201726728

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201726728 A

(43)公開日： 中華民國 106 (2017) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：105141730 (22)申請日： 中華民國 105 (2016) 年 12 月 16 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/18 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)*

(30)優先權：2015/12/18 日本 2015-247069

(71)申請人：中外製藥股份有限公司 (日本) CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA (JP)
日本

(72)發明人：三瓶全次郎 SAMPEI, ZENJIRO (JP)

(74)代理人：洪澄文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：15 項 圖式數：29 共 320 頁

(54)名稱

抗C 5抗體及使用方法

ANTI-C5 ANTIBODIES AND METHODS OF USE

(57)摘要

本發明的目的為提供抗 C5 抗體及其使用方法。本發明提供抗 C5 抗體及其使用方法。在一些實施例中，本發明的分離的抗 C5 抗體在中性 pH 比在酸性 pH 下以較高親和性結合至 C5 的 β 鏈內的抗原決定基。本發明亦提供編碼本發明的抗 C5 抗體的分離的核酸。本發明亦提供包括本發明的核酸的宿主細胞。本發明亦提供製造抗體的方法，包括培養本發明的宿主細胞以便製造抗體。本發明更提供製造抗 C5 抗體的方法，包括使動物對多肽免疫，所述多肽包括 C5 的 β 鏈的 MG1-MG2 域。本發明的抗 C5 抗體可作為藥物使用。

[Problems to be Solved] An objective of the invention is to provide anti-C5 antibodies and methods of using the same.

[Means for Solving the Problems] The invention provides anti-C5 antibodies and methods of using the same. In some embodiments, an isolated anti-C5 antibody of the present invention binds to an epitope within the β chain of C5 with a higher affinity at neutral pH than at acidic pH. The invention also provides isolated nucleic acids encoding an anti-C5 antibody of the present invention. The invention also provides host cells comprising a nucleic acid of the present invention. The invention also provides a method of producing an antibody comprising culturing a host cell of the present invention so that the antibody is produced. The invention further provides a method of producing an anti-C5 antibody comprising immunizing an animal against a polypeptide which comprises the MG1-MG2 domain of the β chain of C5. Anti-C5 antibodies of the present invention may be for use as a medicament.

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】（中文/英文）

抗 C5 抗體及使用方法/ ANTI-C5 ANTIBODIES AND METHODS OF USE

【技術領域】

【0001】本發明係關於抗 C5 抗體及其使用方法。

【先前技術】

【0002】補體系統在免疫複合物之清除中及在對於傳染媒介、外來抗原、病毒感染細胞及腫瘤細胞的免疫反應中扮演重要角色。大約有 25 至 30 種補體蛋白，其被發現為血漿蛋白及膜輔因子之複雜集合。補體成分藉由與一系列交錯複雜的酶切割及膜結合反應達成它們的免疫防禦功能，造成之補體級聯(complement cascade)導致具有調理素(opsonic)、免疫調節及細胞溶解功能之產物的產生。

【0003】目前，普遍接受補體系統可藉由三種不同的途徑被活化:經典途徑、凝集素(lectin)途徑和替代途徑。這些途徑共享許多補體，雖然它們在起始步驟不同，但它們會合及共享負責目標細胞的活化及破壞之相同的末端補體成分(C5 至 C9)。

【0004】經典途徑通常藉由抗原-抗體複合物的形成被活化。獨立地，活化凝集素途徑的第一個步驟為特定凝集素的結合，例如甘露醣結合凝集素(mannan-binding lectin, MBL)、H-纖維膠凝蛋白(H-ficolin)、M-纖維膠凝蛋白、L-纖維膠凝蛋白以及 C 型凝集素 CL-11。相反地，替代途徑自發地經歷低程度

的轉換活化(turnover activation)，其可容易地在外來或其它異常的表面(細菌、酵母菌、經病毒感染的細胞或受損組織)上擴張。這些途徑會合在補體成分 C3 被活性蛋白分解酶切割而產生 C3a 及 C3b 的位置。

【0005】C3a 為一種過敏毒素(anaphylatoxin)，C3b 結合至細菌及其它細胞，也結合至特定的病毒及免疫複合物，且標記它們以從循環中移除之(已知為調理素(opsonin)的作用)。C3b 亦與其它成分形成複合物以形成 C5 轉化酶，其切割 C5 成 C5a 及 C5b。

【0006】C5 是在正常血清中發現之 190 kDa 的蛋白，其濃度約為 80μg/ml(0.4μM)。C5 係經糖基化，其約 1.5 至 3%的質量屬於醣。成熟的 C5 為 115 kDa 的 α 鏈以雙硫鍵連接至 75 kDa 的 β 鏈之異二聚體(heterodimer)。C5 被合成作為 1676 個胺基酸的單鏈前驅物蛋白(pro-C5 前驅物)(請參照，例如專利文獻 1 及專利文獻 2)。pro-C5 前驅物被切割以產生作為胺基末端片段的 β 鏈以及作為羧基末端片段的 α 鏈。α 鏈及 β 鏈多肽片段係藉由雙硫鍵彼此連接並構成成熟的 C5 蛋白。

【0007】當補體途徑活化時，成熟的 C5 被切割成 C5a 及 C5b 片段。C5a 被 C5 轉化酶自 C5 的 α 鏈切割作為胺基末端片段，包括 α 鏈的前 74 個胺基酸。成熟的 C5 的剩餘部分為片段 C5b，其包含剩下的 α 鏈以雙硫鍵鍵結至 β 鏈。C5a 的 11 kDa 的質量之大約 20%屬於醣。

【0008】C5a 為另一種過敏毒素，C5b 與 C6、C7、C8 及 C9 結合以形成膜攻擊複合物(membrane attack complex,

MAC，C5b-9，末端補體複合物(membrane attack complex, TCC))於目標細胞的表面。當數量充足的 MAC 插入至目標細胞膜中，MAC 孔洞被形成以調節目標細胞快速的滲透性細胞溶解。

【0009】承前述，C3a 及 C5a 為過敏毒素，它們可觸發肥大細胞去顆粒作用(degranulation)，其釋放組織胺及其它發炎反應的媒介，造成平滑肌收縮、血管滲透性上升、白血球活化及其它發炎反應現象，包括細胞增生導致的細胞過多(hypercellularity)。C5a 亦可當作趨向性(chemotactic)肽，其用於吸引顆粒細胞，例如：嗜中性球、嗜酸性球、嗜鹼性球及單核球至補體活化的位置。

【0010】C5a的活性係藉由血漿酶羧肽酶 N(carboxypeptidase N)調節，其從 C5a 移除羧基末端的精胺酸形成 C5a-des-精胺酸(C5a-des-Arg)衍生物，C5a-des-精胺酸僅顯示 1%的過敏毒素活性及未經修飾之 C5a 的多形核(polymorphonuclear)趨向活性。

【0011】雖然適當發揮功能的補體系統提供針對感染性微生物的穩固防禦，但補體的不當調控或活化已牽連到多種疾病之致病性，包含，例如：類風濕性關節炎(RA)；狼瘡腎炎；局部缺血-再灌注損傷；陣發性夜間血紅素尿症(PNH)；非典型性溶血性尿毒症候群(aHUS)；緻密沈積物疾病(DDD)；黃斑變性(例如：老年性黃斑變性(AMD))；溶血、肝酶提高及低血小板(HELLP)症候群；血栓性血小板減少性紫癜症(TTP)；自發性流產；少免疫性血管炎(Pauci-immune vasculitis)；表皮溶解水疱症；復發性流產；多發性硬化(MS)；創傷性腦損傷；及由心肌梗塞、心肺繞通及血液透析所導致的損傷(請參照，例如非專

利文獻 1)。因此，抑制補體級聯過度或不受控制的活化可提供臨床益處給患有這些疾病的患者。

【0012】陣發性夜間血紅素尿症(PNH)是一種罕見血液疾病，其中紅血球細胞受損(compromised)，因此與正常紅血球細胞相比，其更快地被破壞。PNH 起因於具有體細胞突變於 PIG-A(磷脂醯肌醇多醣 A 型(phosphatidylinositol glycan class A))基因之造血幹細胞的克隆增殖，PIG-A 基因位於 X 染色體上。於 PIG-A 的突變造成初期阻礙於醣基磷脂醯肌醇(glycosylphosphatidylinositol, GPI)的合成，其為許多蛋白錨定至細胞表面所需之分子。因此，PNH 血球細胞缺乏 GPI 錨定蛋白，其包含補體調節蛋白 CD55 及 CD59。在正常情況下，這些補體調節蛋白阻礙 MAC 形成於細胞表面上，因而防止紅血球細胞溶解。GPI 錨定蛋白的缺失導致 PNH 中的補體調節溶血反應。

【0013】PNH 的特徵為溶血性貧血(紅血球細胞數量減少)、血紅素尿症(血紅蛋白出現於尿中，睡眠後特別明顯)以及血紅素血症(血紅蛋白出現於血液中)。患有 PNH 的個體已知具有陣發，其在本文定義為黑尿的發生率。溶血性貧血歸因於補體成分對紅血球細胞的血管內破壞。其它已知的症狀包括吞咽困難、疲勞、勃起功能障礙、血栓形成及復發性腹痛。

【0014】Eculizumab 為針對對抗補體蛋白 C5 之人類單株抗體，且為第一個批准可用於陣發性夜間血紅素尿症(PNH)及非典型性溶血性尿毒症候群(aHUS)的治療之療法(請參照，例如非專利文獻 2)。Eculizumab 抑制 C5 轉化酶將 C5 切割成 C5a

及 C5b，其防止末端補體複合物 C5b-9 的產生。C5a 及 C5b-9 均導致末端補體調節現象，其為 PNH 及 aHUS 的特徵(請亦參照專利文獻 3、專利文獻 4、專利文獻 5 及專利文獻 6)。

【0015】許多報導已描述抗 C5 抗體，例如專利文獻 7 描述抗 C5 抗體其結合至 C5 的 α 鏈但不結合至 C5a，且阻止 C5 的活化。而專利文獻 8 描述一種抗 C5 單株抗體，其抑制 C5a 的形成。另一方面，專利文獻 9 描述一種抗 C5 抗體，其辨識 C5 轉化酶之蛋白水解位置於 C5 的 α 鏈上，且抑制 C5 轉化為 C5a 及 C5b。專利文獻 10 描述一種抗 C5 抗體，其具有至少為 1×10^7 M^{-1} 的親和常數。

【0016】抗體(IgGs)結合至新生 Fc 受體(FcRn)，且具有長的血漿滯留時間(retention time)。IgGs 結合至 FcRn 通常是在酸性環境(例如 pH6.0)下觀測，且很少在中性環境(例如 pH7.4)下觀測。一般而言，IgGs 非特定地藉由胞吞作用(endocytosis)併入細胞中，且藉由在胞內體的酸性環境下結合至胞內的(endosomal)FcRn 返回細胞表面。接著，IgGs 在血漿的中性環境下自 FcRn 解離。未結合至 FcRn 的 IgGs 在溶酶體中被分解。當 IgG 在酸性環境下的 FcRn 結合能力藉由導入突變於其 Fc 區中而消除時，IgG 將不會自胞內體再循環至血漿中，導致 IgG 的血漿滯留顯著受損。為了改善 IgGs 的血漿滯留，一種增加其在酸性環境下與 FcRn 的結合之方法已被報導，當 IgG 在酸性環境下的 FcRn 結合能力藉由導入一胺基酸取代至其 Fc 區中而提升時，IgG 較有效率地自胞內體再循環至血漿，因而顯示改善的血漿滯留。其間，亦有報導指出在中性環境下具有提升

之 FcRn 結合的 IgG，在中性環境血漿中不會自 FcRn 解離，甚至當它藉由在酸性環境下結合至 FcRn 而返回細胞表面時，因此它的血漿滯留維持不變，或應該說是較差(請參照，例如非專利文獻 3；非專利文獻 4；非專利文獻 5)。

【0017】近來，以 pH 依賴性方式結合至抗原的抗體已被報導(請參照，例如專利文獻 11 及專利文獻 12)。這些抗體在血漿中性環境下強烈地結合至抗原，以及在胞內的酸性環境下自抗原解離。在自抗原解離後，當藉由 FcRn 再循環至血漿時，抗體變得可再次與抗原結合，因此，單一個抗體分子可重複地結合至多個抗原分子。一般而言，抗原的血漿滯留較具有上述 FcRn 調節的再循環機制之抗體短得多，因此，當抗原結合至抗體時，抗原通常顯示延長的血漿滯留，導致抗原的血漿濃度的增加。另一方面，已有報導顯示上述抗體，其以 pH 依賴性方式結合至抗原，比起典型抗體，可較快速地自血漿消除抗原，因為在 FcRn 調節的再循環步驟中，它們在胞內體內自抗原解離。專利文獻 13 亦描述電腦模擬分析顯示具有針對抗 C5 之 pH 依賴性結合的抗體可延長抗原消減 (knockdown)。

[引用列表]

[專利文獻]

【0018】

[專利文獻 1] U.S. Patent No. 6,355,245

[專利文獻 2] U.S. Patent No. 7,432,356

[專利文獻 3] WO 2005/074607

[專利文獻 4] WO 2007/106585

[專利文獻 5] WO 2008/069889

[專利文獻 6] WO 2010/054403

[專利文獻 7] WO 95/29697

[專利文獻 8] WO 02/30985

[專利文獻 9] WO 2004/007553

[專利文獻 10] WO 2010/015608

[專利文獻 11] WO 2009/125825

[專利文獻 12] WO 2011/122011

[專利文獻 13] WO 2011/111007

[非專利文獻]

【0019】

[非專利文獻 1] Holers 等人，*Immunol. Rev.* 223:300-316 (2008)

[非專利文獻 2] Dmytrijuk 等人，*The Oncologist* 13(9):993-1000 (2008)

[非專利文獻 3] Yeung 等人，*J Immunol.* 182(12): 7663-7671 (2009)

[非專利文獻 4] Datta-Mannan 等人，*J Biol. Chem.* 282(3):1709-1717 (2007)

[非專利文獻 5]Dall'Acqua 等人，*J. Immunol.* 169(9):5171-5180 (2002)

【發明內容】

[技術問題]

【0020】本發明之一目的是為了提供抗 C5 抗體及其使用方

法。

[問題之解決方法]

【0021】本發明提供抗 C5 抗體及其使用方法。

【0022】在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體結合至 C5 的 β 鏈中的抗原決定基(epitope)。在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體結合至 C5 的 β 鏈的 MG1-MG2 域(domian)中的抗原決定基。在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體結合至 C5 的 β 鏈(序列辨識號:40)的胺基酸 33-124 所組成的片段中的抗原決定基。在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體結合至 C5 的 β 鏈(序列辨識號:40)中的抗原決定基，其包括至少一擇自於胺基酸 47-57、70-76 及 107-110 所組成之群組的片段。在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體結合至 C5 的 β 鏈(序列辨識號:40)的片段中的抗原決定基，其包括至少一擇自於序列辨識號:40 的 Glu48、Asp51、His70、His72、Lys109 及 His110 所組成之群組的胺基酸殘基。在又一些實施例中，相較於酸性 pH，抗體在中性 pH 以較高親和性結合至 C5。在又一些實施例中，相較於在 pH5.8，抗體在 pH7.4 以較高親和性結合至 C5。在另一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體結合至與表 2 所述之抗體相同的抗原決定基。在另一些實施例中，相較於在 pH5.8，抗體在 pH7.4 以較高親和性結合至與表 2 所述之抗體相同的抗原決定基。在又一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體結合至與表 7 或 8 所述之抗體相同的抗原決定基。在又一些實施例中，相較於在 pH5.8，抗體在 pH7.4 以較高親和性結合至與表 7 或 8 所述之

抗體相同的抗原決定基。

【0023】在特定的實施例中，本發明之抗 C5 抗體與包括擇自於(a) 序列辨識號:1 之 VH 及序列辨識號:11 之 VL；(b) 序列辨識號: 5 之 VH 及序列辨識號:15 之 VL；(c) 序列辨識號:4 之 VH 及序列辨識號:14 之 VL；(d) 序列辨識號: 6 之 VH 及序列辨識號: 16 之 VL;(e) 序列辨識號:2 之 VH 及序列辨識號:12 之 VL；(f) 序列辨識號: 3 之 VH 及序列辨識號: 13 之 VL；(g) 序列辨識號:9 之 VH 及序列辨識號:19 之 VL;(h) 序列辨識號:7 之 VH 及序列辨識號: 17 之 VL；(i) 序列辨識號:8 之 VH 及序列辨識號:18 之 VL;以及(j) 序列辨識號:10 之 VH 及序列辨識號:20 之 VL 的 VH 及 VL 對的抗體競爭和 C5 結合。在又一些實施例中，相較於酸性 pH，抗 C5 抗體在中性 pH 以較高親和性結合至 C5。在又一些實施例中，相較於在 pH5.8，抗 C5 抗體在 pH7.4 以較高親和性結合至 C5。

【0024】在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體具有擇自於下列所組成之群組的特徵：(a)抗體接觸 C5(序列辨識號:39)的胺基酸 D51 及 K109；(b) 抗體對 C5(序列辨識號:39)的親和性大於抗體對由序列辨識號:39 之 E48A 取代所構成的 C5 突變體的親和性;或(c)抗體在 pH7.4 結合至由序列辨識號:39 的胺基酸序列所組成之 C5 蛋白，但在 pH7.4 未結合至由具有 H72Y 取代之序列辨識號:39 的胺基酸序列所組成的 C5 蛋白。在又一些實施例中，相較於酸性 pH，抗體在中性 pH 以較高親和性結合至 C5。在又一些實施例中，相較於在 pH5.8，抗體在 pH7.4 以較高親和性結合至 C5。

【0025】在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體抑制 C5 的活化。在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體抑制 C5 變異體 R885H 的活化。在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體為單株抗體。在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體為人類、人源化(humanized)或嵌合(chimeric)抗體。在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體為結合至 C5 的抗體片段。在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體為全長 IgG1 或 IgG4 抗體。

【0026】在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體包括 (a) HVR-H3，包括胺基酸序列 $DX_1GYX_2X_3PTHAMX_4X_5$，其中 X_1 為 G 或 A，X_2 為 V、Q 或 D，X_3 為 T 或 Y，X_4 為 Y 或 H，X_5 為 L 或 Y (序列辨識號：128)；(b) HVR-L3，包括胺基酸序列 $QX_1TX_2VGSSYGNX_3$，其中 X_1 為 S、C、N 或 T，X_2 為 F 或 K，X_3 為 A、T 或 H (序列辨識號：131)；以及(c) HVR-H2，包括胺基酸序列 $X_1IX_2TGSGAX_3YX_4AX_5WX_6KG$，其中 X_1 為 C、A 或 G，X_2 為 Y 或 F，X_3 為 T、D 或 E，X_4 為 Y、K 或 Q，X_5 為 S、D 或 E，X_6 為 A 或 V (序列辨識號：127)。

【0027】在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體包括 (a)HVR-H1，包括胺基酸序列 $SSYYX_1X_2$，其中 X_1 為 M 或 V，X_2 為 C 或 A (序列辨識號：126)；(b)HVR-H2，包括胺基酸序列 $X_1IX_2TGSGAX_3YX_4AX_5WX_6KG$，其中 X_1 為 C、A 或 G，X_2 為 Y 或 F，X_3 為 T、D 或 E，X_4 為 Y、K 或 Q，X_5 為 S、D 或 E，X_6 為 A 或 V (序列辨識號：127)；以及(c)HVR-H3，包括胺基酸序列 $DX_1GYX_2X_3PTHAMX_4X_5$，其中 X_1 為 G 或 A，X_2 為 V、Q

或 D，X_3 為 T 或 Y，X_4 為 Y 或 H，X_5 為 L 或 Y (序列辨識號：128)。在又一些實施例中，抗體包括(a)HVR-L1，包括胺基酸序列 $X_1ASQX_2IX_3SX_4LA$，其中 X_1 為 Q 或 R，X_2 為 N、Q 或 G，X_3 為 G 或 S，X_4 為 D、K 或 S (序列辨識號：129)；(b)HVR-L2，包括胺基酸序列 $GASX_1X_2X_3S$，其中 X_1 為 K、E 或 T，X_2 為 L 或 T，X_3 為 A、H、E 或 Q (序列辨識號：130)；以及(c)HVR-L3，包括胺基酸序列 $QX_1TX_2VGSSYGNX_3$，其中 X_1 為 S、C、N 或 T，X_2 為 F 或 K，X_3 為 A、T 或 H (序列辨識號：131)。

【0028】在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體包括(a)HVR-L1，包括胺基酸序列 $X_1ASQX_2IX_3SX_4LA$，其中 X_1 為 Q 或 R，X_2 為 N、Q 或 G，X_3 為 G 或 S，X_4 為 D、K 或 S (序列辨識號：129)；(b) HVR-L2，包括胺基酸序列 $GASX_1X_2X_3S$，其中 X_1 為 K、E 或 T，X_2 為 L 或 T，X_3 為 A、H、E 或 Q (序列辨識號：130)；以及(c)HVR-L3，包括胺基酸序列 $QX_1TX_2VGSSYGNX_3$，其中 X_1 為 S、C、N 或 T，X_2 為 F 或 K，X_3 為 A、T 或 H (序列辨識號：131)。

【0029】在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體包括重鏈可變域框架 FR1，包括序列辨識號：132 至 134 其中任一之胺基酸序列；FR2 包括序列辨識號：135 至 136 其中任一之胺基酸序列；FR3 包括序列辨識號：137 至 139 其中任一之胺基酸序列；以及 FR4 包括序列辨識號：140 至 141 其中任一之胺基酸序列。在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體包括輕鏈可變域框架 FR1，包括序列辨識號：142 至 143 其中任一之胺基酸序列；FR2 包括序列辨識號：144 至 145 其中任一

之胺基酸序列；FR3 包括序列辨識號：146 至 147 其中任一之胺基酸序列；以及 FR4 包括序列辨識號：148 之胺基酸序列。

【0030】在一些實施例中，本發明之分離的抗 C5 抗體包括(a)VH 序列，其與序列辨識號：10、106 至 110 其中任一之胺基酸序列具有至少 95%的序列相同性；(b)VL 序列，其與序列辨識號：20、111 至 113 其中任一之胺基酸序列具有至少 95%的序列相同性；或(c)如(a)所述之 VH 序列以及如(b)所述之 VL 序列。在又一些實施例中，抗體包括序列辨識號：10、106 至 110 其中任一之 VH 序列。在又一些實施例中，抗體包括序列辨識號：20、111 至 113 其中任一之 VL 序列。

【0031】本發明提供一抗體，包括序列辨識號：10、106 至 110 其中任一之 VH 序列以及序列辨識號：20、111 至 113 其中任一之 VL 序列。

【0032】本發明亦提供編碼本發明之抗 C5 抗體之分離的核酸。本發明亦提供包括本發明之核酸的宿主細胞。本發明亦提供抗體之製造方法，包括培養本發明之宿主細胞使得抗體被製造。

【0033】本發明更提供一抗 C5 抗體之製造方法。在一些實施例中，方法包括使動物對多肽免疫，上述多肽包括 C5 的 β 鏈的 MG1-MG2 域(序列辨識號:43)。在一些實施例中，方法包括使動物對多肽免疫，上述多肽包括對應於 C5 的 β 鏈(序列辨識號:40)的位置 33 至 124 之胺基酸的區域。在一些實施例中，方法包括使動物對多肽免疫，上述多肽包括至少一擇自於 C5 的 β 鏈(序列辨識號:40)的胺基酸 47 至 57、70 至 76 及 107 至

110 的片段。在一些實施例中，方法包括使動物對多肽免疫，上述多肽包括 C5 的 β 鏈(序列辨識號:40)的片段，其包括至少一擇自於 Glu48、Asp51、His70、His72、Lys109 以及 His110 之胺基酸。

【0034】本發明亦提供一醫藥配方，包括本發明之抗 C5 抗體以及醫藥上可接受之載體。

【0035】本發明之抗 C5 抗體可作為藥物使用。本發明之抗 C5 抗體可用於治療涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況。本發明之抗 C5 抗體可用於增強 C5 自血漿的消除。

【0036】本發明之抗 C5 抗體可用於藥物的製造。在一些實施例中，所述藥物是用以治療涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況。在一些實施例中，所述藥物是用以增強 C5 自血漿的消除。

【0037】本發明亦提供用於治療個體之方法，所述個體具有涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況。在一些實施例中，所述方法包括對個體施用有效量之本發明的抗 C5 抗體。發明亦提供於個體中增強自血漿消除 C5 之方法。在一些實施例中，所述方法包括對個體施用有效量之本發明的抗 C5 抗體，以增強 C5 自血漿的消除。

【圖式簡單說明】

【0038】

[第 1 圖]

第 1 圖顯示抗 C5 抗體的抗原決定基分格(epitope binning)，如實施例 2.2 所述。分類至相同抗原決定基分格中

的抗體以粗線框起。

[第 2A 圖]

第 2A 圖顯示抗 C5 抗體在 pH7.4(實線)以及 pH5.8(虛線)下的 BIACORE®感測圖以評估 pH 依賴性，如實施例 3.2 所述。CFA0305、CFA0307、CFA0366、CFA0501、CFA0538 及 CFA0599 為分類至抗原決定基 C 中的抗體，如實施例 2.2 所述。

[第 2B 圖]

第 2B 圖顯示抗 C5 抗體在 pH7.4(實線)以及 pH5.8(虛線)下的 BIACORE®感測圖以評估 pH 依賴性，如實施例 3.2 所述。CFA0666、CFA0672 及 CFA0675 為分類至抗原決定基 C 中的抗體，以及 CFA0330 及 CFA0341 為分類至抗原決定基 B 中的抗體，如實施例 2.2 所述。305LO5 為 CFA0305 的人源化抗體，如實施例 2.3 所述。

[第 3 圖]

第 3 圖顯示針對融合 GST 標記之 C5 的 β 鏈衍伸片段(序列辨識號：40 的胺基酸 19 至 180、161 至 340、321 至 500 及 481 至 660)之西方點墨(Western Blot)分析，如實施例 4.1 所述。CFA0305、CFA0307、CFA0366、CFA0501、CFA0538、CFA0599、CFA0666、CFA0672 及 CFA0675 為分類至抗原決定基 C 中的抗體。抗 GST 抗體為正控制組，GST 融合的(GST-fused)C5 片段(46 至 49kDa)的位置以箭頭標示。

[第 4 圖]

第 4 圖顯示抗 C5 抗體對 C5 的 β 鏈的 MG1-MG2 域之 BIACORE®感測圖，如實施例 4.3 所述。上欄顯示 CFA0305(實

線)、CFA0307(虛線)、CFA0366(虛線-點線)以及 eculizumab(點線)之結果。中間欄顯示 CFA0501(實線)、CFA0599(虛線)、CFA0538(虛線-點線)以及 eculizumab(點線)之結果。下欄顯示 CFA0666(實線)、CFA0672(虛線)、 CFA0675(虛線-點線)以及 eculizumab(點線)之結果。CFA0305、CFA0307、CFA0366、CFA0501、CFA0538、CFA0599、CFA0666、CFA0672 以及 CFA0675 為分類至抗原決定基 C 中的抗體，Eculizumab 為抗 C5 抗體的控制組。

[第 5A 圖]

第 5A 圖顯示針對融合 GST 標記之 MG1-MG2 域衍伸之肽片段(序列辨識號：40 的胺基酸 33 至 124、45 至 124、52 至 124、33 至 111、33 至 108 及 45 至 111)之西方點墨分析，如實施例 4.4 所述。抗 GST 抗體被使用作為反應的抗體，GST 融合之 C5 片段(35 至 37kDa)的位置以箭頭標示。

[第 5B 圖]

第 5B 圖顯示針對融合 GST 標記之 MG1-MG2 域衍伸之肽片段(序列辨識號：40 的胺基酸 33 至 124、45 至 124、52 至 124、33 至 111、33 至 108 及 45 至 111)之西方點墨分析，如實施例 4.4 所述。CFA0305 被使用作為反應的抗體。

[第 5C 圖]

第 5C 圖總結抗 C5 抗體對 C5 的 β 鏈衍伸片段之結合反應，如實施例 4.4 所述。結合至被分類於抗原決定基 C 的抗 C5 抗體(CFA0305、CFA0307、CFA0366、CFA0501、CFA0538、CFA0599、CFA0666、CFA0672 以及 CFA0675)的片段以灰色表

示，以及不結合至它們的片段以白色表示。

[第 6 圖]

第 6 圖顯示針對在 β 鏈的 E48、D51 及 K109 被丙氨酸取代(分別為 E48A、D51A 及 K109A)之 C5 點突變體之西方點墨分析，如實施例 4.5 所述。在左欄，eculizumab(抗 C5 抗體，α 鏈結合物)被使用作為反應之抗體且 C5 的 α 鏈(約 113kDa)的位置以箭頭標示。在右欄，CFA0305(被分類至抗原決定基 C，β 鏈結合物)被使用作為反應之抗體且 C5 的 β 鏈(約 74kDa)的位置以箭頭標示。

[第 7 圖]

第 7 圖呈現 BIACORE®感測圖，其顯示 eculizumab-F760G4(上欄)或 305LO5(下欄)與 C5 突變體的相互作用，如實施例 4.6 所述。感測圖是藉由分別注入 C5-wt(粗曲線)、C5-E48A(短的虛曲線)、C5-D51A(長的虛曲線)及 C5-K109A(細曲線)於固定有 eculizumab-F760G4 或 305LO5 之感測器表面上而獲得。Eculizumab 為抗 C5 抗體的控制組，305LO5 為 CFA0305(被分類至抗原決定基 C)之人源化抗體，如實施例 2.3 所述。

[第 8 圖]

第 8 圖呈現 BIACORE®感測圖，其顯示 305LO5 與 C5 的 His 突變體的相互作用以評估 pH 依賴性，如實施例 4.7 所述。感測圖是藉由分別注入 C5-wt(粗曲線)、C5-H70Y(長的虛曲線)、C5-H72Y(短的虛曲線)、C5-H110Y(點曲線)及 C5-H70Y+H110Y(細曲線)於固定有 305LO5 之感測器表面上而

獲得。抗體/抗原複合物可在 pH7.4 解離，接著在 pH5.8(箭頭指示)進一步解離以評估 pH 依賴性的相互作用。

[第 9A 圖]

第 9A 圖顯示藉由抗 C5 抗體抑制補體活化的脂質體(liposome)細胞溶解，如實施例 5.1 所述。結果顯示 CFA0305、CFA0307、CFA0366、CFA0501、CFA0538、CFA0599、CFA0666、CFA0672 及 CFA0675 被分類至抗原決定基 C，如實施例 2.2 所述。

[第 9B 圖]

第 9B 圖顯示藉由抗 C5 抗體抑制補體活化的脂質體細胞溶解，如實施例 5.1 所述。結果顯示抗體 CFA0330 及 CFA0341 被分類至抗原決定基 B，如實施例 2.2 所述。

[第 10A 圖]

第 10A 圖顯示藉由抗 C5 抗體抑制 C5a 的產生，如實施例 5.2 所述。在如第 9A 圖所述之脂質體細胞溶解測定(liposome lysis assay)中所獲得之上清液中定量 C5a 濃度。

[第 10B 圖]

第 10B 圖顯示藉由抗 C5 抗體抑制 C5a 的產生，如實施例 5.2 所述。在如第 9B 圖所述之脂質體細胞溶解測定中所獲得之上清液中定量 C5a 濃度。

[第 11 圖]

第 11 圖顯示藉由抗 C5 抗體抑制補體活化的溶血反應，如實施例 5.3 所述。補體藉由經典途徑被活化。

[第 12 圖]

第 12 圖顯示藉由抗 C5 抗體抑制補體活化的溶血反應，如實施例 5.4 所述。補體藉由替代途徑被活化。

[第 13 圖]

第 13 圖顯示於靜脈內施用單獨人類 C5 或人類 C5 以及抗人類 C5 抗體於評估 C5 消除的小鼠之後的血漿人類 C5 濃度的時程，如實施例 6.2 所述。CFA0305、CFA0307、CFA0366、CFA0501、CFA0538、CFA0599、CFA0666、CFA0672 及 CFA0675 為分類至抗原決定基 C 的抗體，且 CFA0330 及 CFA0341 為分類至抗原決定基 B 的抗體，如實施例 2.2 所述。

[第 14 圖]

第 14 圖顯示於靜脈內施用人類 C5 以及抗人類 C5 抗體於評估抗體藥物動力學的小鼠後的血漿抗人類 C5 抗體濃度的時程，如實施例 6.3 所述。CFA0305、CFA0307、CFA0366、CFA0501、CFA0538、CFA0599、CFA0666、CFA0672 及 CFA0675 為分類至抗原決定基 C 的抗體，且 CFA0330 及 CFA0341 為分類至抗原決定基 B 的抗體，如實施例 2.2 所述。

[第 15 圖]

第 15 圖顯示藉由抗 C5 抗體抑制補體活化的脂質體細胞溶解，如實施例 9.1 所述。顯示抗體 305LO15-SG422、305LO16-SG422、305LO18-SG422、305LO19-SG422、305LO20-SG422 及 305LO20-SG115 的結果。

[第 16 圖]

第 16 圖顯示藉由抗 C5 抗體抑制補體活化的脂質體細胞溶解，如實施例 9.1 所述。顯示抗體 305LO15-SG115 及 305LO23-

SG429 的結果。

[第 17 圖]

第 17 圖顯示藉由抗 C5 抗體抑制補體活化的脂質體細胞溶解，如實施例 9.1 所述。顯示抗體 305LO22-SG115、305LO22-SG422、305LO23-SG115 及 305LO23-SG422 的結果。

[第 18 圖]

第 18 圖顯示藉由抗 C5 抗體抑制 C5a 的產生，如實施例 9.2 所述。

在如第 15 圖所述之脂質體細胞溶解測定中所獲得之上清液中定量 C5a 濃度。

[第 19 圖]

第 19 圖顯示藉由抗 C5 抗體抑制 C5a 的生成，如實施例 9.2 所述。在如第 16 圖所述之脂質體細胞溶解測定中所獲得之上清液中定量 C5a 濃度。

[第 20 圖]

第 20 圖顯示藉由抗 C5 抗體抑制猴子血漿中的補體活性，如實施例 9.3 所述。投予抗 C5 抗體至恆河猴(cynomolgus monkey)中，以及在溶血反應測定中量測猴子血漿中的補體活性。

[第 21 圖]

第 21 圖顯示藉由抗 C5 抗體(eculizumab)抑制野生型 C5(WT)以及 C5 變異體(V145I、R449G、V802I、R885H、R928Q、D966Y、S1310N 及 E1437D)的生物活性，如實施例 9.4 所述。

[第 22 圖]

第 22 圖顯示藉由抗 C5 抗體(305 變異體)抑制野生型 C5(WT)以及 C5 變異體(V145I、R449G、V802I、R885H、R928Q、D966Y、S1310N 及 E1437D)的生物活性，如實施例 9.4 所述。

[第 23 圖]

第 23 圖顯示藉由抗 C5 抗體(BNJ441 及 305 變異體)抑制補體活化的脂質體細胞溶解，如實施例 9.5 所述。

[第 24 圖]

第 24 圖顯示於靜脈內施用抗人類 C5 抗體於評估 C5 消除的恆河猴之後的血漿恆河猴 C5 濃度的時程，如實施例 10.2 所述。

[第 25 圖]

第 25 圖顯示於靜脈內施用抗人類 C5 抗體於評估藥物動力學的恆河猴之後的血漿抗人類 C5 抗體濃度的時程，如實施例 10.3 所述。

[第 26 圖]

第 26A 及 26B 圖顯示 305 Fab 結合至人類 C5(hC5)-MG1 域的晶體結構，如實施例 11.6 所述。第 26A 圖顯示不對稱單元，MG1 以表面示意圖顯示，305 Fab 以帶狀物顯示(深灰：重鏈，淺灰：輕鏈)。第 26B 圖顯示重疊的分子 1 及 2(深灰：分子 1，淺灰：分子 2)。

[第 27A 圖]

第 27A 圖顯示位於 MG1 域上的 305 Fab 接觸區域之抗原決定基，如實施例 11.6 所述。第 27A 圖顯示 MG1 胺基酸序列中的抗原決定基定位(epitope mapping)(深灰：比 3.0Å 接近，

淺灰：比 4.5Å 接近)。

[第 27B 圖]

第 27B 圖顯示位於 MG1 域上的 305 Fab 接觸區域之抗原決定基，如實施例 11.6 所述。第 27B 圖顯示晶體結構中的抗原決定基定位(深灰球狀：比 3.0Å 接近，淺灰棒狀：比 4.5Å 接近)。

[第 28A 圖]

第 28A 圖顯示 E48、D51 及 K109(棒狀圖像)與 305 Fab(表面圖像)相互作用的近視圖，如實施例 11.7 所述。

[第 28B 圖]

第 28B 圖顯示 E48 及其周圍環境的相互作用(深灰點線：與 Fab 的氫鍵，淺灰點線：水調節的氫鍵)，如實施例 11.7 所述。

[第 28C 圖]

第 28C 圖顯示 D51 及其周圍環境的相互作用(深灰點線：與 Fab 的氫鍵)，如實施例 11.7 所述。

[第 28D 圖]

第 28D 圖顯示 K109 及其周圍環境的相互作用(深灰點線：與 Fab 的氫鍵，淺灰點線：與 H-CDR3_D95 的鹽橋)，如實施例 11.7 所述。

[第 29A 圖]第 29A 圖顯示 H70、H72 及 H110(棒狀圖像)與 305 Fab(表面圖像)相互作用的近視圖，如實施例 11.8 所述，在與第 28A 圖相同之方位。

[第 29B 圖]

第 29B 圖顯示 H70 及其周圍環境的相互作用，如實施例 11.8 所述。此組胺酸殘基以棒狀及網狀圖像指出，氫鍵以點線指出。

[第 29C 圖]

第 29C 圖顯示 H72 及其周圍環境的相互作用，如實施例 11.8 所述。此組胺酸殘基以棒狀及網狀圖像指出，氫鍵以點線指出。

[第 29D 圖]

第 29D 圖顯示 H110 及其周圍環境的相互作用，如實施例 11.8 所述。此組胺酸殘基以棒狀及網狀圖像指出。H110 以及 H-CDR3_H100c 之間的距離以點線表示。

【實施方式】

【0039】在本文所述或引用之技術或步驟通常為所屬領域之技術人員熟知且常使用的傳統方法，例如，舉例而言，如 Sambrook 等人，Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.；Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel 等人編輯 (2003))；the series Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.): PCR 2: A Practical Approach (M.J. MacPherson、B.D. Hames 及 G.R. Taylor 編輯 (1995))，Harlow 及 Lane 編輯 (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, and Animal Cell Culture (R.I. Freshney 編輯，(1987))；Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait 編輯，1984)；Methods in Molecular Biology, Humana Press；Cell Biology: A Laboratory

Notebook (J.E. Cellis 編輯，1998) Academic Press；Animal Cell Culture (R.I. Freshney)編輯，1987)；Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather 及 P.E. Roberts，1998) Plenum Press；Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle、J.B. Griffiths 及 D.G. Newell 編輯，1993-8) J. Wiley 及 Sons；Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir 及 C.C. Blackwell 編輯)；Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller 及 M.P. Calos 編輯，1987)；PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis 等人編輯，1994)；Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan 等人編輯，1991)；Short Protocols in Molecular Biology (Wiley 及 Sons，1999)；Immunobiology (C.A. Janeway 及 P. Travers，1997)；Antibodies (P. Finch, 1997)；Antibodies: A Practical Approach (D. Catty. 編輯，IRL Press, 1988-1989)；Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd 及 C. Dean 編輯，Oxford University Press, 2000)；Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow 及 D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)；The Antibodies (M. Zanetti 及 J. D. Capra 編輯，Harwood Academic Publishers, 1995)；以及 Cancer: Principles and Practice of Oncology (V.T. DeVita 等人編輯，J.B. Lippincott Company, 1993)中所述被廣泛利用的方法。

I．定義

【0040】除非另有定義，在本文所使用的技術和科學術語具有之意義與本發明所屬領域之技術人員通常理解的相同。

Singleton 等人，Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J. Wiley & Sons(New York, N.Y. 1994)以及 March, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 4th ed., John Wiley & Sons (New York, N.Y. 1992)提供本領域之技術人員對於本申請所使用的許多術語之概括性指導。在本文所引用之文獻，包含專利申請及出版物，均以參考方式完整併入本文。

【0041】為了解釋本說明書，將使用以下定義，並且只要適當，以單數形式使用的術語也可以包含複數，且反之亦然。應理解的是，在本文所使用的術語僅是為了描述具體的實施例，並未有限制的意圖。在以下所述的任何定義與以參考方式併入本文中的任何文獻衝突的情況下，將以下述之定義為准。

【0042】用於本文目的之“受體人類框架”是包含衍生自下文定義的人類免疫球蛋白框架或人類共有框架的輕鏈可變域(VL)框架或重鏈可變域(VH)框架的胺基酸序列之框架。“衍生自”人類免疫球蛋白框架或人類共有框架的受體人類框架可包括其相同的胺基酸序列，或者它可包含胺基酸序列改變。在一些實施例中，胺基酸改變的數目是 10 個或更少、9 個或更少、8 個或更少、7 個或更少、6 個或更少、5 個或更少、4 個或更少、3 個或更少、或 2 個或更少。在一些實施例中，VL 受體人類框架在序列上與 VL 人類免疫球蛋白框架序列或人類共有框架序列相同。

【0043】“親和性”指分子(例如，抗體)的單一結合部位與其結合配偶體(例如，抗原)之間非共價相互作用的總計強度。除

非另有說明，在本文所使用的“結合親和性”指內在的結合親和性，其反映結合對(例如，抗體及抗原)的成員之間的 1:1 相互作用。分子 X 對其配偶體 Y 的親和性一般可藉由解離常數(dissociation constant, Kd)來表示。親和性可藉由本領域公知的方法來測量，包含本文中描述的那些。用於測量結合親和性之具體說明及示例性的實施例將於下文中描述。

【0044】“親和性成熟”抗體指與不具有這類改變的親本抗體(parent antibody)相比，在一個或多個高變異區(hypervariable region, HVR)中具有一個或多個改變的抗體，這類改變導致抗體對抗原的親和性的改善。

【0045】術語“抗 C5 抗體”及“結合至 C5 的抗體"指一抗體，其能夠以足夠的親和性結合 C5 使得抗體可以在標靶 C5 中用作為診斷及/或治療劑。在一實施例中，例如藉由放射免疫測定(RIA)測量，抗 C5 抗體與不相關的非 C5 蛋白結合的程度小於該抗體與 C5 的結合的約 10%。在特定實施例中，結合至 C5 的抗體具有≤1μM、≤100 nM、≤10 nM、≤1 nM、≤0.1 nM、≤0.01 nM、或≤0.001 nM (例如 10^{-8} M 或更小、例如由 10^{-8} M 至 10^{-13} M、例如由 10^{-9} M 至 10^{-13} M)之解離常數(Kd)。在特定實施例中，抗 C5 抗體結合至 C5 的抗原決定基，其與來自不同物種的 C5 之間為保守的(conserved)。

【0046】術語“抗體”在本文中以最廣泛的含義使用並涵蓋多種抗體結構，包含但不限於單株抗體、多株抗體、多特異性抗體(例如，雙特異性抗體)及抗體片段，只要它們展現所希望的抗原結合活性。

【0047】“抗體片段”指除完整抗體以外之包括完整抗體的部分的分子，其結合該完整抗體所結合的抗原。抗體片段的實例包含但不限於 Fv、Fab、Fab’、Fab’-SH、$F(ab')_2$；雙抗體(diabody)；線性抗體；單鏈抗體分子(例如，scFv)；以及從抗體片段形成之多特異性抗體。

【0048】“結合相同抗原決定基的抗體”作為參考抗體是指在競爭測定(competition assay)中，將參考抗體與其抗原的結合阻斷之抗體，及/或相反地，參考抗體在競爭測定中將抗體與其抗原的結合阻斷。本文提供示例性競爭測定。

【0049】術語“嵌合(chimeric)”抗體指一抗體其中部分的重鏈及/或輕鏈來自特定來源或物種，而重鏈及/或輕鏈的其餘部分則來自不同的來源或物種。

【0050】抗體的“種類”指其重鏈所具有的恆定域(constant domain)或恆定區(constant region)的類型。存在五個主要種類的抗體：IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM，這些種類中的數種可進一步劃分為亞型(subgroup)(同型(isotype))，例如，IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1 及 IgA_2。對應於不同種類的免疫球蛋白之重鏈恆定域分別稱為 α、δ、ε、γ 及 μ。

【0051】本文所使用的術語“細胞毒劑(cytotoxic agent)”指抑制或阻止細胞功能及/或引起細胞死亡或破壞的物質。細胞毒劑包含但不限於放射性同位素(例如，At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212} 以及 Lu 的放射性同位素)；化療劑或藥物(例如，甲氨喋呤、阿黴素(adriamicin)、長春花屬生物鹼(長春新生物鹼(vincristine)、長春花生物鹼

(vinblastine)、依妥普賽(etoposide))、艾黴素(doxorubicin)、氮芥苯丙胺酸(melphalan)、絲裂黴素 C、氮芥苯丁酸(chlorambucil)、道諾黴素(daunorubicin)或其他嵌入劑)；生長抑制劑；酶及其片段，例如核溶解酶；抗生素；毒素，例如細菌、真菌、植物或動物來源的小分子毒素或酶活性毒素，包含其片段及/或變異體；及下文揭示的多種抗腫瘤或抗癌劑。

【0052】“效應物功能”指可歸因於抗體的 Fc 區的那些生物活性，其隨抗體同型(isotype)而不同。抗體效應物功能的例子包含：Clq 結合及補體依賴性細胞毒性(complement dependent cytotoxicity, CDC)；Fc 受體結合；抗體依賴性細胞調節細胞毒性(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體(例如 B 細胞受體)的負調控；及 B 細胞活化。

【0053】試劑，例如醫藥配方，的“有效量”指在劑量及所需的時間內，可有效達成希望的治療或預防結果的量。

【0054】術語“抗原決定基”包含能夠被抗體結合之任何決定位(determinant)。抗原決定基是被標靶該抗原之抗體結合的抗原的區域，且包含特定的胺基酸，其直接接觸抗體。抗原決定基決定位可包含分子(例如胺基酸、醣支鏈、磷酸基或磺醯基)的化學活性表面群集，且可具有特定的三維結構特性，及/或特定電荷特性。一般而言，對特定目標抗原具有特異性的抗體在蛋白及/或巨分子的複合混合物中將優先地辨識目標抗原上的抗原決定基。

【0055】本文的術語“Fc 區”是用來定義免疫球蛋白重鏈的

C末端區域，其包含至少一部分的恆定區。此術語包含天然序列Fc區和變異體Fc區。在一實施例中，人類IgG重鏈Fc區自Cys226或自Pro230延伸至重鏈的羧基末端。然而，Fe區的C末端賴胺酸(Lys447)或甘胺酸-賴胺酸(殘基 446-447)可存在或不存在。除非本文另有說明，Fc區或恆定區中的胺基酸殘基的編號是按照EU編號系統，亦稱為EU指數，如Kabat等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest* 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991中所述。

【0056】“框架”或“FR”指高變異區(HVR)殘基以外的可變域殘基。可變域的FR一般由四個FR域所組成：FR1、FR2、FR3及FR4。因此，HVR和FR序列一般按以下順序出現在VH(或VL)中：FR1-H1(LI)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

【0057】術語“全長抗體”、“完整抗體”及“全抗體”在本文中可互換使用，指具有實質上(substantially)相似於天然抗體結構的結構或具有包含本文定義之Fc區的重鏈的抗體。

【0058】術語“宿主細胞”、“宿主細胞系”和"宿主細胞培養物"可互換使用，指已將外源核酸引入其中的細胞，包含這類細胞的子代。宿主細胞包含“轉化體”及“轉化細胞”，其包含最初轉化的細胞及從其衍生的子代，並不考慮傳代數。子代的核酸含量可以不與親本細胞完全相同，而可包含突變。本文包含具有與在最初轉化的細胞中篩選或選擇之相同功能或生物活性之突變體後代。

【0059】“人類抗體”是具有對應於由人類或人類細胞產生

的抗體或衍生自非人類來源的胺基酸序列者，上述非人類來源的胺基酸序列利用人類抗體庫或其它人類抗體編碼序列。人類抗體的此定義具體排除了包括非人類抗原結合殘基的人源化抗體。

【0060】“人類共有框架”是代表人類免疫球蛋白 VL 或 VH 框架序列的選擇中最常出現之胺基酸殘基的框架。一般而言，人類免疫球蛋白 VL 或 VH 序列的選擇來自可變域序列的亞型。通常，序列的亞型是 Kabat 等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3 中的亞型。在一實施例中，對於 VL，亞型是如 Kabat 等人，*supra* 中的亞型 kappa I。在一實施例中，對於 VH，亞型是如 Kabat 等人， *supra* 中的亞型 III。

【0061】“人源化(humanized)”抗體指包括來自非人類 HVR 的胺基酸殘基以及來自人類 FR 的胺基酸殘基的嵌合抗體。在特定實施例中，人源化抗體將包括實質上全部之至少一個且通常為兩個的可變域，其中全部或實質上全部之 HVR (例如，CDRs)對應於非人類抗體的那些，而全部或實質上全部之 FR 對應於人類抗體的那些。人源化抗體可選擇地包括源自人類抗體的抗體恆定區的至少一部分。抗體(例如非人類抗體)的"人源化形式"指已進行人源化之抗體。

【0062】本文所用的術語“高變異區”或“HVR”指抗體可變域在序列上高變異(“互補決定區”或“CDR”)、及/或形成結構上定義的環(“高變異環”)、及/或包含抗原接觸殘基(“抗原接觸”)的每一區域。一般而言，抗體包括六個 HVR：三個在 VH 中(H1、

H2、H3)，三個在 VL 中(L1、L2、L3)。本文中示例性 HVR 包含：(a) 出現於胺基酸殘基 26-32(L1)、50-52(L2)、91-96(L3)、26-32(H1)、53-55(H2)以及 96-101(H3) (Chothia, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987))的高變異環；(b) 出現於胺基酸殘基 24-34(L1)、50-56(L2)、89-97(L3)、31-35b(H1)、50-65(H2)以及 95-102(H3) (Kabat 等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, NIH, Bethesda, MD (1991))的 CDR；(c) 出現於胺基酸殘基 27c-36(L1)、46-55(L2)、89-96(L3)、30-35b(H1)、47-58(H2)以及 93-101(H3) (MacCallum 等人，*J. Mol. Biol.* 262:732-745 (1996))的抗原接觸；以及(d) (a)、(b)及/或(c)之組合，包含 HVR 胺基酸殘基 46-56(L2)、47-56(L2)、48-56(L2)、49-56(L2)、26-35(H1)、26-35b(H1)、49-65(H2)、93-102(H3)以及 94-102(H3)。

【0063】除非另有說明，本文中 HVR 殘基及在可變域中的其它殘基(例如，FR 殘基)依照 Kabat 等人，*supra* 編號。

【0064】“免疫偶聯物”是與一或多種異源(heterogeneous)分子(包含但不限於細胞毒劑)偶聯的抗體。

【0065】“個體(individual)”或“對象(subject)”是哺乳動物。哺乳動物包含但不限於飼養的動物(例如牛、綿羊、貓、狗及馬)、靈長類(例如人類及非人類靈長類，如猴)、兔及齧齒類(例如小鼠和大鼠)。在特定實施例中，個體或對象為人類。

【0066】“分離的”抗體是已從其天然環境的成分分離的抗體。在一些實施例中，抗體被純化至大於 95%或 99%的純度，

其藉由例如，電泳(例如 SDS-PAGE、等電聚焦(IEF)、毛細管電泳)或層析(例如離子交換或反相 HPLC)方法進行測定。評估抗體純度的方法的綜述可參照，例如，Flatman 等人，*J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007)。

【0067】"分離的"核酸指已從其天然環境的成分分離的核酸分子。分離的核酸包括包含在通常含有該核酸分子的細胞中的核酸分子，但該核酸分子存在於染色體外或在不同於其天然染色體位置的染色體位置上。

【0068】"編碼抗 C5 抗體的分離的核酸"指編碼抗體重鏈及輕鏈(或其片段)的一或多個核酸分子，包含於單一載體或分開的載體中的此種核酸分子，以及存在於宿主細胞中的一或多個位置的此種核酸分子。

【0069】本文所用的術語"單株抗體"指獲得自實質上同源的(homogeneous)抗體族群的抗體，即，包括相同的族群及/或結合至相同抗原決定基的單獨抗體，除了例如：包含天然存在的突變或在產生單株抗體製備期間出現之可能的變異體抗體(這類變異體通常以較小量存在)以外。不同於通常包含針對不同決定位(抗原決定基)的不同抗體之多株抗體的製備，單株抗體製備的每一單株抗體是針對抗原上的單一決定位。因此，修飾詞"單株"指獲取自實質上同源的抗體族群的抗體特徵，而不解釋為需要藉由任何具體方法以生產抗體。例如，將根據本發明被使用的單株抗體可藉由多種技術加以製備，其包含但不限於融合瘤技術、重組 DNA 法、噬菌體展示法以及利用含有全部或部分人類免疫球蛋白基因座(loci)的轉殖基因動物的方

