



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105963694 B

(45)授权公告日 2019.11.05

(21)申请号 201610156317.3

C12N 15/13(2006.01)

(22)申请日 2011.04.29

C12N 15/63(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

A61P 13/12(2006.01)

申请公布号 CN 105963694 A

A61P 27/02(2006.01)

A61P 17/02(2006.01)

(43)申请公布日 2016.09.28

A61P 19/02(2006.01)

(30)优先权数据

A61P 29/00(2006.01)

61/330260 2010.04.30 US

A61P 11/00(2006.01)

61/471465 2011.04.04 US

A61P 31/04(2006.01)

A61P 37/02(2006.01)

(62)分案原申请数据

201180030823.3 2011.04.29

(56)对比文件

EP 0245993 A2,1987.11.19,

LARRICK J W等.CHARACTERIZATION OF

MURINE MONOCLONAL ANTIBODIES THAT

RECOGNIZE NEUTRALIZING EPITOPES ON HUMAN

C5A.《INFECTION AND IMMUNITY》.1987,第55卷

(第8期),第1867-1872页.

(73)专利权人 阿雷克森制药公司

地址 美国康涅狄格州

(72)发明人 R.P.罗瑟 D.L.谢里丹

P.P.坦伯里尼 张裕春

审查员 姚进孝

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

代理人 李波 石克虎

(51)Int.Cl.

A61K 39/395(2006.01)

权利要求书3页 说明书104页

序列表80页 附图20页

(54)发明名称

抗-C5A抗体和使用所述抗体的方法

(57)摘要

本发明涉及抗-C5A抗体和使用所述抗体的方法。本公开内容尤其涉及结合C5a的抗体或其抗原结合片段,也涉及所述抗体在治疗或预防补体相关病症的方法中的用途,所述补体相关病症例如、但不限于:非典型溶血性毒症综合征、年龄相关的黄斑变性、类风湿性关节炎、脓毒症、严重烧伤、抗磷脂综合征、哮喘、狼疮肾炎、肺出血肾炎综合征和慢性阻塞性肺疾病。

2个独特的
抗-C5a表位

5an101ME

5an180ME

5an048ME

2个独特的
抗-C5/C5a表位

5an179ME

5an178ME

1. 抗体或其抗原结合片段在制备用于治疗补体相关病症的药物中的用途,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 轻链CDR1,其由在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR2,其由在SEQ ID NO:21中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR3,其由在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列组成;重链CDR1,其由在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列组成;重链CDR2,其由在SEQ ID NO:29中所述的氨基酸序列组成;和重链CDR3,其由在SEQ ID NO:30中所述的氨基酸序列组成;

(b) 轻链CDR1,其由在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR2,其由在SEQ ID NO:38中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR3,其由在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列组成;重链CDR1,其由在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列组成;重链CDR2,其由在SEQ ID NO:29中所述的氨基酸序列组成;和重链CDR3,其由在SEQ ID NO:30中所述的氨基酸序列组成;

(c) 轻链CDR1,其由在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR2,其由在SEQ ID NO:21中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR3,其由在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列组成;重链CDR1,其由在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列组成;重链CDR2,其由在SEQ ID NO:46中所述的氨基酸序列组成;和重链CDR3,其由在SEQ ID NO:47中所述的氨基酸序列组成;或

(d) 轻链CDR1,其由在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR2,其由在SEQ ID NO:38中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR3,其由在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列组成;重链CDR1,其由在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列组成;重链CDR2,其由在SEQ ID NO:46中所述的氨基酸序列组成;和重链CDR3,其由在SEQ ID NO:47中所述的氨基酸序列组成。

2. 权利要求1的用途,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:轻链CDR1,其由在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR2,其由在SEQ ID NO:21中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR3,其由在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列组成;重链CDR1,其由在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列组成;重链CDR2,其由在SEQ ID NO:46中所述的氨基酸序列组成;和重链CDR3,其由在SEQ ID NO:47中所述的氨基酸序列组成。

3. 抗体或其抗原结合片段在制备用于治疗补体相关病症的药物中的用途,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 轻链多肽,其由在SEQ ID NO:19中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:27中所述的氨基酸序列组成;

(b) 轻链多肽,其由在SEQ ID NO:17中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:25中所述的氨基酸序列组成;

(c) 轻链多肽,其由在SEQ ID NO:17中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:33中所述的氨基酸序列组成;

(d) 轻链多肽,其由在SEQ ID NO:37中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:27中所述的氨基酸序列组成;

(e) 轻链多肽,其由在SEQ ID NO:36中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:33中所述的氨基酸序列组成;

(f) 轻链多肽,其由在SEQ ID NO:42中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:27中所述的氨基酸序列组成;

(g) 轻链多肽,其由在SEQ ID NO:40中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:33中所述的氨基酸序列组成;

(h) 轻链多肽,其由在SEQ ID NO:19中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:45中所述的氨基酸序列组成;

(i) 轻链多肽,其由在SEQ ID NO:17中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:44中所述的氨基酸序列组成;

(j) 轻链多肽,其由在SEQ ID NO:17中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:49中所述的氨基酸序列组成;

(k) 轻链多肽,其由在SEQ ID NO:37中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:45中所述的氨基酸序列组成;

(l) 轻链多肽,其由在SEQ ID NO:36中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:49中所述的氨基酸序列组成;

(m) 轻链多肽,其由在SEQ ID NO:42中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:45中所述的氨基酸序列组成;或

(n) 轻链多肽,其由在SEQ ID NO:40中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:49中所述的氨基酸序列组成。

4. 权利要求3的用途,其中所述分离的抗体或其抗原结合片段包含:轻链多肽,其由在SEQ ID NO:42中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:45中所述的氨基酸序列组成。

5. 权利要求3的用途,其中所述分离的抗体或其抗原结合片段包含:轻链多肽,其由在SEQ ID NO:40中所述的氨基酸序列组成,和重链多肽,其由在SEQ ID NO:49中所述的氨基酸序列组成。

6. 权利要求1-5的任一项的用途,其中所述补体相关病症选自移植物抗宿主病(GVHD)、非典型溶血性尿毒症综合征、年龄相关的黄斑变性、严重烧伤、类风湿性关节炎、脓毒症、狼疮肾炎、补体相关的肺障碍和抗磷脂综合征。

7. 权利要求1-5的任一项的用途,其中所述抗体或其抗原片段以小于 8.0×10^{-11} M的 K_D 结合hC5a。

8. 权利要求1-5的任一项的用途,其中当抗原结合位点与hC5a的摩尔比为1:1时,所述抗体抑制了至少90%的人C5a依赖性的人嗜中性粒细胞活化。

9. 权利要求1-5的任一项的用途,其中所述抗体或其抗原片段抑制C5a和C5a受体之间的相互作用。

10. 权利要求1-5的任一项的用途,其中所述抗体或抗原片段选自单克隆抗体、双特异性抗体、单链抗体、细胞内抗体、嵌合化的或嵌合的抗体、去免疫化的人抗体、Fv片段、Fd片段、Fab片段、Fab'片段和F(ab')₂片段。

11. 权利要求10的用途,其中所述抗体或抗原片段是全人抗体。

12. 权利要求10的用途,其中所述抗体或抗原片段是人源化抗体。

13. 权利要求10的用途,其中所述抗体或抗原片段是重组抗体。

14. 分离的核酸,其包含编码抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 轻链CDR1,其由在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR2,其由在SEQ ID NO:21中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR3,其由在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列组成;重链CDR1,其由在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列组成;重链CDR2,其由在SEQ ID NO:29中所述的氨基酸序列组成;和重链CDR3,其由在SEQ ID NO:30中所述的氨基酸序列组成;

(b) 轻链CDR1,其由在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR2,其由在SEQ ID NO:38中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR3,其由在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列组成;重链CDR1,其由在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列组成;重链CDR2,其由在SEQ ID NO:29中所述的氨基酸序列组成;和重链CDR3,其由在SEQ ID NO:30中所述的氨基酸序列组成;

(c) 轻链CDR1,其由在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR2,其由在SEQ ID NO:21中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR3,其由在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列组成;重链CDR1,其由在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列组成;重链CDR2,其由在SEQ ID NO:46中所述的氨基酸序列组成;和重链CDR3,其由在SEQ ID NO:47中所述的氨基酸序列组成;或

(d) 轻链CDR1,其由在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR2,其由在SEQ ID NO:38中所述的氨基酸序列组成;轻链CDR3,其由在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列组成;重链CDR1,其由在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列组成;重链CDR2,其由在SEQ ID NO:46中所述的氨基酸序列组成;和重链CDR3,其由在SEQ ID NO:47中所述的氨基酸序列组成。

15. 权利要求14的分离的核酸,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:轻链CDR1,其由在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列组成,轻链CDR2,其由在SEQ ID NO:21中所述的氨基酸序列组成,轻链CDR3,其由在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列组成,重链CDR1,其由在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列组成,重链CDR2,其由在SEQ ID NO:46中所述的氨基酸序列组成,和重链CDR3,其由在SEQ ID NO:47中所述的氨基酸序列组成。

16. 分离的核酸,其包含编码抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列,其中所述抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区和重链可变区,所述轻链可变区由在SEQ ID NO: 42中所述的氨基酸序列组成,所述重链可变区由在SEQ ID NO: 45中所述的氨基酸序列组成。

17. 表达载体,其包含权利要求14-16的任一项的核酸。

18. 宿主细胞,其包含权利要求17的核酸。

抗-C5A抗体和使用所述抗体的方法

[0001] 本申请是申请日为2011年4月29日的中国专利申请201180030823.3“抗-C5A抗体和使用所述抗体的方法”的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2010年4月30日提交的美国临时专利申请系列号61/330,260和2011年4月4日提交的美国临时专利申请系列号61/471,465的优先权和权益,它们的公开内容通过引用整体并入本文。

技术领域

[0004] 技术领域是医学、免疫学、分子生物学和蛋白质化学。

背景技术

[0005] 补体系统与身体的其它免疫系统联合作用以防范细胞和病毒病原体的侵入。有至少25种补体蛋白质,它们以血浆蛋白质和膜辅助因子的复合物集合存在。血浆蛋白质组成脊椎动物血清球蛋白的约10%。补体组分通过在一系列复杂但精确的酶切割和膜结合事件中互相作用而实现它们的免疫防御功能。所致补体级联导致具有调理素功能、免疫调节功能和裂解功能的产物的产生。与补体活化有关的生物学活性的简要总结,参见,例如,The Merck Manual, 第16版。

[0006] 补体级联经由经典途径、旁路途径或凝集素途径而进行。这些途径共用很多组分,尽管它们的起始步骤不同,它们汇聚且共用负责活化和破坏靶细胞的相同的“末端补体”组分(C5至C9)。

[0007] 经典途径(CP)通常通过对靶细胞上的抗原位点的抗体识别以及结合来启动。旁路途径(AP)可以是非抗体依赖性的,并且可通过病原体表面上的某些分子来启动。另外,凝集素途径通常从结合甘露糖的凝集素(MBL)与高甘露糖底物的结合来启动。这些途径聚集在一点,在此处,补体组分C3被活性蛋白酶切断以生成C3a和C3b。活化补体攻击的其它途径可随后在导致补体功能不同方面的序列事件中起作用。

[0008] C3a是一种过敏毒素。C3b结合细菌和其它细胞以及某些病毒和免疫复合物,并标记它们以从循环中除去(起该作用的C3b称作调理素)。C3b的调理素功能通常被视作补体系统最重要的抗感染作用。具有阻断C3b功能的遗传损伤的患者易于被多种致病性生物体感染,而后来在补体级联序列中具有损伤的患者,即具有阻断C5功能的损伤的患者,被发现仅更易于仅奈瑟球菌属(*Neisseria*)感染,因此仅仅在某种程度上更易感。

[0009] C3b还与每种途径特有的其它组分形成复合物,以形成经典的或替代的C5转化酶,其将C5裂解为C5a和C5b。因此C3被认为是补体反应序列中的中枢蛋白质,因为它对旁路途径和经典途径而言均是必要的。血清蛋白酶因子I(其作用于C3b以产生iC3b)调节会调节C3b的该特性。尽管仍然具有调理素功能,但iC3b不能形成有活性的C5转化酶。

[0010] C5是一种190 kDa β 球蛋白,在正常血清中以大约75 μ g/mL (0.4 μ M)的浓度存在。C5是糖基化的,其质量的约1.5-3%归因于碳水化合物。成熟的C5是一种异源二聚体,由与

655个氨基酸75 kDa β 链通过二硫键连接的999个氨基酸115 kDa α 链链组成。C5作为单拷贝基因的单链前体蛋白质产物而合成(Haviland等人(1991) *J Immunol* 146:362-368)。该基因的转录物的cDNA序列会预测1658个氨基酸的分泌型前-C5前体以及18个氨基酸的前导序列(参见,例如,美国专利号6,355,245)。

[0011] 前-C5前体在氨基酸655和659之后断裂,以产生:作为氨基末端片段的 β 链(上述序列的氨基酸残基+1至655),和作为羧基末端片段的 α 链(上述序列的氨基酸残基660至1658),其中在两者之间缺失四个氨基酸(上述序列的氨基酸残基656-659)。

[0012] C5a被替代或经典C5转化酶从C5的 α 链切割,作为包含 α 链的前74个氨基酸(即上述序列的氨基酸残基660-733)的氨基末端片段。C5a的11 kDa质量的约20%归因于碳水化合物。转化酶作用的切割位点是在上述序列的氨基酸残基733处或与其直接相邻。结合此切割位点或与其相邻处的化合物具有阻断C5转化酶接近该切割位点的潜力,因此作为补体抑制剂起作用。

[0013] 还可通过除C5转化酶活性之外的方式活化C5。有限的胰蛋白酶消化(参见,例如,Minta和Man (1997) *J Immunol* 119:1597-1602和Wetsel和Kolb (1982) *J Immunol* 128:2209-2216)、凝血酶和和酸处理(Yamamoto和Gewurz (1978) *J Immunol* 120:2008和Damerou等人(1989) *Molec Immunol* 26:1133-1142)也可切割C5,并产生有活性的C5b。

[0014] C5的切割会释放出C5a(一种有效的过敏毒素和趋化因子)和C5b(其通过一系列蛋白相互作用导致裂解性的末端补体复合物C5b-9的形成)。通过放大下游炎症因子(诸如水解酶、活性氧、花生四烯酸代谢物和各种细胞因子)的释放,C5a和C5b-9也具有多向性细胞活化性质。

[0015] C5b与C6、C7和C8结合,以在靶细胞表面上形成C5b-8复合物。在结合几种C9分子后,形成膜攻击复合物(MAC、C5b-9、末端补体复合物--TCC)。当足够数目的MAC插入靶细胞膜中时,它们造成的开口(MAC孔)会介导靶细胞的快速渗透性裂解。更低的非裂解浓度的MAC可产生其它效应。具体地,少量C5b-9复合物膜插入在内皮细胞和血小板中,可导致有害的细胞活化。在一些情况下,活化可先于细胞裂解。

[0016] 如上文所述,C3a和C5a是过敏毒素。这些活化的补体组分可触发肥大细胞脱粒,这会释放出组胺(从嗜碱性粒细胞和肥大细胞)和其它炎症介质,从而导致平滑肌收缩、血管渗透性增加、白细胞活化以及其它炎性现象,包括导致细胞过多的细胞增殖。C5a也起趋化肽的功能,用于吸引促炎症粒细胞至补体活化位点。

[0017] C5a受体存在于支气管和肺泡上皮细胞和支气管平滑肌细胞的表面上。C5a受体还存在于嗜酸性粒细胞、肥大细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞和活化的淋巴细胞上。

发明内容

[0018] 本公开内容尤其涉及发明人对一系列人源化的单克隆抗体的制备,所述单克隆抗体特异性地结合游离C5a蛋白(即,已经从C5蛋白蛋白水解地切割下的C5a),但是不结合旁系同源物蛋白片段游离的C4a或游离的C3a [所述抗体在本文中经常称作抗-C5a抗体或抗-C5a新表位抗体]。如本文所述和在工作实施例中所例证的,制备的抗-C5a抗体表现出对游离C5a的高亲和力。例如,本文所述的所有人源化的抗-C5a抗体会以小于1.25纳摩尔的 K_D 结合游离C5a。许多抗体会以小于300皮摩尔的 K_D 结合游离C5a(例如,游离的人C5a);几种抗体

会以小于100皮摩尔的 K_D 结合游离C5a。另外,本文所述的人源化的抗-C5a抗体还会抑制C5a介导的信号传递。在下面详细说明了并在工作实施例中例证了本文所述抗体的其它结构和功能性质。

[0019] 使用类风湿性关节炎(RA)的动物模型和具有与人源化抗体副本类似的性质的替代物抗-小鼠C5a抗体,发明人还已经证实了抗-C5a抗体在治疗RA中的效力。还在工作实施例中显示了实验,所述实验证实了人源化的抗-C5a抗体在人C5a诱发的嗜中性粒细胞减少的动物模型中的积极治疗效果。

[0020] 因此,发明人认为,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段在诊断和治疗方法的宿主中是有益的,所述方法与C5a介导的信号传递会促进其发病机制的病症有关。例如,发明人认为,本文所述的人源化的抗-C5a抗体可用于治疗或预防RA和其它补体相关病症,包括、但不限于:非典型溶血性毒症综合征(aHUS)、年龄相关的黄斑变性(AMD)、脓毒症、烧伤(例如,严重烧伤)、抗磷脂综合征(APS)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、炎症相关的疼痛、哮喘、狼疮肾炎、宫内生长迟缓(IUGR)、HELLP综合征(溶血性贫血、肝酶升高和低血小板计数)、肺出血肾炎综合征和慢性阻塞性肺疾病(COPD)。特别适合用人源化的抗-C5a抗体或其抗原结合片段进行治疗的其它病症,是本领域已知的,且列举在本文中。

[0021] 本文所述的人源化的抗-C5a抗体具有许多优点,例如,胜过结合全长或成熟C5并抑制其切割的试剂。象这样的试剂一样,本文所述的抗-C5a抗体(和其抗原结合片段)能够抑制由C5片段C5a介导的C5活化的anaphylatoxic下游效应。也就是说,本文所述的抗-C5a抗体可以抑制C5a介导的炎症应答,已知所述炎症应答在补体相关病症(例如,但不限于、脓毒症、RA和哮喘)的发病机制中起组成作用。但是,由于人血清中的C5浓度是大约 $0.37 \mu\text{M}$ (Rawal和Pangburn (2001) *J Immunol* 166(4):2635-2642),经常需要使用抗-C5抗体的高浓度和/或频繁施用来有效地抑制C5,并从而抑制人类中的C5a介导的炎症应答。与C5不同,C5a以远远更低的浓度存在于血液中,且经常被限制在局部补体活化的特定区域,例如,哮喘患者的肺、RA患者的关节或AMD患者的眼中的玻璃疣。因而,与例如抗-C5抗体相比,本文所述的抗-C5a抗体可以以远远更低的剂量和/或更低的频率施用(例如,局部地施用给补体活化部位)给人类,并有效地在人类中提供相同的或更大的C5a抑制。与抗-C5抗体的所需剂量相比,施用更低剂量的抗-C5a抗体的能力,也允许其它递送途径,例如,皮下给药、肌肉内给药、肺内递送和通过使用可生物降解的微球来给药。抗原C5a相对于C5而言更低的浓度,也有利于抗-C5a抗体相对于例如靶向末端补体的治疗性抗体的半衰期而言更长的半衰期,这是由于抗原介导的抗体清除贡献的减少。

[0022] 另外,通过它们的安全性特性,也可以将本文所述的抗-C5a抗体与抑制末端补体的治疗剂(诸如C5抑制剂)区分开。抑制末端补体组分(诸如C5、C5b、C6、C7、C8或C9)的一个显著后果是,宿主免疫系统针对末端补体经常裂解的具荚膜细菌(例如,脑膜炎奈瑟球菌(*Neisseria meningitides*)和淋病奈瑟球菌(*Neisseria gonorrhoeae*))的保护降低。参见,例如,Haeney等人(1980) *Clin Exp Immunol* 40:16-24和Brodsky (2009) *Blood* 113(26):6522-6527。由于所述抗-C5a抗体会抑制C5a介导的炎症应答,但是不会阻止裂解那些具荚膜细菌的末端补体复合物的形成,接收本文所述的治疗性抗-C5a抗体的患者不需要保护性疫苗接种,例如,针对脑膜炎奈瑟球菌和淋病奈瑟球菌的疫苗接种。

[0023] 因此,在一个方面,本公开内容表征了一种结合游离C5a的分离的抗体或其抗原结

合片段。在有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段结合游离的人C5a (hC5a;例如,包含在SEQ ID NO:1中所述的氨基酸序列或由其组成的人C5a蛋白)。在有些实施方案中,所述抗体可以结合去精氨酸化(desarginated)形式的游离C5a,例如,包含在SEQ ID NO:2中所述的氨基酸序列或由其组成的去精氨酸化形式的人C5a。所述抗体可以结合游离C5a的新表位,所述表位不存在于未切割的C5上,或存在于仅小部分的所有未切割的C5上。

[0024] 尽管本公开内容绝不限于任何具体理论或作用机理,在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段结合游离C5a (例如,游离hC5a),且还可以结合未切割的、加工过的C5 (例如,血浆C5)的亚群,所述亚群构成样品中的全长C5的总群体(例如,血液或血浆样品或包含重组全长C5的样品)的小于10 (例如,小于9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2、1.5、1、0.5、0.4、0.3、0.2或小于0.1)%,所述亚群完全地或部分地变性,从而暴露否则会被封闭的C5a新表位(抗-C5a抗体或片段与其结合)。因而,在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以结合游离C5a,但是不会结合90%或更多的未切割的、天然的C5群体的未切割的C5蛋白。在有些实施方案中,在任意数目的适用于测试C5活性的试验(例如,溶血试验或CH50eq试验(参见下文))中,上述的部分或完全变性的C5亚群是无活性的,或具有降低的活性(例如,小于全功能的全长C5蛋白的活性的90、85、80、75、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10、5%)。适用于测试本文所述的抗-C5a抗体在有些实施方案中可以结合的小亚群的活性的方法,是本领域已知的,并描述在本文中。

[0025] 在有些实施方案中,在体外溶血试验或体外CH50eq试验中,甚至在有与未切割的C5 (例如,未切割的、天然的C5)相比至少等于或大于5 (例如,5.6、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190或200)倍过量的所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段存在下,本文所述的任一种抗-C5a抗体或其抗原结合片段不会抑制C5活性。在有些实施方案中,在体外溶血试验或体外CH50eq试验中,甚至在有与未切割的、天然的C5相比约5倍至200倍(例如,约5倍至100倍、约10倍至100倍、约20倍至100倍、或约10倍至150倍)过量的所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段存在下,本文所述的任一种抗-C5a抗体或其抗原结合片段不会抑制C5活性。抑制(例如,它与C5活性有关)包括:在例如溶血试验或CH50eq试验中,与在类似条件下和在等摩尔浓度的对照抗体(或其抗原结合片段)的效果相比,未切割的、天然的C5的活性的至少5(例如,至少6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55或60)%降低。本文使用的“大幅抑制”表示,抑制给定的活性(例如,C5活性)的至少40 (例如,至少45、50、55、60、65、70、75、80、85、90或95或更大)%。在有些实施方案中,所述C5得自血浆(例如,从血浆纯化或存在于血浆中,所述血浆是例如人血浆)。

[0026] 在有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段以小于2 nM的 K_D 结合C5a蛋白(例如,人C5a蛋白)。在有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段会以小于1 nM的 K_D [在本文中也称作“亚纳摩尔亲和力”]结合C5a蛋白。

[0027] 在有些实施方案中,在有摩尔过量的未切割的、天然的C5 (例如,纯化的和/或重组的C5)存在下,所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段以亚纳摩尔亲和力[例如,小于或等于 9.9×10^{-10} (例如,小于或等于 9×10^{-10} 、 8×10^{-10} 、 7×10^{-10} 、 6×10^{-10} 、 5×10^{-10} 、 4×10^{-10} 、 3×10^{-10} 、 2.5×10^{-10} 、 2×10^{-10} 、 1×10^{-10} 、 8.0×10^{-11} 、 7.0×10^{-11} 、 6.0×10^{-11} 、

5.0×10^{-11} 、 4.0×10^{-11} 或 3.0×10^{-11}) M的 K_D]结合游离C5a。在有些实施方案中,与未切割的、天然的C5蛋白相比,本文所述的任一种抗-C5a抗体或其抗原结合片段对游离C5a具有大至少100 (例如,至少110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、225、250、275、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000或10000) 倍的亲和力(例如,通过它的 K_D 来表示)。

[0028] 因而,在另一个方面,本公开内容表征了一种抗体或其抗原结合片段,它(a)以亚纳摩尔亲和力结合游离C5a (例如,hC5a),且(b)结合游离C5a的亲和力比它对未切割的、天然的C5蛋白的对应亲和力大至少100 (例如,至少110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、225、250、275、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000或10000) 倍。例如,在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以以100 nM的 K_D 结合游离hC5a,并以高至少100倍(例如,至少10 nM)的 K_D 结合未切割的人C5蛋白的至少一个亚群。

[0029] 在另一个方面,本公开内容表征了一种分离的抗体或其抗原结合片段,它结合具有在SEQ ID NO:1中所述的氨基酸序列的游离的人C5a多肽,其中在有与人C5a (hC5a)相比摩尔过量(例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400或500倍摩尔过量)的未切割的天然的人C5存在下,所述抗体或其抗原结合片段以小于 1.25×10^{-9} M的 K_D 结合人C5a多肽。在有些实施方案中,在有与游离hC5a相比至少或大于2倍摩尔过量、但是不大于或小于500 (例如,500、450、400、350、300、250、200、150、100、90、80、70、60、50、40、30、25、20或15) 倍摩尔过量的未切割的、天然的C5存在下,所述抗体或其抗原结合片段以亚纳摩尔亲和力(例如,本文列举的亚纳摩尔 K_D 中的任一种)结合游离hC5a多肽。在有些实施方案中,在有与游离hC5a相比2倍至20倍摩尔过量的未切割的、天然的C5存在下,所述抗体或其抗原结合片段以亚纳摩尔亲和力(例如,本文列举的亚纳摩尔 K_D 中的任一种)结合游离hC5a多肽。在有些实施方案中,在有与游离hC5a相比10倍至20倍摩尔过量的未切割的、天然的C5存在下,所述抗体或其抗原结合片段以亚纳摩尔亲和力(例如,本文列举的亚纳摩尔 K_D 中的任一种)结合游离hC5a多肽。在有些实施方案中,在有与游离hC5a相比5倍至15倍摩尔过量的未切割的、天然的C5存在下,所述抗体或其抗原结合片段以亚纳摩尔亲和力(例如,本文列举的亚纳摩尔 K_D 中的任一种)结合游离hC5a多肽。在有些实施方案中,在有与游离hC5a相比至少2倍、但是不大于20倍摩尔过量的未切割的、天然的C5存在下,所述抗体或其抗原结合片段以亚纳摩尔亲和力(例如,本文列举的亚纳摩尔 K_D 中的任一种)结合游离hC5a多肽。这样的测量可以是使用例如标准的亲和力测定技术的体外测量,其中的许多在本文中予以列举和/或描述。

[0030] 在另一个方面,本公开内容表征了一种分离的抗体或其抗原结合片段,它结合具有在SEQ ID NO:1中所述的氨基酸序列的人C5a多肽,其中所述抗体或其抗原结合片段以小于 1.25×10^{-9} M的 K_D 结合人C5a多肽,且其中与等摩尔量的对照抗体或其抗原结合片段相比,所述抗体或其抗原结合片段不会大幅抑制C5活性,甚至在有与未切割的、天然的C5相比小于或等于10倍摩尔过量的所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段存在下。

[0031] 在本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段中的任一种的有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段结合游离的人C5a,且与得自至少一种非人哺乳动物物种的游离C5a具有交叉反应性。例如,在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体(或其抗原结合片段)结合得自

人的游离C5a (例如,以亚纳摩尔亲和力),且也结合得自非人灵长类动物(例如,食蟹猴、恒河猴、猿、狒狒、黑猩猩、猩猩或大猩猩)、啮齿动物(例如,小鼠、大鼠、仓鼠、豚鼠或兔)、牛、山羊、驴、猪、狗、猫或马的游离C5a。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段以小于或等于 9.9×10^{-10} (例如,小于或等于 9×10^{-10} 、 8×10^{-10} 、 7×10^{-10} 、 6×10^{-10} 、 5×10^{-10} 、 4×10^{-10} 、 3×10^{-10} 、 2.5×10^{-10} 、 2×10^{-10} 、 1×10^{-10} 、 8.0×10^{-11} 、 7.0×10^{-11} 、 6.0×10^{-11} 、 5.0×10^{-11} 、 4.0×10^{-11} 或 3.0×10^{-11}) M的 K_D 结合游离hC5a,且也结合得自食蟹猴(或其它非人灵长类动物物种)的游离C5a,其中对人C5a的亲和力(例如,通过它的 K_D 来表示)比对食蟹猴(或其它非人灵长类动物物种) C5a的亲和力大不超过500 (例如,不超过5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、125、150、200、250、300、350、400、450或475)倍。例如,在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体结合游离hC5a的亲和力比所述抗体对非人灵长类动物C5a的对应亲和力大不超过50倍(例如,对游离hC5a的 K_D 为100 nM,对非人灵长类动物C5a的 K_D 不超过5 nM)。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段以小于或等于 9.9×10^{-10} (例如,小于或等于 9×10^{-10} 、 8×10^{-10} 、 7×10^{-10} 、 6×10^{-10} 、 5×10^{-10} 、 4×10^{-10} 、 3×10^{-10} 、 2.5×10^{-10} 、 2×10^{-10} 、 1×10^{-10} 、 8.0×10^{-11} 、 7.0×10^{-11} 、 6.0×10^{-11} 、 5.0×10^{-11} 、 4.0×10^{-11} 或 3.0×10^{-11}) M的 K_D 结合游离hC5a,且也结合得自啮齿动物(例如,小鼠、大鼠或兔)的C5a,其中对人C5a的亲和力(例如,通过它的 K_D 来表示)比对啮齿动物C5a的亲和力大不超过1000 (例如,不超过5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、125、150、200、250、300、350、400、450、475、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950或975)倍。在有些实施方案中,本文所述的任一种抗-C5a抗体或其抗原结合片段以亚纳摩尔亲和力结合人C5a和得自非人哺乳动物(例如,啮齿动物或非人灵长类动物诸如食蟹猴)的C5a。在有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段以相等亲和力(例如,相等 K_D)结合人C5a和非人灵长类动物C5a。

[0032] 例如,本公开内容表征了一种抗体或其抗原结合片段,它以亚纳摩尔亲和力[例如, K_D of 小于或等于 9.9×10^{-10} (例如,小于或等于 9×10^{-10} 、 8×10^{-10} 、 7×10^{-10} 、 6×10^{-10} 、 5×10^{-10} 、 4×10^{-10} 、 3×10^{-10} 、 2.5×10^{-10} 、 2×10^{-10} 、 1×10^{-10} 、 8.0×10^{-11} 、 7.0×10^{-11} 、 6.0×10^{-11} 、 5.0×10^{-11} 、 4.0×10^{-11} 或 3.0×10^{-11}) M]结合游离的人C5a,且与得自食蟹猴(或其它非人灵长类动物)的游离C5a具有交叉反应性,所述抗体或其抗原结合片段以小于 10×10^{-9} 、 9×10^{-9} 、 8×10^{-9} 、 7×10^{-9} 、 6×10^{-9} 、 5×10^{-9} 、 4×10^{-9} 、 3×10^{-9} 、 2×10^{-9} 、 1×10^{-9} 、 9.9×10^{-10} (例如,小于 9×10^{-10} 、 8×10^{-10} 、 7×10^{-10} 、 6×10^{-10} 、 5×10^{-10} 、 4×10^{-10} 、 3×10^{-10} 、 2.5×10^{-10} 、 2×10^{-10} 、 1×10^{-10} 或 8.0×10^{-11}) M]的 K_D 结合食蟹猴(或其它非人灵长类动物) C5a,其中对人C5a的亲和力比对食蟹猴(或非人灵长类动物) C5a的亲和力大不超过500 (例如,不超过5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、125、150、200、250、300、350、400、450或475)倍(例如,对人C5a的 K_D 为100 nM,对非人灵长类动物C5a的 K_D 不超过50 nM)。适用于测定所述抗体或其抗原结合片段对给定抗原的亲和力的方法是本领域已知的,且在本文中予以描述和例证。

[0033] 在有些实施方案中,所述交叉反应性的抗-C5a抗体或其抗原结合片段在功能上抑制它所结合的游离hC5a和非人哺乳动物C5a。例如,抗体在1:1 (抗原结合位点:C5a)的摩尔比抑制了至少70 (例如,至少75、80、85、90或95或更大)%的人C5a依赖性的人嗜中性粒细胞活化,并在1:1 (抗原结合位点:C5a)的摩尔比抑制了至少70 (例如,至少75、80、85、90或

95或更大)%的非人哺乳动物C5a依赖性的嗜中性粒细胞活化(所述嗜中性粒细胞得自与所述抗体所结合的非人哺乳动物C5a相同的物种)。

[0034] 在另一个方面,本公开内容表征了一种分离的抗体或其抗原结合片段,它结合具有在SEQ ID NO:1中所述的氨基酸序列的游离hC5a多肽,其中所述抗体或其抗原结合片段以小于 1.25×10^{-9} M的 K_D 结合人C5a多肽,且其中所述抗体或其抗原结合片段结合hC5a和得自非人哺乳动物物种的C5a。所述非人哺乳动物物种可以是,例如,非人灵长类动物诸如食蟹猴、恒河猴或狒狒。在有些实施方案中,所述非人哺乳动物物种是啮齿动物诸如小鼠、大鼠、兔、豚鼠、沙鼠或仓鼠。在有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段结合hC5a的亲合力比得自非人哺乳动物物种的C5a的对应亲合力高不大于100倍。在有些实施方案中,所述抗体或抗原结合片段在1:1(抗原结合位点:C5a)的摩尔比抑制了至少50%人C5a依赖性的人嗜中性粒细胞活化。

[0035] 在有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段结合得自非人灵长类动物(例如,食蟹猴或恒河猴)的游离C5a,所述游离C5a蛋白的氨基酸序列包含在SEQ ID NO:179或SEQ ID NO:180中所述的氨基酸序列或由其组成。

[0036] 如在工作实施例中所述,发明人还已经发现了一种二价抗-C5a抗体BNJ383,其以高亲和力结合游离C5a(在该情况下,人C5a),且以远远更低的亲和力结合未切割的人C5(hC5),其中,在组合物(例如,水溶液)中,在生理条件下,在平衡时,且在在有与所述抗体的抗原结合位点的摩尔量相比摩尔过量的未切割的人C5存在下,多个抗体中的至少95%各自结合不超过一个hC5分子。多个抗体中的至少95%的第二抗原结合位点保持可用于(例如,主要可用于)结合游离C5a。尽管本公开内容绝不受任何具体理论或作用机理的约束,发明人认为,所述二价抗-C5a抗体以下述方式(例如,在这样的表位处)结合未切割的C5:位阻妨碍或至少大幅抑制所述抗-C5a抗体的第二抗原结合位点与第二个未切割的C5蛋白的结合,尽管所述抗体可以容易地适应与两个hC5a分子的结合。因而,甚至在摩尔过量的未切割的C5中,所述抗体保留以高亲和力结合游离C5a的能力,并由此甚至在该摩尔过量下,保留抑制C5a的促炎症活性的能力。

[0037] 本领域普通技术人员会容易地且迅速地理解这样的抗-C5a抗体的众多治疗益处。例如,如上面所指出的,人血清中的循环C5的浓度非常高。因而,当引入哺乳动物中时,能够同时结合两个未切割的C5分子的抗-C5a抗体会在摩尔过量的C5中迅速地灭活,且此后不再能够在补体活化的情况下结合游离C5a。并且,与抗-C5抗体一样,在生成C5a的情况下,有效地抑制C5a需要使用高浓度的这类抗-C5a抗体和/或频繁施用。相比而言,本文所述的抗-C5a抗体(甚至在摩尔过量的未切割的C5中,其保留结合游离C5a的能力)因而可以以与例如抗-C5抗体相比远远更低的剂量和/或更低的频率施用给人类,并在人类中有效地提供相同或更大的C5a抑制。

[0038] 因此,在另一个方面,本公开内容表征了一种包含2个抗原结合位点的分离的抗体,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a(hC5a)或未切割的人C5(hC5),其中,在水溶液(其包含(i)多个所述抗体和(ii)与抗原结合位点的摩尔量相比摩尔过量的hC5)中,在平衡时,且在生理条件下,所述多个抗体中的至少95(例如,至少95.5、96、96.5、97、97.5或97.7)%结合不超过一个hC5分子,即,不超过5%的抗体在平衡时结合2个hC5分子。

[0039] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含2个抗原结合位点的分离的抗体,其中

每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a) 或未切割的人C5 (hC5), 其中, 在平衡时, 且在生理条件下, 在水溶液 (其包含 (i) 多个所述抗体和 (ii) 与抗原结合位点 (或抗体) 的摩尔量相比摩尔过量的hC5) 中, 所述多个抗体中的至少95%保留至少一个抗原结合位点可用于结合游离hC5a。

[0040] 在另一个方面, 本公开内容表征了一种包含2个抗原结合位点的分离的抗体, 其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a) 或未切割的人C5 (hC5), 其中, 在平衡时, 且在生理条件下, 在水溶液 (其包含 (i) 多个所述抗体和 (ii) 与抗原结合位点 (或抗体) 的摩尔量相比摩尔过量的hC5) 中, 所述多个抗体中的不超过5% 的每个抗原结合位点结合hC5分子。

[0041] 在本文所述的任一种分离的抗体的有些实施方案中, 所述摩尔过量是至少2倍 (例如, 至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或甚至10倍) 摩尔过量。

[0042] 在本文所述的任一种分离的抗体的有些实施方案中, 所述生理条件是3.9 mM NaH₂PO₄、6.1 mM Na₂HPO₄和150 mM NaCl, 在pH7.0。

[0043] 在本文所述的任一种分离的抗体的有些实施方案中, 每个抗原结合位点独立地可以以小于 1.25×10^{-9} M的K_D结合游离hC5a。在有些实施方案中, 每个抗原结合位点独立地可以以亚纳摩尔亲和力 (参见上文) 结合游离hC5a。

[0044] 在本文所述的任一种分离的抗体的有些实施方案中, 所述分离的抗体包含: 含有在SEQ ID NO:42中所述的氨基酸序列的轻链多肽, 和含有在SEQ ID NO:45中所述的氨基酸序列的重链多肽。

[0045] 在本文所述的任一种分离的抗体的有些实施方案中, 所述分离的抗体包含: (i) 轻链CDR1, 其包含在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列; (ii) 轻链CDR2, 其包含在SEQ ID NO:21中所述的氨基酸序列; (iii) 轻链CDR3, 其包含在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列; (iv) 重链CDR1, 其包含在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列; (v) 重链CDR2, 其包含在SEQ ID NO:46中所述的氨基酸序列; 和 (vi) 重链CDR3, 其包含在SEQ ID NO:47中所述的氨基酸序列。

[0046] 在有些实施方案中, 所述分离的抗体可以包含本文所述的轻链CDR集合中的任一个、本文所述的轻链可变区中的任一个 (例如, 人源化的轻链可变区中的任一个)、本文所述的重链CDR集合中的任一个、本文所述的重链可变区中的任一个 (例如, 人源化的重链可变区中的任一个) 或它们的任何合适的组合。参见, 例如, 表1或2。

[0047] 在另一个方面, 本公开内容表征了一种用于治疗罹患补体相关病症 (例如, C5a-相关的补体病症) 的人的方法, 其中所述方法包括: 以足以治疗所述补体相关病症的量, 给所述人施用本文所述的任一种分离的抗体。

[0048] 在另一个方面, 本公开内容表征了一种用于治疗罹患C5a-相关的补体病症的人的方法, 其中所述方法包括: 给所述人施用至少0.6 (例如, 至少0.7、0.8、0.9或1) mg本文所述的任一种分离的抗体/kg人体重, 以由此部分地或完全地结合和隔离纳克水平的游离C5a持续大于、等于或至少12 (例如, 13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25) 天。

[0049] 在另一个方面, 本公开内容表征了一种用于治疗罹患C5a-相关的补体病症的人的方法, 其中所述方法包括: 给所述人施用至少10 mg本文所述的任一种分离的抗体/kg人体重, 以由此部分地或完全地结合和隔离纳克水平的游离C5a持续至少24天。

[0050] 在另一个方面,本公开内容表征了一种用于治疗罹患C5a-相关的补体病症的人的方法,其中所述方法包括:给所述人施用本文所述的任一种分离的抗体(或例如包含本文所述的任一种分离的抗体的药物组合物),所述抗体的量足以:(a)实现等于或小于未切割的hC5的生理摩尔浓度的摩尔C_{max}值,和(b)部分地或完全地结合和隔离病理生理学水平的游离C5a。

[0051] 在本文所述的任意方法的有些实施方案中,以足以实现大幅低于未切割的C5(例如,hC5)的生理摩尔浓度的摩尔C_{max}值的量,将抗体施用给受试者(例如,人)。

[0052] 在本文所述的任意方法的有些实施方案中,所述C_{max}值是,例如,不大于80 nM(或大约0.6 mg/kg)。在有些实施方案中,所述C_{max}水平是不大于70(例如,60、50、40、30或20) nM。在有些实施方案中,所述C_{max}值是不大于大约100 nM。在有些实施方案中,所述C_{max}值是不大于200 nM。在本文所述的任意方法的有些实施方案中,所述C_{max}值是,例如,不大于400 nM(或大约3 mg/kg)。在有些实施方案中,所述C_{max}值是不大于400(例如350、300、250、200、150、100、90、80、70、60、50、40、30、20或10) nM。

[0053] 在另一个方面,本公开内容表征了一种用于治疗罹患C5a-相关的补体病症的人的方法,其中所述方法包括:给所述人施用本文所述的任一种分离的抗体(或例如包含本文所述的任一种分离的抗体的药物组合物),所述抗体的量足以:(a)实现等于、小于或大幅小于未切割的hC5的生理摩尔浓度的摩尔C_{max}值,和(b)部分地或完全地结合和隔离纳克水平的游离C5a持续至少12天(例如,至少24天)。合适的C_{max}值如上所述。

[0054] 在本文所述的任意方法的有些实施方案中,所述C5a-相关的补体病症可以是例如选自下述的一种:脓毒症、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、脓毒性休克、抗磷脂综合征、灾难性抗磷脂综合征、弥漫性血管内凝血、狼疮肾炎、肺出血肾炎综合征、烧伤或严重烧伤、哮喘、HELLP综合征(溶血性贫血、肝酶升高和低血小板计数)、炎症诱发的疼痛、C5a介导的嗜中性粒细胞减少、年龄相关的黄斑变性(AMD)、慢性阻塞性肺疾病和类风湿性关节炎。

[0055] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含多个分离的抗体的组合物,所述多个抗体中的每一个包含2个抗原结合位点,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a(hC5a)或未切割的人C5(hC5),且其中,在有人C5(hC5)存在下和在生理条件下,在平衡时,所述多个抗体中的不超过5%包含2个同时结合未切割的hC5的抗原结合位点。

[0056] 在本文所述的任一种组合物的有些实施方案中,使用高效液相色谱法(HPLC),可以评价处于任意特定结合构型的数目的百分比。在有些实施方案中,用于评价抗体的生理条件包括下述条件:在包含3.9 mM NaH₂PO₄、6.1 mM Na₂HPO₄和150 mM NaCl的pH7.0水溶液中,与多个抗体一起在4°C温育hC5(例如,摩尔过量(例如,2倍摩尔过量)的hC5)84小时。为了本公开内容的目的,在4°C在84小时时得到的溶液被视作处于平衡中。

[0057] 在本文所述的任一种组合物的有些实施方案中,所述多个抗体中的不超过5%包含2个抗原结合位点,所述2个抗原结合位点在生理条件下和在有与抗体相比至少2倍摩尔过量的hC5存在下同时结合未切割的hC5。

[0058] 在本文所述的任一种组合物的有些实施方案中,在包含3.9 mM NaH₂PO₄、6.1 mM Na₂HPO₄和150 mM NaCl的pH7.0水溶液中,在4°C与hC5一起温育多个抗体84小时以后,使用HPLC评价出,所述多个抗体中的不超过5%包含2个同时结合未切割的hC5分子的抗原结合位点。

[0059] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含多个分离的抗体的组合物,所述多个抗体中的每一个包含2个抗原结合位点,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),且其中在包含3.9 mM NaH₂PO₄、6.1 mM Na₂HPO₄和150 mM NaCl的pH7.0水溶液中,在4°C与hC5一起温育多个抗体84小时以后,评价出(例如,使用HPLC)所述多个抗体中的不超过5%包含2个同时结合未切割的hC5的抗原结合位点。

[0060] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含多个分离的抗体的组合物,所述多个抗体中的每一个包含第一抗原结合位点和第二抗原结合位点,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),其中每个抗原结合位点独立地可以以小于 1.25×10^{-9} M的K_D结合游离hC5a多肽,且其中,在有人C5 (hC5)存在下和在生理条件下评价(例如,使用高效液相色谱法(HPLC)),所述多个抗体中的至少95%的2个抗原结合位点以下述构型被未切割的hC5占据:(i)第一抗原结合位点结合未切割的hC5,第二抗原结合位点未结合;或(ii)第一抗原结合位点未结合,且第二抗原结合位点结合未切割的hC5。

[0061] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含多个分离的抗体的组合物,所述多个抗体中的每一个包含2个抗原结合位点,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),且其中,在有人C5 (hC5)存在下并在生理条件下评价(例如,使用高效液相色谱法(HPLC)),所述多个抗体中的至少95%包含至少一个能够结合游离hC5a的抗原结合位点。

[0062] 在本文所述的任一种组合物的有些实施方案中,在有至少2倍摩尔过量的hC5:抗体存在下,评价多个抗体。在本文所述的任一种组合物的有些实施方案中,在有至少2倍摩尔过量的hC5:抗原结合位点存在下,评价多个抗体。

[0063] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含2个抗原结合位点的分离的抗体,其中所述抗体结合游离C5a或未切割的C5,且其中在有摩尔过量(例如,至少或大于2倍、5倍、10倍、15倍或甚至20倍摩尔过量)的未切割的C5存在下,所述抗体的抗原结合位点之一保留可用于结合游离C5a。

[0064] 在有些实施方案中,所述抗原结合位点具有相同的特异性(例如,所述2个抗原结合位点各自的CDR共有相同的氨基酸序列)。在有些实施方案中,游离C5a是人C5a。在有些实施方案中,所述抗体具有在人C5a和得自非人哺乳动物物种的C5a之间的交叉反应性。在有些实施方案中,所述抗体可以以亚纳摩尔亲和力结合游离C5a。在有些实施方案中,所述抗体对C5a的亲和力比它对未切割的C5的对应亲和力大至少100倍。

[0065] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含2个抗原结合位点的分离的抗体,其中每个抗原结合位点独立地结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),且其中,在任意的未切割的hC5浓度(例如,与hC5a相比,摩尔过量的未切割的C5),所述抗体的抗原结合位点中的至少一个保留可用于结合游离hC5a(例如,在人生理条件下,例如,在人血或血清中)。

[0066] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含多个分离的抗体的组合物,其中所述多个抗体各自包含2个抗原结合位点,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),且其中,在1:1(抗体:hC5)的摩尔比,所述多个抗体中的不超过或小于5(例如,不超过或小于4.9、4.8、4.7、4.6、4.5、4.4、4.3、4.2、4.1、4.0、3.9、

3.8、3.7、3.6、3.5、3.4、3.3、3.2、3.1、3.0、2.9、2.8、2.7、2.6、2.5、2.4、2.3、2.2、2.1、2.0、1.9、1.8、1.7、1.6、1.5、1.4、1.3、1.2、1.1或1)%包含2个同时结合未切割的hC5的抗原结合位点。在有些实施方案中,每个抗原结合位点独立地可以以小于 1.25×10^{-9} M的 K_D (或,例如,以亚纳摩尔亲和力)结合游离hC5a。

[0067] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含多个分离的抗体的组合物,其中所述多个抗体各自包含2个抗原结合位点,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),且其中,当以1 mg/kg或更高的剂量施用给人时,在有生理水平的未切割的hC5存在下,所述多个抗体部分地或完全地结合和隔离纳克水平的游离C5a持续大于、等于或至少12 (例如,13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25)天。

[0068] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含多个分离的抗体的组合物,其中所述多个抗体各自包含2个抗原结合位点,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),且其中,当以10 mg/kg或更高的剂量施用给人时,在有生理水平的未切割的hC5存在下,所述多个抗体部分地或完全地结合和隔离纳克水平的游离C5a持续大于、等于或至少12 (例如,13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25)天。

[0069] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含多个分离的抗体的组合物,其中所述多个抗体各自包含2个抗原结合位点,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),且其中,当以实现大幅低于未切割的hC5的生理摩尔浓度的摩尔 C_{max} 值的剂量施用,在有生理水平的未切割的hC5存在下,所述多个抗体部分地或完全地结合和隔离纳克水平的游离C5a持续大于、等于或至少12 (例如,13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25)天。

[0070] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含多个分离的抗体的组合物,其中所述多个抗体各自包含2个抗原结合位点,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),且其中,当以实现大幅低于未切割的hC5的生理摩尔浓度的摩尔 C_{max} 值的剂量施用,在有生理水平的未切割的hC5存在下,所述多个抗体部分地或完全地结合和隔离病理生理学水平的游离C5a。

[0071] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含第一抗原结合位点和第二抗原结合位点的分离的抗体,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),且其中,当两个抗原结合位点被完全占据时(和,例如,在人生理条件下,例如,在人血或血清中),下述结合构型是可能的:(i)第一抗原结合位点结合游离hC5a,且第二抗原结合位点结合未切割的hC5;(ii)第一抗原结合位点结合游离hC5a,且第二抗原结合位点结合游离hC5a;或(iii)第一抗原结合位点结合未切割的hC5,且第二抗原结合位点结合游离hC5a。

[0072] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含第一抗原结合位点和第二抗原结合位点的分离的抗体,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),其中每个抗原结合位点独立地可以以小于 1.25×10^{-9} M的 K_D (或,例如,以亚纳摩尔亲和力)结合游离hC5a,且其中,在含有多个抗体的生理溶液中,至少95%的抗体处于下述构型:(i)第一抗原结合位点结合游离hC5a,且第二抗原结合位点结合未切割的hC5;(ii)第一抗原结合位点结合游离hC5a,且第二抗原结合位点结合游离hC5a;(iii)第一抗原结合位点结合未切割的hC5,且第二抗原结合位点结合游离hC5a;(iv)第一抗原结合位点结

合未切割的hC5,且第二抗原结合位点未结合;(v)第一抗原结合位点结合hC5a,且第二抗原结合位点未结合;(vi)第一抗原结合位点未结合,且第二抗原结合位点结合未切割的hC5;(vii)第一抗原结合位点未结合,且第二抗原结合位点结合hC5a;和(viii)第一抗原结合位点未结合,且第二抗原结合位点未结合。

[0073] 在另一个方面,本公开内容表征了一种包含2个抗原结合位点的分离的抗体,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),且其中,在与hC5a相比摩尔过量的未切割的hC5中,所述抗体在1:1 (抗原结合位点:hC5a)的摩尔比抑制了至少50% hC5a依赖性的人嗜中性粒细胞活化。

[0074] 在本文所述的任一种抗体的有些实施方案中,所述构型在人生理条件下可能是与完全折叠的、天然的人C5a和C5蛋白形成。

[0075] 在本文所述的任一种抗体的有些实施方案中,所述抗体以小于 1.25×10^{-9} M的 K_D (或,例如,以亚纳摩尔亲和力)结合游离hC5a。

[0076] 在另一个方面,本公开内容表征了一种抗体,所述抗体:(a)以亚纳摩尔亲和力结合游离C5a (例如,hC5a),并且(b)结合游离C5a的亲和力比它对未切割的C5蛋白的对应亲和力大至少100 (例如,至少110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、225、250、275、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000或10000)倍。在包含多个抗体的生理组合物中,就至少95%的抗体而言,所述抗体的仅一个抗原结合位点结合未切割的C5蛋白,而第二抗原结合位点保留可用于结合游离C5a (所述hC5a可以具有在SEQ ID NO:1中所述的氨基酸序列)。

[0077] 在另一个方面,本公开内容表征了一种用于治疗罹患C5a-相关的补体病症的人的方法,所述方法包括:给所述人施用包含多个分离的抗体的组合物,其中所述多个抗体各自包含2个抗原结合位点,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),其中将至少1 mg抗体/kg人体重施用给人,且其中所述抗体的施用可有效地部分地或完全地结合和隔离纳克水平的游离C5a持续至少12天。

[0078] 在另一个方面,本公开内容表征了一种用于治疗罹患补体相关病症(例如,C5a-相关的补体病症)的人的方法,所述方法包括:给所述人施用包含多个分离的抗体的组合物,其中所述多个抗体各自包含2个抗原结合位点,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),其中将至少10 mg抗体/kg人体重施用给人,且其中所述抗体的施用可有效地部分地或完全地结合和隔离纳克水平的游离C5a持续至少24天。

[0079] 在另一个方面,本公开内容表征了一种用于治疗罹患补体相关病症(例如,C5a-相关的补体病症)的人的方法,所述方法包括:给所述人施用包含多个分离的抗体的组合物,其中所述多个抗体各自包含2个抗原结合位点,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a)或未切割的人C5 (hC5),其中以特定剂量施用所述抗体,所述剂量足以:(a)实现大幅低于未切割的hC5的生理摩尔浓度的摩尔 C_{max} 值,和(b)部分地或完全地结合和隔离纳克水平的游离C5a持续至少12天。

[0080] 在另一个方面,本公开内容表征了一种用于治疗罹患补体相关病症(例如,C5a-相关的补体病症)的人的方法,所述方法包括:给所述人施用包含多个分离的抗体的组合物,其中所述多个抗体各自包含2个抗原结合位点,其中每个抗原结合位点独立地可以结合游

离的人C5a (hC5a) 或未切割的人C5 (hC5), 其中以特定剂量施用所述抗体, 所述剂量足以: (a) 实现大幅低于未切割的hC5的生理摩尔浓度的摩尔C_{max}值, 和 (b) 部分地或完全地结合和隔离纳克水平的游离C5a持续至少24天。

[0081] 在另一个方面, 本公开内容表征了一种用于治疗罹患补体相关病症 (例如, C5a-相关的补体病症) 的人的方法, 所述方法包括: 给所述人施用包含多个分离的抗体的组合物, 其中所述多个抗体各自包含2个抗原结合位点, 其中每个抗原结合位点独立地可以结合游离的人C5a (hC5a) 或未切割的人C5 (hC5), 其中以特定剂量施用所述抗体, 所述剂量足以: (a) 实现大幅低于未切割的hC5的生理摩尔浓度的摩尔C_{max}值, 和 (b) 部分地或完全地结合和隔离病理生理学水平的游离C5a。

[0082] 应当理解, 本文所述的任意组合物 (例如, 包含多个抗体) 或分离的抗体 (例如, 其在有C5或摩尔过量的C5、游离的Fab臂存在下, 能够结合游离C5a) 可以: (a) 配制成根据本公开内容的药物组合物, (b) 包括在 (本文所述的) 治疗试剂盒中, 或 (c) 包括在本文所述的预充注射器中。

[0083] 如在本文提供的工作实施例所述, 发明人还已经发现了一种抗体BNJ383 (参见下文), 其不仅以高亲和力 (亚纳摩尔亲和力) 结合游离hC5a, 而且在过量的未切割的C5的浓度, 还会以剂量依赖性的方式抑制末端补体复合物 (TCC) 形成。但是, 甚至在比6.5倍过量的C5更大的抗-C5a抗体浓度, TCC的抑制是不完全的。尽管本公开内容绝不受任何具体理论或作用机理的限制, 所述抗体可以如下抑制TCC形成: 结合至少一部分未切割的C5, 并阻止它的切割, 和/或以其它方式阻止C5与其它TCC组分成功结合。发明人理解, 这样的抗体可用于治疗补体相关病症, 例如, 其中C5a起重要作用, 且含有C5b的TCC可能起不太重要的作用。这样的病症可以包括, 例如, 脓毒症、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、脓毒性休克、抗磷脂综合征、灾难性抗磷脂综合征、弥漫性血管内凝血、狼疮肾炎、肺出血肾炎综合征、烧伤或严重烧伤、哮喘、HELLP综合征 (溶血性贫血、肝酶升高和低血小板计数)、炎症诱发的疼痛、C5a介导的嗜中性粒细胞减少、年龄相关的黄斑变性 (AMD)、慢性阻塞性肺疾病和类风湿性关节炎。

[0084] 发明人还理解, 使用这样的抗-C5a抗体来治疗这些病症以及其它病症, 可以提供与使用末端补体抑制药物相比甚至更有益的安全性特性。如上面所指出的, 抑制末端补体组分 (诸如C5、C5b、C6、C7、C8或C9) 的一个显著后果是, 宿主免疫系统针对末端补体经常裂解的具荚膜细菌 (例如, 脑膜炎奈瑟球菌和淋病奈瑟球菌) 的保护降低。由于在本部分中描述的抗-C5a抗体会抑制C5a介导的炎症应答, 但是不会完全抑制裂解那些具荚膜细菌的末端补体复合物的形成, 接收本文所述的治疗性抗-C5a抗体的患者不需要保护性疫苗接种, 例如, 针对脑膜炎奈瑟球菌和淋病奈瑟球菌的疫苗接种。TCC的部分抑制 (尽管没有完全废除末端补体的抗微生物应答) 可以实际上减少TCC诱发的炎症如组织损伤。据信, 与C5a的抑制相组合的TCC部分抑制, 会使得所述抗-C5a抗体成为一种甚至更有效的抗炎化合物。

[0085] 因此, 在另一个方面, 本公开内容表征了一种结合游离C5a的抗体或其抗原结合片段, 其中所述游离C5a是具有在SEQ ID NO:1中所述的氨基酸序列的人C5a, 其中所述抗体抑制C5a与C5a受体的结合, 且其中所述抗体部分地抑制末端补体复合物 (TCC) 的形成。本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段的部分抑制可以是例如补体活性, 也就是说, 在有所述抗体存在下, 是在没有所述抗体或其抗原结合片段存在下的补体活性的最多或不超过80 (例如, 75、70、65、60、55、50、45、40、35、30或25)%。在有些实施方案中, 所述抗体或其抗原结

合片段以亚纳摩尔亲和力结合游离C5a（例如，游离hC5a）。在有些实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段对游离C5a的亲和力比所述抗体或抗原结合片段对未切割的C5的对应亲和力大至少100倍。在有些实施方案中，使用CH50eq试验测得，所述抗体或其抗原结合片段在超过200（例如，210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380或400或更高） $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度抑制了至少50%的TCC形成。在有些实施方案中，使用在工作实施例中所述的Wieslab®经典途径补体试剂盒测得，所述抗体或其抗原结合片段在超过200（例如，210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380或400或更高） $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度抑制了至少50%经典补体途径活化。

