



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117425673 A

(43) 申请公布日 2024. 01. 19

|                              |                              |                        |
|------------------------------|------------------------------|------------------------|
| (21) 申请号                     | 202280039912.2               | C · 斯泰亚特               |
| (22) 申请日                     | 2022.04.08                   | 克里斯托弗 · 布朗什托           |
| (30) 优先权数据                   |                              | (74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所 |
|                              | 63/173,092 2021.04.09 US     | 11517                  |
| (85) PCT国际申请进入国家阶段日          |                              | 专利代理师 赵昊 吕学辰           |
|                              | 2023.12.04                   | (51) Int.Cl.           |
| (86) PCT国际申请的申请数据            |                              | C07K 16/18 (2006.01)   |
|                              | PCT/IB2022/053334 2022.04.08 |                        |
| (87) PCT国际申请的公布数据            |                              |                        |
|                              | W02022/215054 EN 2022.10.13  |                        |
| (71) 申请人 武田药品工业株式会社          |                              |                        |
| 地址 日本大阪                      |                              |                        |
| (72) 发明人 塞巴斯蒂安 · 瓦利 M · 纳塔拉詹 |                              |                        |
| R · 伊斯拉姆 M · 梅亚潘             |                              |                        |
| A · 诺顿 N · 卡斯特瑞安皮里           |                              |                        |
|                              |                              | 权利要求书4页 说明书42页         |
|                              |                              | 序列表22页 附图9页            |

(54) 发明名称  
靶向补体因子D的抗体和其用途

(57) 摘要  
描述了以pH敏感性方式特异性结合于补体因子D的抗体,以及制备和使用这类抗体的方法。

1. 一种特异性结合于补体因子D(CFD)的分离的抗体,所述分离的抗体包含与SEQ ID NO:5、27、29、34或36具有至少90%、95%、98%或99%序列同一性的重链可变区氨基酸序列;和/或  
与SEQ ID NO:6、8、26、28、35或37具有至少90%、95%、98%或99%序列同一性的轻链可变区氨基酸序列。
2. 如权利要求2所述的分离的抗体,所述分离的抗体包含与SEQ ID NO:5、27、29、34或36同一的重链可变区氨基酸序列。
3. 如权利要求中任一项所述的分离的抗体,所述分离的抗体包含与SEQ ID NO:6、8、26、28、35或37同一的轻链可变区氨基酸序列。
4. 如权利要求1-3中任一项所述的分离的抗体,其中  
重链CDR1包含氨基酸序列YYAWS(SEQ ID NO:12);  
重链CDR2包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLKS(SEQ ID NO:15);和/或  
重链CDR3包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY(SEQ ID NO:14)。
5. 如权利要求1-3中任一项所述的分离的抗体,其中  
所述重链CDR1包含氨基酸序列YYAWS(SEQ ID NO:12);  
所述重链CDR2包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLES(SEQ ID NO:20);和/或  
所述重链CDR3包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY(SEQ ID NO:14)。
6. 如权利要求1-3中任一项所述的分离的抗体,其中  
所述重链CDR1包含氨基酸序列YYAWS(SEQ ID NO:12);  
所述重链CDR2包含氨基酸序列DIANDGSTYYSPSLES(SEQ ID NO:13);和/或  
所述重链CDR3包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY(SEQ ID NO:14)。
7. 如权利要求1-6中任一项所述的分离的抗体,其中  
所述轻链CDR1包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH(SEQ ID NO:16);  
所述轻链CDR2包含氨基酸序列DDNIRPS(SEQ ID NO:17);和/或  
所述轻链CDR3包含氨基酸序列QSASSNDDAV(SEQ ID NO:18)。
8. 如权利要求7所述的分离的抗体,其中  
所述重链CDR1包含氨基酸序列YYAWS(SEQ ID NO:12);  
所述重链CDR2包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLKS(SEQ ID NO:15);  
所述重链CDR3包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY(SEQ ID NO:14);  
所述轻链CDR1包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH(SEQ ID NO:16);  
所述轻链CDR2包含氨基酸序列DDNIRPS(SEQ ID NO:17);和/或  
所述轻链CDR3包含氨基酸序列QSASSNDDAV(SEQ ID NO:18)。
9. 如权利要求8所述的分离的抗体,所述分离的抗体包含:  
与SEQ ID NO:5同一的重链可变区氨基酸序列;和  
与SEQ ID NO:6同一的轻链可变区氨基酸序列。
10. 如权利要求1-6中任一项所述的分离的抗体,其中  
所述轻链CDR1包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH(SEQ ID NO:16);  
所述轻链CDR2包含氨基酸序列DDNIRPS(SEQ ID NO:17);和/或  
所述轻链CDR3包含氨基酸序列QSADLNDDAV(SEQ ID NO:19)。

11. 如权利要求10所述的分离的抗体,其中  
所述重链CDR1包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12);  
所述重链CDR2包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLKS (SEQ ID NO:15);  
所述重链CDR3包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14);  
所述轻链CDR1包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO:16);  
所述轻链CDR2包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17);和/或  
所述轻链CDR3包含氨基酸序列QSADLNDDAV (SEQ ID NO:19)。
12. 如权利要求11所述的分离的抗体,所述分离的抗体包含:  
与SEQ ID NO:5同一的重链可变区氨基酸序列;和  
与SEQ ID NO:8同一的轻链可变区氨基酸序列。
13. 如权利要求1-6中任一项所述的分离的抗体,其中  
所述轻链CDR1包含氨基酸序列QGDLLPRHYAH (SEQ ID NO:9);  
所述轻链CDR2包含氨基酸序列DDDIRPS (SEQ ID NO:10);和/或  
所述轻链CDR3包含氨基酸序列QSADSND DAV (SEQ ID NO:11)。
14. 如权利要求13所述的分离的抗体,其中  
所述重链CDR1包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12);  
所述重链CDR2包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLES (SEQ ID NO:20);  
所述重链CDR3包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14);  
所述轻链CDR1包含氨基酸序列QGDLLPRHYAH (SEQ ID NO:9);  
所述轻链CDR2包含氨基酸序列DDDIRPS (SEQ ID NO:10);和/或  
所述轻链CDR3包含氨基酸序列QSADSND DAV (SEQ ID NO:11)。
15. 如权利要求14所述的分离的抗体,所述分离的抗体包含:  
与SEQ ID NO:29同一的重链可变区氨基酸序列;和  
与SEQ ID NO:28同一的轻链可变区氨基酸序列。
16. 如权利要求13所述的分离的抗体,其中  
所述重链CDR1包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12);  
所述重链CDR2包含氨基酸序列DIANDGSTYYSPSLES (SEQ ID NO:13);  
所述重链CDR3包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14);  
所述轻链CDR1包含氨基酸序列QGDLLPRHYAH (SEQ ID NO:9);  
所述轻链CDR2包含氨基酸序列DDDIRPS (SEQ ID NO:10);和/或  
所述轻链CDR3包含氨基酸序列QSADSND DAV (SEQ ID NO:11)。
17. 如权利要求16所述的分离的抗体,所述分离的抗体包含:  
与SEQ ID NO:27同一的重链可变区氨基酸序列;和  
与SEQ ID NO:26同一的轻链可变区氨基酸序列。
18. 如权利要求6所述的分离的抗体,其中  
所述轻链CDR1包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO:16);  
所述轻链CDR2包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17);和/或  
所述轻链CDR3包含氨基酸序列QSADSND DAV (SEQ ID NO:11)。
19. 如权利要求18所述的分离的抗体,其中

- 所述重链CDR1包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12) ;  
所述重链CDR2包含氨基酸序列DIANDGSTYYSPSLES (SEQ ID NO:13) ;  
所述重链CDR3包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14) ;  
所述轻链CDR1包含氨基酸序列QGNNLPRIYAH (SEQ ID NO:16) ;  
所述轻链CDR2包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17) ;和/或  
所述轻链CDR3包含氨基酸序列QSADSNDDAV (SEQ ID NO:11) 。
20. 如权利要求19所述的分离的抗体,所述分离的抗体包含:  
与SEQ ID NO:34同一的重链可变区氨基酸序列;和  
与SEQ ID NO:35同一的轻链可变区氨基酸序列。
21. 如权利要求19所述的分离的抗体,所述分离的抗体包含:  
与SEQ ID NO:36同一的重链可变区氨基酸序列;和  
与SEQ ID NO:37同一的轻链可变区氨基酸序列。
22. 一种分离的抗体,所述分离的抗体特异性结合补体因子D(CFD),其中  
所述重链CDR1包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12) ;  
所述重链CDR2包含氨基酸序列DIANDGSTYYSPSLES (SEQ ID NO:13) ;  
所述重链CDR3包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14) ;  
所述轻链CDR1包含氨基酸序列QGNNLPRIYAH (SEQ ID NO:16) ;  
所述轻链CDR2包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17) ;和/或  
所述轻链CDR3包含氨基酸序列QSADSNDDAV (SEQ ID NO:11) 。
23. 如权利要求22所述的分离的抗体,所述分离的抗体包含:  
与SEQ ID NO:34至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一的重链可变区氨基酸序列;和  
与SEQ ID NO:35至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一的轻链可变区氨基酸序列。
24. 如权利要求23所述的分离的抗体,所述分离的抗体包含:  
与SEQ ID NO:34同一的重链可变区氨基酸序列;和  
与SEQ ID NO:35同一的轻链可变区氨基酸序列。
25. 如权利要求22所述的分离的抗体,所述分离的抗体包含:  
与SEQ ID NO:36至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一的重链可变区氨基酸序列;和  
与SEQ ID NO:37至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一的轻链可变区氨基酸序列。
26. 如权利要求25所述的分离的抗体,所述分离的抗体包含:  
与SEQ ID NO:36同一的重链可变区氨基酸序列;和  
与SEQ ID NO:37同一的轻链可变区氨基酸序列。
27. 如前述权利要求中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体是单克隆抗体或其片段。
28. 如前述权利要求中任一项所述的分离的抗体,所述分离的抗体还包含IgG恒定区。
29. 如前述权利要求中任一项所述的分离的抗体,所述分离的抗体包含与SEQ ID NO:

1、3、30或32具有至少85%、90%、95%、98%、99%或100%序列同一性的轻链氨基酸序列。

30. 如前述权利要求中任一项所述的分离的抗体,所述分离的抗体包含与SEQ ID NO: 2、4、31或33具有至少85%、90%、95%、98%、99%或100%序列同一性的重链氨基酸序列。

31. 如前述权利要求中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体抑制补体旁路途径。

32. 如权利要求31所述的分离的抗体,其中所述抗体抑制补体因子B的裂解。

33. 如前述权利要求中任一项所述的分离的抗体,其中所述分离的抗体在pH 7.4下以约1pM至约50pM之间的亲和力解离常数( $K_D$ )结合于CFD。

34. 如前述权利要求中任一项所述的分离的抗体,其中所述分离的抗体在pH 7.4下小于约50pM、小于约45pM、小于约40pM、小于约35pM、小于约30pM、小于约25pM、小于约20pM、小于约15pM、小于约10pM、小于约9pM、小于约8pM、小于约7pM、小于约6pM或小于约5pM的亲和力解离常数( $K_D$ )结合于CFD。

35. 如前述权利要求中任一项所述的分离的抗体,其中所述分离的抗体在pH 5.5下以约15nM至约150nM之间的亲和力解离常数( $K_D$ )结合于CFD。

36. 如前述权利要求中任一项所述的分离的抗体,其中所述分离的抗体在pH 5.5下大于约15nM、大于约20nM、大于约25nM、大于约30nM、大于约35nM、大于约40nM、大于约45nM、大于约50nM、大于约100nM或大于约150nM的亲和力解离常数( $K_D$ )结合于CFD。

37. 如前述权利要求中任一项所述的分离的抗体,其中在pH 5.5下CFD从所述抗体解离的速率大于 $0.010s^{-1}$ 、大于 $0.015s^{-1}$ 、大于 $0.02s^{-1}$ 、大于 $0.025s^{-1}$ 、大于 $0.03s^{-1}$ 、大于 $0.035s^{-1}$ 或大于 $0.04s^{-1}$ 。

38. 如前述权利要求中任一项所述的分离的抗体,其中所述分离的抗体具有大于约5天、约10天、约15天、约20天、约25天、约30天、约35天、约40天、约45天、约50天、约60天、约70天、约80天、约90天、约95天、约100天、约125天或更长的血清半衰期。

39. 一种核酸序列,所述核酸序列编码如权利要求1-38中任一项所述的分离的抗体。

40. 一种载体,所述载体包含如权利要求39所述的核酸序列。

41. 一种宿主细胞,所述宿主细胞包含如权利要求39所述的核酸序列或如权利要求40所述的载体。

42. 一种产生抗体的方法,所述方法包括在适于表达所述抗体的条件下培养如权利要求41所述的宿主细胞。

43. 根据权利要求1-38所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段用作药物。

44. 一种治疗补体介导的疾病或病症的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的如权利要求1-38中任一项所述的抗体。

45. 如权利要求44所述的方法,其中所述补体介导的疾病或病症是非典型溶血性尿毒症综合征(aHUS)或阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)。

46. 如权利要求44或45所述的方法,其中所述抗体的施用抑制血管内溶血和血管外溶血。

## 靶向补体因子D的抗体和其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2021年4月9日提交的美国临时申请No.63/173,092的优先权,其内容以引用的方式整体并入本文中。

[0003] 序列表以引用的方式并入

[0004] 本申请连同序列表一起以电子格式提交。序列表以名为SHR-2005W0\_SL.txt的ASCII文本文件形式提供,创建于2022年4月7日,大小为41,684字节。电子格式的序列表中的信息以引用的方式整体并入本文中。

### 背景技术

[0005] 补体系统包括许多能够与病原体相互作用并促进病原体清除的蛋白质。该系统在炎症等各种生物过程中发挥着重要作用,补体功能障碍可能导致或促成疾病。由异常补体活性引起的各种医学病症可以通过施用能够结合补体因子的抗体或其它结合分子来治疗。

### 发明内容

[0006] 本领域需要开发治疗性分子来治疗患有补体相关疾患的患者。本发明通过提供靶向补体因子D(CFD)的治疗剂来满足这一需要。在一方面,本发明提供了一种特异性结合于补体因子D(CFD)的分离的抗体。在一些实施方案中,特异性结合于补体因子D(CFD)的分离的抗体包含与SEQ ID NO:5、27、29、34或36具有至少90%、95%、98%或99%序列同一性的重链可变区氨基酸序列;和/或与SEQ ID NO:6、8、26、28、35或37具有至少90%、95%、98%或99%序列同一性的轻链可变区氨基酸序列。

[0007] 在一些实施方案中,特异性结合于补体因子D(CFD)的分离的抗体包含与SEQ ID NO:5、27、29、34或36同一的重链可变区氨基酸序列;和/或与SEQ ID NO:6、8、26、28、35或37同一的轻链可变区氨基酸序列。

[0008] 在一些实施方案中,分离的抗体包括包含氨基酸序列YYAWS(SEQ ID NO:12)的重链CDR1;包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLKS(SEQ ID NO:15)的重链CDR2;和/或包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY(SEQ ID NO:14)的重链CDR3。

[0009] 在一些实施方案中,分离的抗体包括包含氨基酸序列YYAWS(SEQ ID NO:12)的重链CDR1;包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLES(SEQ ID NO:20)的重链CDR2;和/或包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY(SEQ ID NO:14)的重链CDR3。

[0010] 在一些实施方案中,分离的抗体包括包含氨基酸序列YYAWS(SEQ ID NO:12)的重链CDR1;包含氨基酸序列DIANDGSTYYSPSLES(SEQ ID NO:13)的重链CDR2;和/或包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY(SEQ ID NO:14)的重链CDR3。

[0011] 在一些实施方案中,分离的抗体包含与SEQ ID NO:6、8、26、28、35或37具有至少85%、90%、95%、98%或99%序列同一性的轻链可变区氨基酸序列。

[0012] 在一些实施方案中,分离的抗体包含与SEQ ID NO:6、8、26、28、35或37同一的轻链可变区氨基酸序列。

[0013] 在一些实施方案中,分离的抗体包括包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO: 16)的轻链CDR1;包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17)的轻链CDR2;和/或包含氨基酸序列QSASSNDDAV (SEQ ID NO:18)的轻链CDR3。

[0014] 在一些实施方案中,分离的抗体包括包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12)的重链CDR1;包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLKS (SEQ ID NO:15)的重链CDR2;包含氨基酸序列LRSlyTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14)的重链CDR3;包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO: 16)的轻链CDR1;包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17)的轻链CDR2;和/或包含氨基酸序列QSASSNDDAV (SEQ ID NO:18)的轻链CDR3。

[0015] 在一些实施方案中,分离的抗体包含与SEQ ID NO:5同一的重链可变区氨基酸序列;和与SEQ ID NO:6同一的轻链可变区氨基酸序列。

[0016] 在一些实施方案中,分离的抗体包括包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO: 16)的轻链CDR1;包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17)的轻链CDR2;和/或包含氨基酸序列QSADLNDDAV (SEQ ID NO:19)的轻链CDR3。

[0017] 在一些实施方案中,分离的抗体包括包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12)的重链CDR1;包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLKS (SEQ ID NO:15)的重链CDR2;包含氨基酸序列LRSlyTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14)的重链CDR3;包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO: 16)的轻链CDR1;包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17)的轻链CDR2;和/或包含氨基酸序列QSADLNDDAV (SEQ ID NO:19)的轻链CDR3。

[0018] 在一些实施方案中,分离的抗体包含与SEQ ID NO:5同一的重链可变区氨基酸序列;和与SEQ ID NO:8同一的轻链可变区氨基酸序列。

[0019] 在一些实施方案中,分离的抗体包括包含氨基酸序列QGDLLPRHYAH (SEQ ID NO:9)的轻链CDR1;包含氨基酸序列DDDIRPS (SEQ ID NO:10)的轻链CDR2;和/或包含氨基酸序列QSADSNDVAV (SEQ ID NO:11)的轻链CDR3。

[0020] 在一些实施方案中,分离的抗体包括包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12)的重链CDR1;包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLES (SEQ ID NO:20)的重链CDR2;和/或包含氨基酸序列LRSlyTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14)的重链CDR3;包含氨基酸序列QGDLLPRHYAH (SEQ ID NO:9)的轻链CDR1;包含氨基酸序列DDDIRPS (SEQ ID NO:10)的轻链CDR2;和/或包含氨基酸序列QSADSNDVAV (SEQ ID NO:11)的轻链CDR3。

[0021] 在一些实施方案中,分离的抗体包含与SEQ ID NO:29同一的重链可变区氨基酸序列;和与SEQ ID NO:28同一的轻链可变区氨基酸序列。

[0022] 在一些实施方案中,分离的抗体包括包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12)的重链CDR1;包含氨基酸序列DIANDGSTYYSPSLES (SEQ ID NO:13)的重链CDR2;包含氨基酸序列LRSlyTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14)的重链CDR3;包含氨基酸序列QGDLLPRHYAH (SEQ ID NO: 9)的轻链CDR1;包含氨基酸序列DDDIRPS (SEQ ID NO:10)的轻链CDR2;和/或包含氨基酸序列QSADSNDVAV (SEQ ID NO:11)的轻链CDR3。

[0023] 在一些实施方案中,分离的抗体包含与SEQ ID NO:27同一的重链可变区氨基酸序列;和与SEQ ID NO:26同一的轻链可变区氨基酸序列。

[0024] 在一方面,本发明提供了一种特异性结合补体因子D (CFD)的分离的抗体,其中重链CDR1包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12);重链CDR2包含氨基酸序列

DIANDGSTYYSPSLES (SEQ ID NO:13);重链CDR3包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14);轻链CDR1包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO:16);轻链CDR2包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17);和/或轻链CDR3包含氨基酸序列QSADSND DAV (SEQ ID NO:11)。

[0025] 在一些实施方案中,分离的抗体包括包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12)的重链CDR1;包含氨基酸序列DIANDGSTYYSPSLES (SEQ ID NO:13)的重链CDR2;包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14)的重链CDR3;包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO:16)的轻链CDR1;包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17)的轻链CDR2;和/或包含氨基酸序列QSADSND DAV (SEQ ID NO:11)的轻链CDR3。

[0026] 在一些实施方案中,分离的抗体包括包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO:16)的轻链CDR1;包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17)的轻链CDR2;和/或包含氨基酸序列QSADSND DAV (SEQ ID NO:11)的轻链CDR3。

[0027] 在一些实施方案中,分离的抗体包括包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12)的重链CDR1;包含氨基酸序列DIANDGSTYYSPSLES (SEQ ID NO:13)的重链CDR2;和/或包含氨基酸序列LRSLYTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14)的重链CDR3。

[0028] 在一些实施方案中,分离的抗体包含与SEQ ID NO:34同一的重链可变区氨基酸序列;和与SEQ ID NO:35同一的轻链可变区氨基酸序列。

[0029] 在一些实施方案中,分离的抗体包含与SEQ ID NO:36同一的重链可变区氨基酸序列;和与SEQ ID NO:37同一的轻链可变区氨基酸序列。

[0030] 在一些实施方案中,分离的抗体包含与SEQ ID NO:35或SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列具有至少90%同一性的轻链可变结构域;与SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:36中所示的氨基酸序列具有至少90%同一性的重链可变结构域;和/或 (a) 的轻链可变结构域和 (b) 的重链可变结构域。

[0031] 在一些实施方案中,分离的抗体包含与SEQ ID NO:35或SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列具有至少95%同一性的轻链可变结构域。

[0032] 在一些实施方案中,分离的抗体包含与SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:36中所示的氨基酸序列具有至少95%同一性的重链可变结构域。

[0033] 在一些实施方案中,分离的抗体是单克隆抗体或其片段。

[0034] 在一些实施方案中,分离的抗体还包含IgG恒定区。

[0035] 在一些实施方案中,分离的抗体包含与SEQ ID NO:1、3、30或32具有至少85%、90%、95%、98%、99%或100%序列同一性的轻链氨基酸序列。

[0036] 在一些实施方案中,分离的抗体包含与SEQ ID NO:2、4、31或33具有至少85%、90%、95%、98%、99%或100%序列同一性的重链氨基酸序列。

[0037] 在一些实施方案中,分离的抗体抑制补体旁路途径。在一些实施方案中,分离的抗体抑制补体因子B的裂解。

[0038] 在一些实施方案中,分离的抗体在pH 7.4下以约1pM至约50pM之间的亲和力解离常数 (KD) 结合于CFD。

[0039] 在一些实施方案中,分离的抗体在pH 7.4下以小于约50pM、小于约45pM、小于约40pM、小于约35pM、小于约30pM、小于约25pM、小于约20pM、小于约15pM、小于约10pM、小于约9pM、小于约8pM、小于约7pM、小于约6pM或小于约5pM的亲和力解离常数 (KD) 结合于CFD。

[0040] 在一些实施方案中,分离的抗体在pH 5.5下以约15nM至约150nM之间的亲和力解离常数(KD)结合于CFD。

[0041] 在一些实施方案中,分离的抗体在pH 5.5下以大于约15nM、大于约20nM、大于约25nM、大于约30nM、大于约35nM、大于约40nM、大于约45nM、大于约50nM、大于约100nM或大于约150nM的亲和力解离常数(KD)结合于CFD。

[0042] 在一些实施方案中,分离的抗体在pH 5.5下CFD从抗体解离的速率大于 $0.010s^{-1}$ 、大于 $0.015s^{-1}$ 、大于 $0.02s^{-1}$ 、大于 $0.025s^{-1}$ 、大于 $0.03s^{-1}$ 、大于 $0.035s^{-1}$ 或大于 $0.04s^{-1}$ 。

[0043] 在一些实施方案中,分离的抗体具有大于约5天、约10天、约15天、约20天、约25天、约30天、约35天、约40天、约45天、约50天、约60天、约70天、约80天、约90天、约95天、约100天、约125天或更长的血清半衰期。

[0044] 在一方面,本发明提供了一种核酸序列,所述核酸序列编码本文所述的分离的抗体。

[0045] 在一方面,本发明提供了一种载体,所述载体包含编码本文所述的分离的抗体的核酸序列。

[0046] 在一方面,本发明提供了一种宿主细胞,所述宿主细胞包含编码本文所述的分离的抗体的核酸序列。

[0047] 在一方面,本发明提供了一种产生抗体的方法,所述方法包括在适于表达所述抗体的条件下培养宿主细胞。

[0048] 在一方面,本发明提供了本文所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段用作药物。

[0049] 在一方面,本发明提供了一种治疗补体介导的疾病或病症的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的本文所述的抗体。

[0050] 在一些实施方案中,补体介导的疾病或病症是非典型溶血性尿毒症综合征(aHUS)或阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)。

[0051] 在一些实施方案中,抗体的施用抑制血管内溶血和血管外溶血。

[0052] 定义

[0053] 一个(种):冠词“一个(种)”在本文中用于指冠词的一个或超过一个(即,至少一个)语法对象。举例来说,“元素”意指一种元素或超过一种元素。

[0054] 亲和力:如本文所用,术语“亲和力”是指结合部分(例如,抗原结合部分(例如,本文所述的可变结构域)和/或Fc受体结合部分(例如,本文所述的FcRn结合部分))与靶标(例如,抗原(例如,CFD)和/或FcR(例如,FcRn))之间的结合相互作用的特征,并且其指示结合相互作用的强度。在一些实施方案中,亲和力的量度表示为解离常数( $K_D$ )。在一些实施方案中,结合部分对靶标具有高亲和力(例如, $K_D$ 小于约 $10^{-7}M$ 、小于约 $10^{-8}M$ 或小于约 $10^{-9}M$ )。在一些实施方案中,结合部分对靶标具有低亲和力(例如, $K_D$ 高于约 $10^{-7}M$ 、高于约 $10^{-6}M$ 、高于约 $10^{-5}M$ 或高于约 $10^{-4}M$ )。在一些实施方案中,结合部分在第一pH下对靶标具有高亲和力,在第二pH下对靶标具有低亲和力,并且在第一pH与第二pH之间的pH水平下对靶标具有中等亲和力。

[0055] 大约或约:如本文所用,应用于一个或多个感兴趣值的术语“大约”或“约”是指与陈述的参考值相似的值。在某些实施方案中,除非另有说明或从上下文中明显看出,否则术

语“大约”或“约”是指在陈述的参考值的任一方向上(大于或小于陈述的参考值)落入25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小以内的值的范围(除了这样的数将超过可能值的100%的情况外)。

[0056] 抗体:如本文所用,术语“抗体”是指包括至少一个免疫球蛋白可变区的多肽,例如,提供免疫球蛋白可变结构域或免疫球蛋白可变结构域序列的氨基酸序列。例如,抗体可以包括重(H)链可变区(本文缩写为VH)和轻(L)链可变区(本文缩写为VL)。在另一个实例中,抗体包括两个重(H)链可变区和两个轻(L)链可变区。术语“抗体”涵盖抗体的抗原结合片段(例如,单链抗体、Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fd、Fv和dAb片段)以及完整抗体,例如IgA、IgG、IgE、IgD、IgM(以及其亚型)类型完整的免疫球蛋白。免疫球蛋白的轻链可以是κ型或λ型。

[0057] 结合部分:如本文所用,“结合部分”是能够特异性结合靶标,例如感兴趣靶标(例如,抗原(例如CFD)和/或FcR(例如,FcRn))的任何分子或分子的一部分。结合部分包括例如抗体、其抗原结合片段、Fc区或其Fc片段、抗体模拟物、肽和适体。

[0058] 恒定区:如本文所用,术语“恒定区”是指对应于或源自抗体的一个或多个恒定区免疫球蛋白结构域的多肽。恒定区可以包括任何或所有以下免疫球蛋白结构域:CH1结构域、铰链区、CH2结构域、CH3结构域(源自IgA、IgD、IgG、IgE或IgM)和CH4结构域(源自IgE或IgM)。

