



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I856193 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 09 月 21 日

(21)申請案號：109135664

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 10 月 15 日

(51)Int. Cl. : C07K16/40 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P37/02 (2006.01)

C12N15/13 (2006.01)

(30)優先權：2019/10/16 日本

2019-189148

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

日本

(72)發明人：古賀光 KOGA, HIKARU (JP)；寺本礼仁 TERAMOTO, REIJI (JP)；目次正一 METSUGI, SHOUICHI (JP)；角崎太郎 KAKUZAKI, TARO (JP)

(74)代理人：洪澄文；洪茂

(56)參考文獻：

WO 2015006504A1

WO 2017129737A1

WO 2019098212A1

審查人員：吳卓翰

申請專利範圍項數：5 項 圖式數：8 共 245 頁

(54)名稱

抗體、醫藥組成物及方法

(57)摘要

本發明有關於例如抗 C1s 抗體的抗體、包含此抗體的醫藥物組成物及其使用方法。本發明提供了包含抗原結合區和抗體恆定區、具有置換功能以使抗體結合至 C1qrs 複合物並促進 C1q 從 C1qrs 複合物中解離和/或阻斷功能以使抗體結合至 C1r2s2 並抑制 C1q 結合至 C1r2s2、且以 pH 依賴性方式結合至 C1s 的抗體。本發明還提供了包含任何一種抗體的醫藥組成物，及治療具有補體調節的疾病或病症的個體或預防可能具有補體調節的疾病或病症的個體的方法，包含對個體投予任何一種抗體。

The invention relates to antibodies such as anti-C1s antibodies, pharmaceutical compositions comprising the same, and methods of using the same. The invention provides antibodies that comprise an antigen-binding region and an antibody constant region, have a displacement function such that the antibody binds to C1qrs complex and promotes dissociation of C1q from C1qrs complex and/or a blocking function such that the antibody binds to C1r2s2 and inhibits the binding of C1q to C1r2s2, and bind to C1s in a pH-dependent manner. The invention also provides pharmaceutical compositions comprising any one of the antibodies, and methods of treating an individual having a complement-mediated disease or disorder, or preventing an individual potentially having a complement-mediated disease or disorder, comprising administering any one of the antibodies to the individual.



公告本

I856193

【發明摘要】

【中文發明名稱】 抗體、醫藥組成物及方法

【英文發明名稱】 AN ANTIBODY, A PHARMACEUTICAL COMPOSITION,
AND A METHOD

【中文】

本發明有關於例如抗C1s抗體的抗體、包含此抗體的醫藥物組成物及其使用方法。本發明提供了包含抗原結合區和抗體恆定區、具有置換功能以使抗體結合至C1qrs複合物並促進C1q從C1qrs複合物中解離和/或阻斷功能以使抗體結合至C1r2s2並抑制C1q結合至C1r2s2、且以pH依賴性方式結合至C1s的抗體。本發明還提供了包含任何一種抗體的醫藥組成物，及治療具有補體調節的疾病或病症的個體或預防可能具有補體調節的疾病或病症的個體的方法，包含對個體投予任何一種抗體。

【英文】

The invention relates to antibodies such as anti-C1s antibodies, pharmaceutical compositions comprising the same, and methods of using the same. The invention provides antibodies that comprise an antigen-binding region and an antibody constant region, have a displacement function such that the antibody binds to C1qrs complex and promotes dissociation of C1q from C1qrs complex and/or a blocking function such that the antibody binds to C1r2s2 and inhibits the binding of C1q to C1r2s2, and bind to C1s in a pH-dependent manner. The invention also provides pharmaceutical compositions comprising any one of the antibodies, and methods of treating an individual having a complement-mediated disease or disorder, or preventing an

individual potentially having a complement-mediated disease or disorder, comprising administering any one of the antibodies to the individual.

【指定代表圖】 無

【代表圖之符號簡單說明】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 抗體、醫藥組成物及方法

【英文發明名稱】 AN ANTIBODY, A PHARMACEUTICAL COMPOSITION,
AND A METHOD

【技術領域】

【0001】 本發明係有關於例如抗C1s抗體的抗體及其使用方法。

【先前技術】

【0002】 C1複合物是一種作為經典途徑級聯的關鍵啟動劑的大型蛋白質複合物。C1複合物由三個成分C1q、C1r和C1s所組成，其莫耳比分別為1:2:2 (NPL 1)。當C1複合物結合至抗體所結合的目標時，啟動經典途徑。具有6個球形頭部的C1q藉由與Fc區的結合性(avidity)的交互作用，來調節C1複合物與抗體的結合。一旦與目標緊密結合，C1複合物內的C1r會自動活化且具有酵素活性。然後，活化的C1r切割且活化C1複合物內的酶原C1s(NPL 2)。隨後，有活性的C1s將其受質補體(substrates complement)成分C2和C4分別切割為C2a/C2b和C4a/C4b片段。這導致在目標表面上的C3轉化酶C4b2a組裝，其切割C3以形成C3b。C3b接著切割C5以啟動末端膜攻擊複合物、C5b、C6、C7、C8和C9的形成，其透過形成孔洞來裂解目標。

【0003】 C1 和 C1r 蛋白質兩者都具有相同的域組織，即 CUB1-EGF-CUB2-CCP1-CCP2-絲胺酸蛋白酶(NPL 3)。CUB1-EGF-CUB2域調節C1r和C1s之間的交互作用，以形成C1r₂s₂四聚體(NPL 4)，以及調節C1r₂s₂和C1q之間的交互作用(NPL 5)。相比之下，C1r和C1s的CCP1-CCP2-絲胺酸蛋白酶域負責各自基質的蛋白質裂解切割(NPL 6、NPL 7)。C1r₂s₂四聚體透過四聚體的

CUB1-EGF-CUB2域中的六個結合位與C1q中的六個主幹交互作用(NPL 5)。

【0004】 儘管適當運作的補體系統可防禦宿主對抗病原體，但經典途徑的失調或不適當活化會導致各種補體調節的病症(disorder)，例如但不限於自體免疫溶血性貧血(autoimmune hemolytic anemias，AIHA)、貝西氏病(Behcet's disease)、大疱性天皰瘡(Bullous Pemphigus，BP)、免疫性血小板減少性紫斑(immune thrombocytopenia purpura，ITP)等。因此，抑制經典途徑的過度或不受控的活化可為具有此類病症的病人提供臨床益處。

【0005】 HI532，一種結合至C1s的beta域的抗體，據報導能夠抑制C1r2s2與C1q的交互作用(NPL 8)。然而，此抗體不能完全中和人類血清的溶血活性，甚至在血清與抗體一起培養24小時之後，仍保留30%的活性。

【0006】 抗體是有高度吸引力的醫藥，因為它們在血漿中穩定，對其目標有高度特異性，且通常展現出良好的藥物動力學特徵。然而，由於它們的分子尺寸很大，治療性抗體的劑量通常很高。在目標大量存在的情況下，所需的抗體治療劑量更高。因此，改善抗體藥物動力學(pharmacokinetics)、藥效動力學(pharmacodynamic)和抗原結合性質的方法是減少與治療性抗體相關的劑量和高生產成本之有吸引力的方法。

【0007】 據報導，以pH依賴性方式結合至抗原的抗體(本文以下亦稱為「pH依賴性抗體」或「pH依賴性結合抗體」)使單一抗體分子能夠中和多個抗原分子(NPL 9、PTL 1)。在血漿中於中性pH條件下，pH依賴性抗體強力地結合至其抗原，但在細胞的胞內體(endosome)內於酸性pH條件下與抗原解離。一旦與抗原解離，抗體就會藉由FcRn受體回收回到血漿，而解離的抗原則在細胞的溶酶體內降解。然後，回收的抗體可自由地再次結合且中和抗原分子，且只要抗體保持循環，此過程就會繼續重複。

[引用列表]

[專利文獻]

【0008】

[PTL 1] WO2009/125825

[非專利文獻]

【0009】

[NPL 1] Wang et. al. Mol Cell. 2016 Jul 7;63(1):135-45

[NPL 2] Mortensen et. al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Jan 31;114(5):986-991

[NPL 3] Gal et. al. Mol Immunol. 2009 Sep;46(14):2745-52

[NPL 4] Almitairi et. al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2018 Jan 23;115(4):768-773

[NPL 5] Bally et. al. J Biol Chem. 2009 Jul 17;284(29):19340-8

[NPL 6] Rossi et. al. 1998 J Biol Chem. 1998 Jan 9;273(2):1232-9

[NPL 7] Lacroix et. al. J Biol Chem. 2001 Sep 28;276(39):36233-40

[NPL 8] Tseng et. al. Mol Immunol. 1997 Jun;34(8-9):671-9

[NPL 9] Igawa et. al. Nat Biotechnol. 2010 Nov;28(11):1203-7

【發明內容】

[技術問題]

【0010】 本發明提供了例如抗C1s抗體的抗補體成分抗體、包含其的醫藥組合物以及其使用方法。

[解決問題之技術手段]

【0011】 本發明提供了單離抗體，其包含抗原結合區和抗體恆定區、具有置換功能(displacement function)以使抗體結合至C1qrs複合物並促進C1q從C1qrs複合物中解離和/或阻斷功能以使抗體結合至C1r2s2結合並抑制C1q結合至C1r2s2、且以pH依賴性方式結合至C1s。

第 3 頁，共 138 頁(發明說明書)

2125-18654PF-TW

【0012】 具體地，本發明有關於以下所述：

- [1] 一種包含抗原結合區和抗體恆定區的單離抗體，其中抗體促進C1q從C1qrs複合物中解離和/或抑制C1q結合至C1r2s2，其中，在藉由表面電漿共振來測量抗體對人類和/或食蟹猴C1s的結合活性的情況下，
- i) 可可靠地計算出中性pH範圍內的解離常數(dissociation constant, KD)值，且由於沒有結合活性或很低的結合活性，而無法可靠地計算出酸性pH範圍內的KD值，或
- ii) 若可可靠地計算出中性pH範圍內和酸性pH範圍內兩者的KD值，則酸性pH範圍內的KD值與中性pH範圍內的KD值之比值，即酸性KD/中性KD比值大於10。
- [2] 如[1]所述的抗體，其中藉由表面電漿共振測量的該結合活性係使用每個抗體皆被人類Ig kappa輕鏈以50共振單位捕獲的感測器晶片和包含20 mM ACES (N-(2-乙醯胺基)-2-胺基乙烷磺酸(N-(2-Acetamido)-2-aminoethanesulfonic acid))、150 mM NaCl、1.2 mM CaCl₂、1 mg/mL牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)、1 mg/mL CM-葡聚糖鈉鹽(CM-Dextran sodium salt, CMD)、0.05%聚山梨醇酯20 (polysorbate 20)、0.005% NaN₃的運行緩衝液(running buffer)在攝氏37度下進行測量。
- [3] 如[1]或[2]所述的抗體，其中抗體的等電點(pI)小於9.00、小於8.90、小於8.80或小於8.78或更小，且大於4.28或更大。
- [4] 如[3]所述的抗體，其中藉由毛細管等電聚焦來測量pI，其中含有配製在0.1% m/v 甲基纖維素(methyl cellulose, MC)中之0.08 M磷酸的溶液作為陽極溶液，含有配製在0.1% m/v MC中之0.1 M氫氧化鈉的溶液作為陰極溶液，含有0.5 mg/mL 抗體、0.3% m/v MC，6.0 mM亞胺二乙酸(iminodiacetic acid, IDA)、10 mM精胺酸、4 M尿素和pI標記物(7.65和9.77)的溶液作為將抗體裂解的作用溶液(working solution)。

[5] 如[1]至[4]中任一者所述的抗體，其中抗原結合區可特異性結合至人類C1s的CUB1-EGF-CUB2域。

[6] 如[1]至[5]中任一者所述的抗體，其中抗原結合區包括重鏈可變區，其包括包含由AYAMN (序列辨識號1)所組成的胺基酸序列的HVR-H1、包含由LIYGX₁X₂X₃X₄FYASWAX₅X₆ (序列辨識號2)所組成的胺基酸序列的HVR-H2、和包含由GRSX₇NYX₈SX₉FHL (序列辨識號3)所組成的胺基酸序列的HVR-H3以及輕鏈可變區，其包括包含由QAX₁₀X₁₁X₁₂LHDKX₁₃NLA (序列辨識號4)所組成的胺基酸序列的HVR-L1、包含由X₁₄ASX₁₅X₁₆ES (序列辨識號5)所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和包含由X₁₇GEFX₁₈X₁₉X₂₀X₂₁ADX₂₂NX₂₃ (序列辨識號6)所組成的胺基酸序列的HVR-L3，其中X₁至X₂₃的每一者皆選自天然存在的(naturally occurring)胺基酸。

[7] 一種單離抗C1s抗體，其包含重鏈可變區、輕鏈可變區和抗體恆定區，其中重鏈可變區包括包含由AYAMN (序列辨識號1)所組成的胺基酸序列的HVR-H1、包含由LIYGX₁X₂X₃X₄FYASWAX₅X₆ (序列辨識號2)所組成的胺基酸序列的HVR-H2、和包含由GRSX₇NYX₈SX₉FHL (序列辨識號3)所組成的胺基酸序列HVR-H3，且輕鏈可變區包括包含由QAX₁₀X₁₁X₁₂LHDKX₁₃NLA (序列辨識號4)所組成的胺基酸序列的HVR-L1、包含由X₁₄ASX₁₅X₁₆ES (序列辨識號5)所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和包含由X₁₇GEFX₁₈X₁₉X₂₀X₂₁ADX₂₂NX₂₃ (序列辨識號6)所組成的胺基酸序列的HVR-L3，其中X₁至X₂₃的每一者皆選自天然存在的胺基酸。

[8] 如[6]或[7]所述的抗體，其中

X₁為Lys或Ser，

X₂為Gly或Lys，

X₃為His或Ser，

X₄為Glu或Thr，

X₅為Glu或Lys，

X₆為Glu或Gly，

X₇為Lys或Val，

X₈為Asn或Val，

X₉為Asp或Gly，

X₁₀為Asn、Gln或Ser，

X₁₁為Gly或Gln，

X₁₂為Ile或Ser，

X₁₃為Lys或Arg，

X₁₄為Gly或Gln，

X₁₅為Gln或Thr，

X₁₆為Leu或Arg，

X₁₇為His或Gln，

X₁₈為Pro或Ser，

X₁₉為Cys或Tyr，

X₂₀為Glu或Ser，

X₂₁為Glu或Ser，

X₂₂為Cys或Leu，且

X₂₃為Gln或Thr。

[9] 如[6]至[8]中任一者所述的抗體，其中HVR-H1包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列，HVR-H2包含由序列辨識號8至10所組成的胺基酸序列中的任一者，HVR-H3包含由序列辨識號11至13所組成的胺基酸序列中的任一者，HVR-L1包含由序列辨識號14至18所組成的胺基酸序列中的任一者，HVR-L2包含由序列辨

識號19至22所組成的胺基酸序列中的任一者，且HVR-L3包含由序列辨識號23至28所組成的胺基酸序列中的任一者。

[10] 如[6]至[9]中任一者所述的抗體，其中HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的胺基酸序列的組合選自由以下1)至9)所組成的群組：

- 1) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號8所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號14所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號19所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號23所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
- 2) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號9所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號12所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號14所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號19所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號23所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
- 3) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號24所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
- 4) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、

包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號24所組成的胺基酸序列的HVR-L3；

5) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號16所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號21所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號25所組成的胺基酸序列的HVR-L3；

6) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號17所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號26所組成的胺基酸序列的HVR-L3；

7) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號27所組成的胺基酸序列的HVR-L3；

8) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、

包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號18所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號19所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號27所組成的胺基酸序列的HVR-L3；以及

9) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號18所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號22所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號28所組成的胺基酸序列的HVR-L3。

[11] 如[6]或[7]所述的抗體，其中X₁₉和/或X₂₂不是Cys。

[12] 如[11]所述的抗體，其中X₁₉為Trp或Tyr，且X₂₂為Leu或Met。

[13] 如[11]或[12]所述的抗體，其中

X₁為Ser，

X₂為Gly，

X₃為His，

X₄為Glu，

X₅為Glu，

X₆為Glu，

X₇為Lys，

X₈為Asn或Val，

X₉為Asp或Gly，

X₁₀為Asn、Gln或Ser，

X₁₁為Gly或Gln，

X₁₂為Ile，

X₁₃為Lys或Arg，

X₁₄為Gly或Gln，

X₁₅為Gln或Thr，

X₁₆為Leu或Arg，

X₁₇為His，

X₁₈為Pro或Ser，

X₁₉為Tyr，

X₂₀為Glu或Ser，

X₂₁為Glu或Ser，

X₂₂為Leu，且

X₂₃為Gln或Thr。

[14] 如[11]至[13]中任一者所述的抗體，其中HVR-H1包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列，HVR-H2包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列，HVR-H3包含由序列辨識號11或13所組成的胺基酸序列，HVR-L1包含由序列辨識號15至18所組成的胺基酸序列中的任一者，HVR-L2包含由序列辨識號19至22所組成的胺基酸序列中的任一者，且HVR-L3包含由序列辨識號24至28所組成的胺基酸序列中的任一者。

[15] 如[11]至[14]中任一者所述的抗體，其中HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的胺基酸序列的組合選自由以下3)至9)所組成的群組：

3) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、

- 包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號24所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
- 4) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號24所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
- 5) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號16所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號21所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號25所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
- 6) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號17所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號26所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
- 7) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、

包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號27所組成的胺基酸序列的HVR-L3；

8) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號18所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號19所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號27所組成的胺基酸序列的HVR-L3；以及

9) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號18所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號22所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號28所組成的胺基酸序列的HVR-L3。

[16] 如[1]至[15]中任一者所述的抗體，其中抗體恆定區是人類抗體之包含重鏈和輕鏈的恆定區。

[17] 如[16]所述的抗體，其中人類抗體為人類IgG1。

[18] 如[16]或[17]所述的抗體，其中與沒有所述至少一種胺基酸的人類抗體的恆定區相比，重鏈中的恆定區包含至少一種可降低對C1q的結合能力的胺基酸。

[19] 如[18]所述的抗體，其中可降低對C1q的結合能力的胺基酸是EU編號系統中第238位的Asp。

[20] 如[16]至[19]中任一者所述的抗體，其中與沒有所述至少一種胺基酸的人類

抗體的恆定區相比，重鏈中的恆定區包含至少一種可選擇性結合至Fc gamma RIIb的胺基酸。

[21] 如[20]所述的抗體，其中重鏈中的恆定區對人類Fc gamma RIIa的KD值與對人類Fc gamma RIIb的KD值之比值($KD(hFc\ gamma\ RIIa)/KD(hFc\ gamma\ RIIb)$)高於沒有[20]中所述至少一種胺基酸的人類抗體的恆定區的比值。

[22] 如[20]或[21]所述的抗體，其中重鏈中的恆定區包含EU編號系統中第234位的Tyr、EU編號系統中第238位的Asp、EU編號系統中第264位的Ile和EU編號系統中第330位的Lys。

[23] 如[20]至[22]中任一者所述的抗體，其中重鏈中的恆定區包含選自由下列所組成的群組的至少一者：EU編號系統中第214位的Arg、EU編號系統中第250位的Val、EU編號系統中第307位的Pro、EU編號系統中第311位的Arg、EU編號系統中第343位的Arg、EU編號系統中第428位的Leu、EU編號系統中第434位的Ala、EU編號系統中第436位的Thr、EU編號系統中第438位的Arg、及EU編號系統中第440位的Glu。

[24] 如[16]至[23]中任一者所述的抗體，其中恆定區中EU編號系統中第446和447位的胺基酸被刪除。

[25] 如[16]至[24]中任一者所述的抗體，其中抗原結合區是人源化抗體可變區。

[26] 一種醫藥組成物，其包含如[1]至[25]中任一者所述的抗體和至少一種醫藥上可接受的載體。

[27] 如[26]所述的醫藥組成物，其用於治療具有補體調節的疾病或病症的個體，或預防可能具有補體調節的疾病或病症的個體。

[28] 一種治療具有補體調節的疾病或病症的個體、或預防可能具有補體調節的疾病或病症的個體的方法，其包含對個體投予有效量之[1]至[25]中任一者所述的抗體。

【圖式簡單說明】

【0013】

[圖1]圖1繪示了抗C1s抗體對人類C1r2s2蛋白質的結合能力。顯示在100nM下抗C1s抗體針對重組人類C1r2s2蛋白質的BIAcore(註冊商標)感測圖(sensorgram)。藉由在COS0637temp的輕鏈中第94位(kabat編號)之單一胺基酸取代，來產生抗體變異體。也顯示COS0637temp數據作為對照。

[圖2]圖2繪示了抗C1s抗體對人類C1r2s2蛋白質的結合能力。顯示在100nM下抗C1s抗體針對重組人類C1r2s2蛋白質的BIAcore(註冊商標)感測圖。藉由在COS0637temp的輕鏈中第95d位(kabat編號)之單一胺基酸取代，來產生抗體變異體。也顯示COS0637temp數據作為對照。

[圖3]圖3繪示了抗C1s抗體對人類C1r2s2蛋白質的結合能力。顯示在100nM下抗C1s抗體針對重組人類C1r2s2蛋白質的BIAcore(註冊商標)感測圖。藉由在COS0637temp的輕鏈中第94和95d位(kabat編號)之雙胺基酸取代，來產生抗體變異體。也顯示COS0637temp數據作為對照。箭頭突顯出顯示輕微結合反應的變異體。

[圖4-1]圖4-1繪示了BIAcore(註冊商標)感測圖，其顯示COS0637cc-TT91R與人類C1r2s2和食蟹猴C1r2s2的交互作用，以評價對食蟹猴和人類C1r2s2的pH依賴性和交叉反應性(cross-reactivity)，如實施例3.2中所述。藉由在固定有抗C1s抗體的感測器表面上分別注入人類C1r2s2(實線[pH7.4]、點虛線[pH5.8])、食蟹猴C1r2s2(虛線[pH7.4]、點線[pH5.8])，來獲得感測圖。使在pH7.4形成的抗體/抗原複合物可以在pH7.4解離，且使在pH5.8形成的抗體/抗原複合物可以在pH5.8解離。

[圖4-2]圖4-2繪示了BIAcore(註冊商標)感測圖，其顯示COS0637h-TT91R與人類C1r2s2和食蟹猴C1r2s2的交互作用，以評價對食蟹猴和人類C1r2s2的pH依賴性和交叉反應性，如實施例3.2中所述。藉由在固定有抗C1s抗體的感測器表面上分

別注入人類C1r2s2 (實線[pH7.4]，點虛線[pH5.8])、食蟹猴C1r2s2 (虛線[pH7.4]，點線[pH5.8])，來獲得感測圖。使在pH7.4形成的抗體/抗原複合物可以在pH7.4解離，且使在pH5.8形成的抗體/抗原複合物可以在pH5.8解離。

[圖4-3]圖4-3繪示了BIAcore(註冊商標)感測圖，其顯示COS0637temp-TT91R與人類C1r2s2和食蟹猴C1r2s2的交互作用，以評價對食蟹猴和人類C1r2s2的pH依賴性和交叉反應性，如實施例3.2中所述。藉由在固定有抗C1s抗體的感測器表面上分別注入人類C1r2s2 (實線[pH7.4]，點虛線[pH5.8])、食蟹猴C1r2s2 (虛線[pH7.4]，點線[pH5.8])，來獲得感測圖。使在pH7.4形成的抗體/抗原複合物可以在pH7.4解離，且使在pH5.8形成的抗體/抗原複合物可以在pH5.8解離。

[圖4-4]圖4-4繪示了BIAcore (註冊商標)感測圖，其顯示COS0637pHv1-TT91R與人類C1r2s2和食蟹猴C1r2s2的交互作用，以評價對食蟹猴和人類C1r2s2的pH依賴性和交叉反應性，如實施例3.2中所述。藉由在固定有抗C1s抗體的感測器表面上分別注入人類C1r2s2 (實線[pH7.4]，點虛線[pH5.8])、食蟹猴C1r2s2 (虛線[pH7.4]，點線[pH5.8])，來獲得感測圖。使在pH7.4形成的抗體/抗原複合物可以在pH7.4解離，且使在pH5.8形成的抗體/抗原複合物可以在pH5.8解離。

[圖4-5]圖4-5繪示了BIAcore (註冊商標)感測圖，其顯示COS0637pHv2-TT91R與人類C1r2s2和食蟹猴C1r2s2的交互作用，以評價對食蟹猴和人類C1r2s2的pH依賴性和交叉反應性，如實施例3.2中所述。藉由在固定有抗C1s抗體的感測器表面上分別注入人類C1r2s2 (實線[pH7.4]，點虛線[pH5.8])、食蟹猴C1r2s2 (虛線[pH7.4]，點線[pH5.8])，來獲得感測圖。使在pH7.4形成的抗體/抗原複合物可以在pH7.4解離，且使在pH5.8形成的抗體/抗原複合物可以在pH5.8解離。

[圖4-6]圖4-6繪示了BIAcore (註冊商標)感測圖，其顯示COS0637pHv3-TT91R與人類C1r2s2和食蟹猴C1r2s2的交互作用，以評價對食蟹猴和人類C1r2s2的pH依賴性和交叉反應性，如實施例3.2中所述。藉由在固定有抗C1s抗體的感測器表

面上分別注入人類C1r2s2 (實線[pH7.4]，點虛線[pH5.8])、食蟹猴C1r2s2 (虛線[pH7.4]，點線[pH5.8])，來獲得感測圖。使在pH7.4形成的抗體/抗原複合物可以在pH7.4解離，且使在pH5.8形成的抗體/抗原複合物可以在pH5.8解離。

[圖4-7]圖4-7繪示了BIAcore (註冊商標)感測圖，其顯示COS0637pHv4-TT91R與人類C1r2s2和食蟹猴C1r2s2的交互作用，以評價對食蟹猴和人類C1r2s2的pH依賴性和交叉反應性，如實施例3.2中所述。藉由在固定有抗C1s抗體的感測器表面上分別注入人類C1r2s2 (實線[pH7.4]，點虛線[pH5.8])、食蟹猴C1r2s2 (虛線[pH7.4]，點線[pH5.8])，來獲得感測圖。使在pH7.4形成的抗體/抗原複合物可以在pH7.4解離，且使在pH5.8形成的抗體/抗原複合物可以在pH5.8解離。

[圖4-8]圖4-8繪示了BIAcore (註冊商標)感測圖，其顯示COS0637pHv5-TT91R與人類C1r2s2和食蟹猴C1r2s2的交互作用，以評價對食蟹猴和人類C1r2s2的pH依賴性和交叉反應性，如實施例3.2中所述。藉由在固定有抗C1s抗體的感測器表面上分別注入人類C1r2s2 (實線[pH7.4]，點虛線[pH5.8])、食蟹猴C1r2s2 (虛線[pH7.4]，點線[pH5.8])，來獲得感測圖。使在pH7.4形成的抗體/抗原複合物可以在pH7.4解離，且使在pH5.8形成的抗體/抗原複合物可以在pH5.8解離。

[圖4-9]圖4-9繪示了BIAcore (註冊商標)感測圖，其顯示COS0637pHv6-TT91R與人類C1r2s2和食蟹猴C1r2s2的交互作用，以評價對食蟹猴和人類C1r2s2的pH依賴性和交叉反應性，如實施例3.2中所述。藉由在固定有抗C1s抗體的感測器表面上分別注入人類C1r2s2 (實線[pH7.4]，點虛線[pH5.8])、食蟹猴C1r2s2 (虛線[pH7.4]，點線[pH5.8])，來獲得感測圖。使在pH7.4形成的抗體/抗原複合物可以在pH7.4解離，且使在pH5.8形成的抗體/抗原複合物可以在pH5.8解離。

[圖4-10]圖4-10繪示了BIAcore (註冊商標)感測圖，其顯示COS0637pHv7-TT91R與人類C1r2s2和食蟹猴C1r2s2的交互作用，以評價對食蟹猴和人類C1r2s2的pH依賴性和交叉反應性，如實施例3.2中所述。藉由在固定有

抗C1s抗體的感測器表面上分別注入人類C1r2s2 (實線[pH7.4]，點虛線[pH5.8])、食蟹猴C1r2s2 (虛線[pH7.4]，點線[pH5.8])，來獲得感測圖。使在pH7.4形成的抗體/抗原複合物可以在pH7.4解離，且使在pH5.8形成的抗體/抗原複合物可以在pH5.8解離。

[圖 4-11] 圖 4-11 繪示了 BIACORE (註冊商標) 感測圖，其顯示 COS0637pHv8-TT91R 與人類C1r2s2 和食蟹猴C1r2s2 的交互作用，以評價對食蟹猴和人類C1r2s2 的pH依賴性和交叉反應性，如實施例3.2中所述。藉由在固定有抗C1s抗體的感測器表面上分別注入人類C1r2s2 (實線[pH7.4]，點虛線[pH5.8])、食蟹猴C1r2s2 (虛線[pH7.4]，點線[pH5.8])，來獲得感測圖。使在pH7.4形成的抗體/抗原複合物可以在pH7.4解離，且使在pH5.8形成的抗體/抗原複合物可以在pH5.8解離。

[圖 4-12] 圖 4-12 繪示了 BIACORE (註冊商標) 感測圖，其顯示 COS0637pHv9-TT91R 與人類C1r2s2 和食蟹猴C1r2s2 的交互作用，以評價對食蟹猴和人類C1r2s2 的pH依賴性和交叉反應性，如實施例3.2中所述。藉由在固定有抗C1s抗體的感測器表面上分別注入人類C1r2s2 (實線[pH7.4]，點虛線[pH5.8])、食蟹猴C1r2s2 (虛線[pH7.4]，點線[pH5.8])，來獲得感測圖。使在pH7.4形成的抗體/抗原複合物可以在pH7.4解離，且使在pH5.8形成的抗體/抗原複合物可以在pH5.8解離。

[圖5-1]圖5-1繪示了抗體調節之天然人類C1q從固定在BIACORE (註冊商標)感測器表面上的重組人類C1r2s2四聚體中的解離。藉由覆寫(overwrite)3個感測圖，來描述天然人類C1q之經COS0637cc-SG1148的置換。感測圖1 (實線)描述了C1qrs在感測器表面上的穩定捕獲。感測圖2 (點虛線)描述了抗體與C1qrs的結合以及C1q從C1r2s2的置換。感測圖3 (虛線)描述了在沒有任何C1q存在的情況下，只有抗體與C1r2s2結合時的基準線。為了比較這些感測圖，將C1r2s2的結合反應

(bindingresponse)標準化為100 RU。

[圖5-2]圖5-2繪示了抗體調節之天然人類C1q從固定在BIACORE (註冊商標)感測器表面上的重組人類C1r2s2四聚體中的解離。藉由覆寫3個感測圖，來描述天然人類C1q之經COS0637pHv3-TT91R的置換。感測圖1 (實線)描述了C1qrs在感測器表面上的穩定捕獲。感測圖2 (點虛線)描述了抗體與C1qrs的結合以及C1q從C1r2s2的置換。感測圖3 (虛線)描述了在沒有任何C1q存在的情況下，只有抗體與C1r2s2結合時的基準線。為了比較這些感測圖，將C1r2s2的結合反應標準化為100 RU。

[圖5-3]圖5-3繪示了抗體調節之天然人類C1q從固定在BIACORE (註冊商標)感測器表面上的重組人類C1r2s2四聚體中的解離。藉由覆寫3個感測圖，來描述天然人類C1q之經COS0637pHv8-TT91R的置換。感測圖1 (實線)描述了C1qrs在感測器表面上的穩定捕獲。感測圖2 (點虛線)描述了抗體與C1qrs的結合以及C1q從C1r2s2的置換。感測圖3 (虛線)描述了在沒有任何C1q存在的情況下，只有抗體與C1r2s2結合時的基準線。為了比較這些感測圖，將C1r2s2的結合反應標準化為100 RU。

[圖5-4]圖5-4繪示了抗體調節之天然人類C1q從固定在BIACORE (註冊商標)感測器表面上的重組人類C1r2s2四聚體的解離。藉由覆寫3個感測圖，來描述天然人類C1q之經COS0637pHv9-TT91R的置換。感測圖1 (實線)描述了C1qrs在感測器表面上的穩定捕獲。感測圖2 (點虛線)描述了抗體與C1qrs的結合以及C1q從C1r2s2的置換。感測圖3 (虛線)描述了在沒有任何C1q存在的情況下，只有抗體與C1r2s2結合時的基準線。為了比較這些感測圖，將C1r2s2的結合反應標準化為100 RU。

[圖6-1]圖6-1繪示了抗體調節之天然人類C1q從固定在BIACORE (註冊商標)感測器表面上的重組人類C1r2s2四聚體的解離。藉由覆寫2個感測圖，來描述COS0637cc-SG1148對天然人類C1q的置換。感測圖1 (實線)描述了C1qrs在感測器

表面上的穩定捕獲。感測圖2 (點虛線)描述了抗體與C1qrs的結合以及C1q從C1r2s2的置換。為了比較這些感測圖，將基準線(注射抗體之前)調整為0 RU。

[圖6-2]圖6-2繪示了抗體調節之天然人類C1q從固定在BIACORE (註冊商標)感測器表面上的重組人類C1r2s2四聚體的解離。藉由覆寫2個感測圖，來描述COS0637pHv3-TT91R對天然人類C1q的置換。感測圖1 (實線)描述了C1qrs在感測器表面上的穩定捕獲。感測圖2 (點虛線)描述了抗體與C1qrs的結合以及C1q從C1r2s2的置換。為了比較這些感測圖，將基準線(注射抗體之前)調整為0 RU。

[圖6-3]圖6-3繪示了抗體調節之天然人類C1q從固定在BIACORE (註冊商標)感測器表面上的重組人類C1r2s2四聚體的解離。藉由覆寫2個感測圖，來描述COS0637pHv8-TT91R對天然人類C1q的置換。感測圖1 (實線)描述了C1qrs在感測器表面上的穩定捕獲。感測圖2 (點虛線)描述了抗體與C1qrs的結合以及C1q從C1r2s2的置換。為了比較這些感測圖，將基準線(注射抗體之前)調整為0 RU。

[圖6-4]圖6-4繪示了抗體調節之天然人類C1q從固定在BIACORE (註冊商標)感測器表面上的重組人類C1r2s2四聚體的解離。藉由覆寫2個感測圖，來描述COS0637pHv9-TT91R對天然人類C1q的置換。感測圖1 (實線)描述了C1qrs在感測器表面上的穩定捕獲。感測圖2 (點虛線)描述了抗體與C1qrs的結合以及C1q從C1r2s2的置換。為了比較這些感測圖，將基準線(注射抗體之前)調整為0 RU。

[圖7]圖7顯示判定培養的細胞群中分泌IL-2的細胞的比例的結果。每個標記均顯示測試供體的結果。

[圖8-1]圖8-1繪示了細胞面積的平均值的結果。藉由魏克森等級和檢定(Wilcoxon rank sum test)來評價統計顯著性(* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$)。每個標記均顯示測試樣品的結果。

[圖8-2]圖8-2繪示了細胞周長的平均值的結果。藉由魏克森等級和檢定來評價統計顯著性(* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$)。每個標記均顯示測試樣品的結果。

[圖8-3]圖8-3繪示了判定培養的細胞群中分泌IL-2的細胞的比例的結果。每個標記均顯示測試樣品的結果。

【實施方式】

【0014】 本文描述或參考的技術和流程是本發明所屬技術領域中具有通常知識者通常容易理解且使用常規方法來通常利用的，例如Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel, et al. eds., (2003)); the series Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.): PCR 2: A Practical Approach (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, and Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed. (1987)); Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I. Freshney), ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: A Practical Approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C.

Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); and Cancer: Principles and Practice of Oncology (V.T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993) 中描述的廣泛使用的方法。

【0015】 I. 定義

除非另外定義，否則本文中所使用的技術或科學術語具有與本發明所屬技術領域中具有通常知識者所通常理解的涵義。Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J. Wiley & Sons (New York, N.Y. 1994), and March, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 4th ed., John Wiley & Sons (New York, N.Y. 1992)提供本發明所屬技術領域中具有通常知識者對本案中所用眾多術語的一般指導。本文中引用的所有文獻(包含專利申請和出版物)藉由引用完整地合併。

【0016】 為了解釋此說明書，以下定義將適用且每當合適時，以單數使用的術語也將包含複數且反之亦然。應理解的是，本文中使用的術語僅是為了描述特定的實施例，並且不意圖限制。在以下所述的任何定義與透過引用合併在本文中的任何文獻有衝突時，則以下述的定義為準。

【0017】 就本文的目的而言，「受體人類框架(acceptor human framework)」是包含衍生自人類免疫球蛋白框架或人類共有框架(consensus framework)的輕鏈可變域(variable domain, VL)框架或重鏈可變域(variable domain, VH)框架的胺基酸序列的框架，如下所定義。「衍生自(derived from)」人類免疫球蛋白框架或人類共有框架的受體人類框架可包含與其相同的胺基酸序列，或它可含有胺基酸序列改變。在一些實施例中，胺基酸改變的數目是10或更少、9或更少、8或更少、7或更少、6或更少、5或更少、4或更少、3或更少、或2或更少。在一些

實施例中，VL受體人類框架與VL人類免疫球蛋白框架序列或人類共有框架序列在序列上相同。

【0018】 術語「親和力(affinity)」是指分子(例如抗體)的單一個結合位與其結合配偶體(partner)(例如抗原)之間的非共價交互作用的總和的強度。除非另外指出，否則如本文中所使用地「結合親和力」是指反應出結合對的成員(例如抗體和抗原)之間1：1交互作用的內在結合親和力。分子X對其配偶體Y的親和力通常可用解離常數(dissociation constant，Kd或KD)表示。可藉由本發明所屬技術領域中已知的常用方法，包含本文所述的那些，來測量親和力。後續描述用於測量結合親和力的具體說明性和示例性實施例。「親和力」、「結合親和力」、「結合能力」和「結合活性」可互換使用。術語「結合活性(binding activity)」是指分子(例如抗體)的一或多個結合位與其結合配偶體(例如抗原)之間的非共價交互作用的總和的強度。在本文中，結合活性不嚴格限制於反應出結合對的成員(例如抗體和抗原)之間的1：1交互作用的活性。當結合對的成員既能以單價和多價結合的方法來結合至彼此時，結合活性是這些結合的總和的強度。分子X對其配偶體Y的結合活性通常可用解離常數(KD)表示。或者，締合(association)和解離速率(Kon和Koff)可用來評價結合。可藉由本發明所屬技術領域中已知的常用方法，包含本文所述的那些，來測量結合活性。後續描述用於測量結合活性的具體說明性和示例性實施例。

【0019】 「親和力成熟(affinity matured)」的抗體是指，與不攜帶以下那種改變的親本抗體相比，在一或多個高度可變區(hypervariable region，HVR)中具有一或多個改變的抗體，這種改變導致抗體對抗原的親和力改善。

【0020】 術語「抗C1s抗體」和「結合至C1s的抗體」是指能夠以足夠的親和力結合C1s的抗體，使此抗體於靶向C1s中作為診斷和/或治療劑是有用的。在一實施例中，如藉由放射免疫測定法(radioimmunoassay，RIA)所測量地，抗

C1s抗體對不相關的非C1s蛋白質的結合的程度比此抗體對C1s的結合的約10%還低。在某些實施例中，結合至C1s的抗體具有1微莫耳(micro M)或更低、100 nM或更低、10 nM或更低、1n M或更低、0.1 nM或更低、0.01 nM或更低、0.001 nM或更低(例如 10^{-8} M或更低，例如 10^{-8} M至 10^{-13} M、例如 10^{-9} 至 10^{-13} M)的解離常數(Kd)。在某些實施例中，抗C1s抗體結合至C1s之在來自不同物種的C1s中保守的抗原決定基。

【0021】 本文中的術語「抗體」以最廣義使用，且涵蓋各種抗體結構，包含但不限於單株抗體、多株抗體、多特異性抗體(例如雙特異性抗體)和抗體片段，只要它們展現出期望的抗原結合活性。

【0022】 「抗體片段」是指除完整抗體以外，包含完整抗體之結合至抗原的部分的分子。抗體片段的範例包含但不限於Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂；雙抗體(diabody)；線性抗體(linear antibody)；單鏈抗體分子(例如scFv)；和由抗體片段形成的多特異性抗體。

【0023】 與參考抗體「結合至相同的抗原決定基的抗體」是指在競爭測定法(competition assay)中將參考抗體與其抗原的結合阻斷50%或更多的抗體，反之，在競爭測定法中參考抗體將抗體與其抗原的結合阻斷50%或更多。本文提供了示例性競爭測定法。

【0024】 術語「嵌合(chimeric)」抗體是指其中重鏈和/或輕鏈的一部分是衍生自特定來源或物種，而重鏈和/或輕鏈的其餘部分衍生自不同來源或物種的抗體。

【0025】 抗體的「類別(class)」是指其重鏈所擁有的恆定域或恆定區的類型。抗體有五種主要類別：IgA、IgD、IgE、IgG和IgM，且其中一些可進一步分為亞類別(同型)，例如IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁和IgA₂。對應至不同類別的免疫球蛋白的重鏈恆定域分別稱為alpha、delta、epsilon、gamma和mu。

【0026】 如本文所使用地，術語「細胞毒殺劑」是指抑制或阻止細胞功能和/或導致細胞死亡或破壞的物質。細胞毒殺劑包含但不限於放射性同位素(例如 ^{211}At 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{90}Y 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{153}Sm 、 ^{212}Bi 、 ^{32}P 、 ^{212}Pb 和Lu的放射性同位素)；化療劑或藥物(例如甲胺蝶呤(methotrexate)、阿黴素(adriamycin)、長春花生物鹼(vinca alkaloid)(長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、依妥普賽(etoposide))、多柔比星(doxorubicin)、黴法蘭(melphalan)、絲裂黴素C(mitomycin C)、氯芥苯丁酸(chlorambucil)、道諾黴素(daunorubicin)或其他嵌入劑)；生長抑制劑；酵素及其片段例如溶核酶(nucleolytic enzyme)；抗生素；毒素例如細菌、真菌、植物或動物來源的小分子毒素或酵素活性毒素，包含其片段和/或變異體；及以下揭露的各種抗腫瘤劑或抗癌劑。

【0027】 「效應子功能(effector function)」是指可歸因於抗體的Fc區的那些生物活性，其隨抗體同型(isotype)而變化。抗體效應子功能的範例包含：C1q結合和補體依賴性細胞毒殺性(complement dependent cytotoxicity, CDC)；Fc受體結合；抗體依賴性之細胞調節的細胞毒殺性(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)；胞噬作用(phagocytosis)；細胞表面受體(例如B細胞受體)的下調；和B細胞活化。

【0028】 試劑例如醫藥製劑的「有效量」是指在所需的劑量和時間段內有效達到期望的治療或預防結果的量。

【0029】 術語「抗原決定基(epitope)」包含能夠被抗體結合之任何決定基(determinant)。抗原決定基是抗原被靶向該抗原之抗體結合的區域，且包含直接接觸抗體的特定胺基酸。抗原決定基的決定基可包含例如胺基酸、醣支鏈、磷酸基或磺醯基的分子的化學活性表面群集，且可具有特定的三維結構特性，及/或特定電荷特性。一般而言，對特定目標抗原有特異性的抗體會與蛋白質及/或巨分子的複合混合物中優先地辨識目標抗原上的抗原決定基。

【0030】 本文中的術語「Fc區」用於定義含有恆定區的至少一部分的免疫球蛋白重鏈的C末端區。此術語包含天然序列Fc區和變異Fc區。在一實施例中，人類IgG重鏈Fc區從Cys226或從Pro230延伸至重鏈的羧基端。然而，Fc區的C端離胺酸(Lys447)或甘胺酸-離胺酸(殘基446-447)可存在或可不存在。除非本文另有說明，否則Fc區或恆定區中的胺基酸殘基的編號是根據EU編號系統，亦稱為EU索引，如Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991中所述。

【0031】 「框架(framework)」或「FR」是指高度可變區(hypervariable region, HVR)殘基之外的可變域殘基。可變域的FR通常由四個FR域所組成：FR1、FR2、FR3和FR4。因此，HVR和FR序列通常依以下順序出現於VH(或VL)中：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

【0032】 術語「全長抗體(full length antibody)」、「完整抗體(intact antibody)」和「全抗體(whole antibody)」在本文中可互換使用，是指具有與天然抗體結構大抵上相似的結構或具有含有本文定義的Fc區的重鏈的抗體。

【0033】 術語「宿主細胞(host cell)」、「宿主細胞系(host cell line)」和「宿主細胞培養物(host cell culture)」可互換使用，且是指已將外源核酸導入至其中的細胞，包含此種細胞的後代(progency)。宿主細胞包含「轉形株(transformant)」和「轉形細胞(transformed cell)」，其包含初代轉形細胞和從其衍生的後代，而與繼代次數無關。後代的核酸含量可能不與親代細胞完全相同，但可能含有突變。具有與在原始轉形細胞中所篩選或選擇的功能或生物活性相同的功能或生物活性的突變後代包含在本文中。

【0034】 「人類抗體」是一種擁有對應至由人類或人類細胞所產生或衍生自使用人類抗體庫或其他人類抗體編碼序列的非人類來源的抗體的胺基酸序列的抗體。人類抗體的此定義具體地排除了包含非人類抗原結合殘基的人源化抗

體。

【0035】 「人類共有框架(human consensus framework)」是代表在選擇的人類免疫球蛋白VL或VH框架序列中，最常出現的胺基酸殘基的框架。通常，選擇的人類免疫球蛋白VL或VH序列是來自可變域序列的子群(subgroup)。通常，序列的子群是如Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3中的子群。在一實施例中，對於VL，子群是如上文Kabat等人中的子群kappa I。在一實施例中，對於VH，子群是如上文Kabat等人中的子群III。

【0036】 「人源化(humanized)」抗體是指包含來自非人類HVR的胺基酸殘基和來自人類FR的胺基酸殘基的嵌合抗體。在某些實施例中，人源化抗體將包含至少一個且通常是兩個可變域的大抵上全部，其中所有或大抵上所有的HVR(例如CDR)都對應至非人類抗體的那些，且所有或大抵上所有的FR都對應至人類抗體的那些。人源化抗體可視需要而定地包含衍生自人類抗體的抗體恆定區的至少一部分。抗體例如非人類抗體的「人源化形式」是指已接受人源化的抗體。

【0037】 如本文所使用地，術語「高度可變區(hypervariable region)」或「HVR」是指抗體可變域之序列上高度可變(「互補決定區(complementarity determining regions)」或「CDRs」)和/或形成結構上定義的環(「高度可變環(hypervariable loops)」)和/或含有抗原接觸殘基(「抗原接觸」)的每個區域。通常，抗體包含六個HVR：三個(H1、H2、H3)在VH中和三個(L1、L2、L3)在VL中。本文中的示例性HVR包含：

(a) 出現在胺基酸殘基26-32 (L1)、50-52 (L2)、91-96 (L3)、26-32 (H1)、53-55 (H2)和96-101 (H3)的高度可變環 (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))；

(b) 出現在胺基酸殘基24-34 (L1)、50-56 (L2)、89-97 (L3)、31-35b (H1)、50-65 (H2)和95-102 (H3)的CDR (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))；

(c) 出現在胺基酸殘基27c-36 (L1)、46-55 (L2)、89-96 (L3)、30-35b (H1)、47-58 (H2)和93-101 (H3)的抗原接觸(MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996))；及

(d) (a)、(b)和/或(c)的組合，包含HVR胺基酸殘基46-56 (L2)、47-56 (L2)、48-56 (L2)、49-56 (L2)、26-35 (H1)、26-35b (H1)、49-65 (H2)、93-102 (H3)和94-102 (H3)。

除非另有說明，否則可變域中的HVR殘基和其他殘基(例如FR殘基)在本文中是根據上述之Kabat等人來編號。

【0038】 「免疫偶聯物(immunoconjugate)」是偶聯至一或多個異源分子的抗體，包含但不限於細胞毒殺劑。

【0039】 「個體(individual)」或「對象(subject)」是哺乳類。哺乳類包含但不限於馴化動物(例如牛、綿羊、貓、狗和馬)、靈長類(例如人類和非人類之靈長類例如猴)、兔和嚙齒類(例如小鼠和大鼠)。在某些實施例中，個體或對象為人類。

【0040】 「單離(isolated)」抗體是已經從其天然存在的環境的組成中分離出來的抗體。在一些實施例中，將抗體純化至大於95%或99%的純度，其藉由例如電泳(例如SDS-PAGE、等電聚焦(isoelectric focusing, IEF)、毛細管電泳(capillary electrophoresis))或層析法(例如離子交換或逆相HPLC)來判定。對於抗體純度的評價(assessment)方法的回顧，參閱例如，Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)。

【0041】 「單離」核酸分子是已經從其自然環境的成分中分離的核酸分

第 27 頁，共 138 頁(發明說明書)

子。單離核酸分子包含通常含有此核酸分子的細胞中所含有的核酸分子，但此核酸分子存在於染色體外或在不同於其天然存在的染色體位置的染色體位置。

【0042】 「編碼抗C1s抗體的單離核酸」或「編碼抗C1r抗體的核酸」是指編碼抗體重鏈和輕鏈(或其片段)的一或多種核酸分子，其包含在單一載體或個別的載體中的此種核酸分子，及存在於宿主細胞中一或多個位置的此種核酸分子。

【0043】 如本文所使用的術語「單株抗體」是指從大抵上均質的抗體，亦即除了例如含有天然存在的突變或在單株抗體製品(preparation)的生產過程中所產生的可能的變異抗體之外，構成此群體的各個抗體是相同和/或結合相同的抗原決定基中獲得的抗體，這種變異體通常以少量存在。與通常包含針對不同決定基(抗原決定基)的不同抗體的多株抗體製品對比，單株抗體製品中的每個單株抗體是針對抗原上的單一決定基。因此，修飾語「單株」指出抗體的特性為大抵上同質的抗體群體中獲得，而不應視為要求藉由任何特定方法來生產抗體。例如，可藉由多種技術包含但不限於融合瘤方法、重組DNA方法、噬菌體展示方法及利用含有全部或部分的人類免疫球蛋白基因座的轉基因動物的方法，來製造根據本發明使用的單株抗體，本文描述了這些方法和其他製造單株抗體的示例性方法。

【0044】 「裸抗體(naked antibody)」是指未偶聯至異源部分(例如細胞毒殺部分)或放射性標記的抗體。裸抗體可存在於醫藥製劑中。

【0045】 「天然抗體(native antibody)」是指具有變化結構的天然存在的免疫球蛋白分子。例如，天然IgG抗體是約150,000道耳頓(dalton)、由以雙硫鍵結合的兩條相同的輕鏈和兩條相同的重鏈所構成的異質四聚體糖蛋白。從N至C端，每條重鏈都具有可變區(VH)，也稱為可變重域或重鏈可變域，接著是三個恆定域(CH1、CH2和CH3)。類似地，從N至C端，每條輕鏈都具有可變區(VL)，也稱為可變輕域或輕鏈可變域，接著是恆定輕(CL)域。可基於其恆定域的胺基