[0086] 在另一个方面，本公开内容表征了一种用于治疗罹患补体相关病症（例如，C5a-相关的补体病症或补体相关的炎症性病症）的人的方法。所述方法包括：给所述人施用有效量的抑制C5a与C5a受体结合的抗体或其抗原结合片段，且其中所述抗体部分地抑制末端补体复合物（TCC）的形成。参见上文。所述病症可以是本领域已知的或本文所述的那些中的任一种。

[0087] 在另一个方面，本公开内容表征了一种分离的抗体或其抗原结合片段，它结合具有在SEQ ID NO:1中所述的氨基酸序列的人C5a多肽，但是不结合未切割的、天然的C5的 α 链，其中所述抗体或其抗原结合片段以小于 1.25×10^{-9} M的 K_D 结合人C5a多肽。

[0088] 在另一个方面，本公开内容表征了一种分离的抗体或其抗原结合片段，它结合具有在SEQ ID NO:1中所述的氨基酸序列的人C5a多肽，但是不结合未切割的、天然的C5的 α 链，其中所述抗体在1:1（抗原结合位点:C5a）的摩尔比抑制了至少50%人C5a依赖性的人嗜中性粒细胞活化。在有些实施方案中，在实施例5所述的试验（其中使用0.4 nM抗体来抑制2 nM人C5a的嗜中性粒细胞活化活性）中，所述抗体抑制了至少50%人C5a依赖性的人嗜中性粒细胞迁移。在有些实施方案中，所述抗体不包含在表1中描述的示例性的CDR配对3。在有些实施方案中，所述抗体不是BNJ371。

[0089] 在有些实施方案中，本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段结合具有在SEQ ID NO:2中所述的氨基酸序列的人C5a多肽。

[0090] 在有些实施方案中，本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽，所述轻链多肽包含：轻链CDR1，其含有在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列；轻链CDR2，其包含在SEQ ID NO:21中所述的氨基酸序列；和轻链CDR3，其包含在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列。

[0091] 在有些实施方案中，本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽，所述轻链多肽包含：轻链CDR1，其含有在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列；轻链CDR2，其包含在SEQ ID NO:38中所述的氨基酸序列；和轻链CDR3，其包含在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列。

[0092] 在有些实施方案中，本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含重链多肽，所述重链多肽包含：重链CDR1，其含有在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列；重链CDR2，其包含在SEQ ID NO:29中所述的氨基酸序列；和重链CDR3，其包含在SEQ ID NO:30中所述的氨基酸序列。

[0093] 在有些实施方案中，本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含重链多肽，所述重链多肽包含：重链CDR1，其含有在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列；重链CDR2，其包

含在SEQ ID NO:67中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:30中所述的氨基酸序列。

[0094] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含重链多肽,所述重链多肽包含:重链CDR1,其含有在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:46中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:47中所述的氨基酸序列。

[0095] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:36中所述的氨基酸序列。

[0096] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含重链多肽,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:27或SEQ ID NO:33中所述的氨基酸序列。

[0097] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:37中所述的氨基酸序列,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:27中所述的氨基酸序列。

[0098] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:36中所述的氨基酸序列,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:33中所述的氨基酸序列。

[0099] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:19或SEQ ID NO:17中所述的氨基酸序列。

[0100] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含重链多肽,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:27或SEQ ID NO:25中所述的氨基酸序列。

[0101] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:19中所述的氨基酸序列,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:27中所述的氨基酸序列。

[0102] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:17中所述的氨基酸序列,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:25中所述的氨基酸序列。

[0103] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:42或SEQ ID NO:40中所述的氨基酸序列。

[0104] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含重链多肽,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:27或SEQ ID NO:33中所述的氨基酸序列。

[0105] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:42中所述的氨基酸序列,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:27中所述的氨基酸序列。

[0106] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:40中所述的氨基酸序列,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:33中所述的氨基酸序列。

[0107] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:17中所述的氨基酸序列,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:33中所述的氨基酸序列。

[0108] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含重链多肽,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:44或SEQ ID NO:49中的任一个中所述的氨基酸序列。

[0109] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:19中所述的氨基酸序列,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:45中所述的氨基酸序列。

[0110] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:17中所述的氨基酸序列,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:44中所述的氨基酸序列。

[0111] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:17中所述的氨基酸序列,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:49中所述的氨基酸序列。

[0112] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:36中所述的氨基酸序列。

[0113] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含重链多肽,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:45或SEQ ID NO:49中所述的氨基酸序列。

[0114] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:37中所述的氨基酸序列,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:45中所述的氨基酸序列。

[0115] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:36中所述的氨基酸序列,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:49中所述的氨基酸序列。

[0116] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:42或SEQ ID NO:40中所述的氨基酸序列。

[0117] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含重链多肽,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:45或SEQ ID NO:49中所述的氨基酸序列。

[0118] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:42中所述的氨基酸序列,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:45中所述的氨基酸序列。

[0119] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽含有在SEQ ID NO:40中所述的氨基酸序列,所述重链多肽含有在SEQ ID NO:49中所述的氨基酸序列。

[0120] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段以小于 7×10^{-10} M的 K_D 结合hC5a。

[0121] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段以小于 5×10^{-10} M的 K_D 结合hC5a。

[0122] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段以小于 3×10^{-10} M的 K_D 结合hC5a。

[0123] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段以小于 2.5×10^{-10}

M的K_D结合hC5a。

[0124] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段以小于 1.5×10^{-10} M的K_D结合hC5a。

[0125] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段以小于 1.0×10^{-10} M的K_D结合hC5a。

[0126] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段以小于 8.0×10^{-11} M的K_D结合hC5a。

[0127] 在有些实施方案中,抗体在1:1 (抗原结合位点:C5a)的摩尔比抑制了至少70 (例如,至少75、80、85、90或95或更大)%的人C5a依赖性的人嗜中性粒细胞活化。在有些实施方案中,所述抗体不包含在表1中描述的示例性的CDR配对3。在有些实施方案中,所述抗体不是BNJ371。

[0128] 在另一个方面,本公开内容表征了一种分离的抗体或其抗原结合片段,它包含在表3或表7中所述的轻链CDR。例如,分离的抗体或其抗原结合片段可以包含轻链多肽,所述轻链多肽含有:(i)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:140中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:96中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:142中所述的氨基酸序列;(ii)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:156中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:157中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:158中所述的氨基酸序列;(iii)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:164中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:165中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:166中所述的氨基酸序列;(iv)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:172中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:173中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:174中所述的氨基酸序列;(v)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:84中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:85中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:86中所述的氨基酸序列;(vi)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:92中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:89中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:93中所述的氨基酸序列;(vii)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:88中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:89中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:90中所述的氨基酸序列;(viii)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:95中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:96中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:97中所述的氨基酸序列;(ix)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:99中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:100中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:101中所述的氨基酸序列;(x)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:84中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:85中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:103中所述的氨基酸序列;(xi)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:105中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:106中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:107中所述的氨基酸序列;(xii)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:92中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:89中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:108中所述的氨基酸序列;(xiii)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:110中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:111中所述的氨基酸序列;

或(xiv)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:21中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:113中所述的氨基酸序列。在有些实施方案中,所述包含轻链CDR集合的抗体或其抗原结合片段也包含重链多肽,所述重链多肽含有在表8中所述的重链CDR集合中的任一个。

[0129] 在另一个方面,本公开内容表征了一种分离的抗体或其抗原结合片段,它包含在表3或表8中所述的重链CDR集合。例如,在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含重链多肽,所述重链多肽包含:(i)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:115中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:144中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:117中所述的氨基酸序列;(ii)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:67中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:30中所述的氨基酸序列;(iii)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:160中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:161中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:162中所述的氨基酸序列;(iv)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:168中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:169中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:170中所述的氨基酸序列;(v)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:176中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:177中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:178中所述的氨基酸序列;(vi)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:115中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:116中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:117中所述的氨基酸序列;(vii)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:119中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:120中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:121中所述的氨基酸序列;(viii)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:115中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:123中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:117中所述的氨基酸序列;(ix)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:115中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:124中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:117中所述的氨基酸序列;(x)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:119中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:126中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:127中所述的氨基酸序列;(xi)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:115中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:129中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:117中所述的氨基酸序列;(xii)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:131中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:132中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:133中所述的氨基酸序列;(xiii)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:46中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:47中所述的氨基酸序列;或(xiv)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:136中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:137中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:138中所述的氨基酸序列。在有些实施方案中,所述包含重链CDR集合的抗体或其抗原结合片段也包含轻链多肽,所述轻链多肽含有在表7中所述的轻链CDR集合中的任一个。

[0130] 在另一个方面,本公开内容表征了一种分离的抗体或其抗原结合片段,它包含来自表7的轻链CDR集合和在表8中所述的它的同源重链CDR集合。在另一个方面,本公开内容

表征了一种分离的抗体或其抗原结合片段,它包含在表3或表9中所述的配对的轻链和重链 CDR集合。例如,在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含:(i)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:140中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:96中所述的氨基酸序列;轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:142中所述的氨基酸序列;重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:115中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:144中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:117中所述的氨基酸序列;(ii)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:21中所述的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列;重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:67中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:30中所述的氨基酸序列;(iii)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:156中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:157中所述的氨基酸序列;轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:158中所述的氨基酸序列;重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:160中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:161中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:162中所述的氨基酸序列;(iv)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:164中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:165中所述的氨基酸序列;轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:166中所述的氨基酸序列;重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:168中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:169中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:170中所述的氨基酸序列;(v)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:172中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:173中所述的氨基酸序列;轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:174中所述的氨基酸序列;重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:176中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:177中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:178中所述的氨基酸序列;(vi)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:88中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:89中所述的氨基酸序列;轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:90中所述的氨基酸序列;重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:119中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:120中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:121中所述的氨基酸序列;(vii)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:105中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:106中所述的氨基酸序列;轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:107中所述的氨基酸序列;重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:115中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:124中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:117中所述的氨基酸序列;(viii)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:84中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:85中所述的氨基酸序列;轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:86中所述的氨基酸序列;重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:115中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:116中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:117中所述的氨基酸序列;(ix)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:110中所述的氨基酸序列;轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:111中所述的氨基酸序列;重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:136中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:137中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:138中所述的氨基酸序列;(x)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:21中所述的氨基酸序列;轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:113中所述的氨基

所述的氨基酸序列;重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:115中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:144中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:117中所述的氨基酸序列;或(xxi)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:21中所述的氨基酸序列;轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:113中所述的氨基酸序列;重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:131中所述的氨基酸序列;重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:132中所述的氨基酸序列;和重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:133中所述的氨基酸序列。

[0131] 在有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含在表3中所述的配对的轻链CDR集合和重链CDR集合。在有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含在表2中所述的配对的轻链CDR集合和重链CDR集合。例如,本公开内容表征了一种抗体,所述抗体包含:(i)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列;(ii)轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:21中所述的氨基酸序列;和(iii)轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列;(iv)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列;(v)重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:46中所述的氨基酸序列;和(vi)重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:47中所述的氨基酸序列。

[0132] 在有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含在表2中所述的轻链可变区,所述轻链与在表2中所述的任一个重链可变区配对。例如,本公开内容表征了一种抗体(或其抗原结合片段),它包含:(a)轻链可变区,其氨基酸序列包含在SEQ ID NO:42中所述的氨基酸序列,和(b)重链可变区,其氨基酸序列包含在SEQ ID NO:45中所述的氨基酸序列。

[0133] 在有些实施方案中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含:(i)重链可变区框架区1,其包含在SEQ ID NO:68或SEQ ID NO:69中所述的氨基酸序列;(ii)重链可变区框架区2,其包含在SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:71中所述的氨基酸序列;和重链可变区框架区3,其包含在SEQ ID NO:72-74中的任一个中所述的氨基酸序列。在有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区框架区4,后者包含在SEQ ID NO:75中所述的氨基酸序列。在有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区,后者包含在SEQ ID NO:76-80中的任一个中所述的氨基酸序列。所述抗体重链可以包含本文所述的任一个重链CDR集合。在有些实施方案中,所述重链可变区可以与包含在SEQ ID NO:16中所述的氨基酸序列的可变区多肽配对。

[0134] 在有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段结合非人C5a蛋白。例如,所述抗体或其抗原结合片段可以结合小鼠C5a和/或去精氨酸化的小鼠C5a蛋白。在有些实施方案中,分离的抗体或其抗原结合片段可以结合小鼠C5a(和/或去精氨酸化的小鼠C5a),且包含:(i)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:54中所述的氨基酸序列;(ii)轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:55中所述的氨基酸序列;(iii)轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:56中所述的氨基酸序列;(iv)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:62中所述的氨基酸序列;(v)重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:63中所述的氨基酸序列;和(vi)重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:64中所述的氨基酸序列。在有些实施方案中,所述抗-小鼠C5a抗体可以包含:含有在SEQ ID NO:59中所述的氨基酸序列的轻链多肽;和含有在SEQ ID NO:66中所述的氨基酸序列的重链多肽。

[0135] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段会抑制C5a和C5a受体之间的相互作用。所述C5a受体可以是,例如,C5aR1或C5L2。

[0136] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段不会在体外和/或在体内大幅抑制补体介导的红血细胞溶血。

[0137] 在有些实施方案中,分离的抗体(和因此其任意抗原结合片段)是单克隆抗体、人源化的抗体或全人抗体。

[0138] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段选自:重组抗体、单链抗体、双体、细胞内抗体、嵌合化的或嵌合的抗体、去免疫化的人抗体、Fv片段、Fd片段、Fab片段、Fab'片段和F(ab')₂片段。

[0139] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段是多特异性的(例如,双特异性的),因为所述抗体或片段结合至少2种不同的表位。所述2种不同的表位可以是,例如,来自相同蛋白(例如,C5a)的2种不同表位,或所述抗体可以结合来自第一蛋白(例如,C5a)的第一表位和来自第二蛋白的第二表位。

[0140] 在有些实施方案中,本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段包含异源部分。所述异源部分可以是,例如,糖。例如,所述抗体或其抗原结合片段可以被糖基化。所述异源部分可以是,例如,可检测的标记例如,但不限于、荧光标记、发光标记、重金属标记、放射性标记或酶标记。

[0141] 在有些实施方案中,用提高抗体在循环中的稳定化和/或保留的部分,修饰本文所述的分离的抗-C5a抗体或其抗原结合片段。例如,所述修饰可以是聚乙二醇化或羟乙基淀粉化。在另一个实施方案中,所述抗-C5a抗体可以含有改变的恒定区,与它的对应的未改变的恒定区的效应子功能相比,所述改变的恒定区具有降低的(或没有)效应子功能。在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体含有改变的恒定区,后者具有未改变的恒定区的效应子功能的约0至约20%。本文描述了这样的降低效应子功能的抗体的示例性实施方案。

[0142] 在另一个方面,本公开内容表征了一种分离的抗体或其抗原结合片段,它会交叉阻断任一种前述抗体的结合。

[0143] 在另一个方面,本公开内容表征了一种药物组合物,其包含一种或多种本文所述的任意分离的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载体、稀释剂和/或赋形剂。

[0144] 在另一个方面,本公开内容表征了:(i)核酸,其编码一种或多种本文所述的任一种抗体或其抗原结合片段;(ii)包含所述核酸的载体;(iii)包含所述核酸的表达载体;和/或(iv)包含所述载体或所述表达载体的细胞。在另一个方面,本公开内容表征了一种用于生产多肽(诸如本文所述的任一种抗体或其抗原结合片段)的方法。所述方法包括:在足以允许前述细胞(其包含所述表达载体)表达由所述载体中的核酸编码的所述抗体或抗原结合片段的条件和时间下,培养所述细胞。所述方法还可以包括:从所述细胞或从用于培养所述细胞的培养基,分离出所述抗体或抗原结合片段。

[0145] 在另一个方面,本公开内容表征了一种分离的核酸,其编码本文所述的任一个氨基酸序列或特定多肽,所述特定多肽的氨基酸序列包含本文所述的任一个氨基酸序列或由其组成。所述核酸可以被包括在载体(例如,表达载体)中,和/或可以存在于细胞中。

[0146] 在另一个方面,本公开内容表征了一种治疗试剂盒,其包含:(i)一种或多种本文所述的分离的抗体或抗原结合片段(例如,一种或多种本文所述的任意人源化的抗体或其抗原结合片段);和(ii)用于将所述抗体或抗原结合片段递送给受试者的装置。所述装置可以适用于,例如,向所述受试者皮下递送、眼内递送或关节内递送所述抗体或其抗原结合片

段。所述装置可以是,例如,注射器、双筒注射器或集成的2个单独的注射器,用于以推拉方式在吸出膝流体(例如,用于分析)的同时施用治疗性抗体或其抗原结合片段。在有些实施方案中,所述装置是用于眼递送,且包含经巩膜的贴剂或接触镜,它们各自包含所述抗体或其抗原结合片段。在有些实施方案中,所述装置适用于肺内递送。例如,所述装置可以是吸入器或喷雾器。在有些实施方案中,所述装置是预充注射器,诸如笔式装置。所述预充注射器可以含有,例如,至少一个药物单位剂型的一种或多种本文提供的抗体或其抗原结合片段。

[0147] 在有些实施方案中,本文所述的治疗试剂盒可以含有至少一种其它活性剂,所述其它活性剂用于治疗受试者的补体相关病症。所述其它活性剂可以是,例如,本文所述的任意其它试剂。

[0148] 在另一个方面,本公开内容表征了一种用于治疗或预防补体相关病症的方法。所述方法包括:以足以治疗折磨人的补体相关病症的量,给有此需要的人施用本文所述的治疗性抗体或其抗原结合片段。所述方法还可以包括:将所述受试者鉴别为具有补体相关病症。所述补体相关病症可以是,例如,补体相关的炎症性病症、非典型溶血性毒症综合征、年龄相关的黄斑变性、类风湿性关节炎、脓毒症或抗磷脂综合征。在有些实施方案中,所述补体相关病症是补体相关肺病。例如,所述补体相关肺病可以是,例如,哮喘或慢性阻塞性肺疾病。本文描述了适合在本方法中描述的治疗或预防的其它补体相关病症。给药模式可以随要治疗的补体相关病症的类型而变化,且可以是,例如,静脉内给药、肺内给药、眼内给药、皮下给药或关节内给药。

[0149] 在有些实施方案中,以足以在治疗期间维持降低的全身C5a活性水平的量和频率,将所述抗体或其抗原结合片段施用给人。在有些实施方案中,所述方法可以包括:在给药以后,监测所述人的补体相关病症的一种或多种症状的改善。

[0150] 在有些实施方案中,所述方法可以包括:给所述人施用一种或多种其它治疗剂。

[0151] 在另一个方面,本公开内容表征了一种制品,所述制品包含:(i)具有标签的容器,和(ii)组合物,其包含本文所述的抗体或其抗原结合片段。所述标签可以指示,所述组合物用于施用给具有、疑似具有补体相关病症或处于发展该病症的危险中的人。所述制品还可以包括一种或多种其它活性剂。

[0152] 贯穿本公开内容使用的术语“抗体”表示整个或完整的抗体(例如,IgM、IgG、IgA、IgD或IgE)分子,其通过本领域已知的和描述在本文中的多种方法中的任一种来制备。术语“抗体”包括多克隆抗体、单克隆抗体、嵌合化的或嵌合的抗体、人源化的抗体、去免疫化的人抗体和全人抗体。所述抗体可以在多个物种中的任一个中制备或衍生出,所述物种是例如:哺乳动物诸如人类、非人灵长类动物(例如,猴、狒狒或黑猩猩)、马、牛、猪、绵羊、山羊、狗、猫、兔、豚鼠、沙鼠、仓鼠、大鼠和小鼠。所述抗体可以是纯化的或重组的抗体。

[0153] 本文使用的术语“抗体片段”、“抗原结合片段”或类似术语表示,保留结合抗原(例如,存在于C5a中、但是不存在于未切割的、天然的C5蛋白的 α 链中的表位)的能力的抗体片段,例如,单链抗体(scFv)、Fd片段、Fab片段、Fab'片段或F(ab')₂片段。scFv是单个多肽链,其包括衍生出所述scFv的抗体的重链和轻链可变区。另外,在抗体片段的定义中包括:双体(Poljak (1994) *Structure* 2(12):1121-1123; Hudson等人(1999) *J Immunol Methods* 23(1-2):177-189,它们二者的公开内容通过引用整体并入本文)、微体、三体(Schoonooghe

等人(2009) *BMC Biotechnol* 9:70)、结构域抗体(也称作“重链免疫球蛋白”或camelids; Holt等人(2003) *Trends Biotechnol* 21(11):484-490)和细胞内抗体(Huston等人(2001) *Hum Antibodies* 10(3-4):127-142; Wheeler等人(2003) *Mol Ther* 8(3):355-366; Stocks (2004) *Drug Discov Today* 9(22): 960-966,它们各自的公开内容通过引用整体并入本文),且可以掺入所述组合中,并用于本文所述的方法中。

[0154] 除非另有定义,在本文中使用的所有技术和科学术语具有与本公开内容所属领域的普通技术人员通常理解相同的含义。在冲突的情况下,以发明的文件(包括定义)为准。下面描述了优选的方法和材料,尽管与本文所述的那些类似或等效的方法和材料也可以用于实践或测试本发明公开的方法和组合物。在本文中提及的所有出版物、专利申请、专利和其它参考文献都通过引用整体并入本文。

[0155] 从下面的描述、实施例,和从权利要求书,显而易见本公开内容的其它特征和优点,例如,用于治疗受试者的补体相关病症的方法。

附图说明

[0156] 图1的Venn简图描绘了被鼠抗-人C5a抗体的下述选定集合结合的人C5a中的表位重叠程度:5an101ME、5an180ME、5an048ME、5an179ME和5an178ME。

[0157] 图2的线图描绘了在体外使用嗜中性粒细胞活化试验测得的C5a介导的信号传递的拮抗作用。Y-轴表示随着新鲜分离的人嗜中性粒细胞的髓过氧化物酶释放而变化的生色底物的光密度(OD)测量。X-轴表示与细胞一起温育的抗体的浓度。在插图图例中标明了测试的人源化的抗体:BNJ367、BNJ369、BNJ371、BNJ378、BNJ381、BNJ383和人源化的抗-C5a抗体。

[0158] 图3的线图描绘了几种治疗性抗体对类风湿性关节炎小鼠模型中的关节炎的作用。Y-轴表示按毫米计的初始发炎的膝关节厚度。X-轴表示疾病发作以后的天数。在插图图例中标明了测试的治疗性抗体:5an195ME(小鼠抗-小鼠C5a抗体)和具有与所述抗-C5a抗体相同的Fc区的对照抗体。

[0159] 图4的线图描绘了几种治疗性抗体对类风湿性关节炎小鼠模型中的总体疾病严重性的作用。Y-轴表示关节炎指数。X-轴表示疾病发作以后的天数。在插图图例中标明了测试的治疗性抗体:5an195ME(小鼠抗-小鼠C5a抗体)和具有与所述抗-C5a抗体相同的Fc区的对照抗体。

[0160] 图5描绘了一系列人源化的重链可变区序列。按照从最上面至最下面的次序:BNJ345人源化的抗-C5a抗体的重链可变区(SEQ ID NO:76);BNJ346人源化的抗-C5a抗体的重链可变区(SEQ ID NO:77);BNJ347人源化的抗-C5a抗体的重链可变区(SEQ ID NO:78);BNJ354人源化的抗-C5a抗体的重链可变区(SEQ ID NO:79);和BNJ350人源化的抗-C5a抗体的重链可变区(SEQ ID NO:80)。技术人员会明白重链框架区1、2、3和4和重链CDR 1、2和3之间的略图。由Kabat等人(下文)定义的这样的略图显示在附图中。“HC FR1”表示重链可变区框架区1,“HC FR2”表示重链可变区框架区2,“HC FR3”表示重链可变区框架区3,“HC FR4”表示重链可变区框架区4。“HC CDR1”表示重链可变区互补性决定区(CDR) 1,“HC CDR2”表示重链可变区CDR2,“HC CDR3”表示重链可变区CDR3。

[0161] 图6的线图描绘了在给小鼠施用hC5a以后,小鼠血液中的循环嗜中性粒细胞的百

分比。在Y-轴上,嗜中性粒细胞数表示为“基线”的百分比,所述基线是在时间0时的嗜中性粒细胞数(或100%嗜中性粒细胞)。X-轴表示,按分钟计的时间。以下述剂量之一,给小鼠组群静脉内地施用对照抗体[抗-炭疽保护性抗原63, IgG2/G4同种型] (“对照”;5只小鼠)或抗-人C5a抗体BNJ383:24 mg/kg (5只小鼠);12 mg/kg (5只小鼠);6 mg/kg (5只小鼠);和3 mg/kg (5只小鼠),然后施用hC5a。参见实施例13。6只小鼠(“假的”)没有施用人C5a。

[0162] 图7的条形图描绘了在给小鼠施用人C5a之前和之后,小鼠血浆中的髓过氧化物酶(MPO)水平。Y-轴表示小鼠血浆中的MPO的浓度(ng/mL)。X-轴表示,按分钟计的时间。以下述剂量之一,给小鼠组群静脉内地施用对照抗体[抗-炭疽保护性抗原63, IgG2/G4同种型] (“对照”;8只小鼠)或抗-人C5a抗体BNJ383:24 mg/kg (5只小鼠);12 mg/kg (5只小鼠);6 mg/kg (5只小鼠);和3 mg/kg (5只小鼠),然后施用hC5a。4只小鼠(“假的”)没有施用人C5a。

[0163] 图8的线图描绘了在有或没有不同浓度的抗-hC5a抗体(BNJ383)存在下小鼠(施用人C5a)血浆中的人C5a水平的变化。Y-轴表示小鼠血浆中的hC5a的浓度(ng/mL)。X-轴表示,按分钟计的时间。以下述剂量之一,给小鼠组群静脉内地施用对照抗体[抗-炭疽保护性抗原63, IgG2/G4同种型] (“对照”;6只小鼠)或抗-人C5a抗体BNJ383:24 mg/kg (3只小鼠);12 mg/kg (3只小鼠);6 mg/kg (3只小鼠);和3 mg/kg (3只小鼠),然后施用hC5a。4只小鼠(“假的”)没有施用人C5a。

[0164] 图9的线图描绘了在体外与人C5a的结合的竞争。与不同浓度(例如,400、133、44.4、14.8、4.9、1.6和0.5 nM)的下述物质之一,用1 nM生物素化的hC5a温育250 pM的钆-标记的抗-C5a抗体(BNJ383):(a)在磷酸盐缓冲盐水中的人C5a desarg蛋白,(b)人血浆,(c)食蟹猴血浆,(d) Balb/C (小鼠)血浆,或(e) DBA/2J (小鼠)血浆。关于血浆组分(b)、(c)、(d)和(e),所述浓度表示温育混合物中的C5抗原的近似终浓度。Y-轴表示,随着检测的钆-标记的抗-C5a抗体的量而变化的任意荧光单位。X-轴表示抗原竞争剂的浓度(nM)。

[0165] 图10的线图描绘了几种补体抑制蛋白对补体的旁途径(AP)的影响。Y-轴表示,AP补体活性相对于基线(BL;在没有补体抑制剂存在下的活性水平)的百分比。X-轴表示,给定的补体抑制剂的浓度(μ M)。分别评价了抗-hC5a抗体BNJ383以及抗-C5抗体对AP活性的影响。

[0166] 图11的线图描绘了几种补体抑制蛋白对补体的经典途径(CP)的影响。Y-轴表示,CP补体活性相对于基线(BL;在没有补体抑制剂存在下的活性水平)的百分比。X-轴表示,给定的补体抑制剂的浓度(μ M)。分别评价了抗-hC5a抗体BNJ383以及抗-C5抗体对CP活性的影响。

[0167] 图12A、12B、12C和12D是一系列色谱图,它们描绘了在有或没有hC5蛋白存在下抗-C5a抗体(BNJ383)和抗-hC5抗体的保留时间。就所有图而言,X-轴表示按分钟计的保留时间,Y-轴表示在214 nm波长的吸光度单位。在每个图中,潜入的子图描绘了特征峰的放大图。

[0168] 图12A描绘了在没有hC5蛋白存在下,BNJ383的保留时间。

[0169] 图12B描绘了在没有hC5蛋白存在下,抗-C5抗体的保留时间。

[0170] 图12C描绘了在有hC5(与BNJ383相比2.1倍摩尔过量的hC5)存在下,BNJ383的保留时间。从右至左,列举的峰代表:(a)未形成复合物的BNJ383或hC5;(b)BNJ383,其具有一

个与未切割的hC5结合的抗原结合位点；和(c)微量级分，其与未切割的hC5对BNJ383的双占据相一致。

[0171] 图12D描绘了在有等摩尔量的hC5存在下，抗-C5抗体的保留时间。从右至左，列举的峰代表：(a)未形成复合物的抗-C5抗体或hC5；(b)抗-C5抗体，其具有一个与未切割的hC5结合的抗原结合位点；和(c)与2个未切割的C5分子结合的抗-C5抗体。

[0172] 图13的线图描绘了，使用ELISA，在有hC5存在下，抗-C5a抗体BNJ383与hC5a desarg的结合。X-轴表示抗体的浓度(ng/mL)。Y-轴表示在450 nm波长的光密度。

[0173] 图14的散布图描绘了随抗-C5a抗体(BNJ383)的血浆浓度而变化的、存在于食蟹猴血浆中的游离C5a/C5a desarg的浓度。Y-轴描绘了在血浆样品中检测到的C5a/C5a desarg的浓度(pg/mL)，所述血浆样品在以1 mg/kg、10 mg/kg、100 mg/kg、250 mg/kg或400 mg/kg动物体重的剂量单次静脉内施用BNJ383以后1天至30天范围内的时间点得自食蟹猴。X-轴表示，在每个样品中的BNJ383浓度($\mu\text{g/mL}$)。

[0174] 图15A的散布图描绘了随着循环中的抗-C5a抗体(BNJ383)的浓度(X-轴)而变化的、经过经典途径开始的血清样品中的溶血性活性相对于基线值的百分比(Y-轴)。

[0175] 图15B的散布图描绘了随着循环中的抗-C5a抗体(BNJ383)的浓度(X-轴)而变化的、通过CH50eq试验测得的、血清样品中经过经典途径开始的末端补体复合物形成相对于基线值的百分比(Y-轴)。

[0176] 图15C的散布图描绘了随着循环中的抗-C5a抗体(BNJ383)的浓度(X-轴)而变化的、通过CCP试验测得的、血清样品中经过经典途径开始的末端补体复合物形成相对于基线值的百分比(Y-轴)。

具体实施方式

[0177] 本公开内容提供了结合游离C5a(例如，游离的人C5a)的抗体和其抗原结合片段、含有所述抗体或它们的片段的组合物、以及使用前述任一种治疗或预防补体相关病症的方法，所述病症例如、但不限于：aHUS、黄斑变性(例如，AMD)、RA、脓毒症、抗磷脂综合征、烧伤(例如，严重烧伤)、肺出血肾炎综合征、狼疮肾炎或补体相关肺病诸如哮喘或慢性阻塞性肺疾病(COPD)。本公开内容也提供了这样的抗-C5a抗体(及其片段)：它们具有在得自人的游离C5a和得自非人哺乳动物物种(诸如非人灵长类动物(例如，食蟹猴或恒河猴))的游离C5a之间的交叉反应性。尽管无意成为限制性的，在下面详细说明并在工作实施例中例证了示例性的抗体(和抗原结合片段)、组合物(例如，药物组合物和制剂)和使用所述组合物的方法。

[0178] 抗-C5a抗体和其抗原结合片段

[0179] 本公开内容提供了结合补体组分C5a的抗体。如以上所讨论的，C5的原型(proform)(1676个氨基酸残基的前体蛋白)通过一系列蛋白水解性裂解事件进行加工。前18个肽(编号为-18至-1)构成从前体蛋白切下的信号肽。剩余的1658个氨基酸的蛋白被切成2段，以形成 α 和 β 链。第一个切割事件发生在氨基酸残基655和656之间。第二个切割发生在氨基酸残基659和660之间。所述2个切割事件导致3个独特多肽片段的形成：(i)包含氨基酸1-655的片段，它被称作 β 链；(ii)包含氨基酸660-1658的片段，它被称作 α 链；和(iii)由氨基酸656-659组成的四肽片段。 α 链和 β 链多肽片段经由二硫键彼此连接，并构成成熟的C5

蛋白。CP或AP C5转化酶通过在残基733和734之间切割 α 链而活化成熟的C5,所述切割会导致C5a片段(氨基酸660-733)的释放。成熟的C5的剩余部分是片段C5b,它含有与 β 链通过二硫键相连的 α 链的残基734-1658。

[0180] 在体内,C5a会被血清酶(羧肽酶B)快速地代谢成73个氨基酸的形式,称作“C5a desarg”,它已经丧失了羧基端精氨酸残基。因此,在有些实施方案中,结合游离C5a的抗体也会结合去精氨酸化的C5a。在有些实施方案中,结合游离C5a的抗体不会结合去精氨酸化的C5a。

[0181] 在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体会结合存在于C5a中的新表位,即在从成熟的C5的 α 链片段释放出C5a以后暴露出的表位。也就是说,在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体结合C5a和/或C5a desarg,但是不结合未切割的、天然的(完全折叠的) C5。

[0182] 如上所述,在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以结合未切割的、加工过的C5(例如,血浆C5)的亚群,所述亚群构成样品中的全长C5的总群体(例如,血液或血浆样品或包含重组全长C5的样品)的小于10(例如,小于9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2、1.5、1、0.5、0.4、0.3、0.2或小于0.1)%,所述亚群完全地或部分地变性,从而暴露否则会被封闭的C5a新表位。因而,在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以结合游离C5a,但是不会结合90%或更多的未切割的、天然的C5群体的C5。在有些实施方案中,在任意数目的适用于测试C5活性的试验(例如,溶血试验或CH50eq试验)中,所述部分或完全变性的亚群是无活性的,或具有降低的活性(例如,小于全功能的全长C5蛋白的活性的90、85、80、75、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10、5%)。适用于测试本文所述的抗-C5a抗体在有些实施方案中可以结合的小亚群的活性的方法,是本领域已知的,并描述在本文中。

[0183] 在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体会结合哺乳动物(例如,人) C5a蛋白。例如,所述抗-C5a抗体可以结合具有下述氨基酸序列的人C5a蛋白:

[0184] TLQKKIEEIAAKYKHSVVKCCYDGACVNNDETCEQRAARISLGPRCIKAFTECCVVASQLRANISHKDMQLGR (SEQ ID NO:1)。在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体可以结合具有下述氨基酸序列的去精氨酸化的人C5a蛋白:TLQKKIEEIAAKYKHSVVKCCYDGACVNNDETCEQRAARISLGPRCIKAFTECCVVASQLRANISHKDMQLG (SEQ ID NO:2)。本文所述的抗-C5a抗体可以结合全长人C5a和去精氨酸化的人C5a。

[0185] 在有些实施方案中,所述抗体可以结合人C5a的表位,所述表位在具有下述氨基酸序列的蛋白的结构片段内或与其重叠:TLQKKIEEIAAKYK (SEQ ID NO:3);HSVVKCCYDGAC (SEQ ID NO:4);VNNDE (SEQ ID NO:5);TCEQRAAR (SEQ ID NO:6);ISLG (SEQ ID NO:7);PRCIKAFTECCVVASQLRANIS (SEQ ID NO:8);HKDMQLG (SEQ ID NO:9);或HKDMQLGR (SEQ ID NO:10)。参见,例如,Cook等人(2010) *Acta Cryst D*66:190-197。在有些实施方案中,所述抗体可以结合C5a的表位,所述表位在包含至少2个配对的半胱氨酸残基的C5a肽片段的氨基酸序列内或与其重叠。例如,抗-C5a抗体可以结合这样的片段,所述片段包含下述氨基酸序列或由其组成:CCYDGACVNNDETC (SEQ ID NO:11);CYDGACVNNDETCEQRAARISLGPRCIKAFTECC (SEQ ID NO:12);和CEQRAARISLGPRCIKAFTECC (SEQ ID NO:13),其中,在每个所述的肽片段内,第一个和最后一个半胱氨酸残基通过二硫键配对。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体可以结合人C5a蛋白的表位,所述表位在下述氨基酸序列内或与其重叠:

YDGACVNNDTCEQRAAR (SEQ ID NO:14)或CYDGACVNNDTCEQRAA (SEQ ID NO:15)。在有些实施方案中,抗体可以结合人C5a蛋白或其含有特定氨基酸序列的片段,所述特定氨基酸序列含有在SEQ ID NO:1-15中的任一个中描述的至少4个(例如,至少4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17或更多个)连续氨基酸或由其组成。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体会结合三元表位,所述三元表位包含C5a蛋白的2个或更多个(例如,至少2、3或4个)不连续的肽区域,例如,通过二硫键连接到一起的2个或更多个不连续的C5a肽区域。

[0186] 用于鉴别特定抗体(例如,抗-C5a抗体)所结合的表位的方法也是本领域已知的。例如,可以如下鉴别抗-C5a抗体所结合的在C5a(或去精氨酸化的C5a)内的结合表位:测量所述抗体与补体组分C5a蛋白的几种(例如,3、4、5、6、7、8、9、10、15、20或30或更多)重叠肽片段(例如,具有在SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中所述的氨基酸序列的人C5a蛋白的几种重叠片段)的结合。然后使每种不同的重叠肽结合在固体支持物(例如,多孔试验板的单独孔)上的独特地址。接着,如下研究所述抗-C5a抗体:在允许所述抗体结合它的表位的时间量和条件下,使它接触在所述试验板中的每种肽。通过洗涤每个孔,除去未结合的抗-C5a抗体。接着,使可检测地标记的第二抗体(其结合在板孔中可能存在的抗-C5a抗体)接触每个孔,并通过洗涤步骤除去未结合的第二抗体。由在孔中的可检测地标记的第二抗体产生的可检测信号的存在或量,指示所述抗-C5a抗体会结合与所述孔连接的特定肽片段。参见,例如,Harlow和Lane(同上),Benny K. C. Lo(同上),和美国专利申请公开号20060153836,其公开内容通过引用整体并入。使用BIAcore色谱技术(参见,例如,Pharmacia BIA technology Handbook,“Epitope Mapping,”第6.3.2部分(1994年5月);和John等人(1993) *J Immunol Methods* 160:20191-8),也可以鉴别出抗体所结合的特定表位。

[0187] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体含有轻链互补性决定区(CDR)的特定集合和/或重链CDR的特定集合。例如,在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以包含从特定轻链多肽得到的轻链CDR集合,所述特定轻链多肽包含在SEQ ID NO:19、37或42中的任一个中所述的氨基酸序列。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以包含从特定重链多肽得到的重链CDR集合,所述特定重链多肽包含在SEQ ID NO:27或45中所述的氨基酸序列。在下面更详细地描述了从前述轻链可变区和重链可变区得到的示例性的轻链和重链CDR集合(参见表1)。

[0188] 根据不同的方法,已经不同地定义了CDR和框架区的确切边界。在有些实施方案中,在轻链或重链可变结构域内的CDR或框架区的位置可以如Kabat等人[(1991)“Sequences of Proteins of Immunological Interest.”NIH公开号91-3242,美国卫生和人类服务部,Bethesda,MD]所定义。在这样的情况下,CDR可以称作“Kabat CDR”(例如,“Kabat LCDR2”或“Kabat HCDR1”)。在有些实施方案中,在轻链或重链可变区内的CDR的位置可以如Chothia等人(1989) *Nature* 342:877-883所定义。因此,这些区域可以称作“Chothia CDR”(例如,“Chothia LCDR2”或“Chothia HCDR3”)。在有些实施方案中,在轻链和重链可变区内的CDR的位置可以如Kabat-Chothia组合定义所定义。在这样的实施方案中,这些区域可以称作“组合的Kabat-Chothia CDR”。在有些实施方案中,在轻链或重链可变结构域内的CDR和/或框架区的位置可以如Honnegger和Plückthun(2001) *J Mol Biol* 309: 657-670所定义。使用前述定义来鉴别在轻链或重链可变区内的CDR,是抗体工程领域众所周知的。例如,Thomas等人[(1996) *Mol Immunol* 33(17/18):1389-1401]例证了根据

Kabat和Chothia定义来鉴别轻链和重链CDR边界。

[0189] 因此,在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以包含Kabat-定义的、Chothia-定义的、或组合的Kabat-Chothia-定义的从特定轻链多肽得到的轻链CDR集合,所述特定轻链多肽包含在SEQ ID NO:19、37或42中的任一个中所述的氨基酸序列。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以包含Kabat-定义的、Chothia-定义的、或组合的Kabat-Chothia-定义的从特定重链多肽得到的重链CDR集合,所述特定重链多肽包含在SEQ ID NO:27或45中所述的氨基酸序列。

[0190] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区含有下述的一个或多个:轻链CDR1,其包含下述氨基酸序列或由其组成:RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:20);轻链CDR2,其包含下述氨基酸序列或由其组成:RASNLES (SEQ ID NO:21);和轻链CDR3,其包含下述氨基酸序列或由其组成:QQSNEDPYT (SEQ ID NO:22)。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区含有下述的每一个:轻链CDR1,其包含下述氨基酸序列或由其组成:RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:20);轻链CDR2,其包含下述氨基酸序列或由其组成:RASNLES (SEQ ID NO:21);和轻链CDR3,其包含下述氨基酸序列或由其组成:QQSNEDPYT (SEQ ID NO:22)。包含这样的轻链可变结构域的示例性的抗-C5a抗体包括,例如,本文所述的BNJ364、BNJ367、BNJ378、BNJ366、BNJ369和BNJ383抗-C5a抗体(参见下文;表2)。

[0191] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区含有下述的一个或多个:轻链CDR1,其包含下述氨基酸序列或由其组成:RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:20);轻链CDR2,其包含下述氨基酸序列或由其组成:WASTRES (SEQ ID NO:38);和轻链CDR3,其包含下述氨基酸序列或由其组成:QQSNEDPYT (SEQ ID NO:22)。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区含有下述的每一个:轻链CDR1,其包含下述氨基酸序列或由其组成:RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:20);轻链CDR2,其包含下述氨基酸序列或由其组成:WASTRES (SEQ ID NO:38);和轻链CDR3,其包含下述氨基酸序列或由其组成:QQSNEDPYT (SEQ ID NO:22)。包含这样的轻链可变结构域的示例性的抗-C5a抗体包括,例如,本文所述的BNJ371和BNJ381抗-C5a抗体(参见下文;表2)。

[0192] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体包含重链可变区,所述重链可变区含有下述的一个或多个:重链CDR1,其包含下述氨基酸序列或由其组成:DYSMD (SEQ ID NO:28);重链CDR2,其包含下述氨基酸序列或由其组成:AINPNSGGTNYNQKFKD (SEQ ID NO:29);和重链CDR3,其包含下述氨基酸序列或由其组成:SGSYDGYAMDY (SEQ ID NO:30)。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体包含重链可变区,所述重链可变区含有下述的每一个:重链CDR1,其包含下述氨基酸序列或由其组成:DYSMD (SEQ ID NO:28);重链CDR2,其包含下述氨基酸序列或由其组成:AINPNSGGTNYNQKFKD (SEQ ID NO:29);和重链CDR3,其包含下述氨基酸序列或由其组成:SGSYDGYAMDY (SEQ ID NO:30)。包含这样的重链可变结构域的示例性的抗-C5a抗体包括,例如,本文所述的BNJ364、BNJ367、BNJ371和BNJ378抗-C5a抗体(参见下文;表2)。

[0193] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体含重链可变区,所述重链可变区含有下述的一个或多个:重链CDR1,其包含下述氨基酸序列或由其组成:DYSMD (SEQ ID NO:28);重链CDR2,其包含下述氨基酸序列或由其组成:AIHLNTGYTNYNQKFKG (SEQ ID NO:46);

和重链CDR3,其包含下述氨基酸序列或由其组成:GFYDGYSPMDY (SEQ ID NO:47)。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体包含重链可变区,所述重链可变区含有下述的每一个:重链CDR1,其包含下述氨基酸序列或由其组成:DYSMD (SEQ ID NO:28);重链CDR2,其包含下述氨基酸序列或由其组成:AIHLNTGYTNYNQKFKG (SEQ ID NO:46);和重链CDR3,其包含下述氨基酸序列或由其组成:GFYDGYSPMDY (SEQ ID NO:47)。包含这样的重链可变结构域的示例性的抗-C5a抗体包括,例如,本文所述的BNJ366、BNJ369、BNJ381和BNJ383抗-C5a抗体(参见下文;表2)。

[0194] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以含有包含下述氨基酸序列的重链CDR2区域:AINPNSGGTNYSQKFKD (SEQ ID NO:67)。例如,本文所述的抗-C5a抗体可以包含重链可变区,所述重链可变区含有下述的一个或多个:重链CDR1,其包含下述氨基酸序列或由其组成:DYSMD (SEQ ID NO:28);重链CDR2,其包含下述氨基酸序列或由其组成:AINPNSGGTNYSQKFKD (SEQ ID NO:67);和重链CDR3,其包含下述氨基酸序列或由其组成:SGSYDGYAMDY (SEQ ID NO:30)。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体包含重链可变区,所述重链可变区含有下述的每一个:重链CDR1,其包含下述氨基酸序列或由其组成:DYSMD (SEQ ID NO:28);重链CDR2,其包含下述氨基酸序列或由其组成:AINPNSGGTNYSQKFKD (SEQ ID NO:67);和重链CDR3,其包含下述氨基酸序列或由其组成:SGSYDGYAMDY (SEQ ID NO:30)。本文所述的抗-C5a抗体的一个实例(其含有这样的重链多肽,并比以小于1 nM的 K_D 结合人C5a)是下文所述的5an101ME抗体。

[0195] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段含有在表1中描述的示例性的轻链CDR集合和重链CDR集合配对1-4之一。

[0196] 表1. 示例性的重链和轻链CDR配对

[0197]

示例性的 CDR 配对	轻链			重链			具有这种配对的 示例性的抗体
	CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3	
1	SIN:20	SIN:21	SIN:22	SIN:28	SIN:29	SIN:30	BNJ364, BNJ367, BNJ378
2	SIN:20	SIN:21	SIN:22	SIN:28	SIN:46	SIN:47	BNJ366, BNJ369, BNJ383
3	SIN:20	SIN:38	SIN:22	SIN:28	SIN:29	SIN:30	BNJ371
4	SIN:20	SIN:38	SIN:22	SIN:28	SIN:46	SIN:47	BNJ381

[0198] “SIN”表示“SEQ ID NO.”

[0199] 由表1中的SEQ ID NO表示的氨基酸序列如表2所示。

[0200] 在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体不包含示例性的CDR配对3。在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体不是BNJ371。

[0201] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体的轻链多肽可以是 λ 轻链多肽(例如,全人或人源化的 λ 轻链多肽)。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体的轻链多肽是 κ 轻链多肽(例如,全人或人源化的 κ 轻链多肽)。众多轻链多肽(例如,众多人轻链多肽)的氨基酸序列是本领域众所周知,且描述在,例如,Kabat等人(1991), 同上。示例性的 κ 轻链多肽氨基酸序列如表2所示。

[0202] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体可以包含轻链恒定区。例如,所述轻链

恒定区可以是 λ 轻链多肽恒定区或 κ 轻链恒定区。许多人 λ 和 κ 轻链恒定区的氨基酸序列是本领域已知的,且描述在,例如,Kabat等人(1991),同上。示例性的 κ 轻链多肽氨基酸序列如表2所示。

[0203] 重链多肽可以包含恒定区(例如,重链恒定区1(CH1)、重链恒定区2(CH2)、重链恒定区3(CH3)、重链恒定区4(CH4)或前述任意组合)。所述重链多肽可以包含免疫球蛋白分子的Fc区。所述Fc区可以是,例如,来自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE或IgD免疫球蛋白分子的Fc区,或这些中的每个区的组合。为了清楚起见,本文所述的抗-C5a抗体可以是,例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE或IgD同种型。许多人重链恒定区的氨基酸序列是本领域已知的,且描述在,例如,Kabat等人(1991),同上。

[0204] 在有些实施方案中,所述重链多肽可以包含杂合恒定区或其部分,诸如G2/G4杂合恒定区(参见例如,Burton等人(1992) *Adv Immun* 51:1-18; Canfield等人(1991) *J Exp Med* 173:1483-1491;和Mueller等人(1997) *Mol Immunol* 34(6):441-452)。例如(且根据Kabat编号),IgG1和IgG4恒定区包含G₂₄₉G₂₅₀残基,而IgG2恒定区不包含残基249,但是确实包含G₂₅₀。在G2/G4杂合恒定区中,在249-250区域来自G2序列的情况下,可以进一步修饰所述恒定区,以导入在位置249处的甘氨酸残基,从而生成具有G₂₄₉/G₂₅₀的G2/G4融合体。包含G₂₄₉/G₂₅₀的其它恒定结构域杂合体也可以是根据本公开内容的工程化抗体的一部分。示例性的重链多肽氨基酸序列如表2所示。

[0205] 所述抗-C5a抗体可以是,例如,在工作实施例中例证的具体抗体之一:BNJ364、BNJ367、BNJ378、BNJ366、BNJ369、BNJ383、BNJ371或BNJ381。这些例证的抗-C5a抗体(其可以与本文所述的任意方法结合使用)的氨基酸序列如表2所示。

[0206]

表 2. 选定的人源化的抗-C5a 抗体的氨基酸序列

SIN:	Ab	描述	氨基酸序列
16	BNJ364	含有信号肽的完整轻链序列	MVLQTVFISLLWISGAYGDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGQPPELLLIYRASNLKSGVPPDRFSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
17	BNJ364	没有信号肽的完整轻链序列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGQPPELLLIYRASNLKSGVPPDRFSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
18	BNJ364	轻链可变区序列信号肽	MVLQTVFISLLWISGAYG
19	BNJ364	轻链可变区序列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGQPPELLLIYRASNLKSGVPPDRFSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKEIKR
20	BNJ364	轻链可变区序列 Kabat LCDR1	RASEVDSYGNFSFMH
21	BNJ364	轻链可变区序列 Kabat LCDR2	RASNLES
22	BNJ364	轻链可变区序列 Kabat LCDR3	QQSNEDPYT
23	BNJ364	轻链恒定区序列	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0207]

SIN:	Ab	描述	氨基酸序列
24	BNJ364	含有信号肽的完整重链序列	MDWTRVFCLLAVAPGAHSQVLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYFTDYSMDWV RQAPGQGLEWMGAINPNSGNTNYNQFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYY CARSGSYDGYAMDYWGQTTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSNFGTQYTCNVDHKPSNTK VDKTVRKKCCVECPAPAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPA PIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISEVEWESNGQPENN YKTTTPMQLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
25	BNJ364	没有信号肽的完整重链序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYFTDYSMDWVWVQAPGQGLEWMGAINPNSGG TNYNQFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSGSYDGYAMDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTF PAVLQSSGLYSLSVTVPSNFGTQYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKKCCVECPAPAPP VAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISEVEWESNGQPENNYKTTTPMQLDSDGSFFFLYSKL TVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
26	BNJ364	重链可变区序列 信号肽	MDWTRVFCLLAVAPGAHS
27	BNJ364	重链可变区序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYFTDYSMDWVWVQAPGQGLEWMGAINPNSGG TNYNQFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSGSYDGYAMDYWGQG TTVTVSS
28	BNJ364	重链可变区序列 Kabat HCDR1	DYSMD
29	BNJ364	重链可变区序列 Kabat HCDR2	AINPNSGNTNYNQFKD
30	BNJ364	重链可变区序列 Kabat HCDR3	SGSYDGYAMDY

[0208]

SIN:	Ab	描述	氨基酸序列
31	BNJ364	重链恒定区序列	ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTSSNFGTQYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSFLTIVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTKISKTKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDISEWESNGQPENNYKTPPPMLDSDGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
16	BNJ367	含有信号肽的完整轻链序列	MVLQTQVFISLLWISGAYGDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLVSGVPPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
17	BNJ367	没有信号肽的完整轻链序列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLVSGVPPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
18	BNJ367	轻链可变区序列信号肽	MVLQTQVFISLLWISGAYG
19	BNJ367	轻链可变区序列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLVSGVPPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGGTKVEIKR
20	BNJ367	轻链可变区序列 Kabat LCDR1	RASEVDSYGNFSFMH
21	BNJ367	轻链可变区序列 Kabat LCDR2	RASNLES
22	BNJ367	轻链可变区序列 Kabat LCDR3	QQSNEDPYT

[0209]

SIN:	Ab	描述	氨基酸序列
23	BNJ367	轻链恒定区序列	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSLSPVTKSFNRGEC
32	BNJ367	含有信号肽的完整重链序列	MDWTRVFCLLAVAPGAHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSCKASGYTFTDYSMDWV RQAPGQGLEWMGAINPNSGGTNYNQKFKDRVTMTRDTSSTVYMELSSLRSEDTAVYY CARSGSYDGYAMDYWGQGTITVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTK VDKTVRKCCEVCPAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKLSLSLGK
33	BNJ367	没有信号肽的完整重链序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSCKASGYTFTDYSMDWVRQAPGQGLEWMGAINPNSGG TNYNQKFKDRVTMTRDTSSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSGSYDGYAMDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSQVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKCCEVCPAPP VAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKLSLSLGK
26	BNJ367	重链可变区序列 信号肽	MDWTRVFCLLAVAPGAHS
27	BNJ367	重链可变区序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSCKASGYTFTDYSMDWVRQAPGQGLEWMGAINPNSGG TNYNQKFKDRVTMTRDTSSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSGSYDGYAMDYWGQG TTVTVSS
28	BNJ367	重链可变区序列 Kabat HCDRI	DYSMD

[0210]

SIN:	Ab	描述	氨基酸序列
29	BNJ367	重链可变区序列 Kabat HCDR2	AINPNSGGTNYNQKFKD
30	BNJ367	重链可变区序列 Kabat HCDR3	SGSYDGYAMDY
34	BNJ367	重链恒定区序列	ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVCEPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEDEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYVTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK
35	BNJ371	含有信号肽的完整轻链序列	MVLQQTQVFISLLWISGAYGDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVSDSYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSTDFLTITISLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKEVEIKRTVAAPSFFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSLSPVTKSFNRGEC
36	BNJ371	没有信号肽的完整轻链序列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVSDSYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSTDFLTITISLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKEVEIKRTVAAPSFFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSLSPVTKSFNRGEC
18	BNJ371	轻链可变区序列 信号肽	MVLQQTQVFISLLWISGAYG
37	BNJ371	轻链可变区序列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVSDSYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSTDFLTITISLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKEVEIKR
20	BNJ371	轻链可变区序列 Kabat LCDRI	RASEVSDSYGNSFMHW

[0211]

SIN:	Ab	描述	氨基酸序列
38	BNJ371	轻链可变区序列 Kabat L CDR2	WASTRES
22	BNJ371	轻链可变区序列 Kabat L CDR3	QQSNEDPYT
23	BNJ371	轻链恒定区序列	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
32	BNJ371	含有信号肽的完整重链序列	MDWTRVRFCLLAVAPGAHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMDWV RQAPGQGLEWMGAINPNSGGTNYNQKFKDRVTMTRDTSSTVYMELSSLRSEDTAVYY CARSGSYDGYAAMDYWGQGTITVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTK VDKTVRERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSVQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
33	BNJ371	没有信号肽的完整重链序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMDWVVRQAPGQGLEWMGAINPNSGG TNYNQKFKDRVTMTRDTSSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSGSYDGYAAMDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRERKCCVECPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSVQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
26	BNJ371	重链可变区序列信号肽	MDWTRVRFCLLAVAPGAHS

[0212]

SIN:	Ab	描述	氨基酸序列
27	BNJ371	重链可变区序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYSMDWVRQAPGQGQGLEWGMGAINPNSGG TNYNQKFKDRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVVYCARSGSYDGYVAMDYWGQG TTVTVSS
28	BNJ371	重链可变区序列 Kabat HCDRI	DYSMD
29	BNJ371	重链可变区序列 Kabat HCDR2	AINPNSGGTNYNQKFKD
30	BNJ371	重链可变区序列 Kabat HCDR3	SGSYDGYVAMDY
34	BNJ371	重链恒定区序列	ASTKGPSVFLPACSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPPSNFGTQYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVEPCPPAPPVAGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
39	BNJ378	含有信号肽的完整轻链序列	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARCIDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASEVDSYGNFSM HWYQQKPGKAPKLLIYRASNLSEGVPSRFSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSNE DPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
40	BNJ378	没有信号肽的完整轻链序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGKAPKLLIYRASNLSE GVPSRFSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSNEDPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSL STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
41	BNJ378	轻链可变区序列信号肽	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARC

[0213]

SIN:	Ab	描述	氨基酸序列
42	BNJ378	轻链可变区序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPKAPKLLIYRASNLES GVPSRFGSGSGTDFLTLSLQPEDFATYQCQSNEDPYTFGGGTKVEIKR
20	BNJ378	轻链可变区序列 Kabat LCDR1	RASEVDSYGNFSFMH
21	BNJ378	轻链可变区序列 Kabat LCDR2	RASNLES
22	BNJ378	轻链可变区序列 Kabat LCDR3	QQSNEDPYT
23	BNJ378	轻链恒定区序列	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
32	BNJ378	含有信号肽的完整重链序列	MDWTRVRFCLLAVAPGAHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMDWV RQAPGQGLEWMGAINPNSGGTNYNQKFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYY CARSGSYDGYAAMDYWGQGTITVSSASTKGPSVFPPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTK VDKTVRKCCECPAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDVQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

[0214]

SIN:	Ab	描述	氨基酸序列
33	BNJ378	没有信号肽的完整重链序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYSMDWVVRQAPGQGLEWMGAINPNSGG TNYNQKFKDRVTMTRDSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARSGSYDGYVAMDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSQVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRCCKVECPCCPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYVTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
26	BNJ378	重链可变区序列信号肽	MDWTWRVFCLLAVAPGAHS
27	BNJ378	重链可变区序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYSMDWVVRQAPGQGLEWMGAINPNSGG TNYNQKFKDRVTMTRDSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARSGSYDGYVAMDYWGQG TTVTVSS
28	BNJ378	重链可变区序列 Kabat HCDR1	DYSMD
29	BNJ378	重链可变区序列 Kabat HCDR2	AINPNSGGTNYNQKFKD
30	BNJ378	重链可变区序列 Kabat HCDR3	SGSYDGYVAMDY
34	BNJ378	重链恒定区序列	ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSNFGTQYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRCCKVECPCCPAPPVAGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYVTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK

[0215]

<u>SIN:</u>	<u>Ab</u>	<u>描述</u>	<u>氨基酸序列</u>
16	BNJ366	含有信号肽的完整轻链序列	MVLQTVFISLLWISGAYGDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGQPPLLIRASNLESGVDRFSGSGGTDFLTISLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFNYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
17	BNJ366	没有信号肽的完整轻链序列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGQPPLLIRASNLESGVDRFSGSGGTDFLTISLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFNYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
18	BNJ366	轻链可变区序列 列信号肽	MVLQTVFISLLWISGAYG
19	BNJ366	轻链可变区序列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGQPPLLIRASNLESGVDRFSGSGGTDFLTISLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKEIKR
20	BNJ366	轻链可变区序列 列 Kabat LCDR1	RASEVDSYGNFSFMH
21	BNJ366	轻链可变区序列 列 Kabat LCDR2	RASNLES
22	BNJ366	轻链可变区序列 列 Kabat LCDR3	QQSNEDPYT
23	BNJ366	轻链恒定区序列	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFNYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0216]