[0059] Fc区:如本文所用,术语“Fc区”是指两个“Fc多肽”的二聚体,每个“Fc多肽”包含除第一恒定区免疫球蛋白结构域之外的抗体恒定区。在一些实施方案中,“Fc区”包括通过一个或多个二硫键、化学接头或肽接头连接的两个Fc多肽。“Fc多肽”是指IgA、IgD和IgG的最后两个恒定区免疫球蛋白结构域,以及IgE和IgM的最后三个恒定区免疫球蛋白结构域,并且还可以包括在这些结构域N端的柔性铰链的部分或全部。对于IgG,“Fc多肽”包含免疫球蛋白结构域Cγ2(Cgamma2)和Cγ3(Cgamma3),以及Cγ1(Cgamma1)与Cγ2之间的铰链下部。尽管Fc多肽的边界可能不同,但人IgG重链Fc多肽通常定义为包含从T223或C226或P230开始到其羧基端的残基,其中编号是根据如Kabat等人(1991,NIH公布91-3242,National Technical Information Services, Springfield, VA)中的EU索引。对于IgA,Fc多肽包含免疫球蛋白结构域Cα2(Calpha2)和Cα3(Calpha3),以及Cα1(Calpha1)与Cα2之间的铰链下部。Fc区可以是合成的,重组的或从天然来源如IVIG产生。

[0060] K<sub>a</sub>:如本文所用,“K<sub>a</sub>”是指特定结合部分与靶标形成结合部分/靶标复合物的缔合速率。

[0061] K<sub>d</sub>:如本文所用,“K<sub>d</sub>”是指特定结合部分/靶标复合物的解离速率。

[0062] K<sub>D</sub>:如本文所用,“K<sub>D</sub>”是指解离常数,其由K<sub>d</sub>与K<sub>a</sub>的比率(即,K<sub>d</sub>/K<sub>a</sub>)获得并表示为摩尔浓度(M)。K<sub>D</sub>值可以使用本领域充分确立的方法,例如通过使用表面等离子体共振,或者使用如Biacore®系统的生物传感器系统来确定。

[0063] 参考:“参考”实体、系统、数、条件集等是与如本文所述,测试实体、系统、量、条件集等进行比较的实体、系统、量、条件集等。例如,在一些实施方案中,“参考”抗体是如本文所述的未工程化的对照抗体。

[0064] 选择性结合:如本文所用,“选择性结合”、“选择性地结合”、“特异性结合”或“选择性地结合”是指,就结合部分和靶标而言,结合部分优先与靶标缔合,而不是与非靶标的实体缔合。在结合部分与非靶标之间可能发生一定程度的非特异性结合。在一些实施方案中,

如果结合部分与靶标之间的结合比结合部分与非靶标的结合大2倍、大5倍、大10倍或大100倍,则结合部分选择性结合靶标。在一些实施方案中,如果结合亲和力小于约 $10^{-5}$ M、小于约 $10^{-6}$ M、小于约 $10^{-7}$ M、小于约 $10^{-8}$ M或小于约 $10^{-9}$ M,则结合部分选择性结合靶标。

[0065] 受试者:如本文所用,术语“受试者”意指需要诊断、预后或治疗的任何受试者。例如,受试者可以是哺乳动物,例如人或非人灵长类动物(如猿、猴、猩猩或黑猩猩)、狗、猫、豚鼠、兔、大鼠、小鼠、马、牛或奶牛。

[0066] 靶标:如本文所用,“靶标”是由多特异性结合分子的结合部分特异性结合的任何分子。在一些实施方案中,靶标是本文所述的抗原(例如CFD)。在一些实施方案中,靶标是FcR(例如,FcRn)。术语“第一靶标”和“第二靶标”在本文中用于指两种不同分子种类的分子,而不是相同分子种类的两个分子。例如,在一些实施方案中,第一靶标是血清蛋白,而第二靶标是FcRn。

[0067] 治疗有效量:如本文所用,术语“治疗有效量”是指治疗性分子(例如,本文所述的工程化抗体)以适用于任何医学治疗的合理益处/风险比对被治疗的受试者赋予治疗效果的量。治疗效果可以是客观的(即,可通过一些测试或标志物测量)或主观的(即,受试者给出感觉到效果的指示)。具体地说,“治疗有效量”是指如通过改善与疾病相关的症状、预防或延迟疾病的发作和/或还减轻疾病症状的严重程度或频率而有效治疗、改善或预防特定疾病或疾患或表现出可检测的治疗或预防效果的治疗性分子或组合物的量。可以按可包含多个单位剂量的给药方案施用治疗有效量。对于任何具体的治疗性分子,治疗有效量(和/或有效给药方案内的适当单位剂量)可有所不同,例如取决于施用途径、与其它药剂的组合。另外,用于任何具体受试者的特定治疗有效量(和/或单位剂量)可取决于多种因素,包括所治疗的病症和病症的严重程度;使用的特定药剂的活性;使用的特定组合物;受试者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食;使用的特定治疗性分子的施用时间、施用途径和/或排泄或代谢速率;治疗的持续时间;以及医学领域中众所周知的类似因素。

[0068] 治疗:如本文所用,术语“治疗(treatment)”(以及治疗(treat)或治疗(treating))是指任何部分或完全减轻、改善、缓解、抑制具体疾病、病症和/或疾患的一种或多种症状或特征、延迟其发作、降低其严重程度和/或降低其发病率的治疗性分子(例如,本文所述的工程化抗体)的施用。这种治疗可以是针对没有表现出相关疾病、病症和/或疾患的迹象的受试者和/或针对仅表现出疾病、病症和/或疾患的早期迹象的受试者。或者或另外,这种治疗可以是针对表现出相关疾病、病症和/或疾患的一种或多种确定迹象的受试者。

## 附图说明

[0069] 附图仅用于达成说明的目的;不是为了限制。

[0070] 图1是说明PNH患者中导致溶血的旁途径激活和抗CFD策略的示意图。

[0071] 图2A是说明用于评估抗CFD mAb抑制效力的体外测定的示意图。溶血水平可以通过释放的血红蛋白的光密度(OD)来测量。MAC水平可以使用终末补体复合物(TCC)试剂盒中的补体激活来测量。

[0072] 图2B显示了在两种抗CFD抗体存在的情况下测量膜攻击复合物(MAC)形成的终末补体复合物(TCC)测定的示例性结果。CFD耗尽血清不显示任何旁途径活性。

[0073] 图3显示了使用溶血测定法测定的RBC上的C3沉积的示例性最大几何平均值百分比。与无抗体对照(左)相比,抗CFD抗体2(169C8)抑制兔RBC上的C3b沉积,与抗CFD抗体1(基准抗CFD抗体)类似。

[0074] 图4显示了示例性抗CFD抗体2对人CFD和食蟹猴CFD的结合亲和力的Biacore传感图。

[0075] 图5显示了敲入型人FcRn小鼠中抗CFD抗体2(克隆169C8)( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )随时间推移的示例性浓度。

[0076] 图6显示了在非人灵长类动物(NHP)中注射抗CFD mAb的动物随时间推移的总hIgG( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )的示例性水平。

[0077] 图7显示了在NHP中静脉内(IV)或皮下(SC)施用的抗CFD抗体随时间推移的示例性TCC形成百分比。

[0078] 图8显示了皮下注射抗CFD mAb的动物中随时间推移的总hIgG( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )的示例性水平、游离CFD的浓度以及非人灵长类动物中随时间推移的TCC形成百分比(上)。注射抗CFD后的游离靶标水平(中)。注射抗CFD抗体后CFD抑制的持续时间(下)。

[0079] 图9显示了NHP中随时间推移的示例性总hIgG( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ),其中箭头指示多次注射。

[0080] 图10显示了NHP中随时间推移的TCC形成百分比,其中箭头指示多次注射。

## 具体实施方式

[0081] 抑制补体因子D可能会阻止旁路途径激活。本公开部分基于如下工程化抗体的发现,所述工程化抗体意外地表现出与CFD(例如人CFD)的pH依赖性结合和/或改变的(例如增加的,例如pH依赖性的)与Fc受体(例如FcRn)的结合,引起CFD的耗尽。使用本文所述的抗体抑制CFD可阻止血管内和血管外溶血。

### [0082] 补体因子D

[0083] 补体因子D(CFD),也称为降脂素,是一种丝氨酸蛋白酶,对于启动补体系统的旁路途径是必不可少的。人补体因子D被合成为253个氨基酸前体,含有信号肽(aa 1-20)、五残基激活/前肽(aa 21-25)和成熟链(aa 26-253)。成熟的人D因子与黑猩猩有98%的氨基酸序列同一性,与恒河猴有96%,与猪有84%,与小鼠D因子有66%的氨基酸序列同一性。D因子在多种组织中表达,包括单核细胞/巨噬细胞、肌肉、坐骨神经、子宫内膜、肾、肠,并且在脂肪细胞中含量特别高。

[0084] 补体旁路途径的异常激活可能会导致补体介导的红细胞(RBC)破坏。例如,红细胞(RBC)表面的CD55/59缺陷会导致终末补体介导的沉积和易感RBC的破坏。隔离的氧合血红蛋白可能导致溶血,释放游离血红蛋白,导致一氧化氮消耗。肾毒性是由溶解的红细胞中的游离血红蛋白铁和含铁血黄素沉积引起的。反复暴露于有毒物质、血栓和坏死可导致肾衰竭。溶血还可能引起并发症,包括肾衰竭、肺动脉高压和胆石症。

### [0085] 抗体

[0086] 本文所述的抗CFD抗体被设计为通过抑制旁路途径中的因子B裂解来抑制补体因子D(CFD)活性。这种抑制活性可阻止血管内和血管外溶血。根据本发明的抗CFD抗体在酸转换半衰期延长(ASHE)和CFD抑制方面表现出与人和食蟹猴(食蟹猴)的物种交叉反应性。在一些实施方案中,抗CFD抗体被工程化成在pH 7.4下以比在pH 5.5下高的亲和力结合

CFD。在一些实施方案中,抗体在pH 7.4下的结合小于或等于 $\leq 20\text{pM}$ 。在一些实施方案中,CFD在酸性pH 5.5下释放: $k_d > 20\text{nM}$ ,解离速率 $> 10\text{E}^{-2}\text{s}^{-1}$ 。在一些实施方案中,抗CFD抗体在食蟹猴中具有大约20天的半衰期或在敲入型huFcRn小鼠中具有 $> 45$ 天的半衰期。

[0087] 本文所述的工程化抗体可以是免疫球蛋白、重链抗体、轻链抗体、基于LRR的抗体或具有抗体样性质的其它蛋白质支架,以及本领域已知的其它免疫结合部分,包括例如Fab、Fab'、Fab'2、Fab<sub>2</sub>、Fab<sub>3</sub>、F(ab')<sub>2</sub>、Fd、Fv、Feb、scFv、SMIP、抗体、双链抗体、三链抗体、四链抗体、微型抗体、大型抗体(maxibody)、串联双体(tandab)、DVD、BiTe、TandAb等,或它们的任何组合。不同类别的抗体的亚单位结构和三维构型是本领域已知的。

[0088] 抗体可以是具有四条多肽链(例如,两条重(H)链和两条轻(L)链)的免疫球蛋白分子。重链可以包括重链可变结构域和重链恒定结构域。重链恒定结构域可以包括CH1、铰链、CH2、CH3,并且在一些情况下包括CH4区。合适的重链恒定区可以源自任何免疫球蛋白(例如,IgA、IgG或IgE)。在一些实施方案中,合适的重链恒定区可以源自IgG1、IgG2或IgG4。在具体实施方案中,合适的重链恒定区源自IgG1。轻链可以包括轻链可变结构域和轻链恒定结构域。轻链恒定结构域可以包括 $\kappa$ 轻链或 $\lambda$ 轻链。重链的重链可变结构域和轻链的轻链可变结构域通常可以进一步细分为具有变异性的区域,称为互补决定区(CDR),其间散布有更保守的区域,称为框架区(FR)。这类重链和轻链可变结构域可各自包括三个CDR和四个框架区,从氨基端到羧基端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4,其中一者或多者可以如本文所述进行工程化。

#### [0089] 工程化重链

[0090] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的重链。

[0091] EVQVQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSITTSYYAWSWIRQPPGKGLEWMGDIANDGSTYYSPSLESRTSISRDTSKNQFSLQLSSVTPEDTAVYYCARLRSlyTDYDPHYDYWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKLSLSPGK(SEQ ID NO:2)。

[0092] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的重链可变区。

[0093] EVQVQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSITTSYYAWSWIRQPPGKGLEWMGDIANDGSTYYSPSLESRTSISRDTSKNQFSLQLSSVTPEDTAVYYCARLRSlyTDYDPHYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:27)

[0094] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的重链。

[0095] QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISTSYAWSWIRQPPGKGLEWIGDIANEGSTYYSPSLESRTVTSISRDTSKNQFSLQLSSVTAADTAVYYCARLRSlyTDYDPHYDYWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS

LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKS  
LSLSPG (SEQ ID NO:4)

[0096] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的重链。

[0097] QVQVQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISTSYAWSWIRQPPGKGLEWMGDIANDGSTYYSPSLESR  
VTISRDTSKNQFSLQLSSVTAQDTAVYYCARLRSLYTDYDPHYDYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS  
GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD  
KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK  
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS  
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKS  
LSLSPG (SEQ ID NO:31)

[0098] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的重链。

[0099] QVQVQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISTSYAWSWIRQPPGKGLEWMGDIANDGSTYYSPSLESR  
VTISRDTSKNQFSLQLSSVTAQDTAVYYCARLRSLYTDYDPHYDYWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS  
GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD  
KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK  
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS  
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKS  
LSLSPG (SEQ ID NO:33)

[0100] 在一些实施方案中,工程化抗体包含与SEQ ID NO:2、4、31或33具有至少85%、90%、95%、98%或99%序列同一性的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,工程化抗体包含与SEQ ID NO:2、4、31或33同一的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,工程化抗体包含相对于SEQ ID NO:2、4、31或33不超过30个、29个、28个、27个、26个、25个、24个、23个、22个、21个、20个、19个、18个、17个、16个、15个、14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个或2个氨基酸取代。在一些实施方案中,工程化抗体包含相对于SEQ ID NO:2、4、31或33,在位置1、4、30、50、56、69、70、89、90、120、222、364或366中的一个或多个位置处具有一个或多个氨基酸取代的重链氨基酸序列。

[0101] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的重链可变区。

[0102] QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISTSYAWSWIRQPPGKGLEWIGDIANEGSTYYSPSLESR  
VTISRDTSKNQFSLQLSSVTAADTAVYYCARLRSLYTDYDPHYDYWGQGTTLVTVSS (SEQ ID NO:29)

[0103] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的重链可变区。

[0104] QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISTSYAWSWIRQPP GKGLEWIGDIANEGSTYYSPSLKS  
RVTISRDTSKNQFSLQLSSVTA ADTAVYYCARLRSLYTDYDPHYDYWGQGTTLVTVSS (SEQ ID NO:5)

[0105] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的重链可变区。

[0106] QVQVQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISTSYAWSWIRQPP GKGLEWMGDIANDGSTYYSPSLES

RVTISRDTSKNQFSLQLSSVT AQDTAVYYCARLRSlyTDYDPHYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:34)

[0107] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的重链可变区。

[0108] QVQVQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISTSYAWSWIRQPP GKGLEWMGDIANDGSTYYSPSLES RVTISRDTSKNQFSLQLSSVT AQDTAVYYCARLRSlyTDYDPHYDYWGQGTVTVSS (SEQ ID NO:36)

[0109] 在一些实施方案中,工程化抗体包含与SEQ ID NO:5、27、29、34或36具有至少85%、90%、95%、98%或99%序列同一性的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,工程化抗体包含与SEQ ID NO:5、27、29、34或36同一的重链氨基酸序列。

[0110] 在一些实施方案中,工程化抗体包含与SEQ ID NO:5、27、29、34或36具有至少85%、90%、95%、98%或99%序列同一性的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,工程化抗体包含与SEQ ID NO:5、27、29、34或36同一的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,工程化抗体包含相对于SEQ ID NO:5、27、29、34或36不超过30个、29个、28个、27个、26个、25个、24个、23个、22个、21个、20个、19个、18个、17个、16个、15个、14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个或2个氨基酸取代。在一些实施方案中,工程化抗体包含相对于SEQ ID NO:5、27、29、34或36在位置1、4、30、50、56、69、70、89、90 120或222中的一个或多个位置处具有一个或多个氨基酸取代的重链氨基酸序列。

[0111] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体包括包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12)的重链CDR1;包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLKS (SEQ ID NO:15)的重链CDR2;和/或包含氨基酸序列LRSlyTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14)的重链CDR3。

[0112] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体包括包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12)的重链CDR1;包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLES (SEQ ID NO:20)的重链CDR2;和/或包含氨基酸序列LRSlyTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14)的重链CDR3。

[0113] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体包括包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12)的重链CDR1;包含氨基酸序列DIANDGSTYYSPSLES (SEQ ID NO:13)的重链CDR2;和/或包含氨基酸序列LRSlyTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14)的重链CDR3。

[0114] 如本领域技术人员将理解的,任何这类重链CDR序列可以容易地例如通过分子生物学技术与本文提供的或本领域另外已知的任何其它抗体序列或结构域,包括如本文公开或本领域另外已知的任何框架区、CDR或恒定结构域或其部分(如本文公开或本领域另外已知的任何格式的抗体或结合分子中可存在的)组合。

[0115] 工程重链恒定结构域

[0116] 在本文所述的各种工程化抗体中,重链恒定结构域可以是任何类别(或亚类)。在本文所述的各种工程化抗体中,重链恒定结构域可以包括IgG、IgM、IgA、IgD或IgE中任一者或多者的氨基酸序列,包括IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2等亚类。在各种情况下,本文所述的工程化抗体的恒定结构域可以包括两种或更多种类别(或亚类)的免疫球蛋白重链恒定结构域的混合物。例如,工程化抗体可以包括具有选自IgG、IgM、IgA、IgD或IgE类恒定结构域的免疫球蛋白恒定结构域的序列的第一部分恒定结构域和具有与第一个不同的免疫球蛋白恒定结构域的序列并且选自IgG、IgM、IgA、IgD或IgE类恒定结构域的第二部分恒定结构域。在一些情况下,本文所述的工程化抗体的恒定结构域可以包括特定类别恒定结构域的两个或更多个亚类的混合物,例如具有选自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4亚类恒定结构域

的免疫球蛋白恒定结构域的序列的第一部分恒定结构域和具有与第一个不同的免疫球蛋白恒定结构域的序列并且选自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4亚类恒定结构域的第二部分恒定结构域。在一些具体实施方案中,恒定结构域包括全部或部分IgG2恒定结构域和全部或部分IgG4恒定结构域。

[0117] 在一些情况下,工程化抗体包括表现出改变的与一种或多种Fc受体(例如,Fc  $\gamma$  RI、Fc  $\gamma$  RIIA、Fc  $\gamma$  RIIB、Fc  $\gamma$  RIIIA、Fc  $\gamma$  RIIB、Fc  $\gamma$  RIV或FcRn受体)的结合(如与参考恒定区相比)的抗体恒定区、Fc区或Fc片段。在一些实施方案中,恒定区、Fc区或Fc片段被工程化成相对于参考恒定区、Fc区或Fc片段以改变的方式(例如,以pH敏感性方式(例如,以更强或更弱的pH敏感性方式)和/或减少的或增加的结合)结合于靶标(例如,FcRn受体)。在一些实施方案中,工程化抗体包括表现出减少的与一种或多种Fc  $\gamma$  受体(例如,Fc  $\gamma$  RI、Fc  $\gamma$  RIIA、Fc  $\gamma$  RIIB、Fc  $\gamma$  RIIIA、Fc  $\gamma$  RIIB或Fc  $\gamma$  RIV)的结合(如与参考恒定区相比)的抗体恒定区、Fc区或Fc片段。在一些实施方案中,工程化抗体包括在血清pH下和/或在细胞内pH下表现出增加的与FcRn受体的结合(如与参考恒定区相比)的抗体恒定区、Fc区或Fc片段。

[0118] 例如,工程化抗体可以包括如下IgG抗体的恒定区、Fc区或Fc片段,其被工程化成包括氨基酸残基251-256、285-290、308-314、385-389和428-436(Kabat编号(Kabat等人,(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,NIH))中一者或多者的氨基酸添加、缺失或取代。不希望受理论束缚,据信这些恒定区、Fc区或Fc片段氨基酸中的一者或多者介导与Fc受体如FcRn的相互作用。在一些实施方案中,这些公开的氨基酸中的一者或多者经组氨酸、精氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺或谷氨酰胺取代。在一些实施方案中,非组氨酸残基经组氨酸残基取代。在一些实施方案中,组氨酸残基经非组氨酸残基取代。

[0119] 在一些实施方案中,工程化抗体包括如下IgG抗体的恒定区、Fc区或Fc片段,其在位置308、309、311、312和314中的一个或多个位置处具有氨基酸修饰,更具体地说,在位置308、309、311、312和314中的一个或多个位置处分别经苏氨酸、脯氨酸、丝氨酸、天冬氨酸和亮氨酸取代。在一些实施方案中,位置308、309和311中的一个或多个位置处的残基分别经异亮氨酸、脯氨酸和谷氨酸取代。在其它实施方案中,位置308、309、311、312和314中的一个或多个位置处的残基分别经苏氨酸、脯氨酸、丝氨酸、天冬氨酸和亮氨酸取代。

[0120] 在一些实施方案中,工程化抗体包括如下IgG抗体的恒定区、Fc区或Fc片段,其在位置251、252、254、255和256中的一个或多个位置处具有氨基酸修饰,更具体地说,在这些位置中的一个或多个位置处具有取代。在一些实施方案中,残基251经亮氨酸或精氨酸取代,残基252经亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、色氨酸或苏氨酸取代,残基254经苏氨酸或丝氨酸取代,残基255经亮氨酸、甘氨酸、异亮氨酸或精氨酸取代,和/或残基256经丝氨酸、苯丙氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、天冬氨酸、丙氨酸、天冬酰胺或苏氨酸取代。在一些实施方案中,残基251经亮氨酸取代,残基252经酪氨酸或亮氨酸取代,残基254经苏氨酸或丝氨酸取代,和/或残基255经精氨酸取代。在其它实施方案中,残基252经苯丙氨酸取代和/或残基256经天冬氨酸取代。在一些实施方案中,残基251经亮氨酸取代,残基252经酪氨酸取代,残基254经苏氨酸或丝氨酸取代,和/或残基255经精氨酸取代。

[0121] 在一些实施方案中,工程化抗体包括如下IgG抗体的恒定区、Fc区或Fc片段,其在位置428、433、434、435和436中的一个或多个位置处具有氨基酸修饰,更具体地说,在这些

位置中的一个或多个位置处具有取代。在一些实施方案中,残基428经甲硫氨酸、苏氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸或丝氨酸取代,残基433经赖氨酸、精氨酸、丝氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、谷氨酰胺或组氨酸取代,残基434经苯丙氨酸、酪氨酸或组氨酸取代,残基435经酪氨酸取代,和/或残基436经组氨酸、天冬酰胺、精氨酸、苏氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸或苏氨酸取代。在一些实施方案中,一个或多个位置433、434、435和436处的残基分别经赖氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸和组氨酸取代。在一些实施方案中,残基428经甲硫氨酸取代和/或残基434经酪氨酸取代。

[0122] 在一些实施方案中,工程化抗体包括如下IgG抗体的恒定区、Fc区或Fc片段,其在位置385、386、387和389中的一个或多个位置处具有氨基酸修饰,更具体地说,在这些位置中的一个或多个位置处具有取代。在一些实施方案中,残基385经精氨酸、天冬氨酸、丝氨酸、苏氨酸、组氨酸、赖氨酸或丙氨酸取代,残基386经苏氨酸、脯氨酸、天冬氨酸、丝氨酸、赖氨酸、精氨酸、异亮氨酸或甲硫氨酸取代,残基387经精氨酸、组氨酸、丝氨酸、苏氨酸、丙氨酸或脯氨酸取代,和/或残基389经脯氨酸或丝氨酸取代。在一些实施方案中,位置385、386、387和389中的一个或多个位置处的残基分别经精氨酸、苏氨酸、精氨酸和脯氨酸取代。在一些实施方案中,位置385、386和389中的一个或多个位置处的残基分别经天冬氨酸、脯氨酸和丝氨酸取代。

[0123] 在一些实施方案中,工程化抗体包括如下IgG抗体的恒定区、Fc区或Fc片段,其具有以下取代中的一者或多者:残基251处的亮氨酸,残基252处的酪氨酸或亮氨酸,残基254处的苏氨酸或丝氨酸,残基255处的精氨酸,残基308处的苏氨酸,残基309处的脯氨酸,残基311处的丝氨酸,残基312处的天冬氨酸,残基314处的亮氨酸,残基385处的精氨酸,残基386处的苏氨酸,残基387处的精氨酸,残基389处的脯氨酸,残基428处的甲硫氨酸,残基433处的赖氨酸,残基434处的苯丙氨酸或酪氨酸,位置435处的酪氨酸,和/或位置436处的酪氨酸。可以包括在恒定区、Fc区或Fc片段中的其它氨基酸取代包括在例如美国专利No.6,277,375、8,012,476和8,163,881中描述的那些氨基酸取代。

[0124] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体包括重链恒定结构域,其包括例如以下中描述的Ala-Ala突变:PCT公布no.WO 94/28027和WO 98/47531;和Xu等人(2000)Cell Immunol 200:16-26。因此,在一些实施方案中,在重链恒定区内具有包括Ala-Ala突变的一个或多个突变的工程化抗体具有降低的效应功能或没有效应功能。根据这些实施方案,本文所述的工程化抗体的恒定区可包含在位置234处的对丙氨酸的取代和/或在位置235处的对丙氨酸的突变(EU编号)。

[0125] 如本领域技术人员将理解的,任何这类重链恒定区序列可以容易地例如通过分子生物学技术与本文提供的或本领域另外已知的任何其它抗体序列或结构域,包括如本文公开或本领域另外已知的任何框架区、CDR或恒定结构域或其部分(如本文公开或本领域另外已知的任何格式的抗体或结合分子中可存在的)组合。

[0126] 工程化轻链

[0127] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的轻链。

[0128] SSALTQPSALSVTKGQTAKITCQGDLLPRHYAHWYQQKTGQAPKLIVYDDDIRPSGIPERFSGSNSGGVATLTIAGAQAEDADYHCQSADSNDDAVFGGGTHLTVLSQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID

NO:1)

[0129] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的轻链。

[0130] SYELTQPPALSVSPGQTARITCQGDLPRHYAHWYQQKTGQAPKLVIYDDDIRPSGIPERFSGSSSGT  
MATLTISGAQAEDEADYHCQSADSNDVAVFGGGTQLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA  
VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID  
NO:3)

[0131] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的轻链。

[0132] SSALTQPPALSVSKGQTARITCQGNLLPRHYAHWYQQKTGQAPKLIVYDDNIRPSGIPERFSGSNSGG  
VATLTISGAQAEDEADYHCQSADSNDVAVFGGGTQLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA  
VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID  
NO:30)

[0133] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的轻链。

[0134] SSALTQPSALSVSKGQTARITCQGNLLPRHYAHWYQQKTGQAPKLIVYDDNIRPSGIPERFSGSNSGG  
VATLTISGAQAEDEADYHCQSADSNDVAVFGGGTHLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA  
VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID  
NO:32)

