I778018

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I778018 B**

(45)公告日： 中華民國 111 (2022) 年 09 月 21 日

(21)申請案號：107104821 (22)申請日： 中華民國 107 (2018) 年 02 月 09 日

(51)Int. Cl.： ***C07K16/28 (2006.01)***

(30)優先權：2017/02/10 美國 62/457,722

(71)申請人：美商建南德克公司 (美國) GENENTECH, INC. (US)
美國

(72)發明人：陳 曉誠 CHEN, XIAOCHENG (US)；丹尼斯 馬克 DENNIS, MARK (US)；傑克曼 珍妮特 JACKMAN, JANET (US)；柯柏 詹姆士 T KOERBER, JAMES T. (US)；陸梅生 LU, MASON (US)；馬翁 亨利 R MAUN, HENRY R. (DE)；拉賈帕克沙 凱西拉 RAJAPAKSA, KATHILA (US)；拉門珍 薩羅潔 RAMANUJAN, SAROJA (US)；史戴頓 崔西 STATON, TRACY (US)；吳 羅倫 WU, LAWREN (US)；易唐盛 YI, TANGSHENG (CN)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 5,744,319A

期刊 Yoshihiro Fukuoka et al., The B12 anti-tryptase monoclonal antibody disrupts the tetrameric structure of heparin-stabilized beta-tryptase to form monomers that are inactive at neutral pH and active at acidic pH. The Journal of Immunology. 2006 Mar 1; 176(5): 3165-3172. doi: 10.4049/jimmunol.176.5.3165.

期刊 A F Walls et al., Production and characterization of monoclonal antibodies specific for human mast cell tryptase. Clinical & Experimental Allergy. 1990 Sep; 20(5): 581-589. doi: 10.1111/j.1365-2222.1990.tb03153.x.

期刊 George H Caughey et al., Mast cell tryptases and chymases in inflammation and host defense. Immunological reviews. 2007 Jun; 217: 141-154. doi: 10.1111/j.1600-065X.2007.00509.x.

期刊 Catherine Overed-Sayer et al., Are mast cells instrumental for fibrotic diseases?.Frontiers in PHARMACOLOGY.2014 Jan 21; 4:174.p1-10.doi: 10.3389/fphar.2013.00174. eCollection 2013.

審查人員：吳淑君

申請專利範圍項數：28 項 圖式數：19 共 360 頁

(54)名稱

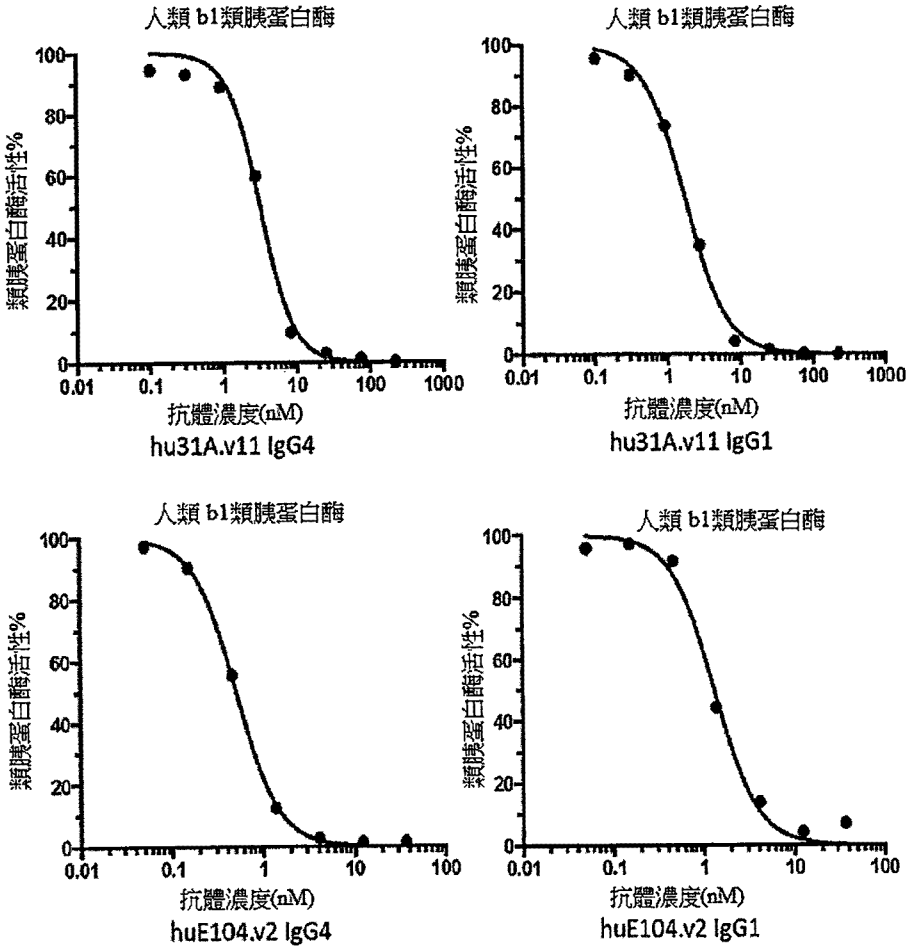
抗類胰蛋白酶抗體、其組合物及其用途

(57)摘要

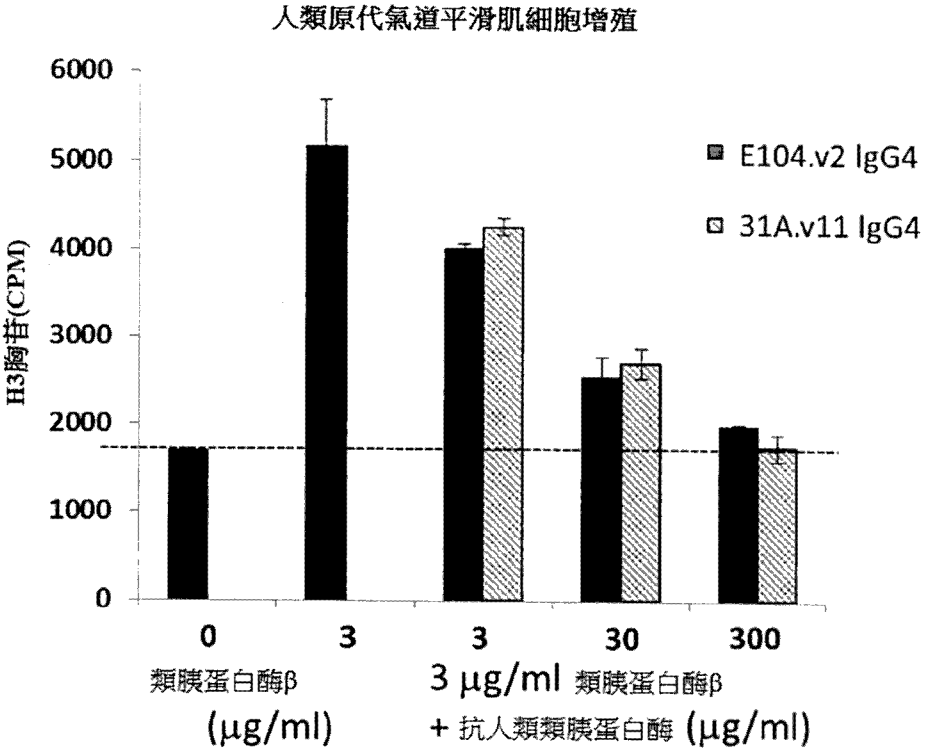
本發明提供包括抗類胰蛋白酶抗體之組合物及其醫藥組合物，以及其使用方法。

The invention provides compositions including anti-tryptase antibodies and pharmaceutical compositions thereof, as well as methods of using the same.

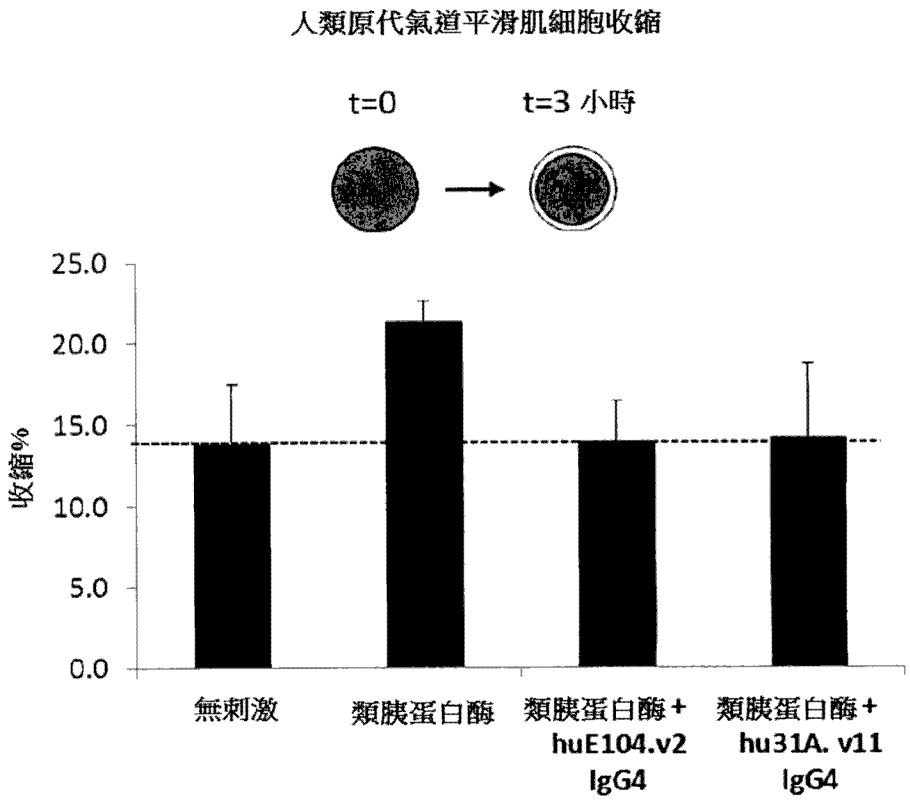
指定代表圖：


人類 b1類胰蛋白酶
類胰蛋白酶活性%
抗體濃度(nM)
hu31A.v11 IgG4
人類 b1類胰蛋白酶
類胰蛋白酶活性%
抗體濃度(nM)
hu31A.v11 IgG1
人類 b1類胰蛋白酶
類胰蛋白酶活性%
抗體濃度(nM)
huE104.v2 IgG4
人類 b1類胰蛋白酶
類胰蛋白酶活性%
抗體濃度(nM)
huE104.v2 IgG1

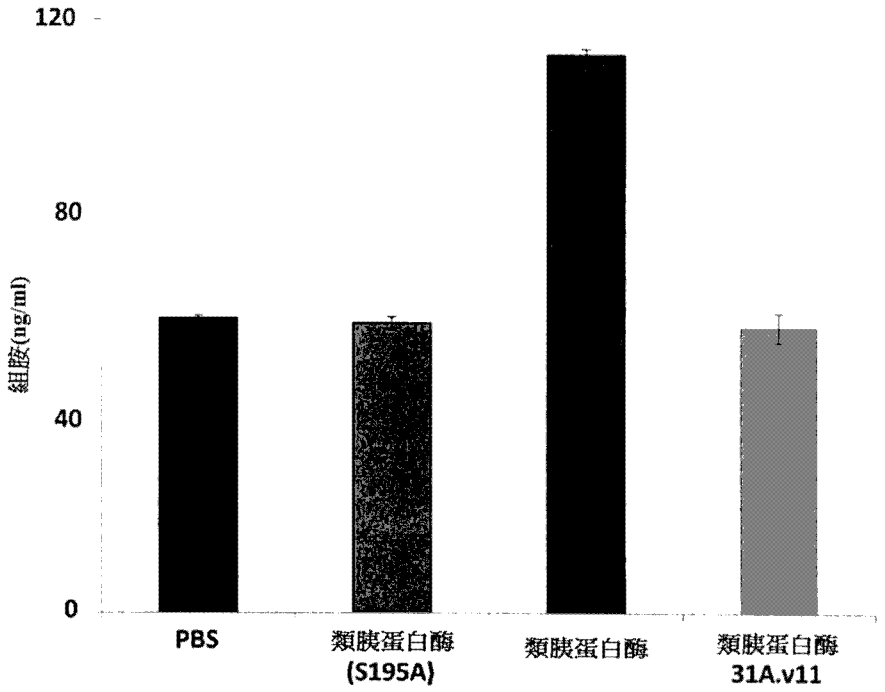
【圖 2A】


人類原代氣道平滑肌細胞增殖
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
H3胸苷(CPM)
E104.v2 IgG4
31A.v11 IgG4
0
3
3
30
300
類胰蛋白酶β
(μg/ml)
3 μg/ml 類胰蛋白酶β
+ 抗人類類胰蛋白酶 (μg/ml)

【圖 2B】


人類原代氣道平滑肌細胞收縮
t=0
t=3 小時
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
收縮%
無刺激
類胰蛋白酶
類胰蛋白酶+ huE104.v2 IgG4
類胰蛋白酶+ hu31A. v11 IgG4

【圖 2C】



【圖 2D】

I778018

【發明摘要】

【中文發明名稱】抗類胰蛋白酶抗體、其組合物及其用途

【英文發明名稱】ANTI-TRYPTASE ANTIBODIES, COMPOSITIONS THEREOF, AND USES THEREOF

【中文】

本發明提供包括抗類胰蛋白酶抗體之組合物及其醫藥組合物，以及其使用方法。

【英文】

The invention provides compositions including anti-tryptase antibodies and pharmaceutical compositions thereof, as well as methods of using the same.

【指定代表圖】圖 2A-2D

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】抗類胰蛋白酶抗體、其組合物及其用途

【英文發明名稱】ANTI-TRYPTASE ANTIBODIES, COMPOSITIONS THEREOF, AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】　本發明係關於抗類胰蛋白酶抗體、醫藥組合物及其使用方法。

【先前技術】

【0002】　人類類胰蛋白酶 β 係胰蛋白酶樣絲胺酸蛋白酶，其在肥大細胞中豐富且在嗜鹼性球中含量相對較少。由 *TPSAB1* 及 *TPSB2* 基因座產生之人類類胰蛋白酶β (其存在三種亞型，亦即類胰蛋白酶β1、類胰蛋白酶β2 及類胰蛋白酶β3)係由人類肥大細胞所產生之主要活性類胰蛋白酶。該兩個基因座產生四種類胰蛋白酶同種型；*TPSAB1* 產生類胰蛋白酶 α 及類胰蛋白酶 β1，而 *TPSB2* 產生類胰蛋白酶 β2 及類胰蛋白酶 β3。類胰蛋白酶 α 以及其他同種型(例如類胰蛋白酶 γ、類胰蛋白酶 δ 及類胰蛋白酶 ε)大部分無活性。

【0003】　以蛋白水解方式處理之活性類胰蛋白酶 β 作為與肝素複合之四聚體儲存在肥大細胞之分泌顆粒中。可由 IgE 依賴性刺激(例如，過敏原)或非 IgE 依賴性刺激(例如，物質 P 或活性類胰蛋白酶)引起之肥大細胞脫粒導致類胰蛋白酶 β 以及其他顆粒酶及組胺之釋放。先前研究已觀察到氣喘患者之支氣管平滑肌及上皮中肥大細胞數量增加，以及支氣管肺泡灌洗流體中類胰蛋白酶 β 之含量增加。另外，類胰蛋白酶引起氣道支氣管收縮及高反應性，且已表明在纖維化及細胞外基質更新中起作用，其為氣道重塑過程之標誌。

【0004】　已表明類胰蛋白酶參與各種疾病及病症，包括氣喘及其他肺部、發炎性、自體免疫及纖維變性病症，該等病症仍需要改良之治療劑，包括治療性抗類胰蛋白酶拮抗劑及治療方法。業內已嘗試研發小分子類胰蛋白酶抑制劑(參

見例如 Cairns, J.A., 2005, *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 18:55-66)；然而，據吾人所知，尚未報導生物學類胰蛋白酶拮抗性治療劑、尤其抗類胰蛋白酶拮抗性抗體。

【發明內容】

【0005】 本發明係關於抗類胰蛋白酶抗體及其醫藥組合物，以及其使用方法。

【0006】 在一態樣中，本發明之特徵在於結合至人類類胰蛋白酶 β1 之經分離之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含以下 6 個超變區(HVR)：(a) HVR-H1，其包含 DYGMV (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 RNYDDWYFDV (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體係由包含 SEQ ID NO: 7、2、8、4、5 及 6 之胺基酸序列之 6 個 HVR 所界定。在一些實施例中，該抗體在輕鏈可變(VL)結構域框架區 L2 (FR-L2) (Kabat 編號)中進一步包含 S43、P46 及 W47。在一些實施例中，該抗體包含(a) 重鏈可變(VH)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%序列一致性之胺基序列；(b) 輕鏈可變(VL)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%一致性之胺基酸序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下 VH 結構域框架區(FR)：(a) FR-H1，其包含 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO: 11)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含 WVRQAPGKGLEWVA (SEQ ID NO: 12)之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含 RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTR (SEQ ID NO: 13)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGQGTLVTVSS (SEQ ID

NO: 14)之胺基酸序列。在一些實施例中，VH結構域包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下VL結構域FR：(a) FR-L1，其包含 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 15)之胺基酸序列；(b) FR-L2，其包含 WYQQKPGKSPKPWIY (SEQ ID NO: 16)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 17)之胺基酸序列；及(d) FR-L4，其包含FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 18)之胺基酸序列。在一些實施例中，VL結構域包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含SEQ ID NO: 76之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含SEQ ID NO: 77之胺基酸序列之輕鏈。在其他實施例中，該抗體包含(a) 包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含SEQ ID NO: 79之胺基酸序列之輕鏈。

【0007】　在另一態樣中，本發明之特徵在於結合至人類類胰蛋白酶β1之經分離之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含(a) VH結構域，其包含與SEQ ID NO: 9之胺基酸序列具有至少90%、至少95%或至少99%序列一致性之胺基酸序列及(b) VL結構域，其包含與SEQ ID NO: 10之胺基酸序列具有至少90%、至少95%或至少99%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含含有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之VH結構域及含有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之VL結構域。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含SEQ ID NO: 76之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含SEQ ID NO: 77之胺基酸序列之輕鏈。在其他實施例中，該抗體包含(a) 包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含SEQ ID NO: 79之胺基酸序列之輕鏈。

【0008】　在另一態樣中，本發明之特徵在於經分離之抗體，其包含(a) 包含SEQ ID NO: 76之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含SEQ ID NO: 77之胺基酸序列之輕鏈。

【0009】 在另一態樣中，本發明之特徵在於經分離之抗體，其包含(a) 包含SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列之輕鏈。

【0010】 在另一態樣中，本發明之特徵在於結合至人類類胰蛋白酶 β1 之經分離之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含以下 6 個 HVR：(a) HVR-H1，其包含 DYGMV (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 RDNYDWYFDV (SEQ ID NO: 29)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下 VH 結構域 FR：(a) FR-H1，其包含 EVKLVESGGGSVQPGGSRKLSCAASGFTFS (SEQ ID NO: 21)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含 WVRQAPGKGLEWVA (SEQ ID NO: 22)之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含 RFTISRDNPKNTLFLQMSSLRSEDTAMYYCAR (SEQ ID NO: 23)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGTGTTVTVSS (SEQ ID NO: 24)之胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下 VL 結構域 FR：(a) FR-L1，其包含 QIVLTQSPAIMSASPGEKVTISC (SEQ ID NO: 25)之胺基酸序列；(b) FR-L2，其包含 WYQQKPGSSPKPWIY (SEQ ID NO: 26)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含 GVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC (SEQ ID NO: 27)之胺基酸序列；及(d) FR-L4，其包含 FGAGTKLELK (SEQ ID NO: 28)之胺基酸序列。在一些實施例中，VL 結構域包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列。

【0011】 在另一態樣中，本發明之特徵在於結合至人類類胰蛋白酶 β1 之經分離之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含(a) VH 結構域，其包含與 SEQ ID

NO: 19 之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%序列一致性之胺基序列；(b) VL 結構域，其包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下 VH 結構域 FR：(a) FR-H1，其包含 EVKLVESGGGSVQPGGSRKLSCAASGFTFS (SEQ ID NO: 21)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含 WVRQAPGKGLEWVA (SEQ ID NO: 22) 之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含 RFTISRDNPKNTLFLQMSSLRSEDTAMYYCAR (SEQ ID NO: 23)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGTGTTVTVSS (SEQ ID NO: 24)之胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下 VL 結構域 FR：(a) FR-L1，其包含 QIVLTQSPAIMSASPGEKVTISC (SEQ ID NO: 25)之胺基酸序列；(b) FR-L2，其包含 WYQQKPGSSPKPWIY (SEQ ID NO: 26)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含 GVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC (SEQ ID NO: 27)之胺基酸序列；及(d) FR-L4，其包含 FGAGTKLELK (SEQ ID NO: 28)之胺基酸序列。在一些實施例中，VL 結構域包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列。

【0012】 在另一態樣中，本發明之特徵在於結合至人類類胰蛋白酶 β1 之經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含(a) VH 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性之胺基酸序列及(b) VL 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性之胺基酸序列。

【0013】 在前述態樣中之任一者之一些實施例中，該抗體結合至人類類胰蛋白酶 β1 上之表位，該表位包含至少一個、至少兩個、至少三個或全部四個選自由 SEQ ID NO: 71 之 His51、Val80、Lys81 及 Asp82 組成之群之殘基。在一些實施例中，該抗體結合至人類類胰蛋白酶 β1 上之表位，該表位包含至少一個、至少兩個、至少三個或全部四個選自由 SEQ ID NO: 71 之 His51、Val80、Lys81 及

Asp82 組成之群之殘基。在一些實施例中，該抗體結合至人類類胰蛋白酶 β1 上之表位，該表位包含 His51 及至少一個、至少兩個或全部三個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Val80、Lys81 及 Asp82 組成之群之殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位進一步包含一或多個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Gln67、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位包含至少兩個、至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、至少九個、至少十個、至少十一個或全部十二個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Gln67、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位包含 SEQ ID NO: 71 之 His51、Gln67、Val80、Lys81、Asp82、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130。在一些實施例中，該表位與人類類胰蛋白酶 β1 單體或四聚體有關。在一些實施例中，表位係藉由 X 射線結晶學模型來測定。在一些實施例中，該抗體能夠解離四聚體人類類胰蛋白酶 β1 之小界面及四聚體人類類胰蛋白酶 β1 之大界面兩者。

【0014】　在另一態樣中，本發明之特徵在於結合至人類類胰蛋白酶 β1 之經分離之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含以下 6 個 HVR：(a) HVR-H1，其包含 GYAIT (SEQ ID NO: 30)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 GISSAATTFYSSWAKS (SEQ ID NO: 31)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 DPRGYGAALDRLDL (SEQ ID NO: 32)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 QSIKSVYNNRLG (SEQ ID NO: 33)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 ETSILTS (SEQ ID NO: 34)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 AGGFDRSGDTT (SEQ ID NO: 35)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體係由包含 SEQ ID NO: 30、31、

32、33、34及35之胺基酸序列之6個HVR所界定。在一些實施例中，該抗體在VH結構域FR-H3中進一步包含Arg71及Val78 (Kabat編號)。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下VH結構域FR：(a) FR-H1，其包含EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLI (SEQ ID NO: 38)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含WIRQPPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 42)之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含RVTISRDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 43)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 41)之胺基酸序列。在一些實施例中，VH結構域包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含以下VL結構域FR：(a) FR-L1，其包含DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 64)之胺基酸序列；(b) FR-L2，其包含WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 65)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 66)之胺基酸序列；及(d) FR-L4，其包含FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 63)之胺基酸序列。在一些實施例中，VL結構域包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含(a)包含SEQ ID NO: 80之胺基酸序列之重鏈及(b)包含SEQ ID NO: 81之胺基酸序列之輕鏈。在其他實施例中，該抗體包含(a)包含SEQ ID NO: 82之胺基酸序列之重鏈及(b)包含SEQ ID NO: 83之胺基酸序列之輕鏈。

【0015】 在另一態樣中，本發明之特徵在於結合至人類類胰蛋白酶β1之經分離之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含(a) VH結構域，其包含與SEQ ID NO: 36、47、48、49、50、51及52中任一者之胺基酸序列具有至少90%、至少95%或至少99%序列一致性之胺基序列；(b) VL結構域，其包含與SEQ ID NO: 37、53、58或59中任一者之胺基酸序列具有至少90%、至少95%或至少99%一致性之胺基酸序列；或(c) 如(a)中之VH結構域及如(b)中之VL結構域。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下VH結構域FR：(a) FR-H1，其包含

EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLI (SEQ ID NO: 38)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含 WIRQPPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 42)之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含 RVTISRDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 43)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 41)之胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含以下 VL 結構域 FR：(a) FR-L1，其包含 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 64)之胺基酸序列；(b) FR-L2，其包含 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 65)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 66)之胺基酸序列；及(d) FR-L4，其包含 FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 63)之胺基酸序列。在一些實施例中，VL 結構域包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列之輕鏈。在其他實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 82 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含 SEQ ID NO: 83 之胺基酸序列之輕鏈。

【0016】 在另一態樣中，本發明之特徵在於結合至人類類胰蛋白酶之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含(a) VH 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%序列一致性之胺基酸序列及(b) VL 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列之輕鏈。在其他實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 82 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含 SEQ ID NO: 83 之胺基酸序列之輕鏈。

【0017】 在另一態樣中，本發明之特徵在於經分離之抗體，其包含(a) 包含SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列之輕鏈。

【0018】 在另一態樣中，本發明之特徵在於經分離之抗體，其包含(a) 包含SEQ ID NO: 82 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含 SEQ ID NO: 83 之胺基酸序列之輕鏈。

【0019】 在另一態樣中，本發明之特徵在於結合至人類類胰蛋白酶之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含(a) VH 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 52 之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%序列一致性之胺基酸序列及(b) VL 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%序列一致性之胺基酸序列。

【0020】 在前述態樣中之任一者之一些實施例中，該抗體結合至人類類胰蛋白酶 β1 上之表位，該表位包含至少一個、至少兩個或全部三個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Gln100、Leu101 及 Leu102 組成之群之殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位進一步包含一或多個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128 及 Glu129 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位包含至少兩個、至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、至少九個、至少十個、至少十一個、至少十二個、至少十三個或全部十四個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128 及 Glu129 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，該表位包含 SEQ ID NO: 71 之 Gln35、Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Gln100、Leu101、Leu102、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128、Glu129

及 Arg216。在一些實施例中，該表位與人類類胰蛋白酶 β1 單體或四聚體有關。在一些實施例中，該表位與人類類胰蛋白酶 β1 四聚體有關，且人類類胰蛋白酶 β1 上之表位進一步包含 SEQ ID NO: 71 之 Gln35 及 Arg216 中之一者或兩者。在一些實施例中，表位係藉由 X 射線結晶學模型來測定。>在一些實施例中，該抗體能夠解離人類類胰蛋白酶 β1 之小界面及/或大界面。

【0021】 在前述態樣中之任一者之一些實施例中，該抗體進一步結合食蟹猴(cyno)類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體進一步結合人類類胰蛋白酶 α。在一些實施例中，該抗體進一步結合人類類胰蛋白酶 β2 或人類類胰蛋白酶 β3。在一些實施例中，該抗體結合人類類胰蛋白酶 β2 及人類類胰蛋白酶 β3。

【0022】 在前述態樣中之任一者之一些實施例中，該抗體以約 1 nM 或更小之 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，K_D 係藉由表面電漿共振(SPR)分析來量測。在一些實施例中，該抗體以介於約 120 pM 與約 0.5 nM 之間的 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體以介於約 120 pM 與約 300 pM 之間的 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體以介於約 120 pM 與約 200 pM 之間的 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體以約 180 pM 之 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體以約 400 pM 之 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，SPR 分析係在 25°C下實施。在一些實施例中，K_D 係使用 BIACORE® SPR 分析來量測，例如如實例 1 部分(A)(vii)中所闡述。在一些實施例中，SPR 分析可使用 BIAcore® T200 或等效裝置。在一些實施例中，以 BIAcore® Series S CM5 感測器晶片(或等效感測器晶片)固定化單株小鼠抗人類 IgG (Fc)抗體且隨後在流動細胞上捕獲抗類胰蛋白酶抗體。以 30 μl/min 之流速注射帶 His 標籤之人類類胰蛋白酶 β1 單體(SEQ ID NO: 128)之連續 3 倍稀釋液。以 3 min 締合及 10 min 解離來分析每一樣品。該分析係在 25°C下實施。在每次注射後，使用 3 M $MgCl_2$

使晶片再生。結合反應係藉由減去以相似密度捕獲無關 IgG 之流動細胞之反應單位(RU)來校正。使用同時擬合 k_{on} 及 k_{off} 之 1:1 Languir 模型進行動力學分析。

【0023】 在前述態樣中之任一者之一些實施例中，該抗體能夠抑制人類類胰蛋白酶 β1 之酶活性。在一些實施例中，該抗體以約 2.5 nM 或更低之 IC50 抑制類胰蛋白酶之活性，如藉由人類類胰蛋白酶 β 酶分析使用合成肽 S-2288 作為受質所測定。在一些實施例中，該抗體以介於約 550 pM 與約 2.5 nM 之間的 IC50 抑制類胰蛋白酶之活性。在一些實施例中，該抗體以介於約 500 pM 與約 2 nM 之間的 IC50 抑制類胰蛋白酶之活性。在一些實施例中，該抗體以介於約 550 nM 與 1.5 nM 之間的 IC50 抑制類胰蛋白酶之活性。在一些實施例中，該抗體以介於約 500 pM 與約 700 pM 之間的 IC50 抑制類胰蛋白酶之活性。在一些實施例中，該抗體之抑制活性係如實例 1(A)(viii)(a))中所闡述來測定。在一些實施例中，使用合成肽 S-2288 之人類類胰蛋白酶 β 酶分析中之肝素最終濃度為 66 μg/ml。在一些實施例中，將重組人類類胰蛋白酶 β1 四聚體活性酶於 TNH 緩衝液(200 mM Tris, 150 mM NaCl, 0.1 mg/mL 肝素, 0.01% TRITON™ X-100, pH 8.0)中稀釋至 0.75 nM，且與抗類胰蛋白酶抗體(稀釋於 PBS 中) 1:1 組合於 384 孔板中。將板在輕柔攪動下在環境溫度下培育 1 h。將比色受質-S2288 (Chromogenix，部件號 82-0852-39)或等效受質於 TNH 緩衝液中稀釋至 1200 μM 且添加至板。在一些實施例中，最終孔內濃度為 400 μM S-2288、0.25 nM 重組人類類胰蛋白酶 β1 四聚體、66 μg/mL 肝素及 0.10 至 222 nM 抗類胰蛋白酶抗體。將板在輕柔攪動下在環境溫度下培育 40 min 且接著在 A_{405} 下讀取。抗類胰蛋白酶抗體之 IC50 係自其各別曲線之四參數擬合來測定。

【0024】 在前述態樣中之任一者之一些實施例中，該抗體能夠在 Ph 6 下抑制人類類胰蛋白酶 β1 之酶活性。特定而言，該抗體之抑制活性可在 pH 6 下測定。

【0025】 在一些實施例中，該抗體能夠抑制類胰蛋白酶介導之對支氣管平滑肌細胞增殖及/或基於膠原之收縮之刺激。在一些實施例中，該抗體能夠抑制肥大細胞組胺釋放。在一些實施例中，該抗體能夠抑制 IgE 觸發之組胺釋放及/或類胰蛋白酶觸發之組胺釋放。在一些實施例中，該抗體能夠抑制 cyno 類胰蛋白酶 D1，如藉由活性類胰蛋白酶 ELISA 分析所分析。在一些實施例中，該抗體能夠抑制食蟹猴支氣管肺泡灌洗(BAL)或鼻吸收樣品中之類胰蛋白酶活性。在一些實施例中，該抗體能夠解離四聚體人類類胰蛋白酶 β1。在一些實施例中，該抗體在呈單價形式時能夠解離四聚體人類類胰蛋白酶 β1。在一些實施例中，單價形式係 Fab 形式。在一些實施例中，該抗體能夠在肝素存在下解離四聚體人類類胰蛋白酶 β1。在一些實施例中，該抗體能夠在 66 μg/ml 肝素存在下解離四聚體類胰蛋白酶 β。

【0026】 在另一態樣中，本發明之特徵在於結合至與前述抗體中之任一者相同表位之抗體。在一些實施例中，抗體是否結合至相同表位或競爭與人類類胰蛋白酶 β1 之結合係藉由表位鑑定(epitope binning)分析來確定。在一些實施例中，表位鑑定分析係 OCTET®表位鑑定分析，例如實例 3 部分 C 中所闡述。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 單體蛋白質藉由與 NHS-PEG4-生物素反應而在 Lys 殘基處生物素化。將生物素化單體於動力學緩衝液(ForteBio, Inc.)中稀釋至 5 μg/ml 且固定化至鏈黴抗生物素蛋白感測器尖端(ForteBio, Inc.)上。在固定化步驟之後，利用以 10-20 μg/ml 稀釋之第一抗體使人類類胰蛋白酶 β1 固定化感測器飽和，之後與以 2.5 μg/ml 稀釋之第二抗體結合。在一些實施例中，表位鑑定分析係在 30°C下實施。

【0027】 在另一態樣中，本發明之特徵在於與前述抗體中之任一者競爭與人類類胰蛋白酶 β1 之結合或交叉阻斷前述抗體中之任一者或由前述抗體中之任一者交叉阻斷之抗體。

【0028】 在前述態樣中之任一者之一些實施例中，該抗體係單株、人類、人類化或嵌合抗體。在一些實施例中，該抗體係人類化抗體。

【0029】 在前述態樣中之任一者之一些實施例中，該抗體係結合類胰蛋白酶之抗體片段。在一些實施例中，該抗體片段係選自由以下組成之群：Fab、Fab'-SH、Fv、scFv及$(Fab')_2$片段。

【0030】 在前述態樣中之任一者之一些實施例中，該抗體係全長抗體。在一些實施例中，該抗體係IgG抗體。在一些實施例中，IgG抗體係IgG1抗體。在一些實施例中，IgG抗體係IgG4抗體。在一些實施例中，IgG4抗體在鉸鏈區中包含突變。在一些實施例中，突變係取代突變。在一些實施例中，取代突變係在胺基酸殘基S228 (EU編號)處。在一些實施例中，IgG4抗體包含S228P突變 (EU編號)。

【0031】 在前述態樣中之任一者之一些實施例中，該抗體係單特異性抗體。

【0032】 在前述態樣中之任一者之一些實施例中，該抗體係多特異性抗體。在一些實施例中，該抗體係雙特異性抗體。在一些實施例中，該抗體包含結合至類胰蛋白酶之第一結合結構域及結合至第二生物分子之第二結合結構域，其中該第二生物分子係選自由以下組成之群：介白素-13 (IL-13)、介白素-4 (IL-4)、介白素-5 (IL-5)、介白素-17 (IL-17)、IgE及介白素-33 (IL-33)。在一些實施例中，該第二生物分子係 IL-13。在一些實施例中，該第二生物分子係 IL-33。在一些實施例中，該第二生物分子係IgE。

【0033】 在另一態樣中，本發明之特徵在於編碼本文所述任一抗體之經分離核酸或一組一起編碼該抗體之經分離核酸。

【0034】 在另一態樣中，本發明之特徵在於編碼包含含有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之VH結構域及/或含有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之VL結構域之抗體的經分離核酸，或一組一起編碼該抗體之經分離核酸，其中該核酸包含與SEQ

ID NO: 104 及/或 SEQ ID NO: 105 之序列至少 85%、至少 90%、至少 95%或至少 99%一致之序列。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列之重鏈及/或(b) 包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列之輕鏈，且其中該核酸或組包含與 SEQ ID NO: 106 及/或 SEQ ID NO: 107 之序列至少 85%、至少 90%、至少 95%或至少 99%一致之序列。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列之重鏈及/或(b) 包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列之輕鏈，且其中該核酸或組包含與 SEQ ID NO: 108 及/或 SEQ ID NO: 107 之序列至少 85%、至少 90%、至少 95%或至少 99%一致之序列。在一些實施例中，該核酸或組包含 SEQ ID NO: 108 及/或 SEQ ID NO: 107 之序列。

【0035】 在另一態樣中，本發明之特徵在於編碼包含含有 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列之 VH 結構域及/或含有 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列之 VL 結構域之抗體的經分離核酸，或一組一起編碼該抗體之經分離核酸，其中該核酸包含與 SEQ ID NO: 109 及/或 SEQ ID NO: 110 之序列至少 85%、至少 90%、至少 95%或至少 99%一致之序列。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列之重鏈及/或(b) 包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列之輕鏈，且其中該核酸或組包含與 SEQ ID NO: 111 及/或 SEQ ID NO: 112 之序列至少 85%、至少 90%、至少 95%或至少 99%一致之序列。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 82 之胺基酸序列之重鏈及/或(b) 包含之胺基酸序列之輕鏈 SEQ ID NO: 83，且其中該核酸或組包含與 SEQ ID NO: 113 及/或 SEQ ID NO: 112 之序列至少 85%、至少 90%、至少 95%或至少 99%一致之序列。在一些實施例中，該核酸或組包含 SEQ ID NO: 113 及/或 SEQ ID NO: 112 之序列。

【0036】 在另一態樣中，本發明之特徵在於載體(例如，表現載體)或載體組，其包含本文所述任一經分離核酸或經分離核酸組。在另一態樣中，本發明之特徵在於宿主細胞，其包含前述核酸及/或載體及/或核酸組及/或載體組。在一些實

施例中，宿主細胞係哺乳動物細胞。在一些實施例中，哺乳動物細胞係中國倉鼠卵巢(CHO)細胞。在一些實施例中，宿主細胞係原核細胞。在一些實施例中，原核細胞係大腸桿菌(*E. coli*)。

【0037】　在另一態樣中，本發明之特徵在於產生本文所述任一抗體之方法，該方法包括在容許產生該抗體之適宜條件下將包含前述載體中之任一者(例如，表現載體)或載體組之宿主細胞培養於培養基中。在一些實施例中，該方法進一步包括自宿主細胞或培養基回收抗體。

【0038】　在另一態樣中，本發明之特徵在於包含前述抗體中之任一者之組合物(例如，醫藥組合物)。在一些實施例中，該組合物進一步包含醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑。

【0039】　在另一態樣中，本發明之特徵在於醫藥組合物，其包含結合至人類類胰蛋白酶 β1 之經分離之單株抗體或其抗原結合片段及醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑，其中該抗體以約 0.1 Nm 至約 1 nM 之 K_D 結合至單體類胰蛋白酶 β1，及/或其中該抗體能夠以約 0.1 nM 至約 5 nM 之半數最大抑制濃度(IC50)抑制類胰蛋白酶之酶活性，如藉由使用 S-2288 作為受質之活體外類胰蛋白酶酶分析所測定。

【0040】　在前述態樣之一些實施例中，該抗體以介於約 0.5 nM 至約 1 nM 之間的 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體以介於約 0.1 nM 至約 0.5 nM 之間的 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體以約 0.4 nM 之 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體以約 0.2 nM 之 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，K_D 係藉由表面電漿共振(SPR)分析來量測。在一些實施例中，SPR 分析係在 25℃下實施。在一些實施例中，K_D 係使用 BIACORE® SPR 分析來量測，例如如實例 1 部分(A)(vii)中所闡述。在一些實施例中，SPR 分析可使用 BIAcore® T200 或等效裝置。在一些實施例中，以 BIAcore® Series S CM5 感測器晶片(或

等效感測器晶片)固定化單株小鼠抗人類 IgG (Fc)抗體且隨後在流動細胞上捕獲抗類胰蛋白酶抗體。以 30 μl/min 之流速注射帶 His 標籤之人類類胰蛋白酶 β1 單體(SEQ ID NO: 128)之連續 3 倍稀釋液。以 3 min 締合及 10 min 解離來分析每一樣品。該分析係在 25°C下實施。在每次注射後，使用 3 M $MgCl_2$ 使晶片再生。結合反應係藉由減去以相似密度捕獲無關 IgG 之流動細胞之反應單位(RU)來校正。使用同時擬合 k_{on} 及 k_{off} 之 1:1 Languir 模型進行動力學分析。

【0041】 在前述態樣之一些實施例中，該抗體能夠以約 0.5 nM 至約 5 nM 之 IC50 抑制類胰蛋白酶之活性。在一些實施例中，該抗體能夠以約 0.1 nM 至約 2 nM 之 IC50 抑制類胰蛋白酶之活性。在一些實施例中，該抗體能夠以約 4 nM 之 IC50 抑制人類類胰蛋白酶之活性。在一些實施例中，該抗體能夠以約 0.6 nM 之 IC50 抑制類胰蛋白酶之活性。在一些實施例中，該抗體能夠在使用 S-2288 作為受質之活體外類胰蛋白酶酶分析中在 pH 6 下抑制類胰蛋白酶活性。在一些實施例中，該抗體之抑制活性係如實例(例如，實例 1 部分(A)(viii)(a))中所闡述來測定。在一些實施例中，將重組人類類胰蛋白酶 β1 四聚體活性酶於 TNH 緩衝液(200 mM Tris, 150 mM NaCl, 0.1 mg/mL 肝素, 0.01% TRITON™ X-100, pH 8.0)中稀釋至 0.75 nM，且與抗類胰蛋白酶抗體(稀釋於 PBS 中) 1:1 組合於 384 孔板中。將板在輕柔攪動下在環境溫度下培育 1 h。將比色受質 S-2288 (Chromogenix，部件號 82-0852-39)或等效受質於 TNH 緩衝液中稀釋至 1200 μM 且添加至板。在一些實施例中，最終孔內濃度為 400 μM S-2288、0.25 nM 重組人類類胰蛋白酶 β1 四聚體、66 μg/mL 肝素及 0.10 至 222 nM 抗類胰蛋白酶抗體。將板在輕柔攪動下在環境溫度下培育 40 min 且接著在 A_{405} 下讀取。抗類胰蛋白酶抗體之 IC50 係自其各別曲線之四參數擬合來測定。在一些實施例中，使用合成肽 S-2288 之人類類胰蛋白酶 β 酶分析中之肝素最終濃度為 66 μg/ml。

【0042】 在前述態樣之一些實施例中，該抗體能夠抑制類胰蛋白酶介導之對支氣管平滑肌細胞增殖及/或基於膠原之收縮之刺激。在一些實施例中，該抗體能夠抑制肥大細胞組胺釋放。在一些實施例中，該抗體能夠抑制 IgE 觸發之組胺釋放及/或類胰蛋白酶觸發之組胺釋放。在一些實施例中，該抗體能夠抑制食蟹猴支氣管肺泡灌洗(BAL)或鼻吸收樣品中之類胰蛋白酶活性。在一些實施例中，該抗體能夠解離四聚體人類類胰蛋白酶 β1。在一些實施例中，該抗體在呈單價形式時能夠解離四聚體人類類胰蛋白酶 β1。在一些實施例中，單價形式係 Fab 形式。在一些實施例中，該抗體能夠在肝素存在下解離四聚體人類類胰蛋白酶 β1。在一些實施例中，該抗體能夠在 66 μg/ml 肝素存在下解離四聚體類胰蛋白酶 β。

【0043】 在前述態樣之一些實施例中，該抗體包含以下 6 個超變區(HVR)：(a) HVR-H1，其包含 DYGMV (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 RNYDDWYFDV (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含(a) 重鏈可變(VH)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%序列一致性之胺基序列；(b) 輕鏈可變(VL)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%一致性之胺基酸序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下 VH 結構域 FR：(a) FR-H1，其包含 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO: 11)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含 WVRQAPGKGLEWVA (SEQ ID NO: 12)之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含

RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTR (SEQ ID NO: 13)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 14)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體之 VH 結構域包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下 VL 結構域 FR：(a) FR-L1，其包含 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 15)之胺基酸序列；(b) FR-L2，其包含 WYQQKPGKSPKPWIY (SEQ ID NO: 16)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 17)之胺基酸序列；及(d) FR-L4，其包含 FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 18)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體之 VL 結構域包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列之輕鏈。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列之輕鏈。在一些實施例中，該抗體結合至人類類胰蛋白酶 β1 上之表位，該表位包含至少一個、至少兩個、至少三個或全部四個選自由 SEQ ID NO: 71 之 His51、Val80、Lys81 及 Asp82 組成之群之殘基。在一些實施例中，該抗體結合至人類類胰蛋白酶 β1 上之表位，該表位包含 His51 及至少一個、至少兩個或全部三個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Val80、Lys81 及 Asp82 組成之群之殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位進一步包含一或多個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Gln67、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位包含至少兩個、至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、至少九個、至少十個、至少十一個或全部十二個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Gln67、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，人類類胰

蛋白酶 β1 上之表位包含 SEQ ID NO: 71 之 His51、Gln67、Val80、Lys81、Asp82、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130。在一些實施例中，該表位與人類類胰蛋白酶 β1 單體或四聚體有關。在一些實施例中，表位係藉由 X 射線結晶學模型來測定。在一些實施例中，該抗體能夠解離四聚體人類類胰蛋白酶 β1 之小界面及四聚體人類類胰蛋白酶 β1 之大界面兩者。

【0044】 在前述態樣之其他實施例中，該抗體包含以下 6 個 HVR：(a) HVR-H1，其包含 GYAIT (SEQ ID NO: 30)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 GISSAATTFYSSWAKS (SEQ ID NO: 31)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 DPRGYGAALDRLDL (SEQ ID NO: 32)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 QSIKSVYNNRLG (SEQ ID NO: 33)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 ETSILTS (SEQ ID NO: 34)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 AGGFDRSGDTT (SEQ ID NO: 35)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含(a) VH 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 36、47、48、49、50、51 及 52 中任一者之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%序列一致性之胺基序列；(b) VL 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 37、53、58 或 59 中任一者之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%一致性之胺基酸序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下 VH 結構域 FR：(a) FR-H1，其包含 EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLI (SEQ ID NO: 38)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含 WIRQPPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 42)之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含 RVTISRDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 43)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 41)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體之 VH 結構域包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下 VL 結構域 FR：(a) FR-L1，其包含

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 64)之胺基酸序列；(b) FR-L2，其包含 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 65)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 66)之胺基酸序列；及(d) FR-L4，其包含 FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 63)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體之 VL 結構域包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列之輕鏈。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 82 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含之胺基酸序列之輕鏈 SEQ ID NO: 83。在一些實施例中，該抗體結合至人類類胰蛋白酶 β1 上之表位，該表位包含至少一個、至少兩個或全部三個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Gln100、Leu101 及 Leu102 組成之群之殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位進一步包含一或多個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128 及 Glu129 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位包含至少兩個、至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、至少九個、至少十個、至少十一個、至少十二個、至少十三個或全部十四個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128 及 Glu129 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，該表位包含 SEQ ID NO: 71 之 Gln35、Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Gln100、Leu101、Leu102、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128、Glu129 及 Arg216。在一些實施例中，該表位與人類類胰蛋白酶 β1 單體或四聚體有關。在一些實施例中，該表位與人類類胰蛋白酶 β1 四聚體有關，且人類類胰蛋白酶 β1 上之表位進一步包含 SEQ ID NO: 71 之 Gln35 及 Arg216 中之一者或兩者。在一些實施例中，表位係藉由 X 射線結晶學

模型來測定。在一些實施例中，該抗體能夠解離人類類胰蛋白酶 β1 之小界面及/或大界面。

【0045】 在另一態樣中，本發明之特徵在於組合物(例如，醫藥組合物)，其包含結合至人類類胰蛋白酶 β1 之經分離之單株抗體或其抗原結合片段及醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑，其中該抗體結合至人類類胰蛋白酶 β1 上之表位，該表位包含至少一個、至少兩個、至少三個或全部四個選自由 SEQ ID NO: 71 之 His51、Val80、Lys81 及 Asp82 組成之群之殘基。在一些實施例中，該抗體結合至人類類胰蛋白酶 β1 上之表位，該表位包含 His51 及至少一個、至少兩個或全部三個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Val80、Lys81 及 Asp82 組成之群之殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位進一步包含一或多個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Gln67、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位包含至少兩個、至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、至少九個、至少十個、至少十一個或全部十二個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Gln67、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位包含 SEQ ID NO: 71 之 His51、Gln67、Val80、Lys81、Asp82、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130。在一些實施例中，該表位與人類類胰蛋白酶 β1 單體或四聚體有關。在一些實施例中，表位係藉由 X 射線結晶學模型來測定。在一些實施例中，該抗體能夠解離四聚體人類類胰蛋白酶 β1 之小界面及四聚體人類類胰蛋白酶 β1 之大界面兩者。在一些實施例中，該抗體包含以下 6 個超變區(HVR)：(a) HVR-H1，其包含 DYGMV (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含

RNYDDWYFDV (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含(a) 重鏈可變(VH)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%序列一致性之胺基序列；(b) 輕鏈可變(VL)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%一致性之胺基酸序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下 VH 結構域 FR：(a) FR-H1，其包含 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO: 11)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含 WVRQAPGKGLEWVA (SEQ ID NO: 12) 之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含 RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTR (SEQ ID NO: 13)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 14)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體之 VH 結構域包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下 VL 結構域 FR：(a) FR-L1，其包含 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 15)之胺基酸序列；(b) FR-L2，其包含 WYQQKPGKSPKPWIY (SEQ ID NO: 16)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 17)之胺基酸序列；及(d) FR-L4，其包含 FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 18)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體之 VL 結構域包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列之輕鏈。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列之輕鏈。

【0046】 在另一態樣中，本發明之特徵在於組合物(例如，醫藥組合物)，其包含結合至人類類胰蛋白酶 β1 之經分離之單株抗體或其抗原結合片段及醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑，其中該抗體結合至人類類胰蛋白酶 β1 上之表位，該表位包含至少一個、至少兩個或全部三個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Gln100、Leu101 及 Leu102 組成之群之殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位進一步包含一或多個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128 及 Glu129 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位包含至少兩個、至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、至少九個、至少十個、至少十一個、至少十二個、至少十三個或全部十四個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128 及 Glu129 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，該表位包含 SEQ ID NO: 71 之 Gln35、Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Gln100、Leu101、Leu102、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128、Glu129 及 Arg216。在一些實施例中，該表位與人類類胰蛋白酶 β1 單體或四聚體有關。在一些實施例中，該表位與人類類胰蛋白酶 β1 四聚體有關，且人類類胰蛋白酶 β1 上之表位進一步包含 SEQ ID NO: 71 之 Gln35 及 Arg216 中之一者或兩者。在一些實施例中，表位係藉由 X 射線結晶學模型來測定。在一些實施例中，該抗體能夠解離人類類胰蛋白酶 β1 之小界面及/或大界面。在一些實施例中，該抗體包含以下 6 個 HVR：(a) HVR-H1，其包含 GYAIT (SEQ ID NO: 30)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 GISSAATTFYSSWAKS (SEQ ID NO: 31)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 DPRGYGAALDRLDL (SEQ ID NO: 32)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 QSIKSVYNNRLG (SEQ ID NO: 33)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含

ETSILTS (SEQ ID NO: 34)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 AGGFDRSGDTT (SEQ ID NO: 35)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含(a) VH 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 36、47、48、49、50、51 及 52 中任一者之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%序列一致性之胺基序列；(b) VL 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 37、53、58 或 59 中任一者之胺基酸序列具有至少 90%、至少 95%或至少 99%一致性之胺基酸序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下 VH 結構域 FR：(a) FR-H1，其包含 EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLI (SEQ ID NO: 38)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含 WIRQPPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 42)之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含 RVTISRDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 43)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 41)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體之 VH 結構域包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體進一步包含以下 VL 結構域 FR：(a) FR-L1，其包含 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 64)之胺基酸序列；(b) FR-L2，其包含 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 65)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 66)之胺基酸序列；及(d) FR-L4，其包含 FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 63)之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體之 VL 結構域包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列之輕鏈。在一些實施例中，該抗體包含(a) 包含 SEQ ID NO: 82 之胺基酸序列之重鏈及(b) 包含 SEQ ID NO: 83 之胺基酸序列之輕鏈。

【0047】 在一些實施例中，該抗體能夠進一步結合至人類類胰蛋白酶 α、類胰蛋白酶 β2、類胰蛋白酶 β3 及/或 cyno 類胰蛋白酶 D1。

【0048】 在前述組合物(例如，醫藥組合物)中之任一者中，該抗體可係單株、人類、人類化或嵌合抗體。在一些實施例中，該抗體係人類化抗體。

【0049】 在前述組合物(例如，醫藥組合物)中之任一者中，該組合物可用於人類。

【0050】 可使前述組合物(例如，醫藥組合物)中之任一者凍乾。在其他實施例中，前述組合物(例如，醫藥組合物)中之任一者可係液體。

【0051】 在前述組合物(例如，醫藥組合物)中之任一者中，賦形劑可係抗氧化劑。在一些實施例中，組合物包含一或多種選自由以下組成之群之抗氧化劑：N-乙醯基色胺酸、色胺酸、甲硫胺酸、半胱胺酸、麩胱甘肽、硫基山梨醇、抗壞血酸、單硫基甘油、環糊精、Trolox (6-羥基-2,5,7,8-四甲基色滿-2-甲酸)、吡哆醇、甘露醇及金屬螯合劑。在一些實施例中，組合物包含 N-乙醯基色胺酸或甲硫胺酸。在一些實施例中，組合物包含 N-乙醯基色胺酸及甲硫胺酸。

【0052】 在另一態樣中，本發明之特徵在於組合物(例如，醫藥組合物)，其包含：(i)結合至人類類胰蛋白酶 β1 之經分離之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含以下 6 個超變區(HVR)：(a) HVR-H1，其包含 DYGMV (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 RNYDDWYFDV (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列，其中 HVR-H3 (SEQ ID NO: 8)之位置 6 處之色胺酸氧化不超過 30%。在一些實施例中，HVR-H3 (SEQ ID NO: 8)之位置 6 處之色胺酸氧化不超過 28%、25%、20%、15%、10%或 6%。在一些實施例中，在 AAPH 脅迫測試之後測定 HVR-H3 (SEQ ID NO: 8)之位置 6 處之色

胺酸氧化。在一些實施例中，在自組合物最初產生之一年內測定 HVR-H3 (SEQ ID NO: 8)之位置 6 處之色胺酸氧化。

【0053】 前述組合物(例如，醫藥組合物)中之任一者可包含濃度為約 0.1 mM 至約 5 mM 之 N-乙醯基色胺酸。在一些實施例中，N-乙醯基色胺酸之濃度係約 0.1 mM 至約 1 mM。在一些實施例中，N-乙醯基色胺酸之濃度係約 0.3 mM。在一些實施例中，該組合物包含濃度為約 1 mM 至約 20 mM 之甲硫胺酸。在一些實施例中，甲硫胺酸之濃度係約 1 mM 至約 10 mM。在一些實施例中，甲硫胺酸之濃度係約 5 mM。

【0054】 在另一態樣中，本發明之特徵在於組合物(例如，醫藥組合物)，其包含：(i)結合至人類類胰蛋白酶之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含以下 6 個超變區(HVR)：(a) HVR-H1，其包含 DYGMV (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 RNYDDWYFDV (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及 (f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列；(ii) 濃度為約 0.1 mm 至約 1 mM 之 N-乙醯基色胺酸；及(iii) 濃度為約 1 mM 至約 10 mM 之甲硫胺酸。

【0055】 在前述組合物中之任一者中(例如，醫藥組合物)，抗體濃度可係約 1 mg/ml 至約 250 mg/ml。在一些實施例中，抗體濃度係約 150 mg/ml。

【0056】 前述組合物(例如，醫藥組合物)中之任一者可進一步包括一或多種選自由以下組成之群之其他賦形劑：穩定劑、緩衝劑、表面活性劑及張力劑。在一些實施例中，組合物進一步包含緩衝劑。在一些實施例中，緩衝劑係精胺酸琥珀酸鹽及/或組胺酸琥珀酸鹽。在一些實施例中，緩衝劑包含精胺酸琥珀酸鹽及組胺酸琥珀酸鹽。在一些實施例中，精胺酸琥珀酸鹽之濃度係約 50 mM 至約

500 mM。在一些實施例中，精胺酸琥珀酸鹽之濃度係約 100 mM 至約 300 mM。在一些實施例中，精胺酸琥珀酸鹽之濃度係約 200 mM。在一些實施例中，組胺酸琥珀酸鹽之濃度係約 1 mM 至約 50 mM。在一些實施例中，組胺酸琥珀酸鹽之濃度係約 15 mM 至約 25 mM。在一些實施例中，組胺酸琥珀酸鹽之濃度係約 20 mM。在一些實施例中，組合物進一步包含表面活性劑。在一些實施例中，表面活性劑係泊洛沙姆 188 (poloxamer 188)或聚山梨醇酯 20。在一些實施例中，表面活性劑係泊洛沙姆 188。在一些實施例中，泊洛沙姆 188 之濃度係約 0.005% 至約 0.1%。在一些實施例中，泊洛沙姆 188 之濃度係約 0.005%至約 0.05%。在一些實施例中，泊洛沙姆 188 之濃度係約 0.02%。在一些實施例中，組合物之 pH 為約 4.5 至約 7.0。在一些實施例中，組合物之 pH 為約 4.5 至約 6.5。在一些實施例中，組合物之 pH 為約 5.5。在一些實施例中，組合物係於不透光之容器中。在一些實施例中，組合物係於預填充注射器中。

【0057】 前述組合物(例如，醫藥組合物)中之任一者可進一步包括 IL-13 軸結合拮抗劑、IL-5 軸結合拮抗劑、IL-33 軸結合拮抗劑、M1 prime 拮抗劑、IgE 拮抗劑、TRPA1 拮抗劑、CRTH2 拮抗劑、支氣管擴張劑或氣喘症狀控制藥劑、免疫調節劑、皮質類固醇、Th2 路徑抑制劑、酪胺酸激酶抑制劑或磷酸二酯酶抑制劑。在一些實施例中，IL-13 軸結合拮抗劑係抗 IL-13 抗體。在一些實施例中，抗 IL-13 抗體係萊比克珠單抗(lebrikizumab)。在一些實施例中，IL-5 軸結合拮抗劑係 IL-5 結合拮抗劑或 IL-5 受體結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 軸結合拮抗劑係 IL-33 結合拮抗劑或 ST2 結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 結合拮抗劑係抗 IL-33 抗體。在一些實施例中，M1 prime 拮抗劑係奎立珠單抗(quilizumab)。在一些情況下，IgE 拮抗劑係奧馬珠單抗(omalizumab，XOLAIR®)。

【0058】 前述組合物(例如，醫藥組合物)中之任一者可經調配用於投與人類。在某些實施例中，該等醫藥組合物包含不含非人類恆定區序列之抗體。在某些

實施例中，該等醫藥組合物包含不含非人類框架及非人類恆定區序列之抗體。在某些實施例中，該等醫藥組合物包含係人類抗體、人類化抗體或嵌合抗體之抗體。

【0059】 在一些態樣中，前述抗體中之任一者可用作藥劑。

【0060】 在一些態樣中，前述抗體中之任一者可用於治療病症。在一些實施例中，該病症係選自由以下組成之群：肺部病症、自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症、淋巴球性病症或與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症。在一些實施例中，該病症係肺部病症。在一些實施例中，肺部病症係選自由以下組成之群：氣喘、氣道高反應性及慢性阻塞性肺病(COPD)。在一些實施例中，肺部病症係氣喘。在一些實施例中，氣喘係高 Th2 氣喘或低 Th2 氣喘。在一些實施例中，自體免疫病症係選自由以下組成之群：類風濕性關節炎、牛皮癬、嗜酸性球性食管炎、發炎性腸病(IBD)及克羅恩氏病(Crohn's disease)。在一些實施例中，發炎性病症係慢性特發性蕁麻疹(CIU，亦稱為慢性自發性蕁麻疹(CSU))、過敏反應、過敏反應休克、特應性皮炎或過敏性鼻炎。在一些實施例中，纖維變性病症係特發性肺纖維化(IPF)。在一些實施例中，該病症係與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症。在一些實施例中，該病症係肥大細胞增生症。在一些實施例中，該抗體用於與額外治療劑組合使用。在一些實施例中，該額外治療劑係 IL-13 軸結合拮抗劑、IL-5 軸結合拮抗劑、IL-33 軸結合拮抗劑、M1 prime 拮抗劑、IgE 拮抗劑、TRPA1 拮抗劑、CRTH2 拮抗劑、支氣管擴張劑或氣喘症狀控制藥劑、免疫調節劑、皮質類固醇、Th2 路徑抑制劑、酪胺酸激酶抑制

劑或磷酸二酯酶抑制劑。在一些實施例中，IL-13 軸結合拮抗劑係抗 IL-13 抗體。在一些實施例中，抗 IL-13 抗體係萊比克珠單抗。在一些實施例中，IL-5 軸結合拮抗劑係 IL-5 結合拮抗劑或 IL-5 受體結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 軸結合拮抗劑係 IL-33 結合拮抗劑或 ST2 結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 結合拮抗劑係抗 IL-33 抗體。在一些實施例中，M1 prime 拮抗劑係奎立珠單抗。在一些實施例中，該抗體用於皮下、靜脈內、肌內、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、藉由植入、藉由吸入、鞘內、室內或鼻內投與。在一些實施例中，該抗體用於皮下投與。在一些實施例中，該抗體用於人類個體。

【0061】 在一些態樣中，前述組合物(例如，醫藥組合物)中之任一者可用作藥劑。

【0062】 在一些態樣中，前述組合物(例如，醫藥組合物)中之任一者可用於治療病症。在一些實施例中，該病症係選自由以下組成之群：肺部病症、自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症、淋巴球性病症或與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症。在一些實施例中，該病症係肺部病症。在一些實施例中，肺部病症係選自由以下組成之群：氣喘、氣道高反應性及慢性阻塞性肺病(COPD)。在一些實施例中，肺部病症係氣喘。在一些實施例中，氣喘係高 Th2 氣喘或低 Th2 氣喘。在一些實施例中，自體免疫病症係選自由以下組成之群：類風濕性關節炎、牛皮癬、嗜酸性球性食管炎、發炎性腸病(IBD)及克羅恩氏病。在一些實施例中，發炎性病症係慢性特發性蕁麻疹(CIU 或 CSU)、過敏反應、過敏反應休克、特應性皮炎或過敏性鼻炎。在一些實施例中，纖維變性病症係特發性肺纖維化(IPF)。在一些實施例中，該病症係與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維

母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症。在一些實施例中，該病症係肥大細胞增生症。在一些實施例中，該組合物(例如，醫藥組合物)用於與額外治療劑組合使用。在一些實施例中，該額外治療劑係 IL-13 軸結合拮抗劑、IL-5 軸結合拮抗劑、IL-33 軸結合拮抗劑、M1 prime 拮抗劑、IgE 拮抗劑、TRPA1 拮抗劑、CRTH2 拮抗劑、支氣管擴張劑或氣喘症狀控制藥劑、免疫調節劑、皮質類固醇、Th2 路徑抑制劑、酪胺酸激酶抑制劑或磷酸二酯酶抑制劑。在一些實施例中，IL-13 軸結合拮抗劑係抗 IL-13 抗體。在一些實施例中，抗 IL-13 抗體係萊比克珠單抗。在一些實施例中，IL-5 軸結合拮抗劑係 IL-5 結合拮抗劑或 IL-5 受體結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 軸結合拮抗劑係 IL-33 結合拮抗劑或 ST2 結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 結合拮抗劑係抗 IL-33 抗體。在一些實施例中，M1 prime 拮抗劑係奎立珠單抗。在一些實施例中，該組合物(例如，醫藥組合物)用於皮下、靜脈內、肌內、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、藉由植入、藉由吸入、鞘內、室內或鼻內投與。在一些實施例中，該組合物(例如，醫藥組合物)用於皮下投與。在一些實施例中，該組合物(例如，醫藥組合物)用於人類個體。

【0063】　在一些態樣中，前述抗體中之任一者可用於製造用於治療病症之藥劑。在一些實施例中，該病症係選自由以下組成之群：肺部病症、自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症、淋巴球性病症或與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症。在一些實施例中，該病症係肺部病症。在一些實施例中，肺部病症係選自由以下組成之群：氣喘、氣道高反應性及慢性阻塞性肺病(COPD)。在一些實施例中，肺部病症係氣喘。在一些實施例中，氣喘係高 Th2 氣喘或低 Th2 氣喘。在一些實施例中，自體免疫病症係選自由以

下組成之群：類風濕性關節炎、牛皮癬、嗜酸性球性食管炎、發炎性腸病(IBD)及克羅恩氏病。在一些實施例中，發炎性病症係慢性特發性蕁麻疹(CIU 或CSU)、過敏反應、過敏反應休克、特應性皮炎或過敏性鼻炎。在一些實施例中，纖維變性病症係特發性肺纖維化(IPF)。在一些實施例中，該病症係與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症。在一些實施例中，該病症係肥大細胞增生症。在一些實施例中，該藥劑經調配用於與額外治療劑組合使用。在一些實施例中，該額外治療劑係 IL-13 軸結合拮抗劑、IL-5 軸結合拮抗劑、IL-33 軸結合拮抗劑、M1 prime 拮抗劑、IgE 拮抗劑、TRPA1 拮抗劑、CRTH2 拮抗劑、支氣管擴張劑或氣喘症狀控制藥劑、免疫調節劑、皮質類固醇、Th2 路徑抑制劑、酪胺酸激酶抑制劑或磷酸二酯酶抑制劑。在一些實施例中，IL-13 軸結合拮抗劑係抗 IL-13 抗體。在一些實施例中，抗 IL-13 抗體係萊比克珠單抗。在一些實施例中，IL-5 軸結合拮抗劑係 IL-5 結合拮抗劑或 IL-5 受體結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 軸結合拮抗劑係 IL-33 結合拮抗劑或 ST2 結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 結合拮抗劑係抗 IL-33 抗體。在一些實施例中，M1 prime 拮抗劑係奎立珠單抗。在一些實施例中，該藥劑經調配用於皮下、靜脈內、肌內、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、藉由植入、藉由吸入、鞘內、室內或鼻內投與。在一些實施例中，該藥劑經調配用於皮下投與。在一些實施例中，該藥劑經調配用於人類個體。

【0064】 在一些態樣中，前述組合物(例如，醫藥組合物)中之任一者可用於製造用於治療病症之藥劑。在一些實施例中，該病症係選自由以下組成之群：肺部病症、自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症、淋巴球性病症或與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、

平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症。在一些實施例中，該病症係肺部病症。在一些實施例中，肺部病症係選自由以下組成之群：氣喘、氣道高反應性、及慢性阻塞性肺病(COPD)。在一些實施例中，肺部病症係氣喘。在一些實施例中，氣喘係高 Th2 氣喘或低 Th2 氣喘。在一些實施例中，自體免疫病症係選自由以下組成之群：類風濕性關節炎、牛皮癬、嗜酸性球性食管炎、發炎性腸病(IBD)及克羅恩氏病。在一些實施例中，發炎性病症係慢性特發性蕁麻疹(CIU 或 CSU)、過敏反應、過敏反應休克、特應性皮炎或過敏性鼻炎。在一些實施例中，纖維變性病症係特發性肺纖維化(IPF)。在一些實施例中，該病症係與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症。在一些實施例中，該病症係肥大細胞增生症。在一些實施例中，該藥劑經調配用於與額外治療劑組合使用。在一些實施例中，該額外治療劑係 IL-13 軸結合拮抗劑、IL-5 軸結合拮抗劑、IL-33 軸結合拮抗劑、M1 prime 拮抗劑、IgE 拮抗劑、TRPA1 拮抗劑、CRTH2 拮抗劑、支氣管擴張劑或氣喘症狀控制藥劑、免疫調節劑、皮質類固醇、Th2 路徑抑制劑、酪胺酸激酶抑制劑或磷酸二酯酶抑制劑。在一些實施例中，IL-13 軸結合拮抗劑係抗 IL-13 抗體。在一些實施例中，抗 IL-13 抗體係萊比克珠單抗。在一些實施例中，IL-5 軸結合拮抗劑係 IL-5 結合拮抗劑或 IL-5 受體結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 軸結合拮抗劑係 IL-33 結合拮抗劑或 ST2 結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 結合拮抗劑係抗 IL-33 抗體。在一些實施例中，M1 prime 拮抗劑係奎立珠單抗。在一些實施例中，該藥劑經調配用於皮下、靜脈內、肌內、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、藉由植入、藉由吸入、鞘內、室內或鼻內投與。在一些實施例中，該藥劑經調配用於皮下投與。在一些實施例中，該藥劑經調配用於人類個體。

【0065】 在另一態樣中，本發明之特徵在於治療有需要之個體之病症的方法，該方法包括向該個體投與治療有效量之前述抗體中之任一者。在一些實施例中，該病症係選自由以下組成之群：肺部病症、自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症、淋巴球性病症或與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症。在一些實施例中，該病症係肺部病症。在一些實施例中，肺部病症係選自由以下組成之群：氣喘、氣道高反應性及慢性阻塞性肺病(COPD)。在一些實施例中，肺部病症係氣喘。在一些實施例中，氣喘係高 Th2 氣喘或低 Th2 氣喘。在一些實施例中，自體免疫病症係選自由以下組成之群：類風濕性關節炎、牛皮癬、嗜酸性球性食管炎、發炎性腸病(IBD)及克羅恩氏病。在一些實施例中，發炎性病症係慢性特發性蕁麻疹(CIU 或 CSU)、過敏反應、過敏反應休克、特應性皮炎或過敏性鼻炎。在一些實施例中，纖維變性病症係特發性肺纖維化(IPF)。在一些實施例中，該病症係與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症。在一些實施例中，該病症係肥大細胞增生症。在一些實施例中，該方法進一步包括向該個體投與額外治療劑。在一些實施例中，該額外治療劑係 IL-13 軸結合拮抗劑、IL-5 軸結合拮抗劑、IL-33 軸結合拮抗劑、M1 prime 拮抗劑、IgE 拮抗劑、TRPA1 拮抗劑、CRTH2 拮抗劑、支氣管擴張劑或氣喘症狀控制藥劑、免疫調節劑、皮質類固醇、Th2 路徑抑制劑、酪胺酸激酶抑制劑或磷酸二酯酶抑制劑。在一些實施例中，IL-13 軸結合拮抗劑係抗 IL-13 抗體。在一些實施例中，抗 IL-13 抗體係萊比克珠單抗。在一些實施例中，IL-5 軸結合拮抗劑係 IL-5 結合拮抗劑或 IL-5 受體結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 軸結合拮抗劑係 IL-33 結合拮抗劑或 ST2 結

合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 結合拮抗劑係抗 IL-33 抗體。在一些實施例中，M1 prime 拮抗劑係奎立珠單抗。在一些實施例中，該 IgE 拮抗劑係奧馬珠單抗(Xolair®)。在一些實施例中，該抗體係以皮下、靜脈內、肌內、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、藉由植入、藉由吸入、鞘內、室內或鼻內方式投與。在一些實施例中，該個體係人類。

【0066】 在另一態樣中，本發明之特徵在於治療有需要之個體之病症的方法，該方法包括向該個體投與治療有效量之前述組合物(例如，醫藥組合物)中之任一者。在一些實施例中，該病症係選自由以下組成之群：肺部病症、自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症、淋巴球性病症或與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症。在一些實施例中，該病症係肺部病症。在一些實施例中，肺部病症係選自由以下組成之群：氣喘、氣道高反應性及慢性阻塞性肺病(COPD)。在一些實施例中，肺部病症係氣喘。在一些實施例中，氣喘係高 Th2 氣喘或低 Th2 氣喘。在一些實施例中，自體免疫病症係選自由以下組成之群：類風濕性關節炎、牛皮癬、嗜酸性球性食管炎、發炎性腸病(IBD)及克羅恩氏病。在一些實施例中，發炎性病症係慢性特發性蕁麻疹(CIU 或 CSU)、過敏反應、過敏反應休克、特應性皮炎或過敏性鼻炎。在一些實施例中，纖維變性病症係特發性肺纖維化(IPF)。在一些實施例中，該病症係與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症。在一些實施例中，該病症係肥大細胞增生症。在一些實施例中，該方法進一步包括向該個體投與額外治療劑。在一些實施例中，該額外治療劑係 IL-13 軸結合拮抗劑、IL-5 軸結合拮抗劑、IL-33 軸結合拮抗劑、M1 prime 拮抗劑、IgE

拮抗劑、TRPA1 拮抗劑、CRTH2 拮抗劑、支氣管擴張劑或氣喘症狀控制藥劑、免疫調節劑、皮質類固醇、Th2 路徑抑制劑、酪胺酸激酶抑制劑或磷酸二酯酶抑制劑。在一些實施例中，IL-13 軸結合拮抗劑係抗 IL-13 抗體。在一些實施例中，抗 IL-13 抗體係萊比克珠單抗。在一些實施例中，IL-5 軸結合拮抗劑係 IL-5 結合拮抗劑或 IL-5 受體結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 軸結合拮抗劑係 IL-33 結合拮抗劑或 ST2 結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 結合拮抗劑係抗 IL-33 抗體。在一些實施例中，M1 prime 拮抗劑係奧馬珠單抗(Xolair®)。在一些實施例中，該組合物係以皮下、靜脈內、肌內、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、藉由植入、藉由吸入、鞘內、室內或鼻內方式投與。在一些實施例中，該個體係人類。

【圖式簡單說明】

【0067】 **圖 1** 係顯示根據 Kabat、Chothia 及 Contact 命名之互補決定區(CDR)之 hu31A.v11 及 huE104.v2 之 VH 及 VL 結構域之序列比對。超變區(HVR)加下劃線。

【0068】 **圖 2A** 係顯示如藉由人類類胰蛋白酶酶分析所測定之 hu31A.v11 及 huE104.v2 IgG 之抑制分析結果之一系列圖表。兩種抗體均完全抑制類胰蛋白酶酶活性。

【0069】 **圖 2B** 及 **2C** 係顯示人類原代氣道平滑肌細胞(SMC)增殖(圖 2B)及收縮(圖 2C)分析之結果之圖表。添加類胰蛋白酶 β 刺激人類原代氣道 SMC 增殖，其可藉由添加抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 IgG4 或 huE104.v2 IgG4 以劑量依賴性方式受到抑制(圖 2B)。添加類胰蛋白酶亦刺激人類原代氣道 SMC 收縮，其亦可藉由添加 hu31A.v11 IgG4 及 huE104.v2 IgG4 受到抑制(圖 2C)。

【0070】 **圖 2D** 及 **2E** 係顯示肥大細胞脫粒分析之結果之圖表，其中肥大細胞可在活體外藉由添加類胰蛋白酶 β 或抗 4-羥基-3-硝基苯基乙醯基(NP) IgE 及 NP

受到刺激。添加類胰蛋白酶導致組胺釋放，其可藉由添加 hu31A.v11 而阻斷(圖 2D)。無催化活性之突變類胰蛋白酶(S195A)作為對照。添加 IgE 及 NP 亦導致組胺釋放，其可藉由添加類胰蛋白酶小分子抑制劑(SMI)或 hu31A.v11 受到抑制(30-50%) (圖 2E)。

【0071】 **圖 3A** 係顯示藉由粒徑篩析層析(SEC)所分析之 hu31A.v11 Fab 解離人類類胰蛋白酶 β1 四聚體之結果之圖表。藉由 SEC 分析三次運行：運行 1 含有單獨之 WT 四聚體類胰蛋白酶，其產生峰 1，保留時間 Tr = 26 min，保留體積 Vr = 13 ml；運行 2 含有 WT 四聚體類胰蛋白酶+ Fab hu31A.v11 +肝素，其產生峰 2 (Tr = 27.6 min, Vr= 13.8 ml)及峰 4 (Tr = 31 min, Vr = 15.5 ml)；運行 3 含有 WT 四聚體類胰蛋白酶+ Fab hu31A.v11 (無肝素)，其產生峰 3 (Tr = 28.1 min, Vr = 14 ml)及峰 4 (Tr = 31 min, Vr = 15.5 ml)。

【0072】 **圖 3B** 係顯示 huE104.v2 Fab 解離人類類胰蛋白酶 β1 四聚體之圖表。藉由 SEC 分析三次運行：運行 1 含有帶 His 標籤之單體類胰蛋白酶+ Fab huE104.v2，其產生峰 2 (Tr = 25.8 min)及峰 6 (31.6 min)；運行 2 含有 WT 四聚體類胰蛋白酶+ Fab huE104.v2，其產生峰 3 (Tr = 26 min)及峰 7 (Tr = 31.8 min)；且運行 3 含有 WT 四聚體類胰蛋白酶+ Fab huE104.v2 +肝素，其產生峰 1 (Tr= 21 min)、峰 4 (Tr = 27.2 min)及峰 5 (Tr= 31.2 min)。

【0073】 **圖 4A** 及 **4B** 係顯示藥物動力學(PK)模擬結果之一系列圖表，其比較在基線類胰蛋白酶含量(4 ng/ml 血清，10 ng/ml 肺組織，圖 4A)或高類胰蛋白酶含量(10 ng/ml 血清，40 ng/ml 肺組織，圖 4B)下解離性抗類胰蛋白酶抗體與類胰蛋白酶四聚體特異性穩定性抗體之 PK 及中和活性。

【0074】 **圖 4C** 係顯示在基線類胰蛋白酶含量或高類胰蛋白酶含量下比較解離性抗類胰蛋白酶抗體及類胰蛋白酶四聚體特異性穩定性抗體之中和活性模擬結果之一系列圖表。

【0075】 **圖 5A** 及 **5B** 顯示經考馬斯藍(Coomassie blue)染色之十二烷基硫酸鈉-聚丙烯醯胺凝膠電泳(SDS-PAGE)凝膠之影像(上圖)，其顯示在 pH 6 (圖 5A)及 7.5 (圖 5B)二者下，人類類胰蛋白酶 β1 均將纖維蛋白原裂解成肽片段。在高濃度肝素之實驗條件下，在 pH 6 及 pH 7.5 二者下，抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 Fab 均阻斷纖維蛋白原裂解，而 huE102.v2 Fab 則不。泳道 1，僅纖維蛋白原，顯示未裂解纖維蛋白原之 α、β 及 γ 鏈；泳道 2，纖維蛋白原及類胰蛋白酶 β；泳道 3，纖維蛋白原、類胰蛋白酶 β 及 hu31A.v11 Fab；泳道 4，纖維蛋白原、類胰蛋白酶 β 及 B12 IgG；泳道 5，纖維蛋白原、類胰蛋白酶 β1 及 huE104.v2 Fab；且泳道 6 顯示單獨之 B12 mIgG1。α 鏈強度之降低指示類胰蛋白酶蛋白水解活性，其在下圖中分析且量化。

【0076】 **圖 6A** 係顯示 hu31A.v11 Fab 解離 WT 或突變四聚體之結果之圖表。藉由 SEC 分析四個運行：運行 1 含有 WT 四聚體+ huE104.v1 Fab，其產生參考峰(Tr = 21.6 min)；運行 2 含有四聚體 Y75C 變體+ hu31A.v11 Fab，其產生峰 1 (Tr = 25.6 min)及峰 4 (Tr = 31.6 min)；運行 3 含有四聚體 I99C 變體+ hu31A.v11 Fab，其產生峰 2 (Tr = 23.9 min)及峰 4 (Tr = 31.6 min)；且運行 4 含有 WT 四聚體+ hu31A.v11 Fab，其產生峰 3 (Tr = 28.1 min)及峰 4 (Tr = 31.6 min)。

【0077】 **圖 6B** 顯示圖 6A 粒徑篩析層析峰之經考馬斯藍染色之 SDS-PAGE 凝膠分析之結果。hu31A.v11 Fab 與類胰蛋白酶突變體 Y75C 及 I99C 形成複合物，且將四聚體解離成共價連接之二聚體。

【0078】 **圖 6C** 係顯示 huE104.v2 Fab 解離 WT 或突變四聚體之結果之圖表。藉由 SEC 分析三次運行：運行 1 含有四聚體 Y75C 變體+ huE104.v2 Fab，其產生峰 1 (Tr = 21.6 min)及峰 4 (Tr= 31 min)；運行 2 含有四聚體 I99C 變體+ huE104.v2 Fab，其產生峰 2 及峰 5 (Tr = 31 min)；且運行 3 含有 WT 四聚體+ huE104.v2 Fab，其產生峰 3 (Tr = 26 min)及峰 6 (Tr = 31.8 min)。該等結果顯示，

huE104.v2 Fab 與類胰蛋白酶突變體 Y75C 及 I99C 形成複合物，且僅將 I99C 大界面鎖定之四聚體解離成共價連接之二聚體。峰 4、5 及 6 均含有過量之 Fab，如藉由 SDS-PAGD 所測定(數據未顯示)。

【0079】 **圖 7** 顯示成熟人類類胰蛋白酶 β1 之胺基酸序列以及基因序列編號及通常用於哺乳動物絲胺酸胰蛋白酶之胰凝乳蛋白酶原編號(「chymo 編號」)系統。

【0080】 **圖 8** 顯示 Fab hu31A.v11 在人類類胰蛋白酶 β1 上之結合表位(類胰蛋白酶殘基全部為胰凝乳蛋白酶原編號)。

【0081】 **圖 9** 係顯示將 Fab hu31A.v11 建模至類胰蛋白酶四聚體上之透視圖(rendering)。將與 Fab hu31A.v11 複合之類胰蛋白酶單體對準至類胰蛋白酶四聚體中之原體 A 及 C。指示重鏈及輕鏈。在此模型中毗鄰類胰蛋白酶原體上之 Fab hu31A.v11 之輕鏈之間的碰撞由虛線橢圓突出顯示。

【0082】 **圖 10** 顯示在複合結構中檢測到之類胰蛋白酶之 60s 環之構形變化。Val60c 及 Val90 (以條棒示出)產生疏水性口袋，用於結合來自相鄰原體之 Tyr173d，作為四聚體類胰蛋白酶之大界面中蛋白質-蛋白質相互作用之一部分。指示四聚體構形中之類胰蛋白酶原體。結合至 Fab hu31A.v11 之類胰蛋白酶與四聚體複合物之一個原體疊加。當 Fab hu31A.v11 結合時，Val60c 之構形改變，此產生空間位阻，預期該空間位阻阻止 Tyr173d 結合至該口袋(類胰蛋白酶殘基全部為胰凝乳蛋白酶原編號)。

【0083】 **圖 11** 顯示位於在結合至 hu31A.v11 後之複合結構中檢測到之小界面中的類胰蛋白酶 30s 環之構形變化。

【0084】 **圖 12A** 係與四個 huE104.v1 Fab 複合之 WT 類胰蛋白酶四聚體之晶體結構之透視圖。根據字母標記或原體來指示類胰蛋白酶原體(參見 Pereira 等人，*Nature* 392:306-311, 1998)。

【0085】 **圖 12B** 係 huE104.v1 結合對類胰蛋白酶四聚體之小界面之效應(如藉由氫-氘交換(HDX)所評價)之透視圖。

【0086】 **圖 13** 係顯示人類化抗類胰蛋白酶抗體 huE104.v2 及 hu31A.v11 之藥物動力學(PK)分析之結果的圖表，其各自以 1 mg/kg 或 10 mg/kg 藉由靜脈內(IV)注射投與 C57BL/6 小鼠。該圖表顯示隨時間(天)而變之抗類胰蛋白酶抗體濃度(μg/mL)。該等結果來自三個動物。

【0087】 **圖 14** 係顯示與對照抗 gD IgG4 抗體相比，人類化抗類胰蛋白酶抗體 huE104.v2 及 hu31A.v11 之 PK 分析之結果的圖表。每一抗體係藉由 IV 注射以 30 mg/kg 投與食蟹猴(cyno)。該圖表顯示隨時間(天)而變之抗類胰蛋白酶抗體濃度(μg/mL)。

【0088】 **圖 15** 係用於量測樣品中活性類胰蛋白酶之量(左圖)及總類胰蛋白酶之量(右圖)之分析之示意圖。指示類胰蛋白酶單體及四聚體。在左圖中，添加大豆胰蛋白酶抑制劑(SBTI)。接下來，將例示性生物素化之基於活性之探針(ABP)添加至含有類胰蛋白酶之樣品(例如，支氣管肺泡灌洗流體(BAL))以標記活性類胰蛋白酶。藉由添加例示性小分子抑制劑 G02849855 (例如，BMS-262084，Sutton 等人，*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12:3229-33, 2002，Qian 等人，*J. Org. Chem.* 2002, 67:3595-3600)使標記停止。添加 hu31A.v11 抗體以解離類胰蛋白酶四聚體。接著使用偶聯至鏈黴抗生物素蛋白之辣根過氧化物酶在酶聯免疫吸附分析(ELISA)中檢測經標記之類胰蛋白酶。在總類胰蛋白酶分析中，將 hu31A.v11 添加至樣品以解離該樣品中之類胰蛋白酶四聚體。接著使用 ELISA 測定類胰蛋白酶之量。

【0089】 **圖 16** 顯示在自食蟹猴獲得之 BAL 樣品上實施之活性類胰蛋白酶分析之結果，該等食蟹猴藉由靜脈內(IV)投與以 30 mg/kg 投與抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11。上圖顯示實驗方案之示意圖。

【0090】 **圖 17** 係顯示實例 6 中所闡述之 cyno 蛔蟲(*Ascaris*)攻擊模型之實驗方案之示意圖。

【0091】 **圖 18A** 及 **18B** 係顯示在 BAL 上實施之活性類胰蛋白酶分析(圖 18A)及總類胰蛋白酶分析(圖 18B)之結果的圖表，該 BAL 係自實例 6 中所闡述之 cyno 蛔蟲攻擊實驗中之個別動物獲得。

【0092】 **圖 18C** 係顯示總類胰蛋白酶分析以測定鼻黏膜內層流體(MLF)中總類胰蛋白酶之量之結果的圖表，該鼻黏膜內層流體係藉由鼻吸收使用合成吸收性基質(SAM)自實例 6 中所闡述之 cyno 蛔蟲攻擊實驗中之個別動物獲得。

【0093】 **圖 19** 係顯示抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 之投與抑制人類植入小鼠中 IgE 介導之被動全身過敏反應之圖表。與利用對照抗 gD 抗體治療之小鼠相比，在 IgE 攻擊後，利用抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 治療之小鼠顯示改良之體溫維持。*** $P < 0.0001$ (配對 T 檢驗)。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0094】 本申請案主張於 2017 年 2 月 10 日提出申請之美國臨時申請案第 62/457,722 號之權益，該臨時申請案係以全文引用的方式併入本文中。