<u>SIN:</u>	<u>Ab</u>	<u>描述</u>	<u>氨基酸序列</u>
43	BNJ366	含有信号肽的完整重链序列	MDWTRVRFCLLAVAPGAHSQQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYSMDWV RQAPGQGLEWMGAIHLNTGYTNYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVY YCARGFYDGYSPMDYWGQTTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTK VDKTVRERKCCVCECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDQWLNQKEYKCKVSNKGLPA PIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISEWESNGQPENN YKTTTPMLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
44	BNJ366	没有信号肽的完整重链序列	QQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYSMDWVRQAPGQGLEWMGAIHLNTG YTNYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYCARGFYDGYSPMDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRERKCCVCECPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVSVLTVVHQDQWLNQKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSEFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
26	BNJ366	重链可变区序列 信号肽	MDWTRVRFCLLAVAPGAHS
45	BNJ366	重链可变区序列	QQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYSMDWVRQAPGQGLEWMGAIHLNTG YTNYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYCARGFYDGYSPMDYWGQG TTVTVSS
28	BNJ366	重链可变区序列 Kabat HCDRI	DYSMD
46	BNJ366	重链可变区序列 Kabat HCDR2	AIHLNTGYTNYNQKFKG

[0217]

SIN:	Ab	描述	氨基酸序列
47	BNJ366	重链可变区序列 Kabat HCDR3	GFYDGYSPMDY
31	BNJ366	重链恒定区序列	ASTKGPSVFPLACSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVCEPCPPAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDISEVEESNGQPENNYKTTTPMMLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
16	BNJ369	含有信号肽的完整轻链序列	MVLQTVVFISLLWISGAYGDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLKESGVPPDRFSGSGGTDFLTITSSLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSSITLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
17	BNJ369	没有信号肽的完整轻链序列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLKESGVPPDRFSGSGGTDFLTITSSLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSSITLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
18	BNJ369	轻链可变区序列 信号肽	MVLQTVVFISLLWISGAYG
19	BNJ369	轻链可变区序列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLKESGVPPDRFSGSGGTDFLTITSSLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKEIKR
20	BNJ369	轻链可变区序列 Kabat LCDRI	RASEVDSYGNFSFMH

[0218]

SIN:	Ab	描述	氨基酸序列
21	BNJ369	轻链可变区序列 Kabat L CDR2	RASNLES
22	BNJ369	轻链可变区序列 Kabat L CDR3	QQSNEDPYT
23	BNJ369	轻链恒定区序列	TVAAPSVFIIPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
48	BNJ369	含有信号肽的完整重链序列	MDWTRWVFCLLA VAPGAHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYSMDWV RQAPGQGLEWMGAIHLNTGYTNYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCARGFDGYSPMDYWGQGTITVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFNGTQTYTCNVDHKPSNTK VDKTVERKCCVECVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLGLK
49	BNJ369	没有信号肽的完整重链序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYSMDWVVRQAPGQGLEWMGAIHLNTG YTNYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYVCARGFYDGYSPMDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFNGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECVHNAKTKPR VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLGLK
26	BNJ369	重链可变区序列信号肽	MDWTRWVFCLLA VAPGAHS

[0219]

SIN:	Ab	描述	氨基酸序列
45	BNJ369	重链可变区序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYSMDWVVRQAPGQGLEWVMAIHLNTG YTNYNQKFKGRVTMTTRDTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARGFYDGYSPMDYWGQG TTVTVSS
28	BNJ369	重链可变区序列 Kabat HCDR1	DYSMD
46	BNJ369	重链可变区序列 Kabat HCDR2	AIHLNTGYTNYNQKFKG
47	BNJ369	重链可变区序列 Kabat HCDR3	GFYDGYSPMDY
34	BNJ369	重链恒定区序列	ASTKGPSVFPLAPCRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSNFGTQYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVCEPCPPAPPVAGPSV FLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVFQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYVTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
35	BNJ381	含有信号肽的完整轻链序列	MVLQTVFISLLWISGAYGDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNFSFMHW YQOKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDFRFSGSGTDFLTLISSLQAEDVAVYYCQQSNEDP YTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C
36	BNJ381	没有信号肽的完整轻链序列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNFSFMHWYQOKPGQPPKLLIYWASTRE SGVPDFRFSGSGTDFLTLISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS LSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0220]

<u>SIN:</u>	<u>Ab</u>	<u>描述</u>	<u>氨基酸序列</u>
18	BNJ381	轻链可变区序列信号肽	MVLQTVFISLLWISGAYG
37	BNJ381	轻链可变区序列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASEVDSYGNSEFMHWYQQKPGQPPLLIIYWASTRE SGVPDRFSGSGSTDFLTITISLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKVEIKR
20	BNJ381	轻链可变区序列 Kabat LCDR1	RASEVDSYGNSEFMH
38	BNJ381	轻链可变区序列 Kabat LCDR2	WASTRES
22	BNJ381	轻链可变区序列 Kabat LCDR3	QQSNEDPYT
23	BNJ381	轻链恒定区序列	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
48	BNJ381	含有信号肽的完整重链序列	MDWTRVVFCLLAVAPGAHSQVLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITDYSMDWV RQAPGQGLEWMGAIHLNTGYTNYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVY YCARGFYDGYSPMDYWGQTTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVIVTPSSNFGTQYTCNVDHKPSNTK VDKTVERKCCVCECPCCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPPVLDSGDSFFLYSRLLTVDKSRWQEAGNWFVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

[0221]

<u>SIN:</u>	<u>Ab</u>	<u>描述</u>	<u>氨基酸序列</u>
49	BNJ381	没有信号肽的完整重链序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYSMDWVRQAPGQGLEWMGAIHLNTG YTNYNQKFKGRVTMTRDTSSTVYMESSLRSEDTAVYFCARGFYDGYSPMDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKAGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK
26	BNJ381	重链可变区序列信号肽	MDWWTWRVFCLLAVAPGAHS
45	BNJ381	重链可变区序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYSMDWVRQAPGQGLEWMGAIHLNTG YTNYNQKFKGRVTMTRDTSSTVYMESSLRSEDTAVYFCARGFYDGYSPMDYWGQG TTVTVSS
28	BNJ381	重链可变区序列 Kabat HCDR1	DYSMD
46	BNJ381	重链可变区序列 Kabat HCDR2	AIHLNTGYTNYNQKFKG
47	BNJ381	重链可变区序列 Kabat HCDR3	GFYDGYSPMDY

[0222]

<u>SIN:</u>	<u>Ab</u>	<u>描述</u>	<u>氨基酸序列</u>
34	BNJ381	重链恒定区序列	ASTKGPSVFFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSDPEDEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDSGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
39	BNJ383	含有信号肽的完整轻链序列	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARCIDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGKAPKLLIYRASNLSEGVPSRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNE DPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
40	BNJ383	没有信号肽的完整轻链序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGKAPKLLIYRASNLSEGVPSRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNE DPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
41	BNJ383	轻链可变区序列信号肽	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARC
42	BNJ383	轻链可变区序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASEVDSYGNFSFMHWYQQKPGKAPKLLIYRASNLSEGVPSRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNE DPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
20	BNJ383	轻链可变区序列 Kabat LCDR1	RASEVDSYGNFSFMH
21	BNJ383	轻链可变区序列 Kabat LCDR2	RASNLES

[0223]

SIN:	Ab	描述	氨基酸序列
22	BNJ383	轻链可变区序列 Kabat L _{CDR3}	QQSNEDPYT
23	BNJ383	轻链恒定区序列	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSITLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
48	BNJ383	含有信号肽的完整重链序列	MDWTRWVFCLLAVAPGAHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYSMDWV RQAPGQGLEWMGAIHLNTGYTNYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCARGFYDGYSPMDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTK VDKTVRKKCCVECPAPPVAGPSVFLPPPKDITLMISRTPETCVVVDVSDQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLPS SIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGGK
49	BNJ383	没有信号肽的完整重链序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYSMDWVVRQAPGQGLEWMGAIHLNTG YTNYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYVCARGFYDGYSPMDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTF PAVLQSSGLYSLSVVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKKCCVECPAPP VAGPSVFLPPPKDITLMISRTPETCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGGK
26	BNJ383	重链可变区序列信号肽	MDWTRWVFCLLAVAPGAHS
45	BNJ383	重链可变区序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYSMDWVVRQAPGQGLEWMGAIHLNTG YTNYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYVCARGFYDGYSPMDYWGQG TTVTVSS
28	BNJ383	重链可变区序列 Kabat H _{CDR1}	DYSMD

[0224]

SIN:	Ab	描述	氨基酸序列
46	BNJ383	重链可变区序列 Kabat HCDR2	AIHLNTGYTNYNQKFKG
47	BNJ383	重链可变区序列 Kabat HCDR3	GFYDGYSPMDY
34	BNJ383	重链恒定区序列	ASTKGPSVFPLA ^{PC} SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSV ^{TV} TPSSNFGTQTYTCNV ^{VD} HKPSNTK ^{VD} KTVERKCCVECP ^{PC} PAPPVAGPSV FL ^{FP} PK ^{PD} TLMISRTPEV ^{TC} VV ^{VD} YSQEDPEV ^Q FNWY ^{VD} GV ^{EV} HNAK ^{TK} PREEQFNST YRVVSVLTVL ^{HL} HQD ^{WL} NGKEYKCKVSNKGLPSSIEK ^{TI} SKAKGQPREPQV ^Y TLPPSQEE MTKNQVSL ^{TC} L ^V KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ^{TT} PPVLDSDGSFFLYSRL ^{TV} DKSR WQEGNVFSCSV ^M HEALHNHY ^{TQ} KLSLSLGK

“SIN”表示 SEQ ID NO.

在表 2 中的“Ab”表示分配给抗体的字母数字命名。在工作实施例子中例证了每种抗体。

[0225] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体包含从表2或3所述的任一个轻链可变区得到的Chothia-定义的轻链CDR集合或组合的Kabat-Chothia-定义的轻链CDR集合。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段包含从表2或3所述的任一个重链可变区得到的Chothia-定义的重链CDR集合或组合的Kabat-Chothia-定义的重链CDR集合。

[0226] 在优选的实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体结合C5a,但是不结合天然的、全长

C5。在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体结合C5a,但是不结合未切割的、天然的C5的 α 链。本文使用的“未切割的C5”表示,尚未被AP或CP C5转化酶切割成片段C5a和C5b的C5蛋白。人C5 α 链的一个示例性的氨基酸序列描述在:Haviland等人(1991),同上,其序列通过引用整体并入本文。

[0227] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体不会结合人C5的旁系同源物,诸如人C3a或人C4a。

[0228] 本公开内容还表征了这样的抗体:所述抗体交叉阻断本文所述的抗-C5a抗体的结合(例如,交叉阻断BNJ364、BNJ367、BNJ378、BNJ366、BNJ369、BNJ371、BNJ381或BNJ383中的任一种)。本文使用的术语“交叉阻断性抗体”表示这样的抗体:与在没有所述交叉阻断性抗体存在下与表位结合的抗-C5a抗体的量相比,其减少了与补体组分C5a蛋白上的表位结合的抗-C5a抗体的量(或阻止所述结合)。适用于测定第一抗体是否交叉阻断第二抗体与表位的结合的方法是本领域已知的。例如,可以如下鉴别交叉阻断性抗体:在有和没有实验抗体存在下,对比BNJ364单克隆抗-C5a抗体的结合。与在没有实验抗体存在下BNJ364抗体的结合相比,在有实验抗体存在下BNJ364抗体的结合的减少,指示所述实验抗体是交叉阻断性抗体。

[0229] 在有些实施方案中,抗体与C5a的结合可以抑制C5a的生物活性。用于测量C5a活性的方法包括,例如,趋化性测定、放射免疫测定(RIA)或酶联免疫特异性测定(ELISA)(参见,例如,Ward和Zvaifler(1971) *J Clin Invest* 50(3):606-16和Wurzner等人(1991) *Complement Inflamm* 8:328-340)。在有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段与C5a的结合可以在体外抑制C5a介导的嗜中性粒细胞活化。适用于测定抗-C5a抗体是否在体外抑制C5a介导的嗜中性粒细胞活化或所述抗体抑制活化的程度的方法,是本领域已知的,并在下面的工作实施例中予以例证。例如,可以分离出从健康供体得到的人嗜中性粒细胞,并在有或没有实验抗-C5a抗体存在下,使其与分离的人C5a接触。C5a依赖性的人嗜中性粒细胞活化,可以测量为在有C5a存在下来自所述细胞的髓过氧化物酶(MPO)释放的函数。与在有C5a和对照抗体存在下从所述细胞释放的MPO的量相比,在有C5a和实验抗体存在下从所述细胞释放的MPO的量的抑制,指示所述实验抗体会抑制C5a介导的嗜中性粒细胞活化。

[0230] 在有些实施方案中,与用对应的对照抗体或其抗原结合片段(即,不会结合游离C5a或C5的抗体)观察到的抑制水平(如果有的话)相比,所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段不会抑制(或不会大幅抑制)补体组分C5的活性。C5活性可以测量为,它在受试者体液中的细胞裂解能力的函数。通过本领域众所周知的方法,例如,通过常规溶血试验,诸如Kabat和Mayer(编),“*Experimental Immunochimistry*, 第2版,”135-240, Springfield, IL, CC Thomas(1961),第135-139页所述的溶血试验,或该试验的常规变体,诸如在例如Hillmen等人(2004) *N Engl J Med* 350(6):552中描述的鸡红细胞溶血方法,可以测量C5的细胞裂解能力或其下降。

[0231] 在有些实施方案中,使用CH50eq试验,定量C5活性或其抑制。所述CH50eq试验是一种用于测量血清中的总经典补体活性的方法。该实验是一种裂解试验,其使用抗体敏化的红细胞作为经典补体途径的活化剂,并使用不同稀释度的实验血清来测定得到50%裂解(CH50)所需的量。例如,使用分光光度计,可以测定溶血百分比。CH50eq试验会提供末端补体复合物(TCC)形成的间接量度,因为TCC本身会直接引起测量的溶血。

[0232] 所述试验是本领域技术人员众所周知的和通常实践的。简而言之,为了激活经典补体途径,将未稀释的血清样品(例如,人血清样品)加入含有抗体敏化的红细胞的微量试验孔中,由此产生TCC。接着,在微量试验孔中稀释活化的血清,所述孔用捕获试剂(例如,结合TCC的一种或多种组分的抗体)包被。存在于活化的样品中的TCC会结合包被微量试验孔的表面的单克隆抗体。洗涤所述孔,并向每个孔中加入检测试剂,所述检测试剂被可检测地标记,且会识别结合的TCC。所述可检测的标记可以是,例如,荧光标记或酶标记。以CH50单位当量/毫升(CH50 U Eq/mL),表示试验结果。

[0233] 在工作实施例中阐述和例证了用于检测和/或测量体外C5活性的其它方法。

[0234] 在有些实施方案中,抗体与C5a的结合可以抑制C5a和C5aR1之间的相互作用。适用于检测和/或测量C5a和C5aR1之间的相互作用(在有和没有抗体存在下)的方法是本领域已知的,且描述在,例如,Mary和Boulay (1993) *Eur J Haematol* 51(5):282-287; Kaneko等人(1995) *Immunology* 86(1):149-154; Giannini等人(1995) *J Biol Chem* 270(32):19166-19172;和美国专利申请公开号20060160726。例如,在有和没有抗体存在下,可以评价可检测地标记的(例如,放射性地标记的) C5a与表达C5aR1的外周血单核细胞的结合。与在没有抗体存在下结合的量相比,在有所述抗体存在下结合C5aR1的可检测地标记的C5a的量的下降,指示所述抗体会抑制C5a和C5aR1之间的相互作用。

[0235] 在有些实施方案中,抗体与C5a的结合可以抑制C5a和C5L2之间的相互作用。适用于检测和/或测量C5a和C5L2之间的相互作用的方法是本领域已知的,且描述在,例如,Ward (2009) *J Mol Med* 87(4):375-378和Chen等人(2007) *Nature* 446(7132):203-207。在下面的工作实施例中例证了用于评价本文所述的抗-C5a抗体的生物学效应的其它方法。

[0236] 在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体特异性地结合人补体组分C5a蛋白(例如,具有在SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中所述的氨基酸序列的人C5a蛋白)。本文使用的术语“特异性结合”、“特异性地结合”和类似的语法术语表示,2个分子形成复合物(例如,抗体和补体组分C5a蛋白之间的复合物),所述复合物在生理条件下是相对稳定的。通常,当缔合常数(k_a)大于 $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 时,认为结合是特异性的。因而,抗体可以以至少(或大于) 10^6 (例如,至少或大于 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、 10^{11} 、 10^{12} 、 10^{13} 、 10^{14} 或 10^{15} 或更高) $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 的 k_a 特异性地结合C5a蛋白。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体具有小于或等于 10^{-3} (例如, 8×10^{-4} 、 5×10^{-4} 、 2×10^{-4} 、 10^{-4} 或 10^{-5}) s^{-1} 的解离常数(k_d)。

[0237] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体具有小于 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} 、 10^{-11} 或 10^{-12} M的 K_D 。平衡常数 K_D 是动力学速率常数之比—— k_d/k_a 。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体具有小于 1.25×10^{-9} M的 K_D 。以小于 1.25×10^{-9} M的 K_D 结合C5a的抗-C5a抗体的实例包括,例如,BNJ364、BNJ367、BNJ371、BNJ378、BNJ366、BNJ369、BNJ381和BNJ383抗-C5a抗体。

[0238] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体具有小于 1×10^{-9} M的 K_D 。以小于 10^{-9} M的 K_D 结合C5a的抗-C5a抗体的实例包括,例如,BNJ364、BNJ367、BNJ378、BNJ366、BNJ369、BNJ381和BNJ383抗-C5a抗体。

[0239] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体具有小于 5×10^{-10} M的 K_D 。以小于 5×10^{-10} M的 K_D 结合C5a的抗-C5a抗体的实例包括,例如,BNJ367、BNJ378、BNJ366、BNJ369、BNJ381和BNJ383抗-C5a抗体。

[0240] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体具有小于 2×10^{-10} M的 K_D 。以小于 2×10^{-10} M的 K_D 结合C5a的抗-C5a抗体的实例包括,例如,BNJ367、BNJ366、BNJ369、BNJ381和BNJ383抗-C5a抗体。

[0241] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体具有小于 1×10^{-10} M的 K_D 。以小于 1×10^{-10} M的 K_D 结合C5a的抗-C5a抗体的实例包括,例如,BNJ369、BNJ381和BNJ383抗-C5a抗体。

[0242] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体具有小于 7.5×10^{-11} M的 K_D 。以小于 7.5×10^{-11} M的 K_D 结合C5a的抗-C5a抗体的实例包括,例如,BNJ369和BNJ383抗-C5a抗体。

[0243] 用于测定抗体对蛋白抗原的亲合力的方法是本领域已知的。例如,使用多种技术,例如,但不限于:蛋白质印迹、斑点印迹、生物层干扰量度法、表面等离子体共振 (SPR) 方法 (例如,BIAcore system; Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.) 或酶联免疫特异性测定 (ELISA),可以定量抗体对蛋白抗原的亲合力。参见,例如,Harlow和Lane (1988) "Antibodies: A Laboratory Manual" Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Benny K. C. Lo (2004) "Antibody Engineering: Methods and Protocols," Humana Press (ISBN: 1588290921); Borrebaek (1992) "Antibody Engineering, A Practical Guide," W.H. Freeman and Co., NY; Borrebaek (1995) "Antibody Engineering," 第2版, Oxford University Press, NY, Oxford; Johne等人 (1993) *J Immunol Meth* 160:191-198; Jonsson等人 (1993) *Ann Biol Clin* 51:19-26;和Jonsson等人 (1991) *Biotechniques* 11:620-627。

[0244] 本文所述的轻链CDR集合或轻链可变区中的任一种可以与本文所述的重链CDR集合或重链可变区中的任一种配对。例如,证实 (测试) 通过这样的配对产生的抗-C5a抗体具有希望的亲合力或活性,是在普通技术人员的能力范围内。本文描述了适用于证实抗-C5a抗体的活性和/或亲和力的方法。

[0245] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体会结合人C5a (hC5a) 和得自非人哺乳动物诸如非人灵长类动物 (例如,食蟹猴) 的C5a。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段不会结合得自相同非人哺乳动物物种的人C5a的旁系同源物,诸如C3a或C4a。

[0246] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段会结合游离hC5a和食蟹猴C5a蛋白,所述蛋白包含下述氨基酸序列或由其组成: MLQEKIEEIAAKYKHLVVKCCYDGVVRINHDETCEQRAA RISVGPRCVKAFTECCVVASQLRANNSHKDLQLGR (SEQ ID NO:179)。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段会结合游离hC5a和恒河猴C5a蛋白,所述蛋白包含在SEQ ID NO:179中所述的氨基酸序列或由其组成。

[0247] 在有些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可以结合得自非人哺乳动物物种 (例如,非人灵长类动物物种) 的去精氨酸化形式的C5a蛋白。例如,所述抗体或其抗原结合片段可以结合得自食蟹猴或恒河猴的游离C5a-去精氨酸化的蛋白,所述蛋白包含下述氨基酸序列或由其组成: MLQEKIEEIAAKYKHLVVKCCYDGVVRINHDETCEQRAARISVGPRCVKAFTECCVVASQLRANNSHKDLQLG (SEQ ID NO:180)。

[0248] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体会结合小鼠C5a (即,得自小鼠的游离C5a)。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体会结合小鼠C5a,但是不结合人C5a。在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体不会结合未切割的、天然的 (完全折叠的) 小鼠C5。在

有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体不会结合小鼠C5a的旁系同源物,诸如小鼠C3a或小鼠C4a。

[0249] 抗-小鼠C5a抗体或其抗原结合片段可以结合小鼠C5a蛋白,所述蛋白包含下述氨基酸序列或由其组成:LRQKIEEQAAKYKHSVPPKCCYD GARVNFYETCEERVARVTIGPLCIRAFNECCTIANKIRKESPHKPVQLGR (SEQ ID NO:51)。也参见,例如,Wetzel等人(1987) *Biochem* 26:737-743。在有些实施方案中,抗-小鼠C5a抗体或其抗原结合片段可以结合去精氨酸化形式的小鼠C5a蛋白,所述蛋白包含下述氨基酸序列或由其组成:LRQKIEEQAAKYKHSVPPKCCYD GARVNFYETCEERVARVTIGPLCIRAFNECCTIANKIRKESPHKPVQLG (SEQ ID NO:52)。在有些实施方案中,所述抗-小鼠C5a抗体会结合全长小鼠C5a蛋白和去精氨酸化形式的小鼠C5a蛋白。

[0250] 本文所述的抗-小鼠C5a抗体可以含有例如从包含下述氨基酸序列的轻链可变区多肽得到的轻链CDR集合:EIVLTQSPA IMSASLG EKVTMSCRASSSVNYIYWYQQKSDASPKLWIYYTSNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLT ISSMEGEDAATYYCQQFTSSPLTFGVG TKLELKR (SEQ ID NO:53)。例如,抗-小鼠C5a抗体可以含有:(i) Kabat-定义的轻链CDR1,其包含下述氨基酸序列或由其组成:RAS SVNYIY (SEQ ID NO:54);(ii) Kabat-定义的轻链CDR2,其包含下述氨基酸序列或由其组成:YTSNLAP (SEQ ID NO:55);和/或(iii) Kabat-定义的轻链CDR3,其包含下述氨基酸序列或由其组成:QQFTSSPLT (SEQ ID NO:56)。

[0251] 所述抗-小鼠C5a抗体可以含有轻链恒定区,例如,包含下述氨基酸序列或由其组成的小鼠 κ 轻链恒定区:ADAAPT VSI FPPSSEQLTSGGASVVCFLN NFYPKDINVKWKIDG SERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFN RNEC (SEQ ID NO:57)。

[0252] 在有些实施方案中,本文所述的抗-小鼠C5a抗体可以含有氨基端信号肽,例如,包含下述氨基酸序列或由其组成的信号肽:MGWSC IILFLVATATGVHS (SEQ ID NO:58)。

[0253] 在有些实施方案中,本文所述的抗-小鼠C5a抗体可以含有轻链多肽,所述轻链多肽包含下述氨基酸序列或由其组成:REIVLTQSPA IMSASLG EKVTMSCRASSSVNYIYWYQQKSDASPKLWIYYTSNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLT ISSMEGEDAATYYCQQFTSSPLTFGVG TKLELKRADAAPT VSI FPPSSEQLTSGGASVVCFLN NFYPKDINVKWKIDG SERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFN RNEC (SEQ ID NO:59)或MGWSC IILFLVATATGVHSREIVLTQSPA IMSASLG EKVTMSCRASSSVNYIYWYQQKSDASPKLWIYYTSNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLT ISSMEGEDAATYYCQQFTSSPLTFGVG TKLELKRADAAPT VSI FPPSSEQLTSGGASVVCFLN NFYPKDINVKWKIDG SERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFN RNEC (SEQ ID NO:60)。在有些实施方案中,本文所述的抗-小鼠C5a抗体含有轻链多肽,所述轻链多肽包含SEQ ID NO:59的氨基酸2-214。在有些实施方案中,本文所述的抗-小鼠C5a抗体含有轻链多肽,所述轻链多肽包含SEQ ID NO:60的氨基酸1-19和21-233。

[0254] 本文所述的抗-小鼠C5a抗体可以含有例如从包含下述氨基酸序列的重链可变区多肽得到的重链CDR集合:LEVQLQSGPELVKPGASV KISCKASGYTFTDYYYINWVKQSHGKSLEWIGIYIPNDGDTNYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARPYSDYGMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO:61)。例如,抗-小鼠C5a抗体可以含有:(i) Kabat-定义的重链CDR1,其包含下述氨基酸序列或由其组成:DYYYIN (SEQ ID NO:62);(ii) Kabat-定义的重链CDR2,其包含下述氨基酸序列或由其组成:YIYPNDGDTNYNQKFKG (SEQ ID NO:63);和/或(iii) Kabat-定义的重链CDR3,其包含下述氨基酸序列或由其组成:PYSDYGMDY (SEQ ID NO:64)。

[0255] 所述抗-小鼠C5a抗体可以含有重链恒定区。在有些实施方案中,本文所述的抗-小鼠C5a抗体可以含有氨基端信号肽,例如,包含下述氨基酸序列或由其组成的信号肽:MGWSCIIILFLVATATGVHS (SEQ ID NO:65)。

[0256] 在有些实施方案中,本文所述的抗-小鼠C5a抗体可以含有重链多肽,所述重链多肽包含下述氨基酸序列或由其组成:LEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKQSHGKSLEWIGYIYPNDGDTNYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARPYSDYGM DYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:66)或MGWSCIIILFLVATATGVHSLLEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKQSHGKSLEWIGYIYPNDGDTNYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARPYSDYGM DYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:67)。在有些实施方案中,本文所述的抗-小鼠C5a抗体含有重链多肽,所述重链多肽包含SEQ ID NO:66的氨基酸2-121。在有些实施方案中,本文所述的抗-小鼠C5a抗体含有重链多肽,所述重链多肽包含SEQ ID NO:67的氨基酸1-19和21-140。在有些实施方案中,本文所述的抗-小鼠C5a抗体含有重链恒定区多肽,所述重链恒定区多肽包含来自上述序列的一种或多种氨基酸置换。

[0257] 在有些实施方案中,本文所述的抗-小鼠C5a抗体含有轻链多肽,所述轻链多肽包含:(i)轻链CDR1,其包含在SEQ ID NO:54中所述的氨基酸序列或由其组成;(ii)轻链CDR2,其包含在SEQ ID NO:55中所述的氨基酸序列或由其组成;和(iii)轻链CDR3,其包含在SEQ ID NO:56中所述的氨基酸序列或由其组成;(iv)重链CDR1,其包含在SEQ ID NO:62中所述的氨基酸序列或由其组成;(v)重链CDR2,其包含在SEQ ID NO:63中所述的氨基酸序列或由其组成;和/或(vi)重链CDR3,其包含在SEQ ID NO:64中所述的氨基酸序列或由其组成。

[0258] 在有些实施方案中,本文所述的抗-小鼠C5a抗体含有轻链多肽和重链多肽,所述轻链多肽包含在SEQ ID NO:59中所述的氨基酸序列或由其组成,所述重链多肽包含在SEQ ID NO:66中所述的氨基酸序列或由其组成。

[0259] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体可以结合人C5a和小鼠C5a。

[0260] 用于生产抗-C5a抗体和其抗原结合片段的方法

[0261] 本公开内容还表征了用于生产本文所述的任一种抗-C5a抗体或其抗原结合片段的方法。在有些实施方案中,用于制备本文所述的抗体的方法可以包括:用适当的免疫原免疫受试者(例如,非人哺乳动物)。本文描述了适用于制备本文所述的任一种抗体的免疫原。例如,为了制备结合C5a的抗体,技术人员可以用全长C5a多肽(诸如包含在SEQ ID NO:1中所述的氨基酸序列的全长C5a多肽)或去精氨酸化形式的C5a(例如,包含在SEQ ID NO:2中所述的氨基酸序列的人C5a desarg)免疫合适的受试者(例如,非人哺乳动物诸如大鼠、小鼠、沙鼠、仓鼠、狗、猫、猪、山羊、马或非人灵长类动物)。在有些实施方案中,所述非人哺乳动物是C5缺陷型,例如,在下述文献中描述的C5-缺陷型小鼠:例如,Levy和Ladda (1971) *Nat New Biol* 229(2):51-52; Crocker等人(1974) *J Clin Pathol* 27(2):122-124; Wetsel等人(1990) *J Biol Chem* 265:2435-2440;和Jungi和Pepys (1981) *Immunology* 43(2):271-279。如在下述文献中所述,可以从人血清中纯化人C5a:例如,McCarthy和Henson (1979) *J Immunol* 123(6):2511-2517和Manderino等人(1982) *J Immunol Methods* 53(1):41-50。也参见工作实施例。如在下述文献中所述,还可以在体外制备人C5a:例如,Vallota和Müller-Eberhard (1973) *J Exp Med* 137:1109。纯化的人C5a也可从下述来源商业得到:例如,Complement Technology, Inc. (目录号A144; Tyler, Texas)。

如下所述文献中所述,本领域普通技术人员也可以制备重组C5a:例如,Tothe等人(1994) *Prot Sci* 3:1159-1168。

[0262] 可以用适当的抗原免疫合适的受试者(例如,非人哺乳动物),并随后强化免疫接种许多次,以充分引起哺乳动物的抗体生产。可以与佐剂一起将免疫原施用给受试者(例如,非人哺乳动物)。可用于在受试者中生产抗体的佐剂包括、但不限于:蛋白佐剂;细菌佐剂,例如,整个细菌(卡介苗、小棒杆菌或明尼苏达沙门菌),和细菌组分,包括细胞壁骨架、海藻糖二霉菌酸酯、单磷酸脂质A、结核杆菌的甲醇可提取的残余物(MER)、完全或不完全弗氏佐剂;病毒佐剂;化学佐剂,例如,氢氧化铝和碘乙酸盐和胆甾醇半琥珀酸酯。在诱导免疫应答的方法中可以使用的其它佐剂包括,例如,霍乱毒素和副痘病毒蛋白。也参见Bieg等人(1999) *Autoimmunity* 31(1):15-24。也参见,例如,Lodmell等人(2000) *Vaccine* 18:1059-1066; Johnson等人(1999) *J Med Chem* 42:4640-4649; Baldrige等人(1999) *Methods* 19:103-107;和Gupta等人(1995) *Vaccine* 13(14):1263-1276。

[0263] 在有些实施方案中,所述方法包括:制备分泌单克隆抗体的杂交瘤细胞系,所述单克隆抗体结合免疫原。例如,用上述的C5a多肽免疫合适的哺乳动物诸如实验室小鼠。在至少一次强化免疫接种免疫原以后2-4天,可以分离出免疫的哺乳动物的抗体生产细胞(例如,脾的B细胞),然后在培养物中短暂地生长,再与合适的骨髓瘤细胞系的细胞融合。可以在有融合促进剂(例如,痘苗病毒或聚乙二醇)存在下融合细胞。克隆融合得到的杂交细胞,并选择分泌希望的抗体的细胞克隆。例如,可以使合适的免疫原免疫的Balb/c小鼠的脾细胞与骨髓瘤细胞系PA1或骨髓瘤细胞系Sp2/0-Ag 14的细胞融合。在融合以后,在合适的培养基中繁殖细胞,定期给所述培养基补充选择培养基(例如HAT培养基),以便防止正常的骨髓瘤细胞生长超过希望的杂交瘤细胞。然后筛选得到的杂交细胞对希望的抗体(例如,结合C5a并抑制C5a和C5a受体(例如,C5aR1)之间的相互作用的抗体)的分泌。

[0264] 在有些实施方案中,技术人员可以从未免疫的偏倚文库中鉴别出抗-C5a抗体,这描述在,例如,美国专利号6,300,064 (Knappik等人; Morphosys AG)和Schoonbroodt等人(2005) *Nucleic Acids Res* 33(9):e81。

[0265] 在有些实施方案中,本文所述的方法可以包含下述技术或与下述技术结合使用:例如,噬菌体展示技术、细菌展示、酵母表面展示、真核病毒的展示、哺乳动物细胞展示和无细胞的(例如,核糖体展示)抗体筛选技术(参见,例如,Etz等人(2001) *J Bacteriol* 183:6924-6935; Cornelis (2000) *Curr Opin Biotechnol* 11:450-454; Klemm等人(2000) *Microbiology* 146:3025-3032; Kieke等人(1997) *Protein Eng* 10:1303-1310; Yeung等人(2002) *Biotechnol Prog* 18:212-220; Boder等人(2000) *Methods Enzymology* 328:430-444; Grabherr等人(2001) *Comb Chem High Throughput Screen* 4:185-192; Michael等人(1995) *Gene Ther* 2:660-668; Pereboev等人(2001) *J Virol* 75:7107-7113; Schaffitzel等人(1999) *J Immunol Methods* 231:119-135;和Hanes等人(2000) *Nat Biotechnol* 18:1287-1292)。

[0266] 使用各种噬菌体展示方法来鉴别抗体的方法是本领域已知的。在噬菌体展示方法中,在噬菌体颗粒的表面上展示功能性的抗体结构域,所述噬菌体颗粒携带编码它们的多核苷酸序列。这样的噬菌体可以用于展示从所有组成成分或组合抗体文库(例如,人或鼠)表达的抗体的抗原结合域(诸如Fab、Fv或二硫键稳定化的Fv抗体片段)。在这些方法中使用

的噬菌体通常是丝状噬菌体诸如fd和M13。抗原结合域被表达为与任意噬菌体外壳蛋白pIII、pVIII或pIX重组融合的蛋白。参见,例如,Shi等人(2010) *JMB* 397:385-396。可以用于制备本文所述的免疫球蛋白或其片段的噬菌体展示方法的实例,包括在下述文献中公开的那些:Brinkman等人(1995) *J Immunol Methods* 182:41-50; Ames等人(1995) *J Immunol Methods* 184:177-186; Kettleborough等人(1994) *Eur J Immunol* 24:952-958; Persic等人(1997) *Gene* 187:9-18; Burton等人(1994) *Advances in Immunology* 57:191-280;和PCT公开号W0 90/02809、W0 91/10737、W0 92/01047、W0 92/18619、W0 93/11236、W0 95/15982和W0 95/20401。合适的方法还描述在:例如,美国专利号5,698,426、5,223,409、5,403,484、5,580,717、5,427,908、5,750,753、5,821,047、5,571,698、5,427,908、5,516,637、5,780,225、5,658,727、5,733,743和5,969,108。

[0267] 在有些实施方案中,使用从来自免疫的哺乳动物的B细胞收集的mRNA,可以制备噬菌体展示抗体文库。例如,可以从如上所述用C5a多肽免疫的小鼠分离出包含B细胞的脾细胞样品。使用标准的分子生物学技术,可以从所述细胞分离出mRNA,并转化成cDNA。参见,例如,Sambrook等人(1989)“Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版,”Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Harlow and Lane (1988), 同上; Benny K. C. Lo (2004), 同上;和Borrebaek (1995), 同上。使用编码免疫球蛋白的重链和轻链多肽的可变区的cDNA,构建噬菌体展示文库。用于制备这样的文库的方法,描述在,例如,Merz等人(1995) *J Neurosci Methods* 62(1-2):213-9; Di Niro等人(2005) *Biochem J* 388(Pt 3):889-894;和Engberg等人(1995) *Methods Mol Biol* 51:355-376。

[0268] 在有些实施方案中,可以采用选择和筛选的组合,从例如杂交瘤衍生的抗体群体或噬菌体展示抗体文库中鉴别出目标抗体。合适的方法是本领域已知的,且描述在:例如,Hoogenboom (1997) *Trends in Biotechnology* 15:62-70; Brinkman等人(1995), 同上; Ames等人(1995), 同上; Kettleborough等人(1994), 同上; Persic等人(1997), 同上;和Burton等人(1994), 同上。例如,使用标准的分子生物学技术,生产多个噬粒载体,每个噬粒载体编码噬菌体外壳蛋白(例如,M13噬菌体的pIII、pVIII或pIX)和不同的抗原结合区的融合蛋白,然后将所述噬粒载体导入细菌(例如,大肠杆菌)群体中。在有些实施方案中,噬菌体在细菌中的表达需要使用辅助噬菌体。在有些实施方案中,不需要辅助噬菌体(参见,例如,Chasteen等人(2006) *Nucleic Acids Res* 34(21):e145)。回收从所述细菌生产的噬菌体,然后使其接触例如结合在固体支持物上(固定化)的靶抗原。还可以使噬菌体接触在溶液中的抗原,随后使所述复合物结合到固体支持物上。

[0269] 在有些实施方案中,所述固定化的噬菌体是目标噬菌体。因此,通过洗涤支持物,除去未结合的噬菌体。在洗涤步骤以后,然后从固体支持物洗脱结合的噬菌体,例如,使用低pH缓冲液或游离的靶抗原竞争剂,并通过感染细菌来回收。在有些实施方案中,没有固定化的噬菌体是目标噬菌体。在这样的实施方案中,可以使噬菌体群体接触抗原2次或更多次,以从所述群体中除去结合支持物的任何噬菌体。然后收集未结合的噬菌体,并用于随后的筛选步骤。

[0270] 为了富集噬菌体群体中的含有对靶抗原具有更高亲和力的抗体的噬菌体颗粒(同时减少可以非特异性地结合所述抗原的噬菌体的比例),可以使用洗脱的噬菌体(上述)重

新感染细菌宿主细胞群体。然后从所述细菌分离表达的噬菌体,并使其再次接触靶抗原。可以调节在接触过程中的抗原浓度、pH、温度以及去污剂和佐剂的包含,以富集更高亲和力的抗体片段。通过洗涤固体支持物,除去未结合的噬菌体。还可以调节洗涤过程中的次数或周期、持续时间、pH、温度以及去污剂和佐剂的包含,以富集更高亲和力的抗体片段。在洗涤步骤以后,然后从固体支持物洗脱结合的噬菌体。可以使用在淘选的1-6个迭代循环中的任何地方,富集含有对靶抗原具有更高亲和力的抗体的噬菌体。在有些实施方案中,还可以与本文所述的任一种淘选方案结合地进行取消选择步骤。

[0271] 可以如下分离群体中的单个噬菌体:感染细菌,然后以一定密度平板接种,以允许形成单克隆抗体。

[0272] 例如,为了使用噬菌体展示技术鉴别结合C5a、但是不结合C5的抗体,可以采用下述的淘选方案。可以首先使群体接触含有结合的天然的全长C5的表面。该过程可以重复2次或更多次,每次收集未结合的噬菌体。还可以使群体接触含有表面-结合的C4和/或C3蛋白的固体支持物。然后使来自前述步骤的未结合的噬菌体接触含有结合C5a或去精氨酸化的C5a的表面。从所述表面洗脱结合C5a的噬菌体,并通过感染细菌进行回收。可以进行噬菌体选择的迭代循环。在选择1-6个循环以后,可以筛选回收的单个噬菌体对具有希望的特异性和亲和力的抗体片段的表达。

[0273] 使用本领域已知的任意基于免疫学或生化的方法,可以表征使用上述方法筛选的抗体亚群对特定免疫原(例如,C5a)的特异性和结合亲和力。例如,使用基于免疫学或生化的方法,例如,但不限于、如上所述的ELISA试验、SPR试验、免疫沉淀试验、亲和色谱法和平衡透析,可以测定例如抗体与C5a(相对于天然的、全长C5)的特异性结合。可以用于分析抗体的免疫特异性结合和交叉反应性的免疫测定包括、但不限于竞争性的和非竞争性的测定系统,其使用诸如下述技术:蛋白质印迹、RIA、ELISA(酶联免疫吸附测定)、“夹心”免疫测定、免疫沉淀测定、免疫扩散测定、凝集测定、补体结合测定、免疫放射测定、荧光免疫测定和蛋白A免疫测定。这样的测定是常规的和本领域众所周知的。

[0274] 使用本领域已知的用于表征抗体与C5a相互作用动力学参数的任何基于SPR的试验,也可以测定抗体。在本文所述的方法中可以使用可商业得到的任何SPR仪器,包括但不限于:BIACore仪器(Biacore AB; Uppsala, 瑞典);1Asys仪器(Affinity Sensors; Franklin, Massachusetts); IBIS系统(Windsor Scientific Limited; Berks, UK), SPR-CELLIA系统(Nippon Laser和Electronics Lab; Hokkaido, Japan), 和SPR Detector Spreeta (Texas Instruments; Dallas, Texas)。参见,例如,Mullett等人(2000) *Methods* 22: 77-91; Dong等人(2002) *Reviews in Mol Biotech* 82: 303-323; Fivash等人(1998) *Curr Opin Biotechnol* 9: 97-101;和Rich等人(2000) *Curr Opin Biotechnol* 11: 54-61。

[0275] 应当理解,上述方法也可以用于测定,例如,抗-C5a抗体是否不会结合全长、天然C5、C3和/或C4蛋白。上述方法还可以用于测定,结合C5a的抗体是否还会抑制C5a和C5a受体之间的相互作用。上述方法还可以用于测定,结合C5a的抗体是否还会抑制C5a的活性。

[0276] 如在上述参考文献中所述,在噬菌体选择以后,可以从所述噬菌体分离出抗体编码区,并用于制备完整抗体(包括人抗体)或任何希望的片段,并在任何目标宿主(包括哺乳动物细胞、昆虫细胞、植物细胞、酵母和细菌)中表达,例如,如下面所详细描述。例如,使用

本领域已知的方法,诸如在下述文献中公开的那些,也可以采用重组地生产Fab、Fab'和F(ab')₂片段的技术:PCT公开号W0 92/22324; Mullinax等人(1992) *BioTechniques* 12 (6):864-869;和Sawai等人(1995) *Am J Repr Immunol* 34:26-34;和Better等人(1988) *Science* 240:1041-1043。可以用于生产单链Fv和抗体的技术的实例包括在下述文献中公开的那些:美国专利号4,946,778和5,258,498; Huston等人(1991) *Methods in Enzymology* 203:46-88; Shu等人(1993) *Proc Nat Acad Sci USA* 90:7995-7999;和Skerra等人(1988) *Science* 240:1038-1040。

[0277] 噬菌体展示技术还可以用于,例如,增加抗体对它的同源抗原的亲合力。被称作亲和力和成熟的技术可以采用诱变或CDR行走和再选择,以鉴别与初始或亲本抗体相比以更高亲和力结合抗原的抗体。参见,例如,Glaser等人(1992) *J Immunol* 149:3903-3913。可以构建由许多变体克隆组成的文库,每个变体克隆相差一个或多个氨基酸置换。通过使固定化的突变体接触标记的抗原,或通过上述方法的任意组合,可以选择具有增加的抗原结合亲和力的突变体。本领域已知的任意筛选方法可以用于鉴别具有增加的抗原亲和力的突变体抗体(例如,SPR或ELISA技术)。

[0278] 在有些实施方案中,表位作图可以用于鉴别,例如,与抗体相互作用的C5a区域,例如,结合C5aR1的C5a区域。用于鉴别特定抗体所结合的表位的方法,也是本领域已知的,且描述在上文中。

[0279] 本文鉴别的抗体及其片段可以是或可以制成“嵌合的”。嵌合抗体和其抗原结合片段包含来自两种或多种不同物种(例如小鼠和人)的部分。将具有希望特异性的小鼠可变区与人恒定结构域融合,可以产生嵌合抗体(例如,美国专利号4,816,567)。以这种方式,可以修饰非人抗体,以使得它们更适合人类临床应用(例如,用于治疗或预防受试者的补体介导的病症的方法)。

[0280] 本公开内容的单克隆抗体包括“人源化”形式的非人(例如小鼠)抗体。人源化的或者CDR嫁接的mAb尤其可用作人类的治疗剂,因为它们不会象小鼠抗体一样快速地从循环中清除,并且通常不引起不利的免疫反应。通常,人源化抗体具有从非人来源引入其中的一个或多个氨基酸残基。这些非人氨基酸残基通常被称作“输入”残基,它们通常取自“输出”可变结构域。制备人源化抗体的方法是本领域公知的。例如,基本上按照Winter和同事的方法(参见,例如,Jones等人(1986) *Nature* 321:522-525; Riechmann等人(1988) *Nature* 332:323-327;和Verhoeyen等人(1988) *Science* 239:1534-1536),通过将啮齿动物CDR或CDR序列用人抗体的对应序列代替,进行人源化。也参见,例如,Staelens等人(2006) *Mol Immunol* 43:1243-1257。在有些实施方案中,非人(例如小鼠)抗体的人源化形式是人抗体(受体抗体),其中将非人抗体(例如,小鼠、大鼠、兔或非人灵长类动物抗体)的具有希望的特异性、亲和力和结合能力的CDR区域氨基酸残基嫁接到人抗体的框架支架上。在下面在工作实施例中描述了其它人源化方法。

[0281] 将来自供体抗体(例如,非人抗体)的CDR序列嫁接到受体抗体(例如,人抗体)的框架区上的方法,是本领域众所周知的,且描述在:例如,Jones等人(1986) *Nature* 321:522-525; Verhoeyen等人(1988) *Science* 239(4847):1534-1536; Riechmann等人(1988) *Nature* 332:323-327; Queen等人(1989) *Proc Natl Acad Sci USA* 86:10029-10033; PCT公开号W0 93/011237; Kettleborough等人(1991) *Protein Engineering, Design*

and Selection 4:773-783; Benny K. C. Lo (2004) "Antibody Engineering: Methods and Protocols," Humana Press (ISBN: 1588290921); Borrebaek (1992) "Antibody Engineering, A Practical Guide," W.H. Freeman and Co., NY; 和 Borrebaek (1995) "Antibody Engineering," 第2版, Oxford University Press, NY, Oxford。例如, 使用在下述文献中描述的重叠延伸聚合酶链式反应 (PCR) 技术, 可以将来自供体抗体的 CDR 嫁接到受体抗体的框架区上: 例如, Daugherty 等人 (1991) *Nucleic Acids Res* 19(9):2471-2476; Roguska 等人 (1996) *Protein Engineering* 9(10):895-904; 和 Yazaki 等人 (2004) *Protein Engineering, Design & Selection* 17(5):481-489。

[0282] 在选择的 CDR 氨基酸序列是短序列 (例如, 长度小于 10-15 个氨基酸) 的实施方案中, 可以如在下述文献中所述, 化学地合成编码 CDR 的核酸: 例如, Shiraishi 等人 (2007) *Nucleic Acids Symposium Series* 51(1):129-130 和美国专利号 6,995,259。就编码受体抗体的给定核酸序列而言, 使用标准的分子生物学技术, 可以用化学合成的核酸替代所述核酸序列的编码 CDR 的区域。可以合成化学合成的核酸的 5' 和 3' 末端, 以包含粘性末端限制性酶位点, 用于将所述核酸克隆进编码供体抗体的可变区的核酸中。

[0283] 在某些情况下, 也将人免疫球蛋白的一个或多个框架区氨基酸残基替换为非人抗体的对应氨基酸残基 (称作 "回复突变")。此外, 噬菌体展示文库可以用于改变抗体序列内所选位置处的氨基酸。人框架的选择也可以影响人源化抗体的性质。此外, 可以修饰人源化和嵌合抗体, 以包含在受体抗体中或在供体抗体中不存在的残基, 以便进一步改善抗体性质, 例如, 亲和力或效应子功能。

[0284] 在本公开内容中也提供了全人抗体。术语 "人抗体" 包括, 具有衍生自人免疫球蛋白序列 (优选地人种系序列) 的可变区和恒定区 (如果存在) 的抗体。人抗体可以包括, 不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基 (例如, 通过在体外随机诱变或位点特异性诱变或体内体细胞突变导入的突变)。然而, 术语 "人抗体" 不包括这样的抗体: 其中衍生自另一哺乳动物物种 (如小鼠) 的 CDR 序列已经被嫁接到人框架序列上 (即, 人源化的抗体)。全人的或人抗体可以衍生自携带人抗体基因 (携带可变 (V)、多样性 (D)、连接 (J) 和恒定 (C) 外显子) 的转基因小鼠, 或衍生自人细胞。例如, 现在可能生产转基因动物 (例如小鼠), 其在免疫接种后能够在不产生内源免疫球蛋白的情况下产生人抗体的全部所有组成成分。参见, 例如, Jakobovits 等人 (1993) *Proc Natl Acad Sci USA* 90:2551; Jakobovits 等人 (1993) *Nature* 362:255-258; Bruggemann 等人 (1993) *Year in Immunol.* 7:33; 和 Duchosal 等人 (1992) *Nature* 355:258。可以工程化转基因小鼠品系, 以含有来自未重排的人免疫球蛋白基因的基因序列。这样的小鼠的一个实例是 HuMAb Mouse® (Medarex, Inc.), 其含有编码未重排的人 μ 重链和 κ 轻链免疫球蛋白序列的人免疫球蛋白转基因微型基因座, 以及灭活内源性 μ 和 κ 链基因座的靶向突变。参见, 例如, Lonberg, 等人 (1994) *Nature* 368(6474):856-859。HuMAb 小鼠的制备和应用, 由这种小鼠携带的基因组修饰, 进一步描述在: Taylor 等人 (1992) *Nucleic Acids Res* 20:6287-6295; Chen, J. 等人 (1993) *International Immunology* 5: 647-656; Tuaille 等人 (1993) *Proc Natl Acad Sci USA* 90:3720-3724; Choi 等人 (1993) *Nature Genetics* 4:117-123; Tuaille 等人 (1994) *J Immunol* 152:2912-2920; Taylor 等人 (1994) *International Immunology* 6:579-591; 和 Fishwild 等人 (1996) *Nature Biotechnol* 14:845-851。用于表达人免疫球蛋白基因的另一转基因

因小鼠系统被称作Xenomouse (Abgenix, Inc.),且描述在:例如,美国专利号6,075,181、6,114,598、6,150,584和6,162,963。象HuMAb Mouse[®]系统一样,Xenomouse系统包含:破坏内源小鼠重链和轻链基因,以及插入携带未重排的人重链和轻链免疫球蛋白基因座(其含有人可变区和恒定区序列)的小鼠转基因的基因组。本领域已知的用于表达人免疫球蛋白基因的其它系统包括:详细描述在PCT公开W0 02/43478中的KM Mouse[®]系统,和在Tomizuka等人(2000) *Proc Natl Acad Sci USA* 97:722-727中描述的TC小鼠系统。

[0285] 人序列可以编码人抗体的重链和轻链,并且在小鼠中正确发挥功能,从而经历重排以提供与人类中相似的宽的抗体所有组成成分。可以用靶蛋白免疫原免疫转基因小鼠,以产生多种特异性抗体和它们的编码RNA。然后将编码此类抗体的抗体链组分的核酸从所述动物克隆到展示载体中。通常,克隆编码重链和轻链序列的核酸的单独群体,然后单独群体在插入时重组到载体中,使得任何给定拷贝的载体接受重链和轻链的随机组合。设计载体以表达抗体链,使得它们可以在含有载体的展示包装的外表面上被装配和展示。例如,抗体链可以作为融合蛋白表达,所述融合蛋白具有来自噬菌体外表面的噬菌体外壳蛋白。此后,可以选择和筛选展示包装,用于展示与靶物结合的抗体。

[0286] 另外,上面筛选的噬菌体展示文库可以包括人抗体(Hoogenboom等人(1992) *J Mol Biol* 227:381; Marks等人(1991) *J Mol Biol* 222:581-597;和Vaughan等人(1996) *Nature Biotech* 14:309)。可以产生合成的噬菌体文库,其使用合成的人抗体V区的随机组合。通过抗原的选择,可以制备全人抗体,其中V区在性质上非常像人。参见,例如,美国专利号6,794,132、6,680,209、4,634,666;和Ostberg等人(1983) *Hybridoma* 2:361-367,它们各自的内容通过引用整体并入本文。

[0287] 对于人抗体的产生,也参见Mendez等人(1998) *Nature Genetics* 15:146-156和Green和Jakobovits (1998) *J Exp Med* 188:483-495,它们的公开内容通过引用整体并入本文。在下述文献中进一步讨论和描述了人抗体:美国专利号: 5,939,598、6,673,986、6,114,598、6,075,181、6,162,963、6,150,584、6,713,610和6,657,103,以及美国专利公开号20030229905 A1、20040010810 A1、20040093622 A1、20060040363 A1、20050054055 A1、20050076395 A1和20050287630 A1。也参见国际公开号W0 94/02602、W0 96/34096和W0 98/24893和欧洲专利号EP 0 463 151 B1。每篇上面引用的专利、申请和参考文献的公开内容通过引用整体并入本文。

[0288] 在一个替代性方案中,其他人,包括GenPharm International, Inc.,已经利用了“微型基因座”方法。在微型基因座方法中,通过包括来自Ig基因座的片段(单个基因)来模拟外源Ig基因座。从而,一个或多个V_H基因、一个或多个D_H基因、一个或多个J_H基因、一个 μ 恒定区,和第二恒定区(优选 γ 恒定区)形成用于插入动物中的构建体。该方法描述在:例如,美国专利号: 5,545,807、5,545,806、5,625,825、5,625,126、5,633,425、5,661,016、5,770,429、5,789,650;和5,814,318、5,591,669、5,612,205、5,721,367、5,789,215、5,643,763、5,569,825、5,877,397、6,300,129、5,874,299、6,255,458和7,041,871,它们的公开内容通过引用整体并入本文。也参见欧洲专利号0 546 073 B1、国际专利公开号W0 92/03918、W0 92/22645、W0 92/22647、W0 92/22670、W0 93/12227、W0 94/00569、W0 94/25585、W0 96/14436、W0 97/13852和W0 98/24884,它们各自的公开内容通过引用整体并入本文。另外参见:Taylor等人(1992) *Nucleic Acids Res* 20: 6287; Chen等人(1993) *Int*

Immunol 5: 647; Tuailon等人(1993) *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 3720-4; Choi等人(1993) *Nature Genetics* 4: 117; Lonberg等人(1994) *Nature* 368: 856-859; Taylor等人(1994) *International Immunology* 6: 579-591; Tuailon等人(1995) *J. Immunol* 154: 6453-65; Fishwild等人(1996) *Nature Biotechnology* 14: 845;和 Tuailon等人(2000) *Eur J Immunol.* 10: 2998-3005,它们各自的公开内容通过引用整体并入本文。

[0289] 在某些实施方案中,提供了去免疫化形式的本文所述的抗体或抗原结合片段。去免疫化的抗体或其抗原结合片段是这样的抗体:其已经被修饰,从而使得所述抗体或其抗原结合片段对于给定物种而言为非免疫原性的,或者具有更低的免疫原性。利用本领域技术人员已知的多种技术中的任一种,通过修饰所述抗体或其抗原结合片段,可以实现去免疫化(参见,例如,PCT公开号W0 04/108158和W0 00/34317)。例如,可以如下去免疫化所述抗体或其抗原结合片段:鉴定在抗体或其抗原结合片段的氨基酸序列内的潜在T细胞表位和/或B细胞表位,并例如使用重组技术,从所述抗体或其抗原结合片段除去一个或多个潜在T细胞表位和/或B细胞表位。然后可以任选地生产并测试经修饰的抗体或其抗原结合片段,以鉴定已经保留一种或多种希望的生物学活性(如结合亲和力)但是具有减小的免疫原性的抗体或其抗原结合片段。用于鉴定潜在T细胞表位和/或B细胞表位的方法,可以用本领域已知的技术来实现,例如,计算方法(参见例如,PCT公开号W0 02/069232)、体外或计算机环境技术,和生物测定法或物理方法(例如,测定肽与MHC分子的结合,测定肽:MHC复合体与来自物种的T细胞受体的结合以接受所述抗体或其抗原结合片段,使用含有所述物种的MHC分子的转基因动物测试所述蛋白质或其肽部分以接受所述抗体或其抗原结合片段,或用来自所述物种的免疫系统细胞重建的转基因动物测试以接受所述抗体或其抗原结合片段,等等)。在不同的实施方案中,本文描述的去免疫化的抗体包括去免疫化的抗原结合片段、Fab、Fv、scFv、Fab'和F(ab')₂、单克隆抗体、鼠抗体、全人抗体、工程化的抗体(例如,嵌合抗体、单链抗体、CDR嫁接的抗体、人源化抗体和人工选择的抗体)、合成抗体和半合成抗体。

[0290] 在本公开内容的治疗实施方案中,预见到双特异性抗体。双特异性抗体是单克隆抗体,优选人抗体或人源化的抗体,其对至少两种不同的抗原具有结合特异性。在本发明的情况中,结合特异性之一是针对C5a,另一结合特异性是针对任意其它抗原。

[0291] 用于制备双特异性抗体的方法是在本领域技术人员的能力范围内。常规地,双特异性抗体的重组生产是基于两个免疫球蛋白重链/轻链对的共表达,其中2个重链/轻链对具有不同的特异性(Milstein和Cuello (1983) *Nature* 305:537-539)。具有希望的结合特异性(抗体-抗原组合位点)的抗体可变结构域可以与免疫球蛋白恒定结构域序列融合。重链可变区的融合优选是与免疫球蛋白重链恒定结构域的融合,所述免疫球蛋白重链恒定结构域包括至少部分铰链、C_H2和C_H3区域。将编码免疫球蛋白重链融合物和(如果需要的话)免疫球蛋白轻链的DNA可以插入单独的表达载体中,并且共转染进合适的宿主生物体中。关于当前已知的用于产生双特异性抗体的示例性方法的其它细节,参见,例如,Suresh等人(1986) *Methods in Enzymology* 121:210; PCT公开号W0 96/27011; Brennan等人(1985) *Science* 229:81; Shalaby等人, *J Exp Med* (1992) 175:217-225; Kostelny等人(1992) *J Immunol* 148(5):1547-1553; Hollinger等人(1993) *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 6444-6448; Gruber等人(1994) *J Immunol* 152:5368;和Tutt等人(1991) *J Immunol*

147:60。双特异性抗体也包括交联抗体或异源缀合抗体。使用任何常规的交联方法,可以制备异源缀合抗体。合适的交联剂是本领域公知的,并且在美国专利号4,676,980中与许多交联技术一起公开。

