的连接子,所述结构域被迫与另一条链的互补结构域配对并产生两个抗原结合位点。双抗体更充分地描述于例如EP 404,097;WO 93/11161;和Hollinger等人,(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448中。

[0137] 如本文所用,术语“亲和力”是指两种试剂(例如,抗体和抗原)的可逆结合的平衡常数并以解离常数(K_D)表示。亲和力可能是抗体对于不相关氨基酸序列的亲力的至少1倍、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少20倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍、至少60倍、至少70倍、至少80倍、至少90倍、至少100倍或至少1,000倍或更多倍。抗体对目标蛋白的亲和力可能是例如约100纳摩尔浓度(nM)至约0.1nM、约100nM至约1皮摩尔浓度(pM)、或约100nM至约1飞摩尔浓度(fM)或更小。如本文所用,术语“亲合力”是指两种或更多种试剂的复合物在稀释后解离的抗性。术语“免疫响应性”和“优先结合”在本文中就抗体和/或抗原结合片段而言可互换使用。

[0138] 术语“结合”是指两个分子之间由于例如共价、静电、疏水性、和离子和/或氢键相互作用(包括诸如盐桥和水桥的相互作用)而直接缔合。主题抗C1s抗体特异性结合于补体C1s蛋白内的表位。“特异性结合”是指以至少约 10^{-7} M或更大、例如 5×10^{-7} M、 10^{-8} M、 5×10^{-8} M和更大的亲和力结合。“非特异性结合”是指以小于约 10^{-7} M的亲和力结合,例如,以 10^{-6} M、 10^{-5} M、 10^{-4} M等的亲和力结合。

[0139] 如本文所用,术语“CDR”或“互补决定区”旨在是指在重链和轻链多肽的可变区内存在的非连续抗原结合位点。CDR已由Kabat等人,J.Biol.Chem.252:6609-6616(1977);Kabat等人,U.S.Dept.of Health and Human Services,“Sequences of proteins of immunological interest”(1991)(在本文也称为Kabat 1991);Chothia等人,J.Mol.Biol.196:901-917(1987)(在本文也称为Chothia1987);和MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996)描述,其中定义包括氨基酸残基在彼此比较时的重叠或子集。然而,任一种定义的应用是指抗体或移植抗体或其变体的CDR旨在是在如本文所定义和使用的术语的范围内。涵盖如由上文引用的参考文献各自定义的CDR的氨基酸残基阐述于下表1中作为比较。表2中列出的CDR是根据Kabat 1991定义的。

[0140] 表1:CDR定义

[0141]

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³
V _H CDR-1	31-35	26-32	30-35
V _H CDR-2	50-65	53-55	47-58
V _H CDR-3	95-102	96-101	93-101
V _L CDR-1	24-34	26-32	30-36
V _L CDR-2	50-56	50-52	46-55
V _L CDR-3	89-97	91-96	89-96

[0142] ¹残基编号遵循Kabat等人,同上的命名法

[0143] ²残基编号遵循Chothia等人,同上的命名法

[0144] ³残基编号遵循MacCallum等人,同上的命名法

[0145] 如本文所用,术语“CDR-L1”、“CDR-L2”和“CDR-L3”分别是指轻链可变区中的第一、第二和第三CDR。如本文所用,术语“CDR-H1”、“CDR-H2”和“CDR-H3”分别是指重链可变区中的第一、第二和第三CDR。如本文所用,术语“CDR-1”、“CDR-2”和“CDR-3”分别是指任一条链的可变区的第一、第二和第三CDR。

[0146] 如本文所用,术语“框架”当关于抗体可变区使用时旨在是指在抗体的可变区内的CDR区外部的所有氨基酸残基。可变区框架通常是长度为约100-120个氨基酸的不连续氨基酸序列,但旨在仅参考CDR外部的那些氨基酸。如本文所用,术语“框架区”旨在是指由CDR隔开的框架的各结构域。

[0147] “分离的”抗体是已经鉴定并从其天然环境的组分中分离和/或回收的抗体。其天然环境的污染物组分是会干扰抗体的诊断或治疗用途的物质,并且可包括酶、激素和其它蛋白质或非蛋白质溶质。在一些实施方案中,抗体将被纯化(1)至大于90重量%、大于95重量%或大于98重量%的抗体,如通过Lowry法所测定,例如,大于99重量%, (2)至足以获得至少15个残基的N端或内部氨基酸序列的程度,通过使用转杯式测序仪,或(3)至均质性,通

过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 在还原或非还原条件下, 使用考马斯蓝 (Coomassie blue) 或银染色剂。分离的抗体包括重组细胞内的原位抗体, 因为将不存在抗体的天然环境的至少一种组分。在一些情况下, 将通过至少一个纯化步骤来制备分离的抗体。

[0148] 在本文可互换使用的术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”是指任何长度的聚合物形式的氨基酸, 其可包括遗传编码和非遗传编码的氨基酸、化学或生物化学修饰或衍生的氨基酸, 和具有修饰的肽主链的多肽。所述术语包括融合蛋白, 包括但不限于具有异源氨基酸序列的融合蛋白、具有异源和同源前导序列、具有或不具有N端甲硫氨酸残基的融合物; 免疫学标记的蛋白质; 等等。

[0149] 如本文所用, 术语“治疗 (treatment, treating, treat)”等是指获得所需的药理学和/或生理学作用。所述作用在完全或部分地预防疾病或其症状方面来说可为预防性的, 和/或在部分或完全治愈疾病和/或可归因于所述疾病的副作用方面来说可为治疗性的。如本文所用的“治疗”涵盖哺乳动物中、特别是人中的疾病的任何治疗, 并且包括: (a) 预防疾病在可能易患上所述疾病但尚未诊断为患有所述疾病的受试者中出现; (b) 抑制疾病, 即阻止其发展; 和 (c) 缓解疾病, 即造成所述疾病消退。

[0150] 在本文可互换使用的术语“个体”、“受试者”、“宿主”和“患者”是指哺乳动物, 包括但不限于鼠科动物 (大鼠、小鼠)、非人灵长类动物、人、犬科动物、猫科动物、有蹄类动物 (例如, 马科动物、牛科动物、绵羊、猪、山羊) 等。这些术语也涵盖具有补体系统的任何动物, 诸如哺乳动物、鱼类和一些无脊椎动物。因而, 这些术语包括含补体系统的哺乳动物、鱼类和无脊椎伴侣动物、农用动物、工作动物、动物园动物和实验动物。

[0151] “治疗有效量”或“有效量”是指抗补体C1s抗体当施用给哺乳动物或其它受试者用于治疗疾病时, 足以实现此类疾病的治疗的量。“治疗有效量”将根据抗补体C1s抗体、疾病和其严重程度以及待治疗的受试者的年龄、体重等而改变。

[0152] “生物样品”涵盖从个体获得的多种样品类型并且可用于诊断或监测测定中。所述定义涵盖血液和生物来源的其它液体样品、固体组织样品诸如活检标本或组织培养物或源自其的细胞和其后代。所述定义还包括在其采购后已经以任何方式操纵、诸如通过用试剂处理、增溶或富集某些组分诸如多核苷酸的样品。术语“生物样品”涵盖临床样品, 并且还包括培养中的细胞、细胞上清液、细胞裂解物、血清、血浆、生物流体和组织样品。术语“生物样品”包括尿液、唾液、脑脊髓液、间质液、眼液、滑液、血液部分诸如血浆和血清等。术语“生物样品”还包括固体组织样品、组织培养样品和细胞样品。

[0153] 在进一步描述本发明之前, 应当理解, 本发明不限于所述的特定实施方案, 因而当然可以改变。此外应当理解, 本文所用的术语仅仅是为了描述特定实施方案的目的, 而不旨在进行限制, 因为本发明的范围将仅由所附权利要求书来限定。

[0154] 当提供一个范围的数值时, 应当理解, 除非上下文另外明确指出, 否则本发明涵盖在那个范围的上限和下限与在那个所述范围内的任何其它所述值或中间值之间的每个中间值 (到下限的单位的十分之一)。这些较小范围的上限和下限可以独立地包括在较小范围内, 并且也涵盖在本发明内, 服从于所述范围中的任何特定排除界限。当所述范围包括一个或两个界限时, 不包括那些所包括界限的任一个或两个的范围也包括在本发明中。

[0155] 除非另外定义, 否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普

通技术人员通常所理解的含义相同的含义。虽然与本文所述的那些方法和材料类似或等效的任何方法和材料也可用于实施或测试本发明,但现在描述优选的方法和材料。本文提及的所有出版物都以引用的方式并入本文中,以公开和描述与所引用的出版物有关的方法和/或材料。

[0156] 必须注意到,除非上下文另外明确指出,否则如本文中和所附权利要求书中所用的单数形式“一个/种”和“所述”包括复数个所指物。因此,例如,提及“人源化抗补体C1s抗体”包括多个此类抗体,并且提及“补体介导的疾病”包括提及本领域技术人员已知的一种或多种补体介导的疾病和其等效物,等等。此外注意到,权利要求可以撰写成排除任何任选的要素。因此,这一声明旨在用作与权利要求要素的引用有关的排他性术语如“只有”、“仅仅”等的使用或“否定”限制的使用的前提基础。

[0157] 应理解,为清楚起见而在单独的实施方案上下文中描述的本发明的某些特征也可组合提供于单个实施方案中。相反地,为简要起见在单个实施方案的上下文中描述的本发明的多种特征也可单独地或以任何合适的亚组合形式提供。关于本发明的实施方案的所有组合由本发明特定涵盖并且公开于本文中,就如同每个和全部的组合都单独且明确地公开一样。另外,各种实施方案和其要素的所有亚组合也由本发明特定涵盖并且公开于本文中,就如同每个和全部的这些亚组合都单独且明确地公开于本文中一样。

[0158] 本文讨论的出版物仅仅是关于其在本申请的提交日期之前的公开内容而提供的。不得将本文任何条款视为允许本发明未经授权依靠现有发明先于此公开内容。此外,所提供的公布日期可能不同于实际公布日期,其可能需要单独确认。

[0159] 详述

[0160] 本公开提供结合补体C1s蛋白的抗体(即,抗补体C1s抗体,在本文中也称为抗C1s抗体和C1s抗体)和编码此类抗体的核酸分子。本公开还提供包含此类抗体的组合物,和制备和使用此类抗体、核酸分子和组合物的方法。本公开提供治疗补体介导的疾病或病症的方法,其包括施用抗C1s抗体。本公开此外提供使用本文所述的抗C1s抗体的体外和体内检测方法。

[0161] 抗补体C1s抗体

[0162] 本公开提供抗补体C1s抗体和包含此类抗体的药物组合物。补体C1s是一种有吸引力的靶标,因为它在补体级联的上游并具有狭窄的底物特异性范围。此外,有可能获得特异性结合激活形式的C1s的抗体(例如但不限于单克隆抗体)。

[0163] 本公开提供特异性结合补体C1s蛋白内的表位的经分离的抗体。除非另外说明,否则如本文所用的补体C1s蛋白是激活的C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的分离的抗C1s抗体结合激活的C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的分离的抗C1s抗体结合非活性形式的C1s。在其它情况下,本公开的分离的抗C1s抗体结合激活的C1s蛋白和非活性形式的C1s。在一些情况下,抗体是人源化的,例如,重链可变区和/或轻链可变区的一个或多个框架区包括源自人免疫球蛋白框架的序列。

[0164] 本公开提供抑制C4裂解的分离的单克隆抗体,其中所述分离的单克隆抗体不抑制C2裂解。在一些情况下,所述分离的单克隆抗体是人源化的。在一些情况下,所述抗体抑制经典补体途径的组分。在一些情况下,被所述抗体抑制的所述经典补体途径的组分是C1s。本公开还提供治疗补体介导的疾病或病症的方法,所述方法包括向有需要的个体施用有效

量的抑制C4裂解的分离的单克隆抗体,或包含所述分离的单克隆抗体的药物组合物,其中所述分离的单克隆抗体不抑制C2裂解。

[0165] 本公开提供抑制由C1s进行的C4裂解、即抑制C1s介导的C4蛋白水解裂解的分离的单克隆抗体。在一些情况下,所述分离的单克隆抗体是人源化的。在一些情况下,所述抗体通过抑制C4与C1s的结合来抑制C1s对C4的裂解;例如,在一些情况下,所述抗体通过抑制C4与C1s的C4结合位点的结合来抑制C1s介导的C4裂解。因此,在一些情况下,所述抗体充当竞争性抑制剂。本公开还提供治疗补体介导的疾病或病症的方法,所述方法包括向有需要的个体施用有效量的分离的单克隆抗体,所述分离的单克隆抗体抑制由C1s进行的C4裂解,即抑制C1s介导的C4蛋白水解裂解。

[0166] 本公开提供抑制由C1s进行的C4裂解的分离的单克隆抗体,其中所述抗体不抑制C1s对补体组分C2的裂解;即,所述抗体抑制C1s介导的C4裂解,但不抑制C1s介导的C2裂解。在一些情况下,所述分离的单克隆抗体是人源化的。在一些情况下,所述单克隆抗体抑制C4与C1s的结合,但不抑制C2与C1s的结合。本公开还提供治疗补体介导的疾病或病症的方法,所述方法包括向有需要的个体施用有效量的分离的单克隆抗体,所述分离的单克隆抗体抑制C1s对C4的裂解,其中所述抗体不抑制C1s对补体组分C2的裂解;即,所述抗体抑制C1s介导的C4裂解,但不抑制C1s介导的C2裂解。在所述方法的一些实施方案中,所述抗体是人源化的。

[0167] 本公开提供特异性结合涵盖C1s的结构域IV和V的区域内的表位的分离的人源化单克隆抗体。例如,本公开提供特异性结合图1中所描绘和SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列的氨基酸272-422内的表位的分离的人源化单克隆抗体。在一些情况下,所述分离的人源化单克隆抗体特异性结合图1中所描绘和SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列的氨基酸272-422内的表位,并且抑制C4与C1s的结合。本公开还提供治疗补体介导的疾病或病症的方法,所述方法包括向有需要的个体施用有效量的分离的人源化单克隆抗体,所述分离的人源化单克隆抗体特异性结合图1中所描绘和SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列的氨基酸272-422内的表位,并且抑制C4与C1s的结合。

[0168] 本公开提供特异性结合涵盖C1s的结构域IV和V的区域内的构象表位的分离的人源化单克隆抗体。例如,本公开提供特异性结合图1中所描绘和SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列的氨基酸272-422内的构象表位的分离的人源化单克隆抗体。在一些情况下,所述分离的人源化单克隆抗体特异性结合图1中所描绘和SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列的氨基酸272-422内的构象表位,并且抑制C4与C1s的结合。本公开还提供治疗补体介导的疾病或病症的方法,所述方法包括向有需要的个体施用有效量的分离的人源化单克隆抗体,所述分离的人源化单克隆抗体特异性结合图1中所描绘和SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列的氨基酸272-422内的构象表位,并且抑制C4与C1s的结合。

[0169] 本公开提供结合C1复合物中的补体组分C1s的分离的单克隆抗体。所述C1复合物由6个分子的C1q、2个分子的C1r和2个分子的C1s组成。在一些情况下,所述分离的单克隆抗体是人源化的。因此,在一些情况下,本公开提供结合C1复合物中的补体组分C1s的分离的人源化单克隆抗体。在一些情况下,所述抗体以高亲和力结合C1复合物中存在的C1s。

[0170] 框架区的人源化降低了抗体在人中引起人抗小鼠抗体(HAMA)响应的风险。可进行本领域公认的测定免疫响应的方法来监测特定患者中或在临床试验期间的HAMA响应。可在

治疗开始时和整个施用过程中对施用人源化抗体的患者给予免疫原性评估。例如通过使用本领域人员已知的方法在来自患者的血清样品中检测人源化治疗试剂的抗体来测量HAMA响应,所述方法包括表面等离子体共振技术(BIACORE)和/或固相酶联免疫吸附测定(ELISA)分析。在许多情况下,主题人源化抗C1s抗体基本上不会在人受试者中引起HAMA响应。

[0171] 来自人可变区框架残基的某些氨基酸是基于其对CDR构象和/或结合抗原的可能影响而选择用于置换。鼠科动物CDR区与人可变框架区的非天然并置可导致非天然构象限制,除非被某些氨基酸残基的置换校正,否则其将导致结合亲和力损失。

[0172] 用于置换的氨基酸残基的选择可能部分地通过计算机建模来确定。用于产生免疫球蛋白分子的三维图像的计算机硬件和软件是本领域中已知的。一般来说,从免疫球蛋白链或其结构域的解析结构开始制造分子模型。将待建模的链与具有已解析的三维结构的链或结构域关于氨基酸序列相似性进行比较,并且选择显示最大序列相似性的链或结构域作为构建分子模型的起点。选择共有至少50%序列同一性的链或结构域用于建模,例如,选择共有至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或更大序列同一性的那些链或结构域用于建模。修改已解析起始结构以允许被建模的免疫球蛋白链或结构域中的实际氨基酸与起始结构中的那些之间存在差异。然后将修改的结构组装到复合免疫球蛋白中。最后,通过能量最小化并通过验证所有原子都在彼此适当的距离内并且键长和角度都在化学上可接受的范围内来改进模型。

[0173] CDR和框架区是如Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987和1991)所定义。Chothia等人, J. Mol. Biol. 196:901 (1987); Nature 342:878 (1989); 和 J. Mol. Biol. 186:651 (1989) (统称为“Chothia”)已经提出了代替性结构定义。当如由Kabat, 同上所定义的框架残基构成如由Chothia, 同上定义的结构环残基时,可选择小鼠抗体中存在的氨基酸以置换到人源化抗体中。“与CDR区相邻”的残基包括在与人源化免疫球蛋白链的一级序列中的一个或多个CDR紧邻位置中、例如在于如由Kabat定义的CDR或如由Chothia定义的CDR紧邻位置中的氨基酸残基(参见例如Chothia和Lesk JMB 196:901 (1987))。这些氨基酸特别有可能与CDR中的氨基酸相互作用,并且如果从受体中选择的话,则扭曲供体CDR并降低亲和力。此外,相邻的氨基酸可以与抗原直接相互作用(Amit等人, Science, 233:747 (1986))并且可能需要从供体中选择这些氨基酸以保持原始抗体中提供亲和力的所有抗原接触。

[0174] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体(例如,特异性结合补体C1s蛋白中的表位的主题抗体)包含:a)包含IPN003抗体的一个、两个或三个V_L CDR的轻链区;和b)包含IPN003抗体的一个、两个或三个V_H CDR的重链区;其中所述V_H和V_L CDR如由Kabat所定义(参见例如上表1;和Kabat 1991)。在一些这样的实施方案中,抗C1s抗体包括人源化V_H和/或V_L框架区(FR)。

[0175] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体(例如,特异性结合补体C1s蛋白中的表位的主题抗体)包含:a)包含IPN003抗体的一个、两个或三个V_L CDR的轻链区;和b)包含IPN003抗体的一个、两个或三个V_H CDR的重链区;其中所述V_H和V_L CDR如由Chothia所定义(参见例如上表1;和Chothia 1987)。在一些这样的实施方案中,抗C1s抗体包括人源化V_H和/或V_L框架区。

[0176] IPN003抗体的CDR氨基酸序列以及V_L和V_H氨基酸序列提供于表2(图2)中。表2还提供每个氨基酸序列的指定的SEQ ID NO。

[0177] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体(例如,特异性结合补体C1s蛋白中的表位的主题抗体)包含:a)包含选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的一个、两个或三个CDR的轻链区;和b)包含选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的一个、两个或三个CDR的重链区。在一些这样的实施方案中,所述抗C1s抗体包括人源化V_H和/或V_L框架区。

[0178] SEQ ID NO:1:SSVSSSYLHWYQ;

[0179] SEQ ID NO:2:STSNLASGVP;

[0180] SEQ ID NO:3:HQYYRLPPIT;

[0181] SEQ ID NO:4:GFTFSNYAMSWV;

[0182] SEQ ID NO:5:ISSGGSHTYY;

[0183] SEQ ID NO:6:ARLFTGYAMDY。

[0184] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含具有选自由SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6组成的组的氨基酸序列的CDR。

[0185] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的轻链可变区。

[0186] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的重链可变区。

[0187] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:1的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:2的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:3的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:4的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的CDR-H2和具有氨基酸序列SEQ ID NO:6的CDR-H3。

[0188] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列的轻链可变区。

[0189] SEQ ID NO:7:DIVMTQTTAIMSASLGERVTMTCTASSSVSSSYLHWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTFYSLTISMEADDTYYCHQYYRLPPITFGAGTKLELK。

[0190] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列的重链可变区。

[0191] SEQ ID NO:8:QVKLEESGGALVKPGGSLKLSAASGFTFSNYAMSWVRQIPEKRLEWVATISSGGSHYYLDSVKGRFTISRDNARDTLYLQMSSLRSEDALYYCARLFTGYAMDYWGQGTSVT。

[0192] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与氨基酸序列SEQ ID NO:7具有90%同一性的氨基酸序列的轻链可变区。

[0193] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与氨基酸序列SEQ ID NO:8具有90%同一性的氨基酸序列的重链可变区。

[0194] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:7的轻链可变区。

[0195] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:8的重链可变区。

[0196] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与氨基酸序列SEQ ID NO:7具有90%同一性的氨基酸序列的轻链可变区和含有与氨基酸序列SEQ ID NO:8具有90%同一性的氨基酸序列的重链可变区。

[0197] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:7的轻链可变区和含有氨基酸序列SEQ ID NO:8的重链可变区。

[0198] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体特异性结合补体C1s蛋白内的表位,其中所述抗体与包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体轻链可变区的轻链CDR和含有氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体重链可变区的重链CDR的抗体竞争结合所述表位。

[0199] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体轻链可变区的轻链CDR和含有氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体重链可变区的重链CDR。

[0200] 在一些情况下,人源化V_H框架或V_L框架是共有人框架。共有人源化框架可代表在人免疫球蛋白V_L或V_H框架序列的选择中最通常存在的氨基酸残基。

[0201] 适于与如本文所述的V_H CDR一起使用的共有人V_H框架区的非限制性实例包括(亚类III共有):

[0202] a) V_H FR1:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:53);

[0203] b) V_H FR2:WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:54);

[0204] c) V_H FR3:RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:55);和

[0205] d) V_H FR4:WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:56)。

[0206] 在一些情况下,V_H FR3包含在位置71、73和/或78处的氨基酸置换;例如,其中RFTISR**D**NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:55)中的带有下划线和粗体的R是氨基酸71 (Kabat编号);RFTISR**D****N**SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:55)中的带有下划线和粗体的N是氨基酸73 (Kabat编号);并且RFTISRDN SKNT**L**YLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:55)中的带有下划线和粗体的L是氨基酸78 (Kabat编号)。例如,在一些情况下,氨基酸71是A;和/或氨基酸73是T;和/或氨基酸78是A。作为实例,在一些情况下,合适的共有人源化V_H FR3包含氨基酸序列:RFTISR**A****D****T**SKNT**A**YLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:57)。

[0207] 适于与如本文所述的V_H CDR一起使用的共有人V_H框架区的非限制性实例包括(亚类I共有):

[0208] a) V_H FR1:QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS (SEQ ID NO:58);

[0209] b) V_H FR2:WVRQAPGQGLEWM (SEQ ID NO:59);

[0210] c) V_H FR3:RVTITADTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC (SEQ ID NO:60);和

[0211] d) V_H FR4:WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:56)。

[0212] 适于与如本文所述的V_H CDR一起使用的共有人V_H框架区的非限制性实例包括(亚类II共有):

[0213] a) V_H FR1:QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVS (SEQ ID NO:61);

[0214] b) V_H FR2:WIRQPPGKGLEWI (SEQ ID NO:62);

[0215] c) V_H FR3:RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO:63);和

[0216] d) V_H FR4:WGQGT_LVT_VSS (SEQ ID NO:56)。

[0217] 适于与如本文所述的V_L CDR一起使用的共有人V_L框架区的非限制性实例包括(亚类I共有)：

[0218] a) V_L FR1:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:57)；

[0219] b) V_L FR2:WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:58)；

[0220] c) V_L FR3:GVP_SRFSGSGSGTDFTLT_ISS_LQPEDFATYYC (SEQ ID NO:59)；和

[0221] d) V_L FR4:FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:60)。

[0222] 适于与如本文所述的V_L CDR一起使用的共有人V_L框架区的非限制性实例包括(亚类II共有)：

[0223] a) V_L FR1:DIVMTQSP_LSLPVT_PGE_PAS_ISC (SEQ ID NO:64)；

[0224] b) V_L FR2:WYLQKPGQSPQ_LLIY (SEQ ID NO:65)；

[0225] c) V_L FR3:GVPDRFSGSGSGTDFTL_KISR_VEADVG_VYYC (SEQ ID NO:66)；和

[0226] d) V_L FR4:FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:60)。

[0227] 适于与如本文所述的V_L CDR一起使用的共有人V_L框架区的非限制性实例包括(亚类III共有)：

[0228] a) V_L FR1:DIVMTQSPD_SLAVSLGERATINC (SEQ ID NO:67)；

[0229] b) V_L FR2:WYQQKPGQPPK_LLIY (SEQ ID NO:68)；

[0230] c) V_L FR3:GVPDRFSGSGSGTDFTLT_ISS_LQAEDFAVYYC (SEQ ID NO:69)；和

[0231] d) V_L FR4:FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:60)。

[0232] 适于与如本文所述的V_L CDR一起使用的共有人V_L框架区的非限制性实例包括(亚类IV共有)：

[0233] a) V_L FR1:DIVMTQSPD_SLAVSLGERATINC (SEQ ID NO:67)；

[0234] b) V_L FR2:WYQQKPGQPPK_LLIY (SEQ ID NO:68)；

[0235] c) V_L FR3:GVPDRFSGSGSGTDFTLT_ISS_LQAEDFAVYYC (SEQ ID NO:69)；和

[0236] d) V_L FR4:FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:60)。

[0237] 在一些实施方案中，本公开的抗C1s抗体结合来自具有补体系统的个体的补体C1s蛋白。在一些实施方案中，本公开的抗C1s抗体结合来自具有补体系统的哺乳动物、鱼类或无脊椎动物的补体C1s蛋白。在一些实施方案中，本公开的抗C1s抗体结合哺乳动物补体C1s蛋白。在一些实施方案中，本公开的抗C1s抗体结合人补体C1s蛋白。在一些实施方案中，本公开的抗C1s抗体结合大鼠补体C1s蛋白。在一些实施方案中，本公开的抗C1s抗体结合具有SEQ ID NO:9的补体C1s蛋白。氨基酸序列SEQ ID NO:9代表智人补体C1s蛋白，其具有图1中所示的氨基酸序列。

[0238] 在一些实施方案中，本公开的抗C1s抗体以不大于2.5nM的解离常数(K_D)结合补体C1s蛋白。在一些实施方案中，本公开的抗C1s抗体以不大于2nM的K_D结合补体C1s蛋白。在一些实施方案中，本公开的抗C1s抗体以不大于1nM的K_D结合补体C1s蛋白。在一些实施方案中，本公开的抗C1s抗体以不大于0.9nM、不大于0.8nM、不大于0.7nM、不大于0.6nM、不大于0.5nM、不大于0.4nM、不大于0.3nM、不大于0.2nM、不大于0.1nM的K_D结合补体C1s蛋白。在一些实施方案中，本公开的抗C1s抗体以不大于0.3nM的K_D结合补体C1s蛋白。在一些实施方案中，本公开的抗C1s抗体以不大于0.2nM的K_D结合补体C1s蛋白。在一些实施方案中，本公开

的抗C1s抗体以不大于0.1nM的 K_D 结合补体C1s蛋白。测量抗体与C1s蛋白的结合的方法可由本领域技术人员决定。

[0239] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于90pM、不大于80pM、不大于70pM、不大于60pM、不大于50pM、不大于40pM、不大于30pM、不大于20pM、不大于10pM、不大于9pM、不大于8pM、不大于7pM、不大于6pM、不大于5pM、不大于4pM、不大于3pM、不大于2pM、不大于1pM的 K_D 结合补体C1s蛋白。

[0240] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于2.5nM的解离常数(K_D)结合人补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于2nM的 K_D 结合人补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于1nM的 K_D 结合人补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于0.9nM、不大于0.8nM、不大于0.7nM、不大于0.6nM、不大于0.5nM、不大于0.4nM、不大于0.3nM、不大于0.2nM、不大于0.1nM的 K_D 结合人补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于0.3nM的 K_D 结合人补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于0.2nM的 K_D 结合人补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于0.1nM的 K_D 结合人补体C1s蛋白。测量抗体与人C1s蛋白的结合的方法可由本领域技术人员决定。在一些实施方案中,使用如实施例中所所述的结合测定来确定抗体与人C1s蛋白之间的 K_D 。

[0241] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于90pM、不大于80pM、不大于70pM、不大于60pM、不大于50pM、不大于40pM、不大于30pM、不大于20pM、不大于10pM、不大于9pM、不大于8pM、不大于7pM、不大于6pM、不大于5pM、不大于4pM、不大于3pM、不大于2pM、不大于1pM的 K_D 结合人补体C1s蛋白。

[0242] 在一些实施方案中,结合人补体C1s蛋白的本公开的抗C1s抗体也结合另一个物种的补体C1s蛋白。在一些实施方案中,结合人补体C1s蛋白的本公开的抗C1s抗体也结合啮齿类动物补体C1s蛋白。啮齿类动物补体C1s蛋白的实例包括但不限于豚鼠C1s蛋白、仓鼠C1s蛋白、小鼠C1s蛋白和大鼠C1s蛋白。在一些实施方案中,结合人补体C1s蛋白的本公开的抗C1s抗体也结合兔类动物补体C1s蛋白,例如兔C1s蛋白。在一些实施方案中,结合人补体C1s蛋白的本公开的抗C1s抗体也结合非人灵长类动物补体C1s蛋白,其中示例性非人灵长类动物包括猴,诸如猕猴(*Macaca mulatta*)和食蟹猴(*Macaca fascicularis*)。在一些实施方案中,此类交叉反应性以与所述抗体结合人补体C1s蛋白的 K_D 具有类似的量级的 K_D 抗体结合另一个(非人)物种的补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体结合大鼠补体C1s蛋白。在一些实施方案中,结合人补体C1s蛋白的本公开的抗C1s抗体也结合大鼠补体C1s蛋白。

[0243] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于2.5nM的解离常数(K_D)结合大鼠补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于2nM的 K_D 结合大鼠补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于1nM的 K_D 结合大鼠补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于0.9nM、不大于0.8nM、不大于0.7nM、不大于0.6nM、不大于0.5nM、不大于0.4nM、不大于0.3nM、不大于0.2nM、不大于0.1nM的 K_D 结合大鼠补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于0.3nM的 K_D 结合大鼠补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于0.2nM的 K_D 结合大鼠补体C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于0.1nM的 K_D 结合大鼠补体C1s蛋白。测

量抗体与大鼠C1s蛋白的结合的方法可由本领域技术人员决定。在一些实施方案中,使用如实施例中所所述的结合测定来确定抗体与大鼠C1s蛋白之间的 K_D 。

[0244] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体以不大于90pM、不大于80pM、不大于70pM、不大于60pM、不大于50pM、不大于40pM、不大于30pM、不大于20pM、不大于10pM、不大于9pM、不大于8pM、不大于7pM、不大于6pM、不大于5pM、不大于4pM、不大于3pM、不大于2pM、不大于1pM的 K_D 结合大鼠补体C1s蛋白。

[0245] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体结合天然补体C1s蛋白和变性的补体C1s蛋白。如本文所用的“天然蛋白质”是指以其天然存在的生理状态折叠的蛋白质,并且因此排除变性蛋白质。可通过蛋白质印迹进行结合的检测。在此类实施方案中,本公开的抗C1s抗体结合应用于天然凝胶的C1s蛋白并且也结合应用于变性(例如,十二烷基硫酸钠(SDS))凝胶的C1s蛋白。在一些实施方案中,本公开的主题抗C1s抗体结合C1s中的线性表位。测定抗体是否结合天然C1s蛋白或变性C1s蛋白的方法是本领域技术人员已知的。在一些实施方案中,使用凝胶电泳来测定抗体是否结合天然和/或变性的C1s蛋白。

[0246] 在一些实施方案中,与在不存在主题抗C1s抗体的情况下产生的C4b2a的量相比,本公开的抗C1s抗体将C4b2a(即,补体C4b和C2a复合物;也称为“C3转化酶”)产生降低至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%。测量C4b2a产生的方法是本领域中已知的。

[0247] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制由补体C1s蛋白裂解的至少一种底物的裂解。在一些实施方案中,所述底物选自由补体C2和补体C4组成的组。在一些实施方案中,所述底物是补体C2。在一些实施方案中,所述底物是补体C4。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制补体C2的裂解。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制补体C4的裂解。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制补体C2和补体C4的裂解。

[0248] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制由人补体C1s蛋白裂解的至少一种底物的裂解。在一些实施方案中,所述底物选自由人补体C2和人补体C4组成的组。在一些实施方案中,所述底物是人补体C2。在一些实施方案中,所述底物是人补体C4。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制人补体C2的裂解。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制人补体C4的裂解。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制人补体C2和人补体C4的裂解。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制大鼠C1s介导的人补体C4裂解。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制人C1s介导的人补体C4裂解。

[0249] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制由大鼠补体C1s蛋白裂解的至少一种底物的裂解。在一些实施方案中,所述底物选自由大鼠补体C2和大鼠补体C4组成的组。在一些实施方案中,所述底物是大鼠补体C2。在一些实施方案中,所述底物是大鼠补体C4。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制大鼠补体C2的裂解。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制大鼠补体C4的裂解。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制大鼠补体C2和大鼠补体C4的裂解。

[0250] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体通过在空间上阻断接近C1s活性位点或通过空间上阻断接近底物来抑制C1s。

[0251] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制C1s介导的补体C4激活。例如,在一些

情况下,本公开的抗C1s抗体以小于 50×10^{-9} M、小于 25×10^{-9} M、小于 10×10^{-9} M、小于 5×10^{-9} M、小于 1×10^{-9} M、小于 0.5×10^{-9} M、小于 0.1×10^{-9} M或小于 0.1×10^{-10} M的IC₅₀抑制C1s介导的补体C4激活。

[0252] 在一些情况下,本公开的抗C1s抗体抑制补体介导的细胞裂解,例如,在体外细胞裂解测定中。例如,在一些情况下,本公开的抗C1s抗体以小于 10×10^{-9} M、小于 5×10^{-9} M、小于 1×10^{-9} M、小于 0.5×10^{-9} M、小于 0.1×10^{-9} M或小于 0.1×10^{-10} M的IC₅₀抑制补体介导的细胞裂解。

[0253] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体竞争结合由IPN003结合的表位。

[0254] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含IPN003抗体的可变结构域。

[0255] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体是IPN003抗体。

[0256] 本公开提供有待人源化的实施方案的任何抗C1s抗体。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含人源化框架区。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含人源化轻链框架区。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含人源化重链框架区。

[0257] 在一些实施方案中,主题抗C1s抗体包含一个或多个人源化框架区(FR)。在一些实施方案中,主题抗C1s抗体包含含有已经人源化的一个、两个、三个或四个轻链FR的轻链可变区。在一些实施方案中,主题抗体包含按照从N端到C端的顺序含有以下的轻链可变区:人源化轻链FR1;如本文所阐述的CDR-L1;人源化轻链FR2;如本文所阐述的CDR-L2;人源化轻链FR3;如本文所阐述的CDR-L3;和人源化轻链FR4。在一些实施方案中,CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的各自的氨基酸序列是:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3。

[0258] 例如,主题抗体可包含按照从N端到C端的顺序含有以下的轻链可变区:人源化轻链FR1;包含氨基酸序列SEQ ID NO:1的CDR-L1;人源化轻链FR2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的CDR-L2;人源化轻链FR3;包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的CDR-L3;和人源化轻链FR4。

[0259] 在一些实施方案中,主题抗C1s抗体包含含有已经人源化的一个、两个、三个或四个重链FR的重链可变区。在一些实施方案中,主题抗体包含按照从N端到C端的顺序含有以下的重链可变区:人源化重链FR1;如本文所阐述的CDR-H1;人源化重链FR2;如本文所阐述的CDR-H2;人源化重链FR3;如本文所阐述的CDR-H3;和人源化重链FR4。

[0260] 例如,主题抗体可包含按照从N端到C端的顺序含有以下的重链可变区:人源化重链FR1;包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的CDR-H1;人源化重链FR2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的CDR-H2;人源化重链FR3;包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的CDR-H3;和人源化重链FR4。

[0261] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体(例如,特异性结合补体C1s蛋白中的表位的主题抗体)包含:a)包含选自SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:3的一个、两个或三个CDR的轻链区;和b)包含选自SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的一个、两个或三个CDR的重链区。在一些这样的实施方案中,所述抗C1s抗体包括人源化V_H和/或V_L框架区。

[0262] SEQ ID NO:32:TASSSVSSSYLH;

[0263] SEQ ID NO:33:STSNLAS;

[0264] SEQ ID NO:3:HQYYRLPPIT;

[0265] SEQ ID NO:34:NYAMS;

[0266] SEQ ID NO:35:TISGGSHYYLDSVKG;

[0267] SEQ ID NO:36:LFTGYAMDY。

[0268] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含具有选自SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36组成的组的氨基酸序列的CDR。

[0269] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:3的轻链可变区。

[0270] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的重链可变区。

[0271] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:32的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:33的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:3的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:34的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:35的CDR-H2和具有氨基酸序列SEQ ID NO:36的CDR-H3。

[0272] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列的轻链可变区。

[0273] SEQ ID NO:37:QIVLTQSPAIMASLGERVTMTCTASSSVSSSYLHWYQQKPGSSPKLWIYSTNLAGSGVPARFSGSGSGTFYSLTISMEAEDDATYYCHQYYRLPPITFGAGTKLELK。

[0274] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与SEQ ID NO:38中所示的氨基酸序列具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列的重链可变区。

[0275] SEQ ID NO:38:EVMLVESGGALVKPGSLKLSAASGFTFSNYAMSWVRQIPEKRLEWVATISSGGSHTYYLDSVKGRFTISRDNARDTLYLQMSSLRSEDTALYYCARLFTGYAMDYWGQGTSVTVSS。

[0276] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与氨基酸序列SEQ ID NO:37具有90%同一性的氨基酸序列的轻链可变区。

[0277] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与氨基酸序列SEQ ID NO:38具有90%同一性的氨基酸序列的重链可变区。

[0278] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:37的轻链可变区。

[0279] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:38的重链可变区。

[0280] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与氨基酸序列SEQ ID NO:37具有90%同一性的氨基酸序列的轻链可变区和含有与氨基酸序列SEQ ID NO:38具有90%同一性的氨基酸序列的重链可变区。

[0281] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与氨基酸序列SEQ ID NO:37具有95%同一性的氨基酸序列的轻链可变区和含有与氨基酸序列SEQ ID NO:38具有95%同一性的氨基酸序列的重链可变区。

[0282] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:37的轻链可变区和含有氨基酸序列SEQ ID NO:38的重链可变区。

[0283] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体特异性结合补体C1s蛋白内的表位,其中

所述抗体与包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:37的抗体轻链可变区的轻链CDR和含有氨基酸序列SEQ ID NO:38的抗体重链可变区的重链CDR的抗体竞争结合所述表位。

[0284] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:37的抗体轻链可变区的轻链CDR和含有氨基酸序列SEQ ID NO:38的抗体重链可变区的重链CDR。

[0285] 在一些实施方案中,主题抗C1s抗体包含一个或多个个人源化框架区(FR)。在一些实施方案中,主题抗C1s抗体包含含有已经人源化的一个、两个、三个或四个轻链FR的轻链可变区。在一些实施方案中,主题抗体包含按照从N端到C端的顺序含有以下的轻链可变区:人源化轻链FR1;如本文所阐述的CDR-L1;人源化轻链FR2;如本文所阐述的CDR-L2;人源化轻链FR3;如本文所阐述的CDR-L3;和人源化轻链FR4。在一些实施方案中,CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的各自氨基酸序列是:SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:3。

[0286] 例如,主题抗体可包含按照从N端到C端的顺序含有以下的轻链可变区:人源化轻链FR1;包含氨基酸序列SEQ ID NO:32的CDR-L1;人源化轻链FR2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的CDR-L2;人源化轻链FR3;包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的CDR-L3;和人源化轻链FR4。

[0287] 在一些实施方案中,主题抗C1s抗体包含含有已经人源化的一个、两个、三个或四个重链FR的重链可变区。在一些实施方案中,主题抗体包含按照从N端到C端的顺序含有以下的重链可变区:人源化重链FR1;如本文所阐述的CDR-H1;人源化重链FR2;如本文所阐述的CDR-H2;人源化重链FR3;如本文所阐述的CDR-H3;和人源化重链FR4。

[0288] 例如,主题抗体可包含按照从N端到C端的顺序含有以下的重链可变区:人源化重链FR1;包含氨基酸序列SEQ ID NO:34的CDR-H1;人源化重链FR2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:35的CDR-H2;人源化重链FR3;包含氨基酸序列SEQ ID NO:36的CDR-H3;和人源化重链FR4。

[0289] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列的轻链可变区。

[0290] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含含有与SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列的重链可变区。

[0291] 主题抗C1s抗体可包含含有与SEQ ID NO:39中所示和图16中所描绘的氨基酸序列(VH变体1)具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的重链可变区。

[0292] 主题抗C1s抗体可包含含有与SEQ ID NO:40中所示和图17中所描绘的氨基酸序列(VH变体2)具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的重链可变区。

[0293] 主题抗C1s抗体可包含含有与SEQ ID NO:41中所示和图18中所描绘的氨基酸序列(VH变体3)具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的重链可变区。

[0294] 主题抗C1s抗体可包含含有与SEQ ID NO:42中所示和图19中所描绘的氨基酸序列(VH变体4)具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、

97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的重链可变区。

[0295] 主题抗C1s抗体可包含含有与SEQ ID NO:43中所示和图20中所描绘的氨基酸序列(VK变体1)具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的轻链可变区。

[0296] 主题抗C1s抗体可包含含有与SEQ ID NO:44中所示和图21中所描绘的氨基酸序列(VK变体2)具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的轻链可变区。

[0297] 主题抗C1s抗体可包含含有与SEQ ID NO:45中所示和图22中所描绘的氨基酸序列(VK变体3)具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的轻链可变区。

[0298] 主题抗C1s抗体可包含相对于表7(图23)中所描绘的IPN003亲本抗体FR氨基酸序列包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个框架(FR)氨基酸置换的重链可变区。

[0299] 例如,主题抗C1s抗体可包含含有在VH FR1的氨基酸位置3处的M→Q置换和/或在VH FR1的氨基酸位置10处的A→G置换和/或在VH FR1的氨基酸位置19处的K→R置换的重链可变区。

[0300] 作为另一个实例,主题抗C1s抗体可包含含有在VH FR2的氨基酸位置40处的I→A置换和/或在VH FR2的氨基酸位置42处的E→G置换和/或在VH FR2的氨基酸位置44处的R→G置换的重链可变区。

[0301] 作为另一个实例,主题抗C1s抗体可包含含有在VH FR3的氨基酸位置74处的A→S置换和/或在VH FR3的氨基酸位置75处的R→K置换和/或在VH FR3的氨基酸位置76处的D→N置换和/或在VH FR3的氨基酸位置82A处的S→N氨基酸置换和/或在VH FR3的氨基酸位置84处的S→A氨基酸置换的重链可变区。

[0302] 作为另一个实例,主题抗C1s抗体可包含含有在VH FR4的氨基酸位置108处的S→L置换的重链可变区。

[0303] 主题抗C1s抗体可包含含有相对于表8(图23)中所描绘的IPN003亲本抗体FR氨基酸序列的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18个框架(FR)氨基酸置换的轻链可变区。

[0304] 例如,主题抗C1s抗体可包含含有在VL FR1中的位置10处的I→T置换和/或在VL FR1中的氨基酸位置11处的M→L置换和/或在VL FR1的位置13处的A→L置换和/或在VL FR1中的位置15处的L→P置换和/或在VL FR1中的氨基酸位置19处的V→A置换和/或在VL FR1的氨基酸位置21处的M→L置换和/或在VL FR1中的氨基酸位置22处的T→S置换的轻链可变区。

