

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-521767
(P2024-521767A)

(43)公表日 令和6年6月4日(2024.6.4)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	C 1 2 N	15/113	Z Z N A	4 B 0 6 3
C 1 2 N	15/09 (2006.01)	C 1 2 N	15/09	1 1 0	4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 8 4
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		4 C 0 8 6
C 1 2 Q	1/68 (2018.01)	C 1 2 Q	1/68	1 0 0 Z	4 C 0 8 7
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全171頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2023-572717(P2023-572717)			(71)出願人	522294246
(86)(22)出願日	令和4年5月26日(2022.5.26)				コンプリメント・セラピューティクス・
(85)翻訳文提出日	令和6年1月24日(2024.1.24)				リミテッド
(86)国際出願番号	PCT/EP2022/064376				イギリス国ロンドン ダブリュ12・0
(87)国際公開番号	WO2022/248651				ビーズィー, ホワイト・シティ, ウッド
(87)国際公開日	令和4年12月1日(2022.12.1)				・レーン 8 4 トランスレーション・ア
(31)優先権主張番号	2107586.6				ンド・イノベーション・ハブ, フォース
(32)優先日	令和3年5月27日(2021.5.27)				・フロア
(33)優先権主張国・地域又は機関	英国(GB)			(74)代理人	100118902
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA				弁理士 山本 修
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(			(74)代理人	100106208
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A				弁理士 宮前 徹
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR			(74)代理人	100196508
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,				弁理士 松尾 淳一
	最終頁に続く			(74)代理人	100107386
					最終頁に続く

(54)【発明の名称】 H因子ファミリータンパク質のための阻害性核酸

(57)【要約】

F Hファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるための剤を開示する。該剤をコードする物品、ならびに療法のおよび予防的方法におけるものを含む、該剤を用いる方法もまた開示する。

【選択図】 図 5

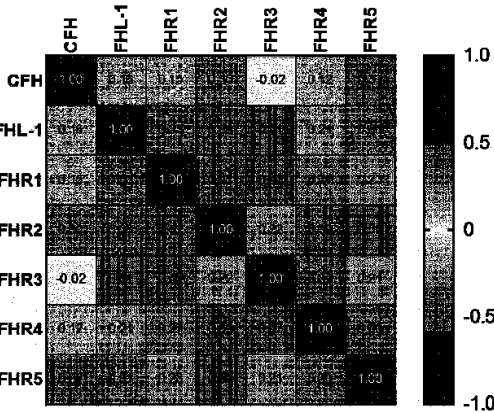


FIG. 5

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

1 つまたはそれより多い H 因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるための剤。

【請求項 2】

1 つまたはそれより多い H 因子ファミリータンパク質が、H 因子関連タンパク質であり、任意選択で、該 H 因子関連タンパク質が、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4 および F H R 5 より選択される、請求項 1 記載の剤。

【請求項 3】

剤が阻害性核酸である、請求項 1 または請求項 2 記載の剤。

10

【請求項 4】

阻害性核酸が、1 つまたはそれより多い H 因子ファミリータンパク質をコードする 1 つまたはそれより多い遺伝子にコードされる RNA のヌクレオチド配列をターゲティングするアンチセンス核酸を含むかまたはコードする、請求項 3 記載の剤。

【請求項 5】

阻害性核酸が、配列番号 1 5 8、1 5 9、1 6 0、1 6 1、1 6 2、1 6 3、1 6 4、1 6 5、1 6 6、1 6 7、1 6 8、1 6 9、1 7 0、1 7 1、1 7 2、1 7 3、1 7 4、1 7 5、1 7 6 または 1 7 7 を含むかまたはこれらからなるヌクレオチド配列をターゲティングするアンチセンス核酸を含むかまたはコードする、請求項 3 または請求項 4 記載の剤。

20

【請求項 6】

阻害性核酸が、配列番号 1 7 8、1 7 9、1 8 0、1 8 1、1 8 2、1 8 3、1 8 4、1 8 5、1 8 6、1 8 7、1 8 8、1 8 9、1 9 0、1 9 1、1 9 2、1 9 3、1 9 4、1 9 5、1 9 6 または 1 9 7 に少なくとも 7 5 % の配列同一性を有する配列を含むかまたはこれらからなるアンチセンス核酸を含むかまたはコードする、請求項 1 ～ 5 のいずれか記載の剤。

【請求項 7】

阻害性核酸が、s i R N A、s h R N A、m i R N A またはアンチセンスオリゴヌクレオチドである、請求項 3 ～ 6 のいずれか一項記載の剤。

【請求項 8】

剤が、メガヌクレアーゼ、ジンクフィンガーヌクレアーゼ (Z F N)、転写活性化因子様エフェクターに基づくヌクレアーゼ (T A L E N)、または C R I S P R - C a s 系である、請求項 1 または 2 記載の剤。

30

【請求項 9】

C R I S P R - C a s 系が、配列番号 2 2 4、2 2 5、2 2 6 または 2 2 7 に少なくとも 7 5 % の配列同一性を有する配列を含む、請求項 8 記載の剤。

【請求項 10】

剤が、F H および／または F H L - 1 の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させない、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項記載の剤。

【請求項 11】

40

請求項 1 ～ 10 のいずれか一項記載の剤をコードする、任意選択で単離された、核酸。

【請求項 12】

請求項 11 記載の核酸を含む、発現ベクター。

【請求項 13】

請求項 1 ～ 10 のいずれか一項記載の剤、請求項 11 記載の核酸、または請求項 12 記載の発現ベクター、および医薬的に許容されうるキャリアー、希釈剤、賦形剤またはアジュバントを含む、組成物。

【請求項 14】

請求項 1 ～ 10 のいずれか一項記載の剤、請求項 11 記載の核酸、または請求項 12 記載の発現ベクターを含む、細胞。

50

【請求項 15】

1 つまたはそれより多い H 因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるための *in vitro* または *in vivo* 法であって、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項記載の剤、請求項 11 記載の核酸、請求項 12 記載の発現ベクター、または請求項 13 記載の組成物と、細胞を接触させる工程を含む、前記方法。

【請求項 16】

1 つまたはそれより多い H 因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるための、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項記載の剤、請求項 11 記載の核酸、請求項 12 記載の発現ベクター、または請求項 13 記載の組成物の使用。

【請求項 17】

医学的治療または予防の方法における使用のための、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項記載の剤、請求項 11 記載の核酸、請求項 12 記載の発現ベクター、または請求項 13 記載の組成物。

【請求項 18】

補体関連障害の治療または防止の方法における使用のための、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項記載の剤、請求項 11 記載の核酸、請求項 12 記載の発現ベクター、または請求項 13 記載の組成物。

【請求項 19】

補体関連障害の治療または防止のための医薬品製造における、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項記載の阻害性核酸、請求項 11 記載の核酸、請求項 12 記載の発現ベクター、または請求項 13 記載の組成物の使用。

【請求項 20】

被験体において補体関連障害を治療または防止する方法であって、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項記載の剤、請求項 11 記載の核酸、請求項 12 記載の発現ベクター、または請求項 13 記載の組成物の療法的または予防的有効量を被験体に投与する工程を含む、前記方法。

【請求項 21】

請求項 1 ～ 10 のいずれか一項記載の剤、請求項 11 記載の核酸、請求項 12 記載の発現ベクター、または請求項 13 記載の組成物を投与されるべき被験体を選択するための方法であって：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4 および／または FHR5、ならびに任意選択で FHL-1 の 1 つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) (a) において決定された補体タンパク質のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質のレベルに比較した際、上昇している場合、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項記載の剤、請求項 11 記載の核酸、請求項 12 記載の発現ベクター、または請求項 13 記載の組成物が投与されるべき被験体として選択する工程を含む、前記方法。

【請求項 22】

被験体において補体関連障害を治療または防止する方法において使用するための、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項記載の剤、請求項 11 記載の核酸、請求項 12 記載の発現ベクター、または請求項 13 記載の組成物であって、該方法が：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4 および／または FHR5、ならびに任意選択で FHL-1 の 1 つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) (a) における補体タンパク質（単数または複数）のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質（単数または複数）のレベルに比較した際、上昇しているかどうかを決定し；そして

(c) 請求項 1 ～ 10 のいずれか一項記載の剤、請求項 11 記載の核酸、請求項 12 記載の発現ベクター、または請求項 13 記載の組成物を該被験体に投与する

工程を含む、前記剤、核酸、発現ベクター、または組成物。

【請求項 2 3】

被験体において補体関連障害を治療または防止するための医薬品製造における、請求項 1～10 のいずれか一項記載の剤、請求項 11 記載の核酸、請求項 12 記載の発現ベクター、または請求項 13 記載の組成物の使用であって、該方法が：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4 および／または FHR5、ならびに任意選択で FHL-1 の 1 つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) (a) における補体タンパク質（単数または複数）のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質（単数または複数）のレベルと比較した際、上昇しているかどうかを決定し；そして

(c) 請求項 1～10 のいずれか一項記載の剤、請求項 11 記載の核酸、請求項 12 記載の発現ベクター、または請求項 13 記載の組成物を該被験体に投与する

工程を含む、前記使用。

【請求項 2 4】

被験体において補体関連障害を治療または防止する方法であって：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4 および／または FHR5、ならびに任意選択で FHL-1 の 1 つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) 該補体タンパク質のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質のレベルと比較した際、上昇しているかどうかを決定し；そして

(c) 請求項 1～10 のいずれか一項記載の剤、請求項 11 記載の核酸、請求項 12 記載の発現ベクター、または請求項 13 記載の組成物を該被験体に投与する

工程を含む、前記方法。

【請求項 2 5】

被験体が、補体関連障害を有するかまたは有すると決定されており、並びに／あるいは、補体関連障害が：黄斑変性症、加齢性黄斑変性症（AMD）、地図状萎縮（「乾燥」（すなわち非滲出性）AMD）、初期 AMD、早期発症黄斑変性症（EOMD）、中期 AMD、後期／進行 AMD、「湿潤」（血管新生または滲出性）AMD、脈絡膜血管新生（CNV）、網膜ジストロフィー、溶血性尿毒症症候群（HUS）、非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）、DEAP HUS（溶血性尿毒症症候群の FHR 血漿タンパク質不全および自己抗体陽性型）、自己免疫ブドウ膜炎、腎臓傷害／損傷／機能不全、糸球体疾患、II 型膜性増殖性糸球体腎炎（MPGN II）、敗血症、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病（HSP）、IgA 腎症、慢性腎臓病、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）、自己免疫溶血性貧血（AIHA）、全身性エリテマトーデス（SLE）、シェーグレン症候群（SS）、関節リウマチ（RA）、C3 糸球体症（C3G）、デンスデポジット病（DDD）、C3 腎炎因子糸球体腎炎（C3 NFGN）、FHR5 腎症、遺伝性血管性浮腫（HAE）、後天性血管性浮腫（AAE）、脳脊髄炎、アテローム性動脈硬化症、抗好中球細胞質自己抗体（ANCA）血管炎、神経変性／神経変性性疾患、認知症、多発性硬化症（MS）、レビー小体病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、ハンチントン病、プリオン病、癌、肺癌、神経膠芽腫、例えば多形神経膠芽腫（GBM）、脳卒中、インスリン耐性、糖尿病、感染性疾患、パーキンソン病、および／またはアルツハイマー病より選択される補体関連障害である、請求項 18 または請求項 22 記載の使用のための剤、核酸、発現ベクターまたは組成物、請求項 19 または請求項 23 の使用、あるいは請求項 20、21、24 のいずれか一項記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2021 年 5 月 27 日出願の GB 2107586.6 の優先権を請求し、該特許の内容および要素は、すべての目的のため、本明細書に援用される。

技術分野

本開示は、分子生物学の分野に、より具体的には核酸技術に関する。本開示はまた、医学的治療および予防の方法にも関する。

【背景技術】

【0002】

補体系は、微生物侵入者の迅速な認識および排除を補助することによって、自然宿主免疫防御に寄与する。しかし、補体の制御不全は、炎症、免疫関連、および年齢関連状態に寄与しうる。その結果、補体系の不適切な制御は、ヒトにおける非常に多様な疾患、例えば目および腎臓の疾患、ならびに神経学的疾患および癌に関連付けられてきている (Morgan, B. P., Semin Immunopathol, 2018. 40 (1): p. 113-124; Halbggebauer, R. ら, Semin Immunol, 2018. 37: p. 12-20; Ma, Y. ら, Aging Dis, 2019. 10 (2): p. 429-462; および Kleczko, E. K. ら, Front Immunol, 2019. 10: p. 95)。

10

【0003】

補体経路活性化および調節は、経路活性化剤および阻害剤の間の複雑な相互作用によって制御される。これらの活性化剤および阻害剤は、一般的に、補体活性化種の安定な制御を維持するため、生物学的表面上および／または溶液中の補体分子を切断し、そして不活性化する酵素である。補体経路は、流動およびバランスの一定状態にあり、そしてこのバランスの妨害は、不適切な活性化および上記の結果を導きうる。

20

【0004】

1つの活性化分子は、補体第二経路および増幅ループのメンバーである、補体成分3 (C3) である。C3は、鎖間ジスルフィド結合を通じて会合するβ鎖およびα'鎖を含む。補体活性化中、C3は切断されて、2つの機能性断片、C3aおよびC3bを生じる。C3aは、強力なアナフィラトキシンである。生物学的表面、例えば細胞外マトリックスおよび細胞表面上のC3bの沈着は、第二経路の中心的な活性化機構である。C3bは、強力なオプソニンであり、病原体、抗体-抗原免疫複合体およびアポトーシス細胞を、食細胞およびNK細胞による食作用のためにターゲティングする。表面連結C3bはまた、他の補体タンパク質と反応して、活性コンバーターゼ酵素を形成し、この酵素は、さらなる (表面付着可能) C3b分子を産生可能であり、補体反応を活性化し、そして増幅するよう作用する (Clark, S. J. ら, J Immunol, 2014. 193 (10): p. 4962-70)。C3bは、B因子と会合して、C3bBb型C3コンバーターゼを形成し、そしてC3bBbと会合してC3bBb3b型C5コンバーターゼを形成する。C3のタンパク質分解的切断はまた、古典的補体経路およびレクチン経路を通じて、C3aおよびC3bを産生する。

30

【0005】

C3コンバーターゼの調節が不十分であると、その結果、C3bおよびC3a分子が大量に産生され、そして補体カスケードのシフトが最終溶解経路に向かう。これは強力なアナフィラトキシンであるC5a、および膜攻撃複合体と称される細胞溶解性タンパク質複合体を生じ；これらはどちらも強い炎症シグナルを提供する (Clark, S. J. ら、上記)。これは、最終的に、細胞／組織破壊および局所免疫反応を導く。

40

【0006】

補体のC3b活性化は、補体タンパク質I因子 (FI) によって制御される。FIは、C3bを、コンバーターゼ集合に関与することが不可能な、iC3bと称されるタンパク質分解的に不活性な型に切断し、そしてさらに下流産物iC3dgおよびC3dに切断することによって、補体不活性化を防止する。FIは、補因子の存在を必要とし、その例には、血液由来H因子 (FH) タンパク質および膜結合表面補因子「補体因子1」 (CR1: CD35) が含まれる。FHおよびCR1はまた、崩壊加速活性の発揮も補助し、これは、既に形成されているC3コンバーターゼの脱構築を補助しうる。

【0007】

50

FHは、RCA（補体制御因子）遺伝子クラスター内、ヒト染色体1q32上のCFH遺伝子によってコードされる。FH様タンパク質1（FHL-1）と称される、FHの天然存在一部切除型があり、これは、CFH遺伝子の選択的スプライシングから生じ、そしてFHのような補因子活性を有する。FHは、20のCCPDドメインを含む。FHL-1は、最初の7つのCCPDドメインに関してはFHと同一であり、その後、ユニークな4アミノ酸C末端で終結する。

【0008】

RCA遺伝子座のCFHR1～5遺伝子によってコードされるタンパク質もまた、補体制御機能を発揮する。CFHR1～5遺伝子は、主に肝細胞によって合成される5つの分泌血漿タンパク質（FHR1～FHR5）の群をコードする。FHRタンパク質は、FHのC3b結合ドメインとある程度の配列相同性を保持し、そして補体活性化を増進すると考えられる（Skerkaら、Mol Immunol. 2013, 56:170-180）。

【0009】

1つの補体関連障害は、黄斑変性症、例えば加齢性黄斑変性症（AMD）である。黄斑変性症は、部分的に、目の組織に対する補体仲介性の攻撃によって駆動されと考えられる。AMDリスクの主な駆動因子は、補体カスケードの制御不全を生じる、RCA遺伝子座での遺伝子変異である。AMDは、発展途上国における失明の主因であり：現在、すべての世界的失明登録の8.7%の原因である。2020年までに、1億9600万の人々が罹患し、2040年には2億8800万人に増加すると概算されている（Wongら Lancet Glob Heal (2014) 2:e106-16）。AMDは、目の背部、網膜の中央部分である黄斑の進行性破壊として現れ、中央部視力の喪失を導く。疾患の初期段階では、網膜の形態学的変化、例えば、脈絡膜中に見られる毛細血管層（網膜の外側に酸素および栄養を供給する非常に血管形成された層）である、脈絡毛細管の血管の喪失として現れる（Whitmoreら、Prog Retin Eye Res (2015) 45:1-29）。脈絡毛細管は、薄く（2～4 μm）、無細胞で細胞外マトリックスの5層シートであるブルッフ膜（BrM）によって、代謝的に活性な網膜色素上皮（RPE）から分離される。BrMは、2つの主要な機能：RPEの基層および血管壁を供給する。BrMの構造および機能は、例えば、その全体が本明細書に援用される、CurcioおよびJohnson, Structure, Function and Pathology of Bruch's Membrane, :Ryanら (2013), Retina, Vol. 1, Part 2: Basic Science and Translation to Therapy. 第5版 London: Elsevier中、pp466-481によって概説される。

【0010】

AMDにおける補体の役割は、例えば、その全体が本明細書に援用される、Zipfelら 第2章, LambirisおよびAdamis（監修）, Inflammation and Retinal Disease: Complement Biology and Pathology中, Advances in Experimental Medicine and Biology 703, Springer Science+Business Media, LLC (2010)によって概説される。AMDの重要な特性は、過剰活性補体を示し、これには、細胞／組織破壊および局所炎症反応が含まれる。ドルーゼンと称される初期AMDの特徴的な病変は、RPE層に隣接するBrM内で発展する（Birdら, Surv Ophthalmol 1995, 39(5):367-374）。ドルーゼンは脂質、タンパク質および細胞破片の集積から形成され、そしてドルーゼンには補体活性化産物の区画（swathe）が含まれる（Andersonら, Prog Retin Eye Res 2009, 29:95-112; Whittcupら, Int J Inflamm 2013, 1-10）。BrM内のドルーゼンの存在は、脈絡膜からこの細胞外マトリックスを渡ってRPE細胞への栄養の流れを妨げ、これが細胞機能不全および最終的には死を導き、視力喪

10

20

30

40

50

失を導く。

【0011】

地図状萎縮としても知られる「乾燥」AMDは、後期AMD症例のおよそ50%に相当する。後期症例の残りの割合では、脈絡膜血管新生(CNV)が発展し、ここで、RPE細胞による血管内皮増殖因子(VEGF)の合成増加が、脈絡膜／脈絡毛細管からの新規血管増殖を促進し、網膜内へとBrMを突破する。これらの新規血管は漏洩し、そして最終的に瘢痕組織を形成し；これは「湿潤」(血管新生性または滲出性)AMDと称される。「湿潤」AMDは、後期AMDの最も病原性の型であり、そして「乾燥」AMDとは異なる疾患特性を有する。湿潤AMDに対する治療があり、この場合、例えば目の硝子体内への抗VEGF剤の注射は、これらの血管の増殖を遅延させるかまたは逆転させるが、

10

【0012】

FHL-1はBrMで優位を占め、補体仲介性攻撃から網膜組織を保護する際に、この変異体が重要な役割を果たすことを示唆する(Clark, S. J. ら、上記)。FHは、FHL-1より、より高い濃度で血中に見られる。FHおよびFHL-1はどちらも、脈絡膜(BrMの根底にある毛細管ネットワーク)のECMにおける補体過剰活性化に対して保護する。5つのFHRタンパク質の役割はそれほどよく理解されていないが、これらがFHおよびFHL-1の阻害性効果に対抗するといういくつかの証拠がある(Clark, S. J. およびP. N. Bishop, J Clin Med, 2015. 4(1): p. 18-31)。

20

【0013】

WO2019/215330は、FHR4が補体活性化の正の制御因子であり、そしてFH仲介性C3b分解を防止して、C3コンバーゼの形成および補体活性化ループの進行を導くことを記載する。肝臓から発現される高レベルの循環FHR4は、補体関連障害発展のリスクが増加していることを示す。

【0014】

ヒト疾患組織における補体プロセス制御不全を支持する正確な分子変化および活性化状態を定義することは困難なままであり、これは大部分、このことが、異なる制御因子のタンパク質レベルでの測定および相対量の理解を必要とするためである。補体関連障害の有効な診断および治療のためには、血漿中のFHおよび関連RCA遺伝子座タンパク質の絶対レベル、ならびにFIおよびC3b自体のレベルを正確に測定可能であることが非常に重要である。FHに関するアッセイは開発されてきているが、FHL-1およびFHR1~5の別個の測定は、これらのタンパク質すべての間で配列相同性が高いため、困難である。配列が類似であることは、全長FHタンパク質を例外として、有用なイムノアッセイを得るために、これらのファミリーメンバーの1つのみに対して特異的である抗体を生成することが困難であることが立証されていることを意味する。

30

【0015】

別の例において、近年の研究は、質量分析を用いて、FHおよびFHR1~5のレベルを定量化したが、該アッセイは、血中およびAMD病因形成の重要な部位に有意なレベルで見られる、生物学的に重要なアイソフォームFHL-1を検出することができなかった(Zhang, P. R., Proteomics. 2017; 17(6): 10)。

40

【先行技術文献】

【特許文献】

【0016】

【特許文献1】WO2019/215330

【非特許文献】

【0017】

【非特許文献1】Morgan, B. P., Semin Immunopathol, 2018. 40(1): p. 113-124

50

【非特許文献2】Halbgebauer, R.ら, Semin Immunol, 2018. 37: p. 12-20

【非特許文献3】Ma, Y.ら, Aging Dis, 2019. 10(2): p. 429-462

【非特許文献4】Kleczko, E.K.ら, Front Immunol, 2019. 10: p. 95

【非特許文献5】Clark, S.J.ら, J Immunol, 2014. 193(10): p. 4962-70

【非特許文献6】Skerkaら, Mol Immunol. 2013, 56:170-180)。

【非特許文献7】Wongら Lancet Glob Heal (2014) 2: e106-16

【非特許文献8】Whitmoreら, Prog Retin Eye Res (2015) 45:1-29

【非特許文献9】CurcioおよびJohnson, Structure, Function and Pathology of Bruch's Membrane, :Ryanら(2013), Retina, Vol. 1, Part 2: Basic Science and Translation to Therapy. 第5版 London: Elsevier中, pp466-481

【非特許文献10】Zipfelら 第2章, LambrisおよびAdamis (監修), Inflammation and Retinal Disease: Complement Biology and Pathology中, Advances in Experimental Medicine and Biology 703, Springer Science+Business Media, LLC (2010)

【非特許文献11】Birdら, Surv Ophthalmol 1995, 39(5):367-374

【非特許文献12】Andersonら, Prog Retin Eye Res 2009, 29:95-112

【非特許文献13】Whitcupら, Int J Inflamm 2013, 1-10

【非特許文献14】Clark, S.J.およびP.N. Bishop, J Clin Med, 2015. 4(1): p. 18-31

【非特許文献15】Zhang, Pら, Proteomics. 2017;17(6):10

【発明の概要】

【0018】

第一の側面において、本開示は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるための剤を提供する。

いくつかの態様において、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質は、H因子関連タンパク質であり、任意選択で、該H因子関連タンパク質は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5より選択される。

【0019】

いくつかの態様において、剤は阻害性核酸である。いくつかの態様において、阻害性核酸は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードする1つまたはそれより多い遺伝子にコードされるRNAのヌクレオチド配列をターゲティングするアンチセンス核酸を含むかまたはコードする。

【0020】

いくつかの態様において、阻害性核酸は、配列番号158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176および／または177の1つまたはそれより多

10

20

30

40

50

くを含むかまたはこれらからなるヌクレオチド配列をターゲティングするアンチセンス核酸を含むかまたはコードする。いくつかの態様において、阻害性核酸は、配列番号 178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196 および／または 197 の 1 つまたはそれより多くに少なくとも 75 % の配列同一性を有する配列を含むかまたはこれらからなるアンチセンス核酸を含むかまたはコードする。

【0021】

いくつかの態様において、阻害性核酸は、s i R N A、s h R N A、m i R N A またはアンチセンスオリゴヌクレオチドである。

いくつかの態様において、剤は、遺伝子編集ツールまたは遺伝子編集系である。いくつかの態様において、剤は：メガヌクレアーゼ、化学的ヌクレアーゼ、ジンクフィンガーヌクレアーゼ（Z F N）、転写活性化因子様エフェクターに基づくヌクレアーゼ（T A L E N）、または C R I S P R - C a s 系（例えば塩基編集系）より選択される。C R I S P R - C a s 系は、ガイドRNA（g R N A）および／または t r a c r R N A を含んでもよい。C R I S P R - C a s 系は、単一ガイドRNA（s g R N A）を含んでもよい。いくつかの態様において、C R I S P R - C a s 系は、配列番号 224、225、226 または 227 に少なくとも 75 % の配列同一性を有する配列、例えば g R N A または s g R N A を含む。

【0022】

本開示はまた、本開示記載の剤をコードする、任意選択で単離された、核酸も提供する。本開示はまた、本開示記載の核酸を含む、発現ベクターも提供する。

本開示はまた、本開示記載の剤、核酸、または発現ベクター、および医薬的に許容されるキャリアー、希釈剤、賦形剤またはアジュバントを含む、組成物も提供する。

【0023】

本開示はまた、本開示記載の剤、核酸、または発現ベクターを含む、細胞も提供する。

本開示はまた、1 つまたはそれより多い H 因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるための i n v i t r o または i n v i v o 法であって、本開示記載の剤、核酸、発現ベクター、または組成物と、細胞を接触させる工程を含む、前記方法も提供する。

【0024】

本開示はまた、1 つまたはそれより多い H 因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるための、本開示記載の剤、核酸、発現ベクター、または組成物の使用も提供する。

【0025】

本開示はまた、医学的治療または予防の方法における使用のための、本開示記載の剤、核酸、発現ベクター、または組成物も提供する。

本開示はまた、補体関連障害の治療または防止の方法における使用のための、本開示記載の剤、核酸、発現ベクター、または組成物も提供する。

【0026】

本開示はまた、補体関連障害の治療または防止のための医薬品製造における、本開示記載の剤、核酸、発現ベクター、または組成物の使用も提供する。

本開示はまた、被験体において補体関連障害を治療または防止する方法であって、本開示記載の剤、核酸、発現ベクター、または組成物の療法的または予防的有効量を被験体に投与する工程を含む、前記方法も提供する。

【0027】

本開示はまた、本開示記載の剤、核酸、発現ベクター、または組成物を投与されるべき被験体を選択するための方法であって：

（a）被験体から得られた血液試料において、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4 および／または F H R 5、ならびに任意選択で F H L - 1 の 1 つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

10

20

30

40

50

(b) (a)において決定された補体タンパク質のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質のレベルに比較した際、上昇している場合、本開示記載の剤、核酸、発現ベクター、または組成物が投与されるべき被験体として選択する

工程を含む、前記方法も提供する。

【0028】

本開示はまた、被験体において補体関連障害を治療または防止する方法において使用するための、本開示記載の剤、核酸、発現ベクター、または組成物であって、該方法が：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHL-1の1つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) (a)における補体タンパク質（単数または複数）のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質（単数または複数）のレベルに比較した際、上昇しているかどうかを決定し；そして

(c) 本開示記載の剤、核酸、発現ベクター、または組成物を該被験体に投与する工程を含む、前記剤、核酸、発現ベクター、または組成物も提供する。

【0029】

本開示はまた、被験体において補体関連障害を治療または防止するための医薬品製造における、本開示記載の剤、核酸、発現ベクター、または組成物の使用であって、該方法が：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHL-1の1つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) (a)における補体タンパク質（単数または複数）のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質（単数または複数）のレベルに比較した際、上昇しているかどうかを決定し；そして

(c) 本開示記載の剤、核酸、発現ベクター、または組成物を該被験体に投与する工程を含む、前記使用も提供する。

【0030】

本開示はまた、被験体において補体関連障害を治療または防止する方法であって：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHL-1の1つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) 該補体タンパク質のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質のレベルに比較した際、上昇しているかどうかを決定し；そして

(c) 本開示記載の剤、核酸、発現ベクター、または組成物を該被験体に投与する工程を含む、前記方法も提供する。

【0031】

本開示の多様な異なる側面にしたがったいくつかの態様において、補体関連障害は：黄斑変性症、加齢性黄斑変性症（AMD）、地図状萎縮（「乾燥」（すなわち非滲出性）AMD）、初期AMD、早期発症黄斑変性症（EOMD）、中期AMD、後期／進行AMD、「湿潤」（血管新生性または滲出性）AMD、脈絡膜血管新生（CNV）、網膜ジストロフィー、溶血性尿毒症症候群（HUS）、非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）、DEAP HUS（溶血性尿毒症症候群のFHR血漿タンパク質不全および自己抗体陽性型）、自己免疫ブドウ膜炎、腎臓傷害／損傷／機能不全、糸球体疾患、II型膜性増殖性糸球体腎炎（MPGN II）、敗血症、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病（HSP）、IgA腎症、慢性腎臓病、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）、自己免疫溶血性貧血（AIHA）、全身性エリテマトーデス（SLE）、シェーグレン症候群（SS）、関節リウマチ（RA）、C3糸球体症（C3G）、デンスデポジット病（DDD）、C3腎炎因子糸球体腎炎（C3 NF GN）、FHR5腎症、遺伝性血管性浮腫（HAE）、後天

10

20

30

40

50

性血管性浮腫（AAE）、脳脊髄炎、アテローム性動脈硬化症、抗好中球細胞質自己抗体（ANCA）血管炎、神経変性／神経変性性疾患、認知症、多発性硬化症（MS）、レビー小体病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、ハンチントン病、プリオン病、癌、肺癌、神経膠芽腫、例えば多形神経膠芽腫（GBM）、脳卒中、インスリン耐性、糖尿病、感染性疾患、パーキンソン病、および／またはアルツハイマー病より選択される。治療されるべき被験体は、補体関連疾患を有すると決定されてもよいし、または有すると決定されていてもよい。

【図面の簡単な説明】

【0032】

本発明の原理を例示する態様および実験は、ここで、付随する図を参照して論じられるであろう。

【図1】C3bの生成、分解および不活性化を導くC3タンパク質分解カスケードおよびタンパク質分解事象を示す模式図（Maillardら，J Am Soc Nephrol. 2015 Jul; 26（7）：1503－12より修飾）。質量分析のためのプロテオフォーム特異的ペプチドを下線で示す。

【図2】血漿試料由来の個々のRCA遺伝子座タンパク質各々の重標識合成標準ペプチドの検出を示すLC-SRMトレース。

【図3-1】FH、FHL-1、およびFHR1～5由来のペプチドに関する線形性データ。

【図3-2】FH、FHL-1、およびFHR1～5由来のペプチドに関する線形性データ。

【図3-3】FH、FHL-1、およびFHR1～5由来のペプチドに関する線形性データ。

【図4-1】ヒト血漿中のC3およびC3分解産物が、十分な特異性および感度でMSによって検出されうることを確認するデータ。4A：C3b断片特異的ペプチドの特異的で、そして同時の検出を示す、SRM-MS分析からの総イオンクロマトグラフ。4B：血漿バックグラウンド内にスパイクされた10のペプチドのうち7つに関する線形性データ。

【図4-2】ヒト血漿中のC3およびC3分解産物が、十分な特異性および感度でMSによって検出されうることを確認するデータ。4C：in vitroで得られるC3分解産物のクマシー染色電気泳動ゲル。4D：4Cに示すin vitroアッセイ産物由来の重要なC3断片のMS定量化。

【図5】異なる変数（多様な研究タンパク質の絶対濃度レベル）間のピアソン相関係数を示す相関マトリックス。

【図6-1】AMDの被験体および対照個体の間のタンパク質レベルの相違を示すスクATTERプロット（平均およびp値を示す（ $p < 0.05$ を統計的に有意と見なす））。

【図6-2】AMDの被験体および対照個体の間のタンパク質レベルの相違を示すスクATTERプロット（平均およびp値を示す（ $p < 0.05$ を統計的に有意と見なす））。

【図7】多様なモデルに関する受信者動作特性曲線下面積。

【図8】個体がAMD症例または対照被験体であるかを予測するための、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHL-1およびCFHレベル（2方向および3方向相互作用）を用いたモデルに関する受信者動作特性曲線。

【図9-1】循環FHR-1～FHR-5タンパク質レベルのGWASは、CFH遺伝子座に渡る強いゲノムワイドの有意なシグナルを明らかにする。局所プロットは、染色体1q31.3上のCFH遺伝子座でのFHR-1～FHR-5タンパク質レベルのGWAS由来のゲノムワイドの有意な（ $P \leq 5 \times 10^{-8}$ ）関連シグナルを示す（パネルA～E）。パネルFは、FHL-1タンパク質レベルのGWASに関する同等のCFH領域を示す（ゲノムワイドの有意な関連領域は観察されない）。最も関連する変異体を紫のひし形で示し、そのrs番号によってラベリングする。他の周辺変異体を、最も関連する変異体との連鎖不均衡の度合いを反映するよう着色された円によって示す（1000 Genomes Project Consortium et al. 2015）。

10

20

30

40

50

mes Project、2014年11月由来の生じる欧州（EUR）集団遺伝子型データに基づく）。関連領域内の遺伝子の図を各プロット下に示す。物理的位置は、NCBI RefSeq hg19ヒトゲノム参照アセンブリに基づく。

【図9-2】循環FHR-1～FHR-5タンパク質レベルのGWASは、CFH遺伝子座に渡る強いゲノムワイドの有意なシグナルを明らかにする。局所プロットは、染色体1q31.3上のCFH遺伝子座でのFHR-1～FHR-5タンパク質レベルのGWAS由来のゲノムワイドの有意な（ $P \leq 5 \times 10^{-8}$ ）関連シグナルを示す（パネルA～E）。パネルFは、FHL-1タンパク質レベルのGWASに関する同等のCFH領域を示す（ゲノムワイドの有意な関連領域は観察されない）。最も関連する変異体を紫のひし形で示し、そのrs番号によってラベリングする。他の周辺変異体を、最も関連する変異体との連鎖不均衡の度合いを反映するよう着色された円によって示す（1000 Genomes Project、2014年11月由来の生じる欧州（EUR）集団遺伝子型データに基づく）。関連領域内の遺伝子の図を各プロット下に示す。物理的位置は、NCBI RefSeq hg19ヒトゲノム参照アセンブリに基づく。

10

【図9-3】循環FHR-1～FHR-5タンパク質レベルのGWASは、CFH遺伝子座に渡る強いゲノムワイドの有意なシグナルを明らかにする。局所プロットは、染色体1q31.3上のCFH遺伝子座でのFHR-1～FHR-5タンパク質レベルのGWAS由来のゲノムワイドの有意な（ $P \leq 5 \times 10^{-8}$ ）関連シグナルを示す（パネルA～E）。パネルFは、FHL-1タンパク質レベルのGWASに関する同等のCFH領域を示す（ゲノムワイドの有意な関連領域は観察されない）。最も関連する変異体を紫のひし形で示し、そのrs番号によってラベリングする。他の周辺変異体を、最も関連する変異体との連鎖不均衡の度合いを反映するよう着色された円によって示す（1000 Genomes Project、2014年11月由来の生じる欧州（EUR）集団遺伝子型データに基づく）。関連領域内の遺伝子の図を各プロット下に示す。物理的位置は、NCBI RefSeq hg19ヒトゲノム参照アセンブリに基づく。

20

【図10-1】CFH遺伝子座の確立されたAMDリスク変異体は、252のケンブリッジ対照において、循環FHR-1、FHR-2、FHR-3およびFHR-4タンパク質レベルと、ゲノムワイドの有意性レベルで関連する。ケンブリッジAMDコホート由来の252の対照におけるゲノムワイドの有意な（ $P \leq 5 \times 10^{-8}$ ）関連を示した、IAMDG研究由来の、CFH遺伝子座でのこれらの確立されたAMDリスク変異体に関する変異体遺伝子型によるFHRタンパク質レベルのボックスプロット（表2）。性別、年齢および最初の2つの遺伝的主成分（IAMDG研究内で確立されたようなもの）に関して補正された線形回帰モデルを用いたワルド検定由来のP値およびβ値を、各プロットの下部の注に示す。

30

【図10-2】CFH遺伝子座の確立されたAMDリスク変異体は、252のケンブリッジ対照において、循環FHR-1、FHR-2、FHR-3およびFHR-4タンパク質レベルと、ゲノムワイドの有意性レベルで関連する。ケンブリッジAMDコホート由来の252の対照におけるゲノムワイドの有意な（ $P \leq 5 \times 10^{-8}$ ）関連を示した、IAMDG研究由来の、CFH遺伝子座でのこれらの確立されたAMDリスク変異体に関する変異体遺伝子型によるFHRタンパク質レベルのボックスプロット（表2）。性別、年齢および最初の2つの遺伝的主成分（IAMDG研究内で確立されたようなもの）に関して補正された線形回帰モデルを用いたワルド検定由来のP値およびβ値を、各プロットの下部の注に示す。

40

【図11-1】メンデルのランダム化分析は、進行AMDにおいて、循環FHR-1、FHR-2、FHR-3、FHR-4およびFHR-5タンパク質レベルの非常に有意な上昇を示す。FHR-1（パネルA）、FHR-2（パネルB）、FHR-3（パネルC）、FHR-4（パネルD）およびFHR-5（パネルE）の関連のメンデルランダム化概算を、ロジスティック回帰モデルから得られた対応する伝統的疫学オッズ比（OR）概算とともに提示する（ケンブリッジAMD研究由来の352の進行AMD症例および252の対照）。ワルド比（単一操作（instrument）のみが利用可能であった場合；

50

FHR1、FHR2、FHR4、FHR5) または固定効果モデル下での逆分散加重 (IVW) 法 (多数の操作が利用可能であった場合; FHR3) を用いて、メンデルランダム化概算を得た。メンデルランダム化概算を計算するために用いた生データを表 S7 に提供する。遺伝子操作 (単数または複数) によって説明される各タンパク質の分散を各プロット下部の注に示す。

【図 11-2】メンデルのランダム化分析は、進行 AMD において、循環 FHR-1、FHR-2、FHR-3、FHR-4 および FHR-5 タンパク質レベルの非常に有意な上昇を示す。FHR-1 (パネル A)、FHR-2 (パネル B)、FHR-3 (パネル C)、FHR-4 (パネル D) および FHR-5 (パネル E) の関連のメンデルランダム化概算を、ロジスティック回帰モデルから得られた対応する伝統的疫学オッズ比 (OR) 概算とともに提示する (ケンブリッジ AMD 研究由来の 352 の進行 AMD 症例および 252 の対照)。ワルド比 (単一操作のみが利用可能であった場合; FHR1、FHR2、FHR4、FHR5) または固定効果モデル下での逆分散加重 (IVW) 法 (多数の操作が利用可能であった場合; FHR3) を用いて、メンデルランダム化概算を得た。メンデルランダム化概算を計算するために用いた生データを表 S7 に提供する。遺伝子操作 (単数または複数) によって説明される各タンパク質の分散を各プロット下部の注に示す。

10

【図 12-1】CFHR siRNA1、2 および 3 による huH1 細胞における CFH ファミリー遺伝子発現の抑制を示すグラフ。(A) および (B) CFHR siRNA1、CFHR siRNA2、CFHR siRNA3 (各 10 nm) 処理での最初のトランスフェクション後、huH1 細胞において、それぞれのスクランブル化/対照 siRNA (10 nm) の 24 時間の処理に比較した際の、CFHR 転写物の相対量を評価した。***は $p < 0.005$ を示し; *は $p < 0.05$ を示し、棒グラフは倍変化 ($2^{-\Delta\Delta C_T}$) $\pm$ SEM を示す。

20

【図 12-2】CFHR siRNA1、2 および 3 による huH1 細胞における CFH ファミリー遺伝子発現の抑制を示すグラフ。(A) および (B) CFHR siRNA1、CFHR siRNA2、CFHR siRNA3 (各 10 nm) 処理での最初のトランスフェクション後、huH1 細胞において、それぞれのスクランブル化/対照 siRNA (10 nm) の 24 時間の処理に比較した際の、CFHR 転写物の相対量を評価した。***は $p < 0.005$ を示し; *は $p < 0.05$ を示し、棒グラフは倍変化 ($2^{-\Delta\Delta C_T}$) $\pm$ SEM を示す。

30

【図 12-3】CFHR siRNA1、2 および 3 による huH1 細胞における CFH ファミリー遺伝子発現の抑制を示すグラフ。(A) および (B) CFHR siRNA1、CFHR siRNA2、CFHR siRNA3 (各 10 nm) 処理での最初のトランスフェクション後、huH1 細胞において、それぞれのスクランブル化/対照 siRNA (10 nm) の 24 時間の処理に比較した際の、CFHR 転写物の相対量を評価した。***は $p < 0.005$ を示し; *は $p < 0.05$ を示し、棒グラフは倍変化 ($2^{-\Delta\Delta C_T}$) $\pm$ SEM を示す。

【図 12-4】CFHR siRNA1、2 および 3 による huH1 細胞における CFH ファミリー遺伝子発現の抑制を示すグラフ。(A) および (B) CFHR siRNA1、CFHR siRNA2、CFHR siRNA3 (各 10 nm) 処理での最初のトランスフェクション後、huH1 細胞において、それぞれのスクランブル化/対照 siRNA (10 nm) の 24 時間の処理に比較した際の、CFHR 転写物の相対量を評価した。***は $p < 0.005$ を示し; *は $p < 0.05$ を示し、棒グラフは倍変化 ($2^{-\Delta\Delta C_T}$) $\pm$ SEM を示す。

40

【図 12-5】CFHR siRNA1、2 および 3 による huH1 細胞における CFH ファミリー遺伝子発現の抑制を示すグラフ。(A) および (B) CFHR siRNA1、CFHR siRNA2、CFHR siRNA3 (各 10 nm) 処理での最初のトランスフェクション後、huH1 細胞において、それぞれのスクランブル化/対照 siRNA (10 nm) の 24 時間の処理に比較した際の、CFHR 転写物の相対量を評価した。***は $p < 0.005$ を示し; *は $p < 0.05$ を示し、棒グラフは倍変化 ($2^{-\Delta\Delta C_T}$) $\pm$ SEM を示す。

50

^T) ±SEMを示す。

【図12-6】CFHR siRNA 1、2および3によるhuH1細胞におけるCFHファミリー遺伝子発現の抑制を示すグラフ。(A)および(B)CFHR siRNA 1、CFHR siRNA 2、CFHR siRNA 3 (各10 nm) 処理での最初のトランスフェクション後、huH1細胞において、それぞれのスクランブル化／対照siRNA (10 nm) の24時間の処理に比較した際の、CFHR転写物の相対量を評価した。***は $p < 0.005$ を示し；*は $p < 0.05$ を示し、棒グラフは倍変化 ($2^{-\Delta\Delta CT}$) ±SEMを示す。

【図12-7】CFHR siRNA 1、2および3によるhuH1細胞におけるCFHファミリー遺伝子発現の抑制を示すグラフ。(C)CFHR siRNA 1、CFHR siRNA 2、CFHR siRNA 3 (各10 nm) およびその対応するスクランブル化／対照siRNA (10 nm) で24時間処理した後の第二のトランスフェクション結果。***は $p < 0.005$ を示し；*は $p < 0.05$ を示し、棒グラフは倍変化 ($2^{-\Delta\Delta CT}$) ±SEMを示す。

【図12-8】CFHR siRNA 1、2および3によるhuH1細胞におけるCFHファミリー遺伝子発現の抑制を示すグラフ。(C)CFHR siRNA 1、CFHR siRNA 2、CFHR siRNA 3 (各10 nm) およびその対応するスクランブル化／対照siRNA (10 nm) で24時間処理した後の第二のトランスフェクション結果。***は $p < 0.005$ を示し；*は $p < 0.05$ を示し、棒グラフは倍変化 ($2^{-\Delta\Delta CT}$) ±SEMを示す。

【図12-9】CFHR siRNA 1、2および3によるhuH1細胞におけるCFHファミリー遺伝子発現の抑制を示すグラフ。(C)CFHR siRNA 1、CFHR siRNA 2、CFHR siRNA 3 (各10 nm) およびその対応するスクランブル化／対照siRNA (10 nm) で24時間処理した後の第二のトランスフェクション結果。***は $p < 0.005$ を示し；*は $p < 0.05$ を示し、棒グラフは倍変化 ($2^{-\Delta\Delta CT}$) ±SEMを示す。

【図12-10】CFHR siRNA 1、2および3によるhuH1細胞におけるCFHファミリー遺伝子発現の抑制を示すグラフ。(D)各3つ組 ($n=9$) での、スクランブル化／対照siRNA (10 nm) で24時間の処理に比較した際の、CFHR siRNA 1 (10 nm) 処理による、3つの別個のトランスフェクション由来のCFHR転写物の相対的定量化に関する合わせた結果。***は $p < 0.005$ を示し；*は $p < 0.05$ を示し、棒グラフは倍変化 ($2^{-\Delta\Delta CT}$) ±SEMを示す。

【図13】CFHR siRNA 4、5および6によるhuH1細胞におけるCFHR遺伝子発現の抑制を示すグラフ。それぞれのスクランブル化／対照siRNA (10 nm) で24時間の処理に比較して、CFHR siRNA 4、CFHR siRNA 5、CFHR siRNA 6 (各10 nm) でのトランスフェクション後、huH1細胞において、CFHR転写物の相対的定量化を評価した。***は $p < 0.005$ を示し；*は $p < 0.05$ を示し、棒グラフは倍変化 ($2^{-\Delta\Delta CT}$) ±SEMを示す。

【図14-1】CFHR siRNA 7、8および9によるhuH1細胞におけるCFHR遺伝子発現の抑制を示すグラフ。それぞれのスクランブル化／対照siRNA (10 nm) で24時間の処理に比較して、CFHR siRNA 7、CFHR siRNA 8、CFHR siRNA 9 (各10 nm) でのトランスフェクション後、huH1細胞において、CFHR転写物の相対的定量化を評価した。***は $p < 0.005$ を示し；*は $p < 0.05$ を示し、棒グラフは倍変化 ($2^{-\Delta\Delta CT}$) ±SEMを示す。

【図14-2】CFHR siRNA 7、8および9によるhuH1細胞におけるCFHR遺伝子発現の抑制を示すグラフ。それぞれのスクランブル化／対照siRNA (10 nm) で24時間の処理に比較して、CFHR siRNA 7、CFHR siRNA 8、CFHR siRNA 9 (各10 nm) でのトランスフェクション後、huH1細胞において、CFHR転写物の相対的定量化を評価した。***は $p < 0.005$ を示し；*は $p < 0.05$ を示し、棒グラフは倍変化 ($2^{-\Delta\Delta CT}$) ±SEMを示す。

【図14-3】CFHR siRNA 7、8および9によるhuH1細胞におけるCFHR遺伝子発現の抑制を示すグラフ。それぞれのスクランブル化／対照siRNA（10nm）で24時間の処理に比較して、CFHR siRNA 7、CFHR siRNA 8、CFHR siRNA 9（各10nm）でのトランスフェクション後、huH1細胞において、CFHR転写物の相対的定量化を評価した。***は $p < 0.005$ を示し；*は $p < 0.05$ を示し、棒グラフは倍変化（ $2^{-\Delta\Delta CT}$ ） $\pm$ SEMを示す。

【発明を実施するための形態】

【0033】

本開示は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるための剤、例えば阻害性核酸および遺伝子編集系を提供する。

10

【0034】

本開示の側面は、いくつかの補体関連障害、例えば黄斑変性症のような目の障害、腎臓障害、癌およびCNSの障害を患う個体において、ヒト血中で、5つのH因子関連（FHR）タンパク質すべての循環レベルが上昇しているという測定された観察から生じる。

【0035】

これらのFHRタンパク質の循環レベルは、ヒト体内で、唯一の既知の発現供給源である肝臓からもっぱら得られる。前記タンパク質の発現は、大部分、遺伝子に駆動される。FHRタンパク質が補体活性化の負の制御因子（すなわちFHおよびFHL-1）を打ち負かす能力があることは、これらの濃度が増加すると、患者がより補体活性になる傾向がありうることを意味する。したがって、例えば本明細書に記載されるような、1つまたはそれより多いFHRタンパク質の過剰発現の検出は、補体関連障害を発展させる個体の可能性を予測する。

20

【0036】

肝臓におけるFHRタンパク質の発現レベルをターゲティングすることによって、または血中で直接介入することによって、遺伝的に駆動された過剰なFHRタンパク質が、循環に進入することを防ぐかまたはこれらを循環から除去し、したがって、組織／臓器におけるこれらの集積、そしてそれに続く損傷性の補体活性化、炎症、免疫細胞補充およびECMモデリングを防止することも可能である。この方法で、補体関連障害を治療してもよく、または防止してもよい。現在、FHRタンパク質の循環レベルを減少させるように設計された療法は存在しない。したがって、本明細書に記載するのは、各個々のCFHR遺伝子をターゲティングする剤、ならびに多数のCFHR遺伝子の発現を同時に減少させることが可能な剤、例えば阻害性核酸である。好適に、本発明はまた、FHおよび／またはFHL-1のレベルに対して同時に影響を持たない剤も同定している。いくつかの剤は、1つまたはそれより多いFHRタンパク質の発現を減少させつつ、FHおよび／またはFHL-1のレベルを増加させさえする。

30

【0037】

本明細書開示の方法は、部分的に、補体関連タンパク質、特に1つまたはそれより多いFHRタンパク質、ならびに任意選択でFHL-1および／またはFHの検出および定量化に関連しうる。こうした方法は、FHRタンパク質の循環レベルの増加による補体系の過剰活性に関連する障害を持つ患者を同定し、そして階層化するために有用である。こうした方法を用いて、補体関連障害を発展させるかまたは有するリスクに基づき、患者を階層化してもよい。いくつかの場合、本開示の方法を用いて、適切な治療、例えば患者において過剰発現されている特定の補体タンパク質をターゲティングする治療、例えば本明細書記載の剤を同定する。

40

【0038】

非常に類似であるタンパク質の検出、区別および定量化は、質量分析（MS）を用いて達成されうる。MSによる優れた感度を達成するため、例えば試料中のタンパク質は、ルーチンに、特定のプロテアーゼを用いてペプチドに消化される。この目的のための産業標準プロテアーゼはトリプシンである。MS分析用にタンパク質を消化するため、一般的に

50

用いられる他の酵素には、エラスターゼ、キモトリプシンまたは L y s N が含まれる。

【0039】

トリプシンは、K および R 残基の後ろにプロリン残基がない限り、すべての K および R 残基の C 末端を切断し、そしてその C 末端に塩基性基を保持するペプチドを生じ、この基は続いて、質量分析器における、ペプチドのイオン化およびガス相への伝達を補助する。トリプシンによって消化されたペプチドは、MS 中により効率的にイオン化され、そしてしたがって、非トリプシン酵素によって消化されたペプチドよりも大きいシグナルを生じる傾向がある。MS を用いると、試料消化物中の個々のペプチドを、その存在量に比例したシグナルで検出可能である。親タンパク質の濃度は、外因性「標準」ペプチド、例えば安定同位体を含むものに比較して、内因性ペプチドの相対存在量（シグナル）から得られうる。

10

【0040】

補体タンパク質 FH および FHL-1 のトリプシン消化は、MS のみを用いて個々に検出可能なペプチドを生じない。唯一の FHL-1 特異的トリプシンペプチドは 4 アミノ酸 C 末端配列であり、MS 技術によって信頼性をもって検出するには小さすぎる。FHR タンパク質はまた、かなりの配列同一性を共有し、これは、例えば抗体に基づくアッセイを用いて、これらの間を区別し、そしてこれらを特異的に測定することが困難であることを意味する。

【0041】

本明細書にやはり記載されるのは、単一の MS アッセイを用いて、CFH 遺伝子クラスターからコードされる 7 つの重要な制御タンパク質すべて：FH、FHL-1、ならびに FHR1、FHR2、FHR3、FHR4 および FHR5 の血漿中の同時検出および正確な測定に使用可能である、すべての FHR タンパク質に関する別個のプロテオタイプペプチド、ならびに FHL-1 および FH の間を区別するために使用可能なプロテオタイプペプチドを産生するため、非標準タンパク質分解酵素、GluC（V8 プロテアーゼ）を用いたユニークなターゲティング質量分析アッセイである。

20

【0042】

FHL-1 は、FH とは別個の生物学的実体である。該タンパク質は、FHL-1 と類似の作用を有するがサイズは異なり、これは、体内の分布が FH と異なる可能性が高いことを意味する。FHL-1 がブルッフ膜の網膜側、例えばドルーゼンが形成される場所に横断可能であるが、より大きい FH タンパク質は横断できない場所である、目において、これが明らかである。例えば、その全体が本明細書に援用される、Clark ら、J Immunol 2014, 193 (10) 4962-4970 および Clark ら、Frontiers in Immunology 2017 8:1778 を参照されたい。これに関して、FHL-1 が目における補体 C3b ターンオーバーの主な駆動因子である証拠があり、これは、FHL-1 のレベルが FH のレベルよりも疾患リスク情報をよりよく伝える可能性があることを意味する。

30

【0043】

GluC はまた、C3b および FI に関するプロテオタイプペプチドを生じることにも可能であり、C3b 自体ならびにそのタンパク質分解酵素および必要な液相補因子の直接測定を可能にする。したがって、本明細書記載の方法は、これらの補体タンパク質すべてが、単一アッセイを用いて測定可能であることを意味する。

40

【0044】

さらに、C3b の分解は、塩基性残基（K および R）でのトリプシン様切断を通じて起こり、したがって、C3b 分解産物のトリプシン消化は、分析に有用なペプチドを産生できない。対照的に、C3 ターンオーバーは、本開示の MS アプローチを用いて測定可能であり、これは、GluC 消化がまた、不活性化切断中に生じる、多くの C3 不活性化および分解産物からプロテオタイプネオペプチドも産生するためである。本発明者らは、本明細書において、C3/C3b 切断の結果として生じる一連の産物を、同じ単一の GluC/M S アッセイを用いて検出し、そして定量化することが可能であることを立証する。こ

50

れは、すべての既知のC3断片、例えばiC3b、C3c、C3dgおよびC3dの濃度を正確に決定することを可能にする。したがって、本明細書記載の方法は、制御性補体タンパク質の絶対レベルを測定することが可能であるだけでなく、C3不活性化から生じるタンパク質産物を追跡し、そしてしたがって補体活性化および増幅ループの進行を評価することも可能である。

【0045】

これは、C3分解産物の測定が分析的に困難であるため、好適である。C3が分解されるパターンは複雑である：まず、C3aおよびC3bになり、その後、C3bがiC3b（これは膜攻撃複合体（MAC）の形成を駆動できないが、なお、オプソニンとして働きうる）に切断され、そして次いで続いて、C3dg断片の放出を通じて、iC3bがC3cに不活性化切断される。これらの産物を抗体で検出しようとする試みは困難である。このカスケードにおいて、各連続切断工程は、新たなプロテオフォーム（切断型およびスプライス変異体を含む、同じ遺伝子からコードされるタンパク質の別個の型）を生じ、これらは配列相同性を共有し、そして重要でない構造変化しか経ていない可能性が高い。各型に抗体を向けることは成功しない可能性が高く、そしていくつかの型の分離後、単一の成分、例えばポリエチレングリコールに基づく濃縮後にC3dgを測定可能である方法はあるが、同じ試料中のすべての断片の同時測定は、現在不可能である。

10

【0046】

したがって、本明細書に記載されるのは、本明細書において、「コンプリメントーム（complementome）」と称されうる、CFHファミリー由来の最大7つの個々の補体関連タンパク質に加えて、C3b不活性化酵素FI、中心的補体成分C3、およびC3分解から得られる7つのタンパク質の存在、絶対レベルおよび相対モル比の同時決定のための単一方法論である。これほど多くの補体関連タンパク質の絶対レベルを1つのアッセイにおいて検出する能力は、例えば本明細書記載の剤および系を用いた、補体関連疾患の検出、診断および治療の成功に非常に重要である。

20

【0047】

補体タンパク質

補体は、外来（foreign）および改変された宿主細胞に対する防御の最前線として働く、自然免疫の中心的部分である。補体は、微生物感染に際して活性化され、炎症を誘導し、そして病原体の排除を促進する。補体系は、肝臓によって主に産生される血漿タンパク質または細胞表面上で発現される膜タンパク質で構成される。補体は、血漿中、組織中、または細胞内で働く。補体系の概説に関しては、例えば、その全体が本明細書に援用される、Merle NSら、Front Immunol. 2015 Jun 2; 6: 262を参照されたい。

30

【0048】

補体系は3つの別個の経路：古典的経路（CP）、第二経路（AP）およびレクチン結合経路（LP）を通じて活性化されうる。健康な個体において、APは病原体の存在に関して調査するため、低レベルで永続的に活性であるが、宿主細胞は補体攻撃から保護され、そして持続性低レベル活性化に対して耐性である。宿主細胞に結合したC3b分子は、膜結合または血漿補体制御因子群によって、迅速に不活性化される。

40

【0049】

微生物の分子構成要素の認識に反応して、補体タンパク質は、酵素カスケードで連続的に活性化される：1つのタンパク質の活性化が、カスケード中の次のタンパク質を酵素的に切断し、そして活性化する。

【0050】

3つの経路はC3コンバーゼの生成に収束し、この酵素は、中心的補体成分C3を、オプソニンとして作用する（外来微生物に結合し、食作用に対するその感受性を増加させる）巨大断片、活性産物C3b、および炎症を促進するアナフィラトキシンであるC3aに切断する。B因子（FB）とともに、C3bは、C3コンバーゼ（C3bBb）を形成し、この酵素は、さらなるC3分子を切断し、より多くのC3bおよびC3aを生じ、

50

そして細胞表面上のC3b沈着を増幅する。これが補体増幅ループである。C3b沈着および補体活性化は、目の無細胞構造上（すなわち細胞外マトリックス上）、例えばブルッフ膜（BrM）、および脈絡毛細管の毛細血管間隔壁で起こりうる。

【0051】

活性化C3は、溶解経路を誘発可能であり、この経路は、細胞およびいくつかの細菌の形質膜に損傷を与えうる。このプロセスによって産生される別のアナフィラトキシンであるC5aは、マクロファージおよび好中球を誘引し、そしてまた、マスト細胞を活性化する。

【0052】

ひとたび活性化されたら、新規生成補体活性化産物、例えばC3bが、宿主に対して重度の炎症および細胞損傷を誘導しうるため、補体系は、緊密に調節される必要がある。いくつかの可溶性ならびに膜結合型補体制御因子が、宿主細胞表面で補体活性化の制御を確実にし、そして作用の異なる活性化相および部位を調節する（Skerkaら, Mol Immunol 2013, 56:170-180）。補体制御因子は、本明細書にさらに記載される。

【0053】

「補体タンパク質」は、本明細書において、「補体制御因子」、「補体の制御因子」、または「補体系のタンパク質」と交換可能に使用可能であり、そして例えば、その全体が本明細書に援用される、Merleら, Front. Immunol., 2015, 6:262およびMerleら, Front. Immunol., 2015, 6:257に記載されるような、補体系または補体カスケードのタンパク質成分を指す。本明細書で称される「補体タンパク質」は、3つの補体経路のいずれかに、および／または増幅ループに含まれうる。

【0054】

いくつかの態様において、本明細書で称される「補体タンパク質」は、第二経路に、および／または補体活性化ループに含まれる。いくつかの態様において、本明細書で称される「補体タンパク質」は、C3またはC3bの分解、ターンオーバーおよび／または不活性化に関与するか、あるいは前記分解、ターンオーバーおよび／または不活性化の産物である。

【0055】

本明細書のいくつかの態様において、本明細書で用いられるような「補体タンパク質」は、FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg、および／またはC3dの1つまたはそれより多くを指してもよい。

【0056】

補体H因子（FH）ファミリータンパク質

H因子（FH）は、第二補体経路および増幅ループを制御する。FHは、C3bへのFB結合と競合することによってC3コンバーゼ形成を阻害し、そしてまたI因子（FI）によるiC3bへのC3b不活性化の補因子としても作用し、したがって、不適切な補体活性化および炎症を防止する。FHはまた、既に形成されたC3コンバーゼの脱構築を補助しうる、崩壊加速活性も発揮する。例えば、その全体が本明細書に援用される、Clarkら, J Immunol 2014, 193(10):4962-4970を参照されたい。

【0057】

ヒトFHの配列（Uniprot P08603-1）は、本明細書において配列番号1として提供される。FH構造および機能の概説に関しては、例えば、その全体が本明細書に援用される、Merle NSら, Front Immunol. 2015 Jun 2; 6:262を参照されたい。

【0058】

ヒトFHは、20のCCPDドメインを含む。CFH遺伝子はまた、最初の7つのCCP

10

20

30

40

50

ドメインしか含まず、その後、ユニークな4アミノ酸C末端で終結する、FHL-1と称されるFHの一部切除型も産生する(Clarkら、2014、上記)。ヒトFHL-1の配列(Uniprot:P08603-2)は、本明細書において配列番号2として提供される。

【0059】

目において、全長FHタンパク質は、ブルッフ膜(BrM)の脈絡膜側で見られ、脈絡毛細管(脈絡膜中の毛細管層)に特に集積する。BrMのRPE側のパッチ中にもまた少量が見られるが、BrM自体にはFHは観察されない。一方、FHL-1は、BrM全体および他のECM構造、例えばドルーゼンで観察されてきている(Clarkら、2014、上記)。FHL-1がFHよりもBrMに対してより大きな補体保護を与える可能性が高い一方、FHは、脈絡膜のECMの主な保護を提供する。FHL-1は、したがって、BrM(AMD病因形成の重要な部位)における補体の主要制御因子であると考えられる。本明細書記載の方法は、FHおよびFHL-1の個々の検出および定量化を可能にする。

10

【0060】

FH、FHL-1およびFHR1~FHR5は、例えば、その全体が本明細書に援用される、Clarkら、J Clin Med, 2015, 4(1): 18-31に記載される。これらのタンパク質は、本明細書において、「H因子ファミリータンパク質」と称される。「FHR」は、「H因子関連」を表す。

【0061】

CFHR遺伝子によってコードされるFHR1、FHR2、FHR3、FHR4およびFHR5はまた、その全体が本明細書に援用される、Skerkaら、Mol Immunol 2013, 56:170-180にも記載される。これらのタンパク質は、非常に関連しており、そして高い度合いの配列同一性を共有する。N末端は、36~94%の配列同一性を共有する一方、C末端ドメインは、FH C末端に非常に類似である(36~100%)。ファミリーメンバー間の高いアミノ酸同一性は、FHに対して作製された抗体が、血漿中の多数のFHRタンパク質を検出可能であり、そしてFHRタンパク質に対して生成された抗体が他のFHRと交差反応するという事実によって立証される。この交差反応性は、血漿からのFHRタンパク質の精製、ならびにその濃度決定を困難にする。

20

30

【0062】

FHRタンパク質は、保存されるドメインに応じて、2つの群に分けられる。FHR1(配列番号3)、FHR2(配列番号3、4)、およびFHR5(配列番号10)は群Iを形成し、そしてその保存されたN末端によって特徴づけられる。これらは、保存されるN末端ドメインによって仲介されるホモおよびヘテロ二量体として血漿中に存在する。群IIは、FHR3(配列番号6、7)およびFHR4(配列番号8、9)を含有し、これらはN末端二量体化ドメインを欠くが、FHの部分に高い度合いの配列類似性を示す。5つのFHRタンパク質はすべて、C3bを認識しそして結合するよう作用し、そしてFHのC末端に非常に類似であるC末端配列を含む。

【0063】

FHR1は、C3bへの結合に関してFHおよびFHL-1と競合することが知られる。FHR1はまた、C5コンバーゼのC3b成分に結合し、そしてMACの集合に干渉することもまた報告されている(例えば、その全体が本明細書に援用される、Heinen Sら、Blood (2009) 114(12): 2439-2447およびHannan JPら、PLoS One, 2016; 11(11): e0166200を参照されたい)。本明細書で使用される際、用語「FHR1」には、FHR1(配列番号3; FHRA)および3つの点突然変異を含む第二のFHR1アイソフォーム(FHRB)の少なくとも1つが含まれ、そして好ましくは両方のFHR1アイソフォームが含まれる。「FHR1」は、任意の種由来のFHR1を指し、そしてこれには、任意の種由来のFHR1のアイソフォーム、断片、変異体または相同体が含まれる。好ましい

40

50

態様において、「FHR1」は、ヒトFHR1を指す。

【0064】

FHR2は、C3コンバーゼ活性を阻害可能であり、増幅ループを阻害するよう作用するが、また増幅ループを活性化することも可能である。2つのFHR2アイソフォーム（配列番号4および5）がある。該タンパク質は、2つのグリコシル化型、単ーグリコシル化型（24kDa）および二重グリコシル化型（28kDa）を有する。本明細書で用いられる際、用語「FHR2」には、2つのアイソフォームの少なくとも1つまたはグリコシル化型の少なくとも1つが含まれ、そして好ましくはアイソフォームの両方および任意のグリコシル化型が含まれる。「FHR2」は、任意の種由来のFHR2を指し、そしてこれには、任意の種由来のFHR2のアイソフォーム、断片、変異体または相同体が含まれる。好ましい態様において、「FHR2」は、ヒトFHR2を指す。

10

【0065】

FHR3は、C3bおよびC3dに結合し、そしてC3bのFI仲介性切断のための低い補因子活性を有しうる。FHR3はまた、補体を上方制御しうる。2つのFHR3アイソフォーム（配列番号6および7）がある。FHR3は、多数の変異体（35～56kDaの範囲）で血漿中で検出され、これは、FHR3の4つの異なるグリコシル化変異体の存在を反映する。本明細書で用いられる際、用語「FHR3」には、FHR3の2つのアイソフォームの少なくとも1つまたはグリコシル化型の少なくとも1つが含まれ、そして好ましくはアイソフォームの両方および任意のグリコシル化型が含まれる。「FHR3」は、任意の種由来のFHR3を指し、そしてこれには、任意の種由来のFHR3のアイソフォーム、断片、変異体または相同体が含まれる。好ましい態様において、「FHR3」は、ヒトFHR3を指す。

