

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2025-512062

(P2025-512062A)

(43)公表日 令和7年4月16日(2025.4.16)

(51)国際特許分類			F I		テーマコード (参考)			
C 0 7 K	19/00	(2006.01)	C 0 7 K	19/00		4 B 0 6 4		
C 0 7 K	14/46	(2006.01)	C 0 7 K	14/46	Z N A	4 B 0 6 5		
C 0 7 K	14/47	(2006.01)	C 0 7 K	14/47		4 C 0 8 4		
C 0 7 K	14/455	(2006.01)	C 0 7 K	14/455		4 H 0 4 5		
C 1 2 N	15/12	(2006.01)	C 1 2 N	15/12				
			審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全55頁)	最終頁に続く	
(21)出願番号			特願2024-560447(P2024-560447)		(71)出願人			524374946
(86)(22)出願日			令和5年4月6日(2023.4.6)					ロンバイオ ファーマ (スーチョウ) カ
(85)翻訳文提出日			令和6年12月10日(2024.12.10)					ンパニー, リミティド
(86)国際出願番号			PCT/CN2023/086593					中華人民共和国, シャンハイ 2 0 1 2
(87)国際公開番号			WO2023/197930					0 3, プートン ニュー エリア, ツーチ
(87)国際公開日			令和5年10月19日(2023.10.19)					ョンチー ロード # 8 8 7, ビルディン
(31)優先権主張番号			202210374811.2					グ ナンバー 8 8, ルーム 3 0 2
(32)優先日			令和4年4月11日(2022.4.11)		(74)代理人			100099759
(33)優先権主張国・地域又は機関								弁理士 青木 篤
			中国(CN)		(74)代理人			100123582
(81)指定国・地域			AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ					弁理士 三橋 真二
			,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),		(74)代理人			100117019
			EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(					弁理士 渡辺 陽一
			AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,		(74)代理人			100141977
			FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV					弁理士 中島 勝
			最終頁に続く					最終頁に続く

(54)【発明の名称】 補体阻害ハイブリッドタンパク質

(57)【要約】

C F H機能単位及びD A F機能単位を含むハイブリッドタンパク質、それをコードする核酸、並びに補体系の関連疾患又は障害を治療するための方法及びその使用が提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ハイブリッドタンパク質であって、

(i) ヒト補体 H 因子 (CFH) の CCP 1 と、

(ii) ヒト崩壊促進因子 (DAF) の CCP 3 及び CCP 4 と、

任意でシグナルペプチド及び／若しくはタグと、

を含む、又はこれらから成る、ハイブリッドタンパク質。

【請求項 2】

前記 DAF の CCP 3 及び CCP 4 が、ともに直接連結されて、CCP 3-4 を形成する、請求項 1 に記載のハイブリッドタンパク質。

10

【請求項 3】

前記ヒト CFH の CCP 1 が、前記ヒト CFH タンパク質の 19～82 位のアミノ酸配列を含み、又はこのアミノ酸配列から成り、任意選択で、前記 CCP 1 が V62I 変異を含み、前記アミノ酸位置が配列番号 3 に記載のアミノ酸位置に対応して番号付けされる、請求項 1 又は 2 に記載のハイブリッドタンパク質。

【請求項 4】

前記ヒト CFH の CCP 1 が、前記ヒト CFH タンパク質の 19～84 位のアミノ酸配列を含み、又はこのアミノ酸配列から成り、任意選択で、前記 CCP 1 が V62I 変異を含み、前記アミノ酸位置が配列番号 3 に記載のアミノ酸位置に対応して番号付けされる、請求項 1 又は 2 に記載のハイブリッドタンパク質。

20

【請求項 5】

前記ヒト DAF の CCP 3 が、前記ヒト DAF タンパク質の 161～222 位のアミノ酸配列を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、及び／又は前記ヒト DAF の CCP 4 が、前記ヒト DAF タンパク質の 223～285 位のアミノ酸配列を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、前記アミノ酸位置が配列番号 1 に記載のアミノ酸位置に対応して番号付けされる、請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載のハイブリッドタンパク質。

【請求項 6】

前記ヒト DAF の CCP 3 が、前記ヒト DAF タンパク質のアミノ酸配列 163～222 を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、及び／又は前記ヒト DAF の CCP 4 が、前記ヒト DAF タンパク質のアミノ酸配列 223～285 を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、前記アミノ酸位置が配列番号 1 に記載のアミノ酸位置に対応して番号付けされる、請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載のハイブリッドタンパク質。

30

【請求項 7】

前記ヒト DAF の CCP 3-4 が、前記ヒト DAF タンパク質の 161～285 位のアミノ酸配列を含み、又はこのアミノ酸配列から成り、前記アミノ酸位置が配列番号 1 に記載のアミノ酸位置に対応して番号付けされる、請求項 2 に記載のハイブリッドタンパク質。

【請求項 8】

前記ヒト DAF の CCP 3-4 が、前記ヒト DAF タンパク質の 163～285 位のアミノ酸配列を含み、又はこのアミノ酸配列から成り、前記アミノ酸位置が配列番号 1 に記載のアミノ酸位置に対応して番号付けされる、請求項 2～4 のいずれか 1 項に記載のハイブリッドタンパク質。

40

【請求項 9】

(1) 前記ヒト CFH の CCP 1 が、前記ヒト CFH タンパク質の 19～82 位のアミノ酸配列を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、前記ヒト DAF の CCP 3 が、前記ヒト DAF タンパク質のアミノ酸配列 161～222 を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、かつ前記ヒト DAF の CCP 4 が、前記ヒト DAF タンパク質のアミノ酸配列 223～285 を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り；

(2) 前記ヒト CFH の CCP 1 が、前記ヒト CFH タンパク質の 19～84 位のアミノ酸配列を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、前記ヒト DAF の CCP 3 が、前

50

記ヒト D A F タンパク質のアミノ酸配列 1 6 3 ~ 2 2 2 を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、かつ前記ヒト D A F の C C P 4 が、前記ヒト D A F タンパク質のアミノ酸配列 2 2 3 ~ 2 8 5 を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り；

(3) 前記ヒト C F H の C C P 1 が、前記ヒト C F H タンパク質の 1 9 ~ 8 2 位のアミノ酸配列を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、かつ前記ヒト D A F の C C P 3 - 4 が、前記ヒト D A F タンパク質の 1 6 1 ~ 2 8 5 位のアミノ酸配列を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り；又は

(4) 前記ヒト C F H の C C P 1 が、前記ヒト C F H タンパク質の 1 9 ~ 8 4 位のアミノ酸配列を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、かつ前記ヒト D A F の C C P 3 - 4 が、前記ヒト D A F タンパク質の 1 6 3 ~ 2 8 5 位のアミノ酸配列を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り；

前記ヒト C F H タンパク質のアミノ酸位置が、配列番号 3 に記載のアミノ酸位置に対応して番号付けされ、前記ヒト D A F タンパク質のアミノ酸位置が、配列番号 1 に記載のアミノ酸位置に対応して番号付けされる、

請求項 2 に記載のハイブリッドタンパク質。

【請求項 10】

前記ヒト C F H の C C P 1 が、V 6 2 I 変異を有する、請求項 9 に記載のハイブリッドタンパク質。

【請求項 11】

前記ヒト C F H タンパク質が、ネイティブなヒト C F H タンパク質であるか、又は

(i) 配列番号 3 若しくは 5 に記載のアミノ酸配列；

(ii) 配列番号 4 若しくは 6 に記載のヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列；若しくは

(iii) (i) 若しくは (ii) に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、若しくは 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列；

を含むか、又は

(i) ~ (iii) のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列から成る、

請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載のハイブリッドタンパク質。

【請求項 12】

前記ヒト D A F タンパク質が、ネイティブなヒト D A F タンパク質であるか、又は

(i) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列；

(ii) 配列番号 2 に記載のヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列；若しくは

(iii) (i) 若しくは (ii) に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、若しくは 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列；

を含むか、又は

(iv) (i) ~ (iii) のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列から成る、

請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載のハイブリッドタンパク質。

【請求項 13】

前記ヒト C F H の C C P 1 が、配列番号 1 2、1 3、1 4、若しくは 1 5 に記載されているアミノ酸配列、若しくは配列番号 1 2、1 3、1 4 若しくは 1 5 に記載されているアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、若しくは 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、若しくはこのアミノ酸配列から成る；

前記ヒト D A F の C C P 3 が、配列番号 7 若しくは 8 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 7 若しくは 8 に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、若しくは 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、若しくはこのアミノ酸配列から成る；

前記ヒト D A F の C C P 4 が、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 9 に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、若しくは 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、若しくはこのアミノ酸配列から成る；及び／

10

20

30

40

50

又は

前記ヒト D A F の C C P 3 - 4 が、配列番号 1 0 若しくは配列番号 1 1 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 1 0 若しくは配列番号 1 1 に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、若しくは 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、若しくはこのアミノ酸配列から成る、

請求項 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載のハイブリッドタンパク質。

【請求項 1 4】

前記タグが、例えば、配列番号 1 2 に記載のアミノ酸配列を含む、ヘキサヒスチジンタグ又はビオチンタグなどの精製タグである、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載のハイブリッドタンパク質。

10

【請求項 1 5】

前記シグナルペプチドが分泌性であり、例えば、配列番号 1 7 に記載のアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載のハイブリッドタンパク質。

【請求項 1 6】

前記ハイブリッドタンパク質が、配列番号 1 8 ~ 3 3 のいずれか 1 つのアミノ酸配列、若しくは前記アミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、若しくは 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列、を含む、又はこれらのアミノ酸配列のいずれかから成る、請求項 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載のハイブリッドタンパク質。

【請求項 1 7】

請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載のハイブリッドタンパク質をコードする核酸分子。

20

【請求項 1 8】

請求項 1 7 に記載の核酸分子を含む発現ベクターであって、好ましくは、前記発現ベクターが p c D N A 3 . 1 である、発現ベクター。

【請求項 1 9】

請求項 1 7 に記載の核酸分子又は請求項 1 8 に記載の発現ベクターを含む宿主細胞であって、好ましくは、前記宿主細胞が、原核細胞又は真核細胞、例えば、E x p i 2 9 3 細胞などの 2 9 3 細胞などである、宿主細胞。

【請求項 2 0】

請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載のハイブリッドタンパク質を調製する方法であって、前記方法が、前記ハイブリッドタンパク質の発現に適した条件下で請求項 1 9 に記載の宿主細胞を培養することを含み、並びに任意に、前記宿主細胞又は宿主細胞培養液から前記タンパク質を単離すること、及び／又は前記タンパク質を精製することをさらに含む、方法。

30

【請求項 2 1】

請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載のハイブリッドタンパク質若しくはそれをコードする核酸分子、又は請求項 1 7 に記載の核酸分子、及び任意に、薬学的に許容される賦形剤、を含む、医薬組成物又は医薬品又は製剤。

【請求項 2 2】

請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載のハイブリッドタンパク質若しくはそれをコードする核酸分子、又は請求項 1 7 に記載の核酸分子；及び追加の治療薬、を含む、併用医薬製品。

40

【請求項 2 3】

対象における補体系関連疾患又は障害を予防又は治療する方法であって、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載のハイブリッドタンパク質若しくはそれをコードする核酸分子；又は請求項 1 7 に記載の核酸分子；又は請求項 2 1 に記載の医薬組成物若しくは製剤；又は請求項 2 2 に記載の併用医薬製品、の有効量を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 2 4】

前記疾患又は障害が、補体系の異常な活性化又は補体系の調節異常によるものである、請求項 2 3 に記載の方法。

50

【請求項 25】

前記補体系の異常な活性化又は補体系の調節異常が、例えば、微生物感染若しくは自己免疫抗体の増加、又は補体調節タンパク質の機能の低下、欠失、無力化、若しくは妨害若しくは遮断によるものである、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記補体系関連疾患又は障害が、溶血阻害を必要とする疾患、例えば、補体免疫の古典経路及び／若しくは補体免疫の代替経路の溶血の阻害を必要とする疾患など；又は C3b 沈着活性の阻害を必要とする疾患、例えば、デンスデポジット病 DDD など、から選択される、請求項 23 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、CFH 機能単位及び DAF 機能単位を含むハイブリッドタンパク質、それをコードする核酸、並びに補体系に関連する疾患又は障害を治療するための方法及びその使用に関する。

【背景技術】

【0002】

自然免疫系の一部として、補体系は 30 種類を超える可溶性タンパク質分子と、内在性補体成分、各種調節因子、補体受容体など 30 種類を超える分子を含む。補体系が病原体に直接作用し、病原体特異的な適応免疫応答を促進することはよく知られている。また、補体系は、細胞の分化と極性化、組織再生、脂質代謝、免疫複合体のクリアランス、アポトーシスなどに関与している。補体の活性化制御が欠失したり、不適切であったりすると、宿主組織にダメージを与えることになるため、補体系は一連のタンパク質によって厳密に制御されており、補体活性化制御因子（RCA）ファミリータンパク質が主に補体制御に関与している；RCA タンパク質には、崩壊促進因子（DAF；CD55）、膜補因子タンパク質（MCP；CD46）及び補体受容体 1（CR1；CD35）などの膜タンパク質や、H 因子（FH 又は CFH）、C4b 結合タンパク質（C4BP）などの液相タンパク質が含まれる。RCA タンパク質の構造は、補体制御タンパク質反復（CCP）モジュールから成り、そのうち連続する 2～4 モジュールが崩壊促進活性（DAA）と補因子活性（CFA）として知られる制御機能に寄与している。RCA タンパク質は、補体経路の中心酵素である C3/C5 転換酵素を標的として作用する。RCA タンパク質は、これらの転換酵素又はその非触媒サブユニットに結合し、これらの酵素を不活性化する。DAA は、インベルターゼが RCA タンパク質に結合後にサブユニットへと不可逆的に解離すること、一方 CFA は、RCA タンパク質が非触媒サブユニット（C3b/C4b）に結合した後、セリンプロテアーゼ I 因子（FI）のリクルートを介してインベルターゼが切断・不活化されることとして見いだされ、それらにより C3 転換酵素の形成が阻止される。H 因子はオプソニンであり、補体レセプター 2 及び 3 のリガンドであり、C3b を iC3b に触媒的に切断する際に I 因子の補因子として働き、C3b の増幅を阻害する。H 因子は、代替経路における C3 転換酵素 C3bBb の不可逆的解離を促進し、また、プロ転換酵素の形成過程では C3b の結合において B 因子と競合する可能性がある。H 因子は可溶性の補体制御因子で、細胞外マトリックス ECM などの表面を保護するのに必須である。FH はペプチドホルモンであるアドレノメデュリンと結合し、その分解を防ぐことができる。FH は、C 反応性タンパク質、5 量体タンパク質、DNA、ヒストン、アネキシン II、タンパク質のマロンジアルデヒド・アセトアルデヒド付加体、及び酸化脂質との相互作用を通じて、細胞の老化、ストレス、又は傷害を管理する役割を担っている。FHL1 はまた、I 因子の補因子活性と、C3bBb 崩壊促進活性を持つ（The Complement Facts Book. Scott Barnum 及び Theresa Schein 編、Copyright 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved. <https://doi.org/10.1016/C2015-0-06595-9>, 第 30 章）。

20

30

40

50

【0003】

DAFは、古典的及び代替的なC3及びC5転換酵素の形成を阻害し、崩壊を促進することにより、C3及びC5の切断を阻害し、自己補体攻撃から宿主細胞を本質的に保護する。精製DAFを細胞に添加すると、それは細胞膜に取り込まれ、機能的活性を示すことができる。DAFはまた、T細胞寛容を制御し、自己免疫疾患のいくつかの動物モデルを負に制御することが見出されている(The Complement Facts Book. Scott Barnum及びTheresa Schein編、Copyright 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved. <https://doi.org/10.1016/C2015-0-06595-9>、第25章)。

10

【0004】

本発明は、より優れた補体調節活性を有するハイブリッドタンパク質に関するものであり、このハイブリッドタンパク質は、より優れた治療効果などの利点を有し得ることが期待される。

【発明の概要】

【0005】

本発明は、CFHとDAFのハイブリッドタンパク質に関し、CFHのCCP1/SCR1がDAFのCCP(例えば、DAFのCCP3-4/SCR3-4)と融合してハイブリッドタンパク質を形成する。

【0006】

ハイブリッドタンパク質は、代替経路(AP)、古典的経路(CP)、及び／又はC3b沈着を阻害する活性を包含する、より優れた補体阻害活性を有する。

20

【0007】

いくつかの実施形態において、ハイブリッドタンパク質は、ヒト補体溶血活性を阻害するのに有効である。

【0008】

いくつかの実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質は、ヒト補体古典経路の溶血及び／又はヒト補体代替経路の溶血を阻害するのに有効である。

【0009】

いくつかの実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質はC3b沈着を阻害するのに有効である。

30

【0010】

例えば、本発明のハイブリッドタンパク質は、CFHのCPP1/SCR1を含むことを基準として、DAFのCCPをより少なくさらに含むので、より小さい分子量を有するハイブリッドタンパク質を得ることができる。このハイブリッドタンパク質は、例えば、眼科、脳内薬物などの治療用途に用いる場合、より高いモル濃度の投与量で同じ質量濃度で投与することができ、したがって、より大きな分子量の他の一般的に使用される補体調節タンパク質と比較して(特に、CFHの他のCCPも含むハイブリッドタンパク質と比較して)、より優れた治療効果又はより長い投与間隔の可能性を有する。また、腫瘍組織や血液脳関門などの組織への浸透には、分子量が小さい方が有利な場合もある。

40

【0011】

いくつかの実施形態において、本発明は以下の特定の事項に関する：

1. ハイブリッドタンパク質であって、

(i) ヒト補体H因子(CFH)のCCP1と、

(ii) ヒト崩壊促進因子(DAF)のCCP3及びCCP4と、

任意でシグナルペプチド及び／若しくはタグと、

を含む、又はこれらから成る、ハイブリッドタンパク質。

【0012】

2. 前記DAFのCCP3及びCCP4が、ともに直接連結され(directly linked together)て、CCP3-4を形成する、実施形態1に記載のハ

50

イブリッドタンパク質。

【0013】

3. 実施形態1又は2に記載のハイブリッドタンパク質であって、前記ヒトCFHのCCP1が、前記ヒトCFHタンパク質の19～82位のアミノ酸配列を含むか、又はこのアミノ酸配列から成り、任意選択で、前記CCP1がV62I変異を含み、前記アミノ酸位置が配列番号3に記載のアミノ酸位置に対応して番号付けされる (numbered corresponding to)、ハイブリッドタンパク質。

【0014】

4. 実施形態1又は2に記載のハイブリッドタンパク質であって、前記ヒトCFHのCCP1が、前記ヒトCFHタンパク質の19～84位のアミノ酸配列を含むか、又はこのアミノ酸配列から成り、任意選択で、前記CCP1がV62I変異を含み、前記アミノ酸位置の番号が配列番号3に記載のアミノ酸位置に対応する、ハイブリッドタンパク質。