酸序列，抗體的輕鏈可分配至兩種類型之一，稱為kappa和lambda。

【0046】術語「仿單(package insert)」用於指通常包含於治療產品的商業包裝中的指示，其含有關於使用此類治療產品的適應症(indication)、用法、劑量、投予、組合療法、禁忌症(contraindication)和/或警告的資訊。

【0047】相對於參考多肽序列的「胺基酸序列相同度百分比(%)」定義為在比對序列且若有必要的話，則將間隙導入以達到最大的序列相同度百分比，且不將任何保守取代視為序列相同度的一部分後，候選序列中與參考多肽序列的胺基酸殘基相同的胺基酸殘基的百分比。可用本發明所屬領域技術內的各種方式，來實現用於判定胺基酸序列相同度百分比的比對，例如，使用公開可用的電腦軟體例如BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign(DNASTAR)軟體或GENETYX(註冊商標)(Genetyx Co., Ltd.)。本發明所屬技術領域中具有通常知識者可判定用於比對序列的合適參數，包含在所比較的序列的全長上實現最大比對所需的任何演算法。

【0048】ALIGN-2序列比較電腦程式由Genentech, Inc.編寫，且來源碼已與用戶文件一起歸檔(file)於U.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559中，且註冊於美國版權註冊號TXU510087中。ALIGN-2程式可從Genentech, Inc., South San Francisco, California公開獲得，或也可從來源碼中進行編譯。ALIGN-2程式應編譯為在UNIX操作系統上使用，包含數位UNIX V4.0D。所有序列比較參數均由ALIGN-2程式設置，且沒有改變。在使用ALIGN-2進行胺基酸序列比較的情況下，給定的胺基酸序列A對、和或及給定的胺基酸序列B (可替代地表示為具有或包含對、和或及給定的胺基酸序列B某百分比的胺基酸序列相同的給定的胺基酸序列A)胺基酸序列相同度百分比的計算如下：

100乘以分數X/Y

其中X是在此程式的A和B的比對中被序列比對程式ALIGN-2計為相同匹配的胺

基酸殘基的數目，且其中Y是B中胺基酸殘基的總數目。應理解的是，若胺基酸序列A的長度不等於胺基酸序列B的長度，則A對B的胺基酸序列相同度%將不等於B對A的胺基酸序列相同度%。除非另有具體說明，否則如前一段落所述，使用ALIGN-2電腦程式，來獲得本文使用的所有胺基酸序列相同度%同一性值。

【0049】 術語「醫藥製劑」是指形式為使其中所含活性成分的生物活性有效，且不含有對此製劑所投予的對象有不可接受地毒性的額外成分的配劑。

【0050】 「醫藥上可接受的載劑」是指醫藥製劑中除活性成分以外，對對象無毒的成分。醫藥上可接受的載劑包含但不限於緩衝劑、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

【0051】 如本文所使用地，詞組「特異性結合」是指抗體以包含背景(即非特異性)結合但不包含顯著(即特異性)結合的結合程度，來結合至不感興趣的抗原的活性或特性。換句話說，「特異性結合」是指抗體以除了背景(即非特異性)結合以外或取代背景結合，還包含顯著(即特異性)結合的結合程度，來結合至感興趣的抗原的活性或特性。可藉由本說明書中提及或本發明所屬技術領域中已知的任何方法來測量特異性。上述非特異性或背景結合的程度可為零、或可不為零但接近零，或可以非常低，以至於本發明所屬技術領域中具有通常知識者在技術上可忽略。例如，當本發明所屬技術領域中具有通常知識者在合適的結合測定中，無法檢測或觀察到抗體與不感興趣的抗原之間的結合之任何顯著的(或相對強的)訊號時，可說抗體「不特異性結合」不感興趣的抗原。相對地，當本發明所屬技術領域中具有通常知識者在合適的結合測定中，可檢測或觀察到抗體與感興趣的抗原之間的結合之任何顯著的(或相對強的)訊號時，可說抗體「特異性結合」感興趣的抗原。

【0052】 除非另有說明，否則本文所使用的術語「C1s」是指來自任何脊椎動物包括哺乳類、例如靈長類(例如人類)和嚙齒類(例如小鼠和大鼠)來源的任

何天然C1s。此術語涵蓋「全長」未處理的C1s以及在細胞中進行處理而產生的任何形式的C1s。此術語還涵蓋C1s之天然存在的變異體，例如剪接變異體或等位基因變異體。示例性人類C1s的胺基酸序列顯示於序列辨識號：1。示例性食蟹猴和大鼠C1s的胺基酸序列分別示於序列辨識號：3和2。

除非另有說明，否則本文所使用的術語「C1r」是指來自任何脊椎動物包括哺乳類、例如靈長類(例如人類)和嚙齒類(例如小鼠和大鼠)來源的任何天然C1r。此術語涵蓋「全長」未處理的C1r以及在細胞中進行處理而產生的任何形式的C1r。此術語還涵蓋C1r之天然存在的變異體，例如剪接變異體或等位基因變異體。示例性人類C1r的胺基酸序列顯示於序列辨識號：4。示例性食蟹猴和大鼠C1r的胺基酸序列分別示於序列辨識號：5和6。

【0053】 如本文所使用地，「治療」(及其文法變化例如「治療(treat)」或「治療(treating)」)是指試圖改變被治療個體的自然病程的臨床干預，且可於預防或在臨床病理過程的期間執行。期待的治療效果包含但不限於，疾病的發生或復發的預防、症狀的緩和(alleviation)、疾病的任何直接或間接病理後果的減少(diminishment)、預防轉移、降低疾病進展的速度、疾病狀態的緩解(amelioration)或減輕(palliation)、和趨緩(remission)或預後(prognosis)改善。在一些實施例中，本發明的抗體用於延遲疾病的發展或減慢疾病的進展。

【0054】 術語「可變區」或「可變域」是指涉及使抗體結合至抗原的抗體重或輕鏈的結構域。天然抗體的重鏈和輕鏈的可變域(分別為VH和VL)通常具有相似的結構，其中每個結構域均包含四個保守框架區(framework region, FR)和三個高度可變區(hypervariable region, HVR)。(請參閱例如，Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)。)單一VH或VL域可能足以賦予抗原結合特異性。再者，可使用來自結合抗原的抗體的VH或VL域，來單離結合特定抗原的抗體，以分別篩選互補的VL或VH域的資料庫(library)。請

參閱例如，Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991)。

【0055】 如本文所使用地，術語「載體(vector)」是指能夠繁殖與其連接的另一核酸的核酸分子。此術語包含作為自我複製核酸結構的載體，以及合併至已導入至宿主細胞的基因體中的載體。某些載體能夠引導與其可操作連接的核酸的表現。這樣的載體在本文中稱為「表現載體(expression vector)」。

【0056】 II. 抗體

在一面向中，本發明部分基於包含抗原結合區和抗體恆定區的抗體。在某些實施例中，提供了結合至C1s的抗體。在某些實施例中，提供了特異性結合至C1s的抗體。本發明的抗體對於例如診斷或治療補體調節的疾病或病症是有用的。

【0057】 在一實施例中，C1s的物種可選自一或多個物種。在特定實施例中，物種是人類和非人類動物。在特定實施例中，物種是人類、大鼠和猴子(例如食蟹猴(cynomolgus)、恆河猴(rhesus macaque)、狨猴(marmoset)、黑猩猩和狒狒(baboon))。在特定實施例中，物種是人類和猴子(例如食蟹猴、恆河猴、狨猴、黑猩猩和狒狒)。在特定實施例中，物種是人類和食蟹猴。

【0058】 在實施例中，抗體涵蓋各種類型的抗體，其包含抗體片段、嵌合和人源化抗體、人類抗體、衍生自資料庫的抗體和多特異性抗體。在實施例中，抗體可為全長抗體，例如完整IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗體或本文定義的其他抗體類別或同型。

【0059】 (抗體片段)

在某些實施例中，本文提供的抗體是抗體片段。抗體片段包含但不限於Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv和scFv片段，以及以下所述的其他片段。關於特定抗體片段的回顧，請參閱Hudson et al. *Nat. Med.* 9:129-134 (2003)。關於特定ScFv抗體片段的回顧，請參閱Pluckthun, in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*,

vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)；亦參閱WO 93/16185；和美國專利號5,571,894和5,587,458。關於包含挽救受體結合抗原決定基殘基且具有增加的體內半衰期的Fab和F(ab')₂片段的討論，參閱美國專利號5,869,046。

【0060】 雙抗體是具有可為二價或雙特異性之兩個抗原結合位的抗體片段。參閱例如EP 404,097；EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)；和Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)。亦於Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)中描述三抗體和四抗體。

【0061】 單域抗體是包含抗體的全部或部分重鏈可變域或全部或部分輕鏈可變域的抗體片段。在某些實施例中，單域抗體是人類單域抗體(Domantis, Inc., Waltham, MA；參閱例如美國專利號6,248,516 B1)。

【0062】 可藉由包含但不限於完整抗體的蛋白水解消化以及經重組宿主細胞(例如大腸桿菌或噬菌體)來產生的各種技術，來製備抗體片段。

【0063】 (嵌合和人源化抗體)
在某些實施例中，本文提供的抗體是嵌合抗體。於例如美國專利號4,816,567；和Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)中描述了某些嵌合抗體。在一範例中，嵌合抗體包含非人類可變區(例如衍生自小鼠、大鼠、倉鼠、兔或非人類靈長類動物例如猴子的可變區)和人類恆定區。在又一實施例中，嵌合抗體是其中類別或亞類別已經從親本抗體的類別或亞類別改變的「類別轉換(class switched)」抗體。嵌合抗體包含其抗原結合片段。

【0064】 在某些實施例中，嵌合抗體是人源化抗體。通常，將非人類抗體人源化，以降低對人類的免疫原性(immunogenicity)，同時保留親本非人類抗體的特異性和結合活性。通常，人源化抗體包含一或多個可變域，其中HVR例如CDR(或其部分)衍生自非人類抗體，而FR(或其部分)衍生自人類抗體序列。人源

化抗體視需要而定地亦會包含人類恆定區的至少一部分。在一些實施例中，人源化抗體中的一些FR殘基被來自非人類抗體(例如衍生自HVR殘基的抗體)的對應殘基取代，例如以恢復或改善抗體特異性或親合力。

【0065】 例如於Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008) 中回顧了人源化抗體及其製備方法，且例如於Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988)；Queen et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989)；美國專利號5,821,337、7,527,791、6,982,321和7,087,409；Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34 (2005) (描述特異性決定區(specificity determining region，SDR)嫁接)；Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (描述「重鋪(resurfacing)」)；Dall'Acqua et al., *Methods* 36:43-60 (2005) (描述「FR改組(FR shuffling)」)；和Osbourn et al., *Methods* 36:61-68 (2005)及Klimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (描述FR改組的「指導選擇(guided selection)」方法)中進一步描述。

【0066】 可用於人源化的人類框架區包含但不限於：使用「最佳擬合」方法選擇的框架區(參閱，例如Sims et al. *J. Immunol.* 151:2296 (1993))；衍生自輕或重鏈可變區的特定子群的人類抗體的共有序列的框架區(參閱，例如Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992)；和Presta et al. *J. Immunol.*, 151:2623 (1993))；人類成熟(體細胞突變的)框架區或人類生殖系框架區(參閱，例如Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008))；及衍生自篩選FR庫的框架區(參閱，例如Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997)和Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996))。

【0067】 (人類抗體)

在某些實施例中，本文提供的抗體是人類抗體。可使用本發明所屬技術領域中已知的各種技術，來產生人類抗體。在van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) 及Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)中

一般性地描述人類抗體。

【0068】 可藉由將免疫原投予至已被修飾為回應抗原攻擊來產生完整人類抗體或具有人類可變區的完整抗體的轉基因動物，來製備人類抗體。這樣的動物通常含有全部或部分的人類免疫球蛋白基因座，其取代了內源性免疫球蛋白基因座，或者其存在於染色體外或隨機整合至動物的染色體中。在這樣的轉基因小鼠中，已使內源性免疫球蛋白基因座失活。對於從轉基因動物中獲得人類抗體的方法的回顧，請參閱Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005)。亦請參閱，例如美國專利號6,075,181和6,150,584描述XENOMOUSE (註冊商標)科技；美國專利號5,770,429描述HUMAB (註冊商標)科技；美國專利號7,041,870描述K-M MOUSE (註冊商標)科技及美國專利申請公開號US 2007/0061900描述VELOCIMOUSE (註冊商標)科技)。例如藉由與不同的人類恆定區結合，可進一步修飾來自由這類動物所產生的完整抗體的人類可變區。

【0069】 也可藉由基於雜交瘤的方法來製備人類抗體。已描述了用於產生人類單株抗體的人類骨髓瘤和小鼠-人類異源骨髓瘤細胞系。(參閱，例如Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984)；Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)；和Boerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991))。亦在Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)中描述了藉由人類B細胞雜交瘤科技所產生的人類抗體。額外的方法包含例如在美國專利號7,189,826(描述從雜交瘤細胞系生產單株人類IgM抗體)和Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006) (描述人類-人類雜交瘤)中描述的那些方法。亦在Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005) 及 Vollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91 (2005)中描述人類雜交瘤技術(Trioma技術)。

【0070】 亦可藉由單離選自衍生人類的噬菌體展示庫的Fv選殖株可變域序列來產生人類抗體。然後可將這種可變域序列與期望的人類恆定域結合。以下描述從抗體庫中選擇人類抗體的科技。

【0071】 (衍生自資料庫之抗體(Library-Derived Antibodies))

可藉由篩選組合庫中具有所需活性的抗體，來單離出本發明的抗體。例如，本發明所屬技術領域中已知多種用於產生噬菌體展示庫且篩選此類資料庫中擁有所需的結合特性的抗體的方法。例如在Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)中回顧這些方法，且例如在the McCafferty et al., *Nature* 348:552-554；Clackson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991)；Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992)；Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)；Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004)；Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004)；Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004)；及Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004)中進一步描述這些方法。

【0072】 在某些噬菌體展示方法中，藉由聚合酶連鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)來分別選殖VH和VL基因的資料庫(repertoire)，且在噬菌體庫中隨機重組，然後可如Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994)中所述的方法，來篩選抗原結合噬菌體。噬菌體通常以單鏈Fv (scFv)片段或Fab片段來展示抗體片段。來自經免疫的來源的資料庫提供對免疫原有高親和力的抗體，無需構建(construct)雜交瘤。或者，可如Griffiths et al., *EMBO J*, 12: 725-734 (1993)所述，在沒有任何免疫的情況下來選殖初級庫(naive repertoire)(例如從人類)，以提供對廣泛的非自身以及自身抗原的單一來源的抗體。最後，如Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)所述，亦可藉由從幹細

胞選殖未重排的V基因片段，且使用含有隨機序列的PCR引子，來編碼高度可變的CDR3區且在體外完成重排，以合成初級庫。描述人類抗體噬菌體庫的專利公開物包含，例如：美國專利號5,750,373和美國專利公開號2005/0079574、2005/0119455、2005/0266000、2007/0117126、2007/0160598、2007/0237764、2007/0292936和2009/0002360。

【0073】 從人類抗體庫單離的抗體或抗體片段被認為是本文中的人類抗體或人類抗體片段。

【0074】 (多特異性抗體)

在某些實施例中，本文提供的抗體是多特異性抗體，例如雙特異性抗體。多特異性抗體是對至少兩個不同位置具有結合特異性的單株抗體。在某些實施例中，結合特異性的其中之一者是對C1s，而另一者是對任何其他抗原。在某些實施例中，雙特異性抗體可結合至C1s的兩個不同抗原決定基。雙特異性抗體亦可用於將細胞毒殺劑定位至表現C1s的細胞。雙特異性抗體可製備為全長抗體或抗體片段。

【0075】 製備多特異性抗體的技術包含但不限於具有不同特異性的兩個免疫球蛋白重鏈-輕鏈對的重組共表現(Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983))、WO 93/08829和Traunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991))和「旋鈕入孔(knob-in-hole)」工程(參閱例如美國專利號5,731,168)。亦可藉由將靜電操縱效應(electrostatic steering effect) 工程化來製備抗體Fc-異質二聚體分子(WO 2009/089004A1)；交聯二或更多種抗體或片段(參閱例如美國專利號4,676,980和Brennan et al., Science, 229: 81 (1985))；使用白胺酸(leucine)拉鍊來產生雙特異性抗體(參閱例如Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992))；使用製備雙特異性抗體片段的「雙抗體」科技(參閱例如Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993))；且使用單鏈Fv (scFv)二聚體(參閱例如Gruber et al., J.

Immunol., 152:5368 (1994))；且如例如Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)中所述地製備三特異性抗體，來製備多特異性抗體。

【0076】 本文亦包含具有三或更多個功能性抗原結合位的工程化抗體，其包含「章魚抗體(Octopus antibody)」(參閱例如US 2006/0025576A1)。

【0077】 本文的抗體或片段亦包含「雙重作用Fab (Dual Acting Fab)」或「DAF」，其包含結合至C1s的抗原結合位以及結合至不同抗原的另一抗原結合位(例如參閱US 2008/0069820)。

【0078】 A. 單離抗體

在某些實施例中，抗體是單離抗體。在實施例中，單離抗體包含抗原結合區和抗體恆定區。

【0079】 在實施例中，單離抗體可具有置換功能，使抗體特異性結合至C1s且促進C1q從C1qrs複合物的解離。在實施例中，單離抗體可具有阻斷功能，使抗體特異性結合至C1s且抑制C1q與C1r2s2的結合。單離抗體可具有置換功能和阻斷功能中的一種或兩種。抗體較佳地具有這兩種功能。

【0080】 在一實施例中，單離抗體以pH依賴性方式特異性結合至C1s。作為實施例的特定範例，在藉由表面電漿共振來測量抗體對人類和/或食蟹猴C1s的結合活性的情況下，

i) 可可靠地計算出在中性pH範圍內的解離常數(dissociation constant, KD)值，且由於沒有結合活性或結合活性很低，而無法可靠地計算出在酸性pH範圍內的KD值，或者

ii) 若可可靠地計算出中性pH範圍內和酸性pH範圍內兩者的KD值，則酸性pH範圍內的KD值與中性pH範圍內的KD值之比值，即酸性KD/中性KD比值大於10。

【0081】 此類抗體預期作為醫藥尤其優越，因為可減少病人的投予劑量和頻率，因此可降低總劑量。與結合至C1qrs複合物且從血漿中去除C1qrs複合物的

抗體相比，抗C1s抗體預期具有更好的安全性輪廓，因為它們只會從血漿中去除C1r2s2 (透過結合至C1s)，而不從血漿中去除C1q。因此，可避免與C1q耗盡相關的副作用。此外，具有C1q快速置換的抗體預期具有更快的中和補體活性，這可轉化為更快的開始治療功效。

【0082】 (a1) BIACORE (註冊商標)/置換概念

在一實施例中，抑制C1q和C1r2s2複合物之間的交互作用的單離抗體是結合至在用於表面電漿共振測定法的晶片上，例如BIACORE (註冊商標)晶片，的C1qrs複合物的抗體，且促進C1q與C1qrs複合物的解離。在一些實施例中，與C1qrs複合物結合且促進C1q從上述C1qrs複合物解離的功能在本文中稱為「置換功能/活性」或「C1q置換功能/活性」。可使用表面電漿共振測定法，例如本文所述的BIACORE (註冊商標)測定法，來適當地定性或定量地評價功能/活性。在又一實施例中，抗體可判定為具有置換功能的抗體，當於抗體存在時的反應單位(response unit, RU)的值低於抗體不存在時的反應單位(RU)的值的時候，如當經過足夠的時間後藉由表面電漿共振測定法例如BIACORE(註冊商標)測定法來判定。在從這種測定法獲得的感測圖中，可鑑定出C1q存在而抗體不存在時的曲線與C1q和抗體存在時的曲線相交(詳細訊息，請參閱實施例)的「交叉時間點」。嚴格地說，由於後一條曲線相交前一條曲線時的雜訊或振盪，即使在單一感測圖中，也可觀察到多個交叉時間點。在這種情況下，多個交叉時間點中的任何一者可選擇作為「交叉時間點」。「經過足夠的時間」是指反應單位(RU)的值的測量時間點在「交叉時間點」之後足夠測量。在一些實施例中，反應單位(RU)的值的測量時間點是在抗體注射開始的時間點之後至少60s、100s、150s、200s、500s、700s、1000s、1500s或2000s。或者，測量的時間點可以是在交叉的時間點之後至少100s、200s、300s、400s、500s、600s、700s、800s、900s、1000s、3000s、5000s、7000s或10000s。

【0083】 在一實施例中，當交叉時間點(例如在BIACORE (註冊商標)測定法中)在抗體注射開始後的60s、100s、150s、200s、500s、700s、1000s、1500s或2000s內，抑制C1q和C1r2s2複合物之間的交互作用的單離抗體可判定為具有置換功能的抗體，其例如藉由BIACORE (註冊商標)測定法使用以下條件來判定：C1r2s2複合物和C1q的捕獲程度分別於200共振單位(RU)和200共振單位(RU)，且以10 微升(micro L)/min和500 nM來注射作為分析物的抗體。

【0084】 在一實施例中，當幾乎全部(或全部)的C1q在100s、300s、500s、700s、1000s、1500s、2000s、3000s、5000s、7000s或10000s內與C1qrs複合物解離時，抑制C1q與C1r2s2複合物之間的交互作用的單離抗體可判定為具有置換功能的抗體，其例如藉由BIACORE (註冊商標)測定法使用以下條件來判定：C1r2s2複合物和C1q的捕獲程度分別於200共振單位(RU)和200共振單位(RU)，且以10 微升(micro L)/min和500 nM來注射作為分析物的抗體。例如，在從這種測定法獲得的感測圖中，當C1q和抗體存在的值接近或等於抗體存在而C1q不存在的值時，可判定「幾乎全部(或全部)的C1q與C1qrs複合物解離」。在不存在C1q的情況下，在抗體存在時達到(RU)值。在此，「幾乎全部的C1q」是指70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多的百分比；「(全部的C1q)」是指100%的百分比。可藉由本文所述的任何測定法，來定量地判定解離的C1q的百分比。在一些實施例中，本發明提供了一種使用上述測量這種抗體的「置換功能/活性」的方法，來篩選出從C1r2s2複合物中置換C1q的抗體的方法。在一實施例中，篩選方法包含選擇抑制C1q和C1r2s2複合物之間的交互作用的抗體，即選擇結合至C1qrs複合物且促進C1q與C1qrs複合物解離的抗體。可使用表面電漿共振測定法例如如本文所述的BIACORE (註冊商標)測定法，來適當地選擇具有置換功能/活性的抗

體。在一些實施例中，篩選方法包含當經過足夠的時間後，藉由表面電漿共振測定法例如BIACORE (註冊商標)測定法，來判定(i)抗體存在下的反應單位(RU)的值和(ii)抗體不存在下的反應單位(RU)的值。篩選方法可包含比較以上(i)的值和以上(ii)的值。篩選方法可包含選擇當以上(i)的值低於以上(ii)的值時的抗體。篩選方法可包含鑑定出「交叉時間點」，其中C1q存在而抗體不存在的情況下的曲線與C1q和抗體存在的情況下的曲線相交。如上所述，即使在單一感測圖中也可觀察到多個交叉時間點，且多個交叉時間點中的任何一者可選擇為「交叉時間點」。在一些實施例中，篩選方法可包含在抗體注射開始的時間點之後至少60s、100s、150s、200s、500s、700s、1000s、1500s或2000s測量反應單位(RU)的值。或者，篩選方法可包含在交叉時間點之後至少100s、200s、300s、400s、500s、600s、700s、800s、900s、1000s、3000s、5000、7000s或10000s測量反應單位(RU)的值。在一些實施例中，篩選方法可包含當抗體的交叉時間點在抗體注射開始後的60s、100s、150s、200s、500s、700s、1000s、1500s或2000s內，選擇抑制C1q和C1r2s2複合物之間的交互作用的抗體或具有置換功能的抗體，其例如藉由BIACORE (註冊商標)測定法使用以下條件來判定：C1r2s2複合物和C1q的捕獲程度分別於200共振單位(RU)和200共振單位(RU)，且以10 微升(micro L)/min和500 nM來注射作為分析物的抗體。在一些實施例中，篩選方法可包含當幾乎全部(或全部)的C1q在100s、300s、500s、700s、1000s、1500s、2000s、3000s、5000s、7000s或10000s內與C1qrs複合物解離時，選擇抑制C1q與C1r2s2複合物之間的交互作用的抗體或具有置換功能的抗體，其例如藉由BIACORE (註冊商標)測定法使用以下條件來判定：C1r2s2複合物和C1q的捕獲程度分別於200共振單位(RU)和200共振單位(RU)，且以10 微升(micro L)/min和500 nM來注射作為分析物的抗體。如上所述，「幾乎全部(的C1q)」是指70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、

87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多的百分比，而「全部(的C1q)」是指100%的百分比，且可藉由本文所述的任何測定法包含BIACORE (註冊商標)測定法，來定量地判定解離的C1q的百分比。

【0085】 (a2) BIACORE(註冊商標)/阻斷概念

在一實施例中，本發明提供了抑制C1q和C1r2s2複合物之間的交互作用的單離抗體，其中抗體具有阻斷功能，使抗體結合至C1r2s2且抑制C1q與C1r2s2的結合。在又一實施例中，抗體具有至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高的阻斷比值。可藉由使用BIACORE (註冊商標)測定法，來判定阻斷功能/活性或阻斷比值。可使用以下條件來評估C1q阻斷的程度：C1r2s2的捕獲程度以50、100、200、400共振單位(RU)為目標。以250、500、1000、2000 nM注射抗體變異體，以使抗體結合飽和，然後在有或無250、500、1000、2000 nM的抗體變異體的情況下，以50、100、200 nM注射人類C1q。藉由以下算式計算出阻斷比值： $[1-(\text{抗體變異體存在下的人類C1q結合反應}/\text{抗體變異體不存在下的人類C1q結合反應})] \times 100\%$ 。

【0086】 (a3) pH依賴性

在一實施例中，單離抗體以pH依賴性方式特異性結合至C1s。在一較佳實施例中，在酸性pH範圍(例如在pH 5.8)下，抗體對C1s的結合活性低於在中性pH範圍(例如在pH 7.4)下與C1s的結合活性。

【0087】 在實施例中，抗體在酸性pH範圍內與C1s的結合可非常低，使得當藉由表面電漿共振來測量結合活性且藉由此數據來計算出解離常數(KD)值時，在酸性pH範圍內的KD值擁有較低的可靠性或在酸性pH範圍內無法檢測到與C1s的結合活性；也就是，在藉由表面電漿共振測定法來測量抗體對人類和/或食蟹猴C1s的結合活性的情況下，

- i) 可可靠地計算出中性pH範圍內的KD值，且由於沒有結合活性或很低的結合活性，而無法可靠地計算出酸性pH範圍內的KD值，或
- ii) 若可可靠地計算出中性pH範圍內和酸性pH範圍內兩者的KD值，則酸性pH範圍內的KD值與中性pH範圍內的KD值之比值，即酸性KD/中性KD比值大於10。

【0088】 在實施例中，ii)的酸性KD/中性KD比值較佳為14或更多、44或更多、45或更多、72或更多、99或更多、100或更多、117或更多、209或更多、278或更多。在實施例中，ii)的酸性KD /中性KD比值更佳為44或更多、45或更多、72或更多、99或更多、100或更多、117或更多、209或更多、278或更多。

【0089】 此情況下的詞語「可靠地」描述如下。使用BIAcore (註冊商標)T200儀器(GE Healthcare)在37度C下判定pH 7.4和pH 5.8的每個樣品的KD值。可使用胺偶聯試劑組(GE Healthcare)，將純化的小鼠抗人類Ig kappa輕鏈(GE Healthcare)固定在CM5感測器晶片的所有流通池(flow cell)上。包含20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM CaCl₂、1 mg / mL牛血清白蛋白(BSA)(不含IgG)、1 mg/mL CMD(CM-葡聚糖鈉鹽)、0.05% Tween (註冊商標)20和0.005% NaN₃ (pH 7.4或pH 5.8)的緩衝液作為運作緩衝液。可透過抗人類Ig輕鏈將每種抗體捕獲至感測器表面上。抗體捕獲程度調整至50共振單位(RU)。對於pH7.4的KD值，製備人類C1r2s2複合物，使得可以0、25、40、100、200、400 nM，0、12.5、25、40、100、200 nM，或0、6.3、12.5、25、50、100 nM和30微升/min來注射蛋白質複合物。對於pH5.8的KD值，製備人類或食蟹猴C1r2s2複合物，使得可用例如甘胺酸pH 2.0 (GE Healthcare)且以0、200、400、800、1600、3200 nM或0、50、100、200、400、800 nM和30微升/min，來注射蛋白質複合物。每個循環用例如甘胺酸pH 2.0(GE Healthcare)來再生感測器表面。使用BIAcore (註冊商標)T200評估軟體2.0版(GE Healthcare)來獲得KD值。將pH5.8的KD值與pH7.4的KD值(酸性KD/中性KD比值)進行比較。如果BIAcore (註冊商標)軟體的品質控制結果針

對抗體提及「無法唯一地(uniquely)判定動力學常數」，我們認為無法可靠地計算出抗體的KD值。

【0090】 在此情況的一實施例中，使用每個抗體被人類Ig kappa輕鏈以50共振單位捕獲於其上的感測器晶片和且包含20 mM ACES (N-(2-乙醯胺基)-2-胺基乙烷磺酸)、150 mM NaCl、1.2 mM CaCl₂、1 mg/mL 牛血清白蛋白(BSA)、1 mg/mL CM-葡聚糖鈉鹽(CMD)、0.05%聚山梨醇酯20、0.005% NaN₃的運作緩衝液，在37度C下測量藉由表面電漿共振的結合活性。

【0091】 在實施例中，抗體不涵蓋由於無結合活性或相當低的結合活性而無法可靠地計算出其中性pH範圍內的KD值的抗體。

【0092】 除了以pH依賴性方式結合至C1s之外，鈣對於pH依賴性抗體之對C1s的親和力的影響可能是另一重要性質。C1s在高鈣濃度下會形成二聚體，但在低鈣濃度下會解離成單體。當C1s處於二聚體狀態時，二價抗體能夠藉由交聯多個C1s分子，來形成免疫複合物。這允許抗體藉由親和力和結合性(avidity)兩者的交互作用，來結合至複合物中的C1s分子，從而增加了抗體的表觀親和力。相反地，當C1s處於單體狀態時，抗體僅藉由親和力交互作用來結合至C1s。這意味著pH依賴性C1s抗體可與血漿中的二聚體C1s形成免疫複合物，但是一旦在酸性胞內體之內，C1s就會解離成單體。這導致免疫複合物的分解，而增強了抗體從抗原的pH依賴性解離。

【0093】 在一面向中，在單離抗C1s抗體中，在中性和酸性pH值下都以高鈣濃度測量時，其在酸性pH的C1s結合活性的KD值與在中性pH的C1s結合活性的KD值之比值(KD (酸性pH)/KD (中性pH)) 大於10。在一面向中，在單離抗C1s抗體中，當在中性pH下以高鈣濃度和在酸性pH下以低鈣濃度測量時，其在酸性pH的C1s結合活性的KD值與在中性pH的C1s結合活性的KD值之比值(KD (酸性pH)/KD (中性)pH)大於10。在一些實施例中，在單離抗C1s抗體中，當在中性和

酸性pH值下都以低鈣濃度測量時，其在酸性pH的C1s結合活性的KD值與在中性pH的C1s結合活性的KD值之比值($KD(\text{酸性pH})/KD(\text{中性pH})$)大於10，其中抗C1s抗體結合至C1s的二聚體態。

【0094】 不受特定理論的束縛，在1)可藉由鈣不存在，來構型上改變抗體所結合的C1s的抗原決定基結構，從而改變抗體的親和力，或2)抗體的交互作用(親和力或結合性)的濃度可根據C1s的條件(單體狀態或二聚體狀態)而變化的情況下，藉由使用特定條件(在中性pH下以高鈣濃度且在酸性pH下以低鈣濃度)的測量可用來評估KD值的比值($KD(\text{酸性pH})/KD(\text{中性pH})$)。

【0095】 換句話說，抗體在中性pH下以比在酸性pH下更高的親和力結合至C1s，如以下(i)或(ii)中所述：

(i) 當在中性和酸性pH值下都以高鈣濃度測量時，在酸性pH的C1s結合活性的KD值與在中性pH的C1s結合活性的KD值之比值($KD(\text{酸性pH})/KD(\text{中性pH})$)大於10，

(ii) 當在中性pH值下以高鈣濃度而在酸性pH值下以低鈣濃度測量時，在酸性pH的C1s結合活性的KD值與在中性pH的C1s結合活性的KD值之比值($KD(\text{酸性pH})/KD(\text{中性pH})$)大於10。

【0096】 更通常地，不受特定理論的束縛，在1)可藉由鈣不存在，來構型上改變抗體所結合的C1s的抗原決定基結構，從而改變抗體的親和力，或2)抗體的交互作用(親和力或結合性)的濃度可根據C1s的條件(單體狀態或二聚體狀態)而變化的情況下，藉由使用特定條件(在中性pH下以高鈣濃度而在酸性pH下以低鈣濃度)的測量可用來評估KD值的比值($KD(\text{酸性pH})/KD(\text{中性pH})$)。

【0097】 因此，抗體在中性pH下以比在酸性pH下更高的親和力結合至抗原，如下所示：當在中性pH值下以高鈣濃度而在酸性pH值下以低鈣濃度測量時，在酸性pH的C1s結合活性的KD值與在中性pH的C1s結合活性的KD值之比值

(KD (酸性pH)/KD (中性pH)) 大於10。

【0098】 可在親本抗體(即本發明修飾前的原始抗體)和相對於原始(親本)抗體之導入一或多種胺基酸突變(例如添加、插入、缺失或取代)的抗體之間，比較上述KD比值，即KD(酸性pH)/ KD(中性pH)。原始(親本)抗體可為任何已知或新單離的抗體，只要其特異性結合至C1s即可。因此，在一面向中，在單離抗C1s抗體中，酸性pH下的C1s結合活性的KD值與中性pH下的C1s結合活性的KD值之比值(KD (酸性pH)/KD (中性pH))比原始(親本)抗體在酸性pH下的C1s結合活性的KD值與在中性pH下的C1s結合活性的KD值之比值(KD(酸性pH)/KD(中性pH))高至少1.2倍、1.4倍、1.6倍、1.8倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、5倍、8倍、10倍。換句話說，本發明提供了一種單離抗C1s抗體，其中單離抗C1s抗體已經被導入了來自親本(原始)抗體的一或多個胺基酸突變(例如添加、插入、缺失或取代)，且以下(i)與(ii)的比值至少為1.2、1.4、1.6、1.8、2、2.5、3、3.5、4、5、8或10：(i)單離抗C1s抗體之酸性pH下的C1s結合活性的KD值與中性pH下的C1s結合活性的KD值之比值(KD (酸性pH)/KD (中性pH))；(ii)親本(原始)抗體之酸性pH下的C1s結合活性的KD值與中性pH下的C1s結合活性的KD值之比值(KD (酸性pH)/KD (中性pH))。可在任何(高或低)鈣濃度下測量這些KD比值，例如在中性和酸性pH下都以高鈣濃度測量，或在中性pH下以高鈣濃度和在酸性pH下以低鈣濃度測量。

【0099】 在一面向中，抗體在胞內條件和胞外條件之間具有不同的抗原結合活性。胞內和胞外條件是指細胞內部和外部之間不同的條件。條件的類別包含例如離子濃度，更具體地金屬離子濃度、氫離子濃度(pH)和鈣離子濃度。「胞內條件」較佳是指胞內體內部環境所特有的環境，而「胞外條件」較佳是指血漿中環境所特有的環境。可藉由對大量抗體篩選出具有這種性質的結構域，來獲得具有抗原結合活性隨離子濃度而變化的性質的抗體。例如，可藉由利用雜

交瘤法或抗體庫法，來產生大量之序列彼此不同的抗體，且在不同離子濃度下測量其抗原結合活性，以獲得具有上述性質的抗體。B細胞選殖法是篩選出此類抗體的方法的範例之一。再者，如下所述，指定至少一種可賦予抗體具有根據離子濃度而變化的抗原結合活性之性質的獨特胺基酸殘基，以製備出具有不同的序列，同時共享獨特的胺基酸殘基作為共同結構的大量抗體的資料庫。可篩選此類資料庫以有效分離出具有上述性質的抗體。

【0100】 在一面向中，本發明提供了在中性pH下以比在酸性pH下更高的親和力結合至C1s的抗體。在另一面向中，本發明提供了對C1s展現出pH依賴性結合的抗C1s抗體。如本文所用，表達「pH依賴性結合」是指「與中性pH相比，在酸性pH下結合減少」，且兩種表達可互換。例如，「具有pH依賴性結合特性」的抗C1s抗體包含在中性pH下以比在酸性pH下更高的親和力結合至C1s的抗體。

【0101】 在某些實施例中，當在中性和酸性pH下都於高鈣濃度測量時，酸性pH下的C1s結合活性的KD值與中性pH下的C1s結合活性的KD值之比值(KD (酸性pH)/KD (中性pH))大於10。在特定實施例中，抗體在中性pH下以比酸性pH下高至少11、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000或更多倍的親和力結合至C1s。

【0102】 在某些實施例中，當在中性pH下以高鈣濃度，而在酸性pH下以低鈣濃度測量時，酸性pH下的C1s結合活性的KD值與中性pH下的C1s結合活性的KD值之比值(KD (酸性pH)/KD (中性pH))大於10。在特定實施例中，抗體在中性pH下以比酸性pH下高至少11、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000或更多倍的親和力結合至C1s。

【0103】 在上述情況下，例如，酸性pH為5.8而中性pH為7.4，因此KD (酸性pH)/KD (中性pH)為KD (pH 5.8)/KD (pH 7.4)。在此關聯中，稍後於本文中詳細

描述酸性pH和中性pH的範例。在一些實施例中，KD (酸性pH)/KD (中性pH)例如 KD (pH 5.8)/KD (pH 7.4)可為11至10000。

【0104】 當抗原是可溶性蛋白質時，抗體與抗原的結合可導致抗原在血漿中的半衰期延長(即，抗原從血漿中的清除率降低)，因為抗體可在血漿中的壽命比抗原本身更長，且可作為抗原的載體。這是由於藉由FcRn透過細胞中的胞內體途徑，來再循環抗原-抗體複合物(Roopenian and Akilesh (2007) Nat Rev Immunol 7(9): 715-725)。然而，相對於其以pH非依賴性方式結合的對應物而言，具有pH依賴性結合特性的抗體預期在抗原中和和清除方面具有優越的特性，前述具有pH依賴性結合特性的抗體進入細胞後在中性胞外環境中結合至其抗原，同時將其釋放到酸性胞內體室(compartment)中。(Igawa et al (2010) Nature Biotechnol 28(11): 1203-1207；Devanaboyina et al (2013) mAbs 5(6): 851-859；International Patent Application Publication No: WO 2009/125825)。

【0105】 在一面向中，本發明提供了在高鈣濃度條件下以比在低鈣濃度條件下更高的親和力結合至C1s的抗體。

【0106】 在一實施例中，較佳的金屬離子包含例如鈣離子。鈣離子參與許多生物現象的調節，包含例如骨骼肌、平滑肌和心肌的肌肉的收縮；淋巴細胞的運動、吞噬作用等的活化；血小板的形狀改變、分泌等的活化；淋巴細胞的活化；肥大細胞的活化，包含組織胺分泌；兒茶酚胺alpha受體(catecholamine alpha receptor)或乙醯膽鹼受體(acetylcholine receptor)調節的細胞反應；胞吐作用；從神經元末端釋放傳遞物質；和神經元中的軸突漿流(axoplasmic)。已知的胞內鈣離子受體包含肌鈣蛋白C(troponin C)、鈣調蛋白(calmodulin)、小白蛋白(parvalbumin)和肌球蛋白輕鏈(myosin light chain)，它們具有多個鈣離子結合位，且據信在分子演化上衍生自共同起源。也有許多已知的鈣結合模體(motif)。這樣的眾所皆知的模體包含例如鈣黏著蛋白域、鈣調蛋白的EF-手、蛋白激酶C的C2

域、凝乳蛋白因子IX的Gla域、醯基糖蛋白受體和甘露糖結合受體的C型凝集素、LDL受體的A域、膜聯蛋白(annexin)、血小板反應蛋白3型域和類EGF域。

【0107】 在一實施例中，當金屬離子是鈣離子時，期望在低鈣離子濃度條件下的抗原結合活性比在高鈣離子濃度條件下的抗原結合活性低。同時，胞內鈣離子濃度低於胞外鈣離子濃度。相反地，胞外鈣離子濃度高於胞內鈣離子濃度。在一實施例中，低鈣離子濃度較佳為0.1微莫耳(micro M)至30 micro M、更佳0.5 micro M至10 micro M、特佳1 micro M至5 micro M，其接近在生物體內之早期胞內體的鈣離子濃度。同時，在一實施例中，高鈣離子濃度較佳為100 micro M至10 micro M、更佳200 micro M至5 mM，特佳0.5 mM至2.5 mM，其接近血漿中(血液中)的鈣離子濃度。在一實施例中，較佳的是低鈣離子濃度是胞內體中的鈣離子濃度，高鈣離子濃度是血漿中的鈣離子濃度。當在低和高鈣離子濃度之間比較抗原結合活性的程度時，較佳的是抗體的結合在高鈣離子濃度下比在低鈣離子濃度下更強。換句話說，較佳的是抗體的結合活性在低鈣離子濃度下比在高鈣離子濃度下低。當結合活性的程度用解離常數(KD)表示時，KD(低鈣離子濃度)/KD (高鈣離子濃度)的值大於1、較佳大於2或更多、更佳大於10或更多，且更佳大於40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000或更多。對KD (低鈣離子濃度)/KD (高鈣離子濃度)的值的上限沒有特別限制，且可為任何值例如100、400、1000或10000，只要可用本發明所屬技術領域中具有通常知識者的技術來產生即可。可以使用解離速率常數(kd)來代替KD。當難以計算KD值時，可根據在相同濃度下通過分析物時BIACORE (註冊商標)中的結合反應的程度，來評估活性。當抗原通過固定有抗原結合分子的晶片上時，低鈣濃度下的結合反應較佳為高鈣濃度下的結合反應的1/2或更低、更佳為1/3或更低、更佳為1/5或更低、特佳為1/10或更低。已知，通常，生物體內的胞外鈣離子濃度(例如在血漿中)是高的，而胞內鈣離子濃度(例如在胞

內體中)是低的。因此，在一實施例中，較佳的是胞外條件為高鈣離子濃度，而胞內條件為低鈣離子濃度。當抗原結合活性在胞內鈣離子濃度條件下比在胞外鈣離子濃度條件下還低的性質被賦予至抗原結合分子(例如抗體)時，在細胞外已結合至本發明的抗原結合分子的抗原於細胞內與抗原結合分子解離，從而增強抗原從細胞外併入至細胞中。當此類抗體投予至活體時，可降低血漿中的抗原濃度且降低生物體內抗原的生理活性。因此，抗體是有用的。篩選出在低鈣離子濃度條件下具有比在高鈣離子濃度條件下還低的抗原結合活性的抗原結合區或抗體的方法包含例如WO2012/073992中所述的方法(例如第0200-0213段)。賦予抗原結合區在低鈣離子濃度條件下比在高鈣離子濃度條件下更弱地結合至抗原的性質的方法不受特別限制，且可藉由任何方法進行。具體地，在日本專利申請號2011-218006中描述這些方法，且這些方法包含例如用具有金屬螯合活性的胺基酸殘基替換抗原結合區中的至少一個胺基酸殘基、和/或將具有金屬螯合活性之至少一個胺基酸殘基插入至抗原結合區的方法。

【0108】 具有金屬螯合活性的胺基酸殘基較佳包含例如絲胺酸(serine)、蘇胺酸(threonine)、天冬醯胺酸(asparagine)、麩醯胺酸(glutamine)、天冬胺酸(aspartic acid)和麩胺酸(glutamic acid)。再者，根據鈣離子濃度改變抗原結合區的抗原結合活性的胺基酸殘基較佳包含例如形成鈣結合模體的胺基酸殘基。鈣結合模體是本發明所屬技術領域中具有通常知識者所熟知的，且已詳細描述(例如Springer et al., (Cell (2000) 102, 275-277) ; Kawasaki and Kretsinger (Protein Prof. (1995) 2, 305-490) ; Moncrief et al., (J. Mol. Evol. (1990) 30, 522-562) ; Chauvaux et al., (Biochem. J. (1990) 265, 261-265) ; Bairoch and Cox (FEBS Lett. (1990) 269, 454-456) ; Davis (New Biol. (1990) 2, 410-419) ; Schaefer et al., (Genomics (1995) 25, 638 to 643) ; Economou et al., (EMBO J. (1990) 9, 349- 354) ; Wurzburg et al., (Structure. (2006) 14, 6, 1049-1058))。肌鈣蛋白C中的EF手(EF hand in troponin

C)、鈣調蛋白(calmodulin)、小白蛋白(parvalbumin)和肌球蛋白(myosin)輕鏈；蛋白激酶C中的C2域；凝血蛋白因子IX中的Gla域；醯基糖蛋白受體和甘露糖結合受體的C型凝集素、ASGPR、CD23和DC-SIGN；LDL受體中的A域；膜聯蛋白域；鈣黏蛋白域；血小板反應蛋白3型域；和類EGF結構域較佳作為鈣結合模體。

【0109】 抗原結合區可含有根據鈣離子濃度改變抗原結合活性的胺基酸殘基，例如上述具有金屬螯合活性的胺基酸殘基和形成鈣結合模體的胺基酸殘基。這種胺基酸殘基在抗原結合區中的位置沒有特別限制，且它們可以位於任意位置，只要抗原結合活性根據鈣離子濃度而變化。同時，可單獨或以二或更多的組合來含有這些胺基酸殘基，只要抗原結合活性根據鈣離子濃度而變化。胺基酸殘基較佳包含例如絲胺酸、蘇胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、天冬胺酸和麩胺酸。當抗原結合區是抗體可變區時，在重鏈可變區和/或輕鏈可變區中可含有胺基酸殘基。在一較佳實施例中，在重鏈可變區的CDR3中，更佳地在重鏈可變區的CDR3中根據Kabat編號之第95、96、100a和/或101位含有胺基酸殘基。

【0110】 在另一較佳實施例中，在輕鏈可變區的CDR1中，更佳地在輕鏈可變區的CDR1中根據Kabat編號之第30、31和/或32位含有胺基酸殘基。在又一較佳實施例中，在輕鏈可變區的CDR2中，更佳地在輕鏈可變區的CDR2中根據Kabat編號之第50位含有胺基酸殘基。在又另一較佳實施例中，在輕鏈可變區的CDR3中，更佳地在輕鏈可變區的CDR3中根據Kabat編號之第92位含有胺基酸殘基。

【0111】 再者，可以組合上述實施例。例如，在選自輕鏈可變區的CDR1、CDR2和CDR3的二或三個CDR中，更佳地在輕鏈可變區中根據Kabat編號之第30、31、32、50和/或92位含有胺基酸殘基。

【0112】 將大量具有不同序列，同時共享根據鈣離子濃度改變抗原結合活性的上述胺基酸殘基作為共同結構的抗原結合區共享為共同結構製備為資料

庫。可篩選此資料庫，以有效率地獲得具有對所需抗原的結合活性的抗原結合區，其中它們的抗原結合活性根據鈣離子濃度而變化。

【0113】 為了本揭露的目的，抗體對C1s的「親和力」以抗體的KD表示。抗體的KD是指抗體-抗原交互作用的平衡解離常數。抗體與其抗原結合的KD值越大，其對那特定抗原的結合親和力越弱。因此，如本文所使用，表達「在中性pH下比在酸性pH下更高的親和力」(或等效表達「pH依賴性結合」)是指抗體在酸性pH下的KD大於抗體在中性pH下的KD。例如，在本發明的上下文中，如果與抗體在中性pH下與C1s結合的KD相比，抗體在酸性pH下與C1s結合的KD大於10倍，則認為抗體在中性pH下以比在酸性pH下更高的親和力結合至C1s。因此，本發明包含在酸性pH下以比抗體在中性pH下結合至C1s的KD值高至少11、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、95、100、200、400、1000、10000或更多倍的KD，來結合至C1s的抗體。在另一實施例中，抗體在中性pH下的KD值可為 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M或更小。在另一實施例中，抗體在酸性pH下的KD值可為 10^{-9} M、 10^{-8} M、 10^{-7} M、 10^{-6} M或更大。

【0114】 抗體對特定抗原的結合性質亦可用抗體的kd表示。抗體的kd是指抗體相對於特定抗原的解離速率常數，且以倒數秒(即 sec^{-1})表示。kd值的增加表示抗體對其抗原的結合較弱。因此，本發明包含在酸性pH下以比在中性pH下更高kd的值結合至C1s的抗體。本發明包含在酸性pH下以比抗體在中性pH下結合至C1s的kd值高至少11、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、95、100、200、400、1000、10000或更多倍的kd，來結合至C1s的抗體。在另一實施例中，抗體在中性pH下的kd值可為 10^{-2} 1/s、 10^{-3} 1/s、 10^{-4} 1/s、 10^{-5} 1/s、 10^{-6} 1/s或更小。在另一實施例中，抗體在酸性pH下的kd值可為 10^{-3} 1/s、 10^{-2} 1/s、 10^{-1} 1/s或更大。

【0115】 在某些例子中，以在酸性pH下抗體的KD值與在中性pH下抗體的KD值之比值(反之亦然)，來表示「與在中性pH下相比，在酸性pH下結合減少」。例如，出於本發明的目的，如果抗體展現出10或更高的酸性/中性KD比值，則抗體可被認為展現出「與其中性pH下對C1s的結合相比，在酸性pH下對C1s的結合減少」。在某些示例性實施例中，抗體的酸性/中性KD比值可為11、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000或更大。在另一實施例中，抗體在中性pH下的KD值可為 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M或更小。在另一實施例中，抗體在酸性pH下的KD值可以是 10^{-9} M、 10^{-8} M、 10^{-7} M、 10^{-6} M或更大。