20

【0066】

ヒトCFHR4遺伝子は、2つのタンパク質：FHR4A（配列番号8）および選択的スプライス変異体、FHR4B（配列番号9）をコードする。その全体が本明細書に援用される、WO 2019/215330A1は、FHR4が、補体活性化の正の制御因子であり、そしてFH仲介性C3b分解を防止すると記載する。組織中の高レベルのFHR4は、局所炎症反応および細胞溶解を促進する可能性が高く、補体活性化に関連する障害を導き、そして循環FHR4レベルは、補体関連障害を発展させるリスクの指標として使用されうる。例えば、その全体が本明細書に援用される、Ciprianiら, Nat Commun 11, 778 (2020)を参照されたい。本明細書で用いられる際、用語「FHR4」には、FHR4Aアイソフォーム1、FHR4Aアイソフォーム2（アイソフォーム1からのG20点欠失）またはFHR4Bの少なくとも1つが含まれ、そして好ましくはFHR4Aアイソフォーム1および2ならびにFHR4Bが含まれる。「FHR4」は、任意の種由来のFHR4を指し、そしてこれには、任意の種由来のFHR4のアイソフォーム、断片、変異体または相同体が含まれる。好ましい態様において、「FHR4」は、ヒトFHR4を指す。

30

【0067】

FHR5もまた、自己表面上のC3bを認識し、そしてこれに結合する。FHR5は、62kDaのグリコシル化タンパク質として現れる。本明細書で用いられる際、用語「FHR5」には、FHR5の任意のグリコシル化変異体が含まれ、そして好ましくはすべてのアイソフォームおよび任意のグリコシル化型が含まれる。本明細書で用いられる際、「FHR5」は、任意の種由来のFHR5を指し、そしてこれには、任意の種由来のFHR5のアイソフォーム、断片、変異体または相同体が含まれる。好ましい態様において、「FHR5」は、ヒトFHR5を指す。

40

【0068】

補体の活性化および増幅、ならびに補体関連障害の病因形成における、CFHファミリーの異なるメンバーの異なる役割を考慮すると、すべての7つのCFHファミリーメンバーによってコードされるタンパク質の存在およびレベルの間を区別可能であることが重要である。CFHファミリーメンバー、特にFHR1～5はまた、補体の制御不全が病理学

50

的に関与する障害を診断または予測するためのバイオマーカーとしても使用されうる。

【0069】

C3、C3bおよび分解産物

C3は、中心的な補体成分である。C3が多様な下流産物にプロセッシングされる経路は、炎症および免疫反応を含む補体の活性化、または補体の不活性化および制御を導く可能性もある。したがって、補体病因形成および補体関連障害の治療に関して、C3、C3bおよびその下流成分／プロセッシング産物の、相対レベルを含むレベルを検出し、そして測定することが可能であることが重要である。

【0070】

C3のプロセッシングは、例えば、その全体が本明細書に援用される、Foleyら J Thromb Haemostasis (2015) 13: 610-618に記載される。ヒトC3 (UniProt: P01024; 配列番号12) は、1, 663アミノ酸配列 (N末端の22アミノ酸シグナルペプチドを含む) を含む。アミノ酸23~667は、C3 β鎖 (配列番号13) をコードし、そしてアミノ酸749~1, 663は、C3b α'鎖 (配列番号14) をコードする。C3 β鎖およびC3 α'鎖は、鎖間ジスルフィド結合 (C3 β鎖のシステイン559、およびC3 α'鎖のシステイン816の間で形成される) を通じて会合して、C3bを形成する。C3aは、C3のアミノ酸位672~748に対応する77アミノ酸断片 (配列番号15) であり、C3bを形成するC3のタンパク質分解切断によって生成される。

【0071】

C3bの、それ自体ではさらなる補体増幅を促進できない不活性型iC3bへのプロセッシングは、アミノ酸位1303および1320でのC3b α'鎖のタンパク質分解切断を伴い、α'鎖断片1 (C3のアミノ酸位749~1663に対応する; 配列番号16)、およびα'鎖断片2 (C3のアミノ酸位1321~1663に対応する; 配列番号17) を形成する。したがって、iC3bは、C3 β鎖、C3 α'鎖断片1およびC3 α'鎖断片2 (ジスルフィド結合を通じて会合する) を含む。α'鎖の切断はまた、C3fも遊離させ、C3fは、C3のアミノ酸位1304~1320に対応する (配列番号18)。

【0072】

iC3bは、さらに、C3 β鎖、C3 α'鎖断片2およびC3c α'鎖断片1 (C3のアミノ酸位749~954に対応する; 配列番号19) を含むC3cにプロセッシングされる。この切断事象は、断片C3dg (C3のアミノ酸位955~1303に対応する; 配列番号142) を産生し、C3dgはこれ自体、断片C3g (C3のアミノ酸位955~1001に対応する; 配列番号143) およびC3d (C3のアミノ酸位1002~1303に対応する; 配列番号144) に分解される。

【0073】

C3bのiC3bへのプロセッシングは、補体I因子 (FI; ヒトにおいて遺伝子CFIによってコードされる) によって行われる。ヒト補体I因子 (UniProt: P05156; 配列番号11) は、583アミノ酸配列を有する (N末端の18アミノ酸シグナルペプチドを含む)。軽鎖のアミノ酸340~574は、FIのタンパク質分解ドメインを含み、これは、iC3bを産生する、C3bの切断に関与する触媒性三連構造を含有するセリンプロテアーゼである (Ekdahlら, J Immunol (1990) 144 (11): 4269-74)。FIによるC3bのタンパク質分解切断は、FH、CR1およびおそらくFHRタンパク質のいくつかを含む補因子によって促進される。FIの補因子は、典型的にはC3bおよび／またはFIに結合し、そしてFIによるiC3bへのC3bのプロセッシングを増強する。

【0074】

本明細書で用いられる際、補体タンパク質、例えばC3、C3b、C3a、FH、FI等へのいかなる言及も、任意の種由来の前記タンパク質を指し、そしてこれには、任意の種由来の前記タンパク質のアイソフォーム、断片、変異体または相同体が含まれる。いく

10

20

30

40

50

つかの態様において、タンパク質は哺乳動物タンパク質（例えばカニクイザル（*cynomolgous*）、ヒトおよび／または齧歯類（例えばラットおよび／またはネズミ）タンパク質）である。本明細書記載の補体タンパク質のアイソフォーム、断片、変異体または相同体は、任意選択で、所定の種由来の未成熟または成熟タンパク質のアミノ酸配列、例えば本明細書に提供されるヒトタンパク質配列に、少なくとも70%、好ましくは、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の1つのアミノ酸配列同一性を有すると特徴づけられうる。本明細書記載の補体タンパク質のアイソフォーム、断片、変異体または相同体は、任意選択で、機能性アイソフォーム、断片、変異体または相同体であってもよく、例えば機能特性／活性に関する適切なアッセイによる分析によって決定されるような、参照タンパク質の機能特性／活性を有する。

10

【0075】

遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させることが可能な剤

本開示の側面および態様は、遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させることが可能な剤に関する。本明細書で用いられる際、こうした剤は、1つまたはそれより多い所定のターゲット遺伝子／タンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるかまたは防止することが可能である。いくつかの態様において、こうした剤は、本明細書に記載されるような1つまたはそれより多い補体タンパク質（例えば、FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg、および／またはC3dの1つまたはそれより多く）の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるかまたは防止することが可能である。

20

【0076】

いくつかの態様において、剤は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの態様において、剤は、FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5より選択される1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの態様において、剤は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1より選択される1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。

30

【0077】

いくつかの場合、こうした剤は、1つまたはそれより多いFHRタンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5の1つまたはそれより多く）の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるかまたは防止することが可能である。いくつかの場合、こうした剤は、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させずまたは防止しない（例えば有意に減少させずまたは防止しない）。例えば、こうした剤は、1つまたはそれより多いFHRタンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるかまたは防止することが可能である一方、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させずまたは防止しない。いくつかの場合、こうした剤は、1つまたはそれより多いFHRタンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるかまたは防止することが可能である一方、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現を増加させる。いくつかの場合、本明細書記載の剤は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、およびFHR5の各々の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害するが、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない（例えば該剤は、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現を増加させてもよい）。

40

【0078】

「遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させることが可能である剤」または「遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる」「剤」は、本明細書で用いられる際、

50

前記効果を達成する、任意の適切な剤であってもよい。剤は、核酸、例えば本明細書の以下に記載される阻害性核酸であってもよい。剤は、ヌクレアーゼに基づく核酸編集ツール、例えばメガヌクレアーゼ、化学的ヌクレアーゼ、ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ZFN）、転写活性化因子様エフェクターに基づくヌクレアーゼ（TALEN）、または例えば本明細書の以下に記載するような、Cas9に基づく系であってもよい。

【0079】

本明細書に提供するのは、本開示記載の剤と細胞を接触させる工程を含む、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるための方法である。方法は、*in vitro*、*ex vivo*または*in vivo*で実行されてもよい。細胞は肝臓細胞、例えば肝細胞であってもよい。

10

【0080】

剤、例えば阻害性核酸または核酸編集ツールがタンパク質（単数または複数）の発現を減少させると記載される際、本開示はまた、関連タンパク質（単数または複数）をコードする遺伝子の遺伝子発現を減少させることも意図する。すなわち、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子発現の阻害に対する本明細書の言及は、CFHの発現の阻害を意図し；FHR1の遺伝子発現の阻害に対する本明細書の言及は、CFHR1の発現の阻害を意図し；FHR2の遺伝子発現の阻害に対する本明細書の言及は、CFHR2の発現の阻害を意図し；FHR3の遺伝子発現の阻害に対する本明細書の言及は、CFHR3の発現の阻害を意図し；FHR4の遺伝子発現の阻害に対する本明細書の言及は、CFHR4の発現の阻害を意図し；そしてFHR5の遺伝子発現の阻害に対する本明細書の言及は、CFHR5の発現の阻害を意図する。

20

【0081】

いくつかの態様において、本開示記載の剤、例えば阻害性核酸または核酸編集ツールは：

1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードする単数または複数の遺伝子の発現を減少させ／防止し／阻害し；

1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードするRNAのレベルを減少させ；

30

1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードする核酸の転写（例えば1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするDNAの、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAへの転写）を減少させ／防止し／阻害し；

1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードするRNAの分解を増加させ；

1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）の発現をタンパク質レベルで減少させ／防止し／阻害し；

40

1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）のレベルを減少させ；

1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードするRNAの正常な転写後プロセッシング（例えばスプライシング、翻訳および／または翻訳後プロセッシング）を減少させ／防止し／阻害し；

1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く

50

)をコードするmRNAの翻訳を減少させ／防止し／阻害してもよい。

【0082】

上記の特性の任意の1つまたはそれより多くと組み合わせて、本開示記載の剤は、FHおよび／またはFHL-1をコードする単数または複数の遺伝子の発現を減少させなくとも／防止しなくとも／阻害しなくとも、FHおよび／またはFHL-1をコードするRNAのレベルを減少させなくとも、FHおよび／またはFHL-1をコードする核酸の転写を減少させなくとも／防止しなくとも／阻害しなくとも、FHおよび／またはFHL-1をコードするRNAの分解を増加させなくとも、FHおよび／またはFHL-1の発現をタンパク質レベルで減少させなくとも／防止しなくとも／阻害しなくとも、FHおよび／またはFHL-1タンパク質のレベルを減少させなくとも、FHおよび／またはFHL-1をコードするRNAの正常な転写後プロセッシングを減少させなくとも／防止しなくとも／阻害しなくとも、ならびに／あるいはFHおよび／またはFHL-1をコードするmRNAの翻訳を減少させなくとも／防止しなくとも／阻害しなくともよい。

10

【0083】

所定の剤が、先行する段落に列挙される特性の1つより多くを示してもよいことが認識されるであろう。適切なアッセイを用いて、所定の剤を、先行する段落に列挙される特性に関して評価してもよい。アッセイは、例えば*in vitro*アッセイであってもよく、任意選択で細胞に基づくアッセイまたは細胞不含アッセイであってもよい。アッセイは、*ex vivo*アッセイであってもよく、すなわち被験体から得られた細胞／組織／臓器を用いて行われてもよい。アッセイは、例えば、*in vivo*アッセイであってもよく、すなわち非ヒト動物で行われてもよい。

20

【0084】

アッセイが細胞に基づくアッセイである場合、これらは、剤が列挙する特性の1つまたはそれより多くを示すかどうかを決定するため、細胞を剤で処理することを含んでもよい。アッセイは、これらの検出を促進するため、検出可能実体で標識された種を使用してもよい。アッセイは、所定の剤の量／濃度のある範囲（例えば希釈シリーズ）で、別個に、細胞を処理した後、列挙する特性を評価してもよい。こうしたもので使用される細胞は、好ましくは、H因子ファミリータンパク質を発現する細胞、例えば肝細胞であることが認識されるであろう。アッセイは、細胞を、例えば本明細書記載の剤で処理して、H因子ファミリー遺伝子および／またはタンパク質の発現および／または活性を減少させるかまたは防止する工程を含んでもよい。

30

【0085】

こうしたアッセイの結果の分析は、関連する活性の最大レベルの50%が達成される濃度を決定する工程を含んでもよい。関連する活性の最大レベルの50%が達成される剤の濃度は、関連する活性に関する、剤の「最大半有効濃度」と称されてもよく、これはまた、「EC50」とも称されてもよい。例えば、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードするRNAの分解を増加させるための所定の阻害性剤のEC50は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードするRNAの分解の最大レベルの50%が達成される濃度であってもよい。

40

【0086】

特性に応じて、EC50はまた、「最大半阻害濃度」または「IC50」と称されてもよく、これは所定の特性の阻害の最大レベルの50%が観察される剤の濃度である。例えば、所定の阻害性剤が、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードする遺伝子の発現を減少させることに関するIC50は、遺伝子の発現の阻害の最大レベルの50%が達成される濃度であってもよい。

50

【0087】

1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードするRNAを検出し、そして／またはそのレベルを定量化する工程を含むアッセイを用いて、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子発現を減少させる／防止する、および／または1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードする核酸の転写を減少させる／防止する、および／または1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAのレベルを減少させる、および／または1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAの分解を増加させることが可能な剤を同定してもよい。

10

【0088】

こうしたアッセイは、RT-qPCR（当業者に周知の技術）によって1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAを定量化してもよい。この方法は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAの検出および／または定量化のためのプライマーおよび／またはプローブを使用してもよい。こうしたアッセイは、*in vitro*培養において、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質を発現する細胞内に、（i）推定上の剤、例えば阻害性核酸、または（ii）対照剤（例えば1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAのレベルに影響を及ぼさないことが知られている核酸）を導入し（例えばトランスフェクションによって）、そして続いて（例えば適切な期間、すなわち1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子発現のレベル／1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードする核酸の転写／1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAのレベルの減少、あるいは観察しようとする1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAの分解のレベルの増加に十分な期間の後）、（i）および（ii）記載の細胞において、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAのレベルを測定し、そして（iii）検出される1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAのレベルを比較して、推定上の剤が、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子発現／1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の転写を減少させ／防止し、そして／あるいは1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAのレベルを減少させ、そして／あるいは1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAの分解を増加させるかを決定する工程を含んでもよい。

20

30

【0089】

1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の1つまたはそれより多いアイソフォームをコードするRNA（例えば成熟mRNA）を検出し、そして／またはそのレベルを定量化する工程を含むアッセイを用いて、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするpre-mRNAの正常なスプライシングを減少させる／防止することが可能である、剤、例えば阻害性核酸または核酸編集ツールを同定してもよい。こうしたアッセイは、RT-qPCRによって、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の1つまたはそれより多いアイソフォームをコードするRNA（例えば成熟mRNA）を定量化する工程を含んでもよい。方法は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードする遺伝子から転写されるpre-mRNAの古典的スプライシングによって産生される成熟mRNAの検出および／または定量化のためのプライマーおよび／またはプローブ、ならびに／あるいは1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードする遺伝子から転写されたpre-mRNAの選択的スプライシングによって産生される成熟mRNAの検出および／または定量化のためのプライマーおよび／またはプローブを使用してもよい。

40

【0090】

1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードする遺伝子から転写されたpre-mRNAの古典的スプライシングによって産生される成熟mRNAは、1つまたは

50

それより多いH因子ファミリータンパク質をコードする遺伝子の発現によって産生される主要なアイソフォームをコードする成熟mRNAであってもよい。主要アイソフォームは、最も一般的に産生される／検出されるアイソフォームである。例えば、ヒトFHR2から転写されるプレmRNAの古典的スプライシングによって産生される成熟mRNAは、ヒトFHR2アイソフォーム1をコードする（すなわち配列番号4に示されるアミノ酸配列を有する）成熟mRNAであってもよい。

【0091】

1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードする遺伝子から転写されるプレmRNAの選択的スプライシングによって産生される成熟mRNAは、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードする遺伝子の発現によって産生される主要アイソフォームとは異なるアイソフォームをコードする成熟mRNAであってもよい。例えば、ヒトFHR2から転写されるプレmRNAの選択的スプライシングによって産生される成熟mRNAは、アイソフォーム1以外のヒトFHR2のアイソフォームをコードする（すなわち、配列番号4に同一ではないアミノ酸配列を有する）成熟mRNA；例えばヒトFHR2アイソフォーム2をコードする（すなわち配列番号5と同一でないアミノ酸配列を有する）成熟mRNAであってもよい。

【0092】

こうしたアッセイは、*in vitro*培養において、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質を発現する細胞内に、(i) 推定上の剤、例えば阻害性核酸、または(ii) 対照剤（例えば1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするプレmRNAのスプライシングに影響を及ぼさないことが知られている核酸）を導入し（例えばトランスフェクションによって）、そして続いて（例えば適切な期間、すなわち観察しようとする1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするプレmRNAのスプライシングに対する影響に十分な期間の後）、(i) および(ii) 記載の細胞において、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の1つまたはそれより多いアイソフォームをコードする成熟mRNAのレベルを測定し、そして(iii) アイソフォーム（単数または複数）をコードする成熟mRNAのレベルを比較して、推定上の剤が、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするプレmRNAの正常なスプライシングを減少させる／防止するかを決定する工程を含んでもよい。

【0093】

当業者に周知の技術、例えば抗体／レポーターに基づく方法（ウェスタンブロット、ELISA、免疫組織／細胞化学等）を用いて、関連タンパク質（単数または複数）のレベルを検出する工程を含むアッセイを用いて、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質のレベルを減少させる、ならびに／あるいは1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードするmRNAの翻訳を減少させる／防止することが可能な剤を同定してもよい。この方法は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質に特異的な抗体を使用してもよい。こうしたアッセイは、*in vitro*培養において、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質を発現する細胞内に、(i) 推定上の剤、例えば阻害性核酸、または(ii) 対照剤（例えば1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAのレベルに影響を及ぼさないことが知られている核酸）を導入し（例えばトランスフェクションによって）、そして続いて（例えば適切な期間、すなわち観察しようとする1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質のレベルの減少に十分な期間の後）、(i) および(ii) 記載の細胞において、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質のレベルを測定し、そして(iii) 検出された1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質のレベルを比較して、推定上の剤が、関連タンパク質のレベルを減少させ、そして／または1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするmRNAの翻訳を減少させる／防止するかを決定する。

【0094】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードする単数または複数の遺伝子の発現を、剤の非存在下で、または関連遺伝子（単数または複数）の阻害剤でないことが知られている同じ量の対照剤の存在下で観察される発現レベルの1倍未満、例えば ≤ 0.99 倍、 ≤ 0.95 倍、 ≤ 0.9 倍、 ≤ 0.85 倍、 ≤ 0.8 倍、 ≤ 0.75 倍、 ≤ 0.7 倍、 ≤ 0.65 倍、 ≤ 0.6 倍、 ≤ 0.55 倍、 ≤ 0.5 倍、 ≤ 0.45 倍、 ≤ 0.4 倍、 ≤ 0.35 倍、 ≤ 0.3 倍、 ≤ 0.25 倍、 ≤ 0.2 倍、 ≤ 0.15 倍、 ≤ 0.1 倍、 ≤ 0.05 倍、または ≤ 0.01 倍の1つまで、減少させることが可能でありうる。いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子の発現は、前記剤によって影響を受けなくてもよい。

10

【0095】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードする単数または複数の遺伝子の発現を、剤の非存在下で、または関連遺伝子（単数または複数）の阻害剤でないことが知られている同じ量の対照剤の存在下で観察される発現のレベルの100%未満、例えば $\leq 99\%$ 、 $\leq 95\%$ 、 $\leq 90\%$ 、 $\leq 85\%$ 、 $\leq 80\%$ 、 $\leq 75\%$ 、 $\leq 70\%$ 、 $\leq 65\%$ 、 $\leq 60\%$ 、 $\leq 55\%$ 、 $\leq 50\%$ 、 $\leq 45\%$ 、 $\leq 40\%$ 、 $\leq 35\%$ 、 $\leq 30\%$ 、 $\leq 25\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq 15\%$ 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 5\%$ 、または $\leq 1\%$ の1つまで、減少させることが可能でありうる。いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子発現は、前記剤によって影響を受けなくてもよい。

20

【0096】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードする遺伝子の発現のレベルを、剤の非存在下、あるいは1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードする遺伝子の発現を減少させないことが知られている同じ量の対照剤の存在下で観察されるレベルの1倍未満、例えば ≤ 0.99 倍、 ≤ 0.95 倍、 ≤ 0.9 倍、 ≤ 0.85 倍、 ≤ 0.8 倍、 ≤ 0.75 倍、 ≤ 0.7 倍、 ≤ 0.65 倍、 ≤ 0.6 倍、 ≤ 0.55 倍、 ≤ 0.5 倍、 ≤ 0.45 倍、 ≤ 0.4 倍、 ≤ 0.35 倍、 ≤ 0.3 倍、 ≤ 0.25 倍、 ≤ 0.2 倍、 ≤ 0.15 倍、 ≤ 0.1 倍、 ≤ 0.05 倍、または ≤ 0.01 倍の1つまで、減少させることが可能でありうる。いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子発現のレベルは、前記剤によって影響を受けなくてもよい。

30

【0097】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードする遺伝子の発現のレベルを、剤の非存在下で、あるいは1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードする遺伝子の発現を減少させないことが知られている同じ量の対照剤の存在下で観察されるレベルの100%未満、例えば $\leq 99\%$ 、 $\leq 95\%$ 、 $\leq 90\%$ 、 $\leq 85\%$ 、 $\leq 80\%$ 、 $\leq 75\%$ 、 $\leq 70\%$ 、 $\leq 65\%$ 、 $\leq 60\%$ 、 $\leq 55\%$ 、 $\leq 50\%$ 、 $\leq 45\%$ 、 $\leq 40\%$ 、 $\leq 35\%$ 、 $\leq 30\%$ 、 $\leq 25\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq 15\%$ 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 5\%$ 、または $\leq 1\%$ の1つまで、減少させることが可能でありうる。いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子発現のレベルは、前記剤によって影響を受けなくてもよい。

40

【0098】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR

50

4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く)をコードするRNAのレベルを、剤の非存在下で、あるいは1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAのレベルを減少させないことが知られている同じ量の対照剤の存在下で観察されるレベルの1倍未満、例えば ≤ 0.99 倍、 ≤ 0.95 倍、 ≤ 0.9 倍、 ≤ 0.85 倍、 ≤ 0.8 倍、 ≤ 0.75 倍、 ≤ 0.7 倍、 ≤ 0.65 倍、 ≤ 0.6 倍、 ≤ 0.55 倍、 ≤ 0.5 倍、 ≤ 0.45 倍、 ≤ 0.4 倍、 ≤ 0.35 倍、 ≤ 0.3 倍、 ≤ 0.25 倍、 ≤ 0.2 倍、 ≤ 0.15 倍、 ≤ 0.1 倍、 ≤ 0.05 倍、または ≤ 0.01 倍の1つまで、減少させることが可能でありうる。いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL-1をコードするRNAのレベルは、前記剤によって影響を受けなくともよい。

10

【0099】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードするRNAのレベルを、剤の非存在下で、あるいは1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAのレベルを減少させないことが知られている同じ量の対照剤の存在下で観察されるレベルの100%未満、例えば $\leq 99\%$ 、 $\leq 95\%$ 、 $\leq 90\%$ 、 $\leq 85\%$ 、 $\leq 80\%$ 、 $\leq 75\%$ 、 $\leq 70\%$ 、 $\leq 65\%$ 、 $\leq 60\%$ 、 $\leq 55\%$ 、 $\leq 50\%$ 、 $\leq 45\%$ 、 $\leq 40\%$ 、 $\leq 35\%$ 、 $\leq 30\%$ 、 $\leq 25\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq 15\%$ 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 5\%$ 、または $\leq 1\%$ の1つまで、減少させることが可能である。いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL-1をコードするRNAのレベルは、前記剤によって影響を受けなくともよい。

20

【0100】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードする核酸の転写のレベルを、剤の非存在下で、あるいは1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードする核酸の転写を減少させないことが知られている同じ量の対照剤の存在下で観察されるレベルの1倍未満、例えば ≤ 0.99 倍、 ≤ 0.95 倍、 ≤ 0.9 倍、 ≤ 0.85 倍、 ≤ 0.8 倍、 ≤ 0.75 倍、 ≤ 0.7 倍、 ≤ 0.65 倍、 ≤ 0.6 倍、 ≤ 0.55 倍、 ≤ 0.5 倍、 ≤ 0.45 倍、 ≤ 0.4 倍、 ≤ 0.35 倍、 ≤ 0.3 倍、 ≤ 0.25 倍、 ≤ 0.2 倍、 ≤ 0.15 倍、 ≤ 0.1 倍、 ≤ 0.05 倍、または ≤ 0.01 倍の1つまで、減少させることが可能でありうる。いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL-1をコードする核酸の転写のレベルは、前記剤によって影響を受けなくともよい。

30

【0101】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードする核酸の転写のレベルを、剤の非存在下で、あるいは1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードする核酸の転写を減少させないことが知られている同じ量の対照剤の存在下で観察される発現レベルの100%未満、例えば $\leq 99\%$ 、 $\leq 95\%$ 、 $\leq 90\%$ 、 $\leq 85\%$ 、 $\leq 80\%$ 、 $\leq 75\%$ 、 $\leq 70\%$ 、 $\leq 65\%$ 、 $\leq 60\%$ 、 $\leq 55\%$ 、 $\leq 50\%$ 、 $\leq 45\%$ 、 $\leq 40\%$ 、 $\leq 35\%$ 、 $\leq 30\%$ 、 $\leq 25\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq 15\%$ 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 5\%$ 、または $\leq 1\%$ の1つまで、減少させることが可能でありうる。いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL-1をコードする核酸の転写のレベルは、前記剤によって影響を受けなくともよい。

40

【0102】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR

50

4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く)のレベルを、
剤の非存在下で、または関連タンパク質(単数または複数)の阻害剤でないことが知られ
ている同じ量の対照剤の存在下で観察されるレベルの1倍未満、例えば ≤ 0.99 倍、 $\leq$
 0.95 倍、 ≤ 0.9 倍、 ≤ 0.85 倍、 ≤ 0.8 倍、 ≤ 0.75 倍、 ≤ 0.7 倍、 $\leq 0.$
 65 倍、 ≤ 0.6 倍、 ≤ 0.55 倍、 ≤ 0.5 倍、 ≤ 0.45 倍、 ≤ 0.4 倍、 $\leq 0.$
 35 倍、 ≤ 0.3 倍、 ≤ 0.25 倍、 ≤ 0.2 倍、 ≤ 0.15 倍、 ≤ 0.1 倍、 ≤ 0.0
 5 倍、または ≤ 0.01 倍の1つまで、減少させることが可能でありうる。いくつかの態
様において、FHおよび／またはFHL-1タンパク質(単数または複数)のレベルは、
前記剤によって影響を受けなくてもよい。

【0103】

10

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそ
れより多いH因子ファミリータンパク質(例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR
4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く)のレベルを、
剤の非存在下で、または関連タンパク質(単数または複数)の阻害剤でないことが知られ
ている同じ量の対照剤の存在下で観察されるレベルの100%未満、例えば $\leq 99\%$ 、 $\leq$
 95% 、 $\leq 90\%$ 、 $\leq 85\%$ 、 $\leq 80\%$ 、 $\leq 75\%$ 、 $\leq 70\%$ 、 $\leq 65\%$ 、 $\leq 60\%$ 、 $\leq$
 55% 、 $\leq 50\%$ 、 $\leq 45\%$ 、 $\leq 40\%$ 、 $\leq 35\%$ 、 $\leq 30\%$ 、 $\leq 25\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq$
 15% 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 5\%$ 、または $\leq 1\%$ の1つまで、減少させることが可能でありうる。
いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL-1タンパク質(単数または複数
)のレベルは、前記剤によって影響を受けなくてもよい。

20

【0104】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそ
れより多いH因子ファミリータンパク質(例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR
4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く)をコードする
プレmRNAの正常なスプライシングを、剤の非存在下で、あるいは1つまたはそれより
多いH因子ファミリータンパク質をコードするプレmRNAの正常なスプライシングを減
少させないことが知られている同じ量の対照剤の存在下で観察されるレベルの1倍未満、
例えば ≤ 0.99 倍、 ≤ 0.95 倍、 ≤ 0.9 倍、 ≤ 0.85 倍、 ≤ 0.8 倍、 ≤ 0.7
 5 倍、 ≤ 0.7 倍、 ≤ 0.65 倍、 ≤ 0.6 倍、 ≤ 0.55 倍、 ≤ 0.5 倍、 ≤ 0.45
倍、 ≤ 0.4 倍、 ≤ 0.35 倍、 ≤ 0.3 倍、 ≤ 0.25 倍、 ≤ 0.2 倍、 ≤ 0.15 倍
、 ≤ 0.1 倍、 ≤ 0.05 倍、または ≤ 0.01 倍の1つまで、減少させることが可能で
ありうる。いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL-1をコードするプレm
RNAの正常なスプライシングは、前記剤によって影響を受けなくてもよい。

30

【0105】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそ
れより多いH因子ファミリータンパク質(例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR
4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く)をコードする
プレmRNAの正常なスプライシングのレベルを、剤の非存在下で、あるいは1つまたは
それより多いH因子ファミリータンパク質をコードするプレmRNAの正常なスプライシ
ングを減少させないことが知られている同じ量の対照剤の存在下で観察されるレベルの1
00%未満、例えば $\leq 99\%$ 、 $\leq 95\%$ 、 $\leq 90\%$ 、 $\leq 85\%$ 、 $\leq 80\%$ 、 $\leq 75\%$ 、 $\leq$
 70% 、 $\leq 65\%$ 、 $\leq 60\%$ 、 $\leq 55\%$ 、 $\leq 50\%$ 、 $\leq 45\%$ 、 $\leq 40\%$ 、 $\leq 35\%$ 、 $\leq$
 30% 、 $\leq 25\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq 15\%$ 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 5\%$ 、または $\leq 1\%$ の1つまで、
減少させることが可能でありうる。いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL
-1をコードするプレmRNAの正常なスプライシングは、前記剤によって影響を受けな
くてもよい。

40

【0106】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそ
れより多いH因子ファミリータンパク質(例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR
4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く)をコードする

50

mRNAの翻訳を、剤の非存在下で、あるいは1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするmRNAの翻訳を減少させないことが知られている同じ量の対照剤の存在下で観察されるレベルの1倍未満、例えば ≤ 0.99 倍、 ≤ 0.95 倍、 ≤ 0.9 倍、 ≤ 0.85 倍、 ≤ 0.8 倍、 ≤ 0.75 倍、 ≤ 0.7 倍、 ≤ 0.65 倍、 ≤ 0.6 倍、 ≤ 0.55 倍、 ≤ 0.5 倍、 ≤ 0.45 倍、 ≤ 0.4 倍、 ≤ 0.35 倍、 ≤ 0.3 倍、 ≤ 0.25 倍、 ≤ 0.2 倍、 ≤ 0.15 倍、 ≤ 0.1 倍、 ≤ 0.05 倍、または ≤ 0.01 倍の1つに、減少させることが可能でありうる。いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL-1をコードするmRNAの翻訳は、前記剤によって影響を受けなくてもよい。

【0107】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードするmRNAの翻訳を、剤の非存在下で、あるいは1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするmRNAの翻訳を減少させないことが知られている同じ量の対照剤の存在下で観察されるレベルの100%未満、例えば $\leq 99\%$ 、 $\leq 95\%$ 、 $\leq 90\%$ 、 $\leq 85\%$ 、 $\leq 80\%$ 、 $\leq 75\%$ 、 $\leq 70\%$ 、 $\leq 65\%$ 、 $\leq 60\%$ 、 $\leq 55\%$ 、 $\leq 50\%$ 、 $\leq 45\%$ 、 $\leq 40\%$ 、 $\leq 35\%$ 、 $\leq 30\%$ 、 $\leq 25\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq 15\%$ 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 5\%$ 、または $\leq 1\%$ の1つまで、減少させることが可能でありうる。いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL-1をコードするmRNAの翻訳は、前記剤によって影響を受けなくてもよい。

【0108】

先行する段落記載の減少の好ましいレベルは、0.5倍未満／ $\leq 50\%$ 、例えば0.4倍未満／ $\leq 40\%$ 、0.3倍未満／ $\leq 30\%$ 、0.2倍未満／ $\leq 20\%$ 、0.15倍未満／ $\leq 15\%$ 、または0.1倍未満／ $\leq 10\%$ の1つまでの減少である。

【0109】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、所定のアッセイにおいて、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードするRNAの分解を、剤の非存在下で、あるいは1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするRNAの分解を増加させないことが知られている同じ量の対照剤の存在下で観察される発現レベルの1倍より多く、例えば ≥ 1.01 倍、 ≥ 1.02 倍、 ≥ 1.03 倍、 ≥ 1.04 倍、 ≥ 1.05 倍、 ≥ 1.1 倍、 ≥ 1.2 倍、 ≥ 1.3 倍、 ≥ 1.4 倍、 ≥ 1.5 倍、 ≥ 1.6 倍、 ≥ 1.7 倍、 ≥ 1.8 倍、 ≥ 1.9 倍、 ≥ 2 倍、 ≥ 3 倍、 ≥ 4 倍、 ≥ 5 倍、 ≥ 6 倍、 ≥ 7 倍、 ≥ 8 倍、 ≥ 9 倍、または ≥ 10 倍の1つに、増加させることが可能でありうる。いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL-1をコードするRNAは、前記剤によって影響を受けない、例えば分解されなくてもよい。

【0110】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）をコードする単数または複数の遺伝子の発現を防止するかまたはサイレンシングする。いくつかの態様において、本開示記載の剤は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く）の発現を、タンパク質レベルで防止するかまたはサイレンシングする。本明細書において、発現レベルが、剤の非存在下、または関連遺伝子（単数または複数）／タンパク質（単数または複数）の阻害剤でないことが知られている同じ量の対照剤の存在下で観察されるレベルの0.1倍未満／ $\leq 10\%$ である場合、所定の遺伝子（単数または複数）／タンパク質（単数または複数）の発現は、「防止されている」または「サイレンシングされている」と見なされうる。いくつかの態様において、FHおよび／またはFHL-1の発

現は、前記剤によって影響を受けない、すなわちサイレンシングされなくてもよい。

【0111】

上記の任意の態様において、FHおよび／またはFHL-1の1つまたは両方の遺伝子および／またはタンパク質発現は、（例えば転写および／または翻訳の増加、あるいは分解の減少を通じて）例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、および／またはFHR5の遺伝子および／またはタンパク質発現に対する剤の影響と組み合わせて、前記剤によって増加されてもよい。

【0112】

上記の任意の態様において、本明細書記載の剤は：

- a) FHR1；
- b) FHR2；
- c) FHR3；
- d) FHR4；
- e) FHR5；
- f) FHR1およびFHR2；
- g) FHR1およびFHR3；
- h) FHR1およびFHR4；
- i) FHR1およびFHR5；
- j) FHR2およびFHR3；
- k) FHR2およびFHR4；
- l) FHR2およびFHR5；
- m) FHR3およびFHR4；
- n) FHR3およびFHR5；
- o) FHR4およびFHR5；
- p) FHR1、FHR2およびFHR3；
- q) FHR1、FHR2およびFHR4；
- r) FHR1、FHR2およびFHR5；
- s) FHR1、FHR3およびFHR4；
- t) FHR1、FHR3およびFHR5；
- u) FHR1、FHR4およびFHR5；
- v) FHR2、FHR3およびFHR4；
- w) FHR2、FHR3およびFHR5；
- x) FHR2、FHR4およびFHR5；
- y) FHR3、FHR4およびFHR5；
- z) FHR1、FHR2、FHR3およびFHR4；
- aa) FHR1、FHR2、FHR3およびFHR5；
- bb) FHR1、FHR2、FHR4およびFHR5；
- cc) FHR2、FHR3、FHR4およびFHR5；
- dd) FHR1、FHR3、FHR4およびFHR5；または
- ee) FHR1、FHR2、FHR3、FHR4およびFHR5

の遺伝子および／またはタンパク質発現に対して、開示される効果を発揮してもよい。

【0113】

いくつかの態様において、本開示記載の剤は、 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、例えば $\leq 500 \text{ nM}$ 、 $\leq 100 \text{ nM}$ 、 $\leq 75 \text{ nM}$ 、 $\leq 50 \text{ nM}$ 、 $\leq 40 \text{ nM}$ 、 $\leq 30 \text{ nM}$ 、 $\leq 20 \text{ nM}$ 、 $\leq 15 \text{ nM}$ 、 $\leq 12.5 \text{ nM}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 9 \text{ nM}$ 、 $\leq 8 \text{ nM}$ 、 $\leq 7 \text{ nM}$ 、 $\leq 6 \text{ nM}$ 、 $\leq 5 \text{ nM}$ 、 $\leq 4 \text{ nM}$ 、 $\leq 3 \text{ nM}$ 、 $\leq 2 \text{ nM}$ 、 $\leq 1 \text{ nM}$ 、 $\leq 900 \text{ pM}$ 、 $\leq 800 \text{ pM}$ 、 $\leq 700 \text{ pM}$ 、 $\leq 600 \text{ pM}$ 、 $\leq 500 \text{ pM}$ 、 $\leq 400 \text{ pM}$ 、 $\leq 300 \text{ pM}$ 、 $\leq 200 \text{ pM}$ 、 $\leq 100 \text{ pM}$ 、 $\leq 50 \text{ pM}$ 、 $\leq 40 \text{ pM}$ 、 $\leq 30 \text{ pM}$ 、 $\leq 20 \text{ pM}$ 、 $\leq 10 \text{ pM}$ または $\leq 1 \text{ pM}$ の1つの、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えば、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより

10

20

30

40

50

多く)の遺伝子および／またはタンパク質発現阻害に関するIC₅₀値を有してもよい。

【0114】

好ましい態様において、本開示記載の剤(例えばsiRNA)は、 $\leq 1\text{ nM}$ 、 $\leq 900\text{ pM}$ 、 $\leq 800\text{ pM}$ 、 $\leq 700\text{ pM}$ 、 $\leq 600\text{ pM}$ 、 $\leq 500\text{ pM}$ 、 $\leq 400\text{ pM}$ 、 $\leq 300\text{ pM}$ 、 $\leq 200\text{ pM}$ 、 $\leq 100\text{ pM}$ 、 $\leq 50\text{ pM}$ 、 $\leq 40\text{ pM}$ 、 $\leq 30\text{ pM}$ 、 $\leq 20\text{ pM}$ 、 $\leq 10\text{ pM}$ または $\leq 1\text{ pM}$ の、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質(例えば、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く)の遺伝子および／またはタンパク質発現阻害に関するIC₅₀値を有してもよい。

【0115】

阻害性核酸および関連物品

本開示の側面および態様は、阻害性核酸であるかまたはこれを含む剤に関する。本明細書で用いられる際、「阻害性核酸」は、1つまたはそれより多い所定の遺伝子／タンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるかまたは防止することが可能な核酸を指す。用語「剤」は、本明細書で用いられる際、1つまたはそれより多い阻害性核酸を指してもよい。

【0116】

本開示記載の阻害性核酸は、本明細書に記載されるような補体タンパク質(例えば1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質)の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるために適している。より具体的には、本開示の側面および態様は、本明細書に記載されるような1つまたはそれより多い補体タンパク質(例えば、FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg、および／またはC3dの1つまたはそれより多く)をターゲティングする阻害性核酸に関する。いくつかの態様において、本開示は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多くをターゲティングする阻害性核酸に関する。いくつかの態様において、本開示は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、および／またはFHR5の1つまたはそれより多くをターゲティングする阻害性核酸に関する。

【0117】

本開示記載の阻害性核酸は、DNAおよび／またはRNAを含んでもよく、またはこれらからなってもよい。阻害性核酸は、一本鎖であってもよいし(例えばアンチセンスオリゴヌクレオチドの場合)、あるいは二本鎖であってもよくまたは二本鎖領域を含んでもよい(例えばsiRNA、miRNA、shRNA等の場合)。阻害性核酸は、二本鎖および一本鎖領域の両方を含んでもよい(例えばヘアピン構造のステム領域では二本鎖であり、そしてヘアピン構造のループ領域では一本鎖である、shRNAおよびpre-miRNA分子の場合)。

【0118】

いくつかの態様において、本開示記載の阻害性核酸は、本明細書に記載されるようなアンチセンス核酸であってもよい。いくつかの態様において、阻害性核酸は、本明細書に記載されるようなアンチセンス核酸を含んでもよい。いくつかの態様において、阻害性核酸は、本明細書に記載されるようなアンチセンス核酸をコードしてもよい。

【0119】

本明細書で用いられる際、「アンチセンス核酸」は、ターゲットヌクレオチド配列の(例えばH因子ファミリータンパク質をコードするRNAの)少なくとも一部に相補的である核酸(例えばDNAまたはRNA)を指す。本開示記載のアンチセンス核酸は、好ましくは一本鎖核酸であり、そしてワトソン・クリック塩基対形成を通じて、ターゲットヌクレオチド配列に結合する。相補的塩基対形成は、相補的塩基対間の水素結合を含んでもよい。アンチセンス核酸は、アンチセンスオリゴヌクレオチドの場合の例として、一本鎖分子の形で提供されてもよいし、または例えばsiRNA、miRNAおよびshRNA分子のように、二本鎖分子種に含まれてもよい。

10

20

30

40

50

【0120】

アンチセンス核酸およびそのターゲットヌクレオチド配列の間の相補的塩基対形成は、完全であってもよい。こうした態様において、アンチセンス核酸は、そのターゲットヌクレオチド配列の逆相補体を含むかまたは逆相補体からなり、そして相補的塩基対形成は、ターゲットヌクレオチド配列の各ヌクレオチドおよびアンチセンス核酸中の相補的ヌクレオチドの間で起こる。あるいは、アンチセンス核酸およびそのターゲットヌクレオチド配列の間の相補的塩基対形成は、不完全／部分的であってもよい。こうした態様において、相補的塩基対形成は、ターゲットヌクレオチド配列のすべてではないがいくつかのヌクレオチドおよびアンチセンス核酸中の相補的ヌクレオチドの間で起こる。

【0121】

相補的塩基対形成を通じた核酸間のこうした結合は、「ハイブリダイゼーション」と称されてもよい。そのターゲットヌクレオチド配列への結合を通じて、アンチセンス核酸は、(i) アンチセンス核酸および(ii) ターゲットヌクレオチド配列を含むターゲット核酸を含む核酸複合体を形成してもよい。

【0122】

アンチセンス核酸のヌクレオチド配列は、ターゲットヌクレオチド配列に結合またはハイブリダイズするように、そのターゲットヌクレオチド配列に十分に相補的である。アンチセンス核酸が、好ましくはそのターゲットヌクレオチド配列の逆相補体に高い度合いの配列同一性を有することが認識されるであろう。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、そのターゲットヌクレオチド配列の逆相補体に、少なくとも75%の配列同一性（例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれより高い配列同一性の1つ）を有するヌクレオチド配列を含むかまたはこうした配列からなる。

【0123】

いくつかの態様において、本開示記載のアンチセンス核酸は：そのターゲットヌクレオチド配列の逆相補体、またはそのターゲットヌクレオチド配列の逆相補体に対して、1～10（例えば1、2、3、4、5、6、7、8、9または10の1つ）の置換を含むヌクレオチド配列を含む。

【0124】

いくつかの態様において、本開示記載のアンチセンス核酸のターゲットヌクレオチド配列は、5～100ヌクレオチド、例えば10～80、12～50、または15～30ヌクレオチドの1つを含むかまたはこれらからなる。

【0125】

いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、そのターゲットヌクレオチド配列を含む核酸の転写を減少させる／防止する。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、そのターゲットヌクレオチド配列を含む核酸と、正常な転写に必要な因子（例えばエンハンサー、RNAポリメラーゼ）の会合を減少させる／防止する。

【0126】

いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、そのターゲットヌクレオチド配列を含む核酸の分解を、例えばRNA干渉を通じて、増加させる／増強する。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、そのターゲットヌクレオチド配列を含む核酸の翻訳を、例えばRNA干渉またはRNAアーゼHによるアンチセンス分解を通じて、減少させる／防止する。

【0127】

RNA干渉は、例えば、どちらもその全体が本明細書に援用される、Agrawalら、Microbiol. Mol. Bio. Rev. (2003) 67(4): 657-685およびHuら、Sig. Transduc. Tar. Ther. (2020) 5(101)に記載される。簡潔には、二本鎖RNA分子は、RNA誘導性サイレンシング複合体(RISC)のアルゴノート構成要素によって認識される。二本

10

20

30

40

50

鎖RNAは、一本鎖に分離され、そしてRISC装填複合体(RLC)によって、活性RISCに統合される。RISC統合鎖は、相補的塩基対形成を通じてそのターゲットRNAに結合し、そしてRISC統合RNAの同一性およびターゲットRNAへの相補性の度合いに応じて、次いで、RISCは、ターゲットRNAを切断してその分解を生じるか、またはそうでなければリボソームのアクセスを遮断して、その翻訳を防止するいずれかである。RNAiに基づく療法の、いくつかの徴候に関して認可されてきている(Kim, Chonnam Med J. (2020) 56(2): 87-93)。

【0128】

いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、そのターゲットヌクレオチド配列を含む核酸の正常な転写後プロセッシング(例えばスプライシングおよび／または翻訳)を減少させる／防止する。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、そのターゲットヌクレオチド配列を含むプレmRNAの成熟mRNAへのスプライシングを減少させるかまたは改変する。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、そのターゲットヌクレオチド配列を含むmRNAのタンパク質への翻訳を減少させる。

10

【0129】

いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、そのターゲットヌクレオチド配列を含む核酸と、正常な転写後プロセッシングに必要な因子(例えばスプライソソームの構成要素)の会合を減少させる／防止する。こうした例では、アンチセンス核酸は、「スプライス・スイッチング」核酸と称されうる。

【0130】

スプライス・スイッチング核酸は、例えば、その全体が本明細書に援用される、HavesおよびHastings, Nucleic Acids Res. (2016) 44(14): 6549-6563に概説される。スプライス・スイッチング核酸には、例えばスプライス・スイッチングオリゴヌクレオチド(SSO)が含まれる。これらは、スプライシング機構およびプレmRNAの構成要素の間で起こる、RNA:RNA塩基対形成および／またはタンパク質:RNA結合性相互作用を遮断することによって、ターゲットRNA転写物の正常なスプライシングを破壊する。スプライス・スイッチング核酸を使用して、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質(例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多く)をコードする成熟mRNA転写物の数／比率を改変してもよい。ターゲット転写物の特定の領域をターゲティングする、例えば関心対象のエクソン(単数または複数)、例えば関心対象のドメイン／領域をコードするエクソンのスキップを達成するように、スプライス・スイッチング核酸を設計してもよい。SSOは、しばしば、RNAアーゼH分解を減少させる／防止するため、オリゴヌクレオチド糖-リン酸主鎖への改変、例えばホスホロチオエート連結、ホスホロジアミデート連結、例えばホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)を含み、そして例えばペプチド核酸(PNA)、ロック核酸(LNA)、メトキシエチルヌクレオチド修飾、例えば2'-O-メチル(2'-OMe)および2'-O-メトキシエチル(MOE)リボース修飾および／または5'-メチルシトシン修飾を含んでもよい。

20

30

【0131】

いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、そのターゲットヌクレオチド配列を含む核酸の翻訳を阻害する／減少させる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、そのターゲットヌクレオチド配列を含む核酸と、翻訳に必要な因子(例えばリボソーム)との会合を減少させる／防止する。

40

【0132】

アンチセンス核酸が結合するターゲットヌクレオチド配列は、発現を阻害することが望ましいタンパク質をコードするヌクレオチド配列であると認識されるであろう。したがって、本開示の側面および態様において、アンチセンス核酸のターゲットヌクレオチド配列は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質(例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1)をコードする遺伝子(

50

単数または複数) のヌクレオチド配列である。例えば、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 218 ~ 223 の 1 つまたはそれより多くに含まれるヌクレオチド配列であってもよい。

【0133】

以下の段落は、本開示記載の剤、例えば阻害性核酸および／または遺伝子編集系、例えばガイドRNAを含むCRISPR/Cas系によってターゲティングされうるターゲットヌクレオチド配列を記載する。

【0134】

いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、1 つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードするDNA (例えばCFHR1、CFHR2、CFHR3、CFHR4、CFHR5、および／またはCFHの1 つまたはそれより多く) のヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、1 つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードする1 つまたはそれより多い遺伝子 (例えばCFHR1、CFHR2、CFHR3、CFHR4、CFHR5、および／またはCFHの1 つまたはそれより多く) によってコードされるRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、1 つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質 (例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1 つまたはそれより多く) をコードするRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、1 つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質 (例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1 つまたはそれより多く) をコードするRNAのエクソンの1 つまたはそれより多いヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、1 つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質 (例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の1 つまたはそれより多く) をコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である。

【0135】

いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、1 つまたはそれより多いH因子関連タンパク質をコードする1 つまたはそれより多い遺伝子によってコードされるRNA (例えばmRNA)、あるいは1 つまたはそれより多いH因子関連タンパク質 (例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、および／またはFHR5の1 つまたはそれより多く) をコードするRNAのヌクレオチド配列である。

【0136】

いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1をコードする遺伝子によってコードされるRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1をコードするRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1をコードするRNAのエクソンの1 つまたはそれより多いヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1をコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR2をコードする遺伝子によってコードされるRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR2をコードするRNAのエクソンの1 つまたはそれより多いヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR2をコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR3をコードする遺伝子によってコードされるRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR3をコードするRNAのエクソンの1 つまたはそれより多いヌクレオチドを含む。いくつかの

態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR3をコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR4をコードする遺伝子によってコードされるRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR4をコードするRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR4をコードするRNAのエクソンの1つまたはそれより多いヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR4をコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR5をコードする遺伝子によってコードされるRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR5をコードするRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR5をコードするRNAのエクソンの1つまたはそれより多いヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR5をコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHをコードする遺伝子によってコードされるRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHをコードするRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHをコードするRNAのエクソンの1つまたはそれより多いヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHをコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である。

10

20

【0137】

いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、1つより多くのH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1より選択される、例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、および／またはFHR5より選択される）をコードするRNAで見られるヌクレオチド配列である。こうしたヌクレオチド配列をターゲティングすることを通じて、所定の剤、例えば本開示記載の阻害性核酸は、関連するターゲット配列を含むRNAによってコードされる異なるH因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させることが可能でありうる。1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質で見られるヌクレオチド配列のあらゆる組み合わせが想定される。

30

【0138】

以下の段落中の「アンチセンス核酸」は、いかなる剤に、例えば阻害性核酸に、あるいは遺伝子編集系をターゲティングするための核酸、例えばgRNAまたはsgRNAに存在してもよい。

【0139】

例えば、本開示の配列番号158は、FHR1をコードするRNAの配列中に見られ、そしてまた、FHR2をコードするRNAの配列中にも見られる。したがって、配列番号178に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、少なくともFHR1およびFHR2の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号178に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4およびFHR5の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号178に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現にまったく影響を持たないかまたはこれらを増加させる。

40

【0140】

本開示の配列番号159は、FHR1をコードするRNAの配列中に見られる。したがって、配列番号179に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、少なくともFHR1の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号179に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレ

50

オチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR1、FHR3、FHR4およびFHR5の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号179に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR2、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現にまったく影響を持たないかまたはこれらを増加させる。

【0141】

本開示の配列番号160は、FHR1をコードするRNAの配列中に見られる。したがって、配列番号180に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、少なくともFHR1の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号180に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR1、FHR3、FHR4およびFHR5の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号180に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR2、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現にまったく影響を持たないかまたはこれらを増加させる。

10

【0142】

本開示の配列番号161は、FHR3をコードするRNAの配列中に見られる。したがって、配列番号181に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、少なくともFHR3の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号181に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR3、FHR4および任意選択でFHR5の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号181に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR1、FHR2、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現にまったく影響を持たないかまたはこれらを増加させる。

20

【0143】

同様に、配列番号162は、FHR3をコードするRNAの配列中に見られ、そしてまた、FHR4をコードするRNAの配列中にも見られ、そしてしたがって、配列番号182に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、少なくともFHR3およびFHR4の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させると予期される。いくつかの場合、配列番号181に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現にまったく影響を持たないかまたはこれらを増加させる。

30

【0144】

本開示の配列番号163は、FHR3をコードするRNAの配列中に見られる。したがって、配列番号183に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、少なくともFHR3の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号183に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR3、FHR4および任意選択でFHR5の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号183に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR1、FHR2、FHR5、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現にまったく影響を持たないかまたはこれらを増加させる。

40

【0145】

本開示の配列番号164は、FHR4をコードするRNAの配列中に見られる。したがって、配列番号184に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、少なくともFHR4の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号184に少なくとも70%の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR3、FHR4および任意選択でFHR5

50

の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号 184 に少なくとも 70% の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR1、FHR2、FHR5、FH および／または FHL-1 の遺伝子および／またはタンパク質発現にまったく影響を持たないかまたはこれらを増加させる。

【0146】

本開示の配列番号 165 は、FHR4 をコードする RNA の配列中に見られる。したがって、配列番号 185 に少なくとも 70% の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、少なくとも FHR4 の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号 185 に少なくとも 70% の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR2、FHR3 および／または FHR4 の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号 184 に少なくとも 70% の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR1、FHR5、FH および／または FHL-1 の遺伝子および／またはタンパク質発現にまったく影響を持たないかまたはこれらを増加させる。

10

【0147】

配列番号 166 は、FHR3 をコードする RNA の配列中に見られ、そしてまた、FHR4 をコードする RNA の配列中にも見られ、そしてしたがって、配列番号 186 に少なくとも 70% の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、少なくとも FHR3 および FHR4 の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。いくつかの場合、配列番号 184 に少なくとも 70% の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FH および／または FHL-1 の遺伝子および／またはタンパク質発現にまったく影響を持たないかまたはこれらを増加させる。

20

【0148】

同様に、配列番号 169 は、FH をコードする RNA の配列中に見られ、そしてまた、FHR1 および FHR2 をコードする RNA の配列中にも見られ、そしてしたがって、配列番号 189 に少なくとも 70% の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、少なくとも FH、CFHR1 および CFHR2 の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。同様に、配列番号 170 は、FH をコードする RNA の配列中に見られ、そしてまた、FHR1 をコードする RNA の配列中にも見られ、そしてしたがって、配列番号 190 に少なくとも 70% の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、少なくとも FH および FHR1 の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。同様に、配列番号 171 は、FH をコードする RNA の配列中に見られ、そしてまた、FHR1 をコードする RNA の配列中にも見られ、そしてしたがって、配列番号 191 に少なくとも 70% の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、少なくとも FH および FHR1 の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。同様に、配列番号 172 は、FH をコードする RNA の配列中に見られ、そしてまた、FHR2 をコードする RNA の配列中にも見られ、そしてしたがって、配列番号 192 に少なくとも 70% の配列同一性を持つヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸は、少なくとも FH および FHR2 の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる。

30

40

【0149】

いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1 および／または FHR2 をコードする遺伝子によってコードされる RNA のヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1 および／または FHR2 をコードする RNA のヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1 および／または FHR2 をコードする RNA のエクソンの 1 つまたはそれより多いヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1 および／または FHR2 をコードする RNA のエクソンのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR3

50

および／またはFHR4をコードする遺伝子によってコードされるRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR3および／またはFHR4をコードするRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR3および／またはFHR4をコードするRNAのエクソンの1つまたはそれより多いヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR3および／またはFHR4をコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1、FHR2および／またはFHをコードする遺伝子によってコードされるRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1、FHR2および／またはFHをコードするRNAのエクソンの1つまたはそれより多いヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1、FHR2および／またはFHをコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1および／またはFHをコードする遺伝子によってコードされるRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1および／またはFHをコードするRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1および／またはFHをコードするRNAのエクソンの1つまたはそれより多いヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1および／またはFHをコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR2および／またはFHをコードする遺伝子によってコードされるRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR2および／またはFHをコードするRNAのヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR2および／またはFHをコードするRNAのエクソンの1つまたはそれより多いヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR2および／またはFHをコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である。

10

20

30

40

50

【0150】

いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1をコードするmRNA配列である（チミン（T）をウラシル（U）で置換）配列番号218のヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号218の1位および164位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号218の531位および721位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号218の722位および904位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列である。

【0151】

いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR2をコードするmRNA配列である（チミン（T）をウラシル（U）で置換）配列番号219のヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号219の1位および201位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号219の757位および1498位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列である。

【0152】

いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR3をコードするmRNA配列である（チミン（T）をウラシル（U）で置換）配列番号220のヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号220の661位および2934位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号220の661位および843

【 0 1 5 3 】

10

20

30

40

50

ド配列は、配列番号 167 のヌクレオチド配列であるか、またはこうしたヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 168 のヌクレオチド配列であるか、またはこうしたヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 169 のヌクレオチド配列であるか、またはこうしたヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 170 のヌクレオチド配列であるか、またはこうしたヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 171 のヌクレオチド配列であるか、またはこうしたヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 172 のヌクレオチド配列であるか、またはこうしたヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 173 のヌクレオチド配列であるか、またはこうしたヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 174 のヌクレオチド配列であるか、またはこうしたヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 175 のヌクレオチド配列であるか、またはこうしたヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 176 のヌクレオチド配列であるか、またはこうしたヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 177 のヌクレオチド配列であるか、またはこうしたヌクレオチド配列を含む。

10

【0157】

いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号 158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176 または 177 の逆相補体に少なくとも 75% の配列同一性（例えば少なくとも 75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の 1 つ）を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号 158、159、160、161、162、163、164、165、166、167 または 168 の逆相補体に少なくとも 75% の配列同一性（例えば少なくとも 75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の 1 つ）を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号 158 の逆相補体に少なくとも 75% の配列同一性（例えば少なくとも 75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の 1 つ）を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号 159 の逆相補体に少なくとも 75% の配列同一性（例えば少なくとも 75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の 1 つ）を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号 160 の逆相補体に少なくとも 75% の配列同一性（例えば少なくとも 75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の 1 つ）を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号 161 の逆相補体に少なくとも 75% の配列同一性（例えば少なくとも 75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、

20

30

40

50

50

%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号172の逆相補体に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号173の逆相補体に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号174の逆相補体に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号175の逆相補体に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号176の逆相補体に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号177の逆相補体に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。

10

20

30

【0158】

いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196または197に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号178、179、180、181、182、183、184、185、186、187または188に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号178に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%

40

50

50

の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号189に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号190に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号191に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号192に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号193に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号194に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号195に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号196に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。いくつかの態様において、アンチセンス核酸は、配列番号197に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むか、またはこうした配列からなる。

10

20

30

40

【0159】

当業者は、本開示を考慮して、所定のH因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるための適切な阻害性核酸を選択することが容易に可能である。

【0160】

50

F H R 1 の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害することが望ましい態様において、阻害性核酸は、F H R 1 をコードするヌクレオチド配列（例えば F H R 1 をコードする遺伝子によってコードされる R N A のヌクレオチド配列、または F H R 1 をコードする R N A のヌクレオチド配列）であるターゲットヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはコードしてもよい。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、F H R 1 をコードする R N A のエクソンの 1 つまたはそれより多いヌクレオチドを含む（例えば、F H R 1 をコードする R N A のエクソンのヌクレオチド配列である）。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 2 1 8 のヌクレオチド配列（例えば配列番号 2 1 8 の 1 位および 1 6 4 位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列、配列番号 2 1 8 の 5 3 1 位および 7 2 1 位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列、または配列番号 2 1 8 の 7 2 2 位および 9 0 4 位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列）である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 1 5 8、1 5 9、1 6 0、1 6 9、1 7 0 または 1 7 1 であるかまたはこれらを含む。いくつかの態様において、阻害性核酸は、配列番号 1 5 8、1 5 9、1 6 0、1 6 9、1 7 0 または 1 7 1 の逆相補体に少なくとも 7 5 % の配列同一性（例えば少なくとも 7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、またはそれより高い配列同一性の 1 つ）を有する配列を含むかまたはこれらからなるアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはこれらをコードしてもよい。いくつかの態様において、阻害性核酸は、配列番号 1 7 8、1 7 9、1 8 0、1 8 9、1 9 0、または 1 9 1 に少なくとも 7 5 % の配列同一性（例えば少なくとも 7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、またはそれより高い配列同一性の 1 つ）を有する配列を含むかまたはこれらからなるアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはこれらをコードしてもよい。

10

20

30

40

50

【 0 1 6 1 】

F H R 2 の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害することが望ましい態様において、阻害性核酸は、F H R 2 をコードするヌクレオチド配列（例えば F H R 2 をコードする遺伝子によってコードされる R N A のヌクレオチド配列、または F H R 2 をコードする R N A のヌクレオチド配列）であるターゲットヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはコードしてもよい。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、F H R 2 をコードする R N A のエクソンの 1 つまたはそれより多いヌクレオチドを含む（例えば、F H R 2 をコードする R N A のエクソンのヌクレオチド配列である）。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 2 1 9 のヌクレオチド配列（例えば配列番号 2 1 9 の 1 位および 2 0 1 位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列または配列番号 2 1 9 の 7 5 7 位および 1 4 9 8 位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列）である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号 1 5 8、1 6 9、1 7 2 または 1 7 3 であるかまたはこれらを含む。いくつかの態様において、阻害性核酸は、配列番号 1 5 8、1 6 9、1 7 2 または 1 7 3 の逆相補体に少なくとも 7 5 % の配列同一性（例えば少なくとも 7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、またはそれより高い配列同一性の 1 つ）を有する配列を含むかまたはこれらからなるアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはこれらをコードしてもよい。いくつかの態様において、阻害性核酸は、配列番号 1 7 8、1 8 9、1 9 2、または 1 9 3 に少なくとも 7 5 % の配列同一性（例えば少なくとも 7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、またはそれより高い配列同一性の 1 つ）を有する配列を含むかまたはこれらからなるアン

チセンス核酸を含んでもよいし、またはこれらをコードしてもよい。

【0162】

FHR3の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害することが望ましい態様において、阻害性核酸は、FHR3をコードするヌクレオチド配列（例えばFHR3をコードする遺伝子によってコードされるRNAのヌクレオチド配列、またはFHR3をコードするRNAのヌクレオチド配列）であるターゲットヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはコードしてもよい。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR3をコードするRNAのエクソンの1つまたはそれより多いヌクレオチドを含む（例えば、FHR3をコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である）。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号220のヌクレオチド配列（例えば配列番号220の661位および2934位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列、配列番号220の661位および843位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列、または配列番号220の844位および2934位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列）である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号161、162、163、166、174、175または176であるかまたはこれらを含む。いくつかの態様において、阻害性核酸は、配列番号161、162、163、166、174、175または176の逆相補体に少なくとも75%の配列同一性（例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ）を有する配列を含むかまたはこれらからなるアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはこれらをコードしてもよい。いくつかの態様において、阻害性核酸は、配列番号181、182、183、186、194、195または196に少なくとも75%の配列同一性（例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ）を有する配列を含むかまたはこれらからなるアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはこれらをコードしてもよい。

10

20

【0163】

FHR4の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害することが望ましい態様において、阻害性核酸は、FHR4をコードするヌクレオチド配列（例えばFHR4をコードする遺伝子によってコードされるRNAのヌクレオチド配列、またはFHR4をコードするRNAのヌクレオチド配列）であるターゲットヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはコードしてもよい。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR4をコードするRNAのエクソンの1つまたはそれより多いヌクレオチドを含む（例えば、FHR4をコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である）。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号221のヌクレオチド配列（例えば配列番号221の1位および157位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列、配列番号221の716位および898位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列、配列番号221の1280位および1456位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列、配列番号221の1457位および2063位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列、または配列番号221の1457位および1639位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列）である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号162、164、165、166または177であるかまたはこれらを含む。いくつかの態様において、阻害性核酸は、配列番号162、164、165、166または177の逆相補体に少なくとも75%の配列同一性（例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ）を有する配列を含むかまたはこれらからなるアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはこれらをコードしても

30

40

50

よい。いくつかの態様において、阻害性核酸は、配列番号182、184、185、186または197に少なくとも75%の配列同一性（例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ）を有する配列を含むかまたはこれらからなるアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはこれらをコードしてもよい。

【0164】

FHR5の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害することが望ましい態様において、阻害性核酸は、FHR5をコードするヌクレオチド配列（例えばFHR5をコードする遺伝子によってコードされるRNAのヌクレオチド配列、またはFHR5をコードするRNAのヌクレオチド配列）であるターゲットヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはコードしてもよい。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR5をコードするRNAのエクソンの1つまたはそれより多いヌクレオチドを含む（例えば、FHR5をコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である）。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号222のヌクレオチド配列（例えば配列番号222の363位および539位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列、または配列番号222の1623位および2814位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列）である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号167または168であるかまたはこれらを含む。いくつかの態様において、阻害性核酸は、配列番号167または168の逆相補体に少なくとも75%の配列同一性（例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ）を有する配列を含むかまたはこれらからなるアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはこれらをコードしてもよい。いくつかの態様において、阻害性核酸は、配列番号187または188に少なくとも75%の配列同一性（例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ）を有する配列を含むかまたはこれらからなるアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはこれらをコードしてもよい。

【0165】

FHおよび／またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害することが望ましい態様において、阻害性核酸は、FHおよび／またはFHL-1をコードするヌクレオチド配列（例えばFHおよび／またはFHL-1をコードする遺伝子によってコードされるRNAのヌクレオチド配列、またはFHおよび／またはFHL-1をコードするRNAのヌクレオチド配列）であるターゲットヌクレオチド配列を有するアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはコードしてもよい。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHおよび／またはFHL-1をコードするRNAのエクソンの1つまたはそれより多いヌクレオチドを含む（例えば、FHおよび／またはFHL-1をコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である）。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号223のヌクレオチド配列（例えば配列番号223の3386位および3568位の間（両端を含む）のヌクレオチド配列）である。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、配列番号169、170、171または172であるかまたはこれらを含む。いくつかの態様において、阻害性核酸は、配列番号169、170、171または172の逆相補体に少なくとも75%の配列同一性（例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一

10

20

30

40

50

性の1つ)を有する配列を含むかまたはこれらからなるアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはこれらをコードしてもよい。いくつかの態様において、阻害性核酸は、配列番号189、190、191または192に少なくとも75%の配列同一性(例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ)を有する配列を含むかまたはこれらからなるアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはこれらをコードしてもよい。

【0166】

いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、FHR1のみの遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害し、すなわち該剤は、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHまたはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、FHR2のみの遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害し、すなわち該剤は、FHR1、FHR3、FHR4、FHR5、FHまたはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、FHR3のみの遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害し、すなわち該剤は、FHR1、FHR2、FHR4、FHR5、FHまたはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、FHR4のみの遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害し、すなわち該剤は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR5、FHまたはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、FHR5のみの遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害し、すなわち該剤は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHまたはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、FHのみの遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害し、すなわち該剤は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、FHL-1のみの遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害し、すなわち該剤は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、またはFHの遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、FHおよびFHL-1のみの遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害し、すなわち該剤は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4またはFHR5の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。