【0015】

5. 前記ヒトDAFのCCP3が、前記ヒトDAFタンパク質の161位～222位のアミノ酸配列を含むか、若しくはこのアミノ酸配列から成り、及び／又は前記ヒトDAFのCCP4が、前記ヒトDAFタンパク質の223位～285位のアミノ酸配列を含むか、若しくはこのアミノ酸配列から成り、前記アミノ酸位置の番号が配列番号1に記載されるアミノ酸位置に対応する、実施形態1～4のいずれか1つに記載のハイブリッドタンパク質。

【0016】

6. 前記ヒトDAFのCCP3が、前記ヒトDAFタンパク質のアミノ酸配列163～222を含むか、若しくはこのアミノ酸配列から成り、及び／又は前記ヒトDAFのCCP4が、前記ヒトDAFタンパク質のアミノ酸配列223～285を含むか、若しくはこのアミノ酸配列から成り、前記アミノ酸位置の番号が配列番号1に記載のアミノ酸位置に対応する、実施形態1～4のいずれか1つに記載のハイブリッドタンパク質。

【0017】

7. 前記ヒトDAFのCCP3-4が、前記ヒトDAFタンパク質の161位～285位のアミノ酸配列を含むか、又はこのアミノ酸配列から成り、前記アミノ酸位置の番号が配列番号1に記載されるアミノ酸位置に対応する、実施形態2に記載のハイブリッドタンパク質。

【0018】

8. 前記ヒトDAFのCCP3-4が、前記ヒトDAFタンパク質の163位～285位のアミノ酸配列を含むか、又はこのアミノ酸配列から成り、前記アミノ酸位置の番号が配列番号1に記載のアミノ酸位置に対応する、実施形態2～4のいずれか1つに記載のハイブリッドタンパク質。

【0019】

9. (1) 前記ヒトCFHのCCP1が、前記ヒトCFHタンパク質の19～82位のアミノ酸配列を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、前記ヒトDAFのCCP3が、前記ヒトDAFタンパク質のアミノ酸配列161～222を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、かつ前記ヒトDAFのCCP4が、前記ヒトDAFタンパク質のアミノ酸配列223～285を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り；

(2) 前記ヒトCFHのCCP1が、前記ヒトCFHタンパク質の19～84位のアミノ酸配列を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、前記ヒトDAFのCCP3が、前記ヒトDAFタンパク質のアミノ酸配列163～222を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、かつ前記ヒトDAFのCCP4が、前記ヒトDAFタンパク質のアミノ酸配列223～285位を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り；

(3) 前記ヒトCFHのCCP1が、前記ヒトCFHタンパク質の19～82位のアミノ酸配列を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、かつ前記ヒトDAFのCCP3-4が、前記ヒトDAFタンパク質の161～285位のアミノ酸配列を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り；又は

10

20

30

40

50

(4) 前記ヒトCFHのCCP1が、前記ヒトCFHタンパク質の19～84位のアミノ酸配列を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り、かつ前記ヒトDAFのCCP3-4が、前記ヒトDAFタンパク質の163～285位のアミノ酸配列を含み、若しくはこのアミノ酸配列から成り；

前記ヒトCFHタンパク質のアミノ酸位置が、配列番号3に記載のアミノ酸位置に対応して番号付けされ、前記ヒトDAFタンパク質のアミノ酸位置が、配列番号1に記載のアミノ酸位置に対応して番号付けされる、実施形態2に記載のハイブリッドタンパク質。

【0020】

10. 前記ヒトCFHのCCP1がV62I変異を有する、実施形態9に記載のハイブリッドタンパク質。

10

【0021】

11. 前記ヒトCFHタンパク質が、ネイティブなヒトCFHタンパク質であるか、又は

(i) 配列番号3若しくは5に記載のアミノ酸配列；

(ii) 配列番号4若しくは6に記載のヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列；若しくは

(iii) (i)若しくは(ii)に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列；

を含むか、又は

(i)～(iii)のいずれか1つに記載のアミノ酸配列から成る、実施形態1～10のいずれか1つに記載のハイブリッドタンパク質。

20

【0022】

12. 前記ヒトDAFタンパク質が、ネイティブなヒトDAFタンパク質であるか、又は

(i) 配列番号1に記載のアミノ酸配列；

(ii) 配列番号2に記載のヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列；若しくは

(iii) (i)若しくは(ii)に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列；

を含むか、又は

(i)～(iii)のいずれか1つに記載のアミノ酸配列から成る、実施形態1～11のいずれか1つに記載のハイブリッドタンパク質。

30

【0023】

13. 前記ヒトCFHのCCP1が、配列番号12、13、14、若しくは15に記載されているアミノ酸配列、若しくは配列番号12、13、14、若しくは15に記載されているアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、若しくはこれらのアミノ酸配列のいずれかから成る；

前記ヒトDAFのCCP3が、配列番号7若しくは8に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号7若しくは配列番号8に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、若しくはこれらのアミノ酸配列のいずれかから成る；

40

前記ヒトDAFのCCP4が、配列番号9に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号9に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、若しくはこれらのアミノ酸配列のいずれかから成る；及び／又は

前記ヒトDAFのCCP3-4が、配列番号10若しくは配列番号11に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号10若しくは配列番号11に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、若しくはこれらのアミノ酸配列のいずれかから成る、

50

実施形態 1～12 のいずれか 1 つに記載のハイブリッドタンパク質。

【0024】

14. 前記タグが、例えば、配列番号 12 に記載のアミノ酸配列を含む、ヘキサヒスチジンタグ又はビオチンタグなどの精製タグである、実施形態 1～13 のいずれか 1 つに記載のハイブリッドタンパク質。

【0025】

15. 前記シグナルペプチドが分泌性であり、例えば、配列番号 17 に記載のアミノ酸配列を含む、実施形態 1～14 のいずれか 1 つに記載のハイブリッドタンパク質。

【0026】

16. 前記ハイブリッドタンパク質が、配列番号 18～33 のいずれか 1 つのアミノ酸配列、若しくはこのアミノ酸配列に対して少なくとも 95%、96%、97%、98%、若しくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含む、又はこれらのアミノ酸配列のいずれかから成る、実施形態 1～15 のいずれか 1 つに記載のハイブリッドタンパク質。

【0027】

17. 実施形態 1～16 のいずれか 1 つに記載のハイブリッドタンパク質をコードする核酸分子。

【0028】

18. 実施形態 17 の核酸分子を含む発現ベクターであって、好ましくは、前記発現ベクターが p c D N A 3. 1 である、発現ベクター。

【0029】

19. 実施形態 17 の核酸分子又は実施形態 18 の発現ベクターを含む宿主細胞であって、好ましくは、前記宿主細胞が原核細胞又は真核細胞、例えば、E x p i 2 9 3 細胞などの 2 9 3 細胞などである、宿主細胞。

【0030】

20. 実施形態 1～16 のいずれか 1 つに記載のハイブリッドタンパク質を調製する方法であって、前記ハイブリッドタンパク質の発現に適した条件下で、実施形態 19 に記載の宿主細胞を培養することを含み、並びに任意に、前記宿主細胞又は宿主細胞培養液から前記タンパク質を単離すること、及び／又は前記タンパク質を精製することをさらに含む、方法。

【0031】

21. 実施形態 1～16 のいずれか 1 つに記載のハイブリッドタンパク質若しくはそれをコードする核酸分子、又は実施形態 17 に記載の核酸分子；及び任意に、薬学的に許容される賦形剤、を含む、医薬組成物又は医薬品又は製剤。

【0032】

22. 実施形態 1～16 のいずれか 1 つに記載のハイブリッドタンパク質若しくはそれをコードする核酸分子、又は実施形態 17 に記載の核酸分子；及び追加の治療薬、を含む、併用医薬製品。

【0033】

23. 対象における補体系関連疾患又は障害を予防又は治療する方法であって、実施形態 1～16 のいずれか 1 つのハイブリッドタンパク質若しくはそれをコードする核酸分子；又は実施形態 17 の核酸分子；又は実施形態 21 の医薬組成物若しくは製剤；又は実施形態 22 の併用医薬製品、の有効量を前記対象に投与することを含む、方法。

【0034】

24. 前記疾患又は障害が、補体系の異常な活性化又は補体系の調節異常によるものである、実施形態 23 に記載の方法。

【0035】

25. 前記補体系の異常な活性化又は補体系の調節異常が、例えば、微生物感染若しくは自己免疫抗体の増加、又は補体調節タンパク質の機能の低下 (d e c r e a s e) 、欠失 (d e l e t i o n) 、無力化 (i n c a p a c i t a t i o n) 、若しくは妨害 (i n t e r f e r e n c e) 若しくは遮断 (b l o c k a d e) によるものである、実施形

10

20

30

40

50

態 2 4 に記載の方法。

【0036】

26. 前記補体系関連疾患又は障害が、溶血阻害を必要とする疾患、例えば、補体免疫の古典経路及び／若しくは補体免疫の代替経路の溶血の阻害を必要とする疾患など；又は C3b 沈着活性の阻害を必要とする疾患、デンスデポジット病 DDD など、から選択される、実施形態 23 に記載の方法。

【図面の簡単な説明】

【0037】

【図1】 CFH CCP1-5 と DAF CCP1-4 の結晶構造と、ハイブリッドタンパク質の構造モデルを示す。

【図2】 試験する各タンパク質の SDS-PAGE 電気泳動パターンを示す。

【図3】 試験する各タンパク質の CP 阻害活性を示す。

【図4】 試験する各タンパク質の AP 阻害活性を示す。

【図5】 試験する各タンパク質の C3b 沈着阻害活性を示す。

【発明を実施するための形態】

【0038】

発明の詳細な説明

I. 定義

本発明は、本明細書に記載される特定の方法論、プロトコル、及び試薬に限定されないことを理解されたい。本明細書で使用される用語は、特定の実施形態を説明するためだけのものであり、添付の請求の範囲によってのみ限定されるものであり、本発明の範囲を限定することを意図するものではないことを理解されたい。別段の定義がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野における当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。

【0039】

崩壊促進因子 (DAF)

崩壊促進因子 (Decay-accelerating Factor、DAF、CD55) は、膜に結合した調節タンパク質で、自己細胞をその表面上の自己補体の活性化から保護する。DAF は C3 及び C5 転換酵素 (カスケードの中心酵素) を速やかに解離させることにより作用する。DAF は補体調節に関連するタンパク質の中で最も強力な減弱促進活性を持ち、古典的経路酵素 (C4b2a 及び C4b2a3b) 及び代替経路酵素 (C3bBb 及び C3BbC3b) に作用する。しかし、DAF は補因子機能を持たない。

【0040】

DAF の構造解析によると、N 末端から始まり、長さ 4~60 アミノ酸のユニットから成り、高度に O-グリコシル化されたセリン (S) とスレオニン (T) に富んだ断片 (STP)、続いて翻訳後に付加されたグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) アンカーが続く。

【0041】

いくつかの実施形態では、DAF は以下のアクセッション番号を有するヒト DAF である。Genbank アクセッション番号 M31516、M15799、M64653、S72858、又は M643567。

【0042】

いくつかの実施形態において、DAF はヒト DAF である。いくつかの実施形態において、ヒト DAF は、ネイティブヒト DAF である。いくつかの実施形態において、ネイティブヒト DAF のアミノ酸配列は、配列番号 1 に記載されており、様々なモジュールが以下の表 1 に示されている。補体制御タンパク質反復 (CCP) 又はショートコンセンサスリピート (SCR) と呼ばれる 4 つの 60 アミノ酸長の反復単位。CCP1 はアミノ酸 35~96 を含み、CCP2 はアミノ酸 96~160 を含み、CCP3 はアミノ酸 161~222 を含み、CCP4 はアミノ酸 223~285 を含む。これらは DAF のすべての制御活性を提供する。高度に O-グリコシル化された領域は、CCP を適切な距離で表面膜

上に浮遊させるクッションの役割を果たす。GPIアンカーは、DAFが細胞膜上を自由に動くことを可能にし、インペルターゼ複合体が組み立てられる場所ならどこでも不活性化することを可能にする。この文脈において、DAFのモジュールのアミノ酸位置への言及は、配列番号1に記載されているアミノ酸位置番号に対応するように行われる。

【0043】

【表1】

表1：DAFのタンパク質モジュール（UniProtの方法で分ける）

配列番号1のアミノ酸位置	モジュール
1-34	リードペプチド
35-96	CCP1
96-160	CCP2
161-222	CCP3
223-285	CCP4
287-356	STP

10

【0044】

いくつかの実施形態において、DAFをコードするcDNAのヌクレオチド配列は、配列番号2に記載されている。

【0045】

H因子（CFH又はFH）

「補体H因子」、「H因子」、「FH」、「CFHタンパク質」又は「CFH」は互換的に使用され、補体活性化ファミリーの制御因子のメンバーであり補体制御タンパク質である約150kDaのタンパク質を指す。CFHはヒトの血漿中を循環する大きな可溶性糖タンパク質で、補体系の代替経路を制御し、補体系が病原体やその他の危険な物質に向けられ、宿主組織に損傷を与えないことを確保する役割を果たす。

【0046】

H因子は主に単量体であるが、弱く会合することができ（ $KD = 28 \mu M$ ）、グリコサミノグリカンや高濃度の金属イオンの存在下ではオリゴマーになる可能性がある。CFHは補体制御タンパク質リピート（CCP）（SCR又はスシドメイン）と呼ばれる20個の相同ユニットから成り、その一部は細胞接着に機能し、他のリピートは細胞表面からC3bを排除する機能を持つ。20個のSCRはそれぞれ約60アミノ酸の長さで、頭から尾まで並んでおり、4個のシステイン残基を含み、モジュールごとに2個のジスルフィド結合を形成している。SCR19と20はC3bの結合に関与している。

30

【0047】

スプライスバリエントFHL-1は、最初の7つのCCPと、それに続くC末端の配列Ser-Pro-Leu-Thrから成る。各CCPは約60残基を含み、4つの不変システインを含み、 $Cys^I - Cys^{III}$ 、 $Cys^{II} - Cys^{IV}$ のジスルフィドを形成している。隣接するモジュールは3～8残基の配列でつながっている。

40

【0048】

ネガティブ染色電子顕微鏡の画像により、FH分子は様々なコンフォメーションをとっているが、主に半分に折りたたまれていること示されている。分析的超遠心法、X線小角散乱（PDBにおけるモジュールのデポジション、例えば3GAV）、化学的架橋からも、モジュール鎖自体が曲がっていることが示された。いくつかのFHフラグメントの高分解能構造が、単独又は他の分子との複合体として、以下のように決定された（PDB識別子は以下の括弧内に記載）：CCP1-2（2RLP）、2-3（2RLQ）、1-4（2WII）、5、6-7（例．2W80、2YBY）、7（2JGW、2JGX）、6

50

－ 8 (2 U W N 、 2 V 8 E) 、 9 (4 K 1 2) 、 1 0 － 1 1 (4 B 2 R) 、 1 1 － 1 2 (4 B 2 S) 、 1 2 － 1 3 (2 K M S) 、 1 5 (1 H F I) 、 1 6 (1 H C C) 、 1 5 － 1 6 (1 H F H) 、 1 8 － 2 0 (3 S W O) 、 1 9 － 2 0 (例 えば 2 B Z M 、 2 G 7 I 、 4 O N T) 。 各 C C P は、約 4 n m の長軸と約 2 n m の短軸を持つ長球形に似ており、長軸にほぼ沿った反平行パッチの β ストランドを含み、N 末端と C 末端はその長軸の両端に位置しており、モジュール間の接触、傾き、ねじれが変化するタンデム C C P の端から端までの配置を容易にしている。

【 0 0 4 9 】

いくつかの実施形態において、C F H はヒト C F H 、例えばネイティブヒト C F H である。いくつかの実施形態において、C F H のアミノ酸配列は、以下のアクセッション番号を有する：H G N C : H G N C : 4 8 8 3 、E n s e m b l e . E N S G 0 0 0 0 0 0 0 0 9 7 1 、H P R D : 0 0 6 0 1 、M I M : 1 3 4 3 7 0 又は V e g a . O T T H U M G 0 0 0 0 0 3 5 6 0 7 。

10

【 0 0 5 0 】

いくつかの実施形態では、C F H のアミノ酸配列は配列番号 3 に記載されている。いくつかの実施形態では、C F H の各モジュールに対応するアミノ酸位置を以下の表 2 に示す。

【 0 0 5 1 】

【 表 2 】

表 2 : C F H のタンパク質モジュール (U n i P r o t の方法によって分けられる)

20

配列番号 3 のアミノ酸位置	モジュール
1 － 1 8	リードペプチド
1 9 － 8 2	C C P 1
8 3 － 1 4 3	C C P 2
1 4 4 － 2 0 7	C C P 3
2 0 8 － 2 6 4	C C P 4
2 6 5 － 3 2 2	C C P 5
3 2 4 － 3 8 6	C C P 6
3 8 7 － 4 4 4	C C P 7
4 4 6 － 5 0 7	C C P 8
5 1 5 － 5 6 6	C C P 9
5 6 7 － 6 2 5	C C P 1 0
6 2 8 － 6 8 6	C C P 1 1
6 8 9 － 7 4 6	C C P 1 2
7 5 1 － 8 0 5	C C P 1 3
8 0 9 － 8 6 6	C C P 1 4
8 6 8 － 9 2 8	C C P 1 5
9 2 9 － 9 8 6	C C P 1 6
9 8 7 － 1 0 4 5	C C P 1 7
1 0 4 6 － 1 1 0 4	C C P 1 8
1 1 0 7 － 1 1 6 5	C C P 1 9
1 1 7 0 － 1 2 3 0	C C P 2 0

30

40

【 0 0 5 2 】

いくつかの実施形態において、C F H をコードする c D N A のヌクレオチド配列は、配列番号 4 に記載されている。

【 0 0 5 3 】

50

いくつかの実施形態において、CFHのスプライスバリエントFHL-1をコードするタンパク質配列は、配列番号5に記載されている。いくつかの実施形態において、CFHのスプライスバリエントFHL-1をコードするcDNAのヌクレオチド配列は、配列番号6に記載されている。

【0054】

この文脈では、CFHのモジュールのアミノ酸位置への言及は、配列番号3に記載されているアミノ酸位置番号に対応するように行われる。

【0055】

その他の定義

本明細書を解釈する目的で、以下の定義を使用し、適切な場合には、単数形で使用される用語は複数形も含み、逆もまた同様である。本明細書で使用する用語は、特定の実施形態を説明するためだけのものであり、限定を意図するものではないことを理解されたい。

【0056】

数値とともに使用される「約」という用語は、指定された数値より5%小さい下限値と、指定された数値より5%大きい上限値とを有する数値範囲を包含することを意図している。