序列表

【0095】 本申請案含有以 ASCII 格式電子提交之序列表且係以全文引用的方式併入本文中。於 2018 年 2 月 6 日創建之該 ASCII 拷貝命名為 50474-112WO2_Sequence_Listing_2.6.18_ST25 且大小為 108,936 個位元組。

I. 定義

【0096】 如本文所用之術語「約」係指為熟習本技術領域者容易知曉之各別值之一般誤差範圍。在本文中提及「約」一值或參數包括(且描述)關於該值或參數本身之實施例。

【0097】 出於本文目的，「接受體人類框架」係包含源自人類免疫球蛋白框架或人類共有框架之輕鏈可變結構域(VL)框架或重鏈可變結構域(VH)框架之胺基酸序列的框架，如下文所定義。「源自」人類免疫球蛋白框架或人類共有框架之接受體人類框架可包含其相同胺基酸序列，或其可含有胺基酸序列變化。在一些實施例中，胺基酸變化之數量為 10 或更小、9 或更小、8 或更小、7 或更小、6 或更小、5 或更小、4 或更小、3 或更小或 2 或更小。在一些實施例中，VL 接受體人類框架與 VL 人類免疫球蛋白框架序列或人類共有框架序列係序列一致的。

【0098】 「親和力」係指分子(例如，抗體)之單一結合位點與其結合搭配物(例如，抗原)之間的非共價相互作用之總和強度。除非另有指示，否則如本文所用，「結合親和力」係指反映結合對成員(例如，抗體及抗原)之間的 1:1 相互作用之固有結合親和力。分子 X 對於其搭配物 Y 之親和力通常可由解離常數(K_D)表示。親和力可藉由業內已知之常用方法(包括本文所述彼等方法)來量測。量測結合親和力之具體說明性及例示性實施例闡述於下文中。

【0099】 當在技術方案之上下文中使用時，術語「K_D 係藉由表面電漿共振分析來量測」意指 K_D 係根據實例 1(A)(vii)中所闡述之方法來量測，其量測抗類胰蛋白酶抗體與人類類胰蛋白酶 β1 單體(例如，如 SEQ ID NO: 128 中所示之帶 His6 標籤之類胰蛋白酶單體，其不自發形成類胰蛋白酶四聚體)結合之動力學參數。該分析可使用 BIAcore® T200 或等效裝置。簡言之，以 BIAcore® Series S CM5 感測器晶片(或等效感測器晶片)固定化單株小鼠抗人類 IgG (Fc)抗體且隨後在流動細胞上捕獲抗類胰蛋白酶抗體。以 30 μl/min 之流速注射人類類胰蛋白酶 β1 單體之連續 3 倍稀釋液。以 3 min 締合及 10 min 解離來分析每一樣品。該分析係在 25°C下實施。在每次注射後，使用 3 M $MgCl_2$ 使晶片再生。結合反應係藉

由減去以相似密度捕獲無關 IgG 之流動細胞之反應單位(RU)來校正。使用同時擬合 k_{on} 及 k_{off} 之 1:1 Languir 模型進行動力學分析。

【00100】 「親和力成熟」抗體係在一或多個 HVR 及/或框架區中具有一或多個改變之抗體，與不具有彼等改變之親代抗體相比，該等改變使得該抗體對抗原之親和力有所改良。較佳之親和力成熟抗體將對靶標抗原具有奈莫耳級或甚至皮莫耳級親和力。親和力成熟抗體係藉由業內已知之程序來產生。舉例而言，Marks 等人，*Bio/Technology* 10:779-783, 1992 闡述藉由 VH 及 VL 結構域改組之親和力成熟。HVR 及/或框架殘基之隨機誘變闡述於以下文獻中：Barbas 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813, 1994；Schier 等人，*Gene* 169:147-155, 1995；Yelton 等人，*J. Immunol*. 155:1994-2004, 1995；Jackson 等人，*J. Immunol.* 154(7):3310-3319, 1995；及 Hawkins 等人，*J. Mol. Biol.* 226:889-896, 1992。

【0100】 術語「抗體」在本文中係以最廣泛意義使用且涵蓋各種抗體結構，包括(但不限於)單株抗體、多株抗體、多特異性抗體(例如，雙特異性抗體)及抗體片段，主要其展現期望抗原結合活性即可。

【0101】 除非另有指示，否則如本文所用，「類胰蛋白酶」係指來自任何脊椎動物源(包括哺乳動物，例如靈長類動物(例如，人類)及嚙齒類動物(例如，小鼠及大鼠))之任何天然類胰蛋白酶。類胰蛋白酶在業內亦稱為肥大細胞類胰蛋白酶、肥大細胞蛋白酶 II、皮膚類胰蛋白酶、肺類胰蛋白酶、垂體類胰蛋白酶、肥大細胞中性蛋白酶及肥大細胞絲胺酸蛋白酶 II。術語「類胰蛋白酶」涵蓋類胰蛋白酶 α(在人類中由 *TPSAB1* 編碼)、類胰蛋白酶 β(在人類中由 *TPSAB1* 及 *TPSB2* 編碼；參見下文)、類胰蛋白酶 δ(在人類中由 *TPSD1* 編碼)、類胰蛋白酶 γ(在人類中由 *TPSG1* 編碼)及類胰蛋白酶 ε(在人類中由 *PRSS22* 編碼)。類胰蛋白酶 α、β 及 γ 蛋白係可溶蛋白，而類胰蛋白酶 ε 蛋白係膜錨定蛋白。類胰蛋白酶 β 及 γ 係活性絲胺酸蛋白酶，但其具有不同特異性。類胰蛋白酶 α 及 δ 蛋白在很大程度

上係無活性蛋白酶，此乃因其在關鍵位置中具有不同於典型活性絲胺酸蛋白酶之殘基。例示性類胰蛋白酶 α 全長蛋白質序列可參見 NCBI 基因庫(GenBank)登錄號 ACZ98910.1 (SEQ ID NO: 118)。例示性類胰蛋白酶 γ 全長蛋白質序列可參見 Uniprot 登錄號 Q9NRR2 或基因庫登錄號 Q9NRR2.3、AAF03695.1、NP_036599.3 或 AAF76457.1。例示性類胰蛋白酶 δ 全長蛋白質序列可參見 Uniprot 登錄號 Q9BZJ3 或基因庫登錄號 NP_036349.1。若干個類胰蛋白酶基因聚集在人類染色體 16p13.3 上。該術語涵蓋細胞中「全長」之未經處理之類胰蛋白酶以及自處理產生之任何形式之類胰蛋白酶。類胰蛋白酶 β 係肥大細胞中所表現之主要類胰蛋白酶，而類胰蛋白酶 α 係嗜鹼性球中所表現之主要類胰蛋白酶。類胰蛋白酶 α 及類胰蛋白酶 β 通常包括大約 30 個胺基酸之前導序列及大約 245 個胺基酸之催化序列(參見例如 Schwartz, *Immunol. Allergy Clin. N. Am.* 26:451-463, 2006)。

【0102】 除非另有指示，否則如本文所用，「類胰蛋白酶 β」係指來自任何脊椎動物源(包括哺乳動物，例如靈長類動物(例如，人類)及嚙齒類動物(例如，小鼠及大鼠))之任何天然類胰蛋白酶 β。類胰蛋白酶 β 係為肥大細胞分泌顆粒之主要成分之絲胺酸蛋白酶。如本文所用，該術語涵蓋類胰蛋白酶 β1 (由 *TPSAB1* 基因編碼，其亦編碼類胰蛋白酶 α 1)、類胰蛋白酶 β2 (由 *TPSB2* 基因編碼)及類胰蛋白酶 β3 (亦由 *TPSB2* 基因編碼)。例示性人類類胰蛋白酶 β1 序列示於 SEQ ID NO: 71 中(亦參見基因庫登錄號 NP_003285.2)。例示性人類類胰蛋白酶 β2 序列示於 SEQ ID NO: 72 中(亦參見基因庫登錄號 AAD13876.1)。例示性人類類胰蛋白酶 β3 序列示於 SEQ ID NO: 73 中(亦參見基因庫登錄號 NP_077078.5)。術語類胰蛋白酶 β 涵蓋「全長」未經處理之類胰蛋白酶 β 以及自轉譯後修飾(包括蛋白水解處理)產生之類胰蛋白酶 β。認為全長前體類胰蛋白酶 β 係以兩個蛋白水解步驟來處理。首先，R^{-3} 處發生自催化分子間裂解，尤其在酸性 pH 下及在多陰

離子(例如，肝素或硫酸聚葡萄糖)存在下。接著，去除剩餘前體二肽(可能藉由二肽基肽酶 I)。對於全長人類類胰蛋白酶 β1，參考下文之 SEQ ID NO: 71，加下劃線之胺基酸殘基對應於天然前導序列，且粗體及灰色陰影胺基酸殘基對應於原結構域(pro-domain)，其裂解以形成成熟蛋白質(參見例如 Sakai 等人，*J. Clin. Invest.* 97:988-995, 1996)

MLNLLLLALPVLASR**AYAAPAPGQALQRVG**IVGGQEAPRSKWPWQVSLRVHGPYWMHFCG
GSLIHPQWVLTAAHCVGPDVKDLAALRVQLREQHLYYQDQLLPVSRIIVHPQFYTAQIGA
DIALLELEEPVNVSSHVHTVTLPPASETFPPGMPCWVTGWGDVDNDERLPPPFPLKQVKV
PIMENHICDAKYHLGAYTGDDVRIVRDDMLCAGNTRRDSCQGDSGGPLVCKVNGTWLQAG
VVSWGEGCAQPNRPGIYTRVTYYLDWIHHYVPKKP (SEQ ID NO: 71)。

【0103】 儘管已報導活性單體，但成熟酶活性類胰蛋白酶 β 通常係同四聚體或異四聚體(參見例如 Fukuoka 等人，*J. Immunol.* 176:3165, 2006)。類胰蛋白酶 β 四聚體之亞單元係藉由亞單元之間的疏水性及極性相互作用固持在一起且藉由多陰離子(具體而言肝素及硫酸聚葡萄糖)穩定化。術語類胰蛋白酶可係指類胰蛋白酶四聚體或類胰蛋白酶單體。成熟人類類胰蛋白酶 β1、β2 及 β3 之例示性序列分別示於 SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 116 及 SEQ ID NO: 117 中。每一亞單元之活性位點面向四聚體之中心孔，其經量測為大約 50 × 30 埃(參見例如 Pereira 等人，*Nature* 392:306-311, 1998)。中心孔之大小通常限制抑制劑接近活性位點。類胰蛋白酶 β 之例示性受質包括(但不限於) PAR2、C3、纖維蛋白原、纖連蛋白及激肽原。

【0104】 術語「抗類胰蛋白酶抗體」、「結合至類胰蛋白酶之抗體」及「特異性結合類胰蛋白酶之抗體」係指能夠以足夠親和力結合類胰蛋白酶之抗體，使得該抗體可用作靶向類胰蛋白酶之診斷劑及/或治療劑。在一個實施例中，抗類胰蛋白酶抗體與無關非類胰蛋白酶蛋白之結合程度小於抗體與類胰蛋白酶結合之約 10%，如(例如)藉由放射性免疫分析(RIA)所量測。在某些實施例中，結合至類胰蛋白酶之抗體之解離常數(K_D)為≤ 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 10^{-8} M 至 10^{-13} M、例如 10^{-9} M 至 10^{-13} M)。在某些實施例中，抗類胰蛋白酶抗體結合至類胰蛋白酶之表位，該表位在來自不同物種之類胰蛋白酶中係保守的。

【0105】 與參考抗體「結合至相同表位之抗體」係指與參考抗體相比，接觸抗原之一組重疊胺基酸殘基或在競爭分析中將參考抗體與其抗原之結合阻斷50%或更高、60%或更高、70%或更高、80%或更高或 90%或更高之抗體。在一些實施例中，該抗體接觸之胺基酸殘基組可與參考抗體接觸之胺基酸殘基組完全重疊或部分重疊。在一些實施例中，與參考抗體結合至相同表位之抗體在競爭分析中將參考抗體與其抗原之結合阻斷 50%或更高、60%或更高、70%或更高、80%或更高或 90%或更高，且反之，參考抗體在競爭分析中將該抗體與其抗原之結合阻斷 50%或更高、60%或更高、70%或更高、80%或更高或 90%或更高。例示性競爭分析提供於本文中。

【0106】 在技術方案之上下文中，術語「藉由表位鑑定分析所測定」意指使用(例如)實例 3 部分 C 中所闡述之 OCTET®表位鑑定分析，抗體經測定與參考抗類胰蛋白酶抗體(例如，hu31A.v11 或 huE104.v2)結合至相同表位及/或與其競爭結合。簡言之，藉由與 NHS-PEG4-生物素反應，人類類胰蛋白酶 β1 單體蛋白質在 Lys 殘基處生物素化。將生物素化單體於動力學緩衝液(ForteBio, Inc.)中稀釋至 5 μg/ml，且固定化至鏈黴抗生物素蛋白感測器尖端(ForteBio, Inc.)上。在固定化步驟之後，利用以 10-20 μg/ml 稀釋之第一抗體使人類類胰蛋白酶 β1 固定化感測器飽和，之後與以 2.5 μg/ml 稀釋之第二抗體結合。此等表位結合分析之運行溫度係 30°C。第二抗體之結合信號意味著該兩種抗體可在不同之非重疊表位同時結合抗原，而無結合信號意味著其共享共同表位。在一些情況下，觀察到第二抗體之部分信號(亦即，該信號小於若未添加第一抗體所觀察到之信號，但大於背景)，此意味著表位部分重疊。

【0107】 「抗體片段」包含完整抗體之一部分，較佳完整抗體之抗原結合或可變區。抗體片段之實例包括 Fab、Fab'、$F(ab')_2$ 及 Fv 片段；雙價抗體；線性抗體(參見美國專利第 5,641,870 號實例 2；Zapata 等人，*Protein Eng.* 8(10):1057-1062, 1995)；單鏈抗體分子；及自抗體片段形成之多特異性抗體。

【0108】 抗體之木瓜酶消化產生兩個相同抗原結合片段(稱為「Fab」片段)及殘餘「Fc」片段，「Fab」片段之命名反映容易結晶之能力。Fab 片段係由整個 L 鏈以及 H 鏈之可變區結構域(VH)及一條重鏈之第一恆定結構域(C_H1)組成。抗體經胃蛋白酶處理產生單個大 $F(ab')_2$ 片段，該片段大致對應於兩個經二硫鍵連接之具有二價抗原結合活性之 Fab 片段，且仍然能夠交聯抗原。Fab'片段與 Fab 片段之不同之處在於 C_H1 結構域之羧基末端具有幾個額外殘基，該等殘基包括一或多個來自抗體鉸鏈區之半胱胺酸。Fab'-SH 係本文針對恆定結構域之半胱胺酸殘基帶有游離硫醇基之 Fab'之命名。$F(ab')_2$ 抗體片段最初係作為在其間具有鉸鏈半胱胺酸之 Fab'片段對產生。亦已知抗體片段之其他化學偶合。

【0109】 術語「Fc 區」在本文中用於界定免疫球蛋白重鏈中含有恆定區之至少一部分之 C-末端區域。該術語包括天然序列 Fc 區及變體 Fc 區。在一個實施例中，人類 IgG 重鏈 Fc 區自 Cys226 或自 Pro230 延伸至重鏈之羧基末端。然而，Fc 區之 C 末端離胺酸(Lys447)可存在或可不存在。除非在本文中另外指定，否則 Fc 區或恆定區中之胺基酸殘基之編號係根據 EU 編號系統(亦稱為 EU 索引)，如 Kabat 等人 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第 5 版. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991 中所闡述。

【0110】 「Fv」係由一個重鏈可變區結構域及一個輕鏈可變區結構域以緊密非共價締合之二聚體組成。自該兩個結構域之摺疊可產生 6 個超變環(自 H 鏈及 L 鏈各自產生 3 個環)，該等超變環貢獻用於抗原結合之胺基酸殘基且賦予抗體以抗原結合特異性。然而，即使單一可變結構域(或 Fv 之一半，其僅包含 3 個對

抗原具有特異性之 H)亦具有識別且結合抗原之能力，但其親和力通常低於完整結合位點。

【0111】 亦縮寫為「sFv」或「scFv」之「單鏈 Fv」係包含連結成單一多肽鏈之 VH 及 VL 抗體結構域之抗體片段。較佳地，sFv 多肽進一步包含在 VH 與 VL 結構域之間的多肽連接體，其使 sFv 能夠形成所期望之抗原結合結構。關於 sFv 之綜述參見 Pluckthun，*The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, 第 113 卷, Rosenburg 及 Moore 編輯, Springer-Verlag, New York, 第 269-315 頁, 1994。

【0112】 術語「雙價抗體」係指藉由以下方式製備之小抗體片段：用 VH 與 VL 結構域之間的短連接體(約 5-10 個殘基)構築 sFv 片段(參見前述段落)，使得達成 V 結構域之鏈間而非鏈內配對，從而產生二價片段，亦即具有兩個抗原結合位點之片段。雙特異性雙價抗體係兩個「交叉」sFv 片段之異二聚體，其中兩種抗體之 VH 及 VL 結構域存在於不同多肽鏈上。雙價抗體更充分地闡述於(例如) EP 404,097；WO 93/11161；及 Hollinger 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448, 1993 中。

【0113】 「結合結構域」意指特異性結合至靶標表位、抗原、配體或受體之化合物或分子之一部分。結合結構域包括(但不限於)抗體(例如，單株、多株、重組、人類化及嵌合抗體)、抗體片段或其部分(例如，Fab 片段、Fab'2、scFv 抗體、SMIP、結構域抗體、雙價抗體、微型抗體、scFv-Fc、親和抗體、奈米抗體及抗體之 VH 及/或 VL 結構域)、受體、配體、適體及具有經鑑別之結合搭配物之其他分子。

【0114】 「阻斷」抗體或「拮抗劑」抗體係抑制或降低其結合之抗原之生物學活性之抗體。某些阻斷抗體或拮抗劑抗體實質上或完全抑制抗原之生物學活性。在一些實施例中，該活性可係類胰蛋白酶酶活性，例如蛋白酶活性。在其他情況下，該活性可係類胰蛋白酶介導之對支氣管平滑肌細胞增殖及/或基於膠

原之收縮之刺激。在其他情況下，該活性可係肥大細胞組胺釋放(例如，IgE 觸發之組胺釋放及/或類胰蛋白酶觸發之組胺釋放)。本發明之抗體可將類胰蛋白酶之生物學活性抑制至少約 1%、約 5%、約 10%、約 20%、約 25%、約 30%、約 35%、約 40%、約 45%、約 50%、約 55%、約 60%、約 65%、約 70%、約 75%、約 80%、約 85%、約 90%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%或約 100%。

【0115】 在技術方案之上下文中，術語「如藉由人類類胰蛋白酶 β 酶分析使用合成肽 S-2288 作為受質所測定」意指抑制活性係根據實例 1(A)(viii)(a)中所闡述之分析來量測。簡言之，將重組人類類胰蛋白酶 β1 四聚體活性酶於 TNH 緩衝液(200 mM Tris, 150 mM NaCl, 0.1 mg/mL 肝素, 0.01% TRITON™ X-100, pH 8.0)中稀釋至 0.75 nM，且與抗類胰蛋白酶抗體(稀釋於 PBS 中) 1:1 組合於 384 孔板中。將板在輕柔攪動下在環境溫度下培育 1 h。將比色受質 S-2288 (Chromogenix，部件號 82-0852-39)或等效受質於 TNH 緩衝液中稀釋至 1200 μM 且添加至板。最終孔內濃度為 400 μM S-2288、0.25 nM 重組人類類胰蛋白酶 β1 四聚體、66 μg/ mL 肝素及 0.10 nM 至 222 nM 抗類胰蛋白酶抗體。將板在輕柔攪動下在環境溫度下培育 40 min 且接著在 A_{405} 下讀取。抗類胰蛋白酶抗體之 IC50 係自其各別曲線之四參數擬合來測定。

【0116】 抗體之「類別」係指其重鏈所具有之恆定結構域或恆定區之類型。存在五種主要類別之抗體：IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM，且該等中之若干者可進一步分成亞類(同型)，例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1 及 IgA_2。對應於不同類別之免疫球蛋白之重鏈恆定結構域分別稱為α、δ、ε、γ及μ。

【0117】 抗體「效應物功能」係指彼等歸因於抗體 Fc 區(天然序列 Fc 區或胺基酸序列變體 Fc 區)之生物學活性，且隨抗體同型而有所變化。抗體效應物功能之實例包括：C1q 結合及補體依賴性細胞毒性；Fc 受體結合；抗體依賴性細胞

介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬；細胞表面受體(例如，B 細胞受體)之下調；及 B 細胞活化。

【0118】 「抗體依賴性細胞介導之細胞毒性」或「ADCC」係指以下細胞毒性形式：其中結合至存在於某些細胞毒性細胞(例如，天然殺手(NK)細胞、嗜中性球及巨噬細胞)上之 Fc 受體(FcR)之經分泌 Ig 使該等細胞毒性效應細胞能夠特異性地結合至帶抗原之靶細胞且隨後利用細胞毒素殺死該靶細胞。抗體「武裝」該等細胞毒性細胞且對於此種殺死係絕對必需的。介導 ADCC 之主要細胞 NK 細胞僅表現 FcγRIII，而單核球表現 FcγRI、FcγRII 及 FcγRIII。造血細胞上之 FcR 表現彙總於 Ravetch 等人，*Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492, 1991 之第 464 頁上之表 3 中。為評價所關注分子之 ADCC 活性，可實施活體外 ADCC 分析(例如美國專利第 5,500,362 號或第 5,821,337 號中所闡述者)。用於此等分析之可用效應細胞包括末梢血單核細胞(PBMC)及天然殺手(NK)細胞。或者或另外，所關注分子之 ADCC 活性可在活體內進行評價，例如在動物模型(例如 Clynes 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:652-656, 1998 中所揭示者)中評價。

【0119】 「Fc 受體」或「FcR」闡述結合至抗體之 Fc 區之受體。較佳 FcR 係天然序列人類 FcR。此外，較佳 FcR 係結合 IgG 抗體者(γ 受體)且包括 FcγRI、FcγRII 及 FcγRIII 亞類之受體，包括該等受體之等位基因變體及選擇性剪接形式。FcγRII 受體包括 FcγRIIA (「活化性受體」)及 FcγRIIB (「抑制性受體」)，兩者具有主要在其細胞質結構域上有所不同之類似胺基酸序列。活化性受體 FcγRIIA 在其細胞質結構域中含有基於免疫受體酪胺酸之活化基序(ITAM)。抑制性受體 FcγRIIB 在其細胞質結構域中含有基於免疫受體酪胺酸之抑制基序(ITIM) (參見綜述 M. Daëron，*Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234, 1997)。FcR 綜述於(例如)以下文獻中：Ravetch 等人，*Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492, 1991；Capel 等人，*Immunomethods* 4:25-34, 1994；及 de Haas 等人，*J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41,

1995。本文中之術語「FcR」涵蓋其他 FcR，包括欲在將來鑑別之彼等 FcRn。該術語亦包括負責將母體 IgG 轉移至胎中之新生受體 FcRn (參見例如 Guyer 等人，*J. Immunol.* 117:587, 1976；及 Kim 等人，*J. Immunol.* 24:249, 1994)。

【0120】 「人類效應細胞」係表現一或多種 FcR 且執行效應物功能之白血球。較佳地，該等細胞至少表現 FcγRIII 且執行 ADCC 效應物功能。介導 ADCC 之人類白血球之實例包括末梢血單核細胞(PBMC)、天然殺手(NK)細胞、單核球、細胞毒性 T 細胞及嗜中性球；其中 PBMC 及 NK 細胞較佳。效應細胞可自天然來源(例如，自血液)分離。

【0121】 「補體依賴性細胞毒性」或「CDC」係指在補體存在下靶細胞之溶解。經典補體路徑之活化係藉由補體系統之第一組分(C1q)與抗體(適當亞類)之結合來起始，該等抗體結合至其同族抗原。為評價補體活化，可實施 CDC 分析，例如如 Gazzano-Santoro 等人，*J. Immunol. Methods* 202:163, 1996 中所闡述。

【0122】 「表位」係抗體選擇性結合之抗原部分。對於多肽抗原，線性表位可係約 4-15 (例如，4、5、6、7、8、9、10、11、12)個胺基酸殘基之肽部分。非線性構形表位可包含在蛋白質之三維(3D)結構中緊密靠近之多肽序列之殘基。在一些實施例中，該表位包含在抗體之任一原子 4 埃(Å)內之胺基酸。在一些實施例中，該表位包含在搭配物 Fab 之任一原子 4 Å 內之類胰蛋白酶原體之胺基酸。在某些實施例中，表位包含在抗體之任一原子 3.5 Å、3 Å、2.5 Å 或 2 Å 內之胺基酸。接觸抗原之抗體之胺基酸殘基(亦即，互補位)可確定，例如藉由測定與抗原複合之抗體之晶體結構或藉由實施氫/氘交換來確定。

【0123】 當在技術方案之上下文中使用時，術語「表位係藉由 X 射線結晶學模型來測定」意指在 X 射線結晶學模型中，類胰蛋白酶胺基酸殘基(例如，人類類胰蛋白酶 β1 殘基)之原子經測定係在抗類胰蛋白酶抗體(例如，本文所闡述之任一抗類胰蛋白酶抗體，例如 hu31A.v11 或 huE104.v2)之任一原子之 4 Å 內，例

如如實例 3 中所闡述。在一些實施例中，X 射線結晶學模型之解析度為約 3.5 Å 或更小、約 3 Å 或更小、約 2.5 Å 或更小、約 2.15 Å 或更小或約 2 Å 或更小。

【0124】 術語「全長抗體」、「完整抗體」及「全抗體」在本文中可互換使用，其係指具有實質上類似於天然抗體結構之結構或具有含有如本文所定義之 Fc 區之重鏈的抗體。

【0125】 「人類抗體」係具有對應於由人類產生之抗體之胺基酸序列之胺基酸序列及/或使用用於製備人類抗體之技術中之任一者製備的抗體。人類抗體之此定義明確排除包含非人類抗原結合殘基之人類化抗體。

【0126】 「人類共有框架」係代表在人類免疫球蛋白 VL 或 VH 框架序列之選擇中最常出現之胺基酸殘基之框架。一般而言，人類免疫球蛋白 VL 或 VH 序列之選擇係來自可變結構域序列之亞組。一般而言，序列亞組係如 Kabat 等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第五版, NIH 出版 91-3242, Bethesda MD, 第 1-3 卷, 1991 中之亞組。在一個實施例中，對於 VL 而言，亞組係如 Kabat 等人，上文文獻中之亞組 κIII 或 κIV。在一個實施例中，對於 VH 而言，亞組係如 Kabat 等人，上文文獻中之亞組 III。

【0127】 非人類(例如，嚙齒類動物)抗體之「人類化」形式係含有最少量源自非人類抗體之序列之嵌合抗體。在極大程度上，人類化抗體係人類免疫球蛋白(接受者抗體)，其中來自接受者超變區之殘基係由來自非人類物種(例如小鼠、大鼠、兔或非人類靈長類動物)超變區(供體抗體)之具有期望抗體特異性、親和力及能力之殘基所替代。在一些情況下，人類免疫球蛋白之框架區(FR)殘基係由相應非人類殘基替代。此外，人類化抗體可包含接受者抗體或供體抗體中不存在之殘基。實施該等修飾來進一步改良抗體性能。一般而言，人類化抗體將包含實質上全部至少一個、且通常兩個可變結構域，其中全部或實質上全部的超變環對應於非人類免疫球蛋白之彼等超變環，且全部的或實質上全部的 FR 為人類

免疫球蛋白序列之彼等 FR。人類化抗體視情況亦將包含免疫球蛋白恆定區(Fc)(通常為人類免疫球蛋白恆定區)之至少一部分。關於其他細節，參見 Jones 等人，*Nature* 321:522-525, 1986；Riechmann 等人，*Nature* 332:323-329, 1988；及 Presta，*Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596, 1992。

【0128】 「免疫偶聯物」係偶聯至一或多個異源分子(包括(但不限於)細胞毒性劑)之抗體。

【0129】 術語「經分離」當用於描述本文所揭示之各種抗體時，意指已自表現其之細胞或細胞培養物鑑別且分離及/或回收之抗體。其自然環境之污染組分係通常會干擾多肽之診斷或治療用途之材料，且可包括酶、激素及其他蛋白質性或非蛋白質性溶質。在一些實施例中，將抗體純化至具有大於 95%或 99%之純度，如藉由(例如)電泳(例如，十二烷基硫酸鈉聚丙烯醯胺凝膠電泳(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)方法所測定。關於評價抗體純度方法之綜述，例如參見 Flatman 等人，*J. Chromatogr. B* 848:79-87, 2007。在較佳實施例中，抗體將純化(1)至藉由使用旋杯式序列分析儀足以獲得至少 15 個 N 末端或內部胺基酸序列殘基之程度，或(2)至同質性，如藉由 SDS-PAGE 在非還原或還原條件下使用考馬斯藍或較佳銀染色所實施。由於多肽自然環境之至少一種組分可能不存在，因此經分離抗體包括重組細胞內之原位抗體。然而，通常，經分離多肽將藉由至少一個純化步驟來製備。

【0130】 如本文所用之術語「單株抗體」係指自實質上同源抗體之群體獲得之抗體，亦即，包含該群體之個別抗體相同及/或結合抗原上之相同表位，可能之變體抗體除外，例如，含有天然突變或在產生單株抗體製劑期間產生之變體，此等變體通常以較小量存在。與通常包括針對不同決定簇(表位)之不同抗體之多株抗體製劑相比，單株抗體製劑中之每一單株抗體係針對抗原上之單一決定

簇。因此，修飾語「單株」指示抗體之特徵在於自實質上同源之抗體群體獲得，且不應解釋為需要藉由任何特定方法來產生該抗體。舉例而言，根據本發明使用之單株抗體可藉由各種技術來製得，包括(但不限於)雜交瘤方法、重組 DNA 方法、噬菌體展示方法及利用含有所有或一部分人類免疫球蛋白基因座之轉基因動物的方法，製備單株抗體之此等方法及其他例示性方法闡述於本文中。在某些實施例中，術語「單株抗體」涵蓋雙特異性抗體。

【0131】 術語「雙價抗體」係指對於抗原具有兩個結合位點之抗體。雙價抗體可(但不限於)呈 IgG 形式或呈 $F(ab')_2$ 形式。

【0132】 術語「多特異性抗體」係以最廣泛意義使用且涵蓋結合至一個抗原上之兩個或更多個決定簇或表位或一個以上抗原上之兩個或更多個決定簇或表位之抗體。此等多特異性抗體包括(但不限於)全長抗體、具有兩個或更多個 VL 及 VH 結構域之抗體、抗體片段(例如 Fab、Fv、dsFv、scFv)、雙價抗體、雙特異性雙價抗體及三價抗體、已以共價或非共價方式連接之抗體片段。「多表位特異性」係指特異性結合至相同或不同靶標上之兩個或更多個不同表位之能力。在某些實施例中，該多特異性抗體係雙特異性抗體。「雙重特異性」或「雙特異性」係指特異性結合至相同或不同靶標上之兩個不同表位之能力。然而，與雙特異性抗體相反，雙重特異性抗體具有胺基酸序列一致之兩個抗原結合臂且每一 Fab 臂能夠識別兩種抗原。雙重特異性容許抗體與兩種不同抗原以高親和力相互作用作為單一 Fab 或 IgG 分子。根據一個實施例，多特異性抗體以以下親和力結合至每一表位：5 μM 至 0.001 pM、3 μM 至 0.001 pM、1 μM 至 0.001 pM、0.5 μM 至 0.001 pM 或 0.1 μM 至 0.001 pM。「單特異性」係指僅結合一個表位之能力。

【0133】 「裸抗體」係指不與異源部分(例如，細胞毒性部分)或放射性標記偶聯之抗體。裸抗體可存在於醫藥組合物中。

【0134】 關於抗體與靶標分子之結合，術語「結合(binds 或 binding)」或「特異性結合(specific binding 或 specifically binds)」或「特異於」特定多肽或特定多肽靶標上之表位意指與非特異性相互作用明顯不同之結合。特異性結合可(例如)藉由測定與對照分子之結合相比分子之結合來量測。舉例而言，特異性結合可藉由與類似於靶標(例如過量之非標記靶標)之對照分子競爭來測定。在此情形下，若經標記靶標與探針之結合由過量未經標記之靶標競爭性地抑制，則指示特異性結合。如本文所用之術語「特異性結合」或「特異性結合至」或「特異於」特定多肽或特定多肽靶標上之表位可(例如)藉由對於靶標 K_D 為 10^{-4} M 或更低、或者 10^{-5} M 或更低、或者 10^{-6} M 或更低、或者 10^{-7} M 或更低、或者 10^{-8} M 或更低、或者 10^{-9} M 或更低、或者 10^{-10} M 或更低、或者 10^{-11} M 或更低、或者 10^{-12} M 或更低或 K_D 在 10^{-4} M 至 10^{-6} M 或 10^{-6} M 至 10^{-10} M 或 10^{-7} M 至 10^{-9} M 範圍內之分子展現。如熟習此項技術者將瞭解，親和力及 K_D 值呈逆相關。對於抗原之高親和力係藉由低 K_D 值來量測。在一個實施例中，術語「特異性結合」係指其中分子結合至特定多肽或特定多肽上之表位而實質上不與任何其他多肽或多肽表位結合之結合。

【0135】 「互補位」意指結合抗原表位之抗體部分。互補位通常係抗體 Fv 區之約 15-22 個胺基酸殘基之區且可含有來自抗體 V_H 及 V_L 鏈之胺基酸。

【0136】 術語「可變」係指抗體之間可變結構域之某些區段之序列差異極大的事實。可變或「V」結構域介導抗原結合且界定特定抗體對其特定抗原之特異性。然而，可變性在跨越 110 個胺基酸跨度之可變結構域內並不均勻分佈。相反，V 區係由具有 15-30 個胺基酸之稱為框架區(FR)之相對不變區段(stretch)及將框架區分開之各自長度為 9-12 個胺基酸之稱為「超變區」之具有極度可變性之較短區組成。術語「超變區」或「HVR」在本文中使用時係指負責與抗原結合之抗體之胺基酸殘基。超變區通常包含來自(例如)圍繞 VL 中之約殘基 24-34

(L1)、50-56 (L2)及 89-97 (L3)及圍繞 VH 中之約殘基 26-35 (H1)、49-65 (H2)及 95-102 (H3) (在一個實施例中，H1 圍繞約殘基 31-35)；Kabat 等人，上文文獻)之胺基酸殘基及/或來自「超變環」(例如，VL 中之殘基 26-32 (L1)、50-52 (L2)及 91-96 (L3)以及 VH 中之 26-32 (H1)、53-55 (H2)及 96-101 (H3))之彼等殘基；Chothia 等人，*J. Mol. Biol.* 196:901-917, 1987。天然重鏈及輕鏈之可變結構域各自包含藉由三個超變區連結之主要採用 β-摺疊構形的四個 FR，該等 FR 形成連結 β-摺疊結構且在某些情形下形成構成 β-摺疊結構一部分之環。每一鏈中之超變區藉由 FR 保持緊密靠近，與來自另一鏈之超變區一起促進形成抗體之抗原結合位點(參見 Kabat 等人，上文文獻)。因此，HVR 及 FR 序列通常出現於 VH (或 VL)中之以下序列中：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。恆定結構域並不直接參與抗體與抗原之結合，但展現多種效應物功能，例如，抗體參與抗體依賴性細胞毒性(ADCC)。

【0137】 術語「如 Kabat 中之可變結構域殘基編號」或「如 Kabat 中之胺基酸位置編號」及其變化形式係指用於 Kabat 等人(上文文獻)中之所彙編抗體之重鏈可變結構域或輕鏈可變結構域之編號系統。使用此編號系統，實際線性胺基酸序列可含有較少或額外之對應於可變結構域之 FR 或 HVR 之縮短或插入之胺基酸。舉例而言，重鏈可變結構域可包括在 H2 之殘基 52 後之單胺基酸插入(根據 Kabat 之殘基 52a)及重鏈 FR 殘基 82 後之插入殘基(例如，根據 Kabat 之殘基 82a、82b 及 82c 等)。給定抗體殘基之 Kabat 編號可藉由將抗體序列之同源區與「標準」Kabat 編號序列比對來確定。

【0138】 Kabat 編號系統通常在提及可變結構域中之殘基(大約輕鏈之殘基 1-107 及重鏈之殘基 1-113)時使用(例如，Kabat 等人，上文文獻)。「EU 編號系統」或「EU 索引」通常在提及免疫球蛋白重鏈恆定區中之殘基時使用(例如，Kabat 等人上文文獻中所報導之 EU 索引)。「如 Kabat 中之 EU 索引」係指人類

IgG1 EU 抗體之殘基編號。除非本文中另有說明，否則對抗體可變結構域中之殘基編號之提及意指藉由 Kabat 編號系統之殘基編號。除非本文中另有說明，否則對抗體恆定結構域中之殘基編號之提及意指藉由 EU 編號系統之殘基編號(參見例如美國臨時申請案第 60/640,323 號，關於 EU 編號之圖)。

【0139】 「病症」或「疾病」係將受益於利用抗體(例如，本文所闡述之任一抗類胰蛋白酶抗體)治療之任何病狀。此包括慢性及急性病症或疾病，包括使哺乳動物易患所討論病症之彼等病理學病狀。在一些實施例中，該病症係肺部病症、自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症、淋巴球性病症或與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症。在一些實施例中，該病症係肺部病症。在一些實例中，病症可係類胰蛋白酶相關病症或類胰蛋白酶介導之病症。

【0140】 如本文所用之術語「類胰蛋白酶相關病症」及「類胰蛋白酶介導之病症」係指由類胰蛋白酶介導或與類胰蛋白酶相關之任何病症或病狀。在一些實施例中，類胰蛋白酶相關病症與過量之類胰蛋白酶含量或活性相關，其中非典型症狀可因身體局部及/或全身類胰蛋白酶之含量或活性而顯現。

【0141】 在一些實施例中，肺部病症係氣喘。在一些實施例中，氣喘係持續性慢性嚴重氣喘，伴隨可威脅生命之惡化症狀之急性事件(加劇或眩暈)。在一些實施例中，氣喘係特應性(亦稱為過敏性)氣喘、非過敏性氣喘(例如，通常由呼吸道病毒感染(例如，流感病毒、副流感病毒、鼻病毒、人類間質肺炎病毒及呼吸道融合病毒)或吸入刺激物(空氣污染物、煙霧、柴油顆粒、揮發性化學品及室內或室外氣體)或甚至由乾冷空氣觸發)。

【0142】 在一些實施例中，氣喘係由於急性或慢性首次或二次暴露於「菸」(通常香菸、雪茄、菸斗)、吸入或「霧吸(vaping)」(菸草、大麻或其他此等物質)所致之間歇性或運動誘發之氣喘或由近期服用阿司匹林(aspirin)或相關 NSAID 觸發之氣喘。在一些實施例中，氣喘係輕度或皮質類固醇初始氣喘、新診斷且未經治療之氣喘或先前不需要長期使用吸入之局部或全身類固醇來控制症狀(咳嗽、喘鳴、呼吸短促/呼吸暫停或胸痛)之氣喘。在一些實施例中，氣喘係慢性皮質類固醇抗性氣喘、皮質類固醇難治性氣喘、不受皮質類固醇或其他慢性氣喘控制藥劑控制之氣喘。

【0143】 在一些實施例中，氣喘係中度至嚴重氣喘。在某些實施例中，氣喘係高 Th2 氣喘。在一些實施例中，氣喘係嚴重氣喘。在一些實施例中，氣喘係特應性氣喘、過敏性氣喘、非過敏性氣喘(例如，由於感染及/或呼吸道融合病毒(RSV)所致)、運動誘發之氣喘、阿司匹林敏感/加劇氣喘、輕度氣喘、中度至嚴重氣喘、皮質類固醇初始氣喘、慢性氣喘、皮質類固醇抗性氣喘、皮質類固醇難治性氣喘、新診斷且未經治療之氣喘、由於吸菸所致之氣喘、不受皮質類固醇控制之氣喘。在一些實施例中，氣喘係 2 型輔助性 T 淋巴球(Th2)或 2 型(Th2)高或 2 型(T2)驅動之氣喘。在一些實施例中，氣喘係嗜酸性球性氣喘。在一些實施例中，氣喘係過敏性氣喘。在一些實施例中，個體已確定為嗜酸性球性發炎陽性(Eosinophilic Inflammation Positive，EIP)。參見 WO2015/061441。在一些實施例中，氣喘係高骨膜素(periostin)氣喘(例如，骨膜素含量為至少約 20 ng/mL、25 ng/mL 或 50 ng/mL 血清中之任一者)。在一些實施例中，氣喘係高嗜酸性球氣喘(例如，至少約 150、200、250、300、350、400 個嗜酸性球計數/ml 血液中之任一者)。在某些實施例中，氣喘係低 Th2 氣喘或非 Th2 驅動之氣喘。在一些實施例中，個體已確定為嗜酸性球性發炎陰性(Eosinophilic Inflammation Negative，EIN)。參見 WO2015/061441。在一些實施例中，氣喘係低骨膜素氣喘(例如，骨

膜素含量為少於約 20 ng/mL 血清)。在一些實施例中，氣喘係低嗜酸性球氣喘(例如，少於約 150 個嗜酸性球計數/μl 血液或少於約 100 個嗜酸性球計數/μl 血液)。

【0144】　如本文所用之術語「高 Th2 氣喘」係指展現高含量之一或多種 Th2 細胞相關細胞介素(例如 IL13、IL4、IL9、IL5)或展現 Th2 細胞介素相關發炎之氣喘。在某些實施例中，術語高 Th2 氣喘可與高嗜酸性球氣喘互換使用。在某些實施例中，高 Th2 氣喘係 Th2 驅動之氣喘。在一些實施例中，已確定氣喘患者為嗜酸性球性發炎陽性(EIP)。參見例如國際專利申請公開案第 WO 2015/061441 號，其係以全文引用的方式併入本文中。在某些實施例中，與對照或參考含量相比，已確定個體具有升高含量之至少一種嗜酸性球性印記基因。參見 WO2015/061441。在某些實施例中，高 Th2 氣喘係高骨膜素氣喘。在一些實施例中，個體具有高血清骨膜素。在某些實施例中，個體為 18 歲或更大。在某些實施例中，與對照或參考含量相比，已確定個體具有升高含量之血清骨膜素。在某些實施例中，對照或參考含量係群體中骨膜素之中值含量。在某些實施例中，已確定個體具有 20 ng/ml 或更高之血清骨膜素。在某些實施例中，已確定個體具有 25 ng/ml 或更高之血清骨膜素。在某些實施例中，已確定個體具有 50 ng/ml 或更高之血清骨膜素。在某些實施例中，血清骨膜素之對照或參考含量為 20 ng/ml、25 ng/ml 或 50 ng/ml。在某些實施例中，氣喘係高嗜酸性球氣喘。在某些實施例中，與對照或參考含量相比，已確定個體具有升高之嗜酸性球計數。在某些實施例中，對照或參考含量係群體之中值含量。在某些實施例中，已確定個體具有 150 或更高之嗜酸性球計數/μl 血液。在某些實施例中，已確定個體具有 200 或更高之嗜酸性球計數/μl 血液。在某些實施例中，已確定個體具有 250 或更高之嗜酸性球計數/μl 血液。在某些實施例中，已確定個體具有 300 或更高之嗜酸性球計數/μl 血液。在某些實施例中，已確定個體具有 350 或更高之嗜酸性球計數/μl 血液。在某些實施例中，已確定個體具有 400 或更高之

嗜酸性球計數/μl 血液。在某些實施例中，已確定個體具有 450 或更高之嗜酸性球計數/μl 血液。在某些實施例中，已確定個體具有 500 或更高之嗜酸性球計數/μl 血液。在某些較佳實施例中，已確定個體具有 300 或更高之嗜酸性球計數/μl 血液。在某些實施例中，嗜酸性球係末梢血嗜酸性球。在某些實施例中，嗜酸性球係痰液嗜酸性球。在某些實施例中，個體展現升高含量之 FeNO (呼出硝酸分數)及/或升高含量之 IgE。舉例而言，在一些情況下，個體展現以下之 FeNO 含量：高於約 250 十億分率(ppb)、高於約 275 ppb、高於約 300 ppb、高於約 325 ppb、高於約 325 ppb 或高於約 350 ppb。在一些情況下，個體具有高於 50 IU/ml 之 IgE 含量。

【0145】　如本文所用之術語「低 Th2 氣喘」或「非高 Th2 氣喘」係指展現低含量之一或多種 Th2 細胞相關細胞介素(例如 IL13、IL4、IL9、IL5)或展現非 Th2 細胞介素相關發炎之氣喘。在某些實施例中，術語低 Th2 氣喘可與低嗜酸性球氣喘互換使用。在一些實施例中，已確定氣喘患者為嗜酸性球性發炎陰性(EIN)。參見例如 WO 2015/061441。在某些實施例中，低 Th2 氣喘係 Th17 驅動之氣喘。在某些實施例中，低 Th2 氣喘係低骨膜素氣喘。在某些實施例中，個體為 18 歲或更大。在某些實施例中，與對照或參考含量相比，已確定個體具有降低含量之血清骨膜素。在某些實施例中，對照或參考含量係群體中骨膜素之中值含量。在某些實施例中，已確定個體具有少於 20 ng/ml 之血清骨膜素。在某些實施例中，氣喘係低嗜酸性球氣喘。在某些實施例中，與對照或參考含量相比，已確定個體具有降低之嗜酸性球計數。在某些實施例中，對照或參考含量係群體之中值含量。在某些實施例中，已確定個體具有少於 150 個嗜酸性球計數/μl 血液。在某些實施例中，已確定個體具有少於 100 個嗜酸性球計數/μl 血液。在某些較佳實施例中，已確定個體具有少於 300 個嗜酸性球計數/μl 血液。

【0146】 在一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症或淋巴球性病症係食管炎(例如，嗜酸性球性食管炎)、過敏性鼻炎、非過敏性鼻炎、鼻竇炎伴息肉、鼻息肉、支氣管炎、慢性肺炎、過敏性支氣管肺麴黴病、氣道發炎、過敏性鼻炎、支氣管擴張及/或慢性支氣管炎。

【0147】 在一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症或淋巴球性病症係關節炎。在一些實施例中，關節炎係類風濕性關節炎。在一些實施例中，關節炎係骨關節炎、類風濕性關節炎、幼年型關節炎、幼年型類風濕性關節炎、早期關節炎、多關節性類風濕性關節炎、全身發作性類風濕性關節炎、腸病性關節炎、反應性關節炎、牛皮癬關節炎及/或損傷所致之關節炎。

【0148】 在一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症或淋巴球性病症係胃腸道發炎性病狀。在一些實施例中，胃腸道發炎性病狀係 IBD (發炎性腸病)、潰瘍性結腸炎(UC)、克羅恩氏病(CD)、結腸炎(例如，由環境損傷引起之結腸炎(例如，由治療方案(例如化學療法、輻射療法等)引起或與其相關)、傳染性結腸炎、缺血性結腸炎、膠原性或淋巴球性結腸炎、壞死小腸結腸炎、諸如慢性肉芽腫病或乳糜瀉病等病狀中之結腸炎、食物過敏、胃炎、腸胃炎、傳染性胃炎或小腸結腸炎(例如，幽門螺旋桿菌(*Helicobacter pylori*)感染之慢性活性胃炎)、食管炎及由傳染劑引起之其他形式之胃腸發炎或不確定之結腸炎。

【0149】 在一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症或淋巴球性病症係胃腸道發炎性病狀。在一些實施例中，胃腸道發炎性病狀係 IBD (發炎性腸病)。在一些實施例中，發炎性腸病係潰瘍性結腸炎(UC)或克羅恩氏病(CD)。在一些實施例中，

胃腸道發炎性病狀係結腸炎(例如，由環境損傷引起之結腸炎(例如，由治療方案(例如化學療法、輻射療法等)引起或與其相關)、傳染性結腸炎、缺血性結腸炎、膠原性或淋巴球性結腸炎、壞死小腸結腸炎、諸如慢性肉芽腫病或乳糜瀉病等病狀中之結腸炎、食物過敏、胃炎、腸胃炎、傳染性胃炎或小腸結腸炎(例如，幽門螺旋桿菌感染之慢性活性胃炎)及由傳染劑引起之其他形式之胃腸發炎或不確定之結腸炎。在一些實施例中，胃腸道發炎性病狀係潰瘍性結腸炎(UC)或克羅恩氏病(CD)。在一些實施例中，胃腸道發炎性病狀係潰瘍性結腸炎(UC)。在一些實施例中，潰瘍性結腸炎係輕度至中度遠端結腸炎。在一些實施例中，潰瘍性結腸炎係輕度至中度廣泛性結腸炎。在一些實施例中，潰瘍性結腸炎係嚴重結腸炎。在一些實施例中，胃腸道發炎性病狀係克羅恩氏病(CD)。在一些實施例中，克羅恩氏病處於急性疾病階段。在一些實施例中，克羅恩氏病處於誘導之臨床緩和階段。在一些實施例中，克羅恩氏病處於維持反應/緩和階段。在一些實施例中，克羅恩氏病係輕度至中度疾病。在一些實施例中，克羅恩氏病係中度至嚴重疾病。在一些實施例中，克羅恩氏病係嚴重/暴發性疾病。在一些實施例中，克羅恩氏病係迴腸、迴腸結腸或結腸疾病。

【0150】　在一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症或淋巴球性病症或與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症係狼瘡或全身性紅斑狼瘡(SLE)、或影響腎之狼瘡(例如，狼瘡性腎炎(LN)之一或多種器官特異性表現、或影響血液及/或淋巴樣器官(淋巴結、脾、胸腺及相關淋巴管)及/或關節及/或其他器官(但不一定為腎)之腎外狼瘡(ERL))。

【0151】　在一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症或纖維變性病症係關於敗血症及/或創傷、HIV 感染或特發性病症(具有未知病因)，例如 ANCA 相關

性小血管炎(AAV)、伴隨多血管炎之肉芽腫病(以前稱為韋格納氏肉芽腫(Wegener's granulomatosis))、貝賽特氏病(Behcet's disease)、心血管疾病、嗜酸性球性支氣管炎、瑞特氏症候群(Reiter's syndrome)、SEA 症候群(血清陰性、接骨點病變、關節病變症候群)、關節黏連性脊椎炎、皮肌炎、硬皮症(例如全身硬皮症，亦稱為全身性硬化)、血管炎(例如，巨細胞性動脈炎(GCA，亦稱為顳動脈炎)、顱動脈炎或霍頓病(Horton disease))、肌炎、多發性肌炎、皮肌炎、結節性多動脈炎、動脈炎、風濕性多肌痛、結節病、原發性膽道硬化症、硬化性膽管炎、薛格連氏症候群(Sjogren's Syndrome)、牛皮癬、斑塊狀牛皮癬、滴狀牛皮癬、皮褶性牛皮癬、膿皰性牛皮癬、紅皮性牛皮癬、皮炎、特應性皮炎、天疱瘡(例如，尋常天疱瘡)、動脈粥樣硬化、狼瘡、斯提耳氏病(Still's disease)、重症肌無力、乳糜瀉病、復發-緩解型多發性硬化(MS)(RRMS)或原發性進行型多發性硬化(PPMS)或繼發性進行型多發性硬化(SPMS)亞型、格林-巴利病(Guillain-Barre disease)、I 型糖尿病(T1DM)或胰島素依賴性(IDDM)或幼年發作性 DM 類型、甲狀腺炎(例如，格雷夫斯氏病(Graves' disease))、乳糜瀉病、丘格-斯特勞斯症候群(Churg-Strauss syndrome)、肌痛症候群、高嗜酸性球性症候群、包括血管性水腫在內之水腫反應、蠕蟲感染、盤尾絲蟲皮炎(onchocercal dermatitis)、嗜酸性球性食管炎、嗜酸性球性腸炎、嗜酸性球性結腸炎、阻塞性睡眠呼吸暫停、心內膜纖維化、艾迪森氏病(Addison's disease)、雷諾氏病(Raynaud's disease)或現象、自體免疫肝炎、移植物抗宿主病(GVHD)或器官移植排斥。

【0152】 在一些實施例中，該病症係皮膚之發炎性病症。在一些實施例中，該病症係特應性皮炎或盤尾絲蟲皮炎。在一些實施例中，該病症係慢性特發性蕁麻疹(CIU 或 CSU)。

【0153】 在一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、嗜中性球性病症或嗜酸性球性病症係纖維變性病症。在一些實施例中，纖維變性病症包括肺纖維化、肝纖維化(例如，與肝硬化相關之纖維化(例如，酒精誘發之肝硬化、病毒誘發之肝硬化、C 型肝炎後肝硬化及原發性膽汁性肝硬化)、血吸蟲病、膽管炎(例如，硬化性膽管炎)及自體免疫誘發之肝炎)、腎纖維化(例如，腎小管間質纖維化、硬皮症、糖尿病腎病及腎小球腎炎)、皮膚纖維化(例如，硬皮症、肥厚性及瘢痕瘤瘢痕形成、腎性致纖維性皮膚病及燒傷)、骨髓纖維化、神經纖維瘤病、纖維瘤、腸纖維化及由手術程序造成之纖維性黏連)、心臟纖維化(例如，與心肌梗塞相關之纖維化)、血管纖維化(例如，與血管成形術後動脈再狹窄及動脈粥樣硬化相關之纖維化)、眼纖維化(例如，與白內障手術後相關之纖維化、增生性玻璃體視網膜病變及眼眶後纖維化)及骨髓纖維化(例如，特發性骨髓纖維化及藥物誘發之骨髓纖維化)。纖維化可係器官特異性或全身性纖維化(例如，與 GVHD 相關之全身性硬化及纖維化)。在一些實施例中，纖維變性病症係肺纖維化。在一些實施例中，肺纖維化係致纖維性間質性肺炎。在一些實施例中，肺纖維化係特發性肺纖維化(IPF)，亦稱為隱源性致纖維性肺泡炎。在一些實施例中，IPF 為性別、年齡及生理學(GAP)-階段 I。在一些實施例中，IPF 為 GAP-階段 II。在一些實施例中，IPF 為 GAP-階段 III。在一些實施例中，肺纖維化係散發性 IPF。在一些實施例中，肺纖維化係家族性肺纖維化。在一些實施例中，肺纖維化係合併性肺纖維化及肺氣腫。在一些實施例中，肺纖維化與以下各項中之一或多者相關：普通型間質性肺炎；特發性間質性肺炎；脫屑性間質性肺炎；呼吸性細支氣管炎-間質性肺病；急性間質性肺炎；非特異性間質性肺炎；結節病；隱源性機化性肺炎；嗜酸性球性肺炎；感染；暴露於職業性或環境試劑；吸菸；由藥物或輻射誘發之間質性肺病；風濕性疾病相關之間質性肺病；淋巴樣間質性肺炎；胸膜肺纖維彈性組織增生；肺朗格漢斯(Langerhans)

細胞組織球增生症；全身性硬化-間質性肺病；赫門斯基-布德拉克氏症候群(Hermansky-Pudlak syndrome)；及端粒縮短病變(telomeropathy)。

【0154】 在一些實施例中，肺部病症、自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、嗜中性球性病症或嗜酸性球性病症係慢性阻塞性肺病(COPD)。在一些實施例中，COPD 係全球慢性阻塞性肺病倡議組織(Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease，GOLD)類別 A。在一些實施例中，COPD 係 GOLD 類別 B。在一些實施例中，COPD 係 GOLD 類別 C。在一些實施例中，COPD 係 GOLD 類別 D。在一些實施例中，COPD 係慢性支氣管炎。在一些實施例中，COPD 係肺氣腫。在一些實施例中，肺氣腫係近端腺泡、全腺泡型或遠端腺泡肺氣腫。在一些實施例中，肺氣腫係香菸誘發之肺氣腫。在一些實施例中，COPD 與暴露於微粒粉塵、化學煙霧及/或空氣污染相關。在一些實施例中，COPD 與受損肺發育相關。在一些實施例中，COPD 係慢性阻塞性氣喘。在一些實施例中，COPD 與 α-1 抗胰蛋白酶缺乏症相關。在一些實施例中，COPD 與絲胺酸蛋白酶抑制劑進化枝 E 成員 2 (SERPINE2)破壞相關。在一些實施例中，COPD 係伴有持續性全身發炎之 COPD。在一些實施例中，COPD 係嗜酸性球性或 2 型輔助性 T 細胞(T_H2)高 COPD。在一些實施例中，COPD 係伴有持續性細菌定殖之 COPD。在一些實施例中，COPD 係伴有頻繁加劇之 COPD。在一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、嗜中性球性病症或嗜酸性球性病症係氣喘-COPD 重疊症候群(ACOS)。在一些實施例中，ACOS 係嗜酸性球佔優、嗜中性球佔優、混合模式或無發炎(粒細胞缺乏性(paucigranulocytic)) ACOS。在一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、嗜中性球性病症或嗜酸性球性病症係 COPD-阻塞性睡眠呼吸暫停(OSA)重疊症候群。

【0155】 上文列示並非包括全部，且熟習此項技術者將理解，疾病或病症可落入各種類別內。

【0156】 術語「包裝插頁」用於指通常包括於治療產品商業包裝內之說明書，其含有關於適應症、用法、劑量、投與、組合療法、禁忌症及/或涉及此等治療產品使用之警告的資訊。

【0157】 術語「醫藥調配物」及「醫藥組合物」在本文中可互換使用，且係指如下製劑：其所呈現形式容許其中所含活性成分之生物學活性有效，且不含對將投與該調配物之個體具有不可接受毒性之其他組分。此等調配物係無菌的。在較佳實施例中，醫藥組合物或醫藥調配物係投與人類個體。

【0158】 「無菌」醫藥調配物係無菌的或不含或基本上不含所有活微生物及其孢子。

【0159】 「穩定」醫藥調配物係在儲存後其中之蛋白質(例如，抗體，例如抗類胰蛋白酶抗體)基本上保留其物理穩定性及/或化學穩定性及/或生物學活性之醫藥調配物。較佳地，該調配物在儲存後基本上保留其物理及化學穩定性以及其生物學活性。儲存期通常係基於調配物之預期儲放壽命來選擇。業內可獲得量測蛋白質穩定性之各種分析技術且該等技術綜述於(例如) *Peptide and Protein Drug Delivery*, 247-301, Vincent Lee 編輯, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991)及 Jones, A. *Adv. Drug Delivery Rev.* 10: 29-90 (1993)中。穩定性可在選定之曝光量及/或溫度下在選定之時間段內量測。穩定性可以多種不同方式定性及/或定量評估，包括評估聚集體形成(例如，使用粒徑篩析層析、藉由量測濁度及/或藉由目視檢查)；評估 ROS 形成(舉例而言，藉由使用光脅迫分析或 AAPH 脅迫分析)；氧化蛋白質之具體胺基酸殘基(例如，單株抗體之 Trp 殘基及/或 Met 殘基)；藉由使用陽離子交換層析、影像毛細管等電聚焦(icIEF)或毛細管區帶電泳評價電荷不均一性；胺基末端或羧基末端序列分析；質譜分析；SDS-PAGE 分析，用以比較還原抗體及完整抗體；肽圖譜(例如，胰蛋白酶或 LYS-C)分析；評估蛋白質之生物學活性或靶標結合功能(例如，抗體之抗原結合功能)；及諸如

此類。不穩定性可涉及以下中之一或多者：聚集、去醯胺(例如，Asn 去醯胺)、氧化(例如，Met 氧化及/或 Trp 氧化)、異構化(例如，Asp 異構化)、剪切/水解/片段化(例如，鉸鏈區片段化)、琥珀醯亞胺形成、未配對半胱胺酸、N 末端延伸、C 末端處理、醣基化差異及諸如此類。

【0160】 若在視覺檢查色彩及/或透明度後或如藉由 UV 光散射或藉由粒徑篩析層析所量測，若抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)不顯示聚集、沈澱、片段化及/或變性跡象或顯示聚集、沈澱、片段化及/或變性極少，則其在醫藥調配物中「保留其物理穩定性」。

【0161】 若在給定時間下之化學穩定性使得認為抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)仍保留其生物學活性(如下文所定義)，則該抗體在醫藥調配物中「保留其化學穩定性」。可藉由檢測且量化抗體之化學改變形式來評價化學穩定性。化學改變可涉及蛋白質氧化，其可使用(例如)胰蛋白酶肽圖譜、反相高效液相層析(HPLC)及液相層析-質譜法(LC/MS)來評估。其他類型之化學改變包括抗體之電荷改變，其可藉由(例如)離子交換層析或 icIEF 來評估。

【0162】 若抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)在給定時間下之生物學活性係在製備醫藥調配物時所展現生物學活性之約 20%內(例如約 10%內)(在分析誤差內)，如(例如)在針對單株抗體(例如，抗類胰蛋白酶單株抗體)之抗原結合分析或活體外抑制性分析中所測定，則該抗體在醫藥調配物中「保留其生物學活性」。在一些實施例中，抗體在給定時間下之生物學活性係在製備醫藥調配物時所展現生物學活性之約 25%、約 30%、約 35%、約 40%、約 45%、約 50%內。

【0163】 如本文所用，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)之「生物學活性」係指抗體結合其靶標之能力，例如單株抗體結合至抗原之能力。其可進一步包括可在活體外或活體內量測之生物學反應。此活性可係拮抗性或激動性的。

【0164】 「易於氧化」之蛋白質(例如，抗體，例如抗類胰蛋白酶抗體)係包含一或多個已發現傾向於氧化之殘基之蛋白質，該(等)殘基例如(但不限於)甲硫胺酸(Met)、半胱胺酸(Cys)、組胺酸(His)、色胺酸(Trp)及酪胺酸(Tyr)。舉例而言，單株抗體之 Fab 部分中之色胺酸胺基酸或單株抗體之 Fc 部分中之甲硫胺酸胺基酸可易於氧化。

【0165】 術語「氧化百分比」係指調配物(例如，醫藥組合物)中之抗體在特定胺基酸殘基(例如 Trp 殘基(例如，hu31A.v11 之 HVR-H3 中之 Trp100)或 Met 殘基)處氧化之百分比。氧化百分比可藉由(例如)一或多個胰蛋白酶肽之質譜法(MS)分析來測定，該(等)胰蛋白酶肽中存在一或多個特定之具氧化傾向胺基酸殘基。在某些實施例中，hu31A.v11 之 HVR-H3 中之 Trp100 氧化百分比係藉由相對於總(氧化及未氧化)胰蛋白酶肽之質量，其中存在 Trp100 之氧化胰蛋白酶肽之質量來確定，如藉由 MS 分析所測定。例如，可自抗體或其醫藥組合物最初產生起 9 個月、12 個月、18 個月或 2 年內測定氧化百分比。

【0166】 如本文所用之術語「在 AAPH 脅迫測試之後測定」意指在特定胺基酸殘基處(例如，在 hu31A.v11 之 HVR-H3 中之 Trp100 處)之氧化百分比係在 40°C 下將抗體以 150 mg/ml 調配於 5 mM AAPH 中 25 h 之後藉由胰蛋白酶肽之質譜法分析來測定，例如如實例 5 中所闡述。脅迫抗體經胰蛋白酶消化且使經消化之肽經受超高效液相層析-高解析度質譜法(UHPLC-HRMS)以測定氧化百分比。

【0167】 如本文所用，「緩衝液」係指藉由其酸-鹼偶聯組分之作用抵抗 pH 變化之緩衝溶液。本發明之緩衝劑之 pH 較佳在約 4.5 至約 8.0 範圍內(例如，約 4.5、約 5、約 5.5、約 6、約 6.5、約 7、約 7.5 或約 8)，例如約 pH 5.5。舉例而言，組胺酸乙酸鹽係將控制 pH 在此範圍內之緩衝液實例。另一適宜緩衝液係精胺酸琥珀酸鹽及/或組胺酸琥珀酸鹽。

【0168】 「防腐劑」係可視情況包括於調配物中以使其中之細菌作用基本上降低，由此有助於產生(例如)多用途調配物之化合物。潛在防腐劑之實例包括十八烷基二甲基苄基氯化銨、氯化六甲雙銨、苯紮氯銨(benzalkonium chloride)(烷基苄基二甲基氯化銨之混合物，其中該等烷基係長鏈化合物)及苄索氯銨(benzethonium chloride)。其他類型之防腐劑包括芳香族醇，例如苯酚、丁醇及苄醇；對羥基苯甲酸烷基酯，例如對羥基苯甲酸甲基酯或對羥基苯甲酸丙基酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇及間甲酚。在一個實施例中，本文之防腐劑係苄醇。

【0169】 如本文所用，「表面活性劑」係指表面-活性劑，較佳非離子表面活性劑。本文之表面活性劑之實例包括聚山梨醇酯(例如，聚山梨醇酯 20 及聚山梨醇酯 80)；泊洛沙姆(例如，泊洛沙姆 188)；TRITON®；十二烷基硫酸鈉(SDS)；月桂基硫酸鈉；辛基醣苷鈉；月桂基-、肉豆蔻基-、亞油基-或硬脂基磺基甜菜鹼；月桂基-、肉豆蔻基-、亞油基-或硬脂基-肌胺酸；亞油基-、肉豆蔻基-或鯨蠟基-甜菜鹼；月桂醯胺丙基-、椰油醯胺丙基-、亞油醯胺丙基-、肉豆蔻醯胺丙基-、棕櫚油醯胺丙基-或異硬脂醯胺丙基-甜菜鹼(例如，月桂醯胺丙基甜菜鹼)；肉豆蔻醯胺丙基-、棕櫚油醯胺丙基-或異硬脂醯胺丙基-二甲胺；甲基椰油醯基牛磺酸鈉或甲基油醯基牛磺酸鈉；及 MONAQUAT™ 系列(Mona Industries Inc., Paterson, N.J.)、聚乙二醇、聚丙二醇及乙二醇與丙二醇之共聚物(例如，PLURONIC®型嵌段共聚物，例如 PLURONIC® F-68)；及諸如此類。在一個實施例中，本文之表面活性劑係聚山梨醇酯 20。在另一實施例中，本文之表面活性劑係泊洛沙姆 188。

【0170】 「醫藥學上可接受之載劑」係指醫藥學調配物中除活性成分以外之對個體無毒之成分。醫藥學上可接受之載劑包括(但不限於)緩衝劑、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

【0171】 如本申請案中所用之術語「前藥」係指醫藥活性物質之前體或衍生物形式，其與母體藥物相比對腫瘤細胞之毒性更低且能夠酶促活化或轉化成更具活性之母體形式。參見例如 Wilman，「Prodrugs in Cancer Chemotherapy」*Biochemical Society Transactions*, 14, 第 375-382 頁, 615th Meeting Belfast (1986) 及 Stella 等人，「Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery」, *Directed Drug Delivery*, Borchardt 等人(編輯), 第 247-267 頁, Humana Press (1985)。本發明之前藥包括(但不限於)含磷酸鹽前藥、含硫代硫酸鹽前藥、含硫酸鹽前藥、含肽前藥、D-胺基酸修飾前藥、醣基化前藥、含 β-內醯胺前藥、含視情況經取代之苯氧乙醯胺前藥或含視情況經取代之苯乙醯胺前藥、5-氟胞嘧啶及其他 5-氟尿嘧啶前藥，其可轉化成更具活性之無細胞毒性之藥物。可衍生為用於本發明中之前藥形式之細胞毒性藥物之實例包括(但不限於)彼等上文所闡述之化學治療劑。

【0172】 「個體」係脊椎動物，較佳哺乳動物、更佳人類。哺乳動物包括(但不限於)農場動物(例如牛及羊)、運動動物、寵物(例如貓、狗及馬)、靈長類動物(例如，人類及非人類靈長類動物，例如猴(例如，食蟹猴))及嚙齒類動物(例如，小鼠及大鼠)。

【0173】 如本文所用，「投與」意指向個體給予一定劑量之化合物(例如，本發明之抗類胰蛋白酶抗體或額外治療劑)或組合物(例如，醫藥組合物，例如包括本發明之抗類胰蛋白酶抗體、視情況亦包括額外治療劑之醫藥組合物，其可包括賦形劑，例如抗氧化劑(例如，N-乙醯基色胺酸及/或甲硫胺酸))之方法。用於本文所闡述方法中之組合物可藉由(例如)以下方式來投與：玻璃體內、肌內、靜脈內、皮內、經皮膚、動脈內、腹膜內、病灶內、顱內、關節內、前列腺內、胸膜內、氣管內、鞘內、鼻內、陰道內、直腸內、局部、腫瘤內、經腹膜、皮下、結膜下、囊內、經黏膜、心包內、臍帶內、眼內、眶內、經口、局部、經

皮、經眼周、經結膜、眼筋膜囊下(subtenonly)、前房內、視網膜下、眼球後、小管內、藉由吸入、藉由注射、藉由植入、藉由輸注、藉由連續輸注、藉由直接局部灌注洗浴靶細胞、藉由導管、藉由灌洗、於霜劑中或於脂質組合物中。用於本文所闡述方法中之組合物亦可以全身或局部方式投與。投與方法可端視各種因素(例如，所投與之化合物或組合物及所治療病狀、疾病或病症之嚴重程度)而有所變化。

【0174】 藥劑(例如，抗類胰蛋白酶抗體)或醫藥調配物(例如，包括抗類胰蛋白酶抗體之醫藥調配物，其可包括諸如抗氧化劑(例如，N-乙醯基色胺酸及/或甲硫胺酸)等賦形劑)之「有效量」或「治療有效量」係指在必要的劑量及時間段內有效達成所期望之治療或預防結果之量。抗體或抗體片段(例如，抗類胰蛋白酶抗體)或其組合物之治療有效量可改善或治療病症或疾病，或預防、降低、改善或治療與該病症或疾病相關之症狀。

【0175】 如本文所用，「治療」(及其文法變化形式，例如「治療(treat 或 treating)」)係指試圖改變所治療個體之自然過程的臨床干預，且可出於預防性目的或在臨床病理學過程期間實施。治療之期望效應包括(但不限於)預防疾病之發生或復發、減輕症狀、減少疾病之任何直接或間接病理結果、預防轉移、降低疾病進展速率、改善或緩和疾病狀態及緩解或改良預後。在一些實施例中，使用本發明之抗體延遲疾病發展或減緩疾病進展。若患者(例如)在接受氣喘療法之後顯示可觀察及/或可量測之以下各項中一或多者之降低或不存在以下各項中之一或多者，則該患者之氣喘經成功「治療」：反復喘鳴、咳嗽、呼吸困難、胸部緊迫感、夜間出現或惡化之症狀、由冷空氣、運動或暴露於過敏原觸發之症狀。

【0176】 除非另有指示，否則如本文所用之術語「介白素-5 (IL-5)」係指來自任何脊椎動物源(包括哺乳動物，例如靈長類動物(例如，人類)及嚙齒類動物(例

如，小鼠及大鼠))之任何天然 IL-5。該術語涵蓋「全長」未經處理之 IL-5、成熟 IL-5 以及任何形式之源自轉譯後修飾之 IL-5。該術語亦涵蓋 IL-5 之天然變體，例如剪接變體或等位基因變體。例示性 IL-5 之胺基酸序列可參見(例如) UniProtKB 登錄號 P05113。

【0177】 術語「IL-5 軸結合拮抗劑」係指降低、阻斷、抑制、消除或干擾由 IL-5 與其結合搭配物(例如 IL-5 受體 α (*IL5RA*))中之一或多者相互作用引起之信號轉導的分子。可用於本發明之方法中之例示性 IL-5 軸結合拮抗劑包括(例如) IL-5 結合拮抗劑(例如，抗 IL-5 抗體(例如，美泊利單抗(mepolizumab)、貝那珠單抗(benralizumab)及瑞利珠單抗(reslizumab))及 IL-5 受體結合拮抗劑(例如，抗 IL-5R 抗體))。

【0178】 如本文所用，除非另有指示，否則「介白素-13 (IL-13)」係指來自任何脊椎動物源(包括哺乳動物，例如靈長類動物(例如，人類)及嚙齒類動物(例如，小鼠及大鼠))之任何天然 IL-13。IL-13 係由包括 2 型輔助性 T 細胞(Th2)在內之許多細胞類型分泌之細胞介素。該術語涵蓋「全長」未經處理之 IL-13、成熟 IL-13 以及源自轉譯後修飾之任何形式之 IL-13。例示性人類 IL-13 之胺基酸序列可參見(例如) UniProtKB 登錄號 P35225。

【0179】 術語「IL-13 軸結合拮抗劑」係指降低、阻斷、抑制、消除或干擾由 IL-13 與其結合搭配物(例如 IL-4 受體 α (IL4Rα)、IL-13 受體 α1 (IL13RA1)及 IL-13 受體 α2 (IL13RA2))中之一或多者相互作用引起之信號轉導的分子。IL-13 軸結合拮抗劑包括 IL-13 結合拮抗劑(例如，抗 IL-13 抗體，例如萊比克珠單抗、228B/C-1、228A-4、227-26 及 227-43 (參見例如美國專利第 7,674,459 號；第 8,067,199 號；第 8,088,618 號；第 8,318,160 號；及第 8,734,797 號)及 IL-13 受體結合拮抗劑(例如，抗 IL4Rα 抗體、抗 IL13RA1 抗體或抗 IL13RA2 抗體)。

【0180】 如本文所用，除非另有指示，否則「介白素-17 (IL-17)」係指來自任何脊椎動物源(包括哺乳動物，例如靈長類動物(例如，人類)及嚙齒類動物(例如，小鼠及大鼠))之任何天然 IL-17，且包括家族成員 IL-17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E 及 IL-17F。該術語涵蓋「全長」未經處理之 IL-17、成熟 IL-17 以及源自轉譯後修飾之任何形式之 IL-17。例示性人類 IL-17A 之胺基酸序列可參見(例如) UniProtKB 登錄號 Q16552。例示性人類 IL-17B 之胺基酸序列可參見(例如) UniProtKB 登錄號 Q9UHF5。例示性人類 IL-17C 之胺基酸序列可參見(例如) UniProtKB 登錄號 Q9P0M4。例示性人類 IL-17D 之胺基酸序列可參見(例如) UniProtKB 登錄號 Q8TAD2。例示性人類 IL-17E 之胺基酸序列可參見(例如) UniProtKB 登錄號 Q9H293。例示性人類 IL-17F 之胺基酸序列可參見(例如) UniProtKB 登錄號 Q96PD4。

【0181】 術語「IL-17 軸結合拮抗劑」係指降低、阻斷、抑制、消除或干擾由 IL-17 與其結合搭配物(例如介白素-17 受體(IL-17R)家族成員蛋白質介白素 17 受體 A (IL17RA)、介白素 17 受體 B (IL17RB)、介白素 17 受體 C (IL17RC)、介白素 17 受體 D (IL17RD)、介白素 17 受體 E (IL17RE)及介白素 17 受體 E 樣(IL17REL))中之一或多者相互作用引起之信號轉導的分子。例示性 IL-17 軸結合拮抗劑包括(例如) IL-17 結合拮抗劑(例如，抗 IL-17 抗體(例如，蘇金單抗(secukinumab)(AIN417)、艾克珠單抗(ixekizumab)(LY2439821)、別克珠單抗(bimekizumab)及 NI-1401)及 IL-17 受體結合拮抗劑(例如，抗 IL-17R 抗體(例如，泊達魯單抗(brodalumab)(AMG-827)))。參見例如 WO 2006/013107、WO 2007/070750、WO 2012/156219 及美國專利第 8,715,669 號。

【0182】 除非另有指示，否則如本文所用之術語「介白素-33 (IL-33)」係指來自任何脊椎動物源(包括哺乳動物，例如靈長類動物(例如，人類及食蟹猴)及嚙齒類動物(例如，小鼠及大鼠))之任何天然 IL-33。IL-33 在業內亦稱為高內皮小

靜脈之核因子(NF-HEV；參見例如 Baekkevold 等人，*Am. J. Pathol.* 163(1): 69-79, 2003)、DVS27、C 9orf26 及介白素-1 家族成員 11 (IL-1F11)。該術語涵蓋「全長」未經處理之 IL-33、成熟 IL-33 以及源自轉譯後修飾之任何形式之 IL-33。人類全長未經處理之 IL-33 含有 270 個胺基酸(a.a.)，且亦可稱為 $IL\text{-}33_{1\text{-}270}$。人類 IL-33 之經處理形式包括(例如) $IL\text{-}33_{95\text{-}270}$、$IL\text{-}33_{99\text{-}270}$、$IL\text{-}33_{109\text{-}270}$、$IL\text{-}33_{112\text{-}270}$、$IL\text{-}33_{1\text{-}178}$ 及 $IL\text{-}33_{179\text{-}270}$ (Lefrançais 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci.* 109(5):1673-1678, 2012 及 Martin，*Semin. Immunol.* 25: 449-457, 2013)。在一些實施例中，與全長 IL-33 相比，人類 IL-33 之經處理形式(例如，$IL\text{-}33_{95\text{-}270}$、$IL\text{-}33_{99\text{-}270}$、$IL\text{-}33_{109\text{-}270}$ 或經蛋白酶(例如鈣蛋白酶、蛋白酶 3、嗜中性球彈性蛋白酶及組織蛋白酶 G)處理之其他形式)可具有增加之生物學活性。該術語亦涵蓋 IL-33 之天然變體，例如剪接變體(例如，缺少外顯子 3 之組成型活性剪接變體 spIL-33，Hong 等人，*J. Biol. Chem.* 286(22):20078-20086, 2011)或等位基因變體。IL-33 可存在於細胞內(例如，細胞核內)或呈經分泌之細胞介素形式。全長 IL-33 蛋白質含有包括核定位序列(人類 IL-33 之 a.a.1-75)之螺旋-轉角-螺旋 DNA-結合基序，其包括染色質結合基序(人類 IL-33 之 a.a. 40-58)。經處理及分泌之 IL-33 形式缺少該等 N 末端基序。例示性人類 IL-33 之胺基酸序列可參見(例如) UniProtKB 登錄號 O95760。

【0183】　除非另有指示，否則在本文中可互換使用之術語「介白素 1 受體樣 1 (IL1RL1)」及「ST2」係指來自任何脊椎動物源(包括哺乳動物，例如靈長類動物(例如，人類)及嚙齒類動物(例如，小鼠及大鼠))之任何天然 ST2。ST2 在業內亦稱為 DER4、T1 及 FIT-1。該術語涵蓋「全長」未經處理之 ST2、成熟 ST2 以及源自轉譯後修飾之任何形式之 ST2。業內已知至少四種 ST2 同種型，包括自雙啟動子系統之差異 mRNA 表現產生之可溶性(sST2，亦稱為 IL1RL1-a)及跨膜(ST2L，亦稱為 IL1RL1-b)以及自選擇性剪接產生之 ST2V 及 ST2LV，如下文所闡述。ST2L 之結構域結構包括三個細胞外免疫球蛋白樣 C2 結構域、跨膜結構

域及細胞質 Toll/介白素-1 受體(TIR)結構域。sST2 缺少含於 ST2L 內之跨膜及細胞質結構域且包括獨特之 9 個胺基酸(a.a.) C 末端序列(參見例如 Kakkar 等人，*Nat. Rev. Drug Disc.* 7: 827-840, 2008)。sST2 可用作誘餌受體來抑制可溶性 IL-33。該術語亦涵蓋 ST2 之天然變體，例如，剪接變體(例如缺少第三個免疫球蛋白基序且具有獨特之疏水性尾之 ST2V 及缺少 ST2L 之跨膜結構域之 ST2LV)或等位基因變體(例如如本文所闡述之保護免於氣喘風險或賦予氣喘風險之變體)。例示性人類 ST2 之胺基酸序列可參見(例如) UniProtKB 登錄號 Q01638。ST2 係 IL-33 受體以及共受體蛋白質 IL-1RAcP 之一部分。IL-33 與 ST2 及共受體介白素-1 受體輔助蛋白(IL-1RAcP)之結合形成 1:1:1 三元信號傳導複合物以促進下游信號轉導(參見例如 Lingel 等人，*Structure* 17(10): 1398-1410, 2009，及 Liu 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci.* 110(37): 14918-14924, 2013)。

【0184】 「IL-33 軸」意指參與 IL-33 信號轉導之核酸(例如，基因或自該基因轉錄之 mRNA)或多肽。舉例而言，該 IL-33 軸可包括配體 IL-33、受體(例如，ST2 及/或 IL-1RAcP)、銜接分子(例如，MyD88)或與受體分子及/或銜接分子締合之蛋白質(例如激酶，例如介白素-1 受體相關激酶 1 (IRAK1)及介白素-1 受體相關激酶 4 (IRAK4)，或 E3 泛素連接酶，例如 TNF 受體相關因子 6 (TRAF6))。

【0185】 「IL-33 軸結合拮抗劑」係指抑制 IL-33 軸結合搭配物與其結合搭配物中之一或多者相互作用之分子。如本文所用，該 IL-33 軸結合拮抗劑包括 IL-33 結合拮抗劑、ST2 結合拮抗劑及 IL1RAcP 結合拮抗劑。例示性 IL-33 軸結合拮抗劑包括抗 IL-33 抗體及其抗原結合片段(例如，抗 IL-33 抗體，例如 ANB-020 (AnaptysBio, Inc.)或 EP1725261、US8187596、WO2011031600、WO2014164959、WO2015099175 或 WO2015106080 中所闡述之任一抗體，該等專利各自係以全文引用的方式併入本文中)；結合 IL-33 及/或其受體(ST2 及/或 IL-1RAcP)且阻斷配體-受體相互作用之多肽(例如，ST2-Fc 蛋白質，例如 WO 2014/152195 中所闡

述之彼等蛋白質，該專利係以全文引用的方式併入本文中；免疫黏附素、肽體及可溶性 ST2 或其衍生物)；抗 IL-33 受體抗體(例如，抗 ST2 抗體，例如 AMG-282 (Amgen)或 STLM15 (Janssen)或 WO 2013/173761 及 WO 2013/165894 中所闡述之任一抗 ST2 抗體，該等專利各自係以全文引用的方式併入本文中；或 ST2-Fc 蛋白，例如 WO 2013/173761；WO 2013/165894；或 WO 2014/152195 中所闡述之彼等 Fc 蛋白，該等專利各自係以全文引用的方式併入本文中)；及 IL-33 受體拮抗劑，例如小分子抑制劑、結合 IL-33 之適體及在嚴格條件下與 IL-33 軸核酸序列雜交之核酸(例如，短干擾 RNA (siRNA)或規律成簇間隔短回文重複序列 RNA (CRISPR-RNA 或 crRNA)，包括如 Mali 等人(*Science*. 339: 823-26, 2013)所闡述之具有 crRNA 及 tracrRNA 序列之單鏈導向 RNA (sgRNA)，該文獻係以全文引用的方式併入本文中)。

【0186】 術語「抗 IL-33 抗體」、「結合至 IL-33 之抗體」及「特異性結合 IL-33 之抗體」係指能夠以足夠親和力結合 IL-33 之抗體，從而使得該抗體可用作靶向 IL-33 中之診斷劑及/或治療劑。在一個實施例中，抗 IL-33 抗體與無關非 IL-33 蛋白質之結合程度低於該抗體與 IL-33 結合之約 10%，如(例如)藉由放射性免疫分析(RIA)所量測。在某些實施例中，結合至 IL-33 之抗體之解離常數(K_D)為≤ 1μM、≤ 100 nM、≤ 10 nM、≤ 1 nM、≤ 0.1 nM、≤ 0.01 nM 或≤ 0.001 nM (例如，10^{-8} M 或更低，例如 10^{-8} M 至 10^{-13} M，例如 10^{-9} M 至 10^{-13} M)。在某些實施例中，抗 IL-33 抗體結合至在來自不同物種之 IL-33 中保守之 IL-33 表位。

【0187】 術語「ST2 結合拮抗劑」係指抑制 ST2 與 IL-33、IL1RAcP 及/或第二個 ST2 分子之相互作用之分子。該 ST2 結合拮抗劑可係蛋白質，例如包括 IL-33-結合結構域(例如，ST2 或 IL1RAcP 蛋白質之全部或一部分)及多聚化結構域(例如，免疫球蛋白之 Fc 部分，例如，選自同型 lgG1、lgG2、lgG3 及 lgG4 以及每一同型組內任一異型之 IgG 之 Fc 結構域)的「ST2-Fc 蛋白質」，該等結構

域經由連接體(例如，絲胺酸-甘胺酸(SG)連接體、甘胺酸-甘胺酸(GG)連接體或其變體(例如，SGG、GGS、SGS 或 GSG 連接體))彼此直接或間接附接，且包括(但不限於) WO 2013/173761、WO 2013/165894 及 WO 2014/152195 中所闡述之 ST2-Fc 蛋白及其變體，該等專利各自係以全文引用的方式併入本文中。在一些實施例中，ST2 結合拮抗劑可係抗 ST2 抗體，例如 AMG-282 (Amgen)或 STLM15 (Janssen)或 WO 2013/173761 及 WO 2013/165894 中所闡述之任一抗 ST2 抗體。

【0188】 「經分離核酸」係指係指已自其天然環境之組分分離之核酸分子。經分離核酸包括含於通常含有核酸分子之細胞中之核酸分子，但該核酸分子係存於染色體外或存於與其天然染色體位置不同之染色體位置處。

【0189】 術語「控制序列」係指在特定宿主生物體內表現可操作地連接之編碼序列所需的 DNA 序列。舉例而言，適於原核生物之控制序列包括啟動子、視情況操縱子序列及核醣體結合位點。已知真核細胞可利用啟動子、聚腺苷酸化信號及增強子。

【0190】 術語「宿主細胞」、「宿主細胞系」及「宿主細胞培養物」可互換使用且係指向其中引入外源核酸之細胞，包括此等細胞之子代。宿主細胞包括「轉化株」及「經轉化細胞」，其包括原代經轉化細胞及源自其之子代(與傳代次數無關)。子代之核酸含量可與親代細胞並不完全相同，但可含有突變。本文包括經篩選或選擇用於原始轉化細胞中之具有相同功能或生物學活性的突變子代

【0191】 當將核酸置於與另一核酸序列之功能關係中時，該核酸係「可操作地連接」。舉例而言，若前序列或分泌前導序列之 DNA 表現為參與多肽分泌之前蛋白，則該前序列或分泌前導序列之 DNA 可操作地連接至該多肽之 DNA；若啟動子或增強子影響編碼序列之轉錄，則該啟動子或增強子可操作地連接至該序列；或若核醣體結合位點之定位有助於轉譯，則該核醣體結合位點可操作