【0167】

いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害し、阻害されるタンパク質は、FHおよび／またはFHL-1ではない。すなわち、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、および／またはFHR5より選択される1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害するが、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。いくつかの場合、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、およびFHR5の各々の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害するが、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。

【0168】

いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質(例えばFHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1)の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害するが、FHR1の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。いくつかの態様において

、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1）の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害するが、FHR2の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1）の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害するが、FHR3の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR5、FHおよび／またはFHL-1）の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害するが、FHR4の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHおよび／またはFHL-1）の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害するが、FHR5の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。

10

【0169】

いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1）の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害するが、FHR1またはFHR3の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質（例えばFHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび／またはFHL-1）の遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害するが、FHR3またはFHの遺伝子および／またはタンパク質発現を阻害しない。

20

【0170】

いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR4をコードするmRNA配列である（チミン（T）をウラシル（U）で置換）配列番号221のヌクレオチド配列ではない。

【0171】

いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR1をコードするmRNA配列である（チミン（T）をウラシル（U）で置換）配列番号218のヌクレオチド配列ではない。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR2をコードするmRNA配列である（チミン（T）をウラシル（U）で置換）配列番号219のヌクレオチド配列ではない。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR3をコードするmRNA配列である（チミン（T）をウラシル（U）で置換）配列番号220のヌクレオチド配列ではない。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHR5をコードするmRNA配列である（チミン（T）をウラシル（U）で置換）配列番号222のヌクレオチド配列ではない。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、FHをコードするmRNA配列である（チミン（T）をウラシル（U）で置換）配列番号223のヌクレオチド配列ではない。

30

40

【0172】

いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、その全体が本明細書に援用される、WO 2007/144621、WO 2019/051443、WO 2006/088950、またはWO 2012/112955のいずれか1つに開示される配列に、実質的な配列同一性を所持しない。

【0173】

いくつかの態様において、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸は、WO 2007/144621、WO 2019/051443、WO 2006/088950、またはWO 2012/112955のいずれか1つに開示される配列（例えば、WO 2007/144621に開示される配列番号3、4または5、あるいはWO 2019/05

50

1443に開示される配列番号1、2、16、17または18)に97%未満、95%未満、90%未満、85%未満、80%未満、75%未満、70%未満、65%未満、60%未満、55%未満、50%未満、45%未満、40%未満、35%未満、30%未満、25%未満、または20%未満の配列同一性を有する配列を含むかまたはこうした配列からなる。

【0174】

いくつかの態様において、阻害性核酸は：s i R N A、m i R N A、s h R N A、プリm i R N A、プレm i R N A、s a R N A、s n o R N A、またはアンチセンスオリゴヌクレオチド（例えばギャップマー）、あるいはこれらをコードする核酸より選択される。いくつかの態様において、阻害性核酸は：s i R N A、m i R N A、s h R N Aより選択される。いくつかの態様において、阻害性核酸はs i R N Aである。

10

【0175】

いくつかの態様において、阻害性核酸は、より大きな核酸種の一部として、本明細書記載のアンチセンス核酸を含んでもよい。例えば、いくつかの態様において、阻害性核酸は、本明細書記載のアンチセンス核酸を含む、s i R N A、m i R N A、s h R N A、プリm i R N A、プレm i R N A、s a R N A、またはs n o R N Aであってもよい。

【0176】

いくつかの態様において、阻害性核酸は、小分子干渉RNA (s i R N A) である。本明細書で用いられる際、「s i R N A」は、ターゲットRNAのターゲティング分解のためのRNA干渉(RNA i)経路に関与することが可能な、17~30（例えば20~27）塩基対の間の長さを有する二本鎖RNA分子を指す。二本鎖s i R N A分子は、高い相補性を有するRNA鎖の核酸複合体として形成されてもよい。いくつかの態様において、s i R N A分子は、例えば1つまたは2つのヌクレオチドを含むシンメトリック3'オーバーハング（例えば「UU」3'オーバーハング）を含む。ターゲットヌクレオチド配列に相補性を有するs i R N A分子の鎖（すなわちアンチセンス核酸）は、ガイドRNAと称され、そしてもう一方の鎖は、パッセンジャー鎖と称される。s i R N Aの構造および機能は、例えば、KimおよびRossi, Biotechniques, 2008 Apr; 44(5): 613-616に記載される。いくつかの態様において、阻害性核酸は、s i R N Aのガイドおよびパッセンジャー鎖を含む。

20

【0177】

いくつかの態様において、本開示の阻害性核酸は、表12のA列中の配列番号に少なくとも75%の配列同一性（例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ）を有する配列、および表12のB列中の配列番号に少なくとも75%の配列同一性（例えば少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性の1つ）を有する配列を含むかまたはそれらからなる。いくつかの場合、A列由来の配列およびB列由来の配列は、表12の同じ行に提供される。

30

40

【0178】

いくつかの態様において、本開示記載のs i R N Aのガイド鎖は、本明細書記載のアンチセンス核酸の態様記載のアンチセンス核酸（例えば配列番号178~197の1つまたはそれより多くに少なくとも70%の配列同一性を有する配列）を含んでもよいしまたはこれらからなってもよい。

【0179】

いくつかの態様において、阻害性核酸はマイクロRNA (m i R N A)、またはその前駆体（例えばプリm i R N Aまたはプレm i R N A）である。m i R N A分子は類似の構造を有するが、内因性にコードされ、そして小分子ヘアピンRNA分子のプロセッシングか

50

ら得られる。これらは、元来、長い一次転写物（プリmiRNA）として発現され、これが核内で60～70ヌクレオチドのヘアピン（プレmiRNA）にプロセシングされて、細胞質中で、RISCおよびターゲットmRNAと相互作用する小分子二本鎖核酸にさらにプロセシングされる。miRNAは、ターゲットmRNAに結合するために必須である「シード配列」を含む。「シード配列」は、通常、6ヌクレオチドを含み、そしてmiRNA 5'端の2～7位に位置する。

【0180】

いくつかの態様において、阻害性核酸は、小分子ヘアピンRNA（shRNA）である。shRNA分子は、相補性塩基対形成を通じて互いに会合してヘアピン中のステム領域を形成する、高い度合いの相補性を有するヌクレオチドの配列を含む。高い度合いの相補性を有するヌクレオチドの配列は、ヘアピン中のループ領域を形成する1つまたはそれより多いヌクレオチドによって連結されてもよい。shRNA分子は、（例えばDicerによる触媒性切断を通じて）プロセシングされて、siRNAまたはmiRNA分子を形成してもよい。shRNAは、35～100（例えば40～70）ヌクレオチドの間の長さを有してもよい。ヘアピンのステム領域は、17～30（例えば20～27）塩基対の間の長さを有してもよい。ステム領域は、ヘアピン構造を安定化させるG-U対形成を含んでもよい。

【0181】

いくつかの態様において、阻害性核酸は、ダイサー小分子干渉RNA（dsRNA）である。本明細書で用いられる際、「dsRNA」は、～27塩基対の長さを有する二本鎖RNA分子を指し、この分子は、ダイサーによって、ターゲットRNAのRNAi仲介性分解のためのsiRNAにプロセシングされる。dsRNAは、例えば、その全体が本明細書に援用される、Rajara, Asian J Pharm Sci. (2019) 14 (5): 497-510に記載される。dsRNAは、ダイサープロセシングのために最適化され、そして21量体siRNAと比較して増加した強度を有する可能性があり（例えば、Kimら, Nat Biotechnol. (2005) 23 (2): 222-226を参照されたい）、これは、ダイサー仲介性ヌクレアーゼ活性およびRISC装填の間の連結に関連しうる。

【0182】

1つまたはそれより多い所定のターゲット遺伝子／タンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現のターゲティング阻害のためのsiRNA、dsRNA、miRNAおよびshRNAを、原理にしたがって、および／または当業者に周知のツールを用いて、同定／設計してもよい。siRNAおよびshRNA分子を設計するためのパラメータおよびツールは、例えば、Fakhrら, Cancer Gene Therapy (2016) 23: 73-82（その全体が本明細書に援用される）に記載される。こうした分子の設計のため、当業者に用いられてもよいソフトウェアは、Fakhrら, Cancer Gene Therapy (2016) 23: 73-82の表1に要約され、そしてこれには、例えばsiRNA Wizard (InvivoGen)が含まれる。こうした分子を作製するための詳細は、Ambion、Dharmacon、GenScript、InvitrogenおよびOligoEngineなどの商業的供給業者のウェブサイトで見られうる。

【0183】

いくつかの態様において、阻害性核酸は、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）である。ASOは、ターゲットヌクレオチド配列に対するアンチセンス核酸を含むかまたはこうした核酸からなる一本鎖核酸分子である。本開示記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、本明細書に記載されるようなアンチセンス核酸を含んでもよいしまたはこうしたアンチセンス核酸からなってもよい。ASOは、スプライシングを改変することによって、またはRNアーゼHを補充して、ターゲットヌクレオチド配列を含むRNAを分解することによって、そのターゲットヌクレオチド配列を含むRNA分子の発現を修飾してもよい。RNアーゼHは、ASOが、そのターゲットヌクレオチド配列を含むRNAに結合

した際に形成される核酸複合体分子を認識する。本開示記載のASOは、本開示記載のアンチセンス核酸を含んでもよいし、またはこうしたアンチセンス核酸からなってもよい。ASOは、長さ17～30ヌクレオチドを含んでもよい。多くのASOは、異なる化学を伴う塩基の混合物を含むキメラとして、または修飾塩基の「ウィング」に囲まれた中央DNA部分を含むギャップマーとして、設計される。ASOは、例えば、Scoplesら、Neurol Genet. 2019 Apr; 5(2): e323に記載される。ASOは、時に、RNアーゼH分解を減少させる／防止するため、糖-リン酸主鎖への改変、例えばホスホロチオエート連結、ホスホロジアミデート連結、例えばホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)を含み、そしてペプチド核酸(PNA)、ロックト核酸(LNA)、メトキシエチルヌクレオチド修飾、例えば2'-O-メチル(2'-OMe)および2'-O-メトキシエチル(MOE)リボース修飾および／または5'-メチルシトシン修飾を含んでもよい。

【0184】

本開示記載の阻害性核酸は、例えばホスホネートおよび／またはリボースおよび／または塩基が化学的に修飾されている、化学修飾ヌクレオチド酸(nucleotide acid)を含んでもよい。こうした修飾は、核酸の活性、特異性および／または安定性に影響を及ぼしうる。阻害性核酸の1つまたはそれより多い(例えば1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30またはすべての1つ)ヌクレオチドが、こうした化学修飾を含んでもよい。

【0185】

本開示記載の阻害性核酸にしたがって意図される修飾には、(その全体が本明細書に援用される)Huら、Sig. Transduc. Tar. Ther. (2020) 5(101)に記載されるもの、特にHuら、Sig. Transduc. Tar. Ther. (2020) 5(101)の図2に示されるものが含まれる。本開示記載の阻害性核酸にしたがって意図されるさらなる修飾には、(その全体が本明細書に援用される)Selvamら、Chem Biol Drug Des. (2017) 90(5): 665-678に記載されるものが含まれる。

【0186】

いくつかの態様において、本開示記載の阻害性核酸は：ホスホロチオエート(例えばRp異性体、Sp異性体)、ホスホロジチオエート、メチルホスホネート、メトキシプロピルホスホネート、5'-(E)-ビニルホスホネート、5'-メチルホスホネート、リン酸を伴う(S)-5'-C-メチル、5'-ホスホロチオエート、およびペプチド核酸より選択されるホスホネート修飾を含む。

【0187】

いくつかの態様において、本開示記載の阻害性核酸は：2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチル、2'-フルオロ、2'-デオキシ-2'-フルオロ、2'-メトキシエチル、2'-O-アルキル、2'-O-アリル、2'-C-アリル、2'-デオキシ、2'-ヒドロキシル、2'-アラビノフルオロ、2'-O-ベンジル、2'-O-メチル-4-ピリジン、ロックト核酸、(S)-cEt-BNA、トリシクロ-DNA、PMO、アンロックト核酸、ヘキシトール核酸、およびグリコール核酸より選択されるリボース修飾を含む。

【0188】

いくつかの態様において、本開示記載の阻害性核酸は：プソイドウリジン、2'-チオウリジン、N6'-メチルアデノシン、5'-メチルシチジン、5'-フルオロ-2'-デオキシウリジン、N-エチルピペリジン7'-EAAトリアゾール修飾アデノシン、N-エチルピペリジン6'-トリアゾール修飾アデノシン、6'-フェニルピロロ-シトシン、2'、4'-ジフルオロトルイルリボヌクレオチドおよび5'-ニトロインドールより選択される塩基修飾を含む。

【0189】

いくつかの態様において、本開示記載の阻害性核酸は、関心対象の細胞タイプまたは組

10

20

30

40

50

織への送達、および／またはこれらによる取り込みを促進する部分を取り込むための修飾を含む。関心対象の細胞タイプおよび／または組織へのターゲティング送達を促進するための核酸に対する修飾は、例えば、その全体が本明細書に援用される、Lorenzera, J Control Release (2015) 203:1-15に記載される。
【0190】

いくつかの態様において、本開示記載の阻害性核酸は、肝臓細胞または肝組織への送達、および／またはこれらによる取り込みを促進する部分を取り込むための修飾を含む。

いくつかの態様において、阻害性核酸は、N-アセチルガラクトサミン (GalNAc) にコンジュゲート化される。GalNAcは、肝細胞によって発現されるアシアロ糖タンパク質受容体 (ASGPR) と相互作用する。GalNAcにコンジュゲート化された核酸は、GalNAcのASGPRへの結合後、受容体仲介性エンドサイトーシスを通じて、肝細胞によって効率的に内在化される (例えば、Nairら, J. Am. Chem. Soc. (2014) 136(49): 16958-16961を参照されたい)。いくつかの態様において、阻害性核酸は、1つまたはそれより多い (例えば1、2、3、4またはそれより多い) GalNAc部分にコンジュゲート化される。いくつかの態様において、1つまたはそれより多いGalNAc部分は、阻害性核酸の鎖の5' または3' 端に共有結合してもよい。

【0191】

いくつかの態様において、阻害性核酸は、 α -トコフェロール (すなわちビタミンE) にコンジュゲート化される。核酸- α -トコフェロールコンジュゲートは、肝臓への阻害性核酸のターゲティング送達のために使用されてきている (例えば、Nishinara, Mol Ther. (2008) 16(4): 734-740を参照されたい)。いくつかの態様において、阻害性核酸は、1つまたはそれより多い (例えば1、2、3、4またはそれより多い) α -トコフェロール部分にコンジュゲート化される。いくつかの態様において、1つまたはそれより多い α -トコフェロール部分は、阻害性核酸の鎖の5' または3' 端に共有結合してもよい。

【0192】

阻害性核酸が本明細書に記載されるような化学修飾を含むヌクレオチドを含む態様において、ヌクレオチド配列は、にもかかわらず、同等の非修飾ヌクレオチドがその代わりに存在するかのように、本開示にしたがって配列比較の目的のため評価される。修飾リン酸基を含むヌクレオチドを含む核酸は、核酸が非修飾リン酸基を含むヌクレオチドのみを含むかのように、ヌクレオチド配列比較の目的のため評価される。修飾リボース基を含むヌクレオチドを含む核酸は、核酸が非修飾リボース基を含むヌクレオチドのみを含むかのように、ヌクレオチド配列比較のため評価される。

【0193】

修飾塩基基を含むヌクレオチドを含む核酸は、それぞれの修飾塩基が非修飾であるかのように、ヌクレオチド配列比較のため評価される。例えば、プソイドウリジン、2-チオウリジンおよび／または5'-フルオロ-2'-デオキシウリジンを含むヌクレオチドを含む核酸は、代わりに、ウリジンを含むヌクレオチドが、そのそれぞれの位で存在するかのように、ヌクレオチド配列比較のため評価される。例えば、N6'-メチルアデノシン、N-エチルピペリジン7'-EAAトリアゾール修飾アデニンおよび／またはN-エチルピペリジン6'-トリアゾール修飾アデニンを含むヌクレオチドを含む核酸は、代わりに、アデニンを含むヌクレオチドが、そのそれぞれの位で存在するかのように、ヌクレオチド配列比較のため評価される。例えば、5'-メチルシチジンおよび／または6'-フェニルピロロシトシンを含むヌクレオチドを含む核酸は、代わりに、シトシンを含むヌクレオチドが、そのそれぞれの位で存在するかのように、ヌクレオチド配列比較のため評価される。

【0194】

阻害性核酸は、例えばベクター内に含まれる核酸配列の転写によって、組換え的に作製されてもよい。転写は、細胞不含転写反応において、または阻害性核酸をコードする核酸

を含む細胞において、行われてもよい。いくつかの態様において、阻害性核酸は、細胞内で、例えばベクターからの転写によって産生される。こうした分子をコードするベクターを、当該技術分野に知られる任意の方法で、細胞内に導入してもよい。任意選択で、核酸の発現は、細胞（例えば肝臓細胞）特異的プロモーターを用いて制御されてもよい。

【0195】

例えば、shRNA分子は、ベクターからの転写によって細胞内で産生されてもよい。shRNAは、RNAポリメラーゼプロモーターの調節下で、shRNA配列をコードするベクターで、細胞をトランスフェクションすることによって、細胞内で産生されてもよい。

【0196】

阻害性核酸はまた、当該技術分野に周知である標準固相または溶液相合成を用いて合成されてもよい。固相合成は、ホスホラミダイト化学を用いてもよい。簡潔には、固体支持ヌクレオチドを脱トリチル化してもよく、次いで、適切に活性化されたヌクレオシドホスホラミダイトとカップリングして、ホスファイトトリエステル連結を形成してもよい。次いで、キャッピングを行ってもよく、その後、オキシダント、典型的にはヨウ素で、ホスファイトトリエステルの酸化を行ってもよい。次いで、サイクルを反復して、ポリヌクレオチドを得てもよい。

【0197】

ゲノム編集ツールおよび関連物品

本開示の側面および態様は、周知の遺伝子編集ツールまたは系であるかまたはこれらを含む剤に関する。本明細書で用いられる際、「ゲノム／遺伝子編集ツール」または「ゲノム／遺伝子編集系」は、1つまたはそれより多い所定のターゲット遺伝子／タンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるかまたは防止することが可能なツールまたは系を指す。

【0198】

ゲノム編集ツール／系は、ヌクレアーゼ、すなわちヌクレアーゼ活性を所持するポリペプチドを含んでもよい。ヌクレアーゼは、例えば、その全体が本明細書に援用される、Yang, Q Rev Biophys. 2011 Feb; 44 (1) : 1-93に概説される。ヌクレアーゼは、作用するターゲット核酸の領域に応じて、エンドヌクレアーゼおよびエキソヌクレアーゼに広く分けられ；エンドヌクレアーゼはターゲット核酸内の領域に作用する一方、エキソヌクレアーゼは、ターゲット核酸の5'および3'端の一方または両方から核酸を消化する。

【0199】

遺伝子編集ツール／系のためのターゲット配列は、本明細書の上記に記載される。本明細書記載のヌクレアーゼは、DNA、RNA、またはDNAおよびRNAの両方に作用してもよい。DNAに作用するヌクレアーゼは、デオキシリボヌクレアーゼ（DNアーゼ）活性を有すると称されうる。こうしたヌクレアーゼをDNアーゼと称してもよい。RNAに作用するヌクレアーゼは、リボヌクレアーゼ（RNアーゼ）活性を有すると称されうる。こうしたヌクレアーゼをRNアーゼと称してもよい。

【0200】

本明細書記載の剤のためのターゲット配列は、配列番号218、219、220、221、222および／または223のすべてまたは一部を含んでもよい。

本明細書記載のヌクレアーゼは、一本鎖または二本鎖核酸基質、あるいは両方を切断可能であってもよい。一本鎖核酸分子に作用するヌクレアーゼは、一本鎖ヌクレアーゼ活性を有すると称されうる。こうしたヌクレアーゼを一本鎖ヌクレアーゼと称してもよい。二本鎖核酸分子に作用するヌクレアーゼは、二本鎖ヌクレアーゼ活性を有すると称されうる。こうしたヌクレアーゼを二本鎖ヌクレアーゼと称してもよい。

【0201】

いくつかのヌクレアーゼは、非特異的方式でその基質核酸に作用する。いくつかのヌクレアーゼは、部位特異的であり、所定の構造（単数または複数）（構造特異的）または核

10

20

30

40

50

酸配列（単数または複数）（配列特異的）の認識に基づいて、基質核酸の特定の単数または複数の領域にターゲティングされたヌクレアーゼ活性を有する。いくつかのヌクレアーゼは、基質核酸の特定の構造（単数または複数）／配列（単数または複数）にターゲティングされてもよい。こうしたヌクレアーゼは、「ターゲティング可能」、「プログラム可能」、または「部位特異的ヌクレアーゼ」（SSN）と称されうる。ターゲティング可能ヌクレアーゼは、例えば、その全体が本明細書に援用される、Carroll, Annu Rev Biochem. (2014) 83:409-39に概説される。

【0202】

ガイド化ヌクレアーゼは、基質核酸によって形成される特定の構造、および／または基質核酸の配列に、ガイド化されたヌクレアーゼを方向付けるガイド核酸分子を使用する。ガイド核酸は、ガイド核酸のヌクレオチドおよび基質核酸のヌクレオチドの間の相補的塩基対形成を通じて、ヌクレアーゼを基質核酸の特定の単数または複数の領域にターゲティングしうる。核酸ガイド化ヌクレアーゼは、RNAガイド（RNAガイド化ヌクレアーゼ）、DNA（DNAガイド化ヌクレアーゼ）、またはRNAおよびDNAガイドの両方を用いてもよい。

【0203】

部位特異的ヌクレアーゼ（SSN）を用いた遺伝子編集は、例えば、その全体が本明細書に援用される、EidおよびMahfouz, Exp Mol Med. 2016 Oct; 48(10): e265に概説される。部位特異的二本鎖切断（DSB）を生成可能な酵素は、関心対象のターゲット核酸配列（単数または複数）に、DSBを導入するよう操作されてもよい。DSBは、しばしば、ヌクレオチドの挿入または欠失を伴い、切断部の2つの端が再連結される、エラープローン非相同末端連結（NHEJ）のいずれかによって修復されてもよい。あるいは、DSBは、切断部位に相同な端を持つDNAテンプレートが供給され、そしてDSBの部位で導入される、高相同性指示修復（HDR）によって修復されてもよい。

【0204】

ターゲット核酸配列特異的DSBを生成するように操作されることが可能なSSNには、ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ZFN）、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（TALEN）およびクラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート／CRISPR関連9（CRISPR／Cas9）系が含まれる。

【0205】

ZFN系は、例えば、その全体が本明細書に援用される、Umovら, Nat Rev Genet. (2010) 11(9): 636-46に概説される。ZFNは、プログラム可能ジンクフィンガーDNA結合ドメインおよびDNA切断ドメイン（例えばFokIエンドヌクレアーゼドメイン）を含む。DNA結合ドメインは、ターゲット核酸配列への結合を可能にするジンクフィンガーアレイをスクリーニングすることによって、同定されてもよい。

【0206】

TALEN系は、例えば、その全体が本明細書に援用される、Mahfouzら, Plant Biotechnol J. (2014) 12(8): 1006-14に概説される。TALENは、プログラム可能DNA結合TALEDドメインおよびDNA切断ドメイン（例えばFokIエンドヌクレアーゼドメイン）を含む。TALEは33～39アミノ酸のリピートからなるリピートドメインを含み、これはリピート可変二残基（RVD）である各リピートの12位および13位の2つの残基を除いて同一である。各RVDは、以下の関係にしたがって、ターゲットDNA配列中のヌクレオチドへの、リピートの結合を決定する：「HD」はCに結合し、「NI」はAに結合し、「NG」はTに結合し、そして「NN」または「NK」はGに結合する（MoscouおよびBogdanov, Science (2009) 326(5959): 1501）。

【0207】

CRISPR／Cas9および関連系、例えばCRISPR／Cpf1、CRISPR

10

20

30

40

50

／C2c1、CRISPR／C2c2およびCRISPR／C2c3は、例えば、その全体が本明細書に援用される、Nakadeら, Bioengineered (2017) 8(3):265-273に概説される。これらの系は、エンドヌクレアーゼ（例えばCas9、Cpf1等）および一本鎖ガイドRNA（sgRNA）分子を含む。sgRNAは、関心対象の核酸配列にエンドヌクレアーゼ活性をターゲティングするように操作されてもよい。

【0208】

ゲノム操作のための他のターゲティングアプローチ、例えばメガヌクレアーゼは、その全体が本明細書に援用される、Silvaら, Curr Gene Ther. 2011 Feb; 11(1):11-27に概説される。

10

【0209】

いくつかの態様において、本開示記載の1つまたはそれより多いH因子ファミリー遺伝子／タンパク質の発現を減少させるためのゲノム編集系は：ZFN系、TALEN系、CRISPR／Cas系、CRISPR／Cas9系、CRISPR／Cpf1系、CRISPR／C2c1系、CRISPR／C2c2系、CRISPR／C2c3系、またはメガヌクレアーゼより選択される。

【0210】

いくつかの態様において、本明細書記載の剤として使用するためのCRISPR／Cas系は、Casヌクレアーゼ、crisprRNA（crRNAまたはガイドRNA（gRNA））およびトランス活性化crRNA（trRNAまたはtracrRNA）を含む。この系では、crRNAがターゲットDNAに相補的な配列を含み、そしてゲノム中のターゲット部位にCasヌクレアーゼを導くように働き、そしてtracrRNAが、Cas活性に必要なCasヌクレアーゼの結合足場として働く。いくつかの態様において、CRISPR／Cas系はガイドRNA（gRNA）を含む。

20

【0211】

いくつかの態様において、本明細書記載のCRISPR／Casゲノム編集系は、Casヌクレアーゼ、およびCasヌクレアーゼをターゲット遺伝子中のターゲット部位に導く、単一ガイドRNA（sgRNA）を含む。sgRNAは、単一核酸中で、足場tracrRNAに融合されたターゲット特異的crRNAを含む。

【0212】

いくつかの態様において、本明細書記載のcrRNA、gRNA、またはsgRNAは、配列番号224～配列番号227記載の配列を含むかまたはこれらからなる。いくつかの態様において、本明細書記載のcrRNA、gRNA、またはsgRNAは、配列番号224～配列番号227に少なくとも60%、例えば少なくとも65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列同一性の1つを有する配列を含むかまたはこうした配列からなる。

30

【0213】

いくつかの態様において、本明細書記載のcrRNA、gRNA、またはsgRNAは、配列番号224に少なくとも60%、例えば少なくとも65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列同一性の1つを有する配列を含むかまたはこうした配列からなり、そして例えばCRISPR／Cas系で使用された際、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5の1つまたはそれより多くの遺伝子発現を減少させるかまたは防止する。いくつかの場合、前記CRISPR／Cas系は、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子発現を減少させず、または防止しない。

40

【0214】

いくつかの態様において、本明細書記載のcrRNA、gRNA、またはsgRNAは、配列番号225、226、または227に少なくとも60%、例えば少なくとも65%

50

、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列同一性の1つを有する配列を含むかまたはこうした配列からなり、そして例えばCRISPR/Cas系で使用された際、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5の1つまたはそれより多くの遺伝子発現を減少させるかまたは防止する。いくつかの場合、前記CRISPR/Cas系は、FHおよび／またはFHL-1の遺伝子発現を減少させず、または防止しない。

【0215】

CRISPR/Cas系において使用するために適したガイドRNAの設計は、公的に、例えばハーバード大学 (<http://chopchop.cbu.uib.no/>)、Synthego (<https://design.synthego.com/#/>)、またはIntegrated DNA Technologies (https://eu.idtdna.com/site/order/designtool/index/CRISPR_PREDESIGN) から入手可能なソフトウェアプラットフォームを用いて、十分に当業者のルーチンの実施内である。

【0216】

CRISPR/Cas系は、遺伝子サイレンシングにおける使用のために適応されている。例えば、いくつかの態様において、核酸は、転写リプレッサーに融合されたCasタンパク質またはペプチドを含む、融合タンパク質をコードしてもよい。いくつかの態様において、Casタンパク質は触媒的に不活性 (dead) である。融合タンパク質は、sgRNAまたはcrRNAのいずれによってゲノム中の関心対象の部位に導かれてもよい。関心対象の部位に融合タンパク質が結合すると、転写リプレッサーが、関心対象の遺伝子の発現を減少させる。

【0217】

CRISPR/Cas系はまた、例えば塩基編集技術またはプライム編集技術を用いて、ターゲット核酸配列、例えばゲノムDNA内にターゲティング修飾を導入するために使用されてもよい。塩基編集および塩基エディター (すなわち「塩基編集」活性を所持するポリペプチド) は、例えば、その全体が本明細書に援用される、ReesおよびLiu Nat Rev Genet (2018) 19(12): 770-788 (ReesおよびLiu, Nat Rev Genet (2018) 19:801にしたがって改訂) に記載される。

【0218】

これは、例えば、その全体が本明細書に援用される、WO2017070633A2に開示されるように、塩基エディター、例えばアデニン塩基エディターまたはシチジン塩基エディター、例えばシチジンデアミナーゼに融合されたCasタンパク質を用いて達成されてもよい。シチジンデアミナーゼには、例えば、CDA、APOBEC1、APOBEC1 (W90Y/R126E)、APOBEC1 (W90Y/R132E)、APOBEC1 (R126E/R132E)、APOBEC1 (W90Y/R126E/R132E)、CDA1、APOBEC3A、APOBEC3A (N37G)、AID、AID (P182X) およびAIDΔが含まれる。アデニン塩基エディターには、例えば、アデノシンからイノシンへの変換を触媒するアデニンデアミナーゼが含まれる。アデノシンデアミナーゼには、例えばTadAおよびその変異体が含まれる。

【0219】

例えば、CRISPR/Cas系は、プライム編集系であってもよい。こうしたプライム編集系には、融合タンパク質を用いてもよい。例えば、融合タンパク質は、触媒的に損なわれたCasドメイン (例えば「ニッカーゼ」) および逆転写酵素を含んでもよい。触媒的に損なわれたCasドメインは、DNAの単一の鎖を切断して、ニックDNA二重鎖を産生することが可能であってもよい。プライム編集系には、プライマー結合部位および逆転写酵素テンプレート配列を含む、伸長sgRNAを含む、プライム編集ガイドRNA (pegRNA) が含まれてもよい。触媒的に損なわれたCasによってDNA二重鎖が

ニック処理されると、プライマー結合部位は、ニックDNA鎖の3'端がpegRNAにハイブリダイズすることを可能にし、一方、RTテンプレートは編集された遺伝情報の合成のためのテンプレートとして働く。

【0220】

本発明の剤をコードするおよび／または送達する物品

本開示は、本開示記載の剤を含むかまたはコードする、例えば阻害性核酸または遺伝子編集系／複合体の少なくとも一部をコードする核酸を提供する。いくつかの態様において、剤を含むかまたはコードする核酸は、DNAおよび／またはRNAを含むかまたはこれらからなる。

【0221】

核酸は、Casタンパク質またはペプチド、例えばCas9タンパク質またはペプチドをコードするDNAまたはmRNA配列を含んでもよい。いくつかの態様において、核酸は、sgRNA（例えば本明細書に記載されるようなもの）を含む。いくつかの態様において、核酸は、crRNA（gRNA）および／またはtracrRNAを含む。いくつかの態様において、核酸は、Casタンパク質またはペプチド、crRNAおよびtracrRNAをコードするDNAまたはmRNAを含む。いくつかの態様において、核酸は、Casタンパク質またはペプチドおよびcrRNA（gRNA）および／またはtracrRNAをコードするDNAまたはmRNAを含む。いくつかの態様において、核酸は、Casタンパク質またはペプチドおよびsgRNAをコードするDNAまたはmRNAを含む。

【0222】

本開示はまた、本開示記載の剤を含むかまたはコードする核酸を含むベクターも提供する。

本開示記載の核酸およびベクターは、精製または単離型、すなわち他の核酸からの精製または単離型、あるいは天然存在生物学的物質中で提供されてもよい。

【0223】

本開示記載の剤を含むかまたはコードする核酸のヌクレオチド配列は、ベクター、例えば発現ベクター中に含有されてもよい。「ベクター」は、本明細書で用いられる際、細胞内に外因性核酸をトランスファーするためのビヒクルとして用いられる核酸分子である。ベクターは、細胞中で核酸を発現させるためのベクターであってもよい。こうしたベクターには、発現しようとする配列をコードするヌクレオチド配列に機能可能であるように連結されたプロモーター配列が含まれてもよい。ベクターにはまた、終結コドンおよび発現エンハンサーも含まれてもよい。ベクターには、制御要素、例えばポリアデニル化部位が含まれてもよい。当該技術分野に知られる任意の適切なベクター、プロモーター、エンハンサーおよび終結コドンを用いて、本開示記載のベクターから核酸を発現してもよい。

【0224】

用語「機能可能であるように連結された」には、選択された核酸配列および制御核酸配列（例えばプロモーターおよび／またはエンハンサー）が、制御配列の影響または調節下で核酸配列の発現を実施する様式で共有連結される（それによって発現カセットを形成する）状況が含まれる。したがって、制御配列が核酸配列の転写を達成可能である場合、制御配列は、選択された核酸配列に機能可能であるように連結されている。

【0225】

適切なベクターには、プラスミド、バイナリーベクター、DNAベクター、mRNAベクター、ウイルスベクター（例えばガンマレトロウイルスベクター（例えばネズミ白血病ウイルス（MLV）由来ベクター）、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクター、ワクシニアウイルスベクターおよびヘルペスウイルスベクター）、トランスポゾンに基づくベクター、および人工染色体（例えば酵母人工染色体）、例えばどちらも、その全体が本明細書に援用される、Mausら、Annu Rev Immunol（2014）32：189-225またはMorganおよびBoyerinas、Biomedicines 2016 4，9に記載

されるようなものが含まれる。いくつかの態様において、レンチウイルスベクターは p E L N S であってもよいし、または p E L N S に由来してもよい。いくつかの態様において、ベクターは、C R I S P R / C a s 9 をコードするベクターであってもよい。いくつかの態様において、アデノ随伴ウイルス (A A V) ベクターは、A A V 血清型 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 または 11、あるいはそのハイブリッドおよび／または突然変異体より選択される。いくつかの態様において、A A V ベクターは、A A V 血清型 2 (A A V - 2) ベクター、あるいはそのハイブリッドおよび／または突然変異体である。

【0226】

細胞内に遺伝物質を導入するためのウイルスおよび非ウイルス送達系は、例えば、その全体が本明細書に援用される、Nayerossadatra, Adv Biomed Res. 2012; 1: 27; MacLarenら Ophthalmology. 2016, 123 (10 Suppl): S98-S106; Petit および Punzo, Discov Med. 2016, 22 (121): 221-229; Aguirre, Invest Ophthalmol Vis Sci. 2017, 58 (12): 5399-5411; Lundstrom, Diseases. 2018, 6 (2): 42 に概説される。本発明の文脈において、任意の適切なヌクレオチドまたはベクター送達法を用いてもよい。

【0227】

いくつかの態様において、ベクターは、真核ベクター、例えば真核細胞において、ベクターから核酸を発現するために必要な要素を含むベクターであってもよい。いくつかの態様において、ベクターは、哺乳動物ベクター、例えば発現を駆動するためにサイトメガロウイルス (C M V) または S V 4 0 プロモーターを含む哺乳動物ベクターであってもよい。

【0228】

本開示はまた、本開示記載の複数の剤、例えば阻害性核酸または遺伝子編集系／複合体の構成要素もまた提供する。本開示はまた、本開示記載の複数のこうした剤を含むかまたはコードする核酸およびベクターも提供する。

【0229】

本開示記載の複数の剤の個々の剤は、同一であってもまたは非同一であってもよい。同様に、本開示記載の剤を含むかまたはコードする核酸／ベクターが本開示記載の 1 つより多い剤を含む／コードする態様において、核酸／ベクターに含まれる／コードされる剤は、同一であってもまたは非同一であってもよい。

【0230】

いくつかの態様において、核酸／ベクターは、本開示記載の 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 または 20 の剤、例えば阻害性核酸の 1 つをコードしてもよい。いくつかの態様において、核酸／ベクターは、本開示記載の所定の剤の多数 (例えば 2、3、4、5、6、7、8、9、10 等) のコピーをコードしてもよい。

【0231】

いくつかの態様において、本開示記載の複数の剤は、複数の非同一剤であってもよい。いくつかの態様において、複数の剤は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 または 20 の非同一剤、例えば阻害性核酸の 1 つを含んでもよい。いくつかの態様において、核酸／ベクターは、本開示記載の複数の非同一剤を含んでも／コードしてもよい。

【0232】

以下の段落は、本開示記載の複数の剤の態様にしたがって、そしてまた本開示記載の複数の非同一剤を含む／コードする核酸／ベクターの態様にしたがって、複数の非同一剤をさらに定義する。

【0233】

いくつかの態様において、非同一剤は、非同一 H 因子ファミリータンパク質 (例えば F

10

20

30

40

50

H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、F H および／または F H L - 1 より選択されるもの) の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させてもよい。

【0234】

いくつかの態様において、非同一剤、例えば阻害性核酸は、非同一アンチセンス核酸を含んでもよいしまたはコードしてもよい。こうした態様において、非同一アンチセンス核酸は、本明細書に上述するようなアンチセンス核酸の任意の態様に、各々独立にしたがってもよい。

【0235】

いくつかの態様において、非同一剤、例えば阻害性核酸は、非同一ターゲットヌクレオチド配列をターゲティングするアンチセンス核酸を含んでもよいしまたはコードしてもよい。こうした態様において、非同一ターゲットヌクレオチド配列は、上述のようなアンチセンス核酸のターゲットヌクレオチド配列の任意の態様に、各々独立にしたがってもよい。

10

【0236】

いくつかの態様において、非同一阻害性核酸によって含まれる／コードされるアンチセンス核酸のターゲットヌクレオチド配列は、非同一H因子ファミリータンパク質（例えばF H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、F H および／またはF H L - 1より選択されるもの）をコードする遺伝子にコードされるRNAのものであってもよい。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、非同一H因子ファミリータンパク質（例えばF H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、F H および／またはF H L - 1より選択されるもの）をコードするRNAのものであってもよい。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、非同一H因子ファミリータンパク質（例えばF H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、F H および／またはF H L - 1より選択されるもの）をコードするRNAのエクソンの1つまたはそれより多いヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、ターゲットヌクレオチド配列は、非同一H因子ファミリータンパク質（例えばF H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、F H および／またはF H L - 1より選択されるもの）をコードするRNAのエクソンのヌクレオチド配列である。

20

【0237】

いくつかの態様において、1つより多いH因子ファミリータンパク質（例えばF H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、F H および／またはF H L - 1より選択されるもの）の遺伝子および／またはタンパク質発現の減少のために提供するため、複数の非同一阻害性核酸の個々の阻害性核酸が選択されることが望ましいことが認識されるであろう。

30

【0238】

いくつかの態様において、1つより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるための複数の非同一阻害性核酸は、H因子ファミリータンパク質の以下の組み合わせの1つの遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるための阻害性核酸を含む：F H および／またはF H L - 1、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4 および F H R 5；F H および／またはF H L - 1、F H R 1、F H R 2、F H R 3 および F H R 4；F H および／またはF H L - 1、F H R 1、F H R 2、F H R 3 および F H R 5；F H および／またはF H L - 1、F H R 1、F H R 2、F H R 4 および F H R 5；F H および／またはF H L - 1、F H R 1、F H R 3、F H R 4 および F H R 5；F H および／またはF H L - 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4 および F H R 5；F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4 および F H R 5；F H および／またはF H L - 1、F H R 1、F H R 2 および F H R 3；F H および／またはF H L - 1、F H R 1、F H R 2 および F H R 4；F H および／またはF H L - 1、F H R 1、F H R 2 および F H R 5；F H および／またはF H L - 1、F H R 1、F H R 3 および F H R 4；F H および／またはF H L - 1、F H R 1、F H R 3 および F H R 5；F H および／またはF H L - 1、F H R 1、F H R 4 および F H R 5；F H および／またはF H L - 1、F H R 2、F

40

50

H R 3 および F H R 4 ; F H および / または F H L - 1 、 F H R 2 、 F H R 3 および F H R 5 ; F H および / または F H L - 1 、 F H R 2 、 F H R 4 および F H R 5 ; F H および / または F H L - 1 、 F H R 3 、 F H R 4 および F H R 5 ; F H R 1 、 F H R 2 、 F H R 3 および F H R 4 ; F H R 1 、 F H R 2 、 F H R 3 および F H R 5 ; F H R 1 、 F H R 2 、 F H R 4 および F H R 5 ; F H R 1 、 F H R 3 、 F H R 4 および F H R 5 ; F H R 2 、 F H R 3 、 F H R 4 および F H R 5 ; F H および / または F H L - 1 、 F H R 1 および F H R 2 ; F H および / または F H L - 1 、 F H R 1 および F H R 3 ; F H および / または F H L - 1 、 F H R 1 および F H R 4 ; F H および / または F H L - 1 、 F H R 1 および F H R 5 ; F H および / または F H L - 1 、 F H R 2 および F H R 3 ; F H および / または F H L - 1 、 F H R 2 および F H R 4 ; F H および / または F H L - 1 、 F H R 2 および F H R 5 ; F H および / または F H L - 1 、 F H R 3 および F H R 4 ; F H および / または F H L - 1 、 F H R 3 および F H R 5 ; F H および / または F H L - 1 、 F H R 4 および F H R 5 ; F H R 1 、 F H R 2 および F H R 3 ; F H R 1 、 F H R 2 および F H R 4 ; F H R 1 、 F H R 2 および F H R 5 ; F H R 1 、 F H R 3 および F H R 4 ; F H R 1 、 F H R 3 および F H R 5 ; F H および / または F H L - 1 および F H R 1 ; F H および / または F H L - 1 および F H R 2 ; F H および / または F H L - 1 および F H R 3 ; F H および / または F H L - 1 および F H R 4 ; F H および / または F H L - 1 および F H R 5 ; F H R 1 および F H R 2 ; F H R 1 および F H R 3 ; F H R 1 および F H R 4 ; F H R 1 および F H R 5 ; F H R 2 および F H R 3 ; F H R 2 および F H R 4 ; F H R 2 および F H R 5 ; F H R 3 および F H R 4 ; F H R 3 および F H R ; あるいは F H R 4 および F H R 5 。

10

20

【 0 2 3 9 】

先行する段落に記載される H 因子ファミリータンパク質の組み合わせの遺伝子および / またはタンパク質発現を減少させるために使用される剤、例えば阻害性核酸の適切な組み合わせは、本明細書開示の剤、例えば阻害性核酸の態様を考慮して、当業者には直ちに明らかであろう。

【 0 2 4 0 】

いくつかの態様において、本開示記載の阻害性核酸は、その全体が本明細書に援用される、W O 2 0 1 9 / 2 1 5 3 3 0 A 1 に開示される核酸と非同一である。いくつかの態様において、本開示記載の阻害性核酸のヌクレオチド配列は、W O 2 0 1 9 / 2 1 5 3 3 0 A 1 に開示される核酸のヌクレオチド配列と非同一である。

30

【 0 2 4 1 】

本開示はまた、(i) 本開示記載の剤、(i i) 本開示記載の剤を含むかまたはコードする核酸、および / または (i i i) 本開示記載の剤を含むかまたはコードする核酸を含むベクターを含むかまたは発現する細胞も提供する。

【 0 2 4 2 】

細胞は、真核細胞、例えば哺乳動物細胞であってもよい。哺乳動物は、霊長類 (アカゲザル (r h e s u s) 、カニクイザル、非ヒト霊長類またはヒト) または非ヒト哺乳動物 (例えばウサギ、モルモット、ラット、マウスまたは他の齧歯類 (齧歯目 (R o d e n t i a) の任意の動物を含む) 、ネコ、イヌ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウシ (雌牛、例えば乳牛、またはウシ目 (B o s) の任意の動物) 、ウマ (ウマ目 (E q u i d a e) の任意の動物を含む) 、ロバ、および非ヒト霊長類) であってもよい。好ましい態様において、細胞はヒト細胞であってもよい。

40

【 0 2 4 3 】

本開示はまた、本開示記載の核酸またはベクターを含む細胞を産生するための方法であって、本開示記載の核酸またはベクターを細胞内に導入する工程を含む、前記方法も提供する。いくつかの態様において、本開示記載の核酸またはベクターの細胞内への導入は、形質転換、トランスフェクション、エレクトロポレーションまたは形質導入 (例えばレトロウイルス形質導入) を含む。

【 0 2 4 4 】

50

本開示はまた、本開示記載の剤、例えば阻害性核酸、あるいは本開示記載の剤、例えば阻害性核酸を含むかまたはコードする核酸を産生するための方法であって、本開示記載の剤を含むかまたはコードする核酸、あるいは本開示記載のベクターを含む細胞を、該細胞による核酸またはベクターの発現に適した条件下で培養する工程を含む、前記方法も提供する。いくつかの態様において、方法は、*in vitro*で行われる。

【0245】

本開示はまた、本明細書記載の剤および物品（阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系およびそこで使用するための核酸、こうした剤を含む／コードする核酸、こうした剤を含む／コードする発現ベクター）または本開示記載の細胞も提供する。

【0246】

療法的および予防的適用において、本開示の組成物は、好ましくは、医薬品または医薬組成物（臨床使用に適している）として配合される。こうした組成物は、当業者に周知の1つまたはそれより多い他の医薬的に許容されうる成分と一緒に、剤または細胞を含んでもよい。こうした成分には、限定されるわけではないが、医薬的に許容されうるキャリアー、アジュバント、賦形剤、希釈剤、充填剤、緩衝剤、保存剤、酸化防止剤、潤滑剤、安定化剤、可溶化剤、界面活性剤（例えば湿潤剤）、マスキング剤、着色剤、フレーバー剤、および甘味剤が含まれる。

【0247】

用語「医薬的に許容されうる」は、本明細書で用いられる際、正当な医学的判断の範囲内であり、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症を伴わずに、問題の被験体（例えばヒト）の組織と接触して使用するために適しており、妥当な利益／リスク比と釣り合った、化合物、成分、物質、組成物、投薬型等に関する。各キャリアー、アジュバント、賦形剤等はまた、配合物の他の成分と適合するという意味で、「許容されうる」ものでなければならない。適切なキャリアー、アジュバント、賦形剤等は、標準的な医薬教科書、例えば *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 第20版, 2000, Lippincott, Williams & Wilkins 刊; および *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 第2版, 1994に見られうる。

【0248】

本開示記載の組成物は、医薬業に周知の任意の方法によって調製されうる。こうした方法には、1つまたはそれより多い付属成分を構成するキャリアーと活性化合物を関連させる工程が含まれる。一般的に、配合物は、均一にそして密接にキャリアー（例えば液体キャリアー、細分割固形キャリアー等）と活性化合物を関連させ、そして次いで、必要であれば産物を成形することによって、調製される。

【0249】

組成物は、局所、非経口、全身、腔内、静脈内、動脈内、筋内、クモ膜下腔内、眼内、硝子体内、結膜内、網膜下、脈絡膜上、皮下、経皮、クモ膜下腔内、経口、鼻または経皮投与経路用に調製されてもよく、こうした経路には、注射または注入、あるいは点眼剤（すなわち眼科投与）が含まれてもよい。適切な配合物は、無菌または等張媒体中の選択された剤を含んでもよい。配合物および投与様式は、投与しようとする剤、および治療／防止しようとする疾患に応じて選択されてもよい。

【0250】

本開示の組成物は、ゲルを含む液体型で配合されてもよい。液体配合物は、ヒトまたは動物の身体の選択された臓器または領域への注射または注入（例えばカテーテルを介したもの）による投与のために配合されてもよい。本開示のさらなる側面は、本開示記載の医薬品または医薬組成物を配合するかまたは産生する方法であって、剤を、医薬的に許容されうるキャリアー、アジュバント、賦形剤または希釈剤と混合することによって、医薬組成物または医薬品を配合する工程を含む。

【0251】

本開示記載の剤および物品（例えば核酸（阻害性核酸、発現ベクターを含む）、細胞お

10

20

30

40

50

よび組成物)は、細胞／組織、例えば関心対象のターゲット細胞／組織への送達、および／またはそれによる取り込みを促進するように配合されてもよい。いくつかの態様において、阻害性核酸は、(本明細書の上記に援用される)Huら, Sig. Transduc. Tar. Ther. (2020) 5(101)に記載される送達プラットフォームを使用する。

【0252】

細胞／組織への送達および／またはそれによる取り込みを促進するため、本開示記載の剤および物品を部分に連結してもよい。分子カーゴの細胞内送達を促進するための戦略は、例えば、その全体が本明細書に援用される、Liら, Int. J. Mol. Sci. (2015) 16: 19518-19536、およびFuら, Bioconjug Chem. (2014) 25(9): 1602-1608に概説される。

10

【0253】

いくつかの態様において、剤および物品(例えば核酸)を陽イオン性ポリマーと配合してもよい。いくつかの態様において、剤および物品(例えば核酸)を、ナノ粒子またはリポソーム中に被包してもよい。

【0254】

いくつかの態様において、本開示記載の剤および物品を部分に連結するか、またはそうでなければ配合して、肝臓細胞または肝組織への送達および／またはそれによる取り込みを促進してもよい。

【0255】

20

いくつかの態様において、本開示記載の核酸をN-アセチルガラクトサミン(GalNAc)にコンジュゲート化してもよい。いくつかの態様において、核酸を1つまたはそれより多い(例えば1つ、2つ、3つ、4つまたはそれより多い)GalNAc残基にコンジュゲート化する。いくつかの態様において、核酸を1つまたはそれより多い(例えば1つ、2つ、3つ、4つまたはそれより多い)GalNAc部分にコンジュゲート化する。いくつかの態様において、1つまたはそれより多いGalNAc部分は、核酸の鎖の5'または3'端に共有結合されていてもよい。

【0256】

いくつかの態様において、本開示記載の核酸を、 α -トコフェロール(すなわちビタミンE)にコンジュゲート化する。いくつかの態様において、核酸を1つまたはそれより多い(例えば1つ、2つ、3つ、4つまたはそれより多い) α -トコフェロール部分にコンジュゲート化する。いくつかの態様において、1つまたはそれより多い α -トコフェロール部分は、核酸の鎖の5'または3'端に共有連結されていてもよい。

30

【0257】

いくつかの態様において、ナノ粒子は、その全体が本明細書に援用される、Chenら, Mol Ther Methods Clin Dev. (2016) 3:16023に記載されるナノ粒子である。いくつかの態様において、ナノ粒子は、PLGA、ポリペプチド、ポリ(β -アミノエステル)、DOPE、 β -シクロデキストリン含有ポリカチオン、直鎖PEI、PAMAMデンドリマー、分枝PEI、キトサンまたはポリホスホエステルナノ粒子である。

40

【0258】

いくつかの態様において、物品(例えば核酸)は、細胞浸透ペプチド(例えばタンパク質形質導入ドメイン、トロイの木馬ペプチド、アルギニンリッチペプチド、ベクトセル(vectocel)ペプチド)、陽イオン性ポリマー、陽イオン性脂質またはウイルスキャリアーと(共有または非共有的に)会合してもよい。いくつかの態様において、物品(例えば核酸)は、関心対象のターゲット細胞またはその抗原に結合可能なペプチド／ポリペプチド(例えば抗体、ペプチドアプタマー、細胞表面分子のリガンド／その断片)または核酸(例えば核酸アプタマー)と会合していてもよい。例えば、その全体が本明細書に援用される、Kalepuら, Acta Pharmaceutica Sinica B, 2013, 3, 6, 361-372およびBarbaraら, Pharm

50

aceutics. 2019 Jul 24; 11(8): 360に記載されるように、液体に基づく薬剤送達系を用いて、医薬剤、例えば本明細書に記載されるようなものを投与してもよい。

【0259】

核酸送達のための方法は、当該技術分野に知られ、そして例えばその全体が本明細書に援用される、Tatiparti Kら “siRNA Delivery Strategies: A Comprehensive Review of Recent Developments.” Thomas Nann. 監修 Nanomaterials 7.4 (2017): 77、およびLehto Tら, Adv Drug Deliv Rev. 2016, 106(Pt A): 172-182に見られうる。例えば、核酸は裸で送達されてもよいし、あるいはナノ粒子、ポリマー、ペプチド、例えば細胞浸透ペプチドを用いることによって、あるいはex vivoトランスフェクションによって送達されてもよい。ナノ粒子は、有機物、例えばミセル、リポソーム、タンパク質、固体・脂質粒子、固体ポリマー粒子、デンドリマー、およびポリマー療法剤であってもよい。ナノ粒子は、任意選択で有機分子が添加された、無機物、例えばナノチューブまたは金属粒子であってもよい。ウイルスは、別のナノ粒子送達オプションをさらに提示する。ナノ粒子を最適化して、エンドサイトーシス率を改善し、腎クリアランスおよび濾過を回避し、熱安定性を改善し、pH安定性を改善し、毒性効果を防止し、そして核酸装填効率を改善してもよい。さらなる被包法は、例えばUS 2015/0157675 A1に記載される。

10

20

【0260】

いくつかの場合、核酸、例えばナノ粒子に基づくその配合物を、非肺組織への続く送達のための肺投与のために配合してもよい。例えば、その全体が本明細書に援用される、US 2015/0157675 A1を参照されたい。

【0261】

療法および予防適用

本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクターおよび組成物は、療法および予防法において使用を見出す。

【0262】

本開示は、医薬品として使用するための本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物を提供する。本開示は、医学的治療または予防の方法において使用するための本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物を提供する。やはり提供するの、疾患または状態を治療するかまたは防止するための医薬品製造における、本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物の使用である。やはり提供するの、本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物の療法的または予防的有効量を、被験体に投与する工程を含む、疾患または状態を治療するかまたは防止する方法である。

30

【0263】

用語「障害」、「疾患」および「状態」は、交換可能に用いてもよく、そして徴候または症状の同定可能な群によって特徴づけられうる身体部分、臓器または系の病的問題を指す。

40

【0264】

「治療」は、本明細書記載のものなどの補体関連障害の治療、防止、または可能性の減少を指してもよい。本明細書で用いられる際、「治療」は、例えば、疾患／状態の発展または進行の減少、疾患／状態の症状の軽減、あるいは疾患／状態の病理における減少であってもよい。疾患／状態の治療または軽減は、疾患／状態の進行を防止する、例えば状態の悪化を防止するかまたは発展速度を遅延させるのに有効であってもよい。いくつかの態様において、治療または軽減は、疾患／状態の改善、例えば疾患／状態の症状の減少、あるいは疾患／状態の重症度／活性の何らかの他の相関物の減少を導いてもよい。疾患／状

50

態の防止／予防は、状態の悪化の防止、または疾患／状態の発展の防止、例えば初期段階疾患／状態の後期、慢性段階への発展の防止を指してもよい。

【0265】

本明細書に記載されるような補体関連障害の治療は、被験体の少なくとも1つの細胞が、本明細書提供の核酸を発現するかまたは含むように修飾することを含んでもよい。本明細書に記載されるような補体関連障害の治療は、被験体の少なくとも1つの細胞が、例えば本明細書提供の核酸を通じて、本明細書提供のポリペプチドを発現するかまたは含むように修飾することを含んでもよい。本明細書に記載されるような補体関連障害の治療は、本明細書に記載されるような核酸を含むかまたはこうした核酸からなるベクターを被験体に投与することを含んでもよい。

10

【0266】

方法は、疾患／状態の発展または進行の減少、疾患／状態の症状の軽減、あるいは疾患／状態の病理の減少に有効でありうる。方法は、疾患／状態の進行の防止、例えば疾患／状態の悪化の防止、またはその発展速度の遅延に有効でありうる。いくつかの態様において、方法は、疾患／状態の改善、例えば疾患／状態の症状の減少、または疾患／状態の重症度／活性の何らかの他の相関物の減少を導いてもよい。いくつかの態様において、方法は、疾患／状態のより後期の段階（例えば慢性段階または転位）の発展を防止してもよい。

【0267】

本明細書で用いられる際の用語、例えば、障害の「発展する」、「発展している」および「発展」は、疾患の開始、ならびに疾患状態の進行、増悪または悪化の両方を指す。本明細書で用いられる際、用語「バイオマーカー（単数または複数）」は、生物学的状態または異常の1つまたはそれより多い測定可能な指標を指す。

20

【0268】

本開示の物品、例えば阻害性核酸は、該阻害性核酸によってターゲティングされる補体タンパク質（単数または複数）（すなわち阻害性核酸が遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させる／防止するために適切である補体タンパク質（単数または複数））の遺伝子および／またはタンパク質のレベル減少から療法的または予防的利益を得るであろう、任意の疾患／状態の治療／防止のために用いられてもよい。

【0269】

本開示記載の治療／防止されるべき疾患／状態は、関連補体タンパク質（単数または複数）が病的に関与している疾患／状態、例えば関連補体タンパク質（単数または複数）の遺伝子および／またはタンパク質発現レベルの増加が、疾患／状態の開始、発展または進行、および／または疾患／状態の1つまたはそれより多い症状の重症度と正に関連している疾患／状態、あるいは関連補体タンパク質（単数または複数）の遺伝子および／またはタンパク質発現レベルの増加が、疾患／状態の開始、発展または進行のリスク要因である疾患／状態であってもよい。

30

【0270】

いくつかの態様において、本開示記載の治療／防止されるべき疾患／状態は、例えば、疾患／状態の非存在下の関連補体タンパク質（単数または複数）の遺伝子および／またはタンパク質発現レベルに比較した際、関連補体タンパク質（単数または複数）の遺伝子および／またはタンパク質発現レベルの増加によって特徴づけられる疾患／状態である。本開示の方法にしたがった治療は、被験体における関連補体タンパク質（単数または複数）の遺伝子および／またはタンパク質発現レベルの減少を達成してもよい。

40

【0271】

本開示の側面および態様において、治療すべき疾患／状態は、補体関連障害である。本明細書で用いられる際、「補体関連障害」は、補体系の不全または異常を含むかまたはこれらから生じる障害、疾患または状態である。いくつかの態様において、補体関連障害は、補体活性化または補体過剰活性化によって駆動される障害である。

【0272】

50

本明細書記載の任意の態様において、障害は、補体系、またはその活性化／過剰活性化／機能障害が病的に関連するものである。補体関連障害は、本明細書記載の任意の障害であってもよい。「病的に関連する」は、本明細書で用いられる際、参照値に比較して、障害において上昇するかまたは低下するタンパク質レベル、および／またはタンパク質が障害の病理に寄与する場合を指してもよい。検出／決定される補体タンパク質（単数または複数）の選択または組み合わせは、関心対象の補体関連障害、および前記障害のバイオマーカーとして有用な補体タンパク質（単数または複数）に応じうる。

【0273】

補体関連障害は、古典的、第二および／またはレクチン補体経路の破壊を含んでもよい。いくつかの場合、障害は、補体系の制御成分の不全、その異常、またはその非存在に関連してもよい。いくつかの態様において、障害は、第二補体経路、第二補体経路の破壊と関連してもよく、そして／または第二補体経路の制御成分の不全、その異常、またはその非存在に関連してもよい。いくつかの場合、障害は、補体増幅ループと関連する。いくつかの場合、障害は、補体系全体またはその部分、例えばC3コンバーターゼ集合、C3b産生、C3b沈着、および／または増幅ループの不適切な活性化、過剰活性化、または制御不全と関連する。

10

【0274】

いくつかの場合、障害は、C3、C3b、iC3b、FI、FH、FHL-1、またはFHR1～FHR5の任意の1つまたはそれより多くと関連する。いくつかの場合、障害は、C3、C3b、iC3b、FI、FH、FHL-1、またはFHR1～FHR5の任意の1つまたはそれより多くの不全または活性の異常と関連する。いくつかの場合、これらのタンパク質の1つまたはそれより多くは、障害と病的に関連し、例えば参照値と比較して、上昇しているかまたはより低いレベルを有する。

20

【0275】

いくつかの場合、障害は、CR1、CD46、CD55、C4BP、B因子（FB）、D因子（FD）、SPICE、VCP（またはVICE）および／またはMOPICEの1つまたはそれより多くと関連する。いくつかの場合、障害は、CR1、CD46、CD55、C4BP、B因子、D因子、SPICE、VCP（またはVICE）および／またはMOPICEの1つまたはそれより多くの活性の不全または異常と関連するか、あるいはこれらのタンパク質の1つまたはそれより多くが病的に関連している場合である。

30

【0276】

いくつかの態様において、障害は、C3またはC3含有複合体、C3またはC3含有複合体と関連する活性／反応、あるいはC3またはC3含有複合体と関連する活性／反応の産物と関連する障害であってもよい。すなわち、いくつかの態様において、障害は、C3、C3含有複合体、C3またはC3含有複合体と関連する活性／反応、あるいは前記活性／反応の産物が病的に関連している障害である。いくつかの態様において、障害は、対照状態に比較した際の、C3またはC3含有複合体のレベル増加、C3またはC3含有複合体と関連する活性／反応のレベル増加、あるいはC3またはC3含有複合体と関連する活性／反応の産物のレベル増加と関連していてもよい。いくつかの態様において、障害は、対照状態に比較した際の、C3またはC3含有複合体のレベル減少、C3またはC3含有複合体と関連する活性／反応のレベル減少、あるいはC3またはC3含有複合体と関連する活性／反応の産物のレベル減少と関連していてもよい。

40

【0277】

いくつかの態様において、障害は、C3bまたはC3b含有複合体、C3bまたはC3b含有複合体と関連する活性／反応、あるいはC3bまたはC3b含有複合体と関連する活性／反応の産物と関連する障害であってもよい。すなわち、いくつかの態様において、障害は、C3b、C3b含有複合体、C3bまたはC3b含有複合体と関連する活性／反応、あるいは前記活性／反応の産物が病的に関連している障害である。いくつかの態様において、障害は、対照状態に比較した際の、C3bまたはC3b含有複合体のレベル増加、C3bまたはC3b含有複合体と関連する活性／反応のレベル増加、あるいはC3bま

50

たはC 3 b 含有複合体と関連する活性／反応の産物のレベル増加と関連していてもよい。いくつかの態様において、障害は、対照状態に比較した際の、C 3 b またはC 3 b 含有複合体のレベル減少、C 3 b またはC 3 b 含有複合体と関連する活性／反応のレベル減少、あるいはC 3 b またはC 3 b 含有複合体と関連する活性／反応の産物のレベル減少と関連していてもよい。

【0278】

いくつかの態様において、障害は、FH、FHL-1、FI、FHR1～FHR5、FB、FD、CR1 および／またはCD46の任意の1つまたはそれより多く、FH、FHL-1、FI、FHR1～FHR5、FB、FD、CR1 および／またはCD46の任意の1つまたはそれより多くと関連する活性／反応、あるいはFH、FHL-1、FI、FHR1～FHR5、FB、FD、CR1 および／またはCD46の任意の1つまたはそれより多くと関連する活性／反応の産物と関連する障害であってもよい。いくつかの態様において、障害は、FH、FHL-1、FI、FHR1～FHR5、FB、FD、CR1 および／またはCD46の任意の1つまたはそれより多く、FH、FHL-1、FI、FHR1～FHR5、FB、FD、CR1 および／またはCD46の任意の1つまたはそれより多くと関連する活性／反応、あるいは前記活性／反応の産物が病的に関連している障害である。いくつかの態様において、障害は、対照状態に比較した際の、FH、FHL-1、FI、FHR1～FHR5、FB、FD、CR1 および／またはCD46の任意の1つまたはそれより多くのレベル減少、FH、FHL-1、FI、FHR1～FHR5、FB、FD、CR1 および／またはCD46の任意の1つまたはそれより多くと関連する活性／反応のレベル減少、あるいはFH、FHL-1、FI、FHR1～FHR5、FB、FD、CR1 および／またはCD46の任意の1つまたはそれより多くと関連する活性／反応の産物のレベル減少と関連していてもよい。

【0279】

いくつかの態様において、障害は、対照状態に比較した際の、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4 および／またはFHR5の任意の1つまたはそれより多くのレベル増加、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4 および／またはFHR5の任意の1つまたはそれより多くと関連する活性／反応のレベル増加、あるいはFHR1、FHR2、FHR3、FHR4 および／またはFHR5の任意の1つまたはそれより多くと関連する活性／反応の産物のレベル増加と関連していてもよい。例えば、どちらも、その全体が本明細書に援用される、Zhuら、Kidney Int. 2018 Jul;94(1):150-158; Pouwら、Front Immunol. 2018 Apr 24;9:848を参照されたい。方法は、例えば本明細書記載の技術を用いて、FHR1～FHR5の任意の組み合わせの全身レベルを決定することを含んでもよい。

【0280】

FHR1、FHR2、FHR3、FHR4 および／またはFHR5、および任意選択でFH／FHL-1のレベルが上昇した、および／または前記タンパク質の1つまたはそれより多くをコードする遺伝子（単数または複数）の発現が増加した被験体は、前記レベルの減少から、療法的または予防的利益を得る可能性もある。本明細書記載の、および／または、例えば、その全体が本明細書に援用される、Roth CM, Curr. Issues Mol. Biol. 2002 4:93-100、ならびにKukurb a KR および Montgomery SB, Cold Spring Harb Protoc. 2015, (11):951-969に概説されるように当該技術分野に記載される技術を用いて、H因子ファミリータンパク質の発現レベルを測定してもよい。例えば、定量的PCR、リアルタイムPCT、配列決定技術、例えばRNA-seq、次世代配列決定、マイクロアレイ、ノーザンブロット、およびリボヌクレアーゼ保護アッセイ（RPA）を用いて、遺伝子発現を測定してもよい。当業者は、必要に応じて、CFHR1～5の発現を測定するために適した技術（単数または複数）を認識可能であろう。いくつかの場合、細胞試料からまず、総RNAまたはcDNAを抽出し、そして単離してもよい。

10

20

30

40

50

【0281】

特定の態様において、障害は、任意の1つまたはそれより多いFHRファミリータンパク質、例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5の任意の1つまたはそれより多くの上昇したレベルによって特徴づけられる。上昇したレベルは、被験体におけるものであってもよい。すなわち、評価または治療しようとする被験体が、例えば本明細書提供の方法によって評価される、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5の1つまたはそれより多くの上昇したレベルを有しても（または有していると決定されて／既に決定されていても）よい。障害は、すなわち、本明細書に記載されるような血液または血漿由来試料中のFHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5の1つまたはそれより多くの上昇した循環レベルによって特徴づけられてもよい。障害は、肝細胞によるFHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5の1つまたはそれより多くの上昇した発現によって特徴づけられてもよい。障害は、関心対象の組織、例えば目、腎臓、脳、肺、腫瘍、血管組織において検出される、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5の1つまたはそれより多くの上昇したレベルによって特徴づけられてもよい。上昇したレベルは、本明細書に記載されるような対照値（単数または複数）／被験体（単数または複数）への比較によって決定されてもよい。