法，這類方法及其它用以製造單株抗體的示例性方法將於文中描述。

【0070】“裸抗體”指未與異源部分(例如細胞毒性部分)或放射標記偶聯的抗體。裸抗體可存在於醫藥配方中。

【0071】“天然抗體”指具有不同結構之天然存在的免疫球蛋白分子。例如，天然 IgG 抗體為約 150,000 道爾頓(dalton)的異源四聚體醣蛋白，由雙硫鍵結的兩個相同輕鏈及兩個相同重鏈所組成。從 N 至 C 末端，每一重鏈具有可變區(VH)，也稱為可變重鏈域或重鏈可變域，隨後是三個恆定域(CH1、CH2及 CH3)。相似地，從 N 至 C 末端，每一輕鏈具有可變區(VL)，也稱為可變輕鏈域或輕鏈可變域，隨後是恆定輕鏈(CL)域。根據其恆定域的胺基酸序列，抗體的輕鏈可歸類於兩種類型之一，稱為 κ 及 λ。

【0072】術語“藥品仿單(package insert)”用來指通常包含在治療產品的商業包裝中的說明，其包含關於適應症、用法、劑量、施用、結合療法、禁忌症的資訊及/或有關這類治療產品的使用之警告。

【0073】相對於參考多肽序列的“百分比(%)胺基酸序列相同性”定義為在比對序列及在必要時引入缺口(gap)以達到最大的百分比序列相同性之後，且不將任何保守取代視為序列相同性的部分的情況下，候選序列中與參考多肽序列中的胺基酸殘基相同的胺基酸殘基的百分比。可以以本技術領域之內的各種方式以達到以測定百分比胺基酸序列相同性為目的之比對，例如，使用公開可取得的電腦軟體，如 BLAST、BLAST-2、

ALIGN、Megalign(DNASTAR)軟體或 GENETYX(註冊商標)(Genetyx Co., Ltd.)。本領域之技術人員可以決定用於比對序列的適當參數，包含在所比較的序列的全長內達到最大比對所需的任一演算法。ALIGN-2 序列比較電腦程式由 Genentech, Inc. 編寫，且原始程式碼已隨用戶文件提交美國版權辦公室，Washington D.C., 20559，它在美國版權辦公室註冊在美國版權註冊號 TXU510087 之下。ALIGN-2 程式可公開取得於 Genentech, Inc., South San Francisco, California，或者可從原始程式碼編譯。ALIGN-2 程式應編譯用在 UNIX 作業系統上，包括數位 UNIX V4.0D。所有序列比較參數由 ALIGN-2 程式設定且不變動。

【0074】在利用 ALIGN-2 以進行胺基酸序列比較的情況下，給定的胺基酸序列 A 比上、以及或相對給定的胺基酸序列 B 的%胺基酸序列相同性(或者其可表達為給定的胺基酸序列 A，其具有或包括特定%胺基酸序列相同性比上、以及或相對給定的胺基酸序列 B)以下列計算：100 乘以分數 X/Y，其中 X 是在該程式的 A 及 B 比對中藉由序列比對程式 ALIGN-2 評分為相同匹配(match)的胺基酸殘基數目，以及其中 Y 是 B 中的胺基酸殘基的總數。應理解的是，在胺基酸序列 A 的長度不等於胺基酸序列 B 的長度時，A 比上 B 的%胺基酸序列相同性將不等於 B 比上 A 的%胺基酸序列相同性。除非明確地另有說明，本文中使用的所有%胺基酸序列相同性值均是如前面段落中所述利用 ALIGN-2 電腦程式所得。

【0075】術語“醫藥配方”指一製備物，其處於允許包含在其

中的活性成分的生物活性有效的此種形式，且其不包含對將要施用該配方的對象具有不可接受的毒性之附加成分。

【0076】“醫藥上可接受之載體”指醫藥配方中除了活性成分以外的一成分，其對對象無毒性。醫藥上可接受之載體包含但不限於緩衝劑、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

【0077】本文所用的術語“C5” 涵蓋來自任一脊椎動物源的任一天然 C5，包含哺乳動物，例如靈長類(例如，人類及猴)以及齧齒類(例如，小鼠和大鼠)。除非另有說明，術語“C5”是指具有序列辨識號：39 所示之胺基酸序列以及包含序列辨識號：40 所示之 β 鏈序列的人類 C5 蛋白。此術語涵蓋“全長”未經處理的 C5 以及由細胞內加工產生的任一形式之 C5。此術語亦涵蓋 C5 之天然存在的變異體，例如，剪接(splice)變異體或等位基因(allelic)變異體。示例性人類 C5 的胺基酸序列如序列辨識號：39(“野生型”或“WT”C5)所示。示例性人類 C5 的 β 鏈的胺基酸序列如序列辨識號：40 所示。示例性人類 C5 的 β 鏈的 MG-1、MG-2 及 MG1-MG2 域的胺基酸序列分別如序列辨識號：41、42 及 43 所示。示例性恆河猴及鼠類 C5 的胺基酸序列分別如序列辨識號：44 及 105 所示。序列辨識號：39、40、43、44 及 105 的胺基酸殘基 1 至 19 對應於訊息序列，其在細胞內加工中被移除因此未出現於對應之示例性胺基酸序列中。

【0078】本文所使用的“處理(treatment)”(及其語法的變形)指試圖改變受處理的個體的自然病程之臨床干預，且可以為了預防而進行或在臨床病理的過程中進行。希望得到的處理作用包含但不限於防止疾病的發生或復發、減輕症狀、減少疾病的

任一直接或間接的病理結果、防止轉移、降低疾病進展的速率、改善或緩和疾病狀態以及緩減或改善的預後。在一些實施例中，本發明的抗體用以延遲疾病的發展或減慢疾病的進展。

【0079】術語“可變區”或“可變域”指涉及結合抗體至抗原的抗體重鏈或輕鏈的域。天然抗體的重鏈及輕鏈的可變域(分別為 VH 和 VL)通常具有相似的結構，每一域包括四個保守的框架區(FR)及三個高變異區(HVR)(請參照，例如 Kindt 等人，*Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co.，第 91 頁(2007))。單一 VH 或 VL 域可足以賦予抗原結合的特異性。此外，結合至特定抗原的抗體，可使用來自結合該抗原之抗體的 VH 或 VL 域以分別篩選互補的 VL 或 VH 域資料庫加以分離。請參照，例如 Portolano 等人，*J. Immunol.* 150:880-887 (1993)；Clarkson 等人，*Nature* 352:624-628 (1991)。

【0080】本文使用的術語“載體”指一核酸分子，其能夠繁殖與它連接的另一核酸。此術語包含作為自主複製核酸結構的載體，以及併入它已引入的宿主細胞之基因組中的載體。特定載體能夠指示與它們有效連接的核酸之表現。這類載體在本文中稱為“表達載體”。

II. 組成及方法

【0081】在一態樣中，發明是，部分地，以抗 C5 抗體及其使用為基礎。在特定實施例中，提供結合至 C5 的抗體。本發明的抗體有益於，例如，涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況的診斷及處理。

A. 示例性抗 C5 抗體

【0082】在一態樣中，發明提供結合至C5之分離的抗體。在特定實施中，本發明的抗C5抗體結合至C5的β鏈內的抗原決定基。在特定實施中，抗C5抗體結合至C5的β鏈的MG1-MG2域內的抗原決定基。在特定實施中，抗C5抗體結合至由C5的β鏈的胺基酸19至180所組成的片段內的抗原決定基。在特定實施中，抗C5抗體結合至C5的β鏈的MG1域(序列辨識號：40(序列辨識號：41)的胺基酸20至124)內的抗原決定基。在特定實施中，抗C5抗體結合至由C5(序列辨識號：40)的β鏈的胺基酸33至124所組成的片段內的抗原決定基。在另一實施例中，抗C5抗體未結合至較由C5的β鏈的胺基酸33至124所組成的片段短之片段，例如，由C5(序列辨識號：40)的β鏈的胺基酸45至124、52至124、33至111、33至108或45至111所組成的片段。

【0083】在另一態樣中，發明提供顯示pH依賴性結合特性之抗C5抗體。如本文所使用，用詞“pH依賴性”是指抗體顯示“相較於在中性pH，在酸性pH與C5之結合降低”(就本揭露之目的，兩種用辭均可互換使用)。例如，“具有pH依賴性結合特性”的抗體包含相較於在酸性pH，在中性pH以較高親和性結合至C5的抗體。在特定實施例中，相較於在酸性pH，本發明的抗體在中性pH以至少2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000或更多倍之親和性結合至C5。在一些實施例中，相較於在pH5.8，抗體在pH7.4以較高親和性結合至C5。在又一些實施例中，相較於在pH5.8，本發明之抗體在

pH7.4 以至少 2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000 或更多倍之親和性結合至 C5。

【0084】抗體對 C5 的“親和性”，就本揭露之目的，是以抗體的 KD 之術語表示。抗體的 KD 是指抗體-抗原相互作用的平衡解離常數。一抗原結合至其抗原的 KD 值越大，其對那特定抗原的結合親和性越弱。因此，如文中所用，“相較於酸性 pH，在中性 pH 具較高親和性”(或等同表述“pH 依賴性結合”)是指抗體在酸性 pH 下結合至 C5 的 KD 大於抗體在中性 pH 下結合至 C5 的 KD。例如，在本發明的內容中，若抗體在酸性 pH 下結合至 C5 的 KD 至少大於抗體在中性 pH 下結合至 C5 的 KD 之兩倍，抗體被視為相較於酸性 pH，在中性 pH 以較高親和性結合至 C5。因此，本發明包含在酸性 pH 結合至 C5 的 KD 至少大於抗體在中性 pH 結合至 C5 的 KD 之 2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000 或更多倍之抗體。在另一實施例中，抗體在中性 pH 的 KD 值可為 10^{-7}M、10^{-8}M、10^{-9}M、10^{-10}M、10^{-11}M、10^{-12}M 或更小。在另一實施例中，抗體在酸性 pH 的 KD 值可為 10^{-9}M、10^{-8}M、10^{-7}M、10^{-6}M 或更大。

【0085】在又一些實施例中，若抗體在 pH5.8 下結合至 C5 的 KD 至少大於抗體在 pH7.4 下結合至 C5 的 KD 之兩倍，抗體被視為相較於酸性 pH，在中性 pH 以較高親和性結合至 C5。在一些實施例中，提供之抗體在 pH5.8 結合至 C5 的 KD 至少

大於抗體在 pH7.4 結合至 C5 的 KD 之 3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000 或更多倍。在另一實施例中，抗體在 pH7.4 的 KD 值可為 10^{-7}M、10^{-8}M、10^{-9} M、10^{-10}M、10^{-11}M、10^{-12}M 或更小。在另一實施例中，抗體在 pH5.8 的 KD 值可為 10^{-9}M、10^{-8}M、10^{-7}M、10^{-6} M 或更大。

【0086】抗體對於特定抗原之結合特性亦可藉由抗體的 kd 來表示。抗體的 kd 指抗體對於特定抗原之解離速率常數，以秒的倒數表示(即 sec^{-1})。kd 值增加表示抗體對其抗原之結合較弱。本發明因此包含，相較於中性 pH，在酸性 pH 以較高 kd 值與 C5 結合的抗體。本發明包含在酸性 pH 結合至 C5 的 kd 至少大於在中性 pH 結合至 C5 的 kd 之 2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000 或更多倍之抗體。在另一實施例中，抗體的 kd 值在中性 pH 可為 10^{-2} 1/s、10^{-3} 1/s、10^{-4} 1/s、10^{-5} 1/s、10^{-6} 1/s 或更小。在另一實施例中，抗體的 kd 值在酸性 pH 可為 10^{-3} 1/s、10^{-2} 1/s、10^{-1} 1/s 或更大。本發明亦包含相較於在 pH7.4，在 pH5.8 以較大 kd 值結合至 C5 的抗體。本發明包含在 pH5.8 結合至 C5 的 kd 至少大於在 pH7.4 結合至 C5 的 kd 之 3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000 或更多倍之抗體。在另一實施例中，抗體在 pH7.4 的 kd 值可為 10^{-2} 1/s、10^{-3} 1/s、10^{-4} 1/s、10^{-5} 1/s、10^{-6} 1/s 或更小。在另一實施例中，抗體在 pH5.8 的 kd 值可為 10^{-3} 1/s、10^{-2} 1/s、

10^{-1} 1/s 或更大。

【0087】在特定實施中，“相較於在中性 pH，在酸性 pH 與 C5 之結合降低”以在酸性 pH 抗體結合至 C5 之 KD 值比上在中性 pH 抗體結合至 C5 之 KD 值的比值來表示(或反之亦然)。例如，就本發明之目的，若抗體具有 2 或更大的酸性/中性 KD 比值，則該抗體可被視為“相較於在中性 pH，在酸性 pH 與 C5 之結合降低”。在一些特定示例性實施例中，本發明之抗體的 pH5.8/pH7.4 KD 比值可為 2 或更大。在一些特定示例性實施例中，本發明之抗體的酸性/中性 KD 比值可為 2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000 或更大。在另一實施例中，抗體在中性 pH 的 KD 值可為 10^{-7}M、10^{-8}M、10^{-9} M、10^{-10}M、10^{-11}M、10^{-12}M 或更小。在另一實施例中，抗體在酸性 pH 的 KD 值可為 10^{-9}M、10^{-8}M、10^{-7}M、10^{-6} M 或更大。在進一步的例子中，就本發明之目的，若抗體的 pH5.8/pH7.4 KD 比值為 2 或更大，則抗體可被視為“相較於在中性 pH，在酸性 pH 與 C5 之結合降低”。在一些特定示例性實施例中，本發明之抗體的 pH5.8/pH7.4 KD 比值可為 3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000 或更大。在另一實施例中，抗體在 pH7.4 的 KD 值可為 10^{-7}M、10^{-8}M、10^{-9}M、10^{-10}M、10^{-11}M、10^{-12}M 或更小。在另一實施例中，抗體在 pH5.8 的 KD 值可為 10^{-9}M、10^{-8}M、10^{-7}M、10^{-6}M 或更大。

【0088】在特定例子中，“相較於在中性 pH，在酸性 pH 與

C5之結合降低”以在酸性pH抗體結合至C5之kd值比上在中性pH抗體結合至C5之kd值的比值來表示(或反之亦然)。例如，就本發明之目的，若抗體具有2或更大的酸性/中性kd比值，則該抗體可被視為“相較於在中性pH，在酸性pH與C5之結合降低”。在一些特定示例性實施例中，本發明之抗體的pH5.8/pH7.4 kd比值可為2或更大。在一些特定示例性實施例中，本發明之抗體的酸性/中性kd比值可為2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000或更大。在又一些實施例中，抗體的pH5.8/pH7.4 kd比值可為2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000或更大。在另一實施例中，抗體在中性pH的kd值可為10^{-2} 1/s、10^{-3} 1/s、10^{-4} 1/s、10^{-5} 1/s、10^{-6} 1/s或更小。在又一實施例中，抗體在pH7.4的kd值可為10^{-2} 1/s、10^{-3} 1/s、10^{-4} 1/s、10^{-5} 1/s、10^{-6} 1/s或更小。在另一實施例中，抗體在酸性pH的kd值可為10^{-3} 1/s、10^{-2} 1/s、10^{-1} 1/s或更大。在又一實施例中，抗體在pH5.8的kd值可為10^{-3} 1/s、10^{-2} 1/s、10^{-1} 1/s或更大。

【0089】如本文中使用，用詞“酸性pH”是指4.0至6.5的pH。用詞“酸性pH”包含4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4以及6.5中任一之pH值。在特定態樣中，“酸性pH”為5.8。

【0090】如本文中使用，用詞“中性pH”是指6.7至約10.0

的 pH。用詞“中性 pH”包含 6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9.0、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9 以及 10.0 中任一之 pH 值。在特定態樣中，“中性 pH”為 7.4。

【0091】KD 值及 kd 值，如本文中表示，可利用表面電漿共振基礎之生物感知器加以測定，以表徵抗體-抗原的相互作用(請參照，例如，文中的實施例 3)。KD 值及 kd 值可於 25℃或 37℃測定。

【0092】在特定實施例中，本發明的抗 C5 抗體結合至 C5 的 β 鏈內的抗原決定基，其由 MG1 域(序列辨識號:41)所組成。在特定實施例中，本發明的抗 C5 抗體結合至 C5 的 β 鏈(序列辨識號:40)內的抗原決定基，其包括至少一擇自於胺基酸 47-57、70-76 以及 107-110 所組成之群組的片段。在特定實施例中，本發明的抗 C5 抗體結合至 C5 的 β 鏈(序列辨識號:40)的片段內的抗原決定基，其包括至少一擇自於 Thr47、Glu48、Ala49、Phe50、Asp51、Ala52、Thr53、Lys57、His70、Val71、His72、Ser74、Glu76、Val107，Ser108、Lys109 及 His110 所組成之群組的胺基酸。在特定實施例中，本發明的抗 C5 抗體結合至 C5 的 β 鏈(序列辨識號:40)的片段內的抗原決定基，其包括至少一擇自於 Glu48、Asp51、His70、His72、Lys109 及 His110 所組成之群組的胺基酸。在特定實施例中，相較於其對野生型 C5 的結合，本發明的抗 C5 抗體對 C5 突變體的結合降低，其中 C5 突變體具有至少一胺基酸取代在擇自於 Glu48、

Asp51、His72 及 Lys109 所組成之群組的位置。在另一實施例中，相較於其對野生型 C5 的 pH 依賴性結合，本發明的抗 C5 抗體對 C5 突變體的 pH 依賴性結合降低，其中 C5 突變體具有至少一胺基酸取代在擇自於 His70、His72 及 His110 所組成之群組的位置。在又一實施例中，在 C5 突變體中，在擇自於 Glu48、Asp51 及 Lys109 的位置之胺基酸是被丙胺酸所取代，以及在擇自於 His70、His72 及 His110 的位置之胺基酸是被酪胺酸所取代。

【0093】在特定實施例中，本發明的抗 C5 抗體及一抗體競爭與 C5 結合，此抗體包括擇自於: (a)序列辨識號:1 的 VH 及序列辨識號:11 的 VL；(b)序列辨識號:22 的 VH 及序列辨識號:26 的 VL;(c)序列辨識號:21 的 VH 及序列辨識號:25 的 VL;(d)序列辨識號:5 的 VH 及序列辨識號:15 的 VL；(e)序列辨識號:4 的 VH 及序列辨識號:14 的 VL;(f)序列辨識號:6 的 VH 及序列辨識號:16 的 VL;(g)序列辨識號:2 的 VH 及序列辨識號:12 的 VL；(h)序列辨識號:3 的 VH 及序列辨識號:13 的 VL；(i)序列辨識號:9 的 VH 及序列辨識號:19 的 VL；(j)序列辨識號:7 的 VH 及序列辨識號:17 的 VL;(k)序列辨識號:8 的 VH 及序列辨識號:18 的 VL；(l)序列辨識號:23 的 VH 及序列辨識號:27 的 VL；以及(m)序列辨識號:10 的 VH 及序列辨識號:20 的 VL 的 VH 及 VL 對。

【0094】在特定實施例中，本發明的抗 C5 抗體結合 C5 並接觸序列辨識號:39 的胺基酸 Asp51(D51)。在又一些實施例中，本發明的抗 C5 抗體結合 C5 並接觸序列辨識號:39 的胺基

酸 Lys109(K109)。在又一實施例中，本發明的抗 C5 抗體結合 C5 並接觸序列辨識號:39 的胺基酸 Asp51(D51)以及胺基酸 Lys109 (K109)。

【0095】在特定實施例中，相較於其對野生型 C5 的結合，本發明的抗 C5 抗體對 C5 突變體的結合降低，其中 C5 突變體具有序列辨識號:39 的 Glu48Ala(E48A)取代。在另一實施例中，相較於其對野生型 C5 的 pH 依賴性結合，本發明的抗 C5 抗體對 C5 突變體的 pH 依賴性結合降低，其中 C5 突變體具有序列辨識號:39 的 Glu48Ala(E48A)取代。

【0096】在又一實施例中，抗 C5 抗體結合至由序列辨識號:39 的胺基酸序列所組成的 C5 蛋白，但未結合至由帶有 H72Y 取代之序列辨識號:39 的胺基酸序列所組成的 C5 蛋白；其中 C5 蛋白以及經 H72Y 取代之 C5 蛋白是在相同條件下製備及篩選。在又一實施例中，抗 C5 抗體在 pH7.4 結合至由序列辨識號:39 的胺基酸序列所組成的 C5 蛋白，但在 pH7.4 未結合至由帶有 H72Y 取代之序列辨識號:39 的胺基酸序列所組成的 C5 蛋白。

【0097】不受限於特定的理論，可推測當 C5 上的一胺基酸殘基被另一胺基酸取代時，抗 C5 抗體對 C5 的結合降低(或幾乎消失)，其代表 C5 上的該胺基酸殘基對抗 C5 抗體及 C5 之間的相互作用是重要的，以及抗體可辨識在 C5 上的該胺基酸周圍之抗原決定基。

【0098】本發明已發現一群與另一抗體競爭或結合至相同抗原決定基的抗 C5 抗體可展現 pH 依賴性結合特性。在胺基

酸當中，組胺酸，具有約為 6.0 至 6.5 之 pKa 值，在中性及酸性 pH 之間可具有不同的質子解離狀態。因此，C5 上的組胺酸殘基可助於抗 C5 抗體及 C5 之間的 pH 依賴性相互作用。不受限於特定的理論，可推測抗 C5 抗體可辨識在 C5 上的組胺酸殘基周圍的構象結構，其改變取決於 pH。這推測可與下述之實驗結果一致:當 C5 上的組胺酸殘基被另一胺基酸取代時，抗 C5 抗體的 pH 依賴性降低(或幾乎消失)(即，在中性 pH 下，具有 pH 依賴性結合特性的抗 C5 抗體以與野生型 C5 結合之相似的親和性結合至 C5 的組胺酸突變體，而在酸性 pH 下，相同的抗體以較結合至野生型 C5 高的親和性結合至 C5 的組胺酸突變體)。

【0099】在特定實施例中，本發明的抗 C5 抗體結合至來自多於一個物種之 C5。在又一些實施例中，抗 C5 抗體結合至來自人類及非人類動物之 C5。在又一些實施例中，抗 C5 抗體結合至來自人類及猴(例如，恆河猴(cynomolgus)、恆河獼猴(rhesus macaque)、狨猿(marmoset)、黑猩猩或狒狒。

【0100】在一態樣中，本發明提供抑制 C5 的活化之抗 C5 抗體。在特定實施例中，提供抗 C5 抗體，其防止 C5 裂解以形成 C5a 及 C5b，因此防止與 C5a 關聯的過敏毒素活性之產生，亦防止與 C5b 關聯的 C5b-9 膜攻擊複合物(MAC)之組合。在特定實施例中，提供抗 C5 抗體，其阻礙 C5 轉化酶將 C5 轉化成 C5a 及 C5b。在特定實施例中，提供抗 C5 抗體，其阻礙 C5 轉化酶接近 C5 上的裂解位置。在特定實施例中，提供抗 C5 抗體，其阻礙由 C5 的活化所造成之溶血活性。在又一些實施例中，

本發明的抗 C5 抗體藉由經典途徑及/或替代途徑抑制 C5 的活化。

【0101】在一態樣中，本發明提供抗 C5 抗體，其抑制 C5 變異體的活化。C5 變異體是指 C5 之基因的變異體，其是由於基因的變異，例如突變、多態性(polymorphism)或等位基因的變異引起。基因的變異可包括一或多個核苷酸的刪除、取代或插入。C5 變異體可包括一或多個基因的變異於 C5 中。在特定實施例中，C5 變異體具有相似於野生型 C5 的生物活性。此種 C5 變異體可包括至少一擇自於 V145I、R449G、V802I、R885H、R928Q、D966Y、S1310N 及 E1437D 所組成之群組的變異。於此，R885H，例如，是指一基因的變異，其在位置 885 的精胺酸被組胺酸取代。在特定實施例中，本發明的抗 C5 抗體抑制野生型 C5 以及至少一擇自於 V145I、R449G、V802I、R885H、R928Q、D966Y、S1310N 及 E1437D 所組成之群組的 C5 變異體的活化。

【0102】在一態樣中，本發明提供抗 C5 抗體，包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個擇自於(a) 包括序列辨識號:45 至 54 中任一之胺基酸序列的 HVR-H1；(b) 包括序列辨識號:55 至 64 中任一之胺基酸序列的 HVR-H2；(c) 包括序列辨識號:65 至 74 中任一之胺基酸序列的 HVR-H3；(d) 包括序列辨識號:75 至 84 中任一之胺基酸序列的 HVR-L1；(e) 包括序列辨識號:85 至 94 中任一之胺基酸序列的 HVR-L2;及(f) 包括序列辨識號:95 至 104 中任一之胺基酸序列的 HVR-L3 的高變異區(HVRs)。

【0103】在一態樣中，本發明提供一抗體，包括至少一個、至少兩個、或全部三個擇自於(a) 包括序列辨識號:45 至 54 中任一之胺基酸序列的 HVR-H1；(b) 包括序列辨識號:55 至 64 中任一之胺基酸序列的 HVR-H2；及(c) 包括序列辨識號:65 至 74 中任一之胺基酸序列的 HVR-H3 的 VH HVR 序列。在一實施例中，抗體包括 HVR-H3，其包括序列辨識號:65 至 74 中任一之胺基酸序列。在另一實施例中，抗體包括 HVR-H3，其包括序列辨識號:65 至 74 中任一之胺基酸序列、以及 HVR-L3，其包括序列辨識號: 95 至 104 中任一之胺基酸序列的。在又一實施例中，抗體包括 HVR-H3，其包括序列辨識號:65 至 74 中任一之胺基酸序列、HVR-L3，其包括序列辨識號: 95 至 104 中任一之胺基酸序列、以及 HVR-H2，其包括序列辨識號:55 至 64 中任一之胺基酸序列。在又一實施例中，抗體包括(a) 包括序列辨識號:45 至 54 中任一之胺基酸序列的 HVR-H1；(b) 包括序列辨識號:55 至 64 中任一之胺基酸序列的 HVR-H2；及(c) 包括序列辨識號:65 至 74 中任一之胺基酸序列的 HVR-H3。

【0104】在另一態樣中，本發明提供一抗體，包括至少一個、至少兩個或全部三個擇自於(a) 包括序列辨識號:75 至 84 中任一之胺基酸序列的 HVR-L1；(b) 包括序列辨識號:85 至 94 中任一之胺基酸序列的 HVR-L2；及(c) 包括序列辨識號:95 至 104 中任一之胺基酸序列的 HVR-L3 的 VL HVR 序列。在一實施例中，抗體包括(a) 包括序列辨識號:75 至 84 中任一之胺基酸序列的 HVR-L1；(b) 包括序列辨識號:85 至 94 中任一之胺基酸序列的 HVR-L2；以及(c) 包括序列辨識號:95 至 104 中

任一之胺基酸序列的 HVR-L3。

【0105】在另一態樣中，本發明之抗體包括(a) VH 域，其包括至少一個、至少兩個或全部三個擇自於(i) 包括序列辨識號:45 至 54 中任一之胺基酸序列的 HVR-H1、(ii) 包括序列辨識號: 55 至 64 中任一之胺基酸序列 HVR-H2、及(iii) 包括序列辨識號: 65 至 74 中任一之胺基酸序列的 HVR-H3 之 VH HVR 序列；以及(b) VL 域，其包括至少一個、至少兩個或全部三個擇自於(i) 包括序列辨識號:75 至 84 中任一之胺基酸序列的 HVR-L1、(ii) 包括序列辨識號:85 至 94 中任一之胺基酸序列的 HVR-L2、及(c) 包括序列辨識號:95 至 104 中任一之胺基酸序列的 HVR-L3 之 VL HVR 序列。

【0106】在另一態樣中，本發明提供一抗體，包括(a) 包括序列辨識號:45 至 54 中任一之胺基酸序列的 HVR-H1；(b) 包括序列辨識號: 55 至 64 中任一之胺基酸序列的 HVR-H2；(c) 包括序列辨識號: 65 至 74 中任一之胺基酸序列的 HVR-H3;(d) 包括序列辨識號: 75 至 84 中任一之胺基酸序列的 HVR-L1;(e) 包括序列辨識號: 85 至 94 中任一之胺基酸序列的 HVR-L2；及(f) 包括序列辨識號: 95 至 104 中任一之胺基酸序列的 HVR-L3。

【0107】在一態樣中，本發明提供一抗 C5 抗體包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個擇自於(a) 包括序列辨識號:45、54、117、126 中任一之胺基酸序列的 HVR-H1；(b) 包括序列辨識號:55、64、118-120、127 中任一之胺基酸序列的 HVR-H2；(c) 包括序列辨識號:65、74、121、128 中任一之胺

基酸序列的 HVR-H3；(d) 包括序列辨識號:75、84、122、129 中任一之胺基酸序列的 HVR-L1；(e) 包括序列辨識號:85、94、123-124、130 中任一之胺基酸序列的 HVR-L2；及(f) 包括序列辨識號:95、104、125、131 中任一之胺基酸序列的 HVR-L3 之 HVR。

【0108】在一態樣中，本發明提供一抗體，包括至少一個、至少兩個或全部三個擇自於(a) 包括序列辨識號:45、54、117、126 中任一之胺基酸序列的 HVR-H1；(b) 包括序列辨識號:55、64、118-120、127 中任一之胺基酸序列的 HVR-H2；及(c) 包括序列辨識號:65、74、121、128 中任一之胺基酸序列的 HVR-H3 之 VH HVR 序列。在一實施例中，抗體包括 HVR-H3，其包括序列辨識號:65、74、121、128 中任一之胺基酸序列。在另一實施例中，抗體包括：HVR-H3，其包括序列辨識號:65、74、121、128 中任一之胺基酸序列，以及 HVR-L3，其包括序列辨識號:95、104、125、131 中任一之胺基酸序列。在又一實施例中，抗體包括：HVR-H3，其包括序列辨識號:65、74、121、128 中任一之胺基酸序列、HVR-L3，其包括序列辨識號:95、104、125、131 中任一之胺基酸序列、以及 HVR-H2，其包括序列辨識號:55、64、118-120、127 中任一之胺基酸序列。在又一實施例中，抗體包括(a) 包括序列辨識號:45、54、117、126 中任一之胺基酸序列的 HVR-H1；(b) 包括序列辨識號:55、64、118-120、127 中任一之胺基酸序列的 HVR-H2；及(c) 包括序列辨識號: 65、74、121、128 中任一之胺基酸序列的 HVR-H3。

【0109】在另一態樣中，本發明提供一抗體包括至少一個、至少兩個或全部三個擇自於(a) 包括序列辨識號:75、84、122、129 中任一之胺基酸序列的 HVR-L1；(b) 包括序列辨識號:85、94、123-124、130 中任一之胺基酸序列的 HVR-L2：及(c) 包括序列辨識號:95、104、125、131 中任一之胺基酸序列的 HVR-L3 之 VL HVR 序列。在一實施例中，抗體包括(a) 包括序列辨識號:75、84、122、129 中任一之胺基酸序列的 HVR-L1；(b) 包括序列辨識號:85、94、123-124、130 中任一之胺基酸序列的 HVR-L2；及(c) 包括序列辨識號:95、104、125、131 中任一之胺基酸序列的 HVR-L3。

【0110】在另一態樣中，本發明之抗體包括(a) VH 域，其包括至少一個、至少兩個或全部三個擇自於(i) 包括序列辨識號:45、54、117、126 中任一之胺基酸序列的 HVR-H1、(ii) 包括序列辨識號:55、64、118-120、127 中任一之胺基酸序列的 HVR-H2、及(iii) 包括序列辨識號:65、74、121、128 中任一之胺基酸序列的 HVR-H3 之 VH HVR 序列；以及(b) VL 域，其包括至少一個、至少兩個或全部三個擇自於(i) 包括序列辨識號:75、84、122、129 中任一之胺基酸序列的 HVR-L1 comprising the 胺基酸序列、(ii) 包括序列辨識號:85、94、123-124、130 中任一之胺基酸序列的 HVR-L2、及(c) 包括序列辨識號: 95、104、125、131 中任一之胺基酸序列的 HVR-L3 之 VL HVR 序列。

【0111】在另一態樣中，發明提供一抗體，包括：(a)包括序列辨識號:45、54、117、126 中任一之胺基酸序列的 HVR-H1；

(b) 包括序列辨識號:55、64、118-120、127 中任一之胺基酸序列的 HVR-H2；(c) 包括序列辨識號:65、74、121、128 中任一之胺基酸序列的 HVR-H3；(d) 包括序列辨識號: 75、84、122、129 中任一之胺基酸序列的 HVR-L1；(e) 包括序列辨識號:85、94、123-124、130 中任一之胺基酸序列的 HVR-L2；及(f) 包括序列辨識號:95、104、125、131 中任一之胺基酸序列的 HVR-L3。

【0112】在一些特定實施例中，如以上提供之抗 C5 抗體的任一或多個胺基酸在下列 HVR 位置被取代：(a) 於 HVR-H1 (序列辨識號: 45)中，在位置 5 及 6；(b) 於 HVR-H2 (序列辨識號: 55)中，在位置 1、3、9、11、13 及 15；(c) 於 HVR-H3 (序列辨識號: 65)中，在位置 2、5、6、12 及 13；(d) 於 HVR-L1 (序列辨識號: 75)中，在位置 1、5、7 及 9；(e) 於 HVR-L2 (序列辨識號: 85)中，在位置 4、5 及 6；以及(f) 於 HVR-L3 (序列辨識號: 95)中，在位置 2、4 及 12。

【0113】在一些特定實施例中，取代為保守取代，如本文中所提供。在一些特定實施例中，下列取代的任一或多個可以任何組合進行：(a)於 HVR-H1 (序列辨識號: 45)中，M5V 或 C6A；(b) 於 HVR-H2 (序列辨識號: 55)中，C1A 或 G、Y3F、T9D 或 E、Y11K 或 Q、S13D 或 E、或 A15V；(c) 於 HVR-H3 (序列辨識號: 65)中，G2A、V5Q 或 D、T6Y、Y12H、或 L13Y；(d) 於 HVR-L1 (序列辨識號: 75)中，Q1R、N5Q 或 G、G7S、D9K 或 S；(e) 於 HVR-L2 (序列辨識號: 85)中，K4T 或 E、L5T、或 A6H、A6E、或 A6Q；(f) 於 HVR-L3 (序列辨識號: 95)中，

C2S、C2N、或 C2T、F4K；或 A12T 或 A12H。

【0114】以上取代之所有可能的組合被分別為 HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2 及 HVR-L3 的共有序列之序列辨識號:126、127、128、129、130 及 131 所涵蓋。

【0115】在上述之任一實施例中，抗 C5 抗體是經人源化的(humanized)。在一實施例中，抗 C5 抗體包括如上述之任一實施例中的 HVR，且更包括受體人類框架，例如，人類免疫球蛋白框架或人類共有框架。在另一實施例中，抗 C5 抗體包括如上述之任一實施例中的 HVR，且更包括 VH 或 VL，其包括 FR 序列，其中 FR 序列如下。對於重鏈可變域，FR1 包括序列辨識號:132 至 134 中任一之胺基酸序列，FR2 包括序列辨識號:135 至 136 中任一之胺基酸序列，FR3 包括序列辨識號:137 至 139 中任一之胺基酸序列，FR4 包括序列辨識號:140 至 141 中任一之胺基酸序列。對於輕鏈可變域，FR1 包括序列辨識號:142 至 143 中任一之胺基酸序列，FR2 包括序列辨識號:144 至 145 中任一之胺基酸序列，FR3 包括序列辨識號:146 至 147 中任一之胺基酸序列，FR4 包括序列辨識號:148 之胺基酸序列。

【0116】在另一態樣中，一抗 C5 抗體包括重鏈可變域(VH)序列，其對於序列辨識號: 1 至 10 中任一之胺基酸序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%之序列相同性。在一些特定實施例中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%之相同性的 VH 序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、插入或刪除，但包括那序列的抗 C5 抗體保有結合至

C5的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號:1至10任一者中，總計1至10個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於HVR外的區域中(即，在FR中)。可選地，抗C5抗體包括序列辨識號:1至10中任一者中的VH序列，其包含那序列的轉譯後修飾。在一特定實施例中，VH包括一個、兩個或三個擇自於:(a) 包括序列辨識號:45至54中任一之胺基酸序列的HVR-H1、(b) 包括序列辨識號:55至64中任一之胺基酸序列的HVR-H2、及(c) 包括序列辨識號:65至74中任一之胺基酸序列的HVR-H3之HVR。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的N末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0117】在另一態樣中，提供一抗C5抗體，其中抗體包括輕鏈可變域(VL)，其對於序列辨識號:11至20中任一之胺基酸序列，具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%之序列相同性。在一些特定實施例中，具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%之相同性的VL序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、插入或刪除，但包括那序列的抗C5抗體保有結合至C5的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號:11至20任一者中，總計1至10個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於HVR外的區域中(即，在FR中)。可選地，抗C5抗體包括序列辨識號:11至20中任一者中的VL序列，其包含那序列的轉譯

後修飾。在一特定實施例中，VL 包括一個、兩個或三個擇自於:(a) 包括序列辨識號:75 至 84 中任一之胺基酸序列的 HVR-L1、(b) 包括序列辨識號:85 至 94 中任一之胺基酸序列的 HVR-L2、及(c) 包括序列辨識號:95 至 104 中任一之胺基酸序列的 HVR-L3 之 HVR。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0118】在另一態樣中，提供一抗 C5 抗體，其中抗體包括如以上提供之任一實施例中的 VH，以及如以上提供之任一實施例中的 VL。在一實施例中，抗體分別包括序列辨識號:1 至 10 中任一者中的 VH 序列以及序列辨識號:11 至 20 中任一者中的 VL 序列，其包含那些序列的轉譯後修飾。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0119】在另一態樣中，一抗 C5 抗體包括重鏈可變域(VH)序列，其對於序列辨識號:10、106 至 110 中任一之胺基酸序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%之序列相同性。在一些特定實施例中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%之相同性的 VH 序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、插入或刪除，但包括那序列的抗 C5 抗體保有結合至 C5 的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號:10、

106 至 110 任一者中，總計 1 至 10 個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於 HVR 外的區域中(即，在 FR 中)。可選地，抗 C5 抗體包括序列辨識號:10、106 至 110 中任一者中的 VH 序列，其包含那序列的轉譯後修飾。在一特定實施例中，VH 包括一個、兩個或三個擇自於:(a) 包括序列辨識號:45、54、117、126 中任一之胺基酸序列的 HVR-H1、(b) 包括序列辨識號:55、64、118-120、127 中任一之胺基酸序列的 HVR-H2、及(c) 包括序列辨識號:65、74、121、128 中任一之胺基酸序列的 HVR-H3 之 HVR。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0120】在另一態樣中，一抗 C5 抗體包括 VH 序列，其對於序列辨識號:10、106 至 110 中任一之胺基酸序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%之序列相同性。在一些特定實施例中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%之相同性的 VH 序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、插入或刪除，但包括那序列的抗 C5 抗體保有結合至 C5 的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號:10、106 至 110 任一者中，總計 1 至 10 個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於 HVR 外的區域中(即，在 FR 中)。可選地，抗 C5 抗體包括序列辨識號:10、106 至 110 中任一者中的 VH 序列，其包含那序列的轉譯後修

飾。在一特定實施例中，VH包括一個、兩個或三個擇自於:(a)包括序列辨識號:45、54、117、126 中任一之胺基酸序列的HVR-H1、(b) 包括序列辨識號:55、64、118-120、127 中任一之胺基酸序列的 HVR-H2、及(c) 包括序列辨識號:65、74、121、128 中任一之胺基酸序列的 HVR-H3 之 HVR。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0121】在另一態樣中，一抗 C5 抗體包括 VH 序列，其對於序列辨識號:10 之胺基酸序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%之序列相同性。在一些特定實施例中，VH 序列為序列辨識號:10 之胺基酸序列。在一些特定實施例中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%之相同性的 VH 序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、插入或刪除，但包括那序列的抗 C5 抗體保有結合至 C5 的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號:10 中，總計 1 至 10 個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於 HVR 外的區域中(即，在 FR 中)。可選地，抗 C5 抗體包括序列辨識號:10 中的 VH 序列，其包含那序列的轉譯後修飾。在一特定實施例中，VH 包括一個、兩個或三個擇自於:(a) 包括序列辨識號:54 之胺基酸序列的 HVR-H1、(b) 包括序列辨識號:64 之胺基酸序列的 HVR-H2、及(c) 包括序列辨識號:74 之胺基酸序列的 HVR-H3 之 HVR。轉譯後修飾

(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0122】在另一態樣中，一抗 C5 抗體包括 VH 序列，其對於序列辨識號:106 之胺基酸序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%之序列相同性。在一些特定實施例中，VH 序列為序列辨識號:106 之胺基酸序列。在一些特定實施例中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%之相同性的 VH 序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、插入或刪除，但包括那序列的抗 C5 抗體保有結合至 C5 的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號:106 中，總計 1 至 10 個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於 HVR 外的區域中(即，在 FR 中)。可選地，抗 C5 抗體包括序列辨識號:106 中的 VH 序列，其包含那序列的轉譯後修飾。在一特定實施例中，VH 包括一個、兩個或三個擇自於:(a) 包括序列辨識號:117 之胺基酸序列的 HVR-H1、(b) 包括序列辨識號:118 之胺基酸序列的 HVR-H2、及(c) 包括序列辨識號:121 之胺基酸序列的 HVR-H3 之 HVR。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0123】在另一態樣中，，一抗 C5 抗體包括 VH 序列，其對於序列辨識號:107 之胺基酸序列，具有至少 90%、91%、

92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%之序列相同性。在一些特定實施例中，VH 序列為序列辨識號:107 之胺基酸序列。在一些特定實施例中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%之相同性的 VH 序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、插入或刪除，但包括那序列的抗 C5 抗體保有結合至 C5 的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號:107 中，總計 1 至 10 個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於 HVR 外的區域中(即，在 FR 中)。可選地，抗 C5 抗體包括序列辨識號:107 中的 VH 序列，其包含那序列的轉譯後修飾。在一特定實施例中，VH 包括一個、兩個或三個擇自於:(a) 包括序列辨識號:117 之胺基酸序列的 HVR-H1、(b) 包括序列辨識號:119 之胺基酸序列的 HVR-H2、及(c) 包括序列辨識號:121 之胺基酸序列的 HVR-H3 之 HVR。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0124】在另一態樣中，一抗 C5 抗體包括 VH 序列，其對於序列辨識號:108 之胺基酸序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%之序列相同性。在一些特定實施例中，VH 序列為序列辨識號:108 之胺基酸序列。在一些特定實施例中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%之相同性的 VH 序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、插入或

刪除，但包括那序列的抗 C5 抗體保有結合至 C5 的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號:108 中，總計 1 至 10 個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於 HVR 外的區域中(即，在 FR 中)。可選地，抗 C5 抗體包括序列辨識號:108 中的 VH 序列，其包含那序列的轉譯後修飾。在一特定實施例中，VH 包括一個、兩個或三個擇自於:(a) 包括序列辨識號:117 之胺基酸序列的 HVR-H1、(b) 包括序列辨識號:118 之胺基酸序列的 HVR-H2、及(c) 包括序列辨識號:121 之胺基酸序列的 HVR-H3 之 HVR。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0125】在另一態樣中，一抗 C5 抗體包括 VH 序列，其對於序列辨識號:109 之胺基酸序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%之序列相同性。在一些特定實施例中，VH 序列為序列辨識號:109 之胺基酸序列。在一些特定實施例中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%之相同性的 VH 序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、插入或刪除，但包括那序列的抗 C5 抗體保有結合至 C5 的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號:109 中，總計 1 至 10 個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於 HVR 外的區域中(即，在 FR 中)。可選地，抗 C5 抗體包括序列辨識號:109 中的 VH 序列，其包含那序列

的轉譯後修飾。在一特定實施例中，VH 包括一個、兩個或三個擇自於:(a) 包括序列辨識號:117 之胺基酸序列的 HVR-H1、(b) 包括序列辨識號:118 之胺基酸序列的 HVR-H2、及(c) 包括序列辨識號:121 之胺基酸序列的 HVR-H3 之 HVR。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0126】在另一態樣中，一抗 C5 抗體包括 VH 序列，其對於序列辨識號:110 之胺基酸序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%之序列相同性。在一些特定實施例中，VH 序列為序列辨識號:110 之胺基酸序列。在一些特定實施例中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%之相同性的 VH 序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、插入或刪除，但包括那序列的抗 C5 抗體保有結合至 C5 的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號:110 中，總計 1 至 10 個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於 HVR 外的區域中(即，在 FR 中)。可選地，抗 C5 抗體包括序列辨識號:110 中的 VH 序列，其包含那序列的轉譯後修飾。在一特定實施例中，VH 包括一個、兩個或三個擇自於:(a) 包括序列辨識號:117 之胺基酸序列的 HVR-H1、(b) 包括序列辨識號:120 之胺基酸序列的 HVR-H2、及(c) 包括序列辨識號:121 之胺基酸序列的 HVR-H3 之 HVR。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化

(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0127】在另一態樣中，提供一抗 C5 抗體，其中抗體包括輕鏈可變域(VL)，其對於序列辨識號:20、111-113 中任一之胺基酸序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%之序列相同性。在一些特定實施例中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%之相同性的 VL 序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、插入或刪除，但包括那序列的抗 C5 抗體保有結合至 C5 的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號: 20、111-113 任一者中，總計 1 至 10 個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於 HVR 外的區域中(即，在 FR 中)。可選地，抗 C5 抗體包括序列辨識號: 20、111-113 中任一者中的 VL 序列，其包含那序列的轉譯後修飾。在一特定實施例中，VL 包括一個、兩個或三個擇自於:(a) 包括序列辨識號:75、84、122、129 中任一之胺基酸序列的 HVR-L1、(b) 包括序列辨識號:85、94、123-124、130 中任一之胺基酸序列的 HVR-L2、及(c) 包括序列辨識號:95、104、125、131 中任一之胺基酸序列的 HVR-L3 之 HVR。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0128】在另一態樣中，提供一抗 C5 抗體，其中抗體包括 VL，其對於序列辨識號:20 之胺基酸序列，具有至少 90%、

91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%之序列相同性。在一些特定實施例中，VL 序列為序列辨識號:20之胺基酸序列。在一些特定實施例中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%之相同性的 VL 序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、插入或刪除，但包括那序列的抗 C5 抗體保有結合至 C5 的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號:20 中，總計 1 至 10 個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於 HVR 外的區域中(即，在 FR 中)。可選地，抗 C5 抗體包括序列辨識號:20 中的 VL 序列，其包含那序列的轉譯後修飾。在一特定實施例中，VL 包括一個、兩個或三個擇自於:(a) 包括序列辨識號:84 之胺基酸序列的 HVR-L1、(b) 包括序列辨識號:94 之胺基酸序列的 HVR-L2、及(c) 包括序列辨識號:104 之胺基酸序列的 HVR-L3 之 HVR。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0129】在另一態樣中，提供一抗 C5 抗體，其中抗體包括 VL，其對於序列辨識號:111 之胺基酸序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%之序列相同性。在一些特定實施例中，VL 序列為序列辨識號:111 之胺基酸序列。在一些特定實施例中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%之相同性的 VL 序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、

插入或刪除，但包括那序列的抗 C5 抗體保有結合至 C5 的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號:111 中，總計 1 至 10 個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於 HVR 外的區域中(即，在 FR 中)。可選地，抗 C5 抗體包括序列辨識號:111 中的 VL 序列，其包含那序列的轉譯後修飾。在一特定實施例中，VL 包括一個、兩個或三個擇自於:(a) 包括序列辨識號:122 之胺基酸序列的 HVR-L1、(b) 包括序列辨識號:123 之胺基酸序列的 HVR-L2、及(c) 包括序列辨識號:125 之胺基酸序列的 HVR-L3 之 HVR。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0130】在另一態樣中，提供一抗 C5 抗體，其中抗體包括 VL，其對於序列辨識號:112 之胺基酸序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100% 之序列相同性。在一些特定實施例中，VL 序列為序列辨識號:112 之胺基酸序列。在一些特定實施例中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%之相同性的 VL 序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、插入或刪除，但包括那序列的抗 C5 抗體保有結合至 C5 的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號:112 中，總計 1 至 10 個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於 HVR 外的區域中(即，在 FR 中)。可選地，抗 C5 抗體包括序列辨識號:112 中的 VL 序列，其包含

那序列的轉譯後修飾。在一特定實施例中，VL 包括一個、兩個或三個擇自於:(a) 包括序列辨識號:122 之胺基酸序列的 HVR-L1、(b) 包括序列辨識號:123 之胺基酸序列的 HVR-L2、及(c) 包括序列辨識號:125 之胺基酸序列的 HVR-L3 之 HVR。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0131】在另一態樣中，提供一抗 C5 抗體，其中抗體包括 VL，其對於序列辨識號:113 之胺基酸序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%之序列相同性。在一些特定實施例中，VL 序列為序列辨識號:113 之胺基酸序列。在一些特定實施例中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%之相同性的 VL 序列，相對於參考序列，包含取代(例如，保守取代)、插入或刪除，但包括那序列的抗 C5 抗體保有結合至 C5 的能力。在一些特定實施例中，在序列辨識號:113 中，總計 1 至 10 個胺基酸是經取代、插入及/或刪除。在一些特定實施例中，取代、插入或刪除發生於 HVR 外的區域中(即，在 FR 中)。可選地，抗 C5 抗體包括序列辨識號:113 中的 VL 序列，其包含那序列的轉譯後修飾。在一特定實施例中，VL 包括一個、兩個或三個擇自於:(a) 包括序列辨識號:122 之胺基酸序列的 HVR-L1、(b) 包括序列辨識號:124 之胺基酸序列的 HVR-L2、及(c) 包括序列辨識號:125 之胺基酸序列的 HVR-L3 之 HVR。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由

焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。

【0132】在另一態樣中，提供一抗 C5 抗體，其中抗體包括如以上提供之任一實施例中的 VH，以及如以上提供之任一實施例中的 VL。在一實施例中，抗體分別包括序列辨識號:10、106 至 110 中任一者中的 VH 序列以及序列辨識號:20、111 至 113 中任一者中的 VL 序列，其包含那些序列的轉譯後修飾。轉譯後修飾(post-translational modification)包含但不限於藉由焦谷化(pyroglutamylation)修飾在重鏈或輕鏈的 N 末端之麩醯胺酸或谷胺酸為焦谷胺酸(pyroglutamic acid)。在一實施例中，抗體包括序列辨識號:10 的 VH 序列，以及序列辨識號:20 的 VL 序列。在一實施例中，抗體包括序列辨識號:106 的 VH 序列，以及序列辨識號:111 的 VL 序列。在另一實施例中，抗體包括序列辨識號:107 的 VH 序列，以及序列辨識號:111 的 VL 序列。在又一實施例中，抗體包括序列辨識號:108 的 VH 序列，以及序列辨識號:111 的 VL 序列。在另一實施例中，抗體包括序列辨識號:109 的 VH 序列，以及序列辨識號:111 的 VL 序列。在另一實施例中，抗體包括序列辨識號:109 的 VH 序列，以及序列辨識號:112 的 VL 序列。在另一實施例中，抗體包括序列辨識號:109 的 VH 序列，以及序列辨識號:113 的 VL 序列。在另一實施例中，抗體包括序列辨識號:110 的 VH 序列，以及序列辨識號:113 的 VL 序列。

【0133】在一態樣中，提供一抗 C5 抗體，其中抗體包括 VH 序列，其包含(a) 包括序列辨識號:54 之胺基酸序列的

HVR-H1、(b) 包括序列辨識號:64 之胺基酸序列的 HVR-H2、及(c) 包括序列辨識號:74 之胺基酸序列的 HVR-H3，以及 VL 序列，其包含(a) 包括序列辨識號:84 之胺基酸序列的 HVR-L1；(b) 包括序列辨識號:94 之胺基酸序列的 HVR-L2；及(c) 包括序列辨識號:104 之胺基酸序列的 HVR-L3。

【0134】在另一態樣中，提供一抗 C5 抗體，其中抗體包括 VH 序列，其包含(a) 包括序列辨識號:117 之胺基酸序列的 HVR-H1、(b) 包括序列辨識號:118 之胺基酸序列的 HVR-H2、及(c) 包括序列辨識號:121 之胺基酸序列的 HVR-H3，以及 VL 序列，其包含(a) 包括序列辨識號:122 之胺基酸序列的 HVR-L1；(b) 包括序列辨識號:123 之胺基酸序列的 HVR-L2；及(c) 包括序列辨識號:125 之胺基酸序列的 HVR-L3。

【0135】在另一態樣中，提供一抗 C5 抗體，其中抗體包括 VH 序列，其包含(a) 包括序列辨識號:117 之胺基酸序列的 HVR-H1、(b) 包括序列辨識號:119 之胺基酸序列的 HVR-H2、及(c) 包括序列辨識號:121 之胺基酸序列的 HVR-H3，以及 VL 序列，其包含(a) 包括序列辨識號:122 之胺基酸序列的 HVR-L1；(b) 包括序列辨識號:123 之胺基酸序列的 HVR-L2；及(c) 包括序列辨識號:125 之胺基酸序列的 HVR-L3。

【0136】在另一態樣中，提供一抗 C5 抗體，其中抗體包括 VH 序列，其包含(a) 包括序列辨識號:117 之胺基酸序列的 HVR-H1、(b) 包括序列辨識號:118 之胺基酸序列的 HVR-H2、及(c) 包括序列辨識號:121 之胺基酸序列的 HVR-H3，以及 VL 序列，其包含(a) 包括序列辨識號:122 之胺基酸序列的