[0305] 作为另一个实例,主题抗C1s抗体可包含含有在VL FR2中的氨基酸位置42处的S→K置换和/或在VL FR2中的氨基酸位置43处的S→A置换的轻链可变区。

[0306] 作为另一个实例,主题抗C1s抗体可包含含有在VL FR3中的氨基酸位置60处的A→S置换和/或在VL FR3中的氨基酸位置70处的F→D置换和/或在VL FR3中的氨基酸位置72处的S→T置换和/或在VL FR3中的氨基酸位置78处的M→L置换和/或在VL FR3中的氨基酸位置79处的E→Q置换和/或在VL FR3中的氨基酸位置80处的A→P置换和/或在VL FR3中的氨基酸位置83处的D→F置换的轻链可变区。

[0307] 作为另一个实例,主题抗C1s抗体可包含含有在VL FR4中的氨基酸位置100处的A→Q置换和/或在VL FR4中的氨基酸位置106处的L→I置换的轻链可变区。

[0308] 在一些情况下,本公开的抗C1s抗体包含:

[0309] i) 包含图16中所描绘和SEQ ID NO:39中所示的氨基酸序列的VH变体1;和包含图20中所描绘和SEQ ID NO:43中所示的氨基酸序列的Vk变体1;

[0310] ii) 包含图16中所描绘和SEQ ID NO:39中所示的氨基酸序列的VH变体1;和包含图21中所描绘和SEQ ID NO:44中所示的氨基酸序列的Vk变体2;

[0311] iii) 包含图16中所描绘和SEQ ID NO:39中所示的氨基酸序列的VH变体1;和包含图22中所描绘和SEQ ID NO:45中所示的氨基酸序列的Vk变体3;

[0312] iv) 包含图17中所描绘和SEQ ID NO:40中所示的氨基酸序列的VH变体2;和包含图20中所描绘和SEQ ID NO:43中所示的氨基酸序列的Vk变体1;

[0313] v) 包含图17中所描绘和SEQ ID NO:40中所示的氨基酸序列的VH变体2;和包含图21中所描绘和SEQ ID NO:44中所示的氨基酸序列的Vk变体2;

[0314] vi) 包含图17中所描绘和SEQ ID NO:40中所示的氨基酸序列的VH变体2;和包含图22中所描绘和SEQ ID NO:45中所示的氨基酸序列的Vk变体3;

[0315] vii) 包含图18中所描绘和SEQ ID NO:41中所示的氨基酸序列的VH变体3;和包含图20中所描绘和SEQ ID NO:43中所示的氨基酸序列的Vk变体1;

[0316] viii) 包含图18中所描绘和SEQ ID NO:41中所示的氨基酸序列的VH变体3;和包含图21中所描绘和SEQ ID NO:44中所示的氨基酸序列的Vk变体2;

[0317] ix) 包含图18中所描绘和SEQ ID NO:41中所示的氨基酸序列的VH变体3;和包含图22中所描绘和SEQ ID NO:45中所示的氨基酸序列的Vk变体3;

[0318] x) 包含图19中所描绘和SEQ ID NO:42中所示的氨基酸序列的VH变体4;和包含图20中所描绘和SEQ ID NO:43中所示的氨基酸序列的Vk变体1;

[0319] xi) 包含图19中所描绘和SEQ ID NO:42中所示的氨基酸序列的VH变体4;和包含图21中所描绘和SEQ ID NO:44中所示的氨基酸序列的Vk变体2;或

[0320] xii) 包含图19中所描绘和SEQ ID NO:42中所示的氨基酸序列的VH变体4;和包含图22中所描绘和SEQ ID NO:45中所示的氨基酸序列的Vk变体3。

[0321] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体是结合补体C1s蛋白的Ig单体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体是Ig单体。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体是结合补体C1s蛋白的Ig单体的抗原结合片段。

[0322] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体选自由Ig单体、Fab片段、F(ab')₂片段、Fd片段、scFv、scAb、dAb、Fv、单结构域重链抗体和单结构域轻链抗体组成的组。

[0323] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体选自由单特异性抗体、双特异性抗体和多特异性抗体组成的组。

[0324] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含在单独的多肽中存在的轻链区和重链区。

[0325] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含在单一多肽中存在的轻链区和重链区。

[0326] 在一些实施方案中,主题抗体包含在单一多肽链中的抗C1s重链CDR和抗C1s轻链

CDR,例如,在一些实施方案中,主题抗体是scFv。

[0327] 在一些实施方案中,主题抗体按照从N端到C端的顺序包含:长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第一氨基酸序列;CDR-L1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第二氨基酸序列;CDR-L2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第三氨基酸序列;CDR-L3;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第四氨基酸序列;CDR-H1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第五氨基酸序列;CDR-H2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第六氨基酸序列;CDR-H3;和长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第七氨基酸序列。在一些实施方案中,CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的各自的氨基酸序列是:SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36。例如,在一些实施方案中,主题抗体按照从N端到C端的顺序包含:长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第一氨基酸序列;包含SEQ ID NO:32中所示的氨基酸序列的CDR-L1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第二氨基酸序列;包含SEQ ID NO:33中所示的氨基酸序列的CDR-L2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第三氨基酸序列;包含SEQ ID NO:3中所示的氨基酸序列的CDR-L3;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第四氨基酸序列;包含SEQ ID NO:34中所示的氨基酸序列的CDR-H1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第五氨基酸序列;包含SEQ ID NO:35中所示的氨基酸序列的CDR-H2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第六氨基酸序列;包含SEQ ID NO:36中所示的氨基酸序列的CDR-H3;和长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第七氨基酸序列。

[0328] 在一些实施方案中,主题抗体按照从N端到C端的顺序包含:轻链FR1区;CDR-L1;轻链FR2区;CDR-L2;轻链FR3区;CDR-L3;任选地轻链FR4区;连接子区域;任选地重链FR1区;CDR-H1;重链FR2区;CDR-H2;重链FR3区;CDR-H3;和重链FR4区。在一些实施方案中,CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的各自氨基酸序列是:SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36。在一些这样的实施方案中,一个或多个FR区是人源化FR区。在一些这样的实施方案中,每个FR区是人源化FR区。所述连接子区域的长度可为约5个氨基酸(aa)至约50个氨基酸,例如长度为约5个aa至约10个aa、约10个aa至约15个aa、约15个aa至约20个aa、约20个aa至约25个aa、约25个aa至约30个aa、约30个aa至约35个aa、约35个aa至约40个aa、约40个aa至约45个aa、或约45个aa至约50个aa。

[0329] 在一些实施方案中,主题抗体按照从N端到C端的顺序包含:长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第一氨基酸序列;CDR-H1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第二氨基酸序列;CDR-H2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第三氨基酸序列;CDR-H3;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第四氨基酸序列;CDR-L1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第五氨基酸序列;CDR-L2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第六氨基酸序列;CDR-L3;和长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第七氨基酸序列。在一些实施方案中,CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的各自的氨基酸序列是:SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36。例如,在一些实施方案中,主题抗体按照从N端到C端的顺序包含:长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第一氨基酸序列;包含SEQ ID NO:34中所示的氨基酸序列的CDR-H1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第二氨基酸序列;包含SEQ ID NO:35中所示的氨基酸序列的CDR-H2;长度

为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第三氨基酸序列;包含SEQ ID NO:36中所示的氨基酸序列的CDR-H3;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第四氨基酸序列;包含SEQ ID NO:32中所示的氨基酸序列的CDR-L1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第五氨基酸序列;包含SEQ ID NO:33中所示的氨基酸序列的CDR-L2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第六氨基酸序列;包含SEQ ID NO:3中所示的氨基酸序列的CDR-L3;和长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第七氨基酸序列。

[0330] 在一些实施方案中,主题抗体按照从N端到C端的顺序包含:重链FR1区;CDR-H1;重链FR2区;CDR-H2;重链FR3区;CDR-H3;任选地重链FR4区;连接子;任选地轻链FR1区;CDR-L1;轻链FR2区;CDR-L2;轻链FR3区;CDR-L3;和轻链FR4区。在一些实施方案中,CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的各自的氨基酸序列是:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36。在一些这样的实施方案中,一个或多个FR区是人源化FR区。在一些这样的实施方案中,每个FR区是人源化的FR区。所述连接子区域的长度可为约5个氨基酸至约50个氨基酸,例如长度为约5个aa至约10个aa、约10个aa至约15个aa、约15个aa至约20个aa、约20个aa至约25个aa、约25个aa至约30个aa、约30个aa至约35个aa、约35个aa至约40个aa、约40个aa至约45个aa、或约45个aa至约50个aa。

[0331] 在一些实施方案中,主题抗体按照从N端到C端的顺序包含:长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第一氨基酸序列;CDR-L1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第二氨基酸序列;CDR-L2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第三氨基酸序列;CDR-L3;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第四氨基酸序列;CDR-H1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第五氨基酸序列;CDR-H2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第六氨基酸序列;CDR-H3;和长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第七氨基酸序列。在一些实施方案中,CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的各自的氨基酸序列是:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6。例如,在一些实施方案中,主题抗体按照从N端到C端的顺序包含:长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第一氨基酸序列;包含SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列的CDR-L1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第二氨基酸序列;包含SEQ ID NO:2中所示的氨基酸序列的CDR-L2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第三氨基酸序列;包含SEQ ID NO:3中所示的氨基酸序列的CDR-L3;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第四氨基酸序列;包含SEQ ID NO:4中所示的氨基酸序列的CDR-H1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第五氨基酸序列;包含SEQ ID NO:5中所示的氨基酸序列的CDR-H2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第六氨基酸序列;包含SEQ ID NO:6中所示的氨基酸序列的CDR-H3;和长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第七氨基酸序列。

[0332] 在一些实施方案中,主题抗体按照从N端到C端的顺序包含:轻链FR1区;CDR-L1;轻链FR2区;CDR-L2;轻链FR3区;CDR-L3;任选地轻链FR4区;连接子区域;任选地重链FR1区;CDR-H1;重链FR2区;CDR-H2;重链FR3区;CDR-H3;和重链FR4区。在一些实施方案中,CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的各自的氨基酸序列是:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6。在一些这样的实施方案中,一个或多个FR区是人源化FR区。在一些这样的实施方案中,每个FR区是人源化FR区。所述连接子区域的长度可为约5个氨基酸(aa)至约50个氨基酸,例如长度为约5个aa至约10个aa、

约10个aa至约15个aa、约15个aa至约20个aa、约20个aa至约25个aa、约25个aa至约30个aa、约30个aa至约35个aa、约35个aa至约40个aa、约40个aa至约45个aa、或约45个aa至约50个aa。

[0333] 在一些实施方案中,主题抗体按照从N端到C端的顺序包含:长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第一氨基酸序列;CDR-H1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第二氨基酸序列;CDR-H2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第三氨基酸序列;CDR-H3;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第四氨基酸序列;CDR-L1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第五氨基酸序列;CDR-L2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第六氨基酸序列;CDR-L3;和长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第七氨基酸序列。在一些实施方案中,CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的各自的氨基酸序列是:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6。例如,在一些实施方案中,主题抗体按照从N端到C端的顺序包含:长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第一氨基酸序列;包含SEQ ID NO:4中所示的氨基酸序列的CDR-H1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第二氨基酸序列;包含SEQ ID NO:5中所示的氨基酸序列的CDR-H2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第三氨基酸序列;包含SEQ ID NO:6中所示的氨基酸序列的CDR-H3;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第四氨基酸序列;包含SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列的CDR-L1;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第五氨基酸序列;包含SEQ ID NO:2中所示的氨基酸序列的CDR-L2;长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第六氨基酸序列;包含SEQ ID NO:3中所示的氨基酸序列的CDR-L3;和长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第七氨基酸序列。

[0334] 在一些实施方案中,主题抗体按照从N端到C端的顺序包含:重链FR1区;CDR-H1;重链FR2区;CDR-H2;重链FR3区;CDR-H3;任选地重链FR4区;连接子;任选地轻链FR1区;CDR-L1;轻链FR2区;CDR-L2;轻链FR3区;CDR-L3;和轻链FR4区。在一些实施方案中,CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的各自的氨基酸序列是:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6。在一些这样的实施方案中,一个或多个FR区是人源化FR区。在一些这样的实施方案中,每个FR区是人源化FR区。所述连接子区域的长度可为约5个氨基酸至约50个氨基酸,例如长度为约5个aa至约10个aa、约10个aa至约15个aa、约15个aa至约20个aa、约20个aa至约25个aa、约25个aa至约30个aa、约30个aa至约35个aa、约35个aa至约40个aa、约40个aa至约45个aa、或约45个aa至约50个aa。

[0335] 适于主题抗体使用的连接子包括“柔性连接子”。如果存在的话,则连接子分子通常具有足够长度以允许连接的区域之间的一些柔性移动。在一些实施方案中,连接子分子通常长度为约6-50个原子。所述连接子分子也可以是例如芳基乙炔、含有2-10个单体单元的乙二醇寡聚物、二胺、二酸、氨基酸或其组合。根据本公开可使用可结合多肽的其它连接子分子。

[0336] 可容易地选择合适的连接子并且其可具有多种合适长度中的任一种,诸如1个氨基酸(例如Gly)至20个氨基酸、2个氨基酸至15个氨基酸、3个氨基酸至12个氨基酸,包括4个氨基酸至10个氨基酸、5个氨基酸至9个氨基酸、6个氨基酸至8个氨基酸、或7个氨基酸至8个氨基酸,并且可以是1、2、3、4、5、6或7个氨基酸。

[0337] 示例性柔性连接子包括甘氨酸聚合物(G)_n、甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括例如

(GS)_n、(GSGGS)_n(SEQ ID NO:10)和(GGGS)_n(SEQ ID NO:11),其中n为至少1的整数)、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物,和本领域中已知的其它柔性连接子。甘氨酸和甘氨酸-丝氨酸聚合物受到关注,因为这两种氨基酸是相对非结构化的,并且因此可以作为组分之间的中性栓系。甘氨酸聚合物受到特别关注,因为甘氨酸甚至比丙氨酸接近显著更多phi-psi空间,并且比具有较长侧链的残基受到少得多的限制(参见Scheraga, Rev.Computational Chem.11173-142(1992))。示例性柔性连接子包括但不限于GSGG(SEQ ID NO:12)、GSGGG(SEQ ID NO:13)、GSGSG(SEQ ID NO:14)、GSGGG(SEQ ID NO:15)、GGGSG(SEQ ID NO:16)、GSSSG(SEQ ID NO:17)等。本领域普通技术人员将认识到,缀合于上述任何元件的肽的设计可以包括全部或部分柔性的连接子,以使得所述连接子可以包括柔性连接子以及赋予较不柔性结构的一个或多个部分。

[0338] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体包含scFv多聚体。例如,在一些实施方案中,主题抗体是scFv二聚体(例如,包含两个串联scFv(scFv₂))、scFv三聚体(例如,包含三个串联scFv(scFv₃))、scFv四聚体(例如,包含四个串联scFv(scFv₄)),或为具有多于四个scFv的多聚体(例如,串联地)。scFv单体可经由长度为约2个氨基酸至约10个氨基酸(aa)、例如长度为2个aa、3个aa、4个aa、5个aa、6个aa、7个aa、8个aa、9个aa或10个aa的连接子串联连接。合适的连接子包括例如(Gly)_x,其中x是2至10的整数。其它合适的连接子是上文所讨论的那些。在一些实施方案中,主题scFv多聚体中的每个scFv单体是如上文所述人源化的。

[0339] 在一些情况下,主题抗体包含免疫球蛋白的恒定区(例如,Fc区)。Fc区,如果存在的话,可为人Fc区或来自具有补体系统的任何动物的Fc区。在一些实施方案中,Fc区,如果存在的话,为人Fc区。如果存在恒定区,则抗体可含有轻链和重链恒定区。合适的重链恒定区包括CH1、铰链、CH2、CH3和CH4区。本文所述的抗体包括具有所有类型的恒定区的抗体,所述恒定区包括IgM、IgG、IgD、IgA和IgE和任何同种型(包括IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)。合适的重链Fc区的实例是人同种型IgG1Fc。合适的重链Fc区的另一个实例是人同种型IgG2Fc。合适的重链Fc区的另一个实例是人同种型IgG3Fc。轻链恒定区可为λ或κ。主题抗体(例如,主题人源化抗体)可包含来自一种以上种类或同种型的序列。抗体可以含有两条轻链和两条重链的四聚体形式,单独的重链、轻链形式,Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv形式,或者其中重链和轻链可变结构域经由间隔基连接的单链抗体形式表达。

[0340] 在一些情况下,重链区属于同种型IgG4。在一些这样的实施方案中,铰链区包含S241P置换。参见例如Angal等人,(1993) Mol. Immunol. 30:105。在一些这样的实施方案中,铰链区包含L236E(或L235E,使用EU编号;Kabat等,(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,U.S.Dept.Health and Human Services,Bethesda,MD, NIH公开No.91-3242)置换。参见例如Reddy等人,(2000) J. Immunol. 164:1925;和Klechevsky等人,(2010) Blood 116:1685。在一些这样的实施方案中,铰链区包含S241P置换和L236E置换。

[0341] 主题抗体可包含在羧基端的游离硫醇(-SH)基团,其中所述游离硫醇基团可用于将所述抗体连接至第二多肽(例如,另一种抗体,包括主题抗体)、骨架、载体等。

[0342] 在一些实施方案中,主题抗体包含一种或多种非天然存在的氨基酸。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含羰基、乙酰基、氨基基、胍基、酰胍基、氨基脒基、叠氮基或炔基。关于合适的非天然存在的氨基酸,参见例如美国专利No.7,632,924。包括非天然存在

的氨基酸可以提供与聚合物、第二多肽、骨架等的连接。例如,可通过使包含羰基的水溶性聚合物(例如PEG)与抗体反应来制备连接至水溶性聚合物的主题抗体,其中所述抗体包含含有氨基、胍、酰胍或氨基脒基的非天然编码的氨基酸。作为另一个实例,可通过使包含炔氨基酸的主题抗体与包含叠氮部分的水溶性聚合物(例如PEG)反应来制备连接至水溶性聚合物的主题抗体。在一些实施方案中,叠氮基或炔基通过酰胺键连接至PEG分子。“非天然编码的氨基酸”是指并非20种常见氨基酸之一或吡咯赖氨酸或硒代半胱氨酸的氨基酸。可与术语“非天然编码的氨基酸”同义使用的其它术语是“非天然氨基酸”、“非天然的氨基酸”、“非天然存在的氨基酸”和其各种带连字符和不带连字符的形式。术语“非天然编码的氨基酸”还包括但不限于通过天然编码的氨基酸(包括但不限于20种常见氨基酸或吡咯赖氨酸和硒代半胱氨酸)的修饰(例如翻译后修饰)而出现、但并非自身通过翻译复合物天然地掺入生长的多肽链中的氨基酸。此类非天然存在的氨基酸的实例包括但不限于N-乙酰基葡萄糖胺基-L-丝氨酸、N-乙酰基葡萄糖胺基-L-苏氨酸和O-磷酸酪氨酸。

[0343] 在一些实施方案中,将主题抗体连接(例如,共价连接)至聚合物(例如,除多肽之外的聚合物)。合适的聚合物包括例如生物相容性聚合物和水溶性生物相容性聚合物。合适的聚合物包括合成聚合物和天然存在的聚合物。合适的聚合物包括例如被取代或未被取代的直链或支链聚亚烷基、聚亚烯基或聚氧亚烷基聚合物,或支链或无支链的多糖,例如均聚多糖或异聚多糖。合适的聚合物包括例如乙烯-乙醇共聚物(通常由通用名称EVOH或由商品名EVAL已知);聚甲基丙烯酸丁酯;聚(羟基戊酸酯);聚(L-乳酸);聚己内酯;聚(丙交酯-共-乙交酯);聚(羟基丁酸酯);聚(羟基丁酸酯-共-戊酸酯);聚二噁烷酮;聚原酸酯;聚酸酐;聚(乙醇酸);聚(D,L-乳酸);聚(乙醇酸-共-三亚甲基碳酸酯);聚磷酸酯;聚磷酸酯氨基甲酸乙酯;聚(氨基酸);氰基丙烯酸酯;聚(三亚甲基碳酸酯);聚(亚氨基碳酸酯);共聚(醚-酯)(例如,聚(环氧乙烷)-聚(乳酸)(PEO/PLA)共聚物);聚亚烷基草酸酯;聚磷腈;生物分子,诸如纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维素、淀粉、胶原和透明质酸;聚氨酯;聚硅氧烷;聚酯;聚烯烃;聚异丁烯和乙烯- α -烯烃共聚物;丙烯酸类聚合物和共聚物;乙烯基卤聚合物和共聚物,诸如聚氯乙烯;聚乙烯醚,诸如聚乙烯基甲基醚;聚偏二卤乙烯,诸如聚偏二氟乙烯和聚偏二氯乙烯;聚丙烯腈;聚乙烯基酮;聚乙烯基芳族化合物,诸如聚苯乙烯;聚乙烯酯,诸如聚乙酸乙烯酯;乙烯基单体彼此和与烯烃的共聚物,诸如乙烯-甲基丙烯酸甲酯共聚物、丙烯腈-苯乙烯共聚物、ABS树脂,和乙烯-乙酸乙烯酯共聚物;聚酰胺,诸如尼龙66和聚己内酰胺;醇酸树脂;聚碳酸酯;聚甲醛;聚酰亚胺;聚醚;环氧树脂;聚氨酯;人造丝;人造丝-三乙酸酯;纤维素;乙酸纤维素;丁酸纤维素;乙酸丁酸纤维素;赛璐玢(cellophane);硝酸纤维素;丙酸纤维素;纤维素醚;无定形Teflon;聚(乙二醇);和羧甲基纤维素。

[0344] 合适的合成聚合物包括未被取代和被取代的直链或支链聚(乙二醇)、聚(丙二醇)、聚(乙醇醇)和其衍生物,例如,被取代的聚(乙二醇),诸如甲氧基聚(乙二醇),和其衍生物。合适的天然存在的聚合物包括例如白蛋白、直链淀粉、葡聚糖、糖原和其衍生物。

[0345] 合适的聚合物可具有在500Da至50,000Da,例如5,000Da至40,000Da、或25,000至40,000Da的范围内的平均分子量。例如,在其中主题抗体包含聚(乙二醇)(PEG)或甲氧基聚(乙二醇)聚合物的一些实施方案中,所述PEG或甲氧基聚(乙二醇)聚合物可具有在约0.5千道尔顿(kDa)至1kDa、约1kDa至5kDa、5kDa至10kDa、10kDa至25kDa、25kDa至40kDa、或40kDa至60kDa范围内的分子量。

[0346] 如上所述,在一些实施方案中,主题抗体共价连接至非肽合成聚合物。在一些实施方案中,主题抗体共价连接至PEG聚合物。在一些实施方案中,主题scFv多聚体共价连接至PEG聚合物。参见例如Albrecht等人,(2006) J. Immunol. Methods 310:100。适于蛋白质的聚乙二醇化的方法和试剂是本领域中众所周知的并且可见于例如美国专利No. 5,849,860中。适于缀合至蛋白质的PEG通常在室温下可溶于水中,并且具有通式 $R(O-CH_2-CH_2)_nO-R$,其中R为氢或保护基诸如烷基或烷醇基,并且其中n是1至1,000的整数。当R是保护基时,其通常具有1至8个碳。

[0347] 在一些实施方案中,缀合至主题抗体的PEG是直链。在一些实施方案中,缀合至主题抗体的PEG是支链。支链PEG衍生物诸如美国专利No. 5,643,575中所述的那些,“星形PEG”和多臂PEG诸如Shearwater Polymers, Inc. 目录“Polyethylene Glycol Derivatives 1997-1998”中所述的那些。星形PEG描述于本领域中,包括例如美国专利No. 6,046,305中。

[0348] 主题抗体可以是糖基化的,例如,主题抗体可包含共价连接的碳水化合物或多糖部分。抗体的糖基化通常是N连接的或O连接的。N连接的是指碳水化合物部分与天冬酰胺残基的侧链的连接。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸(其中X是除脯氨酸之外的任何氨基酸)是用于酶促连接碳水化合物部分至天冬酰胺侧链的识别序列。因此,这些三肽序列中的任一个在多肽中的存在产生潜在的糖基化位点。O连接的糖基化是指糖N-乙酰基半乳糖胺、半乳糖或木糖中的一者与羟基氨基酸的连接,所述羟基氨基酸最通常是丝氨酸或苏氨酸,但也可以使用5-羟基脯氨酸或5-羟基赖氨酸。

[0349] 通过改变氨基酸序列以使得其含有一个或多个上述三肽序列,可方便地实现糖基化位点向抗体的添加(对于N连接的糖基化位点)。还可以通过向原始抗体序列添加一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基或通过被一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基置换来作出改变(对于O连接的糖基化位点)。类似地,可通过在抗体的天然糖基化位点内的氨基酸改变来实现糖基化位点的去除。

[0350] 在一些实施方案中,主题抗体将包含“不透射线的”标记,例如可容易使用例如x射线而显现的标记。不透射线的材料是本领域技术人员众所周知的。最常见的不透射线的材料包括碘化物、溴化物或钡盐。其它不透射线的材料也是已知的并且包括但不限于有机铋衍生物(参见例如美国专利No. 5,939,045)、不透射线的多氨基甲酸乙酯(参见美国专利No. 5,346,981)、有机铋复合物(参见例如美国专利No. 5,256,334)、不透射线的钡多聚体复合物(参见例如美国专利No. 4,866,132)等。

[0351] 可使用例如戊二醛、同型双功能交联剂或异型双功能交联剂将主题抗体共价连接至第二部分(例如,脂质、除主题抗体之外的多肽、合成聚合物、碳水化合物等)。戊二醛经由其氨基部分交联多肽。同型双功能交联剂(例如,同型双功能亚氨酸酯、同型双功能N-羟基琥珀酰亚胺基(NHS)酯或同型双功能巯基反应性交联剂)含有两个或更多个相同的反应性部分并且可用于单步反应程序中,在所述程序中将交联剂添加至含有待连接的多肽的混合物的溶液。同型双功能NHS酯和亚氨酸酯使含有多肽的胺交联。在温和的碱性pH中,亚氨酸酯仅与伯胺反应以形成亚氨基酰胺,并且交联多肽的总电荷不受影响。同型双功能巯基反应性交联剂包括双马来酰亚胺己烷(BMH)、1,5-二氟-2,4-二硝基苯(DFDNB)和1,4-二-(3',2'-吡啶基二巯基)丙酰氨基丁烷(DPDPB)。

[0352] 异型双功能交联剂具有两个或更多个不同的反应性部分(例如,胺反应性部分和

巯基反应性部分)并且经由胺或巯基反应性部分与一种多肽交联,然后经由非反应部分与另一种多肽反应。多种异型双功能卤乙酰基交联剂是可用的,吡啶基二硫化物交联剂也是如此。碳化二亚胺是用于将羧基与胺偶联(其产生酰胺键)的异型双功能交联试剂的典型实例。

[0353] 主题抗体可被固定在固体支撑物上。合适的支撑物是本领域中众所周知的并且尤其包含市售柱材料、聚苯乙烯珠粒、乳胶珠粒、磁性珠粒、胶体金属粒子、玻璃和/或硅芯片和表面、硝基纤维素条、尼龙膜、片材、duracytes、反应盘(例如多孔板)的孔、塑料管等。固体支撑物可包含多种物质中的任一种,包括例如玻璃、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚丙烯、聚乙烯、聚碳酸酯、葡聚糖、尼龙、直链淀粉、天然和改性的纤维素、聚丙烯酰胺、琼脂糖和磁铁矿。适于将主题抗体固定至固体支撑物上的方法是众所周知的并且包括但不限于离子性、疏水性、共价相互作用等。固体支撑物例如在水溶液中可以是可溶的或不溶的。在一些实施方案中,合适的固体支撑物通常不溶于水溶液中。

[0354] 在一些实施方案中,主题抗体将包含可检测标记。合适的可检测标记包括可通过光谱学、光化学、生物化学、免疫化学、电学、光学或化学手段检测的任何组合物。合适的包括但不限于磁性珠粒(例如Dynabeads™)、荧光染料(例如,异硫氰酸荧光素、德克萨斯红(texas red)、罗丹明、绿色荧光蛋白、红色荧光蛋白、黄色荧光蛋白等)、放射性标记(例如,³H、¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C或³²P)、酶(例如,辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、荧光素酶,和酶联免疫吸附测定(ELISA)中通常使用的其它酶),和比色标记诸如胶体金或有色玻璃或塑料(例如聚苯乙烯、聚丙烯、乳胶等)珠粒。

[0355] 在一些实施方案中,主题抗体包含造影剂或放射性同位素,其中所述造影剂或放射性同位素是适用于成像、例如对人进行的成像程序的造影剂或放射性。标记的非限制性实例包括放射性同位素诸如¹²³I(碘)、¹⁸F(氟)、⁹⁹Tc(锝)、¹¹¹In(铟)和⁶⁷Ga(镓),和造影剂诸如钆(Gd)、镓和铁。放射性Gd同位素(¹⁵³Gd)也是可用的并且适于在非人哺乳动物中的成像程序。主题抗体可使用标准技术进行标记。例如,可使用氯胺T或1,3,4,6-四氯-3a,6a-二苯基甘脲将主题抗体碘化。对于氟化,在合成期间通过氟离子置换反应来向主题抗体添加氟。关于具有所述放射性同位素的蛋白质的合成的综述,参见Muller-Gartner,H.,TIB Tech.,16:122-130(1998)和Saji,H.,Crit.Rev.Ther.Drug Carrier Syst.,16(2):209-244(1999)。也可以通过标准技术用造影剂标记主题抗体。例如,可通过将低分子Gd螯合物诸如Gd二亚乙基三胺五乙酸(GdDTPA)或Gd四氮杂环十二烷四乙酸(GdDOTA)缀合至抗体而用Gd标记主题抗体。参见Caravan等人,Chem.Rev.99:2293-2352(1999);和Lauffer等人,J.Magn.Reson.Imaging,3:11-16(1985)。可通过例如将聚赖氨酸-Gd螯合物缀合至抗体而用Gd标记主题抗体。参见例如Curtet等人,Invest.Radiol.,33(10):752-761(1998)。可选地,可通过将包括Gd螯合剂脂质的顺磁性聚合脂质体与抗生物素蛋白和生物素标记的抗体一起温育而用Gd标记主题抗体。参见例如Sipkins等人,Nature Med.,4:623-626(1998)。

[0356] 可连接至主题抗体的合适的荧光蛋白包括但不限于来自维多利亚多管发光水母(Aequoria victoria)的绿色荧光蛋白或其突变体或衍生物,例如如美国专利No.6,066,476、6,020,192、5,985,577、5,976,796、5,968,750、5,968,738、5,958,713、5,919,445、5,874,304中所述;例如,增强的GFP,许多此类GFP可从例如Clontech,Inc.商业购得;红色荧光蛋白;黄色荧光蛋白;来自珊瑚虫(Anthozoan)物种的多种荧光和有色蛋白中的任一个,

如例如Matz等人, (1999) Nature Biotechnol.17:969-973中所述;等等。

[0357] 在一些实施方案中,主题抗体缀合至治疗剂。本文公开的任何主题抗体可用于形成抗体-药剂缀合物。所述药剂可连接至轻链的N端、轻链的C端、重链的N端或重链的C端。在一些实施方案中,所述药剂连接至抗体的铰链或抗体上的一个或多个其它位点。对于单链抗体,所述药剂可连接至单链抗体的N或C端。所述药剂可使用本领域技术人员已知的技术直接地或经由连接子缀合至所述抗体。所述连接子可为可裂解的或不可裂解的。此类治疗剂(例如,用于疗法中)的实例是本领域技术人员所知的。

[0358] 在一些实施方案中,主题抗体将连接(例如,共价或非共价连接)至融合伴侣,例如配体;表位标签;肽;除抗体之外的蛋白质;等等。合适的融合伴侣包括具有以下特性的肽和多肽:赋予增强的体内稳定性(例如,增强的血清半衰期);提供纯化便利性,例如,(His)_n,例如6His等;提供融合蛋白从细胞的分泌;提供表位标签,例如,GST、血球凝集素(HA;例如,YPYDVPDYA;SEQ ID NO:18)、FLAG(例如,DYKDDDDK;SEQ ID NO:19)、c-myc(例如,EQKLISEEDL;SEQ ID NO:20)等;提供可检测信号,例如,产生可检测产物的酶(例如, β -半乳糖苷酶、荧光素酶)或自身可检测的蛋白质,例如,绿色荧光蛋白、红色荧光蛋白、黄色荧光蛋白等;提供多聚化,例如,多聚结构域诸如免疫球蛋白的Fc部分;等等。

[0359] 融合体还可包括亲和结构域,所述亲和结构域包括可与结合伴侣相互作用的肽序列,例如,诸如固定在固体支撑物上、可用于鉴定或纯化的肽序列。连续的单一氨基酸诸如组氨酸,当与蛋白质融合时,可通过与树脂柱诸如镍琼脂糖的高亲和力结合而用于融合蛋白的一步纯化。示例性亲和结构域包括His5(HHHHH)(SEQ ID NO:21);HisX6(HHHHHH)(SEQ ID NO:22);c-myc(EQKLISEEDL)(SEQ ID NO:20);Flag(DYKDDDDK)(SEQ ID NO:19);StrepTag(WSHPQFEK)(SEQ ID NO:23);血球凝集素,例如HA标签(YPYDVPDYA;SEQ ID NO:18);谷胱甘肽-S-转移酶(GST);硫氧还蛋白;纤维素结合结构域;RYIRS(SEQ ID NO:24);Phe-His-His-Thr(SEQ ID NO:25);几丁质结合结构域;S-肽;T7肽;SH2结构域;C端RNA标签;WEAAAREACCRECCARA(SEQ ID NO:26);金属结合结构域,例如锌结合结构域或钙结合结构域,诸如来自钙结合蛋白例如钙调蛋白、肌钙蛋白C、钙调磷酸酶B、肌球蛋白轻链、恢复蛋白、S-调控蛋白、视锥蛋白、VILIP、神经钙蛋白、海马钙蛋白、频蛋白(frequenin)、钙牵蛋白、钙蛋白酶大亚基、S100蛋白、小清蛋白、钙结合蛋白D9K、钙结合蛋白D28K和钙视网膜蛋白,内含肽,生物素,链霉亲和素,MyoD,亮氨酸拉链序列和麦芽糖结合蛋白的那些。

[0360] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体是与促进穿越血脑屏障(BBB)的药剂一起配制的。在一些实施方案中,所述抗体直接地或通过连接子融合至促进穿越BBB的化合物。此类化合物的实例包括但不限于载体分子、肽或蛋白质。在一些实施方案中,主题抗体将与结合内源BBB受体的多肽融合。主题抗体与结合内源BBB受体的多肽的连接促进穿越BBB,例如,在包括向有需要的个体施用主题抗体的主题治疗方法(参见下文)中。合适的结合内源BBB受体的多肽包括特异性结合内源BBB受体的抗体,例如,单克隆抗体或其抗原结合片段。合适的内源BBB受体包括但不限于胰岛素受体、转铁蛋白受体、瘦素受体、脂蛋白受体和胰岛素样生长因子受体。参见例如美国专利公开No.2009/0156498。

[0361] 作为实例,主题抗C1s抗体可以是双特异性抗体,其包含特异性结合补体C1s蛋白中的表位的第一抗原结合部分;和结合内源BBB受体的第二抗原结合部分。例如,在一些情况下,主题抗C1s抗体是双特异性抗体,其包含特异性结合C1s蛋白中的表位的第一抗原结

合部分;和结合转铁蛋白受体的第二抗原结合部分。

[0362] 例如,本公开的抗C1s抗体可与促进穿越BBB的肽融合,所述肽具有约15个氨基酸至约25个氨基酸的长度,并且包含与下列肽之一具有至少约85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:Angiopep-1 (TFFYGGCRGKRNNFKTEEY) (SEQ ID NO:27);Angiopep-2 (TFFYGGSRGKRNNFKTEEY) (SEQ ID NO:28);cys-Angiopep-2 (CTFFYGGSRGKRNNFKTEEY) (SEQ ID NO:29);Angiopep-2-cys (TFFYGGSRGKRNNFKTEEYC) (SEQ ID NO:30);和抑肽酶片段 (TFVYGGCRAKRNNFKS) (SEQ ID NO:31)。参见例如美国专利公开No.2011/0288011;和2009/0016959。促进穿越BBB的肽可融合至抗C1s轻链区的N端、抗C1s轻链区的C端、抗C1s重链区的N端、抗C1s重链区的C端、主题抗C1s单链抗体的N端、主题抗C1s单链抗体的C端等。

[0363] 在一些实施方案中,主题抗体包含聚胺修饰。主题抗体的聚胺修饰增强了修饰抗体在BBB处的渗透性。主题抗体可用天然存在或合成的聚胺进行修饰。参见例如美国专利No.5,670,477。有用的天然存在的聚胺包括腐胺、亚精胺、精胺、1,3-二氨基丙烷、降亚精胺、同型高亚精胺、热胺(thermine)、热精胺、嗜热性五胺(caldopentamine)、高嗜热性五胺(homocaldopentamine)和刀豆四胺(canavalmine)。腐胺、亚精胺和精胺是特别有用的。合成聚胺由经验式 $C_xH_yN_z$ 组成,可以是具有3-12个碳原子的环状或非环状、支链或无支链的烃链,其进一步包括1-6个NR或 $N(R)_2$ 部分,其中R是H、 (C_1-C_4) 烷基、苯基或苄基。可使用任何标准交联方法将聚胺连接至抗体。

[0364] 在一些实施方案中,主题抗体经过修饰以包括碳水化合物部分,其中所述碳水化合物部分可共价连接至所述抗体。在一些实施方案中,主题抗体经过修饰以包括脂质部分,其中所述脂质部分可共价连接至所述抗体。合适的脂质部分包括例如N-脂肪族酰基,诸如N-月桂酰基、N-油酰基等;脂肪族胺,诸如十二烷基胺、油酰胺等;C3-C16长链脂族脂质;等等。参见例如美国专利No.6,638,513。在一些实施方案中,主题抗体被掺入(例如,包封)到脂质体中。

[0365] 产生主题抗体的方法

[0366] 主题抗体可通过任何已知方法产生,例如,用于蛋白质合成的常规合成方法;重组DNA方法;等等。在一些实施方案中,主题抗体是通过选自由重组产生和化学合成组成的组的方法产生的。

[0367] 当主题抗体是单链多肽时,其可以使用标准的化学肽合成技术来合成。当多肽是化学合成时,所述合成可经由液相或固相进行。固相多肽合成(SPPS)是适于化学合成主题抗体的方法的实例,其中序列的C端氨基酸连接至不溶性支撑物,接着依序添加序列中的剩余氨基酸。各种形式的SPPS,例如Fmoc和Boc,可用于合成主题抗体。用于固相合成的技术由以下描述:Barany和Merrifield, *Solid-Phase Peptide Synthesis*; *The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology* 中的第3-284页,第2卷: *Special Methods in Peptide Synthesis*, A部分, Merrifield等人, *J. Am. Chem. Soc.*, 85:2149-2156 (1963); Stewart等人, *Solid Phase Peptide Synthesis*, 第2版, Pierce Chem. Co., Rockford, Ill. (1984); 和 Ganesan A. 2006 *Mini Rev. Med Chem.* 6:3-10; 和 Camarero JA 等人, 2005 *Protein Pept Lett.* 12:723-8。简单地说,用上面构建有肽链的功能单元处理小的不溶性多孔珠粒。在偶联/脱保护的重复循环后,所连接的固相的游离N端胺与单个N保护氨基酸单元偶联。然后将这个单元脱保护,从而露出可连接另一个氨基酸的新的N端胺。所述肽仍然固定在固相上并

且在裂解掉之前经历过滤过程。

[0368] 标准的重组方法可用于产生主题抗体。例如,将编码任选地连接至恒定区的轻链和重链可变区的核酸插入表达载体中。所述轻链和重链可在相同或不同的表达载体中克隆。编码免疫球蛋白链的DNA区段可操作地连接至确保免疫球蛋白多肽的表达的载体中的控制序列。表达控制序列包括但不限于启动子(例如,天然缔合的或异源的启动子)、信号序列、增强子元件、阻遏子元件和转录终止序列。所述表达控制序列可为能够转化或转染真核宿主细胞(例如,COS或CHO细胞)的载体中的真核启动子系统。一旦载体已掺入适当的宿主中,则将所述宿主保持在适于核苷酸序列的高水平表达以及抗体的收集和纯化的条件下。

[0369] 由于密码的简并性,多种核酸序列可编码每种免疫球蛋白氨基酸序列。所需的核酸序列可通过从头固相DNA合成或通过所需多核苷酸的较早制备的变体的聚合酶链反应(PCR)诱变而产生。寡核苷酸介导的诱变是适于制备靶多肽DNA的置换、缺失和插入变体的方法的实例。参见Adelman等人,DNA 2:183(1983)。简单地说,通过编码所需突变的寡核苷酸与单链DNA模板的杂交来改变靶多肽DNA。在杂交后,使用DNA聚合酶来合成模板的整个第二互补链,所述模板掺入了寡核苷酸引物并编码靶多肽DNA中的所选改变。

[0370] 合适的表达载体通常可作为游离基因或作为宿主染色体DNA的整体部分在宿主生物体中复制。通常,表达载体含有选择标记(例如,氨苄青霉素抗性、潮霉素抗性、四环素抗性、卡那霉素抗性 or 新霉素抗性)以允许检测用所需DNA序列转化的那些细胞。

[0371] 大肠杆菌(*Escherichia coli*)是可用于克隆编码主题抗体的多核苷酸的原核宿主细胞的实例。其它适合使用的微生物宿主包括芽孢杆菌属(*bacilli*),诸如枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*);和其它肠细菌科,例如沙门氏菌属(*Salmonella*)、沙雷氏菌属(*Serratia*),和各种假单胞菌属(*Pseudomonas*)物种。在这些原核宿主中,还可以制备表达载体,其通常将含有可与宿主细胞相容的表达控制序列(例如,复制起点)。另外,将存在任何数量的多种众所周知的启动子,诸如乳糖启动子系统、色氨酸(*trp*)启动子系统、 β -内酰胺酶启动子系统,或来自 λ 噬菌体的启动子系统。所述启动子通常将任选地与操纵子序列一起控制表达,并且具有用于起始和完成转录和翻译的核糖体结合位点序列等。

[0372] 其它微生物,诸如酵母,也可用于表达。酵母属(*Saccharomyces*) (例如酿酒酵母(*S.cerevisiae*))和毕赤酵母属(*Pichia*)是合适的酵母宿主细胞的实例,其中合适的载体在必要时具有表达控制序列(例如,启动子)、复制起点、终止序列等。典型的启动子包括3-磷酸甘油酸激酶和其它糖酵解酶。诱导型酵母启动子尤其包括来自醇脱氢酶、异细胞色素C和负责麦芽糖和半乳糖利用的酶的启动子。

[0373] 除了微生物之外,还可使用哺乳动物细胞(例如,在体外细胞培养物中生长的哺乳动物细胞)来表达和产生本公开的抗C1s抗体(例如,编码主题抗C1s抗体的多核苷酸)。参见Winnacker,From Genes to Clones,VCH Publishers,N.Y.,N.Y.(1987)。合适的哺乳动物宿主细胞包括CHO细胞系、各种Cos细胞系、HeLa细胞、骨髓瘤细胞系,和转化的B细胞或杂交瘤。用于这些细胞的表达载体可包括表达控制序列,诸如复制起点、启动子和增强子(Queen等人,Immunol.Rev.89:49(1986)),和必要的加工信息位点,诸如核糖体结合位点、RNA剪接位点、多聚腺苷酸化位点和转录终止子序列。合适的表达控制序列的实例是源自免疫球蛋白基因、SV40、腺病毒、牛乳头状瘤病毒、巨细胞病毒等的启动子。参见Co等人,

J. Immunol. 148:1149 (1992)。

[0374] 一旦(以化学方式或重组方式)合成,完整抗体、其二聚体、单独的轻链和重链,或其它形式的主题抗体(例如scFv等)可以根据本领域的标准程序来纯化,所述标准程序包括硫酸铵沉淀、亲和柱、柱色谱法、高效液相色谱法(HPLC)纯化、凝胶电泳等(通常参见Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, N.Y., (1982))。主题抗体可为基本上纯的,例如,至少约80%至85%纯、至少约85%至90%纯、至少约90%至95%纯、或98%至99%、或更高纯度,例如,不含污染物诸如细胞碎片、除主题抗体之外的大分子等。