[0292] 还已经描述了用于制备和分离双特异性抗体片段(直接来自重组细胞培养物)的多种技术。例如,已经使用亮氨酸拉链生产双特异性抗体。参见,例如,Kostelny等人(1992) *J Immunol* 148(5):1547-1553。通过基因融合,可以使来自Fos和Jun蛋白的亮氨酸拉链肽与两种不同抗体的Fab'部分相连。可以在铰链区还原抗体同源二聚体以形成单体,然后再氧化以形成抗体异源二聚体。该方法也可以用于生产抗体同源二聚体。Hollinger等人(1993) *Proc Natl Acad Sci USA* 90:6444-6448描述的“双体”技术已经提供了用于制备双特异性抗体片段的替代机制。所述片段包含通过接头与轻链可变结构域(VL)相连的重链可变结构域(VH),所述接头因为太短而不允许在同一条链上的两个结构域之间配对。因此,一个片段的VH和VL结构域被迫与另一片段的互补VL和VH结构域配对,从而形成两个抗原结合位点。也已经报道了通过使用单链Fv(scFv)二聚体来制备双特异性抗体片段的另一策略。参见,例如,Gruber等人(1994) *J Immunol* 152:5368。或者,抗体可以是如Zapata等人(1995) *Protein Eng.* 8(10):1057-1062中所述的“线性抗体”。简而言之,这些抗体包含一对串联的Fd区段(V_H-C_{H1}-V_H-C_{H1}),它们形成一对抗原结合区。线性抗体可以是双特异性的或单特异性的。

[0293] 预见到具有超过2价的抗体(例如,三特异性的抗体),且描述在,例如,Tutt等人(1991) *J Immunol* 147:60。

[0294] 本公开内容也包括变体形式的多特异性的抗体,诸如在Wu等人(2007) *Nat Biotechnol* 25(11):1290-1297中描述的双可变结构域免疫球蛋白(DVD-Ig)分子。设计出DVD-Ig分子,使得来自2种不同亲本抗体的2个不同的轻链可变结构域(VL)通过重组DNA技术直接串联或经由短接头相连,然后连接轻链恒定结构域。类似地,重链包含串联的2个不同的重链可变结构域(VH),继之以恒定结构域C_{H1}和Fc区。用于从2个亲本抗体制备DVD-Ig分子的方法,进一步描述在:例如,PCT公开号WO 08/024188和WO 07/024715。

[0295] 本公开内容也提供了骆驼科抗体或单峰骆驼抗体(例如,源自双峰驼、*Camelus dromaderius*或*lama paccos*的抗体)。不同于来自大多数哺乳动物的典型双链(片段)或四链(完整抗体)抗体,这样的抗体通常缺少轻链。参见美国专利号5,759,808; Stijlemans等人(2004) *J Biol Chem* 279:1256-1261; Dumoulin等人(2003) *Nature* 424:783-788;和Pleschberger等人(2003) *Bioconjugate Chem* 14:440-448。骆驼科抗体和抗体片段的工程化文库可从例如Ablynx(Ghent, Belgium)商业得到。与非人起源的其它抗体一样,可以重组地改变骆驼科抗体的氨基酸序列,以得到更接近地类似于人序列的序列,即,可以将纳米体(nanobody)“人源化”,由此进一步减少所述抗体的潜在免疫原性。

[0296] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体包含改变的重链恒定区,与它的对应的未改变的恒定区相比,所述重链恒定区具有减少的(或没有)效应子功能。通过改变恒定区或Fc区的性质,可以调节涉及所述抗-C5a抗体的恒定区的效应子功能。改变的效应子功能包括,例如,一种或多种下列活性的调节:抗体依赖性的细胞的细胞毒性(ADCC)、补体依赖性的细胞毒性(CDC)、细胞凋亡、与一种或多种Fc受体的结合和促炎症应答。调节表示,与第未改变形式的恒定区的活性相比,含有改变的恒定区的受试者抗体表现出的效应子功能

活性的增加、减小或消除。在具体实施方案中,调节包括这样的情形:其中活性被消除或完全缺失。

[0297] 具有改变的FcR结合亲和力和/或ADCC活性和/或改变的CDC活性的改变的恒定区是这样的多肽:与未改变形式的恒定区相比,其具有增加的或减少FcR结合活性和/或ADCC活性和/或CDC活性。表现出与FcR的增强结合的改变的恒定区,会以比未改变的多肽更大的亲和力结合至少一种FcR。表现出与FcR的减少结合的改变的恒定区,会以比未改变形式的恒定区更低的亲和力结合至少一种FcR。这种表现出与FcR的减少结合的变体可能几乎不具有或不具有可察觉的与FcR的结合,例如,与天然序列免疫球蛋白恒定区或Fc区与FcR的结合水平相比,与FcR的结合的0-50% (例如,小于50、49、48、47、46、45、44、43、42、41、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1%)。类似地,表现出调节的ADCC和/或CDC活性的改变的恒定区可以表现出与未改变的恒定区相比增加的或减少的ADCC和/或CDC活性。例如,在有些实施方案中,包含改变的恒定区的抗-C5a抗体可以表现出未改变形式的恒定区的ADCC和/或CDC活性的大约0-50% (例如,小于50、49、48、47、46、45、44、43、42、41、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1%)。如本文所例证的,包含改变的恒定区(其表现出减少的ADCC和/或CDC)的本文所述的抗-C5a抗体可以表现出减少的或没有ADCC和/或CDC活性。

[0298] 在某些实施方案中,与天然序列恒定区或未改变的恒定区相比,改变的恒定区具有至少一个氨基酸置换、插入和/或缺失,例如,在天然序列恒定区中或在亲本多肽的恒定区中的约一个到约一百个氨基酸置换、插入和/或缺失。在有些实施方案中,本文的改变的恒定区与未改变的恒定区具有至少约70%同源性(相似性)或同一性,在一些情况中,与之具有至少约75%同源性或同一性,在其它情况中,与之具有至少约80%同源性或同一性,在其它实施方案中,与之具有至少约85%、90%或95%同源性或同一性。改变的恒定区也可以含有一个或多个氨基酸缺失或插入。此外,改变的恒定区可以含有一个或多个氨基酸置换、缺失或插入,其导致改变的翻译后修饰,包括例如改变的糖基化模式(例如,与未改变的恒定区相比,添加一种或多种糖组分、缺失一种或多种糖组分或一种或多种糖组分的组成的变化)。

[0299] 通过工程化或生产具有变体恒定区、Fc区或重链区的抗体,可以生产具有改变的或无效应子功能的抗体;重组DNA技术和/或细胞培养和表达条件可以用于产生具有改变的功能和/或活性的抗体。例如,重组DNA技术可以用于工程化特定区域(例如,Fc或恒定区)中的一个或多个氨基酸置换、缺失或插入,所述区域影响抗体功能,包括效应子功能。或者,通过操纵用于生产抗体的细胞培养和表达条件,可以实现翻译后修饰(如糖基化模式)的改变。适用于将一个或多个置换、添加或缺失导入抗体的Fc区中的方法本领域众所周知的,且包括,例如,在下述文献中描述的标准DNA诱变技术:例如,Sambrook等人(1989)“Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版,”Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Harlow and Lane (1988), 同上; Borrebaek (1992), 同上; Johne等人(1993), 同上; PCT公开号W0 06/53301;和美国专利号7,704,497。

[0300] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体表现出减少的或没有效应子功能。在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体包含杂合恒定区或其部分,诸如G2/G4杂合恒定区(参见

例如,Burton等人(1992) *Adv Immun* 51:1-18; Canfield等人(1991) *J Exp Med* 173:1483-1491;和Mueller等人(1997) *Mol Immunol* 34(6):441-452。参见上文。

[0301] 除了使用如上所述的G2/G4构建体以外,通过在本文所述的抗-C5a抗体的某些区域的氨基酸序列中导入其它类型的变化,可以生产具有减少的效应子功能的抗体。这样的氨基酸序列变化包括、但不限于在下述文献中描述的Ala-Ala突变:例如PCT公开号W0 94/28027和W0 98/47531;和Xu等人(2000) *Cell Immunol* 200:16-26。因而,在有些实施方案中,具有在恒定区内的一个或多个突变(包括Ala-Ala突变)的抗-C5a抗体具有减少的或没有效应子功能。根据这些实施方案,所述抗体的恒定区可以包含在234位向丙氨酸的置换或在235位向丙氨酸的突变。此外,改变的恒定区可以含有双突变:在234位向丙氨酸的突变和在235位向丙氨酸的第二突变。在一个实施方案中,抗-C5a抗体包含IgG4框架,其中Ala-Ala突变将描述在234位从苯丙氨酸向丙氨酸的突变和/或在235位从亮氨酸向丙氨酸的突变。在另一实施方案中,抗-C5a抗体包含IgG1框架,其中Ala-Ala突变将描述在234位从亮氨酸向丙氨酸的突变和/或在235位从亮氨酸向丙氨酸的突变。抗-C5a抗体可以替换地或额外地携带其它突变,包括在CH2结构域中的点突变K322A (Hezareh等人(2001) *J Virol* 75:12161-12168)。在恒定区中具有所述突变的抗体可以还是封闭性或非封闭性抗体。

[0302] 当导入重链恒定区中时会导致减少的效应子功能的其它置换,描述在:例如,Shields等人(2001) *J Biol Chem* 276(9):6591-6604。具体地参见Shields等人的表1(“人IgG1变体与人FcRn和Fc γ R的结合(Binding of human IgG1 variants to human FcRn and Fc γ R)”),其公开内容通过引用整体并入本文。通过筛选抗-IgE抗体文库(所述文库中的每种抗体的差别在于重链恒定区中的一个或多个置换)对一组Fc受体(包括FcRn、Fc γ RI、Fc γ RIIA、Fc γ RIIB和Fc γ RIIIA)的结合,作者鉴别出调节特异性的Fc-Fc受体相互作用的许多置换。例如,变体IgG2重链恒定区(其中CH2结构域含有D265A置换(根据Kabat等人(同上)的重链氨基酸编号))会导致变体恒定区和IgG Fc受体Fc γ RIIB、Fc γ RIII、Fc γ RI和Fc γ RIV之间的相互作用的完全丧失。Shields等人(2001),第6595页,表1。也参见Baudino等人(2008) *J Immunol* 181:6664-6669 (同上)。

[0303] 在铰链区内的改变也影响效应子功能。例如,铰链区中的缺失可以减小对Fc受体的亲和力,并且可以减小补体活化(Klein等人(1981) *Proc Natl Acad Sci USA* 78:524-528)。本公开内容因此还涉及具有在铰链区中的改变的抗体。

[0304] 在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体可以含有改变的恒定区,所述恒定区表现出增强的或减少的补体依赖性的细胞毒性(CDC)。通过在抗体的Fc区中导入一个或多个氨基酸置换、插入或缺失,可以实现受调节的CDC活性参见,例如,美国专利号6,194,551。替换地或额外地,可以在Fc区中导入半胱氨酸残基,从而允许在该区域中形成链间二硫键。这样生产的同源二聚体抗体可以具有提高或者减弱的内化能力和/或增加的或者减小的补体介导的细胞杀伤。参见,例如,Caron等人(1992) *J Exp Med* 176:1191-1195和Shopes (1992) *Immunol* 148:2918-2922; PCT公开号W0 99/51642和W0 94/29351; Duncan和Winter (1988) *Nature* 322:738-40;和美国专利号5,648,260和5,624,821。

[0305] 调节抗体的效应子功能的另一可能手段包括糖基化的改变,这总结在:Raju (2003) *BioProcess International* 1(4):44-53。根据Wright和Morrison,人IgG寡糖的微观不均一性可以影响生物功能,诸如CDC和ADCC、与多种Fc受体的结合以及与C1q蛋白质的

结合(1997) *TIBTECH* 15:26-32。抗体的糖基化模式可以随生产细胞和细胞培养条件而不同(Raju, 同上)。此类不同可以导致效应子功能和药代动力学的改变参见,例如,Israel等人(1996) *Immunology* 89(4):573-578; Newkirk等人(1996) *Clin Exp Immunol* 106(2):259-264。效应子功能的不同可以与IgG的结合在效应细胞上的Fc γ 受体(Fc γ Rs)的能力有关。Shields等人已经使用人效应细胞证实,IgG(其具有氨基酸序列变化,所述变化已经提高了对Fc γ R的结合)可以显示出高达100%增强的ADCC(2001) *J Biol Chem* 276(9):6591-6604。尽管这些改变包括在结合界面处不存在的氨基酸的改变,但是糖组分的性质以及它的结构模式也可以促进所观察到的差异。此外,岩藻糖在IgG的寡糖组分中的存在或缺失,可以促进结合和ADCC。参见,例如,Shields等人(2002) *J Biol Chem* 277(30):26733-26740。缺少与Asn²⁹⁷相连的岩藻糖基化的碳水化合物的IgG显示出对Fc γ RI受体的正常受体结合。相比而言,对Fc γ RIIIA受体的结合提高了50倍,并且伴随着增强的ADCC,特别是在更低的抗体浓度下。

[0306] Shinkawa等人证实,与在中国仓鼠卵巢细胞(CHO)中生产的抗体相比,在大鼠杂交瘤中生产的针对人IL-5受体的抗体显示出增加了超过50%的ADCC(Shinkawa等人(2003) *J Biol Chem* 278(5):3466-73)。单糖组成和寡糖绘谱表明,大鼠杂交瘤生产的IgG具有比CHO生产的蛋白质更低的岩藻糖含量。作者推断,IgG1的岩藻糖基化的缺乏在ADCC活性的增强中具有关键作用。

[0307] Umana等人采用不同的方法,他们改变了chCE7(一种嵌合的IgG1抗-神经母细胞瘤抗体)的糖基化模式(1999) *Nat Biotechnol* 17(2):176-180)。使用四环素,他们调节了糖基转移酶(GnTIII)的活性,所述糖基转移酶将已经涉入ADCC活性的寡糖对切。亲本抗体的ADCC活性勉强高于背景水平。测量在不同四环素水平下产生的chCE7的ADCC活性,证实了用于得到最大chCE7体外ADCC活性的GnTIII表达的最佳范围。该活性与恒定区相关的对切的复杂寡糖的水平相关。新近优化的变体显示出大量ADCC活性。类似地,Wright和Morrison在糖基化缺陷的CHO细胞系中生产了抗,并证实,在该细胞系中生产的抗体不能进行补体介导的细胞裂解。(1994) *J Exp Med* 180:1087-1096。因而,由于所知的影响效应子功能的改变包括糖基化模式的修饰或者糖基化残基数目的改变,本公开内容涉及这样的抗-C5a抗体,其中糖基化被改变以增强或者减弱效应子功能,包括ADCC和CDC。改变的糖基化包括糖基化残基数目的减少或增加以及糖基化残基模式或糖基化残基位置的改变。

[0308] 存在改变抗体的效应子功能的其它方法。例如,抗体生产细胞可以是高诱变性的,从而产生在整个抗体分子中具有随机改变的多肽残基的抗体。参见,例如,PCT公开号W005/011735。高诱变性宿主细胞包括DNA错配修复缺陷细胞。以这种方式产生的抗体可以具有更低的抗原性,和/或具有有益的药代动力学性质。此外,可以选择此类抗体的性质,诸如增强的或者减弱的效应子功能。在下面阐述了可用于制备本文所述的抗体或其抗原结合片段的分子生物学技术的其它细节。

[0309] 重组抗体表达和纯化

[0310] 使用分子生物学和蛋白质化学领域已知的多种技术,可以生产本文所述的抗体或其抗原结合片段。例如,可以将编码抗体的重链和轻链多肽之一或二者的核酸插入表达载体中,所述表达载体含有转录和翻译调节序列,所述调节序列包括,例如,启动子序列、核糖体结合位点、转录起始和停止序列、翻译起始和停止序列、转录终止子信号、聚腺苷酸化信

号和增强子或活化剂序列。所述调节序列包括启动子和转录起始和停止序列。另外,所述表达载体可以包括超过一个复制系统,使得它可以维持在2种不同的生物中,例如在哺乳动物或昆虫细胞中进行表达,并在原核宿主中进行克隆和扩增。

[0311] 几种可行的载体系统可用于在哺乳动物细胞中从核酸表达克隆的重链和轻链多肽。一类载体依赖于目标基因序列向宿主细胞基因组中的整合。通过同时导入药物抗性基因诸如大肠杆菌 *gpt* (Mulligan和Berg (1981) *Proc Natl Acad Sci USA* 78:2072) 或 *Tn5 neo* (Southern和Berg (1982) *Mol Appl Genet* 1:327), 可以选择已经稳定地整合DNA的细胞。可以将选择标记基因连接至要表达的DNA基因序列上,或通过共转染导入相同的细胞中(Wigler等人(1979) *Cell* 16:77)。第二类载体利用会为染色体外质粒赋予自主复制能力的DNA元件。这些载体可以衍生自动物病毒,诸如牛乳头状瘤病毒病毒(Sarver等人(1982) *Proc Natl Acad Sci USA*, 79:7147)、巨细胞病毒、多瘤病毒(Deans等人(1984) *Proc Natl Acad Sci USA* 81:1292)或SV40病毒(Lusky和Botchan (1981) *Nature* 293:79)。

[0312] 可以以适合随后表达核酸的方式,将表达载体导入细胞中。导入方法主要取决于目标细胞类型,这在下面讨论。示例性的方法包括CaPO₄沉淀、脂质体融合、阳离子脂质体、电穿孔、病毒感染、葡聚糖介导的转染、聚凝胺介导的转染、原生质体融合和直接显微注射。

[0313] 适用于表达抗体或其抗原结合片段的宿主细胞包括:酵母、细菌、昆虫、植物和哺乳动物细胞。特别感兴趣的是:细菌诸如大肠杆菌,真菌诸如酿酒酵母和巴氏毕赤酵母,昆虫细胞诸如SF9,哺乳动物细胞系(例如,人细胞系)、以及原代细胞系。

[0314] 在有些实施方案中,可以在转基因动物(例如,转基因哺乳动物)中表达抗体或其片段,并从中纯化。例如,可以在转基因的非人哺乳动物(例如,啮齿类动物)中生产抗体,并从奶中分离,这描述在,例如,Houdebine (2002) *Curr Opin Biotechnol* 13(6):625-629; van Kuik-Romeijn等人(2000) *Transgenic Res* 9(2):155-159;和Pollock等人(1999) *J Immunol Methods* 231(1-2):147-157。

[0315] 可以如下从细胞生产抗体及其片段:在足以允许表达蛋白的条件下,培养用表达载体转化的宿主细胞足以允许表达蛋白的时间,所述表达载体含有编码抗体或片段的核酸。这样的蛋白表达条件将随表达载体和宿主细胞的选择而变化,且由本领域技术人员通过例行试验容易地确定。例如,在大肠杆菌中表达的抗体可以从包涵体重新折叠(参见,例如,Hou等人(1998) *Cytokine* 10:319-30)。细菌表达系统和它们的使用方法是本领域众所周知的(参见Current Protocols in Molecular Biology, Wiley & Sons,和Molecular Cloning--A Laboratory Manual --第3版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (2001))。密码子、合适的表达载体和合适的宿主细胞的选择将随多种因素而变化,且可以根据需要容易地优化。可以在哺乳动物细胞中或在其它表达系统中表达本文所述的抗体(或其片段),所述其它表达系统包括、但不限于酵母、杆状病毒和体外表达系统(参见,例如,Kaszubska等人(2000) *Protein Expression and Purification* 18:213-220)。

[0316] 在表达以后,可以分离抗体及其片段。应用于本文所述的任意蛋白(抗体或片段)的术语“纯化的”或“分离的”表示这样的多肽:其已经从自然地伴随它的组分(例如,蛋白或其它天然存在的生物分子或有机分子)(例如,在表达所述蛋白的原核生物中的其它蛋白、

脂类和核酸)中分离或纯化出。通常,当多肽构成样品中的总蛋白的至少60(例如,至少65、70、75、80、85、90、92、95、97或99)重量%时,它是纯化的。

[0317] 根据在样品中存在哪些其它组分,可以以本领域技术人员已知的多种方式分离或纯化抗体或其片段。标准的纯化方法包括:电泳技术、分子技术、免疫学技术和色谱技术,后者包括离子交换色谱法、疏水色谱法、亲和色谱法和反相HPLC色谱法。例如,使用标准的抗-抗体柱(例如,蛋白-A或蛋白-G柱),可以纯化抗体。与蛋白浓度相结合的超滤和渗滤技术也是有用的。参见,例如,Scopes (1994)“Protein Purification, 第3版,”Springer-Verlag, New York City, New York。需要的纯化程度将随希望的用途而变化。在某些情况下,不需要纯化表达的抗体或其片段。

[0318] 用于测定纯化的抗体或其片段的产量或纯度的方法是本领域已知的,且包括,例如,Bradford测定法、紫外光谱法、Biuret蛋白测定法、Lowry蛋白测定法、酰胺黑蛋白测定法、高压液相色谱法(HPLC)、质谱法(MS)和凝胶电泳方法(例如,使用蛋白染料诸如考马斯蓝或胶体银染料)。

[0319] 在有些实施方案中,可以从抗体或片段除去内毒素。从蛋白样品除去内毒素的方法是本领域已知的,且在工作实施例中予以例证。例如,使用多种可商业得到的试剂,可以从蛋白样品除去内毒素,所述试剂包括、但不限于:ProteoSpin™内毒素除去试剂盒(Norgen Biotek Corporation)、Detoxi-Gel内毒素除去凝胶(Thermo Scientific; Pierce Protein Research Products)、MiraCLEAN®内毒素除去试剂盒(Mirus)或Acrodisc™-Mustang®E膜(Pall Corporation)。

[0320] 用于检测和/或测量在样品中存在的内毒素的量(在纯化之前和之后)的方法是本领域已知的,可得到商业的试剂盒。例如,使用QCL-1000产色试剂盒(BioWhittaker)、基于鲎阿米巴样细胞溶解物(LAL)的试剂盒诸如Pyrotell®、Pyrotell®-T、Pyrochrome®、Chromo-LAL和CSE试剂盒(可从Associates of Cape Cod Incorporated得到),可以测定蛋白样品中的内毒素的浓度。

[0321] 尽管无意成为限制性的,在工作实施例中阐述了用于制备本文所述抗体的示例性方法。

[0322] 抗体或其抗原结合片段的修饰

[0323] 在它们的表达和纯化以后,可以修饰所述抗体或其抗原结合片段。所述修饰可以是共价或非共价修饰。通过例如使多肽的靶定氨基酸残基与有机衍生剂(其能够与选定的侧链或末端残基反应)反应,可以将这样的修饰导入抗体或片段中。使用多种标准中的任一种,包括例如,抗体或片段的结构分析或氨基酸序列分析,可以选择合适的修饰位点。

[0324] 在有些实施方案中,可以给所述抗体或其抗原结合片段缀合异源部分。所述异源部分可以是,例如,异源多肽、治疗剂(例如,毒素或药物)或可检测的标记,例如,但不限于:放射性标记、酶标记、荧光标记、重金属标记、发光标记或亲和力标签,诸如生物素或抗生蛋白链菌素。合适的异源多肽包括,例如,抗原标签(例如,FLAG (DYKDDDDK (SEQ ID NO: 50))、多组氨酸(6-His; HHHHHH (SEQ ID NO:81)、血凝素(HA; YPYDVPDYA (SEQ ID NO: 82))、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)或麦芽糖结合蛋白(MBP)),它们用于纯化抗体或片段。异源多肽也包括可用作诊断或可检测标志物的多肽(例如,酶),例如,萤光素酶、荧光蛋白(例如,绿荧光蛋白(GFP))或氯霉素乙酰基转移酶(CAT)。合适的放射性标记包括,例如,³²P、

^{33}P 、 ^{14}C 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 和 ^3H 。合适的荧光标记包括、但不限于：荧光素、异硫氰酸荧光素 (FITC)、绿荧光蛋白 (GFP)、DyLight™ 488、藻红蛋白 (PE)、碘化丙啶 (PI)、PerCP、PE-Alexa Fluor® 700、Cy5、别藻蓝蛋白和Cy7。发光的标记包括，例如，多种发光的镧系元素（例如，铈或铽）螯合物中的任一种。例如，合适的镧螯合物包括二乙烯三胺五乙酸 (DTPA) 或四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸 (DOTA) 的镧螯合物。酶标记包括，例如，碱性磷酸酶、CAT、萤光素酶和辣根过氧化物酶。

[0325] 使用许多已知的化学交联剂中的任一种，可以交联2种蛋白（例如，抗体和异源部分）。这样的交联剂的实例是，通过键（包括“受阻的”二硫键）来连接2个氨基酸残基的那些。在这些键中，在交联单位内的二硫键被保护（通过在二硫键的任一侧上的阻碍基团）免于还原，所述还原是例如还原的谷胱甘肽或酶二硫化物还原酶的作用。一种合适的试剂4-琥珀酰亚胺基氧基羰基- α -甲基- α (2-吡啶基二硫代) 甲苯 (SMPT)，会在2种蛋白之间形成这样的键，所述键利用在一种蛋白上的末端赖氨酸和在另一种蛋白上的末端半胱氨酸。还可以使用异双功能试剂，其通过每种蛋白上的不同偶联部分进行交联。其它有用的交联剂包括、但不限于这样的试剂，所述试剂连接：两个氨基（例如，N-5-叠氮基-2-硝基苯甲酰氧基琥珀酰亚胺）、两个硫氢基（例如，1,4-二马来酰亚胺基丁烷）、一个氨基和一个硫氢基（例如，间马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯），一个氨基和一个羧基（例如，4-[对叠氮基水杨酰氨基]丁胺）、以及一个氨基和一个存在于精氨酸侧链中的胍基（例如，对叠氮基苯基乙二醛一水合物）。

[0326] 在有些实施方案中，可以将放射性标记直接地缀合到抗体的氨基酸主链上。或者，可以包括放射性标记作为下述物质的一部分：结合游离的氨基以形成相关蛋白的间-碘代苯基 (mIP) 衍生物的更大分子（例如，在间-[^{125}I]碘代苯基-N-羟基琥珀酰亚胺 ([^{125}I] mIPNHS中的 ^{125}I)）（参见，例如，Rogers等人 (1997) *J Nucl Med* 38:1221-1229），或结合在蛋白主链上的螯合物（例如，与DOTA或DTPA螯合）。使放射性标记或含有它们的更大分子/螯合物与本文所述的抗体或抗原结合片段缀合的方法是本领域已知的。这样的方法包括：在促进放射性标记或螯合物与所述蛋白结合的条件（例如，pH、盐浓度和/或温度）下，与放射性标记一起温育蛋白（参见，例如，美国专利号6,001,329）。

[0327] 用于使荧光标记（有时称作“荧光团”）与蛋白（例如，抗体）缀合的方法是蛋白质化学领域已知的。例如，使用与荧光团相连的琥珀酰亚胺基 (NHS) 酯或四氟苯基 (TFP) 酯部分，可以使荧光团与蛋白的游离氨基（例如，赖氨酸的游离氨基）或硫氢基（例如，半胱氨酸的硫氢基）缀合。在有些实施方案中，可以使荧光团与异双功能交联剂部分（诸如磺基-SMCC）缀合。合适的缀合方法包括：在促进荧光团与蛋白结合的条件下，与荧光团一起温育抗体蛋白或其片段。参见，例如，Welch和Redvanly (2003) “Handbook of Radiopharmaceuticals: Radiochemistry and Applications,” John Wiley和Sons (ISBN 0471495603)。

[0328] 在有些实施方案中，可以用例如特定部分修饰所述抗体或片段，所述特定部分会提高抗体在循环中（例如，在血液、血清或其它组织中）的稳定化和/或保留。例如，可以将抗体或片段聚乙二醇化，参见，例如，Lee等人 (1999) *Bioconjug Chem* 10(6): 973-8；Kinstler等人 (2002) *Advanced Drug Deliveries Reviews* 54:477-485；和Roberts等人 (2002) *Advanced Drug Delivery Reviews* 54:459-476，或将其羟乙基淀粉化 (Fresenius Kabi, 德国；参见，例如，Pavisić等人 (2010) *Int J Pharm* 387(1-2):110-119)。所述稳定

化部分可以使抗体(或片段)的稳定性或保留提高至少1.5(例如,至少2、5、10、15、20、25、30、40或50或更高)倍。

[0329] 在有些实施方案中,可以将本文所述的抗体或其抗原结合片段糖基化。在有些实施方案中,可以对本文所述的抗体或其抗原结合片段进行酶处理或化学处理,或从细胞生产,使得所述抗体或片段具有减少的糖基化或没有糖基化。用于生产具有减少的糖基化的抗体的方法是本领域已知的,且描述在,例如,美国专利号6,933,368; Wright等人(1991) *EMBO J* 10(10):2717-2723;和Co等人(1993) *Mol Immunol* 30:1361。

[0330] 药物组合物

[0331] 含有本文所述的抗体或其抗原结合片段的组合物可以配制成药物组合物,例如,其用于施用给受试者来治疗或预防补体相关病症。所述药物组合物通常包括药学上可接受的载体。本文使用的“药学上可接受的载体”是指,且包括,生理学上相容的任何的和所有的溶剂、分散介质、包衣剂、抗细菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等等。所述组合物可以包括药学上可接受的盐,例如,酸加成盐或碱加成盐(参见,例如,Berge等人(1977) *J Pharm Sci* 66: 1-19)。

[0332] 所述组合物可以根据标准方法来配制。药物配制是一种非常确定的技术,且进一步描述在:例如,Gennaro (2000) “Remington: The Science and Practice of Pharmacy,”第20版, Lippincott, Williams & Wilkins (ISBN: 0683306472); Ansel等人(1999) “Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,”第7版, Lippincott Williams & Wilkins Publishers (ISBN: 0683305727);和Kibbe (2000) “Handbook of Pharmaceutical Excipients American Pharmaceutical Association,”第3版 (ISBN: 091733096X)。在有些实施方案中,可以将组合物配制成,例如,在合适浓度并适合在2-8°C(例如,4°C)贮存的缓冲溶液。在有些实施方案中,可以将组合物配制用于在低于0°C的温度(例如,-20°C或-80°C)贮存。在有些实施方案中,可以将组合物配制用于在2-8°C(例如,4°C)贮存最多2年(例如,1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、1年、1年半或2年)。因而,在有些实施方案中,本文所述的组合物可在2-8°C(例如,4°C)稳定地贮存至少1年。

[0333] 药物组合物可以是多种形式。这些形式包括,例如,液体、半固体和固体剂型,诸如液体溶液(例如,可注射的和可输注的溶液)、分散系或混悬液、片剂、丸剂、散剂、脂质体和栓剂。优选的形式部分地取决于预期的给药模式和治疗用途。例如,意图用于全身或局部递送的含有抗体或片段的组合物可以是可注射的或可输注的溶液的形式。因此,可以将组合物配制用于通过肠胃外模式(例如,静脉内的、皮下的、腹膜内的或肌肉内的注射)来给药。本文使用的“肠胃外给药”、“肠胃外地施用”和其它语法上等效的短语表示,除了肠内和表面给药以外的给药模式,通常是通过注射,且包括、但不限于:静脉内的、鼻内的、眼内的、肌肉内的、动脉内的、鞘内的、囊内的、眶内的、心内的、真皮内的、腹膜内的、经气管的、皮下的、表皮下的、关节内的、囊下的、蛛网膜下的、椎管内的、硬膜外的、脑内的、颅内的、颈动脉内的和胸骨内的注射和输注。

[0334] 组合物可以配制成溶液、微乳剂、分散系、脂质体或适合在高浓度稳定贮存的其它有序结构。可以如下制备无菌注射溶液:将所需量的本文所述的抗体(或抗体片段)按需要与上述一种成分或多种成分的组合一起掺入适宜的溶剂中,然后过滤除菌。一般地,如下制

备分散系:将本文所述的抗体或片段掺入无菌媒介物中,所述无菌媒介物含有基础分散介质以及来自上述成分的所需其它成分。对于用于制备无菌注射溶液的无菌粉末,制备方法包括真空干燥和冷冻干燥,它们会产生本文所述的抗体或其抗原结合片段加上来自之前的无菌过滤溶液的任何额外所需成分(参见下文)的粉末。例如,通过使用包衣剂如卵磷脂、通过维持所需的粒度(对于分散系的情况)以及通过使用表面活性剂,可以维持溶液的适当流动性。通过在可注射组合物中包括延迟吸收的试剂,例如,单硬脂酸盐和明胶,可以延长所述组合物的吸收。

[0335] 本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段也可以配制成免疫脂质体组合物。通过本领域已知的方法,例如,在下述文献中描述的方法,可以制备含有所述抗体的脂质体: Epstein等人(1985) *Proc Natl Acad Sci USA* 82:3688; Hwang等人(1980) *Proc Natl Acad Sci USA* 77:4030; 和美国专利号4,485,045和4,544,545。在例如美国专利号5,013,556中,公开了具有增加的循环时间的脂质体。

[0336] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可以用保护该化合物防止其快速释放的载体来制备,例如控释制剂,其包括植入物和微囊化的递送系统。可以使用可生物降解的、生物相容的聚合物,例如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸。许多用于制备此类制剂的方法是本领域已知的。参见,例如,J.R. Robinson (1978) "Sustained and控释药物递送Systems," Marcel Dekker, Inc., New York。

[0337] 在有些实施方案中,本文所述的抗体或抗原结合片段可以配制成适合肺内施用(例如,经由喷雾器施用;参见下文)给哺乳动物(诸如人)的组合物。用于制备这种组合物的方法是本领域众所周知的,且描述在,例如,美国专利申请公开号20080202513;美国专利号7,112,341和6,019,968;和PCT申请公开号W0 00/061178和W0 06/122257,它们各自的公开内容通过引用整体并入本文。干粉吸入器制剂和适合施用所述制剂的系统,描述在,例如,美国专利申请公开号20070235029、PCT公开号W0 00/69887和美国专利号5,997,848中。

[0338] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以配制成适用于递送给眼的组合物。在有些实施方案中,可以局部地施用本文所述的一种或多种抗-C5a抗体(或其抗原结合片段),例如,借助于表面施用或玻璃体内注射。例如,在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体可以配制用于通过滴眼剂来施用。

[0339] 用于治疗眼的治疗制剂可以含有在药学上可接受的溶液、悬浮液或软膏剂中的约0.01至约1重量%、优选约0.05至约0.5%浓度的一种或多种所述抗-C5a抗体。所述制剂优选地是无菌水溶液的形式,所述水溶液含有例如其它成分,例如,但不限于、防腐剂、缓冲剂、张度剂、抗氧化剂和稳定剂、非离子润湿剂或澄清剂和增粘剂。

[0340] 适用于这种溶液中的防腐剂包括:苯扎氯铵、苄索氯铵、三氯叔丁醇、硫柳汞等等。合适的缓冲剂包括,例如,硼酸、碳酸氢钠和碳酸氢钾、硼酸氢钠和硼酸氢钾、碳酸钠和碳酸钾、乙酸钠、磷酸氢钠等,其量足以将pH保持在大约pH6和pH8之间,优选在大约pH7和pH7.5之间。合适的张度剂是葡聚糖40、葡聚糖70、葡萄糖、甘油、氯化钾、丙二醇和氯化钠。

[0341] 合适的抗氧化剂和稳定剂包括:亚硫酸氢钠、偏亚硫酸氢钠、硫代亚硫酸钠和硫脲。合适的润湿剂和澄清剂包括:聚山梨酯80、聚山梨酯20、泊洛沙姆282和泰洛沙泊。合适的增粘剂包括:葡聚糖40、葡聚糖70、明胶、甘油、羟乙基纤维素、羟甲基纤维素、羊毛脂、甲基纤维素、矿脂、聚乙二醇、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮和羧甲基纤维素。通过常规方法,例

如,以滴剂的形式,或通过含有的一种或多种抗-C5a抗体的治疗溶液中洗眼,可以将所述试剂表面地施用给需要治疗的受试者(例如,罹患AMD的受试者)的眼。

[0342] 另外,已经开发出多种装置用于将药物导入眼的玻璃体腔中。例如,美国专利申请公开号20020026176描述了一种含有药物的插入物,其可以穿过巩膜插入,使得它伸入玻璃体腔中,以将药剂递送进玻璃体腔中。在另一个实例中,美国专利号5,443,505描述了一种可植入的装置,其用于导入脉络膜周隙或血管区域中,用于将药物持续释放进眼内。美国专利号5,773,019和6,001,386各自公开了一种可植入的药物递送装置,其可附着于眼的巩膜表面上。所述装置包含含有有效量的低溶解度试剂的内芯,所述内芯被不可生物蚀解的、可透过所述低溶解度试剂的聚合物包被。在运行中,所述低溶解度试剂透过可生物蚀解的聚合物覆盖层,从所述装置持续释放出。用于向眼递送治疗剂的其它方法和装置(例如,经巩膜的贴剂和经由接触镜的递送),描述在,例如,Ambati和Adamis (2002) *Prog Retin Eye Res* 21(2):145-151; Ranta和Urtti (2006) *Adv Drug Delivery Rev* 58(11):1164-1181; Barocas和Balachandran (2008) *Expert Opin Drug Delivery* 5(1):1-10(10); Gulsen和Chauhan (2004) *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45:2342-2347; Kim等人(2007) *Ophthalmic Res* 39:244-254;和PCT公开号W0 04/073551,它们的公开内容通过引用整体并入本文。

[0343] 可以将编码抗体(或其抗原结合片段)的核酸整合进要用作基因疗法的一部分的基因构建体中,以递送可以用于在细胞内表达和生产药剂的核酸(参见下文)。这样的组分的表达构建体可以在任意治疗上有效的载体(例如,在体内能够有效地将组分基因递送给细胞的任何制剂或组合物)中施用。方案包括:将主题基因插入病毒载体中,所述病毒载体包括重组逆转录病毒、腺病毒、腺伴随病毒、慢病毒和单纯疱疹病毒-1(HSV-1)或重组细菌或真核质粒。病毒载体可以直接地转染细胞;在下述物质的帮助下,可以递送质粒DNA:例如,阳离子脂质体(脂质体转染),或衍生的(例如,抗体缀合的)、聚赖氨酸缀合物、短杆菌肽S、人工病毒包膜或其它这样的细胞内载体,以及直接注射基因构建体或在体内进行的CaPO₄沉淀(参见,例如,W004/060407)。(也参见下面的“*Ex vivo Approaches*”)。合适的逆转录病毒的实例包括pLJ、pZIP、pWE和pEM,它们是本领域技术人员已知的(参见,例如,Eglitis等人(1985) *Science* 230:1395-1398; Danos和Mulligan (1988) *Proc Natl Acad Sci USA* 85:6460-6464; Wilson等人(1988) *Proc Natl Acad Sci USA* 85:3014-3018; Armentano等人(1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:6141-6145; Huber等人(1991) *Proc Natl Acad Sci USA* 88:8039-8043; Ferry等人(1991) *Proc Natl Acad Sci USA* 88:8377-8381; Chowdhury等人(1991) *Science* 254:1802-1805; van Beusechem等人(1992) *Proc Natl Acad Sci USA* 89:7640-7644; Kay等人(1992) *Human Gene Therapy* 3:641-647; Dai等人(1992) *Proc Natl Acad Sci USA* 89:10892-10895; Hwu等人(1993) *J Immunol.* 150:4104-4115;美国专利号4,868,116和4,980,286; PCT公开号W089/07136、W089/02468、W089/05345和W092/07573)。另一种病毒基因递送系统利用腺病毒衍生的载体(参见,例如,Berkner等人(1988) *BioTechniques* 6:616; Rosenfeld等人(1991) *Science* 252:431-434;和Rosenfeld等人(1992) *Cell* 68:143-155)。从腺病毒株Ad 5型d1324或其它腺病毒株(例如,Ad2、Ad3、Ad7等)衍生出的合适的腺病毒载体是本领域技术人员已知的。可用于递送主题基因的另一病毒载体系统是腺伴随病毒(AAV)。参

见,例如,Flotte等人(1992) *Am J Respir Cell Mol Biol* 7:349-356; Samulski等人(1989) *J Virol* 63:3822-3828;和McLaughlin等人(1989) *J Virol* 62:1963-1973。

[0344] 在有些实施方案中,本文所述的抗体或其抗原结合片段可以与一种或多种其它活性剂一起配制,所述其它活性剂可用于治疗或预防受试者的补体相关病症。用于治疗受试者的补体相关病症的其它药剂将随要治疗的具体病症而变化,但是可以包括、但不限于:抗高血压剂(例如,血管紧张素-转换酶抑制剂)、抗凝血剂、皮质类固醇(例如,泼尼松)或免疫抑制剂(例如,长春新碱或环孢菌素A)。抗凝血剂的实例包括,例如,华法林(华法林钠)、肝素、苯茛二酮、磺达肝素、依达肝素和凝血酶抑制剂(例如,阿加曲班、来匹卢定、比伐卢定或达比加群)。本文所述的抗体或其片段还可以与用于治疗补体介导的病症的纤维蛋白溶解剂(例如,安克洛酶、 ϵ -氨基己酸、抗纤溶酶-a₁、前列环素和去纤苷)一起配制。在有些实施方案中,抗体可以与降脂剂(诸如羟甲基戊二酰基CoA还原酶抑制剂)一起配制。在有些实施方案中,抗体可以与抗-CD20试剂诸如利妥昔单抗(Rituxan™; Biogen Idec, Cambridge, MA)一起配制或一起使用。在有些实施方案中,例如,就治疗RA而言,所述抗体或其抗原结合片段可以与英夫利昔单抗(Remicade®; Centocor, Inc.)和甲氨蝶呤(Rheumatrex®, Trexall®)中的一种或两种一起配制。在有些实施方案中,本文所述的抗体或其抗原结合片段可以与非甾体类抗炎药物(NSAID)一起配制。许多不同的NSAIDS是可得到的,一些非处方药包括布洛芬(Advil®、美林®、Nuprin®)和萘普生(Alleve®),许多其它的NSAIDS可通过处方得到,包括美洛昔康(Mobic®)、依托度酸(Lodine®)、萘丁美酮(Relafen®)、舒林酸(Clinoril®)、托美丁(托来汀®)、水杨酸胆碱镁(Trilasate®)、双氯芬酸(Cataflam®、Voltaren®、Arthrotec®)、二氟尼柳(Dolobid®)、吲哚美辛(Indocin®)、酮洛芬(Orudis®、Oruvail®)、奥沙普秦(Daypro®)和吡罗昔康(Feldene®)。在有些实施方案中,抗体或其片段可以配制成用于与抗高血压剂、抗癫痫剂(例如,硫酸镁)或抗血栓剂一起使用。抗高血压剂包括,例如,拉贝洛尔、胍屈嗪、硝苯地平、钙通道拮抗剂、硝酸甘油或硝普钠。参见,例如,Mihu等人(2007) *J Gastrointest Liver Dis* 16(4):419-424。抗血栓剂包括,例如,肝素、抗凝血酶、前列环素或低剂量阿司匹林。

[0345] 在有些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段可以配制成用于与静脉内 γ 球蛋白疗法(IVIG)、血浆去除术或血浆交换一起施用给受试者。在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以配制成在肾移植之前、过程中或之后使用。

[0346] 当所述抗体或其抗原结合片段要与第二种活性剂联合使用时,所述试剂可以单独地或一起地配制。例如,可以混合各自的药物组合物(例如,在即将施用之前),并一起施用,或可以分开施用,例如,同时或不同时(参见下文)。

[0347] 如上所述,可以配制组合物,使得它包括治疗有效量的本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段。在有些实施方案中,可以配制组合物,以包括亚治疗量的抗体(或片段)和亚治疗量的一种或多种其它活性剂,使得总组分就用于治疗或预防补体相关病症而言是治疗上有效的。用于测定试剂(诸如治疗性抗体)的治疗有效剂量的方法,是本领域已知的,并描述在本文中。

[0348] 应用

[0349] 前述任一种抗体、其抗原结合片段、缀合物和组合物可以用于许多诊断和治疗用途中。例如,可检测地标记的抗-C5a抗体(例如,抗-人C5a抗体或抗-小鼠C5a抗体)可以用于

试验中,以检测C5a在生物样品中的存在或量。测定样品(例如,患者血液样品)中的C5a的量,可以用于评价样品中的补体活化的水平。适合在诊断试验中使用抗体的方法是本领域已知的,且包括、但不限于:ELISA、荧光共振能量转移用途、蛋白质印迹和斑点印迹技术。参见,例如,Sambrook等人,同上和Ausubel等人,同上。

[0350] 在有些实施方案中,本文所述的抗体和抗原结合片段可以在试验中用作阳性对照,所述试验设计成鉴别用于治疗补体介导的病症的其它新颖的化合物。例如,抑制C5a活性的抗-C5a抗体可以在试验中用作阳性对照,以鉴别抑制C5a或C5a依赖性的C5a受体信号传递的其它化合物(例如,小分子、适体或抗体)。

[0351] 在有些实施方案中,本文所述的交叉反应性的抗-C5a抗体或其抗原结合片段(例如,与人C5a和例如食蟹猴C5a具有交叉反应性)可以用于非人哺乳动物的临床前试验,例如,在非人灵长类动物中的药代动力学或药效动力学研究。因此,希望评价抗-C5a抗体在治疗目标补体相关病症(例如,RA或脓毒症)中的效力的研究人员,可以在适当的非人灵长类动物疾病模型中使用本文所述的交叉反应性的抗-C5a抗体。例如,如果研究人员可以确定所述抗体在非人灵长类动物模型中的效力,这些结果可以为管理机构批准所述抗体用于治疗人类提供足够的概念证明支持。替代地或额外地,研究人员可以将所述交叉反应性抗体施用给非人灵长类动物,以研究例如抗体清除率和/或药效动力学性质。基于这样的使用交叉反应性抗体的研究,研究人员可以更好地估计治疗人疾病所需的剂量。

[0352] 在有些实施方案中,本文所述的抗-小鼠C5a抗体或其抗原结合片段以及与人和小鼠C5a交叉反应的抗体,可以在人疾病的小鼠模型中用作替代物抗体。在人源化的抗-人C5a抗体不与小鼠C5a交叉反应和/或可能在施用所述人源化抗体中的小鼠中造成抗-人抗体应答的情况下,这是特别有用的。因此,希望研究抗-C5a抗体在治疗疾病(例如,缺血-再灌注损伤)中的作用的研究人员,可以在所述疾病的适当小鼠模型中使用本文所述的抗-小鼠C5a抗体。如果研究人员可以确定在所述疾病的小鼠模型中使用所述抗-小鼠C5a抗体的效力,这些结果可以为抗-人C5a抗体在治疗人类疾病中的用途提供概念证明。工作实施例公开了一个在RA小鼠模型中使用抗-小鼠C5a抗体替代物的示例性研究,其为抗-人C5a抗体在治疗人类RA中的用途提供了概念证明。

[0353] 本文所述的抗-C5a抗体还可以用于从样品(例如,生物样品)纯化C5a的方法中。在有些实施方案中,使用本领域众所周知的方法,可以将抗-C5a抗体固定化在固相支持物上。在足以允许抗原结合抗体的条件和时间下,使含有要纯化的抗原(在该情况下,C5a)的样品接触在固体支持物上的抗体。然后用合适的缓冲液洗涤固体支持物一次或多次,以除去未结合的物质。然后可以使固体支持物接触第二种缓冲液,所述第二种缓冲液会导致抗原从抗体释放。然后使用本领域熟知的方法,收集释放的抗原,并进行表征(例如,关于纯度和活性)。

[0354] 本文所述的抗-C5a抗体和其抗原结合片段还可以用于下面详细说明书的治疗方法中。

[0355] 治疗方法

[0356] 除了别的以外,上述的组合物可以用于治疗或预防受试者的多种补体相关病症的方法中。使用多种方法,可以将所述组合物施用给受试者,例如,人受试者,所述方法部分地取决于给药途径。所述途径可以是,例如,静脉内注射或输注(IV)、皮下注射(SC)、腹膜内

(IP)注射或肌肉内注射(IM)。

[0357] 通过例如局部输注、注射或借助于植入物,可以实现给药。所述植入物可以是多孔的、无孔的或凝胶状的材料,包括膜(诸如硅橡胶膜)或纤维。所述植入物可以构造成用于将组合物持续释放或定期释放给受试者。参见,例如,美国专利申请公开号20080241223;美国专利号5,501,856、4,863,457和3,710,795; EP488401;和EP 430539,它们各自的公开内容通过引用整体并入本文。借助于可植入的装置,可以将所述组合物递送给受试者,所述装置基于例如扩散系统、可侵蚀系统或对流系统(例如,渗透泵)、可生物降解的植入物、电扩散系统、电渗系统、蒸气压泵、电解泵、泡腾剂泵、压电泵、基于侵蚀的系统或机电系统。

[0358] 在有些实施方案中,通过局部给药,将所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段治疗地递送给受试者。本文使用的“局部给药”或“局部递送”表示这样的递送:其不依赖于组合物或试剂经由血管系统向它的预期靶组织或部位的运输。例如,通过注射或植入组合物或试剂,或通过注射或植入含有组合物或试剂的装置,可以递送组合物。在靶组织或部位附近局部给药以后,所述组合物或试剂或其一种或多种组分可以扩散至预期的靶组织或部位。

[0359] 在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以局部地施用给关节(例如,以关节连接的接头)。例如,在补体相关病症是关节炎的实施方案中,可以将所述补体抑制剂直接施用给关节(例如,在关节间隙中)或在关节附近。可以给其局部地施用抗-C5a抗体或其抗原结合片段的关节内接头的实例包括,例如,髌、膝、肘、腕、胸锁、颞、腕骨、跗骨、踝和发生关节炎病症的任何其它关节。抗-C5a抗体或其抗原结合片段也可以施用给囊,例如,三角肌下囊、肱二头肌桡骨囊、肘桡骨囊、三角肌囊、髌下囊、坐骨囊和医学领域已知的任何其它囊。

[0360] 在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以局部地施用给眼。本文使用的术语“眼”表示与眼有关的任何和所有解剖学组织和结构。眼具有由3个不同的层组成的壁:外面的巩膜、中间的脉络膜层和内部的视网膜。在晶状体后面的室装有凝胶状流体,称作玻璃体液。在眼的后部是视网膜,其检测光。角膜是一种透光的组织,其将图像传递至眼的后部。角膜包括药物渗透进眼中的途径。与眼有关的其它解剖学组织结构包括泪液排泄系统,其包括分泌系统、分配系统和排泄系统。所述分泌系统包括:受眨眼和温度变化(由泪液蒸发导致)刺激的分泌体,和反射分泌体,所述反射分泌体具有传出副交感神经分布,并响应于物理或情感刺激而分泌泪液。所述分配系统包括眼睑和在张开的的眼的眼睑边缘周围的泪液凹面,所述泪液凹面通过眨眼而将泪液分布在眼表面上,从而减少干燥区的形成。

[0361] 在有些实施方案中,将所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段施用给眼后房。在有些实施方案中,玻璃体内地施用所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段。在有些实施方案中,经巩膜地施用所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段。

[0362] 在有些实施方案中,例如,在用于治疗或预防补体相关肺病(诸如COPD或哮喘)的实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段也可以通过肺施用给受试者。肺药物递送可以通过吸入来实现,且本文中的通过吸入给药可以是经口的和/或经鼻的。用于肺递送的药用装置的实例包括:计量剂量吸入器、干粉吸入器(DPI)和喷雾器。例如,通过干粉吸入器,可以将抗-C5a抗体或其抗原结合片段施用给受试者的肺。这些吸入器是不含推进剂的装置,所述装置将可分散的且稳定的干粉制剂递送给肺。干粉吸入器是医学领域众所

周知的,且包括,但不限于:TurboHaler® (AstraZeneca; London, 英国);AIR® 吸入器 (Alkermes®; Cambridge, 马萨诸塞州);Rotahaler® (GlaxoSmithKline; London, 英国);和Eclipse™ (Sanofi-Aventis; Paris, 法国)。也参见,例如,PCT公开号W0 04/026380、W0 04/024156和W0 01/78693。DPI装置已经用于多肽(诸如胰岛素和生长激素)的肺给药。在有些实施方案中,通过计量剂量吸入器,可以肺内地施用所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段。这些吸入器依赖于推进剂来递送离散剂量的化合物给肺。通过计量剂量吸入器施用的化合物的实例包括,例如,Astivent® (Boehringer-Ingelheim; Ridgefield, 康涅狄格州)和Flovent® (GlaxoSmithKline)。也参见,例如,美国专利号6,170,717、5,447,150和6,095,141。

[0363] 在有些实施方案中,通过喷雾器,可以将所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段施用给受试者的肺。喷雾器使用压缩空气来递送化合物,作为液化的气溶胶或雾。喷雾器可以是,例如,喷射式喷雾器(例如,空气或液体喷射式喷雾器)或超声喷雾器。其它装置和肺内给药方法描述在,例如,美国专利申请公开号20050271660和20090110679,它们各自的公开内容通过引用整体并入本文。

[0364] 在有些实施方案中,本文提供的抗体或其抗原结合片段存在于单位剂型中,所述单位剂型可以特别适用于自身给药。本公开内容的配制产品可包括在容器内,所述容器通常是例如瓶、筒、预充注射器或一次用弃的笔。也可使用定量给药器,例如在美国专利号6,302,855中描述的定量给药装置,例如与本公开内容的注射系统一起使用。

[0365] 本公开内容的注射系统可以采用在美国专利号5,308,341中所述的递送笔。笔装置是本领域众所周知的,其最常用于糖尿病患者的胰岛素自我递送。这样的装置可以包含至少一个注射针(例如,长度为约5-8 mm的31号针),所述装置通常预充一个或多个治疗单位剂量的治疗溶液,且可用于以尽可能少的疼痛快速地将溶液递送给受试者。

[0366] 一种药物递送笔包括瓶托座(holder),其中可以容纳胰岛素或其它药物的瓶。所述瓶托座是长形的、通常管状的结构,具有近端和远端。瓶托座的远端包括用于啮合双端针状插管的固定装置。近端也包括用于啮合笔身的固定装置,所述笔身包括驱动器和剂量设定装置。用于现有技术瓶托座的一次用弃的含药物(例如,高浓度的抗-C5a抗体或其抗原结合片段溶液)瓶包括具有可刺穿的弹性隔膜的远端,所述隔膜可被双端针状插管的一端刺穿。这种瓶的近端包括与瓶的圆柱壁不透流体地啮合的、可滑动地安置的塞子。通过将药物瓶插入瓶托座中,使用这种药物递送笔。然后笔身连接至瓶托座的近端。笔身包括剂量设定装置和驱动装置,所述剂量设定装置用于指定要由笔递送的药物的剂量,所述驱动装置用于驱动瓶的塞子向远端移动与所选剂量相对应的距离。笔的使用者将双端针插管安装至瓶托座的远端,使得针插管的近端点刺穿瓶上的隔膜。患者然后选择剂量,并操作笔,以向远端驱动塞子来递送所选剂量。在注射所选剂量以后,剂量选择装置归零。然后患者移除并抛弃针插管,并将药物递送笔保持在方便的位置,用于随后的所需药物施用。在若干次这样的药物施用后,瓶的药物将耗尽。患者然后将瓶托座和笔身分离。然后可以移除并抛弃空瓶。可将新瓶插入瓶托座,瓶托座和笔身可如上所述重新组合并使用。因此,药物递送笔通常具有准确定量给药和容易使用的驱动机构。

[0367] 剂量机构(诸如可旋转的旋钮)允许使用者准确地调节通过笔从预包装的药物瓶中注射的药物的量。为了注射所述剂量的药物,使用者将针插入皮肤下,并压下旋钮1次至

它可降低的程度。所述笔可以是完全机械的装置,或它可与电子线路组合,以准确地设定和/或指示注射进使用者中的药物的剂量。参见美国专利号6,192,891。

[0368] 在有些实施方案中,所述笔装置的针是一次用弃的,且所述试剂盒包括一个或多个一次用弃的替换针。适用于递送任一种本发明表征的抗体或其抗原结合片段的笔装置,也描述在,例如,美国专利号6,277,099、6,200,296和6,146,361,它们各自的公开内容通过引用整体并入本文。基于显微操作针的笔装置描述在,例如,美国专利号7,556,615,其公开内容通过引用整体并入本文。也参见Scandinavian Health Ltd.生产的精确笔注射器(PPI)装置Molly™。

[0369] 本公开内容也提供了控释或延迟释放制剂,所述制剂适用于药物(诸如本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段)的长期和/或自身给药。各种制剂可以作为推注或通过在一段时间内的连续输注,施用给需要药物治疗的患者。

[0370] 在有些实施方案中,配制高浓度的本文所述的抗-C5a抗体(或其抗原结合片段),用于持续释放、延迟释放、定时释放、控释或连续释放给药。在有些实施方案中,使用贮库制剂来给有此需要的受试者施用抗体。在该方法中,与一种或多种载体一起配制所述抗体,所述载体提供活性剂在数小时或数天的时段内的逐渐释放。这样的制剂经常基于降解基体,所述降解基体在体内逐渐分散以释放活性剂。

[0371] 在有些实施方案中,通过肺内给药,将本文所述的抗-C5a抗体的C5a-结合片段(例如,单链抗体、双体或Fab'片段)施用给有此需要的受试者。例如,通过喷雾器或吸入器,可以给罹患补体相关肺病(诸如哮喘或COPD)的受试者(例如,人)递送单链抗体形式的任一种本文所述的抗-C5a抗体。

[0372] 本文所述的抗体或其片段的合适剂量(该剂量能够治疗或预防受试者的补体相关病症)可以取决于多种因素,包括、例如,要治疗的受试者的年龄、性别和体重,以及使用的具体抑制剂化合物。例如,与治疗相同受试者所需的结合C5a的Fab'抗体片段的剂量相比,可能需要不同剂量的完整抗-C5a抗体来治疗具有RA的受试者。影响施用给受试者的剂量的其它因素包括,例如,补体介导的病症的类型或严重性。例如,具有RA的受试者可能需要施用与具有AMD的受试者不同剂量的抗-C5a抗体。其它因素可以包括,例如,并行地或在以前影响受试者的其它医学病症、受试者的一般健康、受试者的遗传倾向、饮食、给药时间、排泄速率、药物组合和施用给受试者的任何其它额外治疗剂。还应当理解,任何特定受试者的特定剂量和治疗方案也取决于主治医学从业人员(例如,医生或护士)的判断。

[0373] 本文所述的抗体可以作为固定剂量施用,或以每千克体重的毫克(mg/kg)剂量施用。在有些实施方案中,还可以选择剂量,以减少或避免针对组合物中的一种或多种活性抗体的抗体产生或其它宿主免疫应答。尽管无意成为限制性的,抗体(诸如抗-C5a抗体)的示例性剂量包括,例如,1-1000 μg/kg、1-100 μg/kg、0.5-50 μg/kg、0.1-100 μg/kg、0.5-25 μg/kg、1-20 μg/kg和1-10 μg/kg、1-100 mg/kg、0.5-50 mg/kg、0.1-100 mg/kg、0.5-25 mg/kg、1-20 mg/kg、0.100 mg/kg-1 mg/kg和1-10 mg/kg。本文所述的抗体或其抗原结合片段的示例性剂量包括、但不限于:0.1 μg/kg、0.5 μg/kg、1.0 μg/kg、2.0 μg/kg、4 μg/kg和8 μg/kg、0.1 mg/kg、0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、2.0 mg/kg、4 mg/kg、8 mg/kg和20 mg/kg。

[0374] 药物组合物可以包括治疗有效量的本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段。这样的有效量可以由本领域普通技术人员容易地确定,这部分地基于:施用的抗体的效应,或