【0057】

本明細書において、「及び／又は」という用語は、選択肢のいずれか1つ、又は選択肢の2つ以上若しくはすべてを意味する。

【0058】

本明細書において、「含む (comprises)」又は「含む (includes)」という用語は、記載された要素、整数、又はステップを含むが、他の要素、整数、又はステップを排除しないことを意味する。本明細書において、用語「含む」又は「含む」が使用される場合、それはまた、特に指示がない限り、記載された要素、整数、又はステップの組み合わせを包含する。例えば、特定の配列を「含む」タンパク質への言及は、その特定の配列から成るタンパク質も包含することを意図している。

【0059】

本明細書で使用される場合、「ハイブリッドタンパク質」及び「キメラポリペプチド」という用語は互換的に使用され、少なくとも2つの異種ポリペプチド配列の融合により、任意にリンカーを介して形成される、より大きなポリペプチドを指す。ハイブリッドタンパク質は組換え発現によって生産することができる。

【0060】

アミノ酸配列の「同一性パーセント (%)」とは、候補配列を本明細書に示す特定のアミノ酸配列と整列させ、必要に応じてギャップを導入して最大パーセントの配列同一性を達成した後、配列同一性の一部として含まれる保存的置換を考慮せずに、本明細書に示す特定のアミノ酸配列のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基の割合を指す。いくつかの実施形態において、本発明は、本明細書において具体的に開示されるポリペプチド又はタンパク質に対して、実質的な同一性の程度、例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、97%、98%、又は99%以上の同一性を有する、本発明のタンパク質又はポリペプチドの変異体を企図する。変異体は保存的变化を含んでいてもよい。

【0061】

ポリペプチド配列の場合、「保存的改変」には、ポリペプチド配列の所望の機能活性を実質的に変えない置換、欠失、又は付加が含まれる。例えば、保存的置換は多くの場合、アミノ酸を化学的に類似したアミノ酸に置き換えることになる。機能的に類似したアミノ酸を提供する保存的置換表は当技術分野でよく知られている。互いに保存的に置換されるアミノ酸の8つのグループを以下に挙げる：1) アラニン (A)、グリシン (G)；2) アスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)；3) アスパラギン (N)、グルタミン (Q)；4) アルギニン (R)、リジン (K)；5) イソロイシン (I)、ロイシン (L)、メチオニン (M)、バリン (V)；6) フェニルアラニン (F)、チロシン (Y)、ト

10

20

30

40

50

リプトファン（W）；7）セリン（S）、スレオニン（T）；及び8）システイン（C）、メチオニン（M）。いくつかの実施形態において、「保存的配列改変」という用語は、親ハイブリッドタンパク質の活性に有意に影響しないか、又は活性を変化させないアミノ酸改変を指すために使用される。例えば、保存的に修飾された変異体は、親ポリペプチド又は親ハイブリッドタンパク質に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、98%、又は99%以上、例えば100～110%以上の活性を保持する。

【0062】

「宿主細胞」という用語は、外来性ポリヌクレオチドが導入された細胞を指し、そのような細胞の子孫も包含される。宿主細胞には、「形質転換体」及び「形質転換細胞」が含まれ、一次形質転換細胞及びそれに由来する子孫が包含される。宿主細胞は、哺乳動物細胞、昆虫細胞、酵母細胞のような真核細胞；及び大腸菌細胞のような原核細胞を包含する、本発明のハイブリッドタンパク質を産生するために使用できるあらゆるタイプの細胞系である。宿主細胞には、培養細胞、並びにトランスジェニック動物、トランスジェニック植物、培養植物組織又は動物組織内の細胞が包含される。

10

【0063】

「発現ベクター」という用語は、発現されるべきヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含むベクターを指す。発現ベクターは、発現に十分なシス作用エレメントを含む；発現のための他のエレメントは、宿主細胞又はインビトロ発現系で提供することができる。発現ベクターは、組換えポリヌクレオチドが組み込まれるコスミド、プラスミド（例えば、裸又はリボソームに含まれる）、及びウイルス（例えば、レンチウイルス、レトロウイルス、アデノウイルス、ウイルス、及びアデノ随伴ウイルス）を包含する、当該分野で公知のものをすべて含む。

20

【0064】

「個体」又は「対象」という用語は互換的に使用され、哺乳動物を指す。哺乳動物には、家畜化された動物（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、ウマ）、霊長類（例えば、ヒト、サルなどの非ヒト霊長類）、ウサギ、げっ歯類（例えば、マウス、ラット）が含まれるが、これらに限定されない。）特に、個体（複数）は人々である。

【0065】

「治療する」という用語には、疾患の症状、合併症若しくは生化学的兆候の発症を予防若しくは遅延させ、症状を緩和し、又は疾患、状態若しくは障害のさらなる進行を予防若しくは抑制するために、組成物又はハイブリッドポリペプチドを投与することが含まれる。「予防」という用語には、疾患若しくは障害の発生若しくは進行、又は特定の疾患若しくは障害の症状の抑制が含まれる。

30

【0066】

「医薬賦形剤」という用語は、活性物質とともに投与される希釈剤、アジュバント（フロイントアジュバント（完全及び不完全）など）、賦形剤、担体又は安定剤などを指す。

【0067】

「医薬組成物」という用語は、その中に含まれる有効成分の生物学的活性の発現を可能にするのに有効な形態であり、その組成物が投与される対象に対して許容できない毒性を有する追加成分を含まない組成物を指す。

40

【0068】

「有効量」という用語は、本発明のハイブリッドタンパク質若しくはそれをコードする核酸、又はそれらの組成物若しくは組合せの、単回投与又は複数回投与で患者に投与した場合に、治療又は予防を必要とする患者に所望の効果をもたらす量又は投与量を指す。

【0069】

「治療上有効な量」とは、必要な投与量で、必要な期間、所望の治療結果を達成するのに有効な量をいう。「治療上有効な量」とはまた、ハイブリッドタンパク質又は組成物又は組合せの治療上有益な作用が、その毒性又は有害作用に勝る量である。「治療上有効な量」は、好ましくは、未治療の対象に対して少なくとも約40%、さらに好ましくは少なくとも約50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%若

50

しくは100%、測定可能なパラメータを阻害するか、又は測定可能なパラメータを改善する。

【0070】

「予防的に有効な量」とは、必要な投与量と必要な期間、所望の予防的結果を得るのに有効な量を指す。一般に、予防的有效量は治療的有效量より少ないが、これは予防的投与量が疾患の前又は初期段階で対象に投与されるからである。

【0071】

本発明のこれら及び他の態様及び実施形態は、添付の図面（図面の簡単な説明は直後に続く）及び以下の本発明の詳細な説明に記載され、以下の例において例示される。上記及び本出願全体を通して説明したいずれかの又は全ての特徴は、本発明の様々な実施形態において組み合わせることができる。以下の例は本発明をさらに例示するものであるが、例は限定ではなく例示のために記載されたものであり、当業者によって様々な変更がなされ得ることを理解されたい。

10

【0072】

II. ハイブリッドタンパク質

本発明は、CFH由来の少なくとも1つの機能単位とDAF由来の少なくとも1つの機能単位を含む、CFHとDAFのハイブリッドタンパク質に関する。

【0073】

A. DAF機能ユニット

特定の実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質は、好ましくはDAF由来の機能単位を含む。このような機能単位は、C3及びC5転換酵素を解離させることができ、並びに／又は古典的経路及び／若しくは代替経路におけるC3転換酵素に対する崩壊促進活性を促進させることができる。いくつかの実施形態において、DAF機能単位は、DAFのCCP3及び4を含む。

20

【0074】

このようなCCPのアミノ酸配列は、DAFのネイティブ又は天然のアミノ酸配列と同一であり得る。あるいは、そのようなCCPのアミノ酸配列は、特にアミノ末端又はカルボキシ末端でわずかに変化していることもある。この変化は、制限酵素部位がCCPをコードするポリヌクレオチドに組み込まれるときに起こる。このような変化は、機能ユニットのN末端又はC末端からアミノ酸が欠失した場合にも生じる。例えば、いくつかの実施形態では、CCP3のN末端で1～2個のアミノ酸が欠失されることがある。

30

【0075】

配列中のいくつかのアミノ酸置換、好ましくは保存的置換も、機能活性に影響を与えることなく導入することができる。保存的置換は、例えば、荷電アミノ酸を互いに置換したり、親水性アミノ酸を互いに置換したり、疎水性アミノ酸を互いに置換したり、類似質量のアミノ酸を互いに置換したりすることによって行うことができる。

【0076】

一実施形態では、DAF機能単位は、ヒトDAFタンパク質のCCP3及び／又はCCP4（又はCCP3のC末端とCCP4のN末端がともに直接連結されたCCP3-4）と少なくとも95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、DAF機能単位は、ヒトDAFタンパク質のCCP3及び／又はCCP4（CCP3のC末端とCCP4のN末端がともに直接連結されたCCP3-4）を含む。いくつかの実施形態において、DAF機能単位は、ヒトDAFタンパク質のCCP3及びCCP4を含む。いくつかの実施形態において、DAF機能単位は、CCP3のC末端とCCP4のN末端がともに直接連結されたCCP3-4である。

40

【0077】

いくつかの実施形態において、ヒトDAFタンパク質はネイティブヒトDAFタンパク質である。いくつかの実施形態において、ネイティブヒトDAFタンパク質は、配列番号1として示されるアミノ酸配列を含むか、又はこのアミノ酸配列から成る。DAFは、配列番号2に示されるDNA配列によってコードされるアミノ酸配列を含むか、又はこのア

50

ミノ酸配列から成る。

【0078】

いくつかの実施形態において、CCP3は、DAFのアミノ酸161～222を含むか、又はDAFのアミノ酸161～222から成る。いくつかの実施形態において、CCP3のN末端の1～2アミノ酸は、他の機能単位を付加するために欠失されてもよく、例えば、CCP3は、DAFのアミノ酸163～222を含むか、又はDAFのアミノ酸163～222から成る。

【0079】

いくつかの実施形態において、CCP3は、配列番号7若しくは8に記載のアミノ酸配列、又は配列番号7若しくは配列番号8に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はこれらのアミノ酸配列のいずれかから成る。

10

【0080】

配列番号7：

K S C P N P G E I R N G Q I D V P G G I L F G A T I S F S C N T G Y K L F G S T
S S F C L I S G S S V Q W S D P L P E C R E

【0081】

配列番号8：

C P N P G E I R N G Q I D V P G G I L F G A T I S F S C N T G Y K L F G S T S S
F C L I S G S S V Q W S D P L P E C R E

20

【0082】

いくつかの実施形態では、CCP4はDAFのアミノ酸223～285を含むか、又はDAFのアミノ酸223～285から成る。

【0083】

いくつかの実施形態において、CCP4は、配列番号9に記載のアミノ酸配列、又は配列番号9に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はこれらのアミノ酸配列のいずれかから成る。

【0084】

配列番号9：

I Y C P A P P Q I D N G I I Q G E R D H Y G Y R Q S V T Y A C N K G F T M I G E
H S I Y C T V N N D E G E W S G P P P E C R G

30

【0085】

いくつかの実施形態において、CCP3-4は、DAFのアミノ酸161～285又はアミノ酸163～285を含むか、又はこれらのいずれかから成る。いくつかの実施形態において、DAF機能単位CCP3-4は、配列番号10若しくは配列番号11に記載されるアミノ酸配列、又は配列番号10若しくは配列番号11に記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はこれらのいずれかから成る。

【0086】

配列番号10：ヒトDAF CCP3-4

K S C P N P G E I R N G Q I D V P G G I L F G A T I S F S C N T G Y K L F G S T
S S F C L I S G S S V Q W S D P L P E C R E I Y C P A P P Q I D N G I I Q G E R
D H Y G Y R Q S V T Y A C N K G F T M I G E H S I Y C T V N N D E G E W S G P P
P E C R G

40

【0087】

配列番号11：ヒトDAF CCP3-4（CCP3のN末端から2アミノ酸が欠損している）

C P N P G E I R N G Q I D V P G G I L F G A T I S F S C N T G Y K L F G S T S S
F C L I S G S S V Q W S D P L P E C R E I Y C P A P P Q I D N G I I Q G E R D H

50

Y G Y R Q S V T Y A C N K G F T M I G E H S I Y C T V N N D E G E W S G P P P E
C R G

【0088】

D A Fのアミノ酸位置に言及する場合、アミノ酸配列位置は配列番号1のアミノ酸位置に対応する。

【0089】

B．C F H機能ユニット

特定の実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質は、C F H由来の機能単位を含む。この機能単位は、代替経路C 3転換酵素C 3 b B bを解離する能力及び／又はC 3 bに結合する能力を有する。好ましい実施形態において、C F H機能性ユニットは、C F HのC C P 1を含む。

10

【0090】

このようなC F HのC C Pのアミノ酸配列は、C F Hのネイティブ又は天然に存在するアミノ酸配列と同一である場合がある。あるいは、そのようなC C Pのアミノ酸配列は、特にアミノ末端やカルボキシ末端でわずかに変化していることもある。この変化は、制限酵素部位がC C Pをコードするポリヌクレオチドに組み込まれるときに起こる。このような変化は、機能ユニットのN末端又はC末端からアミノ酸が欠失又は付加された場合にも起こる。

【0091】

例えば、いくつかの実施形態では、C C P 1のC末端で1～2個のアミノ酸が欠失されていることがある。

20

【0092】

いくつかの実施形態では、C C P 2の1～2個のアミノ酸も、D A Fの機能単位を結合させるためにC C P 1のC末端に付加され得るので、本明細書に記載される「C C P 1」は、C末端にアミノ酸（例えば、C C P 2の1～2個のアミノ酸）が付加されたC C P 1を包含する。例えば、D A Fの機能単位のN末端から1～2個のアミノ酸が欠失した場合、D A Fの機能単位を連結するために、C C P 2の1～2個のアミノ酸をC C P 1のC末端に付加することができる。いくつかの実施形態では、D A FのC C P 3からK Sが欠失し、C F HのC C P 1のC末端にR Pが付加され、両者が連結されてハイブリッドタンパク質が得られる。

30

【0093】

配列中のいくつかのアミノ酸置換、好ましくは保存的置換も、機能活性に影響を与えることなく導入することができる。保存的置換は、例えば、荷電アミノ酸を互いに置換したり、親水性アミノ酸を互いに置換したり、疎水性アミノ酸を互いに置換したり、類似質量のアミノ酸を互いに置換したりすることによって行うことができる。例えば、本発明のC F HのC C P 1は、V 6 2 I変異を含むことができる。

【0094】

一実施形態では、C F H機能単位は、ヒトC F Hタンパク質のC C P 1と少なくとも95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。ある実施形態では、C F H機能単位は、ヒトC F Hタンパク質のC C P 1を含む。

40

【0095】

いくつかの実施形態において、ヒトC F Hタンパク質は、ネイティブヒトC F Hタンパク質である。いくつかの実施形態において、ネイティブヒトC F Hタンパク質は、配列番号3又は5に記載されるアミノ酸配列を含むか、又はこれらのアミノ酸配列のいずれかから成る。いくつかの実施形態において、C F Hは、配列番号4又は6に記載のD N A配列によってコードされるアミノ酸配列を含むか、又はこれらのアミノ酸配列のいずれかから成る。

【0096】

いくつかの実施形態において、C C P 1はC F Hのアミノ酸19～82を含むか、又はC F Hのアミノ酸19～82から成る。いくつかの実施形態において、C C P 1は、C F

50

Hのアミノ酸19～84を含むか、又はCFHのアミノ酸19～84から成る。

【0097】

いくつかの実施形態では、CFH機能単位は、配列番号12、13、14、若しくは15に記載のアミノ酸配列、又は配列番号12、13、14、若しくは15に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はこれらのアミノ酸配列のいずれかから成る。

【0098】

配列番号12：ヒトCFH CCP1 (CCP1のC末端にCCP2の2つのN末端アミノ酸RPが付加されている)

EDCNE LPPRRNTE I L T G S W S D Q T Y P E G T Q A I Y K C R P G Y R S
L G N V I M V C R K G E W V A L N P L R K C Q K R P

【0099】

配列番号13：ヒトCFH CCP1 (CCP1)

EDCNE LPPRRNTE I L T G S W S D Q T Y P E G T Q A I Y K C R P G Y R S
L G N V I M V C R K G E W V A L N P L R K C Q K

【0100】

配列番号14：ヒトCFH CCP1 (CCP1のC末端はCCP2の2つのN末端アミノ酸RPが付加され、V62Iを含む)

EDCNE LPPRRNTE I L T G S W S D Q T Y P E G T Q A I Y K C R P G Y R S
L G N I I M V C R K G E W V A L N P L R K C Q K R P

【0101】

配列番号15：ヒトCFH CCP1 (CCP1はV62Iを含む)

EDCNE LPPRRNTE I L T G S W S D Q T Y P E G T Q A I Y K C R P G Y R S
L G N I I M V C R K G E W V A L N P L R K C Q K

【0102】

CFHのアミノ酸位置に言及する場合、アミノ酸配列の位置は配列番号3のアミノ酸位置に対応する。

【0103】

C. その他のユニット

任意に、本発明のハイブリッドタンパク質は、ハイブリッドタンパク質のアミノ末端又はカルボキシ末端、例えばカルボキシ末端に付加された、好ましくは約2～10アミノ酸のタグをさらに含み得る。典型的には、このような付加はタンパク質を安定化するため、又はハイブリッドタンパク質の分泌発現若しくは精製を容易にするためになされる。このようなタグは当技術分野で知られている。そのようなタグの代表的な例としては、一連のヒスチジン残基（例えば、2-10ヒスチジン、例えば、2、3、4、5、6、又は7ヒスチジン）、エピトープタグFLAG、単純ヘルペス糖タンパク質D、β-ガラクトシダーゼ、マルトース結合タンパク質、又はグルタチオンS-トランスフェラーゼ、をコードする配列が挙げられる。

【0104】

いくつかの実施形態では、タグはヒスチジン残基であり、ハイブリッドタンパク質のアミノ末端又はカルボキシ末端、例えばカルボキシ末端に付加されうる。

【0105】

いくつかの実施形態では、タグはGHHHHHHH (配列番号16) の6×Hisタグである。

【0106】

任意に、本発明のハイブリッドタンパク質はまた、MGWSCIIILFLVATATGVHS (配列番号17) のようなシグナルペプチドを含み得る。

【0107】

本発明はまた、1つ以上のアミノ酸が翻訳後プロセス又は合成法によって改変されたハイブリッドタンパク質を包含する。このような修飾の例としては、グリコシル化、ヨード

10

20

30

40

50

化、ミリストイル化、及びPEG化が挙げられるが、これらに限定されない。

【0108】

D. ハイブリッドタンパク質の例

いくつかの実施形態では、本発明のハイブリッドタンパク質は、CFH由来の少なくとも1つの機能単位とDAF由来の少なくとも1つの機能単位を含む。

【0109】

いくつかの実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質は、CFHのCCP1と、DAFのCCP3及びCCP4とを含む。いくつかの実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質は、CFHのCCP1と、DAFのCCP3及びCCP4とから成る。いくつかの実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質は、CFHのCCP1及びDAFのCCP3-4を含むか、又はこれらから成る。