HVR-L1；(b) 包括序列辨識號:124 之胺基酸序列的 HVR-L2；及(c) 包括序列辨識號:125 之胺基酸序列的 HVR-L3。

【0137】在另一態樣中，提供一抗 C5 抗體，其中抗體包括 VH 序列，其包含(a) 包括序列辨識號:117 之胺基酸序列的 HVR-H1、(b) 包括序列辨識號:120 之胺基酸序列的 HVR-H2、及(c) 包括序列辨識號:121 之胺基酸序列的 HVR-H3，以及 VL 序列，其包含(a) 包括序列辨識號:122 之胺基酸序列的 HVR-L1；(b) 包括序列辨識號:124 之胺基酸序列的 HVR-L2；及(c) 包括序列辨識號:125 之胺基酸序列的 HVR-L3。

【0138】在一些特定實施例中，本發明之抗 C5 抗體包括如以上提供之任一實施例中的 VH 以及包括序列辨識號:33、34、35、114、115 及 116 中任一之胺基酸序列的重鏈恆定區。在一些特定實施例中，本發明之抗 C5 抗體包括如以上提供之任一實施例中的 VL 以及包括序列辨識號:36、37 及 38 中任一之胺基酸序列的輕鏈恆定區。

【0139】在另一態樣中，本發明提供一抗體，其結合至與本文中提供之抗 C5 抗體相同的抗原決定基。例如，在一些特定實施例中，提供之抗體結合至與表 2 中所述之抗體相同的抗原決定基。如下文之操作實施例所示，表 2 所述之所有抗 C5 抗體被分類至 C5 的相同抗原決定基分格中，且展現 pH 依賴性結合特性。

【0140】在又一態樣中，本發明提供一抗體，其結合至與本文中提供之抗體相同的抗原基定決定位。在又一態樣中，本發明提供一抗體，其結合至與表 7 或 8 中所述之抗體相同的抗

原決定基。在一些特定實施例中，提供一抗體，其結合至由C5的β鏈(序列辨識號:40)的胺基酸33至124所組成之片段內的抗原決定基。在一些特定實施例中，提供一抗體，其結合至C5的β鏈(序列辨識號:40)內的抗原決定基，其包括至少一擇自於胺基酸47-57、70-76及107-110所組成之群組的片段。在一些特定實施例中，提供一抗體，其結合至C5的β鏈(序列辨識號:40)的片段內的抗原決定基，其包括至少一擇自於Thr47、Glu48、Ala49、Phe50、Asp51、Ala52、Thr53、Lys57、His70、Val71、His72、Ser74、Glu76、Val107、Ser108、Lys109、及His110所組成之群組的胺基酸。在另一實施例中，本發明的抗C5抗體的抗原決定基是構象抗原決定基(conformational epitope)。

【0141】在又一態樣中，根據以上任一之實施例的抗C5抗體為單株抗體，包含嵌合、人源化或人類抗體。在一實施例中，抗C5抗體為抗體片段，例如，Fv、Fab、Fab'、scFv、雙抗體(diabody)、或$F(ab')_2$片段。在另一實施例中，抗體為全長抗體，例如，完整的IgG1或IgG4抗體或如本文所定義之其它抗體種類或同型(isotype)。

【0142】在又一態樣中，根據以上任一實施例的抗C5抗體可單一地或組合地合併任一特徵，如以下章節1-7所述:

1. 抗體親和性

【0143】在一些特定實施例中，本文提供之抗體具有≤1 μm、≤100 nM、≤10 nM、≤1 nM、≤0.1 nM、≤0.01 nM、或≤0.001 nM(例如10^{-8} M或更小，例如從10^{-8} M至10^{-13} M、例如從10^{-9}

M 至 10^{-13} M)之解離常數(Kd)。

【0144】在一實施例中，Kd 藉由放射性標記抗原結合測定法(radiolabeled antigen binding assay, RIA)進行測量。在一實施例中，RIA 是以感興趣的抗體及其抗原的 Fab 形式實行。例如，藉由在存在未標記抗原的滴定系列的條件下，用最小濃度的(^{125}I)-標記抗原平衡 Fab，然後以抗 Fab 抗體被覆的盤捕捉結合的抗原，以測量 Fab 對抗原的溶液結合親和性(請參照，例如 Chen 等人, *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999))。為了確立測定的條件，以於 50mM 碳酸鈉(pH9.6)中的 5μg/ml 捕捉用抗 Fab 抗體 (Cappel Labs) 被覆 MICROTITER® 多孔盤 (Thermo Scientific)過夜，接著以於 PBS 中的 2%(w/v)牛血清清蛋白在室溫(約 23℃)進行阻斷 2 至 5 小時。在非吸附盤(Nunc#269620)中，將 100pM 或 26pM[^{125}I]-抗原與連續稀釋的感興趣的 Fab(例如，與 Presta 等人, *Cancer Res.* 57:4593-4599 (1997)中抗 VEGF 抗體，Fab-12 的評估一致)混合。接著將感興趣的 Fab 培養過夜；然而，培養可持續更長的時間(例如，約 65 小時)以確保達到平衡。此後，將混合物轉移至捕捉盤於室溫下培養(例如，1 小時)。接著移除溶液並以含 0.1%聚山梨醇酯 20 (TWEEN-20®)的 PBS 清洗盤 8 次。當盤已乾燥，加入 150μl/孔的閃爍液(MICROSCINT-20™；Packard)，且於 TOPCOUNT™ 伽馬計數器(Packard)上對盤計數 10 分鐘。選擇各 Fab 給出小於或等於最大結合之 20%的濃度，用於競爭性結合測定法。

【0145】依照另一實施例，Kd 是利用 BIACORE®表面電漿共振測定法進行測量。例如，使用 BIACORE®-2000 或

BIACORE®-3000 (BIACORE®, Inc., Piscataway, NJ)的測定法在25℃以固定化抗原 CM5 晶片在約 10 個回應單位(RU)下實行。在一實施例中，根據供應商的說明書，以 *N*-乙基-*N'*-(3-二甲基氨基丙基)-碳化二亞胺鹽酸鹽(EDC)及 N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)活化羧甲基化聚葡萄糖生物感測器晶片 (CM5, BIACORE®, Inc.)。在以 5μl/分鐘的流速注入以獲得約 10 個回應單位(RU)的偶聯蛋白之前，以 10mM 乙酸鈉，pH4.8，將抗原稀釋至 5μg/ml(約 0.2μM)。在抗原的注入後，注入 1M 乙醇胺以阻斷未反應基團。為了進行動力學測量，將兩倍連續稀釋的 Fab(0.78nM 至 500nM)在 25℃以約 25μl/分鐘的流速注入於含 0.05%聚山梨醇酯 20(TWEEN-20™)介面活性劑的 PBS(PBST)中。使用簡單一對一 Langmuir 結合模型(BIACORE® Evaluation Software version 3.2)藉由同時擬合結合及解離傳感圖計算結合速率(k_{on})及解離速率(k_{off})。平衡解離常數(Kd)以比例 k_{off}/k_{on} 計算。請參照，例如 Chen 等人， *J. Mol. Biol.* 293:865-881 (1999)。若根據上述表面電漿共振測定法，結合速率超過 $10^6 M^{-1}s^{-1}$，那麼結合速率利用螢光淬滅技術加以測定，其在 25℃下測量於 PBS，pH7.2，中的 20nM 抗抗原抗體(Fab 形式)的螢光發射強度(激發＝295nm；發射＝340nm，16nm 帶通)的增加或減少，在分光計，例如配備了斷流(stop-flow)裝置的分光光度計(Aviv Instruments)或具攪拌比色管之 8000 系列 SLM-AMINCO™ 分光光度計(ThermoSpectronic)，測量抗原的濃度增加的存在下。

2. 抗體片段

【0146】在一些特定實施例中，本文提供之抗體為抗體片段。抗體片段包含但不限於，Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$、Fv、及 scFv 片段，及如下述之其它片段。對於特定抗體片段的綜述，請參照 Hudson 等人，*Nat. Med.* 9:129-134 (2003)。對於特定 scFv 片段的綜述，請參照，例如 Pluckthün, in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenburg 及 Moore 編輯，(Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)；亦參照 WO 93/16185；以及美國專利號 5,571,894 及 5,587,458。對包括補救(salvage)受體結合抗原決定基殘基且具有增加的體內(*in vivo*)半生期之 Fab 及 $F(ab')_2$ 片段的討論，請參照美國專利號 5,869,046。

【0147】雙抗體(diobody)是具有兩個抗原結合位的抗體片段，其可為二價的或雙特異性的，請參照，例如 EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson 等人，*Nat. Med.* 9:129-134 (2003)；及 Hollinger 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993)。三抗體及四抗體也記載於 Hudson 等人，*Nat. Med.* 9:129-134 (2003)中。

【0148】單域抗體是包括抗體的所有或部分的重鏈可變域或全部或部分的輕鏈可變域之抗體片段。在一些特定實施例中，單域抗體是人類單域抗體(Domantis, Inc., Waltham, MA；請參照，例如美國專利號 6,248,516B1)。

【0149】可藉由多種技術形成抗體片段，包含但不限於完整抗體的蛋白水解消化，以及藉由重組宿主細胞(例如，*E. coli* 或噬菌體)的產生，如本文中所述。

3. 嵌合及人源化抗體

【0150】在一些特定實施例中，本文提供之抗體為嵌合抗體。特定嵌合抗體記載於，例如，美國專利號 4,816,567；及 Morrison 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851-6855 (1984))。在一例子中，嵌合抗體包括非人類可變區(例如，源自小鼠、大鼠、齧齒類、兔或非人類靈長類，像是猴的可變區)以及人類恆定區。在又一例子中，嵌合抗體為"類別交換的(class switched)"抗體，其中類別或亞類(subclass)已自親本抗體的類別或亞類改變。嵌合抗體包含其抗原結合片段。

【0151】在一些特定實施例中，嵌合抗體為人源化抗體。通常，非人類抗體經人源化以降低對人類的免疫原性，同時保有親本非人類抗體的特異性及親和性。一般而言，人源化的抗體包括一或多個可變域，其中 HVR，例如，CDR(或其部分)源自非人類抗體，以及 FR(或其部分)源自人類抗體序列。人源化抗體可選地也包括人類恆定區的至少一部分。在一些實施例中，人源化的抗體中的一些 FR 殘基被來自非人類抗體(例如，HVR 殘基源自的抗體)對應之殘基取代，例如，以恢復或提高抗體特異性或親和性。

【0152】人源化抗體及製備其的方法綜述於，例如，Almagro 及 Fransson，*Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)，以及進一步描述於，例如 Riechmann 等人，*Nature* 332:323-329 (1988)；Queen 等人，*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989)；美國專利號 5,821,337、7,527,791、6,982,321 及 7,087,409；Kashmiri 等人，*Methods* 36:25-34 (2005) (描述特

異性決定區(SDR)移)；Padlan，*Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991)(描述“表面重修”)；Dall'Acqua 等人，*Methods* 36:43-60 (2005)(描述“FR 改組”)；以及 Osbourn 等人，*Methods* 36:61-68 (2005)以及 Klimka 等人，*Br. J. Cancer* 83:252-260 (2000)(描述 FR 改組的“導向選擇”方法)。

【0153】可用於人源化的人類框架區包含但不限於：使用“最適”方法選擇的框架區(請參照，例如，Sims等人，*J. Immunol.* 151:2296 (1993)；源自特定的亞型的輕鏈或重鏈可變區的人類抗體的共有序列之框架區(請參照，例如，Carter 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:4285 (1992)；及 Presta 等人，*J. Immunol.* 151:2623 (1993)；人類成熟(體細胞突變的)框架區或人類種系框架區(請參照，例如，Almagro 及 Fransson，*Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008))；以及源自篩選 FR 資料庫的框架區(請參照，例如，Baca 等人，*J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997)以及 Rosok 等人，*J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996))。

4. 人類抗體

【0154】在一些特定實施例中，本文提供之抗體為人類抗體。人類抗體可利用各種習知的技術加以製造。人類抗體大致的描述於 van Dijk 及 van de Winkel，*Curr. Opin. Pharma.* 5:368-74 (2001)以及 Lonberg，*Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)。

【0155】人類抗體可藉由向已經過修飾因而因應抗原攻擊產生完整人類抗體或具有人類可變區的完整抗體之基因轉殖動物施用免疫原，來製備人抗體。這類動物通常包含全部或部

分的人類免疫球蛋白基因座，其取代了內源免疫球蛋白基因座，或其存在於染色體外或隨機整合於動物的染色體內。在這類基因轉殖小鼠中，內源免疫球蛋白基因座一般已不活化。關於自基因轉殖動物獲取人類抗體的方法之綜述，請參照 Lonberg，*Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)。請亦參照，例如美國專利號 6,075,181 及 6,150,584，其描述 XENOMOUSE™ 技術；美國專利號 5,770,429，其描述 HuMab®技術；美國專利號 7,041,870，其描述 K-M MOUSE®技術，以及美國專利公開號 US 2007/0061900，其描述 VelociMouse®技術)。藉由這類動物產生的完整抗體的人類可變區可進一步修飾，例如，藉由與不同人類恆定區組合。

【0156】人類抗體也可藉由基於融合瘤的方法形成。用於產生人類單株抗體的人類骨髓瘤及小鼠-人融合骨髓瘤細胞系已經描述。(請參照，例如 Kozbor, *J. Immunol.* 133:3001 (1984)；Brodeur 等人，*Monoclonal antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Dekker, Inc., New York, 1987)；以及 Boerner 等人，*J. Immunol.* 147:86 (1991)。藉由人類 B 細胞融合瘤技術產生的人抗體也在 Li 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:3557-3562 (2006)中描述。其它方法包含那些描述於，例如，美國專利號 7,189,826(描述由融合瘤細胞系產生單株人類 IgM 抗體)及 Ni，*Xiandai Mianyixue* 26(4):265-268 (2006) (描述人-人融合瘤)的方法。人融合瘤技術 (Trioma 技術)也描述於 Vollmers，*Histology and Histopathology* 20(3):927-937 (2005)以及 Vollmers，*Methods*

and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology 27(3):185-191 (2005)。

【0157】亦可藉由分離選自源自人類噬菌體展示資料庫的Fv 株可變域序列產生人類抗體。接著可將這類可變域序列與所需人類恆定域組合。下文描述自抗體資料庫選擇人類抗體的技術。

5. 源自資料庫的抗體

【0158】可藉由在組合資料庫中篩選具有所需活性的抗體以分離本發明的抗體。例如，本領域中已知多種用於產生噬菌體展示資料庫並且在這類資料庫中篩選具有所需結合特徵的抗體的方法。這類方法綜述於，例如 Hoogenboom 等人，*Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien 等人編輯，Human Press, Totowa, NJ, 2001) ，且進一步於，例如 McCafferty 等人，*Nature* 348:552-554; Clackson 等人，*Nature* 352:624-628 (1991)；Marks 等人，*J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1992)；Marks，*Meth.Mol. Biol.* 248:161-175 (Lo 編輯，Human Press, Totowa, NJ, 2003)；Sidhu 等人，*J. Mol. Biol.* 338(2):299-310 (2004)；Lee 等人，*J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093 (2004)；Fellouse，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34):12467-12472 (2004)；Lee 等人，*J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132 (2004)中描述。

【0159】在特定的噬菌體展示方法中，VH 及 VL 基因的庫(repertoire)是藉由聚合酶連鎖反應(PCR)分別選殖並隨機地重組於噬菌體資料庫中，之後可藉由如 Winter 等人，*Ann. Rev. Immunol.* 12:433-455 (1994)所述在其中篩選抗原結合噬菌

體。噬菌體通常呈現單鏈 Fv(ScFv)片段或 Fab 片段形式的抗體片段。來自免疫來源的資料庫無需建構融合瘤，即可提供免疫原的高親和性抗體。或者，天然庫可被轉殖(cloned)(例如，自人類)以在無任何免疫的情況下，提供針對廣泛範圍的非自體抗原以及自體抗原的抗體單一來源，如 Griffiths 等人，*EMBO J*, 12:725-734 (1993)所述。最後，也可藉由從幹細胞轉殖未重排的 V 基因片段，並使用含有隨機序列的 PCR 引子來編碼高度變異 CDR3 區，以及實現體外(*in vitro*)重排以合成地產生天然資料庫，如 Hoogenboom，*J. Mol. Biol.* 227:381-388 (1992)所述。描述人類抗體噬菌體資料庫的專利公開物包含，例如：美國專利號 5,750,373，以及美國專利公開號 2005/0079574、2005/0119455、2005/0266000、2007/0117126、2007/0160598、2007/0237764、2007/0292936 以及 2009/0002360。

【0160】自人類抗體資料庫分離的抗體或抗體片段被視為本文的人類抗體或人類抗體片段。

6. 多特異性抗體

【0161】在一些特定實施例中，本為提供之抗體為多特異性抗體，例如，雙特異性抗體。多特異性抗體是對至少兩個不同位置具有結合特異性的單株抗體。在一些特定實施例中，結合特異性的其中之一是針對 C5 而另一種是針對任一其它抗原。在一些特定實施例中，雙特異性抗體可結合至 C5 的兩個不同抗原決定基。雙特異性抗體也可用以將細胞毒性劑定位於表現 C5 的細胞。雙特異性抗體可製成全長抗體或抗體片段。

【0162】製造多特異性抗體的技術包含但不限於，具有不

同特異性的兩個免疫球蛋白重鏈-輕鏈對的重組共表達(co-expression)(請參照 Milstein 及 Cuello，*Nature* 305:537 (1983))、WO 93/08829、以及 Traunecker 等人，*EMBO J.* 10:3655 (1991))，及"knob-in-hole"工程改造(請參照，例如美國專利號 5,731,168)。也可藉由以下方法製得多特異性抗體：工程改造用於製備抗體 Fc-異二聚分子的靜電導引作用(WO 2009/089004A1)；將兩種或兩種以上抗體或片段交聯(請參照，例如美國專利號 4,676,980，以及 Brennan 等人，*Science* 229:81 (1985))；使用白胺酸拉鍊以產生雙特異性抗體(請參照，例如 Kostelny 等人，*J. Immunol.* 148(5):1547-1553 (1992))；利用"雙抗體"技術來產生雙特異性抗體片段(請參照，例如 Hollinger 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993))；及利用單鏈 Fv (scFv)雙體(請參照，例如 Gruber 等人，*J. Immunol.* 152:5368 (1994))；以及製備三特異性抗體，如，例如 Tutt 等人，*J. Immunol.* 147:60 (1991)中所述。

【0163】本文中也包含具有三個或三個以上的功能性抗原結合位置的工程改造抗體，其包含"章魚抗體(Octopus antibodies)"(請參照，例如 US 2006/0025576)。

【0164】本文中的抗體或片段亦包含"雙重作用 FAb"或"DAF"，其包括結合至 C5 以及另一不同抗原的抗原結合位置(請參照，例如，US 2008/0069820)。

7. 抗體變異體

【0165】在一些特定實施例中，本文提供之抗體的胺基酸序列變異體為經設想的。例如，提高抗體的結合親和性及/或

其它生物性質可為理想的。可藉由引入適當的修飾至編碼抗體的核苷酸序列、或藉由肽合成，製備抗體的胺基酸序列變異體。此類修飾包含，例如，在抗體的胺基酸序列內刪除、及/或插入及/或取代殘基。可以使得刪除、插入及取代的任何組合達到最終的構建體中，前提為最終構建體具有期望的特徵，例如，抗原結合。

a. 取代、插入及刪除變異體

【0166】在一些特定實施例中，提供具有一或多個胺基酸取代的抗體變異體。取代誘變(mutagenesis)的感興趣的位置包含 HVR 及 FR。表 1 中的標題"優選取代"下顯示保守取代。表 1 中的標題"示例性取代"下提供更實質的改變，並參考胺基酸側鏈類別在下文進一步描述。可將胺基酸取代引入至感興趣的抗體及篩選到期望的活性之產物中，例如，保留的/改善的抗體結合、降低的免疫原性、或改善的 ADCC 或 CDC。

表 1

原始殘基	示例性取代	優選取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe;正白胺酸	Leu
Leu (L)	正白胺酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala

原始殘基	示例性取代	優選取代
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala;正白胺酸	Leu

【0167】可根據共同的側鏈特性將胺基酸分類為：(1) 疏水的：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；(2)中性親水的：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；(3)酸性的：Asp、Glu；(4)鹼性的：His、Lys、Arg；(5)影響鏈方位的殘基：Gly、Pro；以及(6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

【0168】非保守取代將使得這些類別中之一的成員與另一類別交換。

【0169】取代變異體的一類涉及取代親本抗體(例如，人源化的或人類抗體)的一或多個高變異區殘基。一般而言，選擇用於進一步研究的產生之變異體將在特定生物性質(例如，增加的親和性、降低的免疫原性)中相對於親本抗體具有修飾(例如改善)及/或將具有實質上保留的親本抗體的特定生物性質。示例性的取代變異體是親和性成熟的抗體，其可方便地被產生，例如，使用像是那些本文所述基於噬菌體展示的親和性成熟技術。簡言之，突變一或多個 HVR 殘基並且在噬菌體上展示變異體抗體，以及就特別的生物活性(例如，結合親和性)進行篩選。

【0170】可以在 HVR 中形成修改(alteration)(例如，取代)，例如，以改善抗體親和性。此類修改可形成在 HVR“熱點”中，即由在體細胞成熟過程中以高頻率經歷突變的密碼子所編碼

的殘基(請參照，例如，Chowdhury，*Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)，及/或接觸抗原的殘基，且測試獲得的變異體 VH 或 VL 之結合親和性。藉由建構以及從第二資料庫重新選擇的親和性成熟已在，例如 Hoogenboom 等人，*Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien 等人，ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)中描述。在親和性成熟的一些實施例中，藉由多種方法中的任一種(例如，易錯 PCR、鏈改組、或寡核苷酸定向誘變)將多樣性引入至選擇用於成熟的可變基因中。接著產生第二資料庫。然後篩選資料庫以辨識具有期望的親和性的任一抗體變異體。引入多樣性的另一種方法涉及 HVR 定向方法，其中隨機化數個 HVR 殘基(例如，一次 4 至 6 個殘基)。涉及抗原結合的 HVR 殘基可特異地被辨識，例如使用丙胺酸掃描誘變或建立模型。CDR-H3 及 CDR-L3 特別常被標靶。

【0171】在一些特定的實施例中，取代、插入或刪除可發生在一或多個 HVR 內，只要此類修改未實質地降低抗體結合抗原的能力。例如，可在 HVR 中形成未實質地降低結合親和性的保守修改(例如，如本文提供的保守取代)。此類修改可，例如，在 HVR 中的抗原接觸殘基之外。在以上提供的變異體 VH 和 VL 序列的特定實施例中，每一 HVR 或未被修改，或含有不多於一個、兩個或三個胺基酸取代。

【0172】一種可用於辨識可被標靶用於誘變的抗體的殘基或區域的方法稱為"丙胺酸掃描誘變"，如 Cunningham，*Science* 244:1081-1085 (1989)所述。在此方法中，殘基或一群殘基(例如，帶電的殘基，像是 arg、asp、his、lys 及 glu)可被辨識並

被中性或帶負電的胺基酸(例如，丙胺酸或多聚丙胺酸)取代，以測定是否影響抗體與抗原的相互作用。可在顯示對於初始取代的功能性敏感的胺基酸位置引入更多的取代。替代地、或額外地，抗原抗體複合物的晶體結構辨識抗體及抗原之間的接觸點。此類接觸殘基及相鄰的殘基可被標靶或消除，作為作為取代的候選對象。變異體可被篩選以測定它們是否包含期望的性質。

【0173】胺基酸序列插入物包含長度範圍從一個殘基至包含 100 個或更多殘基的多肽之胺基-及/或羧基-末端融合物，以及單一或多個胺基酸殘基的序列內插入物。末端插入物的例子包含具有 N 末端甲硫胺醯基殘基的抗體。抗體分子的其它插入變異體包含抗體的 N 或 C 末端對酶(例如，ADEPT)或多肽的融合，其增加抗體的血清半生期。

b. 糖基化變異體

【0174】在一些特定的實施例中，本文提供的抗體被修改以增加或減少抗體被糖基化的程度。可藉由修改胺基酸序列使得一或多個糖基化位置被製造或移除，以方便地完成對抗體的糖基化位置之添加或刪除。

【0175】當抗體包括 Fc 區時，可以修改附著於其的糖。由哺乳動物細胞產生的天然抗體通常包括分支的、二天線(biantennary)的寡糖，其一般藉由 N 連接附著至 Fc 區的 CH2 域的 Asn297，請參照，例如，Wright 等人，*TIBTECH* 15:26-32 (1997)。寡糖可包含多種糖，例如甘露糖、N-乙醯基葡糖胺(GlcNAc)、半乳糖及唾液酸，以及附著至二天線寡糖結構的“主

幹”中的 GlcNAc 的岩藻糖。在一些實施例中，可在本發明的抗體中的寡糖形成修飾，以產生具有特定改善性質的抗體變異體。

【0176】在一實施例中，提供的抗體變異體具有糖結構，其缺少附著(直接或間接)至 Fc 區的岩藻糖。例如，此類抗體中岩藻糖的量可為從 1 %至 80 %、從 1 %至 65 %、從 5 %至 65 %或從 20 %至 40%。岩藻糖的量是藉由計算糖鏈內在 Asn297 處的平均岩藻糖的量，相對於如藉由 MALDI-TOF 質譜分析測量之附著於 Asn297 的所有糖基結構的總和(例如，複合物、雜合物及高甘露糖結構)加以測定，例如，如 WO 2008/077546 中所述。Asn297 指位於 Fc 區中約在位置 297(Fc 區殘基的 Eu 編號)的天冬醯胺殘基；然而，由於抗體中微小的序列變異，Asn297 也可位於位置 297 的約±3 個胺基酸上游或下游，即位置 294 及 300 之間。此類岩藻糖化變異體可具有改善的 ADCC 功能，請參照，例如，美國專利公開號 2003/0157108(Presta, L.)；2004/0093621(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。涉及“去岩藻糖化的”或“岩藻糖缺乏的”抗體變異體的公開刊物的例子包含：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO 2005/053742；WO 2002/031140；Okazaki 等人，*J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004)；Yamane-Ohnuki 等人，*Biotech. Bioeng.* 87:614 (2004)。

能夠生產去岩藻糖化的抗體的細胞系的例子包含蛋白岩藻糖化缺乏的 Lecl3 CHO 細胞(Ripka 等人，*Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986)；US 2003/0157108, Presta, L；及 WO 2004/056312，Adams 等人，特別是在實施例 11)，以及敲除(knockout)細胞系，像是 α-1,6-岩藻糖轉移酶基因、*FUT8*、敲除 CHO 細胞(請參照，例如，Yamane-Ohnuki 等人，*Biotech. Bioeng.* 87:614 (2004)；Kanda 等人，*Biotechnol. Bioeng.* 94(4):680-688 (2006)；及 WO2003/085107)。

【0177】更提供具有等分(bisected)寡糖的抗體變異體，例如，其中附著至抗體 Fc 區的二天線寡糖被 GlcNAc 等分。此類抗體變異體可具有降低的岩藻糖化及/或改善的 ADCC 功能。此類抗體變異體的例子描述於，例如 WO 2003/011878 (Jean-Mairet 等人)、美國專利號 6,602,684(Umana 等人)；及 US 2005/0123546(Umana 等人)中。也提供了在附著至 Fc 區的寡糖中具有至少一個半乳糖殘基的抗體變異體。此類抗體變異體可具有改善的 CDC 功能。此類抗體變異體描述於，例如 WO 1997/30087(Patel 等人)；W0 1998/58964(Raju, S)；及 WO 1999/22764(Raju, S)中。

c. Fc 區變異體

【0178】在一些特定的實施例中，可將一或多個胺基酸修飾引入至本文提供的抗體的 Fc 區中，從而產生 Fc 區變異體。Fc 區變異體可包括人類 Fc 區序列(例如，人類 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 Fc 區)，其在一或多個胺基酸位置包括胺基酸修飾(例如，取代)。

【0179】在一些特定的實施例中，本發明設想具有一些但並非全部效應物(effector)功能的抗體變異體，這使得其為應用的理想的候選者，所述應用中抗體的體內半生期是重要的，然而特定效應物功能(像是補體及 ADCC)為不必要或有害的。可進行體外及/或體內細胞毒性測定法以確認 CDC 及/或 ADCC 活性的降低/耗盡。例如，可進行 Fc 受體(FcR)結合測定法以確保抗體缺少 FcγR 結合(因此可能缺少 ADCC 活性)，但保留 FcRn 結合能力。調節 ADCC 的主要細胞，NK 細胞，僅表達 FcγRIII，然而單核細胞表 FcγRI、FcγRII 及 FcγRIII。造血細胞上的 FcR 表達總結於 Ravetch 及 Kinet，*Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)的 464 頁上的表 3 中。用於評估感興趣的分子的 ADCC 活性的體外測定的非限制性例子描述於美國專利號 5,500,362 (請參照，例如 Hellstrom 等人，*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986))及 Hellstrom 等人，*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985)；美國專利號 5,821,337(請參照，Bruggemann 等人，*J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))中。備或者，可採用非放射性測定法(請參照，例如，流式細胞術的 ACTI™ 非放射性細胞毒性測定法 (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA)；及 CytoTox 96®非放射性細胞毒性測定法 (Promega, Madison, WI))。用於此類測定法之有用的效應物細胞包含周邊血液單核細胞(PBMC)及自然殺手(NK)細胞。替代地、或額外地，感興趣的分子的 ADCC 活性可在體內評估，例如在動物模型中，像是 Clynes 等人，*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)中所公開。也可進行 Clq 結合測定法以確定

抗體不能結合 Clq 並因此缺少 CDC 活性。請參照，例如，WO 2006/029879 及 WO 2005/100402 中的 Clq 及 C3c 結合 ELISA。為了評估補體活化，可進行 CDC 測定法(請參照，例如，Gazzano-Santoro 等人，*J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)；Cragg 等人，*Blood* 101:1045-1052 (2003)；及 Cragg 等人，*Blood* 103:2738-2743 (2004))。FcRn 結合及體內清除/半生期測定也可使用本領域已知的方法進行(請參照，例如，Petkova 等人，*Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006))。

【0180】具有降低的效應物功能的抗體包含在 Fc 區殘基 238、265、269、270、297、327 及 329 中的一或多個具有取代的那些抗體(美國專利號 6,737,056)。此類 Fc 突變體包含在胺基酸位置 265、269、270、297 及 327 中的兩個或多個具有取代的 Fc 突變體，包含具有殘基 265 及 297 取代為丙胺酸的所謂的"DANA"Fc 突變體(美國專利號 7,332,581)。

【0181】對 FcR 具有改善或減弱的結合之特定抗體變異體已被描述。(請參照，例如美國專利號 6,737,056；WO 2004/056312；及 Shields 等人，*J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604 (2001))。

【0182】在特定的一些實施例中，抗體變異體包括具有提高 ADCC 的一個或多個胺基酸取代的 Fc 區，例如，在 Fc 區的位置 298、333 及/或 334(殘基的 EU 編號)的取代。

【0183】在一些實施例中，在 Fc 區中形成改變，其導致改變的(即改善或減弱的)Clq 結合及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)，例如，如美國專利號 6,194,551、WO 1999/51642，及

Idusogie 等人，*J. Immunol.* 164:4178-4184 (2000)中所述。

【0184】對新生兒 Fc 受體(FcRn)具有增加的半生期及改善的結合之抗體描述於 US2005/0014934(Hinton 等人)中，所述新生兒 Fc 受體負責將母體 IgG 傳送至胎兒(Guyer 等人，*J. Immunol.* 117:587 (1976)及 Kim 等人，*J. Immunol.* 24:249 (1994))。那些抗體包括具有一個或多個取代於其中的 Fc 區，其改善 Fc 區對 FcRn 的結合。此類 Fc 變異體包含在 Fc 區殘基：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424 或 434 的一或多個具有取代的那些，例如 Fc 區殘基 434 的取代(美國專利號 7,371,826)。

【0185】關於 Fc 區變異體的其它例子，請亦參照 Duncan，*Nature* 322:738-40 (1988)；美國專利號 US 5,648,260；美國專利號 US 5,624,821；及 WO 1994/29351。

d)半胱胺酸改造的抗體變異體

【0186】在一些特定的實施例中，產生半胱胺酸改造的抗體是理想的，例如，“thioMAb”，於其中抗體的一或多個殘基被半胱胺酸殘基所取代。在特別的實施例中，被取代的殘基存在於抗體的易接近位置。藉由以半胱胺酸取代那些殘基，從而將反應性硫醇基團放置於抗體的易接近位置並可用於偶聯抗體至其它部分，像是藥物部分或連接藥物部分，以創造免疫偶聯物，如本文中進一步所述。在一些特定的實施例中，下列殘基的任一或多個可被半胱胺酸取代：輕鏈的 V205(Kabat 編號)；重鏈的 A118(EU 編號)；及重鏈 Fc 區的 S400(EU 編號)。

半胱胺酸改造的抗體可以，例如美國專利號 7,521,541，所述加以產生。

e)抗體衍生物

【0187】在一些特定的實施例中，本文提供的抗體可進一步被修飾，以包含本領域已知且容易獲得的額外的非蛋白質部分(moiety)。適於抗體的衍生化的部分包含，但不限於水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性例子包含但不限於，聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇的共聚物、羧甲基纖維素、聚葡萄糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啶酮、聚-1,3-二氧戊環、聚-1,3,6-三噁烷(poly-1,3,6-trioxane)、乙烯/順丁烯二酸酐共聚物、聚胺基酸(同聚物或隨機共聚物)，及聚葡萄糖或聚(n-乙烯基吡咯啶酮)聚乙二醇、聚丙二醇同聚物、聚環氧丙烷/環氧乙烷共聚物、聚氧乙烷化多元醇(例如，丙三醇)、聚乙烯醇、及其混合物。聚乙二醇丙醛可在生產中具有優勢由於其在水中的穩定性。多聚物可具有任一分子量，且可為分支或無分支的。附著於抗體的多聚物的數目可不同，且如果附著多於一個多聚物，它們可以是相同或不同的分子。一般而言，用於衍生化的多聚物的數量及/或類型可根據，包含但不限於，考慮待改善的抗體的特別的性質或功能、抗體衍生物是否將在定義的條件下用於療法中等加以決定。

【0188】在另一實施例中，提供一抗體及可藉由暴露於輻射選擇性地被加熱的非蛋白質部分的偶聯物。在一實施例中，非蛋白質部分是碳納米管(Kam 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:11600-11605 (2005))。輻射可具有任何波長，且包含

但不限於，不傷害普通細胞的波長，但其加熱非蛋白質部分至接近抗體-非蛋白質部分的細胞被殺死之溫度。

B.重組方法及組合物

【0189】可使用重組方法及組合物產生抗體，例如，如 US 4,816,567 中所述。在一實施例中，提供一編碼本文所述的抗 C5 抗體的分離的核酸。此類核酸可編碼包括 VL 的胺基酸序列及/或包括抗體的 VH 的胺基酸序列(例如，抗體的輕及/或重鏈)。在又一實施例中，提供包括此類核酸的一或多個載體(例如，表達載體)。在又一實施例中，提供一包括此類核酸的宿主細胞。在此一實施例中，宿主細胞包括(例如已經轉化具有)：(1)載體，包括核酸，其編碼包括抗體的 VL 的胺基酸序列及包括抗體的 VH 的胺基酸序列，或(2)第一載體，包括核酸，其編碼包括抗體的 VL 的胺基酸序列，及第二載體，包括核酸，其編碼包括抗體的 VH 的胺基酸序列。在一實施例中，宿主細胞為真核生物，例如，中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或淋巴球細胞(例如，Y0、NS0、Sp20 細胞)。在一實施例中，提供一製備抗 C5 抗體的方法，其中所述方法包括在適於抗體的表達的條件下培養如上文提供之包括編碼抗體的核酸的宿主細胞，及可選地從宿主細胞(或宿主細胞培養基)回收抗體。

【0190】為了抗 C5 抗體的重組生產，例如，如上文所述之編碼抗體的核酸，被分離並插入至一或多個載體中用於進一步選殖及/或在宿主細胞中表達。使用常規流程可容易地分離及定序此類核酸(例如，藉由使用寡核苷酸探針，其能夠特異性地結合至編碼抗體的重鏈及輕鏈的基因)。

【0191】用於編碼抗體的載體的選殖或表達的合適的宿主細胞包含本文所述的原核或真核細胞。例如，可在細菌中生產抗體，特別是當不需糖基化及 Fc 效應物功能時。對於在細菌中表達抗體片段及多肽，請參照，例如，US 5,648,237、US 5,789,199 及 US 5,840,523。(請亦參照 Charlton，*Methods in Molecular Biology, Vol. 248* (B.K.C. Lo 編輯，Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254，其描述在大腸桿菌中抗體片段的表達)。在表達後，抗體可從可溶級分的細菌細胞糊中分離並可進一步純化。

【0192】除了原核生物，真核微生物像是絲狀真菌或酵母，是編碼抗體的載體的合適的選殖或表達宿主，包含真菌及酵母菌株，其糖基化途徑已經“人源化”，導致具有部分或全部人類糖基化模式的抗體之產生。請參照 Gerngross，*Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004)及 Li 等人，*Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)。

【0193】適於糖基化抗體的表達之宿主細胞亦源自多細胞生物(無脊椎生物及脊椎生物)。無脊椎生物細胞的例子包含植物及昆蟲細胞。已鑒定多種桿狀病毒株，其可與昆蟲細胞共同使用，特別地用於草地貪夜蛾(Spodoptera frugiperda)細胞的轉染(transfection)。

【0194】植物細胞培養物也可用作宿主。請參照，例如美國專利號 5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978 及 6,417,429(描述用於在基因轉殖植物中產生抗體的 PLANTIBODIES™技術)。

【0195】脊椎動物細胞也可用作宿主。例如，可使用適應於懸浮液中生長的哺乳動物細胞系。有用的哺乳動物宿主細胞系的其它例子為經 SV40 轉化的猴腎臟 CV1 細胞系(COS-7)；人類胚胎腎臟細胞系(293 或如，例如，Graham 等人，*J. Gen Virol.* 36:59 (1977)中所述之 293 細胞)；幼倉鼠腎臟細胞(BHK)；小鼠支持細胞(如，例如 Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)中所述的 TM4 細胞)；猴腎臟細胞(CV1)；非洲綠猴腎臟細胞(VERO-76)；人類子宮頸癌細胞(HELA)；犬腎臟細胞(MDCK；水牛鼠肝臟細胞(BRL 3A)；人類肺臟細胞(W138)；人類肝臟細胞(Hep G2)；小鼠乳腺腫瘤(MMT 060562)；如，例如 Mather 等人，*Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)中所述的 TRI 細胞；MRC 5 細胞；及 FS4 細胞。其它有用的哺乳動物宿主細胞系包含中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，其包含 DHFR$^-$CHO 細胞(Urlaub 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980))；及骨髓瘤細胞系，像是 Y0、NS0 及 Sp2/0。適合用於抗體產生的特定哺乳動物宿主細胞系的綜述請參照，例如 Yazaki 及 Wu，*Methods in Molecular Biology, Vol. 248* (B.K.C. Lo 編輯，Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)。

【0196】多株抗體較佳是藉由在動物中多次皮下(sc)或腹膜內(ip)注射相關抗原及佐劑以產生。使用雙功能或衍生試劑(例如，馬來醯亞胺苯甲醯磺基琥珀醯亞胺酯(maleimidobenzoyl sulfosuccinimide ester)(藉由半胱胺酸殘基偶聯)、N-羥基琥珀醯亞胺(藉由賴氨酸殘基)、戊二醛、琥珀酐、$SOCl_2$、或

$R^1N=C=NR$，其中 R 及 R^1 是不同的烷基)以偶聯相關抗原至蛋白是有用的，所述蛋白對將被免疫的物種(例如，鎖眼帽貝血藍蛋白(keyhole limpet hemocyanin)、血清白蛋白、牛甲狀腺球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制劑)為免疫的。

【0197】藉由將，例如 100μg 或 5μg 蛋白或偶聯物(分別對兔及小鼠而言)與 3 倍體積的弗氏完全佐劑組合，且在多個位置皮內注射溶液使動物(通常為非人類哺乳類)對抗原、免疫原性偶聯物或衍生物免疫。1 個月後，藉由在多個位置皮下注射，利用 1/5 至 1/10 的原始量的弗氏完全佐劑中的肽或偶聯物對動物進行加強免疫。加強注射後第 7-14 天，將動物放血，測定血清的抗體滴定濃度。加強免疫動物直至達到滴定濃度平臺(titer plateaus)。較佳地，以相同抗原的偶聯物對動物進行加強免疫，但偶聯至不同的蛋白及/或藉由不同的交聯劑。偶聯物亦可在重組細胞培養物中以蛋白質融合物的形式產生。凝聚劑像是明礬，亦適合用於增強免疫反應。

【0198】單株抗體可從實質上均質的抗體族群獲得，即包括族群的單個抗體為相同的，除了可以少量存在之可能自然地發生的突變及/或轉譯後修飾(例如，異構化、醯胺化)。因此，修飾詞“單株”表示抗體的特性，它不是分散的抗體的混合物。

【0199】例如，單株抗體可用 Kohler 等人，*Nature* 256(5517): 495-497 (1975)最先描述之融合瘤方法形成。在融合瘤方法中，小鼠或其它合適的宿主動物，例如倉鼠，經如本文所述免疫接種以誘導淋巴球，其產生或能夠產生將特異性結合至免疫接種用蛋白的抗體。或者，淋巴球可在體外受免疫。

【0200】免疫試劑通常將包含抗原的蛋白或其融合變異體。一般而言，若所需為人類來源的細胞，則使用外周血液淋巴細胞(PBL)，或若所需為非人類哺乳動物來源的細胞，則使用脾細胞或淋巴結細胞。接著使用合適的融合劑，例如聚乙二醇，將淋巴細胞與永生細胞系融合以形成融合瘤細胞(Goding，Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press (1986), pp. 59-103)。

【0201】永生細胞系通常是經轉化的哺乳動物細胞，特別是齧齒類、牛及人來源的骨髓瘤細胞。通常，使用大鼠或小鼠的骨髓瘤細胞系。由此製備的融合瘤細胞被接種及生長於合適的培養基中，其較佳包含一或多種抑制未融合、親本骨髓瘤細胞的生長或存活的物質。例如，若親本骨髓瘤細胞缺乏次黃嘌呤鳥嘌呤磷酸核糖轉移酶(HGPRT 或 HPRT)，融合瘤的培養基通常將包含次黃嘌呤、胺基蝶呤及胸腺嘧啶(HAT 培養基)，這些物質防止 HGPRT-缺陷型細胞的生長。

【0202】較佳的永生骨隨瘤細胞為有效地融合、支持藉由選擇的抗體-製造細胞支持抗體的穩定高度產生的那些，且對於培養基(像是 HAT 培養基)敏感。於這些之中，較佳為小鼠骨髓瘤系，例如自 MOPC-21 及 MPC-11 鼠腫瘤獲得的那些，可從 Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California USA 取得，以及可從 American Type Culture Collection, Manassas, Virginia USA 取得的 SP-2 細胞(及其衍生物，例如 X-63-Ag8-653)。人類骨髓瘤及鼠-人類雜骨髓瘤細胞系亦已被描述用於人類單株抗體的製造(Kozbor 等人，*J Immunol.*

133(6):3001-3005 (1984)；Brodeur 等人，Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications；Marcel Dekker, Inc., New York (1987), pp. 51-63)。

【0203】測定融合瘤細胞生長的培養基中是否產生對抗抗原的單株抗體。較佳地，藉由融合瘤細胞產生的單株抗體的結合特異性，是藉由免疫沉澱法或藉由體外結合檢測(例如，放射性免疫測定(RIA)或酶連接免疫吸附測定(ELISA))加以測定。此類技術及檢測為本領域習知的。結合親合力可藉由 Munson, *Anal Biochem*. 107(1):220-239 (1980)的 Scatchard 分析進行測定。

【0204】在辨識出具有想要的特異性、親和性及/或活性的融合瘤細胞後，這些殖株可利用標準方法(Goding，supra)藉由限制稀釋程序及生長加以次選殖。適於此目的培養基包含，例如，D-MEM 或 RPMI-1640 培養基。此外，融合瘤細胞可生長於體內作為哺乳動物中的腫瘤。

【0205】藉由傳統免疫球蛋白純化程序像是，例如蛋白 A-瓊脂糖、羥磷石灰層析、膠體電泳、透析或親合性層析，將由次殖株分泌的單株抗體從培養基、腹水(ascites fluid)或血清合適地分離。

【0206】可藉由免疫針對一抗原的適當的宿主動物產生抗體。在一實施例中，抗原為包括全長的 C5 的多肽。在一實施例中，抗原為包括 C5 的 β 鏈(序列辨識號：40)的多肽。在一實施例中，抗原為包括 C5 的 β 鏈的 MG1-MG2 域(序列辨識號：43)的多肽。在一實施例中，抗原為包括 C5 的 β 鏈的 MG1 域(序

列辨識號: 41)的多肽。在一實施例中，抗原為包括對應於 C5 的 β 鏈位置 19 至 180 的胺基酸的區域之多肽。在一實施例中，抗原為包括對應於 C5 的 β 鏈位置 33 至 124 的胺基酸的區域之多肽。在一實施例中，抗原為包括至少一擇自於 C5 的 β 鏈(序列辨識號: 40)的胺基酸 47-57、70-76 及 107-110 的片段之多肽。在一實施例中，抗原為包括 C5 的 β 鏈的片段之多肽，其包括至少一擇自於 Thr47、Glu48、Ala49、Phe50、Asp51、Ala52、Thr53、Lys57、His70、Val71、His72、Ser74、Glu76、Val107、Ser108、Lys109 及 His110 所組成之群組的胺基酸。在一實施例中，抗原為包括 C5 的 β 鏈的片段之多肽，其包括至少一擇自於 Glu48、Asp51、His70、His72、Lys109 及 His110 所組成之群組的胺基酸。本發明亦包含藉由免疫針對上述抗原的動物所產生之抗體。抗體可單一地或組合地合併任一特徵，如上"示例性抗 C5 抗體"所述。

C. 測定

【0207】可藉由本領域習知的多種測定法辨識、篩選或表徵本文提供之抗 C5 抗體的物理/化學性質及/或生物活性。

1. 結合測定及其它測定

【0208】在一態樣中，例如，藉由習知方法，像是 ELISA、西方點墨、BIACORE®等，針對其抗原結合活性測試本發明的抗體。

【0209】在另一態樣中，可使用競爭測定以辨識與本文所述的抗 C5 抗體競爭結合至 C5 的抗體。在一些特定的實施例中，當這類競爭抗體過量存在時，它阻礙(例如，降低)參考抗

體對 C5 的結合至少 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或更多。在一些例子中，結合被抑制至少 80%、85%、90%、95%或更多。在一些特定的實施例中，這類競爭抗體結合至與被本文所述的抗 C5 抗體(例如，如表 2 所述之抗體)結合的相同的抗原決定基(例如，線性或構象抗原決定基)。用於定位抗體結合的抗原決定基之詳細示例性方法在 Morris，“Epitope Mapping Protocols,” in *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ) (1996)中提供。

【0210】在一示例性競爭測定中，固定的 C5 培養於一溶液中，其包括結合至 C5 的第一標記(參考)之抗體，以及經測試其與第一抗體競爭結合至 C5 的能力的第二未標記之抗體。第二抗體可存在於融合瘤上清液中。作為控制組，固定的 C5 培養於包括第一標記之抗體但不包括第二標記之抗體的溶液中。在允許第一抗體結合至 C5 的條件下培養後，移除過量未結合的抗體，以及測量與固定的 C5 結合的標記量。若相對於控制組樣品，在測試樣品中與固定的 C5 結合的標記量實質上減少，那麼其表示第二抗體與第一抗體競爭結合至 C5。請參照，Harlow 及 Lane，*Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY) (1988)。

【0211】在另一示例性競爭測定中，使用 BIACORE®分析藉由第二(參考)抗 C5 抗體以判定測試的抗 C5 抗體競爭結合至 C5 的能力。在又一態樣中，根據廠商的建議操作 BIACORE®

器材(例如，BIACORE® 3000)，利用習知的標準技術將 C5 蛋白捕捉於 CM5 BIACORE®晶片上，以製造 C5 被覆的表面。一般 200 至 800 共振單位的 C5 會連接至晶片(該量給予簡單可測量程度的結合，但可容易地由所使用的測試抗體的濃度飽和)。待評估它們彼此競爭的能力的兩種抗體(即，測試及參考抗體)以 1：1 的摩爾比例的結合位置在合適的緩衝液中混合以產生測試混合液。當在結合位置的基礎上計算濃度時，測試或參考抗體的分子量被假設為對應的抗體的總分子量除以該抗體上 C5 結合位置的數量。測試混合液中每種抗體(即，測試及參考抗體)的濃度應足夠高以容易地使捕捉於 BIACORE®晶片上的 C5 分子上抗體的結合位置飽和。混合液中的抗體具有相同的摩爾濃度(在結合基礎上)，通常是在 1.00 及 1.5 微摩爾之間(在結合位點的基礎上)。亦製備包含單獨的測試抗體及單獨的參考抗體的不同溶液。在這些溶液中的測試抗體及參考抗體應在與測試混合液相同的緩衝液中以及在相同的濃度及條件下。使包含測試抗體及參考抗體的測試混合液通過 C5 被覆的 BIACORE®晶片上，並記錄結合的總量。接著以去除結合的測試或參考抗體而不破壞晶片結合的 C5 之方式處理晶片。通常，這藉由 30 mM 的 HCl 處理晶片 60 秒加以完成。然後使單獨測試抗體的溶液通過 C5 被覆的表面上，且記錄結合量。再次處理晶片以去除所有的結合抗體而不破壞晶片結合的 C5。接著使單獨參考抗體的溶液通過 C5 被覆的表面上，且記錄結合量。接著計算測試抗體及參考抗體的混合液的最大理論結合，其是當僅通過 C5 表面時，每種抗體(及，測試及參考)的

結合的總和。若實際記錄的混合液結合少於此理論最大值，那麼測試抗體及參考抗體彼此競爭與 C5 結合。因此，一般而言，競爭測試抗 C5 抗體在上述 BIACORE®阻斷測定中結合至 C5，使得在測定期間及在參考抗 C5 抗體的存在下，記錄的結合是最大理論結合的 80%及 0.1%之間(例如，80%至 4%)，具體地是在最大理論結合的 75%及 0.1%之間(例如，75%至 4%)，更具體地是組合的測試及參考抗體的最大理論結合(如上定義)的 70%及 0.1%之間(例如 70%至 4%)。

【0212】在一些特定的實施例中，本發明的抗 C5 抗體與包括擇自於抗體 CFA0341 及 CFA0330 的 VH 及 VL 對的抗體競爭結合 C5。在一些實施例中，抗 C5 抗體與擇自於： CFA0538、CFA0501、CFA0599、CFA0307、CFA0366、CFA0675、及 CFA0672 的抗體競爭結合 C5。在一些實施例中，抗 C5 抗體與抗體 CFA0329 競爭結合 C5。在一些實施例中，抗 C5 抗體與抗體 CFA0666 競爭結合 C5。

【0213】在一些特定的實施例中，本發明的抗 C5 抗體與包括抗體 CFA0305 或 305LO5 的 VH 及 VL 對的抗體競爭結合 C5。

【0214】在又一些實施例中，相較於酸性 pH，抗 C5 抗體在中性 pH 以較高親和性結合至 C5。在一些特定的實施例中，本發明的抗 C5 抗體與包括擇自於：CFA0538、CFA0501、CFA0599、CFA0307、CFA0366、CFA0675 及 CFA0672 的 VH 及 VL 對的抗體競爭結合 C5。在一些實施例中，抗 C5 抗體與抗體 CFA0666 競爭結合 C5。在又一些實施例中，相較於在 pH5.8，抗 C5 抗體在 pH7.4 以較高親和性結合至 C5。

【0215】在又一些實施例中，相較於酸性 pH，抗 C5 抗體在中性 pH 以較高親和性結合至 C5。在一些特定的實施例中，本發明的抗 C5 抗體與包括抗體 CFA0305 或 305LO5 的 VH 及 VL 對的抗體競爭結合 C5。在又一些實施例中，相較於在 pH5.8，抗 C5 抗體在 pH7.4 以較高親和性結合至 C5。

【0216】在一些特定的實施例中，本發明的抗 C5 抗體與包括擇自於序列辨識號：22 的 VH 及序列辨識號：26 的 VL、或序列辨識號：21 的 VH 及序列辨識號：25 的 VL 的 VH 及 VL 對之抗體競爭結合 C5。在一些實施例中，抗 C5 抗體與包括擇自於：(a) 序列辨識號：5 的 VH 及序列辨識號：15 的 VL；(b) 序列辨識號：4 的 VH 及序列辨識號：14 的 VL；(c) 序列辨識號：6 的 VH 及序列辨識號：16 的 VL；(d) 序列辨識號：2 的 VH 及序列辨識號：12 的 VL；(e) 序列辨識號：3 的 VH 及序列辨識號：13 的 VL；(f) 序列辨識號：1 的 VH 及序列辨識號：11 的 VL；(g) 序列辨識號：9 的 VH 及序列辨識號：19 的 VL；(h) 序列辨識號：7 的 VH 及序列辨識號：17 的 VL；及(i) 序列辨識號：8 的 VH 及序列辨識號：18 的 VL 的 VH 及 VL 對之抗體競爭結合 C5。在一些實施例中，抗 C5 抗體與包括序列辨識號：23 的 VH 及序列辨識號：27 的 VL 的抗體競爭結合 C5。在一些實施例中，抗 C5 抗體與包括序列辨識號：7 的 VH 及序列辨識號：17 的 VL 的抗體競爭結合 C5。

【0217】在一些特定的實施例中，本發明的抗 C5 抗體與包括擇自於：(a) 序列辨識號：1 的 VH 及序列辨識號：11 的 VL；(b) 序列辨識號：22 的 VH 及序列辨識號：26 的 VL；(c) 序