【0116】 在某些例子中，以在酸性pH下抗體的kd值與在中性pH下抗體的kd值之比值(反之亦然)，來表示「與在中性pH下相比，在酸性pH下結合減少」。例如，出於目的，如果抗體展現出2或更高的酸性/中性kd比值，則抗體可被認為展現出「與其中性pH的結合相比，在酸性pH下對C1s的結合減少」。在某些示例性實施例中，抗體的酸性/中性kd比值可為11、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000或更大。在另一實施例中，抗體在中性pH下的kd值可為 10^{-2} 1/s、 10^{-3} 1/s、 10^{-4} 1/s、 10^{-5} 1/s、 10^{-6} 1/s或更小。在另一實施例中，抗體在酸性pH下的kd值可以是 10^{-3} 1/s、 10^{-2} 1/s、 10^{-1} 1/s或更大。

【0117】 如本文所使用，表達「酸性pH」是指4.0至6.5的pH。表達「酸性pH」包含4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4和6.5。在特定面向中，「酸性pH」為5.8。

【0118】 如本文所使用，表達「中性pH」是指6.7至10.0的pH。表達「中性pH」包含6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、

8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9.0、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9和10.0。在特定面向中，「中性pH」為7.4。

【0119】如本文所使用地，表達「在高鈣濃度條件下」或「在高鈣濃度下」是指接近血漿中(血液中)的鈣離子濃度之100 micro M至10 mM、更佳200 micro M至5 mM、特佳0.5 mM至2.5 mM。表達「在高鈣濃度條件下」或「在高鈣濃度下」包含100 micro M、200 micro M、300 micro M、400 micro M、500 micro M、600 micro M、700 micro M、800 micro M、900 micro M、0.5 mM、0.7 mM、0.9 mM、1 mM、1.2 mM、1.4 mM、1.6 mM、1.8 mM、2.0 mM、2.2 mM、2.4 mM、2.5 mM、3 mM、4 mM、5 mM、6 mM、7 mM、8 mM、9 mM和10 mM Ca^{2+} 的鈣濃度值。在特定面向中，「在高鈣濃度條件下」或「在高鈣濃度下」是指1.2 mM Ca^{2+} 。

【0120】如本文所使用地，表達「在低鈣濃度條件下」或「在低鈣濃度下」是指接近生物體內早期胞內體中的鈣離子濃度之0.1 micro M至30 micro M、更佳0.5 micro M至10 micro M、特佳1 micro M至5 micro M。表達「在低鈣濃度條件下」或「在低鈣濃度下」包含為0.1 micro M、0.5 micro M、1 micro M、1.5 micro M、2.0 micro M、2.5 micro M、2.6 micro M、2.7 micro M、2.8 micro M、2.9 micro M、3.0 micro M、3.1 micro M、3.2 micro M、3.3 micro M、3.4 micro M、3.5 micro M、4.0 micro M、5.0 micro M、6.0 micro M、7.0 micro M、8.0 micro M、9.0 micro M、10 micro M、15 micro M、20 micro M、25 micro M和30 micro M Ca^{2+} 的鈣濃度值。在特定面向中，「在低鈣濃度條件下」或「在低鈣濃度下」是指3.0 micro M Ca^{2+} 。

【0121】如本文所表達地，可使用基於表面電漿共振的生物感測器，來判定KD值和kd值，以將抗體-抗原交互作用特徵化。(參閱例如本文的實施例3)。可在攝氏(C)25度或37度C下判定KD值和kd值。可在150 mM NaCl的存在下進行此判定。在一些實施例中，可藉由使用表面電漿共振技術來進行該判定，其中

將抗體固定，抗原作為分析物，且使用以下條件：於攝氏(C)37度下、10mM MES 緩衝液、0.05%聚氧乙烯脫水山梨糖醇單月桂酸酯(polyoxyethylenesorbitan monolaurate)和150 mM NaCl。

【0122】 在一面向中，本發明提供了一種於增強個體中從血漿中清除C1s的方法。在一些實施例中，此方法包含對個體投予有效量的抗C1s抗體，以增強從血漿中清除C1s。本發明亦提供了增強於個體中C1r和C1s的複合物從血漿中的清除率的方法。在一些實施例中，方法包含對個體投予有效量的抗C1s抗體，以增強從血漿中清除C1r和C1s的複合物。在一些實施例中，方法包含對個體投予有效量的抗C1s抗體，以增強從血漿中清除C1r2s2。在一些實施例中，此方法包含對個體投予有效量的抗C1s抗體，以增強從血漿中清除C1r2s2，而不是從血漿中清除C1q。

【0123】 在另一面向中，本發明提供了一種從血漿中去除C1s的方法，方法包含：(a) 鑑定出需要從血漿中清除C1s的個體；(b) 提供一種透過抗體的抗原結合(C1s結合)域來結合至C1s，且當使用表面電漿共振技術判定KD時，具有在pH 5.8下對C1s的KD與在pH 7.4下對C1s的KD的比值(其定義為KD (pH5.8)/KD (pH7.4)值)為11至10,000的抗體，其中抗體在生物體內結合至血漿中的C1s結合且在生物體內胞內體所存在的條件下與結合的C1s解離，其中抗體是人類IgG或人源化IgG；和(c) 對個體投予抗體。在又一面向中，可在37度C和150mM NaCl下使用這種表面電漿共振技術。在又一面向中，可使用這種表面電漿共振技術，其中將抗體固定，抗原作為分析物，且使用以下條件：於37度C下、10mM MES 緩衝液、0.05%聚氧乙烯脫水山梨糖醇單月桂酸酯和150 mM NaCl。

【0124】 在另一面向中，本發明提供了一種於對象中從血漿中去除C1s的方法，方法包含：(a) 透過第一抗體的抗原結合區，來鑑定出結合至C1s的第一抗體；(b) 鑑定出第二抗體，其：(1) 透過第二抗體的抗原結合域(C1s-binding)結合

至C1s，(2) 在胺基酸序列上與第一抗體相同，除了第一抗體的可變區的至少一個胺基酸用組胺酸取代和/或至少一個組胺酸插入至第一抗體的可變區之外，(3) 具有大於第一抗體的KD (pH5.8)/KD (pH7.4)值的KD (pH5.8)/KD (pH7.4)值，且在11和10,000之間，其中KD (pH5.8)/KD (pH7.4)定義為當使用表面電漿共振技術來判定KD時，在pH 5.8下對C1s的KD與在pH 7.4下對C1s的KD之比值，(4) 在生物體內結合至血漿中的C1s，(5) 在生物體內胞內體所存在的條件下與結合的C1s解離，且(6) 是人類IgG或人源化IgG；(c) 鑑定出需要使他或她的C1s血漿程度降低的對象；和(d) 對對象投予第二抗體，從而降低對象中C1s血漿程度。在又一面向中，可在37度C和150mM NaCl下使用這種表面電漿共振技術。在又一面向中，可在37度C和150mM NaCl下使用這種表面電漿共振技術。在又一面向中，可使用這種表面電漿共振技術，其中將抗體固定，抗原作為分析物，且使用以下條件：於37度C下、10mM MES緩衝液、0.05%聚氧乙烯脫水山梨糖醇單月桂酸酯和150 mM NaCl。

【0125】 在另一面向中，本發明提供了一種於對象中從血漿中去除C1s的方法，方法包含：(a) 鑑定出第一抗體，其：(1) 透過第一抗體的抗原結合區，來結合至C1s的第一抗體，(2) 在胺基酸序列上與透過第二抗體的抗原結合(C1s結合)域來結合至C1s的第二抗體相同，除了第一抗體的至少一個可變區具有比第二抗體的相對應可變區多至少一個組胺酸殘基，(3) 具有大於第二抗體的KD (pH5.8)/KD (pH7.4)值的KD (pH5.8)/KD (pH7.4)值，且在11和10,000之間，其中KD (pH5.8)/KD (pH7.4)定義為當使用表面電漿共振技術來判定KD時，在pH 5.8下對C1s的KD與在pH 7.4下對C1s的KD之比值，(4) 在生物體內結合至血漿中的C1s，(5) 在生物體內胞內體所存在的條件下與結合的C1s解離，且(6) 是人類IgG或人源化IgG；(b) 鑑定出需要使他或她的C1s血漿程度降低的對象；且(c) 對對象投予第一抗體至少一次，以降低對象中的C1s血漿程度。在又一面向中，可在37

度C和150mM NaCl下使用這種表面電漿共振技術。在又一面向中，可在37度C和150mM NaCl下使用這種表面電漿共振技術。在又一面向中，可使用這種表面電漿共振技術，其中將抗體固定，抗原作為分析物，且使用以下條件：於37度C下、10mM MES緩衝液、0.05%聚氧乙烯脫水山梨糖醇單月桂酸酯和150 mM NaCl。在一些情況下，抗體抑制經典補體途徑的成分；在一些情況下，經典補體途徑成分是C1s。

【0126】 (a4) 單離抗體的pI

在單離抗體的一實施例中，抗體的pI小於9.00、小於8.90、小於8.80或8.78或更小。pI較佳小於8.90、更佳小於8.80、再更佳為8.78或更小。當pI小於它們的任一點時，抗體在血液中的半衰期就會延長。另一方面，pI的可能最小值通常為4.28或更大。

【0127】 在一實施例中，可藉由毛細管等電聚焦(capillary isoelectric focusing, cIEF)來測量抗體的pI。作為實施例的一範例，使用塗佈有氟碳化合物的毛細管盒，在Protein Simple iCE3全毛細管成像系統上進行cIEF。陽極電解液和陰極電解液溶液分別是配製在0.1% m/v 甲基纖維素(methyl cellulose, MC)中的0.08 M磷酸和配製在0.1% m/v MC中的0.1 M氫氧化鈉。所有分析的樣品均含有作用的0.5 mg/mL抗體、0.3% m/v MC、6 mM IDA(亞胺二乙酸(iminodiacetic acid))、10 mM精胺酸(arginine)、4 M尿素、pI標記物(7.65和9.77)、及以下2%兩性電解質(pharmalyte)8-10.5、2%兩性電解質5-8的v/v混合物。在裝載至自動進樣器隔間之前，將所有樣品短暫渦旋(vortex)並離心。在開始測量之前，將樣品在自動進樣器中培育2小時。在1.5 kV的條件下聚焦1分鐘，然後在3.0 kV的條件下聚焦7分鐘。自動進樣器隔間保持在10度C。每個樣品重複兩次測量，且藉由計算 $n = 2$ 測量值之平均，來獲得每個樣品的pI值。

或者，在一實施例中，可藉由毛細管等電聚焦(cIEF)來測量抗體的pI。作為實施例的一範例，使用塗佈有氟碳化合物的毛細管盒，在Protein Simple iCE3全毛細

管成像系統上進行cIEF。陽極電解液和陰極電解液溶液分別是配製在0.1% m/v 甲基纖維素(MC)中的0.08 M磷酸和配製在0.1% m/v MC中的0.1 M氫氧化鈉。所有分析的樣品均含有作用的0.35% m/v MC、4 mM IDA(亞胺二乙酸(iminodiacetic acid))、10 mM精胺酸、pI標記物(3.21或4.22或4.65或5.12或5.85或6.14或6.61或7.05或7.65或8.40或8.79或9.46或9.77或10.1)、及以下4%兩性電解質3-10的v/v混合物。在裝載至自動進樣器隔間之前，將所有樣品短暫渦旋並離心。在1.5 kV的條件下聚焦1分鐘，然後在3.0 kV的條件下聚焦8分鐘。自動進樣器隔間保持在10度C。每個樣品重複兩次測量，且藉由計算 $n = 2$ 測量值之平均，來獲得每個樣品的pI值。

【0128】 在一實施例中，可藉由毛細管等電聚焦來測量抗體的pI，其中含有配製在0.1% m/v 甲基纖維素(MC)中之0.08 M磷酸的溶液作為陽極電解液溶液，含有配製在0.1% m/v MC中之0.1M氫氧化鈉的溶液作為陰極電解液溶液，且含有0.5 mg/mL抗體、0.3% m/v MC、6.0 mM亞胺二乙酸(IDA)、10 mM精胺酸、4 M尿素和pI標記物(7.65和9.77)作為裂解抗體的作用溶液。

【0129】 (a5) 抗體結合區

在一實施例中，抗體包含抗原結合區。在一較佳實施例中，抗原結合區可特異性結合至C1s的CUB1-EGF-CUB2域內的抗原決定基。在另一較佳實施例中，抗原結合區可特異性結合至C1s的CUB1-EGF-CUB2域。在這些實施例中，C1s包含但不限於人類C1s。C1s較佳是人類C1s。

【0130】 在一實施例中，抗原結合區可為抗體可變區。抗體可變區可為抗體可變區的全部或部分，只要抗原結合區不破壞單離抗體的性質，例如抗體的置換功能和/或阻斷功能、及隨後的結合活性即可；

在藉由表面電漿共振來測量抗體對人類和/或食蟹猴C1s的結合活性的情況下，

i) 可可靠地計算出中性pH範圍內的解離常數(KD)值，且由於沒有結合活性或很

低的結合活性，而無法可靠地計算出酸性pH範圍內的KD值，或

ii) 若可可靠地計算出中性pH範圍內和酸性pH範圍內兩者的KD值，則酸性pH範圍內的KD值與中性pH範圍內的KD值之比值，即酸性KD/中性KD比值大於10。

【0131】 在實施例中，抗體可變區是人源化的。抗原結合區較佳為人源化抗體可變區。預期當將這種人源化抗體用於藥物治療時，與非人源化抗體相比可避免副作用。

【0132】 在一實施例中，抗原結合區包括重鏈可變區，其包括包含由AYAMN (序列辨識號1)所組成的胺基酸序列的HVR-H1、包含由LIYGX₁X₂X₃X₄FYASWAX₅X₆ (序列辨識號2)所組成的胺基酸序列的HVR-H2、和包含由GRSX₇NYX₈SX₉FHL (序列辨識號3)所組成的胺基酸序列HVR- H3。在實施例中，抗原結合區包括輕鏈可變區，其包括包含由QAX₁₀X₁₁X₁₂LHDKX₁₃NLA (序列辨識號4)所組成的胺基酸序列的HVR-L1、包含由X₁₄ASX₁₅X₁₆ES (序列辨識號5)所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和包含由X₁₇GEFX₁₈X₁₉X₂₀X₂₁ADX₂₂NX₂₃ (序列辨識號6)所組成的胺基酸序列的HVR-L3。在實施例中，X₁至X₂₃的每一者皆選自天然存在的胺基酸。

【0133】 在本發明的另一實施例中，單離抗C1s抗體包含重鏈可變區、輕鏈可變區和抗體恆定區。在實施例中，重鏈可變區包括包含由AYAMN (序列辨識號1)所組成的胺基酸序列的HVR-H1、包含由LIYGX₁X₂X₃X₄FYASWAX₅X₆ (序列辨識號2)所組成的胺基酸序列的HVR-H2、和包含由GRSX₇NYX₈SX₉FHL (序列辨識號3)所組成的胺基酸序列HVR- H3。在實施例中，輕鏈可變區包括包含由QAX₁₀X₁₁X₁₂LHDKX₁₃NLA (序列辨識號4)所組成的胺基酸序列的HVR-L1、包含由X₁₄ASX₁₅X₁₆ES (序列辨識號5)所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和包含由X₁₇GEFX₁₈X₁₉X₂₀X₂₁ADX₂₂NX₂₃ (序列辨識號6)所組成的胺基酸序列的HVR-L3。在實施例中，X₁至X₂₃的每一者皆選自天然存在的胺基酸。

【0134】 這些胺基酸序列包含在「實施例」中揭示的抗體COS0637pHv1至COS0637pHv9中的共同序列，其是藉由實施例中的重組和特徵化，從PCT/JP2019/015919中所產生的嵌合抗體來產生的。當抗原結合區包含重鏈可變區和輕鏈可變區時，儘管抗原結合區是人源化的，但抗原結合區對人類和/或食蟹猴C1s具有比嵌合抗體更高的pH依賴性結合活性。

【0135】 在一實施例中，X₁至X₂₃的胺基酸較佳地選自以下胺基酸。

X₁為Lys或Ser，

X₂為Gly或Lys，

X₃為His或Ser，

X₄為Glu或Thr，

X₅為Glu或Lys，

X₆為Glu或Gly，

X₇為Lys或Val，

X₈為Asn或Val，

X₉為Asp或Gly，

X₁₀為Asn、Gln或Ser，

X₁₁為Gly或Gln，

X₁₂為Ile或Ser，

X₁₃為Lys或Arg，

X₁₄為Gly或Gln，

X₁₅為Gln或Thr，

X₁₆為Leu或Arg，

X₁₇為His或Gln，

X₁₈為Pro或Ser，

X₁₉為Cys或Tyr，

X₂₀為Glu或Ser，

X₂₁為Glu或Ser，

X₂₂為Cys或Leu，且

X₂₃為Gln或Thr。

這些胺基酸通常存在於「實施例」中所揭示的抗體中，即COS0637pHv1至COS0637pHv9所共同。當抗原結合區包含這些胺基酸時，儘管抗原結合區是人源化的，但抗原結合區對人類和/或食蟹猴C1s具有比嵌合抗體更高的pH依賴性結合活性。

【0136】 在一實施例中，HVR-H1包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列，HVR-H2包含由序列辨識號8至10所組成的胺基酸序列中之任一者，HVR-H3包含由序列辨識號11至13所組成的胺基酸序列中之任一者，HVR-L1包含由序列辨識號14至18所組成的胺基酸序列中之任一者，HVR-L2包含由序列辨識號19至22所組成的胺基酸序列中之任一者，和HVR-L3包含由序列辨識號23至28所組成的胺基酸序列中之任一者。

【0137】 在一實施例中，HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的胺基酸序列的組合選自由以下1)至9)所組成的群組；

- 1) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號8所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號14所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號19所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號23所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
- 2) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、

包含由序列辨識號9所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號12所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號14所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號19所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號23所組成的胺基酸序列的HVR-L3；

3) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號24所組成的胺基酸序列的HVR-L3；

4) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號24所組成的胺基酸序列的HVR-L3；

5) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號16所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號21所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號25所組成的胺基酸序列的HVR-L3；

6) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、

包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號17所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號26所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
7) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號27所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
8) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號18所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號19所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號27所組成的胺基酸序列的HVR-L3；及
9) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號18所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號22所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號28所組成的胺基酸序列的HVR-L3。

【0138】 在一實施例中， X_{19} 和/或 X_{22} 不是Cys。當 X_{19} 和/或 X_{22} 不是Cys時，

第 63 頁，共 138 頁(發明說明書)

產生的單離抗體中的異質性的風險會降低。在一實施例中，X₁₉是Trp或Tyr，且X₂₂是Leu或Met。當X₁₉和/或X₂₂不是Cys時，在X₁₉具有Trp或Tyr且在X₂₂處具有Leu或Met的抗原結合區對人類和/或食蟹猴C1s具有比實施例3中所揭示之具有其他胺基酸的那些更高的結合活性和更高的pH依賴性。在實施例中，X₁₉較佳為Tyr，且X₂₂較佳為Leu。在這些位置選擇Tyr和Leu可防止在X₁₉和X₂₂的胺基酸被氧化。這些胺基酸通常存在於「實施例」中所揭示的抗體中，即COS0637pHv1至COS0637pHv9所共同。

【0139】 在一實施例中，X₁至X₂₃的胺基酸較佳地選自以下胺基酸。

X₁為Ser，

X₂為Gly，

X₃為His，

X₄為Glu，

X₅為Glu，

X₆為Glu，

X₇為Lys，

X₈為Asn或Val，

X₉為Asp或Gly，

X₁₀為Asn、Gln或Ser，

X₁₁為Gly或Gln，

X₁₂為Ile，

X₁₃為Lys或Arg，

X₁₄為Gly或Gln，

X₁₅為Gln或Thr，

X₁₆為Leu或Arg，

X₁₇為His，

X₁₈為Pro或Ser，

X₁₉為Tyr，

X₂₀為Glu或Ser，

X₂₁為Glu或Ser，

X₂₂為Leu，和

X₂₃為Gln或Thr。

這些胺基酸通常存在於「實施例」中所揭示的抗體中，即COS0637pHv1至COS0637pHv9所共同。當抗原結合區包含這些胺基酸時，產生的單離抗體的異質性和在X₁₉和X₂₂的胺基酸的氧化的風險會降低，以及抗原結合區對人類和/或食蟹猴C1s具有比嵌合抗體更高的結合活性和更高的pH依賴性。

【0140】 在較佳實施例中，HVR-H1包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列，HVR-H2包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列，HVR-H3包含由序列辨識號11或13所組成的胺基酸序列，HVR-L1包含由序列辨識號15至18所組成的胺基酸序列中之任一者，HVR-L2包含由序列辨識號19至22所組成的胺基酸序列中之任一者，和HVR-L3包含由序列辨識號24至28所組成的胺基酸序列中之任一者。

【0141】 在另一較佳實施例中，HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的胺基酸序列的組合選自由以下3)至 9)所組成的群組；

3) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和

- 包含由序列辨識號24所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
- 4) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號24所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
- 5) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號16所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號21所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號25所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
- 6) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號17所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號26所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
- 7) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和

包含由序列辨識號27所組成的胺基酸序列的HVR-L3；

8) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、

包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、

包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、

包含由序列辨識號18所組成的胺基酸序列的HVR-L1、

包含由序列辨識號19所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和

包含由序列辨識號27所組成的胺基酸序列的HVR-L3；及

9) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、

包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、

包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、

包含由序列辨識號18所組成的胺基酸序列的HVR-L1、

包含由序列辨識號22所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和

包含由序列辨識號28所組成的胺基酸序列的HVR-L3。

【0142】 在這些組合中，HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的胺基酸序列的組合較佳選自由以下四個組成所組成的群組，因為這四者具有較低的免疫原性潛力和較低的誘導例如PBMC之免疫細胞形態變化的潛力；

3) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、

包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、

包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、

包含由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的HVR-L1、

包含由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和

包含由序列辨識號24所組成的胺基酸序列的HVR-L3；

5) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、

包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號16所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號21所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號25所組成的胺基酸序列的HVR-L3；
8) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號18所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號19所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號27所組成的胺基酸序列的HVR-L3；及
9) 包含由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的HVR-H1、
包含由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的HVR-H2、
包含由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的HVR-H3、
包含由序列辨識號18所組成的胺基酸序列的HVR-L1、
包含由序列辨識號22所組成的胺基酸序列的HVR-L2、和
包含由序列辨識號28所組成的胺基酸序列的HVR-L3。

【0143】 在一實施例中，重鏈可變區的胺基酸序列係選自由序列辨識號40、41、98、99和100所組成的胺基酸序列。在一實施例中，輕鏈可變區的胺基酸序列係選自由序列辨識號38、101、102、103、104、105和106所組成的胺基酸序列。在一較佳實施例中，重鏈可變區和輕鏈可變區的胺基酸序列的組合係選自由序列辨識號40和38、序列辨識號41和序列辨識號38、序列辨識號98和101、序列辨識號99和101、序列辨識號99和102、序列辨識號99和103、序列辨識號100和104、序列辨識號100和105、序列辨識號100和106所組成的胺基酸序

列的組合所組成的群組。

【0144】 在一實施例中，重鏈可變區的胺基酸序列係選自由序列辨識號98、99和100所組成的胺基酸序列。在一實施例中，輕鏈可變區的胺基酸序列係選自由序列辨識號101、102、103、104、105和106所組成的胺基酸序列。在一較佳實施例中，重鏈可變區和輕鏈可變區的胺基酸序列的組合係選自由序列辨識號98和101、序列辨識號99和101、序列辨識號99和102、序列辨識號99和103、序列辨識號100和104、序列辨識號100和105、序列辨識號100和106所組成的胺基酸序列的組合所組成的群組。

【0145】 (a6) 抗體恆定區

在一實施例中，單離抗體中的抗體恆定區涵蓋但不限於人類抗體的恆定區。人類抗體的恆定區可包含重鏈和輕鏈。人類抗體涵蓋但不限於人類IgG1。人類抗體較佳為人類IgG1。

【0146】 在一實施例中，與不具有下述至少一個胺基酸的單離抗體的結合能力相比，抗體恆定區包含至少一個可在酸性pH範圍內增加單離抗體對FcRn的結合能力的胺基酸。

【0147】 在實施例中，恆定區包含

- (a) 根據EU編號，第434位的Ala；第438位的Glu、Arg、Ser或Lys；和第440位的Glu、Asp或Gln位於440位；
- (b) 根據EU編號，第434位的Ala；第438位的Arg或Lys；和第440位的Glu或Asp；
- (c) 根據EU編號，第428位的Ile或Leu；第434位的Ala；第436位的Ile、Leu、Val、Thr或Phe；第438位的Glu、Arg、Ser或Lys；和第440位的Glu、Asp或Gln；
- (d) 根據EU編號，第428位的Ile或Leu；第434位的Ala；第436位的Ile、Leu、Val、Thr或Phe；第438位的Arg或Lys；和第440位的Glu或Asp；
- (e) 根據EU編號，第428位的Leu；第434位的Ala；第436位的Val或Thr；第438位

的Glu、Arg、Ser或Lys；和第440位的Glu、Asp或Gln；或

(f) 根據EU編號，第428位的Leu；第434位的Ala；第436位的Val或Thr；第438位的Arg或Lys；和第440位的Glu或Asp。

【0148】 WO2013/046704 具體地報告了根據EU編號的Q438R/S440E、Q438R/S440D、Q438K/S440E和Q438K/S440D的雙胺基酸殘基取代，當其與在酸性條件下可增加FcRn結合的胺基酸取代組合時，其導致類風濕性因子的結合顯著減少。

【0149】 在實施例中，恆定區較佳地包含選自由以下所組成的胺基酸取代的組合：

(I) 根據EU編號，(a) N434A/Q438R/S440E；(b) N434A/Q438R/S440D；(c) N434A/Q438K/S440E；(d) N434A/Q438K/S440D；(e) N434A/Y436T/Q438R/S440E；(f) N434A/Y436T/Q438R/S440D；(g) N434A/Y436T/Q438K/S440E；(h) N434A/Y436T/Q438K/S440D；(i) N434A/Y436V/Q438R/S440E；(j) N434A/Y436V/Q438R/S440D；(k) N434A/Y436V/Q438K/S440E；(l) N434A/Y436V/Q438K/S440D；(m) N434A/R435H/F436T/Q438R/S440E；(n) N434A/R435H/F436T/Q438R/S440D；(o) N434A/R435H/F436T/Q438K/S440E；(p) N434A/R435H/F436T/Q438K/S440D；(q) N434A/R435H/F436V/Q438R/S440E；(r) N434A/R435H/F436V/Q438R/S440D；(s) N434A/R435H/F436V/Q438K/S440E；(t) N434A/R435H/F436V/Q438K/S440D；(u) M428L/N434A/Q438R/S440E；(v) M428L/N434A/Q438R/S440D；(w) M428L/N434A/Q438K/S440E；(x) M428L/N434A/Q438K/S440D；(y) M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E；(z) M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440D；(aa) M428L/N434A/Y436T/Q438K/S440E；(ab) M428L/N434A/Y436T/Q438K/S440D；(ac)

- M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440E ; (ad)
- M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440D ; (ae)
- M428L/N434A/Y436V/Q438K/S440E ; (af)
- M428L/N434A/Y436V/Q438K/S440D ; (ag)
- L235R/G236R/S239K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E ; (ah)
- L235R/G236R/A327G/A330S/P331S/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E ; 或
- (II) 根據EU編號，(a) N434A/Q438R/S440E ; (b) N434A/Y436T/Q438R/S440E ; (c) N434A/Y436V/Q438R/S440E ; (d) M428L/N434A/Q438R/S440E ; (e) M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E ; (f) M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440E ; (g) L235R/G236R/S239K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E ; 和 (h) L235R/G236R/A327G/A330S/P331S/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E 。

【0150】 在另一實施例中，恆定區較佳地包含至少一個選自由第428位的白胺酸(leucine)、第434位的丙胺酸(alanine)和第436位的蘇胺酸(threonine)(所有編號均根據EU編號系統)所組成的群組。在實施例中，恆定區更佳地包含在428位的白胺酸、在434位的丙胺酸和在436位的蘇胺酸(所有編號均根據EU編號系統)所組成的群組。

【0151】 在一實施例中，與第二參考抗體的結合能力相比，恆定區包含至少一個可在中性pH範圍內增加單離抗體對Fc gamma受體的結合能力的胺基酸。

【0152】 在實施例中，恆定區較佳地包含至少一或多個選自以下的胺基酸：根據EU編號之恆定區位中的
Lys或Tyr於第221位胺基酸；
Phe、Trp、Glu和Tyr中之一者於第222位胺基酸；
Phe、Trp、Glu和Lys中之一者於第223位胺基酸；
Phe、Trp、Glu和Tyr中之一者於第224位胺基酸；

Glu、Lys和Trp中之一者於第225位胺基酸；

Glu、Gly、Lys和Tyr中之一者於第227位胺基酸；

Glu、Gly、Lys和Tyr中之一者於第228位胺基酸；

Ala、Glu、Gly和Tyr中之一者於第230位胺基酸；

Glu、Gly、Lys、Pro和Tyr中之一者於第231位胺基酸；

Glu、Gly、Lys和Tyr中之一者於第232位胺基酸；

Ala、Asp、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第233位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第234位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第235位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Phe、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第236位胺基酸；

Asp、Glu、Phe、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第237位胺基酸；

Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第238位胺基酸；

Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第239位胺基酸；

Ala、Ile、Met和Thr中之一者於第240位胺基酸；

Asp、Glu、Leu、Arg、Trp和Tyr中之一者於第241位胺基酸；

Leu、Glu、Leu、Gln、Arg、Trp和Tyr中之一者於第243位胺基酸；

His於第244位胺基酸；

Ala於第245位胺基酸；

Asp、Glu、His和Tyr中之一者於第246位胺基酸；

Ala、Phe、Gly、His、Ile、Leu、Met、Thr、Val和Tyr中之一者於第247位胺基酸；

Glu、His、Gln和Tyr中之一者於第249位胺基酸；

Glu或Gln於第250位胺基酸；

Phe於第251位胺基酸；

Phe、Met和Tyr中之一者於第254位胺基酸；

Glu、Leu和Tyr中之一者於第255位胺基酸；

Ala、Met和Pro中之一者於第256位胺基酸；

Asp、Glu、His、Ser和Tyr中之一者於第258位胺基酸；

Asp、Glu、His和Tyr中之一者於第260位胺基酸；

Ala、Glu、Phe、Ile和Thr中之一者於第262位胺基酸；

Ala、Ile、Met和Thr中之一者於第263位胺基酸；

Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Ser、

Thr、Trp和Tyr中之一者於第264位胺基酸；

Ala、Leu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Ser、

Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第265位胺基酸；

Ala、Ile、Met和Thr中之一者於第266位胺基酸；

Asp、Glu、Phe、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Thr、Val、

Trp和Tyr中之一者於第267位胺基酸；

Asp、Glu、Phe、Gly、Ile、Lys、Leu、Met、Pro、Gln、Arg、Thr、Val和Trp中之一者於第268位胺基酸；

Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第269位胺基酸；

Glu、Phe、Gly、His、Ile、Leu、Met、Pro、Gln、Arg、Ser、Thr、Trp和Tyr中之一者於第270位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第271位胺基酸；

Asp、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Pro、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第272位胺基酸；

Phe或Ile於第273位胺基酸；

Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Leu、Met、Asn、Pro、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第274位胺基酸；

Leu或Trp於第275位胺基酸；

Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Leu、Met、Pro、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第276位胺基酸；

Asp、Glu、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Ser、Thr、Val和Trp中之一者於第278位胺基酸；

Ala於第279位胺基酸；

Ala、Gly、His、Lys、Leu、Pro、Gln、Trp和Tyr中之一者於第280位胺基酸；

Asp、Lys、Pro和Tyr中之一者於第281位胺基酸；

Glu、Gly、Lys、Pro和Tyr中之一者於第282位胺基酸；

Ala、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Pro、Arg和Tyr中之一者於第283位胺基酸；

Asp、Glu、Leu、Asn、Thr和Tyr中之一者於第284位胺基酸；

Asp、Glu、Lys、Gln、Trp和Tyr中之一者於第285位胺基酸；

Glu、Gly、Pro和Tyr中之一者於第286位胺基酸；

Asn、Asp、Glu和Ty中之一者於第288位胺基酸；

Asp、Gly、His、Leu、Asn、Ser、Thr、Trp和Tyr中之一者於第290位胺基酸；

Asp、Glu、Gly、His、Ile、Gln和Thr中之一者於第291位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Pro、Thr和Tyr中之一者於第292位胺基酸；

Phe、Gly、His、Ile、Leu、Met、Asn、Pro、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第293位胺基酸；

Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第294位胺基酸；

Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Met、Asn、Pro、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第295位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Gln、Arg、Ser、Thr和Val中之一者於第296位胺基酸；

Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Pro、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第297位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Phe、His、Ile、Lys、Met、Asn、Gln、Arg、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第298位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Ser、Val、Trp和Tyr中之一者於第299位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Ser、Thr、Val和Trp中之一者於第300位胺基酸；

Asp、Glu、His和Tyr中之一者於第301位胺基酸；

Ile於第302位胺基酸；

Asp、Gly和Tyr中之一者於第303位胺基酸；

Asp、His、Leu、Asn和Thr中之一者於第304位胺基酸；

Glu、Ile、Thr和Tyr中之一者於第305位胺基酸；

Ala、Asp、Asn、Thr、Val和Tyr中之一者於第311位胺基酸；

Phe於第313位胺基酸；

Leu於第315位胺基酸；

Glu或Gln於第317位胺基酸；

His、Leu、Asn、Pro、Gln、Arg、Thr、Val和Tyr中之一者於第318位胺基酸；

Asp、Phe、Gly、His、Ile、Leu、Asn、Pro、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第320位胺基酸；

Ala、Asp、Phe、Gly、His、Ile、Pro、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第322位胺基酸；

Ile於第323位胺基酸；

Asp、Phe、Gly、His、Ile、Leu、Met、Pro、Arg、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第324位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Pro、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第325位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Gly、Ile、Leu、Met、Asn、Pro、Gln、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第326位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Arg、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第327位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第328位胺基酸；

Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第329位胺基酸；

Cys、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第330位胺基酸；

Asp、Phe、His、Ile、Leu、Met、Gln、Arg、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第331位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Phe、Gly、His、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp和Tyr中之一者於第332位胺基酸；

Ala、Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Leu、Met、Pro、Ser、Thr、Val和Tyr中之一者於第333位胺基酸；

Ala、Glu、Phe、Ile、Leu、Pro和Thr中之一者於第334位胺基酸；

Asp、Phe、Gly、His、Ile、Leu、Met、Asn、Pro、Arg、Ser、Val、Trp和Tyr中之一者於第335位胺基酸；

Glu、Lys和Tyr中之一者於第336位胺基酸；

Glu、His和Asn中之一者於第337位胺基酸；

Asp、Phe、Gly、Ile、Lys、Met、Asn、Gln、Arg、Ser和Thr中之一者於第339位胺基酸；

Ala或Val於第376位胺基酸；

Gly或Lys於第377位胺基酸；

Asp於第378位胺基酸；

Asn於第379位胺基酸；

Ala、Asn和Ser中之一者於第380位胺基酸；

Ala或Ile於第382位胺基酸；

Glu於第385位胺基酸；

Thr於第392位胺基酸；

Leu於第396位胺基酸；

Lys於第421位胺基酸；

Asn於第427位胺基酸；

Phe或Ile於第428位胺基酸；

Met於第429位胺基酸；

Trp於第434位胺基酸；

Ile於第436位胺基酸；及

Gly、His、Ile、Leu和Tyr中之一者於第440位胺基酸。

【0153】 在實施例中，恆定區更佳地包含以下之至少一或多個
根據EU編號之恆定區位中的
第238位胺基酸的Asp和
第328位胺基酸的Glu中。

【0154】 在實施例中，恆定區更佳地包含以下胺基酸中的至少一者；酪胺酸(tyrosine)於第234位、色胺酸(tryptophan)於第235位、天冬醯胺酸(asparagine)於第236位、天冬胺酸(aspartic acid)於第238位、纈胺酸(valine)於第250位、異白胺酸(isoleucine)於第264位、天冬胺酸於第268位、白胺酸於第295位、脯胺酸(proline)於第307位、蘇胺酸於第326位和離胺酸(lysine)於第330位(所有編號均根據歐盟編號系統)。恆定區更佳地包含以下(a)或(b)的胺基酸；

(a) 色胺酸於第235位、天冬醯胺酸於第236位、天冬胺酸於第268位、白胺酸於第295位、蘇胺酸於第326位和離胺酸於第330位，或

(b) 酪胺酸於第234位、天冬胺酸於第238位、纈胺酸於第250位、異白胺酸於第264位、脯胺酸於第307位和離胺酸於第330位(所有編號均根據歐盟編號系統)。

【0155】 在一實施例中，藉由改變恆定區來增加單離抗體的等電點(isoelectric point, pI)。在實施例中，與其親本恆定區相比，具有增加的pI的單離抗體至少包含兩個胺基酸改變於恆定區中。在又一些實施例中，與親本恆定區的等電點相比，每個胺基酸改變均增加恆定區的等電點(pI)。在又一些實施例中，胺基酸可暴露在此區的表面上。在又一些實施例中，單離抗體包含恆定區

和抗原結合域。在又一些實施例中，抗原結合域的抗原結合活性根據離子濃度條件而變化。

【0156】 在又一些實施例中，本發明之具有增加的pI的恆定區包含至少兩個胺基酸改變選自由以下位置所組成的群組中至少兩個位置：285、311、312、315、318、333、335、337、341、342、343、384、385、388、390、399、400、401、402、413、420、422和431。在又一些實施例中，具有增加的pI的恆定區包含Arg或Lys於每個所選的位置上。

【0157】 在特定實施例中，具有增加的pI的恆定區包含精胺酸於第311位和精胺酸於第343位(兩個編號均根據EU編號系統)。

【0158】 在一實施例中，藉由改變重鏈可變區和/或輕鏈可變區來降低單離抗體的等電點(pI)。在實施例中，與其親本區相比，具有降低的pI的單離抗體包含至少一個胺基酸改變於重鏈可變區和/或輕鏈可變區中。這種藉由改變重鏈可變區和/或輕鏈可變區而降低的pI可有助於改善單離抗體的PK。

【0159】 在實施例中，與不具有下述至少一個胺基酸的人類抗體的恆定區相比，重鏈中的恆定區包含至少一個可降低與C1q的結合能力的胺基酸。當藉由這種胺基酸來減少單離抗體中的恆定區與C1q的不必要結合時，當單離抗體用於藥物治療時，避免導致不必要結合的副作用。例如在WO2014163101中顯示了減少抗體恆定區與C1q的結合的示例性胺基酸。在一具體實施例中，可降低與C1q結合能力的胺基酸是EU編號系統中第238位的Asp。

【0160】 在一實施例中，與如WO2014163101中所揭示之包含天然存在的IgG抗體恆定區的單離抗體相比，可降低單離抗體中恆定區對所有活化Fc gamma的R，特別是Fc gamma RIIa (R型)，的結合活性，同時維持它們的Fc gamma RIIb結合活性。在經由Fc gamma RIIb來消除免疫複合物的性質維持與天然存在的IgG中相似的程度的條件下，藉由恆定區的這種結合活性，可能增強由Fc γ RIIb的

ITIM(免疫受體酪胺酸抑制模體(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif))的磷酸化所產生的發炎性免疫反應抑制訊號。再者，藉由賦予恆定區選擇性結合至Fc gamma RIIb的性質，可抑制抗抗體的產生。再者，藉由減少對活化Fc gamma的R的結合，可避免血小板上的Fc gamma RIIa與免疫複合物之間的交互作用所調節的血小板活化和由活化Fc gamma的R的交聯引起的樹突細胞活化。

【0161】 在實施例中，與沒有下述胺基酸的人類抗體的恆定區相比，重鏈中的恆定區包含至少一個可選擇性結合至Fc gamma RIIb的胺基酸。在實施例中，重鏈中的恆定區對人類Fc gamma RIIa的恆定區的KD值與對人類Fc gamma RIIb的KD值的比值($KD(hFc\ gamma\ RIIa) / KD(hFc\ gamma\ RIIb)$)高於沒有所述至少一個胺基酸的人類抗體區的恆定區的比值。例如在WO2014163101中顯示出具有選擇性結合至Fc gamma RIIb的性質的恆定區中的示例性胺基酸。在一特定實施例中，重鏈中的恆定區包含EU編號系統中第234位的Tyr、EU編號系統中第238位的Asp、EU編號系統中264位的Ile和EU編號系統中第330位的Lys。

【0162】 在一具體實施例中，重鏈中的恆定區包含至少一者選自由EU編號系統中第214位的Arg、EU編號系統中第250位的Val、EU編號系統中第307位的Pro、EU編號系統中第311位的Arg、EU編號系統中第343位的Arg、EU編號系統中第428位的Leu、EU編號系統中第434位的Ala、EU編號系統中第436位的Thr、EU編號系統中第438位的Arg和EU編號系統中第440位的Glu所組成的群組。在一較佳實施例中，重鏈中的恆定區包含至少一者選自由EU編號系統中第214位的Arg、EU編號系統中第234位的Tyr、EU編號系統中第238位的Asp、EU編號系統中第250位的Val、EU編號系統中第264位的Ile、EU編號系統中第307位的Pro、EU編號系統中第311位的Arg、EU編號系統中第330位的Lys、EU編號系統中第343位的Arg、EU編號系統中第428位的Leu、EU編號系統中第434位的Ala、EU編號系統中第436位的Thr、EU編號系統中第438位的Arg和EU編號系統

中第440位的Glu所組成的群組。在又一較佳實施例中，重鏈中的恆定區包含EU編號系統中第214位的Arg、EU編號系統中第234位的Tyr、EU編號系統中第238位的Asp、EU編號系統中第250位的Val，EU編號系統中第264位的Ile、EU編號系統中第307位的Pro、EU編號系統中第311位的Arg、EU編號系統中第330位的Lys、EU編號系統中第343位的Arg、EU編號系統中第428位的Leu、EU編號系統中第434位的Ala、EU編號系統中第436位的Thr、EU編號系統中第438位的Arg和EU編號系統中第440位的Glu。當這些實施例中的胺基酸與上述抗原結合區組合時，單離抗體具有較低的免疫原性潛力和/或較低的誘導例如PBMC之免疫細胞形態變化的潛力。

【0163】 在一實施例中，可去除重鏈恆定區的C-末端離胺酸(EU編號系統中第447位)或C-末端甘胺酸-離胺酸(EU編號系統中第446和447位)，以減少所產生的單離抗體中的異質性，如WO2009041613中所揭示。在一較佳實施例中，恆定區中之EU編號系統中第446和447位的胺基酸被刪除。

【0164】 Fc區變異體

(清掃技術(Sweeping technology))

在某些實施例中，可將一或多個胺基酸修飾導入至本文所提供的抗體的Fc區中，從而產生Fc區變異體。Fc區變異體可包括包含了胺基酸修飾(例如取代)於一或多個胺基酸位置的人類Fc區序列(例如人類IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc區)。在一些實施例中，Fc區是人類IgG1的Fc區。

【0165】 為了增強血漿抗原濃度的降低和/或改善抗體的藥物動力學，可修飾在IgG的Fc區中與FcRn結合的位置的胺基酸殘基，以增強其被細胞攝取。當具有pH依賴性的抗體以此方式修飾時，此突變體將是「清掃」抗體，可更牢固地結合至FcRn，且使抗原有效率地轉移至胞內體中(pH為酸性)然後降解，但本身可更有效率地回收至細胞表面。與沒有修飾的原始(親本)抗體相比，這種經過

修飾的「清掃」抗體可以在中性pH值和細胞表面牢固結合FcRn，並增強抗原的攝取和降解。(Semin Immunopathol. 2018; 40(1): 125-140)。

【0166】 在一些面向中，抗體包含在Fc區中具有至少一個胺基酸修飾，以增強血漿抗原濃度的降低和/或改善抗體的藥物動力學的Fc區。

【0167】 在一些實施例中，Fc區是對活化性Fc gamma受體具有比天然人類IgG1的Fc區的結合活性還強的人類Fc區。如在例如WO 2013/047752中所述，為了增強對活化性Fc gamma受體的結合活性，可將一或多個選自由在Fc區中第221、222、223、224、225、227、228、230、231、232、233、234、235、236、237、238、239、240、241、243、244、245、246、247、249、250、251、254、255、256、258、260、262、263、264、265、266、267、268、269、270、271、272、273、274、275、276、278、279、280、281、282、283、284、285、286、288、290、291、292、293、294、295、296、297、298、299、300、301、302、303、304、305、311、313、315、317、318、320、322、323、324、325、326、327、328、329、330、331、332、333、334、335、336、337、339、376、377、378、379、380、382、385、392、396、421、427、428、429、434、436和440位(EU編號)胺基酸所組成的群組的胺基酸修飾成不同於為親本(原始)抗體的天然人類IgG1的Fc區中相對應位置的胺基酸。

【0168】 在一些實施例中，Fc區是對抑制性Fc gamma受體具有比對活化性Fc gamma受體的結合活性還強的人類Fc區。如在例如WO 2013/12566中所述，為了增強對抑制性Fc gamma受體的結合活性，可將一或多個選自由在Fc區中第244、245、249、250、251、252、253、254、255、256、257、258、260、262、265、270、272、279、283、285、286、288、293、303、305、307、308、309、311、312、314、316、317、318、332、339、340、341、343、356、360、362、375、376、377、378、380、382、385、386、387、388、389、400、413、415、

423、424、427、428、430、431、433、434、435、436、438、439、440、442和447位(EU編號)的胺基酸所組成的群組的胺基酸修飾成不同於天然人類IgG1的Fc區中相對應位置的胺基酸。

【0169】 在一些實施例中，Fc區是在中性pH下對FcRn具有比天然人類IgG1的Fc區的結合活性還強的人類Fc區。如在例如WO 2011/122011中所述，為了增強在中性pH下對FcRn的結合活性，可將一或多個選自由在Fc區中第237、238、239、248、250、252、254、255、256、257、258、265、270、286、289、297、298、303、305、307、308、309、311、312、314、315、317、325、332、334、360、376、380、382、384、385、386、387、389、424、428、433、434和436位(EU編號)的胺基酸所組成的群組的胺基酸修飾成不同於天然人類IgG1的Fc區中相對應位置的胺基酸。

【0170】 在某些實施例中，本發明考量到擁有一些但不是全部效應子功能的抗體變異體，這使其成為用於應用的理想候選者，其中抗體的生物體內半衰期很重要，但某些效應子功能(例如補體和ADCC)是不必要或有害的。可進行生物體外和/或生物體內細胞毒性測定法，以確認CDC和/或ADCC活性的降低/消耗。例如，可進行Fc受體(FcR)結合測定法以確保抗體缺乏Fc gamma R結合(因此可能缺乏ADCC活性)，但是保留FcRn結合能力。調節ADCC、NK細胞的初代細胞(primary cell)僅表現Fc gamma RIII，而單核細胞表現Fc gamma RI、Fc gamma RII和Fc gamma RIII。於Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)的第464頁的表3中總結了造血細胞上的FcR表現。評價感興趣的分子的ADCC活性的體外測定法的非限制性範例描述於美國專利號5,500,362中(參閱例如，Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986))和Hellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985)；5,821,337 (參閱Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987))。或者，可採用非放射性測定法(參閱

例如，用於流式細胞術的 ACT1(註冊商標)非放射性細胞毒性測定法(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA；和CytoTox 96(註冊商標)非放射性細胞毒性測定法(Promega, Madison, WI))。用於此類測定法之有用的效應子細胞包含周邊血液單核細胞(peripheral blood mononuclear cell，PBMC)和自然殺手(Natural Killer，NK)細胞。或者或此外，可在生物體內例如如Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998)中所揭露的動物模型中，評價感興趣的分子的ADCC活性。亦可進行C1q結合測定法，以確認抗體無法結合C1q，因此缺乏CDC活性。參閱例如，WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c結合ELISA。為了評價補體活化，可進行CDC測定測(參閱例如Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996)；Cragg, M.S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003)；和Cragg, M.S. and M.J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004))。亦可使用本發明所屬技術領域中已知的方法，來進行FcRn結合和生物體內清除/半衰期的判定(參閱例如，Petkova, S.B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006))。

【0171】 具有降低的效應子功能的抗體包含在Fc區殘基238、265、269、270、297、327和329中具有一或多個取代的抗體(美國專利號6,737,056)。此種Fc突變體包含在第265、269、270、297和327位胺基酸中的兩或更多個具有取代的Fc突變體，其包含第265和297殘基取代為丙胺酸之所謂的「DANA」Fc突變體(美國專利號7,332,581)。

【0172】 描述了與FcR的結合增加或減少的某些抗體變異體。(參閱例如，美國專利號6,737,056；WO 2004/056312、和Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001))。

【0173】 在某些實施例中，抗體變異體包含具有一或多個改善ADCC之胺基酸取代的Fc區，例如Fc區的第298、333和/或334位的取代(殘基的EU編號)。

【0174】 在一些實施例中，例如如美國專利號6,194,551、WO 99/51642和

Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)中所述，在Fc區中進行導致C1q結合和/或補體依賴性細胞毒性(CDC)改變(即增加或減少)的改變，以及Idusogie等。J.免疫。164：4178-4184(2000)。

【0175】 於US2005 / 0014934A1(Hinton等人)中描述半衰期增加和與新生兒Fc受體(FcRn)的結合增加的抗體，其負責將母體IgG轉移至胎兒(Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) and Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994))描述。那些抗體包含其中具有一或多個增加Fc區對FcRn的結合取代的Fc區。此類Fc變異體包含在以下一或多個Fc區殘基具有取代的那些：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434，例如Fc區第434位殘基的取代(美國專利號7,371,826)。亦參閱關於Fc區變異體的其他實例的Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988)；美國專利號5,648,260；美國專利號5,624,821；和WO 94/29351。

【0176】 (a7) 另一些實施例

(抗體變異體)

在某些實施例中，考慮了本文提供的抗體的胺基酸序列變異體。例如，可能期望改善抗體的結合親和力和/或其他生物學性質。可藉由將適當的修飾導入至編碼抗體的核苷酸序列中或藉由胜肽合成，來製備抗體的胺基酸序列變異體。此類修飾包含例如，抗體的胺基酸序列內殘基的缺失和/或插入和/或取代。若是最終的構建體擁有所需的特徵例如抗原結合，可進行缺失、插入和取代的任何組合，以得到最終的構建體(construct)。

【0177】 a7-1) 取代、插入和缺失變異體

在某些實施例中，提供了具有一或多個胺基酸取代的抗體變異體。用於取代性突變誘發(substitutional mutagenesis)的感興趣的位置包含HVR和FR。在表1的「較佳取代」標題下顯示出保守取代。在表1的「示例性取代」的標題下提供

更實質性的變化，且如以下參考胺基酸側鏈類別所進一步描述。可將胺基酸取代導入至感興趣的抗體和篩選出所需活性的產物中，例如保留/改善的抗原結合、降低的免疫原性或改善的ADCC或CDC。

【0178】 [表1]

