202519553

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202519553 A

(43)公開日： 中華民國 114 (2025) 年 05 月 16 日

(21)申請案號：113129899 (22)申請日： 中華民國 108 (2019) 年 10 月 09 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/28 (2006.01)* *C12N15/13 (2006.01)*
C12N15/86 (2006.01) *A61K39/395 (2006.01)*
A61P25/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/10/15 美國 62/745,798
2019/04/17 美國 62/835,289
2019/08/23 美國 62/890,665
2019/08/27 美國 62/892,517

(71)申請人：瑞士商諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)
瑞士

(72)發明人：法爾貝克 多明尼克 FEUERBACH, DOMINIK (DE)；格斯巴尼 費伯里茲 GASPARINI, FABRIZIO (CH)；沃度博爾 馬克思 WALDHUBER, MARKUS (AT)；夏德特 伊芙琳 SCHAADT, EVELINE (DE)；喬治 納塔莉 GEORGE, NATHALIE (CH)；布蘭德 維芮娜 BRAND, VERENA (DE)；瑟琳妮瓦斯 霍娜帕 SRINIVAS, HONNAPPA (IN)；席姆薩克 德亞 SHIMSHEK, DERYA (LU)；魏爾肯 雷納 WILCKEN, RAINER (DE)

(74)代理人：陳長文；朱淑尹；黃裕煦

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：104 項 圖式數：22 共 457 頁

(54)名稱

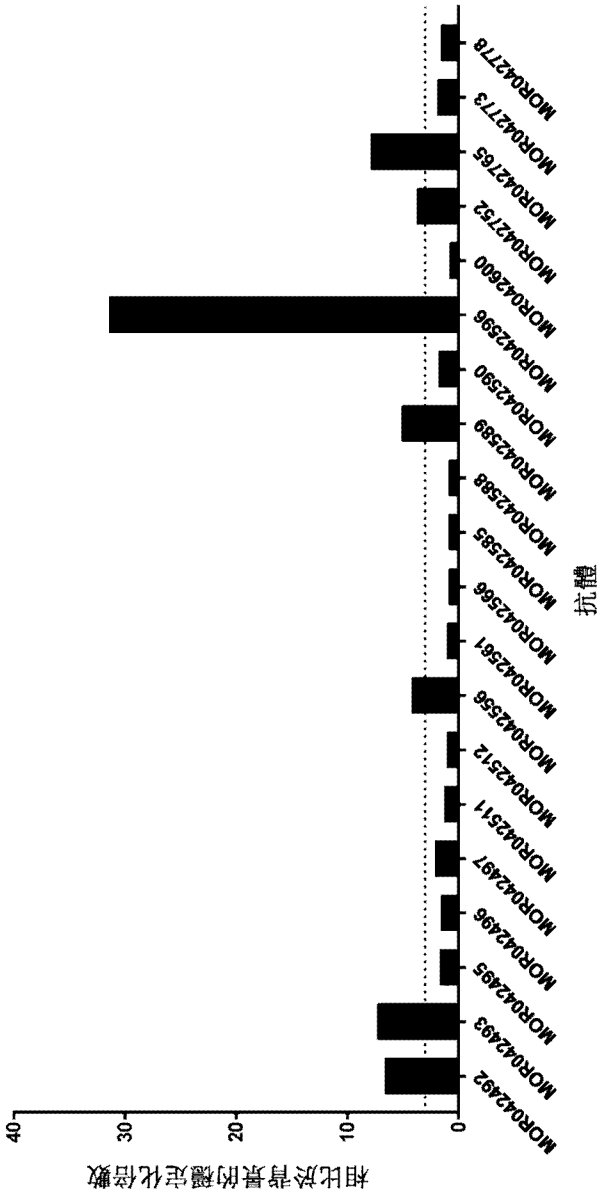
穩定 TREM2 之抗體

(57)摘要

本發明提供結合並穩定在骨髓細胞上表現的人觸發受體 2（TREM2）蛋白之抗體和使用該等抗體之方法。

The present invention provides antibodies that bind to and stabilize human Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells 2 (TREM2) protein and methods of using these antibodies.

指定代表圖：


MOR04278
MOR04277
MOR04276
MOR04275
MOR04260
MOR04259
MOR04259
MOR04258
MOR04258
MOR04256
MOR04256
MOR04255
MOR04251
MOR04251
MOR04249
MOR04249
MOR04249
MOR04249
抗體
0
10
20
30
40
相比於背景的穩定化倍數

【圖 2】

202513755
202[illegible]
專利案號：113129899
原申請案號：108136500

【發明摘要】

【中文發明名稱】　穩定TREM2之抗體

【英文發明名稱】　TREM2 STABILIZING ANTIBODIES

【中文】

本發明提供結合並穩定在骨髓細胞上表現的人觸發受體2（TREM2）蛋白之抗體和使用該等抗體之方法。

【英文】

The present invention provides antibodies that bind to and stabilize human Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells 2 (TREM2) protein and methods of using these antibodies.

【指定代表圖】　圖2

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】　穩定TREM2之抗體

【英文發明名稱】　TREM2 STABILIZING ANTIBODIES

【技術領域】

【0001】本發明提供結合並穩定在骨髓細胞上表現的人觸發受體2（TREM2）蛋白的抗體和使用該等抗體之方法。

【先前技術】

【0002】骨髓細胞表現的觸發受體或「TREM」上係一組跨膜糖蛋白，其在不同類型的骨髓細胞上表現，例如巨噬細胞、樹突細胞、破骨細胞、小膠質細胞、肥大細胞、單核細胞、肺上皮細胞、皮膚朗格漢斯（Langerhans）細胞、庫普弗（Kupffer）細胞和嗜中性球（Takaki, R. 等人, *Immunol. Rev.[免疫學評論]*, 2006, 214: 118-29）。TREM在其細胞外結構域中具有免疫球蛋白（Ig）型折疊，因此屬於免疫球蛋白超家族（IgSF）。TREM受體含有短的細胞內結構域，但缺少用於傳訊介質的對接模體，並且需要轉接蛋白，例如DAP12（12 kDa的DNAX活化蛋白）用於細胞活化。已報導兩個TREM成員：TREM1和TREM2，兩者都在免疫和炎症應答中起重要作用。編碼人TREM的基因定位於染色體6p21.1，染色體6p21.1攜帶編碼TREM1、TREM2、TREM3、TREM4和TREM5的基因簇，以及TREM樣基因。

【0003】TREM2係約40 kDa的糖蛋白，其在N-去糖基化後降低至26 kDa。整個TREM2蛋白由以下組成：前導訊息肽（胺基酸1-18）、單個V型IgSF胞外區

（胺基酸19-132）、莖區（胺基酸133-172）、帶正電荷的跨膜結構域（胺基酸173-197）和胞質尾（胺基酸198-230）（Kober 等人, *Elife* 5 (2016)；Kober 等人, *J. Mol. Biol.[分子生物學雜誌]* 429 (2017) 1607-1629.）。由外顯子2編碼的細胞外區域由單一類型的V IgSF結構域（其含有三個潛在的N-糖基化位點）構成。推定的跨膜區含有帶電荷的離胺酸殘基。TREM2的細胞質尾缺乏訊號模體，並且被認為藉由傳訊分子DAP12/TRYROBP發出訊號。

【0004】 TREM2與DAP12物理締合，DAP12充當TREM2和許多其他細胞表面受體的傳訊蛋白。DAP12的細胞質結構域含有免疫受體酪胺酸活化模體（ITAM）（Wunderlich, *J. Biol. Chem[生物化學雜誌]*. 288, 33027–33036, 2013）。相互作用受體活化後，DAP12藉由Src激酶在保守性ITAM酪胺酸殘基上經歷磷酸化。隨後的Syk蛋白激酶的募集和活化觸發下游傳訊途徑，包括絲裂原活化蛋白激酶（MAPK）、PI3K、NFκB和磷脂酶Cγ（PLCγ）的活化。

【0005】 TREM2可以被以下活化：脂多糖（LPS），熱休克蛋白60，神經碎片，細菌，載脂蛋白E和各種陰離子和兩性離子脂質，例如磷脂酸（PA）、磷脂醯甘油（PG）、磷脂醯絲胺酸（PS）、磷脂醯肌醇（PI）、磷脂醯膽鹼（PC）、心磷脂和鞘磷脂。TREM2活化增加小膠質細胞和巨噬細胞的吞噬能力，減少促炎細胞介素的釋放並限制TLR傳訊。TREM2藉由與CSF-1受體傳訊協同維持小膠質細胞存活。此外，TREM2與調節細胞黏附和運動的Plexin-A1相互作用。TREM2還富集在接觸Aβ斑塊或神經元碎片的那些小膠質細胞表面區域（Yuan等人., Neuron[神經元] 90 (2016) 724–739）。最近已經鑒定了在這種環境中由TREM2感知的一些配位基，例如磷脂和髓磷脂（Poliani 等人, *J. Clin. Invest.*[臨床研究雜誌] 125 (2015): 2161-2170）以及ApoE（Atagi 等人, *J. Biol. Chem.[生物化學雜誌]*

290 (2015): 26043-26050; Bailey 等人, *J. Biol. Chem.[生物化學雜誌]* 290 (2015): 26033-26042）。其他配位基可以是Aβ和斑塊相關的神經元碎片，因為TREM2有助於將Aβ攝取到小膠質細胞中（Xiang等人., *EMBO Mol. Med.[EMBO分子藥物]* 8 (2016): 992-1004）。TREM2還被證明在清除凋亡細胞（Takahashi 等人, *J. Exp. Med.* 201 (2005), 647-657）、髓鞘碎片（Poliani 等人, *J. Clin. Invest.*[臨床研究雜誌] 125 (2015): 2161-2170）和細菌珠（Cen 等人, *Am. J. Respir.[美國呼吸學雜誌]*. 188 (2013) 201-212）中起作用。TREM2傳訊促進攝入的捕獲物的降解，並且對於脂質代謝、髓磷脂攝取和細胞內分解係至關重要的。

【0006】 TREM2藉由胞外域脫落和膜內蛋白水解進行順序蛋白水解加工（Wunderlich, *J. Biol. Chem.[生物化學雜誌]* 288, 33027–33036, 2013）。在胞外域脫落期間，TREM2的胞外域由蛋白酶釋放，該蛋白酶係例如ADAM成員（含有解整聯蛋白（disintegrin）和金屬蛋白酶結構域的蛋白質）或BACE（β-位點APP切割酶）家族（Kleinberger, Sci. Transl. Med.[科學轉化醫學] 2014; 6(243):243ra86）。

【0007】 去除胞外域後，藉由γ-分泌酶介導的膜內蛋白水解進一步處理剩餘的膜保留片段。已經在樹突細胞培養物的上清液以及來自患有非炎性神經疾病和多發性硬化的患者的血漿和CSF（腦脊液）樣本中觀察到由胞外域脫落產生的TREM2（sTREM2）的可溶性片段（Kleinberger，2014）。人CSF中TREM2即sTREM2的脫落的胞外域已經被評估為潛在的阿茲海默氏症（AD）生物標誌物，並且已經顯示在一般的衰老過程中增加（Suarez-Calvet, *EMBO Mol. Med.[EMBO分子藥物]* 8, 466-476, 2016）。在AD過程中的詳細分析顯示，在AD

失智中，sTREM2在臨床症狀出現之前在AD早期增加，在MCI-AD中達到峰值，並且保持升高的但與MCI-AD階段相比較低的水平（Suarez-Calvet, 2016）。

【0008】 疾病高峰期TREM2表現的增加推動了消退（例如腹膜炎，傷口癒合）（Turnbull, 2006; Gawish, 2015）。在諸如神經炎症的慢性炎症條件下，TREM2不斷脫落並且不能在小膠質細胞和巨噬細胞中發揮其訊號傳導功能。因此，穩定和/或防止TREM2在細胞表面脫落將恢復小膠質細胞和巨噬細胞中功能性的、能夠進行傳訊的TREM2表現。

【0009】 人類遺傳學研究表明，表面TREM2的缺失而不是缺乏sTREM2會導致疾病風險。例如，TREM2蛋白中位置47的胺基酸從R到H的突變（例如，在SEQ ID NO: 1中）導致細胞表面表現略微降低（Kleinberger 2014），並且降低TREM2的配位基結合能力（Wang 2015, Atagi 2015, Bailey 2015）。TREM2中的胺基酸突變T66M導致TREM2在細胞表面缺乏表現（Kleinberger 2014），因此不產生可溶性TREM2。TREM2的切割位點的突變：H157Y增強sTREM2的表現並減少全長膜結合的TREM2，並且與AD風險增加相關（Thornton 2017, Schlepckow 2017）。因此，該等遺傳學研究表明，在細胞表面穩定TREM2對於減少sTREM2和增加質膜結合的TREM2都是希望的。

【0010】 Haass等人（WO18015573）產生了抗體，該等抗體結合跨越TREM2莖區的胺基酸152-161的10個胺基酸的肽段（AHVEHSISRS SEQ ID NO: 132）並抑制TREM2切割。此類抗體藉由直接結合並且由此封閉切割位點防止TREM2的切割。Schwabe等人（WO17062672）揭露了與TREM2結合的抗體。然而，任何揭露的抗體都沒有表明穩定作用。相反，對於WO17062672中描述的一些抗體，報導了去穩定作用（實例15）。

【0011】因此，需要鑒定和開發能夠穩定TREM2並活化和/或促進或TREM2相關功能的hTREM2抗體，其具有良好的可開發特徵並且適合於治療患有其中TREM2穩定化係有利的神經退行性疾病的患者。

【發明內容】

【0012】已發表的文獻已針對TREM2的莖區產生抗體，該等抗體穩定TREM2，因為ADAM17的切割位點位於該莖區內。實際上，預期諸如抗體（或其結合片段）的大分子將在空間上阻礙脫落酶進入莖（胺基酸133-172）的相對小區域。因此，先前產生針對TREM2的穩定化抗體的努力已經針對TREM2的莖區並不出人意料。TREM2的IgSF區（SEQ ID NO: 1、2或3中任一個的胺基酸19-132）位於遠離切割位點（H157）並且是胞外域的一部分。到目前為止，IgSF區還沒有被認為係穩定TREM2的抗體的潛在靶標，因為預期針對TREM2的IgSF區的抗體不會在空間上阻礙脫落酶進入TREM2切割位點。

【0013】出人意料的是，我們發現本文揭露的抗體與IgSF區結合並且能夠有效地穩定細胞表面上的TREM2。我們還顯示這種抗體能夠顯示功能性下游效應，例如促進人M2A巨噬細胞中TREM2依賴性吞噬作用。此外，此類抗體還可以增強體內TREM2依賴性功能，例如藉由增加腦中小膠質細胞或巨噬細胞的吞噬能力。

【0014】因此，本文提供了抗體或其抗原結合片段，例如單株抗體或其抗原結合片段，其特異性結合人TREM2（hTREM2）的IgSF結構域並穩定hTREM2蛋白。這種抗體在本文中稱為「hTREM2抗體或其抗原結合片段」。該等hTREM2抗體或其抗原結合片段可以 (i) 減少或抑制TREM2胞外域的脫落；(ii) 穩定細胞

表面的TREM2蛋白；和/或 (iii) 維持或增加TREM2功能，例如與其同源配位基結合、細胞內傳訊、增加吞噬作用、促進吞噬物質的降解、以及促進TREM2依賴性下游調節功能。由於功能失調的TREM2或缺乏表面TREM2與人神經炎症和神經退行性病理相關，本文所述之hTREM2抗體或其抗原結合片段可用於治療、預防或診斷神經炎症或神經退行性疾病，例如阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、那須-哈柯拉（Nasu-Hakola）病、多發性硬化、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症（ALS）、抗NMDA受體腦炎、自閉症、腦狼瘡（NP-SLE）、化療引起的周圍神經病變（CIPN）、帶狀皰疹後神經痛、慢性發炎去髓鞘型多發性神經病變（CIDP）、癲癇、格林 - 巴厘綜合症（GBS）、包涵體肌炎、胞溶體貯積症、如尼曼-皮克病（Niemann-Pick C）和黏多糖病II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病、重症肌無力、神經白塞病（Neuro-Behcet's Disease）、視神經脊髓炎（NMO）、視神經炎、多肌炎、皮肌炎、拉斯穆森腦炎（Rasmussen's encephalitis）、雷特氏症候群（Rett's Syndrome）、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷、脊椎損傷、病毒性腦炎或細菌性腦膜炎。本文所述之hTREM2抗體或其抗原結合片段也適用於治療、預防或診斷由TREM2的廣泛蛋白水解切割或表現TREM2受體的異常或突變變體的細胞介導的或與其相關的自身免疫性障礙、炎性障礙或惡性障礙。在一些較佳的實施方式中，本文所述之hTREM2抗體或其抗原結合片段可用於治療、預防或診斷選自阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症或那須-哈柯拉病的疾病。本文還提供了使用本文揭露的TREM2結合抗體或抗原結合片段診斷和/或治療TREM2相關疾病之方法。

【0015】在一個方面，本文提供了抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段特異性結合 TREM2 蛋白的 IgSF 結構域並穩定 TREM2 蛋白。在一些較佳的實施方式中，該等抗體或其抗原結合片段使表現 TREM2 的細胞（例如巨噬細胞、樹突細胞、破骨細胞、小膠質細胞、肥大細胞、單核細胞、肺上皮細胞、皮膚蘭格漢氏細胞、庫弗細胞、嗜中性球或肝癌細胞）的細胞表面上的 TREM2 蛋白穩定。在一些實施方式中，該等抗體或其抗原結合片段減少 TREM2 蛋白的胞外域的蛋白水解脫落。

【0016】在一些實施方式中，本文提供了特異性結合人TREM2的IgSF結構域的抗體或其抗原結合片段。例如，此類抗體或其抗原結合片段結合人TREM2的IgSF結構域，該IgSF結構域包含SEQ ID NO: 1的胺基酸殘基19至132，SEQ ID NO: 2的胺基酸殘基19至132，或SEQ ID NO: 3的胺基酸殘基19至132。在一些實施方式中，TREM2抗體係人抗體或人源化抗體。在一些實施方式中，抗原結合片段係Fab、$F(ab')_2$、Fv片段、scFv、微抗體（minibody）或雙抗體（diabody）。

【0017】在一些實施方式中，TREM2抗體係雙特異性抗體。在一些實施方式中，雙特異性抗體特異性結合人TREM2和DAP12。

【0018】在一些實施方式中，TREM2抗體包含Fc區。在一些實施方式中，Fc區係修飾的IgG1 Fc區，其與親本抗體相比時具有一個或多個突變並且具有降低的抗體依賴性細胞毒性（ADCC）或補體依賴性細胞毒性（CDC）活性。在一些實施方式中，Fc區選自IgG2 Fc區，IgG4 Fc區或IgG2/IgG4雜合Fc區。

【0019】在一些實施方式中，hTREM2抗體或其抗原結合片段係單株的。本文提供了編碼此類單株抗體或其抗原結合片段的核酸，以及包含編碼此類單株抗體或其抗原結合片段的核酸的載體和宿主細胞。

【0020】另一方面，本文提供藥物組成物，其包含一種或多種本文所述之TREM2抗體或其抗原結合片段，或編碼此類抗體或抗原結合片段的核酸，或包含此類核酸的細胞，和藥學上可接受的載體。

【0021】另一方面，本文提供了藉由向受試者施用治療有效量的本文所述之任何TREM2抗體或其抗原結合片段來治療有此需要的受試者中的與TREM2功能喪失相關的疾病之方法。該等方法可以包括以下一個或多個步驟：(1) 測定從受試者獲得的樣本中的細胞表面TREM2水平；(2) 選擇細胞表面TREM2水平低於參考水平的受試者，其中參考水平係從健康受試者獲得的樣本中的細胞表面TREM2水平；和 (3) 給受試者施用治療有效量的抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段特異性結合TREM2蛋白的IgSF結構域並穩定TREM2蛋白。在一些實施方式中，該等方法還包括向受試者投與第二藥劑。樣本中的細胞表面TREM2水平可以藉由選自以下的測定來確定：流動式細胞測量術、免疫組織化學、西方印漬術、免疫螢光測定、放射免疫測定法（RIA）、酶聯免疫吸附測定（ELISA）、均相時間分辨螢光（HTRF）、正電子發射斷層攝影術（PET）。在一些實施方式中，樣本包含腦脊液及其細胞組分。在一些實施方式中，與TREM2功能喪失相關的疾病係神經炎症或神經退行性疾病，例如阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、那須-哈柯拉病、多發性硬化、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症（ALS）、抗NMDA受體腦炎、自閉症、腦狼瘡（NP-SLE）、化療引起的周圍神經病變（CIPN）、帶狀皰疹後神經痛、慢性發炎去髓鞘型多發性神經病變（CIDP）、癲癇、格林 - 巴厘綜合症（GBS）、包涵體肌炎、胞溶體貯積症、如尼曼-皮克病（Niemann-Pick C）和黏多糖病II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病、重症肌無力、神經白

塞病、視神經脊髓炎（NMO）、視神經炎、多肌炎、皮肌炎、拉斯穆森腦炎（Rasmussen's encephalitis）、雷特氏症候群、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷、脊椎損傷、病毒性腦炎或細菌性腦膜炎。在一些較佳的實施方式中，與TREM2功能喪失相關的疾病係選自阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症或那須-哈柯拉病的神經退行性疾病。在進一步較佳的實施方式中，該疾病係阿茲海默氏症。在一些實施方式中，TREM2抗體或其抗原結合片段使表現TREM2的細胞（選自巨噬細胞、樹突細胞、破骨細胞、小膠質細胞、肥大細胞、單核細胞、肺上皮細胞、皮膚蘭格漢氏細胞、庫弗細胞、嗜中性球或肝癌細胞）的細胞表面上的TREM2蛋白穩定。在一些實施方式中，TREM2抗體或其抗原結合片段藉由口服、靜脈內、顱內、鞘內、皮下或鼻內途徑投與受試者。

【0022】另一方面，本文提供TREM2抗體或其抗原結合片段，其用於治療與TREM2功能喪失相關的疾病。在一些較佳的實施方式中，該等抗體或其抗原結合片段特異性結合TREM2蛋白的IgSF結構域（即SEQ ID NO: 1的胺基酸殘基19至132，SEQ ID NO: 2的胺基酸殘基19至132，或SEQ ID NO: 3的胺基酸殘基19至132）並穩定TREM2蛋白。在一些較佳的實施方式中，該等抗體或其抗原結合片段使表現TREM2的細胞（選自巨噬細胞、樹突細胞、破骨細胞、小膠質細胞、肥大細胞、單核細胞、肺上皮細胞、皮膚蘭格漢氏細胞、庫弗細胞、嗜中性球或肝癌細胞）的細胞表面上的TREM2蛋白穩定。在一些實施方式中，與TREM2功能喪失相關的疾病係神經炎症或神經退行性疾病，例如阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、那須-哈柯拉病、多發性硬化、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症（ALS）、抗NMDA受體腦炎、自閉症、腦狼

瘡（NP-SLE）、化療引起的周圍神經病變（CIPN）、帶狀皰疹後神經痛、慢性發炎去髓鞘型多發性神經病變（CIDP）、癲癇、格林 - 巴厘綜合症（GBS）、包涵體肌炎、胞溶體貯積症、如尼曼-皮克病（Niemann-Pick C）和黏多糖病II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病、重症肌無力、神經白塞病、視神經脊髓炎（NMO）、視神經炎、多肌炎、皮肌炎、拉斯穆森腦炎（Rasmussen's encephalitis）、雷特氏症候群、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷、脊椎損傷、病毒性腦炎或細菌性腦膜炎。在一些較佳的實施方式中，與TREM2功能喪失相關的疾病係選自阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症或那須-哈柯拉病的神經退行性疾病。在進一步較佳的實施方式中，該疾病係阿茲海默氏症。在一些實施方式中，TREM2抗體或其抗原結合片段使表現TREM2的細胞（選自巨噬細胞、樹突細胞、破骨細胞、小膠質細胞、肥大細胞、單核細胞、肺上皮細胞、皮膚蘭格漢氏細胞、庫弗細胞、嗜中性球或肝癌細胞）的細胞表面上的TREM2蛋白穩定。

【圖式簡單說明】

【0023】[圖1A]顯示人TREM2同種型（isotyle）1（SEQ ID NO: 1）、同種型2（SEQ ID NO: 2）和同種型3（SEQ ID NO: 3）的胺基酸序列的示例性比對。

【0024】[圖1B]說明了TREM2的結構及其與傳訊蛋白DAP12的相互作用。成熟TREM2包括單個免疫球蛋白（IgSF）結構域、莖區、跨膜（TM）結構域和細胞質結構域。

【0025】[圖2]顯示藉由抗體處理在CHO-hDAP12-hTREM2細胞中穩定TREM2。

【0026】 [圖3]顯示在用PMA處理之前和之後TREM2抗體與人M2A巨噬細胞的結合。

【0027】 [圖4]顯示抗體與在CHO-hDAP12細胞（4B，C）中重組表現的WT-TREM2（4A）和TREM2-TREM1嵌合蛋白的結合。

【0028】 [圖5]顯示TREM2抗體在hM2A的細胞表面穩定TREM2。

【0029】 [圖6（A，B）]顯示在細胞表面穩定TREM2的抗體還增加人M2A的吞噬能力。使用學生T檢驗計算統計學，與同種型對照相比，*Pval<0.05、**Pval<0.01、***Pval<0.001。

【0030】 [圖7（A，B）]顯示了hM2A中吞噬作用測定中最低有效劑量的確定。使用學生T檢驗計算統計學，與同種型對照相比，*Pval<0.05、**Pval<0.01、***Pval<0.001。

【0031】 [圖8]顯示板結合的TREM2抗體誘導TREM2依賴性NFAT啟動子依賴性基因轉錄。

【0032】 [圖9（A，B）]顯示TREM2抗體增加人M2A巨噬細胞中的Syk磷酸化。（B）表示與（A）中所示的西方印漬術的總Syk相關的在不同條件下的pSyk的定量。

【0033】 [圖10]顯示人M2A巨噬細胞對金黃色葡萄球菌生物顆粒0-3小時的吞噬作用。

【0034】 [圖11]顯示人M2A巨噬細胞對SH-SY5Y細胞3-12小時的吞噬作用。

【0035】 [圖12]顯示TREM2抗體促進人M2A巨噬細胞的趨化性。

【0036】 [圖13]顯示利用凋亡的pHrodo標記的SH-SY5Y細胞和累積的吞噬作用為讀數，TREM2抗體促進人iPS衍生的小膠質細胞的吞噬作用。

【0037】 [圖14]顯示TREM2抗體促進人iPS衍生的小膠質細胞的趨化性。

【0038】 [圖15（A-E）]顯示了在銅立榮模型中用TREM2抗體預防/伴隨和治療性治療的結果。

【0039】 [圖16]顯示了人源化TREM2小鼠中MPTP模型的圖像分析（A）結果和每組的代表性顯微鏡照片（B）。

【0040】 [圖17（A-C）]顯示在CHO-hDAP12-hTREM2細胞中利用完整IgG MOR041877、MOR41895、MOR042596、MOR044698和MOR03207進行的Fab MOR041877、MOR041895和MOR042596的交叉封閉實驗的結果。

【0041】 [圖18]顯示用MOR042596處理後hM2A的吞噬能力的增加。

【0042】 [圖19]顯示藉由X射線晶體學測定的與MOR042596結合的TREM2表位。TREM2的蛋白質主鏈以卡通圖示出，並且距離Fab 5 Å距離內的TREM2殘基的側鏈顯示為棒。Fab重鏈顯示為深灰色表面，並且輕鏈顯示為淺灰色表面。

【0043】 [圖20]顯示TREM2-Fab介面的特寫視圖（參見圖19），比較MOR042596（晶體結構）和MOR044698（同源模型）。Fab的5Å內的TREM2殘基顯示為棒狀，並且標記了LCDR3（D39-K42）近端的殘基。重鏈（深灰色，右上）以及輕鏈（淺灰色，左上）的LCDR1和LCDR2對於兩個Fab都是相同的。LCDR3具有若干個共用的關鍵殘基（位置90、93、95），使得兩個Fab的LCDR3的主鏈環構象保持相同。位置89、91、92、94、96有變化，並且在MOR044698

中有一個額外的插入（S95a）。整個表位在MOR042596和MOR044698之間係保守的。

【0044】[圖21]顯示藉由X射線晶體學測定的與MOR041877結合的TREM2表位。TREM2的蛋白質主鏈以卡通圖示出，並且距離Fab 5 Å距離內的TREM2殘基的側鏈顯示為棒。Fab重鏈顯示為深灰色表面，並且輕鏈顯示為淺灰色表面。

【0045】[圖22（A，B）]顯示了用銅立榮和MOR044698-mu或同種型對照抗體處理的hTREM2-KI小鼠的腦皮質，以及作為對照的原初小鼠（針對TREM2和Iba1染色（A））。提供了對hTREM2陽性的標準化的面積的定量分析（B）。

[發明詳細說明]

【0046】本文提供了抗體及其抗原結合片段，該抗體及其抗原結合片段特異性結合人TREM2的細胞外結構域並穩定TREM2蛋白。那些TREM2抗體及其抗原結合片段可以減少或抑制TREM2胞外域的脫落；可以穩定細胞表面的TREM2蛋白；並且可視需要維持或增加TREM2功能，例如與其同源配位基結合、細胞內傳訊、增加吞噬作用以及促進吞噬物質的降解。由於功能失調的TREM2或缺乏表面TREM2與人神經炎症和神經退行性病理相關，本文所述之穩定TREM2的抗體及其抗原結合片段可用於治療、預防或診斷神經炎症或神經退行性疾病，例如阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、那須-哈柯拉病、多發性硬化、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症（ALS）、抗NMDA受體腦炎、自閉症、腦狼瘡（NP-SLE）、化療引起的周圍神經病變（CIPN）、帶狀皰疹後神經痛、慢性發炎去髓鞘型多發性神經病變（CIDP）、癲癇、格林-

巴厘綜合症（GBS）、包涵體肌炎、胞溶體貯積症、如尼曼-皮克病（Niemann-Pick C）和黏多糖病II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病、重症肌無力、神經白塞病、視神經脊髓炎（NMO）、視神經炎、多肌炎、皮肌炎、拉斯穆森腦炎（Rasmussen's encephalitis）、雷特氏症候群、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷、脊椎損傷、病毒性腦炎或細菌性腦膜炎。本文所述之TREM2結合抗體及其抗原結合片段也適用於治療、預防或診斷由TREM2的廣泛蛋白水解切割或表現TREM2受體的異常或突變變體的細胞介導的或與其相關的自身免疫性障礙、炎性障礙或惡性障礙。在一些較佳的實施方式中，本文所述之hTREM2抗體或其抗原結合片段可用於治療、預防或診斷選自阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症或那須-哈柯拉病的疾病。本文還提供了使用本文揭露的TREM2結合抗體和其抗原結合片段診斷和/或治療TREM2相關疾病之方法。

【0047】 TREM2介導細菌和垂死細胞的非炎性吞噬作用並抑制炎症應答。TREM2的純合性功能喪失導致那須-哈柯拉病（多囊性脂膜性骨發育不良伴硬化性白質腦病，「PLOSL」）、或額顳失智（FTD）樣綜合症、以骨囊腫、神經炎症、進行性神經退行和早老性失智為特徵的疾病。TREM2的雜合性功能缺失突變R47H也是晚發性阿茲海默氏症（AD）的重要危險因素，其具有與載脂蛋白E ε4等位基因類似的效應大小。TREM2在白質、海馬和新皮質中發現的小膠質細胞中表現，這與AD腦中報導的病理特徵部分地一致，支持TREM2可能參與AD發病機制。除了AD（Kleinberger，Sci Transl Med）之外，遺傳篩查現還已將TREM2中的雜合錯義突變鑒定為帕金森氏症（PD）、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症（ALS）和額顳失智（FTD）的危險因素（Kleinberger, Sci Transl Med.[科學

轉化醫學] 2014年7月 2日;6(243):243ra86）。因此，需要功能性TREM2來預防與衰老相關的神經炎症和導致嚴重認知障礙和失智的神經退行性疾病。

【0048】 由於可變剪接，人體中存在三種TREM2同種型，同種型1係最長的同種型。圖1A中顯示了人TREM2同種型1（SEQ ID NO: 1）、人TREM2同種型2（SEQ ID NO: 2）和人TREM2同種型3（SEQ ID NO: 3）的胺基酸序列的比對。圖1B說明了TREM2的結構及其與傳訊蛋白DAP12的相互作用。

定義

【0049】 如在說明書和申請專利範圍中所用的，單數形式「一個」、「一種」和「該」包括複數提及物，除非上下文清楚地另外指明。例如，術語「細胞」包括多個細胞，包括其混合物。

【0050】 所有數字標記，例如pH、溫度、時間、濃度和分子量（包括範圍），都是近似值，其以0.1的增量變化（+）或（-）。應該理解，儘管並不總是明確地說明，但是所有數字標號前面都有術語「約」。與數值X相關的術語「約」表示例如X±15%，包括該範圍內的所有值。還應理解，儘管並非總是明確說明，但本文描述的試劑僅是實例，並且其等效物係本領域已知的。

【0051】 在整個說明書和隨後的申請專利範圍中，除非上下文另有要求，除非另有說明，否則單詞「包含（comprise）」和變體例如「包含（comprises）」和「包含（comprising）」在本文中以其開放式和非限制性的意義使用。

【0052】 當在本文中使用時，「由……組成」不包括在方面、實施方式和/或申請專利範圍部分中未指定的任何元素、步驟或成分。當在本文中使用時，

「基本上由……組成」不排除不會實質上影響該方面、實施方式和/或申請專利範圍的基本和新穎特徵的材料或步驟。

【0053】 如本文所用，「TREM2」（也稱為「在骨髓細胞上表現的觸發受體2」、TREM2、TREM2a、TREM2b或TREM2c）係指屬於免疫球蛋白超家族（IgSF）的跨膜糖蛋白。整個TREM2蛋白（SEQ ID NO: 1）由以下組成：前導訊息肽（胺基酸1-18）、單個V型IgSF胞外區（胺基酸19-132）、莖區（胺基酸133-172）、帶正電荷的跨膜結構域（胺基酸173-197）和胞質尾（胺基酸198-230）（Feuerbach等人., Neurosci. Lett.[神經科學通訊] 660 (2017): 109-114）。人*TREM2*基因映射於染色體位置6p21.1，並且*TREM2*基因的基因組序列可在GenBank中找到（基因ID: 54209）。由於可變剪接，人體中存在三種TREM2同種型（在ENSEMBL中以ID ENSP00000362205、ENSP00000342651和ENSP00000362214可獲得的蛋白質序列）。術語「TREM2」用於共同指代TREM2的所有同種型。最長的人TREM2同種型的蛋白質和mRNA序列係：

在髓樣細胞上表現的觸發受體2先質同種型1先質[智人]（NP_061838.1）

MEPLRLLILLFVTELSGAHNTTVFQGVAGQSLQVSCPYDSMKHWGRRKAWCRQLGEKGPCQRVVSTHN
LWLLSFLRRWNGSTAITDDTLGGTLTITLRNLQPHDAGLYQCQSLHGSEADTLRKVLVEVLADPLDHR
DAGDLWFPGESESFEDAHVEHSISRSLLEGEIPFPPTSILLLLACIFLIKILAASALWAAAWHGQKPG
THPPSELDCGHDPGYQLQTLPGLRDT

（SEQ ID NO: 1）

在骨髓細胞上表現的智人觸發受體2（TREM2），轉錄變體1，mRNA（NCBI參考序列：NM_018965.3）

gggcagcgcc tgacatgcct gatcctctct tttctgcagt tcaagggaaa gacgagatct tgcacaaggc
actctgcttc tgcccttggc tggggaaggg tggcatggag cctctccggc tgctcatctt actctttgtc
acagagctgt ccggagccca caacaccaca gtgttccagg gcgtggcggg ccagtccctg caggtgtctt
gcccctatga ctccatgaag cactggggga ggcgcaaggc ctggtgccgc cagctgggag agaagggccc
atgccagcgt gtggtcagca cgcacaactt gtggctgctg tccttcctga ggaggtggaa tgggagcaca
gccatcacag acgataccct gggtggcact ctcaccatta cgctgcggaa tctacaaccc catgatgcgg

gtctctacca gtgccagagc ctccatggca gtgaggctga caccctcagg aaggtcctgg tggaggtgct
ggcagacccc ctggatcacc gggatgctgg agatctctgg ttccccgggg agtctgagag cttcgaggat
gcccatgtgg agcacagcat ctccaggagc ctcttggaag gagaaatccc cttcccaccc acttccatcc
ttctcctcct ggcctgcatc tttctcatca agattctagc agccagcgcc ctctgggctg cagcctggca
tggacagaag ccagggacac atccacccag tgaactggac tgtggccatg acccagggta tcagctccaa
actctgccag ggctgagaga cacgtgaagg aagatgatgg gaggaaaagc ccaggagaag tcccaccagg
gaccagccca gcctgcatac ttgccacttg gccaccagga ctccttgttc tgctctggca agagactact
ctgcctgaac actgcttctc ctggaccctg gaagcaggga ctggttgagg gagtggggag gtggtaagaa
cacctgacaa cttctgaata ttggacattt taaacactta caaataaatc caagactgtc atatttagct
ggataaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa

(SEQ ID NO: 133)

【0054】 人TREM2同種型2（SEQ ID NO: 2）和同種型3（SEQ ID NO: 3）的胺基酸序列示於圖1A中。如本文所用，人TREM2蛋白還涵蓋在其全長上與SEQ ID NO: 1、2或3中的任一個具有至少約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100%序列同一性的蛋白質，其中此類蛋白質仍然具有配位基結合、細胞內傳訊、促進吞噬作用和吞噬物質的降解、以及TREM2的其他調節功能。鼠、食蟹猴（cyno）和其他動物TREM2蛋白的序列係本領域已知的（例如，對於鼠TREM2蛋白，NP_112544.1和NP_001259007.1）。

【0055】 術語「細胞外結構域」係指跨膜蛋白的一部分，其暴露在細胞的脂質雙層的細胞外側。確定蛋白質的胞外域的方法係本領域已知的（Singer (1990); High等人. (1993), 和McVector軟體, 牛津分子公司（Oxford Molecular））。例如，人TREM2蛋白的細胞外結構域可包括SEQ ID NO: 1的胺基酸殘基19至172。

【0056】 TREM2的術語「胞外域」係指TREM2胞外結構域的一部分，其在脫落酶切割後釋放。據報導，切割位點位於胺基酸H157和S158之間（Feuerbach

等人., Neurosci. Lett.[神經科學通訊] 660 (2017): 109-114）。因此，hTREM2的胞外域將由SEQ ID NO: 1、2或3中任一個的胺基酸19-157組成。

【0057】 術語「IgSF結構域」係指TREM2的細胞外結構域的一部分，其含有免疫球蛋白（Ig）型折疊並且因此屬於免疫球蛋白超家族。例如，在人中，IgSF結構域由SEQ ID NO: 1、2和3中任一個的胺基酸殘基19至132組成。

【0058】 術語TREM2的「莖區」係指TREM2的細胞外結構域的一部分，其連接V型免疫球蛋白（IgSF）結構域和跨膜結構域。例如，人TREM2同種型1蛋白的莖區可包括SEQ ID NO: 1的胺基酸133-172。

【0059】 術語「跨膜結構域」係跨膜蛋白的指跨越細胞的脂質雙層的部分。用於確定蛋白質的跨膜結構域的方法係本領域已知的（Elofsson等人., Annu. Rev. Biochem.[生物化學年鑒] 76 (2007):125-140; Bernsel等人., Protein Science[蛋白質科學] 14 (2005):1723-1728）。

【0060】 術語「細胞質結構域」和「細胞質尾」可互換使用並且指跨膜蛋白的一部分，其位於細胞的脂質雙層的細胞質側。用於確定蛋白質的細胞質尾的方法係本領域已知的（Elofsson等人（2007）和Bernsel等人（2005））。

【0061】 如本文所用，術語「穩定」係指將表現TREM2的細胞中的TREM2細胞表面水平維持、恢復或增加例如至在沒有炎症或神經退行性疾病的健康受試者中相應的表現TREM2的細胞中的TREM2水平。這可以藉由例如減少或抑制TREM2胞外域的脫落，或藉由增加TREM2的細胞表面表現來實現。TREM2細胞表面水平可以藉由流動式細胞測量術/FACS或藉由TREM2細胞表面免疫沈澱或藉由可溶性TREM2隨時間的減少來評估。TREM2細胞表面表現也可藉由酶聯免疫吸附測定（ELISA）、放射免疫測定法（RIA）、生物測定（例如，吞噬作用

增加）、西方印漬術測定、流動式細胞測量術、免疫組織化學、免疫螢光測定、均相時間分辨螢光（HTRF）、正電子發射斷層攝影術（PET）來檢測。

【0062】本文的術語「活化」係指在細胞表面表現的TREM2的下游傳訊的起始或保持，例如在健康受試者中的或具有炎性或神經退行性疾病的個體（其中適當的TREM2依賴性活性受損）中的表現TREM2的細胞中。這可以實現，但不限於TREM2相關DAP12或DAP10的磷酸化，其藉由不同的細胞內訊號級聯導致Syk磷酸化增強，吞噬作用，靶向細胞運動性增強（趨化性），細胞存活增加，調節表現TREM2的細胞的細胞介素或趨化因子釋放，增加細胞內吞噬物質的降解或基因表現的改變。可藉由西方印漬術、ELISA或流動式細胞測量術/FACS評估增加的TREM2依賴性DAP12或Syk磷酸化。可以藉由生物測定來評估細胞的定向運動性，例如趨化性。可以藉由酶聯免疫吸附測定（ELISA），放射免疫測定法（RIA）或流動式細胞測量術/FACS評估細胞介素釋放的調節。基因表現的變化可以藉由mRNA水平的定量RT-PCR或藉由蛋白質水平上的西方印漬術或流動式細胞測量術來評估。

【0063】本文的術語「促進」係指受疾病損害的TREM2依賴性活性的增強或恢復。該等活動可包括吞噬作用，增加的靶向細胞運動性（趨化性），增加的細胞存活，調節表現TREM2的細胞的細胞介素或趨化因子釋放，增加細胞內吞噬物質的降解，調節鄰近細胞（星形膠質細胞/神經元）的細胞反應或基因表現的改變。

【0064】如本文所用，術語「抗體」係指衍生自特異性結合抗原的免疫球蛋白分子的蛋白質、或多肽序列。抗體可以是多株或單株、多鏈或單鏈、或完整免疫球蛋白，並且可以衍生自天然來源或來自重組來源。天然存在的「抗體」

係包含藉由二硫鍵相互連接的至少兩條重（H）鏈和兩條輕（L）鏈的糖蛋白。每條重鏈由重鏈可變區（本文中縮寫為VH）和重鏈恒定區組成。重鏈恒定區由三個結構域（CH1、CH2和CH3）組成。每條輕鏈由輕鏈可變區（本文中縮寫為VL）和輕鏈恒定區組成。輕鏈恒定區包含一個結構域，CL。VH和VL區可進一步細分為高變區，稱為互補性決定區（CDR），其間穿插有稱為框架區（FR）的較保守區。每個VH和VL由從胺基末端到羧基末端按以下順序排列的三個CDR和四個FR構成：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鏈和輕鏈的可變區含有與抗原相互作用的結合結構域。抗體的恒定區可以介導免疫球蛋白與宿主組織或因子（包括免疫系統的各種細胞（例如，效應細胞）和經典補體系統的第一成分（C1q））的結合。抗體可以是單株抗體、人抗體、人源化抗體、駱駝源化（camelised）抗體或嵌合抗體。該等抗體可以具有任何同種型（例如，IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY）、類別（例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2）或亞類。在整個文件中，除非上下文另有說明，術語「抗體」或「抗體分子」還包括其任何片段及其任何衍生物。

【0065】術語「抗體片段」或「抗原結合片段」係指抗體的至少一部分，該至少一部分保留與抗原表位特異性地相互作用（例如，藉由結合、空間位阻、穩定/去穩定、空間分佈）的能力。抗體片段的實例包括但不限於Fab、Fab'、F(ab')2、Fv片段、scFv抗體片段、二硫鍵連接的Fv（sdFv）、由VH和CH1結構域組成的Fd片段、線性抗體、單結構域抗體如sdAb（VL或VH）、駱駝科VHH結構域、由抗體片段（如包含在鉸鏈區藉由二硫鍵連接的兩個Fab片段的二價片段）形成的多特異性抗體、和分離的CDR、或抗體的其他表位結合片段。抗原結合片段還可以摻入到單結構域抗體、大型抗體（maxibodies）、微型抗體

（minibodies）、奈米抗體、細胞內抗體、雙體抗體、三體抗體、四體抗體、v-NAR和bis-scFv中（參見例如，Hollinger和Hudson, Nature Biotechnology [自然生物技術] 23:1126-1136, 2005）。還可以將抗原結合片段移植到基於多肽如纖網蛋白III型（Fn3）的支架中（參見美國專利案號6,703,199，其描述了纖網蛋白多肽微型抗體）。術語「scFv」係指融合蛋白，其包含至少一個包含輕鏈可變區的抗體片段和至少一個包含重鏈可變區的抗體片段，其中該輕鏈可變區和重鏈可變區例如藉由合成連接子（linker）（例如短柔性多肽連接子）係連續連接的並且能夠表現為單鏈多肽，並且其中scFv保留了它所來源的完整抗體的特異性。除非另有說明，否則如本文所用，scFv可以例如相對於多肽的N末端和C末端以任何順序具有VL和VH可變區，該scFv可以包含VL-連接子-VH或者可以包含VH-連接子-VL。

【0066】 如本文所用，所述術語「互補性決定區」或「CDR」係指賦予抗原特異性和結合親和力的抗體可變區內的胺基酸的序列。例如，一般來說，每個重鏈可變區中存在三個CDR（例如HCDR1、HCDR2、和HCDR3），並且每個輕鏈可變區中存在三個CDR（LCDR1、LCDR2、和LCDR3）。給定CDR的精確胺基酸序列邊界可以使用許多眾所周知的方案中的任一種來確定，該等方案包括由以下文獻描述的那些：卡巴特等人 (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest"[具有免疫學重要性的蛋白序列]，第5版，美國國立衛生研究院，公共衛生事業部，馬里蘭州貝塞斯達市（「卡巴特（Kabat）」編號方案）；Al-Lazikani等人, (1997) JMB 273,927-948（「喬西亞（Chothia）」編號方案）、或其組合，以及ImMunoGenTics（IMGT）編號（Lefranc, M.-P., The Immunologist[免疫學家], 7, 132-136 (1999); Lefranc, M.-P. 等人., Dev. Comp.

Immunol.[發育與比較免疫學], 27, 55-77 (2003); Lefranc 等人., (2015) Nucleic Acids Res.[核酸研究] 43, D413-422）（「IMGT」編號方案）。在針對給定CDR區（例如，HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2或LCDR3）的組合卡巴特和喬西亞編號方案中，在一些實施方式中，該等CDR對應於被定義為卡巴特CDR的一部分的胺基酸殘基，以及被定義為喬西亞CDR的一部分的胺基酸殘基。如本文所用的，根據「喬西亞」編號方案定義的CDR有時也稱為「高變環」。在IMGT下，可以使用程式IMGT/DomainGap Align確定抗體的CDR區。通常，除非特別指出，否則該等抗體分子可包括一種或多種卡巴特CDR和/或喬西亞CDR的任何組合。

【0067】 術語「表位」包括能夠特異性結合免疫球蛋白或以其他方式與分子相互作用的任何蛋白質決定簇。表位決定簇通常由分子的化學活性表面基團組成，如胺基酸或碳水化合物或糖側鏈，並且可以具有特定的三維結構特徵以及特定的電荷特徵。表位可以是「線性的」或「構象的」。構象表位和線性表位差別例如在於：在變性溶劑的存在下，對構象表位（而不是非構象表位）的結合喪失。

【0068】 「與...結合相同的表位」抗體、抗體片段或其他抗原結合部分與特定抗原結合並且與示例性抗體結合相同的表位（當使用該相同的表位作圖技術比較抗體時）。可以使用表位作圖技術確定示例性抗體和其他抗體的表位。表位作圖技術在本領域中係公知的。例如，藉由測定胺基酸的空間構象如藉由氫/氘交換、X射線晶體學和二維核磁共振，可以容易地鑒定構象表位。

【0069】 在另一個實施方式中，本揭露涉及與表1中描述的抗體交叉競爭的抗體或抗體片段。

【0070】 在一個實施方式中，本揭露涉及抗體或抗體片段，其中該抗體或抗體片段與包含表1中的一種或多種抗體的由卡巴特、喬西亞、IMGT或組合的卡巴特/喬西亞方法定義的6個CDR的抗體或抗體片段交叉競爭。

【0071】 在另一個實施方式中，本揭露涉及與表1中的抗體之一結合（例如，藉由結合和/或穩定）相同表位的抗體或抗體片段。

【0072】 在另一個實施方式中，所述抗體或其抗原結合片段結合（例如，藉由結合和/或穩定）與包含由表1中任一抗體的卡巴特、喬西亞、IMGT或卡巴特/喬西亞組合方法中的任何一種定義的6個CDR的抗體或抗體片段的表位重疊的表位。

【0073】 如本文所用的術語「單價抗體」係指結合靶分子上的單個表位的抗體。

【0074】 如本文所用的術語「二價抗體」係指結合至少兩個相同靶分子上的兩個表位的抗體。二價抗體還可以使靶分子彼此交聯。「二價抗體」還指結合至少兩個相同靶分子上的兩個不同表位的抗體。

【0075】 術語「多價抗體」係指具有多於一個化合價的單個結合分子，其中「化合價」被描述為每分子抗體構建體中存在的抗原結合部分的數目。因此，單個結合分子可以結合靶分子上多於一個結合位點。多價抗體的實例包括但不限於二價抗體、三價抗體、四價抗體、五價抗體等、以及雙特異性抗體和雙旁原位抗體。例如，對於TREM2，多價抗體（例如，TREM2雙互補位抗體）分別具有針對TREM2的兩個結構域的結合部分。

【0076】 術語「多價抗體」還指對於兩個分開的靶分子具有多於一個抗原結合部分的單個結合分子。例如，結合TREM2的抗體和不是TREM2的第二靶分

子。在一個實施裡中，多價抗體係具有四個表位結合結構域的四價抗體。對於該靶分子上的每個結合位點，四價分子可以是雙特異性和二價的。

【0077】 如本文所用的術語「雙特異性抗體」係指結合兩種或更多種不同表位的抗體。在一些實施方式中，雙特異性抗體與兩種不同的靶標結合。在一些實施方式中，雙特異性抗體結合單個靶分子上的兩個不同表位。結合單個靶分子上的兩個不同表位的抗體也稱為「雙互補位抗體」。

【0078】 如本文所用的短語「單株抗體」或「單株抗體組成物」係指具有基本上相同的胺基酸序列或源自相同的遺傳來源的多肽（包括抗體、雙特異性抗體等）。此術語還包括具有單分子組成的抗體分子的製劑。單株抗體組成物表現出對特定表位的單一結合特異性和親和力。

【0079】 如本文所用，短語「人抗體」包括具有可變區的抗體，其中框架區和CDR區兩者均源自人來源的序列。恒定區還源自人序列，例如人種系序列或突變形式的人種系序列，或含有衍生自人框架序列分析的共有框架序列的抗體，例如，如描述於Knappik等人（2000.J Mol Biol[分子生物學雜誌] 296, 57-86）。免疫球蛋白可變結構域（例如CDR）的結構和位置可使用眾所周知的編號方案來定義，例如，卡巴特編號方案，喬西亞編號方案，或卡巴特和喬西亞的組合，和 ImMunoGenTics （ IMGT ） 編號 （ 參見 ， 例如 Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫學相關蛋白質序列], 美國衛生與公眾服務部（U.S. Department of Health and Human Services） (1991), 編輯Kabat等人；Al Lazikani等人, (1997) J. Mol. Bio.[分子生物學雜誌]273:927 948 ； Kabat等人, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫學相關蛋白序列], 第5版, NIH公開案號91-3242 美國衛生與公眾服務部（U.S. Department of Health and Human

Services）；Chothia等人., (1987) J. Mol. Biol.[分子生物學雜誌] 196:901-917；Chothia等人., (1989) Nature[自然] 342:877-883；和Al-Lazikani等人., (1997) J. Mal. Biol.[分子生物學雜誌] 273:927-948；Lefranc, M.-P., The Immunologist[免疫學家], 7, 132-136 (1999)；Lefranc, M.-P.等人., Dev. Comp. Immunol.[發育與比較免疫學], 27, 55-77 (2003)；Lefranc 等人., (2015) Nucleic Acids Res.[核酸研究] 43, D413-422。

【0080】本發明的人抗體可以包括不是由人序列編碼的胺基酸殘基（例如，藉由在體外隨機誘變或位點特異性誘變、或藉由在體內體細胞突變、或保守取代來引入突變以促進穩定性或生產）。然而，如本文所用的術語「人類抗體」不旨在包括其中源自另一種哺乳動物物種（如小鼠）種系的CDR序列已被移植到人類框架序列中的抗體。

【0081】如本文使用的，短語「重組人抗體」包括藉由重組方式製備、表現、產生或分離的所有人抗體，比如從動物（例如，小鼠）（該動物對於人免疫球蛋白係轉基因的或轉染色體的）或由其製備的雜交瘤中分離的抗體；從轉化以表現人抗體的宿主細胞中分離的抗體（例如，來自轉染瘤中）；從重組，組合的人抗體文庫中分離的抗體；以及藉由任何其他方式（涉及將全部或部分的人免疫球蛋白基因、序列剪接到其他DNA序列）製備、表現、產生或分離的抗體。此類重組人抗體具有可變區，其中構架區和CDR區衍生自人種系免疫球蛋白序列。然而，在某些實施方式中，可以對此類重組人抗體進行體外誘變（或，當使用轉基因人Ig序列的動物時，進行體內體細胞誘變），並因此重組抗體的VH和VL區的胺基酸序列係衍生自人種系VH和VL序列的和與其相關的序列，該等序列在體內可能不天然存在於人抗體種系庫中。

【0082】如本文所用的術語「Fc區」係指包含抗體的恒定結構域的CH3、CH2和鉸鏈區的至少一部分的多肽。視需要，Fc區可以包含在一些抗體種類中存在的CH4結構域。Fc區可以包含抗體恒定區的整個鉸鏈區。在一個實施方式中，本發明包括抗體的Fc區和CH1區。在一個實施方式中，本發明包括抗體的Fc區和CH3區。在另一個實施方式中，本發明包括Fc區、CH1區和來自抗體恒定結構域的Cκ/λ區。在一個實施方式中，本發明的結合分子包含恒定區，例如重鏈恒定區。在一個實施方式中，與野生型恒定區相比，這類恒定區係經修飾的。即，本文公開的本發明的多肽可以包含對三個重鏈恒定結構域（CH1、CH2或CH3）中的一個或多個和/或對輕鏈恒定區結構域（CL）的改變或修飾。實例修飾包括在一個或多個結構域中添加、缺失或取代一個或多個胺基酸。可以包括此類改變，以優化效應子功能、半衰期等。