10

【0110】

いくつかの実施形態では、CFHのCCP1のC末端に1~2個のアミノ酸（例えば、CCP2のN末端の1~2個のアミノ酸）が付加される。いくつかの実施形態では、DAFのCCP3又はCCP3-4のN末端から1~2個のアミノ酸が欠失される。

【0111】

いくつかの実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質は、CFHのCCP1及びDAFのCCP3-4を含み、CCP2のN末端アミノ酸1~2個がCCP1のC末端に付加され、これに対応してDAFのCCP3のN末端からアミノ酸1~2個が欠失されている。いくつかの具体的な実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質は、CFHのCCP1とDAFのCCP3-4を含み、CCP2のN末端アミノ酸RPがCCP1のC末端に付加され、これに対応してアミノ酸KSがDAFのCCP3のN末端から欠失されている。

20

【0112】

いくつかの実施形態では、本発明のCFHのCCP1は、V62I変異を含み得る。

【0113】

いくつかの実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質は、N末端にシグナルペプチド、例えば配列番号13に記載のアミノ酸配列、及び／又はC末端にタグ、例えばヒスチジンタグ、例えば6×His-タグ、例えばGHHHHHHをさらに含む。

【0114】

いくつかの実施形態において、DAFのCCP3は、DAFタンパク質のアミノ酸161~222を含むか、若しくはこれから成り、及び／又はCCP4は、DAFタンパク質のアミノ酸223~285を含むか、若しくはこれから成り、ここで、前記アミノ酸位置の番号は、配列番号1に記載のアミノ酸位置に対応する。いくつかの実施形態において、DAFのCCP3は、そのN末端から2アミノ酸だけ欠失され、例えば、DAFタンパク質のアミノ酸163~222を含むか、又はこれから成り、ここで、前記アミノ酸位置の番号は、配列番号1に記載されるアミノ酸位置に対応する。いくつかの実施形態において、DAFのCCP3-4は、DAFタンパク質のアミノ酸161~285を含むか、又はこれから成り、ここで、前記アミノ酸位置の番号は、配列番号1に記載されるアミノ酸位置に対応する。いくつかの実施形態において、DAFのCCP3-4は、そのN末端において2アミノ酸だけ欠失し、例えば、DAFタンパク質のアミノ酸163~285を含むか、又はこれから成り、ここで、前記アミノ酸位置の番号は、配列番号1に記載されるアミノ酸位置に対応する。

30

40

【0115】

いくつかの実施形態において、CFHのCCP1は、CFHタンパク質のアミノ酸19~82を含むか、又はこれから成り、ここで、アミノ酸位置の番号は、配列番号3に記載のアミノ酸位置に対応する。いくつかの実施形態において、CFHのCCP1は、CFHタンパク質のアミノ酸19~84を含むか、又はこれから成り、アミノ酸位置の番号は、配列番号3に記載されるアミノ酸位置に対応する。

【0116】

50

いくつかの実施形態において、DAFのCCP3-4は、DAFタンパク質のアミノ酸161～285を含むか、又はこれから成り、ここでアミノ酸位置の番号は、配列番号1に記載されているアミノ酸位置に対応する。CFHのCCP1は、CFHタンパク質のアミノ酸19～82を含むか、又はこれから成り、ここで、アミノ酸位置の番号は、配列番号3に記載されているアミノ酸位置に対応する。

【0117】

いくつかの実施形態において、DAFのCCP3-4は、DAFタンパク質のアミノ酸163～285を含むか、又はこれから成り、ここでアミノ酸位置の番号は、配列番号1に記載されているアミノ酸位置に対応する。CFHのCCP1は、CFHタンパク質のアミノ酸19～84を含むか、又はこれから成り、ここで、アミノ酸位置の番号は、配列番号3に記載されているアミノ酸位置に対応する。

10

【0118】

いくつかの具体的な実施形態において、DAFは、ネイティブヒトDAFタンパク質などのヒトDAFタンパク質である。いくつかの具体的な実施形態において、DAFタンパク質は、以下を含むか、若しくは以下から成る。

(i) 配列番号1に記載のアミノ酸配列；

(ii) 配列番号2に記載のヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列；

(iii) (i) 若しくは(ii)に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列；又は、

(i) から(iii)のいずれか1つに記載のアミノ酸配列から成る。

20

【0119】

いくつかの具体的な実施形態では、CFHは、ネイティブヒトCFHタンパク質などのヒトCFHタンパク質である。いくつかの具体的な実施形態において、CFHタンパク質は、以下を含む。

(i) 配列番号3若しくは5に記載のアミノ酸配列；

(ii) 配列番号4若しくは6に記載のヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列；

(iii) アミノ酸配列が、(i) 若しくは(ii)に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有する；又は

(i) から(iii)のいずれか1つに記載のアミノ酸配列から成る。

30

【0120】

いくつかの実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質は、配列番号18～21のいずれか1つのアミノ酸配列、若しくはこれらのアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はこれらのいずれかから成る。

【0121】

>ヒトCFH CCP1又はSCR1-ヒトDAF/CD55 CCP3-4又はSCR3-4 (太字)：

EDCNE LPPRRNTE I L T G S W S D Q T Y P E G T Q A I Y K C R P G Y R S
L G N V I M V C R K G E W V A L N P L R K C Q K R P C P N P G E I R N G Q I D V
 P G G I L F G A T I S F S C N T G Y K L F G S T S S F C L I S G S S V Q W S D P
 L P E C R E I Y C P A P P Q I D N G I I Q G E R D H Y G Y R Q S V T Y A C N K G
 F T M I G E H S I Y C T V N N D E G E W S G P P P E C R G (配列番号18)

40

【0122】

EDCNE LPPRRNTE I L T G S W S D Q T Y P E G T Q A I Y K C R P G Y R S
L G N V I M V C R K G E W V A L N P L R K C Q K K S C P N P G E I R N G Q I D V
 P G G I L F G A T I S F S C N T G Y K L F G S T S S F C L I S G S S V Q W S D P
 L P E C R E I Y C P A P P Q I D N G I I Q G E R D H Y G Y R Q S V T Y A C N K G
 F T M I G E H S I Y C T V N N D E G E W S G P P P E C R G (配列番号19)

【0123】

50

>ヒトCFH CCP1又はSCR1-ヒトDAF/CD55 CCP3-4又はSCR3-4 (太字) はV62I変異を含む:

EDCNE LPPRRNTEIL TGSWSDQTYPEEGTQAIYKCRPGYRS
LGN IIMVCRKGEWVALNPLRK CQKKSCPNPGEIRNGQIDV
PGGILFGATISFSCNTGYKLFGSTSSSFC LISGSSSVQWSDP
LPECREIYCPAPPQIDNGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKG
FTMIGEHSIYCTVNNDEGEWSGPPPECRG (配列番号20)

【0124】

EDCNE LPPRRNTEIL TGSWSDQTYPEEGTQAIYKCRPGYRS
LGN IIMVCRKGEWVALNPLRK CQKRPCPNPGEIRNGQIDV
PGGILFGATISFSCNTGYKLFGSTSSSFC LISGSSSVQWSDP
LPECREIYCPAPPQIDNGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKG
FTMIGEHSIYCTVNNDEGEWSGPPPECRG (配列番号21)

10

【0125】

いくつかの実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質は、配列番号22~25のいずれか1つによるアミノ酸配列、又は該アミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はこれらのいずれかから成る。

【0126】

>ヒトCFH CCP1又はSCR1-ヒトDAF/CD55 CCP3-4又はSCR3-4 (太字) -6×His (斜体):

EDCNE LPPRRNTEIL TGSWSDQTYPEEGTQAIYKCRPGYRS
LGN VIMVCRKGEWVALNPLRK CQKRPCPNPGEIRNGQIDV
PGGILFGATISFSCNTGYKLFGSTSSSFC LISGSSSVQWSDP
LPECREIYCPAPPQIDNGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKG
FTMIGEHSIYCTVNNDEGEWSGPPPECRGGHHHHHH (配列番号22)

20

【0127】

EDCNE LPPRRNTEIL TGSWSDQTYPEEGTQAIYKCRPGYRS
LGN VIMVCRKGEWVALNPLRK CQKKSCPNPGEIRNGQIDV
PGGILFGATISFSCNTGYKLFGSTSSSFC LISGSSSVQWSDP
LPECREIYCPAPPQIDNGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKG
FTMIGEHSIYCTVNNDEGEWSGPPPECRGGHHHHHH (配列番号23)

30

【0128】

>ヒトCFH CCP1又はSCR1-ヒトDAF/CD55 CCP3-4又はSCR3-4 (太字) -6×His (斜体): V62I変異を含む:

EDCNE LPPRRNTEIL TGSWSDQTYPEEGTQAIYKCRPGYRS
LGN IIMVCRKGEWVALNPLRK CQKKSCPNPGEIRNGQIDV
PGGILFGATISFSCNTGYKLFGSTSSSFC LISGSSSVQWSDP
LPECREIYCPAPPQIDNGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKG
FTMIGEHSIYCTVNNDEGEWSGPPPECRGGHHHHHH (配列番号24)

40

【0129】

EDCNE LPPRRNTEIL TGSWSDQTYPEEGTQAIYKCRPGYRS
LGN IIMVCRKGEWVALNPLRK CQKRPCPNPGEIRNGQIDV
PGGILFGATISFSCNTGYKLFGSTSSSFC LISGSSSVQWSDP
LPECREIYCPAPPQIDNGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKG
FTMIGEHSIYCTVNNDEGEWSGPPPECRGGHHHHHH (配列番号25)

50

【0130】

いくつかの実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質は、配列番号26～29のいずれか1つによるアミノ酸配列、若しくは該アミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はこれらのいずれかから成る。

【0131】

>シグナルペプチドーヒトCFH CCP1又はSCR1ーヒトDAF／CD55 CCP3ー4又はSCR3ー4（太字）ー6×His（イタリック）：

MGWSCIILFLVATATGVHSEDCNELPPRRNTEILTGSWSD
QTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNVIMVCRKGEWVALNPLRK
CQKRPCPNPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLF
GSTSSFCLISGSSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQIDNGIIQ
GERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIYCTVNNDGEWS
GPPPECRGGHHHHHHH（配列番号26）

10

【0132】

MGWSCIILFLVATATGVHSEDCNELPPRRNTEILTGSWSD
DQTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNVIMVCRKGEWVALNPLR
KCQKKSCPNPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLF
FGSTSSFCLISGSSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQIDNGII
QGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIYCTVNNDGEW
SGPPPECRGGHHHHHHH（配列番号27）

20

【0133】

MG >シグナルペプチドーヒトCFH CCP1又はSCR1ーヒトDAF／CD55 CCP3ー4又はSCR3ー4（太字）ー6×His（イタリック）：V62I変異を含む：

MGWSCIILFLVATATGVHSEDCNELPPRRNTEILTGSWSD
QTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNIIMVCRKGEWVALNPLRK
CQKKSCPNPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLF
GSTSSFCLISGSSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQIDNGIIQ
GERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIYCTVNNDGEWS
GPPPECRGGHHHHHHH（配列番号28）

30

【0134】

MGWSCIILFLVATATGVHSEDCNELPPRRNTEILTGSWSD
DQTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNIIMVCRKGEWVALNPLR
KCQKRPCPNPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLF
FGSTSSFCLISGSSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQIDNGII
QGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIYCTVNNDGEW
SGPPPECRGGHHHHHHH（配列番号29）

【0135】

いくつかの実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質は、配列番号30～33のいずれか1つによるアミノ酸配列、又は該アミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はこれらのいずれかから成る。

40

【0136】

>シグナルペプチドーヒトCFH CCP1又はSCR1ーヒトDAF／CD55 CCP3ー4又はSCR3ー4（太字）：

MGWSCIILFLVATATGVHSEDCNELPPRRNTEILTGSWSD
QTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNVIMVCRKGEWVALNPLRK
CQKRPCPNPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLF
GSTSSFCLISGSSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQIDNGIIQ

50

GERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIYCTVNNDGEWS
GPPPECRG (配列番号30)

【0137】

MGWSCIILFLVATATGVHSEDCNELPPRRNTEILTGSWSD
DQTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNVIMVCRKG EWVALNPLR
KCQKKSCPNPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKL
FGSTSSFCLISGSSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQIDNGII
QGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIYCTVNNDGEW
SGPPPECRG (配列番号31)

【0138】

>シグナルペプチドーヒトCFH CCP1又はSCR1ーヒトDAF／CD55 C
CP3ー4又はSCR3ー4 (太字) :

V62I変異を含む:

MGWSCIILFLVATATGVHSEDCNELPPRRNTEILTGSWSD
QTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNIIMVCRKG EWVALNPLRK
CQKKSCPNPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKL
FGSTSSFCLISGSSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQIDNGII
QGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIYCTVNNDGEWS
GPPPECRG (配列番号32)

【0139】

MGWSCIILFLVATATGVHSEDCNELPPRRNTEILTGSWSD
DQTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNIIMVCRKG EWVALNPLR
KCQKRPCPNPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKL
FGSTSSFCLISGSSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQIDNGII
QGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIYCTVNNDGEW
SGPPPECRG (配列番号33)

【0140】

III. ポリヌクレオチド、ベクター、宿主

本発明は、本発明の上記ハイブリッドタンパク質のいずれかをコードする核酸を提供する。また、この核酸を含むベクターも提供される。一実施形態において、ベクターは発現ベクター (例えば、pcDNA3.1のようなpcDNAベクター) である。また、該核酸又はベクターを含む宿主細胞も提供される。一実施形態では、宿主細胞は真核生物である。別の実施形態において、宿主細胞は、酵母細胞又は哺乳動物細胞 (例えば、CHO細胞又はExp293細胞などの293細胞) から選択される。別の実施形態では、宿主細胞は原核細胞である。

【0141】

1つの態様において、本発明は、上記のハイブリッドタンパク質のいずれかをコードする核酸を提供する。該核酸によってコードされるポリペプチドは、適切な発現ベクターから発現された場合に、DAF及び／又はCFH機能、例えば、C3転換酵素及び／又はC5転換酵素の解離、古典的経路C3転換酵素及び／又は代替経路C3転換酵素に対する崩壊促進活性、代替経路C3転換酵素C3bBbの解離、又はC3bへの結合、及び補体阻害活性 (代替経路 (AP)、古典的経路 (CP)、及び／又はC3b沈着を阻害する活性を含む) を有することが可能である。

【0142】

生産と精製を容易にするために、ハイブリッドタンパク質はN末端で分泌シグナルペプチド、及び／又はヘキサヒスチジンタグやビオチンタグのようなタグペプチドと融合させることができる。

【0143】

当業者には理解されるであろうが、各ハイブリッドタンパク質は、コドン縮退の故に様々な核酸配列によってコードされ得る。

10

20

30

40

50

【0144】

いくつかの実施形態において、本発明の核酸は、配列番号18～33のいずれか1つから選択されるアミノ酸配列をコードする核酸、又は、配列番号18～33のいずれか1つから選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0145】

本発明の分子をコードする核酸配列は、当技術分野でよく知られた方法、例えば、denovo固相DNA合成、又はPCR増幅によって生成することができる。

【0146】

一実施形態では、本発明の核酸を含む1つ以上のベクターが提供される。一実施形態において、ベクターは、原核細胞発現ベクター又は真核細胞発現ベクターなどの発現ベクターである。ベクターとしては、ウイルス、プラスミド、コスミド、ラムダファージ、及び酵母人工染色体(YAC)が挙げられるが、これらに限定されない。好ましい実施形態では、発現ベクターはpcDNA、例えばpcDNA3.1である。

【0147】

一実施形態では、本発明の1つ以上のポリヌクレオチドを含む宿主細胞が提供される。ある実施形態において、本発明の発現ベクターを含む宿主細胞が提供される。本明細書で使用される場合、用語「宿主細胞」は、本発明のタンパク質を産生するように操作され得る任意の種類の細胞系を指す。本発明のタンパク質の発現を複製及び支持するのに適した宿主細胞は、当技術分野で周知である。このような細胞は、所望により特定の発現ベクターでトランスフェクト又は形質導入することができ、ベクターを含む細胞を大量に培養して大規模発酵槽に播種し、臨床使用のために十分な量の本発明のタンパク質を得ることができる。

【0148】

好適な宿主細胞としては、大腸菌などの原核微生物、糸状菌や酵母などの真核微生物、あるいはチャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)、昆虫細胞などの各種真核細胞が挙げられる。懸濁培養に適した哺乳動物細胞株も使用できる。有用な哺乳動物宿主細胞株の例としては、SV40形質転換サル腎臓CV1株(COS-7)が挙げられる。ヒト胚性腎臓株(HEK293又は293F細胞又は293FT細胞)、ベビーハムスター腎臓細胞(BHK)、サル腎臓細胞(CV1)、Vero細胞(VERO-76)、ヒト子宮頸癌細胞(HELA)、イヌ腎臓細胞(MDCK)、バッファローラット肝細胞(BRL 3A)、ヒト肺細胞(W138)、ヒト肝細胞(Hep G2)、CHO細胞、NSO細胞、YO、NSO、P3X63、Sp2/0等の骨髓腫細胞株等が挙げられる。タンパク質の生産に適した哺乳動物宿主細胞株は当技術分野で知られている。好ましい実施態様において、宿主細胞はCHO細胞、HEK293細胞又はExp1293細胞である。

【0149】

IV. 本発明の分子の生産と精製

さらに別の態様において、本発明は、本発明のハイブリッドタンパク質を産生するための方法を提供し、該方法は、該ハイブリッドタンパク質の発現に適した条件下で、該タンパク質をコードする核酸分子を含む宿主細胞を培養すること、任意に、該宿主細胞又は宿主細胞培養液から該タンパク質を単離すること、及び／又は該タンパク質を精製することを含む。

【0150】

組換え生産のために、本発明のタンパク質をコードするポリヌクレオチドをベクターに挿入して、宿主細胞中でさらにクローニング及び／又は発現させることができる。発現ベクターの構築には、当業者に周知の方法を用いることができる。本発明のポリヌクレオチドを含む発現ベクターが発現のために調製されると、発現ベクターは適当な宿主細胞にトランスフェクト又は導入され得る。この目的を達成するために種々の技術を用いることができ、例えば、プロトプラスト融合、リン酸カルシウム沈殿、エレクトロポレーション、

10

20

30

40

50

レトロウイルス導入、ウイルストランスフェクション、バイオリスティックス、リポソームベースのトランスフェクション、又は他の従来技術が挙げられる。

【0151】

本明細書に記載されるように調製されたタンパク質は、ニッケルカラム、高速液体クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル電気泳動などのような公知の先行技術によって精製され得る。特定のタンパク質を精製するために使用される実際の条件もまた、正味の電荷、疎水性、親水性などのような因子に依存し、当業者には明らかであろう。