[0375] 组合物

[0376] 本公开提供包含主题抗体的组合物。除了主题抗体之外,主题抗体组合物可包含以下中的一种或多种:盐,例如,NaCl、MgCl₂、KCl、MgSO₄等;缓冲剂,例如,Tris缓冲剂、N-(2-羟基乙基)哌嗪-N'-(2-乙磺酸)(HEPES)、2-(N-吗啉代)乙磺酸(MES)、2-(N-吗啉代)乙磺酸钠盐(MES)、3-(N-吗啉代)丙磺酸(MOPS)、N-三[羟基甲基]甲基-3-氨基丙磺酸(TAPS)等;增溶剂;洗涤剂,例如非离子型洗涤剂,诸如Tween-20等;蛋白酶抑制剂;甘油;等等。

[0377] 核酸分子、表达载体和宿主细胞

[0378] 本公开提供包含编码主题抗C1s抗体的核苷酸序列的核酸分子。

[0379] 在一些实施方案中,本公开的核酸分子编码主题抗C1s抗体,所述抗体包含与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%氨基酸序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,本公开的核酸分子编码主题抗C1s抗体,所述抗体包含含有SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列的轻链可变区。

[0380] 在一些实施方案中,本公开的核酸分子编码主题抗C1s抗体,所述抗体包含与SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%氨基酸序列同一性的重链可变区。在一些实施方案中,本公开的核酸分子编码主题抗C1s抗体,所述抗体包含含有SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列的重链可变区。

[0381] 在一些实施方案中,本公开的核酸分子编码主题抗C1s抗体,所述抗体包含含有分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的轻链可变区。

[0382] 在一些实施方案中,本公开的核酸分子编码主题抗C1s抗体,所述抗体包含含有分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的重链可变区。

[0383] 在一些实施方案中,本公开的核酸分子编码主题抗C1s抗体,所述抗体包含与SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%氨基酸序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,本公开的核酸分子编码主题抗C1s抗体,所述抗体包含含有SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列的轻链可变区。

[0384] 在一些实施方案中,本公开的核酸分子编码主题抗C1s抗体,所述抗体包含与SEQ ID NO:38中所示的氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%氨基酸序列同一性的重链可变区。在一些实施方案中,本公开的核酸分子编码主题抗C1s抗体,所述抗体包含含有SEQ ID NO:38中所示的氨基酸序列的重链可变区。

[0385] 在一些实施方案中,本公开的核酸分子编码主题抗C1s抗体,所述抗体包含含有分别为SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:3的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的轻链可变区。

[0386] 在一些实施方案中,本公开的核酸分子编码主题抗C1s抗体,所述抗体包含含有分别为SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的重链可变区。

[0387] 在一些实施方案中,本公开的核酸分子编码主题抗C1s抗体,所述抗体包含轻链可变区和重链可变区。

[0388] 编码主题抗体的核酸分子可以可操作地连接至一种或多种调控元件,诸如启动子和增强子,其允许核苷酸序列在预期目标细胞(例如,经过遗传修饰以合成所编码抗体的细胞)中表达。

[0389] 合适的启动子和增强子元件是本领域中已知的。适用于原核宿主细胞中的启动子包括但不限于噬菌体T7RNA聚合酶启动子;T3启动子;T5启动子; λ P启动子;trp启动子;乳糖操纵子启动子;杂合启动子,例如,lac/tac杂合启动子、tac/trc杂合启动子、trp/lac启动子、T7/lac启动子;trc启动子;tac启动子等;gpt启动子;araBAD启动子;体内调控的启动子,诸如ssaG启动子或相关启动子(参见例如美国专利公开No.20040131637)、pagC启动子(Pulkkinen和Miller,J.Bacteriol.,1991:173(1):86-93;Alpuche-Aranda等人,PNAS,1992;89(21):10079-83)、nirB启动子(Harborne等人,(1992) Mol.Micro.6:2805-2813)、等等(参见例如Dunstan等人,(1999) Infect.Immun.67:5133-5141;McKelvie等人,(2004) Vaccine 22:3243-3255;和Chatfield等人,(1992) Biotechnol.10:888-892);sigma70启动子,例如共有sigma70启动子(参见例如GenBank登录号AX798980、AX798961和AX798183);固定相启动子,例如dps启动子、spv启动子等;源自致病岛SPI-2的启动子(参见例如W096/17951);actA启动子(参见例如Shetron-Rama等人,(2002) Infect.Immun.70:1087-1096);rpsM启动子(参见例如Valdivia和Falkow(1996).Mol.Microbiol.22:367);tet启动子(参见例如Hillen,W.和Wissmann,A.(1989)在Saenger,W.和Heinemann,U.(编辑),Topics in Molecular and Structural Biology,Protein-Nucleic Acid Interaction中.Macmillan,London,UK,第10卷,第143-162页);SP6启动子(参见例如Melton等人,(1984) Nucl.Acids Res.12:7035);等等。适用于原核生物诸如大肠杆菌中的强启动子包括但不限于Trc、Tac、T5、T7和P_λ。用于细菌宿主细胞中的操纵子的非限制性实例包括乳糖启动子操纵子(LacI阻遏蛋白当与乳糖接触时改变构象,从而防止所述LacI阻遏蛋白结合操纵子)、色氨酸启动子操纵子(当与色氨酸复合时,TrpR阻遏蛋白具有结合操纵子的构象;在不存在色氨酸的情况下,所述TrpR阻遏蛋白具有不结合操纵子的构象),和tac启动子操纵子(参见例如deBoer等人,(1983) Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.80:21-25)。

[0390] 在一些实施方案中,例如,为了在酵母细胞中表达,合适的启动子是组成型启动子,诸如ADH1启动子、PGK1启动子、ENO启动子、PYK1启动子等;或可调控启动子,诸如GAL1启动子、GAL10启动子、ADH2启动子、PHO5启动子、CUP1启动子、GAL7启动子、MET25启动子、MET3启动子、CYC1启动子、HIS3启动子、ADH1启动子、PGK启动子、GAPDH启动子、ADC1启动子、TRP1启动子、URA3启动子、LEU2启动子、ENO启动子、TP1启动子和AOX1(例如,用于毕赤酵母属中)。

[0391] 为了在真核细胞中表达,合适的启动子包括但不限于轻链和/或重链免疫球蛋白基因启动子和增强子元件;巨细胞病毒立即早期启动子;单纯疱疹病毒胸苷激酶启动子;早期和晚期SV40启动子;存在于来自反转录病毒的长末端重复序列中的启动子;小鼠金属硫蛋白-I启动子;和各种本领域已知的组织特异性启动子。

[0392] 适当载体和启动子的选择充分在本领域普通技术人员的技术水平内。

[0393] 编码主题抗体的核酸分子可存在于表达载体和/或克隆载体中。本公开提供一种重组载体,其包含编码克隆载体中的主题抗体的核酸分子。本公开也提供一种重组分子,其包含编码可操作性地连接至表达载体中的适当调控序列以确保所编码抗体的表达的主题抗体的核酸分子。当主题抗体包含两种单独的多肽时,编码所述两种多肽的核酸分子可在相同或单独的载体中克隆以形成一种或多种重组分子。重组分子可包括可选择标记、复制起点和提供重组分子的复制和/或维持的其它特征。

[0394] 大量的合适的载体和启动子是本领域技术人员所知的;许多可商购获得产生主题重组分子。例如提供以下载体。细菌:pBs、phagescript、PsiX174、pBluescript SK、pBs KS、pNH8a、pNH16a、pNH18a、pNH46a (Stratagene, La Jolla, Calif., USA); pTrec99A、pKK223-3、pKK233-3、pDR540和pRIT5 (Pharmacia, Uppsala, Sweden)。真核:pWLneo、pSV2cat、pOG44、PXR1、pSG (Stratagene) pSVK3、pBPV、pMSG和pSVL (Pharmacia)。

[0395] 表达载体通常具有位于启动子序列附近以提供编码异源蛋白的核酸序列的插入的方便的限制位点。可存在在表达宿主中有效的可选择标记。合适的表达载体包括但不限于病毒载体。病毒载体的实例包括但不限于基于以下的病毒载体:牛痘病毒;脊髓灰质炎病毒;腺病毒(参见例如Li等人, Invest Ophthalmol Vis Sci 35:2543-2549, 1994; Borrás等人, Gene Ther 6:515-524, 1999; Li和Davidson, PNAS 92:7700-7704, 1995; Sakamoto等人, Hum Gene Ther 5:1088-1097, 1999; WO 94/12649; WO 93/03769; WO93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984和WO 95/00655);腺相关病毒(参见例如Ali等人, Hum Gene Ther 9:8186, 1998; Flannery等人, PNAS 94:6916-6921, 1997; Bennett等人, Invest Ophthalmol Vis Sci 38:2857-2863, 1997; Jomary等人, Gene Ther 4:683-690, 1997; Rolling等人, Hum Gene Ther 10:641-648, 1999; Ali等人, Hum Mol Genet 5:591-594, 1996; Srivastava的WO 93/09239; Samulski等人, J. Vir. (1989) 63:3822-3828; Mendelson等人, Virol. (1988) 166:154-165;和Flotte等人, PNAS (1993) 90:10613-10617); SV40;单纯疱疹病毒;反转录病毒载体(例如,鼠科动物白血病病毒、脾坏死病毒,和源自反转录病毒诸如劳氏肉瘤(Rous Sarcoma)病毒、哈维肉瘤(Harvey Sarcoma)病毒、禽白血病病毒、人免疫缺陷病毒(参见例如Miyoshi等人, PNAS 94:10319-23, 1997; Takahashi等人, J Virol 73:7812-7816, 1999)、骨髓增生性肉瘤病毒和乳腺肿瘤病毒的载体);等等。

[0396] 如上文所述,主题核酸分子包含编码本公开的抗C1s抗体的核苷酸序列。在一些实施方案中,主题核酸分子包含编码主题IPN003抗体的重链和轻链CDR的核苷酸序列。在一些实施方案中,主题核酸分子包含编码主题抗体的重链和轻链CDR的核苷酸序列,其中所述CDR编码序列中散置有FR编码核苷酸序列。在一些实施方案中,所述FR编码核苷酸序列是人FR编码核苷酸序列。

[0397] 宿主细胞

[0398] 本公开提供分离的经遗传修饰的宿主细胞(例如体外细胞),其用主题核酸分子遗

传修饰。在一些实施方案中,分离的经遗传修饰的主题宿主细胞可产生主题抗体。这种细胞被称为重组细胞。重组细胞包含编码主题抗体的重组分子。

[0399] 合适的宿主细胞包括真核宿主细胞,诸如哺乳动物细胞、昆虫宿主细胞、酵母细胞;和原核细胞,诸如细菌细胞。可例如通过磷酸钙沉淀、DEAE葡聚糖介导的转染、脂质体介导的转染、电穿孔或其它已知方法来实现主题核酸向宿主细胞中的引入。

[0400] 合适的哺乳动物细胞包括原代细胞和永生化细胞系。合适的哺乳动物细胞系包括人细胞系、非人灵长类细胞系、啮齿类动物(例如小鼠、大鼠)细胞系等。合适的哺乳动物细胞系包括但不限于HeLa细胞(例如,美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC) No. CCL-2)、CHO细胞(例如, ATCC No. CRL9618、CCL61、CRL9096)、293细胞(例如, ATCC No. CRL-1573)、Vero细胞、NIH 3T3细胞(例如, ATCC No. CRL-1658)、Huh-7细胞、BHK细胞(例如, ATCC No. CCL10)、PC12细胞(ATCC No. CRL1721)、COS细胞、COS-7细胞(ATCC No. CRL1651)、RAT1细胞、小鼠L细胞(ATCC No. CCLI.3)、人胚胎肾(HEK)细胞(ATCC No. CRL1573)、HLHepG2细胞等。在一些情况下,所述细胞是HEK细胞。在一些情况下,所述细胞是CHO细胞,例如CHO-K1细胞(ATCC No. CCL-61)、CHO-M细胞、CHO-DG44细胞(ATCC No. PTA-3356)等。在一些实施方案中,所述宿主细胞是COS细胞。在一些实施方案中,所述宿主细胞是293细胞。在一些实施方案中,所述宿主细胞是CHO细胞。

[0401] 合适的酵母细胞包括但不限于巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*)、芬兰毕赤酵母(*Pichia finlandica*)、喜海藻糖毕赤酵母(*Pichia trehalophila*)、柯氏毕赤酵母(*Pichia koclamae*)、膜醭毕赤酵母(*Pichia membranaefaciens*)、欧普提毕赤酵母(*Pichia opuntiae*)、耐热毕赤酵母(*Pichia thermotolerans*)、柳毕赤酵母(*Pichia salictaria*)、顾氏毕赤酵母(*Pichia guercuum*)、皮杰普毕赤酵母(*Pichia pijperi*)、树干毕赤酵母(*Pichia stiptis*)、甲醇毕赤酵母(*Pichia methanolica*)、毕赤酵母属某种(*Pichia sp.*)、酿酒酵母、酵母属某种、多形汉逊酵母(*Hansenula polymorpha*)、克鲁维酵母属某种(*Kluyveromyces sp.*)、乳酸克鲁维酵母(*Kluyveromyces lactis*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、米曲霉(*Aspergillus oryzae*)、里氏木霉(*Trichoderma reesei*)、金小孢子菌(*Chrysosporium lucknowense*)、链孢霉属某种(*Fusarium sp.*)、禾镰孢(*Fusarium gramineum*)、片镰孢(*Fusarium venenatum*)、粗糙链孢霉(*Neurospora crassa*)、莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)等。在一些实施方案中,所述宿主细胞是酵母属。在一些实施方案中,所述宿主细胞是毕赤酵母属。

[0402] 合适的原核细胞包括但不限于大肠杆菌、芽孢杆菌属(例如枯草芽孢杆菌)、乳杆菌属某种等的多种实验室菌株中的任一种。参见例如Carrier等人, (1992) J. Immunol. 148: 1176-1181; 美国专利No. 6,447,784; 和Sizemore等人, (1995) Science 270: 299-302。通常,所述实验室菌株是非致病性的菌株。在一些实施方案中,所述宿主细胞是大肠杆菌。在一些实施方案中,所述宿主细胞是枯草芽孢杆菌。

[0403] 药物组合物

[0404] 本公开提供组合物,包括包含主题抗体的药物组合物。一般来说,药物组合物(在本文也称为制剂)包含有效量的主题抗体。“有效量”意指足以产生所需结果的剂量,所需结果例如与补体介导的疾病或病症相关的不良症状的减少,补体介导的疾病或病症的症状的

改善,减缓补体介导的疾病或病症的进展等。所需结果通常至少是补体介导的疾病或病症的症状相比于对照的减少。在一些实施方案中,主题抗体经过配制和/或修饰以使得所述抗体能够穿越血脑屏障。在一些实施方案中,以避免血脑屏障的方式递送主题抗体。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体是与促进穿越血脑屏障的药剂一起配制。在一些实施方案中,所述主题抗体直接地或通过连接子与促进穿越血脑屏障的化合物融合。

[0405] 制剂

[0406] 在主题方法中,可使用能够产生所需治疗作用或诊断作用的任何方便的方式将主题抗体施用至宿主。因此,可将药剂掺入多种制剂中以供治疗施用。更具体地,主题抗体可通过与适当的药学上可接受的载体、药学上可接受的稀释剂或其它药学上可接受的赋形剂组合而配制成药物组合物,并且可配制成呈固体、半固体、液体或气体形式的制剂,诸如片剂、胶囊剂、散剂、颗粒剂、软膏、溶液、栓剂、注射剂、吸入剂和气雾剂。在一些实施方案中,药物组合物包含主题抗体和药学上可接受的赋形剂。

[0407] 在药物剂型中,主题抗体可以其药学上可接受的盐形式施用,或者它们还可以单独地或以适当缔合,以及与其它药学活性化合物组合使用。以下方法和赋形剂仅仅是示例性的,而决不是限制性的。

[0408] 对于口服制剂,主题抗体可以单独地或与适当的添加剂组合使用以制备片剂、散剂、颗粒剂或胶囊剂,例如与以下组合:常规的添加剂,诸如乳糖、甘露糖醇、玉米淀粉或马铃薯淀粉;粘合剂,诸如结晶纤维素、纤维素衍生物、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶;崩解剂,诸如玉米淀粉、马铃薯淀粉或羧甲基纤维素钠;润滑剂,诸如滑石或硬脂酸镁;以及如果需要的话,稀释剂、缓冲剂、润湿剂、防腐剂和调味剂。

[0409] 主题抗体可通过以下配制成注射制剂:将所述抗体溶解、悬浮或乳化在水性或非水性溶剂诸如植物油或其它类似的油、丙二醇、合成脂肪族酸甘油酯、可注射有机酯(例如油酸乙酯)、高级脂肪族酸酯或丙二醇酯中;并且如果需要的话与常规的添加剂诸如增溶剂、等渗剂、悬浮剂、乳化剂、稳定剂和防腐剂一起。肠胃外媒介物包括氯化钠溶液、林格氏右旋糖(Ringer's dextrose)、右旋糖和氯化钠、乳酸化林格氏溶液或不挥发性油。静脉内媒介物包括流体和营养补充剂、电解质补充剂(诸如基于林格氏右旋糖的那些)等。此外,本公开的药物组合物可另外包含其它的药剂,诸如多巴胺或精神药理学药物,这取决于所述药物组合物的预期用途。

[0410] 包含主题抗体的药物组合物是通过将具有所需纯度的主题抗体与任选的生理学上可接受的载体、其它赋形剂、稳定剂、表面活性剂、缓冲剂和/或张力剂混合来制备。可接受的载体、其它赋形剂和/或稳定剂在所用的剂量和浓度下对接受者无毒,并且包括:缓冲剂,诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸、谷胱甘肽、半胱氨酸、甲硫氨酸和柠檬酸;防腐剂(诸如乙醇、苄醇、苯酚、间甲酚、对氯间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵或其组合);氨基酸,诸如精氨酸、甘氨酸、鸟氨酸、赖氨酸、组氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、甲硫氨酸、丝氨酸、脯氨酸及其组合;单糖、二糖和其它碳水化合物;低分子量(小于约10个残基)多肽;蛋白质,诸如明胶或血清白蛋白;螯合剂,诸如EDTA;糖,诸如海藻糖、蔗糖、乳糖、葡萄糖、甘露糖、麦芽糖、半乳糖、果糖、山梨糖、棉子糖、葡糖胺、N-甲基葡糖胺、半乳糖胺和神经氨酸;和/或非离子型表面活性剂,诸如Tween、Brij Pluronics、Triton-X或聚乙二醇(PEG)。

[0411] 所述药物组合物可以是液体形式、冻干形式或从冻干形式复溶的液体形式,其中冻干制剂在施用之前用无菌溶液复溶。用于复溶冻干组合物的标准程序是回添一定体积的纯水(通常相当于在冻干期间除去的体积);然而,包含抗菌剂的溶液可用于制备供肠胃外施用的药物组合物;也参见Chen(1992)Drug Dev Ind Pharm 18,1311-54。

[0412] 主题药物组合物中的示例性抗体浓度的范围可以是约1mg/mL至约200mg/mL,或约50mg/mL至约200mg/mL,或约150mg/mL至约200mg/mL。

[0413] 抗体的水性制剂可在pH缓冲溶液中制备,例如,在约4.0至约7.0或约5.0至约6.0范围内或者可选地约5.5的pH下。适于这个范围内的pH的缓冲液的实例包括磷酸盐、组氨酸、柠檬酸盐、琥珀酸盐、乙酸盐缓冲液和其它有机酸缓冲液。缓冲液浓度可以是约1mM至约100mM,或约5mM至约50mM,这取决于例如缓冲液和制剂的所需张力。

[0414] 张力剂可以包括在抗体制剂中以调节制剂的张力。示例性张力剂包括氯化钠、氯化钾、甘油和来自氨基酸、糖以及其组合的群组的任何组分。在一些实施方案中,水性制剂是等渗的,但高渗或低渗溶液可以是适合的。术语“等渗”表示与其进行比较的一些其它溶液具有相同张力的溶液,诸如生理盐溶液或血清。张力剂可以约5mM至约350mM的量、例如100mM至350mM的量使用。

[0415] 表面活性剂也可以被添加到抗体制剂中以减少所配制抗体的聚集和/或最小化颗粒在制剂中的形成和/或减少吸附。示例性表面活性剂包括聚氧乙烯脱水山梨糖醇脂肪酸酯(Tween)、聚氧乙烯烷基醚(Brij)、烷基苯基聚氧乙烯醚(Triton-X)、聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物(Poloxamer、Pluronic)和十二烷基硫酸钠(SDS)。合适的聚氧乙烯脱水山梨糖醇-脂肪酸酯的实例是聚山梨醇酯20(以商标Tween 20TM销售)和聚山梨醇酯80(以商标Tween 80TM销售)。合适的聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物的实例是以名称Pluronic® F68或Poloxamer 188TM销售的那些。合适的聚氧乙烯烷基醚的实例是以商标BrijTM销售的那些。表面活性剂的示例性浓度可以在约0.001%至约1%w/v范围内。

[0416] 也可以添加冻干保护基以保护不稳定的活性成分(例如蛋白质)抵抗冻干过程期间的失稳条件。例如,已知的冻干保护剂包括糖(包括葡萄糖和蔗糖);多元醇(包括甘露糖醇、山梨糖醇和甘油);和氨基酸(包括丙氨酸、甘氨酸和谷氨酸)。可以包括约10mM至500mM的量的冻干保护剂。

[0417] 在一些实施方案中,主题制剂包括主题抗体,和一种或多种上文鉴定的试剂(例如,表面活性剂、缓冲剂、稳定剂、张力剂)并且基本上不含一种或多种防腐剂,诸如乙醇、苯酚、苯酚、间甲酚、对氯甲甲酚、对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵及其组合。在其它实施方案中,防腐剂例如以约0.001至约2%(w/v)范围内的浓度包括在制剂中。

[0418] 例如,主题制剂可为适于肠胃外施用的液体或冻干制剂,并且可以包含:约1mg/mL至约200mg/mL的主题抗体;约0.001%至约1%的至少一种表面活性剂;约1mM至约100mM的缓冲剂;任选地约10mM至约500mM的稳定剂;和约5mM至约305mM的张力剂;并且具有约4.0至约7.0的pH。

[0419] 作为另一个实例,主题肠胃外制剂是液体或冻干制剂,其包含:约1mg/mL至约200mg/mL的主题抗体;0.04% Tween 20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM蔗糖;并且具有5.5的pH。

[0420] 作为另一个实例,主题肠胃外制剂包含冻干制剂,其包含:1) 15mg/mL的主题抗体;

0.04% Tween 20w/v; 20mM L-组氨酸; 和250mM蔗糖; 并且具有5.5的pH; 或2) 75mg/mL的主题抗体; 0.04% Tween 20w/v; 20mM L-组氨酸; 和250mM蔗糖; 并且具有5.5的pH; 或3) 75mg/mL的主题抗体; 0.02% Tween 20w/v; 20mM L-组氨酸; 和250mM蔗糖; 并且具有5.5的pH; 或4) 75mg/mL的主题抗体; 0.04% Tween 20w/v; 20mM L-组氨酸; 和250mM海藻糖; 并且具有5.5的pH; 或5) 75mg/mL的主题抗体; 0.02% Tween 20w/v; 20mM L-组氨酸; 和250mM海藻糖; 并且具有5.5的pH。

[0421] 作为另一个实例, 主题肠胃外制剂是液体制剂, 其包含: 1) 7.5mg/mL的主题抗体; 0.02% Tween 20w/v; 120mM L-组氨酸; 和250mM蔗糖; 并且具有5.5的pH; 或2) 37.5mg/mL的主题抗体; 0.02% Tween 20w/v; 10mM L-组氨酸; 和125mM蔗糖; 并且具有5.5的pH; 或3) 37.5mg/mL的主题抗体; 0.01% Tween 20w/v; 10mM L-组氨酸; 和125mM蔗糖; 并且具有5.5的pH; 或4) 37.5mg/mL的主题抗体; 0.02% Tween 20w/v; 10mM L-组氨酸; 125mM海藻糖; 并且具有5.5的pH; 或5) 37.5mg/mL的主题抗体; 0.01% Tween 20w/v; 10mM L-组氨酸; 和125mM海藻糖; 并且具有5.5的pH; 或6) 5mg/mL的主题抗体; 0.02% Tween 20w/v; 20mM L-组氨酸; 和250mM海藻糖; 并且具有5.5的pH; 或7) 75mg/mL的主题抗体; 0.02% Tween 20w/v; 20mM L-组氨酸; 和250mM甘露糖醇; 并且具有5.5的pH; 或8) 75mg/mL的主题抗体; 0.02% Tween 20w/v; 20mM L-组氨酸; 和140mM氯化钠; 并且具有5.5的pH; 或9) 150mg/mL的主题抗体; 0.02% Tween 20w/v; 20mM L-组氨酸; 和250mM海藻糖; 并且具有5.5的pH; 或10) 150mg/mL的主题抗体; 0.02% Tween 20w/v; 20mM L-组氨酸; 和250mM甘露糖醇; 并且具有5.5的pH; 或11) 150mg/mL的主题抗体; 0.02% Tween 20w/v; 20mM L-组氨酸; 和140mM氯化钠; 并且具有5.5的pH; 或12) 10mg/mL的主题抗体; 0.01% Tween 20w/v; 20mM L-组氨酸; 和40mM氯化钠; 并且具有5.5的pH。

[0422] 主题抗体可以气雾剂制剂形式利用以经由吸入施用。主题抗体可以配制于加压的可接受的推进剂诸如二氯二氟甲烷、丙烷、氮气等中。气雾剂制剂诸如鼻喷雾制剂包括活性剂与防腐剂和等渗剂的经纯化的水性或其它溶液。此类制剂被调节至可与鼻粘膜相容的pH和等渗状态。

[0423] 此外, 主题抗体可通过与多种基质诸如乳化基质或水溶性基质混合而制成栓剂。主题抗体可经由栓剂经直肠施用。栓剂可包括媒介物诸如可可脂、碳蜡和聚乙二醇, 其在体温下熔化, 但在室温下仍是凝固的。

[0424] 可提供用于经口或经直肠施用的单位剂型, 诸如糖浆剂、酏剂和混悬液, 其中每个剂量单位, 例如茶匙、汤匙、片剂或栓剂, 含有预定量的组合物。类似地, 用于注射或静脉内施用的单位剂型可包含于在无菌水、生理盐水或另一种药学上可接受的载体中的溶液形式的组合物中的主题抗体。

[0425] 如本文所用的术语“单位剂型”是指适合作为用于人和动物受试者的单位剂量的物理上离散的单元, 以足以结合药学上可接受的稀释剂、载体或媒介物产生所需作用的量计算, 每个单元含有预定量的本公开的抗C1s抗体。主题抗体的规格可以取决于所用的特定抗体和待实现的作用, 以及与宿主中的每种抗体相关的药效学。

[0426] 其它施用模式也将用于本公开的方法。例如, 主题抗体可以配制成栓剂, 以及在某些情况下配制成气雾剂和鼻内组合物。对于栓剂, 媒介物组合物将包括传统的粘合剂和载体, 诸如聚亚烷基二醇或甘油三酯。此类栓剂可由含有约0.5%至约10% (w/w)、例如约1%

至约2%范围内的活性成分的混合物形成。

[0427] 鼻内制剂通常将包括既不会对鼻粘膜造成刺激,也不会显著干扰纤毛功能的媒介物。可以使用稀释剂,诸如水、盐水溶液或其它已知的物质。鼻用制剂还可以含有防腐剂,诸如但不限于氯丁醇和苯扎氯铵。可存在表面活性剂以增强主题抗体被鼻粘膜吸收。

[0428] 主题抗体可以可注射制剂形式施用。通常,可注射组合物被制备成液体溶液或悬浮液;也可以制备在注射之前适于溶解或悬浮在液体媒介物中的固体形式。制剂也可以是被乳化或者将抗体包封在脂质体媒介物中。

[0429] 合适的赋形剂媒介物例如是水、盐水、右旋糖、甘油、乙醇等,及其组合。另外,如果需要的话,媒介物可含有少量的辅助物质,例如润湿或乳化剂或pH缓冲剂。制备这类剂型的实际方法是已知的,或者将为本领域技术人员所显而易见。参见例如Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 第17版, 1985。待施用的组合物或制剂在任何情况下将含有足以在所治疗的受试者中实现所需状态的量的主题抗体。

[0430] 药学上可接受的赋形剂,诸如媒介物、佐剂、载体或稀释剂,容易为公众所获得。此外,药学上可接受的辅助物质,诸如pH调节剂和缓冲剂、张力调节剂、稳定剂、润湿剂等,容易为公众所获得。

[0431] 在一些实施方案中,主题抗体被配制于控制释放制剂中。持续释放制剂可使用本领域中众所周知的方法来制备。持续释放制剂的合适的实例包括含有抗体的固体疏水性聚合物的半透性基质,其中所述基质呈成形制品例如薄膜或微胶囊的形式。持续释放基质的实例包括聚酯、L-谷氨酸和乙基-L-谷氨酸的共聚物、不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯、水凝胶、聚交酯、可降解的乳酸-乙醇酸共聚物和聚D-(-)-3-羟基丁酸。可通过使用适当的添加剂,通过控制水分含量和通过开发特定聚合物基质组合物来防止生物活性的可能损失和持续释放制剂中包含的抗体的免疫原性的可能变化。

[0432] 在本公开范围内的控制释放可以被认为是指多种延长释放剂型中的任一种。为了本公开的目的,以下术语可被视为基本上等效于控制释放:连续释放、控制释放、延迟释放、贮库、延长释放、逐步释放、立即释放、长期释放、程序释放、延长释放、适度释放、持久释放、储存库、延迟、缓慢释放、间隔释放、持续释放、定时包衣、定时释放、延迟作用、延长作用、分层定时作用、长期作用、延长作用、重复作用、缓慢作用、持续作用和持续作用的药物。这些术语的进一步讨论可见于Lesczek Krowczynski, Extended-Release Dosage Forms, 1987 (CRC Press, Inc.) 中。

[0433] 各种控制释放技术涵盖非常广泛的药物剂型。控制释放技术包括但不限于物理系统和化学系统。

[0434] 物理系统包括但不限于具有速率控制膜的储器系统,诸如微囊封、巨囊封和膜系统;不具有速率控制膜的储器系统,诸如中空纤维、超微孔三乙酸纤维素和多孔聚合物基底和泡沫塑料;整体系统,包括物理溶解于无孔、聚合物或弹性体基质(例如,不可侵蚀的、可侵蚀的、环境剂侵入和可降解的)中的那些系统,和物理分散在无孔、聚合物或弹性体基质(例如,不可侵蚀的、可侵蚀的、环境剂侵入和可降解的)中的材料;层叠结构,包括与外部控制层在化学上相似或不相似的储层;和其它物理方法,诸如渗透泵,或吸附到离子交换树脂上。

[0435] 化学系统包括但不限于聚合物基质的化学侵蚀(例如,非均相或均相侵蚀),或聚合物基质的生物侵蚀(例如,非均相或均相)。关于控制释放系统的类别的其它讨论可见于 Agis F.Kydonieus, Controlled Release Technologies: Methods, Theory and Applications, 1980 (CRC Press, Inc.) 中。

[0436] 存在多种被开发用于经口施用的控制释放药物制剂。这些包括但不限于渗透压控制胃肠递送系统;流体动压力控制胃肠递送系统;膜渗透控制胃肠递送系统,其包括微孔膜渗透控制胃肠递送装置;胃液抗性肠靶向控制释放胃肠递送装置;凝胶扩散控制胃肠递送系统;和离子交换控制胃肠递送系统,其包括阳离子型和阴离子型药物。关于控制释放药物递送系统的其它信息可见于 Yie W.Chien, Novel Drug Delivery Systems, 1992 (Marcel Dekker, Inc.) 中。

[0437] 剂量

[0438] 主治医师或其它合格的医务人员可根据各种临床因素来确定合适的剂量。如医学领域中众所周知,任一患者的剂量取决于许多因素,包括患者的体型、体表面积、年龄、待施用的具体化合物、患者的性别、时间和施加途径、一般健康和同时施用的其它药物。主题抗体可以每剂1ng/kg体重至20mg/kg体重、例如0.1mg/kg体重至10mg/kg体重、例如0.5mg/kg体重至5mg/kg体重的量施用;然而,尤其考虑到前述因素,设想低于或高于这个示例性范围的剂量。如果方案是连续输注,则其也可以在每分钟每千克体重1 μ g至10mg的范围内。

[0439] 在一些实施方案中,主题抗C1s抗体的剂量在0.001 μ g至1000 μ g的范围内;然而,尤其考虑到前述因素,设想低于或高于这个示例性范围的剂量。在一些实施方案中,剂量可以在例如约0.0001至100mg/kg、或约0.01至5mg/kg(例如,0.02mg/kg、0.25mg/kg、0.5mg/kg、0.75mg/kg、1mg/kg、2mg/kg等)体重的范围内。例如,剂量可以是1mg/kg体重或10mg/kg体重,或在1-10mg/kg的范围内,或至少1mg/kg。在上述范围中的中间剂量也预期在本发明的范围内。

[0440] 在一些实施方案中,主题抗C1s抗体是以提供约1 μ g/ml至约1mg/ml、例如约1 μ g/ml至约2.5 μ g/ml、约2.5 μ g/ml至约5 μ g/ml、约5 μ g/ml至约7.5 μ g/ml、约7.5 μ g/ml至约10 μ g/ml、约10 μ g/ml至约25 μ g/ml、约25 μ g/ml至约50 μ g/ml、约50 μ g/ml至约100 μ g/ml、约100 μ g/ml至约250 μ g/ml、约250 μ g/ml至约500 μ g/ml、约500 μ g/ml至约750 μ g/ml、或约750 μ g/ml至约1000 μ g/ml的峰血清浓度的量施用。在一些实施方案中,主题抗C1s抗体是以提供大于1mg/ml、例如约1mg/ml至约2mg/ml、约2mg/ml至约5mg/ml、或约5mg/ml至约10mg/ml的峰血清浓度的量施用。

[0441] 可以每天、隔天、每周或根据经验分析确定的任何其它时间表向个体施用此类剂量。示例性治疗包括经例如至少六个月的延长时期以多个剂量施用。其它示例性资料方案包括每两周一次或每月一次或每3至6个月一次施用。示例性给药时间表包括连续每天1-10mg/kg或15mg/kg、隔天30mg/kg或每周一次60mg/kg。在一些方法中,同时施用具有不同结合特异性的两种或更多种单克隆抗体,在这种情况下,所施用的每种抗体的剂量落在所示范围内。可通过定期评估来监测进展。

[0442] 本领域技术人员将容易理解,剂量水平和施用时间表可随着特定抗体、症状的严重程度和受试者对副作用的易感性而改变。对于给定化合物的优选剂量和施用时间表容易由本领域技术人员通过多种手段确定。

[0443] 施用途径

[0444] 使用任何适于药物递送的可用方法和途径将主题抗体施用至个体,包括体内和离体方法,以及全身和局部施用途径。

[0445] 常规的和药学上可接受的施用途径包括鼻内、肌肉内、气管内、鞘内、颅内、皮下、皮内、局部、静脉内、腹膜内、动脉内(例如,经由颈动脉)、脊髓或脑递送、经直肠、经鼻、经口,以及其它肠内和肠胃外施用途径。施用途径可以组合,如果需要的话,或根据抗体和/或所需作用来调节。主题抗体组合物可以单个剂量或多个剂量施用。在一些实施方案中,主题抗体组合物是经口施用的。在一些实施方案中,主题抗体组合物是经吸入途径施用的。在一些实施方案中,主题抗体组合物是经鼻内施用的。在一些实施方案中,主题抗体组合物是局部施用的。在一些实施方案中,主题抗体组合物是经颅内施用的。在一些实施方案中,主题抗体组合物是经静脉内施用的。在一些实施方案中,主题抗体组合物是经鞘内施用的。

[0446] 本公开的抗体可使用任何递送常规药物的可用的常规方法和途径(包括全身或局部途径)施用至宿主。一般来说,本发明所涵盖的施用途径包括但未必限于肠内、肠胃外或吸入途径。

[0447] 除吸入施用之外的肠胃外施用途径包括但未必限于局部、透皮、皮下、肌肉内、眶内、囊内、脊柱内、胸骨内、鞘内和静脉内途径,即,除了通过消化道之外的任何施用途径。可以进行肠胃外施用以实现主题抗体的全身或局部递送。当需要全身递送时,施用通常涉及药物制剂的侵入性施用或全身性吸收的局部或粘膜施用。

[0448] 主题抗体也可以通过肠内施用递送至受试者。肠内施用途径包括但未必限于经口和经直肠(例如,施用栓剂)递送。

[0449] 治疗意指至少改善与困扰宿主的病理病状相关的症状,其中改善在广泛意义上用于指至少降低与所治疗的病理病状诸如补体介导的疾病或病症相关的参数(例如症状)的量值。因此,治疗还包括如下情形:其中病理病状或至少与其相关的症状被完全抑制,例如预防发生或停止(例如终止),以使得宿主不再罹患所述病理病状,或至少所述病理病状的特征性症状。

[0450] 在一些实施方案中,主题抗体是通过例如注射和/或递送施用至脑动脉中的位点或直接施用至脑组织中。主题抗体也可以直接施用至靶位点,例如,通过生物枪法递送至靶位点。

[0451] 多种宿主(其中术语“宿主”在本文中与术语“受试者”、“个体”和“患者”互换使用)可根据主题方法治疗。一般来说,这些宿主是“哺乳动物”或“哺乳动物的”,其中这些术语被广泛用于描述哺乳动物纲内的生物体,包括食肉目(例如猫)、食草目(例如,牛、马和绵羊)、杂食目(例如,狗、山羊和猪)、啮齿目(例如,小鼠、豚鼠和大鼠)和灵长目(例如,人、黑猩猩和猴)。在一些实施方案中,宿主是具有补体系统的个体,诸如哺乳动物、鱼或无脊椎动物。在一些实施方案中,宿主是含补体系统的哺乳动物、鱼或无脊椎伴侣动物、农业动物、工作动物、动物园动物或实验室动物。在一些实施方案中,宿主是人。

[0452] 实施方案包括包含容器的组合物,所述容器适于含有供施用至个体的包含主题C1s抗体的组合物。例如,主题抗体可置于适于含有药物组合物的容器中。所述容器可以是例如瓶子(例如,具有封闭装置,诸如帽)、泡罩包装(例如,其可以提供每个泡罩一次或多次剂量的封闭)、小瓶、柔性包装(例如,密封的Mylar或塑料袋)、安瓿(对于呈溶液形式的单剂

量)、滴管、注射器、薄膜、管子等。在一些实施方案中,容器(诸如无菌容器)包含主题药物组合物。在一些实施方案中,容器是瓶子或注射器。在一些实施方案中,容器是瓶子。在一些实施方案中,容器是注射器。

[0453] 提供具有单位剂量的主题抗体的试剂盒,例如呈口服或可注射剂量。在这样的试剂盒中,除了含有单位剂量的容器之外,将是描述抗体治疗所关注的病理病状的用法和伴随益处的信息包装插页。优选的化合物和单位剂量是上文所述的那些。

[0454] 治疗补体介导的疾病或病症的方法

[0455] 本公开提供治疗补体介导的疾病或病症的方法。所述方法通常包括向有需要的个体施用有效量的本公开的抗C1s抗体或包含所述抗体的药物组合物。在一些情况下,施用主题抗C1s抗体可调节个体的细胞、组织或流体中的补体C1s活性,并且治疗所述补体介导的疾病或病症。本公开提供抑制个体中的补体组分C4激活的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的本公开的抗C1s抗体或包含所述抗体的药物组合物。本公开提供抑制个体中的补体C1s活性的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的本公开的抗C1s抗体或包含所述抗体的药物组合物。

[0456] 在一些实施方案中,用于治疗具有补体介导的疾病或病症的个体的本公开方法包括向所述个体施用有效量的本公开的抗C1s抗体或有效量的药物组合物,所述药物组合物包含:a)本公开的抗C1s抗体;和适于施用至所述个体的药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,所述个体是哺乳动物。在一些实施方案中,所述个体是人。施用可通过本领域技术人员已知的任何途径,包括本文所公开的那些。在一些实施方案中,施用是静脉内施用。在一些实施方案中,施用是鞘内施用。在一些实施方案中,施用是皮下施用。

[0457] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体的“有效量”或包含本公开的抗C1s抗体的主题药物组合物的“有效量”是当以一次或多次剂量施用至有需要的个体时,相比于在不存在主题抗C1s抗体的情况下在个体或者组织或器官中产生的C4b2a(即,补体C4b和C2a复合物;也称为“C3转化酶”)量,将所述个体中(或个体的组织或器官中)的C4b2a产生降低至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的量。在一些实施方案中,所述个体是哺乳动物。在一些实施方案中,所述个体是人。施用可通过本领域技术人员已知的任何途径,包括本文所公开的那些。在一些实施方案中,施用是静脉内施用。在一些实施方案中,施途径是鞘内施用。在一些实施方案中,施途径是静脉内施用。在一些实施方案中,施途径是皮下施用。

[0458] 本公开提供调控补体激活的方法。在一些实施方案中,所述方法抑制补体激活,例如降低C4b2a产生。在一些实施方案中,本公开提供调节具有补体介导的疾病或病症的个体中的补体激活的方法,所述方法包括向所述个体施用本公开的抗C1s抗体或本公开的药物组合物,其中所述药物组合物包含本公开的抗C1s抗体。在一些实施方案中,所述方法抑制补体激活。在一些实施方案中,所述个体是哺乳动物。在一些实施方案中,所述个体是人。施用可通过本领域技术人员已知的任何途径,包括本文所公开的那些。在一些实施方案中,施用是静脉内施用。在一些实施方案中,施用是鞘内施用。

[0459] 补体介导的疾病或病症是特征为个体的细胞、组织或流体中的异常量的补体C1s或异常水平的补体C1s蛋白水解活性的病症。

[0460] 在一些情况下,补体介导的疾病或病症的特征在于在细胞、组织或流体中存在升高(高于正常)量的C1s或升高水平的补体C1s活性。例如,在一些情况下,补体介导的疾病或病症的特征在于在脑组织和/或脑脊髓液中存在升高量的C1s和/或升高的C1s活性。细胞、组织或流体中的“高于正常”量的C1s指示细胞、组织或流体中的C1s量高于正常的对照水平,例如,高于个体或相同年龄组的个体或群体的正常的对照水平。细胞、组织或流体中的“高于正常”水平的C1s活性指示在细胞、组织或流体中由C1s实现的蛋白水解裂解高于正常的对照水平,例如,高于个体或相同年龄组的个体群体的正常的对照水平。在一些情况下,具有补体介导的疾病或病症的个体展现出这种疾病或病症的一种或多种其它症状。

[0461] 在其它情况下,补体介导的疾病或病症的特征在于在细胞、组织或流体中存在低于正常量的C1s或较低水平的补体C1s活性。例如,在一些情况下,补体介导的疾病或病症的特征在于在脑组织和/或脑脊髓液中存在较低量的C1s和/或较低的C1s活性。细胞、组织或流体中的“低于正常”量的C1s指示细胞、组织或流体中的C1s量低于正常的对照水平,例如,低于个体或相同年龄组的个体或群体的正常的对照水平。细胞、组织或流体中的“低于正常”水平的C1s活性指示在细胞、组织或流体中由C1s实现的蛋白水解裂解低于正常的对照水平,例如,低于个体或相同年龄组的个体或群体的正常的对照水平。在一些情况下,具有补体介导的疾病或病症的个体展现出这种疾病或病症的一种或多种其它症状。