列辨識號：21 的 VH 及序列辨識號：25 的 VL；(d) 序列辨識號：5 的 VH 及序列辨識號：15 的 VL；(e) 序列辨識號：4 的 VH 及序列辨識號：14 的 VL；(f) 序列辨識號：6 的 VH 及序列辨識號：16 的 VL；(g) 序列辨識號：2 的 VH 及序列辨識號：12 的 VL；(h) 序列辨識號：3 的 VH 及序列辨識號：13 的 VL；(i) 序列辨識號：9 的 VH 及序列辨識號：19 的 VL；(j) 序列辨識號：7 的 VH 及序列辨識號：17 的 VL；(k) 序列辨識號：8 的 VH 及序列辨識號：18 的 VL；(l) 序列辨識號：23 的 VH 及序列辨識號：27 的 VL；及(m) 序列辨識號：10 的 VH 及序列辨識號：20 的 VL 的 VH 及 VL 對之抗體競爭結合 C5。

【0218】在一些特定的實施例中，本發明的抗 C5 抗體與包括擇自於：(a) 序列辨識號：22 的 VH 及序列辨識號：26 的 VL；(b) 序列辨識號：21 的 VH 及序列辨識號：25 的 VL；(c) 序列辨識號：5 的 VH 及序列辨識號：15 的 VL；(d) 序列辨識號：4 的 VH 及序列辨識號：14 的 VL；(e) 序列辨識號：6 的 VH 及序列辨識號：16 的 VL；(f) 序列辨識號：2 的 VH 及序列辨識號：12 的 VL；(g) 序列辨識號：3 的 VH 及序列辨識號：13 的 VL；(h) 序列辨識號：9 的 VH 及序列辨識號：19 的 VL；(i) 序列辨識號：7 的 VH 及序列辨識號：17 的 VL；(j) 序列辨識號：8 的 VH 及序列辨識號：18 的 VL；(k) 序列辨識號：23 的 VH 及序列辨識號：27 的 VL 的 VH 及 VL 對之抗體競爭結合 C5。

【0219】在一些特定的實施例中，本發明的抗 C5 抗體與包括擇自於序列辨識號：1 的 VH 及序列辨識號：11 的 VL、或

序列辨識號：10 的 VH 及序列辨識號：20 的 VL 的 VH 及 VL 對之抗體競爭結合 C5。

【0220】在又一些實施例中，相較於酸性 pH，抗 C5 抗體在中性 pH 以較高親和性結合至 C5。在一些特定的實施例中，抗 C5 抗體在中性 pH 比在酸性 pH 以較高親和性結合至 C5，且與包括擇自於：(a) 序列辨識號：1 的 VH 及序列辨識號：11 的 VL；(b) 序列辨識號：5 的 VH 及序列辨識號：15 的 VL；(c) 序列辨識號：4 的 VH 及序列辨識號：14 的 VL；(d) 序列辨識號：6 的 VH 及序列辨識號：16 的 VL；(e) 序列辨識號：2 的 VH 及序列辨識號：12 的 VL；(f) 序列辨識號：3 的 VH 及序列辨識號：13 的 VL；(g) 序列辨識號：9 的 VH 及序列辨識號：19 的 VL；(h) 序列辨識號：7 的 VH 及序列辨識號：17 的 VL；(i) 序列辨識號：8 的 VH 及序列辨識號：18 的 VL；及(j) 序列辨識號：10 的 VH 及序列辨識號：20 的 VL 的 VH 及 VL 對之抗體競爭結合 C5。在又一些實施例中，相較於在 pH5.8，抗 C5 抗體在 pH7.4 以較高親和性結合至 C5。

【0221】在一些實施例中，抗 C5 抗體在中性 pH 比在酸性 pH 以較高親和性結合至 C5，且與包括擇自於：(a) 序列辨識號：5 的 VH 及序列辨識號：15 的 VL； (b) 序列辨識號：4 的 VH 及序列辨識號：14 的 VL；(c) 序列辨識號：6 的 VH 及序列辨識號：16 的 VL；(d) 序列辨識號：2 的 VH 及序列辨識號：12 的 VL；(e) 序列辨識號：3 的 VH 及序列辨識號：13 的 VL；(f) 序列辨識號：1 的 VH 及序列辨識號：11 的 VL；(g) 序列辨識號：9 的 VH 及序列辨識號：19 的 VL；(h) 序列

辨識號：7 的 VH 及序列辨識號：17 的 VL；及(i) 序列辨識號：8 的 VH 及序列辨識號：18 的 VL 的 VH 及 VL 對之抗體競爭結合 C5。在又一些實施例中，相較於在 pH5.8，抗 C5 抗體在 pH7.4 以較高親和性結合至 C5。

【0222】在一些實施例中，抗 C5 抗體在中性 pH 比在酸性 pH 以較高親和性結合至 C5，且與包括擇自於：序列辨識號：1 的 VH 及序列辨識號：11 的 VL、或序列辨識號：10 的 VH 及序列辨識號：20 的 VL 的 VH 及 VL 對之抗體競爭結合 C5。在又一些實施例中，相較於在 pH5.8，抗 C5 抗體在 pH7.4 以較高親和性結合至 C5。

【0223】在一些特定的實施例中，本發明的抗 C5 抗體是否結合至特定的抗原決定基可如下測定：在 293 細胞中表達 C5 上的胺基酸(丙胺酸除外)被丙胺酸取代之 C5 點突變體，且藉由 ELISA、西方點墨或 BIACORE®測試抗 C5 抗體對 C5 突變體的結合；其中相較於其對野生型 C5 的結合，抗 C5 抗體對 C5 突變體的實質上降低或消失的結合代表抗 C5 抗體結合至包括 C5 上的那個胺基酸的抗原決定基。在一些特定的實施例中，C5 上將被丙胺酸取代的胺基酸擇自由 C5(序列辨識號：40)的 β 鏈的 Glu48、Asp51、His70、His72、Lys109 及 His110 所組成之群組。在又一些實施例中，C5 上將被丙胺酸取代的胺基酸為 C5(序列辨識號：40)的 β 鏈的 Asp51 或 Lys109。

【0224】在另一實施例中，具有 pH 依賴性結合特性的抗 C5 抗體是否結合至特定的抗原決定基可如下測定：在 293 細胞中表達 C5 上的組胺酸殘基被另一胺基酸(例如，酪胺酸)取

代之 C5 點突變體，且藉由 ELISA、西方點墨或 BIACORE®測試抗 C5 抗體對 C5 突變體的結合；其中相較於其在酸性 pH 下對 C5 突變體的結合，抗 C5 抗體在酸性 pH 下對野生型 C5 的實質上降低的結合代表抗 C5 抗體結合至包括 C5 上的那個組胺酸殘基的抗原決定基。在又一些實施例中，相較於其在中性 pH 下對 C5 突變體的結合，抗 C5 抗體在中性 pH 下對野生型 C5 的結合實質上未降低。在一些特定的實施例中，C5 上將被另一胺基酸取代之組胺酸殘基擇自由 C5(序列辨識號：40)的 β 鏈的 His70、His72 及 His110 所組成之群組。在又一實施例中，組胺酸殘基 His70 被酪胺酸取代。

2. 活性測定

【0225】在一樣態中，提供測定以辨識關於抗 C5 抗體具有的生物活性。生物活性可包含，例如，抑制 C5 的活化、防止 C5 的裂解以形成 C5a 及 C5b、阻礙 C5 轉化酶接近 C5 上的裂解位置、阻礙由 C5 的活化所導致的溶血活性等。亦提供於體內及/或體外具有這類生物活性的抗體。

【0226】在一些特定的實施例中，測試本發明的抗體的這類生物活性。

【0227】在一些特定的實施例中，測試抗體是否抑制 C5 裂解成 C5a 及 C5b 是由如，例如 Isenman 等人，*J Immunol.* 124(1):326-331 (1980)中所述的方法測定。在另一實施例中，這是藉由特異性偵測裂解的 C5a 及/或 C5b 蛋白的方法，例如 ELISA 或西方點墨進行測定。在測試抗體存在(或與測試抗體接觸之後)而偵測到 C5 的裂解產物(C5a 及/或 C5b)的量減少的

情況下，該測試抗體被認定為可抑制 C5 的裂解的抗體。在一些特定的實施例中，C5a 的濃度及/或生理活性可藉由，例如，趨化測定、RIA 或 ELISA 之方法進行測量(請參照，例如 Ward 及 Zvaifler *J. Clin. Invest.* 50(3):606-616 (1971))。

【0228】在一些特定的實施例中，測試抗體是否阻礙 C5 轉化酶接近 C5 是由用以偵測 C5 轉化酶及 C5 之間的蛋白相互作用之方法測定，例如，ELISA 或 BIACORE®。在測試抗體存在(或與測試抗體接觸之後)而相互作用減少的情況下，該測試抗體被認定為可阻礙 C5 轉化酶接近 C5 的抗體。

【0229】在一些特定的實施例中，C5 活性可測量為，它在對象的體液中的細胞溶解能力的函數。可藉由本領域習知的方法，例如，常規的溶血測定，像是 Kabat 及 Mayer(編輯)，Experimental Immunochemistry, 2nd Edition, 135-240, Springfield, IL, CC Thomas (1961), pages 135-139 所述的溶血測定、或該測定的常規變異，像是如 Hillmen 等人(2004)，*N. Engl. J. Med.* 350(6): 552-559 (2004)中描述的雞紅血球溶血方法，測量 C5 的細胞溶解能力或其下降。在一些特定的實施例中，利用 CH50eq 測定定量 C5 活性或其抑制。CH50eq 測定是用於測量血清中的總經典補體活性的方法。此測試為細胞溶解測定(lytic assay)，其利用抗體敏化的紅血球作為經典補體途徑的活化劑，並使用測試血清的多種稀釋以判斷得到 50%細胞溶解(CH50)所需的量。溶血的百分比可，例如使用分光光度計，加以測定。CH50eq 測定提供末端補體複合物(TCC)形成的間接測量，由於 TCC 本身直接地負責測量到的溶血。C5 活化的抑

制亦可使用操作實施例中例舉及示例的方法進行偵測及/或測量。利用這些或其它類型的測定，能夠抑制 C5 的活化的候選抗體可被篩選。在一些特定的實施例中，相較在相似條件下負控制組的效果，C5 活化的抑制包含在測定中至少 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、或 40%、或更多 C5 活性的減少。在一些實施例中，其代表抑制至少 45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、或 95%、或更多的 C5 活化。

D. 免疫偶聯物

【0230】本發明亦提供免疫偶聯物，其包括本文之抗 C5 抗體偶聯至一或多個細胞毒性劑，例如，化療劑或藥物、生長抑制劑、毒素(例如，細菌、真菌、植物或動物來源的蛋白毒素、酶活性毒素、或其片段)或放射性同位素。

【0231】在一實施例中，免疫偶聯物是抗體-藥物偶聯物(ADC)，其中抗體與一或多種藥物偶聯，包含但不限於美登木素生物鹼(maytansinoid)(請參照，美國專利號 5,208,020、5,416,064 及歐洲專利 EP 0 425 235 B1)；auristatin 例如單甲基 auristatin 藥物部分 DE 及 DF(MMAE 及 MMAF)(請參照，美國專利號 5,635,483 及 5,780,588 及 7,498,298)；尾海兔素(dolastatin)；加利車黴素(calicheamicin)或其衍生物(請參照，美國專利號 5,712,374, 5,714,586, 5,739,116, 5,767,285, 5,770,701, 5,770,710, 5,773,001 及 5,877,296；Hinman 等人，*Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993)；及 Lode 等人，*Cancer Res.* 58:2925-2928 (1998))；蒽環類抗生素例如道諾黴素

(daunomycin)或多柔比星(doxorubicin)(請參照 Kratz 等人，*Current Med. Chem.* 13:477-523 (2006)；Jeffrey 等人，*Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362 (2006)；Torgov 等人，*Bioconj. Chem.* 16:717-721 (2005)；Nagy 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834 (2000)；Dubowchik 等人，*Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532 (2002)；King 等人，*J. Med. Chem.* 45:4336-4343 (2002)；及美國專利號 6,630,579)；甲氨蝶呤；長春地辛(vindesine)；紫杉烷(taxane)例如多烯紫杉醇(docetaxel)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、Iarotaxel、tesetaxel、及 ortataxe；單端孢黴素(trichothecene)；及 CC1065。

【0232】在另一實施例中，免疫偶聯物包括如本文所述的抗體偶聯至酶活性毒素或其片段，其包含但不限於白喉 A 鏈、白喉毒素的非結合活性片段、外毒素 A 鏈(來自綠膿桿菌(Pseudomonas aeruginosa))、蓖麻毒蛋白(ricin)A 鏈、相思豆毒蛋白(abrin)A 鏈、蒴蓮根毒蛋白(modeccin)A 鏈、α-帚曲毒蛋白(sarcin)、油桐(Aleutites fordii)毒蛋白、香石竹(dianthin)毒蛋白、美洲商陸(Phytolaca americana)蛋白(PAPI、PAPII 及 PAP-S)、苦瓜(Momordica charantia)抑制物、麻瘋樹毒蛋白(curcin)、巴豆毒蛋白(crotin)、肥皂草(sapaonaria officinalis)抑制劑、白樹毒蛋白(gelonin)、米托黴素(mitogellin)、局限曲菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、依諾黴素(enomycin)和單端孢黴素(trichothecene)。

【0233】在另一實施例中，免疫偶聯物包括本文所述的抗體偶聯至放射性原子以形成放射性偶聯物。多種放射性同位素

可用於製造放射性偶聯物。例子包含 At^{211}, I^{131}, I^{125}, Y^{90}, Re^{186}, Re^{188}, Sm^{153}, Bi^{212}, P^{32}, Pb^{212}及 Lu 的放射性同位素。在使用放射性偶聯物進行檢測時，它可包括供閃爍法研究用的放射性原子，例如 tc99m 或 I123，或供核磁共振(NMR)成像(又稱為磁共振成像，mri)用的自旋標記物，例如再次的碘-123、碘-131、銦-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、釓、錳或鐵。

【0234】可使用多種雙功能蛋白偶合劑以形成抗體及細胞毒劑的偶聯物，例如 N-琥珀醯亞氨基 3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP)、琥珀醯亞氨基-4-(N-馬來醯亞氨基甲基)環己烷-I-羧酸酯(SMCC)、亞氨基硫烷(IT)、亞氨酸酯(例如鹽酸己二醯亞氨酸二甲酯)的雙功能衍生物、活性酯類(例如辛二酸二琥珀醯亞氨基酯)、醛類(例如戊二醛)、雙疊氮化合物(例如雙(對-疊氮苯甲醯基)己二胺)、雙重氮衍生物(例如雙(對-重氮苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(例如甲苯 2,6-二異氰酸酯)、及雙活性氟化合物(例如 1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。例如，可以如 Vitetta 等人，*Science* 238:1098 (1987)中所述製備蓖麻毒蛋白免疫毒素。碳-14 標記的 1-異硫氰酸苄基-3-甲基二亞乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)是用於將放射性核苷酸與抗體偶聯的示例性螯合劑。請參照 WO94/11026。連接子(linker)可為有利於在細胞中釋放細胞毒性藥物的“可切割連接子”。例如，可使用酸不穩定連接子、肽酶敏感性連接子、光不穩定連接子、二甲基連接子或含二硫化物連接子(Chari 等人，*Cancer Res.* 52:127-131 (1992)；美國專利號 5,208,020)。

【0235】本文的免疫偶聯物或 ADC 明確設想，但不限於用

交聯劑製備的此類偶聯物，所述交聯劑包含但不限於 BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、sulfo-EMCS、sulfo-GMBS、sulfo-KMUS、sulfo-MBS、sulfo-SIAB、sulfo-SMCC、及 sulfo-SMPB，及 SVSB(琥珀醯亞氨基-(4-乙烯基碸)苯甲酸酯)，其為市售的(例如，取自 Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A)。

E. 用於診斷及偵測的方法及組合物

【0236】在一些特定的實施例中，本文提供之任一抗 C5 抗體對偵測 C5 在生物樣品中的存在是有用的。用詞“偵測”，如本文所使用，涵蓋定量或定性偵測。在一些特定的實施例中，生物樣品包括細胞或組織，例如血清、全血液、血漿、切片樣品、組織樣品、細胞懸浮液、唾液、痰、口腔液、腦脊髓液、羊膜液、腹水、乳汁、初乳、乳腺分泌物、淋巴、尿液、汗、淚液、胃液、關節液、腹腔液、眼內液及黏液。

【0237】在一實施例中，提供用於診斷或偵測方法霧中的抗 C5 抗體。在又一態樣中，提供在生物樣品中偵測 C5 的存在的方法。在一些特定的實施例中，此方法包括在允許抗 C5 抗體結合至 C5 的條件下，使生物樣品與如本文所述之抗 C5 抗體接觸，以及偵測是否有複合物形成於抗 C5 抗體及 C5 之間。此種方法可為體外或體內的方法。在一實施例中，抗 C5 抗體被用以選擇適合抗 C5 抗體療法的對象，例如，在 C5 為用於患者的選擇之生物標記的情況下。

【0238】在另一實施例中，提供一選擇具有涉及過度或不

受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況之個體作為適於包含本發明之抗 C5 抗體的療法之方法。在一些特定實施例中，所述方法包含(a) 偵測遺傳變異於源自個體的 C5，及(b) 當偵測到源自個體的 C5 之遺傳變異時，選擇作為適於包含本發明之抗 C5 抗體的療法之個體。在另一實施例中，提供一選擇用於具有涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況之個體之療法的方法。在一些特定實施例中，所述方法包含(a) 偵測遺傳變異於源自個體的 C5 及(b) 當偵測到源自個體的 C5 之遺傳變異時，選擇用於個體之包含本發明之抗 C5 抗體的療法。

【0239】在另一實施例中，提供一處理具有涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況之個體的方法。在一些特定實施例中，所述方法包含(a) 偵測遺傳變異於源自個體的 C5、(b) 當偵測到源自個體的 C5 之遺傳變異時，選擇作為適於包含本發明之抗 C5 抗體的療法之個體及(c) 施用本發明之抗 C5 抗體於個體中。

【0240】在另一實施例中，提供本發明之抗 C5 抗體之用途，其用於處理具有涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況之個體。在一些特定實施例中，當偵測到源自個體的 C5 之遺傳變異時，以本發明之抗 C5 抗體處理個體。

【0241】在另一實施例中，提供 C5 的遺傳變異之體內用途，其用於選擇具有涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況之個體作為適於包含本發明之抗 C5 抗體之療法者。在一些特定實施例中，當偵測到源自個體的 C5 之遺傳變

異時，選擇適於療法之個體。在另一實施例中，提供 C5 的遺傳變異之體內用途，其用於選擇用於具有涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況之個體之療法。在一些特定實施例中，當偵測到源自個體的 C5 之遺傳變異時，為個體選擇包含本發明之抗 C5 抗體的療法。

【0242】已有報導指出具有遺傳變異於 C5 的一些病患對包含已存在之抗 C5 抗體之療法顯示不良的反應(Nishimura 等人，N. *Engl. J. Med.* 370:632-639 (2014))。此類病患建議以包含本發之抗 C5 抗體的療法處理，由於此種抗體對於 C5 變異體的活化以及野生型 C5 的活化具有抑制活性，如以下實施例所示。

【0243】C5 中遺傳變異的偵測可藉由所屬技術領域已知的方法進行。這類方法可包含定序、PCR、RT-PCR 及以雜交為基礎(hybridization-based)的方法，例如南方墨點分析或北方墨點分析，但不限於此。C5 變異體可包含至少一遺傳變異。遺傳變異可擇自於 V145I、R449G、V802I、R885H、R928Q、D966Y、S1310N 及 E1437D 所組成之群組。於文中，R885H，舉例而言，代表在位置 885 的精胺酸被取代為組胺酸之遺傳變異。在一些特定實施例中，C5 變異體具有與野生型 C5 相似的生物活性。

【0244】可利用本發明之抗體診斷之示例性疾病包含類風濕關節炎(RA)；系統性紅斑狼瘡(SLE)；狼瘡性腎炎(lupus nephritis)；缺血再灌注損傷(ischemia reperfusion injury, IRI)；哮喘；陣發性夜間血紅蛋白尿(paroxysmal nocturnal

hemoglobinuria, PNH)；溶血性尿毒症候群(hemolytic uremic syndrome, HUS)(例如，非典型溶血性尿毒症候群(aHUS))；緻密沉積疾病(dense deposit disease, DDD)；神經脊髓炎(neuromyelitis optica, NMO)；多灶性運動神經病變(multifocal motor neuropathy, MMN)；多發性硬化(multiple sclerosis, MS)；系統性硬化症；黃斑部病變(例如，老年性黃斑部病變(AMD))；溶血，升高的肝酶及低血小板(HELLP)症候群；血栓性血小板減少性紫癜(thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP)；自發性胎兒損失；表皮溶解水皰症(epidermolysis bullosa)；復發性胎兒損失；妊娠毒血症(pre-eclampsia)；創傷性腦損傷；重症肌無力；冷凝集素症；謝格倫症候群(Sjögren's syndrome)；皮肌炎；大皰性類天皰瘡(bullous pemphigoid)；光毒反應；志賀毒素大腸桿菌相關性溶血性尿毒症候群(Shiga toxin *E. coli*-related hemolytic uremic syndrome)；典型或感染性溶血性尿毒症候群(tHUS)；C3 腎小球腎炎；抗中性粒細胞胞漿抗體(ANCA)相關血管炎；體液及血管移植排斥反應；急性抗體介導的排斥(antibody mediated rejection, AMR)；移植物功能障礙；心肌梗死；同種異體移植；敗血症；冠狀動脈疾病；遺傳性血管性水腫(hereditary angioedema)；皮肌炎(dermatomyositis)；格雷夫斯病(Graves' disease)；動脈粥樣硬化(atherosclerosis)；阿爾茨海默症(Alzheimer's disease, AD)；亨廷頓氏症(Huntington's disease)；克雅氏症(Creutzfeld-Jacob)；帕金森症(Parkinson's disease)；癌症；傷口；敗血性休克；脊髓損傷；葡萄膜炎(uveitis)；糖尿病眼病；

早產兒視網膜病變；腎小球性腎炎(glomerulonephritis)；膜性腎炎(membranous nephritis)；免疫球蛋白 A 腎病；成人呼吸窘迫症候群(adult respiratory distress syndrome, ARDS)；慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)；囊性纖維化；溶血性貧血；陣發性冷血紅蛋白尿(paroxysmal cold hemoglobinuria)；過敏性休克(anaphylactic shock)；過敏；骨質疏鬆症(osteoporosis)；骨關節炎(osteoarthritis)；橋本甲狀腺炎(Hashimoto's thyroiditis)；第 I 型糖尿病；銀屑病(psoriasis)；天皰瘡(pemphigus)；自身免疫性溶血性貧血(autoimmune hemolytic anemia, AIHA)；特發性血小板減少性紫癜(idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP)；古帕斯捷氏症候群(Goodpasture syndrome)；惡性萎縮性丘疹病(Degos disease)；抗磷脂症候群(antiphospholipid syndrome, APS)；災難性抗磷脂症候群(catastrophic APS, CAPS)；心血管疾病；心肌炎；腦血管疾病(cerebrovascular disorder)；外周血管疾病；腎血管病；腸系膜/腸內血管疾病(mesenteric/enteric vascular disorder)；血管炎；埃諾克-多恩萊因紫癜性紫癜腎炎(Henoch-Schönlein purpura nephritis)；高安病(Takayasu's disease)；擴張性心肌病；糖尿病性血管病；川崎病(Kawasaki's disease)(動脈炎)；靜脈血栓栓塞(venous gas embolus, VGE)；支架置入後再狹窄(restenosis following stent placement)；旋轉粥樣斑塊切除術(rotational atherectomy)；膜性腎病；格蘭巴利症候群(Guillain-Barré syndrome, GBS)；費雪症候群(Fisher syndrome)；抗原誘導的關節炎；滑膜炎症；病毒感染；細菌

感染；真菌感染；以及由心肌梗塞、心肺轉流及血液透析引起之損傷。

【0245】在一些特定的實施例中，提供標記的抗 C5 抗體。標記包含但不限於，直接被偵測的標記或部分(例如，螢光、發色、電子密集、化學發光及放射性標記)，以及間接(例如藉由酶反應或分子相互作用)被偵測的部分，像是酶或配體。示例性標記包含但不限於，放射性同位素 ^{32}P、^{14}C、^{125}I、^{3}H 及 ^{131}I、螢光團如稀土螯合物或螢光素及其衍生物、若丹明(rhodamine)及其衍生物、丹醯(dansyl)、傘形酮(umbellifeixme)、螢光素酶(luceriferase)，例如，螢火蟲螢光素酶和細菌螢光素酶(美國專利號 4,737,456)、螢光素(luciferin)、2,3-二氫酞嗪二酮、辣根過氧化酶(HRP)、鹼性磷酸酶、β-半乳糖苷酶、葡糖澱粉酶、溶解酶、糖類氧化酶，例如，葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶及葡萄糖-6-磷酸脫氫酶、雜環氧化酶如尿酸酶及黃嘌呤氧化酶，結合利用過氧化氫以氧化染料前驅物的酶如 HRP、乳過氧化酶、或微過氧化酶(microperoxidase)、生物素/親和素、自旋標記物、噬菌體標記、穩定的自由基等。

F. 醫藥配方

【0246】如本文所述的抗 C5 抗體的醫藥配方藉由將具有所需程度純度的這種抗體與一或多種可選的醫藥上可接受的載體(*Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))混合，以凍乾配方或水溶液的形式製備。醫藥上可接受的載體通常在所使用的劑量及濃度對接受者無毒，且包含但不限於:緩衝劑，如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其它有機酸；抗氧

化劑，包含抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(如氯化十八烷基二甲基苄銨；氯化六羥季銨；苯紮氯銨；苄索氯銨；苯酚；丁醇或苄醇；對羥基苯甲酸烷酯，如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(小於約 10 個殘基)多肽；蛋白質，如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，如甘胺酸、穀胺醯胺、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或賴胺酸；單糖、雙糖和其它糖類，包含葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，如 EDTA；糖類，如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；成鹽平衡離子，如鈉；金屬複合體(例如 Zn-蛋白質複合體)；及/或非離子表面活性劑，如聚乙二醇(PEG)。本文中的示例性醫藥上可接受的載體尚包含藥物間質分散劑，如可溶性中性-活性透明質酸酶糖蛋白(sHASEGP)，例如，人類可溶性 PH-20 透明質酸酶糖蛋白，如 rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.))。特定的示例性 sHASEGP 及使用方法，包含 rHuPH20，描述於美國專利公開號 2005/0260186 及 2006/0104968 中。在一態樣中，sHASEGP 與一或多種額外的葡糖胺聚糖酶組合，例如軟骨素酶。

【0247】示例性凍乾的抗體配方描述於美國專利號 6,267,958 中。水溶液抗體配方包含描述於美國專利號 6,171,586 及 WO 2006/044908 中的那些，後者配方包含組胺酸-醋酸鹽緩衝液。

【0248】本文的配方亦可包含多於一種的活性成分，若為被治療的特定適應症所需，較佳地具有不會不利地影響彼此的

互補活性的那些活性成分。此種活性成分以對於目的用途有效的量合適地組合存在。

【0249】可將活性成分截留於例如藉由凝聚技術或藉由介面聚合所製備的微膠囊中，例如，羥甲基纖維素或明膠微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊，分別地，在膠狀藥物傳遞系統(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米顆粒及奈米膠囊)中或在粗滴乳狀液中。這類技術揭露於 *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)中。

【0250】可製備持續釋放配方。持續釋放配方的合適例子包含含有抗體的固體疏水聚合物的半滲透基質，所述基質呈成形物品，例如薄膜或微膠囊形式。

【0251】將被用於體內施用的配方通常為無菌的。無菌可例如，藉由通過無菌過濾膜的過濾，而輕易地實現。

G.治療方法和組合物

【0252】本文提供的任一抗 C5 抗體可用於治療方法。

【0253】在一態樣中，提供用作藥物的抗 C5 抗體。在又一態樣中，提供用於治療涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況的抗 C5 抗體。在一些特定的實施例中，提供用於治療方法中的抗 C5 抗體。在一些特定的實施例中，本發明提供抗 C5 抗體，其用於治療具有涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況的個體的方法，所述方法包括對個體施用有效量的抗 C5 抗體。在這樣一實施例中，所述方法尚包括對個體施用有效量的至少一種額外的治療劑。根據以上任一實施例的“個體”較佳為人類。

【0254】當抗體為可溶性蛋白質時，抗體對其抗原的結合可造成抗原於血漿中的半生期延長(即，降低抗原從血漿中的消除)，由於抗體本身在血漿中具有較長的半生期且作為抗原的載體。這起因於抗原-抗體複合體藉由 FcRn 透過細胞中的內體途徑的回收(Roopenian，*Nat. Rev. Immunol.* 7(9):715-725 (2007))。然而，具有 pH 依賴性結合特性的抗體，其於中性胞外環境下結合至其抗原，而接著在進入細胞後將其釋放至酸性胞內腔室中，被預期在抗原中和及清除方面具有較優越的特性，相較於其以非 pH 依賴性形式結合之對應物(Igawa 等人，*Nat. Biotech.*. 28(11):1203-1207 (2010)；Devanaboyina 等人，*mAbs* 5(6):851-859 (2013); WO 2009/125825)。

【0255】在又一些實施例中，發明提供一抗 C5 抗體，其用於增強 C5 自血漿的消除。在一些特定實施例中，發明提供一抗 C5 抗體，其使用於在個體中增強 C5 自血漿消除之方法，所述方法包含施用有效量之抗 C5 抗體於個體以增強 C5 自血漿的消除。在一實施例中，抗 C5 抗體增強 C5 自血漿的消除，相較於傳統不具有 pH 依賴性結合特性之抗 C5 抗體。根據上述任一實施例，“個體”較佳為人類。

【0256】在又一些實施例中，發明提供一抗 C5 抗體，其用於抑制 C5 於血漿中的累積。在一些特定實施例中，發明提供一抗 C5 抗體，其使用於在個體中抑制 C5 於血漿中累積之方法，所述方法包含施用有效量之抗 C5 抗體於個體以抑制 C5 於血漿中的累積。在一實施例中，C5 於血漿中的累積是抗原-抗體複合體形成之結果。在另一實施例中，抗 C5 抗體抑制 C5

於血漿中的累積，相較於傳統不具有 pH 依賴性結合特性之抗 C5 抗體。根據上述任一實施例，“個體”較佳為人類。

【0257】本發明之抗 C5 抗體可抑制 C5 的活化。在又一些實施例中，發明提供一抗 C5 抗體，其用於抑制 C5 的活化。在一些特定實施例中，發明提供一抗 C5 抗體，其使用於在個體中抑制 C5 活化之方法，所述方法包含施用有效量之抗 C5 抗體於個體以抑制 C5 的活化。在一實施例中，C5 調節之細胞毒性藉由抑制 C5 的活化而抑制。根據上述任一實施例，“個體”較佳為人類。

【0258】在又一態樣中，本發明提供抗 C5 抗體在生產或製備藥物中的用途。在一實施例中，藥物是用於涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況的治療。在又一實施例中，藥物是用於治療涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況的方法中，其包括向具有涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況的個體施用有效量的藥物。在這樣一實施例中，所述方法尚包括對個體施用有效量的至少一種額外的治療劑。根據以上任一實施例的“個體”較佳為人類。

【0259】在又一實施例中，所述藥物是用以增強 C5 自血漿的消除。在又一實施例中，藥物是用於在個體中增強 C5 自血漿消除之方法，所述方法包含施用有效量之藥物於個體以增強 C5 自血漿的消除。在一實施例中，抗 C5 抗體增強 C5 自血漿的消除，相較於傳統不具有 pH 依賴性結合特性之抗 C5 抗體。根據上述任一實施例，“個體”可為人類。

【0260】在又一實施例中，所述藥物是用以抑制 C5 於血漿

中的累積。在又一實施例中，藥物是用於在個體中抑制 C5 於血漿中累積之方法，所述方法包含施用有效量之藥物於個體以抑制 C5 於血漿中的累積。在一實施例中，C5 於血漿中的累積是抗原-抗體複合物形成的結果。在另一實施例中，抗 C5 抗體抑制 C5 於血漿中的累積，相較於傳統不具有 pH 依賴性結合特性之抗 C5 抗體。根據上述任一實施例，“個體”可為人類。

【0261】本發明之抗 C5 抗體可抑制 C5 的活化。在又一實施例中，所述藥物是用於抑制 C5 的活化。在又一實施例中，藥物是用於在個體中抑制 C5 的活化之方法，所述方法包含施用有效量之藥物於個體以抑制 C5 的活化。在一實施例中，C5 調節的細胞毒性可藉由抑制 C5 的活化而抑制。根據上述任一實施例，“個體”可為人類。

【0262】在又一態樣中，本發明提供用於治療涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況的方法。在一實施例中，方法包括向具有所述涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況的個體施用有效量的抗 C5 抗體。在這樣一實施例中，所述方法尚包括對個體施用有效量的至少一種額外的治療劑。根據以上任一實施例的“個體”可為人類。

【0263】在又一態樣中，發明提供用於在個體中增強 C5 自血漿消除之方法。在一實施例中，所述方法包含施用有效量之抗 C5 抗體於個體以增強 C5 自血漿的消除。在一實施例中，抗 C5 抗體增強 C5 自血漿的消除，相較於傳統不具有 pH 依賴性結合特性之抗 C5 抗體。在一實施例中，“個體”為人類。

【0264】在又一態樣中，發明提供用於在個體中抑制 C5 於

血漿中累積之方法。在一實施例中，所述方法包含施用有效量之抗 C5 抗體於個體以抑制 C5 於血漿中的累積。在一實施例中，C5 於血漿中的累積是抗原-抗體形成的結果。在另一實施例中，抗 C5 抗體抑制 C5 於血漿中的累積，相較於傳統不具有 pH 依賴性結合特性之抗 C5 抗體。在一實施例中，“個體”為人類。

【0265】本發明之抗 C5 抗體可抑制 C5 的活化。在又一態樣中，發明提供用於在個體中抑制 C5 的活化之方法。在一實施例中，所述方法包含施用有效量之抗 C5 抗體於個體以抑制 C5 的活化。在一實施例中，C5 調節的細胞毒性可藉由抑制 C5 的活化而抑制。根據上述任一實施例，“個體”為人類。

【0266】在又一態樣中，本發明提供醫藥配方，其包括任一本文提供的抗 C5 抗體，例如，用於任一以上的治療方法。在一實施例中，醫藥配方包括任一本文提供的抗 C5 抗體及醫藥上可接受的載體。在另一實施例中，醫藥配方包括任一本文提供的抗 C5 抗體以及至少一種額外的治療劑。

【0267】在又一態樣中，醫藥配方是用於涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況的治療。在又一實施例中，所述醫藥配方是用以增強 C5 自血漿的消除。在一實施例中，抗 C5 抗體增強 C5 自血漿的消除，相較於傳統不具有 pH 依賴性結合特性之抗 C5 抗體。在又一實施例中，所述醫藥配方是用以抑制 C5 於血漿中的累積。在一實施例中，C5 於血漿中的累積是抗原-抗體複合物形成之結果。在另一實施例中，抗 C5 抗體抑制 C5 於血漿中的累積，相較於傳統不具有 pH 依

賴性結合特性之抗 C5 抗體。本發明之抗 C5 抗體可抑制 C5 的活化。在又一實施例中，所述醫藥配方是用以抑制 C5 的活化。在一實施例中，C5 調節的細胞毒性藉由抑制 C5 的活化而抑制。在一實施例中，醫藥配方被施用於具有涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況的個體。根據以上任一實施例的“個體”較佳為人類。

【0268】在一態樣中，個體具有野生型 C5。在另一態樣中，個體具有 C5 變異體。在一些特定實施例中，C5 變異體具有與野生型 C5 相似的生物活性。此類 C5 變異體可包含至少一擇自於 V145I、R449G、V802I、R885H、R928Q、D966Y、S1310N 及 E1437D 所組成之群組的變異。於文中，R885H，舉例而言，代表在位置 885 的精胺酸被取代為組胺酸之遺傳變異。

【0269】在又一態樣中，本發明提供用於製備藥物或醫藥配方的方法，包括將本文提供的任一抗 C5 抗體與醫藥上可接受的載體混合，例如，使用於以上任一治療方法中。在一實施例中，用於製備藥物或醫藥配方的方法更包括添加至少一種額外的治療劑至藥物或醫藥配方中。

【0270】在一些特定實施例中，涉及過度或不受控制的 C5 活化之補體調節疾病或情況擇自於以下所組成之群組：類風濕關節炎(RA)；系統性紅斑狼瘡(SLE)；狼瘡性腎炎(lupus nephritis)；缺血再灌注損傷(ischemia reperfusion injury, IRI)；哮喘；陣發性夜間血紅蛋白尿(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH)；溶血性尿毒症候群(hemolytic uremic syndrome, HUS)(例如，非典型溶血性尿毒症候群(aHUS))；緻

密沉積疾病(dense deposit disease, DDD)；神經脊髓炎(neuromyelitis optica, NMO)；多灶性運動神經病變(multifocal motor neuropathy, MMN)；多發性硬化(multiple sclerosis, MS)；系統性硬化症；黃斑部病變(例如，老年性黃斑部病變(AMD))；溶血，升高的肝酶及低血小板(HELLP)症候群；血栓性血小板減少性紫癜(thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP)；自發性胎兒損失；表皮溶解水皰症(epidermolysis bullosa)；復發性胎兒損失；妊娠毒血症(pre-eclampsia)；創傷性腦損傷；重症肌無力；冷凝集素症；謝格倫症候群(Sjögren's syndrome)；皮肌炎；大皰性類天皰瘡(bullous pemphigoid)；光毒反應；志賀毒素大腸桿菌相關性溶血性尿毒症候群(Shiga toxin *E. coli*-related hemolytic uremic syndrome)；典型或感染性溶血性尿毒症候群(tHUS)；C3 腎小球腎炎；抗中性粒細胞胞漿抗體(ANCA)相關血管炎；體液及血管移植排斥反應；急性抗體介導的排斥(antibody mediated rejection, AMR)；移植物功能障礙；心肌梗死；同種異體移植；敗血症；冠狀動脈疾病；遺傳性血管性水腫(hereditary angioedema)；皮肌炎(dermatomyositis)；格雷夫斯病(Graves' disease)；動脈粥樣硬化(atherosclerosis)；阿爾茨海默症(Alzheimer's disease, AD)；亨廷頓氏症(Huntington's disease)；克雅氏症(Creutzfeld-Jacob)；帕金森症(Parkinson's disease)；癌症；傷口；敗血性休克；脊髓損傷；葡萄膜炎(uveitis)；糖尿病眼病；早產兒視網膜病變；腎小球性腎炎(glomerulonephritis)；膜性腎炎(membranous nephritis)；免疫球蛋白 A 腎病；成人呼吸窘

迫症候群(adult respiratory distress syndrome, ARDS)；慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)；囊性纖維化；溶血性貧血；陣發性冷血紅蛋白尿(paroxysmal cold hemoglobinuria)；過敏性休克(anaphylactic shock)；過敏；骨質疏鬆症(osteoporosis)；骨關節炎(osteoarthritis)；橋本甲狀腺炎(Hashimoto's thyroiditis)；第 I 型糖尿病；銀屑病(psoriasis)；天皰瘡(pemphigus)；自身免疫性溶血性貧血(autoimmune hemolytic anemia, AIHA)；特發性血小板減少性紫癜(idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP)；古帕斯捷氏症候群(Goodpasture syndrome)；惡性萎縮性丘疹病(Degos disease)；抗磷脂症候群(antiphospholipid syndrome, APS)；災難性抗磷脂症候群(catastrophic APS, CAPS)；心血管疾病；心肌炎；腦血管疾病(cerebrovascular disorder)；外周血管疾病；腎血管病；腸系膜/腸內血管疾病(mesenteric/enteric vascular disorder)；血管炎；埃諾克-多恩萊因紫癜性紫癜腎炎(Henoch-Schönlein purpura nephritis)；高安病(Takayasu's disease)；擴張性心肌病；糖尿病性血管病；川崎病(Kawasaki's disease)(動脈炎)；靜脈血栓栓塞(venous gas embolus, VGE)；支架置入後再狹窄(restenosis following stent placement)；旋轉粥樣斑塊切除術(rotational atherectomy)；膜性腎病；格蘭巴利症候群(Guillain-Barré syndrome, GBS)；費雪症候群(Fisher syndrome)；抗原誘導的關節炎；滑膜炎症；病毒感染；細菌感染；真菌感染；以及由心肌梗塞、心肺轉流及血液透析引起之損傷。

【0271】在一些特定實施例中，補體調節的疾病或狀況為眼病狀況。在又一些實施例中，眼部狀況為黃斑部病變。在又一些實施例中，黃斑部病變為老年性黃斑部病變(AMD)。在又一些實施例中，AMD為乾燥型的AMD。

【0272】在一些特定實施例中，補體調節的疾病或狀況為陣發性夜間血紅蛋白尿(PNH)。

【0273】在一些特定實施例中，補體調節的疾病或狀況為心肌梗死。

【0274】在一些特定實施例中，補體調節的疾病或狀況為類風濕關節炎(RA)。

【0275】在一些特定實施例中，補體調節的疾病或狀況為骨質疏鬆症或骨關節炎。

【0276】在一些特定實施例中，補體調節的疾病或狀況為發炎。

【0277】在一些特定實施例中，補體調節的疾病或狀況為癌症。

【0278】在治療中，本發明的抗體可被單獨使用或與其它試劑組合使用。例如，本發明的抗體可與至少一種額外的治療劑共同施用(co-administered)。

【0279】如上述這樣的組合療法包含組合施用(其中兩種或更多的治療劑被包含在相同或分開的配方中)，及分別施用，在這情況下，本發明的抗體的施用可以發生在額外的治療劑及/或試劑的施用前、同時及/或之後。在一實施例中，抗C5抗體的施用及額外治療劑的施用在約一個月內，或約一、二或三

個星期內，或約一、二、三、四、五或六天內彼此發生。

【0280】本發明的抗體(以及任一額外的治療劑)可藉由任何合適的方法施用，包含腸胃外施用、肺內施用及鼻內施用，並且，若局部治療需要，病變內施用。腸胃外輸注包含肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下施用。在一定程度上根據用藥是短期或長期性而定，可藉由任何適合途徑，例如藉由注射，例如靜脈內或皮下注射用藥。本文中涵蓋各種用藥時程，包含但不限於，單次施用或在多個時間點多次施用、推注施用及脈衝輸注。

【0281】本發明的抗體將以與良好醫療實踐相符的方式進行配方、配量及施用。在此背景下考慮的因素包含待治療的特定病症、待治療的特定哺乳動物、個體患者的臨床狀態、病症的原因、遞送試劑的位置、施用方法、施用時間安排、及醫療從業者已知的其它因素。抗體不需要、但可選地，與目前用於預防或治療問題病症的一或多種試劑一起配製。其它試劑的有效量取決於配方中存在的抗體量、病症或治療的類型、及以上討論的其它因素。這些一般以相同劑量，及使用如本文所述的施用途徑，或以本文所述的劑量的約 1 至 99%，或以藉由經驗/臨床確定合適的任一劑量及任一途徑加以使用。

【0282】為了疾病的預防或治療，本發明的抗體的合適劑量(當單獨或與一或多種其它額外的治療劑組合使用時)將取決於待治療疾病的類型、抗體的種類、疾病的嚴重性及進程、抗體是以預防或治療目的施用、以前的治療、患者的臨床病史和對抗體的反應、及主治醫師的判斷。抗體以一次性治療或經過

一系列治療合適地施用於患者。根據疾病的類型及嚴重性，約 1 μg/kg 至 15 mg/kg(例如，0.1 mg/kg-10mg/kg)的抗體可為用於對患者施用的最初候選劑量，無論，例如，藉由一次或多次分別施用，或藉由連續輸注。一典型的每日劑量可在約 1 μg/kg 至 100mg/kg 或更多的範圍內，其取決於上文提及的因素。為了重複施用數日或更久，根據病症，通常將持續治療直至出現疾病症狀的理想抑制。抗體的一示例性劑量應為約 0.05mg/kg-約 10mg/kg 的範圍內。因此，約 0.5mg/kg、2.0mg/kg、4.0mg/kg 或 10mg/kg (或其任意組合)的一或多個劑量可施用於患者。這樣的劑量可間隔地，例如每週或每三周施用(例如，以使得患者接受約 2 至約 20，或例如約 6 個劑量的抗體)。可施用最初較高的負荷劑量，接著是一或多個較低的劑量。此療法的進展可藉由常規方法及測定容易進行監測。

【0283】應理解的是，上述任一配方或治療方法可利用本發明的免疫偶聯物以替代或添加至抗 C5 抗體加以實行。

F.製品

【0284】在本發明的另一態樣中，提供一種製品，其包含可用於治療、預防及/或診斷上述病症的材料。製品包括容器及於容器上或與容器結合的標籤或藥品仿單(package insert)。適合的容器包含，例如，瓶子、小瓶、注射器、IV 溶液包等。容器可由各種材料如玻璃或塑膠製成。容器裝有組合物，所述組合物是單獨地或與可有效用於治療、預防及/或診斷病症的另一組合物結合，對於症狀的治療有效的組合物，且可具有無菌的存取口(例如，容器可具有可被皮下注射針刺穿的塞子的

靜脈內溶液袋或小瓶)。組合物中至少一活性試劑為本發明的抗體。標籤或藥品仿單標明組合物是用於治療特定的病症。此外，所述製品可包含(a)包含組合物於其中的第一容器，其中組合物包括本發明的抗體；及(b)包含組合物於其中的第二容器，其中組合物包括另外的細胞毒性劑或其它的治療劑。在本發明的此實施例中的製品，可更包括標明組合物可用於治療特定症狀的藥品仿單。替代地或額外地，製品可更包括第二(或第三)容器，其包括醫藥上可接受的緩衝劑，如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、Ringer氏溶液及葡萄糖溶液。從商業及用戶立場，它尚可包涵所需的其它材料，包含其它緩衝劑、稀釋劑、濾膜、針頭及注射器。

【0285】應理解的是，上述任一製品可包含本發明的免疫偶聯物以替代或補充抗 C5 抗體。

實施例

【0286】以下是本發明的方法及組合物的例子。應理解的是，根據以上提供的一般性描述，可實施多種其它的實施例。

[實施例 1]

【0287】C5 的製備

1.1. 重組的人類及恆河猴 C5 的表達及純化

利用 FreeStyle293-F 細胞系(Thermo Fisher, Carlsbad, CA, USA)短暫地表達重組的人類 C5(NCBI GenBank 存取編號: NP_001726.2，SEQ ID NO: 39)。表達人類 C5 的條件培養基以相等體積的 milliQ 水被稀釋，接著使用於 Q-sepharose FF 或 Q-sepharose HP 陰離子交換管柱(GE healthcare, Uppsala,

Sweden)，然後以 NaCl 梯度洗提。收集包含人類 C5 的級分，接著調整鹽濃度及 pH 分別至 80mM NaCl 以及 pH6.4。將得到的樣品使用於 SP-sepharose HP 陽離子交換管柱(GE healthcare, Uppsala, Sweden)，並以 NaCl 梯度洗提。收集包含人類 C5 的級分，並施加於 CHT 陶瓷羥磷石灰管柱(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)。接著將人類 C5 洗提液使用於 Superdex 200 膠體過濾管柱(GE healthcare, Uppsala, Sweden)。收集包含人類 C5 的級分並儲存於-150℃。

【0288】重組的恆河猴 C5(NCBI GenBank 存取編號：XP_005580972，SEQ ID NO: 44)的表達及純化以與人類部分相同之方式實行。

1.2. 從血漿純化恆河猴 C5(cynoC5)

【0289】將來自恆河猴的血漿樣品使用於 SSL7-瓊脂糖(Invivogen, San Diego, CA, USA)，接著以 100mM 醋酸鈉，pH3.5，洗提。包含 cynoC5 的級分立即被中和且一前一後地施加於蛋白質 A HP 管柱(GE healthcare, Uppsala, Sweden)以及肽 M 瓊脂糖(Invivogen, San Diego, CA, USA)。接著將流經的級分使用於 Superdex 200 膠體過濾管柱(GE healthcare, Uppsala, Sweden)。收集包含 cynoC5 的級分並儲存於-80℃。

[實施例 2]

【0290】抗 C5 抗體的生產

2.1. 抗體篩選

以下列方式製備、選擇及測定抗 C5 抗體：

【0291】以人類 C5 及/或猴 C5(50-100 μg/劑量/兔)皮內地

免疫 12 至 16 周大的 NZW 兔。在 2 個月的期間重複此劑量 4-5 次。在最後的免疫的一星期後，收集經免疫的兔子的脾臟及血液。抗原特異性的 B 細胞被標記抗原染色，並被 FCM 細胞分類器分類(FACS aria III, BD)，以 1 個細胞/孔的密度與 25,000 個細胞/孔的 EL4 細胞一起分盤於 96 孔盤中(European Collection of Cell Cultures)，以及將活化的兔子 T 細胞條件培養基稀釋 20 倍，並培養 7-12 天。預先以絲裂黴素 C(Sigma, Cat No. M4287)處理 EL4 細胞 2 小時並清洗 3 次。藉由培養兔子胸腺細胞於包含植物血球凝集素-M(Roche, Cat No. 11082132-001)、佛波醇 12-肉荳蔻酸酯 13-乙酸酯(Sigma, Cat No. P1585)及 2% FBS 的 RPMI-1640 中以製備兔子 T 細胞條件培養基。在培養後，收集 B 細胞培養上清液供進一步分析，以及冷凍保存沉澱物(pellet)。

【0292】使用 ELISA 測定以測試 B 細胞培養上清液中抗體的特異性。以 50nM 的 PBS 將被覆生物素(GeneScript, Cat No. Z02043)於 384 孔 MAXISorp (Nunc, Cat No. 164688)上，放置常溫 1 小時。接著以稀釋 5 倍的 Blocking One (Nacalai Tesque, Cat No. 03953-95)阻斷盤。以 NHS-PEG4-Biotin (PIERCE, Cat No. 21329)標記人類或猴子 C5，並添加至經阻斷的 ELISA 盤，培養 1 小時並清洗。將 B 細胞培養上清液加至 ELISA 盤，培養 1 小時並清洗。藉由山羊的抗-兔子 IgG-辣根過氧化酶(BETHYL, Cat No. A120-111P)接著加入 ABTS (KPL, Cat No. 50-66-06)偵測結合。

【0293】使用 ELISA 測定以評估抗體對 C5 的 pH 依賴性結

合。將經 PBS(-)稀釋至 1 μg/ml 的山羊抗-兔子 IgG-Fc(BETHYL, Cat No. A120-111A)加至 384 孔 MAXISorp (Nunc, Cat No. 164688)，於室溫下培養 1 小時，並以稀釋 5 倍的 Blocking One (Nacalai Tesque, Cat No. 03953-95)進行阻斷。在培養後，清洗盤並加入 B 細胞培養上清液。將盤培養 1 小時、清洗，並加入 500pM 生物素化的人類或猴子 C5 且培養 1 小時。在培養後，清洗盤並以 pH7.4 MES 緩衝液(20 mM MES、150 mM NaCl 及 1.2 mM $CaCl_2$)或 pH5.8 MES 緩衝液(20 mM MES、150 mM NaCl 及 1 mM EDTA)於室溫下培養 1 小時。在培養後，藉由生物素-辣根過氧化酶偶聯物(Thermo Scientific, Cat No. 21132)接著加入 ABTS (KPL, Cat No. 50-66-06)以偵測生物素化 C5 的結合。

【0294】使用 Octet RED384 系統(Pall Life Sciences)以評估抗體對 C5 的親和性及 pH 依賴性結合。將 B 細胞培養上清液分泌的抗體承裝於蛋白質 A 生物感測探針(Pall Life Sciences)上，並浸至 50nM 在 pH7.4 MES 緩衝液中的人類或猴子 C5，以分析結合動力學。解離動力學在 pH7.4 MES 緩衝液以及 pH5.8 MES 緩衝液皆進行分析。

【0295】總共篩選 41,439 個 B 細胞系對人類或猴子 C5 的親和性及 pH 依賴性結合，677 個系被選擇且指定為 CFA0001-0677。使用 ZR-96 Quick-RNA 套組 (ZYMO RESEARCH, Cat No. R1053)將選擇的細胞系的 RNA 從冷凍保存沉澱物中加以純化。藉由反轉錄 PCR 將選擇的細胞系中編碼抗體重鏈可變區的 DNA 放大，並與編碼 F760G4 (序列辨識號：33)或 F939G4 (序列辨識號：34)重鏈恆定區的 DNA 重組。

藉由反轉錄 PCR 將編碼抗體輕鏈可變區的 DNA 放大，並與編碼 k0MTC 輕鏈恆定區 (序列辨識號：36)的 DNA 重組。分別地，合成已存在的人源化抗 C5 抗體的重鏈及輕鏈基因，eculizumab(EcuH-G2G4，序列辨識號：29 及 EcuL-k0，序列辨識號：30)。將編碼 VH 的 DNA(EcuH，序列辨識號：31)框架內地(in-frame)融合至編碼經修飾的人類 IgG4 CH 的 DNA(F760G4，序列辨識號：33)，以及將編碼 VL 的 DNA(EcuL，序列辨識號：32)框架內地(in-frame)融合至編碼 k0 輕鏈恆定區的 DNA(序列辨識號：37)。將各個融合的編碼序列轉殖到表達載體中。在 FreeStyle™ 293-F 細胞(Invitrogen)中表達抗體，並且從培養上清液中純化以評估功能活性。使用如實施例 5.1 所述的脂質體細胞溶解測定，藉由測試補體活性的抑制評估抗體的中和活性。