10

【0282】

補体関連障害のすべての被験体が、1つまたはそれより多いFHRタンパク質の上昇したレベルを持たなくてもよい。したがって、補体関連障害の被験体のあるものは1つまたはそれより多いFHRタンパク質の上昇したレベルを持ってもよく、そして同じ補体関連障害の被験体のあるものは上昇したレベルを持たなくてもよい。いくつかの場合、例えば本明細書に記載されるように、1つまたはそれより多いFHRタンパク質の上昇したレベルの存在は、より悪化した予後を示してもよい。したがって、1つまたはそれより多いFHRタンパク質のレベルの決定は、例えばFHRタンパク質の正常レベルを持つ患者に比較した際の、本明細書記載の核酸およびタンパク質での治療から特に利益を得るであろう患者の別個の集団を提供してもよい。

20

【0283】

補体関連障害は、例えば1つまたはそれより多いFHRタンパク質の上昇したレベルに加えて、上昇または低下いずれかのFHおよび／またはFHL-1の改変されたレベルによって特徴づけられてもよい。

30

【0284】

いくつかの態様において、障害は、FHR1、FHR2、FHR3および／またはFHR5の任意の1つまたはそれより多くの増加したレベル、FHR1、FHR2、FHR3および／またはFHR5の任意の1つまたはそれより多くと関連する活性／反応の増加したレベル、あるいはFHR1、FHR2、FHR3および／またはFHR5の任意の1つまたはそれより多くと関連した活性／反応の産物の増加したレベルと関連してもよい。いくつかの態様において、障害は、対照状態と比較した際のFHR4の増加したレベル、FHR4と関連する活性／反応の増加したレベル、またはFHR4と関連する活性／反応の産物の増加したレベルと関連してもよい。例えば、どちらも、その全体が本明細書に援用される、WO 2019/215330およびCiprianiら, Nat Commun 11, 778 (2020)を参照されたい。いくつかの態様において、障害は、FHL-1の増加したレベルに関連してもよい。いくつかの態様において、障害は、対照状態と比較して、FHR4の増加したレベル、FHR4と関連する活性／反応の増加したレベル、またはFHR4と関連する活性／反応の産物の増加したレベルと関連しなくてもよい。

40

【0285】

いくつかの態様において、障害は、対照状態と比較した際の、C3、C3b、C3コンバーゼおよび／またはC3bBbの任意の1つまたはそれより多くの増加したレベルと関連する。いくつかの態様において、障害は、対照状態と比較した際の、C3、C3b、

50

C 3 コンバーターゼおよび／または C 3 b B b の任意の 1 つまたはそれより多くの減少したレベルと関連する。いくつかの態様において、障害は、対照状態と比較した際の、i C 3 b の増加したレベルと関連する。いくつかの態様において、障害は、対照状態と比較した際の、i C 3 b の減少したレベルと関連する。いくつかの態様において、障害は、対照状態と比較した際の、C 3 a、C 3 f、C 3 c、C 3 d g、C 3 d、および／または C 3 g の任意の 1 つまたはそれより多くの増加したレベルと関連する。いくつかの態様において、障害は、対照状態と比較した際の、C 3 a、C 3 f、C 3 c、C 3 d g、C 3 d、および／または C 3 g の任意の 1 つまたはそれより多くの減少したレベルと関連する。

【0286】

いくつかの場合、本明細書記載の方法は：参照値（単数または複数）と比較した際の、C 3 b B b 型 C 3 コンバーターゼ、C 3 b B b 3 b 型 C 5 コンバーターゼおよび／または C 4 b 2 a 3 b 型 C 5 コンバーターゼの 1 つまたはそれより多くのレベルまたは活性の減少；C 3、C 3 b、C 3 a、i C 3 b、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、C 5 b および／または C 5 a の 1 つまたはそれより多くのレベルの減少；あるいは i C 3 b、C 3 f、C 3 c、C 3 d g、C 3 d、C 3 g、F H、F H L-1、F I、F H、F H L-1、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4 および／または F H R 5 の 1 つまたはそれより多くのレベルの増加の 1 つまたはそれより多くから利益を得るであろう障害の治療または防止に見出す。

【0287】

いくつかの場合、本明細書記載の方法は、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4 および／または F H R 5、ならびに任意選択で F H L-1 の 1 つまたはそれより多くのレベルまたは活性の減少から利益を得るであろう障害の治療または防止に見出す。

【0288】

障害は目の障害であってもよい。いくつかの態様において、本明細書に記載されるような治療または防止すべき疾患または状態は、補体関連の目の疾患である。いくつかの態様において、障害は黄斑変性症である。いくつかの態様において、障害は、加齢性黄斑変性症（AMD）、脈絡膜血管新生（CNV）、黄斑ジストロフィー、および糖尿病性黄斑症より選択されてもよく、すなわちこれらの 1 つまたはそれより多くである。本明細書で用いられる際、用語「AMD」には、初期 AMD、中期 AMD、後期／進行 AMD、地図状萎縮（「乾燥」（すなわち非滲出性）AMD）、および「湿潤」（すなわち滲出性または血管新生性）AMD が含まれ、これらは各々、本明細書に記載されるように、それ自体で、検出され、治療され、そして／または防止される障害であってもよい。いくつかの態様において、治療または防止すべき疾患または状態は、上記疾患／状態の組み合わせ、例えば「乾燥」および「湿潤」AMD である。いくつかの態様において、治療または防止すべき疾患または状態は、「湿潤」AMD または脈絡膜血管新生ではない。AMD は、50 歳およびそれより高齢の被験体において、視覚喪失を引き起こすと一般的に定義される。いくつかの態様において、治療すべき被験体は、50 歳またはそれより高齢であり、すなわち少なくとも 50 歳である。

【0289】

本明細書で用いられる際、「初期 AMD」は、R P E 層に隣接したブルッフ膜内に、一般的に最大～200 μm の直径を有する、中程度のサイズのドルーゼンの存在によって特徴づけられる AMD の段階を指す。初期 AMD の被験体は、典型的には、有意な視覚喪失を提示しない。本明細書で用いられる際、「中期 AMD」は、網膜における、大きなドルーゼンおよび／または色素変化によって特徴づけられる AMD の段階を指す。中期 AMD は、ある程度の視覚喪失を伴いうる。本明細書で用いられる際、「後期 AMD」は、黄斑への損傷のため、ドルーゼンおよび視覚喪失、例えば重度の中央部視覚喪失の存在によって特徴づけられる AMD の段階を指す。AMD のすべての段階において、「網膜シュードドルーゼン」（RPD）または「網膜ドルーゼン」（網膜下ドルーゼン様沈着（SSD）とも称されうる）が存在する可能性もあり、これは神経感覚網膜および R P E の間の網膜下空間における細胞外物質の集積を指す。「後期 AMD」は、「乾燥」および「湿潤」A

10

20

30

40

50

MDを含む。「乾燥」AMD（地図状萎縮としても知られる）では、視覚情報を脳に運ぶ黄斑中の光感受性細胞および黄斑下の支持組織の漸進性の破壊が存在する。「湿潤」AMD（脈絡膜血管新生、血管新生性および滲出性AMDとしても知られる）では、網膜下および網膜内へ、異常な血管が増殖する。これらの血管は、液体および血液を漏洩する可能性もあり、これが黄斑の腫脹および損傷を導き、そして続いて瘢痕形成を導く可能性もある。損傷は迅速であり、そして重度でありうる。

【0290】

いくつかの態様において、障害は、早期発症黄斑変性症（EOMD）である。本明細書で用いられる際、「EOMD」は、古典的AMDよりもはるかに若年で発症を示し、そしてより長期の実質的な視覚喪失を生じる、黄斑変性症の表現型的に重度のサブタイプを指す。罹患者は、「基底層ドルーゼン」または「角質ドルーゼン」としてもまた知られる、黄斑中にランダムに分散した、均一で小さく、わずかに隆起した、黄色の網膜下小結節を含む、早期発症ドルーゼン表現型を示しうる。EOMDはまた、「中期発症黄斑変性症」とも称されうる。EOMDサブセットは、例えば、すべてその全体が本明細書に援用される、Boon CJら Am J Hum Genet 2008; 82(2):516-23; van de Ven JPら Arch Ophthalmol 2012; 130(8):1038-47; およびTaylor, R.L.ら, Ophthalmol. 2019, 126, 1410-1421に記載される。黄斑変性の他のタイプと同様、EOMDは、補体制御不全およびH因子活性妨害に関連する。いくつかの態様において、治療すべき被験体は、49歳またはそれより若い。いくつかの態様において、治療すべき被験体は、15歳～49歳の間の年齢、すなわち15歳～49歳である。いくつかの態様において、治療すべき疾患または状態は、黄斑ジストロフィーである。黄斑ジストロフィーは、遺伝子状態であり、通常、黄斑の変性を生じる、単一遺伝子中の突然変異によって引き起こされる。

【0291】

いくつかの態様において、障害は、腎臓に関連するもの、例えば腎症／腎症性障害である。いくつかの場合、障害は、神経学的および／または神経変性障害である。いくつかの場合、障害は自己免疫に関連し、例えば自己免疫疾患である。いくつかの場合、障害は炎症に関連し、例えば炎症性疾患である。いくつかの場合、障害は、C3の沈着によって特徴づけられ、例えば糸球体疾患である（例えばSkerkaら、2013、上記）。

【0292】

多くのFHRタンパク質が、補体関連腎臓障害に関連付けられてきている。FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3およびFHR5は、IgA腎症に関連付けられてきている（例えば、Poppelaarsら, J Clin Med. 2021, 10(20):4715; Zhuら, Kidney Int. 2018 Jul, 94(1):150-158を参照されたい）。Poppelaarsらは、FHRタンパク質が第二経路活性化を増幅し、そしてそれによって、IgA腎症の発展および進行を刺激するように、FHR1およびFHR5が、H因子の制御機能と競合すると示唆している。

【0293】

FHR5は、C3糸球体症および腎損傷（例えばMedjeral-Thomasら, Kidney Int Rep. 2019, 4(10):1387-1400を参照されたい）、ならびに糸球体損傷および腎臓傷害（例えばMalikら, PNAS, 2021, 118(13):e2022722118を参照されたい）に関連付けられてきている。異常なFHRハイブリッドタンパク質もまた、C3糸球体症で報告されており、そしてC3b結合および制御に関して、FHと競合すると考えられる（例えば、Wong & Kavanagh, Semin Immunopathol. 2018; 40(1):49-64を参照されたい）。Wong & Kavanaghはまた、非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）および発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）におけるFH、FHR1およびFHR3の関与も論じる。FHR1およびFHR5は

、デンスデポジット病（DDD）／II型膜性増殖性糸球体腎炎患者の糸球体でも検出された。例えば、Sethiら, *Kidney Int.* 2009, 75(9):952-60、およびAbrera-Abeladaら, *J Med Genet.* 2006, 43(7):582-589を参照されたい。

【0294】

Schafferら, *Front Immunol.* 2016, 7:542は、腎疾患およびリウマトイド患者を含む、自己免疫疾患の選択において、上昇したFHR3の役割を記載する。Goicoechea de Jorgeら, *PNAS* 2013, 110(12):4685-90は、CFH突然変異が、aHUS、DDD、および髄膜炎菌性敗血症に対する感受性を増加させ、そしてFHR3が全身性エリテマトーデス（SLE）の病因形成に関与することを開示する。FHRタンパク質、例えばFHR1、FHR2およびFHR5の二量体化が、C3b結合に関してFHと競合し、そして補体活性化を脱制御する能力を増進することもまた報告する。Legatowicz-Koprowskaら, *Reumatologia.* 2020, 58(6):357-366は、原発性シェーグレン症候群の患者において、補体カスケードタンパク質が存在しないことを報告する。FHRタンパク質のレベル増加は、抗好中球性細胞質自己抗体（ANCA）血管炎に関連付けられてきている（Skerkaら, *Br J Pharmacol.* 2021 Jul;178(14):2823-2831）。

【0295】

補体第二経路の活性化およびFHRタンパク質の上方制御は、アテローム性動脈硬化症の発展に役割を有すると示唆されてきている（例えば、Speidlら, *J Thromb Haemost.* 2011, 9(3):428-40; Malikら, *Circulation.* 2010, 122(19):1948-56; Machalinskaら, *Acta Ophthalmol.* 2012, 90(8):695-703; およびIrmscherら, *Nature Scientific Reports, volume 11, Article number: 22511* (2021)を参照されたい）。

【0296】

いくつかの態様において、障害は、溶血性尿毒症症候群（HUS）、非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）、DEAP HUS（溶血性尿毒症症候群のFHR血漿タンパク質不全および自己抗体陽性型）、自己免疫ブドウ膜炎、II型膜性増殖性糸球体腎炎（MPGN II）、敗血症、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病（HSP）、IgA腎症、慢性腎臓病、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）、自己免疫溶血性貧血（AIHA）、全身性エリテマトーデス（SLE）、シェーグレン症候群（SS）、関節リウマチ（RA）、C3糸球体症（C3G）、デンスデポジット病（DDD）、C3腎炎因子糸球体腎炎（C3 NF GN）、FHR5腎症、遺伝性血管性浮腫（HAE）、後天性血管性浮腫（AAE）、脳脊髄炎、アテローム性動脈硬化症、多発性硬化症（MS）、脳卒中、パーキンソン病、およびアルツハイマー病より選択されてもよい。

【0297】

いくつかの場合、障害は癌である。補体活性化は、癌の発展および進行に役割を果たす。DeCordovaら, *Immunobiology.* 2019, 224(5):625-631は、FHR5が多形神経膠芽腫（GBM）患者由来の初代腫瘍細胞によって分泌され、そして補体仲介性溶解に抵抗するために細胞によって用いられうることを報告する。Afshar-Kharghan, *J Clin Invest.* 2017, 127(3):780-789は、FHを打ち負かし、そして補体機能不全を導くであろう、FHRタンパク質を含む補体因子の発現が、悪性腫瘍中で増加することを報告する。あるいは、腫瘍が低酸素になった際、次いで、これがFH発現の下方制御を導き、そしてしたがって補体炎症活性の増加を導く可能性があり、したがって、補体活性化の阻害は療法オプションである（例えば、Pioら, *Semin Immunol.* 2013, 25(1):54-64）。FHは、肺癌、扁平上皮肺癌、膀胱癌、卵巣癌、肝

10

20

30

40

50

臓癌およびSCCのバイオマーカーとして報告されてきている（例えば、Revelら, *Antibodies (Basel)*. 2020, 9(4): 57）。

【0298】

癌は、液性または血液癌、例えば白血病、リンパ腫または骨髄腫であってもよい。他の場合、癌は固形癌、例えば乳癌、肺癌、肝臓癌、結腸直腸癌、鼻咽頭癌、腎臓癌または神経膠腫である。いくつかの場合、癌は肝臓、骨髄、肺、脾臓、脳、膵臓、胃または腸に位置する。いくつかの場合、癌は肺癌である。いくつかの場合、癌は神経膠芽腫、例えば多形神経膠芽腫（GBM）である。いくつかの態様において、補体関連障害は、インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ1（IDO）発現癌、例えばWO2022/058447に記載されるようなものである。

10

【0299】

いくつかの場合、障害は、神経変性または神経変性性疾患である。障害は、進行性アトロフィーおよび神経機能喪失を含んでもよい。障害は、パーキンソン病、アルツハイマー病、認知症、脳卒中、レビー小体病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、多発性硬化症（MS）、ハンチントン病およびプリオン病より選択されてもよい。

【0300】

多様な疾患における補体の役割は、例えば、すべて、その全体が本明細書に援用される、Morgan, B. P., *Complement in the pathogenesis of Alzheimer's disease. Semin Immunopathol*, 2018. 40(1): p. 113-124; Halbgauer, R.ら, *Janus face of complement-driven neutrophil activation during sepsis. Semin Immunol*, 2018. 37: p. 12-20; Ma, Y.ら, *Significance of Complement System in Ischemic Stroke: A Comprehensive Review. Aging Dis*, 2019. 10(2): p. 429-462; BonifatiおよびKishore, *Role of complement in neurodegeneration and neuroinflammation. Mol Immunol*. 2007 Feb; 44(5): 999-1010; Kleczko, E. K.ら, *Targeting the Complement Pathway as a Therapeutic Strategy in Lung Cancer. Front Immunol*, 2019. 10: p. 954; およびSchaffer N.ら, *Complement Regulator FHR-3 Is Elevated either Locally or Systemically in a Selection of Autoimmune Diseases, Front Immunol*. 2016; 7: 542に記載される。例えば、FHL-1は、特定の腫瘍細胞株において、FHよりも多く発現され（Junnikaalら（2000）*J. Immunol*. 164: 6075-81）、そして神経膠芽腫腫瘍は、FHRタンパク質を発現することが示されてきており（DeCordovaら（2019）*Immunobiology* 224: 625-631）、どちらの参考文献も、その全体が本明細書に援用される。FHファミリータンパク質を測定し、そしてこれらを区別することが可能であれば好適である。

20

30

40

【0301】

FHR1およびFHR3のレベル上昇が、アルツハイマー病患者由来の血漿で見られている。例えば、Chen & Xia, *J Alzheimers Dis*. 2020, 76(1): 349-368; およびAshtonら, *Alzheimers Dement (Amst)*. 2015, 1(1): 48-60を参照されたい（また、ClarkおよびBishop *J Clin Med*. 2015 Jan; 4(1): 18-31も参照されたい）。したがって、FHRタンパク質のレベル上昇は、認知症関連障害と関連する。FHRタンパク質（FHR1、2および5）のレベル増

50

加は、多発性硬化症と関連する。例えば、Lovelessら, Brain Pathol. 2018 Jul; 28(4): 507-520を参照されたい。PouwおよびRicklin, Semin Immunopathol. 2021, 43(6): 757-771は、FH競合剤としてのFHRタンパク質の役割を論じ、そしてアルツハイマー病、パーキンソン病、統合失調症、重症筋無力症(MG)、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、およびギランバレー症候群(GBS)の背景におけるものなどの、中枢神経系の補体活性化の不都合な影響を概説する。

【0302】

グルコース耐性が改変された被験体における循環FHレベルの増加は、インスリン耐性および代謝障害に関連付けられてきている(Moreno-Navarreteら, Diabetes. 2010, 59(1): 200-9)。

【0303】

いくつかの態様において、補体関連障害は感染性疾患である。補体は、細菌、ウイルス、真菌および寄生虫を含む、外来病原体に対する防御に関与する自然免疫系の主要成分である。補体の活性化は、ロバストでそして効率的なタンパク質分解カスケードを導き、これは病原体のオプソニン化および溶解、ならびに強力な炎症促進分子の産生を通じた、古典的免疫反応の生成を生じる。自然免疫反応および獲得免疫反応における補体の役割は、例えば、その全体が本明細書に援用される、Dunkelberger, J., Song, WC. Cell Res 2010; 20, 34-50、およびRus Hら, Immunol Res. 2005; 33(2): 103-12に概説される。

【0304】

いくつかの態様において、補体関連障害は、重度急性呼吸器症候群関連コロナウイルス(SARS-CoV)による感染である。いくつかの態様において、補体関連障害は、SARS-CoV-2の感染である。いくつかの態様において、補体関連障害は、SARS-CoV-2感染によって引き起こされるかまたは悪化する疾患/状態、例えばCOVID-19またはSARS-CoV-2の感染が寄与因子である別の疾患/状態である。WO2022/058447は、健康な対照被験体に比較した、重度疾患を有するCOVID-19患者の血中のFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5およびFHL-1の有意に上昇したレベルを記載する。

【0305】

上記段落中のすべての参考文献は、その全体が本明細書に援用される。

したがって、いくつかの態様において、補体関連障害(例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4および/またはFHR5の1つまたはそれより多くのレベル上昇によって特徴づけられるもの)は、黄斑変性症、加齢性黄斑変性症(AMD)、地図状萎縮(「乾燥」(すなわち非滲出性)AMD)、初期AMD、早期発症黄斑変性症(EOMD)、中期AMD、後期/進行AMD、「湿潤」(血管新生性または滲出性)AMD、脈絡膜血管新生(CNV)、網膜ジストロフィー、溶血性尿毒症症候群(HUS)、非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)、DEAP HUS(溶血性尿毒症症候群のFHR血漿タンパク質不全および自己抗体陽性型)、自己免疫ブドウ膜炎、腎臓傷害/損傷/機能不全、糸球体疾患、II型膜性増殖性糸球体腎炎(MPGN II)、敗血症、ヘノッホ・シェーライン紫斑病(HSP)、IgA腎症、慢性腎臓病、発作性夜間ヘモグロビン尿症(PNH)、自己免疫溶血性貧血(AIHA)、全身性エリテマトーデス(SLE)、シェーグレン症候群(SS)、関節リウマチ(RA)、C3糸球体症(C3G)、デンスデポジット病(DDD)、C3腎炎因子糸球体腎炎(C3 NF GN)、FHR5腎症、遺伝性血管性浮腫(HAE)、後天性血管性浮腫(AAE)、脳脊髄炎、アテローム性動脈硬化症、抗好中球細胞質自己抗体(ANCA)血管炎、神経変性/神経変性性疾患、認知症、多発性硬化症(MS)、レビー小体病、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、ハンチントン病、プリオン病、癌、肺癌、神経膠芽腫、例えば多形神経膠芽腫(GBM)、脳卒中、インスリン耐性、糖尿病、感染性疾患、パーキンソン病、および/またはアルツハイマー病より選択される。

【0306】

本開示の物品の投与は、好ましくは、「療法的有効」または「予防的有効」量であり、これは、被験体に療法的または予防的利益を示すために十分な量である。実際の投与量、ならびに投与速度および時間経過は、疾患／状態の性質および重症度、ならびに投与される特定の物品に応じるであろう。治療の処方、例えば投薬量等の決定は、一般開業医および他の医師の責任の範囲内であり、そして典型的には、治療すべき疾患／障害、個々の被験体の状態、送達部位、投与法および医師に知られる他の要因を考慮する。上述の技術およびプロトコルの例は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 第20版, 2000, Lippincott, Williams & Wilkins刊行に見出されうる。

10

【0307】

本開示の物品の投与は、局所、非経口、全身、腔内、静脈内、動脈内、筋内、クモ膜下腔内、眼内、硝子体内、結膜内、網膜下、脈絡膜上、皮下、皮内、クモ膜下腔内、経口、鼻または経皮であってもよいし、あるいは点眼剤としてであってもよい（すなわち眼科投与）。

【0308】

本開示にしたがったいくつかの側面および態様において、本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物を、肝臓、例えば1つまたはそれより多い肝細胞に投与する。いくつかの場合、本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物を血液に投与する（すなわち静脈内／動脈内投与）。いくつかの場合、本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物を皮下投与する。

20

【0309】

本開示にしたがったいくつかの側面および態様は、本開示の物品のターゲティング送達を含んでもよく、すなわち被験体における関連剤の濃度は、体の他の部分に比較して、体のある部分では増加し、そして／または関連剤は調節放出技術を通じて送達される。核酸送達のための方法の例は、本明細書の上記に記載される。いくつかの態様において、方法は、静脈内、動脈内、筋内または皮下投与を含み、そして関連剤は、ターゲティング剤送達系で配合される。適切なターゲティング送達系には、例えば、ナノ粒子、リポソーム、ミセル、ビーズ、ポリマー、金属粒子、デンドリマー、抗体、アプタマー、ナノチューブ、またはマイクロサイズシリカロッドが含まれる。こうした系は、剤を望ましい臓器または組織に導く磁気要素を含んでもよい。適切なナノキャリアーおよび送達系は、当業者には明らかであろう。いくつかの場合、関連剤は、特定の臓器（単数または複数）または組織（単数または複数）へのターゲティング送達のために配合される。いくつかの場合、関連剤は、肝臓に送達される。いくつかの場合、方法は、静脈内、動脈内、筋内または皮下投与を含み、そして関連剤は、肝臓へのターゲティング送達のために配合される。

30

【0310】

投与の特定の様式および／または部位は、H因子ファミリータンパク質（例えばFHRタンパク質）の遺伝子および／またはタンパク質発現の減少が必要な位置にしたがって選択されてもよい。いくつかの場合、方法は、静脈内および／または動脈内投与を含む。いくつかの場合、方法は、目への投与を含む。H因子ファミリータンパク質（例えばFHRタンパク質）をコードする遺伝子の発現減少が必要であれば、投与は肝臓へのものでありうる。いくつかの場合、関連剤は、1つまたはそれより多い肝細胞に送達される。

40

【0311】

本開示の剤または物品の投与は、治療しようとする状態に応じて、単独であっても、あるいは同時にまたは連続してのいずれかで、他の治療と組み合わせてであってもよい。同時投与は、例えば両方の剤を含有する医薬組成物（組み合わせ調製物）として、別の療剤と一緒に、または互いの直後の、そして任意選択で同じ投与経路を通じた、例えば同じ組織、動脈、静脈または他の血管への投与を指す。連続投与は、1つの剤の投与後、所定の時間間隔後の、別の剤の別個の投与を指す。2つの剤が同じ経路によって投与されるこ

50

とは必要ではないが、いくつかの態様では同じ経路で投与される。時間間隔は、任意の時間間隔であってもよい。

【0312】

いくつかの態様において、本開示記載の療法的または予防的介入は、補体関連障害の治療／防止のための別の剤の投与をさらに含んでもよい。こうした態様で使用される補体関連障害の治療／防止のための例示的な剤には、C1阻害剤、C5阻害剤、C5a阻害剤、C5aRアンタゴニスト、C3阻害剤、C3a阻害剤、C3b阻害剤、C3aRアンタゴニスト、古典的経路阻害剤、第二経路阻害剤、FH補充療法および／またはMBL経路阻害剤が含まれる。特定の補体ターゲティング療法には、限定なしに、ヒトC1エラスターゼ阻害剤（C1-INH）、エクリズマブ（Soliris（登録商標）、Alexion；ヒト化モノクローナルIgG2／4抗体ターゲティングC5）、APL-2（APELLIS）、ムボディナ（Adienne PharmaおよびBiotech）、エルジディナ（Adienne PharmaおよびBiotech）、POT-4（C3の環状ペプチド阻害剤；Alcon）、リツキシマブ（Biogen Idec、Genentech／Roche）、オフアツムマブ（Genmab、GSK）、コンパスタチン類似体、CD59の可溶性およびターゲティング型、PMX53およびPMX205（Cephalon／Teva）、JPE-1375（Jerini）、CCX168（ChemoCentryx）、NGD-2000-1（以前のNeurogen）、Cinryze（Shire）、Berinert（CSL Behring）、Cetor（Sanquin）、Ruconest／Conestatアルファ（Pharming）、TNT009（True North）、OMS721（Omeros）、CLG561（Novartis）、AMY-101（Amyndas）、APL-1（APELLIS）、APL-2（APELLIS）、Mirococept（MRC）、Lampalizumab（FCD4514S、Genentech／Roche）、ACH-4471（Achillion）、ALXN1210（Alexion）、Tesidolumab／LFG316（Novartis／Morphosys）、Coversin（Akari）、RA101495（Ra Pharma）、Zimura（ARC1905、Ophthotech）、ALN-CC5（Alnylam）、IFX-1（InflaRx）、ALXN1007（Alexion）、Avacopan／CCX168（ChemoCentryx）、および／または、例えば、すべて、その全体が本明細書に援用される、RicklinおよびLambris, Adv Exp Med Biol. 2013, 734: 1-22; RicklinおよびLambris, Semin Immunol. 2016, 28(3): 208-22; Melis JPMら, Mol Immunol. 2015 67(2): 117-130; Thurman JM, Nephrol Dial Transplant, 2017 32: i57-i64; Cashman SMら, PLoS One. 2011, 6(4): e19078; Bora NSら, J Biol Chem. 2010, 285(44): 33826-33; ならびにClarkら, J Clin Med 2015, 4(1): 18-31、WO 2018／224663およびWO 2019／138137に記載されるような1つまたはそれより多い療法剤の1つまたはそれより多くが含まれる。

【0313】

本開示と関連して使用するために適した他の療法剤または技術は、栄養療法、光力学療法（PDT）、レーザー光凝集、抗VEGF（血管内皮増殖因子）療法、および／または当該技術分野に知られるさらなる療法を含んでもよい。例えば、AL-Zamil WMおよびYassin SA, Clin Interv Aging. 2017 Aug 22; 12: 1313-1330）を参照されたい。抗VEGF療法は、剤、例えば、ラニズマブ（Lucentis、Genentech／Novartis製造）、Avastin（Genentech）、ベバシズマブ（認可外Avastin）、およびアフリベルセプト（Regeneron／BayerのEylea（登録商標）／VEGF

10

20

30

40

50

Trap-eye) を含んでもよい。本開示で使用するために適したさらなる剤または技術には、APL-2 (Apellis)、AdPEDF (GenVec)、被包細胞技術 (ECT; Neurotech)、乳酸スクアラミン (EVIZONTM、Genaera)、OT-551 (酸化防止剤点眼剤、Othera)、酢酸アネコルタブ (Retane (登録商標)、Alcon)、ベバシラニブ (siRNA、Acuity Pharmaceuticals)、ペガプタニブナトリウム (Macugen (登録商標))、およびAAVCAGsCD59 (臨床試験識別子: NCT03144999) が含まれる。

【0314】

いくつかの態様において、方法は、例えば癌の治療／防止のため、さらなる療法または予防介入を含む。いくつかの態様において、療法または予防介入は、化学療法、免疫療法、放射療法、手術、ワクチン接種および／またはホルモン療法より選択される。いくつかの態様において、療法または予防介入は、白血球除去を含む。いくつかの態様において、療法または予防介入は幹細胞移植を含む。

10

【0315】

化学療法および放射療法は、それぞれ、薬剤でのまたは電離放射線 (例えばX線またはγ線を用いた放射療法) での癌の治療を指す。薬剤は、化学実体、例えば小分子医薬品、抗生物質、DNA挿入剤、タンパク質阻害剤 (例えばキナーゼ阻害剤)、または生物学的剤、例えば抗体、抗体断片、アプタマー、核酸 (例えばDNA、RNA)、ペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質であってもよい。薬剤は、医薬組成物または薬剤として配合されてもよい。配合物は、1つまたはそれより多い医薬的に許容されうる希釈剤、賦形剤またはキャリアーとともに、1つまたはそれより多い薬剤 (例えば1つまたはそれより多い活性剤) を含んでもよい。

20

【0316】

本開示の物品の多数用量を提供してもよい。用量の1つまたはそれより多く、あるいは各々には、別の療法剤の同時または連続投与が伴ってもよい。

多数用量は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、または31日、あるいは1、2、3、4、5、または6か月の1つであるように選択されてもよい、あらかじめ決定された時間間隔によって分離されていてもよい。例えば、用量は、7、14、21または28日 (プラスまたはマイナス3、2、または1日) ごとに1回、投与されてもよい。

30

【0317】

本開示の物品を、あらかじめ決定された速度で、剤 (単数または複数)、阻害性核酸 (単数または複数)、核酸 (単数または複数)、発現ベクター (単数または複数) および組成物 (単数または複数) を放出するため、持続放出送達系で配合してもよい。持続放出送達系は、明記する期間、一定の薬剤／療法剤濃度を維持してもよい。いくつかの態様において、本明細書記載の核酸 (単数または複数)、核酸 (単数または複数)、発現ベクター (単数または複数) および組成物 (単数または複数) は、リポソーム、ゲル、移植体、デバイス、または薬剤-ポリマーコンジュゲート、例えばヒドロゲルで配合される。

40

【0318】

療法的または予防的介入に関する選択

いくつかの側面において、本開示は、例えば本明細書に記載されるような補体タンパク質のレベルを決定することによって、補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を有すると同定されている被験体／患者のための治療を選択し、そして／またはこうした被験体／患者を治療する工程を含む方法を提供する。

【0319】

本明細書記載の方法は、補体関連障害の開始または進行のリスクの診断、予後決定および／または予測であってもよい。診断法を用いて、疾患診断または重症度を決定してもよく、予後決定法は標準治療条件下で、定義される臨床集団において疾患のありうる経過を

50

予測することを補助し、そして予測法は、有効性および／または安全性に関して、治療に対するありうる反応を予測し、こうして、臨床意思決定を補助する。こうした方法を、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸または遺伝子編集ツール／系の投与前に用いてもよい。FHR 1、FHR 2、FHR 3、FHR 4 および／または FHR 5 のレベルが上昇した被験体は、例えば本明細書記載の任意の剤を用いて、前記のタンパク質の任意の 1 つまたはそれより多くの活性レベルの減少から療法的または予防的利益を得ることも可能である。

【0320】

いくつかの側面において、被験体は：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR 1、FHR 2、FHR 3、FHR 4 および／または FHR 5、ならびに任意選択で FH および／または FHL-1 の 1 つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) (a) で決定される、FHR 1、FHR 2、FHR 3、FHR 4 および／または FHR 5、ならびに任意選択で FHL-1 の 1 つまたはそれより多くのレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質（単数または複数）のレベルに比較した際、上昇しているならば、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクターまたは組成物での治療のために、該被験体を選択する

工程を含む方法によって、本開示記載の療法的または予防的介入に関して選択されてもよい。

【0321】

次いで、被験体は、本明細書に記載されるような剤で治療されてもよい。

やはり提供するのは：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR 1、FHR 2、FHR 3、FHR 4 および／または FHR 5、ならびに任意選択で FH および／または FHL-1 の 1 つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) FHR 1、FHR 2、FHR 3、FHR 4 および／または FHR 5、ならびに任意選択で FHL-1 のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質（単数または複数）のレベルに比較した際、上昇しているかどうかを決定し；そして

(c) 該被験体に、本明細書記載の剤、例えば阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクターまたは組成物を投与する

工程を含む、補体関連障害を治療／防止する方法である。

【0322】

やはり提供するのは、薬剤として使用するための、本明細書記載の剤、遺伝子編集ツール／系、阻害性核酸、核酸、発現ベクターまたは組成物である。例えば、剤は、補体関連障害を治療／防止する方法であって：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR 1、FHR 2、FHR 3、FHR 4 および／または FHR 5、ならびに任意選択で FH および／または FHL-1 の 1 つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) FHR 1、FHR 2、FHR 3、FHR 4 および／または FHR 5、ならびに任意選択で FHL-1 のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質のレベルに比較した際、上昇しているかどうかを決定し；そして

(c) 該被験体に、本明細書記載の剤、遺伝子編集ツール／系、阻害性核酸、核酸、発現ベクターまたは組成物を投与する

工程を含む、前記方法で使用するために提供されてもよい。

【0323】

やはり提供するのは、補体関連障害を治療／防止するための薬剤製造における本明細書記載の剤、遺伝子編集ツール／系、阻害性核酸、核酸、発現ベクターまたは組成物の使用であって：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4 および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) FHR1、FHR2、FHR3、FHR4 および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHL-1の1つまたはそれより多くのレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質のレベルに比較した際、上昇しているかどうかを決定し；そして

(c) 該被験体に、本明細書記載の剤、遺伝子編集ツール／系、阻害性核酸、核酸、発現ベクターまたは組成物を投与する工程を含む、前記使用である。

10

【0324】

本明細書記載の任意の方法は：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4 および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) 補体タンパク質（例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4 および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHL-1の1つまたはそれより多く）のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中の補体タンパク質（単数または複数）のレベルに比較した際、上昇しているかどうかを決定し；そして／または

(c) 工程(b)において上昇していることが見出された1つまたはそれより多い補体タンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるため、該被験体に、本明細書記載の剤、遺伝子編集ツール／系、阻害性核酸、核酸、発現ベクターまたは組成物を投与する

20

工程の1つまたはそれより多くを含んでもよい。

【0325】

本明細書に提供される方法は、深刻な補体関連障害を発展させる被験体のリスクを決定するために有用であってもよく、例えば該方法は、軽度の補体関連障害を発展させうる被験体および深刻な疾患のリスクがある被験体の間を区別し、そして／または深刻な疾患を発展させる可能性が高い被験体を同定するために有用である。本明細書記載の方法はまた、補体関連障害の治療が有効であるかまたは成功するか、あるいは有効であり続けるかまたは成功しているかを評価するためにも有用でありうる。

30

【0326】

本明細書に記載されるように、方法は、補体関連障害を持たない対照被験体、またはある補体タンパク質の改変されたレベルに関連しない補体関連障害を有する被験体における血中のその補体タンパク質のレベルに比較した際、その補体タンパク質のレベルが改変されているか、例えば増加しているかまたは減少しているかを決定する工程を含んでもよい。いくつかの場合、方法は、互いに比較した補体タンパク質の相対濃度を決定する工程を含んでもよく、例えば、同じ被験体において、または対照被験体に比較した際、改変されていないかまたは減少している可能性もある、異なる補体タンパク質のレベルに比較した際、補体タンパク質のレベルが上昇しているかまたは低下しているか。

40

【0327】

いくつかの態様において、当該技術分野に知られ、そして当業者が利用可能である任意の適切な技術を用いて、補体タンパク質のレベルを決定する。いくつかの態様において、質量分析によって、および／またはタンパク質をエンドプロテイナーゼGluC、例えば本明細書に記載されるようなもので消化して、補体タンパク質のレベルを決定する。

【0328】

いくつかの態様において、本明細書記載の方法を*in vitro*または*ex vivo*で行う。例えば、試料を関心対象の被験体、または対照被験体から得てもよく、そして補体タンパク質のレベルを決定し、被験体が補体関連障害を有するかまたはこうした障害を発展させるリスクがあるかを決定し、そして少なくとも1つの補体タンパク質を消化す

50

る工程を伴う工程を、*in vitro*または*ex vivo*で行う。被験体を治療する工程を伴う方法工程を、*in vivo*で行ってもよい。

【0329】

本明細書記載の方法は、補体関連障害のための、過去のまたは進行中の治療を含む、療法的または予防的介入の成功を監視する際に有用でありうる。いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、本明細書記載の剤、阻害性核酸、核酸、発現ベクター、または組成物を、補体関連障害を有する／有すると決定された被験体に投与して、そして次いで、こうした療法／予防介入後に、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多くのレベルを再決定する工程を含んでもよい。こうした方法は、療法／予防介入の有効性および障害の進行を決定するために有用である。

10

【0330】

いくつかの側面において、本開示は、被験体由来の試料の本明細書記載の分析に基づいて、被験体が補体関連障害を発展させるリスクがあるか、補体関連障害を有するか、補体関連障害のための療法／予防介入の必要があるか、補体関連障害のための療法／予防介入に反応するか、および／または、補体関連障害のための療法／予防介入に反応している／反応したかを予測する方法を提供する。該方法は、被験体が障害開始のリスクがあるか、そして／または障害の進行、増悪または悪化のリスクがあるかを決定するためにも使用されうる。

【0331】

本明細書記載の方法は、被験体が、例えば本明細書に記載されるような、補体関連障害の開始または進行のリスクがあるかを決定するために使用されうる。補体関連障害は、黄斑変性症、例えばEOMDおよび／またはAMDであってもよい。いくつかの場合、障害は、EOMD、AMD、地図状萎縮（「乾燥」（すなわち非滲出性）AMD）、初期AMD、中期AMD、後期／進行AMD、「湿潤」（血管新生性または滲出性）AMD、脈絡膜血管新生（CNV）および網膜ジストロフィーより選択される。いくつかの場合、被験体は、補体関連障害を有するかまたは有すると推測される。いくつかの場合、障害はAMDである。いくつかの場合、障害はEOMDである。

20

【0332】

したがって、本開示は、被験体が、黄斑変性症、例えばEOMDおよび／またはAMDを発展させるリスクがあるかを決定するための方法であって：

30

（a）被験体から得られた試料中の1つまたはそれより多い補体タンパク質を、エンドプロテイナーゼGluCで消化して、1つまたはそれより多いペプチドを得て、例えば1つまたはそれより多い補体タンパク質は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多くより選択され；

（b）1つまたはそれより多いペプチドのレベルを質量分析によって決定し；

（c）（b）の結果を用いて、1つまたはそれより多い補体タンパク質のレベルを決定し；そして

（d）FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHL-1のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質（単数または複数）のレベルに比較した際に上昇しているならば、被験体が、黄斑変性症を有するか、または発展させるリスクがあると決定する工程を含む、前記方法を提供する。

40

【0333】

本明細書にやはり提供するのには、上記工程（a）～（d）を含む、被験体が補体関連障害を発展させる傾向または素因を評価するための方法である。

本明細書記載の方法はまた、補体関連障害のための療法／予防介入が有効であるかまたは成功している／有効であったかまたは成功したかを評価するためにも有用でありうる。

【0334】

50

いくつかの側面において、本明細書記載の方法は、被験体が療法介入に反応する可能性が高いかまたは反応しない可能性が高いか、あるいは被験体が療法介入に反応しているかを決定するために有用でありうる。方法は、患者がその特定の病理学的必要性のために、最も有効な療法を受けることを可能にするはずである。

【0335】

いくつかの場合、被験体は、補体関連障害を有するかまたは有すると推測される。いくつかの場合、本明細書提供の方法は、被験体が補体関連障害を有するかまたは有すると推測されるかを決定する工程を含む。いくつかの場合、障害はAMDである。いくつかの場合、障害はEOMDである。

【0336】

いくつかの側面において、本開示は、被験体において補体関連障害を治療するかまたは防止するための方法であって、本開示記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物の療法的または予防的有効量を投与する工程を含む、前記方法を提供し、治療される被験体は、対照被験体および／または参照値（単数または複数）に比較した際、例えば本明細書に記載されるように検出／決定された、1つまたはそれより多い補体タンパク質の非典型的な存在またはレベルを有すると決定されている。いくつかの側面において、被験体は、補体関連障害を発展させるリスクがあると決定されており、および／または、補体関連障害を有すると同定されている。

【0337】

他の側面において、本開示は、被験体において補体関連障害を治療するかまたは防止する方法であって、剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物の療法的または予防的有効量を投与する工程を含む前記方法で使用するのための、本開示記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物を提供し、被験体は、参照値（単数または複数）に比較した際、例えば本明細書に記載されるように決定された、1つまたはそれより多い補体タンパク質の非典型的な存在またはレベルを有すると決定されている。いくつかの側面において、被験体は、補体関連障害を発展させるリスクがあると決定されており、および／または、補体関連障害を有すると同定されている。

【0338】

いくつかの側面において、被験体における補体関連障害を治療するかまたは防止するための薬剤製造における、本開示記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物の使用を提供し、被験体は、参照値（単数または複数）に比較した際、例えば本明細書に記載されるように決定された、1つまたはそれより多い補体タンパク質の非典型的な存在またはレベルを有する／有すると決定されている。いくつかの側面において、被験体は、補体関連障害を発展させるリスクがあると決定されており、および／または、補体関連障害を有すると同定されている。

【0339】

被験体における補体関連障害を治療するかまたは防止する方法、あるいは被験体における補体関連障害を治療するかまたは防止する方法において使用するのための本開示記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物であって、前記方法が、本開示記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物の療法的または予防的有効量を投与する工程を含む前記方法、あるいは前記剤もまた提供し、被験体は、参照値（単数または複数）に比較した際、例えば本明細書に記載されるように決定された、1つまたはそれより多い補体タンパク質の非典型的な存在またはレベルを有する／有すると決定されている。いくつかの側面において、被験体は、補体関連障害を発展させるリスクがあると決定されており、および／または、補体関連障害を有すると同定されている。

【0340】

本明細書に提供する多様な側面において、療法または予防介入を投与すべき被験体は、少なくとも1つの補体タンパク質、好ましくはFH、FHL-1、FHR1、FHR2、

10

20

30

40

50

FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg、および／またはC3dの1つまたはそれより多くの非典型的な存在またはレベルを有する。いくつかの態様において、被験体は、FHR1、FHR2、および／またはFHR3、ならびに任意選択でFHR4および／またはFHR5、および／またはFHL-1の1つまたはそれより多くの非典型的な存在またはレベルを有する。被験体は、参照値（単数または複数）に比較した際に増加している、任意の補体タンパク質のレベルを減少させる療法または予防介入から、ならびに／あるいは、参照値（単数または複数）に比較した際に減少している、任意の補体タンパク質のレベルを増加させる療法または予防介入から利益を得てもよい。

【0341】

補体関連障害の発展のリスク、すなわちその開始または進行のリスクを評価するための、あるいは補体関連障害を有する／そのリスクがある被験体を同定するための、本明細書に提供される方法を、当業者に知られるであろう、こうした障害に関するさらなる診断法および／または試験と組み合わせて行ってもよい。いくつかの場合、補体関連障害の発展のリスクを評価するための方法は：溶血アッセイを通じたCH50またはAH50測定、MAC複合体（C5b、C6、C7、C8、C9）生成中のネオ抗原形成の測定、C3不全スクリーニング、マンノース結合レクチンアッセイ、個々の補体成分を定量化するための免疫化学アッセイ、細胞結合制御タンパク質、例えばCD55、CD59およびCD35を評価するためのフローサイトメトリー、および／または腎機能試験より選択されるさらなる技術を含む。例えばその全体が本明細書に援用される、Shih ARおよびMurali MR, Am. J. Hematol. 2015, 90(12):1180-1186、Ogedegbe HO, Laboratory Medicine, 2007, 38(5):295-304、ならびにGowda Sら, N Am J Med Sci. 2010, 2(4):170-73を参照されたい。

【0342】

いくつかの場合、AMDおよび／またはEOMDの発展のリスクを評価するための本明細書提供の方法は：暗順応試験、コントラスト感度試験、例えばPelli Robson、例えばSnellenチャートおよび／またはAmslerグリッドを用いた視覚試験、色覚および色コントラスト感度を評価するためのFarnsworth-Munsell 100色相試験および最大色コントラスト感度試験（MCCS）、優先的超視力視野測定（PHP）、目の背部の眼底撮影、眼底検査、眼底自己蛍光、光干渉断層撮影、血管造影、例えば蛍光血管造影、眼底フルオレセイン血管造影、ヨードシアニンググリーン血管造影、光干渉断層撮影血管造影、補償光学網膜画像撮影、眼底画像のディープラーニング分析、網膜電図法、および／または目の委縮、網膜色素変化、滲出変化、例えば出血、硬性白斑、網膜下／RPE下／網膜内液、および／またはドルーゼンの存在より選択されるさらなる評価技術を含む。

【0343】

本明細書記載の方法は、補体関連障害を発展させるリスクに寄与することが知られるライフスタイル要因を考慮に入れてもよい。例えば、AMDを引き起こしうるまたはこれに寄与しうるライフスタイル要因には、喫煙、過体重、高血圧およびAMDの家族歴を有することが含まれる。

【0344】

本明細書提供の方法は、補体制御不全と関連する被験体ゲノム中の多形によって特徴づけられる遺伝子プロファイルの存在または非存在を被験体において決定する工程を含んでもよい。多型は、例えば、CCL28、FBN2、ADAM12、PTPRC、IGLC1、HS3ST4、PRELP、PPID、SPOCK、APOB、SLC2A2、COL4A1、MYOC、ADAM19、FGFR2、C8A、FCN1、IFNAR2、C1NH、C7およびITGA4などの遺伝子内またはその近傍に見られてもよい。補体制御不全に関連する遺伝子プロファイルは、例えば、その全体が本明細書に援用される、US 2010/0303832の表IおよびIIに示されるような1つまたはそれより多

い、しばしば多数の一塩基多型を含んでもよい。

【0345】

遺伝的要因は、AMDおよびEOMDの発展に役割を果たすと考えられる。したがって、本明細書記載の評価または療法／予防法のいずれを、AMD関連および／またはEOMD関連および／または黄斑ジストロフィー関連遺伝子変異体を評価する方法と組み合わせてもよい。いくつかの場合、本明細書記載の補体関連障害は、遺伝的要素および／または遺伝的リスク要因を含んでもよい。

【0346】

いくつかの場合、本明細書提供の方法は、AMDおよび／またはEOMDに関連する1つまたはそれより多い遺伝的要因、例えば1つまたはそれより多いAMDまたはEOMD関連遺伝子変異体の存在または非存在を被験体において決定する工程を含んでもよい。いくつかの場合、方法は、1つまたはそれより多い遺伝的要因の存在または非存在に関してスクリーニングする（直接または間接的に）工程を含む。いくつかの態様において、遺伝的要因（単数または複数）は、遺伝的リスク要因（単数または複数）である。いくつかの態様において、被験体は、1つまたはそれより多いこうしたリスク要因を有すると決定されている。いくつかの態様において、本開示の方法は、被験体が1つまたはそれより多いこうしたリスク要因を所持するかどうかを決定する工程を含む。

【0347】

いくつかの態様において、1つまたはそれより多い遺伝的要因は、例えばCFH／CFHR遺伝子／CFH遺伝子座中の、RCA遺伝子座またはその近傍の染色体1番上に位置してもよい。いくつかの態様において、1つまたはそれより多いCFH遺伝子座のAMDリスク変異体の存在は、FHRタンパク質レベルの増加を通じて、疾患リスクを増加させる。

【0348】

1つまたはそれより多い遺伝的要因は：Y402H（すなわちrs1061170^C）、rs1410996^C、I62V（rs800292）、A473A（rs2274700）、R53C、D90G、D936E（rs1065489）、R1210C、IVS1（rs529825）、IVS2insTT、IVS6（rs3766404）、A307A（rs1061147）、IVS10（rs203674）、rs3753396、R1210C、rs148553336、rs191281603、rs35292876、およびrs800292より選択されるCFH；例えばrs6685931、およびrs1409153より選択されるCFHR4；G119Rおよびrs141853578より選択されるCFI；CFB、例えばrs4151667、C2、例えばrs9332739、C9、例えばP167S；ならびに／あるいはC3、例えばK155Qの1つまたはそれより多くに位置してもよい。いくつかの態様において、遺伝的要因は、Y402H（すなわちrs1061170^C）である。いくつかの態様において、遺伝的要因は、rs3753396である。いくつかの態様において、遺伝的要因は、rs6685931および／またはrs1409153である。いくつかの態様において、遺伝的要因は、イントロン性KCNT2 rs61820755である。いくつかの態様において、遺伝的要因は、rs6685931ではない。

【0349】

いくつかの態様において、遺伝的要因はrs61820755であり、そしてFHL-1と関連していてもよい。

本明細書の任意の態様において、遺伝的リスク要因は、1つまたはそれより多いFHRタンパク質のレベル上昇と組み合わせて存在しうる。CFH遺伝子座の1つまたはそれより多い遺伝的要因は、FHR-1に関する遺伝子間CFHR1／CFHR4 rs149369377および／またはrs61820755、FHR-2に関するCFHR2 rs4085749、FHR-3に関するイントロン性CFH rs70620、FHR-4に関するrs12047098、FHR-5に関するイントロン性KCNT2 rs72732232より選択されてもよい。これらの遺伝的要因の任意の1つまたはそれより

多くの存在は、被験体が補体関連障害を有するかまたはこれを発展させる可能性があることを示す。

【0350】

1つまたはそれより多い遺伝的リスク要因は、rs10922109、rs570618、rs121913059 (R1210C)、rs148553336、rs187328863、rs61818925、rs35292876、およびrs191281603より選択される。

【0351】

1つまたはそれより多い遺伝的要因は、染色体10上のrs113721756、染色体11上のrs111260777、染色体12上のrs117468955、染色体13上のrs200404865、染色体17上のrs4790395および染色体19上のrs117115124より選択されてもよい。これらの要因は、CFH遺伝子座の遺伝的要因と別個に、またはそれに加えて存在してもよい。これらの要因は、FHR-3レベル上昇と組み合わせ存在してもよい。

【0352】

遺伝的要因のあらゆる組み合わせ、例えば以下のような検出／評価を含む、本明細書記載のものまたはさらなる要因が想定される。

本明細書記載の方法は、被験体が補体関連障害を発展させるリスクを評価する、リスク要因の組み合わせの検出、例えば一方または両方のリスク要因が被験体に存在するかどうかの検出を伴ってもよい。例えば：

rs10922109および遺伝子間CFHR1／CFHR4 rs149369377
rs10922109およびCFHR2 rs4085749
rs10922109およびイントロン性CFH rs70620
rs10922109および遺伝子間CFHR1－CFHR4 rs12047098
rs570618および遺伝子間CFHR1／CFHR4 rs149369377
rs570618およびCFHR2 rs4085749
rs148553336およびイントロン性KCNT2 rs72732232
rs61818925およびCFHR2 rs4085749；および／または
rs61818925および遺伝子間CFHR1－CFHR4 rs12047098。

【0353】

本明細書提供の任意の遺伝的リスク要因の存在の評価を、本明細書に記載されるような、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHL-1の任意の1つまたはそれより多くの検出と組み合わせてもよい。例えば、遺伝的要因rs10922109の存在をFHR-1、FHR-2、FHR-3、および／またはFHR-4の任意の1つまたはそれより多くの検出と組み合わせ評価してもよいし；rs570618をFHR-1および／またはFHR-2の検出と組み合わせ評価してもよいし；rs61818925をFHR-2および／またはFHR-4の検出と組み合わせ評価してもよいし；そしてrs148553336をFHR-5の検出と組み合わせ評価してもよい。

【0354】

本明細書の任意の態様または方法において、方法は、1つまたはそれより多い遺伝的要因、例えば本明細書記載のものが存在するならば、被験体が補体関連障害を有するかまたは発展させる可能性が高いと決定する工程を含んでもよい。

【0355】

したがって、本明細書に提供するのは、補体関連障害を有するか、または補体関連障害を発展させるリスクがある被験体を同定する方法であって、1つまたはそれより多い遺伝的リスク要因、例えば本明細書記載のものまたはその他のもののいずれかに関して被験体を評価して、そして1つまたはそれより多い遺伝的リスク要因が被験体に存在するならば、被験体が補体関連障害を有するかまたは発展させる可能性が高いと決定する工程を含む、前記方法である。

【0356】

本明細書に提供するのは、被験体が補体関連障害を有するかまたはこうした障害を発展させるリスクがあるかを決定する方法であって、1つまたはそれより多い遺伝的リスク要因、例えば本明細書記載のものまたはその他のもののいずれかに関して被験体を評価して、そして1つまたはそれより多い遺伝的リスク要因が被験体に存在するならば、被験体が補体関連障害を有するかまたは発展させる可能性が高いと決定する工程を含む、前記方法である。

【0357】

やはり提供するのは、例えば上記工程を用いて、補体関連障害を有するか、または補体関連障害を有すると同定されている被験体／患者に対して、療法／予防介入を選択し、そして／または療法／予防介入を投与するための方法である。

【0358】

やはり提供するのは、本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物での療法／予防介入に関して被験体を選択するための方法；被験体のために、本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物を選択するための方法；治療法；治療法において使用するための本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物；ならびに補体関連障害の治療のための薬剤製造における、本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物の使用であって、方法が遺伝的リスク要因を評価する（単独で、あるいは補体タンパク質、例えば本明細書に記載されるようなFHRタンパク質のレベルを決定し、そして／またはFHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHL-1の1つまたはそれより多くが、本明細書に記載されるような補体関連障害を持たない対照被験体における血中の補体タンパク質のレベルに比較した際、上昇しているかどうかを決定する工程と組み合わせて）工程を含むものである。

【0359】

遺伝的リスク要因を検出し、そして評価する工程を含む、任意のこうした方法は、例えば、補体関連障害を有するかまたは発展させる可能性が高いと決定されている被験体に、本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物を投与する工程を含んでもよい。

【0360】

他の適切な遺伝的リスク要因および遺伝子変異体は、当該技術分野に知られ、そして例えば、各々、その全体が本明細書に援用される、Edwards AOら、Science 2005, 308(5720):421-4; Hageman GSら、Proc Natl Acad Sci U S A. 2005, 102(20):7227-7232; Haines JLら、Science 2005, 308(5720):419-21、Klein RJら、Science 2005, 308(5720):385-389; Fritzscheら、Nat Genet. 2016, 48(2):134-43; US 2010/0303832; Clark Sら、J Clin Med. 2015, 4(1):18-31、Cipriani V.ら、Nat Commun. 2020, 11, 778;またはHageman GSら、Hum Genomics. 2011, 5, 420(2011)に記載されるとおりであってもよい。

【0361】

いくつかの場合、本明細書提供の方法は、EOMDに関連する1つまたはそれより多い遺伝的要因、例えば1つまたはそれより多いEOMD関連遺伝子変異体の存在または非存在を被験体において決定する工程をさらに含む。いくつかの場合、方法は、1つまたはそれより多い遺伝的要因の存在または非存在に関してスクリーニングする（直接または間接的に）工程を含む。いくつかの態様において、遺伝的要因（単数または複数）は、遺伝的リスク要因（単数または複数）である。いくつかの態様において、被験体は、1つまたは

それより多いこうしたリスク要因を有すると決定されている。いくつかの態様において、本開示の方法は、被験体が1つまたはそれより多いこうしたリスク要因を所持するかどうかを決定する工程を含む。いくつかの態様において、被験体は、早期発症黄斑変性症（EOMD）の1つまたはそれより多いリスク要因を所持してもよい。

【0362】

EOMDは、CFH遺伝子のまれな変異体の一遺伝子遺伝によって引き起こされることが知られる（例えば、Boon CJら *Am J Hum Genet* 2008; 82 (2): 516-23; van de Ven JPら *Arch Ophthalmol* 2012; 130 (8): 1038-47; Yu Yら *Hum Mol Genet* 2014; 23 (19): 5283-93; Duvvari MRら *Mol Vis* 2015; 21: 285-92; Hughes AEら *Acta Ophthalmol* 2016; 94 (3): e247-8; Wagnerら *Sci Rep* 2016; 6: 31531; Taylor RLら *Ophthalmology*. 2019 Mar 21. pii: S0161-6420 (18): 33171-3を参照されたい）。いくつかの態様において、被験体は、EOMD関連遺伝子変異体の1つまたはそれより多くを所持してもよい。EOMD関連遺伝子変異体は、例えば、その全体が本明細書に援用される、Servais Aら *Kidney Int*, 2012; 82 (4): 454-64およびDragon-Durey MAら *J Am Soc Nephrol* 2004; 15 (3): 787-95に記載される。いくつかの態様において、被験体は以下のEOMD関連遺伝子変異体： CFH c. 1243del, p. (Ala415Profs*39) het; CFH c. 350+1G>T het; CFH c. 619+1G>A het; CFH c. 380G>A, p. (Arg127His); CFH c. 694C>T, p. (Arg232Ter); またはCFH c. 1291T>A, p. (Cys431Ser) の1つまたはそれより多くを所持していてもよい。

【0363】

いくつかの場合、本明細書提供の方法は、AMDおよび／またはEOMDリスクまたは保護と関連する、RCA遺伝子座（CD46（MCP）遺伝子を通じて、CFH遺伝子から伸長する染色体1番上に位置するDNA配列領域）内の欠失に関してスクリーニングする工程を含む。

【0364】

遺伝的要因の存在または非存在を決定するための方法には、ゲノムDNAの制限断片長多型同定（RFLPI）、ゲノムDNAのランダム増幅多型検出（RAPD）、増幅断片長多型検出（AFLPD）、多数遺伝子座可変数タンデムリピート（VNTR）分析（MLVA）、SNP遺伝子型決定、多遺伝子座配列タイピング、PCR、DNA配列決定、例えばサンガー配列決定または次世代配列決定、アレル特異的オリゴヌクレオチド（ASO）プローブ、およびオリゴヌクレオチドマイクロアレイまたはビーズが含まれる。他の適切な方法が、例えば、Edenberg HJおよびLiu Y, *Cold Spring Harb Protoc*; 2009; doi: 10.1101/pdb.top62、ならびにTsuchihashi ZおよびDracopoli NC, *Pharmacogenomics J.*, 2002, 2: 103-110に記載される。

【0365】

いくつかの態様において、被験体は、AMDおよび／またはEOMDに関する1つまたはそれより多い遺伝的要因、例えば1つまたはそれより多いAMD関連および／またはEOMD関連遺伝子変異体を所持すると決定されている、あるいは黄斑ジストロフィーに関して決定されていることに基づいて、本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物での療法的または予防的治療に関して選択される。いくつかの態様において、被験体は、1つまたはそれより多いこうした遺伝的要因を有すると決定されてきている。いくつかの態様において、本明細書提供の方法は、被験体が1つまたはそれより多いこうした遺伝的要因を所持するかどうかを決定する工程を含む

。こうした方法および遺伝的要因の例は、本明細書に記載される。したがって、本明細書に提供するのは、被験体において補体関連障害を診断するか、治療するかまたは防止する方法であって、被験体がAMDおよび／またはEOMDの1つまたはそれより多い遺伝的要因を有する／所持すると既に決定されている／所持すると決定され、そして被験体が参照値（単数または複数）に比較した際、例えば本明細書に記載されるように検出／決定される1つまたはそれより多い補体タンパク質の非典型的な存在またはレベルを有する／有すると既に決定されている／有すると決定され；任意選択で、方法が本明細書記載の剤、阻害性核酸、遺伝子編集ツール／系、核酸、発現ベクター、または組成物を投与する工程を含む、前記方法である。

【0366】

10

提供するのは、被験体において補体関連障害を治療するかまたは防止する方法であって、被験体が、例えば本明細書に記載されるように検出／決定された、1つまたはそれより多い補体タンパク質の非典型的な存在またはレベルを有すると特徴づけられる、前記方法である。

【0367】

やはり提供するのは、被験体において補体関連疾患を治療するかまたは防止する方法において使用するための補体ターゲティング療法剤であって、被験体が、例えば本明細書に記載されるように検出／決定された、1つまたはそれより多い補体タンパク質の非典型的な存在またはレベルを有すると特徴づけられる、前記療法剤である。

【0368】

20

補体関連障害を評価するための方法

本開示はまた、補体関連障害の開始リスク、進行リスク、または発展リスクを評価するための方法も提供する。補体関連障害は、補体系、またはその活性化／過剰活性化／制御不全が、病理学的に関連する任意の障害であってもよい。補体関連障害は、本明細書記載の任意の障害であってもよい。本明細書記載の方法は、補体関連障害に関する、過去または現在の治療を含む、治療の成功を監視する際に有用でありうる。こうした治療は、本明細書に記載されるような1つまたはそれより多い剤を伴ってもよい。

【0369】

いくつかの側面において、提供するのは、補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を発展させるリスクがある被験体を同定する方法であって：

30

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5の1つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) (a)において決定された補体タンパク質のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質レベルに比較した際、上昇している場合、被験体が補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を発展させる可能性が高いと決定する

工程を含む、前記方法である。

【0370】

いくつかの側面において、被験体が補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を発展させるリスクがあるかを決定する方法であって：

40

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5の1つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質レベルを決定し；

(b) (a)において決定された補体タンパク質のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質レベルに比較した際、上昇している場合、被験体が補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を発展させるリスクが高いと決定する

工程を含む、前記方法を提供する。

【0371】

50

いくつかの態様において、工程（a）は、FHR1、FHR2および／またはFHR3より選択される補体タンパク質の2つのレベルを決定する工程を含む。いくつかの態様において、工程（a）は、FHR1、FHR2およびFHR3より選択される補体タンパク質の3つのレベルを決定する工程を含む。

【0372】

いくつかの態様において、工程（a）は、FHR4および／またはFHR5のレベルの決定を含むかまたはさらに含む。本明細書記載の方法は、FHR4および／またはFHR5のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質レベルに比較した際、上昇している場合、被験体が補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を発展させる可能性が高いと決定する工程を含んでもよい。

10

【0373】

いくつかの態様において、工程（a）は、FHおよび／またはFHL-1のレベルを決定する工程を含むかまたはさらに含む。方法は、FHL-1のレベルを、単独で、または他の補体タンパク質（単数または複数）と組み合わせて決定し、そしてFHL-1のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のFHL-1のレベルに比較した際、上昇している場合、被験体が補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を発展させる可能性が高いと決定する工程を含んでもよい。FHおよび／またはFHL-1のレベルは、対照被験体に比較して、増加していてもまたは減少していてもよい。

【0374】

2つまたはそれより多い補体タンパク質のレベルの決定は、同時に、同時発生で、または連続して行われてもよい。補体タンパク質は、同じアッセイにおいて、あるいは1つまたはそれより多い別個のアッセイにおいて、検出されてもよい。第二のまたは続く補体タンパク質のレベルの決定は、第一の補体タンパク質のレベルの決定と同時に、それより前にまたはそれより後に行われてもよい。いくつかの態様において、工程（a）および（b）は、補体関連障害の進行を評価するため、適切な時間間隔で、同じ被験体に対して1回またはそれより多い回数、反復されてもよい。

20

【0375】

本明細書記載の任意の側面または態様は、例えば被験体における、以下の遺伝子／タンパク質の任意の1つの（例えば発現の）レベルを決定する工程を含んでもよい：

30

- a) FHR1；
- b) FHR2；
- c) FHR3；
- d) FHR4；
- e) FHR5；
- f) FHR1およびFHR2；
- g) FHR1およびFHR3；
- h) FHR1およびFHR4；
- i) FHR1およびFHR5；
- j) FHR2およびFHR3；
- k) FHR2およびFHR4；
- l) FHR2およびFHR5；
- m) FHR3およびFHR4；
- n) FHR3およびFHR5；
- o) FHR4およびFHR5；
- p) FHR1、FHR2およびFHR3；
- q) FHR1、FHR2およびFHR4；
- r) FHR1、FHR2およびFHR5；
- s) FHR1、FHR3およびFHR4；
- t) FHR1、FHR3およびFHR5；
- u) FHR1、FHR4およびFHR5；

40

50

- v) FHR 2、FHR 3およびFHR 4；
- w) FHR 2、FHR 3およびFHR 5；
- x) FHR 2、FHR 4およびFHR 5；
- y) FHR 3、FHR 4およびFHR 5；
- z) FHR 1、FHR 2、FHR 3およびFHR 4；
- aa) FHR 1、FHR 2、FHR 3およびFHR 5；
- bb) FHR 1、FHR 2、FHR 4およびFHR 5；
- cc) FHR 2、FHR 3、FHR 4およびFHR 5；
- dd) FHR 1、FHR 3、FHR 4およびFHR 5；または
- ee) FHR 1、FHR 2、FHR 3、FHR 4およびFHR 5；

10

あるいはFHおよび／またはFHL-1のレベルの決定と組み合わせられた(a)～(ee)のいずれか、例えばFHR 1、FHR 2、FHR 3に加えたFHおよび／またはFHL-1；あるいはFHR 1、FHR 2、FHR 3、FHR 4、FHR 5に加えたFHおよび／またはFHL-1。

【0376】

検出される補体タンパク質（単数または複数）の選択または組み合わせは、関心対象の補体関連障害および個々の障害の有用なバイオマーカーである補体タンパク質（単数または複数）に応じる可能性もある。例えば、FHR 1、FHR 2、FHR 3、FHR 4、FHR 5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多くの検出は、AMDリスクを予測する一方、他の特定の補体タンパク質およびその組み合わせは、他の補体関連障害を予測する。例えば、本明細書記載の障害および参考文献を参照されたい。本開示は、本明細書記載の補体タンパク質の任意の1つまたはそれより多くの正確な検出および区別を可能にし、したがって、前記タンパク質の絶対レベルが、各障害におけるタンパク質レベルの変動にしたがって、障害開始および／または進行の可能性の情報を提供することを可能にする。補体タンパク質（単数または複数）は、被験体から得られる試料において検出されてもよい。例えば、試料を得て、障害の適切な治療および／または進行の情報を提供することも可能である。