[0135] 在一些实施方案中,工程化抗体包含与SEQ ID NO:1、3、30或32具有至少85%、90%、95%、98%或99%序列同一性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,工程化抗体包含与SEQ ID NO:1、3、30或32同一的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,工程化抗体包含相对于SEQ ID NO:1、3、30或32不超过30个、29个、28个、27个、26个、25个、24个、23个、22个、21个、20个、19个、18个、17个、16个、15个、14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个或2个氨基酸取代。在一些实施方案中,工程化抗体包含相对于SEQ ID NO:1、3、30或32,在位置1、2、3、4、8、13、14、19、46、47、65、68、69、75、103、108中的一个或多个位置处具有一个或多个氨基酸取代的轻链氨基酸序列。

[0136] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的轻链可变区。

[0137] SSALTQPSALSVTKGQTAKITCQGDLPRHYAHWYQQKTGQAPKLIVYDDDIRPSGIPERFSGSNSG  
GVATLTIAGAQAEDEADYHCQSADSNDVAVFGGGTHLTVLSQPKAAPSVTLFPPSS (SEQ ID NO:26)

[0138] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的轻链可变区。

[0139] SYELTQPPALSVSPGQTARITCQGDLPRHYAHWYQQKTGQAPKLVIYDDDIRPSGIPERFSGSSSG  
TMATLTISGAQAEDEADYHCQSADSNDVAVFGGGTQLTVLGQPKAAPSVTL (SEQ ID NO:28)

[0140] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的轻链可变区。

[0141] SYELTQPPALSVSPGQTARITCQGNLLPRHYAHWYQQKTGQAPKLVIYDDNIRPSGIPERFSGSSSGT  
TATLTISGAQAEDEADYHCQSASSNDVAVFGGGTQLTVL (SEQ ID NO:6)

[0142] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的轻链可变区。

[0143] SYELTQPPALSVSPGQTARITCQGNLLPRHYAHWYQQKTGQAPKLVIYDDNIRPSGIPERFSGSSSGT  
TATLTISGAQAEDEADYHCQSADLNDDAVFGGGTQLTVL (SEQ ID NO:8)

[0144] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的轻链可变区。

[0145] SSALTQPPALSVSKGQTARITCQGNLLPRHYAHWYQQKTGQAPKLIVYDDNIRPSGIPERFSGSNSGG  
VATLTISGAQAEDEADYHCQSADSNDDAVFGGGTQLTVL (SEQ ID NO:35)

[0146] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可包括包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的轻链可变区。

[0147] SSALTQPSALSVSKGQTARITCQGNLLPRHYAHWYQQKTGQAPKLIVYDDNIRPSGIPERFSGSNSGG  
VATLTISGAQAEDEADYHCQSADSNDDAVFGGGTHLTVL (SEQ ID NO:37)

[0148] 在一些实施方案中,工程化抗体包含与SEQ ID NO:6、8、26、28、35或37具有至少85%、90%、95%、98%或99%序列同一性的轻链可变区氨基酸序列。在一些实施方案中,工程化抗体包含与SEQ ID NO:6、8、26、28、35或37同一的轻链可变区氨基酸序列。在一些实施方案中,工程化抗体包含相对于SEQ ID NO:6、8、26、28、35或37不超过30个、29个、28个、27个、26个、25个、24个、23个、22个、21个、20个、19个、18个、17个、16个、15个、14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个或2个氨基酸取代。在一些实施方案中,工程化抗体包含相对于SEQ ID NO:6、8、26、28、35或37,在位置1、2、3、4、8、13、14、19、46、47、65、68、69、75、103、108中的一个或多个位置处具有一个或多个氨基酸取代的轻链可变区氨基酸序列。

[0149] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体包括包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO:16)的轻链CDR1、包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17)的轻链CDR2和/或包含氨基酸序列QSASSNDDAV (SEQ ID NO:18)的轻链CDR3。

[0150] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体包括包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO:16)的轻链CDR1、包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17)的轻链CDR2和/或包含氨基酸序列QSADLNDDAV (SEQ ID NO:19)的轻链CDR3。

[0151] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体包括包含氨基酸序列QGDLLPRHYAH (SEQ ID NO:9)的轻链CDR1、包含氨基酸序列DDDIRPS (SEQ ID NO:10)的轻链CDR2和/或包含氨基酸序列QSADSNDNAV (SEQ ID NO:11)的轻链CDR3。

[0152] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体包括包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO:16)的轻链CDR1、包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17)的轻链CDR2和/或包含氨基酸序列QSADSNDNAV (SEQ ID NO:11)的轻链CDR3。

[0153] 如本领域技术人员将理解的,任何这类轻链CDR序列可以容易地例如通过分子生物学技术与本文提供的或本领域另外已知的任何其它抗体序列或结构域,包括如本文公开或本领域另外已知的任何框架区、CDR或恒定结构域或其部分(如本文公开或本领域另外已知的任何格式的抗体或结合分子中可存在的)组合。

[0154] 工程化轻链恒定结构域

[0155] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体包括轻链,所述轻链包括任何轻链恒

定结构域序列,例如本领域技术人员已知的轻链恒定序列。如本领域技术人员将意识到的,轻链恒定结构域可以是 $\kappa$ 轻链恒定结构域或 $\lambda$ 轻链恒定结构域。在某些实施方案中,如本文所公开的轻链恒定结构域是 $\kappa$ 轻链恒定结构域。

[0156] 在各种情况下,本文所述的工程化抗体包括包含SEQ ID NO:434的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成的轻链恒定结构域。如本领域技术人员将理解的,任何这类轻链恒定结构域序列可以容易地例如通过分子生物学技术与本文提供的或本领域另外已知的任何其它抗体序列或结构域,包括如本文公开或本领域另外已知的任何框架区、CDR或恒定结构域或其部分(如本文公开或本领域另外已知的任何格式的抗体或结合分子中可存在的)组合。

#### [0157] 示例性工程化抗体

[0158] 工程化抗体可以包括本文所述的各种重链和轻链。在一些实施方案中,工程化抗体可以包括两条重链和轻链。在各种情况下,本公开涵盖这样的抗体,其包含至少一条如本文所公开的重链和/或轻链、至少一个如本文所公开的重链和/或轻链框架结构域、至少一个如本文所公开的重链和/或轻链CDR结构域和/或任何如本文所公开的重链和/或轻链恒定结构域。

[0159] 在各种情况下,本文公开的工程化抗体是同源二聚体单克隆抗体。在各种情况下,本文公开的工程化抗体是异源二聚体抗体。在各种情况下,工程化抗体是例如典型的抗体或双链抗体、三链抗体、四链抗体、微型抗体、大型抗体、串联双体、DVD、BiTe、scFv、TandAb scFv、Fab、Fab<sub>2</sub>、Fab<sub>3</sub>、F(ab')<sub>2</sub>等,或它们的任何组合。

[0160] 在一些实施方案中,本文所述的分离的工程化抗体包括至少一个如下轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含与SEQ ID No 6、8、26、28、35或37中的任一者的氨基酸序列具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同源性或同一性的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成。

[0161] 在一些实施方案中,本文所述的分离的工程化抗体包括至少一个如下重链可变结构域,所述重链可变结构域包含与SEQ ID No 5、27、29、34或36中的任一者的氨基酸序列具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同源性或同一性的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成。

[0162] 在一些实施方案中,本文所述的分离的工程化抗体包括包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12)的重链CDR1;包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLKS (SEQ ID NO:15)的重链CDR2;包含氨基酸序列LRSlyTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14)的重链CDR3;包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO:16)的轻链CDR1;包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17)的轻链CDR2;以及包含氨基酸序列QSASSNDDAV (SEQ ID NO:18)的轻链CDR3。

[0163] 在一些实施方案中,分离的抗体包含与SEQ ID NO:5同一的重链可变区氨基酸序列;和与SEQ ID NO:6同一的轻链可变区氨基酸序列。

[0164] 在一些实施方案中,本文所述的分离的工程化抗体包括包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12)的重链CDR1;包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLKS (SEQ ID NO:15)的重链CDR2;包含氨基酸序列LRSlyTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14)的重链CDR3;包含氨基酸序列

QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO:16) 的轻链CDR1; 包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17) 的轻链CDR2; 以及包含氨基酸序列QSADLNDDAV (SEQ ID NO:19) 的轻链CDR3。

[0165] 在一些实施方案中, 分离的抗体包含与SEQ ID NO:5同一的重链可变区氨基酸序列; 和与SEQ ID NO:8同一的轻链可变区氨基酸序列。

[0166] 在一些实施方案中, 本文所述的分离的工程化抗体包括包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12) 的重链CDR1; 包含氨基酸序列DIANEGSTYYSPSLKS (SEQ ID NO:15) 的重链CDR2; 包含氨基酸序列LRSlyTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14) 的重链CDR3; 包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO:16) 的轻链CDR1; 包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17) 的轻链CDR2; 以及包含氨基酸序列QSADLNDDAV (SEQ ID NO:19) 的轻链CDR3。

[0167] 在一些实施方案中, 分离的抗体包含与SEQ ID NO:29同一的重链可变区氨基酸序列; 和与SEQ ID NO:28同一的轻链可变区氨基酸序列。

[0168] 在一些实施方案中, 本文所述的分离的工程化抗体包括包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12) 的重链CDR1; 包含氨基酸序列DIANDGSTYYSPSLES (SEQ ID NO:13) 的重链CDR2; 包含氨基酸序列LRSlyTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14) 的重链CDR3; 包含氨基酸序列QGDLLPRHYAH (SEQ ID NO:9) 的轻链CDR1; 包含氨基酸序列DDDIRPS (SEQ ID NO:10) 的轻链CDR2; 以及包含氨基酸序列QSADSNDDAV (SEQ ID NO:11) 的轻链CDR3。

[0169] 在一些实施方案中, 分离的抗体包含与SEQ ID NO:27同一的重链可变区氨基酸序列; 和与SEQ ID NO:26同一的轻链可变区氨基酸序列。

[0170] 在一些实施方案中, 本文所述的分离的工程化抗体包括包含氨基酸序列YYAWS (SEQ ID NO:12) 的重链CDR1; 包含氨基酸序列DIANDGSTYYSPSLES (SEQ ID NO:13) 的重链CDR2; 包含氨基酸序列LRSlyTDYDPHYDY (SEQ ID NO:14) 的重链CDR3; 包含氨基酸序列QGNLLPRHYAH (SEQ ID NO:16) 的轻链CDR1; 包含氨基酸序列DDNIRPS (SEQ ID NO:17) 的轻链CDR2; 以及包含氨基酸序列QSADSNDDAV (SEQ ID NO:11) 的轻链CDR3。

[0171] 在一些实施方案中, 分离的抗体包含与SEQ ID NO:34同一的重链可变区氨基酸序列; 和与SEQ ID NO:35同一的轻链可变区氨基酸序列。

[0172] 在一些实施方案中, 分离的抗体包含与SEQ ID NO:36同一的重链可变区氨基酸序列; 和与SEQ ID NO:37同一的轻链可变区氨基酸序列。

[0173] 在一些实施方案中, 轻链和重链包含信号肽。在一些实施方案中, 信号肽包含与氨基酸序列MGWSCIIILFLVATATGVHS (SEQ ID NO:21)、MAWTPLLLPLLTFTVSEA (SEQ ID NO:38) 或MKHLWFFLLLVAAPRWVLS (SEQ ID NO:39) 具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同源性或同一性的氨基酸序列序列。

#### [0174] 工程化融合蛋白

[0175] 在一些实施方案中, 本公开提供了融合蛋白, 所述融合蛋白包含 (i) 本文所述的一个或多个抗原结合区 (例如, 免疫球蛋白、重链抗体、轻链抗体、基于LRR的抗体或具有抗体样性质的其它蛋白质支架的抗原结合区, 以及本领域已知的其它抗原结合部分, 包括例如Fab、Fab'、Fab'2、Fab<sub>2</sub>、Fab<sub>3</sub>、F(ab')<sub>2</sub>、Fd、Fv、Feb、scFv、SMIP、抗体、双链抗体、三链抗体、四链抗体、微型抗体、大型抗体 (maxibody)、串联双体 (tandab)、DVD、BiTe、TandAb等), 例如本文所述的一个或多个可变结构域或其部分 (例如, 本文所述的一个或多个CDR), 和 (ii) 一种

或多种另外的多肽。例如,白蛋白是一种丰富的血清蛋白,可通过与FcRn相互作用所介导的pH依赖性循环而免于降解。在一些实施方案中,如本文所述的一个或多个可变结构域或工程化抗体或其部分(例如,本文所述的一个或多个CDR)与白蛋白、其部分(例如结合FcRn的白蛋白的部分)和/或以提高的亲和力结合FcRn的白蛋白工程化变体融合。在其它情况下,如本文所述的一个或多个可变结构域或工程化抗体或其部分(例如,本文所述的一个或多个CDR)与结合于白蛋白的多肽融合而形成融合蛋白-白蛋白复合物,它又可以结合于FcRn。在一些实施方案中,结合于白蛋白的多肽是单链可变片段(scFv)。白蛋白或其部分可以包括一个或多个氨基酸的突变,所述突变可以改变其与FcRn的结合。这类突变在本领域中是已知的(参见例如Andersen等人,Nature Communications 3:610doi:10.1038/nocmms1607(2012))。

[0176] 在其它情况下,本文所述的一个或多个可变结构域或工程化抗体或其部分(例如,本文所述的一个或多个CDR)与转铁蛋白融合。转铁蛋白通过与转铁蛋白受体结合而再循环(参见例如Widera等人,Adv. Drug Deliv. Rev. 55:1439-66(2003))。

[0177] 在一些实施方案中,本公开提供了融合蛋白,所述融合蛋白包含一个或多个如本文所述的可变结构域或工程化抗体或其部分和一种或多种结合于FcRn的另外的多肽和/或scFv。

#### [0178] 核苷酸序列

[0179] 本公开包括编码一个或多个重链、重链可变结构域、重链框架区、重链CDR、重链恒定结构域、轻链、轻链可变结构域、轻链框架区、轻链CDR、轻链恒定结构域或本文公开的其它免疫球蛋白样序列、抗体或结合分子的核苷酸序列。在各种情况下,这类核苷酸序列可以存在于载体中。在各种情况下,这类核苷酸可以存在于细胞,例如需要治疗的受试者的细胞或用于产生抗体的细胞,例如用于产生抗体的哺乳动物细胞的基因组中。

#### [0180] PEG化

[0181] 在某些实施方案中,如本文所述的工程化抗体可以PEG化以包括单或多(例如,2-4)个PEG部分。与非PEG化参考抗体,例如具有相同氨基酸序列但具有不同的、不同量的PEG化或无PEG化的抗体相比,这类PEG化抗体可展现出增加的半衰期。

[0182] PEG化可以通过本领域已知的任何合适的反应进行。制备PEG化蛋白质的方法通常可包括(a)在多肽变得与一个或多个PEG基团连接的条件下,使多肽与聚乙二醇(如PEG的反应性酯或醛衍生物)反应;以及(b)获得反应产物。一般来讲,用于反应的条件可以基于已知的参数和所需的结果逐个确定。

[0183] 本领域技术人员可以使用多种PEG连接方法。例如,使本文所述的多特异性结合分子PEG化的步骤可以通过与反应性聚乙二醇分子的酰化反应或烷基化反应来进行。

#### [0184] 工程化抗体与CFD和/或Fc受体的pH依赖性结合

[0185] 本文所述的工程化抗体表现出对CFD的亲和力方面的pH依赖性 or 增强的pH依赖性(例如由本文所述的一个或多个可变结构域介导),和/或改变的(例如增加的,例如pH依赖性的)对FcRn的亲和力(例如由本文所述的一个或多个恒定结构域介导)。例如,在一些实施方案中,能够结合CFD的抗体或能够结合CFD的可变结构域在血清pH下(例如在中性pH下或在高于7.4的pH下)以比在区室(例如内体)pH下(例如在酸性pH下或在等于或小于pH 6.0的pH下)更高的亲和力结合CFD。在其中CFD被具有pH依赖性CFD结合的抗体所结合的各种情况

下,pH从血清pH到区室pH(例如从血清到内体)的转变促进CFD和抗体在区室pH和/或在特定区室如内体中的分离(即,“解开”)。在各种情况下,这种pH依赖性结合可以介导抗体再循环和/或CFD降解。在特定情况下,从血清pH到区室pH(例如,从血清到内体)的转变促进CFD和抗体在区室pH下和/或在特定区室如内体中的分离(即,“解开”),使得抗体被FcRn再循环出来并且抗原在溶酶体中降解。在一些这类情况下,CFD结合的pH依赖性提高了抗体的“持续性”,至少因为在再循环时,抗体返回血清并自由结合靶循环CFD。在一些情况下,显示出pH依赖性CFD结合的抗体的再循环可以继续,直到抗体最终降解或被降解,那时单个抗体分子可能已经结合并介导了多个(而不仅仅是一个)CFD分子的失活。

[0186] 在某些实施方案中,本文公开的工程化抗体包括相对于对照(例如,包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)显示出对于Fc受体如FcRn增加的亲和力的恒定结构域(例如Fc结构域)。在一些实施方案中,这种相对于对照增加的亲和力是在血清pH值(例如,高于6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2或更高的pH)下出现的。在一些实施方案中,这种相对于对照增加的亲和力是在区室pH(例如,低于7.2、7.1、7.0、6.9、6.8、6.7、6.6、6.5、6.4、6.3、6.2、6.1、6.0、5.9、5.8、5.7、5.6、5.5、5.4、5.3、5.2、5.1、5.0或更低的pH)下出现的。在某些实施方案中,本文公开的工程化抗体包括显示出对于Fc受体如FcRn的亲和力的pH依赖性(或相对于对照,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体增强的pH依赖性)的恒定结构域(例如Fc结构域)。新生儿Fc受体(FcRn)是一种MHC I类分子,它的功能是保护IgG和白蛋白免受分解代谢,介导IgG跨上皮细胞的转运,并参与专职抗原呈递细胞的抗原呈递。IgG抗体亚型表现出较长的血清半衰期,这主要是由于FcRn从内体清除抗体,使IgG从细胞再循环。

[0187] 在一些具体实例中,如本文所述的工程化抗体在与FcRn结合方面显示出比内源IgG更大的pH依赖性,因为如本文所述的抗体在血清pH与区室(例如内体)pH之间(或在血清与内体之间)在亲和力方面显示出比内源IgG更大的绝对和/或相对差异变化。在一些情况下,与FcRn具有pH依赖性结合的抗体在区室(例如内体)pH下(例如,在酸性pH下或在等于或小于pH 6.0的pH下)显示出比内源IgG更强的与FcRn的结合。在一些情况下,与FcRn具有pH依赖性结合的抗体在血清pH下(例如,在血清中、在中性pH下或在高于pH 7.4的pH下)显示出比内源IgG更强的与FcRn的结合。

[0188] 在某些情况下,本文所述的工程化抗体在与FcRn的结合方面显示出pH依赖性 or 增强的pH依赖性,并且与内源IgG竞争与FcRn的相互作用。因此,在一些情况下,本文所述的工程化抗体以高于内源IgG分子的水平结合FcRn(即,由于其对FcRn的亲和力更大而在与FcRn的结合方面胜过内源IgG分子)和/或相对于内源IgG分子,FcRn亲和力增强的抗体的再循环率净增加。在一些情况下,相对于内源IgG分子,本文所述的工程化抗体与FcRn的这种优先相互作用使得与参考抗体相比抗体半衰期增加。

[0189] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体表现出a)相对于血清pH下,在酸性pH或区室pH下对FcRn增加的亲和力,和/或b)相对于血清pH下,在酸性pH或区室pH下对CFD降低的亲和力。在一些情况下,这种特征组合引起抗体持续性的协同增加,从而促进抗原降解,减少抗原-抗体复合物的积累,和/或在比抗体本身更快地清除抗原-抗体复合物的情况下显著增加抗体的半衰期。这种方法可以高效地靶向和清除CFD。

[0190] 在一些实施方案中,在工程化抗体在血清pH下比在区室pH(例如,内体pH)下对CFD具有更高的亲和力,并且还包括在血清pH下比在区室pH(例如,内体pH)下对FcRn具有更低亲和力的FcRn结合部分的情况下,这类抗体以高亲和力结合血清CFD,形成抗体/CFD复合物。当抗体/CFD复合物被细胞内化(例如通过胞饮作用)并进入具有比血清pH低的pH的内部区室(例如内体)时,抗体对CFD的较低亲和力有利于抗体与CFD的分离,此后释放的CFD可以通过细胞机制(例如通过溶酶体)降解。此外,在区室pH下对FcRn增加的亲和力有利于抗体/FcRn复合物的形成,该复合物可以通过FcRn再循环途径再循环回到血清中,在血清中该复合物暴露于血清或类血清pH条件,该pH有利于将抗体从FcRn复合物释放出来,例如回到血清中。这类过程的最终结果之一是CFD的血清半衰期缩短。这种过程的另一个最终结果是抗体的血清半衰期增加。

[0191] 在如本文公开的各种情况下,血清pH可以是例如血清的典型或特征pH或pH范围、一个或多个受试者的个别或平均血清pH或pH范围、标准的血清pH值、测量的血清pH值、估计的血清pH值或选定的血清pH值。在如本文公开的各种情况下,血清pH可以是大于6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2或更大的pH。在各种情况下,血清pH是6.8至8.2、7.0至8.0、7.0至7.8、7.0至7.6、7.0至7.4或7.0至7.2范围内的pH。在一些实施方案中,血清pH为pH 7.4或约pH 7.4。

[0192] 在如本文公开的各种情况下,区室pH可以是例如内体区室(例如在内体内)的典型或特征pH或pH范围、一个或多个受试者的个别或平均内体区室pH或pH范围、标准的内体区室pH值、测量的内体区室pH值、估计的内体区室pH值或选定的内体区室pH值。在如本文公开的各种情况下,区室pH可以是低于7.2、7.1、7.0、6.9、6.8、6.7、6.6、6.5、6.4、6.3、6.2、6.1、6.0、5.9、5.8、5.7、5.6、5.5、5.4、5.3、5.2、5.1、5.0或更低的pH。在各种情况下,区室pH是5.0至7.2、5.0至7.0、5.0至6.8、5.0至6.6、5.0至6.4、5.0至6.2、5.0至6.0、5.0至5.8、5.0至5.6、5.0至5.4或5.0至5.2范围内的pH。

[0193] 在一些实施方案中,血清CFD蛋白的血清半衰期缩短。例如,工程化抗体与血清CFD的结合使CFD的血清半衰期缩短至小于约7天、6天、5天、4天、3天、2天或1天,或小于约24小时、18小时、12小时或6小时。

[0194] 在一些实施方案中,工程化抗体的血清半衰期增加。例如,工程化抗体与FcRn的结合将抗体的血清半衰期增加到约4天至约45天,例如约5天至约30天、约10天至约30天或约20天至约30天。在某些实施方案中,本文所述的工程化抗体的血清半衰期为约5天、约10天、约15天、约20天、约25天、约30天、约35天、约40天、约45天、约50天或更长。

[0195] 在某些实施方案中,本文所述的工程化抗体表现出对CFD的亲和力的pH依赖性变化。亲和力可以测量为抗体和抗原的 $K_D$ ,平衡解离常数; $K_D$ 和亲和力是负相关的。在各种实施方案中,如本文所述的工程化抗体在血清pH(例如,高于6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2或更高的pH)下或在血清条件下对CFD的 $K_D$ 小于约 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-11}$ 、 $10^{-12}$ 、 $10^{-13}$ 、 $10^{-14}$ 或 $10^{-15}$ M。在某些情况下,如本文所述的抗体在血清pH下对CFD的 $K_D$ 在0.001与1nM之间,例如0.001nM、0.005nM、0.01nM、0.05nM、0.1nM、0.5nM或1nM。在一些实施方案中,在区室pH(例如,低于7.2、7.1、7.0、6.9、6.8、6.7、6.6、6.5、6.4、6.3、6.2、6.1、6.0、5.9、5.8、5.7、5.6、5.5、5.4、5.3、5.2、5.1、5.0或更低的pH)下或在区室条件下对CFD的 $K_D$ 比同一抗体在血清pH下或在血清条件下对CFD的 $K_D$ 高(和/

或在区室pH下或在区室条件下抗体对CFD的亲合力相对于在血清pH下或在血清条件下的亲合力可降低)例如至少2倍,例如2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、75倍、100倍、150倍、200倍、250倍、300倍、350倍、400倍、450倍、500倍、600倍、700倍、800倍、900倍、1000倍、2,000倍、3,000倍、4,000倍、5,000倍、6,000倍、7,000倍、8,000倍、9,000倍、10,000倍或更多。在一些实施方案中,在区室pH(例如,低于7.2、7.1、7.0、6.9、6.8、6.7、6.6、6.5、6.4、6.3、6.2、6.1、6.0、5.9、5.8、5.7、5.6、5.5、5.4、5.3、5.2、5.1、5.0或更低的pH)下或在区室条件下对CFD的 $K_D$ 可以例如大于 $10^{-15}$ 、 $10^{-14}$ 、 $10^{-13}$ 、 $10^{-12}$ 、 $10^{-11}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 或 $10^{-3}$ M。在某些情况下,如本文所述的工程化抗体在区室pH下或在区室条件下对CFD的 $K_D$ 可以例如等于或大于1nM,例如1nM、2nM、3nM、4nM、5nM、10nM、20nM、30nM、40nM、50nM、100nM、200nM、300nM、400nM、500nM、600nM、700nM、800nM、900nM、1mM或更多。

[0196] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体表现出对受体如Fc受体(例如FcRn)的亲合力的pH依赖性变化。在各种实施方案中,如本文所述的工程化抗体在区室pH(例如,低于7.2、7.1、7.0、6.9、6.8、6.7、6.6、6.5、6.4、6.3、6.2、6.1、6.0、5.9、5.8、5.7、5.6、5.5、5.4、5.3、5.2、5.1、5.0或更低的pH)下或在区室条件下对FcRn的 $K_D$ 可小于 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-11}$ 、 $10^{-12}$ 、 $10^{-13}$ 、 $10^{-14}$ 或 $10^{-15}$ M。在一些实施方案中,在血清pH(例如,高于6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2或更高的pH)下或在血清条件下对FcRn的 $K_D$ 比同一抗体在区室pH下或在区室条件下对FcRn的 $K_D$ 高(和/或在血清pH下或在血清条件下抗体对FcRn的亲合力相对于在区室pH下或在区室条件下的亲合力可降低),例如高至少2倍,例如2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、75倍、100倍、150倍、200倍、250倍、300倍、350倍、400倍、450倍、500倍、600倍、700倍、800倍、900倍、1000倍、2,000倍、3,000倍、4,000倍、5,000倍、6,000倍、7,000倍、8,000倍、9,000倍、10,000倍或更多。在一些实施方案中,在血清pH(例如,高于6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2或更高的pH)下或在血清条件下对FcRn的 $K_D$ 例如大于 $10^{-15}$ 、 $10^{-14}$ 、 $10^{-13}$ 、 $10^{-12}$ 、 $10^{-11}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 或 $10^{-3}$ M。在某些情况下,如本文所述的工程化抗体在血清pH下或在血清条件下对FcRn的 $K_D$ 例如等于或大于1nM,例如1nM、2nM、3nM、4nM、5nM、10nM、20nM、30nM、40nM、50nM、100nM、200nM、300nM、400nM、500nM、600nM、700nM、800nM、900nM、1mM或更多。