2.2. 藉由三明治 ELISA 進行抗原決定基分格(epitope binning)

【0296】選擇具有高親和性、pH 依賴性或中和活性的抗 C5 抗體用於進一步分析。使用三明治 ELISA 測定將選擇的抗體分類至不同的抗原決定基分格中，其結合至 C5 蛋白的相同或重疊的抗原決定基。將未標記的捕捉抗體以 PBS(-)稀釋至 1 μg/ml，並加入 384 孔 MAXISorp 盤(Nunc, Cat No. 164688)中。將盤在室溫下培養 1 小時，並以稀釋 5 倍的 Blocking One (Nacalai Tesque, Cat No. 03953-95)進行阻斷。將盤培養 1 小時、清洗，以及加入 2nM 的人類 C5 並培養 1 小時。在培養後，清洗盤且加入標記的偵測抗體(1μg/mL，藉 NHS-PEG4-Biotin

生物素化)。在 1 小時培養後，藉由生物素-辣根過氧化酶偶聯物(Thermo Scientific, Cat No. 21132)接著加入 ABTS (KPL, Cat No. 50-66-06)以偵測生物素化抗體的結合。

【0297】所有的抗 C5 抗體被用作捕捉抗體以及偵測抗體，且全面地配對。如第 1 圖所示，相互競爭的抗體被分類至 7 個抗原決定基分格：CFA0668、CFA0334 及 CFA0319 被分至抗原決定基 A 中，CFA0647、CFA0589、CFA0341、CFA0639、CFA0635、CFA0330 及 CFA0318 被分至抗原決定基 B 中，CFA0538、CFA0501、CFA0599、CFA0307、CFA0366、CFA0305、CFA0675、CFA0666 及 CFA0672 被分至抗原決定基 C 中，eculizumab 及 CFA0322 被分至抗原決定基 D 中，CFA0329 被分至抗原決定基 E 中，CFA0359 及 CFA0217 被分至抗原決定基 F 中，以及 CFA0579、CFA0328 及 CFA0272 被分至抗原決定基 G 中。第 1 圖顯示抗 C5 嵌合抗體的一些抗原決定基分格。表 2 列出被分類至抗原決定基 C 的抗 C5 抗體的 VH 及 VL 的序列。

[表 2]
分類至抗原決定基 C 的抗 C5 抗體

	序列辨識號							
抗體	VH	VL	HVR-H1	HVR-H2	HVR-H3	HVR-L1	HVR-L2	HVR-L3
CFA0305	1	11	45	55	65	75	85	95
CFA0307	2	12	46	56	66	76	86	96
CFA0366	3	13	47	57	67	77	87	97
CFA0501	4	14	48	58	68	78	88	98
CFA0538	5	15	49	59	69	79	89	99
CFA0599	6	16	50	60	70	80	90	100
CFA0666	7	17	51	61	71	81	91	101
CFA0672	8	18	52	62	72	82	92	102
CFA0675	9	19	53	63	73	83	93	103

2.3. 人源化及最適化

【0298】為了降低抗體的潛在免疫源性，實行抗 C5 抗體的一些可變區的人源化。藉由常規 CDR 移植(graft)方法(*Nature* 321:522-525 (1986))將抗 C5 兔子抗體的互補決定區(CDR)移植到同源的人類抗體框架(FR)上。合成編碼人源化 VH 及 VL 的基因，且分別與經修飾的人類 IgG4 CH (SG402，序列辨識號：35)及人類 CL (SK1，序列辨識號：38)重組，並將各個重組序列轉殖於表達載體中。

【0299】檢測一些突變及突變組合以辨識改善了一些先導抗體的結合特性的突變及突變組合。接著引入多個突變至人源化可變區，以加強在中性 pH 對 C5 的結合親和性、或以降低在酸性 pH 對 C5 的結合親和性。最適化變異體的其中之一，305LO5(VH，序列辨識號：10；VL，序列辨識號：20；HVR-H1，序列辨識號：54；HVR-H2，序列辨識號：64；HVR-H3，序列辨識號：74；HVR-L1，序列辨識號：84；HVR-L2，序列辨識號：94；及 HVR-L3，序列辨識號：104)，因而從 CFA0305 產生。

【0300】抗體被表達於 HEK293 細胞中且藉由蛋白質 A 進行純化，所述 HEK293 細胞與重鏈及輕鏈表達載體的混合物共轉染(co-transfected)。

[實施例 3]

【0301】抗 C5 抗體的結合特徵

3.1. 重組抗體的表達及純化

使用 FreeStyle293-F 細胞系(Thermo Fisher, Carlsbad, CA, USA)短暫地表達重組抗體。利用常規方法使用蛋白質 A 從表

達抗體的條件培養基實行純化。視需要進一步實施膠體過濾。

3.2. pH 依賴性的評估

【0302】利用 BIACORE® T200 儀器(GE Healthcare)在 pH7.4 及 pH5.8 下於 37℃評估抗 C5 抗體對重組人類 C5 的動力學參數。使用胺偶合套組(GE Healthcare)根據 GE Healthcare 建議的設置，將 ProA/G(Pierce)固定於 CM4 感測晶片上。將抗體及分析物稀釋於各自的電泳緩衝液中，ACES pH7.4 及 pH5.8 (20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3)。各個抗體被 ProA/G 捕捉於感測表面上。抗體捕捉程度通常為 60-90 共振單位(RU)。接著，以 10 及 20 nM 或 20 及 40 nM 的濃度注射重組人類 C5，接續為解離。利用 25 mM NaOH 再生表面。利用 BIACORE® T200 評估軟體，2.0 版本(GE Healthcare)以 1:1 結合模型擬合(fit)感測圖，以測定在兩種 pH 條件下的動力學參數。第 2A 及 2B 圖顯示所有抗體的感測圖。表 3 列出抗體的結合速率(ka)、解離速率(kd)及結合親和性(KD)。除了 CFA0330 (VH，序列辨識號:21 及 VL，序列辨識號:25)及 A0341 (VH，序列辨識號:22 及 VL，序列辨識號:26)之外的所有抗體，相較在 pH7.4，在 pH 5.8 顯示相對快的解離速率。

[表 3]

在 pH7.4 及 pH5.8 的條件下，抗 C5 抗體的動力學參數

抗體名稱	pH7.4			pH5.8		
	ka	kd	KD	ka	kd	KD
CFA0305	3.82E+04	5.89E-04	1.54E-08	4.27E+04	1.83E-02	4.30E-07
CFA0307	3.24E+05	2.63E-03	8.13E-09	2.04E+05	3.34E-02	1.64E-07
CFA0366	1.04E+06	9.34E-03	8.99E-09	9.35E+05	7.03E-02	7.52E-08
CFA0501	4.74E+05	1.69E-03	3.56E-09	1.50E+05	2.62E-02	1.74E-07
CFA0538	4.73E+05	1.85E-03	3.91E-09	1.22E+05	3.01E-02	2.46E-07
CFA0599	4.74E+05	2.81E-03	5.93E-09	4.54E+05	3.73E-02	8.21E-08
CFA0666	3.65E+05	6.26E-04	1.71E-09	2.82E+05	9.39E-03	3.33E-08
CFA0672	5.23E+05	1.83E-04	3.51E-10	7.11E+04	9.78E-03	1.38E-07
CFA0675	3.83E+05	4.12E-04	1.08E-09	3.89E+05	6.61E-03	1.70E-08
305-LO5	4.48E+05	2.11E-04	4.71E-10	2.03E+06	2.85E-02	1.40E-08
CFA0330	1.66E+06	2.02E-04	1.22E-10	1.22E+06	2.24E-04	1.84E-10
CFA0341	6.28E+05	9.77E-05	1.55E-10	1.24E+06	7.39E-05	5.95E-11

3.3. 交叉反應性檢查

【0303】為了觀測抗 C5 抗體對人類 C5(hc5)及恆河猴 C5(cynoC5)的交叉反應性，實行 BIACORE®動力學測定。測定的設置與實施例 3.2 所述相同，在 2、10 及 50 的 nM 的濃度下注射重組的 cynoC5。藉由如實施例 3.2 所述相同的數據擬合測定動力學參數。表 4 列出在 pH7.4 下的結合動力學及親和性。表 4 顯示之針對 hC5 的動力學參數為實施例 3.2 的結果。除了 CFA0672 之外的所有抗 C5 抗體對於 hC5 及 cynoC5 顯示類似的 KD。相較對於 hC5，CFA0672 對於 cynoC5 的 KD 弱 8 倍。

[表 4]

抗 C5 抗體對 hC5 及 cynoC5 在 pH7.4 下的結合動力學及親和性

抗體名稱	對hC5的親和性			對cynoC5的親和性		
	ka	kd	KD	ka	kd	KD
CFA0305	3.82E+04	5.89E-04	1.54E-08	1.21E+04	6.70E-04	5.54E-09
CFA0307	3.24E+05	2.63E-03	8.13E-09	2.90E+05	2.23E-03	7.68E-09
CFA0366	1.04E+06	9.34E-03	8.99E-09	5.04E+05	9.04E-03	1.79E-08
CFA0501	4.74E+05	1.69E-03	3.56E-09	2.66E+05	1.56E-03	5.88E-09
CFA0538	4.73E+05	1.85E-03	3.91E-09	3.05E+05	1.66E-03	5.44E-09
CFA0599	4.74E+05	2.81E-03	5.93E-09	5.42E+05	2.35E-03	4.33E-09
CFA0666	3.65E+05	6.26E-04	1.71E-09	3.14E+05	4.93E-04	1.57E-09
CFA0672	5.23E+05	1.83E-04	3.51E-10	6.41E+05	1.85E-03	2.88E-09
CFA0675	3.83E+05	4.12E-04	1.08E-09	2.94E+05	3.78E-04	1.29E-09

[實施例 4]

【0304】 抗 C5 抗體的抗原決定基定位

4.1. 抗 C5 MAb 對 C5 的 β 鏈衍生肽的結合

在西方點墨分析中測試抗 C5 單株抗體(MAb)對 C5 的 β 鏈衍生肽的結合。在 *E. coli* (DH5α, TOYOBO, DNA-903)中表達融合至 GST 標記(pGEX-4T-1, GE Healthcare Life Sciences, 28-9545-49)的 C5 肽:19-180、161-340、321-500 及 481-660。在以 1 mM 的異丙基 β-D-1-硫代半乳糖苷(IPTG)於 37℃培養 5 小時,且在 20000×g 離心 1 分鐘以取得沉澱物之後,收集 *E. coli* 樣品。以樣品緩衝溶液(2ME+) (Wako, 191-13272)使沉澱物懸浮,並用於西方點墨分析。以抗 GST 抗體(Abcam, ab9085)確認各個肽的表達(第 3 圖)。箭頭指示 GST 融合的(GST-fused)C5 肽(46-49kDa)。抗 C5 MAb: CFA0305、CFA0307、CFA0366、CFA0501、CFA0538、CFA0599、CFA0666、CFA0672 及 CFA0675,結合至 C5 的 19-180(第 3 圖)。

4.2. 人類 C5 的 MG1-MG2 域(1-225)的表達及純化

【0305】利用 FreeStyle293-F 細胞系(Thermo Fisher, Carlsbad, CA, USA)短暫地表達人類 C5 的 β 鏈的重組的 MG1-MG2 域(序列辨識號:43)。以 1/2 體積的 milliQ 水稀釋表達 MG1-MG2 域的條件培養基,接著使用於 Q-瓊脂糖 FF 陰離子交換管柱(GE healthcare, Uppsala, Sweden)。調整從陰離子交換管柱流經的級分至 pH 5.0,且使用於 SP-瓊脂糖 HP 陽離子交換管柱(GE healthcare, Uppsala, Sweden)以及以 NaCl 梯度洗提。從洗提液收集包含 MG1-MG2 域的級分,且接著施加於

以 1x PBS 平衡的 Superdex 75 膠體過濾管柱(GE healthcare, Uppsala, Sweden)。接著收集(pool)包含 MG1-MG2 域的級分並儲存於-80℃。

4.3. 對 MG1-MG2 域的結合能力

【0306】利用與實施例 3.2 所述相同的測定設置測量抗 C5 抗體對 MG1-MG2 域的結合能力，除了僅在 pH7.4 的條件下實行測量之外。在 20 nM 及 40 nM 的濃度下注射 MG1-MG2 域。如第 4 圖所示，除了 eculizumab-F760G4 之外的所有抗體顯示結合反應的增加，代表這些抗體為 MG1-MG2 結合者。Eculizumab-F760G4，已知為 α 鏈結合者，並未顯示對 MG1-MG2 域的結合。

4.4. 抗 C5 MAb 對 C5 MG1-MG2 域衍生肽的結合

【0307】在西方點墨分析中測試抗 C5 Mab 對 MG1-MG2 域衍生肽的結合。在 *E. coli* 中表達融合至 GST 標記的 C5 肽：33-124、45-124、52-124、33-111、33-108 及 45-111(序列辨識號:40)。在以 1 mM 的 IPTG 於 37℃ 培養 5 小時，且在 20000×g 離心 1 分鐘以取得沉澱物之後，收集 *E. coli* 樣品。以樣品緩衝溶液(2ME+)使沉澱物懸浮，並用於西方點墨分析。以抗 GST 抗體確認 C5 衍生肽的表達(第 5A 圖)。CFA0305 僅結合至 33-124 的肽(第 5B 圖)。CFA0305 結合至重組的人類 C5 (rhC5)(約 70kDa)的 β 鏈，其用以作為控制組。第 5C 圖總結抗 C5 MAb 對 C5 衍生肽的反應。

4.5. 抗 C5 MAb 對 C5 突變體的結合

【0308】由於藉由晶體結構分析預測到 C5 的 β 鏈中的三個

胺基酸殘基:E48、D51 及 K109，涉及 C5 及抗 C5-MAb 之間的結合，因此在西方點墨分析中分析 C5 MAb 對人類 C5 點突變體的結合。藉由脂質轉染(lipofection)在 FS293 細胞中表達 C5 點突變體，其中 E48、D51 及 K109 中的任一被丙胺酸取代。在脂質轉染 5 天後收集培養基，且之後用於西方點墨。在還原條件下實行 SDS-PAGE，結果如第 6 圖所示。Eculizumab 結合至野生型(WT)C5 及三種 C5 點突變體的 α 鏈，而 CFA0305 強烈地結合至 WT C5 的 β 鏈、微弱地結合至 E48A C5 突變體的 β 鏈，且未結合至 D51A 及 K109A C5 突變體的 β 鏈，這代表這 3 個胺基酸殘基涉及抗體/抗原相互作用。表 5 顯示抗 C5 MAb(CFA0305、CFA0307、CFA0366、CFA0501、CFA0538、CFA0599、CFA0666、CFA0672 及 CFA0675)的西方點墨分析的總結。抗 C5 MAb 被分類至相同的抗原決定基 C，但抗體之間的結合形式稍有不同，暗示 C5 對抗 C5 MAb 的結合區域彼此接近但並不相同。

[表 5]
抗 C5 MAb 對 C5 突變體反應的總結

	WT	E48A	D51A	K109A
Eculizumab	+	+	+	+
CFA0305	+	+	-	-
CFA0307	+	-	-	-
CFA0366	+	-	-	-
CFA0501	+	-	-	-
CFA0538	+	-	-	-
CFA0599	+	-	-	+
CFA0666	+	-	-	+
CFA0672	+	-	-	+
CFA0675	+	+	-	+

4.6. 抗 C5 抗體與 C5 突變體的 BIACORE®結合分析

【0309】為了測試殘基 E48、G51 及 K109 確實涉及抗體/抗

原的相互作用，實行 BIACORE®結合分析。製備三種 C5 突變體：E48A、G51A 及 K109A，如實施例 4.5 所述。製備包含在 FS293 細胞中過度表達的突變體 C5 之培養上清液樣品，以 40 μg/ml 的突變體 C5。為了 BIACORE®結合分析，將樣品以 BIACORE® 電泳緩衝液(ACES pH7.4、10 mg/ml BSA、1 mg/ml 羧甲基葡聚糖)稀釋 10 倍，至突變體 C5 的最終樣品濃度為 4 μg/ml。

【0310】使用如實施例 3.2 所述的測定條件，以 BIACORE® T200 器材(GE Healthcare)於 37℃評估三種 C5 突變體與抗 C5 抗體的相互作用。使用包含 10 mg/ml BSA、1 mg/ml 羧甲基葡聚糖的 ACES pH 7.4 緩衝液作為電泳緩衝液。Eculizumab-F760G4 及 305LO5 被單株小鼠抗人類 IgG、Fc 片段特異性抗體(GE Healthcare)捕捉於不同的流路(flow cell)上。流路 1 用作參考表面。將野生型及突變型 C5 蛋白以 4 μg/ml 的濃度注射於感測表面之上，以與被捕捉的抗體相互作用。在每個分析循環的最後，以 3M $MgCl_2$ 再生感測表面。以 Bia Evaluation 軟體，版本 2.0 (GE Healthcare)分析結果。將參考流路(流路 1)及電泳緩衝液的空白注射的曲線從具有捕捉抗體的流路的曲線扣除。

【0311】如第 7 圖所示，三種 C5 突變體均可以與野生型 C5 相似的結合輪廓結合至 eculizumab。關於 305LO5，相較於野生型 C5，三種突變體對 305LO5 均顯示較低的結合反應。305LO5 降低 D51A 及 K109A 突變體 C5 的結合至基準線程度。

4.7. C5 上有助於抗 C5 抗體及 C5 之間的 pH 依賴性相互作用的 His 殘基的辨識

【0312】晶體結構分析顯示人類 C5 上的 3 個組胺酸殘基位

在抗體/抗原界面。具有典型 pKa 約為 6.0 的組胺酸殘基已知有助於 pH 依賴性蛋白質-蛋白質相互作用(Igawa 等人，*Biochim Biophys Acta* 1844(11):1943-1950 (2014))。為了探討抗體/抗原界面上的那一個 His 殘基有助於抗 C5 抗體及 C5 之間的 pH 依賴性相互作用，實行 BIACORE®結合測定。如下製備具有單一 His 突變(H70Y、H72Y 及 H110Y)的三種人類 C5 突變體，以及具有雙 His 突變(H70Y + H110Y)的突變體：藉由脂質轉染在 FS293 細胞中表達其中 H70、H72 及 H110 中任一被酪胺酸所取代的單一 His 突變體，以及其中 H70 及 H110 均被酪胺酸所取代的雙 His 突變體。藉由如實施例 4.6 中所述經修飾的 BIACORE®測定，判定 C5 His 突變體對 305LO5，pH 依賴性抗 C5 抗體，的抗原結合特性。簡言之，在 pH7.4 解離相之後立即在 BIACORE®測定中加入在 pH5.8 的額外解離相，以從在 pH7.4 形成的複合物評估抗體及抗源之間的 pH 依賴性解離。使用 Scrubber 2.0 (BioLogic Software)曲線擬合軟體處理及擬合數據以判定在 pH5.8 的解離速率。

【0313】如第 8 圖所示，在 H70 或 H110 的 C5 單一 His 突變體及雙 His 突變體(H70 + H110)並未影響在中性 pH 下 C5 對 305LO5 的結合。同時，在 H72 的單一 His 突變體顯示 C5 對 305LO5 的結合顯著減少。C5 His 突變體及 C5-wt 蛋白在 pH5.8 的解離速率如表 6 所示。如表 6 所示，在測試的 C5 抗原之中，C5-wt 顯示在 pH5.8 下從 305LO5 最快解離。相較於 C5-wt，在 H70 的單一 His 突變體在 pH5.8 顯示幾乎兩倍慢的解離速率，在 H110 的單一 His 突變體在 pH5.8 造成稍慢的解離速率。在

H70 及 H110 的雙 His 突變體在 pH 依賴性結合上產生較大的影響，在 pH5.8 具有較 C5-wt 幾乎慢了 3 倍的解離速率。

[表 6]
His 突變體對結合至 305LO5 的 pH5.8 解離速率值

抗原	kd (1/s)
C5-wt	1.1E-2
C5-H70Y	5.3E-3
C5-H110Y	9.3E-3
C5-H70Y, H110Y	3.9E-3

[實施例 5]

【0314】抗 C5 抗體在 C5 活化上的抑制活性

5.1. 抗 C5 MAb 對補體活化脂質體細胞溶解的抑制

藉由脂質體細胞溶解測定測試抗 C5 MAb 的補體活性的抑制。在 96 孔盤中將 30 微升的正常人類血清(6.7%) (Biopredic, SER018)與 20 μL 稀釋的 MAb 混合，且於 25℃在震盪器上培養 30 分鐘。將經針對二硝基苯基(Autokit CH50, Wako, 995-40801)的抗體敏化的脂質體轉移至每個孔中，並將盤在 25℃放置於震盪器上 2 分鐘。將 50 微升的基質溶液(Autokit CH50)加至每個孔中，藉由在 25℃搖動 2 分鐘加以混合。將最終混合液在 37℃培養 40 分鐘，之後測量混合液在 340 nm 的 OD。脂質體細胞溶解的百分比定義為 100× [(OD_{MAb} − $OD_{血清及脂質體背景}$)]/ [($OD_{沒有\ MAb}$ − $OD_{血清及脂質體背景}$)]。第 9A 圖顯示抗 C5 Mabs：CFA0305、0307、0366、0501、0538、0599、0666、0672 及 0675，抑制脂質體細胞溶解。兩個非 pH 依賴性的抗體：CFA0330 及 0341，亦抑制細胞溶解(第 9B 圖)。

5.2. 抗 C5 MAb 對 C5a 生成的抑制

【0315】在脂質體細胞溶解期間，測試抗 C5 MAb 的 C5a 生成，以確認抗 C5 MAb 抑制 C5 裂解成 C5a 及 C5b。利用 C5a ELISA 套組(R&D 系統，DY2037)定量來自脂質體細胞溶解測定的上清液中的 C5a 程度。所有 MAb 劑量依賴地(dose-dependently)抑制上清液中的 C5a 生成(第 10A 及 10B 圖)。

5.3. 抗 C5 MAb 對補體活化溶血反應的抑制

【0316】在溶血測定中測試抗 C5 MAb 對經典補體活性的抑制。以包含 0.5 mM $MgCl_2$ 及 0.15 mM $CaCl_2$ (GVB++) (Boston BioProducts, IBB-300X)的明膠/佛羅拉(veronal)緩衝的食鹽水清洗雞紅血球細胞(cRBCs) (Innovative research, IC05-0810)，之後在 4℃以 1 μg/ml 的抗雞 RBC 抗體(Rockland 103-4139)敏化 15 分鐘。接著以 GVB++清洗細胞並使其以 5×10^7 cells/ml 懸浮於相同緩衝液中。在分開的圓底 96 孔微量測試盤中，將 50 μl 正常人類血清(20%) (Biopredic, SER019)與 50 μl 稀釋的 Mab 混合，以及在 37℃於震盪器上培養 30 分鐘。接著將 60 微升的敏化 cRBC 上清液加至包含血清的孔中，並將抗體混合液在 37℃培養 30 分鐘。在培養後，在 4℃將盤以 1000×g 離心 2 分鐘。將上清液(100 μl)轉移至平底 96 孔微量測試盤上的孔，以測量在 415nm 的 OD，其以 630nm 為參考波長。溶血反應的百分比定義為 $100\times [(OD_{MAb} - OD_{血清及cRBC})]/ [(OD_{沒有MAb} - OD_{血清及cRBC背景})]$。第 11 圖顯示抗 C5 Mab：CFA0305 及 305LO5，抑制 cRBC 的溶血反應。

5.4. 抗 C5 MAb 對替代補體途徑的抑制

【0317】以與經典途徑溶血反應測定相似的方式實行替代

途徑的溶血反應測定。將從紐西蘭白兔(InVivos)收集的血液與相同體積的 Alsever's 溶液(Sigma, A3551)混合，且使用混合液作為兔子 RBC (rRBC)。以 2 mM $MgCl_2$ 及 10 mM EGTA 補充的 GVB 清洗 rRBC，並在 7×10^8 cells/ml 使其懸浮於相同緩衝液中。在圓底 96 孔微量測試盤中，將 40 μl 正常人類血清(25%)(Biopredic, SER019)與 40 μl 稀釋的 Mab 混合，以及在 37℃ 於震盪器上培養 30 分鐘。接著將 20 微升的 rRBC 上清液加至包含血清的孔中，並將抗體混合液在 37℃ 培養 60 分鐘。在培養後，在 4℃ 將盤以 1000×g 離心 2 分鐘。將上清液(70 μl)轉移至平底 96 孔微量測試盤上的孔，以測量在 415nm 的 OD，其以 630nm 為參考波長。第 12 圖顯示抗 C5 Mab：CFA0305 及 CFA0672，抑制 rRBC 的溶血反應，其代表這些抗體抑制替代補體途徑。

[實施例 6]

【0318】抗 C5 單株抗體及人類 C5 於小鼠中的藥物動力學研究

6.1. 利用 C57BL/6 小鼠之體內測試

在單獨施用人類 C5 或人類 C5 及抗人類 C5 抗體於 C57BL/6 小鼠 (In Vivos 或 Biological Resource Centre, Singapore)後，評估人類 C5(Calbiochem)及抗人類 C5 抗體的體內動力學。人類 C5 溶液(0.01 mg/ml)或包含人類 C5 及抗人類 C5 抗體的溶液(0.01 mg/ml 及 2 mg/ml (CFA0305-F760G4、CFA0307-F760G4 、 CFA0366-F760G4 、 CFA0501-F760G4 、CFA0538-F760G4 、 CFA0599-F760G4 、 CFA0666-F760G4 、CFA0672-F760G4 及 CFA0675-F760G4) 或 0.2 mg/ml

(CFA0330-F760G4 及 CFA0341-F760G4)，分別地)以一次 10 ml/kg 的劑量施用於尾靜脈。在此情況下，抗人類 C5 抗體比起人類 C5 為過量存在，因此可假設幾乎每一人類 C5 都與抗體結合。在施用的 5 分鐘、7 小時、1 天、2 天、3 天及 7 天後收集血液。收集的血液立即在 14,000 rpm 及 4°C 下離心 10 分鐘，以分離血漿。分離的血漿在進行測定前儲存於-80°C 的冰箱中。使用之抗人類 C5 抗體為上述的 CFA0305-F760G4、CFA0307-F760G4、CFA0330-F760G4、CFA0341-F760G4、CFA0366-F760G4、CFA0501-F760G4、CFA0538-F760G4、CFA0599-F760G4、CFA0666-F760G4、CFA0672-F760G4 及 CFA0675-F760G4。

6.2. 藉由電化學發光(ECL)分析測量總人類 C5 血漿濃度

【0319】藉由 ECL 測量小鼠血漿中的總人類 C5 濃度

【0320】在 CFA0330-F760G4、CFA0341-F760G4 或單獨人類 C5 存在於血漿樣品中的情況下，使用以下方法。將抗人類 C5 抗體(Santa Cruz)分配於 MULTI-ARRAY96 孔裸盤(Meso Scale Discovery)上並於 4°C 靜置隔夜以製備固定有抗人類 C5 的盤。製備以 1 μg/ml 注射的抗體(CFA0330-F760G4 或 CFA0341-F760G4)稀釋 100 倍或更多的校準曲線樣品及小鼠血漿樣品，並於 37°C 培養 30 分鐘。接著，將樣品分配至固定有抗人類 C5 的盤上，且於室溫下靜置 1 小時。接著，加入 SULFO-TAG 標記的抗人類 IgG 抗體(Meso Scale Discovery)於室溫下反應 1 小時，並進行清洗。此後立即分配 Read Buffer T (x4) (Meso Scale Discovery)並利用 Sector Imager 2400 (Meso

Scale Discovery)進行測量。

【0321】在 CFA0305-F760G4、CFA0307-F760G4、CFA0366-F760G4、CFA0501-F760G4、CFA0538-F760G4、CFA0599-F760G4、CFA0666-F760G4、CFA0672-F760G4 或 CFA0675-F760G4 存在血漿樣品中的情況下，使用以下方法。將抗人類 C5 抗體(CFA0329-F939G4；VH，SEQ ID NO: 23 及 VL，SEQ ID NO: 27)分配於 MULTI-ARRAY96 孔裸盤(Meso Scale Discovery)上並於 4°C 靜置隔夜以製備固定有抗人類 C5 的盤。製備以酸性溶液(pH 5.5)稀釋 100 倍或更多的校準曲線樣品及小鼠血漿樣品，並於 37°C 培養 30 分鐘。接著，將樣品分配至固定有抗人類 C5 的盤上，且於室溫下靜置 1 小時。接著，加入 SULFO-TAG 標記的抗人類 C5 抗體(CFA0300-F939G4；VH，SEQ ID NO: 24 及 VL，SEQ ID NO: 28)於室溫下反應 1 小時，並進行清洗。此後立即分配 Read Buffer T (x4) (Meso Scale Discovery)並利用 Sector Imager 2400 (Meso Scale Discovery)進行測量。

【0322】根據校準曲線的反應利用分析軟體 SOFTmax PRO (Molecular Devices)計算人類 C5 濃度。藉由此方法測量之在靜脈內施用後的血漿人類 C5 濃度的時程，如第 13 圖所示。數據繪製為與 5 分鐘時的血漿人類 C5 濃度相比之剩餘的百分比。

6.3. 藉由 ECL 分析測量抗人類 C5 抗體血漿濃度

【0323】藉由 ECL 測量於小鼠血漿中抗人類 C5 抗體的濃度。將抗人類 IgG (γ-鏈特異性) F(ab')2 抗體片段(Sigma)或抗人類 IgG κ 鏈抗體 (Antibody Solutions) 分配於

MULTI-ARRAY96 孔裸盤(Meso Scale Discovery)上並於 4°C 靜置隔夜以製備固定有抗人類 IgG 的盤。製備稀釋 100 倍或更多的校準曲線樣品及小鼠血漿樣品。接著，將樣品分配至固定有抗人類 IgG 的盤上，且於室溫下靜置 1 小時。接著，加入生物素化的抗人類 IgG 抗體(Southernbiotech)或 SULFO-TAG 標記的抗人類 IgG Fc 抗體(Southernbiotech)於室溫下反應 1 小時，並進行清洗。接著，只有在使用生物素化的抗人類 IgG 抗體時，才加入 SULFO-TAG 標記的鏈親合素(streptavidin)於室溫下反應 1 小時，並進行清洗。此後立即分配 Read Buffer T (x4) (Meso Scale Discovery)並利用 Sector Imager 2400 (Meso Scale Discovery)進行測量。根據校準曲線的反應利用分析軟體 SOFTmax PRO (Molecular Devices)計算抗人類 C5 濃度。藉由此方法測量之在靜脈內施用後的血漿抗人類 C5 抗體濃度的時程，如第 14 圖所示。數據繪製為與 5 分鐘時的抗人類 C5 抗體濃度相比之剩餘的百分比。

6.4. pH 依賴性抗人類 C5 抗體結合對體內(in vivo)人類 C5 消除之影響

【0324】於體內測試 pH 依賴性抗人類 C5 抗體(CFA0305-F760G4、CFA0307-F760G4、CFA0366-F760G4、CFA0501-F760G4、CFA0538-F760G4、CFA0599-F760G4、CFA0666-F760G4、CFA0672-F760G4 及 CFA0675-F760G4)以及非 pH 依賴性抗人類 C5 抗體 CFA0330-F760G4 及 CFA0341-F760G4)，並比較產生的血漿抗人類 C5 抗體濃度及血漿人類 C5 濃度。如第 14 圖所示，抗體暴露(exposure)是可

比較的。其間，相較於非 pH 依賴性抗人類 C5 抗體，同時施用 pH 依賴性抗人類 C5 抗體之人類 C5 的消除加快(第 13 圖)。

[實施例 7]

【0325】抗 C5 單株抗體(305 變異體)的最適化

引入一些突變至抗 C5 抗體的 305LO5 的最適化可變區中，以進一步改善其特性，並產生最適化可變區 305LO15、305LO16、305LO18、305LO19、305LO20、305LO22、及 305LO23。305 變異體的 VH 及 VL 的胺基酸序列分別列於表 7 及 8 中。編碼人源化 VH 的基因與經修飾的人類 IgG1 CH 變異體 SG115 (序列辨識號:114)及經修飾的人類 IgG4 CH 變異體 SG422 (序列辨識號: 115)或 SG429 (序列辨識號: 116)結合。編碼人源化 VL 的基因與人類 CL (SK1，序列辨識號: 38)結合。分別地，合成編碼人源化抗 C5 抗體的重鏈及輕鏈基因，BNJ441 (BNJ441H，序列辨識號: 149；BNJ441L，序列辨識號: 150)，且各自轉殖至表達載體中。

【0326】抗體在 HEK239 細胞中被表達，且藉由蛋白質 A 加以純化，所述 HEK293 細胞與重鏈及輕鏈表達載體的組合共轉染。

[表 7]
305 變異體的 VH 胺基酸序列

抗體	VH	HVR-H1	HVR-H2	HVR-H3
305LO5	序列辨識號：10	序列辨識號：54 SSYYVA	序列辨識號：64 AIYTGSGATYKASWAKG	序列辨識號：74 DGGYDYPTHAMHY
305LO15	序列辨識號：106	序列辨識號：117 SSYYMA	序列辨識號：118 AIFTGSGAEYKAEWAKG	序列辨識號：121 DAGYDYPTHAMHY
305LO16	序列辨識號：107	序列辨識號：117 SSYYMA	序列辨識號：119 AIFTGSGAEYKAEWVKG	序列辨識號：121 DAGYDYPTHAMHY
305LO18	序列辨識號：108	序列辨識號：117 SSYYMA	序列辨識號：118 AIFTGSGAEYKAEWAKG	序列辨識號：121 DAGYDYPTHAMHY
305LO19	序列辨識號：109	序列辨識號：117 SSYYMA	序列辨識號：118 AIFTGSGAEYKAEWAKG	序列辨識號：121 DAGYDYPTHAMHY

305LO20	序列辨識號：109	序列辨識號：117 SSYYMA	序列辨識號：118 AIFTGSGAEYKAEWAKG	序列辨識號：121 DAGYDYPTHAMHY
305LO22	序列辨識號：109	序列辨識號：117 SSYYMA	序列辨識號：118 AIFTGSGAEYKAEWAKG	序列辨識號：121 DAGYDYPTHAMHY
305LO23	序列辨識號：110	序列辨識號：117 SSYYMA	序列辨識號：120 GIFTGSGATYKAEWAKG	序列辨識號：121 DAGYDYPTHAMHY

[表 8]

305 variants305 變異體的 VL 胺基酸序列

抗體	VL	HVR-L1	HVR-L2	HVR-L3
305LO5	序列辨識號：20	序列辨識號：84 QASQNIGSSLA	序列辨識號：94 GASKTHS	序列辨識號：104 QSTKVGSSYGNH
305LO15	序列辨識號：111	序列辨識號：122 RASQGISSSLA	序列辨識號：123 GASETES	序列辨識號：125 QNTKVGSSYGNT
305LO16	序列辨識號：111	序列辨識號：122 RASQGISSSLA	序列辨識號：123 GASETES	序列辨識號：125 QNTKVGSSYGNT
305LO18	序列辨識號：111	序列辨識號：122 RASQGISSSLA	序列辨識號：123 GASETES	序列辨識號：125 QNTKVGSSYGNT
305LO19	序列辨識號：111	序列辨識號：122 RASQGISSSLA	序列辨識號：123 GASETES	序列辨識號：125 QNTKVGSSYGNT
305LO20	序列辨識號：112	序列辨識號：122 RASQGISSSLA	序列辨識號：123 GASETES	序列辨識號：125 QNTKVGSSYGNT
305LO22	序列辨識號：113	序列辨識號：122 RASQGISSSLA	序列辨識號：124 GASTTQS	序列辨識號：125 QNTKVGSSYGNT
305LO23	序列辨識號：113	序列辨識號：122 RASQGISSSLA	序列辨識號：124 GASTTQS	序列辨識號：125 QNTKVGSSYGNT

[實施例 8]

抗 C5 抗體(305 變異體)的結合特性

【0327】利用 BIACORE® T200 器材(GE Healthcare)在 37℃下，評估針對重組的人類 C5 的抗 C5 抗體在三種不同條件下的動力學參數；(1)結合及解離均在 pH7.4、(2)結合及解離均在 pH5.8、以及(3)結合在 pH7.4，但解離在 pH5.8。使用胺偶合套組(GE Healthcare)根據 GE Healthcare 建議的設置，將 ProA/G(Pierce)固定於 CM1 感測晶片上。將條件(1)及(3)的抗體及分析物稀釋於 ACES pH7.4 緩衝液(20 mM ACES、150 mM

NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3)中，將條件(2)的抗體及分析物稀釋於 ACES pH5.8 緩衝液(20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3)中。各個抗體被 ProA/G 捕捉於感測表面上。抗體捕捉程度通常為 60-90 共振單位(RU)。接著，以 3 至 27nM 或 13.3 至 120nM 注射重組的人類 C5，其藉由三倍連續稀釋製備，接續為解離。利用 25 mM NaOH 再生表面。利用 BIACORE®T200 評估軟體，2.0 版本(GE Healthcare)以 1:1 結合模型擬合(fit)感測圖以測定在條件(1)及(2)下的動力學參數，以及以 MCK 模型的 1:1 解離擬合感測圖以測定在條件(3)下的解離速率。所有抗體的 pH 依賴性以條件(2)及(1)下的解離速率的比例表示。.

【0328】結合速率(ka)、解離速率(kd)、結合親和性(KD)及 pH 依賴性列於表 9 中。相較於在 pH7.4，所有抗體在 pH 5.8 顯示較快的解離速率，且它們的 pH 依賴性約為 20 倍。

[表 9]

在 pH7.4 及 pH5.8 的條件下，抗 C5 抗體的動力學參數

	7.4_7.4			5.8_5.8			7.4_5.8	pH依賴性
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	kd (1/s)	
LO15-SG422	1.40E+06	4.19E-04	3.00E-10	1.34E+05	8.79E-03	6.57E-08	1.61E-02	21.0
LO15-SG115	1.31E+06	3.54E-04	2.70E-10	9.49E+04	8.27E-03	8.72E-08	1.67E-02	23.4
LO16-SG422	1.28E+06	4.12E-04	3.21E-10	1.09E+05	8.69E-03	7.95E-08	1.61E-02	21.1
LO18-SG422	1.36E+06	4.26E-04	3.14E-10	1.39E+05	8.65E-03	6.24E-08	1.69E-02	20.3
LO19-SG422	1.37E+06	4.76E-04	3.46E-10	1.38E+05	8.30E-03	6.00E-08	1.61E-02	17.4
LO20-SG115	1.44E+06	4.67E-04	3.24E-10	1.41E+05	8.18E-03	5.81E-08	1.61E-02	17.5
LO20-SG422	1.35E+06	4.70E-04	3.49E-10	1.36E+05	8.15E-03	5.99E-08	1.55E-02	17.3
LO22-SG115	1.46E+06	3.82E-04	2.62E-10	1.71E+05	9.30E-03	5.45E-08	1.46E-02	24.3
LO23-SG115	1.53E+06	4.23E-04	2.77E-10	1.33E+05	8.55E-03	6.41E-08	1.73E-02	20.2

【0329】利用 BIACORE®T200 器材(GE Healthcare)於 37℃測定抗 C5 抗體(BNJ441、eculizumab 及 305 變異體)在 pH7.4 及 pH5.8 下對重組的人類 C5 的結合親和性，以評估 pH 對抗原結合的影響。使用胺偶合套組(GE Healthcare)根據供應商建

議的設置，將山羊的抗人類 IgG(Fc)多株抗體(KPL #01-10-20)固定於 CM4 感測晶片上。將抗體及分析物稀釋於包含 20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、0.05% Tween 20 及 0.005% NaN_3的 ACES pH7.4 緩衝液或 ACES pH5.8 緩衝液中。利用抗 Fc 方法將抗體捕捉於感測晶片表面上，捕捉程度通常為 50-80 共振單位(RU)。在 pH7.4 的測定條件下，藉由從 27 nM 開始的 3 倍連續稀釋以製備重組的人類 C5，或在 pH5.8 的測定條件中，藉由從 135 nM 開始的 3 倍連續稀釋加以製備。利用 20 mM HCl、0.01% Tween 20 再生表面。利用 BiaEvaluation 2.0 軟體(GE Healthcare)以 1:1 結合模型處理及擬合數據。

【0330】BNJ441、eculizumab 及 305 變異體在 pH7.4 及 pH5.8 下對重組的人類 C5 的結合親和性(KD)列於表 10 中。305 變異體顯示(KD 在 pH5.8)/(KD 在 pH 7.4)的比例約為 800，比 BNJ441 高出 8 倍，其(KD 在 pH5.8)/(KD 在 pH 7.4)的比例僅為 93。

[表 10]

抗體	KD (M)		KD的比例在 pH5.8/pH7.4
	pH 7.4	pH 5.8	
305LO5變異體	1.66E-10	1.32E-07	795
Eculizumab	1.42E-10	2.64E-09	19
BNJ441	1.38E-09	1.28E-07	93

[實施例 9]

【0331】抗 C5 抗體(305 變異體)在 C5 活化上的抑制活性

9.1. 抗 C5 MAb 對補體活化脂質體細胞溶解的抑制

藉由脂質體細胞溶解測定測試抗 C5 MAb 的補體活性的抑制。在 96 孔盤中將 30 微升的正常人類血清(6.7%) (Biopredic,

SER019)與 20 μL 稀釋的 MAb 混合，且於常溫在震盪器上培養 30 分鐘。將經針對二硝基苯基(Autokit CH50, Wako, 995-40801)的抗體敏化的脂質體溶液轉移至每個孔中，並將盤在 37℃放置於震盪器上 2 分鐘。將 50 微升的基質溶液(Autokit CH50)加至每個孔中，藉由在 37℃搖動 2 分鐘加以混合。將最終混合液在 37℃培養 40 分鐘，之後測量在 340 nm 的 OD。脂質體細胞溶解的百分比定義為 100× [(OD $_{MAb}$ − OD $_{血清及脂質體背景}$)]/ [(OD $_{沒有\ MAb}$ − OD $_{血清及脂質體背景}$)]。第 15 圖顯示抗 C5 Mabs：305LO15-SG422 、 305LO16-SG422 、 305LO18-SG422 、 305LO19-SG422、305LO20-SG422 及 305LO20-SG115，抑制脂質體細胞溶解。兩個具有 Fc 變異體的抗體：305LO15-SG115 及 305LO23-SG429，亦抑制脂質體細胞溶解(第 16 圖)。

【0332】測試抗 C5 MAb 對重組的人類 C5 (序列辨識號：39)的抑制。在 96 孔盤中，將 10 微升缺乏 C5 的人類血清(Sigma, C1163)與 20μL 稀釋的 MAb 及 20μL 的重組的 C5 (0.1μg/mL)混合，且於 37℃在震盪器上培養 1 小時。將脂質體(Autokit CH50)轉移至每個孔中，並在 37℃放置於震盪器上 2 分鐘。將 50 微升的基質溶液(Autokit CH50)加至每個孔中，藉由在 37℃搖動 2 分鐘加以混合。將最終混合液在 37℃培養 180 分鐘，之後測量在 340 nm 的 OD。脂質體細胞溶解的百分比如上述定義。第 17 圖顯示抗 C5 Mabs：305LO22-SG115、305LO22-SG422、305LO23-SG115 及 305LO23-SG422，抑制脂質體細胞溶解。

9.2. 抗 C5 MAb 對 C5a 生成的抑制

【0333】在脂質體細胞溶解期間，測試抗 C5 MAb 的 C5a 生成，以確認抗 C5 MAb 抑制 C5 裂解成 C5a 及 C5b。利用 C5a ELISA 套組(R&D 系統，DY2037)定量來自脂質體細胞溶解測定的上清液中的 C5a 程度。所有 MAb 以劑量依賴方式抑制上清液中的 C5a 生成(第 18 及 19 圖)。

9.3. 於恆河猴血漿中測量補體活性

【0334】於恆河猴血漿中測量抗 C5 MAb 對補體活性的抑制。將抗 C5 Mab 內部施用於猴子(20mg/kg)，且週期地收集血漿樣品直到第 56 天。以包含 0.5 mM $MgCl_2$ 及 0.15 mM $CaCl_2$ (GVB++) (Boston BioProducts, IBB-300X)的明膠/佛羅拉(veronal)緩衝的食鹽水清洗雞紅血球細胞(cRBCs) (Innovative research, IC05-0810)，之後在 4℃以 1 μg/ml 的抗雞 RBC 抗體(Rockland 103-4139)敏化 15 分鐘。接著以 GVB++清洗細胞並使其以 1×10^8 cells/ml 懸浮於相同緩衝液中。在分開的圓底 96 孔微量測試盤中，以敏化的 cRBC 在 37℃培養猴子血漿 20 分鐘。在培養後，在 4℃將盤以 1000×g 離心 2 分鐘。將上清液轉移至平底 96 孔微量測試盤上的孔，以測量在 415nm 的 OD，其以 630nm 為參考波長。溶血反應的百分比定義為 $100\times[(OD_{施用後} - OD_{血漿及cRBC背景})]/[(OD_{施用前} - OD_{血漿及cRBC背景})]$。第 20 圖顯示抗 C5 Mab：305LO15-SG422、305LO15-SG115、305LO16-SG422、305LO18-SG422、305LO19-SG422、305LO20-SG422、305LO20-SG115 及 305LO23-SG115 抑制血漿中的補體活性。

9.4. 抗 C5 MAb 對 C5 變異體的生物活性的抑制

【0335】測試抗 C5 MAb 對重組的人類 C5 變異體：V145I、R449G、V802I、R885H、R928Q、D966Y、S1310N 及 E1437D 的抑制。已有報導具有 R885H 突變於 C5 中的 PNH 患者對 eculizumab 反應較差(請參照，例如，Nishimura 等人，*New Engl. J. Med.* 370:632-639 (2014))。在 FS293 細胞中表現各個人類 C5 變異體，且將上清液用於接續的研究。在 96 孔盤中，將 10 微升缺乏 C5 的人類血清(Sigma, C1163)與 20μL 稀釋的 Mab 及 20μL 包含重組的 C5 變異體(2-3μg/mL)的細胞培養基混合，且於 37℃在震盪器上培養 0.5 小時。將脂質體(Autokit CH50)轉移至每個孔中，並在 37℃放置於震盪器上 2 分鐘。將 50 微升的基質溶液(Autokit CH50)加至每個孔中，藉由在 37℃搖動 2 分鐘加以混合。將最終混合液在 37℃培養 90 分鐘，之後測量在 340 nm 的 OD。脂質體細胞溶解的百分比如上述定義。第 21 圖顯示抗 C5 MAb (eculizumab)並未抑制 R885H C5 變異體，但抑制了其它測試的變異體。第 22 圖顯示抗 C5 Mab (305 變異體)抑制測試的所有 C5 的變異體。

9.5. 抗 C5 MAb 對補體活化的脂質體細胞溶解的抑制

【0336】藉由脂質體細胞溶解測定測試抗 C5 Mab 對補體活性的抑制。在 96 孔盤中將 30 微升的正常人類血清(6.7%)(Biopredic, SER019)與 20 μL 稀釋的 MAb 混合，且於常溫在震盪器上培養 30 分鐘。將經針對二硝基苯基(Autokit CH50, Wako, 995-40801)的抗體敏化的脂質體溶液轉移至每個孔中，並將盤在 25℃放置於震盪器上 2 分鐘。將 50 微升的基質溶液(Autokit CH50)加至每個孔中，藉由在 25℃搖動 2 分鐘加以混合。將最

終混合液在 37℃培養 45 分鐘，之後測量在 340 nm 的 OD。脂質體細胞溶解抑制的百分比定義為 100× [(OD $_{MAb}$ − OD $_{血清及脂質體背景}$)]/ [(OD $_{沒有MAb}$ − OD $_{血清及脂質體背景}$)]。第 13 圖顯示抗 C5 Mabs：305LO15-SG422、305LO16-SG422、305LO18-SG422、305LO19-SG422、305LO20-SG422 及 305LO20-SG115，抑制脂質體細胞溶解。第 23 圖顯示抗 C5 MAb，BNJ441 及 305 變異體抑制脂質體細胞溶解，且 305 變異體比 BNJ441 具有更強的抑制活性。

[實施例 10]

【0337】抗 C5 單株抗體(305 變異體)於恆河猴中的藥物動力學研究

10.1. 使用恆河猴的體內測試

在施用抗人類 C5 抗體於恆河猴(Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., Japan)之後，評估抗人類 C5 抗體的體內動力學。將抗人類 C5 抗體的溶液(2.5 mg/ml)以每次約 8 ml/kg 的劑量，藉由 30 分鐘的輸液(infusion)施用於前臂的頭靜脈中。在施用前(pre-administration)以及施用的 5 分鐘、7 小時、1 天、2 天、3 天、7 天、14 天、21 天、28 天、35 天、42 天、49 天及 56 天後收集血液。收集的血液立即在 1,700×g 及 4°C 下離心 10 分鐘，以分離血漿。分離的血漿在進行測定前儲存於-70°C 或低於-70°C 的冰箱中。抗人類 C5 抗體之製備如實施例 7 所述。

10.2. 藉由 ELISA 分析測量總恆河猴 C5 血漿濃度

藉由 ELISA 測量恆河猴血漿中總恆河猴 C5 的濃度。將抗

人類 C5 抗體(利用實施例 2 所述方法產生之內部(in-house)抗體)分配於 Nunc-ImmunoPlate MaxiSorp (Nalge Nunc International)上，並於 4°C 靜置隔夜以製備固定有抗恆河猴 C5 的盤。製備以 0.4μg/ml 注射的抗體稀釋 20000 倍的校準曲線樣品及恆河猴血漿樣品，並於 37°C 培養 60 分鐘。接著，將樣品分配至固定有抗恆河猴 C5 的盤上，且於室溫下靜置 1 小時。接著，加入 HRP 標記的抗人類 IgG 抗體(Southernbiotech)於室溫下反應 30 分鐘，並進行清洗。接著，加入 ABTS ELISA HRP Substrate (KPL)。藉由讀盤機(plate reader)在波長 405 nm 測量訊號。根據校準曲線的反應利用分析軟體 SOFTmax PRO (Molecular Devices)計算抗恆河猴 C5 濃度。藉由此方法測量之在靜脈內施用後的血漿恆河猴 C5 濃度的時程，如第 24 圖所示。數據繪製為與施用前的血漿恆河猴 C5 濃度相比之剩餘的百分比。相較於非 pH 依賴性抗人類 C5 抗體，pH 依賴性抗人類 C5 抗體 (305LO15-SG422 、 305LO15-SG115 、 305LO16-SG422 、 305LO18-SG422 、 305LO19-SG422 、 305LO20-SG422 、 305LO20-SG115 、 305LO22-SG422 、 305LO23-SG422 及 305LO23-SG115)顯示下降的血漿 C5 的累積。

10.3. 藉由 ELISA 分析測量抗人類 C5 抗體血漿濃度

【0338】藉由 ELISA 測量恆河猴血漿中的抗人類 C5 抗體的濃度。將抗人類 IgG κ 鏈抗體(Antibody Solutions)分配於 unc-ImmunoPlate MaxiSorp (Nalge Nunc International)上，並於 4°C 靜置隔夜以製備固定有抗人類 IgG 的盤。製備稀釋 100 倍

或更多的校準曲線樣品及恆河猴血漿樣品。接著，將樣品分配至固定有抗人類 IgG 的盤上，且於室溫下靜置 1 小時。接著，加入 HRP 標記的抗人類 IgG 抗體(Southernbiotech)於室溫下反應 30 分鐘，並進行清洗。接著，加入 ABTS ELISA HRP Substrate (KPL)。藉由讀盤機在波長 405 nm 測量訊號。根據校準曲線的反應利用分析軟體 SOFTmax PRO (Molecular Devices)計算抗人類 C5 抗體濃度。藉由此方法測量之在靜脈內施用後的血漿抗人類 C5 抗體濃度的時程，如第 25 圖所示。相較於非 pH 依賴性抗人類 C5 抗體，pH 依賴性抗人類 C5 抗體(305LO15-SG422、305LO15-SG115、305LO16-SG422、305LO18-SG422、305LO19-SG422、305LO20-SG422、305LO20-SG115、305LO22-SG422、305LO23-SG422 及 305LO23-SG115)顯示較長的半生期。

[實施例 11]

【0339】305 變異體 Fab 及人類 C5-MG1 域複合物的 X-射線晶體結構分析

11.1. 人類 C5 的 MG1 域(20-124)之表達及純化

使用 pGEX-4T-1 載體(GE healthcare)，在 *E. coli* 品系 BL21 DE3 pLysS (Promega)中表達藉由凝血酶可切割連接子(GST-MG1)融合至 GST 標記的 MG1 域 (序列辨識號:39 的胺基酸殘基 20-124)。以 0.1 Mm 的異丙基 β-D-1-硫代半乳糖苷(IPTG)在 25℃ 誘導蛋白質表達 5 小時。以經 lysonase (Merck)及完全蛋白酶抑制劑混合物補充的 Bugbuster (Merck)溶解細菌的細胞沉澱物，接著根據供應商的說明書，使用 GSTrap 管柱(GE

healthcare)從可溶級分純化 GST-MG1。以凝血酶(Sigma)切割 GST 標記，進一步以 Superdex 75 膠體過濾管柱(GE healthcare)純化產生的 MG1 域。收集包含 MG1 域的級分並儲存於-80℃。