20

【0377】

いくつかの場合、本明細書記載の任意の側面は、例えば被験体から得られた血液試料中のFHR 1、FHR 2、FHR 3、FHR 4、FHR 5、FHおよび／またはFHL-1より選択される任意の1つまたはそれより多い補体タンパク質のレベルを決定し、そして次いで、補体タンパク質（単数または複数）のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質（単数または複数）のレベルに比較した際、改変されている場合、被験体が補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を発展させる可能性が高いと決定する工程を含んでもよい。用語「改変された」は、本明細書で用いられる際、増加しているかまたは減少している補体タンパク質（単数または複数）のレベルを指し、例えば1つまたはそれより多い補体タンパク質のレベルは、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のそれらの補体タンパク質のレベルに比較した際、より高くてもまたはより低くてもよい。いくつかの場合、補体タンパク質のレベルは、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質のレベルに比較した際、減少していてもよい。いくつかの場合、2つまたはそれより多い補体タンパク質のレベルを決定する場合、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のこれらの補体タンパク質のレベルに比較した際、1つまたはそれより多い補体タンパク質のレベルは、上昇していてもよく、一方、1つまたはそれより多い異なる補体タンパク質のレベルは減少していてもよい。

30

40

【0378】

いくつかの態様において、当該技術分野に知られ、そして当業者が利用可能である、任意の適切な技術を用いて、補体タンパク質のレベルを決定する。いくつかの態様において、補体タンパク質のレベルを、例えば本明細書に記載されるように、質量分析および／またはエンドプロテイナーゼGlucでのタンパク質の消化によって決定する。補体タンパ

50

ク質（単数または複数）のレベルの決定は、本明細書に記載されるように、G l u Cでの消化によって産生されるペプチドの任意の組み合わせの検出を伴ってもよい。補体タンパク質のレベルは、例えば、その全体が本明細書に援用される、v a n B e e k ら, F r o n t I m m u n o l . 2 0 1 7 ; 8 : 1 3 2 8 ; v a n B e e k ら F r o n t I m m u n o l . 2 0 1 8 ; 9 : 1 7 2 7 ; および P o u w ら, P L o S O n e . 2 0 1 6 M a r 2 3 ; 1 1 (3) : e 0 1 5 2 1 6 4 に記載されるように、例えば酵素連結免疫吸着アッセイ（E L I S A / E I A）を用いて、決定されてもよい。補体タンパク質のレベルは、例えば、適切な抗体を用いたウェスタンブロッティングまたはドットブロッティング、H P L C、タンパク質免疫沈降または免疫電気泳動を用いて決定されてもよい。

10

【0379】

本明細書記載の任意の側面は、被験体から、試料および／または少なくとも1つのタンパク質、例えば補体タンパク質を得る、最初の工程を含んでもよい。試料の適切な供給源は本明細書に記載される。本明細書記載の方法は、循環F H R 1、F H R 2、および／またはF H R 3、循環F H R 4および／またはF H R 5、ならびに任意選択で循環F Hおよび／またはF H L - 1のレベルを決定する工程を含んでもよい。循環タンパク質は、例えば血液またはリンパ中に存在してもよい。

【0380】

本明細書記載の任意の方法は、例えば本明細書に記載されるような、C 3、C 3 b、C 3 a、i C 3 b、C 3 f、C 3 c、C 3 d g、および／またはC 3 dの1つまたはそれより多いレベルを決定する工程を含んでもよい。

20

【0381】

いくつかの側面において、被験体が補体関連障害を有するかまたはこれを発展させるリスクがあるかを決定する方法であって：

（a）被験体から得られた試料中のF H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4および／またはF H R 5より選択される少なくとも1つの補体タンパク質を、エンドプロテイナーゼG l u Cで消化して、1つまたはそれより多いペプチドを得て；

（b）1つまたはそれより多いペプチドのレベルを質量分析によって決定し；

（c）（b）の結果を用いて、1つまたはそれより多い補体タンパク質のレベルを決定し；そして

30

（d）（c）で決定された、1つまたはそれより多い補体タンパク質のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質（単数または複数）のレベルに比較した際に上昇しているならば、被験体が、補体関連障害を有するか、または発展させるリスクがあると決定する

工程を含む、前記方法を提供する。

【0382】

いくつかの態様において、方法は、F Hおよび／またはF H L - 1の一方または両方をエンドプロテイナーゼG l u Cで消化して、1つまたはそれより多いペプチドを得て、1つまたはそれより多いペプチドのレベルを質量分析によって決定し、そして／または質量分析の結果を用いて、F Hおよび／またはF H L - 1のレベルを決定する工程をさらに含む。本開示の方法で使用するための補体タンパク質の例示的な組み合わせを上記に記載する。

40

【0383】

本明細書にやはり記載するのは、補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を発展させるリスクがある被験体を同定するための、あるいは被験体が補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を発展させるリスクがあるかを決定するためのF H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4および／またはF H R 5、ならびに任意選択でF Hおよび／またはF H L - 1の1つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質の使用であって：

（a）被験体から得られた血液試料において、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4および／またはF H R 5、ならびに任意選択でF Hおよび／またはF H L - 1の1つまた

50

はそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；そして

(b) FHR 1、FHR 2、FHR 3、FHR 4 および／または FHR 5、ならびに任意選択で FHL-1 のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質のレベルに比較した際、上昇している場合、被験体が補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を発展させる可能性が高いと決定する

工程を含む、前記使用である。

【0384】

やはり提供するのは、例えば、補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を発展させるリスクがある被験体を同定するための、あるいは被験体が補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を発展させるリスクがあるかを決定するための、バイオマーカーとしての FHR 1、FHR 2、FHR 3、FHR 4 および／または FHR 5、ならびに任意選択で FH および／または FHL-1 の 1 つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質の使用であって、本明細書で上述する工程を含む、前記使用である。

10

【0385】

1 つの側面において、提供するのは、例えば本明細書記載の方法にしたがって、例えば試料または被験体において、補体タンパク質の存在および／またはレベルを決定するための方法における、エンドプロテイナーゼ GluC の使用である。やはり提供するのは、補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を発展させるリスクがある被験体を同定するための方法であって：

a) 被験体から得られた試料中の少なくとも 1 つの補体タンパク質を、エンドプロテイナーゼ GluC で消化して、1 つまたはそれより多いペプチドを得て；

20

b) 1 つまたはそれより多いペプチドの存在および／またはレベルを質量分析によって決定し；そして

(c) (b) の結果を用いて、被験体が、補体関連障害を有するか、または発展させる可能性が高いと決定する

工程を含む、前記方法における、エンドプロテイナーゼ GluC の使用である。

【0386】

やはり提供するのは、補体ターゲティング療法での補体関連障害の治療のための被験体を選択する方法であって：

a) 被験体から得られた試料中の少なくとも 1 つの補体タンパク質を、エンドプロテイナーゼ GluC で消化して、1 つまたはそれより多いペプチドを得て；

30

b) 1 つまたはそれより多いペプチドの存在および／またはレベルを質量分析によって決定し；そして

(c) (b) の結果を用いて、被験体が補体ターゲティング療法の必要があるかを決定する

工程を含む、前記方法における、GluC の使用である。

【0387】

いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、*in vitro* または *ex vivo* で行われる。例えば、試料に関心対象の被験体、および／または対照被験体から得てもよく、そして決定工程を *in vitro* または *ex vivo* で行う。

40

【0388】

本明細書記載の方法において、補体タンパク質（単数または複数）のレベルを、時に対照と称される、参照値レベルまたは参照レベルに比較する。いくつかの場合、補体タンパク質（単数または複数）のレベルを、補体関連障害を持たない対照被験体における同じ補体タンパク質のレベルに比較する。参照値は、それ自体が対照被験体から得られてもよい、対照試料から得られてもよい。試験しようとする個体から、例えば試料から得られるデータまたは値を、対照試料から得られるデータまたは値に比較してもよい。いくつかの場合、対照は、被験体の配偶者、パートナーまたは友人である。

【0389】

本明細書において、用語「参照値」は、分析中の比較のために用いられる既知の測定値

50

を指す。いくつかの場合、参照値は、定義される健康状態にある個体または群より得られる試験値の1つまたはセットである。参照値は、対照から得られる試験値の1つまたはセットであってもよい。いくつかの場合、参照値は、補体関連障害を持たないことが知られる被験体において補体タンパク質のレベルを決定することから得られる／得られている。いくつかの場合、参照値は、FHRタンパク質（単数または複数）の上昇したレベルと関連しない補体関連障害を有する被験体、例えばFHRタンパク質が病理学的因子であると見なされていない被験体のサブセットにおける補体タンパク質のレベルを決定することから得られる／得られている。いくつかの場合、参照値は、例えば疾患進行のより早期の段階で、または疾患開始前に、試験しようとする個体から、あらかじめ、補体タンパク質のレベルまたは量を決定することによって、設定される。参照値は、同じ被験体、または異なる被験体（単数または複数）から得られる試料より採取されてもよい。試料は、本開示によって用いられる試料と同じ組織／細胞／体液に由来してもよい。参照値は、標準値、標準曲線または標準データセットであってもよい。参照値から有意に逸脱する値／レベルは、非典型値／レベルと記載されてもよい。

10

【0390】

いくつかの場合、対照は、参照試料または参照データセット、あるいは前記試料またはデータセット由来の1つまたはそれより多い値であってもよい。参照値は、参照試料または参照データセットから得られてもよい。参照値は、補体関連障害を持たないことが知られ、および／または、補体関連障害を発展させるリスクがないことが知られるか若しくは予期される、1人またはそれより多い被験体からあらかじめ得られている1つまたはそれより多い試料から得られてもよい。参照値は、補体関連障害を有することが知られる1人またはそれより多い被験体からあらかじめ得られている1つまたはそれより多い試料から得られてもよい。参照値は、補体関連障害を発展させるリスクがあることが知られている1人またはそれより多い被験体からあらかじめ得られている1つまたはそれより多い試料から得られてもよい。参照値は、参照データセット、例えば平均タンパク質レベルから計算されるコンセンサスレベルまたは平均、または平均値であってもよい。参照データセット／値は、例えば本明細書に記載されるように、補体関連障害、例えばAMDを有することが知られる被験体の大規模研究から得られてもよい。

20

【0391】

参照値は、関心対象の被験体と同じ家族である1人またはそれより多い被験体、あるいは関心対象の被験体と同じ家族ではない1人またはそれより多い被験体からあらかじめ得られている1つまたはそれより多い試料から得られてもよい。

30

【0392】

参照値は、試験しようとする個体／被験体／患者からあらかじめ得られているおよび／または分析されている1つまたはそれより多い試料から得られてもよく、例えば試料は、個体が補体関連障害のより早期の段階である個体から得られたか、または試料は、補体関連障害の開始前の個体から得られた。

【0393】

参照値は、試験しようとする個体由来の試料と平行に、対照被験体から採取された試料の分析を行うことによって、得られてもよい。あるいは、データベースまたは他のあらかじめ得られている値から、対照値を得てもよい。参照値は、本明細書開示の方法と同時に決定されてもよいし、またはあらかじめ決定されていてもよい。

40

【0394】

試料が得られる／得られている対照被験体は、補体関連障害の治療を経ていてもよく、および／または、補体関連療法／療法剤を受けていてもよい。

対照は、ターゲット分子が存在することが知られるか、または高レベルで発現する陽性対照、あるいはターゲット分子が存在しないか、または低レベルで発現されることが知られる陰性対照であってもよい。

【0395】

1人またはそれより多い対照被験体由来の試料は、FHR1、FHR2、FHR3、F

50

H R 4、F H R 5、F H および／または F H L - 1 の 7 つのうち、任意の 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つを含んでもよい。いくつかの場合、各補体タンパク質は、別個の対照試料中にある。いくつかの場合、対照試料は、複数の補体タンパク質を含有する。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、異なる、例えば、各試料が 1 つまたはそれより多い補体タンパク質を含有する、1 つまたはそれより多い試料に、本明細書に記載されるように決定された、1 つまたはそれより多い補体タンパク質のレベルを比較する工程を含む。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、単一試料に、本明細書に記載されるように決定された 1 つまたはそれより多い補体タンパク質のレベルを比較する工程を含み、ここで試料は 1 つまたはそれより多い補体タンパク質を含有する。

【0396】

いくつかの場合、対照試料は、試験しようとする個体から得られる試料と同じ組織（単数または複数）から得られる。いくつかの場合、対照試料は、試験しようとする個体から得られる試料と異なる組織（単数または複数）から得られる。対照試料は、1 日の特定の時刻（単数または複数）、または特定の日に対照被験体から得られてもよい。試験しようとする個体から得られる試料（単数または複数）は、好ましくは、対照試料と同じ 1 日の時刻（単数または複数）および／または同じ日（単数または複数）に得られる。

【0397】

いくつかの場合、参照値に比較した際の、例えば本明細書に記載されるような補体タンパク質の増加／減少は、補体関連障害を発展させるリスクが増加していることを示す。いくつかの場合、例えば本明細書に記載されるような、補体タンパク質の増加／減少は、例えば同じ被験体由来の試料中の、障害のより早期の段階の同じ被験体から採取された参照値と比較した際、障害を発展させるリスクが増加していることを示す。

【0398】

いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、2 つまたはそれより多い補体タンパク質のレベルを決定し、そしてその値、例えば濃度を比較する工程を含んでもよい。値を互いに、ならびに参照値と比較してもよく、例えば安定したまたは減少したレベルの i C 3 b およびさらなる C 3 b 分解産物に比較して、増加したレベルの C 3 および C 3 b は、補体関連障害のより高い発展リスク、および／または補体関連障害に関して被験体を治療する必要性を示しうる。安定したまたは増加したレベルの i C 3 b およびさらなる C 3 b 分解産物に比較して、減少したレベルの C 3 および C 3 b は、補体関連障害のより低い発展リスク、および／または補体関連障害の治療が有効であることを示しうる。

【0399】

いくつかの場合、本明細書記載の方法は、試験される被験体において、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4 および／または F H R 5 の任意の 1 つまたはそれより多くのレベルを、F H および／または F H L - 1 のレベルに比較する工程を含んでもよい。例えば、被験体における、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4 および／または F H R 5、ならびに任意選択で F H L - 1 の、F H の安定レベル（すなわち統計的に非有意な変化）に比較して上昇したレベルは、被験体が補体関連障害を有するリスクがより高く、そして／または被験体を補体関連障害に関して治療する必要性を示しうる。

【0400】

いくつかの態様において、本明細書に提供される方法は、補体関連障害を発展させるかまたは有する被験体のリスクの増加と、補体タンパク質の非典型的なまたは改変された量／レベルの存在を相関させる工程を含む。

【0401】

補体関連障害を持たないことが知られるヒト被験体における補体タンパク質に関する参照値の例には：

a) F H：ヒト血中の ~ 150 から $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ (C l a r k ら, J I m m u n o l 2014, 193 (10) : 4962 - 70 および非公開データ) ;

平均：ヒト血漿中の 833 nM 、S D : 149 (本明細書記載の質量分析法から得られる) ;

10

20

30

40

50

b) FHL-1: ヒト血中の ~ 0.5 から $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ (Clarkら, J Immunol 2014, 193 (10): 4962-70 および非公開データ);
平均: ヒト血漿中の 10.9 nM 、SD: 2.4 (本明細書記載の質量分析法から得られる);

c) FHR1: ヒト血漿中の ~ 70 から $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ (Heinen, Sら, Blood 114, 2439-2447);
平均: ヒト血漿中の 33.9 nM 、SD: 16.5 (本明細書記載の質量分析法から得られる);

d) FHR2: ヒト血漿中の ~ 15 から $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、またはFH濃度の約 $1/10$ (Skerkaら, Mol Immunol 2013, 56: 170-180);
平均: ヒト血漿中の 51.2 nM 、SD: 17.0 (本明細書記載の質量分析法から得られる);

e) FHR3: ヒト血漿中の ~ 70 から $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ (Fritzsche, L. G.ら, Hum. Mol. Genet. 2010, 19, 4694-4704);
平均: ヒト血漿中の 20.6 nM 、SD: 13.8 (本明細書記載の質量分析法から得られる);

f) FHR4: ヒト血中の $\leq 5 \mu\text{g}/\text{ml}$ (WO 2019/215330);
平均: ヒト血漿中の 46.1 nM 、SD: 24.4 (本明細書記載の質量分析法から得られる);

g) FHR5: ヒト血漿中の $\sim 1.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ (van Beek, AEら, Front Immunol. 2017 Oct 18; 8: 1328);
平均: ヒト血漿中の 29.2 nM 、SD: 8.7 (本明細書記載の質量分析法から得られる);

h) FI: ヒト血漿中の $\sim 35 \mu\text{g}/\text{ml}$;

i) C3: ヒト血漿中の ~ 0.5 から $16 \text{ mg}/\text{ml}$ (Engstroem, G.ら, J Hum Hypertens. 2007 Apr; 21 (4): 276-82; Lee SHら, Am J Respir Crit Care Med. 2006 Feb 15; 173 (4): 370-8);

j) C3a: $46 \sim 157 \text{ ng}/\text{ml}$ (Lee SHら, Am J Respir Crit Care Med. 2006 Feb 15; 173 (4): 370-8);
k) iC3b: ~ 0.7 から $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ (Kim AHJら, Arthritis Rheumatol. 2019 Mar; 71 (3): 420-430).

が含まれる。

【0402】

いくつかの場合、補体関連障害、例えばAMDを持たないことが知られるヒト被験体における、循環FH、FHL-1およびFHR1~5の平均参照値には、以下が含まれる (カッコ内は95%CI):

a) FH、nM: $737.3 (718.2 \sim 756.5)$

b) FHL-1、nM: $10.4 (10.1 \sim 10.8)$

c) FHR-1、nM: $31.2 (29.4 \sim 32.9)$

d) FHR-2、nM: $45.3 (43.1 \sim 47.6)$

e) FHR-3、nM: $24.1 (21.7 \sim 26.5)$

f) FHR-4、nM: $46.1 (42.7 \sim 49.6)$

g) FHR-5、nM: $25.5 (24.5 \sim 26.5)$ 。

【0403】

1つの補体タンパク質の別のものに対する相対濃度を、その参照値を用いて決定してもよい。例えば、1つの補体タンパク質のレベルの、単数または複数の別のもののレベルに対する比、例えばFH:FHL-1、C3:iC3b、C3:C3b等を、上に提供される濃度から推測してもよい。相対濃度および/または1つの補体タンパク質の単数または複数の別のものに対するレベルの比は、補体関連障害において改変されうる。いくつかの

態様において、本明細書提供の方法は、2つまたはそれより多い補体タンパク質を検出し、そしてこれらの補体タンパク質のレベルが、参照値（単数または複数）に比較した際、互いに関してどのように変化しているかを決定する工程を含む。例えば、第一の補体タンパク質のレベルは、第二の補体タンパク質のレベルに比較した際、例えば FHL-1 対 FH、FHR1～FHR5 対 FH および／または FH-1、C3 対 iCib、C3 対 C3b は、増加していてもよく、例えばその逆でもよい。

【0404】

補体タンパク質を検出する／そのレベルを決定するための方法

本開示の側面および態様は、例えば本明細書に記載されるように、適切な分析技術を用いて、1つまたはそれより多い補体タンパク質の存在を検出する、および／またはそのレベルを決定する工程を含む。

10

【0405】

いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、補体タンパク質をエンドプロテイナーゼ GluC と接触させて、1つまたはそれより多いペプチドを得て、そして質量分析によって1つまたはそれより多いペプチドを検出する工程を含む。

【0406】

いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、タンパク質と GluC を接触させて、例えばタンパク質を GluC で消化して、1つまたはそれより多いペプチドを得て、そして質量分析によって、1つまたはそれより多いペプチドのレベルを決定する工程を含む。いくつかの場合、方法は、補体タンパク質を検出する工程および補体タンパク質のレベルを決定する工程の両方を含む。タンパク質は同じタンパク質であってもよく、または方法は、第一の補体タンパク質の検出および第二の補体タンパク質のレベルの決定を伴ってもよい。

20

【0407】

本明細書記載のあらゆる方法において、1つまたはそれより多いペプチドの検出／そのレベルの決定は、質量分析によるペプチド（単数または複数）の検出／そのレベルの決定／その測定からなる。すなわち、ペプチド（単数または複数）の検出／そのレベルの決定／その測定の工程を質量分析のみによって行う。ペプチド（単数または複数）の測定には、1つまたはそれより多いペプチドの存在または非存在の検出、ならびに／あるいは試料中の各ペプチドのレベル、量および／または濃度の決定が含まれてもよい。

30

【0408】

いくつかの態様において、本明細書記載の任意の方法における決定工程は：

(i) 被験体から得られた試料、例えば血液試料中の少なくとも1つの補体タンパク質をエンドプロテイナーゼ GluC で消化して、1つまたはそれより多いペプチドを得て；

(ii) 質量分析によって、1つまたはそれより多いペプチドの存在および／またはレベルを決定し；そして

(iii) (ii) の結果を用いて、補体タンパク質（単数または複数）のレベルが、例えば、補体関連障害を持たない対照被験体における血液試料中のその補体タンパク質（単数または複数）のレベルに比較した際、上昇しているかどうかを決定する工程を伴う。

40

【0409】

補体タンパク質（単数または複数）は、本明細書に記載されるような、任意の組み合わせの、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、および／または FHR5 の1つまたはそれより多くより選択されてもよい。FH および／または FHL-1 の存在および／またはレベルもまた決定してもよい。

【0410】

用語「消化する」は、本明細書で用いられる際、タンパク質が、2つまたはそれより多い断片に消化される、すなわち切断されるような適切な条件下、例えば温度、pH 等で、そして適切な時間、タンパク質を GluC と接触させる工程を指す。いくつかの場合、消化は、例えば本明細書に記載されるように、適切な条件下で、GluC とタンパク質をイ

50

ンキュベーションする工程を含む。

【0411】

いくつかの側面において、提供するのは、分析のため、補体タンパク質を調製する方法であって、タンパク質をエンドプロテイナーゼG l u Cと接触させ／タンパク質をエンドプロテイナーゼG l u Cで消化し、1つまたはそれより多いペプチドを得る工程を含む、前記方法である。いくつかの場合、方法は、続く分析のため、補体タンパク質を調製する工程を含む。次いで、1つまたはそれより多いペプチドを、分析技術、例えば質量分析または任意の他の適切な分析技術に供してもよい。いくつかの場合、方法は、質量分析による分析のため、補体タンパク質を調製する工程を含む。分析技術を用いて、1つまたはそれより多いペプチドの存在および／またはレベルを検出してもよい。

10

【0412】

「補体タンパク質」が本明細書において単数形で言及される場合（すなわち「1つの／その（a／the）補体タンパク質」）、複数の／群の／集団の異なる補体タンパク質も意図されることが認識されるであろう。例えば、補体タンパク質を含む本明細書のいかなる開示も、1つの補体タンパク質よりも多いもの、すなわち少なくとも1つのタンパク質、あるいは1つまたはそれより多いタンパク質も含む。本明細書記載のすべての側面および態様において、「1つの／その補体タンパク質」は、「少なくとも1つの補体タンパク質」を指してもよい。

【0413】

本明細書で用いられる際、タンパク質を「検出する」ことは、例えば試料、細胞、組織または被験体中のタンパク質の現存または存在を同定する／観察することを指す。

20

本明細書で用いられる補体タンパク質の「レベル」は、例えば試料、細胞、組織、臓器または被験体における、前記タンパク質のレベル、量または濃度を指す。本明細書で用いられる用語、例えばタンパク質の「レベルの決定」は、タンパク質のレベル、量または濃度の測定および／または定量化を指す。いくつかの場合、「レベルを決定する」ことには、試料中のタンパク質のレベル、量または濃度を計算することが含まれる。試料は、被験体由来であってもよい。いくつかの場合、「レベルを決定する」ことには、例えば被験体から採取した試料を用いて、被験体におけるタンパク質のレベル、量または濃度を計算することが含まれる。タンパク質の「レベルを決定する」ことには、タンパク質をG l u Cで消化して、1つまたはそれより多いペプチドを得て、本明細書に記載されるように、1つまたはそれより多いペプチドを検出し、そして次いで、例えば試料中の、タンパク質／ペプチドのレベル、量または濃度を計算することを含んでもよい。

30

【0414】

いくつかの場合、「レベルを決定する」ことは、例えば試料中または被験体中の、タンパク質の含量、レベル、量または濃度を定量化する、すなわち測定することを含む。「レベルを決定する」ことには、タンパク質の濃度を決定することが含まれてもよい。定量化／測定には、タンパク質のレベル、量または濃度を参照値と比較して、そして／またはタンパク質のレベル、量または濃度を、例えば異なる時点で被験体から採取された、または健康な被験体、例えば補体関連障害を持たないことが知られる被験体から採取した、対照試料におけるものと比較することが含まれてもよい。

40

【0415】

いくつかの態様において、方法は、試料中の補体タンパク質を検出する／そのレベルを決定する工程を含む。試料は、i n v i t r oまたはe x v i v oであってもよい。試料は、被験体から、例えば関心対象の被験体からまたは対照被験体から、採取されていてもよい。試料は、任意の組織または体液から採取されてもよい。好ましいアレンジにおいて、試料は体液から、より好ましくは体中を循環するものから採取される。試料は、循環試料と称されてもよい。したがって、試料は、血液試料またはリンパ試料であってもよい。特に好ましいアレンジにおいて、試料は、血液試料または血液由来試料である。血液由来試料は、被験体の血液の選択される分画、例えば選択される細胞含有分画または血漿または血清分画より選択されてもよい。選択される血清分画は、フィブリン塊および血球

50

の除去後に得られる、血液の液体部分を含んでもよい。あるいは、試料は、前記個体由来の組織試料、生検または単離細胞を含んでもよいし、またはこれらから得られてもよい。試料は、目、腎臓、脳または肝臓から採取されてもよく、例えば目、腎臓、脳または肝臓由来の細胞を含んでもよい。試料は網膜組織を含んでもよい。試料は、R P E細胞、あるいはブルッフ膜または脈絡膜由来の組織を含んでもよい。試料は、ドルーゼンまたは補体関連成分の他の沈着物を含んでもよい。

【0416】

いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、被験体から試料、例えば血液、組織等を採用するかまたは得る工程を含む。いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、被験体から得られている／得られた試料に対して行われる。いくつかの場合、試料は血液試料である。血液試料は、血漿試料または血清試料を得るためのプロセッシングを経ても／経ていてもよい。いくつかの場合、方法は、被験体から血液由来試料を得る工程を含む。いくつかの場合、方法は、被験体から血漿または血清試料を得る工程を含む。いくつかの態様において、方法は、試料からタンパク質、例えば総タンパク質を単離する工程を含む。生物学的試料からタンパク質を単離する適切な技術は、当該技術分野に周知である。いくつかの態様において、方法は、試料からタンパク質を単離する工程を含まず、例えば方法はプロセッシングされない試料に対して行われる。

10

【0417】

いくつかの態様において、方法は *in vitro* で行われる。例えば、補体タンパク質（単数または複数）の存在、レベル、量および／またはレベルを *in vitro* で検出／決定してもよい。

20

【0418】

いくつかの場合、方法は、被験体における補体タンパク質（単数または複数）の存在、レベル、量、および／または濃度を決定する工程を伴う。これは、*in vitro* で本明細書記載の方法を実行し、そしてその結果を用いて、被験体における補体タンパク質（単数または複数）の存在、レベル、量、および／または濃度を決定する工程を伴ってもよい。

【0419】

やはり提供するのは、試料中の少なくとも1つの補体タンパク質を検出するための方法であって、試料中のタンパク質（単数または複数）をエンドプロテイナーゼG l u Cで消化して、1つまたはそれより多いペプチドを得て；そして質量分析を用いて、試料中の1つまたはそれより多いペプチドを検出する工程を含む、前記方法である。本明細書記載の任意の方法は、少なくとも1つの補体タンパク質を検出する、例えば補体タンパク質の存在を検出する工程を含んでもよい。

30

【0420】

やはり提供するのは、試料中の少なくとも1つの補体タンパク質のレベルを決定するための方法であって、試料中のタンパク質（単数または複数）をエンドプロテイナーゼG l u Cで消化して、1つまたはそれより多いペプチドを得て、そして質量分析を用いて、試料中の1つまたはそれより多いペプチドを検出する工程を含む、前記方法である。

【0421】

質量分析を用いて、試料中の1つまたはそれより多いペプチドを検出する工程、または質量分析によって、例えば本明細書記載の方法によって、1つまたはそれより多いペプチドのレベルを検出し、そして／または決定する工程には、例えば試料を質量分析器に入れ、そして質量分析器に指示して、試料を分析することによって、試料に質量分析技術を適用する工程が含まれてもよい。多様な適切な質量分析技術が本明細書に開示され、そしてこれは当業者のルーチンのタスクの範囲内である。

40

【0422】

本明細書提供の任意の側面において、本明細書記載の方法は、少なくとも1つの補体タンパク質を検出する工程および少なくとも1つの補体タンパク質のレベルを決定する工程の両方を含んでもよい。補体タンパク質は同じタンパク質であってもよく、そして／また

50

は方法は、少なくとも第一の補体タンパク質の検出および少なくとも第二の補体タンパク質のレベルの決定を含んでもよい。

【0423】

いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、1つの補体タンパク質を検出し／そのレベルを決定する工程を含む。いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、例えば本明細書に提供されるような、少なくとも1つの補体タンパク質、1つまたはそれより多い補体タンパク質、および／または補体タンパク質の群を検出する／そのレベルを決定する工程を含む。

【0424】

いくつかの態様において、補体タンパク質は、ヒト染色体1番上のRCA(補体制御因子)遺伝子クラスター、またはRCA遺伝子座からコードされる。RCAクラスターは、染色体1q32上に位置し、そしてCFHおよびCFHR1～5遺伝子を含む。該遺伝子クラスターにはまた、膜結合タンパク質CR1(CD35)、CR2(CD21)、崩壊加速因子(DAF; CD55)、および膜補因子タンパク質(MCP; CD46)、ならびに可溶性C4b結合タンパク質(C4bp)も含まれる。

【0425】

本明細書記載の方法は、単一アッセイを通じて；すなわち単一酵素、Glucを用いて、分析可能なペプチドを得て、そして次いで、単一分析技術、質量分析を用いて、前記ペプチドを検出して、そして／またはそのレベルを決定して、多数の補体タンパク質を検出する／そのレベルを決定するために適している。この方式で、単一のアッセイを通じて、

【0426】

いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、および／またはFHR5の任意の1つまたはそれより多く、例えばあらゆる組み合わせを検出する／そのレベルを決定する工程を含む。いくつかの態様において、補体タンパク質(単数または複数)は、FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、および／またはFHR5からなる群より選択される。いくつかの場合、方法は、FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、および／またはFHR5の任意の1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つおよび／または7つを検出する／そのレベルを決定する工程を含む。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、および／またはFHR5の各々の存在(またはレベル)の間を差別化する(すなわち区別する、識別する、分別する)ことが可能である。

【0427】

いくつかの場合、補体タンパク質は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、および／またはFHR5の任意の1つまたはそれより多く、例えばあらゆる組み合わせである。いくつかの場合、補体タンパク質はFHR1である。いくつかの場合、補体タンパク質はFHR2である。いくつかの場合、補体タンパク質はFHR3である。いくつかの場合、補体タンパク質はFHR4である。いくつかの場合、補体タンパク質はFHR5である。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、および／またはFHR5の各々の存在(またはレベル)の間を差別化する(すなわち区別する、識別する、分別する)ことが可能である。本開示で検出可能なFHRタンパク質の例示的な組み合わせを本明細書に記載する。

【0428】

いくつかの場合、本明細書記載の方法は、FHR1単独の検出を、すなわちFHR2～FHR5を検出することなく、可能にするかまたは許す。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、FHR2単独の検出を、すなわちFHR1またはFHR3～FHR5を検出することなく、可能にするかまたは許す。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、FHR3単独の検出を、すなわちFHR1、FHR2、FHR4、またはFHR5を検出することなく、可能にするかまたは許す。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、FHR4単

独の検出を、すなわち F H R 1 ~ F H R 3 または F H R 5 を検出することなく、可能にするかまたは許す。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、F H R 5 単独の検出を、すなわち F H R 1 ~ F H R 4 を検出することなく、可能にするかまたは許す。

【0429】

いくつかの場合、検出される／そのレベルを決定されるべき補体タンパク質は、F H および／または F H L - 1 である。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、F H および F H L - 1 両方を検出する／そのレベルを決定する工程を含む。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、F H の存在および F H L - 1 の存在の間ならびに／あるいは F H のレベル／濃度および F H L - 1 のレベル／濃度の間を差別化する（すなわち区別する、識別する、分別する）。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、F H 単独の検出を、すなわち F H L - 1 を検出することなく、可能にするかまたは許す。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、F H L - 1 単独の検出を、すなわち F H を検出することなく、可能にするかまたは許す。

10

【0430】

いくつかの態様において、検出される／そのレベルを決定される補体タンパク質は、C 3 / C 3 b の分解、ターンオーバーおよび／または不活性化に関与する。いくつかの態様において、補体タンパク質は、C 3 / C 3 b の分解および／または不活性化によって産生され、すなわち C 3 b 不活性化／分解の産物である。いくつかの態様において、本明細書記載の方法には、C 3 ターンオーバーの存在、速度および／または進行を決定する工程が含まれる。いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、補体増幅ループに関与する、またはその結果として産生されるタンパク質を検出する／そのレベルを決定する工程を伴う。いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、C 3 コンバーゼの生成または分解に関与するタンパク質を検出する／そのレベルを決定する工程を含む。いくつかの場合、タンパク質は、F I の補因子、例えば F H 、C R 1 、または F H R タンパク質である。本明細書開示の任意の方法、例えば試料中の少なくとも 1 つの補体タンパク質を検出するための方法であって、タンパク質を G l u C で消化し、そして生じたペプチドを質量分析によって検出する工程を含む、前記方法は、C 3 ターンオーバーを検出するための方法、C 3 分解を検出するための方法、C 3 b ターンオーバーまたは C 3 b 分解を測定するための方法、あるいは C 3 b ターンオーバーまたは C 3 b 分解の進行を測定するための方法として選択的に記載されうる。

20

30

【0431】

したがって、いくつかの側面において、本開示は、本明細書記載の工程、例えば少なくとも 1 つの補体タンパク質をエンドプロテイナーゼ G l u C で消化して、1 つまたはそれより多いペプチドを得て、そしてこのペプチド（単数または複数）を質量分析によって検出する工程を含む、C 3 b のターンオーバーまたは分解を検出するための方法を提供する。いくつかの場合、方法は、本明細書記載の 16 の補体タンパク質の少なくとも 2 つ、3 つ、4 つまたはそれより多く、最大 16 を消化し、そして次いで検出する工程を含む。

【0432】

いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、単独で、または他の補体タンパク質、例えば本明細書に記載されるものなどと組み合わせて、F I を検出する／そのレベルを決定する工程を含む／さらに含む。

40

【0433】

いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、C 3 、C 3 b 、C 3 a 、i C 3 b 、C 3 f 、C 3 c 、C 3 d g 、および／または C 3 d の任意の 1 つまたはそれより多く、例えばあらゆる組み合わせを検出する／そのレベルを決定する工程を含む。いくつかの態様において、補体タンパク質（単数または複数）は、C 3 、C 3 b 、C 3 a 、i C 3 b 、C 3 f 、C 3 c 、C 3 d g 、および／または C 3 d からなる群より選択される。いくつかの場合、方法は、任意の組み合わせで、C 3 、C 3 b 、C 3 a 、i C 3 b 、C 3 f 、C 3 c 、C 3 d g 、および／または C 3 d の任意の 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、7 つおよび／または 8 つを検出する／そのレベルを決定する工程を含む。いくつかの態様にお

50

いて、本明細書記載の方法は、C 3、C 3 a、C 3 f、C 3 c、および／またはC 3 dの1つまたはそれより多くを検出する／そのレベルを決定する工程を含む。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、例えば表3の方法論を通じて、C 3 b、i C 3 b、および／またはC 3 d gの存在および／またはレベルを決定する工程を含む。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、C 3、C 3 bおよび／またはi C 3 bを検出する／そのレベルを決定する工程を含む。いくつかの場合、本明細書記載の方法は、C 3、C 3 b、C 3 a、i C 3 b、C 3 f、C 3 c、C 3 d g、および／またはC 3 dの2つまたはそれより多く、あるいはすべての存在（またはレベル）の間を差別化する（すなわち区別する、識別する、分別する）ことが可能である。

【0434】

本明細書記載の方法は、1つの酵素、例えばG l u Cおよび1つの分析法、例えば質量分析を用いて、多数の補体タンパク質を検出し、そして前記補体タンパク質の間を区別することも可能である。本明細書記載の方法を用いて、本明細書記載の個々のタンパク質の任意の1つ、ならびにF H、F H L-1、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、F I、C 3、C 3 b、C 3 a、i C 3 b、C 3 f、C 3 c、C 3 d g、および／またはC 3 dのあらゆる組み合わせ、すなわち、任意の組み合わせの、これらのタンパク質の任意の1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10、11、12、13、14、15および／または16を検出し／そのレベルを決定することも可能である。いくつかの態様において、補体タンパク質（単数または複数）は、F H、F H L-1、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、F I、C 3、C 3 b、C 3 a、i C 3 b、C 3 f、C 3 c、C 3 d g、および／またはC 3 dからなる群より選択される。いくつかの場合、本明細書記載の方法を用いて、F H L-1を検出し／そのレベルを決定し、そしてF H、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、F I、C 3、C 3 b、C 3 a、i C 3 b、C 3 f、C 3 c、C 3 d g、および／またはC 3 dの任意の1つまたはそれより多くを検出する／そのレベルを決定することも可能である。いくつかの場合、方法は、F H L-1の存在／レベル、ならびにF H、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、F I、C 3、C 3 b、C 3 a、i C 3 b、C 3 f、C 3 c、C 3 d g、および／またはC 3 dの任意の1つまたはそれより多くの存在／レベルの間を差別化する（すなわち区別する、識別する、分別する）工程を含む。用語「差別化する」、「区別する」、「識別する」、および「分別する」は、本明細書において、交換可能に用いられる。

【0435】

いくつかの場合、本明細書提供の方法は、その任意の組み合わせを含めて、F H、F H L-1、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、F I、C 3、C 3 b、C 3 a、i C 3 b、C 3 f、C 3 c、C 3 d g、および／またはC 3 dの1つまたはそれより多くの同時検出を可能にする。いくつかの場合、本明細書提供の方法は、単一のアッセイで、その任意の組み合わせを含めて、F H、F H L-1、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、F I、C 3、C 3 b、C 3 a、i C 3 b、C 3 f、C 3 c、C 3 d g、および／またはC 3 dの1つまたはそれより多くの検出／そのレベルの決定を可能にする。本明細書提供の方法は、各タンパク質の存在および／またはレベルが他のものから区別可能であるように、別個の、分離可能な、そして検出可能なペプチドが、上に列挙するすべてのタンパク質から産生されることを可能にする。

【0436】

いくつかの場合、本明細書提供の方法は、その任意の組み合わせを含めて、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、F H、および／またはF H L-1の1つまたはそれより多くの同時検出を可能にする。いくつかの場合、本明細書提供の方法は、単一のアッセイで、その任意の組み合わせを含めて、F H R 1、F H R 2、F H R 3、F H R 4、F H R 5、F H、および／またはF H L-1の1つまたはそれより多くの検出／そのレベルの決定を可能にする。

【0437】

いくつかの場合、本開示は、同時におよび／または1つのアッセイで、試料中の少なくとも2つの補体タンパク質を検出し、そして／またはそのレベルを決定するための方法であって：

タンパク質をエンドプロテイナーゼGluCで消化して、1つまたはそれより多いペプチドを得て；そして

質量分析によって、1つまたはそれより多いペプチドを検出し、そして／またはそのレベルを決定する

工程を含む、前記方法を提供する。

【0438】

本明細書記載の任意の方法において、補体タンパク質は、補体系経路の1つまたはそれより多くに関与する任意のタンパク質であってもよい。例えば、補体タンパク質は、C1、C2、C4b2a、C4、C4a、C5、C5a、FB、FD、C3Bb、MASP1、MASP2、C1q、C1r、C1s、C6、C7、C8、C9、CD59、クラスタリン、プロパージン、および／またはコンパスタチンの1つまたはそれより多くであってもよい。本明細書記載の任意の態様において、検出される補体タンパク質（またはそのレベルが決定されるタンパク質）は、C1、C2、C4b2a、C4、C4a、C5、C5a、FB、FD、C3Bb、MASP1、MASP2、C1q、C1r、C1s、C6、C7、C8、C9、CD59、クラスタリン、プロパージン、および／またはコンパスタチンの1つまたはそれより多くではない。

【0439】

いくつかの場合、本開示は、質量分析による検出のため、少なくとも1つの補体タンパク質を調製するため、エンドプロテイナーゼGluCを提供する。いくつかの場合、本開示は、質量分析による検出のため、少なくとも2つ、すなわち多数または複数の補体タンパク質を調製するための、エンドプロテイナーゼGluCを提供する。少なくとも2つの補体タンパク質は、本明細書に記載されるような、任意の組み合わせの、FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg、および／またはC3dの任意の2つ、3つ、4つまたはそれより多く、最大16であってもよい。

【0440】

グルタミルエンドペプチダーゼとしても知られるエンドプロテイナーゼGluCは、グルタミン酸残基のC末端のペプチド結合を優先的に切断する、セリンプロテイナーゼである。該酵素はまた、グルタミン酸残基でよりも100～300倍遅い速度で、アスパラギン酸残基でも切断する。GluCの特異性は、pHおよび緩衝剤組成に応じる。pH4では、該酵素は、EのC末端で優先的に切断する一方、pH8では、さらにD残基でも切断する。GluCの配列は、配列番号153および154に提供される。

【0441】

好ましい態様において、本明細書記載の方法は、1つまたはそれより多い補体タンパク質を消化するため、GluC単独（すなわちGluCのみ）を用いる。好ましい態様において、本明細書記載の方法におけるタンパク質（単数または複数）の消化工程は、GluCでのタンパク質（単数または複数）の消化からなる。好ましい態様において、本明細書記載の任意の方法は、単独で、またはGluCと組み合わせて、いかなる他のプロテアーゼも使用しない／用いない。例えば、いくつかの態様において、本明細書記載の任意の方法の消化工程は、以下の酵素または剤：トリプシン、キモトリプシン（高特異性または低特異性）、Lys-C、Lys-N、Arg-C、Asp-N、エラスターゼ、LysargiNase、ペプシン、Sap9、OmpT、BNPS-スカトール、任意のカパーゼ、クロストリパイン（クロストリジオペプチダーゼB）、CNBr、エンテロキナーゼ、Xa因子、グランザイムB、好中球エラスターゼ、プロテイナーゼK、サーモリシン、非GluCグルタミルエンドペプチダーゼ、例えばGluBIまたはGluSGB、プロリンエンドペプチダーゼ、TEVプロテアーゼ、トロンビン、ギ酸、ヒドロキシルアミン、ヨードソ安息香酸、および／またはNTCB（またはその任意の組み合わせ）のいか

10

20

30

40

50

なる1つまたはそれより多くも用いず、またはこれらによって行われたい。

【0442】

G l u Cは、標準的な試薬提供業者、例えばS i g m a A l d r i c h、N E B等から得ることができ、そして付随する指示にしたがって、または当該技術分野に周知のプロトコルにしたがって、用いられたい。プロトコルの例を本明細書に記載する。G l u C消化のための試料／タンパク質を調製して、生物学的試料および適切な緩衝剤からタンパク質を得る工程もまた、当業者に周知であろう。細胞溶解緩衝剤の例は：溶解緩衝液10mlあたりc O m p l e t e ^{T M}ミニE D T A不含プロテアーゼ阻害剤カクテル1錠剤を含有する、<2M、p H 8（10mlあたり40mg）の尿素濃度まで希釈された、50mM N H ₄ H C O ₃および20mMメチルアミン中の8M尿素（10mlあたり4.8g）を含む。

10

【0443】

いくつかの場合、補体タンパク質を、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、または少なくとも24時間、G l u C酵素と接触させ／インキュベーションし／該酵素で消化する。いくつかの場合、補体タンパク質を、少なくとも12時間、G l u C酵素と接触させ／インキュベーションし／該酵素で消化する。いくつかの場合、補体タンパク質を、約12時間、例えば12時間、G l u C酵素と接触させ／インキュベーションし／該酵素で消化する。いくつかの場合、補体タンパク質を、約16時間、例えば16時間、G l u C酵素と接触させ／インキュベーションし／該酵素で消化する。用語、接触、インキュベーションおよび消化は、本明細書において交換可能に用いられる。

20

【0444】

いくつかの場合、補体タンパク質を、少なくとも20℃、少なくとも21℃、少なくとも22℃、少なくとも23℃、少なくとも24℃、少なくとも25℃、少なくとも26℃、少なくとも27℃、少なくとも28℃、少なくとも29℃、または少なくとも30℃での温度で、G l u C酵素と接触させ／インキュベーションし／該酵素で消化する。いくつかの場合、補体タンパク質を、少なくとも25℃の温度で、G l u C酵素と接触させ／インキュベーションし／該酵素で消化する。いくつかの場合、補体タンパク質を、約25℃、例えば25℃の温度で、G l u C酵素と接触させ／インキュベーションし／該酵素で消化する。

30

【0445】

いくつかの場合、補体タンパク質を、少なくとも7.0、少なくとも7.1、少なくとも7.2、少なくとも7.3、少なくとも7.4、少なくとも7.5、少なくとも7.6、少なくとも7.7、少なくとも7.8、少なくとも7.9、少なくとも8.0、少なくとも8.1、少なくとも8.2、少なくとも8.3、少なくとも8.4、少なくとも8.5、少なくとも8.6、少なくとも8.7、少なくとも8.8、少なくとも8.9、または少なくとも9.0のp Hで、G l u C酵素と接触させ／インキュベーションし／該酵素で消化する。いくつかの場合、補体タンパク質を、少なくとも8.0のp Hで、G l u C酵素と接触させ／インキュベーションし／該酵素で消化する。いくつかの場合、補体タンパク質を、約8.0のp Hで、例えば8.0のp Hで、G l u C酵素と接触させ／インキュベーションし／該酵素で消化する。

40

【0446】

いくつかの場合、G l u C酵素および補体タンパク質を、1／75の重量／重量比で接触させ／インキュベーションする。インキュベーション工程は、例えば400rpmの穏やかな振盪を含んでもよい。

【0447】

本明細書記載の方法は、上述のような温度、p H、および／または時間の任意の組み合

50

わせを含む、接触／インキュベーション／消化工程を含んでもよい。いくつかの場合、接触／インキュベーション／消化は、25℃、pH8で12時間行われる。

【0448】

いくつかの態様において、本開示は、例えば試料中の少なくとも1つの補体タンパク質を検出し、そして／またはそのレベルを決定するための方法であって：

タンパク質（単数または複数）をエンドプロテイナーゼGluCで消化して、1つまたはそれより多いペプチドを得て、消化が25℃、pH8で最大12時間までのGluCとタンパク質（単数または複数）のインキュベーションを含み；そして質量分析によって1つまたはそれより多いペプチドを検出する工程を含む、前記方法を提供する。

【0449】

いくつかの態様において、本開示は、例えば試料中の、少なくとも1つの補体タンパク質を検出し、そして／またはそのレベルを決定するための方法であって：

タンパク質（単数または複数）をエンドプロテイナーゼGluCで消化して、1つまたはそれより多いペプチドを得て、消化が25℃、pH8で最大16時間までのGluCとタンパク質（単数または複数）のインキュベーションを含み；そして質量分析によって1つまたはそれより多いペプチドを検出する工程を含む、前記方法を提供する。

【0450】

以下のペプチドを、例えば本明細書に記載されるように、補体タンパク質のGluC消化によって産生してもよい。いくつかの態様において、本明細書記載の方法は、任意の組み合わせの、これらのタンパク質の任意の1つまたはそれより多く、すなわち配列番号20～141、または155、156または157の任意の1つまたはそれより多くを検出する／そのレベルを決定する工程を含む。ペプチドのすべての組み合わせが想定される。配列番号20～27に示されるペプチドの質量は、表1に見られうる。

【0451】

いくつかの態様において、FHペプチドは、VTYKCFE（配列番号20）である。

いくつかの態様において、FHペプチドは、SNTGSTTGSIVCGYNGWSDLPICYE（配列番号112；質量2623.1206）、NGWSPTPRCIRVKTCSSKSSIDIE（配列番号113；質量2576.2839）、LPKIDVHLVPDRKKDQYKVGE（配列番号114；質量2476.3801）、YYCNPRFLMKGPNKIQCV DGE（配列番号115；質量2474.1545）、NYNIALRWTA KQKLYSRTGE（配列番号116；質量2411.2709）、KWSHPPSCIKTDCLSLPSFE（配列番号117；質量2274.0813）、HGWAQLSSPPYYYGDSVE（配列番号118；質量2054.9010）、ISHGVVAHMSDSYQYGE E（配列番号119；質量2007.8632）、FDHNSNIRYRCRGKE（配列番号120；質量1893.9016）、ITCKDGRWQS IPLC VE（配列番号121；質量1846.9069）、GWIHTVCINGRWDPE（配列番号122；質量1781.8307）、KAKYQCKLGYVTADGE（配列番号123；質量1772.8767）、TTCYMGKWS SPPQCE（配列番号124；質量1716.6946）、SYAHG TKLSY TCE（配列番号125、質量1458.6449）、RVRYQCRSPYE（配列番号126；質量1455.7041）、GFGIDGPAIAKCLGE（配列番号127；質量1446.7176）、HGTINS SRSSQE（配列番号128；質量1301.5960）、YQCQNLYQLE（配列番号129；質量1300.5758）、WTTLPVCIVEE（配列番号130；質量1288.6373）、KIPCSQPPQIE（配列番号131；質量1238.6329）、SQYTYALKE（配列番号132；質量1101.5342）、QVQSCGPPPE（配列番号133；質量1040.4597）、KKDVYKAGE（配列番号134；質量1036.5553）、GLPCKSPPE（配列番号135；質量926.4531）、KVS V L C Q E（配列番号136；質量904.4688）、HLKNKKE（配列番号137；質量895.5239）、GGFR I S E E（配列番号138；質量893.4243）、LLN

10

20

30

40

50

GNVKE（配列番号139；質量885.4920）、YPTCAKR（配列番号140；質量837.4167）、またはSTCGDIE（配列番号141；質量820.3273）の任意の1つまたはそれより多くである。

【0452】

いくつかの態様において、FHL-1ペプチドは、NGWSPTPRCIRVSFTL（配列番号21）である。

いくつかの態様において、FHR1ペプチドは、ATFCDFPKINHGI L YGE（配列番号22）である。

【0453】

いくつかの態様において、FHR1ペプチドは、NYNIALRWTAKQKLYLR TGE（配列番号91；質量2437.3230）である。

いくつかの態様において、FHR2ペプチドは、RGWSTPPKCRSTISAE（配列番号23）である。

【0454】

いくつかの態様において、FHR2ペプチドは、AMFCDFPKINHGI L YDEE（配列番号24）である。いくつかの態様において、FHR2ペプチドは、YNFVSPSKSFWTRITCAEE（配列番号92；質量2264.0572）である。

【0455】

いくつかの態様において、FHR3ペプチドは、VACHPGYGLPKAQTTVTCTE（配列番号25）である。

いくつかの態様において、FHR3ペプチドは、KGWSPTPRCIRVRTCSKSDIE（配列番号93；質量2418.2260）、NGYNQNYGRKFVQGNSTE（配列番号94；質量2074.9457）、QVKPCDFPDIKHGG L FHE（配列番号95；質量2066.0043）、FMCKLGYNANTSILSFQAVCRE（配列番号96；質量2494.1807）、またはYQCQPY YE（配列番号97；質量1092.4222）の任意の1つまたはそれより多くである。

【0456】

いくつかの態様において、FHR4ペプチドは、YQCQSYYE（配列番号26）である。

いくつかの態様において、FHR4ペプチドは、NSRAKSNGMRFKLHDTLDYE（配列番号98；質量2381.1546）、DGWSHFPTCYNSSE（配列番号99；質量1628.6202）、ISYGNTTGSIVCGE（配列番号100；質量1399.6289）、またはFMCKLGYNANTS V L S F Q A V C R E（配列番号101；質量2480.1650）の任意の1つまたはそれより多くである。

【0457】

いくつかの態様において、FHR5ペプチドは、RGWSTPPICSF TKGE（配列番号27）である。

いくつかの態様において、FHR5ペプチドは、GTLCDFPKIHHGFLYDEE（配列番号102；質量2119.9673）、YAMIGNNMITCINGIWT E（配列番号103；質量2042.9264）、YGYVQPSVPPYQHGVSV E（配列番号104；質量2004.9581）、GDTVQIICNTGYSLQNN E（配列番号105；質量1967.8895）、IVCKDGRWQSLPRC V E（配列番号106；質量1887.9447）、DYNPF S Q V P T G E（配列番号107；質量1352.5884）、QVKTCGYIPE（配列番号108；質量1136.5536）、ANVDAQPKKE（配列番号109；質量1098.5669）、W T T L P T C V E（配列番号110；質量1048.4899）、またはKVAVLCK E（配列番号111；質量888.5102）の任意の1つまたはそれより多くである。

【0458】

いくつかの場合、本明細書記載の方法は、任意の組み合わせで、配列番号21～27の1つまたはそれより多くの存在および／またはレベルを検出／決定する工程を含む。

10

20

30

40

50

いくつかの場合、本明細書記載の任意の方法は、任意の組み合わせで、配列番号 28～37、156 または 157 の 1 つまたはそれより多くを検出する／そのレベルを決定する工程を含んでもよい。いくつかの場合、本明細書提供の方法を用いて、任意の組み合わせで、表 2 のペプチドの 1 つまたはそれより多くまたはすべてに加えて、任意選択で、例えば表 3 の方法論にしたがって、配列番号 156 および／または 157 を用いて、C3、C3b、および分解産物を検出してもよい。

【0459】

いくつかの態様において、FI ペプチドは、VKLV DQDK T M F I C K S S W S M R E (配列番号 45；質量 2531.2455)、VKL I S N C S K F Y G N R F Y E (配列番号 46；質量 2068.0320)、CLHPGT K F L N N G T C T A E (配列番号 47；質量 1805.8309)、N Y N A G T Y Q N D I A L I E (配列番号 48；質量 1698.7969)、G K F S V S L K H G N T D S E (配列番号 49；質量 1605.7867)、V G C A G F A S V T Q E E (配列番号 50；質量 1297.5729)、V G C A G F A S V T Q E (配列番号 155；質量 1168.272)、M K K D G N K K D C E (配列番号 51；質量 1295.6082)、Y V D R I I F H E (配列番号 52；質量 1191.6156)、C L H V H C R G L E (配列番号 53；質量 1166.5557)、R V F S L Q W G E (配列番号 54；質量 1121.5738)、I L T A D M D A E (配列番号 55；質量 978.4448)、または K V T Y T S Q E (配列番号 56；質量 955.4731) の任意の 1 つまたはそれより多くである。

【0460】

いくつかの態様において、FI ペプチドは、C A G T Y D G S I D A C K G D S G G P L V C M D A N N V T Y V W G V V S W G E (配列番号 38；質量 3996.7183)、G T C V C K L P Y Q C P K N G T A V C A T N R R S F P T Y C Q Q K S L E (配列番号 39；質量 3994.8853)、F P G V Y T K V A N Y F D W I S Y H V G R P F I S Q Y N V (配列番号 40；質量 3467.7211)、A N V A C L D L G F Q Q G A D T Q R R F K L S D L S I N S T E (配列番号 41、質量 3397.6804)、L P R S I P A C V P W S P Y L F Q P N D T C I V S G W G R E (配列番号 42、質量 3388.6605)、K K C L A K K Y T H L S C D K V F C Q P W Q R C I E (配列番号 43；質量 3155.5773)、L C C K A C Q G K G F H C K S G V C I P S Q Y Q C N G E (配列番号 44；質量 2991.2861)、VKLV DQDK T M F I C K S S W S M R E (配列番号 45；質量 2531.2455)、VKL I S N C S K F Y G N R F Y E (配列番号 46；質量 2068.0320)、CLHPGT K F L N N G T C T A E (配列番号 47；質量 1805.8309)、N Y N A G T Y Q N D I A L I E (配列番号 48；質量 1698.7969)、G K F S V S L K H G N T D S E (配列番号 49；質量 1605.7867)、V G C A G F A S V T Q E E (配列番号 50；質量 1297.5729)、M K K D G N K K D C E (配列番号 51；質量 1295.6082)、Y V D R I I F H E (配列番号 52；質量 1191.6156)、C L H V H C R G L E (配列番号 53；質量 1166.5557)、R V F S L Q W G E (配列番号 54；質量 1121.5738)、I L T A D M D A E (配列番号 55；質量 978.4448)、K V T Y T S Q E (配列番号 56；質量 955.4731)、V D C I T G E (配列番号 57；質量 736.3182)、N C G K P E (配列番号 58；質量 647.2817)、T S L A E (配列番号 59；質量 520.2613)、または K D N E (配列番号 60；質量 505.2252) の任意の 1 つまたはそれより多くである。

【0461】

本明細書記載の方法によって検出されるペプチドは、任意選択で、本明細書記載のペプチド、例えば配列番号 21～141 の任意の 1 つのアミノ酸配列に、少なくとも 70%、好ましくは 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% の 1 つのアミノ酸配列同一性を有してもよい。他の適切なペプチドは当業者によって容易に決定可能であり、そして本明細書記載の方法に使用されてもよい。好ましい態様において、本明細書の方法にしたがって用いられるペ

プチドは、質量分析技術が、試料中の2つまたはそれより多い補体タンパク質の間を識別するかまたは区別することを可能にする。

【0462】

質量分析

タンパク質、例えば補体タンパク質を検出し、そして／またはそのレベルを決定する工程を含む、本明細書提供の方法は、試料中のタンパク質を検出し、そして／またはそのレベルを決定するために質量分析の使用を伴ってもよい。

【0463】

好ましい態様において、本明細書記載の任意の方法は、1つまたはそれより多いペプチドを検出し、そして／またはそのレベルを決定するために、質量分析のみ（すなわち質量分析単独）を用いる工程を伴う。すなわち、いくつかの態様において、本明細書提供の方法は、多数の分析技術を使用せず、そしてペプチド（単数または複数）は、単一アッセイを用いて、検出／決定／測定される。好ましい態様において、本明細書記載の方法は、タンパク質／ペプチドを検出するために適した別の分析技術と組み合わせて、質量分析を用いてペプチド（単数または複数）を検出／そのレベルを決定／測定しない。好ましい態様において、1つまたはそれより多いペプチドの検出／そのレベルの決定は、いかなる段階でも、非質量分析技術を用いては行われず、例えばペプチド（単数または複数）の検出／そのレベルの決定は、高性能液体クロマトグラフィ（HPLC）、免疫学に基づく方法、例えば定量的酵素連結免疫吸着アッセイ（ELISA）、ウェスタンブロッティング、タンパク質免疫沈降、ドットブロッティングまたは免疫電気泳動、電気泳動またはオートラジオグラフィを用いて行われない。いくつかの場合、液体クロマトグラフィー質量分析（LC/MS）は用いられない。

【0464】

本明細書において、「質量分析によって」、例えば補体タンパク質またはペプチド「を検出し、そして／またはそのレベルを決定する」は、「質量分析を用いて」例えば補体タンパク質またはペプチド「を検出し、そして／またはそのレベルを決定する」と同じである。

【0465】

質量分析は、典型的には試料からイオンを生成し、任意選択でイオンを断片化し、その質量／電荷比にしたがってイオンを分離し（時間および／または空間で）、そしてイオンを検出して、試料の内容物に関する情報を提供する、試料を分析するための周知の分析技術である。

【0466】

タンパク質を検出し、そして／またはそのレベルを決定する目的のため、少なくとも1つの断片化工程が含まれてもよい。

質量分析技術は、当該技術分野に周知であり、そして試料中のタンパク質を検出し、そして／またはそのレベルを決定するために、任意の適切な質量分析技術、例えばLC/MS、GC/MS、タンデム質量分析（MS/MS）、四極子MS、例えば三重四極子MS（TQMS）、時間飛行MS、例えばMALDI-TOF、ターゲティングMS、例えば選択反応監視MS（SRM-MS）／多重反応監視（MRM-MS）、平行反応監視（PRM-MS）、捕捉イオンに基づく方法、例えば三次元四極子イオン捕捉（「動的」捕捉）およびイオンサイクロトロン共鳴質量分析器（「静的」捕捉）、四極子捕捉MS、ハイブリッド線形捕捉オービトラップMS、四極子オービトラップMS、エレクトロスプレーイオン化質量分析（ESI-MS）、または電子移動解離MS（ETD）を使用してもよい。

【0467】

いくつかの態様において、質量分析技術は、液体クロマトグラフィ選択反応監視質量分析（LC-SRM-MS）に基づくアッセイであってもよい。

イオンの断片化は、任意の適切な断片化技術、例えば衝突誘導解離（CID）／衝突活性化解離（CAD）、電子捕捉解離（ECD）、電子輸送解離（ETD）、インソース崩

10

20

30

40

50

壊（ISD）、赤外多重光子解離（IRMPD）等を用いて達成してもよい。再び、こうした技術は周知である。

【0468】

本開示と関連して有用である質量分析技術は、定量的分析を含んでもよい。定量的分析を含む質量分析法は、関心対象のペプチドおよびその対応する断片を検出し、そして測定するためにターゲティングアプローチを含んでもよい。これにより、定量化に関してより高い特異性および感度が可能になりうる。プロテオミクスにおける定量的質量分析は、例えば、その全体が本明細書に援用される、Bantscheff, M.ら Anal Bioanal Chem 2007, 389, 1017-1031に概説される。

【0469】

例えば投入ペプチドは、衝突セルにおいて断片化を経て、こうしてそのペプチドだけの産物イオンを生成してもよい。損なわれていない（intact）ペプチド質量およびそのペプチドの1つまたはそれより多い特異的断片イオンの両方を、MS実験の経過に渡って、例えばSRM/MRM、PRM等を用いて、監視してもよい。

【0470】

ペプチドの観察される m/z 比およびその対応する産物イオン m/z 比を、「遷移」と称し、これは、すなわち、分析物（親イオン）および親イオンの断片化に際して形成されるその産物イオンの1つの m/z を示す質量対である。

【0471】

定量的質量分析技術、例えばSRM/MRM-MSおよびPRM-MSのための適切な遷移を発展させることは、十分に、当業者のルーチンの作業範囲内である。その全体が本明細書に援用される、Meadら, Mol Cell Proteomics. 2009 Apr; 8(4): 696-705は、遷移を設計するための1つのこうした技術を記載する。

【0472】

表7および8は、関心対象の各ペプチドの合成型の断片化に基づいて、本明細書記載の補体タンパク質の遷移の例を提供する。適切な代替遷移もまた用いてもよく、その同定は、十分に、一般の当業者のルーチンの権限の範囲内である。

【0473】

定量化は、試料に、既知の量の標識合成ペプチドを「スパイキング」することによって達成されてもよい。保持時間、ペプチド質量、および断片質量の組み合わせは、実質的に、ペプチド割り当てにおける曖昧さを排除し、そして定量化範囲を4~5桁拡張する。いくつかの場合、本明細書提供の方法は、安定な同位体標準を用いて最適化されたMSセッティングおよび／または定量化参照値を決定する工程を含む。

【0474】

本開示で用いてもよい質量分析技術は、ターゲティングまたは半ターゲティングMSワークフローおよび／またはデータ依存性獲得（DDA）またはデータ独立性獲得（DIA）技術を含んでもよい。

【0475】

DDAは、どのMS1ペプチド前駆体が衝突セルにおける断片化に供されるか（MS/MS）を決定する獲得中に得られる知識を用いる。対照的に、DIAは、試料内容物に関わらず、あらかじめ定義されたMS/MS断片化およびデータ収集を行い、これは、DDAと比較して、より高感度でそして正確なタンパク質定量化を可能にする。DIA戦略は、ターゲティングまたは非ターゲティング獲得にさらに分けられうる。ターゲティングDIA法は、通常、既知の（測定されたまたは予測された）保持時間で、ペプチド分析物に対応するあらかじめ定義された前駆体イオンを断片化する。ターゲティングDIAは、小分子（代謝産物）、ペプチド、および翻訳後修飾（PTM）の定量化のため、学術、医薬、およびバイオテクノロジー研究に、広く用いられるようになってきている。例えば、ターゲティングDIAの一種である選択反応監視（SRM）は、その高い精度および正確性のため、質量分析定量化の最適基準と現在見なされている。DIA技術の概説に関しては

10

20

30

40

50

、例えば、その全体が本明細書に援用される、MeyerおよびSchilling, Expert Rev Proteomics. 2017 May; 14(5): 419-429を参照されたい。

【0476】

他の適切なDIA法には、例えば、全理論的質量分析の連続ウインドウ獲得(SWATH MS; 例えば、Ludwigら, Mol Syst Biol (2018) 14:e8126を参照されたい)、SONAR(Waters.com)、またはオンライン平行集積-連続断片化(PASEF; 例えば、Meierら, J Proteome Res. 2015 Dec 4; 14(12): 5378-87およびMeierら, Mol Cell Proteomics. 2018 Dec; 17(12): 2534-2545を参照されたい)が含まれる。

10

【0477】

被験体

本開示の多様な側面にしたがった被験体は、任意の動物またはヒトであってもよい。療法的小および予防的適用は、ヒトまたは動物(獣医学的使用)においてであってもよい。本明細書記載の療法物質で治療されるべき被験体は、その必要がある被験体であってもよい。被験体は、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトである。被験体は、非ヒト哺乳動物であってもよいが、より好ましくはヒトである。被験体は男性または女性であってもよい。被験体は患者であってもよい。

【0478】

20

被験体は、治療が必要な疾患または状態を有すると診断されていてもよく、こうした疾患/状態を有すると推測されていてもよく、またはこうした疾患/状態を発展させる/これらに罹るリスクがあってもよい。

【0479】

本開示記載の態様において、被験体は、好ましくはヒト被験体である。いくつかの態様において、本開示の療法的または予防的方法にしたがって治療されるべき被験体は、本明細書記載の疾患を有するかまたはこれらを発展させるリスクがある被験体である。本開示記載の態様において、被験体は、こうした疾患/状態の特定のマーカーに関する特徴づけに基づく方法にしたがって、治療のために選択されてもよい。

【0480】

30

被験体は、例えば本明細書記載の方法によって、補体関連障害を有するかまたは補体関連障害を発展させるリスクがあると同定されてもよいしまたは同定されていてもよい。被験体は、例えば本明細書記載の方法を用いて、補体関連障害を有するかまたは発展させるリスクがあると推測されてもよい。

【0481】

本明細書記載の被験体は、患者下位集団に属してもよく、すなわち被験体は、集団の同定可能な特異的部分または下位部分の一部であってもよい。集団および/または下位集団は、補体関連障害を有するかまたは有すると推測されてもよい。下位集団は、全体としての集団に比較した際、例えば本明細書に記載されるように検出/決定される、1つまたはそれより多い補体タンパク質の非典型的な存在またはレベルを示してもよい。集団および/または下位集団は、AMD、EOMDまたは黄斑ジストロフィーを有するかまたは有すると推測されてもよい。

40

【0482】

被験体は、例えば本明細書に記載されるように検出/決定/測定される、1つまたはそれより多い補体タンパク質の非典型的な存在またはレベルを有すると特徴づけられてもよい。被験体は、H因子ファミリータンパク質(例えばH因子関連タンパク質; 例えばFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHおよび/またはFHL-1)の上昇した遺伝子および/またはタンパク質発現を有するか、有すると決定されるか、または有すると特徴づけられていてもよい。