【0152】

本発明のタンパク質の純度及び定量は、様々な周知の分析法のいずれかによって決定することができる。

【0153】

V. アッセイ法

本明細書で提供されるハイブリッドタンパク質は、当技術分野で公知の種々のアッセイによって、それらの物理的／化学的特性及び／又は生物学的活性について同定、スクリーニング、又は特性決定され得る。

【0154】

本発明のハイブリッドタンパク質の溶血抑制効果は、インビトロアッセイ及び／又はインビボ動物実験など、当技術分野で公知の方法により測定することができる。例えば、例4.1及び4.2に記載の方法などの溶血アッセイを用いて、補体免疫の古典的経路及び／又は代替経路に対する分子の溶血抑制効果を試験することができる。

【0155】

補体C3b沈着に対する本発明のハイブリッドタンパク質の阻害活性は、インビトロアッセイ及び／又はインビボ動物アッセイなど、当技術分野で公知の方法により測定することができる。例えば、例4.3に記載された方法のような溶血アッセイを用いて、赤血球表面のC3b沈着に対する分子の阻害効果を試験することができる。

【0156】

VI. 薬学的組成物、薬学的組合せ、及びキット

一態様において、本発明は、本発明のハイブリッドタンパク質又はそれをコードする核酸分子を含む組成物、例えば、医薬組成物、医薬品、又は製剤を提供する。

【0157】

一実施形態では、組成物は、当該技術分野で知られているように、医薬担体、緩衝剤を含む医薬賦形剤などの医薬賦形剤をさらに含む。

【0158】

本明細書で使用される「医薬担体」には、生理学的に適合するあらゆる溶媒、分散媒体、等張化剤及び吸収遅延剤などが含まれる。医薬賦形剤の使用とその用途については、“Handbook of Pharmaceutical Excipients”, 8th Edition, R. C. Rowe, P. J. Seskey and S. C. Owen, Pharmaceutical Press, London, Chicagoも参照のこと。

【0159】

本発明の組成物又は医薬品又は製剤は、種々の形態であり得る。これらの形態には、例えば、液体、半固体、及び固体剤形、例えば、液体溶液（例えば、注射溶液）、粉末又は懸濁液、リポソーム製剤、及び坐剤が含まれる。好ましい形態は、意図される投与様式及び治療用途によって異なる。

【0160】

本発明のハイブリッドタンパク質又はそれをコードする核酸に加えて、本発明の組成物又は医薬又は製剤は、治療される特定の適応症に必要な追加の治療剤、好ましくは互いの活性に悪影響を及ぼさない治療剤も含むことができる。したがって、一実施形態において、組成物又は製剤又は医薬品、例えば、医薬組成物は、本発明の1つ以上の分子と、1つ

10

20

30

40

50

以上の追加の治療剤との組み合わせを含む。

【0161】

本発明の組成物又は医薬品又は製剤は、種々の形態であり得る。これらの形態としては、例えば、液剤（例えば、注射液）、粉末又は懸濁剤、リポソーム製剤、及び坐剤などの液剤、半固形剤、及び固形剤が挙げられる。本発明の組成物又は医薬品又は製剤は、静脈内ボラス注射、静脈内注入、腹腔内、皮内、筋肉内、皮下、及び経鼻経路（例えば、注射又は注入）による投与に適している。好ましい形態は、意図される投与様式及び治療用途によって異なる。

【0162】

本発明はまた、本発明のハイブリッドタンパク質又はそれをコードする核酸と、1つ以上の他の治療薬とを含む併用医薬又は併用医薬製品を提供する。

10

【0163】

本発明はまた、併用医薬を含む部品キットを提供し、例えば、部品キットは同じパッケージで以下のものを含む。

－本発明のハイブリッドタンパク質又はそれをコードする核酸を含む医薬組成物を含む第1の容器；及び

－任意選択で、1つ以上の追加の治療剤を含む医薬組成物を含む第二の容器（いくつかの実施形態では、2つ以上の追加の治療剤は同じ容器に、又は別々の容器にある）。

【0164】

VII. 用途と方法

20

本発明の1つの態様において、対象における補体系関連疾患又は障害を予防又は治療する方法であって、本発明のハイブリッドタンパク質若しくはそれをコードする核酸、又は該タンパク質を含む組成物若しくは医薬品若しくは製剤の有効量を対象に投与することを含む方法が提供される。

【0165】

いくつかの実施形態において、補体系関連疾患は、補体系の異常活性化又は補体系の調節不全に起因する。いくつかの実施形態において、補体系の異常な活性化又は補体系の調節異常は、例えば、微生物感染又は自己免疫抗体の増加、又は補体調節タンパク質の機能の低下、欠失、無力化、妨害若しくは遮断などに起因する。

【0166】

30

いくつかの実施形態において、疾患治療は補体系の活性を阻害することから利益を得る。

【0167】

他の態様において、本発明は、本明細書に記載されるような使用のための医薬、例えば、本明細書に記載されるような補体系関連疾患又は障害の予防又は治療のための医薬の製造又は調製における、本発明の分子、又はそれを含む組成物の使用を提供する。

【0168】

いくつかの実施形態において、補体系関連疾患又は障害は、溶血阻害を必要とする疾患、例えば、補体免疫の古典経路及び／又は補体免疫の代替経路の溶血阻害を必要とする疾患であり得る。

40

【0169】

いくつかの実施形態において、補体系関連疾患又は障害は、デンスデポジット病（DD）のような、C3b沈着活性の阻害が望まれる疾患である。

【0170】

いくつかの実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質若しくはそれをコードする核酸、又はそれらのタンパク質若しくは核酸を含む組成物若しくは医薬品若しくは製剤は、障害及び／又は障害に関連する症状の発症を遅延させる。

【0171】

いくつかの実施形態において、本発明のハイブリッドタンパク質若しくはそれをコードする核酸、又はタンパク質若しくは核酸を含む組成物若しくは医薬品若しくは製剤はまた

50

、本明細書に記載されるような使用のために、例えば、本明細書に記載されるような関連疾患若しくは障害の予防及び／又は処置のために、1つ以上の他の療法、例えば、治療様式及び／又は他の治療剤と組み合わせて投与され得る。

【0172】

本発明のハイブリッドタンパク質若しくはそれをコードする核酸、又はそれらのタンパク質若しくは核酸を含む組成物若しくは医薬品若しくは製剤の投与経路は、公知の方法、例えば注射又は点滴に依存する。

【0173】

本発明はさらに、本明細書に記載されるような使用のための医薬、例えば、本明細書に記載されるような関連疾患又は障害の予防及び／又は処置のための医薬の製造における、本発明のハイブリッドタンパク質又はそれをコードする核酸、あるいはタンパク質又は核酸を含む組成物又は製剤の使用を包含する。

【実施例】

【0174】

実施例1．分子構造

本発明に関わるハイブリッド分子と先行技術の補体調節分子のタンパク質発現ベクターを構築するために、通常の分子クローニング技術の方法を用いて、合成された遺伝子DNA (GENEWIZ Inc.、蘇州/Sangon Biotech (上海) Co.、Ltd.) を鋳型として、各タンパク質をコードするDNAをpcDNA3.1発現ベクター (Bioscienceから購入) にサブクローニングした。このプラスミドをシーケンシングで確認した後、一過性のタンパク質発現に使用した。コードされた各タンパク質は、その後の哺乳動物細胞での分泌発現とニッケルカラム精製を容易にするため、N末端にシグナルペプチドMGWSCIIILFLVATATGVHSを、C末端にGHHHHHHH6×Hisタグを付加した。

【0175】

各タンパク質のアミノ酸配列は以下の通りである。

>CR13m (ヒトCR1 CCP1-3又はSCR1-3、N29K、S37Y、G79D及びD109N変異を含み、配列は特許US9988611__B2に由来する) :
QCNAP EWLPFARPTNLTDEFEFP IGT YLKYECRPGYYGRP
FSII CLKNSVWTGAKDRCRRKSCRNPDPVNGMVHV I KDI
QFGSQIKY SCKTGYRLIGSSSATCIIISGNTVIWDNETPIC
DRIPCGLPPTITNGDFISTNRENFHYGSVV TYRCNPGSGG
RKVFELVGEPSIYCTSNDDQVGIWSGPAPQCIGHHHHHH (配列番号34)

【0176】

>D24 (ヒトDAF/CD55 CCP2-4又はSCR2-4、配列は、Hui-fen Zhangら、THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY、第276巻、第29号、7月20日発行、27290~27295頁、2001年から参照され得る) :
SCEVPTRLNSASLKQPYITQNYFPVGT VVEYECRPGYRRE
PSLS PKLTCLQNLKWSTAVEFCKKKSCP NPGEIRNGQIDV
PGGILFGATISFSCNTGYKLFGSTSSFC LISGSSSVQWSDP
LPECREIYCPAPPQIDNGIIQGERDHYGYRQSV TYACNKG
FTMIGEHSIYCTVNNDEGEWSGPPEECRGGHHHHHHH (配列番号35)

【0177】

>F15 (V62Iを含むヒトCFH CCP1-5又はSCR1-5、配列はMasha Fridkis-Hareliら、Blood. 2011 Oct 27; 118 (17) : 4705-4713及びAugustin Tortajadaら、Hum Mol Genet. 2009 September 15; 18 (18) : 3452

－ 3 4 6 1) から参照され得る：

EDCNE LPPRRNTE I L T G S W S D Q T Y P E G T Q A I Y K C R P G Y R S
L G N I I M V C R K G E W V A L N P L R K C Q K R P C G H P G D T P F G T F T L
T G G N V F E Y G V K A V Y T C N E G Y Q L L G E I N Y R E C D T D G W T N D I
P I C E V V K C L P V T A P E N G K I V S S A M E P D R E Y H F G Q A V R F V C
N S G Y K I E G D E E M H C S D D G F W S K E K P K C V E I S C K S P D V I N G
S P I S Q K I I Y K E N E R F Q Y K C N M G Y E Y S E R G D A V C T E S G W R P
L P S C E E K S C D N P Y I P N G D Y S P L R I K H R T G D E I T Y Q C R N G F
Y P A T R G N T A K C T S T G W I P A P R C T L K P G H H H H H H (配列番号 3 6)

10

【 0 1 7 8 】

> F 1 D 3 4 - 1 (本発明のハイブリッド分子 1、ヒト C F H C C P 1 又は S C R 1 - ヒト D A F / C D 5 5 C C P 3 - 4 又は S C R 3 - 4) である：配列番号 2 2、N 末端にシグナルペプチドが連結した配列は配列番号 2 6 である。

【 0 1 7 9 】

> F 1 D 3 4 - 2 i (本発明のハイブリッド分子 2、ヒト C F H C C P 1 又は S C R 1 - ヒト D A F / C D 5 5 C C P 3 - 4 又は S C R 3 - 4、V 6 2 I 変異を含む)：配列番号 2 4、N 末端にシグナルペプチド配列を連結したアミノ酸配列は配列番号 2 8 である。

【 0 1 8 0 】

> C R 1 5 D 3 4 (本発明のハイブリッド分子 3、ヒト C R 1 C C P 1 5 又は S C R 1 5 - ヒト D A F / C D 5 5 C C P 3 - 4 又は S C R 3 - 4)：

G H C Q A P D H F L F A K L K T Q T N A S D F P I G T S L K Y E C R P E Y Y G R
P F S I T C L D N L V W S S P K D V C K R K S C P N P G E I R N G Q I D V P G G
I L F G A T I S F S C N T G Y K L F G S T S S F C L I S G S S V Q W S D P L P E
C R E I Y C P A P P Q I D N G I I Q G E R D H Y G Y R Q S V T Y A C N K G F T M
I G E H S I Y C T V N N D E G E W S G P P P E C R G G H H H H H H (配列番号 3 7)

20

【 0 1 8 1 】

> F H 1 3 (ヒト C F H C C P 1 - 3 又は S C R 1 - 3、V 6 2 I 変異を含み、H i s 精製タグを接続するために C 末端にさらに 2 つのアミノ酸がある)：

EDCNE LPPRRNTE I L T G S W S D Q T Y P E G T Q A I Y K C R P G Y R S
L G N I I M V C R K G E W V A L N P L R K C Q K R P C G H P G D T P F G T F T L
T G G N V F E Y G V K A V Y T C N E G Y Q L L G E I N Y R E C D T D G W T N D I
P I C E V V K C L P V T A P E N G K I V S S A M E P D R E Y H F G Q A V R F V C
N S G Y K I E G D E E M H C S D D G F W S K E K P K C V E I S G H H H H H H (配列番号 3 8)

30

【 0 1 8 2 】

> D 1 4 (ヒト D A F / C D 5 5 C C P 1 - 4 又は S C R 1 - 4、リーダー配列なし、H i s 精製タグを接続するために C 末端にさらに 2 つのアミノ酸がある)：

D C G L P P D V P N A Q P A L E G R T S F P E D T V I T Y K C E E S F V K I P G
E K D S V I C L K G S Q W S D I E E F C N R S C E V P T R L N S A S L K Q P Y I
T Q N Y F P V G T V V E Y E C R P G Y R R E P S L S P K L T C L Q N L K W S T A
V E F C K K K S C P N P G E I R N G Q I D V P G G I L F G A T I S F S C N T G Y
K L F G S T S S F C L I S G S S V Q W S D P L P E C R E I Y C P A P P Q I D N G
I I Q G E R D H Y G Y R Q S V T Y A C N K G F T M I G E H S I Y C T V N N D E G
E W S G P P P E C R G K S G H H H H H H (配列番号 3 9)

40

【 0 1 8 3 】

実施例 2．タンパク質の発現

D H 5 a l p h a 株 (Y e a s e n B i o t e c h n o l o g y) でプラスミドを

50

増幅した後、NucleoBond Xtra Midi Plus (MACHEREY-NAGEL、詳細は製品マニュアルを参照) を用いてプラスミドを調製した。タンパク質の一過性発現のために、PEI (Polyscience社製) を用いて調製したプラスミドでExpi293細胞 (Thermo fisher社から購入) をトランスフェクションした (トランスフェクション方法については、Jager, V., et al., BMC Biotechnol 13, 52, 2013を参照)。採取した上清は、ニッケルイオンプレバックカラム (GEライフサイエンス社製、HisTrap HP、詳細は製品マニュアルを参照) を用いたアフィニティークロマトグラフィーで精製し、液交換用PBSに対して透析し、液交換用タンパク質サンプルを0.2 μmフィルターでろ過して滅菌し、NanoDrop (Thermo fisher社製) A280法を用いて理論消衰係数に従ってタンパク質の定量を行った。

10

【0184】

実施例3. タンパク質純度の検出 (SDS-PAGE)

2.5 μgのタンパク質をそれぞれ取り、還元剤を含むローディングバッファー (Sangon Biotech) と還元剤を含まないローディングバッファー (Sangon Biotech) にそれぞれ比例して加えた。還元剤を含むローディングバッファーを用いたサンプルは、95℃で5分間煮沸し、タンパク質を完全に変性させた。還元剤を含まないローディングバッファーを用いたサンプルについては、熱処理は行わなかった。電気泳動は、Mini-PROTEAN (登録商標) Tetra電気泳動システム (BioRad) を用い、10% Precast-Gel Tris-Glycineプレキャストゲル (Sangon Biotech) で行った。電気泳動終了後、ゲルを0.1%クマシーブリリアントブルー染色液で染色し、エタノール-氷酢酸溶液で脱染した。

20

【0185】

SDS-PAGE電気泳動の結果、D14タンパク質のバンドがわずかに拡散した以外は、他のタンパク質のバンドは比較的明瞭であり、還元・非還元いずれの条件下でもタンパク質の純度が良好であることが示された (図2)。さらに、タンパク質の還元、変性、修飾状態、電気泳動条件の違いにより、電気泳動分子量と理論分子量に一定のずれが見られた。

【0186】

実施例4. 補体阻害活性の検出

30

4.1 補体の古典的経路 (CP) に対する阻害活性の検出

この実験では、正常ヒト血清補体活性によるヒツジ赤血球のヘモリシン媒介溶血の阻害の程度を、試験するタンパク質を異なる濃度で試験することにより測定し、各タンパク質の補体CPに対する阻害活性を分析し、比較した。

【0187】

実験プロセスを簡単に説明すると、以下のようになる。

(1) タンパク質のグラジエント希釈: GVB++バッファー (Ca^{2+} と Mg^{2+} を含むゼラチンフロアバッファー、Cat. No.: 25-02080、TIAN DZ) で12000 nM溶液に調製した後、4倍のグラジエント希釈を行い、合計7回のグラジエントを行った。

40

(2) 血清の希釈正常ヒト血清NHS (Shanghai Schbio Co., Ltd.) を-70℃の冷蔵庫から取り出し、4℃で自然解凍後、GVB++緩衝液で4%に希釈した。

(3) ヒツジ赤血球の活性化: ヒツジ赤血球 (Nanjing SenBeiJia Biological Technology Co., Ltd.) をGVB++緩衝液で上清が透明になるまで洗浄した後、GVB++緩衝液で再懸濁し、ヘモリシン (BM351Y、Beijing Bersee Technology Co., Ltd.) を赤血球懸濁液に1:400の割合で添加し、その後4℃で15分間インキュベートしてヒツジ赤血球を活性化した。活性化したヒツジ赤血球をGVB++で2回洗浄し、GVB++緩衝液に再懸濁した。

50

(4) インキュベーション：希釈タンパク質と血清をそれぞれ25 µLずつ96ウェルプレート中で混合した後、ステップ(3)で得られた赤血球懸濁液を50 µL加え、タンパク質の初期最終濃度を3000 nM、血清の最終濃度を1%とした。この混合物を十分に混合し、37℃の恒温インキュベーターに1時間入れ、ネガティブコントロール(血清のみを含む)とポジティブコントロール(血清と赤血球のみを含む)を加えた。

(5) 終了：インキュベーション後、100 µLの20 mM EDTA-GVBバッファー(GVBE)を各ウェルに加え、反応を終了させた。

(6) 読み取り値：96穴プレートを3000 rpmで5分間遠心した。上清100 µLを新しい96ウェル平底プレートに加えた。多機能プレートリーダーでOD405 nmにおける吸光度を測定し、データを保存した。