11.2. 305 變異體的 Fab 片段的製備

【0340】藉由常規方法利用木瓜蛋白酶(Roche Diagnostics, Cat No.1047825)製備自 305 最適化的變異體之一的 Fab 片段，接續為裝載於蛋白質 A 管柱(MabSlect SuRe, GE Healthcare)上以移除 Fc 片段、陽離子交換管柱 (HiTrap SP HP, GE Healthcare) 及膠體過濾管柱 (Superdex200 16/60, GE Healthcare)。收集包含 Fab 片段的級分並儲存於−80℃。

11.3. 305 變異體 Fab 及人類 C5-MG1 域複合物的製備

【0341】將純化的重組的人類 C5-MG1 域與純化的 305 變異體 Fab 片段以 1:1 摩爾比混合。藉由膠體過濾層析(Superdex200 10/300 增加，GE Healthcare)使用以 25 mM HEPES pH7.5、100 mM NaCl 平衡的管柱純化複合物。

11.4. 結晶

【0342】將純化的複合物濃縮至約 10 mg/Ml，並藉由坐滴蒸氣擴散法(sitting drop vapor diffusion method)結合種晶法(seeding method)在 4℃進行結晶。儲存溶液由 0.2 M 脫水甲酸鎂、15.0% w/v 聚乙二醇 3350 所組成。這在幾天內成功產生盤狀的晶體，將晶體浸泡於 0.2 M 脫水甲酸鎂、25.0% w/v 聚乙二醇 3350 及 20%甘油的溶液中。

11.5. 數據收集及結構判定

【0343】藉由 BL32XU 在 SPring-8 測量 X 射線繞射數據。

在測量期間，將晶體持續地放置於氮氣流中在-178℃以維持冷凍狀態，且利用貼附於射線的 MX-225HS CCD 偵測器(RAYONIX)而每次旋轉晶體 1.0°，以收集總計 180 個 X 射線繞射影像。利用 Xia2 程式(*J. Appl. Cryst.* 43:186-190 (2010)、XDS Package (*Acta. Cryst.* D66:125-132 (2010))及 Scala (*Acta. Cryst.* D62:72-82 (2006))實行細胞參數的判定、索引繞射點、及從獲得之繞射影像處理繞射數據，最後得到繞射強度數據達 2.11 Å 解析度的數據。晶體數據統計如表 11 所示。

[表 11]
X 射線數據收集及改善統計

數據收集	
空間群	*P1*
單位細胞	
a,*b*,*c* (Å)	39.79, 55.10, 127.76
α,β,γ (°)	89.18, 86.24, 78.20
解析度(Å)	49.49–2.11
總反射	112,102
獨特反射	56,154
完整性 (最高解析度骨架)(%)	92.1 (95.8)
R_{merge} [a] (最高解析度骨架)(%)	7.2 (31.7)
改善	
解析度(Å)	25.00–2.11
反射	53,398
R_1 因子 [b] (R_{free} [c]) (%)	20.42 (26.44)
rms自理想的偏差	
鍵結長度 (Å)	0.0088
鍵結角度 (°)	1.3441

a; $R_{merge} = \sum hkl \sum j |Ij\,(hkl) - \langle I\,(hkl)\rangle| / \sum hkl \sum j |I\,(hkl)|$，其中 $Ij\,(hkl)$及$\langle I\,(hkl)\rangle$分別為測量的強度 j 及以 hkl 指數反射的平均強度。

b; R 因子= $\sum hkl |F_{calc}(hkl)| - |F_{obs}\,(hkl)| / \sum hkl |F_{obs}\,(hkl)|$，其中 F_{obs}及 F_{calc}分別為觀測及計算的結構因子振幅。

c; R_{free}是以 5%的隨機預留反射計算。

【0344】以程式 Phaser (*J. Appl. Cryst.* 40:658-674 (2007))

藉由分子置換判定結構。Fab 域的搜尋模型取自公開的人類 IgG4 Fab 晶體結構(PDB 編碼:1BBJ)，以及 MG1 域的搜尋模型來自公開的人類 C5 晶體結構(PDB 編碼:3CU7，*Nat.Immunol.* 9:753-760 (2008))。以 Coot 程式 (*Acta Cryst.* D66:486-501 (2010))建造模型，並以程式 Refmac5 (*Acta Cryst.* D67:355-367 (2011))改善。繞射強度數據在 25–2.11 Å 的結晶可信度因子(R)為 20.42%，具有 26.44%的 Free R 值。結構改善統計如表 11 所示。

11.6. 305 變異體 Fab 及 C5-MG1 域複合物的整體結構

【0345】自 305 最適化的變異體的 Fab 片("305 Fab")以 1:1 比例結合至人類 C5-MG1 域("MG1")，且晶體結構的不對稱單元包含 2 個複合物，分子 1 及 2，如第 26A 圖所描繪。可在 0.717 Å RMSD 以所有殘基中的 Cα 原子將分子 1 及 2 對準好，如第 26B 圖所示。以下討論的圖示是利用分子 1 製備。

【0346】在第 27A 及 27B 圖中，305 Fab 接觸區域的抗原決定基是分別定位於 MG1 胺基酸序列及晶體結構中。抗原決定基包含 MG1 的氨基酸殘基，其在晶體結構中包含與 305 Fab 的任一部份距離在 4.5 Å 之內的一或多個原子。此外，在 3.0 Å 之內的抗原決定基強調於第 27A 圖中。

11.7. E48、D51 及 K109 的相互作用

【0347】如實施例 4.5 及 4.6 所述，藉由西方點墨及 BIACORE®結合分析，測試包含 305 抗體系列的抗 C5 Mab 對三種人類 C5 點突變體 E48、D51 及 K109 的結合。雖然 305 變異體強烈地結合至 WT C5，但它們僅微弱地結合 E48A C5 突

變體，且並未結合至 D51A 及 K109A 突變體。305 Fab 及 MG1 複合物的晶體結構揭示 E48、D51 及 K109 三個胺基酸，與 305 Fab 的距離均在 3.0 Å 之內，其與 Fab 形成數個氫鍵，如第 28A 圖所示。更詳細的檢視，MG1 的 K109 殘基是埋於形成在 Fab 的重鏈的界面的溝槽中，且藉由三個氫鍵以 H-CDR3_G97、H-CDR3_Y100 及 H-CDR3_T100b 以及藉由鹽橋以 H-CDR3_D95 緊密地與 Fab 作用(第 28D 圖)。D51 位於 MG1 及 305 Fab 的重鏈之間，並與 H-CDR1_Ser32 及 H-CDR2_Ser54 形成兩個氫鍵以填充空間(第 28C 圖)。這些代表 C5 的 K109 及 D51 均為 305 抗體系列的結合的重要殘基。另一方面，E48 在較接近表面的位置且與 Fab 僅形成一個氫鍵，這暗示其對抗體結合的貢獻較 K109 及 E51 的少(第 28B 圖)。這些關係與人類 C5 突變體的西方點墨及 BIACORE®結合分析的結果相符(實施例 4.5 及 4.6)。補充說明：對 Fab 胺基酸的殘基編號是根據 Kabat 編號架構(Kabat 等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991)。

11.8. 人類 C5 及 305 抗體系列的 H70、H72 及 H110 的相互作用

【0348】晶體結構分析揭示人類 C5 上的三個組胺酸殘基，亦即 H70、H72 及 H110，是包含於 305 變異體 Fab 的抗原決定基中，如第 27A 及 29A 圖所示。實行 BIACORE®結合分析以研究這些組胺酸殘基對人類 C5 及 305 變異體 Fab 之間的 pH 依賴性蛋白質-蛋白質相互作用的貢獻，所述 305 變異體 Fab

使用人類 C5 突變體 H70Y、H72Y、H110Y 及 H70Y+H110Y (實施例 4.7)。H72Y 造成 305 變異體 Fab 對 C5 的結合的完全喪失。C5 的這個殘基位於由 305 Fab 的重鏈的 CDR2 環及 MG1(L73、S74 及 E76)的環所形成的口袋中，且緊密地填充這個空間，如第 29C 圖所示。此外，C5 的 H72 殘基與 H-CDR2_Y58 形成氫鍵。H72Y 突變不被預期為可容忍的，由於沒有足夠的空間以容納酪胺酸較龐大的側鏈，與 H-CDR2_Y58 的氫鍵亦無法被維持。關於 H70 及 H110 對 pH 依賴性的貢獻，H70Y 及 H110Y 突變導致在 pH 5.8 下 305 變異體 Fab 從 C5 較慢的解離。H70 與 MG1 的 T53 形成分子內氫鍵，其被認為在 pH 5.8 下會被破壞，當 C5 的 H70 的質子化導致 MG1 的相互作用界面的對應部分中的構象改變(第 29B 圖)。關於 H110，這個 C5 殘基的質子化預期將會造成對 305 Fab 的電荷互斥，其可藉由鄰近的組胺酸殘基 H-CDR3_H100c 的質子化被增強(第 29D 圖)。

【0349】雖然前述發明已為了清楚理解的目的，藉由說明及例子詳細描述，然此描述及例子不應理解為用以限定本發明的範圍。本文引用的所有專利及科學文獻之內容明確地以參考方式完整併入於此。

【符號說明】

無。

【序列表】

<110> 中外製藥股份有限公司

<120> 抗C5抗體及其使用方法

<130> C1-A1517

<150> JP 2015-247069
<151> 2015-12-18

<160> 150

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 1

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

Leu Ala Val Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Ser Ser Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Cys Ile Tyr Thr Gly Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val Thr Leu
65 70 75 80

Gln Met Thr Ser Leu Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala
85 90 95

Ser Asp Gly Gly Tyr Val Thr Pro Thr His Ala Met Tyr Leu Trp Gly
100 105 110

Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 2
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 2

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

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

Tyr Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp Leu Ile
35 40 45

Ala Cys Ile Tyr Thr Val Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala
50 55 60

Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val Thr Leu
65 70 75 80

Gln Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala

85 90 95

Arg Asp Leu His Ala Gly Ile Thr Asn Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 3
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 3

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

Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ala Gly Leu Asp Phe Ser Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Cys Ile Tyr Ala Gly Ser Ser Gly Ile Ile Tyr Tyr Ala Asn Trp
50 55 60

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Pro Ser Ser Thr Thr Val Thr
65 70 75 80

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

Ala Thr Tyr Pro Thr Tyr Gly Asp Gly Gly His Ala Phe Asn Leu Trp
100 105 110

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

<210> 4
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 4

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

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

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

Met Ile Tyr Gly Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Met
65 70 75 80

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

Ile Tyr Ser Gly Asp Asn Asn Asp Asn Phe Trp Gly Pro Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 5
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 5

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

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

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

Met Ile Tyr Gly Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Met
65 70 75 80

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

Ile Tyr Ser Gly Asp Asn Asn Asp Asn Phe Trp Gly Pro Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 6
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 6

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

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Leu Ser Leu Ser Asp Asn Thr
20 25 30

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

Ile Ile Ser Phe Gly Gly Asp Ala Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Pro Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Arg Ile Thr
65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Val Gly
85 90 95

Ala Gly Asn Ile Phe Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 7
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 7

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

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr Ala
20 25 30

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

Thr Ile Asp Thr Gly Asp Asn Ser Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr
65 70 75 80

Ser Pro Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asn Asp
85 90 95

Gly Ser Val Tyr Asn Leu Phe Asn Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 8
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 8

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

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

Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45

Cys Ile Tyr Thr Gly Ser Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
50 55 60

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

Ala Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly
85 90 95

Ser Gly Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 9
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 9

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

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr Ala
20 25 30

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

Thr Ile Asp Thr Gly Asp Asn Ser Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr
65 70 75 80

Ser Pro Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asn Asp
85 90 95

Gly Ser Val Tyr Asn Leu Phe Asn Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 10
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 10

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ser His Ser Ser
20 25 30

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

Val Gly Ala Ile Tyr Thr Gly Ser Gly Ala Thr Tyr Lys Ala Ser Trp
50 55 60

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Ser Asp Gly Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr
100 105 110

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

<210> 11
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 11

```
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
1               5                  10                  15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Asn Ile Gly Ser Asp
            20                  25                  30

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

Tyr Gly Ala Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Lys Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65                  70                  75                  80

Ala Asp Ala Val Thr Tyr Tyr Cys Gln Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser
                85                  90                  95

Tyr Gly Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
            100                 105                 110
```

<210> 12
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 12

```
Ala Ile Glu Met Thr Gln Thr Pro Phe Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
1               5                  10                  15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Ser Asn
```

20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly Tyr Ser Tyr Ser Asn
85 90 95

Val Asp Asp Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 13
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 13

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

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Ser Ser
20 25 30

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

Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Pro Arg Phe
50 55 60

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

Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Thr Tyr Tyr Ser
85 90 95

Ser Gly Trp Tyr Phe Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 14
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 14

Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Val Ala Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Ser Asn Trp
20 25 30

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

Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Glu Cys

65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Ser Asn
85 90 95

Val Asp Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Val Val Glu
100 105 110

<210> 15
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 15

Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Val Ala Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Ser Asn Trp
20 25 30

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

Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Glu Cys
65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Ser Asn
85 90 95

Val Asp Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Thr Val Val Val Glu
100 105 110

<210> 16
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 16

Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Ala
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Thr Asn
85 90 95

Val His Asn Ser Phe Gly Gly Gly Thr Thr Val Val Val Glu
100 105 110

<210> 17

<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 17

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ala
20 25 30

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

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

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

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Asp Ile Asn Ser
85 90 95

Val Asp Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Val Val Glu
100 105 110

<210> 18
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 18

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Ala Pro Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Ser Leu
20 25 30

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

Tyr His Thr Ser Asp Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Arg Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Cys Thr Ala Tyr Gly Ser Ser
85 90 95

Asp Val Gly Gly Thr Phe Gly Gly Gly Thr Thr Val Val Val Glu
100 105 110

<210> 19
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 19

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ala
20 25 30

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

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

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

Ala Asp Ala Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Asp Ile Asn Ser
85 90 95

Val Asp Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Val Val Glu
100 105 110

<210> 20
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 20

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asn Ile Gly Ser Ser
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Lys Thr His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

Tyr Gly Asn His Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 21
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 21

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

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

Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Ala Cys Ile Tyr Thr Gly Ser Ser Ala Asn Thr Ala Tyr Ala Asn Trp
50 55 60

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val Thr
65 70 75 80

Leu Gln Met Thr Gly Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Asp Tyr Phe Phe Asp Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 22
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 22

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

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

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

Tyr Ile His Ser Phe Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Glu Ile Thr

65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Val
85 90 95

Gly Gly Ser Ser Gly Trp Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 23
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 23

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

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

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

Gly Cys Ile Gly Thr Ile Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Pro Ile Ser Lys Ala Ser Ser Thr Thr Val Thr Leu
65 70 75 80

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

Arg Asp Pro Tyr Ser Tyr Gly Asp Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 24
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 24

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

Ser Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly
20 25 30

Asn Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Ala Cys Ile Tyr Gly Gly Ser Val Gly Gly Thr Asp Tyr Ala Ser
50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val
65 70 75 80

Thr Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe

85 90 95

Cys Ala Arg Met Glu Asp Gly Tyr Gly Tyr Gly Tyr Asp Thr Tyr Phe
100 105 110

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

<210> 25
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 25

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Glu Ser Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asn Asn
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Glu Pro Thr Leu Thr Asn Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Gly Val Gln Cys Ala Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Gly Trp
85 90 95

Tyr Gly Asn Ser Tyr Val Ala Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val
100 105 110

Val Lys

<210> 26
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 26

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Asp Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Ser Ser Phe Gly Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

<210> 27
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 27

Asp Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Glu Pro Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Tyr Tyr Gly Phe Ser
85 90 95

Tyr Gly Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 28
<211> 110
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 28

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Thr Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Tyr Tyr Asp Ser Ser Thr
85 90 95

Ser Ser Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 29
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 29

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

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

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Glu Tyr Thr Glu Asn Phe
    50                  55                  60

Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Tyr Phe Phe Gly Ser Ser Pro Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp
            100                 105                 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175
```

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys
210 215 220

Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

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

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

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

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 30
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 30

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Asn Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 31
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 31

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Glu Tyr Thr Glu Asn Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Tyr Phe Phe Gly Ser Ser Pro Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 32
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 32

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Asn Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 33
<211> 325
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 33

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                  10                  15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Glu Phe Arg Gly Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
        115                 120                 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
    130                 135                 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145                 150                 155                 160
```

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

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

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu
325

<210> 34
<211> 325
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 34

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Arg Gly Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Tyr Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

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

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

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

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu
325

<210> 35
<211> 325
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 35

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Arg Gly Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

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

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 36
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 36

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Cys
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 37
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 37

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 38
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 38

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 39
<211> 1676
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39

Met Gly Leu Leu Gly Ile Leu Cys Phe Leu Ile Phe Leu Gly Lys Thr
1 5 10 15

Trp Gly Gln Glu Gln Thr Tyr Val Ile Ser Ala Pro Lys Ile Phe Arg
20 25 30

Val Gly Ala Ser Glu Asn Ile Val Ile Gln Val Tyr Gly Tyr Thr Glu
35 40 45

Ala Phe Asp Ala Thr Ile Ser Ile Lys Ser Tyr Pro Asp Lys Lys Phe
50 55 60

Ser Tyr Ser Ser Gly His Val His Leu Ser Ser Glu Asn Lys Phe Gln
65 70 75 80

Asn Ser Ala Ile Leu Thr Ile Gln Pro Lys Gln Leu Pro Gly Gly Gln
85 90 95

Asn Pro Val Ser Tyr Val Tyr Leu Glu Val Val Ser Lys His Phe Ser
100 105 110

Lys Ser Lys Arg Met Pro Ile Thr Tyr Asp Asn Gly Phe Leu Phe Ile
115 120 125

His Thr Asp Lys Pro Val Tyr Thr Pro Asp Gln Ser Val Lys Val Arg
130 135 140

Val Tyr Ser Leu Asn Asp Asp Leu Lys Pro Ala Lys Arg Glu Thr Val
145 150 155 160

Leu Thr Phe Ile Asp Pro Glu Gly Ser Glu Val Asp Met Val Glu Glu
165 170 175

Ile Asp His Ile Gly Ile Ile Ser Phe Pro Asp Phe Lys Ile Pro Ser
180 185 190

Asn Pro Arg Tyr Gly Met Trp Thr Ile Lys Ala Lys Tyr Lys Glu Asp
195 200 205

Phe Ser Thr Thr Gly Thr Ala Tyr Phe Glu Val Lys Glu Tyr Val Leu
210 215 220

Pro His Phe Ser Val Ser Ile Glu Pro Glu Tyr Asn Phe Ile Gly Tyr
225 230 235 240

Lys Asn Phe Lys Asn Phe Glu Ile Thr Ile Lys Ala Arg Tyr Phe Tyr
245 250 255

Asn Lys Val Val Thr Glu Ala Asp Val Tyr Ile Thr Phe Gly Ile Arg
260 265 270

Glu Asp Leu Lys Asp Asp Gln Lys Glu Met Met Gln Thr Ala Met Gln
275 280 285

Asn Thr Met Leu Ile Asn Gly Ile Ala Gln Val Thr Phe Asp Ser Glu
290 295 300

Thr Ala Val Lys Glu Leu Ser Tyr Tyr Ser Leu Glu Asp Leu Asn Asn
305 310 315 320

Lys Tyr Leu Tyr Ile Ala Val Thr Val Ile Glu Ser Thr Gly Gly Phe
325 330 335

Ser Glu Glu Ala Glu Ile Pro Gly Ile Lys Tyr Val Leu Ser Pro Tyr
340 345 350

Lys Leu Asn Leu Val Ala Thr Pro Leu Phe Leu Lys Pro Gly Ile Pro
355 360 365

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

Gly Val Pro Val Thr Leu Asn Ala Gln Thr Ile Asp Val Asn Gln Glu
385 390 395 400

Thr Ser Asp Leu Asp Pro Ser Lys Ser Val Thr Arg Val Asp Asp Gly
405 410 415

Val Ala Ser Phe Val Leu Asn Leu Pro Ser Gly Val Thr Val Leu Glu
420 425 430

Phe Asn Val Lys Thr Asp Ala Pro Asp Leu Pro Glu Glu Asn Gln Ala
435 440 445

Arg Glu Gly Tyr Arg Ala Ile Ala Tyr Ser Ser Leu Ser Gln Ser Tyr
450 455 460

Leu Tyr Ile Asp Trp Thr Asp Asn His Lys Ala Leu Leu Val Gly Glu
465 470 475 480

His Leu Asn Ile Ile Val Thr Pro Lys Ser Pro Tyr Ile Asp Lys Ile
485 490 495

Thr His Tyr Asn Tyr Leu Ile Leu Ser Lys Gly Lys Ile Ile His Phe
500 505 510

Gly Thr Arg Glu Lys Phe Ser Asp Ala Ser Tyr Gln Ser Ile Asn Ile
515 520 525

Pro Val Thr Gln Asn Met Val Pro Ser Ser Arg Leu Leu Val Tyr Tyr
530 535 540

Ile Val Thr Gly Glu Gln Thr Ala Glu Leu Val Ser Asp Ser Val Trp
545 550 555 560

Leu Asn Ile Glu Glu Lys Cys Gly Asn Gln Leu Gln Val His Leu Ser
565 570 575

Pro Asp Ala Asp Ala Tyr Ser Pro Gly Gln Thr Val Ser Leu Asn Met
580 585 590

Ala Thr Gly Met Asp Ser Trp Val Ala Leu Ala Ala Val Asp Ser Ala
595 600 605

Val Tyr Gly Val Gln Arg Gly Ala Lys Lys Pro Leu Glu Arg Val Phe
610 615 620

Gln Phe Leu Glu Lys Ser Asp Leu Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Leu
625 630 635 640

Asn Asn Ala Asn Val Phe His Leu Ala Gly Leu Thr Phe Leu Thr Asn
645 650 655

Ala Asn Ala Asp Asp Ser Gln Glu Asn Asp Glu Pro Cys Lys Glu Ile
660 665 670

Leu Arg Pro Arg Arg Thr Leu Gln Lys Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala
675 680 685

Lys Tyr Lys His Ser Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Ala Cys
690 695 700

Val Asn Asn Asp Glu Thr Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg Ile Ser Leu
705 710 715 720

Gly Pro Arg Cys Ile Lys Ala Phe Thr Glu Cys Cys Val Val Ala Ser
725 730 735

Gln Leu Arg Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg Leu
740 745 750

His Met Lys Thr Leu Leu Pro Val Ser Lys Pro Glu Ile Arg Ser Tyr
755 760 765

Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Glu Val His Leu Val Pro Arg Arg Lys
770 775 780

Gln Leu Gln Phe Ala Leu Pro Asp Ser Leu Thr Thr Trp Glu Ile Gln
785 790 795 800

Gly Val Gly Ile Ser Asn Thr Gly Ile Cys Val Ala Asp Thr Val Lys
805 810 815

Ala Lys Val Phe Lys Asp Val Phe Leu Glu Met Asn Ile Pro Tyr Ser
820 825 830

Val Val Arg Gly Glu Gln Ile Gln Leu Lys Gly Thr Val Tyr Asn Tyr
835 840 845

Arg Thr Ser Gly Met Gln Phe Cys Val Lys Met Ser Ala Val Glu Gly
850 855 860

Ile Cys Thr Ser Glu Ser Pro Val Ile Asp His Gln Gly Thr Lys Ser
865 870 875 880

Ser Lys Cys Val Arg Gln Lys Val Glu Gly Ser Ser Ser His Leu Val
885 890 895

Thr Phe Thr Val Leu Pro Leu Glu Ile Gly Leu His Asn Ile Asn Phe
900 905 910

Ser Leu Glu Thr Trp Phe Gly Lys Glu Ile Leu Val Lys Thr Leu Arg
915 920 925

Val Val Pro Glu Gly Val Lys Arg Glu Ser Tyr Ser Gly Val Thr Leu
930 935 940

Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Gly Thr Ile Ser Arg Arg Lys Glu Phe Pro
945 950 955 960

Tyr Arg Ile Pro Leu Asp Leu Val Pro Lys Thr Glu Ile Lys Arg Ile
965 970 975

Leu Ser Val Lys Gly Leu Leu Val Gly Glu Ile Leu Ser Ala Val Leu
980 985 990

Ser Gln Glu Gly Ile Asn Ile Leu Thr His Leu Pro Lys Gly Ser Ala
995 1000 1005

Glu Ala Glu Leu Met Ser Val Val Pro Val Phe Tyr Val Phe His
1010 1015 1020

Tyr Leu Glu Thr Gly Asn His Trp Asn Ile Phe His Ser Asp Pro
1025 1030 1035

Leu Ile Glu Lys Gln Lys Leu Lys Lys Lys Leu Lys Glu Gly Met
1040 1045 1050

Leu Ser Ile Met Ser Tyr Arg Asn Ala Asp Tyr Ser Tyr Ser Val
1055 1060 1065

Trp Lys Gly Gly Ser Ala Ser Thr Trp Leu Thr Ala Phe Ala Leu
1070 1075 1080

Arg Val Leu Gly Gln Val Asn Lys Tyr Val Glu Gln Asn Gln Asn
1085 1090 1095

Ser Ile Cys Asn Ser Leu Leu Trp Leu Val Glu Asn Tyr Gln Leu
1100 1105 1110

Asp Asn Gly Ser Phe Lys Glu Asn Ser Gln Tyr Gln Pro Ile Lys
1115 1120 1125

Leu Gln Gly Thr Leu Pro Val Glu Ala Arg Glu Asn Ser Leu Tyr
1130 1135 1140

Leu Thr Ala Phe Thr Val Ile Gly Ile Arg Lys Ala Phe Asp Ile
1145 1150 1155

Cys Pro Leu Val Lys Ile Asp Thr Ala Leu Ile Lys Ala Asp Asn
1160 1165 1170

Phe Leu Leu Glu Asn Thr Leu Pro Ala Gln Ser Thr Phe Thr Leu
1175 1180 1185

Ala Ile Ser Ala Tyr Ala Leu Ser Leu Gly Asp Lys Thr His Pro
1190 1195 1200

Gln Phe Arg Ser Ile Val Ser Ala Leu Lys Arg Glu Ala Leu Val
1205 1210 1215

Lys Gly Asn Pro Pro Ile Tyr Arg Phe Trp Lys Asp Asn Leu Gln
1220 1225 1230

His Lys Asp Ser Ser Val Pro Asn Thr Gly Thr Ala Arg Met Val
1235 1240 1245

Glu Thr Thr Ala Tyr Ala Leu Leu Thr Ser Leu Asn Leu Lys Asp
1250 1255 1260

Ile Asn Tyr Val Asn Pro Val Ile Lys Trp Leu Ser Glu Glu Gln
1265 1270 1275

Arg Tyr Gly Gly Gly Phe Tyr Ser Thr Gln Asp Thr Ile Asn Ala
1280 1285 1290

Ile Glu Gly Leu Thr Glu Tyr Ser Leu Leu Val Lys Gln Leu Arg
1295 1300 1305

Leu Ser Met Asp Ile Asp Val Ser Tyr Lys His Lys Gly Ala Leu
1310 1315 1320

His Asn Tyr Lys Met Thr Asp Lys Asn Phe Leu Gly Arg Pro Val
1325 1330 1335

Glu Val Leu Leu Asn Asp Asp Leu Ile Val Ser Thr Gly Phe Gly
1340 1345 1350

Ser Gly Leu Ala Thr Val His Val Thr Thr Val Val His Lys Thr
1355 1360 1365

Ser Thr Ser Glu Glu Val Cys Ser Phe Tyr Leu Lys Ile Asp Thr
1370 1375 1380

Gln Asp Ile Glu Ala Ser His Tyr Arg Gly Tyr Gly Asn Ser Asp
1385 1390 1395

Tyr Lys Arg Ile Val Ala Cys Ala Ser Tyr Lys Pro Ser Arg Glu
1400 1405 1410

Glu Ser Ser Ser Gly Ser Ser His Ala Val Met Asp Ile Ser Leu
1415 1420 1425

Pro Thr Gly Ile Ser Ala Asn Glu Glu Asp Leu Lys Ala Leu Val
1430 1435 1440

Glu Gly Val Asp Gln Leu Phe Thr Asp Tyr Gln Ile Lys Asp Gly
1445 1450 1455

His Val Ile Leu Gln Leu Asn Ser Ile Pro Ser Ser Asp Phe Leu
1460 1465 1470

Cys Val Arg Phe Arg Ile Phe Glu Leu Phe Glu Val Gly Phe Leu
1475 1480 1485

Ser Pro Ala Thr Phe Thr Val Tyr Glu Tyr His Arg Pro Asp Lys
1490 1495 1500

Gln Cys Thr Met Phe Tyr Ser Thr Ser Asn Ile Lys Ile Gln Lys
1505 1510 1515

Val Cys Glu Gly Ala Ala Cys Lys Cys Val Glu Ala Asp Cys Gly
1520 1525 1530

Gln Met Gln Glu Glu Leu Asp Leu Thr Ile Ser Ala Glu Thr Arg
1535 1540 1545

Lys Gln Thr Ala Cys Lys Pro Glu Ile Ala Tyr Ala Tyr Lys Val
1550 1555 1560

Ser Ile Thr Ser Ile Thr Val Glu Asn Val Phe Val Lys Tyr Lys
1565 1570 1575

Ala Thr Leu Leu Asp Ile Tyr Lys Thr Gly Glu Ala Val Ala Glu
1580 1585 1590

Lys Asp Ser Glu Ile Thr Phe Ile Lys Lys Val Thr Cys Thr Asn
1595 1600 1605

Ala Glu Leu Val Lys Gly Arg Gln Tyr Leu Ile Met Gly Lys Glu
1610 1615 1620

Ala Leu Gln Ile Lys Tyr Asn Phe Ser Phe Arg Tyr Ile Tyr Pro
1625 1630 1635

Leu Asp Ser Leu Thr Trp Ile Glu Tyr Trp Pro Arg Asp Thr Thr
1640 1645 1650

Cys Ser Ser Cys Gln Ala Phe Leu Ala Asn Leu Asp Glu Phe Ala
1655 1660 1665

Glu Asp Ile Phe Leu Asn Gly Cys
1670 1675

<210> 40
<211> 673
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 40

Met Gly Leu Leu Gly Ile Leu Cys Phe Leu Ile Phe Leu Gly Lys Thr
1 5 10 15

Trp Gly Gln Glu Gln Thr Tyr Val Ile Ser Ala Pro Lys Ile Phe Arg
20 25 30

Val Gly Ala Ser Glu Asn Ile Val Ile Gln Val Tyr Gly Tyr Thr Glu
35 40 45

Ala Phe Asp Ala Thr Ile Ser Ile Lys Ser Tyr Pro Asp Lys Lys Phe
50 55 60

Ser Tyr Ser Ser Gly His Val His Leu Ser Ser Glu Asn Lys Phe Gln
65 70 75 80

Asn Ser Ala Ile Leu Thr Ile Gln Pro Lys Gln Leu Pro Gly Gly Gln
85 90 95

Asn Pro Val Ser Tyr Val Tyr Leu Glu Val Val Ser Lys His Phe Ser
100 105 110

Lys Ser Lys Arg Met Pro Ile Thr Tyr Asp Asn Gly Phe Leu Phe Ile
115 120 125

His Thr Asp Lys Pro Val Tyr Thr Pro Asp Gln Ser Val Lys Val Arg
130 135 140

Val Tyr Ser Leu Asn Asp Asp Leu Lys Pro Ala Lys Arg Glu Thr Val
145 150 155 160

Leu Thr Phe Ile Asp Pro Glu Gly Ser Glu Val Asp Met Val Glu Glu
165 170 175

Ile Asp His Ile Gly Ile Ile Ser Phe Pro Asp Phe Lys Ile Pro Ser
180 185 190

Asn Pro Arg Tyr Gly Met Trp Thr Ile Lys Ala Lys Tyr Lys Glu Asp
195 200 205

Phe Ser Thr Thr Gly Thr Ala Tyr Phe Glu Val Lys Glu Tyr Val Leu
210 215 220

Pro His Phe Ser Val Ser Ile Glu Pro Glu Tyr Asn Phe Ile Gly Tyr
225 230 235 240

Lys Asn Phe Lys Asn Phe Glu Ile Thr Ile Lys Ala Arg Tyr Phe Tyr
245 250 255

Asn Lys Val Val Thr Glu Ala Asp Val Tyr Ile Thr Phe Gly Ile Arg
260 265 270

Glu Asp Leu Lys Asp Asp Gln Lys Glu Met Met Gln Thr Ala Met Gln
275 280 285

Asn Thr Met Leu Ile Asn Gly Ile Ala Gln Val Thr Phe Asp Ser Glu
290 295 300

Thr Ala Val Lys Glu Leu Ser Tyr Tyr Ser Leu Glu Asp Leu Asn Asn
305 310 315 320

Lys Tyr Leu Tyr Ile Ala Val Thr Val Ile Glu Ser Thr Gly Gly Phe
325 330 335

Ser Glu Glu Ala Glu Ile Pro Gly Ile Lys Tyr Val Leu Ser Pro Tyr
340 345 350

Lys Leu Asn Leu Val Ala Thr Pro Leu Phe Leu Lys Pro Gly Ile Pro
355 360 365

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

Gly Val Pro Val Thr Leu Asn Ala Gln Thr Ile Asp Val Asn Gln Glu
385 390 395 400

Thr Ser Asp Leu Asp Pro Ser Lys Ser Val Thr Arg Val Asp Asp Gly
405 410 415

Val Ala Ser Phe Val Leu Asn Leu Pro Ser Gly Val Thr Val Leu Glu
420 425 430

Phe Asn Val Lys Thr Asp Ala Pro Asp Leu Pro Glu Glu Asn Gln Ala
435 440 445

Arg Glu Gly Tyr Arg Ala Ile Ala Tyr Ser Ser Leu Ser Gln Ser Tyr
450 455 460

Leu Tyr Ile Asp Trp Thr Asp Asn His Lys Ala Leu Leu Val Gly Glu
465 470 475 480

His Leu Asn Ile Ile Val Thr Pro Lys Ser Pro Tyr Ile Asp Lys Ile
485 490 495

Thr His Tyr Asn Tyr Leu Ile Leu Ser Lys Gly Lys Ile Ile His Phe
500 505 510

Gly Thr Arg Glu Lys Phe Ser Asp Ala Ser Tyr Gln Ser Ile Asn Ile
515 520 525

Pro Val Thr Gln Asn Met Val Pro Ser Ser Arg Leu Leu Val Tyr Tyr
530 535 540

Ile Val Thr Gly Glu Gln Thr Ala Glu Leu Val Ser Asp Ser Val Trp
545 550 555 560

Leu Asn Ile Glu Glu Lys Cys Gly Asn Gln Leu Gln Val His Leu Ser
565 570 575

Pro Asp Ala Asp Ala Tyr Ser Pro Gly Gln Thr Val Ser Leu Asn Met
580 585 590

Ala Thr Gly Met Asp Ser Trp Val Ala Leu Ala Ala Val Asp Ser Ala
595 600 605

Val Tyr Gly Val Gln Arg Gly Ala Lys Lys Pro Leu Glu Arg Val Phe
610 615 620

Gln Phe Leu Glu Lys Ser Asp Leu Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Leu
625 630 635 640

Asn Asn Ala Asn Val Phe His Leu Ala Gly Leu Thr Phe Leu Thr Asn
645 650 655

Ala Asn Ala Asp Asp Ser Gln Glu Asn Asp Glu Pro Cys Lys Glu Ile
660 665 670

Leu

<210> 41
<211> 105
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

Glu Gln Thr Tyr Val Ile Ser Ala Pro Lys Ile Phe Arg Val Gly Ala
1 5 10 15

Ser Glu Asn Ile Val Ile Gln Val Tyr Gly Tyr Thr Glu Ala Phe Asp
20 25 30

Ala Thr Ile Ser Ile Lys Ser Tyr Pro Asp Lys Lys Phe Ser Tyr Ser
35 40 45

Ser Gly His Val His Leu Ser Ser Glu Asn Lys Phe Gln Asn Ser Ala
50 55 60

Ile Leu Thr Ile Gln Pro Lys Gln Leu Pro Gly Gly Gln Asn Pro Val
65 70 75 80

Ser Tyr Val Tyr Leu Glu Val Val Ser Lys His Phe Ser Lys Ser Lys
85 90 95

Arg Met Pro Ile Thr Tyr Asp Asn Gly
100 105

<210> 42
<211> 101
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 42

Phe Leu Phe Ile His Thr Asp Lys Pro Val Tyr Thr Pro Asp Gln Ser
1 5 10 15

Val Lys Val Arg Val Tyr Ser Leu Asn Asp Asp Leu Lys Pro Ala Lys

20 25 30

Arg Glu Thr Val Leu Thr Phe Ile Asp Pro Glu Gly Ser Glu Val Asp
35 40 45

Met Val Glu Glu Ile Asp His Ile Gly Ile Ile Ser Phe Pro Asp Phe
50 55 60

Lys Ile Pro Ser Asn Pro Arg Tyr Gly Met Trp Thr Ile Lys Ala Lys
65 70 75 80

Tyr Lys Glu Asp Phe Ser Thr Thr Gly Thr Ala Tyr Phe Glu Val Lys
85 90 95

Glu Tyr Val Leu Pro
100

<210> 43
<211> 225
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43

Met Gly Leu Leu Gly Ile Leu Cys Phe Leu Ile Phe Leu Gly Lys Thr
1 5 10 15

Trp Gly Gln Glu Gln Thr Tyr Val Ile Ser Ala Pro Lys Ile Phe Arg
20 25 30

Val Gly Ala Ser Glu Asn Ile Val Ile Gln Val Tyr Gly Tyr Thr Glu
35 40 45

Ala Phe Asp Ala Thr Ile Ser Ile Lys Ser Tyr Pro Asp Lys Lys Phe
50 55 60

Ser Tyr Ser Ser Gly His Val His Leu Ser Ser Glu Asn Lys Phe Gln
65 70 75 80

Asn Ser Ala Ile Leu Thr Ile Gln Pro Lys Gln Leu Pro Gly Gly Gln
85 90 95

Asn Pro Val Ser Tyr Val Tyr Leu Glu Val Val Ser Lys His Phe Ser
100 105 110

Lys Ser Lys Arg Met Pro Ile Thr Tyr Asp Asn Gly Phe Leu Phe Ile
115 120 125

His Thr Asp Lys Pro Val Tyr Thr Pro Asp Gln Ser Val Lys Val Arg
130 135 140

Val Tyr Ser Leu Asn Asp Asp Leu Lys Pro Ala Lys Arg Glu Thr Val
145 150 155 160

Leu Thr Phe Ile Asp Pro Glu Gly Ser Glu Val Asp Met Val Glu Glu
165 170 175

Ile Asp His Ile Gly Ile Ile Ser Phe Pro Asp Phe Lys Ile Pro Ser
180 185 190

Asn Pro Arg Tyr Gly Met Trp Thr Ile Lys Ala Lys Tyr Lys Glu Asp
195 200 205

Phe Ser Thr Thr Gly Thr Ala Tyr Phe Glu Val Lys Glu Tyr Val Leu
210 215 220

Pro
225

<210> 44
<211> 1676
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 44

Met Gly Leu Leu Gly Ile Leu Cys Phe Leu Ile Phe Leu Gly Lys Thr
1 5 10 15

Trp Gly Gln Glu Gln Thr Tyr Val Ile Ser Ala Pro Lys Ile Phe Arg
20 25 30

Val Gly Ala Ser Glu Asn Ile Val Ile Gln Val Tyr Gly Tyr Thr Glu
35 40 45

Ala Phe Asp Ala Thr Ile Ser Ile Lys Ser Tyr Pro Asp Lys Lys Phe
50 55 60

Ser Tyr Ser Ser Gly His Val His Leu Ser Ser Glu Asn Lys Phe Gln
65 70 75 80

Asn Ser Ala Val Leu Thr Ile Gln Pro Lys Gln Leu Pro Gly Gly Gln
85 90 95

Asn Gln Val Ser Tyr Val Tyr Leu Glu Val Val Ser Lys His Phe Ser
100 105 110

Lys Ser Lys Lys Ile Pro Ile Thr Tyr Asp Asn Gly Phe Leu Phe Ile
115 120 125

His Thr Asp Lys Pro Val Tyr Thr Pro Asp Gln Ser Val Lys Val Arg
130 135 140

Val Tyr Ser Leu Asn Asp Asp Leu Lys Pro Ala Lys Arg Glu Thr Val
145 150 155 160

Leu Thr Phe Ile Asp Pro Glu Gly Ser Glu Ile Asp Met Val Glu Glu
165 170 175

Ile Asp His Ile Gly Ile Ile Ser Phe Pro Asp Phe Lys Ile Pro Ser
180 185 190

Asn Pro Arg Tyr Gly Met Trp Thr Ile Gln Ala Lys Tyr Lys Glu Asp
195 200 205

Phe Ser Thr Thr Gly Thr Ala Phe Phe Glu Val Lys Glu Tyr Val Leu
210 215 220

Pro His Phe Ser Val Ser Val Glu Pro Glu Ser Asn Phe Ile Gly Tyr
225 230 235 240

Lys Asn Phe Lys Asn Phe Glu Ile Thr Ile Lys Ala Arg Tyr Phe Tyr
245 250 255

Asn Lys Val Val Thr Glu Ala Asp Val Tyr Ile Thr Phe Gly Ile Arg
260 265 270

Glu Asp Leu Lys Asp Asp Gln Lys Glu Met Met Gln Thr Ala Met Gln
275 280 285

Asn Thr Met Leu Ile Asn Gly Ile Ala Glu Val Thr Phe Asp Ser Glu
290 295 300

Thr Ala Val Lys Glu Leu Ser Tyr Tyr Ser Leu Glu Asp Leu Asn Asn
305 310 315 320

Lys Tyr Leu Tyr Ile Ala Val Thr Val Ile Glu Ser Thr Gly Gly Phe
325 330 335

Ser Glu Glu Ala Glu Ile Pro Gly Ile Lys Tyr Val Leu Ser Pro Tyr
340 345 350

Lys Leu Asn Leu Val Ala Thr Pro Leu Phe Leu Lys Pro Gly Ile Pro
355 360 365

Tyr Ser Ile Lys Val Gln Val Lys Asp Ala Leu Asp Gln Leu Val Gly
370 375 380

Gly Val Pro Val Thr Leu Asn Ala Gln Thr Ile Asp Val Asn Gln Glu
385 390 395 400

Thr Ser Asp Leu Glu Pro Arg Lys Ser Val Thr Arg Val Asp Asp Gly
405 410 415

Val Ala Ser Phe Val Val Asn Leu Pro Ser Gly Val Thr Val Leu Glu
420 425 430

Phe Asn Val Lys Thr Asp Ala Pro Asp Leu Pro Asp Glu Asn Gln Ala
435 440 445

Arg Glu Gly Tyr Arg Ala Ile Ala Tyr Ser Ser Leu Ser Gln Ser Tyr
450 455 460

Leu Tyr Ile Asp Trp Thr Asp Asn His Lys Ala Leu Leu Val Gly Glu
465 470 475 480

Tyr Leu Asn Ile Ile Val Thr Pro Lys Ser Pro Tyr Ile Asp Lys Ile
485 490 495

Thr His Tyr Asn Tyr Leu Ile Leu Ser Lys Gly Lys Ile Ile His Phe
500 505 510

Gly Thr Arg Glu Lys Leu Ser Asp Ala Ser Tyr Gln Ser Ile Asn Ile
515 520 525

Pro Val Thr Gln Asn Met Val Pro Ser Ser Arg Leu Leu Val Tyr Tyr
530 535 540

Ile Val Thr Gly Glu Gln Thr Ala Glu Leu Val Ser Asp Ser Val Trp
545 550 555 560

Leu Asn Ile Glu Glu Lys Cys Gly Asn Gln Leu Gln Val His Leu Ser
565 570 575

Pro Asp Ala Asp Thr Tyr Ser Pro Gly Gln Thr Val Ser Leu Asn Met
580 585 590

Val Thr Gly Met Asp Ser Trp Val Ala Leu Thr Ala Val Asp Ser Ala
595 600 605

Val Tyr Gly Val Gln Arg Arg Ala Lys Lys Pro Leu Glu Arg Val Phe
610 615 620

Gln Phe Leu Glu Lys Ser Asp Leu Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Leu
625 630 635 640

Asn Asn Ala Asn Val Phe His Leu Ala Gly Leu Thr Phe Leu Thr Asn
645 650 655

Ala Asn Ala Asp Asp Ser Gln Glu Asn Asp Glu Pro Cys Lys Glu Ile
660 665 670

Ile Arg Pro Arg Arg Met Leu Gln Glu Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala
675 680 685

Lys Tyr Lys His Leu Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Val Arg
690 695 700

Ile Asn His Asp Glu Thr Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg Ile Ser Val
705 710 715 720

Gly Pro Arg Cys Val Lys Ala Phe Thr Glu Cys Cys Val Val Ala Ser
725 730 735

Gln Leu Arg Ala Asn Asn Ser His Lys Asp Leu Gln Leu Gly Arg Leu
740 745 750

His Met Lys Thr Leu Leu Pro Val Ser Lys Pro Glu Ile Arg Ser Tyr
755 760 765

Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Glu Val His Leu Val Pro Arg Arg Lys
770 775 780

Gln Leu Gln Phe Ala Leu Pro Asp Ser Val Thr Thr Trp Glu Ile Gln
785 790 795 800

Gly Val Gly Ile Ser Asn Ser Gly Ile Cys Val Ala Asp Thr Ile Lys
805 810 815

Ala Lys Val Phe Lys Asp Val Phe Leu Glu Met Asn Ile Pro Tyr Ser
820 825 830

Val Val Arg Gly Glu Gln Val Gln Leu Lys Gly Thr Val Tyr Asn Tyr
835 840 845

Arg Thr Ser Gly Met Gln Phe Cys Val Lys Met Ser Ala Val Glu Gly
850 855 860

Ile Cys Thr Ser Glu Ser Pro Val Ile Asp His Gln Gly Thr Lys Ser
865 870 875 880

Ser Lys Cys Val Arg Gln Lys Val Glu Gly Ser Ser Asn His Leu Val
885 890 895

Thr Phe Thr Val Leu Pro Leu Glu Ile Gly Leu Gln Asn Ile Asn Phe
900 905 910

Ser Leu Glu Thr Ser Phe Gly Lys Glu Ile Leu Val Lys Ser Leu Arg
915 920 925

Val Val Pro Glu Gly Val Lys Arg Glu Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Leu
930 935 940

Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Gly Thr Ile Ser Arg Arg Lys Glu Phe Pro
945 950 955 960

Tyr Arg Ile Pro Leu Asp Leu Val Pro Lys Thr Glu Ile Lys Arg Ile
965 970 975

Leu Ser Val Lys Gly Leu Leu Val Gly Glu Ile Leu Ser Ala Val Leu
980 985 990

Ser Arg Glu Gly Ile Asn Ile Leu Thr His Leu Pro Lys Gly Ser Ala
995 1000 1005

Glu Ala Glu Leu Met Ser Val Val Pro Val Phe Tyr Val Phe His
1010 1015 1020

Tyr Leu Glu Thr Gly Asn His Trp Asn Ile Phe His Ser Asp Pro
1025 1030 1035

Leu Ile Glu Lys Arg Asn Leu Glu Lys Lys Leu Lys Glu Gly Met
1040 1045 1050

Val Ser Ile Met Ser Tyr Arg Asn Ala Asp Tyr Ser Tyr Ser Val
1055 1060 1065

Trp Lys Gly Gly Ser Ala Ser Thr Trp Leu Thr Ala Phe Ala Leu
1070 1075 1080

Arg Val Leu Gly Gln Val His Lys Tyr Val Glu Gln Asn Gln Asn
1085 1090 1095

Ser Ile Cys Asn Ser Leu Leu Trp Leu Val Glu Asn Tyr Gln Leu
1100 1105 1110

Asp Asn Gly Ser Phe Lys Glu Asn Ser Gln Tyr Gln Pro Ile Lys
1115 1120 1125

Leu Gln Gly Thr Leu Pro Val Glu Ala Arg Glu Asn Ser Leu Tyr
1130 1135 1140

Leu Thr Ala Phe Thr Val Ile Gly Ile Arg Lys Ala Phe Asp Ile
1145 1150 1155

Cys Pro Leu Val Lys Ile Asn Thr Ala Leu Ile Lys Ala Asp Thr
1160 1165 1170

Phe Leu Leu Glu Asn Thr Leu Pro Ala Gln Ser Thr Phe Thr Leu
1175 1180 1185

Ala Ile Ser Ala Tyr Ala Leu Ser Leu Gly Asp Lys Thr His Pro
1190 1195 1200

Gln Phe Arg Ser Ile Val Ser Ala Leu Lys Arg Glu Ala Leu Val
1205 1210 1215

Lys Gly Asn Pro Pro Ile Tyr Arg Phe Trp Lys Asp Ser Leu Gln
1220 1225 1230

His Lys Asp Ser Ser Val Pro Asn Thr Gly Thr Ala Arg Met Val
1235 1240 1245

Glu Thr Thr Ala Tyr Ala Leu Leu Thr Ser Leu Asn Leu Lys Asp
1250 1255 1260

Ile Asn Tyr Val Asn Pro Ile Ile Lys Trp Leu Ser Glu Glu Gln
1265 1270 1275

Arg Tyr Gly Gly Gly Phe Tyr Ser Thr Gln Asp Thr Ile Asn Ala
1280 1285 1290

Ile Glu Gly Leu Thr Glu Tyr Ser Leu Leu Val Lys Gln Leu Arg
1295 1300 1305

Leu Asn Met Asp Ile Asp Val Ala Tyr Lys His Lys Gly Pro Leu
1310 1315 1320

His Asn Tyr Lys Met Thr Asp Lys Asn Phe Leu Gly Arg Pro Val
1325 1330 1335

Glu Val Leu Leu Asn Asp Asp Leu Val Val Ser Thr Gly Phe Gly
1340 1345 1350

Ser Gly Leu Ala Thr Val His Val Thr Thr Val Val His Lys Thr
1355 1360 1365

Ser Thr Ser Glu Glu Val Cys Ser Phe Tyr Leu Lys Ile Asp Thr
1370 1375 1380

Gln Asp Ile Glu Ala Ser His Tyr Arg Gly Tyr Gly Asn Ser Asp
1385 1390 1395

Tyr Lys Arg Ile Val Ala Cys Ala Ser Tyr Lys Pro Ser Lys Glu
1400 1405 1410

Glu Ser Ser Ser Gly Ser Ser His Ala Val Met Asp Ile Ser Leu
1415 1420 1425

Pro Thr Gly Ile Asn Ala Asn Glu Glu Asp Leu Lys Ala Leu Val
1430 1435 1440

Glu Gly Val Asp Gln Leu Phe Thr Asp Tyr Gln Ile Lys Asp Gly
1445 1450 1455

His Val Ile Leu Gln Leu Asn Ser Ile Pro Ser Ser Asp Phe Leu
1460 1465 1470

Cys Val Arg Phe Arg Ile Phe Glu Leu Phe Glu Val Gly Phe Leu
1475 1480 1485

Ser Pro Ala Thr Phe Thr Val Tyr Glu Tyr His Arg Pro Asp Lys
1490 1495 1500

Gln Cys Thr Met Phe Tyr Ser Thr Ser Asn Ile Lys Ile Gln Lys
1505 1510 1515

Val Cys Glu Gly Ala Thr Cys Lys Cys Ile Glu Ala Asp Cys Gly
1520 1525 1530

Gln Met Gln Lys Glu Leu Asp Leu Thr Ile Ser Ala Glu Thr Arg
1535 1540 1545

Lys Gln Thr Ala Cys Asn Pro Glu Ile Ala Tyr Ala Tyr Lys Val
1550 1555 1560

Ile Ile Thr Ser Ile Thr Thr Glu Asn Val Phe Val Lys Tyr Lys
1565 1570 1575

Ala Thr Leu Leu Asp Ile Tyr Lys Thr Gly Glu Ala Val Ala Glu
1580 1585 1590

Lys Asp Ser Glu Ile Thr Phe Ile Lys Lys Val Thr Cys Thr Asn
1595 1600 1605

Ala Glu Leu Val Lys Gly Arg Gln Tyr Leu Ile Met Gly Lys Glu
1610 1615 1620

Ala Leu Gln Ile Lys Tyr Asn Phe Thr Phe Arg Tyr Ile Tyr Pro
1625 1630 1635

Leu Asp Ser Leu Thr Trp Ile Glu Tyr Trp Pro Arg Asp Thr Thr
1640 1645 1650

Cys Ser Ser Cys Gln Ala Phe Leu Ala Asn Leu Asp Glu Phe Ala
1655 1660 1665

Glu Asp Ile Phe Leu Asn Gly Cys
1670 1675

<210> 45
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 45

Ser Ser Tyr Tyr Met Cys
1 5

<210> 46
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 46

Asn Phe Tyr Tyr Ile Cys
1 5

<210> 47
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 47

Ser Ser Tyr Tyr Met Cys
1 5

<210> 48

<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 48

Ser Ser Tyr Tyr Met Asn
1 5

<210> 49
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 49

Ser Ser Tyr Tyr Met Asn
1 5

<210> 50
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 50

Asp Asn Thr Met Thr
1 5

<210> 51
<211> 5
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 51

Thr Tyr Ala Met Gly
1 5

<210> 52
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 52

Gly Asn Ala Ile Asn
1 5

<210> 53
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 53

Thr Tyr Ala Met Gly
1 5

<210> 54
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 54

Ser Ser Tyr Tyr Val Ala
1 5

<210> 55
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 55

Cys Ile Tyr Thr Gly Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 56
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 56

Cys Ile Tyr Thr Val Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 57
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 57

Cys Ile Tyr Ala Gly Ser Ser Gly Ile Ile Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala
1 5 10 15