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

【0179】 可根據常見的側鏈性質，來將胺基酸分組：

- (1) 疏水性：正白胺酸(Norleucine)、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- (2) 中性親水：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- (3) 酸性：Asp、Glu；
- (4) 鹼性：His、Lys、Arg；

(5) 影響鏈方向的殘基：Gly、Pro；

(6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

非保守取代會需要將其中一個類別的成員交換成另一個類別。

【0180】 一種類型的取代變異體涉及取代親本抗體(例如人源化或人類抗體)的一或多個高度可變區殘基。通常，相對於親本抗體，選來用於進一步研究的所得變異體會在某些生物學特性方面具有修飾(例如增加的結合活性、降低的免疫原性)和/或大抵上會保留親本抗體的某些生物學性質。示例性取代的變異體是結合活性成熟的抗體，其可例如使用基於噬菌體展示的結合活性成熟技術例如本文所述的那些，而方便地產生。簡而言之，將一或多個HVR殘基突變，且在噬菌體上展示變異體抗體並篩選特定的生物學性質(例如結合活性)。

【0181】 可在HVR中進行改變(例如取代)，例如以改善抗體結合活性。這樣的改變可在HVR「熱點」中進行，即由在體細胞成熟過程中以高頻發生突變的密碼子所編碼的殘基(參閱例如Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008))、和/或與抗原接觸的殘基，其中測試所得的變異體VH或VL的結合活性。例如，在Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))中，已描述了藉由構建和從二級庫中再選擇而產生的結合活性成熟。在結合活性成熟的一些實施例中，藉由各種方法(例如，易錯PCR、鏈改組或寡核苷酸定向突變誘發)中的任何一者，將多樣性導入至被選來成熟的可變基因中。然後創建二級庫。然後篩選此資料庫以鑑定出具有期望的結合活性的任何抗體變異體。將多樣性導入的另一方法涉及HVR定向方法，其中幾個HVR殘基(例如一次4至6個殘基)是隨機的。可例如使用丙胺酸掃描突變誘發或建模，來特異性地鑑定出涉及抗原結合的HVR殘基。特別經常以CDR-H3和CDR-L3為目標。

【0182】 在某些實施例中，可在一或多個HVR內發生取代、插入或缺失，

第 87 頁，共 138 頁(發明說明書)

只要這樣的改變大抵上不降低抗體結合抗原的能力。例如，可在HVR中進行大抵上不降低結合活性的保守改變(例如，本文提供的保守取代)。這樣的改變可例如在HVR中的抗原接觸殘基之外。在上文提供的變異VH和VL序列的某些實施例中，每個HVR未被改變，或含有不超過一、二或三個胺基酸取代。

【0183】 如Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085所述，用於鑑定可靶向為突變誘發的抗體的殘基或區域的有用方法稱為「丙胺酸掃描突變誘發」。在此方法中，鑑定出目標殘基或一群目標殘基(例如帶電殘基，例如Arg、Asp、His、Lys和Glu)，且用中性或帶負電的胺基酸(例如丙胺酸或聚丙胺酸)替換，以判定抗體與抗原的交互作用是否受到影響。可在對初始取代展現出功能敏感性的胺基酸位置將其它取代導入。或者或此外，可分析抗原-抗體複合體的晶體結構，以鑑定出抗體和抗原之間的接觸點。這樣的接觸殘基和鄰近殘基可被靶向或消除作為取代的候選物。可篩選變異體以判定它們是否含有期望的性質。

【0184】 胺基酸序列插入包含從一個殘基至含有一百或更多個殘基的多肽的長度範圍內的胺基和/或羧基末端融合，以及單一或多個胺基酸殘基的序列內插入。末端插入的範例包含具有N末端甲硫醯基殘基的抗體。抗體分子的其他插入變異體包含酵素(例如用於ADEPT)或增加抗體的血漿半衰期的多肽融合至抗體的N或C末端。

【0185】 a7-2) 糖基化變異體

在某些實施例中，改變本文提供的抗體以增加或減少抗體糖基化的程度。可藉由改變胺基酸序列來方便地實現對抗體中糖基化位的添加或缺失，以產生或去除一或多個糖基化位。

【0186】 當抗體包含Fc區時，與其相連的碳水化合物可被改變。由哺乳類細胞產生的天然抗體通常包含通常經N-鏈接(linkage)連接至Fc區的CH2域的

Asn297的分支的雙觸角寡糖。參閱例如Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997)。寡糖可包含各種碳水化合物例如，甘露糖(mannose)、N-乙醯葡萄糖胺(N-acetyl glucosamine, GlcNAc)、半乳糖和唾液酸、以及在雙觸角寡糖結構的「主幹(stem)」中連接至GlcNAc的岩藻糖(fucose)。在一些實施例中，可對本發明的抗體中的寡糖進行修飾，以產生具有某些改善的性質的抗體變異體。

【0187】 在一實施例中，提供了具有缺少(直接或間接)連接至Fc區的岩藻糖的碳水化合物結構的抗體變異體。例如，此類抗體中的岩藻糖量可為1%至80%、1%至65%、5%至65%或20%至40%。例如，如WO 2008/077546中所述，相對於藉由MALDI-TOF質譜法來測量的連接至Asn 297的所有糖結構(例如，複合、混合(hybrid)和高甘露糖結構)的總和，藉由計算在Asn297的糖鏈內的岩藻糖平均量，來判定岩藻糖量。Asn297是指位於Fc區中約第297位的天冬醯胺酸(asparagine)殘基(Fc區殘基的EU編號)；然而，由於抗體中的微小序列變化，Asn297也可位於約第297位的上游或下游約 ± 3 個胺基酸，即在第294和300位之間。這樣的岩藻糖基化變異體可具有改善的ADCC功能。參閱例如，美國專利公開號US 2003/0157108 (Presta, L.)；US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。與「去岩藻糖基化」或「岩藻糖缺乏的」抗體變異體有關的公開物的範例包含：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004)；Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)。能夠產生去岩藻糖基化抗體的細胞系的範例包含缺乏蛋白質岩藻糖基化的Lec13 CHO細胞(Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986)；美國專利申請號US 2003/0157108 A1, Presta, L；和WO 2004/056312 A1, Adams et

al.,尤其是實施例11)、及敲除細胞系例如alpha-1,6-岩藻糖基轉移酶基因、FUT8、敲除CHO細胞(參閱例如, Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006); 和WO2003/085107)。

【0188】 更提供抗體變異體一分為二的寡糖,例如其中連接至抗體的Fc區的雙觸角寡糖被GlcNAc一分為二。這樣的抗體變異體可具有減少的岩藻糖基化和/或改善的ADCC功能。例如於WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); 美國專利號6,602,684 (Umana et al.); 和US 2005/0123546 (Umana et al.)。亦提供了在寡糖中具有至少一個連接至Fc區的半乳糖殘基的抗體變異體。這樣的抗體變異體可具有改善的CDC功能。例如於WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); 和WO 1999/22764 (Raju, S.)中描述此類抗體變異體。

【0189】 a7-3) 經半胱胺酸工程化的抗體變異體

在某些實施例中,可能需要產生經半胱胺酸工程化的抗體,例如「thioMAb」,其中抗體的一或多個殘基被半胱胺酸殘基取代。在特定實施例中,經取代的殘基發生在抗體的可接近位置。藉由用半胱胺酸取代那些殘基,反應性硫醇基團因此定位於抗體的可接近位置,且可用於將抗體偶聯至其他部分例如藥物部分或連接子-藥物部分,以產生免疫偶聯物,如本文進一步所述。在某些實施例中,可用半胱胺酸取代以下任一或多個殘基:輕鏈的V205 (Kabat編號); 重鏈的A118 (EU編號); 和重鏈Fc區的S400 (EU編號)。可如例如美國專利號7,521,541中所述地,產生經半胱胺酸工程化的抗體。

【0190】 a7-4) 抗體衍生物

在某些實施例中,本文提供的抗體可被進一步修飾,以含有本發明所屬技術領域中已知且容易獲得的額外非蛋白質部分。適合抗體衍生化的部分包含但不限於水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性範例包含但不限於聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)、聚乙二醇(ethylene glycol)/聚丙二醇(propylene glycol)

的共聚物、羧甲基纖維素(carboxymethylcellulose)、葡聚糖(dextran)、聚乙烯醇(polyvinyl alcohol)、聚乙烯吡咯烷酮(polyvinyl pyrrolidone)、聚-1, 3-二氧戊環(poly-1, 3-dioxolane)、聚-1,3,6-三惡烷(poly-1,3,6-trioxane)、乙烯(ethylene)/馬來酸酐(maleic anhydride)共聚物、聚胺基酸(polyaminoacid)(同質聚合物或無規共聚物(random copolymer))和葡聚糖(dextran)或聚(正乙基吡咯烷酮)聚乙二醇(poly(n-vinyl pyrrolidone)polyethylene glycol)、聚丙二醇同質聚合物(polypropylene glycol homopolymer)、聚環氧丙烷(polypropylene oxide)/環氧乙烷(ethylene oxide)共聚物、聚氧乙烯多元醇(polyoxyethylated polyol)(例如甘油)、聚乙烯醇(polyvinyl alcohol)及前述之混合物。聚乙二醇丙醛(polyethylene glycol propionaldehyde)由於在水中的穩定性而在製造中可能具有優勢。聚合物可為任何分子量，且可為支鏈或無支鏈的。連接至抗體的聚合物的數量可以變化，且如果連接多於一種聚合物，則它們可為相同或不同的分子。通常可基於以下考慮因素，包含但不限於待改善的抗體的特定性質或功能、抗體衍生物是否會用於在定義的條件下的治療中等，來判定用於衍生化的聚合物的數量和/或類型。

【0191】 在另一實施例中，提供了可藉由暴露於輻射而選擇性加熱之抗體和非蛋白質部分的偶聯物。在一實施例中，非蛋白質部分是碳奈米管(Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005))。輻射可為任何波長，且包含但不限於不損害普通細胞但將非蛋白質部分加熱至殺死鄰近抗體-非蛋白質部分的細胞的溫度的波長。

【0192】 B. 重組方法及組合物

可使用重組方法和組合物來產生抗體，例如如美國專利號4,816,567中所述。在一實施例中，提供了編碼本文所述之抗C1s抗體的單離核酸。這樣的核酸可編碼包含抗體的VL的胺基酸序列和/或包含抗體的VH的胺基酸序列(例如抗體的輕鏈和/或重鏈)。在又一實施例中，提供了包含此類核酸的一或多種載體(例

如表現載體)。在又一實施例中，提供了包含此類核酸的宿主細胞。在一此類實施例中，宿主細胞包含(例如已經用以下所述轉形)：(1) 載體，其包含編碼包含抗體的VL的胺基酸序列和包含抗體的VH的胺基酸序列的核酸、或(2) 第一載體，其包含編碼包含抗體的VL的胺基酸序列的核酸及第二載體，其包含編碼包含抗體的VH的胺基酸序列的核酸。在一實施例中，宿主細胞是真核的，例如中國倉鼠卵巢(Chinese Hamster Ovary, CHO)細胞或類淋巴細胞(例如Y0、NS0、Sp2/0細胞)。在一實施例中，提供了一種製備抗C1s抗體的方法，其中此方法包含在適合表現抗體的條件下，培養包含如上所述之包含編碼抗體的核酸的宿主細胞，和視需要而定地從宿主細胞(或宿主細胞培養基)中回收抗體。

【0193】 為了重組產生抗C1s抗體，將如上所述之編碼抗體的核酸單離，且將其插入至一或多種載體中，以在宿主細胞中進一步選殖和/或表現。可使用常規流程(例如藉由使用能夠特異性結合至編碼抗體的重鏈和輕鏈的基因的寡核苷酸探針)輕易地將此類核酸單離和定序。

【0194】 用於選殖或表現編碼抗體的載體的合適宿主細胞包含本文所述的原核或真核細胞。例如，可在細菌中產生抗體，特別是在不需要糖基化和Fc效應子功能時。對於在細菌中表現抗體片段和多肽，參閱例如，美國專利號5,648,237、5,789,199和5,840,523。(亦參閱Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254，其描述了在大腸桿菌中表現抗體片段。)表現之後，可從細菌細胞糊的可溶級分中單離出抗體，且可進一步純化。

【0195】 除原核生物外，真核微生物例如絲狀真菌或酵母菌，也是編碼抗體的載體的合適選殖或表現宿主，包含其糖基化路徑已被「人源化」的真菌和酵母菌株，從而產生具有部分或完全人類糖基化模式的抗體。參閱Nat. Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004), and Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)。

【0196】 用於表現糖基化抗體的合適宿主細胞也衍生自多細胞有機體(無脊椎動物和脊椎動物)。無脊椎動物細胞的範例包含植物和昆蟲細胞。已鑑定出許多桿狀病毒株(baculoviral strain)，其可與昆蟲細胞結合使用，特別是用於節食斜紋夜蛾細胞(*Spodoptera frugiperda* cell)的轉染。

【0197】 植物細胞培養物也可作為宿主。參閱例如美國專利號5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978和6,417,429 (描述了在轉基因植物中產生抗體的PLANTIBODIES(註冊商標)科技)。

【0198】 脊椎動物細胞也可作為宿主。例如，適應在懸浮液中生長的哺乳類細胞可能是有用的。有用的哺乳類宿主細胞系的其他範例是由SV40 (COS-7)轉形的猴腎CV1系；人類胚胎腎細胞系(293或293細胞，如Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)中所述)；嬰兒倉鼠腎細胞(baby hamster kidney cell, BHK)；小鼠史托利細胞(mouse sertoli cell)(TM4細胞，例如Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)中描述)；猴腎細胞(CV1)；非洲綠猴腎細胞(VERO-76)；人類子宮頸癌細胞(HELA)；犬腎細胞(MDCK)；水牛大鼠肝細胞(BRL 3A)；人類肺細胞(W138)；人類肝細胞(Hep G2)；小鼠乳腺腫瘤(MMT 060562)；TRI細胞，例如Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)中所述；MRC 5細胞；和FS4細胞。其他有用的哺乳類宿主細胞系包含中國倉鼠卵巢(Chinese hamster ovary, CHO)細胞，其包含DHFR⁻ CHO細胞(Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980))；和骨髓瘤細胞系例如Y0、NS0和Sp2/0。適合產生抗體的某些哺乳類宿主細胞系的回顧，參閱例如Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)。

【0199】 可藉由使用篩選方法和/或突變誘發方法例如如WO 2009/125825中所述，來獲得具有pH依賴性特徵的抗體。篩選方法可包含可在對特定抗原具有特異性的抗體群中，鑑定出具有pH依賴性結合特徵的抗體的任何步驟。在某

些實施例中，篩選方法可包含在酸性pH和中性pH兩者下，測量初始抗體群內個別抗體的一或多個結合參數(例如KD或kd)。可使用例如表面電漿共振、或允許定量或定性評價抗體對特定抗原的結合特徵的任何其他分析方法，來測量抗體的結合參數。在某些實施例中，篩選方法可包含鑑定出以2或更大的酸性KD/中性KD比值結合至抗原的抗體。或者，篩選方法可包含鑑定出以2或更大的酸性kd/中性kd比值結合至抗原的抗體。

【0200】 在另一實施例中，突變誘發方法可包含在抗體的重鏈和/或輕鏈內胺基酸的缺失、取代或添加，以增強抗體對抗原的pH依賴性結合。在某些實施例中，可在抗體的一或多個可變域內例如在一或多個HVR(例如CDR)內進行突變誘發。例如，突變誘發可包含將抗體的一或多個HVR(例如CDR)內的胺基酸取代為另一胺基酸。在某些實施例中，突變誘發可包含用組胺酸取代抗體的至少一個HVR(例如CDR)中的一或多個胺基酸。在某些實施例中，「增強的pH依賴性結合」是指抗體的突變形式比突變誘發之前抗體的原始「親本」(即較低的pH依賴性)形式展現出更大的酸性KD/中性KD比值、或更大的酸性kd/中性kd比值。在某些實施例中，抗體的突變形式具有2或更大的酸性KD/中性KD比值。或者，抗體的突變形式具有2或更大的酸性kd/中性kd比值。

【0201】 藉由多次皮下(subcutaneous, sc)或腹膜內(intraperitoneal, ip)注射相關抗原和佐劑，以在動物中產生多株抗體。使用雙功能或衍生劑例如馬來醯亞胺基苯甲基醯磺基琥珀醯亞胺酯(maleimidobenzoyl sulfosuccinimide ester)(透過半胱胺酸殘基偶聯)、N-羥基琥珀醯亞胺(N-hydroxysuccinimide)(透過離胺酸殘基偶聯)、戊二醛(glutaraldehyde)、琥珀酸酐(succinic anhydride)、SOCl₂或R₁N=C=NR，其中R和R₁是不同的烷基基團，來將相關抗原偶聯至待免疫的物種中具有免疫原性的蛋白質，例如鎖孔血藍蛋白(keyhole limpet hemocyanin)、血清白蛋白(serum albumin)、牛甲狀腺球蛋白(bovine thyroglobulin)或大豆胰蛋白酶

抑制劑(soybean trypsin inhibitor)，可能是有用。

【0202】 藉由將例如100 micro g或5 micro g的蛋白質或偶聯物(分別用於兔或小鼠)與3倍體積的弗氏完全佐劑(Freund's complete adjuvant)組合且在多個位置皮內注射溶液，使動物(通常是非人類哺乳動物)針對抗原、免疫原性偶聯物或衍生物進行免疫。一個月後，藉由在多個位置皮下注射，以配製在弗氏完全佐劑中之胜肽或偶聯物的原始量的1/5至1/10，來加強動物的免疫反應(boost animal)。7至14天後，將動物放血，且測定血清的抗體力價(antibody titer)。加強動物的免疫反應直到力價穩定(titer plateaus)。較佳地，用相同抗原的偶聯物來加強動物的免疫反應，但偶聯至不同的蛋白質和/或透過不同的交聯劑。亦可在重組細胞培養物中，製備偶聯物為蛋白融合物。而且，聚集劑例如明礬適合用於增強免疫反應。

【0203】 從大抵上均質的抗體群中獲得單株抗體，即組成此群體的個別抗體是相同的，除了只是可少量存在之可能天然存在的突變和/或後轉譯修飾(例如異構化、醯胺化)。因此，修飾語「單株」是指抗體的特徵不是離散抗體(discrete antibody)的混合物。

【0204】 例如，可使用首先由Kohler et al., Nature 256(5517):495-497 (1975)描述的雜交瘤方法，來製備單株抗體。在雜交瘤方法中，如上文所述地來免疫小鼠或其他合適的宿主動物例如倉鼠，以引發產生或能夠產生會特異性結合至用於免疫的蛋白質的抗體的淋巴細胞。或者，可在生物體外免疫淋巴細胞。

【0205】 免疫劑通常會包含抗原性蛋白或其融合變異體。通常，如果需要人類來源的細胞，則使用周邊血液淋巴細胞(peripheral blood lymphocyte, PBL)，或者如果需要非人類哺乳動物來源，則使用脾細胞或淋巴結細胞。然後使用合適的融合劑例如聚乙二醇，將淋巴細胞與永生化細胞系融合以形成雜交瘤細胞 (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press (1986), pp.

第 95 頁，共 138 頁(發明說明書)

2125-18654PF-TW

59-103)。

【0206】 永生化細胞系通常是轉形的哺乳動物細胞，特別是嚙齒動物、牛和人來源的骨髓瘤細胞。通常，使用大鼠或小鼠骨髓瘤細胞系。將由此製備的雜交瘤細胞接種，並在較佳地含有一或多種抑制未融合的親代骨髓瘤細胞的生長或存活的物質之合適的培養基中生長。例如，如果親代骨髓瘤細胞缺乏酵素次黃嘌呤鳥嘌呤磷酸核糖基轉移酶(hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase，HGPRT或HPRT)，則雜交瘤的培養基通常會包含次黃嘌呤、胺基蝶呤(aminopterin)和胸苷(thymidine)(HAT培養基)，它們是防止HGPRT缺乏細胞生長的物質。

【0207】 較佳的永生化骨髓瘤細胞是有效率地融合、支持由所選的抗體產生細胞所穩定高程度產生的抗體、且為對例如HAT培養基的培養基敏感的細胞。其中，較佳的是鼠類骨髓瘤細胞系，例如衍生自可從Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California USA獲得的MOPC-21和MPC-11小鼠腫瘤及(及其衍生物，例如 X63-Ag8-653)可從American Type Culture Collection, Manassas, Virginia USA獲得的SP-2細胞的那些。亦已描述了用於產生人類單株抗體的人類骨髓瘤和小鼠-人異源骨髓瘤細胞系(Kozbor et al. J. Immunol. 133(6):3001-3005 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 51-63 (1987))。

【0208】 測定雜交瘤細胞所生長的培養基中針對抗原的單株抗體的產生。較佳地，藉由免疫沉澱法或藉由生物體外結合測定法，例如放射免疫測定法(RIA)或酵素連結免疫吸附測定法(enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA)，來判定雜交瘤細胞所產生的單株抗體的結合特異性。這樣的技術和測定法是本發明所屬技術領域中已知的。例如，可以通過Munson, Anal. Biochem. 107(1):220-239 (1980)的Scatchard分析，來判定結合親和力。

第 96 頁，共 138 頁(發明說明書)

2125-18654PF-TW

【0209】 在鑑定出產生所需的特異性、親和力和/或活性的抗體的雜交瘤細胞之後，可藉由限制稀釋流程，將選殖體次選殖並藉由標準方法使其生長(Goding, 同上)。用於此目的之合適的培養基包含例如D-MEM或RPMI-1640培養基。此外，在哺乳動物中，雜交瘤細胞可在生物體內作為腫瘤生長。

【0210】 藉由常規免疫球蛋白純化流程例如蛋白A-Sepharose、羥磷灰石層析法(hydroxyapatite chromatography)、膠體電泳、透析或親和層析法，適當地將次選殖所分泌的單株抗體與培養基、腹水(ascites fluid)或血清分離。

【0211】 III. 測定法

可藉由本發明所屬技術領域中各種已知的測定法，來鑑定、篩選或特徵化(characterize)本文提供的抗C1s抗體的物理/化學性質和/或生物活性。

【0212】 A. 結合測定法和其他測定法

在一面向中，例如藉由已知方法如ELISA、西方墨點法等，來測試本發明的抗體的抗原結合活性。

【0213】 在另一面向中，競爭測定法可用於鑑定出與本文所述的任何抗C1s抗體競爭結合至C1s的抗體，或鑑定出與本文所述的任何抗C1s抗體結合至相同抗原決定基的抗體。在某些實施例中，當這樣的競爭性抗體過量存在時，其會阻斷(例如降低)參考抗體與C1s的結合至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或更多。在某些實施例中，這樣的競爭性抗體與本文所述的抗C1s抗體結合至相同抗原決定基(例如，線性抗原決定基或構型抗原決定基)。於Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ)中，提供了映射出(map)抗體所結合的抗原決定基的詳細示例性方法。映射出抗原決定基的方法包含但不限於X射線晶體學和丙胺酸掃描突變誘發法。在某些實施例中，可以在中性pH條件下進行這樣的競爭測定法。在一些實施例中，競爭測定法是使用例

如Octet (註冊商標)系統的串聯競爭測定法(tandem competition assay)。

【0214】 在一示例性競爭測定法中，將固定的C1s培養於包含結合至C1s的第一標記抗體(例如本文所述的那些之一)及測試與第一抗體競爭結合至C1s的能力的第二未標記抗體的溶液中。第二抗體可存在於雜交瘤上清液中。作為對照，將固定的C1s培養於包含第一標記抗體但不包含第二未標記抗體的溶液中。在允許第一抗體結合至C1s的條件下培養後，去除過多的未結合抗體，且測量與固定的C1s連接的標記物的量。如果在測試樣品中與固定的C1s連接的標記物的量相對於對照樣品中大抵上減少，則表示第二抗體正在與第一抗體競爭結合至C1s。參閱Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

【0215】 在另一面向中，可使用夾心測定法來鑑定出與本文提供之抗C1s抗體結合至相同抗原決定基的抗體或與本文提供之抗C1s抗體競爭與C1s競爭結合的抗體。夾心測定涉及使用兩種抗體，每種抗體均能結合至待檢測的蛋白質的不同免疫原性部分或抗原決定基。參閱David & Greene，美國專利號4,376,110。可用可檢測部分來標記第二抗體本身(直接夾心測定(direct sandwich assay))，或可使用用可檢測部分標記的抗免疫球蛋白抗體來測量(間接夾心測定(indirect sandwich assay))。例如，一類型的夾心測定法是ELISA測定法，在這種情況下，可檢測部分是酵素。與本文提供的抗C1s抗體同時結合至C1s的抗體可判定為與抗C1s抗體結合至不同抗原決定基的抗體。因此，與本文提供的抗C1s抗體不能同時結合至C1s的抗體可判定為與抗C1s抗體結合至相同抗原決定基或與抗C1s抗體競爭結合至C1s的抗體。

【0216】 B. 活性測定法

在一面向中，提供了用於鑑定出具有生物活性的抗C1s抗體的測定法。生物活性可包含阻斷經典途徑的活化和由所述途徑的活化產生的切割產物C2a、

C2b、C3a、C3b、C4a、C4b、C5a和C5b。亦提供了在生物體內和/或生物體外具有這種生物活性的抗體。

【0217】 在某些實施例中，測試本發明的抗體的這種生物活性。在一些實施例中，可評估本發明的抗體之抑制已被針對羊RBC抗原的抗體敏感化的羊紅血球細胞(RBC)的補體調節的溶血的能力，即使用RBC測定法。在一些實施例中，可評估本發明的抗體之抑制已被針對cRBC抗原的抗體敏感化之補體調節的雞紅血球細胞(cRBC)溶血的能力。使用人類血清作為補體蛋白的來源，可藉由測量透過分光光度法釋放的血紅蛋白的量，來判定本發明的抗體的活性。

【0218】 可使用已知方法例如J. Vis. Exp. 2010; (37): 1923中所揭露的方法適當地進行RBC測定法。本文描述了如何進行50%溶血補體(CH50)測定法作為RBC裂解測定法。簡而言之，此測定法測量經典補體途徑的活化，並檢測途徑中任何成分的減少、不存在或失活。它評價血清中補體成分之裂解紅血球細胞的活性。當抗體與測試血清一起培養時，此途徑被活化且引起溶血。如果經典途徑的一或多種成分減少，則CH50值減少。CH50測定法與本文實施例中使用的測定法並不完全相同，而是測量補體成分對細胞裂解的抑制百分比；然而，概念和基本設置與本發明大抵上相同。在一實施例中，如下進行RBC測定。將人類血清與感興趣的抗體一起預培養(例如在攝氏37度(C)下培養3小時)。然後將血清添加至等體積的敏感化羊紅血球細胞中且培養(例如在37度C下1小時)，以使紅血球細胞裂解。然後停止反應。將混合物離心以沉澱未溶解的細胞，並取出上清液，且415nm處的吸光度(OD)減去630nm處的OD用來分析血紅蛋白的釋放。為了計算紅血球細胞裂解的抑制百分比，將0%抑制設置為無添加抗體(僅緩衝液)的條件，將100%抑制設置為以5mM的終濃度添加EDTA的條件(參閱(例如實施例7)。當抗體顯示出紅血球細胞溶解的抑制百分比時，這意味著抗體對人類血清補體具有中和活性，例如抑制C1q和C1r2s2複合物之間的交互作用的活性。

【0219】 因此，RBC測定法可用於評估抗體對人類血清補體的中和活性，以評價抑制C1q與C1r2s2複合物之間的交互作用的活性。在一實施例中，本發明提供了抑制C1q和C1r2s2複合物之間的交互作用的單離抗體，其中抗體在RBC測定法中對人類血清補體具有至少70%的中和活性。

【0220】 C. 免疫原性潛力的評價

如WO2018/124005 (Kubo C.等人)中所述，在展現出主動增殖之前，藉由使用分泌IL-2的CD4⁺ T細胞的比例作為指標，來評估抗體的免疫原性潛力。具體地，從人類PBMC製備，CD8⁻CD25^{low} PBMC (周邊血液單核細胞)，且在抗體存在下將細胞培養67小時。

【0221】 IV. 免疫偶聯物(immunoconjugate)

本發明亦提供了免疫偶聯物，其包含偶聯至一或多種細胞毒殺劑例如化療劑或藥物、生長抑制劑、毒素(例如蛋白毒素、細菌、真菌、植物或動物來源的酵素活性毒素或其片段)或放射性同位素之本文抗C1s抗體。

【0222】 在一實施例中，免疫偶聯物是抗體藥物複合體(antibody-drug conjugate，ADC)，其中抗體偶聯至一或多個藥物，包含但不限於美登木素生物鹼(maytansinoid)(參閱美國專利號5,208,020、5,416,064和歐洲專利EP 0 425 235 B1)；澳瑞他汀(auristatin)，例如單甲基澳瑞他汀藥物部分DE和DF(MMAE和MMAF)(參閱美國專利5,635,483和5,780,588和7,498,298)；尾海兔素(dolastatin)；加利車黴素(calicheamicin)或其衍生物(參閱美國專利號5,712,374、5,714,586、5,739,116、5,767,285、5,770,701、5,770,710、5,773,001和5,877,296；Hinman et al., *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993)；和Lode et al., *Cancer Res.* 58:2925-2928 (1998))；蒽環類藥物(anthracycline)如道諾黴素(daunomycin)或阿黴素(doxorubicin)(參閱Kratz et al., *Current Med. Chem.* 13:477-523 (2006)；Jeffrey et al., *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362 (2006)；Torgov et al., *Bioconj. Chem.*

16:717-721 (2005) ; Nagy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532 (2002) ; King et al., *J. Med. Chem.* 45:4336-4343 (2002) ; 和美國專利號 6,630,579) ; 胺甲喋呤(methotrexate) ; 長春地鹼(vindesine) ; 紫杉烷(taxane)例如多烯紫杉醇(docetaxel) 、紫杉醇(paclitaxel) 、拉羅他賽(larotaxel) 、替塞他賽(tesetaxel)和奧他他賽(ortataxel) ; 新月毒素(trichothecene)和CC1065 。

【0223】 在另一實施例中，免疫偶聯物包含偶聯至酵素活性毒素或其片段的本文所述的抗體，酵素活性毒素或其片段包含但不限於白喉A鏈(diphtheria A chain)、白喉毒素的非結合活性片段、外毒素A鏈(exotoxin A chain)(來自綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒素A鏈(ricin A chain)、相思子毒素A鏈(abrin A chain)、葫蘆根毒素A鏈(modeccin A chain)、甲型核糖毒素(alpha -sarcin)、油桐樹蛋白(*Aleurites fordii* protein)、石竹素蛋白(dianthin protein)、美洲商陸蛋白(*Phytolacca americana* protein)(PAPI、PAPII和PAP-S)、苦瓜抑制子(momordica charantia inhibitor)、麻瘋樹毒素(curcin)、巴豆毒素(croton)、肥皂草抑制子(*saponaria officinalis* inhibitor)、白樹毒素(gelonin)、絲林霉素(mitogellin)、局限曲菌素(restrictocin)、酚霉素(phenomycin)、新黴素(neomycin)和新月毒素。

【0224】 在另一實施例中，免疫偶聯物包含偶聯至放射性原子，以形成放射性偶聯物的本文所述的抗體。多種放射性同位素可得用於生產放射性偶聯物。範例包含 ^{211}At 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{90}Y 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{153}Sm 、 ^{212}Bi 、 ^{32}P 、 ^{212}Pb 和Lu的放射性同位素。當放射性偶聯物用於檢測時，其可包含用於閃爍顯像(scintigraphic)研究的放射性原子，例如Tc-99m或 ^{123}I ，或用於核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)成像(也稱為磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI))的自旋標記，例如又是碘123、碘131、銥111、氟19、碳13、氮15、氧17、釷(gadolinium)、錳(manganese)或鐵。

【0225】 可使用多種雙功能蛋白偶聯物，來製備抗體和細胞毒殺劑的偶聯物，雙功能蛋白偶聯物例如為N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(N-succinimidyl-3-(2-pyridyldithio) propionate, SPDP)、琥珀醯亞胺基-4-(N-馬來醯亞胺甲基)環己烷-1-甲酸酯(succinimidyl-4-(N-maleimidomethyl)cyclohexane-1-carboxylate, SMCC)、亞胺基硫雜環戊烷(iminothiolane, IT)、亞胺基酯(imidoester)的雙功能衍生物(例如己二亞胺酸二甲酯鹽酸鹽(dimethyl adipimide HCl))、活性酯(例如辛二酸二琥珀醯亞胺基酯(disuccinimidyl suberate))、醛(例如戊二醛(glutaraldehyde))、雙疊氮基化合物(bis-azido compound)(例如雙(對疊氮基苯甲醯基)己二胺(bis (p-azidobenzoyl) hexanediamine))、雙重氮(bis-diazonium)衍生物(如雙-(對重氮苯甲醯基)-乙二胺(bis-(p-diazoniumbenzoyl)-ethylenediamine))、二異氰酸酯(diisocyanate)(例如甲苯2,6-二異氰酸酯(toluene 2,6-diisocyanate))和雙活性氟化合物(例如1,5-二氟-2,4-二硝基苯(1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzene))。例如，可如Vitetta et al., *Science* 238:1098 (1987)中所述地，來製備蓖麻毒素免疫毒素。碳-14標記的1-異硫氰酸根合苄基-3-甲基二亞乙基三胺五乙酸(1-isothiocyanatobenzyl-3-methyldiethylene triaminepentaacetic acid, MX-DTPA)是用於將放射性核種偶聯至抗體的示例性螯合劑。參閱WO94/11026。連接子可為促進細胞毒殺藥物於細胞中釋放的「可切割連接子」。例如，可使用酸不穩定(acid-labile)連接子、胜肽酶敏感連接子、光不穩定(photolabile)連接子、二甲基連接子或含二硫化物的連接子(Chari et al., *Cancer Res.* 52:127-131 (1992)；美國專利號5,208,020)。

【0226】 本文的免疫偶聯物或ADC明確地考慮了但不限於用交聯劑製備的此類偶聯物，交聯劑包含但不限於市售(例如從Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A)的BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺基(sulfo)-EMCS、磺基-GMBS、

磺基-KMUS、磺基-MBS、磺基-SIAB、磺基-SMCC、磺基-SMPB和SVSB (琥珀醯亞胺基-(4-乙烯基磺)苯甲酸酯)(succinimidyl-(4-vinylsulfone)benzoate)。

【0227】 V. 診斷和檢測的方法和組成物

在某些實施例中，本文提供的任何抗C1s抗體對於檢測生物樣品中C1s的存在是有用的。如本文所使用的術語「檢測」涵蓋定量或定性檢測。在某些實施例中，生物樣品包含細胞或組織，例如血清、全血、血漿、活檢樣本、組織樣本、細胞懸浮液、唾液、痰(sputum)、口腔液、腦脊髓液(cerebrospinal fluid)、羊水(amniotic fluid)、腹水、牛奶、初乳(colostrum)、乳腺分泌物(mammary gland secretion)、淋巴液、尿液、汗液、淚液(lacrimal fluid)、胃液(gastric fluid)、滑膜液(synovial fluid)、腹膜液(peritoneal fluid)、眼晶狀體液(ocular lens fluid)或黏液(mucus)。

【0228】 在一實施例中，提供了用於診斷或檢測方法的抗C1s抗體。在另一面向中，提供了檢測生物樣品中C1s的存在的方法。在某些實施例中，此方法包含在允許抗C1s抗體結合至C1s的條件下，使生物樣品與本文所述的抗C1s抗體接觸，且檢測抗C1s抗體和C1s之間是否形成複合物。此類方法可為體外或體內方法。在一實施例中，抗C1s抗體用於選擇適合用抗C1s抗體進行治療的對象，例如其中C1s是用於選擇患者的生物標記。

【0229】 可使用本發明的抗體，來診斷的示例性病症包含但不限於年齡相關之黃斑變性(age-related macular degeneration)、阿茲海默症(Alzheimer's disease)、肌萎縮性側索硬化(amyotrophic lateral sclerosis)、過敏反應(anaphylaxis)、嗜銀粒性癡呆(argyrophilic grain dementia)、關節炎(例如類風濕性關節炎)、哮喘(asthma)、動脈粥狀硬化(atherosclerosis)、非典型溶血性尿毒症候群(atypical hemolytic uremic syndrome)、自體免疫疾病(autoimmune diseases)、巴拉克西蒙氏尿毒症候群(Barraquer-Simons syndrome)、Behcet's型血管病(Behcet's

disease)、英式類澱粉血管病(British type amyloid angiopathy)、大疱性類天疱瘡(bullous pemphigoid)、Buerger病(Buerger's disease)、Clq腎病(Clq nephropathy)、癌症、災難性抗磷脂症候群(catastrophic antiphospholipid syndrome)、腦類澱粉血管病(cerebral amyloid angiopathy)、冷凝集素病(cold agglutinin disease)、皮質基底變性(corticobasal degeneration)、庫茲德賈克氏病(Creutzfeldt-Jakob disease)、克羅恩病(Crohn's disease)、冷凝球蛋白血管炎(cryoglobulinemic vasculitis)、拳擊手型失智症(dementia pugilistica)、路易氏體癡呆(dementia with Lewy Bodies, DLB)、瀰漫性神經原纖維纏結伴鈣化(diffuse neurofibrillary tangles with calcification)、盤狀紅斑狼瘡(Discoid lupus erythematosus)、唐氏綜合症(Down's syndrome)、局部分葉性腎絲球硬化症(focal segmental glomerulosclerosis)、形式思考障礙(formal thought disorder)、額顳葉癡呆(frontotemporal dementia, FTD)、伴隨與第17號染色體相關之帕金森氏症的額顳葉癡呆(frontotemporal dementia with parkinsonism linked to chromosome 17)、額顳葉變性(frontotemporal lobar degeneration)、Gerstmann-Straussler-Scheinker病(Gerstmann-Straussler-Scheinker disease)、Guillain-Barre症候群(Guillain-Barre syndrome)、Hallervorden-Spatz病(Hallervorden-Spatz disease)、溶血-尿毒症症候群(hemolytic-uremic syndrome)、遺傳性血管性水腫(hereditary angioedema)、低磷血症(hypophosphatosis)、特發性肺炎症候群(idiopathic pneumonia syndrome)、免疫複合疾病(immune complex diseases)、包含體肌炎(inclusion body myositis)、傳染病(例如藉由細菌(例如腦膜炎奈瑟氏球菌(*Neisseria meningitidis*)或鏈球菌(*Streptococcus*))、病毒(例如人類免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV))或其他傳染劑所引起的疾病、發炎性疾病、缺血/再灌注損傷(ischemia/reperfusion injury)、輕度認知障礙(mild cognitive impairment)、免疫性血小板減少性紫癜(immunothrombocytopenic purpura, ITP)、A型鉬輔助因子缺乏症(molybdenum cofactor deficiency (MoCD)

type A)、I型膜增生性腎小球性腎炎(membranoproliferative glomerulonephritis , MPGN)、II型膜增生性腎小球性腎炎(MPGN)(密度沉積病)、膜性腎炎(membranous nephritis)、多發性梗塞癡呆(multi-infarct dementia)、狼瘡(例如全身性紅斑性狼瘡(systemic lupus erythematosus , SLE))、腎小球腎炎(glomerulonephritis)、川崎病(Kawasaki disease)、多灶性運動神經病(multifocal motor neuropathy)、多發性硬化症(multiple sclerosis)、多系統萎縮(multiple system atrophy)、重症肌無力(myasthenia gravis)、心肌梗塞(myocardial infarction)、強直型肌肉萎縮症(myotonic dystrophy)、視神經脊髓炎(neuromyelitis optica)、C型Niemann-Pick病(Niemann-Pick disease type C)、非瓜馬尼亞運動神經元疾病伴神經原纖維纏結(non-Guamanian motor neuron disease with neurofibrillary tangles)、帕金森氏症(Parkinson's disease)、伴隨癡呆的帕金森氏症(Parkinson's disease with dementia)、陣發性夜間血紅蛋白尿症(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria)、尋常性天皰瘡(Pemphigus vulgaris)、皮克氏病(Pick's disease)、腦後帕金森病(postencephalitic parkinsonism)、多發性肌炎(polymyositis)、普立昂蛋白腦類澱粉血管病(prion protein cerebral amyloid angiopathy)、進行性皮質下神經膠質增生(progressive subcortical gliosis)、進行性核上性麻痺(progressive supranuclear palsy)、牛皮癬(psoriasis)、敗血症(sepsis)、志賀毒素大腸桿菌(Shiga-toxin E coli , STEC)-HuS、脊髓性肌萎縮症(spinal muscular atrophy)、中風、亞急性硬化性泛腦炎(subacute sclerosing panencephalitis)、僅纏結性癡呆(Tangle only dementia)、移植排斥、血管炎(vasculitis)(例如與ANCA相關的血管炎)、韋格納肉芽腫病(Wegner's granulomatosis)、鐮狀細胞病(sickle cell disease)、冷凝球蛋白血症(cryoglobulinemia)、混合性冷凝球蛋白血症、必需混合型冷凝球蛋白血症、II型混合型冷凝球蛋白血症、III型混合型冷凝球蛋白血症、腎炎(nephritis)、藥物誘導性血小板減少症(drug-induced thrombocytopenia)、狼瘡性腎炎(lupus

nephritis)、大疱性類天疱瘡、後天性水疱性表皮鬆解症(Epidermolysis bullosa acquisita)、延遲性溶血性輸血反應(delayed hemolytic transfusion reaction)、低補體性蕁麻疹性血管炎症候群(hypocomplementemic urticarial vasculitis syndrome)、假性晶狀體大疱性角膜病變(pseudophakic bullous keratopathy)和血小板難治性(platelet refractoriness)。

【0230】 在某些實施例中，提供了標記的抗C1s抗體。標記包含但不限於直接檢測的標記或部分(moiety)(例如螢光、發色、電子密集、化學發光和放射性標記)，以及例如透過酵素反應或分子交互作用，來間接檢測的部分例如酵素或配體。示例性標記包含但不限於放射性同位素³²P、¹⁴C、¹²⁵I、³H和¹³¹I、螢光團(fluorophore)例如稀土螯合物或螢光素(fluorescein)及其衍生物、羅丹明(rhodamine)及其衍生物、丹磺醯(dansyl)、繖形酮(umbelliferone)、冷光素酶(luciferase)例如螢火蟲冷光素酶(firefly luciferase)和細菌冷光素酶(bacterial luciferase)(美國專利號4,737,456)、冷光素(luciferin)、2,3-二氫鄰苯二甲二酮(2,3-dihydrophthalazinedione)、辣根過氧化酶(horseradish peroxidase, HRP)、鹼性磷酸酶(alkaline phosphatase)、beta-半乳糖苷酶(beta-galactosidase)、葡萄糖澱粉酶(glucoamylase)、溶菌酶(lysozyme)、醣氧化酶(saccharide oxidase)例如葡萄糖氧化酶(glucose oxidase)、半乳糖氧化酶(galactose oxidase)和葡萄糖6-磷酸脫氫酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase)、雜環氧化酶(heterocyclic oxidase)例如尿酸酶(uricase)和黃嘌呤氧化酶(xanthine oxidase)、與利用過氧化氫來氧化例如HRP、乳過氧化酶(lactoperoxidase)或微過氧化物酶(microperoxidase)的染劑前體的酶偶聯的那些、生物素(biotin)/親和素(avidin)、旋轉標記(spin label)、噬菌體標記(bacteriophage label)、穩定的自由基等等。

【0231】 VI. 醫藥組成物

藉由將具有所需純度的此類抗體與一或多種視需要而定之醫藥上可接受的

載體混合，以凍乾製劑或水溶液的形式來製備本文所述的抗C1s抗體的醫藥組合物(*Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))。醫藥上可接受的載體在所採用的劑量和濃度下通常對接受者無毒，其包含但不限於：緩衝液例如磷酸鹽、檸檬酸鹽和其他有機酸；抗氧化劑包含抗壞血酸和甲硫胺酸(methionine)；防腐劑(例如十八烷基二甲基苄基氯化銨(octadecyldimethylbenzyl ammonium chloride)；氯化六甲銨(hexamethonium chloride)；氯化苄二甲銨(benzalkonium chloride)；氯化苯索寧(benzethonium chloride)；酚(phenol)、丁醇或苄醇；對羥基苯甲酸烷酯(alkyl paraben)，例如對羥基苯甲酸甲酯或丙酯；兒茶酚(catechol)；間苯二酚(resorcinol)；環己醇(cyclohexanol)；3-戊醇(3-pentanol)和間甲酚(m-cresol))；低分子量(少於約10個殘基)多肽；蛋白質，例如血清白蛋白(serum albumin)、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，例如聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone)；胺基酸例如甘胺酸(glycine)、麩醯胺酸(glutamine)、天冬醯胺酸(asparagine)、組胺酸、精胺酸(arginine)或離胺酸；單醣、雙醣和其他碳水化合物，包含葡萄糖、甘露糖(mannose)或糊精(dextrin)；螯合劑，例如EDTA；糖，例如蔗糖、甘露醇(mannitol)、海藻糖(trehalose)或山梨糖醇(sorbitol)；形成鹽的相對離子，例如鈉；金屬複合物(例如鋅蛋白複合物)；和/或非離子表面活性劑，例如聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)。本文中的示例性醫學上可接受的載體更包含間質性藥物分散劑，例如可溶性中性活性玻尿酸酶糖蛋白(soluble neutral-active hyaluronidase glycoprotein, sHASEGP)，其例如人類可溶性PH-20玻尿酸酶糖蛋白，其例如rHuPH20 (HYLENEX (註冊商標), Baxter International, Inc.)。在美國專利公開號2005/0260186和2006/0104968中描述了某些示例性的sHASEGP和使用方法，包含rHuPH20。在一面向，sHASEGP與一或多種額外之例如軟骨素酶(chondroitinase)的糖胺聚醣酶(glycosaminoglycanase)組合。

【0232】 在美國專利號6,267,958中描述了示例性的凍乾抗體製劑。水性抗

第 107 頁，共 138 頁(發明說明書)

2125-18654PF-TW

體製劑包含在美國專利號6,171,586和WO2006/044908中描述的那些，後者的製劑包含組胺酸-乙酸鹽緩衝液。

【0233】 本文的製劑亦可包含超過一種對所治療的特定適應症必要的活性成分，較佳地是具有互補活性且不會互相負面影響的那些。例如，可能期望更提供用於組合療法的製劑。此類活性成分適合以對預期目的有效的量組合存在。

【0234】 在膠體藥物遞送系統(脂質體(liposome)、白蛋白微球(albumin microsphere)、微乳液(microemulsion)、納米顆粒和納米膠囊)或巨乳液中，活性成分可被包埋在例如藉由凝聚技術(coacervation technique)或藉由界面聚合製備的微膠囊中，例如分別為羥甲基纖維素(hydroxymethylcellulose)或明膠-微膠囊(gelatin-microcapsule)和聚[甲基丙烯酸甲酯]微膠囊(poly-(methylmethacrylate) microcapsule)。在disclosed in Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)中揭露此種技術。

【0235】 可製備成持續釋放配劑。持續釋放配劑的合適範例包含含有抗體的固體疏水性聚合物的半透性(semipermeable)基質，此基質為定型製品的形式，例如薄膜或微膠囊。

【0236】 用於生物體內投予的製劑通常是無菌的。可容易地實現無菌，例如藉由通過無菌濾膜的過濾。

【0237】 VII. 治療方法和組成物

本文提供的任何抗C1s抗體均可用於治療方法中。在一面向中，提供作為藥物的抗C1s抗體。在又一些面向中，提供了用於治療補體調節的疾病或病症的抗C1s抗體。在某些實施例中，提供了用於治療方法的抗C1s抗體。在某些實施例中，本發明提供了用於治療具有補體調節的疾病或病症的個體的方法中的抗C1s抗體，此方法包含對個體投予有效量的抗C1s抗體。在一這樣的實施例中，此方

法更包含對個體投予有效量之至少一個額外治療劑。

【0238】 在又一些實施例中，本發明提供了用於治療補體調節的疾病或病症的抗C1s抗體。在又一些實施例中，抗C1s抗體可用於增強從血漿中清除C1s。在又一些實施例中，抗C1s抗體可用於增強從血漿中清除C1r2s2。在又一些實施例中，抗C1s抗體可用於增強從血漿中清除C1r2s2，而不是從血漿中清除C1q。在某些情況下，抗體抑制經典補體途徑的成分；在某些情況下，經典補體途徑成分是C1s。在某些實施例中，本發明提供了用於治療補體調節的疾病或病症的方法的抗C1s抗體。在某些實施例中，本發明提供了用於增強從血漿中清除C1s的方法的抗C1s抗體。在某些實施例中，本發明提供了用於增強從血漿中清除C1r2s2的方法的抗C1s抗體。在某些實施例中，本發明提供了用於增強從血漿中清除C1r2s2，而不是從血漿中清除C1q的方法。在某些實施例中，本發明提供了用於抑制經典補體途徑的成分的方法的抗C1s抗體；在某些情況下，經典補體途徑成分是C1s。上述實施例中任一者所述的「個體」較佳為人類。

【0239】 在一面向中，本揭露提供了調節補體活化的方法。在一些實施例中，此方法抑制補體活化，例如以減少C4b2a的產生。在一些實施例中，本揭露提供了在具有補體調節的疾病或病症的個體中調節補體活化的方法，此方法包含對個體投予本揭露的抗C1s抗體或本揭露的醫藥組成物，其中醫藥組成物包含本揭露的抗C1s抗體。在一些實施例中，這樣的方法抑制補體活化。在一些實施例中，個體是哺乳動物。在一些實施例中，個體是人類。投予可為本發明所屬技術領域中具有通常知識者已知的任何途徑，包含本文揭露的那些。在一些實施例中，投予是靜脈內(intravenous)或皮下的(subcutaneous)。在一些實施例中，投予是脊髓內的(intrathecal)。

【0240】 補體調節的疾病或病症是以個體的細胞、組織或體液中的補體C1s的異常量或補體C1s蛋白水解活性的異常程度為特徵的病症。

【0241】 在一些情況下，補體調節的疾病或病症是以細胞、組織或液體中存在CIs量升高(高於正常)或補體CIs活性程度升高為特徵。例如，在一些情況下，補體調節的疾病或病症是以腦組織和/或腦脊髓液中存在CIs的量升高和/或活性升高。細胞、組織或液體中CIs的量「高於正常」表示細胞、組織或液體中CIs的量高於正常對照程度，例如高於相同年齡群組的個體或個體群的正常對照程度。細胞、組織或液體中CIs活性「高於正常」程度表示細胞、組織或液體中CIs所實現的蛋白水解切割高於正常對照程度，例如高於相同年齡群組的個體或個體群的正常對照程度。在一些情況下，具有補體調節的疾病或病症的個體展現出這種疾病或病症的一或多種額外症狀。