如果使用超过一种药剂的话,抗体和一种或多种其它活性剂的组合效应。本文所述的抗体或其片段的治疗有效量也可以随下述因素而变化:诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重,以及抗体(和一种或多种其它活性剂)在个体中引起希望的应答的能力,所述应答是例如:至少一种病症参数的改善,例如,补体介导的病症的至少一种症状的改善。例如,治疗有效量的抗-C5a抗体可以抑制(减轻严重性或消除发生)和/或阻止特别病症和/或本领域已知的或本文所述的特定病症的任一种症状。治疗有效量也是这样的量:其中治疗上有益的效果超过组合物的任何毒害作用。

[0375] 在例如I期剂量递增研究中,可以进一步评价本文所述的任一种抗体或其片段的合适的人剂量。参见,例如,van Gulp等人(2008) *Am J Transplantation* 8(8):1711-1718; Hanouska等人(2007) *Clin Cancer Res* 13(2, part 1):523-531;和Hetherington等人(2006) *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50(10): 3499-3500。

[0376] 在本文中使用的术语“治疗有效量”或“治疗有效剂量”或类似术语意图表示,会引起希望的生物学或医学应答(例如,补体相关病症的一种或多种症状的改善)的试剂(例如,抗-C5a抗体或其抗原结合片段)的量。在有些实施方案中,本文所述的组合物含有治疗有效量的所述抗体或其抗原结合片段,它们特异性地结合存在于C5a中的新表位。在有些实施方案中,所述组合物含有本文所述的任一种抗体或其抗原结合片段和一种或多种(例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10或11种或更多种)其它治疗剂,使得所述组合物作为整体是治疗上有效的。例如,组合物可以含有本文所述的抗-C5a抗体和一种免疫抑制剂,其中所述抗体和试剂各自的浓度当组合时,就用于治疗或预防受试者的补体相关病症(例如,补体相关的炎症性病症,诸如COPD、哮喘、脓毒症或RA)而言是治疗上有效的。

[0377] 通过在细胞培养物或实验动物(例如,本文所述的任一种补体介导的病症的动物模型)中的已知药物规程,可以测定这样的组合物的毒性和治疗效果。在工作实施例中例证了抗-C5a抗体在RA的动物模型中的应用。这些规程可以用于,例如,测定LD₅₀(对50%的群体致命的剂量)和ED₅₀(在50%的群体中治疗上有效的剂量)。毒性和治疗效果之间的剂量比是治疗指数,它可以表示为LD₅₀/ED₅₀之比。表现出高治疗指数的抗体或其抗原结合片段是优选的。尽管可以使用表现出毒副作用的组合物,应当小心地设计将这样的化合物靶向受累组织部位的递送系统,并使对正常细胞的潜在损伤最小化,由此减少副作用。

[0378] 从细胞培养试验和动物研究得到的数据可以用于确定用于人类中的剂量的范围。这样的抗体或其抗原结合片段的剂量通常位于抗体或片段的循环浓度范围内,所述范围包括几乎没有或没有毒性的ED₅₀。所述剂量可以在该范围内变化,这取决于采用的剂型和使用的给药途径。就本文所述的抗-C5a抗体而言,从细胞培养试验可以初步估测治疗有效剂量。可以在动物模型中确定剂量,以获得特定循环血浆浓度范围,该范围包括在细胞培养物中测得的IC₅₀(即,实现症状的半数最大抑制的抗体浓度)。这样的信息可以用于更准确地确定人类中有用的剂量。通过例如高效液相色谱法,可以测量在血浆中的水平。在有些实施方案中,例如,在需要局部给药(例如,向眼或关节)的情况下,细胞培养物或动物建模可以用于确定在局部部位内实现治疗有效浓度所需的剂量。

[0379] 在有些实施方案中,所述方法可以与补体相关病症的其它疗法结合进行。例如,可以在血浆去除术、IVIG疗法或血浆交换之前、之后或与此同时,将所述组合物施用给受试者。参见,例如,Appel等人(2005) *J Am Soc Nephrol* 16:1392-1404。在有些实施方案中,

可以在肾移植之前、之后或与此同时,将所述组合物施用给受试者。

[0380] 本文使用的“受试者”可以是任意哺乳动物。例如,受试者可以是人、非人灵长类动物(例如,猴、狒狒或黑猩猩)、马、牛、猪、绵羊、山羊、狗、猫、兔、豚鼠、沙鼠、仓鼠、大鼠或小鼠。在有些实施方案中,所述受试者是婴儿(例如,人婴儿)。

[0381] 本文使用的“需要预防”、“需要治疗”或“有此需要”的受试者表示这样的个体:根据适当的医学从业人员(例如,在人类的情况下,医生、护士、或护理人员;在非人哺乳动物的情况下,兽医)的判断,所述个体会合理地受益于给定的治疗(诸如使用包含抗-C5a抗体的组合物的治疗)。

[0382] 术语“预防”是本领域公认的,且当与病症结合使用时,是本领域熟知的,且包括施用组合物,与没有接受所述组合物的受试者相比,所述组合物会降低受试者的医学病症征状的频率或延迟其发作。因而,补体相关病症(诸如哮喘)的预防包括,例如,与未治疗的对照群体相比,降低接受预防性治疗的患者群体中的咳嗽、哮喘或胸痛的程度或频率,和/或与未治疗的对照群体相比,延迟治疗的群体中的咳嗽或哮喘的发生,例如,以统计上和/或临床上显著的量。

[0383] 如上所述,本文所述的抗体和生物活性片段可以用于治疗多种补体相关病症,例如,但不限于:类风湿性关节炎(RA);狼疮肾炎;缺血-再灌注损伤;非典型溶血性毒症综合征(aHUS);典型的或传染性的溶血性毒症综合征(tHUS);致密沉积物病(DDD);阵发性夜间血红蛋白尿(PNH);多发性硬化(MS);黄斑变性(例如,年龄相关的黄斑变性(AMD));溶血、肝酶升高和低血小板计数(HELLP)综合征;脓毒症;皮炎;糖尿病视网膜病变;血栓性的血小板减少性紫癜(TTP);自发流产;微量免疫脉管炎;大疱性表皮松解症;习惯性流产;多发性硬化(MS);和创伤性脑损伤。参见,例如,Holers (2008) *Immunological Reviews* 223:300-316,和Holers和Thurman (2004) *Molecular Immunology* 41:147-152。在有些实施方案中,所述补体介导的病症是补体介导的血管障碍例如,但不限于、心血管障碍、心肌炎、脑血管障碍、周围(例如,肌肉骨骼)血管障碍、肾血管障碍、肠系膜/肠血管障碍、向移植物和/或再植物的血运重建、脉管炎、过敏性紫癜肾炎、系统性红斑狼疮-相关的脉管炎、与类风湿性关节炎有关的脉管炎、免疫复合物脉管炎、塔卡亚萨病、毛细管渗漏综合征、扩张型心肌病、糖尿病血管病、胸腹部主动脉瘤、川崎病(动脉炎)、静脉气栓(VGE)和支架放置以后的再狭窄、旋转斑块切除术和经皮腔内冠状动脉血管成形术(PTCA)(参见,例如,美国专利申请公开号20070172483)。在有些实施方案中,所述补体相关病症是重症肌无力、冷凝集素疾病(CAD)、阵发性冷性血红蛋白尿(PCH)、皮炎、硬皮病、温热自身免疫性溶血性贫血、格雷夫斯病、桥本甲状腺炎、I型糖尿病、银屑病、天疱疮、自身免疫性溶血性贫血(AIHA)、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、肺出血肾炎综合征、抗磷脂综合征(APS)、恶性萎缩性丘疹病和灾难性APS(CAPS)。

[0384] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段(单独地,或与第二种抗炎剂组合地)可以用于治疗炎症性病症,例如,但不限于、RA(见上文)、炎性肠病、脓毒症(见上文)、脓毒性休克、急性肺损伤、弥漫性血管内凝血(DIC)或克罗恩氏病。在有些实施方案中,所述第二种抗炎剂可以选自:NSAID、皮质类固醇、甲氨蝶呤、羟基氯喹、抗-TNF试剂诸如依那西普和英夫利昔单抗、B细胞清除剂诸如利妥昔单抗、白介素-1拮抗剂或T细胞共刺激阻滞剂诸如阿巴他塞。

[0385] 在有些实施方案中,所述补体相关病症是补体相关的神经学病症,例如,但不限于、肌萎缩侧索硬化(ALS)、脑损伤、阿尔茨海默氏病和慢性炎症性脱髓鞘神经病。

[0386] 补体相关病症也包括补体相关的肺障碍,例如,但不限于、哮喘、支气管炎、慢性阻塞性肺疾病(COPD)、间质性肺病、 α -1抗-胰蛋白酶缺乏、肺气肿、支气管扩张、闭塞性细支气管炎、肺炎、结节病、肺纤维化和胶原血管障碍。

[0387] 在补体相关的溶血性障碍(诸如PNH、CAD和PCH)的情况下,医学从业人员会明白,C5片段C5b(通过末端补体复合物)会显著促进这些障碍的发病机制。参见,例如,Kaplan(2002) *Curr Opin Investig Drugs* 3(7):1017-23; Hill(2005) *Clin Adv Hematol Oncol* 3(11):849-50;和Rother等人(2007) *Nature Biotechnology* 25(11):1256-1488。因此,医学从业人员可以选择,与溶血性障碍的一种或多种其它疗法结合地施用一种或多种本文所述的抗-C5a抗体,所述其它疗法是例如阻止C5b-9末端补体复合物形成的补体抑制剂。在本文所述方法的有些实施方案中,所述补体相关病症不是补体相关的溶血性障碍。在有些实施方案中,将所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段施用给受试者,以治疗、预防或改善受试者的补体相关的炎症应答(例如,补体相关病症的补体相关的炎症应答方面)的至少一种征状。例如,本文所述的抗-C5a抗体可以用于治疗、预防和/或改善与补体相关的炎症应答有关的一种或多种征状,所述炎症应答是例如移植物排斥/移植物抗宿主病(GVHD)、再灌注损伤(例如,在心肺转流术或组织移植以后)和其它形式的创伤性损伤以后的组织损伤,所述创伤性损伤是诸如烧伤(例如,严重烧伤)、钝伤、脊髓损伤或冻疮。参见,例如,Park等人(1999) *Anesth Analg* 99(1):42-48; Tofukuji等人(1998) *J Thorac Cardiovasc Surg* 116(6):1060-1068; Schmid等人(1997) *Shock* 8(2):119-124;和Bless等人(1999) *Am J Physiol* 276(1):L57-L63。

[0388] 在有些实施方案中,本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以作为单一疗法施用给受试者。或者,如上所述,所述抗体或其片段可以作为与另一种治疗(例如,补体相关病症或补体相关的炎症应答的另一种治疗)的联合治疗施用给受试者。例如,联合治疗可以包括:给受试者(例如,人患者)施用一种或多种其它试剂(例如,抗凝剂、抗高血压剂或抗炎药(例如,类固醇)),所述其它试剂会为具有脓毒症或处于发展脓毒症的风险中的受试者提供治疗益处。在另一个实施例中,所述联合治疗可以包括:给受试者施用一种或多种其它试剂(例如,抗-IgE抗体、抗-IL-4抗体、抗-IL-5抗体或抗组胺剂),所述其它试剂会为具有补体相关肺病(诸如COPD或哮喘)或处于发展该疾病的风险中或疑似具有该疾病的受试者提供治疗益处。在有些实施方案中,所述抗-C5a抗体和一种或多种其它活性剂同时施用。在其它实施方案中,所述抗-C5a抗体在时间上首先施用,一种或多种其它活性剂在时间上其次施用。在有些实施方案中,所述一种或多种其它活性剂在时间上首先施用,所述抗-C5a抗体在时间上其次施用。

[0389] 本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段可以替代或增进以前或当前施用的治疗。例如,在用抗-C5a抗体或其抗原结合片段治疗以后,一种或多种其它活性剂的施用可以停止或减少,例如,在更低的水平施用。在有些实施方案中,可以维持先前疗法的施用。在有些实施方案中,维持先前疗法,直至所述抗-C5a抗体的水平达到足以提供治疗效果的水平。所述两种疗法可以联合施用。

[0390] 监测受试者(例如,人患者)的本文定义的补体相关病症(例如,脓毒症、严重烧伤、

RA、狼疮肾炎、肺出血肾炎综合征或哮喘)的改善,是指:评价受试者的疾病参数的变化,例如,给定病症的一种或多种症状的改善。补体相关病症的症状是医学领域众所周知的。在有些实施方案中,所述评价在给药后进行至少1小时,例如,至少2、4、6、8、12、24或48小时,或至少1天、2天、4天、10天、13天、20天或更久,或至少1周、2周、4周、10周、13周、20周或更久。可以在一个或多个下述时段内评价受试者:治疗开始之前;治疗过程中;或在已经施用一种或多种治疗要素以后。评价可以包括:评价对其它治疗的需要,例如,评价是否应当改变剂量、给药频率或治疗持续时间。还可以包括:评价添加或减少选择的治疗模态的需要,例如,添加或减少本文所述的补体相关病症的任一种治疗。

[0391] 治疗和诊断试剂盒

[0392] 本公开内容还表征了治疗和诊断试剂盒,所述试剂盒含有一种或多种本文所述的抗-C5a抗体和/或其抗原结合片段以及其它物质。所述治疗试剂盒可以含有,例如,用于将所述抗体或抗原结合片段递送给受试者的合适装置。在有些实施方案中,所述装置适用于给受试者皮下递送所述抗体或其抗原结合片段。所述装置可以是,例如,注射器或渗透泵。也就是说,本文所述的治疗试剂盒可以含有预充了本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段的注射器(例如,含有所述抗体或片段的笔装置),或所述试剂盒可以含有泵(例如,渗透泵)和一个或多个构造成与所述泵一起使用的一次用弃的盒,所述盒预充了本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段(例如,预充了含有所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段的水溶液)。在另一个实施例中,所述试剂盒可以含有经巩膜的或可植入的递送装置(例如,插入物),所述装置预充了(或以其它方式含有)含有本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段的溶液。

[0393] 在有些实施方案中,所述用于递送抗-C5a抗体或其抗原结合片段的装置是用于药物递送的笔装置。

[0394] 在有些实施方案中,所述装置适用于给受试者肺内递送所述抗体或其抗原结合片段,例如,用于治疗或预防补体相关肺病,例如,但不限于、COPD或哮喘。因此,所述装置可以是,例如,口或鼻吸入器(参见上文)。所述吸入器可以是,例如,计量剂量吸入器(MDI)、干粉吸入器(DPI)或喷雾器。这样的试剂盒还可以任选地包括关于给受试者施用(例如,自身施用)所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段的说明书。

[0395] 所述治疗试剂盒可以包括,例如,一种或多种其它活性剂,所述其它活性剂用于治疗或预防补体相关病症和/或改善其症状。例如,设计成用于治疗或预防补体相关肺病的治疗试剂盒可以包括一种或多种其它活性剂,所述其它活性剂包括、但不限于另一种抗体治疗剂(例如,抗-IgE抗体、抗-IL-4抗体或抗-IL-5抗体)、小分子抗-IgE抑制剂(例如,孟鲁司特钠)、拟交感神经药(例如,沙丁胺醇)、抗生素(例如,妥布霉素)、脱氧核糖核酸酶(例如,阿法链道酶)、抗胆碱能药(例如,异丙托溴铵)、皮质类固醇(例如,地塞米松)、 β -肾上腺素能受体激动剂、白三烯抑制剂(例如,齐留通)、5-脂氧合酶抑制剂、磷酸二酯酶(PDE)抑制剂、CD23拮抗剂、IL-13拮抗剂、细胞因子释放抑制剂、组胺H1受体拮抗剂、抗组胺剂、抗炎剂(例如,色甘酸钠或本领域已知的或本文描述的任意其它抗炎剂)或组胺释放抑制剂。

[0396] 在有些实施方案中,所述装置可以适用于给有此需要的受试者(例如,罹患AMD或任意其它补体相关眼病的受试者)眼内施用本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段。所述装置可以是,例如,含有所述抗体或片段的注射器、经巩膜的贴剂或甚至接触镜。在有些

实施方案中,所述装置可以是滴眼管,其中所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段配制成用于这种给药。这样的治疗试剂盒还可以包括,例如,一种或多种用于治疗补体相关眼病的其它治疗剂。所述治疗剂可以是,例如,贝伐单抗或贝伐单抗的Fab片段雷珠单抗(二者由Roche Pharmaceuticals, Inc.销售)或培加尼布钠(Mucogen®; Pfizer, Inc.)。这样的试剂盒还可以任选地包括关于给受试者施用所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段的说明书。

[0397] 在有些实施方案中,所述装置可以适用于给有此需要的受试者(例如,罹患RA的受试者)关节内施用本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段。所述装置可以是,例如,注射器或双筒注射器。参见,例如,美国专利号6,065,645和6,698,622。双筒注射器可以用于在仅一次注射中给关节施用2种不同的组合物。2个单独的注射器可以集成,用于以推拉方式在吸出用于分析的膝流体(分接)的同时施用所述治疗剂。其它治疗剂(其可以与所述抗-C5a抗体或片段一起在双筒注射器中施用,或其可以以其它方式通常包含在本文所述的治疗试剂盒中)包括,例如,NSAID、皮质类固醇、甲氨蝶呤、羟基氯喹、抗-TNF试剂诸如依那西普和英夫利昔单抗、B细胞清除剂诸如利妥昔单抗、白介素-1拮抗剂或T细胞共刺激阻滞剂诸如阿巴他塞。这样的试剂盒还可以任选地包括关于给受试者施用所述抗-C5a抗体或其抗原结合片段的说明书。应当理解,本公开内容包括这样的试剂盒,所述试剂盒包含一种或多种本文所述的抗-C5a抗体和一种或多种选自下述的抗炎剂:NSAID、皮质类固醇、甲氨蝶呤、羟基氯喹、抗-TNF试剂诸如依那西普和英夫利昔单抗、B细胞清除剂诸如利妥昔单抗、白介素-1拮抗剂或T细胞共刺激阻滞剂诸如阿巴他塞。例如,所述抗体和试剂可以分别或一起配制。所述试剂盒可以用于治疗炎症病症,诸如RA、克罗恩氏病、炎症肠病或本领域已知的或本文列举的任意其它炎症性病症。

[0398] 还表征了含有本文所述的抗-C5a抗体或其抗原结合片段的诊断试剂盒。例如,试剂盒可以含有可检测地标记形式的本文所述的抗-C5a抗体(例如,抗-C5a抗体或抗-小鼠C5a抗体),其用于检测或定量生物样品中的C5a的量。在有些实施方案中,所述试剂盒可以含有分离的C5a蛋白(例如,人和小鼠C5a蛋白中的一种或两种)和/或对照样品,所述对照样品包含人和小鼠C5a蛋白中的一种或两种。在有些实施方案中,所述试剂盒含有多孔板,所述多孔板被具有第一种特异性的第一抗-C5a抗体包被。所述试剂盒还含有具有第二种特异性的第二抗-C5a抗体(例如,可检测地标记的第二抗-C5a抗体)。这样的试剂盒设计成用于,与结合在板上的第一抗体一起,捕获与所述板接触的样品(例如,生物样品)中的C5a蛋白(例如,人C5a蛋白),然后使用第二抗体检测捕获的C5a蛋白。在有些实施方案中,诊断试剂盒包括本文所述的抗-小鼠C5a抗体和抗-人C5a抗体。在有些实施方案中,所述诊断试剂盒包括结合小鼠C5a和人C5a的抗-C5a抗体。

[0399] 下述实施例意图例证而不是限制本发明。

实施例

[0400] 实施例1. 免疫接种方法

[0401] 本发明所述的抗-C5a抗体是在下述免疫接种方案下制备的人源化形式的鼠抗体。在4只小鼠上进行产生针对人去精氨酸化的C5a的抗体的免疫接种,所述小鼠包括2只DBA/2J品系小鼠和2只A/J品系小鼠。选择这些品系,因为它们携带等位基因 Hc^0 ,这会使它们成为内源C5缺陷型。以14天间隔,重复所有免疫接种,共3次免疫接种。在最后一次免疫接种后

大约14天和收获前5-7天,所有动物接受大约50 μg纯化的C5a(在200 μL佐剂乳剂中)的皮下强化免疫接种。使用ELISA试验,滴定来自免疫的小鼠的血清,证实了小鼠表现出针对人去精氨酸化的C5a免疫原的强抗体应答。

[0402] 实施例2. 测定小鼠抗体对人C5a的特异性

[0403] 将一组5种小鼠抗-人C5a Fab(它们是新表位选择性的Fab的代表)转化成全长小鼠IgG2a抗体,命名为:5an048ME、5an101ME、5an178ME、5an179ME和5an180ME。使用在Octet (ForteBio Inc.)上的生物层干扰量度法,评价这些抗体的特异性(按照Kabat的定义,每种抗体的轻链和重链CDR集合的氨基酸序列如表3所述)。简而言之,以< 1(生物素):1(抗体)的化学计量学,使人C5a、人C5a des Arg、人全长C5或C5a旁系同源物人C3a和人C4a通过胺基团与生物素缀合,并固定化在抗生蛋白链菌素尖头上。然后将负载的尖头暴露于含有20 nM抗-C5a IgG抗体的溶液。每种抗体结合C5a和去精氨酸化的C5a。抗-C5a IgG抗体既不结合C3a,也不结合C4a。但是,5an178ME和5an179ME各自结合全长人C5。观察到5an048ME和全长人C5之间的小量结合。但是,5an048ME与C5的结合远远小于观察到的与C5a的结合。

[0404] 这些结果证实,小鼠抗-人C5a抗体5an048ME、5an101ME和5an180ME会结合C5a的新表位,所述新表位在天然的、全长C5中被封闭,或在C5被切割成片段C5a和C5b以后才产生。所述结果还指示,与旁系同源物C3a或C4a相比,所述3种抗体对人C5a是选择性的。

[0405] 表3. 5种鼠抗-人C5a抗体的氨基酸序列

[0406]

Ab	SIN:	描述	氨基酸序列
5an048ME	151	V _L 氨基酸序列	EIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSSSYLH WYQQKSGASPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGS TSYSLTISSVEAEDAATYYCQQYSGYPLTFGGGT KLEIKR
	140	轻链 CDR1	RASSSVSSSYLH
	96	轻链 CDR2	STSNLAS
	142	轻链 CDR3	QQYSGYPLT
	152	V _H 氨基酸序列	EVRLQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFNDYYY MNWVKQSHGKSLEWIGYIFPKTGGTHYNQRFK GKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASG PFAYWGQGLTVSA
	115	重链 CDR1	DYYMN
	144	重链 CDR2	YIFPKTGGTHYNQRFKG
	117	重链 CDR3	GPFAY
5an101ME	153	V _L 氨基酸序列	DIVMTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNS FMHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLESGIPARFSGS GSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPYTFG GGTKLEIKR
	20	轻链 CDR1	RASESVDSYGNSFMH
	21	轻链 CDR2	RASNLES
	22	轻链 CDR3	QQSNEDPYT
	154	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGSSVKISCKASGYTFTDYSM DWVKQSHGKSLEWIGAINPNSGGTNYSQKFKDK ATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASSGS YDGYAMDYWGQGTSVTVSS
	28	重链 CDR1	DYSMD
	67	重链 CDR2	AINPNSGGTNYSQKFKD
	30	重链 CDR3	SGSYDGYAMDY
5an180ME	155	V _L 氨基酸序列	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLA WYQQKQKSPQLLVYNAKTLAEGVPSRFSGSGS TQFSLKINSLQPEDFGSYYCQHGYGTPYTFGGGT KLEIKR
	156	轻链 CDR1	RASENIYSYLA
	157	轻链 CDR2	NAKTLAE
	158	轻链 CDR3	QHGYGTPYT
	159	V _H 氨基酸序列	EVQLQQPGAEIVRPGASVKLSCRASGYTFTDYW MNWVKQRPGQGLEWIGTIDPSDSYTIYNQKFKG KATLTVDTSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYFCARGED YDVSSYTMIDYWGQGTSVTVSS
	160	重链 CDR1	DYWMN
	161	重链 CDR2	TIDPSDSYTIYNQKFKG

[0407]

Ab	SIN:	描述	氨基酸序列
	162	重链 CDR3	GEDYDVSSYTMDY
5an178ME	163	V _L 氨基酸序列	EIVLTQSPASLAVSLGQRATISCSASESVEYFGTSL MQWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPARFSGS GSGTDFSLNIHPVEEDDIAMYFCQQRKVPWTFG GGTKLEIKR
	164	轻链 CDR1	SASESVEYFGTSLMQ
	165	轻链 CDR2	AASNVES
	166	轻链 CDR3	QQRKVPWT
	167	V _H 氨基酸序列	EVKLVESGGGLVQPGGSRKLSAASGFTFSDYG MVWVRQAPGKGLEWVAFISSGSSNIYYADTVKG RFTISRDNPKNTLFLQMNSLRSEDTAIYYCGRAFS FYYGYDYWGQGTTLTVSS
	168	重链 CDR1	DYGMV
	169	重链 CDR2	FISSGSSNIYYADTVKG
	170	重链 CDR3	AFSFYYGYDY
5an179ME	171	V _L 氨基酸序列	DVVMTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQSLVHSNG NTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVS NRFSGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYFCSQSTHVPLTF GAGTKLELKR
	172	轻链 CDR1	RSSQSLVHSNGNTYLH
	173	轻链 CDR2	KVSNRFS
	174	轻链 CDR3	SQSTHVPLT
	175	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVRMSCKASGYTFTSYLI HWVKQKPGQGLEWIGYIYPFNDGTKNNENFKG KATLTSKSSSTVYMEVSSLTSEDSAVYYCARSH GPHYGGSYGYHFDYWGQGTTLTVSS
	176	重链 CDR1	SYLIH
	177	重链 CDR2	YIYPFNDGTKNNENFKG
	178	重链 CDR3	SHGPHYGGSYGYHFDY

[0408] 在表中的“SIN”表示“SEQ ID NO.”

[0409] * 根据Kabat等人(同上)定义的CDR氨基酸序列。

[0410] 通过Octet,在小鼠抗-人C5a IgG2a抗体的选定子集上进行一系列夹心试验,以测定5种代表性的IgG2a抗体各自的C5a表位的重叠程度。简而言之,将第一抗体生物素化,并固定化在抗生蛋白链菌素包被的尖头上(在Octet平台上)。接着,来自20 nM溶液的人C5a被捕获在固定化的抗体上。然后将携带抗体-C5a复合物的尖头暴露于含有20 nM未标记的第二抗-C5a IgG抗体的溶液。在传感图中的额外结合曲线的引出,将指示,2种抗体同时结合C5a形成三元复合物,并且2种抗体的表位结合是不重叠的。在加入第二抗体以后没有得到第二条结合曲线,将指示,2种抗体以竞争性的方式结合C5a,即,在第一抗体结合以后,会封闭第二抗体所结合的在C5a上的表位。与非竞争性结合不同,竞争性结合不一定指示,第一和第二抗体识别人C5a上的相同的或甚至重叠的表位。使用该方案,将5种代表性的抗-C5a抗体的结合位点分配至人C5a上的4个不同表位(图1)。抗体5an048ME、5an180ME和5an101ME彼此竞争。尽管5an048和5an180也与非新表位选择性的5an179ME竞争,5an101ME却不与5an179ME竞争,这指示,5an048ME和5an180ME识别的新表位不同于5an101ME所识别的表位。

另外,尽管非新表位选择性的抗体5an178ME与非新表位选择性的5an179ME竞争,仅后者与5an180ME和5an048ME竞争,这表明,5an179ME和5an178ME结合在C5和C5a中均可接近的不同表位。所述结果也指示,所述抗体的一些组合可以用于夹心法测定中,以检测和/或定量样品中的C5a的量。

[0411] 实施例3. 选定的小鼠抗-人C5a抗体的人源化

[0412] 选择2种相关的小鼠抗-人C5a抗体(5an101ME和5an185ME)的可变区,用于人源化为全长IgG抗体。轻链和重链可变区的人源化是基于,鉴别出与原始鼠亲本抗体具有高度序列同一性的、来自人抗体(优选种系v-基因)的单个框架区。在Rother和Wu的美国专利号7,393,648中,描述了用于鉴别合适的候选框架区的方法。根据Kabat, Chothia和IMGT®(International ImmunoGenetics Information System;法国)所述的方法,定义框架(FW)和互补性决定区(CDR)。简而言之,使用多种抗体片段,独立地进行轻链和重链可变区的数据库查询,所述抗体片段包括:从FW1至FW4的完整鼠可变区,不包括CDR的完整鼠可变区,和鼠可变区的所有可能片段,包括1、2或3个具有或没有它们的侧接CDR的框架。基于它们与原始鼠抗体及其片段的总序列同一性,从该候选库中选择人框架。采用常规的分子生物学方法来装配小于 10^3 个成员的小组合文库,其中每组鼠CDR侧接选定的人框架的所有可能的组合。将这些人源化的抗体表达为可溶性的Fab,并使用ELISA评价与去精氨酸化的C5a的结合。然后对与C5a结合的Fab进行DNA序列分析。

[0413] 从这些结合剂,将一组6种人源化的Fab重新格式化为全长IgG(人IgG2或人IgG2/G4)。通过用它们的对应人种系氨基酸替代轻链的CDR2中的鼠残基,在2种抗体(BNJ371和BNJ381)中进行额外的人源化。人源化的抗-C5a抗体(BNJ364、BNJ367、BNJ371、BNJ378、BNJ366、BNJ369、BNJ381和BNJ383)的氨基酸序列如上面表2所示。

[0414] 实施例4. 测定人源化的抗-人C5a抗体对C5a的亲合力

[0415] 对人源化的抗体进行BIAcore分析,以定量它们各自对人C5a的亲合力。参见,例如,Karlsson和Larsson(2004) *Methods Mol Biol* 248:389-415。简而言之,使用捕获技术,使用3-4种浓度的人C5a(抗原),筛选每种人源化的抗体。使在0.6 nM至5.9 nM范围内的不同浓度的人C5a在传感器芯片表面上经过,直接固定化在CM5传感器芯片上的抗-Fc(人)会捕获抗体。在每个循环以后,用20 mM HCl、0.02% P20再生表面,以除去结合的抗体和抗原。使用Biacore BIAevaluation软件,使用1:1 Langmuir Model Fit (Rmax:Global Fit; RI:Local Fit),评价数据。从所述fit得到动力学信息,诸如(k_a :结合速率常数)、(k_d :解离速率常数)和 K_D (平衡解离常数)。分析结果如表4所示。这些实验用于筛选目的,最小数目的分析物浓度(3-4种)具有1个副本。因此,近似动力学值如表4所示。

[0416] 表4. 选定的人源化的抗-C5a抗体的亲合力测量结果

[0417]

抗体命名	k_a (1/MS) ($\times 10^6$)	k_d (1/s) ($\times 10^{-4}$)	K_D (M) ($\times 10^{-12}$)	χ^2
BNJ364	0.991	6.38	644	0.819
BNJ367	3.94	7.78	198	0.848
BNJ371	2.38	28.2	1180	9.52
BNJ378	1.93	5.76	298	3.63
BNJ366	1.05	1.58	150	1.23

BNJ369	4.19	2.23	53.1	0.642
BNJ381	2.57	2.09	81.5	1.93
BNJ383	2.12	1.5	70.4	2.52

[0418] 所有人源化的抗体以小于1.20纳摩尔的 K_D 特异性地结合人C5a。除了BNJ371以外，所有抗体以小于1纳摩尔的 K_D 结合人C5a。3种抗体(BNJ369、BNJ381和BNJ383)以小于100皮摩尔的 K_D 结合人C5a。

[0419] 实施例5. 抗-C5a抗体在体外抑制C5a介导的信号传递

[0420] 使用体外嗜中性粒细胞活化试验来评价人源化的抗体的活性。该试验一般地描述在,例如,Paczkowski等人(1999) *Br J Pharmacol* 128(7):1461-1466,并用于定量嗜中性粒细胞生成的髓过氧化物酶(MPO)的量,作为嗜中性粒细胞活化的量度。简而言之,使用密度离心(单体-聚体分辨介质目录号:91698049;MP Biochemicals;Solon, Ohio),从得自健康供体的全血分离出多形核细胞(其大部分是嗜中性粒细胞)。用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤所述细胞1次,通过在低渗溶液(ACK裂解缓冲液目录号10-548E;Lonza)中裂解,从细胞群中除去红血细胞(RBC)。在用PBS洗涤另外2次以后,以 4×10^6 细胞/mL的浓度,将无RBC的细胞重新悬浮于汉克平衡盐溶液(HBSS;Mediatech,目录号:21-023-CV)中,所述溶液补充了钙和镁,且另外补充了0.1%明胶(Sigma Aldrich;St. Louis, Missouri)[在下文中称作试验缓冲液]。

[0421] 以足以达到10 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度,将细胞松弛素B(Sigma Aldrich)加入细胞悬浮液中。然后将悬浮液在37°C温育10分钟。将100 μL 细胞加入U形底96-孔平板的孔中。将所述板的孔分组成几个不同的集合。几个不同集合的孔中的每一个含有抗-C5a抗体:集合1的每个孔含有结合未切割的天然C5、但是不结合游离C5a的人源化的抗体;集合2的每个孔含有BNJ367人源化的抗-C5a抗体;集合3的每个孔含有BNJ369人源化的抗-C5a抗体;集合4的每个孔含有BNJ371人源化的抗-C5a抗体;集合5的每个孔含有BNJ378人源化的抗-C5a抗体;集合6的每个孔含有BNJ381人源化的抗-C5a抗体;集合7的每个孔含有BNJ383人源化的抗-C5a抗体。第8个孔集合的每个孔不含有抗体。在每个孔集合中,评价了抗体浓度的范围,该范围包括0.08 nM、0.4 nM、2 nM和10 nM抗体。

[0422] 在2 nM的浓度,评价C5a(得自Complement Technologies, Inc.)。在前述试验缓冲液中制备20 nM的10X工作浓度,将20 μL 加入每个孔中。在将C5a加入孔以后,将平板在37°C温育10分钟。温育以后,将60 μL PBS加入平板的每个孔。将所述平板在1200 rpm(大约335 x g)在室温离心10分钟。将100 μL 来自每个孔的上清液转移至第二个平板的对应孔中。将25 μL 底物(Sigma Aldrich目录号T0440)加入第二个平板的每个孔中,并进行过氧化物酶反应大约2-5分钟。通过加入25 μL 1N HCl,终止反应。记录在450 nM的OD。

[0423] 如图2所示,所有人源化的抗-C5a抗体在体外抑制嗜中性粒细胞活化。这些结果指示,本文所述的人源化的抗-C5a抗体在体外是C5a介导的信号传递的有效抑制剂,并支持了发明人的下述结论:所述抗体可用于治疗人类的多种补体相关病症(例如,补体相关的炎症性病症)。

[0424] 实施例6. 替代物小鼠抗-小鼠C5a抗体的表征

[0425] 在选择的小鼠抗-小鼠C5a IgG抗体5an195ME上进行一系列夹心试验,以测定所述抗体对C5a的特异性。简而言之,用5an195ME抗体包被试验板的孔。彻底洗涤该板,以除去未

结合的抗体。接着,在足以允许抗原结合抗体的时间和条件下,使含有5an195ME的孔接触小鼠C5a。通过洗涤,除去未结合的蛋白。在洗涤步骤以后,使所述孔进一步接触含有第二种生物素化的抗-C5a抗体的溶液。再次洗涤孔,以除去任何未结合的第二抗体。使用抗生蛋白链菌素-缀合的辣根过氧化物酶(HRP),定量第二抗体与所述孔的结合的量。第二抗体的结合量是C5a与5an195ME的结合的函数。

[0426] 在一个平行实验中,与全长小鼠C5蛋白(而不是C5a)一起温育5an195ME-包被的孔集合。在洗涤步骤以后,使所述孔接触含有第二抗体(生物素化的抗-小鼠C5抗体)的溶液。使用抗生蛋白链菌素-缀合的HRP构建体,定量第二抗体的结合量,后者是5an195ME所结合的C5的量的函数。第二抗体的结合的缺乏,指示5an195ME不会结合全长小鼠C5。

[0427] 尽管5an195ME以剂量依赖性的方式结合C5a,使用该试验,没有检测到抗体和全长小鼠C5之间的结合。这些结果指示,5an195ME会结合存在于C5a中的新表位。

[0428] 使用BIAcore,进一步定量了5an195ME对小鼠C5a的相对结合亲和力。使用捕获技术,测量5an195ME的动力学。使在0.4 nM至25 nM(包括端值)之间的不同浓度的小鼠C5a在传感器芯片表面上经过,直接固定化在CM5传感器芯片上的抗-Fc(小鼠)会捕获抗体。还运行每个浓度的副本。在每个循环以后,用10 mM甘氨酸HCl pH 1.7再生芯片的表面,以除去结合的抗体和抗原。使用Biacore BIAevaluation软件,使用1:1 Langmuir Model Fit (Rmax:Global Fit; RI:Local Fit),评价数据。从所述fit得到动力学信息,诸如(k_a :结合速率常数)、(k_d :解离速率常数)和 K_D (平衡解离常数)。动力学分析的结果如表5所示。

[0429] 表5. 测量的5an195ME对小鼠C5a的动力学

[0430]

参数:	k_a (1/MS)	k_d (1/s)	K_D (M)	χ^2
5an195ME	8.47×10^5	1.27×10^{-3}	1.5×10^{-9}	1.17

[0431] 这些结果指示,小鼠抗-小鼠C5a抗体不仅对C5a是特异性的(与全长小鼠C5相比),而且该抗体会以高亲和力结合小鼠C5a。

[0432] 实施例7. 替代物抗-小鼠C5a抗体5an195ME在RA动物模型中的应用

[0433] 在胶原诱发的关节炎的小鼠模型中,评价了5an195ME抗-小鼠C5a抗体。使用以等体积的弗氏完全佐剂乳化的300 μ g牛II型胶原,通过真皮内注射,在尾巴根部处免疫雌性DBA/1LacJ小鼠(9-12周龄)。在第一次免疫接种后2周,重复该操作。每天检查小鼠,以鉴别在初始的膝关节处的炎症。一旦鉴别出初步炎症,给小鼠腹膜内地施用每周3次的5an195ME抗-小鼠C5a抗体(40mg/kg)或对照抗体(40mg/kg)。在第12天之前,每天测量初始发炎的关节的厚度(按mm计)。

[0434] 如图3所示,与对照抗体相比,5an195ME减小了膝关节厚度。5an195ME似乎会提供维持膝关节厚度低于4.5 mm的益处。

[0435] 除了评价5an195ME抗体的减轻初始发炎的膝关节的肿胀的能力以外,还评价了5an195ME抗-C5a抗体的预防炎症向新关节迁移的能力。从第1天至第12天,每天测量新发炎的关节的数目。实验结果如表6所示。

[0436] 表6. 5an195ME在RA模型中的效力

[0437]

治疗	小鼠的数目	在第1天发炎的关节的数目	在第12天新发炎的关节的数目	每只小鼠的新发炎的关节的平均数目
对照Ab	6	7	12	2

5an195ME	6	7	2	0.3
----------	---	---	---	-----

[0438] 如表6所示,到第12天,与对照Ab治疗的动物相比,用5an195ME治疗的小鼠已具有显著更少的新发炎症的关节。5an195ME-治疗的小鼠也具有平均而言显著更少的新发炎症的关节。

[0439] 还监测小鼠的关节炎,并使用临床评分/关节炎指数进行定义。根据确定的评分系统(0,正常关节;1,轻度/中度可见红斑和肿胀;2,影响整个爪或关节的严重红斑和肿胀;3,具有关节强直的变形爪或关节),每天对每肢评级,每只动物的最大评分为24。参见,例如,Wang等人(2000) *J Immunol* 164:4340-4347。如图4所示,在研究期间,与用对照抗体治疗的小鼠(平均评分大于6)相比,用抗-小鼠C5a抗体5an195ME治疗的小鼠表现出临床评分的显著降低(平均评分小于1)。

[0440] 总之,这些结果指示,替代物抗-小鼠C5a可有效地治疗小鼠疾病模型的RA(在初发关节处,以及炎症向其它关节的迁移)。所述结果也强烈地提示,治疗性的抗-人C5a抗体(诸如本文所述的任一种人源化的抗-C5a抗体)可用于治疗具有RA的人类。

[0441] 实施例8. 抗-C5a抗体用于治疗类风湿性关节炎的用途

[0442] 医学从业人员将一个人患者鉴别为具有在单个以关节连接的接头处的类风湿性关节炎。此后不久,以足以在关节间隙内局部地减少C5a介导的C5aR1信号传递的量,给该患者关节内地或腹膜内地施用含有本文所述的人源化的抗-C5a抗体的组合物。患者和医学从业人员观察在治疗以后类风湿性关节炎的至少2种已知征状的大幅改善。该患者每个月接受静脉内地施用的“维持剂量”的抗体,以预防征状的复发,以预防在单个关节处的RA的进展,或以预防RA征状向第二关节的迁移。

[0443] 实施例9. 抗-C5a抗体用于治疗脓毒症的用途

[0444] 医学从业人员将一个人患者鉴别为具有脓毒症。此后不久,通过静脉内输注,以大约600-900 mg的剂量,给该患者施用含有本文所述的人源化的抗-C5a抗体的组合物。患者和医学从业人员观察在治疗期间脓毒症的至少2种已知征状的大幅改善。该患者每2周接受静脉内地施用的“维持剂量”的抗体,直到该患者出院。

[0445] 实施例10. 抗-C5a抗体用于治疗补体相关的肺炎症性病症的用途

[0446] 医学从业人员将一个人患者鉴别为具有严重形式的COPD。每2周1次,持续4周,通过静脉内输注,以大约600 mg-900 mg的剂量,给该患者施用含有人源化的抗-C5a抗体的组合物。患者和医学从业人员观察在初次治疗期间COPD的至少2种已知征状的大幅改善。例如,接受抗-C5a抗体的患者具有COPD相关恶化的减小的频率和/或严重性。该患者继续每2周接受静脉内地施用的“维持剂量”的抗体,以维持COPD相关恶化的减小的频率和/或严重性。

[0447] 医学从业人员将一个人患者鉴别为具有严重形式的哮喘。给该患者开出通过吸入器施用的治疗性的人源化的抗-C5a抗体。在下一支气管痉挛发作期间,患者自我施用足以减轻患者肺中的C5a介导的炎症应答的量的抗-C5a抗体。该患者根据需要使用吸入器,以预防或减轻哮喘发作的严重性。

[0448] 实施例11. 从免疫的小鼠鉴别出的其它抗-C5a抗体

[0449] 从免疫的小鼠得到几种其它抗体(参见实施例1),并通过ELISA进一步鉴别为能够结合人C5a。所述其它抗体包括15个独特的轻链CDR集合(如表7所示)和14个独特的重链CDR

集合(如表8所示)。

[0450] 表7. 来自其它鼠抗-人C5a抗体的几个独特的V_L和Kabat-定义的轻链CDR序列的氨基酸序列

[0451]

Ab	SIN:	描述	氨基酸序列*
5an110	83	V _L 氨基酸序列	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNV AWYQQKPGQSPKALIYSASYRYSQVDRFTGSGS GTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPFTFGSG TKLEIKR
	84	轻链 CDR1	KASQNVGTNVA
	85	轻链 CDR2	SASYRYS
	86	轻链 CDR3	QQYNSYPFT
5an177	87	V _L 氨基酸序列	EIVLTQSPAIMASAPGKVTMTCSASSSVSYMHW YQQKSGTSPKRWIYDTSKLAGVPARFSGSGSGT SYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTK LELKR
	88	轻链 CDR1	SASSSVSYMH
	89	轻链 CDR2	DTSKLAG
	90	轻链 CDR3	QQWSSNPLT
5anG12	91	V _L 氨基酸序列	QIVLTQSPAIMASAPGKVTMTCSASSSISYMH YQQKPGTSPKRWIYDTSKLAGVPARFSGSGSGT SYSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYPWTFGGGTK LEIKR
	92	轻链 CDR1	SASSSISYMH
	89	轻链 CDR2	DTSKLAG
	93	轻链 CDR3	HQRSSYPWT
5an052	94	V _L 氨基酸序列	QIVLTQSPAIMASAPGKVTLTCSASSVSSSYLY WYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSG TSYSLTISTVEAEDAASYFCHQWSSYPPTFGGGT KLEIKR
	95	轻链 CDR1	SASSVSSSYLY
	96	轻链 CDR2	STSNLAS
	97	轻链 CDR3	HQWSSYPPT
5an107	98	V _L 氨基酸序列	DIQMTQSPAPMLVSVGETVTITCRGSENIYSNLA WYQQKQKSPQLLVYAATNLADGVPSRFSGSGS GTQYSLKINSLQSEDFGSYYCQHFVGTPTFGG GTKLEIKR
	99	轻链 CDR1	RGSENIYSNLA
	100	轻链 CDR2	AATNLAD
	101	轻链 CDR3	QHFVGTPT
5anE11	102	V _L 氨基酸序列	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNV AWYQQKPGQSPKALIYSASYRYSQVDRFTGSGS GTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPWTFGGG TKLEIKR

[0452]

Ab	SIN:	描述	氨基酸序列*
	84	轻链 CDR1	KASQNVGTNVA
	85	轻链 CDR2	SASYRYS
	103	轻链 CDR3	QQYNSYPWT
5an054	104	V _L 氨基酸序列	QIVLTQSPVIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYW YQQKPGSSPRLLIYDTSNLAGVPPVRFSGSGSGTS YSLTISRMEAEDAATYYCQQWSSYPPTFGAGTK LELKR
	105	轻链 CDR1	SASSSVSYMY
	106	轻链 CDR2	DTSNLAG
	107	轻链 CDR3	QQWSSYPPT
5anG10	141	V _L 氨基酸序列	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSISYMHW YQQKPGTSPKRWIYDTSKLAGVPPARFSGSGSGT SYSLTISSMEAEDAATYYCHQRRSYPWTFGGGT KLEIKR
	92	轻链 CDR1	SASSSISYMH
	89	轻链 CDR2	DTSKLAG
	108	轻链 CDR3	HQRRSYPWT
5an188	109	V _L 氨基酸序列	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNS FMHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPPARFSG SGSRTDFTLTIDPVEADDAATYYCQQNNEDPLTF GAGTKLELKR
	20	轻链 CDR1	RASESVDSYGNSFMH
	110	轻链 CDR2	LASNLES
	111	轻链 CDR3	QQNNEDPLT
5an185	112	V _L 氨基酸序列	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNS FMHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLESGIPARFSGS GSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPLTFG AGTKLELKR
	20	轻链 CDR1	RASESVDSYGNSFMH
	21	轻链 CDR2	RASNLES
	113	轻链 CDR3	QQSNEDPLT

[0453] 在表中的“SIN”表示“SEQ ID NO.”

[0454] *根据Kabat等人(同上)定义的CDR氨基酸序列。

[0455] 表8. 来自其它鼠抗-人C5a抗体的几个独特的V_H和Kabat-定义的重链CDR序列的氨基酸序列

[0456]

Ab	SIN:	描述	氨基酸序列*
5an110	114	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFSDDYY MNWVKKSHGKSLEWIGYIFPKTGGTNYSQRFK GKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASG PFAYWGQGLTVTSA
	115	重链 CDR1	DYYMN
	116	重链 CDR2	YIFPKTGGTNYSQRFKG
	117	重链 CDR3	GPFAY
5an177	118	V _H 氨基酸序列	EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGITFSSYYM AWVRQTPDKRLEWVATISSGGSYTYYPDNVKG FTISRDNKNTLYLQMSLKSSEDAMYYCTRY EDDAMDYWGQGTSVTSS
	119	重链 CDR1	SYMA
	120	重链 CDR2	TISSGGSYTYYPDNVKG
	121	重链 CDR3	YEDDAMDY
5an055	122	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFSDDYY MNWVKKSHGKSLEWIGYIFPKTGGTNYNQRFK GKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASG PFAYWGQGLTVTSA
	115	重链 CDR1	DYYMN
	123	重链 CDR2	YIFPKTGGTNYNQRFKG
	117	重链 CDR3	GPFAY
5an054	145	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYY MNWVKQSHGKSLEWIGYIFPNTGGTTYNQRFK GKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASG PFAYWGQGLTVTSA
	115	重链 CDR1	DYYMN
	124	重链 CDR2	YIFPNTGGTTYNQRFKG
	117	重链 CDR3	GPFAY
5an107	125	V _H 氨基酸序列	EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFSSYY MAWVRQTPDKRLEWVATISSGGSYTYIRDNVK GRFTISRDNKNTLYLQMSLKSSEDAMYYCTR YFEDYPMYWGQGTSVTSS
	119	重链 CDR1	SYMA
	126	重链 CDR2	TISSGGSYTYIRDNVKG
	127	重链 CDR3	YFEDYPMY
5an111	128	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYY MNWVKQSHGKSLEWIGYIFPNTGGTSYNQRFK KATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASG FAYWGQGLTVTSA

[0457]

Ab	SIN:	描述	氨基酸序列*
	115	重链 CDR1	DYYVMN
	129	重链 CDR2	YIFPNTGGTSYNQRFKD
	117	重链 CDR3	GPFAY
5an183	130	V _H 氨基酸序列	EVQLQQPGSVLVRPGATVKLSCKASGFTFTSSW MHWAKQRPGQGLEWIGEIHGHTNYNEKFKG KATLTLDTSSTAYVDISSLTSEDSAVYYCARGGL RRGYAMDYWGQGTSVTVSS
	131	重链 CDR1	SSWMH
	132	重链 CDR2	EIHTSGHTNYNEKFKG
	133	重链 CDR3	GGLRRGYAMDY
5an185	134	V _H 氨基酸序列	EVQPQQSGPELVKPGSSVKISCKASGYTFTDYSM DWVKQSHGKSLEWIGAIHLNTGYTNYNQKFKG KATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARGF YDGYSPMDYWGQGTSVTVSS
	28	重链 CDR1	DYSMD
	46	重链 CDR2	AIHLNTGYTNYNQKFKG
	47	重链 CDR3	GFYDGYSPMDY
5an188	135	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGAELVKPGTSVKLSCKASGYTFTSYW MHWVKQRPGQGLEWIGEIHPSGHTNYHEKFKS KATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARAS LLRAYAMDYWGQGTSVTVSS
	136	重链 CDR1	SYWMH
	137	重链 CDR2	EIHPSSGHTNYHEKFKS
	138	重链 CDR3	ASLLRAYAMDY

[0458] 在表中的“SIN”表示“SEQ ID NO.”

[0459] *根据Kabat等人(同上)定义的CDR氨基酸序列。

[0460] 从表7和8显而易见产生5an177ME、5an054ME、5an110ME、5an188ME、5an185ME和5an107ME抗体的V_L和V_H配对。重链和轻链可变区和/或CDR集合的其它示例性的配对如下面表9所示。

[0461] 表9. 其它小鼠抗-人C5a抗体CDR集合的氨基酸序列

[0462]

Ab	SIN:	描述	氨基酸序列*
5an047	139	V _L 氨基酸序列	EIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCRASSSVSSSYLH WYQQKSGASPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGS TSYSLTISSVEAEDAATYYCQQYSGYPLTFGAGT KLELKR
	140	轻链 CDR1	RASSSVSSSYLH
	96	轻链 CDR2	STSNLAS
	142	轻链 CDR3	QQYSGYPLT
	143	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFS DYYY MNWVKKSHGKSLEWIGYIFPKTGGTHYNQRFK GKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASG PFAYWGQGLVTVSA
	115	重链 CDR1	DYYMN
	144	重链 CDR2	YIFPKTGGTHYNQRFK
	117	重链 CDR3	GPFAY
5an181	139	V _L 氨基酸序列	EIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCRASSSVSSSYLH WYQQKSGASPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGS TSYSLTISSVEAEDAATYYCQQYSGYPLTFGAGT KLELKR
	140	轻链 CDR1	RASSSVSSSYLH
	96	轻链 CDR2	STSNLAS
	142	轻链 CDR3	QQYSGYPLT
	122	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFS DYYY MNWVKKSHGKSLEWIGYIFPKTGGTNYNQRFK GKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASG PFAYWGQGLVTVSA
	115	重链 CDR1	DYYMN
	123	重链 CDR2	YIFPKTGGTNYNQRFK
	117	重链 CDR3	GPFAY
5an109	146	V _L 氨基酸序列	EIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCASSSVSYMYW YQQKPGSSPRLLIYDTSNLASGVVRFSGSGS GTS YSLTISRMEAEDAATYYCQQWSSYPPTFGGGTKL EIKR
	105	轻链 CDR1	SASSVSYMY
	106	轻链 CDR2	DTSNLAS
	107	轻链 CDR3	QQWSSYPPT
	122	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFS DYYY MNWVKKSHGKSLEWIGYIFPKTGGTNYNQRFK GKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASG PFAYWGQGLVTVSA
	115	重链 CDR1	DYYMN
	123	重链 CDR2	YIFPKTGGTNYNQRFK
	117	重链 CDR3	GPFAY

[0463]

Ab	SIN:	描述	氨基酸序列*
5anG10	141	V _L 氨基酸序列	QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSISYMHWY QQKPGTSPKRWIYDTSKLAGVPARFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCHQRRSYPWTFGGGTK LEIKR
	92	轻链 CDR1	SASSSISYMH
	89	轻链 CDR2	DTSKLAG
	108	轻链 CDR3	HQRRSYPWT
	147	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFNDYYY MNWVKQSHGKSLEWIGYIFPKTGGTHYNQRFK GKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASG PFAYWGQGLTVSA
	115	重链 CDR1	DYYIMN
	144	重链 CDR2	YIFPKTGGTHYNQRFK
5an053	148	V _L 氨基酸序列	EIVLTQSPVIMASASPGEKVTMICSASSSISYMHWY QQKPGTSPKRWIYDTSKLAGVPARFSGSGSGTS YSLTISIMEAEDAATYYCHQRSSYPWTFGGGTKL EIKR
	92	轻链 CDR1	SASSSISYMH
	89	轻链 CDR2	DTSKLAG
	93	轻链 CDR3	HQRSSYPWT
	149	V _H 氨基酸序列	EVQMQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFSDDYY MNWVKKSHGKSLEWIGYIFPKTGGTNYNQRFK GKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASG PFAYWGQGLTVSA
	115	重链 CDR1	DYYIMN
	123	重链 CDR2	YIFPKTGGTNYNQRFK
5anG12	91	V _L 氨基酸序列	QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSISYMHWY QQKPGTSPKRWIYDTSKLAGVPARFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYPWTFGGGTKL EIKR
	92	轻链 CDR1	SASSSISYMH
	89	轻链 CDR2	DTSKLAG
	93	轻链 CDR3	HQRSSYPWT
	147	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFNDYYY MNWVKQSHGKSLEWIGYIFPKTGGTHYNQRFK GKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASG PFAYWGQGLTVSA
	115	重链 CDR1	DYYIMN
144	重链 CDR2	YIFPKTGGTHYNQRFK	

[0464]

Ab	SIN:	描述	氨基酸序列*
	117	重链 CDR3	GPFAY
5an052	94	V _L 氨基酸序列	QIVLTQSPAIMASASPGEKVTLTCSASSSVSSSYLY WYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSG TSYSLTISTVEAEDAASYFCHQWSSYPPTFGGGTK LEIKR
	95	轻链 CDR1	SASSSVSSSYLY
	96	轻链 CDR2	STSNLAS
	97	轻链 CDR3	HQWSSYPPT
	147	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFNDYYY MNWVKQSHGKSLEWIGYIFPKTGGTHYNQRFK GKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASG PFAYWGQGLTVTVA
	115	重链 CDR1	DYYIMN
	144	重链 CDR2	YIFPKTGGTHYNQRFKG
	117	重链 CDR3	GPFAY
5an111	102	V _L 氨基酸序列	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTV AWYQQKPGQSPKALIYSASYRYSYGVDPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPWTFGGG TKLEIKR
	84	轻链 CDR1	KASQNVGTNVA
	85	轻链 CDR2	SASYRYS
	103	轻链 CDR3	QQYNSYPWT
	128	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASGKISCKASGYTFTDYYY MNWVKQSHGKSLEWIGYIFPNTGGTSYNQRFKD KATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASGP FAYWGQGLTVTVA
	115	重链 CDR1	DYYIMN
	129	重链 CDR2	YIFPNTGGTSYNQRFKD
	117	重链 CDR3	GPFAY
5an055	150	V _L 氨基酸序列	EIVLTQSPAIMASASPGEKVTLTCSASSSVSSSYLYW YQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAASYFCHQWSSYPPTFGGGTKL EIKR
	95	轻链 CDR1	SASSSVSSSYLY
	96	轻链 CDR2	STSNLAS
	97	轻链 CDR3	HQWSSYPPT
	122	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFSDDYYY MNWVKKSHGKSLEWIGYIFPKTGGTNYNQRFK GKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASG PFAYWGQGLTVTVA
	115	重链 CDR1	DYYIMN

[0465]

Ab	SIN:	描述	氨基酸序列*
	123	重链 CDR2	YIFPKTGGTNYNQRFKG
	117	重链 CDR3	GPFAY
5anE11	102	V _L 氨基酸序列	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNV AWYQQKPGQSPKALIYSASYRYSQVDPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPWTFGGG TKLEIKR
	84	轻链 CDR1	KASQNVGTNVA
	85	轻链 CDR2	SASYRYS
	103	轻链 CDR3	QQYNSYPWT
	143	V _H 氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFSDDYY MNWVKKSHGKSLEWIGYIFPKTGGTHYNQRFK GKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASG PFAYWGQGTLLVTVSA
	115	重链 CDR1	DYYVMN
	144	重链 CDR2	YIFPKTGGTHYNQRFKG
	117	重链 CDR3	GPFAY
5an183	112	V _L 氨基酸序列	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASEVDSYGNF MHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLESGIPARFSGSG SRTDFTLTINPVEADDVATYYCQSNEDPLTFGA GTKLELKR
	20	轻链 CDR1	RASEVDSYGNF
	21	轻链 CDR2	RASNLES
	113	轻链 CDR3	QSNEDPLT
	130	V _H 氨基酸序列	EVQLQQPGSVLVRPGATVKLSCKASGFTFTSSW MHWAKQRPGQGLEWIGEIHTSGHTNYNEKFKG KATLTLDTSSSTAYVDISLTSSEDSAVYYCARGGL RRGYAMDYWGQGTSTVTVSS
	131	重链 CDR1	SSWMH
	132	重链 CDR2	EIHTSGHTNYNEKFKG
	133	重链 CDR3	GGLRRGYAMDY

[0466] 在表中的“SIN”表示“SEQ ID NO.”