地連接至編碼序列。一般而言，「可操作地連接」意指所連接之 DNA 序列係鄰接序列且在分泌前導序列之情形下處於閱讀期之鄰接序列。然而，增強子無需鄰接。藉由在方便之限制位點處接合可完成連接。若不存在此等位點，則可根據習用實踐使用合成寡核苷酸銜接子或連接體。

【0192】 關於本文所鑑別多肽序列之「胺基酸序列一致性百分比(%)」係定義為：在比對各序列及(若需要)引入缺口以達成最大序列一致性百分比之後，候選序列中與所比較多肽中之胺基酸殘基一致之胺基酸殘基之百分比，且不將任何保守性取代視作序列一致性之一部分。出於測定胺基酸序列一致性百分比之目的，比對可以熟習此項技術者所熟知之各種方式來達成，例如使用可公開獲得之電腦軟體，例如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign (DNASTAR)軟體。熟習此項技術者可測定用於量測比對之適當參數，包括在所比較序列之全長範圍內達成最大比對所需要之任何演算法。然而，出於本文目的，使用序列對比電腦程式 ALIGN-2 來產生胺基酸序列一致性%之值。ALIGN-2 序列對比電腦程式係由 Genentech, Inc.創作，且原始碼與用戶文件已一起編入美國版權局，Washington D.C., 20559 中，其中其以美國版權註冊號 TXU510087 註冊。ALIGN-2 程式可自 Genentech, Inc. (South San Francisco, California)公開獲得。ALIGN-2 程式應經編譯適於在 UNIX 操作系統(較佳數位 UNIX V4.0D)上使用。所有序列對比參數均由 ALIGN-2 程式設定且並不改變。

【0193】 在採用 ALIGN-2 進行胺基酸序列對比之情形下，給定胺基酸序列 A 相對於(to)、與(with)或對(against)給定胺基酸序列 B 之胺基酸序列一致性%(或者可表達為相對於、與或對給定胺基酸序列 B 具有或包含一定胺基酸序列一致性%之給定胺基酸序列 A)計算如下：

100 ×分數 X/Y

其中 X 係在 A 與 B 之程式比對中由序列比對程式 ALIGN-2 評定為一致性匹配之胺基酸殘基數，且其中 Y 係 B 中胺基酸殘基之總數。應瞭解，倘若胺基酸序列 A 之長度不等於胺基酸序列 B 之長度，則 A 相對於 B 之胺基酸序列一致性%將不等於 B 相對於 A 之胺基酸序列一致性%。除非另有明確說明，否則本文所用之所有胺基酸序列一致性%之值均係如前面緊接段落中所闡述使用 ALIGN-2 電腦程式來獲得。

【0194】 除非另有指定，否則本文所闡述之胺基酸序列係鄰接胺基酸序列。

【0195】 如本文所用之術語「載體」意欲指能夠轉運與其連接之另一核酸之核酸分子。一類載體為「質體」，其係指其他 DNA 區段可連接至其中之環形雙鏈 DNA 環。另一類載體係噬菌體載體。另一類載體為病毒載體，其中其他 DNA 區段可連接至病毒基因體中。某些載體能夠在已將其引入其中之宿主細胞中進行自主複製(例如，具有細菌複製起點之細菌載體及游離型哺乳動物載體)。其他載體(例如，非游離型哺乳動物載體)可在引入至宿主細胞中時整合至該宿主細胞之基因體中，且藉此隨宿主基因體一同複製。此外，某些載體能夠引導與其可操作連接之基因之表現。此等載體在本文中稱為「重組表現載體」(或簡稱為「重組載體」或「表現載體」)。一般而言，在重組 DNA 技術中可用之表現載體通常呈質體形式。在本說明書中，「質體」及「載體」可互換使用。

II. 組合物及方法

【0196】 在一態樣中，本發明係部分地基於結合至類胰蛋白酶之新穎抗體。在另一態樣中，本發明係部分地基於以下發現：抗類胰蛋白酶抗體之特定殘基(例如，HVR 殘基，例如 HVR-H3 W100，其係指抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 之 VH 結構域之 W100)可易於氧化。本發明提供醫藥組合物，其包括抗氧化劑(例如，N-乙醯基色胺酸及/或甲硫胺酸)以降低或預防本文所闡述抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)之氧化。其他適宜抗氧化賦形劑包括(但不限於)游離色胺酸、環

糊精、Trolox (6-羥基-2,5,7,8-四甲基色滿-2-甲酸)、吡哆醇、多元醇(例如甘露醇)及金屬螯合劑(例如 EDTA)。參見例如 Ji 等人，*Biotechnology* 98:4485-4500, 2009。本發明之抗體及醫藥組合物可用於(例如)病症(例如，肺部病症、自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症、淋巴球性病症、與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症或類胰蛋白酶相關病症或類胰蛋白酶介導之病症之診斷及/或治療。在另一態樣中，本發明提供凍乾醫藥組合物以降低或消除本文所闡述抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)之氧化。

A. 例示性抗類胰蛋白酶抗體

【0197】 本發明提供結合至類胰蛋白酶之經分離抗體。在某些實施例中，本發明之抗類胰蛋白酶抗體以約 100 nM 或更低(例如，100 nM 或更低、10 nM 或更低、1 nM 或更低、100 pM 或更低、10 pM 或更低、1 pM 或更低或 0.1 pM 或更低)之 K_D 結合至類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體以 10 nM 或更低(例如，10 nM 或更低、1 nm 或更低、100 pM 或更低、10 pM 或更低、1 pM 或更低或 0.1 pM 或更低)之 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體以 1 nM 或更低(例如，1 nm 或更低、100 pM 或更低、10 pM 或更低、1 pM 或更低或 0.1 pM 或更低)之 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體以 0.5 nM 或更低(例如，0.5 nm 或更低、400 pM 或更低、300 pM 或更低、200 pM 或更低、100 pM 或更低、50 pM 或更低、25 pM 或更低、10 pM 或更低、1 pM 或更低或 0.1 pM 或更低)之 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體以介於約 0.1 nM 至約 0.5 nM 之間(例如，約 0.1 nM、約 0.2 nM、約 0.3 nM、約 0.4 nM 或約 0.5 nM)之 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體以介於以下之間的 K_D 結合類胰蛋白酶：約 1 pM 至約 500 pM、約 1 pM 至約 400 pM、約 1 pM 至約 300 pM、約 1 pM 至

約 200 pM、約 1 pM 至約 100 pM、約 1 pM 至約 50 pM、約 25 pM 至約 500 pM、約 25 pM 至約 400 pM、約 25 pM 至約 300 pM、約 25 pM 至約 100 pM、約 50 pM 至約 500 pM、約 50 pM 至約 450 pM、約 50 pM 至約 425 pM、約 50 pM 至約 400 pM、約 50 pM 至約 375 pM、約 50 pM 至約 350 pM、約 50 pM 至約 325 pM、約 50 pM 至約 300 pM、約 50 pM 至約 275 pM、約 50 pM 至約 250 pM、約 50 pM 至約 200 pM、約 50 pM 至約 180 pM、約 50 pM 至約 175 pM、約 50 pM 至約 150 pM、約 50 pM 至約 125 pM、約 50 pM 至約 100 pM、約 50 pM 至約 75 pM、約 100 pM 至約 500 pM、約 100 pM 至約 475 pM、約 100 pM 至約 450 pM、約 100 pM 至約 425 pM、約 100 pM 至約 400 pM、約 100 pM 至約 375 pM、約 100 pM 至約 350 pM、約 100 pM 至約 325 pM、約 100 pM 至約 300 pM、約 100 pM 至約 275 pM、約 100 pM 至約 250 pM、約 100 pM 至約 225 pM、約 100 pM 至約 200 pM、約 100 pM 至約 180 pM、約 100 pM 至約 175 pM、約 100 pM 至約 150 pM、約 100 pM 至約 125 pM、約 150 pM 至約 500 pM、約 150 pM 至約 475 pM、約 150 pM 至約 450 pM、約 150 pM 至約 425 pM、約 150 pM 至約 400 pM、約 150 pM 至約 375 pM、約 150 pM 至約 350 pM、約 150 pM 至約 325 pM、約 150 pM 至約 300 pM、約 150 pM 至約 375 pM、約 150 pM 至約 350 pM、約 150 pM 至約 325 pM、約 150 pM 至約 300 pM、約 150 pM 至約 275 pM、約 150 pM 至約 225 pM、約 150 pM 至約 200 pM、約 175 pM 至約 500 pM、約 175 pM 至約 475 pM、約 175 pM 至約 450 pM、約 175 pM 至約 425 pM、約 175 pM 至約 400 pM、約 175 pM 至約 375 pM、約 175 pM 至約 350 pM、約 175 pM 至約 325 pM、約 175 pM 至約 300 pM 或約 180 pM 至約 400 pM。在一些實施例中，該抗體以約 0.4 nM 之 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體以約 0.2 nM 之 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，該抗體以約 0.18 nM 之 K_D 結合類胰蛋白酶。在一些實施例中，類胰蛋白酶係人類類胰蛋白酶，例如人類類胰蛋白酶 β (例如，

人類類胰蛋白酶 β1、人類類胰蛋白酶 β2 及/或人類類胰蛋白酶 β3)。在一些實施例中，K_D 係在 BIACORE® SPR 分析中測定。在某些實施例中，類胰蛋白酶係人類類胰蛋白酶 α。在某些實施例中，抗體係人類或人類化抗體。

【0198】 在另一實例中，在一些實施例中，本發明之抗類胰蛋白酶抗體(包括前述抗類胰蛋白酶抗體中之任一者)能夠抑制類胰蛋白酶之活性。在一些實施例中，本發明之抗類胰蛋白酶抗體能夠抑制類胰蛋白酶之蛋白水解活性，例如如活體外類胰蛋白酶酶分析中所測定。在一些實施例中，人工受質(例如合成肽 S-2288)可用作活體外類胰蛋白酶酶分析中之受質。在一些實施例中，本發明之抗類胰蛋白酶抗體能夠以約 100 nM 或更低(例如，100 nM 或更低、10 nM 或更低、5 nM 或更低、2.5 nM 或更低、1 nM 或更低、100 pM 或更低、10 pM 或更低、1 pM 或更低或 0.1 pM 或更低)之半數最大抑制濃度(IC50)抑制人類類胰蛋白酶之活性，如藉由活體外類胰蛋白酶酶分析使用(例如) S-2288 作為受質所測定。在一些實施例中，該抗體能夠以約 10 nM 或更低(例如，10 nM 或更低、5 nM 或更低、2.5 nM 或更低、1 nM 或更低、100 pM 或更低、10 pM 或更低、1 pM 或更低或 0.1 pM 或更低)之 IC50 抑制人類類胰蛋白酶之活性，如藉由活體外類胰蛋白酶酶分析使用(例如) S-2288 作為受質所測定。在一些實施例中，該抗體能夠以約 2.5 nM 或更低(例如，2.5 nM 或更低、1 nM 或更低、100 pM 或更低、10 pM 或更低、1 pM 或更低或 0.1 pM 或更低)之 IC50 抑制人類類胰蛋白酶之活性，如藉由活體外類胰蛋白酶酶分析使用(例如) S-2288 作為受質所測定。在一些實施例中，該抗體能夠以約 0.1 nM 至約 2 nM (例如，約 0.1 nM、約 0.2 nM、約 0.3 nM、約 0.4 nM、約 0.5 nM、約 0.6 nM、約 0.7 nM、約 0.8 nM、約 0.9 nM、約 1.0 nM、約 1.1 nM、約 1.2 nM、約 1.3 nM、約 1.4 nM、約 1.5 nM、約 1.6 nM、約 1.7 nM、約 1.8 nM、約 1.9 nM 或約 2.0 nM)之 IC50 抑制人類類胰蛋白酶之活性。在一些實施例中，該抗體能夠以約 0.5 nM 至約 2.5 nM (例如，約 0.5 nM、

約 0.6 nM、約 0.7 nM、約 0.8 nM、約 0.9 nM、約 1.0 nM、約 1.1 nM、約 1.2 nM、約 1.3 nM、約 1.4 nM、約 1.5 nM、約 1.6 nM、約 1.7 nM、約 1.8 nM、約 1.9 nM、約 2.0 nM、約 2.1 nM、約 2.2 nM、約 2.3 nM、約 2.4 nM 或約 2.5 nM)之 IC50 抑制人類類胰蛋白酶之活性。在一些實施例中，該抗體能夠以以下之 IC50 抑制人類類胰蛋白酶之活性：約 1 pM 至約 2.5 nM、約 25 pM 至約 2.5 nM、約 50 pM 至約 2.5 nM、約 75 pM 至約 2.5 nM、約 100 pM 至約 2.5 nM、約 125 pM 至約 2.5 nM、約 150 pM 至約 2.5 nM、約 175 pM 至約 2.5 nM、約 200 pM 至約 2.5 nM、約 225 pM 至約 2.5 nM、約 250 pM 至約 2.5 nM、約 300 pM 至約 2.5 nM、約 325 pM 至約 2.5 nM、約 325 pM 至約 2.5 nM、約 350 pM 至約 2.5 nM、約 375 pM 至約 2.5 nM、約 400 pM 至約 2.5 nM、約 425 pM 至約 2.5 nM、約 450 pM 至約 2.5 nM、約 500 pM 至約 2.5 nM、約 450 pM 至約 2.5 nM、約 500 pM 至約 2.5 nM、約 550 pM 至約 2.5 nM、約 600 pM 至約 2.5 nM、約 650 pM 至約 2.5 nM、約 700 pM 至約 2.5 nM、約 750 pM 至約 2.5 nM、約 800 pM 至約 2.5 nM、約 850 pM 至約 2.5 nM、約 900 pM 至約 2.5 nM、約 950 pM 至約 2.5 nM、約 1 nM 至約 2.5 nM、約 1.1 nM 至約 2.5 nM、約 1.2 nM 至約 2.5 nM、約 1.3 nM 至約 2.5 nM、約 1.4 nM 至約 2.5 nM、約 1.5 nM 至約 2.5 nM、約 1.6 nM 至約 2.5 nM、約 1.7 nM 至約 2.5 nM、約 1.8 nM 至約 2.5 nM、約 1.9 nM 至約 2.5 nM、約 2.0 nM 至約 2.5 nM、約 2.1 nM 至約 2.5 nM、約 2.2 nM 至約 2.5 nM、約 2.3 nM 至約 2.5 nM、約 500 pM 至約 1.9 pM、約 750 pM 至約 1.9 pM、約 1 nM 至約 1.9 pM、約 1.25 nM 至約 1.9 pM、約 1.5 nM 至約 1.9 pM、約 1 nM 至約 1.85 nM、約 1.25 nM 至約 1.85 nM、約 1.25 nM 至約 1.85 nM、約 1.5 nM 至約 1.85 nM、約 1 nM 至約 1.8 nM、約 1.25 nM 至約 1.8 nM、約 1.5 nM 至約 1.8 nM 或約 1.6 nM 至約 1.8 nM。在一些實施例中，該抗體能夠以約 1.8 nM 之 IC50 抑制人類類胰蛋白酶之活性。在其他實施例中，該抗體能夠以約 0.5 nM 至約 1 nM (例如，約 0.5 nM、約 0.6 nM、約 0.7 nM、

約 0.8 nM、約 0.9 nM 或約 1.0 nM)之 IC50 抑制人類類胰蛋白酶之活性。在一些實施例中，該抗體能夠以以下之 IC50 抑制人類類胰蛋白酶之活性：約 1 pM 至約 1 nM、約 25 pM 至約 1 nM、約 50 pM 至約 1 nM、約 75 pM 至約 1 nM、約 100 pM 至約 1 nM、約 125 pM 至約 1 nM、約 150 pM 至約 1 nM、約 175 pM 至約 1 nM、約 200 pM 至約 1 nM、約 225 pM 至約 1 nM、約 250 pM 至約 1 nM、約 300 pM 至約 1 nM、約 325 pM 至約 1 nM、約 350 pM 至約 1 nM、約 375 pM 至約 1 nM、約 400 pM 至約 1 nM、約 425 pM 至約 1 nM、約 450 pM 至約 1 nM、約 500 pM 至約 1 nM、約 450 pM 至約 1 nM、約 500 pM 至約 1 nM、約 550 pM 至約 1 nM、約 600 pM 至約 1 nM、約 650 pM 至約 1 nM、約 700 pM 至約 1 nM、約 750 pM、約 250 pM 至約 800 pM、約 300 pM 至約 800 pM、約 325 pM 至約 800 pM、約 325 pM 至約 800 pM、約 350 pM 至約 800 pM、約 375 pM 至約 800 pM、約 400 pM 至約 800 pM、約 425 pM 至約 800 pM、約 450 pM 至約 800 pM、約 500 pM 至約 800 pM、約 450 pM 至約 800 pM、約 500 pM 至約 800 pM、約 550 pM 至約 800 pM、約 600 pM 至約 800 pM、約 650 pM 至約 800 pM、約 700 pM 至約 800 pM、約 750 pM 至約 800 pM、約 1 pM 至約 600 pM、約 25 pM 至約 600 pM、約 50 pM 至約 600 pM、約 75 pM 至約 600 pM、約 100 pM 至約 600 pM、約 125 pM 至約 600 pM、約 150 pM 至約 600 pM、約 175 pM 至約 600 pM、約 200 pM 至約 600 pM、約 225 pM 至約 600 pM、約 250 pM 至約 600 pM、約 300 pM 至約 600 pM、約 325 pM 至約 600 pM、約 325 pM 至約 600 pM、約 350 pM 至約 600 pM、約 375 pM 至約 600 pM、約 400 pM 至約 600 pM、約 425 pM 至約 600 pM、約 450 pM 至約 600 pM、約 500 pM 至約 600 pM、約 450 pM 至約 600 pM、約 500 pM 至約 600 pM 或約 550 pM 至約 600 pM。在一些實施例中，該抗體能夠以約 0.6 nM 之 IC50 抑制人類類胰蛋白酶之活性。在一些實施例中，類胰蛋白酶係人類類胰蛋白酶，例如人類類胰蛋白酶 β (例如，人類類胰蛋白酶

β1、人類類胰蛋白酶 β2 及/或人類類胰蛋白酶 β3)。在一些情況下，該抗體之抑制活性係如本文所闡述(例如)在實例(例如實例 1，具體而言部分(A)(viii)(a))中來測定或藉由業內已知之其他方法來測定。在某些實施例中，該抗體係人類或人類化抗體。在一些實施例中，該抗體能夠抑制呈單價抗體或其抗原結合抗體片段(例如，Fab)形式之人類類胰蛋白酶之活性。在其他實施例中，該抗體能夠抑制呈雙價抗體(例如 IgG 抗體(例如，IgG1 或 IgG4 抗體)或 $F(ab')_2$)形式之人類類胰蛋白酶之活性。

【0199】 在一些情況下，本文所闡述之任一抗類胰蛋白酶抗體可抑制類胰蛋白酶刺激之人類原代氣道平滑肌細胞之收縮。在其他情況下，本文所闡述之任一抗類胰蛋白酶抗體可抑制類胰蛋白酶刺激之人類原代氣道平滑肌細胞之收縮。在其他情況下，本文所闡述之任一抗類胰蛋白酶抗體可抑制類胰蛋白酶或 IgE 刺激之肥大細胞脫粒及/或組胺釋放。在其他情況下，本文所闡述之任一抗類胰蛋白酶抗體可在(例如)投與個體後降低活性類胰蛋白酶之量(例如，在諸如支氣管肺泡灌洗流體或鼻吸收樣品等樣品中)。舉例而言，本文所闡述之任一抗類胰蛋白酶抗體可將活性類胰蛋白酶之量降低約 1%、約 5%、約 10%、約 15%、約 20%、約 25%、約 30%、約 35%、約 40%、約 45%、約 50%、約 55%、約 60%、約 75%、約 80%、約 90%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%或更多。該降低可係相對於活性類胰蛋白酶之參考量，例如在投與抗類胰蛋白酶抗體之前樣品中活性類胰蛋白酶之量。

【0200】 在一些情況下，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)可包括至少 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個選自以下之超變區(HVR)：(a) HVR-H1，其包含 $X_1X_2GMX_3$ (SEQ ID NO: 1)之胺基酸序列，其中 X_1 係 Asp 或 Ser，X_2 係 Tyr 或 Phe 且 X_3 係 Val 或 His；(b) HVR-H2，其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 $RX_1X_2X_3DWYFDV$ (SEQ ID NO: 3)

之胺基酸序列，其中 X_1 係 Asn 或 Asp，X_2 係 Tyr 或 Asn 且 X_3 係 Asp 或 Tyr；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列，或與 SEQ ID NO: 1-6 中之任一者具有至少約 80%序列一致性(例如，81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性)之以上 HVR 中一或多者之組合及其一或多種變體。

【0201】 舉例而言，在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)可包括至少 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個選自以下之超變區(HVR)：(a) HVR-H1，其包含 DYGMV (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 RNYDDWYFDV (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列，或與 SEQ ID NO: 2 或 4-8 中之任一者具有至少約 80%序列一致性(例如，81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性)之以上 HVR 中一或多者之組合及其一或多種變體。

【0202】 在一個特定實例中，在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)可包括(a) HVR-H1，其包含 DYGMV (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 RNYDDWYFDV (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT

(SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列。在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括(a) 重鏈可變(VH)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之序列；(b) 輕鏈可變(VL)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列具有至少 90%一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括以下重鏈框架區(FR)中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-H1，其包含 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO: 11)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含 WVRQAPGKGLEWVA (SEQ ID NO: 12)之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含 RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTR (SEQ ID NO: 13)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 14)之胺基酸序列。在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括以下輕鏈 FR 中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-L1，其包含 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 15)之胺基酸序列；(b) FR-L2，其包含 WYQQKPGKSPKPWIY (SEQ ID NO: 16)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 17)之胺基酸序列；及(d) FR-L4，其包含 FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 18)之胺基酸序列。在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括含有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之 VL 結構域，例如抗體 hu31A.v11。

【0203】 在另一特定實例中，在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)可包括(a) HVR-H1，其包含 DYGMV (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；(b)

HVR-H2，其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 RDNYDWYFDV (SEQ ID NO: 29)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列。在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括(a) 重鏈可變(VH)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列之序列；(b) 輕鏈可變(VL)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列具有至少 90%一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列之序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括以下重鏈框架區(FR)中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-H1，其包含 EVKLVESGGGSVQPGGSRKLSCAASGFTFS (SEQ ID NO: 21)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含 WVRQAPGKGLEWVA (SEQ ID NO: 22)之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含 RFTISRDNPKNTLFLQMSSLRSEDTAMYYCAR (SEQ ID NO: 23)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGTGTTVTVSS (SEQ ID NO: 24)之胺基酸序列。在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括以下輕鏈 FR 中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-L1，其包含 QIVLTQSPAIMSASPGEKVTISC (SEQ ID NO: 25)之胺基酸序列；(b) FR-L2，其包含 WYQQKPGSSPKPWIY (SEQ ID NO: 26)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含 GVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC (SEQ ID NO: 27)之胺基酸序列；及(d) FR-L4，其包含 FGAGTKLELK (SEQ ID NO: 28)之胺基酸序列。在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括含有 SEQ ID NO: 19 之胺基酸

序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列之 VL 結構域，例如抗體 31a。

【0204】 在一些情況下，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括(a) 重鏈可變(VH)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 9、101、102、103 及 104 中任一者之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 9、101、102、103 及 104 中任一者之胺基酸序列之序列；(b) 輕鏈可變(VL)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 10、105 及 106 中任一者之胺基酸序列具有至少 90%一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID NO: 10、105 及 106 中任一者之胺基酸序列之序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。舉例而言，在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 98 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之 VL 結構域。在其他情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 98 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之 VL 結構域。在其他情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 98 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 103 之胺基酸序列之 VL 結構域。在其他情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 99 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之 VL 結構域。在其他情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 99 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之 VL 結構域。在其他情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 99 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 103 之胺基酸序列之 VL 結構域。在其他情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 100 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之 VL 結構域。在其他情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 100 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之 VL 結構域。在其他情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 100

之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 103 之胺基酸序列之 VL 結構域。在其他情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之 VL 結構域。在其他情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之 VL 結構域。在其他情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 103 之胺基酸序列之 VL 結構域。在其他情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 101 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之 VL 結構域。在其他情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 101 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之 VL 結構域。在其他情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 101 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 103 之胺基酸序列之 VL 結構域。

【0205】　在一些情況下，前述抗體中之任一者結合至人類類胰蛋白酶 β1 上之表位，該表位包含至少一個、至少兩個、至少三個或全部四個選自由 SEQ ID NO: 71 之 His51、Val80、Lys81 及 Asp82 組成之群之殘基。在一些實施例中，該抗體結合至人類類胰蛋白酶 β1 上之表位，該表位包含至少一個、至少兩個、至少三個或全部四個選自由 SEQ ID NO: 71 之 His51、Val80、Lys81 及 Asp82 組成之群之殘基。在一些實施例中，該抗體結合至人類類胰蛋白酶 β1 上之表位，該表位包含 His51 及至少一個、至少兩個或全部三個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Val80、Lys81 及 Asp82 組成之群之殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位進一步包含一或多個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Gln67、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位包含至少兩個、至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、至少九個、至少十個、至少十一個或全部十二個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Gln67、Leu83、

Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位包含 SEQ ID NO: 71 之 His51、Gln67、Val80、Lys81、Asp82、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130。在一些實施例中，該表位與人類類胰蛋白酶 β1 單體或四聚體有關。在一些實施例中，表位係藉由 X 射線結晶學模型來測定。在一些實施例中，該抗體能夠解離四聚體人類類胰蛋白酶 β1 之小界面及四聚體人類類胰蛋白酶 β1 之大界面兩者。

【0206】 在一些情況下，前述抗類胰蛋白酶抗體中之任一者包括結合類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)之互補位，該互補位包括一或多個選自由以下組成之群之胺基酸殘基(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18 或 19 個胺基酸殘基)：輕鏈可變區胺基酸殘基 Val30；Thr31；Tyr32；Tyr34；Arg50；Tyr90；His92；Ser93；及 Tyr94 及重鏈可變區胺基酸殘基 Phe50；Ser52；Gly53；Ser54；Ser55；Thr56；Tyr58；Arg95；Tyr97；及 Asp98。

【0207】 舉例而言，在一些情況下，抗類胰蛋白酶抗體包括結合類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)之互補位，該互補位包括輕鏈可變區胺基酸殘基 Val30、Thr31、Tyr32、Tyr34、Arg50、Tyr90、His92、Ser93 及 Tyr94 或重鏈可變區胺基酸殘基 Phe50、Ser52、Gly53、Ser54、Ser55、Thr56、Tyr58、Arg95、Tyr97 及 Asp98。在一些情況下，抗類胰蛋白酶抗體包括結合類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)之互補位，該互補位包括輕鏈可變區胺基酸殘基 Val30、Thr31、Tyr32、Tyr34、Arg50、Tyr90、His92、Ser93 及 Tyr94 及重鏈可變區胺基酸殘基 Phe50、Ser52、Gly53、Ser54、Ser55、Thr56、Tyr58、Arg95、Tyr97 及 Asp98。

【0208】 在一些情況下，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)可包括至少 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個選自以下之超變區(HVR)：(a) HVR-H1，其包含 GYAIT (SEQ ID NO: 30)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 GISSAATTFYSSWAKS (SEQ ID NO: 31)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 DPRGYGAALDRLDL (SEQ ID NO: 32)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 QSIKSVYNNRLG (SEQ ID NO: 33)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 ETSILTS (SEQ ID NO: 34)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 AGGFDRSGDTT (SEQ ID NO: 35)之胺基酸序列，或與 SEQ ID NO: 30-35 中之任一者具有至少約 80%序列一致性(例如，81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性)之以上 HVR 中一或多者之組合及其一或多種變體。

【0209】 在一些情況下，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括(a) 重鏈可變(VH)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 36、47、48、49、50、51 及 52 中任一者之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 36、47、48、49、50、51 及 52 中任一者之胺基酸序列之序列；(b) 輕鏈可變(VL)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 37、53、58 或 59 中任一者之胺基酸序列具有至少 90%一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID NO: 37、53、58 或 59 中任一者之胺基酸序列之序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。

【0210】 在一些情況下，前述抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)中之任一者可包括以下重鏈框架區(FR)中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-H1，其包含與 EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLI (SEQ ID NO: 38)之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%

或 99%序列一致性)之胺基序列或 EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLI (SEQ ID NO: 38)之胺基酸序列之序列；(b) FR-H2，其包含與 WX_1RQPPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 39)之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 WX_1RQPPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 39)之胺基酸序列之序列，其中 X_1 係 Ile 或 Val；(c) FR-H3，其包含與 $RX_1TISX_2DTSKNQX_3SLKLSSVTAADTAVYX_4CAR$ (SEQ ID NO: 40)之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 $RX_1TISX_2DTSKNQX_3SLKLSSVTAADTAVYX_4CAR$ (SEQ ID NO: 40)之胺基酸序列之序列，其中 X_1 係 Val 或 Ser，X_2 係 Arg 或 Val，X_3 係 Val 或 Phe 且 X_4 係 Tyr 或 Phe；及(d) FR-H4，其包含與 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 41)之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 41)之胺基酸序列之序列。

【0211】 舉例而言，在一些情況下，前述抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)中之任一者可包括以下重鏈 FR 中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-H1，其包含 EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLI (SEQ ID NO: 38)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含 WIRQPPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 42)之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含 RVTISRDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 43)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 41)之胺基酸序列。

【0212】 在另一實例中，在一些情況下，前述抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)中之任一者可包括以下重鏈 FR 中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-H1，其包含 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSRFSLI (SEQ ID NO: 44)之胺基酸序

列；(b) FR-H2，其包含 WVRQAPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 45)之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含 RSTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 46)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 41)之胺基酸序列。

【0213】 在另一實例中，在一些情況下，前述抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)中之任一者可包括以下重鏈 FR 中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-H1，其包含 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSRFSLI (SEQ ID NO: 44)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含 WVRQAPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 45)之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含 RSTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 46)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 41)之胺基酸序列。

【0214】 在一些情況下，前述抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)中之任一者可包括以下輕鏈 FR 中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-L1，其包含與 $DX_1QX_2TQSPSSLSASVGDRVTITC$ (SEQ ID NO: 60)之胺基酸序列具有至少 90% 序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99% 序列一致性)之胺基序列或 $DX_1QX_2TQSPSSLSASVGDRVTITC$ (SEQ ID NO: 60)之胺基酸序列之序列，其中 X_1 係 Ile 或 Ala，且 X_2 係 Met 或 Leu；(b) FR-L2，其包含與 $WYQQKPGKX_1PKLLIY$ (SEQ ID NO: 61)之胺基酸序列具有至少 90% 序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99% 序列一致性)之胺基序列或 $WYQQKPGKX_1PKLLIY$ (SEQ ID NO: 61)之胺基酸序列之序列，其中 X_1 係 Ala 或 Pro；(c) FR-L3，其包含與 $VPSRFSGSGSX_1TDFTLTISSLQPEDFATYX_2C$ (SEQ ID NO: 62)之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 序列一致性)之胺基序列或

VPSRFSGSGSX$_1$TDFTLTISSLQPEDFATYX$_2$C (SEQ ID NO: 62)之胺基酸序列之序列，其中 X$_1$ 係 Gly 或 Glu，且 X$_2$ 係 Tyr 或 Phe；及(d) FR-L4，其包含與 FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 63)之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 63)之胺基酸序列之序列。

【0215】 舉例而言，在特定情況下，前述抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)中之任一者可包括以下輕鏈 FR 中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-L1，其包含 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 64)之胺基酸序列；(b) FR-L2，其包含 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 65)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 66)之胺基酸序列；及(d) FR-L4，其包含 FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 63)之胺基酸序列。

【0216】 在一些實施例中，前述抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)中之任一者可包括以下輕鏈 FR 中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-L1，其包含 AAVLTQTPASVSAAVGGTVSISC (SEQ ID NO: 67)之胺基酸序列；(b) FR-L2，其包含 WYQQKPGQPPKLLIY (SEQ ID NO: 68)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含 GVPSRFKGSGSETQFTLTISDVQX$_1$DDAATYFC (SEQ ID NO: 69)之胺基酸序列，其中 X$_1$ 係 Cys 或 Ala；及(d) FR-L4，其包含 FGQGTKVEIK FGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 70)之胺基酸序列。

【0217】 在一些情況下，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括(a) 重鏈可變(VH)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 36、47、48、49、50、51 及 52 中任一者之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 36、47、48、49、50、51 及 52 中任一者之胺基酸序列之序列；(b) 輕鏈可變(VL)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 37、53、58 及 59 中任一者之胺基酸序列具有至少 90%一致性(例如至少

91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID NO: 37、53、58 及 59 中任一者之胺基酸序列之序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。舉例而言，在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 52 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO:

51 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 52 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列之 VL 結構域。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列之 VL 結構域。

【0218】　在另一特定實例中，在一些實施例中，抗類胰蛋白酶抗體可包括(a) HVR-H1，其包含 GYAIT (SEQ ID NO: 30)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含

GISSAATTFYSSWAKS (SEQ ID NO: 31)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 DPRGYGAALDRLDL (SEQ ID NO: 32)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 QSIKSVYNNRLG (SEQ ID NO: 33)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 ETSILTS (SEQ ID NO: 34)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 AGGFDRSGDTT (SEQ ID NO: 35)之胺基酸序列。在一些實施例中，抗類胰蛋白酶抗體包括(a) 重鏈可變(VH)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列之序列；(b) 輕鏈可變(VL)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列具有至少 90%一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列之序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。在一些實施例中，抗類胰蛋白酶抗體包括以下重鏈框架區(FR)中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-H1，其包含 EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLI (SEQ ID NO: 38)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含 WIRQPPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 42) 之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含 RVTISRDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 43)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 41)之胺基酸序列。在一些實施例中，抗類胰蛋白酶抗體包括以下輕鏈 FR 中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-L1，其包含 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 64)之胺基酸序列；(b) FR-L2，其包含 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 65)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 66)之胺基酸序列；及(d) FR-L4，其包含 FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 63)之胺基酸序列。在一些實施例中，抗類胰蛋白酶抗體包括含有 SEQ ID NO: 36 之胺

基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列之 VL 結構域，例如抗類胰蛋白酶抗體 huE104.v2。

【0219】 在另一特定實例中，在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)可包括(a) HVR-H1，其包含 GYAIT (SEQ ID NO: 30)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 GISSAATTFYSSWAKS (SEQ ID NO: 31)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 DPRGYGAALDRLDL (SEQ ID NO: 32)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 QSIKSVYNNRLG (SEQ ID NO: 33)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 ETSILTS (SEQ ID NO: 34)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 AGGFDRSGDTT (SEQ ID NO: 35)之胺基酸序列。在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括(a) 重鏈可變(VH)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 52 之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 52 之胺基酸序列之序列；(b) 輕鏈可變(VL)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列具有至少 90%一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列之序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括以下重鏈框架區(FR)中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-H1，其包含 QXSLEESGGGLFKPTDTLTLTCTVSRFSLI (SEQ ID NO: 54)之胺基酸序列；(b) FR-H2，其包含 WVRQSPENGLEWIG (SEQ ID NO: 55)之胺基酸序列；(c) FR-H3，其包含 RSTITRNTNENTVTLKMTSLTAADTATYFCAR (SEQ ID NO: 56)之胺基酸序列；及(d) FR-H4，其包含 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 57)之胺基酸序列。在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括以下輕鏈 FR 中之一者、兩者、三者或四者：(a) FR-L1，其包含 AAVLTQTPASVSAAVGGTVSISC (SEQ ID NO: 67)之胺基酸序列；(b) FR-L2，

其包含 WYQQKPGQPPKLLIY (SEQ ID NO: 68)之胺基酸序列；(c) FR-L3，其包含 GVPSRFKGSGSETQFTLTISDVQX$_1$DDAATYFC (SEQ ID NO: 69)之胺基酸序列，其中 X$_1$ 係 Cys 或 Ala；及(d) FR-L4，其包含 FGQGTKVEIKFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 70)之胺基酸序列。在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括含有 SEQ ID NO: 52 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列之 VL 結構域，例如抗體 E104。在一些實施例中，抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)包括含有 SEQ ID NO: 52 之胺基酸序列之 VH 結構域及含有 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列之 VL 結構域。

【0220】 在一些情況下，本發明提供抗體，其包含(a) 重鏈，其包含與 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列之序列及/或(b) 輕鏈，其包含與 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列之序列。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列之重鏈及含有 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列之輕鏈。在一些實施例中，該重鏈在 C 末端進一步包含離胺酸(K)殘基。

【0221】 在一些情況下，本發明提供抗體，其包含(a) 重鏈，其包含與 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列之序列及/或(b) 輕鏈，其包含與 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列之序列。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列之重鏈及含有 SEQ ID NO: 79

之胺基酸序列之輕鏈。在一些實施例中，該重鏈在 C 末端進一步包含離胺酸(K)殘基。

【0222】 在一些情況下，本發明提供抗體，其包含(a) 重鏈，其包含與 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列之序列及/或(b) 輕鏈，其包含與 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列之序列。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列之重鏈及含有 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列之輕鏈。在一些實施例中，該重鏈在 C 末端進一步包含離胺酸(K)殘基。

【0223】 在一些情況下，本發明提供抗體，其包含(a) 重鏈，其包含與 SEQ ID NO: 82 之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 82 之胺基酸序列之序列及/或(b) 輕鏈，其包含與 SEQ ID NO: 83 之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性(例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基序列或 SEQ ID NO: 83 之胺基酸序列之序列。在一些情況下，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 82 之胺基酸序列之重鏈及含有 SEQ ID NO: 83 之胺基酸序列之輕鏈。在一些實施例中，該重鏈在 C 末端進一步包含離胺酸(K)殘基。

【0224】 在一些情況下，前述抗體中之任一者結合至人類類胰蛋白酶 β1 上之表位，該表位包含至少一個、至少兩個或全部三個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Gln100、Leu101 及 Leu102 組成之群之殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位進一步包含一或多個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Trp55、Gln67、Asp82、

Leu83、Ala84、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128 及 Glu129 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，人類類胰蛋白酶 β1 上之表位包含至少兩個、至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、至少九個、至少十個、至少十一個、至少十二個、至少十三個或全部十四個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128 及 Glu129 組成之群之胺基酸殘基。在一些實施例中，該表位包含 SEQ ID NO: 71 之 Gln35、Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Gln100、Leu101、Leu102、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128、Glu129 及 Arg216。在一些實施例中，該表位與人類類胰蛋白酶 β1 單體或四聚體有關。在一些實施例中，該表位與人類類胰蛋白酶 β1 四聚體有關，且人類類胰蛋白酶 β1 上之表位進一步包含 SEQ ID NO: 71 之 Gln35 及 Arg216 中之一者或兩者。在一些實施例中，表位係藉由 X 射線結晶學模型來測定。在一些實施例中，該抗體能夠解離人類類胰蛋白酶 β1 之小界面及/或大界面。

【0225】 在一些情況下，前述抗類胰蛋白酶抗體中之任一者包括結合類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)之互補位，該互補位包括一或多個選自由以下組成之群之胺基酸殘基(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、或 16 19 個胺基酸殘基)：輕鏈可變區胺基酸殘基 Tyr29；Asn30；Arg32；及 Arg94 以及重鏈可變區胺基酸殘基 Gly31；Tyr32；Ser52；Ser53；Ala54；Thr56；Phe58；Pro96；Arg97；Gly98；Tyr99；及 Arg100e。

【0226】 舉例而言，在一些情況下，抗類胰蛋白酶抗體包括結合類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)之互補位，該互補位包括輕鏈可變區胺基酸殘基 Tyr29；Asn30；Arg32；及 Arg94 或重鏈可變區胺基酸殘基 Gly31；Tyr32；Ser52；Ser53；Ala54；Thr56；Phe58；Pro96；Arg97；Gly98；Tyr99；及 Arg100e。在

一些情況下，抗類胰蛋白酶抗體包括結合類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)之互補位，該互補位包括輕鏈可變區胺基酸殘基 Tyr29；Asn30；Arg32；及 Arg94 以及重鏈可變區胺基酸殘基 Gly31；Tyr32；Ser52；Ser53；Ala54；Thr56；Phe58；Pro96；Arg97；Gly98；Tyr99；及 Arg100e。

【0227】 在一些情況下，前述抗類胰蛋白酶抗體中之任一者結合人類類胰蛋白酶。在一些情況下，前述抗體中之任一者結合食蟹猴(cyno)類胰蛋白酶。在一些情況下，該抗體結合人類類胰蛋白酶 α 或人類類胰蛋白酶 β。在一些情況下，該抗體結合人類類胰蛋白酶 β1、人類類胰蛋白酶 β2 或人類類胰蛋白酶 β3。

【0228】 在另一態樣中，本發明提供結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位之抗類胰蛋白酶抗體，該表位包括一或多個選自由以下組成之群之胺基酸殘基(例如，1、2、3、4、5、6 或 7 個胺基酸殘基)：His51、Val80、Lys81、Asp82、Leu83、Ala84 及 Ala85，其可係關於 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。舉例而言，在一些實施例中，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包含至少一個、至少兩個、至少三個或全部四個選自由 SEQ ID NO: 71 之 His51、Val80、Lys81 及 Asp82 組成之群之殘基或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些實施例中，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包含 His51 及至少一個、至少兩個或全部三個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Val80、Lys81 及 Asp82 組成之群之殘基或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些實施例中，類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位進一步包含一或多個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Gln67、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130 組成之群之胺基酸殘基或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些實施例中，類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位包含至少兩個、至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八

個、至少九個、至少十個、至少十一個或全部十二個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Gln67、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130 組成之群之胺基酸殘基或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些實施例中，類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位包含 SEQ ID NO: 71 之 His51、Gln67、Val80、Lys81、Asp82、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些實施例中，該表位與類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)單體或四聚體有關。在一些實施例中，表位係藉由 X 射線結晶學模型來測定。在一些實施例中，該抗體能夠解離四聚體類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)之小界面及四聚體類胰蛋白酶之大界面兩者。

【0229】　在另一態樣中，本發明提供結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位之抗類胰蛋白酶之抗體，該表位包括一或多個選自由以下組成之群之胺基酸殘基(例如，1、2、3、4、5、6 或 7 個胺基酸殘基)：Gln100、Leu101、Leu102、Pro103、Val104、Ser105 及 Arg106，其可係關於 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些實施例中，類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位進一步包含一或多個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128 及 Glu129 組成之群之胺基酸殘基或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些實施例中，類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位包含至少兩個、至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、至少九個、至少十個、至少十一個、至少十二個、至少十三個或全部十四個選自由 SEQ ID NO: 71 之 Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128 及 Glu129 組成之群之胺基酸殘基或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些實施例中，該表

位包含 SEQ ID NO: 71 之 Gln35、Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Gln100、Leu101、Leu102、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128、Glu129 及 Arg216 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些實施例中，該表位與類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)單體或四聚體有關。在一些實施例中，該表位與四聚體有關，且類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位進一步包含 SEQ ID NO: 71 之 Gln35 及 Arg216 中之一者或兩者或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些實施例中，表位係藉由 X 射線結晶學模型來測定。在一些實施例中，該抗體能夠解離類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)之小界面及/或大界面。

【0230】 在一些實施例中，前述抗體中之任一者結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包括一或多個選自由以下組成之群之胺基酸殘基(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或 11 個胺基酸殘基)：Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128 及 Glu129，其可係關於 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。

【0231】 舉例而言，在一些情況下，前述抗體中之任一者結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包括 SEQ ID NO: 71 之 Gln67 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包括 SEQ ID NO: 71 之 Asp82 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包括 SEQ ID NO: 71 之 Leu83 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包括 SEQ ID NO: 71 之 Ala84 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包括 SEQ ID NO: 71 之 Arg87 或任一類胰蛋白

酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包括 SEQ ID NO: 71 之 Pro103 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包含 SEQ ID NO: 71 之 Val104 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包括 SEQ ID NO: 71 之 Ser105 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包括 SEQ ID NO: 71 之 Arg106 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包括 SEQ ID NO: 71 之 Glu128 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包括 SEQ ID NO: 71 之 Glu129 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。

【0232】　在一些實施例中，前述抗體中之任一者結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包括兩個或更多個、三個或更多個、四個或更多個、五個或更多個、六個或更多個、七個或更多個、八個或更多個、九個或更多個、十個或更多個或全部十一個選自由 Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128 及 Glu129 組成之群之胺基酸殘基，其可係關於 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。

【0233】　在一些情況下，前述抗體中之任一者結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括一或多個選自由以下組成之群之其他胺基酸殘基(例如，1、2、3、4 或 5 個其他胺基酸殘基)：His51、Val80、Lys81、Ala85 及 Pro130，其可係關於 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列或任一類胰蛋白酶蛋

白之相應胺基酸。舉例而言，在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括 SEQ ID NO: 71 之 His51 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括 SEQ ID NO: 71 之 Val80 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些實施例中，抗類胰蛋白酶抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括 SEQ ID NO: 71 之 Lys81 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括 SEQ ID NO: 71 之 Ala85 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括 SEQ ID NO: 71 之 Pro130 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。

【0234】 在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括兩個或更多個、三個或更多個、四個或更多個或五個或更多個選自由 His51、Val80、Lys81、Ala85 及 Pro130 組成之群之其他胺基酸殘基，其可係關於 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。

【0235】 在一些情況下，抗類胰蛋白酶抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包括 SEQ ID NO: 71 之 His51、Gln67、Val80、Lys81、Asp82、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130，其可係關於 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，抗類胰蛋白酶抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位係由 SEQ ID NO: 71 之 His51、Gln67、Val80、Lys81、Asp82、Leu83、Ala84、Ala85、Arg87、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu128、Glu129 及 Pro130 組成。

【0236】 在其他情況下，前述抗類胰蛋白酶抗體中之任一者結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括一或多個(例如，1、2、3、4、5、6、7 或 8 個)選自由以下組成之群之其他胺基酸殘基：Gln35、Trp55、Gln100、Leu101、Leu102、Glu126、Leu127 及 Arg216，其可係關於 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。舉例而言，在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括 SEQ ID NO: 71 之 Gln35 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括 SEQ ID NO: 71 之 Trp55 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括 SEQ ID NO: 71 之 Gln100 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括 SEQ ID NO: 71 之 Leu101 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括 SEQ ID NO: 71 之 Leu102 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括 SEQ ID NO: 71 之 Glu126 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括 SEQ ID NO: 71 之 Leu127 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括 SEQ ID NO: 71 之 Arg216 或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，該抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位進一步包括兩個或更多個、三個或更多個、四個或更多個、五個或更多個、六個或更多個、七個或更多個或八個或

更多個選自由以下組成之群之其他胺基酸殘基：Gln35、Trp55、Gln100、Leu101、Leu102、Glu126、Leu127 及 Arg216，其可係關於 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。

【0237】 在一些情況下，抗類胰蛋白酶抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位包括 Gln35、Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Gln100、Leu101、Leu102、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128、Glu129 及 Arg216，其可係關於 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列或任一類胰蛋白酶蛋白之相應胺基酸。在一些情況下，抗類胰蛋白酶抗體結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)上之表位，該表位係由 SEQ ID NO: 71 之 Gln35、Trp55、Gln67、Asp82、Leu83、Ala84、Arg87、Gln100、Leu101、Leu102、Pro103、Val104、Ser105、Arg106、Glu126、Leu127、Glu128、Glu129 及 Arg216 組成。

【0238】 在另一態樣中，本發明提供與前述抗體中之任一者競爭與類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶 β1)之結合之抗體。

【0239】 在另一態樣中，本發明提供與前述抗體中之任一者結合至相同表位或重疊表位之抗體。

【0240】 在一些實施例中，前述抗體中之任一者可具有破壞具有四聚體結構之類胰蛋白酶(例如存在於肥大細胞分泌顆粒中或自肥大細胞分泌顆粒釋放之成熟類胰蛋白酶)以形成較小分子量物質(例如，單體、二聚體及/或三聚體)之能力。

【0241】 在另一態樣中，如上文實施例中任一者之抗體可單獨或組合併入如在下文部分 1-7 中所闡述特徵中之任一者：

1. 抗體親和力

【0242】 在某些實施例中，本文所提供抗體之解離常數(K_D)為≤ 1 μM、≤ 100 nM、≤ 10 nM、≤ 1 nM、≤ 0.1 nM、≤ 0.01 nM、≤ 1 pM 或≤ 0.1 pM (例如，10^{-6} M

或更小，例如 10^{-6} M 至 10^{-9} M 或更小、例如 10^{-9} M 至 10^{-13} M 或更小)。在一些實施例中，本發明之抗類胰蛋白酶抗體以約 100 nM 或更低(例如，100 nM 或更低、10 nM 或更低、1 nM 或更低、100 pM 或更低、10 pM 或更低、1 pM 或更低或 0.1 pM 或更低)之 K_D 結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶，例如人類類胰蛋白酶 β)。在一些實施例中，該抗體以 10 nM 或更低(例如，10 nM 或更低、1 nm 或更低、100 pM 或更低、10 pM 或更低、1 pM 或更低或 0.1 pM 或更低)之 K_D 結合類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶，例如人類類胰蛋白酶 β)。在一些實施例中，該抗體以 1 nM 或更低(例如，1 nm 或更低、100 pM 或更低、10 pM 或更低、1 pM 或更低或 0.1 pM 或更低)之 K_D 結合類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶，例如人類類胰蛋白酶 β)。在一些實施例中，上文或此處所闡述抗類胰蛋白酶抗體中之任一者係以約 0.5 nM 或更低(例如，0.5 nm 或更低、400 pM 或更低、300 pM 或更低、200 pM 或更低、100 pM 或更低、50 pM 或更低、25 pM 或更低、10 pM 或更低、1 pM 或更低或 0.1 pM 或更低)之 K_D 結合至類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶，例如人類類胰蛋白酶 β)。在一些實施例中，該抗體以介於約 0.1 nM 至約 0.5 nM 之間(例如，約 0.1 nM、約 0.2 nM、約 0.3 nM、約 0.4 nM 或約 0.5 nM)之 K_D 結合類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶，例如人類類胰蛋白酶 β)。在一些實施例中，該抗體以約 0.4 nM 之 K_D 結合類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶，例如人類類胰蛋白酶 β)。在一些實施例中，該抗體以約 0.18 nM 之 K_D 結合類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶，例如人類類胰蛋白酶 β)。

【0243】　在一個實施例中，K_D 係藉由經放射標記之抗原結合分析(RIA)來量測。在一個實施例中，對所關注抗體之 Fab 形式及其抗原實施 RIA。舉例而言，Fab 對抗原之溶液結合親和力係藉由以下來量測：在滴定系列之未標記抗原之存在下，利用最低濃度之(^{125}I)標記抗原平衡 Fab，接著利用抗 Fab 抗體塗覆板捕獲所結合抗原(參見例如 Chen 等人，*J. Mol. Biol.* 293:865-881, 1999)。為建立用於

分析之條件，將 MICROTITER®多孔板(Thermo Scientific)用於 50 mM 碳酸鈉(pH 9.6)中之 5 μg/ml 之捕獲用抗 Fab 抗體(Cappel Labs)塗覆過夜，且隨後在室溫(大約 23°C)下用於 PBS 中之 2% (w/v)牛血清白蛋白封阻 2 至 5 小時。在非吸附性板(Nunc 編號 269620)中，將 100 pM 或 26 pM [^{125}I]-抗原與所關注 Fab 之連續稀釋液混合(例如，與 Presta 等人，*Cancer Res.* 57:4593-4599 (1997)中對抗 VEGF 抗體(Fab-12)之評價一致)。接著將所關注 Fab 培育過夜；然而，可繼續培育更長時期(例如，約 65 小時)以確保達到平衡。此後，將混合物轉移至捕獲板以在室溫下進行培育(例如，1 小時)。接著將溶液去除，且以於 PBS 中之 0.1%聚山梨醇酯 20 (TWEEN®-20)將板洗滌 8 次。在板已乾燥時，添加 150 μl/孔之閃爍體(MICROSCINT-20™；Packard)，且將板在 TOPCOUNT™ γ 計數器(Packard)上計數 10 分鐘。選擇得到小於或等於 20%之最大結合之每一 Fab 的濃度用於競爭性結合分析。

【0244】 根據另一實施例，K_D 係使用 BIACORE®表面電漿共振分析來量測。舉例而言，使用 BIACORE®-2000 或 BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)之分析係在 25°C下用約 10 反應單位(RU)之固定化抗原 CM5 晶片來實施。在一個實施例中，根據供應商說明書用 *N*-乙基-*N'*-(3-二甲基胺基丙基)-碳二亞胺鹽酸鹽(EDC)及 *N*-羥基琥珀醯亞胺(NHS)來活化羧甲基化之聚葡萄糖生物感測器晶片(CM5, BIACORE, Inc.)。利用 10 mM 乙酸鈉(pH 4.8)將抗原稀釋至 5 μg/ml (約 0.2 μM)，之後以 5 μl/分鐘之流速注射以達成約 10 個反應單位(RU)之偶合蛋白。注射抗原後，注射 1 M 乙醇胺以阻斷未反應之基團。對於動力學量測，在 25°C 下以大約 25 μl/min 之流速注射 Fab 於含有 0.05%聚山梨醇酯 20 (TWEEN®-20)表面活性劑之磷酸鹽緩衝鹽水 PBS (PBST)中之兩倍連續稀釋物(0.78 nM 至 500 nM)。締合速率(k_{on})及解離速率(k_{off})係使用簡單一對一 Langmuir 結合模型(BIACORE®評估軟體 3.2 版)藉由同時擬合締合及解離感測圖來計算。平衡解離

常數(K_D)計算為比率 k_{off}/k_{on}。參見，例如 Chen 等人，(*J. Mol. Biol.* 293:865-881, 1999)。若藉由上文表面電漿子共振分析獲得之締合速率(on-rate)超過 10^6 M^{-1} s^{-1}，則該締合速率可藉由使用螢光淬滅技術來測定，該技術在 25°C下在濃度增加之抗原存在下量測於 PBS (pH 7.2)中之 20 nM 抗-抗原抗體(Fab 形式)之螢光發射強度(激發= 295 nm；發射= 340 nm，16 nm 帶通)之增加或降低，如在光譜儀中所量測，例如配備有停流技術之分光光度計(Aviv Instruments)或帶有經攪拌光析管之 8000 系列 SLM-AMINCO™分光光度計(ThermoSpectronic)。

【0245】 在一些實施例中，K_D 係使用 BIACORE® SPR 分析來量測，例如如實例 1 部分(A)(vii)中所闡述。在一些實施例中，SPR 分析可使用 BIAcore® T200 或等效裝置。在一些實施例中，以 BIAcore® Series S CM5 感測器晶片(或等效感測器晶片)固定化單株小鼠抗人類 IgG (Fc)抗體且隨後在流動細胞上捕獲抗類胰蛋白酶抗體。以 30 μl/min 之流速注射帶 His 標籤之人類類胰蛋白酶 β1 單體(SEQ ID NO: 128)之連續 3 倍稀釋液。以 3 min 締合及 10 min 解離來分析每一樣品。該分析係在 25°C下實施。在每次注射後，使用 3 M $MgCl_2$ 使晶片再生。結合反應係藉由減去以相似密度捕獲無關 IgG 之流動細胞之反應單位(RU)來校正。使用同時擬合 k_{on} 及 k_{off} 之 1:1 Languir 模型進行動力學分析。

2. 抗體片段

【0246】 在某些實施例中，本文所提供之抗體係抗體片段。抗體片段包括(但不限於) Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$、Fv 及 scFv 片段以及下文所闡述之其他片段。關於某些抗體片段之綜述，參見 Hudson 等人，*Nat. Med.* 9:129-134 (2003)。關於 scFv 片段之綜述，例如參見 Pluckthün，*The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, 第 113 卷, Rosenburg 及 Moore 編輯, (Springer-Verlag, New York), 第 269-315 頁(1994)；亦參見 WO 93/16185；及美國專利第 5,571,894 號及第 5,587,458

號。關於包含補救受體結合表位殘基且具有增加之活體內半衰期之 Fab 及 $F(ab')_2$ 片段的論述，參見美國專利第 5,869,046 號。

【0247】 雙價抗體係具有兩個抗原結合位點之抗體片段，其可為二價或具有雙特異性。參見，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。三價抗體及四價抗體亦闡述於 Hudson 等人，*Nat. Med.* 9:129-134, 2003 中。

【0248】 單一結構域抗體係包含抗體中重鏈可變結構域之全部或一部分或輕鏈可變結構域之全部或一部分之抗體片段。在某些實施例中，單一結構域抗體係人類單一結構域抗體(參見，例如美國專利第 6,248,516 B1 號)。

【0249】 抗體片段可藉由各種技術來製得，包括(但不限於)蛋白水解消化完整抗體以及藉由重組宿主細胞(例如，大腸桿菌或噬菌體)來產生，如本文所闡述。

3. 嵌合及人類化抗體

【0250】 在某些實施例中，本文所提供之抗體係嵌合抗體。某些嵌合抗體闡述於(例如)美國專利第 4,816,567 號；及 Morrison 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855, 1984)中。在一個實例中，嵌合抗體包含非人類可變區(例如，源自小鼠、大鼠、倉鼠、兔或非人類靈長類動物(例如猴)之可變區)及人類恆定區。在另一實例中，嵌合抗體係「類別切換」抗體，其中類別或亞類已自親代抗體之類別或亞類發生變化。嵌合抗體包括其抗原結合片段。

【0251】 在某些實施例中，嵌合抗體係人類化抗體。通常，將非人類抗體人類化以降低對人類之免疫原性，同時保留親代非人類抗體之特異性及親和力。一般而言，人類化抗體包含一或多個可變結構域，其中 HVR (或其部分)源自非人類抗體，且 FR(或其部分)源自人類抗體序列。人類化抗體視情況將亦包含人類恆定區之至少一部分。在一些實施例中，人類化抗體中之一些 FR 殘基經來自

非人類抗體(例如，產生 HVR 殘基之抗體)之相應殘基取代以(例如)恢復或改良抗體特異性或親和力。

【0252】 人類化抗體及其製備方法綜述於(例如) Almagro 等人，*Front. Biosci.* 13:1619-1633, 2008 中，且進一步闡述於(例如)以下文獻中：Riechmann 等人，*Nature* 332:323-329, 1988；Queen 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:10029-10033, 1989；美國專利第 5, 821,337 號、第 7,527,791 號、第 6,982,321 號及第 7,087,409 號；Kashmiri 等人，*Methods* 36:25-34, 2005 (闡述特異性決定區(SDR)移植)；Padlan，*Mol. Immunol.* 28:489-498, 1991 (闡述「表面重修」)；Dall'Acqua 等人，*Methods* 36:43-60, 2005 (闡述「FR 改組」)；及 Osbourn 等人，*Methods* 36:61-68, 2005 及 Klimka 等人，*Br. J. Cancer*, 83:252-260, 2000 (闡述 FR 改組之「導向選擇」方法)。

【0253】 可用於人類化之人類框架區包括(但不限於)：使用「最佳擬合」方法選擇之框架區(參見例如 Sims 等人，*J. Immunol.* 151:2296, 1993)；源自輕鏈或重鏈可變區之特定亞組之人類抗體之共有序列的框架區(參見例如 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)框架區或人類種系框架區(參見例如 Almagro 等人，*Front. Biosci.* 13:1619-1633, 2008)；及源自篩選 FR 庫之框架區(參見例如 Baca 等人，*J. Biol. Chem.* 272:10678-10684, 1997 及 Rosok 等人，*J. Biol. Chem.* 271:22611-22618, 1996)。

4. 人類抗體

【0254】 在某些實施例中，本文所提供之抗體係人類抗體。人類抗體可使用業內已知之各種技術來產生。人類抗體通常闡述於 van Dijk 等人，*Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-74, 2001 及 Lonberg，*Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459, 2008 中。

【0255】 可藉由向轉基因動物投與免疫原來製備人類抗體，該轉基因動物已經改良以產生因應抗原攻擊之完整人類抗體或具有人類可變區之完整抗體。此等動物通常含有人類免疫球蛋白基因座之全部或一部分，該等基因座替代內源免疫球蛋白基因座，或存在於染色體外或隨機整合至動物之染色體中。在此等轉基因小鼠中，內源免疫球蛋白基因座通常已不活化。關於自轉基因動物獲得人類抗體之方法的綜述，參見 Lonberg，*Nat. Biotech.* 23 (2005) 1117-1125。亦參見例如美國專利第 6,075,181 號及第 6,150,584 號，其闡述 XENOMOUSE™ 技術；美國專利第 5,770,429 號，其闡述 HUMAB® 技術；美國專利第 7,041,870 號，其闡述 K-M MOUSE® 技術；及美國專利申請公開案第 US 2007/0061900 號，其闡述 VELOCIMOUSE® 技術。可進一步(例如)藉由與不同人類恆定區進行組合來修飾來自由此等動物產生之完整抗體的人類可變區域。

【0256】 人類抗體亦可藉由基於雜交瘤之方法製得。已闡述用於產生人類單株抗體之人類骨髓瘤及小鼠-人類雜交骨髓瘤細胞系。(參見例如 Kozbor，*J. Immunol.* 133:3001, 1984；Brodeur 等人，*Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, 第 51-63 頁(Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)；及 Boerner 等人，*J. Immunol.* 147: 86, 1991)。經由人類 B 細胞雜交瘤技術產生之人類抗體亦闡述於 Li 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103: 3557-3562, 2006 中。其他方法包括闡述於(例如)美國專利第 7,189,826 號(闡述自雜交瘤細胞系產生單株人類 IgM 抗體)及 Ni，*Xiandai Mianyixue*, 26(4): 265-268, 2006 (闡述人類-人類雜交瘤)中之彼等方法。人類雜交瘤技術(Trioma technology) 亦闡述於 Vollmers 等人，*Histology and Histopathology* 20(3):927-937, 2005 及 Vollmers 等人，*Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology* 27(3):185-91, 2005 中。

【0257】 人類抗體亦可藉由分離選自人類源噬菌體展示庫之 Fv 純系可變結構域序列來產生。此等可變結構域序列可然後與期望之人類恆定結構域進行組合。自抗體庫選擇人類抗體之技術闡述於下文中。

5. 庫源抗體

【0258】 本發明之抗體可藉由篩選組合庫中具有一或多種期望活性之抗體來分離。舉例而言，業內已知用於產生噬菌體展示庫及自此等庫篩選具有期望結合特性之抗體之各種方法。此等方法綜述於(例如) Hoogenboom 等人，*Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien 等人編輯，Human Press, Totowa, NJ, 2001) 中且進一步闡述於(例如) McCafferty 等人，*Nature* 348:552-554, 1990；Clackson 等人，*Nature* 352: 624-628, 1991；Marks 等人，*J. Mol. Biol.* 222: 581-597, 1992；Marks 等人，*Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo 編輯，Human Press, Totowa, NJ, 2003)；Sidhu 等人，*J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310, 2004；Lee 等人，*J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093, 2004；Fellouse，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34):12467-12472, 2004；及 Lee 等人，*J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132, 2004 中。

【0259】 在某些噬菌體展示方法中，藉由聚合酶鏈反應(PCR)單獨選殖 VH 及 VL 基因譜且在噬菌體庫中隨機重組，然後可針對結合抗原之噬菌體篩選該等噬菌體庫，如 Winter 等人，*Ann. Rev. Immunol.* 12: 433-455, 1994 中所闡述。噬菌體通常展示抗體片段，如單鏈 Fv (scFv)片段或如 Fab 片段。來自免疫化源之庫可向免疫原提供高親和力抗體而無需構築雜交瘤。或者，可選殖天然譜(例如，自人類)以向各種無任何免疫之非自體抗原以及自體抗原提供單一來源之抗體，如 Griffiths 等人，*EMBO J,* 12: 725-734, 1993 所闡述。最後，亦可藉由以下方式以合成方式製得天然庫：選殖來自幹細胞之未重排 V-基因區段，且使用含有隨機序列之 PCR 引子編碼高度可變 HVR3 區且在活體外完成重排，如 Hoogenboom

等人，*J. Mol. Biol.*, 227: 381-388, 1992 中所闡述。闡述人類抗體噬菌體庫之專利公開案包括(例如)美國專利第 5,750,373 號及美國專利公開案第 2005/0079574 號、第 2005/0119455 號、第 2005/0266000 號、第 2007/0117126 號、第 2007/0160598 號、第 2007/0237764 號、第 2007/0292936 號及第 2009/0002360 號。

【0260】 自人類抗體庫分離之抗體或抗體片段在本文中視作人類抗體或人類抗體片段。

6. 多特異性抗體

【0261】 在某些實施例中，本文所提供之抗體係多特異性抗體，例如雙特異性抗體。多特異性抗體係對至少兩個不同位點具有結合特異性之單株抗體。在某些實施例中，雙特異性抗體可結合至類胰蛋白酶之兩個不同表位。在某些實施例中，結合特異性中之一者係針對類胰蛋白酶且另一者係針對任一其他抗原(例如，第二生物分子)。在一些實施例中，雙特異性抗體可結合至類胰蛋白酶之兩個不同表位。在其他實施例中，結合特異性中之一者係針對類胰蛋白酶(例如，人類類胰蛋白酶，例如人類類胰蛋白酶 β)且另一者係針對任一其他抗原(例如，第二生物分子，例如 IL-13、IL-4、IL-5、IL-17、IL-33、IgE、M1 prime、CRTH2 或 TRPA)。因此，雙特異性抗體可對以下具有結合特異性：類胰蛋白酶及 IL-13；類胰蛋白酶及 IL-4；類胰蛋白酶及 IL-5；類胰蛋白酶及 IL-17 或類胰蛋白酶及 IL-33。特定而言，雙特異性抗體可對類胰蛋白酶及 IL-13 或類胰蛋白酶及 IL-33 具有結合特異性。雙特異性抗體可製備為全長抗體或抗體片段。

【0262】 舉例而言，在一些情況下，雙特異性抗體包括結合類胰蛋白酶之第一結合結構域及結合 IL-13 之第二結合結構域。在一些實施例中，結合類胰蛋白酶之該第一結合結構域可包括(例如)至少 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個選自以下之超變區(HVR)：(a) HVR-H1，其包含 $X_1X_2GMX_3$ (SEQ ID NO: 1)之胺基酸序列，其中 X_1 係 Asp 或 Ser，X_2 係 Tyr 或 Phe 且 X_3 係 Val 或 His；(b) HVR-H2，

其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 $RX_1X_2X_3DWYFDV$ (SEQ ID NO: 3)之胺基酸序列，其中 X_1 係 Asn 或 Asp，X_2 係 Tyr 或 Asn 且 X_3 係 Asp 或 Tyr；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列，或與 SEQ ID NO: 1-6 中之任一者具有至少約 80%序列一致性(例如，81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性)之以上 HVR 中一或多者之組合及其一或多種變體。在一些情況下，結合至 IL-13 之該第二結合結構域可(例如)包括至少 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個選自以下之 HVR：(a) HVR-H1，其包含 AYSVN (SEQ ID NO: 84)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 MIWGDGKIVYNSALKS (SEQ ID NO: 85)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 DGYYPYAMDN (SEQ ID NO: 86)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 RASKSVDSYGNSFMH (SEQ ID NO: 87)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 LASNLES (SEQ ID NO: 88)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QQNNEDPRT (SEQ ID NO: 89)之胺基酸序列，或與 SEQ ID NO: 84-89 中之任一者具有至少約 80%序列一致性(例如，81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性)之以上 HVR 中一或多者之組合及其一或多種變體。在一些實施例中，該第二結合結構域包含 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個抗 IL-13 抗體萊比克珠單抗之 HVR。

【0263】 舉例而言，在一些情況下，結合類胰蛋白酶之該第一結合結構域包含至少 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個選自以下之超變區(HVR)：(a) HVR-H1，其包含 DYGMV (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含

RNYDDWYFDV (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列，例如 hu31a.v11。在一些情況下，結合 IL-13 之該第二結合結構域可(例如)包含至少 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個選自以下之 HVR：(a) HVR-H1，其包含 AYSVN (SEQ ID NO: 84)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 MIWGDGKIVYNSALKS (SEQ ID NO: 85)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 DGYYPYAMDN (SEQ ID NO: 86)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 RASKSVDSYGNSFMH (SEQ ID NO: 87)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 LASNLES (SEQ ID NO: 88)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QQNNEDPRT (SEQ ID NO: 89)之胺基酸序列。在一些實施例中，該第二結合結構域包含 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個抗 IL-13 抗體萊比克珠單抗之 HVR。在一些實施例中，該第一結合結構域包含 hu31a.v11 之 VH 及/或 VL 之胺基酸序列，且該第二結合結構域包含抗 IL-13 抗體萊比克珠單抗之 VH 及/或 VL 之胺基酸序列。

【0264】 前述雙特異性抗類胰蛋白酶/抗 IL-13 抗體中之任一者可包括結合類胰蛋白酶之第一結合結構域，其包含(a) VH 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 9 具有至少 80%序列一致性(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID NO: 9 之序列；(b) VL 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 10 具有至少 80%序列一致性(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID NO: 10 之序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。前述雙特異性抗類胰蛋白酶/抗 IL-13 抗體中之任一者可包括結合至 IL-13 之第二結合結構域，其包含(a) VH 結構域，其包含

與 SEQ ID NO: 90 或 SEQ ID NO: 114 具有至少 80%序列一致性(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID NO: 90 或 SEQ ID NO: 114 之序列；(b) VL 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 91 或 SEQ ID NO: 115 具有至少 80%序列一致性(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID NO: 91 或 SEQ ID NO: 115 之序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。在一些情況下，該第二結合結構域包含萊比克珠單抗之 VH 及/或 VL 結構域。

【0265】 在另一實例中，在一些情況下，雙特異性抗體包括結合類胰蛋白酶之第一結合結構域及結合 IL-33 之第二結合結構域。結合 IL-33 之該第二結合結構域可包括(例如)美國專利公開案第 2016/0168242 號中所闡述之任一抗 IL-33 抗體，該公開案係以全文引用的方式併入本文中。在一些實施例中，結合類胰蛋白酶之該第一結合結構域可包括(例如)至少 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個選自以下之超變區(HVR)：(a) HVR-H1，其包含 $X_1X_2GMX_3$ (SEQ ID NO: 1)之胺基酸序列，其中 X_1 係 Asp 或 Ser，X_2 係 Tyr 或 Phe 且 X_3 係 Val 或 His；(b) HVR-H2，其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 $RX_1X_2X_3DWYFDV$ (SEQ ID NO: 3)之胺基酸序列，其中 X_1 係 Asn 或 Asp，X_2 係 Tyr 或 Asn 且 X_3 係 Asp 或 Tyr；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列，或與 SEQ ID NO: 1-6 中之任一者具有至少約 80%序列一致性(例如，81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性)之以上 HVR 中一或多者之組合及其一或

多種變體。在一些情況下，結合至 IL-33 之該第二結合結構域可(例如)包括至少 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個選自以下之 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SFSMS (SEQ ID NO: 120)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 TISGGKTFTDYVDSVKG (SEQ ID NO: 121)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 ANYGNWFFEV (SEQ ID NO: 122)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 RASESVAKYGLSLLN (SEQ ID NO: 123)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 AASNRGS (SEQ ID NO: 124)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QQSKEVPFT (SEQ ID NO: 125)之胺基酸序列，或與 SEQ ID NO: 120-125 中之任一者具有至少約 80%序列一致性(例如，81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性)之以上 HVR 中一或多者之組合及其一或多種變體。在一些實施例中，該第二結合結構域包含 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個抗 IL-33 抗體 10C12.38.H6.87Y.58I 之 HVR。

【0266】 舉例而言，在一些情況下，結合類胰蛋白酶之該第一結合結構域包含至少 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個選自以下之超變區(HVR)：(a) HVR-H1，其包含 DYGMV (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 RNYDDWYFDV (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列，例如 hu31a.v11。在一些情況下，結合 IL-33 之該第二結合結構域可(例如)包含至少 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個選自以下之 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SFSMS (SEQ ID NO: 120)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 TISGGKTFTDYVDSVKG (SEQ ID NO: 121)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 ANYGNWFFEV (SEQ ID NO: 122)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含

RASESVAKYGLSLLN (SEQ ID NO: 123)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 AASNRGS (SEQ ID NO: 124)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QQSKEVPFT (SEQ ID NO: 125)之胺基酸序列。在一些實施例中，該第二結合結構域包含 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個或 6 個抗 IL-33 抗體 10C12.38.H6.87Y.58I 之 HVR。在一些實施例中，該第一結合結構域包含 hu31a.v11 之 VH 及/或 VL 之胺基酸序列，且該第二結合結構域包含抗 IL-33 抗體 10C12.38.H6.87Y.58I 之 VH 及/或 VL 之胺基酸序列。

【0267】 前述雙特異性抗類胰蛋白酶/抗 IL-33 抗體中之任一者可包括結合類胰蛋白酶之第一結合結構域，其包含(a) VH 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 9 具有至少 80%序列一致性(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID NO: 9 之序列；(b) VL 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 10 具有至少 80%序列一致性(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID NO: 10 之序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。前述雙特異性抗類胰蛋白酶/抗 IL-33 抗體中之任一者可包括結合至 IL-33 之第二結合結構域，其包含(a) VH 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 126 具有至少 80%序列一致性(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID NO: 126 之序列；(b) VL 結構域，其包含與 SEQ ID NO: 127 具有至少 80%序列一致性(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性)之胺基酸序列或 SEQ ID

NO: 127 之序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。在一些情況下，該第二結合結構域包含 10C12.38.H6.87Y.58I 之 VH 及/或 VL 結構域。

【0268】 製備多特異性抗體之技術包括(但不限於)重組共表現兩個具有不同特異性之免疫球蛋白重鏈-輕鏈對(參見 Milstein 等人，*Nature* 305: 537, 1983；WO 93/08829；及 Traunecker 等人，*EMBO J.* 10: 3655, 1991)，及「隆突-孔洞(knob-in-hole)」改造(參見例如美國專利第 5,731,168 號)。多特異性抗體亦可藉由以下方式來製備：改造用於製備抗體 Fc-異源二聚體分子之靜電牽引效應(WO 2009/089004A1)；使兩個或更多個抗體或片段交聯(參見例如美國專利第 4,676,980 號，及 Brennan 等人，*Science*, 229: 81, 1985)；使用白胺酸拉鏈產生雙特異性抗體(參見例如 Kostelny 等人，*J. Immunol.*, 148(5):1547-1553, 1992)；使用用於製備雙特異性抗體片段之「雙價抗體」技術(參見例如 Hollinger 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448, 1993)；及使用單鏈 Fv (scFv)二聚體(參見例如 Gruber 等人，*J. Immunol.* 152:5368, 1994)；及製備三特異性抗體，如(例如) Tutt 等人，*J. Immunol.* 147: 60, 1991 中所闡述。

【0269】 本文亦包括具有三個或更多個功能抗原結合位點之經改造抗體，包括「章魚抗體(Octopus antibodies)」(參見例如 US 2006/0025576A1)。

【0270】 本文之抗體或片段亦包括「雙重作用之 Fab」或「DAF」，其包含結合至類胰蛋白酶以及另一不同抗原之抗原結合位點(參見例如 US 2008/0069820)。

隆凸-至-孔洞

【0271】 使用隆凸-至-孔洞作為產生多特異性抗體之方法闡述於(例如)美國專利第 5,731,168 號、WO2009/089004、US2009/0182127、US2011/0287009，Marvin 及 Zhu，*Acta Pharmacol. Sin.* (2005) 26(6):649-658 以及 Kontermann (2005) *Acta Pharmacol. Sin.* 26:1-9 中。下文提供簡短之非限制性論述。

【0272】 「突起」係指至少一條胺基酸側鏈，其自第一多肽之界面突出且因此可定位於毗鄰界面(亦即，第二多肽之界面)中之補償空腔中以穩定異多聚體，且藉此(例如)相對於同多聚體形成更有利於異多聚體形成。該突起可存在於原始界面中或可以合成方式引入(例如，藉由改變編碼界面之核酸)。在一些實施例中，改變編碼第一多肽之界面之核酸以編碼突起。為達成此，使編碼第一多肽之界面中之至少一個「原始」胺基酸殘基之核酸用編碼至少一個「輸入」胺基酸殘基之核酸置換，該「輸入」胺基酸殘基之側鏈體積大於原始胺基酸殘基。應瞭解，可存在一個以上之原始及相應輸入殘基。各種胺基殘基之側鏈體積示於(例如) US 2011/0287009 之表 1 或美國專利第 7,642,228 號之表 1 中。

【0273】 在一些實施例中，用於形成突起之輸入殘基係選自以下之天然胺基酸殘基：精胺酸(R)、苯丙胺酸(F)、酪胺酸(Y)及色胺酸(W)。在一些實施例中，輸入殘基係色胺酸或酪胺酸。在一些實施例中，用於形成突起之原始殘基具有較小之側鏈體積，例如丙胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、甘胺酸、絲胺酸、蘇胺酸或纈胺酸。參見例如美國專利第 7,642,228 號。

【0274】 「空腔」係指至少一條自第二多肽之界面凹進且因此在第一多肽之毗鄰界面上容納相應突起之胺基酸側鏈。空腔可存在於原始界面中或可以合成方式引入(例如，藉由改變編碼界面之核酸)。在一些實施例中，改變編碼第二多肽之界面之核酸以編碼空腔。為達成此，使編碼第二多肽之界面中之至少一個「原始」胺基酸殘基之核酸用編碼至少一個「輸入」胺基酸殘基之 DNA 置換，該「輸入」胺基酸殘基之側鏈體積小於原始胺基酸殘基。應瞭解，可存在一個以上原始及相應輸入殘基。在一些實施例中，用於形成空腔之輸入殘基係選自以下之天然胺基酸殘基：丙胺酸(A)、絲胺酸(S)、蘇胺酸(T)及纈胺酸(V)。在一些實施例中，輸入殘基係絲胺酸、丙胺酸或蘇胺酸。在一些實施例中，用於形

成空腔之原始殘基具有較大之側鏈體積，例如酪胺酸、精胺酸、苯丙胺酸或色胺酸。

【0275】 突起「可定位」於空腔中意指分別在第一多肽及第二多肽之界面上之突起及空腔之空間位置，且突起及空腔之大小使得突起可位於空腔中而不顯著干擾界面處第一及第二多肽之正常締合。由於突起(例如 Tyr、Phe 及 Trp)通常不自界面之軸線垂直延伸且具有較佳構形，因此在一些情況下，突起與相應空腔之對準可依賴於基於三維結構(例如藉由 X 射線結晶學或核磁共振(NMR)獲得之三維結構)對突起/空腔對之建模。此可使用業內廣泛接受之技術來達成。

【0276】 在一些實施例中，IgG1 恆定區中之隆凸突變係 T366W。在一些實施例中，IgG1 恆定區中之孔洞突變包含一或多種選自以下之突變：T366S、L368A 及 Y407V。在一些實施例中，IgG1 恆定區中之孔洞突變包含 T366S、L368A 及 Y407V。

【0277】 在一些實施例中，IgG4 恆定區中之隆凸突變係 T366W。在一些實施例中，IgG4 恆定區中之孔洞突變包含一或多種選自以下之突變：T366S、L368A 及 Y407V。在一些實施例中，IgG4 恆定區中之孔洞突變包含 T366S、L368A 及 Y407V。

7. 抗體變體

【0278】 在某些實施例中，涵蓋本文所提供抗體之胺基酸序列變體。舉例而言，可期望改良抗體之結合親和力及/或其他生物學性質(例如抑制活性)。抗體之胺基酸序列變體可藉由將適當修飾引入至編碼抗體之核苷酸序列中或藉由肽合成來製備。此等修飾包括(例如)抗體胺基酸序列內殘基之缺失及/或插入及/或取代。可實施缺失、插入及取代之任一組合以達成最終構築體，條件係最終構築體具有期望特性，例如抗原結合性。

a) 取代、插入及缺失變體

【0279】 在某些實施例中，提供具有一或多個胺基酸取代之抗體變體。用於取代誘變之所關注位點包括 HVR 及 FR。保守取代在表 1 中示於「較佳取代」標題下。更多實質性變化提供於表 1 中之「例示性取代」標題下，且如下文參考胺基酸側鏈類別進一步所闡述。可將胺基酸取代引入至所關注抗體及經篩選具有期望活性之產物中，該期望活性係(例如)保留/改良抗原結合、降低免疫原性或改良 ADCC 或 CDC。

表 1

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

【0280】 可根據常見側鏈性質對胺基酸進行分組：

(1) 疏水性：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

(2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

(3) 酸性：Asp、Glu；

(4) 鹼性：His、Lys、Arg；

(5) 影響鏈定向之殘基：Gly、Pro；

(6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

【0281】 非保守性取代將使得需要將該等類別中一者之成員交換為另一類別。

【0282】 一類取代變體涉及取代親代抗體(例如人類化或人類抗體)之一或多個超變區殘基。一般而言，通常，所得選擇用於進一步研究之一或多種變體相對於親代抗體在某些生物學性質(例如，增強之親和力、降低之免疫原性)中具有修飾(例如，改良)及/或實質上將保留親代抗體之某些生物性質。例示性取代變體係親和力成熟抗體，其可使用(例如)基於噬菌體展示之親和力成熟技術(例如本文所闡述之彼等技術)便捷地產生。簡言之，一或多個 HVR 殘基發生突變且變體抗體展示於噬菌體上且篩選特定生物學活性(例如結合親和力)。

【0283】 可對 HVR 作出變化(例如，取代)以(例如)改良抗體親和力。此等改變可在 HVR「熱點」(亦即，由在體細胞成熟過程期間經歷高頻突變之密碼子編碼之殘基)(參見例如 Chowdhury，*Methods Mol. Biol.* 207:179-196, 2008)及/或接觸抗原之殘基中進行，其中測試所得變體 VH 或 VL 之結合親和力。藉由自二級庫構築及重新選擇來達成親和力成熟已闡述於(例如) Hoogenboom 等人，*Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien 等人編輯，Human Press, Totowa, NJ, 2001)中。在親和力成熟之一些實施例中，藉由多種方法(例如，易錯 PCR、鏈改組或寡核苷酸引導之誘變)中之任一者將多樣性引入至選擇用於成熟之可變基因中。接著創建二級庫。接著篩選庫以鑑別任何具有期望親和力之抗體變體。引入多樣性之另一方法涉及 HVR 引導方法，其中將若干 HVR 殘基(例如，一次 4-6 個殘基)隨機化。可特定鑑別(例如，使用丙胺酸掃描誘變或建模)參與抗原結合之 HVR 殘基。特定而言，常常靶向 HVR-H3 及 HVR-L3。

【0284】 在某些實施例中，取代、插入或缺失可發生在一或多個 HVR 內，只要此等改變不會實質上降低抗體結合抗原之能力即可。舉例而言，可對 HVR 作出不實質上降低結合親和力之保守改變(例如，如本文所提供之保守取代)。此等改變可(例如)在 HVR 中之抗原接觸殘基之外。在上文所提供變體 VH 及 VL 序列之某些實施例中，每一 HVR 未改變，或含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代。

【0285】 用於鑑別抗體上可靶向進行誘變之殘基或區域之有用方法稱為「丙胺酸掃描誘變」，如 Cunningham 等人，*Science* 244:1081-1085, 1989 中所闡述。在此方法中，已鑑別殘基或靶標殘基組(例如，帶電殘基，例如 Arg、Asp、His、Lys 及 Glu)，並由中性或帶負電胺基酸(例如，Ala 或多丙胺酸)置換以確定是否影響抗體與抗原之相互作用。可在對初始取代展示功能敏感性之胺基酸位置處引入其他取代。或者或另外，以抗原-抗體複合物之晶體結構來鑑別抗體與抗原之間的接觸點。可靶向此等接觸殘基及相鄰殘基作為取代候選物或將其排除。可篩選變體以確定其是否含有期望性質。

【0286】 胺基酸序列插入包括胺基末端及/或羧基末端融合物(長度在一個殘基至含有上百或更多殘基之多肽範圍內)，以及單個或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有 N 末端甲硫胺醯基殘基之抗體。其抗體分子之其他插入變體包括抗體與延長該抗體之血清半衰期之酶(例如用於 ADEPT)或多肽之 N 末端或 C 末端融合物。

b) 醣基化變體

【0287】 在某些實施例中，改變本文所提供之抗體以增加或降低抗體發生醣基化之程度。可藉由改變胺基酸序列使得產生或移除一或多個醣基化位點來便捷地完成抗體中醣基化位點之增加或缺失。

【0288】 倘若抗體包含 Fc 區，則其所附接之碳水化合物可有所改變。由哺乳動物細胞產生之天然抗體通常包含通常藉由 N-鍵聯附接至 Fc 區之 CH2 結構域的 Asn297 之支鏈、二分枝寡醣。參見例如 Wright 等人，*TIBTECH* 15:26-32, 1997。該寡醣可包括各種碳水化合物，例如甘露糖、N-乙醯基葡糖胺(GlcNAc)、半乳糖及唾液酸，以及附接至二分枝寡醣結構之「主幹」中之 GlcNAc 的海藻醣。在一些實施例中，可修飾本發明抗體中之寡醣以產生具有某些改良性質之抗體變體。

【0289】 在一個實施例中，提供具有缺少附接(直接或間接)至 Fc 區之海藻醣之碳水化合物結構的抗體變體。舉例而言，此抗體中海藻醣之量可為 1%至 80%、1%至 65%、5%至 65%或 20%至 40%。海藻醣之量係藉由計算糖鏈內 Asn297 處之海藻醣相對於附接至 Asn 297 之所有糖結構(例如複合、雜合及高甘露糖結構)之總和的平均量來測定，如藉由 MALDI-TOF 質譜法所量測，如(例如) WO 2008/077546 中所闡述。Asn297 係指位於 Fc 區中約位置 297 處之天冬醯胺殘基(Fc 區殘基之 Eu 編號)；然而，因抗體中具有微小序列變化，故 Asn297 亦可位於位置 297 之上游或下游之約± 3 個胺基酸處，亦即，介於位置 294 與 300 之間。此等海藻醣基化變體可具有改良之 ADCC 功能。參見例如美國專利公開案第 2003/0157108 號及第 2004/0093621 號。與「去海藻醣基化」或「海藻醣缺乏」抗體變體有關之公開案之實例包括：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；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。能夠產生去海藻醣基化抗體之細胞系之實例包括缺乏蛋白質海藻醣基化之 Lec13 CHO 細胞(Ripka 等人，

Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545, 1986；US 2003/0157108；及 WO 2004/056312 A1，尤其在實例 11)，及基因剔除細胞系，例如 α-1,6-海藻醣基轉移酶基因 *FUT8* 基因剔除 CHO 細胞(參見例如 Yamane-Ohnuki 等人，*Biotech. Bioeng.* 87: 614, 2004；Kanda 等人，*Biotechnol. Bioeng.* 94(4):680-688, 2006；及 WO 2003/085107)。