(7) データ処理：得られたOD405 nmの読み取り値を以下の式に入れ、赤血球溶血抑制率を算出した。

溶血抑制率(%) = (陽性コントロール測定値 - 実験群測定値) / (陽性コントロール測定値 - 陰性コントロール測定値) × 100

【0188】

次に、タンパク質のIC50値を、最終タンパク濃度を横軸、溶血阻害率を縦軸モデルとして、4パラメータ適合曲線をプロットすることにより算出した。結果を図3に示す。

【0189】

CP溶血抑制活性の実験試験の結果、CFHとDAFのハイブリッドタンパク質F1D34-1及びF1D34-2iは、いずれも強いCP抑制活性を有しており、CR1活性増強断片CR13m及びDAF断片D24と同等であり、CFH断片FH15及びDAF断片D14よりも有意に優れており、CR1とDAFのハイブリッドタンパク質CR15D34よりもはるかに優れていた。CR15D34には弱いCP阻害活性しか検出されなかったが、CFHフラグメントFH13にはほとんど活性がなく(図3に示す)、ドメインハイブリダイゼーションによって得られたハイブリッドタンパク質が優れたCP阻害活性を有することが示された。

【0190】

4.2 補体の代替経路(AP)に対する阻害活性の検出

この実験では、正常ヒト血清補体活性によるウサギ赤血球溶血の抑制の程度を、被検タンパク質を異なる濃度で試験することにより測定し、各タンパク質の補体APに対する抑制活性を分析・比較した。

【0191】

実験プロセスを簡単に説明すると、以下のようになる。

(1) タンパク質の勾配希釈：タンパク質をGVBMGバッファー(Mg²⁺とEGTAを含むゼラチンフローラバッファー、Cat. No. 25-02090, TIAN DZ)で28000 nMの溶液に調製した後、4倍のグラジエント希釈を行い、合計7回のグラジエントを行った。

(2) 血清の希釈正常ヒト血清NHS(Shanghai Schbio Co., Ltd.)を-70℃の冷蔵庫から取り出し、4℃で自然解凍後、GVBMGで60%に希釈した。

(3) ウサギ赤血球の調製：ウサギ赤血球(Nanjing SenBeiJia Biological Technology Co., Ltd.)をGVBMGで上清が透明になるまで洗浄した後、GVBMGで再懸濁した。

(4) インキュベーション：希釈したタンパク質と血清をそれぞれ25 µLずつ96ウェルプレート中で混合した後、ステップ(3)で得られた赤血球懸濁液を50 µL加え、タンパク質の初期最終濃度を7000 nM、血清の最終濃度を15%とし、混合液を十分になじませ、37℃の恒温インキュベーターに1時間入れ、ネガティブコントロール(血清のみを含む)とポジティブコントロール(血清と赤血球のみを含む)を加えた。

(5) 反応終了：インキュベーション後、100 µLの10 mM EDTA-GVBバッファー(GVBE)を各ウェルに加え、反応を終了させた。

10

20

30

40

50

(6) 読み取り値：96穴プレートに3000rpmで5分間遠心した。上清100μLを新しい96ウェル平底プレートに加えた。多機能プレートリーダーでOD405nmにおける吸光度を測定し、データを保存した。

(7) データ処理：得られたOD405nmの測定値を以下の式に代入し、赤血球溶血抑制率を算出した。

溶血抑制率(%) = (陽性コントロール測定値 - 実験群測定値) / (陽性コントロール測定値 - 陰性コントロール測定値) × 100

【0192】

次に、最終タンパク質濃度を横軸、溶血阻害率を縦軸として、4パラメータから成るフィット曲線をプロットすることにより、抗体のIC50値を算出した。結果を図4に示す。

10

【0193】

AP溶血抑制活性の実験試験の結果、CFHとDAFのハイブリッドタンパク質F1D34-1、F1D34-2はいずれも強いAP抑制活性を示し、CFH断片FH15、FH13、DAF断片D24、D14よりも優れていた、また、CR1とDAFのハイブリッドタンパク質CR15D34やCR1活性増強フラグメントCR13m(図4)よりも優れており、ドメインハイブリダイゼーションによって得られたハイブリッドタンパク質がより優れたAP阻害活性を有することが示された。

【0194】

4.3 補体C3b沈着における阻害活性の検出

20

この実験では、ヒト補体活性化後の異なる補体調節タンパク質によるウサギ赤血球表面へのC3b沈着の阻害を検出し、C3b沈着に対する各タンパク質の阻害活性を分析・比較した。

【0195】

実験プロセスを簡単に説明すると、以下のようになる。

(1) タンパク質の勾配希釈：GVBMGバッファー(Mg²⁺とEGTAを含むゼラチンフロアバッファー, Cat. No.: 25-02090, TIANDEZ)を用いて、タンパク質を1400の溶液に調製した後、3倍の勾配希釈を行い、合計7回の勾配希釈を行った。

(2) 血清の希釈：補体の性化がウサギ赤血球の溶血や破裂を引き起こし、細胞表面へのC3bの沈着を正確に検出できなくなるのを防ぐため、実験にはC5を除去した正常ヒト血清を使用した。C5-Dpl NHS(Complement Technology)を-70℃の冷蔵庫から取り出し、続いて自然解凍4℃で、血清をGVBMGで40%に希釈した。

30

(3) ウサギ赤血球の調製：4%ウサギ赤血球(Nanjing SenBeiJia Biological Technology Co., Ltd.)を、上清が透明になるまでGVBMGで洗浄した後、細胞密度が1×10⁷ cells/mLになるようにGVBMGで再懸濁した。

(4) インキュベーション：希釈したタンパク質と血清をそれぞれ25μLずつ96ウェルプレート中で混合した後、ステップ(3)で得た赤血球懸濁液を50μL加え、タンパク質の初期最終濃度を350nM、血清の最終濃度を10%とし、混合液を十分に馴染ませ、37℃の恒温インキュベーターに1時間静置した。ネガティブコントロール(補体不活化血清と赤血球のみを含む)とポジティブコントロール(正常血清と赤血球のみを含む)を加えた。

40

(5) 終了：インキュベーション後、100μLの10mM EDTA-GVBバッファー(GVBE)を各ウェルに加え、反応を終了させた。

(6) 検出：インキュベートした細胞をPBSで3回洗浄し、フルオレセイン標識抗ヒトC3b/iC3b抗体を加えて染色した(APC anti-complement C3b/iC3b Antibody, Biolegend)。次いで、4℃で30分間インキュベーションし、再度3回洗浄した。各サンプルのAPC蛍光MFI(平均蛍光強

50

度)をフローサイトメーター (C y t o f l e x、B e c k m a n)で測定し、データを保存した。

(7) データ処理: 赤血球表面へのC3bの沈着率を以下の式で計算した。

沈着率 (%) = 実験グループのMFI値 / 陽性コントロールのMFI値 × 100

【0196】

次に、最終タンパク質濃度を横軸、沈着速度を縦軸として、4パラメータ適合曲線をプロットすることにより、抗体のIC50値を算出した。結果を図5に示す。

【0197】

C3b沈着の実験試験の結果、CFHとDAFのハイブリッドタンパク質F1D34-1とF1D34-2iは共に強いC3b沈着抑制活性を有し、CFH断片FH15とFH13、DAF断片D24とD14よりも優れていた、また、CR1とDAFのハイブリッドタンパク質CR15D34やCR1活性増強フラグメントCR13m (図5に示す)よりも優れており、ドメインハイブリダイゼーションにより得られたハイブリッドタンパク質がより優れたC3b沈着抑制活性を有することが示された。

【0198】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1】

配列表

配列番号 1	MTVARPSVPAALPLLGE LPRLLLLVLLCLPAVWG DCGLPPDVPNAQPALEGR TSFPE DTVITYKCEES FVKIPGEKDSV ICLKGSQWSD IEEFCNRSCEVPT RLNSASLKP YITQNYFPVGT VVEYECRPGYRRE PSLSPKLTCLQNLKWSTAVEFCKKKSCPNPGEIR NGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLFGSTSSFC LISGSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQIDNGI IQG ERDHYGYRQSVTYACNKGF TMIGEH SIYCTVNND EGEWSGPPPECRGKSLTSKVPPTVQKPTTVNVPT TEVSPTSQKTTTTKTTTPNAQATRSTPVSR TT KHF HETTPNKGSGT TSGTTRLLSGHTCFTLTGLLGT L VTMGLLT
配列番号 2	ATGACCGTCTCGCGCGGCGAGCGTGCCCGCGGCGC TGCCCCCTCCTCGGGGAGCTGCCCGGCTGCTGCT GCTGGTGCTGTTGTGCCTGCCGGCCGCTGTGGGGT GACTGTGGCCTTCCCCCAGATGTACCTAATGCCC AGCCAGCTTTGGAAGGCCGTACAAGTTTTCCCGA GGATACTGTAATAACGTACAAATGTGAAGAAAGC TTTGTGAAAATTCTCTGGCGAGAAGGACTCAGTGA TCTGCCTTAAGGGCAGTCAATGGTCAGATATTGA AGAGTTCTGCAATCGTAGCTGCGAGGTGCCAACA AGGCTAAATTCTGCATCCCTCAAACAGCCTTATA TCACTCAGAATTATTTTCCAGTCGGTACTGTTGT GGAATATGAGTGCCGTCCAGGTTACAGAAGAGAA CCTTCTCTATCACCAAAACTAACTTGCCCTTCAGA ATTTAAAATGGTCCACAGCAGTCGAATTTTGTA AAAGAAATCATGCCCTAATCCGGGAGAAATACGA AATGGTCAGATTGATGTACCAGGTGGCATATTAT TTGGTGCAACCATCTCCTTCTCATGTAAACACAGG GTACAAATTATTTGGCTCGACTTCTAGTTTTTGT CTTATTTTCAGGCAGCTCTGTCCAGTGGAGTGACC CGTTGCCAGAGTGCAGAGAAATTTATTGTCCAGC ACCACCACAAATTGACAATGGAATAATTCAAGGG GAACGTGACCATTATGGATATAGACAGTCTGTAA CGTATGCATGTAATAAAGGATTCAACCATGATTGG AGAGCACTCTATTTATTGTACTGTGAATAATGAT GAAGGAGAGTGGAGTGGCCCAACCACTGAATGCA GAGGAAAATCTCTAACTTCCAAGGTCCCACCAAC AGTTTCAGAAACCTACCAACAGTAAATGTTCCAAC ACAGAAGTCTCACCAACTTCTCAGAAAACCAACA CAAAAACCAACCACACCAAAATGCTCAAGCAACACG GAGTACACCTGTTTTCCAGGACAACCAAGCATTTT CATGAAACAACCCCAAATAAAGGAAGTGGAACCA CTTCAGGTACTACCCGTCTTCTATCTGGGGCACAC GTGTTTTACGTTGACAGGTTTTGCTTGGGACGCTA GTAACCATGGGCTTGCTGACTTAG

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

配列番号 3	M R L L A K I I C L M L W A I C V A E D C N E L P P R R N T E I L T
	G S W S D Q T Y P E G T Q A I Y K C R P G Y R S L G N V I M V C R K
	G E W V A L N P L R K C Q K R P C G H P G D T P F G T F T L T G G N
	V F E Y G V K A V Y T C N E G Y Q L L G E I N Y R E C D T D G W T N
	D I P I C E V V K C L P V T A P E N G K I V S S A M E P D R E Y H F
	G Q A V R F V C N S G Y K I E G D E E M H C S D D G F W S K E K P K
	C V E I S C K S P D V I N G S P I S Q K I I Y K E N E R F Q Y K C N
	M G Y E Y S E R G D A V C T E S G W R P L P S C E E K S C D N P Y I
	P N G D Y S P L R I K H R T G D E I T Y Q C R N G F Y P A T R G N T
	A K C T S T G W I P A P R C T L K P C D Y P D I K H G G L Y H E N M
	R R P Y F P V A V G K Y Y S Y Y C D E H F E T P S G S Y W D H I H C
	T Q D G W S P A V P C L R K C Y F P Y L E N G Y N Q N Y G R K F V Q
	G K S I D V A C H P G Y A L P K A Q T T V T C M E N G W S P T P R C
	I R V K T C S K S S I D I E N G F I S E S Q Y T Y A L K E K A K Y Q
	C K L G Y V T A D G E T S G S I T C G K D G W S A Q P T C I K S C D
	I P V F M N A R T K N D F T W F K L N D T L D Y E C H D G Y E S N T
	G S T T G S I V C G Y N G W S D L P I C Y E R E C E L P K I D V H L
	V P D R K K D Q Y K V G E V L K F S C K P G F T I V G P N S V Q C Y
	H F G L S P D L P I C K E Q V Q S C G P P P E L L N G N V K E K T K
	E E Y G H S E V V E Y Y C N P R F L M K G P N K I Q C V D G E W T T
	L P V C I V E E S T C G D I P E L E H G W A Q L S S P P Y Y Y G D S
	V E F N C S E S F T M I G H R S I T C I H G V W T Q L P Q C V A I D
	K L K K C K S S N L I I L E E H L K N K K E F D H N S N I R Y R C R
	G K E G W I H T V C I N G R W D P E V N C S M A Q I Q L C P P P P Q
	I P N S H N M T T T L N Y R D G E K V S V L C Q E N Y L I Q E G E E
	I T C K D G R W Q S I P L C V E K I P C S Q P P Q I E H G T I N S S
	R S S Q E S Y A H G T K L S Y T C E G G F R I S E E N E T T C Y M G
	K W S S P P Q C E G L P C K S P P E I S H G V V A H M S D S Y Q Y G
	E E V T Y K C F E G F G I D G P A I A K C L G E K W S H P P S C I K
	T D C L S L P S F E N A I P M G E K K D V Y K A G E Q V T Y T C A T
	Y Y K M D G A S N V T C I N S R W T G R P T C R D T S C V N P P T V
	Q N A Y I V S R Q M S K Y P S G E R V R Y Q C R S P Y E M F G D E E
	V M C L N G N W T E P P Q C K D S T G K C G P P P P I D N G D I T S
	F P L S V Y A P A S S V E Y Q C Q N L Y Q L E G N K R I T C R N G Q
	W S E P P K C L H P C V I S R E I M E N Y N I A L R W T A K Q K L Y
	S R T G E S V E F V C K R G Y R L S S R S H T L R T T C W D G K L E
	Y P T C A K R

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

配列番号 4	ATGAGACTTCTAGCAAAGATTATTTGCCTTATGT
	TATGGGCTATTTGTGTAGCAGAAGATTGCAATGA
	ACTTCCTCCAAGAAGAAATACAGAAATTCTGACA
	GGTTCCCTGGTCTGACCAAACATATCCAGAAGGCA
	CCCAGGCTATCTATAAATGCCGCCCTGGATATAG
	ATCTCTTGGAAATGTAATAATGGTATGCAGGAAG
	GGAGAATGGGTTGCTCTTAATCCATTAAAGGAAAT
	GTCAGAAAAGGCCCTGTGGACATCCTGGAGATAC
	TCCTTTTGGTACTTTTACCCTTACAGGAGGAAAT
	GTGTTTGAATATGGTGTAAAAGCTGTGTATACAT
	GTAATGAGGGGTATCAATTGCTAGGTGAGATTAA
	TTACCGTGAAATGTGACACAGATGGATGGACCAAT
	GATATTCCCTATATGTGAAGTTGTGAAGTGTTTAC
	CAGTGACAGCACCAGAGAATGGAAAAATTGTCAG
	TAGTGCAATGGAACCAGATCGGGAATACCATTTT
	GGACAAGCAGTACGGTTTGTATGTAACCTCAGGCT
	ACAAGATTGAAGGAGATGAAGAAATGCATTGTTC
	AGACGATGGTTTTTGGAGTAAAGAGAAACCAAAG
	TGTGTGGAAATTTTCATGCAAATCCCCAGATGTTA
	TAAATGGATCTCCTATATCTCAGAAGATTATTTA
	TAAGGAGAATGAACGATTTCAATATAAATGTAAAC
	ATGGGTTATGAATACAGTGAAAGAGGAGATGCTG
	TATGCACTGAATCTGGATGGCGTCCGTTGCCTTC
	ATGTGAAGAAAAATCATGTGATAATCCTTATATT
	CCAAATGGTGACTACTCACCTTTAAGGATTAAAC
	ACAGAACTGGAGATGAAATCACGTACCAGTGTAG
	AAATGGTTTTTTATCCTGCAACCCGGGGAAATACA
	GCAAAATGCACAAGTACTGGCTGGATACCTGCTC
	CGAGATGTACCTTGAAACCTTGTGATTATCCAGA
	CATTAAACATGGAGGTCTATATCATGAGAATATG
	CGTAGACCATACTTTCCAGTAGCTGTAGGAAAAT
	ATTACTCCTATTACTGTGATGAACATTTTGGAGAC
	TCCGTCAGGAAGTTACTGGGATCACATTCATTGC
	ACACAAGATGGATGGTCGCCAGCAGTACCATGCC
	TCAGAAAATGTTATTTTCCCTTATTTGGAAAATGG
	ATATAATCAAAATCATGGAAAGAAAGTTTGTACAG
	GGTAAATCTATAGACGTTGCCTGCCATCCTGGCT
	ACGCTCTTCCAAAAGCGCAGACCACAGTTACATG
	TATGGAGAATGGCTGGTCTCCTACTCCCAGATGC
	ATCCGTGTCAAAACATGTTCCAAATCAAGTATAG
	ATATTGAGAATGGGTTTATTTCTGAATCTCAGTA
	TACATATGCCTTAAAAGAAAAAGCGAAATATCAA
	TGCAAACTAGGATATGTAACAGCAGATGGTGAAA
	CATCAGGATCAATTACATGTGGGAAAGATGGATG
	GTCAGCTCAACCCACGTGCATTAAATCTTGTGAT
	ATCCCAGTATTTATGAATGCCAGAACTAAAAATG
	ACTTCACATGGTTTTAAGCTGAATGACACATTGGA
	CTATGAATGCCATGATGGTTATGAAAGCAATACT
	GGAAAGCACCACTGGTTCCATAGTGTGTGGTTACA