【0483】

50

キット

本開示のいくつかの側面において、パーツのキットを提供する。いくつかの態様において、キットは、あらかじめ決定された量の本明細書記載の剤、阻害性核酸、核酸、発現ベクター、細胞または組成物を有する、少なくとも1つの容器を有してもよい。

【0484】

いくつかの態様において、キットは、本明細書記載の剤、阻害性核酸、核酸、発現ベクター、細胞または組成物を産生するための材料を含んでもよい。

キットは、明記される疾患／状態を治療するため、患者に投与するための指示とともに、剤、阻害性核酸、核酸、発現ベクター、細胞または組成物を提供してもよい。

【0485】

いくつかの態様において、キットは、あらかじめ決定された量の別の療法剤（例えば本明細書に記載されるようなもの）を有する少なくとも1つの容器をさらに含んでもよい。こうした態様において、キットはまた、2つの薬剤または医薬組成物が特定の疾患または状態のための組み合わせ治療を提供するように、これらを同時にまたは別個に投与してもよいような、第二の薬剤または医薬組成物も含んでもよい。

【0486】

開示の側面には、*in vitro* 診断法を実行する際に使用するためのキットが含まれる。いくつかの態様において、本開示は、例えば試料中の1つまたはそれより多い補体タンパク質（単数または複数）を検出し、そして／またはそのレベルを決定する方法において使用するためのエンドプロテイナーゼ *Gluc* を含むキットを提供する。キットを、本明細書記載の方法いずれかのために、そして／または本明細書記載のタンパク質の任意の1つまたは組み合わせを検出する／そのレベルを決定するために、用いてもよい。キットは、試料中の少なくとも1つの補体タンパク質の検出、試料中の少なくとも1つの補体タンパク質のレベルの決定、分析および／または検出のための少なくとも1つの補体タンパク質の調製、被験体における補体タンパク質の存在および／またはレベルの決定、被験体が補体関連障害を発展させるリスクがあるかの決定、補体関連障害を有する被験体の同定、補体関連障害の治療に関する被験体の選択、および／または補体関連障害を有すると推測される被験体の治療に適しているか、用いられるか、または意図／販売／流通されてもよい。キットおよびその構成要素は、*MS* 技術で使用するために適していてもよい。

【0487】

本明細書提供のキットは、全体でまたは部分的に、本明細書記載の方法を実行するために適している1つ、2つ、またはそれより多い構成要素を含む。キットは、標準または対照、例えばキットを用いて検出しようとする各タンパク質に関する標識ペプチド標準（単数または複数）を含んでもよい。キットは、あらかじめ決定された量の標識ペプチド標準を含んでもよい。キットは、任意選択で、酵素消化に必要な緩衝剤および試薬とともに、あらかじめ決定された量の *Gluc* 酵素を含んでもよい。キットの構成要素は、単一組成物中で提供されてもよいし、または複数の組成物として提供されてもよい。

【0488】

キットは、ポイントオブケア *in vitro* 診断試験に適していてもよい。これは、実験室に基づく試験のためのキットであってもよい。

本開示記載のキットには、例えば説明書ブックレットまたはリーフレットの形の、使用のための説明書が含まれてもよい。説明書には、本明細書記載の方法の任意の1つまたはそれより多くを実行するためのプロトコル（例えば酵素消化、推奨 *MS* セッティング、および／またはデータ分析テンプレートのためのもの）が含まれてもよい。

【0489】

キットは、試料中のタンパク質を分離し、そして／または *MS* 技術を実行するための構成要素、例えば液体クロマトグラフィカラムを含んでもよい。

本開示記載のキットは、乾燥試料、湿潤試料、凍結試料、固定試料、尿試料、唾液試料、組織試料、血液試料、または本明細書開示の任意の試料タイプを含む、任意の他のタイプの試料での使用に適応されていてもよい。キットは、血液、血清、血漿、細胞または組

10

20

30

40

50

織試料を得るかまたはプロセッシングするためのデバイスを含んでもよい。

【0490】

配列同一性

本明細書で用いられる際、参照核酸、ヌクレオチドまたはアミノ酸配列に対応する核酸、ヌクレオチド、またはアミノ酸配列は、参照配列に、少なくとも60%、例えば少なくとも65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列同一性の1つを含んでもよい。

【0491】

2つまたはそれより多いアミノ酸または核酸配列間の同一性パーセントを決定する目的のための対および多重配列整列を、例えば、Clustal Omega (Soeding, J. 2005, Bioinformatics 21, 951-960)、T-coffee (Notredameら 2000, J. Mol. Biol. (2000) 302, 205-217)、Kalign (LassmannおよびSonhammer 2005, BMC Bioinformatics, 6(298)) およびMAFFT (KatoおよびStandley 2013, Molecular Biology and Evolution, 30(4) 772-780) ソフトウェアなどの公的に入手可能なコンピュータソフトウェアを用いて、当業者に知られる多様な方法で達成してもよい。こうしたソフトウェアを用いる際、好ましくは、例えばギャップペナルティおよび伸長ペナルティのデフォルトパラメータを用いる。

【0492】

その特定の形で、または開示される機能を実行するための手段、あるいは開示する結果を得るための方法またはプロセスに関して表現される、前述の説明に、または以下の請求項に、または付随する図に開示される特徴は、適切に、別個に、またはこうした特徴の任意の組み合わせで、その多様な形式で本発明を実行するために利用されてもよい。本発明には、こうした組み合わせが明らかに許容しえないかまたは明白に回避される場合を除いて、記載される側面および好ましい特徴の組み合わせが含まれる。

【0493】

本発明は、上述の例示的な態様と組み合わせて記載されてきているが、多くの同等の修飾および変動が、本開示を与えられた際、当業者には明らかであろう。したがって、上に示される本発明の例示的な態様は、例示でありそして限定しないと見なされる。記載される態様に対する多様な変化が、本発明の精神および範囲から逸脱することなく行われうる。

【0494】

いかなる疑いも回避するため、本明細書提供のいかなる理論的説明も、読者の理解を改善する目的のために提供される。本発明者らは、これらの理論的説明のいずれによる束縛も望まない。

【0495】

本明細書で用いられるいかなるセクション見出しも、構成の目的のみのためのものであり、そして記載される主題を限定するとは意図されないものとする。

続く請求項を含む本明細書全体で、背景が別に必要としない限り、単語「含む (comprise)」および「含まれる (include)」、および変形「含む (comprises)」、「含んでいる (comprising)」、および「含まれている (including)」は、言及する整数または工程あるいは整数または工程の群の包含を意味し、任意の他の整数または工程あるいは整数または工程の群の排除を意味しないと理解される。

【0496】

本明細書および付随する請求項で用いられる際、単数形「a」、「an」、および「the」には、背景が明らかに別に示さない限り、複数の参照物が含まれることに留意しなければならない。例えば、本明細書における「阻害性核酸 (an inhibitory

10

20

30

40

50

nucleic acid)」への言及は、背景が明らかに別に示さない限り、「複数の阻害性核酸」への言及を含むと全体に解釈されるものとする。

【0497】

範囲は、本明細書において、「約」1つの特定の値から、および／または「約」別の特定の値までと表されてもよい。こうした範囲が示される場合、別の態様には、1つの特定の値からおよび／またはもう1つの特定の値までが含まれる。同様に、値が、先行詞「約」の使用によって、近似として表される場合、特定の値が別の態様を形成すると理解されるであろう。数値に関連する、用語「約」は、任意選択であり、そして例えば+／-10%を意味する。

【0498】

句「および／または」は、本明細書で用いられる際、個々のリストの各メンバー、ならびにリストの1つまたは複数のメンバーの任意の組み合わせであって、最大でリストの全メンバーまで、そしてそれを含むものを含む。

【0499】

核酸配列が本明細書で開示される場合、その逆相補体もまた明らかに意図される。核酸配列が本明細書で開示される場合、アミノ酸の同じ配列をコードする同等の配列（遺伝暗号の縮重の結果として）もまた、明らかに意図される。

【0500】

本開示記載の方法を、*in vitro*、*ex vivo*、または*in vivo*で行ってもよいし、または産物は*in vitro*、*ex vivo*、または*in vivo*で存在してもよい。用語「*in vitro*」は、実験室条件または培養中での材料、生物学的物質、細胞および／または組織での実験を含むと意図される一方、用語「*in vivo*」は損なわれていない多細胞生物での実験および方法を含むと意図される。「*ex vivo*」は、生物外で、例えばヒトまたは動物の身体の外に存在するかまたはそこで行われる何ものかを指し、これは生物から採取された組織（例えば全臓器）または細胞上であってもよい。いくつかの態様において、本明細書提供の方法の決定、検出、測定、定量化、予測および／または診断工程は、*in vitro*で行われる。いくつかの側面および態様において、本明細書記載の方法は、ヒトまたは動物の身体の外で行われてもよい。

【0501】

標準的分子生物学技術に関しては、Sambrook, J., Russel, D. W. Molecular Cloning, A Laboratory Manual. 第3版 2001, Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Pressを参照されたい。

【0502】

本開示の側面および態様は、例えば、ここで、付随する図を参照しながら例示されるであろう。さらなる側面および態様は、当業者には明らかであろう。本テキストに言及されるすべての文書は、本明細書に援用される。

【0503】

番号付け段落

1. 1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるための阻害性核酸。

【0504】

2. 1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質が、H因子関連タンパク質であり、任意選択で、該H因子関連タンパク質が、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4およびFHR5より選択される、段落1記載の阻害性核酸。

【0505】

3. 阻害性核酸が、1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質をコードする1つまたはそれより多い遺伝子にコードされるRNAのヌクレオチド配列をターゲティングするアンチセンス核酸を含むかまたはコードする、段落1または2記載の阻害性核酸

10

20

30

40

50

。

【0506】

4. 阻害性核酸が、配列番号158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176または177を含むかまたはこれらからなるヌクレオチド配列をターゲティングするアンチセンス核酸を含むかまたはコードする、段落1～3のいずれか1つに記載の阻害性核酸。

【0507】

5. 阻害性核酸が、配列番号178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196または197に少なくとも75%の配列同一性を有する配列を含むかまたはこれらからなるアンチセンス核酸を含むかまたはコードする、段落1～4のいずれか1つに記載の阻害性核酸。

10

【0508】

6. 阻害性核酸が、siRNAである、段落1～5のいずれか1つに記載の阻害性核酸。

7. 段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸をコードする、任意選択で単離された、核酸。

【0509】

8. 段落7記載の核酸を含む、発現ベクター。

20

9. 段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、または段落8記載の発現ベクター、および医薬的に許容されうるキャリアー、希釈剤、賦形剤またはアジュバントを含む、組成物。

【0510】

10. 段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、または段落8記載の発現ベクターを含む、細胞。

11. 1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるためのin vitroまたはin vivo法であって、段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、段落8記載の発現ベクター、または段落9記載の組成物と、細胞を接触させる工程を含む、前記方法。

30

【0511】

12. 1つまたはそれより多いH因子ファミリータンパク質の遺伝子および／またはタンパク質発現を減少させるための、段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、段落8記載の発現ベクター、または段落9記載の組成物の使用。

【0512】

13. 医学的治療または予防の方法における使用のための、段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、段落8記載の発現ベクター、または段落9記載の組成物。

【0513】

14. 補体関連障害の治療または防止の方法における使用のための、段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、段落8記載の発現ベクター、または段落9記載の組成物。

40

【0514】

15. 補体関連障害の治療または防止のための医薬品製造における、段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、段落8記載の発現ベクター、または段落9記載の組成物の使用。

【0515】

16. 被験体において補体関連障害を治療または防止する方法であって、段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、段落8記載の発現ベクター、または段落9記載の組成物の療法的または予防的有効量を被験体に投与する工程を含む、前

50

記方法。

【0516】

17. 段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、段落8記載の発現ベクター、または段落9記載の組成物を投与されるべき被験体を選択するための方法であって：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHL-1の1つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) (a)において決定された補体タンパク質のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質のレベルに比較した際、上昇している場合、段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、段落8記載の発現ベクター、または段落9記載の組成物が投与されるべき被験体として選択する工程を含む、前記方法。

10

【0517】

18. 被験体において補体関連障害を治療または防止する方法において使用するための、段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、段落8記載の発現ベクター、または段落9記載の組成物であって、該方法が：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHL-1の1つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

20

(b) (a)における補体タンパク質（単数または複数）のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質（単数または複数）のレベルに比較した際、上昇しているかどうかを決定し；そして

(c) 段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、段落8記載の発現ベクター、または段落9記載の組成物を該被験体に投与する工程を含む、段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、段落8記載の発現ベクター、または段落9記載の組成物。

【0518】

19. 被験体において補体関連障害を治療または防止するための医薬品製造における、段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、段落8記載の発現ベクター、または段落9記載の組成物の使用であって、該方法が：

30

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHL-1の1つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) (a)における補体タンパク質（単数または複数）のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質（単数または複数）のレベルに比較した際、上昇しているかどうかを決定し；そして

(c) 段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、段落8記載の発現ベクター、または段落9記載の組成物を該被験体に投与する工程を含む、前記使用。

40

【0519】

20. 被験体において補体関連障害を治療または防止する方法であって：

(a) 被験体から得られた血液試料において、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4および／またはFHR5、ならびに任意選択でFHL-1の1つまたはそれより多くより選択される補体タンパク質のレベルを決定し；

(b) 補体タンパク質のレベルが、補体関連障害を持たない対照被験体における血中のその補体タンパク質のレベルに比較した際、上昇しているかどうかを決定し；そして

(c) 段落1～6のいずれか1つに記載の阻害性核酸、段落7記載の核酸、段落8記載の発現ベクター、または段落9記載の組成物を該被験体に投与する工程を含む、前記方法。

50

【0520】

21. 補体関連障害が：黄斑変性症、加齢性黄斑変性症（AMD）、地図状萎縮（「乾燥」または非滲出性AMD）、初期AMD、早期発症黄斑変性症（EOMD）、中期AMD、後期／進行AMD、「湿潤」（血管新生性または滲出性）AMD、脈絡膜血管新生（CNV）、網膜ジストロフィー、自己免疫ブドウ膜炎、溶血性尿毒症症候群（HUS）、非典型HUS、溶血性尿毒症症候群のFHR血漿タンパク質不全および自己抗体陽性型（DEAP HUS）、糸球体疾患、II型膜性増殖性糸球体腎炎（MPGN II）、敗血症、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病（HSP）、IgA腎症、慢性腎臓病、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）、自己免疫溶血性貧血（AIHA）、全身性エリテマトーデス（SLE）、シェーグレン症候群（SS）、関節リウマチ（RA）、C3糸球体症（C3G）、デンスデポジット病（DDD）、C3腎炎因子糸球体腎炎（C3 NF GN）、FHR5腎症、遺伝性血管性浮腫（HAE）、後天性血管性浮腫（AAE）、脳脊髄炎、アテローム性動脈硬化症、多発性硬化症（MS）、脳卒中、パーキンソン病、アルツハイマー病、認知症、レビー小体病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、ハンチントン病、プリオン病、癌、肺癌、および多形神経膠芽腫（GBM）より選択される、段落14または段落18記載の使用のための阻害性核酸、核酸、発現ベクターまたは組成物、段落15または段落19記載の使用、あるいは段落16または段落20記載の方法。

10

【0521】

配列

【0522】

20

30

40

50

【表 1 - 1】

配列番号	説明	配列
1	ヒト補体H因子 (FH) Uniprot: P08603-1 エントリーバージョン 229 (2019年12月11日) 配列バージョン 4 (2007年9月11日)	MRLLAKIICMLWAICVAEDCNELPPRRNTEILTGSWSDQTYPEGTQAIYKCRPGYRS LGNVIMVCRKGEWVALNPLRKQKRPCGHPGDTFPGTFTLTGGNVFEYGVKAVYTC NEGYQLLGEINYRECDTDGWTNDIPICEVVKCLPVTAPENGKIVSSAMEPDREYHFG QAVRFVCNSGYKIEGDEEMHCSDDGFWSKEKPKCSEISCKSPDVINGSPISQKIYKE NERFQYKCNMGYEYSESGDAVCTESGWRPLPSCEEKSCDNPYPINGDYSPRIKHR TGDEITYQCRNGFYPTARGNTAKCTSTGWIPAPRCTLKPCDYPDIKHGGLYHENMR RPYFPVAVGKYYSYCCDEHFETPSGSYWDHIHCTQDQGWSPAVPCLRKCYFPYLEN GYNQNYGRKFVQGKSIDVACHPGYALPKAQTTVTCMENGWSPTPRCIRVKTCSSKSS IDIENGFISESQYTYALKEKAKYQCKLGYVTADGETSGSITCGKDGWSAQPTCIKSCD IPVFMNARTKNDFTWFKLNDTLDYECHEGYESNTGSTTGSIVCGYNGWSDLPICYER ECELPIKIDVHLPDRKKDQYKVGELKFSCKPGFTIVGPNVQCYHFGSPDLPICKE QVQSCGPPPELLNGNVKEKTKEEYGHSEVVEYVCNPRFLMKGNPKIQCVDGWEWTTL PVCIVEESTCGDIPLEHGWALQLSSPPYYYGDSVEFNCSESTMIGHRSITCIHGVWT QLPQCVAIDKLKCKSSNLILLEEHLKNKKEFDHNSNIRYRCRGKEGWIHTVCINGRW DPEVNCMAQIQLCPPPPQIPNSHNMTTTLNRYRDEKESVLCQENYLIQEGEITCK DGRWQSIPLCCKIPCSQPPQIEHGTINSSRSQESYAHGKLSYTCGGFRSEENE TTCYMGKWSSPPQCEGLPCKSPPEISHGVVAHMSDSYQYGEEVYTKCFEGFGIDG PAIAKCLGEKWSHPPSCIKTDCLSLPSFENAIPMGEKKDVYKAGEQVYTYTCATYYKM DGASNVTCINSRWGTGRPTCRDTSVCNPPPTVQNAIYVSRQMSKYPSGERVRYQCRS PYEMFGDEEVMCLNGNWTEPPQCKDSTGKCGPPPIDNGDITSFPLSVYAPASSVE YQCQNLQLEGNKRTCRNGQWSEPPKCLHPCVISREIMENYNIALRWTAQKQLYSR TGESVEFVCKRGYRLSSRSHLTRTTCWDGKLEYPTCAKR
2	ヒトFHLタンパク質 1 (FHL-1) Uniprot: P08603-2 エントリーバージョン 229 (2019年12月11日) 配列バージョン 4 (2007年9月11日)	MRLLAKIICMLWAICVAEDCNELPPRRNTEILTGSWSDQTYPEGTQAIYKCRPGYRS LGNVIMVCRKGEWVALNPLRKQKRPCGHPGDTFPGTFTLTGGNVFEYGVKAVYTC NEGYQLLGEINYRECDTDGWTNDIPICEVVKCLPVTAPENGKIVSSAMEPDREYHFG QAVRFVCNSGYKIEGDEEMHCSDDGFWSKEKPKCSEISCKSPDVINGSPISQKIYKE NERFQYKCNMGYEYSESGDAVCTESGWRPLPSCEEKSCDNPYPINGDYSPRIKHR TGDEITYQCRNGFYPTARGNTAKCTSTGWIPAPRCTLKPCDYPDIKHGGLYHENMR RPYFPVAVGKYYSYCCDEHFETPSGSYWDHIHCTQDQGWSPAVPCLRKCYFPYLEN GYNQNYGRKFVQGKSIDVACHPGYALPKAQTTVTCMENGWSPTPRCIRVSTL
3	補体H因子関連 1 (FHR1) Uniprot: Q03591 エントリーバージョン 166 (2019年12月11日) 配列バージョン 2 (2008年12月16日)	MWLLVSVILISRISSVGGEATFCDFPKINHGLYDEEKYPFSQVPTGEVFYYSCEYNF VSPSKSFWTRITCTEAGWSPTPKCLRLCFFPFVENGHSESSGQTHLEGDTVQIICNT GYRLQNNENNISCVERGWSTPPKCRSTDTSCVNPPTVQNAHLSRQMSKYPSGERV RYECRSPYEMFGDEEVMCLNGNWTEPPQCKDSTGKCGPPPIDNGDITSFPLSVYA PASSVEYQCQNLQLEGNNQITCRNGQWSEPPKCLHPCVISREIMENYNIALRWTAQ KQLYLRTGESAEFVCKRGYRLSSRSHLTRTTCWDGKLEYPTCAKR
4	補体H因子関連 2 (FHR2), アイソフォーム 1 Uniprot: P36980-1 エントリーバージョン 168 (2019年12月11日) 配列バージョン 1 (1994年6月1日)	MWLLVSVILISRISSVGGEAMFCDFPKINHGLYDEEKYPFSQVPTGEVFYYSCEYN FVSPSKSFWTRITCAEEGWSPTPKCLRLCFFPFVENGHSESSGQTHLEGDTVQIICN TGYRLQNNENNISCVERGWSTPPKCRSTISAEKCGPPPIDNGDITSFLLSVYAPGSS VEYQCQNLQLEGNNQITCRNGQWSEPPKCLDPCVISQEIEMEYNIKLKWTNQQKL YSRTGDIVFVCKSGYHPTKSHSFRAMCQNGKLVYPSCEEK
5	補体H因子関連 2 (FHR2), アイソフォーム 2 Uniprot: P36980-2 エントリーバージョン 168 (2019年12月11日) 配列バージョン 1 (1994年6月1日)	MWLLVSVILISRISSVGGEAMFCDFPKINHGLYDEEKYPFSQVPTGEVFYYSCEYN FVSPSKSFWTRITCAEEGWSPTPKCLRLCFFPFVENGHSESSGQTHLEGDTVQIICN TGYRLQNNENNISCVERGWSTPPKCRSTSSVEYQCQNLQLEGNNQITCRNGQW SEPPKCLDPCVISQEIEMEYNIKLKWTNQQKLYSRTGDIVFVCKSGYHPTKSHSFRA MCQNGKLVYPSCEEK
6	補体H因子関連 3 (FHR3), アイソフォーム 1 Uniprot: Q02985-1 エントリーバージョン 161 (2019年12月11日) 配列バージョン 2 (2001年2月21日)	MLLLINVILTLWVSCANGQVKPCDFDPIKHGGLFHENMRRPYFPVAVGKYYSYCCDE HFETPSGSYWDYIHTQNGWSPAVPCLRKCYFPYLENGYNQNYGRKFVQGNSTEV ACHPGYGLPKAQTTVTCTEKGWSPTPRCIRVRTCSKSDIEIENGFISESSSIYLNKEI QYKCKPGYATADNGSSGSITCLQNGWSAQPICINSSEKCGPPPIDNGDITSFLLKV YVPQSRVEYQCQPYELQGSNYVTCNNGEWSEPPRCIHPCIITEENMNKNIKLKGR SDRKYYAKTGDTIEFMCKLGYNANTSILSFQAVCREGIVEYPRCE

【0523】

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

7	補体H因子関連 3 (FHR3), アイソフォーム 2 Uniprot: Q02985-2 エントリーバージョン 161 (2019年12月11日) 配列バージョン 2 (2001年2月21日)	MLLLINVILTLWWSCANGQVKPCDFPDIKHGGLFHENMRRPYFPVAVGKYYSYYCDE HFETPSGSYWDYIHCTQNGWSPAVPCLRKCYFPYLENGYNQNYGRKFVQGNSTEV ACHPGYGLPKAQTTVTCTEKGWSPTPRCIRVNSSEKCGPPPPISNGDTSFLLKVYV PQSRVEYQCQPYELQGSNYVTCSNGEWSEPPRCIHPCIITEENMNKNIKLGRSD RKYIAKTGDTIEFMCKLGYNANTSILSFQAVCREGIVEYPRCE
8	補体H因子関連 4 (FHR4A) Uniprot: Q92496-1 エントリーバージョン 157 (2019年12月11日) 配列バージョン 3 (2014年1月22日)	MLLLINVILTLWWSCANGQEVKPCDFPEIQHGGLYYKSLRRLYFPAAAGQSYSYCD QNFVTPSGSYWDYIHCTQDGWSPVPCRLRTCSKSDIEIENGFISESSSIYLNEETQY NCKPGYATAEGNSSGSITCLQNGWSTQPICIKFCMPVFENSRAKSNGMWFLHDT LDYECYDGYESSYGNTTDSIVCGEDGWSHLPTCYNSSENCPPPPISNGDTSFPQ KVYLPWSRVEYQCQSYELQGSKYVTCSNGDWSEPPRCISMKPCFEPEIQHGHLYY ENTRRPYFPVATGQSYSYCDQNFVTPSGSYWDYIHCTQDGWLPVPCRLRTCSKS DIEIENGFISESSSIYLNKEIQYKCKPGYATADGNSSGSITCLQNGWSAQPICIKFCDM PVFENSRAKSNGMRFLHDTLDYECYDGYEISYGNTTGSIVCGEDGWSHFPTCYN SEKCGPPPPISNGDTSFLLKVYVPQSRVEYQCQSYELQGSNYVTCSNGEWSEPP RCIHPCIITEENMNKNINQLKKGSDIKYYA KTGDTIEFMCKLGYNANTSVLQFQAVCREGIVEYPRCE
9	補体H因子関連 4 (FHR4B) Uniprot: Q92496-3 エントリーバージョン 157 (2019年12月11日) 配列バージョン 3 (2014年1月22日)	MLLLINVILTLWWSCANGQEVKPCDFPEIQHGGLYYKSLRRLYFPAAAGQSYSYCD QNFVTPSGSYWDYIHCTQDGWSPVPCRLRTCSKSDIEIENGFISESSSIYLNKEIQYK CKPGYATADGNSSGSITCLQNGWSAQPICIKFCMPVFENSRAKSNGMRFLHDTL DYECYDGYEISYGNTTGSIVCGEDGWSHFPTCYNSSSEKCGPPPPISNGDTSFLLKV YVPQSRVEYQCQSYELQGSNYVTCSNGEWSEPPRCIHPCIITEENMNKNINQLKKG SDIKYYAKTGDTIEFMCKLGYNANTSVLQFQAVCREGIVEYPRCE
10	補体H因子関連 5 (FHR5) Uniprot: Q9BXR6	MLLLFVILISWVSTVGEGTLCDFPKIHHGFLYDEEDYNPFSQVPTGEVFFYSCEYN FVSPSKSFWTRITCTEEGWSPTPKCLRMCSFPFVKNHSESSGLIHLEGDTVQIICNT GYSLQNNNEKNISCVRGWSTPPICSTFKGECHVPILEANVDAQPKKESYKVGDLKF SCRKNLIRVGSDSVQCYQFGWSPNFTCKGQVRSCGPPPPQLSNGEVKEIRKEEY HNEVVEYDCNPNFIINGPKKIQCVDGEWTTLPCTVEQVKTGCIPELEYGYVQPSVP PYQHGVSVENCRNEYAMIGNNMITCINGIWTELPVCVATHQLKRCKIAGVNIKTLLK LSGKEFNHNSRIRYRCSDFRYRHVSVCINGKWNPEVDCTEKREQFCPPPPQIPNAQN MTTTVNYQDGEKVAVLCKENYLLPEAKEIVCKDGRWQSLPRCVSTAYCGPPPSIN NGDTSFPLSVYPPGSTVTYRCQSFYKLQGSVTVTNRNKQWSEPPRCIDPCVVSSE NMNKNINQLKWRNDGKLYAKTGDAVEFQCKFPHKAMISSPPFRAICQEGKFEYPICE
11	補体 I 因子 (FI) Uniprot: P05156 エントリーバージョン 147 (2019年12月11日) 配列バージョン 1 (2001年6月1日)	MKLLHVFLFLCFHLRFCKVTYTSQEDLVEKKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQRCIEG TCVCKLPYQCPKNGTAVCATNRRSFPTYCQKSLACLHPGTKFLNNGTCTAEGKFS VSLKHGNTDSEGIVEVKLVDDQKTMFICKSSWSMREANVACLDLGFQGGADTQRRF KLSLDSINSTECLHVCRLGLETSLAECTFTKRRTMGYQDFADVVCYTQKADSPMDD FFQCVNGKYISQMKACDGINDCGDSDELCKACQKGFHCKSGVCIPSQYQCN EVDCTITGEDEVGCAGFASVTQEETILTADMDAERRRIKSLPKLSCGVKNRMHIRRK RIVGGKRAQLGDLPWQVAIKDASGITCGGIYIGGCWILTAACHCLASKTHRYQIWTTV VDWIHPDLKRIVIEYVDRIIFHENYNAGTYQNDIALIEMKKDGKDKDELPRIPACVP WSPYLFQPNDCIVSGWGREKDNERNVFLQWGEVKLISNCSKFYGNRFYKEMEC AGTYDGSIDACKGDSGGPLVCMANNVTVVWGVVSWGENCGKPEFPGVYTKVAN YFDWISYHVGRPFISQYNV

【0524】

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

12	補体 C 3 因子 (UniProt: P01024) エントリーバージョン 242 (2019年12月11日) 配列バージョン 2 (2006年12月12日)	MGPTSGPSLLLLLTHLPLALGSPMYSIITPNILRLESEETMVLEAHDAQGDVPVTVTV HDFPGKKLVLSSEKTVLTPATNHMGNVFTTIPANREFKSEKGRNKFVTVQATFGTQV VEKVVVLSLQSGYLFIQTDKTIYTPGSTVLYRIFTVNHKLLPVGRVTVMVNIENPEGIPVK QDSLSSQNQLGVLPLSWDIPELVNMGQWKIRAYYENSPQQVFSTEFVEKEYVLPSPF EVIVEPTEKFYIYNEKGLEVTITARFLYGGKKEGTAFVIFGIQDGEQRISLPESLKRIPI EDGSGEVVLSRKVLLDGVQNPRAEDLVGKSLYVSATVILHSGSDMVQAERSGPIVT SPYQIHFTKTPKYFKPGMPFDLMVFVTNPDGSPAYRVPVAVQGQEDTVQSLTQGDGV AKLSINTHPSQKPLSITVVRTKKQELSEAEQATRTMQALPYSTVGNSNNYLHLSVLRTE LRPGETLNVNLLRMDRAHEAKIRYYTYLIMNKGRLKAGRQVREPQQDLVVLPLSIT TDFIPSFRLVAYYTLIGASGQREVVDVSWVDVKDSCVGSLLVKSQSEDQRQVPVG QQMTLKIEGDHGARVVLVAVDKGVFVLNKKNKLTQSKIWDVVEKADIGCTPGSGKDY AGVFSADAGLTFTSSSGQQTAAQRAELQCPQPAARRRRSVQLTEKRMCKVGYKPKEL RKCCEDGMRENPMRFSCQRRTRFISLGEACKKVFLDCNYYTELRRQHARASHLGL ARSNLDEIIAEENIVSRSEFPESWLWNVEDLKEPPKNGISTKLMNIFLKDSITTWEILA VMSDKKGCICVADPFEVTVMQDFFIDRLRPLYSVVRNEQVEIRAVLYNYRQNLKVR VELLHNPAFCSLATTKRHHQQTVTIPPKSSLSVPYVIVPLKTGLQEVEVKAAYVHHFIS DGVRSKLVVPEGIRMNKTAVRTLDPERLGREGVQKEDIPADLSDQVPDTESETR ILLQGTVAQMTEDAVDAERLKLHIVTPSGCGEQNMIGMTPTVIAVHYLDETEQWEK FGLKRGGALELIKGYTQQLAFRQPSAFAAFVKRAPSTWLTAYVVKVFLAVNLIA IDSQVLCGAVKWLILEKQKPDGVFQEDAPVIHQEMIGGLRNNNEKDMALTAFLVLSLQ EAKDICEEQVNSLPGSITKAGDFLEANYMNLQRSYTVAIAGYALAQMGRLKGPLLNK FLTAKDKNRWEDPGKQLYNVEATSYALLALLQLKDFDFVPPVVRWLNEQRYGGG YGSTQATFMVFGALAQYQKQDAPDHQELNLDVSLQLPSRSSKITHRIHWESASLLRSE ETKENEGFTVTAEGKGGQTLSSVVTMYHAKAKDQLTCKNFDLKVTIKPAPETEKRPQD AKNTMILEICTRYRGDQDATMSILDISMMTGFAPDTPDLQLANGVDYVYISKYELDKA FSDRNTLIYLDKVSHEDDCLAFKVHQYFNVELIQPGAVKVYAYNLEESCTRFYHPE EKEDGKLNKLCRDELRCRAEENCFIQKSDDKVLEERLDKACEPGVDYVYKTRLVKV QLSNDFDEYIMAEIQTIKSGSDEVQVGQRTFISPIKCREALKLEKKHYLMWGLSSD FWGEKPNLSYIIGKDTWVEHWPEEDECCQDEENQKQCQDLGAFTESMVVFGCPN
13	ヒト C3 β 鎖 UniProt: P01024; エントリーバージョン 242 (2019年12月11日) 配列バージョン 2 (2006年12月12日); 残基 23~667	SPMYSIITPNILRLESEETMVLEAHDAQGDVPVTVTVHDFPGKKLVLSSEKTVLTPATN HMGNVFTTIPANREFKSEKGRNKFVTVQATFGTQVVEKVVLSLQSGYLFIQTDKTIY TPGSTVLYRIFTVNHKLLPVGRVTVMVNIENPEGIPVKQDSLSSQNQLGVLPLSWDIP LVNMGQWKIRAYYENSPQQVFSTEFVEKEYVLPSPFVIVEPTEKFYIYNEKGLEVTI TARFLYGGKKEGTAFVIFGIQDGEQRISLPESLKRIPIEDGSGEVVLSRKVLLDGVQNP RAEDLVGKSLYVSATVILHSGSDMVQAERSGPIVTSPYQIHFTKTPKYFKPGMPFDL MVFTNPDGSPAYRVPVAVQGQEDTVQSLTQGDGVAKLSINTHPSQKPLSITVVRTKKQ ELSEAEQATRTMQALPYSTVGNSNNYLHLSVLRTELRLPGETLNVNLLRMDRAHEAK IRYYTYLIMNKGRLKAGRQVREPQQDLVVLPLSITDFIPSFRLVAYYTLIGASGQRE VVDVSWVDVKDSCVGSLLVKSQSEDQRQVPVGQMTLKIEGDHGARVVLVAVDK GVFVLNKKNKLTQSKIWDVVEKADIGCTPGSGKDYAGVFSADAGLTFTSSSGQQTAAQ RAELQCPQPA
14	ヒト C3 α 鎖 UniProt: P01024; エントリーバージョン 242 (2019年12月11日) 配列バージョン 2 (2006年12月12日); 残基 749~1663	SNLDEIIAEENIVSRSEFPESWLWNVEDLKEPPKNGISTKLMNIFLKDSITTWEILAVS MSDKKGCICVADPFEVTVMQDFFIDRLRPLYSVVRNEQVEIRAVLYNYRQNLKVRVE LLHNPAFCSLATTKRHHQQTVTIPPKSSLSVPYVIVPLKTGLQEVEVKAAYVHHFISDG VRKSLKVVEGIRMNKTAVRTLDPERLGREGVQKEDIPADLSDQVPDTESETRILL QGTPVAQMTEDAVDAERLKLHIVTPSGCGEQNMIGMTPTVIAVHYLDETEQWEKFG LEKRGGALELIKGYTQQLAFRQPSAFAAFVKRAPSTWLTAYVVKVFLAVNLIAID SQVLCGAVKWLILEKQKPDGVFQEDAPVIHQEMIGGLRNNNEKDMALTAFLVLSLQ EAKDICEEQVNSLPGSITKAGDFLEANYMNLQRSYTVAIAGYALAQMGRLKGPLLNKFL TTAKDKNRWEDPGKQLYNVEATSYALLALLQLKDFDFVPPVVRWLNEQRYGGG GSTQATFMVFGALAQYQKQDAPDHQELNLDVSLQLPSRSSKITHRIHWESASLLRSEE TKENEGFTVTAEGKGGQTLSSVVTMYHAKAKDQLTCKNFDLKVTIKPAPETEKRPQDA KNTMILEICTRYRGDQDATMSILDISMMTGFAPDTPDLQLANGVDYVYISKYELDKAF SDRNTLIYLDKVSHEDDCLAFKVHQYFNVELIQPGAVKVYAYNLEESCTRFYHPE KEDGKLNKLCRDELRCRAEENCFIQKSDDKVLEERLDKACEPGVDYVYKTRLVKVQ LSNDFDEYIMAEIQTIKSGSDEVQVGQRTFISPIKCREALKLEKKHYLMWGLSSD WGEKPNLSYIIGKDTWVEHWPEEDECCQDEENQKQCQDLGAFTESMVVFGCPN
15	ヒト C3a UniProt: P01024; エントリーバージョン 242 (2019年12月11日) 配列バージョン 2 (2006年12月12日); 残基 672~748	SVQLTEKRMCKVGYKPKELRKCCEDGMRENPMRFSCQRRTRFISLGEACKKVFLDC CNYITELRRQARASHLGLAR

【0525】

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

16	ヒト C3b α鎖断片 1 UniProt: P01024; エントリーバージョン 242 (2019年12月11日) 配列バージョン 2 (2006年12月12日); 残基 749~663	SNLDEDIIAEENIVSRSEFPESWLWNVEDLKEPPKNGISTKLMNIFLKDSITTWEILAVS MSDKKGICVADPFEVTVMQDFFIDLRLPYSVVRNEQVEIRAVLYNRQNLQELKVRVE LLHNPAFCSLATTKRHHQQTVTIPPKSSLSVPYVIVPLKTGLQEVEVKAAYVHHFISDG VRKSLKVVPEGIRMNKTAVRTLDPERLGREGVQKEDIPPADLSDQVDPDTESETRILL QGTPVAMQTEDAVDAERLKLHIVTPSGCGEQNMIGMTPTVIAVHYLDETEQWEKFG LEKRQGALELIKGYTQQLAFRQPSAFAAFVKRAPSTWLTAYVVKVFLAVNLIAID SQVLCGAVKWLILEKQKPDGVFQEDAPVIHQEMIGGLRNNNEKDMALTAFLVLSLQE AKDICEEQVNSLPGSITKAGDFLEANYMNLQRSYTVAIAGYALAQMGRLKGPLLNKFL TTAKDKNRWEDPGKQLYNVEATSYALLALLQKDFDFVPPVVRWLNEQRYGGGY GSTQATFMVFQALAQYQKDAPDHQELNLDVSLQLPSRSSKITHRIHWESASLLRSEE TKENEGFTVTAEGKGQGTLSVVTMYHAKAKDQLTCNKFDLKVTIKPAPETEKRPQDA KNTMILEICTRYRGDQDATMSILDISMMTGFAPDTDLLKQLANGVDRIYSKYELDKAF SDRNTLIYLDKVSHEDDCLAFKVHQYFNVELIQPGAVKVYAYYNLEESCTRFYHPE KEDGKLNKLCRDELCRCAEENCFIQKSDDKVTLERLDKACEPGVDVYKTRLVKVQ LSNDFDEYIMAIEQTIKSGSDEVQVGQQRFTFISPIKCREALKLEKKHYLMWGLSSDF WGEKPNLSYIIGKDTWVEHWPEEDECQDEENQKQCQDLGAFTESMVVFGCPN
17	ヒト C3 α鎖断片 2 UniProt: P01024; エントリーバージョン 242 (2019年12月11日) 配列バージョン 2 (2006年12月12日); 残基 1321~1663	SEETKENEGFTVTAEGKGQGTLSVVTMYHAKAKDQLTCNKFDLKVTIKPAPETEKRP QDAKNTMILEICTRYRGDQDATMSILDISMMTGFAPDTDLLKQLANGVDRIYSKYELDKAF SDRNTLIYLDKVSHEDDCLAFKVHQYFNVELIQPGAVKVYAYYNLEESCTRFYHPE KEDGKLNKLCRDELCRCAEENCFIQKSDDKVTLERLDKACEPGVDVYKTRLVKVQ LSNDFDEYIMAIEQTIKSGSDEVQVGQQRFTFISPIKCREALKLEKKHYLMWGLSSDF WGEKPNLSYIIGKDTWVEHWPEEDECQDEENQKQCQDLGAFTESMVVFGCPN
18	C3f UniProt: P01024; エントリーバージョン 242 (2019年12月11日) 配列バージョン 2 (2006年12月12日) 残基 1304~1320	SSKITHRIHWESASLLR
19	ヒト C3c α鎖断片 1 UniProt: P01024; エントリーバージョン 242 (2019年12月11日) 配列バージョン 2 (2006年12月12日); 残基 749~954	SNLDEDIIAEENIVSRSEFPESWLWNVEDLKEPPKNGISTKLMNIFLKDSITTWEILAVS MSDKKGICVADPFEVTVMQDFFIDLRLPYSVVRNEQVEIRAVLYNRQNLQELKVRVE LLHNPAFCSLATTKRHHQQTVTIPPKSSLSVPYVIVPLKTGLQEVEVKAAYVHHFISDG VRKSLKVVPEGIRMNKTAVRTLDPERLGR
20	FH MS ペプチド	VTYKCFE
21	FHL-1 MS ペプチド	NGWSPTPRCIRVSFTL
22	FHR1 MS ペプチド	ATFCDFPKINHGLYDEE
23	FHR2 MS ペプチド 1	RGWSTPPKCRSTISAE
24	FHR2 MS ペプチド 2	AMFCDFPKINHGLYDEE
25	FHR3 MS ペプチド	VACHPGYGLPKAQTTVTCTE
26	FHR4 MS ペプチド	YQCQSYYE
27	FHR5 MS ペプチド	RGWSTPPICSFTKGE
28	C3.1 ペプチド	GTAFVIFGIQDGE
29	C3.2 ペプチド	LRRQHARASHLGLARSNLDE
30	C3.3 ペプチド	LRRQHARASHLGLAR
31	C3.4 ペプチド	LNLDVSLQLPSRSSKITHRIHWE
32	C3.5 ペプチド	LNLDVSLQLPSR
33	C3.6 ペプチド	RLGRE
34	C3.7 ペプチド	SSKITHRIHWE
35	C3.8 ペプチド	SASLLR
36	C3.9 ペプチド	RLGR
37	C3.10 ペプチド	HLIVTPSGCGE
38	FI ペプチド 1	CAGTYDGSIDACKGDSGGPLVCMDDANNVTYVWGVVSWGE
39	FI ペプチド 2	GTCVCKLPYQCPKNGTAVCATNRRSFPTYCQKQSLE
40	FI ペプチド 3	FPGVYTKVANYFDWISYHVGRRPFISQYNV
41	FI ペプチド 4	ANVACLDLGFQGGADTQRRFKLSDLINSTE
42	FI ペプチド 5	LPRSIPACVPWSPYLFQPNDCIVSGWGRE
43	FI ペプチド 6	KKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQRCIE

【0526】

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

44	FI ペプチド 7	LCCKACQGGKGFHCKSGVCIPSQYQCNGE
45	FI ペプチド 8	VKLVDQDKTMFICKSSWSMRE
46	FI ペプチド 9	VKLISNCSKFGYGNRFYE
47	FI ペプチド 10	CLHPGKTKFLNNGTCTAE
48	FI ペプチド 11	NYNAGTYQNDIALIE
49	FI ペプチド 12	GKFSVSLKHGNTDSE
50	FI ペプチド 13	VGCAGFASVTQEE
51	FI ペプチド 14	MKKDGNKKDCE
52	FI ペプチド 15	YVDRIIFHE
53	FI ペプチド 16	CLHVHCRGLE
54	FI ペプチド 17	RVFSLQWGE
55	FI ペプチド 18	ILTADMDAE
56	FI ペプチド 19	KVTYTSQE
57	FI ペプチド 20	VDCITGE
58	FI ペプチド 21	NCGKPE
59	FI ペプチド 22	TSLAE
60	FI ペプチド 23	KDNE
61	C3.1.1	AKIRYYTYLIMNKGRLKAGRQVREPGQDLVVLPLSITTDIPSFRVLVAYYTLIGASGQ RE
62	C3.1.2	RSGIPVTSPIYQIHFTKTPKYFKPGMPFDLMVFVTPNPDGS PAYRVPVAVQGE
63	C3.1.3	KVVLVSLQSGYLFQTDKTIYTPGSTVLYRIFTVNHKLLPVGRTVMVNIE
64	C3.1.4	DTVQSLTQGDGVAKLSINTHPSQKPLSITVTRTKKQE
65	C3.1.5	GDHGARVVLVAVDKGVFLNKKNKLTQSKIWDVVE
66	C3.1.6	KADIGCTPGSGKDYAGVFSAGLTFTSSSGQQTAQRAE
67	C3.1.7	QATRTMQALPYSTVGNSNNYLHLSVLRTIE
68	C3.1.8	AHDAQGDVPVTVTVHDFPGKKLVLSSE
69	C3.1.9	GIPVKQDSLSSQNQLGVLPWSWDIPE
70	C3.1.10	VVADSVWVDVKDSCVGSLLVVKSGQSE
71	C3.1.11	DLVGKSLYVSATVILHSGSDMVQAE
72	C3.1.12	KTVLTPATNHMGNTFTIPANRE
73	C3.1.13	KGRNKFVTVQATFGTQVVE
74	C3.1.14	VVLSRKVLLDGVQNPRAE
75	C3.1.15	TLNVNFLLRMDRAHE
76	C3.1.16	LVNMGQWKIRAYYE
77	C3.1.17	SPMYSIITPNILRLIE
78	C3.1.18	DRQPVPGQMQMTLKIE
79	C3.1.19	VTITARFLYGKKVE
80	C3.1.20	GTAFVIFGIQDGE
81	C3.1.21	KFYIYINE
82	C3.1.22	NSPQQVFSTE
83	C3.1.23	SLKRIPIE
84	C3.1.24	YVLPSE
85	C3.1.25	QRISLPE
86	C3.1.26	LQCPQAAA
87	C3.1.27	VIVEPTE
88	C3.1.28	TMVLE
89	C3.1.29	LRPGE
90	C3.1.30	FKSE
91	FHR1 ペプチド 2	NYNIALRWTAQKLYLRTGE
92	FHR2 ペプチド 3	YNFVSPSKSFWRITCAEE
93	FHR3 ペプチド 2	KGWSPTPRCIRVRTCSKSDIE
94	FHR3 ペプチド 3	NGYNQNYGRKFVQGNSTE
95	FHR3 ペプチド 4	QVKPCDFPDIKHGGLFHE
96	FHR3 ペプチド 5	FMCKLGYNANTSILSFQAVCRE
97	FHR3 ペプチド 6	YQCQPYE
98	FHR4 ペプチド 2	NSRAKSNGMRFLHDTLDYE
99	FHR4 ペプチド 3	DGWSHFPTCYNSSSE
100	FHR4 ペプチド 4	ISYGNTTGSIVCGE
101	FHR4 ペプチド 5	FMCKLGYNANTSVLFSQAVCRE
102	FHR5 ペプチド 2	GTLCDFPKIHGFLYDEE
103	FHR5 ペプチド 3	YAMIGNNMITCINGIWE

【 0 5 2 7 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

104	FHR5 ペプチド 4	YGYVQPSVPPYQHGVSV
105	FHR5 ペプチド 5	GDTVQIICNTGYSLQNN
106	FHR5 ペプチド 6	IVCKDGRWQSLPRC
107	FHR5 ペプチド 7	DYNPFSQVPTGE
108	FHR5 ペプチド 8	QVKTCGYIPE
109	FHR5 ペプチド 9	ANVDAQPKKE
110	FHR5 ペプチド 10	WTTLPCTC
111	FHR5 ペプチド 11	KVAVLC
112	FH ペプチド 2	SNTGSTTGSIVCGYNGWSDLPIC
113	FH ペプチド 3	NGWSPTPRCIRVKTCSSIDIE
114	FH ペプチド 4	LPKIDVHLVPDRKKDQYKVG
115	FH ペプチド 5	YYCNPFRFLMKGPNIQCVDGE
116	FH ペプチド 6	NYNIALRWTAQKQLYSRTGE
117	FH ペプチド 7	KWSHPPSCIKTDCSLPSFE
118	FH ペプチド 8	HGWAQLSSPPYYGDSVE
119	FH ペプチド 9	ISHGVVAHMSDSYQYGE
120	FH ペプチド 10	FDHNSNIRYRCRGKE
121	FH ペプチド 11	ITCKDGRWQSIPLC
122	FH ペプチド 12	GWHTVCINGRWDPE
123	FH ペプチド 13	KAKYQCKLGYVTADGE
124	FH ペプチド 14	TTCYMGKWSSPPQCE
125	FH ペプチド 15	SYAHGTKLSYTCE
126	FH ペプチド 16	RVRYQCRSPYE
127	FH ペプチド 17	GFGIDGPAIAKCLGE
128	FH ペプチド 18	HGTINSSRSSQE
129	FH ペプチド 19	YQCQNLQLE
130	FH ペプチド 20	WTTLPVCIVEE
131	FH ペプチド 21	KIPCSQPPQIE
132	FH ペプチド 22	SQYTYALKE
133	FH ペプチド 23	QVQSCGPPPE
134	FH ペプチド 24	KKDVYKAGE
135	FH ペプチド 25	GLPCKSPPE
136	FH ペプチド 26	KVSVLCQE
137	FH ペプチド 27	HLKNKKE
138	FH ペプチド 28	GGFRISSE
139	FH ペプチド 29	LLNGNVKE
140	FH ペプチド 30	YPTCAKR
141	FH ペプチド 31	STCGDIPE
142	C3dg UniProt: P01024; エントリーバージョン 242 (2019年12月11日) 配列バージョン 2 (2006年12月12日) 残基 955~1303	EGVQKEDIPPADLSQVDPTESETRILLQGTPVAQMTEDAVDAERLKHIVTPSGCG EQNMIGMTPTVIAVHYLDETEQWEKFGLEKRQGALELIKGYTQQLAFRQPSAFAA FVKRAPSTWLTAYVVKVFS LAVNLIADSQVLCGAVKWLILEKQKPDGVFQEDAPVIH QEMIGGLRNNNEKDMALTAFLVLSLQEAKDICEEQVNSLPGSITKAGDFLEANYMNLQ RSYTVAIAGYALAQMGRLKGPLLNKFLTAKDKNRWEDPGKQLYNVEATSYALLALL QLKDFDFVPPVVRWLNQRYGGYGSTQATFMVFQALAQYQKQDAPDHQELNLDV SLQLPSR
143	C3g UniProt: P01024; エントリーバージョン 242 (2019年12月11日) 配列バージョン 2 (2006年12月12日) 残基 955~1001	EGVQKEDIPPADLSQVDPTESETRILLQGTPVAQMTEDAVDAERLK
144	C3d UniProt: P01024; エントリーバージョン 242 (2019年12月11日) 配列バージョン 2 (2006年12月12日) 残基 1002~1303	HLIVTPSGCGEQNMIGMTPTVIAVHYLDETEQWEKFGLEKRQGALELIKGYTQQLA FRQPSAFAAFVKRAPSTWLTAYVVKVFS LAVNLIADSQVLCGAVKWLILEKQKPDG VFQEDAPVIHQEMIGGLRNNNEKDMALTAFLVLSLQEAKDICEEQVNSLPGSITKAGD FLEANYMNLQRSYTVAIAGYALAQMGRLKGPLLNKFLTAKDKNRWEDPGKQLYNV EATSYALLALLQLKDFDFVPPVVRWLNQRYGGYGSTQATFMVFQALAQYQKQDA PDHQLNLDVSLQLPSR

【0528】

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

【表 1 - 8】

164	siRNA ターゲット 7 (CFHR4)	GAAUCACACUUGGUAACUAAU
165	siRNA ターゲット 8 (CFHR4)	GGUCAAGAGUCGAGUACCAGU
166	siRNA ターゲット 9 (CFHR3, CFHR4)	GAAUGCACGAGGUAUUGAA
167	siRNA ターゲット 10 (CFHR5)	GAAUCUUCAGGACUAAUACAU
168	siRNA ターゲット 11 (CFHR5)	GUAAAUGUUCUCGCUUCAGUA
169	siRNA ターゲット 12 (CFH, CFHR1, CFHR2)	GUACCAAUGCCAGAACUUGUA
170	siRNA ターゲット 13 (CFH, CFHR1)	GAGGGUAACAAGCGAAUAAACA
171	siRNA ターゲット 14 (CFH, CFHR1)	GGUAACAAGCGAAUACAUGU
172	siRNA ターゲット 15 (CFH, CFHR2)	GCUUUUAUUAAGAACAGGUGA
173	siRNA ターゲット 16 (CFHR2)	GAAAUGUCAAUUCCUAAACAGU
174	siRNA ターゲット 17 (CFHR3)	GUGAGAAGUUGCAGGGUAAGA
175	siRNA ターゲット 18 (CFHR3)	GUUUCGCCAUACCCACUCUACU
176	siRNA ターゲット 19 (CFHR3)	GCCACCAUGUAAGAUGUACCU
177	siRNA ターゲット 20 (CFHR4)	GGAUAAUUGCGAAUACAUCU
178	アンチセンスターゲット 1	AGAAUUACACUGACCAGGAGC
179	アンチセンスターゲット 2	UUCAUAACGUACUCUCUACC
180	アンチセンスターゲット 3	UUCAUAAGGGCUCCUACAUUC
181	アンチセンスターゲット 4	UAGUAGGGCUGGCAUUGGUAC
182	アンチセンスターゲット 5	UGUAUGCAUCUUGGUGGUUCC
183	アンチセンスターゲット 6	AACUUCUCACUAACCAUUGC
184	アンチセンスターゲット 7	AUUAGUUACCAAGUGUGAUUC
185	アンチセンスターゲット 8	ACUGGUACUCGACUCUUGACC
186	アンチセンスターゲット 9	UUCAUAUCCAUUCGUAGCAUUC
187	アンチセンスターゲット 10	AUGUAUUAGUCCUGAAGAUUC
188	アンチセンスターゲット 11	UACUGAAGCGAGAACAUUUAC
189	アンチセンスターゲット 12	UACAAGUUCUGGCAUUGGUAC
190	アンチセンスターゲット 13	UGUUAUUCGCUUGUUACCCUC
191	アンチセンスターゲット 14	ACAUGUUAUUCGCUUGUUACC
192	アンチセンスターゲット 15	UCACCGUUCUUGAAUAAAGC
193	アンチセンスターゲット 16	ACUGUUAGGAAUUGACAUUUC
194	アンチセンスターゲット 17	UCUUACCCUGCAACUUCUCAC
195	アンチセンスターゲット 18	AUGAGUGGGGUUUGGGGAAAC
196	アンチセンスターゲット 19	AGGUACAUCUUAUAGGUGGC
197	アンチセンスターゲット 20	UGAUGUAUUCGCAUUAUUC
198	スクランブルアンチセンスターゲット 1	GGUUGCAUUAGGCUAUCCUCU
199	スクランブルアンチセンスターゲット 2	GAAUAGGGUCGGAAGUUAUGA
200	スクランブルアンチセンスターゲット 3	GUGCAUAACGGUAGAUUCAGA
201	スクランブルアンチセンスターゲット 4	GAGCCUCACGCUACUAACCUA
202	スクランブルアンチセンスターゲット 5	GAACAACACGGACGCUCAAUA
203	スクランブルアンチセンスターゲット 6	GAUUGUGAGAGGUUCGUAAUA
204	スクランブルアンチセンスターゲット 7	GGAAUUCUAAUCGAAACUACU
205	スクランブルアンチセンスターゲット 8	GGUCAACCGUAAUGGAGGUCA
206	スクランブルアンチセンスターゲット 9	GAGUUAGAGCGCAUAGAAUAU

10

20

30

40

【 0 5 3 0 】

50

【表 1 - 9】

207	スクランブルアンチセンスター ゲット 10	GAUCCAAAUGUACCGAAUUUAU
208	スクランブルアンチセンスター ゲット 11	GAAAUUCUUCGGAUUGAGUCU
209	スクランブルアンチセンスター ゲット 12	GAAAGUCACGAUAUCCUGUCA
210	スクランブルアンチセンスター ゲット 13	GAGAAACAAGAAGGCGUAACU
211	スクランブルアンチセンスター ゲット 14	GGAGUACUUAGCGAAUAAACA
212	スクランブルアンチセンスター ゲット 15	GCAAUUAGUUAGGACGAUACU
213	スクランブルアンチセンスター ゲット 16	GUCAACAUCGCAUAGAUUAUA
214	スクランブルアンチセンスター ゲット 17	GAAGCGAAUGGGUAGGUUAGA
215	スクランブルアンチセンスター ゲット 18	GCUCCUUUCCCUUAUACACA
216	スクランブルアンチセンスター ゲット 19	GGAUCACACUGCCUACGUAAU
217	スクランブルアンチセンスター ゲット 20	GAAAGAGACGAUUAUUAACU
218	ホモ・サピエンス (Homo sapiens) 補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 1, mRNA NCBI 参照配列: NM_002113.3 GI: 1826689168	CAGTTAGTACACTGAAATTCAAAGTCATGCTCATAACTGTTAATGAAAGCAGATTC AAAGCAACACCACCACCACTGAAAGTATTTTTAGTTATATAAGATTGGAACACCAA GCATGTGGCTCCTGGTCAGTGTAAATCTAATCTCACGGATATCCTCTGTTGGGGG AGAAGCAACATTTTGTGATTTTCCAAAAATAAACCATGGAATTCATATGATGAAG AAAAATATAAGCCATTTTCCAGGTTCCCTACAGGGGAAGTTTTCTATTACTCCTGT GAATATAATTTTGTGTCCTTCAAAATCATTTTGGACTCGCATAACATGCACAGA AGAAGGATGGTCACCAACACCAAAGTGTCTCAGACTGTGTTTCTTTCTTTTGTG GAAAATGGTCATTCGAATCTTCAGGACAAACACATCTGGAAGGTGATACTGTGC AAATTATTTGCAACACAGGATACAGACTTCAAAACAATGAGAACAACATTTTCATGT GTAGAACGGGGCTGGTCCACCCCTCCCAATGCAGGTCCACTGACACTTCCTGT GTGAATCCGCCCACAGTACAAAATGCTCATATACTGTGAGACAGATGAGTAAAT ATCCATCTGGTGAGAGAGTACGTTATGAATGTAGGAGCCCTTATGAAATGTTTGG GGATGAAGAAGTGATGTGTTTAAATGGAACCTGGACAGAACCACCTCAATGCAAA GATTCTACGGGAAAAATGTGGGCCCCCTCCACCTATTGACAATGGGGACATTACTT CATTCCCGTTGTGAGTATATGCTCCAGCTTCATCAGTTGAGTACCAATGCCAGAA CTTGATCAACTTGAGGGTAACAAGCGAATAACATGTAGAAATGGACAATGGTCA GAACCACCAAAATGCTTACATCCGTGTGTAATATCCCGAGAAATTATGGAAAATTA TAACATAGCATTAAGGTGGACAGCCAAACAGAAGCTTTATTTGAGAACAGGTGAA TCAGCTGAATTTGTGTGTAACGGGGATATCGTCTTTTCATCACGTTCTCACACATT GCGAACAACATGTTGGGATGGGAACTGGAGTATCCAACCTGTGCAAAAAGATA GAATCAATCATAAAATGCACACCTTTATTCAGAAGCTTTAGTATTAAATCAGTTCTTA ATTTCAATTTTAAAGTATTGTTTACTCCTTTTATTCATACGTAATAATTTTGGATTAA TTTGTGAAAATGTAATTATAAGCTGAGACCGGTGGCTCTCTTCTTAAAGCACCAT ATTAACCTTGGAACCTAA

【 0 5 3 1 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 0】

219	ホモ・サピエンス補体H因子関連 2 (CFHR2), 転写物変異体 1, mRNA NCBI 参照配列: NM_005666.4 GI: 1389570449	ACCACAAAGGACTTTACTAAACTAGCTTCCAGTTAGTACACTGAAATTCAAAGTCA TGCTCATAACTGTTAATGAAAGCAGATTCAAAGCAACACCACCACCTGAAGTA TTTTAGTTATATAAGATTGGAACCTACCAAGCATGTGGCTCCTGGTCAGTGTAATT CTAATCTCACGGATATCCTCTGTTGGGGGAGAAAGCAATGTTCTGTGATTTCCAA AAATAAACCATGGAATTCATATGATGAAGAAAAATATAAGCCATTTTCCCAAGTT CCTACAGGGGAAGTTTTCTATTACTCCTGTGAATATAATTTTGTGCTCCTTCAAA ATCCTTTTGGACTCGCATAACGTGCGCAGAAGAAGGATGGTCACCAACACCAAAA GTGCTCAGACTGTGTTTCTTCCCTTTGTGGAAAAATGGTCATTCTGAATCTTCAG GACAAACACATCTGGAAGGTGATACTGTACAAATTATTTGCAACACAGGATACAG ACTTCAAAACAATGAGAACAACATTTTCATGTGTAGAACGGGGCTGGTCCACTCCT CCCAAATGCAGGTCCACTATTTCTGCAGAAAAATGTGGGCCCTCCACCTATTG ACAATGGAGACATTACTTCATTCCTGTTGTCAGTATATGCTCCAGGTTTCATCAGTT GAGTACCAGTGCCAGAACTTGATCAACTTGAGGGTAACAATCAAATAACATGTA GAAACGGACAATGGTCAGAACCCACCAAAATGCTTAGATCCATGTGTAATATCACA AGAAATTATGAAAAATATAACATAAAATTAAGTGGACAAACCAACAAAAGCTTT ATTCAAGAACAGGTGACATAGTTGAATTTGTTTGTAAATCTGGATATCATCCAACA AAATCTCATTCAATTCGAGCAATGTGTCAGAAATGGGAAACTGGTATATCCCAGTT GTGAAGAAAAATAGAATCAATGGCATTACTATTAGTAAATGCACACCTTTTCTG AATTTACTATTATATTTGTTTTCAATTTCAATTTTCAAGTACTGTTTTACTCATTTTTA TTCATAAAATAAAGTTTTGTGTTGATTTGTGAAAAATGCAATTACAATCTGAGATGTG CACAATGGTGAGGACTATCTTCACCAAACTAAGTAACAACCTAGGAATTGCTTTT TTTTTCTTTTTAAAAAAATTGACAATAACTGTATATTCATGGAGTACATAGTAA TGTTTCCATATATATAATGTATAATGGTCAGTTAGGGTAATTAGTATATCCATTATC TCAAACATTTTTCATTTCTTTGGGTTAGGAGCATTAAATATTCTCCTCCAGCTATT TGGTACTTCATAGTATATTACTGGTAACTGAAGGAATTATCTAGACGTTACCCC AGGTATCTTGAAATGTCAATTCCTAACAGTCACAGCCTGGGAGCTCATGTTTGCC TTCTTTCAGAGCTTGAACTATGTATATCCACATAAATAATCAAAA
-----	---	--

10

20

【 0 5 3 2 】

30

40

50

【表 1 - 1 1】

220	ホモ・サピエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 1, mRNA NCBI 参照配列: NM_021023.6 GI: 1780222577	AGTGCAACTGAACTTTTGTATTAGCATACTACTGAGAATATCTAACATGTTGTTA CTAATCAATGTCAATCTGACCTTGTGGGTTTCCTGTGCTAATGGACAAGTGAAC CTTGTGATTTTCCAGACATTAACATGGAGGTCTATTTTCATGAGAATATGCGTAGA CCATACTTTCCAGTAGCTGTAGGAAAAATATTACTCCTATTACTGTGATGAACATTT TGAGACTCCTTCAGGAAGTTACTGGGATTACATTCATTGCACACAAAATGGGTGG TCACCAGCAGTACCATGTCTCAGAAAAATGTTATTTTCTTATTTGGAAAAATGGATA TAATCAAAATTTAGGAAGAAAGTTTGTACAGGGTAACTCTACAGAAGTTGCCTGC CATCCTGGCTACGGTCTTCCAAAAGCGCAGACCACAGTTACATGTACGGAGAAAA GGCTGGTCTCCTACTCCAGATGCATCCGTGTCAGAACATGCTCAAAATCAGATA TAGAAATTGAAATGGATTCAATTTCCGAATCTTCTCTATTTATATTTTAAATAAAG AAATACAATATAAATGTAAACCAGGATATGCAACAGCAGATGGAAATTCCTCAGG ATCAATTACATGTTTGCAAAATGGATGGTCAGCACAACCAATTTGCATTAATTCCT CAGAAAAAGTGTGGGCTCCTCCACCTATTAGCAATGGTGATACCACTCCTTTCT ACTAAAAGTGTATGTGCCACAGTCAAGAGTCGAGTACCAATGCCAGCCCTACTAT GAACCTCAGGGTTCTAATTTATGTAACATGTAGTAATGGAGAGTGGTCGGAACCCAC CAAGATGCATACCATCCATGTATAAATACTGAAGAAAAACATAAAAAATAACATA AAGTTAAAAGGAAGAAGTGACAGAAAAATATTATGCAAAAACAGGGGATACCATTG AATTTATGTGTAATTTGGGATATAATGCAAAATACATCAATTTCTATCATTTCAAGCAG TGTGTCGGGAAGGGATAGTGAATACCCAGATGCGAATAAGGCAGCATTGTTA CCCTAAATGTATGTCCAACCTCCACTTTTCCACTTCTCAGCTTTATGGTCTCAAG CTTGCAAGATAGCTTCTGATATTGTTGTAATTTCTACTTTATTTCAAAGAAAAATTA ATATAATAGTTTCAATTTGCAACTTAATATATTCTCAAAAAATATATTAACAACTA AATTATTGCTTATGCTTGTACTAAAAATAAAAACTACTCTTATATTGGACTTCTT ATCAATGAATTAGTAAGTATAGAGACAGACAGCTGAATGGCTTTCTGCATATTGTA TAGTATACCTAGACATAGAAACAAAATGACTTTAGATTTTATTTGGGAAGTAATA ATACCATAAAATTAGATATTAATTTGTAAGTGAAGATAAACACACTATAGTATTCC CTTATTGTAGCCATGGTCTCTAGATGCAGTTAACCAAAATAGGGTCAATTTTATTA AAAGTAGTGTTCCTGGCAACACTGACATTACATCATTATCATGATTTAAAGGAA ATAGTACTAGAGAAGGTGAATTTATCATTTTCTGTGAAAAAAGAAAGAGGTT TTGCTAACCTTTTCAGAGCATTGGGAACACAGCCAGAAGTGCATTAATGTATAT ATTAACCTGGGCAATGTTGACACTTTAGGATGCTGAAGCCAGGTGCAAGTGGCAC ACGCCTGTAATCCTAGCACTTTGAGAGGCCAAGCTGGCAATCATCAGAGGTCAA AAGTTCAAGACCAGCTGTTCACACGGTGAACCCCTGTCTCTACTAAAAATAGA AAAAGTAGCTCGGCATGATGGCGTGACCTGTAGTCCCAGCTACTCAGGAGGCT GAGGTGGGAGAATCACTTTAACCAGTGGGGCAGAGGTTGAAGTGAAGCAAGATA GTGCCACTGCACTCCAGCCTGGGCAATAGAGTGAGACTCTGTCTTAAAAATAAAT AAATAGGATGCTGAAAAATCCTATTTAAGGAAATAATCTTTTTCTGATTTATTTAA GGCTACATTTGTATTTTCTTAATACAAATATTTTGAAGTTTCTTCATATATGGTTTT TTGCATTTCTTATTAAGTTTTGCTTCAGATTTTTTTTGTCTTTCTCCTGTTAATTG CCTTCACTCTCTTTCTGTTCTGTACTTTTCTTTGTATATAAGGATTTTTTGAAGAA TTGTATATCCCTGTTAACAAATTGAAATCTTATTCATTTAATAGATTTTTACCCC CAGTTAGCATATGGTTAGTGAGAAGTTGCAGGGTAAGAAGAAAAACAATGTTCCCT TTCCCAACACTTTTCTGATTATAGAGAAAAAAGCATGAACCTGTATAATGATCTA GTCCTGTACAGAATGAGAAATATTAATTGCTAGACTGAGAATGTTTGGTGGCTA AAGCTAGGAATAAATTTTTAAGACTGAAGAATGATATAAGCTATCAAACTAACTC AGTTTTCAAATAACAGGTTTGCAGAGACTGGAGAATAAAAAAGTAAAAAATTGTTTT ATTAATTCAGTGACTAATTTCTACTTCATCAACATACATCATAAATAAAATTTCAA AATAATTGCTGATATGGTTTGGCTGTGTCCACCCCAATTTTCACCTGAATTATAT AATCACCATGCATCAAAGGTAGGGCCAGGTGGAGATAATGGAATCATGGGAGCA GTTTCCCATACCCCACTCATGGTAGTAAATACATCTCATGAGATCTAATGGTTTT ATAAATGAAAGTTCCCTGGACAAGTTCTTGCCTGCCACCATGTAAGATGTAC CTTTGCTACTCATTCACCTTCTGTCATGATGGTGAGGCCCTCCAGCAATGTGGA ACTGTGAGTCCATTAACCTCTTCTTTATAAATTA
-----	--	---