[0462] 补体介导的疾病或病症是其中补体C1s的量或活性例如造成个体中的疾病或病症的所述疾病或病症。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症选自由自身免疫疾病、癌症、血液学疾病、感染性疾病、炎症性疾病、局部缺血-再灌注损伤、神经退化性疾病、神经退化性病症、眼部疾病、肾脏疾病、移植排斥、血管疾病和血管炎疾病组成的组。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症是自身免疫疾病。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症是癌症。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症是感染性疾病。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症是炎症性疾病。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症是血液学疾病。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症是局部缺血-再灌注损伤。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症是眼部疾病。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症是肾脏疾病。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症是移植排斥。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症是抗体介导的移植排斥。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症是血管疾病。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症是血管炎病症。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症是神经退化性疾病或病症。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病是神经退化性疾病。在一些实施方案中,所述补体介导的病症是神经退化性病症。在一些实施方案中,所述补体介导的疾病或病症是 τ 蛋白病。

[0463] 补体介导的疾病或病症的实例包括但不限于年龄相关性黄斑变性、阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease)、肌萎缩性侧索硬化、过敏反应、嗜银颗粒痴呆、关节炎(例如,类风湿性关节炎)、哮喘、动脉粥样硬化、非典型溶血性尿毒综合征、自身免疫疾病、Barraquer-Simons综合征、白塞氏病(Behçet's disease)、英国型淀粉样血管病、大疱性类天疱疮、伯格氏病(Buerger's disease)、C1q肾病、癌症、灾难性抗磷脂综合征、脑淀粉样血管病、冷凝集素病、皮质基底节变性、克雅氏病(Creutzfeldt-Jakob disease)、克罗恩病(Crohn's disease)、冷球蛋白血症血管炎、拳击员痴呆、路易体痴呆(dementia with Lewy

Bodies,DLB)、伴有钙化的弥漫性神经原纤维缠结、盘状红斑狼疮、唐氏综合征(Down's syndrome)、局灶性节段性肾小球硬化、形式思维障碍、额颞叶痴呆(FTD)、伴有与染色体17有关的帕金森症的额颞叶痴呆、额颞叶变性、Gerstmann-Straussler-Scheinker病、格林-巴利综合征(Guillain-Barrés syndrome)、哈勒沃登-施帕茨病(Hallervorden-Spatz disease)、溶血性尿毒综合征、遗传性血管性水肿、低磷酸酯酶症(hypophosphastasis)、特发性肺炎综合征、免疫复合物疾病、包涵体肌炎、感染性疾病(例如,由细菌(例如,脑膜炎奈瑟氏球菌(*Neisseria meningitidis*)或链球菌(*Streptococcus*))、病毒(例如,人免疫缺陷病毒(HIV))或其它感染原造成的疾病)、炎症性疾病、局部缺血/再灌注损伤、轻度认知损伤、免疫血小板减少性紫癜(ITP)、A型钼辅因子缺乏(MoCD)、I型膜增生性肾小球肾炎(MPGN)、II型膜增生性肾小球肾炎(MPGN)(致密物沉积病)、膜性肾炎、多发梗塞性痴呆、狼疮(例如,全身性红斑狼疮(SLE))、肾小球肾炎、川崎病(Kawasaki disease)、多灶性运动神经病、多发性硬化、多系统萎缩、重症肌无力、心肌梗塞、强直性肌营养不良、视神经脊髓炎、C型尼曼-皮克病(Niemann-Pick disease)、伴有神经纤维缠结的非Guamanian运动神经元疾病、帕金森氏病(Parkinson's disease)、伴有痴呆的帕金森氏病、阵发性睡眠性血红蛋白尿症、寻常型天疱疮、皮克氏病(Pick's disease)、脑炎后帕金森症、多肌炎、朊病毒蛋白脑淀粉样血管病、进行性皮质下胶质增生、进行性核上性麻痹、牛皮癣、败血症、志贺毒素大肠杆菌(*Shiga-toxin E coli*,STEC)-HuS、脊髓性肌萎缩症、中风、亚急性硬化性全脑炎、仅缠结型痴呆、移植排斥、血管炎(例如,ANCA相关性血管炎)、韦格纳氏肉芽肿(Wegner's granulomatosis)、镰状细胞病、冷球蛋白血症、混合性冷球蛋白血症、原发性混合性冷球蛋白血症、II型混合性冷球蛋白血症、III型混合性冷球蛋白血症、肾炎、药物诱发的血小板减少症、狼疮性肾炎、大疱性类天疱疮、后天性大疱性表皮松解、延迟性溶血性输血反应、低补体血症荨麻疹性血管炎综合征、假晶体状大疱性角膜病变和血小板输注无效(platelet refractoriness)。

[0464] 阿尔茨海默氏病和某些形式的额颞叶痴呆(皮克氏病、散发性额颞叶痴呆和伴有与染色体17有关的帕金森症的额颞叶痴呆)是 τ 蛋白病的最常见形式。相应地,本发明涉及如上文所述的任何方法,其中所述 τ 蛋白病是阿尔茨海默氏病、皮克氏病、散发性额颞叶痴呆和伴有与染色体17有关的帕金森症的额颞叶痴呆。其它 τ 蛋白病包括但不限于进行性核上性麻痹(PSP)、皮质基底节变性(CBD)和亚急性硬化性全脑炎。

[0465] 神经退化性 τ 蛋白病包括阿尔茨海默氏病、肌萎缩性侧索硬化/帕金森症-痴呆复合症、嗜银颗粒痴呆、英国型淀粉样血管病、脑淀粉样血管病、皮质基底节变性、克雅氏病、拳击员痴呆、伴有钙化的弥漫性神经原纤维缠结、唐氏综合征、额颞叶痴呆、伴有与染色体17有关的帕金森症的额颞叶痴呆、额颞叶变性、Gerstmann-Straussler-Scheinker病、哈勒沃登-施帕茨病、包涵体肌炎、多系统萎缩、强直性肌营养不良、C型尼曼-皮克病、伴有神经纤维缠结的非Guamanian运动神经元疾病、皮克氏病、脑炎后帕金森症、朊病毒蛋白脑淀粉样血管病、进行性皮质下胶质增生、进行性核上性麻痹、亚急性硬化性全脑炎、仅缠结型痴呆、多发梗塞性痴呆、缺血性中风、慢性创伤性脑病(CTE)、创伤性脑损伤(TBI)和中风。

[0466] 本公开也提供治疗突触核蛋白病例如帕金森氏病(PD);路易体痴呆(DLB);多系统萎缩(MSA)等的方法。例如,伴有痴呆的PD(PDD)可用主题方法治疗。

[0467] 在一些实施方案中,补体介导的疾病或病症包括阿尔茨海默氏病。在一些实施方

案中,补体介导的疾病或病症包括帕金森氏病。在一些实施方案中,补体介导的疾病或病症包括移植排斥。在一些实施方案中,补体介导的疾病或病症是抗体介导的移植排斥。

[0468] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体防止或延迟个体中补体介导的疾病或病症的至少一种症状的发作。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体减少或消除个体中补体介导的疾病或病症的至少一种症状。症状的实例包括但不限于与自身免疫疾病、癌症、血液学疾病、感染性疾病、炎症性疾病、局部缺血-再灌注损伤、神经退化性疾病、神经退化性病症、肾脏疾病、移植排斥、眼部疾病、血管疾病或血管炎病症相关的症状。症状可以是神经学症状,例如,认知功能受损、记忆损伤、运动功能丧失等。症状也可以是个体的细胞、组织或流体中的C1s蛋白活性。症状也可以是个体的细胞、组织或流体中的补体激活的程度。

[0469] 在一些实施方案中,向个体施用本公开的抗C1s抗体可调节个体的细胞、组织或流体中的补体激活。在一些实施方案中,向个体施用主题抗C1s抗体可抑制个体的细胞、组织或流体中的补体激活。例如,在一些实施方案中,当主题抗C1s抗体以一次或多次剂量以单一疗法或组合疗法形式施用至具有补体介导的疾病或病症的个体时,与用抗C1s抗体治疗前的个体中的补体激活相比,将所述个体中的补体激活抑制至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或90%以上。

[0470] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体降低C3在红血细胞上的沉积;例如,在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体降低C3b、iC3b等在RBC上的沉积。在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体抑制补体介导的红血细胞裂解。

[0471] 在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体降低C3在血小板上的沉积;例如,在一些实施方案中,本公开的抗C1s抗体降低C3b、iC3b等在血小板上的沉积。

[0472] 在一些实施方案中,施用本公开的抗C1s抗体导致选自以下组成的组的结果:
(a) 补体激活的降低;(b) 认知功能的提高;(c) 神经元损失的减少;(d) 神经元中的磷酸化Tau蛋白水平的降低;(e) 神经胶质细胞活化的降低;(f) 淋巴细胞浸润的减少;(g) 巨噬细胞浸润的减少;(h) 抗体沉积的减少;(i) 神经胶质细胞损失的减少;(j) 少突胶质细胞损失的减少;(k) 树突状细胞浸润的减少;(l) 嗜中性粒细胞浸润的减少;(m) 红血细胞裂解的减少;(n) 红血细胞吞噬作用的降低;(o) 血小板吞噬作用的降低;(p) 血小板裂解的减少;(q) 移植存活率的提高;(r) 巨噬细胞介导的吞噬作用的降低;(s) 视力的改善;(t) 运动控制的改善;(u) 血栓形成的改善;(v) 凝血的改善;(w) 肾功能的改善;(x) 抗体介导的补体激活的减少;(y) 自身抗体介导的补体激活的减少;(z) 贫血的改善;(aa) 脱髓鞘的减少;(ab) 嗜酸粒细胞增多的降低;(ac) C3在红血细胞上的沉积的减少(例如,C3b、iC3b等在RBC上的沉积的减少);和(ad) C3在血小板上的沉积的减少(例如,C3b、iC3b等在血小板上的沉积的减少);和(ae) 过敏毒素产生的降低;(af) 自身抗体介导的水疱形成的减少;(ag) 自身抗体诱发的瘙痒的减少;(ah) 自身抗体诱发的红斑狼疮的减少;(ai) 自身抗体介导的皮肤糜烂的减少;(aj) 由于输液反应所致的红血细胞破坏的减少;(ak) 由于异体抗体所致的红血细胞裂解的减少;(al) 由于输液反应所致的溶血的减少;(am) 异体抗体介导的血小板裂解的减少;(an) 由于输液反应所致的血小板裂解的减少;(ao) 肥大细胞活化的减少;(ap) 肥大细胞组织胺释放的减少;(aq) 血管渗透性的降低;(ar) 水肿的减少;(as) 补体在移植体内皮上的沉积的减少;(at) 在移植体内皮中的过敏毒素产生的降低;(au) 真皮表皮交界的分离的减少;(av)

真皮表皮交界中的过敏毒素产生的降低；(aw) 在移植物内皮中的异体抗体介导的补体激活的降低；(ax) 神经肌肉连接处的抗体介导的损失的减少；(ay) 神经肌肉连接处的补体激活的降低；(az) 神经肌肉连接处的过敏毒素产生的降低；(ba) 神经肌肉连接处的补体沉积的减少；(bb) 麻痹减少；(bc) 麻木减少；(bd) 增加的膀胱控制；(be) 增加的排便控制；(bf) 与自身抗体相关的死亡率的降低；和 (bg) 与自身抗体相关的发病率的降低。

[0473] 在一些实施方案中，当主题抗C1s抗体以一次或多次剂量以单一疗法或组合疗法形式施用至具有补体介导的疾病或病症的个体时，与用抗C1s抗体治疗前的个体中的结果的水平或程度相比，能够实现以下结果中的一种或多种的至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或90%以上的降低：(a) 补体激活；(b) 认知功能下降；(c) 神经元损失；(d) 神经元中的磷酸化Tau水平；(e) 神经胶质细胞活化；(f) 淋巴细胞浸润；(g) 巨噬细胞浸润；(h) 抗体沉积；(i) 神经胶质细胞损失；(j) 少突胶质细胞损失；(k) 树突状细胞浸润；(l) 嗜中性粒细胞浸润；(m) 红血细胞裂解；(n) 红血细胞吞噬作用；(o) 血小板吞噬作用；(p) 血小板裂解；(q) 移植物排斥反应；(r) 巨噬细胞介导的吞噬作用；(s) 视力损失；(t) 抗体介导的补体激活；(u) 自身抗体介导的补体激活；(v) 脱髓鞘；(w) 嗜酸粒细胞增多。

[0474] 在一些实施方案中，当主题抗C1s抗体以一次或多次剂量以单一疗法或组合疗法形式施用至具有补体介导的疾病或病症的个体时，与用抗C1s抗体治疗前的个体中的结果的水平或程度相比，能够实现以下结果中的一种或多种的至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或90%以上的改善：a) 认知功能；b) 移植物存活率；c) 视力；d) 运动控制；e) 血栓形成；f) 凝血；g) 肾功能；和h) 血细胞比容(红血细胞计数)。

[0475] 在一些实施方案中，向个体施用本公开的抗C1s抗体降低所述个体中的补体激活。例如，在一些实施方案中，当主题抗C1s抗体以一次或多次剂量以单一疗法或组合疗法形式施用至具有补体介导的疾病或病症的个体时，与用抗C1s抗体治疗前的个体中的补体激活相比，将所述个体中的补体激活降低至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或90%以上。

[0476] 在一些实施方案中，施用本公开的抗C1s抗体提高所述个体中的认知功能。例如，在一些实施方案中，当主题抗C1s抗体以一次或多次剂量以单一疗法或组合疗法形式施用至具有补体介导的疾病或病症的个体时，与用抗C1s抗体治疗前的个体中的认知功能相比，将所述个体中的认知功能提高至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或90%以上。

[0477] 在一些实施方案中，施用本公开的抗C1s抗体降低所述个体中的认知功能下降速率。例如，在一些实施方案中，当主题抗C1s抗体以一次或多次剂量以单一疗法或组合疗法形式施用至具有补体介导的疾病或病症的个体时，与用抗C1s抗体治疗前的个体中的认知功能下降速率相比，将所述个体中的认知功能下降速率降低至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或90%以上。

[0478] 在一些实施方案中,向个体施用本公开的抗C1s抗体降低所述个体中的神经元损失。例如,在一些实施方案中,当主题抗C1s抗体以一次或多次剂量以单一疗法或组合疗法形式施用至具有补体介导的疾病或病症的个体时,与用抗C1s抗体治疗前的个体中的神经元损失相比,将所述个体中的神经元损失降低至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或90%以上。

[0479] 在一些实施方案中,向个体施用本公开的抗C1s抗体降低所述个体中的磷酸化Tau水平。例如,在一些实施方案中,当主题抗C1s抗体以一次或多次剂量以单一疗法或组合疗法形式施用至具有补体介导的疾病或病症的个体时,与用抗C1s抗体治疗前的个体中的磷酸化Tau水平相比,将所述个体中的磷酸化Tau降低至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或90%以上。

[0480] 在一些实施方案中,向个体施用本公开的抗C1s抗体降低所述个体中的神经胶质细胞活化。例如,在一些实施方案中,当主题抗C1s抗体以一次或多次剂量以单一疗法或组合疗法形式施用至具有补体介导的疾病或病症的个体时,与用抗C1s抗体治疗前的个体中的神经胶质细胞活化相比,将所述个体中的神经胶质细胞活化降低至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或90%以上。在一些实施方案中,所述神经胶质细胞是星形细胞或小胶质细胞。

[0481] 在一些实施方案中,向个体施用本公开的抗C1s抗体减少所述个体中的淋巴细胞浸润。例如,在一些实施方案中,当主题抗C1s抗体以一次或多次剂量以单一疗法或组合疗法形式施用至具有补体介导的疾病或病症的个体时,与用抗C1s抗体治疗前的个体中的淋巴细胞浸润相比,将所述个体中的淋巴细胞浸润减少至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或90%以上。

[0482] 在一些实施方案中,向个体施用本公开的抗C1s抗体减少所述个体中的巨噬细胞浸润。例如,在一些实施方案中,当主题抗C1s抗体以一次或多次剂量以单一疗法或组合疗法形式施用至具有补体介导的疾病或病症的个体时,与用抗C1s抗体治疗前的个体中的巨噬细胞浸润相比,将所述个体中的巨噬细胞浸润减少至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或90%以上。

[0483] 在一些实施方案中,向个体施用本公开的抗C1s抗体减少所述个体中的抗体沉积。例如,在一些实施方案中,当主题抗C1s抗体以一次或多次剂量以单一疗法或组合疗法形式施用至具有补体介导的疾病或病症的个体时,与用抗C1s抗体治疗前的个体中的抗体沉积相比,将所述个体中的抗体沉积减少至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或90%以上。

[0484] 在一些实施方案中,向个体施用本公开的抗C1s抗体降低个体中的过敏毒素(例如,C3a、C4a、C5a)产生。例如,在一些实施方案中,当主题抗C1s抗体以一次或多次剂量以单

一疗法或组合疗法形式施用至具有补体介导的疾病或病症的个体时,与用抗C1s抗体治疗前的个体中的过敏毒素产生水平相比,将所述个体中的过敏毒素产生降低至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或90%以上。

[0485] 本公开提供本公开的抗C1s抗体或包含本公开的抗C1s抗体和药学上可接受的赋形剂的药物组合物在治疗具有补体介导的疾病或病症的个体中的用途。在一些实施方案中,本公开提供本公开的抗C1s抗体在治疗具有补体介导的疾病或病症的个体中的用途。在一些实施方案中,本公开提供包含本公开的抗C1s抗体和药学上可接受的赋形剂的药物组合物在治疗具有补体介导的疾病或病症的个体中的用途。

[0486] 本公开提供本公开的抗C1s抗体在制造供治疗具有补体介导的疾病或病症的个体的药物中的用途。

[0487] 本公开提供本公开的抗C1s抗体或包含本公开的抗C1s抗体和药学上可接受的赋形剂的药物组合物用于抑制补体激活的用途。在一些实施方案中,本公开提供本公开的抗C1s抗体或包含本公开的抗C1s抗体和药学上可接受的赋形剂的药物组合物用于抑制具有补体介导的疾病或病症的个体中的补体激活的用途。在一些实施方案中,本公开提供本公开的抗C1s抗体用于抑制具有补体介导的疾病或病症的个体中的补体激活的用途。在一些实施方案中,本公开提供包含本公开的抗C1s抗体和药学上可接受的赋形剂的药物组合物用于抑制具有补体介导的疾病或病症的个体中的补体激活的用途。

[0488] 本公开提供本公开的抗C1s抗体用于制造供调节补体激活的药物的用途。在一些实施方案中,所述药物抑制补体激活。在一些实施方案中,所述药物抑制具有补体介导的疾病或病症的个体中的补体激活。

[0489] 本公开提供用于医学治疗中的本公开的抗C1s抗体或包含本公开的抗C1s抗体和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。在一些实施方案中,本公开提供用于医学治疗中的本公开的抗C1s抗体。在一些实施方案中,本公开提供用于医学治疗中的包含本公开的抗C1s抗体和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

[0490] 本公开提供用于治疗具有补体介导的疾病或病症的个体的本公开的抗C1s抗体或包含本公开的抗C1s抗体和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。在一些实施方案中,本公开提供用于治疗具有补体介导的疾病或病症的个体的本公开的抗C1s抗体。在一些实施方案中,本公开提供用于治疗具有补体介导的疾病或病症的个体的包含本公开的抗C1s抗体和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

[0491] 本公开提供用于调节补体激活的本公开的抗C1s抗体或包含本公开的抗C1s抗体和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。在一些实施方案中,本公开提供用于调节补体激活的本公开的抗C1s抗体。在一些实施方案中,本公开提供用于调节补体激活的包含本公开的抗C1s抗体和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。在一些实施方案中,所述抗C1s抗体抑制补体激活。

[0492] 组合疗法

[0493] 本公开的抗C1s抗体可以单独地(例如,呈单一疗法形式);或以与一种或多种其它治疗剂的组合疗法施用至有需要的个体。

[0494] 为了治疗AD,合适的其它治疗剂包括但不限于乙酰胆碱酯酶抑制剂,包括但不限

于Aricept(多奈哌齐(donepezil))、Exelon(利凡斯的明(rivastigmine))、美曲磷酯(metrifonate)和他克林(tacrine)(Cognex);抗AB抗体;非甾体抗炎剂,包括但不限于布洛芬(ibuprofen)和吲哚美辛(indomethacin);环氧合酶-2(Cox2)抑制剂,诸如塞来昔布(Celebrex);和单胺氧化酶抑制剂,诸如司来吉兰(Selegilene)(Eldepryl或Deprenyl)。上述药剂各自的剂量是本领域中已知的。

[0495] 治疗AD的另一种合适的其它治疗剂是抑制tau蛋白聚集的药剂,例如抑制tau聚集的萘醌衍生物,如美国专利No.7,605,179中所述。另一种合适的其它治疗剂是抑制tau的磷酸化的药剂,例如抑制tau蛋白激酶1的3-取代-4-嘧啶酮衍生物,如美国专利No.7,572,793中所述。

[0496] 如本文所用的“与……组合”是指如下使用:其中例如在施用第二化合物的整个过程期间施用第一化合物;其中在与第二化合物的施用重叠的时段内施用第一化合物,例如其中第一化合物的施用开始于第二化合物的施用之前并且第一化合物的施用结束于第二化合物的施用结束之前;其中第二化合物的施用开始于第一化合物的施用之前并且第二化合物的施用结束于第一化合物的施用结束之前;其中第一化合物的施用开始于第二化合物的施用开始之前并且第二化合物的施用结束于第一化合物的施用结束之前;其中第二化合物的施用开始于第一化合物的施用开始之前并且第一化合物的施用结束于第二化合物的施用结束之前。因此,“组合”也可以指包括施用两种或更多种化合物的方案。如本文所用的“与……组合”也是指可以相同或不同的制剂,通过相同或不同的途径以及以相同或不同的剂型类型施用的两种或更多种化合物的施用。

[0497] 待治疗的个体

[0498] 适于用主题抗C1s抗体治疗的个体包括已经诊断为具有补体介导的疾病或病症的个体;相比于一般群体处于更大的患上补体介导的疾病或病症的风险的个体(例如,具有患上补体介导的疾病或病症的遗传倾向的个体);具有伴有痴呆的帕金森氏病(PDD)的个体;具有阿尔茨海默氏病的个体;等等。在一些情况下,所述个体是成人。在一些情况下,所述成人是20岁或更大年龄、30岁或更大年龄、40岁或更大年龄、50岁或更大年龄、60岁或更大年龄、70岁或更大年龄、或80岁或更大年龄。例如,所述成人可以是20岁至30岁、30岁至40岁、40岁至50岁、50岁至60岁、60岁至70岁,或70以上。在一些情况下,所述个体是人儿童。在一些情况下,所述人儿童小于20岁、小于10岁或小于5岁。

[0499] 体外测试和动物模型

[0500] 本公开提供在体外或体内测试主题抗体的功效的方法。体外测试包括测定主题抗体与补体C1s蛋白的结合的方法、测定主题抗体抑制C4b2a复合物产生的能力的方法、鉴定本公开的抗C1s抗体所结合的表位或表位特征的方法。测试主题抗体的功效的非人动物模型包括实验性自身免疫脑脊髓炎(参见例如Weerth等人,Am J Path.163:1069-1080(2003);Theien等人,J.Clin.Invest.107:995-1006(2001))、重症肌无力(参见例如Morgan等人,Clin.Exp.Immun.146:294-302(2006))、心肌缺血和再灌注(参见例如Busche等人,GMS Ger.Med.Sci.8:Doc20(2010)),和肺炎链球菌(参见例如Brown等人,Proc.Natl.Acad.Sci.99:16969-16974)模型。此外合适的是移植排斥的非人动物模型(参见例如Racki等人,(2010)Transplantation 89:527;和Baldwin等人,(2010)Am.J.Transplantation 10:1135)。在一些实施方案中,所述模型是鼠类(例如,大鼠或小

鼠)模型。这类模型是本领域技术人员所知的。

[0501] 检测方法

[0502] 本公开提供检测从个体中获得的生物样品中的补体C1s蛋白的体外方法;和在体内检测活个体中的C1s蛋白的方法。主题体外检测方法可以是定量的。C1s蛋白或者因此可以充当补体介导的疾病或病症的进展或对于补体介导的疾病或病症治疗的响应的生物标志物。

[0503] 被检测/定量的补体C1s蛋白可以是全长C1s蛋白或其包含本公开的抗C1s抗体所结合的表位的任何片段。

[0504] 合适的生物样品包括但不限于血液、血清、血浆、尿液、唾液、脑脊髓液、间质液、眼液、滑液、固体组织样品、组织培养样品、细胞样品和本领域技术人员已知的其它生物样品。

[0505] 检测从个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的本公开体外方法一般包括:a)使所述生物样品与本公开的抗C1s抗体接触;和b)检测所述抗体与所述样品中存在的C1s蛋白的结合。

[0506] 本公开的检测方法可用于确定个体是否具有补体介导的疾病或病症或者处于患上补体介导的疾病或病症的风险中。本公开的检测方法可用于确定补体介导的疾病或病症的阶段(严重程度)。本公开的检测方法可用于监测个体中的补体介导的疾病或病症的进展。本公开的检测方法可用于确定个体对于治疗补体介导的疾病或病症的治疗方案的响应。可使用主题检测方法来测试生物样品,其中所述生物样品获自疑似具有补体介导的疾病或病症的个体、已经被诊断为具有补体介导的疾病或病症的个体、具有患上补体介导的疾病或病症的遗传倾向的个体等。

[0507] 本公开提供诊断个体中的补体介导的疾病或病症的方法。所述方法一般包括:(a)测定从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的量;和(b)比较所述生物样品中的补体C1s蛋白的量与指示正常对照受试者中的补体C1s蛋白的量的参考值、标准值或正常对照值。所述生物样品中的C1s蛋白的量与所述正常对照值之间的显著差异指示所述个体具有补体介导的疾病或病症。在一些实施方案中,所述测定步骤包括使所述生物样品与本公开的抗C1s抗体接触并且定量所述抗体与所述样品中存在的补体C1s蛋白的结合。

[0508] 本公开提供监测个体中的补体介导的疾病或病症的进展的方法。所述方法一般包括比较在第一时间点从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的量与在第二时间点从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的量。在第二时间点从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的量相比于在第一时间点从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的量的差异可以提供关于以下的指示:i)所述补体介导的疾病或病症是否正在进展或者所述疾病的进展是否已经减慢或停止;和/或ii)所述补体介导的疾病或病症进展的速度有多快;和/或iii)所述个体是否展现对于用治疗所述补体介导的疾病或病症的药物或其它治疗方案进行治疗的有益临床响应。在一些实施方案中,所述测定步骤包括使所述生物样品与本公开的抗C1s抗体接触并且定量所述抗体与所述样品中存在的补体C1s蛋白的结合。在一些实施方案中,所述比较步骤指示所述疾病或病症是否正在进展。

[0509] 本公开提供监测个体中对于补体介导的疾病或病症治疗的反应的方法。所述方法一般包括比较在第一时间点从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的量与在第二时间点从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的量。在第二时间点从所述个体获得的

生物样品中的补体C1s蛋白的量相比于在第一时间点从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的量的差异可以提供关于以下的指示：所述个体是否展现对于用治疗所述补体介导的疾病或病症的药物或其它治疗方案进行治疗的有益临床响应。在一些实施方案中，所述测定步骤包括使所述生物样品与本公开的抗C1s抗体接触并且定量所述抗体与所述样品中存在的补体C1s蛋白的结合。在一些实施方案中，所述比较步骤指示所述疾病的进展是否减慢或停止。

[0510] 本公开提供对补体介导的疾病或病症分期的方法。例如，主题方法可以提供对阿尔茨海默氏病阶段的确定。例如，在来自活个体的生物样品中的补体C1s蛋白的量可以提供关于AD的Braak阶段的指示。Braak和Braak (1995) *Neurobiol. Aging* 16:271。例如，在来自活个体的生物样品中的补体C1s蛋白的量可以提供关于所述个体是否处于AD的横内鼻区阶段I-II；AD的大脑边缘阶段III-IV；或AD的新皮层阶段V-VI的指示。

[0511] 可通过本领域中已知的任何合适方法来评估生物样品中的补体C1s蛋白的量。合适的方法包括但不限于蛋白质（“Western”）印迹法、免疫沉淀、酶联免疫吸附测定（ELISA）、放射免疫测定（RIA）、荧光激活细胞分选（FACS）、二维凝胶电泳、质谱法（MS）、基质辅助激光解吸/电离-飞行时间-质谱法（MALDI-TOF）、表面增强的激光解吸电离-飞行时间（SELDI-TOF）、高效液相色谱法（HPLC）、快速蛋白质液相色谱法（FPLC）、多维液相色谱法（LC）和接着串联质谱法（MS/MS），和激光密度测定。

[0512] 本公开提供监测个体中的补体介导的疾病或病症的进展的方法，其中所述方法一般包括：a) 测定在第一时间点从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的第一量；b) 测定在第二时间点从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的第二量；和c) 比较所述第二补体C1s蛋白的第二量与所述补体C1s蛋白的第一量。在一些实施方案中，所述测定步骤包括：i) 使所述生物样品与主题抗C1s抗体接触；和ii) 定量所述抗体与所述样品中存在的补体C1s蛋白的结合。在一些实施方案中，所述比较指示所述疾病是否已经进展。

[0513] 在一些情况下，所述第一时间点是在治疗方案开始之前的时间点，并且所述第二时间点是在治疗方案开始之后的时间点。因此，本公开提供检测对于用治疗补体介导的疾病或病症的药剂进行治疗的响应的方法，其中所述方法包括：a) 测定在开始用治疗补体介导的疾病或病症的药剂治疗之前的第一时间点从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的第一量；b) 测定在开始用治疗补体介导的疾病或病症的药剂治疗之后的第二时间点从所述个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白的第二量；和c) 比较所述补体C1s蛋白的第二量与所述补体C1s蛋白的第一量。

[0514] 监测补体介导的疾病或病症的进展的主题方法也可以用于监测Tau蛋白病或突触核蛋白病例如帕金森氏病（PD）；路易体痴呆（DLB）等的进展的方法。例如，可以用主题方法来监测伴有痴呆的PD（PDD）的进展。

[0515] 主题方法可以包括使用包括主题抗C1s抗体的试剂盒或测定装置。本公开提供用于进行如本文所述的方法的试剂盒和测定装置。主题试剂盒包括本公开的抗C1s抗体。

[0516] 抗C1s抗体可以固定在不溶性支撑物（例如，试条、多孔板的孔、珠粒（例如磁性珠粒）等）上。合适的支撑物是本领域中众所周知的并且尤其包含可商购获得的柱材料、聚苯乙烯珠粒、乳胶珠粒、磁性珠粒、胶体金属粒子、玻璃和/或硅芯片和表面、硝化纤维素条、尼龙膜、片材、反应盘（例如多孔板）的孔、塑料管等。固体支撑物可包含多种物质中的任一种，

所述物质包括例如玻璃、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚丙烯、聚乙烯、聚碳酸酯、葡聚糖、尼龙、直链淀粉、天然和改性的纤维素、聚丙烯酰胺、琼脂糖和磁铁矿。适于将主题抗体固定在固体支撑物上的方法是众所周知的并且包括但不限于离子性、疏水性、共价相互作用等。固体支撑物可以是可溶的或不可溶的,例如,于水溶液中。在一些实施方案中,合适的固体支撑物一般不溶于水溶液中。

[0517] 本公开的抗C1s抗体可以包含可检测的标记。当所述抗体包含可检测标记时,主题试剂盒可以包括一种或多种用于产生可检测标记的试剂。经标记的抗体可包含如下标记,诸如化学发光剂、微粒标记、比色剂、能量转移剂、酶、荧光剂或放射性同位素。合适的可检测标记包括可由光谱、光化学、生物化学、免疫化学、电学、光学或化学手段检测的任何组合物。合适的可检测标记包括但不限于荧光标记(例如,异硫氰酸荧光素、德克萨斯红(texas red)、罗丹明、绿色荧光蛋白、红色荧光蛋白、黄色荧光蛋白等);放射性标记(例如, ^3H 、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 或 ^{32}P);和酶(例如,辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、荧光素酶,和作用于底物上以产生可以通过荧光、比色或分光光度手段检测的产物的其它酶)。

[0518] 在一些情况下,用于检测/定量从个体中获得的生物样品中的C1s的本公开方法包括用螯合剂例如钙螯合剂(例如,乙二胺四乙酸(EDTA))处理所述样品。所述螯合剂破坏C1复合物,以使得形成C1复合物的多肽彼此分离,从而产生单体C1复合物成分。

[0519] 在一些情况下,用于检测/定量从个体中获得的生物样品中的C1s的本公开方法包括:a)使生物样品与结合C1s、但不与主题抗C1s抗体竞争结合C1s的固定化第一抗体(例如,结合C1s的兔多克隆抗体)接触,从而形成固定化第一抗体/C1s复合物;b)使所述固定化第一抗体/C1s复合物与螯合剂(例如,EDTA)接触,从而形成固定化第一抗体/C1s单体复合物;c)使所述固定化第一抗体/C1s单体复合物与本公开的单克隆抗C1s抗体接触;和d)检测所述单克隆抗C1s抗体与所述固定化C1s单体的结合。在一些情况下,用于检测/定量从个体中获得的生物样品中的C1s的本公开方法包括:a)用螯合剂(例如,EDTA)处理所述生物样品,从而形成C1s单体;b)使经过螯合剂处理的生物样品与结合C1s、但不与主题抗C1s抗体竞争结合C1s的固定化第一抗体(例如,结合C1s的兔多克隆抗体)接触,从而形成固定化第一抗体/C1s单体复合物;c)使所述固定化第一抗体/C1s单体复合物与本公开的单克隆抗C1s抗体接触;和d)检测所述单克隆抗C1s抗体与所述固定化C1s单体的结合。所述单克隆抗C1s抗体与所述固定化C1s单体的结合的检测可以多种方式实现。例如,其中所述单克隆抗C1s抗体包含可检测标记,所述可检测标记是使用适于所述标记的方法来检测。可选地,所述单克隆抗C1s抗体可使用结合所述单克隆抗C1s抗体的可检测标记的二级抗体来检测。主题试剂盒可包含主题单克隆抗C1s抗体;并且可进一步包含以下中的一种或多种:1)螯合剂(例如,EDTA);和2)不与主题抗C1s抗体竞争结合C1s的抗C1s抗体(例如,多克隆抗C1s抗体,如兔多克隆抗体)。

[0520] 主题试剂盒可进一步包括一种或多种其它组分,其中合适的其它组分包括:1)阳性对照;2)缓冲液(例如,结合缓冲液;洗涤缓冲液;等);3)用于产生可检测信号的试剂;等等。试剂盒的其它任选的组分包括:蛋白酶抑制剂;可检测标记;等等。试剂盒的多种组分可存在于单独的容器中或者某些相容性组分可以按照需要预组合于单一容器中。

[0521] 除了上述组分之外,主题试剂盒可以包括使用试剂盒的组分来实施主题方法的说明书。用于实施主题方法的说明书一般记录在合适的记录介质上。例如,说明书可以印刷在

基底例如纸或塑料等上。因此,说明书可以包装插页形式存在于试剂盒中,存在于试剂盒或其组分的容器的标记中(即,与包装或子包装相缔合)等。在其它实施方案中,说明书以在合适的计算机可读存储介质例如压缩光盘只读存储器(CD-ROM)、数字多功能盘(DVD)、软盘等上存在的电子存储数据文件形式存在。在其它实施方案中,实际说明书不存在于试剂盒中,但提供用于从远程来源、例如经由互联网获得说明书的方式。这个实施方案的实例是如下试剂盒,其包括网址,可从所述网址查看说明书和/或可从所述网址下载说明书。关于所述说明书,这种用于获得说明书的方式被记录在合适的基底上。

[0522] 测定装置可包括固定在固体基底上的主题抗C1s抗体。所述测定装置可呈多种形式中的任一种,例如试条、试纸等。

[0523] 体内成像

[0524] 如上文所讨论,本公开提供例如通过体内成像技术来检测活个体中的补体C1s蛋白的方法。例如,在一个实施方案中,可通过正电子发射断层扫描(PET)、单光子发射断层扫描(SPECT)、近红外(NIR)光学成像或磁共振成像(MRI)来实现C1s蛋白的体内成像。在一些实施方案中,使用IVIS[®]仪器诸如IVIS[®]光谱来进行体内成像。将主题抗C1s抗体施用至个体,并且检测补体C1s蛋白的存在和/或量。抗C1s抗体可包含适用于PET、SPECT、NIR、MRI或IVIS中的标记。此类标记包括造影剂或放射性同位素,其中所述造影剂或放射性同位素是适用于成像(例如,如上文所述的对人进行的成像程序)的造影剂或放射性同位素。

[0525] 生成报告

[0526] 在一些情况下,主题检测方法包括检测从个体中获得的生物样品中的补体C1s蛋白;和基于所检测的补体C1s蛋白的量来生成报告和/或指导所述生物样品获自的个体的治疗或管理。

[0527] 报告可以包括以下的一者或多者:关于个体是否可能具有补体介导的疾病或病症的指示;所述补体介导的疾病或病症的严重程度的指示;关于所述个体是否展现对于补体介导的疾病或病症治疗的有益临床响应的指示;等等。

[0528] 因此,报告可包括例如以下信息:个体具有或将患上补体介导的疾病或病症的预测可能性;关于进一步评估的建议;关于治疗药物和/或其它健康管理干预的建议;等等。

[0529] 例如,本文公开的方法可进一步包括生成或输出提供受试者评估结果的步骤,所述报告可以电子介质(例如,计算机监视器上的电子显示器)形式或者有形介质(例如,印刷在纸或其它有形介质上的报告)形式提供。关于个人具有补体介导的疾病或病症或者处于患上补体介导的疾病或病症的风险中的可能性的评估可以被称为“风险报告”、“风险得分”或“可能性得分”。准备报告的个人或实体(“报告生成器”)也可以执行例如样品采集、样品处理等步骤。可选地,除了报告生成器之外的实体可以执行诸如样品采集、样品处理等步骤。可向使用者提供风险评估报告。“使用者”可以是健康的专业人员(例如,临床医生、实验室技术人员或医师)。

[0530] 指导健康管理

[0531] 在一些情况下,主题检测方法包括检测从个体获得的生物样品中的补体C1s蛋白;和基于所检测的补体C1s蛋白的量来生成报告和/或指导所述生物样品所获自的个体的治疗或管理。

[0532] 因此,例如,取决于主题检测方法的结果,可作出如下建议:个体经历对补体介导

的疾病或病症的治疗干预(治疗)和/或个体被考虑进行特定健康管理。治疗干预可以包括例如用于治疗阿尔茨海默氏病的药物治疗。用于治疗阿尔茨海默氏病的药物治疗的实例包括但不限于乙酰胆碱酯酶抑制剂,包括但不限于Aricept(多奈哌齐)、Exelon(利凡斯的明)、美曲磷酯和他克林(Cognex);抗Aβ抗体(例如索拉珠单抗(solanezumab));抗C1s抗体;非甾体抗炎剂,包括但不限于布洛芬和吲哚美辛;环氧合酶-2(Cox2)抑制剂,诸如塞来昔布;和单胺氧化酶抑制剂,诸如司来吉兰(Eldepryl或Deprenyl)。上述药剂各自的剂量是本领域中已知的。例如,Aricept可以每天50mg经口施用6周,并且如果被个体良好耐受的话,则其后每天10mg。

[0533] 器官保存和灌注

[0534] 本公开提供用于器官保存和灌注的组合物和方法。

[0535] 组合物

[0536] 本公开提供包含本公开的抗C1s抗体的组合物。此类组合物可包含药学上可接受的赋形剂。

[0537] 所述组合物可包含一种或多种用于灌注到器官或组织中的试剂。灌注组合物可用于例如组织或器官的原位或离体灌注。当原位进行灌注时,供体个体通常不是活的和健康的个体。

[0538] 所述组合物可包含一种或多种对预期移植到接受者个体中的器官或组织进行保存的试剂。保存组合物可用于例如组织或器官的离体保存。

[0539] 例如,在从供体个体除去之时或之后,用灌注液原位或离体灌注从所述供体个体获得或有待从所述供体个体获得的组织或器官。在组织或器官被移植到接受者个体中之前,可以将组织或器官离体储存在保存液中持续一段时间。在一些情况下,灌注组合物和保存组合物是相同的。

[0540] 在一些情况下,主题组合物是包含以下的水溶液:(a)本公开的抗C1s抗体;和(b)以下中的一种或多种:(i)盐;(ii)减少水肿的药剂;(iii)清除自由基的试剂(“氧自由基抑制剂”或“氧自由基清除剂”);和(iv)供能系统组分。在一些情况下,主题组合物是包含以下的水溶液:(a)本公开的抗C1s抗体;和(b)以下中的一种或多种:(i)糖(例如,单糖、二糖、三糖、多糖);和(ii)具有pH缓冲特性的试剂;和任选地,(c)以下中的一种或多种:(iii)钙转运阻滞剂;(iv)血栓素抑制剂;(v)钙螯合剂;和(vi)铁螯合剂。

[0541] 合适的糖包括但不限于蔗糖、棉子糖和甘露糖醇。合适的pH缓冲剂包括磷酸钠缓冲液、磷酸钾缓冲液等;例如,Na₂PO₄、NaH₂PO₄、K₂PO₄、KH₂PO₄等。

[0542] 合适的氧自由基清除剂包括但不限于别嘌呤醇和还原谷胱甘肽。合适的供能系统组分包括腺苷(或三磷酸腺苷(ATP))。

[0543] 合适的钙螯合剂的实例包括柠檬酸盐和乙二醇四乙酸(EGTA)。合适的铁螯合剂的实例是乙二胺四乙酸(EDTA)。

[0544] 减少水肿的试剂包括不透性阴离子和胶体渗透剂。

[0545] 如本文所用,术语“不透性阴离子”是指对抗已暴露于低温的器官的肿胀的化合物。不透性阴离子的实例包括但不限于葡萄糖酸盐和乳糖酸。

[0546] 减少水肿的试剂包括胶体渗透剂,例如,聚(乙二醇)(PEG)、琥珀酰化明胶、Ficoll(多糖)或淀粉产品(例如羟乙基淀粉)。

[0547] 在一些情况下,主题组合物还包括氨基酸,例如,谷氨酰胺、甘氨酸或N-乙酰基半胱氨酸。

[0548] 在一些情况下,主题组合物还包括抗微生物剂,例如,抗生素、抗真菌剂等。

[0549] 主题组合物可包括无机或有机溶质。合适的无机溶质是包括例如选自 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、 OH^- 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等的阳离子和/或阴离子的电解质。电解质可以例如以下浓度存在:(i) Na^+ ,约50mmol/L至约150mmol/L;(ii) K^+ ,约0mmol/L至约25mmol/L;(iii) Cl^- ,约0mmol/L至约100mmol/L;(iv) OH^- ,约0mmol/L至约75mmol/L;(v) Ca^{2+} ,约0mmol/L至约2mmol/L;(vi) Mg^{2+} ,约0mmol/L至约10mmol/L。

[0550] 主题组合物的重量摩尔渗透压浓度的范围可以是约300mosmol/l至约450mosmol/l,例如,约300mosmol/l至约325mosmol/l、约325mosmol/l至约350mosmol/l、约350mosmol/l至约375mosmol/l、约375mosmol/l至约400mosmol/l、约400mosmol/l至约425mosmol/l、或约425mosmol/l至约450mosmol/l。

[0551] 主题化合物的pH范围可以是约6.9至约7.8,例如,主题组合物可具有6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8或7.9的pH。

[0552] 在一些情况下,主题组合物是包含以下的水溶液:(a) 本公开的抗C1s抗体;和(b) 以下中的一种或多种:(i) 羟乙基淀粉;(ii) 乳糖酸;和(iii) 棉子糖。

[0553] 在一些情况下,主题组合物是包含以下的水溶液:(a) 本公开的抗C1s抗体;(b) 乳糖酸钾(100mmol);(c) KH_2PO_4 (25mmol);(d) MgSO_4 (45mmol);(e) 棉子糖(30mmol);(f) 腺苷(5mmol);(g) 谷胱甘肽(3mmol);(h) 胰岛素(100单位);(i) 广谱抗生素诸如甲氧苄啶(trimethoprim) (16mg/mL);(j) 地塞米松(dexamethasone) (8mg/L);(k) 别嘌呤醇(1mM);和(l) 羟乙基淀粉(例如具有约200,000道尔顿至约300,000道尔顿的分子量和约0.4至0的取代度的羟乙基淀粉)(50g/L)。