【0083】如本文所用，術語「親和力」係指在單個抗原位點處抗體和抗原之間的相互作用強度。在每個抗原位點內，抗體的可變區藉由弱非共價力在許多位點處與抗原相互作用；相互作用越多，親和力越強。如本文所使用的，針對IgG抗體或其片段（例如Fab片段）的術語「高親和力」係指對靶抗原具有10^{-8} M或更小、10^{-9} M或更小、或10^{-10} M、或10^{-11} M或更小、或10^{-12} M或更小、或10^{-13} M或更小的親和力的抗體。然而，對於其他抗體同種型，「高親和力」結合可以變化。例如，對於IgM同種型的「高親和力」結合係指抗體具有10^{-7} M或更低或10^{-8} M或更低的親和力。

【0084】如本文所用，術語「Kassoc」、「Ka」或「K_{on}」旨在表示特定抗體-抗原相互作用的締合速率，而如本文所用的術語「Kdis」、「Kd」或「K_{off}」旨在指特定抗體-抗原相互作用的解離速率。在一個實施方式中，如本文所用，

術語「KD」（或「K_D」）旨在指解離常數，其由Kd與Ka的比（即Kd/Ka）獲得並表示為莫耳濃度（M）。可以使用本領域中已確立的方法確定抗體的KD值。用於測定抗體的KD的方法係藉由使用表面電漿共振，或者使用生物感測器系統，如Biacore®系統。

【0085】 如本文所用，術語「親合力」係指抗體-抗原複合物的總體穩定性或強度的信息量度。它受三個主要因素控制：抗體表位親和力；抗原和抗體二者的化合價；以及相互作用部分的結構佈置。最終，該等因素決定了抗體的特異性，即特定抗體與精確抗原表位結合的可能性。

【0086】 如本文所用，術語「結合特異性」或「特異性結合」係指單個抗體結合位點與一種抗原決定簇而不與不同的抗原決定簇反應的能力。抗體的結合位點位於分子的Fab部分中，並且由重鏈和輕鏈的高變區構建。抗體的結合親和力係單個抗原決定簇與抗體上的單個結合位點之間的反應強度。它係在抗原決定簇與抗體的結合位點之間運行的吸引力和排斥力的總和。

【0087】 術語「治療（treat）」和「治療（treatment）」係指治療性治療，其中目的是減緩不希望的生理變化或障礙。出於本發明的目的，有益或期望的臨床結果包括但不限於減輕症狀、降低疾病程度、疾病狀態穩定（即，不惡化）、延遲或減緩疾病進展、改善或緩和疾病狀態以及緩解（無論是部分還是全部），無論是可檢測的還是不可檢測的。「治療」還可以意指與不接受治療的預期存活相比延長存活。

【0088】 有關任何特定疾病或障礙的術語「預防（prevention）」、「預防（prevent）」和「進行預防（preventing）」係指預防的（prophylactic）或預防

性（preventive）措施，例如在該疾病或障礙的任何症狀出現之前向受試者投與本發明化合物。

【0089】術語「受試者」係指向其提供根據本發明之方法的治療的動物、人、或非人。考慮了獸醫應用和非獸醫應用。該術語包括但不限於哺乳動物，例如人、其他靈長類動物、豬、齧齒動物如小鼠和大鼠、兔、豚鼠、倉鼠、牛、馬、貓、狗、綿羊和山羊。典型的受試者包括人、農場動物和家養寵物，如貓和狗。在一些較佳的實施方式中，受試者係人。

【0090】「有效量」係指足以產生有益或所希望的結果的量。例如，治療量為達到所需療效的量。該量可與預防上有效量相同或不同，該預防上有效量為預防疾病或疾病症狀的發作所需的量。可以在一次或多次給與或應用或給藥時施用有效量。治療化合物的「治療有效量」（即，有效劑量）取決於所選擇的治療化合物。組成物能以每天一次或多次至每週一次或多次投與；包括每隔一天一次。技術人員將理解，某些因素可以影響有效治療受試者所需的劑量和時程，包括但不限於疾病或障礙的嚴重性、先前的治療、受試者的一般健康狀況和/或年齡，以及存在的其他疾病。此外，用治療有效量的在此描述的治療化合物對受試者進行的治療可以包括單一治療或一系列治療。

【0091】術語「核酸」或「多核苷酸」係指單股或雙股形式的去氧核糖核酸（DNA）或核糖核酸（RNA）及其聚合物。除非特別限定，否則該術語涵蓋含有已知的天然核苷酸類似物的核酸，該等核酸具有與參考核酸類似的結合特性並且以與天然存在的核苷酸類似的方式進行代謝。除非另外指出，否則特定的核酸序列還隱含地涵蓋其保守修飾的變體（例如，簡並密碼子取代）、等位基因、直向同源物、SNP和互補序列以及明確指明的序列。具體地，簡並密碼子

取代可以藉由產生如下序列而獲得，在該等序列中，一個或多個所選的（或全部）密碼子的第三位被混合鹼基和/或去氧肌苷殘基取代（Batzer等人, Nucleic Acid Res.[核酸研究] 19:5081 (1991)；Ohtsuka等人, J. Biol. Chem. [生物化學雜誌] 260:2605-2608 (1985)；和Rossolini等人, Mol. Cell.Probes [分子與細胞探針] 8:91-98 (1994)）。

【0092】術語「肽」、「多肽」和「蛋白質」可互換地使用，並且是指包含由肽鍵共價連接的胺基酸殘基的化合物。蛋白質或肽必須含有至少兩個胺基酸，並且對可構成蛋白質或肽序列的胺基酸的最大數量沒有限制。多肽包括包含由肽鍵彼此相連的兩個或更多個胺基酸的任何肽或蛋白質。如本文所用，該術語係指短鏈，例如其在本領域中通常也稱為肽、寡肽和寡聚體；並且還是指較長的鏈，其在本領域中通常稱為蛋白質，存在有很多類型的蛋白質。「多肽」包括例如生物活性片段、基本上同源的多肽、寡肽、同源二聚體、異源二聚體、多肽的變體、經修飾的多肽、衍生物、類似物、融合蛋白等。多肽包括天然肽、重組肽、或其組合。

【0093】術語「保守序列修飾」係指不顯著影響或改變含有胺基酸序列的抗體或抗體片段的結合特徵的胺基酸修飾。此類保守修飾包括胺基酸取代、添加和缺失。可以藉由本領域已知的標準技術（如定點誘變和PCR介導的誘變）將修飾引入本發明的抗體或抗體片段中。保守胺基酸取代係其中胺基酸殘基被具有類似側鏈的胺基酸殘基置換的取代。具有相似側鏈的胺基酸殘基的家族已在本領域中進行了定義。該等家族包括具有鹼性側鏈（例如離胺酸、精胺酸、組胺酸）、酸性側鏈（例如天冬胺酸、麩胺酸）、不帶電荷的極性側鏈（例如甘胺酸、天冬醯胺、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸、色胺酸）、

非極性側鏈（例如丙胺酸、纈胺酸、亮胺酸、異亮胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸）、β分支側鏈（例如蘇胺酸、纈胺酸、異亮胺酸）以及芳香族側鏈（例如酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、組胺酸）的胺基酸。因此，本發明的抗體或其抗原結合片段內的一個或多個胺基酸殘基可以被來自相同側鏈家族的其他胺基酸殘基置換，並且可以使用本文描述的功能測定法測試改變的抗體或抗原結合片段。

【0094】術語「同源的」或「相同的」係指兩個聚合分子之間，例如兩個核酸分子（如兩個DNA分子或兩個RNA分子）之間或兩個多肽分子之間的亞基序列同一性。當這兩個分子中的亞基位置被相同的單體亞基佔據時；例如，如果兩個DNA分子中的每一個中的位置被腺嘌呤佔據，則它們在該位置係同源的或相同的。兩個序列之間的同源性係匹配位置或同源位置的數量的直接函數；例如，如果兩個序列中一半的位置（例如，長度為十個亞基的聚合物中的五個位置）係同源的，則這兩個序列係50%同源的；如果90%的位置（例如，10個中的9個）係匹配的或同源的，則這兩個序列係90%同源的。可以藉由在比較窗口上比較兩個最佳比對的序列來確定「序列同一性」的百分比，其中比較窗口中的胺基酸序列的片段可以包含與參考序列（其不包含添加或缺失）相比的添加或缺失（例如，空缺或突出端）以使兩個序列最佳比對。可以藉由以下方法計算該百分比：測定在這兩個序列中出現相同胺基酸殘基的位置的數目以產生匹配位置數，將該匹配位置數除以該比較窗口中的位置總數，並將結果乘以100，從而得到序列同一性百分比。輸出係主題序列關於查詢序列的百分比同一性。

【0095】術語「分離的」意指從天然狀態改變的或去除的。例如，天然存在於活體動物中的核酸或肽不是「分離的」，但是與其天然狀態的共存材料部

分或完全分開的相同核酸或肽係「分離的」。分離的核酸或蛋白質能以基本上純化的形式存在，或者可以存在於非天然環境（例如像，宿主細胞）中。「分離的抗體」基本上不含具有不同抗原特異性的其他抗體（例如，特異性結合TREM2的分離的抗體基本上不含特異性結合除TREM2以外的抗原的抗體）。然而，特異性結合靶分子的分離的抗體可以與來自其他物種的相同抗原具有交叉反應性，例如，特異性結合TREM2的分離的抗體可以結合來自其他物種的TREM2分子。分離的抗體可以是單株抗體。分離的抗體可以是重組單株抗體。此外，分離的抗體可以基本上不含其他細胞材料和/或化學品。

【0096】除非另外定義，否則本文使用的所有技術和科學術語具有與本發明所屬領域的普通技術人員通常理解的相同含義。儘管可以使用與本文所述那些方法和材料類似或等同的方法和材料來實踐本發明，但是下面描述了合適的方法和材料。本文所提到的所有出版物、專利申請、專利和其他參考文獻均藉由援引以其全文併入。在衝突存在的情況下，則以包括定義在內的本說明書為准。此外，材料、方法和實例僅是說明性的而不旨在限制。

【0097】本發明的一個或多個實施方式的細節陳述於附圖和下文的描述中。根據說明書和附圖並且如申請專利範圍，本發明的其他特徵、目標和優點將是清楚的。

使功能性TREM2穩定的抗體

【0098】本文提供了使細胞表面上的 TREM2 穩定的抗體及其抗原結合片段。該等抗體或其抗原結合片段可以藉由干擾 TREM2 的蛋白水解切割和/或減少 TREM2 蛋白的胞外域的脫落來實現 TREM2 的穩定化。在一些較佳的實施方

式中，那些抗體或其抗原結合片段特異性結合人 TREM2 的 IgSF 結構域，例如 SEQ ID NO: 1、2 或 3 中任一個的胺基酸殘基 19 至 132。

【0099】 由於細胞表面 TREM2 的減少或缺失與人神經炎症和神經退行性病理相關，本文所述之穩定 TREM2 的抗體或其抗原結合片段可用於治療、預防或診斷神經炎症和神經退行性疾病，例如阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、那須-哈柯拉病、多發性硬化、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症（ALS）、抗 NMDA 受體腦炎、自閉症、腦狼瘡（NP-SLE）、化療引起的周圍神經病變（CIPN）、帶狀皰疹後神經痛、慢性發炎去髓鞘型多發性神經病變（CIDP）、癲癇、格林 - 巴厘綜合症（GBS）、包涵體肌炎、胞溶體貯積症、如尼曼-皮克病（Niemann-Pick C）和黏多糖病 II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病、重症肌無力、神經白塞病、視神經脊髓炎（NMO）、視神經炎、多肌炎、皮肌炎、拉斯穆森腦炎（Rasmussen’s encephalitis）、雷特氏症候群、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷、脊椎損傷、病毒性腦炎或細菌性腦膜炎。在一些較佳的實施方式中，本文所述之 hTREM2 抗體或其抗原結合片段可用於治療、預防或診斷選自阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症或那須-哈柯拉病的疾病。

【0100】 由於它們的藥理學特徵，本文所述之 hTREM2 抗體或其抗原結合片段可用於治療多種疾病或病症，如 CNS 相關疾病、PNS 相關疾病、全身性炎症和與炎症、疼痛和濫用化學物質引起的戒斷症狀相關的其他疾病。與 CNS 相關的疾病或障礙包括廣泛性焦慮障礙、認知障礙、學習和記憶缺陷和功能障礙、阿茲海默氏症（輕度、中度和重度）、注意力缺陷過動症、帕金森氏症、帕金森氏症失智、亨廷頓病、ALS、慢性神經退行性障礙、如 Creutzfeld-Jacob 病和

kuru 病、抽動一穢語綜合症、精神病、抑鬱症和抑鬱障礙、躁狂症、躁狂抑鬱症、精神分裂症、精神分裂症的認知缺陷、強迫症、恐慌症、飲食障礙、發作性睡病、傷害感受、AIDS - 失智、老年性失智、與年齡相關的輕度認知障礙（MCI）、年齡相關記憶障礙、孤獨症、閱讀障礙、遲發性運動障礙、癲癇、和驚厥性疾病、創傷後應激障礙、短暫性缺氧、假性失智、月經前期綜合症、黃體晚期綜合症、慢性疲勞綜合症和時差。

【0101】本文所述之 hTREM2 抗體或其抗原結合片段特別適用於治療、預防或診斷由 TREM2 的廣泛蛋白水解切割或表現 TREM2 受體的異常或突變變體的細胞介導的或與其相關的自身免疫性障礙、炎性障礙或惡性障礙。自身免疫疾病的實例包括但不限於關節炎（例如類風濕性關節炎，慢性關節炎和畸形性關節炎）和風濕性疾病，包括炎性病症和涉及骨損失的風濕性疾病、炎性疼痛、脊柱炎（包括強直性脊柱炎）、萊特爾綜合症、反應性關節炎、牛皮癬關節炎和腸道型關節炎（enterophathic arthritis）、超敏反應（包括氣道超敏反應和皮膚超敏反應）和過敏症。自身免疫疾病包括自身免疫性血障液礙（包括例如溶血性貧血、再生障礙性貧血、純紅血球性貧血和特發性血小板減少症）、全身性紅斑狼瘡、炎性肌紊亂、多軟骨炎、鞏膜瘤、韋格納肉芽腫病、皮肌炎、慢性活動性肝炎、重症肌無力、牛皮癬、史蒂芬強森綜合症、特發性口炎性腹瀉、內分泌性眼病、格雷氏病、結節病、多發性硬化、原發性膽汁性肝硬化、青少年糖尿病（I 型糖尿病）、葡萄膜炎（前部和後部）、乾燥性角膜結膜炎和春季角膜結膜炎、間質性肺纖維化、牛皮癬關節炎和腎小球腎炎（有和沒有腎病綜合症，例如包括痛風、蘭格漢氏細胞組織細胞增生症、特發性腎病綜合症或微

小病變腎病）、腫瘤、皮膚和角膜炎症、肌炎、骨植入物鬆動、代謝紊亂、如動脈粥樣硬化、糖尿病和脂代謝紊亂。

【0102】本文所述之 hTREM2 抗體或其抗原結合片段還可用於治療、預防或改善氣喘，支氣管炎，肺塵埃沈著病，肺氣腫和氣道的其他阻塞性或炎性疾病，包括特發性肺纖維化或 COPD。

【0103】本文所述之 hTREM2 抗體或其抗原結合片段可用於治療造血或肝細胞惡性障礙，例如急性髓性白血病、慢性髓性白血病、骨髓增生性障礙、骨髓增生異常綜合症、多發性骨髓瘤、陣發性睡眠性血紅蛋白尿症、範可尼貧血（fanconi anemi）、重型地中海貧血症、威-奧二氏綜合症（Wiskott-Aldrich syndrome）、吞噬血球淋巴細胞與組織細胞增多症。

【0104】本文所述之 hTREM2 抗體或其抗原結合片段可用於治療與異常 TREM2 活性和/或表現直接或間接相關的任何疾病或障礙。TREM2 相關障礙包括：免疫障礙、特別是涉及炎性障礙（如細菌感染、真菌感染、病毒感染、原生動物或其他寄生蟲感染、牛皮癬、敗血症、腦瘧疾、炎症性腸病、關節炎、（如類風濕性關節炎）、毛囊炎、膿皰瘡、肉芽腫、類脂肺炎、血管炎、和骨關節炎）、自身免疫障礙（如類風濕性關節炎、甲狀腺炎、（如橋本氏甲狀腺炎和格雷氏病）、胰島素抗性糖尿病、惡性貧血、愛迪生氏病（Addison’s disease）、天皰瘡、白癜風、潰瘍性結腸炎、全身性紅斑狼瘡（SLE））、乾燥症候群、多發性硬化、皮肌炎、混合性結締組織病、硬皮病、多發性肌炎、移植排斥反應、（如同種異體移植排斥反應）、T 細胞障礙（如愛滋病）、過敏性炎症性障礙（如皮膚和/或黏膜過敏，如過敏性鼻炎、氣喘、牛皮癬）、神經系統障礙、眼障礙、

胚胎障礙或與 TREM2 異常活性和/或表現直接或間接相關的任何其他障礙（例如腫瘤、癌症、白血病、髓性疾病和創傷）。

【0105】在一些實施方式中，TREM2 相關病症選自氣喘、腦炎、炎症性腸病、慢性阻塞性肺病（COPD）、過敏障礙、敗血性休克、肺纖維化、未分化的脊椎關節炎（undifferentitated spondyloarthropathy）、未分化的關節炎、關節炎、炎症性骨質溶解或由慢性病毒性或細菌性感染所致的慢性炎症。

【0106】在一些實施方式中，TREM2 相關障礙選自失智、額顳葉失智、阿茲海默氏症、血管性失智、混合性失智、克－亞二氏症、正常壓力腦積水、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、亨廷頓病、tau 蛋白病、那須-哈柯拉病、中風、急性創傷、慢性創傷、狼瘡、急慢性結腸炎、傷口癒合、克羅恩氏病（Crohn's disease）、炎症性腸病、潰瘍性結腸炎、肥胖、癆疾、特發性震顫、中樞神經系統狼瘡、白塞氏病（Behcet's disease）、帕金森氏症、路易氏體失智、多系統萎縮、多系統萎縮綜合症（Shy-Drager syndrome）、進行性核上性麻痺、皮質基底神經節變性、急性播散性腦脊髓炎、肉芽腫性疾病、結節病、衰老疾病、癲癇發作、脊椎損傷、外傷性腦損傷、年齡相關性黃斑變性、青光眼、色素性視網膜炎、視網膜變性、呼吸道感染、敗血症、眼感染、全身性感染、狼瘡、關節炎、多發性硬化、低骨密度、骨質疏鬆症、骨生成、骨硬化病（osteopetrotic disease）、佩吉特骨病（Paget's disease of bone）和癌症。在一些較佳的實施方式中，TREM2 相關障礙選自以下清單，該清單由以下組成：阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症或那須-哈柯拉病。

【0107】在一些較佳的實施方式中，TREM2 相關障礙選自失智、額顳葉失智、阿茲海默氏症、那須-哈柯拉病和多發性硬化。在一些較佳的實施方式中，

TREM2 相關障礙係失智，例如額顳葉失智、阿茲海默氏症、血管性失智、語義性失智或具路易氏體失智。在更較佳的實施方式中，TREM2 相關障礙係阿茲海默氏症。在另一個較佳的實施方式中，障礙係帕金森氏症。

與人TREM2特異性結合的抗體和抗原結合片段

【0108】在一個方面，本文提供了抗體或其抗原結合片段，例如單株抗體或其抗原結合片段，其特異性結合人TREM2蛋白（「hTREM2抗體或其抗原結合片段」）的IgSF結構域。那些抗體或抗原結合片段可以穩定細胞表面上的TREM2蛋白，和/或減少TREM2蛋白的胞外域的脫落。

【0109】在一些實施方式中，本文提供的hTREM2抗體或其抗原結合片段包括重鏈CDR1（HCDR1）、重鏈CDR2（HCDR2）、重鏈CDR3（HCDR3）和輕鏈CDR1（LCDR1）、輕鏈CDR2（LCDR2）和輕鏈CDR3（LCDR3）。在一些實施方式中，本文提供的hTREM2抗體或抗原結合片段包括包含CDR1、CDR2和CDR3的重鏈可變區（VH）和包含CDR1、CDR2和CDR3的輕鏈可變區（VL）。在一些實施方式中，本文提供的hTREM2抗體或抗原結合片段包括全長重鏈序列（HC）和全長輕鏈序列（LC）。

【0110】表1列出了示例性TREM2抗體或特異性結合人TREM2蛋白的抗原結合片段的序列。在本申請的全文中，如果說明書文本（例如，表1）與序列表之間存在差異，則以說明書文本為准。

[表1.]結合人TREM2的示例性單株抗體的序列。

MOR44698A		
SEQ ID NO: 4	HCDR1（組合的）	GYTFTGYHMS
SEQ ID NO: 5	HCDR2（組合的）	VINPVSGNTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3（組合的）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 7	HCDR1（卡巴特）	GYHMS
SEQ ID NO: 5	HCDR2（卡巴特）	VINPVSGNTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3（卡巴特）	IPSYTYAFDY

SEQ ID NO: 8	HCDR1（喬西亞）	GYTFTGY
SEQ ID NO: 9	HCDR2（喬西亞）	NPVSGN
SEQ ID NO: 6	HCDR3（喬西亞）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 10	HCDR1（IMGT）	GYTFTGYH
SEQ ID NO: 11	HCDR2（IMGT）	INPVSGNT
SEQ ID NO: 12	HCDR3（IMGT）	ARIPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 13	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYHMSWVRQAPGQGL EWMGVINPVSGNTVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSED TAVYYCARIPSYTYAFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 14	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCGGAAGTGAAAAAACCGGGT GCCAGCGTGAAAGTTAGCTGCAAAGCGTCCGGATATACCTTCACT GGTTACCATATGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCCGGGCCAGGGCCTC GAGTGGATGGGCGTTATCAACCCGGTTTCTGGCAACACGGTTTAC GCGCAGAAATTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGC ATTAGCACCGCGTATATGGAACTGAGCCGTCTGCGTAGCGAAGAT ACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTATCCCGTCTTACACTTACGCT TTCGATTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 15	重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYHMSWVRQAPGQGL EWMGVINPVSGNTVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSED TAVYYCARIPSYTYAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 16	DNA 重鏈	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCGGAAGTGAAAAAACCGGGT GCCAGCGTGAAAGTTAGCTGCAAAGCGTCCGGATATACCTTCACT GGTTACCATATGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCCGGGCCAGGGCCTC GAGTGGATGGGCGTTATCAACCCGGTTTCTGGCAACACGGTTTAC GCGCAGAAATTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGC ATTAGCACCGCGTATATGGAACTGAGCCGTCTGCGTAGCGAAGAT ACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTATCCCGTCTTACACTTACGCT TTCGATTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGCTCAGCC TCCACCAAGGGTCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC TACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTG ACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGA CTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTG GGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACT CACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCAGCGGGGGGACCG TCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG GTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGG CTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC CCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
SEQ ID NO: 17	LCDR1（組合的）	RASQDISNYLA
SEQ ID NO: 18	LCDR2（組合的）	RASSLQS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（組合的）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 17	LCDR1（卡巴特）	RASQDISNYLA

SEQ ID NO: 18	LCDR2（卡巴特）	RASSLQS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（卡巴特）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 20	LCDR1（喬西亞）	SQDISNY
SEQ ID NO: 21	LCDR2（喬西亞）	RAS
SEQ ID NO: 22	LCDR3（喬西亞）	YRHMPSQ
SEQ ID NO: 23	LCDR1（IMGT）	QDISNY
SEQ ID NO: 21	LCDR2（IMGT）	RAS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（IMGT）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 24	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKAPK LLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQ YRHMPSQTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 25	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTG GGCGATCGCGTGACCATTACCTGCAGAGCCAGCCAGGACATTTCT AACTACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGCGCCGAAA CTATTAATCTACCGTGCTTCTTCTCTGCAAAGCGGCGTGCCGAGC CGCTTTAGCGGCAGCGGATCCGGCACCGATTTCACCCTGACCATT AGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTATTATTGCTTCCAG TACCGTCATATGCCGTCTCAGACCTTTGGCCAGGGCACGAAAGTT GAAATTAAA
SEQ ID NO: 26	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKAPK LLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQ YRHMPSQTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 27	DNA 輕鏈	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTG GGCGATCGCGTGACCATTACCTGCAGAGCCAGCCAGGACATTTCT AACTACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGCGCCGAAA CTATTAATCTACCGTGCTTCTTCTCTGCAAAGCGGCGTGCCGAGC CGCTTTAGCGGCAGCGGATCCGGCACCGATTTCACCCTGACCATT AGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTATTATTGCTTCCAG TACCGTCATATGCCGTCTCAGACCTTTGGCCAGGGCACGAAAGTT GAAATTAAACGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCC CCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGC CTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAAAGCGTCACC GAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTG ACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGC GAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTC AACCGGGGCGAGTGT
MOR44698B		
SEQ ID NO: 4	HCDR1（組合的）	GYTFTGYHMS
SEQ ID NO: 5	HCDR2（組合的）	VINPVSGNTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3（組合的）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 7	HCDR1（卡巴特）	GYHMS
SEQ ID NO: 5	HCDR2（卡巴特）	VINPVSGNTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3（卡巴特）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 8	HCDR1（喬西亞）	GYTFTGY
SEQ ID NO: 9	HCDR2（喬西亞）	NPVSGN
SEQ ID NO: 6	HCDR3（喬西亞）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 10	HCDR1（IMGT）	GYTFTGYH
SEQ ID NO: 11	HCDR2（IMGT）	INPVSGNT
SEQ ID NO: 12	HCDR3（IMGT）	ARIPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 13	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYHMSWVRQAPGQGL EWMGVINPVSGNTVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSED TAVYYCARIPSYTYAFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 28	DNA VH	CAAGTGCAACTCGTGCAGTCAGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCTGGA GCCTCGGTCAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGATACACTTTCACT GGATACCACATGTCGTGGGTCAGACAGGCTCCTGGCCAAGGGCTG GAGTGGATGGGCGTCATCAACCCGGTGTCGGGTAATACCGTGTAC

		GCCCAGAAGTTCCAGGGTCGCGTGACCATGACCCGGGATACCTCC ATTAGCACCGCGTACATGGAGCTCAGCCGGTTGAGATCCGAGGAT ACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGATCCCGTCCTACACTTACGCC TTCGACTATTGGGGCCAGGGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCG
SEQ ID NO: 29	重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYHMSWVRQAPGQGL EWMGVINPVSGNTVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSED TAVYYCARIPSYTYAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 30	DNA 重鏈	CAAGTGCAACTCGTGCAGTCAGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCTGGA GCCTCGGTCAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGATACACTTTCACT GGATACCACATGTCGTGGGTCAGACAGGCTCCTGGCCAAGGGCTG GAGTGGATGGGCGTCATCAACCCGGTGTCGGGTAATACCGTGTAC GCCCAGAAGTTCCAGGGTCGCGTGACCATGACCCGGGATACCTCC ATTAGCACCGCGTACATGGAGCTCAGCCGGTTGAGATCCGAGGAT ACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGATCCCGTCCTACACTTACGCC TTCGACTATTGGGGCCAGGGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCGGCC TCCACTAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAG TCTACTTCCGGCGGAACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGAC TACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACTCTGGGGCTCTG ACTTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTG GGAACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACC CACACCTGCCCCCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCT TCCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATC AGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAC GAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGC ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGG CTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTG CCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCA CGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTAC CCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAG AACAACTACAAGACCACCCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGC TTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAG CAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCAC AACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 17	LCDR1（組合的）	RASQDISNYLA
SEQ ID NO: 18	LCDR2（組合的）	RASSLQS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（組合的）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 17	LCDR1（卡巴特）	RASQDISNYLA
SEQ ID NO: 18	LCDR2（卡巴特）	RASSLQS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（卡巴特）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 20	LCDR1（喬西亞）	SQDISNY
SEQ ID NO: 21	LCDR2（喬西亞）	RAS
SEQ ID NO: 22	LCDR3（喬西亞）	YRHMPSQ
SEQ ID NO: 23	LCDR1（IMGT）	QDISNY
SEQ ID NO: 21	LCDR2（IMGT）	RAS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（IMGT）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 24	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKAPK LLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQ YRHMPSQTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 31	DNA VL	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGATATTTCC

		AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACCGGGCGTCCTCCTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCTTCCAG TACCGGCACATGCCCTCACAAACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTC GAGATCAAG
SEQ ID NO: 26	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKAPK LLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQ YRHMPSQTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 32	DNA 輕鏈	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGATATTTCC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACCGGGCGTCCTCCTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCTTCCAG TACCGGCACATGCCCTCACAAACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTC GAGATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCC CCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGC CTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACC GAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTG ACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGC GAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTC AACAGGGGCGAGTGC
MOR44698C		
SEQ ID NO: 4	HCDR1（組合的）	GYTFTGYHMS
SEQ ID NO: 5	HCDR2（組合的）	VINPVSGNTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3（組合的）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 7	HCDR1（卡巴特）	GYHMS
SEQ ID NO: 5	HCDR2（卡巴特）	VINPVSGNTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3（卡巴特）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 8	HCDR1（喬西亞）	GYTFTGY
SEQ ID NO: 9	HCDR2（喬西亞）	NPVSGN
SEQ ID NO: 6	HCDR3（喬西亞）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 10	HCDR1（IMGT）	GYTFTGYH
SEQ ID NO: 11	HCDR2（IMGT）	INPVSGNT
SEQ ID NO: 12	HCDR3（IMGT）	ARIPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 13	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYHMSWVRQAPGQGL EWMGVINPVSGNTVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSED TAVYYCARIPSYTYAFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 28	DNA VH	CAAGTGCAACTCGTGCAGTCAGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCTGGA GCCTCGGTCAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGATACACTTTCACT GGATACCACATGTCGTGGGTCAGACAGGCTCCTGGCCAAGGGCTG GAGTGGATGGGCGTCATCAACCCGGTGTCGGGTAATACCGTGTAC GCCCAGAAGTTCCAGGGTCGCGTGACCATGACCCGGGATACCTCC ATTAGCACCGCGTACATGGAGCTCAGCCGGTTGAGATCCGAGGAT ACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGATCCCGTCCTACACTTACGCC TTCGACTATTGGGGCCAGGGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCG
SEQ ID NO: 33	重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYHMSWVRQAPGQGL EWMGVINPVSGNTVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSED TAVYYCARIPSYTYAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 34	DNA 重鏈	CAAGTGCAACTCGTGCAGTCAGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCTGGA GCCTCGGTCAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGATACACTTTCACT GGATACCACATGTCGTGGGTCAGACAGGCTCCTGGCCAAGGGCTG GAGTGGATGGGCGTCATCAACCCGGTGTCGGGTAATACCGTGTAC GCCCAGAAGTTCCAGGGTCGCGTGACCATGACCCGGGATACCTCC ATTAGCACCGCGTACATGGAGCTCAGCCGGTTGAGATCCGAGGAT ACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGATCCCGTCCTACACTTACGCC TTCGACTATTGGGGCCAGGGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCGGCC TCCACTAAGGGCCCGTCAGTGTTCCCCCTTGCGCCATCCTCGAAG TCAACCTCCGGAGGAACTGCCGCACTGGGTTGCCTCGTGAAAGAC TATTTCCCGGAACCCGTCACTGTCTCCTGGAACTCAGGAGCGCTC ACCAGCGGAGTGCATACCTTTCCTGCGGTGCTGCAGTCCAGCGGC CTGTACTCCCTGAGCTCCGTCGTGACCGTCCCCTCGTCGTCCCTG GGAACCCAAACCTACATTTGCAACGTCAATCACAAGCCAAGCAAC ACTAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGTCCTGCGATAAGACC CACACCTGTCCTCCCTGTCCGGCACCTGAACTGCTTGGTGGACCT TCCGTGTTCCTGTTCCCGCCCAAGCCAAAAGACACCCTGATGATC TCCCGCACTCCGGAAGTCACTTGCGTGGTCGTGGCCGTGTCCCAC GAGGACCCCGAGGTCAAGTTTAATTGGTACGTGGACGGAGTGGAA GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCGCGGGAAGAACAGTACAACTCC ACCTACCGCGTGGTGTCCGTCCTGACTGTGCTCCACCAGGACTGG CTGAACGGAAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCACTG GCTGCCCCTATCGAAAAGACTATCTCCAAGGCCAAGGGCCAACCT AGGGAGCCCCAGGTGTACACGTTGCCTCCTTCCCGCGAAGAAATG ACTAAGAACCAGGTGTCGCTGACCTGTCTCGTGAAAGGGTTCTAC CCCTCTGACATCGCCGTGGAATGGGAGTCAAACGGACAGCCTGAG AACAACTATAAGACCACACCACCTGTCCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTGTACTCAAAGTTGACCGTGGACAAGTCGCGGTGGCAA CAGGGCAACGTGTTCTCTTGCTCCGTGATGCACGAAGCCCTGCAC AACCACTACACCCAAAAGTCGCTCAGCCTCTCCCCCGGAAAG
SEQ ID NO: 17	LCDR1（組合的）	RASQDISNYLA
SEQ ID NO: 18	LCDR2（組合的）	RASSLQS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（組合的）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 17	LCDR1（卡巴特）	RASQDISNYLA
SEQ ID NO: 18	LCDR2（卡巴特）	RASSLQS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（卡巴特）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 20	LCDR1（喬西亞）	SQDISNY
SEQ ID NO: 21	LCDR2（喬西亞）	RAS
SEQ ID NO: 22	LCDR3（喬西亞）	YRHMPSQ
SEQ ID NO: 23	LCDR1（IMGT）	QDISNY
SEQ ID NO: 21	LCDR2（IMGT）	RAS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（IMGT）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 24	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKAPK LLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQ YRHMPSQTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 31	DNA VL	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGATATTTCC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACCGGGCGTCCTCCTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCTTCCAG TACCGGCACATGCCCTCACAAACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTC GAGATCAAG
SEQ ID NO: 26	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKAPK LLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQ YRHMPSQTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 32	DNA 輕鏈	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGATATTTCC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG

		CTGCTGATCTACCGGGCGTCCTCCTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCTTCCAG TACCGGCACATGCCCTCACAAACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTC GAGATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCC CCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGC CTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACC GAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTG ACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGC GAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTC AACAGGGGCGAGTGC
MOR44698D		
SEQ ID NO: 4	HCDR1（組合的）	GYTFTGYHMS
SEQ ID NO: 5	HCDR2（組合的）	VINPVSGNTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3（組合的）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 7	HCDR1（卡巴特）	GYHMS
SEQ ID NO: 5	HCDR2（卡巴特）	VINPVSGNTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3（卡巴特）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 8	HCDR1（喬西亞）	GYTFTGY
SEQ ID NO: 9	HCDR2（喬西亞）	NPVSGN
SEQ ID NO: 6	HCDR3（喬西亞）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 10	HCDR1（IMGT）	GYTFTGYH
SEQ ID NO: 11	HCDR2（IMGT）	INPVSGNT
SEQ ID NO: 12	HCDR3（IMGT）	ARIPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 13	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYHMSWVRQAPGQGL EWMGVINPVSGNTVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSED TAVYYCARIPSYTYAFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 28	DNA VH	CAAGTGCAACTCGTGCAGTCAGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCTGGA GCCTCGGTCAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGATACACTTTCACT GGATACCACATGTCGTGGGTCAGACAGGCTCCTGGCCAAGGGCTG GAGTGGATGGGCGTCATCAACCCGGTGTCGGGTAATACCGTGTAC GCCCAGAAGTTCCAGGGTCGCGTGACCATGACCCGGGATACCTCC ATTAGCACCGCGTACATGGAGCTCAGCCGGTTGAGATCCGAGGAT ACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGATCCCGTCCTACACTTACGCC TTCGACTATTGGGGCCAGGGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCG
SEQ ID NO: 35	重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYHMSWVRQAPGQGL EWMGVINPVSGNTVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSED TAVYYCARIPSYTYAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 36	DNA 重鏈	CAAGTGCAACTCGTGCAGTCAGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCTGGA GCCTCGGTCAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGATACACTTTCACT GGATACCACATGTCGTGGGTCAGACAGGCTCCTGGCCAAGGGCTG GAGTGGATGGGCGTCATCAACCCGGTGTCGGGTAATACCGTGTAC GCCCAGAAGTTCCAGGGTCGCGTGACCATGACCCGGGATACCTCC ATTAGCACCGCGTACATGGAGCTCAGCCGGTTGAGATCCGAGGAT ACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGATCCCGTCCTACACTTACGCC TTCGACTATTGGGGCCAGGGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCGGCC TCCACTAAGGGCCCGTCAGTGTTCCCCCTTGCGCCATCCTCGAAG TCAACCTCCGGAGGAACTGCCGCACTGGGTTGCCTCGTGAAAGAC TATTTCCCGGAACCCGTCACTGTCTCCTGGAACTCAGGAGCGCTC ACCAGCGGAGTGCATACCTTTCCTGCGGTGCTGCAGTCCAGCGGC CTGTACTCCCTGAGCTCCGTCGTGACCGTCCCCTCGTCGTCCCTG GGAACCCAAACCTACATTTGCAACGTCAATCACAAGCCAAGCAAC ACTAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGTCCTGCGATAAGACC

		CACACCTGTCCTCCCTGTCCGGCACCTGAACTGCTTGGTGGACCT TCCGTGTTCCTGTTCCCGCCCAAGCCAAAAGACACCCTGATGATC TCCCGCACTCCGGAAGTCACTTGCGTGGTCGTGGACGTGTCCCAC GAGGACCCCGAGGTCAAGTTTAATTGGTACGTGGACGGAGTGGAA GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCGCGGGAAGAACAGTACAACTCC ACCTACCGCGTGGTGTCCGTCCTGACTGTGCTCCACCAGGACTGG CTGAACGGAAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCACTG CCAGCCCCTATCGAAAAGACTATCTCCAAGGCCAAGGGCCAACCT AGGGAGCCCCAGGTGTACACGTTGCCTCCTTCCCGCGAAGAAATG ACTAAGAACCAGGTGTCGCTGACCTGTCTCGTGAAAGGGTTCTAC CCCTCTGACATCGCCGTGGAATGGGAGTCAAACGGACAGCCTGAG AACAACTATAAGACCACACCACCTGTCCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTGTACTCAAAGTTGACCGTGGACAAGTCGCGGTGGCAA CAGGGCAACGTGTTCTCTTGCTCCGTGCTGCACGAAGCCCTGCAC AGCCACTACACCCAAAAGTCGCTCAGCCTCTCCCCCGGAAAG
SEQ ID NO: 17	LCDR1（組合的）	RASQDISNYLA
SEQ ID NO: 18	LCDR2（組合的）	RASSLQS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（組合的）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 17	LCDR1（卡巴特）	RASQDISNYLA
SEQ ID NO: 18	LCDR2（卡巴特）	RASSLQS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（卡巴特）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 20	LCDR1（喬西亞）	SQDISNY
SEQ ID NO: 21	LCDR2（喬西亞）	RAS
SEQ ID NO: 22	LCDR3（喬西亞）	YRHMPSQ
SEQ ID NO: 23	LCDR1（IMGT）	QDISNY
SEQ ID NO: 21	LCDR2（IMGT）	RAS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（IMGT）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 24	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKAPK LLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQ YRHMPSQTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 31	DNA VL	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGATATTTCC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACCGGGCGTCCTCCTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCTTCCAG TACCGGCACATGCCCTCACAAACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTC GAGATCAAG
SEQ ID NO: 26	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKAPK LLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQ YRHMPSQTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 32	DNA 輕鏈	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGATATTTCC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACCGGGCGTCCTCCTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCTTCCAG TACCGGCACATGCCCTCACAAACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTC GAGATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCC CCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGC CTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACC GAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTG ACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGC GAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTC AACAGGGGCGAGTGC
MOR44698E		
SEQ ID NO: 4	HCDR1（組合的）	GYTFTGYHMS

SEQ ID NO: 5	HCDR2（組合的）	VINPVSGNTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3（組合的）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 7	HCDR1（卡巴特）	GYHMS
SEQ ID NO: 5	HCDR2（卡巴特）	VINPVSGNTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3（卡巴特）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 8	HCDR1（喬西亞）	GYTFTGY
SEQ ID NO: 9	HCDR2（喬西亞）	NPVSGN
SEQ ID NO: 6	HCDR3（喬西亞）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 10	HCDR1（IMGT）	GYTFTGYH
SEQ ID NO: 11	HCDR2（IMGT）	INPVSGNT
SEQ ID NO: 12	HCDR3（IMGT）	ARIPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 13	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYHMSWVRQAPGQGL EWMGVINPVSGNTVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSED TAVYYCARIPSYTYAFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 28	DNA VH	CAAGTGCAACTCGTGCAGTCAGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCTGGA GCCTCGGTCAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGATACACTTTCACT GGATACCACATGTCGTGGGTCAGACAGGCTCCTGGCCAAGGGCTG GAGTGGATGGGCGTCATCAACCCGGTGTCGGGTAATACCGTGTAC GCCCAGAAGTTCCAGGGTCGCGTGACCATGACCCGGGATACCTCC ATTAGCACCGCGTACATGGAGCTCAGCCGGTTGAGATCCGAGGAT ACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGATCCCGTCCTACACTTACGCC TTCGACTATTGGGGCCAGGGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCG
SEQ ID NO: 37	重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYHMSWVRQAPGQGL EWMGVINPVSGNTVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSED TAVYYCARIPSYTYAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 38	DNA 重鏈	CAAGTGCAACTCGTGCAGTCAGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCTGGA GCCTCGGTCAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGATACACTTTCACT GGATACCACATGTCGTGGGTCAGACAGGCTCCTGGCCAAGGGCTG GAGTGGATGGGCGTCATCAACCCGGTGTCGGGTAATACCGTGTAC GCCCAGAAGTTCCAGGGTCGCGTGACCATGACCCGGGATACCTCC ATTAGCACCGCGTACATGGAGCTCAGCCGGTTGAGATCCGAGGAT ACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGATCCCGTCCTACACTTACGCC TTCGACTATTGGGGCCAGGGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCGGCC TCCACTAAGGGCCCGTCAGTGTTCCCCCTTGCGCCATCCTCGAAG TCAACCTCCGGAGGAACTGCCGCACTGGGTTGCCTCGTGAAAGAC TATTTCCCGGAACCCGTCACTGTCTCCTGGAACTCAGGAGCGCTC ACCAGCGGAGTGCATACCTTTCCTGCGGTGCTGCAGTCCAGCGGC CTGTACTCCCTGAGCTCCGTCGTGACCGTCCCCTCGTCGTCCCTG GGAACCCAAACCTACATTTGCAACGTCAATCACAAGCCAAGCAAC ACTAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGTCCTGCGATAAGACC CACACCTGTCCTCCCTGTCCGGCACCTGAACTGCTTGGTGGACCT TCCGTGTTCCTGTTCCCGCCCAAGCCAAAAGACACCCTGATGATC TCCCGCACTCCGGAAGTCACTTGCGTGGTCGTGGCCGTGTCCCAC GAGGACCCCGAGGTCAAGTTTAATTGGTACGTGGACGGAGTGGAA GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCGCGGGAAGAACAGTACAACTCC ACCTACCGCGTGGTGTCCGTCCTGACTGTGCTCCACCAGGACTGG CTGAACGGAAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCACTG GCTGCCCCTATCGAAAAGACTATCTCCAAGGCCAAGGGCCAACCT AGGGAGCCCCAGGTGTACACGTTGCCTCCTTCCCGCGAAGAAATG ACTAAGAACCAGGTGTCGCTGACCTGTCTCGTGAAAGGGTTCTAC CCCTCTGACATCGCCGTGGAATGGGAGTCAAACGGACAGCCTGAG AACAACTATAAGACCACACCACCTGTCCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTGTACTCAAAGTTGACCGTGGACAAGTCGCGGTGGCAA CAGGGCAACGTGTTCTCTTGCTCCGTGCTGCACGAAGCCCTGCAC

		AGCCACTACACCCAAAAGTCGCTCAGCCTCTCCCCCGGAAAG
SEQ ID NO: 17	LCDR1（組合的）	RASQDISNYLA
SEQ ID NO: 18	LCDR2（組合的）	RASSLQS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（組合的）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 17	LCDR1（卡巴特）	RASQDISNYLA
SEQ ID NO: 18	LCDR2（卡巴特）	RASSLQS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（卡巴特）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 20	LCDR1（喬西亞）	SQDISNY
SEQ ID NO: 21	LCDR2（喬西亞）	RAS
SEQ ID NO: 22	LCDR3（喬西亞）	YRHMPSQ
SEQ ID NO: 23	LCDR1（IMGT）	QDISNY
SEQ ID NO: 21	LCDR2（IMGT）	RAS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（IMGT）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 24	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKAPK LLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQ YRHMPSQTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 31	DNA VL	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGATATTTCC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACCGGGCGTCCTCCTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCTTCCAG TACCGGCACATGCCCTCACAAACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTC GAGATCAAG
SEQ ID NO: 26	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKAPK LLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQ YRHMPSQTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 32	DNA 輕鏈	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGATATTTCC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACCGGGCGTCCTCCTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCTTCCAG TACCGGCACATGCCCTCACAAACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTC GAGATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCC CCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGC CTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACC GAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTG ACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGC GAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTC AACAGGGGCGAGTGC
MOR44698F		
SEQ ID NO: 4	HCDR1（組合的）	GYTFTGYHMS
SEQ ID NO: 5	HCDR2（組合的）	VINPVSGNTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3（組合的）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 7	HCDR1（卡巴特）	GYHMS
SEQ ID NO: 5	HCDR2（卡巴特）	VINPVSGNTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3（卡巴特）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 8	HCDR1（喬西亞）	GYTFTGY
SEQ ID NO: 9	HCDR2（喬西亞）	NPVSGN
SEQ ID NO: 6	HCDR3（喬西亞）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 10	HCDR1（IMGT）	GYTFTGYH
SEQ ID NO: 11	HCDR2（IMGT）	INPVSGNT
SEQ ID NO: 12	HCDR3（IMGT）	ARIPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 13	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYHMSWVRQAPGQGL

		EWMGVINPVSGNTVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSED TAVYYCARIPSYTYAFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 28	DNA VH	CAAGTGCAACTCGTGCAGTCAGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCTGGA GCCTCGGTCAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGATACACTTTCACT GGATACCACATGTCGTGGGTCAGACAGGCTCCTGGCCAAGGGCTG GAGTGGATGGGCGTCATCAACCCGGTGTCGGGTAATACCGTGTAC GCCCAGAAGTTCCAGGGTCGCGTGACCATGACCCGGGATACCTCC ATTAGCACCGCGTACATGGAGCTCAGCCGGTTGAGATCCGAGGAT ACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGATCCCGTCCTACACTTACGCC TTCGACTATTGGGGCCAGGGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCG
SEQ ID NO: 39	重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYHMSWVRQAPGQGL EWMGVINPVSGNTVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSED TAVYYCARIPSYTYAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 40	DNA 重鏈	CAAGTGCAACTCGTGCAGTCAGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCTGGA GCCTCGGTCAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGATACACTTTCACT GGATACCACATGTCGTGGGTCAGACAGGCTCCTGGCCAAGGGCTG GAGTGGATGGGCGTCATCAACCCGGTGTCGGGTAATACCGTGTAC GCCCAGAAGTTCCAGGGTCGCGTGACCATGACCCGGGATACCTCC ATTAGCACCGCGTACATGGAGCTCAGCCGGTTGAGATCCGAGGAT ACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGATCCCGTCCTACACTTACGCC TTCGACTATTGGGGCCAGGGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCGGCC TCCACTAAGGGCCCGTCAGTGTTCCCCCTTGCGCCATCCTCGAAG TCAACCTCCGGAGGAACTGCCGCACTGGGTTGCCTCGTGAAAGAC TATTTCCCGGAACCCGTCACTGTCTCCTGGAACTCAGGAGCGCTC ACCAGCGGAGTGCATACCTTTCCTGCGGTGCTGCAGTCCAGCGGC CTGTACTCCCTGAGCTCCGTCGTGACCGTCCCCTCGTCGTCCCTG GGAACCCAAACCTACATTTGCAACGTCAATCACAAGCCAAGCAAC ACTAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGTCCTGCGATAAGACC CACACCTGTCCTCCCTGTCCGGCACCTGAACTGCTTGGTGGACCT TCCGTGTTCCTGTTCCCGCCCAAGCCAAAAGACACCCTGTATATC ACTCGCGAACCGGAAGTCACTTGCGTGGTCGTGGACGTGTCCCAC GAGGACCCCGAGGTCAAGTTTAATTGGTACGTGGACGGAGTGGAA GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCGCGGGAAGAACAGTACAACTCC ACCTACCGCGTGGTGTCCGTCCTGACTGTGCTCCACCAGGACTGG CTGAACGGAAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCACTG CCAGCCCCTATCGAAAAGACTATCTCCAAGGCCAAGGGCCAACCT AGGGAGCCCCAGGTGTACACGTTGCCTCCTTCCCGCGAAGAAATG ACTAAGAACCAGGTGTCGCTGACCTGTCTCGTGAAAGGGTTCTAC CCCTCTGACATCGCCGTGGAATGGGAGTCAAACGGACAGCCTGAG AACAACTATAAGACCACACCACCTGTCCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTGTACTCAAAGTTGACCGTGGACAAGTCGCGGTGGCAA CAGGGCAACGTGTTCTCTTGCTCCGTGATGCACGAAGCCCTGCAC AACCACTACACCCAAAAGTCGCTCAGCCTCTCCCCCGGAAAG
SEQ ID NO: 17	LCDR1（組合的）	RASQDISNYLA
SEQ ID NO: 18	LCDR2（組合的）	RASSLQS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（組合的）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 17	LCDR1（卡巴特）	RASQDISNYLA
SEQ ID NO: 18	LCDR2（卡巴特）	RASSLQS
SEQ ID NO: 19	LCDR3（卡巴特）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 20	LCDR1（喬西亞）	SQDISNY
SEQ ID NO: 21	LCDR2（喬西亞）	RAS
SEQ ID NO: 22	LCDR3（喬西亞）	YRHMPSQ
SEQ ID NO: 23	LCDR1（IMGT）	QDISNY
SEQ ID NO: 21	LCDR2（IMGT）	RAS

SEQ ID NO: 19	LCDR3（IMGT）	FQYRHMPSQT
SEQ ID NO: 24	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKAPK LLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQ YRHMPSQTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 31	DNA VL	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGATATTTCC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACCGGGCGTCCTCCTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCTTCCAG TACCGGCACATGCCCTCACAAACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTC GAGATCAAG
SEQ ID NO: 26	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKAPK LLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQ YRHMPSQTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 32	DNA 輕鏈	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGATATTTCC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACCGGGCGTCCTCCTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCTTCCAG TACCGGCACATGCCCTCACAAACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTC GAGATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCC CCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGC CTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACC GAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTG ACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGC GAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTC AACAGGGGCGAGTGC
MOR44746A		
SEQ ID NO: 41	HCDR1（組合的）	GDSVSSSSAAWN
SEQ ID NO: 42	HCDR2（組合的）	HIGYRSKWYNEYAVSVKS
SEQ ID NO: 43	HCDR3（組合的）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 44	HCDR1（卡巴特）	SSSAAWN
SEQ ID NO: 42	HCDR2（卡巴特）	HIGYRSKWYNEYAVSVKS
SEQ ID NO: 43	HCDR3（卡巴特）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 45	HCDR1（喬西亞）	GDSVSSSSA
SEQ ID NO: 46	HCDR2（喬西亞）	GYRSKWY
SEQ ID NO: 43	HCDR3（喬西亞）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 47	HCDR1（IMGT）	GDSVSSSSAA
SEQ ID NO: 48	HCDR2（IMGT）	IGYRSKWYN
SEQ ID NO: 49	HCDR3（IMGT）	ARGMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 50	VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSSSAAWNWIRQSPSR GLEWLGHIGYRSKWYNEYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVT PEDTAVYYCARGMYGSVPYKEGYYFDIWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 51	DNA VH	CAGGTGCAATTGCAGCAGAGCGGTCCGGGCCTGGTGAAACCGAGC CAGACCCTGAGCCTGACCTGCGCGATTTCCGGAGATAGCGTGAGC TCTTCTTCTGCTGCTTGGAACTGGATTCGTCAGAGCCCGAGCCGT GGCCTCGAGTGGCTGGGCCATATCGGTTACCGTAGCAAATGGTAC AACGAATATGCCGTGAGCGTGAAAAGCCGCATTACCATTAACCCG GATACTTCGAAAAACCAGTTTAGCCTGCAACTGAACAGCGTGACC CCGGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTATGTACGGT TCTGTTCCCTACAAAGAAGGTTACTACTTCGATATTTGGGGCCAA GGCACCCTGGTGACTGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 52	重鏈	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSSSAAWNWIRQSPSR GLEWLGHIGYRSKWYNEYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVT PEDTAVYYCARGMYGSVPYKEGYYFDIWGQGTLVTVSSASTKGPS

		VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
SEQ ID NO: 53	DNA 重鏈	CAGGTGCAATTGCAGCAGAGCGGTCCGGGCCTGGTGAAACCGAGC CAGACCCTGAGCCTGACCTGCGCGATTTCCGGAGATAGCGTGAGC TCTTCTTCTGCTGCTTGGAACTGGATTCGTCAGAGCCCGAGCCGT GGCCTCGAGTGGCTGGGCCATATCGGTTACCGTAGCAAATGGTAC AACGAATATGCCGTGAGCGTGAAAAGCCGCATTACCATTAACCCG GATACTTCGAAAAACCAGTTTAGCCTGCAACTGAACAGCGTGACC CCGGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTATGTACGGT TCTGTTCCCTACAAAGAAGGTTACTACTTCGATATTTGGGGCCAA GGCACCCTGGTGACTGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACA GCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTG ACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACC TTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA GTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCAGCGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCC CCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA AAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGC GTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC ACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGC CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAG CTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAG AGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
SEQ ID NO: 54	LCDR1（組合的）	RASQGISSDLN
SEQ ID NO: 55	LCDR2（組合的）	AASNLQS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（組合的）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 54	LCDR1（卡巴特）	RASQGISSDLN
SEQ ID NO: 55	LCDR2（卡巴特）	AASNLQS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（卡巴特）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 57	LCDR1（喬西亞）	SQGISSD
SEQ ID NO: 58	LCDR2（喬西亞）	AAS
SEQ ID NO: 59	LCDR3（喬西亞）	YTDESM
SEQ ID NO: 60	LCDR1（IMGT）	QGISSD
SEQ ID NO: 58	LCDR2（IMGT）	AAS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（IMGT）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 61	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSDLNWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YTDESMTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 62	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTG GGCGATCGCGTGACCATTACCTGCAGAGCCAGCCAGGGTATTTCT TCTGACCTGAACTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGCGCCGAAA CTATTAATCTACGCTGCTTCTAACCTGCAAAGCGGCGTGCCGAGC CGCTTTAGCGGCAGCGGATCCGGCACCGATTTCACCCTGACCATT AGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTATTATTGCCAGCAG TACACTGACGAATCTATGACCTTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAA

		ATTAAA
SEQ ID NO: 63	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSDLNWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YTDESMTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 64	DNA 輕鏈	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTG GGCGATCGCGTGACCATTACCTGCAGAGCCAGCCAGGGTATTTCT TCTGACCTGAACTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGCGCCGAAA CTATTAATCTACGCTGCTTCTAACCTGCAAAGCGGCGTGCCGAGC CGCTTTAGCGGCAGCGGATCCGGCACCGATTTCACCCTGACCATT AGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTATTATTGCCAGCAG TACACTGACGAATCTATGACCTTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAA ATTAAACGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCC AGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTG CTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAAAGCGTCACCGAG CAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAG GTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAAC CGGGGCGAGTGT
MOR44746B		
SEQ ID NO: 41	HCDR1（組合的）	GDSVSSSSAAWN
SEQ ID NO: 42	HCDR2（組合的）	HIGYRSKWYNEYAVSVKS
SEQ ID NO: 43	HCDR3（組合的）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 44	HCDR1（卡巴特）	SSSAAWN
SEQ ID NO: 42	HCDR2（卡巴特）	HIGYRSKWYNEYAVSVKS
SEQ ID NO: 43	HCDR3（卡巴特）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 45	HCDR1（喬西亞）	GDSVSSSSA
SEQ ID NO: 46	HCDR2（喬西亞）	GYRSKWY
SEQ ID NO: 43	HCDR3（喬西亞）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 47	HCDR1（IMGT）	GDSVSSSSAA
SEQ ID NO: 48	HCDR2（IMGT）	IGYRSKWYN
SEQ ID NO: 49	HCDR3（IMGT）	ARGMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 50	VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSSSAAWNWIRQSPSR GLEWLGHIGYRSKWYNEYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVT PEDTAVYYCARGMYGSVPYKEGYYFDIWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 65	DNA VH	CAAGTGCAACTCCAGCAGTCAGGACCGGGGTTGGTCAAGCCTTCG CAGACCCTGTCCCTCACTTGCGCCATTAGCGGAGATTCGGTGTCG TCGTCGTCAGCCGCCTGGAACTGGATTAGACAGTCCCCTTCCCGA GGGCTGGAGTGGCTGGGCCACATCGGATACCGCAGCAAGTGGTAC AACGAATACGCCGTCAGCGTGAAGTCACGCATCACCATCAACCCG GATACTAGCAAGAACCAGTTCAGCCTCCAGTTGAACTCCGTGACC CCGGAGGATACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGGGCATGTACGGA TCCGTGCCGTACAAGGAGGGATACTACTTCGACATTTGGGGCCAG GGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCG
SEQ ID NO: 66	重鏈	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSSSAAWNWIRQSPSR GLEWLGHIGYRSKWYNEYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVT PEDTAVYYCARGMYGSVPYKEGYYFDIWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
SEQ ID NO: 67	DNA 重鏈	CAAGTGCAACTCCAGCAGTCAGGACCGGGGTTGGTCAAGCCTTCG CAGACCCTGTCCCTCACTTGCGCCATTAGCGGAGATTCGGTGTCG TCGTCGTCAGCCGCCTGGAACTGGATTAGACAGTCCCCTTCCCGA

		GGGCTGGAGTGGCTGGGCCACATCGGATACCGCAGCAAGTGGTAC AACGAATACGCCGTCAGCGTGAAGTCACGCATCACCATCAACCCG GATACTAGCAAGAACCAGTTCAGCCTCCAGTTGAACTCCGTGACC CCGGAGGATACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGGGCATGTACGGA TCCGTGCCGTACAAGGAGGGATACTACTTCGACATTTGGGGCCAG GGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCGGCCTCCACTAAGGGCCCAAGT GTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACT GCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTG ACAGTGTCCTGGAACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGCACACC TTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGC GTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATC TGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA GTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGC CCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCC CCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTG ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCAGAGGTGAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACC AAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCC GTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATAC AAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAG ACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTAC ACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCC CTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACC CCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAG CTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGC TGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAG TCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 54	LCDR1（組合的）	RASQGISSDLN
SEQ ID NO: 55	LCDR2（組合的）	AASNLQS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（組合的）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 54	LCDR1（卡巴特）	RASQGISSDLN
SEQ ID NO: 55	LCDR2（卡巴特）	AASNLQS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（卡巴特）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 57	LCDR1（喬西亞）	SQGISSD
SEQ ID NO: 58	LCDR2（喬西亞）	AAS
SEQ ID NO: 59	LCDR3（喬西亞）	YTDESM
SEQ ID NO: 60	LCDR1（IMGT）	QGISSD
SEQ ID NO: 58	LCDR2（IMGT）	AAS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（IMGT）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 61	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSDLNWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YTDESMTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 68	DNA VL	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGGAATTTCC TCCGACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACGCCGCGTCCAACTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCCAACAG TACACAGATGAATCCATGACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAG
SEQ ID NO: 63	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSDLNWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YTDESMTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 69	DNA 輕鏈	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGGAATTTCC TCCGACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACGCCGCGTCCAACTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT

		AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCCAACAG TACACAGATGAATCCATGACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCC AGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTG CTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAG CAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAG GTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAAC AGGGGCGAGTGC
MOR44746C		
SEQ ID NO: 41	HCDR1（組合的）	GDSVSSSSAAWN
SEQ ID NO: 42	HCDR2（組合的）	HIGYRSKWYNEYAVSVKS
SEQ ID NO: 43	HCDR3（組合的）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 44	HCDR1（卡巴特）	SSSAAWN
SEQ ID NO: 42	HCDR2（卡巴特）	HIGYRSKWYNEYAVSVKS
SEQ ID NO: 43	HCDR3（卡巴特）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 45	HCDR1（喬西亞）	GDSVSSSSA
SEQ ID NO: 46	HCDR2（喬西亞）	GYRSKWY
SEQ ID NO: 43	HCDR3（喬西亞）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 47	HCDR1（IMGT）	GDSVSSSSAA
SEQ ID NO: 48	HCDR2（IMGT）	IGYRSKWYN
SEQ ID NO: 49	HCDR3（IMGT）	ARGMYGSVPYKEGYYFDI
（SEQ ID NO:	VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSSSAAWNWIRQSPSR GLEWLGHIGYRSKWYNEYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVT PEDTAVYYCARGMYGSVPYKEGYYFDIWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 65	DNA VH	CAAGTGCAACTCCAGCAGTCAGGACCGGGGTTGGTCAAGCCTTCG CAGACCCTGTCCCTCACTTGCGCCATTAGCGGAGATTCGGTGTCG TCGTCGTCAGCCGCCTGGAACTGGATTAGACAGTCCCCTTCCCGA GGGCTGGAGTGGCTGGGCCACATCGGATACCGCAGCAAGTGGTAC AACGAATACGCCGTCAGCGTGAAGTCACGCATCACCATCAACCCG GATACTAGCAAGAACCAGTTCAGCCTCCAGTTGAACTCCGTGACC CCGGAGGATACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGGGCATGTACGGA TCCGTGCCGTACAAGGAGGGATACTACTTCGACATTTGGGGCCAG GGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCG
SEQ ID NO: 70	重鏈	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSSSAAWNWIRQSPSR GLEWLGHIGYRSKWYNEYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVT PEDTAVYYCARGMYGSVPYKEGYYFDIWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
SEQ ID NO: 71	DNA 重鏈	CAAGTGCAACTCCAGCAGTCAGGACCGGGGTTGGTCAAGCCTTCG CAGACCCTGTCCCTCACTTGCGCCATTAGCGGAGATTCGGTGTCG TCGTCGTCAGCCGCCTGGAACTGGATTAGACAGTCCCCTTCCCGA GGGCTGGAGTGGCTGGGCCACATCGGATACCGCAGCAAGTGGTAC AACGAATACGCCGTCAGCGTGAAGTCACGCATCACCATCAACCCG GATACTAGCAAGAACCAGTTCAGCCTCCAGTTGAACTCCGTGACC CCGGAGGATACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGGGCATGTACGGA TCCGTGCCGTACAAGGAGGGATACTACTTCGACATTTGGGGCCAG GGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCGGCCTCCACTAAGGGCCCGTCA GTGTTCCCCCTTGCGCCATCCTCGAAGTCAACCTCCGGAGGAACT GCCGCACTGGGTTGCCTCGTGAAAGACTATTTCCCGGAACCCGTC ACTGTCTCCTGGAACTCAGGAGCGCTCACCAGCGGAGTGCATACC TTTCCTGCGGTGCTGCAGTCCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCTCC GTCGTGACCGTCCCCTCGTCGTCCCTGGGAACCCAAACCTACATT TGCAACGTCAATCACAAGCCAAGCAACACTAAGGTGGACAAGAGA

		GTGGAGCCCAAGTCCTGCGATAAGACCCACACCTGTCCTCCCTGT CCGGCACCTGAACTGCTTGGTGGACCTTCCGTGTTCCTGTTCCCG CCCAAGCCAAAAGACACCCTGATGATCTCCCGCACTCCGGAAGTC ACTTGCGTGGTCGTGGCCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTCAAG TTTAATTGGTACGTGGACGGAGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACC AAGCCGCGGGAAGAACAGTACAACTCCACCTACCGCGTGGTGTCC GTCCTGACTGTGCTCCACCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTAC AAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCACTGGCTGCCCCTATCGAAAAG ACTATCTCCAAGGCCAAGGGCCAACCTAGGGAGCCCCAGGTGTAC ACGTTGCCTCCTTCCCGCGAAGAAATGACTAAGAACCAGGTGTCG CTGACCTGTCTCGTGAAAGGGTTCTACCCCTCTGACATCGCCGTG GAATGGGAGTCAAACGGACAGCCTGAGAACAACTATAAGACCACA CCACCTGTCCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTGTACTCAAAG TTGACCGTGGACAAGTCGCGGTGGCAACAGGGCAACGTGTTCTCT TGCTCCGTGATGCACGAAGCCCTGCACAACCACTACACCCAAAAG TCGCTCAGCCTCTCCCCCGGAAAG
SEQ ID NO: 54	LCDR1（組合的）	RASQGISSDLN
SEQ ID NO: 55	LCDR2（組合的）	AASNLQS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（組合的）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 54	LCDR1（卡巴特）	RASQGISSDLN
SEQ ID NO: 55	LCDR2（卡巴特）	AASNLQS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（卡巴特）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 57	LCDR1（喬西亞）	SQGISSD
SEQ ID NO: 58	LCDR2（喬西亞）	AAS
SEQ ID NO: 59	LCDR3（喬西亞）	YTDESM
SEQ ID NO: 60	LCDR1（IMGT）	QGISSD
SEQ ID NO: 58	LCDR2（IMGT）	AAS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（IMGT）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 61	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSDLNWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YTDESMTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 68	DNA VL	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGGAATTTCC TCCGACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACGCCGCGTCCAACTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCCAACAG TACACAGATGAATCCATGACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAG
SEQ ID NO: 63	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSDLNWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YTDESMTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 69	DNA 輕鏈	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGGAATTTCC TCCGACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACGCCGCGTCCAACTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCCAACAG TACACAGATGAATCCATGACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCC AGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTG CTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAG CAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAG GTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAAC AGGGGCGAGTGC
MOR44746D		

SEQ ID NO: 41	HCDR1（組合的）	GDSVSSSSAAWN
SEQ ID NO: 42	HCDR2（組合的）	HIGYRSKWYNEYAVSVKS
SEQ ID NO: 43	HCDR3（組合的）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 44	HCDR1（卡巴特）	SSSAAWN
SEQ ID NO: 42	HCDR2（卡巴特）	HIGYRSKWYNEYAVSVKS
SEQ ID NO: 43	HCDR3（卡巴特）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 45	HCDR1（喬西亞）	GDSVSSSSA
SEQ ID NO: 46	HCDR2（喬西亞）	GYRSKWY
SEQ ID NO: 43	HCDR3（喬西亞）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 47	HCDR1（IMGT）	GDSVSSSSAA
SEQ ID NO: 48	HCDR2（IMGT）	IGYRSKWYN
SEQ ID NO: 49	HCDR3（IMGT）	ARGMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 50	VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSSSAAWNWIRQSPSR GLEWLGHIGYRSKWYNEYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVT PEDTAVYYCARGMYGSVPYKEGYYFDIWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 65	DNA VH	CAAGTGCAACTCCAGCAGTCAGGACCGGGGTTGGTCAAGCCTTCG CAGACCCTGTCCCTCACTTGCGCCATTAGCGGAGATTCGGTGTCG TCGTCGTCAGCCGCCTGGAACTGGATTAGACAGTCCCCTTCCCGA GGGCTGGAGTGGCTGGGCCACATCGGATACCGCAGCAAGTGGTAC AACGAATACGCCGTCAGCGTGAAGTCACGCATCACCATCAACCCG GATACTAGCAAGAACCAGTTCAGCCTCCAGTTGAACTCCGTGACC CCGGAGGATACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGGGCATGTACGGA TCCGTGCCGTACAAGGAGGGATACTACTTCGACATTTGGGGCCAG GGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCG
SEQ ID NO: 72	重鏈	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSSSAAWNWIRQSPSR GLEWLGHIGYRSKWYNEYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVT PEDTAVYYCARGMYGSVPYKEGYYFDIWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQK SLSLSPGK
SEQ ID NO: 73	DNA 重鏈	CAAGTGCAACTCCAGCAGTCAGGACCGGGGTTGGTCAAGCCTTCG CAGACCCTGTCCCTCACTTGCGCCATTAGCGGAGATTCGGTGTCG TCGTCGTCAGCCGCCTGGAACTGGATTAGACAGTCCCCTTCCCGA GGGCTGGAGTGGCTGGGCCACATCGGATACCGCAGCAAGTGGTAC AACGAATACGCCGTCAGCGTGAAGTCACGCATCACCATCAACCCG GATACTAGCAAGAACCAGTTCAGCCTCCAGTTGAACTCCGTGACC CCGGAGGATACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGGGCATGTACGGA TCCGTGCCGTACAAGGAGGGATACTACTTCGACATTTGGGGCCAG GGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCGGCCTCCACTAAGGGCCCGTCA GTGTTCCCCCTTGCGCCATCCTCGAAGTCAACCTCCGGAGGAACT GCCGCACTGGGTTGCCTCGTGAAAGACTATTTCCCGGAACCCGTC ACTGTCTCCTGGAACTCAGGAGCGCTCACCAGCGGAGTGCATACC TTTCCTGCGGTGCTGCAGTCCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCTCC GTCGTGACCGTCCCCTCGTCGTCCCTGGGAACCCAAACCTACATT TGCAACGTCAATCACAAGCCAAGCAACACTAAGGTGGACAAGAGA GTGGAGCCCAAGTCCTGCGATAAGACCCACACCTGTCCTCCCTGT CCGGCACCTGAACTGCTTGGTGGACCTTCCGTGTTCCTGTTCCCG CCCAAGCCAAAAGACACCCTGATGATCTCCCGCACTCCGGAAGTC ACTTGCGTGGTCGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTCAAG TTTAATTGGTACGTGGACGGAGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACC AAGCCGCGGGAAGAACAGTACAACTCCACCTACCGCGTGGTGTCC GTCCTGACTGTGCTCCACCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTAC AAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCACTGCCAGCCCCTATCGAAAAG ACTATCTCCAAGGCCAAGGGCCAACCTAGGGAGCCCCAGGTGTAC ACGTTGCCTCCTTCCCGCGAAGAAATGACTAAGAACCAGGTGTCG CTGACCTGTCTCGTGAAAGGGTTCTACCCCTCTGACATCGCCGTG

		GAATGGGAGTCAAACGGACAGCCTGAGAACAACTATAAGACCACA CCACCTGTCCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTGTACTCAAAG TTGACCGTGGACAAGTCGCGGTGGCAACAGGGCAACGTGTTCTCT TGCTCCGTGCTGCACGAAGCCCTGCACAGCCACTACACCCAAAAG TCGCTCAGCCTCTCCCCCGGAAAG
SEQ ID NO: 54	LCDR1（組合的）	RASQGISSDLN
SEQ ID NO: 55	LCDR2（組合的）	AASNLQS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（組合的）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 54	LCDR1（卡巴特）	RASQGISSDLN
SEQ ID NO: 55	LCDR2（卡巴特）	AASNLQS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（卡巴特）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 57	LCDR1（喬西亞）	SQGISSD
SEQ ID NO: 58	LCDR2（喬西亞）	AAS
SEQ ID NO: 59	LCDR3（喬西亞）	YTDESM
SEQ ID NO: 60	LCDR1（IMGT）	QGISSD
SEQ ID NO: 58	LCDR2（IMGT）	AAS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（IMGT）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 61	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSDLNWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YTDESMTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 68	DNA VL	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGGAATTTCC TCCGACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACGCCGCGTCCAACTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCCAACAG TACACAGATGAATCCATGACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAG
SEQ ID NO: 63	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSDLNWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YTDESMTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 69	DNA 輕鏈	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGGAATTTCC TCCGACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACGCCGCGTCCAACTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCCAACAG TACACAGATGAATCCATGACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCC AGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTG CTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAG CAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAG GTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAAC AGGGGCGAGTGC
MOR44746E		
SEQ ID NO: 41	HCDR1（組合的）	GDSVSSSSAAWN
SEQ ID NO: 42	HCDR2（組合的）	HIGYRSKWYNEYAVSVKS
SEQ ID NO: 43	HCDR3（組合的）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 44	HCDR1（卡巴特）	SSSAAWN
SEQ ID NO: 42	HCDR2（卡巴特）	HIGYRSKWYNEYAVSVKS
SEQ ID NO: 43	HCDR3（卡巴特）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 45	HCDR1（喬西亞）	GDSVSSSSA
SEQ ID NO: 46	HCDR2（喬西亞）	GYRSKWY
SEQ ID NO: 43	HCDR3（喬西亞）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 47	HCDR1（IMGT）	GDSVSSSSAA

SEQ ID NO: 48	HCDR2（IMGT）	IGYRSKWYN
SEQ ID NO: 49	HCDR3（IMGT）	ARGMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 50	VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSSSAAWNWIRQSPSR GLEWLGHIGYRSKWYNEYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVT PEDTAVYYCARGMYGSVPYKEGYYFDIWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 65	DNA VH	CAAGTGCAACTCCAGCAGTCAGGACCGGGGTTGGTCAAGCCTTCG CAGACCCTGTCCCTCACTTGCGCCATTAGCGGAGATTCGGTGTCG TCGTCGTCAGCCGCCTGGAACTGGATTAGACAGTCCCCTTCCCGA GGGCTGGAGTGGCTGGGCCACATCGGATACCGCAGCAAGTGGTAC AACGAATACGCCGTCAGCGTGAAGTCACGCATCACCATCAACCCG GATACTAGCAAGAACCAGTTCAGCCTCCAGTTGAACTCCGTGACC CCGGAGGATACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGGGCATGTACGGA TCCGTGCCGTACAAGGAGGGATACTACTTCGACATTTGGGGCCAG GGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCG
SEQ ID NO: 74	重鏈	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSSSAAWNWIRQSPSR GLEWLGHIGYRSKWYNEYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVT PEDTAVYYCARGMYGSVPYKEGYYFDIWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQK SLSLSPGK
SEQ ID NO: 75	DNA 重鏈	CAAGTGCAACTCCAGCAGTCAGGACCGGGGTTGGTCAAGCCTTCG CAGACCCTGTCCCTCACTTGCGCCATTAGCGGAGATTCGGTGTCG TCGTCGTCAGCCGCCTGGAACTGGATTAGACAGTCCCCTTCCCGA GGGCTGGAGTGGCTGGGCCACATCGGATACCGCAGCAAGTGGTAC AACGAATACGCCGTCAGCGTGAAGTCACGCATCACCATCAACCCG GATACTAGCAAGAACCAGTTCAGCCTCCAGTTGAACTCCGTGACC CCGGAGGATACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGGGCATGTACGGA TCCGTGCCGTACAAGGAGGGATACTACTTCGACATTTGGGGCCAG GGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCGGCCTCCACTAAGGGCCCGTCA GTGTTCCCCCTTGCGCCATCCTCGAAGTCAACCTCCGGAGGAACT GCCGCACTGGGTTGCCTCGTGAAAGACTATTTCCCGGAACCCGTC ACTGTCTCCTGGAACTCAGGAGCGCTCACCAGCGGAGTGCATACC TTTCCTGCGGTGCTGCAGTCCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCTCC GTCGTGACCGTCCCCTCGTCGTCCCTGGGAACCCAAACCTACATT TGCAACGTCAATCACAAGCCAAGCAACACTAAGGTGGACAAGAGA GTGGAGCCCAAGTCCTGCGATAAGACCCACACCTGTCCTCCCTGT CCGGCACCTGAACTGCTTGGTGGACCTTCCGTGTTCCTGTTCCCG CCCAAGCCAAAAGACACCCTGATGATCTCCCGCACTCCGGAAGTC ACTTGCGTGGTCGTGGCCGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTCAAG TTTAATTGGTACGTGGACGGAGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACC AAGCCGCGGGAAGAACAGTACAACTCCACCTACCGCGTGGTGTCC GTCCTGACTGTGCTCCACCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTAC AAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCACTGGCTGCCCCTATCGAAAAG ACTATCTCCAAGGCCAAGGGCCAACCTAGGGAGCCCCAGGTGTAC ACGTTGCCTCCTTCCCGCGAAGAAATGACTAAGAACCAGGTGTCG CTGACCTGTCTCGTGAAAGGGTTCTACCCCTCTGACATCGCCGTG GAATGGGAGTCAAACGGACAGCCTGAGAACAACTATAAGACCACA CCACCTGTCCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTGTACTCAAAG TTGACCGTGGACAAGTCGCGGTGGCAACAGGGCAACGTGTTCTCT TGCTCCGTGCTGCACGAAGCCCTGCACAGCCACTACACCCAAAAG TCGCTCAGCCTCTCCCCCGGAAAG
SEQ ID NO: 54	LCDR1（組合的）	RASQGISSDLN
SEQ ID NO: 55	LCDR2（組合的）	AASNLQS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（組合的）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 54	LCDR1（卡巴特）	RASQGISSDLN
SEQ ID NO: 55	LCDR2（卡巴特）	AASNLQS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（卡巴特）	QQYTDESMT

SEQ ID NO: 57	LCDR1（喬西亞）	SQGISSD
SEQ ID NO: 58	LCDR2（喬西亞）	AAS
SEQ ID NO: 59	LCDR3（喬西亞）	YTDESM
SEQ ID NO: 60	LCDR1（IMGT）	QGISSD
SEQ ID NO: 58	LCDR2（IMGT）	AAS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（IMGT）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 61	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSDLNWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YTDESMTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 68	DNA VL	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGGAATTTCC TCCGACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACGCCGCGTCCAACTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCCAACAG TACACAGATGAATCCATGACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAG
SEQ ID NO: 63	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSDLNWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YTDESMTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 69	DNA 輕鏈	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGGAATTTCC TCCGACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACGCCGCGTCCAACTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCCAACAG TACACAGATGAATCCATGACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCC AGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTG CTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAG CAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAG GTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAAC AGGGGCGAGTGC
MOR44746F		
SEQ ID NO: 41	HCDR1（組合的）	GDSVSSSSAAWN
SEQ ID NO: 42	HCDR2（組合的）	HIGYRSKWYNEYAVSVKS
SEQ ID NO: 43	HCDR3（組合的）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 44	HCDR1（卡巴特）	SSSAAWN
SEQ ID NO: 42	HCDR2（卡巴特）	HIGYRSKWYNEYAVSVKS
SEQ ID NO: 43	HCDR3（卡巴特）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 45	HCDR1（喬西亞）	GDSVSSSSA
SEQ ID NO: 46	HCDR2（喬西亞）	GYRSKWY
SEQ ID NO: 43	HCDR3（喬西亞）	GMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 47	HCDR1（IMGT）	GDSVSSSSAA
SEQ ID NO: 48	HCDR2（IMGT）	IGYRSKWYN
SEQ ID NO: 49	HCDR3（IMGT）	ARGMYGSVPYKEGYYFDI
SEQ ID NO: 50	VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSSSAAWNWIRQSPSR GLEWLGHIGYRSKWYNEYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVT PEDTAVYYCARGMYGSVPYKEGYYFDIWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 65	DNA VH	CAAGTGCAACTCCAGCAGTCAGGACCGGGGTTGGTCAAGCCTTCG CAGACCCTGTCCCTCACTTGCGCCATTAGCGGAGATTCGGTGTCG TCGTCGTCAGCCGCCTGGAACTGGATTAGACAGTCCCCTTCCCGA GGGCTGGAGTGGCTGGGCCACATCGGATACCGCAGCAAGTGGTAC AACGAATACGCCGTCAGCGTGAAGTCACGCATCACCATCAACCCG GATACTAGCAAGAACCAGTTCAGCCTCCAGTTGAACTCCGTGACC

		CCGGAGGATACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGGGCATGTACGGA TCCGTGCCGTACAAGGAGGGATACTACTTCGACATTTGGGGCCAG GGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCG
SEQ ID NO: 76	重鏈	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSSSAAWNWIRQSPSR GLEWLGHIGYRSKWYNEYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVT PEDTAVYYCARGMYGSVPYKEGYYFDIWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
SEQ ID NO: 77	DNA 重鏈	CAAGTGCAACTCCAGCAGTCAGGACCGGGGTTGGTCAAGCCTTCG CAGACCCTGTCCCTCACTTGCGCCATTAGCGGAGATTCGGTGTCG TCGTCGTCAGCCGCCTGGAACTGGATTAGACAGTCCCCTTCCCGA GGGCTGGAGTGGCTGGGCCACATCGGATACCGCAGCAAGTGGTAC AACGAATACGCCGTCAGCGTGAAGTCACGCATCACCATCAACCCG GATACTAGCAAGAACCAGTTCAGCCTCCAGTTGAACTCCGTGACC CCGGAGGATACCGCCGTGTACTACTGTGCGCGGGGCATGTACGGA TCCGTGCCGTACAAGGAGGGATACTACTTCGACATTTGGGGCCAG GGGACTCTTGTCACCGTGTCCTCGGCCTCCACTAAGGGCCCGTCA GTGTTCCCCCTTGCGCCATCCTCGAAGTCAACCTCCGGAGGAACT GCCGCACTGGGTTGCCTCGTGAAAGACTATTTCCCGGAACCCGTC ACTGTCTCCTGGAACTCAGGAGCGCTCACCAGCGGAGTGCATACC TTTCCTGCGGTGCTGCAGTCCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCTCC GTCGTGACCGTCCCCTCGTCGTCCCTGGGAACCCAAACCTACATT TGCAACGTCAATCACAAGCCAAGCAACACTAAGGTGGACAAGAGA GTGGAGCCCAAGTCCTGCGATAAGACCCACACCTGTCCTCCCTGT CCGGCACCTGAACTGCTTGGTGGACCTTCCGTGTTCCTGTTCCCG CCCAAGCCAAAAGACACCCTGTATATCACTCGCGAACCGGAAGTC ACTTGCGTGGTCGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTCAAG TTTAATTGGTACGTGGACGGAGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACC AAGCCGCGGGAAGAACAGTACAACTCCACCTACCGCGTGGTGTCC GTCCTGACTGTGCTCCACCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTAC AAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCACTGCCAGCCCCTATCGAAAAG ACTATCTCCAAGGCCAAGGGCCAACCTAGGGAGCCCCAGGTGTAC ACGTTGCCTCCTTCCCGCGAAGAAATGACTAAGAACCAGGTGTCG CTGACCTGTCTCGTGAAAGGGTTCTACCCCTCTGACATCGCCGTG GAATGGGAGTCAAACGGACAGCCTGAGAACAACTATAAGACCACA CCACCTGTCCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTGTACTCAAAG TTGACCGTGGACAAGTCGCGGTGGCAACAGGGCAACGTGTTCTCT TGCTCCGTGATGCACGAAGCCCTGCACAACCACTACACCCAAAAG TCGCTCAGCCTCTCCCCCGGAAAG
SEQ ID NO: 54	LCDR1（組合的）	RASQGISSDLN
SEQ ID NO: 55	LCDR2（組合的）	AASNLQS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（組合的）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 54	LCDR1（卡巴特）	RASQGISSDLN
SEQ ID NO: 55	LCDR2（卡巴特）	AASNLQS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（卡巴特）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 57	LCDR1（喬西亞）	SQGISSD
SEQ ID NO: 58	LCDR2（喬西亞）	AAS
SEQ ID NO: 59	LCDR3（喬西亞）	YTDESM
SEQ ID NO: 60	LCDR1（IMGT）	QGISSD
SEQ ID NO: 58	LCDR2（IMGT）	AAS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（IMGT）	QQYTDESMT
SEQ ID NO: 61	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSDLNWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YTDESMTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 68	DNA VL	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG

		GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGGAATTTCC TCCGACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACGCCGCGTCCAACTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCCAACAG TACACAGATGAATCCATGACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAG
SEQ ID NO: 63	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSDLNWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YTDESMTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 69	DNA 輕鏈	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCGTCGTCCCTGTCCGCATCCGTG GGCGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCTCACAGGGAATTTCC TCCGACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAG CTGCTGATCTACGCCGCGTCCAACTTGCAATCGGGAGTGCCAAGC CGCTTTTCTGGTTCCGGGAGCGGGACTGACTTCACCCTGACTATT AGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTCGCTACCTACTACTGCCAACAG TACACAGATGAATCCATGACCTTCGGACAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCC AGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTG CTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAG CAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAG GTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAAC AGGGGCGAGTGC
MOR042596		
SEQ ID NO: 4	HCDR1（組合的）	GYTFTGYHMS
SEQ ID NO: 5	HCDR2（組合的）	VINPVSGNTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3（組合的）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 7	HCDR1（卡巴特）	GYHMS
SEQ ID NO: 5	HCDR2（卡巴特）	VINPVSGNTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3（卡巴特）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 8	HCDR1（喬西亞）	GYTFTGY
SEQ ID NO: 9	HCDR2（喬西亞）	NPVSGN
SEQ ID NO: 6	HCDR3（喬西亞）	IPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 10	HCDR1（IMGT）	GYTFTGYH
SEQ ID NO: 11	HCDR2（IMGT）	INPVSGNT
SEQ ID NO: 12	HCDR3（IMGT）	ARIPSYTYAFDY
SEQ ID NO: 13	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYHMSWVRQAPGQGL EWMGVINPVSGNTVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSED TAVYYCARIPSYTYAFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 14	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCGGAAGTGAAAAAACCGGGT GCCAGCGTGAAAGTTAGCTGCAAAGCGTCCGGATATACCTTCACT GGTTACCATATGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCCGGGCCAGGGCCTC GAGTGGATGGGCGTTATCAACCCGGTTTCTGGCAACACGGTTTAC GCGCAGAAATTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGC ATTAGCACCGCGTATATGGAACTGAGCCGTCTGCGTAGCGAAGAT ACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTATCCCGTCTTACACTTACGCT TTCGATTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 15	重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYHMSWVRQAPGQGL EWMGVINPVSGNTVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSED TAVYYCARIPSYTYAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS

		FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 16	DNA 重鏈	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCGGAAGTGAAAAAACCGGGT GCCAGCGTGAAAGTTAGCTGCAAAGCGTCCGGATATACCTTCACT GGTTACCATATGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCCGGGCCAGGGCCTC GAGTGGATGGGCGTTATCAACCCGGTTTCTGGCAACACGGTTTAC GCGCAGAAATTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGC ATTAGCACCGCGTATATGGAACTGAGCCGTCTGCGTAGCGAAGAT ACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTATCCCGTCTTACACTTACGCT TTCGATTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGCTCAGCC TCCACCAAGGGTCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC TACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTG ACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGA CTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTG GGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACT CACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCAGCGGGGGGACCG TCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG GTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGG CTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC CCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
SEQ ID NO: 17	LCDR1（組合的）	RASQDISNYLA
SEQ ID NO: 18	LCDR2（組合的）	RASSLQS
SEQ ID NO: 78	LCDR3（組合的）	QQHGHSPTT
SEQ ID NO: 17	LCDR1（卡巴特）	RASQDISNYLA
SEQ ID NO: 18	LCDR2（卡巴特）	RASSLQS
SEQ ID NO: 78	LCDR3（卡巴特）	QQHGHSPTT
SEQ ID NO: 20	LCDR1（喬西亞）	SQDISNY
SEQ ID NO: 21	LCDR2（喬西亞）	RAS
SEQ ID NO: 79	LCDR3（喬西亞）	HGHSPT
SEQ ID NO: 23	LCDR1（IMGT）	QDISNY
SEQ ID NO: 21	LCDR2（IMGT）	RAS
SEQ ID NO: 78	LCDR3（IMGT）	QQHGHSPTT
SEQ ID NO: 80	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKAPK LLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HGHSPTTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 81	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTG GGCGATCGCGTGACCATTACCTGCAGAGCCAGCCAGGACATTTCT AACTACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGCGCCGAAA CTATTAATCTACCGTGCTTCTTCTCTGCAAAGCGGCGTGCCGAGC CGCTTTAGCGGCAGCGGATCCGGCACCGATTTCACCCTGACCATT AGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTATTATTGCCAGCAG CATGGTCATTCTCCGACTACCTTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAA ATTAAA
SEQ ID NO: 82	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKAPK LLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HGHSPTTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 83	DNA 輕鏈	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTG GGCGATCGCGTGACCATTACCTGCAGAGCCAGCCAGGACATTTCT

		AACTACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGCGCCGAAA CTATTAATCTACCGTGCTTCTTCTCTGCAAAGCGGCGTGCCGAGC CGCTTTAGCGGCAGCGGATCCGGCACCGATTTCACCCTGACCATT AGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTATTATTGCCAGCAG CATGGTCATTCTCCGACTACCTTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAA ATTAAACGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCC AGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTG CTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAAAGCGTCACCGAG CAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAG GTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAAC CGGGGCGAGTGT
MOR041877		
SEQ ID NO: 84	HCDR1(組合的)	GFSLSTSGVGVS
SEQ ID NO: 85	HCDR2(組合的)	LIFSDHDKIYSTSLKT
SEQ ID NO: 86	HCDR3(組合的)	TLIDRSVYFDY
SEQ ID NO: 87	HCDR1(卡巴特)	TSGVGVS
SEQ ID NO: 85	HCDR2(卡巴特)	LIFSDHDKIYSTSLKT
SEQ ID NO: 86	HCDR3(卡巴特)	TLIDRSVYFDY
SEQ ID NO: 88	HCDR1(喬西亞)	GFSLSTSGV
SEQ ID NO: 89	HCDR2(喬西亞)	FSDHD
SEQ ID NO: 86	HCDR3(喬西亞)	TLIDRSVYFDY
SEQ ID NO: 90	HCDR1（IMGT）	GFSLSTSGVG
SEQ ID NO: 91	HCDR2（IMGT）	IFSDHDK
SEQ ID NO: 92	HCDR3（IMGT）	ARTLIDRSVYFDY
SEQ ID NO: 93	VH	QVQLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGVGVSWIRQPPGK ALEWLALIFSDHDKIYSTSLKTRLTISKDTSKNQVVLTMTNMDPV DTATYYCARTLIDRSVYFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 94	DNA VH	CAGGTGCAATTGAAAGAAAGCGGTCCGGCGCTGGTGAAACCGACC CAGACCCTGACCCTGACGTGCACCTTTTCCGGATTCAGCCTGTCT ACTTCCGGTGTTGGTGTGAGCTGGATTCGCCAGCCGCCGGGCAAA GCGCTCGAGTGGCTGGCGCTGATCTTCTCTGACCATGACAAGATC TATAGCACCAGCCTGAAAACCCGTCTGACCATTAGCAAAGATACT TCGAAAAACCAGGTGGTGCTGACCATGACCAACATGGACCCGGTG GATACCGCGACCTATTATTGCGCGCGTACTCTGATCGACCGTTCT GTTTACTTCGATTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGC TCA
SEQ ID NO: 95	重鏈	QVQLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGVGVSWIRQPPGK ALEWLALIFSDHDKIYSTSLKTRLTISKDTSKNQVVLTMTNMDPV DTATYYCARTLIDRSVYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K
SEQ ID NO: 96	DNA 重鏈	CAGGTGCAATTGAAAGAAAGCGGTCCGGCGCTGGTGAAACCGACC CAGACCCTGACCCTGACGTGCACCTTTTCCGGATTCAGCCTGTCT ACTTCCGGTGTTGGTGTGAGCTGGATTCGCCAGCCGCCGGGCAAA GCGCTCGAGTGGCTGGCGCTGATCTTCTCTGACCATGACAAGATC TATAGCACCAGCCTGAAAACCCGTCTGACCATTAGCAAAGATACT TCGAAAAACCAGGTGGTGCTGACCATGACCAACATGGACCCGGTG GATACCGCGACCTATTATTGCGCGCGTACTCTGATCGACCGTTCT GTTTACTTCGATTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGC TCAGCCTCCACCAAGGGTCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCC TCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTC AAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGC GCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCC

		TCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC AGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCC AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGAC AAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCAGCGGGG GGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAG GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGG CAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAG GAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC TTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGAC GGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGG TGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT AAA
SEQ ID NO: 97	LCDR1（組合的）	SGSSSNIGHHYVS
SEQ ID NO: 98	LCDR2（組合的）	DNTNRPS
SEQ ID NO: 99	LCDR3（組合的）	ATWDGLMNSIV
SEQ ID NO: 97	LCDR1（卡巴特）	SGSSSNIGHHYVS
SEQ ID NO: 98	LCDR2（卡巴特）	DNTNRPS
SEQ ID NO: 99	LCDR3（卡巴特）	ATWDGLMNSIV
SEQ ID NO: 100	LCDR1（喬西亞）	SSSNIGHHY
SEQ ID NO: 101	LCDR2（喬西亞）	DNT
SEQ ID NO: 102	LCDR3（喬西亞）	WDGLMNSI
SEQ ID NO: 103	LCDR1（IMGT）	SSNIGHHY
SEQ ID NO: 101	LCDR2（IMGT）	DNT
SEQ ID NO: 99	LCDR3（IMGT）	ATWDGLMNSIV
SEQ ID NO: 104	VL	DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGHHYVSWYQQLPGTAP KLLIYDNTNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCA TWDGLMNSIVFGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 105	DNA VL	GATATCGTGCTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAGCGGTGCACCGGGC CAGCGCGTGACCATTAGCTGTAGCGGCAGCAGCAGCAACATTGGT CATCATTACGTGTCTTGGTACCAGCAGCTGCCGGGCACGGCGCCG AAACTGCTGATCTACGACAACACTAACCGCCCGAGCGGCGTGCCG GATCGCTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCCAGCCTGGCG ATTACCGGCCTGCAAGCAGAAGACGAAGCGGATTATTACTGCGCT ACTTGGGACGGTCTGATGAACTCTATCGTGTTTGGCGGCGGCACG AAGTTAACCGTCCTA
SEQ ID NO: 106	輕鏈	DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGHHYVSWYQQLPGTAP KLLIYDNTNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCA TWDGLMNSIVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKAT LVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 107	DNA 輕鏈	GATATCGTGCTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAGCGGTGCACCGGGC CAGCGCGTGACCATTAGCTGTAGCGGCAGCAGCAGCAACATTGGT CATCATTACGTGTCTTGGTACCAGCAGCTGCCGGGCACGGCGCCG AAACTGCTGATCTACGACAACACTAACCGCCCGAGCGGCGTGCCG GATCGCTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCCAGCCTGGCG ATTACCGGCCTGCAAGCAGAAGACGAAGCGGATTATTACTGCGCT ACTTGGGACGGTCTGATGAACTCTATCGTGTTTGGCGGCGGCACG AAGTTAACCGTCCTAGGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACT CTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACA CTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTG GCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACC ACCACACCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGC TATCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTAC AGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTG

		GCCCCTACAGAATGTTCA

【0111】在一些實施方式中，hTREM2抗體或其抗原結合片段包含具有表1中所述之任何VH結構域的胺基酸序列的VH結構域。其他合適的hTREM2抗體或其抗原結合片段可以包括已經突變的胺基酸，但在VH結構域中與在表1中描述的序列中描描繪的VH區具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在某些實施方式中，本揭露還提供了特異性結合人TREM2的抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或抗體片段（例如，抗原結合片段）包含具有表1中列出的HCDR中的任何一個的胺基酸序列的VH CDR。在具體的實施方式中，本發明提供特異性結合人TREM2的抗體或抗體片段（例如，抗原結合片段），其包含一個、兩個、三個、四個、五個或更多個具有表1中列出的HCDR中的任何一個的胺基酸序列的VH CDR（或可替代地，由其組成）。

【0112】在一些實施方式中，hTREM2抗體或抗體片段（例如，抗原結合片段）包含具有表1中所述之任何VL結構域的胺基酸序列的VL結構域。其他合適的抗人TREM2抗體或抗體片段（例如抗原結合片段）可包括如下胺基酸，該等胺基酸已經突變但在VL結構域中與表1中描述的序列中描繪的VL區具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。本公開還提供了特異性結合人TREM2的抗體或抗體片段（例如，抗原結合片段），該等抗體或抗體片段（例如，抗原結合片段）包含具有表1中列出的LCDR中的任何一個的胺基酸序列的VL CDR。具體地，本發明提供了特異性結合人TREM2的抗體或抗體片段（例如，抗原結合片段），該等抗體或抗體片段包含一個、兩個、三個或更

多個具有表1中列出的LCDR中的任何一個的胺基酸序列的VL CDR（或可替代地，由其組成）。

【0113】本文公開的其他抗人TREM2抗體或抗體片段（例如抗原結合片段）包括如下胺基酸，該等胺基酸已經突變但在CDR區中與表1中描述的序列中描繪的CDR區具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在一些實施方式中，其包括突變胺基酸序列，其中當與表1中描述的序列中描繪的CDR區相比時，CDR區中不超過1、2、3、4或5個胺基酸已經突變。

【0114】本文還提供了編碼特異性結合人TREM2（例如表1中的核酸序列）的抗體及其抗原結合片段的VH、VL、全長重鏈和全長輕鏈的核酸序列。此類核酸序列可以針對在預期的宿主細胞例如哺乳動物細胞中的表現進行優化。

【0115】本文公開的其他抗人TREM2抗體包括如下那些抗體，其中該等胺基酸或編碼該等胺基酸的核酸已經突變但與表1中描述的序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在一些實施方式中，抗體或其抗原結合片段包括突變胺基酸序列，其中當與表1中描述的序列中描繪的可變區相比時，在可變區中不超過1、2、3、4或5個胺基酸已經突變，但同時基本上保持相同的治療活性。

【0116】由於每種提供的抗體與人TREM2結合，因此VH、VL、全長輕鏈和全長重鏈序列（胺基酸序列和編碼該胺基酸序列的核苷酸序列）可以是「混合且匹配的」以產生本文揭露的其他TREM2結合抗體。可以使用本領域已知的結合測定法（例如，ELISA，實例中描述的測定法）測試這種「混合且匹配的」TREM2結合抗體。當鏈被混合且匹配時，來自特定VH/VL配對的VH序列應當用結構上相似的VH序列置換。來自特定全長重鏈/全長輕鏈配對的全長重鏈序列應

當用結構上相似的全長重鏈序列置換。來自特定VH/VL配對的VL序列應當用結構上相似的VL序列置換。來自特定全長重鏈/全長輕鏈配對的全長輕鏈序列應當用結構上相似的全長輕鏈序列置換。

【0117】因此，在一個實施方式中，本發明提供了分離的單株抗體或其抗原結合片段，該單株抗體或其抗原結合片段具有：重鏈可變區（VH），其包含選自SEQ ID NO: 13和50中任一個的胺基酸序列；和輕鏈可變區（VL），其包含選自SEQ ID NO: 24和61中任一個的胺基酸序列；其中該抗體特異性結合人TREM2。

【0118】在另一個實施方式中，本發明提供了 (i) 分離的單株抗體，該單株抗體具有：包含選自SEQ ID NO: 15、29、33、35、37、39、52、66、70、72、74、76中任一個的胺基酸序列的全長重鏈（HC）；和包含選自SEQ ID NO: 26和63中任一個的胺基酸序列的全長輕鏈（LC）；或 (ii) 一種包含其抗原結合部分的功能性蛋白。

【0119】在另一個實施方式中，本公開提供了人TREM2結合抗體或其抗體片段，該抗體或其抗體片段包含如表1中所述之重鏈CDR1、CDR2和CDR3以及輕鏈CDR1、CDR2和CDR3，或其組合。抗體的HCDR1的胺基酸序列顯示在SEQ ID NO: 4、7、8、10、41、44、45、47中。抗體的HCDR2的胺基酸序列顯示在SEQ ID NO: 5、9、11、42、46、48中。抗體的HCDR3的胺基酸序列顯示在SEQ ID NO: 6、12、43、49中。抗體的LCDR1的胺基酸序列顯示在SEQ ID NO: 17、20、23、54、57、60中。抗體的LCDR2的胺基酸序列顯示在SEQ ID NO: 18、21、55、58中。抗體的LCDR3的胺基酸序列顯示在SEQ ID NO: 19、22、56、59、56中。

【0120】鑒於該等抗體中的每一種都可以與TREM2結合且抗原結合特異性主要由CDR1、CDR2和CDR3區提供，VH CDR1、CDR2和CDR3序列以及VL CDR1、CDR2和CDR3序列可以是「混合且匹配的」（即，來自不同抗體的CDR可以被混合且匹配），但每種抗體必須含有VH CDR1、CDR2和CDR3以及VL CDR1、CDR2和CDR3以產生本文揭露的其他TREM2結合分子。可以使用本領域已知的結合測定和實例中描述的那些結合測定（例如，ELISA）來測試此類「混合且匹配的」TREM2結合抗體。當混合並匹配VH CDR序列時，來自特定VH序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列應當置換為一種或多種結構上相似的CDR序列。同樣，當混合並匹配VL CDR序列時，來自特定VL序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列應當置換為一種或多種結構上相似的CDR序列。對於熟悉該項技術者來說容易清楚的是，可以藉由用來自本文針對本發明單株抗體所示的CDR序列的結構相似序列取代一個或多個VH和/或VL CDR區序列來產生新穎的VH和VL序列。

【0121】因此，本揭露提供了一種分離的單株抗體或其抗原結合區，該分離的單株抗體或其抗原結合區包含：重鏈CDR1，其包含選自由SEQ ID NO: 4、7、8、10、41、44、45、47組成的群組的胺基酸序列；重鏈CDR2，其包含選自由SEQ ID NO: 5、9、11、42、46和48組成的群組的胺基酸序列；重鏈CDR3，其包含選自由SEQ ID NO: 6、12、43、49組成的群組的胺基酸序列；輕鏈CDR1，其包含選自由SEQ ID NO: 17、20、23、54、57、60組成的群組的胺基酸序列；輕鏈CDR2，其包含選自由SEQ ID NO: 18、21、55、58組成的群組的胺基酸序列；和輕鏈CDR3，其包含選自由SEQ ID NO: 19、22、56、59、56組成的群組的胺基酸序列；其中該抗體特異性結合人TREM2。

【0122】在某些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體係表1中描述的抗體或抗體片段（例如，抗原結合片段）。在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體或其抗原結合區包含：重鏈互補決定區1（HCDR1），其包含SEQ ID NO: 4、7、8或10的胺基酸序列；重鏈互補決定區2（HCDR2），其包含SEQ ID NO: 5、9或11的胺基酸序列；重鏈互補決定區3（HCDR3），其包含SEQ ID NO: 6或12的胺基酸序列；輕鏈互補決定區1（LCDR1），其包含SEQ ID NO: 17、20或23的胺基酸序列；輕鏈互補決定區2（LCDR2），其包含SEQ ID NO: 18或21的胺基酸序列；和輕鏈互補決定區3（LCDR3），其包含SEQ ID NO: 19或22的胺基酸序列。

【0123】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體或其抗原結合區包含：HCDR1，其包含SEQ ID NO: 41、44、45或47的胺基酸序列；HCDR2，其包含SEQ ID NO: 42、46或48的胺基酸序列；HCDR3，其包含SEQ ID NO: 43或49的胺基酸序列；LCDR1，其包含SEQ ID NO: 54、57或60的胺基酸序列；LCDR2，其包含SEQ ID NO: 55或58的胺基酸序列；和LCDR3，其包含SEQ ID NO: 56或59的胺基酸序列。

【0124】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體或其抗原結合區包含重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL），該重鏈可變區（VH）包含SEQ ID NO: 13的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列），該輕鏈可變區（VL）包含SEQ ID NO: 24的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列）。

【0125】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體或其抗原結合區包含重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL），該重鏈可變區（VH）包含SEQ ID NO: 50的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列），該輕鏈可變區（VL）包含SEQ ID NO: 61的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列）。

【0126】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含SEQ ID NO: 15的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列），該輕鏈包含SEQ ID NO: 26的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列）。

【0127】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含SEQ ID NO: 29的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列），該輕鏈包含SEQ ID NO: 26的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列）。

【0128】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含SEQ ID NO: 33的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、

缺失或修飾的序列），該輕鏈包含SEQ ID NO: 26的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列）。

【0129】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含SEQ ID NO: 35的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列），該輕鏈包含SEQ ID NO: 26的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列）。

【0130】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含SEQ ID NO: 37的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列），該輕鏈包含SEQ ID NO: 26的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列）。

【0131】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含SEQ ID NO: 39的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列），該輕鏈包含SEQ ID NO: 26的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列）。

【0132】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含SEQ ID NO: 52的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列），該輕鏈包含SEQ ID NO: 63的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列）。

【0133】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含SEQ ID NO: 66的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列），該輕鏈包含SEQ ID NO: 63的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列）。

【0134】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含SEQ ID NO: 70的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列），該輕鏈包含SEQ ID NO: 63的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列）。

【0135】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含SEQ ID NO: 72的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列），該輕鏈包含SEQ ID NO: 63的胺基酸序列（或與其具有至

少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列）。

【0136】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含SEQ ID NO: 74的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列），該輕鏈包含SEQ ID NO: 63的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列）。

【0137】在一些實施方式中，特異性結合人TREM2的抗體包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含SEQ ID NO: 76的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列），該輕鏈包含SEQ ID NO: 63的胺基酸序列（或與其具有至少約90%、95%、99%或更高同一性的序列，和/或具有一個、兩個、三個或更多個取代、插入、缺失或修飾的序列）。

【0138】在一些實施方式中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段與TREM2蛋白的IgSF結構域以例如藉由表面電漿共振（SPR）測量的以下解離常數（K_D）結合：小於200 pM，例如，K_D小於150 pM、小於120 pM、小於100 pM、小於90 pM、小於70 pM、小於50 pM、小於40 pM、小於30 pM、小於20 pM、或小於10 pM。在一些較佳的實施方式中，本文提供的抗體或抗原結合片段與TREM2蛋白的IgSF結構域以小於50 pM解離常數（K_D）結合。在一些較佳的實施方式中，本文提供的抗體或抗原結合片段與TREM2蛋白的IgSF結構域以小於5 pM解離常數（K_D）結合。

【0139】一旦確定了抗原上的所需表位，就有可能例如使用本發明中所述之技術生成針對該表位的抗體。可替代地，在發現過程中，抗體的產生和表徵可以闡明關於所需表位的資訊。根據該資訊，然後可以競爭性地篩選抗體以結合相同的表位。實現該目的的方法係進行交叉競爭研究以找到彼此競爭性結合的抗體，例如抗體競爭結合抗原。在國際專利申請案號WO 2003/48731中描述了基於抗體的交叉競爭將該等抗體「分箱」的高通量方法。表位可包含抗體結合的那些殘基。

【0140】通常，對特定靶抗原有特異性的抗體將優先識別蛋白質和/或大分子的複雜混合物中靶抗原上的表位。

【0141】可以使用本領域公知的任何數量的表位作圖技術鑒定包含表位的給定多肽的區域。參見，例如Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology[分子生物學方法中的表位映射方案], 卷66（Glenn E. Morris, 編輯, 1996, Humana Press（胡瑪納出版社）, 托托華（Totowa）, 新澤西州）。例如，線性表位可以藉由例如在固體支持物上同時合成大量肽來確定，所述肽對應於蛋白質分子的部分且肽與抗體反應的同時肽仍然附著於支持物。該等技術在本領域中係已知的並且描述於，例如美國專利案號4,708,871；Geysen等人, (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA[美國國家科學院院刊] 8:3998-4002；Geysen等人, (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA[美國國家科學院院刊] 82:78-182；Geysen等人, (1986) Mol. Immunol.[分子免疫學] 23:709-715。類似地，藉由測定胺基酸的空間構象如藉由X射線晶體學和二維核磁共振，可以容易地鑒定構象表位。參見例如，Epitope Mapping Protocols[表位作圖方案]，同上。還可以使用標準抗原性和親水性圖來鑒定蛋白質的抗原區域，如使用例如可從牛津分子集團（Oxford Molecular

Group）獲得的Omiga 1.0版軟體程式計算的那些圖。該電腦程式採用Hopp/Woods方法（Hopp等人, (1981) Proc. Natl. Acad. Sci USA[美國國家科學院院刊] 78:3824-3828）用於確定抗原性曲線且採用Kyte-Doolittle技術（Kyte等人, (1982) J. Mol. Biol. [分子生物學雜誌] 157:105-132）用於親水性圖。在一些實施方式中，抗TREM2抗體特異性結合人TREM2的IgSF結構域中的表位。例如，抗TREM2抗體可以特異性結合SEQ ID NO: 1、2或3中任一個的胺基酸殘基19至132內的表位。

【0142】抗體分子可以是多株或單株抗體。單株抗體可以藉由雜交瘤技術或藉由其他方法（例如噬菌體展示或組合方法）製備。

【0143】用於產生抗體的噬菌體展示和組合方法係本領域已知的（如描述在例如，Ladner等人 美國專利案號5,223,409；Kang等人 國際公開案號WO 92/18619；Dower等人 國際公開案號WO 91/17271；Winter等人 國際公開WO 92/20791；Markland等人 國際公開案號WO 92/15679；Breitling等人 國際公開WO 93/01288；McCafferty等人 國際公開案號WO 92/01047；Garrard等人 國際公開案號WO 92/09690；Ladner等人 國際公開案號WO 90/02809；Fuchs等人 (1991) Bio/Technology [生物技術] 9:1370-1372；Hay等人 (1992) Hum Antibod Hybridomas [人類抗體雜交瘤] 3:81-85；Huse等人 (1989) Science [科學] 246:1275-1281；Griffths等人 (1993) EMBO J [歐洲分子生物學學會雜誌] 12:725-734；Hawkins等人 (1992) J Mol Biol [分子生物學雜誌] 226:889-896；Clackson等人 (1991) Nature [自然] 352:624-628；Gram等人 (1992) PNAS [美國國家科學院院刊] 89:3576-3580；Garrad等人 (1991) Bio/Technology [生物技術]