[0197] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体表现出对CFD的亲合力的pH依赖性变化和对Fc受体如FcRn的亲合力的pH依赖性变化。因此,在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体在血清条件下或在血清pH下表现出比在区室条件下或在区室pH下更大的对CFD的亲合力,并且在区室条件下或在区室pH下也表现出比在血清条件下或在血清pH值下更大的对FcRn的亲合力。在各种实施方案中,工程化抗体在血清pH(例如,高于6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2或更高的pH)下或在血清条件下对CFD的 $K_D$ 可小于 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-11}$ 、 $10^{-12}$ 、 $10^{-13}$ 、 $10^{-14}$ 或 $10^{-15}$ M。在某些情况下,工程化抗体在血清pH下对CFD的 $K_D$ 在0.001与1nM之间,例如0.001nM、0.005nM、0.01nM、0.05nM、0.1nM、0.5nM或1nM。在某些情况下,如本文所述的工程化抗体在区室pH下对CFD的 $K_D$ 在0.001与1nM之间,例如0.001nM、0.005nM、0.01nM、0.05nM、0.1nM、0.5nM或1nM。在一些实施方案中,在区室pH(例如,低于7.2、7.1、7.0、6.9、6.8、6.7、6.6、6.5、6.4、6.3、6.2、6.1、

6.0、5.9、5.8、5.7、5.6、5.5、5.4、5.3、5.2、5.1、5.0或更低的pH)下或在区室条件下对CFD的 $K_D$ 比同一抗体在血清pH下或在血清条件下对CFD的 $K_D$ 高(和/或在区室pH下或在区室条件下抗体对CFD的亲和力相对于在血清pH下或在血清条件下的亲和力降低)例如至少2倍,例如2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、75倍、100倍、150倍、200倍、250倍、300倍、350倍、400倍、450倍、500倍、600倍、700倍、800倍、900倍、1000倍、2,000倍、3,000倍、4,000倍、5,000倍、6,000倍、7,000倍、8,000倍、9,000倍、10,000倍或更多。在一些实施方案中,在区室pH(例如,低于7.2、7.1、7.0、6.9、6.8、6.7、6.6、6.5、6.4、6.3、6.2、6.1、6.0、5.9、5.8、5.7、5.6、5.5、5.4、5.3、5.2、5.1、5.0或更低的pH)下或在区室条件下对CFD的 $K_D$ 例如大于 $10^{-15}$ 、 $10^{-14}$ 、 $10^{-13}$ 、 $10^{-12}$ 、 $10^{-11}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 或 $10^{-3}$ M。在某些情况下,工程化抗体在区室pH下或在区室条件下对CFD的 $K_D$ 例如等于或大于1nM,例如1nM、2nM、3nM、4nM、5nM、10nM、20nM、30nM、40nM、50nM、100nM、200nM、300nM、400nM、500nM、600nM、700nM、800nM、900nM、1mM或更多。在一些实施方案中,工程化抗体在血清pH(例如,高于6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2或更高的pH)下或在血清条件下对FcRn的 $K_D$ 比同一抗体在区室pH下或在区室条件下对FcRn的 $K_D$ 高(和/或在血清pH下或在血清条件下抗体对FcRn的亲和力相对于在区室pH下或在区室条件下的亲和力降低)例如至少2倍,例如2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、75倍、100倍、150倍、200倍、250倍、300倍、350倍、400倍、450倍、500倍、600倍、700倍、800倍、900倍、1000倍、2,000倍、3,000倍、4,000倍、5,000倍、6,000倍、7,000倍、8,000倍、9,000倍、10,000倍或更多。在一些实施方案中,工程化抗体在血清pH(例如,高于6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2或更高的pH)下或在血清条件下对FcRn的 $K_D$ 例如大于 $10^{-15}$ 、 $10^{-14}$ 、 $10^{-13}$ 、 $10^{-12}$ 、 $10^{-11}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 或 $10^{-3}$ M。在某些情况下,工程化抗体在血清pH下或在血清条件下对FcRn的 $K_D$ 例如等于或大于1nM,例如1nM、2nM、3nM、4nM、5nM、10nM、20nM、30nM、40nM、50nM、100nM、200nM、300nM、400nM、500nM、600nM、700nM、800nM、900nM、1mM或更多。在一些实施方案中,工程化抗体在区室pH(例如,低于7.2、7.1、7.0、6.9、6.8、6.7、6.6、6.5、6.4、6.3、6.2、6.1、6.0、5.9、5.8、5.7、5.6、5.5、5.4、5.3、5.2、5.1、5.0或更低的pH)下或在区室条件下对FcRn的 $K_D$ 小于 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-11}$ 、 $10^{-12}$ 、 $10^{-13}$ 、 $10^{-14}$ 或 $10^{-15}$ M。

[0198] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体在施用于受试者时,例如在受试者的血清中表现出比参考抗体(例如,包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)更长的半衰期。在各种情况下,参考抗体(例如,包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)在血清中的半衰期可以是例如250至300小时。在各种情况下,如本文所述的工程化抗体在血清中的半衰期可以是例如至少250小时,例如至少260小时、270小时、280小时、290小时或300小时。在某些实施方案中,如本文所述的工程化抗体在血清中的半衰期可以是至少300小时,例如至少350小时、400小时、450小时、500小时、550小时、600小时、650小时、700小时、750小时、800小时、850小时、900小时、950小时或1,000小时。在某些实施方案中,如本文所述的工程化抗体在血清中的半衰期可以是至少1,000小时,例如至少1,500小时、2,000小时、2,500小时、3,000小时、3,500小时、4,000小时、4,500小时、5,000小时、6,000小时、7,000小时、8,000小时、9,000小时、10,000小时、11,000小时、12,000小时、13,000小时、14,

000小时或15,000小时或更长。在各种实施方案中,如本文所述的工程化抗体在血清中的半衰期可以是至少12天、15天、20天、25天、30天、35天、40天、45天、50天、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月或更长。在各种情况下,与参考抗体(例如,包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)相比,如本文所述的工程化抗体在血清中的半衰期可以增加至少例如2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、75倍、100倍或更多的倍数。

[0199] 在某些实施方案中,本文所述的工程化抗体表现出增加的血浆半衰期、增加的血浆中平均保留时间和/或增加的CFD清除水平(例如相对于参考抗体,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)。这些参数可以通过本领域技术人员已知的方法确定(例如,如以下中所述:Nestorov等人, J.Clin.Pharmacol.48:406-417 (2008);Leveque等人, Anticancer Research 25:2327-2344 (2005);Igawa等人, PLoS One 8:e63236.doi:10.1371/journal.pone.0063236 (2013))。举例来说,相对于参考抗体,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体,本文所述的工程化抗体(例如,单剂量的这类工程化抗体)使血浆中CFD的水平降低至少10倍、50倍、100倍、250倍、500倍、750倍、1000倍、1500倍。

[0200] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体抑制CFD的裂解(和/或血清中CFD的水平)。在各种实施方案中,与来自同一患者的先前测量值或参考值相比,如本文公开的工程化抗体抑制CFD的裂解(和/或血清中CFD的水平)。在具体的实施方案中,施用如本文公开的工程化抗体比类似施用参考抗体,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体更多地降低CFD裂解的水平或量(和/或CFDa的水平或量和/或CFDb的水平或量)(例如,降低水平超过约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、150%、200%或更多)。

#### [0201] 工程化多特异性分子

[0202] 本文在工程化抗CFD抗体的背景下描述的方法和组合物可以应用于另外的蛋白质以产生多特异性结合分子。根据本公开的多特异性结合分子被工程化成包括一个或多个结合部分,所述一个或多个结合部分以pH依赖性方式特异性结合一个或多个感兴趣靶标。多特异性结合分子涵盖核酸(例如RNA和DNA)、蛋白质(例如抗体)以及它们的组合。pH依赖性结合部分可以是或包括例如核酸(例如RNA和DNA)和适体、多肽(例如抗体或其片段、白蛋白、受体、配体、信号肽、抗生物素蛋白和蛋白A)、多糖、生物素、疏水基团、亲水基团、药物和任何与受体结合的有机分子。

#### [0203] 作为结合部分的抗体或其片段

[0204] 在一些实施方案中,本文所述的多特异性结合分子是工程化抗体。在一些情况下,本文所述的一个或多个结合部分是或包括抗体、其抗原结合片段和/或其Fc区(或Fc片段)。IgG抗体的基本结构由通过二硫键连接在一起的两条相同的多肽轻链和两条相同的多肽重链组成。位于每条链氨基端的第一结构域的氨基酸序列是可变的,这提供了在每个单独的抗体中发现的抗体结合特异性。这些被称为重链可变(VH)和轻链可变(VL)区。每条链的其它结构域的氨基酸序列相对不变,称为重链恒定(CH)和轻链恒定(CL)区。对于IgG抗体,轻链包括一个可变区(VL)和一个恒定区(CL)。IgG重链包括可变区(VH)、第一恒定区(CH1)、较

链区、第二恒定区 (CH2) 和第三恒定区 (CH3)。在IgE和IgM抗体中,重链包括一个另外的恒定区 (CH4)。

[0205] 本文所述的抗体可包括例如单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体、人抗体、人源化抗体、骆驼化抗体、嵌合抗体、单链Fv (scFv)、二硫键连接的Fv (sdFv) 和抗独特型 (抗-Id) 抗体,以及上述任何抗体的抗原结合片段。抗体可以是任何类型 (例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类 (例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2) 或亚类的抗体。

[0206] 如本文所用,术语“Fc片段”是指保留本文所述的Fc功能和/或活性 (如与Fc受体结合) 的Fc区的一个或多个片段。如本文所用,术语抗体的“抗原结合片段”是指保留特异性结合于抗原的能力的抗体的一个或多个片段。涵盖在术语抗体的“抗原结合片段”中的结合片段的实例包括Fab片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、Fd片段、Fv片段、scFv片段、dAb片段 (Ward等人, (1989)Nature 341:544-546) 和分离的互补决定区 (CDR)。这些抗体片段可以使用本领域技术人员已知的常规技术获得,并且可以针对效用与完整抗体相同的方式筛选片段。

[0207] 抗体或片段可以通过本领域已知的用于合成抗体的任何方法产生 (参见例如Harlow等人,Antibodies:A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press,第2版1988);Brinkman等人,1995,J.Immunol.Methods 182:41-50;WO 92/22324;WO 98/46645)。可以使用例如Morrison,1985,Science 229:1202中描述的方法产生嵌合抗体,并通过例如美国专利No.6,180,370中描述的方法产生人源化抗体。

[0208] 本文所述的组合物和方法的另外的抗体是双特异性抗体和多价抗体,如例如以下中所述:Segal等人,J.Immunol.Methods 248:1-6 (2001);和Tutt等人,J.Immunol.147:60 (1991)。

[0209] 在一些实施方案中,本文所述的多特异性分子是工程化抗体 (例如,被工程化成具有对抗原和对FcRn的pH敏感性结合)。

[0210] 工程化多特异性分子的工程化抗原结合区

[0211] 在一些实施方案中,结合部分是或包括抗体 (例如IgG抗体,例如IgG1、IgG2或IgG3抗体) 或抗原结合片段,其被工程化成相对于参考抗体或抗原结合片段以改变的方式 (例如以pH敏感性方式,例如以更强或更弱的pH敏感性方式) 与靶标 (即,抗原) 结合。例如,可以通过对一个或多个抗体CDR内和/或抗体CDR结构所涉及的位置处的氨基酸进行修饰 (例如通过添加、缺失或取代) 来工程化抗体。可以修饰的抗体的示例性非限制性位点包括以下 (氨基酸位置基于Kabat编号 (Kabat等人, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest,NIH) 指示)。

[0212] 重链:H27、H31、H32、H33、H35、H50、H58、H59、H61、H62、H63、H64、H65、H99、H100b和H102

[0213] 轻链:L24、L27、L28、L32、L53、L54、L56、L90、L92和L94。

[0214] 在一些实施方案中,这些公开的氨基酸中的一者或多者可以经组氨酸、精氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺或谷氨酰胺取代。不希望受理论束缚,据信用组氨酸取代这些位置中的一个或多个位置处的氨基酸可以产生具有pH依赖性抗原结合性质的抗体。在一些实施方案中,非组氨酸残基经组氨酸残基取代。在一些实施方案中,组氨酸残基经非组氨酸残基取代。另外的工程化抗原结合区包括例如美国公布No.20110229489中描述的抗原结合区。

[0215] 工程化多特异性分子的工程化恒定区

[0216] 在一些情况下,结合部分是或包括结合一种或多种Fc受体(例如,Fc  $\gamma$  RI、Fc  $\gamma$  RIIA、Fc  $\gamma$  RIIB、Fc  $\gamma$  RIIIA、Fc  $\gamma$  RIIB、Fc  $\gamma$  RIV或FcRn受体)的抗体恒定区、Fc区或Fc片段。在一些实施方案中,恒定区、Fc区或Fc片段被工程化成相对于参考恒定区、Fc区或Fc片段以改变的方式(例如以pH敏感性方式,例如以更强或更弱的pH敏感性方式)与靶标(例如,Fc受体)结合。

[0217] 在一些情况下,结合部分可以是或包括IgG抗体的恒定区、Fc区或Fc片段,被工程化成包括本文所述的氨基酸残基(例如,251-256、285-290、308-314、385-389和428-436(Kabat numbering(Kabat等人,(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,NIH)))中一者或多者的氨基酸添加、缺失或取代。

[0218] 产生多特异性结合分子

[0219] 在一些实施方案中,本文所述的多特异性结合分子通过使用已知技术进行诱变而被工程化成包括表现出与一种或多种靶标的pH敏感性结合的一个或多个结合部分。例如,可以获得参考多肽(例如治疗性抗体或治疗性融合蛋白)的序列,并且可以对一个或多个氨基酸残基进行添加、缺失或取代。在一些实施方案中,一个或多个氨基酸残基经组氨酸、精氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺或谷氨酰胺取代。在一些实施方案中,一个或多个氨基酸经组氨酸取代。不希望受理论束缚,据信用组氨酸取代氨基酸残基可引起质子化位点的插入,这可以增加结合部分的pH敏感性。多肽可以使用标准方法来产生并如本文所述测定与感兴趣靶标的结合。增加结合部分的pH敏感性的另外的方法描述于例如Sarkar等人,Nature Biotechnology 20:908-913(2002);Murtaugh等人,Protein Science20:1619-1631(2011);以及美国公布No.20110229489。

[0220] 在一些实施方案中,选择第一个感兴趣靶标,并提供、获得和/或产生(例如,使用如本文所述的已知方法)选择性地结合于该靶标的抗体。取代(例如,用组氨酸、精氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺或谷氨酰胺取代)抗原结合区和/或Fc区的一个或多个氨基酸,并且测定与靶标(以及,另外或替代地,与FcRn)结合的pH敏感性。选择展现出所需结合亲和力的抗体作为多特异性结合分子。

[0221] 在一些实施方案中,提供、获得和/或产生天然结合于感兴趣靶标的多肽。使用已知的方法将多肽与本文所述的Fc区或Fc片段(例如,其以期望的结合亲和力结合于FcRn)缀合。例如,多肽和Fc区或Fc片段可以通过化学方式或通过重组表达缀合成融合蛋白。另外或替代地,可以取代(例如,用组氨酸、精氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺或谷氨酰胺取代)多肽的一个或多个氨基酸,并且测定多肽与靶标结合的pH敏感性。

[0222] 在一些实施方案中,本文所述的多特异性结合分子被工程化成包括一个或多个结合部分,所述一个或多个结合部分通过筛选鉴定和/或选出。例如,可以使用表达抗原结合部分的文库,例如噬菌体文库,鉴定以pH敏感性方式结合抗原的抗原结合部分。可以针对在第一pH下(例如,在pH 7.4下)对抗原具有第一亲和力并且在第二pH下(例如,在pH 5.5下)对抗原具有第二亲和力的抗原结合部分筛选这样的文库。本文所述的多特异性结合分子可被工程化成包括这类鉴定的pH敏感性抗原结合部分。另外和/或替代地,可以使用文库鉴定以pH敏感性方式结合FcRn的FcRn结合部分。筛选重组抗体文库的方法是已知的(参见例如Hoogenboom,Nature Biotech.23:1105-1116(2005);美国专利No.5,837,500;美国专利

No.5,571,698;WO 2012/044831))。

[0223] 测量结合部分与靶标的相互作用

[0224] 本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)与靶标(例如CFD和/或FcRn)的结合性质可以通过本领域已知的方法,例如以下方法之一来测量:BIACORE分析、酶联免疫吸附测定(ELISA)、X射线晶体学、序列分析和扫描诱变。抗体与CFD和/或FcRn的结合相互作用可以使用表面等离子体共振(SPR)来分析。SPR或生物分子相互作用分析(BIA)实时检测生物特异性相互作用,无需标记任何相互作用物。BIA芯片结合表面的质量变化(指示结合事件)会导致表面附近光的折射率发生变化。折射率变化会产生可检测信号,该可检测信号被测量为生物分子之间实时反应的指示。使用SPR的方法描述于例如美国专利No.5,641,640;Raether(1988)Surface Plasmons Springer Verlag;Sjolander和Urbaniczky(1991)Anal.Chem.63:2338-2345;Szabo等人(1995)Curr.Opin.Struct.Biol.5:699-705以及BIAcore International AB(Uppsala,Sweden)提供的线上资源中。另外,还可以使用从Sapidyne Instruments(Boise,同上)获得的KinExA®(Kinetic Exclusion Assay)测定。

[0225] 来自SPR的信息可用于提供关于结合部分与靶标(例如,工程化抗体与CFD和/或FcRn)的结合的平衡解离常数( $K_D$ )和动力学参数(包括 $K_{on}$ 和 $K_{off}$ )的准确和定量测量。这类数据可以用来比较不同的分子。来自SPR的信息也可用于开发结构-活性关系(SAR)。例如,可以评估特定结合部分在各种pH水平下与靶标的动力学和平衡结合参数。可以鉴定与特定结合参数,例如特定pH水平下的高亲和力、低亲和力和慢 $K_{off}$ 相关的给定位置处的变异氨基酸。

[0226] 治疗方法

[0227] 在一些实施方案中,本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)用于治疗一种或多种补体相关疾患的方法中。在一些实施方案中,本文所述的多特异性结合分子(例如本文所述的工程化抗体)用作药物。补体相关疾患可以包括但不限于由以下症状引起的疾患,所述症状包括,包括全部或部分由增加或减少的补体活性导致的症状,或已知与增加或减少的补体活性一起发生的症状。CFD是病理学的关键,并且可以在血液学、神经学和肾脏病症等方面采用CFD阻断。补体相关疾患的实例包括但不限于周围神经病、冷球蛋白血症、冷球蛋白血症性神经病、神经结节病年龄相关性黄斑变性(AMD)、阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、抗磷脂综合征(或抗磷脂抗体综合征)或休斯综合征(Hughes syndrome)、血管炎性神经病、反射性交感神经营养不良、复杂性区域疼痛综合征、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病抗中性粒细胞胞质抗体(ANCA)相关性血管炎(AAV)、哮喘、动脉粥样硬化、非典型溶血性尿毒症综合征(aHUS)、自身免疫性溶血性贫血、脑损伤、C3肾病、毛细血管渗漏综合征、心肺旁路和血液透析、心血管病症、灾难性抗磷脂综合征、脑血管病症、慢性炎症性脱髓鞘性神经病、冷凝集素病(CAD)、德戈斯病(Degos disease)、致密沉积物病(DDD)、皮炎、炎症性肌病、皮炎、肌炎、抗体诱发性肌炎、糖尿病血管病、糖尿病视网膜病、扩张型心肌病、弥散性血管内凝血(DIC)、肝酶升高、大疱性表皮松解症、红斑狼疮相关血管炎、肾小球肾炎、古德帕斯丘综合征(Goodpastures syndrome)、格雷夫斯病(Graves' disease)、格林-巴利综合征(Guillain-Barre syndrome, GBS)、桥本甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、HELLP综合征、溶血、镰状细胞病舍-亨二

氏紫癜肾炎 (Henoch-Schonlein purpura nephritis)、特发性血小板减少性紫癜 (ITP)、心肌梗塞损伤、缺血再灌注损伤、川崎病 (Kawasaki's disease)、狼疮性肾炎、免疫复合物血管炎、黄斑变性 (例如年龄相关性黄斑变性 (AMD)、肠系膜/肠血管病症、多灶性运动神经病、多发性硬化症、重症肌无力、心肌炎、新生儿同种免疫性血小板减少症 (NAITP)、视神经脊髓炎、器官或组织移植、阵发性冷性血红蛋白尿、阵发性睡眠性血红蛋白尿 (PNH)、少免疫性血管炎、天疱疮、经皮腔内冠状动脉成形术、周围血管疾病、输血后紫癜、牛皮癣、反复流产、肾血管病症、支架置入后再狭窄、移植和/或再植血运重建、冠状动脉斑块旋磨术、类风湿性关节炎、银屑病关节炎、硬皮病、脓毒症、脓毒性休克、志贺毒素大肠杆菌相关溶血性尿毒症综合征 (STEC-HUS)、脊髓损伤、自发性流产、全身炎症反应、肾小球肾炎、系统性狼疮、系统性红斑狼疮 (SLE)、系统性红斑狼疮相关血管炎、高安病 (Takayasu's disease)、胸腹主动脉瘤、血栓性血小板减少性紫癜 (TTP)、移植排斥、创伤性脑损伤、I型糖尿病、典型或感染性溶血尿毒症综合征、血管炎、与类风湿性关节炎相关的血管炎和静脉气体栓塞或任何补体相关的炎症反应。

[0228] 补体相关病症包括补体相关肺部病症,例如但不限于哮喘、支气管炎、慢性阻塞性肺病 (COPD)、间质性肺病、 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶缺乏、肺气肿、支气管扩张、闭塞性细支气管炎、肺炎、结节病、肺纤维化和胶原血管病症。

[0229] 在一些实施方案中,本文所述的多特异性结合分子 (例如,本文所述的工程化抗体) 可用于治疗移植物排斥/移植物抗宿主病 (GVHD)、再灌注损伤 (例如,在心肺旁路或组织移植之后) 以及其它形式的创伤性损伤 (例如烧伤 (例如严重烧伤)、钝器损伤、脊柱损伤或冻伤) 后的组织损伤。在一些实施方案中,本文所述的多特异性结合分子 (例如,本文所述的工程化抗体) 可单独或与第二消炎药组合用于治疗炎症性病症,例如但不限于 RA (上述)、炎症性肠病、败血症 (上述)、感染性休克、急性肺损伤、弥散性血管内凝血 (DIC) 或克罗恩病。在一些实施方案中,第二消炎药可以是选自以下的一种: NSAID、皮质类固醇、甲氨蝶呤 (methotrexate)、羟氯喹 (hydroxychloroquine)、抗 TNF 剂 (例如依那西普 (etanercept) 和英夫利昔单抗 (infliximab))、B 细胞耗竭剂 (例如利妥昔单抗 (rituximab))、白细胞介素-1 拮抗剂或 T 细胞共刺激阻断剂,如阿巴西普 (abatacept)。在一些实施方案中,本文所述的多特异性结合分子 (例如,本文所述的工程化抗体) 可用于治疗过敏性哮喘、过敏性鼻炎、高 IgE 综合征/乔布氏综合征 (Job's syndrome)、食物过敏、阵发性睡眠性血红蛋白尿症 (PNH)、炎症肠道疾病和/或其它大器官细胞因子介导的炎症疾患。

[0230] 在一些实施方案中,如本文所述的工程化抗体用于治疗 PNH 或 aHUS 的方法中。阵发性睡眠性血红蛋白尿 (PNH), 以前称为马米二氏综合征 (Marchiafava-Micheli syndrome), 是一种罕见的、获得性的、危及生命的血液疾病,其特征是补体系统破坏红细胞。

[0231] 在 PNH 患者中,红细胞 (RBC) 上不受控制的 AP 激活会导致溶血性贫血。大约 15-30% 的 PNH 患者存在血管外溶血, C5 抑制作用无法掩盖这种情况, 尽管进行了治疗, 但仍需要常规输血。由于 C5 和 CR1 的多态性, 大约 1-5% 的患者对某些 C5 治疗没有反应。尽管接种了疫苗, 但少数用某些 C5 治疗进行治疗的患者仍可能发生脑膜炎奈瑟菌 (*Neisseria meningitidis*) 感染。尽管可以使用 C5 抑制疗法, 但补体病症 (例如 PNH 和 aHUS) 仍存在未满足的医疗需求。

[0232] 如果不治疗, PNH 红细胞可能会发生血管内溶血。在存在抗 C5 疗法的情况下, C3 片

段沉积可能导致呼吸困难和血管外溶血。肝脏和脾脏中的RES巨噬细胞也可能发生C3调理作用。因子D抑制剂治疗可防止PNH红细胞发生血管内和血管外溶血。

[0233] 在各种情况下,本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)治疗、减轻PNH、降低其一种或多种症状或生物标志物的发生率、降低其一种或多种症状或生物标志物的频率或降低其一种或多种症状或生物标志物的水平或量。PNH的症状和生物标志物包括但不限于溶血、腹痛(例如严重腹痛或胃痛)、腿痛、腿部肿胀、头痛(例如严重头痛)、背痛、虚弱、疲劳(例如,疲倦、日常活动困难、注意力不集中、头晕、虚弱)、气短、吞咽困难、皮肤发黄、眼睛发黄、勃起功能障碍、贫血、肺动脉高压、反复感染、易受感染、尿液有色(例如深色)、布-加综合征(Budd-Chiari syndrome)、心悸、骨髓增生异常、急性白血病、月经过多、头晕、烦躁、尿中带血、血栓形成(例如静脉血栓形成,例如肝静脉血栓形成或矢状静脉血栓形成)、平滑肌肌张力障碍、腹部收缩、食管痉挛、慢性肾病、哈姆酸溶血试验结果(Ham's acid hemolysis test result)、蔗糖溶血试验结果、针对细胞结合的补体调节因子的单克隆抗体(CD59、CD24、CD66b、CD16、荧光标记的气溶素(FLAER))与外周血样品的结合、高血清乳酸脱氢酶、血清肌酸酐水平、纤维蛋白溶解、纤溶酶介导的凝块降解、D-二聚体水平和本领域已知的其它。感染、饮酒、运动或压力后,症状可能会加重。具体症状和症状的进展因受试者而异。

[0234] 因此,在一些实施方案中,将本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)施用于有需要的受试者,例如患有阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)的受试者或患有非典型溶血性尿毒症综合征(aHUS)的受试者。

[0235] 在各种情况下,施用本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)引起如本文所述或本领域中另外已知的PNH的一种或多种症状或生物标志物的发生率、频率、水平和/或量与受试者的先前测量值或参考值相比减少,例如一种或多种症状或生物标志物减少至少3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%。

[0236] 在一些实施方案中,向患有PNH的受试者施用本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)引起PNH的一种或多种症状或生物标志物比参考抗体,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体在可比较的条件下更大的减少或改善。对患有PNH的受试者进行治疗可以引起感染、饮酒、运动或压力中的任一者之后症状的频率或症状增加的可能性降低。

[0237] 非典型溶血性尿毒症综合征(aHUS)是一种主要影响肾功能的疾病。这种疾患可能发生在任何年龄,会导致肾脏小血管中形成异常血凝块(血栓)。如果这些凝块限制或阻塞血流,可能会导致严重的医疗问题。非典型溶血性尿毒症综合征的特点是与凝血异常相关的三个主要特征:溶血性贫血、血小板减少和肾衰竭。与非典型溶血性尿毒症综合征相关的基因突变导致补体系统不受控制的激活。过度活跃的系统会攻击肾脏血管内的细胞,引起炎症和异常凝块的形成。这些异常会导致肾脏损伤,在许多情况下会导致肾衰竭和ESRD。

[0238] 在各种情况下,本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)治疗、减轻aHUS、降低其一种或多种症状或生物标志物的发生率、降低其一种或多种症状或生物标志物的频率或降低其一种或多种症状或生物标志物的水平或量。aHUS的症状包括但不限于恶心、呕吐、精神错乱、呼吸短促(呼吸困难)、疲劳、贫血、血小板减少、肾损伤、肾衰竭、