[0554] 在一些情况下,主题组合物是包含以下的水溶液:(a) 本公开的抗C1s抗体;和以下中的一种或多种:(i) 羟乙基淀粉(30g/L至100g/L);(ii) NaCl (85mM至145mM);(iii) KCl (3mM至6mM);(iv) CaCl_2 (1.0mM至1.6mM);(v) KH_2PO_4 (0.7mM至1.3mM);(vi) MgSO_4 (0.9mM至1.5mM);(vii) 别嘌呤醇(0.05mM至5.0mM);(viii) 去铁胺(desferrioxamine) (0.02mM至2.0mM);(ix) 谷胱甘肽(0.5mM至10.0mM);(x) 尼卡地平(nicardipene) (0.1 μM 至5.0 μM);(xi) 腺苷(0.1mM至5.0mM);(xii) 果糖(1.0mM至50.0mM);(xiii) 葡萄糖(1.0mM至50.0mM);(xiv) 胰岛素(5U/L至250U/L);(xv) 3-(N-吗啉代)丙磺酸(MOPS) (2mM至40mM)。

[0555] 在一些情况下,主题组合物包含:

[0556] (a) 本公开的抗C1s抗体;

[0557] (b) 乳糖酸钾(例如,100mM);

[0558] (c) KH_2PO_4 (例如,5mM);

[0559] (d) 棉子糖(例如,30mM);

[0560] (e) 腺苷(例如,5mM);

[0561] (f) 谷胱甘肽(例如,3mM);

[0562] (g) 别嘌呤醇(例如,1mM);和

[0563] (h) 羟乙基淀粉(例如,50g/L)。

[0564] 主题抗C1s抗体以有效量存在于主题组织/器官保存液或灌注液中。主题抗C1s抗

体的“有效量”是相比于不存在抗C1s抗体的情况下的C4b2a将C4b2a复合物产生抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的量。组合中的抗C1s抗体的浓度范围可以是约1mg/mL至约200mg/mL,例如,约1mg/mL至约5mg/mL、约5mg/mL至约10mg/mL、约10mg/mL至约25mg/mL、约25mg/mL至约50mg/mL、约50mg/mL至约100mg/mL、或约100mg/mL至约150mg/mL。

[0565] 本公开提供如上文所述的保存/灌注液中存在的分离的(例如,离体)器官或组织。

[0566] 器官灌注方法和器官保存方法

[0567] 本公开提供使用包含如本文所述的抗C1s抗体的组合物的组织或器官灌注方法以及离体组织或器官保存方法。

[0568] 灌注方法一般包括将包含本公开的抗C1s抗体的灌注液以足以用所述灌注液灌注组织或器官的量原位或离体引入供体组织或供体器官中和/或周围。当原位进行灌注时,供体个体通常不是活的和健康的个体。可以通过例如将本公开的灌注液引入组织或器官的血管床中来实现灌注。可进行灌注以用灌注液冲洗组织或器官,例如以至少部分地置换脉管系统中存在的血液。

[0569] 保存方法一般包括将包含本公开的抗C1s抗体的保存液以足以维持组织或器官供稍后使用、例如用于移植物中的量离体引入供体组织或器官中和/或周围。

[0570] 本文所述的灌注和保存方法一般提供组织或器官中的补体激活抑制。因此,本公开提供用于抑制组织或器官中的补体激活的方法,所述方法包括将如本文所述的灌注液或保存液原位或离体引入组织或器官中或周围,其中所述灌注液或保存液以足以抑制所述组织或器官中的补体激活的量引入。

[0571] 可使用主题方法保存的器官和组织包括但不限于肾脏、肝脏、胰脏、心脏、肺、皮肤、血液组织(包括全血;红血细胞;白血细胞;脐带血;等等,其中所述血液组织可包括分离的血细胞群体(血沉棕黄层;红血细胞;血小板;淋巴细胞;T细胞;B细胞;或一些其它群体),其中所述血液组织包括混合细胞群体)、小肠、内皮组织、血管组织(例如,血管)、眼睛、胃、胸腺、骨骼、骨髓、角膜、心脏瓣膜、朗格汉斯胰岛或肌腱。如本文所用,“器官”涵盖整个器官或器官的一部分。如本文所用,“组织”涵盖整个组织或组织的一部分。

[0572] 所述器官或组织可以是人来源的。所述器官或组织可以是非人动物(例如猪)来源的。在一些情况下,所述组织或器官是同种异体移植物,即,所述组织或器官与预期接受者是同种异体的。在一些情况下,所述组织或器官是异种移植物,即,所述组织或器官是来自相对于预期接受者的异种来源。所述器官或组织可获自活的个体,或获自最近去世的个体(例如,其中所述器官或组织是获自在个体死亡后约1分钟或几小时内的个体的)。

[0573] 器官或组织可以储存在低温下或常温下的主题保存液或灌注液中。例如,器官或组织可以储存在约1°C至约10°C的低温下的主题保存液或灌注液中。作为另一个实例,器官或组织可以储存在约12°C至约24°C的常温下的主题保存液或灌注液中。

[0574] 器官或组织可以储存在主题保存液或灌注液中,持续约1分钟至约24小时、例如约1分钟至约15分钟、约15分钟至约30分钟、约30分钟至约1小时、约1小时至约4小时、约4小时至约8小时、约8小时至约12小时、或约12小时至约24小时的一段时间。在一些情况下,器官或组织可以储存在主题保存液或灌注液中,持续多于24小时的一段时间。器官或组织可用

主题保存液或灌注液灌注,持续约1分钟至约24小时、例如约1分钟至约15分钟、约15分钟至约30分钟、约30分钟至约1小时、约1小时至约4小时、约4小时至约8小时、约8小时至约12小时、或约12小时至约24小时的一段时间。

[0575] 表2和表3提供本申请中公开的SEQ ID NO的列表。图2提供表2。表3提供于下文。应理解,因为核酸测序技术不是完全无误差的,所以本文呈现的核酸序列和氨基酸序列分别代表实施方案的核酸分子的表观核酸序列和实施方案的蛋白质的表观氨基酸序列。

[0576] 表3. 本文公开的非抗体氨基酸序列的列表

[0577]

SEQ ID NO:	来源	描述/序列
9	智人	人补体C1s蛋白;图1中所示的序列
10	合成	(GSGGS) _n
11	合成	(GGGS) _n
12	合成	GGSG
13	合成	GGSGG
14	合成	GSGSG
15	合成	GSGGG

[0578]

SEQ ID NO:	来源	描述/序列
16	合成	GGGSG
17	合成	GSSSG
18	合成	YPYDVPDYA
19	合成	DYKDDDDK
20	合成	EQKLISEEDL
21	合成	HHHHH
22	合成	HHHHHH
23	合成	WSHPQFEK
24	合成	RYIRS
25	合成	FHHT
26	合成	WEAAAREACCRECCARA
27	合成	TFFYGGCRGKRNNFKTEEY
28	合成	TFFYGGSRGKRNNFKTEEY
29	合成	CTFFYGGSRGKRNNFKTEEY
30	合成	TFFYGGSRGKRNNFKTEEYC
31	合成	TFVYGGCRAKRNNFKS

实施例

[0579] 提出以下实施例以向本领域普通技术人员提供关于如何做出和使用本发明的完全公开内容和描述,而所述实施例不旨在限制被本发明人视为其发明的范围,并且也并不旨在表示以下的实验是所进行的全部或唯一的实验。已作出努力来确保关于所用数字(例

如量、温度等)的精确性,但应考虑到一些实验误差和偏差。除非另外说明,否则份数是重量份数,分子量是重均分子量,温度是摄氏度,并且压力是大气压或接近大气压。可使用标准缩写,例如,bp,碱基对;kb,千碱基;pl,皮升;s或sec,秒;min,分钟;h或hr,小时;aa,氨基酸;kb,千碱基;bp,碱基对;nt,核苷酸;i.m.,肌肉内;i.p.,腹膜内;s.c.,皮下;等等。

[0580] 实施例1:抗补体C1s IPN003抗体的制备和表征

[0581] 抗C1s单克隆抗体IPN003(也称为“IPN-M34”或“M34”)如下制备:用双链形式的经纯化的人激活C1s蛋白(EMD Millipore,Billerica,MA)(SEQ ID NO:9)对BALB/c和NZBW小鼠免疫,产生两种独立的杂交瘤文库,使用本领域技术人员已知的技术用C1s蛋白对其进行筛选(参见例如Galfre等人,Methods in Enzymology 73:346(1981))。使用流式细胞术来产生单细胞克隆,并且使用溶液相单克隆抗体捕捉测定,例如Nix等人,Immunoassays,A Practical Approach,J.P.Gosling编辑,第239-261页,Oxford University Press(2000)中所公开的测定,针对结合生物素标记的激活C1s筛选来自这些单独的克隆的上清液。171个克隆以高亲和力结合经激活的C1s。从NZBW小鼠分离的结合激活C1s的克隆之一产生一种抗体,被称为IPN003(或IPN-M34;或M34;或TNT003)。

[0582] 使用本领域技术人员已知的技术(MCLAB,South San Francisco,CA)进行IPN003抗C1s抗体的VH和VL区的氨基酸测序。具体地,从表达IPN003单克隆抗体的杂交瘤细胞系制备细胞球粒,并且使用RNAqueous®-4PCR试剂盒(Life Technologies Inc.,Grand Island,NY)提取RNA。使用鼠科动物抗体信号序列的简并引物汇集物以及IgMVH、IgGVH、IgKV和IgAVL的恒定区引物通过反转录聚合酶链反应(RT-PCR)来扩增V区。将从每次成功扩增获得的聚合酶链反应(PCR)产物纯化并克隆至获得序列的‘TA’克隆载体(pGEM-T®Easy,Promega,Madison,WI)中。IPN-M34抗体的VH和VL区的推导的氨基酸序列提供于表2中。表2(图2)中还提供了IPN003的CDR。

[0583] 实施例2:IPN003的结合特征

[0584] 将IPN003结合特征与M81的结合特征进行比较。对于M81,参见例如Matsumoto等人,(1986)J.Immunol.137:2907;Matsumoto等人,(1989)J.Immunol.142:2743;和Nakagawa等人,(1999)Ann.Rheum.Dis.58:175。

[0585] IPN003与M81竞争结合人C1s。

[0586] 为了确定IPN003是否可与M81竞争结合人C1s,进行竞争测定,其中将生物素标记的M81(最终浓度 $0.5E-9M$)与递增浓度的未经标记的抗体一起在涂有人C1s的孔中温育。数据示于图3中。

[0587] 未经标记的M81以 $3E-9M$ 的 IC_{50} 与经标记的M81竞争结合,而对照抗体不竞争。如图3中所示,IPN003(M34)与M81竞争结合人C1s。IPN003相比于M81是更有效的M81结合抑制剂(IC_{50} 为 $0.33E-9M$),从而表明IPN003的表位不同于被M81识别的表位,但与其重叠。

[0588] IPN003抑制人C4的人C1s激活。

[0589] 将人补体蛋白C4与激活的人C1s在递增浓度的单克隆抗体M81或IPN003的存在下一起温育。如图4中所示,数据显示IPN003抑制C1s介导的人补体蛋白C4激活。IPN003以 $3E-9M$ 的 IC_{50} 抑制C4激活。相比之下,M81是有效性小得多的抑制剂并且以 $55E-9M$ 的 IC_{50} 抑制C4激活。

[0590] IPN003抑制人补体介导的细胞裂解。

[0591] 在标准的绵羊红血细胞(sRBC)溶血测定中使用人血清作为补体蛋白来源来测量IPN003抑制补体介导的细胞裂解的能力。数据示于图5中。

[0592] 对照IgG对细胞裂解无影响,而IPN003以 $1.1\text{E}-9\text{M}$ 的 IC_{50} 抑制细胞裂解。相比之下,M81是有效比IPN003小得多的抑制剂,并且以 $11.3\text{E}-9\text{M}$ 的 IC_{50} 抑制sRBC溶解。因此,图5中呈现的数据显示,使用标准的溶血测定,IPN003可抑制完整的经典补体级联的激活;并且IPN003的活性显著大于M81,这与图3和图4中所呈现的数据一致。

[0593] IPN003抑制由食蟹猴补体和由猕猴补体介导的细胞裂解。

[0594] 为了确定IPN003是否可抑制适于毒理研究的物种中的补体介导的细胞裂解,进行溶血测定,其中通过来自食蟹猴和来自猕猴的血清提供补体蛋白,食蟹猴和猕猴是被认为适合毒理研究的两种猴物种。数据示于图6和图7中。

[0595] 如图6中所示,IPN003以 $4.6\text{E}-9\text{M}$ 的 IC_{50} 抑制由来自食蟹猴的血清介导的细胞裂解。相比之下,M81是有效比小得多的抑制剂并且以 $189\text{E}-9\text{M}$ 的 IC_{50} 抑制sRBC裂解。

[0596] 如图7中所示,IPN003以 $4.5\text{E}-9\text{M}$ 的 IC_{50} 抑制由来自猕猴的血清介导的细胞裂解。相比之下,M81是有效比小得多的抑制剂并且以 $83\text{E}-9\text{M}$ 的 IC_{50} 抑制sRBC裂解。

[0597] 图6和图7中所呈现的数据也强烈表明IPN003与来自至少两种猴物种的C1s交叉反应。所述数据也指示,IPN003是比M81更有效的补体激活抑制剂。

[0598] IPN003对补体级联的C1s成分具特异性。

[0599] 为了确定IPN003是否可结合补体级联的其它成分,用固定在微量滴定板上的目标蛋白进行ELISA测定。图8中所示的数据表明,IPN003对C1s具特异性并且不结合补体途径的其它成分。

[0600] 表4(提供于图9中)总结了IPN003的结合特征。

[0601] IPN003结合大鼠C1s

[0602] 用固定在微量滴定板上的纯化大鼠C1s和IPN003或M81的递增稀释液进行ELISA测定。图10中呈现的数据显示,IPN003以 $0.2\text{E}-9\text{M}$ 的 K_D 结合大鼠C1s,而M81以 $0.8\text{E}-9\text{M}$ 的 K_D 结合大鼠C1s。

[0603] 实施例3: IPN003对大鼠C1s介导的人C4裂解的抑制

[0604] 将人C4(0.25mg/ml)与具有不同浓度的IPN003的大鼠C1s($0.64\mu\text{g/ml}$)一起在 37°C 下温育。将含有反应产物的样品缩减;在4-12%NuPAGE凝胶上分离缩减的样品;并且用考马斯蓝(Coomassie blue)将所述凝胶染色。在Licor扫描仪上定量考马斯凝胶上的C4a裂解产物带。结果示于图11中。如图11中所示,IPN003以浓度依赖性方式抑制大鼠C1s介导的人C4裂解,其中 IC_{50} 为 $1.47\mu\text{g/ml}$ 。

[0605] 对于IPN003对大鼠C1s介导的人C4裂解和人C1s介导的人C4裂解的抑制进行比较。将 $5\mu\text{l}$ 大鼠C1s($0.64\mu\text{g/ml}$)或 $5\mu\text{l}$ 人C1s($0.2\mu\text{g/ml}$)添加至 $5\mu\text{l}$ 的 1mg/ml IPN003或不相关对照IgG中;并且将混合物在室温下保持30分钟。在温育后,添加 $10\mu\text{l}$ 的 1mg/ml 人C4;将这种混合物在 37°C 下温育80分钟。通过考马斯染色凝胶并通过ELISA分析含有反应产物的样品。结果示于图12中。如图12中所示,IPN003抑制大鼠C1s介导的人C4裂解的程度与IPN003抑制人C1s介导的人C4裂解的程度类似。

[0606] 实施例4: IPN003对患者血清引起的人RBC裂解和C3b沉积的抑制

[0607] 进行测定以确定IPN003是否抑制自身免疫溶血性贫血(AIHA)患者血清引起的人RBC裂解和C3b沉积。

[0608] 将含有10 μ l压积人RBC(hRBC)和50 μ l患者血清的样品在30℃下温育30分钟。正常的人血清充当对照。在30分钟温育后,将样品离心并洗涤一次。然后,将含或不含IPN003(100 μ g/ml)的补体感受态人血清(12.5%)添加至致敏hRBC中;并且将样品在37℃下温育1小时。在一小时温育期后,收集上清液,并且测量在540nm下的吸光度。结果示于图13中。图13中呈现的数据显示,IPN003抑制在来自患者P3-1的AIHA血清中预温育的hRBC的溶血。利用独立于补体的机制来介导由人正常血清介导的背景溶血。

[0609] 进行测定以确定IPN003是否抑制AIHA患者血清引起的C3b在人RBC上的沉积。如图14中所示,IPN003完全抑制C3b在与AIHA血清样品(患者P3-1)一起温育的hRBC上的沉积。

[0610] 实施例5:人源化IPN003变体

[0611] 生成IPN003的人源化变体。人源化变体1-4的重链VH域的氨基酸序列和编码所述人源化变体的重链VH域的核苷酸序列示于图16-19中。人源化变体1-3的轻链VL域的氨基酸序列和编码所述人源化变体的轻链VL域的核苷酸序列示于图20-22中。相对于IPN003的氨基酸序列(VL SEQ ID NO:37;VH SEQ ID NO:38)的氨基酸差异总结于表7和表8中(图23)。

[0612] 单字母氨基酸代码如下(其中3字母氨基酸代码在圆括号中):

[0613] G-甘氨酸(Gly)

[0614] P-脯氨酸(Pro)

[0615] A-丙氨酸(Ala)

[0616] V-缬氨酸(Val)

[0617] L-亮氨酸(Leu)

[0618] I-异亮氨酸(Ile)

[0619] M-甲硫氨酸(Met)

[0620] C-半胱氨酸(Cys)

[0621] F-苯丙氨酸(Phe)

[0622] Y-酪氨酸(Tyr)

[0623] W-色氨酸(Trp)

[0624] H-组氨酸(His)

[0625] K-赖氨酸(Lys)

[0626] R-精氨酸(Arg)

[0627] Q-谷氨酰胺(Gln)

[0628] N-天冬酰胺(Asn)

[0629] E-谷氨酸(Glu)

[0630] D-天冬氨酸(Asp)

[0631] S-丝氨酸(Ser)

[0632] T-苏氨酸(Thr)

[0633] 实施例6:人源化IPN003变体的表征

[0634] 各种人源化IPN003变体对激活的C1s的相对结合亲和力示于表9中,其呈现于图24中。各种人源化IPN003变体对pro-C1s的相对结合亲和力示于表10中,其呈现于图24中。人

源化变体相比于亲本IPN003抗体以约2倍高的亲和力结合活性C1s。为了比较,IPN003与人C1s的 K_D (M) 是 $1.58E-9$ 至 $2.04E-9$; K_{on} (1/Ms) 是 $3.56E+05$; 并且 K_{dis} (1/s) 是 $5.53E-04$ 。

[0635] 生成人源化变体,其具有较链稳定化的IgG4恒定区(具有S241P置换)并且具有降低的效应功能(具有L235E置换)。所有24种组合(VH变体1+Vk变体1;VH变体1+Vk变体2;VH变体1+Vk变体3;VH变体2+Vk变体1;VH变体2+Vk变体2;VH变体2+Vk变体3;VH变体3+Vk变体1;VH变体3+Vk变体2;VH变体3+Vk变体3;VH变体4+Vk变体1;VH变体4+Vk变体2;VH变体4+Vk变体3)在HEK细胞中短暂表达。对于每种人源化变体测试其与IPN003竞争结合C1s的能力。数据示于图25中。

[0636] 在测量补体经典途径(CP)激活的市售测定中测试每种人源化变体。结果示于图26中。数据显示,所有12种人源化变体以与IPN003类似的 IC_{50} 抑制CP激活。

[0637] 如图27A和图27B中所示,在所测试的3种人源化变体中,所有变体对经典途径具特异性。图27A显示人源化变体VH2/VK3、VH3/VK1和VH4/VK2对CP的浓度依赖性抑制。示出IPN003用于比较。图27B显示人源化变体VH2/VK3、VH3/VK1和VH4/VK2对替代途径(AP)的影响。

[0638] 对人源化变体测试红血细胞(RBC)裂解抑制,和C3b在RBC上的沉积的抑制。数据示于图28中。

[0639] 实施例7:补体依赖性溶血的抑制

[0640] 进行测定来确定IPN003或IPN003的人源化变体是否可抑制冷凝集素病(CAD)患者血浆引起的人RBC裂解。也进行测定来确定IPN003或IPN003的人源化变体是否可抑制过敏毒素产生。

[0641] 基本上如实施例4中所述来进行溶血测定。在 4°C 下在冷凝集素病(CAD)患者血浆(CAD患者5;“CAD P5”)存在下温育O⁺型正常人红血细胞,使得血浆中的自身抗体结合RBC,从而生成致敏hRBC。在致敏期间添加10mM EDTA以防止补体激活。在约1/2小时后,洗去血浆,并且添加含有活性补体和抗体(IPN003、IPN003的人源化变体或对照IgG2a)的25%正常人血清。在向致敏hRBC添加人血清和抗体后,将样品在约 18°C 下温育1小时。在一小时温育期后,收集上清液,并且测量在540nm下的吸光度。结果示于图29中。

[0642] 如图29中所示,CAD患者P5的血浆引起hRBC裂解。IPN003和IPN003的人源化变体(而非对照IgG2a)抑制补体依赖性CAD患者血浆介导的hRBC溶血。补体依赖性裂解以浓度依赖性方式受到抑制。

[0643] 使用来自上述溶血实验的CAD P5上清液测试过敏毒素C3a、C4a和C5a生成。数据示于图30中。如图30中所示,IPN003和IPN003的人源化变体(hu-IPN003)(而非对照IgG2a)以相比于溶血类似的功效(竞争抑制)和效能(约 $4.5-5.5\mu\text{g/mL}$)抑制所有三种过敏毒素的生成。

[0644] 实施例8:红血细胞上的C3b沉积的抑制

[0645] 对四种CAD患者血浆样品测试其抑制在hRBC上的C3b沉积的能力。将来自CAD患者P8、P11、P14和P15的血浆样品与IPN003或对照IgG2a一起温育;并且使用流式细胞仪测定C3b阳性细胞的百分比。数据示于图31和图32中。如图31中所示, $100\mu\text{g/mL}$ IPN003(而非对照IgG2a)显著抑制在RBC表面上的C3b沉积。平均抑制为约90%。如图32中所示,通过IPN003,而非通过对照IgG2a,以浓度依赖性方式抑制CAD血浆介导的C3b在hRBC上的沉积。

IPN003的IC₅₀是约6.6μg/ml。

[0646] 实施例9: IPN003的人源化变体的免疫原性潜力

[0647] 评估人源化抗C1s抗体的免疫原性潜力。使用EpiScreen™测定。参见例如Jones等人, (2004) J. Interferon Cytokine Res. 24:560; 和 Jones 等人, (2005) J. Thromb. Haemost. 3:991。使用CD8⁺-清除的外周血单核细胞 (PBMC) 进行时程T细胞测定; 并且通过在添加测试抗体样品后的多个时间点并入 [³H]-胸苷来测量T细胞增殖。对于人源化抗-C1s抗体或嵌合抗C1s抗体的增殖反应示于图33A和图33B中。

[0648] 如图33A中所示, 完全人源化IPN003测试抗体具有低免疫原性潜力 (低于2.0的SI 阈值)。图33B显示参考嵌合抗体的结果, 其中所述参考嵌合抗体具有IPN003鼠类重链和轻链可变区和人IgG4恒定区。

[0649] 实施例10: TNT003对补体依赖性CAD自身抗体介导的活性的影响

[0650] 测定TNT003对由冷凝集素疾病 (CAD) 患者的血清中存在的自身抗体介导的溶血、吞噬作用和C4a生成的影响。

[0651] 数据示于图34-37中。

[0652] 如图34中所示, TNT003和抗C5mAb都以浓度依赖性方式防止补体依赖性CAD自身抗体介导的溶血。在96孔板中, 将O⁻型红血细胞在来自CAD患者的血浆和10mM EDTA的存在下温育以允许自身抗体结合 (在4℃下45分钟)。然后用GVB++ (含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺的GVB) 缓冲液洗涤细胞。GVB++缓冲液: 0.1%明胶、5mM Veronal、145mM NaCl、0.025%NaN₃, pH 7.3。然后向细胞中添加含有0.15mM氯化钙和0.5mM氯化镁的新鲜正常人血清 (25%最终浓度, 于GVB++中) 和不同浓度的TNT003或抗C5mAb并且使其在17℃下温育1小时。在温育后, 向每个孔中添加50μL GVB++以终止反应。然后将96孔板离心并且收集一部分上清液并转移至新的96孔板。在微板读取器上读取吸光度峰值 (540nm)。将含有10mM EDTA而非抗体的孔用作对照孔以测定非补体介导的溶血 (阴性对照)。从所有其它的孔减去这个孔的吸光度值以确定补体依赖性裂解程度。类似地, 使用不含抗体的对照孔来测定最大补体依赖性溶血 (阴性对照)。

[0653] 如图35中所示, TNT003, 而非抗C5mAb或对照小鼠IgG2a抗体, 抑制由CAD自身抗体介导的C3b沉积。在96孔板中, 将O⁻型红血细胞在来自CAD患者的血浆和10mM EDTA或者健康的正常血浆 (阴性对照) 的存在下温育以允许自身抗体结合 (在4℃下45分钟)。然后用GVB++缓冲液洗涤细胞。然后向所述细胞中添加新鲜的正常人血清 (25%最终浓度, 于GVB++中) 和100μg/mL的TNT003、小鼠IgG2a对照Ab或抗C5mAb并使其在17℃下温育1小时。然后用FACS缓冲液 (2×) 洗涤细胞。FACS缓冲液: 磷酸盐缓冲盐水 (PBS) w/o+0.5%牛血清白蛋白 (BSA) + 0.1%NaN₃。FACS缓冲液是在流式细胞仪中操作之前温育细胞和抗体的缓冲液。然后在小鼠抗人C3b单克隆抗体存在下温育细胞 (1小时, 4℃)。然后用FACS缓冲液 (3×) 洗涤细胞并且在室温下与二级抗体 (Alexa Fluor 488结合的山羊抗小鼠IgG1) 一起温育30分钟。然后用FACS缓冲液 (3×) 洗涤细胞并且在流式细胞仪上在488nm下读出荧光。

[0654] 如图36中所示, TNT003防止补体介导的由CAD自身抗体诱发的吞噬作用。为了理解CAD自身抗体介导的补体沉积对RBC吞噬作用的影响, 使用THP-1单核细胞系开发吞噬作用测定。用Cell Tracker Green标记O⁻型人RBC并且通过在CAD患者血浆和10mM EDTA存在下温育过夜 (4℃) 而用CAD自身抗体致敏。在洗出CAD血浆后, 添加正常人血清 (NHS; 最终浓度25%) 和100μg/mL TNT003或100μg/mL IgG2a对照Ab (在17℃下1小时)。然后将视黄酸处理

的THP-1细胞(3 μ M,3天)放置在96孔板(1 $\times$ 10⁵个细胞/孔)中并用FcX处理。FcX是用于防止Fc γ R激活的试剂,在吞噬作用测定中作为Fc γ R的潜在混杂因素也可介导吞噬作用;参见例如www(.)biolegend(.)com。然后在37 $^{\circ}$ C下向5 $\times$ 10⁶个细胞/孔的THP-1细胞中添加hRBC以允许吞噬作用(红色条)。通过流式细胞仪测定吞噬作用并且以含有Cell Tracker Green标记的RBC的THP-1细胞的百分比形式表示。将一部分hRBC也用抗C3b Ab染色以通过如上文所述的FACS分析来定量C3b沉积(蓝色条)。

[0655] 已发现,用CAD自身抗体包覆但未在NHS存在下温育的hRBC具有非常低的膜结合C3b水平并且不容易通过THP-1细胞(无NHS)吞噬。在暴露于25%NHS时,C3b沉积增加约30倍并且吞噬作用增加约5倍(NHS)。100 μ g/mL TNT003(而非IgG2a对照抗体)将C3b沉积和吞噬作用抑制至基线水平,从而提供证据证明TNT003可防止CAD自身抗体介导的RBC吞噬作用。所呈现的数据是用一种患者样品(P18)进行的两个独立实验的平均值,并且代表由5种不同的CAD患者样品产生的结果。

[0656] 如图37A和图37B中所示,TNT003(而非抗C5mAb)防止由CAD自身抗体进行的C3a和C4a生成。如图37C中所示,TNT003和抗C5mAb都能够抑制CAD自身抗体介导的C5a生成。使用市售ELISA试剂盒来检测和定量来自上述实验的上清液的C3a、C4a和C5a。减去用作补体来源的人血清中的C3a、C4a和C5a水平作为背景。

[0657] 实施例11: TNT003的体内作用

[0658] 在非人灵长类动物中测试TNT003的体内作用。数据示于图38和图39中。

[0659] 如图38中所示,来自被给与单一静脉内剂量的TNT003(30mg/kg)的食蟹猴的含TNT003血清不能用于诱导补体依赖性溶血或在IgM致敏绵羊红血细胞的血浆膜上沉积C3b。将在静脉内注射之前和之后多个时间点从猴中取出的血清用作用于诱导IgM致敏的绵羊红血细胞的溶血的补体来源。最终血清浓度是1.25%。如图38A中所描绘,在静脉内注射TNT003后不久,从猴中获得血清样品不能用于使所有的含有可检测TNT003水平的样品中的IgM致敏的绵羊红血细胞溶血(高达并包括72小时;绘制于右Y轴上)。在96小时时,TNT003降至低于可检测水平(如通过ELISA捕捉测定所测定;绘制于左Y轴上),此时血清溶血能力恢复至出血前水平。被设计用于检测膜结合C3b存在的FACS测定(图38B)显示,含有血清的TNT003也不能使C3b沉积在IgM致敏的绵羊红血细胞的血浆膜上。这些数据表明,在体内施用后,TNT003以有效水平存在以抑制离体溶血测定中的经典补体途径。

[0660] 如图39中所示,在被给与单一静脉内剂量的TNT003(30mg/kg)的食蟹猴中,TNT003抑制体内C4a生成。使用市售ELISA试剂盒测定从被给与TNT003的猴中获取的血清样品中的C4a浓度(绘制于右Y轴上)。数据显示,C4a水平在TNT003施用后立即降低约90%并且在所有的含有可检测TNT003的样品中保持低水平(高达并包括72小时)。在96小时时,TNT003降至低于可检测水平(如通过ELISA捕捉测定所测定;绘制于左Y轴上),此时血清C4a恢复至出血前水平。这些数据提供证据证明,TNT003在体内具活性,并且在30mg/kg施用后,达到抑制食蟹猴中的经典途径活性的水平。

[0661] 实施例12: TNT003表位定位

[0662] 为了鉴定TNT003结合所需的最小人C1s(hC1s)区域,在HEK293细胞中表达全长hC1s以及N端和C短截短的hC1s。通过亲和色谱法纯化重组蛋白并通过非还原SDS-PAGE凝胶的蛋白质印迹法分析。如图40中所示,鉴定特异性结合TNT003的由氨基酸272-422组成的片

段(hC1s片段1.b)。这个氨基酸片段的其它N端和C短截短形式消除了TNT003的结合。

[0663] 图40:鉴定TNT003结合所需的最小人C1s片段。全长C1s或C1s的片段表达于HEK293细胞中。通过亲和色谱法纯化蛋白质并通过具有TNT003的非还原SDS-PAGE凝胶的蛋白质印迹法分析。TNT003结合于全长C1s(泳道3)和含有C1s A链的氨基酸272-422的C1s片段(片段1.b)。

[0664] 为了进一步鉴定全长人C1s中的TNT003的表位,使用标准技术来进行丙氨酸扫描诱变。氨基酸357(天冬氨酸)突变为丙氨酸显著降低TNT003与人C1s的结合。重要的是,如图41中所示,这种突变对C1s的催化活性不具有显著影响,并且不会改变其裂解其底物C4的能力,从而表明所述蛋白质是正确折叠的。然而,与其对野生型C1s的作用相反,TNT003即使在高浓度下也不能抑制这种突变C1s的活性。总之,这些数据表明,TNT003的表位含有天冬氨酸357并且这种氨基酸对抗体的结合和抑制活性是至关重要的。

[0665] 图41:鉴定TNT003与人C1s结合所需的特定氨基酸(天冬氨酸357)。使用标准技术进行人C1s的丙氨酸扫描诱变。每种C1s突变蛋白表达于HEK293细胞中并通过亲和色谱法纯化。为了测量酶活性,将每种突变C1s蛋白与经纯化的人C4在存在或不存在TNT003的情况下一起在37℃下温育1小时。通过SDS-PAGE分析反应以鉴定C4裂解产物(C4a和C4b)。天冬氨酸357的突变消除了TNT003抑制C1s活性的能力。相比之下,天冬氨酸343突变为丙氨酸对C1s酶活性或TNT003的抑制能力无影响。

[0666] 实施例13:TNT003亲合力

[0667] TNT003在纯化系统中和功能测定(例如红血细胞溶血)中都是C1s活性的有效抑制剂。在基于板的C4沉积测定中,将TNT003的活性与其它C1s抗体进行比较(图42)。TNT003是比其它抗C1s抗体(TNT004、TNT005、TNT006;抑制C1s蛋白酶活性的抗C1s抗体)更有效的C1s活性抑制剂,即使其它抗C1s抗体以较高亲和力结合C1s。这些数据表明,TNT003的效能是部分地由其对于C1复合物内的C1s的亲合力介导,并且单个TNT003分子可同时接触(并且因此抑制)两种C1s分子。

[0668] 图42:TNT003是人C1s活性的有效抑制剂。将96孔板的孔涂以人IgM抗体并且使用明胶阻断非特异性结合。向存在或不存在递增浓度的抗体的孔中添加人血清(最终浓度1.25%)并在37℃下温育1小时。使用生物素标记的抗人C4抗体和抗生物素-链霉亲和素-HRP结合物来测量沉积在板上的C4量。

[0669] 为了证明TNT003可结合C1复合物,将生物素标记的TNT003与纯化的C1复合物一起温育并且在Sephacrose Superdex-200柱上将反应物分级。如图43B中所示,C1结合TNT003以形成复合物,其中分子量与结合于每种C1复合物的单一TNT003抗体一致。

[0670] 图43A和图43B:结合于C1复合物的TNT003。TNT003被生物素标记并与经纯化的人C1复合物一起温育。在Sephacrose Superdex-200柱上将反应物分级并且通过蛋白质印迹法分析每种级分的TNT003的存在。如图43A中所示,TNT003仅以单峰形式洗脱。相比之下,在与经纯化的C1复合物一起温育后,观察到第二峰,这与TNT003:C1复合物的形成一致(图43B)。

[0671] 为了进一步表征抑制机制,测量TNT003、TNT003F(ab')₂片段和TNT003Fab片段抑制C1s活性的能力。如图44中所示,TNT003和TNT003F(ab')₂片段以相等活性抑制C1s活性。相比之下,TNT003Fab片段是有效性小得多的C1s活性抑制剂。总之,这些数据表明,TNT003的有效活性至少部分地与抗体(和F(ab')₂片段)的二价性质相关,并且抗体抑制C1s的能力

具有显著的亲合力成分。

[0672] 图44:TNT003和TNT003Fab'2片段是比TNT003Fab更有效的C1s活性抑制剂。将96孔板的孔涂以人IgM抗体并且使用明胶阻断非特异性结合。向存在或不存在递增浓度的TNT003或TNT003的F(ab')₂和Fab片段的孔中添加人血清(最终浓度1.25%)并在37℃下温育1小时。使用生物素标记的抗人C4抗体和抗生蛋白链菌素-HRP结合物来测量沉积在板上的C4量。

[0673] 实施例14:TNT003结合特征

[0674] 为了确定在还原和非还原条件下TNT003是否可结合C1s,用还原和非还原的激活的人C1s进行在SDS-PAGE凝胶上的蛋白质印迹法。如图45中所示,在非还原条件下TNT003仅结合C1s,这与结合于C1s内的构象特定表位的抗体一致。

[0675] 图45:在非还原条件下TNT003特异性结合人C1s。在还原和非还原条件下通过SDS-PAGE将激活的人C1s分级并用TNT003进行蛋白质印迹法。在非还原条件下TNT003仅结合C1s,从而表明其结合构象依赖性表位。

[0676] 为了确定TNT003是否抑制补体C2或补体C4激活,在存在或不存在TNT003的情况下将纯化C1s与C2或C4一起温育。如图46中所示,TNT003特异性抑制C1s对C4的激活而非C1s对C2的激活,这与以下一致:TNT003是C4与C1s结合的竞争性抑制剂,而非C1s丝氨酸蛋白酶结构域的抑制剂。

[0677] 图46:TNT003抑制C1s对补体C4而非补体C2的激活。将经纯化的人C1s与人补体C2或人补体C4一起在37℃下温育3小时。在SDS-PAGE凝胶上分离反应产物。TNT003特异性抑制人C1s对人补体C4而非补体C2的激活。

[0678] 实施例15:C1s测定

[0679] 通过ELISA测量患者样品中的C1s水平。在1X dPBS (Life Technologies,14190-144) 中将高结合板(Costar,3590)涂以100μl的5μg/ml兔多克隆C1s抗体(Abcam,ab87986)过夜。通过添加含1%明胶(Sigma-Aldrich,G2500)的1X dPBS进行阻断3小时。然后将这些板储存在4℃下。在使用之前,将板在37℃下温育15分钟。在用缓冲液A(1X dPBS,含有0.01%Tween 20和20mM EDTA)将板洗涤之后,向孔中添加在缓冲液A中的连续稀释的人血清或在缓冲液A中的纯化C1s。在环境温度下温育1小时后,用缓冲液A将孔洗涤三次。将每个孔与100μl的1μg/ml生物素标记的TNT003(在缓冲液A中稀释的)一起温育1小时,然后用缓冲液A洗涤三次。将孔与5000倍稀释的抗生蛋白链菌素偶联的马辣根过氧化物酶(HRP)(SouthernBiotech,7100-05)(在缓冲液A中稀释的)进一步温育10分钟。在用缓冲液A洗涤四次后,使用TMB(Thermo Scientific,34029)实现酶显色并且使用1M硫酸终止反应。测量在450nm下的吸光度。

[0680] 结果示于图47中。图47比较了健康志愿者(绿色;n=13)相对于CAD患者(灰色;n=27)的血浆样品中的C1s浓度。已发现,平均来说,健康个体与CAD患者之间的C1s浓度是相当的。这些数据提供了在I期试验中在健康或CAD患者中对于C1s抑制剂使用类似的剂量水平和给药方案以获得的目标覆盖率的理由。

[0681] 虽然已参考本发明的特定实施方案对本发明进行了描述,但本领域技术人员应理解,在不背离本发明的真实精神和范围的情况下,可以作出各种改变并且可用等效物代替。另外,可作出许多修改以使特定情形、材料、物质组成、工艺、一个或多个工艺步骤适于本发

明的目的、精神和范围。所有这些修改旨在处于所附权利要求书的范围内。

序列表

<110> VAN VLASSELAER, PETER
Parry, Graham
Stagliano, Nancy E
Panicker, Sandip

<120> 抗补体 C1s 抗体和其用途

<130> TNRX-801WO

<150> US 61/721,916
<151> 2012-11-02

<150> US 61/754,123
<151> 2013-01-18

<150> US 61/779,180
<151> 2013-03-13

<150> US 61/846,402
<151> 2013-07-15

[0001]

<160> 69

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成氨基酸序列

<400> 1

Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu His
1 5 10

<210> 2
<211> 7
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 2

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 3

[0002] His Gln Tyr Tyr Arg Leu Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 4

Asn Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 5

Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser His Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

[0003] <400> 6

Leu Phe Thr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 7

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 7

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Leu Trp
 35 40 45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu
 65 70 75 80

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

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

[0004] <210> 8
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成氨基酸序列

<400> 8

Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ile Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser His Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Val

	50	55	60
	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asp Thr Leu Tyr		
	65	70	75 80
	Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys		
		85	90 95
	Ala Arg Leu Phe Thr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
	100	105	110
	Ser Val Thr Val Ser Ser		
	115		
[0005]	<210>	9	
	<211>	673	
	<212>	PRT	
	<213>	智人	
	<400>	9	
	Glu Pro Thr Met Tyr Gly Glu Ile Leu Ser Pro Asn Tyr Pro Gln Ala		
	1	5	10 15
	Tyr Pro Ser Glu Val Glu Lys Ser Trp Asp Ile Glu Val Pro Glu Gly		
	20	25	30
	Tyr Gly Ile His Leu Tyr Phe Thr His Leu Asp Ile Glu Leu Ser Glu		
	35	40	45
	Asn Cys Ala Tyr Asp Ser Val Gln Ile Ile Ser Gly Asp Thr Glu Glu		
	50	55	60
	Gly Arg Leu Cys Gly Gln Arg Ser Ser Asn Asn Pro His Ser Pro Ile		
	65	70	75 80

Val Glu Glu Phe Gln Val Pro Tyr Asn Lys Leu Gln Val Ile Phe Lys
85 90 95

Ser Asp Phe Ser Asn Glu Glu Arg Phe Thr Gly Phe Ala Ala Tyr Tyr
100 105 110

Val Ala Thr Asp Ile Asn Glu Cys Thr Asp Phe Val Asp Val Pro Cys
115 120 125

Ser His Phe Cys Asn Asn Phe Ile Gly Gly Tyr Phe Cys Ser Cys Pro
130 135 140

Pro Glu Tyr Phe Leu His Asp Asp Met Lys Asn Cys Gly Val Asn Cys
145 150 155 160

[0006] Ser Gly Asp Val Phe Thr Ala Leu Ile Gly Glu Ile Ala Ser Pro Asn
165 170 175

Tyr Pro Lys Pro Tyr Pro Glu Asn Ser Arg Cys Glu Tyr Gln Ile Arg
180 185 190

Leu Glu Lys Gly Phe Gln Val Val Val Thr Leu Arg Arg Glu Asp Phe
195 200 205

Asp Val Glu Ala Ala Asp Ser Ala Gly Asn Cys Leu Asp Ser Leu Val
210 215 220

Phe Val Ala Gly Asp Arg Gln Phe Gly Pro Tyr Cys Gly His Gly Phe
225 230 235 240

Pro Gly Pro Leu Asn Ile Glu Thr Lys Ser Asn Ala Leu Asp Ile Ile
245 250 255

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

His Gly Asp Pro Met Pro Cys Pro Lys Glu Asp Thr Pro Asn Ser Val
275 280 285

Trp Glu Pro Ala Lys Ala Lys Tyr Val Phe Arg Asp Val Val Gln Ile
290 295 300

Thr Cys Leu Asp Gly Phe Glu Val Val Glu Gly Arg Val Gly Ala Thr
305 310 315 320

Ser Phe Tyr Ser Thr Cys Gln Ser Asn Gly Lys Trp Ser Asn Ser Lys
325 330 335

[0007] Leu Lys Cys Gln Pro Val Asp Cys Gly Ile Pro Glu Ser Ile Glu Asn
340 345 350

Gly Lys Val Glu Asp Pro Glu Ser Thr Leu Phe Gly Ser Val Ile Arg
355 360 365

Tyr Thr Cys Glu Glu Pro Tyr Tyr Tyr Met Glu Asn Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Tyr His Cys Ala Gly Asn Gly Ser Trp Val Asn Glu Val Leu Gly
385 390 395 400

Pro Glu Leu Pro Lys Cys Val Pro Val Cys Gly Val Pro Arg Glu Pro
405 410 415

Phe Glu Glu Lys Gln Arg Ile Ile Gly Gly Ser Asp Ala Asp Ile Lys
420 425 430

Asn Phe Pro Trp Gln Val Phe Phe Asp Asn Pro Trp Ala Gly Gly Ala
435 440 445

Leu Ile Asn Glu Tyr Trp Val Leu Thr Ala Ala His Val Val Glu Gly
450 455 460

Asn Arg Glu Pro Thr Met Tyr Val Gly Ser Thr Ser Val Gln Thr Ser
465 470 475 480

Arg Leu Ala Lys Ser Lys Met Leu Thr Pro Glu His Val Phe Ile His
485 490 495

Pro Gly Trp Lys Leu Leu Glu Val Pro Glu Gly Arg Thr Asn Phe Asp
500 505 510

[0008] Asn Asp Ile Ala Leu Val Arg Leu Lys Asp Pro Val Lys Met Gly Pro
515 520 525