9:1373-1377；Hoogenboom等人 (1991) Nuc Acid Res [核酸研究] 19:4133-4137；和Barbas等人 (1991) PNAS [美國國家科學院院刊] 88:7978-7982）。

【0144】在一個實施方式中，抗體係人抗體（例如，在已經基因工程化為從人免疫球蛋白序列產生抗體的轉基因小鼠中製備的抗體），或非人抗體，例如齧齒動物（小鼠或大鼠）、山羊、靈長類動物（例如，猴）、駱駝抗體。

【0145】可以工程化嵌合和/或人源化抗體以使人患者對非人類受試者中產生的抗體或衍生自非人類抗體基因表現的抗體的免疫應答最小化。嵌合抗體包含非人類動物抗體可變區和人抗體恒定區。此類抗體保留了原始單株抗體的表位結合特異性，但當向人投與時可能具有較低的免疫原性，並且因此更可能被患者耐受。例如，小鼠抗體（例如小鼠單株抗體）的一條或多條輕鏈的可變區中的一個或全部（例如，一個、兩個或三個）和/或一條或多條重鏈的可變區中的一個或全部（例如，一個、兩個或三個）各自都可以連接到人恒定區，例如但不限於IgG1人恒定區。嵌合單株抗體可藉由本領域已知的重組DNA技術產生。例如，編碼非人類抗體分子的恒定區的基因可以用編碼人恒定區的基因取代（參見Robinson等人, PCT專利申請PCT/US86/02269；Akira等人, 歐洲專利申請184,187；或Taniguchi, M., 歐洲專利申請171,496）。另外，可以用於產生嵌合抗體的其他合適技術描述於例如美國專利案號4,816,567、4,978,775; 4,975,369; 和4,816,397。

【0146】藉由用來自人可變區的等效部分替換不參與抗原結合的可變區的部分，可以進一步「人源化」嵌合抗體。人源化抗體包含可變區中的一個或多個人框架區以及重鏈和/或輕鏈的非人（例如小鼠、大鼠或倉鼠）互補決定區（CDR）。在一些實施方式中，人源化抗體包含除CDR區外的完全人序列。相

對於非人源化抗體，人源化抗體通常對人類的免疫原性較低，並且因此在某些情況下提供治療益處。可以使用本領域已知的方法產生人源化TREM2抗體。參見例如Hwang等人, Methods[方法] 36:35, 2005；Queen等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.[美國國家科學院院刊] 86:10029-10033, 1989；Jones等人, Nature[自然] 321:522-25, 1986；Riechmann等人, Nature[自然] 332:323-27, 1988；Verhoeyen等人, Science[科學] 239:1534-36, 1988；Orlandi等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.[美國國家科學院院刊] 86:3833-3837, 1989；美國專利案號5,225,539；5,530,101；5,585,089；5,693,761；5,693,762；和6,180,370；以及WO 90/07861。

【0147】 可以使用本領域已知的方法生成人TREM2抗體。例如，人類工程化技術用於將非人抗體轉化為工程化人抗體。美國專利公開案號20050008625描述了一種體內方法，其用於採用抗體中的人可變區替代非人抗體可變區，同時保持相對於非人抗體的相同結合特徵或提供更好的結合特徵的體內方法。該方法依賴於表位引導的採用完全人抗體置換非人參考抗體的可變區。得到的人抗體通常與參考非人抗體在結構上不相關，但結合與參考抗體的相同抗原上的相同表位。簡而言之，在存在響應測試抗體與抗原的結合的報告系統的情況下，藉由在細胞中「競爭物」和參考抗體（「測試抗體」）的多種雜合體的文庫之間建立針對結合有限量的抗原的競爭來實現連續表位引導的互補替代方法。競爭物可以是參考抗體或其衍生物，如單鏈Fv片段。競爭物也可以是抗原的天然或人工配位基，其結合與參考抗體相同的表位。對競爭物的唯一要求係它結合與參考抗體相同的表位，並且它與參考抗體競爭抗原結合。測試抗體具有來自非人參考抗體的一個共同的抗原結合V區，以及從多種來源（如人抗體的文庫）中隨機選擇的另一個V區。來自參考抗體的共同V區用作指導，從而將測試抗體

定位在抗原上的相同表位上並且以相同方向定位，使得選擇偏向於對參考抗體的最高抗原結合保真度。

【0148】許多類型的報告系統可用於檢測測試抗體與抗原之間的所需的相互作用。例如，互補報告片段可以分別與抗原和測試抗體連接，使得藉由片段互補的報告基因激活僅在該測試抗體與該抗原結合時發生。當測試抗體和抗原報告片段融合物與競爭物共表現時，報告基因激活變得依賴於測試抗體與競爭物競爭的能力，該能力與測試抗體對抗原的親和力成正比。可以使用的其他報告系統包含如美國專利申請案號10/208,730（公開案號20030198971）中揭露的自身抑制的報告基因再激活系統（RAIR）或美國專利申請案號10/076,845（公開案號20030157579）中揭露的競爭激活系統的再激活物。

【0149】利用連續表位引導的互補替代系統，進行選擇以鑒定表現單個測試抗體以及競爭物、抗原和報告組分的細胞。在該等細胞中，每種測試抗體與競爭物一對一競爭結合有限量的抗原。報告基因的活性與結合至測試抗體的抗原的量成正比，而結合至測試抗體的抗原的量與測試抗體對抗原的親和力和測試抗體的穩定性成比例。當表現為測試抗體時，測試抗體最初基於其相對於參考抗體的活性進行選擇。第一輪選擇的結果係一組「雜合」抗體，其中每個抗體由來自參考抗體的相同非人V區和來自文庫的人V區組成，並且每個抗體都結合與參考抗體相同的抗原表位。在第一輪中選擇的一種或多種雜合抗體具有與參考抗體相當或更高的對抗原的親和力。

【0150】在第二V區置換步驟中，在第一步中選擇的人V區用作指導，用於選擇其餘非人參考抗體V區進行多樣的同源人V區文庫的人置換。在第一輪中選擇的雜合抗體也可以用作對於第二輪選擇的競爭物。第二輪選擇的結果係一

組完全人抗體，其在結構上不同於參考抗體，但其與參考抗體競爭結合相同抗原。一些選擇的人抗體結合與參考抗體的相同抗原上的相同表位。在該等選擇的人抗體中，一種或多種以相當於或比參考抗體的親和力更高的親和力與相同表位結合。

【0151】在一些實施方式中，本發明提供了抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段結合人TREM2蛋白並促進TREM2依賴性生理活性，例如，增強吞噬作用（例如在hM2A巨噬細胞或人iPS衍生的小膠質細胞樣細胞中，或在腦的小膠質細胞/巨噬細胞中），增強人iPS衍生的小膠質細胞樣細胞的趨化性，增加人單核細胞系中的NFAT驅動的報告基因活性，或增加hM2A巨噬細胞中的Syk磷酸化。這種促進和/或增強可以是例如至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%。

工程化和修飾的抗體

【0152】本發明的抗體可以使用具有表 1 中描述的 VH 和/或 VL 序列中的一種或多種的抗體作為起始材料來製備，以將修飾的抗體工程化，該修飾的抗體可以具有與起始抗體相比改變的特性。可以藉由修飾一個或兩個可變區（即 VH 和/或 VL）內例如在一個或多個 CDR 區內和/或在一個或多個框架區內的一個或多個殘基將抗體工程化。另外或可替代地，可以藉由修飾一個或多個恒定區內的殘基將抗體工程化，例如從而改變抗體的一個或多個效應子功能。

【0153】可以進行的一種可變區工程化係 CDR 移植。抗體主要藉由位於六個重鏈和輕鏈互補決定區（CDR）中的胺基酸殘基與靶抗原相互作用。因此，CDR 內的胺基酸序列在各個抗體之間比 CDR 外部的序列更加多樣化。因為 CDR 序列與大多數抗體-抗原相互作用有關，所以可以藉由構建表現載體來表現模擬

特定天然存在的抗體的特性的重組抗體，該表現載體包含被移植在來自具有不同特性的不同抗體的框架序列上的來自該特定天然存在的抗體的 CDR 序列（參見例如，Riechmann, L.等人, 1998 Nature[自然] 332:323-327；Jones, P.等人, 1986 Nature[自然] 321:522-525；Queen, C.等人, 1989 Proc. Natl. Acad., U.S.A.[美國國家科學院院刊] 86:10029-10033；Winter 的美國專利案號 5,225,539 和 Queen 等人的美國專利案號 5,530,101、5,585,089、5,693,762 和 6,180,370）。

【0154】此類框架序列可以從包含種系抗體基因序列或重新排列的抗體序列的公共 DNA 數據庫或公開參考文獻獲得。例如，人重鏈和輕鏈可變區基因的種系 DNA 序列可以在「VBase」人種系序列數據庫（可從網際網路 www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase 獲得）中找到，以及在卡巴特, E. A.,等人, 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫學相關蛋白質序列],第五版, 美國衛生與公眾服務部（U.S. Department of Health and Human Services）, NIH 公開案號 91-3242；Tomlinson, I. M.,等人, 1992 J. fol. Biol. 227:776-798；和 Cox, J. P. L.等人., 1994 Eur. J Immunol.[歐洲免疫學雜誌] 24:827-836；其中的每一個的內容藉由引用明確地併入本文。例如，人重鏈和輕鏈可變區基因的種系 DNA 序列和重新排列的抗體序列可以在「IMGT」數據庫（可從網際網路 www.imgt.org 獲得；參見 Lefranc, M.P.等人, 1999 Nucleic Acids Res.[核酸研究] 27:209-212）中找到；其中的每一個的內容藉由引用明確地併入本文）。

【0155】用於本發明的抗體及其抗原結合片段的框架序列的實例係與本發明的選擇的抗體及其抗原結合片段所使用的框架序列在結構上相似的那些序列，例如，共有序列和/或本發明的單株抗體使用的框架序列。可以將 VH CDR1、2 和 3 序列以及 VL CDR1、2 和 3 序列移植到框架區上，該等框架區具有與框架

序列所來源的種系免疫球蛋白基因中發現的序列相同的序列，或可以將 CDR 序列移植到與種系序列相比含有一個或多個突變的框架區上。例如，已經發現在某些情況下使框架區內的殘基突變以維持或增強抗體的抗原結合能力係有益的（參見例如，Queen 等人的美國專利案號 5,530,101、5,585,089、5,693,762 和 6,180,370）。

【0156】另一種類型的可變區修飾係使 VH 和/或 VL CDR1、CDR2 和/或 CDR3 區內的胺基酸殘基突變，從而改善感興趣的抗體的一種或多種結合特性（例如，親和力），稱為「親和力成熟」。可以進行定點誘變或 PCR 介導的誘變以引入一個或多個突變，並且可以在如本文所述且在實例中提供的體外或體內測定中評估對抗體結合或其他感興趣的功能特性的影響。可以引入保守修飾（如上所討論的）。所述突變可以是胺基酸取代、添加或缺失。此外，通常 CDR 區內不超過一個、兩個、三個、四個或五個殘基被改變。

【0157】可以使用多種抗體/免疫球蛋白框架或支架，只要所得多肽包含至少一個特異性結合 TREM2 的結合區即可。這種框架或支架包括 5 種主要獨特型的人免疫球蛋白、其抗原結合片段，並且包括其他動物物種的免疫球蛋白，較佳的是具有人源化特徵。就這點而言，單個重鏈抗體如在駱駝科動物中鑒定的那些抗體係特別令人感興趣的。熟悉該項技術者將繼續發現和開發新的框架、支架和片段。

【0158】在一個方面，本發明涉及使用非免疫球蛋白支架生成基於非免疫球蛋白的抗體之方法，在所述非免疫球蛋白支架上可以移植本發明的 CDR。可以使用已知的或未來的非免疫球蛋白框架和支架，只要它們包含對靶 TREM2 蛋白有特異性的結合區即可。已知的非免疫球蛋白框架或支架包括但不限於纖網

蛋白（化合物治療劑公司（Compound Therapeutics, Inc.）, 沃爾瑟姆（Waltham）, 麻塞諸塞州（Mass.））、錨蛋白（分子配偶體公司（Molecular Partners AG, 蘇黎世（Zurich）, 瑞士（Switzerland））、結構域抗體（Domantis, Ltd., 坎布裡奇（Cambridge）, 麻塞諸塞州（Mass.）, 和 Ablynx nv, Zwijnaarde, 比利時）、脂質運載蛋白（Pieris Proteolab AG, 弗賴辛（Freising）, 德國）、小型模組化免疫藥物（Trubion Pharmaceuticals Inc., 西雅圖（Seattle）, 華盛頓州（Wash.））、maxybody（Avidia, Inc., 山景城（Mountain View）, 加利福尼亞州（Calif.））、蛋白質 A（親合體公司（Affibody AG）, 瑞典）和 affilin（γ-晶體蛋白或泛素）（SciI Proteins GmbH, 哈雷（Halle）, 德國）。

【0159】 纖網蛋白支架基於纖網蛋白 III 型結構域（例如，III 型纖網蛋白的第十個模組（10 Fn3 結構域））。纖網蛋白 III 型結構域具有分佈在兩個 β 片層之間的 7 或 8 個 β 股，它們自身彼此包裹以形成蛋白質的核心且還含有將 β 股彼此連接且暴露於溶劑中的環（類似於 CDR）。在 β 片層夾心的每個邊緣處存在至少三個這樣的環，其中該邊緣係垂直於 β 股方向的蛋白質的邊界（參見美國專利案號 6,818,418）。該等基於纖網蛋白的支架不是免疫球蛋白，但整體折疊與最小功能性抗體片段（重鏈可變區）的折疊密切相關，該最小功能性抗體片段包含駱駝和美洲駝 IgG 中的完整抗原識別單元。由於這種結構，非免疫球蛋白抗體模擬抗原結合特性，其在特性和親和力上與抗體的那些抗原結合特性相似。該等支架可用於體外環隨機化和改群組原則，其類似於體內抗體親和力成熟的過程。該等基於纖網蛋白的分子可以用作支架，其中可以使用標準選殖技術用本發明的 CDR 置換分子的環區。

駱駝科動物抗體

【0160】從包括新的世界成員如美洲駝物種（Lama paccos、大羊駝和瘦駝）在內的駱駝和單峰駱駝（雙峰駱駝和 Calelus dromaderius）家族成員獲得的抗體蛋白質已經關於大小、結構複雜性和對於人類受試者的抗原性進行了表徵。來自自然界中發現的該哺乳動物家族的某些 IgG 抗體缺乏輕鏈，因此在結構上不同於來自其他動物的抗體的具有兩條重鏈和兩條輕鏈的典型四鏈四級結構。參見 PCT/EP93/02214（1994 年 3 月 3 日公開的 WO 94/04678）。

【0161】藉由基因工程化獲得駱駝科動物抗體的區域（它係被鑒定為 VHH 的小的單個可變結構域）以產生對靶標具有高親和力的小蛋白質，從而產生稱為「駱駝科動物奈米抗體」的低分子量抗體衍生蛋白。參見提交於 1998 年 6 月 2 日的美國專利案號 5,759,808；還參見 Stijlemans, B.等人, 2004 J Biol Chem [生物化學雜誌]279: 1256-1261；Dumoulin, M.等人, 2003 Nature [自然]424: 783-788；Pleschberger, M.等人, 2003 Bioconjugate Chem [生物軛合化學]14: 440-448；Cortez-Retamozo, V.等人, 2002 Int J Cancer [國際癌症雜誌]89: 456-62；和 Lauwereys, M.等人, 1998 EMBO J [歐洲分子生物學組織雜誌]17: 3512-3520。駱駝科動物抗體和抗體片段的工程化文庫可例如從比利時根特（Ghent）的 Ablynx 公司商購獲得。與非人來源的其他抗體及其抗原結合片段一樣，可以重組改變駱駝科動物抗體的胺基酸序列以獲得更接近地類似於人序列的序列，即奈米抗體可以是「人源化的」。因此，可以進一步降低駱駝科動物抗體對人的天然低抗原性。

【0162】駱駝科動物奈米抗體的分子量為人 IgG 分子的約十分之一，並且該蛋白質的物理直徑僅為幾奈米。小尺寸的一個結果係駱駝科動物奈米抗體結合抗原位點的能力，該等抗原位點對於較大的抗體蛋白質係功能上不可見的，

即，駱駝科動物奈米抗體可用作檢測對於使用經典免疫學技術而言隱蔽的抗原的試劑，以及可用作可能的治療劑。因此，小尺寸的又另一個結果係駱駝科動物奈米抗體可以由於結合靶蛋白的溝槽或狹窄裂縫中的特異性位點而抑制，因此可以具有與經典抗體相比更接近地類似於經典低分子量藥物的功能的能力。

【0163】低分子量和緊湊的尺寸還導致駱駝科動物奈米抗體極其熱穩定、對極端 pH 和蛋白水解消化穩定，並且抗原性差。另一個結果係駱駝科動物奈米抗體容易從循環系統移動到組織中，甚至穿過血腦屏障並且可以治療影響神經組織的障礙。奈米抗體還可以促進跨越血腦屏障的藥物轉運。參見 2004 年 8 月 19 日公開的美國專利申請 20040161738。該等特徵與對人的低抗原性相結合顯示了巨大的治療潛力。此外，該等分子可以在原核細胞如大腸桿菌中完全表現，並且表現為具有噬菌體的融合蛋白並且是功能性的。

【0164】因此，本發明的特徵係對 TREM2 具有高親和力的駱駝科動物抗體或奈米抗體。在本文的一個實施方式中，駱駝科動物抗體或奈米抗體在駱駝科動物中天然產生，即，在使用對於其他抗體的本文所述之技術用 TREM2 或其肽片段免疫後，由駱駝科動物產生。可替代地，結合 TREM2 的駱駝科動物奈米抗體被工程化，即如本文實例中所述藉由以 TREM2 為靶標使用淘選程序，例如從展現出適當誘變的駱駝科動物奈米抗體蛋白質的噬菌體文庫中選擇產生。藉由基因工程可以進一步定製工程化奈米抗體，以在受體受試者中具有 45 分鐘至兩周的半衰期。在一個具體實施方式中，駱駝抗體或奈米抗體藉由將本發明的人抗體的重鏈或輕鏈的 CDR 序列移植到奈米抗體或單結構域抗體框架序列中而獲得，如例如 PCT/EP 93/02214 中所述。

雙特異性分子和多價抗體

【0165】在另一方面，本發明的特徵在於包含本發明的 TREM2 結合抗體或其片段的雙特異性或多特異性分子。本發明的抗體或其抗原結合區可以衍生化或連接至另一種功能分子，例如另一種肽或蛋白質（例如，另一種抗體或受體的配位基），以生成結合至少兩個不同的結合位點或靶分子的雙特異性分子。事實上，本發明的抗體可以衍生化或連接至多於一種的其他功能分子，以生成結合多於兩個不同結合位點和/或靶分子的多特異性分子；這種多特異性分子也旨在由本文所用的術語「雙特異性分子」涵蓋。為了產生本發明的雙特異性分子，本發明的抗體可以功能性地連接（例如，藉由化學偶聯、基因融合、非共價締合或其他方式）至一種或多種其他結合分子，如另一種抗體、抗體片段、肽或結合模擬物，從而產生雙特異性分子。

【0166】因此，本發明包括雙特異性分子，其包含對 TREM2 的至少一種第一結合特異性和對第二靶表位的第二結合特異性。例如，第二靶表位係不同於第一靶表位的 TREM2 的另一表位。

【0167】另外，對於雙特異性分子係多特異性的發明，除了第一和第二靶表位之外，該分子還可以包含第三結合特異性。

【0168】在一個實施方式中，本發明的雙特異性分子包含至少一種抗體或其抗體片段的結合特異性，包括例如 Fab、Fab'、F (ab')2、Fv 或單鏈 Fv。抗體也可以是輕鏈或重鏈二聚體或其任何最小片段，如 Ladner 等人的美國專利案號 4,946,778 中所述之 Fv 或單鏈構建體。

【0169】雙抗體係二價雙特異性分子，其中 VH 和 VL 結構域在單個多肽鏈上表現，藉由連接子連接，該連接子太短而不允許在同一鏈上的兩個結構域之間配對。VH 和 VL 結構域與另一條鏈的互補結構域配對，從而產生兩個抗原

結合位點（參見例如，Holliger 等人, 1993 Proc. Natl. Acad. Sci. USA[美國國家科學院院刊] 90:6444-6448；Poijak 等人, 1994 Structure[結構] 2:1121-1123）。可以藉由在相同細胞內表現具有結構 VHA-VLB 和 VHB-VLA（VH-VL 組態）或 VLA-VHB 和 VLB-VHA（VL-VH 組態）的兩條多肽鏈來產生雙抗體。它們中的大多數可以在細菌中以可溶性形式表現。單鏈雙抗體（scDb）藉由將兩個形成雙抗體的多肽鏈與約 15 個胺基酸殘基的連接子連接而產生（參見 Holliger 和 Winter, 1997 Cancer Immunol. Immunother.[癌症免疫學，免疫療法], 45 (3-4):128-30；Wu 等人, 1996 Immunotechnology [免疫技術], 2 (1):21-36）。scDb 可以在細菌中以可溶的活性單體形式表現（參見 Holliger 和 Winter, 1997 Cancer Immunol. Immunother.[癌症免疫學，免疫療法], 45 (34): 128-30；Wu 等人, 1996 Immunotechnology [免疫技術], 2 (1):21-36；Pluckthun 和 Pack, 1997 Immunotechnology [免疫技術], 3 (2): 83-105；Ridgway 等人, 1996 Protein Eng. [蛋白質工程], 9 (7):617-21）。雙抗體可以與 Fc 融合以生成「二-雙抗體」（參見 Lu 等人, 2004 J. Biol. Chem.[生物化學雜誌], 279 (4):2856-65）。

【0170】 可用於本發明雙特異性分子的其他抗體係鼠嵌合和人源化單株抗體。

【0171】 本發明的雙特異性分子可以藉由使用本領域已知的方法軛合組分結合特異性來製備。例如，雙特異性分子的每種結合特異性可以單獨生成，然後彼此軛合。當結合特異性係蛋白質或肽時，多種偶聯劑或交聯劑可用於共價軛合。交聯劑的實例包括蛋白質 A、碳二亞胺、N-琥珀醯亞胺基-5-乙醯基-硫代乙酸酯（SATA）、5,5'-二硫代雙(2-硝基苯甲酸)（DTNB）、鄰亞苯基二馬來醯亞胺（oPDM）、N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯（SPDP）和 4-(N-

馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸磺基琥珀醯亞胺酯（磺基-SMCC）（參見例如 Karpovsky 等人, 1984 J. Exp. Med.[實驗醫學雜誌] 160:1686；Liu, M A 等人, 1985 Proc. Natl. Acad. Sci. USA[美國國家科學院院刊] 82:8648）。其他方法包括 Paulus, 1985 Behring Ins. Mitt. 第 78 期, 118-132；Brennan 等人, 1985 Science [科學]229:81-83）和 Glennie 等人, 1987 J. Immunol. [免疫學雜誌]139: 2367-2375）中描述的那些方法。軛合劑係 SATA 和磺基-SMCC，兩者均可從 Pierce Chemical Co.（羅克福德（Rockford）, 伊利諾州）獲得。

【0172】 當結合特異性係抗體時，它們可以藉由兩條重鏈的 C-末端鉸鏈區的巰基鍵合而軛合。在具體實施方式中，鉸鏈區被修飾為例如在軛合之前含有奇數個巰基殘基。

【0173】 可替代地，兩種結合特異性可以在相同載體中編碼，並在相同宿主細胞中表現和組裝。當雙特異性分子係 mAb×mAb、mAb×Fab、Fab×F (ab')2 或配位基×Fab 融合蛋白時，該方法特別有用。本發明的雙特異性分子可以是包含一個單鏈抗體和一個結合決定簇的單鏈分子，或包含兩個結合決定簇的單鏈雙特異性分子。雙特異性分子可包含至少兩個單鏈分子。用於製備雙特異性分子的方法描述於例如美國專利案號 5,260,203；美國專利案號 5,455,030；美國專利案號 4,881,175；美國專利案號 5,132,405；美國專利案號 5,091,513；美國專利案號 5,476,786；美國專利案號 5,013,653；美國專利案號 5,258,498；和美國專利案號 5,482,858 中。

【0174】 雙特異性分子與其特異性靶標的結合可以藉由例如酶聯免疫吸附測定（ELISA）、放射免疫測定法（REA）、FACS 分析、生物測定（例如生長抑制）或西方印漬術測定來證實。該等測定中的每一種通常藉由使用對感興

趣的複合物有特異性的標記試劑（例如，抗體）來檢測特別感興趣的蛋白質-抗體複合物的存在。

【0175】 在另一方面，本發明提供了多價化合物，其包含與 TREM2 結合的本發明抗體及其抗原結合片段的至少兩個相同或不同的抗原結合部分。抗原結合部分可以經由蛋白質融合或共價或非共價連接而連接在一起。可替代地，已經描述了雙特異性分子的連接方法。四價化合物可以例如藉由將本發明的抗體及其抗原結合片段與結合本發明的抗體及其抗原結合片段的恒定區（例如 Fc 或鉸鏈區）的抗體或抗原結合片段交聯而獲得。

【0176】 三聚結構域描述於例如專利 EP 1 012 280B1 中。五聚模組描述於例如 PCT/EP 97/05897 中。

【0177】 在一些實施方式中，TREM2 結合分子係結合 TREM2 和 DAP12 的雙特異性抗體。在一些實施方式中，TREM2 結合分子係識別第一抗原和第二抗原的雙特異性抗體。在一些實施方式中，第一抗原係人 TREM2 或其天然存在的變體。在一些實施方式中，第二抗原係人 DAP12 或其天然存在的變體。在一些實施方式中，第二抗原係人 DAP10 或 Siglec（結合唾液酸的免疫球蛋白型凝集素）。在一些實施方式中，第二抗原係選自以下的致病蛋白：類澱粉蛋白 β 或其片段、Tau、IAPP、α-突觸核蛋白、TDP-43、FUS 蛋白、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷頓蛋白、降鈣素、超氧化物歧化酶、ataxin、路易氏體、心房利尿鈉因子、胰島類澱粉多肽、胰島素、載脂蛋白 AI、血清類澱粉蛋白 A、medin、催乳素、轉甲狀腺素蛋白、溶菌酶、β2 微球蛋白、凝溶膠蛋白、角膜上皮蛋白、半胱胺酸蛋白酶抑制劑、免疫球蛋白輕鏈 AL、S-IBM 蛋白、重複 - 相關的非 ATG（RAN）翻譯產物、二肽重複（DPR）肽、甘胺酸 - 丙胺酸（GA）重複肽、甘胺酸 - 脯

胺酸（GP）重複肽、甘胺酸 - 精胺酸（GR）重複肽、脯胺酸 - 丙胺酸（PA）重複肽和脯胺酸 - 精胺酸（PR）重複肽。在一些實施方式中，第二抗原係血腦屏障靶向蛋白，其選自轉鐵蛋白受體、胰島素受體、胰島素樣生長因子受體、LRP-1 和 LRP1；或在免疫細胞上表現的配位基和/或蛋白質，其中該等配位基和/或蛋白質選自由以下組成的群組：CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、BTLA、KIR、GAL9、TIM3、A2AR、LAG 和磷脂醯絲胺酸。可替代地，第二抗原可以是在一種或多種腫瘤細胞上表現的蛋白質。

具有延長的半衰期的抗體

【0178】 本發明提供了特異性結合 TREM2 並具有延長的體內半衰期的抗體。

【0179】 許多因素可能影響體內蛋白質的半衰期。例如，腎過濾、肝代謝、蛋白水解酶（蛋白酶）降解和免疫原性應答（例如藉由抗體中和蛋白質和藉由巨噬細胞和樹突細胞攝取）。可以使用多種策略來延長本發明的抗體及其抗原結合片段的半衰期。例如，藉由與聚乙二醇（PEG）、reCODE PEG、抗體支架、聚唾液酸（PSA）、羥乙基澱粉（HES）、白蛋白結合配位基和碳水化合物遮罩的化學連接；藉由與結合血清蛋白（如白蛋白、IgG、FcRn）的蛋白質的基因融合和轉移；藉由與結合血清蛋白的其他結合部分（如奈米抗體、Fab、DARPin、avimer、親合體和 anticalin）偶聯（遺傳地或化學地）；藉由與 rPEG、白蛋白、白蛋白的結構域、白蛋白結合蛋白和 Fc 的基因融合；或藉由摻入奈米載體、緩釋配製物或醫療裝置中。

【0180】為了延長體內抗體的血清循環，可以藉由 PEG 與抗體的 N-末端或 C-末端的位點特異性軛合或經由離胺酸殘基上存在的 ε-胺基，將惰性聚合物分子（如高分子量 PEG）附接至具有或不具有多功能連接子的抗體或其片段。為了使抗體聚乙二醇化，通常在一個或多個 PEG 基團附接至該抗體或抗體片段的條件下使該抗體、其抗原結合片段與聚乙二醇（PEG）（如 PEG 的反應性酯或醛衍生物）反應。聚乙二醇化可以藉由醯化反應或烷基化反應採用反應性 PEG 分子（或類似的反應性水溶性聚合物）來進行。如本文所用，術語「聚乙二醇」旨在涵蓋已用於衍生化其他蛋白質的任何形式的 PEG，如單(C1-C10)烷氧基-或芳氧基-聚乙二醇或聚乙二醇-馬來醯亞胺。在一個實施方式中，待聚乙二醇化的抗體係非糖基化抗體。將使用導致最小生物活性損失的直鏈或支鏈聚合物衍生化。可以藉由 SDS-PAGE 和質譜法密切監測軛合程度，以確保 PEG 分子與抗體的適當軛合。可以藉由尺寸排阻或藉由離子交換層析法將未反應的 PEG 與抗體-PEG 軛合物分離。可以使用熟悉該項技術者熟知的方法，例如藉由本文所述之免疫測定，測試 PEG 衍生化抗體的結合活性以及體內功效。聚乙二醇化蛋白質的方法係本領域已知的，並且可以應用於本發明的抗體及其抗原結合片段。參見例如，Nishimura 等人的 EP 0 154 316 和 Ishikawa 等人的 EP 0 401 384。

【0181】其他改良的聚乙二醇化技術包括重構化學正交定向工程技術（ReCODE PEG），其經由包含 tRNA 合成酶和 tRNA 的重構系統將化學上指定的側鏈摻入生物合成蛋白中。該技術能夠將超過 30 個新胺基酸摻入大腸桿菌、酵母和哺乳動物細胞中的生物合成蛋白中。tRNA 在琥珀密碼子所定位的任何位置摻入規範性胺基酸，從而將琥珀從終止密碼子轉換成發出摻入化學上指定的胺基酸的訊號的密碼子。

【0182】 重組聚乙二醇化技術（rPEG）也可用於血清半衰期延長。該技術一般包括將 300-600 個胺基酸非結構化蛋白質尾部與現有的藥物蛋白質基因融合。因為這種非結構化蛋白質鏈的表觀分子量比其實際分子量大約 15 倍，所以蛋白質的血清半衰期大大增加。與需要化學軛合和再純化的傳統 PEG 化相反，所述製備過程大大簡化並且產物係均勻的。

【0183】 聚唾液酸化係另一種技術，它利用天然聚合物聚唾液酸（PSA）來延長活性壽命和提高治療性肽和蛋白質的穩定性。PSA 係唾液酸的聚合物（一種糖）。當用於蛋白質和治療性肽藥物遞送時，聚唾液酸在軛合時提供保護性微環境。這增加了治療性蛋白質在循環中的活性壽命並防止其被免疫系統識別。PSA 聚合物天然存在於人體中。它被某些細菌採用，該等細菌已經進化了數百萬年以用它來包被其細胞壁。然後，該等天然的聚唾液酸化細菌憑藉分子模擬能夠阻止身體的防禦系統。PSA-大自然的終極秘密技術，可以容易地大量產自這種細菌並具有預定的物理特徵。即使與蛋白質偶聯，細菌 PSA 也是完全非免疫原性的，因為它在化學上與人體中的 PSA 相同。

【0184】 另一種技術包括使用與抗體連接的羥乙基澱粉（「HES」）衍生物。HES 係一種源自蠟質玉米澱粉的改性天然聚合物，並可以藉由人體的酶代謝。通常投與 HES 溶液以替代缺乏的血液體積並改善血液的流變學特性。抗體的 Hes 化能夠藉由增加分子的穩定性以及藉由降低腎清除率來延長循環半衰期，從而導致生物活性增加。藉由改變不同的參數如 HES 的分子量，可以定製多種 HES 抗體軛合物。

【0185】 還可以生成具有增加的體內半衰期的抗體，其將一個或多個胺基酸修飾（即，取代、插入或缺失）引入 IgG 恒定結構域或其 FcRn 結合片段（較

佳的是 Fc 或鉸鏈 Fc 結構域片段）。參見，例如，國際公開案號 WO 98/23289；國際公開案號 WO 97/34631；和美國專利案號 6,277,375。

【0186】 此外，抗體可以與白蛋白軛合，以使抗體或抗體片段在體內更穩定或在體內具有更長的半衰期。該等技術係本領域中公知的，參見例如，國際公開案號 WO 93/15199、WO 93/15200 和 WO 01/77137；和歐洲專利案號 EP 413,622。

【0187】 增加半衰期的策略尤其可用於奈米抗體、基於纖網蛋白的結合劑以及需要增加體內半衰期的其他抗體或蛋白質。

抗體軛合物

【0188】 本發明提供了抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段特異性地結合與異源蛋白質或多肽（或其抗原結合片段，較佳的是與至少 10、至少 20、至少 30、至少 40、至少 50、至少 60、至少 70、至少 80、至少 90、或至少 100 個胺基酸的多肽）重組融合或化學軛合（包括共價和非共價軛合）的人 TREM2 的 IgSF 結構域以生成融合蛋白。特別地，本發明提供了融合蛋白，其包含本文所述抗體的抗原結合片段（例如，Fab 片段、Fd 片段、Fv 片段、$F(ab)_2$ 片段、VH 結構域、VH CDR、VL 結構域或 VL CDR）和異源蛋白質、多肽或肽。將蛋白質、多肽或肽與抗體或抗體片段融合或軛合的方法係本領域已知的。參見，例如，美國專利案號 5,336,603、5,622,929、5,359,046、5,349,053、5,447,851、和 5,112,946；歐洲專利案號 EP 307,434 和 EP 367,166；國際公開案號 WO 96/04388 和 WO 91/06570；Ashkenazi 等人, 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊]88: 10535-10539；Zheng 等人, 1995, J. Immunol. [免疫學雜

誌]154:5590-5600；和 Vil 等人, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊]89:11337-11341。

【0189】 可以藉由基因改組、模體改組、外顯子改組和/或密碼子改組（統稱為「DNA 改組」）的技術生成另外的融合蛋白。DNA 改組可用於改變本發明的抗體及其抗原結合片段的活性（例如，具有更高親和力和更低解離速率的抗體及其抗原結合片段）。通常參見，美國專利案號 5,605,793、5,811,238、5,830,721、5,834,252、和 5,837,458；Patten 等人, 1997, Curr.Opinion Biotechnol. [當前生物技術觀點] 8:724-33；Harayama, 1998, Trends Biotechnol. [生物技術趨勢]16 (2):76-82；Hansson,等人, 1999, J. Mol. Biol. [分子生物學雜誌]287:265-76；和 Lorenzo 和 Blasco, 1998 Biotechniques [生物技術] 24(2):308- -313（該等專利和出版物中的每一篇均據此藉由引用以其全文併入）。抗體及其抗原結合片段或編碼的抗體及其抗原結合片段可以藉由在重組之前藉由易錯 PCR、隨機核苷酸插入或其他方法進行隨機誘變來改變。編碼特異性地結合 TREM2 的 IgSF 區的抗體或其抗原結合片段的多核苷酸可以與一種或多種異源分子的一個或多個組分、模體、區段、部分、結構域、片段等重組。

【0190】 此外，抗體及其抗原結合片段可以與標誌物序列如肽融合以促進純化。在一個實施方式中標誌物胺基酸序列係六組胺酸肽，如 pQE 載體中提供的標籤（凱傑公司（QIAGEN, Inc.）, 伊頓大街（Eton Avenue）9259 號, 查茨沃思（Chatsworth）, 加利福尼亞州, 91311）等，其中許多係商購可得的。如 Gentz 等人, 1989 Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 86:821-824 中所述，例如六組胺酸為純化融合蛋白提供便利。可用於純化的其他肽標籤包括但不限於，對應於衍生自流感血凝素蛋白的表位的血凝素（「HA」）標籤（Wilson 等

人, 1984 Cell [細胞] 37:767）和「FLAG」標籤（Hopp 等人., Bio/Technology[生物/技術] 6 (1988): 1204-1210）。

【0191】在一個實施方式中，本發明的抗體及其抗原結合片段與診斷劑或可檢測劑軛合。這種抗體可用於監測或預後疾病或病症的發作、發展、進展和/或嚴重程度，其作為臨床試驗程序（如確定特定療法的效果）的一部分。這種診斷和檢測可以藉由將抗體與可檢測物質偶聯來實現，該可檢測物質包括但不限於各種酶，例如但不限於辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶、β-半乳糖苷酶或乙醯膽鹼酯酶；輔基，例如但不限於鏈黴親和素/生物素和親和素/生物素；螢光材料，例如但不限於傘形酮、螢光素、異硫氰酸螢光素、羅丹明、二氯三吡基胺螢光素、丹磺醯氯或藻紅蛋白；發光材料，例如但不限於魯米諾；生物發光材料，例如但不限於螢光素酶、螢光素和水母素；放射性物質，例如但不限於碘（131I、125I、123I 和 121I）、碳（14C）、硫（35S）、氚（3H）、銦（115In、113In、112In 和 111In）、鎝（99Tc）、鉈（201Ti）、鎵（68Ga、67Ga）、鈀（103Pd）、鉬（99Mo）、氙（133Xe）、氟（18F）、153Sm、177Lu、159Gd、149Pm、140La、175Yb、166Ho、90Y、47Sc、186Re、188Re、142Pr、105Rh、97Ru、68Ge、57Co、65Zn、85Sr、32P、153Gd、169Yb、51Cr、54Mn、75Se、113Sn 和 117Tin；以及使用多種正電子發射斷層掃描的正電子發射金屬和非放射性順磁金屬離子。

【0192】此外，抗體或其抗原結合片段可以與治療部分或藥物部分軛合。治療部分或藥物部分不應解釋為限於經典的化學治療劑。例如，藥物部分可以是具有所期望生物活性的蛋白質、肽或多肽。這種蛋白質可包括例如毒素，如相思豆毒素、蓖麻毒素 A、假單胞菌外毒素、霍亂毒素或白喉毒素；蛋白質，

如腫瘤壞死因子、α-干擾素、β-干擾素、神經生長因子、血小板衍生生長因子、組織纖溶酶原活化物、凋亡劑、抗血管生成劑；或生物反應調節劑如淋巴因子。

【0193】 此外，抗體可以與治療部分如放射性金屬離子（如 α-發射體，如 213Bi）或用於將放射性金屬離子（包括但不限於 131In、131LU、131Y、131Ho、131Sm）與多肽軛合的大環螯合劑軛合。在一個實施方式中，大環螯合劑係 1,4,7,10-四氮雜環十二烷-N,N',N",N'"-四乙酸（DOTA），其可以經由連接子分子附接至抗體。這種連接子分子係本領域公知的，並描述於 Denardo 等人, 1998, Clin Cancer Res. [臨床癌症研究]4 (10):2483-90；Peterson 等人, 1999, Bioconjug.Chem. [生物軛合化學]10 (4):553-7；和 Zimmerman 等人, 1999, Nucl.Med. Biol. [核醫學和生物學]26 (8):943-50，該等文獻中的每一個均藉由引用以其全文併入。

【0194】 用於將治療部分與抗體軛合的技術係公知的，參見例如，Amon 等人, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy"[癌症療法中用於藥物免疫靶向的單株抗體], 在 Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy[單株抗體和癌症療法], Reisfeld 等人, (編), 第 243-56 頁 (艾倫麗思出版社公司（Alan R. Liss, Inc.）1985)中；Hellstrom 等人, "Antibodies For Drug Delivery[用於藥物遞送的抗體]", 在 Controlled Drug Delivery[藥物控制釋放] (第 2 版)、Robinson 等人 (編), 第 623-53 頁 (馬塞爾德克爾出版社公司（Marcel Dekker, Inc.）1987)中；Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review[癌症療法中細胞毒性劑的抗體載體：綜述]", 在 Monoclonal Antibodies[單株抗體] 84: Biological And Clinical Applications[生物和臨床應用]、Pinchera 等人 (編), 第 475-506 頁 (1985)中；"Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic

Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy[放射標記的抗體在癌症療法中的治療用途的未來前景]", 在 Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy[用於癌症檢測和治療的單株抗體], Baldwin 等人 (編), 第 303-16 頁 (Academic Press[學術出版社] 1985)中以及 Thorpe 等人, 1982, Immunol. Rev.[免疫學綜述] 62:119-58。

【0195】 抗體也可以附接至固體支持物，這尤其科用於免疫測定或靶抗原的純化。這種固體支持物包括但不限於玻璃、纖維素、聚丙烯醯胺、尼龍、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。

編碼抗體的核酸

【0196】 本文還提供的是編碼本文所述之抗體或其抗原結合片段的核酸。此類核酸可以編碼包含本文所述之hTREM2抗體或其抗原結合片段的區段或結構域的多肽。此類核酸或多核苷酸可編碼至少一個CDR區，並且通常編碼來自本文所述之hTREM2抗體的重鏈或輕鏈的所有三個CDR區。此類核酸或多核苷酸還可以編碼本文所述之hTREM2抗體的重鏈和/或輕鏈的所有或基本上所有的可變區序列。此類核酸或多核苷酸還可以編碼抗體的可變區和恒定區。由於遺傳密碼的簡並性，多種核酸序列將編碼免疫球蛋白胺基酸序列中的每一種。例如，本發明的特徵在於分別編碼選自本文揭露的一種或多種抗體的hTREM2抗體或其抗原結合片段的重鏈和輕鏈可變區的第一和第二核酸。核酸可以包含如在表1中列出的核苷酸序列或與其基本上相同的序列（例如，與其具有至少約85%、90%、95%、或99%序列同一性，或與表1中示出的序列相差不多於3、6、15、30、或45個核苷酸的序列）。核酸可以包含如在表1中列出的一種以上核苷酸序列（例如，輕鏈可變結構域序列和重鏈可變結構域序列，或例如輕鏈序列或重

鏈序列）或與其基本上相同的序列（例如，與其具有至少約85%、90%、95%、或99%序列同一性，或與表1中示出的序列相差不多於3、6、15、30、或45個核苷酸的序列）。

【0197】在某些實施方式中，核酸可以包含編碼來自重鏈可變區的至少一個、兩個、或三個CDR或高變環的核苷酸序列，該重鏈可變區具有如表1中列出的胺基酸序列，或與其基本上同源的序列（例如，與其具有至少約85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列，和/或具有一個或多個取代，例如保守取代的序列）。在其他實施方式中，核酸可以包含編碼來自輕鏈可變區的至少一個、兩個或三個CDR或高變環的核苷酸序列，該輕鏈可變區具有如表1中列出的胺基酸序列，或與其基本上同源的序列（例如，與其具有至少約85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列，和/或具有一個或多個取代，例如保守取代的序列）。在又另一個實施方式中，核酸可以包含編碼來自重鏈和輕鏈可變區的至少一個、兩個、三個、四個、五個、或六個CDR或高變環的核苷酸序列，該等重鏈和輕鏈可變區具有如在表1中列出的胺基酸序列，或與其基本上同源的序列（例如，與其具有至少約85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列，和/或具有一個或多個取代，例如保守取代的序列）。

【0198】在某些實施方式中，核酸可以包含編碼來自重鏈可變區的至少一個、兩個、或三個CDR或高變環的核苷酸序列，該重鏈可變區具有如在表1中列出的核苷酸序列，或與其基本上同源的序列（例如，與其具有至少約85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列）。在另一個實施方式中，核酸可以包含編碼來自輕鏈可變區的至少一個、兩個、或三個CDR或高變環的核苷酸序列，該輕鏈可變區具有如在表1中列出的核苷酸序列，或與其基本上同源的序列（例如，與

其具有至少約85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列）。在某些實施方式中，核酸可以包含編碼來自重鏈和輕鏈可變區的至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個CDR或高變環的核苷酸序列，該重鏈和輕鏈可變區具有如在表1中列出的核苷酸序列，或與其基本上同源的序列（例如，與其具有至少約85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列）。

【0199】 多核苷酸序列可以藉由從頭合成（例如固相 DNA 合成）或藉由編碼 hTREM2 抗體或其抗原結合片段的現有序列的 PCR 誘變來產生。核酸的直接化學合成可以藉由本領域已知之方法完成，例如 Narang 等人, 1979, Meth. Enzymol.[酶學方法]68:90）；Brown 等人, Meth. Enzymol.[酶學方法]68:109, 1979 的磷酸二酯方法；Beaucage 等人, Tetra.Lett. [四面體快報], 22:1859, 1981 的二乙基亞磷醯胺方法；和美國專利案號 4,458,066 的固體支持方法。藉由 PCR 向多核苷酸序列引入突變可以如以下文獻中所述進行，例如 PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification [PCR 技術：用於 DNA 擴增的原理和應用], H. A. Erlich (編輯), 弗裡曼出版社，紐約，紐約州（Freeman Press, NY, N.Y.）, 1992；PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications [PCR 方案：方法和應用指南], Innis 等人, (編輯), 學術出版社, 聖地牙哥, 加利福尼亞州（Academic Press, San Diego, Calif.）, 1990；Mattila 等人, Nucleic Acids Res.[核酸研究]19:967, 1991；以及 Eckert 等人, PCR Methods and Applications [PCR 方法和應用] 1:17, 1991。

【0200】 本文還提供了載體（例如，表現載體），該載體包含編碼多肽的多核苷酸，該多肽包含本文所述之 hTREM2 抗體或其抗原結合片段的區段或結構域。此類載體可用於表現和/或產生或影響 hTREM2 抗體或抗原結合片段（例

如，如本文所述）的表現，例如，離體地細胞內或體內地細胞內的表現，例如在生物體中的一個或多個目標群組織中。可以使用各種表現載體來表現編碼 hTREM2 抗體或其結合片段的多核苷酸。基於病毒的和非病毒表現載體均可用於在細胞例如哺乳動物細胞中產生抗體或其片段。非病毒載體和系統包括質體、附加型載體（典型地具有用於表現蛋白質或 RNA 的表現盒）以及人類人工染色體（參見例如，Harrington 等人, Nat Genet. [自然遺傳學] 15:345, 1997）。可以使用本領域已知的轉染或轉導方法（例如，使用脂質（例如脂質體轉染）、電穿孔、機械細胞膜變形等）將該等非病毒載體遞送至目標細胞。術語「表現載體」係指可插入所希望的編碼序列用於引入可以表現它的細胞中的載體核酸分子。載體可以是 DNA 載體、RNA 載體、質體、黏粒、或病毒載體、或人工染色體（參見，例如，Harrington 等人, Nat Genet [自然遺傳學]15:345, 1997）。例如，用於在哺乳動物（例如人）細胞中表現 hTREM2 抗體或其抗原結合片段的非病毒載體包括 pThioHis A、B 和 C；pcDNA3.1/His；pEBVHis A、B 和 C（英傑公司（Invitrogen）, 聖地牙哥（San Diego）, 加利福尼亞州（Calif.））；MPSV 載體；以及本領域已知的用於表現蛋白質的許多其他載體。例如，一類載體利用衍生自動物病毒的 DNA 元件，例如牛乳頭瘤病毒、多瘤病毒、腺病毒、痘瘡病毒、桿狀病毒、逆轉錄酶病毒（勞氏肉瘤病毒、MMTV 或 MOMLV）或 SV40 病毒。另一類載體利用衍生自 RNA 病毒的 RNA 元件，例如塞姆利基森林病毒（Semliki Forest virus）、東部馬腦炎病毒（Eastern Equine Encephalitis virus）和黃病毒。有用的病毒載體包括基於以下病毒中任一種的載體：逆轉錄酶病毒（例如慢病毒）、慢病毒腺病毒、腺相關病毒、皰疹病毒（例如，單純皰疹病毒（HSV））、基於 SV40 的載體、乳頭狀瘤病毒、愛潑斯坦-巴爾病毒（Epstein-Barr

virus）、痘瘡病毒、辛德畢斯（Sinbis）病毒、流感病毒、里奧病毒、新城雞瘟病毒（NDV）、麻疹病毒、水皰性口炎病毒（VSV）、細小病毒、脊髓灰質炎病毒、痘病毒、塞內卡穀病毒（Seneca Valley virus）、柯薩奇病毒、腸病毒、黏液瘤病毒、馬拉巴病毒（maraba virus）、或塞姆利基森林病毒（SFV）。參見，Brent 等人, 同上；Smith, Annu.Rev. Microbiol. [微生物學年度評論] 49:807, 1995；和 Rosenfeld 等人, Cell [細胞]68:143, 1992。

【0201】在一些實施方式中，載體係逆轉錄病毒載體。在一些實施方式中，載體係慢病毒載體。衍生自逆轉錄病毒如慢病毒的載體係實現長期基因轉移的合適工具，因為它們允許轉基因的長期穩定整合及其在子細胞中的繁殖。慢病毒載體相對於衍生自腫瘤逆轉錄病毒如鼠白血病病毒的載體具有附加優點，因為它們可以轉導非增殖性細胞，例如肝細胞。它們還具有低免疫原性的附加優點。逆轉錄病毒載體還可以是例如γ逆轉錄病毒載體。γ逆轉錄病毒載體可以包括例如啟動子、包裝訊號（ψ）、引物結合位點（PBS）、一個或多個（例如兩個）長末端重複序列（LTR）、和感興趣的轉基因（例如編碼CAR的基因）。γ逆轉錄病毒載體可能缺少病毒結構基因（如gag、pol、和env）。示例性γ逆轉錄病毒載體包括鼠白血病病毒（MLV）、形成脾臟病灶病毒（SFFV）、和骨髓增生性肉瘤病毒（MPSV），以及由其衍生的載體。其他γ逆轉錄病毒載體描述於例如 Tobias Maetzig 等人，「γretroviral Vectors: Biology, Technology and Application [γ逆轉錄病毒載體：生物學/技術和應用]」Viruses. [病毒]2011年6月；3(6):677-713）。

【0202】在一些實施方式中，載體係腺相關病毒（AAV）載體，例如，重組AAV（rAAV）載體。「AAV」係腺相關病毒的縮寫，可用於指病毒本身或其

衍生物。該術語涵蓋所有亞型以及天然存在的和重組的形式，除非另有要求。縮寫「rAAV」係指重組腺相關病毒，也稱為重組AAV載體（或「rAAV載體」）。術語「AAV」包括例如，AAV 1型（AAV1）、AAV 2型（AAV2）、AAV 3型（AAV3）、AAV 4型（AAV4）、AAV 5型（AAV5）、AAV 6型（AAV6）、AAV 7型（AAV7）、AAV 8型（AAV8）、AAV 9型（AAV9）、AAV 10型（AAV10，包括AAVrh10）、AAV 12型（AAV12）、鳥AAV、牛AAV、犬AAV、馬AAV、靈長類AAV、非靈長類AAV、和綿羊AAV。「靈長類AAV」係指感染靈長類的AAV，「非靈長類AAV」係指感染非靈長類哺乳動物的AAV，「牛AAV」係指感染牛哺乳動物的AAV，等。

【0203】 各種血清型AAV的基因組序列，以及天然反向末端重複序列（ITR），Rep蛋白和衣殼亞基的序列係本領域已知的。此類序列可以在文獻中或在諸如GenBank的公共數據庫中找到。參見，例如，GenBank登錄號NC-002077（AAV1）、AF063497（AAV1）、NC-001401（AAV2）、AF043303（AAV2）、NC-001729（AAV3）、NC-001829（AAV4）、U89790（AAV4）、NC-006152（AAV5）、AF513851（AAV7）、AF513852（AAV8）、和NC-006261（AAV8）；或在例如WO 2005033321（AAV1-9）的出版物中，其揭露的內容藉由引用結合在此。還參見，例如，Srivistava等人, (1983) J. Virology [病毒學雜誌]45:555；Chiorini等人, (1998) J. Virology [病毒學雜誌]71 :6823；Chiorini等人, (1999) J. Virology [病毒學雜誌]73: 1309；Bantel-Schaal等人, (1999) J. Virology [病毒學雜誌]73:939；Xiao等人, (1999) J. Virology [病毒學雜誌]73:3994；Muramatsu等人, (1996) Virology [病毒學]221 :208；Shade等人,(1986) J. Virol.[病毒學雜誌]58:921; Gao等人, (2002) Proc. Nat. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊]99: 11854；Moris

等人, (2004) Virology [病毒學]33:375-383；國際專利公開WO 00/28061、WO 99/61601、WO 98/11244；以及美國專利案號6,156,303。

【0204】如本文所用的「rAAV載體」係指包含非AAV來源的多核苷酸序列（即，與AAV異源的多核苷酸）的AAV載體，通常是用於細胞遺傳轉化的目的序列。在一些實施方式中，異源多核苷酸可以側接至少一個（有時兩個）AAV反向末端重複序列（ITR）。術語rAAV載體包括rAAV載體顆粒和rAAV載體質體。rAAV載體可以是單股（ssAAV）或自身互補序列（scAAV）。「AAV病毒」或「AAV病毒顆粒」或「rAAV載體顆粒」係指由至少一種AAV殼蛋白質（通常由一種或多種野生型AAV的所有殼蛋白或衍生自一種或多種野生型AAV的殼蛋白構成）和包封的多核苷酸rAAV載體構成的病毒顆粒。如果該顆粒包含異源多核苷酸（即，除了野生型AAV基因組的多核苷酸之外的，例如待遞送至哺乳動物細胞的轉基因），則其通常被稱為「rAAV載體顆粒」或簡稱為「rAAV載體」。因此，rAAV顆粒的產生必然包括rAAV載體的產生，因為這樣的載體包含在rAAV顆粒內。

【0205】在一些實施方式中，載體可以是重組DNA分子，其包含編碼hTREM2抗體或其抗原結合片段的核酸，例如如本文所述。如本文所用的「重組」係指載體、多核苷酸、多肽或細胞係選殖；限制或連接步驟；和/或導致與自然界中發現的產物不同的構建體的其他過程的各種組合的產物（例如，涉及其中包含的多核苷酸或多肽）。重組病毒或載體係包含重組多核苷酸的病毒顆粒。該術語分別包括原始多核苷酸構建體的複製和原始病毒構建體的重複。