终末期肾病、中风、胃肠道问题(例如严重胃痛)、结肠炎症、血管损伤、心脏病发作、神经系统问题(例如癫痫发作)、贫血、溶血、皮肤苍白、黄疸、水肿、心率加快、眼睛发黄、血栓性微血管病(TMA)、移植相关的血栓性微血管病(TA-TMA)、中风、心脏病发作、不适、微血管病性贫血、血性腹泻、肺部并发症、胰腺炎、裂片细胞、脑病、昏迷、恶性高血压、蛋白尿、血小板减少、血红蛋白减少、七珠蛋白(heptaglobin)减少、乳酸脱氢酶(LDH)增加、肌酸增加和/或血尿素氮增加。

[0239] 在各种情况下,向患有aHUS的受试者施用本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)引起如本文所述或本领域中另外已知的aHUS的一种或多种症状或生物标志物的发生率、频率、水平或量与受试者的先前测量值或参考值相比减少,例如一种或多种症状减少至少3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%。

[0240] 在一些实施方案中,向患有aHUS的受试者施用本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)引起aHUS的一种或多种症状比参考蛋白,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体在可比较的条件下更大的减少或改善。

[0241] 在一些实施方案中,如本文所述的工程化抗体用于治疗获得性微血栓性疾病的方法中。以血小板减少、溶血性贫血、肾衰竭为特征的获得性微血栓性疾病影响着全球百万分之四的人口和美国20%的造血干细胞接受者(美国每年8000人)。血栓性微血管病,缩写为TMA,是一种由于内皮损伤而导致毛细血管和小动脉血栓形成的病变。这些疾病可能是aHUS等基因补体突变造成的。它们也可能继发于一些药物、干细胞移植、感染相关、怀孕、手术、恶性肿瘤或STEC相关。它可能与血小板减少、贫血、紫癜和肾衰竭有关。典型的TMA是溶血性尿毒症综合征和血栓性血小板减少性紫癜。具有TMA的其它疾患包括非典型溶血性尿毒症综合征、弥散性血管内凝血、硬皮病肾危象、恶性高血压、抗磷脂抗体综合征和药物毒性,例如钙调神经磷酸酶抑制剂毒性。TMA通常会导致内皮血栓抵抗力下降、白细胞与受损内皮的粘附、补体消耗、血管剪切应力增强以及冯威利布兰德因子(vWF)片段化异常。

[0242] 移植相关血栓性微血管病(TA-TMA)可表现出移植本身的并发症,包括感染、移植物抗宿主病和弥散性血管内凝血,以及免疫抑制药物的副作用,可与TMA类似。由于对TA-TMA的病理生理学知之甚少,目前的治疗方案并不理想,而且该疾患的死亡率非常高。在各种情况下,本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)治疗、减轻TMA或TA-TMA、降低其一种或多种症状或生物标志物的发生率、降低其一种或多种症状或生物标志物的频率或降低其一种或多种症状或生物标志物的水平或量。TA-TMA的症状包括但不限于发烧、微血管病性溶血性贫血(见血涂片中的裂片细胞)、肾衰竭、血小板减少、神经系统表现,也可能出现多器官衰竭或损伤,影响大脑、肾脏、心脏、肝脏和其它主要器官。

[0243] 绝大多数TA-TMA患者缺乏对ADAMTS13(含1型血小板反应蛋白基序的解整合素和金属蛋白酶,成员13)活性的抑制,低于正常值的5%至10%,并且对血浆置换没有完全反应。此外,TA-TMA的表现具有高度异质性,从无症状、低水平红细胞破碎到暴发性疾病。TA-TMA的诊断最可靠的方法是检查外周血涂片中的红细胞碎片。

[0244] 在各种情况下,向患有TA-TMA的受试者施用本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的抗体)引起如本文所述或本领域中另外已知的TA-TMA的一种或多种症状或生物

标志物的发生率、频率、水平或量与受试者的先前测量值或参考值相比减少,例如一种或多种症状减少至少3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%。

[0245] 在一些实施方案中,向患有TA-TMA的受试者施用本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)引起TA-TMA的一种或多种症状比参考蛋白,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体在可比较的条件下更大的减少或改善。

[0246] 在一些实施方案中,如本文所述的工程化抗体用于治疗C3肾小球病(C3G)的方法中。C3肾小球病(C3G)是一组罕见的肾脏疾病,其特征是C3沉积而无免疫球蛋白沉积。这些肾脏疾病根据组织学可细分为致密沉积物病(DDD)和C3肾小球肾炎(C3GN)。C3G患者具有补体旁路途径基因的常见突变、C3肾病因子的存在以及肾移植后ESRD和疾病复发的巨大风险。C3转化酶自身抗体可稳定C3转化酶复合物并增加旁路途径补体的局部生成。C3疾病中50%的接受有限肾移植的患者在10年内会出现肾衰竭,移植后有50%的复发和移植失败。

[0247] 致密沉积物病(DDD)是一种非常罕见的肾脏疾病,其特征是肾活检中肾小球中存在丰富的C3,并因使用电子显微镜在肾小球基底膜(GBM)中看到的极其致密的沉积物而得名。在DDD和C3GN中,C3和其它蛋白质在GBM中的沉积物会破坏肾功能。肾小球逐渐受损,最终导致肾衰竭。当发生肾衰竭时,必须开始透析或必须进行移植。DDD和C3GN发展为终末期肾衰竭和透析的速度似乎相似。除了肾脏中出现致密沉积物外,患有DDD的人还会在眼睛中出现沉积物。DDD和C3GN的体征和症状相似,包括但不限于血尿、蛋白尿、尿中有白细胞;水肿、高血压、尿量减少;和警觉性下降。

[0248] 如果怀疑C3G(DDD或C3GN),免疫荧光分析应显示肾小球毛细血管中有丰富的C3。除了C3之外,肾小球可能还含有其它补体系统蛋白,血液循环中补体蛋白的水平降低。补体失调的原因可能是补体调节蛋白和转化酶自身抗体的遗传变异[5、9、11、12、13、14、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29];补体因子H(CFH)、补体因子I(CFI)、MCP(也称为膜辅因子蛋白或CD46)、补体因子B(CFB)、补体因子C3和CFHR5突变。补体失调也可能是由于后天因素造成的。

[0249] 在各种情况下,向患有DDD或C3GN的受试者施用本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的抗体)引起如本文所述或本领域中另外已知的DDD或C3GN的一种或多种症状或生物标志物的发生率、频率、水平或量与受试者的先前测量值或参考值相比减少,例如一种或多种症状或生物标志物减少至少3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%。

[0250] 在一些实施方案中,向患有DDD或C3GN的受试者施用本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)引起DDD或C3GN的一种或多种症状比参考蛋白,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体在可比较的条件下更大的减少或改善。

[0251] 在一些实施方案中,如本文所述的工程化抗体用于治疗多发性神经病的方法中。损伤期间周围神经元中的补体激活导致多种神经病亚型,例如遗传性/家族性淀粉样神经病;格林-巴利综合征(GBS),一种脱髓鞘性神经病,可损害运动神经、感觉神经和自主神经

纤维;糖尿病神经病变;周围神经病变(PN)可能是由神经炎症或损伤引起的。它会导致身体任何部位出现刺痛、麻木和烧灼痛,但最常见的是手、脚和小腿。一些患者可能会出现对疼痛的敏感性增加、对温度失去敏感性、由于神经损伤而导致感觉运动障碍。

[0252] 系统性淀粉样变性是一组不同的病症,可通过异常淀粉样原纤维的沉积导致多器官功能障碍。遗传性淀粉样周围神经病可以根据引起疾病过程的淀粉样蛋白的类型进一步分类。这些包括转甲状腺素蛋白、脱辅基蛋白A1、凝溶胶蛋白和A $\beta$ 2-微球蛋白。TTR基因突变导致最常见形式的遗传性淀粉样变性,而淀粉样蛋白轻链(AL)淀粉样变性是最常见的获得性形式。周围神经系统受累很常见,可能表现为长度依赖性感觉运动性多发性神经病、局灶性神经病、多灶性神经病或自主神经病。家族性淀粉样多发性神经病(FAP)是指一组遗传性淀粉样变性病,其通常具有涉及周围感觉运动和/或自主神经系统的突出临床表现。

[0253] 格林-巴利综合征(GBS)是一种快速发作的肌肉无力,由免疫系统损害周围神经系统引起。最初的症状通常是感觉或疼痛的变化以及肌肉无力,从脚和手开始,蔓延到手臂和上身,两侧都受到影响。格林-巴利综合征的症状通常始于足部和腿部的刺痛和无力,蔓延到上半身和手臂,眼睛或面部运动困难,包括说话、咀嚼或吞咽、剧烈疼痛、膀胱控制或排便困难、心率加快、血压低或血压高以及呼吸困难。随着GBS的进展,肌肉无力可能演变成瘫痪。现在已知格林-巴利综合征有几种形式。主要类型有急性炎症性脱髓鞘性多发性神经根神经病(AIDP)、米勒·费希尔综合征(MFS)、急性运动轴突神经病(AMAN)和急性运动-感觉轴突神经病(AMSAN)。

[0254] 糖尿病神经病变是由糖尿病引起的一类神经病症家族。随着时间的推移,糖尿病患者可能会出现全身神经损伤。有些神经损伤的人没有任何症状。其它人可能会出现手、臂、脚和腿疼痛、刺痛或麻木、感觉丧失等症状。每个器官系统都可能出现神经问题,包括消化道、心脏和性器官。神经损伤的症状可能包括脚趾、脚、腿、手、手臂和手指麻木、刺痛或疼痛、肌肉萎缩、消化不良、恶心或呕吐、腹泻或便秘、站立或坐起后由于血压下降而头晕或昏厥、排尿问题、男性勃起功能障碍或女性阴道干燥。

[0255] 在各种情况下,向患有周围神经病的受试者施用本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的抗体)引起如本文所述或本领域中另外已知的周围神经病的一种或多种症状或生物标志物的发生率、频率、水平或量与受试者的先前测量值或参考值相比减少,例如一种或多种症状减少至少3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%。

[0256] 在一些实施方案中,向患有周围神经病的受试者施用本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)引起周围神经病的一种或多种症状比参考蛋白,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体在可比较的条件下更大的减少或改善。

[0257] 在一些实施方案中,本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)与参考蛋白(例如,包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)相比表现出降低的有效剂量。例如,如本文所述的工程化抗体的有效剂量可以是例如小于1,000mg/剂,例如小于900mg/剂、800mg/剂、700mg/剂、600mg/剂、500mg/剂、550mg/剂、400mg/剂、350mg/剂、300mg/剂、200mg/剂、100mg/剂、50mg/剂、25mg/剂或更低。在某些情况下,如本文所公开的工程化抗体的有效剂量低于参考抗体,例

如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体的有效或推荐或批准剂量,参考抗体的剂量可以是例如900mg/剂或600mg/剂。替代地或与如本文所公开的剂量组合,如本文所述的工程化抗体可以每周少于一次,例如每周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月或一年少于一次的频率有效或有用地施用。在某些情况下,如本文所公开的工程化抗体的有效或有用的施用频率低于参考抗体,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体的有效或推荐或批准的施用频率,所述施用频率可以每周一次(例如,以300-600mg的剂量,取决于受试者的体重)或每两周一次(例如,以300-1200mg的剂量,取决于受试者的体重)施用。

[0258] 在一些实施方案中,本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)可以与参考蛋白,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体相比减少的剂量施用,同时实现相等、同样有效、同等有效或基本上有效的结果,其中工程化抗体在与参考(例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)相同、同等或基本上同等的制剂中和/或通过相同、同等或基本上同等的施用途径施用。在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可以与参考抗体(例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)相比增加的时间间隔施用,同时实现相等、同样有效、同等有效或基本上有效的结果,其中工程化抗体在与参考(例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)相同、同等或基本上同等的制剂中和/或通过相同、同等或基本上同等的施用途径施用。在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可以与参考抗体(例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)相比以降低的单位剂量数量和/或缩短的治疗时期施用,同时实现相等、同样有效、同等有效或基本上有效的结果,其中工程化抗体在与参考(例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)相同、同等或基本上同等的制剂中和/或通过相同、同等或基本上同等的施用途径施用。

[0259] 根据一些这样的实施方案,与参考抗体,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体的有效剂量相比,本文所述的工程化抗体的施用剂量在施用于受试者时引起不良反应,例如不良免疫反应可能更少。因此,在各种实施方案中,与参考抗体,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体相比,如本文公开的工程化抗体每个施用活性单元诱发不良反应或副作用可能更少。在各种实施方案中,与参考抗体,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体相比,如本文公开的工程化抗体每个施用活性单元诱发具有特定严重程度的不良反应或副作用的可能更少。在各种实施方案中,与参考抗体,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体相比,如本文公开的工程化抗体每个施用活性单元可在更低程度上或在更少患者中诱发一种或多种不良反应或副作用。可能与施用能够结合CFD的抗体,例如先前抗体如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体相关的不良反应或副作用的实例可

能包括头痛、鼻咽炎、背痛、恶心、腹泻、高血压、上呼吸道感染、腹痛、呕吐、贫血、咳嗽、外周水肿和/或尿路感染。

[0260] 在一些实施方案中,施用本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)降低血清中的CFD效价。人血浆中CFD的典型浓度为约0.37 $\mu$ M。施用一剂或多剂如本文公开的工程化抗体后,受试者血浆中人CFD的浓度与在同一受试者中先前测量的浓度或与标准值相比,例如与约0.37 $\mu$ M的值相比减少。在各种情况下,施用工程化抗体,包括在任何时间段(例如,1-4周、1-12个月或1-3个月)内在一个或多个受试者中的任一个或受试者的总和和中施用的任何数量的剂量(例如,1个剂量、3个剂量或在数月或数年时间段内规定的多个剂量)后血清中CFD的浓度可以等于或小于例如0.35 $\mu$ M、0.325 $\mu$ M、0.30 $\mu$ M、0.275 $\mu$ M、0.25 $\mu$ M、0.225 $\mu$ M、0.20 $\mu$ M、0.175 $\mu$ M、0.15 $\mu$ M、0.125 $\mu$ M、0.10 $\mu$ M、0.075 $\mu$ M、0.05 $\mu$ M或0.025 $\mu$ M。在一些实施方案中,在施用于受试者后,本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)引起血清中CFD效价比参考蛋白(例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)在可比较的条件下更大的降低。

[0261] 在一些实施方案中,在向受试者施用(例如,以单剂量施用)后,在施用后的界定时间(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更多天)测量到血浆中本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)的水平相对于对照在同一界定时间(例如参考蛋白,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)的水平有所增加。例如,在施用单剂量后的界定时间,本文所述的工程化抗体的水平比参考抗体(例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)的对应水平高至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、150%、200%、300%、400%或500%。

[0262] 在一些实施方案中,在施用(例如单剂量)后的界定时间(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更多天)测量到血浆中本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)的水平相对于对照在同一界定时间(例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)的水平有所增加。例如,在施用后的界定时间,本文所述的工程化抗体的水平比参考抗体(例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体)的对应水平高至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、150%、200%、300%、400%或500%。

[0263] 在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体具有增加的半衰期(例如相对于对照,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体),因此工程化抗体可以增加的剂量间时间间隔施用于受试者。例如,工程化抗体可以每周、每两周、每三周、每四周、每6周、每8周或更长的持续时间施用一次。

[0264] 在一些实施方案中,本文所述的多特异性结合分子(例如本文所述的工程化抗体)的治疗有效量为参考治疗性蛋白,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体的有效量的约90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%或5%。在一些实施方案中,单剂量的本文所述的工程化抗体实现了与两剂或多剂量的参考抗体,例如包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体相当的治疗效果。

[0265] 在一些实施方案中,本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)以受试者血清中靶抗原(例如CFD)的浓度的约90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%或5%的剂量施用。

[0266] 在一些实施方案中,本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)可以通过除静脉内施用之外的途径施用,例如通过皮下施用。因此,在各种实施方案中,如本文公开的抗体可以皮下施用。在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可以通过静脉内和皮下途径施用,例如作为单一治疗策略的组分。静脉内和皮下施用可以同时或不同时进行。

[0267] 在一些实施方案中,本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)可用于多种诊断和治疗应用。例如,如本文所述的工程化抗体的可检测标记型式可用于检测样品(例如生物样品)中CFD的存在或量的测定中。本文所述的工程化抗体可用于研究CFD的活性抑制和/或裂解的体外测定中。在一些实施方案中,本文所述的工程化抗体可用作设计用于鉴定抑制补体活性或另外可用于治疗补体相关病症的其它新颖化合物的测定中的阳性对照。例如,本文所述的工程化抗体可作用于鉴定与减少或破坏CFD产生或MAC形成的其它化合物(例如小分子、适体或抗体)的测定中的阳性对照。

[0268] 本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)可用于监测受试者,例如患有、疑似患有、有风险显现或正在治疗一种或多种补体相关疾患的受试者。监测可以包括确定受试者中、例如受试者血清中CFD的量或活性。在一些实施方案中,在施用如本文所述的工程化抗体后,评估进行至少一(1)小时,例如至少2小时、4小时、6小时、8小时、12小时、24小时或48小时,或至少1天、2天、4天、10天、13天、20天或更长时间,或至少1周、2周、4周、10周、13周、20周或更长时间。受试者可以在一个或多个以下时期进行评估:在治疗开始之前;在治疗过程中;或在施用治疗的一个或多个要素之后。评估可以包括评估是否需要进一步治疗,例如评估剂量、施用频率或治疗持续时间是否应当改变。它也可以包括评估是否需要添加或停止所选择的治疗方式,例如添加或停止本文所述的补体相关病症的任何治疗。

#### [0269] 制剂和施用

[0270] 在各种实施方案中,本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)可以掺入药物组合物中。这种药物组合物可用于例如预防和/或治疗疾病,例如PNH和/或aHUS或其它补体相关病症。药物组合物可以通过本领域技术人员已知的方法来配制(例如描述于Remington's Pharmaceutical Sciences,第17版,Alfonso R.Gennaro编,Mack Publishing公司,Easton,Pa. (1985)中)。

[0271] 可以根据受试者的年龄和状况选择合适的施用方式。含有本文所述的多特异性结合分子(例如,本文所述的工程化抗体)的药物组合物的单剂量可选自0.001至1000mg/kg体重的范围。在另一方面,剂量可以在0.001至100000mg/体重的范围内选择,但本公开不限于这类范围。施用的剂量和方法根据患者的体重、年龄、状况等而有所不同,本领域技术人员可根据需要适当选择。

[0272] 在各种情况下,药物组合物可以被配制为包括药学上可接受的载体或赋形剂。药学上可接受的载体的实例包括但不限于任何和所有生理上相容的溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。本发明的组合物可以包含药学上可接受的盐,

例如酸加成盐或碱加成盐。

[0273] 在各种实施方案中,包含如本文所述的抗体的组合物,例如注射用无菌制剂,可以根据常规药学实践使用注射用蒸馏水作为媒介物来配制。例如,生理盐水或含有葡萄糖和其它补充剂如D-山梨糖醇、D-甘露糖、D-甘露糖醇和氯化钠的等渗溶液可用作注射用水溶液,任选地结合合适的增溶剂,例如,醇如乙醇和多元醇如丙二醇或聚乙二醇,以及非离子表面活性剂如聚山梨醇酯80<sup>TM</sup>、HCO-50等。

[0274] 如本文所公开,药物组合物可以呈本领域已知的任何形式。这类形式包括例如液体、半固体和固体剂型,如液体溶液(例如,可注射和可输注的溶液)、分散液或悬浮液、片剂、丸剂、粉剂、脂质体和栓剂。

[0275] 任何特定形式的选择或使用可能部分取决于预期的施用模式和治疗应用。例如,含有预期用于全身或局部递送的组合物的组合物可以呈可注射或可输注的溶液的形式。因此,可以配制组合物以通过肠胃外模式(例如,静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内注射)施用。如本文所用,肠胃外施用是指除了肠内和局部施用以外的施用模式,通常通过注射施用,并且包括但不限于静脉内、鼻内、眼内、经肺、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、真皮内、肺内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊髓内、硬膜外、脑内、颅内、颈动脉内和胸骨内注射和输注。

[0276] 施用途径可以是肠胃外施用,例如通过注射施用、经鼻施用、经肺施用或经皮施用。可以通过静脉内注射、肌肉内注射、腹膜内注射、皮下注射进行全身或局部施用。

[0277] 在各种实施方案中,本发明的药物组合物可以被配制为适于在高浓度下稳定储存的溶液、微乳液、分散液、脂质体或其它有序结构。可以通过按照需要,将所需量的本文所述的组合物与一种上文列举的成分或其组合掺入适当的溶剂中,接着进行过滤灭菌来制备无菌注射溶液。一般来说,通过将本文所述的组合物掺入无菌媒介物中来制备分散液,所述媒介物含有基础分散介质和上文列举的那些成分中所需要的其它成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,制备方法包括真空干燥和冷冻干燥,所述方法从其先前无菌过滤溶液得到本文所述的组合物外加任何附加的所需成分(见下文)的粉末。例如,通过使用包衣如卵磷脂,在分散液的情况下通过保持所需要的粒径,和通过使用表面活性剂,可以保持溶液的适当流动性。可以通过在组合物中包含延长吸收的试剂(例如单硬脂酸盐和明胶)实现可注射组合物的延长吸收。

[0278] 药物组合物可以呈包含在水或另一种药学上可接受的液体中的无菌溶液或悬浮液的可注射制剂的形式肠胃外施用。例如,药物组合物可以通过以下方式来配制:将治疗性分子与药学上可接受的媒介物或介质适当组合,所述媒介物或介质如无菌水和生理盐水、植物油、乳化剂、悬浮剂、表面活性剂、稳定剂、风味赋形剂、稀释剂、媒介物、防腐剂、粘合剂,然后混合成普遍接受的药学实践所需的单位剂型。包含在药物制剂中的活性成分的量使得提供指定范围内的合适剂量。油性液体的非限制性实例包括芝麻油和大豆油,并且它可以与苯甲酸苄酯或苯甲醇组合作为增溶剂。可以包含的其它项是缓冲剂(如磷酸盐缓冲剂或乙酸钠缓冲剂)、安抚剂(如盐酸普鲁卡因)、稳定剂(如苯甲醇或苯酚)和抗氧化剂。配制的注射剂可以包装在合适的安瓿中。

[0279] 在一些实施方案中,组合物可以被配制成在低于0℃的温度(例如,-20℃或-80℃)下储存。在一些实施方案中,组合物可以被配制成在2℃-8℃(例如,4℃)下储存多达2年(例

如,1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、1年、11/2年或2年)。因此,在一些实施方案中,本文所述的组合物在2℃-8℃(例如,4℃)下稳定储存至少1年。

[0280] 在特定情况下,药物组合物可以被配制成溶液。在一些实施方案中,组合物可以被配制成例如合适浓度的且适于在2℃-8℃(例如,4℃)下储存的缓冲溶液。

[0281] 包含一种或多种如本文所述的工程化抗体的组合物可以被配制成免疫脂质体组合物。这类制剂可以通过本领域已知的方法来制备。具有延长循环时间的脂质体公开于例如美国专利No.5,013,556中。

[0282] 在某些实施方案中,组合物可以与将保护化合物免于快速释放的载剂一起配制,如包括植入物和微囊化递送系统在内的控制释放制剂。可以使用生物可降解的生物相容的聚合物,如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸。制备这类制剂的许多方法在本领域中是已知的。参见例如J.R.Robinson(1978)“Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems,”Marcel Dekker公司,New York。

[0283] 在一些实施方案中,组合物可以被配制成适于肺内施用(例如,通过吸入器或喷雾器施用)于哺乳动物如人的组合物。配制这类组合物的方法在本领域中是众所周知的。干粉吸入器制剂和用于施用制剂的合适系统在本领域中也是已知的。肺部施用可以是经口和/或经鼻施用。用于肺部递送的药物装置的实例包括计量剂量吸入器、干粉吸入器(DPI)和喷雾器。例如,本文所述的组合物可以通过干粉吸入器施用于受试者的肺。这些吸入器是无推进剂的装置,可将可分散且稳定的干粉制剂递送到肺部。干粉吸入器在医学领域是众所周知的,并且包括但不限于:**TURBOHALER®**(AstraZeneca;London,England)**AIR®**吸入器(**ALKERMES®**;Cambridge,Mass.);**ROTAHALER®**(GlaxoSmithKline;London,England);和**ECLIPSE™**(Sanofi-Aventis;Paris,France)。另见例如PCT公布No.WO 04/026380、WO 04/024156和WO 01/78693。DPI装置已用于多肽如胰岛素和生长激素的肺部施用。在一些实施方案中,本文所述的组合物可以通过计量剂量吸入器进行肺内施用。这些吸入器依靠推进剂将离散剂量的化合物递送到肺部。其它装置和肺内施用方法阐述于例如美国专利申请公布No.20050271660和20090110679中,所述公布中每一个公布的公开内容以引用的方式整体并入本文。

[0284] 在一些实施方案中,可以配制组合物以例如呈药学上可接受的溶液、悬浮液或软膏的形式递送到眼睛。用于治疗眼睛的制剂可以呈无菌水溶液的形式,该无菌水溶液含有例如另外的成分,如但不限于防腐剂、缓冲剂、张度剂、抗氧化剂和稳定剂、非离子润湿剂或澄清剂,以及增粘剂。如本文所述的制剂可以通过常规方法,例如以滴剂的形式,或通过将眼睛浸入治疗性溶液中,局部施用于需要治疗的受试者(例如,患有AMD的受试者)的眼睛,所述滴剂或治疗性溶液含有一种或多种组合物。

[0285] 在某些实施方案中,用于将药物引入眼睛玻璃体腔的多种装置可能适于施用如本文所述的组合物。例如,美国公布No.2002/0026176描述了一种含有药物的塞子,该塞子可以插入通过巩膜,使其伸入玻璃体腔,从而将药剂递送到玻璃体腔中。在另一实例中,美国专利No.5,443,505描述了一种用于引入脉络膜上腔或无血管区域中以将药物持续释放到眼睛内部的可植入装置。美国专利No.5,773,019和6,001,386各自公开了一种可附着到眼睛巩膜表面的可植入药物递送装置。用于将治疗剂递送到眼睛的其它方法和装置(例如,经

巩膜贴片和通过隐形眼镜递送)描述于例如Ambati和Adamis (2002) *Prog Retin Eye Res* 21 (2):145-151; Ranta和Urtti (2006) *Adv Drug Delivery Rev* 58 (11):1164-1181; Barocas和Balachandran (2008) *Expert Opin Drug Delivery* 5 (1):1-10 (10); Gulsen和Chauhan (2004) *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45:2342-2347; Kim等人 (2007) *Ophthalmic Res* 39:244-254; 以及PCT公布no. WO 04/073551, 所述文献的公开内容以引用的方式整体并入本文。