【0242】 在另一些情況下，補體調節的疾病或病症是以細胞、組織或液體中存在CIs量低於正常或補體CIs活性程度較低為特徵。例如，在一些情況下，補體調節的疾病或病症是以腦組織和/或腦脊髓液中存在較低的CIs量和/或較低的CIs活性。細胞、組織或液體中CIs的量「低於正常」表示細胞、組織或液體中CIs的量低於正常對照程度，例如低於相同年齡群組的個體或個體群的正常對照程度。細胞、組織或液體中CIs活性「低於正常」程度表示細胞、組織或液體中CIs所實現的蛋白水解切割低於正常對照程度，例如低於相同年齡群組的個體或個體群的正常對照程度。在一些情況下，具有補體調節的疾病或病症的個體展現出這種疾病或病症的一或多種額外症狀。

【0243】 補體調節的疾病或病症是其中補體CIs的量或活性是使其在個體中引起疾病或病症的疾病或病症。在一些實施例中，補體調節的疾病或病症選自由自體免疫疾病、癌症、血液疾病(hematological disease)、傳染病(infectious disease)、發炎性疾病(inflammatory disease)、缺血-再灌注損傷(ischemia-reperfusion injury)、神經退化性疾病(neurodegenerative disease)、神經退化性病變(neurodegenerative disorder)、眼病(ocular disease)、腎病(renal

disease)、移植排斥(transplant rejection)、血管病(vascular disease)和血管炎病(vasculitis disease)所組成的群組。在一些實施例中，補體調節的疾病或病症是血液疾病。在一些實施例中，補體調節的疾病或病症是缺血-再灌注損傷。在一些實施例中，補體調節的疾病或病症是眼病。在一些實施例中，補體調節的疾病或病症是腎病。在一些實施例中，補體調節的疾病或病症是移植排斥。在一些實施例中，補體調節的疾病或病症是抗體調節的移植排斥。在一些實施例中，補體調節的疾病或病症是血管病。在一些實施例中，補體調節的疾病或病症是血管炎病症。在一些實施例中，補體調節的疾病或病症是神經退化性疾病或病症。在一些實施例中，補體調節的疾病是神經退化性疾病。在一些實施例中，補體調節的病症是神經退化性病症。在一些實施例中，補體調節的疾病或病症是tau病變(tauopathy)。

【0244】 補體調節的疾病或病症的範例包含但不限於年齡相關之黃斑變性、阿茲海默症、肌萎縮性側索硬化、過敏反應、嗜銀粒性癡呆、關節炎(例如類風濕性關節炎)、哮喘、動脈粥狀硬化、非典型溶血性尿毒症候群、自體免疫疾病、巴拉克西蒙氏尿毒症候群、Behcet's型血管病、英式類澱粉血管病、大疱性類天疱瘡、Buerger病、Clq腎病、癌症、災難性抗磷脂症候群、腦類澱粉血管病、冷凝集素病、皮質基底變性、庫茲德賈克氏病、克羅恩病、冷凝球蛋白血管炎、拳擊手型失智症、路易氏體癡呆、瀰漫性神經原纖維纏結伴鈣化、盤狀紅斑狼瘡、唐氏綜合症、局部分葉性腎絲球硬化症、形式思考障礙、額顳葉癡呆、伴隨與第17號染色體相關之帕金森氏症的額顳葉癡呆(frontotemporal dementia with parkinsonism linked to chromosome 17)、額顳葉變性(frontotemporal lobar degeneration)、Gerstmann-Straussler-Scheinker病、Guillain-Barre症候群、Hallervorden-Spatz病、溶血-尿毒症症候群、遺傳性血管性水腫、低磷血症、特發性肺炎症候群、免疫複合疾病、包含體肌炎、傳染病(例如藉由細菌(例如腦膜

炎奈瑟氏球菌或鏈球菌)、病毒(例如人類免疫缺陷病毒(HIV)或其他傳染劑所引起的疾病、發炎性疾病、缺血/再灌注損傷、輕度認知障礙、免疫性血小板減少性紫癜、A型鋁輔助因子缺乏症(MoCD type A)、I型膜增生性腎小球性腎炎(MPGN I)、II型膜增生性腎小球性腎炎(MPGN II)(密度沉積病)、膜性腎炎、多發性梗塞癡呆、狼瘡(例如全身性紅斑性狼瘡)、腎小球腎炎、川崎病、多灶性運動神經病、多發性硬化症、多系統萎縮、重症肌無力、心肌梗塞、強直型肌肉萎縮症、視神經脊髓炎、C型Niemann-Pick病、非瓜馬尼亞運動神經元疾病伴神經原纖維纏結、帕金森氏症、伴隨癡呆的帕金森氏症、陣發性夜間血紅蛋白尿症、尋常性天皰瘡、皮克氏病、腦後帕金森病、多發性肌炎、普立昂蛋白腦類澱粉血管病、進行性皮質下神經膠質增生、進行性核上性麻痺、牛皮癬、敗血症、志賀毒素大腸桿菌(STEC)-HuS、脊髓性肌萎縮症、中風、亞急性硬化性泛腦炎、僅纏結性癡呆、移植排斥、血管炎(例如與ANCA相關的血管炎)、韋格納肉芽腫病、鎌狀細胞病、冷凝球蛋白血症、混合性冷凝球蛋白血症、必需混合型冷凝球蛋白血症、II型混合型冷凝球蛋白血症、III型混合型冷凝球蛋白血症、腎炎、藥物誘導性血小板減少症、狼瘡性腎炎、大疱性類天皰瘡、後天性水疱性表皮鬆解症、延遲性溶血性輸血反應、低補體性蕁麻疹性血管炎症候群、假性晶狀體大疱性角膜病變和血小板難治性。

【0245】 阿茲海默症和某些形式的額顳葉癡呆(皮克氏病、間歇性額顳葉癡呆和伴隨與第17號染色體相關之帕金森氏症的額顳葉癡呆)是最常見的tau病變的形式。根據這個，本發明係關於上述的任何方法，其中tau病變為阿茲海默症、皮克氏病、間歇性額顳葉癡呆和伴隨與第17號染色體相關之帕金森氏症的額顳葉癡呆。其他tau病變包含但不限於進行性核上麻痺(Progressive supranuclear palsy, PSP)、腎上腺皮質退化性(Corticobasal degeneration, CBD)和亞急性硬化性泛腦炎。

【0246】 神經退化性tau病變包含阿茲海默症、肌萎縮性側索硬化(amyotrophic lateral sclerosis)/帕金森症-癡呆症(parkinsonism-dementia complex)，嗜銀粒性癡呆、英式類澱粉血管病、腦類澱粉血管病、腎上腺皮質退化性、庫茲德賈克氏病、拳擊手型失智症、瀰漫性神經原纖維纏結伴鈣化、唐氏綜合症、額顳葉癡呆、伴隨與第17號染色體相關之帕金森氏症的額顳葉癡呆、額顳葉變性、Gerstmann-Straussler-Scheinker病、Hallervorden-Spatz病、包含體肌炎、多系統萎縮、強直型肌肉萎縮症、C型Niemann-Pick病、非瓜馬尼亞運動神經元疾病伴神經原纖維纏結、皮克氏病、腦後帕金森病、普立昂蛋白腦類澱粉血管病、進行性皮質下神經膠質增生、進行性核上麻痺、亞急性硬化性泛腦炎、僅纏結性癡呆、多發性梗塞癡呆、缺血性中風、慢性外傷性腦病(chronic traumatic encephalopathy, CTE)、創傷性腦損傷(traumatic brain injury, TBI)和中風。

【0247】 本揭露亦提供了治療突觸核蛋白病(synucleinopathy)例如帕金森氏症(Parkinson's disease, PD)；路易氏體癡呆(DLB)；多系統萎縮(MSA)；等的方法。例如，可用本揭露的方法治療具有癡呆的PD (PD with dementia, PDD)。

【0248】 在一些實施例中，補體調節的疾病或病症包含阿茲海默症。在一些實施例中，補體調節的疾病或病症包含帕金森氏症。在一些實施例中，補體調節的疾病或病症包含移植排斥。在一些實施例中，補體調節的疾病或病症是抗體調節的移植排斥。

【0249】 在一些實施例中，本揭露的抗C1s抗體預防或延遲個體中補體調節的疾病或病症的至少一種症狀的發作。在一些實施例中，本揭露的抗C1s抗體減少或消除個體中補體調節的疾病或病症的至少一種症狀。症狀的範例包含但不限於與自體免疫疾病、癌症、血液病、傳染病、發炎性疾病、缺血-再灌注損傷、神經退化性疾病、神經退行性病症、腎病、移植排斥、眼病、血管病或血管炎病症相關的症狀。症狀可為神經症狀，例如認知功能受損、記憶受損、運

動功能喪失等。症狀亦可為個體的細胞、組織或體液中C1s蛋白的活性。症狀亦可為個體的細胞、組織或體液中補體活化的程度。

【0250】 在一些實施例中，對個體投予本揭露的抗C1s抗體調節了個體的細胞、組織或體液中的補體活化。在一些實施例中，對個體投予本揭露的抗C1s抗體抑制了個體的細胞、組織或體液中的補體活化。例如，在一些實施例中，與在用抗C1s抗體治療之前的個體中的補體活化相比，當本揭露的抗C1s抗體以一或多劑作為單一療法或組合療法，投予至具有補體調節的疾病或病症的個體時，其抑制個體的補體活化至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或大於90%。

【0251】 在一些實施例中，本揭露的抗C1s抗體減少C3沉積在紅血球細胞上；例如，在一些實施例中，本揭露的抗C1s抗體減少C3b、iC3b等在RBC上的沉積。在一些實施例中，本揭露的抗C1s抗體抑制補體調節的紅血球細胞裂解。

【0252】 在一些實施例中，本揭露的抗C1s抗體減少C3沉積在血小板上；例如，在一些實施例中，本揭露的抗C1s抗體減少C3b、iC3b等在血小板上的沉積。

【0253】 在一些實施例中，投予本揭露的抗C1s抗體導致選自由以下所組成的群組的結果：(a)減少補體活化；(b)改善認知功能；(c)減少神經元損失；(d)降低神經元中磷酸-Tau程度；(e)減少神經膠細胞活化；(f)減少淋巴細胞浸潤；(g)減少巨噬細胞浸潤；(h)減少抗體沉積；(i)減少神經神經膠細胞損失；(j)減少寡樹突細胞損失；(k)減少樹突細胞浸潤；(l)減少嗜中性球浸潤；(m)減少紅血球細胞裂解；(n)減少紅血球細胞吞噬作用；(o)減少血小板吞噬作用；(p)減少血小板裂解；(q)改善移植物存活率；(r)減少巨噬細胞調節的吞噬作用；(s)改善視力；(t)改善運動控制；(u)改善血栓形成；(v)改善凝結；(w)改善腎功能；(x)減少抗體

調節的補體活化；(y)減少自身抗體調節的補體活化；(z)改善貧血；(aa)減少脫鞘作用；(ab)減少嗜酸性球增多；(ac)減少C3在紅血球細胞上沉積(例如減少C3b、iC3b等在RBC上沉積)；和(ad)減少C3在血小板上沉積(例如減少C3b、iC3b等在血小板上沉積)；和(ae)減少過敏毒素產生；(af)減少自身抗體調節的水泡形成；(ag)減少自身抗體引起的瘙癢症(pruritis)；(ah)自身抗體引起的紅斑減少；(ai)減少自身抗體調節的皮膚侵蝕；(aj)減少輸血反應引起的紅血球細胞破壞；(ak)減少異體抗體(alloantibody)引起的紅血球細胞裂解；(al)減少輸血反應引起的溶血；(am)減少異體抗體調節的血小板裂解；(an)減少輸血反應引起的血小板裂解；(ao)減少肥大細胞活化；(ap)減少肥大細胞組織胺的釋放；(aq)降低血管通透性；(ar)減少水腫；(as)減少移植物內皮細胞上的補體沉積；(at)減少移植物內皮細胞中過敏毒素(anaphylatoxin)的產生；(au)減少真皮-表皮交界面的分離；(av)減少真皮-表皮交界面過敏毒素的產生；(aw)減少異體抗體調節的移植物內皮細胞補體活化；(ax)減少抗體調節的神經肌肉交界面的喪失；(ay)減少神經肌肉交界面補體活化；(az)減少神經肌肉交界面過敏毒素的產生；(ba)減少神經肌肉交界面的補體沉積；(bb)減少麻痺；(be)減少麻木；(bd)增加膀胱控制；(be)增加腸道控制；(bf)降低與自身抗體相關的死亡率；和(bg)降低與自身抗體相關的發病率。

【0254】 在一些實施例中，與用抗C1s抗體治療之前的個體的結果的預後水準或程度相比，當本揭露的抗C1s抗體以一或多劑作為單一療法或組合療法，投予至具有補體調節的疾病或病症的個體時，其有效地減少以下結果中的一或多項的至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或超過90%：(a)補體活化；(b)認知功能下降；(c)神經元喪失；(d)神經元中的磷酸-Tau程度；(e)神經膠細胞活化；(f)淋巴細胞浸潤；(g)巨噬細胞浸潤；(h)抗體沉積；

(i)神經膠細胞損失；(j)寡樹突細胞損失；(k)樹突細胞浸潤；(l)嗜中性球浸潤；(m)紅血球細胞裂解；(n)紅血球細胞吞噬作用；(o)血小板吞噬作用；(p)血小板裂解；(q)移植物排斥反應；(r)巨噬細胞調節的吞噬作用；(s)視力喪失；(t)抗體調節的補體活化；(u)自身抗體調節的補體活化；(v)脫鞘作用；(w)嗜酸性球增多。

【0255】 在一些實施例中，與用抗C1s抗體治療之前的個體的結果的預後水準或程度相比，當本揭露的抗C1s抗體以一或多劑作為單一療法或組合療法，投予至具有補體調節的疾病或病症的個體時，其有效地改善以下結果中的一或多項的至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或超過90%：a)認知功能；b)移植物存活率；c)視力；d)運動控制；e)血栓形成；f)凝結；g)腎功能；h)血球容積比(hematocrit)(紅血球細胞計數)。

【0256】 在一些實施例中，對個體投予本揭露的抗C1s抗體減少了個體中的補體活化。例如，在一些實施例中，與用抗C1s抗體治療之前的個體的補體活化相比，當本揭露的抗C1s抗體以一或多劑作為單一療法或組合療法，投予至具有補體調節的疾病或病症的個體時，其減少個體的補體活化至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或超過90%。

【0257】 在一些實施例中，投予本揭露的抗C1s抗體改善了個體中的認知功能。例如，在一些實施例中，與用抗C1s抗體治療之前的個體的認知功能相比，當本揭露的抗C1s抗體以一或多劑作為單一療法或組合療法，投予至具有補體調節的疾病或病症的個體時，其改善個體的認知功能至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或超過90%。

【0258】 在一些實施例中，投予本揭露的抗C1s抗體降低了個體的認知功

能下降的速度。例如，在一些實施例中，與用抗C1s抗體治療之前的個體的認知功能相比，當本揭露的抗C1s抗體以一或多劑作為單一療法或組合療法，投予至具有補體調節的疾病或病症的個體時，其降低個體的認知功能下降的速度至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或超過90%。

【0259】 在一些實施例中，投予本揭露的抗C1s抗體減少了個體的神經元喪失。例如，在一些實施例中，與用抗C1s抗體治療之前的個體的神經元喪失相比，當本揭露的抗C1s抗體以一或多劑作為單一療法或組合療法，投予至具有補體調節的疾病或病症的個體時，其減少個體的神經元喪失至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或超過90%。

【0260】 在一些實施例中，投予本揭露的抗C1s抗體減少了個體的磷酸-Tau程度。例如，在一些實施例中，與用抗C1s抗體治療之前的個體的磷酸-Tau程度相比，當本揭露的抗C1s抗體以一或多劑作為單一療法或組合療法，投予至具有補體調節的疾病或病症的個體時，其減少個體的磷酸-Tau程度至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或超過90%。

【0261】 在一些實施例中，投予本揭露的抗C1s抗體減少了個體的神經膠細胞活化。例如，在一些實施例中，與用抗C1s抗體治療之前的個體的神經膠細胞活化相比，當本揭露的抗C1s抗體以一或多劑作為單一療法或組合療法，投予至具有補體調節的疾病或病症的個體時，其減少個體的神經膠細胞活化至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或超過90%。在一些實施例中，神經膠細胞是星狀神經膠細胞或小神經膠細胞。

【0262】 在一些實施例中，投予本揭露的抗C1s抗體減少了個體的淋巴細胞浸潤。例如，在一些實施例中，與用抗C1s抗體治療之前的個體的淋巴細胞浸潤相比，當本揭露的抗C1s抗體以一或多劑作為單一療法或組合療法，投予至具有補體調節的疾病或病症的個體時，其減少個體的淋巴細胞浸潤至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或超過90%。

【0263】 在一些實施例中，投予本揭露的抗C1s抗體減少了個體的巨噬細胞浸潤。例如，在一些實施例中，與用抗C1s抗體治療之前的個體的巨噬細胞浸潤相比，當本揭露的抗C1s抗體以一或多劑作為單一療法或組合療法，投予至具有補體調節的疾病或病症的個體時，其減少個體的巨噬細胞浸潤至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或超過90%。

【0264】 在一些實施例中，投予本揭露的抗C1s抗體減少了個體的抗體沉積。例如，在一些實施例中，與用抗C1s抗體治療之前的個體的抗體沉積相比，當本揭露的抗C1s抗體以一或多劑作為單一療法或組合療法，投予至具有補體調節的疾病或病症的個體時，其減少個體的抗體沉積至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或超過90%。

【0265】 在一些實施例中，投予本揭露的抗C1s抗體減少了個體的過敏毒素(例如C3a、C4a、C5a)產生。例如，在一些實施例中，與用抗C1s抗體治療之前的個體的過敏毒素產生相比，當本揭露的抗C1s抗體以一或多劑作為單一療法或組合療法，投予至具有補體調節的疾病或病症的個體時，其減少個體的過敏毒素產生至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或

超過90%。

【0266】 在一些實施例中，本揭露提供了本揭露的抗C1s抗體或包含本揭露的抗C1s抗體和醫藥上可接受的賦形劑的醫藥組成物之用於治療具有補體調節的疾病或病症的個體的用途。在一些實施例中，本揭露提供了本揭露的抗C1s抗體之用於治療具有補體調節的疾病或病症的個體的用途。在一些實施例中，本揭露提供了包含本揭露的抗C1s抗體和醫藥上可接受的賦形劑的醫藥組成物之用於治療具有補體調節的疾病或病症的個體的用途。

【0267】 在一些實施例中，本揭露提供了本揭露的抗C1s抗體於治療具有補體調節的疾病或病症的個體的藥物的製備中的用途。

【0268】 在一些實施例中，本揭露提供了本揭露的抗C1s抗體或包含本揭露的抗C1s抗體和醫藥上可接受的賦形劑的醫藥組成物之抑制補體活化的用途。在一些實施例中，本揭露提供了本揭露的抗C1s抗體或包含本揭露的抗C1s抗體和醫藥上可接受的賦形劑的醫藥組成物之抑制具有補體調節的疾病或病症的個體的補體活化的用途。在一些實施例中，本揭露提供了本揭露的抗C1s抗體之抑制具有補體調節的疾病或病症的個體的補體活化的用途。在一些實施例中，本揭露提供了包含本揭露的抗C1s抗體和醫藥上可接受的賦形劑的醫藥組成物之抑制具有補體調節的疾病或病症的個體的補體活化的用途。

【0269】 在一些實施例中，本揭露提供了本揭露的抗C1s抗體於調節補體活化的藥物的製備中的用途。在一些實施例中，藥物抑制補體活化。在一些實施例中，藥物抑制具有補體調節的疾病或病症的個體的補體活化。

【0270】 在一些實施例中，本揭露提供了用於醫學治療之本揭露的抗C1s抗體或包含本揭露的抗C1s抗體和醫藥上可接受的賦形劑的醫藥組成物。在一些實施例中，本揭露提供了用於醫學治療之本揭露的抗C1s抗體。在一些實施例中，本揭露提供了用於醫學治療之包含本揭露的抗C1s抗體和醫藥上可接受的賦

形劑的醫藥組成物。

【0271】 在一些實施例中，本揭露提供了用於治療具有補體調節的疾病或病症的個體之本揭露的抗C1s抗體或包含本揭露的抗C1s抗體和醫藥上可接受的賦形劑的醫藥組成物。在一些實施例中，本揭露提供了用於治療具有補體調節的疾病或病症的個體之本揭露的抗C1s抗體。在一些實施例中，本揭露提供了用於治療具有補體調節的疾病或病症的個體之包含本揭露的抗C1s抗體和醫藥上可接受的賦形劑的醫藥組成物。

【0272】 在一些實施例中，本揭露提供了用於調節補體活化之本揭露的抗C1s抗體或包含本揭露的抗C1s抗體和醫藥上可接受的賦形劑的醫藥組成物。在一些實施例中，本揭露提供了用於調節補體活化之本揭露的抗C1s抗體。在一些實施例中，本揭露提供了用於調節補體活化之包含本揭露的抗C1s抗體和醫藥上可接受的賦形劑的醫藥組成物。在一些實施例中，抗C1s抗體抑制補體活化。

【0273】 在另一面向中，本發明提供了抗C1s抗體於藥物的製造或製備中的用途。在一實施例中，藥物用於治療補體調節的疾病或病症。在另一實施例中，藥物用於治療補體調節的疾病或病症的方法，方法包含對具有補體調節的疾病或病症的個體投予有效量的藥物。在一個這樣的實施例中，方法更包含對個體投予有效量之至少一個額外治療劑，例如如下所述。在另一實施例中，藥物用於增強從血漿中清除(或去除)C1s。在另一實施例中，藥物用於增強從血漿中清除(或去除)C1r2s2。在另一實施例中，藥物用於增強從血漿中清除(或去除)C1r2s2，而不是從血漿中清除(或去除)C1s。在另一實施例中，藥物用於抑制經典補體途徑的成分；在一些情況下，經典補體途徑成分是C1s。

【0274】 在另一實施例中，藥物用於治療具有補體調節的疾病或病症的個體的方法，方法包含對個體投予有效量的藥物。以上任何實施例所述的「個體」可為人類。

【0275】 在另一面向中，本發明提供了用於治療補體調節的疾病或病症的方法。在一實施例中，方法包含對具有這種補體調節的疾病或病症的個體投予有效量的抗C1s抗體。在一個這樣的實施例中，方法更包含對個體投予有效量的至少一個額外治療劑，如下所述。以上任何實施例所述的「個體」可為人類。

【0276】 在另一面向中，本發明提供了在個體中用於增強從血漿中清除(或去除)C1s的方法。在另一面向中，本發明提供了在個體中用於增強從血漿中清除(或去除)C1r2s2的方法。在另一面向中，本發明提供了在個體中用於增強從血漿中清除(或去除)C1r2s2，而不是從血漿中清除(或去除) C1s的方法。在一些情況下，本發明提供了抑制個體中經典補體途徑的成分的方法。在一些情況下，經典補體途徑成分是C1s。在一實施例中，「個體」為人類。

【0277】 在另一面向中，本發明提供了，例如用於以上任何治療方法中之包含本文提供的任何抗C1s抗體的醫藥製劑。在一實施例中，醫藥製劑包含本文提供的任何抗C1s抗體和醫藥上可接受的載體。在另一實施例中，醫藥製劑包含本文提供的任何抗C1s抗體和至少一個額外治療劑，例如如下所述。

【0278】 在治療中，本發明的抗體可單獨或與其他試劑組合使用。例如，本發明的抗體可與至少一個額外治療劑共同投予。

【0279】 以上所述的此類組合療法包含組合投予(其中二或更多個治療劑包含在相同或分開的製劑中)和分開投予，在這種情況下，可以在投予一或多個額外治療劑之前、同時和/或之後，投予本發明的抗體。在一實施例中，抗C1s抗體的投予和額外治療劑的投予在彼此的約一個月內、或在約一、二或三週內、或在約一、二、三、四、五或六天內進行。本發明的抗體亦可與放射療法組合使用。

【0280】 可藉由任何合適的方式投予本發明的抗體(和任何額外治療劑)，包含腸胃外(parenteral)、肺內(intrapulmonary)和鼻內(intranasal)投予，且如

果需要局部治療，則為病灶內(intralesional)投予。腸胃外注入包含肌肉內(intramuscular)、靜脈內(intravenous)、動脈內(intraarterial)、腹腔內(intraperitoneal)或皮下(subcutaneous)投予。可藉由任何合適的途徑給藥，例如藉由注射，如靜脈內(intravenous)或皮下注射，部分取決於投予是短期或長期。本文考慮了各種給藥方案(dosing schedule)，包含但不限於在各個時間點上的單次或多次投予、推注投予和脈衝注入。

【0281】 本發明的抗體將以與良好醫學實踐一致的方式配製、給藥和投予。在此上下文中考慮的因素包含所治療的特定病症、所治療的特定哺乳動物、個別病人的臨床狀況、病症的原因、試劑的遞送位置、投予方法、投予時間表及其他醫學從業人員已知的因素。抗體不需要，但視需要而定地與目前用來預防或治療所討論的病症的一或多個試劑一起配製。這些其他試劑的有效量取決於製劑中所存在的抗體的量、病症或治療的類型及上面討論的其他因素。這些通常以與本文所述相同的劑量和施用途徑使用，或以本文所述的劑量的約1-99%，或以經驗/臨床判定為適當的任何劑量和任何途徑使用。通常以與本文所述相同的劑量和投予途徑、或以本文所述的劑量的約1至99%、或以經驗/臨床判定為合適的任何劑量和任何途徑使用來使用這些。

【0282】 為了預防或治療疾病，本發明抗體的適當劑量(當單獨或與一或多個其他其他治療劑聯合使用時)將取決於要治療的疾病類型、抗體類型、疾病的嚴重程度和病程、是否出於預防或治療目的而投予抗體、先前的治療、病人的臨床病史和對抗體的反應及主治醫師的判斷力。可一次或透過一系列的治療，來將抗體適當地投予至病人。根據疾病的類型和嚴重程度，不論是例如，藉由一或多次分開投予、或藉由連續注入，約1 micro g/kg至15 mg/kg(例如0.1 mg/kg -10 mg/kg)的抗體可為投予至病人的初始候選劑量。取決於上述因素，一種典型的每日劑量可在約1 micro g/k至100 mg/kg或更大的範圍。對於幾天或更長

時間的重複投予，取決於病情，持續治療通常會持續到出現發生所需的疾病症狀抑制。抗體的一示例性劑量會在約0.05 mg/kg至約10 mg/kg的範圍。因此，可將一或多劑量的約0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg或10 mg/kg (或其任何組合) 投予至病人。可間歇地投予這樣的劑量，例如每週或每三週(例如使病人接受約二至約二十劑，或例如約六劑抗體)。可以給予較高的初始加載劑量，然後投予一或多個較低的劑量。然而，其他給藥方案可能是有用的。藉由常規技術和測定法可容易地監測此療法的進展。

【0283】 應理解的是，可使用本發明的免疫偶聯物代替抗C1s抗體或除抗C1s抗體之外，還使用本發明的免疫偶聯物，來進行任何上述製劑或治療方法。

【0284】 VIII. 製品

在本發明的另一面向中，提供了含有對上述病症的治療、預防和/或診斷有用的材料的製品。製品包含容器和在容器上的標籤或與容器有關的仿單。合適的容器包含例如瓶子、小玻璃瓶(vial)、注射器(syringe)、IV溶液袋等。容器可由多種材料形成，例如玻璃或塑膠。容器容納組成物本身或與對治療、預防和/或診斷狀況有效之另一組成物組合的組成物，且可具有無菌進入口(例如，容器可為靜脈注射溶液袋或具有可藉由皮下注射針頭刺穿的瓶塞的玻璃瓶)。組成物中的至少一種活性成分是本發明的抗體。標籤或仿單指出組成物用於治療所選狀況。此外，製品可包含：(a)含有組成物於其中的第一容器，其中組成物包含本發明的抗體；和(b)含有組成物於其中的第二容器，其中組成物包含另外的細胞毒殺或其它治療劑。在本發明的此實施例中的製品可更包含指示組合物可用於治療特定狀況的仿單。或者或此外，製品可更包含第二(或第三)容器，其包含醫藥上可接受的緩衝液例如注射用的抑菌水(bacteriostatic water for injection, BWFI)、磷酸鹽緩衝食鹽水(phosphate-buffered saline)、林格氏溶液(Ringer's solution)和右旋糖溶液(dextrose solution)。其可更包含其他商業和用戶的所需的

材料，包含其他緩衝液、稀釋劑、過濾器、針頭和注射器。

【0285】 應理解的是，上述任何製品均可包含本發明的免疫偶聯物來代替抗C1s抗體，或除了抗C1s抗體之外還包含本發明的免疫偶聯物。

[實施例]

【0286】 以下是本發明的方法和組成物的實施例。應理解的是，鑑於以上所提供的一般性描述，可實踐各種其他實施例。

【0287】 儘管出於清楚理解的目的，已經藉由圖式和範例的方式詳細地描述了前述發明，但是這些描述和範例不應被視為限制本發明的範圍。本文引用的所有專利和科學文獻的揭露內容明確地全文引入作為參考。

【0288】 實施例1

重組C1r2s2的製備

1.1. 食蟹猴C1r2s2 His/FLAG(註冊商標)四聚體的表現和純化

用於表現和純化的序列是：具有C末端GGGGS連接子和FLAG (註冊商標)標籤的食蟹猴C1s (序列辨識號：29)和具有C末端GGGGS連接子和8x組胺酸標籤的食蟹猴C1r。食蟹猴C1r序列具有R463Q和S654A突變(序列辨識號：30)。為了表現重組食蟹猴C1r2s2 His/FLAG(註冊商標)四聚體，使用FreeStyle(註冊商標)293-F細胞系(Thermo Fisher, Carlsbad, CA, USA)瞬時地共表現食蟹猴C1s-FLAG(註冊商標)和食蟹猴C1r-His。將表現重組食蟹猴C1r2s2 His/FLAG (註冊商標)四聚體的條件培養基應用於抗FLAG (註冊商標)M2親和樹脂(Sigma)，且用FLAG (註冊商標)胜肽(Sigma)洗提(elute)。將含有重組食蟹猴C1r2s2 His/FLAG(註冊商標)四聚體的級分(fraction)置於IMAC柱(GE Healthcare)中，且用咪唑(imidazole)梯度洗提。收集經洗提之包含重組C1r2s2 His/FLAG(註冊商標)四聚體的級分、濃縮，然後將其置於用1X TBS、2mM CaCl₂緩衝液平衡的Superdex(註冊商標)200膠體過濾管柱(GE Healthcare)中。然後將含有重組食蟹猴C1r2s2 His/FLAG(註冊商標)的級分

合併(pool)、濃縮且在-80度C下保存。

【0289】 1.2. 人類C1r2s2四聚體的表現和純化

用於表現和純化的序列是：人類C1s (NCBI參考序列：NP_958850.1) (序列辨識號：31)和人類C1r (NCBI參考序列：NP_001724.3)。人類C1r序列具有R463Q和S654A突變(序列辨識號：32)。為了表現重組人類C1r2s2四聚體，使用HEK293(Expi293 (註冊商標))細胞系(Thermo Fisher, Carlsbad, CA, USA)或FreeStyle (註冊商標)293-F細胞(Thermo Fisher, Carlsbad, CA, USA)瞬時地共表現人類C1s和人類C1r。將表現重組人類C1r2s2的條件培養基用MilliQ(註冊商標)水稀釋至三分之一，添加1M CaCl₂至最終2mM，用1N NaOH將pH值調至8，且應用於用50mM Tris-HCl、2mM CaCl₂、pH 8.0平衡的Q Sepharose HP陰離子交換層析管柱(GE Healthcare)，且用NaCl梯度洗提。收集經洗提之包含重組人類C1r2s2四聚體的級分、濃縮，然後將其置於用1X TBS、2mM CaCl₂緩衝液平衡的Superdex(註冊商標)200膠體過濾管柱(GE Healthcare)中。然後將含有重組人類C1r2s2四聚體的級分合併、若需要則濃縮，且在-80度C下保存。

【0290】 1.3. 食蟹猴C1r2s2四聚體的表現和純化

用於表現和純化的序列是：食蟹猴C1s (序列辨識號：33)和食蟹猴C1r。食蟹猴C1r序列具有R463Q和S654A突變(序列辨識號：34)。為了表現重組食蟹猴C1r2s2四聚體，使用HEK293 (Expi293 (註冊商標))細胞系(Thermo Fisher, Carlsbad, CA, USA)瞬時地共表現食蟹猴C1s和食蟹猴C1r。將表現重組食蟹猴C1r2s2的條件培養基用MilliQ (註冊商標)水稀釋至三分之一，添加1M CaCl₂至最終2mM，用1N NaOH將pH值調至8，且應用於HiTrap (註冊商標) Q HP陰離子交換層析管柱(GE Healthcare)，且用NaCl梯度洗提。收集經洗提之包含重組人類C1r2s2四聚體的級分、濃縮，然後將其置於用1X TBS、2mM CaCl₂緩衝液平衡的Superdex (註冊商標)200膠體過濾管柱(GE Healthcare)中。然後將含有重組食蟹猴C1r2s2四聚體的

級分合併，且在-80度C下保存。

【0291】 實施例2

抗C1s抗體的製備

2.1. 從COS0637cc產生和製備最佳化(optimized)的抗體

為了降低抗體的潛在免疫原性，進行了一些抗C1s抗體COS0637cc的可變區(VH，序列辨識號：35；VL，序列辨識號：36，WO2019/198807中所述)的人源化。使用常規的CDR移植(grafting)方法，將抗C1s兔抗體的互補決定區(complementarity-determining region，CDR)移植到同源人抗體框架(framework，FR)上(Nature 321:522-525 (1986))。因此，產生了人源化的可變區COS0637h(VH，序列辨識號：37；VL，序列辨識號：38)。

【0292】 COS0637cc的CDR區的胺基酸全面地(comprehensively)用組胺酸取代。發現了一種有效的突變，HCDR3中的K101H，且將其應用於COS0637h。因此產生了pH依賴性人源化抗C1s抗體COS0637temp的可變區(VH，序列辨識號：39；VL，序列辨識號：38)。

【0293】 檢驗了許多突變和突變組合以鑑定出改善前導抗體(lead antibody)的結合性質的突變和突變組合。然後在中性pH下將多個突變導入至COS0637temp的可變區，以增強對C1s (人類C1r2s2或食蟹猴C1r2s2或食蟹猴C1r2s2 His/FLAG (註冊商標))的結合親和力，或以降低在酸性pH下對C1s的結合親和力。因此，從COS0637temp產生了最佳化的變異體COS0637pHv1和COS0637pHv2。表2列出了這兩種抗體的VH、VL、HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的序列辨識號。

【0294】 [表2]

抗體可變域 名稱	序列辨識號:							
	VII	VL	IIVR-II1	IIVR-II2	IIVR-II3	IIVR-L1	IIVR-L2	IIVR-L3
COS0637pHv1	40	38	7	8	11	14	19	23
COS0637pHv2	41	38	7	9	12	14	19	23

【0295】 儘管產生了人源化pH依賴性抗C1s抗體，但由於輕鏈中第94和95d位(kabat編號)的半胱胺酸，COS0637pHv1和COS0637pHv2具有形成異質產物的潛在風險。為了降低異質性的風險，對COS0637temp的這兩個位置進行全面性的單一胺基酸取代，以找出保留結合能力的胺基酸。表3列出了38種抗體的VH和VL的序列辨識號及其突變(kabat編號)。

【0296】 [表3]

抗體名稱	序列辨識號:				對 COS0637temp 的 VL 突變
	VH	VL	CH	CL	
AL0451	39	42	107	111	C94A
AL0452	39	43	107	111	C94D
AL0453	39	44	107	111	C94E
AL0454	39	45	107	111	C94F
AL0455	39	46	107	111	C94G
AL0456	39	47	107	111	C94H
AL0457	39	48	107	111	C94I
AL0458	39	49	107	111	C94K
AL0459	39	50	107	111	C94L
AL0460	39	51	107	111	C94M
AL0461	39	52	107	111	C94N
AL0462	39	53	107	111	C94P
AL0463	39	54	107	111	C94Q
AL0464	39	55	107	111	C94R
AL0465	39	56	107	111	C94S
AL0466	39	57	107	111	C94T
AL0467	39	58	107	111	C94V
AL0468	39	59	107	111	C94W
AL0469	39	60	107	111	C94Y
AL0542	39	61	107	111	C95dA
AL0543	39	62	107	111	C95dD
AL0544	39	63	107	111	C95dE
AL0545	39	64	107	111	C95dF
AL0546	39	65	107	111	C95dG
AL0547	39	66	107	111	C95dH
AL0548	39	67	107	111	C95dI
AL0549	39	68	107	111	C95dK
AL0550	39	69	107	111	C95dL
AL0551	39	70	107	111	C95dM
AL0552	39	71	107	111	C95dN
AL0553	39	72	107	111	C95dP
AL0554	39	73	107	111	C95dQ
AL0555	39	74	107	111	C95dR
AL0556	39	75	107	111	C95dS
AL0557	39	76	107	111	C95dT
AL0558	39	77	107	111	C95dV
AL0559	39	78	107	111	C95dW
AL0560	39	79	107	111	C95dY
COS0637temp	39	38	107	111	-

【0297】 然而，任何具有單一胺基酸取代的變異體在SPR(表面電漿共振)測定法中均未顯示出結合反應，因此對COS0637temp的每個單一取代進行了組合。

表4列出了18種抗體的VH和VL的序列辨識號及其突變(kabat編號)。18種抗體中的三種(AL0737、AL0743、AL0744)顯示出輕微的結合反應。為了排除甲硫胺酸和色胺酸氧化的潛在風險，選擇AL0743 (包含C94Y和C95dL取代)作為模板進行進一步最佳化。

【0298】 [表4]

抗體名稱	序列辨識號:				對 COS0637temp 的 VL 突變
	VH	VL	CH	CL	
AL0736	39	80	107	111	C94R/C95dL
AL0737	39	81	107	111	C94W/C95dL
AL0738	39	82	107	111	C94I/C95dL
AL0739	39	83	107	111	C94V/C95dL
AL0740	39	84	107	111	C94F/C95dL
AL0741	39	85	107	111	C94W/C95dQ
AL0742	39	86	107	111	C94W/C95dR
AL0743	39	87	107	111	C94Y/C95dL
AL0744	39	88	107	111	C94W/C95dM
AL0745	39	89	107	111	C94E/C95dL
AL0746	39	90	107	111	C94R/C95dY
AL0747	39	91	107	111	C94M/C95dR
AL0748	39	92	107	111	C94I/C95dF
AL0749	39	93	107	111	C94L/C95dR
AL0750	39	94	107	111	C94M/C95dL
AL0751	39	95	107	111	C94A/C95dV
AL0752	39	96	107	111	C94V/C95dA
AL0753	39	97	107	111	C94V/C95dV
COS0637temp	39	38	107	111	-

【0299】 因為AL0743的結合親和力很弱，所以將g數個突變組合導入至AL0743上，以改善結合性質(在pH7.4的親和力和pH依賴性)。此外，還進行了進一步的工程化(engineering)，以使其pI低於COS0637pHv1和COS0637pHv2。因此，產生了7種工程化抗體。表5-1列出了它們的VH、VL、HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的序列辨識號。

【0300】 [表5-1]

抗體可變域 名稱	序列辨識號：							
	VH	VL	HVR-H1	HVR-H2	HVR-H3	HVR-L1	HVR-L2	HVR-L3
COS0637pHv3	98	101	7	10	13	15	20	24
COS0637pHv4	99	101	7	10	13	15	20	24
COS0637pHv5	99	102	7	10	13	16	21	25
COS0637pHv6	99	103	7	10	13	17	20	26
COS0637pHv7	100	104	7	10	11	15	20	27
COS0637pHv8	100	105	7	10	11	18	19	27
COS0637pHv9	100	106	7	10	11	18	22	28

【0301】 合成編碼VH的基因，且與人類IgG1重鏈恆定區(CH)(SG1，序列識別號：107)、修飾的人類IgG1 CH例如SG1077R(序列辨識號：108)、TT91R(序列辨識號：109)和SG1148(序列辨識號：110)組合。合成編碼VL的基因，且與人類CL(SK1，序列辨識號：111)和修飾的人類CL(K0MC，序列辨識號：112)組合。將那些組合的序列選殖到表現載體中。

【0302】 在用重鏈和輕鏈表現載體混合物共轉染(co-transfected)的HEK293細胞中表現抗體，且藉由蛋白A純化。如果需要，可進一步進行膠體過濾。如表5-2中所列地來命名製備的抗體。AH0813-SG1在實施例5中為作測定對照。

【0303】 [表5-2]

抗體名稱	序列辨識號:			
	VH	VL	CH	CL
COS0637cc-TT91R	35	36	109	112
COS0637cc-SG1148	35	36	110	112
COS0637h-TT91R	37	38	109	111
COS0637h-SG1	37	38	107	111
COS0637temp-TT91R	39	38	109	111
COS0637pHv1-TT91R	40	38	109	111
COS0637pHv1-SG1	40	38	107	111
COS0637pHv2-TT91R	41	38	109	111
COS0637pHv2-SG1	41	38	107	111
COS0637pHv3-TT91R	98	101	109	111
COS0637pHv4-TT91R	99	101	109	111
COS0637pHv5-TT91R	99	102	109	111
COS0637pHv6-TT91R	99	103	109	111
COS0637pHv7-TT91R	100	104	109	111
COS0637pHv8-TT91R	100	105	109	111
COS0637pHv9-TT91R	100	106	109	111
AH0813-SG1	115	38	107	111

【0304】 2.1. IPN009VH2VK3-SG1148的製備

合成抗C1s抗體的重鏈和輕鏈可變區的多核苷酸，IPN009VH2 (序列辨識號：113)和IPN009VK3 (序列辨識號：114)(如WO2019/098212中所述)。重鏈和輕鏈可變區分別被選殖到包含重鏈恆定區SG1148 (序列辨識號：110)和輕鏈恆定區SK1 (序列辨識號：111)的表現載體中。

根據製造商的說明，使用Expi293(註冊商標)F細胞(Life technologies)瞬時地表現抗C1s抗體IPN009VH2VK3-SG1148。重組抗體用蛋白A(GE Healthcare)純化，且在D-PBS、Tris緩衝食鹽水(Tris Buffered Saline，TBS)或His緩衝液(20mM組胺酸，150mM NaCl，pH6.0)中洗提。如果需要，進一步進行尺寸排除層析法，以去除高分子量和/或低分子量的成分。

【0305】 實施例3

抗C1s抗體的結合特徵化

3.1. BIACORE(註冊商標)篩選COS0637temp的LCDR3中的半胱胺酸的取代

使用BIACORE(註冊商標)T200儀器(GE Healthcare)或BIACORE(註冊商標)4000(GE Healthcare)，在37度C、pH7.4下進行抗體變異體與如上所述製備的人類C1r2s2之間的交互作用的分析。根據GE Healthcare的推薦設置，使用胺偶聯試劑盒(GE Healthcare)將ProL(BioVision)固定在CM4感測器晶片上。將抗體和分析物稀釋到各自的運行緩衝液中，即ACES pH7.4 (20 mM ACES (N-(2-乙醯胺基)-2-胺基乙烷磺酸(N-(2-Acetamido)-2-aminoethanesulfonic acid))、150 mM NaCl、1.2 mM CaCl₂、1 mg/ml 牛血清白蛋白(BSA)、1 mg/ml CMD(CM-葡聚糖鈉鹽)、0.05% Tween(註冊商標)20(聚山梨醇酯20)、0.005 w/v% NaN₃。藉由ProL將每個抗體捕獲到感測器表面。抗體捕獲程度的目標是200共振單位(resonance unit, RU)。然後，以25和100 nM的濃度注射重組人類C1r2s2，然後在pH7.4解離。使用10 mM 甘胺酸-HCl (pH 1.5)來再生(regenerate)表面。圖1、2和3顯示了抗原濃度為100 nM時所有抗體的感測圖。圖1顯示了COS0637temp的輕鏈中第94位(kabat編號)的單一胺基酸取代變異體的感測圖。圖2顯示了COS0637temp的輕鏈中第95d位(kabat編號)的單一胺基酸取代變異體的感測圖。圖3顯示了COS0637temp的輕鏈中第94和95d位(kabat編號)的雙胺基酸取代變異體的感測圖。在三種抗體(AL0737、AL0743、AL0744)中觀察到輕微的結合反應，其在圖3中用箭頭突出顯示。

【0306】 3.2. 使用BIACORE(註冊商標)感測圖評估在pH7.4和pH5.8中對C1r2s2的結合活性

pH7.4和pH5.8條件之BIACORE感測圖比較

使用BIACORE(註冊商標)T200儀器(GE Healthcare)在37度C下判定每個樣品在pH 7.4和pH 5.8下的結合性質。可使用胺偶聯試劑盒(GE Healthcare)將純化的小鼠抗人類Ig kappa輕鏈(GE Healthcare)固定在CM5感測器晶片的所有流通池

上。20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM CaCl₂、1 mg/mL BSA(不含IgG)、1 mg/mL CMD、0.05% Tween(註冊商標)20、0.005% NaN₃、pH 7.4或pH 5.8緩衝液作為運行緩衝液。可藉由抗人類Ig kappa輕鏈將每種抗體都捕獲到感測器表面。抗體捕獲程度的目標是50共振單位(RU)。製備了可以例如30 micro L/min並以800或1600 nM(COS0637temp-TT91R 為 1600nM，其他為 800nM)注射的人類和食蟹猴 C1r2s2。每個循環用例如甘胺酸pH 2.0(GE Healthcare)來再生感測器表面。使用 BIACORE(註冊商標)T200評估軟體2.0版(GE Healthcare)獲得感測圖(圖4-1至4-12)。每個感測圖標示如下：實線是pH7.4的人類C1r2s2、點虛線(dotdash line)是pH5.8的人類C1r2s2、小虛線(small dashed line)是pH7.4的食蟹猴C1r2s2且點線(dotted line)是pH5.8的食蟹猴C1r2s2。儘管COS637cc-TT91R和COS0637h-TT91R在pH7.4和pH5.8條件下均表現出相當的結合反應，但針對pH依賴性的工程化變異體在酸性條件下的結合明顯較少。

【0307】 3.3. 使用動力學分數評估對人類C1r2s2的pH依賴性結合

使用BIACORE(註冊商標)T200儀器(GE Healthcare)，在37度C下判定每個樣品在pH 7.4和pH 5.8的KD(解離常數(dissociation constant))值。可使用胺偶聯試劑盒(GE Healthcare)將純化的小鼠抗人類Ig kappa輕鏈(GE Healthcare)固定在CM5感測器晶片的所有流通池上。20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM CaCl₂、1 mg/mL BSA(不含IgG)、1 mg/mL CMD、0.05% Tween(註冊商標)20、0.005% NaN₃、pH 7.4或pH 5.8的緩衝液作為運行緩衝液。可藉由抗人類Ig kappa輕鏈，將每個抗體都捕獲到感測器表面。抗體捕獲程度的目標是50共振單位(RU)。對於pH7.4的KD值，可以0、25、40、100、200、400 nM或0、12.5、25、40、100、200 nM或0、6.3、12.5、25、50、100 nM並以30 micro L/min來注射製備的人類C1r2s2。對於pH5.8的KD值，可用例如甘胺酸pH 2.0(GE Healthcare)且以0、200、400、800、1600、3200 nM或0、50、100、200、400、800 nM並以30 micro L/min來注射人

類C1r2s2。每個循環用例如甘胺酸pH 2.0(GE Healthcare)來再生感測器表面。使用BIAcore(註冊商標)T200評估軟體2.0版(GE Healthcare)獲得KD值。將pH5.8的KD值與pH7.4的KD值(pH5.8 KD/ pH7.4 KD)進行比較(表6)。KD值會被捨棄，如果BIAcore(註冊商標)軟體的品質控制結果提到對於抗體而言「動力學常數無法唯一地(uniquely)判定」，且在表6中描述為ND(無法檢測(not detectable))。工程化變異體的KD (pH5.8)/KD (pH7.4)分數高於COS637cc-TT91R和COS0637h-TT91R的分數。其描述所有COS0637變異體均具有比COS0637cc-TT91R更強的pH依賴性。

【0308】 [表6]

抗體名稱	KD (mol/L)		KD (pH5.8)/ KD (pH7.4)
	pH5.8	pH7.4	
COS0637cc-TT91R	4.33×10^{-8}	4.48×10^{-9}	10
COS0637h-TT91R	3.62×10^{-7}	2.54×10^{-8}	14
COS0637temp-TT91R	6.39×10^{-6}	5.50×10^{-8}	116
COS0637pHv1-TT91R	3.60×10^{-6}	1.72×10^{-8}	209
COS0637pHv2-TT91R	5.88×10^{-7}	1.34×10^{-8}	44
COS0637pHv3-TT91R	2.13×10^{-6}	7.66×10^{-9}	278
COS0637pHv4-TT91R	8.11×10^{-7}	8.23×10^{-9}	99
COS0637pHv5-TT91R	ND*	6.43×10^{-9}	ND*
COS0637pHv6-TT91R	8.38×10^{-7}	8.39×10^{-9}	100
COS0637pHv7-TT91R	3.53×10^{-7}	4.90×10^{-9}	72
COS0637pHv8-TT91R	8.74×10^{-7}	7.46×10^{-9}	117
COS0637pHv9-TT91R	1.57×10^{-7}	3.48×10^{-9}	45

*ND：無法檢測

【0309】 3.4. 抗C1s抗體的C1q置換功能的評估

使用BIAcore (註冊商標)T200儀器(GE Healthcare)在37度C下藉由C1r2s2捕獲方法證明抗體的C1q置換功能。使用胺偶聯試劑盒(GE Healthcare)將抗人類C1r2s2抗體IPN009VH2Vk3-SG1148固定在CM5感測器晶片上。在pH 7.4緩衝液(20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM CaCl₂、1 mg / mL BSA(不含IgG)、1 mg/mL CMD、0.05% Tween(註冊商標)20、0.005% NaN₃、pH 7.4)中製備抗體，重組人類C1r2s2四聚體和天然人類C1q (CompTech)。重組人類C1r2s2四聚體先被抗C1r2s2抗體捕獲到感測器表面。捕獲程度的目標是200共振單位(RU)。然後，以