【0290】 進一步提供二等分寡醣之抗體變體，例如，其中附接至抗體 Fc 區之二分枝寡醣由 GlcNAc 二等分。此等抗體變體可具有降低之海藻醣基化及/或改良之 ADCC 功能。此等抗體變體之實例闡述於(例如) WO 2003/011878；美國專利第 6,602,684 號；及 US 2005/0123546 中。亦提供在附接至 Fc 區之寡醣中具有至少一個半乳糖殘基之抗體變體。此等抗體變體可具有改良之 CDC 功能。此等抗體變體闡述於(例如) WO 1997/30087；WO 1998/58964；及 WO 1999/22764 中。

c) Fc 區變體

【0291】 在某些實施例中，可將一或多個胺基酸修飾引入至本文所提供抗體之 Fc 區中，藉此產生 Fc 區變體。該 Fc 區變體可包含人類 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含胺基酸修飾(例如，取代)。

【0292】 在某些實施例中，本發明涵蓋具有一些(但非全部)效應物功能之抗體變體，此情況使其成為多個應用之合意的候選物，在該等應用中抗體之活體內半衰期較為重要，但某些效應物功能(例如補體及 ADCC)係不必要或有害的。可進行活體外及/或活體內細胞毒性分析來確認 CDC 及/或 ADCC 活性之降低/缺失。舉例而言，可進行 Fc 受體(FcR)結合分析以確保抗體缺少 FcγR 結合能力(因此可能缺少 ADCC 活性)，但保留 FcRn 結合能力。介導 ADCC 之主要細胞亦即 NK 細胞僅表現 Fc γRIII，而單核球表現 Fc γRI、Fc γRII 及 Fc γRIII。造血細胞上之 FcR 表現彙總於 Ravetch 等人，*Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492, 1991 之第 464 頁上之表 3 中。評價所關注分子之 ADCC 活性之活體外分析之非限制性實例闡

述於美國專利第 5,500,362 號中(參見例如 Hellstrom 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:7059-7063, 1986 及 Hellstrom 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:1499-1502, 1985；美國專利第 5,821,337 號(參見 Bruggemann 等人，*J. Exp. Med.* 166:1351-1361, 1987)。或者，可採用非放射性分析方法(參見例如用於流式細胞術之 ACTI™非放射性細胞毒性分析(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA)；及 CytoTox 96®非放射性細胞毒性分析(Promega, Madison, WI)。用於此等分析之可用效應物細胞包括末梢血單核細胞(PBMC)及天然殺手(NK)細胞。或者或另外，可在(例如)活體內評價所關注分子之 ADCC 活性，例如在 Clynes 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:652-656, 1998 中所揭示之動物模型中。亦可實施 C1q 結合分析以確認抗體不能結合 C1q 且因此缺少 CDC 活性。參見例如 WO 2006/029879 及 WO 2005/100402 中之 C1q 及 C3c 結合 ELISA。為評價補體活化，可實施 CDC 分析(參見例如 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)。亦可使用業內已知之方法來實施 FcRn 結合及活體內清除/半衰期測定(參見例如 Petkova 等人，*Intl. Immunol.* 18(12):1759-1769, 2006)。

【0293】 效應物功能降低之抗體包括具有 Fc 區殘基 238、265、269、270、297、327 及 329 中之一或多者之取代的彼等抗體(美國專利第 6,737,056 號)。此等 Fc 突變體包括在胺基酸位置 265、269、270、297 及 327 之兩者或更多者處具有取代之 Fc 突變體，包括殘基 265 及 297 取代為丙胺酸之所謂的「DANA」Fc 突變(美國專利第 7,332,581 號)。

【0294】 闡述具有改良或減小之與 FcR 結合之某些抗體變體。(參見例如美國專利第 6,737,056 號；WO 2004/056312；及 Shields 等人，*J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604, 2001)。

【0295】 在某些實施例中，抗體變體包含具有一或多個胺基酸取代(其改良ADCC)之 Fc 區，例如，在 Fc 區之位置 298、333 及/或 334 (殘基之 EU 編號)處之取代。

【0296】 在一些實施例中，在 Fc 區中作出改變，從而改變(亦即，改良或減小) C1q 結合及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)，例如如美國專利第 6,194,551 號、WO 99/51642 及 Idusogie 等人，*J. Immunol.* 164: 4178-4184, 2000 中所闡述。

【0297】 具有延長之半衰期及改良之與新生兒 Fc 受體(FcRn，其負責將母體 IgG 轉移至胎兒中，Guyer 等人，*J. Immunol.* 117:587, 1976 及 Kim 等人，*J. Immunol.* 24:249, 1994)結合之抗體闡述於 US2005/0014934 中。彼等抗體包含具有一或多個改良 Fc 區與 FcRn 之結合之取代的 Fc 區。此等 Fc 變體包括在以下 Fc 區殘基中之一或多者處具有取代之彼等變體：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424 或 434，例如，取代 Fc 區殘基 434 (美國專利第 7,371,826 號)。

【0298】 亦參見 Duncan 等人，*Nature* 322:738-40, 1988；美國專利第 5,648,260 號及第 5,624,821 號；及涉及 Fc 區變體之其他實例之 WO 94/29351。

d) 半胱胺酸改造之抗體變體

【0299】 在某些實施例中，可期望產生半胱胺酸改造之抗體，例如「硫 MAb」，其中抗體之一或多個殘基經半胱胺酸殘基取代。在特定實施例中，經取代殘基出現於抗體之可及位點處。藉由用半胱胺酸取代彼等殘基，藉此將反應性硫醇基團定位於抗體之可及位點處且其可用於將抗體與其他部分(例如藥物部分或連接體-藥物部分)偶聯，從而產生免疫偶聯物，如本文進一步所闡述。在某些實施例中，以下殘基中之任一或多者可經半胱胺酸取代：輕鏈之 V205 (Kabat 編號)；重鏈之 A118 (EU 編號)；及重鏈 Fc 區之 S400 (EU 編號)半胱胺酸改造之抗體可如(例如)美國專利第 7,521,541 號中所闡述來產生。

e) 抗體衍生物

【0300】 在某些實施例中，本文所提供之抗體可進一步經修飾以含有業內已知且容易獲得之其他非蛋白質性部分。適於衍生化該抗體之部分包括(但不限於)水溶性聚合物。水溶性聚合物之非限制性實例包括(但不限於)聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇之共聚物、羧甲基纖維素、聚葡萄糖、聚乙烯醇、聚乙烯基吡咯啶酮、聚-1,3-二氧雜環戊烷、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/馬來酸酐共聚物、聚胺基酸(均聚物或隨機共聚物)及聚葡萄糖或聚(n-乙烯基吡咯啶酮)聚乙二醇、聚丙二醇均聚物、聚環氧丙烷/環氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化之多元醇(例如，甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛可因其在水中具有穩定性而在製造方面具有優勢。聚合物可具有任何分子量，且可為具支鏈或非具支鏈。附接至抗體之聚合物之數量可有所變化，且若附接一個以上之聚合物，則其可為相同或不同分子。一般而言，用於衍生化之聚合物之數量及/或類型可基於包括(但不限於)以下之考慮因素來確定：欲改良之抗體之特定性質或功能、抗體衍生物是否將用於界定條件下之療法及諸如此類。

【0301】 在另一實施例中，提供抗體與非蛋白質性部分之偶聯物，其可藉由暴露於輻射來選擇性加熱。在一個實施例中，非蛋白質性部分係碳奈米管(Kam等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605, 2005)。輻射可具有任何波長，且包括(但不限於)如下波長之輻射：其並不危害正常細胞，但將非蛋白質性部分加熱至可將毗鄰抗體-非蛋白質性部分之細胞殺死之溫度。

B. 重組方法及組合物

【0302】 可使用重組方法及組合物來產生抗體，例如如美國專利第 4,816,567 號中所闡述。在一個實施例中，提供編碼本文所闡述之抗類胰蛋白酶抗體之經分離核酸。此核酸可編碼包含抗體之 VL 之胺基酸序列及/或包含抗體之 VH 之胺基酸序列(例如，抗體之輕鏈及/或重鏈)。在另一實施例中，提供一或多種包

含此核酸之載體(例如，表現載體)。在另一實施例中，提供包含此核酸之宿主細胞。在一個此實施例中，宿主細胞包含(例如，已經以下轉化)：(1) 載體，其包含編碼含有抗體之 VL 之胺基酸序列及含有抗體之 VH 之胺基酸序列的核酸，或 (2) 第一載體，其包含編碼含有抗體之 VL 之胺基酸序列的核酸及第二載體，其包含編碼含有抗體之 VH 之胺基酸序列的核酸。在一個實施例中，宿主細胞係真核細胞，例如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、293 細胞或淋巴樣細胞(例如，Y0、NS0、Sp20 細胞)。在一個實施例中，提供製備抗類胰蛋白酶抗體之方法，其中該方法包括在適於表現該抗體之條件下培養如上文所提供包含編碼該抗體之核酸之宿主細胞，及視情況自該宿主細胞(或宿主細胞培養基)回收該抗體。

【0303】 為重組產生抗類胰蛋白酶抗體，分離編碼抗體(例如，如上文所闡述)之核酸並插入至一或多個載體中以進一步在宿主細胞中選殖及/或表現。此核酸可使用習用程序容易地分離出來且定序(例如，藉由使用能夠與編碼抗體之重鏈及輕鏈之基因特異性結合的寡核苷酸探針來實施)。

【0304】 用於選殖或表現編碼抗體之載體之適宜宿主細胞包括本文所闡述之原核或真核細胞。舉例而言，抗體可在細菌中產生，尤其在無需醣基化及 Fc 效應物功能時。關於在細菌中表現抗體片段及多肽，參見例如美國專利第 5,648,237 號、第 5,789,199 號及第 5,840,523 號。亦參見 Charlton，*Methods in Molecular Biology, 第 248 卷* (B.K.C. Lo 編輯, Humana Press, Totowa, NJ, 2003), 第 245-254 頁，其闡述在大腸桿菌中表現抗體片段。在表現後，可自於可溶部分中之細菌細胞糊狀物分離抗體且可進一步純化。

【0305】 除原核生物以外，真核微生物(例如絲狀真菌或酵母)亦適於用於編碼抗體之載體之選殖或表現宿主，包括醣基化路徑已「人類化」從而產生部分或完全人類醣基化模式之抗體的真菌及酵母菌株。參見 Gerngross，*Nat. Biotech.* 22:1409-1414, 2004 及 Li 等人，*Nat. Biotech.* 24:210-215, 2006。

【0306】 用於表現醣基化抗體之適宜宿主細胞亦源自多細胞生物體(無脊椎動物及脊椎動物)。無脊椎動物細胞之實例包括植物及昆蟲細胞。已鑑別出許多可與昆蟲細胞聯合使用之桿狀病毒株，尤其用於轉染草地貪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)細胞。

【0307】 亦可利用植物細胞培養物作為宿主。參見例如美國專利第 5,959,177 號、第 6,040,498 號、第 6,420,548 號、第 7,125,978 號及第 6,417,429 號(闡述用於在轉基因植物中產生抗體之 PLANTIBODIES™技術)。

【0308】 亦可使用脊椎動物細胞作為宿主。舉例而言，可使用適於生長於懸浮液中之哺乳動物細胞系。可用哺乳動物宿主細胞系之其他實例係由 SV40 轉化之猴腎 CV1 系(COS-7)；人類胚腎系(293 或 293 細胞，如(例如) Graham 等人，*J. Gen Virol.* 36:59 ,1977 中所闡述)；幼倉鼠腎細胞(BHK)；小鼠支持細胞(TM4 細胞，如(例如) Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251, 1980 中所闡述)；猴腎細胞(CV1)；非洲綠猴腎細胞(VERO-76)；人類宮頸癌細胞(HELA)；犬腎細胞(MDCK)；布法羅大鼠(buffalo rat)肝細胞(BRL 3A)；人類肺細胞(W138)；人類肝細胞(Hep G2)；小鼠乳房腫瘤(MMT 060562)；TRI 細胞，如(例如) Mather 等人，*Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68, 1982 中所闡述；MRC 5 細胞；及 FS4 細胞。其他可用哺乳動物宿主細胞系包括中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，其包括 DHFR⁻ CHO 細胞(Urlaub 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216, 1980)；及骨髓瘤細胞系，例如 Y0、NS0 及 Sp2/0。關於適於抗體產生之某些哺乳動物宿主細胞系之綜述，參見例如 Yazaki 等人，*Methods in Molecular Biology, 第 248 卷*(B.K.C. Lo 編輯, Humana Press, Totowa, NJ), 第 255-268 頁, 2003。

C. 分析

【0309】 可藉由業內已知之各種分析來鑑別本文所提供之抗類胰蛋白酶抗體、篩選、或表徵其物理/化學性質及/或生物學活性。

1. 結合分析及其他分析

【0310】 在一態樣中，例如藉由已知方法(例如 ELISA、西方墨點(Western blot)、表面電漿共振(SPR)及諸如此類)來測試本發明之抗類胰蛋白酶抗體之其抗原結合活性。

【0311】 在另一態樣中，可使用競爭分析來鑑別與本發明之抗類胰蛋白酶抗體競爭與類胰蛋白酶結合之抗體。在某些實施例中，此一競爭抗體結合至由本發明之抗類胰蛋白酶抗體結合之相同表位(例如，線性或構形表位)。在某些實施例中，此一競爭抗體結合至由本發明之抗類胰蛋白酶抗體結合之重疊表位(例如，線性或構形表位)。用於定位抗體結合之表位之詳細例示性方法提供於Morris，「Epitope Mapping Protocols」, *Methods in Molecular Biology* 第 66 卷(Humana Press, Totowa, NJ), 1996 中。

【0312】 在例示性競爭分析中，在溶液中培育固定化類胰蛋白酶，該溶液包含結合至類胰蛋白酶之第一經標記抗體及正在測試與第一抗體競爭結合類胰蛋白酶之能力之第二未標記抗體。該第二抗體可存在於雜交瘤上清液中。作為對照，在包含第一經標記抗體但不包含第二未標記抗體之溶液中培育固定化類胰蛋白酶。在容許第一抗體與類胰蛋白酶結合之條件下培育後，去除過量未結合抗體，且量測與固定化類胰蛋白酶締合之標記之量。若與固定化類胰蛋白酶締合之標記之量在測試樣品中相對於對照氧實質上有所減少，則此指示第二抗體與第一抗體競爭與類胰蛋白酶之結合。參見Harlow等人，*Antibodies: A Laboratory Manual* 第 14 章(Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY), 1988。

【0313】 在另一實施例中，藉由表位鑑定來測定兩種抗體與相同表位結合之競爭。舉例而言，將經標記抗原固定化在固體表面上，且與飽和量之第一抗體反應。接著添加第二競爭抗體。如藉由(例如) OCTET® (ForteBio)或其他生物層干涉(BLI)技術檢測之第二抗體之任何額外結合指示兩種抗體結合至不同之非重

疊表位。無額外結合指示兩種抗體結合至相同或重疊表位。亦可採用若干種其他方法(包括 ELISA、粒徑篩析層析、結晶學、HDX-MS、誘變及其他 SPR 方法)展示兩種抗體結合至相同或重疊表位。可使用類似技術來確定抗體是否交叉阻斷本發明之抗體或由本發明之抗體阻斷。

2. 活性分析

【0314】 在一態樣中，提供用於鑑別具有生物學活性之其抗類胰蛋白酶抗體之分析。生物學活性可包括(例如)在活體內、活體外或離體結合至類胰蛋白酶(例如，血流中或氣道中之類胰蛋白酶)或其肽片段。在其他實施例中，生物學活性可包括阻斷或中和類胰蛋白酶。舉例而言，在一些實施例中，生物學活性可包括阻斷或中和類胰蛋白酶蛋白水解活性。亦提供在活體內及/或活體外具有此生物學活性之抗體。在某些實施例中，測試本發明之抗體之此生物學活性。

【0315】 舉例而言，在一些實施例中，在類胰蛋白酶酶分析中(例如)使用肽受質(例如，合成肽 S-2288)，例如如實例(例如，實例 1，具體而言部分(A)(viii)(a))中所闡述或使用業內已知之方法(參見例如 Fukuoka 等人，*J. Immunol.* 176:3165-3172, 2006)測試本發明之抗體對類胰蛋白酶活性之抑制。在一些實施例中，在類胰蛋白酶酶分析中類胰蛋白酶活性之抑制係在中性 pH 或大約中性 pH (例如，大約 pH 7，例如約 pH 7、約 pH 7.4 或約 pH 8)下進行。在其他實施例中，在類胰蛋白酶酶分析中類胰蛋白酶活性之抑制係在酸性 pH (例如，約 pH 6.0，例如約 pH 4.0、約 pH 5.0、約 pH 6.0 或約 pH 6.5)下進行。

【0316】 在其他實施例中，測試本發明之抗體破壞具有四聚體結構之類胰蛋白酶(例如存在於肥大細胞分泌顆粒中或自肥大細胞分泌顆粒釋放之成熟類胰蛋白酶)以形成單體之能力，其可使用業內已知之任何適宜方法來測定，包括凝膠過濾層析(例如，SUPEROSE® 12 凝膠過濾層析)。參見例如 Fukuoka 等人，*J. Immunol.* 176:3165-3172, 2006。

【0317】 在其他實施例中，測試本發明之抗體抑制類胰蛋白酶刺激之增殖及/或人類原代氣道平滑肌細胞之收縮之能力，如(例如)實例 1 中所闡述。

【0318】 在其他實施例中，測試本發明之抗體抑制(例如)由類胰蛋白酶及/或 IgE 刺激之肥大細胞脫粒及/或組胺釋放之能力。此等分析闡述於(例如)實例 1 中。

【0319】 在一些實施例中，在(例如)活性類胰蛋白酶分析中(參見例如圖 15 及實例 6)在將本發明之抗體投與個體(例如，藉由靜脈內或皮下注射)之後在(例如)自該個體獲得之樣品(例如，支氣管肺泡灌洗流體)中測試該抗體抑制活性類胰蛋白酶之能力。

【0320】 在其他實施例中，在(例如)總類胰蛋白酶分析(參見例如圖 15 及實例 6)中在將本發明之抗體投與個體(例如，藉由靜脈內或皮下注射)之後在(例如)自該個體獲得之樣品(例如，支氣管肺泡灌洗流體)中測試該抗體調節(例如，增加或減少)總類胰蛋白酶含量之能力。

D. 免疫偶聯物

【0321】 本發明亦提供免疫偶聯物，其包含偶聯至一或多種細胞毒性劑(例如化學治療劑或藥物、生長抑制劑、毒素(例如，蛋白質毒素、細菌、真菌、植物或動物來源之酶活性毒素或其片段))或放射性同位素之本文之抗類胰蛋白酶抗體。

【0322】 在一個實施例中，免疫偶聯物係抗體-藥物偶聯物(ADC)，其中抗體偶聯至一或多種藥物，該(等)藥物包括(但不限於)類美登素(maytansinoid) (參見美國專利第 5,208,020 號、第 5,416,064 號及歐洲專利 EP 0 425 235 B1)；奧里斯他汀(auristatin)，例如單甲基奧里斯他汀藥物部分 DE 及 DF (MMAE 及 MMAF) (參見美國專利第 5,635,483 號及第 5,780,588 號及第 7,498,298 號)；多拉司他汀(dolastatin)；卡奇黴素(calicheamicin)或其衍生物(參見美國專利第 5,712,374 號、第 5,714,586 號、第 5,739,116 號、第 5,767,285 號、第 5,770,701 號、第 5,770,710

號、第 5,773,001 號及第 5,877,296 號；Hinman 等人，*Cancer Res.* 53:3336-3342, 1993；及 Lode 等人 *Cancer Res.* 58:2925-2928, 1998)；蒽環，例如道諾黴素(daunomycin)或多柔比星(doxorubicin)(參見 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；及美國專利第 6,630,579 號)；胺甲喋呤(methotrexate)；長春地辛(vindesine)；紫杉烷，例如多西他賽(docetaxel)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、拉洛他賽(larotaxel)、替司他賽(tesetaxel)及奧他賽(ortataxel)；單端孢黴烯(trichothecene)；及 CC1065。

【0323】 在另一實施例中，免疫偶聯物包含偶聯至酶活性毒素或其片段之如本文所闡述之抗體，該酶活性毒素或其片段包括(但不限於)白喉 A 鏈、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素 A 鏈(來自綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒素 A 鏈、相思豆毒蛋白 A 鏈、蒴蓮根毒素 A 鏈、α-八疊球菌、油桐(*Aleurites fordii*)蛋白、石竹素蛋白、美洲商陸(*Phytolaca americana*)蛋白(PAPI、PAPII 及 PAP-S)、苦瓜(momordica charantia)抑制劑、麻瘋樹毒蛋白(curcin)、巴豆毒素、皂草(sapaonaria officinalis)抑制劑、白樹毒素、絲裂吉菌素(mitogellin)、侷限麴菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、依諾黴素(enomycin)及單端孢黴烯。

【0324】 在另一實施例中，免疫偶聯物包含偶聯至放射性原子以形成放射性偶聯物之如本文所闡述之抗體。多種放射性同位素可用於產生放射性偶聯物。實例包括 At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}及 Lu 之放射性同位素。在使用放射性偶聯物進行檢測時，其可包含用於閃爍法研究之放射性原子，例如鍀-99m (tc99m)或 I^{123}；或用於核磁共振(NMR)成像(亦稱為磁

共振成像，mri)之自旋標記，例如碘-123 (同上)、碘-131、銦-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、釓、錳或鐵。

【0325】 抗體與細胞毒性劑之偶聯物可使用多種雙功能蛋白質偶合劑來製得，例如 3-(2-吡啶基二硫基)丙酸 N-琥珀醯亞胺酯(SPDP)、4-(N-馬來醯亞胺甲基)環己烷-1-甲酸琥珀醯亞胺酯(SMCC)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、亞胺酸酯之雙功能衍生物(例如己二醯亞胺二甲酯 HCl)、活性酯(例如辛二酸二琥珀醯亞胺酯)、醛(例如戊二醛)、雙-疊氮基化合物(例如雙(對疊氮基苯甲醯基)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)。舉例而言，可製備蓖麻毒素免疫毒素，如 Vitetta 等人，*Science* 238:1098, 1987 中所闡述。經碳-14-標記之 1-異氰硫基苄基-3-甲基二乙烯三胺五乙酸(MX-DTPA)係用於使放射性核苷酸與抗體偶聯之例示性螯合劑。參見 WO 94/11026。連接體可係有助於細胞中細胞毒性藥物釋放之「可裂解連接體」。舉例而言，可使用酸不穩定連接體、肽酶敏感性連接體、光不穩定連接體、二甲基連接體或含二硫鍵之連接體(參見例如 Chari 等人，*Cancer Res.* 52:127-131, 1992；美國專利第 5,208,020 號)。

【0326】 本文之免疫偶聯物或 ADC 明確地涵蓋(但不限於)此等使用以下交聯劑試劑製備之偶聯物：BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺基-EMCS、磺基-GMBS、磺基-KMUS、磺基-MBS、磺基-SIAB、磺基-SMCC 及磺基-SMPB 以及 SVSB ((4-乙烯基碸)苯甲酸琥珀醯亞胺酯)，以上試劑可商業購得(例如，購自 Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A)。

E. 用於診斷及檢測之方法及組合物

【0327】 在某些實施例中，本文所提供之抗類胰蛋白酶抗體中之任一者可用於在生物樣品中檢測類胰蛋白酶之存在。如本文所用之術語「檢測」涵蓋定量

或定性檢測。在某些實施例中，生物學樣品包含細胞或組織，包括(但不限於)肥大細胞、嗜鹼性球、上皮細胞或肺組織(例如，支氣管平滑肌)。在某些實施例中，生物學樣品包含血液(例如，全血、血清或血漿)、痰液、支氣管肺泡灌洗或鼻吸收樣品。

【0328】 在一個實施例中，提供用於診斷或檢測方法中之抗類胰蛋白酶抗體。在另一態樣中，提供檢測生物學樣品中類胰蛋白酶之存在之方法。在某些實施例中，該方法包括在容許抗類胰蛋白酶抗體結合至類胰蛋白酶之條件下使生物學樣品與如本文所闡述之抗類胰蛋白酶抗體接觸，且檢測在抗類胰蛋白酶抗體與類胰蛋白酶之間是否形成複合物。此方法可係活體外或活體內方法。在一個實施例中，使用抗類胰蛋白酶抗體來選擇適用於使用抗類胰蛋白酶抗體之療法之個體，例如，在類胰蛋白酶係用於選擇患者之生物標記物之情形下。

【0329】 可使用本發明之抗體診斷之例示性病症包括肺部病症(例如，氣喘(例如，高 Th2 氣喘或低 Th2 氣喘)、氣道高反應性或 COPD)、自體免疫病症(例如，類風濕性關節炎、牛皮癬、嗜酸性球性食管炎、IBD 及克羅恩氏病)、發炎性病症(例如，慢性特發性蕁麻疹(CIU 或 CSU)、特應性皮炎或過敏性鼻炎)、纖維變性病症(例如，IPF)、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症、淋巴球性病症、與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症及類胰蛋白酶相關病症或類胰蛋白酶介導之病症。

【0330】 舉例而言，在一些情況下，本發明之抗體可用於診斷或檢測過敏反應(例如，急性全身性過敏反應)或肥大細胞增生症(例如，非急性全身性肥大細胞增生症)，例如如 Schwartz 等人，*Immunol. Allergy Clin. N. Am.* 26:451-463, 2006)中所闡述。本發明之抗體可用於(例如) ELISA 中以檢測總類胰蛋白酶、前體類

胰蛋白酶及/或成熟類胰蛋白酶之含量。在一些實施例中，本發明之抗體可用作 ELISA 中之捕獲抗體。在其他實施例中，本發明之抗體可用作 ELISA 中之檢測抗體。在特定實施例中，血清或血漿中總類胰蛋白酶正常參考含量之可係約 1-15 ng/mL (例如，約 1 ng/mL、約 2 ng/mL、約 3 ng/mL、約 4 ng/mL、約 5 ng/mL、約 6 ng/mL、約 7 ng/mL、約 8 ng/mL、約 9 ng/mL、約 10 ng/mL、約 11 ng/mL、約 12 ng/mL、約 13 ng/mL、約 14 ng/mL 或約 15 ng/mL)。在一些情況下，相對於總類胰蛋白酶之正常參考含量之增加係用作類胰蛋白酶相關病症之診斷指標。在一些實施例中，血清或血漿中成熟類胰蛋白酶之正常參考含量可係<1 ng/mL。在一些實施例中，相對於成熟類胰蛋白酶之正常參考含量之增加可用作類胰蛋白酶相關病症之診斷指標。

【0331】　在某些實施例中，提供經標記之抗類胰蛋白酶抗體。標記包括(但不限於)直接檢測之標記或部分(例如螢光標記、發色標記、電子緻密標記、化學發光標記及放射性標記)，以及經由(例如)酶反應或分子相互作用間接檢測之部分(例如酶或配體)。例示性標記包括(但不限於)放射性同位素 ^{32}P、^{14}C、^{125}I、^{3}H 及 ^{131}I、螢光團(例如稀土螯合物或螢光黃及其衍生物)、若丹明(rhodamine)及其衍生物、丹醯、傘形酮、螢光素酶(例如，螢火蟲螢光素酶及細菌螢光素酶)(美國專利第 4,737,456 號)、螢光素、2,3-二氫酞嗪二酮、辣根過氧化物酶(HRP)、鹼性磷酸酶、β-半乳糖苷酶、葡萄糖澱粉酶、溶菌酶、糖氧化酶(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(例如尿酸酶及黃嘌呤氧化酶，其與諸如 HRP、乳過氧化物酶或微過氧化物酶等採用過氧化氫來氧化染料前體之酶偶聯)、生物素/抗生物素蛋白、自旋標記、噬菌體標記、穩定自由基及諸如此類。

F.　醫藥調配物

【0332】 本發明之抗類胰蛋白酶抗體之醫藥調配物係藉由將具有期望純度之此抗體與一或多種視情況醫藥學上可接受之載劑(參見例如 *Remington's Pharmaceutical Sciences* 第 16 版, Osol, A.編輯, 1980)混合來製備，其呈凍乾調配物或水溶液形式。醫藥學上可接受之載劑通常在所用劑量及濃度下對接受者無毒，且包括(但不限於)緩衝液，例如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(例如十八烷基二甲基苄基氯化銨；氯化六甲雙銨；苯紮氯銨、苄索氯銨；苯酚、丁醇或苯甲醇；對羥基苯甲酸烷基酯，例如對羥基苯甲酸甲基酯或對羥基苯甲酸丙基酯；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，例如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水聚合物，例如聚乙烯基吡咯啶酮；胺基酸，例如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、二醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，例如 EDTA；糖，例如蔗糖、甘露醇、海藻醣或山梨醇；成鹽反離子，例如鈉；金屬錯合物(例如 Zn-蛋白錯合物)；及/或非離子表面活性劑，例如聚乙二醇(PEG)。本文之例示性醫藥學上可接受之載劑進一步包含間質性藥物分散劑，例如可溶性中性活性透明質酸酶醣蛋白(sHASEGP)，例如，人類可溶性 PH-20 透明質酸酶醣蛋白，例如 rHuPH20 (HYLENEX®，Baxter International, Inc.)。某些例示性 sHASEGP 及使用方法(包括 rHuPH20)闡述於美國專利公開案第 2005/0260186 號及第 2006/0104968 號中。在一態樣中，將 sHASEGP 與一或多種額外醣胺多醣酶(例如軟骨素酶)進行組合。

【0333】 例示性凍乾抗體調配物闡述於美國專利第 6,267,958 號中。水性抗體調配物包括美國專利第 6,171,586 號及 WO 2006/044908 中所闡述之彼等調配物，後一些調配物包括組胺酸-乙酸鹽緩衝液。

【0334】 本文之調配物亦可視需要含有一種以上用於所治療特定適應症之活性成分，較佳為互補活性不會對彼此產生不利影響之彼等成分。舉例而言，可

期望進一步提供介白素-13 (IL-13)結合拮抗劑、介白素-17 (IL-17)軸結合拮抗劑、介白素-5 (IL-5)軸結合拮抗劑、IL-33 軸結合拮抗劑、M1 prime 拮抗劑、IgE 拮抗劑、TRPA1 拮抗劑、CRTH2 拮抗劑、支氣管擴張劑或氣喘症狀控制藥劑、免疫調節劑、皮質類固醇、Th2 路徑抑制劑、酪胺酸激酶抑制劑或磷酸二酯酶抑制劑。在一些實施例中，IL-13 軸結合拮抗劑係抗 IL-13 抗體，例如萊比克珠單抗。在一些實施例中，IL-5 軸結合拮抗劑係 IL-5 結合拮抗劑或 IL-5 受體結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 軸結合拮抗劑係 IL-33 結合拮抗劑或 ST2 結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 結合拮抗劑係抗 IL-33 抗體。在一些情況下，M1 prime 拮抗劑係奎立珠單抗。在一些情況下，IgE 拮抗劑係奧馬珠單抗(XOLAIR®)。此等活性成分適宜以對欲達成目的有效之量以組合形式存在。

【0335】 活性成分亦可分別裝入藉由(例如)凝聚技術或介面聚合製備之微膠囊(例如，羥甲基纖維素或明膠微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊)中、膠質藥物遞送系統(例如，脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米顆粒及奈米膠囊)或粗滴乳液中。此等技術揭示於 *Remington's Pharmaceutical Sciences* 第 16 版, Osol, A. 編輯, 1980 中。

【0336】 可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之適宜實例包括含有抗體之固體疏水聚合物之半透性基質，該等基質呈成形物件之形式，例如膜或微膠囊。

【0337】 用於活體內投與之調配物通常係無菌的。無菌性可藉由(例如)經由無菌濾膜過濾來容易地實現。

【0338】 本發明提供包括抗氧化劑之醫藥組合物。此等組合物可用於降低本文所闡述之抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體，例如 hu31A.v11)之氧化。在一些情況下，納入抗氧化劑來降低色胺酸殘基(例如可變區之 HVR 區或 FR 區中之色胺酸殘基)之氧化。在特定情況下，納入抗氧化劑來降低抗類胰蛋白酶抗體之 HVR-H3 殘基(例如 hu31A.v11 中之 W100)之氧化。在一些情況下，將抗氧化劑

納入組合物中以降低甲硫胺酸殘基(例如抗體(例如，抗類胰蛋白酶抗體)之 Fc 區中之甲硫胺酸殘基，例如 Fc 殘基 M251、M357 及/或 M427 (例如，hu31A.v11 之該等殘基))之氧化。

【0339】 在一些情況下，醫藥組合物包括本文所闡述任一抗體及抗氧化劑。在一些情況下，該抗體易於氧化(例如，在一或多個(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個)色胺酸或甲硫胺酸殘基處)。可使用任一適宜抗氧化劑。舉例而言，在一些情況下，該組合物包括一或多種選自由以下組成之群之抗氧化劑(例如，1、2、3、4、5、6、7、8 或 9 種抗氧化劑)：N-乙醯基色胺酸(例如，N-乙醯基 DL-色胺酸或 N-乙醯基 D-色胺酸)、色胺酸、甲硫胺酸(例如，L-甲硫胺酸)、半胱胺酸、麩胱甘肽、硫基山梨醇、抗壞血酸、單硫基甘油、環糊精、Trolox、吡哆醇、多元醇(例如，甘露醇)、蔗糖、金屬螯合劑(例如，EDTA)及其組合(例如，N-乙醯基色胺酸及甲硫胺酸之組合)。在一些情況下，抗氧化劑係 N-乙醯基色胺酸(例如，N-乙醯基 DL-色胺酸或 N-乙醯基 D-色胺酸)。在其他情況下，抗氧化劑係甲硫胺酸(例如，L-甲硫胺酸或 D-甲硫胺酸)。在特定情況下，該組合物包括 N-乙醯基色胺酸(例如，N-乙醯基 DL-色胺酸或 N-乙醯基 D-色胺酸)及甲硫胺酸(例如，L-甲硫胺酸或 D-甲硫胺酸)。在一些情況下，N-乙醯基色胺酸降低或防止抗體中之色胺酸氧化。在一些情況下，甲硫胺酸降低或防止抗體中之甲硫胺酸氧化。

【0340】 醫藥組合物可包括任何適宜濃度之抗氧化劑以降低或消除氧化。舉例而言，多元醇(例如，甘露醇)或蔗糖之濃度可係約 1% (w/v)至約 25% (w/v)，例如約 1%、約 2%、約 3%、約 4%、約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%或約 25% (w/v)。在特定情況下，多元醇(例如，甘露醇)或蔗糖之濃度可係約 15% (w/v)。在另一實例中，金屬螯合劑(例如，EDTA)之濃度可係約 0.01%

(w/v)至約 1% (w/v)，例如約 0.01%、約 0.02%、約 0.03%、約 0.04%、約 0.05%、約 0.06%、約 0.07%、約 0.08%、約 0.09%、約 0.1%、約 0.15%、約 0.2%、約 0.25%、約 0.3%、約 0.4%、約 0.45%、約 0.5%、約 0.6%、約 0.7%、約 0.8%、約 0.9%或約 1% (w/v)。在特定情況下，金屬螯合劑(例如，EDTA)之濃度可係約 0.4% (w/v)。在另一實例中，甲硫胺酸及/或色胺酸之濃度可係約 0.1 mg/ml 至約 10 mg/ml，例如約 0.1 mg/ml、約 0.5 mg/ml、約 1 mg/ml、約 2 mg/ml、約 3 mg/ml、約 4 mg/ml、約 5 mg/ml、約 6 mg/ml、約 7 mg/ml、約 8 mg/ml、約 9 mg/ml 或約 10 mg/ml。在一些情況下，甲硫胺酸及/或色胺酸之濃度係約 2 mg/ml。

【0341】 舉例而言，在一些情況下，本發明提供包括以下之醫藥組合物：(i) 結合至人類類胰蛋白酶之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含以下 6 個超變區(HVR)：(a) HVR-H1，其包含 DYGMV (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 RNYDDWYFDV (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列；(ii) N-乙醯基色胺酸(例如，N-乙醯基 DL-色胺酸或 N-乙醯基 D-色胺酸)；及(iii) 甲硫胺酸(例如，L-甲硫胺酸或 D-甲硫胺酸)。

【0342】 本文所闡述組合物中之任一者中可使用任何適宜濃度之 N-乙醯基色胺酸(例如，N-乙醯基 DL-色胺酸或 N-乙醯基 D-色胺酸)。在一些情況下，N-乙醯基色胺酸(例如，N-乙醯基 DL-色胺酸或 N-乙醯基 D-色胺酸)之濃度係約 0.05 mM 至約 20 mM (例如，約 0.05 mM 至約 20 mM、約 0.05 mM 至約 19 mM、約 0.05 mM 至約 18 mM、約 0.05 mM 至約 17 mM、約 0.05 mM 至約 16 mM、約 0.05 mM 至約 15 mM、約 0.05 mM 至約 14 mM、約 0.05 mM 至約 13 mM、約 0.05 mM

至約 13 mM、約 0.05 mM 至約 12 mM、約 0.05 mM 至約 11 mM、約 0.05 mM 至約 10 mM、約 0.05 mM 至約 9 mM、約 0.05 mM 至約 8 mM、約 0.05 mM 至約 7 mM、約 0.05 mM 至約 6 mM、約 0.05 mM 至約 5 mM、約 0.05 mM 至約 4 mM、約 0.05 mM 至約 3 mM、約 0.05 mM 至約 2 mM、約 0.05 mM 至約 1 mM、約 0.1 mM 至約 20 mM、約 0.1 mM 至約 19 mM、約 0.1 mM 至約 18 mM、約 0.1 mM 至約 17 mM、約 0.1 mM 至約 16 mM、約 0.1 mM 至約 15 mM、約 0.1 mM 至約 14 mM、約 0.1 mM 至約 13 mM、約 0.1 mM 至約 13 mM、約 0.1 mM 至約 12 mM、約 0.1 mM 至約 11 mM、約 0.1 mM 至約 10 mM、約 0.1 mM 至約 9 mM、約 0.1 mM 至約 8 mM、約 0.1 mM 至約 7 mM、約 0.1 mM 至約 6 mM、約 0.1 mM 至約 5 mM、約 0.1 mM 至約 4 mM、約 0.1 mM 至約 3 mM、約 0.1 mM 至約 2 mM、約 0.1 mM 至約 1 mM、約 0.1 mM 至約 0.9 mM、約 0.1 至約 0.8 mM、約 0.1 mM 至約 0.7 mM、約 0.1 mM 至約 0.6 mM、約 0.1 mM 至約 0.5 mM、約 0.1 mM 至約 0.4 mM、約 0.1 mM 至約 0.3 mM、約 0.2 mM 至約 20 mM、約 0.2 mM 至約 19 mM、約 0.2 mM 至約 18 mM、約 0.2 mM 至約 17 mM、約 0.2 mM 至約 16 mM、約 0.2 mM 至約 15 mM、約 0.2 mM 至約 14 mM、約 0.2 mM 至約 13 mM、約 0.2 mM 至約 13 mM、約 0.2 mM 至約 12 mM、約 0.2 mM 至約 11 mM、約 0.2 mM 至約 10 mM、約 0.2 mM 至約 9 mM、約 0.2 mM 至約 8 mM、約 0.2 mM 至約 7 mM、約 0.2 mM 至約 6 mM、約 0.2 mM 至約 5 mM、約 0.2 mM 至約 4 mM、約 0.2 mM 至約 3 mM、約 0.2 mM 至約 2 mM、約 0.2 mM 至約 1 mM、約 0.2 mM 至約 0.9 mM、約 0.2 至約 0.8 mM、約 0.2 mM 至約 0.7 mM、約 0.2 mM 至約 0.6 mM、約 0.2 mM 至約 0.5 mM、約 0.2 mM 至約 0.4 mM、約 0.2 mM 至約 0.3 mM、約 0.3 mM 至約 20 mM、約 0.3 mM 至約 19 mM、約 0.3 mM 至約 18 mM、約 0.3 mM 至約 17 mM、約 0.3 mM 至約 16 mM、約 0.3 mM 至約 15 mM、約 0.3 mM 至約 14 mM、約 0.3 mM 至約 13 mM、約 0.3 mM 至約 13 mM、約 0.3 mM 至約 12 mM、約 0.3 mM

至約 11 mM、約 0.3 mM 至約 10 mM、約 0.3 mM 至約 9 mM、約 0.3 mM 至約 8 mM、約 0.3 mM 至約 7 mM、約 0.3 mM 至約 6 mM、約 0.3 mM 至約 5 mM、約 0.3 mM 至約 4 mM、約 0.3 mM 至約 3 mM、約 0.3mM 至約 2 mM、約 0.3 mM 至約 1 mM、約 0.3 mM 至約 0.9 mM、約 0.3 至約 0.8 mM、約 0.3 mM 至約 0.7 mM、約 0.3 mM 至約 0.6 mM、約 0.3 mM 至約 0.5 mM 或約 0.3 mM 至約 0.4 mM)。在一些情況下，N-乙醯基色胺酸之濃度係約 0.1 mM 至約 1 mM (例如，約 0.1 mM、約 0.2 mM、約 0.3 mM、約 0.4 mM、約 0.5 mM、約 0.6 mM、約 0.7 mM、約 0.8 mM、約 0.9 mM 或約 1 mM)。在特定情況下，N-乙醯基色胺酸(例如，N-乙醯基 DL-色胺酸或 N-乙醯基 D-色胺酸)之濃度係約 0.3 mM。在特定情況下，N-乙醯基色胺酸係或 N-乙醯基 DL-色胺酸。

【0343】 本文所闡述組合物中之任一者中可使用任何適宜濃度之甲硫胺酸(例如，L-甲硫胺酸或 D-甲硫胺酸)。舉例而言，在一些情況下，甲硫胺酸(例如，L-甲硫胺酸或 D-甲硫胺酸)之濃度係約 0.1 mM 至約 30 mM (例如，約 0.1 mM 至約 30 mM、約 0.1 mM 至約 25 mM、約 0.1 mM 至約 20 mM、約 0.1 mM 至約 19 mM、約 0.1 mM 至約 18 mM、約 0.1 mM 至約 17 mM、約 0.1 mM 至約 16 mM、約 0.1 mM 至約 15 mM、約 0.1 mM 至約 14 mM、約 0.1 mM 至約 13 mM、約 0.1 mM 至約 13 mM、約 0.1 mM 至約 12 mM、約 0.1 mM 至約 11 mM、約 0.1 mM 至約 10 mM、約 0.1 mM 至約 9 mM、約 0.1 mM 至約 8 mM、約 0.1 mM 至約 7 mM、約 0.1 mM 至約 6 mM、約 0.1 mM 至約 5 mM、約 0.1 mM 至約 4 mM、約 0.1 mM 至約 3 mM、約 0.1 mM 至約 2 mM、約 0.1 mM 至約 1 mM、約 1 mM 至約 20 mM、約 1 mM 至約 19 mM、約 1 mM 至約 18 mM、約 1 mM 至約 17 mM、約 1 mM 至約 16 mM、約 1 mM 至約 15 mM、約 1 mM 至約 14 mM、約 1 mM 至約 13 mM、約 1 mM 至約 13 mM、約 1 mM 至約 12 mM、約 1 mM 至約 11 mM、約 1 mM 至約 10 mM、約 1 mM 至約 9 mM、約 1 mM 至約 8 mM、約 1 mM 至約 7 mM、

約 1 mM 至約 6 mM、約 1 mM 至約 5 mM、約 1 mM 至約 4 mM、約 1 mM 至約 3 mM、約 1 mM 至約 2 mM、約 2 mM 至約 20 mM、約 2 mM 至約 19 mM、約 2 mM 至約 18 mM、約 2 mM 至約 17 mM、約 2 mM 至約 16 mM、約 2 mM 至約 15 mM、約 2 mM 至約 14 mM、約 2 mM 至約 13 mM、約 2 mM 至約 13 mM、約 2 mM 至約 12 mM、約 2 mM 至約 11 mM、約 2 mM 至約 10 mM、約 2 mM 至約 9 mM、約 2 mM 至約 8 mM、約 2 mM 至約 7 mM、約 2 mM 至約 6 mM、約 2 mM 至約 5 mM、約 2 mM 至約 4 mM、約 2 mM 至約 3 mM、約 5 mM 至約 20 mM、約 5 mM 至約 19 mM、約 5 mM 至約 18 mM、約 5 mM 至約 17 mM、約 5 mM 至約 16 mM、約 5 mM 至約 15 mM、約 5 mM 至約 14 mM、約 5 mM 至約 13 mM、約 5 mM 至約 13 mM、約 5 mM 至約 12 mM、約 5 mM 至約 11 mM、約 5 mM 至約 10 mM、約 5 mM 至約 9 mM、約 5 mM 至約 8 mM、約 5 mM 至約 7 mM 或約 5 mM 至約 6 mM)。在一些情況下，甲硫胺酸(例如，L-甲硫胺酸或 D-甲硫胺酸)之濃度係約 1mM 至約 10 mM (例如，約 1 mM、約 2 mM、約 3 mM、約 4 mM、約 5 mM、約 6 mM、約 7 mM、約 8 mM、約 9 mM 或約 10 mM)。在特定情況下，甲硫胺酸(例如，L-甲硫胺酸或 D-甲硫胺酸)之濃度係約 5 mM。在其他情況下，甲硫胺酸之濃度係約 10 mM。在特定情況下，甲硫胺酸係 L-甲硫胺酸。

【0344】　在一些情況下，相對於在抗氧化劑不存在下殘基處之氧化百分比，抗氧化劑(例如，N-乙醯基色胺酸(例如，N-乙醯基 DL-色胺酸)及/或甲硫胺酸(例如，L-甲硫胺酸或 D-甲硫胺酸))之存在將抗類胰蛋白酶抗體在特定殘基(例如，色胺酸殘基或甲硫胺酸殘基，例如在 HVR-H3 殘基中(例如，hu31A.v11 之 VH 結構域之 W100)或在 Fc 殘基中(例如，Fc 殘基 M251、M357 及/或 M427 (例如，hu31A.v11 之該等殘基))處之氧化百分比降低(例如)約 1%、約 2%、約 5%、約 6%、約 10%、約 15%、約 20%、約 25%、約 28%、約 30%、約 35%、約 40%、

約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或更多。

【0345】 在其中抗體在HVR-H3 (例如，hu31A.v11)中包括易於氧化之VH結構域W100殘基之情況下，在一些情況下，HVR-H3中之VH結構域W100殘基之氧化百分比為少於約35% (例如，少於35%、少於34%、少於33%、少於32%、少於31%、少於30%、少於29%、少於28%、少於27%、少於26%、少於25%、少於24%、少於23%、少於22%、少於21%、少於20%、少於19%、少於18%、少於17%、少於16%、少於15%、少於14%、少於13%、少於12%、少於11%、少於10%、少於9%、少於8%、少於7%、少於6%、少於5%、少於4%、少於3%、少於2%、少於1%或更小)。舉例而言，在一些情況下，HVR-H3中W100殘基之氧化百分比為少於約35%。在其他情況下，HVR-H3中W100殘基之氧化百分比少於約25%。在其他情況下，HVR-H3中W100殘基之氧化百分比少於約15%。在其他情況下，HVR-H3中W100殘基之氧化百分比少於約10%。在其他情況下，HVR-H3中W100殘基之氧化百分比少於約5%。在其他情況下，HVR-H3中W100殘基之氧化百分比少於約4%、約3%、約2%或約1%。

【0346】 作為實例，在其中抗體在HVR-H3中包括易於氧化之VH結構域W100殘基之一些情況下，在一些情況下，HVR-H3中VH結構域W100殘基之氧化百分比介於約1%至約50%之間、介於約1%至約45%之間、介於約1%至約40%之間、介於約1%至約35%之間、介於約1%至約30%之間、介於約1%至約25%之間、介於約1%至約20%之間、介於約1%至約15%之間、介於約1%至約10%之間、介於約1%至約5%之間、介於約1%至約4%之間、介於約1%至約3%之間、介於約1%至約2%之間、介於約5%至約50%之間、介於約5%至約45%之間、介於約5%至約50%之間、介於約5%至約35%之間、介於約5%至約30%之間、介於約5%至約25%之間、介於約5%至約20%之間、介於約5%至約

15%之間、介於約 5%至約 10%之間、介於約 10%至約 50%之間、介於約 10%至約 45%之間、介於約 10%至約 40%之間、介於約 10%至約 35%之間、介於約 10%至約 30%之間、介於約 10%至約 25%之間、介於約 10%至約 20%之間、介於約 10%至約 15%之間、介於約 15%至約 50%之間、介於約 15%至約 45%之間、介於約 15%至約 40%之間、介於約 15%至約 35%之間、介於約 15%至約 30%之間、介於約 15%至約 25%之間、介於約 15%至約 20%之間、介於約 25%至約 50%之間或介於約 30%至約 50%之間。

【0347】 可在(例如)自抗體或其醫藥組合物最初產生之約 1 個月、2 個月、3 個月、4 個月、5 個月、6 個月、7 個月、8 個月 9 個月、10 個月、11 個月、12 個月、18 個月、2 年或更長時間內測定氧化百分比。在一些情況下，自抗體或其醫藥組合物最初產生之約 9 個月、約 12 個月、約 18 個月或 2 年測定氧化百分比。

【0348】 本發明之組合物中抗體之濃度可在(例如)約 1 mg/mL 至約 350 mg/mL 範圍內(例如，約 1 mg/mL 至約 350 mg/mL、約 1 mg/mL 至約 325 mg/mL、約 1 mg/mL 至約 300 mg/mL、約 1 mg/mL 至約 275 mg/mL、約 1 mg/mL 至約 250 mg/mL、約 1 mg/mL 至約 225 mg/mL、約 1 mg/mL 至約 200 mg/mL、約 1 mg/mL 至約 175 mg/mL、約 1 mg/mL 至約 150 mg/mL、約 1 mg/mL 至約 125 mg/mL、約 1 mg/mL 至約 100 mg/mL、約 1 mg/mL 至約 75 mg/mL、約 1 mg/mL 至約 50 mg/mL、約 1 mg/mL 至約 25 mg/mL、約 25 mg/mL 至約 350 mg/mL、約 25 mg/mL 至約 325 mg/mL、約 25 mg/mL 至約 300 mg/mL、約 25 mg/mL 至約 275 mg/mL、約 25 mg/mL 至約 250 mg/mL、約 25 mg/mL 至約 225 mg/mL、約 25 mg/mL 至約 200 mg/mL、約 25 mg/mL 至約 175 mg/mL、約 25 mg/mL 至約 150 mg/mL、約 25 mg/mL 至約 125 mg/mL、約 25 mg/mL 至約 100 mg/mL、約 25 mg/mL 至約 75 mg/mL、約 25 mg/mL 至約 50 mg/mL、約 50 mg/mL 至約 350 mg/mL、約 50 mg/mL 至約 325 mg/mL、約 50 mg/mL 至約 300 mg/mL、約 50 mg/mL 至約 275 mg/mL、

約 50 mg/mL 至約 250 mg/mL、約 50 mg/mL 至約 225 mg/mL、約 50 mg/mL 至約 200 mg/mL、約 50 mg/mL 至約 175 mg/mL、約 50 mg/mL 至約 150 mg/mL、約 50 mg/mL 至約 125 mg/mL、約 50 mg/mL 至約 100 mg/mL、約 50 mg/mL 至約 75 mg/mL、約 75 mg/mL 至約 350 mg/mL、約 75 mg/mL 至約 325 mg/mL、約 75 mg/mL 至約 300 mg/mL、約 75 mg/mL 至約 275 mg/mL、約 75 mg/mL 至約 250 mg/mL、約 75 mg/mL 至約 225 mg/mL、約 75 mg/mL 至約 200 mg/mL、約 75 mg/mL 至約 175 mg/mL、約 75 mg/mL 至約 150 mg/mL、約 75 mg/mL 至約 125 mg/mL、約 75 mg/mL 至約 100 mg/mL、約 100 mg/mL 至約 350 mg/mL、約 100 mg/mL 至約 325 mg/mL、約 100 mg/mL 至約 300 mg/mL、約 100 mg/mL 至約 275 mg/mL、約 100 mg/mL 至約 250 mg/mL、約 100 mg/mL 至約 225 mg/mL、約 100 mg/mL 至約 200 mg/mL、約 100 mg/mL 至約 175 mg/mL、約 100 mg/mL 至約 150 mg/mL、約 100 mg/mL 至約 125 mg/mL 或約 150 mg/mL 至約 175 mg/mL)。在一些情況下，抗體之濃度係約 50 mg/mL 至約 200 mg/mL (例如，約 50 mg/mL、約 60 mg/mL、約 70 mg/mL、約 80 mg/mL、約 90 mg/mL、約 100 mg/mL、約 110 mg/mL、約 120 mg/mL、約 130 mg/mL、約 140 mg/mL、約 150 mg/mL、約 160 mg/mL、約 170 mg/mL、約 180 mg/mL、約 190 mg/mL 或約 200 mg/mL)。在特定情況下，抗體濃度為約 150 mg/mL。

【0349】　本文所闡述組合物中之任一者可包括一或多種選自由以下組成之群之其他賦形劑：穩定劑、緩衝液、表面活性劑及張力劑。在一些情況下，緩衝劑包含精胺酸琥珀酸鹽及/或組胺酸琥珀酸鹽。在一些情況下，緩衝劑包括精胺酸琥珀酸鹽及組胺酸琥珀酸鹽。

【0350】　可使用任何適宜濃度之精胺酸琥珀酸鹽。舉例而言，在一些情況下，精胺酸琥珀酸鹽之濃度係約 10 mM 至約 500 mM (例如，約 10 mM、約 20 mM、約 30 mM、約 40 mM、約 50 mM、約 75 mM、約 100 mM、約 125 mM、約 150

mM、約 175 mM、約 200 mM、約 225 mM、約 250 mM、約 275 mM、約 300 mM、約 325 mM、約 350 mM、約 375 mM、約 400 mM、約 425 mM、約 450 mM、約 475 mM 或約 500 mM)。舉例而言，在一些情況下，精胺酸琥珀酸鹽之濃度係約 100 mM 至約 300 mM、約 125 mM 至約 300 mM、約 150 mM 至約 300 mM、約 175 mM 至約 300 mM、約 200 mM 至約 300 mM、約 225 mM 至約 300 mM、約 250 mM 至約 300 mM、約 275 mM 至約 300 mM、約 100 mM 至約 250 mM、約 125 mM 至約 250 mM、約 150 mM 至約 250 mM、約 175 mM 至約 250 mM、約 200 mM 至約 250 mM、約 100 mM 至約 225 mM、約 125 mM 至約 225 mM、約 150 mM 至約 225 mM、約 175 mM 至約 225 mM、約 200 mM 至約 225 mM、約 100 mM 至約 200 mM、約 125 mM 至約 200 mM、約 150 mM 至約 200 mM 或約 175 mM 至約 200 mM。在特定情況下，精胺酸琥珀酸鹽之濃度係約 200 mM。

【0351】　可使用任何適宜濃度之組胺酸琥珀酸鹽。舉例而言，在一些實施例中，組胺酸琥珀酸鹽之濃度係約 1 mM 至約 100 mM (例如，約 1 mM、約 5 mM、約 10 mM、約 15 mM、約 20 mM、約 25 mM、約 30 mM、約 35 mM、約 40 mM、約 45 mM、約 50 mM、約 55 mM、約 60 mM、約 65 mM、約 70 mM、約 75 mM、約 80 mM、約 85 mM、約 90 mM、約 95 mM 或約 100 mM)。在特定情況下，組胺酸琥珀酸鹽之濃度係約 20 mM。

【0352】　本文所闡述組合物中之任一者之 pH 可為約 4.0 至約 7.0 (例如，約 4.0、約 4.5、約 5.0、約 5.5、約 6.0、約 6.5 或約 7.0)。在一些情況下，pH 為約 4.5 至約 7.0 (例如，約 4.5、約 5.0、約 5.5、約 6.0、約 6.5 或約 7.0)。在一些情況下，pH 為約 4.5 至約 6.5 (例如，約 4.5、約 4.6、約 4.7、約 4.8、約 4.9、約 5、約 5.1、約 5.2、約 5.3、約 5.4、約 5.5、約 5.6、約 5.7、約 5.8、約 5.9、約 6、約 6.1、約 6.2、約 6.3、約 6.4 或約 6.5)。在一些情況下，pH 為約 5.0 至約 6.0 (例

如，約 5.0、約 5.1、約 5.2、約 5.3、約 5.4、約 5.5、約 5.6、約 5.7、約 5.8、約 5.9 或約 6.0)。在一些情況下，pH 為約 5.5。

【0353】 任何適宜表面活性劑可用於本文所闡述之組合物中。在一些情況下，表面活性劑係泊洛沙姆 188 或聚山梨醇酯 20。可使用任何適宜濃度之泊洛沙姆 188。舉例而言，泊洛沙姆 188 之濃度可係約 0.005%至約 0.5%、約 0.005%至約 0.05%或約 0.02%。在一些情況下，泊洛沙姆 188 之濃度係約 0.01%、約 0.02%、約 0.03%、約 0.04%、約 0.05%、約 0.06%、約 0.07%、約 0.08%、約 0.09%或約 0.1%。在特定實施例中，泊洛沙姆 188 之濃度係約 0.02%。可使用任何適宜濃度之聚山梨醇酯 20。舉例而言，聚山梨醇酯 20 之濃度可係約 0.005%至約 0.5%、約 0.005%至約 0.05%或約 0.02%。在一些情況下，聚山梨醇酯 20 之濃度係約 0.01%、約 0.02%、約 0.03%、約 0.04%、約 0.05%、約 0.06%、約 0.07%、約 0.08%、約 0.09%或約 0.1%。

【0354】 在特定情況下，組合物包括約 150 mg/mL 之本文所闡述之抗類胰蛋白酶抗體(例如，hu31A.v11)、約 200 mM 精胺酸琥珀酸鹽、約 20 mM 組胺酸琥珀酸鹽、約 0.3 mM N-乙醯基 DL-色胺酸)、約 5 mM L-甲硫胺酸、約 0.02%泊洛沙姆 188，且 pH 係約 5.8。

【0355】 本文所闡述組合物中之任一者可經調配以用於藉由任何適宜途徑投與。在特定情況下，該組合物經調配用於皮下投與或靜脈內投與。在一些情況下，該組合物經調配用於皮下投與。

G. 治療方法及組合物

【0356】 本發明之抗類胰蛋白酶抗體或醫藥組合物中之任一者可用於治療方法中。

【0357】 在一態樣中，提供用作藥劑之抗類胰蛋白酶抗體或其醫藥組合物。在其他態樣中，提供用於治療病症之抗類胰蛋白酶抗體或其醫藥組合物。在某

些實施例中，提供用於治療方法中之抗類胰蛋白酶抗體或其醫藥組合物。在某些實施例中，本發明提供抗類胰蛋白酶抗體或其醫藥組合物，其用於治療患有病症之個體之方法中，其涉及向該個體投與有效量之抗類胰蛋白酶抗體。在一些實施例中，該方法進一步包括向該個體投與有效量之至少一種額外治療劑，例如如下文所闡述。如上文實施例中之任一者之「個體」較佳係人類。

【0358】　在另一態樣中，本發明提供抗類胰蛋白酶抗體或其醫藥組合物之用途，其用於製造或製備藥劑。在一個實施例中，該藥劑用於治療病症。在另一實施例中，該藥劑用於治療病症之方法中，其包含向患有該病症之個體投與有效量之該藥劑。在一個此實施例中，該方法進一步包括向該個體投與有效量之至少一種(例如)如下文所闡述之額外治療劑。如上文實施例中任一者之「個體」可係人類。

【0359】　在另一態樣中，本發明提供治療病症之方法，該病症包括(例如)肺部病症(例如，氣喘(例如，高 Th2 氣喘或低 Th2 氣喘)、氣道高反應性或 COPD)、自體免疫病症(例如，類風濕性關節炎、牛皮癬、嗜酸性球性食管炎、IBD 或克羅恩氏病)、發炎性病症(例如，慢性特發性蕁麻疹(CIU 或 CSU)、過敏反應、特應性皮炎或過敏性鼻炎)、纖維變性病症(例如，IPF)、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症、淋巴球性病症、與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症及類胰蛋白酶相關病症或類胰蛋白酶介導之病症。在一個實施例中，該方法包括向患有病症之個體投與有效量之抗類胰蛋白酶抗體或其醫藥組合物。在一個此實施例中，該方法進一步包括向該個體投與有效量之至少一種如下文所闡述之額外治療劑。如上文實施例中任一者之「個體」可係人類。

【0360】 在另一態樣中，本發明提供包含本文所提供之任一抗類胰蛋白酶抗體之醫藥調配物，例如，用於任一上述治療方法中。在一個實施例中，醫藥調配物包含本文所提供之任一抗類胰蛋白酶抗體及醫藥學上可接受之載劑。在另一實施例中，醫藥調配物包含本文所提供之任一抗類胰蛋白酶抗體及至少一種(例如)如下文所闡述之額外治療劑。上文部分 F 中所闡述之任一醫藥調配物(例如，包括抗氧化劑(例如 N-乙醯基色胺酸及/或甲硫胺酸)之彼等醫藥調配物)可用於本文所闡述之任一用途或方法中。

【0361】 在一些實施例中，病症係自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症、淋巴球性病症或與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症。在一些實施例中，該病症係肺部病症。

【0362】 在一些實施例中，肺部病症與粒細胞(嗜酸性球性及/或嗜中性球性)肺發炎、感染誘發之肺病狀(包括與病毒(例如，流感病毒、副流感病毒、鼻病毒、人類間質肺炎病毒及呼吸道融合病毒)、細菌或真菌(例如，曲黴菌(*Aspergillus*))觸發劑相關之彼等病狀)相關。在一些實施例中，該病症係過敏原誘發之肺病狀、有毒環境污染物誘發之肺病狀(例如，石棉沈著病、矽肺病或鈹中毒症)、胃誤吸誘發之肺病狀或與免疫失調相關或具有遺傳易感性之發炎性病狀(例如囊性纖維化)。在一些實施例中，該病症係物理創傷誘發之肺病狀(例如，呼吸器損傷)、肺氣腫、香菸誘發之肺氣腫、支氣管炎、結節病、組織球增生症、淋巴管性肌瘤病、急性肺損傷、急性呼吸窘迫症候群、慢性肺病、支氣管肺發育不良、肺炎(例如，社區獲得性肺炎、醫院性肺炎、呼吸器相關性肺炎、病毒性肺炎、細菌肺炎及嚴重肺炎)、氣道加劇及急性呼吸窘迫症候群(ARDS))。在一些實施例中，肺部病症係 COPD。

【0363】 在任一方法之一些實施例中，肺部病症係氣喘。在一些實施例中，氣喘係持續性慢性嚴重氣喘，伴隨可威脅生命之惡化症狀之急性事件(加劇或眩暈)。在一些實施例中，氣喘係特應性(亦稱為過敏性)氣喘、非過敏性氣喘(例如，通常由呼吸道病毒感染(例如，流感病毒、副流感病毒、鼻病毒、人類間質肺炎病毒及呼吸道融合病毒)或吸入刺激物(空氣污染物、煙霧、柴油顆粒、揮發性化學品及室內或室外氣體)或甚至由乾冷空氣觸發)。

【0364】 在任一方法之一些實施例中，氣喘係由於急性或慢性首次或二次暴露於「菸」(通常香菸、雪茄、菸斗)、吸入或「霧吸」(菸草、大麻或其他此等物質)所致之間歇性或運動誘發之氣喘或由近期服用阿司匹林或相關 NSAID 觸發之氣喘。在一些實施例中，氣喘係輕度或皮質類固醇初始氣喘、新診斷且未經治療之氣喘或先前不需要長期使用吸入之局部或全身類固醇來控制症狀(咳嗽、喘鳴、呼吸短促/呼吸暫停或胸痛)之氣喘。在一些實施例中，氣喘係慢性皮質類固醇抗性氣喘、皮質類固醇難治性氣喘、不受皮質類固醇或其他慢性氣喘控制藥劑控制之氣喘。

【0365】 在任一方法之一些實施例中，氣喘係中度至嚴重氣喘。在某些實施例中，該氣喘係高 Th2 氣喘。在一些實施例中，氣喘係嚴重氣喘。在一些實施例中，氣喘係特應性氣喘、過敏性氣喘、非過敏性氣喘(例如，由於感染及/或呼吸道融合病毒(RSV)所致)、運動誘發之氣喘、阿司匹林敏感/加劇氣喘、輕度氣喘、中度至嚴重氣喘、皮質類固醇初始氣喘、慢性氣喘、皮質類固醇抗性氣喘、皮質類固醇難治性氣喘、新診斷且未經治療之氣喘、由於吸菸所致之氣喘、不受皮質類固醇控制之氣喘。在一些實施例中，氣喘係 2 型輔助性 T 淋巴球(Th2)或 2 型(Th2)高或 2 型(T2)驅動之氣喘。在一些實施例中，氣喘係嗜酸性球性氣喘。在一些實施例中，氣喘係過敏性氣喘。在一些實施例中，個體已確定為嗜酸性球性發炎陽性(EIP)。參見 WO2015/061441。在一些實施例中，氣喘係高骨

膜素氣喘(例如，骨膜素含量為至少約 20 ng/mL、25 ng/mL 或 50 ng/mL 血清中之任一者)。測定血清骨膜素含量之方法提供於(例如) US2012/0156194 中。在一些實施例中，氣喘係高嗜酸性球氣喘(例如至少約 150、200、250、300、350、400 個嗜酸性球計數/ml 血液中之任一者)。在某些實施例中，氣喘係低 Th2 氣喘或非 Th2 驅動之氣喘。在一些實施例中，個體已確定為嗜酸性球性發炎陰性(EIN)。參見 WO2015/061441。在一些實施例中，氣喘係低骨膜素氣喘(例如，骨膜素含量為少於約 20 ng/mL 血清)。在一些實施例中，氣喘係低嗜酸性球氣喘(例如，少於約 150 個嗜酸性球計數/μl 血液或少於約 100 個嗜酸性球計數/μl 血液)。在某些實施例中，個體展現升高含量之 FeNO (呼出硝酸分數)及/或升高含量之 IgE。舉例而言，在一些情況下，個體展現以下 FeNO 含量：高於約 250 十億分率(ppb)、高於約 275 ppb、高於約 300 ppb、高於約 325 ppb、高於約 325 ppb 或高於約 350 ppb。在一些情況下，個體具有高於 50 IU/ml 之 IgE 含量。在一些實施例中，個體在 1 秒內之用力呼氣容積(FEV1)為預測之 40%至 80%。

【0366】 在任一方法之其他實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、嗜中性球性病症或嗜酸性球性病症係肺纖維化。在一些實施例中，肺纖維化係特發性肺纖維化(IPF)。

【0367】 在任一方法之其他實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症或淋巴球性病症係食管炎(例如，嗜酸性球性食管炎)、過敏性鼻炎、非過敏性鼻炎、鼻竇炎伴息肉、鼻息肉、支氣管炎、慢性肺炎、過敏性支氣管肺麴黴病、氣道發炎、過敏性鼻炎、支氣管擴張及/或慢性支氣管炎。

【0368】 在任一方法之一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症或淋巴球性病症係關節炎。在一些實施例中，關節炎係類風濕性關節炎。在一些實施例中，關

節炎係骨關節炎、類風濕性關節炎、幼年型關節炎、幼年型類風濕性關節炎、早期關節炎、多關節性類風濕性關節炎、全身發作性類風濕性關節炎、腸病性關節炎、反應性關節炎、牛皮癬關節炎及/或損傷所致之關節炎。

【0369】 在任一方法之其他實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症或淋巴球性病症係胃腸道發炎性病狀。在一些實施例中，胃腸道發炎性病狀係 IBD (發炎性腸病)、潰瘍性結腸炎(UC)、克羅恩氏病(CD)、結腸炎(例如，由環境損傷引起之結腸炎(例如，由治療方案(例如化學療法、輻射療法等)引起或與其相關))、傳染性結腸炎、缺血性結腸炎、膠原性或淋巴球性結腸炎、壞死小腸結腸炎、諸如慢性肉芽腫病或乳糜瀉病等病狀中之結腸炎、食物過敏、胃炎、腸胃炎、傳染性胃炎或小腸結腸炎(例如，幽門螺旋桿菌感染之慢性活性胃炎)、食管炎及由傳染劑引起之其他形式之胃腸發炎或不確定之結腸炎。

【0370】 在任一方法之一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症或淋巴球性病症係胃腸道發炎性病狀。在一些實施例中，胃腸道發炎性病狀係 IBD (發炎性腸病)。在一些實施例中，發炎性腸病係潰瘍性結腸炎(UC)或克羅恩氏病(CD)。在一些實施例中，胃腸道發炎性病狀係結腸炎(例如，由環境損傷引起之結腸炎(例如，由治療方案(例如化學療法、輻射療法等)引起或與其相關)、傳染性結腸炎、缺血性結腸炎、膠原性或淋巴球性結腸炎、壞死小腸結腸炎、諸如慢性肉芽腫病或乳糜瀉病等病狀中之結腸炎、食物過敏、胃炎、腸胃炎、傳染性胃炎或小腸結腸炎(例如，幽門螺旋桿菌感染之慢性活性胃炎)及由傳染劑引起之其他形式之胃腸發炎或不確定之結腸炎。

【0371】 在任一方法之一些實施例中，胃腸道發炎性病狀係潰瘍性結腸炎(UC)或克羅恩氏病(CD)。在一些實施例中，胃腸道發炎性病狀係潰瘍性結腸炎

(UC)。在一些實施例中，潰瘍性結腸炎係輕度至中度遠端結腸炎。在一些實施例中，潰瘍性結腸炎係輕度至中度廣泛性結腸炎。在一些實施例中，潰瘍性結腸炎係嚴重結腸炎。在一些實施例中，胃腸道發炎性病狀係克羅恩氏病(CD)。在一些實施例中，克羅恩氏病處於急性疾病階段。在一些實施例中，克羅恩氏病處於誘導之臨床緩和階段。在一些實施例中，克羅恩氏病處於維持反應/緩和階段。在一些實施例中，克羅恩氏病係輕度至中度疾病。在一些實施例中，克羅恩氏病係中度至嚴重疾病。在一些實施例中，克羅恩氏病係嚴重/暴發性 疾病。在一些實施例中，克羅恩氏病係迴腸、迴腸結腸或結腸疾病。

【0372】 在任一方法之一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、粒細胞(嗜中性球性或嗜酸性球性)病症、單核球性病症或淋巴球性病症或與正常或異常組織駐留細胞(例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴球)或基質細胞(例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮)之數目或分佈增加相關之病症係狼瘡或全身性紅斑狼瘡(SLE)、或影響腎之狼瘡(例如，狼瘡性腎炎(LN)之一或多種器官特異性表現、或影響血液及/或淋巴樣器官(淋巴結、脾、胸腺及相關淋巴管)及/或關節及/或其他器官(但不一定為腎)之腎外狼瘡(ERL))。

【0373】 在任一方法之一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症或纖維變性病症係關於敗血症及/或創傷、HIV 感染或特發性病症(具有未知病因)，例如ANCA 相關性小血管炎(AAV)、伴隨多血管炎之肉芽腫病(以前稱為韋格納氏肉芽腫)、貝賽特氏病、心血管疾病、嗜酸性球性支氣管炎、瑞特氏症候群、SEA症候群(血清陰性、接骨點病變、關節病變症候群)、關節黏連性脊椎炎、皮肌炎、硬皮症(例如全身硬皮症，亦稱為全身性硬化)、血管炎(例如，巨細胞性動脈炎(GCA，亦稱為顳動脈炎)、顱動脈炎或霍頓病)、肌炎、多發性肌炎、皮肌炎、結節性多動脈炎、動脈炎、風濕性多肌痛、結節病、原發性膽道硬化症、硬化

性膽管炎、薛格連氏症候群、牛皮癬、斑塊狀牛皮癬、滴狀牛皮癬、皮褶性牛皮癬、膿皰性牛皮癬、紅皮性牛皮癬、皮炎、特應性皮炎、天疱瘡(例如，尋常天疱瘡)、動脈粥樣硬化、狼瘡、斯提耳氏病、重症肌無力、乳糜瀉病、復發-緩解型多發性硬化(MS)(RRMS)或原發性進行型多發性硬化(PPMS)或繼發性進行型多發性硬化(SPMS)亞型、格林-巴利病、I 型糖尿病(T1DM)或胰島素依賴性(IDDM)或幼年發作性 DM 類型、甲狀腺炎(例如，格雷夫斯氏病)、乳糜瀉病、丘格-斯特勞斯症候群、肌痛症候群、高嗜酸性球性症候群、包括血管性水腫在內之水腫反應、蠕蟲感染、盤尾絲蟲皮炎、嗜酸性球性食管炎、嗜酸性球性腸炎、嗜酸性球性結腸炎、阻塞性睡眠呼吸暫停、心內膜纖維化、艾迪森氏病、雷諾氏病或現象、自體免疫肝炎、移植物抗宿主病(GVHD)或器官移植排斥。

【0374】 在任一方法之一些實施例中，該病症係皮膚之發炎性病症。在一些實施例中，該病症係特應性皮炎或盤尾絲蟲皮炎。在一些實施例中，該病症係慢性特發性蕁麻疹(CIU 或 CSU)。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與 IL-13 拮抗劑、IL-33 拮抗劑、IgE 拮抗劑、鈣抑制劑、白三烯抑制劑或抗組胺。在一些實施例中，IL-13 拮抗劑係萊比克珠單抗。在一些實施例中，IgE 拮抗劑係奧馬珠單抗或利格珠單抗(ligelizumab)。

【0375】 在任一方法之一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、嗜中性球性病症或嗜酸性球性病症係纖維變性病症。在一些實施例中，纖維變性病症包括肺纖維化、肝纖維化(例如，與肝硬化相關之纖維化(例如，酒精誘發之肝硬化、病毒誘發之肝硬化、C 型肝炎後肝硬化及原發性膽汁性肝硬化)、血吸蟲病、膽管炎(例如，硬化性膽管炎)及自體免疫誘發之肝炎)、腎纖維化(例如，腎小管間質纖維化、硬皮症、糖尿病腎病及腎小球腎炎)、皮膚纖維化(例如，硬皮症、肥厚性及瘢痕瘤瘢痕形成、腎性致纖維性皮膚病及燒傷)、骨髓纖維化、神經纖維瘤病、纖維瘤、腸纖維化及由手術程序造成之纖維性黏連)、

心臟纖維化(例如，與心肌梗塞相關之纖維化)、血管纖維化(例如，與血管成形術後動脈再狹窄及動脈粥樣硬化相關之纖維化)、眼纖維化(例如，與白內障手術後相關之纖維化、增生性玻璃體視網膜病變及眼眶後纖維化)及骨髓纖維化(例如，特發性骨髓纖維化及藥物誘發之骨髓纖維化)。纖維化可係器官特異性或全身性纖維化(例如，與 GVHD 相關之全身性硬化及纖維化)。在一些實施例中，纖維變性病症係肺纖維化。在一些實施例中，肺纖維化係致纖維性間質性肺炎。在一些實施例中，肺纖維化係特發性肺纖維化(IPF)，亦稱為隱源性致纖維性肺泡炎。在一些實施例中，IPF 為性別、年齡及生理學(GAP)-階段 I。在一些實施例中，IPF 為 GAP-階段 II。在一些實施例中，IPF 為 GAP-階段 III。在一些實施例中，肺纖維化係散發性 IPF。在一些實施例中，肺纖維化係家族性肺纖維化。在一些實施例中，肺纖維化係合併性肺纖維化及肺氣腫。在一些實施例中，肺纖維化與以下各項中之一或多者相關：普通型間質性肺炎；特發性間質性肺炎；脫屑性間質性肺炎；呼吸性細支氣管炎-間質性肺病；急性間質性肺炎；非特異性間質性肺炎；結節病；隱源性機化性肺炎；嗜酸性球性肺炎；感染；暴露於職業性或環境試劑；吸菸；由藥物或輻射誘發之間質性肺病；風濕性疾病相關之間質性肺病；淋巴樣間質性肺炎；胸膜肺纖維彈性組織增生；肺朗格漢斯細胞組織球增生症；全身性硬化-間質性肺病；赫門斯基-布德拉克氏症候群；及端粒縮短病變。

【0376】　在任一方法之一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、嗜中性球性病症或嗜酸性球性病症係慢性阻塞性肺病(COPD)。在一些實施例中，COPD 係全球慢性阻塞性肺病倡議組織(GOLD)類別 A。在一些實施例中，COPD 係 GOLD 類別 B。在一些實施例中，COPD 係 GOLD 類別 C。在一些實施例中，COPD 係 GOLD 類別 D。在一些實施例中，COPD 係慢性支氣管炎。在一些實施例中，COPD 係肺氣腫。在一些實施例中，肺氣腫係近端腺泡、

全腺泡型或遠端腺泡肺氣腫。在一些實施例中，肺氣腫係香菸誘發之肺氣腫。在一些實施例中，COPD 與暴露於微粒粉塵、化學煙霧及/或空氣污染相關。在一些實施例中，COPD 與受損肺發育相關。在一些實施例中，COPD 係慢性阻塞性氣喘。在一些實施例中，COPD 與 α-1 抗胰蛋白酶缺乏症相關。在一些實施例中，COPD 與絲胺酸蛋白酶抑制劑進化枝 E 成員 2 (SERPINE2)破壞相關。在一些實施例中，COPD 係伴有持續性全身發炎之 COPD。在一些實施例中，COPD 係嗜酸性球性或 2 型輔助性 T 細胞(T_H2)高 COPD。在一些實施例中，COPD 係伴有持續性細菌定殖之 COPD。在一些實施例中，COPD 係伴有頻繁加劇之 COPD。在一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、嗜中性球性病症或嗜酸性球性病症係氣喘-COPD 重疊症候群(ACOS)。在一些實施例中，ACOS 係嗜酸性球佔優、嗜中性球佔優、混合模式或無發炎(粒細胞缺乏性) ACOS。在一些實施例中，自體免疫病症、發炎性病症、纖維變性病症、嗜中性球性病症或嗜酸性球性病症係 COPD-阻塞性睡眠呼吸暫停(OSA)重疊症候群。

【0377】 本發明之抗體或其醫藥組合物可單獨使用或與其他藥劑組合用於療法。舉例而言，本發明之抗體或其醫藥組合物可與至少一種額外治療劑共投與。在某些實施例中，額外治療劑係介白素-13 (IL-13)結合拮抗劑、介白素-17 (IL-17)軸結合拮抗劑、介白素-5 (IL-5)軸結合拮抗劑或 IL-33 軸結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-13 軸結合拮抗劑係抗 IL-13 抗體，例如萊比克珠單抗。在一些實施例中，IL-5 軸結合拮抗劑係 IL-5 結合拮抗劑或 IL-5 受體結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 軸結合拮抗劑係 IL-33 結合拮抗劑或 ST2 結合拮抗劑。在一些實施例中，IL-33 結合拮抗劑係抗 IL-33 抗體。

【0378】 在一些實施例中，額外治療劑係氣喘療法，如下文所闡述。目前利用每日吸入之抗發炎性-皮質類固醇或肥大細胞抑制劑(例如色甘酸鈉或奈多羅米(nedocromil))加上根據需要吸入之 β2-激動劑(3-4 次/天)治療中度氣喘以緩解突

發性症狀或過敏原誘發或運動誘發之氣喘。例示性吸入皮質類固醇包括 QVAR®、PULMICORT®、SYMBICORT®、AEROBID®、FLOVENT®、FLONASE®、ADVAIR®及 AZMACORT®。其他氣喘療法包括長效性支氣管擴張劑(LABD)。在某些實施例中，LABD 係長效性 β-2 激動劑(LABA)、白三烯受體拮抗劑(LTRA)、長效性毒蕈鹼拮抗劑(LAMA)、茶鹼或口服皮質類固醇(OCS)。例示性 LABD 包括 SYMBICORT®、ADVAIR®、BROVANA®、FORADIL®、PERFOROMIST™及 SEREVENT®。

【0379】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與支氣管擴張劑或氣喘症狀控制藥劑。在一些實施例中，支氣管擴張劑或氣喘控制藥劑係 β2-腎上腺素激動劑，例如短效性 β2-激動劑(SABA) (例如沙丁胺醇(albuterol))或長效性 β2-腎上腺素激動劑(LABA)。在一些實施例中，LABA 係沙美特羅(salmeterol)、阿貝特羅(abediterol)、茚達特羅(indacaterol)、維蘭特羅(vilanterol)及/或福莫特羅(formoterol)(去水富馬酸福莫特羅)。在一些實施例中，氣喘控制藥劑係白三烯受體拮抗劑(LTRA)。在一些實施例中，LTRA 係孟魯司特(montelukast)、紮魯司特(zafirlukast)及/或齊留通(zileuton)。在一些實施例中，支氣管擴張劑或氣喘控制藥劑係毒蕈鹼拮抗劑，例如長效性毒蕈鹼乙醯膽鹼受體(膽鹼能)拮抗劑(LAMA)。在一些實施例中，LAMA 係格隆銨(glycopyrronium)。在一些實施例中，支氣管擴張劑或氣喘控制藥劑係離子通道激動劑，例如苦味受體(例如 TAS2R)。

【0380】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與支氣管擴張劑。在一些實施例中，支氣管擴張劑係吸入之支氣管擴張劑。在一些實施例中，吸入之支氣管擴張劑係 β2-腎上腺素激動劑。在一些實施例中，β2-腎上腺素激動劑係短效性 β2-腎上腺素激動劑(SABA)。在一些實施例中，SABA 係比托特羅(bitolterol)、非諾特羅(fenoterol)、異丙腎上腺素、左旋沙丁胺醇(levalbuterol)、

奧西那林(metaproterenol)、吡布特羅(pirbuterol)、丙卡特羅(procaterol)、利托君(ritodrine)、沙丁胺醇及/或特布他林(terbutaline)。在一些實施例中，β2-腎上腺素激動劑係長效性 β2-腎上腺素激動劑(LABA)。在一些實施例中，LABA 係阿福特羅(arformoterol)、班布特羅(bambuterol)、克倫特羅(clenbuterol)、福莫特羅、沙美特羅、阿貝特羅、卡莫特羅(carmoterol)、茚達特羅、奧達特羅(olodaterol)及/或維蘭特羅。在一些實施例中，吸入之支氣管擴張劑係毒蕈鹼受體拮抗劑。在一些實施例中，毒蕈鹼受體拮抗劑係短效性毒蕈鹼受體拮抗劑(SAMA)。在一些實施例中，SAMA 係異丙托溴銨(ipratropium bromide)。在一些實施例中，毒蕈鹼受體拮抗劑係長效性毒蕈鹼受體拮抗劑(LAMA)。在一些實施例中，LAMA 係噻托溴銨(tiotropium bromide)、格隆溴銨(glycopyrronium bromide)、蕪地溴銨(umeclidinium bromide)、阿地溴銨(aclidinium bromide)及/或瑞芬那素(revefenacin)。在一些實施例中，吸入之支氣管擴張劑係 SABA/SAMA 組合。在一些實施例中，SABA/SAMA 組合係沙丁胺醇/異丙托銨(ipratropium)。在一些實施例中，吸入之支氣管擴張劑係 LABA/LAMA 組合。在一些實施例中，LABA/LAMA 組合係福莫特羅/阿地銨(aclidinium)、福莫特羅/格隆銨、福莫特羅/噻托銨(tiotropium)、茚達特羅/格隆銨、茚達特羅/噻托銨、奧達特羅/噻托銨、沙美特羅/噻托銨及/或維蘭特羅/蕪地銨(umeclidinium)。在一些實施例中，吸入之支氣管擴張劑係雙功能性支氣管擴張劑。在一些實施例中，雙功能性支氣管擴張劑係毒蕈鹼拮抗劑/β2-激動劑(MABA)。在一些實施例中，MABA 係貝芬特羅(batefenterol)、THRX 200495、AZD 2115、LAS 190792、TEI3252、PF-3429281及/或 PF-4348235。在一些實施例中，吸入之支氣管擴張劑係 TAS2R 之激動劑。在一些實施例中，支氣管擴張劑係霧化 SABA。在一些實施例中，霧化 SABA 係沙丁胺醇及/或左旋沙丁胺醇。在一些實施例中，支氣管擴張劑係霧化 LABA。在一些實施例中，霧化 LABA 係阿福特羅及/或福莫特羅。在一些實施例中，支

氣管擴張劑係霧化 SAMA。在一些實施例中，霧化 SAMA 係異丙托銨。在一些實施例中，支氣管擴張劑係霧化 LAMA。在一些實施例中，霧化 LAMA 係格隆銨及/或瑞芬那素。在一些實施例中，支氣管擴張劑係霧化 SABA/SAMA 組合。在一些實施例中，霧化 SABA/SAMA 組合係沙丁胺醇/異丙托銨。在一些實施例中，支氣管擴張劑係白三烯受體拮抗劑(LTRA)。在一些實施例中，LTRA 係孟魯司特、紮魯司特及/或齊留通。在一些實施例中，支氣管擴張劑係甲基黃嘌呤。在一些實施例中，甲基黃嘌呤係茶鹼。

【0381】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與免疫調節劑。在一些實施例中，該免疫調節劑係針對 E 型免疫球蛋白(IgE)之抗體或抗 IgE (IgE 抑制劑)。在一些實施例中，抗 IgE 係奧馬珠單抗及/或利格珠單抗。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括色甘酸。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括甲基黃嘌呤。在一些實施例中，甲基黃嘌呤係茶鹼或咖啡因。

【0382】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與一或多種皮質類固醇，例如吸入之皮質類固醇(ICS)或口服皮質類固醇。非限制性例示性皮質類固醇包括吸入之皮質類固醇，例如二丙酸倍氯米松(beclomethasone dipropionate)、布地奈德(budesonide)、環索奈德(ciclesonide)、氟尼縮松(flunisolide)、丙酸氟替卡松(fluticasone propionate)、糠酸氟替卡松、莫米松(mometasone)及/或曲安奈德(triamcinolone acetonide)；及口服皮質類固醇，例如甲基潑尼松龍(methylprednisolone)、潑尼松龍及普賴松(prednisone)。在一些實施例中，皮質類固醇係 ICS。在一些實施例中，ICS 係倍氯米松、布地奈德、氟尼縮松、糠酸氟替卡松、丙酸氟替卡松、莫米松、環索奈德及/或曲安西龍(triamcinolone)。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與 ICS/LABA 及/或 LAMA 組合。在一些實施例中，ICS/LABA 及/或 LAMA 組合係丙酸氟替卡松/沙美特羅、布地奈德/福莫特羅、莫米松/福莫特羅、糠酸氟替卡松/維蘭特