【0533】

【表 1 - 1 2】

221	ホモ・サビエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 1, mRNA NCBI 参照配列: NM_001201550.3 GI: 1393568848	AAATTCAGAATCACACTTGGTAACTAATAATGAAAGATTTCAAACCCCAAACAGTG CAACTGAAACTTTTGCATTACTATACTACTGAGAATATCTAACATGTTGTTACTAAT CAATGTCATTCTGACCTTGTGGGTTTCCTGTGCTAATGGACAAGAAGTGAAACCT TGTGATTTCCAGAAATTCACATGGAGGTCTATATTATAAGAGTTTGCCTAGACT ATACTTTCCAGCAGCTGCAGGACAATCTTATTCTATTACTGTGATCAAAAATTTTG TGACTCCTTCAGGAAGTTACTGGGATTACATTCATTGCACACAAGATGGTTGGTC ACCAACGGTCCCATGCCTCAGAACATGCTCAAAATCAGATGTAGAAATGAAAAAT GGATTCATTTCTGAATCTTCTCTATTATATTTTAAATGAAGAAACACAATATAAT TGTAACCAGGATATGCAACAGCAGAGGGAAATTCCTCAGGATCAATTACATGTT TGCAAAATGGATGGTCAACACAACCAATTTGCATTAAATTTTGTGATATGCCTGTT TTTGAGAATTCAGAGCCAAGAGTAATGGCATGTGGTTTAAAGCTCCATGACACAT TGGACTATGAATGCTATGATGGATATGAAAGCAGTTATGGAAACACCACAGATTC CATAGTGTGTGGTGAAGATGGCTGGTCCCATTGGCAACATGCTATAATCTTCA GAAAACTGTGGGCCTCCTCCACCTATTAGCAATGGAGATACCACGTCTTCCCG CAAAAAGTGATCTGCCATGGTCAAGAGTCGAGTACCAGTGCCAGTCCCTACTATG AACTTCAGGGTTCTAAATATGTAACATGTAGTAATGGAGACTGGTCAGAACCCACC AAGATGCATATCAATGAAACCTTGTGAGTTTCCAGAAATTCACATGGACATCTAT ATTATGAGAATACGCGTAGACCATACTTTCCAGTAGCTACAGGACAATCTTACTC CTATTACTGTGACCAAAATTTTGTGACTCCTTCAGGAAGTTACTGGGATTACATTTC ACTGCACACAAGATGGGTGGTTGCCAACAGTCCCATGCCTCAGAACATGCTCAA AATCAGATATAGAAATGAAAAATGGATTCAATTTCTGAATCTTCTCTATTTATATTT TAAATAAAGAAATACAATATAAATGTAAACCAGGATATGCAACAGCAGATGGAAAT TCTTCAGGTTCAATTACATGTTTGCAAAATGGATGGTCAGCACACAACCAATTTGCAT TAAATTTTGTGATATGCCTGTTTTTGAAGAATTCAGAGCCAAGAGTAATGGCATGC GGTTTAAAGCTCCATGACACATTGGACTACGAATGCTACGATGGATATGAAATCAG TTATGGAAACACCACAGGTTCCATAGTGTGTGGTGAAGATGGGTGGTCCCATTTC CCAACATGTTATAATTCTTCAGAAAAGTGTGGGCCTCCTCCACCTATTAGCAATG GTGATACCACCTCCTTTCTACTAAAAGTGTATGTGCCACAGTCAAGAGTCGAGTA CCAATGCCAGTCTACTATGAATTCAGGGTTCTAATTATGTAACATGTAGTAATG GAGAGTGGTCGGAACCACCAAGATGCATACATCCATGTATAATACTGAAGAAAA CATGAATAAAAAATAACATACAGTTAAAGGAAAAAGTGACATAAAATATTATGCAA AAACAGGGGATACCAATTGAATTTATGTGTAAATGGGATATAATGCCAATACATCA GTTCTATCATTTCAAGCAGTGTGTAGGGAAGGCATAGTGGAAATACCCAGATGC GAATAAGGCAGCATTGTTACCCTAAATGTATGTCCAATTCACATTCCTCACTCTTA TGGTCTCAAAGCTTGCAAAGATAGCTTCTGATATTGTTGTAATTTCTACTTTATTTT AAAGAAAATTAATATAATAGTTTCAATTTGCAACTTAATATGTTCTCAAAAATATGT TAAACAAACTAAATATTGCTTATGCTTGTACTAAAATAATAAACTACCCTTAT ATTGGA
-----	---	--

【 0 5 3 4 】

【表 1 - 1 3】

222	ホモ・サピエンス補体H因子関連 5 (CFHR5), mRNA NCBI 参照配列: NM_030787.4 GI: 1732746279	AGTACATTGAAATTCAAAGTCATGCTTGTAACTGTTAATGAAAGCAGATTTAAAGC AACACCACCATCACTGGAGTATTTTTAGTTATATACGATTGAGACTACCAAGCATG TTGCTCTTATTCACTGTAATCCTAATCTCATGGGTATCCACTGTTGGGGGAGAAG GAACACCTTTGTGATTTTCCAAAAATACACCATGGATTCTGTATGATGAAGAAGAT TATAACCCTTTTCCCAAGTTCCTACAGGGGAAGTTTTCTATTACTCCTGTGAATA TAATTTTGTGTCTCCTTCAAAATCCTTTTGGACTCGCATAACATGCACAGAAGAAG GATGGTCACCAACACCGAAGTGTCTCAGAATGTGTTCCTTTCTTTTGTGAAAAA TGGTCATTCTGAATCTTCAGGACTAATACATCTGGAAGGTGATACTGTACAAATTA TTTGCAACACAGGATACAGCCTTCAAAACAATGAGAAAAACATTTTCGTGTGTAGA ACGGGGCTGGTCCACTCCTCCCATATGCAGCTTCACTAAAGGAGAATGTCTATGTT CCAATTTTAGAAGCCAATGTAGATGCTCAGCCAAAAAAGAAAGCTACAAAGTTG GAGACGTGTGAAATTCCTGCGAGAAAAATCTTATAAGAGTTGGATCAGACTC AGTTCAATGTTACCAATTTGGGTGGTCACCTAACTTTCCAACATGCAAGGACAA GTACGATCATGTGGTCCACCTCCTCAACTCTCCAATGGTGAAGTTAAGGAGATAA GAAAAGAGGAATATGGACACAATGAAGTAGTGGAATATGATTGCAATCCTAATTT TATAATAAACGGCCCTAAGAAAAACAATGTGTGGATGGAGAATGGACAACCTTA CCCCTTGTGTTGAACAAGTGAACACATGTGGATACATACCTGAACCTCGAGTACG GTTATGTTGAGCCGTCTGTCCCTCCCTATCAACATGGAGTTTCAGTCGAGGTGAA TTGCAGAAATGAATATGCAATGATTGGAATAACATGATTACCTGTATTATGGAAT TATGGACAGAGCTTCCTATGTGTGTTGCAACACACCAACTTAAGAGGTGCAAAAT AGCAGGAGTTAATATAAAACATTACTCAAGCTATCTGGGAAAGAATTTAATCATA ATTCTAGAATACGTTACAGATGTTTACAGACATCTTCAGATACAGGCACCTCAGTCTGT ATAAACGGGAAATGGAATCCTGAAGTAGACTGCACAGAAAAAGGGAACAATTTCT GCCCACCGCCACCTCAGATACCTAATGCTCAGAATATGACAACACAGTGAATTA TCAGGATGGAGAAAAAGTAGCTGTTCTCTGTAAAGAAAACTATCTACTTCCAGAA GCAAAAGAAATTTGATGTAAAGATGGACGATGGCAATCATTACCACGCTGTGTTG AGTCTACTGCATATTGTGGGCCCCCTCCATCTATTAACAATGGAGATACCACCTC ATTCCCATTATCAGTATATCCTCCAGGGTCAACAGTGACGTACCGTTGCCAGTCC TTCTATAAACTCCAGGGCTCTGTAACGTGAACATGCAGAAATAAACAGTGGTCAG AACCACCAAGATGCCTAGATCCATGTGTGGTATCTGAAGAAAAACATGAACAAAAA TAACATACAGTTAAATGGAGAAACGATGGAAAACTCTATGCAAAAAACAGGGGAT GCTGTTGAATTCAGTGTAATTTCCACATAAAGCGATGATATCATCACCACCATT TCGAGCAATCTGTCAGGAAGGGGAAATTTGAATATCCTATATGTGAATGAAGCAAG CATAATTTTCTGAATATATTCTTCAACATCCATCTATGCTAAAAGTAGCCATTAT GTAGCCAATTTCTGATGTTACTTCTTTTATTCTTTTCAAGGTGTTGTTTAACTCAGTTTT ATTTAGAATCTGGATTTTATAGAGCTTTAGAAATTTGTAAGCTGAGAGAACATGT TTCACTTAATAGGAGGGGTGTCTTAGTCCATATTACATTGTTATAACAGAGTATCAC AGACTGGATAACTTCTAACCAATAGTTTATTTGTTTCATAAATCTAAAAGCTGAGA AGTCCAAGATGGTGGGGCTGCCTCTGGTGAGGGTCTTCTCGAAGCATCATAATA TGCTGGAAGGCATCACAACATGGTGGAAAGGATCACGTGGCAAAAGAGCATGTA CATGGGAGTGAGAGAAAAAGAGAGAGAGAGACAGAGTGGCGGGGGCGGGGAG GAGCGCAAACTCATCCTTTATAAAGACACCACTCCTGAGATAACAATCCAATCCC ATGATAATGACATTAATCCATTCAAGAAGATAGAGCTCTCGTGACTTAATCACCTT CTAAAGATCTCACCTGACAACACTGTTGCATTGGCAGTTAAGTTTCCACGTAAAC TTTCGGGGACACATTCAAACCACAGGAGAACTCAAATTTGTTCTGGGCAATCA CAACATGGGGAAATTTATTCTATAAATGTCCACAGAAACAGTAAATGTTCTCGCTTC AGTACTTAATTCATCTAATCCCTCCTGTTTGTCTCAAATATAGGATAACTTTGAAA CTTTCTGAATTAACGTTATTTAAAGGAAATGTAGATGTTATTTAGTCTCTATCTT CATGTTATTATCACTTAAAAACCTGCGAAAGCTGTCAACTTTTGTGGTTGTAGCAA GTATTAATAAATATTTATAATCCTCTAATGTAAGTCTAGCTACCTATCCAATACTA AATACCCCTTAAAGTATTAATGCACATCTGCTGTAAGAA
-----	--	---

10

20

30

40

50

【 0 5 3 5 】

【表 1 - 1 4】

223	ホモ・サビエンス補体H因子 (CFH), 転写物変異体 1, mRNA NCBI 参照配列: NM_000186.4 GI: 1732746315	ACAATTCCTTGGAGAGGAGAACTGGACGTTGTGAACAGAGTTAGCTGGTAAATGT CCTCTTAAAAAGATCCAAAAAATGAGACTTCTAGCAAAGATTATTTGCCCTTATGTTA TGGGCTATTTGTGTAGCAGAAGATTGCAATGAACCTTCCCAAGAAGAAATACAG AAATTCGTACAGGTTCTGGTCTGACCAAAACATATCCAGAAGGCCACCCAGGCTAT CTATAAATGCCGCCCTGGATATAGATCTCTTGGAAATGTAATTAATGGTATGCAGG AAGGGAGAATGGGTTGCTCTTAATCCATTAAGGAAATGTCAGAAAAGGCCCTGTG GACATCCTGGAGATACTCCTTTTGGTACTTTTACCCTTACAGGAGGAAATGTGTTT GAATATGGTGTAAAAGCTGTGTATACATGTAATGAGGGGTATCAATTGCTAGGTG AGATTAATTACCGTGAATGTGACACAGATGGATGGACCAATGATATTCCTATATGT GAAGTTGTGAAGTGTTTACCACTGACAGCACCAGAGAATGAAAAAATGTGACAGTA GTGCAATGGAACAGATCGGGAATACCATTTTGGACAAGCAGTACGGTTTGTATG TAACTCAGGCTACAAAGATTGAAGGAGATGAAGAAATGCATTGTTTCAGACGATGGT TTTTGGAGTAAAGAGAAACCAAAGTGTGTGGAATTTTCATGCAAAATCCCAGATG TTATAAATGGATCTCCTATATCTCAGAAGATTATTTATAAGGAGAATGAACGATT CAATATAAATGTAACATGGGTTATGAATACAGTGAAGAGAGGAGATGCTGTATGCA CTGAATCTGGATGGCGTCCGTTGCCCTTCATGTGAAGAAAAATCATGTGATAATCC TTATATTCCAAATGGTGACTACTACCTTTAAGGATTAAACACAGAACTGGAGATG AAATCACGTACCAGTGTAGAAATGGTTTTTATCCTGCAACCCGGGGAAATACAGC AAAAATGCACAAGTACTGGCTGGATACCTGCTCCGAGATGTACCTTGAACCTTGT GATTATCCAGACATTAAACATGGAGGTCTATATCATGAGAATATGCGTAGACCAT ACTTTCCAGTAGCTGTAGGAAAAATTAATCTCTATTACTGTGTAACATTTTGAG ACTCCGTCAGGAAGTTACTGGGATCACATTCATTGCACACAAGATGGATGGTCCG CCAGCAGTACCATGCCCTCAGAAAAATGTTATTTTCTTATTTGGAAAAATGGATATAA TCAAAATCATGGAAGAAAGTTTGTACAGGGTAAATCTATAGACGTTGCCCTGCCAT CCTGGCTACGCTCTTCCAAAGCGCAGACCACAGTTACATGTATGGGAAGTGGC TGGTCTCCTACTCCAGATGCATCCGTGTCAAACATGTTCCAAATCAAGTATAG ATATTGAGAATGGGTTTATTTCTGAATCTCAGTATACATATGCCCTTAAAGAAAAA GCGAAATATCAATGCAAACTAGGATATGTAACAGCAGATGGTGAACATCAGGAT CAATTACATGTGGGAAAGATGGATGGTCAGCTCAACCCACGTGCATTAAATCTTG TGATATCCCAGTATTTATGAATGCCAGAACTAAAAATGACTTCACATGGTTTAAAGC TGAATGACACATTTGGACTATGAATGCCATGATGGTTATGAAAGCAATACCTGGAAG CACCAGTGGTTCATAGTGTGTGGTTACAATGGTGGTCTGATTTACCCATATGT TATGAAAGAGAATGCGAACTTCTTAAATAGATGTACACTTAGTTCCTGATCGCAA GAAAGACCAAGTATAAAGTTGGAGAGGTGTTGAAATTTCTCTGCAACCCAGGATT ACAATAGTTGGACCTAATTCGGTTCAGTGCTACCACCTTGGATTGTCTCCTGACC TCCCAATATGTAAGAGCAAGTACATCATGTGGTCCACCTCCTGAACTCCTCAA TGGGAATGTTAAGGAAAAAACGAAAGAAGAAATGACACAGATGCAAGTGGGGA ATATTATTGCAATCCTAGATTCTAATGAAGGGACCTAATAAATTCATGTGTTG ATGGAGAGTGGACAACCTTACCAGTGTGTAATTTGAGGAGAGAGTACCTGTGGAG ATATACCTGAACCTGAACATGGCTGGGCCAGCTTTCTCCCTCCTTATTACTAT GGAGATTCAAGTGGAAATCAATTGCTCAGAACTATTACAATGATTGGACACAGAT CAATTACGTGTATTTCATGGAGTATGGACCCAACTTCCCAAGTGTGTGGCAATAGA TAACTTAAGAAGTGCAATCATCAAATTAATTATACTTGAGGAACATTTAAAAAA CAAGAAGGAATTCGATCATAATTCTAACATAAGGTACAGATGTAGAGGAAAAAGAA GGATGGATACACACAGTCTGCATAAATGGAAGATGGGATCCAGAAGTGAACCTGC TCAATGGCACAATAACAATTATGCCACCTCCACCTCAGATTCCTCAATTCACAAA TATGACAACCACACTGAATTATCGGGATGGAGAAAAAGTATCTGTTCTTTGCCAA GAAAAATATCTAATTCAGGAAGGAGAAGAAATACATGCAAGATGGAAGATGGC AGTCAATACCACCTCTGTGTTGAAAAAATCCATGTTTCAACACCTCAGATAGAA CACGGAACCATTAATTATCCAGGTCTTCAAGAAGAAATGTCACATGGGACTA AATTGAGTTATACTTGTGAGGGTGGTTTCAGGATATCTGAAGAAATGAAACAAC ATGCTACATGGGAAATGGAGTTCTCCACCTCAGTGTGAAGGCCCTTCTTTGTA ATCTCCACCTGAGATTCTCATGGTGTGTAGCTCAGATGTGCAACATTTACAGT TATGGAGAAGAAATTACGTACAAATGTTTTGAAGGTTTTGGAATTGATGGGCCTG CAATTGCAAAATGCTTAGGAGAAAAATGGTCTCACCTCCATCATGCATAAAAAAC AGATTGTCTCAGTTTACCTAGCTTTGAAATGCCATACCTGGGAGAGAAGAAAG GATGTGTATAAGGCGGGTGAGCAAGTGACTTACACTTGTGCAACATTTACAAAA TGGATGGAGCCAGTAATGTAACATGCATTAATAGCAGATGGACAGGAAGGCCAA CATGCAGAGACACCTCCTGTGTAATCCGCCACAGTACAAAATGCTTATATAGT GTGAGACAGATGAGTAAATATCCATCTGGTGAGAGAGTACGTTTCAATGTAGG AGCCCTTATGAAATGTTTTGGGGATGAAGAAGTGTGTGTTAAATGGAACCTGGA CGGAACCACCTCAATGCAAGATTCTACAGGAAAAATGTGGGCCCCCTCCACCTA TTGACAATGGGGACATTACTTCAATCCCGTTGTGAGTATATGCTCAGCTTACATCA GTTGAGTACCAATGCCAGAACTTGTATCAACTTGAGGGTAACAAGCGAATAACAT GTAGAAATGGACAATGGTCAGAACCCAAAAATGCTTACATCCGTGTGTAATATC CCGAGAAATTTAGGAAAAATTATAACATAGCATTAAAGGTGGACAGCCAAACAGAAG CTTTATTCGAGAACAGGTGAATCAGTTGAATTTGTGTGTAACGGGGATATCGTC
-----	--	--

10

20

30

40

【0 5 3 6】

【表 1 - 1 5】

		TTTCATCACGTTCTCACACATTGCGAACAACATGTTGGGATGGGAACTGGAGTA TCCAACCTTGTGCAAAAAGATAGAATCAATCATAAAGTGACACCTTTATTCAGAAC TTTAGTATTAAATCAGTTCTCAATTTTATTTTATGATTGTTTTACTCCTTTTAT TCATACGTAAAAATTTGGATTAAATTTGTGAAATGTAATTATAAGCTGAGACCGGT GGCTCTCTTCTTAAAGCACCATATTAAATCCTGGAAAACTAA
224	ガイド RNA 1	AGATTAGAATTACACTGACCAGG
225	ガイド RNA 2	TAATAGAAAACCTCCCCTGTAGG
226	ガイド RNA 3	AGACACAAAATTATATTCACAGG
227	ガイド RNA 4	AATGGTCATTCTGAATCTTCAGG

50

【実施例】

【0537】

実施例 1. 質量分析用の補体タンパク質由来のペプチドの生成

FH、FHL-1、FHR1～5、FI、C3、C3bおよびC3b分解産物に対してGluC消化を行い、質量分析用の別個のペプチドを得た。GluC消化を実施例2.2に記載する。

【0538】

各タンパク質またはタンパク質断片を検出するために使用可能なペプチドを、以下の表1～4に示す。

表1. GluC消化後の別個のFHファミリーペプチド

【0539】

【表2】

タンパク質	ペプチド配列	質量	配列番号
H因子	VTYKCFE	888.4051	20
FHL1	NGWSPTPRCIRVSFTL	1832.9355	21
FHR1	ATFCDFPKINHGILYDEE	2110.9669	22
FHR2	RGWSTPPKCRSTISAE and	1774.8784	23
	AMFCDFPKINHGILYDEE	2140.9598	24
FHR3	VACHPGYGLPKAQTIVTCTE	2074.9816	25
FHR4	YQCQSYYE	1082.4015	26
FHR5	RGWSTPPICSFTKGE	1664.7980	27

【0540】

C3の生成、分解および不活性化を導く一連のタンパク質分解事象を図1に示す。GluC消化によって産生されるプロテオフォーム特異的ペプチドを図1中、下線で示し、そして表2に示す。表3は、表2中のペプチドを用いて、各タンパク質がどのように個々に検出可能であるかを示す。

【0541】

表2. C3、C3bおよび分解産物のGluC消化から生じる、MSのためのペプチド配列

【0542】

【表3】

ペプチド	ペプチド配列	C3b産物中に含まれるもの	配列番号
C3.1	GTA FVIFGIQDGE	C3 + C3b + iC3b + C3c	28
C3.2	LRRQHARASHLGLARSNLDE	C3のみ	29
C3.3	LRRQHARASHLGLAR	C3aのみ	30
C3.4	LNLDVSLQLPSRSSKITHRIHWE	C3 + C3b	31
C3.5	LNLDVSLQLPSR	iC3b + C3dg + C3d	32
C3.6	RLGRE	C3 + C3b + iC3b	33
C3.7	SSKITHRIHWE	C3f	34
C3.8	SASLLR	C3f	35
C3.9	RLGR	C3c	36
C3.10	HLIVTPSGCGE	C3d	37

【 0 5 4 3 】

表 3. 表 2 の G l u C 消化ペプチドを用いた、すべての C 3 / C 3 b 分解産物の濃度を決定するための方法論。

【 0 5 4 4 】

【表 4】

タンパク質または断片	ペプチド (単数または複数)
C3 (全体)	C3.1
C3 のみ	C3.2
C3a	C3.3
C3b	C3.4 – C3.2
iC3b	C3.6 – C3.4
C3f	C3.7 または C3.8
C3c	C3.9
C3dg	C3.5 – C3.10 – iC3b [C3.6 - C3.4]
C3d	C3.10

10

20

【 0 5 4 5 】

表 4. 総 C 3 含有量を測定するための、G l u C 消化から生じる C 3 . 1 の代替ペプチド

【 0 5 4 6 】

30

40

50

【表 5】

ペプチド	質量	位	ペプチド配列	配列番号
C3.1.1	6957.8210	463-523	AKIRYYTYLIMNKGRLKAGRQVREPGQDLV VLPLSITDFIPSFRLVAYYTLIGASGQRE	61
C3.1.2	5778.9734	321-372	RSGIPIVTSFYQIHFTKTPKYFKPGMPFDLMV FVTNPDGSPAYRVPVAVQGE	62
C3.1.3	5650.1364	97-146	KVVLVSLQSGYLFIQTDKTIYTPGSTVLIRIFT VNHKLLPVGRTVMVNIE	63
C3.1.4	3904.1017	373-408	DTVQSLTQGDGVAKLSINTHPSQKPLSITVRT KKQE	64
C3.1.5	3861.1628	565-599	GDHGARVVLVAVDKGVFVLNKKNKLTQSKI WDVVE	65
C3.1.6	3807.7645	600-637	KADIGCTPGSGKDYAGVFSDAGLTFTSSSG QQTAAQRAE	66
C3.1.7	3263.6357	414-442	QATRTMQALPYSTVGNSNNYLHLSVL RTE	67
C3.1.8	2845.4609	24-50	AHDAQGDVPVTVTVHDFPGKKLVLSSE	68
C3.1.9	2819.4705	150-175	GIPVKQDSLSSQNQLGVLP LSWDIPE	69
C3.1.10	2691.3425	524-549	VVADSVWVDVKDSCVGS L VVKSGQSE	70
C3.1.11	2618.3261	296-320	DLVGKSLYVSATVILHSGSDMVQAE	71
C3.1.12	2511.2904	51-73	KTVLTPATNHMGNVFTTIPANRE	72
C3.1.13	2108.1378	78-96	KGRNKFTVQATFGTQVVE	73
C3.1.14	1992.1480	278-295	VVLSRKVLLDGVQNPRAE	74
C3.1.15	1827.9414	448-462	TLNVN FLLRMDRAHE	75
C3.1.16	1769.8923	176-189	LVNMGQWKIRAYYE	76
C3.1.17	1745.9386	1-15	SPMYSIITPNILRLE	77
C3.1.18	1738.9036	550-564	DRQPVPGQQMTLKIE	78
C3.1.19	1623.9348	231-244	VTITARFLYGKKVE	79
C3.1.20	1352.6612	245-257	GTA FVIFGIQDGE	80
C3.1.21	1138.5335	219-226	KFYIYNE	81
C3.1.22	1135.5146	190-199	NSPQQVFSTE	82
C3.1.23	954.5862	265-272	SLKRIPIE	83
C3.1.24	853.4221	205-211	YVLPSFE	84
C3.1.25	841.4657	258-264	QRISLPE	85
C3.1.26	826.4007	638-645	LQCPQPAA	86
C3.1.27	785.4171	212-218	VIVEPTE	87
C3.1.28	591.2938	19-23	TMVLE	88
C3.1.29	570.3125	443-447	LRPGE	89
C3.1.30	509.2485	74-77	FKSE	90

【0547】

I 因子 (FI) の GluC 消化は、MS 分析のため、表 5 の候補ペプチドを生じた。配列番号 45～56 および 155 は、8～21 アミノ酸を含有し、そして MS 分析に適した長さである。

【0548】

表 5. FI の GluC 消化から生じるペプチド配列。

【0549】

10

20

30

40

50

【表 6】

ペプチド	質量	位	ペプチド配列	配列番号
1	3996.7183	510-548	CAGTYDGSIDACKGDSGGPLVCMDANNVTYVWGVVS WGE	38
2	3994.8853	57-92	GTCVCKLPYQCPKNGTAVCATNRRSFPTYCQQKSLE	39
3	3467.7211	555-583	FPGVYTKVANYFDWISYHVGRPFISQYNV	40
4	3397.6804	150-180	ANVACLDLGFQQGADTQRRFKLSDSLINSTE	41
5	3388.6605	446-475	LPRSIPACVPWSPYLFQPNDT CIVSGWGRE	42
6	3155.5773	31-56	KKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQRCIE	43
7	2991.2861	254-281	LCKACQKGKGFHCKSGVCIPSQYQCNGE	44
8	2531.2455	129-149	VKLVDQDKTMFICKSSWSMRE	45
9	2068.0320	489-505	VKLISNCSKFYGNRFYE	46
10	1805.8309	93-109	CLHPGTKFLNNGTCTAE	47
11	1698.7969	420-434	NYNAGTYQNDIALIE	48
12	1605.7867	110-124	GKFSVSLKHGNTDSE	49
13	1297.5729	291-303	VGCAGFASVTQEE	50
14	1168.272	291-302	VGCAGFASVTQE	155
15	1295.6082	435-445	MKKDGNKKDCE	51
16	1191.6156	411-419	YVDRIIFHE	52
17	1166.5557	181-190	CLHVHCRGLE	53
18	1121.5738	480-488	RVFSLQWGE	54
19	978.4448	306-314	ILTADMDAE	55
20	955.4731	19-26	KVTYTSQE	56
21	736.3182	282-288	VDCITGE	57
22	647.2817	549-554	NCGKPE	58
23	520.2613	191-195	TSLAE	59
24	505.2252	476-479	KDNE	60

10

20

【0550】

30

実施例 2：質量分析

2. 1 安定同位体標準 (SIS) スパイク溶液の調製

S-カルボキシメチル化 (CAM) シス테인残基を含む高純度重標識合成標準を得て (Cambridge Research Biochemicals、英国ケンブリッジ)、そして50:50アセトニトリル:水+0.1%ギ酸で1 μ g/ μ Lに希釈した (表6)。

【0551】

FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4およびFHR5のストック溶液を10倍にまず希釈し (希釈しないCFHストックが必要であった)、次いで、0.1% TFA中、200 μ Lの最終体積になるまで、各個々の希釈溶液の適切な量を添加することによって、混合SIS溶液を調製した。次いで、これを、スパイク直前にさらに希釈するため、5 μ Lアリコット中で-80 $^{\circ}$ Cで保存した。

40

【0552】

混合SIS溶液の5 μ Lアリコットに、195 μ Lの50:50アセトニトリル:水を添加することによって、試料添加直前にスパイク溶液を調製した。このうち2 μ Lを、乾燥する前に、各消化試料に注意深く添加した。

【0553】

表6. 1 μ g/MIの安定同位体標準 (SIS) のストック溶液。定量化を可能にするため、安定重同位体を所持するものとして、太字残基を選択した。小文字の「c」は、S-カルボキシメチル化 (CAM) シス테인残基を示す。太字残基は同位体重アミノ酸

50

を含有し、K (+ 8)、R (+ 10)、F (+ 10) および Y (+ 10) である。

【0554】

【表7】

タンパク質	ペプチド配列	MW, g	純度, %	純含量, %	溶媒体積, μL	濃度, $\text{pmol}/\mu\text{L}$
CFH	VTYKcFE	953.4	98.6	72.6	716	1050
FHL-1	NGWSPTPRcIRVSFTL	1900	97.4	78.9	768	526.3
FHR1	ATFcDFPKINHGILYDEE	2178	100.0	80.7	807	459.1
FHR2	RGWSTPPKcRSTISAE	1845.9	100.0	55.5	555	541.7
FHR3	VAcHPGYGLPKAQTTVTcTE	2207.1	98.4	75.0	738	453.1
FHR4	YQcQSYYE	1149.7	97.6	84.1	821	869.8
FHR5	RGWSTPPKcSFTKGE	1739.8	95.6	74.0	707	574.8

10

【0555】

2. 2 LC-MS/MSによる分析のための試料の調製

凍結血漿試料を室温まで融解させた後、5分間激しくボルテックスして、いかなる可溶性物質も溶解し、次いで13,300gで30分間遠心分離して、いかなる不溶性物質も安定させた。

20

【0556】

5 μL の血漿アリコット (およそ350 μL タンパク質に同等) に、90 μL の50 mM重炭酸アンモニウム (pH 7.8)、2 μL のプロテアーゼMAXTM (Promega、英国サザンプトン) 溶液 (50 mM重炭酸アンモニウム中、1% w/v) および50 mM重炭酸アンモニウム中で調製された1 μL の500 mMジチオスレイトールを添加した。これを簡単にボルテックスして混合し、次いで、パルススピンを与えた後、56°Cで25分間インキュベーションした。

【0557】

室温に冷却した後、3 μL の500 mMヨードアセトアミド (50 mM重炭酸アンモニウム中で調製) を添加した。これを簡単にボルテックスして混合し、次いで、パルススピンを与えた後、室温および暗所で15分間インキュベーションした。

30

【0558】

さらに1 μL のプロテアーゼMAX溶液 (50 mM重炭酸アンモニウム中、1% w/v) および5 μL の1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ エンドプロテイナーゼGluC (Roche、ドイツ・マンハイム) を添加した。混合物を簡単にボルテックスし、次いで、パルススピンを与えた後、25°Cで16時間、わずかに振盪しながら (400 rpm) インキュベーションした。

【0559】

得られた消化ペプチド混合物に、6 μL の10% v/vトリフルオロ酢酸 (TFA) および2 μL のSISスパイク溶液を添加し、簡単にボルテックスして混合し、次いでパルススピンした。溶液を蒸発器に入れ、そして乾燥させた。最後にペプチドを50 μL の0.1% TFA中で再構成し、そしてボルテックスしていかなる残渣も溶解した後、13,300gで30分間遠心分離して、いかなる不溶性/粒子状物質も安定させた。LC-MS/MSによる続く分析のため、およそ48 μL (いかなる沈殿物質も後に残すように注意する) をLCオートサンプラーバイアルに移した。

40

【0560】

2. 3 血漿消化物のLC-SRM/MS分析

血漿消化物のSRM分析を、1290オートサンプラー、1260Quat Pump

50

V L ポンプおよび T C C カラムオープンモジュール (A g i l e n t、米国カリフォルニア州サンタクララ) からなる I n f i n i t y 1 2 0 0 シリーズ液体クロマトグラフィ系とカップリングした i F u n n e l 装備エレクトロスプレーイオン源 (A g i l e n t、米国カリフォルニア州サンタクララ) を伴う、6 4 9 5 三重四極子質量分析器上で行った。試料を、5 0 ° C のカラム温度で維持された C 1 8 カラム (2 5 0 m m x 2 . 1 m m 内径、T h e r m o S c i e n t i f i c A c c l a i m 1 2 0、3 μ m 粒子サイズ) 上に直接注入した (4 μ L)。水 + 0 . 1 % ギ酸からなる緩衝液 A およびアセトニトリル + 0 . 1 % ギ酸である緩衝液 B で、アセトニトリル濃度を増加させる勾配溶出を用いて、化合物を発展させた。5 % 緩衝液 B の初期組成で、流速を 2 5 0 μ L / 分に維持した。

【 0 5 6 1 】

以下の勾配溶出プロファイルを用いて、ペプチドを分離した (時間 : % B) : 0 分 : 5 % B ; 2 分 : 5 % B ; 3 分 : 1 2 % B ; 1 2 分 : 1 5 % B ; 1 5 分 : 2 0 % B ; 3 0 分 : 2 5 % B ; 3 1 分 : 9 0 % B ; 3 9 分 : 9 0 % B ; 4 0 分 : 5 % B ; 4 9 分 : 5 % B。

【 0 5 6 2 】

S I S 溶液を用いて、最適 S R M 設定を決定し、そしてこれを表 7 に提供する。

表 7 . F H ファミリーペプチドに関する S R M 遷移および最適衝突エネルギー (定量化イオンを太字で示す)。

【 0 5 6 3 】

10

20

30

40

50

【表 8】

タンパク質	ペプチド配列	前駆体イオン <i>m/z</i>	産物イオン <i>m/z</i>	衝突エネルギー, eV
CFH	VTYKcFE (軽)	473.7	583.3, 847.4, 746.3	16, 16, 16
CFH	VTYKcFE (重)	477.7	591.3, 855.4, 754.3	16, 16, 16
FHL-1	NGWSPTPRcIRVSFTL (軽)	631.2	723.9, 860.5, 767.4	19, 19, 19
FHL-1	NGWSPTPRcIRVSFTL (重)	634.3	728.9, 865.5, 772.4	19, 19, 19
FHR1	ATFcDFPKINHGILYDEE (軽)	724.2	925.6, 1011.9, 947.1	20, 16, 20
FHR1	ATFcDFPKINHGILYDEE (重)	727.2	930.6, 1016.9, 952.1	20, 16, 20
FHR2	RGWSTPPKcRSTISAE (軽)	459.1, 611.8	539.2, 798.9	8, 26
FHR2	RGWSTPPKcRSTISAE (重)	462.6, 616.3	543.9, 806.0	8, 26
FHR3	VAcHPGYGLPKAQTTVTcTE (軽)	730.7	1022.4, 971.7	16, 18
FHR3	VAcHPGYGLPKAQTTVTcTE (重)	736.7	1031.4, 980.7	16, 18
FHR4	YQcQSYYE (軽)	570.7	830.3, 993.1, 311.1	11, 10, 14
FHR4	YQcQSYYE (重)	575.7	840.3, 1003.1, 311.1	11, 10, 14
FHR5	RGWSTPPIcSFTKGE (軽)	575.2	828.4, 895.5, 588.3	16, 15, 20
FHR5	RGWSTPPIcSFTKGE (重)	581.2	836.4, 905.5, 598.3	16, 15, 20

【0564】

表 8. C3 / C3b 分解産物の定量化のためのペプチドおよび遷移

【0565】

10

20

30

40

50

【表 9】

ペプチド	配列	含有するもの	遷移
C3.1	GTAFVIFGIQDGE	C3 + C3b + iC3b + C3c	569.0/483.2 569.0/654.3 569.0/801.4
C3.2	LRRQHARASHLGLARSNLDE	C3 のみ	384.2/431.6 384.2/510.4 461.0/503.3
C3.3	LRRQHARASHLGLAR	C3a のみ	291.2/304.3 291.2/395.8 436.3/598.7
C3.4	LNLDVSLQLPSRSSKITHRIHWE	C3 + C3b	546.8/578.7 683.2/797.1 683.2/834.9
C3.5	LNLDVSLQLPSR	iC3b + C3dg + C3d	677.9/1014.4 677.9/359.1 677.9/800.2
C3.6	RLGRE	C3 + C3b + iC3b	251.3/175.1 251.3/232.1 251.3/345.2
C3.7	SSKITHRIHWE	C3f	349.3/354.2 349.3/436.4 349.3/489.8
C3.8	SASLLR	C3f	323.7/159.1 323.7/288.2 323.7/488.3
C3.9	RLGR	C3c	251.3/175.1 251.3/232.1 251.3/345.2
C3.10	HLIVTPSGCGE	C3d	585.3/251.1 585.3/394.5 585.3/404

【0566】

望ましくない混入物質から供給源領域を保護するため、クロマトグラム中、分析物ペプチドが溶出しなくなった時点で、カラムおよび供給源の間に位置するスイッチングバルブを、廃棄物位置に変換した。これにより、各々、およそ約1分間、獲得の6つのウィンドウ（ペプチドの2つ、FHR-2およびFHL-1は、同じウィンドウ内で溶出される）を、質量分析器に連結されたカラムで獲得することが可能になった。SRMデータを、Skyline (v19.1.0.193; www.skyline.ms) 中の専用プロジェクトを用いてプロセッシングした。

【0567】

2. 4 結果

FHファミリータンパク質

図2は、血漿試料由来の各個々のRCA遺伝子座タンパク質の重標識合成標準の検出を示すLC-SRMトレースを示す。これは、方法が実行可能であり、特異的で、そしてこれらの7つのタンパク質由来のペプチド間、特にスプライス変異体FHおよびFHL-1間を区別するために必要な感度を有することを示す。

【0568】

図3は、FH、FHL-1、およびFHR1~5の線形性データを示す。これは、GluC消化が、天然血清において、内因性レベルで、個々にそして特異的に検出可能なペプチドを生じること示す。これはまた、アッセイが試料中の各タンパク質のレベルを定量化可能であることも示す。タンパク質の量が増加すれば、予測可能な方式でシグナルが増加し、各タンパク質のレベルならびに存在の決定が可能になる。やはり示されるのは、アッセイが干渉に左右されないことである。

10

【0569】

定量化の下限は、FH=25 nM、FHL-1=0.25 nM、FHR-1=2 nM、FHR-2=1 nM、FHR-3=1 nM、FHR-4=4 nMおよびFHR-5=3 nMの血漿濃度と定義される。

【0570】

C3およびC3分解産物

表2中のペプチドの合成型を合成して、MSによるその検出を確認し、そして最適化して、これらが線形方式で定量化可能であることを確認し、そしてこれらが血清または血漿試料中の内因性レベルで検出可能であることを立証する。これは、図4A~4Dによって示される。

20

【0571】

図4Aは、少なくとも3つの遷移を用いたSRM-MSによって、表2中のすべてのペプチドが、血漿試料中で個々に検出されうること示す。関心対象のペプチドに関するアッセイの特異性は、MS/MSスキャンにおいて、遷移の相対強度が適切な産物イオンの相対強度とマッチすることによって確認される。図4Bは、ペプチドの特異性を確認しており、血漿試料に未精製合成ペプチドをスパイクするとシグナルが適切な増加を示す実験を示す。

30

【0572】

C3b分解を、in vitroアッセイにおいてさらに分析した。C3bをFIおよび補因子CR1の断片とともにインキュベーションし、CR1はiC3bのC3c+C3dgへの切断に向けて反応を駆動する一方、FHは、C3bのiC3bへの切断のみを支持するため、FHではなくCR1を選択した。反応から連続試料を採取し、そして煮沸によって反応停止した。

【0573】

図4Cは、ゲル電気泳動によって、C3b分解の時間経過を示す。MSおよび表2のペプチドを用いた分析は、C3b断片iC3b、C3fおよびC3cの形成を示し、そして損なわれていないC3bの喪失が、経時的に、明らかに検出可能である(図4D)。いくつか(例えばC3a)は、in vitroセットアップ中に存在せず、そして他のものは複数の産物に相当するため、すべてのペプチドは示されていない。

40

【0574】

これらのデータは、GluC由来ペプチドおよびMSを用いて、C3/C3b分解が、定量的方式で測定されうること示す。これは、補体タンパク質の存在およびレベルが、AMDなどの補体関連疾患で検出されるとともに、成功する治療転帰に関する情報が提供されることを可能にする。

【0575】

すべてのFHファミリー、C3断片およびFIタンパク質を測定可能な単一アッセイは、1つのみの試料から、そして効率的なスループットで、補体増幅ループにおけるすべて

50

の重要なタンパク質の同時分析を可能にする。

【0576】

実施例3：AMD患者におけるコンプリメントームの検出

3.1 試料収集およびプロセッシング

ケンブリッジAMD研究；2002年～2006年の間、イングランド南東および北西から採用された被験体を含む症例対照研究中、血漿試料が収集された。元来の研究およびその結果は、Yatesら，（2007）. N. Engl. J. Med. 357, 553-561に記載される。246人の罹患被験体はすべて、進行した末期AMD（脈絡膜血管新生および／または地図状萎縮）を有した。166人の対照被験体は、指標患者の配偶者、パートナーまたは友人であった。インタビュー時点で血液試料を得て；EDTAおよびリチウムヘパリン血漿試料を、CFH、FHL-1およびFHRタンパク質の測定に用いた。

10

【0577】

質量分析による血漿試料の分析を実施例2にしたがって行い、CFH、FHL-1およびFHRタンパク質のレベルを決定した。2.1および2.2に記載されるように、消化およびSISスパイク溶液の添加によって、LC-MS/MS分析のため、試料を調製した。次いで、2.3に記載されるように、LC-SRM/MSによって試料を分析した。

【0578】

GraphPad Prism (v8.4.3) を用いて、すべての統計分析を行った。

20

3.2 結果

研究タンパク質のレベル間に相関がある証拠に関して、データを分析した。すべてのピアソン相関係数は、+/-0.55より弱いことが見出された。したがって、異なるタンパク質レベル間に強い線形相関はなく、そして対相関はほとんどないと結論付けられた。特に、スキャッタープロットを見ると、変数間の非線形関係の証拠は明らかでなかった。関連相関マトリックスを図5に示す。

【0579】

次いで、タンパク質レベルをAMD症例（n=399；CNV、地図状萎縮または混合表現型を有する被験体）および対照（n=298）の間で比較した。絶対タンパク質レベルに関するノンパラメトリック検定（マン・ホイットニー検定）を行い、そしてFHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5およびFHL-1に関して、症例および対照の間で、統計的に有意な差が検出された（図6）； $p < 0.05$ 。したがって、循環FHL-1およびFHR-1～FHR-5レベルは、進行AMDを有するヒトにおいてより高い。

30

【0580】

性別、年齢および最初の2つの遺伝的主成分（IAMDG C研究内で概算されるようなもの）に関して補正された線形回帰モデルを用いたワルド検定によって、FH、FHL-1および5つのFHRレベル各々と進行AMDの関連を評価した。また、性別、年齢および最初の2つの遺伝的主成分に関して補正されたロジスティック回帰モデルを用い、対数レベルの1標準偏差（SD）変化として表されるオッズ比（OR）を通じて、進行AMDとレベルの関連も報告した。結果を表9に示す。

40

【0581】

表9. 研究試料の人口統計学データ、ならびにAMDおよび循環FH、FHL-1、FHR1～FHR-5タンパク質レベルの間の関連分析。

【0582】

【表 10】

	対照	症例	
N	252	352	
年齢、歳 (SD)	75.2 (7.9)	73.9 (8.3)	
男性 (%)	39.3	45.7	
AMD 表現型			
CNV のみ		218	
GA のみ		73	
混合		61	
			OR (95% CI)^b
平均 FH レベル, nM (95% CI)	737.3 (718.2~756.5)	736.5 (721.3~751.6)	
AMD との関連, ベータ, SE, P^a	0.005, 0.23, 0.982 (0.02, 0.23, 0.936)		1.01 (0.86~1.20)
平均 FHL-1 レベル, nM (95% CI)	10.4 (10.1~10.8)	11.3 (11.0~11.7)	
AMD との関連, ベータ, SE, P^a	0.08, 0.02, 1.4×10^{-3} (0.08, 0.02, 4.9×10^{-4})		1.35 (1.14~1.60)
平均 FHR-1 レベル, nM (95% CI)	31.2 (29.4~32.9)	38.4 (37.0~39.8)	
AMD との関連, ベータ, SE, P^a	7.22, 1.12, 2.1×10^{-10} (7.21, 1.12, 2.4×10^{-10})		1.81 (1.47~2.24)
平均 FHR-2 レベル, nM (95% CI)	45.3 (43.1~47.6)	55.3 (53.2~57.4)	
AMD との関連, ベータ, SE, P^a	0.71, 0.12, 1.9×10^{-9} (0.74, 0.12, 6.0×10^{-10})		1.66 (1.38~1.98)
平均 FHR-3 レベル, nM (95% CI)	24.1 (21.7~26.5)	28.9 (27.1~30.8)	
AMD との関連, ベータ, SE, P^a	0.55, 0.13, 4.4×10^{-5} (0.59, 0.13, 1.4×10^{-5})		1.54 (1.29~1.84)
平均 FHR-4 レベル, nM (95% CI)	46.1 (42.7~49.6)	53.8 (50.5~57.1)	
AMD との関連, ベータ, SE, P^a	0.53, 0.17, 2.1×10^{-3} (0.56, 0.17, 1.3×10^{-3})		1.27 (1.08~1.50)
平均 FHR-5 レベル, nM (95% CI)	25.5 (24.5~26.5)	27.9 (27.0~28.9)	
AMD との関連, ベータ, SE, P^a	0.09, 0.03, 1.9×10^{-4} (0.10, 0.03, 1.9×10^{-4})		1.38 (1.16~1.63)

【0583】

^a 線形回帰モデルを用いたワルド検定；F r i t s h e r ² に概算されるような性別、年齢および最初の2つの遺伝的主成分に関する補正P値をカッコ内に示す；^b 性別、年齢および最初の2つの遺伝的主成分に関して補正されたロジスティック回帰モデルを用いた、対数レベルの標準偏差変化として表される進行疾患のオッズ比（OR）。AMD = 加齢性黄斑変性症；CNV = 脈絡膜血管新生；GA = 地図状萎縮；SE = 標準誤差；CI = 信頼区間。

【0584】

データを調べて、異なるタンパク質レベル値に基づいて、臨床転帰（AMDまたは非A

10

20

30

40

50

MD) がどの程度予測されうるかを決定した。多数のロジスティック回帰分析をこの目的のために用い、そして異なるモデルに関する知見を図7に示す。研究されたタンパク質のすべて(FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FHL-1およびCFHタンパク質レベル)を含むモデルは、最も高い識別能(0.7498のAUROC(ROC曲線下面積); 図8)を有したが、試験した全てのモデルは、AMDの被験体および対照被験体の間の識別が可能であったことが見出された。

【0585】

遺伝子型データおよびゲノムワイド関連分析

進行AMD症例で上昇していることが見出されたタンパク質レベル(すなわちFHL-1およびFHR-1~FHR-5)のゲノムワイド関連分析を行った。

【0586】

研究に含まれるすべての個体は、あらかじめ、Center for Inherited Disease Research (CIDR、米国メリーランド州バルティモア)で、カスタム修飾Illumina HumanCoreExomeアレイで遺伝子型決定されており、そして国際AMDゲノミクスコンソーシアム(IAMDGC)GWAS(一次分析データセット中、欧州祖先の43,566人の被験体; 16,144の進行AMD症例および17,832の対照)内で分析された。1000 Genomes Project (Abecasisら, Nature 2012, 491, 56-65)参照パネルを用いた品質管理および遺伝子型インピュテーションは、IAMDGCによって、Fritzscheら, Nature Genetics, 2016, 48, 134-143に記載されるように行われた。

【0587】

FH、FHL-1および5つのFHRレベル(正規性を確実にするために変換)に関して、対照のみににおいて、性別、年齢および最初の2つの遺伝的主成分に関して補正された線形回帰モデル、および ≥ 1 のマイナーアレル頻度、MAFの変異体を用いて、GWASを行った。EPACTSソフトウェア(<http://genome.sph.umich.edu/wiki/EPACTS>、バージョン3.3.2)を用いてGWASを行い、そして直接タイピングされた変異体に関するマイナーアレルの数、またはインピュテーションされた変異体に関するアレル量的効果(allele dosage)にしたがって、0、1、および2とコード化された変異体遺伝子型に対して、ワルド検定を行った。qqman Rパッケージ(バージョン0.1.4)を用いて、マンハッタンおよびQ-Qプロットを生成した。LocusZoom.orgを用いて、関連の局所プロットを生成した。最後に、1000 Genomes Projectの第3相(バージョン5)から生じた欧州(EUR)集団遺伝子型データに基づいて、LDlink(<https://ldlink.nci.nih.gov/>)を用いて、連鎖不平衡(LD)測定値(R^2 および D')を計算した。

【0588】

驚くべきことに、252の対照における5つのFHRタンパク質レベルのすべてのGWASは、CFH遺伝子座で、ゲノムワイドの有意な($P \leq 5 \times 10^{-8}$)ピークを示した。図9を参照されたい。FHR-1、FHR-2、FHR-4およびFHR-5に関しては、CFH遺伝子座が、唯一の観察されるゲノムワイドの有意なピークであった。

【0589】

FHR-3は、より多遺伝子性のプロファイルを示し、CFH遺伝子座に加えて、染色体10番上のrs113721756(P 値= 1.7×10^{-8})、染色体11番上のrs111260777(P 値= 1.5×10^{-9})、染色体12番上のrs117468955(P 値= 3.0×10^{-8})、染色体17番上のrs4790395(P 値= 3.6×10^{-8})および染色体19番上のrs117115124(P 値= 2.5×10^{-8})でゲノムワイドの有意なシグナルを示した。FHL-1レベルのGWASからの最強のシグナルは、染色体13番上のrs200404865(P 値= 9.6×10^{-7})で観察され、CFH遺伝子座での最強のシグナルは、イントロン性KCNT2 rs618

20755 (P 値 = 5.3×10^{-6}) であった。

【0590】

FHR-1～FHR-5レベルの分析からのCFH遺伝子座のゲノムワイドの有意な領域は、異なるレベルで重複したが、名目上、異なるトップシグナルを示した（すなわちFHR-1に関しては、 P 値 = 2.6×10^{-43} および $\beta = -18.2$ で遺伝子間CFHR1／CFHR4 $r_{s149369377}$ 、FHR-2に関しては、 P 値 = 6.3×10^{-33} および $\beta = -1.5$ で同義CFHR2 $r_{s4085749}$ 、FHR-3に関しては、 P 値 = 1.5×10^{-25} および $\beta = 2.0$ でイントロン性CFH r_{s70620} 、FHR-4に関しては、 P 値 = 1.1×10^{-17} および $\beta = -1.7$ で遺伝子間CFHR1－CFHR4 $r_{s12047098}$ 、そしてFHR-5に関しては、 P 値 = 2.2×10^{-10} および $\beta = -0.5$ でイントロン性KCNT2 $r_{s72732232}$ ）。これらのトップシグナルは、FHR-2の $r_{s4085749}$ およびFHR-4の $r_{s12047098}$ ($R^2 = 0.83$ 、 $D' = 0.95$) 以外は、互いと高いLDではなかった。

【0591】

次に、FHR-1～FHR-5タンパク質レベルのGWASトップシグナルが、IAM DGC GWASによって報告されるCFH遺伝子座の独立にAMDに関連する変異体のいずれかとLDにあるかどうかを評価し、これにはまた、本研究で分析されるケンブリッジサンプルも含まれた（すなわち、イントロン性CFH $r_{s10922109}$ [1.1]；イントロン性CFH $r_{s570618}$ [1.2]、Y402Hのプロキシ；CFHR1210C、 $r_{s121913059}$ [1.3]；遺伝子間 $r_{s148553336}$ [1.4]、CFHの8kb上流／KCNT2の35kb下流；イントロン性KCNT2 $r_{s187328863}$ [1.5]；遺伝子間 $r_{s61818925}$ [1.6]、CFHR1の14kb下流／CFHR4の156kb下流；イントロン性CFH $r_{s35292876}$ [1.7]；イントロン性CFHR5 $r_{s191281603}$ [1.8]；表10および図10を参照されたい）。まれなCFH変異体R1210C、 $r_{s121913059}$ [1.3] が単一のケンブリッジ症例にヘテロ接合性に存在し、そしてこの分析からは排除された。

【0592】

FHR-1のトップシグナルは、トップAMD関連変異体1.1と中程度のLD ($R^2 = 0.30$) にあり、そしてY402Hのプロキシ1.2と低いLD ($R^2 = 0.12$) にあり；FHR-2のトップシグナルは、1.1 ($R^2 = 0.35$) および1.6 ($R^2 = 0.36$) と中程度のLDにあり、そして1.2 ($R^2 = 0.16$) と低いLDにあり；同様に、FHR-4のトップシグナルに関しても同様であり（1.1、1.6、および1.2で、それぞれ、 $R^2 = 0.38$ 、 0.42 および 0.16 ）；FHR-3のトップシグナルに関して、低いLDが1.1、1.2および1.6で見られ（それぞれ、 $R^2 = 0.16$ 、 0.12 および 0.11 ）、一方、FHR-5のトップシグナルは、1.4と低い／中程度のLDにあった ($R^2 = 0.26$)。

【0593】

さらに、FHR-1、FHR-2、FHR-3およびFHR-4に関して、それぞれ、 P 値 8.6×10^{-21} 、 2.9×10^{-10} 、 2.2×10^{-16} および 1.7×10^{-9} で、トップIAM DGC 変異体 $r_{s10922109}$ (1.1) で、FHR-1およびFHR-2に関して、それぞれ、 P 値 2.0×10^{-11} および 1.8×10^{-12} で、Y402Hのプロキシ1.2で、そしてFHR-2およびFHR-4に関して、それぞれ、 P 値 1.8×10^{-11} および 2.4×10^{-9} で、変異体1.6で、ゲノムワイドの有意な関連が観察された。これらのすべての遺伝的関連は、IAM DGC GWAS研究において概算されるような疾患に対するものと一致した、レベルに対するアレル効果の方向を示した（表10、図10）。総合すると、これらのGWASの知見は、CFH遺伝子座AMDリスク変異体が、FHRタンパク質レベルの増加を通じて、疾患リスクを増加させることを裏付ける。

10

20

30

40

50

【0594】

AMDへの感受性に対する補体制御タンパク質の循環レベルの影響のメンデルランダム化概算

メンデルランダム化アプローチを用いて、遺伝的にプロキシ化されたFHRタンパク質レベルがAMDのリスクと関連するかどうかを試験した。

【0595】

曝露と関連する独立(LD、 $R^2 < 0.001$)遺伝子変異体を、対照のみにおいて、ゲノムワイドの有意性レベルでの操作変数(instrumental variables)(一度に1つのタンパク質)として選択した。単一操作が利用可能である場合、ワルド法としても知られる係数比(ratio of coefficients)法を用い、疾患リスクに対する遺伝的にプロキシ化されたタンパク質レベルの影響を概算した。操作変数としての単一遺伝子変異体に関するワルド比を、曝露(すなわちタンパク質レベル)との遺伝的関連に対する、アウトカム(すなわちAMDのリスク)との遺伝的関連として定義する。1サンプルアプローチを用いて、遺伝的関連を、ケンブリッジ対照のみ($n = 252$)に対して行われたFHRタンパク質レベルに関する線形回帰モデルに基づき、GWA Sからの曝露とともに得た。アウトカムとの遺伝的関連を、ケンブリッジサンプル(252の対照および353の症例)に対して行われたアウトカムとして、AMD状態を伴うロジスティック回帰モデルに基づくGWA Sから得た。タンパク質に関して多数操作が利用可能である場合、固定効果モデル下で、逆分散加重(IVW)法を用いた。遺伝子変異体(単数または複数)によって説明されるタンパク質の分散の比率として、 R^2 を用いて操作強度(instrumental strength)を評価した。Mendelian Randomization(バージョン0.4.2)およびTwo Sample MR(バージョン0.5.5)Rパッケージを用いて、メンデルランダム化分析を行った。

【0596】

図11は、ロジスティック回帰モデルおよびORから得られる、AMDとのレベルの関連の伝統的な疫学的概算とともに、(1サンプル)ワルド比(単一操作が利用可能である場合; FHR1、FHR2、FHR4、FHR5)またはIVW法(多数操作が利用可能である場合; FHR3)を用いて得られた、FHRタンパク質レベルのメンデルランダム化概算を示す(表9)。

【0597】

対応する遺伝的操作(単数または複数)によって説明されるFHRタンパク質レベルの分散は、FHR5に関する15%からFHR3に関する73%まで多様であった。メンデルランダム化概算は統計的に有意であり、そしてFHR-1、FHR-2、FHR-4およびFHR-5に関する観察OR概算と一致した方向であり、因果効果を支持する証拠を提供した(図11)。FHR3に関しては、メンデルランダム化概算は、疾患とタンパク質レベルの関連を支持しなかった(0.98 、95%CI $0.87 \sim 1.10$)。FHL-1レベルのGWA Sは、メンデルランダム化分析における遺伝的操作として使用するのためのいかなるゲノムワイドの有意シグナルも示さなかった。CFH遺伝子座での最強のFHL-1 GWA Sシグナルが $rs61820755$ (P 値= 5.3×10^{-6} 、 $\beta = 0.22$)で観察され、そしてこの変異体はケンブリッジサンプルにおいて、AMDとの関連を示さなかった(P 値= 0.32 ; $\beta = 0.22$)ことは注目に値する。

【0598】

こうしたものとして、これらのデータは、FHR-1、FHR-2、FHR4およびFHR-5増加の因果的役割を強く支持するが、AMDの個体におけるFHL-1およびFHR-3循環レベルの観察される増加の結果は、より明らかでないままである。

結論

252の非AMD対照を用いて、本研究で測定された循環タンパク質レベルの遺伝的決定要因に関する洞察を得ると、CFH遺伝子座での変異体が、5つのFHRタンパク質レベルすべてを制御することが発見された(AMD関連CFH領域と重複するFHRタンパ

ク質レベルの本発明者らの分析におけるゲノムワイドの有意関連を伴う)。特に、非コード変異体 1. 1、Y 4 0 2 H のプロキシ、1. 2、および 1. 6 での AMD リスクとの確立された遺伝的関連は、本発明者らの対照群における G W A S からの F H R - 1、F H R - 2、F H R - 3 および F H R - 4 とのゲノムワイドの有意レベルとの遺伝的関連に変換された。

【 0 5 9 9 】

5 つの F H R レベルに関するシスタンパク質定量的特質遺伝子座 (シス - p Q T L) としての C F H 遺伝子座の同定によって、この証拠と三角形を形成するメンデルランダム化様式で利用可能な遺伝的データの使用が促された。F H R - 1、F H R - 2、F H R - 4 および F H R - 5 に関して、AMD に対する感受性における潜在的な因果的役割に関するメンデルランダム化分析によって提供された裏付けは驚くべきことであり、メンデルランダム化概算は、観察される O R 概算によって示される予備的証拠を補強した (表 9 を参照されたい)。

10

【 0 6 0 0 】

これは、AMD の疫学、および染色体 1 q 3 1. 3 上の非コードリスク変異体の役割の我々の理解を再構成し、F H R タンパク質の突出した役割を立証する。これはまた、全身療法戦略を含む、AMD の実行可能な療法的手段として、循環中の F H R タンパク質のターゲティング (および低下) があることも立証する。

【 0 6 0 1 】

AMD に関するリスク要因を持つ患者の同定によって、特に、療法的介入が最も大きな利益を生じうる、視覚喪失前の疾患の初期段階では、患者が外科的処置を回避することが可能になるであろう。AMD 患者の一部のみが F H R 仲介性疾患を患う可能性があるため、患者階層化が重要であろう。しかし、上に示すように、患者の遺伝的リスクプロファイルは、その循環 F H R タンパク質レベルの測定と組み合わせて、こうした治療から利益を受ける可能性が最も高い患者を同定し、そして階層化し、そして F H R 低下剤に対するその反応を監視することが可能である。

20

【 0 6 0 2 】

表 1 0. 2 5 2 人の対照における F H、F H L - 1、F H R - 1 ~ F H R - 5 レベルと、I A M D G C 研究由来の C F H 遺伝子座での 8 つの AMD 独立関連変異体に関する、単一変異体関連分析。

30

【 0 6 0 3 】

40

50

【表 1 1】

ケンブリッジ対照におけるレベルとの関連 ^a									
			FH	FHL-1	FHR-1	FHR-2	FHR-3	FHR-4	FHR-5
IAMDGC 関連シグナル 番号 (方向)	dbSNP ID (染色体・位) メジャー/マイナー アレル (インビデューション R ²) ^d	IAMDGC OR (対照における MAF)	MAF ケンブリッジ 対照	ベータ (SE) P	ベータ (SE) P	ベータ (SE) P	ベータ (SE) P	ベータ (SE) P	ベータ (SE) P
1.1 (-)	rs10922109 (1:196704632) C/A (1.00)	0.38 (0.426)	0.422	-0.10 (0.02) 3.7 x 10 ⁻⁵	-10.67 (1.04) 7.8 x 10 ⁻²¹	-0.75 (0.11) 2.9 x 10 ⁻¹¹	-1.20 (0.14) 1.7 x 10 ⁻¹⁶	-1.0 (0.17) 1.5 x 10 ⁻⁹	-0.04 (0.03) 0.184
1.2 (+)	rs570618 (1:196657064) G/T (1.00)	2.38 (0.364)	0.357	0.05 (0.03) 0.046	8.19 (1.17) 2.0 x 10 ⁻¹¹	0.85 (0.11) 1.8 x 10 ⁻¹²	0.16 (0.16) 0.304	0.62 (0.18) 6.8 x 10 ⁻⁴	0.10 (0.03) 7.8 x 10 ⁻⁴
1.3 (+)	rs121913059 (1:196716375) C/T (Genotyped)	20.28 (0.00014)	0	対照キャリアは観察されない; 分析されない					
1.4 (-)	rs14855336 (1:196613173) T/C (Genotyped)	0.29 (0.009)	0.017	-0.09 (0.10) 0.353	0.06 (5.00) 0.990	-1.99 (0.48) 4.6 x 10 ⁻⁵	0.33 (0.62) 0.603	0.74 (0.72) 0.302	-0.55 (0.11) 6.3 x 10 ⁻⁷
1.5 (+)	rs187328863 (1:196380158) C/T (0.83)	2.27 (0.028)	0.013	0.06 (0.13) 0.660	0.75 (6.52) 0.908	1.13 (0.64) 0.080	-0.51 (0.81) 0.536	0.61 (0.94) 0.515	0.01 (0.15) 0.956
1.6 (-)	rs61818925 (1:196815450) G/T (0.87)	0.60 (0.385)	0.405	0.001 (0.03) 0.962	0.99 (1.33) 0.459	-0.93 (0.12) 1.3 x 10 ⁻¹³	0.85 (0.16) 1.7 x 10 ⁻⁷	-1.12 (0.18) 1.5 x 10 ⁻⁹	-0.07 (0.03) 0.014
1.7 (+)	rs35292876 (1:196706642) C/T (Genotyped)	2.42 (0.009)	0.004	MAF <= 1%; 分析されない					
1.8 (+)	rs191281603 (1:196958651) C/G (0.42)	1.07 (0.006)	0.008	MAF <= 1%; 分析されない					

10

20

30

40

【0604】

実施例 4: H 因子ファミリータンパク質をコードする遺伝子の発現の siRNA ノック
ダウン

H 因子ファミリータンパク質をコードする遺伝子の異なる領域をターゲティングする siRNA 分子を設計し、そしてヒト肝臓細胞における関連ターゲットタンパク質の発現に対するその影響に関して評価する。

【0605】

siRNA によってターゲティングされる H 因子ファミリータンパク質の mRNA 配列を、配列番号 158 ~ 177 に示す。配列番号 158 ~ 177 をターゲティングする si

50

RNAのアンチセンス核酸（すなわちガイド鎖）のヌクレオチド配列を、配列番号178～197に示す。それぞれのアンチセンス配列の対照スクランブル化配列を配列番号198～217に示す。

【0606】

表11は、配列番号158～177およびFHファミリータンパク質の間の同一性パーセントを示し、配列番号158～177および178～197を含むsiRNAは、各々、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、および／またはFHの1つまたはそれより多くをターゲティングする。

【0607】

ヒト肝臓癌腫細胞株由来のHuH細胞は、5%CO₂インキュベーター中、37℃で、10%ウシ胎児血清（FBS、Sigma、カタログ番号F9665）および1%ペニシリン・ストレプトマイシン（Pen/Strep、Sigma P0781）を補充した、低グルコースを含むダルベッコの修飾イーグル培地（DMEM、Sigma、カタログ番号D6046）中で培養される。

【0608】

ヒト肝臓癌腫細胞を24ウェルプレート（50,000細胞／ウェル）に植え付け、そして培養する。24時間後、1μlのLipofectamine RNAimax（Invitrogen、カタログ番号13778-075）を用いて、（i）10nMの配列番号178～197記載のsiRNA、または（ii）その対応するスクランブル化siRNA対照のいずれかで細胞を24時間トランスフェクションする。すべての反応を3つ組で行う。

【0609】

トランスフェクションの24時間後、Isolate RNAミニキット（BioLine、カタログ番号BIO-52072）を用いてRNAを抽出し、そして高容量cDNA逆転写キット（Applied Biosystems、カタログ番号4368814）を用いてcDNAを合成する。

【0610】

製造者の指示にしたがって、あらかじめ設計されたFAM標識TaqManプローブ（Integrated DNA Technologies）を用いて、定量的PCR反応を行う。簡潔には、100ngのcDNAを、関連遺伝子（単数または複数）（すなわちCFHR1、CFHR2、CFHR3、CFHR4、CFHR5またはCFH）のTaqManプローブ、またはGAPDH TaqManプローブ（Hs02758991_g1）のいずれか0.5μl、10μlの2x反応マスターミックス（Applied Biosystems™、ThermoFischer Scientific、カタログ番号4440040）を20μlの最終反応体積中に含む反応混合物中、96ウェルプレートにおいて再懸濁する。以下の熱サイクリング条件：42℃5分間、95℃10秒間、ならびに95℃5秒間および60℃34秒間の40サイクルを用いて、ABI Step Oneサーモサイクラー（Applied Biosystems）を用いて、試料を3つ組で処理する。CFHR4遺伝子発現をGAPDH発現に対して正規化し、そして相対発現をΔΔCt法によって決定する。