Thr Val Ser Pro Ile Cys Leu Pro Gly Thr Ser Ser Asp Tyr Asn Leu
530 535 540

Met Asp Gly Asp Leu Gly Leu Ile Ser Gly Trp Gly Arg Thr Glu Lys
545 550 555 560

Arg Asp Arg Ala Val Arg Leu Lys Ala Ala Arg Leu Pro Val Ala Pro
565 570 575

Leu Arg Lys Cys Lys Glu Val Lys Val Glu Lys Pro Thr Ala Asp Ala
580 585 590

Glu Ala Tyr Val Phe Thr Pro Asn Met Ile Cys Ala Gly Gly Glu Lys
595 600 605

Gly Met Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Ala Phe Ala Val Gln
610 615 620

Asp Pro Asn Asp Lys Thr Lys Phe Tyr Ala Ala Gly Leu Val Ser Trp
625 630 635 640

Gly Pro Gln Cys Gly Thr Tyr Gly Leu Tyr Thr Arg Val Lys Asn Tyr
645 650 655

Val Asp Trp Ile Met Lys Thr Met Gln Glu Asn Ser Thr Pro Arg Glu
660 665 670

Asp

[0009] <210> 10
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成氨基酸序列

<400> 10

Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 11
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成氨基酸序列

<400> 11

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 12

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 12

Gly Gly Ser Gly
1

[0010]

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 13

Gly Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> 14

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 14

Gly Ser Gly Ser Gly

1 5

<210> 15

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 15

Gly Ser Gly Gly Gly

1 5

<210> 16

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

[0011]

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 16

Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 17

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 17

Gly Ser Ser Ser Gly

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 18

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

1 5

<210> 19

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0012]

<223> 合成氨基酸序列

<400> 19

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 20

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu

1 5 10

<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成氨基酸序列

<400> 21

His His His His His
1 5

<210> 22
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成氨基酸序列

[0013]

<400> 22

His His His His His His
1 5

<210> 23
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成氨基酸序列

<400> 23

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
1 5

<210> 24
<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 24

Arg Tyr Ile Arg Ser

1 5

<210> 25

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

[0014] <400> 25

Phe His His Thr

1

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 26

Trp Glu Ala Ala Ala Arg Glu Ala Cys Cys Arg Glu Cys Cys Ala Arg

1 5 10 15

Ala

<210> 27

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 27

Thr Phe Phe Tyr Gly Gly Cys Arg Gly Lys Arg Asn Asn Phe Lys Thr
1 5 10 15

Glu Glu Tyr

<210> 28

<211> 19

<212> PRT

[0015] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 28

Thr Phe Phe Tyr Gly Gly Ser Arg Gly Lys Arg Asn Asn Phe Lys Thr
1 5 10 15

Glu Glu Tyr

<210> 29

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 29

Cys Thr Phe Phe Tyr Gly Gly Ser Arg Gly Lys Arg Asn Asn Phe Lys
1 5 10 15

Thr Glu Glu Tyr
20

<210> 30

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 30

[0016] Thr Phe Phe Tyr Gly Gly Ser Arg Gly Lys Arg Asn Asn Phe Lys Thr
1 5 10 15

Glu Glu Tyr Cys
20

<210> 31

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 31

Thr Phe Val Tyr Gly Gly Cys Arg Ala Lys Arg Asn Asn Phe Lys Ser
1 5 10 15

<210> 32

<211> 12

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成氨基酸序列

<400> 32

Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu His
1 5 10

<210> 33
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成氨基酸序列

<400> 33

[0017]

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 34
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成氨基酸序列

<400> 34

Asn Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 35
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 35

Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser His Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

[0018] <400> 36

Leu Phe Thr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 37

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 37

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Leu Trp
35 40 45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu
65 70 75 80

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

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

[0019]

<210> 38

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 38

Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ile Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser His Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Phe Thr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

[0020]

<210> 39

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 39

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

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

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

Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser His Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Phe Thr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 40

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

[0021]

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 40

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

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

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

Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser His Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Phe Thr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 41

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

[0022]

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 41

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

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

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

Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser His Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Phe Thr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 42

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

[0023]

<400> 42

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

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

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

Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser His Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Phe Thr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 43

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 43

[0024]

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp
35 40 45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

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

Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100

105

<210> 44

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成氨基酸序列

<400> 44

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

1

5

10

15

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser

20

25

30

[0025]

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp

35

40

45

Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser

50

55

60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln

65

70

75

80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Arg Leu Pro

85

90

95

Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100

105

<210> 45
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成氨基酸序列

<400> 45

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp
35 40 45

[0026]

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

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

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

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

<210> 46
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> Synthetic nucleic acid sequence

<400> 46

gaagtgatgc tggaggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgagactc 60

tectgtgcag cctctggatt cactttcagt aattatgcca tgtcttgggt tcgccagget 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtcgcaacc attagtagtg gtggtagtca cacctattat 180

ttagacagtg tgaagggtcg attcaccatc tccagagaca attccaagga caccctgtac 240

ctgcaaata gcaagtctgag ggctgaggac acggccctgt attattgtgc aagactgttt 300

accggctatg ctatggacta ttgggggtcaa ggaacctcag tcacctctc ctca 354

<210> 47

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

[0027]

<220>

<223> Synthetic nucleic acid sequence

<400> 47

gaagtgatgc tggaggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgagactc 60

tectgtgcag cctctggatt cactttcagt aattatgcca tgtcttgggt tcgccagget 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtcgcaacc attagtagtg gtggtagtca cacctattat 180

ttagacagtg tgaagggtcg attcaccatc tccagagaca attccaagga caccctgtac 240

ctgcaaata acagtctgag ggctgaggac acggccctgt attattgtgc aagactgttt 300

accggctatg ctatggacta ttgggggtcaa ggaacctcag tcacctctc ctca 354

<210> 48

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Synthetic nucleic acid sequence

<400> 48

gaagtgatgc tggaggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgagactc 60

tectgtgcag cctctggatt cacttcagc aattatgcca tgtcttgggt tcgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtcgcaacc attagtagtg gtggtagtca cacctattat 180

ttagacagtg tgaagggtcg attcaccatc tccagagaca attccaagga caccctgtac 240

ctgcaaatga gcagtctgag ggctgaggac acggccctgt attattgtgc aagactgttt 300

accggctatg ctatggacta ttgggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc ctca 354

<210> 49

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

[0028]

<220>

<223> Synthetic nucleic acid sequence

<400> 49

gaagtgcagc tggaggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgagactc 60

tectgtgcag cctctggatt cacttcagc aattatgcca tgtcttgggt tcgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtcgcaacc attagtagtg gtggtagtca cacctattat 180

ttagacagtg tgaagggtcg attcaccatc tccagagaca attccaagaa caccctgtac 240

ctgcaaatga acagtctgag ggctgaggac acggccctgt attattgtgc aagactgttt 300

accggctatg ctatggacta ttgggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc ctca 354

<210> 50

<211> 327

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Synthetic nucleic acid sequence

<400> 50

caaattgttc tcaccagtc tcagcaate ctgtctctgt ctccagggga acgggccacc 60

atgtcctgca cagccagctc aagtgttaagt tcagttact tgcactggta ccagcagaag 120

ccaggaaagg cccccaaact ctggatttat agcacatcca acctggettc tggagtecca 180

tctcgctca gtggcagtggt gtctgggacc ttctacactc tcacaatcag cagcctgcag 240

gctgaagatt ttgccactta ttactgccac cagtattatc gttaccacc catcagttc 300

ggtcagggga ccaagctgga gatcaaa 327

<210> 51

<211> 327

<212> DNA

<213> 人工序列

[0029]

<220>

<223> Synthetic nucleic acid sequence

<400> 51

caaattgttc tcaccagtc tcagcaace ctgtctctgt ctccagggga acgggccacc 60

atgtcctgca cagccagctc aagtgttaagt tcagttact tgcactggta ccagcagaag 120

ccaggaaagg cccccaaact ctggatttat agcacatcca acctggettc tggagtecca 180

tctcgctca gtggcagtggt gtctgggacc gattacactc tcacaatcag cagcctgcag 240

cctgaagatt ttgccactta ttactgccac cagtattatc gttaccacc catcagttc 300

ggtcagggga ccaagctgga gatcaaa 327

<210> 52

<211> 327

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Synthetic nucleic acid sequence

<400> 52

caaatgttc tcaccagtc tcagcaacc ctgtctgtg ctccaggga acgggccacc 60

ctgtctgca cagccagctc aagtgtagt tccagtact tgcactgga ccagcagaag 120

ccaggaaagg ccccaaaact ctggatttat agcacatcca acctggcttc tggagtcca 180

tctcgctca gtggcagtgg gtctgggacc gattacactc tcacaatcag cagcctgcag 240

cctgaagatt ttgccactta ttactgccac cagtattatc gtttaccacc catcacgttc 300

ggtcaggga ccaagctgga gatcaaa 327

<210> 53

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

[0030]

<220>

<223> 合成肽

<400> 53

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

20 25

<210> 54

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 54

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10

<210> 55

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 55

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

[0031]

<210> 56

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 56

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 57

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 57

Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 58

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 58

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

[0032]

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 59

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 59

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
1 5 10

<210> 60

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 60

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 61

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

[0033]

<220>

<223> 合成肽

<400> 61

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser
20 25

<210> 62

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 62

Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

1 5 10

<210> 63

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 63

Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys

1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

[0034]

<210> 64

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 64

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 65

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 65

Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 66

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 66

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

[0035]

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 67

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 67

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys

20

<210> 68
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 68

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

[0036]

<210> 69
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 69

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

ERTMYGEILSPNYPQAYPSEVEKSWDIEVPEGYGIHLIYFTHLDIELSENCAYDSVQIISG
DTEGRLCGQRSSNNPHSPIVEEFQVPYNKLOVIFKSDFSNEERFTGFAAYVATDINEC
TDFVDVPCSHFCNNFIGGYFCSCPPEYFLHDDMKNCGVNCSGDVFTALIGELASPNYPKP
YPENSRCEYQIRLEKGFQVVVTLRREDFVEAADSAGNCLDSLFFVACDRQFGPYCGHGF
PGPLNIETKSNALDIIFQTDLTGQKNGWKLRYHGDPMPCPKEDTPNSVWEPAKAKYVERD
VVQITCLDGFVEVVEGRVGCATSFYSTCCSNCKWNSKLNKQPVDCGIPESIENGKVEDEPES
TLFGSVIRYTCEEPYYMENCGGGEYHCACNGSWVNEVLGPELEPKCVPVCGVPREPFEK
QRIIGGSDADIKNFFWQVFFDNPWAGGALINEYWVLTAAHVVEGNREFTMYVGSTSVQTS
RLAKSKMLTPEHVFIHPGWKLLEVPEGRITNFDNDIALVRLKDPVKMGFTVSPICLPGTSS
DYNLMDGDLGLISGWGRTEKRDRAVRLKAARLEFVAPLRKCKEVKVENFTADAEAYVFTPN
MICAGGEKGMDSCKGDSGGAFAVQDPNDKTKFYAAGLVSWGPQCGTYGLYTRVKNYVDWI
MKTMQENSTPRED (SEQ ID NO:9)

图1

表 2

抗体	CDR-1	CDR-2	CDR-3	V 区
IPN-M34 VL	SEQ ID NO:1 SSVSSSYLHWYQ	SEQ ID NO:2 STSNLASGVP	SEQ ID NO:3 HQYYRLPPIT	SEQ ID NO:7 DIVMTQTAIMSASLGERVTMTCTASSSVSSSYL HWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSG SGTFYSLTISSEAEEDDATYYCHQYYRLPPITFG AGTKLELK
IPN-M34 VH	SEQ ID NO:4 GFTFSNYAMSWV	SEQ ID NO:5 ISSGGSHTYY	SEQ ID NO:6 ARLFTGYAMDY	SEQ ID NO:8 QVKLEESGGALVKPGGSLKLSCAASGFTFSNVA MSWVRQIPEKRLIEWATISSGGSHYYLDSVK GRFTISRDNARDTLYLQMSSLSRSEDTALYYCAR LFTGYAMDYWGQGTSTV

图2

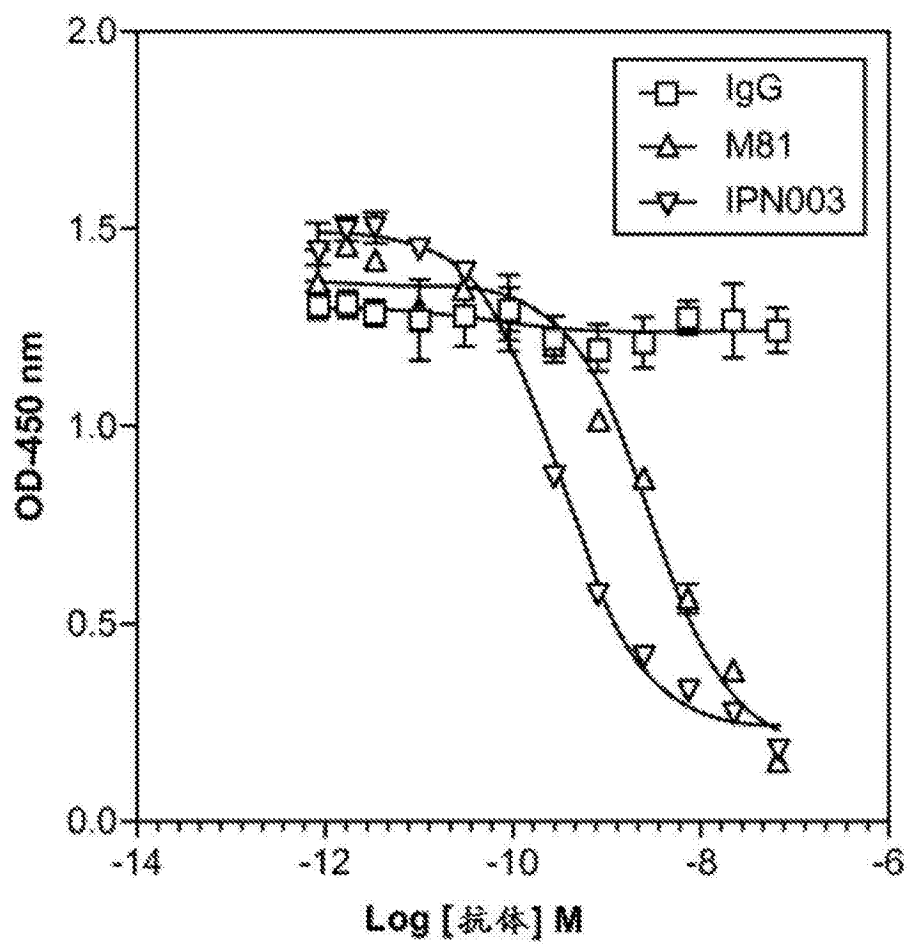


图3

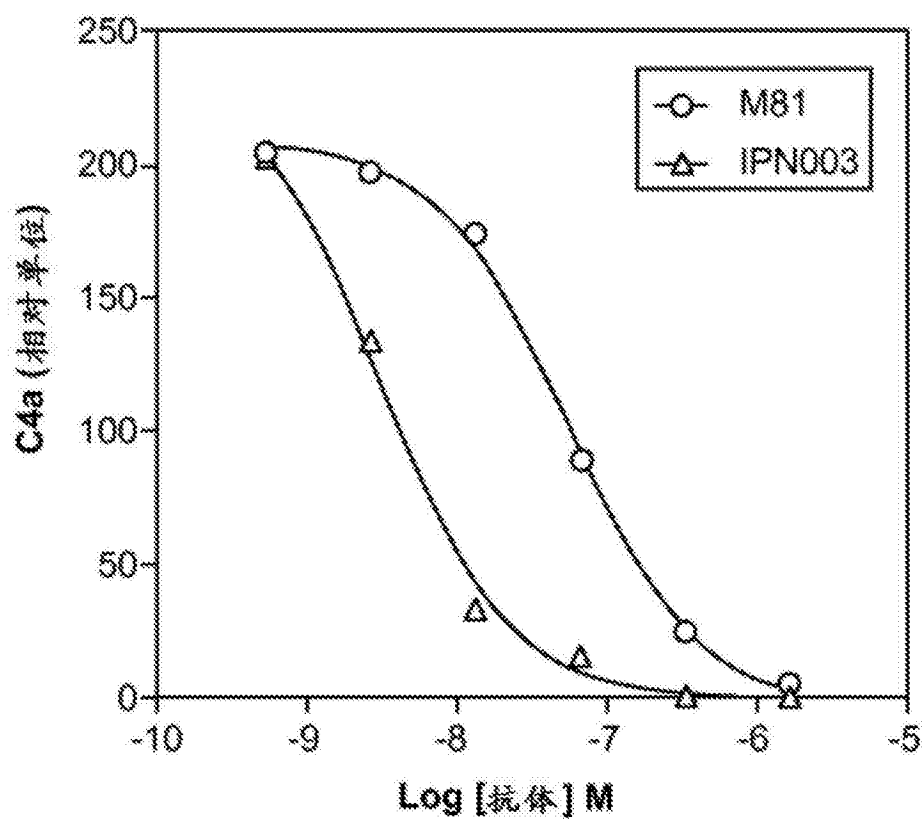


图4

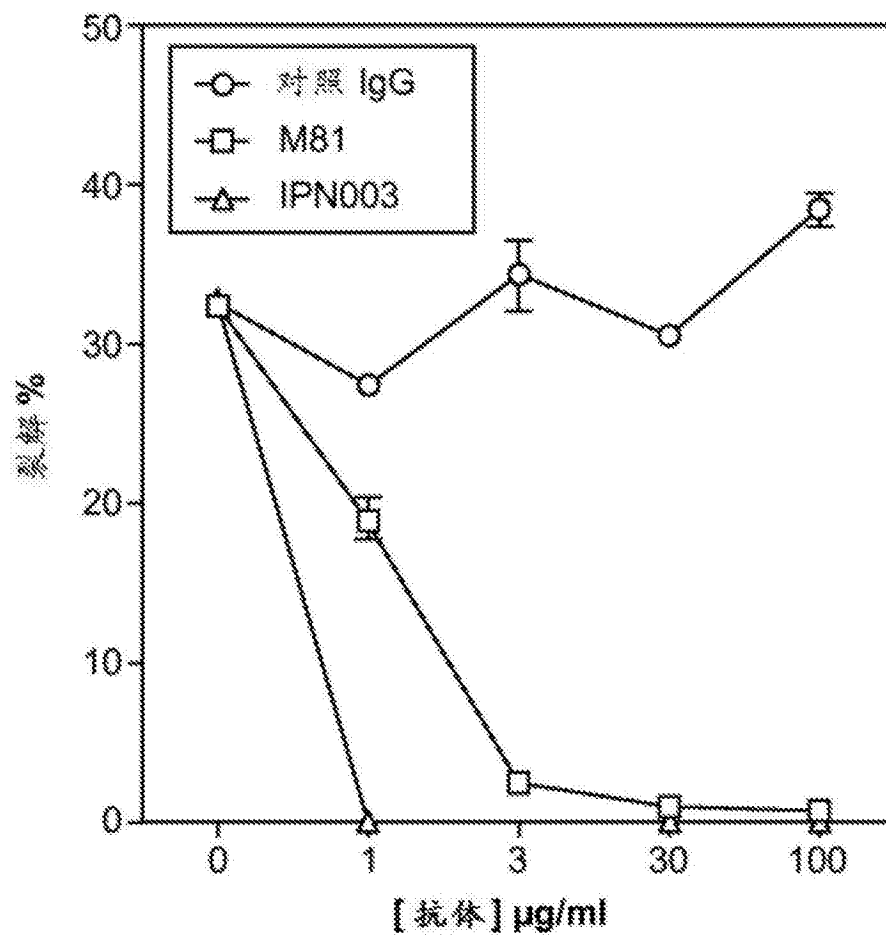


图5

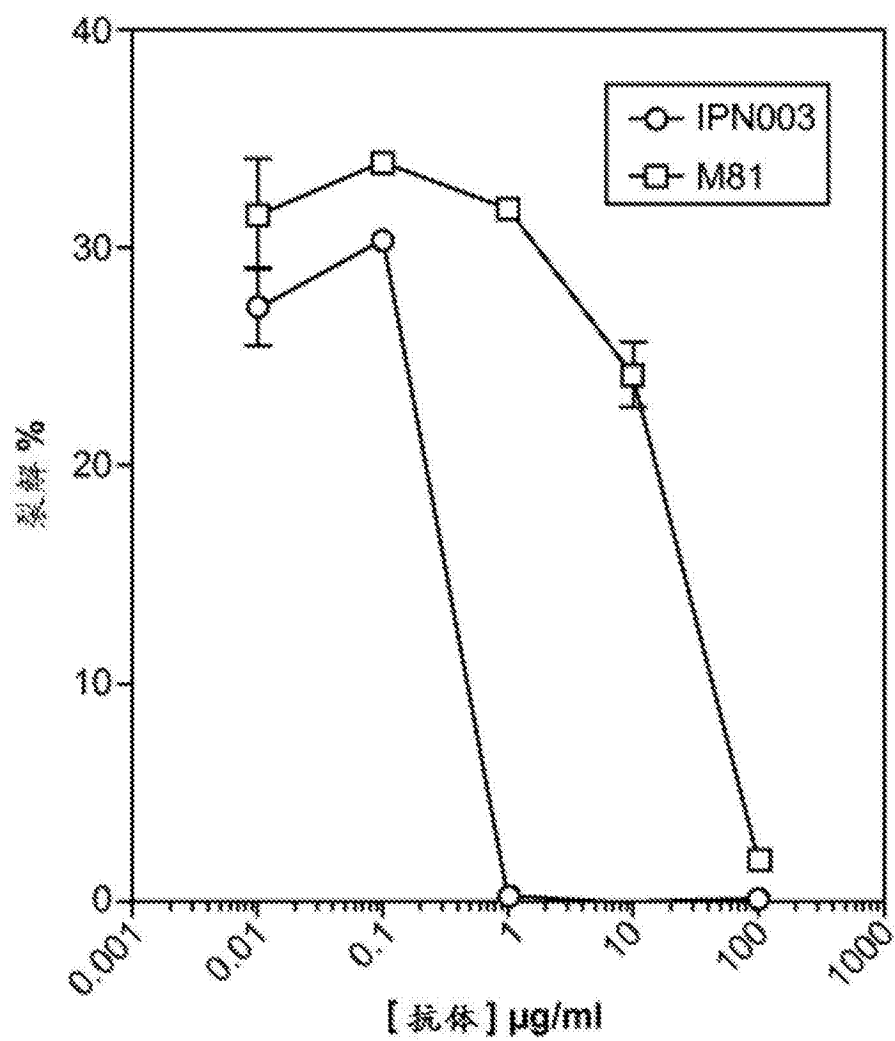


图6

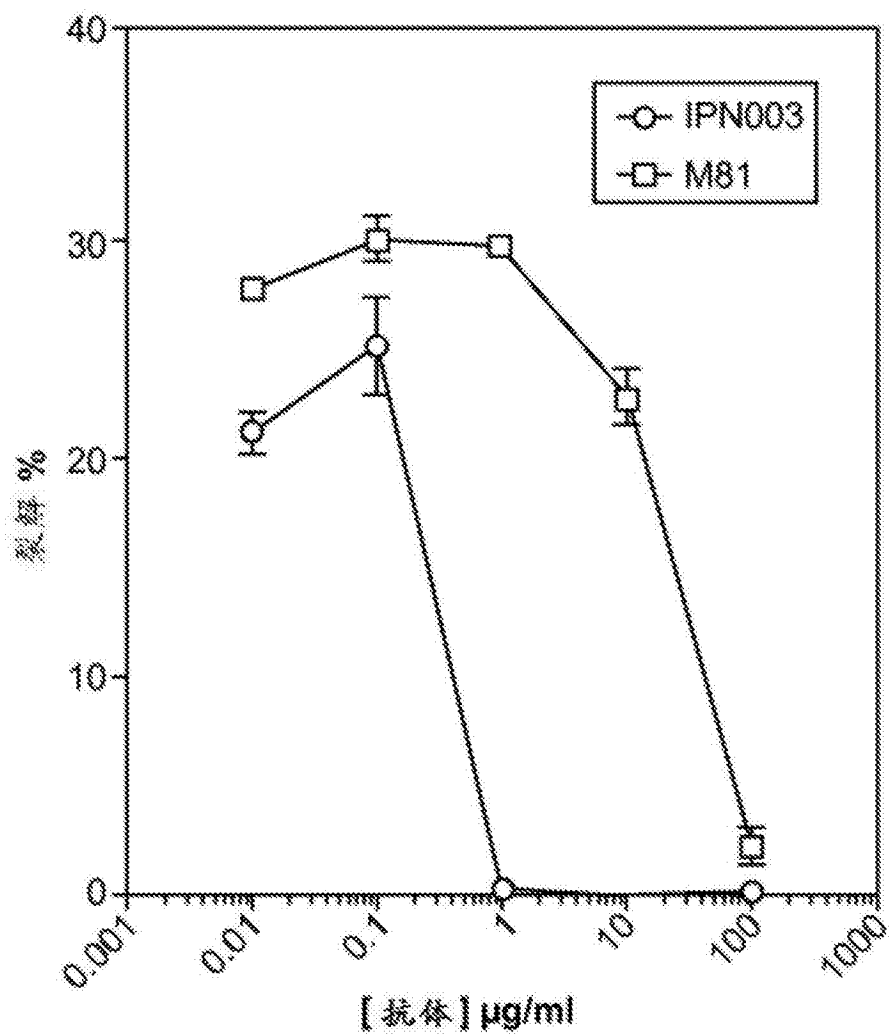


图7

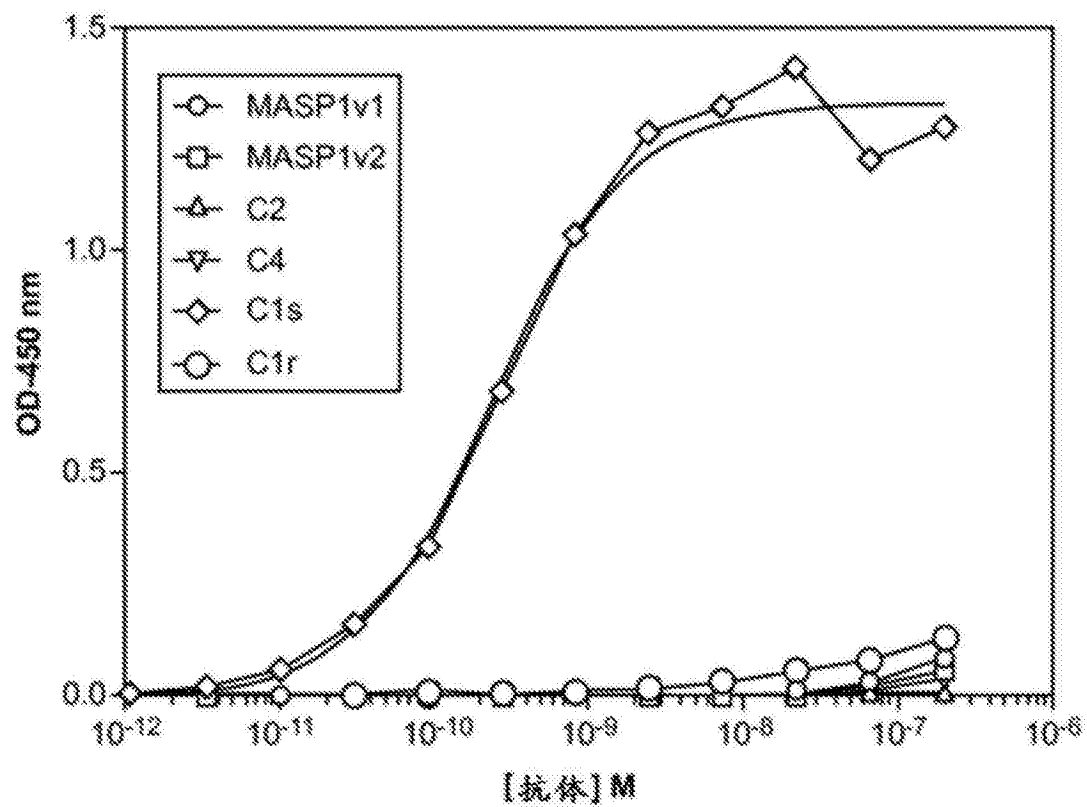


图8

表 4: 结合于非活性和活性人 C1s 的 IPN003 的特征

抗体	同种型	非活性 C1s				活性 C1s			
		K_D (M)	$K_{结合}$ (1/Ms)	$K_{解离}$ (1/s)	K_D (M)	$K_{结合}$ (1/Ms)	$K_{解离}$ (1/s)	K_D (M)	$K_{结合}$ (1/Ms)
M81	IgG1	1.23E-09	1.65E+05	2.72E-04	1.09E-09	1.68E+05	1.84E-04	1.09E-09	1.68E+05
IPN003	IgG2a	1.58E-09	3.56E+05	5.53E-04	2.04E-09	3.23E+05	6.58E-04	2.04E-09	3.23E+05

图9

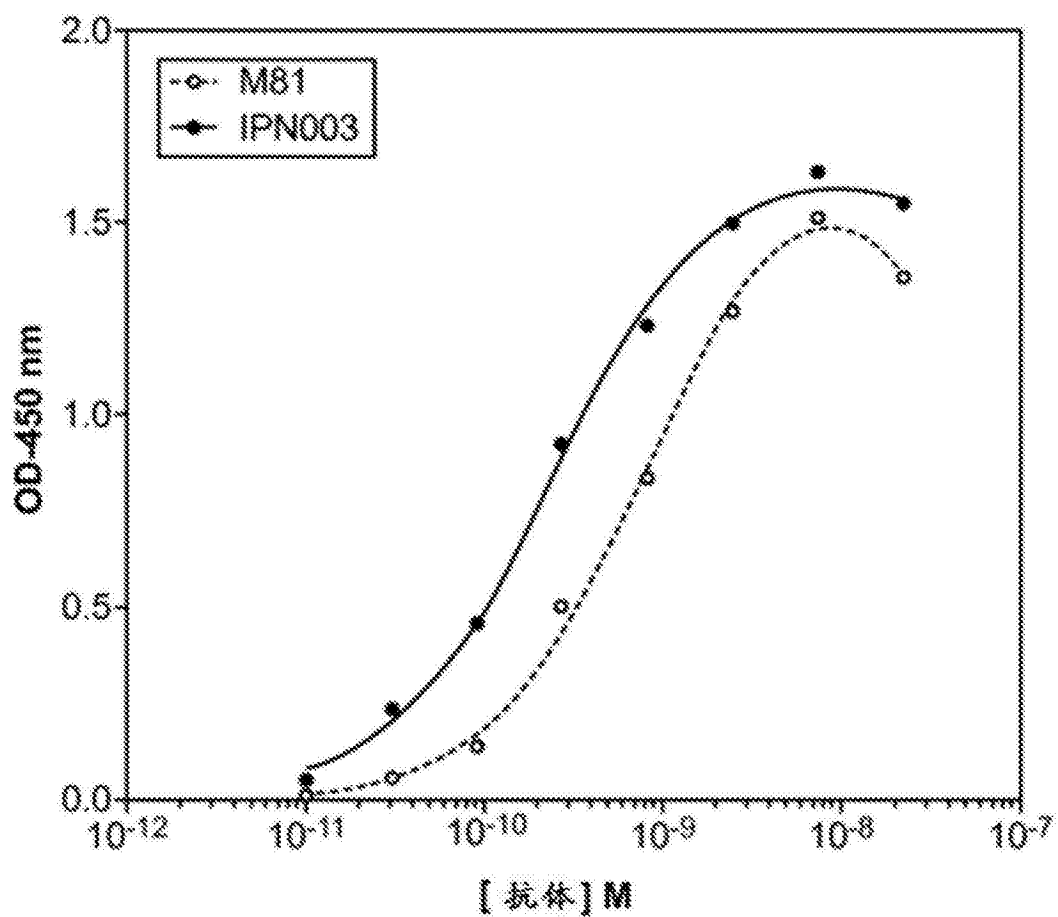


图10

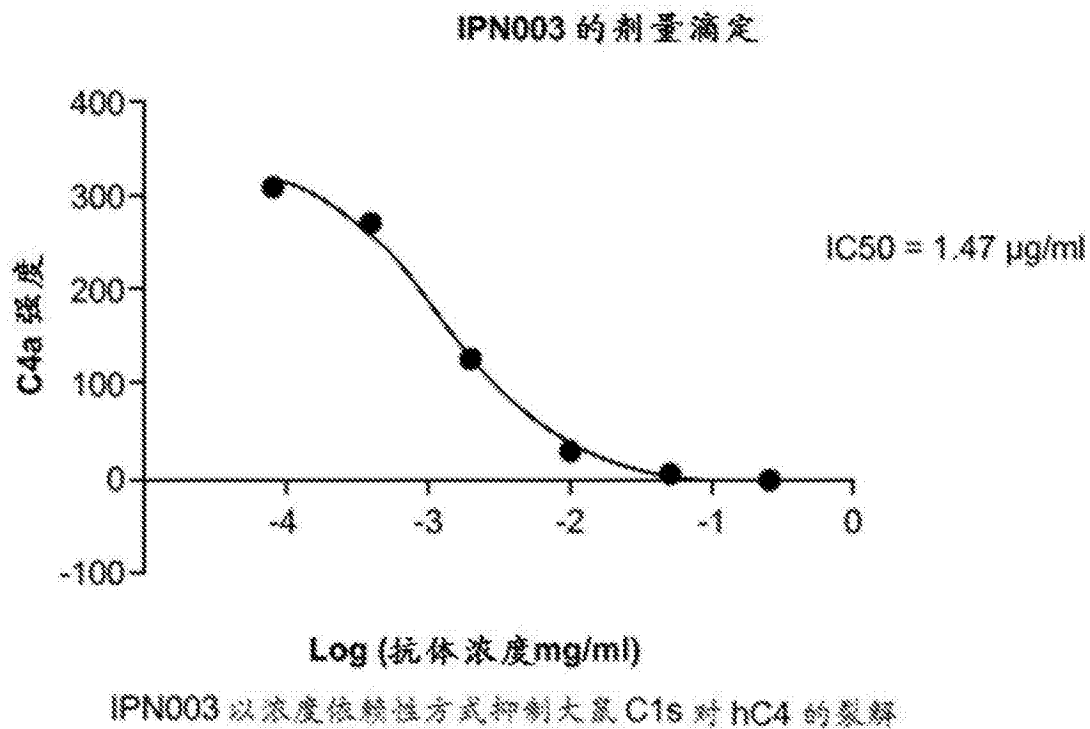


图11

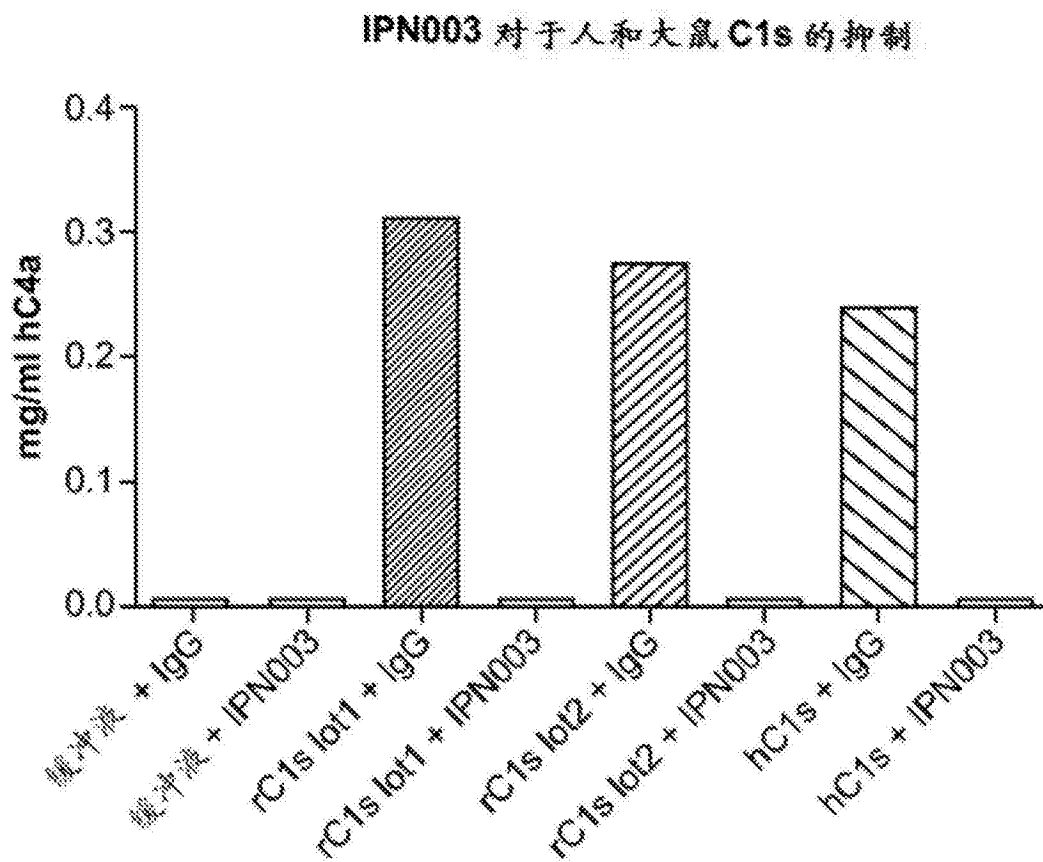


图12

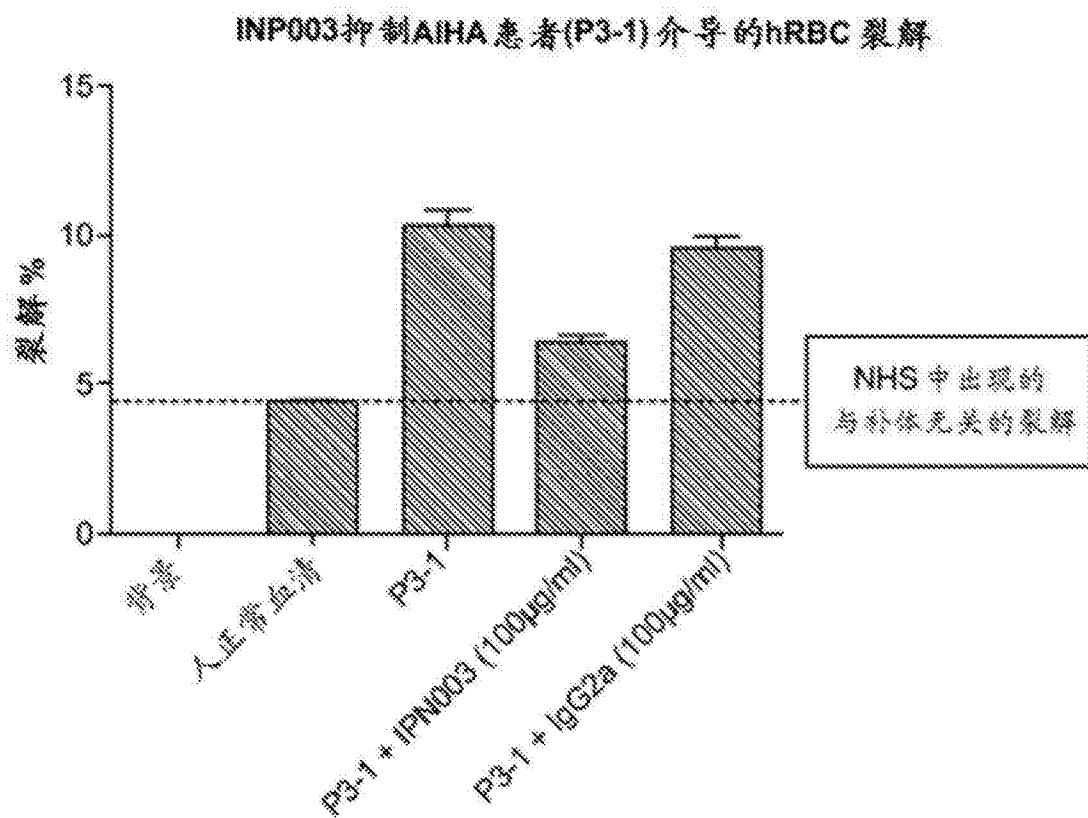


图13

IPN003 抑制在 AIHA 血清样品中温育的
hRBC 上的 C3b 沉积

患者 P3-1 中的 C3b

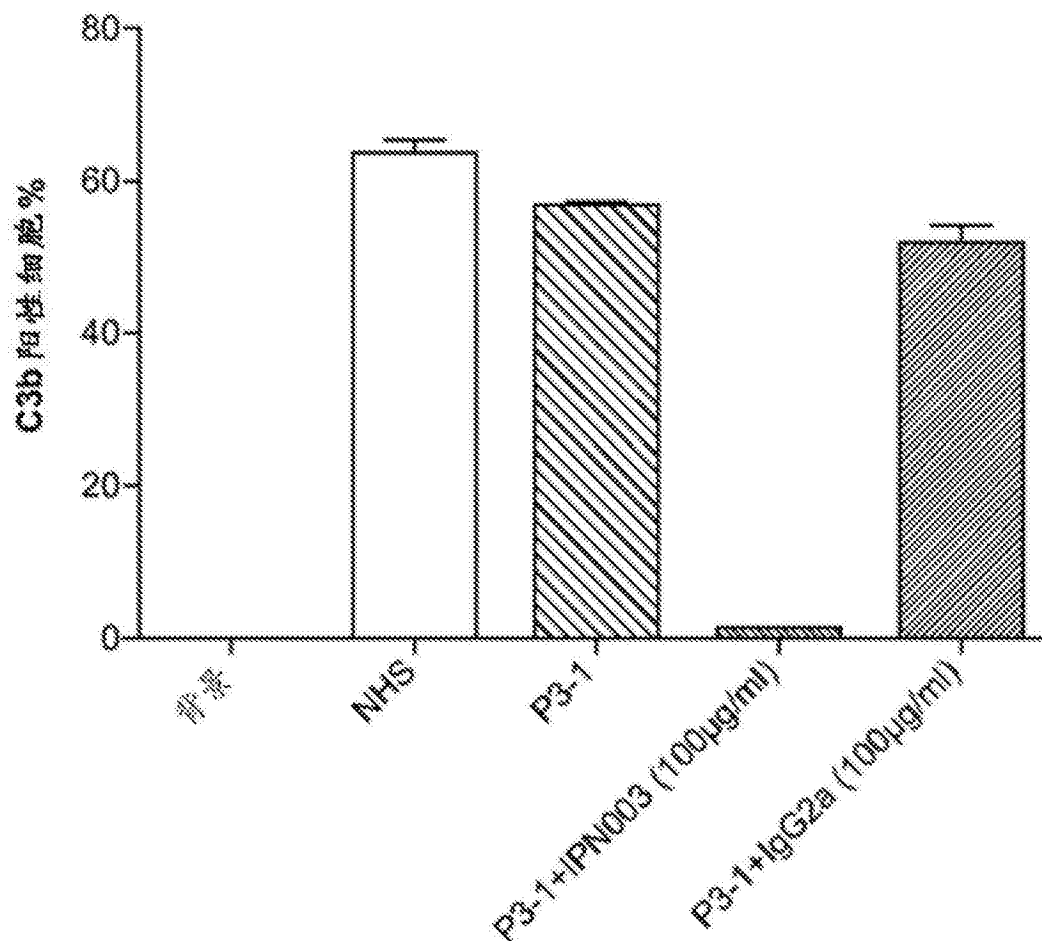


图14

抗体	CDR-1	CDR-2	CDR-3	V 区
IPN003 VL	SEQ ID NO:32 TASSSVSSSYLH	SEQ ID NO:33 STSNLAS	SEQ ID NO:3 HQYYRLPPIT	SEQ ID NO:37 QIVLTQSPAIMSASLGERVTMTCTASSSVSSYL HWYQOKPGSPKLIWYSTSNLASGVPARFSGSG SGTFYSLTISSMEAEEDATYYCHQYYRLPPITFG AGTKLELK
IPN003 VH	SEQ ID NO:34 NYAMS	SEQ ID NO:35 TISSGGSHTYYLD SVKG	SEQ ID NO:36 LFTGYAMDY	SEQ ID NO:38 EVMLVESGGALVKPGSLKLSCAASGFTFSNYA MSWVRQIPEKRLIEWATISSGGSHTYYLDSVK GRFTISRDNARDTLYLQMSSLSRSEDALYYCAR LFTGYAMDYWGQGTSTVTVSS