Lys Gly

<210> 58
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 58

Met Ile Tyr Gly Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 59
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 59

Met Ile Tyr Gly Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 60
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 60

Ile Ile Ser Phe Gly Gly Asp Ala Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 61
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 61

Thr Ile Asp Thr Gly Asp Asn Ser Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 62
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 62

Cys Ile Tyr Thr Gly Ser Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 63
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 63

Thr Ile Asp Thr Gly Asp Asn Ser Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 64
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 64

Ala Ile Tyr Thr Gly Ser Gly Ala Thr Tyr Lys Ala Ser Trp Ala Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 65
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 65

Asp Gly Gly Tyr Val Thr Pro Thr His Ala Met Tyr Leu
1 5 10

<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 66

Asp Leu His Ala Gly Ile Thr Asn Leu
1 5

<210> 67
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 67

Tyr Pro Thr Tyr Gly Asp Gly Gly His Ala Phe Asn Leu
1 5 10

<210> 68
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 68

Gln Ile Tyr Ser Gly Asp Asn Asn Asp Asn Phe
1 5 10

<210> 69
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 69

Gln Ile Tyr Ser Gly Asp Asn Asn Asp Asn Phe
1 5 10

<210> 70
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 70

Val Gly Ala Gly Asn Ile Phe Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 71
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 71

Asn Asp Gly Ser Val Tyr Asn Leu Phe Asn Leu

1 5 10

<210> 72
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 72

Gly Ser Gly Leu
1

<210> 73
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 73

Asn Asp Gly Ser Val Tyr Asn Leu Phe Asn Leu
1 5 10

<210> 74
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 74

Asp Gly Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr
1 5 10

<210> 75
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 75

Gln Ala Ser Gln Asn Ile Gly Ser Asp Leu Ala
1 5 10

<210> 76
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 76

Gln Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 77
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 77

Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Ser Ser Asp Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 78

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 78

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Ser Asn Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 79
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 79

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Ser Asn Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 80
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 80

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 81
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 81

Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ala Leu Ser
1 5 10

<210> 82
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 82

Gln Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Ser Leu Leu Ala
1 5 10

<210> 83
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 83

Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ala Leu Ser
1 5 10

<210> 84
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 84

Gln Ala Ser Gln Asn Ile Gly Ser Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 85
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 85

Gly Ala Ser Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 86
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 86

Gly Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 87
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 87

Glu Ala Ser Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 88
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 88

Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 89
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 89

Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 90
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 90

Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 91
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 91

Tyr Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 92
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 92

His Thr Ser Asp Leu Ala Ser
1 5

<210> 93
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 93

Tyr Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 94
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 94

Gly Ala Ser Lys Thr His Ser
1 5

<210> 95
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 95

Gln Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Tyr Gly Asn Ala
1 5 10

<210> 96
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 96

Leu Gln Gly Tyr Ser Tyr Ser Asn Val Asp Asp Ala
1 5 10

<210> 97
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 97

Gln Gly Thr Tyr Tyr Ser Ser Gly Trp Tyr Phe Ala
1 5 10

<210> 98
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 98

Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Ser Asn Val Asp Asn Thr
1 5 10

<210> 99
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 99

Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Ser Asn Val Asp Asn Thr
1 5 10

<210> 100

<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 100

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Thr Asn Val His Asn Ser
1 5 10

<210> 101
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 101

Gln Gln Tyr Tyr Asp Ile Asn Ser Val Asp Asn Thr
1 5 10

<210> 102
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 102

Gln Cys Thr Ala Tyr Gly Ser Ser Asp Val Gly Gly Thr
1 5 10

<210> 103
<211> 12
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 103

Gln Gln Tyr Tyr Asp Ile Asn Ser Val Asp Asn Thr
1 5 10

<210> 104
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 104

Gln Ser Thr Lys Val Gly Ser Ser Tyr Gly Asn His
1 5 10

<210> 105
<211> 1680
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 105

Met Gly Leu Trp Gly Ile Leu Cys Leu Leu Ile Phe Leu Asp Lys Thr
1 5 10 15

Trp Gly Gln Glu Gln Thr Tyr Val Ile Ser Ala Pro Lys Ile Leu Arg
20 25 30

Val Gly Ser Ser Glu Asn Val Val Ile Gln Val His Gly Tyr Thr Glu
35 40 45

Ala Phe Asp Ala Thr Leu Ser Leu Lys Ser Tyr Pro Asp Lys Lys Val
50 55 60

Thr Phe Ser Ser Gly Tyr Val Asn Leu Ser Pro Glu Asn Lys Phe Gln
65 70 75 80

Asn Ala Ala Leu Leu Thr Leu Gln Pro Asn Gln Val Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Ser Pro Val Ser His Val Tyr Leu Glu Val Val Ser Lys His Phe Ser
100 105 110

Lys Ser Lys Lys Ile Pro Ile Thr Tyr Asn Asn Gly Ile Leu Phe Ile
115 120 125

His Thr Asp Lys Pro Val Tyr Thr Pro Asp Gln Ser Val Lys Ile Arg
130 135 140

Val Tyr Ser Leu Gly Asp Asp Leu Lys Pro Ala Lys Arg Glu Thr Val
145 150 155 160

Leu Thr Phe Ile Asp Pro Glu Gly Ser Glu Val Asp Ile Val Glu Glu
165 170 175

Asn Asp Tyr Thr Gly Ile Ile Ser Phe Pro Asp Phe Lys Ile Pro Ser
180 185 190

Asn Pro Lys Tyr Gly Val Trp Thr Ile Lys Ala Asn Tyr Lys Lys Asp
195 200 205

Phe Thr Thr Thr Gly Thr Ala Tyr Phe Glu Ile Lys Glu Tyr Val Leu
210 215 220

```
Pro Arg Phe Ser Val Ser Ile Glu Leu Glu Arg Thr Phe Ile Gly Tyr
225                 230                 235                 240

Lys Asn Phe Lys Asn Phe Glu Ile Thr Val Lys Ala Arg Tyr Phe Tyr
                245                 250                 255

Asn Lys Val Val Pro Asp Ala Glu Val Tyr Ala Phe Phe Gly Leu Arg
            260                 265                 270

Glu Asp Ile Lys Asp Glu Glu Lys Gln Met Met His Lys Ala Thr Gln
        275                 280                 285

Ala Ala Lys Leu Val Asp Gly Val Ala Gln Ile Ser Phe Asp Ser Glu
    290                 295                 300

Thr Ala Val Lys Glu Leu Ser Tyr Asn Ser Leu Glu Asp Leu Asn Asn
305                 310                 315                 320

Lys Tyr Leu Tyr Ile Ala Val Thr Val Thr Glu Ser Ser Gly Gly Phe
                325                 330                 335

Ser Glu Glu Ala Glu Ile Pro Gly Val Lys Tyr Val Leu Ser Pro Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Asn Leu Val Ala Thr Pro Leu Phe Val Lys Pro Gly Ile Pro
        355                 360                 365

Phe Ser Ile Lys Ala Gln Val Lys Asp Ser Leu Glu Gln Ala Val Gly
    370                 375                 380

Gly Val Pro Val Thr Leu Met Ala Gln Thr Val Asp Val Asn Gln Glu
385                 390                 395                 400
```

Thr Ser Asp Leu Glu Thr Lys Arg Ser Ile Thr His Asp Thr Asp Gly
405 410 415

Val Ala Val Phe Val Leu Asn Leu Pro Ser Asn Val Thr Val Leu Lys
420 425 430

Phe Glu Ile Arg Thr Asp Asp Pro Glu Leu Pro Glu Glu Asn Gln Ala
435 440 445

Ser Lys Glu Tyr Glu Ala Val Ala Tyr Ser Ser Leu Ser Gln Ser Tyr
450 455 460

Ile Tyr Ile Ala Trp Thr Glu Asn Tyr Lys Pro Met Leu Val Gly Glu
465 470 475 480

Tyr Leu Asn Ile Met Val Thr Pro Lys Ser Pro Tyr Ile Asp Lys Ile
485 490 495

Thr His Tyr Asn Tyr Leu Ile Leu Ser Lys Gly Lys Ile Val Gln Tyr
500 505 510

Gly Thr Arg Glu Lys Leu Phe Ser Ser Thr Tyr Gln Asn Ile Asn Ile
515 520 525

Pro Val Thr Gln Asn Met Val Pro Ser Ala Arg Leu Leu Val Tyr Tyr
530 535 540

Ile Val Thr Gly Glu Gln Thr Ala Glu Leu Val Ala Asp Ala Val Trp
545 550 555 560

Ile Asn Ile Glu Glu Lys Cys Gly Asn Gln Leu Gln Val His Leu Ser
565 570 575

Pro Asp Glu Tyr Val Tyr Ser Pro Gly Gln Thr Val Ser Leu Asp Met
580 585 590

Val Thr Glu Ala Asp Ser Trp Val Ala Leu Ser Ala Val Asp Arg Ala
595 600 605

Val Tyr Lys Val Gln Gly Asn Ala Lys Arg Ala Met Gln Arg Val Phe
610 615 620

Gln Ala Leu Asp Glu Lys Ser Asp Leu Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly
625 630 635 640

His Asp Asn Ala Asp Val Phe His Leu Ala Gly Leu Thr Phe Leu Thr
645 650 655

Asn Ala Asn Ala Asp Asp Ser His Tyr Arg Asp Asp Ser Cys Lys Glu
660 665 670

Ile Leu Arg Ser Lys Arg Asn Leu His Leu Leu Arg Gln Lys Ile Glu
675 680 685

Glu Gln Ala Ala Lys Tyr Lys His Ser Val Pro Lys Lys Cys Cys Tyr
690 695 700

Asp Gly Ala Arg Val Asn Phe Tyr Glu Thr Cys Glu Glu Arg Val Ala
705 710 715 720

Arg Val Thr Ile Gly Pro Leu Cys Ile Arg Ala Phe Asn Glu Cys Cys
725 730 735

Thr Ile Ala Asn Lys Ile Arg Lys Glu Ser Pro His Lys Pro Val Gln
740 745 750

Leu Gly Arg Ile His Ile Lys Thr Leu Leu Pro Val Met Lys Ala Asp
755 760 765

Ile Arg Ser Tyr Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Glu Ile His Arg Val
770 775 780

Pro Lys Arg Lys Gln Leu Gln Val Thr Leu Pro Asp Ser Leu Thr Thr
785 790 795 800

Trp Glu Ile Gln Gly Ile Gly Ile Ser Asp Asn Gly Ile Cys Val Ala
805 810 815

Asp Thr Leu Lys Ala Lys Val Phe Lys Glu Val Phe Leu Glu Met Asn
820 825 830

Ile Pro Tyr Ser Val Val Arg Gly Glu Gln Ile Gln Leu Lys Gly Thr
835 840 845

Val Tyr Asn Tyr Met Thr Ser Gly Thr Lys Phe Cys Val Lys Met Ser
850 855 860

Ala Val Glu Gly Ile Cys Thr Ser Gly Ser Ser Ala Ala Ser Leu His
865 870 875 880

Thr Ser Arg Pro Ser Arg Cys Val Phe Gln Arg Ile Glu Gly Ser Ser
885 890 895

Ser His Leu Val Thr Phe Thr Leu Leu Pro Leu Glu Ile Gly Leu His
900 905 910

Ser Ile Asn Phe Ser Leu Glu Thr Ser Phe Gly Lys Asp Ile Leu Val
915 920 925

Lys Thr Leu Arg Val Val Pro Glu Gly Val Lys Arg Glu Ser Tyr Ala
930 935 940

Gly Val Ile Leu Asp Pro Lys Gly Ile Arg Gly Ile Val Asn Arg Arg
945 950 955 960

Lys Glu Phe Pro Tyr Arg Ile Pro Leu Asp Leu Val Pro Lys Thr Lys
965 970 975

Val Glu Arg Ile Leu Ser Val Lys Gly Leu Leu Val Gly Glu Phe Leu
980 985 990

Ser Thr Val Leu Ser Lys Glu Gly Ile Asn Ile Leu Thr His Leu Pro
995 1000 1005

Lys Gly Ser Ala Glu Ala Glu Leu Met Ser Ile Ala Pro Val Phe
1010 1015 1020

Tyr Val Phe His Tyr Leu Glu Ala Gly Asn His Trp Asn Ile Phe
1025 1030 1035

Tyr Pro Asp Thr Leu Ser Lys Arg Gln Ser Leu Glu Lys Lys Ile
1040 1045 1050

Lys Gln Gly Val Val Ser Val Met Ser Tyr Arg Asn Ala Asp Tyr
1055 1060 1065

Ser Tyr Ser Met Trp Lys Gly Ala Ser Ala Ser Thr Trp Leu Thr
1070 1075 1080

Ala Phe Ala Leu Arg Val Leu Gly Gln Val Ala Lys Tyr Val Lys
1085 1090 1095

Gln Asp Glu Asn Ser Ile Cys Asn Ser Leu Leu Trp Leu Val Glu
1100 1105 1110

Lys Cys Gln Leu Glu Asn Gly Ser Phe Lys Glu Asn Ser Gln Tyr
1115 1120 1125

Leu Pro Ile Lys Leu Gln Gly Thr Leu Pro Ala Glu Ala Gln Glu
1130 1135 1140

Lys Thr Leu Tyr Leu Thr Ala Phe Ser Val Ile Gly Ile Arg Lys
1145 1150 1155

Ala Val Asp Ile Cys Pro Thr Met Lys Ile His Thr Ala Leu Asp
1160 1165 1170

Lys Ala Asp Ser Phe Leu Leu Glu Asn Thr Leu Pro Ser Lys Ser
1175 1180 1185

Thr Phe Thr Leu Ala Ile Val Ala Tyr Ala Leu Ser Leu Gly Asp
1190 1195 1200

Arg Thr His Pro Arg Phe Arg Leu Ile Val Ser Ala Leu Arg Lys
1205 1210 1215

Glu Ala Phe Val Lys Gly Asp Pro Pro Ile Tyr Arg Tyr Trp Arg
1220 1225 1230

Asp Thr Leu Lys Arg Pro Asp Ser Ser Val Pro Ser Ser Gly Thr
1235 1240 1245

Ala Gly Met Val Glu Thr Thr Ala Tyr Ala Leu Leu Ala Ser Leu
1250 1255 1260

Lys Leu Lys Asp Met Asn Tyr Ala Asn Pro Ile Ile Lys Trp Leu
1265 1270 1275

Ser Glu Glu Gln Arg Tyr Gly Gly Gly Phe Tyr Ser Thr Gln Asp
1280 1285 1290

Thr Ile Asn Ala Ile Glu Gly Leu Thr Glu Tyr Ser Leu Leu Leu
1295 1300 1305

Lys Gln Ile His Leu Asp Met Asp Ile Asn Val Ala Tyr Lys His
1310 1315 1320

Glu Gly Asp Phe His Lys Tyr Lys Val Thr Glu Lys His Phe Leu
1325 1330 1335

Gly Arg Pro Val Glu Val Ser Leu Asn Asp Asp Leu Val Val Ser
1340 1345 1350

Thr Gly Tyr Ser Ser Gly Leu Ala Thr Val Tyr Val Lys Thr Val
1355 1360 1365

Val His Lys Ile Ser Val Ser Glu Glu Phe Cys Ser Phe Tyr Leu
1370 1375 1380

Lys Ile Asp Thr Gln Asp Ile Glu Ala Ser Ser His Phe Arg Leu
1385 1390 1395

Ser Asp Ser Gly Phe Lys Arg Ile Ile Ala Cys Ala Ser Tyr Lys
1400 1405 1410

Pro Ser Lys Glu Glu Ser Thr Ser Gly Ser Ser His Ala Val Met
1415 1420 1425

Asp Ile Ser Leu Pro Thr Gly Ile Gly Ala Asn Glu Glu Asp Leu
1430 1435 1440

Arg Ala Leu Val Glu Gly Val Asp Gln Leu Leu Thr Asp Tyr Gln
1445 1450 1455

Ile Lys Asp Gly His Val Ile Leu Gln Leu Asn Ser Ile Pro Ser
1460 1465 1470

Arg Asp Phe Leu Cys Val Arg Phe Arg Ile Phe Glu Leu Phe Gln
1475 1480 1485

Val Gly Phe Leu Asn Pro Ala Thr Phe Thr Val Tyr Glu Tyr His
1490 1495 1500

Arg Pro Asp Lys Gln Cys Thr Met Ile Tyr Ser Ile Ser Asp Thr
1505 1510 1515

Arg Leu Gln Lys Val Cys Glu Gly Ala Ala Cys Thr Cys Val Glu
1520 1525 1530

Ala Asp Cys Ala Gln Leu Gln Ala Glu Val Asp Leu Ala Ile Ser
1535 1540 1545

Ala Asp Ser Arg Lys Glu Lys Ala Cys Lys Pro Glu Thr Ala Tyr
1550 1555 1560

Ala Tyr Lys Val Arg Ile Thr Ser Ala Thr Glu Glu Asn Val Phe
1565 1570 1575

Val Lys Tyr Thr Ala Thr Leu Leu Val Thr Tyr Lys Thr Gly Glu
1580 1585 1590

Ala Ala Asp Glu Asn Ser Glu Val Thr Phe Ile Lys Lys Met Ser
1595 1600 1605

Cys Thr Asn Ala Asn Leu Val Lys Gly Lys Gln Tyr Leu Ile Met
1610 1615 1620

Gly Lys Glu Val Leu Gln Ile Lys His Asn Phe Ser Phe Lys Tyr
1625 1630 1635

Ile Tyr Pro Leu Asp Ser Ser Thr Trp Ile Glu Tyr Trp Pro Thr
1640 1645 1650

Asp Thr Thr Cys Pro Ser Cys Gln Ala Phe Val Glu Asn Leu Asn
1655 1660 1665

Asn Phe Ala Glu Asp Leu Phe Leu Asn Ser Cys Glu
1670 1675 1680

<210> 106
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 106

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val His Ser Ser
20 25 30

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

Val Gly Ala Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Glu Tyr Lys Ala Glu Trp
50 55 60

Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Ser Asp Ala Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr
100 105 110

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

<210> 107
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 107

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val His Ser Ser
20 25 30

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

Val Gly Ala Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Glu Tyr Lys Ala Glu Trp
50 55 60

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

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

Cys Ala Ser Asp Ala Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr
100 105 110

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

<210> 108
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 108

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val His Ser Ser
20 25 30

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

Val Gly Ala Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Glu Tyr Lys Ala Glu Trp
50 55 60

Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Ser Asp Ala Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr
100 105 110

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

<210> 109
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 109

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val His Ser Ser
20 25 30

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

Val Gly Ala Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Glu Tyr Lys Ala Glu Trp
50 55 60

Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Ser Asp Ala Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr
100 105 110

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

<210> 110
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 110

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val His Ser Ser
20 25 30

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

Val Ser Gly Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Thr Tyr Lys Ala Glu Trp
50 55 60

Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Ser Asp Ala Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr
100 105 110

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

<210> 111
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 111

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ser
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Glu Thr Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Thr Lys Val Gly Ser Ser
85 90 95

Tyr Gly Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 112
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 112

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ser
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Glu Thr Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Thr Lys Val Gly Ser Ser
85 90 95

Tyr Gly Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 113
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 113

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ser
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Thr Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Thr Lys Val Gly Ser Ser
85 90 95

Tyr Gly Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 114
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 114

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Arg Arg Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 115
<211> 325
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 115

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Arg Arg Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

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

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 116
<211> 325
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 116

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Arg Arg Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

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

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 117
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 117

Ser Ser Tyr Tyr Met Ala
1 5

<210> 118
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 118

Ala Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Glu Tyr Lys Ala Glu Trp Ala Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 119
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 119

Ala Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Glu Tyr Lys Ala Glu Trp Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 120
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 120

Gly Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Thr Tyr Lys Ala Glu Trp Ala Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 121
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成序列

<400> 121

Asp Ala Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr
1 5 10

<210> 122
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 122

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 123
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 123

Gly Ala Ser Glu Thr Glu Ser
1 5

<210> 124
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 124

Gly Ala Ser Thr Thr Gln Ser
1 5

<210> 125
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 125

Gln Asn Thr Lys Val Gly Ser Ser Tyr Gly Asn Thr
1 5 10

<210> 126
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa is Met or Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa is Cys or Ala

<400> 126

Ser Ser Tyr Tyr Xaa Xaa
1 5

<210> 127
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa is Cys, Ala or Gly

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa is Tyr or Phe

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> Xaa is Thr, Asp or Glu

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa is Tyr, Lys or Gln

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa is Ser, Asp or Glu

<220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(15)
<223> Xaa is Ala or Val

<400> 127

Xaa Ile Xaa Thr Gly Ser Gly Ala Xaa Tyr Xaa Ala Xaa Trp Xaa Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 128
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa is Gly or Ala

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa is Val, Gln or Asp

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa is Thr or Tyr

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> Xaa is Tyr or His

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa is Leu or Tyr

<400> 128

Asp Xaa Gly Tyr Xaa Xaa Pro Thr His Ala Met Xaa Xaa
1 5 10

<210> 129
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa is Gln or Arg

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa is Asn, Gln or Gly

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa is Gly or Ser

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> Xaa is Asp, Lys or Ser

<400> 129

Xaa Ala Ser Gln Xaa Ile Xaa Ser Xaa Leu Ala
1 5 10

<210> 130
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa is Lys, Glu or Thr

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa is Leu or Thr

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa is Ala, His, Glu or Gln

<400> 130

Gly Ala Ser Xaa Xaa Xaa Ser
1 5

<210> 131
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa is Ser, Cys, Asn or Thr

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa is Phe or Lys

<220>
<221> misc_feature

<222> (12)..(12)
<223> Xaa is Ala, Thr or His

<400> 131

Gln Xaa Thr Xaa Val Gly Ser Ser Tyr Gly Asn Xaa
1 5 10

<210> 132
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 132

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ser His
20 25 30

<210> 133
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 133

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val His
20 25 30

<210> 134
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 134

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val His
20 25 30

<210> 135
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 135

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

<210> 136
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 136

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser

1 5 10

<210> 137
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 137

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

Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Ser
20 25 30

<210> 138
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 138

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

Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Ser
20 25 30

<210> 139
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 139

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

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

<210> 140
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 140

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

<210> 141
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 141

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

<210> 142
<211> 23
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 142

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 143
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 143

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 144
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 144

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 145
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 145

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

<210> 146
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 146

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

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

<210> 147
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 147

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

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

<210> 148
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 148

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 149
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 149

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly His Ile Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

```
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly His Thr Glu Tyr Thr Glu Asn Phe
    50                  55                  60

Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Tyr Phe Phe Gly Ser Ser Pro Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp
            100                 105                 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys
    210                 215                 220
```

Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

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

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

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

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala
420 425 430

Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 150
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工合成序列

<400> 150

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Asn Thr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

201726728

發明摘要

※ 申請案號：105141730

※ 申請日： 105/12/16 ※IPC 分類：C07K 16/18 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

抗 C5 抗體及使用方法/ ANTI-C5 ANTIBODIES AND METHODS OF USE

【中文】

[欲解決之問題] 本發明的目的為提供抗 C5 抗體及其使用方法。

[解決問題之手段] 本發明提供抗 C5 抗體及其使用方法。在一些實施例中，本發明的分離的抗 C5 抗體在中性 pH 比在酸性 pH 下以較高親和性結合至 C5 的 β 鏈內的抗原決定基。本發明亦提供編碼本發明的抗 C5 抗體的分離的核酸。本發明亦提供包括本發明的核酸的宿主細胞。本發明亦提供製造抗體的方法，包括培養本發明的宿主細胞以便製造抗體。本發明更提供製造抗 C5 抗體的方法，包括使動物對多肽免疫，所述多肽包括 C5 的 β 鏈的 MG1-MG2 域。本發明的抗 C5 抗體可作為藥物使用。

【英文】

[Problems to be Solved] An objective of the invention is to provide anti-C5 antibodies and methods of using the same.

[Means for Solving the Problems] The invention provides anti-C5 antibodies and methods of using the same. In some

embodiments, an isolated anti-C5 antibody of the present invention binds to an epitope within the β chain of C5 with a higher affinity at neutral pH than at acidic pH. The invention also provides isolated nucleic acids encoding an anti-C5 antibody of the present invention. The invention also provides host cells comprising a nucleic acid of the present invention. The invention also provides a method of producing an antibody comprising culturing a host cell of the present invention so that the antibody is produced. The invention further provides a method of producing an anti-C5 antibody comprising immunizing an animal against a polypeptide which comprises the MG1-MG2 domain of the β chain of C5. Anti-C5 antibodies of the present invention may be for use as a medicament.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無。

【本代表圖之符號簡單說明】：無。

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無。

申請專利範圍

1. 一種結合至 C5 的分離的抗體其中該抗體包括(a)一 HVR-H3，包括胺基酸序列 $DX_1GYX_2X_3PTHAMX_4X_5$，其中 X_1 為 G 或 A，X_2 為 V、Q 或 D，X_3 為 T 或 Y，X_4 為 Y 或 H，X_5 為 L 或 Y (序列辨識號：128)，(b)一 HVR-L3，包括胺基酸序列 $QX_1TX_2VGSSYGNX_3$，其中 X_1 為 S、C、N 或 T，X_2 為 F 或 K，X_3 為 A、T 或 H (序列辨識號：131)，以及(c)一 HVR-H2，包括胺基酸序列 $X_1IX_2TGSGAX_3YX_4AX_5WX_6KG$，其中 X_1 為 C、A 或 G，X_2 為 Y 或 F，X_3 為 T、D 或 E，X_4 為 Y、K 或 Q，X_5 為 S、D 或 E，X_6 為 A 或 V (序列辨識號：127)。

2. 一種結合至 C5 的分離的抗體，其中該抗體包括(a)一 HVR-H1，包括胺基酸序列 $SSYYX_1X_2$，其中 X_1 為 M 或 V，X_2 為 C 或 A (序列辨識號：126)，(b)一 HVR-H2，包括胺基酸序列 $X_1IX_2TGSGAX_3YX_4AX_5WX_6KG$，其中 X_1 為 C、A 或 G，X_2 為 Y 或 F，X_3 為 T、D 或 E，X_4 為 Y、K 或 Q，X_5 為 S、D 或 E，X_6 為 A 或 V (序列辨識號：127)，以及(c)一 HVR-H3，包括胺基酸序列 $DX_1GYX_2X_3PTHAMX_4X_5$，其中 X_1 為 G 或 A，X_2 為 V、Q 或 D，X_3 為 T 或 Y，X_4 為 Y 或 H，X_5 為 L 或 Y (序列辨識號：128)。

3. 如申請專利範圍第 2 項所述之抗體，更包括(a)一 HVR-L1，包括胺基酸序列 $X_1ASQX_2IX_3SX_4LA$，其中 X_1 為 Q 或 R，X_2 為 N、Q 或 G，X_3 為 G 或 S，X_4 為 D、K 或 S (序列辨識號：129)；(b)一 HVR-L2，包括胺基酸序列 $GASX_1X_2X_3S$，其中 X_1 為 K、E 或 T，X_2 為 L 或 T，X_3 為 A、H、E 或 Q (序

列辨識號：130)；以及(c)一 HVR-L3，包括胺基酸序列 $QX_1TX_2VGSSYGNX_3$，其中 X_1 為 S、C、N 或 T，X_2 為 F 或 K，X_3 為 A、T 或 H (序列辨識號：131)。

4. 一種結合至 C5 的分離的抗體，其中該抗體包括(a)一 HVR-L1，包括胺基酸序列 $X_1ASQX_2IX_3SX_4LA$，其中 X_1 為 Q 或 R，X_2 為 N、Q 或 G，X_3 為 G 或 S，X_4 為 D、K 或 S (序列辨識號：129)；(b)一 HVR-L2，包括胺基酸序列 $GASX_1X_2X_3S$，其中 X_1 為 K、E 或 T，X_2 為 L 或 T，X_3 為 A、H、E 或 Q (序列辨識號：130)；以及(c)一 HVR-L3，包括胺基酸序列 $QX_1TX_2VGSSYGNX_3$，其中 X_1 為 S、C、N 或 T，X_2 為 F 或 K，X_3 為 A、T 或 H (序列辨識號：131)。

5. 如申請專利範圍第 2 項所述之抗體，更包括一重鏈可變域框架 FR1，其包括序列辨識號：132-134 中任一的胺基酸序列；一 FR2，其包括序列辨識號：135-136 中任一的胺基酸序列；一 FR3，其包括序列辨識號：137-139 中任一的胺基酸序列；以及一 FR4，其包括序列辨識號：140-141 中任一的胺基酸序列。

6. 如申請專利範圍第 4 項所述之抗體，更包括一輕鏈可變域框架 FR1，其包括序列辨識號：142-143 中任一的胺基酸序列；一 FR2，其包括序列辨識號：144-145 中任一的胺基酸序列；一 FR3，其包括序列辨識號：146-147 中任一的胺基酸序列；以及一 FR4，其包括序列辨識號：148 的胺基酸序列。

7. 一種結合至 C5 的分離的抗體，包括(a)一 VH 序列，其對序

列辨識號：10及106-110中任一的胺基酸序列具有至少95%的序列相同性；(b)一VL序列，其對序列辨識號：20、111-113中任一的胺基酸序列具有至少95%的序列相同性；或(c)一如(a)所述之VH序列以及一如(b)所述之VL序列。

8. 如申請專利範圍第7項所述之抗體，包括序列辨識號：10及106-110中任一的VH序列。

9. 如申請專利範圍第7項所述之抗體，包括序列辨識號：20及111-113中任一的VL序列。

10. 一種抗體，包括序列辨識號：10及106-110中任一的VH序列，以及序列辨識號：20及111-113中任一的VL序列。

11. 如申請專利範圍第1至10項中任一項所述之抗體，其為一全長IgG1或IgG4抗體。

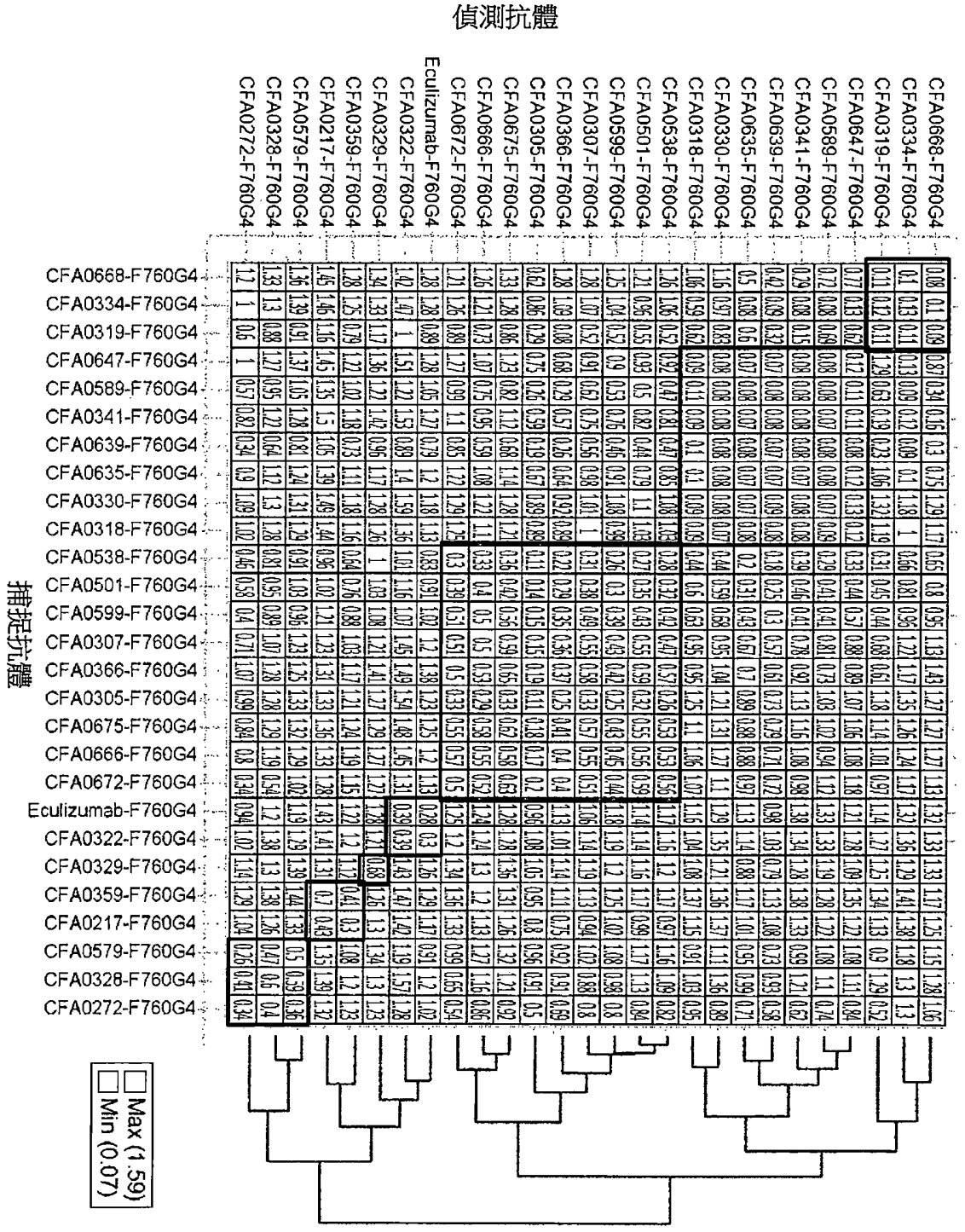
12. 一種分離的核酸，其編碼如申請專利範圍第1至11項中任一項所述之抗體。

13. 一種宿主細胞，包括如申請專利範圍第12項所述之核酸。

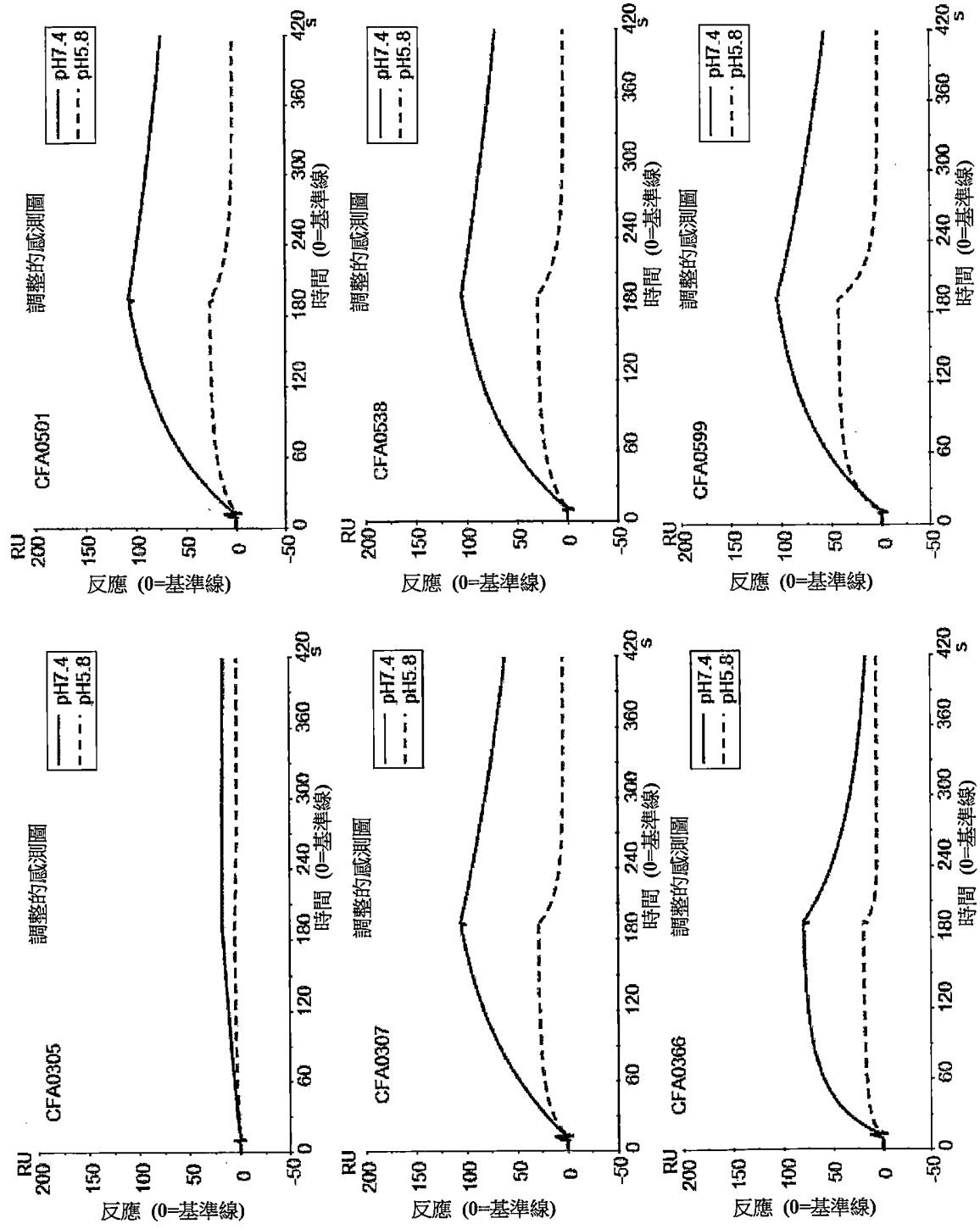
14. 一種製造抗體的方法，包括：培養如申請專利範圍第13項所述之宿主細胞，以便製造該抗體。

15. 一種醫藥配方，包括如申請專利範圍第1至11項中任一項所述之抗體以及一醫藥上可接受的載體。

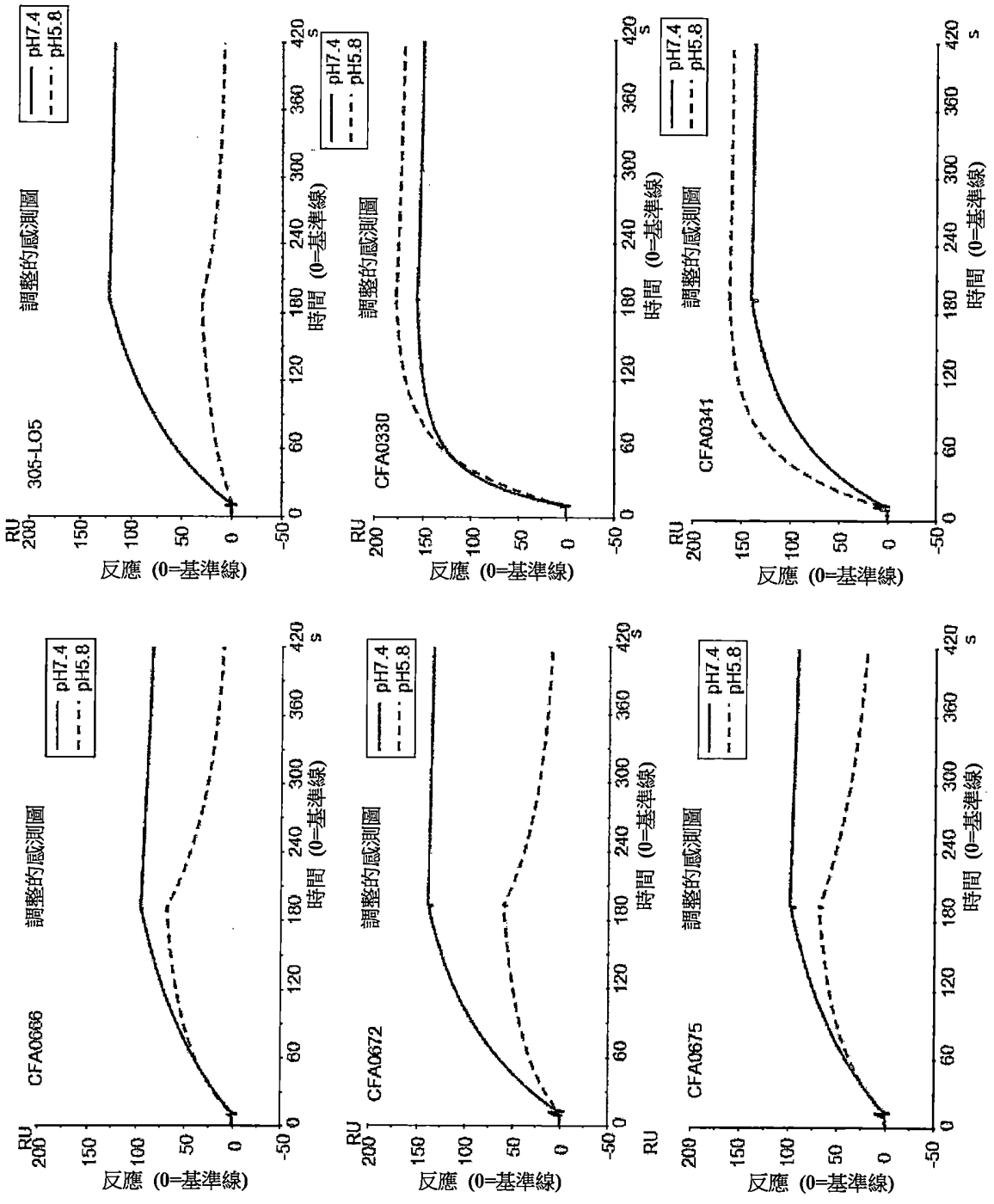
圖式


偵測抗體
捕捉抗體
CFA0668-F760G4
CFA0334-F760G4
CFA0319-F760G4
CFA0647-F760G4
CFA0589-F760G4
CFA0341-F760G4
CFA0639-F760G4
CFA0635-F760G4
CFA0330-F760G4
CFA0318-F760G4
CFA0538-F760G4
CFA0501-F760G4
CFA0599-F760G4
CFA0307-F760G4
CFA0366-F760G4
CFA0305-F760G4
CFA0675-F760G4
CFA0666-F760G4
CFA0672-F760G4
Eculizumab-F760G4
CFA0322-F760G4
CFA0329-F760G4
CFA0359-F760G4
CFA0217-F760G4
CFA0579-F760G4
CFA0328-F760G4
CFA0272-F760G4
Max (1.59)
Min (0.07)

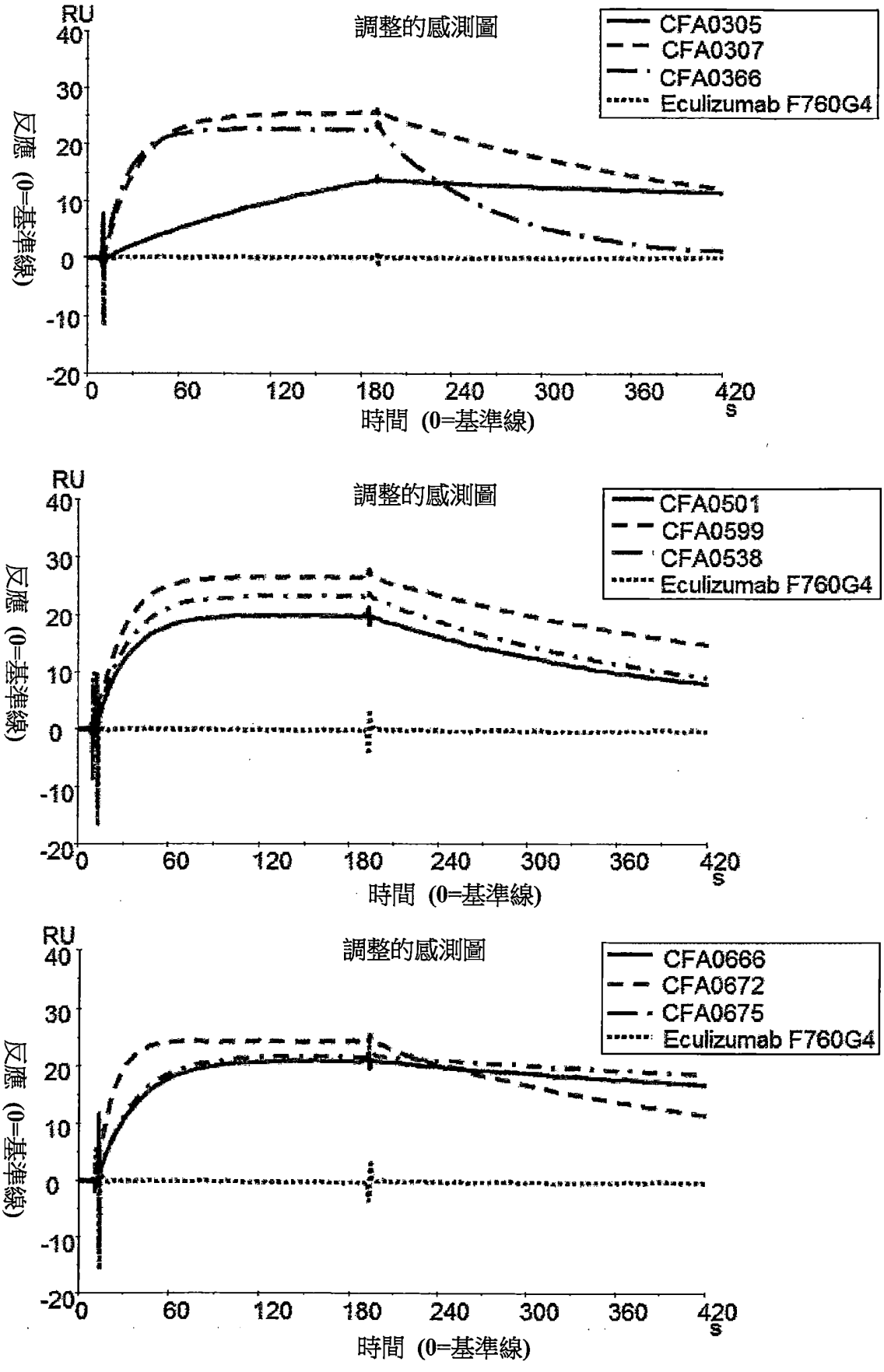
第 1 圖


CFA0501
CFA0538
CFA0599
CFA0305
CFA0307
CFA0366
調整的感測圖
pH7.4
pH5.8
RU
反應 (0=基準線)
時間 (0=基準線)
s

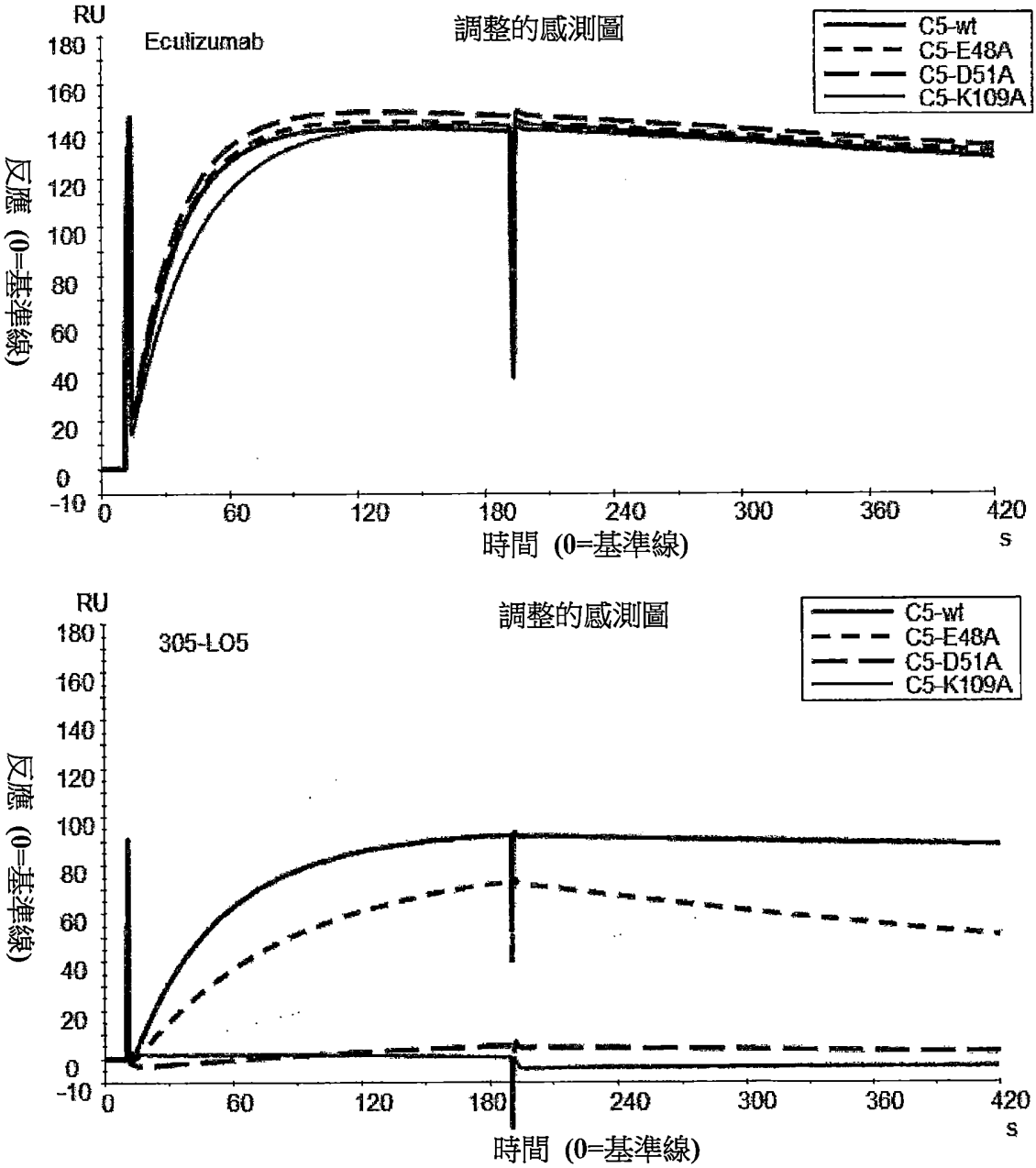
第 2A 圖


305-LO5
調整的感測圖
pH7.4
pH5.8
RU
反應 (0=基準線)
時間 (0=基準線)
CFA0330
CFA0341
CFA0686
CFA0672
CFA0675

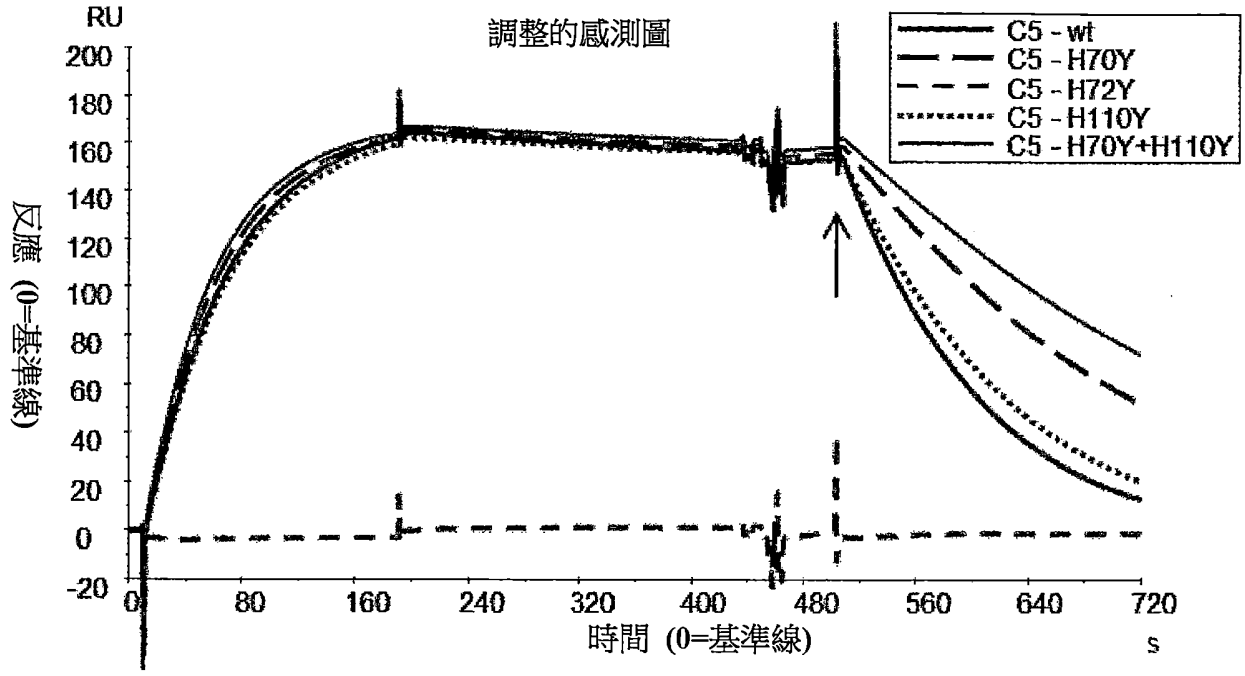
第 2B 圖


RU
調整的感測圖
CFA0305
CFA0307
CFA0366
Eculizumab F760G4
反應 (0=基準線)
時間 (0=基準線)
RU
調整的感測圖
CFA0501
CFA0599
CFA0538
Eculizumab F760G4
反應 (0=基準線)
時間 (0=基準線)
RU
調整的感測圖
CFA0666
CFA0672
CFA0675
Eculizumab F760G4
反應 (0=基準線)
時間 (0=基準線)