【0206】重組載體通常包括與待表現的核酸序列可操作地連接的一個或多個調節序列。術語「調節序列」包括啟動子、增強子和其他表現控制元件（例

如，聚腺苷酸化訊號）。調節序列包括指導核苷酸序列的組成型表現的序列，以及組織特異性調節和/或誘導序列。表現載體還可包括設計用於優化信使RNA穩定性和宿主細胞中可翻譯性的元件，和/或用於建立表現hTREM2抗體或其抗原結合（例如，如本文所述）的永久性穩定細胞殖株的藥物選擇標誌物。表現載體的設計可以取決於諸如以下的這樣的因素：待轉化的宿主細胞的選擇、所需蛋白質的表現水平等。用於生成這樣的重組表現載體的通用方法可以在以下文獻中發現：Sambrook和Russell編輯.(2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual [分子選殖：實驗室手冊], 第3版；Ausubel等人編輯系列（2007年更新至2010年） Current Protocols in Molecular Biology [當代分子生物學實驗指南]，以及本領域已知的其他方法。

【0207】 特定的起始訊號也可能需要編碼序列的有效翻譯。該等訊號包括ATG起始密碼子或相鄰序列。可能需要提供外源翻譯控制訊號，包括ATG起始密碼子。熟悉該項技術者將能夠容易地確定這一點並提供必要的訊號。眾所周知，起始密碼子必須與所希望的編碼序列的閱讀框「同框（in-frame）」以便確保整個插入物的翻譯。外源翻譯控制訊號和起始密碼子可以是天然的或合成的。藉由包含合適的轉錄增強子元件可以提高表現效率。

【0208】 表現可以使用本領域已知的任何合適的宿主細胞，例如，哺乳動物宿主細胞、細菌宿主細胞、酵母宿主細胞、昆蟲宿主細胞等。原核和真核表現系統都是廣泛可用的。在一些實施方式中，該表現系統係哺乳動物細胞表現，例如CHO細胞表現系統。在一些實施方式中，可以對核酸進行密碼子優化以促進在期望的宿主細胞中表現。重要的是使用啟動子和/或增強子，該啟動子和/或增強子有效指導DNA區段在選擇用於表現的細胞類型、細胞器和生物體中的表

現。分子生物學領域中的技術人員通常知道用於蛋白質表現的啟動子、增強子和細胞類型組合的用途，例如，參見Sambrook等人, (2001)。

【0209】 大多數轉錄的真核RNA分子將經歷RNA剪接以從初級轉錄物中去除內含子。含有基因組真核生物序列的載體可能需要供體和/或受體剪接位點以確保用於蛋白質表現的轉錄物的正確加工（參見Chandler等人, 1997, Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊], 94(8):3596-601）。

【0210】 本揭露的載體或構建體通常包含至少一個終止訊號。「終止訊號」或「終止子」由參與RNA聚合酶特異性終止RNA轉錄物的DNA序列組成。因此，在某些實施方式中，考慮了終止RNA轉錄物產生的終止訊號。體內可能需要終止子以達到所需的資訊水平。在真核系統中，終止子區還可以包含特定的DNA序列，該序列允許新轉錄物的位點特異性切割，從而暴露聚腺苷酸化位點。這表示專門的內源聚合酶在轉錄物的3'末端添加一段約200 A殘基（聚A）。用這種聚A尾修飾的RNA分子似乎更穩定並且更有效地翻譯。因此，在涉及真核生物的其他實施方式中，較佳的是終止子包含用於切割RNA的訊號，並且更較佳的是終止子訊號促進資訊的聚腺苷酸化。終止子和/或聚腺苷酸化位點元件可用於增強資訊水平和/或使從盒到其他序列的讀數最小化。預期用於本揭露的終止子包括本文所述或熟悉該項技術者已知的任何已知的轉錄終止子，包括但不限於，例如，基因的終止序列（例如像牛生長激素終止子）或病毒終止序列（例如SV40終止子）。在某些實施方式中，終止訊號可以是缺乏可轉錄或可翻譯的序列，例如由於序列截短。

【0211】 在表現中，特別是真核表現中，通常將包括聚腺苷酸化訊號以實現轉錄物的適當聚腺苷酸化。不認為聚腺苷酸化訊號的性質對於本揭露的成功

實踐係至關重要的，和/或可以採用任何這樣的序列。較佳的實施方式包括方便和/或已知在各種靶細胞中良好地起作用的SV40聚腺苷酸化訊號和/或牛生長激素聚腺苷酸化訊號。聚腺苷酸化可以增加轉錄物的穩定性或可以促進細胞質轉運。

【0212】 為了在宿主細胞中繁殖載體，它可以含有一個或多個複製位點起點（通常稱為「ori」），該複製位點起點係複製啟動的特定核酸序列。可替代地，如果宿主細胞係酵母，則可以使用自主複製序列（ARS）。

【0213】 在本揭露的某些實施方式中，可以藉由在表現載體中包括標誌物在體外或體內鑒定含有本揭露的核酸構建體的細胞。此類標誌物將賦予細胞可鑒定的變化，從而允許容易地鑒定含有表現載體的細胞。通常，可選擇標誌物係賦予允許選擇的屬性的標誌物。陽性可選擇標誌物係其中標誌物的存在允許其選擇的標誌物，而陰性可選擇標誌物係其存在阻止其選擇的標誌物。陽性可選擇標誌物的實例係抗藥性標誌物。

【0214】 通常，包含藥物選擇標誌物有助於選殖和鑒定轉化體，例如，賦予對新黴素、嘌呤黴素、潮黴素、DHFR、GPT、博萊黴素和組胺醇的抗性的基因係有用的選擇標誌物。除了賦予允許基於條件的實施來區分轉化體的表型的標誌物之外，還考慮了其他類型的標誌物，包括可篩選的標誌物（例如 GFP），該標誌物係基於比色分析。可替代地，可以使用可篩選的酶，如單純皰疹病毒的胸苷激酶（HSV-tk）或氯黴素乙醯轉移酶（CAT）。熟悉該項技術者還將知道可能結合 FACS 分析如何使用免疫標誌物。所使用的標誌物不被認為係重要的，只要它能夠與編碼基因產物的核酸同時表現即可。可選擇和可篩選的標誌物的其他實例係熟悉該項技術者公知的。

【0215】表現載體的選擇取決於其中要表現載體的一種或多種組分的預期細胞。通常，載體含有一個或多個調節序列，例如啟動子和其他調節序列（例如增強子），其與編碼 hTREM2 抗體或其抗原結合片段的多核苷酸可操作地連接。

【0216】「啟動子」係作為核酸序列的區域的控制序列，在該區域處控制轉錄的起始和速率。它可能含有遺傳元件，在該等元件上調節蛋白質和分子可能結合如RNA聚合酶和其他轉錄因子。短語「可操作地定位」、「可操作地連接」、「受控制」和「受轉錄控制」意指啟動子處於與核酸序列相關的正確功能位置和/或方向以控制轉錄起始和/或該序列的表現。可以將啟動子與「增強子」結合或不結合使用，該「增強子」係指參與核酸序列轉錄活化的順式作用調節序列。

【0217】啟動子可以是與基因或序列天然相關的啟動子，如可以藉由分離位於編碼區段和/或外顯子上游的5'非編碼序列而獲得。這樣的啟動子可以被稱為「內源的」。類似地，增強子可以是與核酸序列天然相關的增強子，位於該序列的下游或上游。可替代地，藉由將編碼核酸區段定位在重組或異源啟動子的控制下，將獲得某些優點，該重組或異源啟動子係指在其天然環境中通常不與核酸序列相關的啟動子。重組或異源增強子還指在其天然環境中通常不與核酸序列相關的增強子。此類啟動子或增強子可以包括其他基因的啟動子或增強子，以及從任何其他原核、病毒或真核細胞分離的啟動子或增強子，以及非「天然存在的」啟動子或增強子，即含有不同轉錄調節區的不同元件和/或改變表現的突變。除了合成地產生啟動子和增強子的核酸序列之外，可以使用重組選殖和/或核酸擴增技術（例如PCR）結合本文公開的組成物產生序列（參見US

4683202，US 5928906）。此外，預期也可以使用在非核細胞器（如線粒體，葉綠體等）中指導轉錄和/或序列表現的控制序列。

【0218】所用的啟動子可以是組成型的、誘導型的、合成的、組織或細胞特異性的、和/或在適當的條件下用於指導所引入的DNA區段的高水平表現係有用的，例如有利於大規模生產重組蛋白和/或肽。另外，還可以摻入其他調節元件以改善編碼結合人TREM2蛋白（即hTREM2）的抗體的核酸表現，例如增強子、核糖體結合位點、轉錄終止序列等。

【0219】在一些實施方式中，組成型啟動子用於提供hTREM2抗體或其抗原結合片段的恒定表現。組成型啟動子的實例包括但不限於即時早期巨細胞病毒（CMV）啟動子、猿猴病毒40（SV40）早期啟動子、小鼠乳腺瘤病毒（MMTV）啟動子、人免疫缺陷病毒（HIV）長末端重複序列（LTR）啟動子、MoMuLV啟動子、禽類白血病病毒啟動子、愛潑斯坦-巴爾病毒即時早期啟動子、勞斯肉瘤病毒（Rous sarcoma virus）啟動子、以及人基因啟動子，如但不限於肌動蛋白啟動子、肌球蛋白啟動子、延伸因子-1α啟動子、血紅蛋白啟動子和肌酸激酶啟動子。

【0220】在一個實施方式中，除誘導條件外，使用誘導型啟動子來阻止插入序列的表現。誘導型啟動子的使用提供了分子開關，該分子開關能夠當需要該啟動子可操作地連接的多核苷酸序列的表現時啟動這種表現，或者當不需要表現時關閉表現。誘導型啟動子的實例包括但不限於金屬硫蛋白啟動子，a。

【0221】誘導型啟動子包括但不限於例如阿拉伯糖啟動子、lacZ 啟動子、四環素啟動子、金屬硫蛋白啟動子、糖皮質素啟動子、孕酮啟動子或熱休克啟動子。

【0222】除了啟動子之外，還可能需要或期望其他調節元件以有效表現hTREM2抗體或其抗原結合片段。該等元件包括ATG起始密碼子和相鄰的核糖體結合位點或其他序列。此外，藉由包含適合於使用中的細胞系統的增強子，可以提高表現效率（參見例如，Scharf等人, Results Probl. Cell Differ. [細胞分化中的結果和問題] 20:125, 1994；和 Bittner 等人, Meth. Enzymol. [酶學方法], 153:516, 1987）。例如，SV40增強子或CMV增強子可以用來增加哺乳動物宿主細胞中的表現。

【0223】在一些實施方式中，組織或細胞特異性啟動子用於僅在特定組織或細胞中提供hTREM2抗體或其抗原結合片段的表現。組織或細胞特異性啟動子或元件的特性以及表徵其活性的測定法係熟悉該項技術者熟知的。實例包括人LIMK2基因（Nomoto等人, 1999, Gene [基因], 236(2):259-271）、生長激素抑制素受體2基因（Kraus等人, 1998, FEES Lett. [FEES快報], 428(3): 165-170）、鼠科動物附睪視黃酸-結合基因（Lareyre等人, 1999, J. Biol. Chem. [生物化學雜誌], 274(12):8282-8290）、人CD4（Zhao-Emonet等人, 1998, Biochirn.Biophys. Acta [生物化學與生物物理學報], 1442(2-3): 109-119）、小鼠α2 (XI)膠原（Tsumaki,等人, 1998, J. Biol. Chem. [生物化學雜誌], 273(36):22861-22864）、D1A多巴胺受體基因（Lee,等人, 1997, J. Auton.Nerv.Syst. [自主神經系統雜誌], 74(2-3):86-90）、胰島素樣生長因子II（Wu等人, 1997, Biochem. Biophys. Res. Commun. [生物化學與生物物理研究通訊], 233(1):221-226）、人血小板內皮細胞黏附分子-1（Almendro等人, 1996, J. Immunol. [免疫學雜誌], 157(12):5411-5421）、肌肉肌酸激酶（MCK）啟動子（Wang等人, Gene Ther. [基因治療]2008年11月；15(22):1489-99）。

【0224】在一些實施方式中，合成型啟動子用於提供hTREM2抗體或其抗原結合片段的表現。合成型啟動子可以顯著超過天然啟動子的轉錄效力。例如，可以選擇不被內源性細胞機器或因子關閉或降低活性的合成型啟動子。可以將其他元件（包括反式作用因子結合位點和增強子）插入合成型啟動子中以提高轉錄效率。合成型啟動子可以被合理設計和化學合成，以結合合成型和生物型啟動子的最佳特徵。將合成的寡核苷酸退火並藉由若干過程連接以產生全長化學合成的啟動子。合成型啟動子可以是誘導型或細胞型特異性啟動子。

【0225】在較佳的實施方式中，載體係腺相關載體（AAV）。在實施方式中，AAV 載體包含編碼 hTREM2 抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的多核苷酸。在典型的實施方式中，AAV 載體包含編碼 hTREM2 抗體或其結合片段的多核苷酸，該多核苷酸在一側或兩側側接反向末端重複序列（ITR）。多核苷酸可另外包含一種或多種另外的元件，例如啟動子、增強子、一個或多個內含子序列聚(A)序列及其組合。在一些實施方式中，載體包含多核苷酸 AAV 載體質體，該多核苷酸 AAV 載體質體包含編碼 hTREM2 抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的包封在 AAV 衣殼中的多核苷酸。

【0226】在一些實施方式中，載體包含編碼 hTREM2 抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的與至少一個靶細胞相容的調節序列（例如啟動子）可操作地連接的多核苷酸。

【0227】在一些實施方式中，AAV 載體中的 ITR 衍生自相同的 AAV 血清型。在一些實施方式中，AAV 載體中的 ITR 衍生自不同的 AAV 血清型。在一些實施方式中，AAV 顆粒中的 ITR 係相同的。在實施方式中，AAV 顆粒中的 ITR 係不同的。

【0228】在一些實施方式中，AAV 載體中的 ITR 衍生自與 AAV 衣殼相同的 AAV 血清型。在實施方式中，AAV 載體中的 ITR 衍生自不同於 AAV 衣殼的血清型的血清型。在一個實施方式中，ITR 衍生自 AAV2，並且 AAV 衣殼衍生自除 AAV2 之外的血清型，例如 AAV9。

【0229】表現載體還可以提供分泌訊號序列位置，以與由插入的 hTREM2 抗體或其抗原結合片段序列編碼的多肽形成融合蛋白。更常見的是，插入的 hTREM2 抗體或其抗原結合片段的序列在包含在載體中之前與訊號序列連接。用於接收編碼 hTREM2 抗體輕鏈和重鏈可變結構域的序列的載體有時也編碼恒定區或其部分。這種載體允許可變區表現為具有恒定區的融合蛋白，從而導致產生完整抗體及其抗原結合片段。典型地，此類恒定區係人類的。

【0230】表現載體的產生可利用包含多株位點（MCS）的載體，該多株位點係含有多個限制酶位點的核酸區域，可以將其中任何一個與標準重組技術結合使用以消化載體。參加Carbonelli等人, 1999, Levenson等人, 1998, 和Cocea, 1997。「限制性內切酶消化」係指用僅在核酸分子中的特定位置起作用的酶催化切割核酸分子。該等限制性內切酶中的許多係可商購的。熟悉該項技術者廣泛理解該等酶的用途。通常，使用在MCS內切割的限制性內切酶使載體線性化或片段化，以使外源序列與載體連接。「連接」係指在兩個核酸片段之間形成磷酸二酯鍵的過程，這兩個核酸片段可以彼此鄰接或不鄰接。涉及限制性內切酶和連接反應的技術係重組技術領域的技術人員所熟知的。

【0231】用於引入含有目的多核苷酸序列的表現載體的方法根據細胞宿主的類型而變化。例如，氯化鈣轉染通常用於原核細胞，而磷酸鈣處理或電穿孔可用於其他細胞宿主（通常參見Sambrook等人, 同上）。其他方法包括例如電

穿孔、磷酸鈣處理、脂質體介導的轉化、注射和顯微注射、衝擊法/基因槍、病毒體、免疫脂質體、聚陽離子:核酸軛合物（conjugate）、裸DNA、人工病毒粒子、與皰疹病毒結構蛋白VP22的融合物、藥劑增強的DNA攝取、離體轉導、原生質體融合、逆轉錄轉導、病毒轉染、基於脂質的轉染或其他常規技術。在原生質體融合的情況下，使細胞在培養基中生長並篩選適當的活性。對於重組蛋白的長期高產量生產，通常期望穩定的表現。例如，可以使用含有病毒複製起點或內源性表現元件和可選擇標誌物基因的表現載體來製備穩定表現多肽的細胞系。在引入載體後，可以使細胞在富集培養基中生長1-2天，然後將它們轉換為選擇性培養基。選擇性標誌物的目的是賦予選擇抗性，並且它的存在允許在選擇性培養基中成功地表現引入的序列的細胞的生長。可以使用適合於細胞類型的組織培養技術來增殖抗性、穩定轉染的細胞。用於培養所得的轉染細胞和回收產生的抗體的方法和條件係熟悉該項技術者已知的，並且可以根據基於本說明書中所用的特定表現載體和哺乳動物宿主細胞進行改變或優化。

【0232】本文還提供了包含本文所述之任何一種表現載體的細胞。在一些實施方式中，本揭露內容的特徵在於包括本文所述之核酸分子的宿主細胞。該等細胞可以是宿主細胞或治療細胞。術語「宿主細胞」和「重組宿主細胞」在本文中可互換地使用，其不僅是指特定的受試細胞，而且指這種細胞的後代或潛在後代。因為某些變化可在後代中由於突變或環境影響而發生，這種子代可能在事實上與親代細胞不同，但是仍然包括在如在此使用的術語範圍內。

【0233】在一個實施方式中，該等宿主細胞被基因工程化以包含編碼hTREM2抗體或其抗原結合片段的核酸。在一個實施方式中，藉由使用表現盒使宿主細胞基因工程化。短語「表現盒」係指核苷酸序列，其能夠影響在與此類

序列相容的宿主中的基因的表現。此類盒可以包括啟動子，具有或不具有內含子的開放閱讀框和終止訊號。還可以使用在實現表現中必需或有幫助的其他因子，例如誘導型啟動子。

【0234】用於包含和表現hTREM2抗體或其抗原結合片段的鏈的宿主細胞可以是但不限於真核細胞或原核細胞，例如細菌細胞、昆蟲細胞或人細胞。大腸桿菌係一種可用於選殖並表現本發明多核苷酸的原核宿主。適合使用的其他微生物宿主包括桿菌（如枯草桿菌）和其他腸桿菌科（如沙門氏菌屬、沙雷氏菌屬）以及各種假單胞菌屬的種。在該等原核宿主中，還可以製備表現載體，其通常含有與宿主細胞相容的表現控制序列（例如，複製的起點）。此外，將存在任何數量的多種熟知的啟動子，如乳糖啟動子系統、色胺酸（trp）啟動子系統、β-內醯胺酶啟動子系統或來自噬菌體λ的啟動子系統。啟動子典型地視需要使用操縱基因序列控制表現，並且具有核糖體結合位點序列等，以用於啟動和完成轉錄和翻譯。其他微生物如酵母也可用於表現本發明的hTREM2抗體或其抗原結合片段。也可以使用與桿狀病毒載體組合的昆蟲細胞。合適的昆蟲細胞包括，但不限於Sf9細胞。

【0235】在一個實施方式中，哺乳動物宿主細胞用於表現和產生本發明的hTREM2抗體或其抗原結合片段。例如，它們可以是表現內源免疫球蛋白基因的雜交瘤細胞系（例如，1D6.C9骨髓瘤雜交瘤細胞）或含有外源表現載體的哺乳動物細胞系（例如，SP2/0骨髓瘤細胞）。該等包括任何正常的必死或正常或異常的永生的動物或人類細胞。例如，已經開發了許多能夠分泌完整免疫球蛋白的合適宿主細胞系，包括CHO細胞系、各種Cos細胞系、HeLa細胞、骨髓瘤細胞系、轉化的B細胞和雜交瘤。利用哺乳動物組織細胞培養表現多肽一般在例如

Winnacker, FROM GENES TO CLONES[從基因到殖株], VCH出版商, 紐約, 紐約州, 1987中討論。哺乳動物宿主細胞的表現載體可包括表現控制序列如複製的起點、啟動子和增強子（參見例如，Queen,等人, Immunol. Rev.[免疫學評論] 89:49-68, 1986）和必要的處理資訊位點如核糖體結合位點、RNA剪接位點、聚腺苷酸化位點和轉錄終止子序列。該等表現載體通常含有衍生自哺乳動物基因或衍生自哺乳動物病毒的啟動子。合適的啟動子可以是組成型的、細胞類型特異性的、階段特異性的和/或可調控的或可調節的。有用的啟動子包括但不限於金屬硫蛋白啟動子、組成型腺病毒主要晚期啟動子、地塞米松誘導型MMTV啟動子、SV40啟動子、MRP pol III啟動子、組成型MPSV啟動子、四環素誘導型CMV啟動子（如人類即早期CMV啟動子）、組成型CMV啟動子和本領域已知的啟動子-增強子組合。

【0236】宿主細胞可用於產生或表現結合人 TREM2 蛋白（即 hTREM2）的抗體。因此，本揭露的特徵還在於用於使用宿主細胞產生 hTREM2 抗體或其抗原結合片段的方法。在一個實施方式中，該方法包括在合適的培養基中培養宿主細胞（其中已經引入編碼抗體的重組表現載體），從而產生 hTREM2 抗體或其抗原結合片段。在另一個實施方式中，該方法進一步包括從培養基或宿主細胞中分離抗體。合適的真核細胞包括，但不限於 Vero 細胞、HeLa 細胞、COS 細胞、CHO 細胞、HEK293 細胞、BHK 細胞、和 MDCKII 細胞。用於引入含有目的多核苷酸序列的表現載體的方法根據細胞宿主的類型而變化。例如，氯化鈣轉染通常用於原核細胞，而磷酸鈣處理或電穿孔可用於其他細胞宿主。（一般參見 Sambrook 等人，同上）。其他方法包括例如電穿孔、磷酸鈣處理、脂質體介導的轉化、注射和顯微注射、衝擊法、病毒體、免疫脂質體、聚陽離子核

酸軛合物、裸 DNA、人工病毒粒子、與皰疹病毒結構蛋白 VP22 的融合物（Elliot 和 O'Hare, Cell[細胞] 88:223, 1997）、藥劑增強的 DNA 攝取和離體轉導。對於重組蛋白的長期高產量生產，通常期望穩定的表現。例如，可以使用含有病毒複製起點或內源性表現元件和選擇性標誌物基因的本發明表現載體來製備穩定表現 hTREM2 抗體鏈或抗原結合片段的細胞系。在引入載體後，可以使細胞在富集培養基中生長 1-2 天，然後將它們轉換為選擇性培養基。選擇性標誌物的目的是賦予選擇抗性，並且它的存在允許在選擇性培養基中成功地表現引入的序列的細胞的生長。可以使用適合於細胞類型的組織培養技術來增殖抗性、穩定轉染的細胞。

調節序列

【0237】 熟悉該項技術者可以認識到，靶細胞中載體的一種或多種組分的表現可能需要調節序列。

【0238】 在一個實施方式中，AAV 載體質體包含有效表現 hTREM2 抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的調節序列。

【0239】 在一個實施方式中，AAV 載體質體包含有效驅動被靶向的細胞中的表現的調節序列。

【0240】 在一個實施方式中，AAV 載體質體包含調節序列，例如但不限於啟動子。作為非限制性實例，啟動子可以是 (1) CMV 啟動子，(2) CBA 啟動子，(3) FRDA 或 FXN 啟動子，(4) UBC 啟動子，(5) GUSB 啟動子，(6) NSE 啟動子，(7) 突觸蛋白啟動子，(8) MeCP2 啟動子，(9) GFAP 啟動子，(10) HI 啟動子，(11) U6 啟動子，(12) NFL 啟動子，(13) NFH 啟動子，(14) SCN8A 啟動子，或 (15) PGK 啟動子。

啟動子

【0241】熟悉該項技術者可以認識到，靶細胞中hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的表現可能需要特定啟動子，包括但不限於物種特異性啟動子、誘導型啟動子、組織特異性啟動子或細胞週期特異性啟動子(Parr等人, Nat. Med.[自然醫藥]3: 1145-9 (1997); 其內容藉由引用整體併入本文中）。

【0242】在一個實施方式中，AAV載體質體包含有效表現hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的啟動子。

【0243】在一個實施方式中，AAV載體質體包含有效驅動被靶向的細胞中的表現的啟動子。

【0244】在一個實施方式中，啟動子提供hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）在靶組織（例如但不限於神經系統組織）中表現一段時間。hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的表現可以持續1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、11小時、12小時、13小時、14小時、15小時、16小時、17小時、18小時、19小時、20小時、21小時、22小時、23小時、1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、8天、9天、10天、11天、12天、13天、2周、15天、16天、17天、18天、19天、20天、3周、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天、30天、31天、1個月、2個月、3個月、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月、1年、13個月、14個月、15個月、16個月、17個月、18個月、19個月、20個月、21個月、22個月、23個月、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年、11年、12年、13年、14年、15年、16年、17年、18年、19年、20年、21年、22年、23年、24年、25年、26年、27年、28年、29年、30年、31年、32

年、33年、34年、35年、36年、37年、38年、39年、40年、41年、42年、43年、44年、45年、46年、47年、48年、49年、50年、55年、60年、65年、或多於65年的時間段。hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的表現可以持續1-5小時、1-12小時、1-2天、1-5天、1-2周、1-3周、1-4周、1-2個月、1-4個月、1-6個月、2-6個月、3-6個月、3-9個月、4-8個月、6-12個月、1-2年、1-5年、2-5年、3-6年、3-8年、4-8年或5-10年或10-15年、或15-20年、或20-25年、或25-30年、或30-35年、或35-40年、或40-45年、或45-50年、或50-55年、或55-60年、或60-65年。

【0245】在一個實施方式中，AAV載體質體包含位於編碼的hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的第一外顯子上游約5 kb的區域；更具體地，存在位於編碼的共濟蛋白基因的第一外顯子上游約4.9 kb的17-bp區域，以允許用FRDA啟動子表現（參見例如Puspasari等人 Long Range Regulation of Human FXN Gene Expression[人FXN基因表現的長程調控], PLOS ONE, 2011; 其內容藉由引用整體併入本文中）。

【0246】在一個實施方式中，啟動子小於1 kb。啟動子可以具有200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800或大於800的長度。啟動子可以具有在200-300之間、200- 400之間、200-500之間、200-600之間、200-700之間、200-800之間、300-400之間、300-500之間、300-600之間、300-700之間、300-800之間、400- 500之間、400-600之間、

400-700之間、400-800之間、500-600之間、500-700之間、500-800之間、600-700之間、600-800之間、或700-800之間的長度。

【0247】在一個實施方式中，啟動子可以是相同或不同啟動子（例如但不限於CMV和CBA）的兩個或更多個組分、區域或序列的組合。每個組分可以具有200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、381、382、383、384、385、386、387、388、389、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800或800以上的長度。每個組分可以具有在200-300之間、200-400之間、200-500之間、200-600之間、200-700之間、200-800之間、300-400之間、300-500之間、300-600之間、300-700之間、300-800之間、400-500之間、400-600之間、400-700之間、400-800之間、500-600之間、500-700之間、500-800之間、600-700之間、600-800之間、或700-800之間的長度。

【0248】在一個實施方式中，啟動子係CMV增強子序列（例如即時/早期CMV增強子序列（例如382-核苷酸CMV-增強子序列））和雞β-肌動蛋白（CBA）-啟動子序列（例如260個核苷酸的CBA啟動子序列）的組合。

【0249】在一個實施方式中，啟動子係CMV增強子序列的280個核苷酸的片段和雞β-肌動蛋白（CBA）-啟動子序列的266個核苷酸的片段的組合。在一些實施方式中，CMV增強子序列包含以下，例如由以下組成：

cgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac cgcccaacga cccccgccca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc

cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct ac

（SEQ ID NO: 134）

【0250】在一些實施方式中，CBA啟動子序列包含以下，例如由以下組成：

cc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac ccccaatttt gtatttattt attttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg gggggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcg

（SEQ ID NO: 135）

【0251】在一個實施方式中，AAV載體包含雜合CMV增強子/雞β肌動蛋白啟動子，其包含以下序列，例如由以下序列組成：

cgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac cgcccaacga cccccgccca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct actcgaggcc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac ccccaatttt gtatttattt attttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg gggggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcg

（SEQ ID NO: 136）

【0252】在一個實施方式中，AAV載體質體包含遍在啟動子。遍在啟動子的非限制性實例包括CMV、CBA（包括衍生物CAG，CBh等）、EF-1a、PGK、UBC、GUSB（hGBp）和UCOE（HNRPA2B1-CBX3的啟動子）。在一個實施方式中，Yu、Soderblom、Gill、Husain、Passini、Xu、Drews或Raymond教導的任何啟動子都可用於本發明。Yu等人（Molecular Pain 2011, 7:63；其內容藉由引用整體併入本文中）使用慢病毒載體評估了在大鼠DRG細胞和原代DRG細胞中CAG、EF-1a、PGK和UBC啟動子下eGFP的表現並且發現UBC表現出比其他3個啟動子更弱的表現，並且對於所有啟動子僅觀察到10%-12%的神經膠質表現。

【0253】 Soderblom等人（E. Neuro 2015；其內容藉由引用整體併入本文）評估了在運動皮質中注射後在用CMV和UBC啟動子的AAV8中的eGFP和在用CMV啟動子的AAV2中的eGFP的表現。鼻內投與含有UBC或EF-1a啟動子的質體顯示出持續的氣道表現大於用CMV啟動子的表現（參見例如，Gill 等人, Gene Therapy[基因治療] 2001, 第8卷, 1539- 1546；其內容藉由引用整體併入本文中）。Husain等人（Gene Therapy[基因治療]2009；其內容藉由引用整體併入本文中）評估了具有hGUSB啟動子、HSV-1LAT啟動子和NSE啟動子的HβH構建體，並且發現HβH構建體在小鼠腦中表現出比NSE更弱的表現。Passini和Wolfe（J. Virol.[病毒學雜誌]2001, 12382-12392，其內容藉由引用整體併入本文中）評估了新生小鼠中腦室內注射後HβH載體的長期作用，並發現持續表現至少1年。Xu等人發現當與CMV-lacZ、CMV-luc、EF、GFAP、hENK、nAChR、PPE、PPE + wpre、NSE（0.3 kb）、NSE（1.8 kb）和NSE (1.8 kb + wpre)相比較使用NF-L and NF-H時在所有腦區域中的低表現（Gene Therapy[基因治療] 2001, 8, 1323-1332；其內容藉由引用整體併入本文中）。Xu等人發現啟動子活性按降冪排列為NSE（1.8 kb）、EF、NSE（0.3 kb）、GFAP、CMV、hENK、PPE、NFL和NFH。NFL係650個核苷酸的啟動子，NFH係920個核苷酸的啟動子，它們都不存在於肝臟中，但NFH在感覺本體感受神經元、腦和脊髓中係豐富的，並且NFH存在於心臟中。SCN8A係470個核苷酸的啟動子，其在整個DRG、脊髓和腦中表現，其中在海馬神經元和小腦浦肯野細胞、皮質、丘腦和下丘腦中具有特別高的表現（參見例如Drews 等人 Identification of evolutionary conserved, functional noncoding elements in the promoter region of the sodium channel gene SCN8A[鑒定鈉通道基因SCN8A的啟動子區域中的進化保守的功能性非編碼元件], Mamm

Genome[哺乳動物基因組] (2007) 18:723-731；和Raymond等人 Expression of Alternatively Spliced Sodium Channel a-subunit genes[可變剪接的鈉通道α-亞基基因的表現], Journal of Biological Chemistry[生物化學雜誌] (2004) 279(44) 46234-4624；其各自的內容藉由引用整體併入本文中）。

【0254】在一個實施方式中，AAV載體質體包含非細胞特異性的啟動子。在一個實施方式中，啟動子係弱啟動子（根據其親和力和對RNA聚合酶和/或σ因子的其他啟動子親和力分類），用於在神經組織中持續表現hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）。在一個實施方式中，啟動子係用於在神經系統組織（例如但不限於神經元組織和神經膠質組織）中持續的共濟蛋白表現的弱啟動子。

【0255】在一個實施方式中，AAV載體質體包含弗裡德賴希共濟失調（FRDA）啟動子。

【0256】在一個實施方式中，AAV載體質體包含遍在蛋白c（UBC）啟動子。UBC啟動子可具有300-350個核苷酸的大小。作為非限制性實例，UBC啟動子係332個核苷酸。

【0257】在一個實施方式中，AAV載體質體包含β-葡糖醛酸糖苷酶（GUSB）啟動子。GUSB啟動子可具有350-400個核苷酸的大小。作為非限制性實例，GUSB啟動子係378個核苷酸。作為非限制性實例，AAV載體質體可以是5'-啟動子-CMV /珠蛋白內含子-hFXN-RBG-3'，其中AAV載體質體可以是自身互補的，並且衣殼可以是DJ血清型。

【0258】在一個實施方式中，AAV載體質體包含神經絲（NFL）啟動子。NFL啟動子可具有600-700個核苷酸的大小。作為非限制性實例，NFL啟動子係

650個核苷酸。作為非限制性實例，AAV載體質體可以是5'-啟動子-CMV /珠蛋白內含子-hFXN-RBG-3，其中AAV載體質體可以是自身互補的，並且衣殼可以是DJ血清型。

【0259】在一個實施方式中，AAV載體質體包含神經絲重（NFH）啟動子。NFH啟動子可具有900-950個核苷酸的大小。作為非限制性實例，NFH啟動子係920個核苷酸。作為非限制性實例，AAV載體質體可以是5'-啟動子-CMV /珠蛋白內含子-hFXN-RBG-3'，其中AAV載體質體可以是自身互補的，並且衣殼可以是DJ血清型。

【0260】在一個實施方式中，AAV載體質體包含SCN8A啟動子。SCN8A啟動子可具有450-500個核苷酸的大小。作為非限制性實例，SCN8A啟動子係470個核苷酸。作為非限制性實例，AAV載體質體可以是d'-啟動子-CMV /珠蛋白內含子-hFXN-RBG-3，其中AAV載體質體可以是自身互補的，並且衣殼可以是DJ血清型。

【0261】在一個實施方式中，AAV載體質體包含共濟蛋白（FXN）啟動子。

【0262】在一個實施方式中，AAV載體質體包含磷酸甘油酸激酶1（PGK）啟動子。

【0263】在一個實施方式中，AAV載體質體包含雞β-肌動蛋白（CBA）啟動子。

【0264】在一個實施方式中，AAV載體質體包含即時早期巨細胞病毒（CMV）啟動子。

【0265】在一個實施方式中，AAV載體質體包含H1啟動子。

【0266】在一個實施方式中，AAV載體質體包含U6啟動子。

【0267】在一個實施方式中，AAV載體質體包含肝臟或骨骼肌啟動子。肝臟啟動子的非限制性實例包括hAAT和TBG。骨骼肌啟動子的非限制性實例包括Desmin、MCK和C5-12。

【0268】在一個實施方式中，AAV載體質體包含工程化的啟動子，例如衍生自本文所述啟動子但不相同的啟動子。

增強元件

【0269】在一個實施方式中，AAV載體質體可包含至少一種增強子和/或表現元件。增強子或表現元件可以與調節序列（例如，啟動子）組合使用。在一個實施方式中，AAV載體質體包含轉基因增強子、啟動子和/或5'UTR內含子。轉基因增強子，在本文中也稱為「增強子」，可以是但不限於CMV增強子（或其片段，例如，如本文所述）。啟動子可以是但不限於CMV、CBA、UBC、GUSB、NSE、突觸蛋白，MeCP2和GFAP啟動子。5'UTR/內含子可以是但不限於SV40和CBA-MVM。

【0270】在一個實施方式中，AAV載體包含內含子，視需要置於啟動子元件和編碼hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的多核苷酸之間。不受理論束縛，已顯示包含5'內含子可增強編碼hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的mRNA的水平和穩態。在實施方式中，增強子係衍生自SV40的5'內含子。在一個實施方式中，SV40內含子包含以下序列，例如由以下序列組成：

```
gtaagtt tagtcttttt gtcttttatt tcaggtcccg gatccggtgg tggtgcaaat caaagaactg
ctcctcagtg gatgttgcct ttacttctag
```

（SEQ ID NO: 137）

【0271】在一個實施方式中，AAV載體質體（例如，AAV載體的AAV載體質體）包含增強子、啟動子和/或內含子組合，例如但不限於 (1) CMV增強子、CMV啟動子、SV40 5'UTR內含子（例如，如本文所述）；(2) CMV增強子、CBA啟動子、SV40 5'UTR內含子（例如，如本文所述）；(3) CMV增強子、CBA啟動子、CBA-MVM 5'UTR內含子（例如，如本文所述）。

轉基因增強

【0272】在一個實施方式中，AAV載體質體包含至少一種轉基因增強子元件，其可以增強轉基因靶標特異性和表現（參見例如Powell等人 Viral Expression Cassette Elements to Enhance Transgene Target Specificity and Expression in Gene Therapy[增強基因治療中轉基因靶特異性和表現的病毒表現盒元件], 2015；其內容藉由引用整體併入本文中）。用於增強轉基因靶特異性和表現的轉基因增強子元件的非限制性實例包括啟動子、內源miRNA，轉錄後調節元件（PRE）、聚腺苷酸化（聚A）訊號序列和上游增強子（USE）、CMV增強子和內含子。

【0273】在一個實施方式中，AAV載體質體包含至少一種轉基因增強子元件，其係CMV增強子。在一個實施方式中，AAV載體質體包含至少一種轉基因增強子元件，其係啟動子。

【0274】在一個實施方式中，AAV載體質體包含至少一種轉基因增強子元件，其係內含子。

【0275】在一個實施方式中，AAV載體質體包含至少一種轉基因增強子元件，其係內源miRNA。

【0276】在一個實施方式中，AAV載體質體包含至少一種轉基因增強子元件，其係轉錄後調節元件（PRE）。

【0277】在一個實施方式中，AAV載體質體包含至少一種轉基因增強子元件，其係聚腺苷酸化（聚A）訊號序列。在實施方式中，AAV載體的AAV載體質體包含生長激素聚A訊號。在一個實施方式中，生長激素聚A訊號衍生自牛生長激素（BGH）聚A訊號。BGH聚A訊號序列的一個實例係：

ctagagct cgctgatcag cctcgactgt gccttctagt tgccagccat ctgttgtttg cccctccccc gtgccttcct tgaccctgga aggtgccact cccactgtcc tttcctaata aaatgaggaa attgcatcgc attgtctgag taggtgtcat tctattctgg ggggtggggt ggggcaggac agcaaggggg aggattggga agacaatagc aggcatgctg ggga

（SEQ ID NO: 138）

【0278】在實施方式中，AAV載體質體包含編碼hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的多核苷酸下游（例如，3'）的聚A訊號（例如，BGH聚A訊號）。

【0279】在一個實施方式中，AAV載體質體包含至少一種轉基因增強子元件，其係上游增強子（USE）。

組織特異性表現

【0280】在一個實施方式中，載體基因組可包含組織特異性表現元件，以促進hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）在組織和/或細胞中的表現。作為非限制性實例，啟動子可以是組織特異性表現元件，其包括但不限於人延伸因子1a亞基（EF-1a）、即時-早期巨細胞病毒（CMV）、雞β-肌動蛋白（CBA）及其衍生物CAG、β葡糖醛酸糖苷酶（GUSB）和泛素C（UBC）。

【0281】在一個實施方式中，載體基因組可包含可用於將表現限制於某些細胞類型的組織特異性表現元件，例如但不限於可用於將表現限制於神經元、星形膠質細胞或少突膠質細胞的神經系統啟動子。

【0282】在一個實施方式中，載體基因組可包含神經元的組織特異性表現元件，例如但不限於神經元特異性烯醇化酶（NSE）、血小板衍生生長因子（PDGF）、血小板衍生生長因子B鏈（PDGF-β）、突觸蛋白（Syn）、甲基-CpG結合蛋白2（MeCP2）、Ca<2+>/鈣調蛋白依賴性蛋白激酶II（CaMKII）、代謝型麩胺酸受體2（mGluR2）、NFL、NFH、ηβ2、PPE、Enk和EAAT2啟動子。

【0283】在一個實施方式中，載體基因組可包含星形膠質細胞的組織特異性表現元件，例如但不限於膠質原纖維酸性蛋白（GFAP）和EAAT2啟動子。

【0284】在一個實施方式中，載體基因組可包含少突膠質細胞的組織特異性表現元件，例如但不限於髓磷脂鹼性蛋白（MBP）啟動子。

內含子

【0285】在一個實施方式中，AAV載體質體包含至少一種增強轉基因表現的元件，例如一種或多種內含子或其部分。

【0286】在一個實施方式中，有效負載構建體包含至少一種增強轉基因表現的元件，例如一種或多種內含子或其部分。

【0287】內含子的非限制性實例包括MVM（67 bp-97 bp）、FIX截短的內含子1（300 bp）、β-珠蛋白SD/免疫球蛋白重鏈剪接受體（250 bp）、腺病毒剪接供體/免疫球蛋白剪接受體（500 bp）、SV40晚期剪接供體/剪接受體（19S/16S）（180 bp）和雜合腺病毒剪接供體/IgG剪接受體（230 bp）。

【0288】在一個實施方式中，內含子或內含子部分的長度可以是100-500個核苷酸。啟動子可以具有80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、

370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490或500的長度。內含子可以具有80-100之間、80-120之間、80-140之間、80-160之間、80-180之間、80-200之間、80- 250之間、80-300之間、80-350之間、80-400之間、80-450之間、80-500之間、200-300之間、200-400之間、200-500之間、300-400之間、300-500之間或400-500之間的長度。

【0289】 在一個實施方式中，AAV載體包含內含子，視需要置於啟動子元件和編碼hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的多核苷酸之間。不受理論束縛，已顯示包含5'內含子可增強編碼hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的mRNA的水平和穩態。在實施方式中，增強子係衍生自SV40的5'內含子。在一個實施方式中，SV40內含子包含以下序列，例如由以下序列組成：

gtaagtt tagtcttttt gtcttttatt tcaggtcccg gatccggtgg tggtgcaaat caaagaactg ctcctcagtg gatgttgcct ttacttctag

（SEQ ID NO: 137）

【0290】 在一個實施方式中，AAV載體的AAV載體質體包含 (1) CMV增強子（例如，SEQ ID NO: 134），(2) CBA啟動子（例如，SEQ ID NO: 135），(3) SV40內含子（例如，SEQ ID NO: 137），(4) 編碼hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的多核苷酸，和(5) BGH 聚A訊號（例如，SEQ ID NO）：138）。在一個實施方式中，元件 (1) 至 (5) 從5'至3'佈置在AAV載體質體上。在實施方式中，元件 (1) 至 (5) 佈置在還包含ITR（例如，5'ITR和3'ITR）的AAV載體質體上。在實施方式中，ITR衍生自AAV2 ITR。

【0291】 在一個實施方式中，AAV載體質體係自身互補的AAV載體質體。「自身互補」或縮寫「sc」指自我互補。「自身互補AAV」或「scAAV」係指

其中由重組AAV核酸序列攜帶的編碼區已被設計為形成分子內雙股DNA模板的一種構建體。不受理論束縛，在感染時，未等待細胞介導的第二條股合成，而是兩條互補的半scAAV將締合以形成易於立即複製和轉錄的一條雙股DNA（dsDNA）。參見例如D M·麥卡迪（D M McCarty）等人，「自我互補重組腺相關病毒（scAAV）載體獨立於DNA合成促進高效轉導（Self-complementary recombinant adeno-associated virus (scAAV) vectors promote efficient transduction independently of DNA synthesis）」，基因治療（Gene Therapy），（2001年8月），第8卷，第16期，第1248-1254頁（藉由引用整體併入）。自身互補的AAV描述於例如美國專利案號6,596,535；7,125,717；以及7,456,683，該等專利各自藉由引用整體併入本文中。例如，可以突變5'ITR，例如，藉由刪除末端拆分位點以允許基因組的髮夾形成。

衣殼和衣殼血清型

【0292】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可以包衣在衣殼結構中或可以不含衣殼。此類無衣殼病毒載體供體和/或受體序列如AAV描述於例如美國公開2014/0107186中，其內容藉由引用整體併入。

【0293】在一些實施方式中，根據本發明產生的AAV顆粒可以包含雜合血清型，其具有對中樞神經系統中感興趣的特定細胞類型的增強的轉導、延長的轉基因表現和/或安全性譜。雜合血清型可以藉由反式包封、雙特異性抗體吸附至衣殼表面、鑲嵌衣殼和嵌合衣殼、和/或其他殼蛋白修飾來產生。

【0294】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可藉由以下針對特定治療應用進一步進行修飾：殼蛋白的合理誘變（參見，例如，Pulicherla等人, Mol Ther[分子治療], 201 1, 19: 1070-1078），肽配位基（例如衍生自NMDA受體激動

劑的用於增強逆行轉運的肽）摻入衣殼（Xu 等人, Virology[病毒學], 2005, 341 : 203-214），並定向進化以產生新的AAV變體，例如用於增加CNS轉導。

【0295】 在一些實施方式中，根據本發明產生的AAV顆粒可包含天然存在的和/或重組的不同殼蛋白，包括但不限於AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV 8、AAV9、AAV 10、和AAV11、AAV 12、AAVrh8、AAVrh10、AAV-DJ、和AAV-DJ/8衣殼血清型或其變體（例如，AAV3A和AAV3B）。編碼可用於本發明的一種或多種AAV殼蛋白的核酸序列揭露在國際公開案號WO 2015191508中，其內容藉由引用整體併入本文中。

【0296】 在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自任何天然或重組AAV血清型。根據本發明，AAV顆粒可以利用或基於選自以下中任何的血清型：AAV1、AAV2、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV 12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-lb、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-aa、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43- 21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44.1、AAV44.2、AAV44.5、AAV223.1、AAV223.2、AAV223.4、AAV223.5、AAV223.6、AAV223.7、AAVl-7/rh.48、AAVl-8/rh.49、AAV2- 15/rh.62、AAV2-3/rh.61、AAV2-4/rh.50、AAV2-5/rh.51、AAV3.1/hu.6、AAV3.1/hu.9、AAV3-9/rh.52、AAV3-l l/rh.53、AAV4-8/r 11.64、AAV4-9/rh.54、AAV4-19/rh.55、

AAV5-3/rh.57、AAV5-22/rh.58、AAV7.3/hu.7、AAV16.8/hu.10、AAV16.12/hu.11、AAV29.3/bb.1、AAV29.5/bb.2、AAV106.1/hu.37、AAV114.3/hu.40、AAV127.2/hu.41、AAV127.5/hu.42、AAV128.3/hu.44、AAV130.4/hu.48、AAV145.1/hu.53、AAV145.5/hu.54、AAV145.6/hu.55、AAV161.10/hu.60、AAV161.6/hu.61、AAV33.12/hu.17、AAV33.4/hu.15、AAV33.8/hu.16、AAV52/hu.19、AAV52.1/hu.20、AAV58.2/hu.25、AAV A3.3、AAV A3.4、AAV A3.5、AAV A3.7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh.72、AAVhu.8、AAVrh.68、AAVrh.70、AAVpi.1、AAVpi.3、AAVpi.2、AAVrh.60、AAVrh.44、AAVrh.65、AAVrh.55、AAVrh.47、AAVrh.69、AAVrh.45、AAVrh.59、AAVhu.12、AAVH6、AAVLK03、AAVH-1/hu.1、AAVH-5/hu.3、AAVLG-10/rh.40、AAVLG-4/rh.38、AAVLG-9/hu.39、AAVN721-8/rh.43、AAVCh.5、AAVCh.5Rl、AAVcy.2、AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVCy.5Rl、AAVCy.5R2、AAVCy.5R3、AAVCy.5R4、AAVcy.6、AAVhu.1、AAVhu.2、AAVhu.3、AAVhu.4、AAVhu.5、AAVhu.6、AAVhu.7、AAVhu.9、AAVhu.10、AAVhu.11、AAVhu.13、AAVhu.15、AAVhu.16、AAVhu.17、AAVhu.18、AAVhu.20、AAVhu.21、AAVhu.22、AAVhu.23.2、AAVhu.24、AAVhu.25、AAVhu.27、AAVhu.28、AAVhu.29、AAVhu.29R、AAVhu.31、AAVhu.32、AAVhu.34、AAVhu.35、AAVhu.37、AAVhu.39、AAVhu.40、AAVhu.41、AAVhu.42、AAVhu.43、AAVhu.44、AAVhu.44Rl、AAVhu.44R2、AAVhu.44R3、AAVhu.45、AAVhu.46、AAVhu.47、AAVhu.48、AAVhu.48Rl、AAVhu.48R2、AAVhu.48R3、AAVhu.49、AAVhu.51、AAVhu.52、AAVhu.54、AAVhu.55、AAVhu.56、AAVhu.57、AAVhu.58、AAVhu.60、

AAVhu.61、AAVhu.63、AAVhu.64、AAVhu.66、AAVhu.67、AAVhu.14/9、AAVhu.t19、AAVrh.2、AAVrh.2R、AAVrh.8、AAVrh.8R、AAVrh.10、AAVrh.12、AAVrh.13、AAVrh.13R、AAVrh.14、AAVrh.17、AAVrh.18、AAVrh.19、AAVrh.20、AAVrh.21、AAVrh.22、AAVrh.23、AAVrh.24、AAVrh.25、AAVrh.31、AAVrh.32、AAVrh.33、AAVrh.34、AAVrh.35、AAVrh.36、AAVrh.37、AAVrh.37R2、AAVrh.38、AAVrh.39、AAVrh.40、AAVrh.46、AAVrh.48、AAVrh.48.1、AAVrh.48.1.2、AAVrh.48.2、AAVrh.49、AAVrh.51、AAVrh.52、AAVrh.53、AAVrh.54、AAVrh.56、AAVrh.57、AAVrh.58、AAVrh.61、AAVrh.64、AAVrh.64Rl、AAVrh.64R2、AAVrh.67、AAVrh.73、AAVrh.74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突變體、AAVrh8R R533A突變體、AAAV、BAAV、山羊AAV、牛AAV、AAVhE1.1、AAVhEr1.5、AAVhER1.14、AAVhEr1.8、AAVhEr1.16、AAVhEr1.18、AAVhEr1.35、AAVhEr1.7、AAVhEr1.36、AAVhEr2.29、AAVhEr2.4、AAVhEr2.16、AAVhEr2.30、AAVhEr2.31、AAVhEr2.36、AAVhER1.23、AAVhEr3.1、AAV2.5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC 12、AAV-2-pre-miRNA-lOl、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAV改組100-1、AAV改組100-3、AAV改組100-7、AAV改組10-2、AAV改組10-6、AAV改組10-8、AAV改組100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63

AAV、AAVrh.50、AAVrh.43、AAVrh.62、AAVrh.48、AAVhu.19、AAVhu.1、AAVhu.53、AAV4-8/rh.64、AAVLG-9/hu.39、AAV54.5/hu.23、AAV54.2/hu.22、AAV54.7/hu.24、AAV54.1/hu.21、AAV54.4R/hu.27、AAV46.2/hu.28、AAV46.6/hu.29、AAV128.1/hu.43、真實型AAV (ttAAV)、UPEN AAV 10 和/或日本AAV 10血清型、及其變體。

【0297】作為非限制性實例，重組AAV病毒的衣殼係AAV2。作為非限制性實例，重組AAV病毒的衣殼係AAVrh10。作為非限制性實例，重組AAV病毒的衣殼係AAV9（hul4）。作為非限制性實例，重組AAV病毒的衣殼係AAV-DJ。作為非限制性實例，重組AAV病毒的衣殼係AAV9.47。作為非限制性實例，重組AAV病毒的衣殼係AAV-DJ8。

【0298】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有如美國公開案號US20030138772（其內容藉由引用整體併入本文中），例如但不限於AAV1（US20030138772的SEQ ID NO: 6和64）、AAV2（US20030138772的SEQ ID NO: 7和70）、AAV3（US20030138772的SEQ ID NO: 8和71）、AAV4（US20030138772的SEQ ID NO: 63）、AAV5（US20030138772的SEQ ID NO: 114）、AAV6（US20030138772的SEQ ID NO: 65）、AAV7（US20030138772的SEQ ID NO: 1-3）、AAV 8（US20030138772的SEQ ID NO: 4和95）、AAV9（US20030138772的SEQ ID NO: 5和100）、AAV10（US20030138772的SEQ ID NO: 117）、AAV11（US20030138772的SEQ ID NO: 118）、AAV 12（US20030138772的SEQ ID NO: 119）、AAVrhlO（US20030138772的SEQ ID NO: 81的胺基酸1至738）、AAV16.3（US20030138772 SEQ ID NO: 10）、AAV29.3/bb.1（US20030138772 SEQ ID NO: 11）、AAV29.4（US20030138772

SEQ ID NO: 12）、AAV29.5/bb.2（US20030138772 SEQ ID NO: 13）、AAV1.3（US20030138772 SEQ ID NO: 14）、AAV13.3（US20030138772 SEQ ID NO: 15）、AAV24.1（US20030138772 SEQ ID NO: 16）、AAV27.3（US20030138772 SEQ ID NO: 17）、AAV7.2（US20030138772 SEQ ID NO: 18）、AAVC1（US20030138772 SEQ ID NO: 19）、AAVC3（US20030138772 SEQ ID NO: 20）、AAVC5（US20030138772 SEQ ID NO: 21）、AAVF1（US20030138772 SEQ ID NO: 22）、AAVF3（US20030138772 SEQ ID NO: 23）、AAVF5（US20030138772 SEQ ID NO: 24）、AAVH6（US20030138772 SEQ ID NO: 25）、AAVH2（US20030138772 SEQ ID NO: 26）、AAV42-8（US20030138772 SEQ ID NO: 27）、AAV42-15（US20030138772 SEQ ID NO: 28）、AAV42-5b（US20030138772 SEQ ID NO: 29）、AAV42-lb（US20030138772 SEQ ID NO: 30）、AAV42-13（US20030138772 SEQ ID NO: 31）、AAV42-3a（US20030138772 SEQ ID NO: 32）、AAV42-4（US20030138772 SEQ ID NO: 33）、AAV42-5a（US20030138772 SEQ ID NO: 34）、AAV42-10（US20030138772 SEQ ID NO: 35）、AAV42-3b（US20030138772 SEQ ID NO: 36）、AAV42-11（US20030138772 SEQ ID NO: 37）、AAV42-6b（US20030138772 SEQ ID NO: 38）、AAV43-1（US20030138772 SEQ ID NO: 39）、AAV43-5（US20030138772 SEQ ID NO: 40）、AAV43-12（US20030138772 SEQ ID NO: 41）、AAV43-20（US20030138772 SEQ ID NO: 42）、AAV43-21（US20030138772 SEQ ID NO: 43）、AAV43-23（US20030138772 SEQ ID NO: 44）、AAV43-25（US20030138772 SEQ ID NO: 45）、AAV44.1（US20030138772 SEQ ID NO: 46）、AAV44.5（US20030138772 SEQ ID NO: 47）、AAV223.1（US20030138772 SEQ ID NO: 48）、AAV223.2（US20030138772 SEQ ID NO:

49）、AAV223.4（US20030138772 SEQ ID NO: 50）、AAV223.5（US20030138772 SEQ ID NO: 51）、AAV223.6（US20030138772 SEQ ID NO: 52）、AAV223.7（US20030138772 SEQ ID NO: 53）、AAV A3.4（US20030138772 SEQ ID NO: 54）、AAV A3.5（US20030138772 SEQ ID NO: 55）、AAV A3.7（US20030138772 SEQ ID NO: 56）、AAV A3.3（US20030138772 SEQ ID NO: 57）、AAV42.12（US20030138772 SEQ ID NO: 58）、AAV44.2（US20030138772 SEQ ID NO: 59）、AAV42-2（US20030138772 SEQ ID NO: 9）、或其變體。

【0299】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有如美國公開案號US20150159173（內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列，例如，但不限於，AAV2（US20150159173的SEQ ID NO: 7和23）、rh20（US20150159173的SEQ ID NO: 1）、rh32/33（US20150159173的SEQ ID NO: 2）、rh39（US20150159173的SEQ ID NO: 3、20和36）、rh46（US20150159173的SEQ ID NO: 4和22）、rh73（US20150159173的SEQ ID NO: 5）、rh74（US20150159173的SEQ ID NO: 6）、AAV6.1（US20150159173的SEQ ID NO: 29）、rh.8（US20150159173的SEQ ID NO: 41）、rh.48.1（US20150159173的SEQ ID NO: 44）、hu.44（US20150159173的SEQ ID NO: 45）、hu.29（US20150159173的SEQ ID NO: 42）、hu.48（US20150159173的SEQ ID NO: 38）、rh54（US20150159173的SEQ ID NO: 49）、AAV2（US20150159173的SEQ ID NO: 7）、cy.5（US20150159173的SEQ ID NO: 8和24）、rh.10（US20150159173的SEQ ID NO: 9和25）、rh.13（US20150159173的SEQ ID NO: 10和26）、AAV1（US20150159173的SEQ ID NO: 11和27）、AAV3（US20150159173的SEQ ID NO: 12和28）、AAV6（US20150159173的SEQ ID NO: 13和29）、AAV7

（US20150159173的SEQ ID NO: 14和30）、AAV 8（US20150159173的SEQ ID NO: 15和31）、hu.13（US20150159173的SEQ ID NO: 16和32）、hu.26（US20150159173的SEQ ID NO: 17和33）、hu.37（US20150159173的SEQ ID NO: 18和34）、hu.53（US20150159173的SEQ ID NO: 19和35）、rh.43（US20150159173的SEQ ID NO: 21和37）、rh2（US20150159173的SEQ ID NO: 39）、rh.37（US20150159173的SEQ ID NO: 40）、rh.64（US20150159173的SEQ ID NO: 43）、rh.48（US20150159173的SEQ ID NO: 44）、ch.5（US20150159173的SEQ ID NO 46）、rh.67（US20150159173的SEQ ID NO: 47）、rh.58（US20150159173的SEQ ID NO: 48）、或其變體，包括但不限於Cy5R1、Cy5R2、Cy5R3、Cy5R4、rh.13R、rh.37R2、rh.2R、rh.8R、rh.48.1、rh.48.2、rh.48.1.2、hu.44R1、hu.44R2、hu.44R3、hu.29R、ch.5R1、rh64R1、rh64R2、AAV6.2、AAV6.1、AAV6.12、hu.48R1、hu.48R2、和hu.48R3。

【0300】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有如美國專利案號US 7198951（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列，例如但不限於AAV9（US 7198951的SEQ ID NO: 1-3）、AAV2（US 7198951的SEQ ID NO: 4）、AAV1（US 7198951的SEQ ID NO: 5）、AAV3（US 7198951的SEQ ID NO: 6）和AAV 8（US7198951的SEQ ID NO: 7）。

【0301】在一些實施方式中，AAV載體包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有N Pulicherla等人（Molecular Therapy[分子治療] 19(6): 1070-1078 (2011),其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之AAV9序列之突變，例如但不限於AAV9.9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、

AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84。在一些實施方式中，AAV衣殼包含一個或多個經工程改造以將載體遞送穿過血腦屏障的序列（參見例如B.E. Deverman 等人, Nature Biotech[自然生物技術], 第34卷, 第2期, 第204 - 211頁（2016年2月1日線上發表）和加州理工學院新聞稿，A. Wetherston, www.neurology-cenfrd.com/2016/02/10/successfd/brain-barrier ；還參見WO 2016/0492301和US 8,734,809（該等中的每一個的內容藉由引用整體併入）。

【0302】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有如美國專利案號US 6156303（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列，例如但不限於AAV3B（US 6156303的SEQ ID NO: 1和10）、AAV6（US 6156303的SEQ ID NO: 2、7和11），AAV2（US 6156303的SEQ ID No：3和8）、AAV3A（US 6156303的SEQ ID NO: 4和9），或其衍生物。

【0303】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有如美國公開案號US20140359799（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列，例如但不限於AAV 8（US20140359799的SEQ ID NO: 1）、AAVDJ（US20140359799的SEQ ID NO: 2和3）、或其變體。

【0304】在一些實施方式中，AAV顆粒可包含來自血清型的衣殼，例如但不限於AAVDJ或其變體，例如AAVDJ8（或AAV-DJ8），如Grimm 等人（Journal of Virology[病毒學雜誌] 82(12): 5887-5911 (2008)，藉由引用整體併入本文中）所述。AAVDJ8的胺基酸序列可包含兩個或更多個突變以除去肝素結合結構域（HBD）。作為非限制性實例，在美國專利案號7,588,772（其內容藉由引用整體併入本文中）中描述為SEQ ID NO: 1的AAV-DJ序列可包含兩個突變：(1)

R587Q，其中胺基酸587處的精胺酸（R；Arg）改變為麩醯胺酸（Q；Gln）和 (2) R590T，其中胺基酸590處的精胺酸（R；Arg）改變為蘇胺酸（T；Thr）。作為另一個非限制性實例，可包含三個突變：(1) K406R，其中胺基酸406處的離胺酸（K；Lys）改變為精胺酸（R；Arg），(2) R587Q，其中胺基酸587處的精胺酸（R；Arg）改變為麩醯胺酸（Q；Gln）和 (3) R590T，其中胺基酸590處的精胺酸（R；Arg）改變為蘇胺酸（T；Thr）。

【0305】 在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有如國際公開案號WO 1998011244（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之AAV4的序列，例如但不限於AAV4（WO 1998011244的SEQ ID NO: 1-20）。

【0306】 在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可以包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有AAV2序列中的突變以產生如國際公開案號WO 2014144229（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之AAV2G9。

【0307】 在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有國際公開案號WO 2005033321（其內容藉由引用整體併入本文中）中描述的序列，例如，但不限於AAV3-3（WO 2005033321的SEQ ID NO: 217）、AAV1（WO 2005033321的SEQ ID NO: 219和202）、AAV106.1/hu.37（WO 2005033321的SEQ ID NO: 10）、AAV114.3/hu.40（WO 2005033321的SEQ ID NO: 11）、AAV127.2/hu.41（WO 2005033321的SEQ ID NO: 6和8）、AAV128.3/hu.44（WO 2005033321的SEQ ID NO: 81）、AAV130.4/hu.48（WO 2005033321的SEQ ID NO: 78）、AAV145.1/hu.53（WO 2005033321的SEQ ID NO: 176和177）、AAV145.6/hu.56（WO 2005033321的SEQ ID NO: 168和192）、

AAV16.12/hu.11（WO 2005033321的SEQ ID NO: 153和57）、AAV16.8/hu.10（WO 2005033321的SEQ ID NO: 156和56）、AAV161.10/hu.60（WO 2005033321的SEQ ID NO: 170）、AAV161.6/hu.61（WO 2005033321的SEQ ID NO: 174）、AAV1-7/rh.48（WO 2005033321的SEQ ID NO: 32）、AAVl-8/rh.49（WO 2005033321的SEQ ID NO: 103和25）、AAV2（WO 2005033321的SEQ ID NO: 211和221）、AAV2-15/rh.62（WO 2005033321的SEQ ID NO: 33和114）、AAV2-3/rh.61（WO 2005033321的SEQ ID NO: 21）、AAV2-4/rh.50（WO 2005033321的SEQ ID NO: 23和108）、AAV2-5/rh.51（WO 2005033321的SEQ ID NO: 104和22）、AAV3.1/hu.6（WO 2005033321的SEQ ID NO: 5和84）、AAV3.1/hu.9（WO 2005033321的SEQ ID NO: 155和58）、AAV3-11/rh.53（WO 2005033321的SEQ ID NO: 186和176）、AAV3-3（WO 2005033321的SEQ ID NO: 200）、AAV33.12/hu.17（WO 2005033321的SEQ ID NO:4）、AAV33.4/hu.15（WO 2005033321的SEQ ID NO: 50）、AAV33.8/hu.16（WO 2005033321的SEQ ID NO: 51）、AAV3-9/rh.52（WO 2005033321的SEQ ID NO: 96和18）、AAV4-19/rh.55（WO 2005033321的SEQ ID NO: 117）、AAV4-4（WO 2005033321的SEQ ID NO: 201和218）、AAV4-9/rh.54（WO 2005033321的SEQ ID NO: 116）、AAV5（WO 2005033321的SEQ ID NO: 199和216）、AAV52.1/hu.20（WO 2005033321的SEQ ID NO: 63）、AAV52/hu.19（WO 2005033321的SEQ ID NO: 133）、AAV5-22/rh.58（WO 2005033321的SEQ ID NO: 27）、AAV5-3/rh.57（WO 2005033321的SEQ ID NO: 105）、AAV5-3/rh.57（WO 2005033321的SEQ ID NO: 26）、AAV58.2/hu.25（WO 2005033321的SEQ ID NO: 49）、AAV6（WO 2005033321的SEQ ID NO: 203和220）、AAV7（WO 2005033321的SEQ ID NO: 222和213）、AAV7.3/hu.7（WO 2005033321

的SEQ ID NO: 55）、AAV 8（WO 2005033321的SEQ ID NO: 223和214）、AAVH-l/hu.1（WO 2005033321的SEQ ID NO: 46）、AAVH-5/hu.3（WO 2005033321的SEQ ID NO: 44）、AAVhu.1（WO 2005033321的SEQ ID NO: 144）、AAVhu.10（WO 2005033321的SEQ ID NO: 156）、AAVhu.11（WO 2005033321的SEQ ID NO: 153）、AAVhu.12（WO 2005033321 SEQ ID NO: 59）、AAVhu.13（WO 2005033321的SEQ ID NO: 129）、AAVhu.14/AAV9（WO 2005033321的SEQ ID NO: 123和3）、AAVhu.15（WO 2005033321的SEQ ID NO: 147）、AAVhu.16（WO 2005033321的SEQ ID NO: 148）、AAVhu.17（WO 2005033321的SEQ ID NO: 83）、AAVhu.18（WO 2005033321的SEQ ID NO: 149）、AAVhu.19（WO 2005033321的SEQ ID NO: 133）、AAVhu.2（WO 2005033321的SEQ ID NO: 143）、AAVhu.20（WO 2005033321的SEQ ID NO: 134）、AAVhu.21（WO 2005033321的SEQ ID NO: 135）、AAVhu.22（WO 2005033321的SEQ ID NO: 138）、AAVhu.23.2（WO 2005033321的SEQ ID NO: 137）、AAVhu.24（WO 2005033321的SEQ ID NO: 136）、AAVhu.25（WO 2005033321的SEQ ID NO: 146）、AAVhu.27（WO 2005033321的SEQ ID NO: 140）、AAVhu.29（WO 2005033321的SEQ ID NO: 132）、AAVhu.3（WO 2005033321的SEQ ID NO: 145）、AAVhu.31（WO 2005033321的SEQ ID NO: 121）、AAVhu.32（WO 2005033321的SEQ ID NO: 122）、AAVhu.34（WO 2005033321的SEQ ID NO: 125）、AAVhu.35（WO 2005033321的SEQ ID NO: 164）、AAVhu.37（WO 2005033321的SEQ ID NO: 88）、AAVhu.39（WO 2005033321的SEQ ID NO: 102）、AAVhu.4（WO 2005033321的SEQ ID NO: 141）、AAVhu.40（WO 2005033321的SEQ ID NO: 87）、AAVhu.41（WO 2005033321的SEQ ID NO: 91）、AAVhu.42（WO 2005033321的SEQ ID NO: 85）、AAVhu.43

（WO 2005033321的SEQ ID NO: 160）、AAVhu.44（WO 2005033321的SEQ ID NO: 144）、AAVhu.45（WO 2005033321的SEQ ID NO: 127）、AAVhu.46（WO 2005033321的SEQ ID NO: 159）、AAVhu.47（WO 2005033321的SEQ ID NO: 128）、AAVhu.48（WO 2005033321的SEQ ID NO: 157）、AAVhu.49（WO 2005033321的SEQ ID NO: 189）、AAVhu.51（WO 2005033321的SEQ ID NO: 190）、AAVhu.52（WO 2005033321的SEQ ID NO: 191）、AAVhu.53（WO 2005033321的SEQ ID NO: 186）、AAVhu.54（WO 2005033321的SEQ ID NO: 188）、AAVhu.55（WO 2005033321的SEQ ID NO: 187）、AAVhu.56（WO 2005033321的SEQ ID NO: 192）、AAVhu.57（WO 2005033321的SEQ ID NO: 193）、AAVhu.58（WO 2005033321的SEQ ID NO: 194）、AAVhu.6（WO 2005033321的SEQ ID NO: 84）、AAVhu.60（WO 2005033321的SEQ ID NO: 184）、AAVhu.61（WO 2005033321的SEQ ID NO: 185）、AAVhu.63（WO 2005033321的SEQ ID NO: 195）、AAVhu.64（WO 2005033321的SEQ ID NO: 196）、AAVhu.66（WO 2005033321的SEQ ID NO: 197）、AAVhu.67（WO 2005033321的SEQ ID NO: 198）、AAVhu.7（WO 2005033321的SEQ ID NO: 150）、AAVhu.8（WO 2005033321 SEQ ID NO: 12）、AAVhu.9（WO 2005033321的SEQ ID NO: 155）、AAVLG-10/rh.40（WO 2005033321的SEQ ID NO: 14）、AAVLG-4/rh.38（WO 2005033321的SEQ ID NO: 86）、AAVLG-4/rh.38（WO 2005033321的SEQ ID NO: 7）、AAVN721-8/rh.43（WO 2005033321的SEQ ID NO: 163）、AAVN721-8/rh.43（WO 2005033321的SEQ ID NO: 43）、AAVpi. 1（WO 2005033321 SEQ ID NO: 28）、AAVpi.2（WO 2005033321 SEQ ID NO: 30）、AAVpi.3（WO 2005033321 SEQ ID NO: 29）、AAVrh.38（WO 2005033321的SEQ ID NO: 86）、AAVrh.40（WO

2005033321的SEQ ID NO: 92）、AAVrh.43（WO 2005033321的SEQ ID NO: 163）、AAVrh.44（WO 2005033321 SEQ ID NO: 34）、AAVrh.45（WO 2005033321 SEQ ID NO: 41）、AAVrh.47（WO 2005033321 SEQ ID NO: 38）、AAVrh.48（WO 2005033321的SEQ ID NO: 115）、AAVrh.49（WO 2005033321的SEQ ID NO: 103）、AAVrh.50（WO 2005033321的SEQ ID NO: 108）、AAVrh.51（WO 2005033321的SEQ ID NO: 104）、AAVrh.52（WO 2005033321的SEQ ID NO: 96）、AAVrh.53（WO 2005033321的SEQ ID NO: 97）、AAVrh.55（WO 2005033321 SEQ ID NO: 37）、AAVrh.56（WO 2005033321的SEQ ID NO: 152）、AAVrh.57（WO 2005033321的SEQ ID NO: 105）、AAVrh.58（WO 2005033321的SEQ ID NO: 106）、AAVrh.59（WO 2005033321 SEQ ID NO: 42）、AAVrh.60（WO 2005033321 SEQ ID NO: 31）、AAVrh.61（WO 2005033321的SEQ ID NO: 107）、AAVrh.62（WO 2005033321的SEQ ID NO: 114）、AAVrh.64（WO 2005033321的SEQ ID NO: 99）、AAVrh.65（WO 2005033321 SEQ ID NO: 35）、AAVrh.68（WO 2005033321 SEQ ID NO: 16）、AAVrh.69（WO 2005033321 SEQ ID NO: 39）、AAVrh.70（WO 2005033321 SEQ ID NO: 20）、AAVrh.72（WO 2005033321 SEQ ID NO: 9），或其變體，包括但不限於AAVcy.2、AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVcy.6、AAVrh.12、AAVrh.17、AAVrh.18、AAVrh.19、AAVrh.21、AAVrh.22、AAVrh.23、AAVrh.24、AAVrh.25、AAVrh.25/42 15、AAVrh.31、AAVrh.32、AAVrh.33、AAVrh.34、AAVrh.35、AAVrh.36、AAVrh.37、AAVrhl4。變體的非限制性實例WO 2005033321（其內容藉由引用整體併入本文中）的SEQ ID NO: 13、15、17、19、24、36、40、45、47、48、51-54、60-62、64-77、79、80、82、89、90、

93-95、98、100、101、109-113、118-120、124、126、131、139、142、151,154、158、161、162、165-183、202、204-212、215、219、224-236。

【0308】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有如國際公開案號WO 2015168666（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列，例如但不限於AAVrh8R（WO 2015168666的SEQ ID NO: 9）、AAVrh8R A586R突變體（WO 2015168666的SEQ ID NO: 10）、AAVrh8R R533A突變體（WO 2015168666的SEQ ID NO: 11）、或其變體。

【0309】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有如國際公開案號WO2018/160582（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列，例如但不限於AAVhu68（WO 2018160582的SEQ ID NO: 2），或其變體。

【0310】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有美國專利案號US9233131（其內容藉由引用整體併入本文中）中描述的序列，例如，但不限於AAVhE1.1（US9233131的SEQ ID NO:44）、AAVhErl.5（US9233131的SEQ ID NO:45）、AAVhER1.14（US9233131的SEQ ID NO:46）、AAVhErl.8（US9233131的SEQ ID NO:47）、AAVhEr1.16（US9233131的SEQ ID NO:48）、AAVhEr1.18（US9233131的SEQ ID NO:49）、AAVhEr1.35（US9233131的SEQ ID NO:50）、AAVhEr1.7（US9233131的SEQ ID NO:51）、AAVhEr1.36（US9233131的SEQ ID NO:52）、AAVhEr2.29（US9233131的SEQ ID NO:53）、AAVhEr2.4（US9233131的SEQ ID NO:54）、AAVhEr2.16（US9233131的SEQ ID NO:55）、AAVhEr2.30（US9233131的SEQ ID

NO:56）、AAVhEr2.31（US9233131的SEQ ID NO:58）、AAVhEr2.36（US9233131的SEQ ID NO:57）、AAVhER1.23（US9233131的SEQ ID NO:53）、AAVhEr3.1（US9233131的SEQ ID NO:59）、AAV2.5T（US9233131的SEQ ID NO:42）、或其變體。

【0311】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有美國專利公開案號US20150376607（其內容藉由引用整體併入本文中）中描述的序列，例如，但不限於AAV-PAEC（US20150376607的SEQ ID NO: 1）、AAV-LKOl（US20150376607的SEQ ID NO:2）、AAV-LK02（US20150376607的SEQ ID NO:3）、AAV-LK03（US20150376607的SEQ ID NO:4）、AAV-LK04（US20150376607的SEQ ID NO:5）、AAV-LK05（US20150376607的SEQ ID NO:6）、AAV-LK06（US20150376607的SEQ ID NO:7）、AAV-LK07（US20150376607的SEQ ID NO:8）、AAV-LK08（US20150376607的SEQ ID NO:9）、AAV-LK09（US20150376607的SEQ ID NO: 10）、AAV- LK10（US20150376607的SEQ ID NO: 1）、AAV-LK11（US20150376607的SEQ ID NO: 12）、AAV-LK12（US20150376607的SEQ ID NO: 13）、AAV-LK13（US20150376607的SEQ ID NO: 14）、AAV-LK14（US20150376607的SEQ ID NO: 15）、AAV-LK15（US20150376607的SEQ ID NO: 16）、AAV-LK16（US20150376607的SEQ ID NO: 17）、AAV-LK17（US20150376607的SEQ ID NO: 18）、AAV-LK18（US20150376607的SEQ ID NO: 19）、AAV- LK19（US20150376607的SEQ ID NO:20）、AAV-PAEC2（US20150376607的SEQ ID NO:21）、AAV-PAEC 4（US20150376607的SEQ ID NO:22）、AAV-PAEC6（US20150376607的SEQ ID

NO:23）、AAV-PAEC7（US20150376607的SEQ ID NO:24）、AAV-PAEC 8（US20150376607的SEQ ID NO:25）、AAV-PAEC11（US20150376607的SEQ ID NO:26）、AAV-PAEC 12（US20150376607的SEQ ID No:27）、或其變體。

【0312】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有如美國專利案號US9163261（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列，例如但不限於AAV-2-pre-miRNA-101（US9163261的SEQ ID NO: 1），或其變體。

【0313】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有如美國專利公開案號US20150376240（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列，例如但不限於AAV-8h（US20150376240的SEQ ID NO: 6）、AAV-8b（US20150376240的SEQ ID NO: 5）、AAV-h（US20150376240的SEQ ID NO: 2）、AAV-b（US20150376240的SEQ ID NO: 1）、或其變體。在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有美國專利公開案號US20160017295（其內容藉由引用整體併入本文中）中描述的序列，例如，但不限於AAV SM 10-2（US20160017295的SEQ ID NO: 22）、AAV改組100-1（US20160017295的SEQ ID NO: 23）、AAV改組100-3（US20160017295的SEQ ID NO: 24）、AAV改組100-7（US20160017295的SEQ ID NO: 25）、AAV改組10-2（US20160017295的SEQ ID NO: 34）、AAV改組10-6（US20160017295的SEQ ID NO: 35）、AAV改組10-8（US20160017295的SEQ ID NO: 36）、AAV改組100-2（US20160017295的SEQ ID NO: 37）、AAV SM 10-1（US20160017295的SEQ ID NO: 38）、AAV SM 10-8（US20160017295的SEQ ID NO: 39）、AAV SM 100-3

（US20160017295的SEQ ID NO: 40）、AAV SM 100-10（US20160017295的SEQ ID NO: 41）、或其變體。

【0314】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有如美國專利公開案號US20150238550（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列，例如但不限於BNP61 AAV（US20150238550的SEQ ID NO: 1）、BNP62 AAV（US20150238550的SEQ ID NO: 3）、BNP63 AAV（US20150238550的SEQ ID NO: 4）、或其變體。

【0315】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有美國專利公開案號US20150315612（其內容藉由引用整體併入本文中）中描述的序列，例如，但不限於AAVrh.50（US20150315612的SEQ ID NO: 108）、AAVrh.43（US20150315612的SEQ ID NO: 163）、AAVrh.62（US20150315612的SEQ ID NO: 114）、AAVrh.48（US20150315612的SEQ ID NO: 115）、AAVhu.19（US20150315612的SEQ ID NO: 133）、AAVhu.11（US20150315612的SEQ ID NO: 153）、AAVhu.53（US20150315612的SEQ ID NO: 186）、AAV4-8/rh.64（US20150315612的SEQ ID NO: 15）、AAVLG-9/hu.39（US20150315612的SEQ ID NO: 24）、AAV54.5/hu.23（US20150315612的SEQ ID NO: 60）、AAV54.2/hu.22（US20150315612的SEQ ID NO: 67）、AAV54.7/hu.24（US20150315612的SEQ ID NO: 66）、AAV54.1/hu.21（US20150315612的SEQ ID NO: 65）、AAV54.4R/hu.27（US20150315612的SEQ ID NO: 64）、AAV46.2/hu.28（US20150315612的SEQ ID NO: 68）、AAV46.6/hu.29（US20150315612的SEQ ID NO: 69）、AAV128.1/hu.43（US20150315612的SEQ ID NO: 80）、或其變體。

【0316】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含或衍生自AAV血清型，該AAV血清型可以是或可以具有如國際公開案號WO 2015121501（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列，例如但不限於真實型AAV（ttAAV）（WO 2015121501的SEQ ID NO: 2）、"UPenn AAV10"（WO 2015121501的SEQ ID NO: 8）、"日本AAV10"（WO 2015121501的SEQ ID NO: 9）、或其變體。

【0317】根據本發明，AAV顆粒可包含可選自或衍生自多種物種的AAV衣殼血清型。在一個實施方式中，AAV可以是禽類AAV（AAAV）。AAAV血清型可以是或可以具有如美國專利案號US 9238800（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列，例如但不限於AAAV（US 9,238,800的SEQ ID NO: 1、2、4、6、8、10、12、和14），或其變體。

【0318】在一個實施方式中，AAV顆粒可包含AAV衣殼血清型，其可以是或來源於牛AAV（BAAV）。BAAV血清型可以是或可以具有如美國專利案號US 9,193,769（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列，例如但不限於BAAV（US 9193769的SEQ ID NO: 1和6），或其變體。BAAV血清型可以是或可以具有如美國專利案號US7427396（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列，例如但不限於BAAV（US7427396的SEQ ID NO: 5和6），或其變體。

【0319】在一個實施方式中，AAV顆粒可包含AAV衣殼血清型，其可以是或來源於山羊AAV。山羊AAV血清型可以是或可以具有如美國專利案號US7427396（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列，例如但不限於山羊AAV（US7427396的SEQ ID NO: 3），或其變體。

【0320】在其他實施方式中，AAV顆粒可以包含AAV衣殼血清型，其可以被工程化為來自兩種或更多種親本血清型的雜合AAV。在一個實施方式中，AAV

可以是AAV2G9，其包含來自AAV2和AAV9的序列。AAV2G9 AAV血清型可以是或可以具有如美國專利公開案號US20160017005（其內容藉由引用整體併入本文中）中所述之序列。

【0321】在一個實施方式中，AAV顆粒可包含可由AAV9衣殼文庫產生的AAV衣殼血清型，其具有如Pulicherla等人（Molecular Therapy[分子療法] 19(6): 1070-1078 (2011)，其內容藉由引用整體併入本文中）所述在胺基酸390-627（VP1編號）中的突變。血清型和相應的核苷酸和胺基酸取代可以是，但不限於AAV9.1（G1594C；D532H）、AAV6.2（T1418A和T1436X；V473D和I479K）、AAV9.3（T1238A；F413Y）、AAV9.4（T1250C和A1617T；F417S）、AAV9.5（A1235G、A1314T、A1642G、C1760T；Q412R、T548A、A587V）、AAV9.6（T1231A；F411I）、AAV9.9（G1203A、G1785T；W595C）、AAV9.10（A1500G、T1676C；M559T）、AAV9.11（A1425T、A1702C、A1769T；T568P、Q590L）、AAV9.13（A1369C、A1720T；N457H、T574S）、AAV9.14（T1340A、T1362C、T1560C、G1713A；L447H）、AAV9.16（A1775T；Q592L）、AAV9.24（T1507C、T1521G；W503R）、AAV9.26（A1337G、A1769C；Y446C、Q590P）、AAV9.33（A1667C；D556A）、AAV9.34（A1534G、C1794T；N512D）、AAV9.35（A1289T、T1450A、C1494T、A1515T、C1794A、G1816A；Q430L、Y484N、N98K、V606I）、AAV9.40（A1694T、E565V）、AAV9.41（A1348T、T1362C；T450S）、AAV9.44（A1684C、A1701T、A1737G；N562H、K567N）、AAV9.45（A1492T、C1804T；N498Y、L602F）、AAV9.46（G1441C、T1525C、T1549G；G481R、W509R、L517V）、9.47（G1241A、G1358A、A1669G、C1745T；S414N、G453D、K557E、T582I）、AAV9.48（C1445T、A1736T；P482L、Q579L）、AAV9.50（A1638T、C1683T、

T1805A；Q546H、L602H）、AAV9.53（G1301A、A1405C、C1664T、G1811T；R134Q、S469R、A555V、G604V）、AAV9.54(C1531A、T1609A；L511I、L537M)、AAV9.55（T1605A；F535L）、AAV9.58（C1475T、C1579A；T492I、H527N）、AAV.59(T1336C；Y446H)、AAV9.61(A1493T；N498I)、AAV9.64(C1531A、A1617T；L511I)、AAV9.65（C1335T、T1530C、C1568A；A523D）、AAV9.68（C1510A；P504T)、AAV9.80(G1441A,;G481R)、AAV9.83(C1402A、A1500T；P468T、E500D）、AAV9.87（T1464C、T1468C；S490P）、AAV9.90（A1196T；Y399F）、AAV9.91（T1316G、A1583T、C1782G、T1806C；L439R、K528I）、AAV9.93（A1273G、A1421G、A1638C、C1712T、G1732A、A1744T、A1832T；S425G、Q474R、Q546H、P571L、G578R、T582S、D611V）、AAV9.94(A1675T；M559L）和AAV9.95（T1605A；F535L）。

【0322】在一個實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含具有國際公開案號WO 2014160092（其內容藉由引用整體併入本文中）的SEQ ID NO: 1和3的序列（其具有增加的向腦的趨向性）的殼蛋白。

【0323】在一個實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含殼蛋白，其可靶向中樞神經系統中的少突膠質細胞。殼蛋白可包含國際公開案號WO 2014052789（其內容藉由引用整體併入本文中）的SEQ ID NO: 1的AAV衣殼編碼序列或含有SEQ ID NO: 2至4的胺基酸序列的AAV殼蛋白。

【0324】在一個實施方式中，本發明的AAV顆粒可以包含殼蛋白，該等殼蛋白具有增加的穿過CNS中的血腦屏障的能力，如美國專利案號8,927,514（其內容藉由引用整體併入本文中）中所公開的。這種殼蛋白的胺基酸序列和核酸

序列可以分別包括但不限於美國專利案號8,927,514的SEQ ID NO: 2-17和SEQ ID NO: 25-33。

【0325】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含AAV2殼蛋白或其變體。已顯示具有AAV2殼蛋白的AAV顆粒在腦、視網膜和脊髓中有效地將基因遞送至神經元。在一個實施方式中，可以進一步修飾AAV2殼蛋白，例如將靶向肽添加至將AAV顆粒靶向至腦血管內皮的殼蛋白（如美國專利案號6,691,948和8, 299,215中所揭露，其每一個的內容藉由引用整體併入本文中）。此類AAV顆粒可用於遞送功能性hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）。

【0326】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含AAV5殼蛋白或其變體。具有AAV5殼蛋白的AAV顆粒可以轉導CNS的各個區域中的神經元，包括皮質、海馬（HPC）、小腦、黑質（SN）、紋狀體、蒼白球和脊髓（Burger C 等人, Mol Ther.[分子治療], 2004, 10(2): 302-317；Liu G 等人, Mol Ther.[分子治療] 2007, 15(2): 242-247；和Colle M 等人, Hum, Mol. Genet.[人類分子遺傳學額] 2010, 19(1): 147-158）。在一個實施方式中，具有AAV 5殼蛋白（其具有增加的對CNS中的細胞的轉導）的AAV顆粒可以是來自美國專利案號7,056,502（其內容藉由引用整體併入本文中）的那些顆粒。

【0327】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含AAV6殼蛋白或其變體。重組AAV6血清型可藉由腦室內注射（ICV）靶向脊髓中的運動神經元（Dirren E 等人, Hum Gene Ther.[人基因治療], 2014, 25(2): 109-120）。此外，San Sebastian等人的研究表明，AAV6血清型可以在大鼠腦中從末端逆行運輸到神經元細胞體（San Sebastian 等人, Gen Ther.[基因治療], 2014, 20(12): 1178-1183）。

【0328】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含AAV8殼蛋白或其變體。具有AAV8殼蛋白的AAV顆粒可以轉導神經元，例如海馬中的神經元（Klein RL 等人, Mol Ther.[分子治療], 2006, 13(3): 517-527）。在一個實施方式中，AAV8殼蛋白可包含美國專利案號8,318,480（其內容藉由引用整體併入本文中）的SEQ ID NO: 2的胺基酸序列。

【0329】在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含AAV9殼蛋白或其變體。已經在腦內觀察到AAV9衣殼血清型介導的基因遞送，其在實質內注射至CNS後有效且長期表現轉基因（Klein RL 等人, Eur J Neurosci.[歐洲神經科學雜誌], 2008, 27: 1615-1625）。在新生兒受試者中進行外周、全身（例如靜脈內）給藥後，AAV9血清型可在整個CNS中產生穩健且廣泛的神經元轉導（Foust KD 等人, Nat. Biotechnol[自然生物技術], 2009, 27: 59-65；和Duque S 等人, Mol Ther.[分子治療], 2009, 17: 1187-1196）。鞘內（小腦延髓池內途徑）投與AAV9血清型也可產生廣泛的脊柱表現。在一個實施方式中，AAV9血清型可以包含AAV殼蛋白，所述AAV殼蛋白具有美國專利案號7,198,951（其內容藉由引用整體併入本文中）的SEQ ID NO: 2的胺基酸序列。另一方面，AAV9血清型可包含SEQ ID NO: 2、4或6的VP1殼蛋白，其中胺基酸序列中的表面暴露的酪胺酸殘基中的至少一個被另一個胺基酸殘基取代，如美國專利公開案號US20130224836中所公開的，其內容藉由引用整體併入本文中。在實施方式中，包含AAV9衣殼的AAV載體全身投與，例如靜脈內投與。在實施方式中，將包含AAV9衣殼的AAV載體投與至腦、脊柱或腦脊液（CSF），例如鞘內投與。

【0330】在一些實施方式中，AAV載體包含經工程化以獲得特定特性的變體殼蛋白。用於獲得工程化的衣殼的該等方法描述於例如專利公開WO

2011038187中，其內容藉由引用整體併入本文中。此類方法和載體也描述於例如專利公開WO 2012112832和專利申請公開WO 2015054653中，其內容藉由引用整體併入本文中。此類變體衣殼包括例如WO 2015054653的SEQ ID NO: 23，或其變體。另外的變體衣殼包括，例如，專利公開WO2017/019994（其內容藉由引用整體併入）中描述的那些衣殼序列。在實施方式中，AAV載體包含具有Anc80 AAV衣殼序列（例如，WO 2017019994的SEQ ID NO: 1）、例如Anc80L65（例如，WO 2017019994的SEQ ID NO: 23）、或例如Anc110（例如，WO 2017019994的SEQ ID NO: 42）的衣殼。

【0331】 在一些實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含AAVrh10殼蛋白或其變體。包含AAVrh10殼蛋白的AAV顆粒可在鞘內（IT）投與後靶向脊髓中的神經元以及其他細胞。在一個實施方式中，AAVrh10殼蛋白可包含歐洲專利案號2341068的SEQ ID NO: 81的胺基酸序列。 在一些實施方式中，本發明的AAV可包含AAVDJ殼蛋白、AAVDJ/8殼蛋白或其變體。Holehonnur等人表明，AAVDJ/8血清型可以靶向基底和外側杏仁核（BLA）內的神經元（Holehonnur R等人, BMC Neurosci[BMC神經科學], 2014年, 2月18日: 15:28）。在一個實施方式中，AAVDJ殼蛋白和/或AAVDJ/8殼蛋白可包含胺基酸序列，該胺基酸序列包含衍生自第一AAV血清型（例如，AAV2）的第一區域，衍生自第二AAV血清型（例如，AAV8）的第二區域和衍生自第三AAV血清型（例如，AAV 9）的第三區域，其中該第一、第二和第三區域可包括本說明書中揭露的任何胺基酸序列。

【0332】 在一個實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含已顯示或已知轉導背根神經節（DRG）的殼蛋白。

【0333】在一個實施方式中，本發明的AAV顆粒可包含已顯示或已知轉導運動神經元的殼蛋白。

【0334】在一個實施方式中，AAV顆粒包含自身互補（SC）載體基因組。

【0335】在一個實施方式中，AAV顆粒包含單股（SS）基因組。

【0336】在一個實施方式中，包含自身互補（sc）載體的AAV顆粒可用於產生比包含相應單股載體基因組的AAV顆粒更高的表現。

【0337】在一個實施方式中，本文所述之AAV顆粒的血清型可取決於所需的分佈、轉導效率和所需的細胞靶向。如Sorrentino等人（comprehensive map of CNS transduction by eight adeno-associated virus serotypes upon cerebrospinal fluid administration in pigs[豬腦脊液給藥後八種腺相關病毒血清型對中樞神經系統轉導的綜合圖譜], Molecular Therapy[分子治療] 接收的文章2015年12月7日線上預覽; doi: 10.1038/mt.2015.212；其內容藉由引用整體併入本文中）所述，AAV血清型提供不同的分佈、轉導效率和細胞靶向。為了提供所需的功效，需要選擇AAV血清型，其不僅最佳匹配待靶向的細胞，而且還匹配所需的轉導效率和分佈。

【0338】在一個實施方式中，AAV載體包含AAV9衣殼（如本文所述）和AAV載體質體，該AAV載體質體包含 (1) 衍生自AAV2的ITR，(2) CMV增強子（例如，SEQ ID NO: 134），(3) CBA啟動子（例如，SEQ ID NO: 135），(4) SV40內含子（例如，SEQ ID NO: 137），(5) 編碼hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的多核苷酸，和(6) BGH 聚A訊號（例如，SEQ ID NO）：138）。在一個實施方式中，元件 (2) 至 (6) 從5'至3'佈置在AAV載體質體上。在實施方式

中，元件 (2) 至 (6) 佈置在AAV載體質體上的5' ITR和3 'ITR之間。在一個實施方式中，AAV載體係scAAV載體。

單株抗體的產生

【0339】 單株抗體（mAb）可藉由多種技術產生，包括常規單株抗體方法，例如 Kohler 和 Milstein, 1975 Nature[自然] 256: 495 的標準體細胞雜交技術。可以使用許多用於產生單株抗體的技術，例如 B 淋巴細胞的病毒或致癌轉化。

【0340】 用於製備雜交瘤的動物系統係鼠系統。小鼠中的雜交瘤產生係建立良好的程序。免疫方案和分離免疫脾細胞用於融合的技術係本領域已知的。融合配偶體（例如鼠骨髓瘤細胞）和融合程序也是已知的。

【0341】 在一些實施方式中，本發明的該等抗體係人源化的單株抗體。可以基於如上所述製備的鼠單株抗體的序列製備本發明的嵌合或人源化抗體及其抗原結合片段。編碼重鏈和輕鏈免疫球蛋白的 DNA 可以從感興趣的鼠雜交瘤中獲得，並使用標準分子生物學技術工程化以含有非鼠（例如人）免疫球蛋白序列。例如，為了產生嵌合抗體，可以使用本領域已知的方法將鼠可變區與人恒定區連接（參見例如 Cabilly 等人的美國專利案號 4,816,567）。為產生人源化抗體，可以使用本領域已知的方法將鼠科動物 CDR 區域插入人框架中。參見例如，美國專利案號 5,225,539（屬於 Winter）和美國專利案號 5,530,101；5,585,089；5,693,762 和 6180370（屬於 Queen 等人）。

【0342】 在一些實施方式中，本發明的該等抗體係人單株抗體。可以使用攜帶部分人免疫系統而不是小鼠系統的轉基因或轉染色體小鼠來生成這種針對 TREM2 的人單株抗體。該等轉基因和轉染色體小鼠包括在本文中分別稱為 HuMAb 小鼠和 KM 小鼠的小鼠，並且在本文中統稱為「人 Ig 小鼠」。

【0343】HuMAb Mouse®（Medarex, Inc.）含有編碼未重排的人重鏈（μ和γ）和κ輕鏈免疫球蛋白序列的人免疫球蛋白基因 miniloci，以及使內源性 μ和κ鏈基因座失活的靶向突變（參見例如，Lonberg,等人, 1994 Nature[自然] 368 (6474): 856-859）。因此，小鼠表現出小鼠 IgM 或 K 的表現降低，並且響應於免疫，引入的人重鏈和輕鏈轉基因經歷類別轉換和體細胞突變以產生高親和力人 IgG-κ 單株（Lonberg, N.等人, 1994 同上；在 Lonberg, N., 1994 Handbook of Experimental Pharmacology [實驗藥理學手冊]113:49-101 中的綜述； Lonberg, N.和 Huszar, D., 1995 Intern.Rev. Immunol. [國際免疫學評述]13: 65-93, 以及 Harding, F.和 Lonberg, N., 1995 Ann.N.Y.Acad. Sci. [紐約科學學術年報]764:536-546）。HuMAb 小鼠的製備和用途以及由這樣的小鼠進行的基因組修飾被進一步描述於以下文獻中：Taylor, L.等人, 1992 Nucleic Acids Research [核酸研究] 20:6287-6295；Chen, J.等人, 1993 International Immunology [國際免疫學]5: 647-656；Tuaillon 等人, 1993 Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊]94:3720-3724；Choi 等人, 1993 Nature Genetics [自然遺傳學]4:117-123；Chen, J.等人, 1993 EMBO J. [歐洲分子生物學學會雜誌]12: 821-830；Tuaillon 等人, 1994 J. Immunol. [免疫學雜誌]152:2912-2920；Taylor, L.等人, 1994 International Immunology [國際免疫學]579-591；以及 Fishwild, D.等人, 1996 Nature Biotechnology [自然生物技術] 14: 845-851，將所有該等文獻的內容藉由引用以其整體特別特此併入。另外參見美國專利案號 5,545,806；5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,789,650; 5,877,397; 5,661,016; 5,814,318; 5,874,299; 和 5,770,429；全部屬於 Lonberg 和 Kay；美國專利案號 5,545,807（屬於 Surani 等人）；PCT 公開案號 WO 92103918、WO 93/12227、WO 94/25585、WO 97113852、WO 98/24884

和 WO 99/45962（均屬於 Lonberg 和 Kay）；以及 PCT 公開案號 WO 01/14424（屬於 Korman 等人）。

【0344】在一些實施方式中，人抗體可以使用在轉基因和轉染色體上攜帶人免疫球蛋白序列的小鼠，如攜帶人重鏈轉基因和人輕鏈轉染色體的小鼠中產生。此類小鼠（在本文中被稱為「KM 小鼠」）在 PCT 公開 WO 02/43478（屬於 Ishida 等人）中有詳細描述。

【0345】仍此外，表現人免疫球蛋白基因的備選轉基因動物系統係本領域可獲得的，並且可用於產生 TREM2 結合抗體及其抗原結合片段。例如，可以使用被稱為 Xenomouse（安根尼克斯公司（Abgenix, Inc.））的可替代的轉基因系統。這樣的小鼠描述於例如，美國專利案號 5,939,598；6,075,181; 6,114,598; 6,150,584 和 6,162,963（屬於 Kucherlapati 等人）。

【0346】此外，表現人免疫球蛋白基因的備選轉基因動物系統係本領域可獲得的，並且可用於產生本發明的 TREM2 結合抗體。例如，可以使用攜帶人重鏈轉染色體和人輕鏈轉染色體的稱為「TC 小鼠」的小鼠；這樣的小鼠描述於 Tomizuka 等人, 2000 Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊]97:722-727 中。此外，本領域已經描述了攜帶人重鏈和輕鏈轉染色體的牛（Kuroiwa 等人, 2002 Nature Biotechnology [自然生物技術] 20:889-894），並且可以用於產生本發明的 TREM2 結合抗體。

【0347】還可以使用針對篩選人免疫球蛋白基因文庫的噬菌體展示方法來製備人單株抗體。用於分離人抗體的這種噬菌體展示方法在本領域中建立或在以下實例中描述。參見例如：美國專利案號 5,223,409；5,403,484; 和 5,571,698（屬於 Ladner 等人）；美國專利案號 5,427,908 和 5,580,717（屬於 Dower 等人）；

美國專利案號 5,969,108 和 6,172,197（屬於 McCafferty 等人）；以及美國專利案號 5,885,793；6,521,404; 6,544,731; 6,555,313; 6,582,915 和 6,593,081（屬於 Griffiths 等人）。

【0348】本發明的人單株抗體也可以使用 SCID 小鼠製備，人免疫細胞已經重建至該 SCID 小鼠中，使得免疫時可以產生人抗體應答。這種小鼠描述於 Wilson 等人的美國專利案號 5,476,996 和 5,698,767 中。

框架或Fc工程化

【0349】本發明的工程化抗體及其抗原結合片段包括如下該等：其中已對 VH 和/或 VL 內的框架殘基進行了修飾，例如以改善抗體的特性。通常進行這樣的框架修飾以降低抗體的免疫原性。例如，一種方法係將一個或多個框架殘基「回復突變」為對應的種系序列。更確切地，已經歷體細胞突變的抗體可以含有與衍生抗體的種系序列不同的框架殘基。可以藉由將抗體框架序列與衍生抗體的種系序列進行比較來鑒定此類殘基。為了使框架區序列恢復為其種系組態，可以藉由例如定點誘變將體細胞突變「回復突變」為種系序列。此類「回復突變的」抗體也旨在為本發明所涵蓋。

【0350】另一種類型的框架修飾包括使框架區內或甚至一個或多個 CDR 區內的一個或多個殘基突變以去除 T 細胞表位，從而降低抗體的潛在免疫原性。此方法也稱為「去免疫化」，並且在 Carr 等人的美國專利公開案號 20030153043 中有進一步詳細描述。

【0351】除了在框架或 CDR 區內進行的修飾之外或作為在框架或 CDR 區內進行的修飾的替代方案，可以將本發明的抗體工程化以包含 Fc 區內的修飾，通常是為了改變抗體的一種或多種功能特性，如血清半衰期、補體結合、Fc 受

體結合和/或抗原依賴性細胞毒性。此外，本發明的抗體可以被化學修飾的（例如，一個或多個化學部分可以附接至抗體）或被修飾以改變其糖基化，從而再次改變抗體的一種或多種功能特性。以下更詳細地描述了該等實施方式中的每一個。Fc 區中殘基的編號係卡巴特的 EU 索引的編號。

【0352】 在一個實施方式中，修飾 CH1 的鉸鏈區，使得鉸鏈區中半胱胺酸殘基的數目改變，例如增加或減少。該方法在 Bodmer 等人的美國專利案號 5,677,425 中進一步描述。改變 CH1 鉸鏈區中半胱胺酸殘基的數目，以便例如促進輕鏈和重鏈的組裝或增加或降低抗體的穩定性。

【0353】 在另一個實施方式中，使抗體的 Fc 鉸鏈區突變以降低抗體的生物半衰期。更具體地，將一個或多個胺基酸突變引入到 Fc 鉸鏈片段的 CH2-CH3 結構域介面區域中，使得抗體具有相對於天然 Fc 鉸鏈結構域 SpA 結合而言受損的葡萄球菌蛋白質 A（SpA）結合。該方法在 Ward 等人的美國專利案號 6,165,745 中進一步詳細描述。

【0354】 在另一個實施方式中，修飾抗體以增加其生物半衰期。可以採用各種方法。例如，可以引入以下突變中的一種或多種：T252L、T254S、T256F，如 Ward 的美國專利案號 6,277,375 中所述。可替代地，為了增加生物半衰期，可以在 CH1 或 CL 區內改變抗體，以含有從 IgG 的 Fc 區的 CH2 結構域的兩個環採集的補救受體結合表位，如 Presta 等人的美國專利案號 5,869,046 和 6,121,022 中所述。

【0355】 在一個實施方式中，藉由用不同的胺基酸殘基替代至少一個胺基酸殘基來改變 Fc 區，以改變抗體的效應子功能。例如，可以用不同的胺基酸殘基置換一個或多個胺基酸，使得抗體對效應配位基具有改變的親和力，但保留

親本抗體的抗原結合能力。改變親和力的效應配位基可以是例如 Fc 受體或補體的 C1 組分。該方法在 Winter 等人的美國專利案號 5,624,821 和 5,648,260 中進一步詳細描述。

【0356】在另一個實施方式中，選自胺基酸殘基的一個或多個胺基酸可以用不同的胺基酸殘基置換，使得抗體具有改變的 C1q 結合和/或降低或消除的補體依賴性細胞毒性（CDC）。該方法在 Idusogie 等人的美國專利案號 6,194,551 中進一步詳細描述。

【0357】在另一個實施方式中，改變一個或多個胺基酸殘基，從而改變抗體固定補體的能力。該方法在 Bodmer 等人的 PCT 公開 WO 94/29351 中進一步描述。

【0358】在一些實施方式中，TREM2 結合分子含有人 IgG1 恒定區。在一些實施方式中，人 IgG1 恒定區包括 Fc 區。

【0359】在一些實施方式中，TREM2 結合分子的 Fc 區包括一個或多個介導降低的或沒有的抗體依賴性細胞毒性（ADCC）或補體依賴性細胞毒性（CDC）的突變。在一些實施方式中，IgG1 恒定區的胺基酸殘基 L234 和 L235 被取代為 A234 和 A235。在一些實施方式中，IgG1 恒定區的胺基酸殘基 N267 被取代為 A267。在一些實施方式中，IgG1 恒定區的胺基酸殘基 D265 和 P329 被取代為 A265 和 A329。在某些實施方式中，Fc 區視需要包含賦予減少的效應子功能的突變或突變的組合，該等突變選自 D265A、P329A、P329G、N297A、D265A/P329A、D265A/N297A、L234/L235A、P329A/L234A/L235A、和 P329G/L234A/L235A 中的任一個。在一些實施方式中，Fc 區包含賦予減少的效應子功能的突變或突變的組合，該等突變選自 D265A、P329A、P329G、N297A、

D265A/P329A 、 D265A/N297A 、 L234/L235A 、 P329A/L234A/L235A 、 和 P329G/L234A/L235A 中的任一個（所有位置依據 EU 編號）。

【0360】 在另一個實施方式中，修飾 Fc 區以增加抗體介導抗體依賴性細胞毒性（ADCC）的能力和/或藉由修飾一個或多個胺基酸來增加抗體對 Fc-γ 受體的親和力。該方法由 Presta 在 PCT 公開 WO 00/42072 中進一步描述。此外，已經繪製了人 IgG1 上針對 Fc-γ RI、Fc-γ RII、Fc-γ RIII 和 FcRn 的結合位點，並且已經描述了具有改善的結合的變體（參見 Shields, R. L.等人, 2001 J. Biol. Chen.[生物化學雜誌]276:6591-6604）。例如，Fc 區可以包含賦予增加的效應子功能的突變或突變的組合，該等突變選自 S239D、I332E、A330L、S298A、E333A、E333S 、K334A 、K236A 、K236W 、F243L 、P247I 、D280H 、K290S 、R292P 、S298D 、S298V 、Y300L 、V305I 、A339D 、A339Q 、A339T 、P396L 中的任一個（所有位置依據 EU 編號）。

【0361】 在還另一個實施方式中，修飾抗體的糖基化。例如，可以製備非糖基化的抗體（即，抗體缺乏糖基化）。可以改變糖基化以例如增加抗體對抗原的親和力。此類碳水化合物修飾可以藉由例如改變抗體序列內的一個或多個糖基化位點來實現。例如，可以進行一個或多個胺基酸取代，這導致消除一個或多個可變區框架糖基化位點，從而消除該位點的糖基化。這種無糖基化可以增加抗體對於抗原的親和力。這樣的方法在 Co 等人的美國專利案號 5,714,350 和 6,350,861 中進一步詳細描述。

【0362】 另外或可替代地，可以製備具有改變的糖基化類型的抗體，如具有減少量的岩藻糖基殘基的低岩藻糖基化（hypofucosylated）抗體或具有增加的二等分 GlcNac 結構的抗體。已經證明這類改變的糖基化模式增加了抗體的

ADCC 能力。這種碳水化合物修飾可以藉由例如在具有改變的糖基化機制的宿主細胞中表現抗體來實現。具有改變的糖基化機制的細胞已在本領域中描述，並且可用作宿主細胞，在該宿主細胞中表現本發明的重組抗體，從而產生具有改變的糖基化的抗體。例如，Hang 等人的 EP 1,176,195 描述了具有功能破壞的 FUT8 基因的細胞系，其編碼岩藻糖基轉移酶，使得在這種細胞系中表現的抗體顯示出低岩藻糖基化。Presta 的 PCT 公開 WO 03/035835 描述了變體 CHO 細胞系 LecI3 細胞，其將岩藻糖附接至 Asn（297）連接的碳水化合物的能力降低，還導致在該宿主細胞中表現的抗體的低岩藻糖基化（還參見 Shields, R. L.等人, 2002 J. Biol. Chem.[生物化學雜誌] 277:26733-26740）。Umana 等人的 PCT 公開 WO 99/54342 描述了如下細胞系，該細胞系被工程化以表現糖蛋白修飾糖基轉移酶（例如，β(1,4)-N 乙醯基葡糖胺基轉移酶 III（GnTIII）），使得在工程化細胞系中表現的抗體顯示出增加的二等分 GlcNac 結構，該二等分 GlcNac 結構導致抗體的 ADCC 活性增加（還參見 Umana 等人, 1999 Nat. Biotech.[自然生物技術] 17:176-180）。

【0363】在一些實施方式中，TREM2 結合分子係抗體。在一些實施方式中，抗體具有 IgG1 同種型，其具有一個或多個突變（例如，相對於相同同種型的野生型 Fc 區）。在一些實施方式中，該一個或多個突變選自 N297A、N297Q（BoltS 等人 (1993) *Eur J Immunol[歐洲免疫學雜誌]* 23:403-411）、D265A、L234A、L235A（McEarchern 等人, (2007) *Blood[血液],* 109:1185-1192）、C226S、C229S（McEarchern 等人, (2007) *Blood[血液],* 109:1185-1192）、P238S（Davis 等人, (2007) *J Rheumatol[風濕病學雜誌],* 34:2204-2210）、E233P、L234V（McEarchern 等人, (2007) *Blood[血液],* 109:1185-1192）、P238A、A327Q、

A327G、P329A（Shields RL.等人, (2001)*J Biol Chem.* 276(9):6591-604）、K322A、L234F、L235E（Hezareh 等人, (2001) J Viral [病毒學雜誌] 75, 12161-12168；Oganesyan 等人, (2008).*Acta Crystallographica[晶體學報] 64,* 700-704）、P331S（Oganesyan 等人, (2008) *Acta Crystallographica[晶體學報] 64,* 700-704）、T394D（Wilkinson 等人 (2013) *MAbs* 5(3): 406-417）、A330L、M252Y、S254T、和/或 T256E，其中胺基酸位置根據 EU 或卡巴特編號慣例。在某些實施方式中，根據 EU 或卡巴特編號慣例，Fc 區還在對應於甘胺酸 236 的位置處包含胺基酸缺失。

【0364】在一些實施方式中，根據 EU 或卡巴特編號慣例，抗體具有 IgG1 同種型，該 IgG1 同種型具有重鏈恒定區，該重鏈恒定區含有 C220S 突變。

【0365】在一些實施方式中，Fc 區進一步含有選自以下的一個或多個另外的突變：A330L、L234F、L235E、和/或 P331S（根據 EU 或卡巴特編號慣例）。