約100 nM注射天然人類C1q，然後立即以約500 nM且以10 micro L/min注射抗體900秒。每個循環用3 M MgCl_2 來再生感測器表面。結果顯示在圖5和6中。使用BIACORE (註冊商標)T200評估軟體2.0版(GE Healthcare)獲得感測圖。感測圖1(實線)描述了C1qrs在感測器表面上的穩定捕獲(「C1r2s2 + C1q」)。感測圖2(點虛線)描述了抗體與C1qrs的結合及C1q從C1r2s2的置換(「C1r2s2 + C1q + Ab」)。感測圖3(虛線)描述了抗體僅與感測器晶片表面上的C1r2s2結合(「C1r2s2 + Ab」)。圖5顯示所有感測圖「C1r2s2 + C1q + Ab」、「C1r2s2 + C1q + 緩衝液」和「C1r2s2 + Ab」。為了比較這些感測圖，將C1r2s2的結合反應標準化為100 RU。圖6顯示了「C1r2s2 + C1q + Ab」和「C1r2s2 + C1q + 緩衝液」之間的比較結果。為了比較這些感測圖，將基準線(注射抗體之前)調整為0 RU。

【0310】 對於具有C1q置換功能的抗體，感測圖2的反應單位低於感測圖1中的反應單位，或下降程度大於感測圖1的下降程度。並且，如果感測圖3未降低，則認為Ab (抗體)可穩定地結合至C1r2s2。從圖5中的感測圖3來看，每個Ab都被認為能夠在沒有C1q的情況下穩定地結合至C1r2s2。而且，從感測圖1來看，C1q在沒有Ab的情況下穩定地結合至C1r2s2。同時從圖6來看，所有Abs的感測圖2均下降。因此，所有工程化的抗體都可使C1q從C1qrs複合體解離。

【0311】 實施例4

抗C1s抗體的等電點(pI)的估計

4.1. 使用毛細管等電聚焦(capillary isoelectric focusing, cIEF)來判定抗C1s抗體的等電點(pI)

使用塗佈有氟碳化合物的毛細管盒(capillary cartridge)，在Protein Simple iCE3全毛細管成像系統上進行cIEF。陽極電解液和陰極電解液溶液分別是配製在0.1% m/v 甲基纖維素(MC)中的0.08 M磷酸和配製在0.1% m/v MC中的0.1 M氫氧化鈉。所有分析的樣品均包含作用的0.5 mg/mL抗體、0.3% m/v MC、6.0 mM

IDA (亞胺二乙酸)、10 mM精胺酸、4 M尿素、pI標記物(7.65和9.77)，和以下2%兩性電解質8-10.5(pharmalyte 8-10.5)、2%兩性電解質5-8(pharmalyte 5-8)的v/v混合物。在裝載至自動進樣器隔間(autosampler compartment)之前，將所有樣品短暫渦旋並離心。在開始測量之前，將樣品在自動進樣器中培育2小時。在1.5 kV的條件下聚焦1分鐘，然後在3.0 kV的條件下聚焦7分鐘。自動進樣器隔間保持在10度C。每個樣品重複兩次測量，且藉由計算n = 2測量值之平均，來獲得每個樣品的pI值。表7中描述了pI值。從此表中，COS0637變異體(COS0637pHv3-TT91R至 COS0637pHv9-TT91R) 的 pI 值 小 於 COS0637pHv1-TT91R 和 COS0637pHv2-TT91R。

【0312】 [表7]

抗體名稱	pI (n=2)
COS0637cc-TT91R	9.00
COS0637h-TT91R	9.41
COS0637temp-TT91R	9.25
COS0637pHv1-TT91R	9.21
COS0637pHv2-TT91R	9.39
COS0637pHv3-TT91R	8.71
COS0637pHv4-TT91R	8.71
COS0637pHv5-TT91R	8.52
COS0637pHv6-TT91R	8.69
COS0637pHv7-TT91R	8.72
COS0637pHv8-TT91R	8.71
COS0637pHv9-TT91R	8.78

【0313】 實施例5

5.1. 抗C1s抗體的免疫原性潛力的評價

如WO2018/124005(Kubo C.等人)所述，在展現出主動增殖之前，藉由使用分泌IL-2的CD4 + T細胞的比例作為指標，來評估抗體的免疫原性潛力。具體地，從人類PBMC製備CD8⁻CD25^{low} PBMC (周邊血液單核細胞)，且在抗體存在下將

細胞培養67小時。圖7顯示了在培養的細胞群中分泌IL-2的細胞比例的測定結果。如圖7所示，COS0637系列抗體的陽性供體(positive donor)的頻率與抗體A(圖7中的Ab-A)相似或略高，但與抗hA33抗體(hA33)相比則較低。因此，認為這些抗體不具有高免疫原性潛力。特別是，COS0637pHv3-TT91R，COS0637pHv5-TT91R，COS0637pHv8-TT91R和COS0637pHv9-TT91R顯示出比其他抗C1s抗體變異體還少的陽性供體，這暗示了這些變異體在工程化抗C1s抗體中具有較低的免疫原性潛力。

【0314】 5.2 評價抗C1s抗體誘導的免疫細胞形態變化

基於高含量螢光影像分析(high-content fluorescent image analysis)來評價細胞形態的動態變化，以評估細胞的生理狀態。具體地，製備CD8⁺CD25^{low} PBMC，且用5.1中所述方式處理抗體。與抗體一起培養67小時後，將PBMC固定且用Hoechst33258和抗alpha-微管蛋白抗體(anti-alpha-tubulin antibody)染色，以分別將細胞核和微管可視化。在IN Cell Developer Toolbox (GE Healthcare)中分析藉由IN Cell Analyzer(註冊商標)6000(GE Healthcare)得到的螢光影像。簡而言之，藉由細胞核和微管的影像來定義細胞形態。計算每個細胞的形狀變化的定量標記物(細胞面積和細胞周長)，且在每個孔中分析約1,000個細胞。以用測試物品(test article)處理的PBMC中的細胞面積(圖8-1)和細胞周長(圖8-2)的平均值為基礎，藉由魏克森等級和檢定(Wilcoxon rank sum test)(* p <0.05，** p <0.01)來評估形態變化的統計顯著性。如圖8-1和圖8-2所示，與陰性對照(無抗原)相比，AH0813-SG1，COS0637pHv1-SG1和COS0637pHv2-SG1中的細胞面積和細胞周長顯著擴大。相反地，在包含COS0637pHv1-TT91R和COS0637pHv2-TT91R抗體的TT91R變異體中未觀察到細胞面積和細胞周長的增加。這些結果暗示TT91R變異體在PBMC中比其他抗C1s抗體變異體具有較少的誘導形態變化的潛力。

【0315】 同樣關於5.1中所描述的形態變化與免疫原性潛力之間的關係，

AH0813-SG1、COS0637pHv1-SG1和COS0637pHv2-SG1顯著地誘導形態變化，顯示出高免疫原性潛力(圖8-3)，另一方面，沒有誘導形態變化的TT91R變異體顯示出低免疫原性潛力。再者，由於其高程度的免疫原性而被中止臨床試驗的抗PCSK9抗體波科西珠單抗(bococizumab)，顯示出高免疫原性潛力和顯著的形態變化(數據未顯示)。結合抗C1s抗體變異體和波科西珠單抗的結果，表示免疫原性潛力的程度與形態變化的程度一致。對於評估免疫原性潛力和了解免疫原性的機制而言，形態變化的評價被認為是有效的。細胞形態的定義和形態變化的量化對於精確評價免疫細胞的形態變化至關重要。為了定義細胞形態，例如肌動蛋白細胞骨架(actin cytoskeleton)的其他分子能夠代替細胞微管。再者，例如形狀因子(form factor)和長/短軸(major/minor axis)長度的其他定量標記物也可用於量化形態變化，這表示評價形態變化以評估免疫原性的一些替代方法存在。

【符號說明】

無。

序列表

<110> 日商中外製藥股份有限公司 CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA
<120> 抗體、醫藥組成物及方法
<130> C1-A1923P
<150> JP 2019-189148
<151> 2019-10-16
<160> 115
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> COS0637pH_HVR-H1
<400> 1

Ala Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 2
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> COS0637pH_HVR-H2

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(8)
<223> Xaa 可為任何天然存在的胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(16)
<223> Xaa 可為任何天然存在的胺基酸

<400> 2
Leu Ile Tyr Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Tyr Ala Ser Trp Ala Xaa Xaa
1 5 10 15

<210> 3
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pH_HVR-H3

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa 可為任何天然存在的胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa 可為任何天然存在的胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> Xaa 可為任何天然存在的胺基酸

<400> 3

Gly Arg Ser Xaa Asn Tyr Xaa Ser Xaa Phe His Leu
1 5 10

<210> 4
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pH_HVR-L1

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(5)
<223> Xaa 可為任何天然存在的胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> Xaa 可為任何天然存在的胺基酸

<400> 4

Gln Ala Xaa Xaa Xaa Leu His Asp Lys Xaa Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pH_HVR-L2

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa 可為任何天然存在的胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(5)
<223> Xaa 可為任何天然存在的胺基酸

<400> 5

Xaa Ala Ser Xaa Xaa Glu Ser
1 5

<210> 6
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pH_HVR-L3

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa 可為任何天然存在的胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(8)
<223> Xaa 可為任何天然存在的胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa 可為任何天然存在的胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa 可為任何天然存在的胺基酸

<400> 6

Xaa Gly Glu Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Asp Xaa Asn Xaa
1 5 10

<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv1_HVR-H1

<400> 7

Ala Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 8
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv1_HVR-H2

<400> 8

Leu Ile Tyr Gly Ser Lys Ser Thr Phe Tyr Ala Ser Trp Ala Glu Gly
1 5 10 15

<210> 9
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv2_HVR-H2

<400> 9

Leu Ile Tyr Gly Lys Gly Ser Thr Phe Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Glu
1 5 10 15

<210> 10
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv3_HVR-H2

<400> 10

Leu Ile Tyr Gly Ser Gly His Glu Phe Tyr Ala Ser Trp Ala Glu Glu
1 5 10 15

<210> 11
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv1_HVR-H3

<400> 11
Gly Arg Ser Lys Asn Tyr Asn Ser Asp Phe His Leu
1 5 10

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

<220>
<223> COS0637pHv2_HVR-H3

<400> 12
Gly Arg Ser Val Asn Tyr Asn Ser Asp Phe His Leu
1 5 10

<210> 13
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv3_HVR-H3

<400> 13
Gly Arg Ser Lys Asn Tyr Val Ser Gly Phe His Leu
1 5 10

<210> 14
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv1_HVR-L1

<400> 14
Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys Lys Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 15
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv3_HVR-L1

<400> 15

Gln Ala Ser Gln Ile Leu His Asp Lys Lys Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 16
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv5_HVR-L1

<400> 16

Gln Ala Ser Gly Ile Leu His Asp Lys Lys Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 17
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv6_HVR-L1

<400> 17

Gln Ala Gln Gln Ile Leu His Asp Lys Arg Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 18
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv8_HVR-L1

<400> 18

Gln Ala Asn Gln Ile Leu His Asp Lys Lys Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv1_HVR-L2

<400> 19

Gly Ala Ser Thr Leu Glu Ser

1 5

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv3_HVR-L2

<400> 20

Gln Ala Ser Gln Leu Glu Ser
1 5

<210> 21
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv5_HVR-L2

<400> 21

Gly Ala Ser Gln Leu Glu Ser
1 5

<210> 22
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv9_HVR-L2

<400> 22

Gln Ala Ser Gln Arg Glu Ser
1 5

<210> 23
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv1_HVR-L3

<400> 23

Gln Gly Glu Phe Ser Cys Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr
1 5 10

<210> 24
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv3_HVR-L3

<400> 24

His Gly Glu Phe Ser Tyr Glu Ser Ala Asp Leu Asn Gln
1 5 10

<210> 25
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv5_HVR-L3

<400> 25

His Gly Glu Phe Ser Tyr Glu Glu Ala Asp Leu Asn Thr
1 5 10

<210> 26
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv6_HVR-L3

<400> 26

His Gly Glu Phe Ser Tyr Glu Ser Ala Asp Leu Asn Thr
1 5 10

<210> 27
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv7_HVR-L3

<400> 27

His Gly Glu Phe Ser Tyr Ser Ser Ala Asp Leu Asn Thr
1 5 10

<210> 28

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> COS0637pHv9_HVR-L3

<400> 28

His Gly Glu Phe Pro Tyr Glu Ser Ala Asp Leu Asn Thr
1 5 10

<210> 29
<211> 701
<212> PRT
<213> 食蟹猴
<400> 29

Met Trp Cys Ile Ile Leu Phe Ser Leu Leu Ala Trp Val Tyr Ala Glu
1 5 10 15

Pro Thr Met Tyr Gly Glu Ile Leu Ser Pro Asn Tyr Pro Gln Ala Tyr
20 25 30

Pro Ser Glu Val Glu Lys Ser Trp Asp Ile Glu Val Pro Glu Gly Tyr
35 40 45

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

Cys Ala Tyr Asp Ser Val Gln Ile Met Ser Gly Asp Ile Glu Glu Gly
65 70 75 80

Arg Leu Cys Gly Gln Arg Thr Ser Asn Asn Pro Tyr Ser Pro Ile Val
85 90 95

Glu Glu Phe Gln Val Pro Tyr Asn Lys Leu Gln Val Ile Phe Lys Ser
100 105 110

Asp Phe Ser Asn Glu Glu Arg Phe Thr Gly Phe Ala Ala Tyr Tyr Val
115 120 125

Ala Thr Asp Ile Asn Glu Cys Thr Asp Phe Val Asp Ala Pro Cys Ser
130 135 140

His Phe Cys Asn Asn Phe Ile Gly Gly Tyr Phe Cys Ser Cys Pro Pro
145 150 155 160

Glu Tyr Phe Leu His Asp Asp Met Lys Asn Cys Gly Val Asn Cys Ser
165 170 175

Gly Asp Val Phe Thr Ala Leu Ile Gly Glu Ile Ala Ser Pro Asn Tyr
180 185 190

Pro Lys Pro Tyr Pro Glu Asn Ser Arg Cys Glu Tyr Gln Ile Arg Leu
195 200 205

Glu Lys Gly Phe Gln Val Val Val Thr Val Arg Arg Glu Asp Phe Asp
210 215 220

Val Glu Pro Ala Asp Ser Glu Gly Asn Cys Leu Asp Ser Leu Val Phe
225 230 235 240

Val Ala Gly Asp Gln Gln Phe Gly Pro Tyr Cys Gly Arg Gly Phe Pro
245 250 255

Gly Pro Leu Asn Ile Glu Thr Lys Ser Asn Val Leu Asp Ile Ile Phe
260 265 270

Gln Thr Asp Leu Thr Gly Gln Asn Lys Gly Trp Lys Leu Arg Tyr His
275 280 285

Gly Asp Pro Met Pro Cys Pro Lys Glu Glu Thr Pro Thr Ser Val Trp
290 295 300

Glu Pro Ala Lys Ala Lys Tyr Val Phe Arg Asp Val Val Arg Ile Thr
305 310 315 320

Cys Leu Asp Gly Phe Glu Val Val Glu Gly Arg Val Gly Ala Thr Ser
325 330 335

Phe His Ser Thr Cys Gln Ser Asn Gly Lys Trp Ser Asn Ser Lys Leu
340 345 350

Lys Cys Gln Pro Val Asp Cys Gly Ile Pro Glu Ser Ile Glu Asn Gly
355 360 365

Lys Val Glu Asp Pro Glu Ser Thr Leu Phe Gly Ser Val Thr Arg Tyr
370 375 380

Thr	Cys	Glu	Glu	Pro	Tyr	Tyr	Tyr	Met	Glu	Asn	Gly	Gly	Asn	Gly	Gln
385					390					395					400
Tyr	His	Cys	Ala	Ser	Asn	Gly	Ser	Trp	Val	Asn	Glu	Ala	Leu	Ser	Pro
				405					410					415	
Glu	Leu	Pro	Lys	Cys	Val	Pro	Val	Cys	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Pro	Phe
			420					425					430		
Glu	Gly	Lys	Gln	Arg	Ile	Ile	Gly	Gly	Ser	Asp	Ala	Asp	Ile	Lys	Asn
		435					440					445			
Phe	Pro	Trp	Gln	Val	Phe	Phe	Asp	Asn	Pro	Trp	Ala	Gly	Gly	Ala	Leu
	450					455					460				
Ile	Asp	Glu	Tyr	Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Val	Val	Glu	Gly	Asn
465					470					475					480
Gln	Glu	Pro	Thr	Met	Tyr	Val	Gly	Ser	Thr	Ser	Val	Gln	Thr	Ser	Arg
				485					490					495	
Leu	Ala	Lys	Ser	Lys	Met	Leu	Thr	Ser	Glu	Arg	Val	Phe	Ile	His	Pro
			500					505					510		
Gly	Trp	Lys	Leu	Leu	Glu	Val	Pro	Glu	Ala	Arg	Thr	Asn	Phe	Asp	Asn
		515					520					525			
Asp	Ile	Ala	Leu	Val	Gln	Leu	Lys	Asp	Pro	Val	Lys	Met	Gly	Pro	Thr
	530					535					540				
Val	Ala	Pro	Ile	Cys	Leu	Pro	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Tyr	Asn	Leu	Met
545					550					555					560
Asp	Gly	Asp	Leu	Gly	Leu	Ile	Ala	Gly	Trp	Gly	Arg	Thr	Glu	Lys	Arg
				565					570					575	
Asp	Arg	Ala	Leu	Arg	Leu	Lys	Ala	Ala	Arg	Leu	Pro	Val	Ala	Pro	Leu
			580					585					590		
Arg	Lys	Cys	Arg	Glu	Val	Lys	Val	Glu	Asn	Pro	Lys	Ala	Asp	Ala	Gly
		595					600					605			
Ala	Tyr	Val	Phe	Thr	Pro	Asn	Met	Ile	Cys	Ala	Gly	Gly	Glu	Lys	Gly
	610					615					620				

Met Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Ala Phe Ala Val Gln Asp
625 630 635 640

Pro Asn Asp Lys Thr Lys Phe Tyr Val Ala Gly Leu Val Ser Trp Gly
645 650 655

Pro Gln Cys Gly Thr Tyr Gly Leu Tyr Thr Arg Val Gln Asn Tyr Val
660 665 670

Asp Trp Ile Lys Lys Thr Met Gln Glu Asn Ser Thr Pro Ser Lys Asp
675 680 685

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
690 695 700

<210> 30
<211> 718
<212> PRT
<213> 食蟹猴
<400> 30

Met Trp Leu Leu Tyr Leu Leu Val Pro Ala Leu Phe Cys Arg Ala Gly
1 5 10 15

Gly Ser Ile Pro Ile Pro Gln Lys Leu Phe Gly Glu Val Thr Ser Pro
20 25 30

Leu Phe Pro Lys Pro Tyr Pro Asn Ser Phe Glu Thr Thr Thr Val Ile
35 40 45

Thr Val Pro Thr Gly Tyr Arg Val Lys Leu Val Phe Gln His Phe Asp
50 55 60

Leu Glu Pro Ser Glu Gly Cys Phe Tyr Asp Tyr Val Lys Ile Ser Ala
65 70 75 80

Asp Lys Lys Asn Leu Gly Arg Phe Cys Gly Gln Leu Gly Ser Pro Leu
85 90 95

Gly Asn Pro Pro Gly Lys Lys Glu Phe Leu Ser Gln Gly Asn Lys Met
100 105 110

Leu Leu Thr Phe His Thr Asp Phe Ser Asn Glu Glu Asn Gly Thr Ile

115					120					125						
Met	Phe	Tyr	Lys	Gly	Phe	Leu	Ala	Tyr	Tyr	Gln	Ala	Val	Asp	Leu	Asp	
130					135					140						
Glu	Cys	Ala	Ser	Gln	Ser	Glu	Ser	Gly	Glu	Lys	Asp	Pro	Gln	Pro	Gln	
145					150					155					160	
Cys	Gln	His	Leu	Cys	His	Asn	Tyr	Val	Gly	Gly	Tyr	Phe	Cys	Ser	Cys	
165					170					175						
Arg	Pro	Gly	Tyr	Glu	Leu	Gln	Glu	Asp	Arg	His	Ser	Cys	Gln	Ala	Glu	
180					185					190						
Cys	Ser	Ser	Glu	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ile	Ser	Ser	Leu	
195					200					205						
Glu	Tyr	Pro	Arg	Ser	Tyr	Pro	Pro	Asp	Leu	Arg	Cys	Asn	Tyr	Ser	Ile	
210					215					220						
Arg	Val	Glu	Arg	Gly	Leu	Thr	Leu	His	Leu	Lys	Phe	Leu	Glu	Pro	Phe	
225					230					235					240	
Glu	Ile	Asp	Asp	His	Gln	Gln	Val	His	Cys	Pro	Tyr	Asp	Gln	Leu	Gln	
245					250					255						
Ile	Tyr	Ala	Asn	Gly	Lys	Asn	Ile	Gly	Glu	Phe	Cys	Gly	Lys	Gln	Arg	
260					265					270						
Pro	Pro	Asp	Phe	Asp	Thr	Ser	Ser	Asn	Ala	Val	Asp	Leu	Leu	Phe	Phe	
275					280					285						
Thr	Asp	Glu	Ser	Gly	Asp	Ser	Arg	Gly	Trp	Lys	Leu	Arg	Tyr	Thr	Thr	
290					295					300						
Glu	Ile	Ile	Lys	Cys	Pro	Gln	Pro	Lys	Thr	Leu	Asp	Glu	Phe	Thr	Val	
305					310					315					320	
Ile	Gln	Asn	Leu	Gln	Pro	Gln	Tyr	Gln	Phe	Arg	Asp	Tyr	Phe	Ile	Ala	
325					330					335						
Thr	Cys	Lys	Leu	Gly	Tyr	Gln	Leu	Ile	Glu	Gly	Asn	Gln	Val	Leu	His	
340					345					350						

Ser Phe Thr Ala Val Cys Gln Asp Asp Gly Thr Trp His Arg Ala Met
355 360 365

Pro Arg Cys Lys Ile Lys Asp Cys Gly Gln Pro Arg Asn Leu Pro Asn
370 375 380

Gly Ala Phe Arg Tyr Thr Thr Thr Met Gly Val Asn Thr Tyr Lys Ala
385 390 395 400

Arg Ile Gln Tyr Tyr Cys His Glu Pro Tyr Tyr Lys Met Gln Thr Arg
405 410 415

Ala Gly Ser Lys Glu Ser Glu Gln Gly Leu Tyr Thr Cys Thr Ala Gln
420 425 430

Gly Ile Trp Lys Asn Glu Gln Lys Gly Glu Lys Ile Pro Arg Cys Leu
435 440 445

Pro Val Cys Gly Lys Pro Val Asn Pro Val Glu Gln Arg Gln Gln Ile
450 455 460

Ile Gly Gly Gln Lys Ala Lys Met Gly Asn Phe Pro Trp Gln Val Phe
465 470 475 480

Thr Asn Ile His Gly Arg Gly Gly Gly Ala Leu Leu Gly Asp Arg Trp
485 490 495

Ile Leu Thr Ala Ala His Thr Leu Tyr Pro Lys Glu His Glu Ala Gln
500 505 510

Ser Asn Ala Ser Leu Asp Val Phe Leu Gly His Thr Asn Val Glu Glu
515 520 525

Leu Met Lys Leu Ala Asn His Pro Ile Arg Arg Val Ser Ile His Pro
530 535 540

Asp Tyr Arg Gln Asp Glu Ser His Asn Phe Glu Gly Asp Ile Ala Leu
545 550 555 560

Leu Glu Leu Glu Asn Ser Val Thr Leu Gly Pro Asn Leu Leu Pro Ile
565 570 575

Cys Leu Pro Asp Asn Glu Thr Phe Tyr Asp Leu Gly Leu Met Gly Tyr

580										585					590				
Val	Ser	Gly	Phe	Gly	Val	Met	Glu	Glu	Lys	Ile	Ala	His	Asp	Leu	Arg				
595							600				605								
Phe	Val	Arg	Leu	Pro	Val	Ala	Asn	Arg	Lys	Asp	Cys	Glu	Thr	Trp	Leu				
610				615				620											
Arg	Gly	Lys	Asn	Arg	Leu	Asp	Val	Phe	Ser	Gln	Asn	Met	Phe	Cys	Ala				
625			630				635				640								
Gly	His	Pro	Ser	Leu	Lys	Gln	Asp	Ala	Cys	Gln	Gly	Asp	Ala	Gly	Gly				
				645		650				655									
Val	Phe	Ala	Val	Arg	Asp	Pro	Asn	Thr	Asp	Arg	Trp	Ile	Ala	Thr	Gly				
			660		665				670										
Ile	Val	Ser	Trp	Gly	Ile	Gly	Cys	Ser	Lys	Gly	Tyr	Gly	Phe	Tyr	Thr				
		675		680				685											
Lys	Val	Leu	Asn	Tyr	Val	Asp	Trp	Ile	Lys	Lys	Glu	Met	Glu	Glu	Glu				
690		695				700													
Asp	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His	His	His						
705		710				715													
<210>		31																	
<211>		688																	
<212>		PRT																	
<213>		智人																	
<400>		31																	
Met	Trp	Cys	Ile	Val	Leu	Phe	Ser	Leu	Leu	Ala	Trp	Val	Tyr	Ala	Glu				
1				5					10					15					
Pro	Thr	Met	Tyr	Gly	Glu	Ile	Leu	Ser	Pro	Asn	Tyr	Pro	Gln	Ala	Tyr				
			20						25						30				
Pro	Ser	Glu	Val	Glu	Lys	Ser	Trp	Asp	Ile	Glu	Val	Pro	Glu	Gly	Tyr				
		35						40						45					
Gly	Ile	His	Leu	Tyr	Phe	Thr	His	Leu	Asp	Ile	Glu	Leu	Ser	Glu	Asn				
50						55						60							

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

Glu	Pro	Ala	Lys	Ala	Lys	Tyr	Val	Phe	Arg	Asp	Val	Val	Gln	Ile	Thr	
305					310					315					320	
Cys	Leu	Asp	Gly	Phe	Glu	Val	Val	Glu	Gly	Arg	Val	Gly	Ala	Thr	Ser	
				325					330					335		
Phe	Tyr	Ser	Thr	Cys	Gln	Ser	Asn	Gly	Lys	Trp	Ser	Asn	Ser	Lys	Leu	
			340					345					350			
Lys	Cys	Gln	Pro	Val	Asp	Cys	Gly	Ile	Pro	Glu	Ser	Ile	Glu	Asn	Gly	
		355					360					365				
Lys	Val	Glu	Asp	Pro	Glu	Ser	Thr	Leu	Phe	Gly	Ser	Val	Ile	Arg	Tyr	
	370					375					380					
Thr	Cys	Glu	Glu	Pro	Tyr	Tyr	Tyr	Met	Glu	Asn	Gly	Gly	Gly	Gly	Glu	
385					390					395					400	
Tyr	His	Cys	Ala	Gly	Asn	Gly	Ser	Trp	Val	Asn	Glu	Val	Leu	Gly	Pro	
				405					410					415		
Glu	Leu	Pro	Lys	Cys	Val	Pro	Val	Cys	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Pro	Phe	
			420					425					430			
Glu	Glu	Lys	Gln	Arg	Ile	Ile	Gly	Gly	Ser	Asp	Ala	Asp	Ile	Lys	Asn	
		435					440					445				
Phe	Pro	Trp	Gln	Val	Phe	Phe	Asp	Asn	Pro	Trp	Ala	Gly	Gly	Ala	Leu	
	450					455					460					
Ile	Asn	Glu	Tyr	Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Val	Val	Glu	Gly	Asn	
465					470					475					480	
Arg	Glu	Pro	Thr	Met	Tyr	Val	Gly	Ser	Thr	Ser	Val	Gln	Thr	Ser	Arg	
				485					490					495		
Leu	Ala	Lys	Ser	Lys	Met	Leu	Thr	Pro	Glu	His	Val	Phe	Ile	His	Pro	
			500					505					510			
Gly	Trp	Lys	Leu	Leu	Glu	Val	Pro	Glu	Gly	Arg	Thr	Asn	Phe	Asp	Asn	
		515					520					525				

Asp Ile Ala Leu Val Arg Leu Lys Asp Pro Val Lys Met Gly Pro Thr
530 535 540

Val Ser Pro Ile Cys Leu Pro Gly Thr Ser Ser Asp Tyr Asn Leu Met
545 550 555 560

Asp Gly Asp Leu Gly Leu Ile Ser Gly Trp Gly Arg Thr Glu Lys Arg
565 570 575

Asp Arg Ala Val Arg Leu Lys Ala Ala Arg Leu Pro Val Ala Pro Leu
580 585 590

Arg Lys Cys Lys Glu Val Lys Val Glu Lys Pro Thr Ala Asp Ala Glu
595 600 605

Ala Tyr Val Phe Thr Pro Asn Met Ile Cys Ala Gly Gly Glu Lys Gly
610 615 620

Met Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Ala Phe Ala Val Gln Asp
625 630 635 640

Pro Asn Asp Lys Thr Lys Phe Tyr Ala Ala Gly Leu Val Ser Trp Gly
645 650 655

Pro Gln Cys Gly Thr Tyr Gly Leu Tyr Thr Arg Val Lys Asn Tyr Val
660 665 670

Asp Trp Ile Met Lys Thr Met Gln Glu Asn Ser Thr Pro Arg Glu Asp
675 680 685

<210> 32
<211> 705
<212> PRT
<213> 智人

<400> 32

Met Trp Leu Leu Tyr Leu Leu Val Pro Ala Leu Phe Cys Arg Ala Gly
1 5 10 15

Gly Ser Ile Pro Ile Pro Gln Lys Leu Phe Gly Glu Val Thr Ser Pro
20 25 30

Leu Phe Pro Lys Pro Tyr Pro Asn Asn Phe Glu Thr Thr Thr Val Ile
35 40 45

Thr Val Pro Thr Gly Tyr Arg Val Lys Leu Val Phe Gln Gln Phe Asp
50 55 60

Leu Glu Pro Ser Glu Gly Cys Phe Tyr Asp Tyr Val Lys Ile Ser Ala
65 70 75 80

Asp Lys Lys Ser Leu Gly Arg Phe Cys Gly Gln Leu Gly Ser Pro Leu
85 90 95

Gly Asn Pro Pro Gly Lys Lys Glu Phe Met Ser Gln Gly Asn Lys Met
100 105 110

Leu Leu Thr Phe His Thr Asp Phe Ser Asn Glu Glu Asn Gly Thr Ile
115 120 125

Met Phe Tyr Lys Gly Phe Leu Ala Tyr Tyr Gln Ala Val Asp Leu Asp
130 135 140

Glu Cys Ala Ser Arg Ser Lys Leu Gly Glu Glu Asp Pro Gln Pro Gln
145 150 155 160

Cys Gln His Leu Cys His Asn Tyr Val Gly Gly Tyr Phe Cys Ser Cys
165 170 175

Arg Pro Gly Tyr Glu Leu Gln Glu Asp Arg His Ser Cys Gln Ala Glu
180 185 190

Cys Ser Ser Glu Leu Tyr Thr Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Ser Ser Leu
195 200 205

Glu Tyr Pro Arg Ser Tyr Pro Pro Asp Leu Arg Cys Asn Tyr Ser Ile
210 215 220

Arg Val Glu Arg Gly Leu Thr Leu His Leu Lys Phe Leu Glu Pro Phe
225 230 235 240

Asp Ile Asp Asp His Gln Gln Val His Cys Pro Tyr Asp Gln Leu Gln
245 250 255

Ile Tyr Ala Asn Gly Lys Asn Ile Gly Glu Phe Cys Gly Lys Gln Arg
260 265 270

Pro Pro Asp Leu Asp Thr Ser Ser Asn Ala Val Asp Leu Leu Phe Phe

275					280					285						
Thr	Asp	Glu	Ser	Gly	Asp	Ser	Arg	Gly	Trp	Lys	Leu	Arg	Tyr	Thr	Thr	
290					295					300						
Glu	Ile	Ile	Lys	Cys	Pro	Gln	Pro	Lys	Thr	Leu	Asp	Glu	Phe	Thr	Ile	
305					310					315					320	
Ile	Gln	Asn	Leu	Gln	Pro	Gln	Tyr	Gln	Phe	Arg	Asp	Tyr	Phe	Ile	Ala	
325					330					335						
Thr	Cys	Lys	Gln	Gly	Tyr	Gln	Leu	Ile	Glu	Gly	Asn	Gln	Val	Leu	His	
340					345					350						
Ser	Phe	Thr	Ala	Val	Cys	Gln	Asp	Asp	Gly	Thr	Trp	His	Arg	Ala	Met	
355					360					365						
Pro	Arg	Cys	Lys	Ile	Lys	Asp	Cys	Gly	Gln	Pro	Arg	Asn	Leu	Pro	Asn	
370					375					380						
Gly	Asp	Phe	Arg	Tyr	Thr	Thr	Thr	Met	Gly	Val	Asn	Thr	Tyr	Lys	Ala	
385					390					395					400	
Arg	Ile	Gln	Tyr	Tyr	Cys	His	Glu	Pro	Tyr	Tyr	Lys	Met	Gln	Thr	Arg	
405					410					415						
Ala	Gly	Ser	Arg	Glu	Ser	Glu	Gln	Gly	Val	Tyr	Thr	Cys	Thr	Ala	Gln	
420					425					430						
Gly	Ile	Trp	Lys	Asn	Glu	Gln	Lys	Gly	Glu	Lys	Ile	Pro	Arg	Cys	Leu	
435					440					445						
Pro	Val	Cys	Gly	Lys	Pro	Val	Asn	Pro	Val	Glu	Gln	Arg	Gln	Gln	Ile	
450					455					460						
Ile	Gly	Gly	Gln	Lys	Ala	Lys	Met	Gly	Asn	Phe	Pro	Trp	Gln	Val	Phe	
465					470					475					480	
Thr	Asn	Ile	His	Gly	Arg	Gly	Gly	Gly	Ala	Leu	Leu	Gly	Asp	Arg	Trp	
485					490					495						
Ile	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Thr	Leu	Tyr	Pro	Lys	Glu	His	Glu	Ala	Gln	
500					505					510						

Ser Asn Ala Ser Leu Asp Val Phe Leu Gly His Thr Asn Val Glu Glu
515 520 525

Leu Met Lys Leu Gly Asn His Pro Ile Arg Arg Val Ser Val His Pro
530 535 540

Asp Tyr Arg Gln Asp Glu Ser Tyr Asn Phe Glu Gly Asp Ile Ala Leu
545 550 555 560

Leu Glu Leu Glu Asn Ser Val Thr Leu Gly Pro Asn Leu Leu Pro Ile
565 570 575

Cys Leu Pro Asp Asn Asp Thr Phe Tyr Asp Leu Gly Leu Met Gly Tyr
580 585 590

Val Ser Gly Phe Gly Val Met Glu Glu Lys Ile Ala His Asp Leu Arg
595 600 605

Phe Val Arg Leu Pro Val Ala Asn Pro Gln Ala Cys Glu Asn Trp Leu
610 615 620

Arg Gly Lys Asn Arg Met Asp Val Phe Ser Gln Asn Met Phe Cys Ala
625 630 635 640

Gly His Pro Ser Leu Lys Gln Asp Ala Cys Gln Gly Asp Ala Gly Gly
645 650 655

Val Phe Ala Val Arg Asp Pro Asn Thr Asp Arg Trp Val Ala Thr Gly
660 665 670

Ile Val Ser Trp Gly Ile Gly Cys Ser Arg Gly Tyr Gly Phe Tyr Thr
675 680 685

Lys Val Leu Asn Tyr Val Asp Trp Ile Lys Lys Glu Met Glu Glu Glu
690 695 700

Asp
705

<210> 33
<211> 688
<212> PRT
<213> 食蟹猴

<400> 33																
Met	Trp	Cys	Ile	Ile	Leu	Phe	Ser	Leu	Leu	Ala	Trp	Val	Tyr	Ala	Glu	
1			5					10					15			
Pro	Thr	Met	Tyr	Gly	Glu	Ile	Leu	Ser	Pro	Asn	Tyr	Pro	Gln	Ala	Tyr	
		20					25					30				
Pro	Ser	Glu	Val	Glu	Lys	Ser	Trp	Asp	Ile	Glu	Val	Pro	Glu	Gly	Tyr	
		35					40					45				
Gly	Ile	His	Leu	Tyr	Phe	Thr	His	Leu	Asp	Ile	Glu	Leu	Ser	Glu	Asn	
	50					55					60					
Cys	Ala	Tyr	Asp	Ser	Val	Gln	Ile	Met	Ser	Gly	Asp	Ile	Glu	Glu	Gly	
65					70					75					80	
Arg	Leu	Cys	Gly	Gln	Arg	Thr	Ser	Asn	Asn	Pro	His	Ser	Pro	Ile	Val	
			85						90					95		
Glu	Glu	Phe	Gln	Val	Pro	Tyr	Asn	Lys	Leu	Gln	Val	Ile	Phe	Lys	Ser	
			100					105					110			
Asp	Phe	Ser	Asn	Glu	Glu	Arg	Phe	Thr	Gly	Phe	Ala	Ala	Tyr	Tyr	Val	
		115					120					125				
Ala	Thr	Asp	Ile	Asn	Glu	Cys	Thr	Asp	Phe	Val	Asp	Ala	Pro	Cys	Ser	
	130					135					140					
His	Phe	Cys	Asn	Asn	Phe	Ile	Gly	Gly	Tyr	Phe	Cys	Ser	Cys	Pro	Pro	
145					150					155					160	
Glu	Tyr	Phe	Leu	His	Asp	Asp	Met	Lys	Asn	Cys	Gly	Val	Asn	Cys	Ser	
				165					170					175		
Gly	Asp	Val	Phe	Thr	Ala	Leu	Ile	Gly	Glu	Ile	Ala	Ser	Pro	Asn	Tyr	
			180					185					190			
Pro	Lys	Pro	Tyr	Pro	Glu	Asn	Ser	Arg	Cys	Glu	Tyr	Gln	Ile	Arg	Leu	
		195					200					205				
Glu	Lys	Gly	Phe	Gln	Val	Val	Val	Thr	Val	Arg	Arg	Glu	Asp	Phe	Asp	
	210					215					220					

Val	Glu	Pro	Ala	Asp	Ser	Glu	Gly	Asn	Cys	Leu	Asp	Ser	Leu	Val	Phe
225					230					235					240
Val	Ala	Gly	Asp	Gln	Gln	Phe	Gly	Pro	Tyr	Cys	Gly	Arg	Gly	Phe	Pro
				245					250					255	
Gly	Pro	Leu	Asn	Ile	Glu	Thr	Lys	Ser	Asn	Ala	Leu	Asp	Ile	Ile	Phe
			260					265					270		
Gln	Thr	Asp	Leu	Thr	Gly	Gln	Asn	Lys	Gly	Trp	Lys	Leu	Arg	Tyr	His
		275					280					285			
Gly	Asp	Pro	Met	Pro	Cys	Pro	Lys	Glu	Glu	Thr	Pro	Thr	Ser	Val	Trp
	290					295					300				
Glu	Pro	Ala	Lys	Ala	Lys	Tyr	Val	Phe	Arg	Asp	Val	Val	Arg	Ile	Thr
305					310					315					320
Cys	Leu	Asp	Gly	Phe	Glu	Val	Val	Glu	Gly	Arg	Val	Gly	Ala	Thr	Ser
				325					330					335	
Phe	His	Ser	Thr	Cys	Gln	Ser	Asn	Gly	Lys	Trp	Ser	Asn	Ser	Lys	Leu
			340					345					350		
Lys	Cys	Gln	Pro	Val	Asp	Cys	Gly	Ile	Pro	Glu	Ser	Ile	Glu	Asn	Gly
		355					360					365			
Lys	Val	Glu	Asp	Pro	Glu	Ser	Thr	Leu	Phe	Gly	Ser	Val	Thr	Arg	Tyr
	370					375					380				
Thr	Cys	Glu	Glu	Pro	Tyr	Tyr	Tyr	Met	Glu	Asn	Gly	Gly	Asn	Gly	Gln
385					390					395					400
Tyr	His	Cys	Ala	Ser	Asn	Gly	Ser	Trp	Val	Asn	Glu	Ala	Leu	Ser	Pro
				405					410					415	
Glu	Leu	Pro	Lys	Cys	Val	Pro	Val	Cys	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Pro	Phe
			420					425					430		
Glu	Gly	Lys	Gln	Arg	Ile	Ile	Gly	Gly	Ser	Asp	Ala	Asp	Ile	Lys	Asn
		435					440					445			
Phe	Pro	Trp	Gln	Val	Phe	Phe	Asp	Asn	Pro	Trp	Ala	Gly	Gly	Ala	Leu
	450					455					460				

Ile	Asp	Glu	Tyr	Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Val	Val	Glu	Gly	Asn	
465					470					475					480	
Gln	Glu	Pro	Thr	Met	Tyr	Val	Gly	Ser	Thr	Ser	Val	Gln	Thr	Ser	Arg	
				485					490					495		
Leu	Ala	Lys	Ser	Lys	Met	Leu	Thr	Ser	Glu	Arg	Val	Phe	Ile	His	Pro	
			500					505					510			
Gly	Trp	Lys	Leu	Leu	Glu	Val	Pro	Glu	Ala	Arg	Thr	Asn	Phe	Asp	Asn	
		515					520					525				
Asp	Ile	Ala	Leu	Val	Gln	Leu	Lys	Asp	Pro	Val	Lys	Met	Gly	Pro	Thr	
	530					535					540					
Val	Ala	Pro	Ile	Cys	Leu	Pro	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Tyr	Asn	Leu	Met	
545					550					555					560	
Asp	Gly	Asp	Leu	Gly	Leu	Ile	Ala	Gly	Trp	Gly	Arg	Thr	Glu	Lys	Arg	
				565					570					575		
Asp	Arg	Ala	Leu	Arg	Leu	Lys	Ala	Ala	Arg	Leu	Pro	Val	Ala	Pro	Leu	
			580					585					590			
Arg	Lys	Cys	Arg	Glu	Val	Lys	Val	Glu	Asn	Pro	Lys	Ala	Asp	Ala	Gly	
		595					600					605				
Ala	Tyr	Val	Phe	Thr	Pro	Asn	Met	Ile	Cys	Ala	Gly	Gly	Glu	Lys	Gly	
	610					615					620					
Met	Asp	Ser	Cys	Lys	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Ala	Phe	Ala	Val	Gln	Asp	
625					630					635					640	
Pro	Asn	Asp	Lys	Ala	Lys	Phe	Tyr	Val	Ala	Gly	Leu	Val	Ser	Trp	Gly	
				645					650					655		
Pro	Gln	Cys	Gly	Thr	Tyr	Gly	Leu	Tyr	Thr	Arg	Val	Gln	Asn	Tyr	Val	
			660					665					670			
Asp	Trp	Ile	Lys	Lys	Thr	Met	Gln	Glu	Asn	Ser	Thr	Pro	Ser	Lys	Asp	
		675					680					685				

<210> 34
<211> 705
<212> PRT
<213> 食蟹猴
<400> 34

Met Trp Leu Leu Tyr Leu Leu Val Pro Ala Leu Phe Cys Arg Ala Gly
1 5 10 15

Gly Ser Ile Pro Ile Pro Gln Lys Leu Phe Gly Glu Val Thr Ser Pro
20 25 30

Leu Phe Pro Lys Pro Tyr Pro Asn Ser Phe Glu Thr Thr Thr Val Ile
35 40 45

Thr Val Pro Thr Gly Tyr Arg Val Lys Leu Val Phe Gln His Phe Asp
50 55 60

Leu Glu Pro Ser Glu Gly Cys Phe Tyr Asp Tyr Val Lys Ile Ser Ala
65 70 75 80

Asp Lys Lys Asn Leu Gly Arg Phe Cys Gly Gln Leu Gly Ser Pro Leu
85 90 95

Gly Asn Pro Pro Gly Lys Lys Glu Phe Leu Ser Gln Gly Asn Lys Met
100 105 110

Leu Leu Thr Phe His Thr Asp Phe Ser Asn Glu Glu Asn Gly Thr Ile
115 120 125

Met Phe Tyr Lys Gly Phe Leu Ala Tyr Tyr Gln Ala Val Asp Leu Asp
130 135 140

Glu Cys Ala Ser Gln Ser Glu Ser Gly Glu Lys Asp Pro Gln Pro Gln
145 150 155 160

Cys Gln His Leu Cys His Asn Tyr Val Gly Gly Tyr Phe Cys Ser Cys
165 170 175

Arg Pro Gly Tyr Glu Leu Gln Glu Asp Arg His Ser Cys Gln Ala Glu
180 185 190

Cys Ser Ser Glu Leu Tyr Thr Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Ser Ser Leu
195 200 205

Glu Tyr Pro Arg Ser Tyr Pro Pro Asp Leu Arg Cys Asn Tyr Ser Ile
210 215 220

Arg Val Glu Arg Gly Leu Thr Leu His Leu Lys Phe Leu Glu Pro Phe
225 230 235 240

Glu Ile Asp Asp His Gln Gln Val His Cys Pro Tyr Asp Gln Leu Gln
245 250 255

Ile Tyr Ala Asn Gly Lys Asn Ile Gly Glu Phe Cys Gly Lys Gln Arg
260 265 270

Pro Pro Asp Phe Asp Thr Ser Ser Asn Ala Val Asp Leu Leu Phe Phe
275 280 285

Thr Asp Glu Ser Gly Asp Ser Arg Gly Trp Lys Leu Arg Tyr Thr Thr
290 295 300

Glu Ile Ile Lys Cys Pro Gln Pro Lys Thr Leu Asp Glu Phe Thr Val
305 310 315 320

Ile Gln Asn Leu Gln Pro Gln Tyr Gln Phe Arg Asp Tyr Phe Ile Ala
325 330 335

Thr Cys Lys Leu Gly Tyr Gln Leu Ile Glu Gly Asn Gln Val Leu His
340 345 350

Ser Phe Thr Ala Val Cys Gln Asp Asp Gly Thr Trp His Arg Ala Met
355 360 365

Pro Arg Cys Lys Ile Lys Asp Cys Gly Gln Pro Arg Asn Leu Pro Asn
370 375 380

Gly Ala Phe Arg Tyr Thr Thr Thr Met Gly Val Asn Thr Tyr Lys Ala
385 390 395 400

Arg Ile Gln Tyr Tyr Cys His Glu Pro Tyr Tyr Lys Met Gln Thr Arg
405 410 415

Ala Gly Ser Lys Glu Ser Glu Gln Gly Leu Tyr Thr Cys Thr Ala Gln
420 425 430

Gly Ile Trp Lys Asn Glu Gln Lys Gly Glu Lys Ile Pro Arg Cys Leu

435					440					445						
Pro	Val	Cys	Gly	Lys	Pro	Val	Asn	Pro	Val	Glu	Gln	Arg	Gln	Gln	Ile	
450					455					460						
Ile	Gly	Gly	Gln	Lys	Ala	Lys	Met	Gly	Asn	Phe	Pro	Trp	Gln	Val	Phe	
465					470					475					480	
Thr	Asn	Ile	His	Gly	Arg	Gly	Gly	Gly	Ala	Leu	Leu	Gly	Asp	Arg	Trp	
					485					490					495	
Ile	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Thr	Leu	Tyr	Pro	Lys	Glu	His	Glu	Ala	Gln	
					500					505					510	
Ser	Asn	Ala	Ser	Leu	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	His	Thr	Asn	Val	Glu	Glu	
					515					520					525	
Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Asn	His	Pro	Ile	Arg	Arg	Val	Ser	Ile	His	Pro	
530					535					540						
Asp	Tyr	Arg	Gln	Asp	Glu	Ser	His	Asn	Phe	Glu	Gly	Asp	Ile	Ala	Leu	
545					550					555					560	
Leu	Glu	Leu	Glu	Asn	Ser	Val	Thr	Leu	Gly	Pro	Asn	Leu	Leu	Pro	Ile	
					565					570					575	
Cys	Leu	Pro	Asp	Asn	Glu	Thr	Phe	Tyr	Asp	Leu	Gly	Leu	Met	Gly	Tyr	
					580					585					590	
Val	Ser	Gly	Phe	Gly	Val	Met	Glu	Glu	Lys	Ile	Ala	His	Asp	Leu	Arg	
595					600					605						
Phe	Val	Arg	Leu	Pro	Val	Ala	Asn	Arg	Lys	Asp	Cys	Glu	Thr	Trp	Leu	
610					615					620						
Arg	Gly	Lys	Asn	Arg	Leu	Asp	Val	Phe	Ser	Gln	Asn	Met	Phe	Cys	Ala	
625					630					635					640	
Gly	His	Pro	Ser	Leu	Lys	Gln	Asp	Ala	Cys	Gln	Gly	Asp	Ala	Gly	Gly	
					645					650					655	
Val	Phe	Ala	Val	Arg	Asp	Pro	Asn	Thr	Asp	Arg	Trp	Ile	Ala	Thr	Gly	
					660					665					670	

Ile Val Ser Trp Gly Ile Gly Cys Ser Lys Gly Tyr Gly Phe Tyr Thr
675 680 685

Lys Val Leu Asn Tyr Val Asp Trp Ile Lys Lys Glu Met Glu Glu Glu
690 695 700

Asp
705

<210> 35
<211> 117
<212> PRT
<213> 智人

<400> 35

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 36
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人

<400> 36

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

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

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

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

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

Cys Asp Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys Gln Gly Glu Phe Ser Cys Ser
85 90 95

Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 37
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人

<400> 37

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

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

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

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

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Arg Ser Val Asn Tyr Asn Ser Asp Phe Lys Leu Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 38
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 38

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 39
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人

<400> 39

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

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

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

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

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Arg Ser Val Asn Tyr Asn Ser Asp Phe His Leu Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 40
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人

<400> 40

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

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

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

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

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

				85					90					95			
Arg	Gly	Arg	Ser	Lys	Asn	Tyr	Asn	Ser	Asp	Phe	His	Leu	Trp	Gly	Gln		
			100					105					110				
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
		115					120										
<210>	41																
<211>	120																
<212>	PRT																
<213>	智人																
<400>	41																
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg		
1				5					10					15			
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Arg	Phe	Ser	Ala	Tyr		
			20					25					30				
Ala	Met	Asn	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile		
		35					40					45					
Gly	Leu	Ile	Tyr	Gly	Lys	Gly	Ser	Thr	Phe	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys		
	50					55					60						
Glu	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu		
65					70					75					80		
Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala		
				85					90					95			
Arg	Gly	Arg	Ser	Val	Asn	Tyr	Asn	Ser	Asp	Phe	His	Leu	Trp	Gly	Gln		
			100					105					110				
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
		115					120										
<210>	42																
<211>	113																
<212>	PRT																
<213>	智人																
<400>	42																
Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly		

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 43
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 43

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 44
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 44

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 45
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 45

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 46
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 46

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 47
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 47

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 48
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 48

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 49
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 49

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 50
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 50

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 51
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 51

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 52
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 52

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

65 70 75 80

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110

Lys

$\langle 210 \rangle$	53
$\langle 211 \rangle$	113
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	智人

<400> 53

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

$\langle 210 \rangle$	54
$\langle 211 \rangle$	113
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	智人

<400> 54

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 55
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 55

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 56
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 56