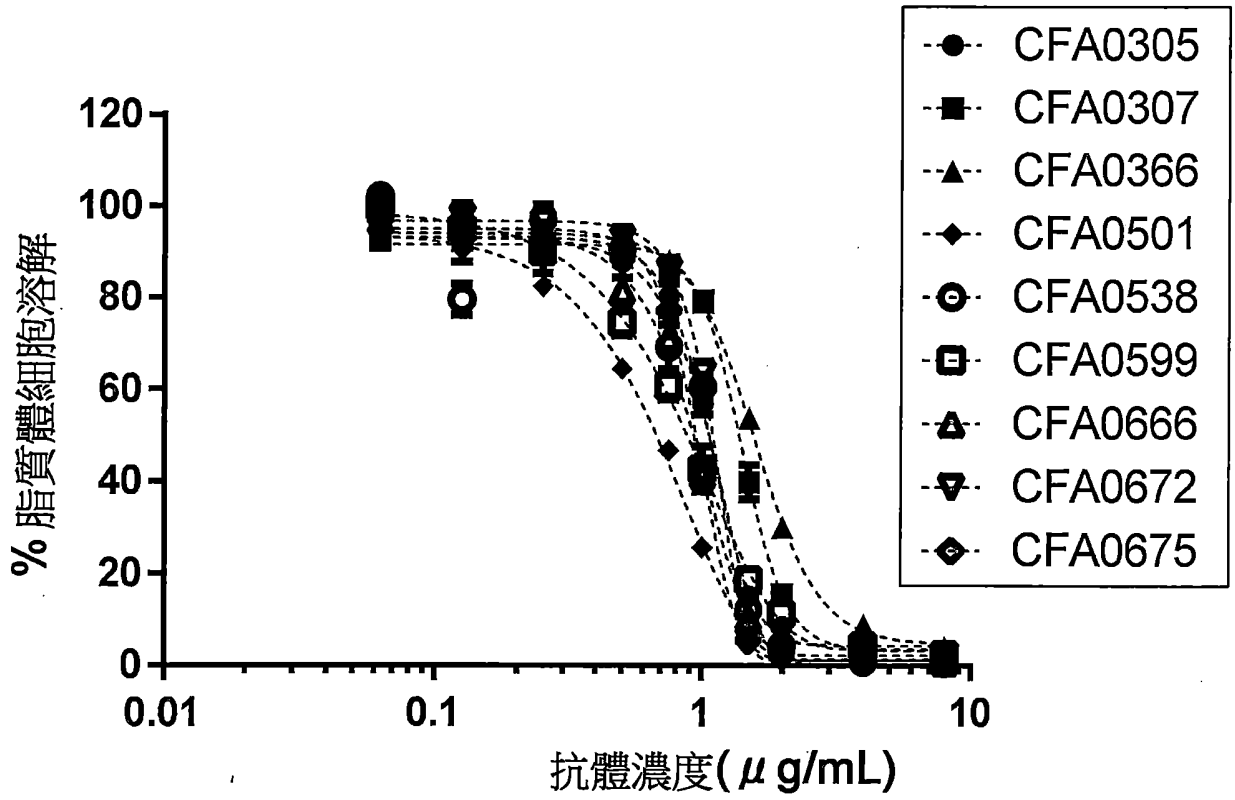
第 4 圖


RU
Eculizumab
調整的感測圖
C5-wt
C5-E48A
C5-D51A
C5-K109A
反應 (0=基準線)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-10
0
60
120
180
240
300
360
420
s
時間 (0=基準線)
RU
305-LO5
調整的感測圖
C5-wt
C5-E48A
C5-D51A
C5-K109A
反應 (0=基準線)
時間 (0=基準線)

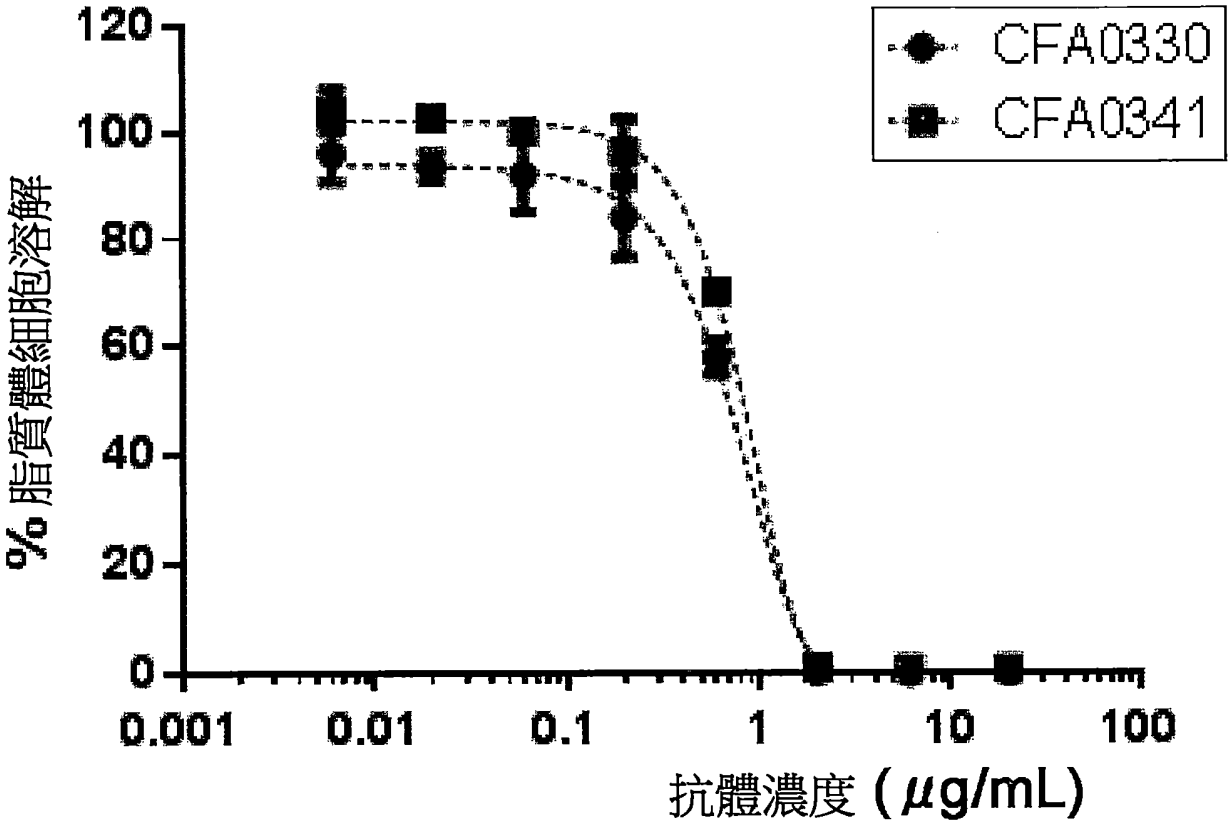
第 7 圖


調整的感測圖
RU
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
反應 (0=基準線)
0
80
160
240
320
400
480
560
640
720
時間 (0=基準線)
s
C5 - wt
C5 - H70Y
C5 - H72Y
C5 - H110Y
C5 - H70Y+H110Y

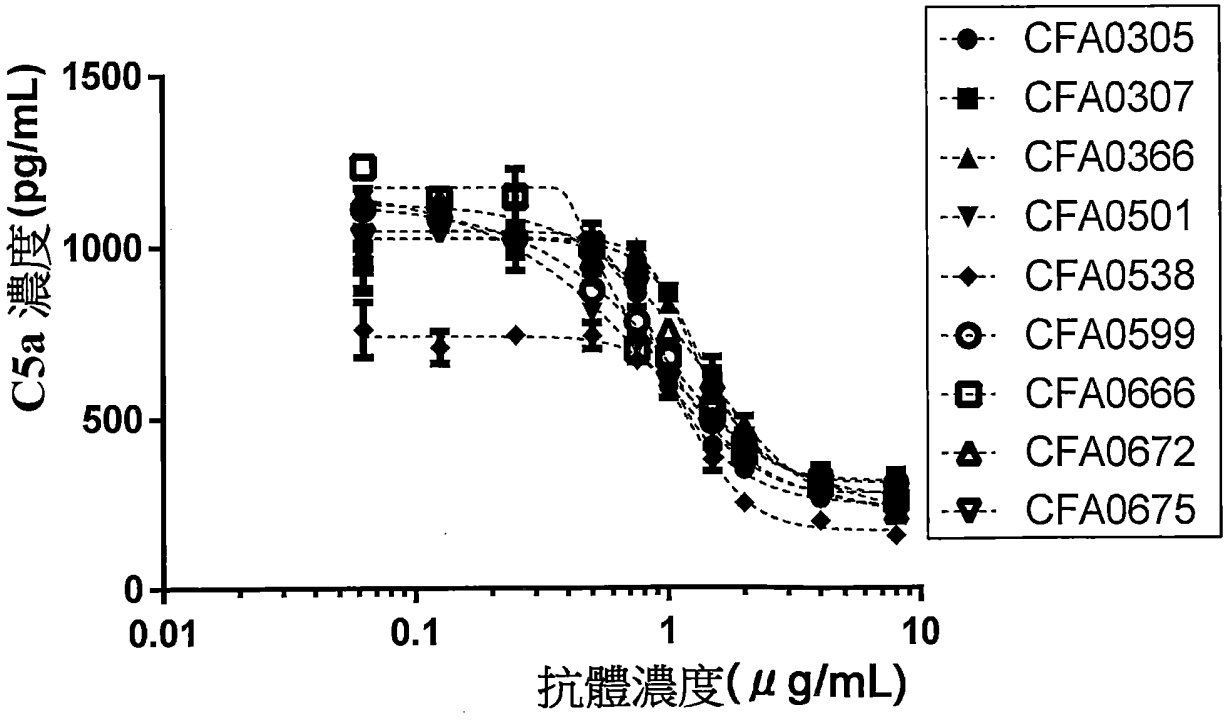
第 8 圖


% 脂質體細胞溶解
120
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
抗體濃度(μg/mL)
CFA0305
CFA0307
CFA0366
CFA0501
CFA0538
CFA0599
CFA0666
CFA0672
CFA0675

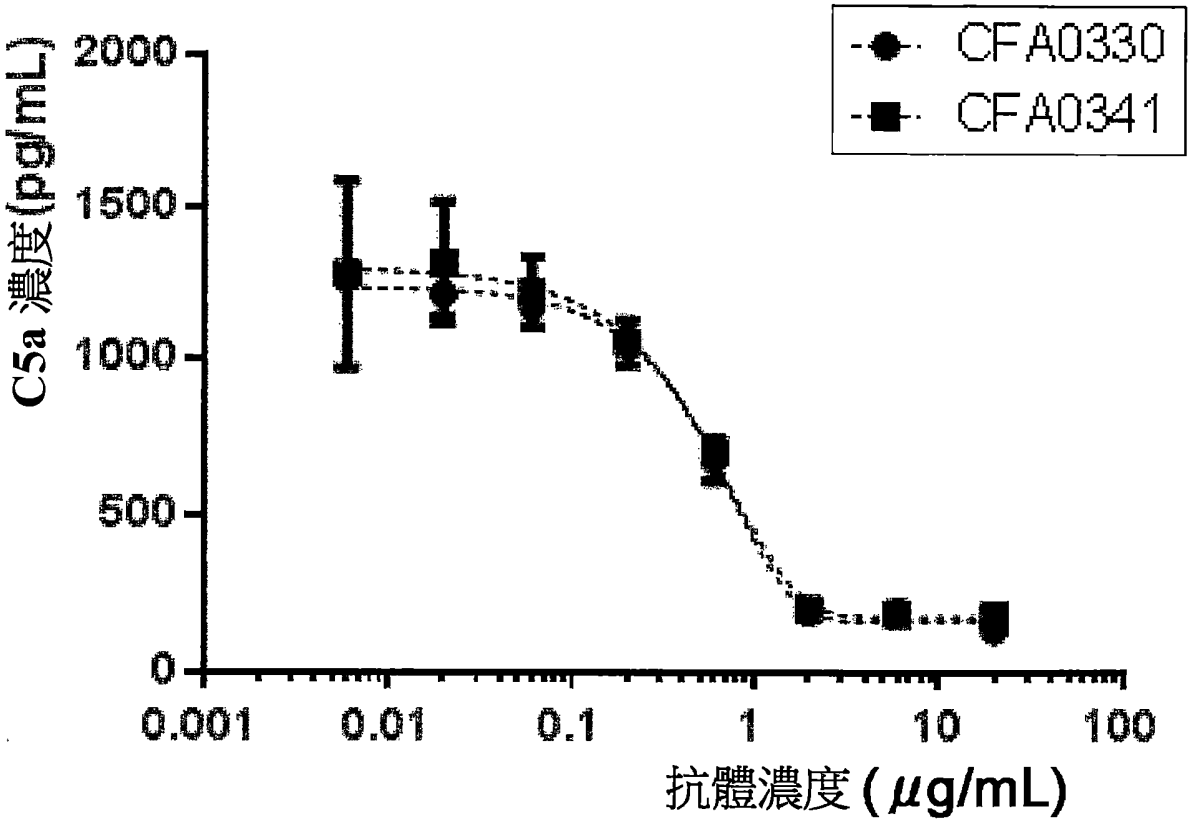
第 9A 圖


CFA0330
CFA0341
% 脂質體細胞溶解
120
100
80
60
40
20
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
抗體濃度 (μg/mL)

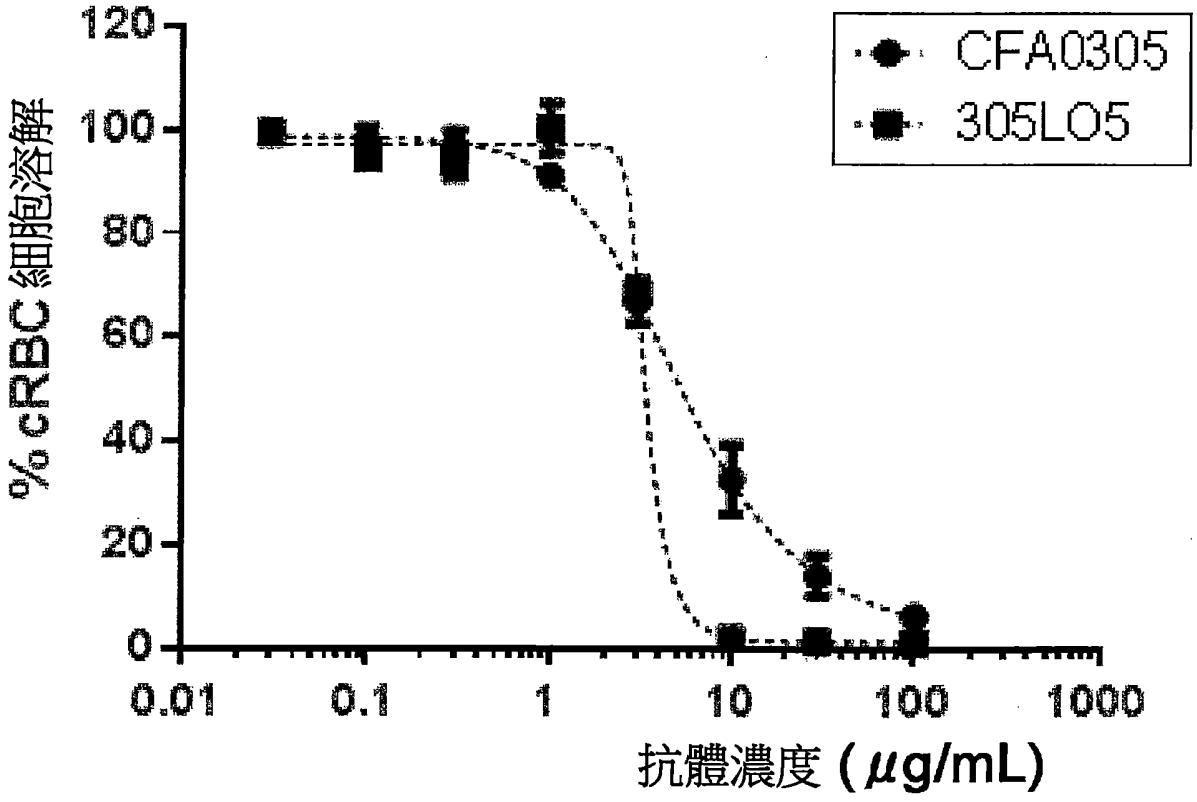
第 9B 圖


CFA0305
CFA0307
CFA0366
CFA0501
CFA0538
CFA0599
CFA0666
CFA0672
CFA0675
C5a 濃度(pg/mL)
1500
1000
500
0
0.01
0.1
1
10
抗體濃度(μg/mL)

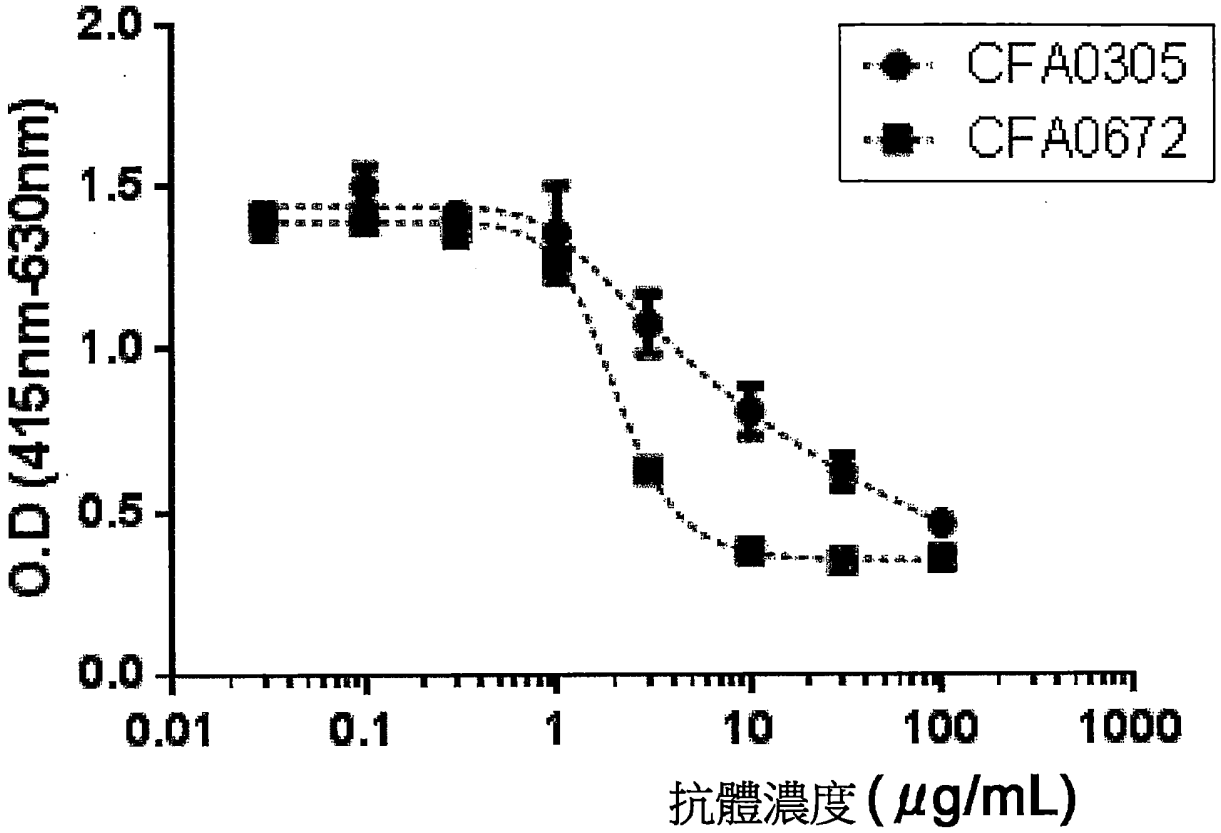
第 10A 圖


CFA0330
CFA0341
C5a 濃度(pg/mL)
2000
1500
1000
500
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
抗體濃度 (μg/mL)

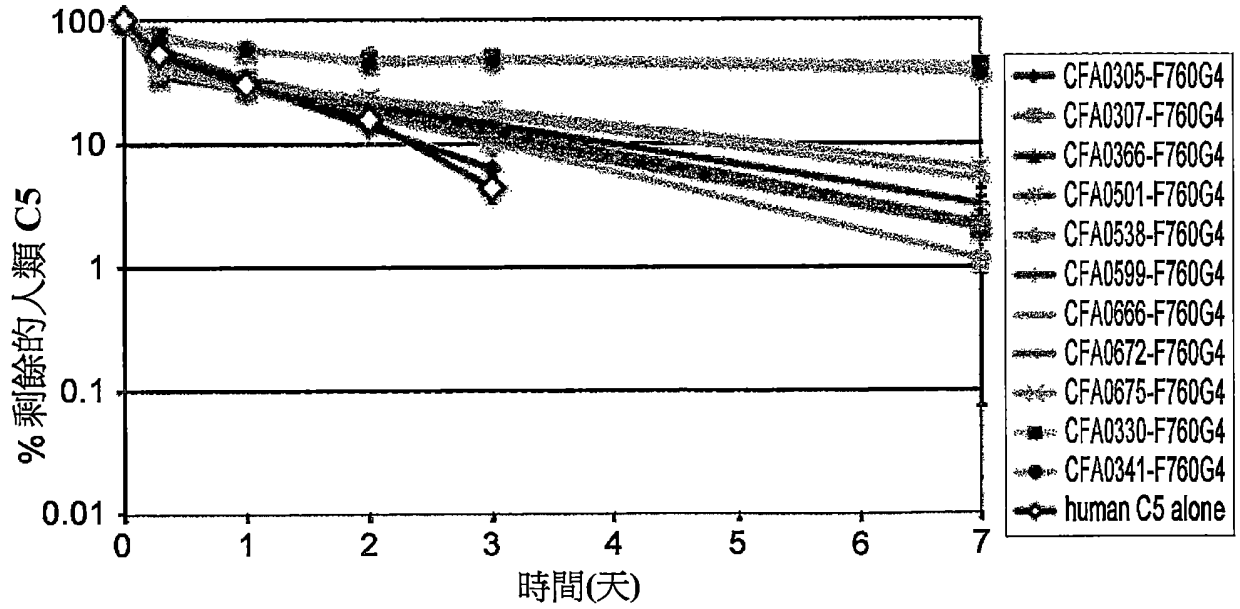
第 10B 圖


CFA0305
305LO5
% cRBC 細胞溶解
120
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
抗體濃度 (μg/mL)

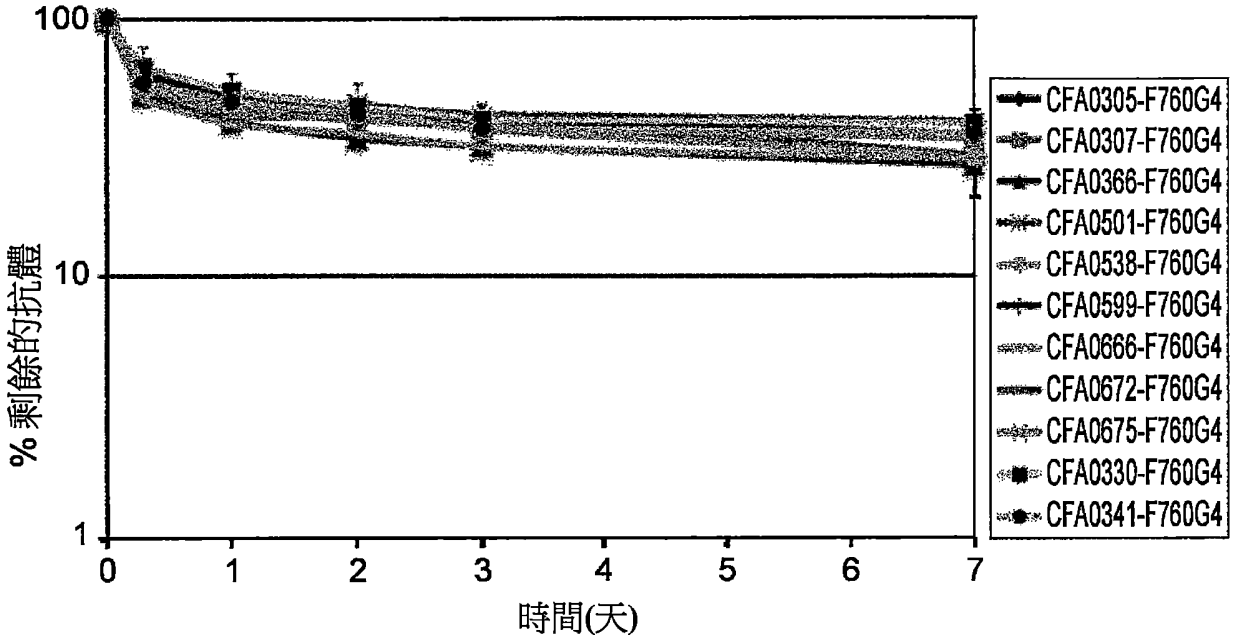
第 11 圖


CFA0305
CFA0672
O.D (415nm-630nm)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.01
0.1
1
10
100
1000
抗體濃度 (μg/mL)

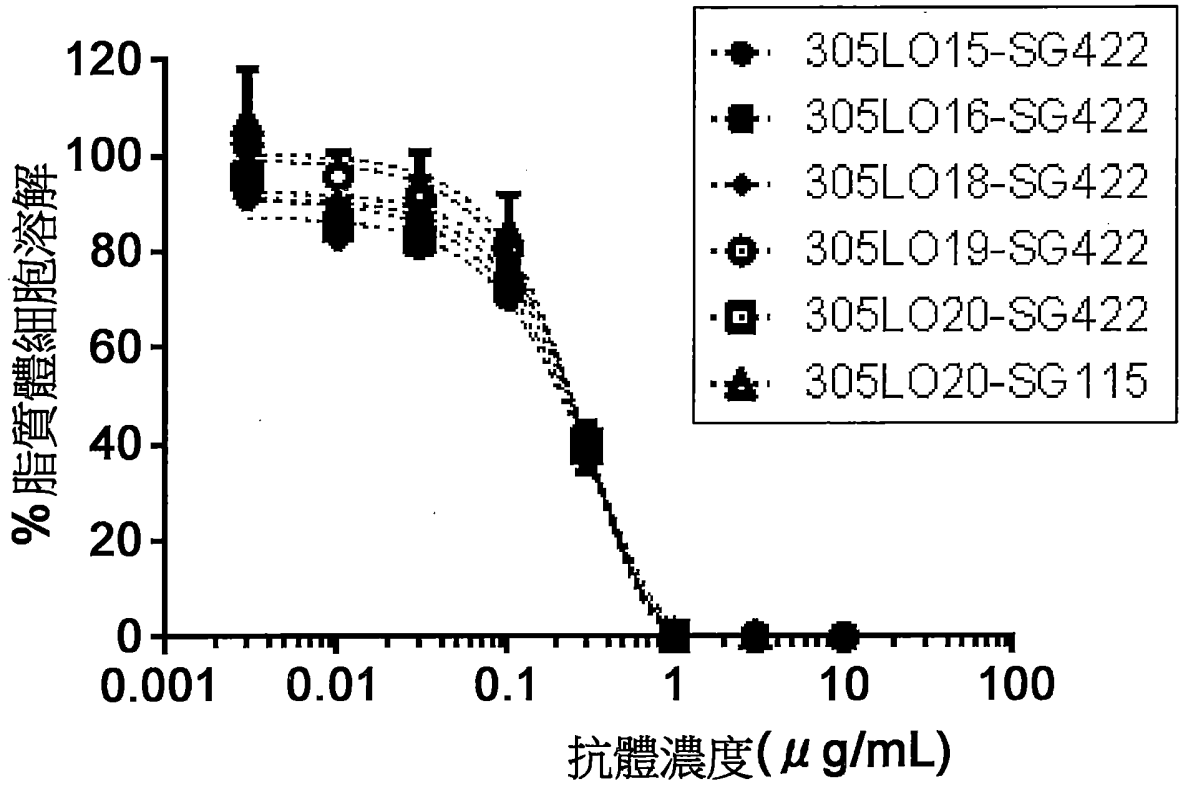
第 12 圖


% 剩餘的人類 C5
100
10
1
0.1
0.01
0
1
2
3
4
5
6
7
時間(天)
CFA0305-F760G4
CFA0307-F760G4
CFA0366-F760G4
CFA0501-F760G4
CFA0538-F760G4
CFA0599-F760G4
CFA0666-F760G4
CFA0672-F760G4
CFA0675-F760G4
CFA0330-F760G4
CFA0341-F760G4
human C5 alone

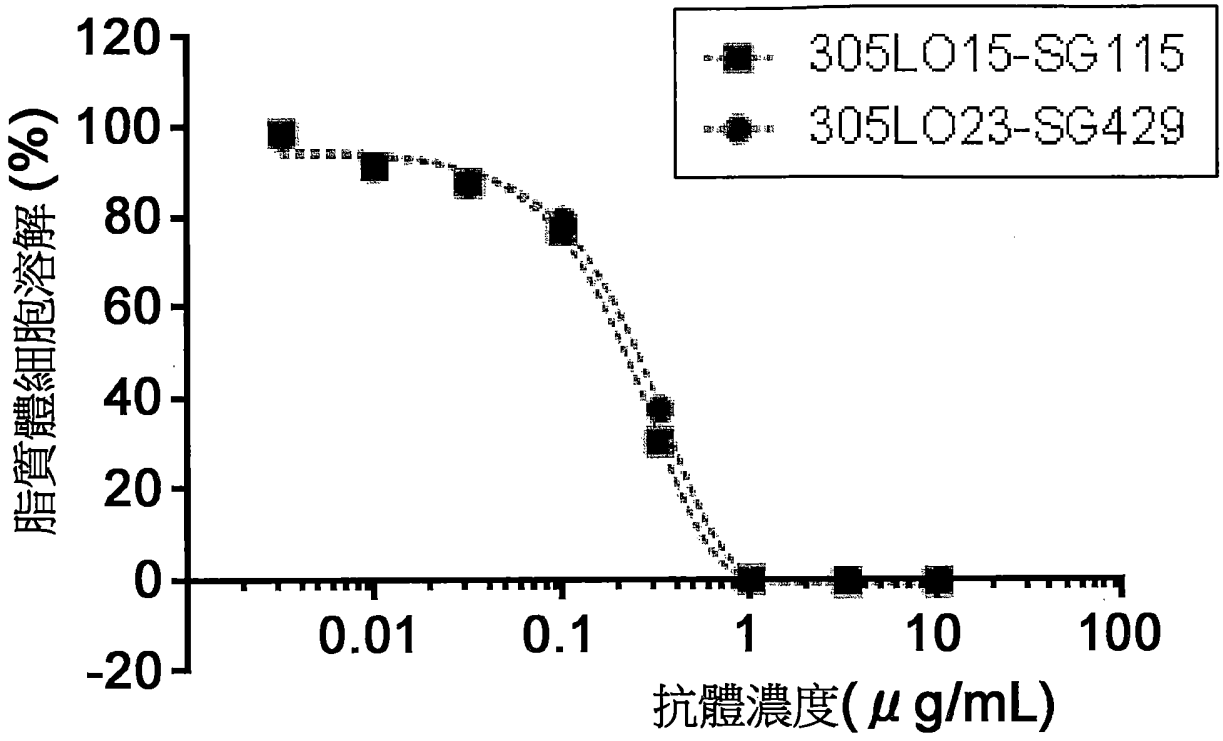
第 13 圖


100
10
1
% 剩餘的抗體
0
1
2
3
4
5
6
7
時間(天)
CFA0305-F760G4
CFA0307-F760G4
CFA0366-F760G4
CFA0501-F760G4
CFA0538-F760G4
CFA0599-F760G4
CFA0666-F760G4
CFA0672-F760G4
CFA0675-F760G4
CFA0330-F760G4
CFA0341-F760G4

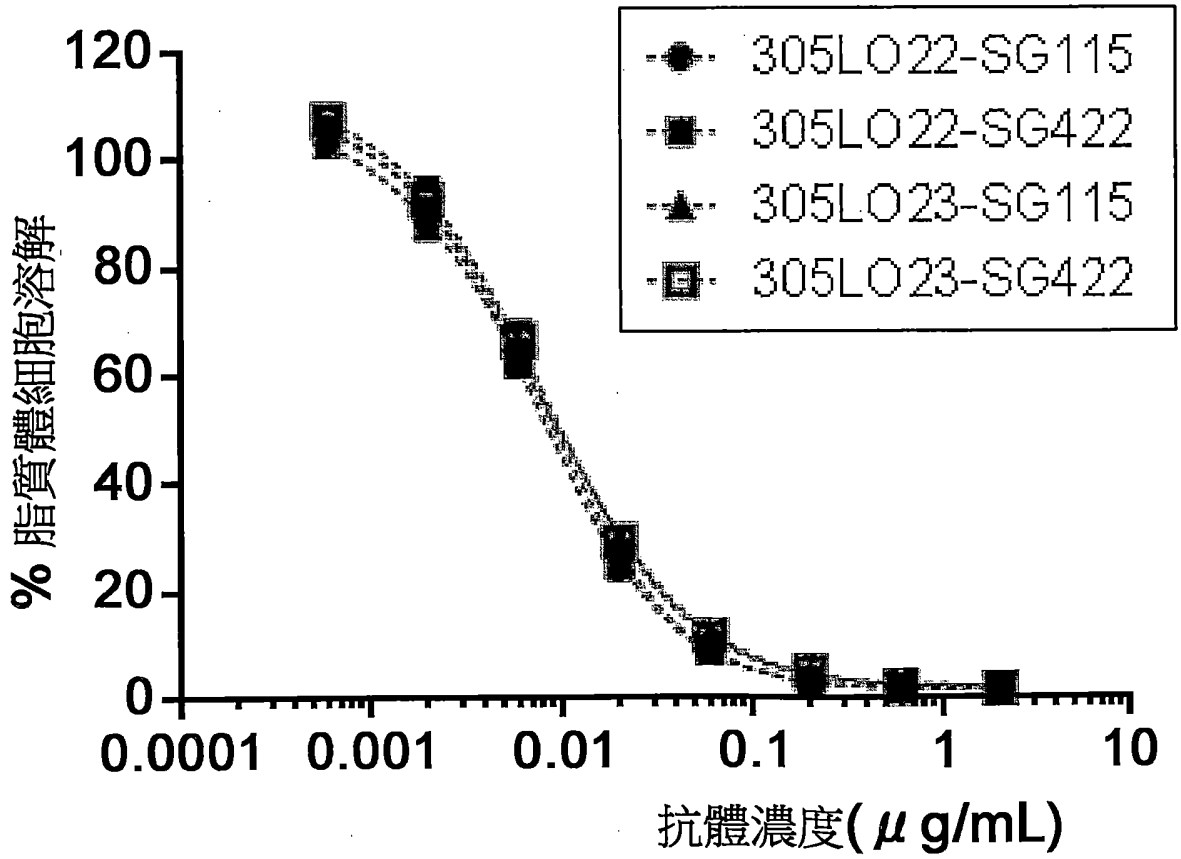
第 14 圖


120
100
80
60
40
20
0
% 脂質體細胞溶解
0.001
0.01
0.1
1
10
100
抗體濃度(μg/mL)
305LO15-SG422
305LO16-SG422
305LO18-SG422
305LO19-SG422
305LO20-SG422
305LO20-SG115

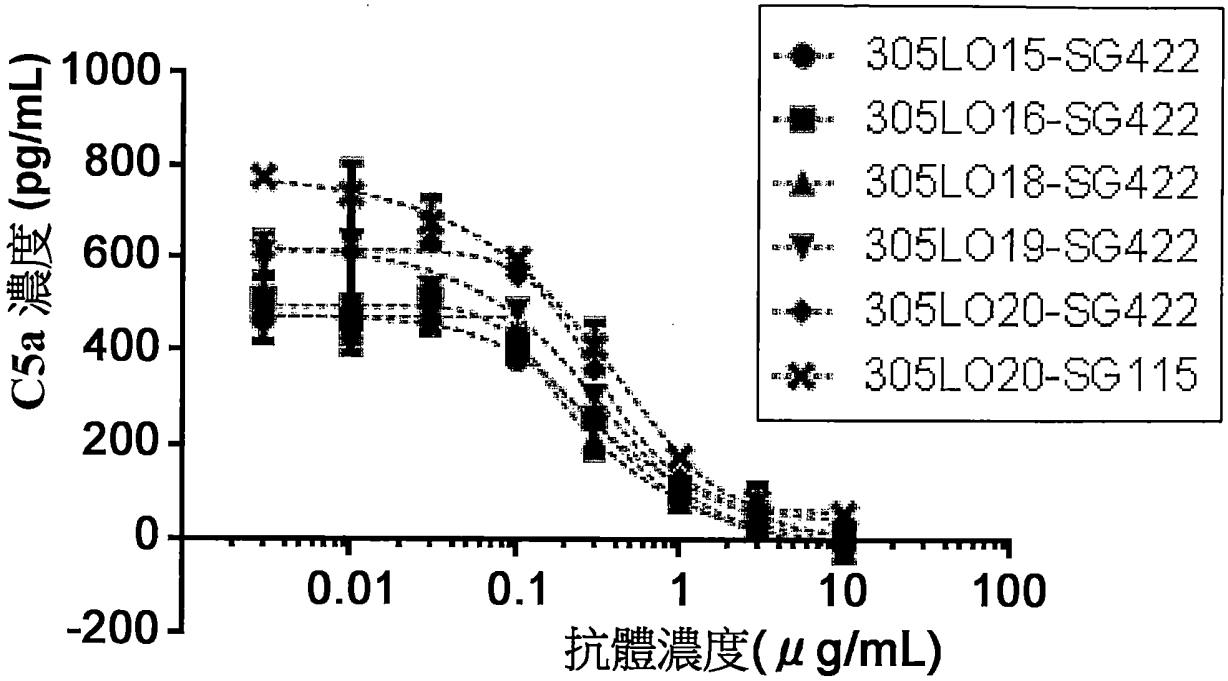
第 15 圖


305LO15-SG115
305LO23-SG429
脂質體細胞溶解 (%)
120
100
80
60
40
20
0
-20
0.01
0.1
1
10
100
抗體濃度(μg/mL)

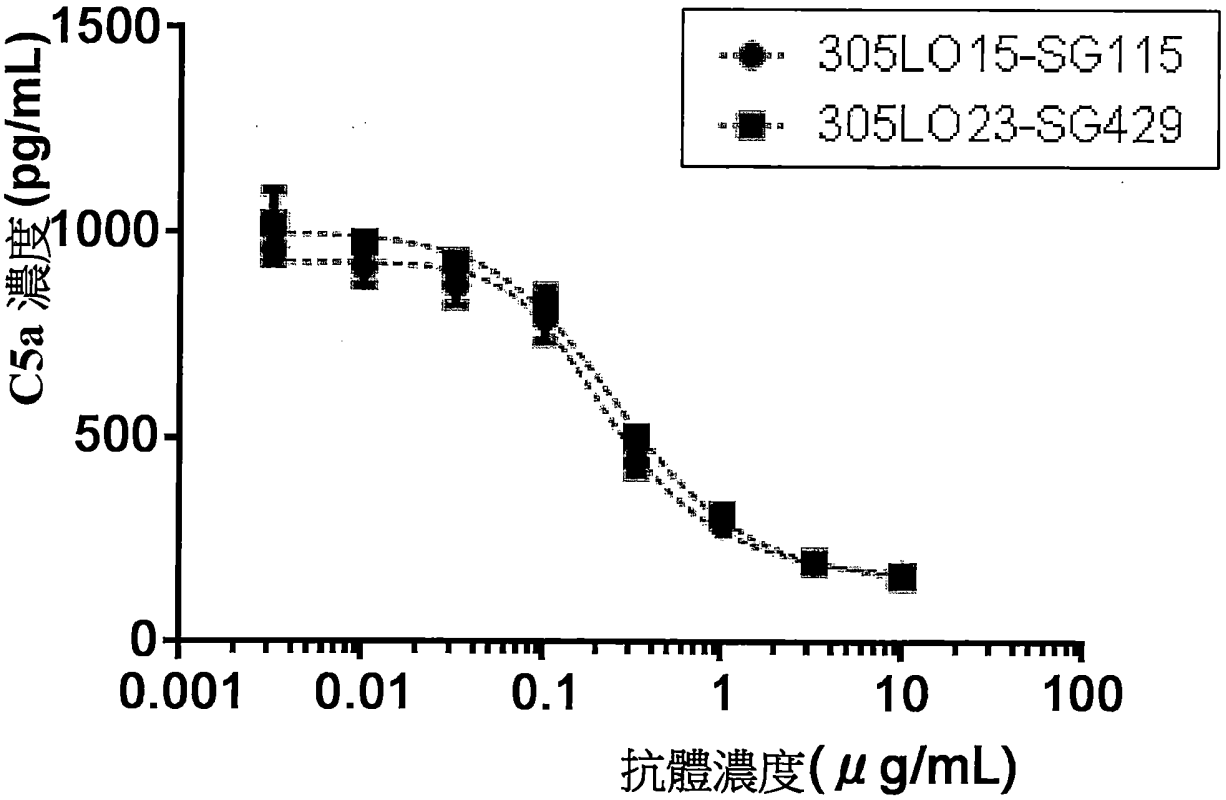
第 16 圖


305LO22-SG115
305LO22-SG422
305LO23-SG115
305LO23-SG422
% 脂質體細胞溶解
120
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
抗體濃度(μg/mL)

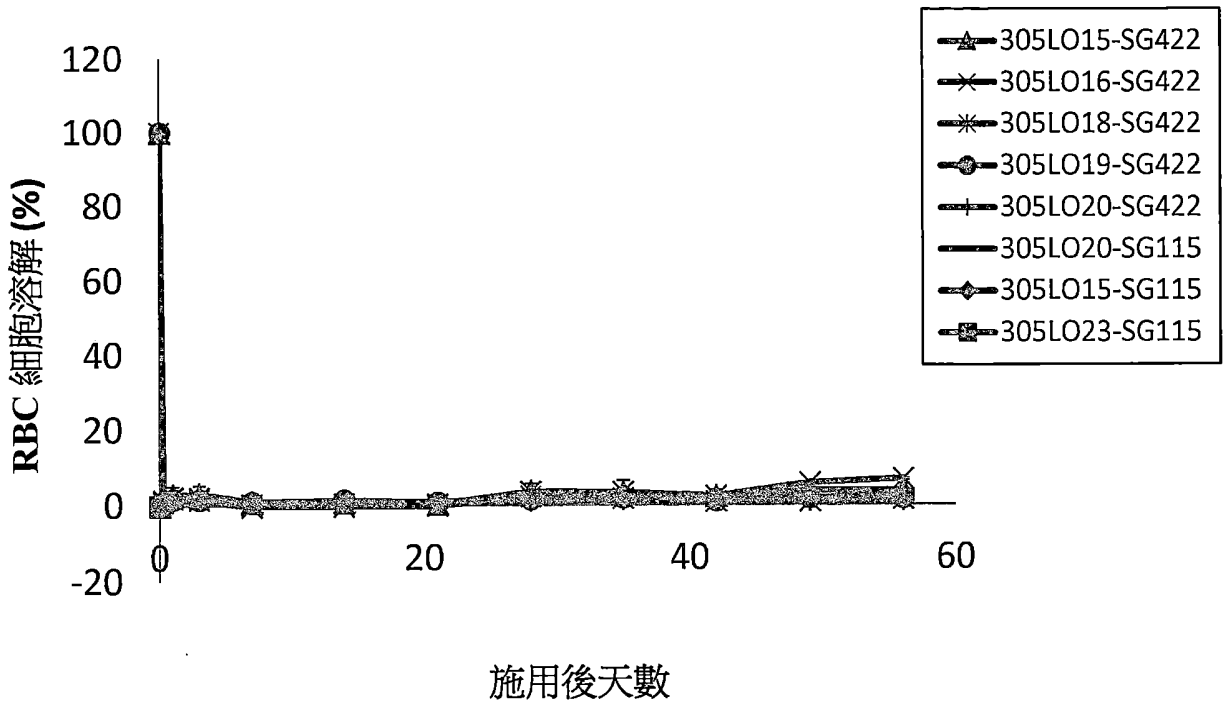
第 17 圖


C5a 濃度 (pg/mL)
1000
800
600
400
200
0
-200
0.01
0.1
1
10
100
抗體濃度(μg/mL)
305LO15-SG422
305LO16-SG422
305LO18-SG422
305LO19-SG422
305LO20-SG422
305LO20-SG115

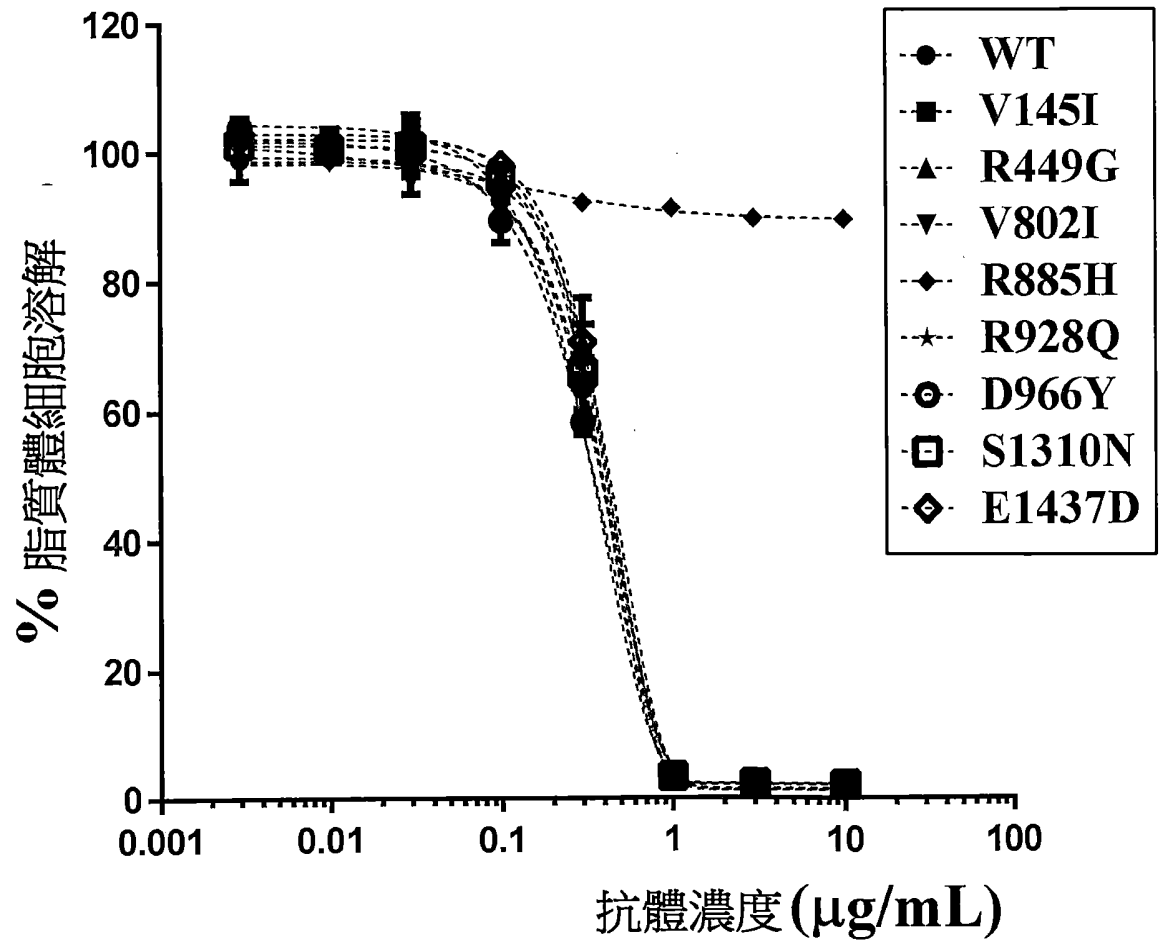
第 18 圖


C5a 濃度 (pg/mL)
1500
1000
500
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
抗體濃度(μg/mL)
305LO15-SG115
305LO23-SG429

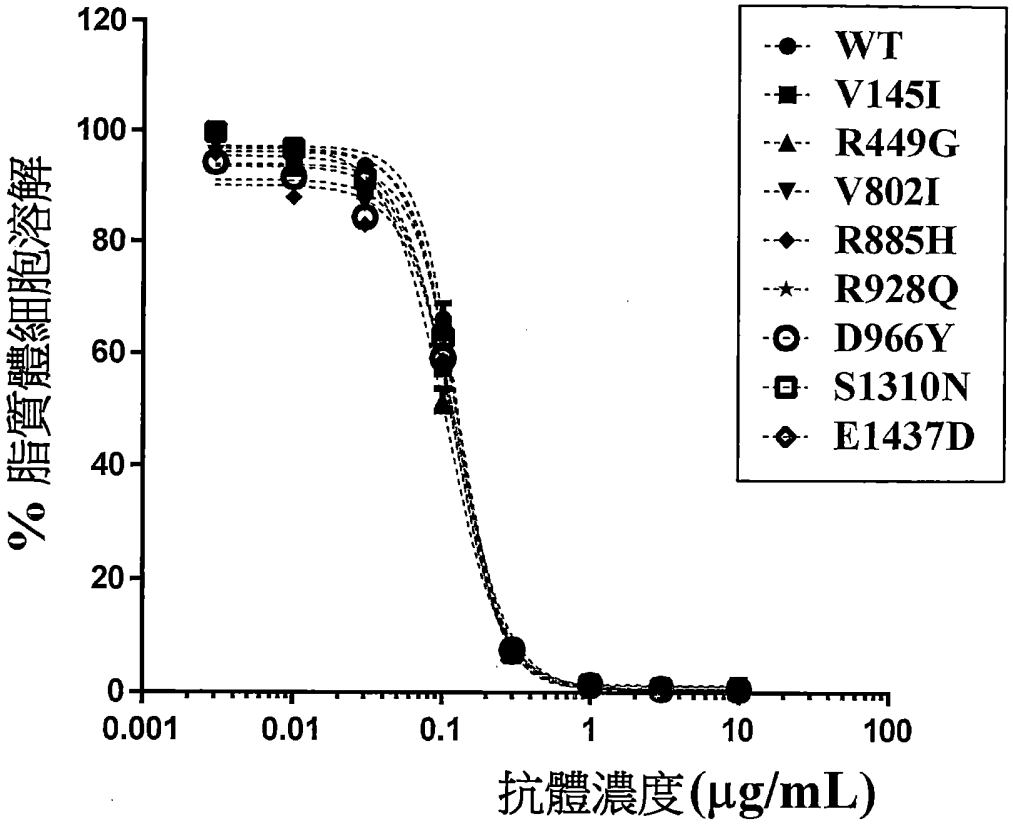
第 19 圖


120
100
80
60
40
20
0
-20
0
20
40
60
RBC 細胞溶解 (%)
施用後天數
305LO15-SG422
305LO16-SG422
305LO18-SG422
305LO19-SG422
305LO20-SG422
305LO20-SG115
305LO15-SG115
305LO23-SG115

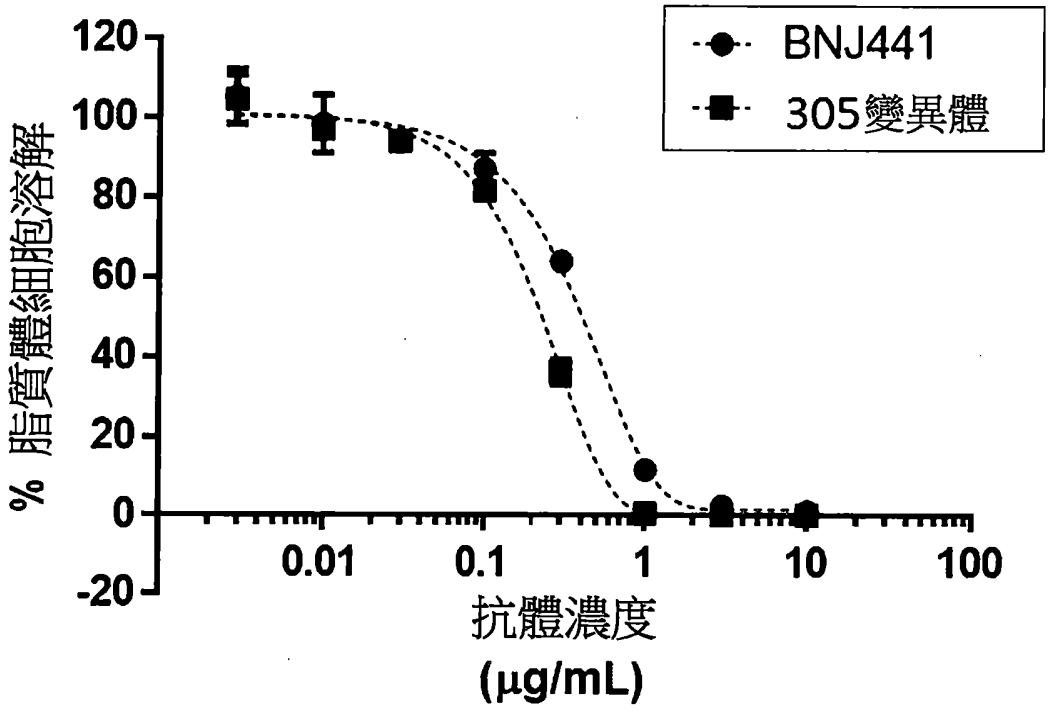
第 20 圖


120
100
80
60
40
20
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
% 脂質體細胞溶解
抗體濃度 (μg/mL)
WT
V145I
R449G
V802I
R885H
R928Q
D966Y
S1310N
E1437D

第 21 圖


120
100
80
60
40
20
0
% 脂質體細胞溶解
0.001
0.01
0.1
1
10
100
抗體濃度(μg/mL)
WT
V145I
R449G
V802I
R885H
R928Q
D966Y
S1310N
E1437D

第 22 圖


120
100
80
60
40
20
0
-20
% 脂質體細胞溶解
0.01
0.1
1
10
100
抗體濃度
(μg/mL)
BNJ441
305變異體

第 23 圖