羅、丙酸氟替卡松/福莫特羅、倍氯米松/福莫特羅、糠酸氟替卡松/蕪地銨、糠酸氟替卡松/維蘭特羅/蕪地銨、氟替卡松/沙美特羅/噻托銨、倍氯米松/福莫特羅/格隆銨、布地奈德/福莫特羅/格隆銨及/或布地奈德/福莫特羅/噻托銨。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與霧化皮質類固醇。在一些實施例中，霧化皮質類固醇係布地奈德。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與口服或靜脈內皮質類固醇。在一些實施例中，口服或靜脈內皮質類固醇係普賴松、潑尼松龍、甲基潑尼松龍及/或氫化皮質酮

【0383】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與抑制一或多種選自以下之靶標之 TH2 或 T2 路徑抑制劑：ITK、BTK、JAK (JAK1、JAK2 及/或 JAK3)、IL-9、IL-6、IL-5、IL-13、IL-4、IL-17 (例如，IL-17A 及 IL-17F)、OX40L、TSLP、IL-25、IL-33、IgE、IL-9 受體、IL-5 受體、IL-4 受體 α、IL-13 受體(例如，IL-13 受體 α1 及/或 α2)、OX40、TSLP-R、IL-7 受體(例如，IL7Rα)、IL-17 受體(例如，IL-17Rβ)、ST2 (IL-33 受體)、CCR3、CCR4、CRTH2、FcεRI、FcεRII/CD23、Flap、Syk 激酶；CCR4、TLR9、CCR3、趨化介素受體拮抗劑及 GM-CSF。在一些實施例中，該方法進一步包括投與 IL-5 拮抗劑。在一些實施例中，IL-5 拮抗劑係貝那珠單抗、美泊利單抗及/或瑞利珠單抗。在一些實施例中，該方法進一步包括投與 IL-13 拮抗劑。在一些實施例中，IL-13 拮抗劑係萊比克珠單抗、戴曲庫單抗(dectrekumab)或塔羅努單抗(tralokinumab)。在一些實施例中，該方法進一步包括投與 IL-4 拮抗劑(包括 IL-4/IL-13 拮抗劑)。在一些實施例中，IL-4 拮抗劑係杜皮魯單抗(dupilumab)或 QBX-258 (Novartis)。在一些實施例中，該方法進一步包括投與 TSLP 拮抗劑。在一些實施例中，TSLP 拮抗劑係 AMG-157 (MEDI-9929)。在一些實施例中，該方法進一步包括投與 ST2 拮抗劑。在一些實施例中，該方法進一步包括投與 IL-17 拮抗劑。在一些實施例中，IL-17 拮抗劑係蘇金單抗、艾克珠單抗或別克珠單抗。在任一方法之一些實施例中，

該方法進一步包括投與菲匹胺特(fevipiprant)。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與馬賽替尼(masitinib)。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與磷酸二酯酶(PDE)抑制劑或拮抗劑，例如 PDE3 及/或 PDE4 拮抗劑。在一些實施例中，PDE 拮抗劑係 Theo-24、達利司皮(daliresp)或羅氟司特(roflumilast)。

【0384】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與一或多種選自以下之活性成分：胺基柳酸鹽；類固醇；生物製品；巰基嘌呤；胺甲喋呤；鈣調磷酸酶抑制劑，例如環孢黴素(cyclosporine)或他克莫司(tacrolimus)；及抗生素。在任一方法之一些實施例中，該方法包括以經口或局部調配物投與另一活性成分。胺基柳酸鹽之實例包括呈如 Eudragit-S 包衣形式之 4-胺基柳酸、磺胺塞拉金(sulfasalazine)、巴柳氮(balsalazide)、奧沙拉秦(olsalazine)及美沙拉秦(mesalazine)、pH 依賴性美沙拉明(mesalamine)、乙基纖維素包衣之美沙拉明及多基質釋放美沙拉明。類固醇之實例包括皮質類固醇或醣皮質類固醇。皮質類固醇之實例包括普賴松及氫化皮質酮或甲基潑尼松龍，或第二代皮質類固醇，例如布地奈德或硫唑嘌呤；例如呈如氫化皮質酮灌腸劑或氫化皮質酮泡沫之形式。生物製品之實例包括依那西普(etanercept)；針對腫瘤壞死因子 α 之抗體，例如英利昔單抗(infliximab)、阿達木單抗(adalimumab)或賽妥珠單抗(certolizumab)；針對 IL-12 及 IL-23 之抗體，例如優特克單抗(ustekinumab)；維多珠單抗(vedolizumab)；曲麗珠單抗(etrolizumab)及那他珠單抗(natalizumab)。巰基嘌呤之實例包括硫唑嘌呤、6-巰嘌呤及硫鳥嘌呤。抗生素之實例包括萬古黴素(vancomycin)、利福昔明(rifaximin)、甲硝唑、甲氧苄啶(trimethoprim)、磺胺甲噁唑、二胺基二苯基碸及環丙沙星(ciprofloxacin)；及抗病毒劑，如更昔洛韋(ganciclovir)。

【0385】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與抗纖維化劑。在一些實施例中，抗纖維化劑抑制轉化生長因子 β(TGF-β)刺激之膠原合成，減少細胞外基質及/或阻斷纖維母細胞增殖。在一些實施例中，抗纖維化劑係吡非尼酮(pirfenidone)。在一些實施例中，抗纖維化劑係 PBI-4050。在一些實施例中，抗纖維化劑係替魯斯特(tipelukast)。

【0386】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與酪胺酸激酶抑制劑。在一些實施例中，酪胺酸激酶抑制劑抑制介導一或多種纖維形成生長因子加工(elaboration)之酪胺酸激酶。在一些實施例中，纖維形成生長因子係血小板源生長因子、血管內皮 1 生長因子及/或纖維母細胞生長因子。在一些實施例中，酪胺酸激酶抑制劑係伊馬替尼(imatinib)及/或尼達尼布(nintedanib)。在一些實施例中，酪胺酸激酶抑制劑係尼達尼布。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與止瀉劑。在一些實施例中，止瀉劑係洛哌丁胺(loperamide)。

【0387】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與抗體。在一些實施例中，該抗體係抗介白素(IL)-13 抗體。在一些實施例中，抗 IL-13 抗體係塔羅努單抗。在一些實施例中，抗體係抗 IL-4/抗 IL-13 抗體。在一些實施例中，抗 IL-4/抗 IL-13 抗體係 SAR 156597。在一些實施例中，抗體係抗結締組織生長因子(CTGF)抗體。在一些實施例中，抗 CTGF 抗體係 FG-3019。在一些實施例中，抗體係抗離胺醯氧化酶樣 2 (LOXL2)抗體。在一些實施例中，抗 LOXL2 抗體係西妥珠單抗(simtuzumab)。在一些實施例中，抗體係抗 αvβ6 整聯蛋白受體抗體。在一些實施例中，抗 αvβ6 整聯蛋白受體抗體係 STX-100。在一些實施例中，抗體係單株抗體。

【0388】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與溶血磷脂酸-1 (LPA1)受體拮抗劑。在一些實施例中，LPA1 受體拮抗劑係 BMS-986020。在任

一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與半凝乳素 3 抑制劑。在一些實施例中，半凝乳素 3 抑制劑係 TD-139。

【0389】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與姑息性療法。在一些實施例中，姑息性療法包含以下中之一或多者：抗生素、抗焦慮藥、皮質類固醇及類鴉片。在一些實施例中，抗生素係廣譜抗生素。在一些實施例中，抗生素係青黴素(penicillin)、β-內醯胺酶抑制劑及/或頭孢菌素(cephalosporin)。在一些實施例中，抗生素係哌拉西林(piperacillin)/他唑巴坦(tazobactam)、希復欣敏(cefixime)、頭孢曲松(ceftriaxone)及/或頭孢地尼(cefdinir)。在一些實施例中，抗焦慮藥係阿普唑侖(alprazolam)、丁螺環酮(buspirone)、氯丙嗪(chlorpromazine)、二氮平(diazepam)、咪達唑侖(midazolam)、氯羥去甲安定(lorazepam)及/或異丙嗪(promethazine)。在一些實施例中，皮質類固醇係醣皮質類固醇。在一些實施例中，醣皮質類固醇係普賴松、潑尼松龍、甲基潑尼松龍及/或氫化皮質酮。在一些實施例中，類鴉片係嗎啡(morphine)、可待因(codeine)、二氫可待因及/或二乙醯嗎啡。

【0390】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與抗生素。在一些實施例中，抗生素係巨環內酯。在一些實施例中，巨環內酯係阿奇黴素(azithromycin)及/或克拉黴素(clarithromycin)。在一些實施例中，抗生素係去氧羥四環素(doxycycline)。在一些實施例中，抗生素係甲氧苄啶/磺胺甲噁唑。在一些實施例中，抗生素係頭孢菌素。在一些實施例中，頭孢菌素係頭孢吡肟(cefepime)、希復欣敏、頭孢泊肟(cefpodoxime)、頭孢丙烯(cefprozil)、頭孢他啶(ceftazidime)及/或頭孢呋辛(cefuroxime)。在一些實施例中，抗生素係青黴素。在一些實施例中，抗生素係阿莫西林(amoxicillin)、胺苄青黴素(ampicillin)及/或匹胺青黴素(pivampicillin)。在一些實施例中，抗生素係青黴素/β-內醯胺酶抑制劑組合。在一些實施例中，青黴素/β-內醯胺酶抑制劑組合係阿莫西林/克拉維酸

(clavulanate)及/或哌拉西林/他唑巴坦。在一些實施例中，抗生素係氟喹啉酮。在一些實施例中，氟喹啉酮係環丙沙星、吉米沙星(gemifloxacin)、左氧氟沙星(levofloxacin)、莫西沙星(moxifloxacin)及/或氧氟沙星(ofloxacin)。

【0391】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與磷酸二酯酶抑制劑。在一些實施例中，磷酸二酯酶抑制劑係 5 型磷酸二酯酶抑制劑。在一些實施例中，磷酸二酯酶抑制劑係阿伐那非(avanafil)、苯紮米那非(benzamidenafil)、達生他非(dasantafil)、淫羊藿苷(icariin)、羅地那非(lodenafil)、米羅那非(mirodenafil)、西地那非(sildenafil)、他達拉非(tadalafil)、烏地那非(udenafil)及/或伐地那非(vardenafil)。在一些實施例中，PDE 抑制劑係 PDE-4 抑制劑。在一些實施例中，PDE-4 抑制劑係羅氟司特、西洛司特(cilomilast)、替托司特(tetomilast)及/或 CHF6001。在一些實施例中，PDE 抑制劑係 PDE-3/PDE-4 抑制劑。在一些實施例中，PDE-3/PDE-4 抑制劑係 RPL-554。

【0392】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與細胞毒性劑及/或免疫阻抑劑。在一些實施例中，細胞毒性劑及/或免疫阻抑劑係硫唑嘌呤、秋水仙鹼(colchicine)、環磷醯胺、環孢黴素、胺甲喋呤、青黴胺及/或沙利度胺(thalidomide)。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與恢復肺中耗盡麩胱甘肽含量之藥劑。在一些實施例中，恢復肺中耗盡麩胱甘肽含量之藥劑係 *N*-乙醯基半胱胺酸。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與抗凝劑。在一些實施例中，抗凝劑係香豆素(warfarin)、肝素、活化蛋白 C 及/或組織因子路徑抑制劑。

【0393】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與內皮素受體拮抗劑。在一些實施例中，該方法內皮素受體拮抗劑係波生坦(bosentan)、馬替西坦(macitentan)及/或安倍生坦(ambrisentan)。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與 TNF-α 拮抗劑。在一些實施例中，TNF-α 拮抗劑包含以下中之

一或多者：依那西普、阿達木單抗、英利昔單抗、賽妥珠單抗及戈利木單抗(golimumab)。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與干擾素 γ-1b。

【0394】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與介白素(IL)抑制劑。在一些實施例中，該 IL 抑制劑係 IL-5 抑制劑。在一些實施例中，IL-5 抑制劑係美泊利單抗及/或貝那珠單抗。在一些實施例中，IL 抑制劑係 IL-17A 抑制劑。在一些實施例中，IL-17A 抑制劑係 CNTO-6785。

【0395】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與 p38 促分裂原活化之蛋白質激酶(MAPK)抑制劑。在一些實施例中，該 p38 MAPK 抑制劑係洛吡莫德(losmapimod)及/或 AZD-7624。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與 CXCR2 拮抗劑。在一些實施例中，該 CXCR2 拮抗劑係丹尼瑞星(danirixin)。

【0396】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括疫苗接種。在一些實施例中，疫苗接種係針對肺炎球菌(pneumococci)及/或流行性感冒之疫苗接種。在一些實施例中，疫苗接種係針對肺炎鏈球菌(*Streptococcus pneumoniae*)及/或流行性感冒之疫苗接種。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與抗病毒療法。在一些實施例中，抗病毒療法係奧司他韋(oseltamivir)、帕拉米韋(peramivir)及/或紮那米韋(zanamivir)。

【0397】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括預防胃食道逆流及/或反復性微量誤吸。

【0398】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括通氣支持。在一些實施例中，通氣支持係機械通氣。在一些實施例中，通氣支持係無創性通氣。在一些實施例中，通氣支持係補充氧氣。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括肺康復。

【0399】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括肺移植。在一些實施例中，肺移植係單肺移植。在一些實施例中，肺移植係雙肺移植。

【0400】 在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括非藥物干預。在一些實施例中，該非藥物干預係戒菸、健康飲食及/或定期鍛煉。在任一方法之一些實施例中，該方法進一步包括投與用於戒菸之藥理學輔助物。在一些實施例中，該用於戒菸之藥理學輔助物係尼古丁(nicotine)替代療法、安非他酮(bupropion)及/或伐尼克蘭(varenicline)。在一些實施例中，該非藥物干預係肺療法。在一些實施例中，肺療法係肺康復及/或補充氧氣。在一些實施例中，該非藥物干預係肺手術。在一些實施例中，肺手術係肺減容手術、單肺移植、雙肺移植或大皰摘除術。在一些實施例中，該非藥物干預係使用裝置。在一些實施例中，裝置係肺減容彈簧圈、呼氣道支架及/或鼻通氣支持系統。

【0401】 上文提及之此等組合療法涵蓋組合投與(其中兩種或更多種藥劑包括於同一或單獨調配物中)、及單獨投與(在此情形下，抗類胰蛋白酶抗體或其醫藥組合物之投與可在投與額外治療劑之前、同時及/或之後進行)。在一個實施例中，抗類胰蛋白酶抗體或其醫藥組合物之投與及額外治療劑之投與發生在彼此約一個月內；或約 1 週、2 週或 3 週內；或約 1 天、2 天、3 天、4 天、5 天或 6 天內；或約 1 小時、2 小時、3 小時、4 小時、5 小時、6 小時、7 小時、8 小時或 9 小時內；或約 1 分鐘、5 分鐘、10 分鐘、20 分鐘、30 分鐘、40 分鐘或 50 分鐘內。在涉及依序投與之實施例中，抗類胰蛋白酶抗體可在投與額外治療劑之前或之後投與。

【0402】 本發明之抗類胰蛋白酶抗體或其醫藥組合物(及任何額外治療劑)可藉由任何適宜方式來投與，包括非經腸、肺內及鼻內投與。非經腸輸注包括肌內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投與。在一些情況下，本發明之抗類胰蛋白酶抗體可藉由以下方式來投與：玻璃體內、肌內、靜脈內、皮內、經皮膚、

動脈內、腹膜內、病灶內、顱內、關節內、前列腺內、胸膜內、氣管內、鞘內、鼻內、陰道內、直腸內、局部、腫瘤內、經腹膜、皮下、結膜下、囊內、經黏膜、心包內、臍帶內、眼內、眶內、經口、局部、經皮、經眼周、經結膜、眼筋膜囊下、前房內、視網膜下、眼球後、小管內、藉由吸入、藉由注射、藉由植入、藉由輸注、藉由連續輸注、藉由直接局部灌注洗浴靶細胞、藉由導管、藉由灌洗、於霜劑中或於脂質組合物中。在特定情況下，抗體或其醫藥組合物可藉由皮下投與來投與。用於本文所闡述之方法中之組合物亦可全身或局部投與。投用可藉由任何適宜途徑來實施，例如藉由注射(例如靜脈內或皮下注射)，此部分地取決於投與係快速的抑或長期的。本文涵蓋各種投用時間表，包括(但不限於)在不同時間點單次或多次投與、濃注投與及脈衝輸注。

【0403】　本發明之抗體或其醫藥組合物將以與良好醫學實踐相一致之方式調配、投用及投與。在此上下文中需考慮之因素包含所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個體患者之臨床病狀、病因、藥劑之遞送位點、投與方法、投與時間安排及從業醫師已知之其他因素。抗體或其醫藥組合物不必(但視情況)與一或多種當前用於預防或治療所討論病症之藥劑一起調配。此等其他藥劑之有效量視調配物中所存在抗體之量、病症或治療之類型以及上文所論述之其他因素而定。該等藥劑通常以相同劑量及如本文所闡述之投與途徑來使用，或以本文所闡述劑量之約 1%至 99%來使用，或以憑經驗/臨床確定適當之任一劑量及任一途徑來使用。

【0404】　對於疾病之預防或治療，本發明抗體之適當劑量(在單獨使用或與一或多種其他治療劑組合使用時)將取決於欲治療疾病之類型、抗體類型、疾病之嚴重程度及病程、投與抗體係用於預防目的抑或治療目的、先前療法、患者之臨床史及對抗體之反應以及主治醫師之決定。該抗體適於一次性地或經一系列治療投與患者。端視疾病之類型及嚴重程度，不論(例如)係藉由一或多次分開投

與抑或藉由連續輸注來投與，約 1μg /kg 至 15 mg/kg (例如 0.1 mg/kg 至 10 mg/kg)抗體可係投與患者之初始候選劑量。端視以上所提及之因素而定，一種典型日劑量可在約 1μg /kg 至 200 mg/kg 或更高之範圍內。對經若干天或更長時間重複投與而言，端視病狀而定，治療通常將持續至對疾病症狀之期望阻抑出現為止。抗體之一個例示性劑量將在約 0.05 mg/kg 至約 10 mg/kg 範圍內。因此，可向患者投與約 0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg 或 10 mg/kg(或其任何組合)之一或多個劑量。此等劑量可間歇性投與，例如每週、每兩週、每三週或每四週(例如，以使患者接受約 2 個至約 20 個或(例如)約 6 個劑量之抗體)。舉例而言，劑量可每月投與一次(例如，藉由皮下注射)。可首先投與較高負荷劑量，之後投與一或多個較低劑量。然而，其他劑量方案可係有用的。此療法之進展可容易地藉由習用技術及分析進行監測。在一些情況下，可(例如)藉由皮下注射投與約 50 mg/mL 至約 200 mg/mL(例如，約 50 mg/mL、約 60 mg/mL、約 70 mg/mL、約 80 mg/mL、約 90 mg/mL、約 100 mg/mL、約 110 mg/mL、約 120 mg/mL、約 130 mg/mL、約 140 mg/mL、約 150 mg/mL、約 160 mg/mL、約 170 mg/mL、約 180 mg/mL、約 190 mg/mL 或約 200 mg/mL)之劑量之抗體。在一些情況下，可藉由皮下注射投與約 150 mg/mL 之抗體。

【0405】 應理解，可使用本發明之免疫偶聯物替代抗類胰蛋白酶抗體或與抗類胰蛋白酶抗體一起來實施任一上述調配物或治療方法。

H. 製品

【0406】 在本發明之另一態樣中，提供含有可用於治療、預防及/或診斷上文所闡述病症之材料之製品。該製品包含容器及位於該容器上或與該容器相連之標記或包裝插頁。適宜容器包括(例如)瓶、小瓶、注射器、IV 溶液袋等。該等容器可自多種材料(例如玻璃或塑膠)形成。容器容納組合物自身或該組合物與另一有效治療、預防及/或診斷病狀之組合物之組合，且可具有無菌通路埠(例如，

容器可為靜脈內溶液袋或小瓶，其具有可藉由皮下注射針刺穿之塞子)。該組合物中至少一種活性劑為本發明之抗體或其醫藥組合物。標記或包裝插頁指示該組合物用於治療所選擇之病狀。此外，該製品可包含(a)含有組合物之第一容器，其中該組合物包含本發明之抗體；及(b)含有組合物之第二容器，其中該組合物包含額外治療劑。本發明之此實施例中之製品可進一步包含指示組合物可用於治療特定病狀之包裝插頁。或者或另外，該製品可進一步包含第二(或第三)容器，該容器包含醫藥學上可接受之緩衝液，例如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)及右旋糖溶液。其可進一步包括自商業及使用者角度期望之其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

【0407】 應理解，以上製品中之任一者均可包括本發明之免疫偶聯物來替代抗類胰蛋白酶抗體或與抗類胰蛋白酶抗體一起使用。

III. 實例

【0408】 以下係本發明之方法及組合物之實例。應理解，鑒於上文所提供之一般說明可實踐各種其他實施例。除非明確指示，否則在研究中使用人類類胰蛋白酶 β1。

實例 1：抗類胰蛋白酶抗體之產生及人類化

A. 材料及方法

【0409】 殘基編號係根據 Kabat 等人，*Sequences of proteins of immunological interest,* 第 5 版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991。

(i) 昆蟲細胞及哺乳動物細胞中類胰蛋白酶之重組表現及純化

【0410】 將編碼成熟野生型人類類胰蛋白酶 β1 (Ile16 - Pro246 胰凝乳蛋白酶原編號，SEQ ID NO: 97)之序列選殖至經修飾 pAcGP67A 載體中位於多角體啟動

子及 gp67 分泌信號序列後面。除非另有註明，否則在此部分中類胰蛋白酶係指人類類胰蛋白酶 β1 (亦稱為人類類胰蛋白酶 b1)。構築體含有 N 末端 His6 標籤、腸激酶裂解位點且對於一些構築體而言亦含有 C 末端 FLAG 標籤。使用標準 QuikChange™方案(Stratagene)實施定點誘變以產生類胰蛋白酶突變體。所有構築體均藉由 DNA 定序來確認。遵循標準方案使用 BaculoGold™系統(BD Biosciences)在 Sf9 細胞中產生重組桿狀病毒(baculovirus)。感染粉紋夜蛾(*Trichoplusia ni*)細胞用於大規模蛋白質產生且在感染後 48 h 收穫。對收穫之培養基補充 1 mM $NiCl_2$、5 mM $CaCl_2$ 及 20 mM Tris pH 8，振盪 30 min 且接著在 8500 × g 下離心 20 min 以自培養基去除細胞及沈澱物。經由 0.22 μm 聚醚碸(PES)過濾器過濾上清液培養基，之後裝載至鎳-次氮基三乙酸(Ni-NTA)親和管柱上。亦藉由在 CHO DP12 哺乳動物細胞系中瞬時轉染來表現人類類胰蛋白酶 β1。如下文所闡述以 Ni-NTA 親和純化開始使細胞培養基經受相同純化。

【0411】 將含有經分泌之帶 His6 標籤之重組類胰蛋白酶(野生型或突變體)昆蟲培養基或 CHO 培養基以 170 cm/h 之體積流速裝載至 10 mL Ni-NTA Superflow 管柱(Qiagen)上。用 10 CV (管柱體積)之洗滌緩衝液(20 mM Tris pH 8，10 mM 咪唑，300 mM NaCl)洗滌管柱且用 8 CV 溶析緩衝液(20 mM Tris pH 8，300 mM 咪唑，300 mM NaCl)進行溶析。將經十二烷基硫酸鈉聚丙烯醯胺凝膠電泳(SDS-PAGE)分析含有類胰蛋白酶之部分合併，濃縮，且使用運行緩衝液(10 mM 3-(*N*-嗎啉基)丙磺酸(MOPS) pH 6.8, 2 M NaCl)以製造商推薦之流速裝載至 S200 粒徑篩析管柱(GE Healthcare)上以進一步純化。合併且濃縮含有帶 His 標籤之重組類胰蛋白酶(單體)之部分。接著使重組類胰蛋白酶以於含有 0.5 mg/ml 肝素(Sigma Aldrich)及 0.1 mg/ml 腸激酶(New England Biolabs, Inc)之緩衝液(10 mM MOPS pH 6.8, 0.2 M NaCl)中 2 mg/ml 之濃度在室溫下裂解過夜。此步驟去除 N 末端 His6-標籤且產生四聚體化及蛋白水解活性之類胰蛋白酶，其具有 IVGG 作

為在殘基 16 (胰凝乳蛋白酶原編號)處開始新形成之 N 末端序列。接著使用 S200 管柱(GE Healthcare)於緩衝液(10 mM MOPS pH 6.8 及 2 M NaCl)中使四聚體類胰蛋白酶經受粒徑篩析層析以藉由去除腸激酶及任何未裂解之重組類胰蛋白酶來純化四聚體類胰蛋白酶。

【0412】 藉由如上文所闡述之 Ni-親和層析純化類胰蛋白酶突變體 Y75C 及 I99C 以及無催化活性之突變體 S195A (胰凝乳蛋白酶原編號，對應於全長類胰蛋白酶序列 SEQ ID NO: 71 之 Ser224 至 Ala 取代)。接著藉由 S200 粒徑篩析層析使二硫鍵連接之類胰蛋白酶二聚體突變體與非二硫鍵連接之類胰蛋白酶單體突變體分離。如上文針對野生型類胰蛋白酶所闡述，將二硫鍵連接之二聚體突變體進一步處理成四聚體。

(ii) 抗人類類胰蛋白酶兔及小鼠單株抗體產生

【0413】 利用弗氏完全佐劑(Freund's Complete Adjuvant，CFA)用 CHO 源人類類胰蛋白酶 β1 (四聚體)對兩隻兔進行免疫。利用弗氏不完全佐劑(Freund's Incomplete Adjuvant，IFA)，用相同蛋白質每 2 週 1 次對兔進行加強免疫。在 4 次注射之後，藉由酶聯免疫吸附分析(ELISA)評估經純化血清樣品之結合且使用酶活性分析評估對人類類胰蛋白酶活性之抑制。接著將自一隻兔收穫之脾的 B 細胞(其展示對人類類胰蛋白酶活性之抑制)與兔融合搭配物融合。在 10-14 天之後，收穫上清液且藉由 ELISA 篩選蛋白質結合。

【0414】 ELISA 方案如下。用 NeutrAvidin®生物素結合蛋白(Thermo Scientific 目錄號 31000，原液 10 mg/ml)以 5 μg/ml、100 μl/孔將 96 孔 NUNC MAXISORB® ELISA 板塗覆過夜。用洗滌緩衝液(含有 0.05% TWEEN®-20 之 PBS)將孔洗滌三次且吸乾。接著用 200 μl/孔之封阻緩衝液(含有 0.5%牛血清白蛋白(BSA)及 0.05% TWEEN®-20 之 PBS)將孔封阻，且在室溫下培育大於或等於 30 min。將生物素化人類類胰蛋白酶 β1 蛋白質(稀釋於分析緩衝液中；含有 0.5% BSA、0.05%

TWEEN®-20 及 0.1 mg/ml 肝素之 PBS)以 1 μg/ml 添加至孔，且在室溫下培育 1 h ±10 min。納入肝素以確保類胰蛋白酶仍然為四聚體。用洗滌緩衝液(200 μl/孔)將孔洗滌三次且吸乾。將雜交瘤上清液(樣品)或對照(例如，陽性對照兔純化之多株抗體 YZ4209 (原液 0.25 mg/ml)添加至孔(稀釋於分析緩衝液中，100 μl/孔)，且在室溫下培育 1 h。接下來，用洗滌緩衝液(200 μl/孔)將孔洗滌三次且吸乾。添加辣根過氧化物酶(HRP)偶聯物(山羊抗兔 IgG (H+L) HRP；Thermo Scientific 目錄號 31460) (以 1:10,000 稀釋於分析緩衝液中，100 μl/孔)，且在室溫下培育 30 min。再用洗滌緩衝液(200 μl/孔)將孔洗滌三次且吸乾。添加受質(BioFX TMB 受質，產品號：TMBW-1000-01) (100 μl/孔)，且在室溫下培育 5 min。藉由添加 100 μl/孔之 BioFX 停止溶液(產品號：BSTP-0100-01)使反應停止，且在 A_{650} 下讀板。

【0415】 藉由親和層析使用標準方法(MabSelect SuRe™；GE Healthcare)來純化所有 ELISA 陽性純系，且接著在重組類胰蛋白酶活性分析中篩選對人類類胰蛋白酶活性之抑制。簡言之，將抗體在 pH 7.4 之 PBS 中自 0.007 ng/mL 稀釋至 100,000 ng/mL (0.046 pM 至 667 nM)。將重組人類類胰蛋白酶 β1 於 TNH 緩衝液(200 mM Tris，150 mM NaCl，0.1 mg/mL 肝素，0.01% TRITON™ X-100，pH 8.0)中稀釋至 3 nM，且與抗類胰蛋白酶抗體 1:1 合併於黑色 384 孔板(ViewPlate-384 F，黑色，透明底，Perkin Elmer，目錄號 6007470)中。將板在輕柔攪動下在環境溫度下培育 1 h。將比色受質 S-2288 (Chromogenix，部件號 82-0852-39)於 TNH 緩衝液中稀釋至 900 μM 且添加至板。最終孔內濃度為 300 μM S-2288、1 nM 重組人類類胰蛋白酶 β1 及 0.015 pM 至 222 nM 抗類胰蛋白酶抗體。將板在輕柔攪動下在環境溫度下培育 40 min 且接著在 A_{405} 下讀取。自抗類胰蛋白酶抗體之各別曲線之四參數擬合確定其半數最大抑制濃度(IC50)。接著藉由有限稀釋(單細胞/孔)亞選殖展示所期望抑制之純系，如上文所闡述重新測試且進一步表徵。

【0416】 產生小鼠雜交瘤且進行篩選，且以類似方式分析陽性純系。用經純化之類胰蛋白酶蛋白作為抗原(EPC, Inc.編號 TR913)對三隻 A/J 小鼠(Harlan, Indianapolis, Ind.)進行免疫。在與完全弗氏佐劑(第一次免疫)或不完全弗氏佐劑(第二次、第三次及第四次免疫) 1:1 混合且乳化之後，將酶活性類胰蛋白酶以每次免疫 20 μg/小鼠皮下及腹膜內投與。加強免疫(第五次免疫)無佐劑。第四次免疫後，藉由 ELISA 測試來自免疫小鼠之血清，且選擇血清效價高於 OD_{450} >2.16 (稀釋度為 1:1.28 × 10^4)之小鼠用於雜交瘤融合。使 107 × 10^6 個經分離脾細胞與 100 × 10^6 個 Sp2/0 骨髓瘤細胞(ATCC)混合以在聚乙二醇(Sigma-Aldrich，目錄號 P7777-5G)存在下進行融合。篩選 24 個純系對類胰蛋白酶之結合且分析對類胰蛋白酶酶活性之抑制。選擇純系 T31a (在本文中亦稱為「31A」及「mu.31A」)用於人類化。

(iii) 兔抗類胰蛋白酶雜交瘤純系之分子選殖及重組

【0417】 自產生兔抗類胰蛋白酶單株抗體之雜交瘤細胞提取總 RNA (RNeasy® Mini Kit, Qiagen)。使用 SMARTer® RACE cDNA 擴增套組(Clontech)，首先將 RNA 反轉錄，接著經受第一鏈 cDNA 合成且利用以下引子使可變輕鏈(VL)及可變重鏈(VH)結構域進行 5’ RACE PCR 擴增：

輕鏈(LC)正向引子：

Universal Primer Mix (SMARTer® RACE cDNA 擴增套組，Clontech，目錄號 634858)

重鏈(HC)正向引子：

Universal Primer Mix (SMARTer® RACE cDNA 擴增套組，Clontech，目錄號 634858)

LC 反向引子：

5’-GATGGTGACTGTTCCAGTTGC-3’ (SEQ ID NO: 74)

HC 反向引子：

5’-CATTGGTGAGGGTGCCCGAGTTC-3’ (SEQ ID NO: 75)

LC 及 HC 反向引子設計為與恆定輕鏈(CL)及恆定重鏈結構域 1 (CH1)中之區域退火。

【0418】 直接定序擴增之 PCR 產物。接著將經鑑別 VL DNA 序列亞選殖至含有人類 κ 恆定結構域之 pRK 哺乳動物細胞表現載體中。將 VH DNA 序列插入至編碼全長人類 γ1 恆定結構域之 pRK 載體中。

(iv) 兔抗類胰蛋白酶單株抗體 E104 之人類化

【0419】 將來自兔抗類胰蛋白酶單株抗體 E104 之 VL (SEQ ID NO: 53)及 VH (SEQ ID NO: 52)結構域與人類 VL κI (VL_{KI})及人類 VH 亞組 IV (VH_{IV})共有序列(分別 SEQ ID NO: 92 及 93)進行比對。參見例如 Dennis，第 2 章 CDR Repair: A Novel Approach to Antibody Humanization in *Current Trends in Monoclonal Antibody Development and Manufacturing*，編輯 Shire 等人，Springer, New York, NY。將超變區(HVR)工程化至共有人類 VL_{KI} 及 VH_{IV} 接受體框架中以產生 CDR 移植變體。自 E104 VL 結構域，將位置 24-34 (L1)、50-56 (L2)及 89-97 (L3)移植至 VL_{KI} 中。自 VH 結構域，將位置 26-35b (H1)、50-65 (H2)及 93-102 (H3)移植至 VH_{IV} 中。為評估可能重要之框架標位置，將選定之標位置突變回至兔序列。突變回至兔序列之標位置包括 VL 中之位置 2、4、43、68 及 87 及 VH 中之 37、67、71、78 及 91。

【0420】 亦將來自兔抗類胰蛋白酶單株抗體 E104 之 VL 及 VH 結構域與人類 VL κI (VL_{KI})及人類 VH 亞組 III (VH_{III})共有序列(分別 SEQ ID NO: 92 及 94)進行比對。參見 Dennis，上文文獻。將超變區(HVR)工程化至共有人類 VL_{KI} 及 VH_{III} 接受體框架中以產生 CDR 移植變體。自 rab.E104 VL 結構域，將位置 24-34 (L1)、

50-56 (L2)及 89-97 (L3)移植至 VL_{KI} 中。自 VH 結構域，將位置 26-35 (H1)、50-65 (H2)及 93-102 (H3)移植至 VH_{III} 中。

【0421】 總計合成兩種不同形式之人類化 VL 序列及六種不同形式之人類化 VH 序列，且隨後亞選殖至 pRK 哺乳動物表現載體中。藉由組合不同形式之 LC 及 HC，總計產生 12 種不同之人類化 E104 變體(v1 至 v12)(表 3)。所有人類化抗類胰蛋白酶變體均在哺乳動物細胞中表現為 IgG1 或 IgG4 抗體。藉由親和層析使用標準方法(MabSelect SuRe™；GE Healthcare)來純化抗體。實例部分中所使用之所有 IgG4 抗體均在重鏈恆定區中包括 S228P 突變(EU 編號)；然而，本文所闡述之本發明並不限於具有 S228P 突變之 IgG4 變體。

【0422】 編碼 huE104.v2 之 VH 結構域之 DNA 序列示於 SEQ ID NO: 109 中。編碼 huE104.v2 之 VL 結構域之 DNA 序列示於 SEQ ID NO: 110 中。編碼重鏈(IgG1)之 DNA 序列示於 SEQ ID NO: 111 中。編碼重鏈(IgG4.S228P)之 DNA 序列示於 SEQ ID NO: 113 中。編碼輕鏈(IgG1 及 IgG4)之 DNA 序列示於 SEQ ID NO: 112 中。huE104.v2 IgG1 之重鏈(HC)胺基酸序列示於 SEQ ID NO: 80 中。huE104.v2 (IgG1 或 IgG4)之輕鏈(LC)胺基酸序列示於 SEQ ID NO: 81 中。huE104.v2 IgG4 S228P 之 HC 胺基酸序列示於 SEQ ID NO: 82 中。

(v) 小鼠抗類胰蛋白酶單株抗體 31A 之人類化

【0423】 將來自小鼠抗類胰蛋白酶單株抗體 31A (「mu.31A」)之 VL (SEQ ID NO: 20)及 VH (SEQ ID NO: 19)結構域與人類 VL κI (VL_{KI})及人類 VH 亞組 III (VH_{III})共有序列(分別 SEQ ID NO: 92 及 93)進行比對。將超變區(HVR)工程化至共有人類 VL_{KI} 及 VH_{III} 接受體框架中以產生 CDR 移植變體。自 mu.31A VL 結構域，將位置 24-34 (L1)、50-56 (L2)及 89-97 (L3)移植至 VL_{KI} 中。自 mu.31A VH 結構域，將位置 26-35 (H1)、50-65 (H2)及 93-102 (H3)移植至 VH_{III} 中。為評估框

架標位置之重要性，將選定之標位置變回至小鼠序列。突變回至小鼠序列之標位置包括 VL 中之位置 4、43、46、47 及 71 及 VH 中之位置 49。

【0424】 總而言之，合成三種人類化 LC 及五種人類化 HC，且隨後亞選殖至 pRK 哺乳動物表現載體中。藉由組合不同形式之 LC 及 HC，產生總計十五種不同之 31A (「hu31A」)人類化變體(v1 至 v15)(表 4)。

【0425】 所有人類化抗類胰蛋白酶變體均在哺乳動物細胞中表現為 IgG1 或 IgG4 抗體。藉由親和層析使用標準方法(MabSelect SuRe™；GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA)來純化抗體。

【0426】 編碼 hu31A.v11 之 VH 結構域之 DNA 序列示於 SEQ ID NO: 104 中。編碼 hu31A.v11 之 VL 結構域之 DNA 序列示於 SEQ ID NO: 105 中。編碼重鏈(IgG1)之 DNA 序列示於 SEQ ID NO: 106 中。編碼重鏈(IgG4.S228P)之 DNA 序列示於 SEQ ID NO: 108 中。編碼輕鏈(IgG1 及 IgG4)之 DNA 序列示於 SEQ ID NO: 107 中。hu31A.v11 IgG1 之 HC 胺基酸序列示於 SEQ ID NO: 76 中。hu31A.v11 IgG1 之 LC 胺基酸序列示於 SEQ ID NO: 77 中。hu31A.v11 IgG4 S228P 之 HC 胺基酸序列示於 SEQ ID NO: 78 中。hu31A.v11 IgG4 S228P 之 LC 胺基酸序列示於 SEQ ID NO: 79 中。

(vi) Fab 片段之選殖、表現及純化

【0427】 如先前所闡述將 Fab 選殖且表現於大腸桿菌中(參見 Simmons 等人，*J. Immunol. Methods* 263:133-147, 2002；Lombana 等人，*Sci. Rep.* 5:17488, 2015)。自表現 Fab 之醱酵物收穫含有所表現 Fab 之大腸桿菌細胞糊狀物且溶解至含有 25 mM EDTA 及 1 mM 苯甲基磺醯氟(PMSF)之 PBS 緩衝液中。將混合物均質且接著兩次通過微流化器。接著使懸浮液在 21,500 × g 下離心 60 min。接著將上清液以 5 ml/min 裝載至經 PBS 平衡之蛋白質 G 管柱上。用 PBS 緩衝液將管柱洗滌至基線，且接著用 0.6%乙酸溶析蛋白質。將如藉由 SDS-PAGE 分析含有 Fab 之

部分合併且接著裝載至於 20 mM MES (pH 5.5)中平衡之 50 mL SP SEPHAROSE®管柱上。用 20 mM MES 緩衝液(pH 5.5)將管柱洗滌 2 個管柱體積，且接著利用至於 20 mM MES 緩衝液(pH 5.5)中之 0.5M NaCl 的線性梯度進行溶析。對於最終純化，將來自離子交換層析之含 Fab 部分濃縮且在 PBS 緩衝液中之 S75 粒徑篩析管柱上運行。針對實驗中所使用之所有 Fab 使用相同方案。

(vii) 人類化抗類胰蛋白酶變體之 BIAcore®表面電漿共振(SPR)分析

【0428】 在此實驗中，藉由瞬時轉染 293 細胞將所有人類化變體均表現為 IgG。利用蛋白質 G 親和層析純化 IgG。藉由 SPR 分析使用 BIAcore® T200 測定每一變體對重組帶 His 標籤之人類類胰蛋白酶 β1 單體(SEQ ID NO: 128)之親和力。以 BIAcore® Series S CM5 感測器晶片固定化單株小鼠抗人類 IgG (Fc)抗體(來自 GE Healthcare 之人類抗體捕獲套組)，且隨後在每一流動細胞上捕獲抗類胰蛋白酶變體。以 30 μl/min 之流速注射人類類胰蛋白酶 β1 單體之連續 3 倍稀釋液。以 3 min 締合及 10 min 解離來分析每一樣品。在每次注射後，使用 3 M $MgCl_2$ 使晶片再生。結合反應係藉由減去以相似密度捕獲無關 IgG 之流動細胞之反應單位(RU)來校正。使用同時擬合 k_{on} 及 k_{off} 之 1:1 Languir 模型進行動力學分析。

(viii) 人類化抗類胰蛋白酶變體之抑制活性分析

a. 類胰蛋白酶酶分析

【0429】 使用重組類胰蛋白酶活性分析來量測人類化抗類胰蛋白酶抗體對人類類胰蛋白酶活性之抑制。將 hu31a.v11 IgG4 及 hu31a.v11 IgG1 於 PBS, pH 7.4 中自 0.05 μg/ml 至 100 μg/ml (0.30 nM 至 667 nM)稀釋，且將 huE104.v2 IgG4 及 huE104.v2 IgG1 於 PBS pH 7.4 中自 0.02 μg/ml 至 50 μg/ml (0.15 nM 至 333 nM)稀釋。將重組人類類胰蛋白酶 β1 四聚體活性酶於 TNH 緩衝液(200 mM Tris，150 mM NaCl，0.1 mg/mL 肝素，0.01% TRITON™ X-100，pH 8.0)中稀釋至 0.75 nM，且與抗類胰蛋白酶抗體 1:1 組合於黑色 384 孔板(ViewPlate-384 F，黑色，透明底，

Perkin Elmer，目錄號 6007470)中。將板在輕柔攪動下在環境溫度下培育 1 h。將比色受質 S-2288 (Chromogenix，部件號 82-0852-39)於 TNH 緩衝液中稀釋至 1200 μM 且添加至板。最終孔內濃度為 400 μM S-2288、0.25 nM 重組人類類胰蛋白酶 β1 四聚體、66 μg/ mL 肝素及對於 hu31A.v11，0.10 nM 至 222 nM 抗類胰蛋白酶抗體(且對於 huE104.v2，0.05 nM 至 111 nM 抗類胰蛋白酶抗體)。將板在輕柔攪動下在環境溫度下培育 40 min 且接著在 A_{405} 下讀取。自抗類胰蛋白酶抗體之各別曲線之四參數擬合確定其 IC50。

b. 支氣管平滑肌細胞增殖分析及基於膠原之收縮分析

【0430】 將人類支氣管平滑肌細胞(BSMCs；目錄號 CC-2576，Lonza Minneapolis, MN)在完全培養基 SmGM-2 (目錄號 CC-3182，Lonza)中於 37°C及 5% CO_2 下之濕潤培育器中培育。分析培養基係不含人類血清或添加補充物之 SmGm-2 培養基(目錄號 CC-3181，Lonza)。以指定濃度使用人類野生型四聚體類胰蛋白酶或人類 S195A 無催化活性之類胰蛋白酶酶(胰凝乳蛋白酶原編號)。以指定濃度使用抗人類類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 IgG4 及 E104.v2 IgG4。

【0431】 對於增殖分析，在實施分析之前 1 天，於 96 孔組織培養板(目錄號 353072，Falcon BD)中將 BSMC 以 2×10^5 個細胞/ml 平鋪於完全培養基中。24 h 後，用分析培養基替換培養基，且將細胞再培育 24 h。於 96 孔組織培養板(目錄號 353072，Falcon BD)中將抗人類類胰蛋白酶抗體於分析培養基中連續稀釋 3.3 倍。將 100 μL 之經稀釋 hu31A.v11 IgG4 轉移至含有 100 μL 200 nM 人類類胰蛋白酶之 96 孔板。將活性類胰蛋白酶及抗人類類胰蛋白酶抗體在室溫下培育 30 min。此時，自平鋪細胞去除分析培養基且用 100 μL 經稀釋抗體加類胰蛋白酶替換。抗體之最終濃度在 2.0 μM 至 4 pM 範圍內。類胰蛋白酶之最終濃度為 100 nM (無肝素)。最終鹽濃度為約 130 mM。具有單獨之類胰蛋白酶之孔包括為刺激對照。具有單獨之分析培養基之孔包括為未刺激對照。將板在 37°C下培育 24 h，

之後每孔添加 1 μCi H^3-胸苷。再培育 6 h 之後，藉由 H^3-胸苷併入來量測增殖。藉由閃爍計數來量化細胞相關放射性。結果表示為一式三份樣品之平均值。生成圖表且使用 KaleidaGraph (Synergy Software)實施統計學分析。

【0432】 對於基於膠原之收縮分析，在實施分析之前 1 天，遵循製造商之指南(目錄號 CBA-201，Cell BioLabs Inc.)於 24 孔板(目錄號 353047，Falcon BD)中將 BSMC 以 9×10^6 個細胞/mL 平鋪於膠原中。在 37°C下培育 1 h 之後，用 1 mL 分析培養基覆蓋細胞。在 37°C下培育 24 h 之後，用 250 μL 新鮮分析培養基替換培養基。在 4 μM 抗人類類胰蛋白酶抗體存在下或不存在下，將類胰蛋白酶於 250 μL 分析培養基中稀釋至 660 nM，且在 37°C下培育 30 min，之後添加至含有細胞:膠原基質之指定孔。最終濃度為 330 nM 類胰蛋白酶及 2 μM 抗體(無肝素)。最終鹽濃度為約 130 mM。細胞收縮係藉由使用無菌吸量管尖端自板壁釋放細胞:膠原基質來起始。單獨之分析培養基用作未刺激對照。在細胞收縮開始時(t=0)，使用 ProteinSimpleαImager®將細胞:膠原基質可視化，成像且記錄。將細胞再在 37°下培育 3 h 且使細胞:膠原基質再成像且記錄(t=3)。使用 NIH Image J 軟體分析數據。數據表示為細胞:膠原基質直徑自收縮開始(t=0)直至 3 h 時間點(t=3)為止之百分比變化。結果表示為一式三份樣品之平均值。

c. 肥大細胞組胺釋放分析

【0433】 使用人類肥大細胞系 LAD2。於 37°C及 5% CO_2 之濕潤培育器中將 LAD2 細胞培養於含有 StemPro®-34 營養補充物(目錄號 10640-019，Gibco/Life Technologies)、1×青黴素-鏈黴素-麩醯胺酸(目錄號 10378-016，Gibco/Life Technologies)及 100 ng/mL 重組人類幹細胞因子(SCF) (目錄號 573908，BioLegend)之無血清生長培養基 StemPro®-34 中。參見 Kirshenbaum 等人，*Leukemia Research* 27:677-682, 2003。以指定濃度使用人類類胰蛋白酶野生型或人類類胰蛋白酶 S195A 突變體。抗 NP 人類 IgE (JW8.5.13；參見 Jackman 等人，

J. Biol Chem. 285(27):20850-20859, 2010)係自 Serotec Inc 獲得。以指定濃度使用 NP-BSA (目錄號 N5050H-10，Biosearch Technologies, Petaluma, CA)以用於觸發組胺釋放。以指定濃度使用抗人類類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 IgG4 及 E104.v2 IgG4。以指定濃度使用小分子抑制劑 G02849855。使用台氏鹽(Tyrode's Salt)(目錄號 T-2397，Sigma)來實施細胞刺激。使用 ELISA 套組(GenWay. 目錄號 40-371-25010)來量測組胺。

【0434】 對於人類 IgE 觸發之組胺釋放分析，將 LAD2 細胞以 4×10^6 個細胞/4 ml 平鋪於 6 孔皿之 2 個孔中。將抗 NP IgE (100 ng/ml)添加至 1 個孔且將細胞在 37°C下培育過夜以引發細胞。在另一孔中，將細胞僅培養於培養基中而不添加抗 NP IgE，作為陰性對照。過夜培育後，用細胞培養基將細胞洗滌 3 次以去除未結合之 IgE。將細胞重新懸浮於 4 mL 台氏鹽(細胞密度 1×10^6 個細胞/ml)中，且等分至 Eppendorf®管(300,000 個細胞/管)中。將樣品與 100 μg/mL hu31A.v11 IgG4 或 10 μM G02849855 一起培育，充分混合，且在室溫下培育 1 h。在此培育之後，將 NP-BSA 以 0.1 μg/mL 之最終濃度添加至樣品以觸發細胞脫粒。將樣品充分混合且在 37°C下於 CO_2 培育器中培育 1 h。接著使細胞在室溫下在 3000 rpm 下離心 5 min，且收集上清液用於組胺量測。使用組胺 ELISA 套組來定量脫粒上清液中之組胺。數據表示為一式兩份樣品之平均值。

【0435】 對於人類類胰蛋白酶觸發之組胺釋放分析，將 LAD2 細胞以 10^6 個細胞/mL 之濃度重新懸浮於台氏鹽中且等分至 Eppendorf®管(300,000 個細胞/管)中。為促進細胞脫粒，利用 3 μg/mL 類胰蛋白酶(野生型或 S195A 突變體)或 3 μg/mL 類胰蛋白酶來處理細胞，該等細胞已與 100 μg/mL hu31A.v11 一起在室溫下預培育 45 min。PBS 用作無刺激對照。將樣品充分混合且在 37°C下於 CO_2 培育器中培育 1 h。最終鹽濃度為約 140 mM。接著使細胞在室溫下在 3000 rpm 下

離心 5 min，且收集上清液用於組胺量測。使用組胺 ELISA 套組來定量脫粒上清液中之組胺。數據表示為一式兩份樣品之平均值。

(ix) 重組類胰蛋白酶單體及四聚體之純化

【0436】 將無內源性信號肽(SEQ ID NO: 71 之胺基酸殘基 1-15)及前肽(SEQ ID NO: 71 之胺基酸殘基 16-30)之人類類胰蛋白酶在哺乳動物 CHO 細胞中表現為具有經改造之腸激酶裂解位點之帶 His 標籤之重組蛋白質，且使其經歷 5× 超濾，之後 5×稀釋至 PBS 中。接著將培養基裝載於 Ni-NTA 管柱上且用 250 mM 咪唑溶析。將析出液透析至 10 mM MOPS, 0.2M NaCl, pH 6.8 緩衝液中，產生單體類胰蛋白酶。未裂解之帶 His6 標籤之類胰蛋白酶單體仍為單體且不形成四聚體。

【0437】 為產生四聚體類胰蛋白酶，使用 0.1 mg/ml 腸激酶酶消化含有 His 標籤之單體類胰蛋白酶，且在室溫下利用 0.5 mg/ml 之硫酸聚葡萄糖-10 鈉鹽穩定化 16-20 h。使蛋白質通過 SUPERDEX™ 200 管柱進入 10 mM MOPS, 2M NaCl, pH 6.8 之最終緩衝液中以自單體及自任何污染蛋白酶之殘餘物分離四聚體。例示性經純化之四聚體示於圖 3A 中，峰 1。合併之四聚體類胰蛋白酶用於免疫及活性分析。

B. 結果

(i) 雜交瘤選殖

【0438】 來自 ELISA-陽性雜交瘤純系之五種兔抗類胰蛋白酶抗體之分子選殖揭示四種獨特之抗類胰蛋白酶純系。在該等純系中，純系 E104 在酶分析中顯示最強抑制活性，且經選擇用於進一步改造。同時，在酶分析中顯示抑制活性之鼠類抗類胰蛋白酶單株抗體純系 31A 亦經選擇用於進一步改造。

(ii) 嵌合 E104 (chE104)變體之產生

【0439】 兔抗類胰蛋白酶單株抗體 E104 之輕鏈係兔 κ 輕鏈，其在可變結構域(VL)之 FR3 中之 Cys80 與恆定結構域(CL)中之 Cys170 之間含有二硫橋。為評估 VL 中 Cys80 之重要性，產生位置 80 處之半胱胺酸突變為丙胺酸(Cys80Ala)之嵌合 E104 變體。如表 2 中所示，就產量或聚集而言，兩種變體之間無差異，如藉由粒徑篩析層析所測定之 Cys80 及 Cys80Ala 嵌合變體二者中之高單體%所證明。因此，確定 Cys80 殘基不係關鍵的且在人類化形式中，Cys80 變為如 VH4 移植中之脯胺酸殘基。另外，在可變結構域 FR3 中具有 Cys80Ala 突變之嵌合 E104 抗體(融合至人類 IgG1 或 IgG4 恆定結構域)顯示與在位置 80 處具有半胱胺酸之兔單株抗體相似之抑制活性(數據未顯示)。

表 2：抗類胰蛋白酶抗體 E104 之 Cys80 殘基對產量及聚集之效應

抗類胰蛋白酶純系	輕鏈變體(位置80殘基)	產量(mg)	單體%
E104	chE104.C	3.01	95.45
	chE104.A	3.14	95.2

(iii) 兔抗類胰蛋白酶單株抗體純系 E104 及小鼠抗類胰蛋白酶單株抗體純系 31A 之人類化

【0440】 所有人類化變體均表現為 IgG 且在 BIAcore® SPR 分析中評估其結合親和力。一般而言，所有人類化 E104 變體(huE104)均顯示與人類類胰蛋白酶 β1 單體相似之結合親和力(表 3)。表 3 列示 huE104 變體以及如藉由 BIAcore® SPR 分析所測定之結合親和力(以 K_D 表示)。表 3 亦提供每一變體之 VH 及 VL 結構域之 SEQ ID NO。表 3 中之每一純系均係以 IgG1 形式進行測試。一致地，在上文所闡述之酶活性分析中觀察到該等抗體具有極相似之 IC50 值(huE104.v1 及 huE104.v5 純系除外)，且在較小程度上，huE104.v11 及 huE104.v12 在酶分析中顯示一些「鉤狀效應」(其中在高抗體濃度下觀察到酶活性增加，亦即抗體抑制活性降低)。重鏈 FR3 區中自人類化抗體之 V71 至兔單株抗體之原始 Arg 殘基之改變(V71R)及人類化抗體之 F78 至兔單株抗體之原始 Val 殘基之改變(F78V)消

除在 E104.v1、v5、v11 及 v12 中所見之鉤狀效應。E104.v9 嵌合純系含有如母體兔單株 Ab E104 中之 R71 及 V78。參見表 3。如圖 12B 中所示，位置 71 處之精胺酸(R)殘基及位置 78 處之纈胺酸(V)殘基(二者均為 Kabat 編號)可在 HVR-H2 之構形中起重要作用，且由此在抗體與類胰蛋白酶之結合中起重要作用。因此，huE104.v2 中之 V71R 及 F78V 改變可已影響類胰蛋白酶 80 環之構形，該構形在形成小界面之兩個原體之締合中係重要的。參見下文之實例 3。因此，與 v1 (其在位置 71 處具有 V 且在位置 78 處具有 F)相比，具有 V71R 及 F78V 逆轉之 hu104.v2 具有改良之結合及抑制活性。所有變體(v1、v5、v11 及 v12 除外)均顯示對類胰蛋白酶活性之完全抑制，如藉由上文所闡述之酶分析所量測。選擇人類化純系 huE104.v2 用於進一步評估。huE104.v2 之重鏈及輕鏈可變結構域之胺基酸序列示於圖 1 中。

表 3：人類化 E104 (huE104)變體之結合親和力(括號中為對人類類胰蛋白酶 b1 單體之結合親和力)

		輕鏈		
		K1 移植 (SEQ ID NO: 37)	**K1 移植+A2 +L4 +P43 +E68 +F87 (SEQ ID NO: 58)**	**嵌合 LC (SEQ ID NO: 59)**
重鏈	**VH4 移植 (SEQ ID NO: 47)**	v1 (0.43 nM)	v5 (0.18 nM)	--
	VH4 移植+R71 +V78 (SEQ ID NO: 36)	v2 (0.18 nM)	v6 (0.14 nM)	v10 (0.26 nM)
	VH4 移植 +V37 +S67 +R71 +V78 +F91 (SEQ ID NO: 48)	v3 (0.21 nM)	v7 (0.25 nM)	--
	VH3 移植 +I48 +S67 +T73 +V78 (SEQ ID NO: 51)	v4 (0.44 nM)	v8 (0.24 nM)	--
	嵌合 HC (SEQ ID NO: 52)	v9 (0.24 nM)	--	--
	VH4 移植+V78 (SEQ ID NO: 49)	v11 (0.32 nM)	--	--
	VH4 移植+R71 (SEQ ID NO: 50)	v12 (0.12 nM)	--	--

【0441】 表 4 列示 hu31A 變體以及如藉由 BIAcore® SPR 分析所量測之結合親和力(以 K_D 表示，奈莫耳)。表 4 亦顯示每一抗體之 VH 及 VL 之 SEQ ID NO。所有變體均顯示對類胰蛋白酶活性之完全抑制，如藉由酶分析所量測(數據未顯示)。表 4 中之每一純系均係以 IgG1 形式進行測試。純系 hu31A.v11 在酶分析中顯示最佳親和力及最佳抑制活性，且因此經選擇用於進一步評估。hu31A.v11 之重鏈及輕鏈可變結構域之胺基酸序列示於圖 1 中。

表 4：人類化 31A (hu31A)變體之結合親和力(括號中為對人類類胰蛋白酶 b1 單體之結合親和力)

		輕鏈		
		K1 移植 (SEQ ID NO: 102)	**K1 移植 +S43 +P46 +W47 (SEQ ID NO: 10)**	**K1 移植 + L4 +S43 +P46 +W47 +Y71 (SEQ ID NO: 103)**
重鏈	**VH3 移植 (SEQ ID NO: 98)**	v1 (4.04 nM)	v2 (0.74 nM)	v3 (0.79 nM)
	VH3 移植+A49 (SEQ ID NO: 99)	v4 (11.8 nM)	v5 (1.68 nM)	v6 (1.65 nM)
	VH3 移植 +S31 +F32 +H35 +A49 (SEQ ID NO: 100)	v7 (2.06 nM)	v8 (0.94 nM)	v9 (0.94 nM)
	VH3 移植+A49 +T93 +N96 +Y97 +D98 (SEQ ID NO: 9)	v10 (1.19 nM)	v11 (0.40 nM)	v12 (0.43 nM)
	VH3 移植+A49 +T93 (SEQ ID NO: 101)	v13 (9.65 nM)	v14 (1.34 nM)	v15 (1.32 nM)

【0442】 亦使用上文所闡述之重組類胰蛋白酶酶活性分析來測定人類化抗類胰蛋白酶抗體之抑制活性。在酶分析中，h31A.v11 及 huE104.v2 IgG1 及 IgG4 二者均完全抑制類胰蛋白酶活性(參見圖 2A)。IC50 值示於下文中(表 5)。

表 5：人類化抗類胰蛋白酶抗體之抑制活性(IC50)

抗體	**IgG1**	**IgG4**
hu31A.v11	1.82 nM ± 0.09	3.9 nM ± 0.65
huE104.v2	0.91 nM ± 0.35	0.59 nM ± 0.11

【0443】 hu31A.v11 及 huE104.v2 二者均結合且抑制除類胰蛋白酶 β1 以外之人類類胰蛋白酶 β2 及 β3。基於上文針對親和力分析所闡述之方案及使用人類類胰蛋白酶 β1 作為靶標之酶分析，代表性數據示於下表 6 中。hu31A.v11 及 huE104.v2 二者亦結合且抑制 cyno 類胰蛋白酶 D1。

表 6：人類化抗類胰蛋白酶抗體之親和力及 IC50

抗體	人類類胰蛋白酶	K_D (nM)	IC50 (nM)
hu31A.v11 IgG4	類胰蛋白酶 β1	0.27	3.16
	類胰蛋白酶 β2	0.12	1.46
	類胰蛋白酶 β3	0.10	2.47
huE104.v2 IgG4	類胰蛋白酶 β1	0.3	0.42
	類胰蛋白酶 β2	0.18	0.95
	類胰蛋白酶 β3	0.13	2.80

【0444】 在人類原代氣道平滑肌細胞(SMC)功能之若干離體模型中進一步評價 hu31A.v11 IgG4 或 huE104.v2 IgG4 之抑制活性。向培養基添加類胰蛋白酶 β1 導致人類原代氣道 SMC 增殖增加(圖 2B)以及細胞收縮增加(圖 2C)。添加 hu31A.v11 或 huE104.v2 導致增殖之劑量依賴性降低，且在 300 μg/ml 時將增殖抑制至基線值(圖 2B)。類似地，添加 hu31A.v11 或 huE104.v2 將收縮降低至基線值(圖 2C)。該等數據展示，抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 及 huE104.v2 抑制類胰蛋白酶功能。

【0445】 向肥大細胞添加類胰蛋白酶或 IgE 導致脫粒及組胺釋放(圖 2D-2E)。評價 hu31A.v11 抑制組胺釋放之能力。具有 S195A 取代之類胰蛋白酶 β1 無催化活性。添加 hu31A.v11 阻斷類胰蛋白酶促進組胺釋放之能力(圖 2D-2E)。抑制程度(30-50%)與類胰蛋白酶 β1 活性之小分子抑制劑 G02849855 相似(圖 2E)。該等結果進一步顯示，抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 抑制類胰蛋白酶功能。

實例 2：hu31A.v11 及 huE104.v2 IgG 解離人類類胰蛋白酶 β 四聚體

【0446】 活性四聚體類胰蛋白酶之晶體結構顯示，每一原體之催化位點(由每一原體之 S195、H57 及 D102 表示，胰凝乳蛋白酶原編號)位於四聚體之孔內部，

且至活性位點之通路受限，從而使得僅肽受質及較小分子可獲得進入(Pereira 等人，*Nature* 392:306-11, 1999)。迄今為止，已知無哺乳動物絲胺酸蛋白酶抑制劑抑制類胰蛋白酶之蛋白水解活性。Kunitz-結構域型架構之人類絲胺酸蛋白酶抑制劑過大而不能進入活性位點。在人類中無已知之天然類胰蛋白酶抑制劑。目前唯一已知之類胰蛋白酶之天然巨分子抑制劑係水蛭源類胰蛋白酶抑制劑(LDTI) (Sommerhoff 等人，*Biol. Chem.* 373:685-94, 1997)及蜱源蛋白酶抑制劑(TdPI) (Paesen 等人，*J. Mol. Biol.* 368:1172-86, 2007)。LDTI (4.7 kDa)及 TdPI (11.1 kDa)分別具有阻斷類胰蛋白酶四聚體之四個活性位點中之兩者或三者之能力。LDTI 及 TdPI 不解離類胰蛋白酶四聚體。IgG 及 hu31A.v11 之 Fab 二者均遠大於 LDTI 或 TdPI，而其完全抑制類胰蛋白酶。

【0447】　本發明測定 Fab hu31A.v11 在溶液中結合至四聚體類胰蛋白酶之化學計量學。將活性四聚體類胰蛋白酶 β1 與 2 倍莫耳過量之 Fab hu31A.v11 混合至每一原體，且使複合物形成達到平衡。由於四聚體為非共價組裝，因此藉由粒徑篩析層析(SEC)分析每一抗體對四聚體結構之解離效應，且測定個別蛋白質峰之保留時間/體積及分子量。藉由 SDS-PAGE 表徵含有蛋白質之部分以確定蛋白質組分(圖 3A)。單獨之四聚體類胰蛋白酶之保留時間(t_r = 26 min，運行 1，峰 1)顯著短於與 Fab hu31A.v11 複合時之保留時間(t_r = 28.1 min，運行 3，峰 3)。實施額外之 SEC 分析與多角度光散射(MALS)之組合以測定所溶析蛋白質複合物之分子量。根據 MALS，四聚體類胰蛋白酶之分子量為 120 kDa ± 0.2 %，此與基於胺基酸序列(不包括醣基化)之理論分子量 109.537 kDa 一致。含有與 Fab hu31A.v11 複合之類胰蛋白酶之蛋白質峰經 MALS 量測為 67.7 kDa ± 3% (峰 3)，其反映包含 1 個類胰蛋白酶單體結合至 1 個 Fab 之複合物。此指示類胰蛋白酶四聚體在結合至 Fab hu31A.v11 後解離成單體，其進一步由晶體結構(參見實例 3)及 hu31A.v11 Fab 之抑制活性證實。

【0448】 當藉由 SEC 在含有高濃度之肝素(例如，100 μg/ml 肝素(運行 2))之酶分析緩衝液中分析相同的四聚體類胰蛋白酶/Fab hu31A.v11 複合物時，類胰蛋白酶-Fab 複合物之保留時間僅自 28.1 min (運行 3，峰 3)略微下降至 27.6 min (運行 2，峰 2)，此可能係由於肝素結合至類胰蛋白酶單體及 Fab 之蛋白質複合物所致。來自豬腸黏膜之肝素係分子量在 6 kDa 至 30 kDa 範圍內之多陰離子鏈之混合物，其中大多數鏈在 17 kDa 至 19 kDa 範圍內。此結果指示，肝素對四聚體類胰蛋白酶之穩定效應亦由 Fab hu31A.v11 中和或破壞；甚至 100 μg/ml 之高濃度肝素亦不能阻止 Fab hu31A.v11 完全解離四聚體。參見圖 3A。

【0449】 亦測定 huE104.v1 及 huE104.v2 Fab 在溶液中與四聚體類胰蛋白酶之結合化學計量學。將活性四聚體類胰蛋白酶與 2 倍莫耳過量之 Fab 混合至每一原體，且使複合物形成達到平衡。藉由 SEC 利用不含肝素之類胰蛋白酶 SEC 緩衝液分離所得複合混合物，且測定個別蛋白質峰之保留時間/體積及分子量)。藉由 SDS-PAGE 表徵含有蛋白質之部分以確定蛋白質組分(數據未顯示)。WT 四聚體類胰蛋白酶之保留時間為 t_r = 26 min (例如參見圖 3A 之峰 1)且根據 MALS 分子量為 120 kDa ± 0.2 %，其與基於胺基酸序列(不包括醣基化)之理論分子量 109.537 kDa 一致。

【0450】 huE104.v1 Fab 與 WT 四聚體類胰蛋白酶形成均質複合物，保留時間為 t_r= 21.6 mL 且分子量為 276.1 kDa，如藉由 SEC-MALS 所測定(數據未顯示)。此將代表類胰蛋白酶四聚體與 4 個結合至其之 Fab 之複合物。對來自此峰之部分之 SDS-PAGE 分析確認存在 Fab 及類胰蛋白酶原體。因此，huE104.v1 Fab 與四聚體類胰蛋白酶形成穩定複合物且不影響四聚體穩定性(數據未顯示)。

【0451】 將帶 His6 標籤之單體類胰蛋白酶(圖 3B，運行 1)或 WT 四聚體類胰蛋白酶(圖 3B，運行 2)與 2 倍莫耳過量之 huE104.v2 Fab 混合，且藉由 SEC 個別地分析每一複合混合物。每一層析圖之第一蛋白質峰之保留時間分別為 t_r= 25.8

min (圖 2B，運行 1，峰 2)及 t_r= 26 min (圖 2B，運行 2，峰 3)。對來自該兩個第一峰之部分之 SDS-PAGE 分析顯示類胰蛋白酶及 E104.v2 Fab 二者均存在於此峰中。亦藉由 MALS 分析兩個蛋白質峰，且測定分子量為 68 kDa ± 3%，其反映包含 1 個類胰蛋白酶單體結合至 1 個 Fab 之複合物。每一運行之第二峰之保留時間分別為 t_r=31.6 min min (運行 1，峰 6)及 t_r=31.8 (運行 2，峰 7)，且僅含有 Fab huE104.v2，如藉由 SDS-PAGE 所測定。兩個 SEC 運行之層析圖幾乎重疊，此指示 huE104.v2 Fab 結合使 WT 四聚體類胰蛋白酶解離成單體，此乃因保留時間幾乎相同，而與四聚體類胰蛋白酶或帶 His 標籤之單體類胰蛋白酶是否用於複合物形成無關。

【0452】 當四聚體類胰蛋白酶再次與過量 huE104.v2 Fab 在 100 μg/mL 肝素存在下混合且藉由 SEC 於 TNH 緩衝液中作為運行緩衝液(運行 3)進行分析時，觀察到 3 個蛋白質峰：第一峰之保留時間(t_r= 21 min，圖 3B，運行 3，峰 1)遠短於單獨之 WT 四聚體類胰蛋白酶(t_r= 26 min，例如圖 3A，峰 1)。第二峰之保留時間為 t_r= 27.2 min (圖 3B，運行 3，峰 4)且最後一個峰之保留時間為 t_r= 31.2 min (圖 3B，運行 3，峰 5)，其指示單獨之 Fab。SDS-PAGE 分析顯示類胰蛋白酶及 Fab 二者均存在於峰 1 及 4 中，其中峰 1 含有結合有 huE104.v2 Fab 之活性四聚體，且峰 4 含有結合有 huE104.v2 Fab 之類胰蛋白酶單體(數據未顯示)。此使得得出以下結論：在 100 μg/mL 高濃度之肝素存在下，huE104.v2 Fab 僅解離一部分四聚體類胰蛋白酶(如峰 4)，而大多數類胰蛋白酶仍係與 hu104.v2 Fab 結合之四聚體類胰蛋白酶(峰 1)。總而言之，huE104.v1 Fab 不顯示可檢測之抑制活性，而 huE104.v2 Fab 完全解離類胰蛋白酶四聚體。然而，不同於 hu31A.v11 Fab 或 huE104.v2 IgG，huE104.v2 Fab 解離四聚體之能力部分地由高濃度之肝素中和。因此，基於該等數據，得出以下結論：hu31A.v11 Fab 能夠在具有或不具高濃度

之肝素之情形下解離類胰蛋白酶四聚體，且 huE104.v2 Fab 能夠在不存在高濃度之肝素下解離類胰蛋白酶四聚體。

【0453】 每一類胰蛋白酶單體具有相同之一組催化三聯體，且四個單體組裝形成四聚體，其中四個催化位點面向受質進入之中孔。參見 Pereira 等人，上文文獻。Pereira 等人論述藉由阻斷活性位點設計小分子類胰蛋白酶抑制劑。由於選擇性差或生物利用度差，若干種研發中之小分子類胰蛋白酶抑制劑已中斷。參見例如 Cairns, J.A.，2005, Pulmonary Pharmacology & Therapeutics 18:55-66。

【0454】 野生型四聚體類胰蛋白酶並非共價保持在一起且可在生理條件下解離成單體(Schwartz 等人，*J. Biol. Chem.* 261:7372-7370, 1986；Alter 等人，*Biochem. J.* 248:821-827, 1987；Schwartz 等人，*J. Immunol.* 144:2304-2311, 1990)。已報導，成熟類胰蛋白酶作為四聚體展示高酶活性，且作為單體在生理相關條件下無活性(Schwartz 等人，*J. Biol. Chem.* 261:7372-7379, 1986)。本文所示之數據展示 hu31.v11 及 huE104.v2 二者均結合至類胰蛋白酶單體，至少在低濃度之肝素下將四聚體解離為單體，且在解離後仍結合至單體。亦已報導，單體類胰蛋白酶可在某些條件下具有酶活性(Fukuoka 等人，*J. Immunol.* 176:3165, 2006；Fajardo 等人，2003, Biochem. J. 369:603-610)。該等觀察提出解離性抗類胰蛋白酶抗體是否將劣於活性位點阻斷抑制劑(例如穩定四聚體之活性位點阻斷抗體)之問題，此乃因血清無活性單體可充當解離性抗體與單體結合之主要儲存處(sink)。且若單體在某些條件下可具酶活性，則穩定四聚體之活性位點阻斷抗體作為治療劑可更有利。

【0455】 首先在電腦模擬實驗中使用藥物動力學-藥效學(PKPD)模型研究與穩定四聚體之中和抗體相比，解離四聚體之抗體之效能。該模型在 Simbiology ® 軟體(Mathworks Inc, Cambridge MA)中開發以模擬循環及肺組織中四聚體類胰蛋白酶之產生、解離及清除，以及抗類胰蛋白酶抗體之 PK 及結合效應。考慮兩種

類型之抗體：(1) 解離性抗體，其在結合後快速解離四聚體，但亦結合單體；及(2) 穩定性四聚體特異性抗體，其僅結合活性四聚體且藉由阻斷至其受質之通路來中和其活性，但亦延長四聚體之半衰期。在每四週皮下投與 300 mg 之假設劑量方案下模擬 K_D 為 0.2 nM 之解離四聚體之抗體。假定抗體之肺分配係數為 10%。對於基線情景，假定血清中有 4 ng/ml 總類胰蛋白酶且組織室中有 10 ng/ml 總類胰蛋白酶，且對於高類胰蛋白酶情景，假定 10 ng/ml 血清類胰蛋白酶及 40 ng/ml 組織類胰蛋白酶含量。生理學四聚體解離成單體之相對速率常數及每一物質之清除率使得總類胰蛋白酶彙集物內單體對四聚體之比率為 8:1。

【0456】 對於 300 mg sc q4w 之解離性或穩定性抗體之模擬劑量方案，圖 4A 左圖顯示在基線情景下肺中總抗體及游離/未結合抗體二者之抗體濃度，且右圖顯示相對於單體及四聚體二者之治療前含量，相應之肺(游離)類胰蛋白酶含量。結果表明，對於 K_D=0.2 nM 之解離性抗體(上圖)，大多數肺抗體仍為游離抗體(左上圖)，此指示儘管結合至單體及四聚體，但仍具有足夠之藥物可用性；結果進一步指示，解離性抗體將在四聚體(活性)類胰蛋白酶中達成超過 90%之持續減少(右上圖 l)。對於穩定性抗體(下圖)，幾乎所有抗體均為游離抗體(左下圖)；然而，四聚體之減少僅主要維持在 80%或 80%以上。

【0457】 由於在高總類胰蛋白酶條件下穩定性抗體之四聚體特異性可視為有利的，因此在較高之類胰蛋白酶情景下重複該等模擬(圖 4B)。在該等條件下，更多之解離性抗體結合無活性單體類胰蛋白酶，此產生游離性較低之抗體(比較圖 4B 之左上圖與圖 4A 之左上圖)且導致較少但仍良好之由解離性抗體產生之四聚體中和(最小約 80%) (圖 4B，右上圖)。藉由對比，對於穩定四聚體之抗體，儘管由於不存在與單體之結合而使得游離抗體更多(圖 4B，左下圖)，但與相同條件下之解離性抗體相比，該抗體達成較少中和(最小約 70%)，儘管在模擬中假定穩定性抗體之親和力高 10 倍(K_D=0.02 nM) (圖 4B，右下圖)。較少之中和係由

於作為四聚體「儲存庫」之結合靶標之較高穩定性(半衰期)所致。因此，吾人之模擬預測解離性抗體係有前景的，且在不同測試情景下性能將優於四聚體特異性穩定性抗體。

【0458】 接下來測試在不同抗體劑量下解離性抗體與四聚體特異性穩定性抗體之比較。圖 4C 顯示在基線及高類胰蛋白酶情景二者下，隨抗體劑量量而變之兩類抗體之四聚體中和(30、100、300mg sc q4w)。在基線情景(圖 4C，左圖)下，在所有考慮之劑量內，解離性抗體始終較穩定性抗體使四聚體之活性降低更多。在高類胰蛋白酶情景(圖 4C，右圖)下，就四聚體中和而言，解離性抗體優於穩定性抗體且劑量最低(30 mg)，此時兩種抗體性能相當。儘管穩定性抗體之親和力(K_D=0.02 nM)較解離性抗體(K_D=0.2 nM)大 10×，但使用穩定性抗體達成之中和通常較少，此指示與解離性抗體相比，使用穩定性抗體達到相當之四聚體中和之親和力要求顯著更高(>10×)。對於該兩種情景，儘管假定穩定性抗體之親和力大 10×，但解離性抗體之(90%)四聚體中和之最佳劑量低於穩定性抗體(結果未顯示)。因此，在該模型下，跨越劑量範圍及所測試之血清及肺類胰蛋白酶濃度，解離性抗體將優於親和力高 10×之穩定性抗體或至少與之匹配。另外，本文展示 hu31A.v11 及 huE104.v2 IgG 完全抑制所有類胰蛋白酶活性。參見圖 2A 及表 5。

【0459】 據吾人所知，無任何研發用於治療性用途之類胰蛋白酶四聚體解離性抗體之實例。已知與對照個體相比，疾病組織(包括急性氣喘性肺)之發炎性位點係酸性的；參見例如 Hunt 等人，*Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 161:694-699, 2000；Steen 等人，*J. Neuroscience* 15:3982, 1995；Bellocq 等人，*J. Biol. Chem.* 273:5086, 1998；及 Lardner *J. Leukocyte Biol.* 69:522, 2001)。已公開之數據顯示，鼠類單株抗類胰蛋白酶抗體 B12 在中性 pH 下中和人類類胰蛋白酶 β，但在酶分析中在酸性 pH 6 下則不能中和人類類胰蛋白酶 β 活性(參見 Fukuoka 等人，*J.*

Immunol. 176:3165, 2006)。因此，吾人測試抗體 hu31a.v11 及 huE104.v2 在中性 pH 及酸性 pH 二者下抑制人類類胰蛋白酶 β 在裂解纖維蛋白原方面之活性之能力。

【0460】 簡言之，將人類類胰蛋白酶 β 四聚體(1.0 μg/mL)與測試抗體在室溫下於 pH 6.0 或 7.5 之 TNH 緩衝液(50 mM Tris, 150 mM NaCl, 0.1 mg/ml 肝素)中預培育 30 min。接著使該混合物與 5 μg 人類纖維蛋白原受質(Haematologic Technologies, Inc.，目錄號 HIC-0150R)在 37°C下培育 2.5 h。hu31A.v11 Fab、huE104.v2 Fab 及 B12 mIgG1 各自以 200 μg/mL 進行測試。藉由 SDS-PAGE 及考馬斯藍染色來分析裂解產物。

【0461】 如圖 5A 及 5B 中所示，人類類胰蛋白酶 β1 在 pH 6 及 7.5 二者下均裂解纖維蛋白原 α 及 β 鏈(比較僅纖維蛋白原之泳道 1 與纖維蛋白原加類胰蛋白酶 β1 之泳道 2)。抗體 hu31A.v11 Fab 在 pH 6 及 pH 7.5 二者下均抑制人類類胰蛋白酶 β (泳道 3)，而 huE104.v2 Fab 在 0.1 mg/ml 高濃度肝素之分析條件下則不能(泳道 5)。泳道 6 係單獨之 B12 mIgG1。纖維蛋白原 α 鏈之減少指示類胰蛋白酶蛋白水解活性。纖維蛋白原 β 鏈亦經裂解，但 β 鏈裂解在凝膠上往往經遮蔽。因此量化 α 鏈之強度且示於圖 5A 及 5B 之下圖中。因此，hu31A.v11 Fab 在 pH 6 及 7.5 下抑制類胰蛋白酶活性，而 huE104.v2 Fab 在高肝素濃度之分析條件下不具抑制性。

【0462】 亦在抑制分析中在 1 nM 類胰蛋白酶及 400 μM 發色 S-2288 存在下於 pH 6、7 或 8 之 TNH 緩衝液中使用 S-2288 肽作為受質評估 IgG 形式抗體(hu31A.v11 IgG4 及 huE104.v2 IgG4)之抑制活性。此實驗中肝素之最終濃度為約 95 μg/ml。呈 IgG 形式之 hu31A.v11 及 huE104.v2 二者均在 pH 6 下、7 及 8 下完全抑制類胰蛋白酶活性(數據未顯示)。

【0463】 因此，hu31A.v11 IgG 及 huE104.v2 IgG 二者均以高親和力結合至類胰蛋白酶，且在類胰蛋白酶相關病症(例如氣喘)之生理學相關條件下亦有效地抑制類胰蛋白酶活性。有趣的是，在吾人之實驗條件下，與已公佈之結果相反，鼠類單株抗人類類胰蛋白酶抗體 B12 IgG1 亦在 pH 6 下顯示對人類類胰蛋白酶 β 之抑制(圖 5A，泳道 4)。該差異可歸因於所公佈數據中用於分析之材料中存在任何殘餘之非類胰蛋白酶蛋白酶活性，其由酸性 pH 活化且對 B12 抑制具有抗性。

實例 3：抗類胰蛋白酶抗體之結構分析

A. 31A 家族抗體

(i). X 射線結晶學

【0464】 將野生型四聚體類胰蛋白酶與 1.5 倍莫耳過量之 Fab hu31A.v11 及 2 倍莫耳過量之大豆胰蛋白酶抑制劑(STI) (Roche)混合，且在室溫下培育 10 min。添加 STI 以促進結晶。接著使用於 10 mM MOPS (pH 6.8), 0.5 M NaCl 中之 S200 管柱(GE Healthcare)使該混合物經受 SEC。將含有類胰蛋白酶之三元複合物、STI 及 Fab hu31A.v11 之部分合併且濃縮至 40 mg/mL。

【0465】 在懸滴中使用蒸氣擴散方法，類胰蛋白酶/Fab hu31A.v11/STI 之晶體在 19°C下生長。將含有 0.1 M Tris (pH 7.5)、0.2 M 硫酸鋰及 5%聚乙二醇(PEG) 4000 之結晶緩衝液與蛋白質溶液等體積混合。將晶體浸入含有 25%乙二醇之人工母液中且在液氮中玻璃化。

【0466】 表 7 顯示 Fab hu31A.v11/類胰蛋白酶/STI 結構之 X 射線數據收集及精修資訊。延伸至 2.15 Å 之繞射數據係以 ALS 束線 5.0.2 之六方晶格收集。數據簡化及縮放容許將勞厄(Laue)級別指派至 6/mmm (Otwinowski, *Methods in Enzymol.* 276, 307-326, 1997；Winn 等人，*Acta Crystallogr. Sect. D-Biol. Crystallogr.* 67, 235-242, 2011)。基於單位細胞體積及所提出之蛋白質含量，在晶體學不對稱單元中預期單一 Fab hu31A.v11/類胰蛋白酶/STI 複合物。使用分子置換(McCoy

等人，*J. Appl. Crystallogr.* 40:658-674, 2007)在空間群 $P6_222$ 中解析該結構。使用以下搜索探針，其各自作為單獨體：先前確定之源自 PDB 登錄號 4A6L 之類胰蛋白酶原體(Liang 等人，*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 22:1049-1054, 2012)、來自 PDB 1AVU 之 STI (Song 等人，*J. Mol. Biol.* 275:347-363, 1998)、來自 PDB 1FVC 之剝除 CDR 環之 Fv 片段(Eigenbrot 等人，*J. Mol. Biol.* 229:969-995, 1993)及來自 PDB 1FVD 之恆定區。在一些限制性精修之後(Murshudov 等人，*Acta Crystallogr. Sect. D-Biol. Crystallogr.* 67:355-367, 2011)，電子密度圖容許校正 Fab 蛋白質序列且將缺失殘基及側鏈擬合成透明密度(Emsley 等人，*Acta Crystallogr. Sect. D-Biol. Crystallogr.* 66:486-501, 2010)。自動添加水(Adams 等人，*Acta Crystallogr. Sect. D-Biol. Crystallogr.* 66:213-221, 2010)。更多輪之模型調整及精修(BUSTER 軟體；Global Phasing Ltd., 2011)產生最終模型。該模型對於類胰蛋白酶殘基 Ile16 - Lys244 (胰凝乳蛋白酶原編號)、STI 殘基 Asp1 - Asp177、Fab 輕鏈殘基 Asp1 - Cys214 (Kabat 編號)係連續的(Kabat，*Sequences of Proteins of Immunological Interest.* Bethesda, MD，U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, 1991)。除恆定結構域中之 5 個胺基酸殘基空位之外，Fab 重鏈係連續的。形狀互補性統計量(Sc) (Lawrence 等人，*J. Mol. Biol.* 234:946-950, 1993)之值為 0.73，此與其他緊密結合之 Fab/抗原複合物一致。最大蛋白質間接觸面係類胰蛋白酶與 STI 之間之接觸面，此乃因其各自在其界面處損失 1260 $Å^2$ 溶劑可及表面(Broger C, xsae, F. Hoffman-La Roche, Basel, Switzerland, 2000)。相比之下，每一側上之 Fab/類胰蛋白酶接觸僅為 760 $Å^2$，均勻地分佈在 Fab 之輕鏈與重鏈之間。接觸 4 Å 或更少之晶體填充均勻分佈在 STI、類胰蛋白酶及所有四個 Fab 結構域周圍，且包括多個氫鍵以及疏水性接觸。

表 7：X 射線數據收集及精修 Fab hu31A.v11/類胰蛋白酶/STI

數據簡化	
X 射線源	ALS 5.0.2

波長(Å)	0.97395
解析度範圍(Å)	31.48-2.15 (2.226-2.149)
空間群	P_6222
單位晶胞邊緣(Å)	128.52 128.52 245.88
單位晶胞角(°)	90 90 120
全反射	308799
獨特反射	65702 (6404)
多重度	4.7 (4.8)
完全度(%)	99.8 (100)
平均 I/σ(I)	14.2 (2.3)
威爾遜(Wilson) B 因子(Å^2)	37.02
R-symm	0.086 (0.681)
精修	
R-free 之反射	1996
R-work	0.190
R-free	0.233
非 H 原子數	7057
巨分子	6608
乙二醇	8
水	441
蛋白質殘基	850
RMS(鍵)	0.010
RMS(角度)	1.1
有益 Rama (%)	97
平均 B 因子(Å^2)	45.7
巨分子	45.6
乙二醇	59.7
溶劑	47.1

(ii) 藉由氫-氘交換(HDX)分析且藉由 MS 量測之抗類胰蛋白酶抗體之表位定位

【0467】 量測在抗體存在及不存在下單體類胰蛋白酶之氘攝入率以確定在抗體結合後經修飾之結構區域。結合樣品含有類胰蛋白酶及各別抗體之 1:1 混合物，製備且在室溫下培育 1 h。氘標記前之類胰蛋白酶濃度在抗體結合及未結合樣品中為 30 μM。HDX 實驗涉及將樣品 15 倍稀釋至含有 20 mM 組胺酸乙酸鹽之氘標記緩衝液(pD 7.0)中。在 30 sec 與 1000 min 之間對數取樣之 6 次標記時間以一式三份進行，藉由將 pH 降低至 pH 2.5 且添加 2 M 鹽酸胍(GdmCl)及 0.25 M