根据Kabat 编号系统的CDR 定义。

图15

126

VH 变体 1

```

10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
GAATGATGCTGCTGGAGTCTGGGGAGCGCTTATGTCAGCCCTGAGAGTCCCTGAGCCCTGCGATTCACTTCAGTAAATTATGCCA
E V M L V E S G G G L V K P G G S L R L S C A A S G F T F S N Y A
10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
TGCTTGGCTTCGCCAGGCTCCAGGAGCGAGCGGCTGGAGTGGTCCACCAATTAGTGGGGTAGTCACACCTATTATTAGACAGTCTGAGGGTGG
M S W V R Q A P G K G L E W V A T I S S G G S H T Y Y L D S V K G R
40      50      60      70      80      90     100
ATTCAACATCTCCAGAGACAATTCCAGACACCCCTGTACCTCCAAATGACAGCTCTCAGGGCTGAGGACACGGCCCTATTATTCTGCAAGACCTGTTT
F T I S R D N S K D T L Y L Q M S S L R A E D T A L Y Y C A R L F
70      80      90     100
ACGGGCTATGCTATGCACTATTTGGGGTCAGGAACTTCAGTCACTGCTGCTCA
T G Y A M D Y W G Q G T S V T V S S (SEQ ID NO:39)
100 A      110

```

图16

VH 变体 2

```

10      20      30      40      50      60      70      80      90
CAAGTCATGCTGCTGAGTCTGGGGAGGCTTAGTCGAGCCCTGAGCGTCCCTGACAGACTCTCCCTGTGTCACCCCTCTGCATTCACTTTCAGTAAATTATGCCCA
E V M L V E S G G L V K P G G S L R L S C A A S G F T F S N Y A
10      20
110    120    130    140    150    160    170    180    190    200
TGTCTTGGGTTGCGCCAGCCCTCCAGGGAAGGGCTGGGATGCGTCCCAACCATTTAGTAGTGGTGTAGTCACACCTATTATTAGACAGTGTCAAGGGTGG
M S W V R Q A P G K G L E W V A T I S S G G S H T Y Y L D S V K G R
40      50      52 A      60
210    220    230    240    250    260    270    280    290    300
ATTACACATCTCCAGACACAAATCCAGGACACCCCTGTACCTGCAATGACAGATCTGAGGACCTGAGGACACGCGCCCTGTATTATTGTCCAGACATGTTT
F T I S R D N S K D T L Y L Q M N S L R A E D T A L Y Y C A R L F
70      80      82 A B C      90
310    320    330    340    350
ACCGGCTATGCTATGGACTATTGGGGTCAAGCAACCCCTGGTCAACCGTCTCTCTCA
T G Y A M D Y W G Q G T L V T V S S (SEQ ID NO:40)
100 A      110

```

图17

三條後山

```

10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
CAAGTCATCCTCTCCAGCTTCGGGAGCGCTTACTGCAAGCCTCCAGCGTTCCTGCAGACTCTCCAGCTTCGGGATTCACATTCACATTAATTATGCCCA
E V M L V E S G C G L V K P G G S L R L S C A A S G F F F S N Y A
10      20
TGTCTTGGGTTCCGACGCTCCAGCGGAGCGGCTGGAGTGGCTCCGAACCATTAAGTAGTGGTGGTAGTCACACTATTATTAGACAGTGTGAGGCTGCG
M S W V R Q A P G K G L E W V A T I S S G G S H T Y Y L D S V K G R
40      50      60
ATTACCATCTCCACAGACAATTCGACAAACACACCTGTACCTCCAAATGACAGACTCTCAGGGCTTAGGACACGCGCCTGTATTATTCTCCACAGACTGTTT
F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A L Y Y C A R L F
70      80      90
ACCGGCTATGCTATGGACTATTGGGGTCAAGCGAACCTGTGTCACCGTCTCTCA
110      120      130      140      150      160      170      180      190
TGTCTTGGGTTCCGACGCTCCAGCGGAGCGGCTGGAGTGGCTCCGAACCATTAAGTAGTGGTGGTAGTCACACTATTATTAGACAGTGTGAGGCTGCG
M S W V R Q A P G K G L E W V A T I S S G G S H T Y Y L D S V K G R
40      50      60
ATTACCATCTCCACAGACAATTCGACAAACACACCTGTACCTCCAAATGACAGACTCTCAGGGCTTAGGACACGCGCCTGTATTATTCTCCACAGACTGTTT
F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A L Y Y C A R L F
70      80      90
ACCGGCTATGCTATGGACTATTGGGGTCAAGCGAACCTGTGTCACCGTCTCTCA
310      320      330      340      350
T G Y A M D Y W G Q G T L V T V S S (SEQ ID NO:41)
100 A
110

```

图 18

VH 变体 4

```

10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
CAAGTCACGCTGTCGAGTCGCGGAGGCTTAGTCAGGCTCCGAGCTCTCCGTCGACGCTCTCGATTCACTTTCAGCTAATTATGCCCA
E V Q L V E S G G G L V K P G G S L R L S C A A S G F T F S N Y A
10
110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
TGCTCTGGGTTGCGGAGGCTCCAGGAGGCGCTGAGCTGGCTCGCAACCATTTAGTCTGCTGCTGCTAGCTATATTATTTAGACAGTCTCAGGCTCG
M S W V R Q A P G K G L E W V A T I S S G G S H T Y Y L D S V K G R
40      50      60
210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
ATTACCAATCTCCAGAGACAAATCCAGACACACGCTGTACCTGCAGATGACAGTCTGAGGCTGAGGACACGCGCTGTATTATTGTCAGAGCTGTTT
E T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A L Y Y C A R L F
70      80      90
310     320     330     340     350
ACCGGCTATGCTATGGACTATTTGGGGTCAAGGAAACCTGTGTCACCGTCTCTCA
T G Y A M D Y W G Q G T L V T V S S (SEQ ID NO:42)
100 A      110

```

图19

VK 变体 1

10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
 CAAATGTTCTCACCAGTCTCCAGCAATCCTGTCTGTCTCCAGGGAACGGCCACCATGTCTCTCCAGCCAGCTCAAGTGAAGTTCACGTTACT
 Q I V L T Q S P A I L S L S P G E R A T M S C T A S S S V S S S Y
 10 20 27 A 30

110 120 130 140 150 160 170 180 190 200
 TGCACCTGGTACAGCAGAGCCAGGAAGGCCGCCCAACTCTGGATTATAGCNCATCCAACTGCTTCGGAGTCCCATCTGCTTCAGTGGCAGTGG
 L H W Y Q Q K P G K A P K L W I Y S T S N L A S G V P S R P S G S G
 40 50 60

210 220 230 240 250 260 270 280 290 300
 GTCTGGGACCTTTACACTCTCACAATCAGCAGCCGCGAGGCTGAGATTTCGCACTTATTACTGCAACCAAGTATATCGTTTACCACCCATCAGCTTC
 S G T F Y T L T I S S L Q A E D F A T Y Y C H Q X Y R L P P I T F
 70 80 90 95 A

310 320
 GCTCAGGGACCAAGCTGCAGATCAAA
 G Q G T K L E I K (SEQ ID NO:43)
 100 106 A

图20

VK 变体 2

```

10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
CAAATTGTCACCCAGTCTCTCCAGCAACCTGTCTCTGTCCTCCAGGGAACGGGCCACCAATGTCCTCCACGCCAGCTCANGTGTAACTTCCAGTTACT
Q I V L T Q S P A T L S L S P G S R A T M S C T A S S S V S S S Y
10
110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
TGCACCTGGTACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACGACG
L H W Y Q Q K P G K A P K L W K Y S T S N L A S G V P S R F S G S G
40
210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
GTCTGGGACCGATTACACTCTCTCAACAATCAGCCAGCCCTGAGCCCTCAACATTTTCCACTTATTACTCCACCCAGTATTCGTTTACCCACCCATCACGTTTC
S G T D Y T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C H Q Y Y R L P P I T F
70
310     320
GGTCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
G Q G T K L E I K (SEQ ID NO:44)
100

```

图21

VK 变体 3

```

10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
CAAAATGTTCTCACCAGTCTCCAGCAACCCCTGTCTCTGTCTCCAGGGGACGGCCACCCCTGTGTCCTGACAGCCAGCTCAAGTGTAACTTCCAGTTACT
Q I V L T Q S P A T L S L S P G E R A T L S C T A S S S V S S Y
10
110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
TGCACHTGGTACCAGCAGACAGCCAGCAAGCCCCCAAACTCTGCAATTATAGCACATCCCAACCTGCTCTGACGTCGCCATCTGCTCAGTGGCAGTGG
L H W Y Q Q K P G K A P K L N I Y S T S N L A S G V P S R F S G S G
40      50      60
210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
GTCTGGGACCGATTACACTCTTCACAAATCAGCAGCCGTCAGCCCTGACAGATTTTGGCCACTTATTACATGCCACCCAGTATTATCGTTTACACCCATCAGCTTC
S G T D Y T L T I S S L Q F E D F A T Y Y C H Q Y Y R L P P I T F
70      80      90     95 A

310     320
GCTCAGCGGACCAAGCTGCACATCAAA
G Q G T K L E I K (SEQ ID NO:45)
100     105 A

```

图22

表 7: VH 变体

氨基酸 位置	IPN003 (亲本抗体)	VH 变体 1	VH 变体 2	VH 变体 3	VH 变体 4
3	M	M	M	M	Q
10	A	G	G	G	G
19	K	R	R	R	R
40	I	A	A	A	A
42	E	G	G	G	G
44	R	G	G	G	G
74	A	S	S	S	S
75	R	K	K	K	K
76	D	D	D	N	N
82A	S	S	N	N	N
84	S	A	A	A	A
108	S	S	L	L	L

表 8: Vk 变体

氨基酸 位置	IPN003 (亲本抗体)	Vk 变体 1	Vk 变体 2	Vk 变体 3
10	I	I	T	T
11	M	L	L	L
13	A	L	L	L
15	L	P	P	P
19	V	A	A	A
21	M	M	M	L
22	T	S	S	S
42	S	K	K	K
43	S	A	A	A
60	A	S	S	S
70	F	F	D	D
72	S	T	T	T
78	M	L	L	L
79	E	Q	Q	Q
80	A	A	P	P
83	D	F	F	F
100	A	Q	Q	Q
106	L	I	I	I

图 23

表 9: IPN003 变体与激活 C1s 的结合

抗体	K_D (M)	$K_{\text{结合}}(1/\text{Ms})$	$K_{\text{解离}}(1/\text{s})$
VH1/Vk1	2.348E-10	9.734E+05	2.285E-04
VH1/Vk2	2.616E-10	1.049E+06	2.744E-04
VH1/Vk3	3.758E-10	9.137E+05	3.433E-04
VH2/Vk1	2.555E-10	1.073E+06	2.742E-04
VH2/Vk2	2.728E-10	1.026E+06	2.798E-04
VH2/Vk3	2.965E-10	9.477E+05	2.810E-04
VH3/Vk1	2.461E-10	1.034E+06	2.544E-04
VH3/Vk2	2.742E-10	1.133E+06	3.108E-04
VH3/Vk3	3.351E-10	1.075E+06	3.601E-04
VH4/Vk1	2.284E-10	1.187E+06	2.711E-04
VH4/Vk2	2.624E-10	1.005E+06	2.638E-04
VH4/Vk3	2.981E-10	1.041E+06	3.103E-04

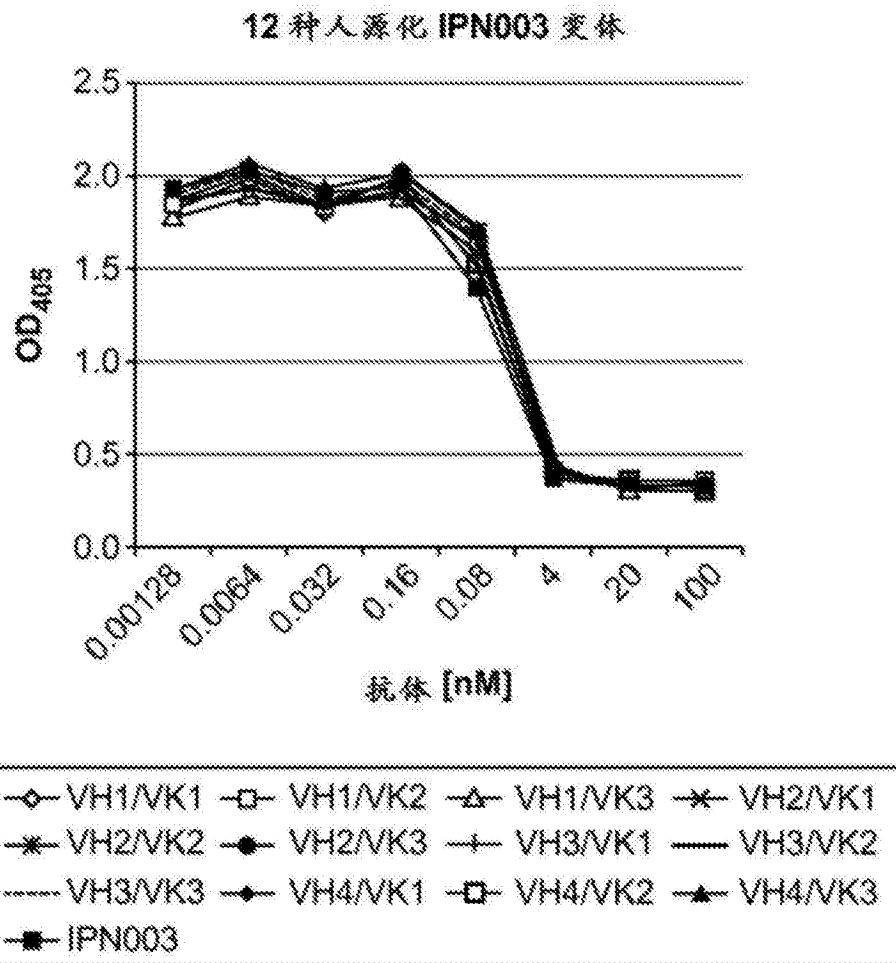
表 10: IPN003 变体与 pro- C1s 的结合

抗体	K_D (M)	$K_{\text{结合}}(1/\text{Ms})$	$K_{\text{解离}}(1/\text{s})$
VH1/Vk1	1.908E-10	1.039E+06	1.982E-04
VH1/Vk2	2.287E-10	1.089E+06	2.490E-04
VH1/Vk3	3.028E-10	9.406E+05	2.849E-04
VH2/Vk1	2.521E-10	1.040E+06	2.622E-04
VH2/Vk2	2.710E-10	9.930E+05	2.691E-04
VH2/Vk3	2.839E-10	9.675E+05	2.747E-04
VH3/Vk1	2.518E-10	1.015E+06	2.554E-04
VH3/Vk2	2.908E-10	1.083E+06	3.150E-04
VH3/Vk3	3.305E-10	1.061E+06	3.508E-04
VH4/Vk1	2.908E-10	1.097E+06	3.189E-04
VH4/Vk2	2.616E-10	1.007E+06	2.633E-04
VH4/Vk3	2.775E-10	1.104E+06	3.063E-04

图24

V 区 IDs	相对 IC ₅₀	来自 50ml 短暂培养物的产量(μg)
VH1/Vk1	1.24	410.6
VH1/Vk2	1.03	11.8
VH1/Vk3	1.21	11.7
VH2/Vk1	1.15	13.7
VH2/Vk2	1.04	18.3
VH2/Vk3	0.81	353.0
VH3/Vk1	0.92	105.2
VH3/Vk2	1.27	11.1
VH3/Vk3	1.05	16.7
VH4/Vk1	1.06	7.6
VH4/Vk2	0.76	329.5
VH4/Vk3	0.97	21.5
IPN003	0.91	-

图25



		低 [OD ₄₀₅]	高 [OD ₄₀₅]	IC ₅₀ [nM]
1	VH1/VK1	0.34	1.56	1.44
2	VH1/VK2	0.34	1.56	1.34
3	VH1/VK3	0.33	1.52	1.38
4	VH2/VK1	0.33	1.58	1.40
5	VH2/VK2	0.33	1.58	1.35
6	VH2/VK3	0.34	1.62	1.37
7	VH3/VK1	0.33	1.59	1.25
8	VH3/VK2	0.31	1.66	1.60
9	VH3/VK3	0.33	1.63	1.38
10	VH4/VK1	0.32	1.57	1.48
11	VH4/VK2	0.33	1.61	1.15
12	VH4/VK3	0.34	1.66	1.37
	IPN003	0.33	1.63	1.03

图26

3 种人源化 IPN003 变体

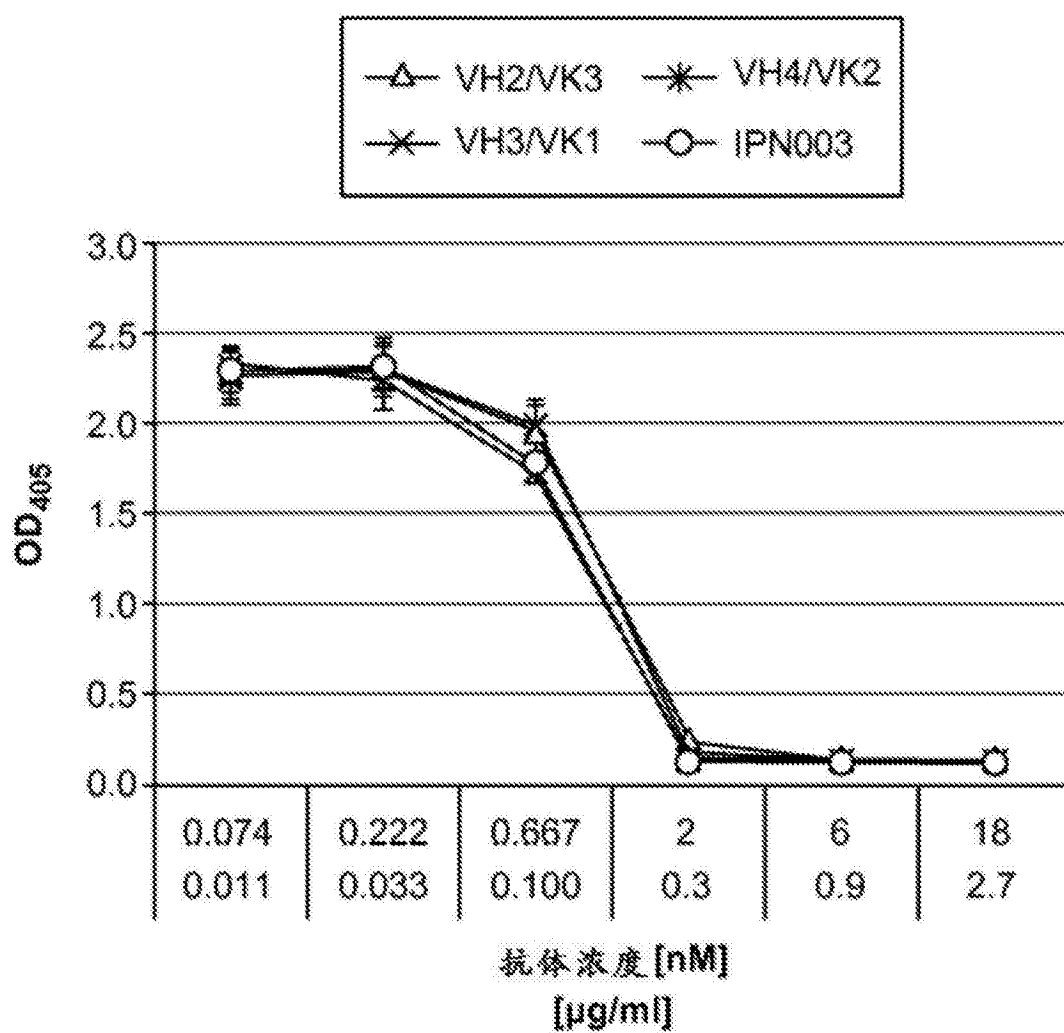


图27A

3 种人源化 IPN003 变体

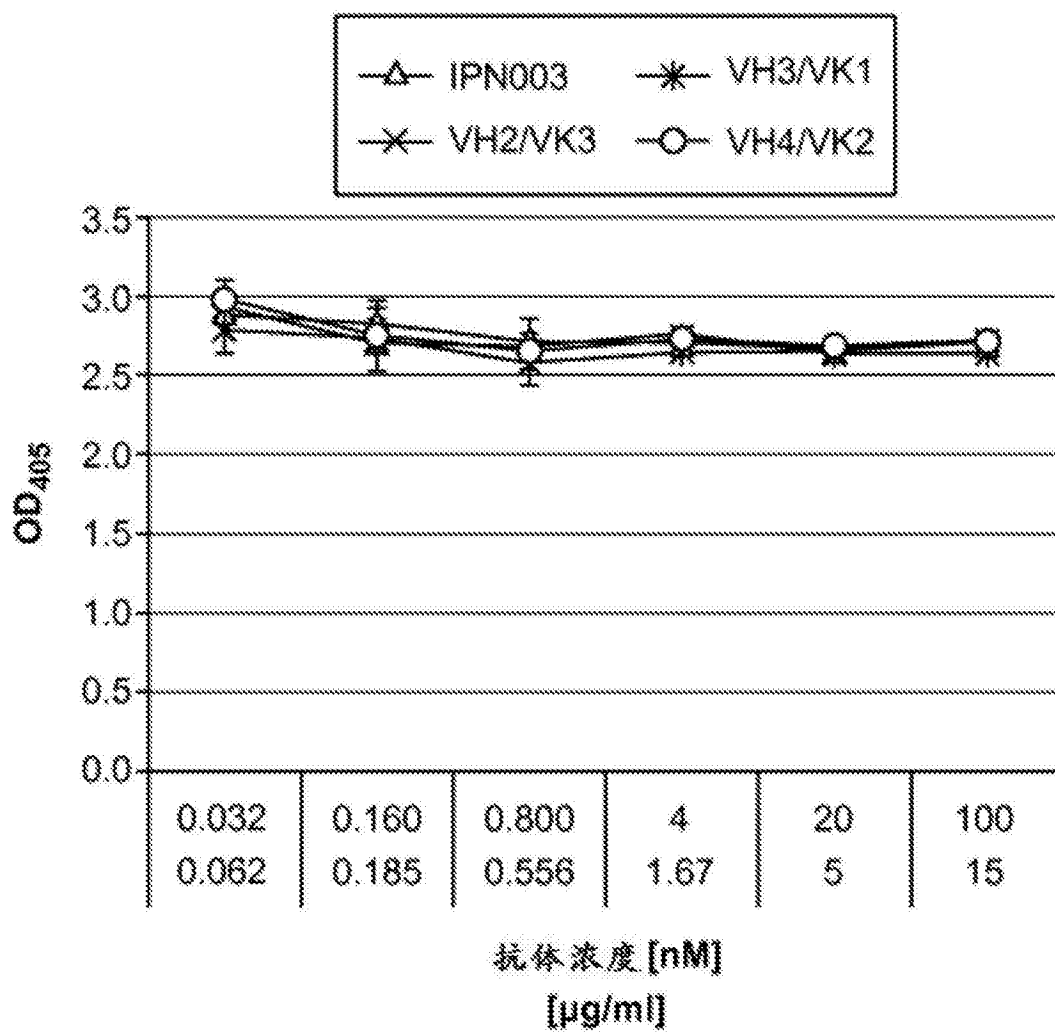


图27B

		IC ₅₀ (溶血)		IC ₅₀ (C3b 沉积)	
		(ug/ml)	(nM)	(ug/ml)	(nM)
	IPN003	0.73	4.87	1.62	10.77
	VH1/VK1	1.07	7.13	1.61	10.74
	VH2/VK2	0.962	6.41	3.52	23.47
	VH2/VK3	0.657	4.38	1.96	13.05
	VH3/VK1	0.578	3.85	1.05	6.97
	VH4/VK2	0.505	3.37	0.72	4.77
	VH4/VK3	1.012	6.75	2.66	17.75
		IC ₅₀ (溶血)		IC ₅₀ (C3b 沉积)	
		(ug/ml)	(nM)	(ug/ml)	(nM)
	IPN003	0.313	2.09	0.55	3.63
	VH1/VK1	0.611	4.07	0.90	6.00
	VH2/VK2	0.562	3.75	0.79	5.23
	VH2/VK3	0.432	2.88	0.64	4.24
	VH3/VK1	0.437	2.91	0.62	4.14
	VH4/VK2	0.346	2.31	0.61	4.09
	VH4/VK3	0.538	3.59	0.47	3.13