【0611】

予期される結果：

siRNAターゲティングターゲット1は、CFHR1およびCFHR2の発現を有意に減少させることが見出される。siRNAターゲティングターゲット2は、CFHR1の発現を有意に減少させることが見出される。siRNAターゲティングターゲット3は、CFHR1の発現を有意に減少させることが見出される。siRNAターゲティングターゲット4は、CFHR3の発現を有意に減少させることが見出される。siRNAターゲティングターゲット5は、CFHR3およびCFHR4の発現を有意に減少させることが見出される。siRNAターゲティングターゲット6は、CFHR3の発現を有意に減少させることが見出される。siRNAターゲティングターゲット7は、CFHR4の発

10

20

30

40

50

現を有意に減少させることが見出される。s i R N A ターゲティングターゲット 8 は、C F H R 4 の発現を有意に減少させることが見出される。s i R N A ターゲティングターゲット 9 は、C F H R 3 および C F H R 4 の発現を有意に減少させることが見出される。s i R N A ターゲティングターゲット 10 は、C F H R 5 の発現を有意に減少させることが見出される。s i R N A ターゲティングターゲット 11 は、C F H R 5 の発現を有意に減少させることが見出される。s i R N A ターゲティングターゲット 10 は、C F H R 5 の発現を有意に減少させることが見出される。s i R N A ターゲティングターゲット 12 は、C F H、C F H R 1 および C F H R 2 の発現を有意に減少させることが見出される。s i R N A ターゲティングターゲット 13 は、C F H および C F H R 1 の発現を有意に減少させることが見出される。s i R N A ターゲティングターゲット 14 は、C F H および C F H R 1 の発現を有意に減少させることが見出される。s i R N A ターゲティングターゲット 15 は、C F H および C F H R 2 の発現を有意に減少させることが見出される。s i R N A ターゲティングターゲット 16 は、C F H R 2 の発現を有意に減少させることが見出される。s i R N A ターゲティングターゲット 17 は、C F H R 3 の発現を有意に減少させることが見出される。s i R N A ターゲティングターゲット 18 は、C F H R 3 の発現を有意に減少させることが見出される。s i R N A ターゲティングターゲット 19 は、C F H R 3 の発現を有意に減少させることが見出される。s i R N A ターゲティングターゲット 20 は、C F H R 4 の発現を有意に減少させることが見出される。

10

【 0 6 1 2 】

スクランブル化 s i R N A は、C F H R 1、C F H R 2、C F H R 3、C F H R 4、C F H R 5 および C F H の発現に対していかなる効果も持たないことが見出される。

20

結果：

以下の表 1 2 は、s i R N A 配列および予期されるターゲット遺伝子を提供する。

【 0 6 1 3 】

30

40

50

【表 1 2】

CFHR siRNA #	列 A siRNA ターゲット配列	列 B siRNA アンチセンス 配列	ターゲティングされると予期 される遺伝子（単数または複 数）
1	配列番号 158	配列番号 178	CFHR1 および CFHR2
2	配列番号 159	配列番号 179	CFHR1
3	配列番号 160	配列番号 180	CFHR1
4	配列番号 161	配列番号 181	CFHR3
5	配列番号 162	配列番号 182	CFHR3 および CFHR4
6	配列番号 163	配列番号 183	CFHR3
7	配列番号 164	配列番号 184	CFHR4
8	配列番号 165	配列番号 185	CFHR4
9	配列番号 166	配列番号 186	CFHR3 および CFHR4
10	配列番号 167	配列番号 187	CFHR5
11	配列番号 168	配列番号 188	CFHR5
12	配列番号 169	配列番号 189	CFHR1, CFHR2, CFH
13	配列番号 170	配列番号 190	CFHR1, CFH
14	配列番号 171	配列番号 191	CFHR1, CFH
15	配列番号 172	配列番号 192	CFHR2
16	配列番号 173	配列番号 193	CFHR2
17	配列番号 174	配列番号 194	CFHR3
18	配列番号 175	配列番号 195	CFHR3
19	配列番号 176	配列番号 196	CFHR3
20	配列番号 177	配列番号 197	CFHR4

【0 6 1 4】

上述のように実験を行った。s i R N A トランスフェクション細胞および対照（スクランブル化）トランスフェクション細胞の間の C F H R 1、C F H R 2、C F H R 3、C F H R 4、C F H R 5 および C F H 発現の比較を、対応のないスチューデントの t 検定を用いて計算した。p 値 < 0 . 0 5 を統計的に有意と見なした。

【0 6 1 5】

驚くべきことに、結果は、C F H R s i R N A 1 ~ 3 が、予期されるよりも多くの C F H R 遺伝子の発現を抑制可能であることを示した。s i R N A 1 は、C F H R 1 および C F H R 2 発現をノックダウンするように設計された一方、s i R N A 2 および s i R N A 3 は、C F H R 1 発現のみをノックダウンするように設計された。

【0 6 1 6】

図 1 2 A ~ 1 2 C は、3 つの s i R N A すべてが、C F H R 1 の発現に対して有意なノックダウン効果を有したことを示す。C F H R s i R N A 1 はまた、C F H R 2 の発現も減少させた。興味深いことに、3 つの s i R N A はすべて、C F H R 3、C F H R 4 および C F H R 5 の遺伝子発現も減少させることが見出された。この効果は、これらの s i R N A と前記ターゲットの配列相補性の度合いからは予期されなかった。

【0617】

図12Dは、CFHファミリー遺伝子の発現に対するCFHR siRNA 1の3回の別個のトランスフェクションからの組み合わせた結果を示す。CFHR1～CFHR5の各々の発現をノックアウト可能である一方、siRNA 1は、CFHの発現を減少させないことが見出され、これは補体関連障害の治療には好適であり、そしてこのsiRNAを療法使用のための理想的な候補とする。

【0618】

図13は、CFHファミリー遺伝子の発現に対するCFHR siRNA 4、siRNA 5およびsiRNA 6の影響を示す。siRNA 4およびsiRNA 6は、CFHR3およびCFHR4の発現を有意に減少させることが見出された。これは、siRNA 5のみが両方の遺伝子をターゲティングするよう設計されたため、予期されないことであった。それどころか、siRNA 5は、CFHR3およびCFHR4の発現を増加させることが見出された。これらのsiRNAのいずれも、CFHR1またはCFHR2の発現を減少させなかった。

10

【0619】

図14は、CFHファミリー遺伝子の発現に対するCFHR siRNA 7、siRNA 8およびsiRNA 9の影響を示す。CFHR siRNA 7のみが、CFHR3およびCFHR4遺伝子の発現を有意に減少させることが見出された。これらのsiRNAのいずれも、CFHR1またはCFHの発現にいかなる影響も持たなかったが、siRNA 8はCFHR2の発現を有意に減少させることが可能であった。

20

【0620】

実施例5：FHRタンパク質に対するsiRNAノックダウンの影響

実施例4におけるsiRNA 1～20を、FHファミリータンパク質の発現に対するその影響に関して試験する。

【0621】

CFHファミリー遺伝子の遺伝子発現を減少させるsiRNAは、対応するコードされるFHファミリータンパク質の発現を減少させることが見出される。

実施例6：FHファミリー遺伝子のCRISPR/Casノックダウン

配列番号224～227記載のガイドRNA配列を、例えばCRISPR/Cas系を用いて、FHファミリー遺伝子および／またはタンパク質の発現に対するその影響に関して試験する。

30

【0622】

配列番号224記載のgRNAを含むCRISPR/Cas系は、CFHR1、CFHR2、CFHR3、CFHR4およびCFHR5の発現を減少させることが見出される。

配列番号225、226または227記載のgRNAを含むCRISPR/Cas系は、CFHR1、CFHR2、およびCFHR5の発現を減少させることが見出される。

【0623】

実施例7：FHファミリー遺伝子のin vivoノックダウン

ヒトFHファミリー遺伝子、例えばCFHR1、CFHR2、CFHR3、CFHR4、CFHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多くを発現するトランスジェニック齧歯類を生成する。該齧歯類はヒト化肝臓を含んでもよく、この齧歯類では、天然肝臓が切除され、そして次いでヒト肝細胞が移植され、これが増殖して機能する肝臓を回復している。

40

【0624】

実施例4に記載されるようなsiRNA、および実施例6におけるようなgRNAを含むCRISPR/Cas系を齧歯類に投与し、そしてこれらが、CFHR1、CFHR2、CFHR3、CFHR4、CFHR5、FHおよび／またはFHL-1の1つまたはそれより多くの遺伝子および／またはタンパク質発現をin vivoで減少させる能力に関して試験する。

【0625】

50

表 1 1 . s i R N A ターゲット配列、配列番号 1 5 8 ～ 1 7 7 および F H ファミリータンパク質の間の同一性パーセントの N C B I B L A S T 分析
【 0 6 2 6 】
【表 1 3 - 1】

sRNA ターゲ ット (配列番号)	ターゲット説明	同一性 パーセント	E 値	寄託
158	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 6, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379310.1
158	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379306.1
158	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 7, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379311.1
158	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_002113.3
158	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 8, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379312.1
158	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 3, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379307.1
158	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 5, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379309.1
158	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 4, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379308.1
158	ホモ・サビエンス補体H因子関連 2 (CFHR2), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_005666.4
158	ホモ・サビエンス補体H因子関連 2 (CFHR2), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001312672.1
159	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 6, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379310.1
159	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379306.1
159	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 7, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379311.1
159	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_002113.3
159	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 8, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379312.1
159	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 3, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379307.1
159	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 5, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379309.1
159	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 4, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379308.1
160	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 6, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379310.1
160	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379306.1

10

20

30

40

【 0 6 2 7 】

50

【表 1 3 - 2】

160	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 7, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379311.1
160	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_002113.3
160	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 8, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379312.1
160	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 3, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379307.1
160	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 5, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379309.1
160	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 4, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379308.1
161	ホモ・サピエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_021023.6
161	ホモ・サピエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001166624.2
162	ホモ・サピエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_021023.6
162	ホモ・サピエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 3, mRNA	100	6.00E-04	NM_006684.5
162	ホモ・サピエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001201551.2
162	ホモ・サピエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_001201550.3
162	ホモ・サピエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001166624.2
163	ホモ・サピエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_021023.6
163	ホモ・サピエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001166624.2
164	ホモ・サピエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 3, mRNA	100	6.00E-04	NM_006684.5
164	ホモ・サピエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001201551.2
164	ホモ・サピエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_001201550.3
165	ホモ・サピエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001201551.2
165	ホモ・サピエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_001201550.3
166	ホモ・サピエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 3, mRNA	100	6.00E-04	NM_006684.5
166	ホモ・サピエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001201551.2
166	ホモ・サピエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_001201550.3

【 0 6 2 8 】

【表 1 3 - 3】

166	ホモ・サピエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 X3, RNA	100	6.00E-04	XR_002958987.1
166	ホモ・サピエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 X2, RNA	100	6.00E-04	XR_001736938.1
166	ホモ・サピエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 X1, RNA	100	6.00E-04	XR_001736937.1
166	ホモ・サピエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 X4, RNA	100	6.00E-04	XR_426757.2
167	ホモ・サピエンス補体H因子関連 5 (CFHR5), mRNA	100	6.00E-04	NM_030787.4
168	ホモ・サピエンス補体H因子関連 5 (CFHR5), mRNA	100	6.00E-04	NM_030787.4
169	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 6, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379310.1
169	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379306.1
169	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 7, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379311.1
169	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_002113.3
169	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 8, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379312.1
169	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 3, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379307.1
169	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 5, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379309.1
169	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 4, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379308.1
169	ホモ・サピエンス補体H因子 (CFH), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_000186.4
170	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 6, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379310.1
170	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379306.1
170	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 7, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379311.1
170	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_002113.3
170	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 8, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379312.1
170	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 3, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379307.1
170	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 5, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379309.1
170	ホモ・サピエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 4, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379308.1

【 0 6 2 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 4】

170	ホモ・サビエンス補体H因子 (CFH), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_000186.4
171	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 6, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379310.1
171	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379306.1
171	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 7, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379311.1
171	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_002113.3
171	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 8, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379312.1
171	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 3, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379307.1
171	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 5, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379309.1
171	ホモ・サビエンス補体H因子関連 1 (CFHR1), 転写物変異体 4, mRNA	100	6.00E-04	NM_001379308.1
171	ホモ・サビエンス補体H因子 (CFH), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_000186.4
172	ホモ・サビエンス補体H因子関連 2 (CFHR2), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_001312672.1
172	ホモ・サビエンス補体H因子関連 2 (CFHR2), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001312672.1
173	ホモ・サビエンス補体H因子関連 2 (CFHR2), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_005666.4
174	ホモ・サビエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_021023.6
174	ホモ・サビエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001166624.2
175	ホモ・サビエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_021023.6
175	ホモ・サビエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001166624.2
176	ホモ・サビエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_021023.6
176	ホモ・サビエンス補体H因子関連 3 (CFHR3), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001166624.2
177	ホモ・サビエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 3, mRNA	100	6.00E-04	NM_006684.5
177	ホモ・サビエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 2, mRNA	100	6.00E-04	NM_001201551.2
177	ホモ・サビエンス補体H因子関連 4 (CFHR4), 転写物変異体 1, mRNA	100	6.00E-04	NM_001201550.3

10

20

30

40

50

【図面】

【図 1】

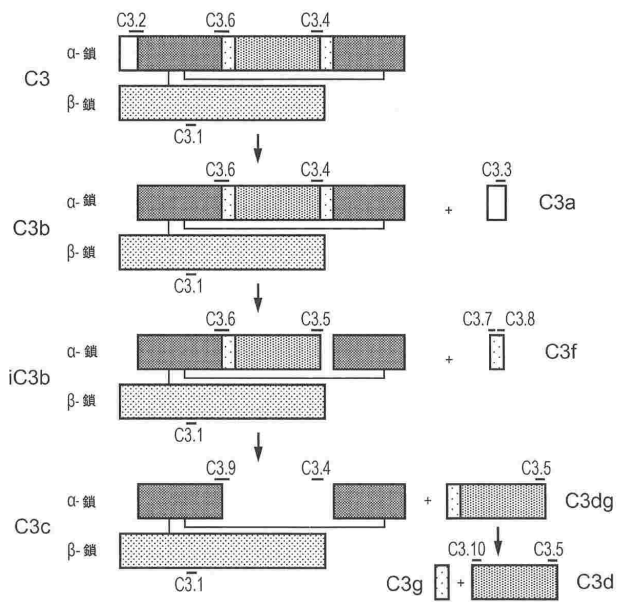


図 1

【図 2】

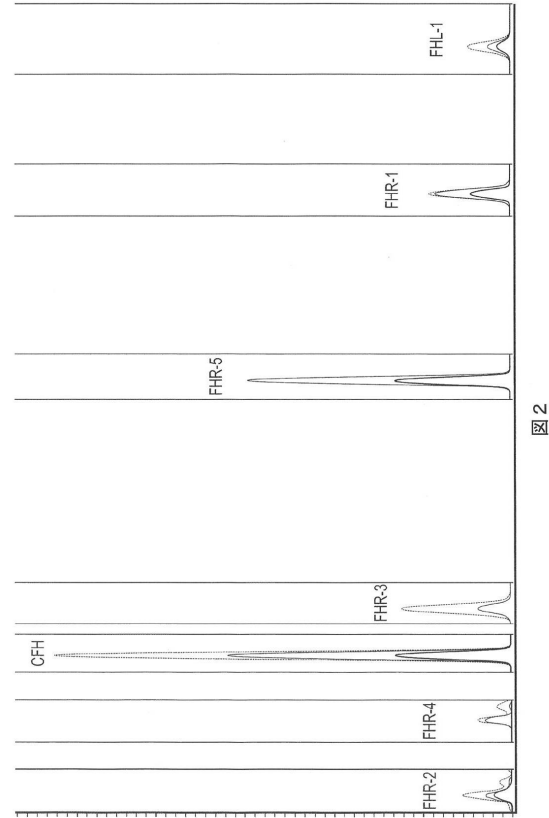


図 2

10

20

30

40

50

【図 3 - 1】

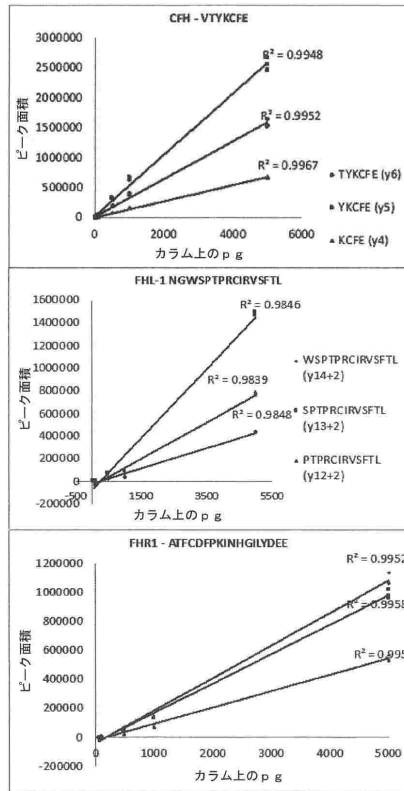


図 3

【図 3 - 2】

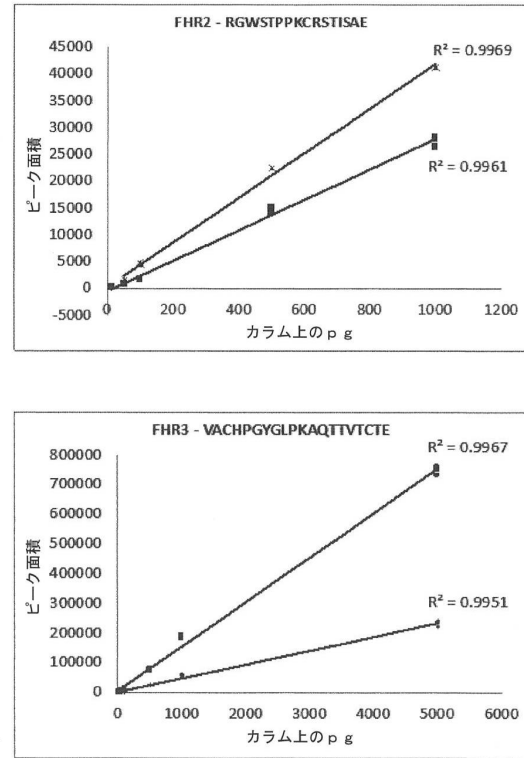


図 3 (続き)

【図 3 - 3】

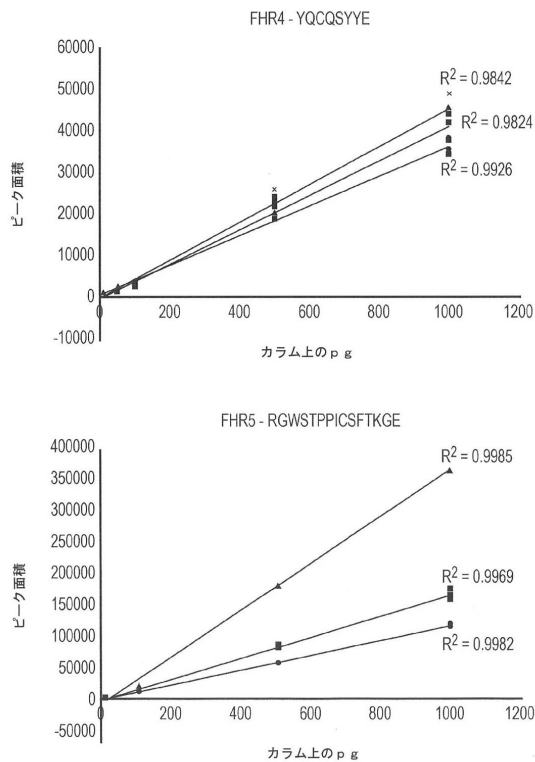


図 3 (続き)

【図 4 - 1】

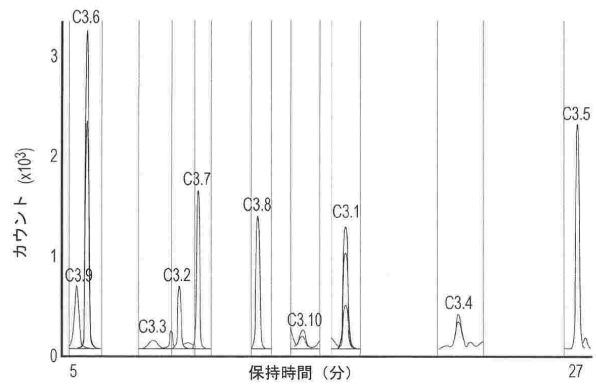


図 4 A

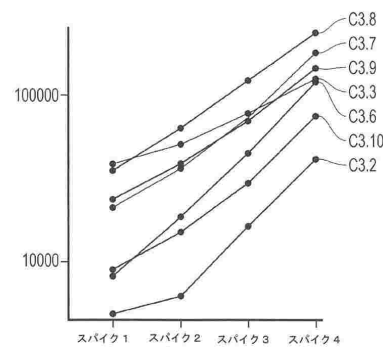


図 4 B

10

20

30

40

50

【図 4 - 2】

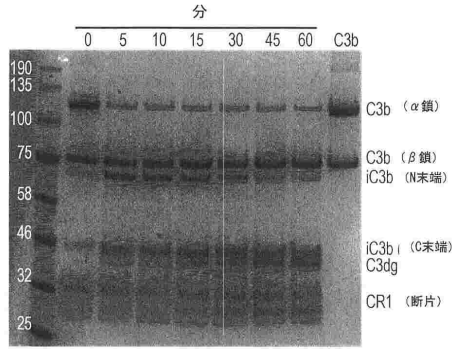


図 4 C

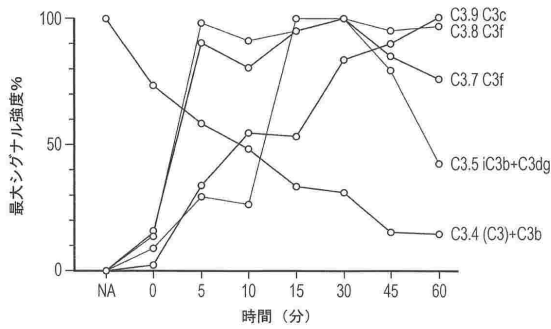


図 4 D

【図 5】

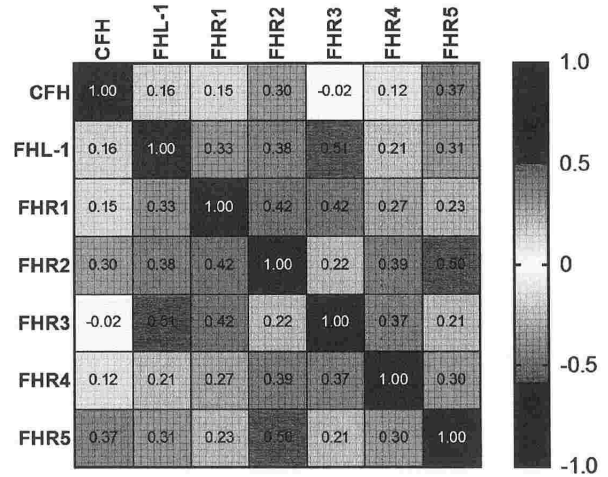


図 5

【図 6 - 1】

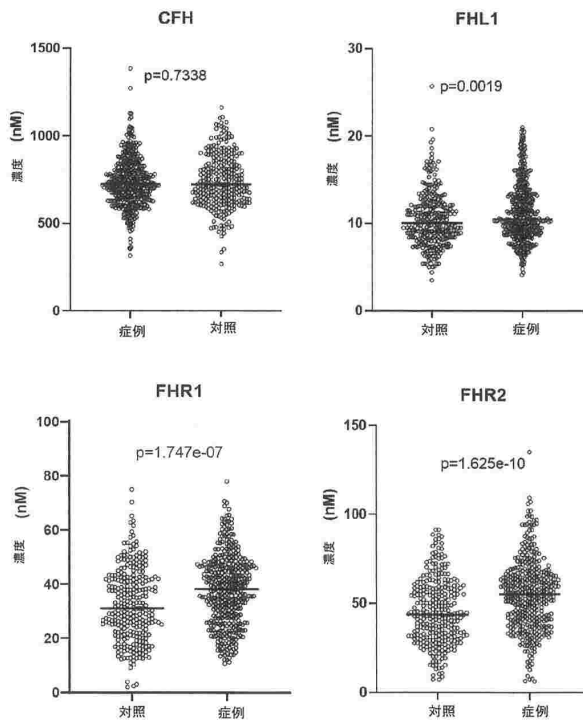


図 6

【図 6 - 2】

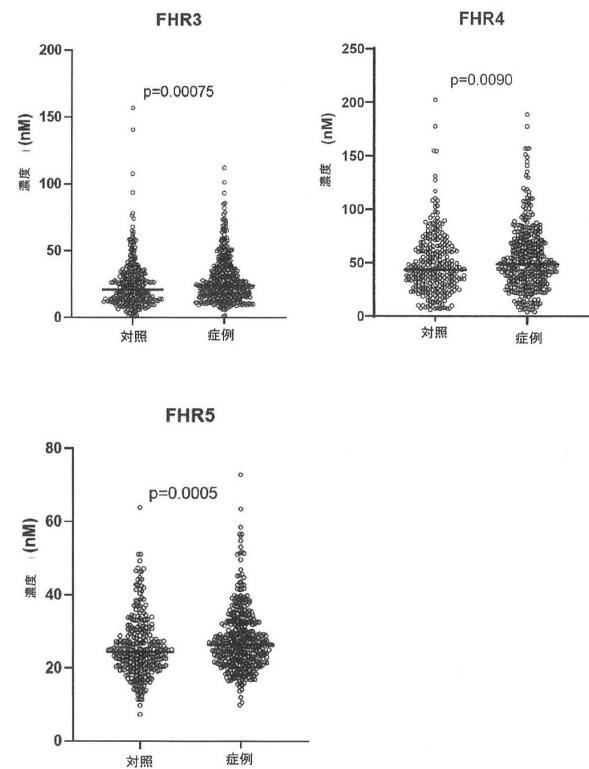


図 6 (続き)

【図 7】

以下を含むモデル	ROC 曲線下 面積
FHR1 レベルのみ	0.6371
FHR2 レベルのみ	0.6135
FHR1 & FHR2 レベル (2 方向相互作用)	0.6509
FHR2 & FHR3 レベル (2 方向相互作用)	0.6290
FHR1, FHR2 & FHR3 レベル (2 方向および 3 方向相互作用)	0.6629
FHR1, FHR2, FHR3 & FHR4 レベル (2 方向および 3 方向相互作用)	0.6702
FHR1, FHR2, FHR3, FHR4 & FHR5 レベル (2 方向および 3 方向相互作用)	0.6880
FHR1, FHR2, FHR3, FHR4, FHR5 & FHL-1 レベル (2 方向および 3 方向相互作用)	0.7190
FHR1, FHR2, FHR3, FHR4, FHR5 & CFH レベル (2 方向および 3 方向相互作用)	0.7196
FHR1, FHR2, FHR3, FHR4, FHR5, FHL-1 & CFH レベル (2 方向および 3 方向相互作用)	0.7498

図 7

【図 8】

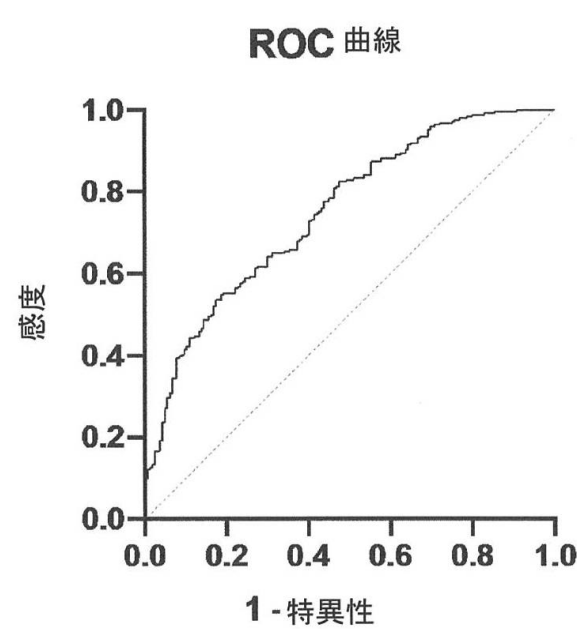


図 8

【図 9 - 1】

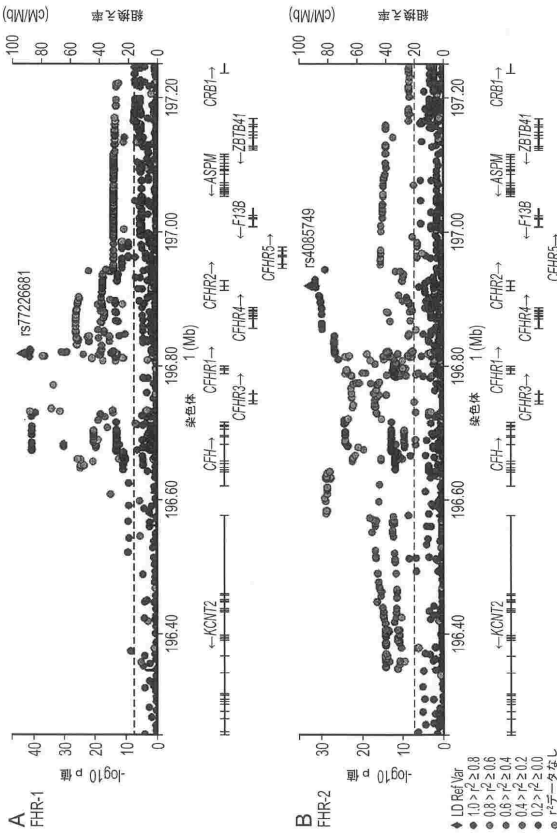


図 9

【図 9 - 2】

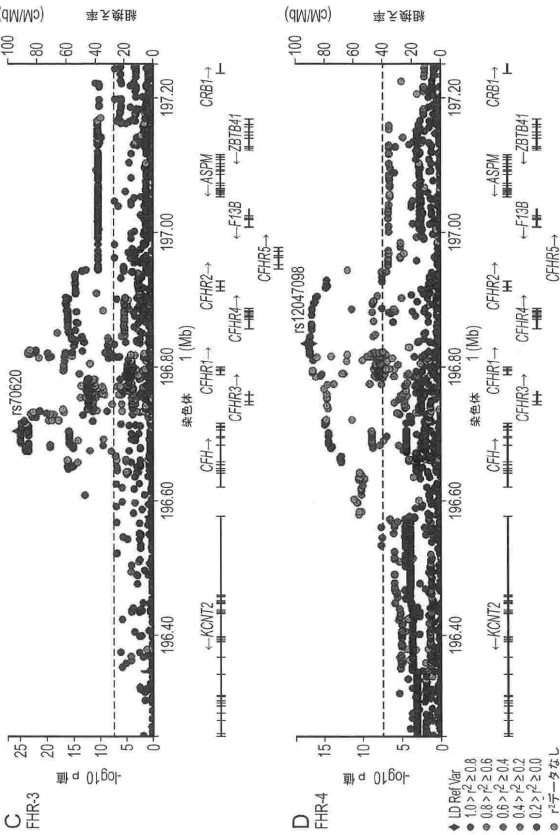


図 9 (続き)

10

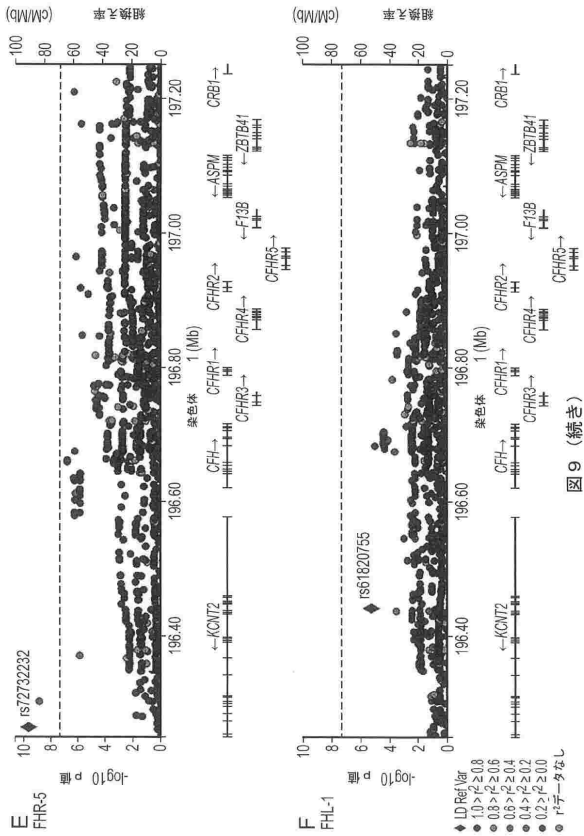
20

30

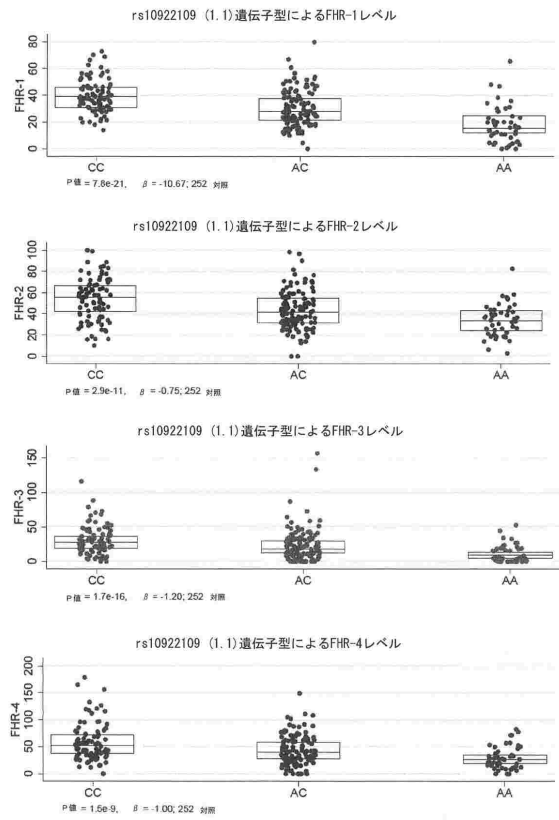
40

50

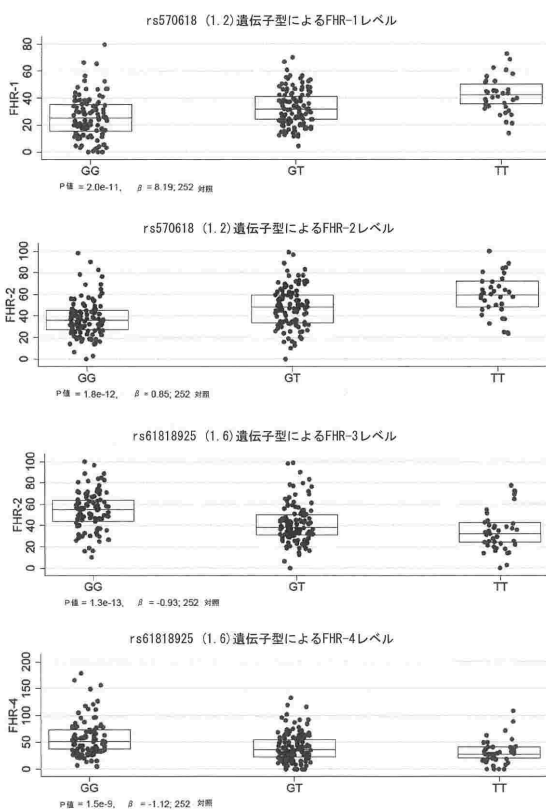
【図 9 - 3】



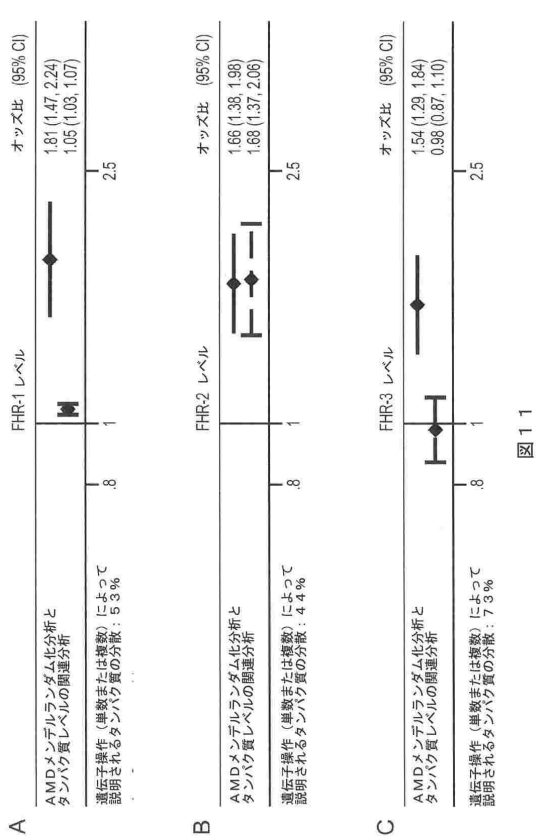
【図 10 - 1】



【図 10 - 2】



【図 11 - 1】



10

20

30

40

50

【図 1 1 - 2】

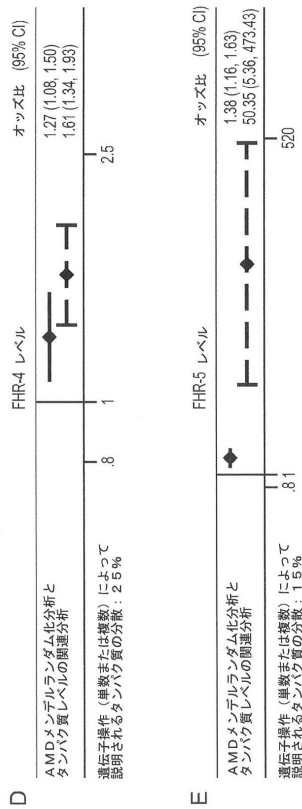


図 1 1 (続き)

【図 1 2 - 1】

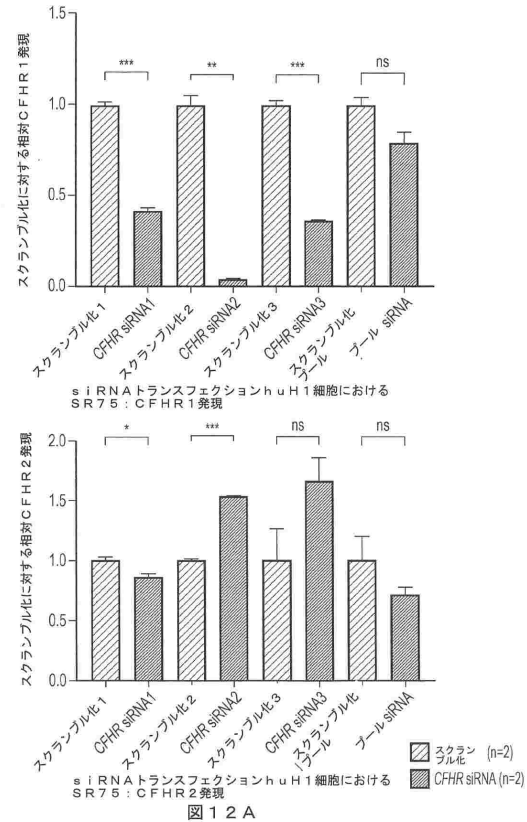


図 1 2 A

【図 1 2 - 2】

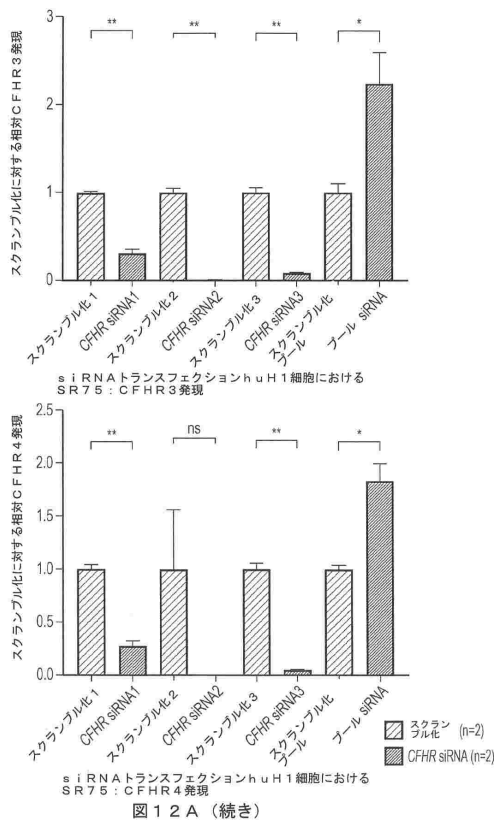


図 1 2 A (続き)

【図 1 2 - 3】

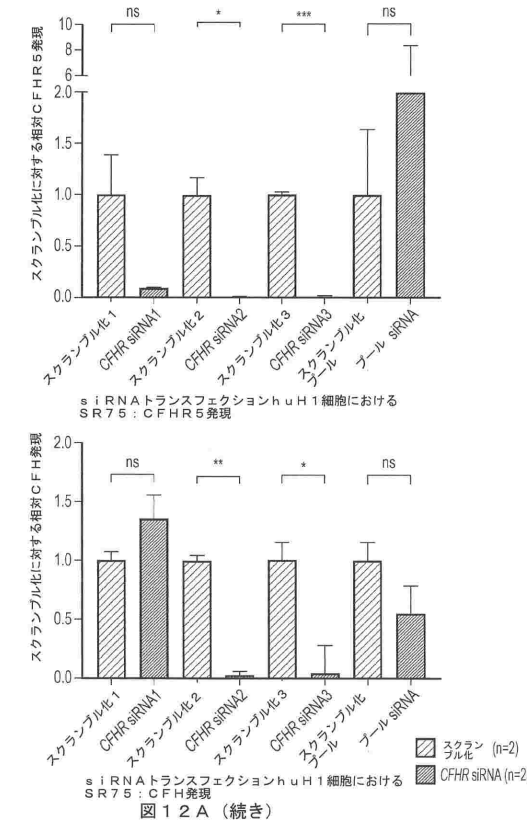


図 1 2 A (続き)

【図 1 2 - 4】

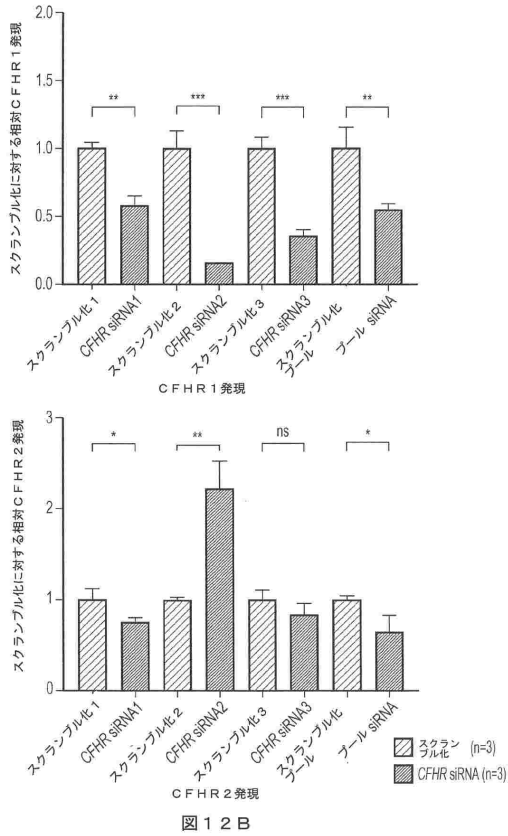


図 1 2 B

【図 1 2 - 5】

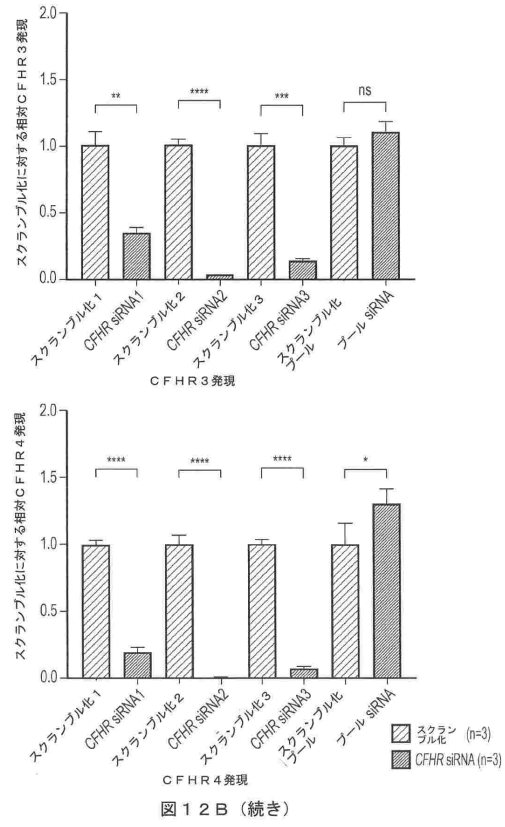


図 1 2 B (続き)

【図 1 2 - 6】

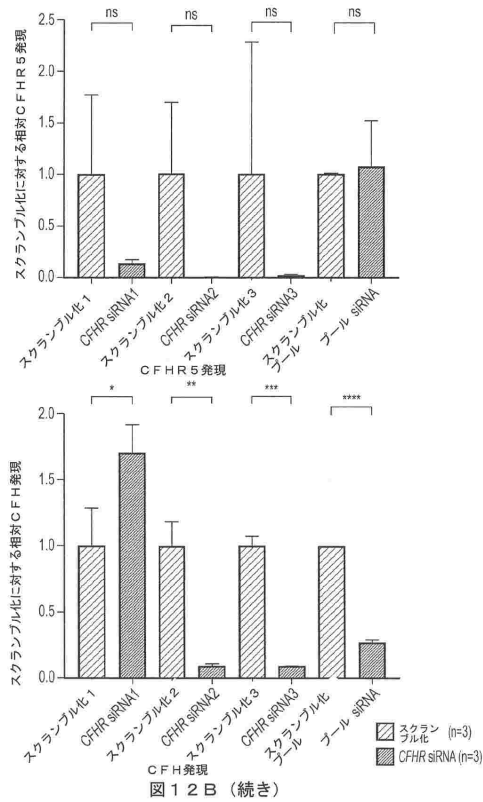


図 1 2 B (続き)

【図 1 2 - 7】

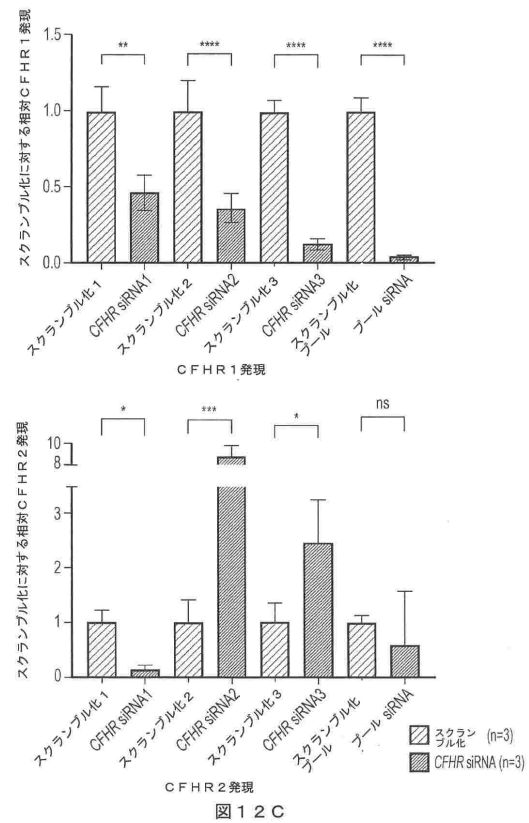


図 1 2 C

10

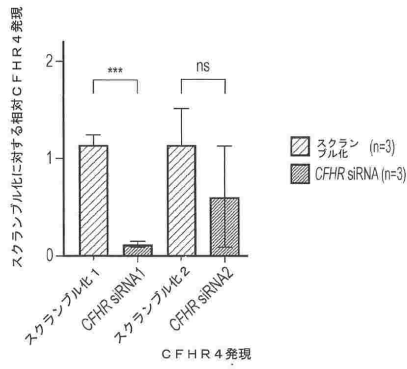
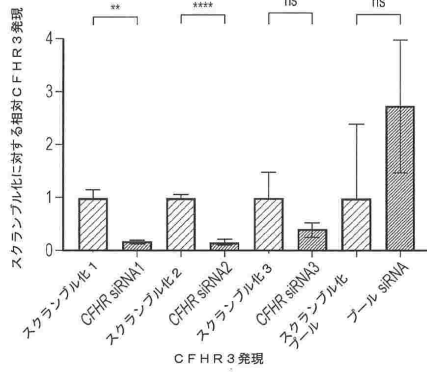
20

30

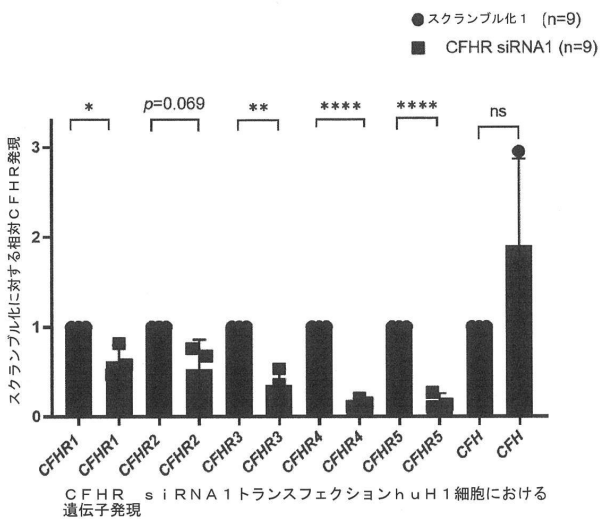
40

50

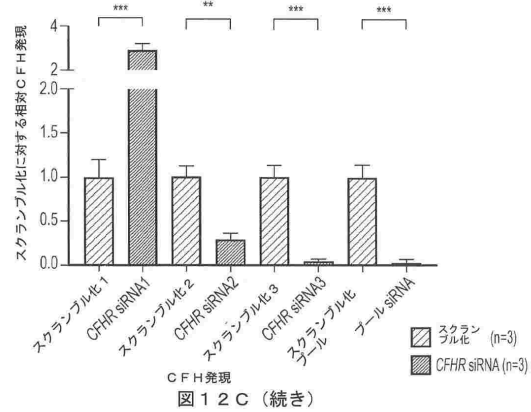
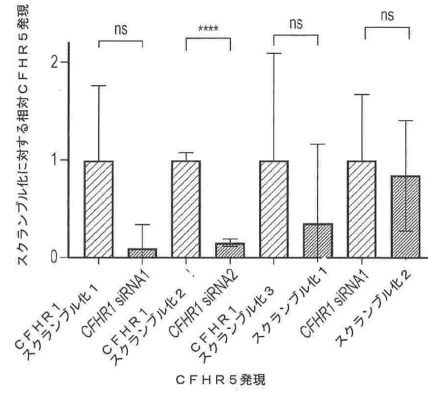
【図 12-8】



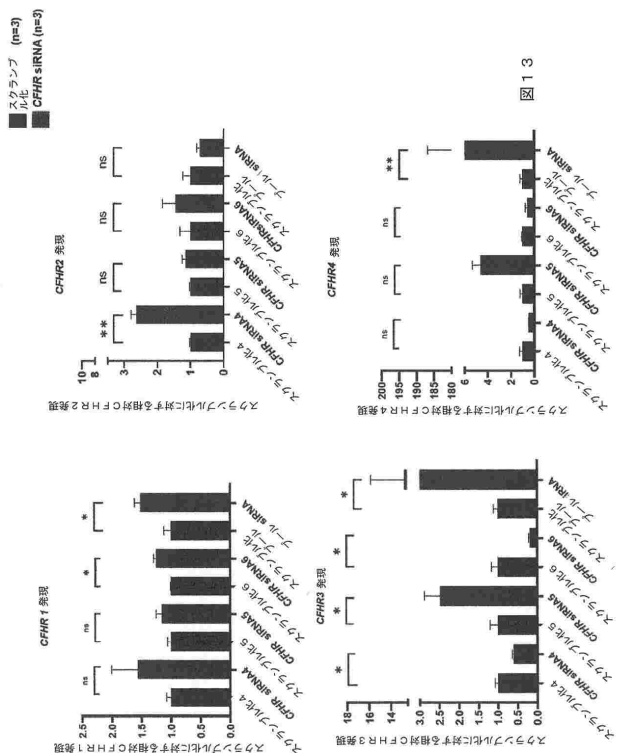
【図 12-10】



【図 12-9】



【図 13】



10

20

30

40

50

【図 14-1】

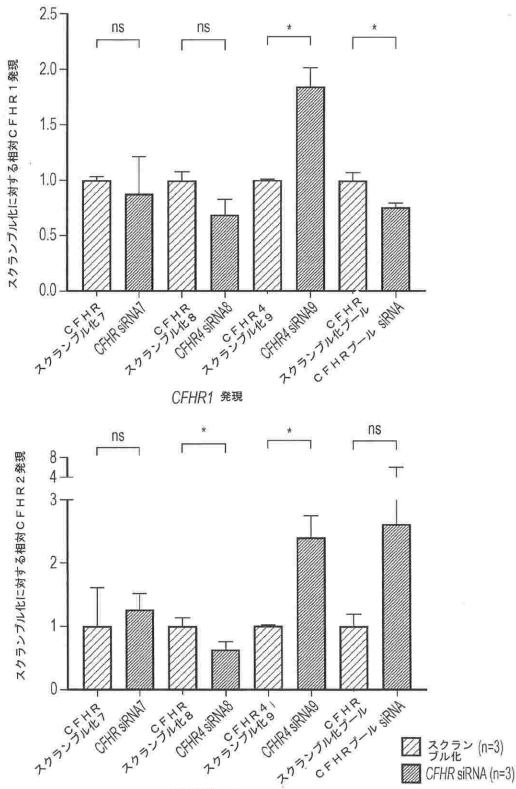


図 14

【図 14-2】

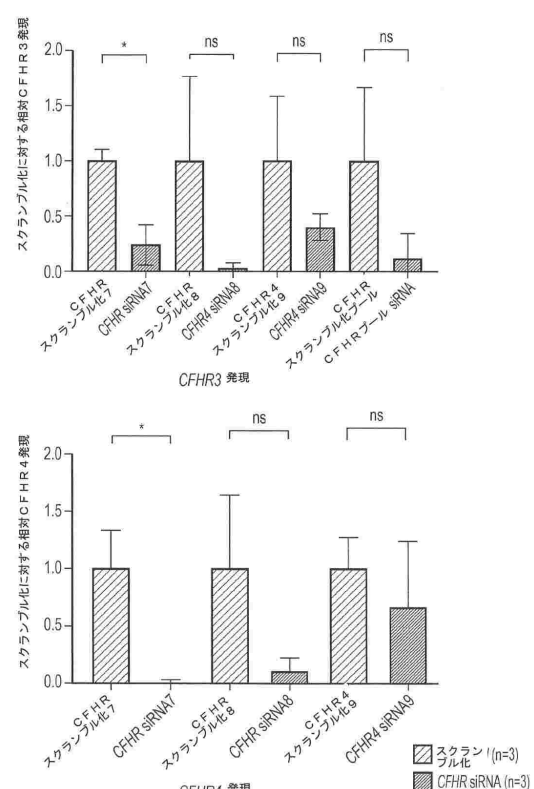


図 14 (続き)

【図 14-3】

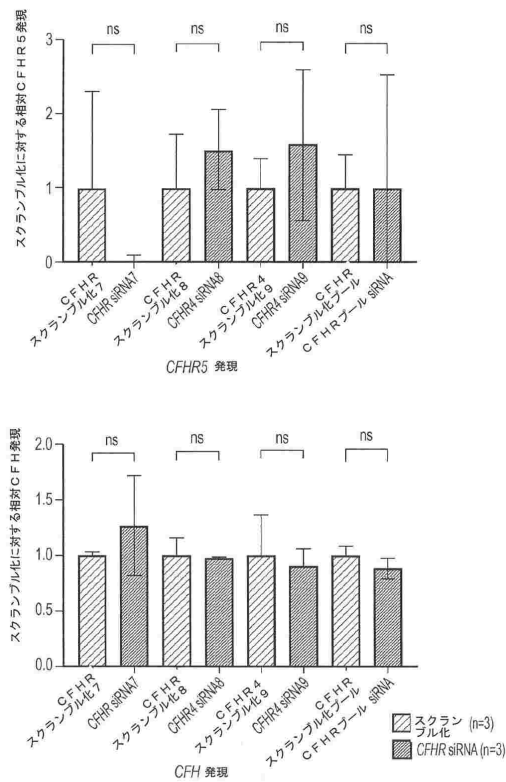


図 14 (続き)

10

20

30

40

50

【配列表】
2024521767000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	International application No. PCT/EP2022/064376
Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)	
1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing: a. ☒ forming part of the international application as filed: ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file. ☐ on paper or in the form of an image file. b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file. c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only: ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)). ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713). 2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished. 3. Additional comments:	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2022/064376**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:
4-6 (completely); 1-3, 7, 10-25 (partially)

30

40

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/064376

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61P27/02 C12N15/10 C12N15/113 C12Q1/6883 G01N33/68
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61P C40B G01N C12N C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/144621 A2 (UNIV BELFAST [GB]; HUGHES ANNE ELIZABETH [GB]) 21 December 2007 (2007-12-21) cited in the application	1-5, 7, 10-20, 25
Y	claims; examples	1-7, 10-25
X	WO 2006/088950 A2 (UNIV IOWA RES FOUND [US]; HAGEMAN GREGORY S [US]; SMITH RICHARD J [US]) 24 August 2006 (2006-08-24) cited in the application	1-4, 7, 10-20, 25
Y	paragraph [0247] - paragraph [0251]; claims; examples	1-7, 10-25
	----- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 October 2022

Date of mailing of the international search report

10/01/2023

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sommer, Birgit

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/064376

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2019/051443 A1 (INSIDEOUTBIO INC [US]) 14 March 2019 (2019-03-14) cited in the application	1-5, 7, 10-20, 25
Y	claims; examples	1-7, 10-25
X	US 2005/118625 A1 (MOUNTS WILLIAM M [US]) 2 June 2005 (2005-06-02) sequence 257855	1-7, 10, 11, 13
X	WO 2004/048511 A2 (ROSETTA GENOMICS LTD [IL]; BENTWICH ITZHAK [IL]) 10 June 2004 (2004-06-10) sequence 277604	1-7, 10, 11, 13
X	EP 1 752 536 A1 (RNAI CO LTD [JP]) 14 February 2007 (2007-02-14)	1-7, 10, 11, 13
Y	claims; examples	1-7, 10-25
X, P	WO 2022/058447 A1 (UNIV MANCHESTER [GB]) 24 March 2022 (2022-03-24) cited in the application claims; examples	1-7, 10-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2022/064376

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007144621 A2	21-12-2007	AU 2007258977 A1	21-12-2007
		CA 2655088 A1	21-12-2007
		CN 101501194 A	05-08-2009
		EP 2024498 A2	18-02-2009
		JP 2009539960 A	19-11-2009
		KR 20090029259 A	20-03-2009
		RU 2008152251 A	20-07-2010
		US 2009312394 A1	17-12-2009
		WO 2007144621 A2	21-12-2007
		ZA 200900260 B	30-12-2009
WO 2006088950 A2	24-08-2006	AT 526421 T	15-10-2011
		AU 2006214320 A1	24-08-2006
		CA 2597411 A1	24-08-2006
		CN 103920142 A	16-07-2014
		EP 1856287 A2	21-11-2007
		EP 2302076 A1	30-03-2011
		EP 2357254 A1	17-08-2011
		EP 2357257 A1	17-08-2011
		EP 2377951 A1	19-10-2011
		HK 1113176 A1	26-09-2008
		HK 1154634 A1	27-04-2012
		IL 185219 A	28-11-2013
		IL 225203 A	30-07-2015
		JP 5100901 B2	19-12-2012
		JP 2008529536 A	07-08-2008
		JP 2012139228 A	26-07-2012
		JP 2012254089 A	27-12-2012
		JP 2014204729 A	30-10-2014
		KR 20070112801 A	27-11-2007
		KR 20130100207 A	09-09-2013
		NZ 595305 A	28-06-2013
		NZ 608860 A	31-10-2014
		US 2007020647 A1	25-01-2007
		US 2009124542 A1	14-05-2009
		US 2009247451 A1	01-10-2009
		US 2009258822 A1	15-10-2009
		US 2013296255 A1	07-11-2013
		US 2016096871 A1	07-04-2016
		US 2017369543 A1	28-12-2017
		US 2020165307 A1	28-05-2020
		WO 2006088950 A2	24-08-2006
WO 2019051443 A1	14-03-2019	CN 111315885 A	19-06-2020
		EP 3682006 A1	22-07-2020
		JP 2020533414 A	19-11-2020
		MA 50280 A	22-07-2020
		US 2020262879 A1	20-08-2020
		WO 2019051443 A1	14-03-2019
US 2005118625 A1	02-06-2005	US 2005118625 A1	02-06-2005
		US 2008070797 A1	20-03-2008
WO 2004048511 A2	10-06-2004	AU 2003302409 A1	18-06-2004
		EP 1576145 A2	21-09-2005
		US 7759478 B1	20-07-2010
		US 8207316 B1	26-06-2012
		US 2004219515 A1	04-11-2004

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2022/064376

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		US 2007031823 A1	08-02-2007
		US 2007042381 A1	22-02-2007
		US 2008188428 A1	07-08-2008
		WO 2004048511 A2	10-06-2004
EP 1752536	A1	14-02-2007	
		AU 2005248147 A1	08-12-2005
		CA 2566286 A1	08-12-2005
		CN 101052717 A	10-10-2007
		EP 1752536 A1	14-02-2007
		JP WO2005116204 A1	19-06-2008
		KR 20070085113 A	27-08-2007
		US 2008113351 A1	15-05-2008
		US 2011054005 A1	03-03-2011
		WO 2005116204 A1	08-12-2005
WO 2022058447	A1	24-03-2022	NONE

International Application No. PCT/EP2022 /064376

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 4-6(completely); 1-3, 7, 10-25(partially)

an agent for reducing gene and/or protein expression of one or more Factor H family proteins, wherein the agent is an inhibitory nucleic acid targeting or comprising SEQ ID NOS: 158 or 178 as well as subject-matter related thereto;

2-20. claims: 4-6(completely); 1-3, 7, 10-25(partially)

an agent for reducing gene and/or protein expression of one or more Factor H family proteins, wherein the agent is an inhibitory nucleic acid targeting or comprising SEQ ID NOS: 159 or 179, 160 or 170, ...or 177 or 197, respectively, as well as subject-matter related thereto;

21. claims: 1, 2, 8, 10-25(all partially)

an agent for reducing gene and/or protein expression of one or more Factor H family proteins, wherein the agent is a meganuclease as well as subject-matter related thereto;

22. claims: 1, 2, 8, 10-25(all partially)

an agent for reducing gene and/or protein expression of one or more Factor H family proteins, wherein the agent is a zinc finger nuclease (ZFN) as well as subject-matter related thereto;

23. claims: 1, 2, 8, 10-25(all partially)

an agent for reducing gene and/or protein expression of one or more Factor H family proteins, wherein the agent is a transcription activator-like effector-based nuclease (TALEN) as well as subject-matter related thereto;

24. claims: 9(completely); 1, 2, 8, 10-25(partially)

an agent for reducing gene and/or protein expression of one or more Factor H family proteins, wherein the agent is a CRISPR-Cas system, comprising a sequence having at least 75% sequence identity to SEQ ID NO: 224 as well as subject-matter related thereto;

25-27. claims: 9(completely); 1, 2, 8, 10-25(partially)

an agent for reducing gene and/or protein expression of one

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/EP2022/064376

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

or more Factor H family proteins, wherein the agent is a
CRISPR-Cas system, comprising a sequence having at least 75%
sequence identity to SEQ ID NO: 225, 226 or 227,
respectively, as well as subject-matter related thereto;

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	31/7105(2006.01)	A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	35/12 (2015.01)	A 6 1 K	35/12	
A 6 1 K	35/76 (2015.01)	A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	35/761(2015.01)	A 6 1 K	35/761	
A 6 1 K	35/763(2015.01)	A 6 1 K	35/763	
A 6 1 P	27/02 (2006.01)	A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	13/12 (2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	7/06 (2006.01)	A 6 1 P	7/06	
A 6 1 P	37/02 (2006.01)	A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	19/02 (2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/10	1 0 1
A 6 1 P	21/00 (2006.01)	A 6 1 P	21/00	
A 6 1 P	25/16 (2006.01)	A 6 1 P	25/16	
A 6 1 P	25/14 (2006.01)	A 6 1 P	25/14	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	3/10 (2006.01)	A 6 1 P	3/10	

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,J
O,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,M
Z,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,
TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士 泉谷 玲子

(72)発明者

クラーク, サイモン

イギリス国ロンドン ダブリュ12・0ビーズィー, ホワイト・シティ, ウッド・レーン 84 ト
ランスレーション・アンド・イノベーション・ハブ, フォース・フロア, コンプリメント・セラピ
ューティクス・リミテッド

(72)発明者

ムンエ, ムスタファ

イギリス国ロンドン ダブリュ12・0ビーズィー, ホワイト・シティ, ウッド・レーン 84 ト
ランスレーション・アンド・イノベーション・ハブ, フォース・フロア, コンプリメント・セラピ
ューティクス・リミテッド

(72)発明者

ラティ, ソニカ

イギリス国ロンドン ダブリュ12・0ビーズィー, ホワイト・シティ, ウッド・レーン 84 ト
ランスレーション・アンド・イノベーション・ハブ, フォース・フロア, コンプリメント・セラピ
ューティクス・リミテッド

F ターム (参考)

4B063 QA20 QQ02 QQ08 QR32 QR35 QS34 QS40 QX10
4B065 AA90X AB01 AC14 BA02 CA44
4C084 AA13 NA14 ZA01 ZA15 ZA16 ZA33 ZA36 ZA45 ZA55 ZA81
ZA94 ZA96 ZB07 ZB15 ZB26 ZB35 ZC35
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA01 ZA15 ZA16 ZA33
ZA36 ZA45 ZA55 ZA81 ZA94 ZA96 ZB07 ZB15 ZB26 ZB35 ZC35
4C087 AA01 AA02 BB63 CA12 CA20 NA14 ZA01 ZA15 ZA16 ZA33
ZA36 ZA45 ZA55 ZA81 ZA94 ZA96 ZB07 ZB15 ZB26 ZB35 ZC35