參(2-羧乙基)膦(TCEP)淬滅，且注射至冷的在線系統中，如先前所闡述(Mayne 等人，*J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* 22:1898-1905, 2011)。

【0468】 簡言之，使樣品首先通過固定之胃蛋白酶管柱(2.1 × 30 mm, Applied Biosystems)，且裝載至捕獲管柱(Acquity Vanguard C_8)上進行脫鹽。接著藉由反相層析使用 Acquity UPLC™ BEH C_{18} 管柱(1.7 μm 粒徑，1.0 × 50 mm)分離肽片段，且引入至質譜儀(Thermo Orbitrap Elite™，m/z 400 下解析度為 120k Hz)中進行質量分析。如先前所闡述製備層析移動相以最小化氘返回交換(Walters 等人，*J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 23: 2132-2139, 2012)。使用 ExMS 程式(Kan 等人，*J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* 22:1906-1915, 2011)來鑑別氘化肽且製備提取離子層析圖，其接著藉由內部 python 腳本來分析(Walters 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110:18898-18903, 2013)。該等腳本組合簡併電荷態，利用二項式擬合同位素分佈且提取每一肽平均攜帶之氘數。

(iii) 藉由液相層析/質譜法(LC/MS)之完整質量

【0469】 利用 0.1%三氟乙酸(TFA) (Thermo, Rockford, IL)使經純化蛋白質(包括類胰蛋白酶及其突變體)酸化且稀釋至最終濃度為 10 μM。樣品在與 Agilent 1260 Infinity 型高效液相層析(HPLC)-電灑晶片界面(Chip Cube Interface) (Agilent, Santa Clara, CA)耦聯之 Agilent 6520 Accurate-Mass 型四級桿飛行時間(Q-TOF)上進行分析。藉由反相 HPLC 在 PLRP-S 150 mm × 75 μm 管柱上以 40 nL/min 流速利用 10 min 5-80%梯度之水性溶劑 A (97% H2O，3%乙腈，0.1%甲酸)至有機溶劑 B (98%乙腈，0.1%甲酸)來分離蛋白質。利用 MassHunter®工作站(Agilent, Santa Clara, CA)收集數據，且將原始質譜去卷積以產生完整質量數據。在 61764.4 Da 及 63152.9 Da 觀察到主峰。亦觀察到多個 GlcNAc (203 Da)質量之加入。

(iv) 結果

【0470】 人類類胰蛋白酶之晶體結構顯示，四聚體之每一單體經由 6 個環區段在兩個不同界面處與其臨近者接觸：大界面(原體 A/D 與 B/C 之間)或小界面(原體 A/B 與 C/D 之間)，其係根據 Pereira 等人，*Nature* 392:306-11, 1998 所闡述之原體命名法，該文獻係以全文引用的方式併入本文中。每一原體之六個表面環圍繞活性位點且參與單體間接觸(Pereira，上文文獻)。其中，環 147、環 70-80 及環 37 參與小界面之相互作用，且瓣 173、環 97 及環 60 在大界面相互作用中係重要的。儘管小界面僅涉及疏水性相互作用，但大界面除疏水性相互作用以外亦包含若干極性帶電之相互作用。肝素藉由非共價結合至跨越兩個毗鄰原體 A/B 及 C/D 之帶正電殘基進一步穩定小界面，該等小界面據信係四聚體之剪切點。參見 Pereira，上文文獻。自然地，小界面係四聚體之剪切點，之後解離由大界面固持之二聚體。發生全身性過敏反應之後，人類血液中循環中之類胰蛋白酶之半衰期為約 2-3 小時(參見例如 Schwartz 等人，*J. Clin. Invest.* 83:1551-1555,1989)。四聚體之正常半衰期為約 30 分鐘。

【0471】 測定在 hu31A.v11 或 huE104.v2 結合至類胰蛋白酶後，將類胰蛋白酶四聚體固持在一起之小或大蛋白質界面是否去穩定化。產生兩種類胰蛋白酶突變體，其經由大界面(原體 A/D 及 B/C 之間)或小界面(原體 A/B 及 C/D 之間)(根據 Pereira 等人，上文文獻中所闡述之原體命名法)中之分子間二硫鍵在四聚體中共價連接兩個相鄰原體。因此，當由於共價二硫鍵連接之二聚體形成而阻止小界面之解離時，大界面之解離仍係容許的。相反地，當由於共價二硫鍵連接之二聚體形成而阻止大界面之解離時，小界面之解離仍係容許的。

【0472】 將小界面中之 Tyr75 及大界面中之 Ile99 (胰凝乳蛋白酶原編號，圖 7)個別地突變為半胱胺酸。選擇該等位點之原因在於其在該等界面中由於四聚體之準二重對稱性而面向其自身(Sommerhoff 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:10984-91, 1999)。使用 PyMOL 軟體電腦模擬將 Tyr75 或 Ile99 置換為半胱胺

酸顯示每一相對半胱胺酸之硫醇之間的各別距離為 2.4 Å 及 3.2 Å，此略大於 2.05 Å 之典型二硫鍵長度。儘管如此，兩種所得四聚體突變體得以表現且純化，且含有在各別界面之間形成之二硫鍵，如藉由胰蛋白酶肽 MS 分析所測定。此外，兩種突變體亦具有酶活性，但當與野生型四聚體類胰蛋白酶相比時具有約一半之催化效率(k_{cat}/K_M) (表 8)。

表 8：野生型及突變類胰蛋白酶之酶活性

類胰蛋白酶	K_M (μM)	V_{max} (nM/sec)	k_{cat} (1/s)	k_{cat}/K_M (1/(M*s)	催化效率(突變體/WT)
WT	554	400	100	180505.42	1
Y75C 小界面鎖定	320	133	33.25	103906.25	0.57
I99C 大界面鎖定	798	235	58.75	73621.55	0.41

【0473】 分析與 hu31A.v11 Fab 或 huE104.v1 Fab 複合之該等突變體之大小。將類胰蛋白酶突變體 Y75C 及 I99C 各自與 2 倍莫耳過量之 Fab hu31A.v11 混合以用於複合物形成，如上文針對野生型類胰蛋白酶所闡述，且藉由粒徑篩析層析進行分析。作為對比之參考，野生型四聚體類胰蛋白酶與來自抗體 huE104.v1 之 Fab 複合，該抗體特異性結合至類胰蛋白酶，但不解離四聚體，且在高抗體對四聚體比率下失去抑制活性。與 huE104.v1 Fab 複合之野生型四聚體類胰蛋白酶之保留時間為 21.6 min (圖 6A，參考峰)。此複合物之 SEC-MALS 分析測定分子量為 276.1kDa，此指示包含一個具有四個結合 Fab 之類胰蛋白酶四聚體之複合物。

【0474】 Fab hu31A.v11 與保留時間分別為 25.6 min (圖 6A，運行 2，峰 1)及 23.9 min (圖 6A，運行 3，峰 2)之四聚體類胰蛋白酶突變體 Y75C 及 I99C 形成複合物 (圖 6A)。兩個保留時間均長於參考複合物之保留時間，此指示在與 Fab hu31A.v11 形成複合物後，兩種四聚體突變體均解離成其各別共價連接之二聚體。收集來自每一峰之樣品且藉由 SDS-PAGE 進行分析以確認每一峰中之物質

(圖 6B)。該等溶析蛋白質峰之 SDS-PAGE 分析顯示，Fab hu31A.v11 及各別類胰蛋白酶二聚體二者均存在於相同部分中(圖 6B)。運行 4 之峰 3 (T_r 為 28.1 min)及峰 4 (T_r 為 31.6 min)分別代表與 Fab hu31A.v11 複合之 WT 單體及過量 Fab。在 SDS PAGE 中將少量峰 3 樣品轉移至峰 4 樣品。與 Fab hu31A.v11 複合之兩種類胰蛋白酶突變體運行之保留時間均長於參考峰，此指示在 Fab hu31A.v11 結合後大界面及小界面二者均去穩定化。如針對野生型類胰蛋白酶四聚體所觀察，此去穩定化導致四聚體解離，其最終使類胰蛋白酶之蛋白水解活性鈍化。B12 Fab 亦使兩種突變四聚體去穩定化(數據未顯示)。

【0475】　使用 X 射線結晶學研究人類化抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 與成熟人類類胰蛋白酶 β1 之結合，以確定類胰蛋白酶與 hu31A.v11 之 Fab 片段之間的分子複合物在 2.15 Å 解析度下之結構。結果為含有與一個 hu31A.v11 Fab 相互作用之一種類胰蛋白酶/STI (大豆胰蛋白酶抑制劑)複合物之晶體學不對稱單元。出於結晶目的納入 STI。

【0476】　表位之一種定義係在 hu31A.v11 Fab 之任一原子 4 Å 內之類胰蛋白酶胺基酸組。使用程式 PyMOL 來尋找表位。類胰蛋白酶多肽鏈中之胺基酸殘基可根據慣例(胰凝乳蛋白酶原編號)進行編號，該編號偏離依序編號以容許跨同源蛋白質進行對比。提供此類胰蛋白酶殘基編號方案與簡單依序方案之間的轉換表(圖 7)。根據該慣例命名下方之類胰蛋白酶殘基，其中插入基因序列編號方案。

【0477】　類胰蛋白酶上 hu31A.v11 之表位包括以下殘基：H36、Q50、V60c、K60d、D60e、L61、A62、A63、R65、P84、V85、S86、R87、E109、E110、P111 (胰凝乳蛋白酶原編號，分別對應於 SEQ ID NO: 71 之 H51、Q67、V80、K81、D82、L83、A84、A85、R87、P103、V104、S105、R106、E128、E129 及 P130)。參見圖 8。類胰蛋白酶之 60s、80s 及 100s 環之殘基與 Fab hu31A.v11 緊密接觸，而 His36 及 Gln50 殘基更多地位於與 Fab 相互作用之周邊。亦參見 Pereira 等人，

上文文獻。Fab-類胰蛋白酶接觸不包括自溶劑 760 Å^2 (每側)，其中來自 Fab 輕鏈(Val30、Thr31、Tyr32、Tyr34、Arg50、Tyr90、His92、Ser93、Tyr94)及重鏈(Phe50、Ser52、Gly53、Ser54、Ser55、Thr56、Tyr58、Arg95、Tyr97、Asp98)之貢獻相等。認為上文所闡述之表位殘基將亦適用於其他 31A 源抗體。

【0478】 當來自三元複合物之 Fab/類胰蛋白酶二聚體疊加至來自野生型四聚體之類胰蛋白酶原體 A 及 D 上時(Pereira 等人，上文文獻)，發現兩個 Fab 位於四聚體之同一側，幾乎垂直於四聚體平面(圖 9)。對於原體 B 及 C 重複此過程將兩個 Fab 置於四聚體之相反側。值得注意地，該等結果突出 Fab 輕鏈之間的空間碰撞，此與 Fab 在 SEC 上作為與單體類胰蛋白酶之 1:1 複合物溶析且不作為與四聚體類胰蛋白酶之複合物之事實一致(圖 9)。

【0479】 四聚體類胰蛋白酶不共價固持在一起且可在生理條件下解離成單體，如藉由酶活性隨時間之衰減及溶液中圓二色性(CD)光譜之變化所監測(Schwartz 等人，*J. Biol. Chem.* 261:7372-7379, 1986；Schwartz 等人，*J. Immunol.* 144:2304-11, 1990)。hu31A.v11 (Fab 或 IgG)與四聚體之每一原體之結合將促進且加速四聚體之解離，且防止由於當與類胰蛋白酶結合時 Fab 之空間碰撞而導致任何四聚體重新締合。因此，由於 hu31A.v11 結合引起之每一原體之別構變化，類胰蛋白酶以更快速之方式解離且變成酶非活性單體。由於四聚體中之假二重對稱性，幾乎所有構成小界面及大界面之相互作用均存在兩次。此亦意味著由 hu31A.v11 結合引起之類胰蛋白酶結構之每一細微變化在每一界面均發生兩次，藉此使去穩定化增強。

【0480】 Fab hu31A.v11 與類胰蛋白酶之複合結構在 60s 環中顯示出顯著變化，此在大界面中。特定而言，當由 hu31A.v11 Fab 結合時，殘基 Val60c (對應於 SEQ ID NO: 71 之 Val80)在與其在未結合之類胰蛋白酶結構中發現之位置相比時在側鏈中具有顯著位移。在未結合之類胰蛋白酶四聚體中，來自相鄰原體之

Tyr173d 位於由殘基 Val60c 及 Val90 產生之疏水性口袋中(圖 10，二者均由胰凝乳蛋白酶原編號，亦參見圖 7)。在抗體複合物中，Val60c 之構形變化產生防止 Tyr173d 結合至該口袋之空間位阻。由於 hu31A.v11 與類胰蛋白酶之結合涉及與 60s 環之部分及鄰近殘基之相互作用，因此其可係 Val60c 中此構形變化之原因。此可導致大界面之去穩定化且將因此增強類胰蛋白酶四聚體解離成無活性單體。

【0481】 類胰蛋白酶中之 His36 (胰凝乳蛋白酶原編號；對應於 SEQ ID NO: 71 之 His51)之咪唑環與 Fab hu31A.v11 產生疏水性相互作用，導致與未結合之四聚體結構中之類胰蛋白酶原體相比時，類胰蛋白酶殘基 His36、Pro37a 及 Tyr37b 之 30s 環中之 C_α 跡線變化。此影響 Tyr37b 側鏈之構形，使得在小界面中與相鄰原體(包含 Pro152 及 Pro152a)之關鍵疏水性相互作用可削弱(圖 11，所有均由胰凝乳蛋白酶原編號，亦參見圖 7)。

【0482】 兩種不同的二硫鍵鎖定之類胰蛋白酶變體 Y75C 及 I99C 與 hu31A.v11 Fab 之複合物形成研究顯示，四聚體類胰蛋白酶之大界面及小界面二者均由抗體去穩定化。結合至四聚體之 Fab 之空間碰撞及對大界面及小界面之關鍵相互作用殘基之構形變化二者均可能對促成四聚體解離係重要的。該兩種因素並不互相排斥。電腦模擬所展示之源自當結合至四聚體之每一原體時 hu31A.v11 Fab 之空間位阻指示，來自單一 IgG 之兩個 Fab 通常不能同時結合至一個四聚體(圖 9)。此觀察與 hu31A.v11 之 Fab 及 IgG 二者均能夠解離四聚體藉此抑制酶活性之發現一致。此觀察亦指示，由抗體結合之解離單體不可能重新組裝以形成四聚體。

【0483】 接下來，實施結合至 hu31A.v11 Fab 之單體類胰蛋白酶之 HDX 實驗以研究溶液中之結合相互作用。藉由質譜法監測 HDX 隨時間之程度。儘管此方法提供指示 hu31A.v11 之結合表位之資訊，但其亦檢測可能發生遠離抗體結合

表位之構形穩定性之別構變化。當 hu31A.v11 結合時，類胰蛋白酶中顯示較慢交換之醯胺鍵係位於殘基 25-29、40-41、57-59、60-61、66-67、83-88、108-110 及 231-233 (胰凝乳蛋白酶原編號)之區中。當將該等區與如晶體結構中所見之 Fab hu31A.v11 之 4 Å 內之類胰蛋白酶殘基相比時，觀察到在 60s、80s 及 100s 環中鑑別結合表位殘基之兩種方法間之高度重疊(圖 8)。藉由 HDX 鑑別之其他區域(例如一級類胰蛋白酶序列之 20s、40s、50s 及 230s 區中之位置)根據晶體結構不與抗體直接接觸，但在 hu31A.v11 存在下顯示構形動力學降低。有趣地，殘基 57-59 似乎受 hu31A.v11 結合別構影響。此短 α-螺旋含有殘基 His57 (胰凝乳蛋白酶原編號)，其係絲胺酸蛋白酶中催化三聯體之一部分且對催化活性至關重要。儘管藉由 HDX 鑑別之殘基 40 及 41 不與 hu31A.v11 直接接觸，但其作為在其髮夾環中展示 Tyr37b (胰凝乳蛋白酶編號，其係如上文所論述之小界面之重要接觸殘基)之反平行 β-摺疊之一部分而處於有趣的結構位置(圖 11)。此區域之結構改變可影響小界面之穩定性且潛在地導致四聚體解離。

【0484】 在 20s 環(非結構化環中之所有殘基)及 230s 區(亦稱為 230s 螺旋)中之肽鍵(根據 HDX，其結構動力學亦經歷變化)距 hu31A.v11 之結合位點較遠。HDX 實驗監測結構動力學之變化，且不區分體構形之變化與特定構形之能量穩定性之變化。總之，發現藉由 HDX 及 X 射線結晶學所獲得之結構資訊之間具有高度一致性，且鑑別出受 hu31A.v11 結合別構影響之其他殘基。

B. E104 源抗類胰蛋白酶抗體之結構分析

(i) 材料及方法

【0485】 使用 huE104.v1 Fab 與類胰蛋白酶四聚體產生晶體結構，此乃因 huE104.v1 之結合不會解離四聚體。使用蒸氣擴散方法藉由將蛋白質與含有 0.1 M Tris (pH 8.5)、0.2 M 氯化鈣、20%聚乙二醇(PEG) 4000 及 8%新戊四醇乙氧基化物之儲存溶液以 1:1 (v/v)混合使類胰蛋白酶/huE104.v1 晶體在 19°C下生長。在

含有 0.1 M Tris (pH 8.5)、0.2 M 氯化鈣、35% PEG 3350 之人工母液中對晶體進行低溫保護且在液氮中急速冷凍。使用 Pilatus 6M 像素陣列檢測器及 0.9795 Å 波長 X 射線，在 SSRL 束線 12-2 以延伸至 3Å 解析度之單斜晶格收集繞射數據。將數據簡化(Kabsch，*Acta CrystallogrD Biol. Crystallogr.* 66:125-132, 2010；Vonrhein 等人，*Acta. Crystallogr.* D67:293-302, 2011)且縮放(Winn 等人，*Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 67:235-242, 2011)，且在空間群 P21 中藉由分子置換(McCoy 等人，*J. Appl. Crystallogr.* 40:658-674, 2007)破解之結構揭示由四個 Fab 結合之類胰蛋白酶四聚體。分子置換搜索探針係來自 PDB 登錄號 4A6L 之類胰蛋白酶原體及源自 PDB 登錄號 1FVD 之抗體 Fab 片段，其係藉由僅使用旋轉函數以一系列肘角掃描修改版本來實施。在有限之精修之後，僅使用來自 1FVD 之恆定區在分子置換搜索中置換一個 Fab 恆定區。類胰蛋白酶殘基編號改變為胰凝乳蛋白酶原方案且 Fab-E104v1 殘基編號改變為 Kabat 方案。使用 Coot (Emsley 等人，*Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 66:486-501, 2010)實施模型及電子密度圖之檢查及調整，且使用 REFMAC5 (Murshudov 等人，*Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 67: 355-367, 2011) 及 Phenix.refine (Adams 等人，*Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 66, 213-221, 2010)對結構進行精修。數據收集及精修度量出現於表 9 中。HDX 實驗係如上文所闡述來實施。

表 9：類胰蛋白酶 β-huE104.V1 Fab 之 X 射線度量表

數據	
X 射線源	SSRL 12-2
波長(Å)	0.9795
解析度範圍(Å)	50 - 3.0 (3.112 - 3.005)
空間群	P21
晶胞 ***a*** 、***b*** 、***c*** (Å)	89.573 168.811 114.652
晶胞 α、β、γ (°)	90 109.97 90
全反射	214206
獨特反射	62353
多重度	3.4 (3.5)
完全度(%)	97.8 (99.7)

平均 I/σ(I)	11.3 (2.1)
威爾遜 B ($Å^2$)	72.2
R-symm	0.098 (0.577)
精修	
R-free 之反射	1266
R-work	0.187 (0.278)
R-free	0.232 (0.340)
非 H 原子數	20794
巨分子	20689
配體	100
離子	3
水	2
蛋白質殘基	2702
RMS(鍵)(Å)	0.01
RMS(角)(°)	1.2
有益 Ramachandran (%)	94
平均 B 因子($Å^2$)	71.5
巨分子	71.6
配體	48.4
離子，水	71.6

(ii) 結果

【0486】 為確定將類胰蛋白酶四聚體固持在一起之小蛋白質界面或大蛋白質界面是否在 huE104.v2 Fab 結合後去穩定化，將四聚體類胰蛋白酶突變體 Y75C 或 I99C (參見上文)與 2 倍莫耳過量之 Fab huE104.v2 混合以用於複合物形成且藉由 SEC 進行分析(圖 6C)。huE104.v2 Fab 與四聚體類胰蛋白酶突變體 Y75C 形成複合物，且層析圖顯示保留時間為 t_r=21.6 min (圖 6C，運行 1，峰 1)及 t_r=31 min (峰 4)之包含過量 Fab 之兩個峰。huE104.v2 Fab 與四聚體類胰蛋白酶突變體 I99C 形成複合物，且層析圖顯示保留時間為 t_r=23.8 min (圖 6C，運行 2，峰 2)及 t_r=31 min (運行 2，峰 5)之包含過量 Fab 之兩個峰。SDS-PAGE 分析顯示 huE104.v2 Fab 及類胰蛋白酶二聚體突變體二者均存在於峰 1 及 2 中，且過量 Fab 存在於峰 4 及 5 中(數據未顯示)。為進行對比，與 WT 類胰蛋白酶四聚體複合之 huE104.v2 Fab 之保留時間為 t_r= 26 min (圖 6C，運行 3，峰 3)，其包含由 Fab huE104.v 結合之單體，該單體小於與 huE104.v2 複合之類胰蛋白酶四聚體突變體 I99C (t_r = 23.8

min，運行 2，峰 2)。與 huE104.v2 Fab 複合之類胰蛋白酶突變體 Y75C (小界面鎖定之突變四聚體)之保留時間與結合至 huE104.v1 之四個 Fab 之 WT 類胰蛋白酶四聚體之穩定完整複合物相似(參見圖 6A，運行 1，參考峰)。另一方面，與 huE104.v2 複合之類胰蛋白酶突變體 I99C (大界面鎖定之突變四聚體)之保留時間較長，此指示小於運行 1 中之第一峰之複合物。該等結果指示，huE104.v2 Fab 僅能解離四聚體之小界面，但不能解離大界面。因此，當結合至野生型類胰蛋白酶四聚體時，huE104.v2 Fab 結合僅解離小界面。在實驗條件下，經解離之小界面可藉由以局部高濃度(例如，0.1 mg/ml)存在之肝素快速修復，此將使得四聚體重新組裝。此肝素濃度實質上高於生理學上之肝素濃度，據報導其為約 1.5 μg/ml 血清(參見例如 Engelberg 等人，*Circulation* 23:578-581, 1961 及 Davids 等人，*S. Afr. Med. J.* 100:307-307, 2010)。在低濃度之肝素下，huE104.v2 Fab 能夠完全解離 WT 類胰蛋白酶四聚體且中和類胰蛋白酶活性，但較呈 IgG 形式之 huE104.v2 低效。

【0487】 為進一步洞悉類胰蛋白酶上 huE104.v2 之確切結合表位，嘗試使 Fab huE104.v2/類胰蛋白酶複合物結晶。由於不能獲得任何適宜晶體，因此使用藉由粒徑篩析層析分離之結合至四個 Fab E104.v1 之 WT 四聚體類胰蛋白酶之複合物進行結晶。huE104.v1 及 huE104.v2 僅在兩個標框架位置上有所差異，而 HVR 係一致的。因此，huE104.v1 係闡明 huE104.v2 之結合表位之良好替代物。使用 X 射線結晶學來研究人類化抗類胰蛋白酶抗體 huE104.v1 (參見實例 1)與成熟人類類胰蛋白酶 β1 之結合以確定類胰蛋白酶與 huE104.v1 之 Fab 片段之間的分子複合物在 3.0 埃(Å)解析度下之結構。結果為含有一個類胰蛋白酶四聚體之晶體學不對稱單元，其藉由與 EGR-氯甲基酮複合來穩定，該 EGR-氯甲基酮以使得每一 Fab 幾乎完全與僅一個類胰蛋白酶原體相互作用之方式與四個 huE104.v1 Fab 相互作用(圖 12A)。分子間晶體填充環境不包括大空隙，且具有小於 4Å 之

中等數量之晶體填充接觸。舉例而言，兩個 huE104.v1 Fab VL 結構域在其 ABDE β-鏈面經歷非晶體學 2 倍接觸，此涉及來自 Thr 及 Ser 鏈鏈及其他者之 H-鍵。具有若干個分子間接觸之另一個較小區存在於重鏈恆定結構域(靠近與相同鏈之可變結構域之肽連接)與毗鄰輕鏈恆定結構域之「底部」之間。儘管類胰蛋白酶原體具有更多殘基(243 對大約 215)，但 Fab 之填充接觸中之殘基(平均 12)多於類胰蛋白酶原體(平均 3.5)。在此意義上，晶體至少部分地經由 Fab-Fab 分子間接觸形成。

【0488】 huE104.v1 Fab 之三個拷貝展示極相似之肘角(可變結構域(VH 及 VL)與恆定結構域(CH 及 CL)之間的 140°、138°及 141°之角度)。huE104.v1 Fab 之第四個拷貝之特徵在於其恆定區之電子密度相對較差，且展示肘角為 152°。與類胰蛋白酶原體接觸之抗體抗原結合表面積(互補位) (計算為溶劑可及表面積損失(Adams 等人，*Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 66:213-221, 2010))為平均 682 $Å^2$，且重鏈佔優(71%相對於輕鏈之 29%)。形狀互補性統計量(Lawrence 等人，*J. Mol. Biol.* 234:946-950, 1993) Sc 平均為 0.76，其對於具有蛋白質抗原之抗體而言處於高端。吾人結果之解析度過低而不能分辨水結構，但 Sc 值表明可能存在極少之界面水。根據 R-free 之值，使用非晶體學對稱性(NCS)限制產生優異精修。Fab 結構域(VL、CL、VH 或 CH1)之 Cα 原子疊加之均方根偏差(RMSD)大約為埃之十分之幾。

【0489】 對於該四個拷貝而言，在其搭配物類胰蛋白酶 4Å 內之抗體殘基極相似且包括：輕鏈殘基 Y29、N30、R32 (HVR-L1)、R94 (HVR-L3)及重鏈殘基 G31、Y32 (HVR-H1)、S52、S53、A54、T56、F58 (HVR-H2)及 P96、R97、G98、Y99、R100e (HVR-H3)。

【0490】 每一 huE104.v1 Fab 接觸搭配物類胰蛋白酶原體之極類似之區。此表位距活性位點受質結合裂口大約 90°，且將每一 Fab 置於自大致正方形平面類胰

蛋白酶四聚體之平面垂直突出。由於類胰蛋白酶原體在類胰蛋白酶環周圍以上/下/上/下方式締合，因此存在兩個自四聚體「向上」突出之 Fab 及兩個「向下」突出之 Fab (圖 12A)。

【0491】 晶體學不對稱單元(asu)包括組織成近似對稱四聚體之 4 種類胰蛋白酶原體。該四種類胰蛋白酶原體各自在活性位點經共價修飾(來自使用 Glu-Gly-Arg-氯甲基酮之處理)，且基於約 0.1 Å 之 Cα 原子與成對 rmsd 疊加。若每一原體僅在 asu 中四個 Fab 中之一者之 4 Å 內，則可定義四個 huE104.v1 表位，一個對應於每一類胰蛋白酶原體，且缺乏嚴格對稱性，該四個表位可能略有不同。存在幾個位於 Fab 之 4 Å 內之類胰蛋白酶殘基，該 Fab 不提供與其之大部分相互作用，在本文中稱為「非搭配物 Fab」。由於此係事實，因此亦可定義類胰蛋白酶四聚體之 huE104.v1 表位。

【0492】 使用程式 PyMOL 來鑑別表位，其在此實例中係 huE104.v1 Fab 之任一原子之 4 Å 內之類胰蛋白酶胺基酸組。類胰蛋白酶多肽鏈中之胺基酸殘基可根據胰凝乳蛋白酶原編號方案來編號，如上文所闡述(圖 7)。根據胰凝乳蛋白酶原編號方案命名下方之類胰蛋白酶殘基，其中插入基因序列編號方案。

【0493】 在類胰蛋白酶原體與其搭配物 Fab 之間定義 4 個表位。所有四個表位均含有幾乎一致之類胰蛋白酶胺基酸殘基組。彼等殘基係：W38、Q50、D60e、L61、A62、R65、Q81、L82、L83、P84、V85、S86、R87、E107、L108、E109 及 E110 (胰凝乳蛋白酶原編號，分別對應於殘基 W55、Q67、D82、L83、A84、R87、Q100、L101、L102、P103、V104、S105、R106、E126、L127、E128 及 E129，使用基因序列編號方案，其中殘基對應於 SEQ ID NO: 71 之位置)。殘基 L61 (SEQ ID NO: 71 之 L83)對於四個表位中之兩者不存在，但僅勉強超過 4Å 準則。殘基 Q81 (SEQ ID NO: 71 之 Q100)對於四個表位中之一者不存在。若情況並非如此，則根據定義準則，所有四個表位將係一致的。

【0494】 此外，非搭配物 Fab 在四聚體中產生少量 4 Å 接觸。正是該等類胰蛋白酶殘基將四聚體表位與原始表位區分開來。接觸之類胰蛋白酶殘基係：Q20 及 R187 (分別為 SEQ ID NO: 71 之 Q35 及 R216)。

【0495】 因此，類胰蛋白酶四聚體上 huE104.v1 之表位係以下各項之總和：以下各項之 4 種情況：W38、Q50、D60e、L61、A62、R65、L82、L83、P84、V85、S86、R87、E107、L108、E109 及 E110 (胰凝乳蛋白酶原編號，分別對應於 SEQ ID NO: 71 之殘基 W55、Q67、D82、L83、A84、R87、L101、L102、P103、V104、S105、R106、E126、L127、E128 及 E129)、加上 Q81 (SEQ ID NO: 71 之 Q100)之三種情況、加上 Q20 (SEQ ID NO: 71 之 Q35)之 1 種情況、加上 R187 (SEQ ID NO: 71 之 R216)之三種情況。據認為，上文所闡述之表位殘基亦將適用於其他 E104 源抗體，包括 huE104.v2。

【0496】 儘管 huE104.v1 及 v2 具有相同 CDR 序列，且將結合至相同表位，但該兩種變體在呈 Fab 以及呈 IgG 時表現不同：huE104.v2 Fab 解離四聚體且更具體而言在小界面處，而 huE104.v1 Fab 則不；且呈 IgG 時，huE104.v2 解離且鈍化四聚體，而 huE104.v1 在高抗體:類胰蛋白酶比率下失去抑制活性。吾人假設儘管 huE104.v1 及 huE104.v2 結合至類胰蛋白酶上之相同接觸殘基，但其與類胰蛋白酶相互作用之間存在細微差異。為鑑別 huE104.v1 及 huE104.v2 Fab 與類胰蛋白酶之間在溶液中之相互作用之差異，對單獨或結合至 huE104.v1 或 huE104.v2 之單體類胰蛋白酶實施 HDX 實驗，且藉由質譜法監測隨時間之氫-氘交換程度。雖然此方法提供指示 huE104.v1 及 huE104.v2 之結合表位之資訊，但其總體上監測可遠離抗體結合表位發生之結構動力學變化。該等量測不區分體構形之變化與特定構形能量穩定性之變化。

【0497】 當 huE104.v1 或 huE104.v2 結合時，類胰蛋白酶中顯示較慢結合之醯胺鍵係位於殘基 25-27、60-61、66-68、88 及 108-110 (胰凝乳蛋白酶原編號；表

10)之區中，但亦發現僅對 huE104.v1 或 huE104.v2 具特異性之顯示較慢交換之醯胺鍵。舉例而言，類胰蛋白酶殘基 47-50、54-55、85-87、119-122、179、230-231 及 244-245 (胰凝乳蛋白酶原編號)之醯胺鍵僅在 huE104.v1 結合時顯示較慢交換。另一方面，類胰蛋白酶殘基 25、41-43、81-81 及 160-162 之醯胺鍵僅在 huE104.v2 結合時顯示較慢交換(表 10)。在較慢之氫交換中最有趣的差異在於類胰蛋白酶中殘基 81-83 (胰凝乳蛋白酶原編號中之 Q81、L82 及 L83，對應於 SEQ ID NO: 71 之 Q100、L101 及 L102)之醯胺鍵，其僅在 huE104.v2 結合時顯示較慢交換。此區域尤其令人關注，此乃因其係小界面之兩個關鍵接觸殘基(Y74 及 Y75)所在環之一部分。類胰蛋白酶殘基 81-83 亦與 huE104.v1 之 HVR-H2 直接接觸，如在具有四聚體類胰蛋白酶之晶體結構複合物中所見，但根據 HDX 結果，認為此區域與 huE104.v2 之相互作用必須較 huE104.v1 與類胰蛋白酶之相互作用更強且可能與其不同。80s 環 Cα-主鏈及側鏈之構形變化可影響 Y74 及 Y75 之構形，其係四聚體複合物中兩個類胰蛋白酶原體之間疏水性小界面之關鍵。由於界面係對稱的，當 huE104.v2 結合至每一原體時，來自兩個相互作用原體之殘基 Y74 及 Y75 均會受到影響，此將放大此界面之任何變化及不穩定性。

【0498】　如上文所提及，huE104.v1 與 huE104.v2 之間的差異在於標框架殘基 V71R 及 F78V。先前已報導，抗體重鏈中位置 71 之框架殘基變化影響 HVR-H2 之構形。huE104.v1 及 huE104.v2 中 HVR-H2 之建模實驗確認此情況(數據未顯示)。不受理論約束，兩個標殘基之變化可影響 HVR-H2 之構形，使得與類胰蛋白酶殘基 81 至 83 之相互作用不同且轉化為四聚體之小界面之變化。另外，在結構上緊密靠近之殘基 R69 及 E70 (胰凝乳蛋白酶原編號)之類胰蛋白酶醯胺鍵亦僅在 huE104.v2 結合時才顯示較慢之 HDX。此發現將改變 70s 環，甚至更有可能地，該環構成小界面之重要部分。

【0499】 當比較由 Fab 結合所致之較慢 HDX 之區與 Fab E104.v1 之 4 Å 內之類胰蛋白酶殘基(如晶體結構中可見)時，在兩種方法之間均觀察到高度重疊，此鑑別 20s、40s、60s、80s 及 100 環中之結合表位殘基(表 10)。藉由 HDX 鑑別之其他區域(例如一級類胰蛋白酶序列之 110s、160s、179、230s 及 245 區中之位置)根據晶體結構不與抗體直接接觸，但在 huE104.v1 及 huE104.v2 存在下顯示構形動力學降低。

表 10：當結合至 huE104.v1 或 huE104.v2 時顯示較慢 HDX 之類胰蛋白酶殘基之醯胺鍵

受影響之類胰蛋白酶殘基(胰凝乳蛋白酶原編號)		
huE104.v1	**huE104.v2**	**晶體結構中之接觸殘基**
26-27	25-27	25-29
-	-	38
-	41-43	40-41
47-50	-	50
54-55	-	-
-	-	-
60-61	60-61	60-62
66-68	66-70	65
-	81-83	81-87
85-88	88	-
108-110	108-110	107-110
119-122	-	-
-	160-162	-
179	-	-
230-231	-	-
-	-	-
244-245	-	-

【0500】 彙總該等數據，huE104.v1 及 huE104.v2 具有相同 HVR 序列及人類類胰蛋白酶 β1 上之相同接觸殘基。然而，基於 HDX 研究，檢測到兩種抗體與靶標結合方式中之細微差異。huE104.v1 之重鏈 FR3 區中之 V71 及 F78 示於圖 12B 中。如圖中所指示，huE104.v2 中重鏈之 FR3 區中之 V71R 及 F78V 可已影響 HVR-H2 之位置及 HVR-H2 與類胰蛋白酶之結合，此由當 huE104.v2 結合時

Q81、L82 及 L83 區(胰凝乳蛋白酶原編號)中之較慢 HDX 所證實。與未結合之類胰蛋白酶相比，當 huE104.v2 結合至類胰蛋白酶時，Q81、L82 及 L83 殘基顯示較慢之 HDX。因此，Y75 與相鄰原體之疏水性相互作用經削弱。huE104.v1 在位置 71 具有 V 且在位置 78 具有 F (如在 VH_{IV} 移植中)。在此情形下，HVR-H2 呈現略有不同，且 E104.v1 與類胰蛋白酶結合之效應雖然在相同的接觸殘基處，但與 E104.v2 相比，在小界面之解離中稍有不同。

【0501】 總而言之，hu31A.v11 Fab 及 IgG 二者均解離類胰蛋白酶四聚體。huE104.v2 Fab 及 IgG 二者亦解離類胰蛋白酶四聚體。huE104.v1 IgG (但非 Fab)能夠解離類胰蛋白酶四聚體。然而，huE104.v1 IgG 在高抗體:四聚體比率下失去抑制活性。結合至相同四聚體之一個以上 hu31A.v11 Fab 將引起空間碰撞，而結合至相同四聚體之 huE104.v2 Fab 則不。因此，IgG1 或 IgG4 之鉸鏈區可在定向 huE104.v1 IgG 之兩個 Fab 中起作用且產生足夠的張力，導致四聚體之解離(數據未顯示)。然而，在高抗體:四聚體比率下，huE104.v1 IgG 更可能作為單價結合劑(亦即 Fab)結合至四聚體，且失去抑制活性。

C. hu31A.v11 及 huE104.v2 競爭與人類類胰蛋白酶 β1 之結合

【0502】 藉由 X 射線結晶學測定之 hu31A.v11 之表位實質上與 huE104.v1 及 huE104.v2 之表位重疊。接下來藉由表位鑑定來確定 hu31A.v11 及 huE104.v2 是否競爭與人類類胰蛋白酶 β1 之結合。使用 OCTET® RED384 系統(ForteBio, Inc., Menlo Park, CA, USA)來進行表位鑑定。簡言之，藉由與 NHS-PEG4-生物素反應使人類類胰蛋白酶 β1 單體蛋白質在 Lys 殘基處生物素化。將生物素化單體於動力學緩衝液(ForteBio, Inc., Menlo Park, CA, USA)中稀釋至 5 μg/ml 且固定化至鏈黴抗生物素蛋白感測器尖端(ForteBio, Inc., Menlo Park, CA, USA)上。在固定化步驟之後，利用以 10-20 μg/ml 稀釋之第一抗體使人類類胰蛋白酶 β1 固定化感測器飽和，之後與以 2.5 μg/ml 稀釋之第二抗體結合。第二抗體之結合信號意味著該

兩種抗體可在不同之非重疊表位同時結合抗原，而無結合信號意味著其共享共同表位。使用 Forte Bio 數據分析軟體 8.1 來產生表位鑑定矩陣。

【0503】 下表 11 中所示之數據展示，使用 huE104.v2 作為第一抗體且 hu31A.v11 作為第二抗體(或反之亦然)檢測不到額外結合信號。緩衝液之後添加任一抗體均會產生額外結合。因此，該兩種抗體競爭與人類類胰蛋白酶 β1 之結合。

表 11：hu31A.v11 及 huE104.v2 競爭與人類 β 類胰蛋白酶 1 之結合

第一抗體	第二抗體	
	hu31A.v11 IgG4	huE104.v2 IgG4
huE104.v2 IgG4	-0.0086	-0.0083
Hu31A.v11 IgG4	-0.0205	0.011
緩衝液	0.423	0.514

實例 4：人類化抗類胰蛋白酶抗體之藥物動力學(PK)分析

【0504】 為評價人類化抗類胰蛋白酶抗體之藥效學(PK)特性，藉由以 1 mg/kg 或 10 mg/kg 靜脈內(IV)注射至 C57BL/6 小鼠(n = 3)來投與 huE104.v2 或 hu31A.v11 IgG4 抗體。C57-BL6 小鼠血清中抗 gD IgG4、抗類胰蛋白酶 hu31A.v11 IgG4 或抗類胰蛋白酶 huE104.v2 IgG4 之濃度係利用通用免疫球蛋白藥物動力學 ELISA 來測定，使用綿羊-抗人類-IgG (The Binding Site；San Diego, CA)用於捕獲且 HRP 偶聯綿羊抗人類-IgG (Bethyl Laboratories, Montgomery, TX)用於檢測。血清中之分析靈敏度為 15.6 ng/mL。huE104.v2 及 hu31A.v11 IgG4 抗體展現相似 PK，其特徵在於跨越所測試劑量範圍之與劑量成比例且線性之 PK (圖 13 及表 12)。另外，兩種抗體均具有相對較低之清除率(約 5 ml /天/ kg)，此表明兩種抗體在單次劑量投與後表現良好且在可接受之範圍內。在其他實驗中，huE104.v2 IgG1 與 huE104.v2 IgG4 及 hu31A.v11 IgG4 抗體之性能相似(數據未顯示)。

表 12：小鼠中人類化抗類胰蛋白酶抗體之 PK 分析

抗類胰蛋白酶 IgG4	劑量	AUC 最後 (天• μg/ml)	清除率 (ml/天/kg)	C 最大 (μg/ml)
huE104.v2	1 mg/kg	127	5.00	21.6

huE104.v2	10 mg/kg	1400	5.12	242
hu31A.v11	1 mg/kg	155	4.74	25.8
hu31A.v11	10 mg/kg	1750	4.54	251

【0505】 在雄性食蟹猴(cyno)中亦評價人類化抗類胰蛋白酶抗體之 PK 特性(n=3)。藉由靜脈內(IV)注射以 30 mg/kg 投與對照抗體(抗 gD)、huE104.v2 IgG4 或 hu31A.v11 IgG4 (圖 14 及表 13)。利用 Gyrolab XP 免疫分析測定食蟹猴血清中之抗 gD IgG4、抗類胰蛋白酶 hu31A.v11 IgG4 或抗類胰蛋白酶 huE104.v2 IgG4 之濃度，該 Gyrolab XP 免疫分析係由生物素偶聯之山羊抗人類 IgG (Bethyl Laboratories, Montgomery, TX)捕獲及 Alexa® Fluor 647 偶聯之小鼠抗人類 Fc (R10Z8E9)檢測組成。血清中之分析靈敏度為 41 ng/mL。表 13 顯示曲線下面積(AUC)、清除率(CL)、$C_{最大}$及半衰期($T_{1/2}$)。hu31A.v11 展現與對照抗 gD 抗體之相似藥物動力學。大約 3 mL/天/kg 之低清除率(CL)及約 15 天之 $T_{1/2}$ 在可接受之範圍內。

表 13：cyno 中人類化抗類胰蛋白酶抗體之 PK 分析(n=3)

組	AUC (天• μg/mL)	CL (mL/天/kg)	$C_{最大}$ (μg/mL)	$T_{1/2}$ (天)
抗 gD	11100 ± 1220	2.73 ± 0.285	972 ± 68.8	14.1 ± 1.37
hu31A.v11	10700 ± 3530	2.99 ± 0.855	805 ± 72.3	14.9 ± 5.95
huE104.v2	7910 ± 2270	3.98 ± 1.00	808 ± 48.9	11.5 ± 4.43

實例 5：調配抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 以改善 HVR-H3 Trp100 (W100)氧化

【0506】 在評估 hu31A.v11 及 huE104.v2 抗體二者時，出乎意料地發現存在於 hu31A.v11 之 HVR-H3 區中之 VH Trp100 殘基(圖 1)易於氧化，例如在暴露於 2,2-偶氮雙(2-脒基丙烷)二鹽酸鹽(AAPH) (亦稱為「AAPH 脅迫」)或環境光(「環境光脅迫」)之後。在治療性抗體之情形下，此氧化可視為不期望的。然而，發現 Trp100 殘基對於 hu31A.v11 與類胰蛋白酶之結合以及抑制活性係重要的。舉例而言，如下文所闡述，使 Trp100 突變以減輕氧化導致變體具有降低之結合親和力及抑制活性。因此，使用含有抗氧化賦形劑(例如，N-乙醯基色胺酸及/或甲硫胺酸)之調配物減輕 hu31A.v11、具體而言在 HVR-H3 W100 處之氧化。

【0507】 評估 AAPH 脅迫及 hu31A.v11 HVR-H3 W100 (亦即，VH 結構域之位置 100 處之色胺酸殘基，參見圖 1)氧化對類胰蛋白酶結合及抑制活性之效應。將樣品在 40°C下於 1 mM AAPH 中調配 16 h。在該等條件下，W100 氧化增加 75% (氧化百分比)。脅迫抗體經胰蛋白酶消化且使經消化之肽經受 UHPLC-HRMS (超高效液相層析-高解析度質譜法)以測定色胺酸氧化百分比。簡言之，利用於 pH 8.6 之 6 M 鹽酸胍、360 mM Tris 及 2 mM EDTA 中之 20 mM DTT 將 250 μg hu31A.v11 樣品還原 1 hr。使經還原之樣品冷卻至室溫且使用 1 M 碘乙酸(最終濃度 50 mM)在暗處烷基化 15 min。接著將樣品緩衝液交換至消化緩衝液 (25 mM Tris, 2 mM $CaCl_2$, pH 8.2)中。使用 1:40 (w/w)酶對抗體比率，利用胰蛋白酶將緩衝液交換之樣品在 37°C下消化 4 hr。藉由添加 100%甲酸至最終濃度為 3.0%來停止消化。

【0508】 將 10 μg 胰蛋白酶肽注射至具有 1.7 μm, 130 Å 顆粒之 Waters 2.1 × 150 mm, Acquity UPLC® CSH C18 管柱，以 0.2 mL/min 之流速在 77°C下運行，其與具有以下梯度之 Q Exactive 質譜儀系統耦聯：0-2 min 時 1% B (於乙腈中之 0.1% 甲酸)；7 min 時 13% B；42 min 時 35% B；44-46 min 時 85% B；46.1 min 時 1% B。該 Q Exactive 係以數據依賴模式運行，收集 35,000 解析度下之 200-2000 *m/z* 之全 MS 掃描及 1×10^6 之自動增益控制(AGC)目標。選擇每次掃描 8 個最豐富之離子用於 17,500 解析度下之串聯 MS 及 1×10^5 之 AGC 目標。如下生成 W100 氧化之相對定量：(1) 峰面積係藉由將來自相對豐度為 10%之電荷狀態且對於天然胰蛋白酶肽及其氧化對應物為 10%以上之前三個最豐富之同位素之提取離子層析圖積分來計算。(2) 將總氧化峰面積除以氧化及天然峰面積之總和且乘以 100 來獲得氧化百分比。

【0509】 表 14 中之結果顯示，AAPH 脅迫降低 hu31A.v11 與類胰蛋白酶單體之結合，如藉由 BIAcore® SPR 分析所量測(表 14)。對於與類胰蛋白酶四聚體之

結合亦觀察到結合降低。相比之下，huE104.v2 與類胰蛋白酶單體及四聚體之結合不受 AAPH 脅迫影響(表 14)。另外，在活體外類胰蛋白酶酶活性分析中，AAPH 脅迫將 hu31A.v11 之活性降低約 5 倍，而 huE104.v2 之抑制活性不受影響(數據未顯示)。總而言之，在 AAPH 脅迫後，hu31A.v11 IgG4 (其在 HVR-H3 W100 處具有 75%氧化)顯示 K_D 高大約 6 倍(亦即，親和力降低) (具有 35% Rmax)且 IC50 增加 5 倍(亦即，功效降低)。Rmax 指示 BIAcore® SPR 實驗中之最大反應，且 Rmax 之降低反映較少之 AAPH-脅迫抗體結合至類胰蛋白酶之事實。相比之下，AAPH 脅迫對 huE104.v2 IgG4 之結合及功效具有最小之效應(若存在)。

表 14：AAPH 脅迫降低 hu31A.v11 與類胰蛋白酶之結合

樣品	類胰蛋白酶 β1	K_{on} (1/Ms)	K_{off} (1/s)	K_D (M)
hu31A.v11 對照	單體	5.976E5	1.328E-4	2.222E-10
hu31A.v11 AAPH	單體	6.076E5	7.978E-4	1.313E-9
huE104.v2 對照	單體	5.846E5	1.861E-4	3.183E-10
huE104.v2 AAPH	單體	6.795E5	1.535E-4	2.260E-10

【0510】　在降低 HVR-H3 氧化之一種方法中，產生在 HVR-H3 W100 處具有取代之變體抗體，且評價該等變體與類胰蛋白酶 β1 單體之結合(表 15)。hu31A.v11 之殘基 W100 突變為苯丙胺酸(F)、酪胺酸(Y)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)或精胺酸(R)。令人驚訝地，所有變體均顯示與類胰蛋白酶 β1 單體之結合降低。與其他變體相比，hu31A.v11 W100F 變體具有最高之對類胰蛋白酶 β1 單體之親和力，但與野生型 hu31A.v11 相比則展現快大約 100 倍之解離速率(K_{off})，其中結合速率(K_{on})相似(表 15)。此外，就抑制活性而言，該等變體劣於 hu31A.v11 WT (表 15)。對於一些變體，抑制活性基本上喪失(例如，對於 W100R、W100L 及 W100V)。hu31A.v11 W100F 及 W100Y 變體抑制人類類胰蛋白酶 β1，但與 hu31A.v11 WT 相比，IC50 值增加大約 2 至 3 倍(亦即，活性降低)。在表 15 中，「nd」指示未檢出或高於 1 μM。

表 15：與 hu31A.v11 野生型相比，hu31A.v11 W100 變體對與類胰蛋白酶 β1 單體之結合親和力及 IC50 之效應(作為倍數增加)

	hu31A.v11 (W100)	hu31A.v11 W100F	hu31A.v11 W100Y	hu31A.v11 W100V	huE104.v2 W100L	huE104.v2 W100R
K_D	1	80	234	821	2411	54
IC50	1	2.5	3.46	nd	nd	nd

【0511】 如上文所闡述，結構研究揭示 HVR-H3 W100 與類胰蛋白酶發生多重相互作用，包括與類胰蛋白酶之 R65 (胰凝乳蛋白酶原編號)相互作用，其經確定為 hu31A.v11 之接觸殘基之一部分(參見圖 8)。較 W100F 突變體中之 Phe，認為位置 100 處之 Trp 與類胰蛋白酶相互作用之程度更大，從而產生更高之結合親和力及更有效之抑制活性。

【0512】 鑒於在 HVR-H3 W100 處具有氧化之 hu31A.v11 之親和力及抑制活性降低以及如上文所示之 W100 在類胰蛋白酶抑制中之重要性，尋求減輕 W100 處氧化之替代策略。測定抗氧化賦形劑降低 W100 氧化之能力。在一個實例中，在具有或不具例示性抗氧化賦形劑(亦即，0.3 mM N-乙醯基色胺酸(NAT)及 5 mM 甲硫胺酸(Met))下，使樣品在 40°C下於含有 0.02%聚山梨醇酯 20、200 mM 精胺酸琥珀酸鹽(pH 5.5)及 150 mg/mL 之 hu31A.v11 抗體之調配物中經受 5 mM AAPH 達 24 h。基於發色 S-2288 酶分析來量測 CDR H3 W100 之氧化程度及抗體之功效。下表 16 中之數據顯示，在此實驗中，與對照非脅迫抗體樣品(n=2)相比，AAPH 脅迫在 hu31A.v11 IgG4 之 W100 處產生 38%氧化，此導致功效損失 32%。含有 0.3 mM NAT 及 5 mM Met 之調配物中之抗體組合物顯示將氧化程度自 38%降低至 26%，且將功效損失自 32%降低至 21% (n=2)。因此，含有抗氧化賦形劑(例如 NAT 及 Met)之調配物在 W100 處降低 AAPH 誘發之氧化且恢復抗體功效。在單獨實例中，樣品在具有或不具抗氧化賦形劑之相同調配物中經受環境光脅迫條件(在 5000 Lux/h 下 60 h，其係較 AAPH 溫和之脅迫條件)。溫和環境光脅迫

條件在 W100 處導致 6%氧化，且賦形劑之存在進一步降低氧化程度(表 16)。由環境光誘導之脅迫過程誘導之氧化程度不影響抗體功效。

表 16：抗氧化劑調配物對 hu31A.v11 氧化之效應

樣品描述	平均相對功效，(功效損失) (n=2)	HVR-H3 W100 氧化
5 mM AAPH 樣品，無 NAT/MET	68% (32%)	38%
5 mM AAPH 樣品，0.3 mM NAT/5 mM MET	79% (21%)	26%
光脅迫樣品，無 NAT/MET	100% (0%)	6%

【0513】 總而言之，該等結果顯示，hu31A.v11 HVR-H3 W100 出乎意料地易於氧化。誘變數據顯示，W100 對於 hu31A.v11 抗體之結合親和力及抑制活性係重要的，且此殘基處之所測試變體中無變體具有與野生型 hu31A.v11 相當之親和力或抑制活性。抗氧化劑(例如 NAT 及 Met)可用於減輕在 hu31A.v11 HVR-H3 W100 處觀察到之意外氧化，例如在用於治療病症(例如，氣喘)之醫藥抗體調配物中。

實例 6：抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 在活體內抑制類胰蛋白酶活性

A. 材料及方法

(i) Cyno 活性類胰蛋白酶 ELISA 分析

【0514】 藉由 ELISA 分析測定生物學樣品(例如，支氣管肺泡灌洗流體(BAL))中食蟹猴(cyno)活性類胰蛋白酶(四聚體)之濃度。利用識別 cyno 類胰蛋白酶 D1 之單株抗體作為捕獲抗體。使用重組 cyno 活性類胰蛋白酶 D1 作為用於製備分析標準品之源材料。將分析標準品、對照及稀釋樣品與 500 μg/ml 大豆胰蛋白酶抑制劑(SBTI；Sigma 目錄號 10109886001)一起培育 10 min，且接著用基於活性之探針(ABP；G0353816)標記 1 h。參見 Pan 等人，*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16:2882-85, 2006。SBTI 用於結合至單體中之活性位點，此降低由活性單體(可在

特定活體外條件下形成之物質)所引起之任何背景。當類胰蛋白酶呈四聚體構形時，SBTI 不能結合至活性位點。添加小分子類胰蛋白酶抑制劑(G02849855) 20 min 以停止 ABP 標記。添加四聚體解離性抗體(例如，hu31A.v11 IgG4) 10 min 以解離經 ABP 標記及未經標記之四聚體二者。將此混合物與捕獲抗體一起添加至 ELISA 板 1 h，用 1× PBST 洗滌，且與 SA-HRP 試劑(鏈黴抗生物素蛋白偶聯之辣根過氧化物酶，General Electric (GE)目錄號 RPN4401V)一起培育 2 h。藉由施加 HRP 受質四甲基聯苯胺(TMB)產生比色信號，且藉由添加磷酸來使反應停止。在 SpectraMax® M5 (Molecular Devices；Sunnyvale, CA)讀板儀上使用 450 nm 之檢測吸光度及 650 nm 之參比吸光度進行讀板。該分析之可報告範圍為 20-0.04 ng/mL (孔內)，且在 cyno BAL 之 1:2 稀釋液中測定分析最低可量化濃度(MQC)為 0.08 ng/mL。每一個別 cyno 樣品係以單一稀釋度一式兩份進行篩選。在最低稀釋度下分析之低於 MQC 之樣品報告為低於可報告性(LTR)。

(ii) Cyno 總類胰蛋白酶 ELISA 分析

【0515】 藉由 ELISA 分析測定生物學樣品(例如 BAL)中食蟹猴(cyno)總類胰蛋白酶之濃度。利用識別 cyno 類胰蛋白酶 D1 之抗體作為捕獲抗體。利用識別 cyno 類胰蛋白酶 D1 而不與四聚體解離性抗體競爭與 cyno 類胰蛋白酶 D1 結合之抗體作為檢測抗體。使用重組 cyno 活性類胰蛋白酶 D1 作為用於製備分析標準品之源材料。添加四聚體解離性抗體(例如，hu31A.v11, IgG4) 10 min 以分析標準品、對照及稀釋樣品以解離任何存在之四聚體。將此混合物與捕獲抗體一起添加至 ELISA 板 2 h，且接著用 1× PBST 洗滌。添加生物素化檢測抗體 1 h。接下來，添加 SA-HRP 試劑 1 h。藉由 TMB 產生比色信號，且藉由添加磷酸來使反應停止。在 SpectraMax® M5 讀板儀上使用 450 nm 之檢測吸光度及 650 nm 之參比吸光度進行讀板。該分析之可報告範圍為 20-0.02 ng/mL (孔內)，且在 cyno BAL 之 1:2 稀釋液中測定分析 MQC 為 0.08 ng/mL。每一個別 cyno 樣品係以單

一稀釋度一式兩份進行篩選。在最低稀釋度下分析之低於 MQC 之樣品報告為低於可報告性(LTR)。

(iii) 人類活性類胰蛋白酶 ELISA 分析

【0516】 藉由 ELISA 分析測定人類活性類胰蛋白酶(四聚體)之濃度。利用識別人類類胰蛋白酶且能夠解離類胰蛋白酶四聚體之小鼠單株抗體純系 B12 作為捕獲抗體(Fukuoka 等人，上文文獻)。亦可使用結合人類類胰蛋白酶之其他抗體。將重組人類活性類胰蛋白酶 β1 純化且用作用於製備分析標準品之源材料。將分析標準品、對照及稀釋樣品與 500 μg/ml SBTI 一起培育 10 min 且接著用 ABP (G0353816)標記 1 h。添加小分子類胰蛋白酶抑制劑(G02849855) 20 min 以停止 ABP 標記。將此混合物與捕獲抗體一起添加至 ELISA 板 1 h，用 1× PBST 洗滌，且與 SA-HRP 試劑一起培育 2 h。藉由施加 TMB 產生比色信號，且藉由添加磷酸來使反應停止。在 SpectraMax® M5 讀板儀上使用 450 nm 之檢測吸光度及 650 nm 之參比吸光度讀板。

(iv) 人類總類胰蛋白酶 ELISA 分析

【0517】 藉由 ELISA 分析測定人類總類胰蛋白酶之濃度。利用識別人類類胰蛋白酶且能夠解離類胰蛋白酶四聚體之抗體(純系 B12)作為捕獲抗體。利用識別人類類胰蛋白酶之單株抗體作為檢測抗體。將重組人類活性類胰蛋白酶 β1 純化且用作用於製備分析標準品之源材料。將樣品與捕獲抗體一起添加至 ELISA 板 2 h 且接著用 1× PBST 洗滌。添加生物素化檢測抗體 1 h。接下來，添加 SA-HRP 試劑 1 h。藉由施加 TMB 產生比色信號，且藉由添加磷酸來使反應停止。在 SpectraMax® M5 讀板儀上使用 450 nm 之檢測吸光度及 650 nm 之參比吸光度讀板。

B. 結果

【0518】 為評價抗類胰蛋白酶抗體(例如hu31A.v11)是否在活體內靶向類胰蛋白酶且抑制活性類胰蛋白酶之活性，開發分析以量測諸如支氣管肺泡灌洗流體(BAL) (例如，來自 cyno)等樣品中存在之活性類胰蛋白酶之量或藉由諸如鼻吸收等較小侵襲性方法採集之活性類胰蛋白酶之量。開發基於活性之探針，其包括標記(例如，生物素)、連接體及與活性類胰蛋白酶反應之反應基團。此探針選擇性地且共價結合至活性類胰蛋白酶。參見 Pan 等人，上文文獻。此工具可用於量測樣品中活性類胰蛋白酶之量(圖 15)。BAL 收集程序涉及將緩衝液滴注至氣道中且隨後回收該流體(其可有所變化)，且因此需要正規化因子來比較跨越時間點及動物之樣品。由於尿素係在血管與氣道隔室之間被動擴散之小分子，因此 BAL 中尿素/血清中尿素之比率可用於跨越時間點及跨越動物之正規化。參見 Pinheiro de Oliveira 等人，2010, *Critical Care* 14:R39。

【0519】 為確定 hu31A.v11 之投與是否在活體內靶向類胰蛋白酶，藉由靜脈內注射將 30 mg/kg 劑量投與至健康未受攻擊之食蟹猴，且測定 BAL 中活性類胰蛋白酶之量。在基線時，活性類胰蛋白酶含量相對較低，且在動物間有所變化。在基線時具有可檢測之活性類胰蛋白酶之動物中投與 hu31A.v11 後在 BAL 中觀察到活性類胰蛋白酶含量降低之趨勢(圖 16)。

【0520】 亦在過敏原攻擊模型中評價 hu31A.v11 投與之效應，其中藉由多種途徑重複投與使食蟹猴對寄生線蟲蛔蟲致敏(圖 17)。致敏階段包括在第 0 天、第 7 天、第 15 天、第 71 天、第 78 天及第 85 天腹膜內及肌內投與蛔蟲；在第 29 天、第 50 天、第 120 天、第 184 天及第 198-205 天藉由吸入投與；且在第 34 天肌內投與(圖 17)。在第-7 天、第 57 天及第 140 天在皮內投與之後評價紅斑風團(wheal flare)。每一動物接受最佳劑量之蛔蟲，如藉由 ORD (最佳反應劑量)所測定，其實施以表徵在每一動物中引發期望反應之蛔蟲之適當劑量值(在致敏階段期間實施)。劑量包括 4, 400 μg/ml 及 4000 μg/ml。實驗階段包括媒劑階段，其中

在第 1 天投與媒劑，之後在第 2 天藉由吸入投與蛔蟲，之後在 30 min 後取 BAL 及鼻吸收樣品以評價總類胰蛋白酶及活性類胰蛋白酶之量(圖 17)。4 週後，藥物階段包括在第 1 天投與 hu31A.v11，之後在第 2 天投與蛔蟲，且在 30 min 後取 BAL 及鼻吸收樣品以評價總類胰蛋白酶及活性類胰蛋白酶之量(圖 17)。

【0521】 在蛔蟲致敏模型中，在基線時具有可檢測之活性類胰蛋白酶含量之 5 個動物中投與抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 使得 BAL 中活性類胰蛋白酶顯著減少(圖 18A)，此指示此抗體活體內抑制類胰蛋白酶活性。另外，在所有動物中投與抗類胰蛋白酶抗體亦使得 BAL 中總類胰蛋白酶之量增加(圖 18B)。其他實驗顯示，在投用抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 之後，鼻黏膜內層流體(MLF)中總類胰蛋白酶之含量增加，如藉由鼻吸收樣品中總類胰蛋白酶之含量所評價(圖 18C)。在此實驗中，使用合成吸收性基質(SAM；Hunt Developments (UK), Ltd, West Sussex, England)收集 MLF。投用後總類胰蛋白酶之增加指示靶標接合。在投用之前及之後鼻吸收樣品中檢測不到活性類胰蛋白酶。圖 18A 及 18C 中之* 指示低於檢測之含量。

【0522】 接下來，亦在人類植入 IL2Rgnull-3/GM/SF NOD-SCID 小鼠中測試活體內活性證明。先前開發用於人類肥大細胞植入及人類 IgE 依賴性過敏性反應之人類化小鼠模型。簡言之，NSG-SGM3 小鼠(Jackson Laboratory，存貨編號 013062)係自 NOD.Cg-*Prkdc*^{scid} *Il2rg*^{tm1Wjl}/SzJ (NSG)背景開發，且如同其 NSG 親本，NSG-SGM3 小鼠缺少成熟 T 細胞、B 細胞及功能性 NK 細胞，且缺乏小鼠細胞介素信號傳導。該等小鼠含有三個共注射之轉基因，其各自藉由人類巨細胞病毒啟動子/增強子序列驅動。三重轉基因 NSG-SGM3 小鼠組成型產生 2-4 ng/ml 人類 SCF、GM-CSF 及 IL-3 之血清含量，提供細胞增殖及存活信號(參見例如 Bryce 等人，*J. Allergy Clin Immunol.* 138(3):769-779, 2016)。NSG-SGM3 BLT 小鼠產生人類肥大細胞，其存在於外周淋巴樣組織、黏膜組織及腹腔中。

NSG-SGM3 BLT 小鼠中之人類肥大細胞表現 CD117、類胰蛋白酶及 IgE-受體，其可以 IgE 依賴性抗原特異性方式經歷鈣流動及脫粒。在攻擊後，NSG-SGM3-BLT 小鼠產生人類肥大細胞依賴性抗原特異性 IgE 介導之被動全身過敏反應，其可係藉由量測體溫變化來分析。

【0523】 該實驗經設計以檢查植入小鼠中抗類胰蛋白酶抗體抑制 IgE 介導之被動全身性過敏反應之能力。將 10-12 週齡 NSG-SGM3 小鼠(Jackson Laboratory 存貨編號 013062)分成三組：組 1：利用同型抗體(500 μg/小鼠)腹膜內(i.p.)治療 NSG-SGM3 小鼠；組 2：利用人類抗類胰蛋白酶抗體(hu31A.v11 IgG4, 13.3 mg/mL) i.p. (500 μg/小鼠)治療 NSG-SGM3 小鼠；及組 3：利用類胰蛋白酶小分子抑制劑 G02849855 (30 mg/kg) i.p.治療 NSG-SGM3 小鼠。在第-1 天，將所有小鼠剃淨腹部毛髮以有助於體溫量測。在第 0 天，利用對照同型抗體或抗類胰蛋白酶抗體注射動物。劑量體積調配成 100 μL。將抗類胰蛋白酶抗體溶解於 200 μL 注射用鹽水中。治療後 15 min，用 1.6 μg 於 200 μL 鹽水中之抗 NP (4-羥基-3-硝基苯基乙醯基半抗原) IgE JW8.5.13 (Sigma 目錄號 87080706-1VL；亦參見 US20070253948 及 Jackman 等人，*J. Biol. Chem.* 285(27):20850-20859, 2010)使來自組 1-3 之小鼠靜脈內致敏。在第 1 天(治療後 24 h)，藉由手動約束小鼠且將 BraunThermoScan®Pro 4000 緊靠在胸骨正下方之剃淨腹部皮膚上來量測體溫。在基線體溫量測後立即利用 500 μg 於 200 μL 鹽水中之偶聯至載劑蛋白質 BSA 之抗原 NP (NP-BSA)對小鼠進行 i.v.攻擊。攻擊後每 15 分鐘將量測體溫至少 60 分鐘。

【0524】 如圖 19 中所示，與利用對照抗 gD 抗體治療之小鼠相比，在 IgE 攻擊後，利用抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 治療之小鼠顯示改良之體溫維持。

【0525】 該等數據顯示，抗類胰蛋白酶抗體 hu31A.v11 具有活性且可在活體內結合且抑制類胰蛋白酶活性。該等數據提供抗類胰蛋白酶抗體(例如

hu31A.v11)可用作用於治療類胰蛋白酶相關病症(例如氣喘)之治療劑之進一步證據。

其他實施例

【0526】 儘管已出於理解清楚之目的藉助說明及實例相當詳細地對上述發明進行闡述，但說明及實例不應解釋為限制本發明之範疇。本文所引用之所有專利及科學文獻之揭示內容均係以全文引用的方式明確併入本文中。

IV. 序列表

【0527】 表 17 顯示在整個本申請案中使用之序列。

表 17：序列表

SEQ ID NO：	序列
1	$X_1X_2GMX_3$，其中 X_1 係 Asp 或 Ser，X_2 係 Tyr 或 Phe 且 X_3 係 Val 或 His
2	FISSGSSTVYYADTMKG
3	$RX_1X_2X_3DWYFDV$，其中 X_1 係 Asn 或 Asp，X_2 係 Tyr 或 Asn 且 X_3 係 Asp 或 Tyr
4	SASSSVTYMY
5	RTSDLAS
6	QHYHSYPLT
7	DYGMV
8	RNYDDWYFDV
9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMVWVRQAPGKGLEWVAFISSGSSTVYYADTMKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRNYDDWYFDVWGQGTLVTVSS
10	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVTYMYWYQQKPGKSPKPWIYRTSDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYHSYPLTFGQGTKVEIK
11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS
12	WVRQAPGKGLEWVA
13	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTR
14	WGQGTLVTVSS
15	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
16	WYQQKPGKSPKPWIY
17	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
18	FGQGTKVEIK
19	EVKLVESGGGSVQPGGSRKLSCAASGFTFSDYGMVWVRQAPGKGLEWVAFISSGSSTVYYADTMKGRFTISRDNPKNTLFLQMSSLRSEDTAMYYCARRDNYDWYFDVWGTGTTVTVSS
20	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTISCSASSSVTYMYWYQQKPGSSPKPWIYRTSDLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQHYHSYPLTFGAGTKLELK

21	EVKLVESGGGSVQPGGSRKLSCAASGFTFS
22	WVRQAPGKGLEWVA
23	RFTISRDNPKNTLFLQMSSLRSEDTAMYYCAR
24	WGTGTTVTVSS
25	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTISC
26	WYQQKPGSSPKPWIY
27	GVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC
28	FGAGTKLELK
29	RDNYDWYFDV
30	GYAIT
31	GISSAATTFYSSWAKS
32	DPRGYGAALDRLDL
33	QSIKSVYNNRLG
34	ETSILTS
35	AGGFDRSGDTT
36	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLIGYAITWIRQPPGKGLEWIGGI SSAATTFYSSWAKSRVTISRDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARDPR GYGAALDRLDLWGQGTLVTVSS
37	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSIKSVYNNRLGWYQQKPGKAPKLLIY ETSILTSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAGGFDRSGDTTF GQGTKVEIK
38	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLI
39	WX_1RQPPGKGLEWIG，其中 X_1 係 Ile 或 Val
40	RX_1TISX$_2$DTSKNQX$_3$SLKLSSVTAADTAVYX$_4$CAR，其中 X_1 係 Val 或 Ser，X_2 係 Arg 或 Val，X_3 係 Val 或 Phe，且 X_4 係 Tyr 或 Phe
41	WGQGTLVTVSS
42	WIRQPPGKGLEWIG
43	RVTISRDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR
44	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSRFSLI
45	WVRQAPGKGLEWIG
46	RSTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYFCAR
47	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLIGYAITWIRQPPGKGLEWIGGI SSAATTFYSSWAKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDPR GYGAALDRLDLWGQGTLVTVSS
48	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLIGYAITWVRQPPGKGLEWIGGI SSAATTFYSSWAKSRSTISRDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYFCARDPRG YGAALDRLDLWGQGTLVTVSS
49	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLIGYAITWIRQPPGKGLEWIGGI SSAATTFYSSWAKSRVTISVDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARDPR GYGAALDRLDLWGQGTLVTVSS
50	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLIGYAITWIRQPPGKGLEWIGGI SSAATTFYSSWAKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDPR GYGAALDRLDLWGQGTLVTVSS
51	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSRFSLIGYAITWVRQAPGKGLEWIG GISSAATTFYSSWAKSRSTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARDP RGYGAALDRLDLWGQGTLVTVSS
52	QSLEESGGGLFKPTDTLTLTCTVSRFSLIGYAITWVRQSPENGLEWIGGIS SAATTFYSSWAKSRSTITRNTNENTVTLKMTSLTAADTATYFCARDPRG YGAALDRLDLWGQGTLVTVSS
53	AAVLTQTPASVSAAVGGTVSISCQSIKSVYNNRLGWYQQKPGQPPKLLI YETSILTSGVPSRFKGSGSETQFTLTISDVQCDDAATYFCAGGFDRSGDT

	TFGGGTEVVVK
54	QSLEESGGGLFKPTDTLTLTCTVSRFSLI
55	WVRQSPENGLEWIG
56	RSTITRNTNENTVTLKMTSLTAADTATYFCAR
57	WGQGTLVTVSS
58	DAQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQSIKSVYNNRLGWYQQKPGKPPKLLIY ETSILTSGVPSRFSGSGSETDFTLTISSLQPEDFATYFCAGGFDRSGDTTFG QGTKVEIK
59	AAVLTQTPASVSAAVGGTVSISCQSIKSVYNNRLGWYQQKPGQPPKLLI YETSILTSGVPSRFKGSGSETQFTLTISDVQADDAATYFCAGGFDRSGDT TFGGGTEVVVK
60	DX_1QX_2TQSPSSLSASVGDRVTITC，其中 X_1 係 Ile 或 Ala，且 X_2 係 Met 或 Leu
61	WYQQKPGKX_1PKLLIY，其中 X_1 係 Ala 或 Pro
62	GVPSRFSGSGSX_1TDFTLTISSLQPEDFATYX_2C，其中 X_1 係 Gly 或 Glu，且 X_2 係 Tyr 或 Phe
63	FGQGTKVEIK
64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
65	WYQQKPGKAPKLLIY
66	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
67	AAVLTQTPASVSAAVGGTVSISC
68	WYQQKPGQPPKLLIY
69	GVPSRFKGSGSETQFTLTISDVQX_1DDAATYFC，其中 X_1 係 Cys 或 Ala
70	FGGGTEVVVK
71	MLNLLLLALPVLASRAYAAPAPGQALQRVGIVGGQEAPRSKWPWQVSL RVHGPYWMHFCGGSLIHPQWVLTAAHCVGPDVKDLAALRVQLREQHL YYQDQLLPVSRIIVHPQFYTAQIGADIALLELEEPVNVSSHVHTVTLPPAS ETFPPGMPCWVTGWGDVDNDERLPPPFPLKQVKVPIMENHICDAKYHL GAYTGDDVRIVRDDMLCAGNTRRDSCQGDSGGPLVCKVNGTWLQAGV VSWGEGCAQPNRPGIYTRVTYYLDWIHHYVPKKP
72	MLNLLLLALPVLASRAYAAPAPGQALQRVGIVGGQEAPRSKWPWQVSL RVHGPYWMHFCGGSLIHPQWVLTAAHCVGPDVKDLAALRVQLREQHL YYQDQLLPVSRIIVHPQFYTAQIGADIALLELEEPVKVSSHVHTVTLPPAS ETFPPGMPCWVTGWGDVDNDERLPPPFPLKQVKVPIMENHICDAKYHL GAYTGDDVRIVRDDMLCAGNTRRDSCQGDSGGPLVCKVNGTWLQAGV VSWGEGCAQPNRPGIYTRVTYYLDWIHHYVPKKP
73	MLNLLLLALPVLASRAYAAPAPGQALQRVGIVGGQEAPRSKWPWQVSL RVRDRYWMHFCGGSLIHPQWVLTAAHCVGPDVKDLAALRVQLREQHL YYQDQLLPVSRIIVHPQFYTAQIGADIALLELEEPVNVSSHVHTVTLPPAS ETFPPGMPCWVTGWGDVDNDERLPPPFPLKQVKVPIMENHICDAKYHL GAYTGDDVRIVRDDMLCAGNTRRDSCQVATAPHTFPAPS
74	GATGGTGACTGTTCCAGTTGC
75	CATTGGTGAGGGTGCCCGAGTTC
76	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMVWVRQAPGKGLEW VAFISSGSSTVYYADTMKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC TRRNYDDWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE

	NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
77	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVTYMYWYQQKPGKSPKPWIYR TSDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYHSYPLTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
78	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMVWVRQAPGKGLEW VAFISSGSSTVYYADTMKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC TRRNYDDWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLG
79	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVTYMYWYQQKPGKSPKPWIYR TSDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYHSYPLTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
80	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLIGYAITWIRQPPGKGLEWIGGI SSAATTFYSSWAKSRVTISRDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARDPR GYGAALDRLDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
81	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSIKSVYNNRLGWYQQKPGKAPKLLIY ETSILTSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAGGFDRSGDTTF GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
82	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLIGYAITWIRQPPGKGLEWIGGI SSAATTFYSSWAKSRVTISRDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARDPR GYGAALDRLDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSLG
83	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSIKSVYNNRLGWYQQKPGKAPKLLIY ETSILTSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAGGFDRSGDTTF GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

84	AYSVN
85	MIWGDGKIVYNSALKS
86	DGYYPYAMDN
87	RASKSVDSYGNSFMH
88	LASNLES
89	QQNNEDPRT
90	QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTVSGFSLSAYSVNWIRQPPGKALEWLA MIWGDGKIVYNSALKSRLTISKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCAG DGYYPYAMDNWGQGSLVTVSS
91	DIVMTQSPDSLSVSLGERATINCRASKSVDSYGNSFMHWYQQKPGQPPK LLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEDP RTFGGGTKVEIK
92	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSYPFTFGQG TKVEIK
93	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQPPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARF DYWGQFTLVTVSS
94	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWV GAISSSGSSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RFDYWGQGTLVTVSS
95	TLTISSLQPEDFATYYCQQYYSYPFTFGQGTKVEIK
96	TLTISDVQCDDAATYFCAGGFDRSGDTTFGGGTEVVVK
97	IVGGQEAPRSKWPWQVSLRVHGPYWMHFCGGSLIHPQWVLTAAHCVG PDVKDLAALRVQLREQHLYYQDQLLPVSRIIVHPQFYTAQIGADIALLEL EEPVNVSSHVHTVTLPPASETFPPGMPCWVTGWGDVDNDERLPPPFPLK QVKVPIMENHICDAKYHLGAYTGDDVRIVRDDMLCAGNTRRDSCQGDS GGPLVCKVNGTWLQAGVVSWGEGCAQPNRPGIYTRVTYYLDWIHHYV PKKP
98	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMVWVRQAPGKGLEW VGFISSGSSTVYYADTMKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVVYC ARRDNYDWYFDVWGQGTLVTVSS
99	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMVWVRQAPGKGLEW VAFISSGSSTVYYADTMKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVVYC ARRDNYDWYFDVWGQGTLVTVSS
100	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMHWVRQAPGKGLEWV AFISSGSSTVYYADTMKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVVYCA RRDNYDWYFDVWGQGTLVTVSS
101	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMVWVRQAPGKGLEW VAFISSGSSTVYYADTMKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVVYC TRRDNYDWYFDVWGQGTLVTVSS
102	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVTYMYWYQQKPGKAPKLLIYRT SDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYHSYPLTFGQGT KVEIK
103	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVTYMYWYQQKPGKSPKPWIYRT SDLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHYHSYPLTFGQG TKVEIK
104	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCAGGCG GCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGAT TATGGCATGGTGTGGGTGCGCCAGGCCCCAGGCAAAGGCCTGGAATG GGTGGCCTTCATCAGCAGCGGCAGCAGCACCGTGTATTATGCCGATA

	CCATGAAAGGCCGCTTCACCATCAGCCGCGATAACAGCAAAAACACC CTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCCGAAGATACCGCCGTGTA TTATTGCACCCGCCGCAACTACGATGATTGGTATTTCGATGTGTGGGG CCAGGGCACCCTGGTGACCGTCTCGAGT
105	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGG GCGATCGCGTGACCATCACCTGCAGCGCCAGCAGCAGCGTGACCTAT ATGTATTGGTATCAGCAGAAACCAGGCAAAAGCCCAAAACCATGGA TCTATCGCACCAGCGATCTGGCCAGCGGCGTGCCAAGCCGCTTCAGC GGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA GCCAGAAGATTTCGCCACCTATTATTGCCAGCACTATCACAGCTATCC ACTGACCTTCGGCCAGGGTACCAAGGTGGAGATCAAA
106	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCAGGCG GCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGAT TATGGCATGGTGTGGGTGCGCCAGGCCCCAGGCAAAGGCCTGGAATG GGTGGCCTTCATCAGCAGCGGCAGCAGCACCGTGTATTATGCCGATA CCATGAAAGGCCGCTTCACCATCAGCCGCGATAACAGCAAAAACACC CTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCCGAAGATACCGCCGTGTA TTATTGCACCCGCCGCAACTACGATGATTGGTATTTCGATGTGTGGGG CCAGGGCACCCTGGTGACCGTCTCGAGTGCCTCCACCAAGGGCCCAT CGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACA GCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC GGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC CGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTG ACTGTGCCCTCTAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCC AAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGG ACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGA CGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG TACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCA GGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCA GCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAAGAGA TGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGA ACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC TTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG GAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACT ACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
107	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGG GCGATCGCGTGACCATCACCTGCAGCGCCAGCAGCAGCGTGACCTAT ATGTATTGGTATCAGCAGAAACCAGGCAAAAGCCCAAAACCATGGA TCTATCGCACCAGCGATCTGGCCAGCGGCGTGCCAAGCCGCTTCAGC GGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA GCCAGAAGATTTCGCCACCTATTATTGCCAGCACTATCACAGCTATCC ACTGACCTTCGGCCAGGGTACCAAGGTGGAGATCAAACGAACTGTGG CTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT CTGGAACTGCTTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAG AGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAA CTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAAC

	ACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCC GTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
108	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCAGGCG GCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGAT TATGGCATGGTGTGGGTGCGCCAGGCCCCAGGCAAAGGCCTGGAATG GGTGGCCTTCATCAGCAGCGGCAGCAGCACCGTGTATTATGCCGATA CCATGAAAGGCCGCTTCACCATCAGCCGCGATAACAGCAAAAACACC CTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCCGAAGATACCGCCGTGTA TTATTGCACCCGCCGCAACTACGATGATTGGTATTTCGATGTGTGGGG CCAGGGCACCCTGGTGACCGTCTCGAGTGCCTCCACCAAGGGCCCAT CGGTCTTCCCCCTGGCACCCTGCTCCCGCAGTACTTCTGAGTCCACAG CGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA CTGTGCCCTCTAGCAGCTTGGGCACCAAGACCTACACGTGCAACGTG GATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAACGCGTTGAGTCCA AATATGGTCCCCCATGCCCACCATGCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGG GGACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCAT GATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC AGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGA GGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCT GAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCG TCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA GCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGA ACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGAC ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACA AGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACA GCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTT CTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGA AGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA
109	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCCCAGGCCTGGTGAAACCAAGCG AAACCCTGAGCCTGACCTGCACCGTGAGCCGCTTCAGCCTGATCGGC TATGCCATCACCTGGATCCGCCAGCCACCAGGCAAAGGCCTGGAATG GATCGGCGGCATCAGCAGCGCCGCCACCACCTTCTATAGCAGCTGGG CCAAAAGCCGCGTGACCATCAGCCGCGATACCAGCAAAAACCAGGT GAGCCTGAAACTGAGCAGCGTGACCGCCGCCGATACCGCCGTGTATT ATTGCGCCCGCGATCCACGCGGCTATGGCGCCGCCCTGGATCGCCTG GATCTGTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTCTCGAGT
110	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGG GCGATCGCGTGACCATCACCTGCCAGAGCATCAAAAGCGTGTATAAC AACCGCCTGGGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGCAAAGCCCCAAAAC TGCTGATCTATGAAACCAGCATCCTGACCAGCGGCGTGCCAAGCCGC TTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTCACCCTGACCATCAGCAG CCTGCAGCCAGAAGATTTCGCCACCTATTATTGCGCCGGCGGCTTCG ATCGCAGCGGCGATACCACCTTCGGCCAGGGTACCAAGGTGGAGATC AAA
111	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCCCAGGCCTGGTGAAACCAAGCG AAACCCTGAGCCTGACCTGCACCGTGAGCCGCTTCAGCCTGATCGGC TATGCCATCACCTGGATCCGCCAGCCACCAGGCAAAGGCCTGGAATG GATCGGCGGCATCAGCAGCGCCGCCACCACCTTCTATAGCAGCTGGG CCAAAAGCCGCGTGACCATCAGCCGCGATACCAGCAAAAACCAGGT

	GAGCCTGAAACTGAGCAGCGTGACCGCCGCCGATACCGCCGTGTATT ATTGCGCCCGCGATCCACGCGGCTATGGCGCCGCCCTGGATCGCCTG GATCTGTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTCTCGAGTGCCTCCAC CAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCT CTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGT GCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACTGTGCCCTCTAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAA AGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCC CAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAA AACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGG GAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT CCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCG GGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAA GGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
112	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGG GCGATCGCGTGACCATCACCTGCCAGAGCATCAAAAGCGTGTATAAC AACCGCCTGGGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGCAAAGCCCCAAAAC TGCTGATCTATGAAACCAGCATCCTGACCAGCGGCGTGCCAAGCCGC TTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTCACCCTGACCATCAGCAG CCTGCAGCCAGAAGATTTCGCCACCTATTATTGCGCCGGCGGCTTCG ATCGCAGCGGCGATACCACCTTCGGCCAGGGTACCAAGGTGGAGATC AAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT GAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCTTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAA CTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
113	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCCCAGGCCTGGTGAAACCAAGCG AAACCCTGAGCCTGACCTGCACCGTGAGCCGCTTCAGCCTGATCGGC TATGCCATCACCTGGATCCGCCAGCCACCAGGCAAAGGCCTGGAATG GATCGGCGGCATCAGCAGCGCCGCCACCACCTTCTATAGCAGCTGGG CCAAAAGCCGCGTGACCATCAGCCGCGATACCAGCAAAAACCAGGT GAGCCTGAAACTGAGCAGCGTGACCGCCGCCGATACCGCCGTGTATT ATTGCGCCCGCGATCCACGCGGCTATGGCGCCGCCCTGGATCGCCTG GATCTGTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTCTCGAGTGCCTCCAC CAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTGCTCCCGCAGTACTTC TGAGTCCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCG AACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTG CACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC AGCGTGGTGACTGTGCCCTCTAGCAGCTTGGGCACCAAGACCTACAC GTGCAACGTGGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAACGC

	GTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCACCATGCCCAGCACCTGA GTTCCTGGGGGGACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCCAAAACCCAAGG ACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGG ATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA GTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAA AGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGC AGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAG ATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTA CCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTT CTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAG GGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCA CTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA
114	EVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTVSGFSLSAYSVNWIRQPPGKALEWLA MIWGDGKIVYNSALKSRLTISKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCAG DGYYPYAMDNWGQGSLVTVSS
115	DIVLTQSPDSLSVSLGERATINCRASKSVDSYGNSFMHWYQQKPGQPPK LLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEDP RTFGGGTKVEIK
116	IVGGQEAPRSKWPWQVSLRVHGPYWMHFCGGSLIHPQWVLTAAHCVG PDVKDLAALRVQLREQHLYYQDQLLPVSRIIVHPQFYTAQIGADIALLEL EEPVKVSSHVHTVTLPPASETFPPGMPCWVTGWGDVDNDERLPPPFPLK QVKVPIMENHICDAKYHLGAYTGDDVRIVRDDMLCAGNTRRDSCQGDS GGPLVCKVNGTWLQAGVVSWGEGCAQPNRPGIYTRVTYYLDWIHHYV PKKPGNSDYKDDDDK
117	IVGGQEAPRSKWPWQVSLRVRDRYWMHFCGGSLIHPQWVLTAAHCVG PDVKDLAALRVQLREQHLYYQDQLLPVSRIIVHPQFYTAQIGADIALLEL EEPVNVSSHVHTVTLPPASETFPPGMPCWVTGWGDVDNDERLPPPFPLK QVKVPIMENHICDAKYHLGAYTGDDVRIVRDDMLCAGNTRRDSCQGDS GGPLVCKVNGTWLQAGVVSWGEGCAQPNRPGIYTRVTYYLDWIHHYV PKKPGNSDYKDDDDK
118	IVGGQEAPRSKWPWQVSLRVRDRYWMHFCGGSLIHPQWVLTAAHCLG PDVKDLAALRVQLREQHLYYQDQLLPVSRIIVHPQFYIIQTGADIALLELE EPVNISSRVHTVMLPPASETFPPGMPCWVTGWGDVDNDEPLSPPFPLKQ VKVPIMENHICDAKYHLGAYTGDDVRIIRDDMLCAGNSQRDSCKGDSG GPLVCKVNGTWLQAGVVSWDEGCAQPNRPGIYTRVTYYLDWIHHYVP KKPGNSDYKDDDDK
119	ALPVLVSPAHAAPAPGQALQRVGIVGGKEAPRSKWPWQVSLRLHGQY WMHFCGGSLIHPQWVLTAAHCVGPDVKDLADLRVQLREQHLYYQDQL LPVSRIIVHPQFYAVQIGADIALLELEEPVNVSSHVHTVTLPPALETFPPGT PCWVTGWGDVDNDVRLPPPYPLKEVEVPIVENQLCDAEYHTGLHTGDS FRIVRDDMLCAGSEKHDSCQGDSGGPLVCKVNGTWLQAGVVSWGEGC ALPNRPGIYTRVTYYLDWIHRYVPEKP
120	SFSMS
121	TISGGKTFTDYVDSVKG
122	ANYGNWFFEV
123	RASESVAKYGLSLLN
124	AASNRGS
125	QQSKEVPFT
126	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMSWVRQAPGKGLEWV

	ATISGGKTFTDYVDSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCT RANYGNWFFEVWGQGTLVTVSS
127	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVAKYGLSLLNWFQQKPGQPPRL LIFAASNRGSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSKEVPFTF GQGTKVEIK
128	AGSTHHHHHHDDDDKIVGGQEAPRSKWPWQVSLRVHGPYWMHFCGG SLIHPQWVLTAAHCVGPDVKDLAALRVQLREQHLYYQDQLLPVSRIIVH PQFYTAQIGADIALLELEEPVNVSSHVHTVTLPPASETFPPGMPCWVTGW GDVDNDERLPPPFPLKQVKVPIMENHICDAKYHLGAYTGDDVRIVRDD MLCAGNTRRDSCQGDSGGPLVCKVNGTWLQAGVVSWGEGCAQPNRP GIYTRVTYYLDWIHHYVPKKP

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 美商建南德克公司 (GENENTECH, INC.)