【0366】在某些實施方式中，抗體具有 IgG2 同種型。在一些實施方式中，抗體含有人 IgG2 恒定區。在一些實施方式中，人 IgG2 恒定區包括 Fc 區。在一些實施方式中，Fc 區包含一個或多個修飾。例如，在一些實施方式中，Fc 區包含一個或多個突變（例如，相對於相同同種型的野生型 Fc 區）。在一些實施方式中，該一個或多個突變選自 V234A、G237A、H268E、V309L、N297A、N297Q、A330S、P331S、C232S、C233S、M252Y、S254T、和/或 T256E，其中胺基酸位置係根據 EU 或卡巴特編號慣例進行的。

【0367】在某些實施方式中，抗體具有 IgG4 同種型。在一些實施方式中，抗體含有人 IgG4 恒定區。在一些實施方式中，人 IgG4 恒定區包括 Fc 區。在一些實施方式中，Fc 區包含一個或多個修飾。例如，在一些實施方式中，Fc 區包含一個或多個突變（例如，相對於相同同種型的野生型 Fc 區）。在一些實施方

式中，該一個或多個突變選自 E233P、F234V、L235A、G237A、E318A（Hutchins 等人 (1995) Proc Nat/ A cad Sci USA [美國國家科學院院刊], 92:11980-11984）、S228P、L236E、S241P、L248E（Reddy 等人, (2000) J Immuno/ [免疫學雜誌],164:1925-1933；Angal 等人, (1993) Mol Immunol. [分子免疫學] 30(1):105-8；US 8614299 B2）、T394D、M252Y、S254T、T256E、N297A、和/或 N297Q，其中胺基酸位置係根據 EU 或卡巴特編號慣例進行的。

【0368】 在一些實施方式中，Fc 區還含有一個或多個選自 M252Y、S254T 和/或 T256E 的其他突變，其中胺基酸位置根據 EU 或卡巴特編號慣例。

【0369】 在一些實施方式中，本文所述之一種或多種 IgG1 變體可與 A330L 突變組合（Lazar 等人, (2006) Proc Natl Acad Sci USA[美國國家科學院院刊], 103:4005-4010），或與 L234F、L235E、和/或 P331S 突變中的一種或多種組合（Sazinsky 等人, (2008) Proc Natl Acad Sci USA[美國國家科學院院刊], 105:20167-20172）以消除補體活化，其中胺基酸位置根據 EU 或卡巴特編號慣例。在一些實施方式中，本文所述之 IgG 變體可與一種或多種突變（例如根據 EU 或卡巴特編號慣例，M252Y、S254T、T256E 突變）組合以增強人血清中的抗體半衰期（Dall' Acqua 等人, (2006) J Biol Chem, 281:23514-23524；和 Strohl 等人, (2009) Current Opinion in Biotechnology [生物技術當前述評], 20:685-691）。

【0370】 在一些實施方式中，本揭露的 IgG4 變體可以與 S228P 突變（根據 EU 或 Kabat 編號慣例）組合（Angal 等人, (1993) Mol Immunol [分子免疫學], 30:105-108），和/或與 Peters 等人（(2012) J Biol Chem. [生物化學雜誌] 13; 287(29):24525-33）中描述的一個或多個突變組合以增強抗體穩定性。

【0371】在一些實施方式中，抗體具有如下 Fc 區，該 Fc 區選自 IgG2 Fc 區、IgG4 Fc 區、或 IgG2/IgG4 雜合 Fc 區。

工程化改變的抗體之方法

【0372】如上所述，本文所示的具有 VH 和 VL 序列或全長重鏈和輕鏈序列的 TREM2 結合抗體可用於藉由修飾全長重鏈和/或輕鏈序列、VH 和/或 VL 序列或與其附接的一個或多個恒定區來產生新的 TREM2 結合抗體。因此，在本發明的另一個方面，本發明的 TREM2 結合抗體的結構特徵用於產生結構上相關的 TREM2 結合抗體，其保留本發明的抗體及其抗原結合片段的至少一種功能特性，如與人 TREM2 結合並且穩定人 TREM2 的功能特性。

【0373】例如，本發明的抗體及其抗原結合片段的一個或多個 CDR 區或其突變可以與已知的構架區和/或其他 CDR 重組組合以產生另外的重組工程化的本發明 TREM2 結合抗體及其抗原結合片段，如上所討論。其他類型的修飾包括先前部分中描述的那些修飾。用於工程化方法的起始材料係本文提供的一種或多種 VH 和/或 VL 序列，或其一個或多個 CDR 區。為了產生工程化抗體，不必實際製備（即，表現為蛋白質）具有本文提供的一種或多種 VH 和/或 VL 序列的抗體，或其一個或多個 CDR 區。相反，該一個或多個序列中包含的資訊用作起始材料以產生源自該一個或多個原始序列的一個或多個「第二代」序列，然後該一個或多個「第二代」序列進行製備並表現為蛋白質。

【0374】還可以藉由篩選具有如 US 20050255552 所述之固定的 CDR3 序列或最小必需結合決定簇以及 CDR1 和 CDR2 序列的多樣性的抗體文庫來製備改變的抗體序列。該篩選可以根據適合於篩選來自抗體文庫的抗體的任何篩選技術進行，如噬菌體展示技術。

【0375】標準分子生物學技術可用於製備和表現改變的抗體序列。由一種或多種改變的抗體序列編碼的抗體係保留本文所述之 TREM2 結合抗體的一種、一些或全部功能特性的抗體，該等功能特性包括但不限於與人 TREM2 蛋白特異性結合並穩定人 TREM2 蛋白。

【0376】可以使用本領域可獲得的和/或本文描述的標準測定如實例中所述之那些測定（例如，ELISA）評估改變的抗體的功能特性。

【0377】在一些實施方式中，使本發明的抗體及其抗原結合片段工程化之方法中，可以沿著 TREM2 結合抗體編碼序列的全部或部分隨機或選擇性地引入突變，並且可以針對結合活性和/或如本文所述之其他功能特性篩選所得的經修飾的 TREM2 結合抗體。本領域中已經描述了突變方法。例如，Short 的 PCT 公開 WO 02/092780 描述了使用飽和誘變、合成連接裝配、或其組合產生並篩選抗體突變的方法。可替代地，Lazar 等人的 PCT 公開 WO 03/074679 描述了使用計算篩選方法來優化抗體的生理化學特性之方法。

本發明抗體的表徵

【0378】本發明的抗體及其抗原結合片段可藉由各種功能測定來表徵。例如，它們的特徵在於它們結合和穩定 TREM2 的能力。

【0379】抗體與 TREM2 結合的能力可以藉由直接標記目的抗體來檢測，或者該抗體可以是未標記的並且使用本領域已知的各種夾心式測定形式間接檢測結合。

【0380】在一些實施方式中，本發明的 TREM2 結合抗體及其抗原結合片段阻斷參考 TREM2 結合抗體或與參考 TREM2 結合抗體競爭結合 TREM2 多肽。該等可以是上述完全人或人源化 TREM2 結合抗體。它們還可以是與參考抗

體結合相同表位的其他人、小鼠、嵌合或人源化 TREM2 結合抗體。阻斷參考抗體結合或與參考抗體競爭結合的能力表明測試中的 TREM2 結合抗體結合與參考抗體所定義的相同或相似的表位，或結合與參考 TREM2 結合抗體所結合的表位足夠接近的表位。這種抗體尤其可能具有針對參考抗體鑒定的有利特性。阻斷參考抗體或與參考抗體競爭的能力可以藉由例如競爭結合測定來確定。使用競爭結合測定，檢查該測試中的測抗體抑制參考抗體與共同抗原（如 TREM2 多肽）的特異性結合的能力。如果過量的測試抗體實質上抑制參考抗體的結合，則測試抗體與參考抗體競爭與抗原的特異性結合。實質性抑制意指測試抗體通常使參考抗體的特異性結合降低至少 10%、25%、50%、75%或 90%。

【0381】許多已知的競爭結合測定可用於評估抗體與參考抗體競爭結合特定蛋白質，該特定蛋白質在這種情況下是 TREM2。該等測定法包括，例如固相直接或間接放射免疫測定法（RIA）、固相直接或間接酶免疫測定（EIA）、夾心式競爭測定（參見 Stahli 等人, Methods in Enzymology [酶學方法]9:242-253, 1983）；固相直接生物素-親和素 EIA（參見 Kirkland 等人, J. Immunol. [免疫學雜誌]137:3614-3619, 1986）；固相直接標記測定，固相直接標記夾心式測定（參見 Harlow 和 Lane, 同上）；使用 I-125 標記的固相直接標記 RIA（參見 Morel 等人, Mol. Immunol. [分子免疫學] 25:7-15, 1988）；固相直接生物素-親和素 EIA（Cheung 等人, Virology [病毒學]176:546-552, 1990）；和直接標記的 RIA（Moldenhauer 等人, Scand.J. Immunol. [斯堪的納維亞免疫學雜誌]32:77-82, 1990）。典型地，這種測定涉及使用結合固體表面或細胞的純化抗原，該固體表面或細胞攜帶該等未標記的測試 TREM2 結合抗體和標記的參考抗體中的任何一種。藉由確定在測試抗體存在下結合固體表面或細胞的標籤的量來測量競

爭性抑制。通常，測試抗體過量存在。藉由競爭測定（即，競爭抗體）鑒定的抗體包括與參考抗體結合相同表位的抗體和結合鄰近表位的抗體，該鄰近表位與參考抗體所結合的表位足夠接近以發生位阻。

【0382】 為了確定所選擇的 TREM2 結合單株抗體是否結合唯一的表位，可以使用可商購獲得的試劑（例如來自伊利諾州羅克福德的皮爾斯公司（Pierce, Rockford, Ill.）的試劑）將每種抗體生物素化。可以使用 TREM2 多肽包被的 ELISA 平板來進行使用未標記單株抗體和生物素化單株抗體的競爭研究。可以用鏈黴親和素-鹼性磷酸酶探針檢測生物素化的 MAb 結合。為了確定純化的 TREM2 結合抗體的同種型，可以進行同種型 ELISA。例如，可以用 1 μg/ml 抗人 IgG 在 4°C 下過夜包被微量滴定板的孔。在用 1% BSA 封閉之後，將該等板與 1 μg/ml 或更少的單株 TREM2 結合抗體或經純化的同種型對照在環境溫度下反應 1 至 2 個小時。該等孔然後可以與人 IgG1 或人 IgM 特異性鹼性磷酸酯酶軛合的探針反應。然後將板顯色，並對其進行分析，以便確定純化抗體的同種型。

【0383】 為了證明單株 TREM2 結合抗體與表現 TREM2 多肽的肝細胞的結合，可以使用流動式細胞測量術。簡而言之，可以將表現 TREM2 的細胞系（在標準生長條件下生長）與各種濃度的 TREM2 結合抗體在含 0.1% BSA 和 10%胎牛血清的 PBS 中混合，並且在 37°C 下孵育 1 小時。洗滌後，使細胞與螢光素標記的抗人 IgG 抗體在與一級抗體染色相同的條件下反應。可藉由 FACScan 儀器使用光和側向散射特性閘控單個細胞來分析樣本。（除了或者替代）流動式細胞測量術測定，還可使用利用螢光顯微術的備選測定法。可將細胞如上所述那樣染色並且藉由螢光顯微術檢查。該方法允許視覺化單個細胞，但可以根據抗原的密度具有降低的靈敏度。

【0384】可以藉由西方印漬術進一步測試本發明的 TREM2 結合抗體及其抗原結合片段與 TREM2 多肽或抗原片段的反應性。簡而言之，可以製備純化的 TREM2 多肽或融合蛋白，或來自表現 TREM2 的細胞的細胞提取物，並且進行十二烷基硫酸鈉聚丙烯醯胺凝膠電泳。電泳之後，將分離的抗原轉移至硝酸纖維素膜，用 10%胎牛血清進行封閉，並且用有待測試的單株抗體進行探測。可以使用抗人 IgG 鹼性磷酸酯酶檢測人 IgG 結合，並且用 BCIP/NBT 底物片劑（密蘇里州聖路易斯的西格瑪化學公司（Sigma Chem. Co., St. Louis, Mo.））進行顯色。

【0385】功能測定的實例也在下面的實例部分中描述。

治療方法

【0386】本文提供了藉由使用本文公開的TREM2結合分子治療與TREM2功能喪失相關的疾病之方法。在一些實施方式中，與TREM2功能喪失相關的疾病係神經炎症或神經退行性疾病，例如阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、那須-哈柯拉病、多發性硬化、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症（ALS）、抗NMDA受體腦炎、自閉症、腦狼瘡（NP-SLE）、化療引起的周圍神經病變（CIPN）、帶狀皰疹後神經痛、慢性發炎去髓鞘型多發性神經病變（CIDP）、癲癇、格林 - 巴厘綜合症（GBS）、包涵體肌炎、胞溶體貯積症、如尼曼-皮克病（Niemann-Pick C）和黏多糖病II / IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病、重症肌無力、神經白塞病、視神經脊髓炎（NMO）、視神經炎、多肌炎、皮肌炎、拉斯穆森腦炎（Rasmussen’s encephalitis）、雷特氏症候群、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷、脊椎損傷、病毒性腦炎或細菌性腦膜炎。在一些較佳的實施方式中，與TREM2功能喪失相關的疾病選自以

下清單，該清單有以下組成：阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症或那須-哈柯拉病。

【0387】本文還提供了藉由使用本文揭露的TREM2結合分子治療直接或間接與異常TREM2活性和/或表現相關的TREM2相關障礙之方法。Trem2相關障礙包括CNS相關疾病、PNS相關疾病、全身性炎症和其他與炎症有關的疾病、疼痛和由於濫用化學物質引起的戒斷症狀，與CNS相關的疾病或障礙包括廣泛性焦慮障礙、認知障礙、學習和記憶缺陷和功能障礙、阿茲海默氏症（輕度、中度和重度）、注意力缺陷過動症、帕金森氏症、帕金森氏症失智、亨廷頓病、ALS、慢性神經退行性障礙、如Creutzfeld-Jacob病和kuru病、抽動一穢語綜合症、精神病、抑鬱症和抑鬱障礙、躁狂症、躁狂抑鬱症、精神分裂症、精神分裂症的認知缺陷、強迫症、恐慌症、飲食障礙、發作性睡病、傷害感受、AIDS - 失智、老年性失智、與年齡相關的輕度認知障礙（MCI）、年齡相關記憶障礙、孤獨症、閱讀障礙、遲發性運動障礙、癲癇、和驚厥性疾病、創傷後應激障礙、短暫性缺氧、假性失智、月經前期綜合症、黃體晚期綜合症、慢性疲勞綜合症和時差。在一些較佳的實施方式中，Trem2相關障礙選自以下清單，該清單由以下組成：阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症或那須-哈柯拉病。

【0388】Trem2 相關疾病還包括：免疫障礙、特別是涉及炎性障礙（如細菌感染、真菌感染、病毒感染、原生動物或其他寄生蟲感染、牛皮癬、敗血症、腦瘧疾、炎症性腸病、關節炎、（如類風濕性關節炎）、毛囊炎、膿皰瘡、肉芽腫、類脂肺炎、血管炎、和骨關節炎）、自身免疫障礙（如類風濕性關節炎、甲狀腺炎、（如橋本氏甲狀腺炎和格雷氏病）、胰島素抗性糖尿病、惡性貧血、

愛迪生氏病、天皰瘡、白癜風、潰瘍性結腸炎、全身性紅斑狼瘡（SLE））、乾燥症候群、多發性硬化、皮肌炎、混合性結締組織病、硬皮病、多發性肌炎、移植排斥反應、（如同種異體移植排斥反應）、T細胞障礙（如愛滋病）、過敏性炎症性障礙（如皮膚和/或黏膜過敏，如過敏性鼻炎、氣喘、牛皮癬）、神經系統障礙、眼障礙、胚胎障礙或與 TREM2 異常活性和/或表現直接或間接相關的任何其他障礙（例如腫瘤、癌症、白血病、髓性疾病和創傷）。

【0389】在一些實施方式中，TREM2相關障礙係由TREM2的廣泛蛋白水解切割或表現 TREM2 受體異常或突變變體的細胞介導的或與之相關的自身免疫障礙、炎性障礙或惡性障礙。自身免疫疾病的實例包括但不限於關節炎（例如類風濕性關節炎，慢性關節炎和畸形性關節炎）和風濕性疾病，包括炎性病症和涉及骨損失的風濕性疾病、炎性疼痛、脊柱炎（包括強直性脊柱炎）、萊特爾綜合症、反應性關節炎、牛皮癬關節炎和腸道型關節炎（enterophathic arthritis）、超敏反應（包括氣道超敏反應和皮膚超敏反應）和過敏症。自身免疫疾病包括自身免疫性血障液礙（包括例如溶血性貧血、再生障礙性貧血、純紅血球性貧血和特發性血小板減少症）、全身性紅斑狼瘡、炎性肌紊亂、多軟骨炎、鞏膜瘤、韋格納肉芽腫病、皮肌炎、慢性活動性肝炎、重症肌無力、牛皮癬、史蒂芬強森綜合症、特發性口炎性腹瀉、內分泌性眼病、格雷氏病、結節病、多發性硬化、原發性膽汁性肝硬化、青少年糖尿病（I型糖尿病）、葡萄膜炎（前部和後部）、乾燥性角膜結膜炎和春季角膜結膜炎、間質性肺纖維化、牛皮癬關節炎和腎小球腎炎（有和沒有腎病綜合症，例如包括痛風、蘭格漢氏細胞組織細胞增生症、特發性腎病綜合症或微小病變腎病）、腫瘤、皮膚和角

膜炎症、肌炎、骨植入物鬆動、代謝紊亂、如動脈粥樣硬化、糖尿病和脂代謝紊亂。

【0390】在一些實施方式中，TREM2 相關障礙選自氣喘、支氣管炎、肺塵埃沈著病、肺氣腫、氣道的其他阻塞性或炎性疾病，包括特發性肺纖維化或COPD。

【0391】在一些實施方式中，TREM2 相關障礙係造血或肝細胞惡性障礙，例如急性髓性白血病、慢性髓性白血病、骨髓增生性障礙、骨髓增生異常綜合症、多發性骨髓瘤、陣發性睡眠性血紅蛋白尿症、範可尼貧血（fanconi anemi）、重型地中海貧血症、威-奧二氏綜合症（Wiskott-Aldrich syndrome）、吞噬血球淋巴細胞與組織細胞增多症。

【0392】在一些實施方式中，TREM2 相關病症選自氣喘、腦炎、炎症性腸病、慢性阻塞性肺病（COPD）、過敏障礙、敗血性休克、肺纖維化、未分化的脊椎關節炎（undifferentitated spondyloarthropathy）、未分化的關節炎、關節炎、炎症性骨質溶解或由慢性病毒性或細菌性感染所致的慢性炎症。

【0393】在一些實施方式中，TREM2 相關障礙選自失智、額顳葉失智、阿茲海默氏症、血管性失智、混合性失智、克－亞二氏症、正常壓力腦積水、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、亨廷頓病、tau 蛋白病、那須-哈柯拉病、中風、急性創傷、慢性創傷、狼瘡、急慢性結腸炎、傷口癒合、克羅恩氏病、炎症性腸病、潰瘍性結腸炎、肥胖、癆疾、特發性震顫、中樞神經系統狼瘡、白塞氏病、帕金森氏症、路易氏體失智、多系統萎縮、多系統萎縮綜合症（Shy-Drager syndrome）、進行性核上性麻痹、皮質基底神經節變性、急性播散性腦脊髓炎、肉芽腫性疾病、結節病、衰老疾病、癲癇發作、脊椎損傷、外傷性腦損傷、年

齡相關性黃斑變性、青光眼、色素性視網膜炎、視網膜變性、呼吸道感染、敗血症、眼感染、全身性感染、狼瘡、關節炎、多發性硬化、低骨密度、骨質疏鬆症、骨生成、骨硬化病（osteopetrotic disease）、佩吉特骨病（Paget's disease of bone）和癌症。在一些較佳的實施方式中，TREM2 相關障礙選自以下清單，該清單由以下組成：阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症或那須-哈柯拉病。

【0394】 在一些實施方式中，TREM2 相關障礙選自失智、額顳葉失智、阿茲海默氏症、那須-哈柯拉病和多發性硬化。在一些較佳的實施方式中，TREM2相關障礙係失智，例如額顳葉失智、阿茲海默氏症、帕金森氏症、血管性失智、語義性失智或具路易氏體失智。

【0395】 在一些實施方式中，此類方法包括向需要治療的受試者投與治療有效量的特異性結合TREM2蛋白的IgSF結構域（例如，SEQ ID NO: 1、2和3中任一個的胺基酸殘基19至132）的抗體或其抗原結合片段並穩定TREM2蛋白。

【0396】 在一些實施方式中，治療與TREM2功能喪失相關的疾病的該等方法包括：（1）測定從受試者獲得的樣本（例如從受試者獲得的腦脊液樣本）中的細胞表面TREM2水平；(2) 選擇細胞表面TREM2水平低於參考水平的受試者，其中參考水平係從健康受試者獲得的樣本（例如從健康受試者獲得的腦脊液樣本）中的細胞表面TREM2水平；和 (3) 給受試者施用治療有效量的抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段特異性結合TREM2蛋白的IgSF結構域並穩定TREM2蛋白。特異性結合TREM2蛋白的IgSF結構域的抗體或其抗原結合片段可以穩定細胞表面上的TREM2蛋白，和/或減少TREM2蛋白的胞外域的脫落。該等抗體或其抗原結合片段可以藉由口服、靜脈內、顱內、鞘內、皮下或

鼻內途徑投與受試者。樣本中的細胞表面TREM2水平可以藉由本領域已知的測定法確定，例如藉由流動式細胞測量術、免疫組織化學、西方印漬術、免疫螢光測定、放射免疫測定法（RIA）、酶聯免疫吸附測定（ELISA）、均相時間分辨螢光（HTRF）、正電子發射斷層掃描（PET）、或用針對TREM2的抗體或抗體片段的任何其他免疫檢測。

組合療法

【0397】上述各種治療可以與其他治療配伍組合，例如與TREM2功能喪失相關的疾病的當前護理標準，例如，阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、或那須-哈柯拉病的當前護理標準。例如，本文所述之hTREM2抗體或其抗原結合片段可以與BACE抑制劑、抗Tau抗體、抗類澱粉蛋白β抗體、芬戈莫德、BG12、干擾素β或那他珠單抗中的一種或多種組合。因此，本文所述之治療與TREM2功能喪失相關的疾病之方法可以進一步包括向需要治療的受試者投與第二藥劑。

【0398】術語「組合」係指呈一種劑量單位形式的固定組合，或組合投與（其中本發明的化合物與組合配偶體（partner）（例如下文所解釋的另一種藥物，也稱為「治療劑」或「共藥劑（co-agent）」）可以在同一時間獨立地投與或在時間間隔內分開地投與，特別是在該等時間間隔允許組合配偶體顯示協作（例如協同）效應的情況下）。單個組分可以包裝在一個套組（kit）中或分開包裝。可在投與之前將一種或兩種組分（例如粉末或液體）重構或稀釋至所希望的劑量。如本文所使用的術語「共同投與」或「組合投與」等意在涵蓋將所選擇的組合配偶體投與給有需要的單個受試者（例如患者），並且旨在包括其中藥劑不一定藉由相同的投與途徑投與或同時投與的治療方案。如本文所用，術語「藥

物組合」意指由多於一種治療劑的混合或組合所產生的產品，並且包括治療劑的固定和非固定組合兩者。術語「固定組合」意指治療劑（例如，本發明的化合物和組合配偶體）以單一實體或劑量的形式同時地投與至患者。術語「非固定組合」意指治療劑（例如，本發明的化合物和組合配偶體）作為分開的實體同時地、並行地或依序地投與至患者（沒有特定的時間限制），其中這種投與在患者體內提供治療有效水平的兩種化合物。後者也適用於雞尾酒療法，例如三種或更多種治療劑的投與。

【0399】 如本文所用，術語「藥物組合」係指在一個劑量單位形式中的固定組合、或用於組合投與的非固定組合或成套藥盒，其中兩種或更多種治療劑可以在同一時間獨立地投與或在時間間隔內分別投與，特別地其中該等時間間隔允許組合配偶體顯示合作性例如協同效應。

【0400】 術語「組合療法」係指投與兩種或更多種治療劑以治療本揭露中描述的治療性病症或障礙。這種投與涵蓋以基本上同時的方式共同投與該等治療劑，如以具有固定比率的活性成分的單個膠囊投與。可替代地，這種投與涵蓋在多個容器中或在每種活性成分的獨立容器（例如，片劑、膠囊、粉末、和液體）中共同投與。可以將粉末和/或液體在投與之前重構或稀釋到所希望的劑量。此外，這種投與也涵蓋在大致相同的時間或在不同的時間以依序方式使用每種類型的治療劑。在任何一種情況下，治療方案將在治療本文所述之病症或障礙方面提供藥物組合的有益作用。

樣本製備

【0401】 可以使用本領域已知的任何一種方法（例如藉由活檢或手術）從受試者獲得本文所述方法中使用的樣本。例如，可以藉由腰椎穿刺獲得包含腦

脊液的樣本，其中將附接到注射器的細針插入腰部區域中的椎管中並且產生真空以使得腦脊液可以藉由針吸入並且收集在注射器中。CT成像、超音波或內視鏡可用於指導此類手術。樣本可以快速冷凍並儲存在-80˚C以備後用。樣本也可以用固定劑（例如甲醛、多聚甲醛或乙酸/乙醇）固定。可以從新鮮、冷凍或固定的樣本中提取RNA或蛋白質用於分析。

藥物組成物、劑量和投與方法

【0402】 本文還提供了用於治療TREM2相關疾病的組成物，例如藥物組成物。此類組成物包括一種或多種如本文所述之hTREM2抗體或其抗原結合片段。此類組成物可以進一步包含另一種藥劑，例如當前針對待治療疾病的護理標準。

【0403】 藥物組成物典型地包含藥學上可接受的載體。如本文所用，表現「藥學上可接受的載體」包括與藥物投與相容的鹽水、溶劑、分散介質、包衣、抗細菌劑和抗真菌劑、等滲劑和吸收延遲劑等。典型地，藥物組成物被配製成與預期的投與途徑相容。給藥途徑的實例包括腸胃外（例如，靜脈內、動脈內、腹膜內）、口服、顱內、鞘內、或鼻內（例如，吸入）、皮內、皮下、或透黏膜給藥。在一些實施方式中，配製藥物組成物以遞送hTREM2抗體或其抗原結合片段以穿過血腦屏障。

【0404】 在一些實施方式中，該等藥物組成物包含一種或多種藥學上可接受的載體，包括例如，離子交換劑、氧化鋁、硬脂酸鋁、卵磷脂、血清蛋白（例如人血清白蛋白）、緩衝物質（例如磷酸鹽）、甘胺酸、山梨酸、山梨酸鉀、飽和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物、水、鹽或電解質（例如硫酸魚精蛋白）、磷酸氫二鈉、磷酸氫鉀、氯化鈉、鋅鹽、膠體二氧化矽、三矽酸鎂、聚乙烯吡

咯啶酮、纖維素基物質、聚乙二醇、羧甲基纖維素鈉、聚丙烯酸酯、蠟類、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。

【0405】配製適合的藥物組成物之方法在本領域中係已知的，參見，例如，Remington: The Science and Practice of Pharmacy. [雷明頓：藥物科學與實踐]第21版., 2005；和在Drugs and the Pharmaceutical Sciences: a Series of Textbooks and Monographs [藥物和藥物科學：一系列教科書和專著]（Dekker, NY）系列中的書籍。例如，被用於胃腸外、皮內或皮下應用的溶液或懸浮液可以包括以下組分：無菌稀釋劑，如注射用水、鹽水溶液、固定油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶劑；抗細菌劑，如苯甲醇或對羥基苯甲酸甲酯；抗氧化劑，如抗壞血酸或亞硫酸氫鈉；螯合劑，如乙二胺四乙酸；緩衝劑如乙酸鹽、檸檬酸鹽或磷酸鹽；並且用於調節滲透壓的試劑如氯化鈉或葡萄糖。可以用酸或鹼（例如鹽酸或氫氧化鈉）調節pH。腸胃外製劑可以封裝在由玻璃或塑膠製成的安瓿、一次性注射器或多劑量小瓶中。

【0406】適合於可注射使用的藥物組成物可以包括無菌水溶液（在水溶性的情況下）或分散體、以及用於臨時製備無菌可注射溶液或分散液的無菌粉末。對於靜脈內的投與，適當的載體包括生理鹽水、抑菌水、Cremophor EL™（巴斯夫公司（BASF），帕西波尼（Parsippany），新澤西州（NJ））或磷酸酯緩衝鹽水（PBS）。在所有情況下，該組成物必須是無菌的並且必須具有達到容易注射的程度的流動性。它在製造和儲存條件下應該穩定並且必須抗諸如細菌和真菌的微生物污染作用而保存。該載體可以是包含以下物質的溶劑或分散介質：例如，水、乙醇、多元醇（例如，甘油、丙二醇和液體聚乙二醇等），以及其適合的混合物。可以例如藉由使用包衣（如卵磷脂）、藉由在分散液的情

況下維持所需顆粒大小以及藉由使用表面活性劑來維持適當的流動性。防止微生物的作用可以藉由不同的抗細菌以及抗真菌劑，例如對羥苯甲酸酯、三氯三級丁醇、苯酚、抗壞血酸、硫柳汞等來實現。在許多情況下，將較佳的是在組成物中包含等滲劑例如糖、多元醇（如甘露醇或山梨糖醇）和氯化鈉。可以藉由在組成物中包含延遲吸收的藥劑（例如單硬脂酸鋁和明膠）來實現可注射組成物的長時間吸收。

【0407】 可以藉由以下各項來製備無菌可注射溶液：將活性化合物以所需的量，根據需要，與一種以上列舉的成分或該等成分的組合併入適當的溶劑中，然後進行過濾滅菌。

【0408】 總體上，藉由將有效化合物摻入無菌媒介物來製備分散體，該無菌媒介物含有基礎分散介質以及來自以上列舉的所需其他成分。就用於製備無菌可注射溶液的無菌粉末而言，較佳的是製備方法係真空乾燥和冷凍乾燥，該等方法產生活性成分的粉末以及來自其以前的無菌過濾溶液的任何另外的所希望的成分。

【0409】 胃腸外配製物可以是單次推注劑量，輸注或載入推注劑量，然後是維持劑量。該等組成物能以特定的固定或可變間隔（例如，每天一次）投與，或「按需」投與。

【0410】 用於注射的合適的藥物組成物可以包含緩衝液（例如，乙酸鹽、磷酸鹽或檸檬酸鹽緩衝液）；表面活性劑（例如聚山梨醇酯）；視需要的穩定劑（例如，人白蛋白）等。外周投與的製劑包括無菌水溶液或非水溶液、懸浮液和乳液。非水溶劑的例子係丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄欖油和可注射用有機酯如油酸乙酯。含水載體包括例如水、醇/水溶液、乳劑或懸液，包括鹽水

和緩衝的介質。在一些實施方式中，該藥物組成物包含0.01-0.1 M磷酸鹽緩衝液或0.8%鹽水。其他常見的胃腸外媒介物包括磷酸鈉溶液、林格氏右旋糖、右旋糖和氯化鈉、乳酸林格氏液或不揮發性油。靜脈內媒介物可以包括流體和營養補充物、電解質補充物，如基於Ringer右旋糖的那些等。防腐劑和其他添加物也可以存在，如，例如抗微生物藥、抗氧化劑、螯合劑、和惰性氣體等。

【0411】口服組成物通常包括惰性稀釋劑或可食用的載體。出於口服治療性給藥的目的，可以將活性化合物隨賦形劑一起摻入並且以片劑、錠劑或膠囊劑（例如，明膠膠囊劑）的形式使用。口服組成物還可以使用用作嗽口水的液體載體來製備。可以包括藥學上相容的黏合劑、和/或佐劑材料作為組成物的一部分。片劑、丸劑、膠囊劑、錠劑等可以含有以下成分或具有類似性質的化合物中的任一種：黏合劑，如微晶纖維素、黃蓍膠或明膠；賦形劑，如澱粉或乳糖；崩解劑，如海藻酸、普拉莫膠（Primogel）、或玉米澱粉；潤滑劑，如硬脂酸鎂或氫化植物油（Sterotes）；助流劑，如膠體二氧化矽；甜味劑，如蔗糖或糖精；或調味劑，如薄荷、水楊酸甲酯、或橙味調味品。

【0412】對於藉由吸入給藥，化合物可以從加壓容器或分配器（其含有合適的推進劑，例如氣體（如二氧化碳））、或噴霧器以氣溶膠噴霧形式遞送。此類方法包括美國專利案號6,468,798中描述的那些方法。如本文描述的治療化合物的全身給藥也可以藉由經黏膜或經皮方式進行。對於經黏膜或經皮給藥而言，可以在配製物中使用對待滲透的屏障適當的滲透劑。此類滲透劑通常是本領域已知的，並且包括例如就經黏膜給藥而言，洗滌劑、膽鹽、以及梭鏈孢酸衍生物。經黏膜給藥可以藉由使用鼻噴劑或栓劑來完成。對於經皮給藥，將活性化合物配製成如本領域通常已知的軟膏劑、油膏劑、凝膠劑、或乳膏劑。

【0413】在一個實施方式中，將該等治療性化合物與保護該等治療性化合物免於從體內快速消除的載體一起製備，如控釋配製物，包括植入物和微囊化的遞送系統。

【0414】藥物組成物可以與給藥的說明書一起包括在容器、包裝、或分配器中。

【0415】在非限制性實例中，將包含至少一種藥劑的藥物組成物配製成液體（例如，熱固性液體），配製成固體的組分（例如，粉末或可生物降解的生物相容性聚合物（例如，陽離子可生物降解的生物相容性聚合物）），或配製成凝膠的組分（例如，可生物降解的生物相容性聚合物）。在一些實施方式中，將含有至少一種藥劑的該至少組成物配製成選自下組的凝膠：海藻酸鹽凝膠（例如，海藻酸鈉）、纖維素基凝膠（例如，羧甲基纖維素或羧乙基纖維素）、或殼聚糖基凝膠（例如，殼聚糖甘油磷酸鹽）。此外，可用於配製本文描述的任何藥物組成物的藥物洗脫聚合物的另外的非限制性實例包括角叉菜膠、羧甲基纖維素、羥丙基纖維素、與聚乙烯醇組合的葡聚糖、與聚丙烯酸組合的葡聚糖、聚半乳糖醛酸、半乳糖醛酸多糖、polysalactic酸、聚乙醇酸、羅望子膠、黃原膠、纖維素膠、瓜爾膠（羧甲基瓜爾膠）、果膠、聚丙烯酸、聚甲基丙烯酸、N-異丙基聚丙烯醯胺（N-isopropylpolyacrylomide）、聚氧乙烯、聚氧丙烯、普朗尼克酸（pluronic acid）、聚乳酸、環糊精、環狀直鏈澱粉、節肢彈性蛋白（resilin）、聚丁二烯、N-(2-羥丙基)甲基丙烯醯胺（HP MA）共聚物、馬來酸酐-烷基乙烯基醚、聚縮肽、聚羥基丁酸酯、聚己內酯、聚二噁perhydrocyclopentadienone、聚乙二醇、聚有機膦腈、聚原酸酯、聚乙烯吡咯啶酮、聚乳酸-共-羥基乙酸（PLGA）、聚酸酐、聚胺（polysilamine）、聚N-乙烯基己內醯胺、和結冷膠。

【0416】「有效量」係足以實現有益或所希望的結果的量。例如，治療量為達到所需療效的量。該量可與預防上有效量相同或不同，該預防上有效量為預防疾病或疾病症狀的發作所需的量。可以在一次或多次給與或應用或給藥時施用有效量。治療化合物的治療有效量（即，有效劑量）取決於所選擇的治療化合物。組成物能以從每天一次或多次至每週一次或多次投與；包括每隔一天一次。技術人員將理解，某些因素可以影響有效治療受試者所需的劑量和時程，包括但不限於疾病或障礙的嚴重性、先前的治療、受試者的一般健康狀況和/或年齡，以及存在的其他疾病。此外，用治療有效量的在此描述的治療化合物對受試者進行的治療可以包括單一治療或一系列治療。

【0417】可以藉由細胞培養或實驗動物中的標準製藥程序來確定治療性化合物的劑量、毒性和治療效果，例如，用於確定LD50（使50%的群體致死的劑量）和ED50（在50%的患者群體中治療有效的劑量）。在毒性和治療效果之間的劑量比為治療指數，它可以表示為比率LD50/ED50。表現出高治療指數的化合物係較佳的。儘管可以使用表現出有毒副作用的化合物，但是應該小心設計將此類化合物靶向至受影響的組織的部位的遞送系統，從而將對未感染的細胞的潛在損傷最小化，並且由此減少副作用。

【0418】從細胞培養測定和動物研究獲得的數據可以用於配製一系列的用於在人類中使用的劑量。較佳的是此類化合物的劑量處於包括ED50在內的有很小毒性或沒有毒性的循環濃度範圍內。該劑量可根據所應用的劑型和所使用的投與途徑在該範圍內變化。對於用於本發明方法的任何化合物，均可根據細胞培養測定初步估計治療有效劑量。一種劑量可以在動物模型中被配製以達到在細胞培養中確定的一種循環血漿濃度範圍，該範圍包括IC50（即該測試化合

物的完成半最大症狀的抑制的濃度）。此類資訊可用於更精確地確定在人中有用的劑量。可以例如藉由高效液相層析法來測量血漿中的水平。

套組

【0419】本文還提供了套組，該套組包括一種或多種本文提供的組成物和使用說明書。使用說明書可以包括診斷或治療TREM2相關疾病的說明。如本文提供的套組可以根據本文描述的任何方法使用。熟悉該項技術者將知道本文提供的套組的其他合適用途，並且將能夠針對此類用途使用該套組。本文提供的套組還可以包括郵寄（例如，郵資支付信封或郵寄包），其可以用於將樣本返回用於分析，例如，返回實驗室。套組可以包括一個或多個用於樣本的容器，或樣本可以在標準血液收集瓶中。套組還可以包括以下的一種或多種：知情同意書，試驗申請表和關於如何在本文所述方法中使用套組的說明。本文還包括使用此類套組的方法。可以對一個或多個表格（例如，測試申請表）和裝有樣本的容器進行編碼，例如，用條碼來鑒定提供樣本的受試者。

【0420】熟悉該項技術者將認識到許多類似於或等同於本文所述那些的方法和材料，該等方法和材料可用於實踐本發明。實際上，本發明決不限於所描述的方法和材料。

【實施方式】

序列表

【0421】本申請包含序列表，該序列表已以ASCII格式電子提交，並藉由引用整體併入本文。所述ASCII副本創建於2019年9月16日，名為PAT058251_ST25，大小為147,551位元組。

【0422】 1. 一種抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段與骨髓細胞上表現的人觸發2（hTREM2）蛋白的免疫球蛋白超家族（IgSF）結構域結合並穩定hTREM2蛋白（例如SEQ ID NO:1、2或3）。

【0423】 2. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合一個或多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46、R47、H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75、R77、D87、T88、L89和G90。

【0424】 3. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合一個或多個選自以下組成的群組的殘基：D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46和R47，一個或多個選自以下組成的群組的殘基：H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75和R77，和一個或多個選自以下組成的群組的殘基：hTREM2的D87、T88、L89和G90。

【0425】 4. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合五個或更多個選自以下組成的群組的殘基：D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46和R47，四個或更多個選自以下組成的群組的殘基：H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75和R77，和三個或更多個選自以下組成的群組的殘基：hTREM2的D87、T88、L89和G90。

【0426】 5. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合七個或更多個選自以下組成的群組的殘基：D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46和R47，四個或更多個選自以下組成的群組的殘基：H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75和R77，和三個或更多個選自以下組成的群組的殘基：hTREM2的D87、T88、L89和G90。

【0427】 6. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合五個或更多個選自以下組成的群組的殘基：D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46和R47，所有殘基H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75和R77，和三個或更多個選自以下組成的群組的殘基：hTREM2的D87、T88、L89和G90。

【0428】 7. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合一個或多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【0429】 8. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合兩個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【0430】 9. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合三個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【0431】 10. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合四個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【0432】 11. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合五個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【0433】 12. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合六個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【0434】 13. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合七個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【0435】 14. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合八個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【0436】 15. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合九個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【0437】 16. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的所有殘基S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【0438】 17. 如實施方式7至16中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合一個或多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的D39、K42、R46和G90。

【0439】 18. 如實施方式7至16中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合兩個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的D39、K42、R46和G90。

【0440】 19. 如實施方式7至16中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合三個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的D39、K42、R46和G90。

【0441】 20. 如實施方式7至15中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的所有殘基D39、K42、R46和G90。

【0442】 21. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的所有殘基S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88、L89、D39、K42、R46和G90。

【0443】 22. 如實施方式7至16中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合一個或多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的R47、H67、N68、L69、L75、R77和D87。

【0444】 23. 如實施方式7至16中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合兩個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的R47、H67、N68、L69、L75、R77和D87。

【0445】 24. 如實施方式7至16中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合三個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的R47、H67、N68、L69、L75、R77和D87。

【0446】 25. 如實施方式7至16中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合四個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的R47、H67、N68、L69、L75、R77和D87。

【0447】 26. 如實施方式7至16中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合五個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的R47、H67、N68、L69、L75、R77和D87。

【0448】 27. 如實施方式7至15中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合六個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的R47、H67、N68、L69、L75、R77和D87。

【0449】 28. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的所有殘基S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88、L89、R47、H67、N68、L69、L75、R77和D87。

【0450】 29. 如實施方式1至28中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段活化hTREM2。

【0451】 30. 如實施方式1至29中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段促進表現TREM2的細胞中的一種或多種hTREM2依賴性生理活性。

【0452】 31. 如實施方式1至30中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段：

a) 增加吞噬作用，例如在表現hTREM2的細胞中增加吞噬作用，例如，其中該表現TREM2的細胞係hM2A巨噬細胞或人iPS衍生的小膠質細胞樣細胞，

b) 增加趨化性，例如在表現hTREM2的細胞中增加趨化性，例如，其中該表現TREM2的細胞係hM2a巨噬細胞或人iPS衍生的小膠質細胞樣細胞，

c) 增加人單核細胞系中NFAT驅動的報告基因活性，

d) 增加Syk磷酸化，例如在表現hTREM2的細胞中增加Syk磷酸化，例如，其中該表現TREM2的細胞係hM2A巨噬細胞，或

e) 增加a) 至d) 中兩項或更多項的任何組合。

【0453】 32. 如實施方式1至31中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2，例如結合細胞表面上的hTREM2，其中例如藉由FACS分析對hM2a巨噬細胞所測量，半最大有效濃度（EC_{50}）係1 nM或更低。

【0454】 33. 如實施方式1至32中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2，例如結合細胞表面上的hTREM2，其中例如藉由FACS分析對hM2a巨噬細胞所測量，半最大有效濃度（EC_{50}）係0.59 nM或更低。

【0455】 34. 如實施方式1至33中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中例如藉由表面電漿共振（SPR）測量，該抗體或其抗原結合片段以150 pM或更低的解離常數（K_D）結合hTREM2。

【0456】 35. 如實施方式1至34中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中例如藉由表面電漿共振（SPR）測量，該抗體或其抗原結合片段以50 pM或更低的解離常數（K_D）結合hTREM2。

【0457】 36. 如實施方式1至35中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段使表現hTREM2的細胞的細胞表面上的hTREM2蛋白穩定。

【0458】 37. 如實施方式36所述之抗體或其抗原結合片段，其中該表現hTREM2的細胞係巨噬細胞例如M2a巨噬細胞、樹突細胞、破骨細胞、小膠質細

胞、肥大細胞、單核細胞、肺上皮細胞、皮膚蘭格漢氏細胞、庫弗細胞、嗜中性球或肝癌細胞。

【0459】 38. 如實施方式1至37中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段在hM2A巨噬細胞中以100 nM或更低的濃度減少hTREM2蛋白的胞外域的脫落。

【0460】 39. 如實施方式1至38中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中TREM2細胞表面表現增加3倍或更高。

【0461】 40. 如實施方式1至39中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中hTREM2的IgSF結構域包含SEQ ID NO 1、2和3中任一個的胺基酸殘基19至132。

【0462】 41. 如實施方式1至40中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中所述抗體或其抗原結合片段包含：

a) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 41或SEQ ID NO: 44或SEQ ID NO: 45或SEQ ID NO: 47；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 42或SEQ ID NO: 46，或SEQ ID NO: 48；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 43或SEQ ID NO: 49；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 54或SEQ ID NO: 57或SEQ ID NO: 60；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 55或SEQ ID NO: 58；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 56或SEQ ID NO: 59；

b) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 7或SEQ ID NO: 8或SEQ ID NO: 10；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例

如由以下組成：SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 6或SEQ ID NO: 12；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 20或SEQ ID NO: 23；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 18或SEQ ID NO: 21；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 19或SEQ ID NO: 22；

c) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 7或SEQ ID NO: 8或SEQ ID NO: 10；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 6或SEQ ID NO: 12；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 20或SEQ ID NO: 23；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 18或SEQ ID NO: 21；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 78或SEQ ID NO: 79；或

d) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 84或SEQ ID NO: 87或SEQ ID NO: 88或SEQ ID NO: 90；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 85或SEQ ID NO: 89或SEQ ID NO: 91；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 86或SEQ ID NO: 92；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 97或SEQ ID NO: 100或SEQ ID NO: 103；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 98或SEQ ID NO: 101；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 99或SEQ ID NO: 102。

【0463】42. 一種抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2蛋白的IgSF結構域，其中所述抗體或其抗原結合片段包含：

a) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 41或SEQ ID NO: 44或SEQ ID NO: 45或SEQ ID NO: 47；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 42或SEQ ID NO: 46，或SEQ ID NO: 48；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 43或SEQ ID NO: 49；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 54或SEQ ID NO: 57或SEQ ID NO: 60；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 55或SEQ ID NO: 58；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 56或SEQ ID NO: 59；

b) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 7或SEQ ID NO: 8或SEQ ID NO: 10；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 6或SEQ ID NO: 12；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 20或SEQ ID NO: 23；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 18或SEQ ID NO: 21；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 19或SEQ ID NO: 22；

c) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 7或SEQ ID NO: 8或SEQ ID NO: 10；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 6或SEQ ID NO: 12；輕鏈可

變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 20或SEQ ID NO: 23；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 18或SEQ ID NO: 21；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 78或SEQ ID NO: 79；或

d) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 84或SEQ ID NO: 87或SEQ ID NO: 88或SEQ ID NO: 90；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 85或SEQ ID NO: 89或SEQ ID NO: 91；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 86或SEQ ID NO: 92；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 97或SEQ ID NO: 100或SEQ ID NO: 103；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 98或SEQ ID NO: 101；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 99或SEQ ID NO: 102。

【0464】 43. 如實施方式1至42中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：

a) 與SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 50具有至少95%序列同一性的VH多肽序列，和與SEQ ID NO: 24或SEQ ID NO: 61具有至少95%序列同一性的VL多肽序列；或

b) 與SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 93具有至少95%序列同一性的VH多肽序列，和與SEQ ID NO: 80或SEQ ID NO: 104具有至少95%序列同一性的VL多肽序列。

【0465】 44. 如實施方式1至43中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

a) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 7，例如由SEQ ID NO: 7組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 5，例如由SEQ ID NO: 5組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 6，例如由SEQ ID NO: 6組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 17，例如由SEQ ID NO: 17組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 18，例如由SEQ ID NO: 18組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 19，例如由SEQ ID NO: 19組成；

b) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 44，例如由SEQ ID NO: 44組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 42，例如由SEQ ID NO: 42組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 43，例如由SEQ ID NO: 43組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 54，例如由SEQ ID NO: 54組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 55，例如由SEQ ID NO: 55組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 56，例如由SEQ ID NO: 56組成；

c) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 7，例如由SEQ ID NO: 7組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 5，例如由SEQ ID NO: 5組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 6，例如由SEQ ID NO: 6組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 17，例如由SEQ ID NO: 17組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 18，例如由SEQ ID NO: 18組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 78，例如由SEQ ID NO: 78組成；或

d) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 87，例如由SEQ ID NO: 87組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 85，例如由SEQ ID NO: 85組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 86，例如由SEQ ID NO: 86組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 97，例如由SEQ ID NO: 97組成；輕鏈可變區CDR2，

其包含SEQ ID NO: 98，例如由SEQ ID NO: 98組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 99，例如由SEQ ID NO: 99組成。

【0466】 45. 如實施方式1至43中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

a) SEQ ID NO: 8的重鏈可變區CDR1；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 9，例如由SEQ ID NO: 9組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 6，例如由SEQ ID NO: 6組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 20，例如由SEQ ID NO: 20組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 21，例如由SEQ ID NO: 21組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 22，例如由SEQ ID NO: 22組成；

b) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 45，例如由SEQ ID NO: 45組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 46，例如由SEQ ID NO: 46組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 43，例如由SEQ ID NO: 43組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 57，例如由SEQ ID NO: 57組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 58，例如由SEQ ID NO: 58組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 59，例如由SEQ ID NO: 59組成；

c) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 8，例如由SEQ ID NO: 8組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 9，例如由SEQ ID NO: 9組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 6，例如由SEQ ID NO: 6組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 20，例如由SEQ ID NO: 20組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 21，例如由SEQ ID NO: 21組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 79，例如由SEQ ID NO: 79組成；或

d) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 88，例如由SEQ ID NO: 88組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 89，例如由SEQ ID NO: 89組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 86，例如由SEQ ID NO: 86組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 100，例如由SEQ ID NO: 100組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 101，例如由SEQ ID NO: 101組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 102，例如由SEQ ID NO: 102組成。

【0467】 46. 如實施方式1至43中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

a) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 10，例如由SEQ ID NO: 10組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 11，例如由SEQ ID NO: 11組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 12，例如由SEQ ID NO: 12組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 23，例如由SEQ ID NO: 23組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 21，例如由SEQ ID NO: 21組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 19，例如由SEQ ID NO: 19組成；

b) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 47，例如由SEQ ID NO: 47組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 48，例如由SEQ ID NO: 48組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 49，例如由SEQ ID NO: 49組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 60，例如由SEQ ID NO: 60組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 58，例如由SEQ ID NO: 58組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 56，例如由SEQ ID NO: 56組成；

c) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 10，例如由SEQ ID NO: 10組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 11，例如由SEQ ID NO: 11組成；重鏈可

變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 12，例如由SEQ ID NO: 12組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 23，例如由SEQ ID NO: 23組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 21，例如由SEQ ID NO: 21組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 78，例如由SEQ ID NO: 78組成；或

d) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 90，例如由SEQ ID NO: 90組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 91，例如由SEQ ID NO: 91組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 92，例如由SEQ ID NO: 92組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 103，例如由SEQ ID NO: 103組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 101，例如由SEQ ID NO: 101組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 99，例如由SEQ ID NO: 99組成。

【0468】 47. 如實施方式1至43中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

a) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 4，例如由SEQ ID NO: 4組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 5，例如由SEQ ID NO: 5組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 6，例如由SEQ ID NO: 6組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 17，例如由SEQ ID NO: 17組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 18，例如由SEQ ID NO: 18組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 19，例如由SEQ ID NO: 19組成；

b) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 41，例如由SEQ ID NO: 41組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 42，例如由SEQ ID NO: 42組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 43，例如由SEQ ID NO: 43組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 54，例如由SEQ ID NO: 54組成；輕鏈可變區CDR2，

其包含SEQ ID NO: 55，例如由SEQ ID NO: 55組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 56，例如由SEQ ID NO: 56組成；

c) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 4，例如由SEQ ID NO: 4組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 5，例如由SEQ ID NO: 5組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 6，例如由SEQ ID NO: 6組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 17，例如由SEQ ID NO: 17組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 18，例如由SEQ ID NO: 18組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 78，例如由SEQ ID NO: 78組成；或

d) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 84，例如由SEQ ID NO: 84組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 85，例如由SEQ ID NO: 85組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 86，例如由SEQ ID NO: 86組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 97，例如由SEQ ID NO: 97組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 98，例如由SEQ ID NO: 98組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 99，例如由SEQ ID NO: 99組成。

【0469】 48. 如實施方式1至47中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：

a) VH和VL，該VH包含SEQ ID NO: 13，例如由其組成，該VL包含SEQ ID NO: 24，例如由其組成；或

b) VH和VL，該VH包含SEQ ID NO: 50，例如由其組成，該VL包含SEQ ID NO: 61，例如由其組成；或

c) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 13具有至少95%同源性的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 24具有至少95%同源性的序列，例如由其組成；或

d) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 50具有至少95%同源性的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 61具有至少95%同源性的序列，例如由其組成；或

e) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 13差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 24差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成；或

f) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 50差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 61差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成;

g) VH和VL，該VH包含SEQ ID NO: 13，例如由其組成，該VL包含SEQ ID NO: 80，例如由其組成；或

h) VH和VL，該VH包含SEQ ID NO: 93，例如由其組成，該VL包含SEQ ID NO: 104，例如由其組成；或

i) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 13具有至少95%同源性的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 80具有至少95%同源性的序列，例如由其組成；或

j) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 93具有至少95%同源性的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 104具有至少95%同源性的序列，例如由其組成；或

k) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 13差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 80差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成；或

l) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 93差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 104差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成。

【0470】 49. 如實施方式1至48中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：

a) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 37、或SEQ ID NO: 39，例如由其組成，該輕鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 26，例如由其組成；

b) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 74、或SEQ ID NO: 76，例如由其組成，該輕鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 63，例如由其組成；

c) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 37或SEQ ID NO: 39具有至少95%序列同一性，該輕鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 26具有至少95%序列同一性；

d) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 74或SEQ ID

NO: 76具有至少95%序列同一性，該輕鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 63具有至少95%序列同一性；

e) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 15，例如由其組成，該輕鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 82，例如由其組成；

f) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 95，例如由其組成，該輕鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 106，例如由其組成；

g) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 15具有至少95%序列同一性，該輕鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 82具有至少95%序列同一性；或

h) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 95具有至少95%序列同一性，該輕鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 106具有至少95%序列同一性。

【0471】 50. 一種抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段與骨髓細胞上表現的人觸發2（hTREM2）的免疫球蛋白超家族（IgSF）結構域結合，該抗體或其抗原結合片段包含：

a) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 15，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 26，例如由其組成；

b) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 29，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 26，例如由其組成；

c) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 33，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 26，例如由其組成；

d) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 35，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 26，例如由其組成；

e) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 37，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 26，例如由其組成；

f) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 39，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 26，例如由其組成；

g) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 52，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 63，例如由其組成；

h) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 66，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 63，例如由其組成；

i) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 70，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 63，例如由其組成；

j) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 72，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 63，例如由其組成；

k) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 74，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 63，例如由其組成；

l) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 76，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 63，例如由其組成；

m) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 15，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 82，例如由其組成；或

n) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 95，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 106，例如由其組成。

【0472】 51. 一種抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段與如實施方式1-50中任一項所述之任何抗體或其抗原結合片段競爭結合hTREM2蛋白。

【0473】 52. 一種抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段結合與如實施方式1-51中任一項所述之任何抗體或其抗原結合片段的表位重疊的表位。