[0467] *根据Kabat等人(同上)定义的CDR氨基酸序列。

[0468] 实施例12. 其它人源化的抗-人C5a抗体

[0469] 制备了几种其它人源化的抗-C5a抗体重链可变区,当与普通的轻链可变区(具有在SEQ ID NO:16中所述的氨基酸序列的轻链)配对时,它们都会以小于1 nM的K_D结合人C5a,这通过Biacore分析(方法参见上文)测得。通过Octet分析(方法参见上文)测得,所有这些其它的人源化的抗体特异性地结合人C5a,但是不会结合天然的、完全折叠的人C5、C4a或C3a。其它人源化的抗体含有:(i)含有下述氨基酸序列之一的重链可变区框架区1:QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT (SEQ ID NO:68)或QVQLVQSGSELKKPGASVKVSKASGYTFT (SEQ ID NO:69);(ii)含有下述氨基酸序列之一的重链可变区框架区2:WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:70)或WVRQASGKGLEWVG (SEQ ID NO:71);(iii)含有下述氨基酸序列之一的重链可变区框架区3:RVTITRDTASSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:72);RVTITADESTST

AYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:73);或RVTITRDRSMSTAYMELSSLRSEDTAMYYCAR (SEQ ID NO:74);和含有下述氨基酸序列的重链可变区框架区4:WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:75)。包含在本部分中描述的一种或多种其它人源化的框架集合的示例性的其它人源化的重链可变区如图5所示。

[0470] 实施例13. 抗-人C5a抗体在小鼠嗜中性粒细胞减少模型中的应用

[0471] 使用C5a-嗜中性粒细胞减少的鼠模型,在体内评价抗-人游离C5a抗体的效力。为了诱导嗜中性粒细胞减少,通过静脉内尾静脉注射,将纯化的、天然的人C5a (hC5a)施用给Balb/c小鼠。评估在hC5a施用后5分钟之前的循环嗜中性粒细胞的数目。

[0472] 一致地发现,300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的hC5a的施用会诱导嗜中性粒细胞活化,这通过髓过氧化物酶(MPO)释放试验(关于与血清一起使用,参见实施例5,与上面的细胞培养物上清液相比)和嗜中性粒细胞减少(循环嗜中性粒细胞的数目的减少)测得。另外,还测量hC5a和人抗-C5a抗体BNJ383(当施用给小鼠时,见下文)的血浆水平,以建立药效动力学应答(参见下文)。

[0473] 在用hC5a或媒介物对照激发之前,检查外周血嗜中性粒细胞数。与假治疗的对照小鼠($1.37 \pm 0.09 \times 10^6 /\text{mL}$)相比,用抗-人游离C5a抗体($1.32 \pm 0.13 \times 10^6 /\text{mL}$,在24 mg/kg ; $P > 0.05$)或同种型对照mAb($1.31 \pm 0.10 \times 10^6 /\text{mL}$,在24 mg/kg ; $P > 0.05$)治疗的小鼠中的嗜中性粒细胞数保持相同。这些结果指示,单独的抗体不会诱发循环嗜中性粒细胞数的变化。

[0474] 为了评价抗-C5a抗体的抑制小鼠中的hC5a诱发的嗜中性粒细胞减少的效力,在hC5a注射之前24小时,将不同剂量(24 mg/kg 、12 mg/kg 、6 mg/kg 和3 mg/kg)的抗-人C5a抗体BNJ383施用给Balb/c小鼠。在hC5a之前24小时施用抗-C5a抗体,允许在小鼠的抗体消除的 β -相期间研究所述抗体的药效动力学性质。

[0475] 如图6所示,将治疗之后的嗜中性粒细胞数表示为“基线”的百分比(其中在时间0时的计数等于100%)。在假治疗的对照小鼠中,在hC5a施用以后1、3和5分钟,嗜中性粒细胞数分别是基线的 $79.02 \pm 5.71\%$ 、 $67.42 \pm 3.23\%$ 和 $59.54 \pm 2.11\%$ 。同种型对照抗体-治疗的小鼠表现出嗜中性粒细胞数的显著下降($P < 0.01$):在静脉内注射hC5a以后,在1分钟时为 $6.76 \pm 0.81\%$,在3分钟时为 $6.68 \pm 0.81\%$,在5分钟时为 $8.29 \pm 0.79\%$ 。所述抗-C5a抗体表现出对hC5a诱发的嗜中性粒细胞减少的剂量依赖性效应。在最高剂量24 mg/kg ,所述抗-C5a抗体完全阻断嗜中性粒细胞减少。嗜中性粒细胞数在1分钟时为 $70.35 \pm 8.64\%$,在3分钟时为 $63.35 \pm 6.08\%$,在5分钟时为 $59.65 \pm 6.51\%$,这与在相同时间点时在假治疗的对照动物中的嗜中性粒细胞水平相当。与同种型对照抗体组(在1分钟时为 $6.76 \pm 0.81\%$,在3分钟时为 $6.68 \pm 0.81\%$,和在5分钟时为 $8.29 \pm 0.79\%$)相比,在施用hC5a以后,更低剂量的12 mg/kg 或6 mg/kg 的抗-C5a抗体也显著抑制了嗜中性粒细胞清除(12 mg/kg :在1分钟时为 $42.61 \pm 5.12\%$,在3分钟时为 $45.33 \pm 8.29\%$,和在5分钟时为 $41.02 \pm 7.08\%$, $P < 0.01$;6 mg/kg :在1分钟时为 18.00 ± 3.8 ,在3分钟时为 $26.20 \pm 4.44\%$,和在5分钟时为 $28.03 \pm 4.51\%$, $P < 0.05$)。所述同种型对照抗体是这样的抗体:其结合炭疽保护性抗原63,且含有人IgG2/4同种型Fc区。最低剂量的抗-C5a抗体(3 mg/kg)的施用,没有显著减轻嗜中性粒细胞减少(在1分钟时为 $6.28 \pm 0.88\%$,在3分钟时为 $6.71 \pm 2.14\%$,和在5分钟时为 $8.75 \pm 2.98\%$, $P > 0.05$)。参见图6。

[0476] 抗-人C5a抗体在体内抑制hC5a诱发的MPO释放

[0477] 如以上所讨论的,人C5a会通过与小鼠C5a受体的交叉反应性结合来活化嗜中性粒细胞。髓过氧化物酶(MPO)释放是C5a与C5aR结合导致的嗜中性粒细胞活化的后果。参见, Darren等人(2004) *Mol Pharm* 65(4):868-879。将重组人C5a静脉内注射进小鼠中,可以诱导嗜中性粒细胞减少,并活化在循环中的嗜中性粒细胞。使用结合游离hC5a并阻止与鼠C5aR结合的抗-C5a抗体,评价了抗-人游离C5a抗体的在体内抑制由嗜中性粒细胞活化导致的MPO释放的能力。

[0478] 如上所述进行体内实验(其中将人C5a施用给小鼠)。在假治疗的对照组中,在时间0时的血浆MPO水平为 79.25 ± 22.88 ng/mL。在静脉内注射媒介物缓冲液以后5分钟,MPO水平没有显著变化(77.46 ± 21.21 ng/mL, $P > 0.05$)。在静脉内注射hC5a之前,在同种型对照抗体-治疗的动物(75.17 ± 14.66 ng/mL)或抗-C5a抗体-治疗的动物(87.57 ± 14.86 ng/mL)中的MPO水平与在假治疗的对照动物中观察到的水平相当。在静脉内注射hC5a以后,在C5a的所有剂量下的MPO水平升高,并在5分钟时保持在显著更高的水平(图7)。

[0479] 与同种型对照抗体-治疗的动物(221.00 ± 51.02 ng/mL)相比,抗-hC5a抗体-治疗的动物表现出MPO水平的剂量依赖性的降低(在24 mg/kg组群中, 114.83 ± 23.26 ng/mL, $P < 0.05$;在12 mg/kg组群中, 104.80 ± 29.83 ng/mL, $P < 0.05$;和在6 mg/kg组群中, 126.90 ± 36.40 ng/mL, $P = 0.08$)。低剂量(3 mg/kg)抗-C5a抗体-治疗的动物的MPO水平(176.55 ± 23.05 ng/mL)没有显著不同于同种型对照抗体-治疗的动物($P > 0.05$)。

[0480] 抗-C5a抗体会降低小鼠中的循环hC5a水平

[0481] 如上面所指出的,C5a是一种具有几种生物学功能的有效的炎症性肽。上述的这些研究证实,人C5a会与在嗜中性粒细胞上的鼠C5aR交叉反应,因为重组人C5a的静脉内注射可以诱导嗜中性粒细胞减少。尽管本公开内容绝不受任何具体理论或作用机理的限制,所述抗-C5a抗体可以如下抑制人C5a诱发的嗜中性粒细胞减少:与hC5a形成复合物,并阻止hC5a与在细胞表面上表达的鼠C5aR的结合。在静脉内施用hC5a之前和之后1、3和5分钟,测量小鼠血浆中的hC5a水平,以证实抗-hC5a抗体体内作用是由于它对hC5a的结合依赖性的抑制。

[0482] 使用小鼠-hC5a诱发的嗜中性粒细胞减少模型,如上所述进行实验。使用酶联免疫吸附测定(ELISA),在hC5a施用之前,在时间0时没有在任何小鼠组的血浆中检测到hC5a。但是,在静脉内注射hC5a以后,血浆中的hC5a水平在1分钟时增加至峰值(7783.50 ± 327.73 ng/mL),然后下降至在3分钟时的 4788.38 ± 260.51 ng/mL,再下降至在5分钟时的 3855.75 ± 298.99 ng/mL(在同种型对照mAb-治疗的小鼠中)。与对照抗体-治疗的小鼠相比,在用24 mg/kg的抗-C5a抗体治疗的小鼠中的hC5a水平表现出分别在1分钟(178.4 ± 14.14 ng/mL)、3分钟(158.4 ± 10.43 ng/mL)和5分钟(167.2 ± 15.61 ng/mL)时的43、30和23倍下降。得自12 mg/kg和6 mg/kg组群的血浆中的hC5a水平分别为:在1分钟时的 235.00 ± 22.33 和 609.20 ± 78.75 ng/mL,在3分钟时的 210.80 ± 19.59 和 527.60 ± 52.25 ng/mL,在5分钟时的 192.20 ± 7.40 和 505.00 ± 45.96 ng/mL。在静脉内注射hC5a以后,在嗜中性粒细胞减少过程中,抗-C5a-治疗的小鼠以剂量依赖性的方式表现出显著降低的hC5a水平($P < 0.001$)。尽管接受最低剂量的抗-C5a抗体(3mg/kg)的小鼠没有被免除hC5a诱发的嗜中性粒细胞减少,与在同种型对照抗体-治疗的小鼠中发现的血浆hC5a水平相比($P < 0.05$),该小鼠仍然具有显著降低的血浆hC5a(在1分钟时为 3130.40 ± 433.58 ng/mL;在3分钟时为 1932.00 ± 268.92

ng/mL;在5分钟时为 1593.00 ± 169.68 ng/mL)。参见图8。这些数据指示,给小鼠施用抗-C5a抗体会显著降低血浆中的游离hC5a的浓度,从而导致极大地改善的hC5a诱发的嗜中性粒细胞减少。

[0483] 在本部分中提供的这些结果一起指示,本文所述的抗-人C5a抗体可以在体内疾病环境中抑制人C5a的生物学效应,并有力地证实,所述抗体(和其抗原结合片段)可用于治疗或预防补体相关病症(诸如本文列举的那些中的任一种)以及其它病症。

[0484] 实施例14. 抗-人C5a抗体与得自非人灵长类动物的C5a交叉反应

[0485] 测试了几种人源化的抗-hC5a抗体的与得自一种或多种非人哺乳动物物种的C5a交叉反应的能力。如上面所指出的,这样的抗-C5a抗体具有众多益处,例如,研究人员或医学从业人员在将抗体施用给人类之前在非人疾病模型中将治疗性抗-C5a抗体的效力建模的能力。在非人哺乳动物中的测试,还可以允许测定或估计在人类中的效力所需的抗-C5a抗体的适当剂量。

[0486] 简而言之,评价了BNJ369、BNJ366、BNJ364和BNJ383(如上所述),以确定它们是否会共免疫沉淀在得自几种非人灵长类动物(包括狒狒、恒河猴和食蟹猴)的活化血清中的C5a蛋白。通过加入酵母多糖,活化血清。在用活化的血清过夜温育每种抗体以后,使用蛋白A-缀合的琼脂糖珠子,从溶液相中分离出抗体。彻底洗涤所述珠子,然后在含有 β -巯基乙醇的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)样品缓冲液中煮沸。然后对煮沸的样品进行SDS-PAGE。使用商购可得的抗-C5a新表位抗体#2942(Abcam, Cambridge, MA),通过蛋白质印迹,检测非人灵长类动物C5a。测试的每种抗体都能够免疫沉淀得自狒狒、恒河猴和食蟹猴的C5a(或C5a desarg),这指示,所述抗体可与得自这些物种的C5a以及与人C5a交叉反应。

[0487] 如上所述,测定与食蟹猴C5a的结合亲和力参数。简而言之,使用如上所述的捕获技术,针对3-4种浓度的重组食蟹猴C5a(抗原),筛选BNJ383抗体。使在0.6 nM至5.9 nM范围内的不同浓度的食蟹猴C5a在传感器芯片表面上经过,直接固定化在CM5传感器芯片上的抗-Fc(人)会捕获抗体。在每个循环以后,用20 mM HCl、0.02%表面活性剂P20(Biacore)再生表面,以除去结合的抗体和抗原。使用Biacore BIAevaluation软件,使用1:1 Langmuir Model Fit(Rmax:Global Fit; RI:Local Fit),评价数据。这些实验用于筛选目的,最小数目的分析物浓度(3-4种)具有1个副本。抗体对食蟹猴C5a的近似 K_D 是3.3 nM。参见表10。

[0488] 表10. 非人C5a蛋白的亲和力测定

物种	k_a (1/Ms) ($\times 10^6$)	k_d (1/s) ($\times 10^{-4}$)	K_D (M) ($\times 10^{-12}$)	χ^2
人	0.77	8.32	108	1.23
食蟹猴	1.28	42.3	3300	1.45
小鼠	2.8	10.6	379*	2.38

[0490] * 这仅是基于曲线拟合质量的 K_D 近似值。

[0491] 还使用如上所述的捕获技术,针对3-4种浓度的重组小鼠C5a(抗原)筛选了BNJ383抗体,以测定它对小鼠蛋白的亲和力。如上所述,使在0.6 nM至5.9 nM范围内的不同浓度的小鼠C5a在传感器芯片表面上经过,直接固定化在CM5传感器芯片上的抗-Fc(人)会

捕获抗体。在每个循环以后,用20 mM HCl、0.02% P20再生表面,以除去结合的抗体和抗原。使用Biacore BIAevaluation软件,使用1:1 Langmuir Model Fit (Rmax:Global Fit; RI:Local Fit),评价数据。

[0492] 上述结果指示,本文所述的几种人源化的抗-hC5a抗体可与得自几种非人灵长类动物物种(包括食蟹猴、恒河猴和狒狒)的C5a交叉反应。例如,BNJ383抗体也与小鼠C5a交叉反应。此外,在本部分中描述的结果指示,抗-人C5a抗体(诸如BNJ383)不仅可用于临床应用中用于治疗补体相关病症,而且可用于非人哺乳动物的多种临床前应用中,所述临床前应用是批准临床应用于人类所必需的或支持性的。

[0493] 实施例15. 与C5a的结合的竞争

[0494] 在有潜在竞争性抗原存在下,进行实验,以评价本文所述的抗-C5a抗体BNJ383的结合。简而言之,与不同浓度(例如,400、133、44.4、14.8、4.9、1.6和0.5 nM)的下述物质之一一起,用1 nM生物素化的C5a在室温温育钆-标记的BNJ383 (250 pM) 2小时:(a)在磷酸盐缓冲盐水中的人C5a去精氨酸化的蛋白,(b)人血浆,(c)食蟹猴血浆,(d) Ba1b/C (小鼠)血浆,或(e) DBA/2J (小鼠)血浆。关于血浆组分(b)、(c)、(d)和(e),所述浓度表示温育混合物中的C5抗原的近似终浓度。

[0495] 在温育时段以后,在允许生物素化的C5a与板孔中的抗生蛋白链菌素结合的条件下,使样品接触抗生蛋白链菌素包被的试验板的各个单独孔。彻底洗涤孔,以除去未结合的物质。通过检测从可检测的钆标记产生的信号的量,测定在有竞争剂存在下BNJ383与C5a结合的量。结果显示在图9中。

[0496] 尽管人C5a desarg是一种有效的竞争剂,在有小鼠血清存在下实际上没有观察到竞争(在Ba1b/C小鼠血浆-衍生的C5与生物素化的人C5a的大约400:1比例,观察到可检测信号的17%下降;在DBA2/J血浆-衍生的C5与生物素化的人C5a的大约400:1比例,观察到可检测信号的25%下降)。在人或食蟹猴血浆-衍生的C5与生物素化的人C5a的最高大约15:1比例,没有观察到BNJ383与生物素化的人C5a的结合水平的变化。

[0497] 如上面所指出的,尽管本公开内容绝不限于任何具体理论或作用机理,发明人假定,所述抗-C5a抗体可以结合未切割的、加工过的C5(例如,血浆C5)的亚群,所述亚群构成样品中的全长C5的总群体(例如,血浆样品)的小于10%,所述亚群完全地或部分地变性,从而暴露否则会被封闭的C5a新表位(抗-C5a抗体或片段与其结合)。因而,据信,所述抗体不会结合完全功能的C5和/或完全功能的C5物种,且因而不会真实地结合未切割的、天然的C5。就结合生物素化的C5a而言,人血浆至少是比人C5a desarg弱大约30-100倍的竞争剂。

[0498] 尽管有这些考虑,这些结果进一步指示,本文所述的抗-人C5a抗体(诸如BNJ383)优先结合游离的人C5a,甚至在有最多大约20倍过量的未切割的、但是不一定全天然的、血浆-衍生的人C5蛋白存在下。

[0499] 实施例16. 抗-C5a抗体在体外对AP和CP活性的影响

[0500] 使用混合的正常人血清(PNHS)进行实验,以评价本文所述的抗-C5a抗体(BNJ383)在体外对旁途径(AP)补体活性的影响。所述实验利用Wieslab®旁途径补体试剂盒(Wieslab® COMPL AP330, Euro-Diagnostica, 瑞典),并遵循附随的方案,仅进行在本领域普通技术人员能力范围的常规优化。简而言之,与不同浓度(0.778、0.389、0.194、0.097、0.049、0.024、0.012、0.006、0.003和0.002 μM)的抗-hC5抗体或抗-hC5a抗体(BNJ383)一

起,在脂多糖-包被的板的孔中温育PNHS的等分试样1小时(在37°C)。所述抗-C5抗体会抑制人C5切割成片段C5a和C5b。作为阴性对照,在相同条件下,但是在没有抗-hC5抗体或抗-hC5a抗体存在下,用PNHS温育几个孔。

[0501] 在温育以后,用试剂盒供给的1X洗涤缓冲液彻底洗涤孔。在使每个孔接触试剂盒供给的酶缀合物(与碱性磷酸酶缀合的抗-C5b-9抗体)和发荧光底物(其被酶启动)并在室温温育30分钟以后,通过在405 nm的吸光度,测量旁路途径补体活化的水平。结果显示在图10中。

[0502] 尽管在大于0.1 μM 浓度的抗-C5抗体会完全抑制旁路途径补体活性,所述抗-hC5a抗体没有显著抑制补体活性,甚至在测试的最高浓度。

[0503] 使用PNHS进行实验,以评价本文所述的抗-C5a抗体(BNJ383)在体外对经典途径(CP)补体活性的影响。所述实验利用Wieslab®经典途径补体试剂盒(Wieslab® COMPL CP310, Euro-Diagnostica, 瑞典),并遵循附随的方案,仅进行在本领域普通技术人员能力范围的常规优化。简而言之,与不同浓度(7.2、3.6、1.8、0.9、0.45、0.2、0.1、0.05、0.02或0.01 μM)的抗-hC5抗体或抗-hC5a抗体(BNJ383)一起,在人IgM抗体-包被的板的孔中温育PNHS的等分试样1小时(在37°C)。所述抗-C5抗体会抑制人C5切割成片段C5a和C5b。作为对照,在相同条件下,但是在没有抗-hC5抗体或抗-hC5a抗体存在下,用PNHS温育几个孔。

[0504] 在温育以后,用试剂盒供给的1X洗涤缓冲液彻底洗涤孔。在使每个孔接触试剂盒供给的酶缀合物(与碱性磷酸酶缀合的抗-C5b-9抗体)和发荧光底物(其被酶启动)并在室温温育30分钟以后,通过在405 nm的吸光度,测量经典途径补体活化的水平。结果显示在图11中。

[0505] 尽管在大于0.1 μM 浓度的抗-C5抗体会完全抑制经典途径补体活性,所述抗-hC5a抗体没有显著抑制补体活性,甚至在测试的最高浓度。

[0506] 这些结果一起指示,在体外,所述抗-hC5a抗体BNJ383没有显著影响由补体的经典或旁路途径驱动产生的C5b-9(末端补体活化),因而进一步证实,本文所述的抗-hC5a抗体会特异性地靶向补体活化的游离C5a过敏毒素臂。

[0507] 实施例17. 甚至在有摩尔过量的hC5存在下,抗-C5a抗体保留可用于结合C5a的未占据的抗原结合位点

[0508] 在有2.1倍摩尔过量的人C5(hC5)存在下,在4°C温育抗-C5a抗体BNJ383(如上所述)84小时,以允许完全的抗体:C5复合物形成。使用以2:1化学计量学结合人C5的抗体(在下文中称作抗-C5抗体),进行一个平行实验。使用Waters™ 2690/5 HPLC系统(其具有Waters™ W2487双波长检测器),在TSK™ G4000 SW尺寸排阻柱(Tosoh, Tokyo)上分离抗体:C5复合物,以测定结合位点的占据。在214 nm的波长,监测峰。用于HPLC分析的流动相含有下述缓冲液组合物:3.9 mM NaH_2PO_4 、6.1 mM Na_2HPO_4 和150 mM NaCl ,在pH7.0。流速是1.0 ml/分钟,运行时间是20分钟。用Waters Empower™ 2色谱法软件获取和分析数据。

[0509] 如图12所示,单独的BNJ383(图12A)和单独的hC5(图12B)各自分离为中心在10.2分钟左右的单个峰,且超过95%的抗-C5a抗体:hC5复合物分离为中心在9.2分钟左右的单个峰(图12C)。相比而言,hC5和抗-C5抗体的复合物分离为中心在8.6 min(39%)和9.2 min(61%)处的2个峰(图12D)。因而,甚至在摩尔过量的hC5中,95.2%的BNJ383具有游离的Fab臂,该臂能够结合人C5a。

[0510] 进一步检查这些样品,以确定BNJ383抗体是否保留在有饱和浓度的C5存在下结合C5a的能力。在抗生蛋白链菌素包被的平板(其固定化了生物素缀合的hC5a)上,滴定500-0.5 ng/mL的游离抗体或抗体:C5复合物。用与辣根过氧化物酶缀合的抗-人Fc抗体,检测捕获的抗体。在图13中描绘的结果证实,甚至与hC5形成复合物的BNJ383也能够结合C5a,并且在有饱和C5存在下,可用于结合C5a的抗体浓度没有可检测地减少。因而,本文所述的结果指示,甚至在有摩尔过量的未切割的C5存在下,所述抗体保留以高亲和力结合游离C5a的能力,并由此,甚至在该摩尔过量下,保留抑制C5a的促炎症活性的能力。

[0511] 实施例18. 在体内,BNJ383是C5a的有效拮抗剂,却是末端补体复合物形成的不完全/部分拮抗剂

[0512] 在1 mg/kg、10 mg/kg、100 mg/kg、250 mg/kg或400 mg/kg,给食蟹猴静脉内地施用单次剂量的BNJ383抗-C5a抗体。在抗体施用以后1天至30天范围内的时间点,从猴收集血浆样品。通过电化学发光(ECL)试验,测定血浆中的C5a/C5a desarg水平,在所述试验中,游离C5a/C5a desarg被捕获在微孔滴定板(其用对在C5a/C5a desarg上的新表位特异性的抗体包被)上,并用与钨酸盐(其含有ECL部分)缀合的非竞争性C5a抗体检测,并在SECTOR 2400™ 平板读数器(MesoScale Discovery)上读出。通过酶联免疫吸附测定(ELISA),测定循环抗体浓度,其中游离抗体(BNJ383)被捕获在用人C5a desarg包被的微孔滴定板上,并用与辣根过氧化物酶(HRP)缀合的小鼠抗-人抗体检测。

[0513] 如图14所示,象在实施例13中描述的结果一样,低至10µg/mL的循环BNJ383浓度会在食蟹猴中清除血浆C5a/C5a desarg水平至低于检出限度。这些结果还证实,甚至在有摩尔过量的未切割的C5存在下,所述抗体保留以高亲和力结合游离C5a的能力,并由此,甚至在该摩尔过量下,保留抑制C5a的促炎症活性的能力。

[0514] 为了测定BNJ383是否会影响猕猴血清的溶血性活性,在体外红血细胞溶血试验中评价了所述抗体。

[0515] 红血细胞溶血试验一般地详细描述在,例如,Rinder等人(1995) *J Clin Invest* 96:1564-1572。简而言之,将从施用了BNJ383的猕猴得到的血清样品(如上所述)加入96孔试验板的多个孔中,使得每个孔中的血清浓度是大约10%。血清样品(由于得到它们的时间点)含有不同浓度的BNJ383抗体。从没有接受BNJ383的猕猴得到的血清的溶血性活性用作阴性对照,并作为基线溶血性活性水平。

[0516] 洗涤鸡红细胞(Lampire Biological Laboratories, Piperville, PA),并以 5×10^7 细胞/mL的终浓度重新悬浮于缓冲液中。通过用抗-鸡红血细胞多克隆抗体组合物温育细胞,使所述红细胞敏化至裂解。将敏化的红细胞加入96孔板的孔中,并将该板在37°C温育30分钟。使用微量培养板读数器,通过在415 nm的表现吸光度,测量血红蛋白释放。

[0517] 如图15A所示,在这些离体溶血测定实验条件下,甚至高浓度的BNJ383也没有大幅抑制红细胞溶血。

[0518] 还使用离体CH50eq试验评价了BNJ383抗体,以确定它是否会影响猕猴血清的补体活化。CH50eq试验是一种用于测量血清中的总经典补体活性的方法。该试验是一种酶联免疫吸附测定,其使用人 γ 球蛋白和小鼠单克隆抗体作为经典补体途径的活化剂,并捕获在微量滴定孔(其用TCC新表位特异性的抗体包被)上产生的末端补体复合物(TCC)。用与辣根过氧化物酶缀合的山羊抗-TCC抗体,检测捕获的TCC。所述CH50eq试验会提供末端补体复合

物(TCC)形成的直接量度。

[0519] 如图15B所示,在这些离体条件下,存在于猕猴血清中的高浓度的BNJ383能够大幅抑制TCC形成。这些结果指示,BNJ383抗体不仅能够结合和隔离游离C5a,而且还能够随浓度而变化地部分地或大幅地抑制TCC形成。

[0520] 还使用上述的猕猴血清样品,进行离体实验,以评价BNJ383对经典途径(CP)补体活性的影响。所述实验利用Wieslab®经典途径补体试剂盒(Wieslab® COMPL CP310, Euro-Diagnostica, 瑞典),并遵循附随的方案,仅进行在本领域普通技术人员能力范围的常规优化。简而言之,在人IgM抗体-包被的板的孔中温育猕猴血清样品的等分试样1小时。作为对照,在相同条件下,用得自没有施用BNJ383抗体的猕猴的血清温育几个孔。

[0521] 在温育以后,用试剂盒供给的1X洗涤缓冲液彻底洗涤孔。在使每个孔接触试剂盒供给的酶缀合物(与碱性磷酸酶缀合的抗-C5b-9抗体)和发荧光底物(其被酶启动)并在室温温育30分钟以后,通过在405 nm的吸光度,测量旁路途径补体活化的水平。结果显示在图15C中。

[0522] 所述抗-hC5a抗体确实以剂量依赖性的方式显著地(尽管不是完全地)抑制补体活性。本文所述的结果一起指示,在体内,BNJ383不仅是C5a的有效拮抗剂,而且还是末端补体复合物形成的不完全/部分拮抗剂。因而,所述抗体和具有该性质的多种抗体可用于治疗多种补体相关病症,在所述病症中,C5a介导的炎症是有害病理学效应的主要促进因素,且TCC可能在所述病理学中起不太重要的或甚至有益的作用。

[0523] 尽管已经参考其具体实施方案描述了本公开内容,本领域技术人员应当理解,可以做出多种变化,且可以替换等效要素,而不脱离本公开内容的真实精神和范围。另外,可以做出许多改进,以适应本公开内容的特定情形、材料、物质组合、工艺、一个或多个工艺步骤、目的、精神和范围。本公开内容意图包括所有这些改进。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> ALEXION PHARMACEUTICALS, INC.
- [0003] <120> 抗-C5A抗体和使用所述抗体的方法
- [0004] <130> ALXN-154-W01
- [0005] <140> PCT/US2011/034672
- [0006] <141> 2011-04-29
- [0007] <150> 61/471,465
- [0008] <151> 2011-04-04
- [0009] <150> 61/330,260
- [0010] <151> 2010-04-30
- [0011] <160> 181
- [0012] <170> PatentIn 3.5版
- [0013] <210> 1
- [0014] <211> 74
- [0015] <212> PRT
- [0016] <213> 智人
- [0017] <400> 1
- [0018] Thr Leu Gln Lys Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala Lys Tyr Lys His Ser
- [0019] 1 5 10 15
- [0020] Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Ala Cys Val Asn Asn Asp Glu
- [0021] 20 25 30
- [0022] Thr Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg Ile Ser Leu Gly Pro Arg Cys Ile
- [0023] 35 40 45
- [0024] Lys Ala Phe Thr Glu Cys Cys Val Val Ala Ser Gln Leu Arg Ala Asn
- [0025] 50 55 60
- [0026] Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg
- [0027] 65 70
- [0028] <210> 2
- [0029] <211> 73
- [0030] <212> PRT
- [0031] <213> 智人
- [0032] <400> 2
- [0033] Thr Leu Gln Lys Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala Lys Tyr Lys His Ser
- [0034] 1 5 10 15
- [0035] Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Ala Cys Val Asn Asn Asp Glu
- [0036] 20 25 30
- [0037] Thr Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg Ile Ser Leu Gly Pro Arg Cys Ile
- [0038] 35 40 45

[0039] Lys Ala Phe Thr Glu Cys Cys Val Val Ala Ser Gln Leu Arg Ala Asn
 [0040] 50 55 60
 [0041] Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly
 [0042] 65 70
 [0043] <210> 3
 [0044] <211> 14
 [0045] <212> PRT
 [0046] <213> 智人
 [0047] <400> 3
 [0048] Thr Leu Gln Lys Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala Lys Tyr Lys
 [0049] 1 5 10
 [0050] <210> 4
 [0051] <211> 13
 [0052] <212> PRT
 [0053] <213> 智人
 [0054] <400> 4
 [0055] His Ser Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Ala Cys
 [0056] 1 5 10
 [0057] <210> 5
 [0058] <211> 5
 [0059] <212> PRT
 [0060] <213> 智人
 [0061] <400> 5
 [0062] Val Asn Asn Asp Glu
 [0063] 1 5
 [0064] <210> 6
 [0065] <211> 8
 [0066] <212> PRT
 [0067] <213> 智人
 [0068] <400> 6
 [0069] Thr Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg
 [0070] 1 5
 [0071] <210> 7
 [0072] <211> 4
 [0073] <212> PRT
 [0074] <213> 智人
 [0075] <400> 7
 [0076] Ile Ser Leu Gly
 [0077] 1

[0078] <210> 8
 [0079] <211> 22
 [0080] <212> PRT
 [0081] <213> 智人
 [0082] <400> 8
 [0083] Pro Arg Cys Ile Lys Ala Phe Thr Glu Cys Cys Val Val Ala Ser Gln
 [0084] 1 5 10 15
 [0085] Leu Arg Ala Asn Ile Ser
 [0086] 20
 [0087] <210> 9
 [0088] <211> 7
 [0089] <212> PRT
 [0090] <213> 智人
 [0091] <400> 9
 [0092] His Lys Asp Met Gln Leu Gly
 [0093] 1 5
 [0094] <210> 10
 [0095] <211> 8
 [0096] <212> PRT
 [0097] <213> 智人
 [0098] <400> 10
 [0099] His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg
 [0100] 1 5
 [0101] <210> 11
 [0102] <211> 14
 [0103] <212> PRT
 [0104] <213> 智人
 [0105] <400> 11
 [0106] Cys Cys Tyr Asp Gly Ala Cys Val Asn Asn Asp Glu Thr Cys
 [0107] 1 5 10
 [0108] <210> 12
 [0109] <211> 33
 [0110] <212> PRT
 [0111] <213> 智人
 [0112] <400> 12
 [0113] Cys Tyr Asp Gly Ala Cys Val Asn Asn Asp Glu Thr Cys Glu Gln Arg
 [0114] 1 5 10 15
 [0115] Ala Ala Arg Ile Ser Leu Gly Pro Arg Cys Ile Lys Ala Phe Thr Glu
 [0116] 20 25 30

[0117] Cys
 [0118] <210> 13
 [0119] <211> 22
 [0120] <212> PRT
 [0121] <213> 智人
 [0122] <400> 13
 [0123] Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg Ile Ser Leu Gly Pro Arg Cys Ile Lys
 [0124] 1 5 10 15
 [0125] Ala Phe Thr Glu Cys Cys
 [0126] 20
 [0127] <210> 14
 [0128] <211> 18
 [0129] <212> PRT
 [0130] <213> 智人
 [0131] <400> 14
 [0132] Tyr Asp Gly Ala Cys Val Asn Asn Asp Glu Thr Cys Glu Gln Arg Ala
 [0133] 1 5 10 15
 [0134] Ala Arg
 [0135] <210> 15
 [0136] <211> 18
 [0137] <212> PRT
 [0138] <213> 智人
 [0139] <400> 15
 [0140] Cys Tyr Asp Gly Ala Cys Val Asn Asn Asp Glu Thr Cys Glu Gln Arg
 [0141] 1 5 10 15
 [0142] Ala Ala
 [0143] <210> 16
 [0144] <211> 238
 [0145] <212> PRT
 [0146] <213> 人工序列
 [0147] <220>
 [0148] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [0149] <400> 16
 [0150] Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
 [0151] 1 5 10 15
 [0152] Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala
 [0153] 20 25 30
 [0154] Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser
 [0155] 35 40 45

[0156]	Val Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
[0157]	50 55 60
[0158]	Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
[0159]	65 70 75 80
[0160]	Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
[0161]	85 90 95
[0162]	Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
[0163]	100 105 110
[0164]	Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
[0165]	115 120 125
[0166]	Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
[0167]	130 135 140
[0168]	Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
[0169]	145 150 155 160
[0170]	Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
[0171]	165 170 175
[0172]	Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
[0173]	180 185 190
[0174]	Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
[0175]	195 200 205
[0176]	Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
[0177]	210 215 220
[0178]	Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[0179]	225 230 235
[0180]	<210> 17
[0181]	<211> 218
[0182]	<212> PRT
[0183]	<213> 人工序列
[0184]	<220>
[0185]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[0186]	<400> 17
[0187]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
[0188]	1 5 10 15
[0189]	Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
[0190]	20 25 30
[0191]	Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
[0192]	35 40 45
[0193]	Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
[0194]	50 55 60

[0234]	1	5	10	15
[0235]	Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr			
[0236]		20	25	30
[0237]	Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro			
[0238]		35	40	45
[0239]	Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp			
[0240]		50	55	60
[0241]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser			
[0242]		65	70	75
[0243]	Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn			
[0244]		85	90	95
[0245]	Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg			
[0246]		100	105	110
[0247]	<210> 20			
[0248]	<211> 15			
[0249]	<212> PRT			
[0250]	<213> 人工序列			
[0251]	<220>			
[0252]	<223> 人工序列的描述: 合成肽			
[0253]	<400> 20			
[0254]	Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met His			
[0255]	1	5	10	15
[0256]	<210> 21			
[0257]	<211> 7			
[0258]	<212> PRT			
[0259]	<213> 人工序列			
[0260]	<220>			
[0261]	<223> 人工序列的描述: 合成肽			
[0262]	<400> 21			
[0263]	Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser			
[0264]	1	5		
[0265]	<210> 22			
[0266]	<211> 9			
[0267]	<212> PRT			
[0268]	<213> 人工序列			
[0269]	<220>			
[0270]	<223> 人工序列的描述: 合成肽			
[0271]	<400> 22			
[0272]	Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Tyr Thr			

[0273] 1 5
 [0274] <210> 23
 [0275] <211> 106
 [0276] <212> PRT
 [0277] <213> 人工序列
 [0278] <220>
 [0279] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [0280] <400> 23
 [0281] Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 [0282] 1 5 10 15
 [0283] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 [0284] 20 25 30
 [0285] Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 [0286] 35 40 45
 [0287] Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 [0288] 50 55 60
 [0289] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 [0290] 65 70 75 80
 [0291] His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 [0292] 85 90 95
 [0293] Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [0294] 100 105
 [0295] <210> 24
 [0296] <211> 466
 [0297] <212> PRT
 [0298] <213> 人工序列
 [0299] <220>
 [0300] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [0301] <400> 24
 [0302] Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
 [0303] 1 5 10 15
 [0304] Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 [0305] 20 25 30
 [0306] Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 [0307] 35 40 45
 [0308] Thr Asp Tyr Ser Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 [0309] 50 55 60
 [0310] Glu Trp Met Gly Ala Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn
 [0311] 65 70 75 80

[0312]	Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser
[0313]	85 90 95
[0314]	Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
[0315]	100 105 110
[0316]	Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Ser Tyr Asp Gly Tyr Tyr Ala Met Asp
[0317]	115 120 125
[0318]	Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[0319]	130 135 140
[0320]	Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
[0321]	145 150 155 160
[0322]	Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[0323]	165 170 175
[0324]	Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[0325]	180 185 190
[0326]	Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[0327]	195 200 205
[0328]	Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
[0329]	210 215 220
[0330]	Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
[0331]	225 230 235 240
[0332]	Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
[0333]	245 250 255
[0334]	Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
[0335]	260 265 270
[0336]	Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
[0337]	275 280 285
[0338]	Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
[0339]	290 295 300
[0340]	Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
[0341]	305 310 315 320
[0342]	Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
[0343]	325 330 335
[0344]	Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
[0345]	340 345 350
[0346]	Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
[0347]	355 360 365
[0348]	Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
[0349]	370 375 380
[0350]	Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp

[0351]	385	390	395	400
[0352]	Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met			
[0353]		405	410	415
[0354]	Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp			
[0355]		420	425	430
[0356]	Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His			
[0357]		435	440	445
[0358]	Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro			
[0359]		450	455	460
[0360]	Gly Lys			
[0361]	465			
[0362]	<210> 25			
[0363]	<211> 447			
[0364]	<212> PRT			
[0365]	<213> 人工序列			
[0366]	<220>			
[0367]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽			
[0368]	<400> 25			
[0369]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
[0370]	1	5	10	15
[0371]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr			
[0372]		20	25	30
[0373]	Ser Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
[0374]		35	40	45
[0375]	Gly Ala Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe			
[0376]		50	55	60
[0377]	Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr			
[0378]		65	70	75
[0379]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[0380]		85	90	95
[0381]	Ala Arg Ser Gly Ser Tyr Asp Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly			
[0382]		100	105	110
[0383]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser			
[0384]		115	120	125
[0385]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala			
[0386]		130	135	140
[0387]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val			
[0388]		145	150	155
[0389]	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala			

[0390]		165		170		175
[0391]	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val					
[0392]		180		185		190
[0393]	Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His					
[0394]		195		200		205
[0395]	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys					
[0396]		210		215		220
[0397]	Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val					
[0398]		225		230		235
[0399]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr					
[0400]		245		250		255
[0401]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu					
[0402]		260		265		270
[0403]	Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys					
[0404]		275		280		285
[0405]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser					
[0406]		290		295		300
[0407]	Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys					
[0408]		305		310		315
[0409]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile					
[0410]		325		330		335
[0411]	Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro					
[0412]		340		345		350
[0413]	Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu					
[0414]		355		360		365
[0415]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn					
[0416]		370		375		380
[0417]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser					
[0418]		385		390		395
[0419]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg					
[0420]		405		410		415
[0421]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu					
[0422]		420		425		430
[0423]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
[0424]		435		440		445
[0425]	<210> 26					
[0426]	<211> 19					
[0427]	<212> PRT					
[0428]	<213> 人工序列					

[0429] <220>
 [0430] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [0431] <400> 26
 [0432] Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
 [0433] 1 5 10 15
 [0434] Ala His Ser
 [0435] <210> 27
 [0436] <211> 121
 [0437] <212> PRT
 [0438] <213> 人工序列
 [0439] <220>
 [0440] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [0441] <400> 27
 [0442] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 [0443] 1 5 10 15
 [0444] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 [0445] 20 25 30
 [0446] Ser Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 [0447] 35 40 45
 [0448] Gly Ala Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
 [0449] 50 55 60
 [0450] Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 [0451] 65 70 75 80
 [0452] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 [0453] 85 90 95
 [0454] Ala Arg Ser Gly Ser Tyr Asp Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 [0455] 100 105 110
 [0456] Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 [0457] 115 120
 [0458] <210> 28
 [0459] <211> 5
 [0460] <212> PRT
 [0461] <213> 人工序列
 [0462] <220>
 [0463] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [0464] <400> 28
 [0465] Asp Tyr Ser Met Asp
 [0466] 1 5
 [0467] <210> 29

[0468] <211> 17
 [0469] <212> PRT
 [0470] <213> 人工序列
 [0471] <220>
 [0472] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [0473] <400> 29
 [0474] Ala Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 [0475] 1 5 10 15
 [0476] Asp
 [0477] <210> 30
 [0478] <211> 12
 [0479] <212> PRT
 [0480] <213> 人工序列
 [0481] <220>
 [0482] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [0483] <400> 30
 [0484] Ser Gly Ser Tyr Asp Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
 [0485] 1 5 10
 [0486] <210> 31
 [0487] <211> 326
 [0488] <212> PRT
 [0489] <213> 人工序列
 [0490] <220>
 [0491] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [0492] <400> 31
 [0493] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 [0494] 1 5 10 15
 [0495] Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 [0496] 20 25 30
 [0497] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 [0498] 35 40 45
 [0499] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 [0500] 50 55 60
 [0501] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
 [0502] 65 70 75 80
 [0503] Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 [0504] 85 90 95
 [0505] Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 [0506] 100 105 110

[0507]	Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[0508]	115 120 125
[0509]	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[0510]	130 135 140
[0511]	Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[0512]	145 150 155 160
[0513]	Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
[0514]	165 170 175
[0515]	Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
[0516]	180 185 190
[0517]	Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
[0518]	195 200 205
[0519]	Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[0520]	210 215 220
[0521]	Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[0522]	225 230 235 240
[0523]	Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[0524]	245 250 255
[0525]	Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[0526]	260 265 270
[0527]	Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[0528]	275 280 285
[0529]	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[0530]	290 295 300
[0531]	Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[0532]	305 310 315 320
[0533]	Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0534]	325
[0535]	<210> 32
[0536]	<211> 466
[0537]	<212> PRT
[0538]	<213> 人工序列
[0539]	<220>
[0540]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[0541]	<400> 32
[0542]	Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
[0543]	1 5 10 15
[0544]	Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
[0545]	20 25 30

[0546]	Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
[0547]	35 40 45
[0548]	Thr Asp Tyr Ser Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
[0549]	50 55 60
[0550]	Glu Trp Met Gly Ala Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn
[0551]	65 70 75 80
[0552]	Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser
[0553]	85 90 95
[0554]	Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
[0555]	100 105 110
[0556]	Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Ser Tyr Asp Gly Tyr Tyr Ala Met Asp
[0557]	115 120 125
[0558]	Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[0559]	130 135 140
[0560]	Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
[0561]	145 150 155 160
[0562]	Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[0563]	165 170 175
[0564]	Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[0565]	180 185 190
[0566]	Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[0567]	195 200 205
[0568]	Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
[0569]	210 215 220
[0570]	Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
[0571]	225 230 235 240
[0572]	Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
[0573]	245 250 255
[0574]	Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
[0575]	260 265 270
[0576]	Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
[0577]	275 280 285
[0578]	Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
[0579]	290 295 300
[0580]	Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
[0581]	305 310 315 320
[0582]	Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
[0583]	325 330 335
[0584]	Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu

[0585]		340		345		350										
[0586]	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr
[0587]			355					360						365		
[0588]	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
[0589]			370					375						380		
[0590]	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp
[0591]			385					390						395		400
[0592]	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val
[0593]					405						410					415
[0594]	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp
[0595]					420											430
[0596]	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His
[0597]					435											445
[0598]	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu
[0599]					450											460
[0600]	Gly	Lys														
[0601]																465
[0602]	<210>	33														
[0603]	<211>	447														
[0604]	<212>	PRT														
[0605]	<213>	人工序列														
[0606]	<220>															
[0607]	<223>	人工序列的描述: 合成多肽														
[0608]	<400>	33														
[0609]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
[0610]					1		5						10			15
[0611]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr
[0612]																20
[0613]	Ser	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
[0614]																35
[0615]	Gly	Ala	Ile	Asn	Pro	Asn	Ser	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
[0616]																50
[0617]	Lys	Asp	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr
[0618]																65
[0619]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[0620]																85
[0621]	Ala	Arg	Ser	Gly	Ser	Tyr	Asp	Gly	Tyr	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly
[0622]																100
[0623]	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser

[0624]	115	120	125
[0625]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala		
[0626]	130	135	140
[0627]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		
[0628]	145	150	155
[0629]	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala		
[0630]	165	170	175
[0631]	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val		
[0632]	180	185	190
[0633]	Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His		
[0634]	195	200	205
[0635]	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys		
[0636]	210	215	220
[0637]	Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val		
[0638]	225	230	235
[0639]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
[0640]	245	250	255
[0641]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu		
[0642]	260	265	270
[0643]	Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
[0644]	275	280	285
[0645]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
[0646]	290	295	300
[0647]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
[0648]	305	310	315
[0649]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile		
[0650]	325	330	335
[0651]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
[0652]	340	345	350
[0653]	Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
[0654]	355	360	365
[0655]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
[0656]	370	375	380
[0657]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
[0658]	385	390	395
[0659]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
[0660]	405	410	415
[0661]	Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
[0662]	420	425	430

[0663]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
[0664]	435 440 445
[0665]	<210> 34
[0666]	<211> 326
[0667]	<212> PRT
[0668]	<213> 人工序列
[0669]	<220>
[0670]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[0671]	<400> 34
[0672]	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
[0673]	1 5 10 15
[0674]	Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
[0675]	20 25 30
[0676]	Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
[0677]	35 40 45
[0678]	Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
[0679]	50 55 60
[0680]	Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
[0681]	65 70 75 80
[0682]	Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
[0683]	85 90 95
[0684]	Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
[0685]	100 105 110
[0686]	Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[0687]	115 120 125
[0688]	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[0689]	130 135 140
[0690]	Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[0691]	145 150 155 160
[0692]	Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
[0693]	165 170 175
[0694]	Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[0695]	180 185 190
[0696]	Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
[0697]	195 200 205
[0698]	Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[0699]	210 215 220
[0700]	Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn
[0701]	225 230 235 240

[0702]	Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[0703]	245 250 255
[0704]	Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[0705]	260 265 270
[0706]	Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg
[0707]	275 280 285
[0708]	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys
[0709]	290 295 300
[0710]	Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[0711]	305 310 315 320
[0712]	Ser Leu Ser Leu Gly Lys
[0713]	325
[0714]	<210> 35
[0715]	<211> 238
[0716]	<212> PRT
[0717]	<213> 人工序列
[0718]	<220>
[0719]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[0720]	<400> 35
[0721]	Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
[0722]	1 5 10 15
[0723]	Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala
[0724]	20 25 30
[0725]	Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser
[0726]	35 40 45
[0727]	Val Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
[0728]	50 55 60
[0729]	Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
[0730]	65 70 75 80
[0731]	Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
[0732]	85 90 95
[0733]	Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
[0734]	100 105 110
[0735]	Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
[0736]	115 120 125
[0737]	Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
[0738]	130 135 140
[0739]	Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
[0740]	145 150 155 160

[0741]	Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
[0742]	165 170 175
[0743]	Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
[0744]	180 185 190
[0745]	Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
[0746]	195 200 205
[0747]	Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
[0748]	210 215 220
[0749]	Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[0750]	225 230 235
[0751]	<210> 36
[0752]	<211> 218
[0753]	<212> PRT
[0754]	<213> 人工序列
[0755]	<220>
[0756]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[0757]	<400> 36
[0758]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
[0759]	1 5 10 15
[0760]	Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
[0761]	20 25 30
[0762]	Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
[0763]	35 40 45
[0764]	Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp
[0765]	50 55 60
[0766]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
[0767]	65 70 75 80
[0768]	Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
[0769]	85 90 95
[0770]	Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[0771]	100 105 110
[0772]	Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
[0773]	115 120 125
[0774]	Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
[0775]	130 135 140
[0776]	Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
[0777]	145 150 155 160
[0778]	Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
[0779]	165 170 175

[0780] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 [0781] 180 185 190
 [0782] His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 [0783] 195 200 205
 [0784] Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [0785] 210 215
 [0786] <210> 37
 [0787] <211> 112
 [0788] <212> PRT
 [0789] <213> 人工序列
 [0790] <220>
 [0791] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [0792] <400> 37
 [0793] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 [0794] 1 5 10 15
 [0795] Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
 [0796] 20 25 30
 [0797] Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 [0798] 35 40 45
 [0799] Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp
 [0800] 50 55 60
 [0801] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 [0802] 65 70 75 80
 [0803] Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 [0804] 85 90 95
 [0805] Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 [0806] 100 105 110
 [0807] <210> 38
 [0808] <211> 7
 [0809] <212> PRT
 [0810] <213> 人工序列
 [0811] <220>
 [0812] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [0813] <400> 38
 [0814] Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 [0815] 1 5
 [0816] <210> 39
 [0817] <211> 240
 [0818] <212> PRT

[0819] <213> 人工序列
 [0820] <220>
 [0821] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [0822] <400> 39
 [0823] Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 [0824] 1 5 10 15
 [0825] Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 [0826] 20 25 30
 [0827] Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 [0828] 35 40 45
 [0829] Glu Ser Val Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln
 [0830] 50 55 60
 [0831] Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu
 [0832] 65 70 75 80
 [0833] Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 [0834] 85 90 95
 [0835] Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
 [0836] 100 105 110
 [0837] Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 [0838] 115 120 125
 [0839] Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
 [0840] 130 135 140
 [0841] Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
 [0842] 145 150 155 160
 [0843] Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
 [0844] 165 170 175
 [0845] Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
 [0846] 180 185 190
 [0847] Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 [0848] 195 200 205
 [0849] Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
 [0850] 210 215 220
 [0851] Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [0852] 225 230 235 240
 [0853] <210> 40
 [0854] <211> 218
 [0855] <212> PRT
 [0856] <213> 人工序列
 [0857] <220>

[0858] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [0859] <400> 40
 [0860] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 [0861] 1 5 10 15
 [0862] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
 [0863] 20 25 30
 [0864] Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 [0865] 35 40 45
 [0866] Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 [0867] 50 55 60
 [0868] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 [0869] 65 70 75 80
 [0870] Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 [0871] 85 90 95
 [0872] Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 [0873] 100 105 110
 [0874] Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 [0875] 115 120 125
 [0876] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 [0877] 130 135 140
 [0878] Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 [0879] 145 150 155 160
 [0880] Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 [0881] 165 170 175
 [0882] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 [0883] 180 185 190
 [0884] His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 [0885] 195 200 205
 [0886] Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [0887] 210 215
 [0888] <210> 41
 [0889] <211> 22
 [0890] <212> PRT
 [0891] <213> 人工序列
 [0892] <220>
 [0893] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [0894] <400> 41
 [0895] Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 [0896] 1 5 10 15

[0897] Leu Arg Gly Ala Arg Cys
 [0898] 20
 [0899] <210> 42
 [0900] <211> 112
 [0901] <212> PRT
 [0902] <213> 人工序列
 [0903] <220>
 [0904] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [0905] <400> 42
 [0906] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 [0907] 1 5 10 15
 [0908] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
 [0909] 20 25 30
 [0910] Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 [0911] 35 40 45
 [0912] Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 [0913] 50 55 60
 [0914] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 [0915] 65 70 75 80
 [0916] Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 [0917] 85 90 95
 [0918] Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 [0919] 100 105 110
 [0920] <210> 43
 [0921] <211> 465
 [0922] <212> PRT
 [0923] <213> 人工序列
 [0924] <220>
 [0925] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [0926] <400> 43
 [0927] Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
 [0928] 1 5 10 15
 [0929] Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 [0930] 20 25 30
 [0931] Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 [0932] 35 40 45
 [0933] Thr Asp Tyr Ser Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 [0934] 50 55 60
 [0935] Glu Trp Met Gly Ala Ile His Leu Asn Thr Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn

[0975]	Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu
[0976]	385 390 395 400
[0977]	Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
[0978]	405 410 415
[0979]	Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
[0980]	420 425 430
[0981]	Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
[0982]	435 440 445
[0983]	Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[0984]	450 455 460
[0985]	Lys
[0986]	465
[0987]	<210> 44
[0988]	<211> 446
[0989]	<212> PRT
[0990]	<213> 人工序列
[0991]	<220>
[0992]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[0993]	<400> 44
[0994]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[0995]	1 5 10 15
[0996]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[0997]	20 25 30
[0998]	Ser Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[0999]	35 40 45
[1000]	Gly Ala Ile His Leu Asn Thr Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
[1001]	50 55 60
[1002]	Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
[1003]	65 70 75 80
[1004]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1005]	85 90 95
[1006]	Ala Arg Gly Phe Tyr Asp Gly Tyr Ser Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[1007]	100 105 110
[1008]	Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[1009]	115 120 125
[1010]	Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
[1011]	130 135 140
[1012]	Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[1013]	145 150 155 160

[1014]	Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[1015]	165 170 175
[1016]	Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[1017]	180 185 190
[1018]	Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
[1019]	195 200 205
[1020]	Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val
[1021]	210 215 220
[1022]	Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
[1023]	225 230 235 240
[1024]	Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
[1025]	245 250 255
[1026]	Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
[1027]	260 265 270
[1028]	Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
[1029]	275 280 285
[1030]	Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val
[1031]	290 295 300
[1032]	Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
[1033]	305 310 315 320
[1034]	Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
[1035]	325 330 335
[1036]	Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
[1037]	340 345 350
[1038]	Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
[1039]	355 360 365
[1040]	Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
[1041]	370 375 380
[1042]	Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
[1043]	385 390 395 400
[1044]	Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
[1045]	405 410 415
[1046]	Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
[1047]	420 425 430
[1048]	Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1049]	435 440 445
[1050]	<210> 45
[1051]	<211> 120
[1052]	<212> PRT

[1053] <213> 人工序列
 [1054] <220>
 [1055] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [1056] <400> 45
 [1057] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 [1058] 1 5 10 15
 [1059] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 [1060] 20 25 30
 [1061] Ser Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 [1062] 35 40 45
 [1063] Gly Ala Ile His Leu Asn Thr Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
 [1064] 50 55 60
 [1065] Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 [1066] 65 70 75 80
 [1067] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 [1068] 85 90 95
 [1069] Ala Arg Gly Phe Tyr Asp Gly Tyr Ser Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 [1070] 100 105 110
 [1071] Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 [1072] 115 120
 [1073] <210> 46
 [1074] <211> 17
 [1075] <212> PRT
 [1076] <213> 人工序列
 [1077] <220>
 [1078] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [1079] <400> 46
 [1080] Ala Ile His Leu Asn Thr Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 [1081] 1 5 10 15
 [1082] Gly
 [1083] <210> 47
 [1084] <211> 11
 [1085] <212> PRT
 [1086] <213> 人工序列
 [1087] <220>
 [1088] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [1089] <400> 47
 [1090] Gly Phe Tyr Asp Gly Tyr Ser Pro Met Asp Tyr
 [1091] 1 5 10

[1131]	Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
[1132]	260 265 270
[1133]	Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
[1134]	275 280 285
[1135]	Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
[1136]	290 295 300
[1137]	Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
[1138]	305 310 315 320
[1139]	Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
[1140]	325 330 335
[1141]	Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
[1142]	340 345 350
[1143]	Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
[1144]	355 360 365
[1145]	Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
[1146]	370 375 380
[1147]	Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
[1148]	385 390 395 400
[1149]	Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
[1150]	405 410 415
[1151]	Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
[1152]	420 425 430
[1153]	Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
[1154]	435 440 445
[1155]	Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
[1156]	450 455 460
[1157]	Lys
[1158]	465
[1159]	<210> 49
[1160]	<211> 446
[1161]	<212> PRT
[1162]	<213> 人工序列
[1163]	<220>
[1164]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[1165]	<400> 49
[1166]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[1167]	1 5 10 15
[1168]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[1169]	20 25 30

[1170]	Ser Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[1171]	35 40 45
[1172]	Gly Ala Ile His Leu Asn Thr Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
[1173]	50 55 60
[1174]	Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
[1175]	65 70 75 80
[1176]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1177]	85 90 95
[1178]	Ala Arg Gly Phe Tyr Asp Gly Tyr Ser Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[1179]	100 105 110
[1180]	Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[1181]	115 120 125
[1182]	Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
[1183]	130 135 140
[1184]	Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[1185]	145 150 155 160
[1186]	Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[1187]	165 170 175
[1188]	Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[1189]	180 185 190
[1190]	Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
[1191]	195 200 205
[1192]	Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val
[1193]	210 215 220
[1194]	Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
[1195]	225 230 235 240
[1196]	Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
[1197]	245 250 255
[1198]	Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
[1199]	260 265 270
[1200]	Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
[1201]	275 280 285
[1202]	Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
[1203]	290 295 300
[1204]	Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
[1205]	305 310 315 320
[1206]	Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
[1207]	325 330 335
[1208]	Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

[1209]	340	345	350
[1210]	Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val		
[1211]	355	360	365
[1212]	Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly		
[1213]	370	375	380
[1214]	Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp		
[1215]	385	390	395
[1216]	Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp		
[1217]	405	410	415
[1218]	Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His		
[1219]	420	425	430
[1220]	Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		
[1221]	435	440	445
[1222]	<210> 50		
[1223]	<211> 8		
[1224]	<212> PRT		
[1225]	<213> 人工序列		
[1226]	<220>		
[1227]	<223> 人工序列的描述: 合成的Flag标签		
[1228]	<400> 50		
[1229]	Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys		
[1230]	1	5	
[1231]	<210> 51		
[1232]	<211> 73		
[1233]	<212> PRT		
[1234]	<213> 小鼠属		
[1235]	<400> 51		
[1236]	Leu Arg Gln Lys Ile Glu Glu Gln Ala Ala Lys Tyr Lys His Ser Val		
[1237]	1	5	10
[1238]	Pro Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Ala Arg Val Asn Phe Tyr Glu Thr		
[1239]	20	25	30
[1240]	Cys Glu Glu Arg Val Ala Arg Val Thr Ile Gly Pro Leu Cys Ile Arg		
[1241]	35	40	45
[1242]	Ala Phe Asn Glu Cys Cys Thr Ile Ala Asn Lys Ile Arg Lys Glu Ser		
[1243]	50	55	60
[1244]	Pro His Lys Pro Val Gln Leu Gly Arg		
[1245]	65	70	
[1246]	<210> 52		
[1247]	<211> 72		