[0286] 在某些实施方案中,如本文所述的抗体的施用是通过向受试者施用编码所述抗体的核酸来实现的。可将编码本文所述的治疗性抗体的核酸掺入基因构建体中以用作基因治疗方案的一部分,从而递送可用于在细胞内表达和产生抗体的核酸。这类组分的表达构建体可以在任何治疗有效的载剂,例如能够有效地将组分基因递送到体内细胞的任何制剂或组合物中施用。方法包括将主题基因插入病毒载体,包括重组逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、慢病毒和单纯疱疹病毒-1 (HSV-1),或重组细菌或真核质粒。病毒载体可以直接转染细胞;质粒DNA可以借助例如阳离子脂质体 (lipofectin) 或衍生的多聚赖氨酸缀合物、短杆菌肽S、人工病毒包膜或其它这类细胞内载剂,以及直接注射基因构建体或CaPO<sub>4</sub>沉淀来递送 (参见例如W004/060407)。合适的逆转录病毒的实例包括本领域技术人员已知的pLJ、pZIP、pWE和pEM (参见例如Eglitis等人 (1985) *Science* 230:1395-1398; Danos和Mulligan (1988) *Proc Natl Acad Sci USA* 85:6460-6464; Wilson等人 (1988) *Proc Natl Acad Sci USA* 85:3014-3018; Armentano等人 (1990) *Proc Natl Acad Sci USA* 87:6141-6145; Huber等人 (1991) *Proc Natl Acad Sci USA* 88:8039-8043; Ferry等人 (1991) *Proc Natl Acad Sci USA* 88:8377-8381; Chowdhury等人 (1991) *Science* 254:1802-1805; van Beusechem等人 (1992) *Proc Natl Acad Sci USA* 89:7640-7644; Kay等人 (1992) *Human Gene Therapy* 3:641-647; Dai等人 (1992) *Proc Natl Acad Sci USA* 89:10892-10895; Hwu等人 (1993) *J Immunol* 150:4104-4115; 美国专利No. 4,868,116和4,980,286; 以及PCT公布No. W089/07136、W089/02468、W089/05345和W092/07573)。另一种病毒基因递送系统利用源自腺病毒的载体 (参见例如Berkner等人 (1988) *BioTechniques* 6:616; Rosenfeld等人 (1991) *Science* 252:431-434; 以及Rosenfeld等人 (1992) *Cell* 68:143-155)。源自腺病毒Ad 5型d1324株或其它腺病毒株 (例如,Ad2、Ad3、Ad7等) 的合适的腺病毒载体是本领域技术人员已知的。另一种可用于递送主题基因的病毒载体系统是腺相关病毒 (AAV)。参见例如Flotte等人 (1992) *Am J Respir Cell Mol Biol* 7:349-356; Samulski等人 (1989) *J Virol* 63:3822-3828; 以及McLaughlin等人 (1989) *J Virol* 62:1963-1973。

[0287] 在各种实施方案中,皮下施用可以通过如注射器、预充式注射器、自动注射器 (例如,一次性或可重复使用的)、笔式注射器、贴片注射器、可穿戴注射器、带有皮下输液器的移动式注射器输注泵,或其它结合抗体药物进行皮下注射的装置等装置来完成。

[0288] 本公开的注射系统可以采用如美国专利No. 5,308,341中所述的递送笔。笔式装置在本领域中是众所周知的,其最常用于糖尿病患者自行递送胰岛素。这类装置可以包括至少一个注射针头 (例如,长度为约5至8mm的31号针头),通常预填充有一个或多个治疗单位剂量的治疗性溶液,并且可用于以尽可能少的痛苦向受试者快速递送溶液。一种药物递送笔包括小瓶支架,其中可以接收治疗性药物或其它药物的小瓶。笔可能是完全机械性的装置,或者可能与电子电路组合以精确设置和/或指示注射到使用者体内的药物剂量。参见例

如美国专利No.6,192,891。在一些实施方案中,笔式装置的针头是一次性的并且试剂盒包括一根或多根一次性替换针头。适于递送任何一种本发明特征组合物的笔式装置另外描述于例如美国专利No.6,277,099;6,200,296;和6,146,361中,所述专利各自的公开内容以引用的方式整体并入本文。一种基于微针的笔式装置描述于例如美国专利No.7,556,615中,其公开内容以引用的方式整体并入本文。另见由Scandinavian Health有限公司制造的精密笔式注射器(PPI)装置MOLLY™。

[0289] 在一些实施方案中,本文所述的组合物可以通过局部施用治疗性地递送到受试者。如本文所用,“局部施用”或“局部递送”可以指不依赖于将组合物或剂经由血管系统输送到其预期靶组织或部位的递送。例如,可以通过注射或植入组合物或剂或通过注射或植入含有组合物或剂的装置来递送组合物。在某些实施方案中,在靶组织或部位附近局部施用后,组合物或剂或其一种或多种组分可以扩散到不是施用部位的预期靶组织或部位。

[0290] 在一些实施方案中,本文描述的组合物可以局部施用到关节(例如,铰接关节)。例如,在病症是关节炎的实施方案中,可以将治疗上合适的组合物直接施用到关节(例如,进入关节间隙)或关节附近。可局部施用本文所述的组合物的关节内关节的实例包括例如髋、膝、肘、腕、胸锁、颞下颌、腕骨、跗骨、踝关节和遭受关节炎疾患的任何其它关节。本文所述的组合物还可以施用于滑囊,例如肩峰、二头桡、肘桡、三角肌、髌下、坐骨和医学领域已知的任何其它滑囊。

[0291] 在一些实施方案中,本文提供的组合物以单位剂型存在,所述单位剂型可适于自行施用。这种单位剂型可以提供在容器内,所述容器通常为例如小瓶、药筒、预充式注射器或一次性笔。剂量仪如描述于美国专利No.6,302,855中的剂量仪装置也可以例如与本文所述的注射系统一起使用。

[0292] 本文所述的组合物的合适剂量(该剂量能够治疗或预防受试者的病症)可以取决于多种因素,包括例如待治疗的受试者的年龄、性别和体重以及所使用的特定抑制剂化合物。例如,治疗患有RA的受试者所需的包含如本文所述的抗体的一种组合物的剂量可能不同于所述抗体的不同制剂的剂量。影响施用于受试者的剂量的其它因素包括例如病症的类型或严重程度。例如,患有RA的受试者可能需要与患有PNH的受试者不同的剂量。其它因素可以包括例如同时或以前影响受试者的其它医学病症、受试者的一般健康状况、受试者的遗传倾向、饮食、施用时间、排泄率、药物组合以及施用于受试者的任何其它治疗剂。还应该理解,任何特定受试者的具体剂量和治疗方案也可以基于治疗医师的判断进行调整。

[0293] 本文所述的组合物可以以固定剂量或以毫克/千克(mg/kg)剂量施用。在一些实施方案中,还可以选择剂量以减少或避免产生针对组合物中一种或多种抗原结合片段的抗体或其它宿主免疫反应。尽管决不意在限制,抗体如本文所述的组合物的示例性剂量包括例如1-1000mg/kg、1-100mg/kg、0.5-50mg/kg、0.1-100mg/kg、0.5-25mg/kg、1-20mg/kg和1-10mg/kg。本文所述的组合物的示例性剂量包括但不限于0.1mg/kg、0.5mg/kg、1.0mg/kg、2.0mg/kg、4mg/kg、8mg/kg或20mg/kg。

[0294] 药物溶液可以包含治疗有效量的本文所述的组合物。这样的有效量可以由本领域普通技术人员部分地基于所施用组合物的效果或组合物与一种或多种另外的活性剂的组合效果(如果使用超过一种剂的话)容易地确定。本文所述的组合物的治疗有效量还可以根据个体的疾病状态、年龄、性别和体重以及组合物(和一种或多种另外的活性剂)在个体中

引发所需反应(例如,至少一种疾患参数的改善,例如补体介导的病症的至少一种症状的改善)的能力等因素而变化。例如,治疗有效量的本文所述的组合物可以抑制特定病症(减轻其严重程度或消除其发生)和/或预防特定病症,和/或本领域已知或本文所述的特定病症的任何一种症状。治疗有效量也是其中组合物的任何毒性或有害作用被治疗有益作用超过的量。

[0295] 本文所述的任何组合物的合适人剂量可以在例如I期剂量递增研究中进一步评估。参见例如van Gurp等人(2008) *Am J Transplantation* 8(8):1711-1718; Hanouska等人(2007) *Clin Cancer Res* 13(2, 部分1):523-531; 以及Hetherington等人(2006) *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50(10):3499-3500。

[0296] 组合物的毒性和治疗功效可以通过细胞培养物或实验动物(例如,任何本文所述的补体介导的病症的动物模型)中的已知药理学程序来确定。这些程序可用于例如确定LD<sub>50</sub>(对50%群体致死的剂量)和ED<sub>50</sub>(对50%群体治疗有效的剂量)。毒性与治疗作用之间的剂量比为治疗指数并且它可表示为LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>比。本文所述的表现出高治疗指数的组合物是优选的。虽然可使用表现出毒性副作用的组合物,但是应谨慎设计使这类化合物靶向受影响的组织的部位并将对正常细胞的潜在损害降到最低并且由此降低副作用的递送系统。

[0297] 本领域技术人员将了解可在配制用于人类的剂量范围中使用由细胞培养测定和动物研究获得的数据。本文所述的组合物的适当剂量通常在包含ED<sub>50</sub>且毒性很小或没有毒性的组合物的循环浓度范围内。剂量可取决于所采用的剂型和所利用的施用途径而在这个范围内变化。对于本文所述的组合物,治疗有效剂量最初可由细胞培养测定来估计。可在动物模型中配制剂量来实现包括如在细胞培养中测定的ICFD<sub>0</sub>(即,实现症状的半最大抑制的抗体的浓度)的循环血浆浓度范围。这类信息可用于更准确地测定人体中的有用剂量。可例如通过高效液相色谱法测量血浆中的水平。在一些实施方案中,例如在需要局部施用(例如,施用到眼睛或关节)的情况下,细胞培养或动物模型建立可用于确定在局部部位内达到治疗有效浓度所需的剂量。

#### [0298] 组合疗法

[0299] 在各种实施方案中,如本文所述的工程化抗体可以包括在还包括向受试者施用至少一种另外的剂的治疗过程中。在各种情况下,与如本文所述的工程化抗体组合施用的另外的剂可以是抑制补体的剂,例如抑制终末补体的剂。在各种情况下,与如本文所述的抗体组合施用的另外的剂可以是抑制炎症的剂。在各种情况下,与如本文所述的抗体组合施用的另外的剂可以是治疗PNH症状的剂。在各种情况下,与如本文所述的抗体组合施用的另外的剂可以是治疗aHUS症状的剂。

[0300] 在一些实施方案中,所述方法可以与针对补体相关病症的其它疗法联合进行。例如,组合物可以在血浆置换术、IVIG疗法或血浆交换的同时、之前或之后施用于受试者。参见例如Appel等人(2005) *J Am Soc Nephrol* 16:1392-1404。在一些实施方案中,组合物可以在肾移植的同时、之前或之后施用于受试者。

[0301] 在各种情况下,与如本文所述的工程化抗体组合施用的另外的剂可以与工程化抗体同时施用,与工程化抗体在同一天施用,或者与工程化抗体在同一周施用。在各种情况下,与如本文所述的工程化抗体组合施用的另外的剂可以与工程化抗体在单一制剂中施用。在某些实施方案中,另外的剂以与如本文所述的工程化抗体的施用在时间上分开的方

式施用,例如,在施用工程化抗体之前或之后一小时或多小时、之前或之后一天或多天、之前或之后一周或多周、或之前或之后一个月或多个月施用。在各种实施方案中,一种或多种另外的剂的施用频率可以与如本文所述的工程化抗体的施用频率相同、相似或不同。

[0302] 组合疗法涵盖的是包括施用如本文所述的两种不同的抗体的治疗方案和/或包括通过多种制剂和/或施用途径施用如本文所述的抗体的治疗方案。

[0303] 在一些实施方案中,组合物可以与一种或多种另外的治疗剂,例如用于治疗或预防受试者的补体相关病症(例如,AP相关病症或CP相关病症)的其它疗法一起配制。用于治疗受试者的补体相关病症的其它药剂将根据所治疗的具体病症而变化,但可以包括但不限于抗高血压药(例如血管紧张素转化酶抑制剂)[用于治疗例如HELLP综合征]、抗凝剂、皮质类固醇(例如泼尼松(prednisone))或免疫抑制剂(例如长春新碱(vincristine)或环孢菌素A)。抗凝剂的实例包括例如华法林(Coumadin)、阿司匹林(aspirin)、肝素、苯茛二酮(phenindione)、磺达肝素(fondaparinux)、艾屈肝素(idraparinux)和凝血酶抑制剂(例如阿加曲班(argatroban)、来匹卢定(lepirudin)、比伐卢定(bivalirudin)或达比加群(dabigatran))。本文所述的组合物还可以与纤溶剂(例如,安克洛酶(ancrod)、 $\epsilon$ -氨基己酸、抗纤溶酶- $\alpha_1$ 前列环素和去纤苷)一起配制用于治疗补体相关病症。在一些实施方案中,组合物可以与降脂剂例如羟甲基戊二酰辅酶A还原酶抑制剂一起配制。在一些实施方案中,组合物可以与抗CD20剂例如利妥昔单抗(RITUXAN<sup>TM</sup>; Biogen Idec, Cambridge, Mass.)一起配制或一起使用。在一些实施方案中,例如,为了治疗RA,组合物可以与英夫利昔单抗(REMICADE<sup>®</sup>; Centocor公司)和甲氨蝶呤(RHEUMATREX<sup>®</sup>, TREXALL<sup>®</sup>)中的一种或两种一起配制。在一些实施方案中,本文所述的组合物可以与非甾体消炎药(NSAID)一起配制。可利用许多不同的非甾体消炎药,其中一些是非处方药,包括布洛芬(ADVIL<sup>®</sup>、MOTRIN<sup>®</sup>、NUPRIN<sup>®</sup>)和萘普生(ALLEVE<sup>®</sup>),许多其它药物可通过处方购买,包括美洛昔康(MOBIC<sup>®</sup>)、依托度酸(LODINE<sup>®</sup>)、萘丁美酮(RELAFEN<sup>®</sup>)、舒林酸(CLINORIL<sup>®</sup>)、托乐门汀(TOLECTIN<sup>®</sup>)、水杨酸胆碱镁(TRILASATE<sup>®</sup>)、双氯芬酸(CATAFLAM<sup>®</sup>、VOLTAREN<sup>®</sup>、ARTHROTEC<sup>®</sup>)、二氟西醛(DOLOBID<sup>®</sup>)、吲哚美辛(INDOCIN<sup>®</sup>)酮洛芬(ORUDIS<sup>®</sup>、ORUVAIL<sup>®</sup>)、奥沙普秦(DAYPRO<sup>®</sup>)和吡罗昔康(FELDENE<sup>®</sup>)。在一些实施方案中,组合物可以配制为与抗高血压剂、抗癫痫剂(例如硫酸镁)或抗血栓剂一起使用。抗高血压药包括例如拉贝洛尔、肼屈嗪、硝苯地平、钙通道拮抗剂、硝酸甘油或硝普钠。(参见例如Mihu等人(2007) J Gastrointest Liver Dis 16(4):419-424)。抗血栓形成剂包括例如肝素、抗凝血酶、前列环素或低剂量阿司匹林。

[0304] 在一些实施方案中,包含如本文所述的工程化抗体的组合物可以配制用于与一种或多种另外的治疗剂一起施用,用于治疗补体相关的眼部病症。这类另外的治疗剂可以是例如贝伐单抗(bevacizumab)或贝伐单抗或雷珠单抗(ranibizumab)的Fab片段(两者均由Roche Pharmaceuticals公司出售)和培加他尼钠(MUCOGEN<sup>®</sup>; Pfizer公司)。这样的试剂盒还可以任选地包括用于向受试者施用组合物的说明书。

[0305] 在一些实例中,组合疗法可以包括向受试者施用一种或多种另外的剂(例如,抗

IgE抗体、抗IL-4抗体、抗IL-5抗体或抗组胺),所述剂为患有、有风险显现或怀疑患有补体相关肺病,例如COPD或哮喘的受试者提供治疗益处。

[0306] 在一些实施方案中,被配制用于肺内施用的组合物可以包括至少一种用于治疗肺部病症的另外的活性剂。该至少一种活性剂可以是例如抗IgE抗体(例如奥马珠单抗(omalizumab))、抗IL-4抗体或抗IL-5抗体、抗IgE抑制剂(例如孟鲁司特钠(montelukast sodium))、拟交感神经药(例如,沙丁胺醇(albuterol))、抗生素(例如,妥布霉素(tobramycin))、脱氧核糖核酸酶(例如,PULMOZYME®)、抗胆碱能药物(例如,异丙托溴铵)、皮质类固醇(例如,地塞米松(dexamethasone))、 $\beta$ -肾上腺素受体激动剂、白三烯抑制剂(例如齐留通(zileuton))、5-脂氧合酶抑制剂、PDE抑制剂、CD23拮抗剂、IL-13拮抗剂、细胞因子释放抑制剂、组胺H1受体拮抗剂、抗组胺剂、消炎药(例如色甘酸钠)或组胺释放抑制剂。

[0307] 在一些实施方案中,组合物可以配制成与静脉内丙种球蛋白疗法(IVIG)、血浆置换术、血浆置换或血浆交换一起施用于受试者。在一些实施方案中,组合物可以配制成在肾移植之前、期间或之后使用。

[0308] 当组合物与第二活性剂组合使用时,组合物可以与第二活性剂共同配制,或者组合物可以与第二剂制剂分开配制。例如,各个药物组合物可以例如在即将施用混合,并且一起施用或者可以单独施用,例如在相同或不同时间施用。

[0309] 本文所述的组合物可以代替或补充先前或目前正在施用的疗法。例如,在用本文所述的组合物治疗后,一种或多种另外的活性剂的施用可以停止或减少,例如在施用本文所述的工程化抗体后以较低水平施用,例如比包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链的参考抗体更低的水平施用。在一些实施方案中,可维持先前疗法的施用。在一些实施方案中,先前疗法将一直维持到组合物的水平达到足以提供治疗效果的水平。两种疗法可以组合施用。

[0310] 重组基因技术

[0311] 根据本公开,可以采用本领域技术范围内的常规分子生物学、微生物学和重组DNA技术。这类技术描述于以下文献中(参见例如Sambrook,Fritsch和Maniatis,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第二版(1989)Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.;DNA Cloning:Practical Approach,第I卷和第II卷(D.N.Glover编1985);Oligonucleotide Synthesis(M.J.Gait编1984);Nucleic Acid Hybridization(B.D.Hames和S.J.Higgins编(1985));Transcription And Translation(B.D.Hames和S.J.Higgins编(1984));Animal Cell Culture(R.I.Freshney编(1986));Immobilized Cells and Enzymes(IRL Press,(1986));B.Perbal,A Practical Guide To Molecular Cloning(1984);F.M.Ausubel等人(编),Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons公司,(1994)。

[0312] 基因,例如编码多肽(如本文所述的工程化抗体)的核酸的重组表达可以包括构建含有编码所述多肽的核酸的表达载体。一旦获得了多核苷酸,就可以使用本领域已知的技术通过重组DNA技术来产生用于产生多肽的载体。已知的方法可用于构建含有多肽编码序列和适当的转录和翻译控制信号的表达载体。这些方法包括例如体外重组DNA技术、合成技术和体内基因重组。

[0313] 可以通过常规技术将表达载体转移到宿主细胞,然后可以通过常规技术培养转染的细胞以产生多肽。

[0314] 本文提及的所有公布、专利申请、专利和其它参考文献都以引用的方式整体并入本文。另外,材料、方法和实施例仅为说明性的,并非意在进行限制。除非另有定义,否则本文所用的所有技术和科学术语都具有与本发明所属领域内的普通技术人员通常理解的意义相同的意义。尽管与本文所述的那些方法和材料类似或等效的方法和材料可用于本发明的实践或测试中,但本文描述合适的方法和材料。

[0315] 实施例

[0316] 以下实施例描述了制造和实践本发明的一些优选模式。然而,应当理解,这些实施例仅用于说明目的,并不意在限制本发明的范围。

[0317] 实施例1.用于评估抗CFD mAb抑制效力的体外测定

[0318] 本实施例展示了用于评估抗CFD mAb抑制效力的体外测定。如图2A所示,溶血水平可以通过释放的血红蛋白的光密度(OD)来测量,MAC水平可以使用终末补体复合物(TCC)试剂盒测定中的补体激活来测量。将汇集的人或食蟹猴血清与抗CFD mAb1或抗CFD mAb 2(轻链SEQ ID NO:1,重链SEQ ID NO:2)组合。如图2B所示,CFD耗尽血清不显示任何旁途径活性。

[0319] 图3显示了使用溶血测定格式测定的RBC上的C3沉积的最大几何平均值百分比。与兔RBC接触的C5耗尽血清似乎证明了通过FACS观察到的兔红细胞上有C3b沉积。与基准抗体(抗CFD抗体1)类似,抗CFD抗体2抑制兔RBC上的C3b沉积。

[0320] 实施例2.抗CFD抗体的酸转换和半衰期延长

[0321] 本实施例说明本文所述的抗CFD抗体展现出针对人和食蟹猴CFD的酸转换特性。如图4和表1所示,抗CFD抗体2展现出在pH7.4下对人CFD和食蟹猴CFD的结合亲和力在皮摩尔范围内,在pH5.5下具有nM亲和力。敲入型人FcRn小鼠中的半衰期实验表明,抗CFD抗体2的半衰期超过45天。(图5)。

[0322] 表1:抗CFD mAb在pH 5.5和pH 7.4下的结合亲和力

| [0323] | CFD mAb   | pH 7.4 的食蟹猴 CFD KD | pH 5.5 的食蟹猴 CFD KD | pH 7.4 的人 CFD KD | pH5.5 的人 CFD KD |
|--------|-----------|--------------------|--------------------|------------------|-----------------|
|        | 抗体 2      | 37 pM              | 4.59 nM            | 2 pM             | 805 nM          |
|        | 抗体 1 (基准) | 31.8 pM            | 27.8 pM            | 4.78 pM          | 14.8 pM         |

[0324] 实施例3.非人灵长类动物(NHP)中抗CFD mAb的药代动力学和药效学(PK/PD)评估

[0325] 本实施例说明了在非人灵长类动物(NHP)中抗CFD mAb的(PK/PD)评估。在一项研究中,动物静脉内单次注射30mg/kg抗CFD抗体1或静脉内或皮下施用抗体2。每个处理组包括n=3只动物。与注射抗体1的动物相比,抗体2在食蟹猴中展现出延长的PK。如图6所示,在注射抗CFD mAb 2的动物中观察到总hIgG水平存在2log差异。抗CFD抗体2所展现的ASHE特性转化成显著改善PD持续时间。如图7所示,与不具有ASHE特性的对照CFD抗体相比,ASHE mAb(抗体2)的PD持续时间延长了大约10倍。PD的持续时间与游离目标CFD的抑制有关(图8)。

[0326] 在第二项研究中,动物接受抗CFD抗体2的多次注射,以50mg/kg、5mg/kg、1mg/kg静脉内注射或以25mg/kg皮下注射。在第1天(时间0)、第22天(528小时)、第29天(696小时)和第36天(864小时)进行注射。每个剂量组中包括两只动物。如图9所示,在IV和SC注射后观察到多次注射的总hIgG对PK的累积效应。在多次注射治疗的动物中也观察到PD持续时间得到改善。在0小时、528小时(22天)、696小时(29天)和864小时(36天)四次皮下注射抗体2,维持完全抑制超过504小时(21天)(图11)。皮下注射的抗CFD ASHE mAb显示出超过2周的长PD持续时间。静脉注射不具有ASHE特性的抗CFD抗体(抗体1)的PD持续时间为2天。

[0327] 其它实施方案

[0328] 尽管本文描述了本发明的许多实施方案,但可以改变本公开内容和实施例以提供本发明的其它方法和组合物。因此,将要理解的是,本发明的范围由所附权利要求书外加由借助于实施例表示的具体实施方案来限定。本文引用的所有参考文献以引用的方式并入本文。

## 序列表

<110> 武田药品工业株式会社 (TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED)

<120> 靶向补体因子D的抗体和其用途

<130> SHR-2005W0

<140>

<141>

<150> 63/173,092

<151> 2021-04-09

<160> 39

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 1

```

Ser Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ser Ala Leu Ser Val Thr Lys Gly Gln
1           5           10           15
Thr Ala Lys Ile Thr Cys Gln Gly Asp Leu Leu Pro Arg His Tyr Ala
           20           25           30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ala Pro Lys Leu Ile Val Tyr
           35           40           45
Asp Asp Asp Ile Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
           50           55           60
Asn Ser Gly Gly Val Ala Thr Leu Thr Ile Ala Gly Ala Gln Ala Glu
65           70           75           80
Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Gln Ser Ala Asp Ser Asn Asp Asp Ala
           85           90           95
Val Phe Gly Gly Gly Thr His Leu Thr Val Leu Ser Gln Pro Lys Ala
           100          105          110
Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
           115          120          125
Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
           130          135          140
Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145          150          155          160

```

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser  
 165 170 175  
 Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr  
 180 185 190  
 Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala  
 195 200 205  
 Pro Thr Glu Cys Ser  
 210  
 <210> 2  
 <211> 455  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 <220>  
 <221> 来源  
 <223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"  
 <400> 2  
 Glu Val Gln Val Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Thr Thr Ser  
 20 25 30  
 Tyr Tyr Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Met Gly Asp Ile Ala Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser  
 50 55 60  
 Leu Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95  
 Cys Ala Arg Leu Arg Ser Leu Tyr Thr Asp Tyr Asp Pro His Tyr Tyr  
 100 105 110  
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr  
 115 120 125  
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser  
 130 135 140  
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu  
 145 150 155 160  
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His  
 165 170 175  
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|     |     |     | 180 |     |     |     | 185 |     |     |     | 190 |     |     |     |     |  |
| Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Ser | Leu | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Ile | Cys |  |
|     |     |     | 195 |     |     |     | 200 |     |     |     | 205 |     |     |     |     |  |
| Asn | Val | Asn | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Lys | Val | Glu |  |
|     |     |     | 210 |     |     |     | 215 |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
| Pro | Lys | Ser | Cys | Asp | Lys | Thr | His | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro |  |
| 225 |     |     |     |     |     |     | 230 |     |     |     | 235 |     |     |     | 240 |  |
| Glu | Ala | Ala | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys |  |
|     |     |     | 245 |     |     |     | 250 |     |     |     | 255 |     |     |     |     |  |
| Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     | 265 |     |     |     | 270 |     |     |     |     |  |
| Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp |  |
|     |     |     | 275 |     |     |     | 280 |     |     |     | 285 |     |     |     |     |  |
| Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr |  |
| 290 |     |     |     |     |     |     | 295 |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
| Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp |  |
| 305 |     |     |     |     |     |     | 310 |     |     |     | 315 |     |     |     | 320 |  |
| Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Ala | Leu |  |
|     |     |     | 325 |     |     |     | 330 |     |     |     | 335 |     |     |     |     |  |
| Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     | 345 |     |     |     | 350 |     |     |     |     |  |
| Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Asp | Glu | Leu | Thr | Lys |  |
|     |     |     | 355 |     |     |     | 360 |     |     |     | 365 |     |     |     |     |  |
| Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp |  |
| 370 |     |     |     |     |     |     | 375 |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
| Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys |  |
| 385 |     |     |     |     |     |     | 390 |     |     |     | 395 |     |     |     | 400 |  |
| Thr | Thr | Pro | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser |  |
|     |     |     | 405 |     |     |     | 410 |     |     |     | 415 |     |     |     |     |  |
| Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     | 425 |     |     |     | 430 |     |     |     |     |  |
| Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | Lys | Phe | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser |  |
|     |     |     | 435 |     |     |     | 440 |     |     |     | 445 |     |     |     |     |  |
| Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| 450 |     |     |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     |     |     |     |     |  |

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 213

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注意="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 3

```

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ala Leu Ser Val Ser Pro Gly Gln
1           5           10           15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Leu Leu Pro Arg His Tyr Ala
          20           25           30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ala Pro Lys Leu Val Ile Tyr
          35           40           45
Asp Asp Asp Ile Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
          50           55           60
Ser Ser Gly Thr Met Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Glu
65           70           75           80
Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Gln Ser Ala Asp Ser Asn Asp Asp Ala
          85           90           95
Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala
          100          105          110
Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
          115          120          125
Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
          130          135          140
Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145          150          155          160
Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
          165          170          175
Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
          180          185          190
Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala
          195          200          205
Pro Thr Glu Cys Ser
          210