图28

IPN003 和 hu-IPN003 抑制 CAD 患者
血浆中的补体依赖性溶血

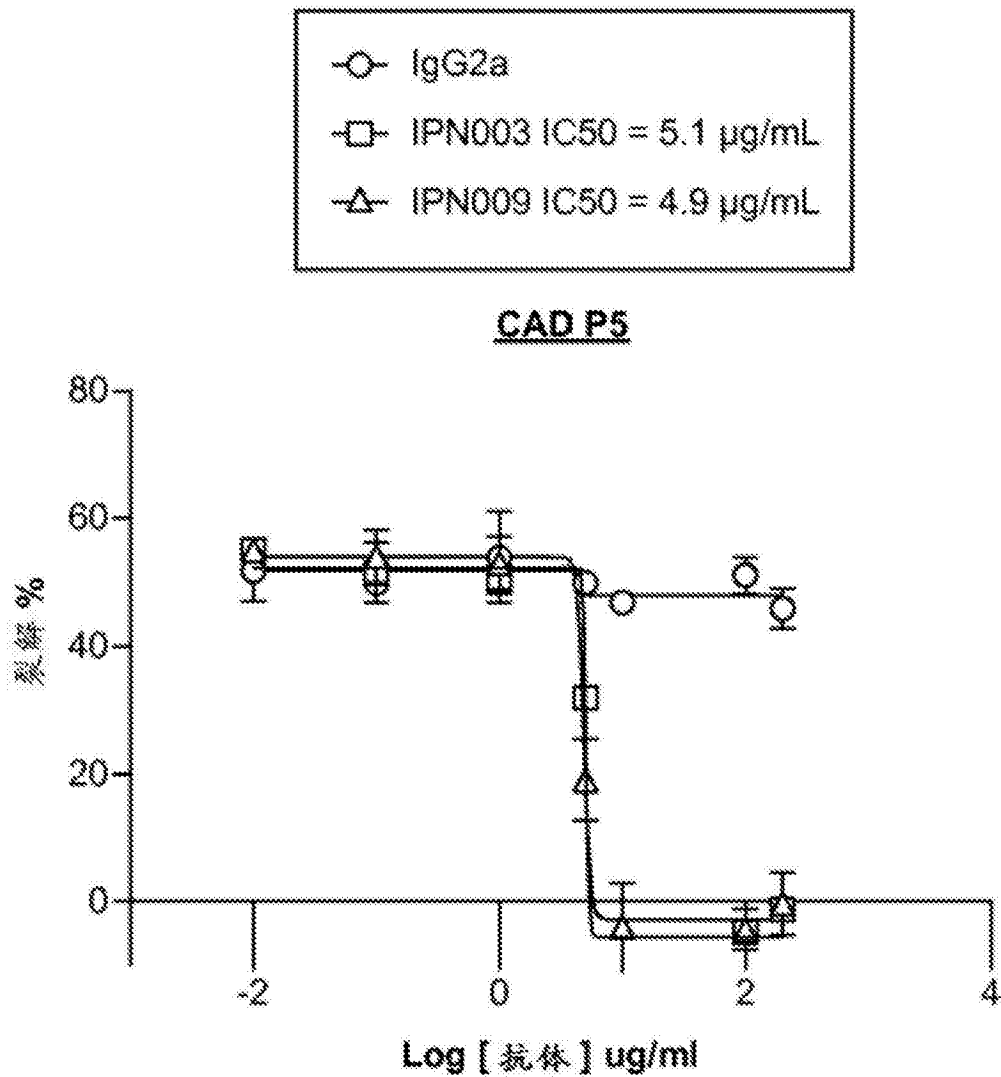


图29

hu-IPN003 和 IPN003 在 CAD 血浆介导的 hRBC
溶血测定中抑制过敏毒素产生

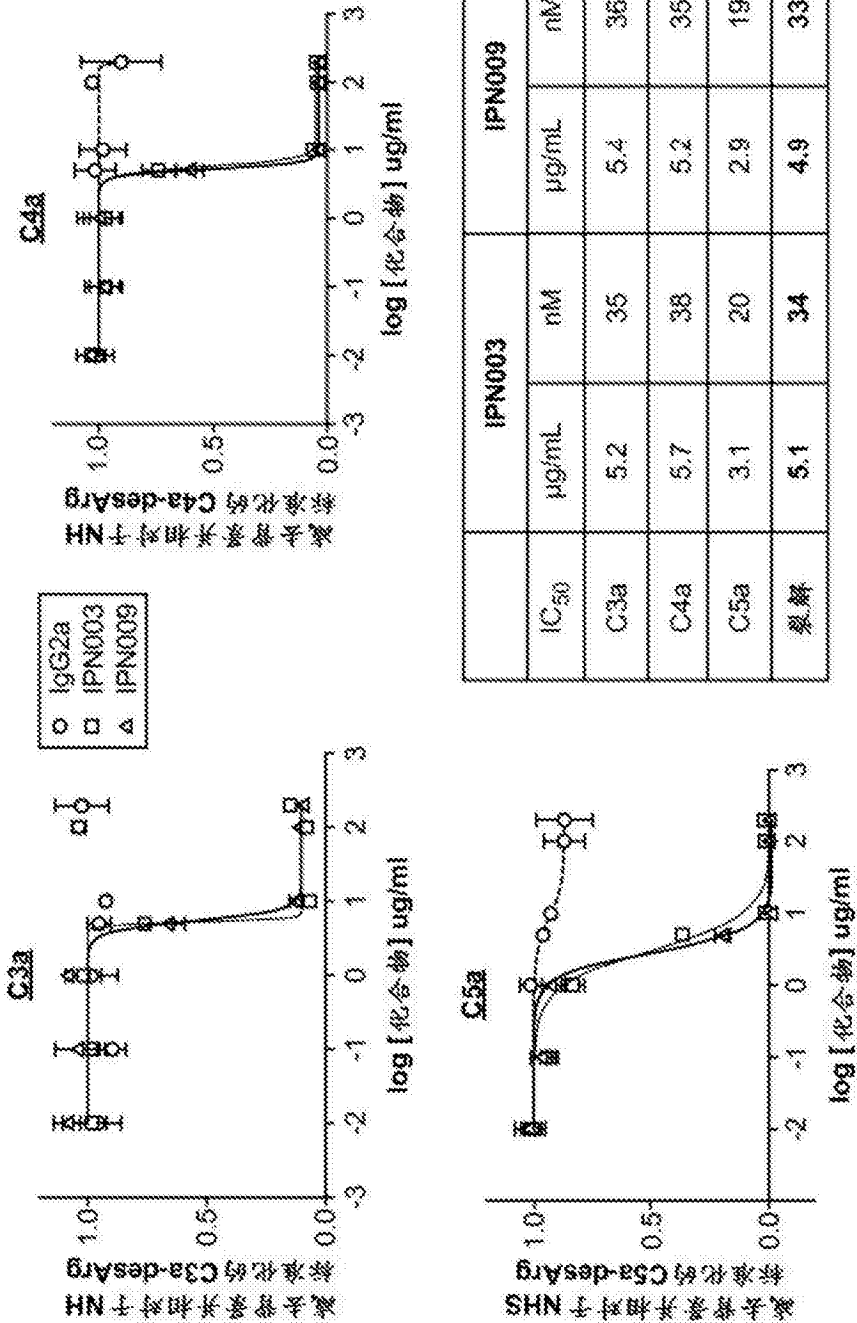


图30

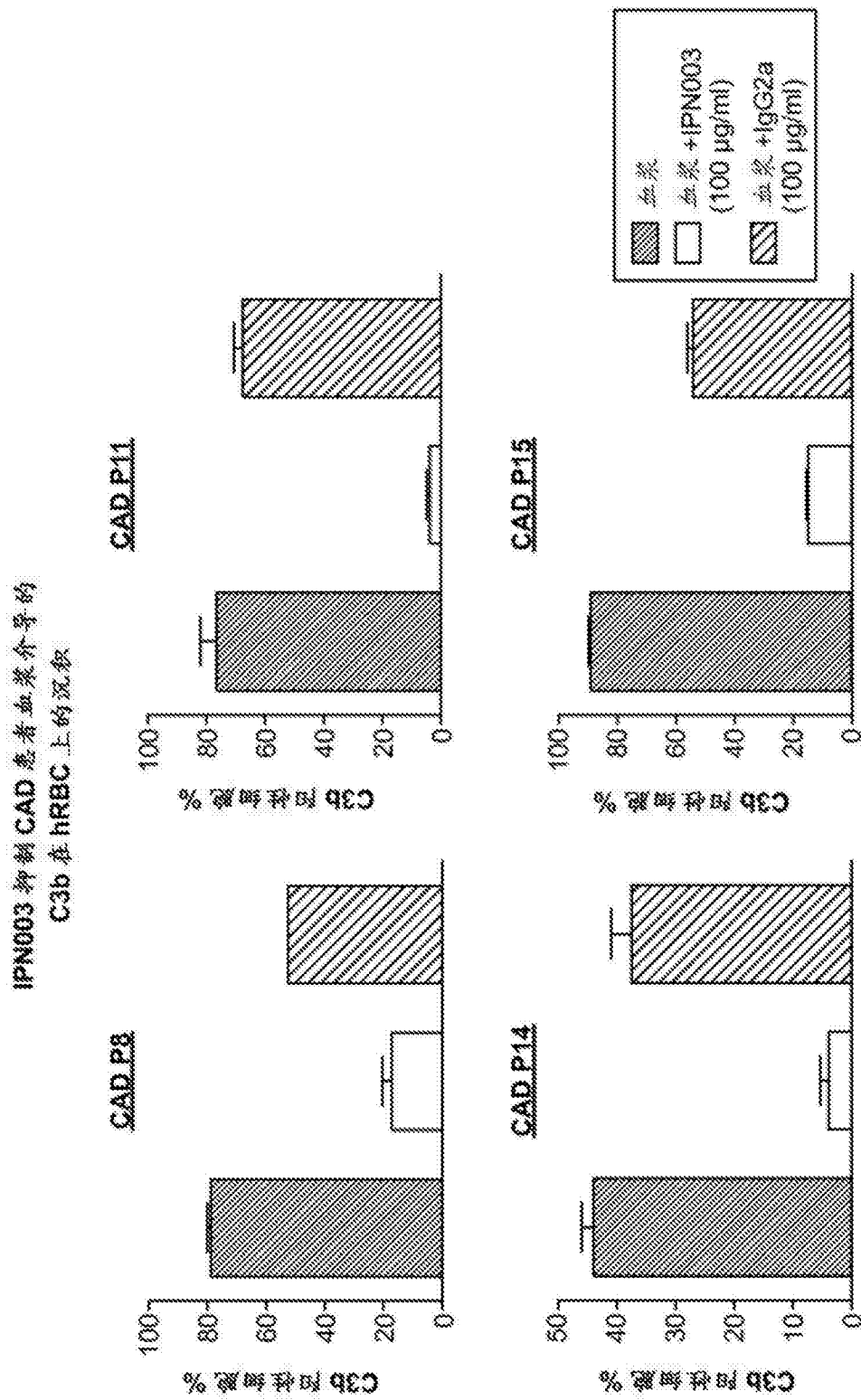


图31

IPN003 以浓度依赖性方式抑制CAD 血浆介导的C3b 沉积

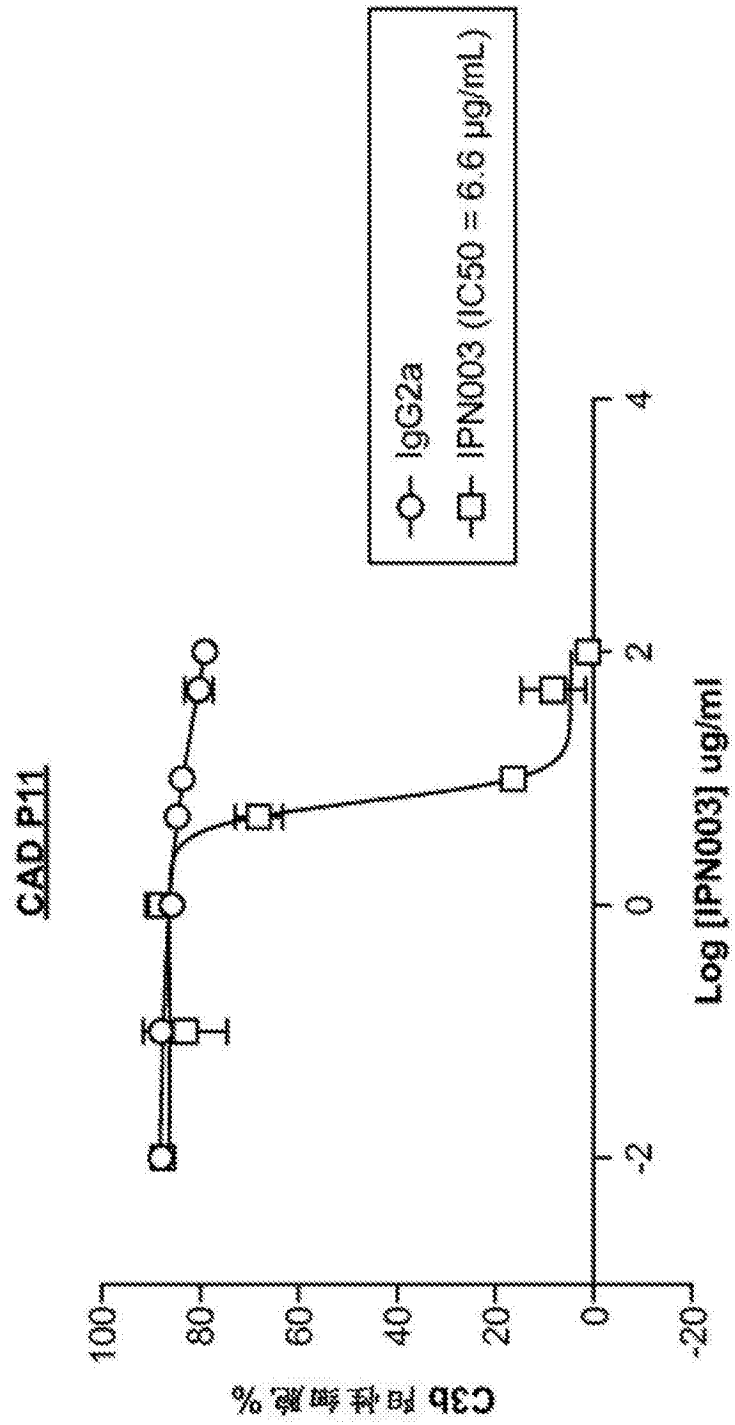


图32

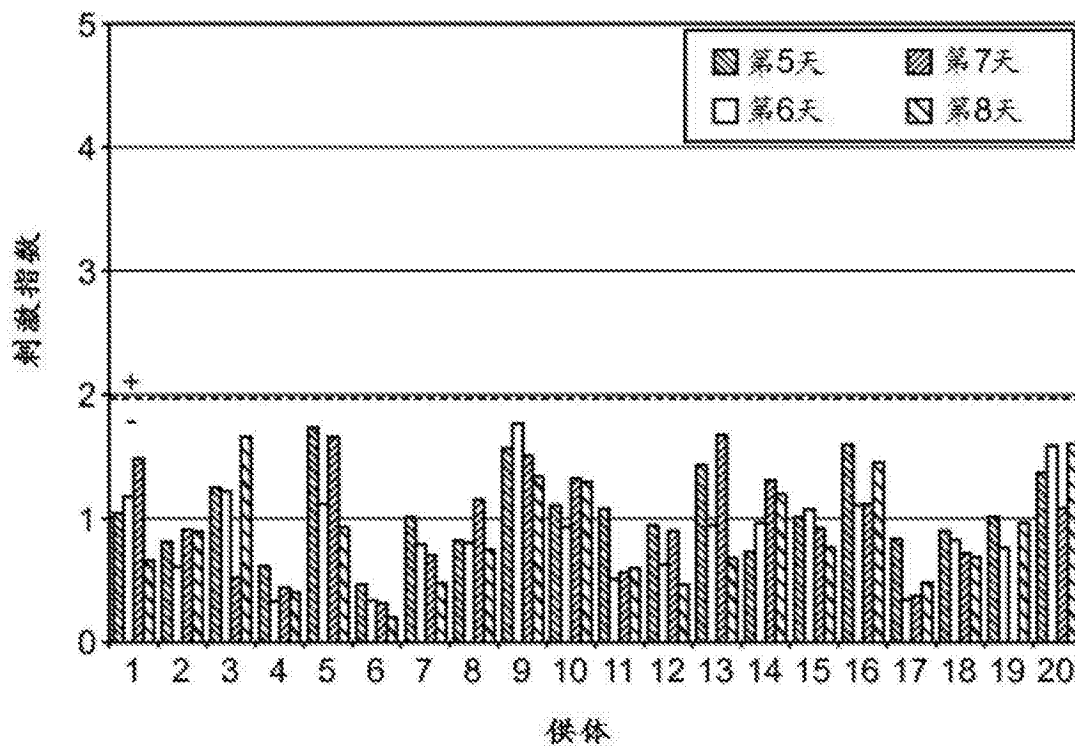


图33A

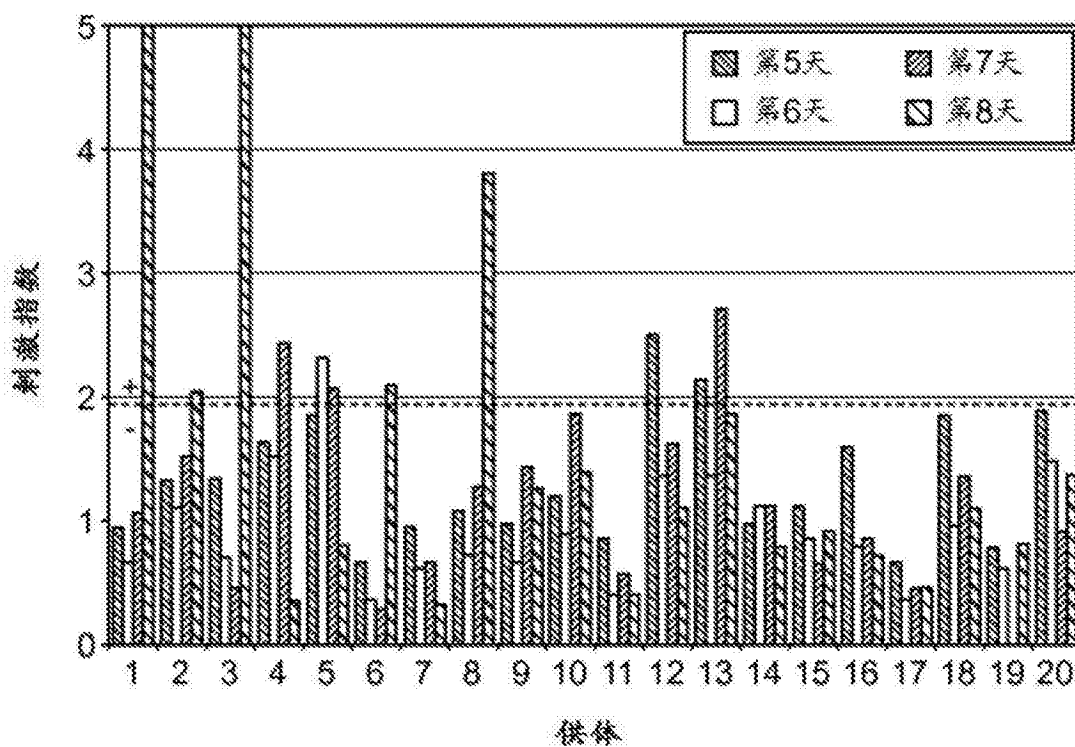


图33B

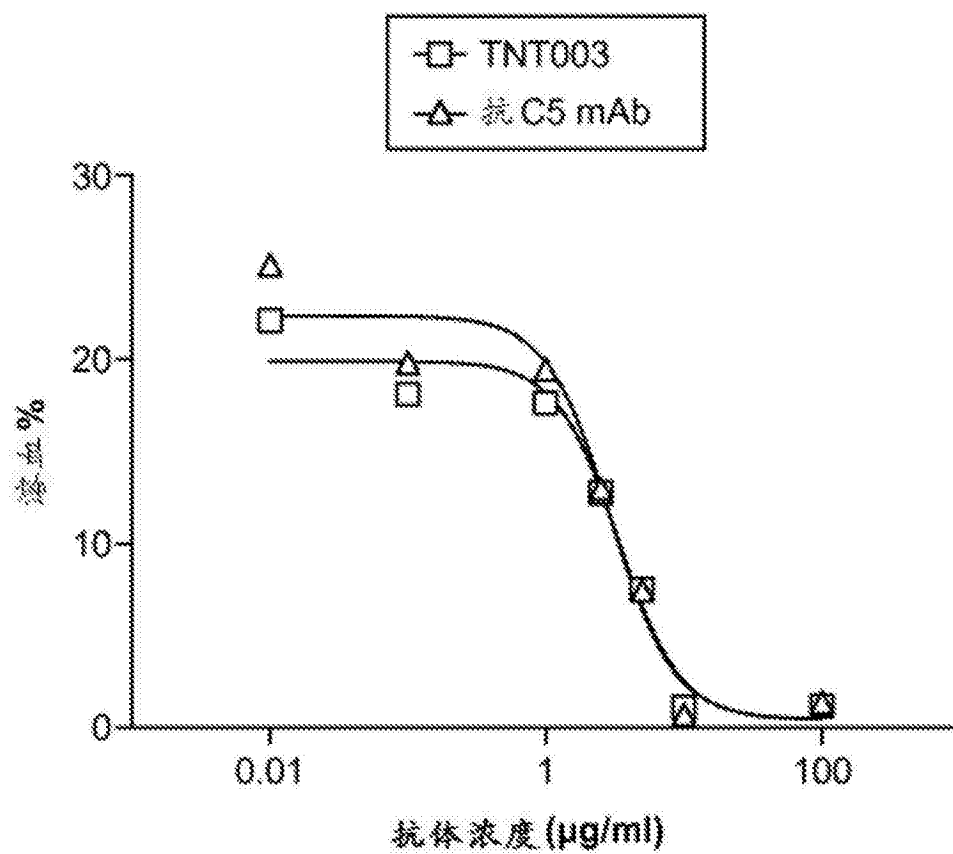


图34

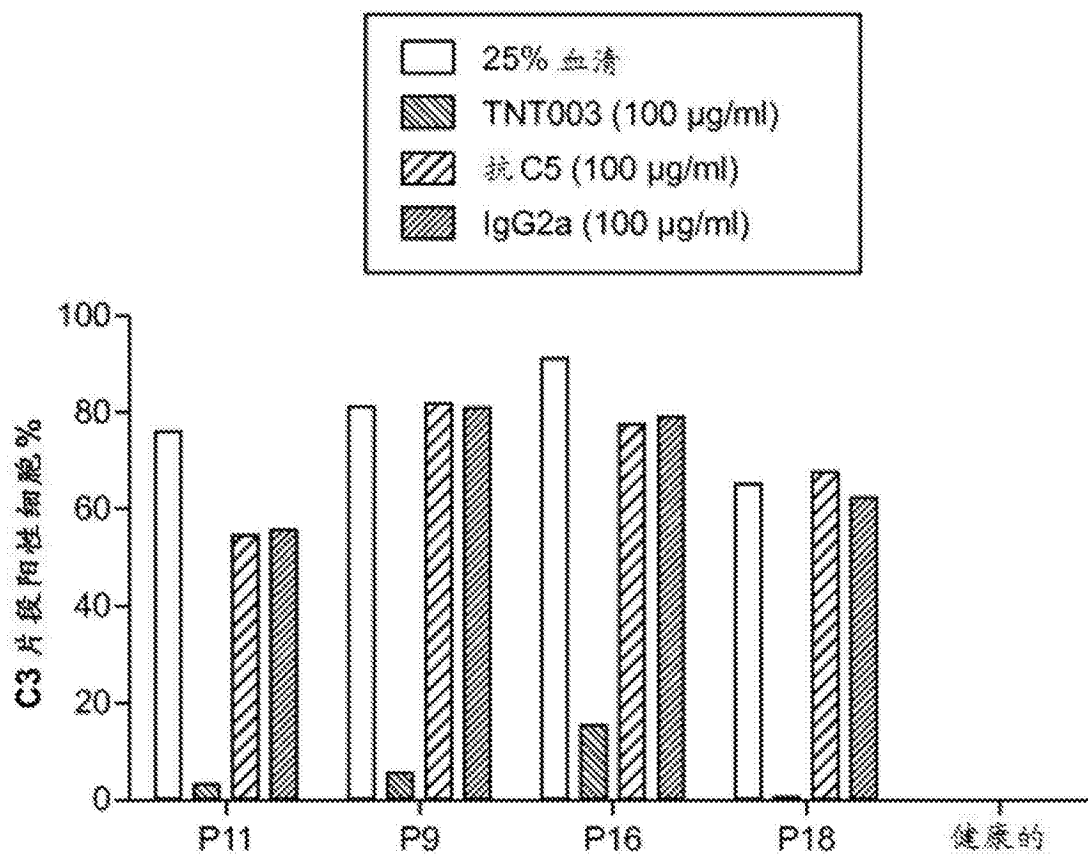


图35

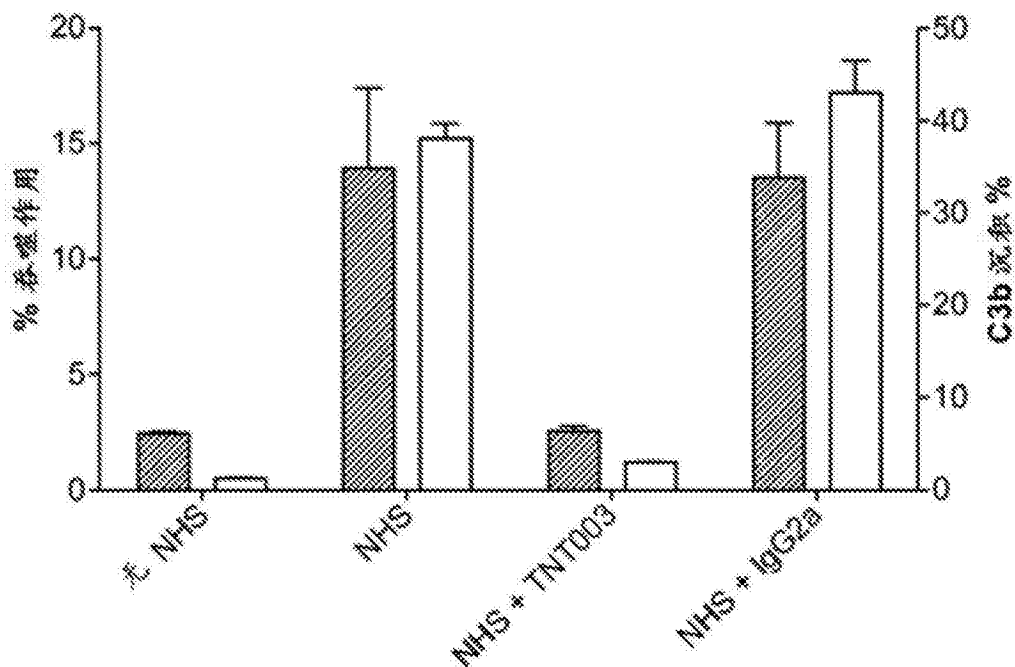


图36

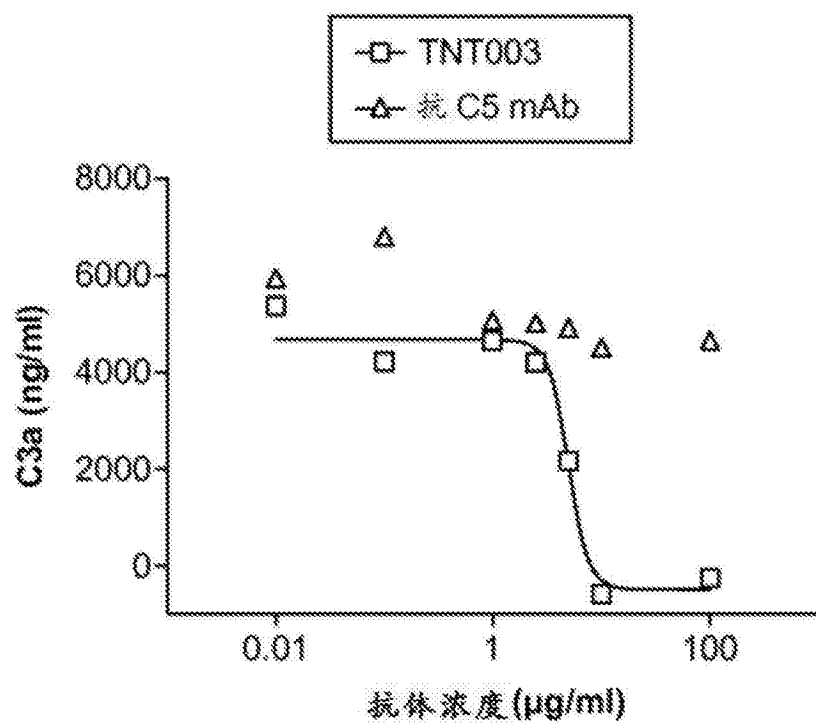


图37A

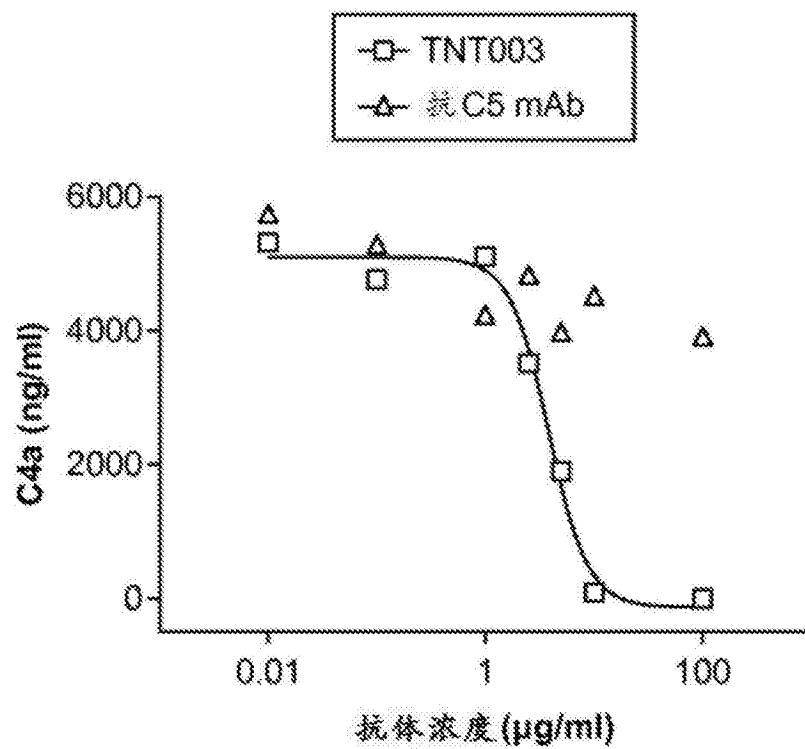


图37B

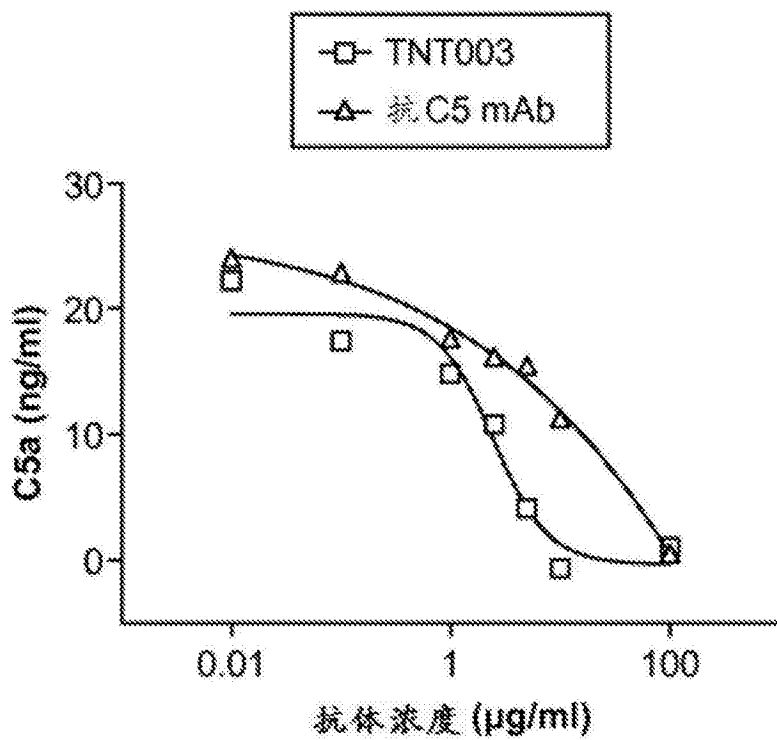


图37C

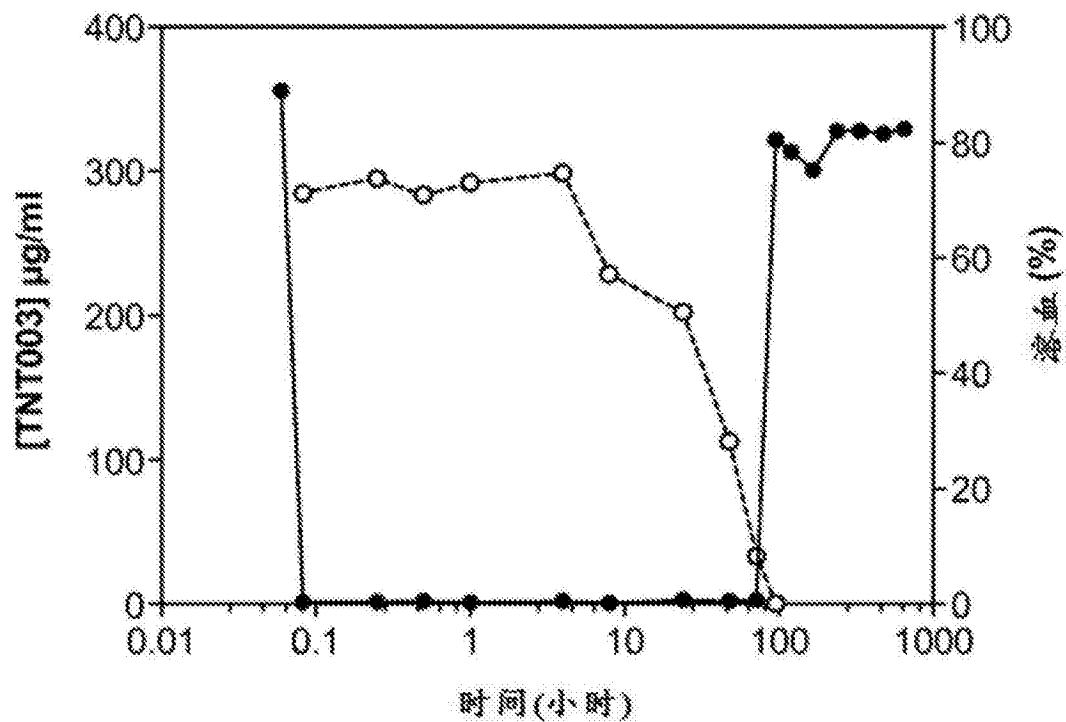


图38A

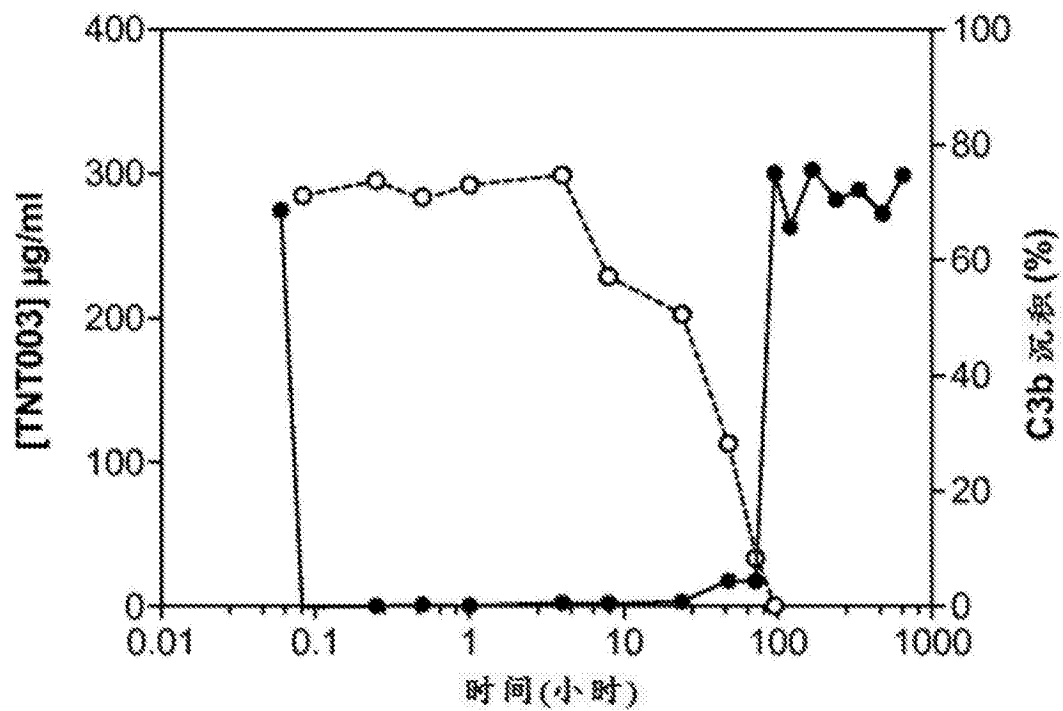


图38B

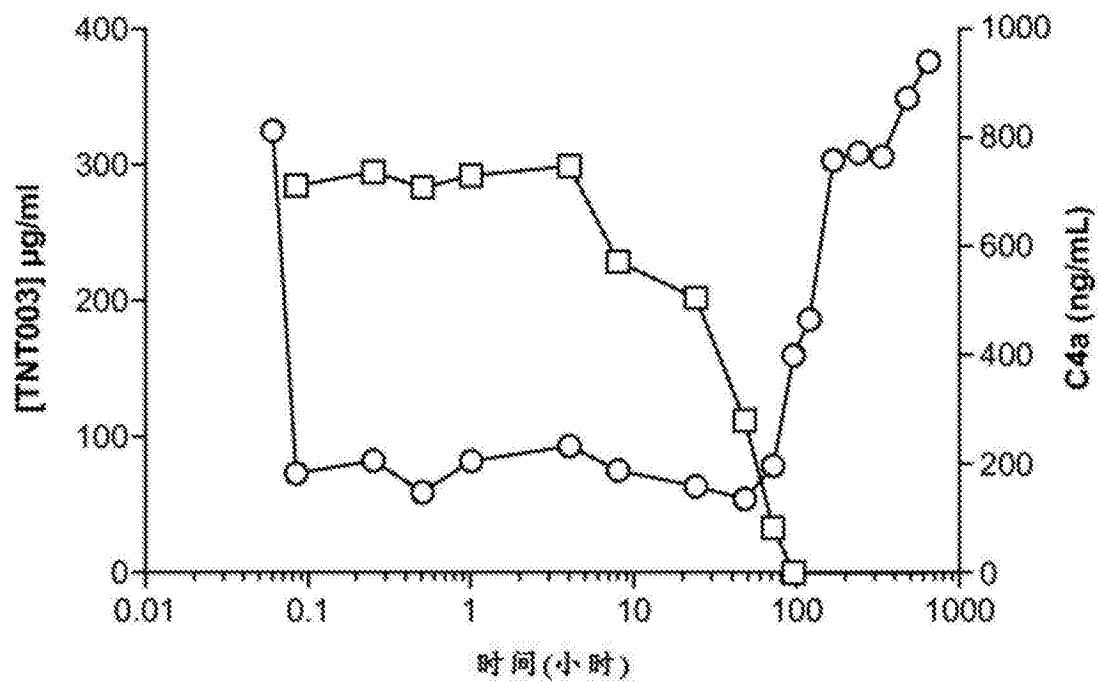


图39

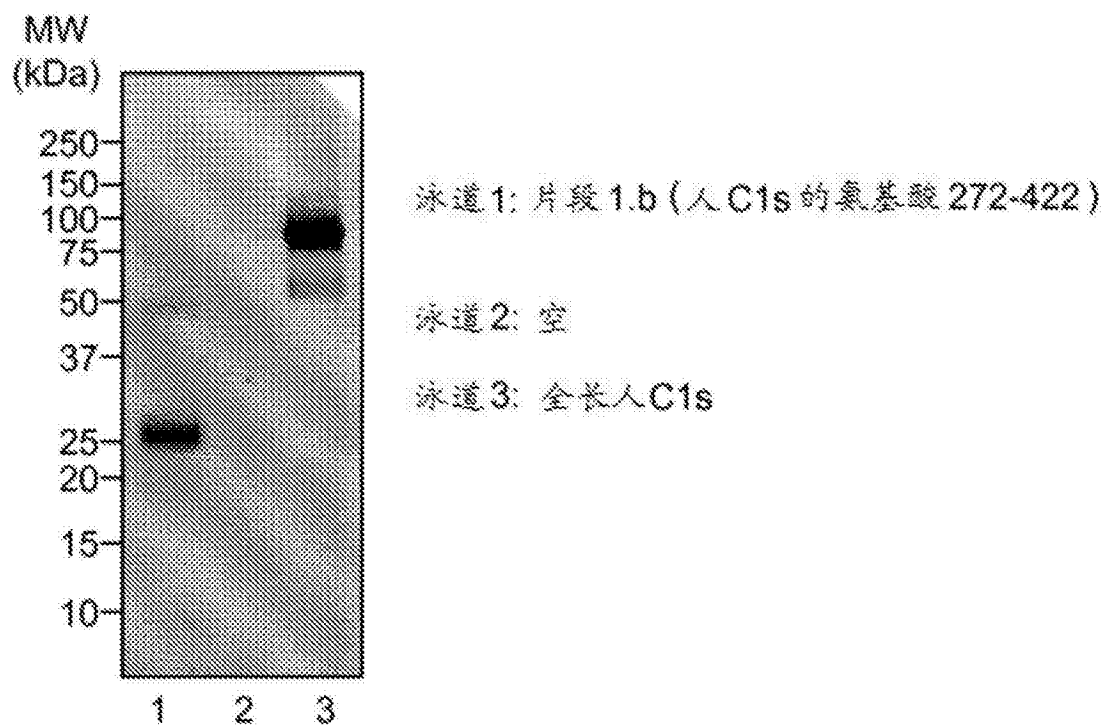


图40

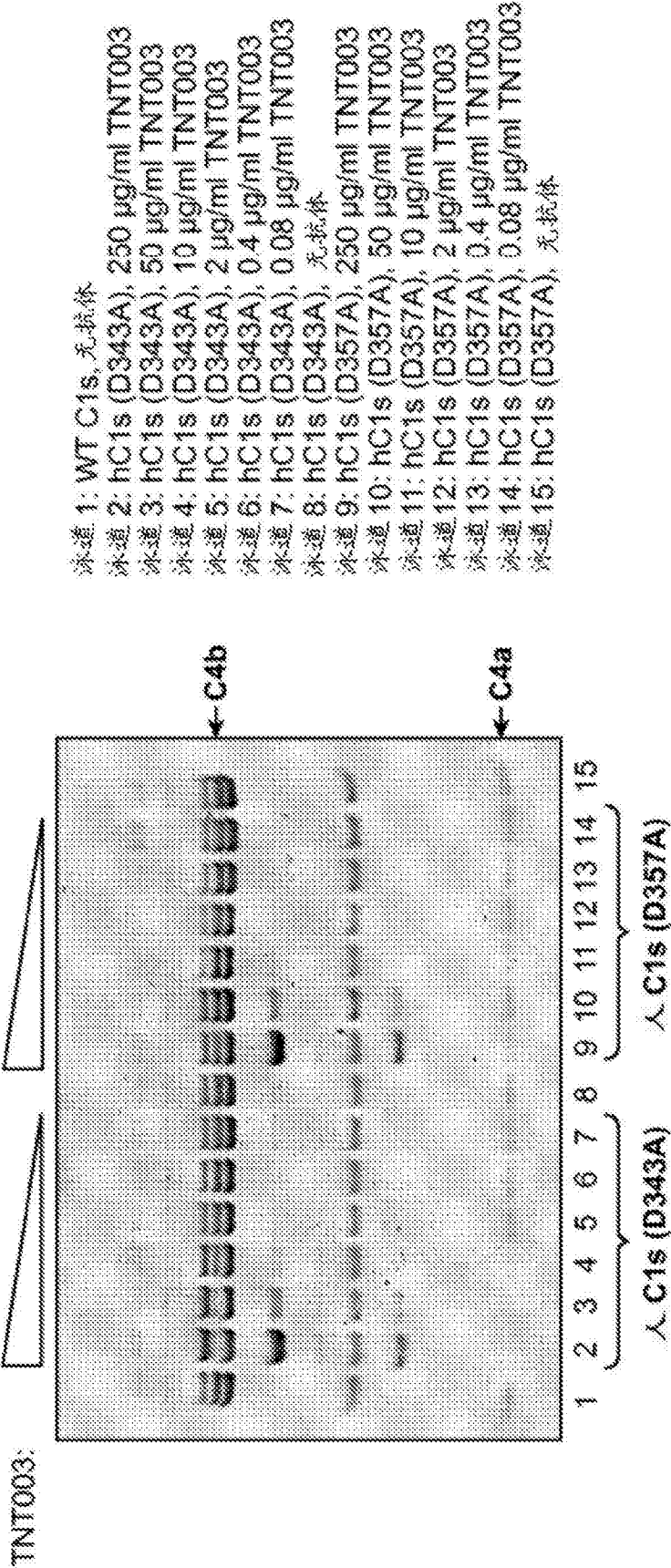


图41

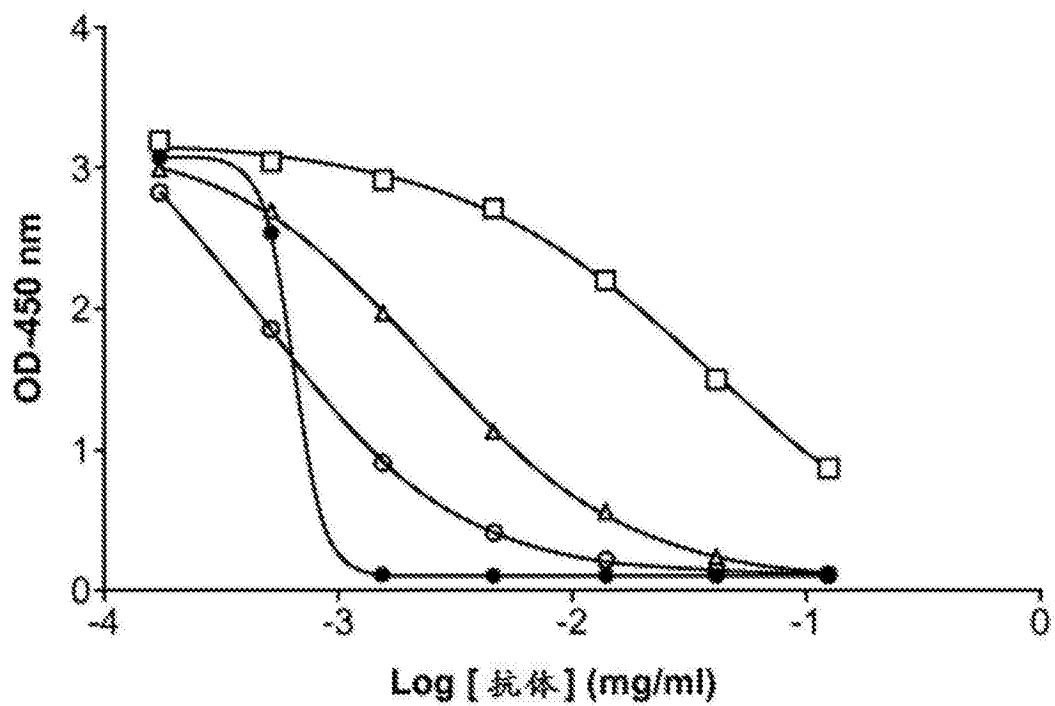


图42

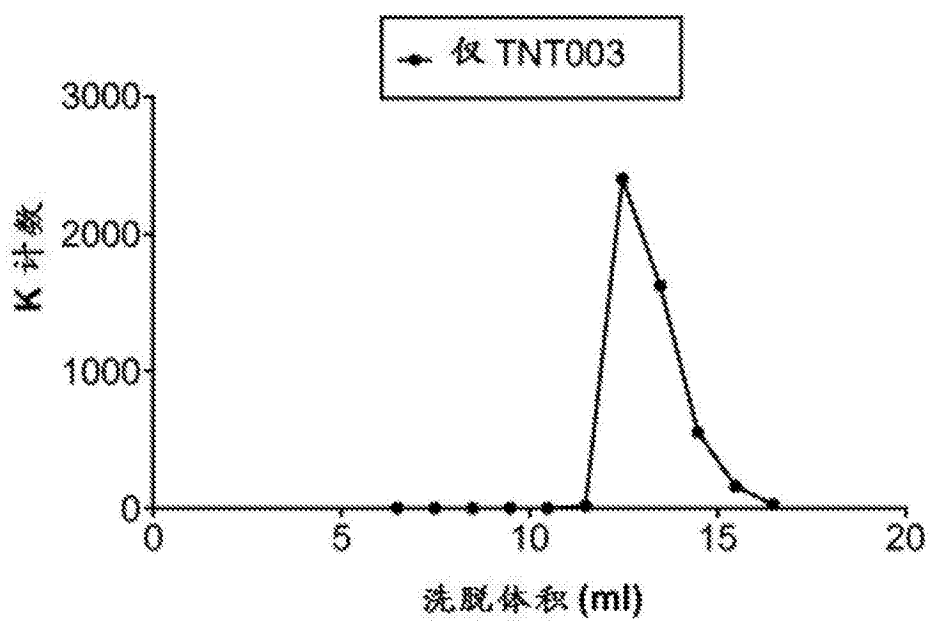


图43A

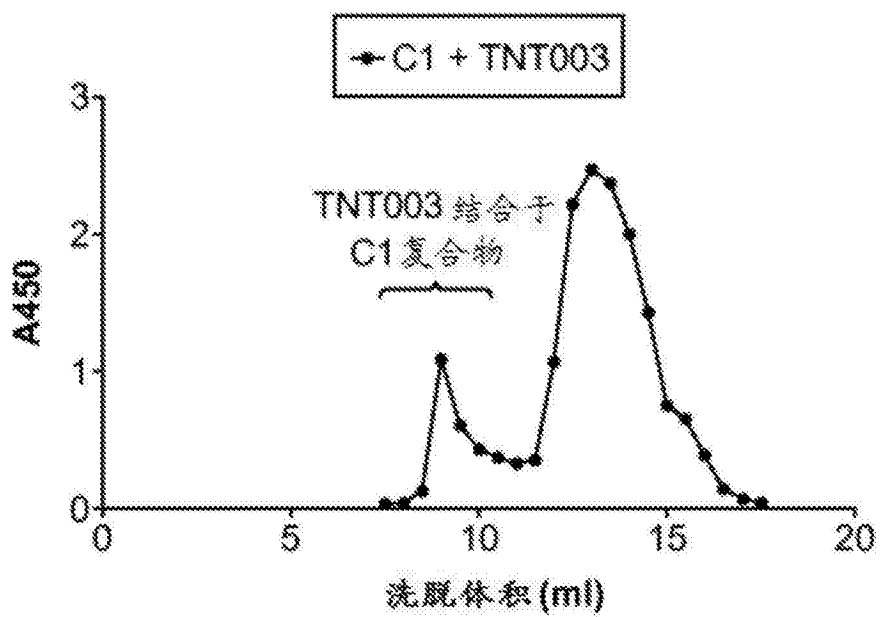


图43B

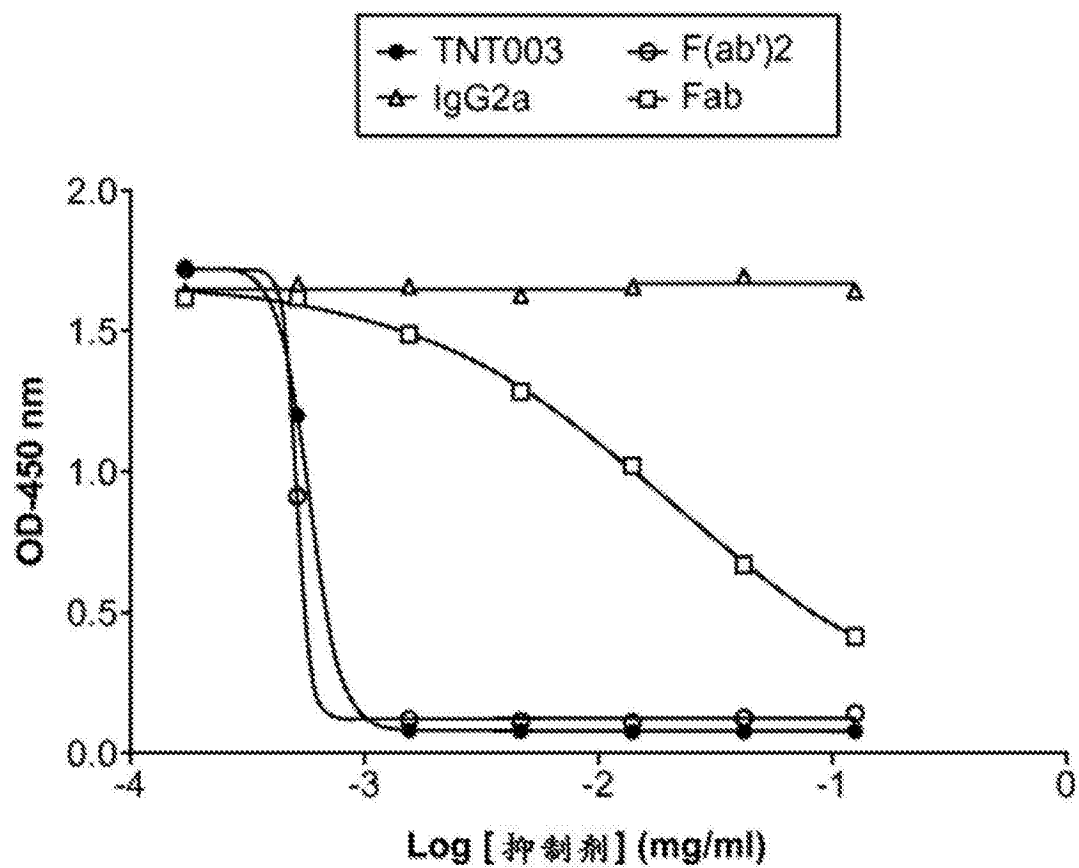


图44

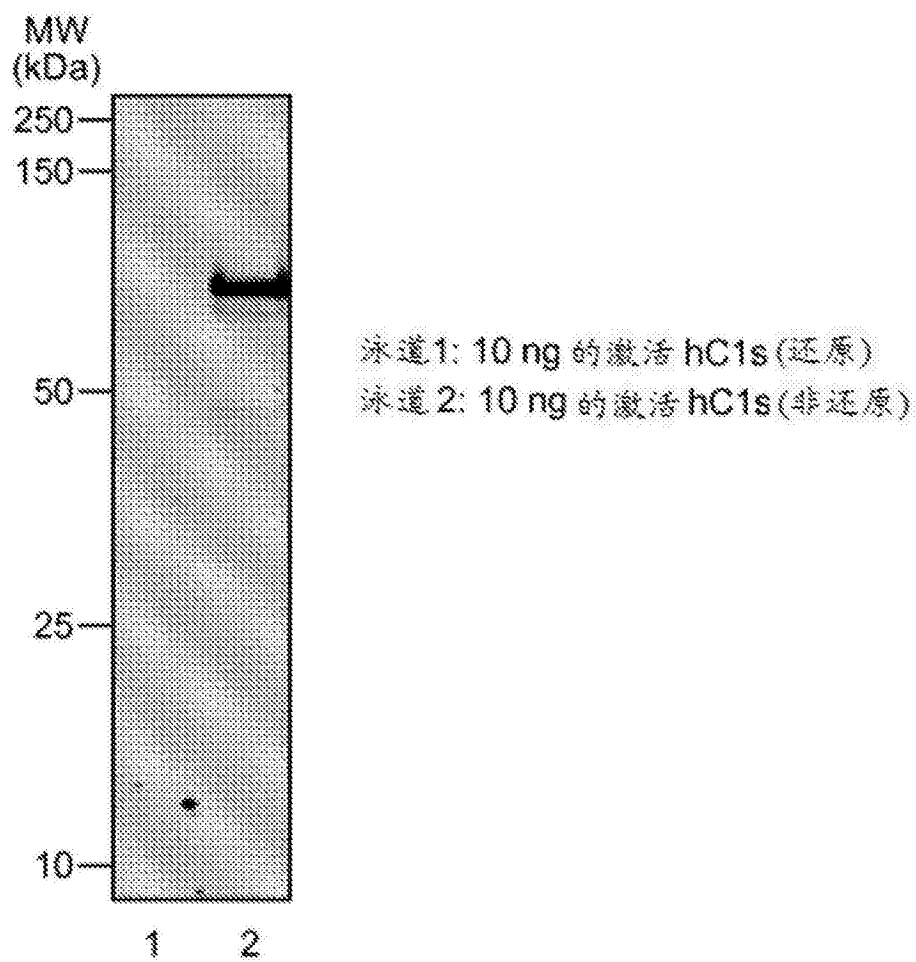


图45

-	-	+	-	-	-	+	-	mlgG (500 µg/ml)
-	+	-	-	-	+	-	-	TNT003 (500 µg/ml)
+	+	+	-	+	+	+	-	hC1s (100 ng/ml)
底物:	C4	C4	C4	C4	C2	C2	C2	C2

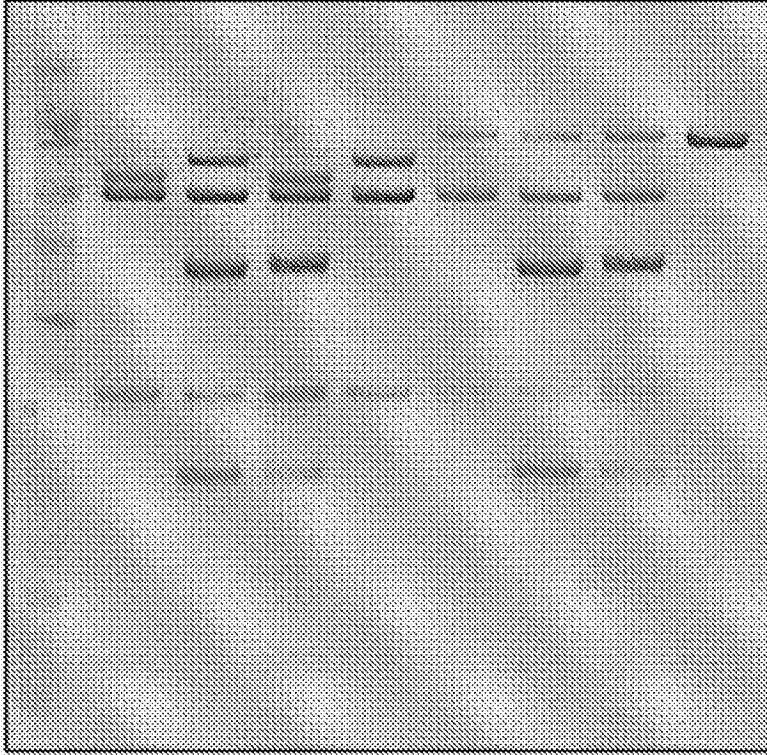


图46

健康个体和CAD患者平均具有相当的C1s 血浆水平

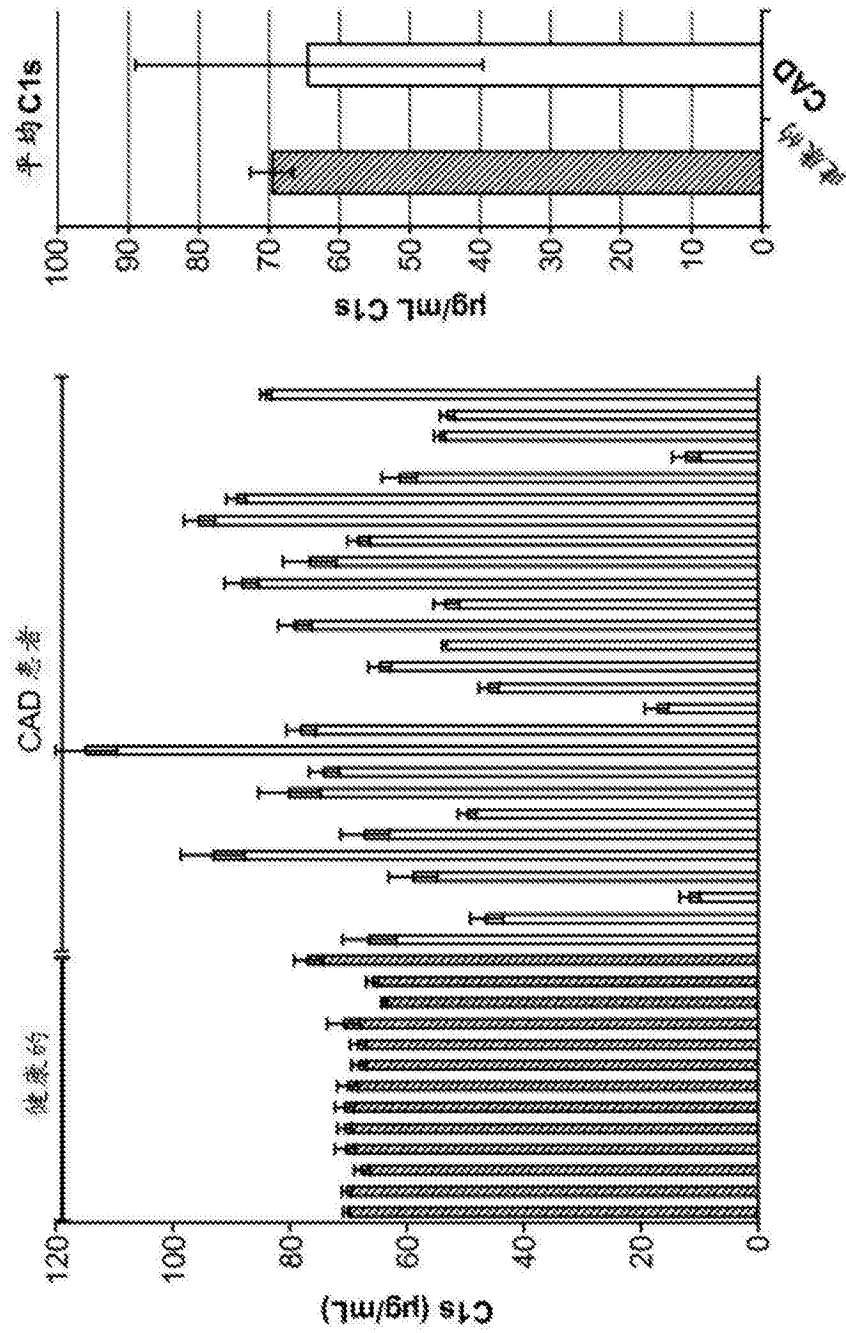


图47