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 57
<211> 113
<212> PRT

<213> 智人

<400> 57

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 58
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 58

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 59
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 59

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 60
<211> 113

<212> PRT
<213> 智人

<400> 60

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Cys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 61
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 61

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Ala Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 62
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 62

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Asp Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 63

<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 63

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Glu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 64
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 64

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

50 55 60

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

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

Ser Ser Ala Asp Phe Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 65
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 65

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Gly Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 66
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 66

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp His Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 67
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 67

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Ile Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 68
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 68

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Lys Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 69
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 69

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Leu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 70
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 70

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Met Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 71
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 71

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Asn Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 72
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 72

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Pro Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 73
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 73

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Gln Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 74
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 74

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

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

Lys

<210> 75
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 75

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Ser Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 76
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 76

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

354045

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
505560

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
65707580

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Glu Phe Ser Cys
859095

Ser Ser Ala Asp Thr Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100105110

Lys

<210> 77
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 77

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
151015

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
202530

Lys Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu
354045

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
505560

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
65707580

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Glu Phe Ser Cys
859095

Ser Ser Ala Asp Val Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100105110

Lys

<210> 78
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 78

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Trp Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 79
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 79

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Tyr Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 80
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 80

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Leu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 81
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 81

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Leu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 82
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 82

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Leu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 83
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 83

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Leu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 84
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 84

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Leu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 85
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 85

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Gln Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

- <210> 86
- <211> 113
- <212> PRT
- <213> 智人

<400> 86

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Arg Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 87
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 87

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Leu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 88
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 88

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys

202530

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

354045

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

505560

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

65707580

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Glu Phe Ser Trp

859095

Ser Ser Ala Asp Met Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100105110

Lys

<210> 89

<211> 113

<212> PRT

<213> 智人

<400> 89

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

151015

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys

202530

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

354045

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

505560

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

65707580

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Glu Phe Ser Glu

859095

Ser Ser Ala Asp Leu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 90
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 90

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Tyr Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 91
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 91

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

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

Lys

<210> 92
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 92

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Phe Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 93
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 93

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

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

Lys

<210> 94
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 94

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Leu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 95
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 95

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Val Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 96
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 96

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Ala Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 97
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 97

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Val Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 98
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人

<400> 98

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

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

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

Gly Leu Ile Tyr Gly Ser Gly His Glu Phe Tyr Ala Ser Trp Ala Glu
50 55 60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

				85					90					95			
Arg	Gly	Arg	Ser	Lys	Asn	Tyr	Val	Ser	Gly	Phe	His	Leu	Trp	Gly	Gln		
			100					105					110				
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
		115					120										
<210>		99															
<211>		120															
<212>		PRT															
<213>		智人															
<400>		99															
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg		
1				5					10					15			
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Ala	Tyr		
			20					25						30			
Ala	Met	Asn	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile		
		35					40					45					
Gly	Leu	Ile	Tyr	Gly	Ser	Gly	His	Glu	Phe	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Glu		
	50					55					60						
Glu	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu		
65					70					75					80		
Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala		
				85					90					95			
Arg	Gly	Arg	Ser	Lys	Asn	Tyr	Val	Ser	Gly	Phe	His	Leu	Trp	Gly	Gln		
			100					105					110				
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
		115					120										
<210>		100															
<211>		120															
<212>		PRT															
<213>		智人															
<400>		100															
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg		

1 5 10 15

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

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

Gly Leu Ile Tyr Gly Ser Gly His Glu Phe Tyr Ala Ser Trp Ala Glu
50 55 60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Arg Ser Lys Asn Tyr Asn Ser Asp Phe His Leu Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 101
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 101

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ile Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Glu Ser Ala Asp Leu Asn Gln Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 102
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 102

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gly Ile Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Glu Glu Ala Asp Leu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 103
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 103

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Gln Gln Ile Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Glu Ser Ala Asp Leu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 104
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 104

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ile Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Leu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 105
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 105

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Asn Gln Ile Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ser Ala Asp Leu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 106
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<400> 106

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Asn Gln Ile Leu His Asp Lys
20 25 30

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

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

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

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gly Glu Phe Pro Tyr
85 90 95

Glu Ser Ala Asp Leu Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 107
<211> 328
<212> PRT
<213> 智人

<400> 107

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

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	
			85						90					95		
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	
			100					105					110			
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	
		115					120					125				
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	
	130					135					140					
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	
145					150					155					160	
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	
				165					170						175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	
			180					185					190			
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	
		195					200					205				
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	
	210					215					220					
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	
225					230					235					240	
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	
				245					250					255		
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	
			260					265					270			
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	
		275					280					285				
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	
	290					295					300					

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 108
<211> 328
<212> PRT
<213> 智人

<400> 108

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

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Trp Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Leu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Thr Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 109
<211> 328
<212> PRT
<213> 智人

<400> 109

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

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 110
<211> 328
<212> PRT
<213> 智人

<400> 110

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

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Glu Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 111
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 111

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

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

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 112
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 112

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

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

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Cys
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 113
<211> 118
<212> PRT
<213> 智人

<400> 113

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

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

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

Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser His Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Phe Thr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 114
<211> 109
<212> PRT
<213> 智人

<400> 114

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp

35					40					45						
Ile	Tyr	Ser	Thr	Ser	Asn	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	
50					55					60						
Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	
65					70					75					80	
Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	His	Gln	Tyr	Tyr	Arg	Leu	Pro	
85					90					95						
Pro	Ile	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys				
100					105											
<210>	115															
<211>	120															
<212>	PRT															
<213>	智人															
<400>	1															
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg	
1				5				10				15				
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Arg	Thr	Phe	Ser	Ala	Tyr	
20					25					30						
Ala	Met	Asn	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	
35					40					45						
Gly	Leu	Ile	Tyr	Gly	Ser	Gly	His	Thr	Phe	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Ser	
50					55					60						
Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	
65					70					75					80	
Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	
85					90					95						
Arg	Gly	Arg	Ser	Val	Asn	Tyr	Val	Ser	Gly	Phe	His	Leu	Trp	Gly	Gln	
100					105					110						
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
115					120											

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種包括抗原結合區的單離抗體，該抗原結合區包括包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重鏈可變區以及包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的輕鏈可變區，其中該HVR-H1、該HVR-H2、該HVR-H3、該HVR-L1、該HVR-L2和該HVR-L3的胺基酸序列的組合選自由以下1)至8)所組成的群組：

- 1) 包括由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的該HVR-H1、
包括由序列辨識號8所組成的胺基酸序列的該HVR-H2、
包括由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的該HVR-H3、
包括由序列辨識號14所組成的胺基酸序列的該HVR-L1、
包括由序列辨識號19所組成的胺基酸序列的該HVR-L2、和
包括由序列辨識號23所組成的胺基酸序列的該HVR-L3；
- 2) 包括由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的該HVR-H1、
包括由序列辨識號9所組成的胺基酸序列的該HVR-H2、
包括由序列辨識號12所組成的胺基酸序列的該HVR-H3、
包括由序列辨識號14所組成的胺基酸序列的該HVR-L1、
包括由序列辨識號19所組成的胺基酸序列的該HVR-L2、和
包括由序列辨識號23所組成的胺基酸序列的該HVR-L3；
- 3) 包括由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的該HVR-H1、
包括由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的該HVR-H2、
包括由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的該HVR-H3、
包括由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的該HVR-L1、
包括由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的該HVR-L2、和
包括由序列辨識號24所組成的胺基酸序列的該HVR-L3；
- 4) 包括由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的該HVR-H1、

包括由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的該HVR-H2、
包括由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的該HVR-H3、
包括由序列辨識號16所組成的胺基酸序列的該HVR-L1、
包括由序列辨識號21所組成的胺基酸序列的該HVR-L2、和
包括由序列辨識號25所組成的胺基酸序列的該HVR-L3；

5) 包括由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的該HVR-H1、
包括由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的該HVR-H2、
包括由序列辨識號13所組成的胺基酸序列的該HVR-H3、
包括由序列辨識號17所組成的胺基酸序列的該HVR-L1、
包括由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的該HVR-L2、和
包括由序列辨識號26所組成的胺基酸序列的該HVR-L3；

6) 包括由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的該HVR-H1、
包括由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的該HVR-H2、
包括由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的該HVR-H3、
包括由序列辨識號15所組成的胺基酸序列的該HVR-L1、
包括由序列辨識號20所組成的胺基酸序列的該HVR-L2、和
包括由序列辨識號27所組成的胺基酸序列的該HVR-L3；

7) 包括由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的該HVR-H1、
包括由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的該HVR-H2、
包括由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的該HVR-H3、
包括由序列辨識號18所組成的胺基酸序列的該HVR-L1、
包括由序列辨識號19所組成的胺基酸序列的該HVR-L2、和
包括由序列辨識號27所組成的胺基酸序列的該HVR-L3； 以及

8) 包括由序列辨識號7所組成的胺基酸序列的該HVR-H1、

包括由序列辨識號10所組成的胺基酸序列的該HVR-H2、
包括由序列辨識號11所組成的胺基酸序列的該HVR-H3、
包括由序列辨識號18所組成的胺基酸序列的該HVR-L1、
包括由序列辨識號22所組成的胺基酸序列的該HVR-L2、和
包括由序列辨識號28所組成的胺基酸序列的該HVR-L3。

【請求項2】 如請求項1所述的抗體，其包括抗原結合區和抗體恆定區，其中：

該抗體促進C1q從C1qrs複合物中解離和/或抑制C1q結合至C1r2s2，其中，
在藉由表面電漿共振來測量該抗體對人類和/或食蟹猴C1s的結合活性的情況下，

i) 可可靠地計算出中性pH範圍內的解離常數(dissociation constant，KD)值，且由於沒有結合活性或很低的結合活性，而無法可靠地計算出酸性pH範圍內的KD值，或

ii) 若可可靠地計算出中性pH範圍內和酸性pH範圍內兩者的KD值，則酸性pH範圍內的KD值與中性pH範圍內的KD值之比值，即酸性KD/中性KD比值大於10。

【請求項3】 如請求項2所述的抗體，其中藉由表面電漿共振測量的該結合活性係使用每個抗體皆被人類Ig kappa輕鏈以50個共振單位捕獲的感測器晶片和包括20 mM ACES (N-(2-乙醯胺基)-2-胺基乙烷磺酸、150 mM NaCl、1.2 mM CaCl₂、1 mg/mL牛血清白蛋白(BSA)、1 mg / mL CM-葡聚糖鈉鹽(CMD)、0.05% 聚山梨醇酯20、0.005% NaN₃的運行緩衝液在攝氏37度下進行測量。

【請求項4】 如請求項2或3所述的抗體，其中該抗體的pI小於9.00、小於8.90、小於8.80或8.78或更小，且大於4.28或更大。

【請求項5】 如請求項2所述的抗體，其中該抗原結合區可特異性結合至人

類C1s的CUB1-EGF-CUB2域。

【發明圖式】

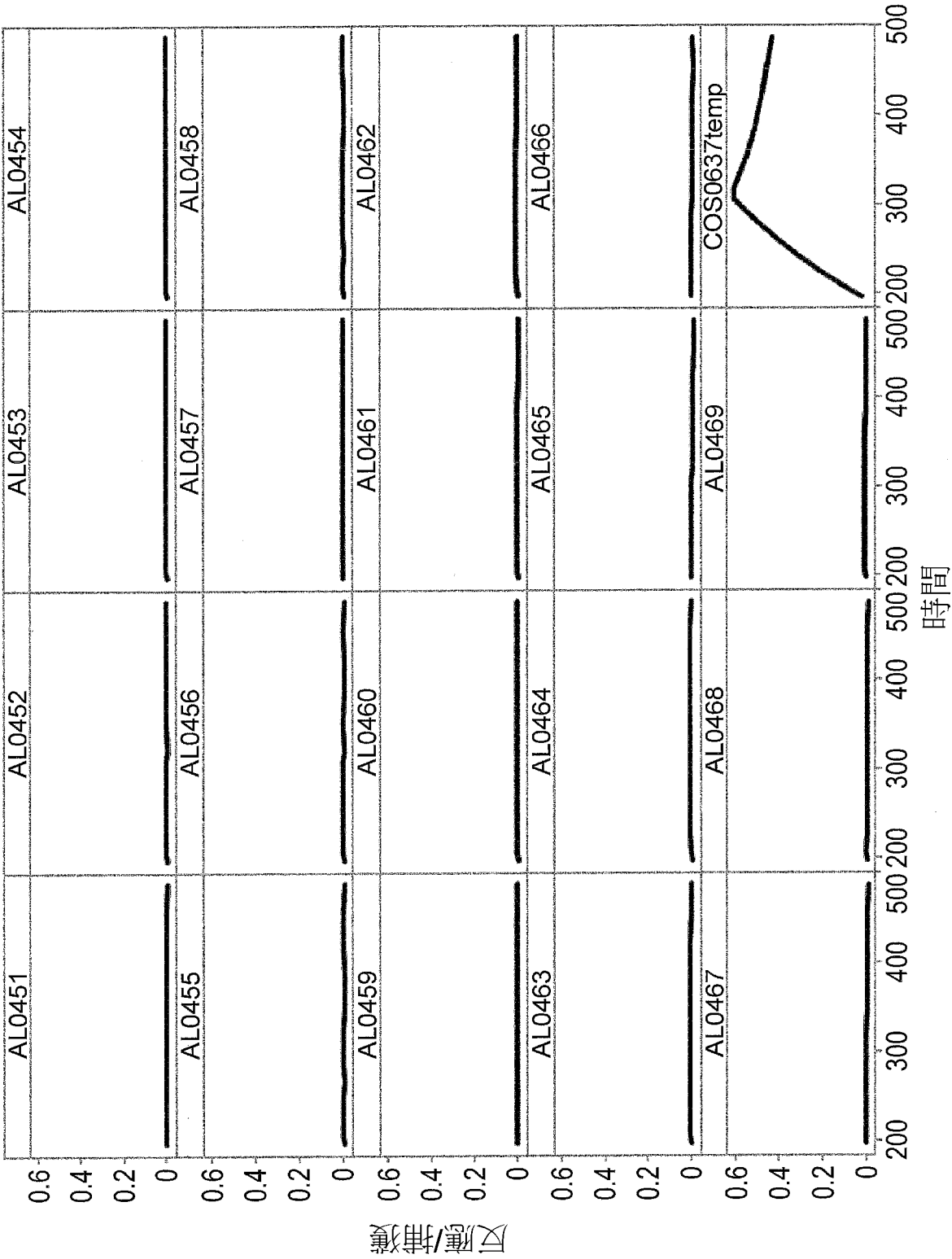
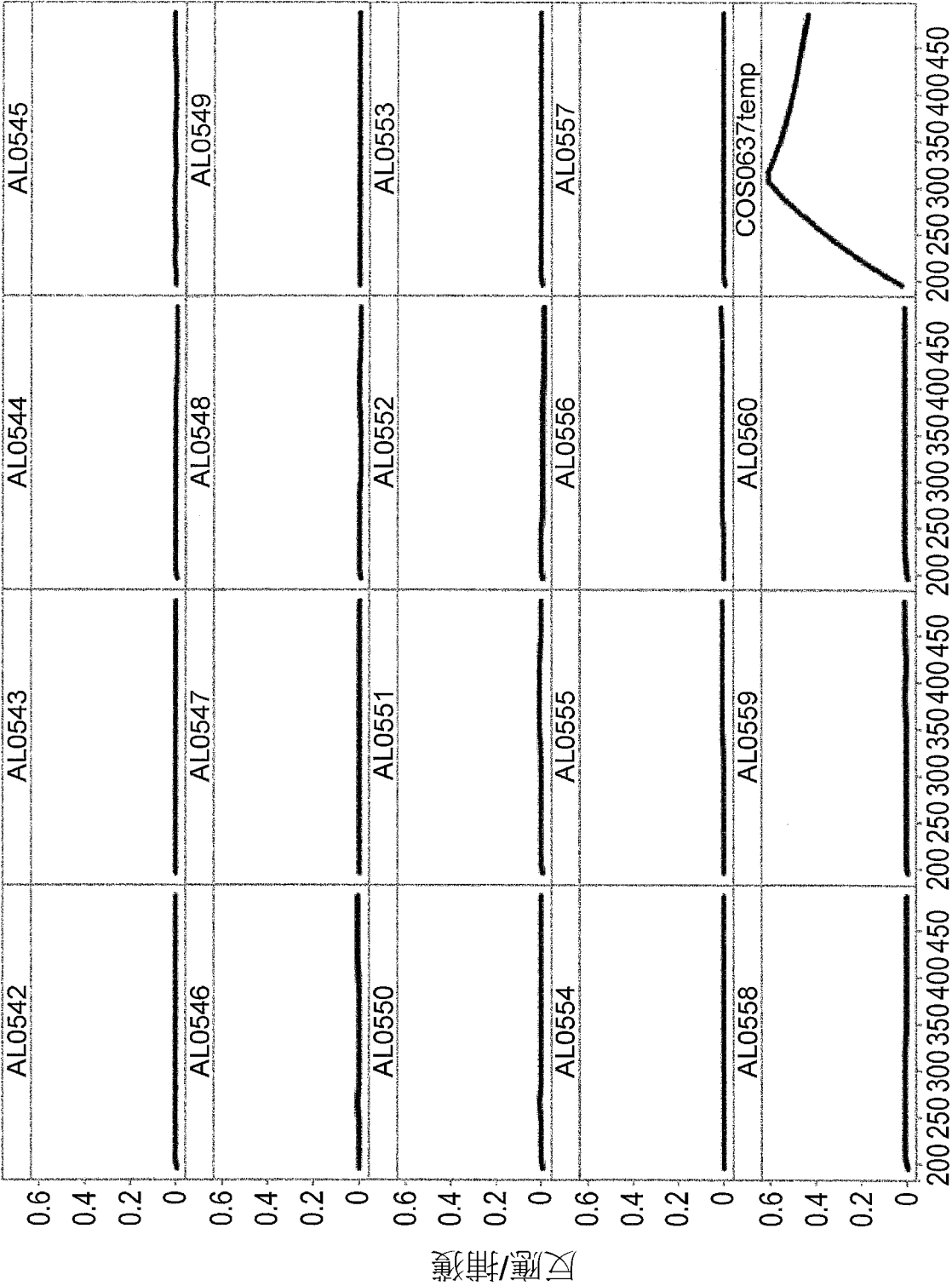
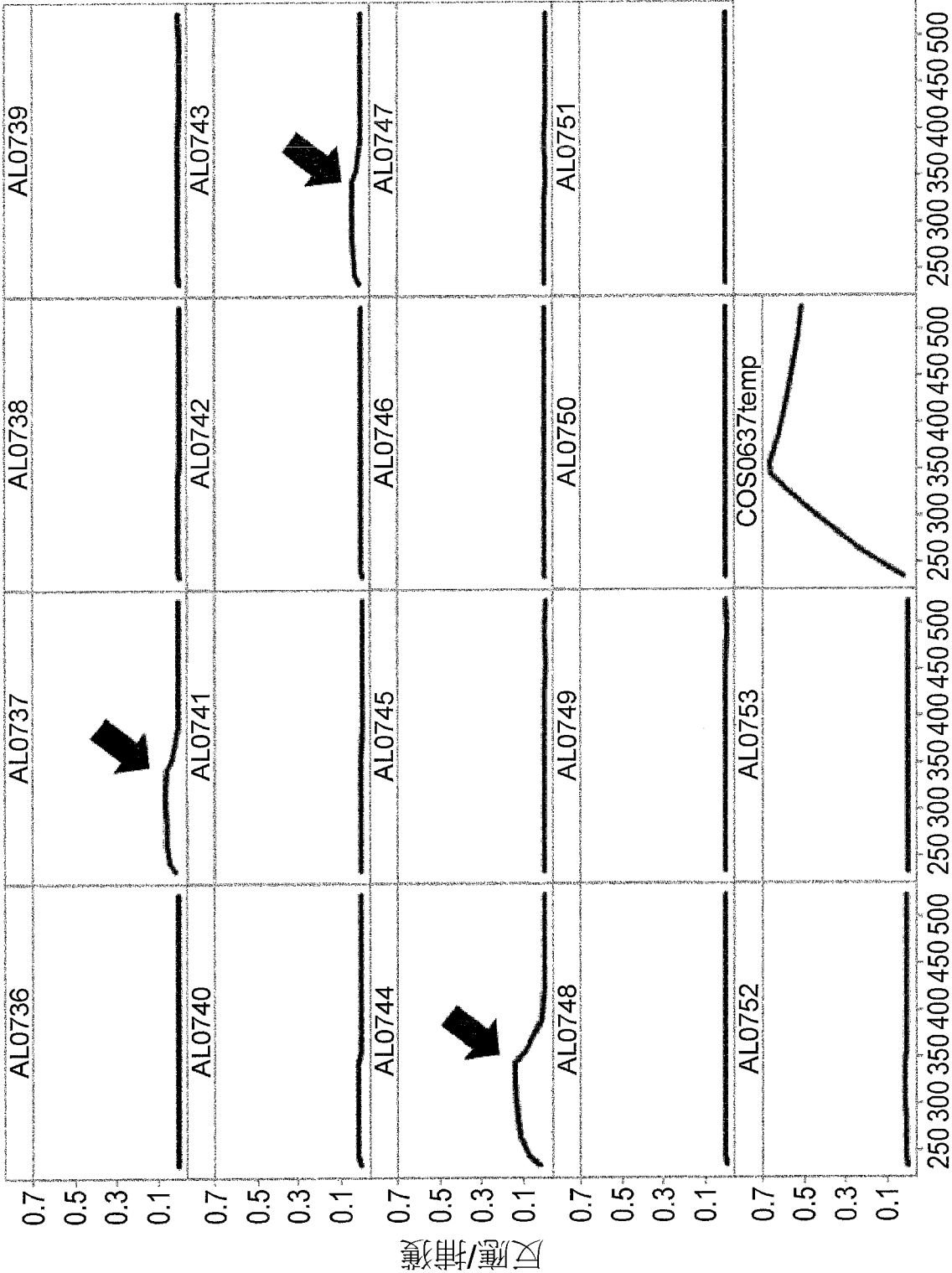


圖1



時間

圖2



時間

圖3

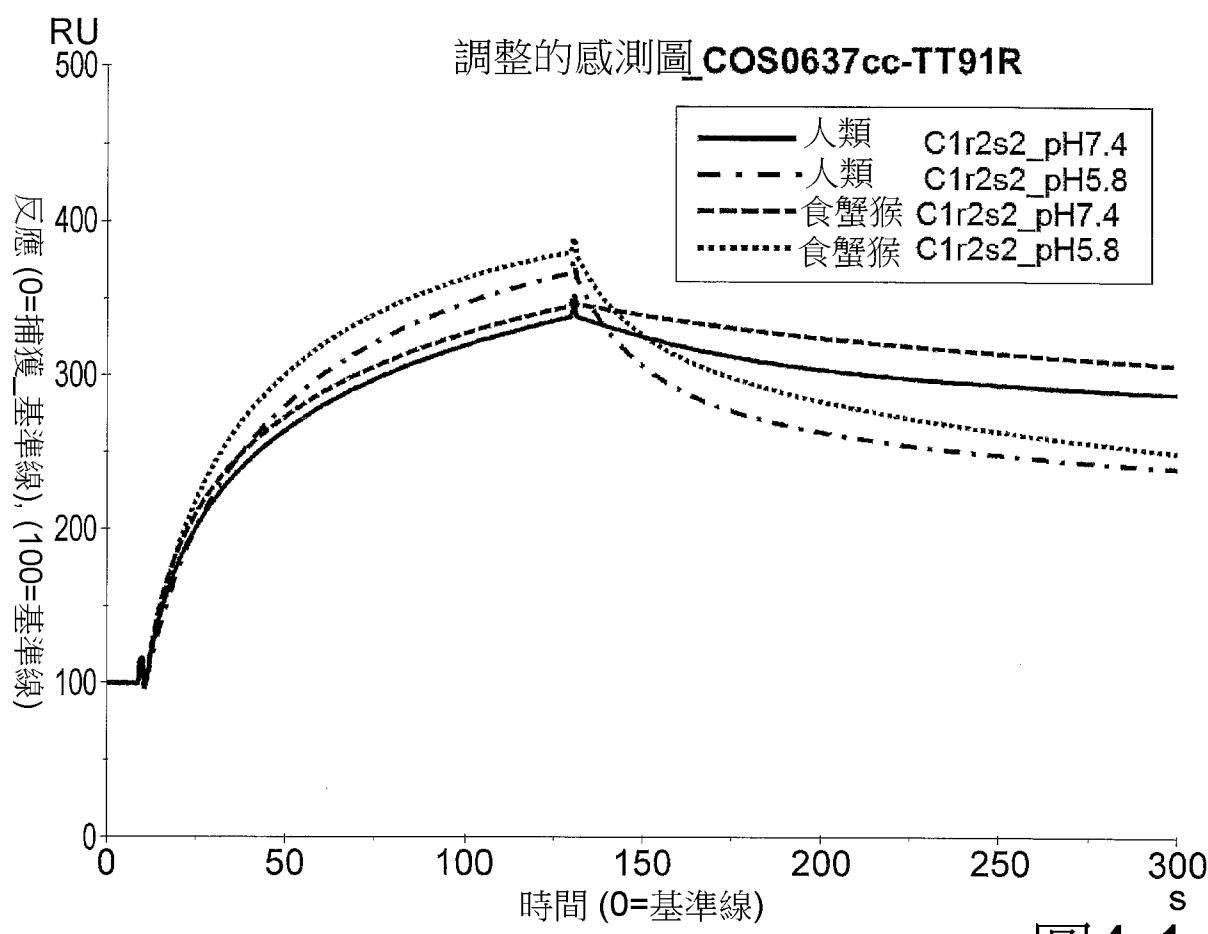


圖4-1

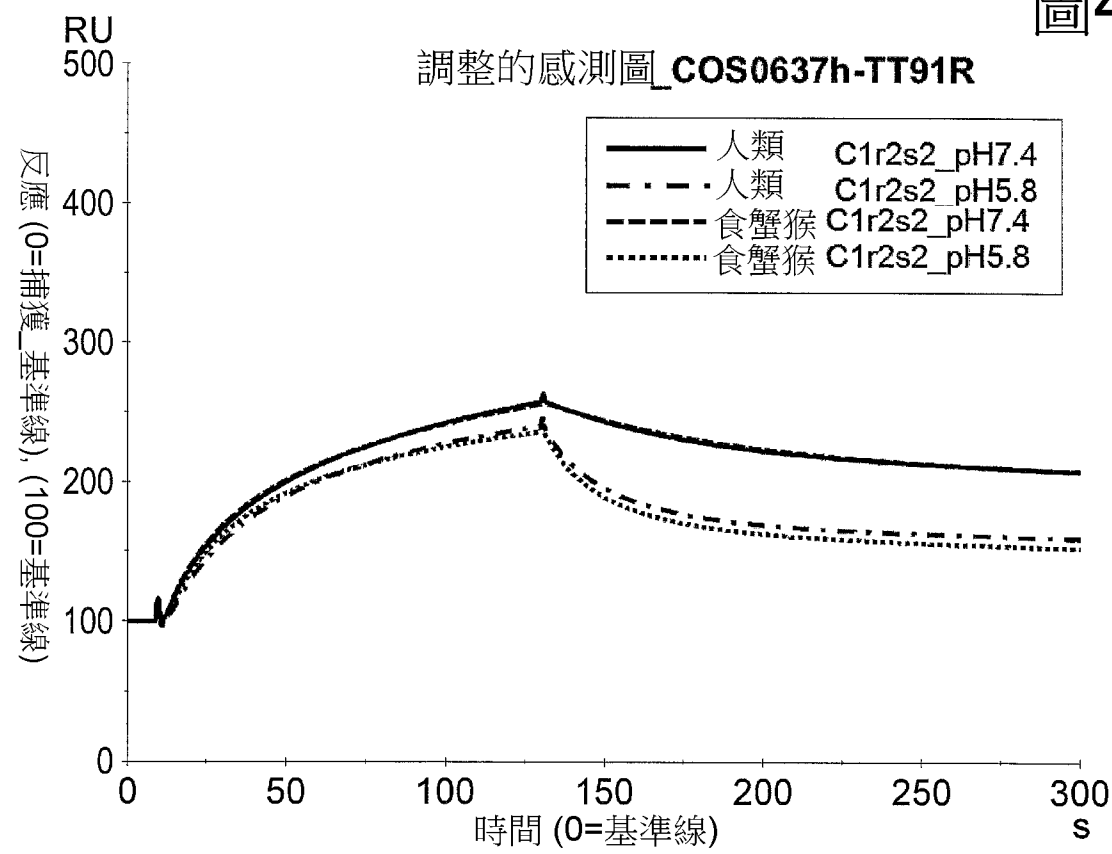


圖4-2

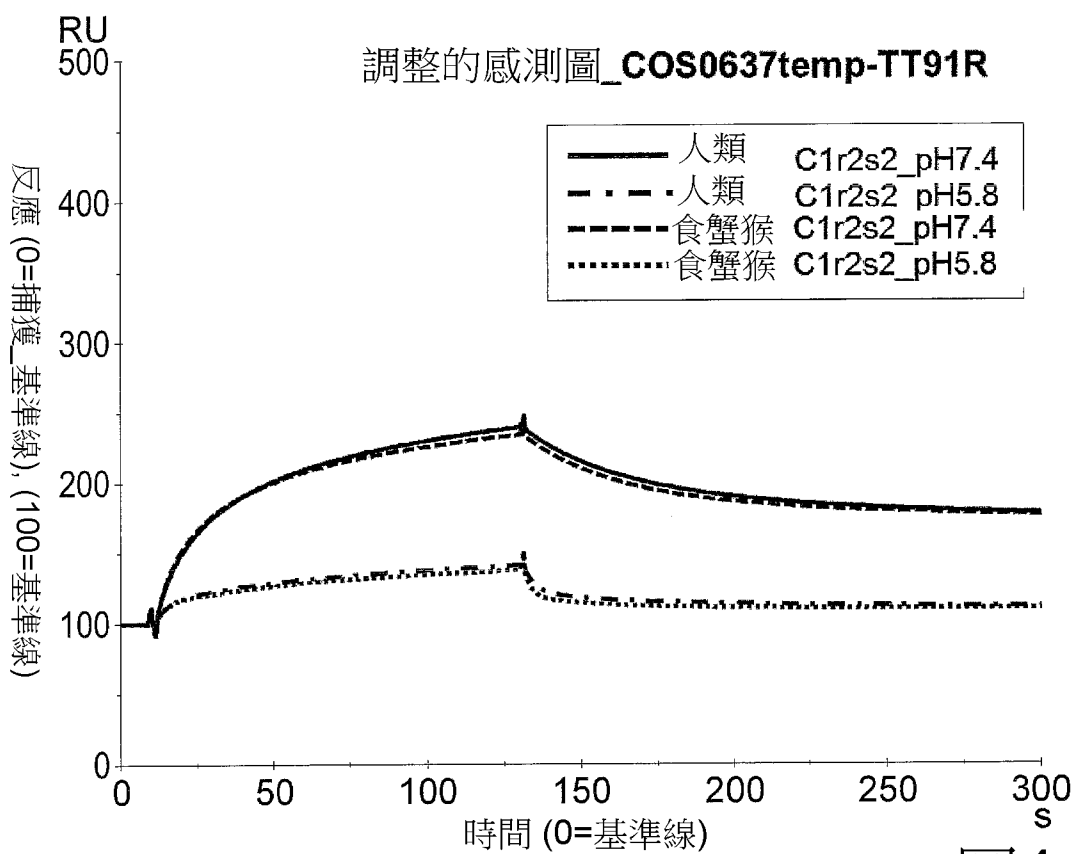


圖4-3

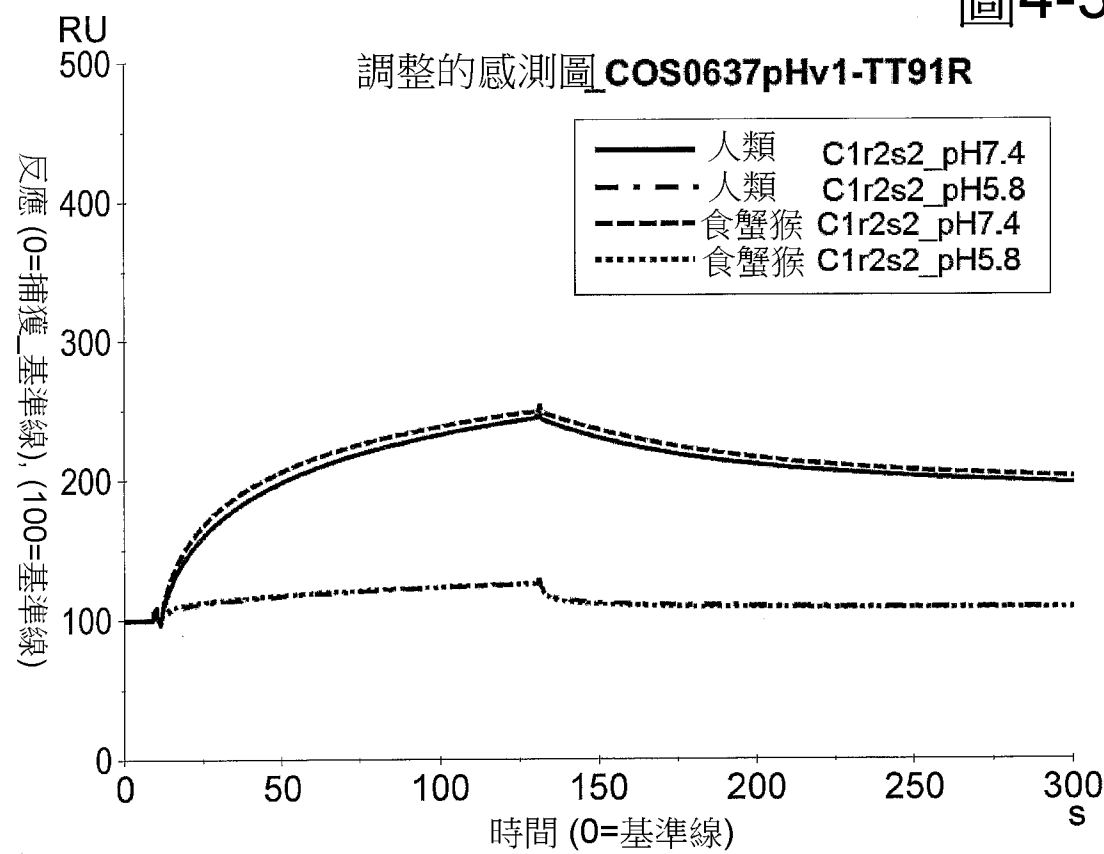
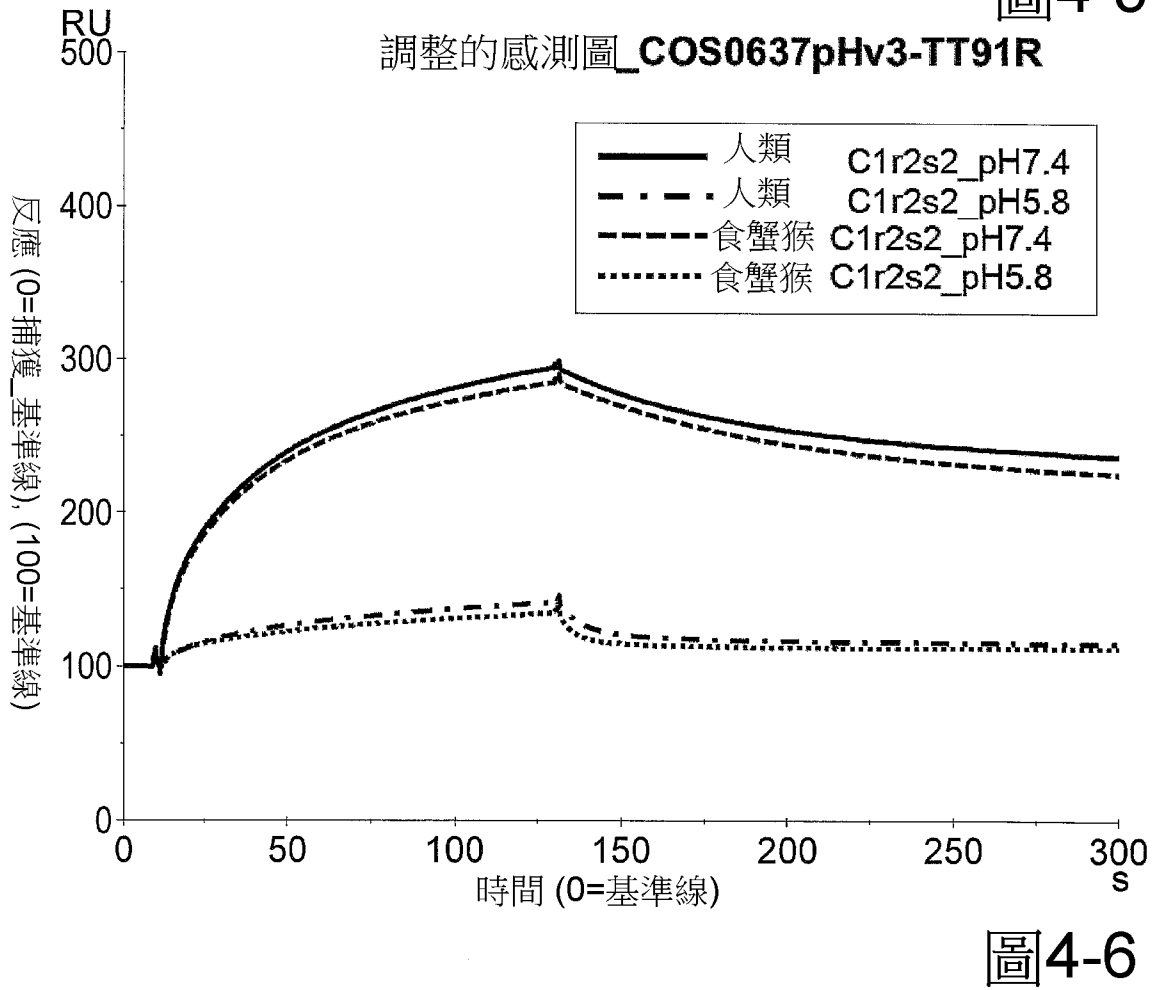
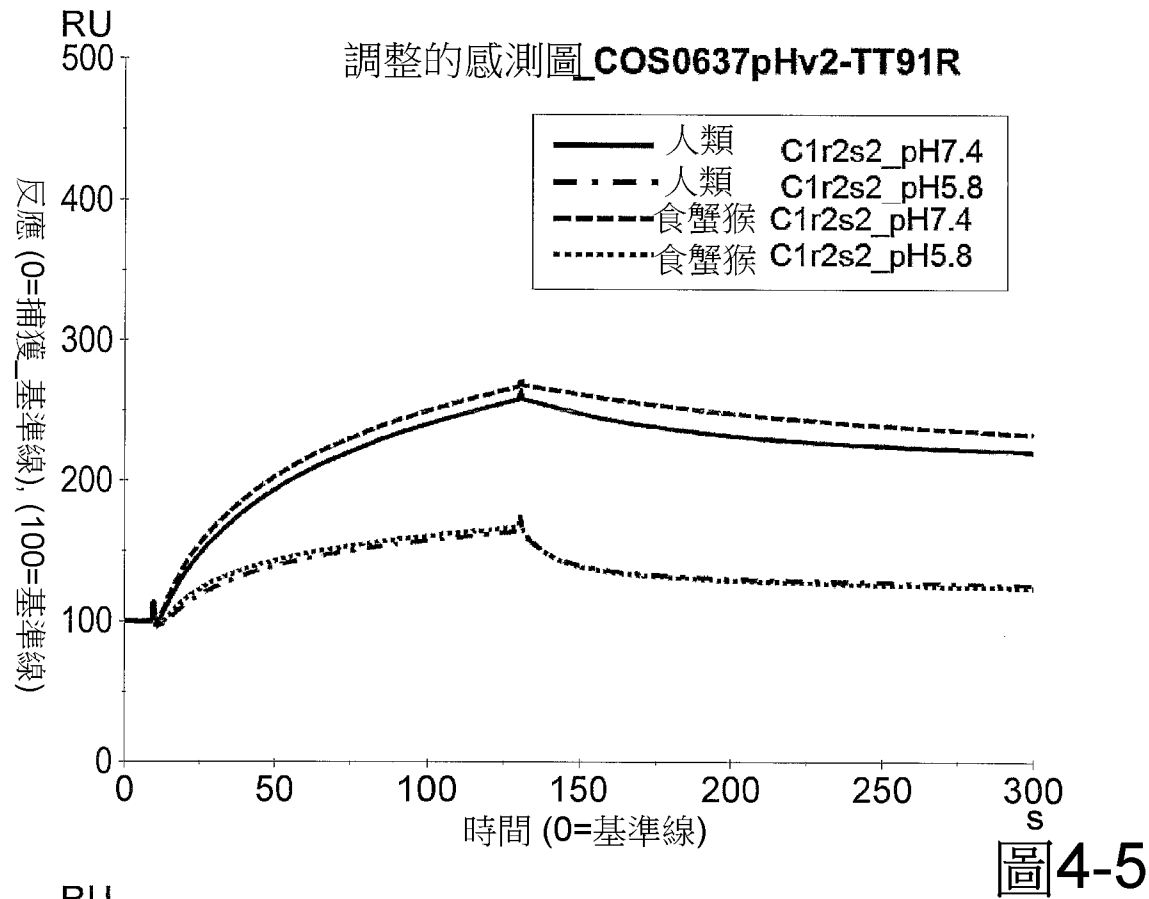