[1248] <212> PRT
 [1249] <213> 小鼠属
 [1250] <400> 52
 [1251] Leu Arg Gln Lys Ile Glu Glu Gln Ala Ala Lys Tyr Lys His Ser Val
 [1252] 1 5 10 15
 [1253] Pro Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Ala Arg Val Asn Phe Tyr Glu Thr
 [1254] 20 25 30
 [1255] Cys Glu Glu Arg Val Ala Arg Val Thr Ile Gly Pro Leu Cys Ile Arg
 [1256] 35 40 45
 [1257] Ala Phe Asn Glu Cys Cys Thr Ile Ala Asn Lys Ile Arg Lys Glu Ser
 [1258] 50 55 60
 [1259] Pro His Lys Pro Val Gln Leu Gly
 [1260] 65 70
 [1261] <210> 53
 [1262] <211> 107
 [1263] <212> PRT
 [1264] <213> 人工序列
 [1265] <220>
 [1266] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [1267] <400> 53
 [1268] Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Leu Gly
 [1269] 1 5 10 15
 [1270] Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Ile
 [1271] 20 25 30
 [1272] Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Asp Ala Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
 [1273] 35 40 45
 [1274] Tyr Thr Ser Asn Leu Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 [1275] 50 55 60
 [1276] Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Gly Glu
 [1277] 65 70 75 80
 [1278] Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Thr Ser Ser Pro Leu Thr
 [1279] 85 90 95
 [1280] Phe Gly Val Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
 [1281] 100 105
 [1282] <210> 54
 [1283] <211> 10
 [1284] <212> PRT
 [1285] <213> 人工序列
 [1286] <220>

[1287]	<223>	人工序列的描述: 合成肽
[1288]	<400>	54
[1289]		Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Ile Tyr
[1290]	1	5 10
[1291]	<210>	55
[1292]	<211>	7
[1293]	<212>	PRT
[1294]	<213>	人工序列
[1295]	<220>	
[1296]	<223>	人工序列的描述: 合成肽
[1297]	<400>	55
[1298]		Tyr Thr Ser Asn Leu Ala Pro
[1299]	1	5
[1300]	<210>	56
[1301]	<211>	9
[1302]	<212>	PRT
[1303]	<213>	人工序列
[1304]	<220>	
[1305]	<223>	人工序列的描述: 合成肽
[1306]	<400>	56
[1307]		Gln Gln Phe Thr Ser Ser Pro Leu Thr
[1308]	1	5
[1309]	<210>	57
[1310]	<211>	106
[1311]	<212>	PRT
[1312]	<213>	小鼠属
[1313]	<400>	57
[1314]		Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
[1315]	1	5 10 15
[1316]		Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
[1317]		20 25 30
[1318]		Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
[1319]		35 40 45
[1320]		Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
[1321]		50 55 60
[1322]		Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg
[1323]		65 70 75 80
[1324]		His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
[1325]		85 90 95

[1326]	Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
[1327]	100 105
[1328]	<210> 58
[1329]	<211> 19
[1330]	<212> PRT
[1331]	<213> 人工序列
[1332]	<220>
[1333]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[1334]	<400> 58
[1335]	Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
[1336]	1 5 10 15
[1337]	Val His Ser
[1338]	<210> 59
[1339]	<211> 214
[1340]	<212> PRT
[1341]	<213> 人工序列
[1342]	<220>
[1343]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[1344]	<400> 59
[1345]	Arg Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Leu
[1346]	1 5 10 15
[1347]	Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr
[1348]	20 25 30
[1349]	Ile Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Asp Ala Ser Pro Lys Leu Trp Ile
[1350]	35 40 45
[1351]	Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
[1352]	50 55 60
[1353]	Ser Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Gly
[1354]	65 70 75 80
[1355]	Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Thr Ser Ser Pro Leu
[1356]	85 90 95
[1357]	Thr Phe Gly Val Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala
[1358]	100 105 110
[1359]	Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
[1360]	115 120 125
[1361]	Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
[1362]	130 135 140
[1363]	Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
[1364]	145 150 155 160

[1404]	Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His
[1405]	195 200 205
[1406]	Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile
[1407]	210 215 220
[1408]	Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
[1409]	225 230
[1410]	<210> 61
[1411]	<211> 121
[1412]	<212> PRT
[1413]	<213> 人工序列
[1414]	<220>
[1415]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[1416]	<400> 61
[1417]	Leu Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly
[1418]	1 5 10 15
[1419]	Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp
[1420]	20 25 30
[1421]	Tyr Tyr Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu
[1422]	35 40 45
[1423]	Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Asn Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gln
[1424]	50 55 60
[1425]	Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr
[1426]	65 70 75 80
[1427]	Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr
[1428]	85 90 95
[1429]	Tyr Cys Ala Arg Pro Tyr Tyr Ser Asp Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly
[1430]	100 105 110
[1431]	Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
[1432]	115 120
[1433]	<210> 62
[1434]	<211> 6
[1435]	<212> PRT
[1436]	<213> 人工序列
[1437]	<220>
[1438]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[1439]	<400> 62
[1440]	Asp Tyr Tyr Tyr Ile Asn
[1441]	1 5
[1442]	<210> 63

- [1443] <211> 17
 [1444] <212> PRT
 [1445] <213> 人工序列
 [1446] <220>
 [1447] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [1448] <400> 63
 [1449] Tyr Ile Tyr Pro Asn Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 [1450] 1 5 10 15
 [1451] Gly
 [1452] <210> 64
 [1453] <211> 10
 [1454] <212> PRT
 [1455] <213> 人工序列
 [1456] <220>
 [1457] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [1458] <400> 64
 [1459] Pro Tyr Tyr Ser Asp Tyr Gly Met Asp Tyr
 [1460] 1 5 10
 [1461] <210> 65
 [1462] <211> 19
 [1463] <212> PRT
 [1464] <213> 人工序列
 [1465] <220>
 [1466] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [1467] <400> 65
 [1468] Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 [1469] 1 5 10 15
 [1470] Val His Ser
 [1471] <210> 66
 [1472] <211> 121
 [1473] <212> PRT
 [1474] <213> 人工序列
 [1475] <220>
 [1476] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [1477] <400> 66
 [1478] Leu Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly
 [1479] 1 5 10 15
 [1480] Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp
 [1481] 20 25 30

[1482] Tyr Tyr Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu
 [1483] 35 40 45
 [1484] Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Asn Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gln
 [1485] 50 55 60
 [1486] Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr
 [1487] 65 70 75 80
 [1488] Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr
 [1489] 85 90 95
 [1490] Tyr Cys Ala Arg Pro Tyr Tyr Ser Asp Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly
 [1491] 100 105 110
 [1492] Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 [1493] 115 120
 [1494] <210> 67
 [1495] <211> 17
 [1496] <212> PRT
 [1497] <213> 人工序列
 [1498] <220>
 [1499] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [1500] <400> 67
 [1501] Ala Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ser Gln Lys Phe Lys
 [1502] 1 5 10 15
 [1503] Asp
 [1504] <210> 68
 [1505] <211> 30
 [1506] <212> PRT
 [1507] <213> 人工序列
 [1508] <220>
 [1509] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [1510] <400> 68
 [1511] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 [1512] 1 5 10 15
 [1513] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 [1514] 20 25 30
 [1515] <210> 69
 [1516] <211> 30
 [1517] <212> PRT
 [1518] <213> 人工序列
 [1519] <220>
 [1520] <223> 人工序列的描述: 合成多肽

- [1521] <400> 69
 [1522] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 [1523] 1 5 10 15
 [1524] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 [1525] 20 25 30
 [1526] <210> 70
 [1527] <211> 14
 [1528] <212> PRT
 [1529] <213> 人工序列
 [1530] <220>
 [1531] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [1532] <400> 70
 [1533] Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
 [1534] 1 5 10
 [1535] <210> 71
 [1536] <211> 14
 [1537] <212> PRT
 [1538] <213> 人工序列
 [1539] <220>
 [1540] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [1541] <400> 71
 [1542] Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly
 [1543] 1 5 10
 [1544] <210> 72
 [1545] <211> 32
 [1546] <212> PRT
 [1547] <213> 人工序列
 [1548] <220>
 [1549] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [1550] <400> 72
 [1551] Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 [1552] 1 5 10 15
 [1553] Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 [1554] 20 25 30
 [1555] <210> 73
 [1556] <211> 32
 [1557] <212> PRT
 [1558] <213> 人工序列
 [1559] <220>

- [1560] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [1561] <400> 73
 [1562] Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 [1563] 1 5 10 15
 [1564] Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 [1565] 20 25 30
 [1566] <210> 74
 [1567] <211> 32
 [1568] <212> PRT
 [1569] <213> 人工序列
 [1570] <220>
 [1571] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [1572] <400> 74
 [1573] Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Arg Ser Met Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 [1574] 1 5 10 15
 [1575] Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg
 [1576] 20 25 30
 [1577] <210> 75
 [1578] <211> 11
 [1579] <212> PRT
 [1580] <213> 人工序列
 [1581] <220>
 [1582] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [1583] <400> 75
 [1584] Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 [1585] 1 5 10
 [1586] <210> 76
 [1587] <211> 120
 [1588] <212> PRT
 [1589] <213> 人工序列
 [1590] <220>
 [1591] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [1592] <400> 76
 [1593] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 [1594] 1 5 10 15
 [1595] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 [1596] 20 25 30
 [1597] Ser Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 [1598] 35 40 45

[1599]	Gly Ala Ile His Leu Asn Thr Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
[1600]	50 55 60
[1601]	Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[1602]	65 70 75 80
[1603]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1604]	85 90 95
[1605]	Ala Arg Gly Phe Tyr Asp Gly Tyr Ser Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[1606]	100 105 110
[1607]	Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
[1608]	115 120
[1609]	<210> 77
[1610]	<211> 120
[1611]	<212> PRT
[1612]	<213> 人工序列
[1613]	<220>
[1614]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[1615]	<400> 77
[1616]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[1617]	1 5 10 15
[1618]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[1619]	20 25 30
[1620]	Ser Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
[1621]	35 40 45
[1622]	Gly Ala Ile His Leu Asn Thr Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
[1623]	50 55 60
[1624]	Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[1625]	65 70 75 80
[1626]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1627]	85 90 95
[1628]	Ala Arg Gly Phe Tyr Asp Gly Tyr Ser Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[1629]	100 105 110
[1630]	Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
[1631]	115 120
[1632]	<210> 78
[1633]	<211> 120
[1634]	<212> PRT
[1635]	<213> 人工序列
[1636]	<220>
[1637]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽

[1638] <400> 78
 [1639] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 [1640] 1 5 10 15
 [1641] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 [1642] 20 25 30
 [1643] Ser Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 [1644] 35 40 45
 [1645] Gly Ala Ile His Leu Asn Thr Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
 [1646] 50 55 60
 [1647] Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 [1648] 65 70 75 80
 [1649] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 [1650] 85 90 95
 [1651] Ala Arg Gly Phe Tyr Asp Gly Tyr Ser Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 [1652] 100 105 110
 [1653] Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 [1654] 115 120
 [1655] <210> 79
 [1656] <211> 120
 [1657] <212> PRT
 [1658] <213> 人工序列
 [1659] <220>
 [1660] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [1661] <400> 79
 [1662] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 [1663] 1 5 10 15
 [1664] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 [1665] 20 25 30
 [1666] Ser Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 [1667] 35 40 45
 [1668] Gly Ala Ile His Leu Asn Thr Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
 [1669] 50 55 60
 [1670] Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 [1671] 65 70 75 80
 [1672] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 [1673] 85 90 95
 [1674] Ala Arg Gly Phe Tyr Asp Gly Tyr Ser Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 [1675] 100 105 110
 [1676] Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

[1677]	115	120
[1678]	<210> 80	
[1679]	<211> 121	
[1680]	<212> PRT	
[1681]	<213> 人工序列	
[1682]	<220>	
[1683]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽	
[1684]	<400> 80	
[1685]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[1686]	1 5 10 15	
[1687]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr	
[1688]	20 25 30	
[1689]	Ser Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val	
[1690]	35 40 45	
[1691]	Gly Ala Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ser Gln Lys Phe	
[1692]	50 55 60	
[1693]	Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr	
[1694]	65 70 75 80	
[1695]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1696]	85 90 95	
[1697]	Ala Arg Ser Gly Ser Tyr Asp Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly	
[1698]	100 105 110	
[1699]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
[1700]	115 120	
[1701]	<210> 81	
[1702]	<211> 6	
[1703]	<212> PRT	
[1704]	<213> 人工序列	
[1705]	<220>	
[1706]	<223> 人工序列的描述: 合成的	
[1707]	6xHis tag	
[1708]	<400> 81	
[1709]	His His His His His His	
[1710]	1 5	
[1711]	<210> 82	
[1712]	<211> 9	
[1713]	<212> PRT	
[1714]	<213> 人工序列	
[1715]	<220>	

- [1716] <223> 人工序列的描述: 合成的
 [1717] HA tag
 [1718] <400> 82
 [1719] Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
 [1720] 1 5
 [1721] <210> 83
 [1722] <211> 108
 [1723] <212> PRT
 [1724] <213> 人工序列
 [1725] <220>
 [1726] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [1727] <400> 83
 [1728] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 [1729] 1 5 10 15
 [1730] Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
 [1731] 20 25 30
 [1732] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
 [1733] 35 40 45
 [1734] Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 [1735] 50 55 60
 [1736] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
 [1737] 65 70 75 80
 [1738] Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Phe
 [1739] 85 90 95
 [1740] Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 [1741] 100 105
 [1742] <210> 84
 [1743] <211> 11
 [1744] <212> PRT
 [1745] <213> 人工序列
 [1746] <220>
 [1747] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [1748] <400> 84
 [1749] Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala
 [1750] 1 5 10
 [1751] <210> 85
 [1752] <211> 7
 [1753] <212> PRT
 [1754] <213> 人工序列

[1755] <220>
 [1756] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [1757] <400> 85
 [1758] Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
 [1759] 1 5
 [1760] <210> 86
 [1761] <211> 9
 [1762] <212> PRT
 [1763] <213> 人工序列
 [1764] <220>
 [1765] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [1766] <400> 86
 [1767] Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Phe Thr
 [1768] 1 5
 [1769] <210> 87
 [1770] <211> 107
 [1771] <212> PRT
 [1772] <213> 人工序列
 [1773] <220>
 [1774] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [1775] <400> 87
 [1776] Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
 [1777] 1 5 10 15
 [1778] Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 [1779] 20 25 30
 [1780] His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
 [1781] 35 40 45
 [1782] Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 [1783] 50 55 60
 [1784] Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
 [1785] 65 70 75 80
 [1786] Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr
 [1787] 85 90 95
 [1788] Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
 [1789] 100 105
 [1790] <210> 88
 [1791] <211> 10
 [1792] <212> PRT
 [1793] <213> 人工序列

- [1794] <220>
- [1795] <223> 人工序列的描述: 合成肽
- [1796] <400> 88
- [1797] Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
- [1798] 1 5 10
- [1799] <210> 89
- [1800] <211> 7
- [1801] <212> PRT
- [1802] <213> 人工序列
- [1803] <220>
- [1804] <223> 人工序列的描述: 合成肽
- [1805] <400> 89
- [1806] Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
- [1807] 1 5
- [1808] <210> 90
- [1809] <211> 9
- [1810] <212> PRT
- [1811] <213> 人工序列
- [1812] <220>
- [1813] <223> 人工序列的描述: 合成肽
- [1814] <400> 90
- [1815] Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr
- [1816] 1 5
- [1817] <210> 91
- [1818] <211> 107
- [1819] <212> PRT
- [1820] <213> 人工序列
- [1821] <220>
- [1822] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
- [1823] <400> 91
- [1824] Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
- [1825] 1 5 10 15
- [1826] Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met
- [1827] 20 25 30
- [1828] His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
- [1829] 35 40 45
- [1830] Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
- [1831] 50 55 60
- [1832] Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

[1833]	65	70	75	80
[1834]	Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Trp Thr			
[1835]		85	90	95
[1836]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg			
[1837]		100	105	
[1838]	<210> 92			
[1839]	<211> 10			
[1840]	<212> PRT			
[1841]	<213> 人工序列			
[1842]	<220>			
[1843]	<223> 人工序列的描述: 合成肽			
[1844]	<400> 92			
[1845]	Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met His			
[1846]	1	5	10	
[1847]	<210> 93			
[1848]	<211> 9			
[1849]	<212> PRT			
[1850]	<213> 人工序列			
[1851]	<220>			
[1852]	<223> 人工序列的描述: 合成肽			
[1853]	<400> 93			
[1854]	His Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Trp Thr			
[1855]	1	5		
[1856]	<210> 94			
[1857]	<211> 109			
[1858]	<212> PRT			
[1859]	<213> 人工序列			
[1860]	<220>			
[1861]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽			
[1862]	<400> 94			
[1863]	Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly			
[1864]	1	5	10	15
[1865]	Glu Lys Val Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser			
[1866]		20	25	30
[1867]	Tyr Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Leu Trp			
[1868]		35	40	45
[1869]	Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser			
[1870]		50	55	60
[1871]	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Thr Val Glu			

[1872]	65	70	75	80
[1873]	Ala Glu Asp Ala Ala Ser Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro			
[1874]		85	90	95
[1875]	Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg			
[1876]		100	105	
[1877]	<210>	95		
[1878]	<211>	12		
[1879]	<212>	PRT		
[1880]	<213>	人工序列		
[1881]	<220>			
[1882]	<223>	人工序列的描述: 合成肽		
[1883]	<400>	95		
[1884]	Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Tyr			
[1885]	1	5	10	
[1886]	<210>	96		
[1887]	<211>	7		
[1888]	<212>	PRT		
[1889]	<213>	人工序列		
[1890]	<220>			
[1891]	<223>	人工序列的描述: 合成肽		
[1892]	<400>	96		
[1893]	Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser			
[1894]	1	5		
[1895]	<210>	97		
[1896]	<211>	9		
[1897]	<212>	PRT		
[1898]	<213>	人工序列		
[1899]	<220>			
[1900]	<223>	人工序列的描述: 合成肽		
[1901]	<400>	97		
[1902]	His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Pro Thr			
[1903]	1	5		
[1904]	<210>	98		
[1905]	<211>	108		
[1906]	<212>	PRT		
[1907]	<213>	人工序列		
[1908]	<220>			
[1909]	<223>	人工序列的描述: 合成多肽		
[1910]	<400>	98		

[1950]	Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Arg Thr
[1951]	1 5
[1952]	<210> 102
[1953]	<211> 108
[1954]	<212> PRT
[1955]	<213> 人工序列
[1956]	<220>
[1957]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[1958]	<400> 102
[1959]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
[1960]	1 5 10 15
[1961]	Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
[1962]	20 25 30
[1963]	Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
[1964]	35 40 45
[1965]	Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
[1966]	50 55 60
[1967]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
[1968]	65 70 75 80
[1969]	Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp
[1970]	85 90 95
[1971]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
[1972]	100 105
[1973]	<210> 103
[1974]	<211> 9
[1975]	<212> PRT
[1976]	<213> 人工序列
[1977]	<220>
[1978]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[1979]	<400> 103
[1980]	Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
[1981]	1 5
[1982]	<210> 104
[1983]	<211> 107
[1984]	<212> PRT
[1985]	<213> 人工序列
[1986]	<220>
[1987]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[1988]	<400> 104

[2028]	Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Pro Thr
[2029]	1 5
[2030]	<210> 108
[2031]	<211> 9
[2032]	<212> PRT
[2033]	<213> 人工序列
[2034]	<220>
[2035]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[2036]	<400> 108
[2037]	His Gln Arg Arg Ser Tyr Pro Trp Thr
[2038]	1 5
[2039]	<210> 109
[2040]	<211> 112
[2041]	<212> PRT
[2042]	<213> 人工序列
[2043]	<220>
[2044]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[2045]	<400> 109
[2046]	Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
[2047]	1 5 10 15
[2048]	Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
[2049]	20 25 30
[2050]	Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
[2051]	35 40 45
[2052]	Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
[2053]	50 55 60
[2054]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp
[2055]	65 70 75 80
[2056]	Pro Val Glu Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn
[2057]	85 90 95
[2058]	Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
[2059]	100 105 110
[2060]	<210> 110
[2061]	<211> 7
[2062]	<212> PRT
[2063]	<213> 人工序列
[2064]	<220>
[2065]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[2066]	<400> 110

- [2145] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [2146] <400> 116
 [2147] Tyr Ile Phe Pro Lys Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Ser Gln Arg Phe Lys
 [2148] 1 5 10 15
 [2149] Gly
 [2150] <210> 117
 [2151] <211> 5
 [2152] <212> PRT
 [2153] <213> 人工序列
 [2154] <220>
 [2155] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [2156] <400> 117
 [2157] Gly Pro Phe Ala Tyr
 [2158] 1 5
 [2159] <210> 118
 [2160] <211> 118
 [2161] <212> PRT
 [2162] <213> 人工序列
 [2163] <220>
 [2164] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [2165] <400> 118
 [2166] Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 [2167] 1 5 10 15
 [2168] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Ser Tyr
 [2169] 20 25 30
 [2170] Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val
 [2171] 35 40 45
 [2172] Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Asn Val
 [2173] 50 55 60
 [2174] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 [2175] 65 70 75 80
 [2176] Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 [2177] 85 90 95
 [2178] Thr Arg Tyr Tyr Glu Asp Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 [2179] 100 105 110
 [2180] Ser Val Thr Val Ser Ser
 [2181] 115
 [2182] <210> 119
 [2183] <211> 5

[2223]	Ile Gly Tyr Ile Phe Pro Lys Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Arg
[2224]	50 55 60
[2225]	Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala
[2226]	65 70 75 80
[2227]	Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr
[2228]	85 90 95
[2229]	Cys Ala Ser Gly Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[2230]	100 105 110
[2231]	Val Ser Ala
[2232]	115
[2233]	<210> 123
[2234]	<211> 17
[2235]	<212> PRT
[2236]	<213> 人工序列
[2237]	<220>
[2238]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[2239]	<400> 123
[2240]	Tyr Ile Phe Pro Lys Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Arg Phe Lys
[2241]	1 5 10 15
[2242]	Gly
[2243]	<210> 124
[2244]	<211> 17
[2245]	<212> PRT
[2246]	<213> 人工序列
[2247]	<220>
[2248]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[2249]	<400> 124
[2250]	Tyr Ile Phe Pro Asn Thr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Arg Phe Lys
[2251]	1 5 10 15
[2252]	Gly
[2253]	<210> 125
[2254]	<211> 118
[2255]	<212> PRT
[2256]	<213> 人工序列
[2257]	<220>
[2258]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[2259]	<400> 125
[2260]	Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
[2261]	1 5 10 15

[2262]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
[2263]	20 25 30
[2264]	Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val
[2265]	35 40 45
[2266]	Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Arg Asp Asn Val
[2267]	50 55 60
[2268]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
[2269]	65 70 75 80
[2270]	Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[2271]	85 90 95
[2272]	Thr Arg Tyr Phe Glu Asp Tyr Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
[2273]	100 105 110
[2274]	Ser Val Thr Val Ser Ser
[2275]	115
[2276]	<210> 126
[2277]	<211> 17
[2278]	<212> PRT
[2279]	<213> 人工序列
[2280]	<220>
[2281]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[2282]	<400> 126
[2283]	Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Arg Asp Asn Val Lys
[2284]	1 5 10 15
[2285]	Gly
[2286]	<210> 127
[2287]	<211> 9
[2288]	<212> PRT
[2289]	<213> 人工序列
[2290]	<220>
[2291]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[2292]	<400> 127
[2293]	Tyr Phe Glu Asp Tyr Pro Met Asp Tyr
[2294]	1 5
[2295]	<210> 128
[2296]	<211> 115
[2297]	<212> PRT
[2298]	<213> 人工序列
[2299]	<220>
[2300]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽

[2301] <400> 128
 [2302] Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Gly Lys Pro Gly Ala
 [2303] 1 5 10 15
 [2304] Ser Gly Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 [2305] 20 25 30
 [2306] Tyr Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp
 [2307] 35 40 45
 [2308] Ile Gly Tyr Ile Phe Pro Asn Thr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Arg
 [2309] 50 55 60
 [2310] Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala
 [2311] 65 70 75 80
 [2312] Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr
 [2313] 85 90 95
 [2314] Cys Ala Ser Gly Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 [2315] 100 105 110
 [2316] Val Ser Ala
 [2317] 115
 [2318] <210> 129
 [2319] <211> 17
 [2320] <212> PRT
 [2321] <213> 人工序列
 [2322] <220>
 [2323] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [2324] <400> 129
 [2325] Tyr Ile Phe Pro Asn Thr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Arg Phe Lys
 [2326] 1 5 10 15
 [2327] Asp
 [2328] <210> 130
 [2329] <211> 119
 [2330] <212> PRT
 [2331] <213> 人工序列
 [2332] <220>
 [2333] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [2334] <400> 130
 [2335] Glu Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ser Val Leu Val Arg Pro Gly Ala
 [2336] 1 5 10 15
 [2337] Thr Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Ser
 [2338] 20 25 30
 [2339] Trp Met His Trp Ala Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

[2340]	35	40	45
[2341]	Gly Glu Ile His Thr Ser Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys		
[2342]	50	55	60
[2343]	Gly Lys Ala Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Val		
[2344]	65	70	75 80
[2345]	Asp Ile Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
[2346]	85	90	95
[2347]	Arg Gly Gly Leu Arg Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly		
[2348]	100	105	110
[2349]	Thr Ser Val Thr Val Ser Ser		
[2350]	115		
[2351]	<210> 131		
[2352]	<211> 5		
[2353]	<212> PRT		
[2354]	<213> 人工序列		
[2355]	<220>		
[2356]	<223> 人工序列的描述: 合成肽		
[2357]	<400> 131		
[2358]	Ser Ser Trp Met His		
[2359]	1 5		
[2360]	<210> 132		
[2361]	<211> 16		
[2362]	<212> PRT		
[2363]	<213> 人工序列		
[2364]	<220>		
[2365]	<223> 人工序列的描述: 合成肽		
[2366]	<400> 132		
[2367]	Glu Ile His Thr Ser Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly		
[2368]	1 5 10 15		
[2369]	<210> 133		
[2370]	<211> 11		
[2371]	<212> PRT		
[2372]	<213> 人工序列		
[2373]	<220>		
[2374]	<223> 人工序列的描述: 合成肽		
[2375]	<400> 133		
[2376]	Gly Gly Leu Arg Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr		
[2377]	1 5 10		
[2378]	<210> 134		

[2379]	<211>	120
[2380]	<212>	PRT
[2381]	<213>	人工序列
[2382]	<220>	
[2383]	<223>	人工序列的描述: 合成多肽
[2384]	<400>	134
[2385]	Glu Val Gln Pro Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ser	
[2386]	1	5 10 15
[2387]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr	
[2388]		20 25 30
[2389]	Ser Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile	
[2390]		35 40 45
[2391]	Gly Ala Ile His Leu Asn Thr Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe	
[2392]		50 55 60
[2393]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr	
[2394]		65 70 75 80
[2395]	Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys	
[2396]		85 90 95
[2397]	Ala Arg Gly Phe Tyr Asp Gly Tyr Ser Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln	
[2398]		100 105 110
[2399]	Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser	
[2400]		115 120
[2401]	<210>	135
[2402]	<211>	120
[2403]	<212>	PRT
[2404]	<213>	人工序列
[2405]	<220>	
[2406]	<223>	人工序列的描述: 合成多肽
[2407]	<400>	135
[2408]	Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr	
[2409]	1	5 10 15
[2410]	Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr	
[2411]		20 25 30
[2412]	Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Tyr Ile	
[2413]		35 40 45
[2414]	Gly Glu Ile His Pro Ser Ser Gly His Thr Asn Tyr His Glu Lys Phe	
[2415]		50 55 60
[2416]	Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr	
[2417]		65 70 75 80

[2418]	Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
[2419]	85 90 95
[2420]	Ala Arg Ala Ser Leu Leu Arg Ala Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[2421]	100 105 110
[2422]	Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
[2423]	115 120
[2424]	<210> 136
[2425]	<211> 5
[2426]	<212> PRT
[2427]	<213> 人工序列
[2428]	<220>
[2429]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[2430]	<400> 136
[2431]	Ser Tyr Trp Met His
[2432]	1 5
[2433]	<210> 137
[2434]	<211> 17
[2435]	<212> PRT
[2436]	<213> 人工序列
[2437]	<220>
[2438]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[2439]	<400> 137
[2440]	Glu Ile His Pro Ser Ser Gly His Thr Asn Tyr His Glu Lys Phe Lys
[2441]	1 5 10 15
[2442]	Ser
[2443]	<210> 138
[2444]	<211> 11
[2445]	<212> PRT
[2446]	<213> 人工序列
[2447]	<220>
[2448]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[2449]	<400> 138
[2450]	Ala Ser Leu Leu Arg Ala Tyr Ala Met Asp Tyr
[2451]	1 5 10
[2452]	<210> 139
[2453]	<211> 109
[2454]	<212> PRT
[2455]	<213> 人工序列
[2456]	<220>

- [2457] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
- [2458] <400> 139
- [2459] Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
- [2460] 1 5 10 15
- [2461] Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
- [2462] 20 25 30
- [2463] Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Ala Ser Pro Lys Leu Trp
- [2464] 35 40 45
- [2465] Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
- [2466] 50 55 60
- [2467] Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu
- [2468] 65 70 75 80
- [2469] Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro
- [2470] 85 90 95
- [2471] Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
- [2472] 100 105
- [2473] <210> 140
- [2474] <211> 12
- [2475] <212> PRT
- [2476] <213> 人工序列
- [2477] <220>
- [2478] <223> 人工序列的描述: 合成肽
- [2479] <400> 140
- [2480] Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu His
- [2481] 1 5 10
- [2482] <210> 141
- [2483] <211> 107
- [2484] <212> PRT
- [2485] <213> 人工序列
- [2486] <220>
- [2487] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
- [2488] <400> 141
- [2489] Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
- [2490] 1 5 10 15
- [2491] Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met
- [2492] 20 25 30
- [2493] His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
- [2494] 35 40 45
- [2495] Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser

[2496]	50	55	60
[2497]	Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu		
[2498]	65	70	75 80
[2499]	Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Arg Arg Ser Tyr Pro Trp Thr		
[2500]	85	90	95
[2501]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg		
[2502]	100	105	
[2503]	<210> 142		
[2504]	<211> 9		
[2505]	<212> PRT		
[2506]	<213> 人工序列		
[2507]	<220>		
[2508]	<223> 人工序列的描述: 合成肽		
[2509]	<400> 142		
[2510]	Gln Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro Leu Thr		
[2511]	1	5	
[2512]	<210> 143		
[2513]	<211> 115		
[2514]	<212> PRT		
[2515]	<213> 人工序列		
[2516]	<220>		
[2517]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽		
[2518]	<400> 143		
[2519]	Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala		
[2520]	1	5	10 15
[2521]	Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Asp Tyr		
[2522]	20	25	30
[2523]	Tyr Tyr Met Asn Trp Val Lys Lys Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp		
[2524]	35	40	45
[2525]	Ile Gly Tyr Ile Phe Pro Lys Thr Gly Gly Thr His Tyr Asn Gln Arg		
[2526]	50	55	60
[2527]	Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala		
[2528]	65	70	75 80
[2529]	Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr		
[2530]	85	90	95
[2531]	Cys Ala Ser Gly Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr		
[2532]	100	105	110
[2533]	Val Ser Ala		
[2534]	115		

[2574]	<400> 146
[2575]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
[2576]	1 5 10 15
[2577]	Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
[2578]	20 25 30
[2579]	Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
[2580]	35 40 45
[2581]	Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Ser Gly Ser
[2582]	50 55 60
[2583]	Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala Glu
[2584]	65 70 75 80
[2585]	Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Pro Thr
[2586]	85 90 95
[2587]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
[2588]	100 105
[2589]	<210> 147
[2590]	<211> 115
[2591]	<212> PRT
[2592]	<213> 人工序列
[2593]	<220>
[2594]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[2595]	<400> 147
[2596]	Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
[2597]	1 5 10 15
[2598]	Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Asp Tyr
[2599]	20 25 30
[2600]	Tyr Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp
[2601]	35 40 45
[2602]	Ile Gly Tyr Ile Phe Pro Lys Thr Gly Gly Thr His Tyr Asn Gln Arg
[2603]	50 55 60
[2604]	Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala
[2605]	65 70 75 80
[2606]	Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr
[2607]	85 90 95
[2608]	Cys Ala Ser Gly Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[2609]	100 105 110
[2610]	Val Ser Ala
[2611]	115
[2612]	<210> 148

[2613]	<211>	107
[2614]	<212>	PRT
[2615]	<213>	人工序列
[2616]	<220>	
[2617]	<223>	人工序列的描述: 合成多肽
[2618]	<400>	148
[2619]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly	
[2620]	1	5 10 15
[2621]	Glu Lys Val Thr Met Ile Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met	
[2622]		20 25 30
[2623]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr	
[2624]		35 40 45
[2625]	Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser	
[2626]		50 55 60
[2627]	Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ile Met Glu Ala Glu	
[2628]		65 70 75 80
[2629]	Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Trp Thr	
[2630]		85 90 95
[2631]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg	
[2632]		100 105
[2633]	<210>	149
[2634]	<211>	115
[2635]	<212>	PRT
[2636]	<213>	人工序列
[2637]	<220>	
[2638]	<223>	人工序列的描述: 合成多肽
[2639]	<400>	149
[2640]	Glu Val Gln Met Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala	
[2641]	1	5 10 15
[2642]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Asp Tyr	
[2643]		20 25 30
[2644]	Tyr Tyr Met Asn Trp Val Lys Lys Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp	
[2645]		35 40 45
[2646]	Ile Gly Tyr Ile Phe Pro Lys Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Arg	
[2647]		50 55 60
[2648]	Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala	
[2649]		65 70 75 80
[2650]	Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr	
[2651]		85 90 95

[2652]	Cys Ala Ser Gly Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[2653]	100 105 110
[2654]	Val Ser Ala
[2655]	115
[2656]	<210> 150
[2657]	<211> 109
[2658]	<212> PRT
[2659]	<213> 人工序列
[2660]	<220>
[2661]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[2662]	<400> 150
[2663]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
[2664]	1 5 10 15
[2665]	Glu Lys Val Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
[2666]	20 25 30
[2667]	Tyr Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Leu Trp
[2668]	35 40 45
[2669]	Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
[2670]	50 55 60
[2671]	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu
[2672]	65 70 75 80
[2673]	Ala Glu Asp Ala Ala Ser Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
[2674]	85 90 95
[2675]	Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
[2676]	100 105
[2677]	<210> 151
[2678]	<211> 109
[2679]	<212> PRT
[2680]	<213> 人工序列
[2681]	<220>
[2682]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[2683]	<400> 151
[2684]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
[2685]	1 5 10 15
[2686]	Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
[2687]	20 25 30
[2688]	Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Ala Ser Pro Lys Leu Trp
[2689]	35 40 45
[2690]	Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser

[2691]	50	55	60
[2692]	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu		
[2693]	65	70	75 80
[2694]	Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro		
[2695]	85	90	95
[2696]	Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg		
[2697]	100	105	
[2698]	<210> 152		
[2699]	<211> 115		
[2700]	<212> PRT		
[2701]	<213> 人工序列		
[2702]	<220>		
[2703]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽		
[2704]	<400> 152		
[2705]	Glu Val Arg Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala		
[2706]	1 5 10 15		
[2707]	Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Asp Tyr		
[2708]	20 25 30		
[2709]	Tyr Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp		
[2710]	35 40 45		
[2711]	Ile Gly Tyr Ile Phe Pro Lys Thr Gly Gly Thr His Tyr Asn Gln Arg		
[2712]	50 55 60		
[2713]	Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala		
[2714]	65 70 75 80		
[2715]	Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr		
[2716]	85 90 95		
[2717]	Cys Ala Ser Gly Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr		
[2718]	100 105 110		
[2719]	Val Ser Ala		
[2720]	115		
[2721]	<210> 153		
[2722]	<211> 112		
[2723]	<212> PRT		
[2724]	<213> 人工序列		
[2725]	<220>		
[2726]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽		
[2727]	<400> 153		
[2728]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly		
[2729]	1 5 10 15		

[2730]	Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
[2731]	20 25 30
[2732]	Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
[2733]	35 40 45
[2734]	Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
[2735]	50 55 60
[2736]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn
[2737]	65 70 75 80
[2738]	Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
[2739]	85 90 95
[2740]	Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
[2741]	100 105 110
[2742]	<210> 154
[2743]	<211> 121
[2744]	<212> PRT
[2745]	<213> 人工序列
[2746]	<220>
[2747]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽
[2748]	<400> 154
[2749]	Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ser
[2750]	1 5 10 15
[2751]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[2752]	20 25 30
[2753]	Ser Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
[2754]	35 40 45
[2755]	Gly Ala Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ser Gln Lys Phe
[2756]	50 55 60
[2757]	Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
[2758]	65 70 75 80
[2759]	Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
[2760]	85 90 95
[2761]	Ala Ser Ser Gly Ser Tyr Asp Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
[2762]	100 105 110
[2763]	Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
[2764]	115 120
[2765]	<210> 155
[2766]	<211> 108
[2767]	<212> PRT
[2768]	<213> 人工序列

[2769] <220>
 [2770] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [2771] <400> 155
 [2772] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 [2773] 1 5 10 15
 [2774] Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
 [2775] 20 25 30
 [2776] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
 [2777] 35 40 45
 [2778] Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 [2779] 50 55 60
 [2780] Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro
 [2781] 65 70 75 80
 [2782] Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Tyr
 [2783] 85 90 95
 [2784] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 [2785] 100 105
 [2786] <210> 156
 [2787] <211> 11
 [2788] <212> PRT
 [2789] <213> 人工序列
 [2790] <220>
 [2791] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [2792] <400> 156
 [2793] Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala
 [2794] 1 5 10
 [2795] <210> 157
 [2796] <211> 7
 [2797] <212> PRT
 [2798] <213> 人工序列
 [2799] <220>
 [2800] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [2801] <400> 157
 [2802] Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu
 [2803] 1 5
 [2804] <210> 158
 [2805] <211> 9
 [2806] <212> PRT
 [2807] <213> 人工序列

[2808] <220>
 [2809] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [2810] <400> 158
 [2811] Gln His His Tyr Gly Thr Pro Tyr Thr
 [2812] 1 5
 [2813] <210> 159
 [2814] <211> 122
 [2815] <212> PRT
 [2816] <213> 人工序列
 [2817] <220>
 [2818] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [2819] <400> 159
 [2820] Glu Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Ile Val Arg Pro Gly Ala
 [2821] 1 5 10 15
 [2822] Ser Val Lys Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 [2823] 20 25 30
 [2824] Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 [2825] 35 40 45
 [2826] Gly Thr Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe
 [2827] 50 55 60
 [2828] Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
 [2829] 65 70 75 80
 [2830] Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 [2831] 85 90 95
 [2832] Ala Arg Gly Glu Asp Tyr Asp Val Ser Ser Tyr Thr Met Asp Tyr Trp
 [2833] 100 105 110
 [2834] Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 [2835] 115 120
 [2836] <210> 160
 [2837] <211> 5
 [2838] <212> PRT
 [2839] <213> 人工序列
 [2840] <220>
 [2841] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [2842] <400> 160
 [2843] Asp Tyr Trp Met Asn
 [2844] 1 5
 [2845] <210> 161
 [2846] <211> 17

[2847] <212> PRT
 [2848] <213> 人工序列
 [2849] <220>
 [2850] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [2851] <400> 161
 [2852] Thr Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 [2853] 1 5 10 15
 [2854] Gly
 [2855] <210> 162
 [2856] <211> 13
 [2857] <212> PRT
 [2858] <213> 人工序列
 [2859] <220>
 [2860] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [2861] <400> 162
 [2862] Gly Glu Asp Tyr Asp Val Ser Ser Tyr Thr Met Asp Tyr
 [2863] 1 5 10
 [2864] <210> 163
 [2865] <211> 112
 [2866] <212> PRT
 [2867] <213> 人工序列
 [2868] <220>
 [2869] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [2870] <400> 163
 [2871] Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 [2872] 1 5 10 15
 [2873] Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Glu Ser Val Glu Tyr Phe
 [2874] 20 25 30
 [2875] Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 [2876] 35 40 45
 [2877] Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Val Glu Ser Gly Val Pro Ala
 [2878] 50 55 60
 [2879] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Asn Ile His
 [2880] 65 70 75 80
 [2881] Pro Val Glu Glu Asp Asp Ile Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Arg
 [2882] 85 90 95
 [2883] Lys Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 [2884] 100 105 110
 [2885] <210> 164

[2886]	<211>	15		
[2887]	<212>	PRT		
[2888]	<213>	人工序列		
[2889]	<220>			
[2890]	<223>	人工序列的描述: 合成肽		
[2891]	<400>	164		
[2892]		Ser Ala Ser Glu Ser Val Glu Tyr Phe Gly Thr Ser Leu Met Gln		
[2893]		1	5	10 15
[2894]	<210>	165		
[2895]	<211>	7		
[2896]	<212>	PRT		
[2897]	<213>	人工序列		
[2898]	<220>			
[2899]	<223>	人工序列的描述: 合成肽		
[2900]	<400>	165		
[2901]		Ala Ala Ser Asn Val Glu Ser		
[2902]		1	5	
[2903]	<210>	166		
[2904]	<211>	9		
[2905]	<212>	PRT		
[2906]	<213>	人工序列		
[2907]	<220>			
[2908]	<223>	人工序列的描述: 合成肽		
[2909]	<400>	166		
[2910]		Gln Gln Ser Arg Lys Val Pro Trp Thr		
[2911]		1	5	
[2912]	<210>	167		
[2913]	<211>	119		
[2914]	<212>	PRT		
[2915]	<213>	人工序列		
[2916]	<220>			
[2917]	<223>	人工序列的描述: 合成多肽		
[2918]	<400>	167		
[2919]		Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[2920]		1	5	10 15
[2921]		Ser Arg Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr		
[2922]			20	25 30
[2923]		Gly Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[2924]			35	40 45

[2925]	Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
[2926]	50 55 60
[2927]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Pro Lys Asn Thr Leu Phe
[2928]	65 70 75 80
[2929]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
[2930]	85 90 95
[2931]	Gly Arg Ala Phe Ser Phe Tyr Tyr Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[2932]	100 105 110
[2933]	Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
[2934]	115
[2935]	<210> 168
[2936]	<211> 5
[2937]	<212> PRT
[2938]	<213> 人工序列
[2939]	<220>
[2940]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[2941]	<400> 168
[2942]	Asp Tyr Gly Met Val
[2943]	1 5
[2944]	<210> 169
[2945]	<211> 17
[2946]	<212> PRT
[2947]	<213> 人工序列
[2948]	<220>
[2949]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[2950]	<400> 169
[2951]	Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val Lys
[2952]	1 5 10 15
[2953]	Gly
[2954]	<210> 170
[2955]	<211> 10
[2956]	<212> PRT
[2957]	<213> 人工序列
[2958]	<220>
[2959]	<223> 人工序列的描述: 合成肽
[2960]	<400> 170
[2961]	Ala Phe Ser Phe Tyr Tyr Gly Tyr Asp Tyr
[2962]	1 5 10
[2963]	<210> 171

[2964] <211> 113
 [2965] <212> PRT
 [2966] <213> 人工序列
 [2967] <220>
 [2968] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [2969] <400> 171
 [2970] Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 [2971] 1 5 10 15
 [2972] Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 [2973] 20 25 30
 [2974] Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 [2975] 35 40 45
 [2976] Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 [2977] 50 55 60
 [2978] Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 [2979] 65 70 75 80
 [2980] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
 [2981] 85 90 95
 [2982] Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 [2983] 100 105 110
 [2984] Arg
 [2985] <210> 172
 [2986] <211> 16
 [2987] <212> PRT
 [2988] <213> 人工序列
 [2989] <220>
 [2990] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [2991] <400> 172
 [2992] Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
 [2993] 1 5 10 15
 [2994] <210> 173
 [2995] <211> 7
 [2996] <212> PRT
 [2997] <213> 人工序列
 [2998] <220>
 [2999] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [3000] <400> 173
 [3001] Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 [3002] 1 5

- [3003] <210> 174
 [3004] <211> 9
 [3005] <212> PRT
 [3006] <213> 人工序列
 [3007] <220>
 [3008] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [3009] <400> 174
 [3010] Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr
 [3011] 1 5
 [3012] <210> 175
 [3013] <211> 126
 [3014] <212> PRT
 [3015] <213> 人工序列
 [3016] <220>
 [3017] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [3018] <400> 175
 [3019] Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 [3020] 1 5 10 15
 [3021] Ser Val Arg Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 [3022] 20 25 30
 [3023] Leu Ile His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 [3024] 35 40 45
 [3025] Gly Tyr Ile Tyr Pro Phe Asn Asp Gly Thr Lys Asn Asn Glu Asn Phe
 [3026] 50 55 60
 [3027] Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr
 [3028] 65 70 75 80
 [3029] Met Glu Val Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 [3030] 85 90 95
 [3031] Ala Arg Ser His Gly Pro His Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Gly Tyr His
 [3032] 100 105 110
 [3033] Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 [3034] 115 120 125
 [3035] <210> 176
 [3036] <211> 5
 [3037] <212> PRT
 [3038] <213> 人工序列
 [3039] <220>
 [3040] <223> 人工序列的描述: 合成肽
 [3041] <400> 176

[3081] <212> PRT
 [3082] <213> 猕猴属
 [3083] <400> 180
 [3084] Met Leu Gln Glu Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala Lys Tyr Lys His Leu
 [3085] 1 5 10 15
 [3086] Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Val Arg Ile Asn His Asp Glu
 [3087] 20 25 30
 [3088] Thr Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg Ile Ser Val Gly Pro Arg Cys Val
 [3089] 35 40 45
 [3090] Lys Ala Phe Thr Glu Cys Cys Val Val Ala Ser Gln Leu Arg Ala Asn
 [3091] 50 55 60
 [3092] Asn Ser His Lys Asp Leu Gln Leu Gly
 [3093] 65 70
 [3094] <210> 181
 [3095] <211> 140
 [3096] <212> PRT
 [3097] <213> 人工序列
 [3098] <220>
 [3099] <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 [3100] <400> 181
 [3101] Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 [3102] 1 5 10 15
 [3103] Val His Ser Leu Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val
 [3104] 20 25 30
 [3105] Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 [3106] 35 40 45
 [3107] Phe Thr Asp Tyr Tyr Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys
 [3108] 50 55 60
 [3109] Ser Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Asn Asp Gly Asp Thr Asn
 [3110] 65 70 75 80
 [3111] Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser
 [3112] 85 90 95
 [3113] Ser Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser
 [3114] 100 105 110
 [3115] Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Pro Tyr Tyr Ser Asp Tyr Gly Met Asp
 [3116] 115 120 125
 [3117] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 [3118] 130 135 140