10

20

30

40

50

【表 3 - 4】

ATGGTTGGTCTGATTTACCCATATGTTATGAAAG	
AGAATGCGAACTTCCTAAAATAGATGTACACTTA	
GTTCTCGATCGCAAGAAAGACCAGTATAAAGTTG	
GAGAGGTGTTGAAATTCTCCTGCAAACCAGGATT	
TACAATAGTTGGACCTAATTCCGTTTCAGTGCTAC	
CACTTTGGATTGTCTCCTGACCTCCCAATATGTA	
AAGAGCAAGTACAATCATGTGGTCCACCTCCTGA	
ACTCCTCAATGGGAATGTTAAGGAAAAAACGAAA	
GAAGAATATGGACACAGTGAAGTGGTGGAAATATT	
ATTGCAATCCTAGATTTCTAATGAAGGGACCTAA	
TAAAAATTCAATGTGTTGATGGAGAGTGGACAAC	
TTACCAGTGTGTATTGTGGAGGAGAGTACCTGTG	
GAGATATACCTGAACTTGAACATGGCTGGGCCCA	
GCTTTCCTTCCCCTCCTTATTACTATGGAGATTCA	
GTGGAATTCAATTGCTCAGAATCATTTTACAATGA	
TTGGACACAGATCAATTACGTGTATTTCATGGAGT	
ATGGACCCCAACTTCCCCAGTGTGTGGCAATAGAT	
AAACTTAAGAAGTGCAAATCATCAAATTTAATTA	
TACTTGAGGAACATTTAAAAAACAAGAAGGAATT	
CGATCATAATTCTAACATAAGGTACAGATGTAGA	
GGAAAAGAAGGATGGATACACACAGTCTGCATAA	
ATGGAAGATGGGATCCAGAAGTGAACCTGCTCAAT	
GGCACAAATACAATTATGCCACCTCCACCTCAG	
ATTCCCAATTCTCACAAATATGACAACCACACTGA	
ATTATCGGGATGGAGAAAAAAGTATCTGTTCTTTG	
CCAAGAAAAATTATCTAATTCAGGAAGGAGAAGAA	
ATTACATGCAAAGATGGAAGATGGCAGTCAATAC	
CACTCTGTGTTGAAAAAATTCCATGTTTCAACAAC	
ACCTCAGATAGAACACGGAACCATTAATTCATCC	
AGGTCTTCACAAGAAAGTTATGCACATGGGACTA	
AATTGAGTTATACTTGTGAGGGTGGTTTTCAGGAT	
ATCTGAAGAAAAATGAAACAACATGCTACATGGGA	
AAATGGAGTTCTCCACCTCAGTGTGAAGGCCTTC	
CTTGTAATCTCCACCTGAGATTTCTCATGGTGT	
TGTAGCTCACATGTCAGACAGTTATCAGTATGGA	
GAAGAAGTTACGTACAAATGTTTTGAAGGTTTTG	
GAATTGATGGGCCTGCAATTGCAAAATGCTTAGG	
AGAAAAATGGTCTCACCCCTCCATCATGCATAAAA	
ACAGATTGTCTCAGTTTACCTAGCTTTGAAAAATG	
CCATACCCCATGGGAGAGAGAAGAAGGATGTGTATAA	
GGCGGGTGAGCAAGTGACTTACACTTGTGCAACA	
TATTACAAAATGGATGGAGCCAGTAATGTAAACAT	
GCATTAATAGCAGATGGACAGGAAGGCCAACATG	
CAGAGACACCTCCTGTGTGAATCCGCCACAGTA	
CAAAATGCTTTATATAGTGTGAGACAGATGAGTA	
AATATCCATCTGGTGAGAGAGTACGTTATCAATG	
TAGGAGCCCTTATGAAATGTTTGGGGATGAAGAA	
GTGATGTGTTTTAAATGGAAACTGGACGGAACCA	
CTCAATGCAAAGATTCTACAGGAAAAATGTGGGCC	

10

20

30

40

50

【表 3 - 5】

	CCCTCCACCTATTGACAATGGGGACATTACTTCA TTCCCGTTGTTCAGTATATGCTCCAGCTTCATCAG TTGAGTACCAATGCCAGAACTTGTATCAACTTGA GGGTAAACAAGCGAATAACATGTAGAAATGGACAA TGGTCAGAACCAACCAAAATGCTTACATCCGTGTG TAATATCCCGAGAAATTATGGAAAATTATAACAT AGCATTAAGGTGGACAGCCAAACAGAAGCTTTAT TCGAGAACAGGTGAATCAGTTGAATTTGTGTGTA AACGGGGATATCGTCTTTTCATCACGTTCTCACAC ATTGCGAACAACATGTTGGGATGGGAAACTGGAG TATCCAACCTTGTGCAAAAAGATAG
配列番 号 5	MRL LAK I I CLMLWA I CVAEDCNELPPRRNTE I LT GSWSDQTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNVIMVCRK GEWVALNPLRKCQKRPCGHPGDTFPFGTFTLTGGN VFEYGVKAVYTCNEGYQLLGEIN YRECDTDGWTN DIPICEVVKCLPVTAPENGKIVSSAMEPDREYHF GQAVRFVCNSGYKIEGDEEMHCSDDGFWSKEKPK CVEISCKSPDVINGSPI SQKI IYKENERFQYKCN MGYEYSERGDVCTESGWRPLPSCEEKSCDNPYI PNGDYSPLRIKHRTGDEITYQCRNGFY PATRGNT AKCTSTGWIPAPRCTLKPCDYPD I KHGGLYHENM RRPYFPVAVGKYYSY CDEHFETPSGSYWDHIHC TQDGWSPA VPCLRKCYFPYLENGYNQNYGRKFVQ GKSIDVACHPGYALPKAQTTVT CMENGWSPTPRC IRVSFTL

10

20

30

40

50

【表 3 - 6】

配列番号 6	ATGAGACTTCTAGCAAAGATTATTTGCCTTATGT TATGGGCTATTTGTGTAGCAGAAGATTGCAATGA ACTTCCTCCAAGAAGAAATACAGAAATTCTGACA GGTTCCTGGTCTGACCAAACATATCCAGAAGGCA CCCAGGCTATCTATAAATGCCGCCCTGGATATAG ATCTCTTGGAAATGTAATAATGGTATGCAGGAAG GGAGAATGGGTGCTCTTAATCCATTAAAGGAAAT GTCAGAAAAGGCCCTGTGGACATCCTGGAGATAC TCCTTTTGGTACTTTTACCCTTACAGGAGGAAAT GTGTTTGAATATGGTGTAAAAGCTGTGTATACAT GTAATGAGGGGTATCAATTGCTAGGTGAGATTAA TTACCGTGAATGTGACACAGATGGATGGACCAAT GATATTCCCTATATGTGAAGTTGTGAAGTGTTTAC CAGTGACAGCACCCAGAGAATGGAAAAATTGTCAG TAGTGCAATGGAACCAGATCGGGAATACCATTTT GGACAAGCAGTACGGTTTGTATGTAACTCAGGCT ACAAGATTGAAGGAGATGAAGAAATGCATTGTTC AGACGATGGTTTTTGGAGTAAAGAGAAACCAAG TGTGTGGAAATTTTCATGCAAATCCCCAGATGTTA TAAATGGATCTCCTATATCTCAGAAGATTATTTA TAAGGAGAATGAACGATTTCAATATAAATGTAAAC ATGGGTATGAATACAGTGAAAGAGGAGATGCTG TATGCACTGAATCTGGATGGCGTCCGTTGCCTTC ATGTGAAGAAAAATCATGTGATAATCCTTATATT CCAAATGGTGACTACTCACCTTTAAGGATTAAAC ACAGAACTGGAGATGAAATCACGTACCAGTGTAG AAATGGTTTTTTATCCTGCAACCCGGGGAAATACA GCAAAATGCACAAGTACTGGCTGGATACCTGCTC CGAGATGTACCTTGAAACCTTGTGATTATCCAGA CATTAAACATGGAGGTCTATATCATGAGAATATG CGTAGACCATACTTTCCAGTAGCTGTAGGAAAAT ATTACTCCTATTACTGTGATGAACATTTTGTAGAC TCCGTGAGGAAGTTACTGGGATCACATTCAATTGC ACACAAGATGGATGGTCGCCAGCAGTACCATGCC TCAGAAAATGTTATTTTCCCTTATTTGGAAAATGG ATATAATCAAAATCATGGAAGAAAGTTTGTACAG GGTAAATCTATAGACGTTGCCTGCCATCCTGGCT ACGCTCTTCCAAAAGCGCAGACCACAGTTACATG TATGGAGAATGGCTGGTCTCCTACTCCCAGATGC ATCCGTGTCAGCTTTACCCTCTGA
配列番号 7	KSCPNPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGY KLFGSTSSFCLISGSSVQWSDPLPECRE
配列番号 8	CPNPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKL FGSTSSFCLISGSSVQWSDPLPECRE
配列番号 9	IYCPAPPQIDNGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKG FTMIGEHSIYCTVNNDEGEWSGPPPECRG

10

20

30

40

50

【表 3 - 7】

配列番号 10	KSCPNPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGY KLFGSTSSFCLISGSSVQWSDPLPECREIYCPAP PQIDNGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGE HSIYCTVNNDGEWSGPPPECRG
配列番号 11	CPNPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKL FGSTSSFCLISGSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQ IDNGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHS IYCTVNNDGEWSGPPPECRG
配列番号 12	EDCNELPPRRNTEILTGSDQTYPEEGTQAIYKC RPGYRSLGNVIMVCRKGEWVALNPLRKCQKRP
配列番号 13	EDCNELPPRRNTEILTGSDQTYPEEGTQAIYKC RPGYRSLGNVIMVCRKGEWVALNPLRKCQK
配列番号 14	EDCNELPPRRNTEILTGSDQTYPEEGTQAIYKC RPGYRSLGNIIMVCRKGEWVALNPLRKCQKRP
配列番号 15	EDCNELPPRRNTEILTGSDQTYPEEGTQAIYKC RPGYRSLGNIIMVCRKGEWVALNPLRKCQK
配列番号 16	GHHHHHH
配列番号 17	MGWSCIIILFLVATATGVHS
配列番号 18	EDCNELPPRRNTEILTGSDQTYPEEGTQAIYKC RPGYRSLGNVIMVCRKGEWVALNPLRKCQKRPCP NPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLFG STSSFCLISGSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQID NGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIY CTVNNDGEWSGPPPECRG
配列番号 19	EDCNELPPRRNTEILTGSDQTYPEEGTQAIYKC RPGYRSLGNVIMVCRKGEWVALNPLRKCQKKSCP NPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLFG STSSFCLISGSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQID NGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIY CTVNNDGEWSGPPPECRG
配列番号 20	EDCNELPPRRNTEILTGSDQTYPEEGTQAIYKC RPGYRSLGNIIMVCRKGEWVALNPLRKCQKKSCP NPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLFG STSSFCLISGSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQID NGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIY CTVNNDGEWSGPPPECRG
配列番号 21	EDCNELPPRRNTEILTGSDQTYPEEGTQAIYKC RPGYRSLGNIIMVCRKGEWVALNPLRKCQKRPCP NPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLFG STSSFCLISGSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQID NGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIY CTVNNDGEWSGPPPECRG

10

20

30

40

50

【表 3 - 8】

配列番号 22	EDCNELPPRRNTEILTGSWSDQTYPEGTQAIYKC RPGYRSLGNVIMVCRKGEWVALNPLRKCQKRPCP NPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLFG STSSFCLISGSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQID NGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIY CTVNNDGEWWSGPPPECRGGHHHHHH
配列番号 23	EDCNELPPRRNTEILTGSWSDQTYPEGTQAIYKC RPGYRSLGNVIMVCRKGEWVALNPLRKCQKKSCP NPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLFG STSSFCLISGSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQID NGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIY CTVNNDGEWWSGPPPECRGGHHHHHH
配列番号 24	EDCNELPPRRNTEILTGSWSDQTYPEGTQAIYKC RPGYRSLGNIIMVCRKGEWVALNPLRKCQKKSCP NPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLFG STSSFCLISGSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQID NGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIY CTVNNDGEWWSGPPPECRGGHHHHHH
配列番号 25	EDCNELPPRRNTEILTGSWSDQTYPEGTQAIYKC RPGYRSLGNIIMVCRKGEWVALNPLRKCQKRPCP NPGEIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLFG STSSFCLISGSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQID NGIIQGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIY CTVNNDGEWWSGPPPECRGGHHHHHH
配列番号 26	MGWSCIIILFLVATATGVHSEDCNELPPRRNTEIL TGSWSDQTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNVIMVCR KGEWVALNPLRKCQKRPCPNPGEIRNGQIDVPGG ILFGATISFSCNTGYKLFGSTSSFCLISGSSVQW SDPLPECREIYCPAPPQIDNGIIQGERDHYGYRQ SVTYACNKGFTMIGEHSIYCTVNNDGEWWSGPPP ECRGGHHHHHH
配列番号 27	MGWSCIIILFLVATATGVHSEDCNELPPRRNTEIL TGSWSDQTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNVIMVCR KGEWVALNPLRKCQKKSCPNPGEIRNGQIDVPGG ILFGATISFSCNTGYKLFGSTSSFCLISGSSVQW SDPLPECREIYCPAPPQIDNGIIQGERDHYGYRQ SVTYACNKGFTMIGEHSIYCTVNNDGEWWSGPPP ECRGGHHHHHH
配列番号 28	MGWSCIIILFLVATATGVHSEDCNELPPRRNTEIL TGSWSDQTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNIIMVCR KGEWVALNPLRKCQKKSCPNPGEIRNGQIDVPGG ILFGATISFSCNTGYKLFGSTSSFCLISGSSVQW SDPLPECREIYCPAPPQIDNGIIQGERDHYGYRQ SVTYACNKGFTMIGEHSIYCTVNNDGEWWSGPPP ECRGGHHHHHH

10

20

30

40

50

【表 3 - 9】

配列番号 29	MGWSC I I L F L V A T A T G V H S E D C N E L P P R R N T E I L T G S W S D Q T Y P E G T Q A I Y K C R P G Y R S L G N I I M V C R K G E W V A L N P L R K C Q K R P C P N P G E I R N G Q I D V P G G I L F G A T I S F S C N T G Y K L F G S T S S F C L I S G S S V Q W S D P L P E C R E I Y C P A P P Q I D N G I I Q G E R D H Y G Y R Q S V T Y A C N K G F T M I G E H S I Y C T V N N D E G E W S G P P P E C R G G H H H H H H
配列番号 30	MGWSC I I L F L V A T A T G V H S E D C N E L P P R R N T E I L T G S W S D Q T Y P E G T Q A I Y K C R P G Y R S L G N V I M V C R K G E W V A L N P L R K C Q K R P C P N P G E I R N G Q I D V P G G I L F G A T I S F S C N T G Y K L F G S T S S F C L I S G S S V Q W S D P L P E C R E I Y C P A P P Q I D N G I I Q G E R D H Y G Y R Q S V T Y A C N K G F T M I G E H S I Y C T V N N D E G E W S G P P P E C R G
配列番号 31	MGWSC I I L F L V A T A T G V H S E D C N E L P P R R N T E I L T G S W S D Q T Y P E G T Q A I Y K C R P G Y R S L G N V I M V C R K G E W V A L N P L R K C Q K K S C P N P G E I R N G Q I D V P G G I L F G A T I S F S C N T G Y K L F G S T S S F C L I S G S S V Q W S D P L P E C R E I Y C P A P P Q I D N G I I Q G E R D H Y G Y R Q S V T Y A C N K G F T M I G E H S I Y C T V N N D E G E W S G P P P E C R G
配列番号 32	MGWSC I I L F L V A T A T G V H S E D C N E L P P R R N T E I L T G S W S D Q T Y P E G T Q A I Y K C R P G Y R S L G N I I M V C R K G E W V A L N P L R K C Q K K S C P N P G E I R N G Q I D V P G G I L F G A T I S F S C N T G Y K L F G S T S S F C L I S G S S V Q W S D P L P E C R E I Y C P A P P Q I D N G I I Q G E R D H Y G Y R Q S V T Y A C N K G F T M I G E H S I Y C T V N N D E G E W S G P P P E C R G
配列番号 33	MGWSC I I L F L V A T A T G V H S E D C N E L P P R R N T E I L T G S W S D Q T Y P E G T Q A I Y K C R P G Y R S L G N I I M V C R K G E W V A L N P L R K C Q K R P C P N P G E I R N G Q I D V P G G I L F G A T I S F S C N T G Y K L F G S T S S F C L I S G S S V Q W S D P L P E C R E I Y C P A P P Q I D N G I I Q G E R D H Y G Y R Q S V T Y A C N K G F T M I G E H S I Y C T V N N D E G E W S G P P P E C R G
配列番号 34	Q C N A P E W L P F A R P T N L T D E F E F P I G T Y L K Y E C R P G Y Y G R P F S I I C L K N S V W T G A K D R C R R K S C R N P P D P V N G M V H V I K D I Q F G S Q I K Y S C T K G Y R L I G S S S A T C I I S G N T V I W D N E T P I C D R I P C G L P P T I T N G D F I S T N R E N F H Y G S V V T Y R C N P G S G G R K V F E L V G E P S I Y C T S N D D Q V G I W S G P A P Q C I G H H H H H
配列番号 35	S C E V P T R L N S A S L K Q P Y I T Q N Y F P V G T V V E Y E C R P G Y R R E P S L S P K L T C L Q N L K W S T A V E F C K K K S C P N P G E I R N G Q I D V P G G I L F G A T I S F S C N T G Y K L F G S T S S F C L I S G S S V Q W S D P L P E C R E I Y C P A P P Q I D N G I I Q G E R D H Y G Y R Q S V T Y A C N K G F T M I G E H S I Y C T V N N D E G E W S G P P P E C R G G H H H H H

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 0】

配列番号 36	EDCNELPPRRNTEILTGSWSDQTYPEGTQAIYKC RPGYRSLGNIIMVCRKGEWVALNPLRKCQKRPCG HPGDTPFGTFTLTGGNVFEYGVKAVYTCNEGYQL LGEINYRECDTDGWTNDIPICEVVKCLPVTAPEN GKIVSSAMEPDREYHFGQAVRFVCNSGYKIEGDE EMHCSDDGFWWSKEKPKCVEISCKSPDVINGSPIS QKIIYKENERFQYKCNMGYEYSERGDVCTESGW RPLPSCEEKSCDNPYIPNGDYSPLRIKHRTGDEI TYQCRNGFYPATRGNTAKCTSTGWIPAPRCTLKP GHHHHHHH
配列番号 37	GHCQAPDHFLFAKLKTQTNASDFPIGTSCLKYECR PEYYGRPFSTITCLDNLVWSSPKDVCKRKSCPNPG EIRNGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLFGSTS SFCLISGSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQIDNGI IQGERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIYCTV NNDEGEWSGPPPECRGGHHHHHHH
配列番号 38	EDCNELPPRRNTEILTGSWSDQTYPEGTQAIYKC RPGYRSLGNIIMVCRKGEWVALNPLRKCQKRPCG HPGDTPFGTFTLTGGNVFEYGVKAVYTCNEGYQL LGEINYRECDTDGWTNDIPICEVVKCLPVTAPEN GKIVSSAMEPDREYHFGQAVRFVCNSGYKIEGDE EMHCSDDGFWWSKEKPKCVEISGHHHHHHH
配列番号 39	DCGLPPDVPNAQPALEGRTSFPEDTVITYKCEES FVKIPGEKDSVICLKGSQWSDIEEFCNRSCEVPT RLNSASLKQPYITQNYFPVGTVVEYECRPGYRRE PSLSPKLTCLQNLKWSTAVEFCKKKSCPNPGEIR NGQIDVPGGILFGATISFSCNTGYKLFGSTSSFC LISGSSVQWSDPLPECREIYCPAPPQIDNGIIQG ERDHYGYRQSVTYACNKGFTMIGEHSIYCTVNND EGEWSGPPPECRGKSGHHHHHHH