圖4-4



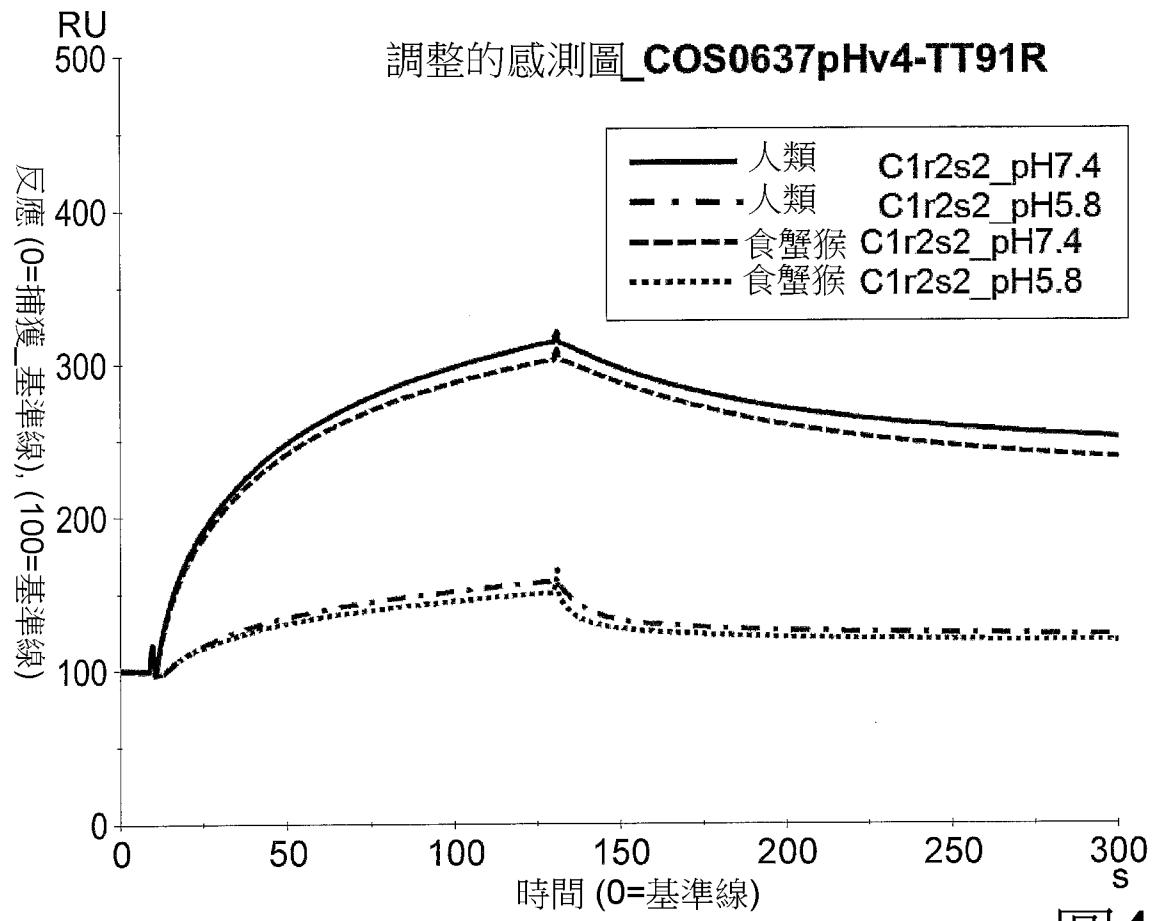


圖4-7

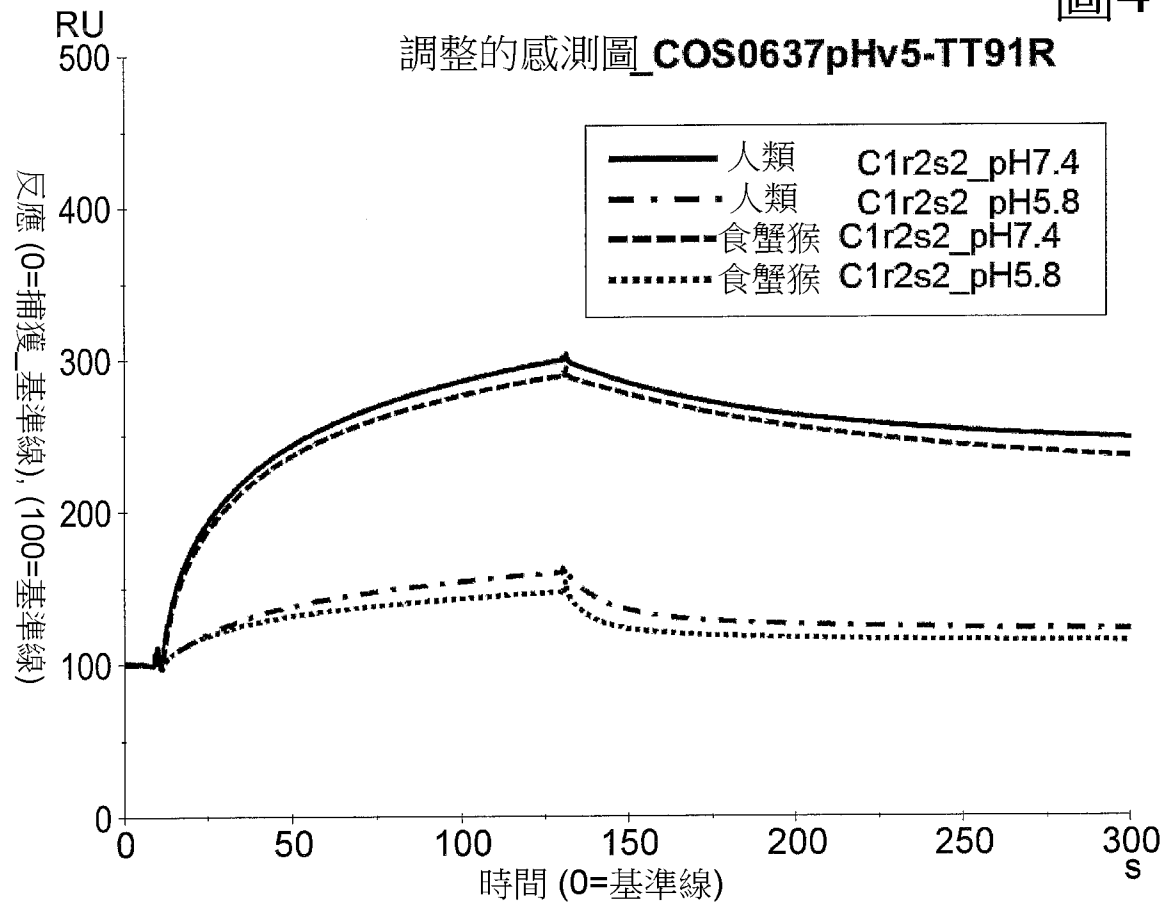


圖4-8

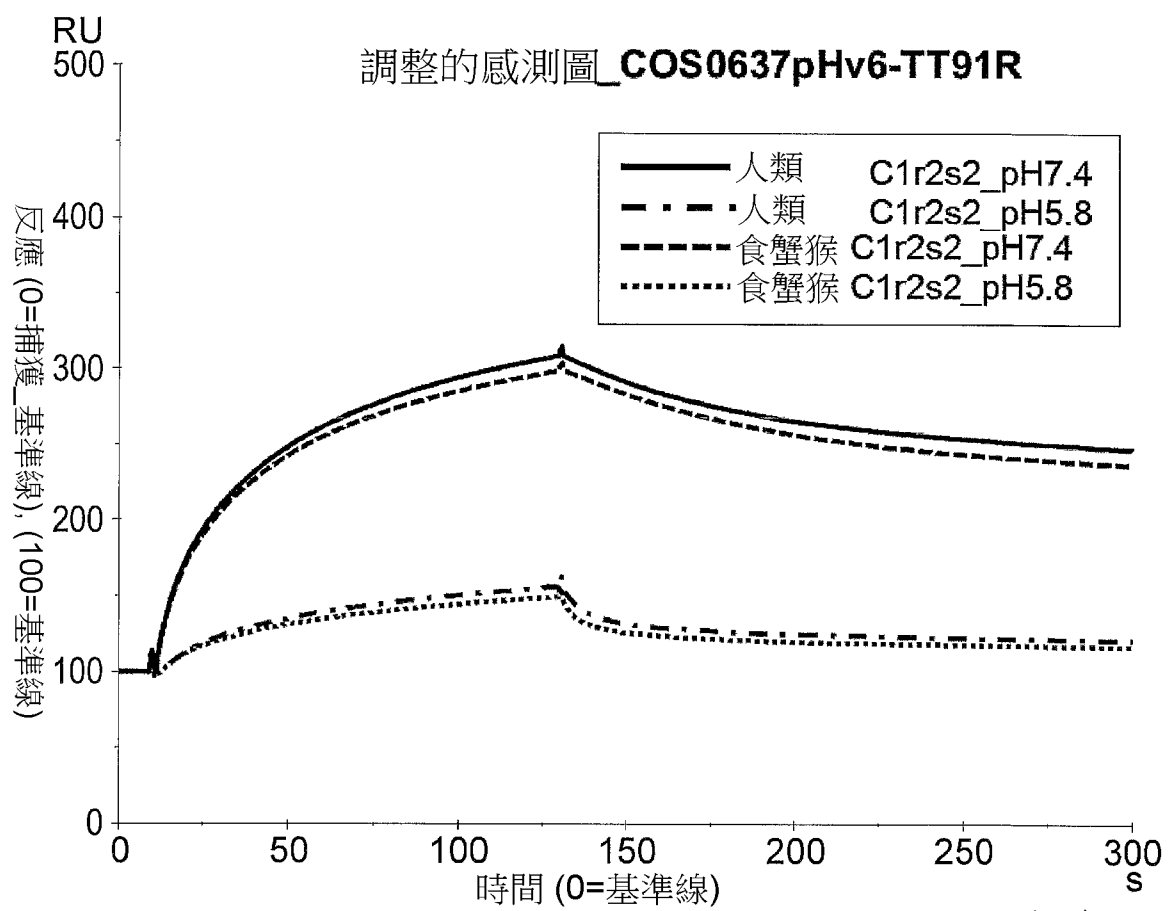


圖4-9

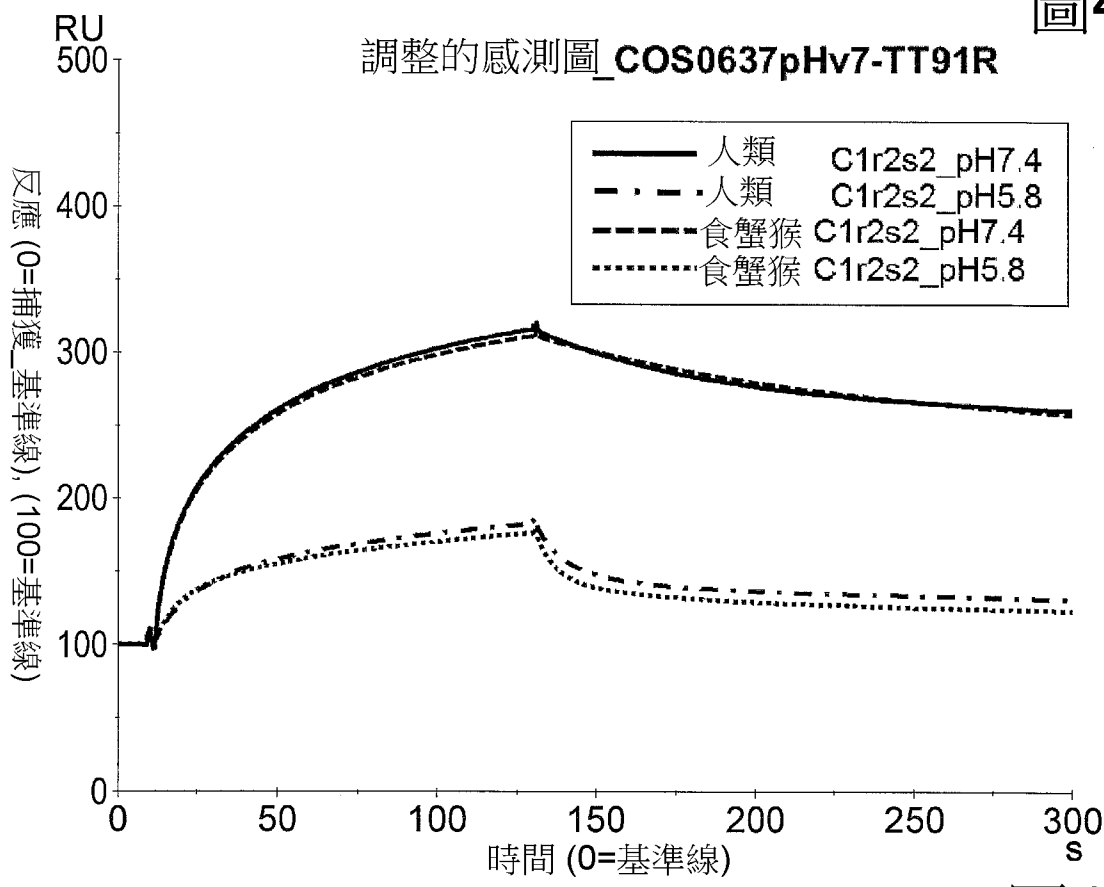
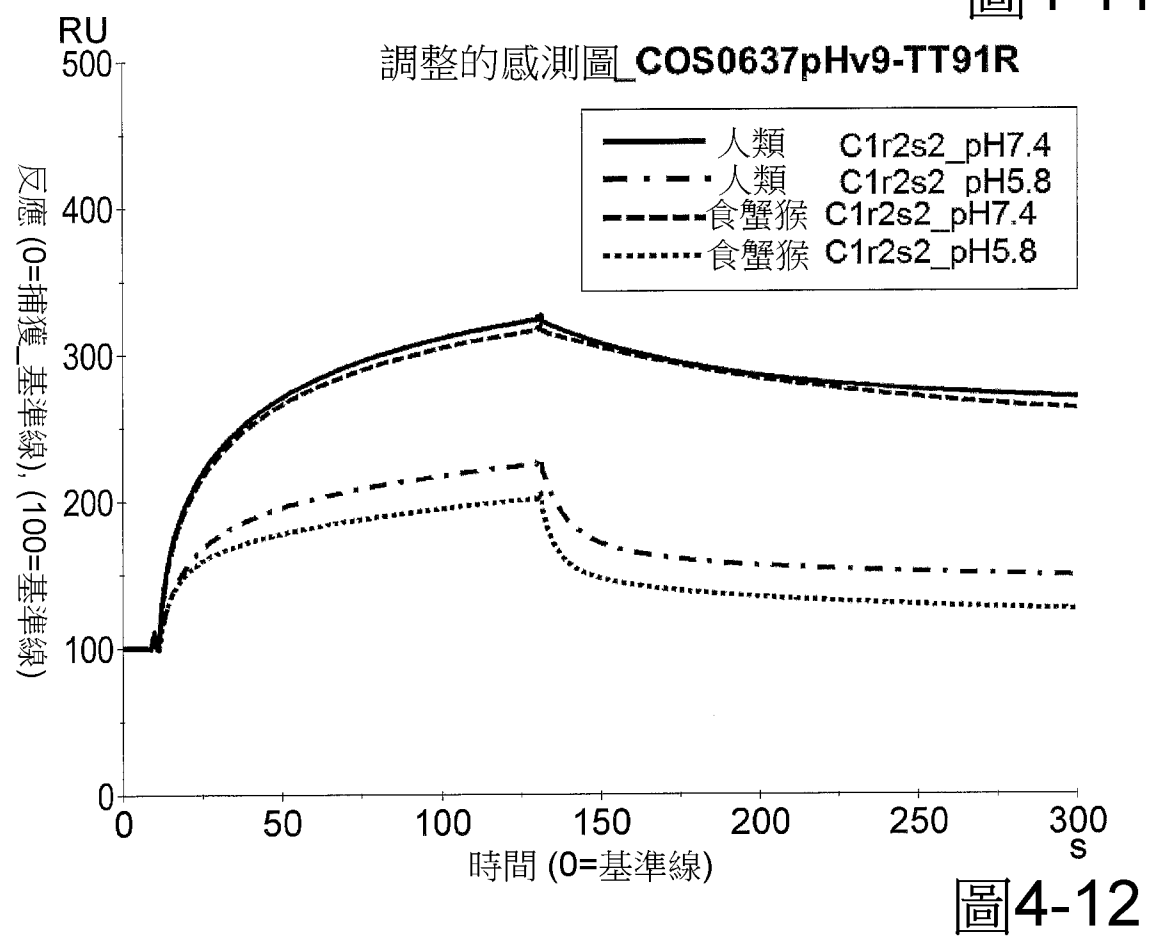
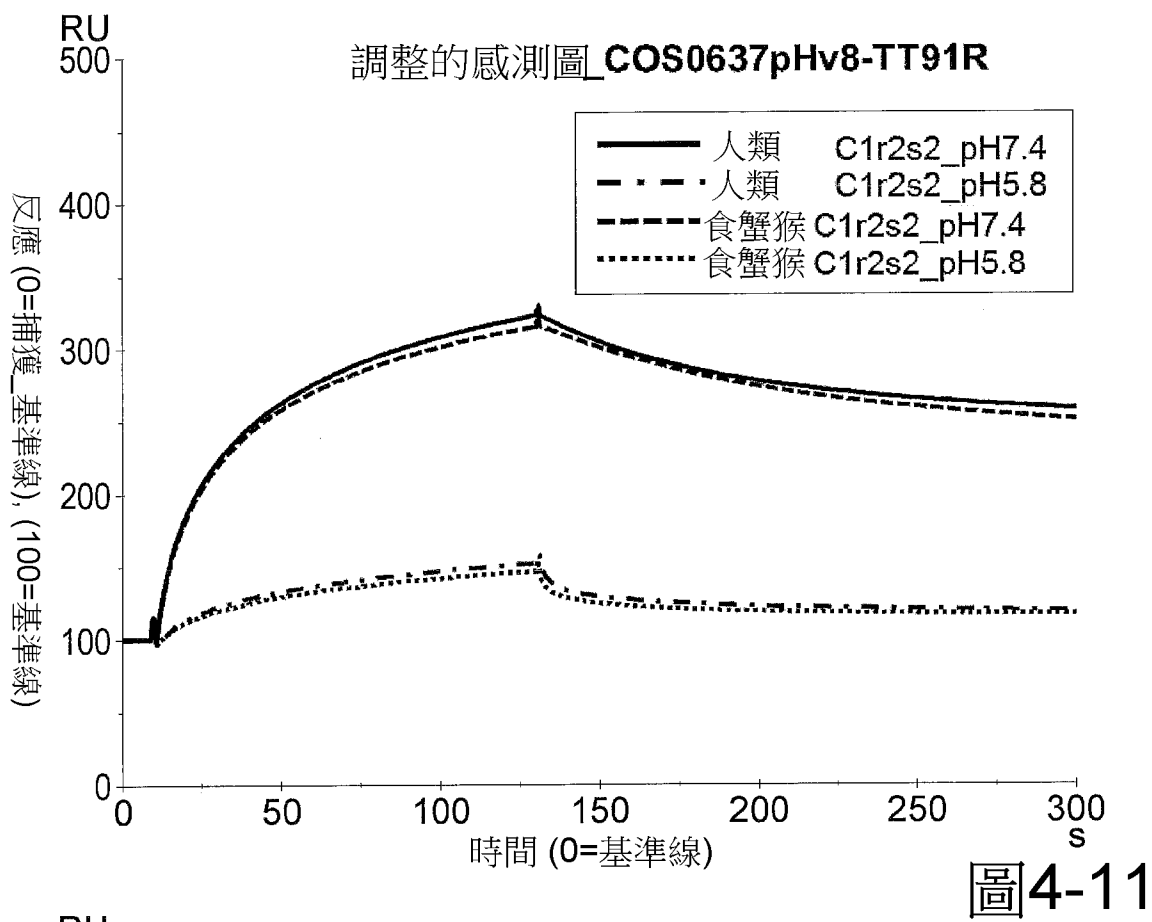
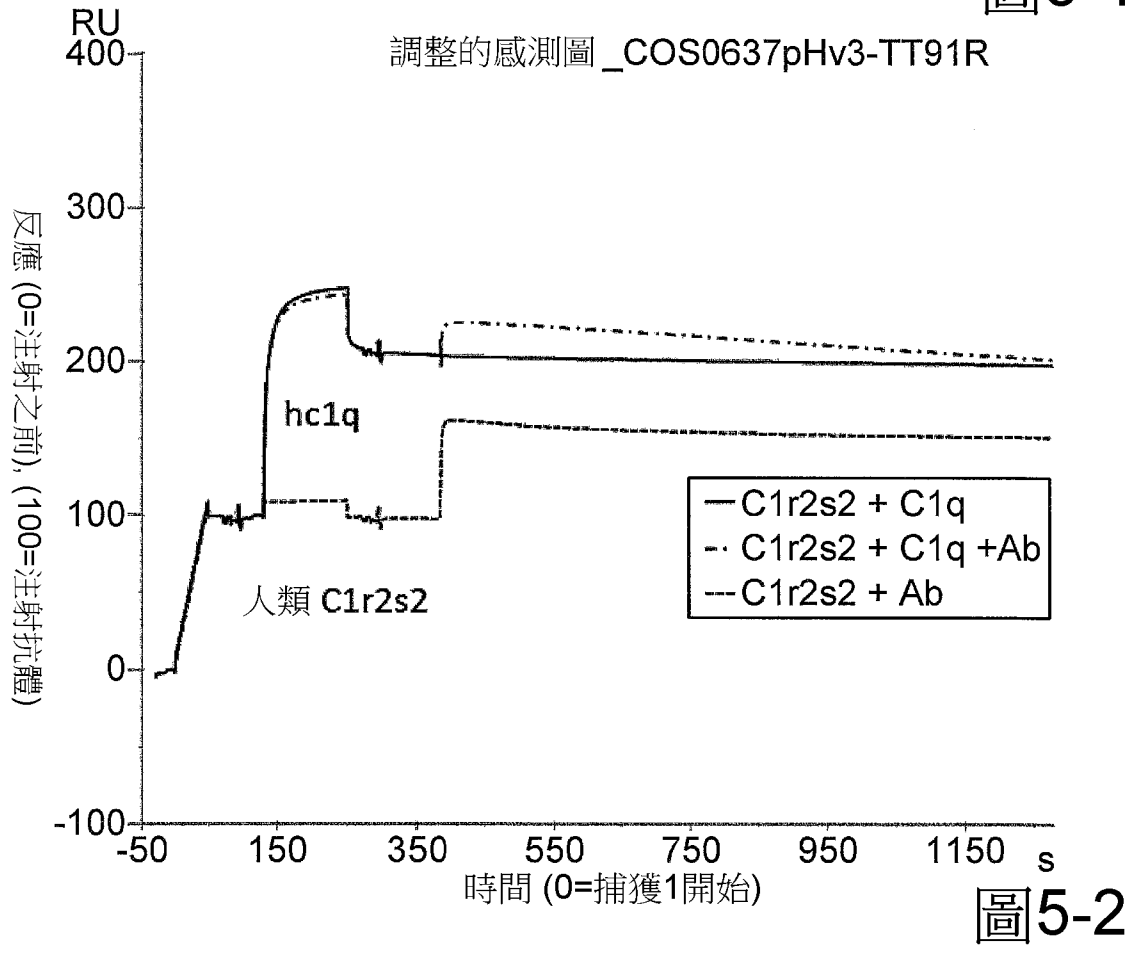
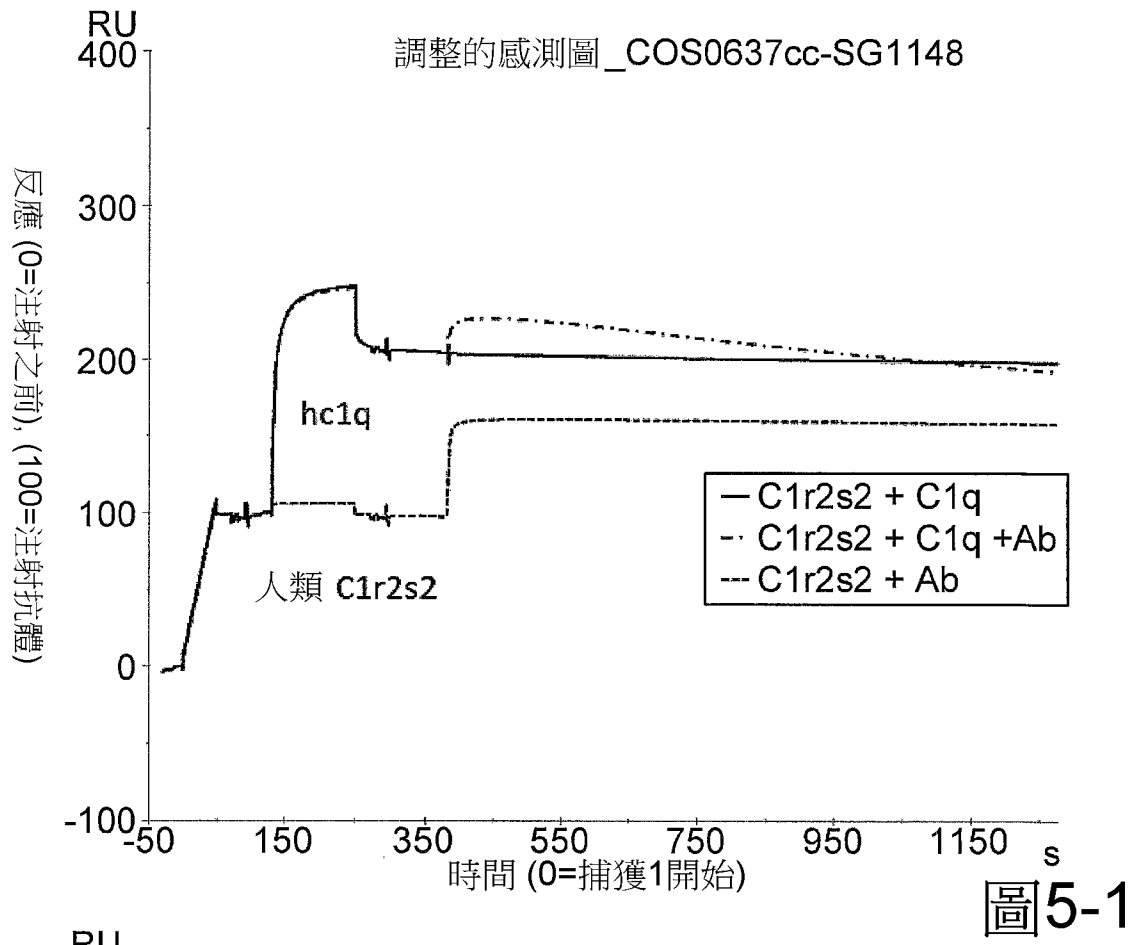
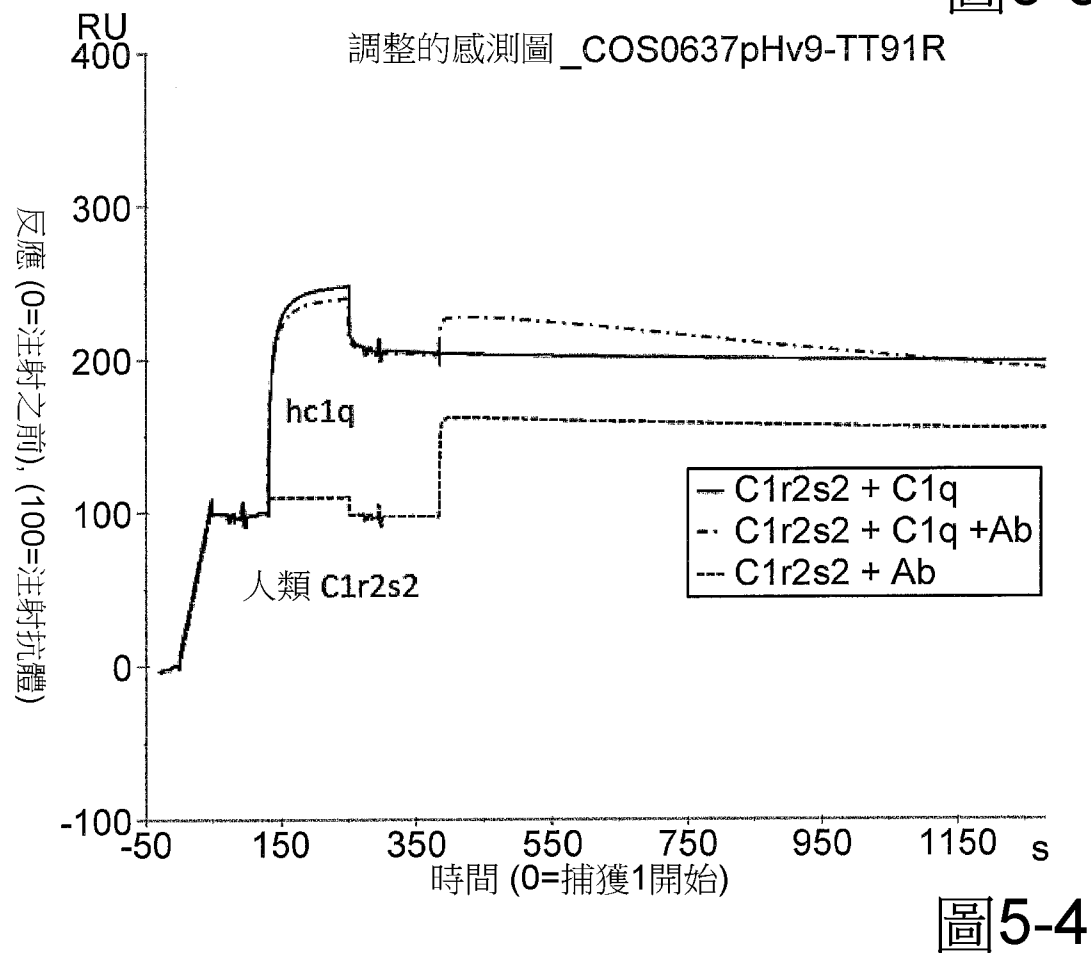
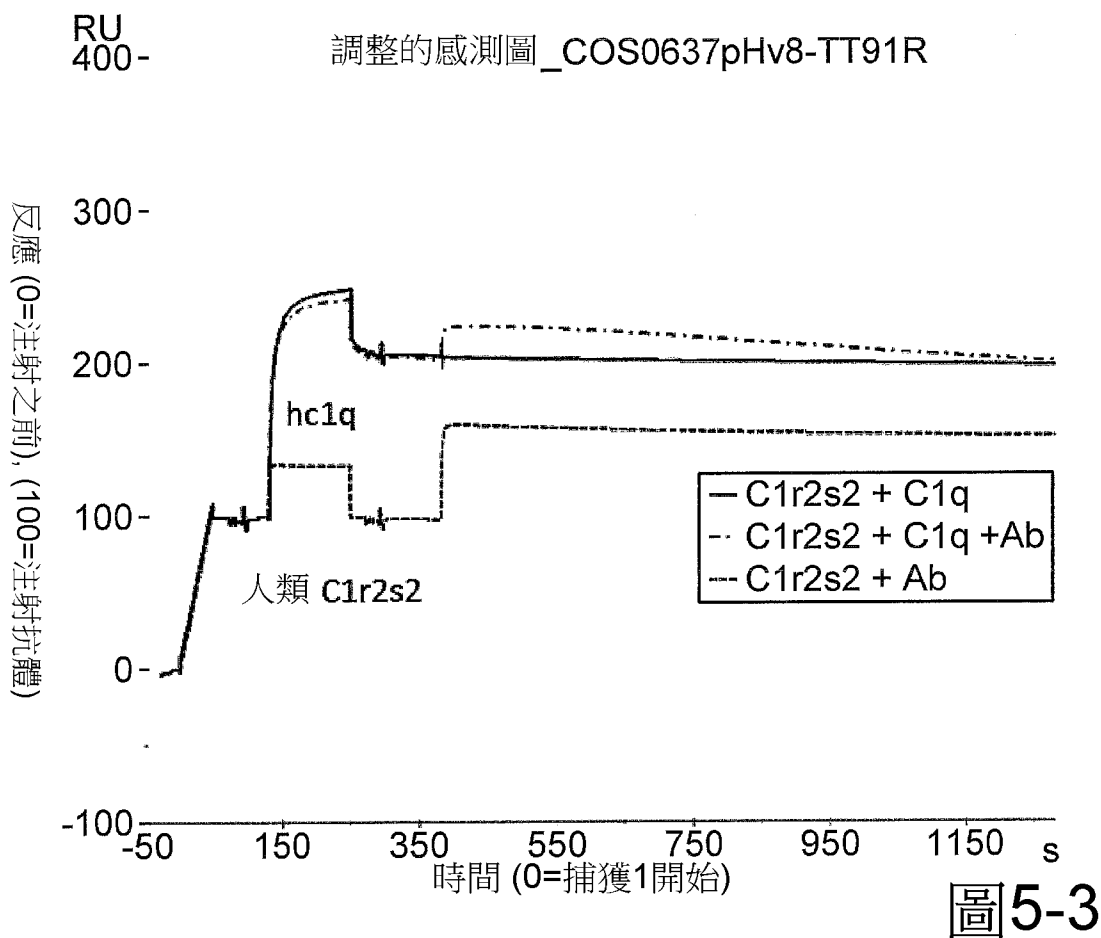


圖4-10







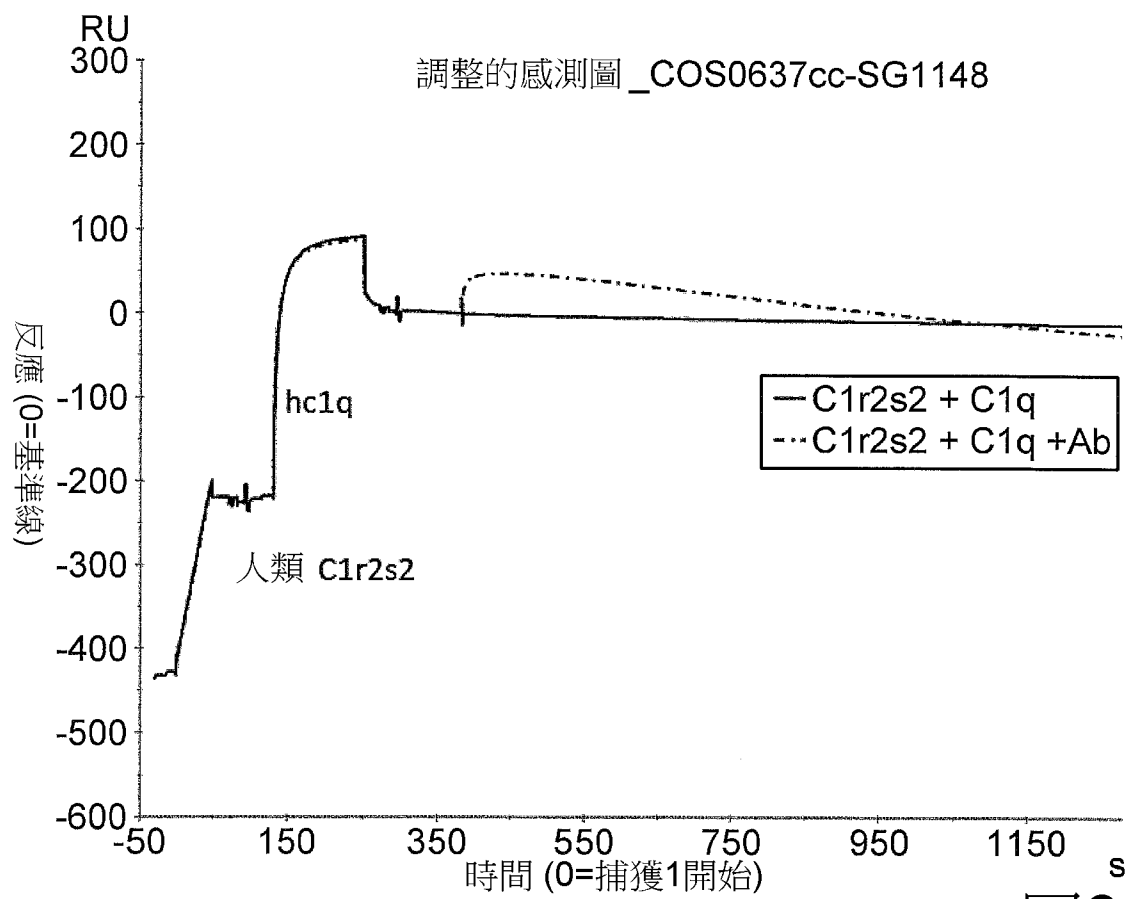


圖6-1

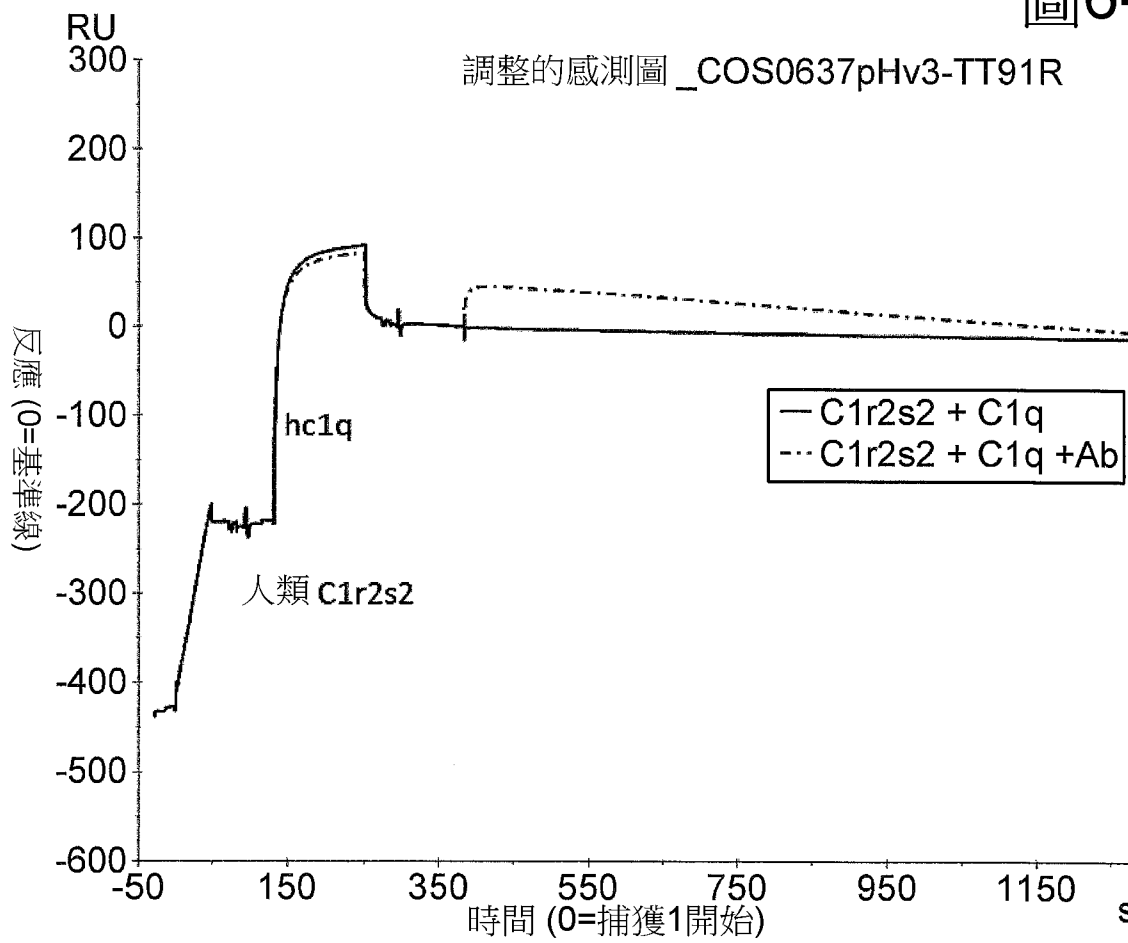


圖6-2

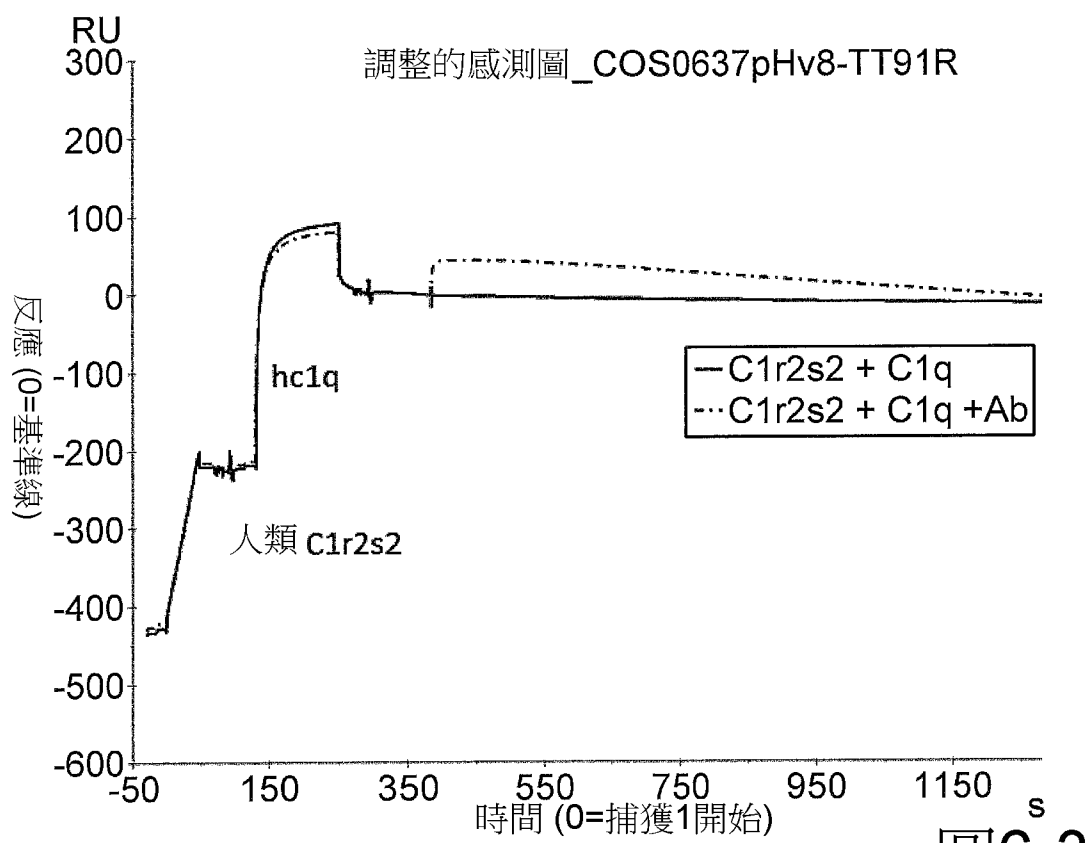


圖6-3

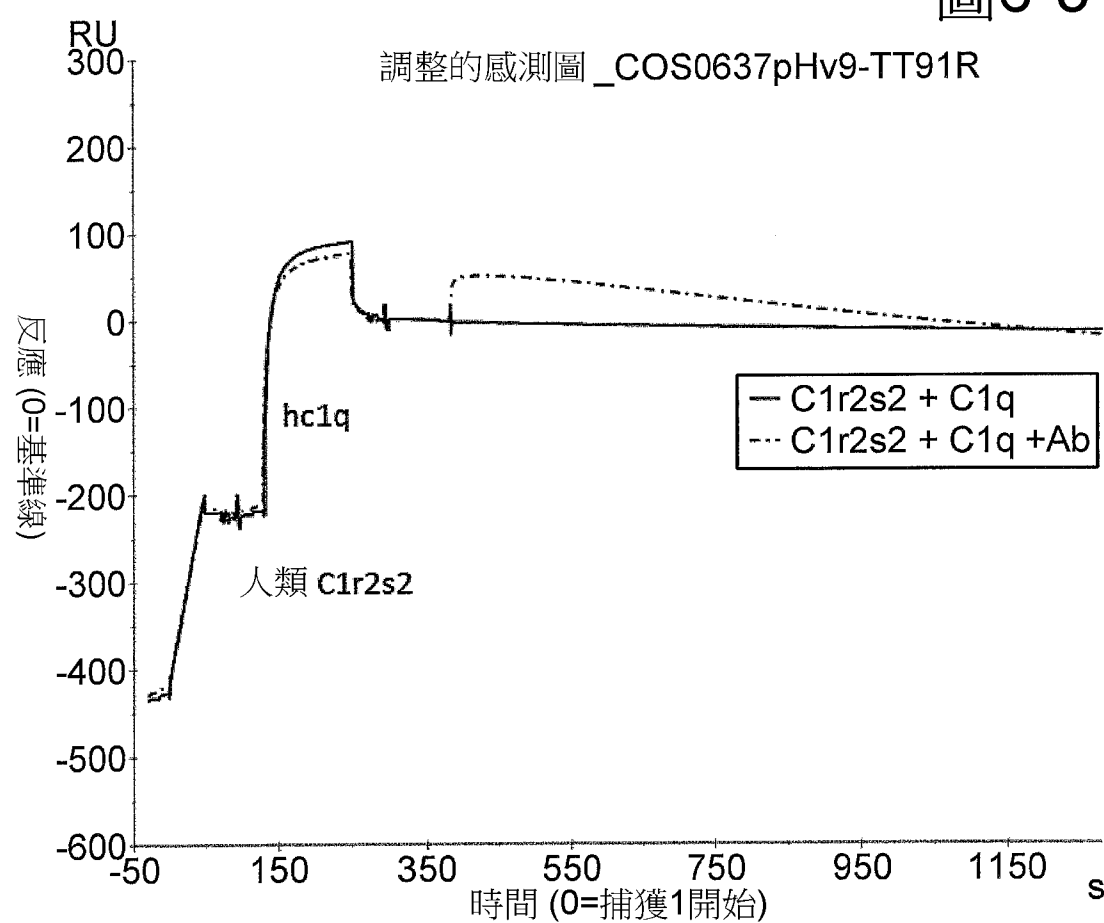


圖6-4

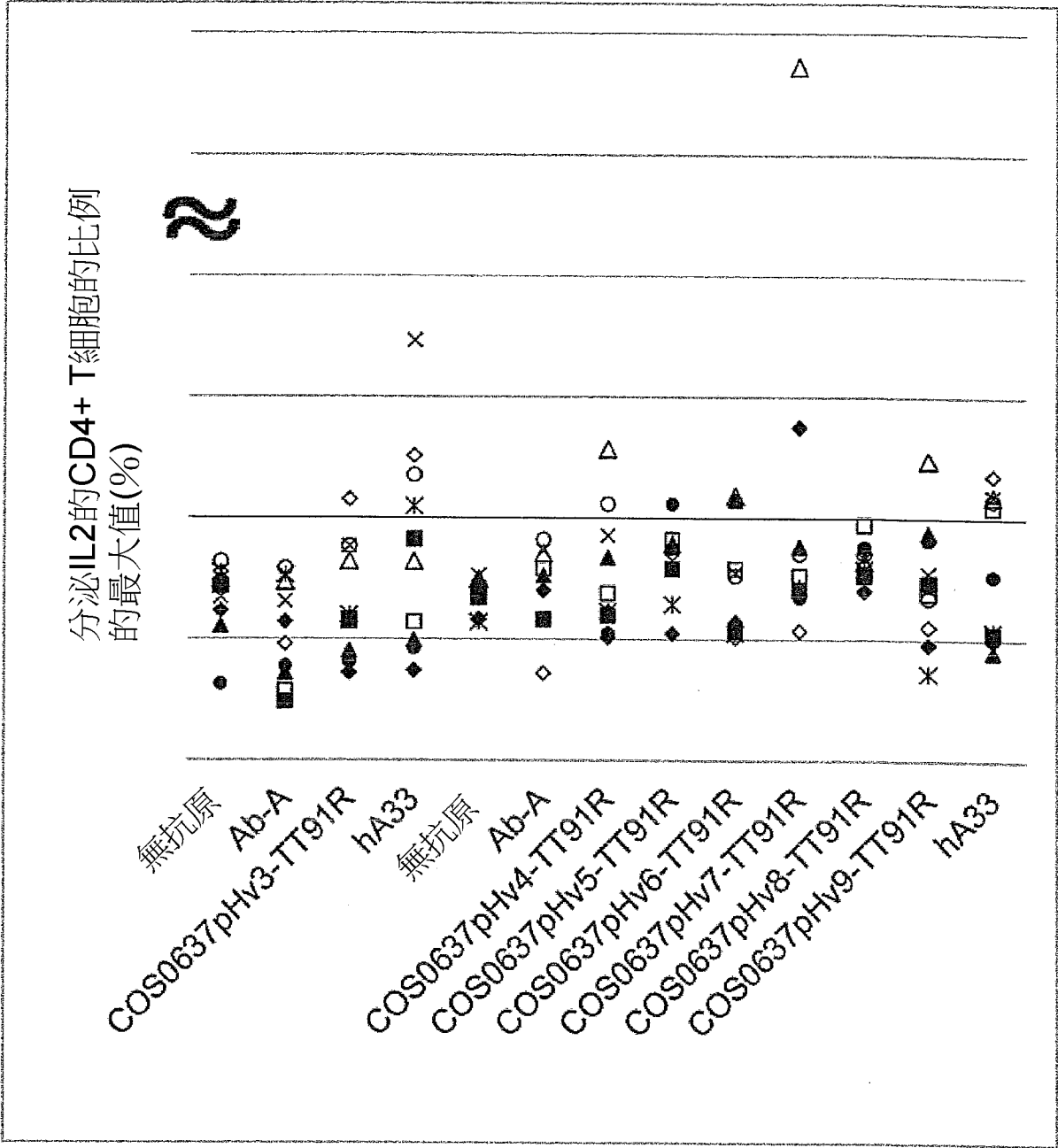
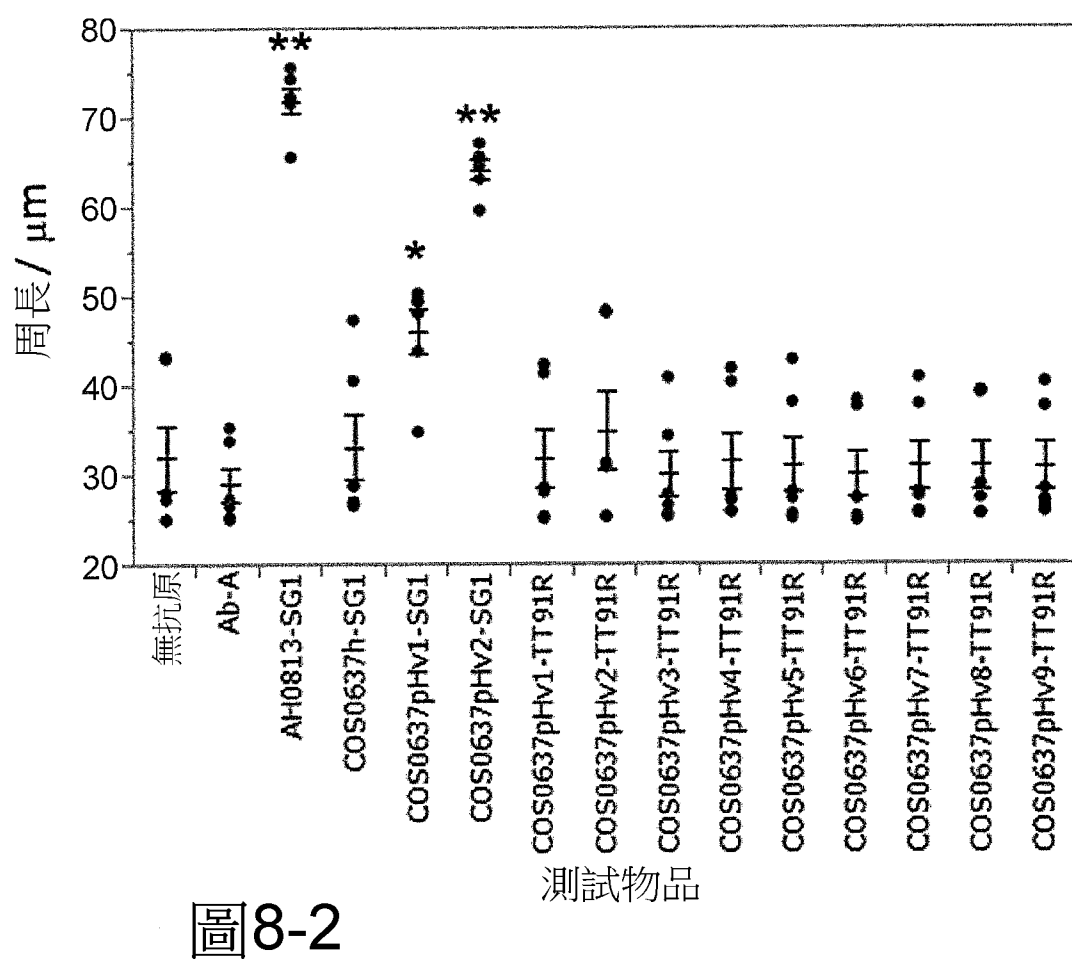
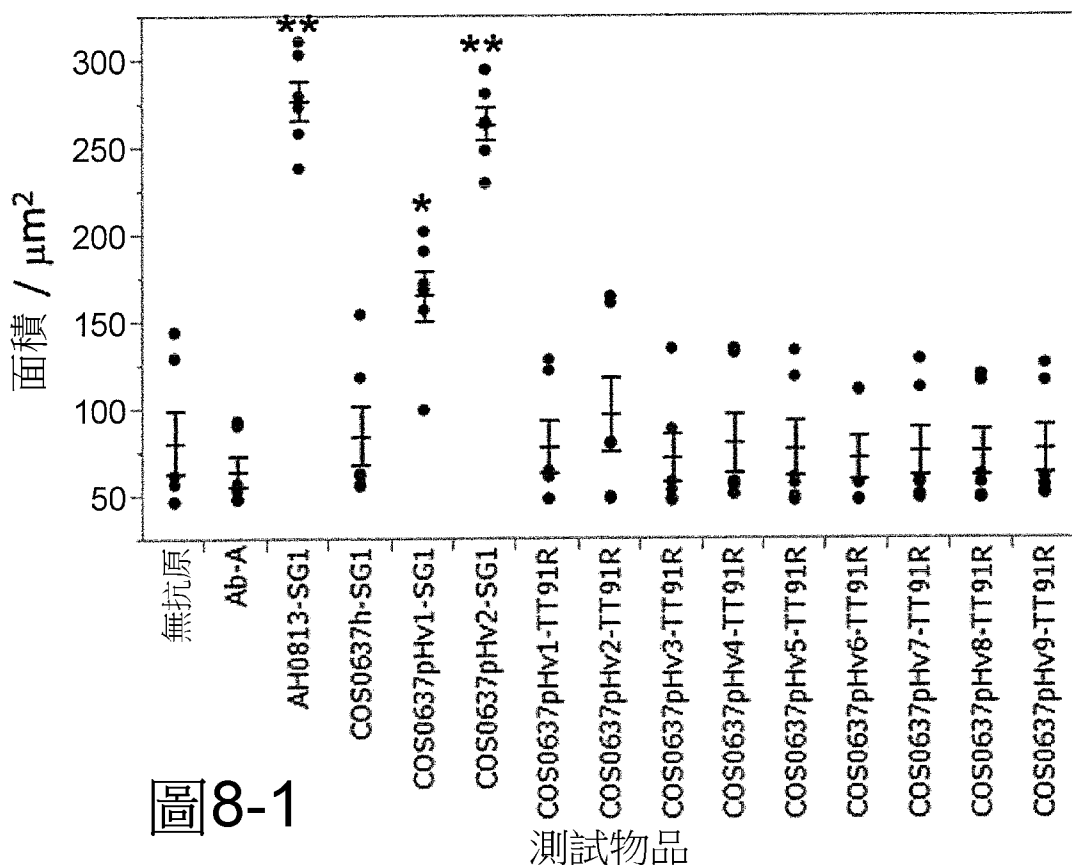


圖7



分泌IL2的CD4+ T細胞的比例
的最大值(%)

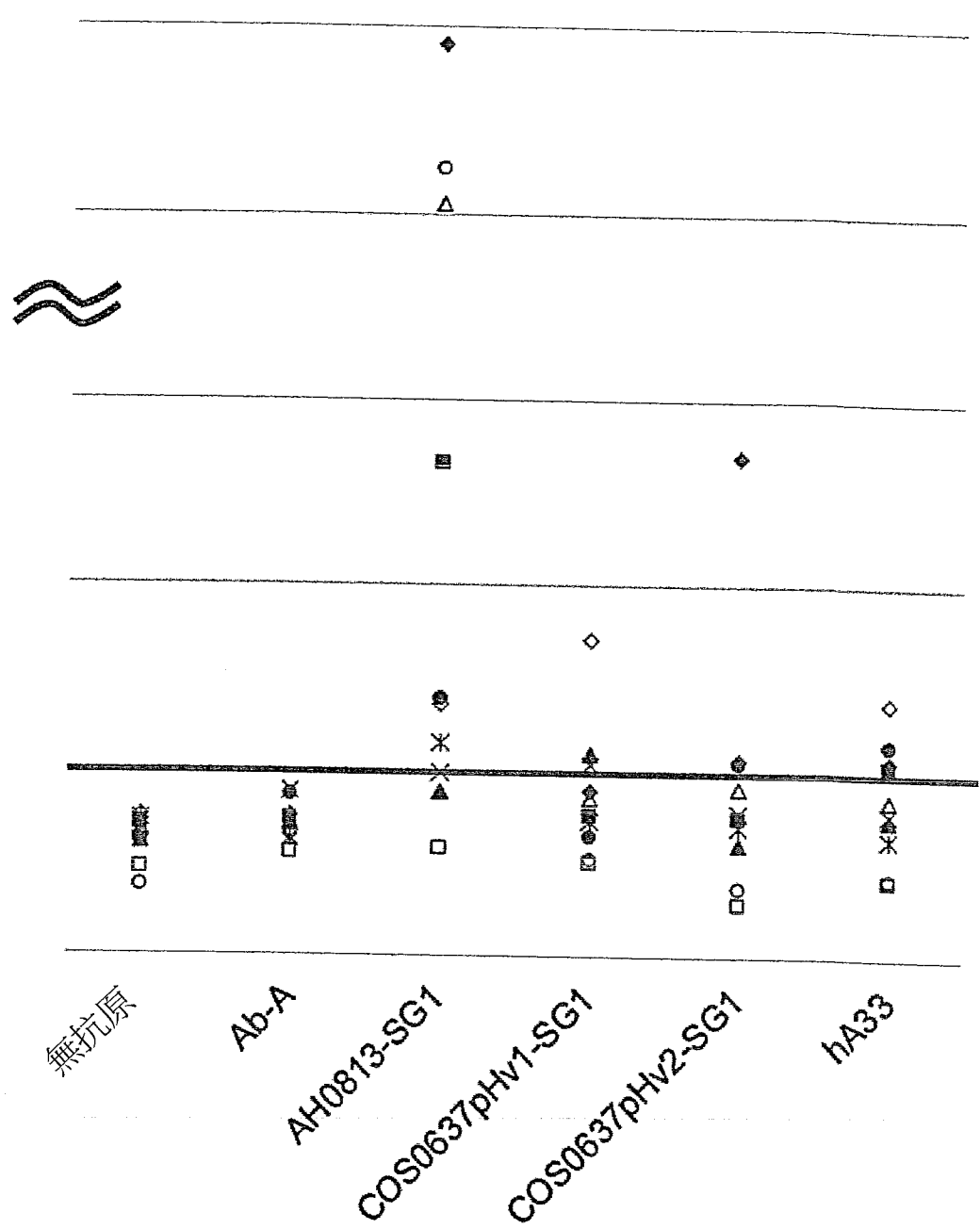


圖 8-3