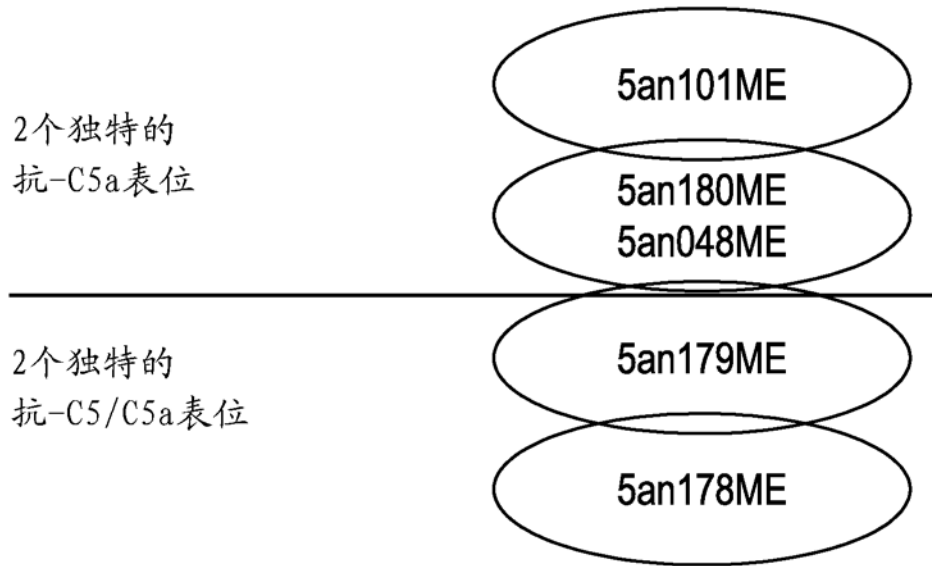


图 1

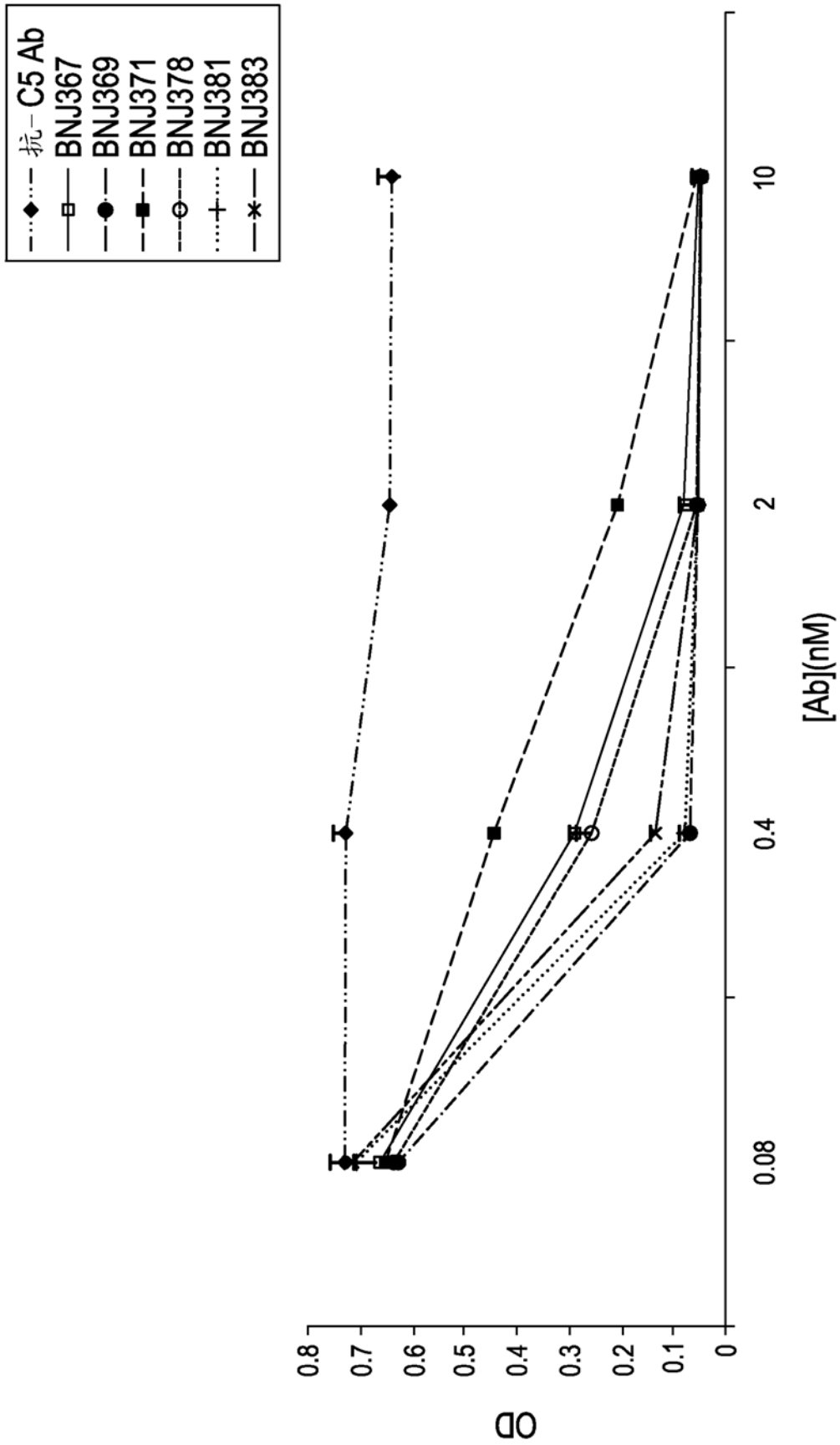


图 2

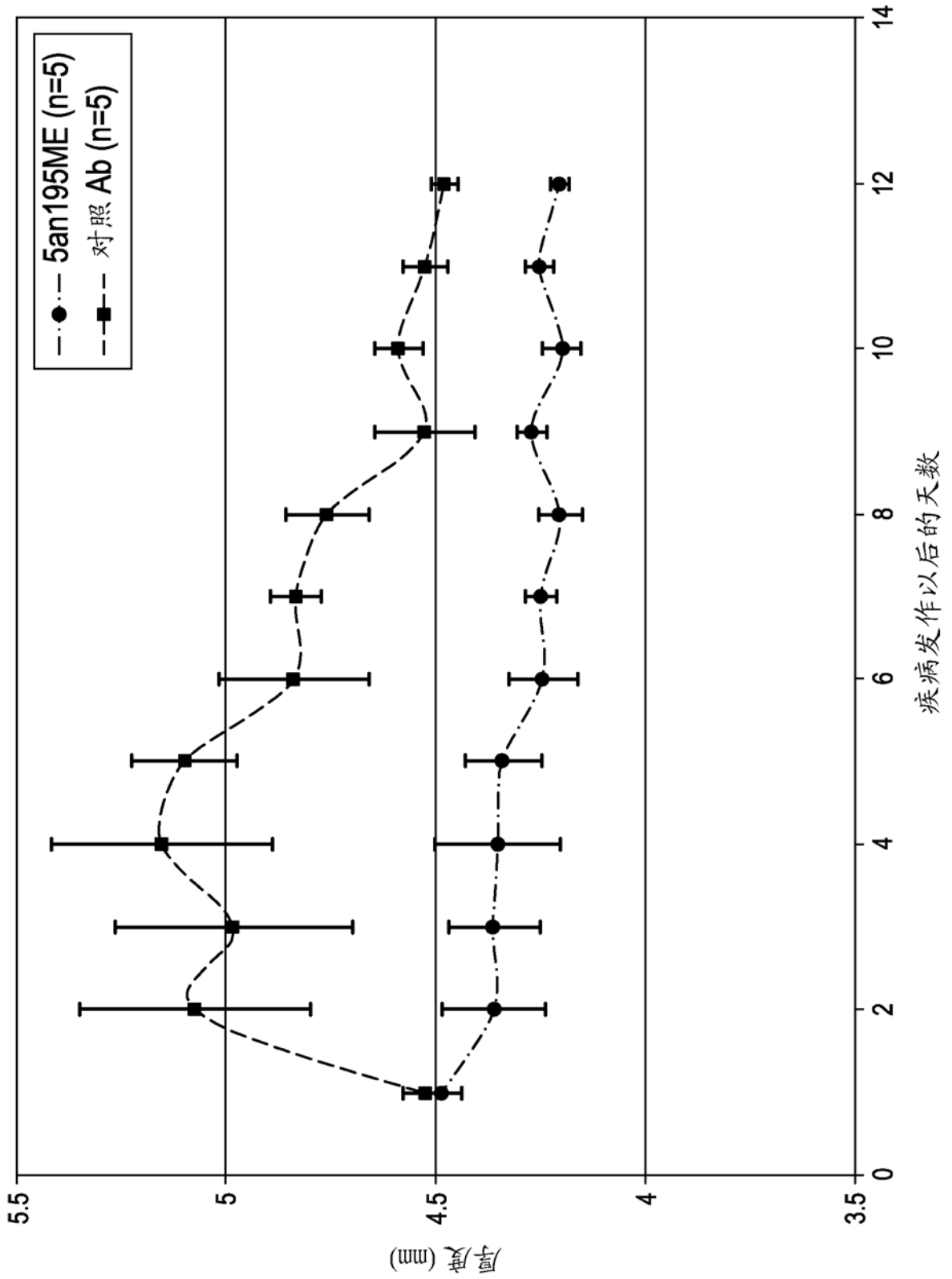


图 3

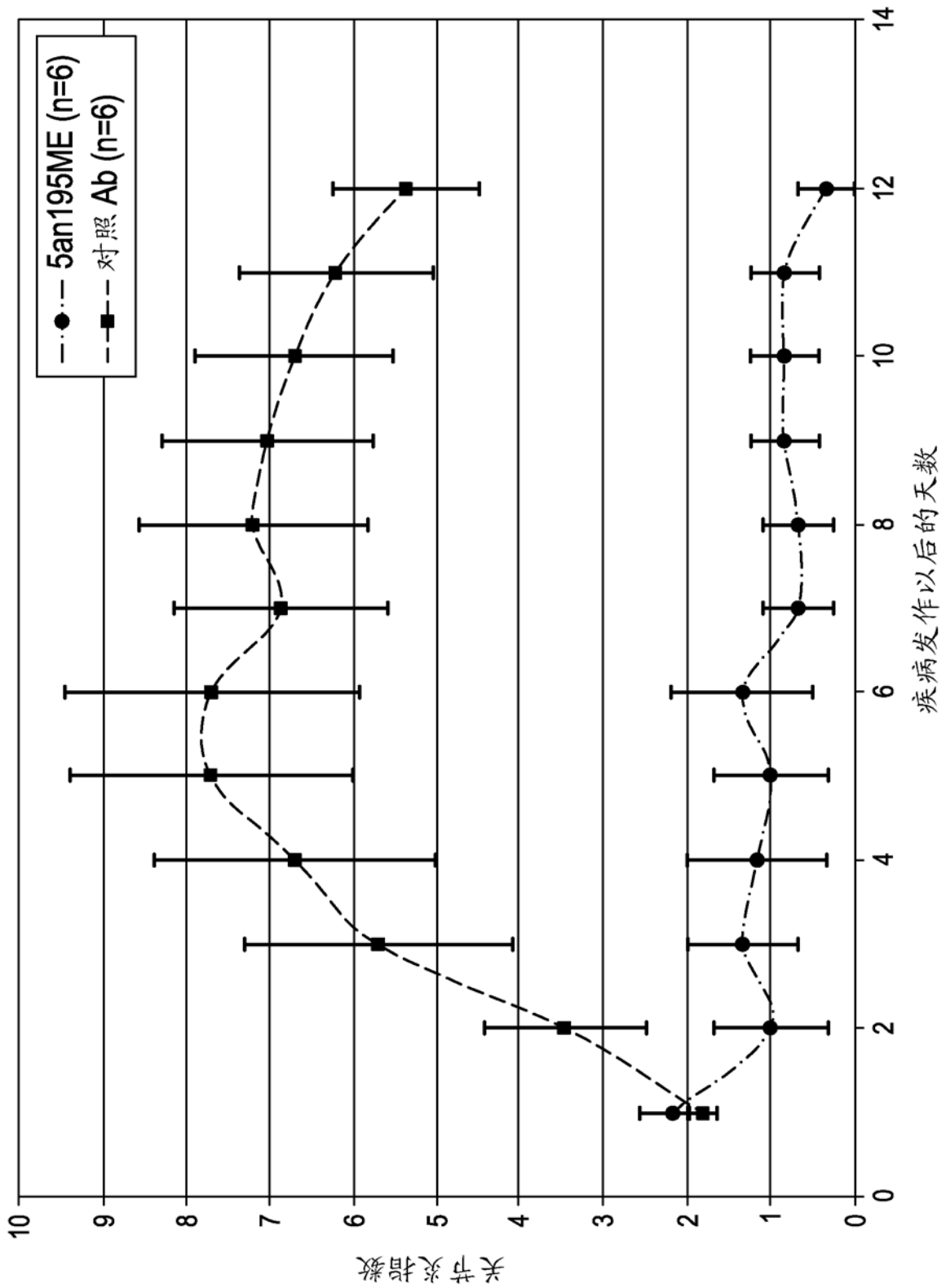


图 4

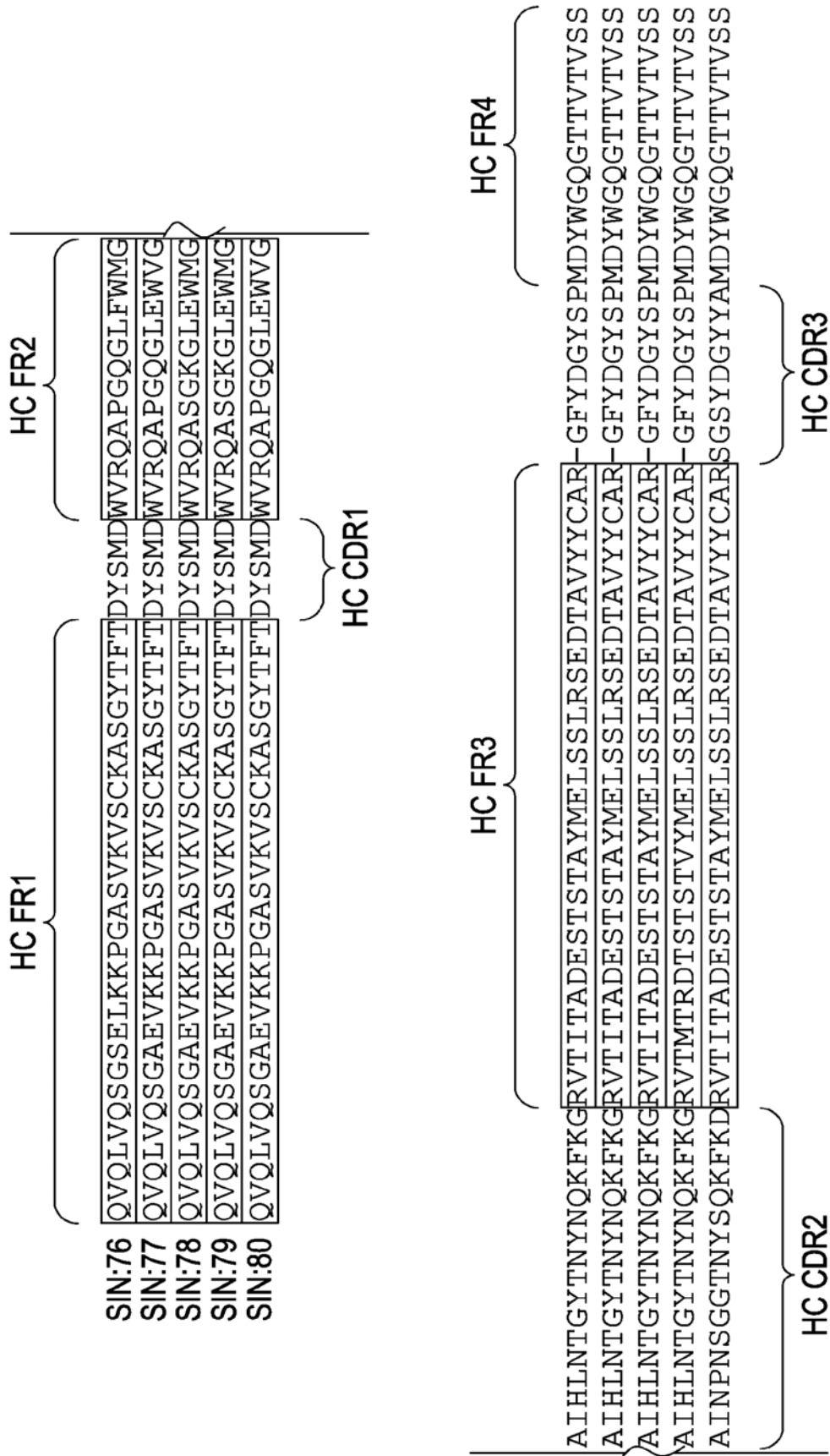


图 5

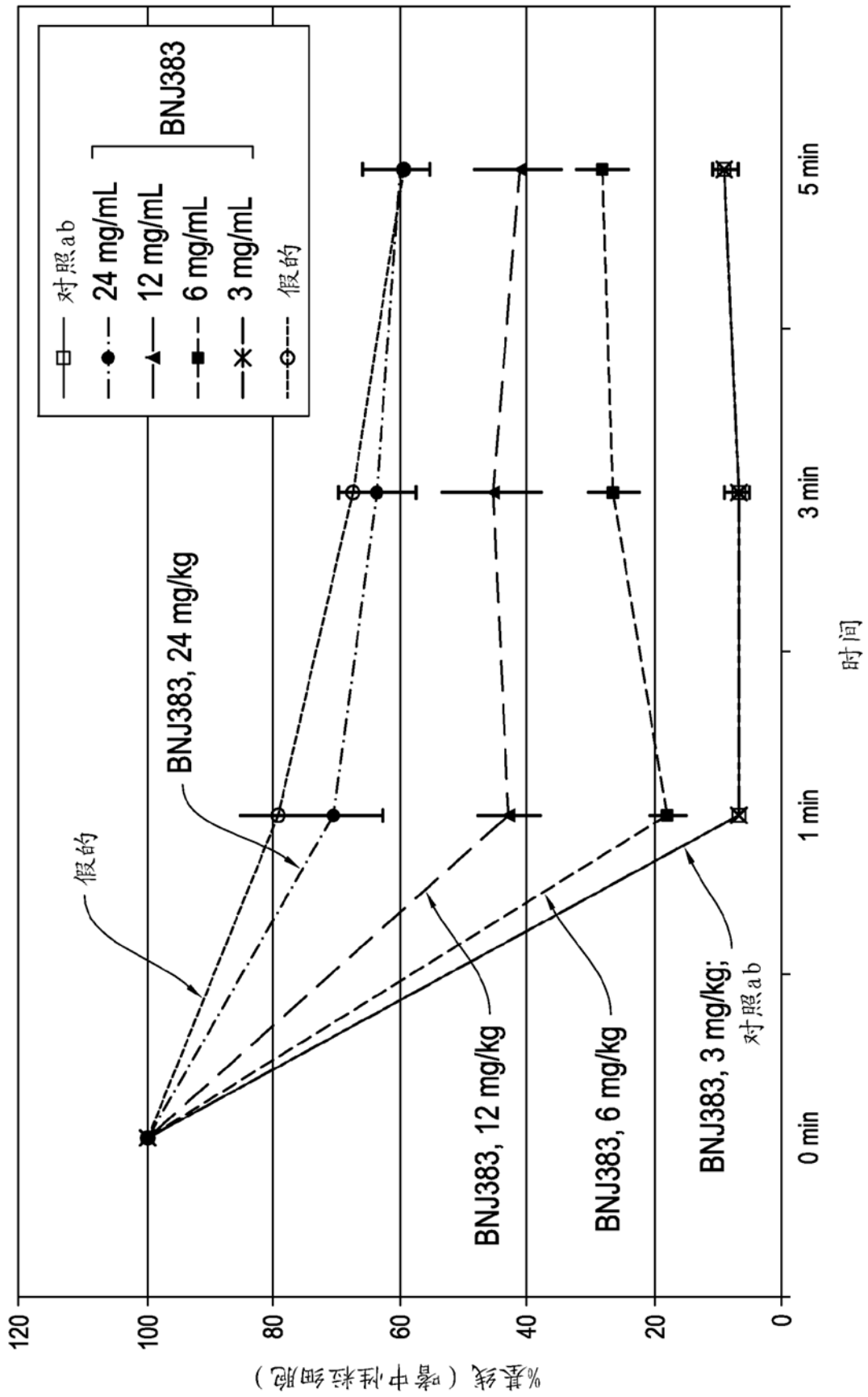


图 6

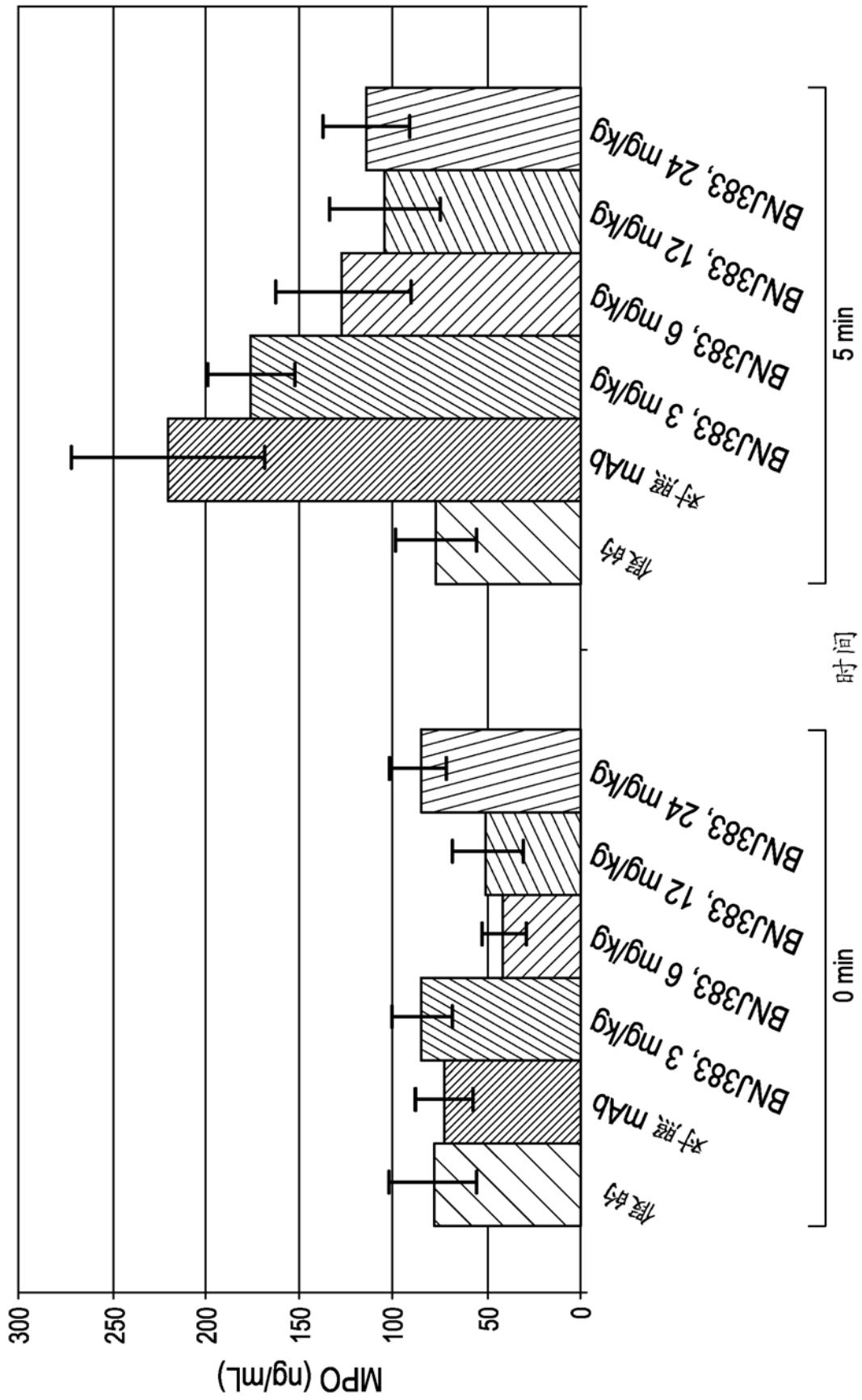


图 7

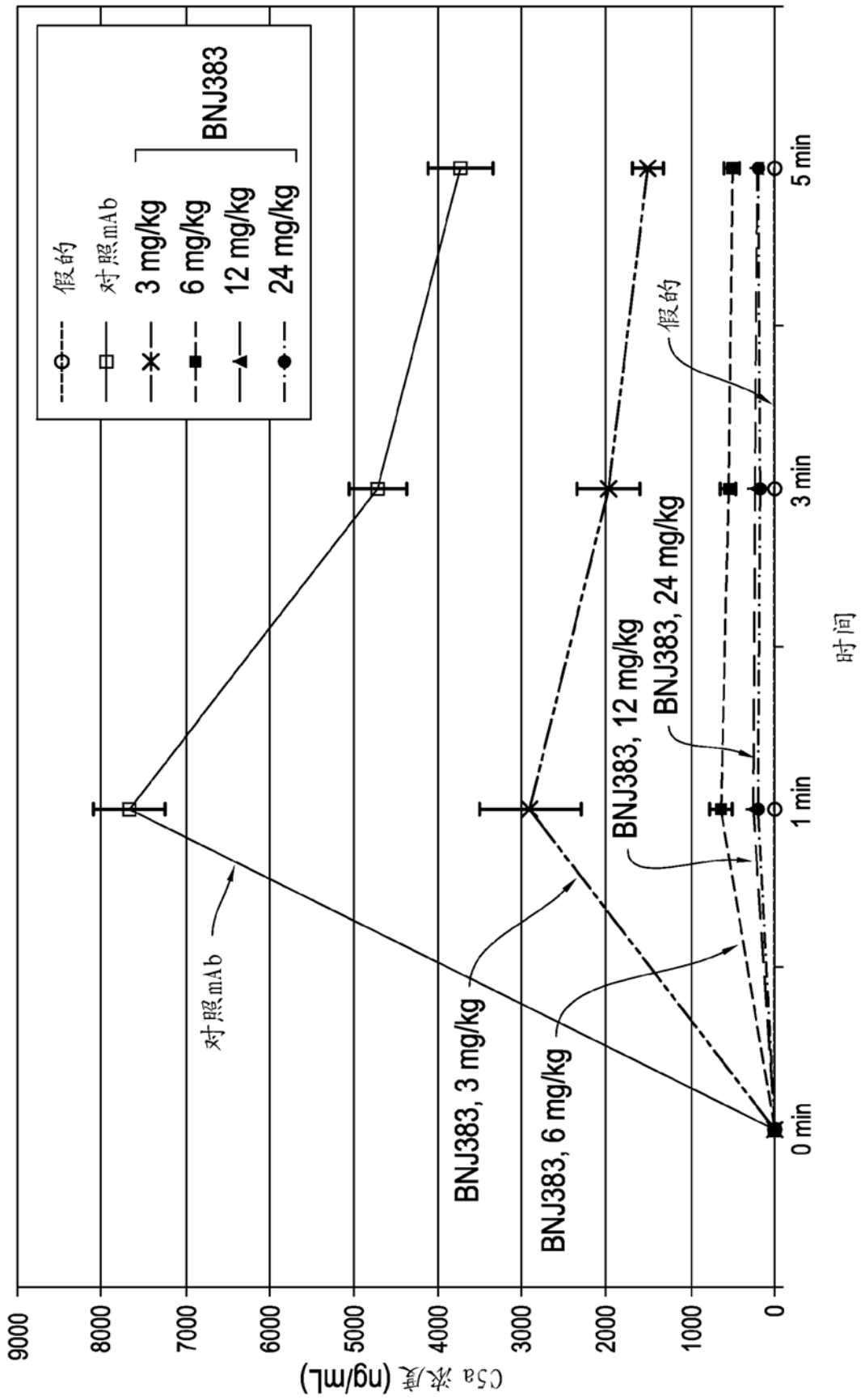


图 8

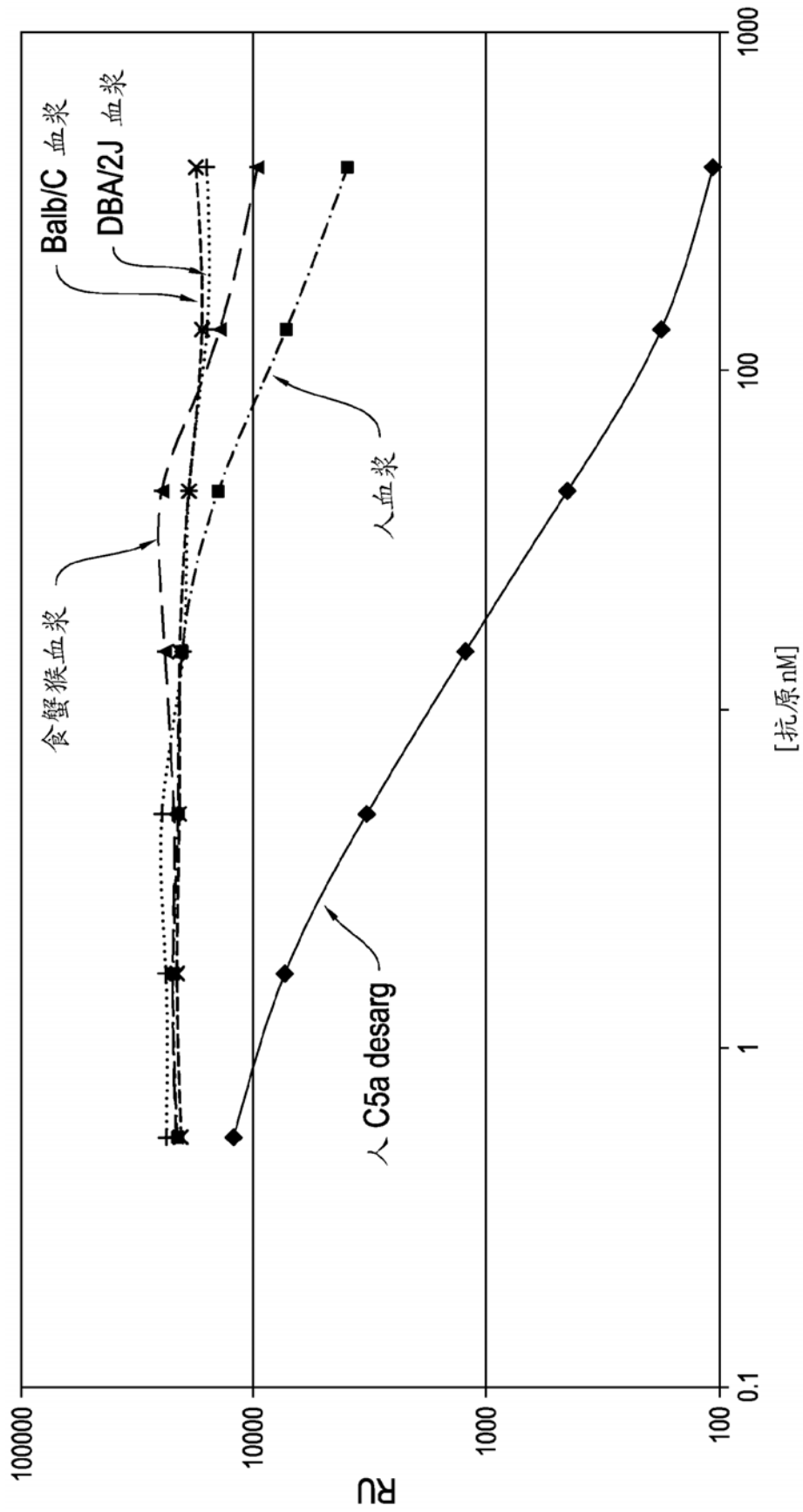


图 9

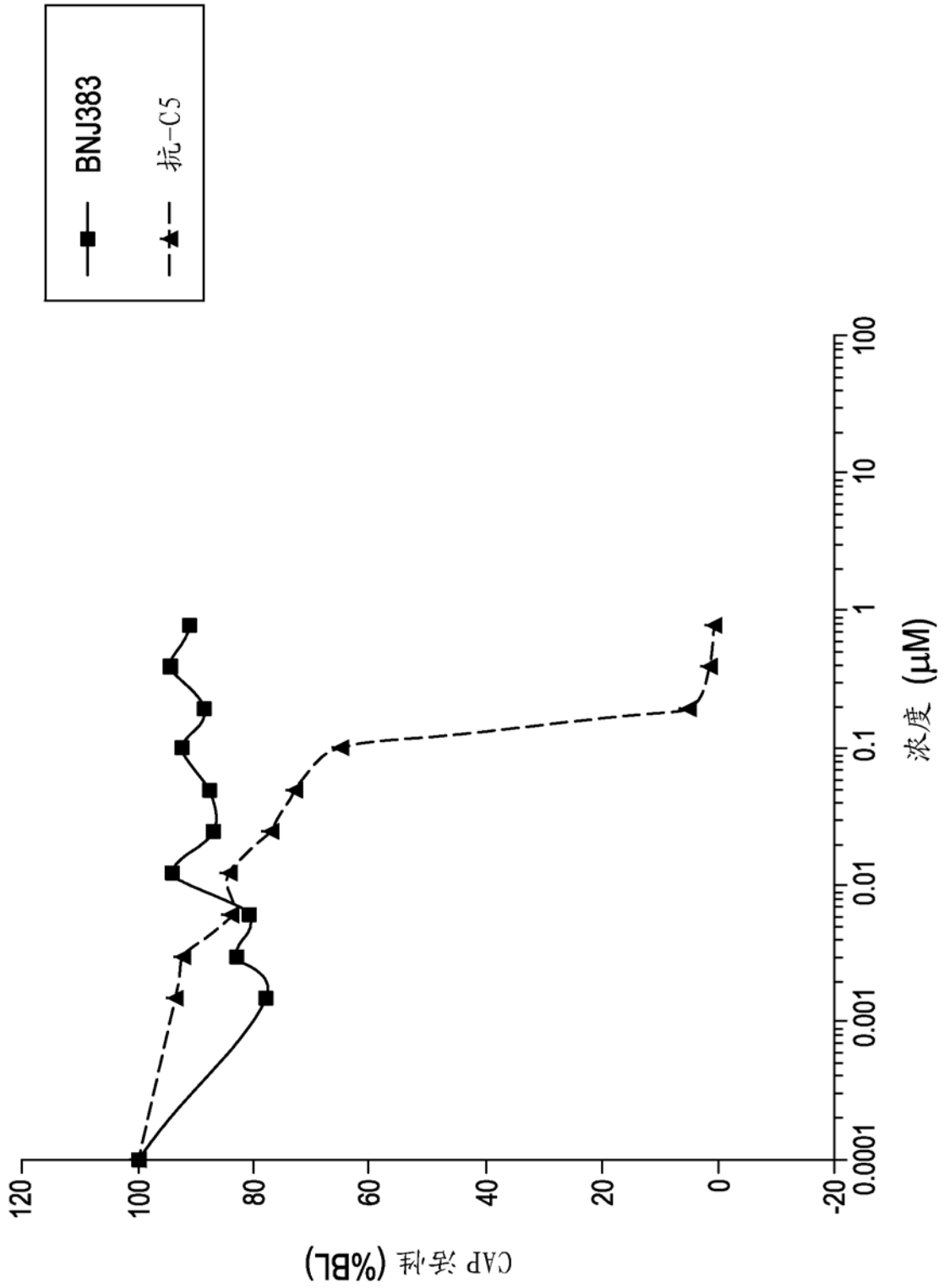


图 10

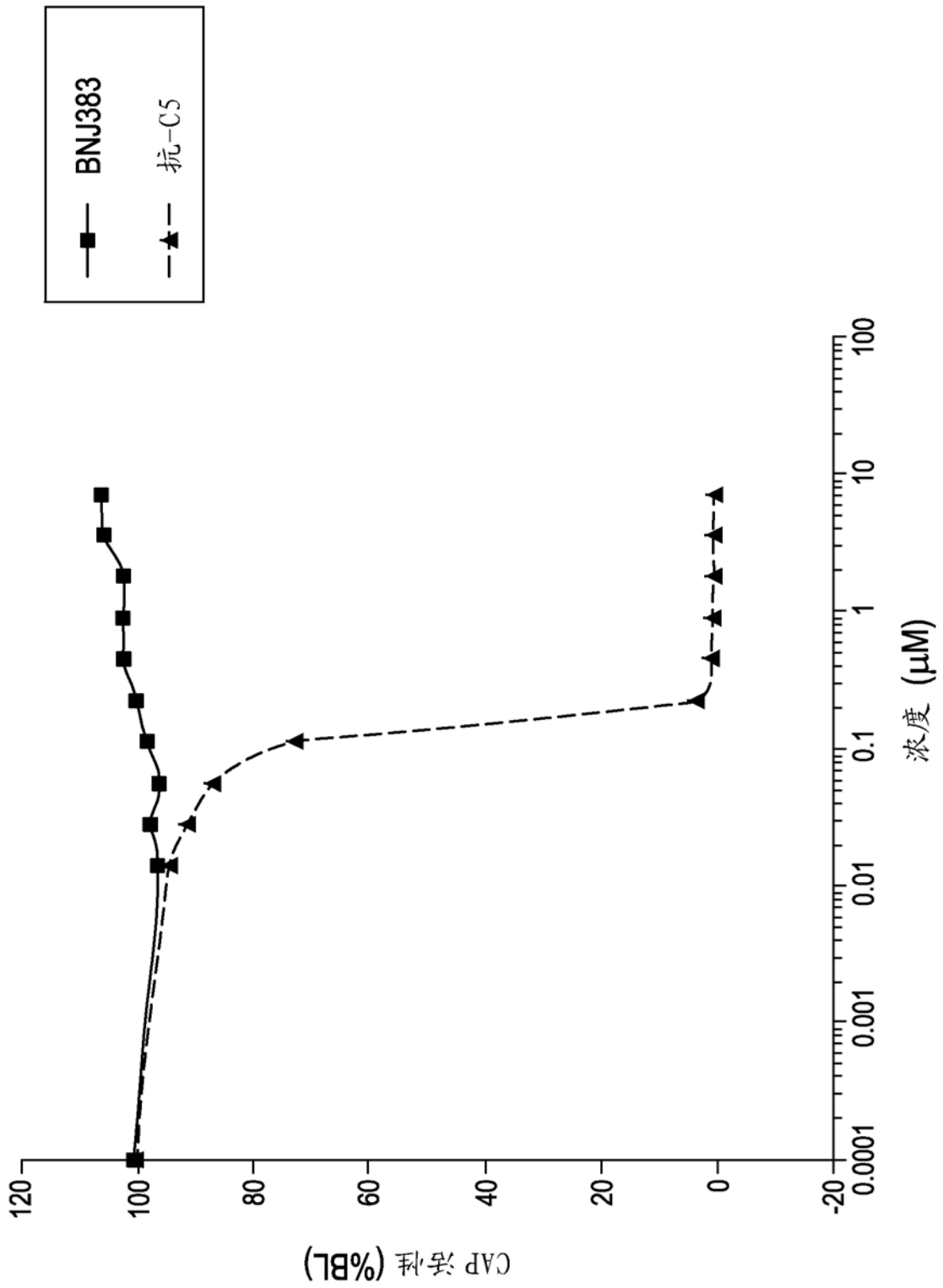


图 11

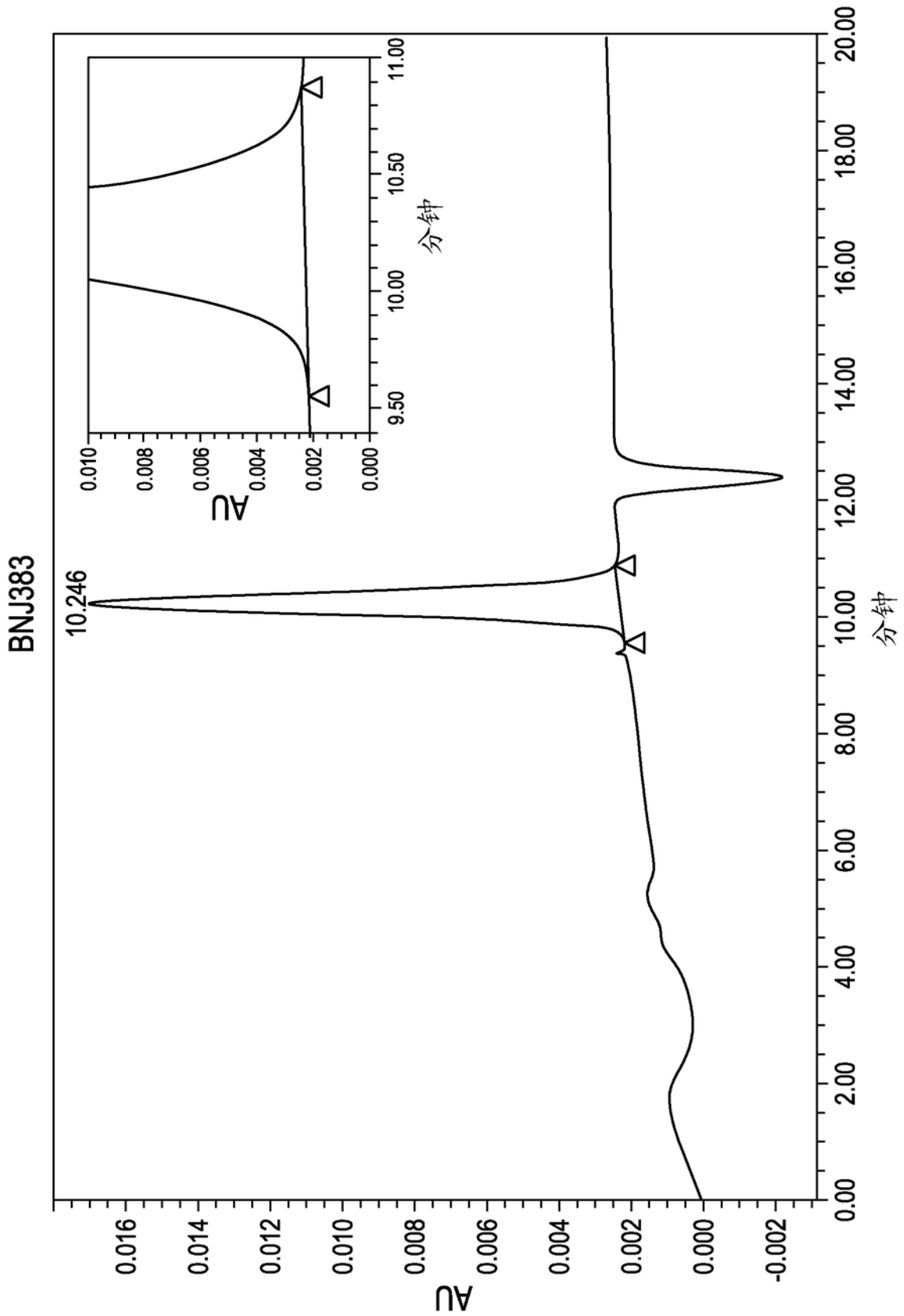


图 12A

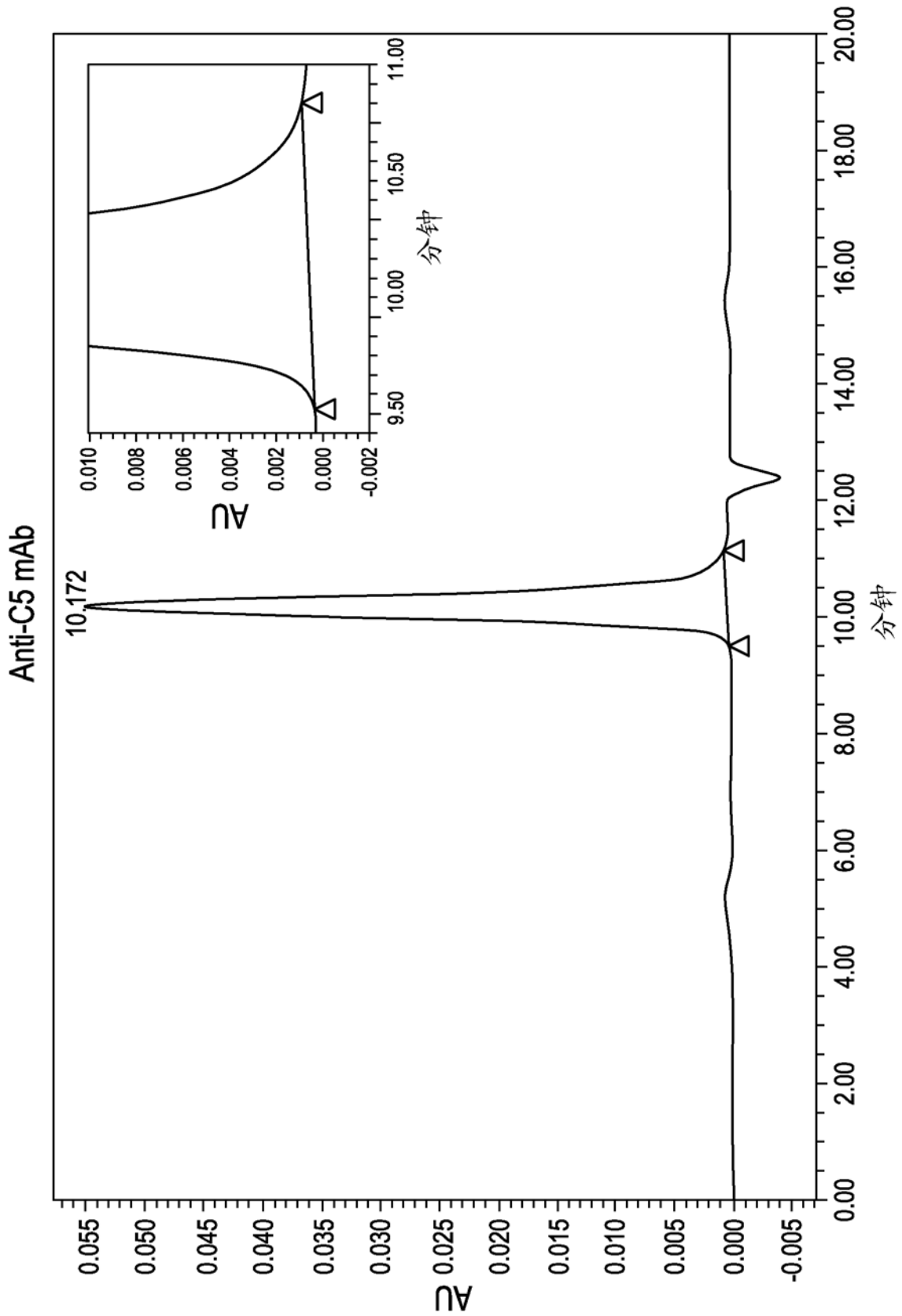


图 12B

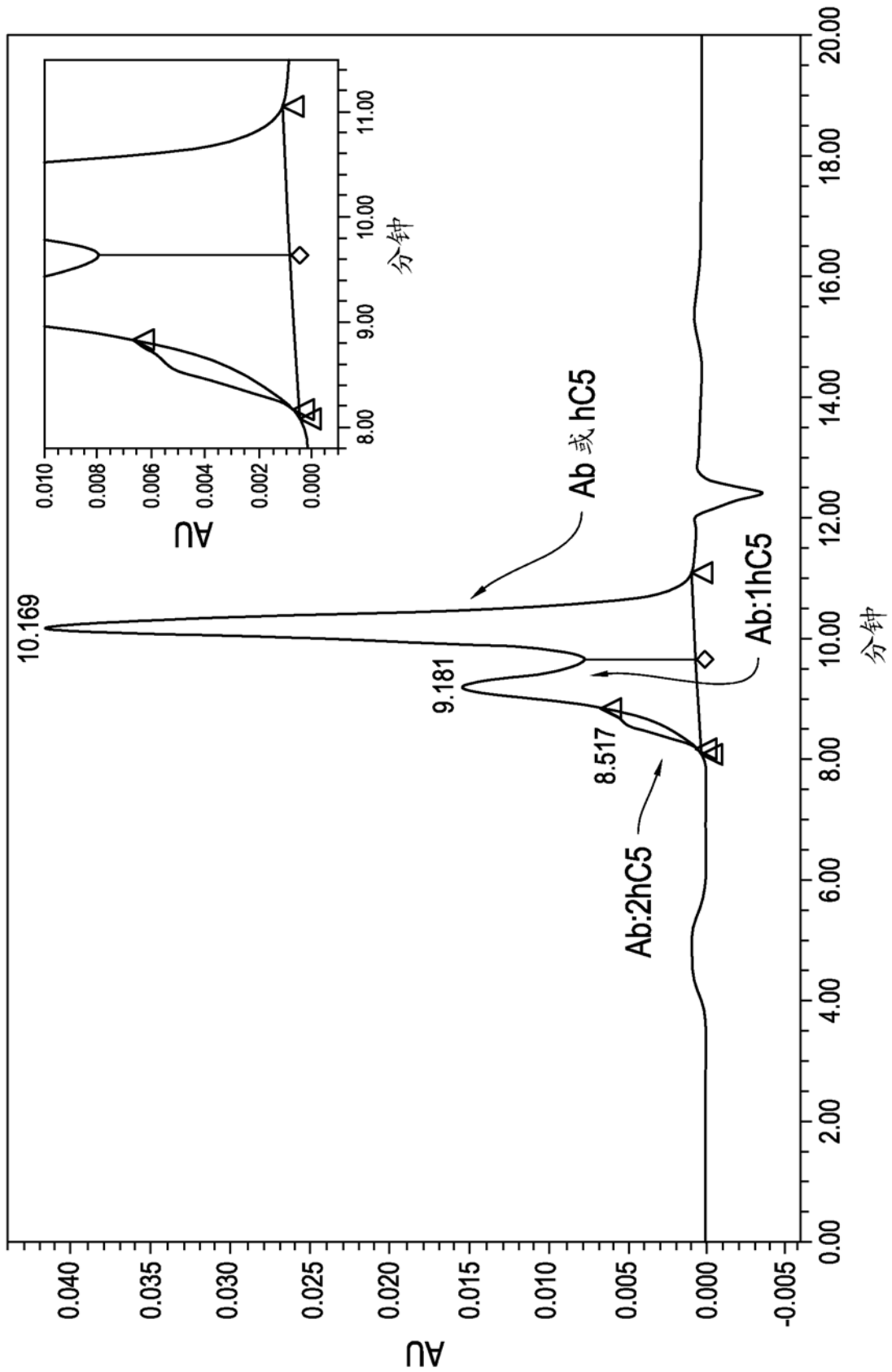


图 12C

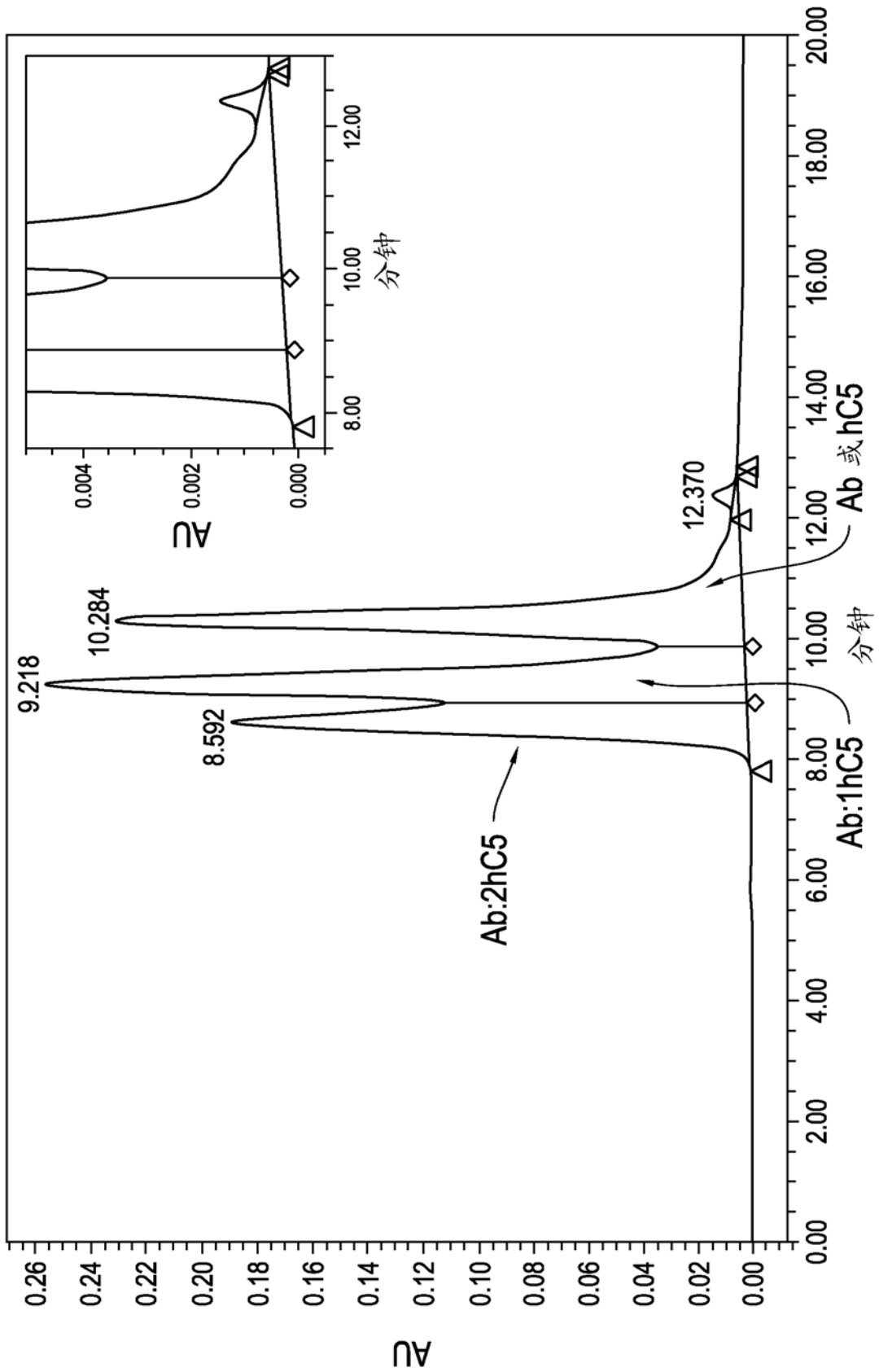


图 12D

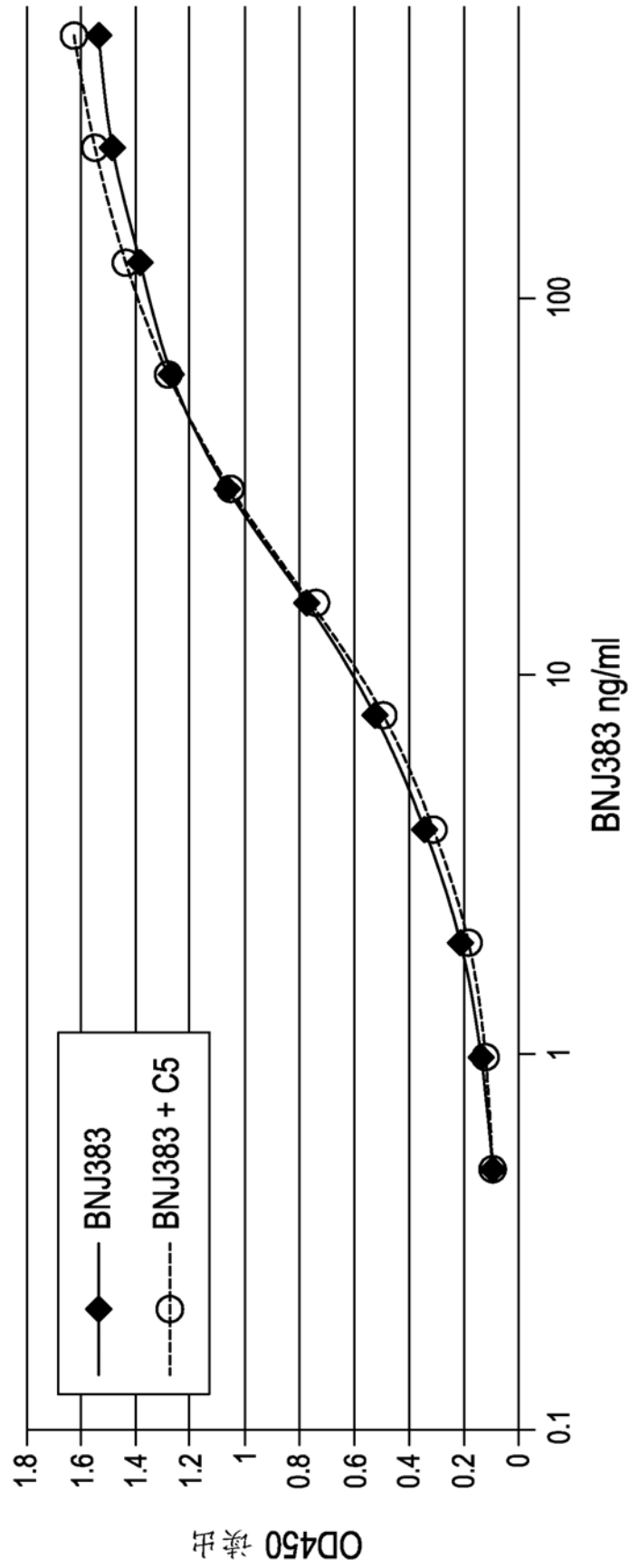


图 13

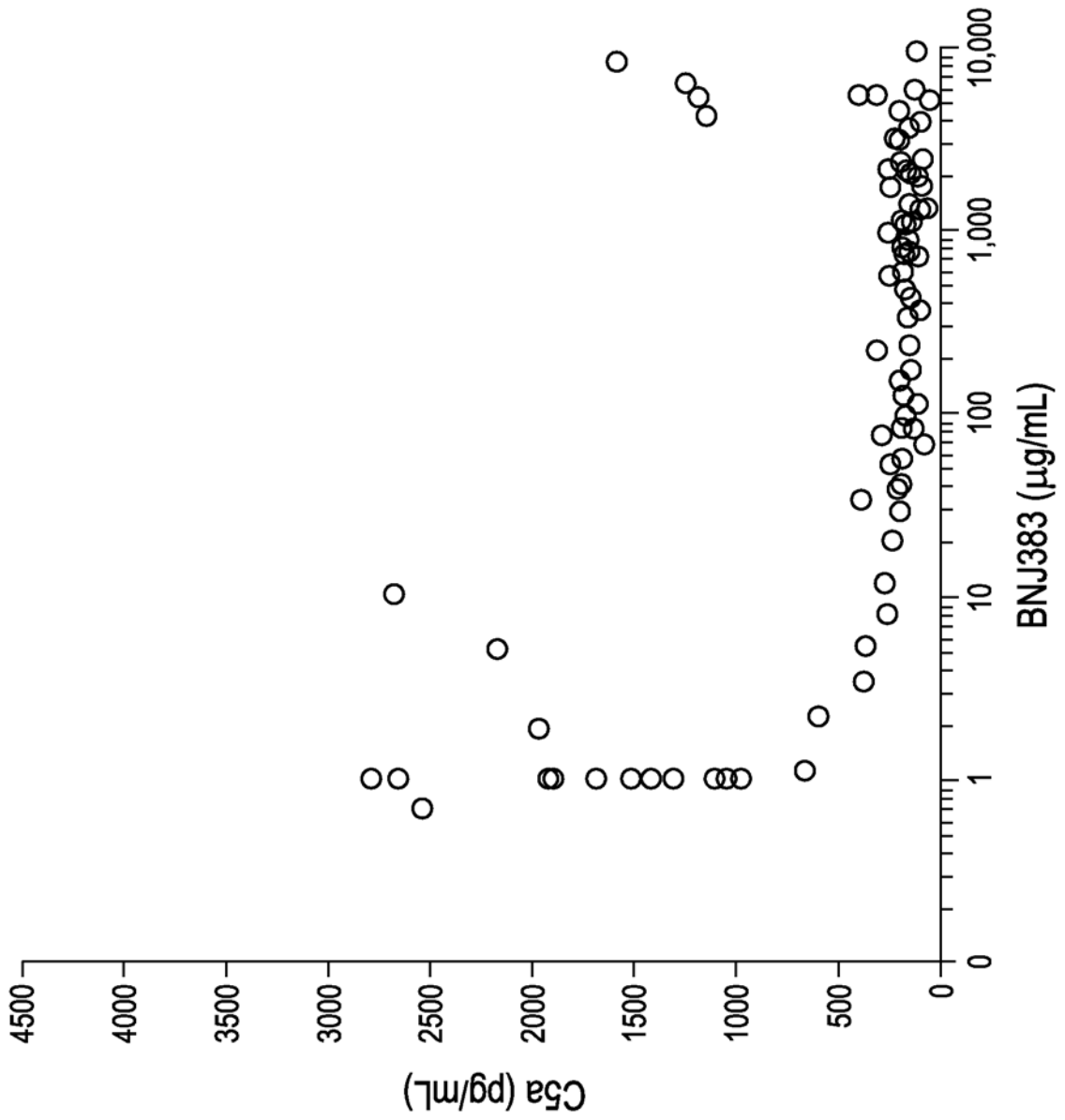


图 14

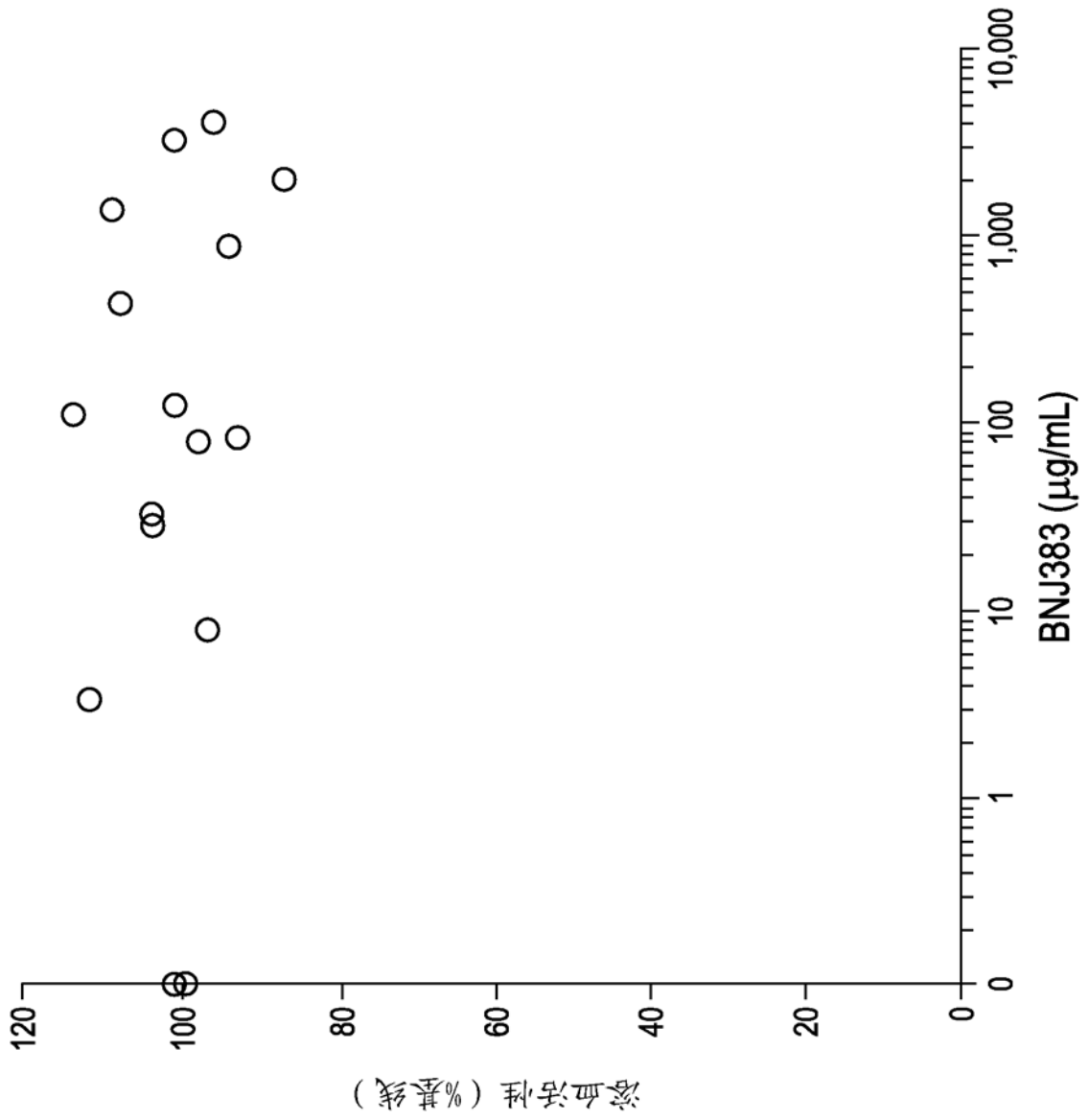


图 15A

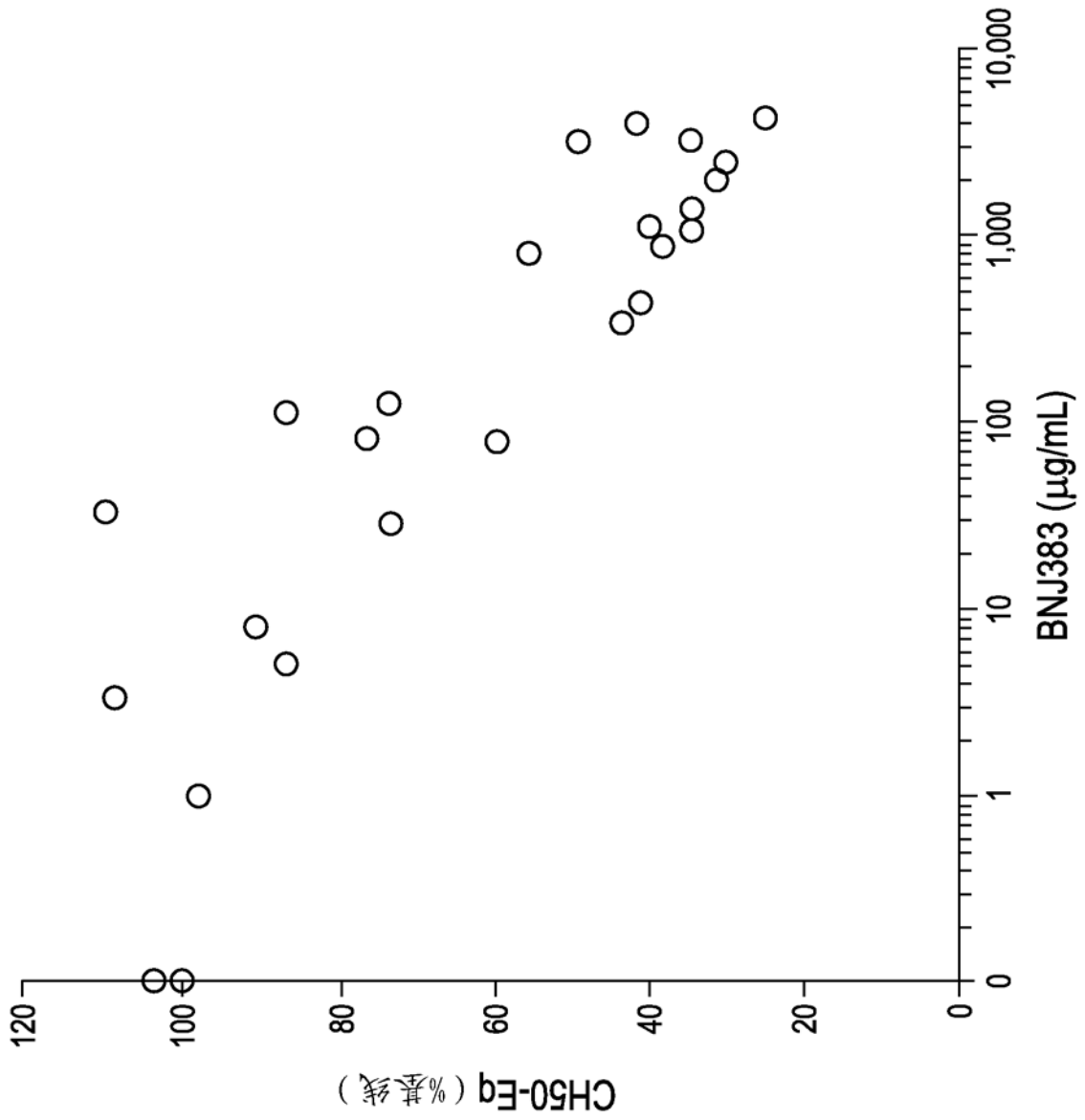


图 15B

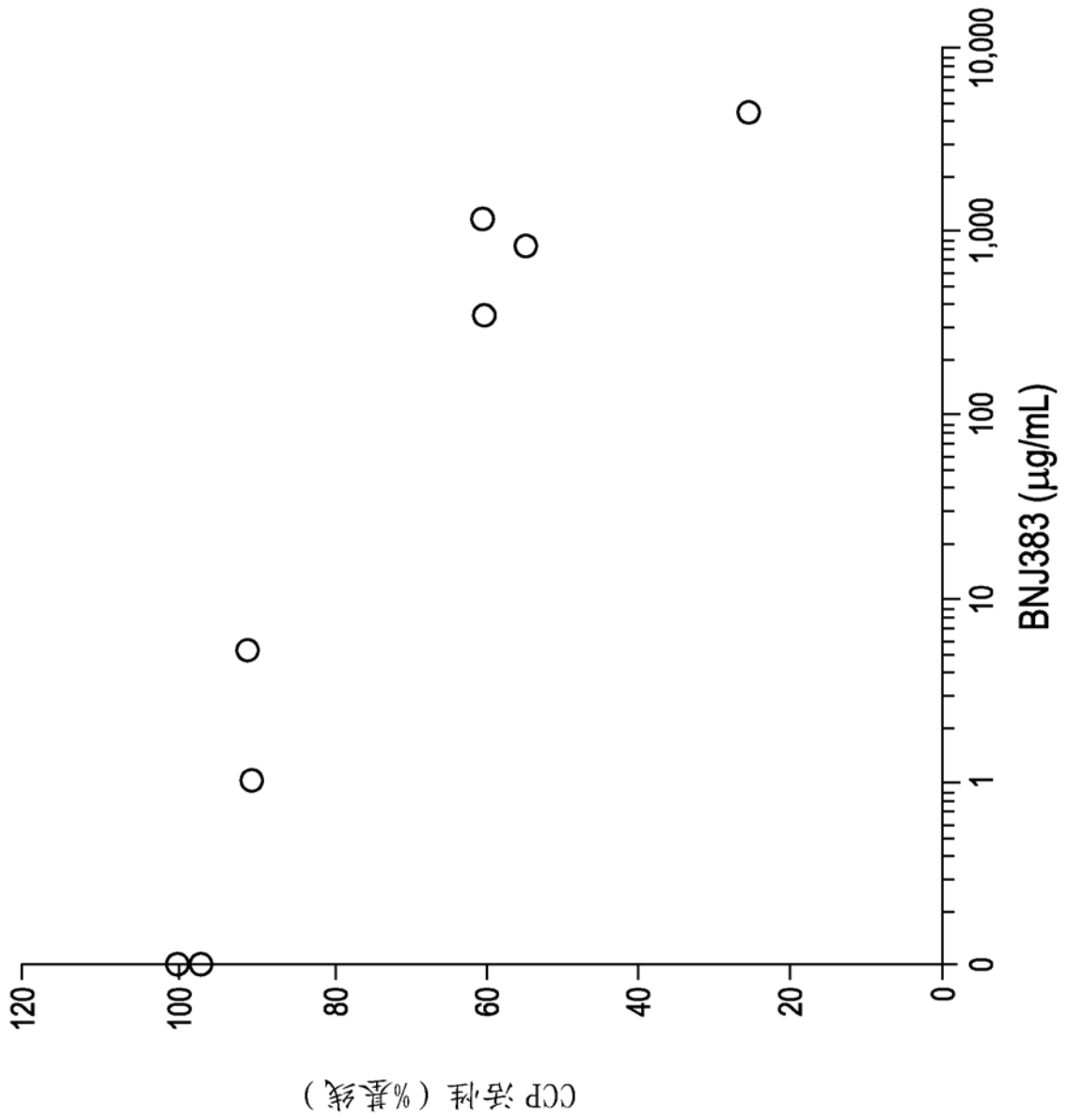


图 15C