```

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 454

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注意="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 4

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Gln | Glu | Ser | Gly | Pro | Gly | Leu | Val | Lys | Pro | Ser | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Thr | Leu | Ser | Leu | Thr | Cys | Thr | Val | Ser | Gly | Gly | Ser | Ile | Ser | Thr | Ser |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Tyr | Ala | Trp | Ser | Trp | Ile | Arg | Gln | Pro | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Trp | Ile | Gly | Asp | Ile | Ala | Asn | Glu | Gly | Ser | Thr | Tyr | Tyr | Ser | Pro | Ser |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Leu | Glu | Ser | Arg | Val | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Thr | Ser | Lys | Asn | Gln | Phe |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Ser | Leu | Gln | Leu | Ser | Ser | Val | Thr | Ala | Ala | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |
| Cys | Ala | Arg | Leu | Arg | Ser | Leu | Tyr | Thr | Asp | Tyr | Asp | Pro | His | Tyr | Tyr |
|     |     | 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr |
|     | 115 |     |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Ser | Ser | Lys | Ser | Thr | Ser |
|     | 130 |     |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |
| Gly | Gly | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |     |
| Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |     |
| Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser |
|     |     | 180 |     |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Ser | Leu | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Ile | Cys |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Asn | Val | Asn | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Arg | Val | Glu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     | 220 |     |     |     |     |     |
| Pro | Lys | Ser | Cys | Asp | Lys | Thr | His | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro |
| 225 |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |     |
| Glu | Ala | Ala | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |     |
| Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val |
|     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |     |
| Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp |
|     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
 305 310 315 320  
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu  
 325 330 335  
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
 340 345 350  
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys  
 355 360 365  
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 370 375 380  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 385 390 395 400  
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 405 410 415  
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser  
 420 425 430  
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu Lys Phe His Tyr Thr Gln Lys Ser  
 435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly

450

<210> 5

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 5

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Thr Ser  
 20 25 30  
 Tyr Tyr Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Ile Gly Asp Ile Ala Asn Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser  
 50 55 60  
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|     | 85  |     | 90  |     | 95  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Cys | Ala | Arg | Leu | Arg | Ser | Leu | Tyr | Thr | Asp | Tyr | Asp | Pro | His | Tyr | Tyr |
|     | 100 |     | 105 |     | 110 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |
|     | 115 |     | 120 |     | 125 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注意="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 6

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Tyr | Glu | Leu | Thr | Gln | Pro | Pro | Ala | Leu | Ser | Val | Ser | Pro | Gly | Gln |
| 1   |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |
| Thr | Ala | Arg | Ile | Thr | Cys | Gln | Gly | Asn | Leu | Leu | Pro | Arg | His | Tyr | Ala |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |
| His | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Thr | Gly | Gln | Ala | Pro | Lys | Leu | Val | Ile | Tyr |
|     |     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |
| Asp | Asp | Asn | Ile | Arg | Pro | Ser | Gly | Ile | Pro | Glu | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser |
|     |     |     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     |     | 60  |     |
| Ser | Ser | Gly | Thr | Thr | Ala | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Gly | Ala | Gln | Ala | Glu |
| 65  |     |     |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     | 80  |     |
| Asp | Glu | Ala | Asp | Tyr | His | Cys | Gln | Ser | Ala | Ser | Ser | Asn | Asp | Asp | Ala |
|     |     |     |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     |     |     | 90  |     |
| Val | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Gln | Leu | Thr | Val | Leu |     |     |     | 95  |     |
|     |     |     |     |     |     |     | 100 |     |     |     |     |     |     | 105 |     |

&lt;210&gt; 7

&lt;400&gt; 7

000

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注意="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 8

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Tyr | Glu | Leu | Thr | Gln | Pro | Pro | Ala | Leu | Ser | Val | Ser | Pro | Gly | Gln |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

|     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|
| 1   | 5   | 10  | 15  |
| Thr | Ala | Arg | Ile |
| Thr | Cys | Gln | Gly |
| Asn | Leu | Leu | Pro |
| Arg | His | Tyr | Ala |
| 20  | 25  | 30  |     |
| His | Trp | Tyr | Gln |
| Gln | Lys | Thr | Gly |
| Gln | Ala | Pro | Lys |
| Leu | Val | Ile | Tyr |
| 35  | 40  | 45  |     |
| Asp | Asp | Asn | Ile |
| Arg | Pro | Ser | Gly |
| Ile | Pro | Glu | Arg |
| Phe | Ser | Gly | Ser |
| 50  | 55  | 60  |     |
| Ser | Ser | Gly | Thr |
| Thr | Ala | Thr | Leu |
| Thr | Ile | Ser | Gly |
| Ala | Gln | Ala | Glu |
| 65  | 70  | 75  | 80  |
| Asp | Glu | Ala | Asp |
| Tyr | His | Cys | Gln |
| Ser | Ala | Asp | Leu |
| Asn | Asp | Asp | Ala |
| 85  | 90  | 95  |     |
| Val | Phe | Gly | Gly |
| Gly | Thr | Gln | Leu |
| Thr | Val | Leu |     |
| 100 | 105 |     |     |

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注意="人工序列的描述:合成肽"

&lt;400&gt; 9

Gln Gly Asp Leu Leu Pro Arg His Tyr Ala His

|   |   |    |
|---|---|----|
| 1 | 5 | 10 |
|---|---|----|

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注意="人工序列的描述:合成肽"

&lt;400&gt; 10

Asp Asp Asp Ile Arg Pro Ser

|   |   |
|---|---|
| 1 | 5 |
|---|---|

&lt;210&gt; 11

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 11

Gln Ser Ala Asp Ser Asn Asp Asp Ala Val

1 5 10

<210> 12

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 12

Tyr Tyr Ala Trp Ser

1 5

<210> 13

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 13

Asp Ile Ala Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu Glu Ser

1 5 10 15

<210> 14

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 14

Leu Arg Ser Leu Tyr Thr Asp Tyr Asp Pro His Tyr Tyr Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 15

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 15

Asp Ile Ala Asn Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu Lys Ser  
1 5 10 15

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 16

Gln Gly Asn Leu Leu Pro Arg His Tyr Ala His  
1 5 10

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 17

Asp Asp Asn Ile Arg Pro Ser  
1 5

<210> 18

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 18

Gln Ser Ala Ser Ser Asn Asp Asp Ala Val  
1 5 10

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 19

Gln Ser Ala Asp Leu Asn Asp Asp Ala Val

1 5 10

<210> 20

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 20

Asp Ile Ala Asn Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu Glu Ser

1 5 10 15

<210> 21

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 21

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

Val His Ser

<210> 22

<400> 22

000

<210> 23

<400> 23

000

<210> 24

<400> 24

000

<210> 25

<400> 25

000

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 123

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注意="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 26

```

Ser Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ser Ala Leu Ser Val Thr Lys Gly Gln
1           5           10           15
Thr Ala Lys Ile Thr Cys Gln Gly Asp Leu Leu Pro Arg His Tyr Ala
          20           25           30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ala Pro Lys Leu Ile Val Tyr
          35           40           45
Asp Asp Asp Ile Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
          50           55           60
Asn Ser Gly Gly Val Ala Thr Leu Thr Ile Ala Gly Ala Gln Ala Glu
65           70           75           80
Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Gln Ser Ala Asp Ser Asn Asp Asp Ala
          85           90           95
Val Phe Gly Gly Gly Thr His Leu Thr Val Leu Ser Gln Pro Lys Ala
          100          105          110
Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
          115          120

```

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 125

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注意="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 27

```

Glu Val Gln Val Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1           5           10           15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Thr Thr Ser
          20           25           30
Tyr Tyr Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
          35           40           45
Trp Met Gly Asp Ile Ala Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser

```

|                                                                 |     |     |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|----|
| 50                                                              | 55  | 60  |    |
| Leu Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe |     |     |    |
| 65                                                              | 70  | 75  | 80 |
| Ser Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr |     |     |    |
| 85                                                              | 90  | 95  |    |
| Cys Ala Arg Leu Arg Ser Leu Tyr Thr Asp Tyr Asp Pro His Tyr Tyr |     |     |    |
| 100                                                             | 105 | 110 |    |
| Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser             |     |     |    |
| 115                                                             | 120 | 125 |    |

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

&lt;223&gt; /注意="人工序列的描述:合成多肽"

&lt;400&gt; 28

|                                                                 |     |     |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|----|
| Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ala Leu Ser Val Ser Pro Gly Gln |     |     |    |
| 1                                                               | 5   | 10  | 15 |
| Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Leu Leu Pro Arg His Tyr Ala |     |     |    |
| 20                                                              | 25  | 30  |    |
| His Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ala Pro Lys Leu Val Ile Tyr |     |     |    |
| 35                                                              | 40  | 45  |    |
| Asp Asp Asp Ile Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser |     |     |    |
| 50                                                              | 55  | 60  |    |
| Ser Ser Gly Thr Met Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Glu |     |     |    |
| 65                                                              | 70  | 75  | 80 |
| Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Gln Ser Ala Asp Ser Asn Asp Asp Ala |     |     |    |
| 85                                                              | 90  | 95  |    |
| Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala |     |     |    |
| 100                                                             | 105 | 110 |    |
| Ala Pro Ser Val Thr Leu                                         |     |     |    |
| 115                                                             |     |     |    |

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 125

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列(Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 29

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Leu | Gln | Glu | Ser | Gly | Pro | Gly | Leu | Val | Lys | Pro | Ser | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Thr | Leu | Ser | Leu | Thr | Cys | Thr | Val | Ser | Gly | Gly | Ser | Ile | Ser | Thr | Ser |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Tyr | Ala | Trp | Ser | Trp | Ile | Arg | Gln | Pro | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Trp | Ile | Gly | Asp | Ile | Ala | Asn | Glu | Gly | Ser | Thr | Tyr | Tyr | Ser | Pro | Ser |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Leu | Glu | Ser | Arg | Val | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Thr | Ser | Lys | Asn | Gln | Phe |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Ser | Leu | Gln | Leu | Ser | Ser | Val | Thr | Ala | Ala | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |
| Cys | Ala | Arg | Leu | Arg | Ser | Leu | Tyr | Thr | Asp | Tyr | Asp | Pro | His | Tyr | Tyr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |
|     |     |     | 115 |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |

<210> 30

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 30

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Ser | Ala | Leu | Thr | Gln | Pro | Pro | Ala | Leu | Ser | Val | Ser | Lys | Gly | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Thr | Ala | Arg | Ile | Thr | Cys | Gln | Gly | Asn | Leu | Leu | Pro | Arg | His | Tyr | Ala |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| His | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Thr | Gly | Gln | Ala | Pro | Lys | Leu | Ile | Val | Tyr |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Asp | Asp | Asn | Ile | Arg | Pro | Ser | Gly | Ile | Pro | Glu | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asn | Ser | Gly | Gly | Val | Ala | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Gly | Ala | Gln | Ala | Glu |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Asp | Glu | Ala | Asp | Tyr | His | Cys | Gln | Ser | Ala | Asp | Ser | Asn | Asp | Asp | Ala |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |
| Val | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Gln | Leu | Thr | Val | Leu | Gly | Gln | Pro | Lys | Ala |

|                                 |                         |             |
|---------------------------------|-------------------------|-------------|
| 100                             | 105                     | 110         |
| Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe     | Pro Pro Ser Ser Glu Glu | Leu Gln Ala |
| 115                             | 120                     | 125         |
| Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys     | Leu Ile Ser Asp Phe Tyr | Pro Gly Ala |
| 130                             | 135                     | 140         |
| Val Thr Val Ala Trp Lys Ala     | Asp Ser Ser Pro Val Lys | Ala Gly Val |
| 145                             | 150                     | 155         |
| Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys     | Gln Ser Asn Asn Lys Tyr | Ala Ala Ser |
| 165                             | 170                     | 175         |
| Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro     | Glu Gln Trp Lys Ser His | Arg Ser Tyr |
| 180                             | 185                     | 190         |
| Ser Cys Gln Val Thr His Glu     | Gly Ser Thr Val Glu Lys | Thr Val Ala |
| 195                             | 200                     | 205         |
| Pro Thr Glu Cys Ser             |                         |             |
| 210                             |                         |             |
| <210> 31                        |                         |             |
| <211> 454                       |                         |             |
| <212> PRT                       |                         |             |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence) |                         |             |
| <220>                           |                         |             |
| <221> 来源                        |                         |             |
| <223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"        |                         |             |
| <400> 31                        |                         |             |
| Gln Val Gln Val Gln Glu Ser     | Gly Pro Gly Leu Val Lys | Pro Ser Gln |
| 1                               | 5                       | 10          |
| Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr     | Val Ser Gly Gly Ser Ile | Ser Thr Ser |
| 20                              | 25                      | 30          |
| Tyr Tyr Ala Trp Ser Trp Ile     | Arg Gln Pro Pro Gly Lys | Gly Leu Glu |
| 35                              | 40                      | 45          |
| Trp Met Gly Asp Ile Ala Asn     | Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr | Ser Pro Ser |
| 50                              | 55                      | 60          |
| Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile     | Ser Arg Asp Thr Ser Lys | Asn Gln Phe |
| 65                              | 70                      | 75          |
| Ser Leu Gln Leu Ser Ser Val     | Thr Ala Gln Asp Thr Ala | Val Tyr Tyr |
| 85                              | 90                      | 95          |
| Cys Ala Arg Leu Arg Ser Leu     | Tyr Thr Asp Tyr Asp Pro | His Tyr Tyr |
| 100                             | 105                     | 110         |
| Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr     | Leu Val Thr Val Ser Ser | Ala Ser Thr |
| 115                             | 120                     | 125         |

|                                                                 |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser |     |     |
| 130                                                             | 135 | 140 |
| Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu |     |     |
| 145                                                             | 150 | 155 |
| Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His |     |     |
|                                                                 | 165 | 170 |
| Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser |     |     |
|                                                                 | 180 | 185 |
| Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys |     |     |
|                                                                 | 195 | 200 |
| Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu |     |     |
|                                                                 | 210 | 215 |
| Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro |     |     |
| 225                                                             | 230 | 235 |
| Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys |     |     |
|                                                                 | 245 | 250 |
| Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val |     |     |
|                                                                 | 260 | 265 |
| Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp |     |     |
|                                                                 | 275 | 280 |
| Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr |     |     |
|                                                                 | 290 | 295 |
| Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp |     |     |
| 305                                                             | 310 | 315 |
| Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu |     |     |
|                                                                 | 325 | 330 |
| Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg |     |     |
|                                                                 | 340 | 345 |
| Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys |     |     |
|                                                                 | 355 | 360 |
| Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp |     |     |
|                                                                 | 370 | 375 |
| Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys |     |     |
| 385                                                             | 390 | 395 |
| Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser |     |     |
|                                                                 | 405 | 410 |
| Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser |     |     |
|                                                                 | 420 | 425 |
| Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu Lys Phe His Tyr Thr Gln Lys Ser |     |     |

| 435                                                                | 440 | 445 |
|--------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| Leu Ser Leu Ser Pro Gly                                            |     |     |
| 450                                                                |     |     |
| <210> 32                                                           |     |     |
| <211> 213                                                          |     |     |
| <212> PRT                                                          |     |     |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                    |     |     |
| <220>                                                              |     |     |
| <221> 来源                                                           |     |     |
| <223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"                                           |     |     |
| <400> 32                                                           |     |     |
| Ser Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ser Ala Leu Ser Val Ser Lys Gly Gln    |     |     |
| 1                  5                  10                  15       |     |     |
| Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asn Leu Leu Pro Arg His Tyr Ala    |     |     |
| 20                  25                  30                         |     |     |
| His Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ala Pro Lys Leu Ile Val Tyr    |     |     |
| 35                  40                  45                         |     |     |
| Asp Asp Asn Ile Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser    |     |     |
| 50                  55                  60                         |     |     |
| Asn Ser Gly Gly Val Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Glu    |     |     |
| 65                  70                  75                  80     |     |     |
| Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Gln Ser Ala Asp Ser Asn Asp Asp Ala    |     |     |
| 85                  90                  95                         |     |     |
| Val Phe Gly Gly Gly Thr His Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala    |     |     |
| 100                  105                  110                      |     |     |
| Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala    |     |     |
| 115                  120                  125                      |     |     |
| Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala    |     |     |
| 130                  135                  140                      |     |     |
| Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val    |     |     |
| 145                  150                  155                  160 |     |     |
| Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser    |     |     |
| 165                  170                  175                      |     |     |
| Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr    |     |     |
| 180                  185                  190                      |     |     |
| Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala    |     |     |
| 195                  200                  205                      |     |     |
| Pro Thr Glu Cys Ser                                                |     |     |
| 210                                                                |     |     |

<210> 33  
 <211> 454  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 <220>  
 <221> 来源  
 <223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"  
 <400> 33

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Val | Gln | Glu | Ser | Gly | Pro | Gly | Leu | Val | Lys | Pro | Ser | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Thr | Leu | Ser | Leu | Thr | Cys | Thr | Val | Ser | Gly | Gly | Ser | Ile | Ser | Thr | Ser |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Tyr | Ala | Trp | Ser | Trp | Ile | Arg | Gln | Pro | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Trp | Met | Gly | Asp | Ile | Ala | Asn | Asp | Gly | Ser | Thr | Tyr | Tyr | Ser | Pro | Ser |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Leu | Glu | Ser | Arg | Val | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Thr | Ser | Lys | Asn | Gln | Phe |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Ser | Leu | Gln | Leu | Ser | Ser | Val | Thr | Ala | Gln | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Cys | Ala | Arg | Leu | Arg | Ser | Leu | Tyr | Thr | Asp | Tyr | Asp | Pro | His | Tyr | Tyr |
|     |     | 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Gln | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     |     | 125 |     |     |
| Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Ser | Ser | Lys | Ser | Thr | Ser |
|     | 130 |     |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |
| Gly | Gly | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     | 160 |     |
| Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser |
|     |     | 180 |     |     |     |     |     |     | 185 |     |     |     | 190 |     |     |
| Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Ser | Leu | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Ile | Cys |
|     |     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |
| Asn | Val | Asn | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Lys | Val | Glu |
|     | 210 |     |     |     |     |     | 215 |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Pro | Lys | Ser | Cys | Asp | Lys | Thr | His | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     | 240 |     |
| Glu | Ala | Ala | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys |

|                                                                 |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
|                                                                 | 245 | 250 | 255 |
| Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val |     |     |     |
| 260                                                             | 265 | 270 |     |
| Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp |     |     |     |
| 275                                                             | 280 | 285 |     |
| Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr |     |     |     |
| 290                                                             | 295 | 300 |     |
| Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp |     |     |     |
| 305                                                             | 310 | 315 | 320 |
| Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu |     |     |     |
| 325                                                             | 330 | 335 |     |
| Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg |     |     |     |
| 340                                                             | 345 | 350 |     |
| Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys |     |     |     |
| 355                                                             | 360 | 365 |     |
| Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp |     |     |     |
| 370                                                             | 375 | 380 |     |
| Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys |     |     |     |
| 385                                                             | 390 | 395 | 400 |
| Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser |     |     |     |
| 405                                                             | 410 | 415 |     |
| Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser |     |     |     |
| 420                                                             | 425 | 430 |     |
| Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu Lys Phe His Tyr Thr Gln Lys Ser |     |     |     |
| 435                                                             | 440 | 445 |     |
| Leu Ser Leu Ser Pro Gly                                         |     |     |     |
| 450                                                             |     |     |     |
| <210> 34                                                        |     |     |     |
| <211> 125                                                       |     |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |     |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                 |     |     |     |
| <220>                                                           |     |     |     |
| <221> 来源                                                        |     |     |     |
| <223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"                                        |     |     |     |
| <400> 34                                                        |     |     |     |
| Gln Val Gln Val Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln |     |     |     |
| 1                                                               | 5   | 10  | 15  |
| Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Thr Ser |     |     |     |
| 20                                                              | 25  | 30  |     |

Tyr Tyr Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Met Gly Asp Ile Ala Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser  
 50 55 60  
 Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Ala Gln Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95  
 Cys Ala Arg Leu Arg Ser Leu Tyr Thr Asp Tyr Asp Pro His Tyr Tyr  
 100 105 110  
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 35

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 35

Ser Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ala Leu Ser Val Ser Lys Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asn Leu Leu Pro Arg His Tyr Ala  
 20 25 30  
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ala Pro Lys Leu Ile Val Tyr  
 35 40 45  
 Asp Asp Asn Ile Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Gly Val Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Glu  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Gln Ser Ala Asp Ser Asn Asp Asp Ala  
 85 90 95  
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu  
 100 105

<210> 36

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 36

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Val | Gln | Val | Gln | Glu | Ser | Gly | Pro | Gly | Leu | Val | Lys | Pro | Ser | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Thr | Leu | Ser | Leu | Thr | Cys | Thr | Val | Ser | Gly | Gly | Ser | Ile | Ser | Thr | Ser |
|     |     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Tyr | Tyr | Ala | Trp | Ser | Trp | Ile | Arg | Gln | Pro | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Trp | Met | Gly | Asp | Ile | Ala | Asn | Asp | Gly | Ser | Thr | Tyr | Tyr | Ser | Pro | Ser |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Leu | Glu | Ser | Arg | Val | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Thr | Ser | Lys | Asn | Gln | Phe |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Ser | Leu | Gln | Leu | Ser | Ser | Val | Thr | Ala | Gln | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Cys | Ala | Arg | Leu | Arg | Ser | Leu | Tyr | Thr | Asp | Tyr | Asp | Pro | His | Tyr | Tyr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Gln | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     | 125 |     |     |     |     |

<210> 37

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 37

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Ser | Ala | Leu | Thr | Gln | Pro | Ser | Ala | Leu | Ser | Val | Ser | Lys | Gly | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Thr | Ala | Arg | Ile | Thr | Cys | Gln | Gly | Asn | Leu | Leu | Pro | Arg | His | Tyr | Ala |
|     |     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| His | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Thr | Gly | Gln | Ala | Pro | Lys | Leu | Ile | Val | Tyr |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Asp | Asp | Asn | Ile | Arg | Pro | Ser | Gly | Ile | Pro | Glu | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asn | Ser | Gly | Gly | Val | Ala | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Gly | Ala | Gln | Ala | Glu |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Asp | Glu | Ala | Asp | Tyr | His | Cys | Gln | Ser | Ala | Asp | Ser | Asn | Asp | Asp | Ala |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |

Val Phe Gly Gly Gly Thr His Leu Thr Val Leu  
100 105

<210> 38

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 38

Met Ala Trp Thr Pro Leu Leu Leu Pro Leu Leu Thr Phe Cys Thr Val  
1 5 10 15

Ser Glu Ala

<210> 39

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 39

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser

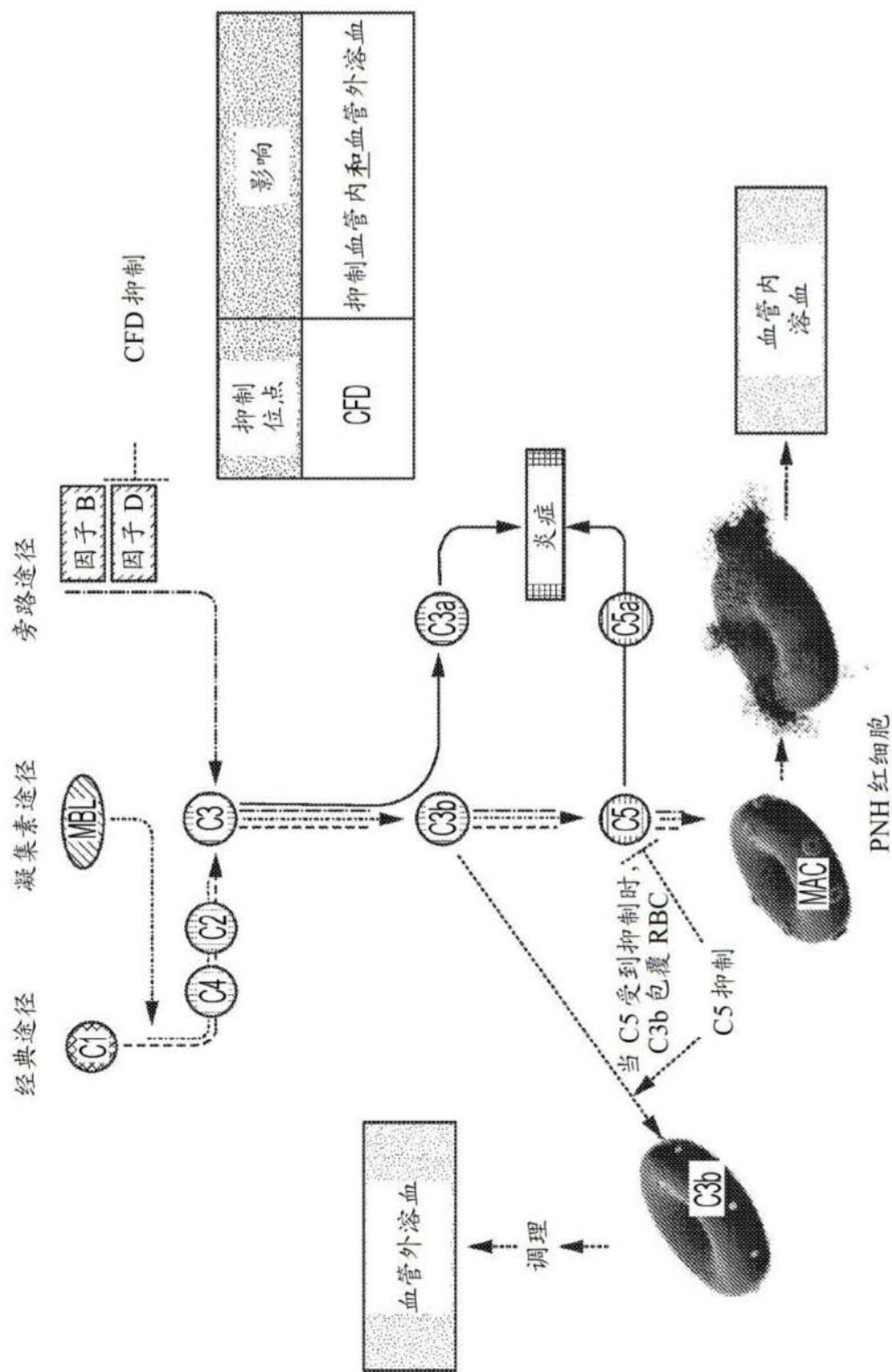


图1

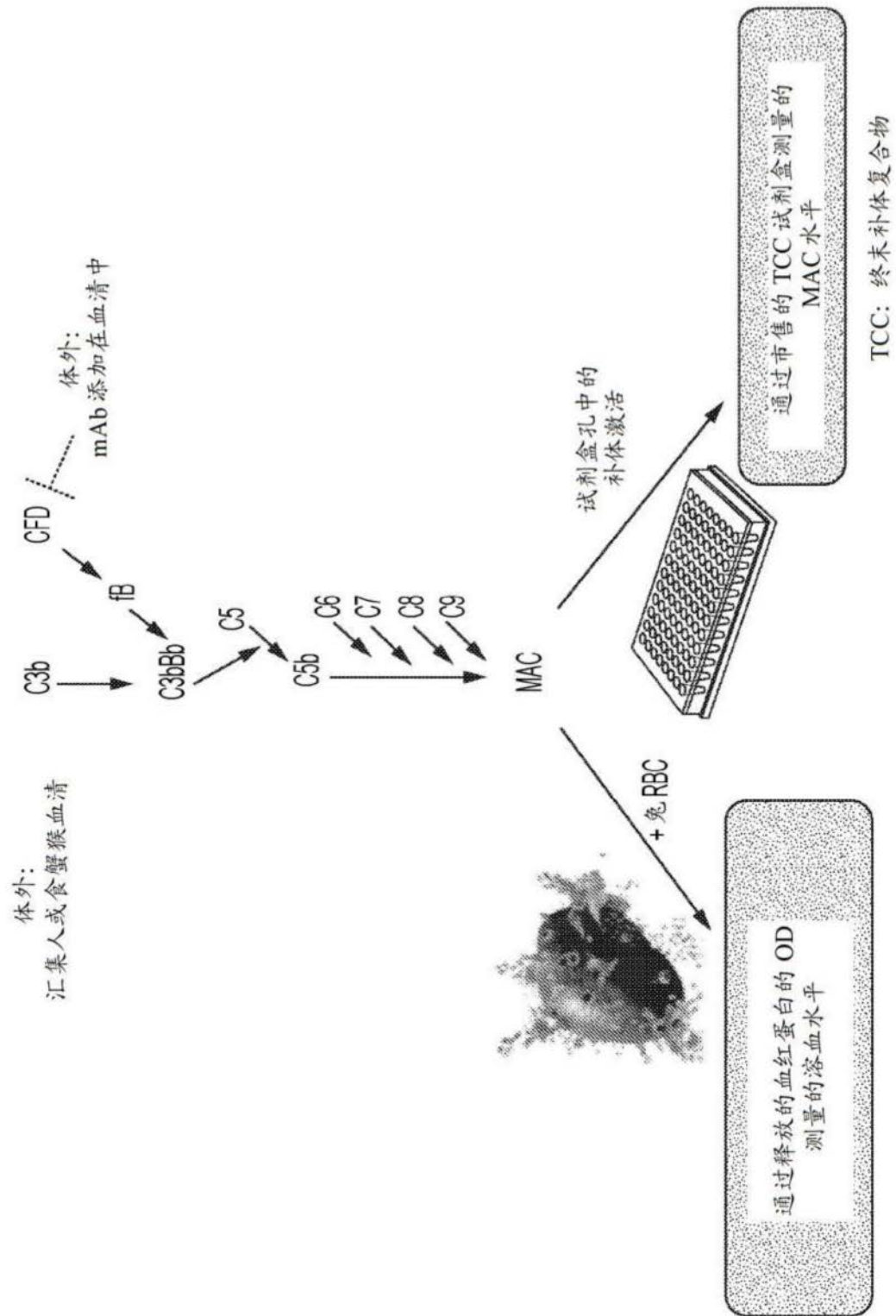


图2A

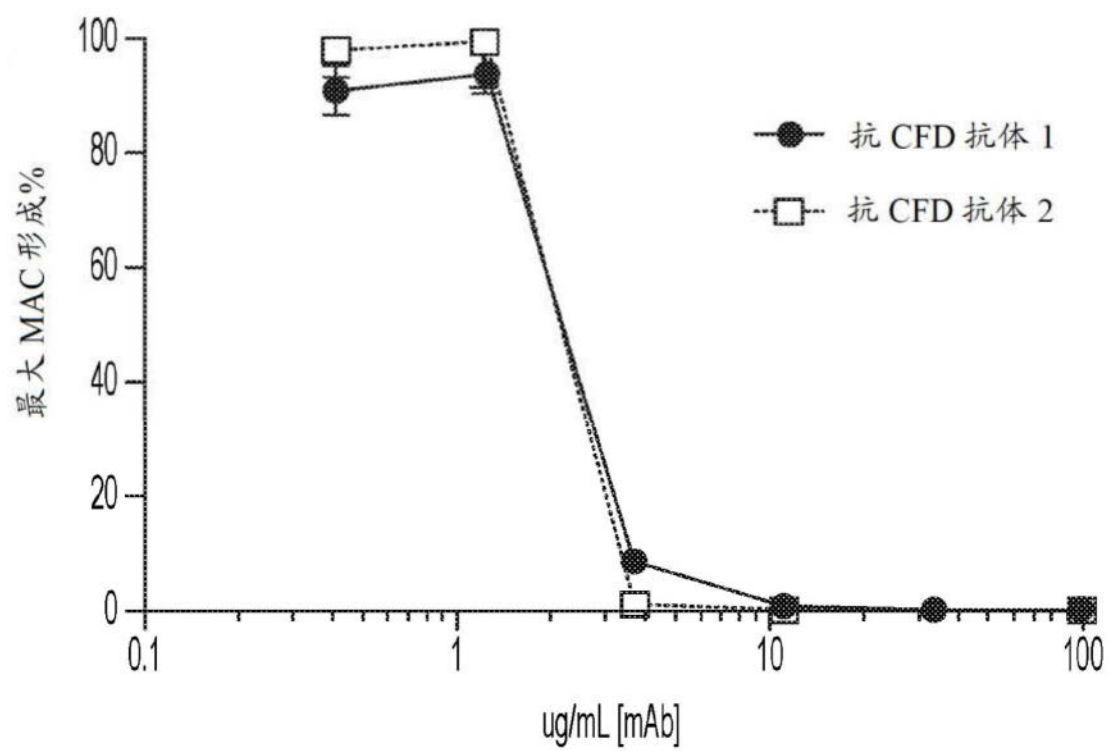


图2B

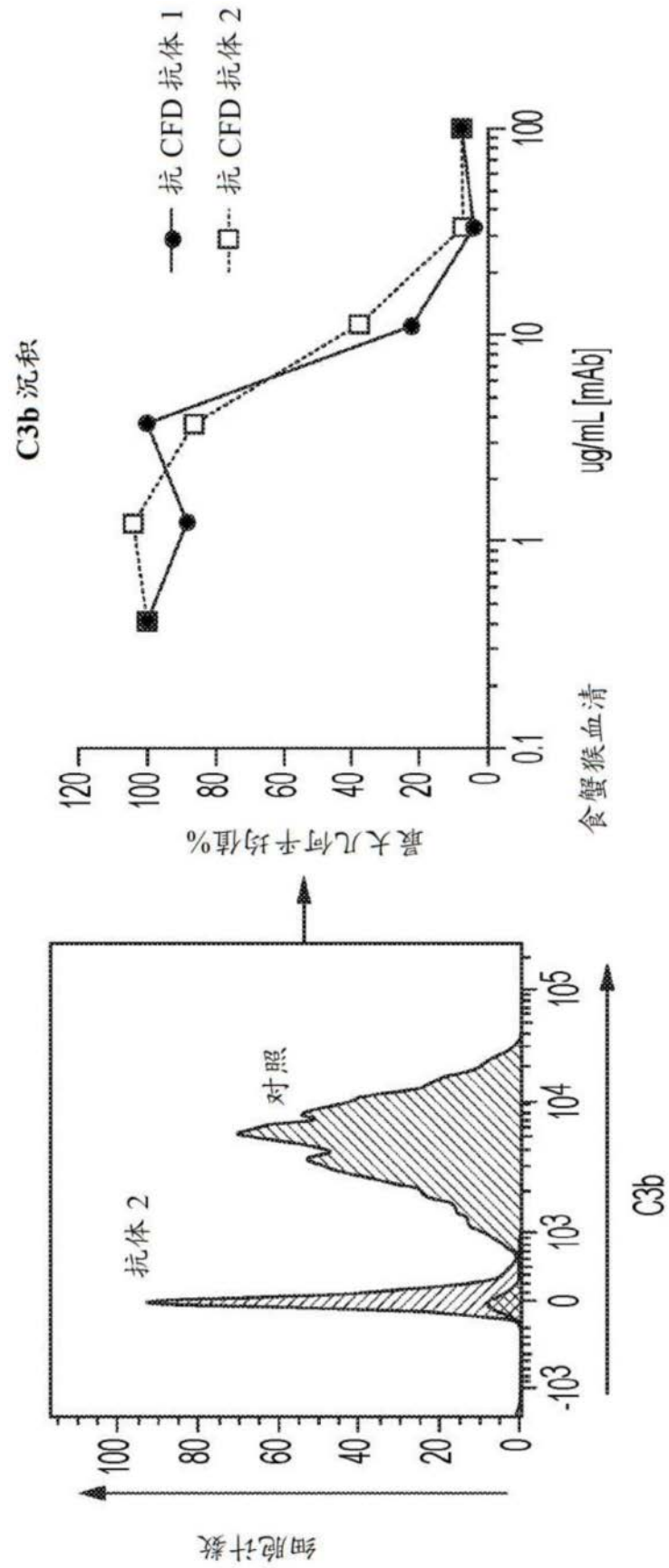


图3

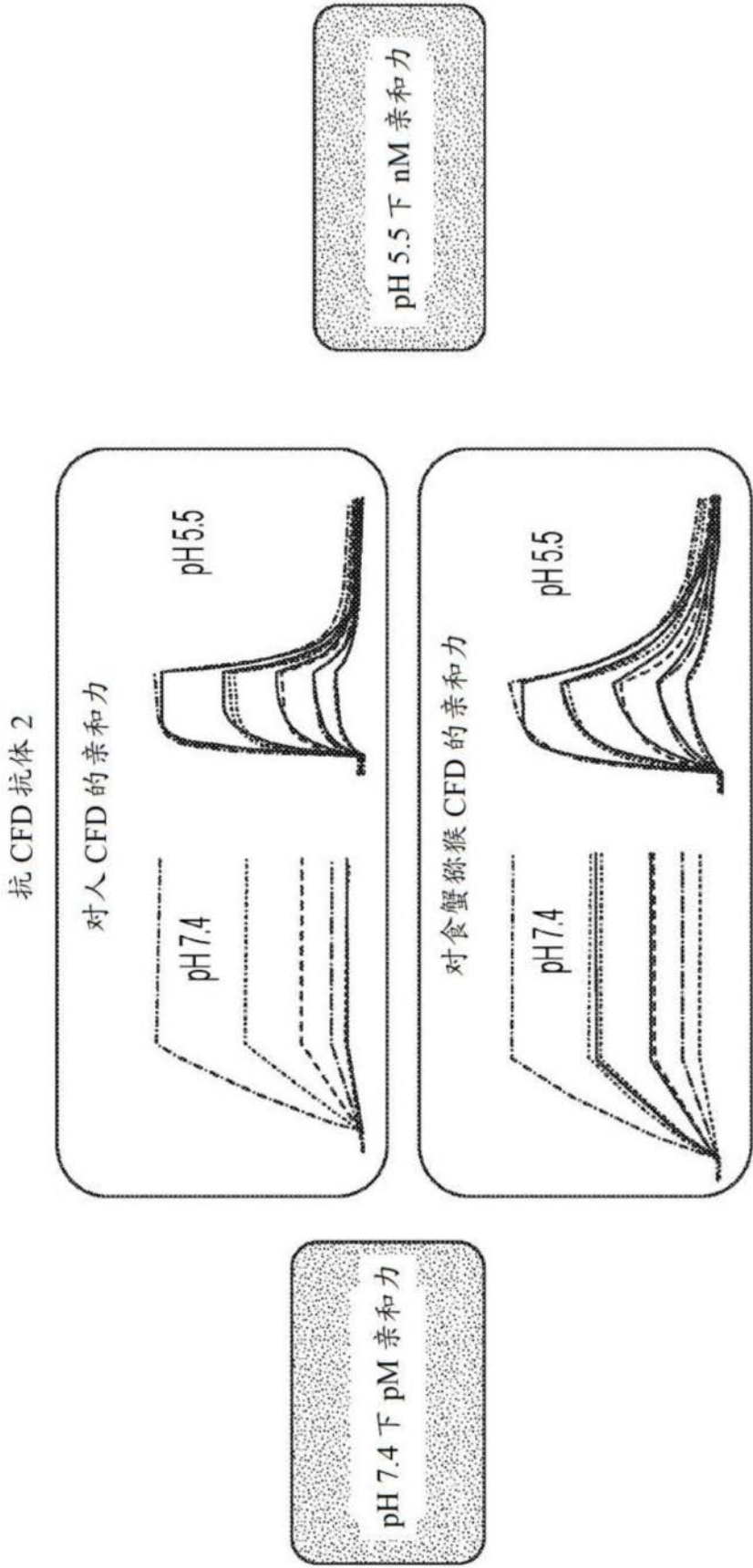


图4

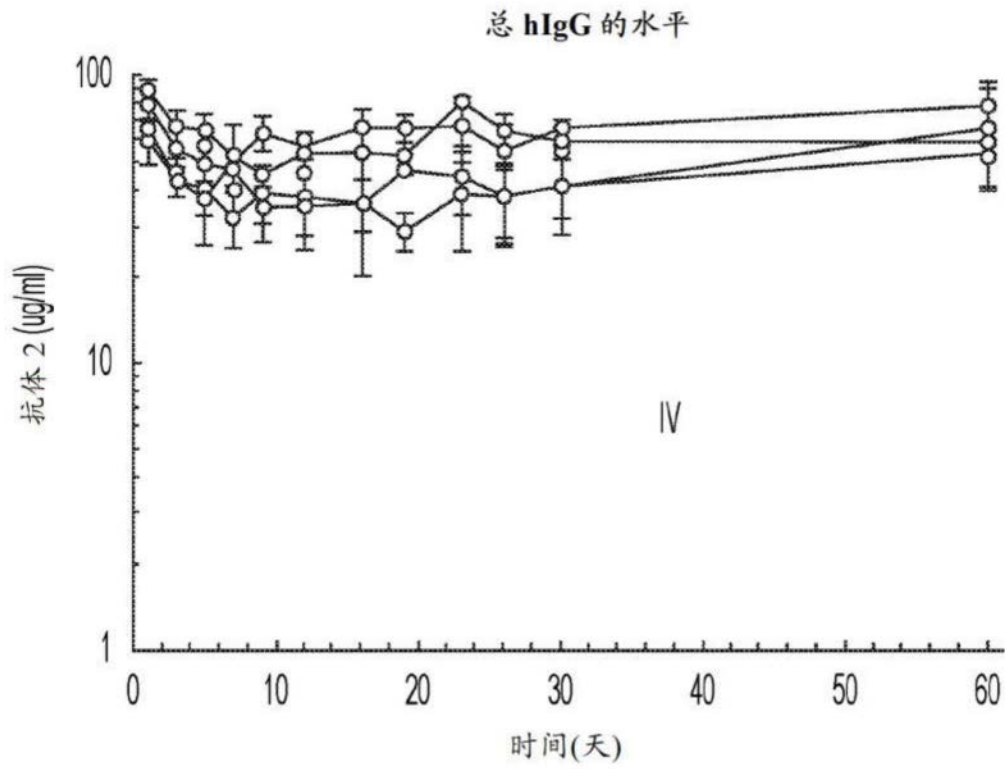


图5

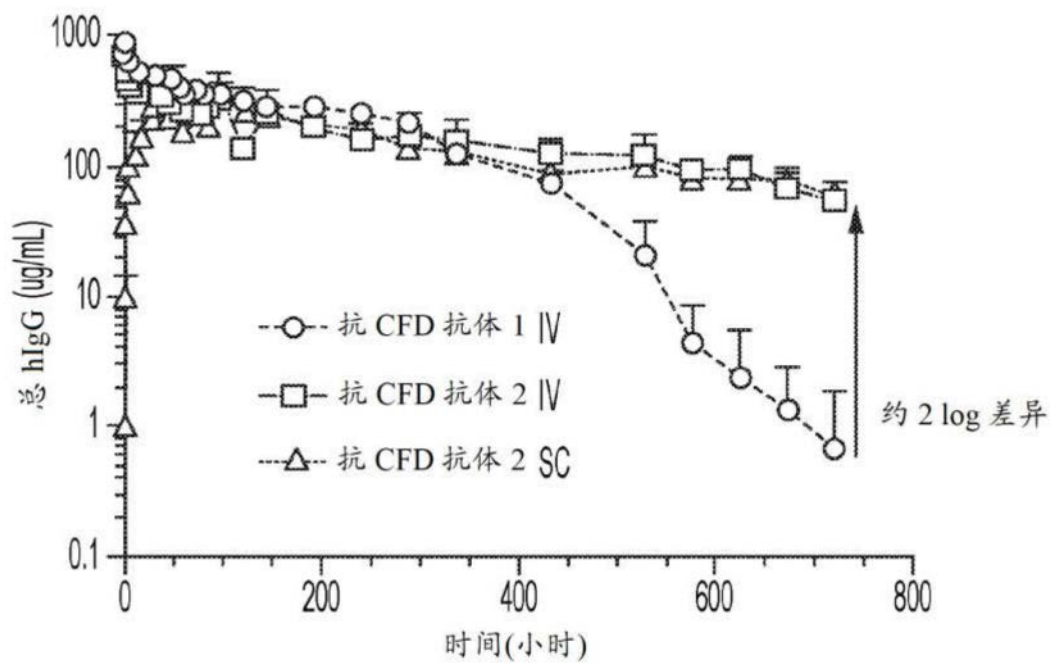


图6

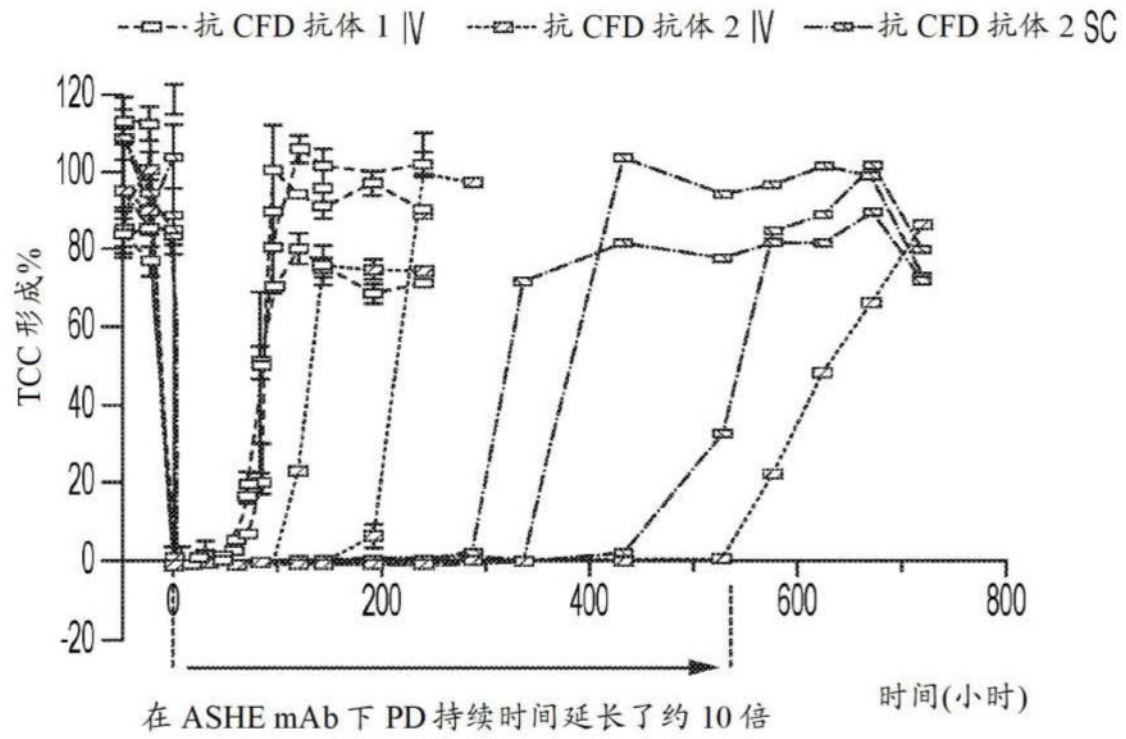


图7

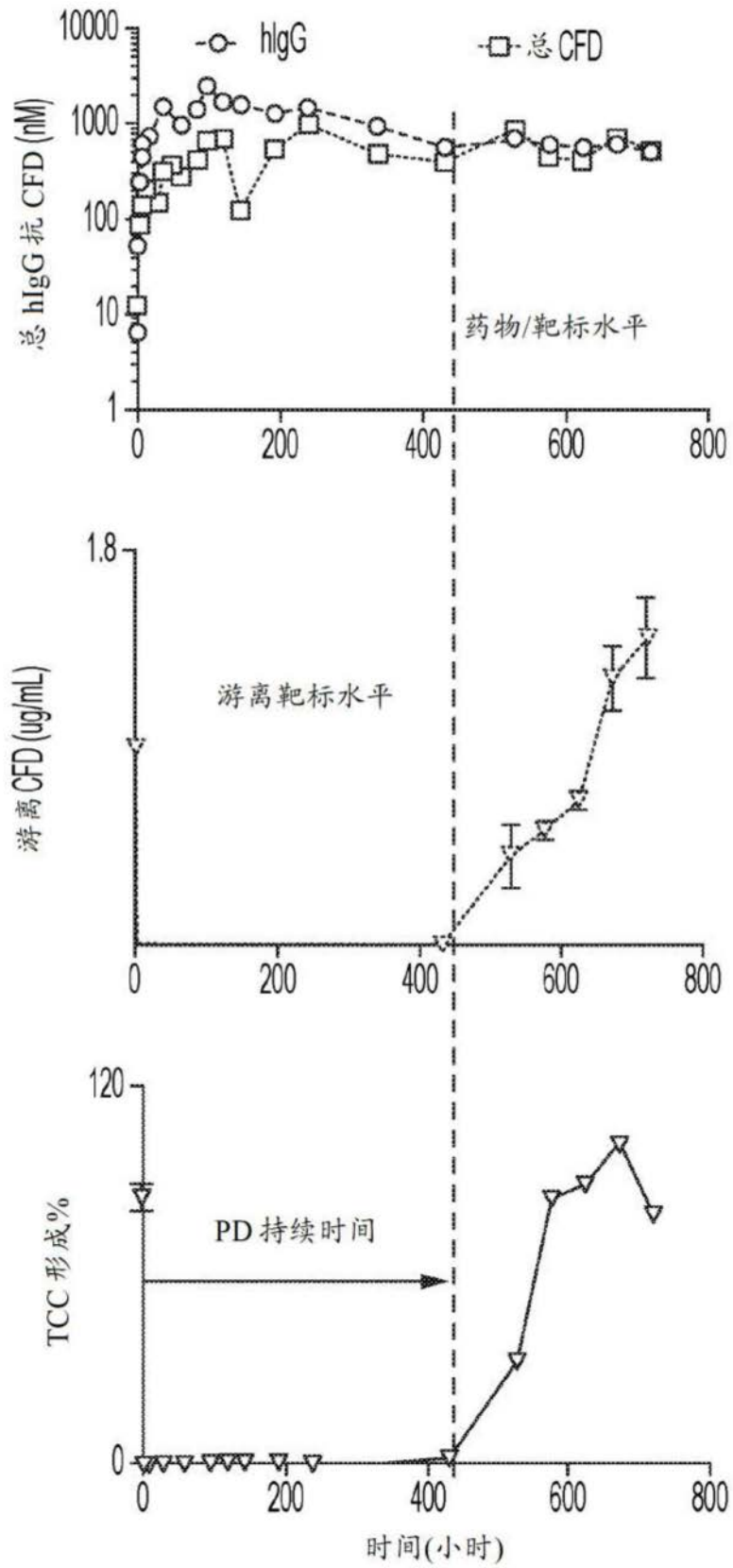


图8

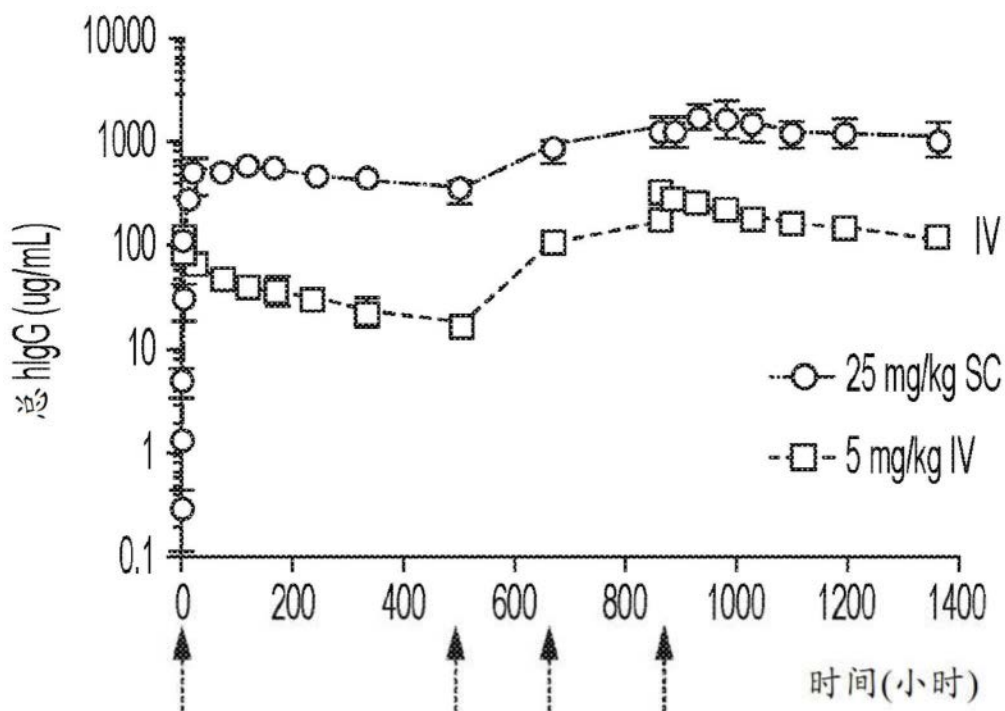


图9

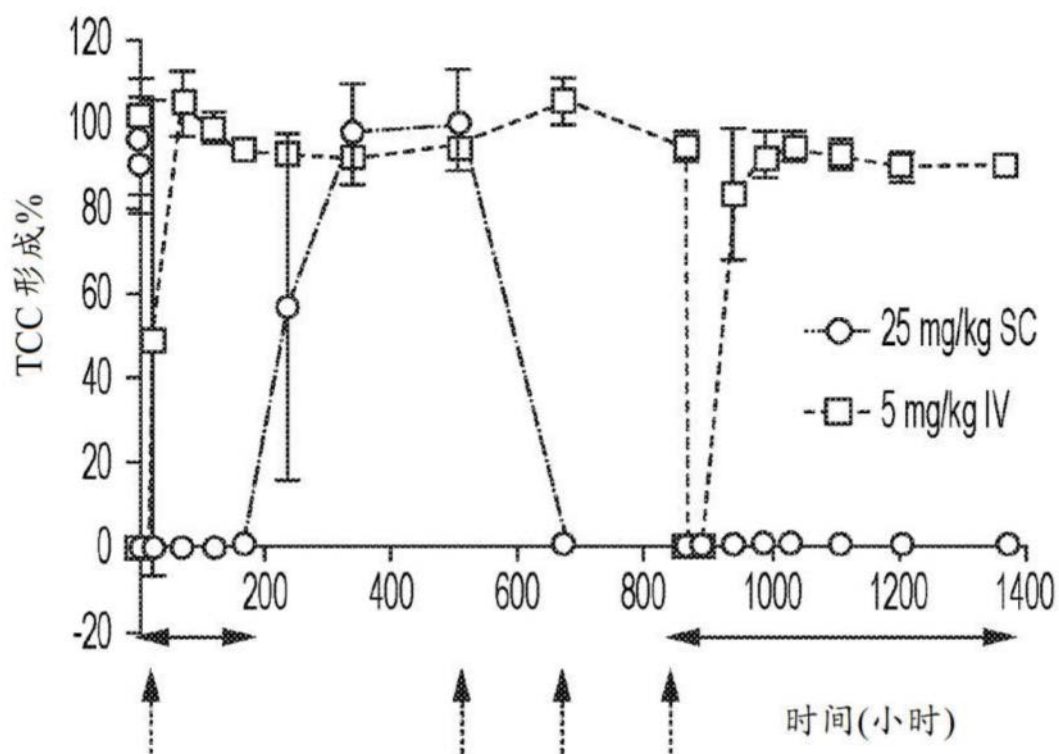


图10