<120> 抗類胰蛋白酶抗體、其組合物及其

<130> 50474-112WO2

<140> 107104821
<141> 2018-02-09

<150> US 62/457,722
<151> 2017-02-10

<160> 128

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> X 係 Asp 或 Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> X 係 Tyr 或 Phe

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> X 係 Val 或 His

<400> 1

Xaa Xaa Gly Met Xaa
1 5

<210> 2

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 2

Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Val Tyr Tyr Ala Asp Thr Met Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 3
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> X 係 Asn 或 Asp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> X 係 Tyr 或 Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> X 係 Asp 或 Tyr

<400> 3

Arg Xaa Xaa Xaa Asp Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 4
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 4

Ser Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Met Tyr
1 5 10

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 5

Arg Thr Ser Asp Leu Ala Ser
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 6

Gln His Tyr His Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 7

Asp Tyr Gly Met Val

1 5

<210> 8
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 8

Arg Asn Tyr Asp Asp Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 9
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 9

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

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

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Val Tyr Tyr Ala Asp Thr Met
50 55 60

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

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

Thr Arg Arg Asn Tyr Asp Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 10
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 10

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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Met
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 11
<211> 30
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 11

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

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

<210> 12
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 12

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

<210> 13
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 13

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 Thr Arg
20 25 30

<210> 14
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 14

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

<210> 15
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 15

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> 16
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 16

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

<210> 17
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 17

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> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 18

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 19
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 19

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

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

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Val Tyr Tyr Ala Asp Thr Met
50 55 60

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

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

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

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 20
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 20

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

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

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

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

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

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

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

<210> 21
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 21

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

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

<210> 22
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 22

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

<210> 23
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 23

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

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

<210> 24
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 24

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

<210> 25
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 25

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

Glu Lys Val Thr Ile Ser Cys
20

<210> 26
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 26

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

<210> 27
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 27

Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 28
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 28

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
1 5 10

<210> 29
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 29

Arg Asp Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 30
<211> 5
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 30

Gly Tyr Ala Ile Thr
1 5

<210> 31
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 31

Gly Ile Ser Ser Ala Ala Thr Thr Phe Tyr Ser Ser Trp Ala Lys Ser
1 5 10 15

<210> 32
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 32

Asp Pro Arg Gly Tyr Gly Ala Ala Leu Asp Arg Leu Asp Leu
1 5 10

<210> 33
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 33

Gln Ser Ile Lys Ser Val Tyr Asn Asn Arg Leu Gly

1 5 10

<210> 34
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 34

Glu Thr Ser Ile Leu Thr Ser
1 5

<210> 35
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 35

Ala Gly Gly Phe Asp Arg Ser Gly Asp Thr Thr
1 5 10

<210> 36
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 36

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Arg Phe Ser Leu Ile Gly Tyr
20 25 30

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

35 40 45

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

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Pro Arg Gly Tyr Gly Ala Ala Leu Asp Arg Leu Asp Leu Trp
100 105 110

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

<210> 37
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 37

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 Gln Ser Ile Lys Ser Val Tyr Asn Asn
20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln

65 70 75 80

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

Gly Asp Thr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 38
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 38

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Arg Phe Ser Leu Ile
20 25 30

<210> 39
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> X 係 Ile 或 Val

<400> 39

Trp Xaa Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 40

<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> X 係 Val 或 Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> X 係 Arg 或 Val

<220>
<221> MOD_RES
<222> (13)..(13)
<223> X 係 Val 或 Phe

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> X 係 Tyr 或 Phe

<400> 40

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

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

<210> 41
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 41

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

<210> 42
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 42

Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 43
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 43

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

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

<210> 44
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 44

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Arg Phe Ser Leu Ile
20 25 30

<210> 45
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 45

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

<210> 46
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 46

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

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

<210> 47
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 47

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Arg Phe Ser Leu Ile Gly Tyr
20 25 30

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

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

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Pro Arg Gly Tyr Gly Ala Ala Leu Asp Arg Leu Asp Leu Trp
100 105 110

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

<210> 48
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 48

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Arg Phe Ser Leu Ile Gly Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Arg Asp Pro Arg Gly Tyr Gly Ala Ala Leu Asp Arg Leu Asp Leu Trp
100 105 110

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

<210> 49
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 49

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Arg Phe Ser Leu Ile Gly Tyr
20 25 30

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

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

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Pro Arg Gly Tyr Gly Ala Ala Leu Asp Arg Leu Asp Leu Trp
100 105 110

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

<210> 50
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 50

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Arg Phe Ser Leu Ile Gly Tyr
20 25 30

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

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

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Pro Arg Gly Tyr Gly Ala Ala Leu Asp Arg Leu Asp Leu Trp
100 105 110

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

<210> 51
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 51

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Arg Phe Ser Leu Ile Gly Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Arg Asp Pro Arg Gly Tyr Gly Ala Ala Leu Asp Arg Leu Asp Leu Trp
100 105 110

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

<210> 52
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 52

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

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

Ile Thr Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Asn Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45

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

Arg Ser Thr Ile Thr Arg Asn Thr Asn Glu Asn Thr Val Thr Leu Lys
65 70 75 80

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

Asp Pro Arg Gly Tyr Gly Ala Ala Leu Asp Arg Leu Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 53
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 53

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

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

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

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

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

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

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

<210> 54
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 54

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

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Arg Phe Ser Leu Ile
20 25

<210> 55
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 55

Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Asn Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 56
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 56

Arg Ser Thr Ile Thr Arg Asn Thr Asn Glu Asn Thr Val Thr Leu Lys
1 5 10 15

Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 57
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 57

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

<210> 58
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 58

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ile Lys Ser Val Tyr Asn Asn
20 25 30

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

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

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

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

Gly Asp Thr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 59
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 59

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

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

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

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

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

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

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

<210> 60
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> X 係 Ile 或 Ala

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> X 係 Met 或 Leu

<400> 60

Asp Xaa Gln Xaa 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> 61
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)..(9)
<223> X 係 Ala 或 Pro

<400> 61

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

<210> 62
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MOD_RES
<222> (12)..(12)
<223> X 係 Gly 或 Glu

<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(31)
<223> X 係 Tyr 或 Phe

<400> 62

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

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

<210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 63

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 64
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 64

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> 65
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 65

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

<210> 66
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 66

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> 67
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 67

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

Gly Thr Val Ser Ile Ser Cys
20

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

<220>
<223> 合成構築體

<400> 68

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

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

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MOD_RES
<222> (24)..(24)

<223> X 係 Cys 或 Ala

<400> 69

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

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

<210> 70
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 70

Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
1 5 10

<210> 71
<211> 275
<212> PRT
<213> 智人

<400> 71

Met Leu Asn Leu Leu Leu Leu Ala Leu Pro Val Leu Ala Ser Arg Ala
1 5 10 15

Tyr Ala Ala Pro Ala Pro Gly Gln Ala Leu Gln Arg Val Gly Ile Val
20 25 30

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

Arg Val His Gly Pro Tyr Trp Met His Phe Cys Gly Gly Ser Leu Ile
50 55 60

His Pro Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Val Gly Pro Asp Val

65 70 75 80

Lys Asp Leu Ala Ala Leu Arg Val Gln Leu Arg Glu Gln His Leu Tyr
85 90 95

Tyr Gln Asp Gln Leu Leu Pro Val Ser Arg Ile Ile Val His Pro Gln
100 105 110

Phe Tyr Thr Ala Gln Ile Gly Ala Asp Ile Ala Leu Leu Glu Leu Glu
115 120 125

Glu Pro Val Asn Val Ser Ser His Val His Thr Val Thr Leu Pro Pro
130 135 140

Ala Ser Glu Thr Phe Pro Pro Gly Met Pro Cys Trp Val Thr Gly Trp
145 150 155 160

Gly Asp Val Asp Asn Asp Glu Arg Leu Pro Pro Pro Phe Pro Leu Lys
165 170 175

Gln Val Lys Val Pro Ile Met Glu Asn His Ile Cys Asp Ala Lys Tyr
180 185 190

His Leu Gly Ala Tyr Thr Gly Asp Asp Val Arg Ile Val Arg Asp Asp
195 200 205

Met Leu Cys Ala Gly Asn Thr Arg Arg Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser
210 215 220

Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys Val Asn Gly Thr Trp Leu Gln Ala Gly
225 230 235 240

Val Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Gln Pro Asn Arg Pro Gly Ile
245 250 255

Tyr Thr Arg Val Thr Tyr Tyr Leu Asp Trp Ile His His Tyr Val Pro
260 265 270

Lys Lys Pro
275

<210> 72
<211> 275
<212> PRT
<213> 智人

<400> 72

Met Leu Asn Leu Leu Leu Leu Ala Leu Pro Val Leu Ala Ser Arg Ala
1 5 10 15

Tyr Ala Ala Pro Ala Pro Gly Gln Ala Leu Gln Arg Val Gly Ile Val
20 25 30

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

Arg Val His Gly Pro Tyr Trp Met His Phe Cys Gly Gly Ser Leu Ile
50 55 60

His Pro Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Val Gly Pro Asp Val
65 70 75 80

Lys Asp Leu Ala Ala Leu Arg Val Gln Leu Arg Glu Gln His Leu Tyr
85 90 95

Tyr Gln Asp Gln Leu Leu Pro Val Ser Arg Ile Ile Val His Pro Gln
100 105 110

Phe Tyr Thr Ala Gln Ile Gly Ala Asp Ile Ala Leu Leu Glu Leu Glu
115 120 125

Glu Pro Val Lys Val Ser Ser His Val His Thr Val Thr Leu Pro Pro
130 135 140

Ala Ser Glu Thr Phe Pro Pro Gly Met Pro Cys Trp Val Thr Gly Trp
145 150 155 160

Gly Asp Val Asp Asn Asp Glu Arg Leu Pro Pro Pro Phe Pro Leu Lys
165 170 175

Gln Val Lys Val Pro Ile Met Glu Asn His Ile Cys Asp Ala Lys Tyr
180 185 190

His Leu Gly Ala Tyr Thr Gly Asp Asp Val Arg Ile Val Arg Asp Asp
195 200 205

Met Leu Cys Ala Gly Asn Thr Arg Arg Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser
210 215 220

Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys Val Asn Gly Thr Trp Leu Gln Ala Gly
225 230 235 240

Val Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Gln Pro Asn Arg Pro Gly Ile
245 250 255

Tyr Thr Arg Val Thr Tyr Tyr Leu Asp Trp Ile His His Tyr Val Pro
260 265 270

Lys Lys Pro
275

<210> 73
<211> 233
<212> PRT
<213> 智人

<400> 73

Met Leu Asn Leu Leu Leu Leu Ala Leu Pro Val Leu Ala Ser Arg Ala
1 5 10 15

Tyr Ala Ala Pro Ala Pro Gly Gln Ala Leu Gln Arg Val Gly Ile Val
20 25 30

Gly Gly Gln Glu Ala Pro Arg Ser Lys Trp Pro Trp Gln Val Ser Leu

35 40 45

Arg Val Arg Asp Arg Tyr Trp Met His Phe Cys Gly Gly Ser Leu Ile
50 55 60

His Pro Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Val Gly Pro Asp Val
65 70 75 80

Lys Asp Leu Ala Ala Leu Arg Val Gln Leu Arg Glu Gln His Leu Tyr
85 90 95

Tyr Gln Asp Gln Leu Leu Pro Val Ser Arg Ile Ile Val His Pro Gln
100 105 110

Phe Tyr Thr Ala Gln Ile Gly Ala Asp Ile Ala Leu Leu Glu Leu Glu
115 120 125

Glu Pro Val Asn Val Ser Ser His Val His Thr Val Thr Leu Pro Pro
130 135 140

Ala Ser Glu Thr Phe Pro Pro Gly Met Pro Cys Trp Val Thr Gly Trp
145 150 155 160

Gly Asp Val Asp Asn Asp Glu Arg Leu Pro Pro Pro Phe Pro Leu Lys
165 170 175

Gln Val Lys Val Pro Ile Met Glu Asn His Ile Cys Asp Ala Lys Tyr
180 185 190

His Leu Gly Ala Tyr Thr Gly Asp Asp Val Arg Ile Val Arg Asp Asp
195 200 205

Met Leu Cys Ala Gly Asn Thr Arg Arg Asp Ser Cys Gln Val Ala Thr
210 215 220

Ala Pro His Thr Phe Pro Ala Pro Ser
225 230

<210> 74
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 74
gatggtgact gttccagttg c 21

<210> 75
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 75
cattggtgag ggtgcccgag ttc 23

<210> 76
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 76

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

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

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Val Tyr Tyr Ala Asp Thr Met
50 55 60