10

20

30

40

50

【図面】
【図 1】

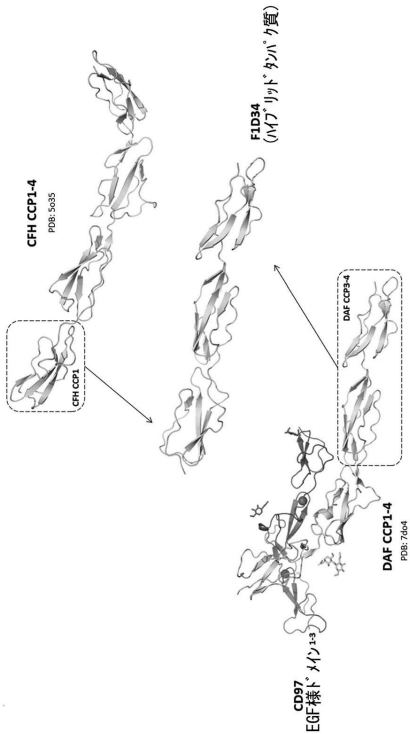


Fig. 1

【図 2】

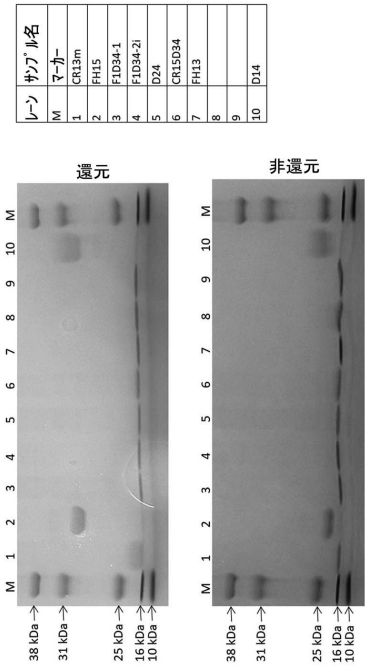


Fig. 2

【図 3】

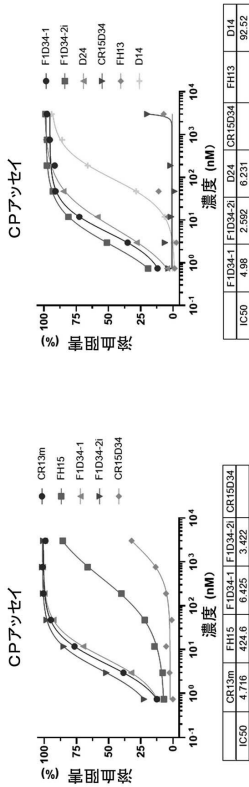


Fig. 3

【図 4】

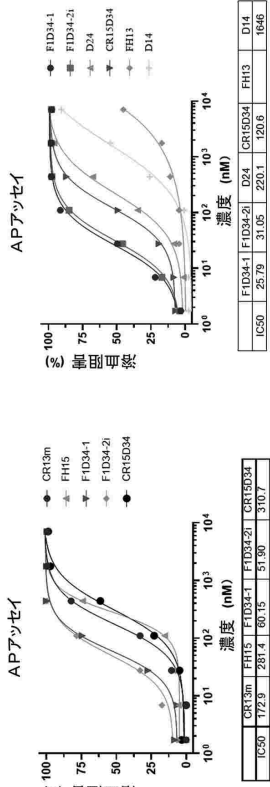


Fig. 4

10

20

30

40

50

【図 5】

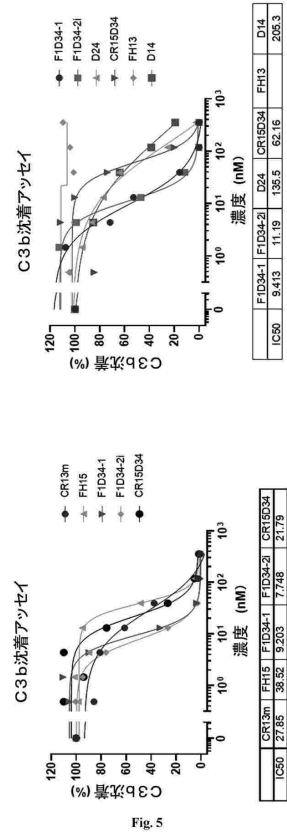


Fig. 5

【配列表】

2025512062000001.xml

【 国际调查报告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2023/086593
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07K14/47(2006.01)i; C12N15/62(2006.01)i; A61K38/17(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K,C12N,A61K Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) DWPI, VEN, CNABS, CNTXT, USTXT, EPTXT, WOTXT, 万方数据库, WANFANG DATABASE, CNKI, PubMed, ISI web of Knowledge, GenBank, EBI, STN: 补体因子, 衰变加速因子, 衰变加快因子, 促衰变因子, 融合, 杂合, 重复模块, 重复片段, 补体控制蛋白, 补体途径, CCP, DAF, CFH, FH, SCR, decay accelerating factor, CD55, complement factor H protein, H因子, complement component, complement control protein repeats, SEQ ID NOs: 1-33, 申请人, applicant(s), 发明人, inventor(s)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 109689084 A (UNIVERSITAT ULM) 26 April 2019 (2019-04-26) claims 1-24	1-26
Y	CN 113365648 A (UNIVERSITAT ULM) 07 September 2021 (2021-09-07) claims 1-17	1-26
A	WO 2018197873 A1 (UNIVERSITY OF NEWCASTLE UPONTYNE) 01 November 2018 (2018-11-01) entire document	1-26
A	WO 2020219922 A1 (THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA et al.) 29 October 2020 (2020-10-29) entire document	1-26
A	WO 2005069726 A2 (CASE WESTERN RESERVE UNIVERSITY) 04 August 2005 (2005-08-04) entire document	1-26
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 07 June 2023		Date of mailing of the international search report 20 June 2023
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088		Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/086593

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JÖNSEN, A. et al. "Mutations in Genes Encoding Complement Inhibitors CD46 and CFH Affect the Age at Nephritis Onset in Patients with Systemic Lupus Erythematosus." <i>Arthritis Research & Therapy</i> , Vol. vol. 13, 15 December 2011 (2011-12-15), R206 pages 1-9	1-26
A	SAGE, M.A.G. et al. "A Factor H-Fc Fusion Protein Increases Complement-Mediated Opsonophagocytosis and Killing of Community Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus" <i>PloS One</i> , Vol. 17, No. (3), 24 March 2022 (2022-03-24), e0265774	1-26
A	WU, J. et al. "Structure of Complement Fragment C3b-factor H and Implications for Host Protection by Complement Regulators" <i>Nature Immunology</i> , Vol. 10, No. (7), 07 June 2009 (2009-06-07), pp. 728-733	1-26
A	PARENTE, R. et al. "Complement Factor H in Host Defense and Immune Evasion" <i>Cellular and Molecular Life Sciences</i> , Vol. vol. 74, 10 December 2016 (2016-12-10), pp. 1605-1624	1-26
A	KAMALA, O. et al. "Homodimeric Minimal Factor H: In Vivo Tracking and Extended Dosing Studies in Factor H Deficient Mice" <i>Frontiers in Immunology</i> , Vol. vol. 12, 09 December 2021 (2021-12-09), Article 752916	1-26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2023/086593
Box No. I	Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)	
1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing: a. ☒ forming part of the international application as filed. b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)), ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed. 2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing. 3. Additional comments:		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/086593

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **23-26**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 23-26 relate to a method for preventing or treating a complement system-related disease or condition in a subject, that is, claims 23-26 relate to subject matter for which a search is not required by the International Searching Authority as defined in PCT Rule 39.1: (4) methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy, as well as diagnostic methods. The international search is conducted on the basis of the use in the preparation of a drug for prevention or treatment.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/086593

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	109689084	A	26 April 2019	WO	2018002131	A1	04 January 2018
				AU	2017289214	A1	24 January 2019
				AU	2017289214	B2	18 November 2021
				CA	3029106	A1	04 January 2018
				MX	2019000059	A	07 September 2020
				PL	3474883	T3	19 September 2022
				US	2019202878	A1	04 July 2019
				IL	263949	A	31 January 2019
				JP	2019523238	A	22 August 2019
				JP	7068203	B2	16 May 2022
				ES	2925466	T3	18 October 2022
				EP	3474883	A1	01 May 2019
				EP	3474883	B1	25 May 2022
				KR	20190039090	A	10 April 2019
				DK	3474883	T3	29 August 2022
CN	113365648	A	07 September 2021	US	2021355178	A1	18 November 2021
				WO	2019243586	A1	26 December 2019
				EP	3810166	A1	28 April 2021
				EP	3586860	A1	01 January 2020
				JP	2021527439	A	14 October 2021
WO	2018197873	A1	01 November 2018	None			
WO	2020219922	A1	29 October 2020	None			
WO	2005069726	A2	04 August 2005	US	2008188404	A1	07 August 2008
				US	8124097	B2	28 February 2012
				US	2012226020	A1	06 September 2012
				US	8932601	B2	13 January 2015
				WO	2005069726	A3	18 January 2007

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

国际检索报告		国际申请号 PCT/CN2023/086593
A. 主题的分类 C07K14/47(2006.01)i; C12N15/62(2006.01)i; A61K38/17(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C07K, C12N, A61K 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) DWPI, VEN, CNABS, CNTXT, USTXT, EPTXT, WOTXT, 万方数据库, CNKI, PubMed, ISI web of Knowledge, GenBank, EBI, STN; 补体因子, 衰变加速因子, 衰变加快因子, 促衰变因子, 融合, 杂合, 重复模块, 重复片段, 补体控制蛋白, 补体途径, CCP, DAF, CFH, FH, SCR, decay accelerating factor, CD55, complement factor H portein, H 因子, complement component, complement control protein repeats, SEQ ID NOs:1-33, 申请人, 发明人		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 109689084 A (乌尔姆大学) 2019年4月26日 (2019 - 04 - 26) 权利要求1-24	1-26
Y	CN 113365648 A (乌尔姆大学) 2021年9月7日 (2021 - 09 - 07) 权利要求1-17	1-26
A	WO 2018197873 A1 (UNIVERSITY OF NEWCASTLE UPONTYNE) 2018年11月1日 (2018 - 11 - 01) 全文	1-26
A	WO 2020219922 A1 (THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA等) 2020年10月29日 (2020 - 10 - 29) 全文	1-26
A	WO 2005069726 A2 (CASE WESTERN RESERVE UNIVERSITY) 2005年8月4日 (2005 - 08 - 04) 全文	1-26
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。 * 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “D” 申请人在国际申请中引证的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期 2023年6月7日		国际检索报告邮寄日期 2023年6月20日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088		受权官员 黎舒婷 电话号码 (+86) 010-53961957

10

20

30

40

50

国际检索报告		国际申请号 PCT/CN2023/086593
C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	JÖNSEN, A. 等. "Mutations in genes encoding complement inhibitors CD46 and CFH affect the age at nephritis onset in patients with systemic lupus erythematosus." ARTHRITIS RESEARCH & THERAPY., 第13卷, 2011年12月15日 (2011 - 12 - 15), R206 第1-9页	1-26
A	SAGE, M. A. G. 等. "A Factor H-Fc fusion protein increases complement-mediated opsonophagocytosis and killing of community associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus" PLOS ONE., 第17卷, 第3期, 2022年3月24日 (2022 - 03 - 24), e0265774	1-26
A	WU, J. 等. "Structure of complement fragment C3b - factor H and implications for host protection by complement regulators" NATURE IMMUNOLOGY, 第10卷, 第7期, 2009年6月7日 (2009 - 06 - 07), 第728-733页	1-26
A	PARENTE, R. 等. "Complement factor H in host defense and immune evasion" CELLULAR AND MOLECULAR LIFE SCIENCES, 第74卷, 2016年12月10日 (2016 - 12 - 10), 第1605-1624页	1-26
A	KAMALA, O. 等. "Homodimeric Minimal Factor H: In Vivo Tracking and Extended Dosing Studies in Factor H Deficient Mice" FRONTIERS IN IMMUNOLOGY, 第12卷, 2021年12月9日 (2021 - 12 - 09), Article 752916	1-26

国际申请号

PCT/CN2023/086593

第1栏	核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)
1	5'-GGG-3'
2	5'-GGG-3'
3	5'-GGG-3'
4	5'-GGG-3'
5	5'-GGG-3'
6	5'-GGG-3'
7	5'-GGG-3'
8	5'-GGG-3'
9	5'-GGG-3'
10	5'-GGG-3'
11	5'-GGG-3'
12	5'-GGG-3'
13	5'-GGG-3'
14	5'-GGG-3'
15	5'-GGG-3'
16	5'-GGG-3'
17	5'-GGG-3'
18	5'-GGG-3'
19	5'-GGG-3'
20	5'-GGG-3'
21	5'-GGG-3'
22	5'-GGG-3'
23	5'-GGG-3'
24	5'-GGG-3'
25	5'-GGG-3'
26	5'-GGG-3'
27	5'-GGG-3'
28	5'-GGG-3'
29	5'-GGG-3'
30	5'-GGG-3'
31	5'-GGG-3'
32	5'-GGG-3'
33	5'-GGG-3'
34	5'-GGG-3'
35	5'-GGG-3'
36	5'-GGG-3'
37	5'-GGG-3'
38	5'-GGG-3'
39	5'-GGG-3'
40	5'-GGG-3'
41	5'-GGG-3'
42	5'-GGG-3'
43	5'-GGG-3'
44	5'-GGG-3'
45	5'-GGG-3'
46	5'-GGG-3'
47	5'-GGG-3'
48	5'-GGG-3'
49	5'-GGG-3'
50	5'-GGG-3'
51	5'-GGG-3'
52	5'-GGG-3'
53	5'-GGG-3'
54	5'-GGG-3'
55	5'-GGG-3'
56	5'-GGG-3'
57	5'-GGG-3'
58	5'-GGG-3'
59	5'-GGG-3'
60	5'-GGG-3'
61	5'-GGG-3'
62	5'-GGG-3'
63	5'-GGG-3'
64	5'-GGG-3'
65	5'-GGG-3'
66	5'-GGG-3'
67	5'-GGG-3'
68	5'-GGG-3'
69	5'-GGG-3'
70	5'-GGG-3'
71	5'-GGG-3'
72	5'-GGG-3'
73	5'-GGG-3'
74	5'-GGG-3'
75	5'-GGG-3'
76	5'-GGG-3'
77	5'-GGG-3'
78	5'-GGG-3'
79	5'-GGG-3'
80	5'-GGG-3'
81	5'-GGG-3'
82	5'-GGG-3'
83	5'-GGG-3'
84	5'-GGG-3'
85	5'-GGG-3'
86	5'-GGG-3'
87	5'-GGG-3'
88	5'-GGG-3'
89	5'-GGG-3'
90	5'-GGG-3'
91	5'-GGG-3'
92	5'-GGG-3'
93	5'-GGG-3'
94	5'-GGG-3'
95	5'-GGG-3'
96	5'-GGG-3'
97	5'-GGG-3'
98	5'-GGG-3'
99	5'-GGG-3'
100	5'-GGG-3'

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列表进行的:
- a. ☒ 作为国际申请的一部分提交的;
- b. ☐ 为国际检索的目的在国际申请日之后提交 (细则13之三, 1(a)),
☐ 附有说明序列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。
2. ☐ 本报告是在没有收到符合WIPO ST. 26标准的序列表的情况下, 考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 在可进行有意义检索的范围内做出的。
3. 补充意见:

10

20

30

40

国际检索报告		国际申请号 PCT/CN2023/086593
第II栏	某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第I页第2项)	
根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：		
1.	☒ 权利要求： 23-26 因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即： 权利要求23-26涉及一种在受试者中预防或治疗补体系统相关疾病或病症的方法，也即权利要求23-26涉及PCT细则39.1定义的不要国际检索单位检索的主题：（4）通过外科手术或治疗对人体或动物体进行处置的方法及在人体或动物体上实施的诊断方法。国际检索基于在制备预防或治疗药物中的用途作出。	10
2.	☐ 权利要求： 因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索， 具体地说：	
3.	☐ 权利要求： 因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。	20
		30
		40
		50

国际检索报告 关于同族专利的信息				国际申请号 PCT/CN2023/086593			
检索报告引用的专利文件				公布日 (年/月/日)		同族专利	
CN	109689084	A	2019年4月26日	WO	2018002131	A1	2018年1月4日
				AU	2017289214	A1	2019年1月24日
				AU	2017289214	B2	2021年11月18日
				CA	3029106	A1	2018年1月4日
				MX	2019000059	A	2020年9月7日
				PL	3474883	T3	2022年9月19日
				US	2019202878	A1	2019年7月4日
				IL	263949	A	2019年1月31日
				JP	2019523238	A	2019年8月22日
				JP	7068203	B2	2022年5月16日
				ES	2925466	T3	2022年10月18日
				EP	3474883	A1	2019年5月1日
				EP	3474883	B1	2022年5月25日
				KR	20190039090	A	2019年4月10日
				DK	3474883	T3	2022年8月29日
CN	113365648	A	2021年9月7日	US	2021355178	A1	2021年11月18日
				WO	2019243586	A1	2019年12月26日
				EP	3810166	A1	2021年4月28日
				EP	3586860	A1	2020年1月1日
				JP	2021527439	A	2021年10月14日
WO	2018197873	A1	2018年11月1日	无			
WO	2020219922	A1	2020年10月29日	无			
WO	2005069726	A2	2005年8月4日	US	2008188404	A1	2008年8月7日
				US	8124097	B2	2012年2月28日
				US	2012226020	A1	2012年9月6日
				US	8932601	B2	2015年1月13日
				WO	2005069726	A3	2007年1月18日

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2022年7月)

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N	15/63	(2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	15/62	(2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z
C 1 2 N	1/15	(2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	(2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 P	21/02	(2006.01)	C 1 2 P	21/02	A
A 6 1 K	38/17	(2006.01)	C 1 2 P	21/02	C
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 K	38/17	
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	7/04	(2006.01)	A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	7/04	
			A 6 1 P	13/12	

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,C O,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,I R,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW ,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL ,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100138210

弁理士 池田 達則

(74)代理人 100231902

弁理士 吉田 李花

(72)発明者 マー ハイリー

中華人民共和国, シャンハイ 201203, プートン ニュー エリア, ビボ ロード ナンバー
518, ルーム #317

(72)発明者 リウ ホン

中華人民共和国, シャンハイ 201203, プートン ニュー エリア, ビボ ロード ナンバー
518, ルーム #317

F ターム (参考) 4B064 AG01 CA01 CC24 DA01

4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X AB01 BA02 CA44

4C084 AA02 AA06 AA07 BA01 BA08 BA22 BA23 BA41 CA53 NA14

ZA531 ZA532 ZA811 ZA812 ZB071 ZB072 ZB111 ZB112 ZC541 ZC542

4H045 AA10 AA20 BA09 CA40 EA24 FA74