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

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

Thr Arg Arg Asn Tyr Asp Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

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

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

<210> 77
<211> 213
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 77

```
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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Met
            20                  25                  30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 78
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 78

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

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

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Val Tyr Tyr Ala Asp Thr Met
50 55 60

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

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

Thr Arg Arg Asn Tyr Asp Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

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

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

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

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

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

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 79
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 79

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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Met

20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 80
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 80

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Arg Phe Ser Leu Ile Gly Tyr
            20                  25                  30

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

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

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Asp Pro Arg Gly Tyr Gly Ala Ala Leu Asp Arg Leu Asp Leu 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 Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

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

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

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

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

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly
450

<210> 81
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 81

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 Gln Ser Ile Lys Ser Val Tyr Asn Asn
20 25 30

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

Ile Tyr Glu Thr Ser Ile Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser

50 55 60

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

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

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

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

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

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

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

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

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

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 82
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 82

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Arg Phe Ser Leu Ile Gly Tyr
            20                  25                  30

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

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

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Asp Pro Arg Gly Tyr Gly Ala Ala Leu Asp Arg Leu Asp Leu 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 Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

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

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

385 390 395 400

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

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

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

<210> 83
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 83

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 Gln Ser Ile Lys Ser Val Tyr Asn Asn
20 25 30

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

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

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

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

Gly Asp Thr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

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

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

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

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

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

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

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 84
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 84

Ala Tyr Ser Val Asn
1 5

<210> 85
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 85

Met Ile Trp Gly Asp Gly Lys Ile Val Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 86
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 86

Asp Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Asn
1 5 10

<210> 87
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 87

Arg Ala Ser Lys Ser Val Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met His
1 5 10 15

<210> 88
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 88

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 89

Gln Gln Asn Asn Glu Asp Pro Arg Thr
1 5

<210> 90
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 90

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

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

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

Ala Met Ile Trp Gly Asp Gly Lys Ile Val Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
50 55 60

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

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

Gly Asp Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Asn Trp Gly Gln Gly Ser

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 91
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 91

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

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

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

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

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 92
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 92

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 Tyr
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu 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 Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe
85 90 95

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

<210> 93
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 93

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Phe Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 94
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 94

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

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

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

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

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

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

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

<210> 95
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 95

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
1 5 10 15

Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
20 25 30

Val Glu Ile Lys
35

<210> 96
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 96

Thr Leu Thr Ile Ser Asp Val Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Phe
1 5 10 15

Cys Ala Gly Gly Phe Asp Arg Ser Gly Asp Thr Thr Phe Gly Gly Gly

20 25 30

Thr Glu Val Val Val Lys
35

<210> 97
<211> 245
<212> PRT
<213> 智人

<400> 97

Ile Val Gly Gly Gln Glu Ala Pro Arg Ser Lys Trp Pro Trp Gln Val
1 5 10 15

Ser Leu Arg Val His Gly Pro Tyr Trp Met His Phe Cys Gly Gly Ser
20 25 30

Leu Ile His Pro Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Val Gly Pro
35 40 45

Asp Val Lys Asp Leu Ala Ala Leu Arg Val Gln Leu Arg Glu Gln His
50 55 60

Leu Tyr Tyr Gln Asp Gln Leu Leu Pro Val Ser Arg Ile Ile Val His
65 70 75 80

Pro Gln Phe Tyr Thr Ala Gln Ile Gly Ala Asp Ile Ala Leu Leu Glu
85 90 95

Leu Glu Glu Pro Val Asn Val Ser Ser His Val His Thr Val Thr Leu
100 105 110

Pro Pro Ala Ser Glu Thr Phe Pro Pro Gly Met Pro Cys Trp Val Thr
115 120 125

Gly Trp Gly Asp Val Asp Asn Asp Glu Arg Leu Pro Pro Pro Phe Pro
130 135 140

Leu Lys Gln Val Lys Val Pro Ile Met Glu Asn His Ile Cys Asp Ala
145 150 155 160

Lys Tyr His Leu Gly Ala Tyr Thr Gly Asp Asp Val Arg Ile Val Arg
165 170 175

Asp Asp Met Leu Cys Ala Gly Asn Thr Arg Arg Asp Ser Cys Gln Gly
180 185 190

Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys Val Asn Gly Thr Trp Leu Gln
195 200 205

Ala Gly Val Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Gln Pro Asn Arg Pro
210 215 220

Gly Ile Tyr Thr Arg Val Thr Tyr Tyr Leu Asp Trp Ile His His Tyr
225 230 235 240

Val Pro Lys Lys Pro
245

<210> 98
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 98

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

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

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

Gly Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Val Tyr Tyr Ala Asp Thr Met
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 99
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 99

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

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

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Val Tyr Tyr Ala Asp Thr Met
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 100
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 100

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

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

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Val Tyr Tyr Ala Asp Thr Met
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 101
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 101

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

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

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Val Tyr Tyr Ala Asp Thr Met
50 55 60

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

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

Thr Arg Arg Asp Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 102
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 102

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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Met
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 103
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 103

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Met
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 104
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 104
gaagtgcagc tggtggaaag cggcggcggc ctggtgcagc caggcggcag cctgcgcctg 60

agctgcgccg ccagcggctt caccttcagc gattatggca tggtgtgggt gcgccaggcc 120

ccaggcaaag gcctggaatg ggtggccttc atcagcagcg gcagcagcac cgtgtattat 180

gccgatacca tgaaaggccg cttcaccatc agccgcgata acagcaaaaa caccctgtat 240

ctgcagatga acagcctgcg cgccgaagat accgccgtgt attattgcac ccgccgcaac 300

tacgatgatt ggtatttcga tgtgtggggc cagggcaccc tggtgaccgt ctcgagt 357

<210> 105
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 105
gatatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc 60

atcacctgca gcgccagcag cagcgtgacc tatatgtatt ggtatcagca gaaaccaggc 120

aaaagcccaa aaccatggat ctatcgcacc agcgatctgg ccagcggcgt gccaagccgc 180

ttcagcggca gcggcagcgg caccgatttc accctgacca tcagcagcct gcagccagaa 240

gatttcgcca cctattattg ccagcactat cacagctatc cactgacctt cggccagggt 300

accaaggtgg agatcaaa 318

<210> 106
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 106
gaagtgcagc tggtggaaag cggcggcggc ctggtgcagc caggcggcag cctgcgcctg 60

agctgcgccg ccagcggctt caccttcagc gattatggca tggtgtgggt gcgccaggcc 120

ccaggcaaag gcctggaatg ggtggccttc atcagcagcg gcagcagcac cgtgtattat 180

gccgatacca tgaaaggccg cttcaccatc agccgcgata acagcaaaaa caccctgtat 240

ctgcagatga acagcctgcg cgccgaagat accgccgtgt attattgcac ccgccgcaac 300

tacgatgatt ggtatttcga tgtgtggggc cagggcaccc tggtgaccgt ctcgagtgcc 360

tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 420

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 540

ctctactccc tcagcagcgt ggtgactgtg ccctctagca gcttgggcac ccagacctac 600

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 660

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 720

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 780

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 840

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaagagatg 1080

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1347

<210> 107
<211> 639
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 107
gatatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc 60

atcacctgca gcgccagcag cagcgtgacc tatatgtatt ggtatcagca gaaaccaggc 120

aaaagcccaa aaccatggat ctatcgcacc agcgatctgg ccagcggcgt gccaagccgc 180

ttcagcggca gcggcagcgg caccgatttc accctgacca tcagcagcct gcagccagaa 240

gatttcgcca cctattattg ccagcactat cacagctatc cactgacctt cggccagggt 300

accaaggtgg agatcaaacg aactgtggct gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct 360

gatgagcagt tgaaatctgg aactgcttct gttgtgtgcc tgctgaataa cttctatccc 420

agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag 480

agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg 540

agcaaagcag actacgagaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg 600

agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgt 639

<210> 108
<211> 1338
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 108
gaagtgcagc tggtggaaag cggcggcggc ctggtgcagc caggcggcag cctgcgcctg 60

agctgcgccg ccagcggctt caccttcagc gattatggca tggtgtgggt gcgccaggcc 120

ccaggcaaag gcctggaatg ggtggccttc atcagcagcg gcagcagcac cgtgtattat 180

gccgatacca tgaaaggccg cttcaccatc agccgcgata acagcaaaaa caccctgtat 240

ctgcagatga acagcctgcg cgccgaagat accgccgtgt attattgcac ccgccgcaac 300

tacgatgatt ggtatttcga tgtgtggggc cagggcaccc tggtgaccgt ctcgagtgcc 360

tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctgct cccgcagtac ttctgagtcc 420

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 540

ctctactccc tcagcagcgt ggtgactgtg ccctctagca gcttgggcac caagacctac 600

acgtgcaacg tggatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaaacgcgt tgagtccaaa 660

tatggtcccc catgcccacc atgcccagca cctgagttcc tgggggggacc atcagtcttc 720

ctgttccccc caaaacccaa ggacactctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc 780

gtggtggtgg acgtgagcca ggaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggatggc 840

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt 900

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 960

aaggtctcca acaaaggcct cccgtcctcc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1020

cagccccgag agccacaggt gtacaccctg cccccatccc aggaggagat gaccaagaac 1080

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1140

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1200

ggctccttct tcctctacag caggctaacc gtggacaaga gcaggtggca ggaggggaat 1260

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacaca gaagagcctc 1320

tccctgtctc tgggtaaa 1338

<210> 109
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 109
gaagtgcagc tggtggaaag cggcccaggc ctggtgaaac caagcgaaac cctgagcctg 60

acctgcaccg tgagccgctt cagcctgatc ggctatgcca tcacctggat ccgccagcca 120

ccaggcaaag gcctggaatg gatcggcggc atcagcagcg ccgccaccac cttctatagc 180

agctgggcca aaagccgcgt gaccatcagc cgcgatacca gcaaaaacca ggtgagcctg 240

aaactgagca gcgtgaccgc cgccgatacc gccgtgtatt attgcgcccg cgatccacgc 300

ggctatggcg ccgccctgga tcgcctggat ctgtggggcc agggcaccct ggtgaccgtc 360

tcgagt 366

<210> 110
<211> 330
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 110
gatatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc 60

atcacctgcc agagcatcaa aagcgtgtat aacaaccgcc tgggctggta tcagcagaaa 120

ccaggcaaag ccccaaaact gctgatctat gaaaccagca tcctgaccag cggcgtgcca 180

agccgcttca gcggcagcgg cagcggcacc gatttcaccc tgaccatcag cagcctgcag 240

ccagaagatt tcgccaccta ttattgcgcc ggcggcttcg atcgcagcgg cgataccacc 300

ttcggccagg gtaccaaggt ggagatcaaa 330

<210> 111
<211> 1356
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 111
gaagtgcagc tggtggaaag cggcccaggc ctggtgaaac caagcgaaac cctgagcctg 60

acctgcaccg tgagccgctt cagcctgatc ggctatgcca tcacctggat ccgccagcca 120

ccaggcaaag gcctggaatg gatcggcggc atcagcagcg ccgccaccac cttctatagc 180

agctgggcca aaagccgcgt gaccatcagc cgcgatacca gcaaaaacca ggtgagcctg 240

aaactgagca gcgtgaccgc cgccgatacc gccgtgtatt attgcgcccg cgatccacgc 300

ggctatggcg ccgccctgga tcgcctggat ctgtggggcc agggcaccct ggtgaccgtc 360

tcgagtgcct ccaccaaggg cccatcggtc ttcccccctgg caccctcctc caagagcacc 420

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 540

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgactgtgc cctctagcag cttgggcacc 600

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt 660

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 720

gggggaccgt cagtcttcct cttccccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 780

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 840

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 900

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 960

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccccat cgagaaaacc 1020

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1080

gaagagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1140

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1200

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1260

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1320

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa 1356

<210> 112
<211> 651
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 112
gatatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc 60

atcacctgcc agagcatcaa aagcgtgtat aacaaccgcc tgggctggta tcagcagaaa 120

ccaggcaaag ccccaaaact gctgatctat gaaaccagca tcctgaccag cggcgtgcca 180

agccgcttca gcggcagcgg cagcggcacc gatttcaccc tgaccatcag cagcctgcag 240

ccagaagatt tcgccaccta ttattgcgcc ggcggcttcg atcgcagcgg cgataccacc 300

ttcggccagg gtaccaaggt ggagatcaaa cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc 360

ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgctt ctgttgtgtg cctgctgaat 420

aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt 480

aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 540

accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc 600

catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg t 651

<210> 113
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 113

gaagtgcagc tggtggaaag cggcccaggc ctggtgaaac caagcgaaac cctgagcctg 60

acctgcaccg tgagccgctt cagcctgatc ggctatgcca tcacctggat ccgccagcca 120

ccaggcaaag gcctggaatg gatcggcggc atcagcagcg ccgccaccac cttctatagc 180

agctgggcca aaagccgcgt gaccatcagc cgcgatacca gcaaaaacca ggtgagcctg 240

aaactgagca gcgtgaccgc cgccgatacc gccgtgtatt attgcgcccg cgatccacgc 300

ggctatggcg ccgccctgga tcgcctggat ctgtggggcc agggcaccct ggtgaccgtc 360

tcgagtgcct ccaccaaggg cccatcggtc ttcccccctgg caccctgctc ccgcagtact 420

tctgagtcca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 540

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgactgtgc cctctagcag cttgggcacc 600

aagacctaca cgtgcaacgt ggatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caaacgcgtt 660

gagtccaaat atggtccccc atgcccacca tgcccagcac ctgagttcct gggggggacca 720

tcagtcttcc tgttcccccc aaaacccaag gacactctca tgatctcccg gacccctgag 780

gtcacgtgcg tggtggtgga cgtgagccag gaagaccccg aggtccagtt caactggtac 840

gtggatggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gttcaacagc 900

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 960

tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccgtcctcca tcgagaaaac catctccaaa 1020

gccaaagggc agccccgaga gccacaggtg tacaccctgc ccccatccca ggaggagatg 1080

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aggctaaccg tggacaagag caggtggcag 1260

gaggggaatg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacacag 1320

aagagcctct ccctgtctct gggtaaa 1347

<210> 114
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 114

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

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

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

Ala Met Ile Trp Gly Asp Gly Lys Ile Val Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Gly Asp Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Asn Trp Gly Gln Gly Ser
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 115
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 115

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

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

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

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

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 116
<211> 256
<212> PRT
<213> 智人

<400> 116

Ile Val Gly Gly Gln Glu Ala Pro Arg Ser Lys Trp Pro Trp Gln Val
1 5 10 15

Ser Leu Arg Val His Gly Pro Tyr Trp Met His Phe Cys Gly Gly Ser
20 25 30

Leu Ile His Pro Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Val Gly Pro
35 40 45

Asp Val Lys Asp Leu Ala Ala Leu Arg Val Gln Leu Arg Glu Gln His

50 55 60

Leu Tyr Tyr Gln Asp Gln Leu Leu Pro Val Ser Arg Ile Ile Val His
65 70 75 80

Pro Gln Phe Tyr Thr Ala Gln Ile Gly Ala Asp Ile Ala Leu Leu Glu
85 90 95

Leu Glu Glu Pro Val Lys Val Ser Ser His Val His Thr Val Thr Leu
100 105 110

Pro Pro Ala Ser Glu Thr Phe Pro Pro Gly Met Pro Cys Trp Val Thr
115 120 125

Gly Trp Gly Asp Val Asp Asn Asp Glu Arg Leu Pro Pro Pro Phe Pro
130 135 140

Leu Lys Gln Val Lys Val Pro Ile Met Glu Asn His Ile Cys Asp Ala
145 150 155 160

Lys Tyr His Leu Gly Ala Tyr Thr Gly Asp Asp Val Arg Ile Val Arg
165 170 175

Asp Asp Met Leu Cys Ala Gly Asn Thr Arg Arg Asp Ser Cys Gln Gly
180 185 190

Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys Val Asn Gly Thr Trp Leu Gln
195 200 205

Ala Gly Val Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Gln Pro Asn Arg Pro
210 215 220

Gly Ile Tyr Thr Arg Val Thr Tyr Tyr Leu Asp Trp Ile His His Tyr
225 230 235 240

Val Pro Lys Lys Pro Gly Asn Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
245 250 255

<210> 117
<211> 256
<212> PRT
<213> 智人

<400> 117

Ile Val Gly Gly Gln Glu Ala Pro Arg Ser Lys Trp Pro Trp Gln Val
1 5 10 15

Ser Leu Arg Val Arg Asp Arg Tyr Trp Met His Phe Cys Gly Gly Ser
20 25 30

Leu Ile His Pro Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Val Gly Pro
35 40 45

Asp Val Lys Asp Leu Ala Ala Leu Arg Val Gln Leu Arg Glu Gln His
50 55 60

Leu Tyr Tyr Gln Asp Gln Leu Leu Pro Val Ser Arg Ile Ile Val His
65 70 75 80

Pro Gln Phe Tyr Thr Ala Gln Ile Gly Ala Asp Ile Ala Leu Leu Glu
85 90 95

Leu Glu Glu Pro Val Asn Val Ser Ser His Val His Thr Val Thr Leu
100 105 110

Pro Pro Ala Ser Glu Thr Phe Pro Pro Gly Met Pro Cys Trp Val Thr
115 120 125

Gly Trp Gly Asp Val Asp Asn Asp Glu Arg Leu Pro Pro Pro Phe Pro
130 135 140

Leu Lys Gln Val Lys Val Pro Ile Met Glu Asn His Ile Cys Asp Ala
145 150 155 160

Lys Tyr His Leu Gly Ala Tyr Thr Gly Asp Asp Val Arg Ile Val Arg
165 170 175

Asp Asp Met Leu Cys Ala Gly Asn Thr Arg Arg Asp Ser Cys Gln Gly
180 185 190

Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys Val Asn Gly Thr Trp Leu Gln
195 200 205

Ala Gly Val Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Gln Pro Asn Arg Pro
210 215 220

Gly Ile Tyr Thr Arg Val Thr Tyr Tyr Leu Asp Trp Ile His His Tyr
225 230 235 240

Val Pro Lys Lys Pro Gly Asn Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
245 250 255

<210> 118
<211> 256
<212> PRT
<213> 智人

<400> 118

Ile Val Gly Gly Gln Glu Ala Pro Arg Ser Lys Trp Pro Trp Gln Val
1 5 10 15

Ser Leu Arg Val Arg Asp Arg Tyr Trp Met His Phe Cys Gly Gly Ser
20 25 30

Leu Ile His Pro Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Gly Pro
35 40 45

Asp Val Lys Asp Leu Ala Ala Leu Arg Val Gln Leu Arg Glu Gln His
50 55 60

Leu Tyr Tyr Gln Asp Gln Leu Leu Pro Val Ser Arg Ile Ile Val His
65 70 75 80

Pro Gln Phe Tyr Ile Ile Gln Thr Gly Ala Asp Ile Ala Leu Leu Glu

85 90 95

Leu Glu Glu Pro Val Asn Ile Ser Ser Arg Val His Thr Val Met Leu
100 105 110

Pro Pro Ala Ser Glu Thr Phe Pro Pro Gly Met Pro Cys Trp Val Thr
115 120 125

Gly Trp Gly Asp Val Asp Asn Asp Glu Pro Leu Ser Pro Pro Phe Pro
130 135 140

Leu Lys Gln Val Lys Val Pro Ile Met Glu Asn His Ile Cys Asp Ala
145 150 155 160

Lys Tyr His Leu Gly Ala Tyr Thr Gly Asp Asp Val Arg Ile Ile Arg
165 170 175

Asp Asp Met Leu Cys Ala Gly Asn Ser Gln Arg Asp Ser Cys Lys Gly
180 185 190

Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys Val Asn Gly Thr Trp Leu Gln
195 200 205

Ala Gly Val Val Ser Trp Asp Glu Gly Cys Ala Gln Pro Asn Arg Pro
210 215 220

Gly Ile Tyr Thr Arg Val Thr Tyr Tyr Leu Asp Trp Ile His His Tyr
225 230 235 240

Val Pro Lys Lys Pro Gly Asn Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
245 250 255

<210> 119
<211> 268
<212> PRT
<213> 食蟹獼猴

<400> 119

Ala Leu Pro Val Leu Val Ser Pro Ala His Ala Ala Pro Ala Pro Gly
1 5 10 15

Gln Ala Leu Gln Arg Val Gly Ile Val Gly Gly Lys Glu Ala Pro Arg
20 25 30

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

Met His Phe Cys Gly Gly Ser Leu Ile His Pro Gln Trp Val Leu Thr
50 55 60

Ala Ala His Cys Val Gly Pro Asp Val Lys Asp Leu Ala Asp Leu Arg
65 70 75 80

Val Gln Leu Arg Glu Gln His Leu Tyr Tyr Gln Asp Gln Leu Leu Pro
85 90 95

Val Ser Arg Ile Ile Val His Pro Gln Phe Tyr Ala Val Gln Ile Gly
100 105 110

Ala Asp Ile Ala Leu Leu Glu Leu Glu Glu Pro Val Asn Val Ser Ser
115 120 125

His Val His Thr Val Thr Leu Pro Pro Ala Leu Glu Thr Phe Pro Pro
130 135 140

Gly Thr Pro Cys Trp Val Thr Gly Trp Gly Asp Val Asp Asn Asp Val
145 150 155 160

Arg Leu Pro Pro Pro Tyr Pro Leu Lys Glu Val Glu Val Pro Ile Val
165 170 175

Glu Asn Gln Leu Cys Asp Ala Glu Tyr His Thr Gly Leu His Thr Gly
180 185 190

Asp Ser Phe Arg Ile Val Arg Asp Asp Met Leu Cys Ala Gly Ser Glu
195 200 205

Lys His Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys
210 215 220

Val Asn Gly Thr Trp Leu Gln Ala Gly Val Val Ser Trp Gly Glu Gly
225 230 235 240

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

Leu Asp Trp Ile His Arg Tyr Val Pro Glu Lys Pro
260 265

<210> 120
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 120

Ser Phe Ser Met Ser
1 5

<210> 121
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 121

Thr Ile Ser Gly Gly Lys Thr Phe Thr Asp Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 122
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 122

Ala Asn Tyr Gly Asn Trp Phe Phe Glu Val
1 5 10

<210> 123
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 123

Arg Ala Ser Glu Ser Val Ala Lys Tyr Gly Leu Ser Leu Leu Asn
1 5 10 15

<210> 124
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 124

Ala Ala Ser Asn Arg Gly Ser
1 5

<210> 125
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 125

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Phe Thr
1 5

<210> 126
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 126

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

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

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

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

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

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

Thr Arg Ala Asn Tyr Gly Asn Trp Phe Phe Glu Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 127
<211> 111

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 127

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

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

Gly Leu Ser Leu Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

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

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 128
<211> 260
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 128

Ala Gly Ser Thr His His His His His His Asp Asp Asp Asp Lys Ile
1 5 10 15

Val Gly Gly Gln Glu Ala Pro Arg Ser Lys Trp Pro Trp Gln Val Ser
20 25 30

Leu Arg Val His Gly Pro Tyr Trp Met His Phe Cys Gly Gly Ser Leu
35 40 45

Ile His Pro Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Val Gly Pro Asp
50 55 60

Val Lys Asp Leu Ala Ala Leu Arg Val Gln Leu Arg Glu Gln His Leu
65 70 75 80

Tyr Tyr Gln Asp Gln Leu Leu Pro Val Ser Arg Ile Ile Val His Pro
85 90 95

Gln Phe Tyr Thr Ala Gln Ile Gly Ala Asp Ile Ala Leu Leu Glu Leu
100 105 110

Glu Glu Pro Val Asn Val Ser Ser His Val His Thr Val Thr Leu Pro
115 120 125

Pro Ala Ser Glu Thr Phe Pro Pro Gly Met Pro Cys Trp Val Thr Gly
130 135 140

Trp Gly Asp Val Asp Asn Asp Glu Arg Leu Pro Pro Pro Phe Pro Leu
145 150 155 160

Lys Gln Val Lys Val Pro Ile Met Glu Asn His Ile Cys Asp Ala Lys
165 170 175

Tyr His Leu Gly Ala Tyr Thr Gly Asp Asp Val Arg Ile Val Arg Asp
180 185 190

Asp Met Leu Cys Ala Gly Asn Thr Arg Arg Asp Ser Cys Gln Gly Asp
195 200 205

Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys Val Asn Gly Thr Trp Leu Gln Ala
210 215 220

Gly Val Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Gln Pro Asn Arg Pro Gly
225 230 235 240

Ile Tyr Thr Arg Val Thr Tyr Tyr Leu Asp Trp Ile His His Tyr Val
245 250 255

Pro Lys Lys Pro
260

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】一種結合至人類類胰蛋白酶 β1 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含以下 6 個超變區(HVR)：

(a) HVR-H1，其由 DYGMV (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列組成；

(b) HVR-H2，其由 FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列組成；

(c) HVR-H3，其由 RNYDDWYFDV (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列組成；

(d) HVR-L1，其由 SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列組成；

(e) HVR-L2，其由 RTSDLAS (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列組成；及

(f) HVR-L3，其由 QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列組成。

【請求項 2】如請求項 1 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含(a) 重鏈可變(VH)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列具有至少 90%序列一致性之胺基序列；(b) 輕鏈可變(VL)結構域，其包含與 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列具有至少 90%一致性之胺基酸序列；或(c) 如(a)中之 VH 結構域及如(b)中之 VL 結構域。

【請求項 3】如請求項 1 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該 VH 結構域包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列。

【請求項 4】如請求項 1 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該 VL 結構域包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列。

【請求項 5】如請求項 1 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體能夠抑制人類類胰蛋白酶 β1 之酶活性。

【請求項 6】如請求項 5 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體以介於 120 pM 與 0.5 nM 之間的 K_D 結合該類胰蛋白酶。

【請求項 7】如請求項 6 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體以約 400 pM 之 K_D 結合類胰蛋白酶。

【請求項 8】如請求項 5 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體以 2.5 nM 或更低之 IC50 抑制類胰蛋白酶之活性，該 IC50 係藉由人類類胰蛋白酶 β 酶分析使用比色合成肽受質(colorimetric synthetic peptide substrate)所測定。

【請求項 9】如請求項 1 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中：

(i) 該抗體能夠在 pH 6 下抑制人類類胰蛋白酶 β1 之酶活性；

(ii) 該抗體能夠抑制類胰蛋白酶介導之對支氣管平滑肌細胞增殖及/或基於膠原之收縮之刺激；

(iii) 該抗體能夠抑制肥大細胞組織胺釋放；

(iv) 該抗體能夠抑制 IgE 觸發之組織胺釋放及/或類胰蛋白酶觸發之組織胺釋放；

(v) 該抗體能夠抑制食蟹猴支氣管肺泡灌洗(BAL)或鼻吸收樣品中之類胰蛋白酶活性；

(vi) 該抗體能夠解離四聚體人類類胰蛋白酶 β1；

(vii) 該抗體在呈單價形式時能夠解離四聚體人類類胰蛋白酶 β1；及/或

(viii) 該抗體能夠在肝素存在下解離四聚體人類類胰蛋白酶 β1。

【請求項 10】如請求項 1 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體能夠解離四聚體人類類胰蛋白酶 β1 之小界面及四聚體人類類胰蛋白酶 β1 之大界面兩者。

【請求項 11】如請求項 1 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體進一步結合食蟹猴(cynomolgus monkey，cyno)類胰蛋白酶、

人類類胰蛋白酶 α、

人類類胰蛋白酶 β2 及/或人類類胰蛋白酶 β3。

【請求項 12】如請求項 1 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體係人類化抗體。

【請求項 13】如請求項 1 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體係 IgG 抗體。

【請求項 14】如請求項 13 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該 IgG 抗體係 IgG1 抗體或 IgG4 抗體。

【請求項 15】如請求項 14 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該 IgG4 抗體包含在重鏈恆定區中之 S228P 突變，其係依據 EU 編號系統。

【請求項 16】如請求項 1 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體係單特異性抗體。

【請求項 17】如請求項 1 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體係多特異性抗體。

【請求項 18】如請求項 17 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體係雙特異性抗體。

【請求項 19】如請求項 18 之經分離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含結合至人類類胰蛋白酶 β1 之第一結合結構域及結合至第二生物分子之第二結合結構域，其中該第二生物分子係選自由以下組成之群：介白素-13 (IL-13)、介白素-4 (IL-4)、介白素-5 (IL-5)、介白素-17 (IL-17)、IgE 及介白素-33 (IL-33)。

【請求項 20】一種醫藥組合物，其包含如請求項 1 之經分離抗體或其抗原結合片段及醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑。

【請求項 21】如請求項 20 之醫藥組合物，其中該賦形劑係抗氧化劑。

【請求項 22】如請求項 21 之醫藥組合物，其中該賦形劑包含濃度為 0.1 mM 至 1 mM 之 N-乙醯基色胺酸；及濃度為 1 mM 至 10 mM 之甲硫胺酸。

【請求項 23】如請求項 21 之醫藥組合物，其中該組合物係於不透光之容器或預填充注射器中。

【請求項 24】一種醫藥組合物，其包含如請求項 5 之經分離抗體或其抗原結合片段及醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑。

【請求項 25】一種結合至人類類胰蛋白酶 β1 之經分離抗體，其包含：

(a) 包含 SEQ ID NO: 76 或 SEQ ID NO：78 之胺基酸序列之重鏈及

(b) 包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列之輕鏈。

【請求項 26】如請求項 25 之經分離抗體，其中該重鏈包含 SEQ ID NO：78 之胺基酸序列。

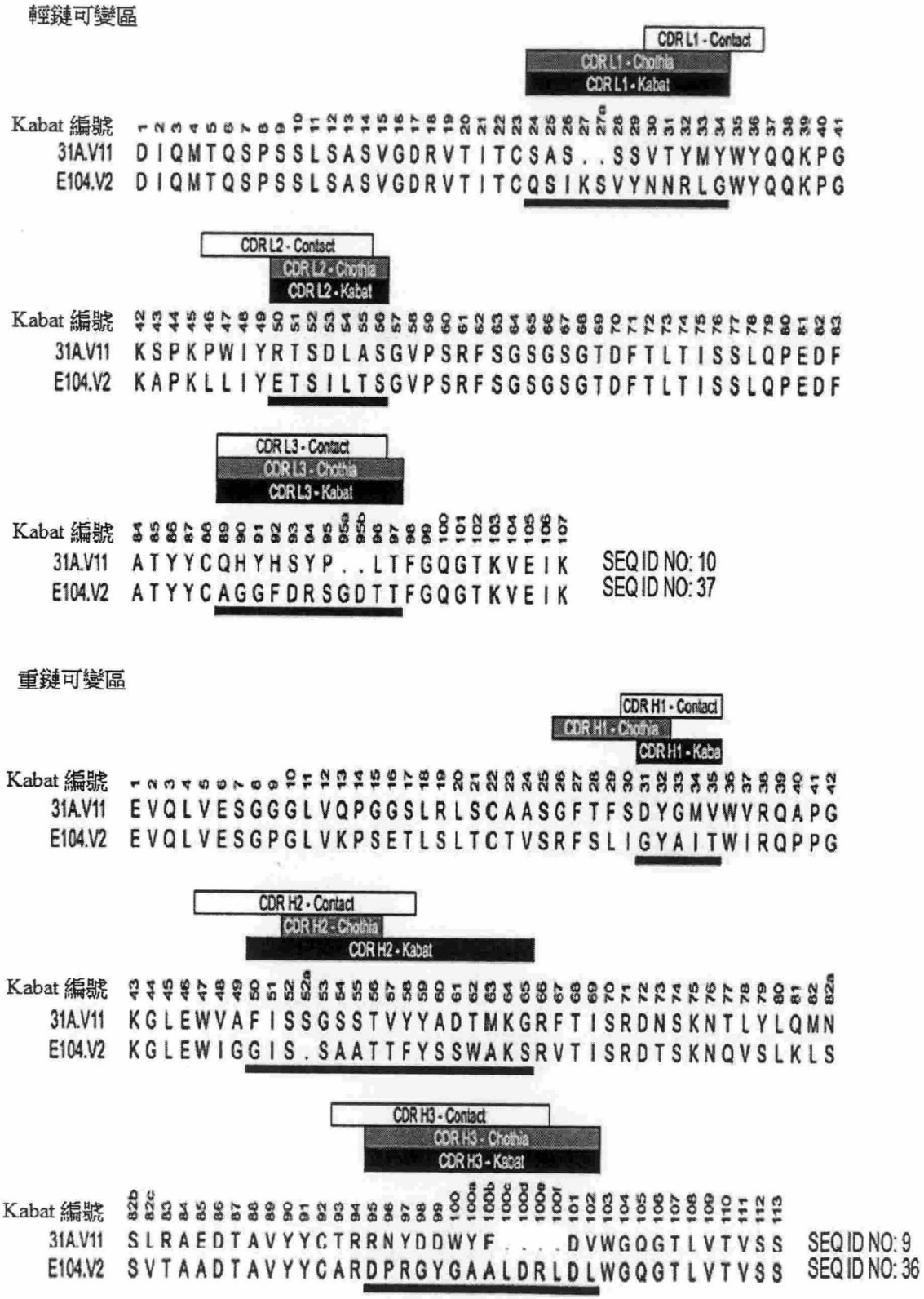
【請求項 27】如請求項 1 之經分離抗體或其抗原結合片段，其包含：

(a) 包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之 VH 結構域及

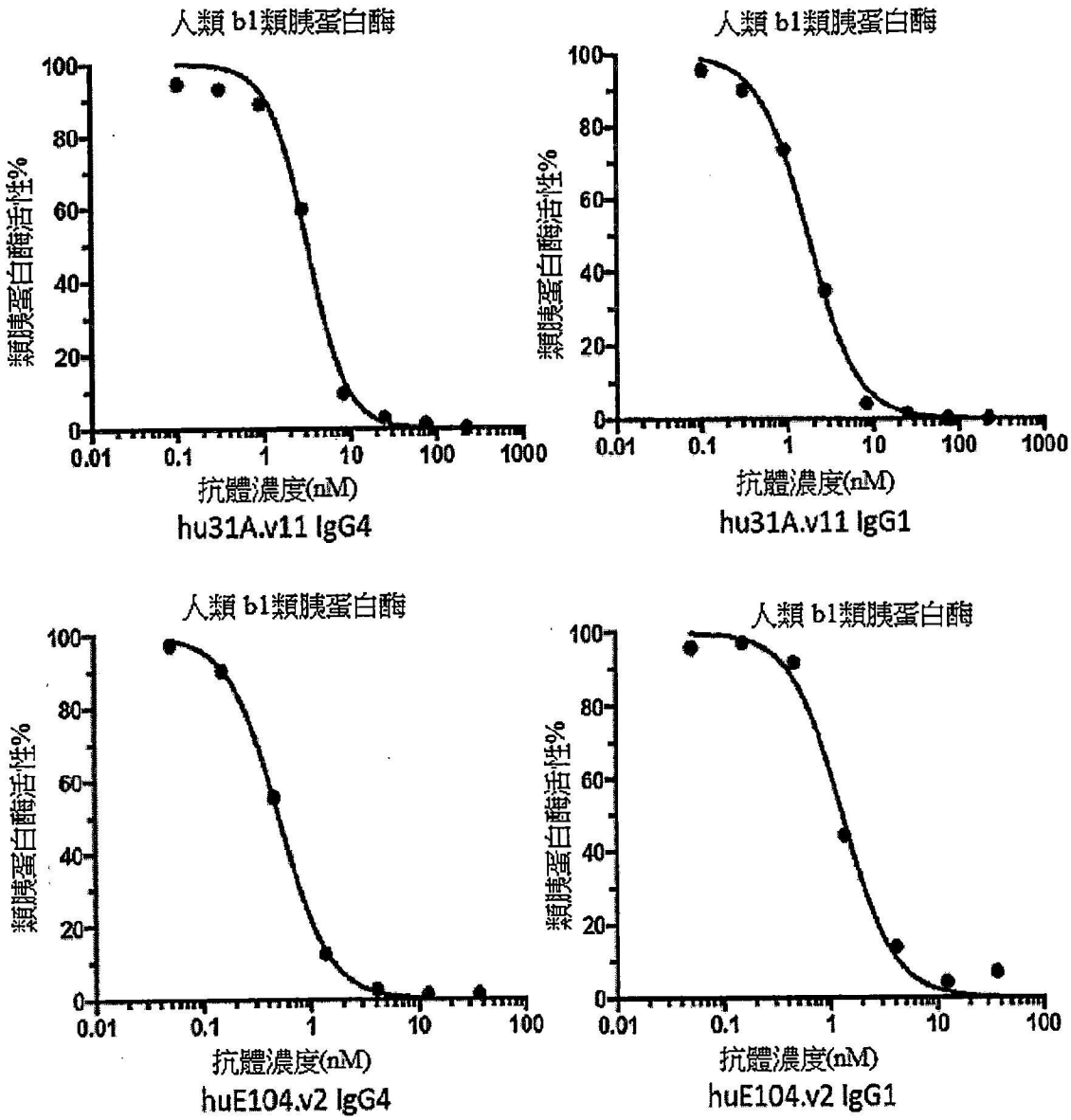
(b) 包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之 VL 結構域。

【請求項 28】一種醫藥組合物，其包含如請求項 27 之經分離抗體或其抗原結合片段及醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑。

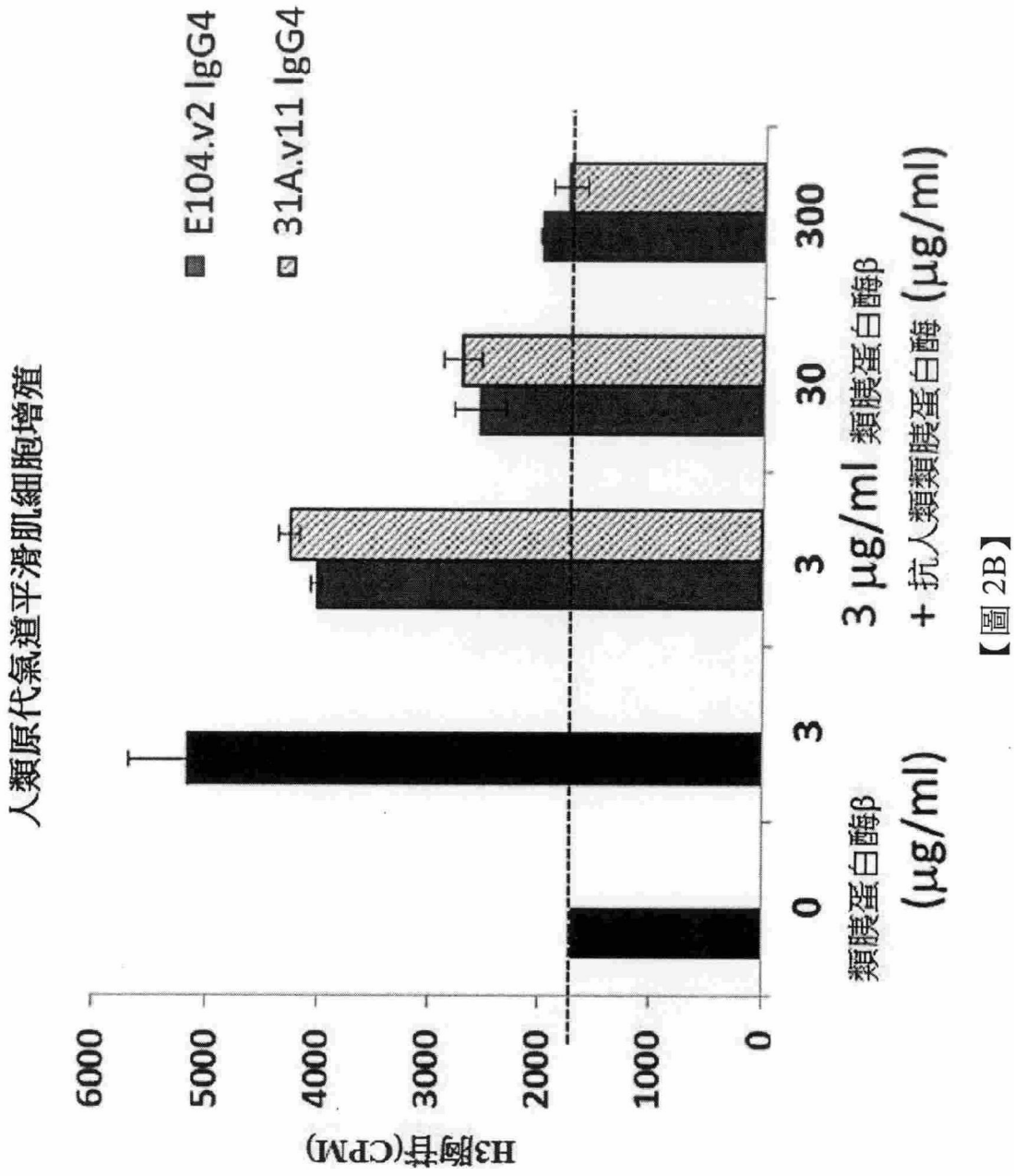
【發明圖式】


輕鏈可變區
CDR L1 - Contact
CDR L1 - Chothia
CDR L1 - Kabat
Kabat 編號
31A.V11 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSAS..SSVTYMYWYQQKPG
E104.V2 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSIKSVYNNRLGWYQQKPG
CDR L2 - Contact
CDR L2 - Chothia
CDR L2 - Kabat
Kabat 編號
31A.V11 KSPKPWIYRTSDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF
E104.V2 KAPKLLIYETSILTSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF
CDR L3 - Contact
CDR L3 - Chothia
CDR L3 - Kabat
Kabat 編號
31A.V11 ATYYCQHYHSYP..LTFGQGTKVEIK SEQ ID NO: 10
E104.V2 ATYYCAGGFDRSGDTTFGQGTKVEIK SEQ ID NO: 37
重鏈可變區
CDR H1 - Contact
CDR H1 - Chothia
CDR H1 - Kabat
Kabat 編號
31A.V11 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMVWVRQAPG
E104.V2 EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSRFSLIGYAITWIRQPPG
CDR H2 - Contact
CDR H2 - Chothia
CDR H2 - Kabat
Kabat 編號
31A.V11 KGLEWVAFISSGSSTVYYADTMKGRFTISRDNSKNTLYLQMN
E104.V2 KGLEWIGGIS.SAATTFYSSWAKSRVTISRDTSKNQVSLKLS
CDR H3 - Contact
CDR H3 - Chothia
CDR H3 - Kabat
Kabat 編號
31A.V11 SLRAEDTAVYYCTRRNYDDWYF....DVWGQGTLVTVSS SEQ ID NO: 9
E104.V2 SVTAADTAVYYCARDPRGYGAALDRLDLWGQGTLVTVSS SEQ ID NO: 36

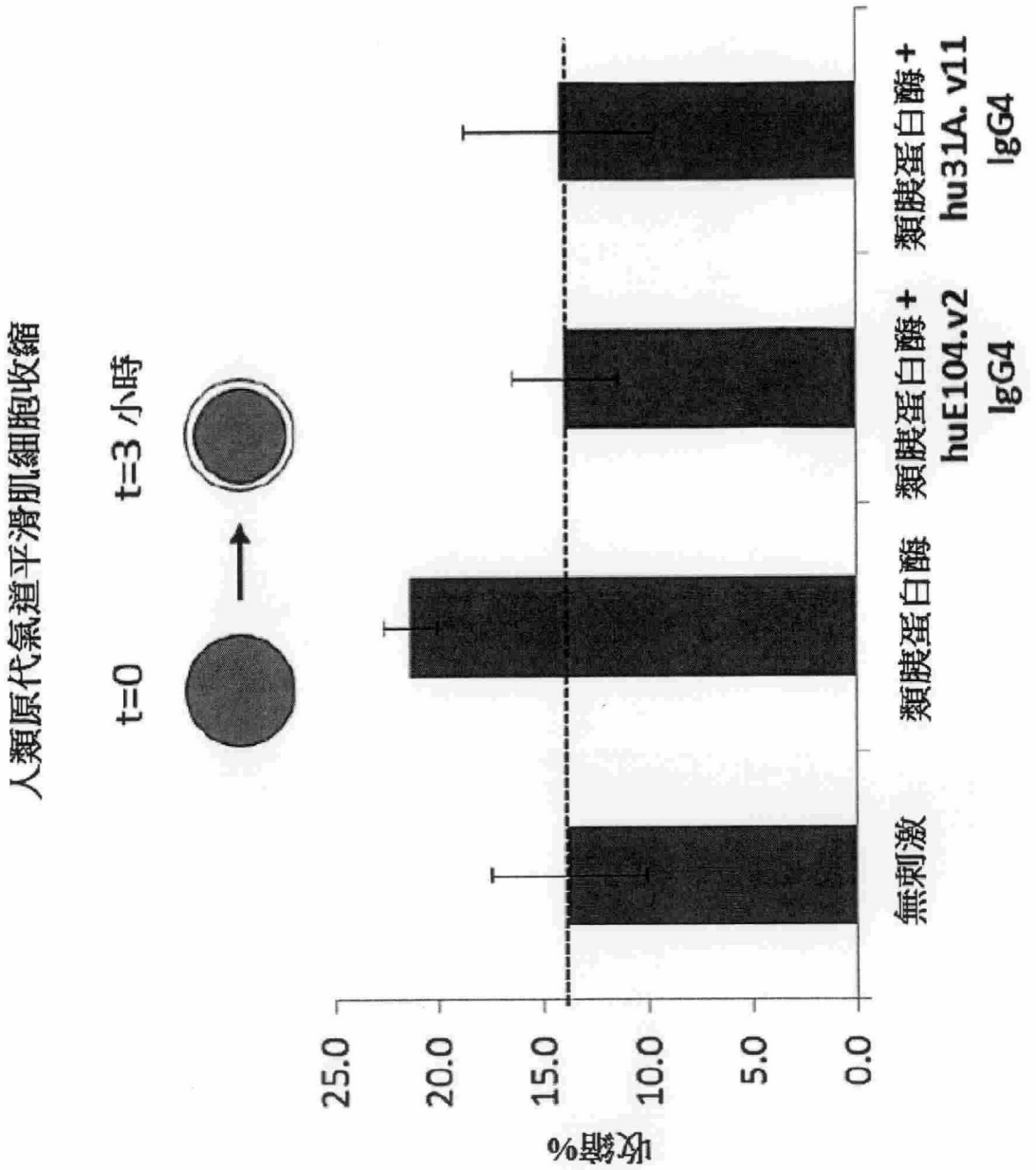
【圖 1】


人類 b1類胰蛋白酶
類胰蛋白酶活性%
抗體濃度(nM)
hu31A.v11 IgG4
人類 b1類胰蛋白酶
類胰蛋白酶活性%
抗體濃度(nM)
hu31A.v11 IgG1
人類 b1類胰蛋白酶
類胰蛋白酶活性%
抗體濃度(nM)
huE104.v2 IgG4
人類 b1類胰蛋白酶
類胰蛋白酶活性%
抗體濃度(nM)
huE104.v2 IgG1

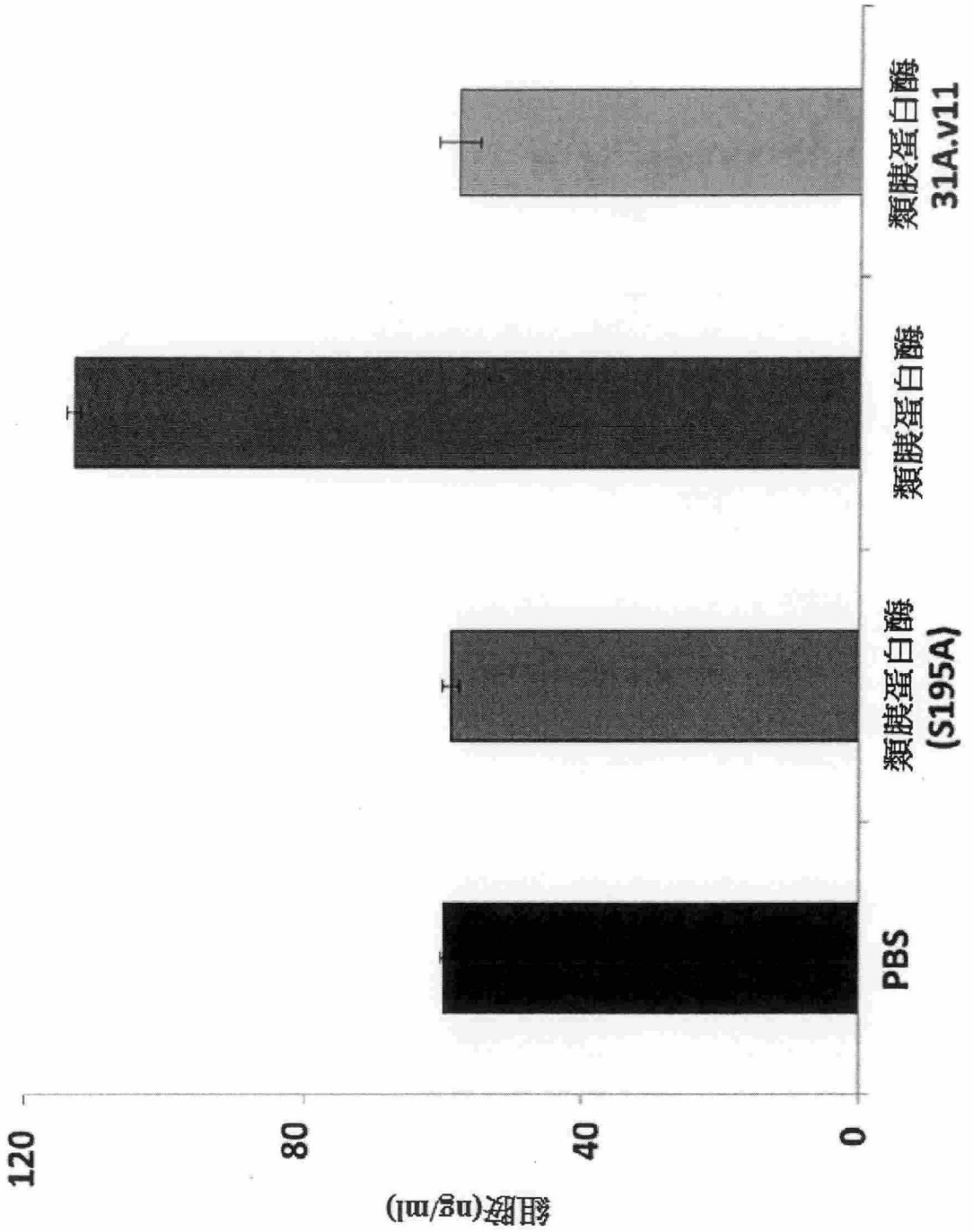
【圖 2A】


人類原代氣道平滑肌細胞增殖
E104.v2 IgG4
31A.v11 IgG4
H3胸苷(CPM)
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
0
3
3
30
300
類胰蛋白酶β (μg/ml)
3 μg/ml 類胰蛋白酶β
+ 抗人類類胰蛋白酶 (μg/ml)

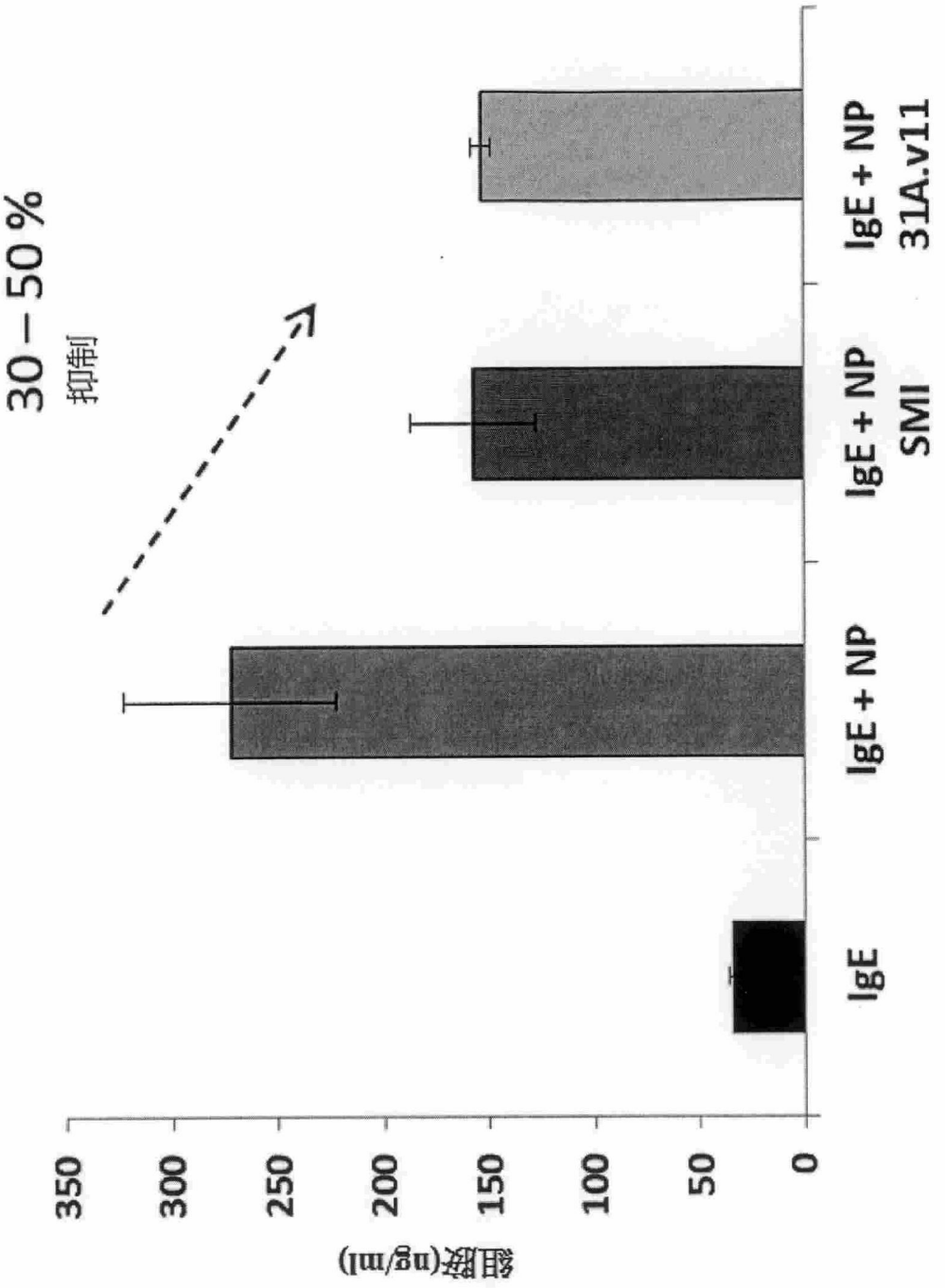
【圖 2B】


人類原代氣道平滑肌細胞收縮
t=0
t=3 小時
收縮%
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
無刺激
類胰蛋白酶
類胰蛋白酶 + huE104.v2 IgG4
類胰蛋白酶 + hu31A. v11 IgG4

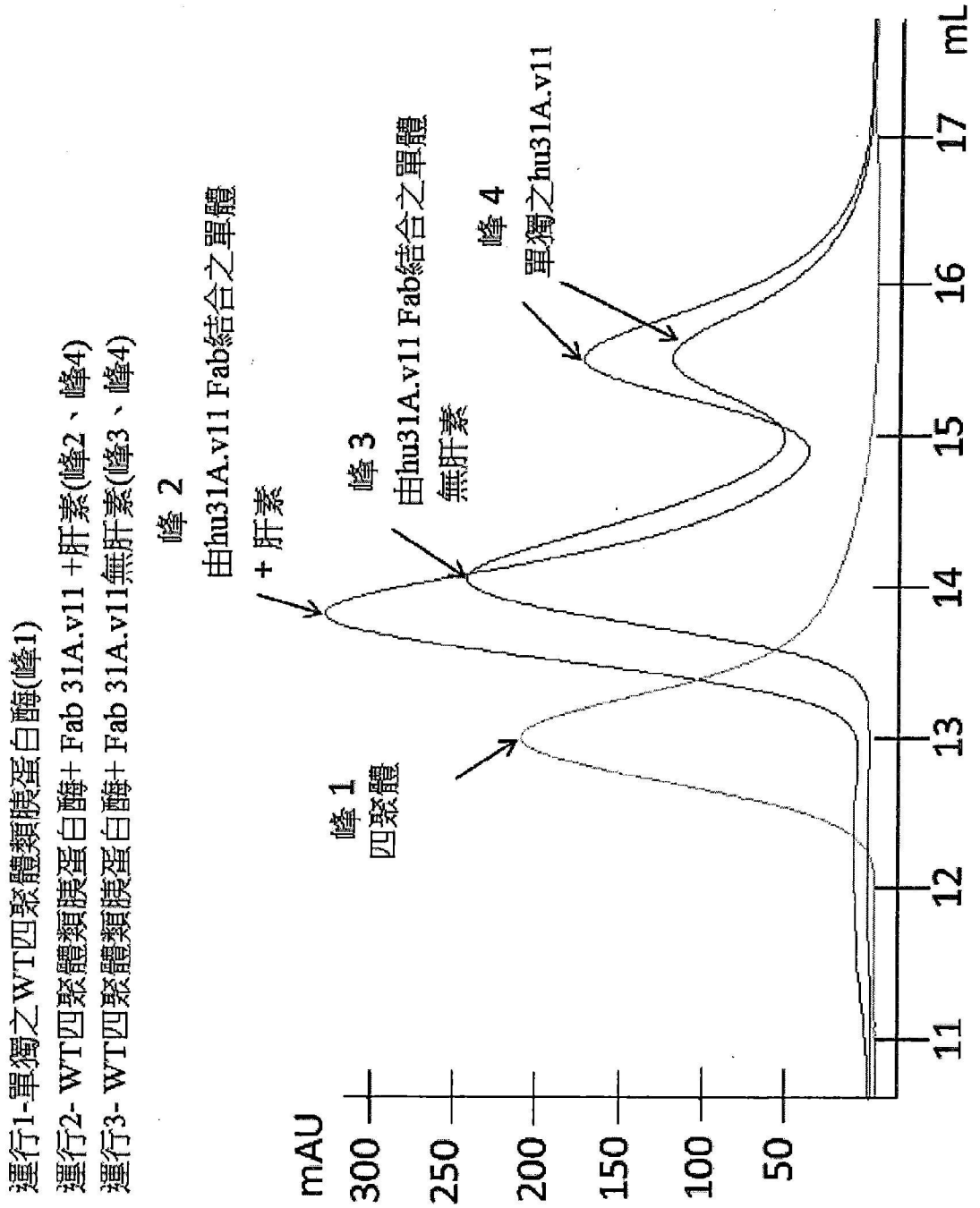
【圖 2C】



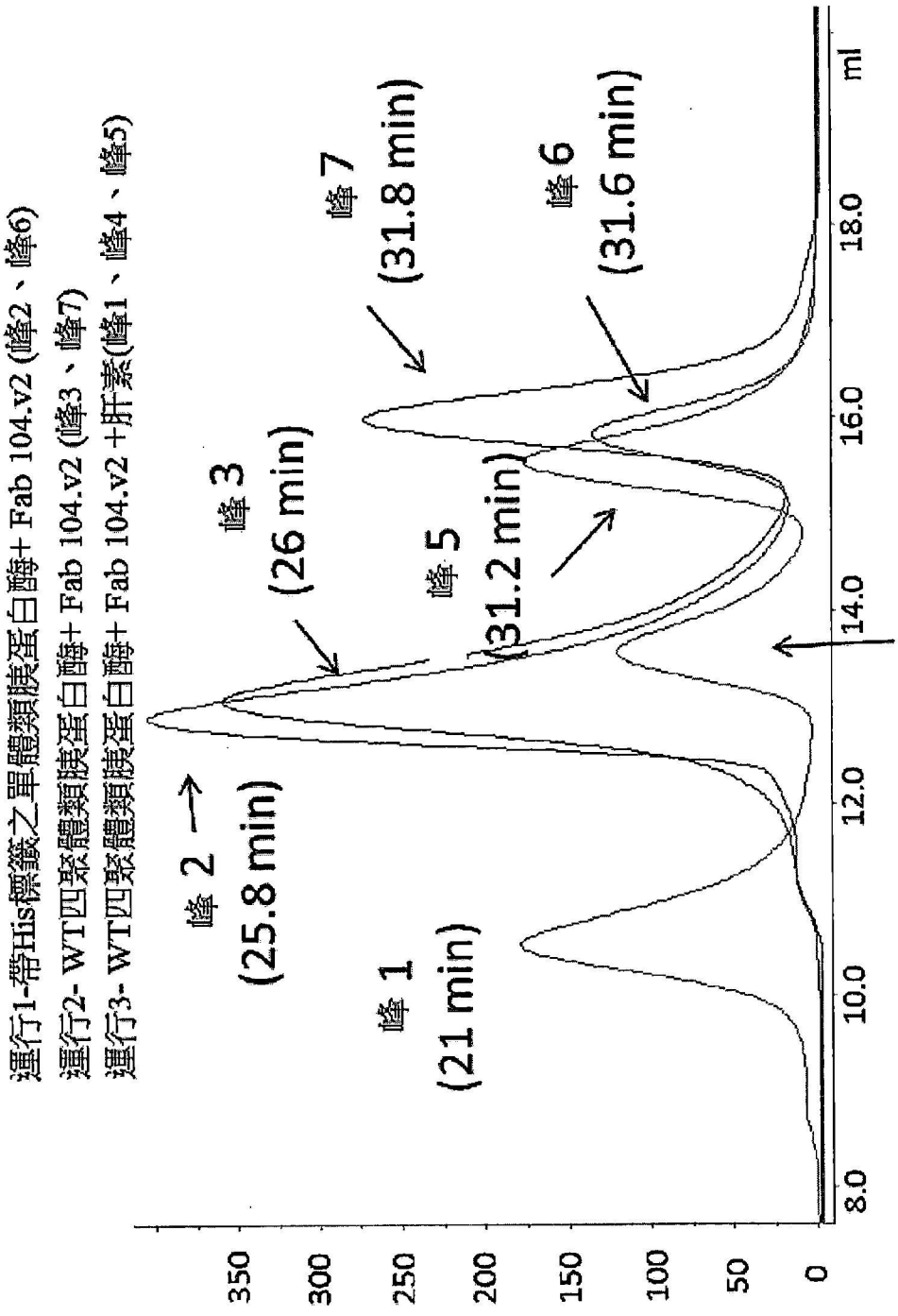
【圖 2D】


30 – 50 %
抑制
細胞(ng/ml)
350
300
250
200
150
100
50
0
IgE
IgE + NP
IgE + NP
SMI
IgE + NP
31A.v11

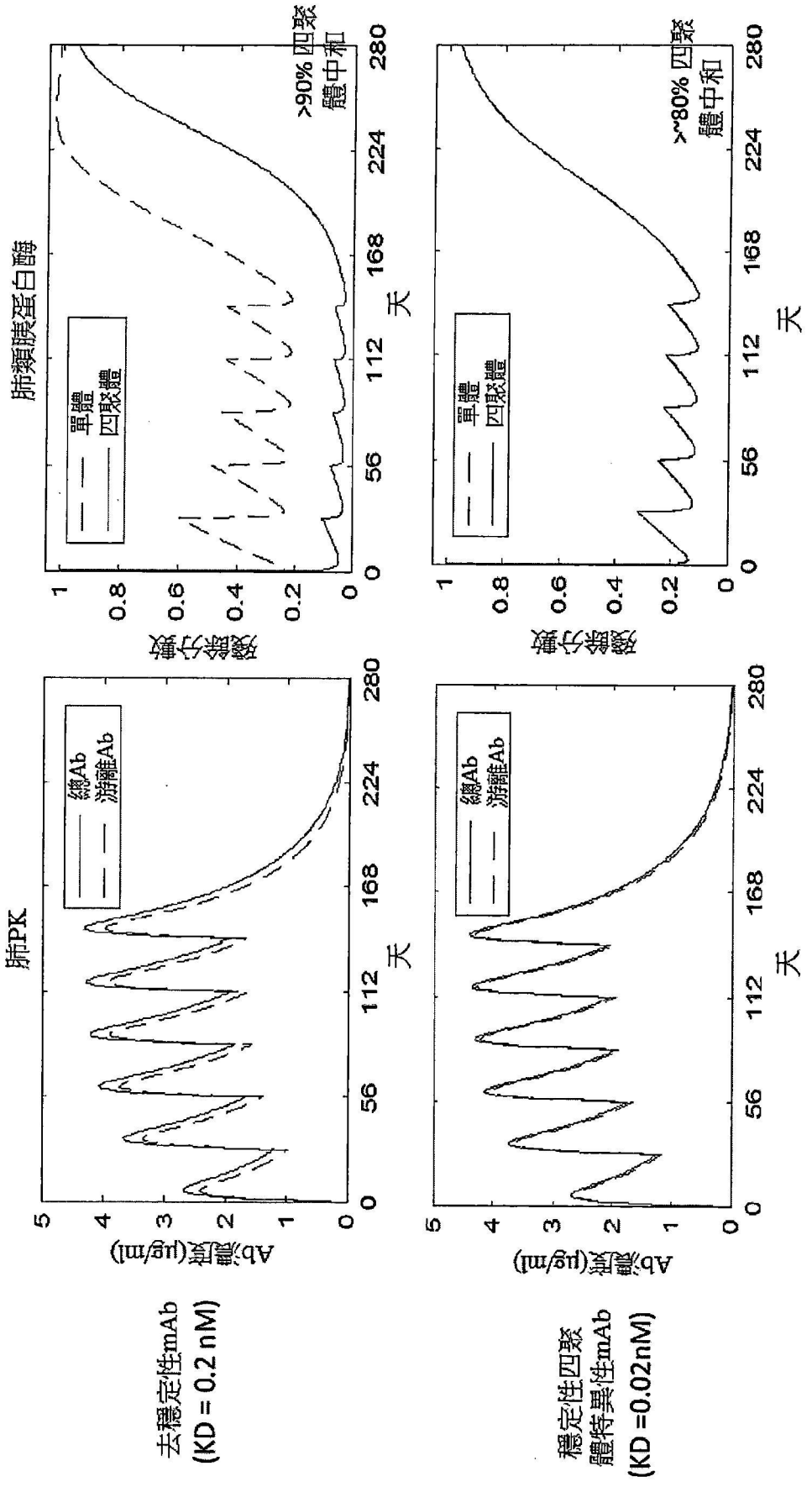
【圖 2E】


運行1-單獨之WT四聚體類胰蛋白酶(峰1)
運行2- WT四聚體類胰蛋白酶+ Fab 31A.v11 +肝素(峰2、峰4)
運行3- WT四聚體類胰蛋白酶+ Fab 31A.v11無肝素(峰3、峰4)
峰 2
由hu31A.v11 Fab結合之單體
+ 肝素
峰 3
由hu31A.v11 Fab結合之單體
無肝素
峰 4
單獨之hu31A.v11
峰 1
四聚體
mAU
300
250
200
150
100
50
11
12
13
14
15
16
17
mL

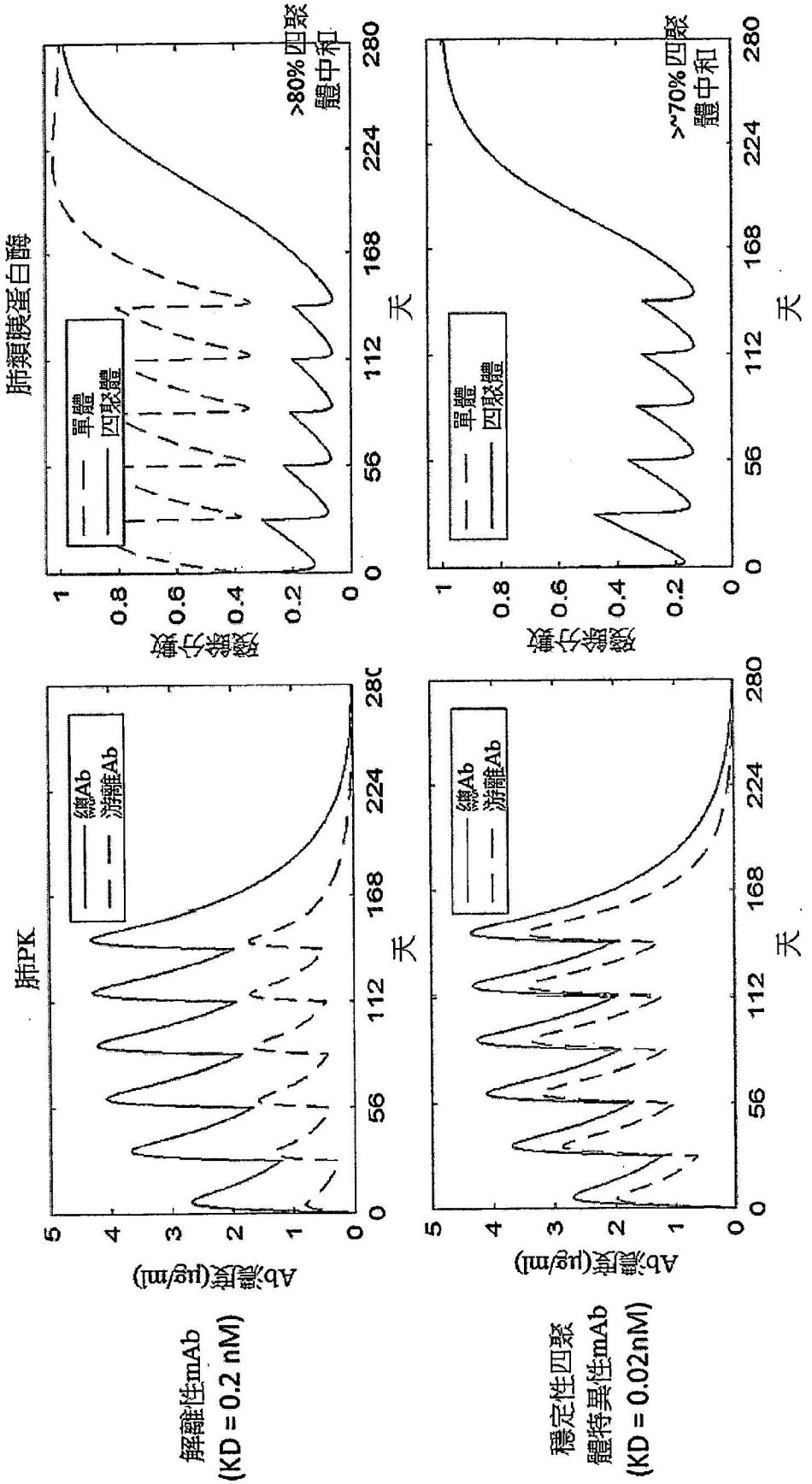
【圖 3A】


運行1-帶His標籤之單體類胰蛋白酶+ Fab 104.v2 (峰2、峰6)
運行2- WT四聚體類胰蛋白酶+ Fab 104.v2 (峰3、峰7)
運行3- WT四聚體類胰蛋白酶+ Fab 104.v2 +肝素(峰1、峰4、峰5)
峰 2 →
(25.8 min)
峰 3
(26 min)
峰 1
(21 min)
峰 5
(31.2 min)
峰 7
(31.8 min)
峰 6
(31.6 min)
峰 4
(27.2 min)
350
300
250
200
150
100
50
0
8.0
10.0
12.0
14.0
16.0
18.0
ml

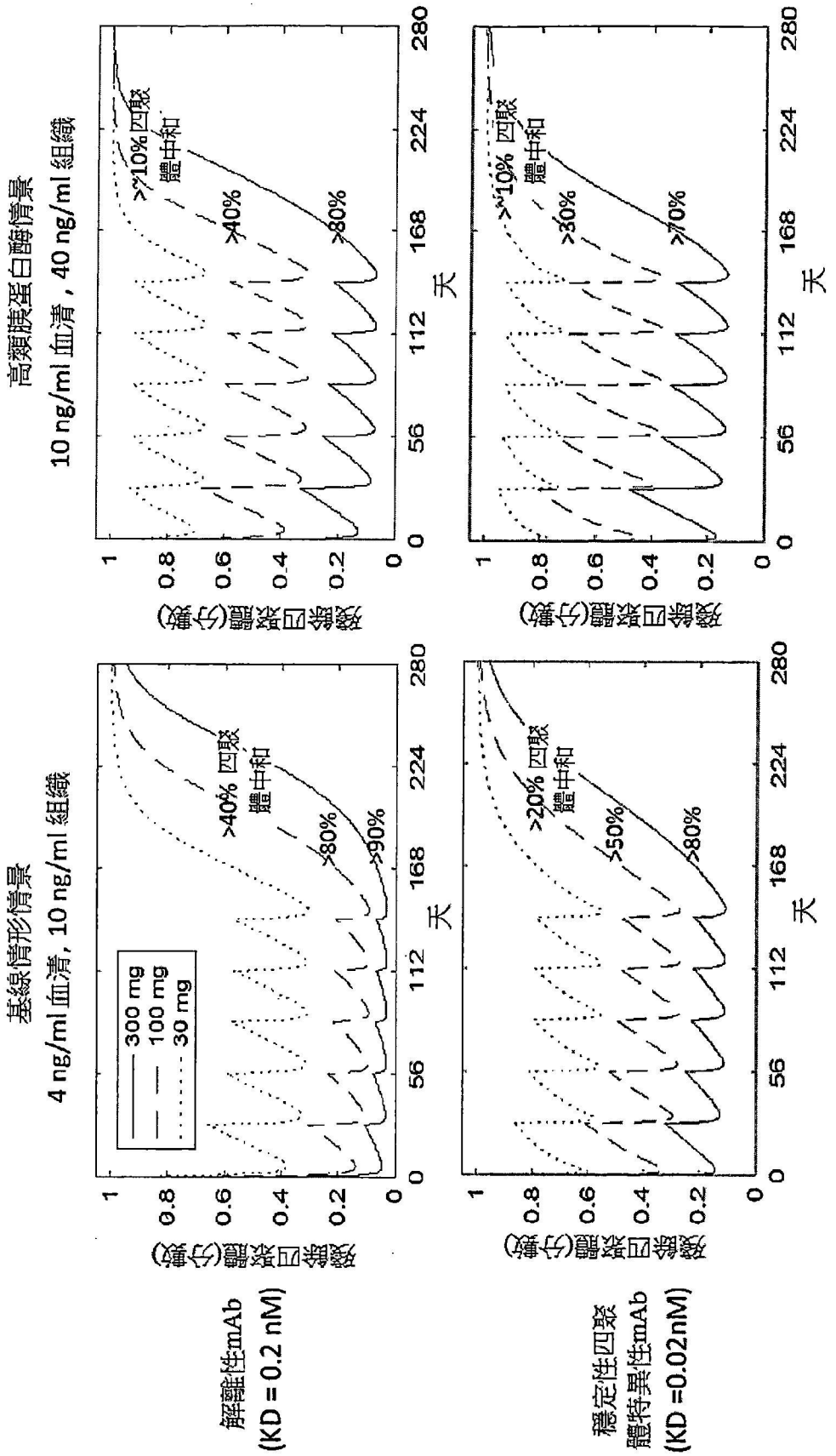
【圖 3B】


肺PK
肺類胰蛋白酶
總Ab
游離Ab
單體
四聚體
Ab濃度(μg/ml)
殘餘分數
天
>90% 四聚體中和
>~80% 四聚體中和
去穩定性mAb
(KD = 0.2 nM)
穩定性四聚體特異性mAb
(KD =0.02nM)

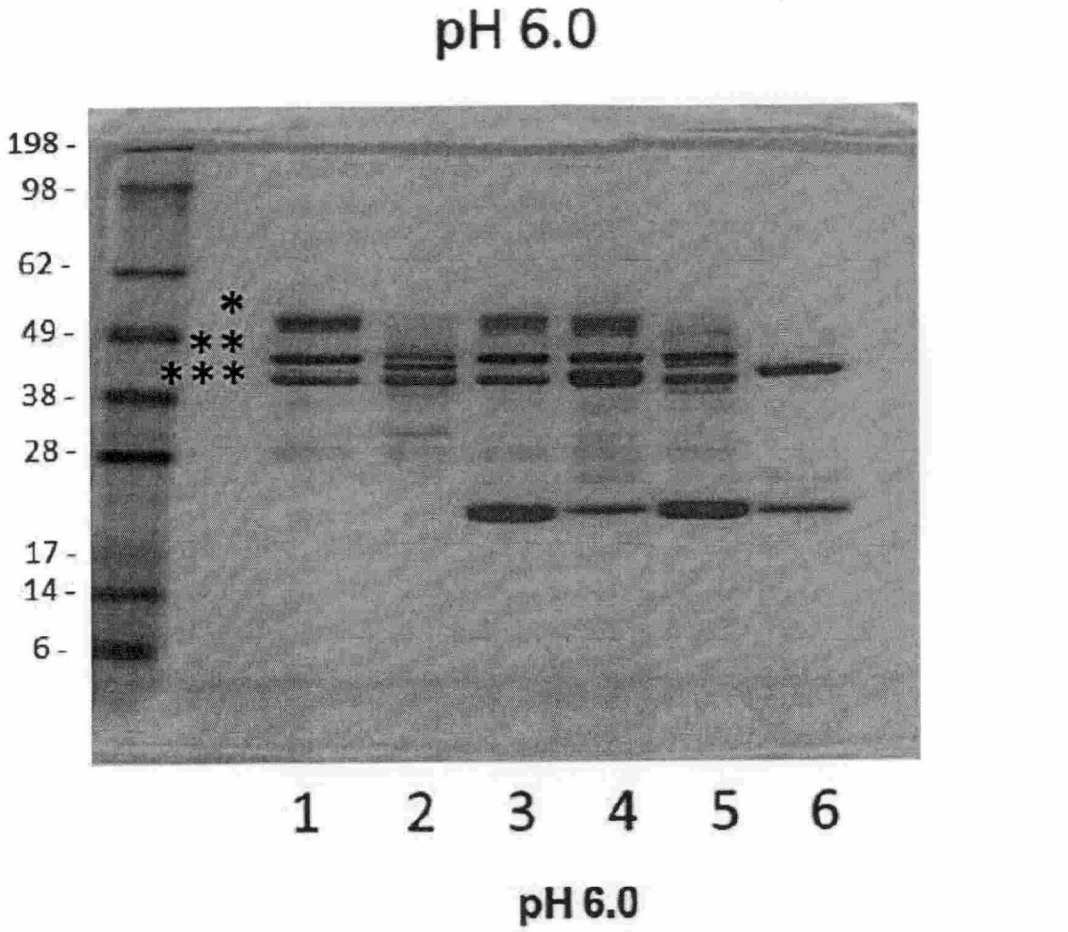
【圖 4A】

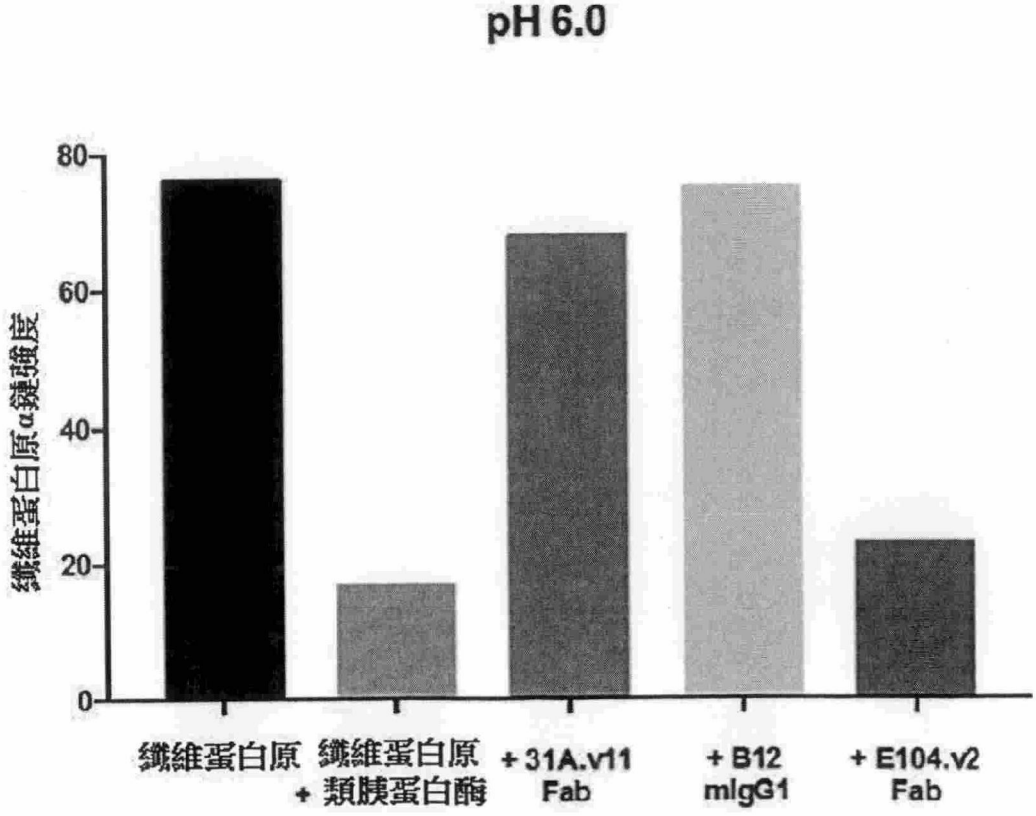

肺PK
肺類胰蛋白酶
解離性mAb
(KD = 0.2 nM)
穩定性四聚
體特異性mAb
(KD = 0.02nM)
Ab濃度(μg/ml)
殘餘分數
天
總Ab
游離Ab
單體
四聚體
>80% 四聚
體中和
>~70% 四聚
體中和

【圖 4B】

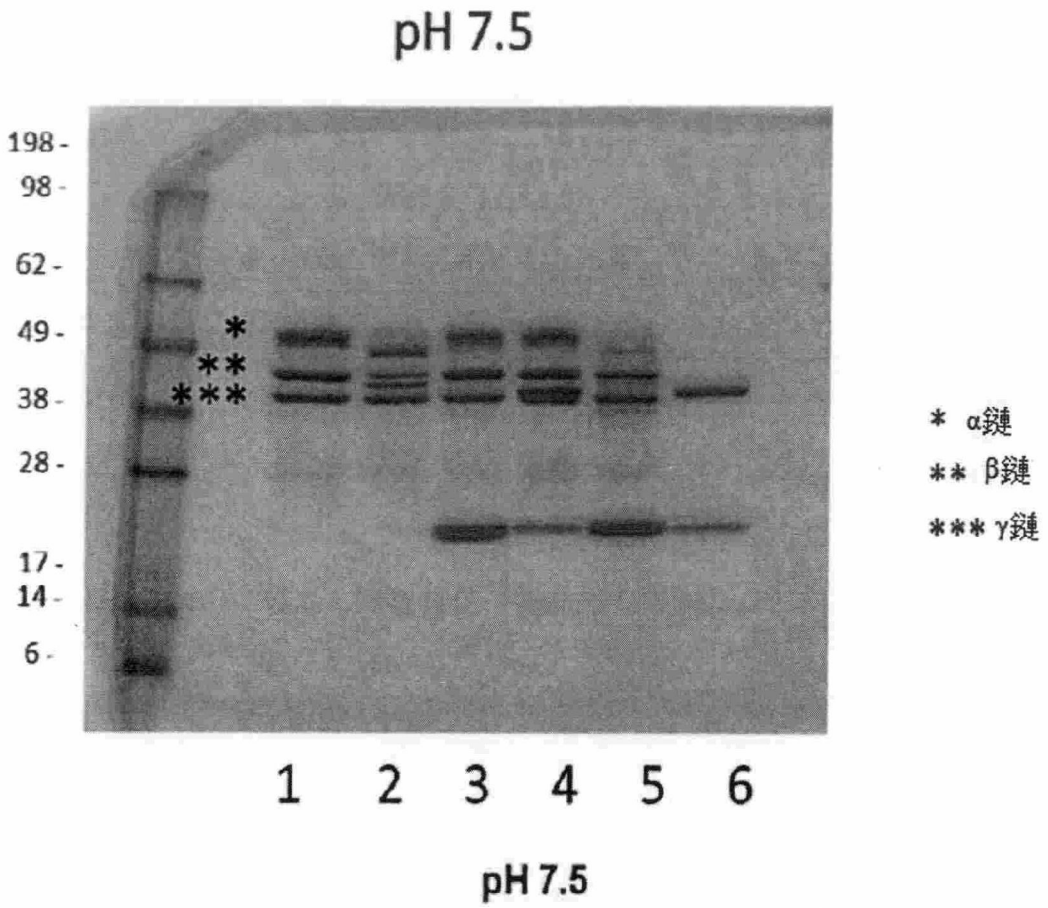

基線情形情景
4 ng/ml 血清，10 ng/ml 組織
高類胰蛋白酶情景
10 ng/ml 血清，40 ng/ml 組織
300 mg
100 mg
30 mg
殘餘四聚體(分數)
天
>40% 四聚體中和
>80%
>90%
>10% 四聚體中和
>40%
>80%
>20% 四聚體中和
>50%
>80%
>10% 四聚體中和
>30%
>70%
解離性mAb
(KD = 0.2 nM)
穩定性四聚體特異性mAb
(KD =0.02nM)

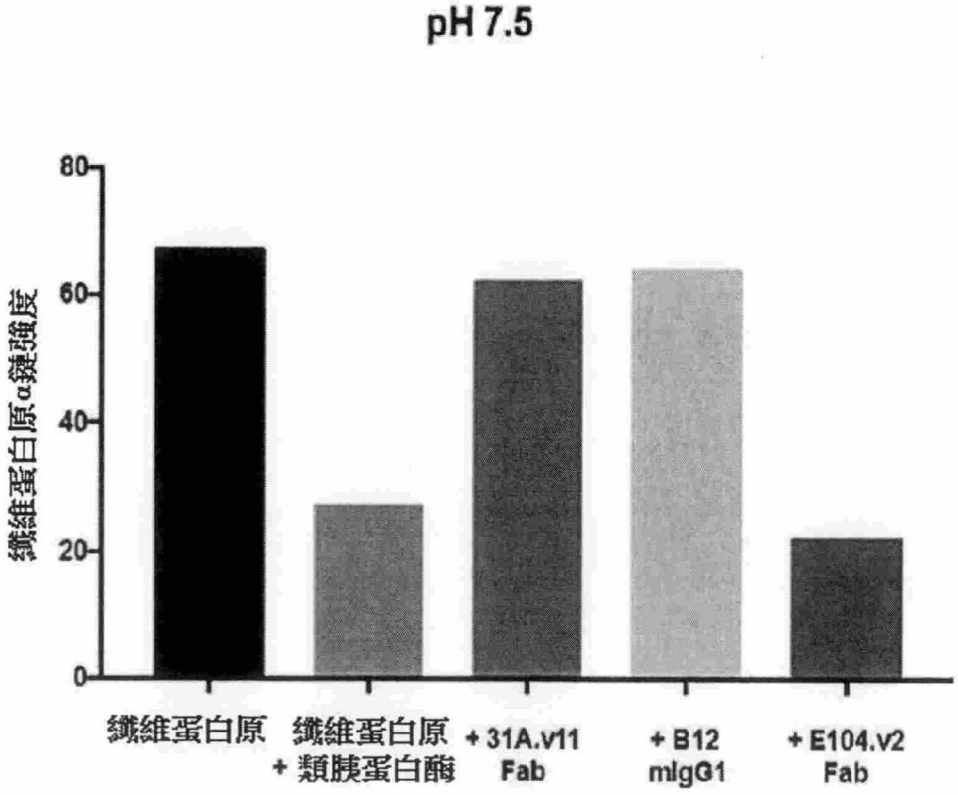
【圖 4C】


pH 6.0
198 -
98 -
62 -
49 -
38 -
28 -
17 -
14 -
6 -
1 2 3 4 5 6

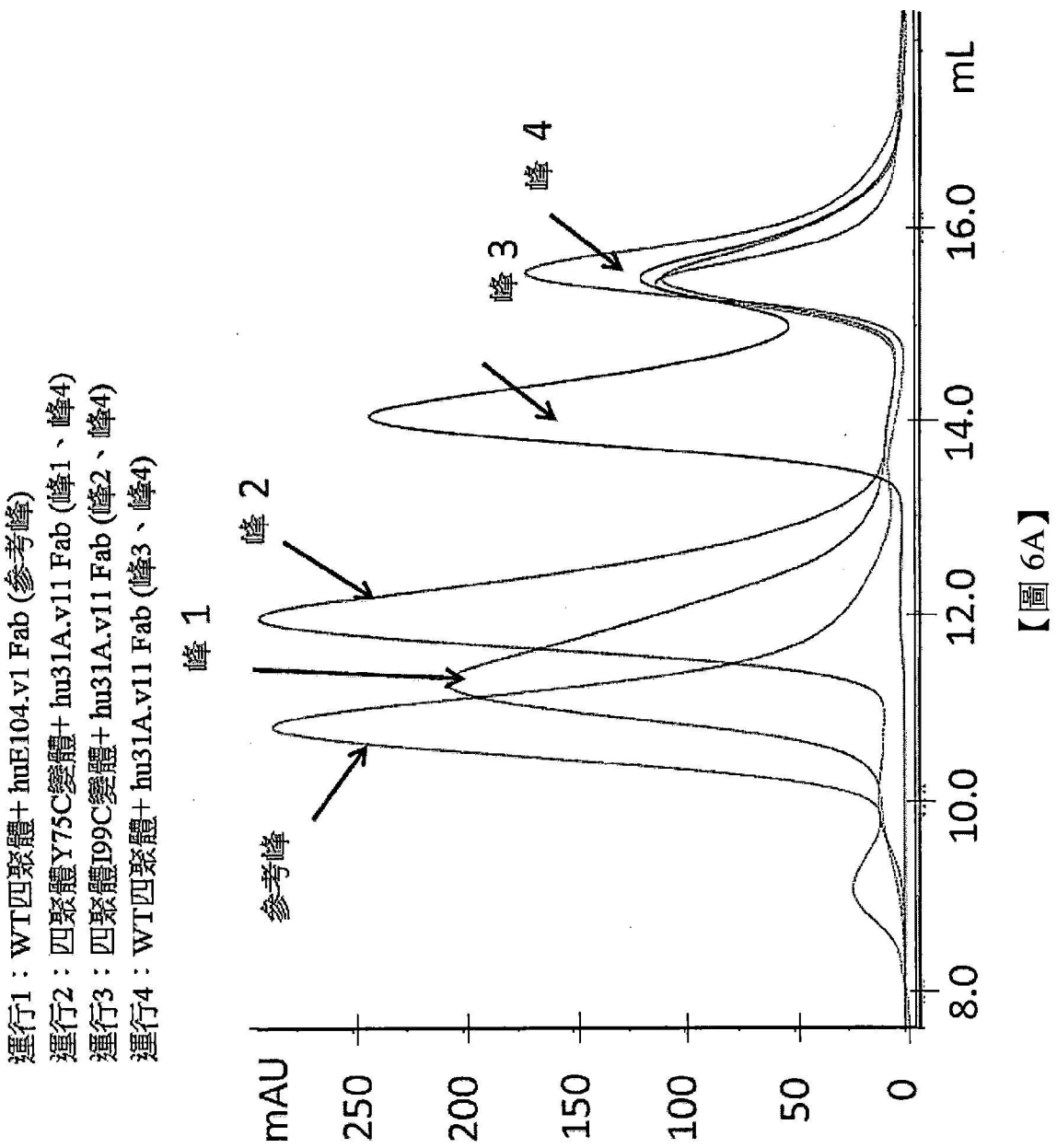

pH 6.0
纖維蛋白原α鏈強度
80
60
40
20
0
纖維蛋白原
纖維蛋白原 + 類胰蛋白酶
+ 31A.v11 Fab
+ B12 mIgG1
+ E104.v2 Fab

【圖 5A】

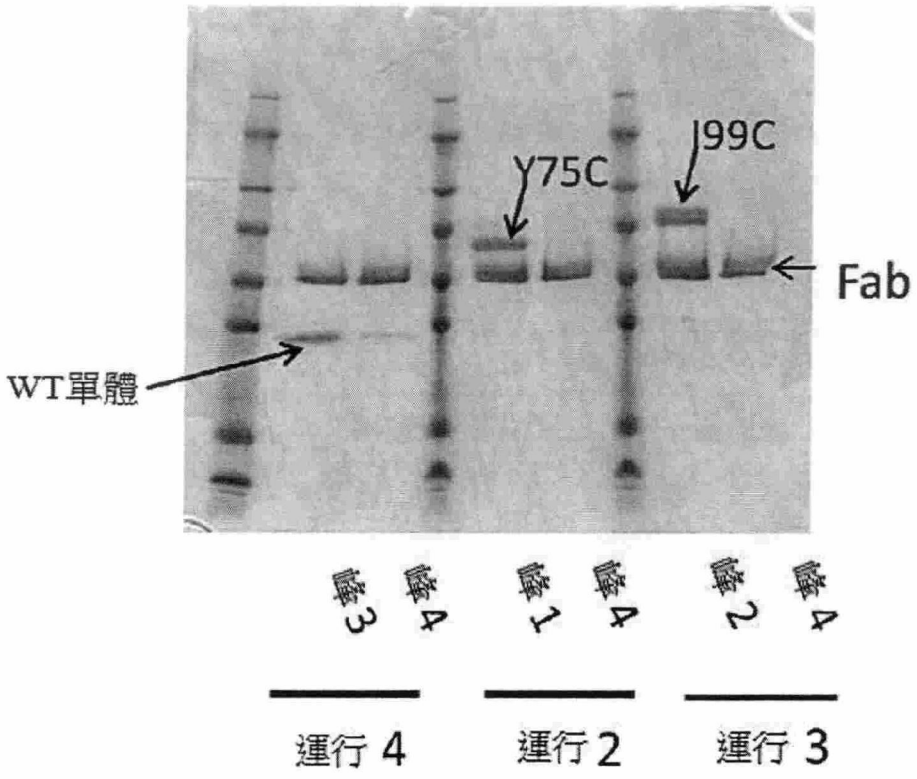

pH 7.5
198
98
62
49
38
28
17
14
6
1 2 3 4 5 6
* α鏈
** β鏈
*** γ鏈


pH 7.5
纖維蛋白原α鏈強度
80
60
40
20
0
纖維蛋白原
纖維蛋白原 + 類胰蛋白酶
+ 31A.v11 Fab
+ B12 mIgG1
+ E104.v2 Fab

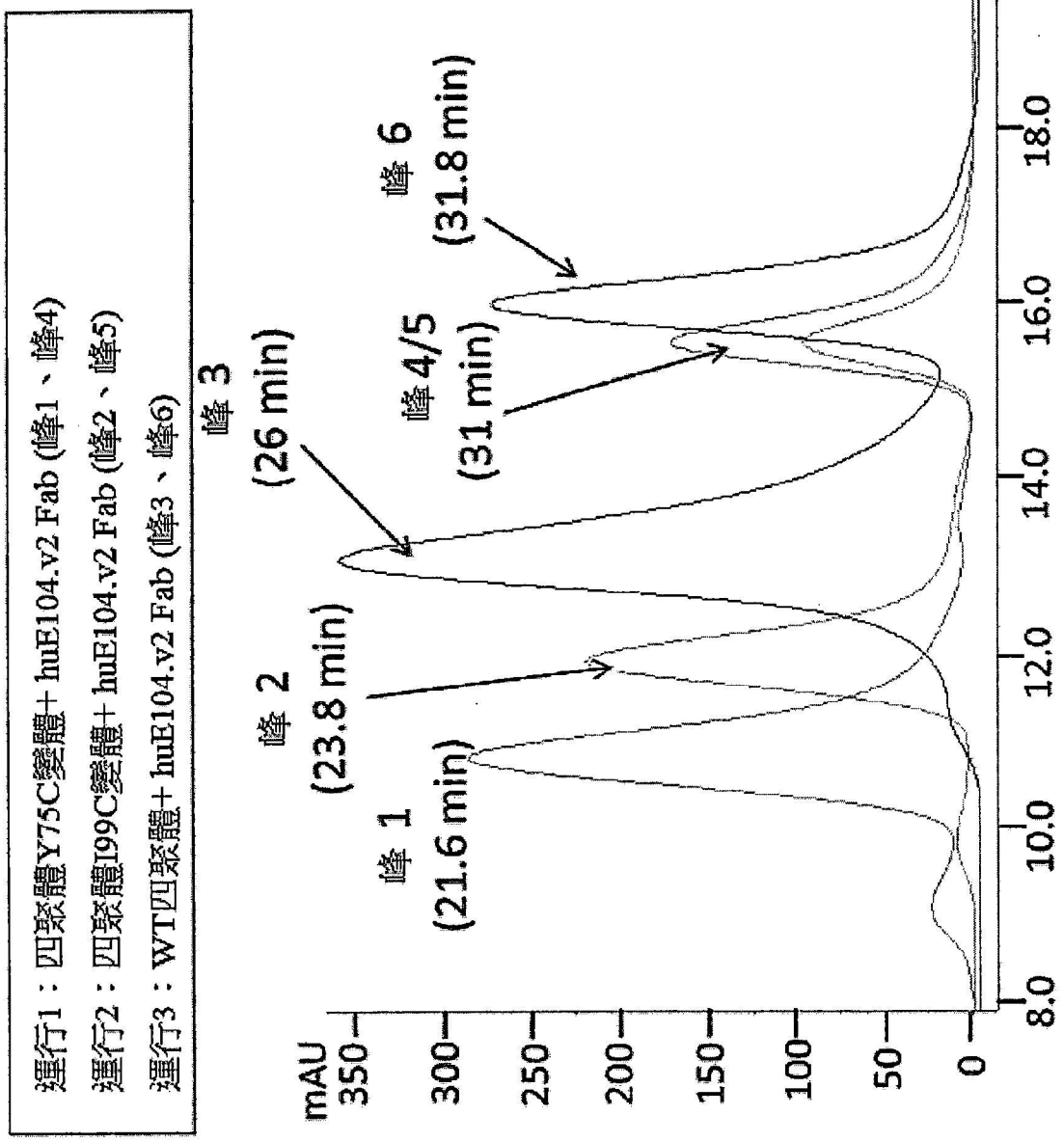
【圖 5B】


運行1：WT四聚體+ huE104.v1 Fab (參考峰)
運行2：四聚體Y75C變體+ hu31A.v11 Fab (峰1、峰4)
運行3：四聚體I99C變體+ hu31A.v11 Fab (峰2、峰4)
運行4：WT四聚體+ hu31A.v11 Fab (峰3、峰4)
峰 1
參考峰
峰 2
峰 3
峰 4
mAU
250
200
150
100
50
0
8.0
10.0
12.0
14.0
16.0
mL

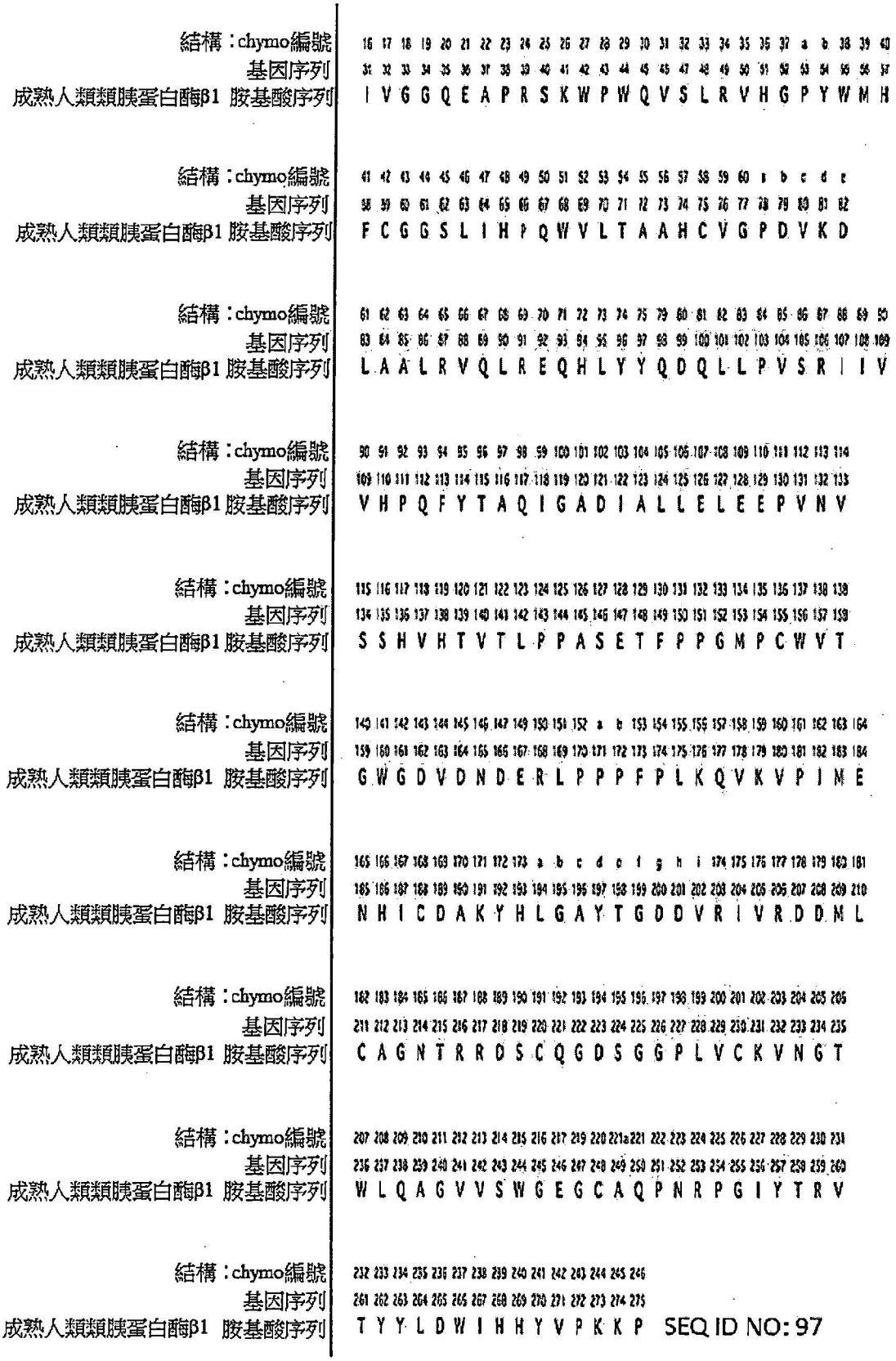
【圖 6A】



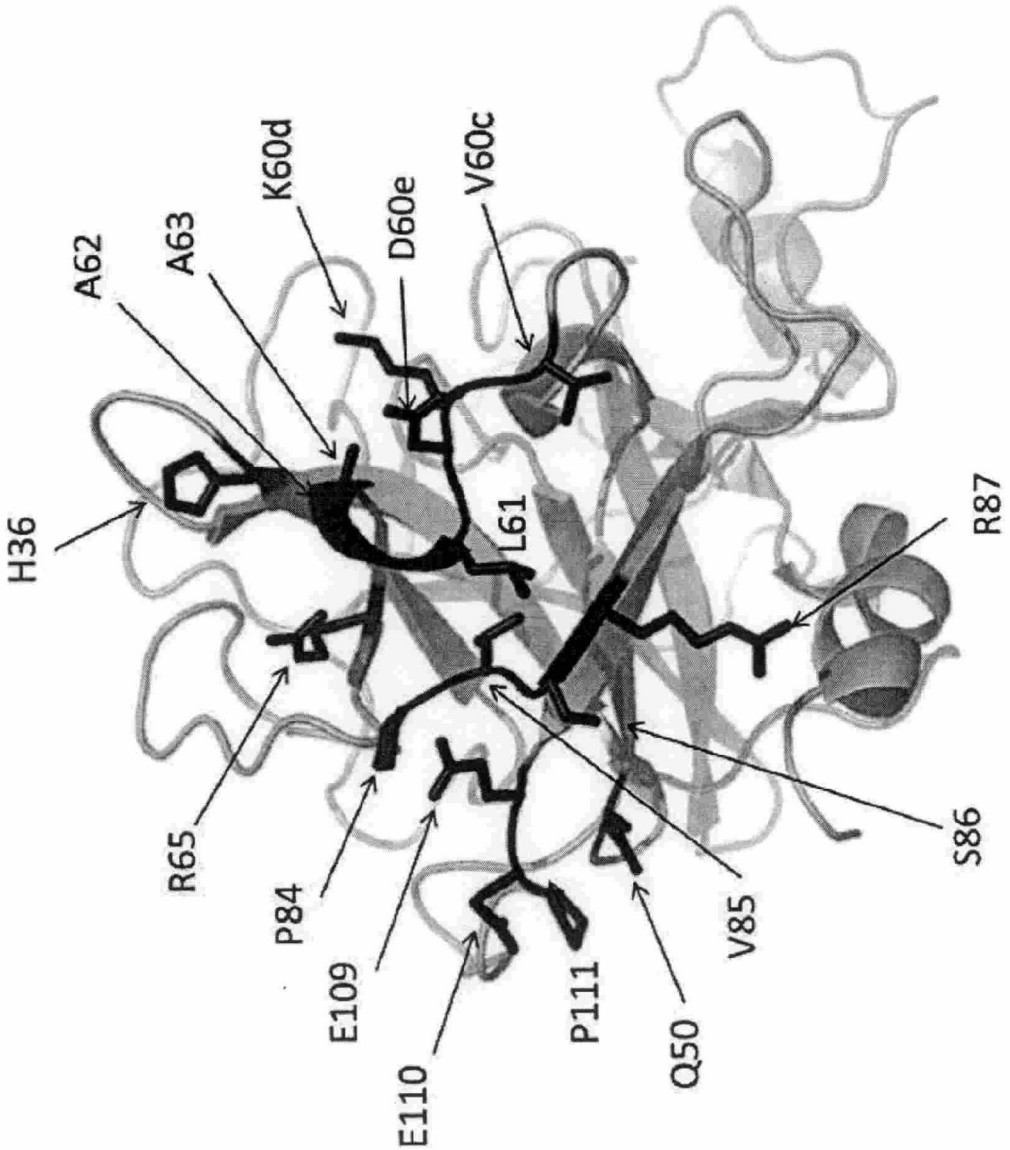
【圖 6B】


運行1：四聚體Y75C變體+ huE104.v2 Fab (峰1、峰4)
運行2：四聚體I99C變體+ huE104.v2 Fab (峰2、峰5)
運行3：WT四聚體+ huE104.v2 Fab (峰3、峰6)
峰 1
(21.6 min)
峰 2
(23.8 min)
峰 3
(26 min)
峰4/5
(31 min)
峰 6
(31.8 min)
mAU
350
300
250
200
150
100
50
0
8.0
10.0
12.0
14.0
16.0
18.0
ml

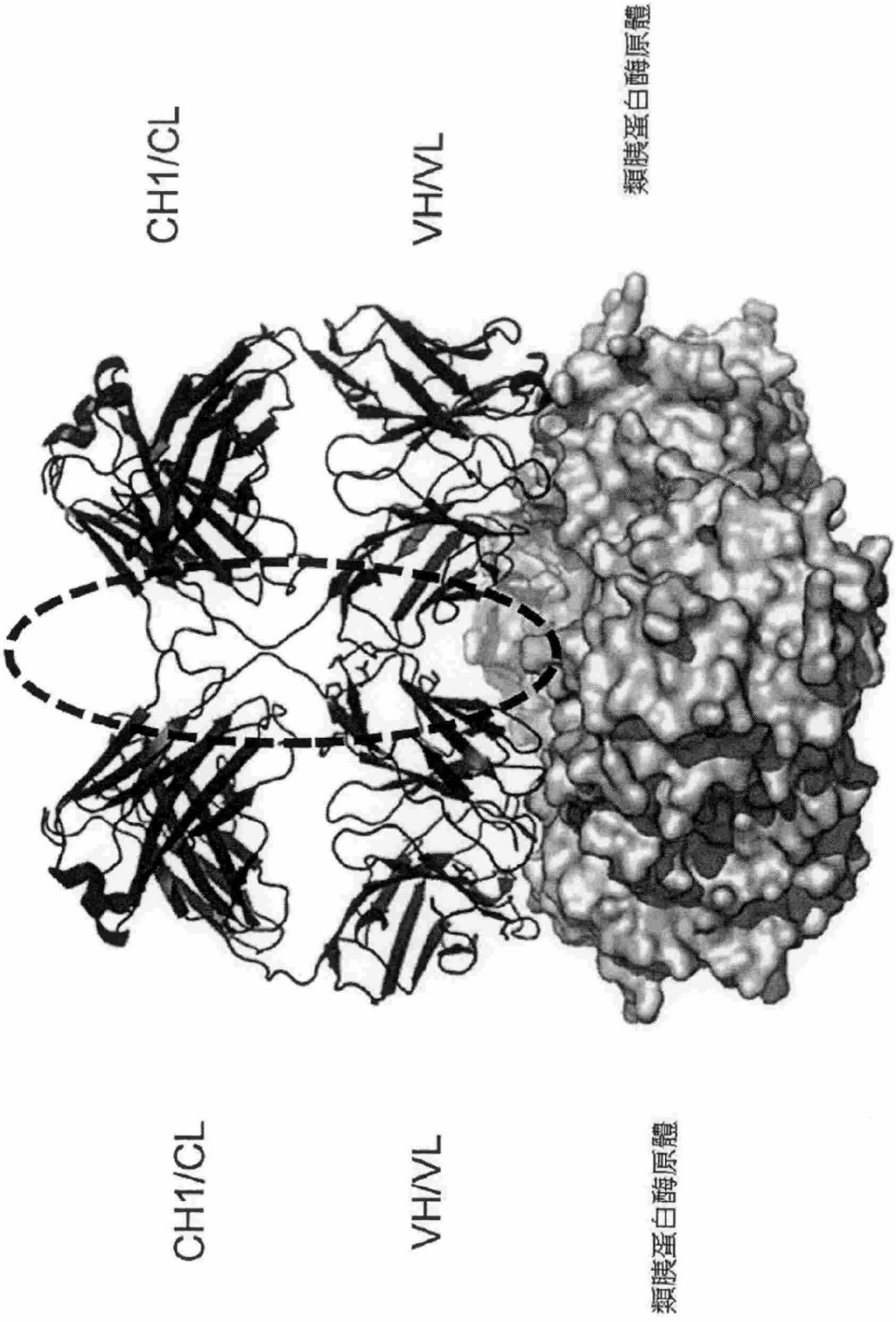
【圖 6C】


結構：chymo編號
基因序列
成熟人類類胰蛋白酶β1 胺基酸序列
16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 a b 38 39 40
31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57
I V G G Q E A P R S K W P W Q V S L R V H G P Y W M H
結構：chymo編號
基因序列
成熟人類類胰蛋白酶β1 胺基酸序列
41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 a b c d e
58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82
F C G G S L I H P Q W V L T A A H C V G P D V K D
結構：chymo編號
基因序列
成熟人類類胰蛋白酶β1 胺基酸序列
61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90
83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108 109
L A A L R V Q L R E Q H L Y Y Q D Q L L P V S R I I V
結構：chymo編號
基因序列
成熟人類類胰蛋白酶β1 胺基酸序列
90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114
109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133
V H P Q F Y T A Q I G A D I A L L E L E E P V N V
結構：chymo編號
基因序列
成熟人類類胰蛋白酶β1 胺基酸序列
115 116 117 118 119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139
134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158
S S H V H T V T L P P A S E T F P P G M P C W V T
結構：chymo編號
基因序列
成熟人類類胰蛋白酶β1 胺基酸序列
140 141 142 143 144 145 146 147 149 150 151 152 a b 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164
159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182 183 184
G W G D V D N D E R L P P P F P L K Q V K V P I M E
結構：chymo編號
基因序列
成熟人類類胰蛋白酶β1 胺基酸序列
165 166 167 168 169 170 171 172 173 a b c d e f g h i 174 175 176 177 178 179 180 181
185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210
N H I C D A K Y H L G A Y T G D D V R I V R D D M L
結構：chymo編號
基因序列
成熟人類類胰蛋白酶β1 胺基酸序列
182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206
211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235
C A G N T R R D S C Q G D S G G P L V C K V N G T
結構：chymo編號
基因序列
成熟人類類胰蛋白酶β1 胺基酸序列
207 208 209 210 211 212 213 214 215 216 217 219 220 221a221 222 223 224 225 226 227 228 229 230 231
236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257 258 259 260
W L Q A G V V S W G E G C A Q P N R P G I Y T R V
結構：chymo編號
基因序列
成熟人類類胰蛋白酶β1 胺基酸序列
232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246
261 262 263 264 265 266 267 268 269 270 271 272 273 274 275
T Y Y L D W I H H Y V P K K P SEQ ID NO: 97

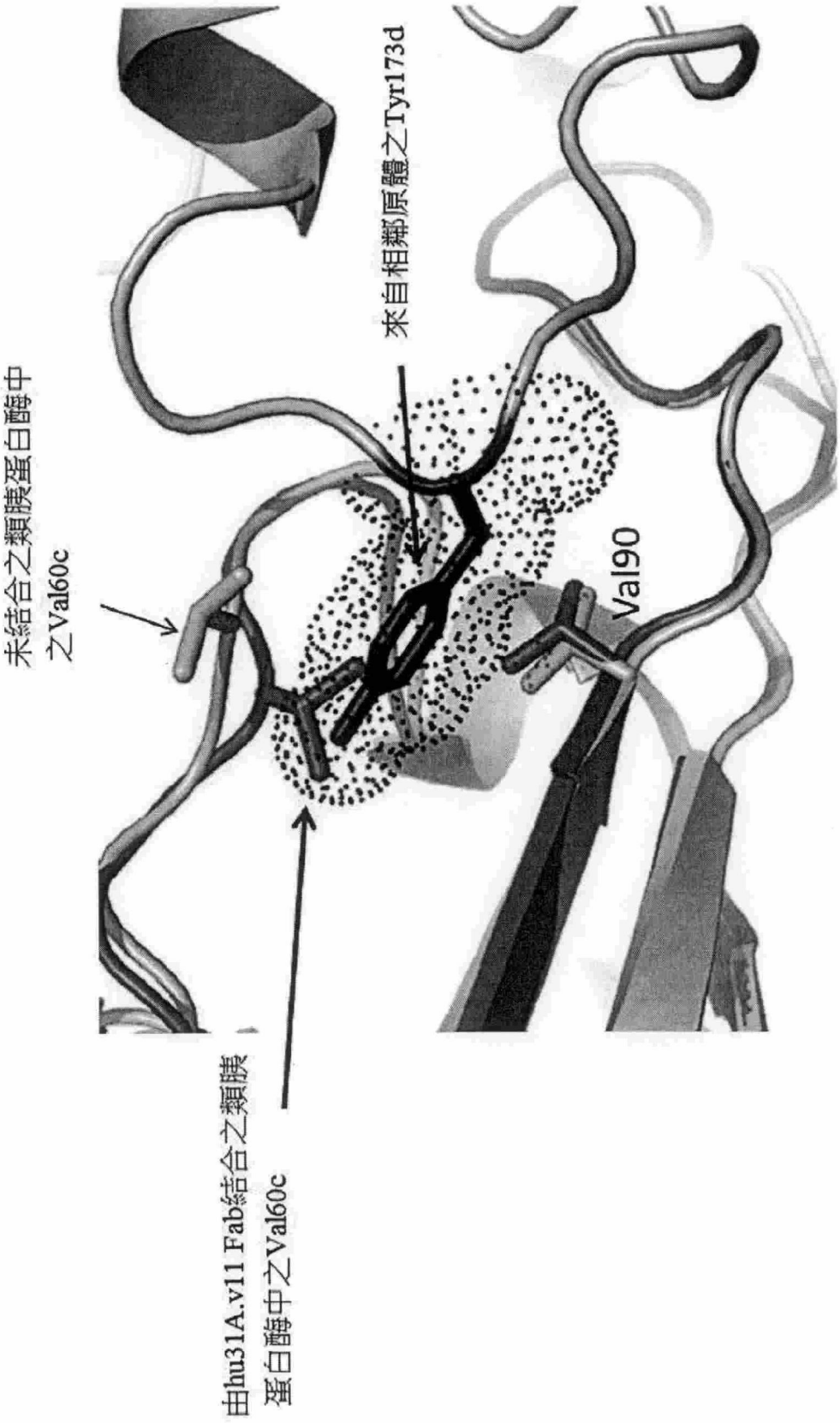
【圖 7】


H36
A62
A63
K60d
D60e
V60c
L61
R87
R65
P84
E109
E110
P111
Q50
V85
S86

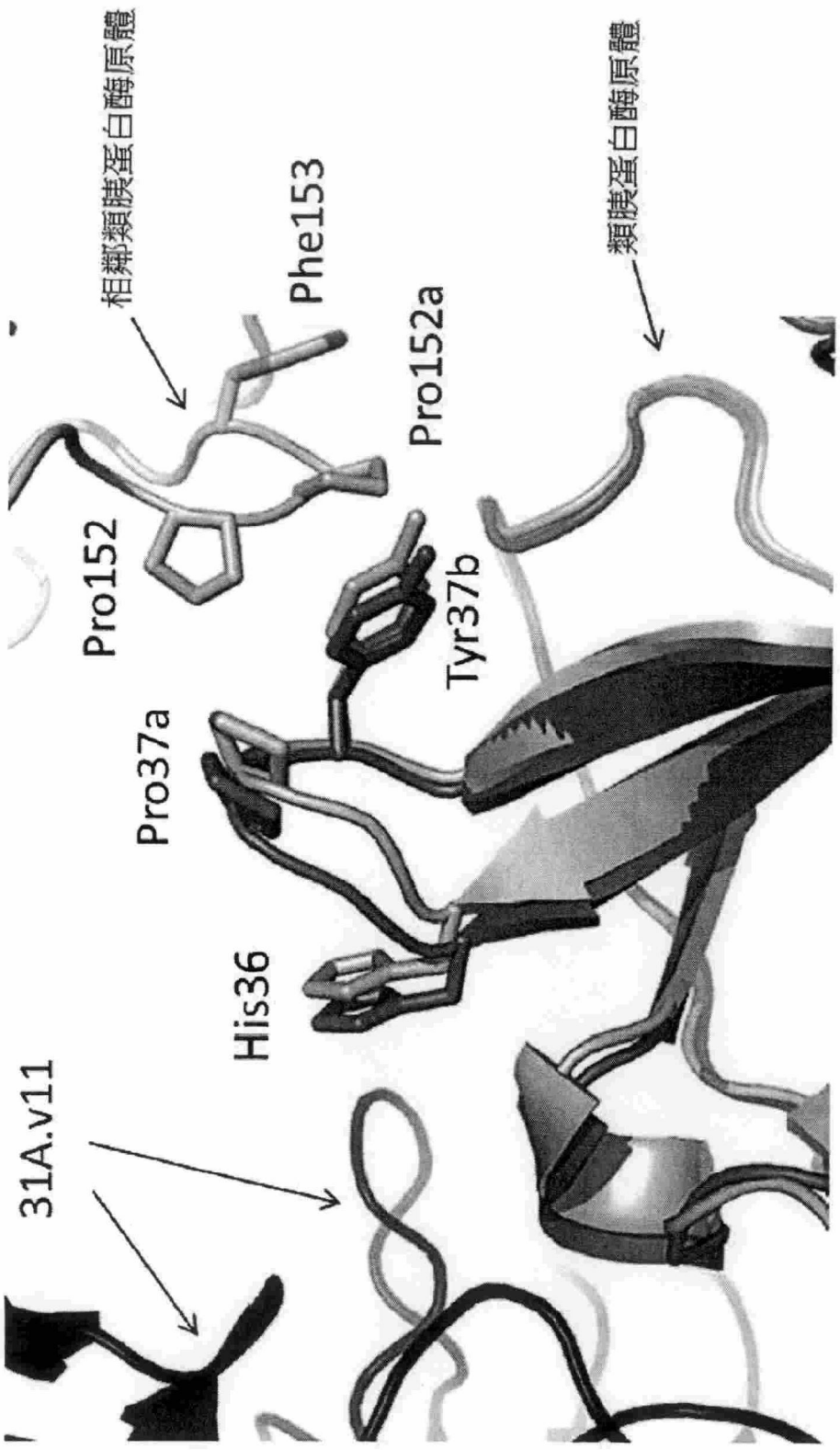
【圖 8】



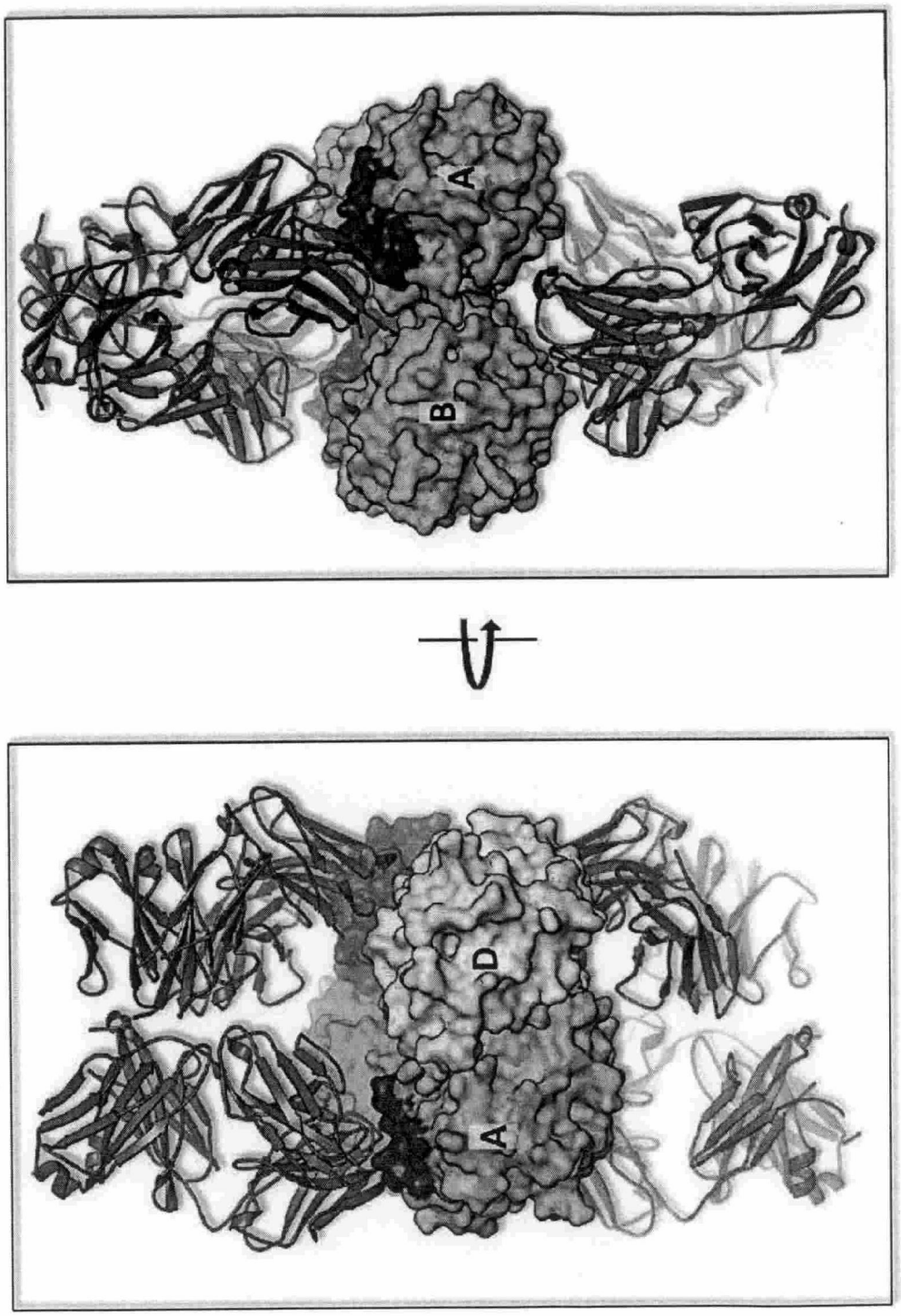
【圖 9】


未結合之類胰蛋白酶中
之Val60c
來自相鄰原體之Tyr173d
Val90
由hu31A.v11 Fab結合之類胰
蛋白酶中之Val60c

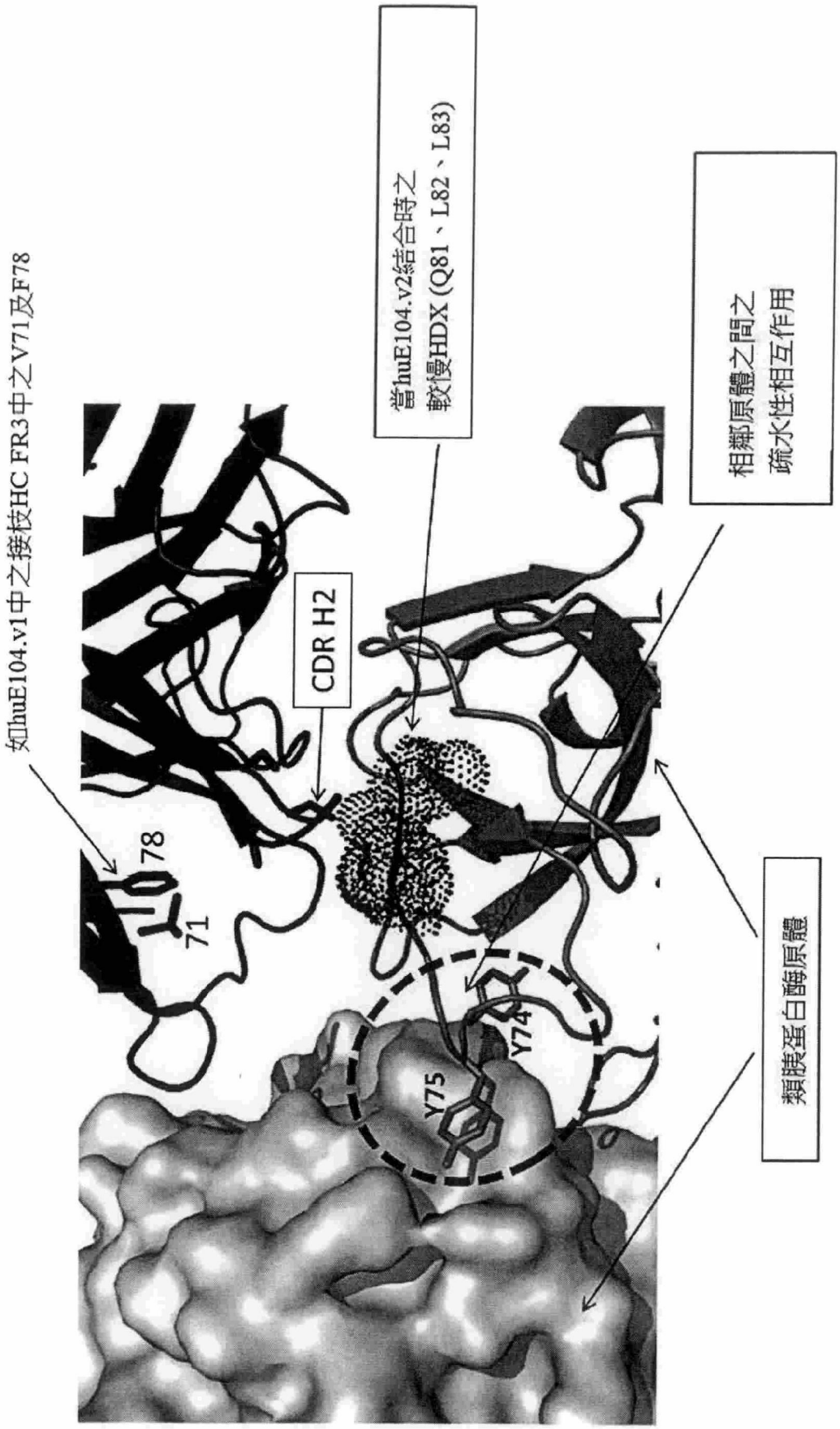
【圖 10】


相鄰類胰蛋白酶原體
Phe153
Pro152
Pro152a
Pro37a
Tyr37b
His36
31A.v11
類胰蛋白酶原體

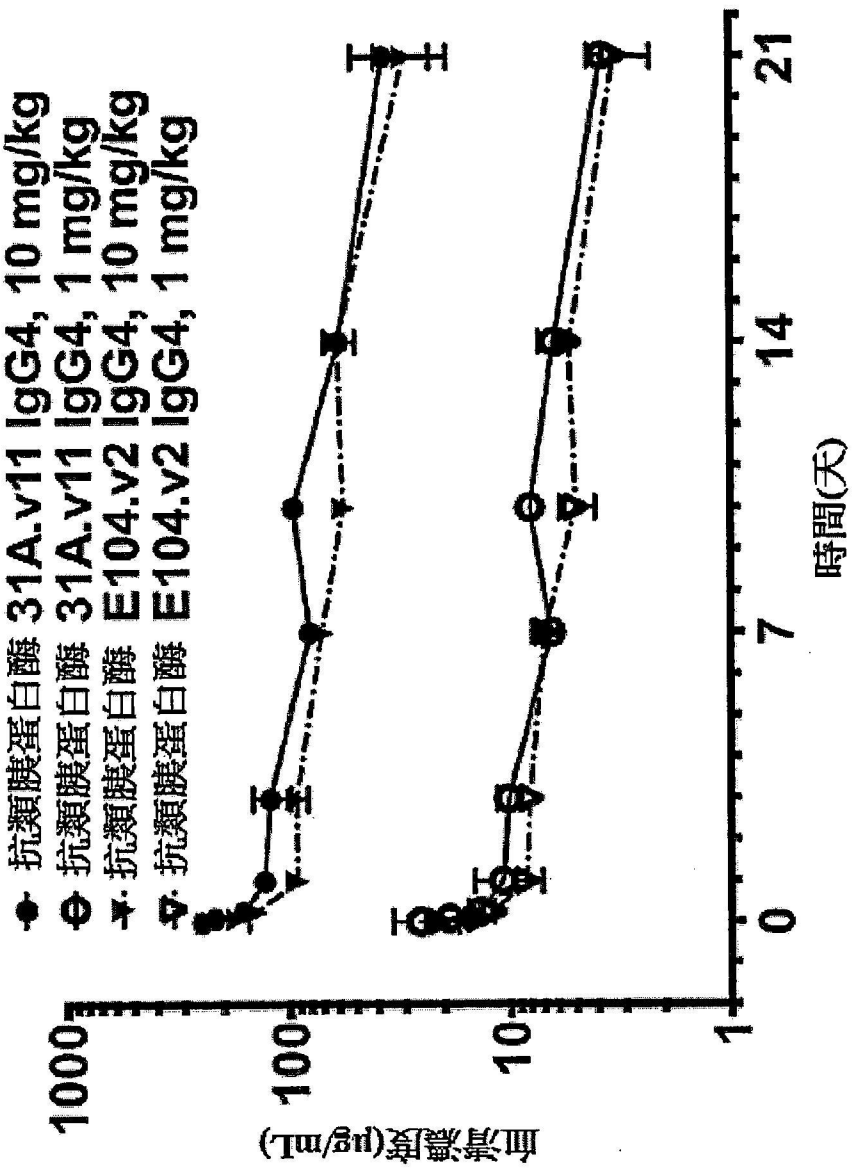
【圖 11】



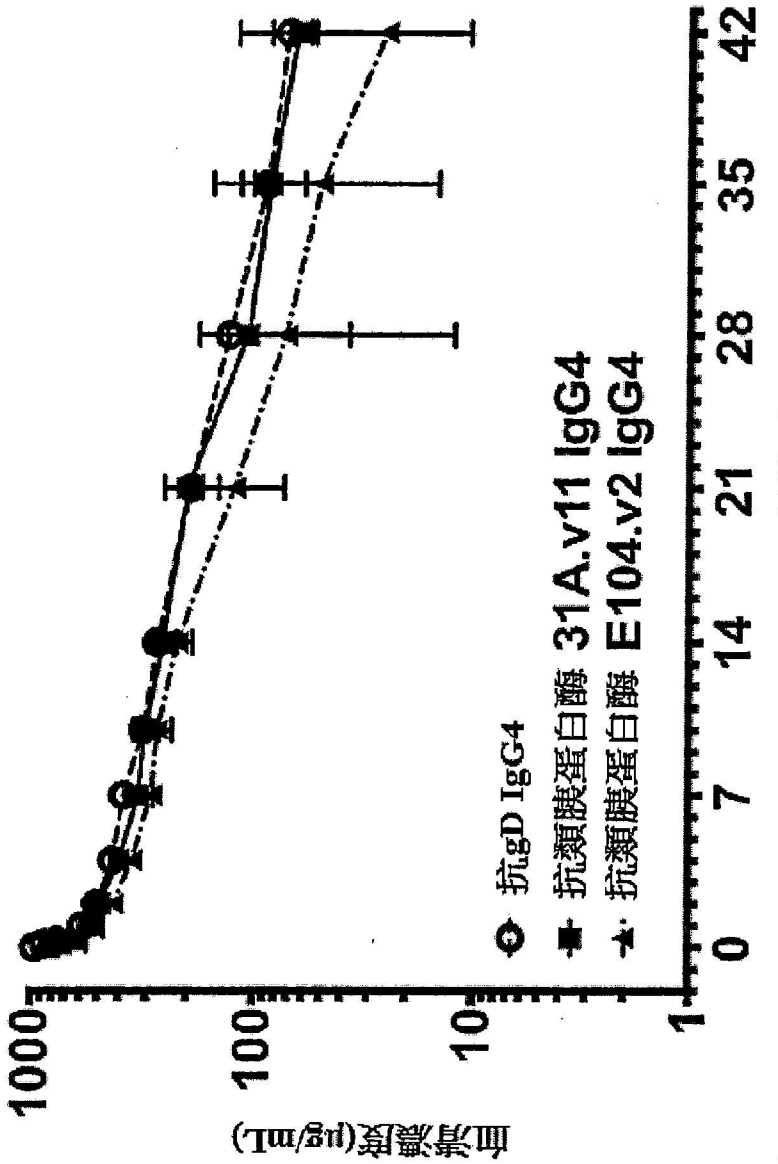
【圖 12A】


如huE104.v1中之接枝HC FR3中之V71及F78
V71
F78
CDR H2
當huE104.v2結合時之
較慢HDX (Q81、L82、L83)
相鄰原體之間之
疏水性相互作用
類胰蛋白酶原體
Y74
Y75

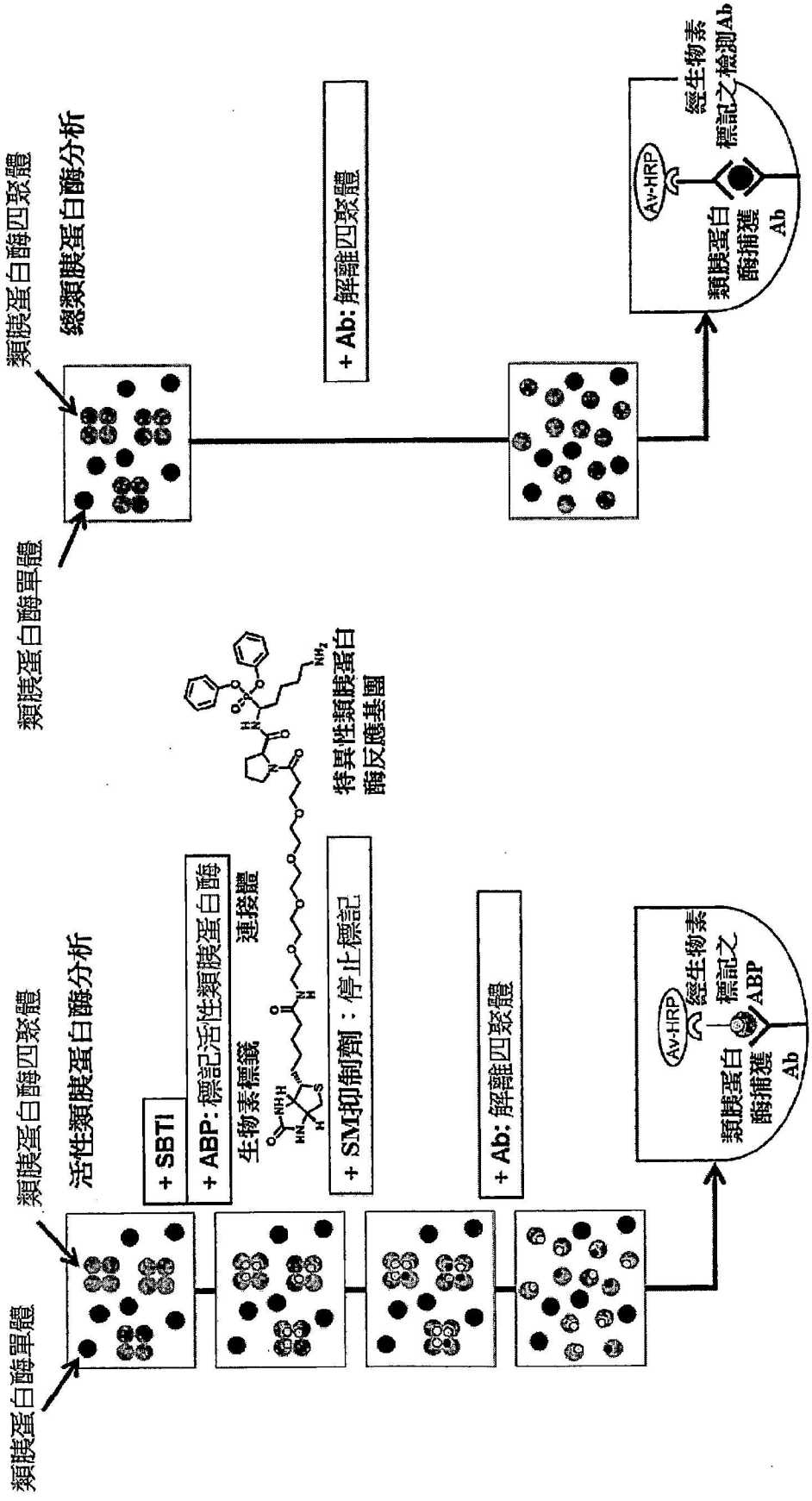
【圖 12B】


抗類胰蛋白酶 31A.v11 IgG4, 10 mg/kg
抗類胰蛋白酶 31A.v11 IgG4, 1 mg/kg
抗類胰蛋白酶 E104.v2 IgG4, 10 mg/kg
抗類胰蛋白酶 E104.v2 IgG4, 1 mg/kg
血清濃度(μg/mL)
1000
100
10
1
0
7
14
21
時間(天)

【圖 13】


血清濃度(μg/mL)
1000
100
10
1
0
7
14
21
28
35
42
時間(天)
抗gD IgG4
抗類胰蛋白酶 31A.v11 IgG4
抗類胰蛋白酶 E104.v2 IgG4

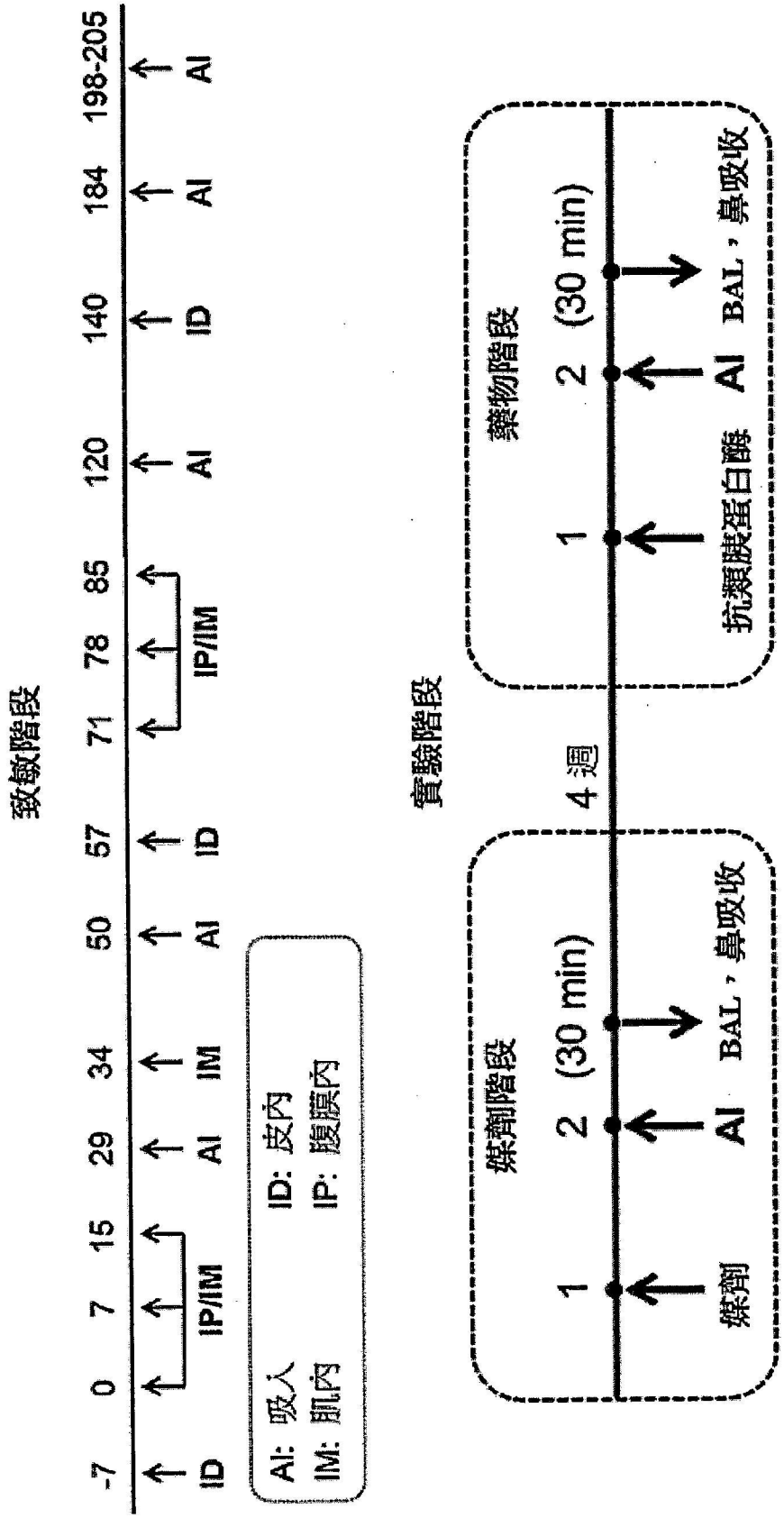
【圖 14】


類胰蛋白酶單體
類胰蛋白酶四聚體
活性類胰蛋白酶分析
+ SBTI
+ ABP: 標記活性類胰蛋白酶
生物素標籤
連接體
+ SM抑制劑：停止標記
特異性類胰蛋白酶反應基團
+ Ab: 解離四聚體
類胰蛋白酶單體
類胰蛋白酶四聚體
總類胰蛋白酶分析
+ Ab: 解離四聚體
Av-HRP
經生物素標記之檢測Ab
類胰蛋白酶捕獲Ab

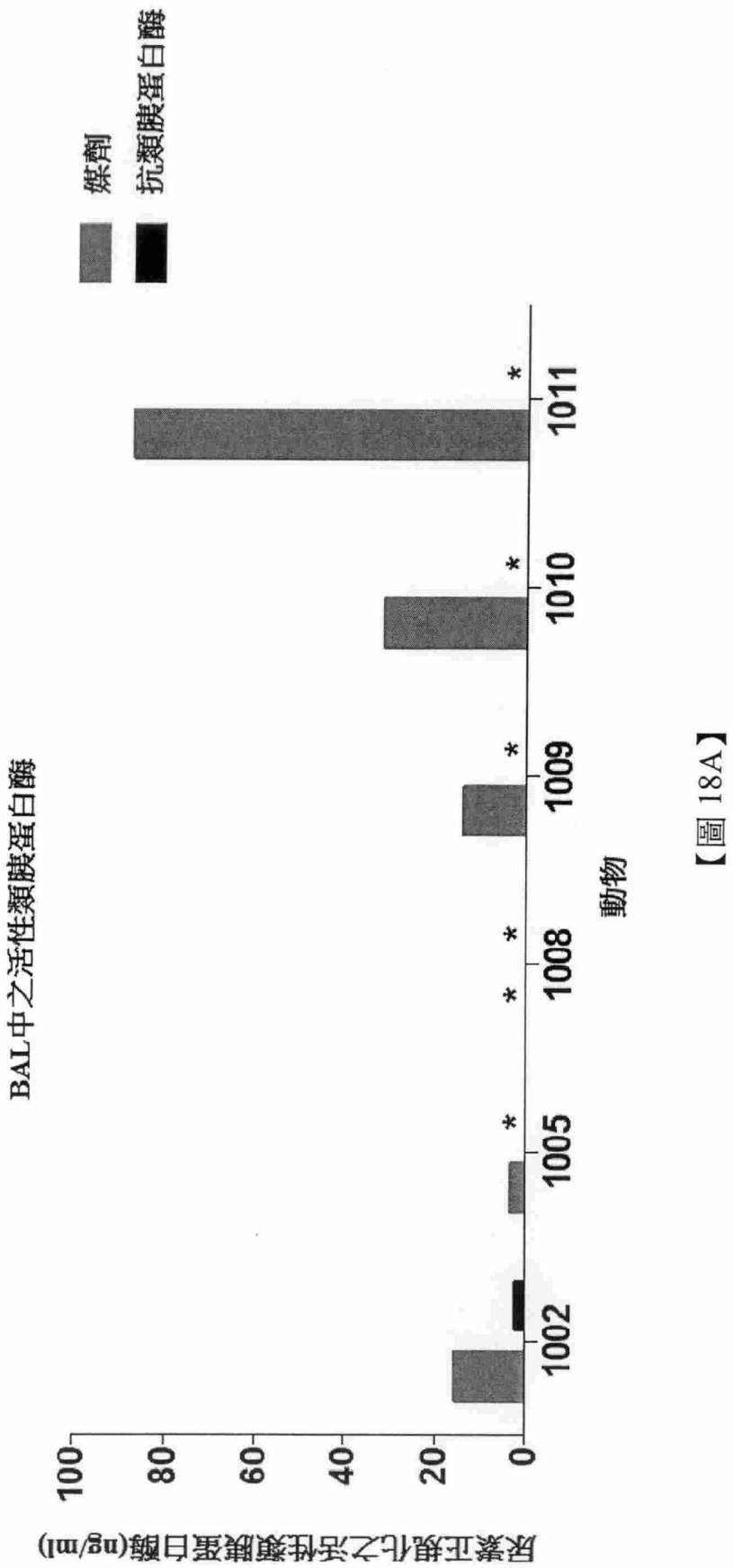
【圖 15】

研究日
-7
8
小時
2
7
14
21
28
30 mg/kg IV 劑量
BAL中之活性類胰蛋白酶
動物 1
尿素正規化之BAL
活性類胰蛋白酶(ng/ml)
研究日
動物 2
尿素正規化之BAL
活性類胰蛋白酶(ng/ml)
研究日

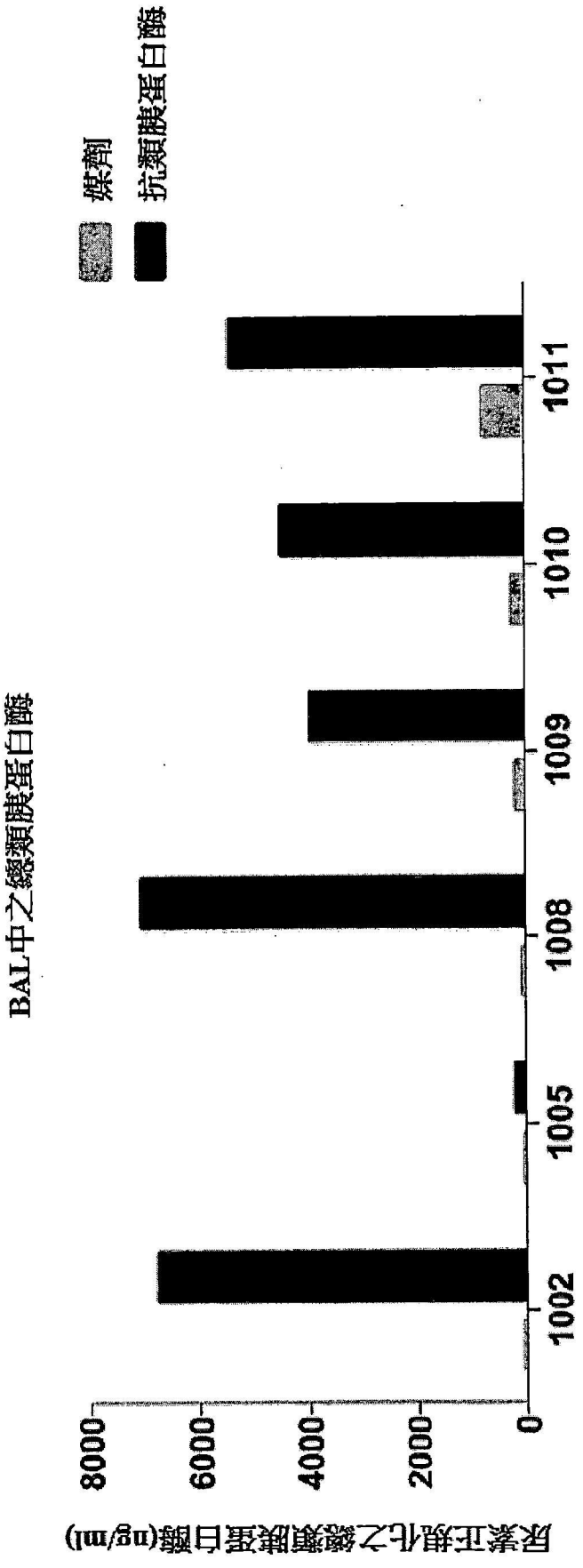
【圖 16】


致敏階段
-7
0
7
15
29
34
50
57
71
78
85
120
140
184
198-205
ID
IP/IM
AI
IM
AI
ID
IP/IM
AI
ID
AI
AI
AI: 吸入
IM: 肌內
ID: 皮內
IP: 腹膜內
實驗階段
媒劑階段
1
2 (30 min)
4 週
媒劑
AI
BAL，鼻吸收
藥物階段
1
2 (30 min)
抗瀨胱蛋白酶
AI
BAL，鼻吸收

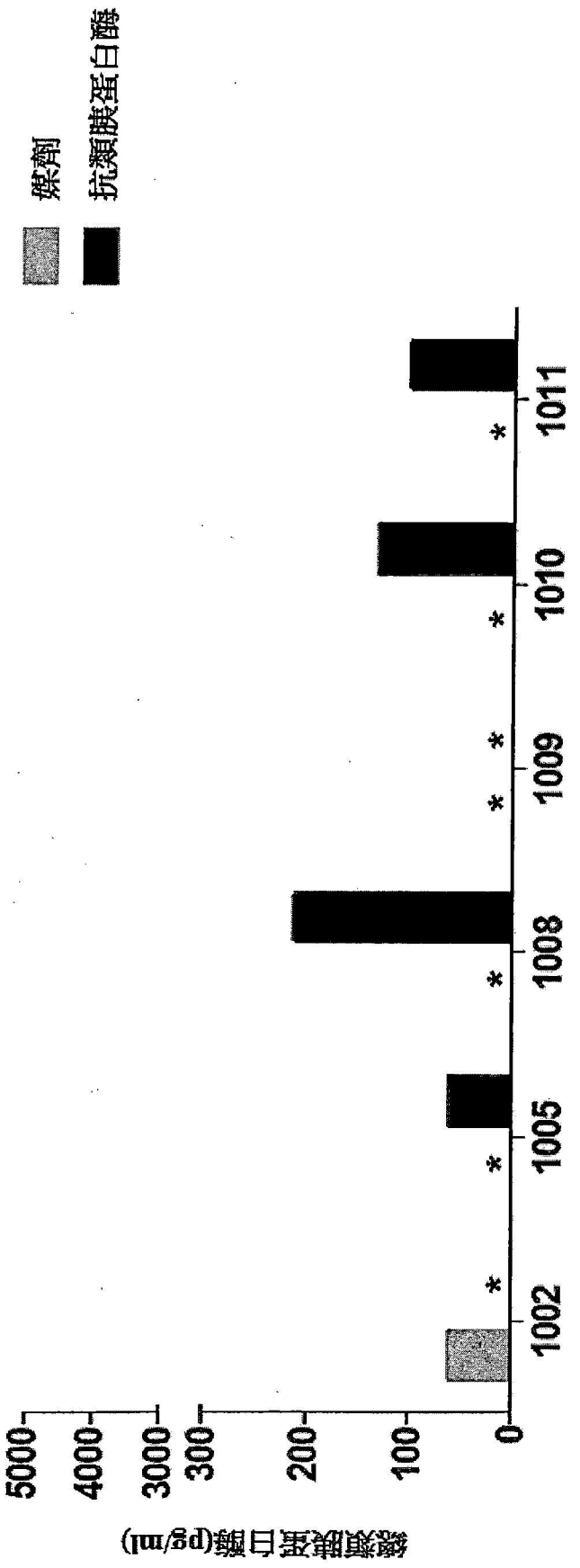
【圖 17】


媒劑
抗類胰蛋白酶
BAL中之活性類胰蛋白酶
尿素正規化之活性類胰蛋白酶(ng/ml)
0
20
40
60
80
100
1002
1005
1008
1009
1010
1011
動物
*

【圖 18A】

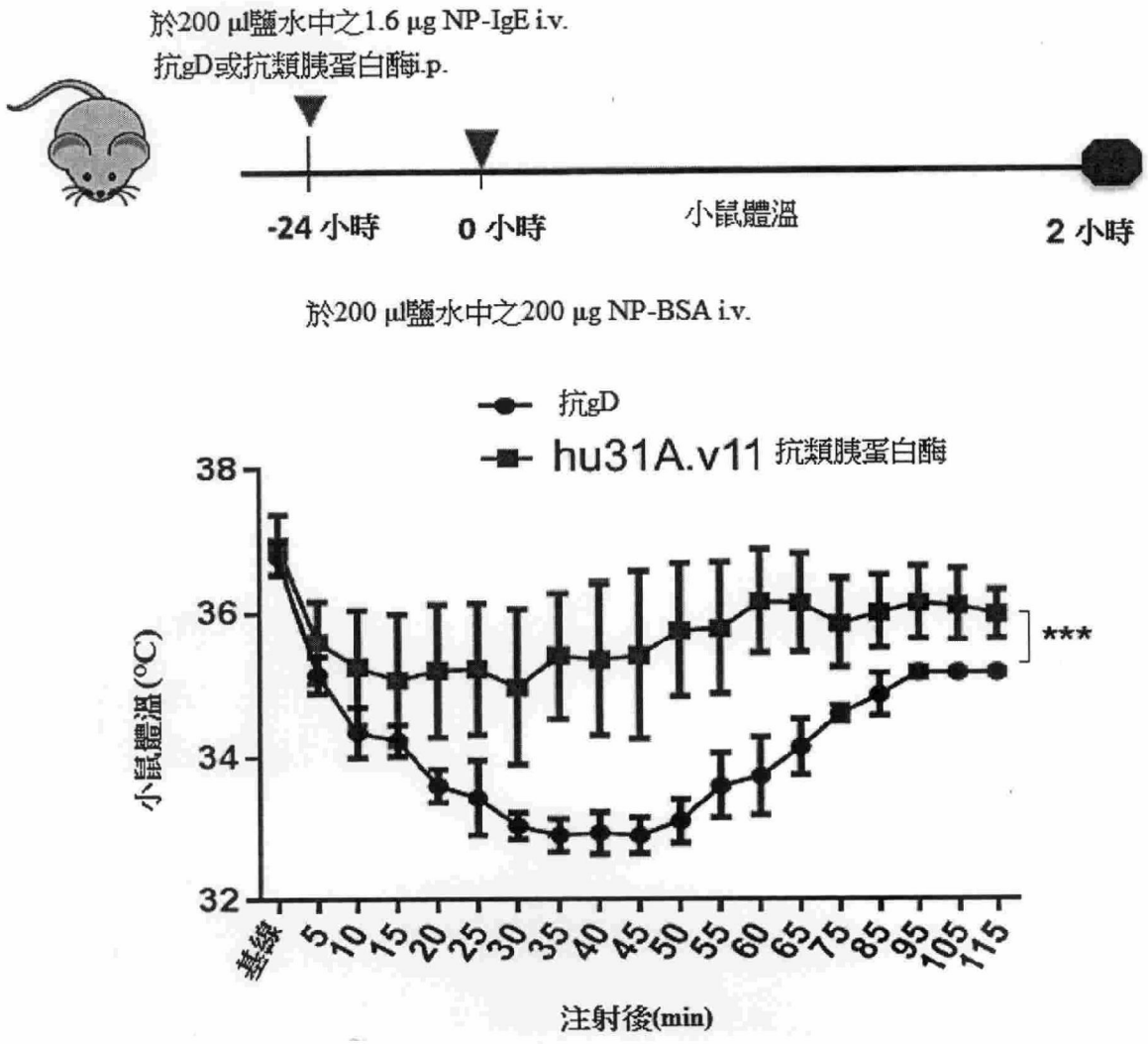

BAL中之總類胰蛋白酶
媒劑
抗類胰蛋白酶
尿素正規化之總類胰蛋白酶(ng/ml)
8000
6000
4000
2000
0
1002
1005
1008
1009
1010
1011
動物

【圖 18B】


鼻吸收中之總類胰蛋白酶
媒劑
抗類胰蛋白酶
總類胰蛋白酶(pg/ml)
5000
4000
3000
300
200
100
0
1002
1005
1008
1009
1010
1011
動物

【圖 18C】

C211066DA.pdf



【圖 19】