【0474】 53. 如實施方式1-52中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同種型。

【0475】 54. 如實施方式1-52中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含選自以下的Fc區：IgG1 Fc區、IgG2 Fc區、IgG4 Fc區、或IgG2/IgG4雜合Fc區。

【0476】 55. 如實施方式1-49或51-54中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含修飾的Fc區，該修飾的Fc區與親本抗體相比具有降低的抗體依賴性細胞毒性（ADCC）或補體依賴性細胞毒性（CDC）活性。

【0477】 56. 如實施方式1-55中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段係人或人源化抗體或其片段。

【0478】 57. 如實施方式1-56中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與另一個部分軛合。

【0479】 58. 如實施方式1-57中任一項所述之抗體，其中所述抗體係IgG1同種型。

【0480】 59. 如實施方式1-56中任一項所述之抗體，其中所述抗體係人或人源化抗體。

【0481】 60. 如實施方式1-57中任一項所述之抗體的抗原結合片段，其中該抗原結合片段選自Fab、F(ab')2、Fv片段、scFv、微抗體或雙抗體。

【0482】 61. 如實施方式1-60中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中所述抗體或其抗原結合片段係單株的。

【0483】 62. 如實施方式1-61中任一項所述之抗體，其中該抗體係多特異性抗體，例如雙特異性抗體。

【0484】 63. 如實施方式62所述之抗體，其中該多特異性抗體，例如雙特異性抗體，特異性結合hTREM2和人DAP12（12 kDa的DNAX活化蛋白）。

【0485】 64. 如實施方式1-63中任一項所述之抗體，其中所述抗體藉由Fc區的突變而具有改變的效應子功能。

【0486】 65. 一種核酸分子或核酸分子組，該核酸分子或核酸分子組編碼如實施方式1至64中任一項所述之抗體或其抗原結合片段中的任一種。

【0487】 66. 如實施方式65所述之核酸分子，其中該核酸係DNA。

【0488】 67. 如實施方式65或66所述之核酸分子或核酸分子組，該核酸分子或核酸分子組包含SEQ ID NO: 14、28、51、65、16、30、34、36、38、40、53、67、71、73、75、77、25、31、62、68、27、32、64、69、13、93、15、95、80、104、82或106中的一個或多個。

【0489】 68. 一種載體，該載體包含如實施方式65-67中任一項所述之核酸分子。

【0490】 69. 如實施方式68所述之載體，其中該載體係選殖載體或表現載體。

【0491】 70. 如實施方式68或69所述之載體，其中所述載體包含SEQ ID NO: 14、28、51、65、16、30、34、36、38、40、53、67、71、73、75、77、25、31、62、68、27、32、64、69、13、93、15、95、80、104、82或106中的一個或多個，或其編碼至少一個CDR區的片段。

【0492】 71. 如實施方式68-70中任一項所述之載體，其中該載體能夠在原核細胞和/或真核細胞中複製。

【0493】 72. 如實施方式68-71中任一項所述之載體，其中該載體選自DNA載體、RNA載體、質體、黏粒或病毒載體。

【0494】 73. 如實施方式68-72中任一項所述之載體，其還包含可檢測標誌物和/或選擇標誌物。

【0495】 74. 具有兩個如實施方式68-73中任一項所述之表現載體的組，一個載體編碼 a) 包含SEQ ID NO: 13或50的至少一個VH結構域，並且另一個載體編碼包含SEQ ID NO: 24或61的至少一個VL結構域；或

【0496】 或b) 包含SEQ ID NO: 13或93的至少一個VH結構域，並且另一個載體編碼包含SEQ ID NO: 80或104的至少一個VL結構域。

【0497】 75. 如實施方式68-74中任一項所述之載體，其中該載體係病毒載體，視需要其中該病毒載體係慢病毒、腺病毒、腺相關病毒（AAV）、單純皰疹病毒（HSV）、細小病毒、逆轉錄酶病毒、痘瘡病毒、辛德畢斯病毒、流感病毒、里奧病毒、新城雞瘟病毒（NDV）、麻疹病毒、水皰性口炎病毒（VSV）、

脊髓灰質炎病毒、痘病毒、塞內卡谷病毒（Seneca Valley virus）、柯薩奇病毒、腸病毒、黏液瘤病毒或馬拉巴病毒。

【0498】 76. 如實施方式75所述之載體，其中該載體係AAV載體。

【0499】 77. 如實施方式68-76中任一項所述之載體，其中該載體還包含啟動子。

【0500】 78. 如實施方式68-77中任一項所述之載體，其中該載體包含AAV9衣殼和AAV載體質體，該AAV載體質體包含 (1) 衍生自AAV2的ITR，(2) CMV增強子（例如，包含SEQ ID NO: 134），(3) CBA啟動子（例如，包含SEQ ID NO: 135），(4) SV40內含子（例如，包含SEQ ID NO: 137），(5) 編碼hTREM2抗體或其抗原結合片段（例如，如本文所述）的多核苷酸，和 (6) BGH 聚A訊號（例如，包含SEQ ID NO: 138）。

【0501】 79. 如實施方式78所述之載體，元件 (2) 至 (6) 從5'至3'佈置在該AAV載體質體上。

【0502】 80. 如實施方式78或79所述之載體，其中元件 (2) 至 (6) 中的任一個佈置在該AAV載體質體上的5’ ITR和3 'ITR之間。

【0503】 81. 如實施方式78-80中任一項所述之載體，其中該AAV載體係scAAV載體。

【0504】 82. 如實施方式68-75中任一項所述之載體，其中該載體係慢病毒載體。

【0505】 83. 一種細胞，其包含如實施方式64-66中任一項所述之核酸分子或核酸分子組或如實施方式68-82中任一項所述之載體。

【0506】 84. 一種產生hTREM2抗體或其抗原結合片段之方法，該方法包括：(i) 培養如實施方式83所述之細胞和 (ii) 從培養物中分離該hTREM2抗體或其抗原結合片段。

【0507】 85. 一種藥物組成物，其包含如實施方式1-64中任一項所述之抗體或其抗原結合片段、如實施方式65-67中任一項所述之核酸分子或核酸分子組、如實施方式68-82中任一項所述之載體或如實施方式83所述之細胞，和藥學上可接受的載體。

【0508】 86. 如實施方式1-64中任一項所述之抗體或其抗原結合片段、如實施方式65-67中任一項所述之核酸分子或核酸分子組、如實施方式68-82中任一項所述之載體、如實施方式83所述之細胞或如實施方式85所述之藥物組成物，其用作藥物。

【0509】 87. 如實施方式1-64中任一項所述之抗體或其抗原結合片段、如實施方式65-67中任一項所述之核酸分子或核酸分子組、如實施方式68-82中任一項所述之載體、如實施方式83所述之細胞或如實施方式85所述之藥物組成物，其用於治療與hTREM2功能喪失相關的疾病。

【0510】 88. 如實施方式1-64中任一項所述之抗體或其抗原結合片段、如實施方式65-67中任一項所述之核酸分子或核酸分子組、如實施方式68-82中任一項所述之載體、如實施方式83所述之細胞或如實施方式85所述之藥物組成物用於製備用於治療與hTREM2功能喪失相關的疾病的藥物的用途。

【0511】 89. 如實施方式87所述之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如實施方式88所述之用途，其中該疾病係神經炎症或神經退行性疾病，視需要，其中該神經炎症或神經退行性疾病

係阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、那須-哈柯拉病、多發性硬化、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症（ALS）、抗NMDA受體腦炎、自閉症、腦狼瘡（NP-SLE）、化療引起的周圍神經病變（CIPN）、帶狀皰疹後神經痛、慢性發炎去髓鞘型多發性神經病變（CIDP）、癲癇、格林-巴厘綜合症（GBS）、包涵體肌炎、胞溶體貯積症、尼曼-皮克病（Niemann-Pick C）、黏多糖病II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病、重症肌無力、神經白塞病、視神經脊髓炎（NMO）、視神經炎、多肌炎、皮肌炎、拉斯穆森腦炎（Rasmussen's encephalitis）、雷特氏症候群、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷、脊椎損傷、病毒性腦炎或細菌性腦膜炎。

【0512】90. 如實施方式87所述之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如實施方式88所述之用途，其中該疾病係阿茲海默氏症。

【0513】91. 如實施方式87所述之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如實施方式88所述之用途，其中該疾病係帕金森氏症。

【0514】92. 如實施方式87所述之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如實施方式88所述之用途，其中該疾病係多發性硬化。

【0515】93. 如實施方式87所述之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如實施方式88所述之用途，其中該疾病係額顳葉失智。

【0516】94. 如實施方式87所述之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如實施方式88所述之用途，其中該抗體或其抗原結合片段、該核酸分子或核酸分子組、該載體、該細胞或該藥物組成物藉由口服、靜脈內、顱內、鞘內、皮下或鼻內途徑投與受試者。

【0517】95. 如實施方式87所述之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如實施方式88所述之用途，其中該抗體或其抗原結合片段、該核酸分子或核酸分子組、該載體、該細胞或該藥物組成物與至少一種另外的治療劑或程序組合地投與受試者。

【0518】96. 如實施方式87所述之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如實施方式88所述之用途，其中該抗體或其抗原結合片段、該核酸分子或核酸分子組、該載體、該細胞或該藥物組成物與至少一種另外的治療劑組合地投與受試者，其中所述治療劑包含以下中的一種或多種：BACE抑制劑、抗Tau抗體、Tau反義寡核苷酸、抗類澱粉β抗體、芬戈莫德、BG12或富馬酸二甲酯、干擾素β或那他珠單抗。

【0519】97. 一種在有需要的受試者中治療與hTREM2功能喪失相關的疾病之方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的如實施方式1-64中任一項所述之抗體或其抗原結合片段、如實施方式65-67中任一項所述之核酸分子或核酸分子組、如實施方式68-82中任一項所述之載體、如實施方式83所述之細胞或如實施方式85所述之藥物組成物。

【0520】98. 如實施方式97所述之方法，其中該方法包括：

a) 測定從受試者獲得的樣本中的細胞表面hTREM2水平；

b) 選擇細胞表面hTREM2水平低於參考水平的受試者，其中參考水平係從健康受試者獲得的樣本中的細胞表面hTREM2水平；以及

c) 向所選受試者投與治療有效量的如實施方式1-64中任一項所述之抗體或其抗原結合片段、如實施方式65-67中任一項所述之核酸分子或核酸分子組、如實施方式68-82中任一項所述之載體、如實施方式83所述之細胞或如實施方式85所述之藥物組成物。

【0521】 99. 如實施方式98所述之方法，其中該樣本包含腦脊液。

【0522】 100. 如實施方式98或99所述之方法，其中所述樣本中的細胞表面TREM2水平藉由選自以下的測定來確定：流動式細胞測量術、免疫組織化學、西方印漬術、免疫螢光測定、放射免疫測定法法（RIA）、酶聯免疫吸附測定（ELISA）、均相時間分辨螢光（HTRF）、正電子發射斷層攝影術（PET）。

【0523】 101. 如實施方式97-100中任一項所述之方法，其中與TREM2功能喪失相關的疾病係神經炎症或神經退行性疾病，視需要，其中該神經炎症或神經退行性疾病係阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、那須-哈柯拉病、多發性硬化、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症（ALS）、抗NMDA受體腦炎、自閉症、腦狼瘡（NP-SLE）、化療引起的周圍神經病變（CIPN）、帶狀皰疹後神經痛、慢性發炎去髓鞘型多發性神經病變（CIDP）、癲癇、格林 - 巴厘綜合症（GBS）、包涵體肌炎、胞溶體貯積症、尼曼-皮克病（Niemann-Pick C）、黏多糖病II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病、重症肌無力、神經白塞病、視神經脊髓炎（NMO）、視神經炎、多肌炎、皮肌炎、拉斯穆森腦炎（Rasmussen’s encephalitis）、雷特氏症候群、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷、脊椎損傷、病毒性腦炎或細菌性腦膜炎。

【0524】 102. 如實施方式97-101中任一項所述之方法，其中該疾病係阿茲海默氏症。

【0525】 103. 如實施方式97-101中任一項所述之方法，其中該疾病係帕金森氏症。

【0526】 104. 如實施方式97-101中任一項所述之方法，其中該疾病係多發性硬化。

【0527】 105. 如實施方式97-101中任一項所述之方法，其中該疾病係額顳葉失智。

【0528】 106. 如實施方式97-105中任一項所述之方法，其中所述抗體或其抗原結合片段、該核酸分子或核酸分子組、該載體、該細胞或該藥物組成物藉由口服、靜脈內、顱內、鞘內、皮下或鼻內途徑投與該受試者。

【0529】 107. 一種穩定受試者中的hTREM2蛋白之方法，該方法包括以有效穩定hTREM2的量向該受試者投與如實施方式1-64中任一項所述之抗體或其抗原結合片段、如實施方式65-67中任一項所述之核酸分子或核酸分子組、如實施方式68-82中任一項所述之載體、如實施方式83所述之細胞或如實施方式85所述之藥物組成物。

【0530】 108. 如實施方式97-107中任一項所述之方法，該方法還包括向該受試者投與至少一種另外的治療劑或進行至少一種另外的治療程序。

【0531】 109. 如實施方式108所述之方法，其中所述另外的治療劑包含以下中的一種或多種：BACE抑制劑、抗Tau抗體、Tau反義寡核苷酸、抗類澱粉β抗體、芬戈莫德、BG12或富馬酸二甲酯、干擾素β或那他珠單抗。

【0532】 110. 如實施方式108或109所述之方法，其中如實施方式1-64中任一項所述之抗體或其抗原結合片段、如實施方式65-67中任一項所述之核酸分子或核酸分子組、如實施方式68-82中任一項所述之載體、如實施方式83所述之細胞或如實施方式85所述之藥物組成物與該另外的治療劑同時、在該另外的治療劑之前或在該另外的治療劑之後投與。

【0533】 111. 如實施方式97-110中任一項所述之方法，其中投與該抗體或其抗原結合片段、該核酸分子或核酸分子組、該載體、該細胞或該藥物組成物具有以下效果a-d中的一種或多種：

a) 增加TREM2依賴性細胞活性，如吞噬作用和趨化性，

b) 觸發TREM2依賴性基因轉錄，

c) 增加經由Syk-磷酸化的TREM2依賴性細胞內傳訊途徑，

d) 增加細胞碎片的清除。

實例

【0534】 在以下實例中進一步描述了本發明，該等實例不限制申請專利範圍中描述的本發明的範圍。

實例1：產生人TREM2的抗體

材料和方法

試劑

【0535】 為了選擇識別人、小鼠和食蟹猴TREM2的抗體，採用多種淘選策略。使用基於HuCAL®的噬菌粒文庫HuCAL PLATINUM®，藉由選擇具有高結合親和力的殖株產生針對TREM2蛋白的抗體（Prassler 等人 2011；Rothe 等人

2008；Knappik 等人 2000）。MorphoSys噬菌體展示文庫使用CysDisplay™技術在噬菌體表面上展示Fab（WO 01/05950）。為了分離抗TREM2抗體，使用固相、溶液，全細胞和差異全細胞淘選方法進行標準以及RapMAT成熟淘選策略。

初始淘選

【0536】 為了接收針對抗原TREM2溶液結合的初始候選物，進行Fc捕獲淘選和差異全細胞淘選。

[表2.]初始和備用淘選策略和應用的抗原濃度。

淘選策略	淘選模式	抗原第一輪	抗原第二輪	抗原第三輪
1	溶液	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（100 nM）	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（20 nM）	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（4 nM）
2	Fc 捕獲	hTREM2 ECD (19-174)-hFc（2 μg/ml）*預清除 hTREM2 IgSF-hTREM1 莖-hFc（2 μg/ml）*	hTREM1 IgSF-hTREM2 莖-hFc（2 μg/ml）*預清除 hTREM2 IgSF-hTREM1 莖-hFc（2 μg/ml）*	hTREM1 IgSF-hTREM2 莖-hFc（0.4 μg/ml）*預清除 hTREM2 IgSF-hTREM1 莖-hFc（2 μg/ml）*
3	dWCP	CHO-hDAP12-hTREM2 *（NVP-10-17 處理的）吸附後 CHO-hDAP12 預清除 hTREM2-IgSF-hFc*	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（100 nM）*封閉 hTREM2-IgSF-hFc（500 nM）*	CHO-hDAP12-cyTREM2 *（NVP-10-17 處理的）*

Fc捕獲淘選

【0537】 在抗原選擇過程之前，為了確定最佳抗原包被濃度，必須進行包被檢查ELISA。對於捕獲淘選，將抗原（hTREM1 IgSF-hTREM2莖-hFc、hTREM2 ECD (19-174)-hFc 或hTREM2 ECD-His）藉由合適的捕獲抗體固定在96孔板上，該捕獲抗體取決於融合至相應的抗原的標籤（對於Fc標籤化的抗原，山羊和小鼠抗人Fc，詳見表2）。

【0538】 孔的數量取決於所使用的子文庫池的數量。與孔製備平行，用含有0.05% 吐溫-20的Chemiblocker封閉噬菌體；將另外的封閉試劑加入封閉緩衝液中以避免選擇針對標籤或捕獲抗體（對於Fc捕獲淘選，人、山羊和小鼠γ球蛋白）的抗體的選擇。為了預先清除封閉的噬菌體，用hTREM2-IgSF-hTREM1莖-hFc包被96孔板的適當數量的孔。添加噬菌體並在室溫下孵育30分鐘。將上清液轉移到另一個反靶標包被的孔中並重複孵育三次。在封閉和預清除程序後，將噬菌體混合物加入到對應的抗原包被的孔中，並使噬菌體-抗體在室溫下與抗原結合1.5小時。使用PBS/吐溫20和PBS洗滌確保去除非特異性結合的噬菌體，然後使用DTT洗脫特異性結合的噬菌體。將洗脫物轉移到大腸桿菌TG1培養物中用於噬菌體感染。在37°C孵育45分鐘後，將培養物離心，將細菌沈澱重新懸浮在新鮮培養基中並鋪在瓊脂板上。在生長後，將菌落從板上刮下並用於如下所述之噬菌體拯救、所選殖株的多株擴增和噬菌體生產。用經純化的噬菌體開始下一輪淘選。

【0539】 根據第一輪淘選的方案進行第二輪和第三輪捕獲淘選。抗原量減少，並且應用具有增加的嚴格性的洗滌條件。

【0540】 親本結合物MOR041874衍生自該淘選策略。

用鏈黴親和素偶聯的磁珠進行溶液淘選

【0541】 溶液淘選的先決條件係抗原的生物素化和生物素化抗原的保留活性的確認。在溶液淘選期間，展示Fab的噬菌體和生物素化的抗原在溶液中孵育，這有利於噬菌體接近抗原。

【0542】 用Chemiblocker封閉適量的鏈黴親和素珠。平行地，用含有0.05%吐溫-20和人γ球蛋白#1（0.05 mg/ml）的Chemiblocker封閉適量的噬菌體，以避

免結合hFc的殖株的選擇。為了去除鏈黴親和素或珠結合噬菌體，使用經封閉的鏈黴親和素珠進行經封閉的噬菌體顆粒的預吸附。因此，將生物素化的TREM2添加到預吸附的和經封閉的噬菌體顆粒中，並允許噬菌體-抗體在溶液中在室溫下結合抗原1小時。使用封閉鏈黴親和素珠捕獲噬菌體-抗原複合物，並且用磁性分離器收集與鏈黴親和素珠結合的噬菌體顆粒。在若干個洗滌步驟中洗掉非特異性結合的噬菌體。藉由添加DTT從鏈黴親和素珠上洗脫特異性結合的噬菌體。將洗脫物轉移到大腸桿菌TG1培養物中用於噬菌體感染。在37°C孵育45分鐘後，將培養物離心，將細菌沈澱重新懸浮在新鮮培養基中並鋪在瓊脂板上。在生長後，將菌落從板上刮下並用於如下所述之噬菌體拯救、所選殖株的多株擴增和噬菌體生產。用經純化的噬菌體開始下一輪淘選。

【0543】根據第一輪淘選的方案進行第二輪和第三輪的基於珠的溶液淘選。應用具有增加的嚴格性的洗滌條件。親本結合物MOR042492、MOR042493和MOR042556衍生自該淘選策略。

差異全細胞淘選（dWCP）

【0544】在淘選前一天將細胞用5 μM DPC333預處理過夜（Qian 等人2007.Drug Metab and Disp[藥物代謝和處置] 35:1916-1925）以增加TREM2的表面表現。對於每次淘選，將適量的噬菌體用洗滌緩衝液（DPBS+ / 5%FCS / 0.02% NaN_3）封閉，並根據上述用於Fc捕獲淘選的方法預清除。平行地，用洗滌緩衝液封閉每個噬菌體池的適當量的表現抗原TREM2（1×10^7細胞/子代碼）的靶細胞和適當量的不表現抗原TREM2的吸附細胞。將封閉的靶細胞離心，重懸浮於預封閉的噬菌體顆粒中，並且使噬菌體-抗體與細胞上存在的抗原在4°C下結合2小時，以避免受體內化。將噬菌體-細胞複合物洗滌若干次。藉由離心細胞並將

沈澱重懸於50 mM檸檬酸鹽緩衝液pH 3.5/150 mM NaCl中並在室溫下孵育10分鐘，從靶細胞洗脫特異性結合的噬菌體。離心後，將上清液（洗脫液）用2M Tris鹼中和並施加到吸附細胞上以除去與靶抗原以外的細胞表面分子結合的噬菌體（吸附後）。使用DTT從靶細胞洗脫特異性結合的噬菌體，並將最終上清液轉移至大腸桿菌TG1培養物用於如上所述之噬菌體感染。

【0545】 根據上述溶液淘選進行第二輪淘選。根據第一輪淘選輪次的方案進行第三輪全細胞淘選。

【0546】 親本結合物MOR042596、MOR042752和MOR042765衍生自該淘選策略。

呈遞Fab的噬菌體顆粒的產生

【0547】 對於每輪選擇，產生在其表面上呈遞Fab片段的新噬菌體顆粒。對於每種噬菌體製劑，將12 ml 2x YT/Cam/Glc培養基用來自相應的文庫甘油儲備液的細菌接種，導致OD600為0.1 - 0.2。將培養物在120 rpm和37°C下振盪30-90分鐘直至OD600達到0.45-0.55。然後，以感染複數為10將輔助噬菌體添加至細菌培養物中，隨後在37°C不伴隨振盪孵育30分鐘，並然後在37°C以160 rpm伴隨振盪30分鐘。將細菌旋轉沈降，並丟棄含有輔助噬菌體的上清液。將噬菌體感染的細菌重懸浮於400 ml 2x YT/Cam/Kan/IPTG培養基中，並在22°C以120 rpm伴隨振盪孵育過夜。第二天，將來自過夜培養物的細菌沈澱，並收集含有呈遞Fab的噬菌體的上清液。藉由將1/5總體積的預冷卻的PEG/NaCl添加至含有噬菌體的上清液中來進行噬菌體沈澱。將樣本在冰上孵育至少30分鐘直到沈澱性噬菌體的雲狀物變得可見。將沈澱的噬菌體旋轉沈降並重懸浮於PBS中。藉由斑點滴定法測定噬菌體滴度。

親和力成熟前去除PTM

【0548】 由於親本候選物MOR042492在其HCDR3中包括關鍵的翻譯後修飾（PTM），因此在進入親和力測定之前修復該候選物。因此，藉由寡核苷酸交換產生三種修復的變體，而藉由測序確認成功進行的寡核苷酸交換。將作為含有Fab的粗細菌裂解物的修復的變體對hTREM2-ECD（19-174）-hFc進行測試。將表現相似結合譜的變體池化用於親和力成熟（MOR043962和MOR043963）。

生成HuCAL PLATINUM®成熟文庫和HuCAL PLATINUM® RapMAT文庫

【0549】 為增加所選抗體的親和力和生物活性，使用三核苷酸定向誘變藉由盒誘變優化CDR-L3和CDR-H2區，同時框架區保持恒定（Virnekäs 等人 (1994) Nucleic Acids Res[核酸研究]22, 第5600-5607頁）。

【0550】 在編碼親本Fab片段的CysDisplay™載體中進行成熟文庫的選殖。如果尚未存在於CysDisplay™載體中，則在文庫選殖之前，藉由限制性消化和連接將編碼親本Fab片段的DNA序列轉移到對應的載體中。

【0551】 針對每個成熟候選物中單獨地進行HuCAL PLATINUM®成熟文庫的產生，或者在產生文庫之前將具有不同的親本抗體的組進行池化。針對CDR-L3優化，藉由限制酶切消化將編碼CDR-L3、框架4以及輕鏈恒定區的約400bp DNA片段才編碼親本抗體的序列中去除，並且被編碼多樣化的CDR-L3區連同框架4和恒定結構域的DNA片段儲庫替換。

【0552】 在第二個文庫集中，CDR-H2編碼序列係多樣化的，而連接框架區保持恒定。為減少親本非多樣化序列的背景，藉由限制酶切消化和連接，將含有親本CDR-H2和框架3序列的約150 bp DNA片段替換為約590 bp的虛擬序

列，然後還藉由限制酶切消化和連接插入多樣化的CDR-H2盒（包括框架3）。該方法用於所有成熟候選物，MOR042556除外。

【0553】對選擇的殖株（親本候選物MOR042556）進行HuCAL PLATINUM® RapMAT文庫的生成。因此，將包含從phoA訊號到框架3（包括H-CDR1和CDR-H2）的DNA序列的月370 bp DNA片段藉由限制性消化除去，並用編碼多樣化CDRH2區和非多樣化框架特異性CDRH1的DNA片段的儲庫取代。連接混合物在MC1061F'細胞中的電穿孔產生大約10^8至10^9個（以 > $5x10^6$）獨立的菌落。如前所述（Rauchenberger等人 2003）進行文庫的擴增。針對品質控制，隨機挑選每個文庫中大約10 - 20個單一菌落並測序。

成熟淘選

【0554】為了增加先前選擇的抗體片段的親和力和生物活性，如上所述，藉由多樣化的盒/模組（Prassler等人，2009）平行交換CDR-L3和CDR-H2區域。如果需要，在文庫選殖用於親和力成熟之前，將親本Fab片段從相應的表現載體轉移到CysDisplay™載體中。

【0555】為了選擇親和力改善的候選物，將衍生自成熟文庫的噬菌體進行三輪成熟淘選。如上所述並根據表3中所述之條件進行溶液淘選和dWCP。

[表3]：成熟淘選策略和應用的抗原濃度。

淘選策略	淘選模式	包含親本	成熟文庫	抗原第一輪	抗原第二輪	抗原第三輪
4	溶液	MOR043962 MOR043963	HCDR2	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（2 nM）	cyTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（0.5 nM）	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（0.1 nM）
5		MOR042493	HCDR2	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（2 nM）	cyTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（0.5 nM）	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（0.1 nM）
			LCDR3			
6		MOR042493	LCDR3	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio	cyTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio

				（5 nM）	（2.5 nM）	（0.75 nM）
7		MOR042596	HCDR2 LCDR3	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（2 nM）	cyTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（1 nM）	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（0.2 nM）
8		MOR042752	HCDR2	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（2 nM）	cyTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（1 nM）	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（0.2 nM）
9		MOR042765	HCDR2	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（5 nM）	cyTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（2.5 nM）	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（0.75 nM）
10	dWCP	MOR043962	HCDR2/LCDR3	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（2 nM）	CHO-hDAP12-cyTREM2 *（沒有NVP-10-17）*	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（0.1 nM）
11		MOR042556	HCDR1_2/LCDR3	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（2 nM）	CHO-hDAP12-cyTREM2 *（沒有NVP-10-17）*	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（0.1 nM）
12		MOR042596	HCDR2/LCDR3	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（2 nM）	CHO-hDAP12-cyTREM2 *（沒有NVP-10-17）*	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（0.2 nM）
13		MOR041874	HCDR2/LCDR3	cyTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（5 nM）	CHO-hDAP12-cyTREM2 *（沒有NVP-10-17）*	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（0.5 nM）
14		MOR042556	HCDR1_2/LCDR3	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（2 nM）	BV2（NVP-10-17 處理的）	cyTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（0.2 nM）
15		MOR042765	HCDR2/LCDR3	hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（5 nM）	BV2（NVP-10-17 處理的）	cyTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio（0.5 nM）
						使用未生物素化的抗原（100x莫耳過量）進行 K_{off} 選擇

【0556】藉由降低每輪淘選中的抗原濃度來提高淘選的嚴格性（Low等人1996）除抗原減少外，還在第三輪淘選中進行瞭解離速率選擇（Hawkins等人1992）：將抗原-噬菌體複合物與過量的未生物素化的TREM2抗原一起孵育，以僅富集高親和力結合物；弱結合物預期優先結合溶液中的過量抗原，並且因此可以除去。這與大量洗滌步驟相結合。用DTT進行從與磁珠偶聯的TREM2洗脫高親和力噬菌體。

針對大腸桿菌從展示載體亞選殖到Fab-表現載體中

【0557】為了促進可溶性Fab在大腸桿菌中的快速表現，將選擇的HuCAL PLATINUM®噬菌體的編碼Fab的插入物從pMORPH®30展示載體亞選殖到Fab

表現載體pMORPH®x11_Fab-FH中。藉由EcoRI｜XbaI｜BmtI進行三重消化進行亞選殖。

亞選殖到針對HKB11細胞的IgG和FabCys表現載體中

【0558】對於HKB11細胞中的全長IgG或單價FabCys表現，將選擇的候選物或候選物池選殖到對應的包含所需的特徵/標籤的表現載體中。表4中描述了IgG和FabCys形式以及對應的可獲得的載體的概述。

【0559】按兩步法進行亞選殖，以便方便且有效地將大量序列特異性Fab殖株轉化為IgG形式。

[表4].HuCAL PLATINUM® pMorph4 IgG和FabCys表現載體系列

載體名稱	**形式**	**標籤**	
pM4_h_FabCys	人 FabCys	N/A	
pM4_h_FabCys-AviH	人 FabCys	Avi 標籤	His6
pM4_h_IgG1f_LALA	人 IgG	N/A	
pM4_h/m_IgG2a	嵌合 IgG	N/A	

從HuCAL PLATINUM® RapCLONE®進行亞選殖

【0560】在第一選殖步驟中，將真核表現盒藉由BsiWI｜MfeI（用於κ池）或HpaI｜MfeI（用於λ池）消化和隨後的連接引入展示載體或用於在大腸桿菌中Fab表現的載體。然後進行第二選殖步驟，其中將含有表現盒的Fab池用EcoRV｜BlpI（κ和λ池）消化，並且隨後選殖到受體載體中以在哺乳動物細胞中表現。

在大腸桿菌中產生

含有粗製細菌裂解物的Fab的產生

【0561】對用生長培養基（含有氯黴素、IPTG和低葡萄糖的2xYT）預先填充的96孔/384孔微量滴定板進行接種。將板在37°C孵育以進行細菌生長，並在22°C下振盪過夜以進行Fab表現。第二天，藉由添加含有硼酸鹽緩衝液、EDTA和溶菌酶的BEL緩衝液裂解表現培養物。如果裂解物用於敏感細胞篩選，則省略EDTA。

His標籤化的Fab片段的探索性規模產生

【0562】在搖瓶培養物（使用500 mL的2xYT培養基，其中補充0.1%葡萄糖和34 μg/mL氯黴素）中進行細菌表現載體編碼的Fab片段在大腸桿菌TG1 F細胞中的表現。振盪培養物直至OD600達到0.5的值。藉由添加IPTG（異丙基-β-D-硫代哌喃半乳糖苷）並進一步培養20小時誘導Fab表現。收穫細胞並使用溶菌酶破壞。藉由IMAC（伯樂公司（Bio-Rad））並使用咪唑洗脫來分離His6標籤化的Fab片段。使用‘PD10’柱（通用電氣醫療集團（GE Healthcare））進行緩衝液交換到1x 杜氏PBS（Dulbecco´s PBS）（pH 7.2）。將樣本無菌過濾（0.2 μm）。藉由UV-分光光度法測定蛋白質濃度，並使用CE-SDS（LabChip GXII，珀金埃爾默公司（Perkin Elmer））在變性、還原和非還原條件下分析IgG的純度。進行HP-SEC以分析處於天然狀態的IgG製劑。

在HKB11細胞中IgG的產生

IgG的進階微量產生

【0563】用編碼IgG的重鏈和輕鏈的哺乳動物表現載體DNA轉染真核HKB11細胞。轉染後7天收穫細胞培養物上清液，並進行蛋白A親和層析（MabSelect SURE™，通用電氣醫療集團）。樣本保留在中和的洗脫緩衝液（NaPS：137 mM磷酸鈉，81 mM NaCl，pH 7）中。將樣本無菌過濾（0.2 μm）。

藉由UV-分光光度法測定蛋白質濃度，並使用CE-SDS（LabChip GXII™，珀金埃爾默公司（Perkin Elmer））在變性、還原條件下分析IgG的純度。進行HP-SEC以分析處於天然狀態的IgG製劑。

IgG的探索性規模產生

【0564】用編碼IgG的重鏈和輕鏈的哺乳動物表現載體DNA轉染真核HKB11細胞。在轉染後第3或6天收穫細胞培養物上清液，並進行標準蛋白A親和層析（MabSelect SURE，通用電氣醫療集團）。將緩衝液交換到1x 杜氏PBS（pH 7.2，英傑公司（Invitrogen））中，並將樣本無菌過濾（0.2 μm）。藉由UV-分光光度法測定蛋白質濃度，並使用CE-SDS（LabChip GXII，珀金埃爾默公司（Perkin Elmer））在變性、還原和非還原條件下分析IgG的純度。進行HP-SEC以分析處於天然狀態的IgG製劑。

用於體內表徵的材料產生

【0565】用編碼IgG的重鏈和輕鏈的哺乳動物表現載體DNA轉染真核HKB11細胞。在轉染後第6天收穫細胞培養物上清液，並進行蛋白A親和層析（MabSelect SURE，通用電氣醫療集團）。如果需要，進行第二純化步驟（製備型SEC，Superdex 200，通用電氣醫療集團）以除去聚集體。將緩衝液交換到1x 杜氏PBS（pH 7.2，英傑公司（Invitrogen））中，並將樣本無菌過濾（0.2 μm）。藉由UV-分光光度法測定蛋白質濃度，並使用CE-SDS（LabChip GXII，珀金埃爾默公司（Perkin Elmer））在變性、還原和非還原條件下分析IgG的純度。進行HP-SEC以分析處於天然狀態的IgG製劑。藉由KQCL測定（龍沙集團（Lonza））確定內毒素水平。使用質譜分析確認蛋白質同一性。

在HKB11細胞中FabCys的產生

無標籤FabCys的探索性規模產生

【0566】用編碼二硫鍵橋連FabCys的重鏈和輕鏈的哺乳動物表現載體DNA轉染真核HKB11細胞。在轉染後第3或7天收穫細胞培養物上清液，並進行CH1親和層析（Capture Select IgG-CH1，賽默飛世爾科技公司（Thermo Scientific））。將緩衝液交換到1x 杜氏PBS（pH 7.2，英傑公司（Invitrogen））中，並將樣本無菌過濾（0.2 μm孔徑）。藉由UV-分光光度法測定蛋白質濃度，並使用CE-SDS（LabChip GXII，珀金埃爾默公司（Perkin Elmer））在變性、還原和非還原條件下分析FabCys的純度。進行HP-SEC以分析處於天然狀態的FabCys製劑。

AviHis標籤化的FabCys的探索性規模產生

【0567】用編碼二硫鍵橋連FabCysAviHis的重鏈和輕鏈的哺乳動物表現載體DNA轉染真核HKB11細胞。在轉染後第3或7天收穫細胞培養物上清液，並進行金屬離子親和層析（Protino Ni-NTA，Macherey Nagel公司）。將緩衝液交換到1x 杜氏PBS（pH 7.2，英傑公司（Invitrogen））中，並將樣本無菌過濾（0.2 μm孔徑）。

【0568】藉由UV-分光光度法測定蛋白質濃度，並使用CE-SDS（LabChip GXII，珀金埃爾默公司（Perkin Elmer））在變性、還原和非還原條件下分析FabCysAviHis的純度。進行HP-SEC以分析處於天然狀態的FabCysAviHis製劑。

總結淘選策略

【0569】初始和備用淘選策略旨在選擇針對TREM2的細胞外結構域IgSF結構域和莖區兩者的抗體。因此，包括對於完整TREM2 ECD的策略以及用於選擇莖區域以及甚至脫落酶切割位點特異性殖株的更具體策略。對於每個靶向的

TREM2結構域特異性，應用了3種不同的抗原呈遞模式：使用生物素化抗原進行溶液淘選，Fc捕獲淘選和差異全細胞淘選，在第一和第三輪淘選中用表現抗原的細胞並且在第二輪淘選中用重組抗原。莖區特異性可以藉由使用開關構建體（switch construct）來實現，該開關構建體由TREM1 IgSF結構域與TREM2莖區組合或反之亦然組成，用作淘選抗原（hTREM1 IgSF-hTREM2莖）或用於封閉（hTREM2 IgSF-hTREM1莖）來實現。基於作圖實驗，脫落酶切割位點區域包含TREM2莖區的近膜部分中20個胺基酸；相應的肽78用於富集切割位點特異性殖株。

【0570】 可以鑒定針對所有靶向的TREM2 ECD區域的抗體。然而，僅選擇具有最有希望的穩定活性譜（即莖區特異性，連同食蟹猴交叉反應性和細胞結合）的小數目的殖株。

總結篩選結果

初步篩選

【0571】 使用Intellicyt裝置（每個子代碼368個殖株），在多重方法中，將初始淘選的所有子代碼關於生物素化的hTREM2、mTREM2、hTREM1 IgSF-hTREM2莖、hTREM2 IgSF-hTREM1莖和hTREM1進行篩選。總共篩選了來自初始淘選的9200個殖株，並導致選擇736個初步命中。大多數IgSF結構域特異性殖株源自對hTREM2的溶液淘選，而大多數莖區特異性抗體來自差異全細胞淘選。

【0572】 以與初始淘選類似的方式篩選備用淘選。平行地，將涉及一輪或多輪細胞淘選的所有子代碼關於親本CHO-DAP12以及CHO-DAP12-hTREM2細胞進行篩選。此外 - 取決於細胞淘選中使用的細胞類型 - 將一些子代碼關於

CHO-DAP12-cyTREM2 、 CHO-DAP12-mTREM2 、 CHO-DAP12-hTREM1 IgSF-hTREM2莖、HEK-DAP12-hTREM2融合和THP1-NFAT-luc細胞進行另外的篩選。總共篩選了10304個殖株並導致選擇402個初步命中。

二次篩選和多樣性確定

【0573】基於初始淘選的736個初次命中的二次篩選（與hu/cy/mu TREM2結合（使用不同重組蛋白和細胞系），結構域特異性（使用TREM2/TREM1開關構建體和切割位點肽78），TREM1反篩選），選擇284個殖株用於VH測序。其中，104個殖株具有獨特的HCDR3序列。類似地，來自備用淘選的402個初步命中經受二次篩選和所選殖株的VH測序，產生186個新的HDR3獨特殖株。從初始活動中僅鑒定出5個已知的序列。

確認和進一步表徵獨特的殖株

【0574】藉由進一步的驗證性篩選測定，將來自初始活動的81/104個獨特殖株和來自備用活動的165/186個獨特殖株定義為hTREM2特異性抗體殖株並選擇用於隨後的功能表征（總共246個殖株）。根據它們的結合行為，該等殖株可以分成不同的譜組。大多數殖株係IgSF結構域特異性的（173個殖株，70%）。該等殖株中的大多數特異性結合過表現TREM2的細胞，並且與食蟹猴TREM2交叉反應（157個殖株）。此外，鑒定了53種（22%）莖區特異性抗體。19/53殖株不與切割位點肽78結合，因此稱為「莖（外切割位點）」抗體；該等殖株中的14個顯示TREM2特異性細胞結合。34/53殖株在TREM2的切割位點區域內結合TREM2（「莖（切割位點）」抗體）。剩餘的20個殖株（8%）與TREM2-ECD結合，但與兩個開關構建體均不結合，因此被指定為結合「ECD內不明結構域」的抗體；10/20殖株的確特異性結合過表現TREM2的細胞。

成熟候選物的選擇

【0575】 成熟候選物的選擇主要基於鑒定的抗體的功能特徵。由於TREM2屬於先天免疫受體家族，因此已知其與LPS和其他細菌表面蛋白相互作用。因此，必須從細菌平台切換到哺乳動物平台來產生抗TREM2抗體，以產生適合相關功能測定的材料。

IgG表徵

【0576】 除了結合特徵（結構域特異性、物種交叉反應、特異性細胞結合、反靶標結合、親和力、表位分箱）之外，還研究了不同功能方面（不同細胞系統中TREM2細胞表面水平的穩定化、NFAT RGA中的訊號活化、內化、與配位基結合的競爭、吞噬作用）。

【0577】 只有少數抗體證明具有穩定TREM2的作用，即防止TREM2胞外域脫落。考慮到所有其他標準，確定了五種有希望的穩定TREM2的抗體：MOR042492、MOR042493和MOR042589、MOR042596、MOR042556。

【0578】 除穩定性候選物外，還可鑒定活化TREM2訊號的抗體。再次考慮其他相關標準，最感興趣的候選物係MOR041874、MOR042785、MOR042752、MOR042765。

【0579】 這五種候選物如表5所示。

[表5].成熟候選物。

MOR#	**42492**	**42493**	**42556**	**42589**	**42596**	**41874**	**42752**	**42765**	**42785**
類型	穩定性抗體					活化性抗體			
框架	VH1A κ1	VH6 κ1	VH6 κ1	VH3-23 κ1	VH1B κ1	VH1B λ1	VH1A κ1	VH5 λ2	VH1B λ1
結構域	IgSF	IgSF	IgSF	IgSF	IgSF	莖	IgSF	IgSF	莖
淘選策略	溶液，hu ECD	溶液，hu ECD	溶液，hu ECD	dWCP，NGS，溶液 hu 莖	dWCP，NGS，hu/cy ECD，細胞結合	Fc 捕獲，hu 莖	dWCP，NGS，hu/cy ECD，細胞結合	dWCP，NGS，hu/cy ECD，細胞結合	dWCP，NGS，溶液 hu 莖

sDAS 風險		培養基	低	培養基	低	低	低	培養基	低	培養基
Biacore K_D[nM]	人	0.2	0.1	0.2	43	12	23	5.1	31	7.2
	食蟹猴	0.2	0.1	< 0.1	100*	6.6	輕微的非特異性結合***	9.1	67*	117 *（穩態 KD）
	小鼠	1	17*	0.2	100**	0.9	輕微的非特異性結合***	72*	160**	86 *（穩態 KD）
交叉反應	食蟹猴	+	+	+	+	+	弱	+	+	弱
	小鼠	+	+	+	弱	+	弱	弱	+	弱
表位		A	A	n.d.	A	A	B	n.d.	A	n.d.
內化（相比於對照的倍數）		16	32	72	92	76	n.d.	13	91	65
配位基競爭		無	無	無	無	無	n.d.	有	有	n.d.
TREM2 活化（在 RGA 方面的倍數）		1.2	1.4	1.5	1.8	1.6	3.3	2.1	2.4	3.1
穩定 Mph-FACS		+++	+++	n.d.	+	++++	否	+	++	n.d.
吞噬作用增強		+++	+++	+++	+++	+++	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

*異源結合；**弱結合，快速解離；***無特異性結合，最高可達300 nM

PTM去除

【0580】 由於9個成熟候選物中的兩個（MOR042492，MOR042589）在其HCDR3中包括翻譯後修飾（PTM），所以在親和力成熟之前修復該等殖株。因此，藉由寡核苷酸交換產生三種修復的變體/成熟候選物，而藉由測序確認成功進行的寡核苷酸交換。藉由BEL篩選進一步測試修復的變體的功能性。將表現相似結合譜的變體池化用於親和力成熟。親本MOR042589另外用於親和力成熟，因為變體顯示出比其親本殖株更低的結合。

親和力成熟文庫的生成

【0581】 最後，由六種前導候選物構成的九個成熟文庫（見表6）分開地進入成熟。選擇還包括具有最多三種殖株的三個池。那些係具有靶向相同表位的相同框架的殖株或藉由PTM去除衍生自一個親本殖株的子殖株。

[表6].選擇的成熟候選物和文庫組成。

文庫		親本抗體	去除 PTM 後的子抗體	譜
#1	池 1		MOR043962	IgSF；穩定性
			MOR043963	
#2	前導 1	MOR042493		IgSF；穩定性
#3	前導 2	MOR042556		IgSF；穩定性
#4	池 2		MOR043959	IgSF；穩定性
			MOR043960	
			MOR043961	
#5	前導 3	MOR042589		IgSF；穩定性
#6	前導 4	MOR042596		IgSF；穩定性
#7	前導 5	MOR042752		IgSF；活化性
#8	前導 6	MOR042765		IgSF；活化性
#9	池 3	MOR041874		IgSF；活化性
		MOR042785		

總結成熟淘選

【0582】由於大多數成熟候選物衍生自初始淘選期間的溶液或差異全細胞淘選，主要是在高嚴格性下進行溶液淘選以及細胞淘選以鑒定文庫生成後改善的結合物。因此，溶液淘選係最初淘選中最成功的策略，分別地使用每個殖株的每個VH和VL文庫經三輪進行。另外，將來自第1輪的溶液淘選的淘選輸出進行池化。以這種方式，每個淘選文庫的VH和VL成熟的子代碼以及表現出相似結合譜的殖株的VH和VL文庫在它們進入第2輪淘選輪之前進行池化。使該等池進入淘選，該淘選使用無DPC333處理的CHO-DAP12-cyTREM2細胞以降低TREM2水平並且由此增加該等細胞淘選的嚴格性。該等淘選應確保產生高親和力細胞結合物，同時進行使用鼠BV2細胞（其應用於多個候選物的池）的淘選以得到hu/m/cy交叉反應性殖株。藉由降低抗原濃度以及在第3輪期間藉由與溶液中非生物素化的抗原競爭進行k_{off}選擇來實現經三輪淘選的嚴格性增加。另外，根據先前淘選輪的輸出，在淘選期間隨後調整抗原濃度確保了合適的淘選輸出和高親和力結合物的富集。總之，鑒定了表7中列出的殖株。

[表7].概述預最終候選物。

MOR#	親本	淘選策略（初始）	淘選策略（成熟）	工程化
MOR044743	MOR041874	2	13	
MOR044693	MOR042493	1	5	
MOR044694	MOR042493	1	6	
MOR044702	MOR042493	1	5	
MOR044746	MOR042493	1	5	
MOR044695	MOR042556	1	14	PTM去除
MOR044728	MOR042556	1	14	PTM去除
MOR044734	MOR042556	1	14	PTM去除
MOR044737	MOR042556	1	14	PTM去除
MOR044738	MOR042556	1	14	PTM去除
MOR044739	MOR042556	1	11	PTM去除
MOR044697	MOR042596	3	12	
MOR044698	MOR042596	3	7	
MOR044705	MOR042596	3	7	
MOR044708	MOR042596	3	12	
MOR044713	MOR042752	3	8	
MOR044716	MOR042752	3	8	
MOR044710	MOR042765	3	15	種系化
MOR044717	MOR042765	3	9	種系化
MOR044720	MOR042765	3	9	種系化
MOR044721	MOR043962	1	10	
MOR044722	MOR043962	1	4	
MOR044724	MOR043962	1	10	
MOR044726	MOR043963	1	4	

篩選和表徵

ELISA

【0583】ELISA技術用於篩選從靶抗原的淘選輸出中鑒定的單個Fab殖株以及用於表徵純化的抗體。

抗原的直接包被

【0584】將抗原固定在微量滴定板上（參見表8）。將板封閉並與抗體如含有Fab的粗製大腸桿菌裂解物或純化的Fab或IgG樣本一起孵育。使用對應的鹼

性磷酸酶（AP）偶聯的二抗與‘AttoPhos’螢光底物組合檢測結合的抗體。在各個測定步驟之間進行多個洗滌步驟。

[表8].用於直接ELISA的抗原和包被。

抗原	包被（初始） μg/ml	包被（成熟） μg/ml
hTREM2-ECD (19-174)-hFc	1	N/A
cyTREM2-ECD (19-174)-hFc	5	N/A
mTREM2-ECD (19-171)-mFc	5	N/A
hTREM1 IgSF-hTREM2莖-hFc	1	N/A
hTREM2 IgSF-hTREM1莖-hFc	1	N/A
mTREM2-ECD (19-168)-his	3	1
mTREM2-IgSF (19-134)-mFc	5	N/A
hTREM1-hFc-His	1.5	N/A
cyTREM2-ECD (19-174)-APP-Avi	4	N/A

抗原捕獲ELISA

【0585】在其他ELISA設置中，抗原（cyTREM2-ECD (19-174)-hFc，1.0 μg/ml）藉由包被在微量滴定板上的標籤特異性抗體（例如抗-Fc）在板上被捕獲。使用對應的鹼性磷酸酶（AP）偶聯的二抗與‘AttoPhos’螢光底物組合檢測結合的抗體。在各個測定步驟之間進行多個洗滌步驟。

Fab-表現檢查

【0586】為了驗證粗製細菌裂解物中的Fab表現，用Fd-片段特異性抗體包被板。使用對應的鹼性磷酸酶（AP）偶聯的抗Fab特異性抗體與‘AttoPhos’螢光底物組合檢測結合的Fab。在各個測定步驟之間進行多個洗滌步驟。

藉由IntelliCyt的多重化

【0587】為了同時評估物種交叉反應性和/或不希望的與對等靶標的結合，使用HTFC/iQue篩選平台（IntelliCyt）進行384孔板形式的篩選。

在重組蛋白包覆的珠上的篩選

【0588】將具有不同量的內在螢光的珠與抗原偶聯，物理組合成單一懸浮液並與待測抗體一起孵育。藉由已經包被的對應珠的螢光鑒定單個抗原。SPHERO鏈黴親和素螢光顆粒與生物素化抗原組合使用，並且在預實驗中使用工具抗體測試最佳包被密度。將粗製細菌細胞裂解物與抗原包被（參見表9）的和封閉的珠組合，並在室溫下在黑暗中輕輕振盪孵育1小時。在隨後與螢光標記的二抗孵育後，用IntelliCyt HTFC/iQue裝置進行測量。在孵育步驟之間，不需要洗滌。使用「ForeCyt」軟體評估原始數據。

[表9].偶聯用於多重篩選的抗原和珠。

抗原	偶聯（初始） pmol/50µl珠	偶聯（成熟） pmol/50µl珠
hTREM2-ECD (19-174)-hFc-bio	5	5
cyTREM2-ECD (19-174)-hFc-bio	5	5
hTREM1 IgSF-hTREM2莖-hFc-bio	5	5
hTREM2 IgSF-hTREM1莖-hFc-bio	5	5
hTREM2 肽78-bio	25	
hTREM1-hFc-His-bio		5

在重組蛋白包覆的珠上的EC_{50}確定

【0589】基於珠的測定用於評估純化的抗體的包括平行地對多種抗原的EC50值。由此，將具有不同量的內在螢光的珠與抗原偶聯，物理組合成單一懸浮液並與待測的不同抗體濃度一起孵育。藉由已經包被的對應珠的螢光鑒定單個抗原。SPHERO鏈黴親和素螢光顆粒與生物素化抗原組合使用（參見表10），並且在預實驗中使用工具抗體測試最佳包被密度。在與抗體孵育並且和檢測抗體後進行洗滌步驟。

[表10].偶聯用於IgG表徵和EC50確定的抗原和珠。

抗原	偶聯（初始） pmol/50μl珠	偶聯（成熟） pmol/50μl珠
hTREM2-ECD (19-174)-hFc-bio	5	0.5
cyTREM2-ECD (19-174)-hFc-bio	5	0.5
hTREM1 IgSF-hTREM2莖-hFc-bio	5	0.5/2
hTREM2 IgSF-hTREM1莖-hFc-bio	5	0.5
hTREM2 肽78-bio	25	
hTREM1-hFc-His-bio		5

FACS

【0590】使用流式細胞儀，使用來自淘選輸出的粗製大腸桿菌裂解物以及不同濃度的純化抗體鑒定與細胞表面表現抗原的結合事件用於評估EC50值。用於FACS分析的細胞系列於表11中。

[表11].用於FACS分析的細胞系。

細胞系	起源	表面TREM2表現水平
BV2	小鼠	內源性，低表面水平
THP1-dr	人	內源性，低表面水平
THP1-NFAT-luc	人	內源性，低表面水平
THP1-CRISPR/Cas-Trem2-敲除	人	敲除
CHO-hDAP12	人	無
CHO-hDAP12-hTREM2	人	轉基因過表現
CHO-hDAP12-cyTREM2	人	轉基因過表現
CHO-hDAP12-mTREM2	人	轉基因過表現
CHO-hDAP12-hTREM1IgSF-hTREM2莖	人	轉基因過表現
HEK293-hDAP12-hTREM2	人	轉基因過表現
HEK293親本	人	無

【0591】取決於設置，在與抗體孵育之前，用DPC333預處理細胞24小時。所有步驟均在包括FCS和疊氮化物的FACS緩衝液中進行，以防止受體內化。將細胞懸浮液轉移至微量滴定板並添加抗體樣本，然後在4°C下將板輕輕振盪孵育

1小時。孵育後，將細胞離心並用FACS緩衝液洗滌。將螢光團軛合的第二試劑用於檢測結合的抗體。使用Intellicyt HTFC/iQue系統測量板，並使用適當的軟體分析數據。

在細胞上的篩選

【0592】 HTFC/iQue篩選系統還用於評估與多個靶細胞系的結合或平行評估不需要/非特異性結合。藉由以下來區分不同的細胞群：用不同量的螢光染料（例如鈣黃綠素或Cell-Tracker綠）預標記，為每個細胞群建立螢光強度的獨特特徵=螢光條碼。然後將顏色編碼的細胞系物理組合並與待測試的含有Fab的粗製細菌裂解物混合在一起。藉由已經預標記的對應細胞系的螢光鑒定各個細胞系。將粗製細菌細胞裂解物與細胞（CHO-hDAP12-hTREM2和CHO-DAP12）組合，並在4℃下在黑暗中輕輕振盪孵育1小時。使用IntelliCyt HTFC/iQue裝置進行螢光測量。在孵育步驟之間，不需要洗滌。使用「ForeCyt」軟體評估原始數據。在數據獲取後，來自每個樣本的細胞系根據它們的螢光特徵進行鑒定，並單獨評估抗體結合。結果以在CHO-hDAP12-hTREM2上的IgG滴定顯示，並且CHO-hDAP12-mTREM2細胞用於確定EC50值。

表位分箱（binning）

藉由Octet進行時間分辨的表位分箱

【0593】 在Octet（QK384或HTX）儀器上進行時間分辨的表位分箱以將IgG樣本分類成相同的或顯著重疊的表位的組（即能夠抑制彼此結合的抗體）。至於如上所述針對藉由經由SPR（Biacore）的無標記動力學的KD確定所應用的K_D確定，相同樣本係先決條件。每個親本家族選擇一個代表候選物。

【0594】在全因子測定設計中成對測試抗體樣本，例如，對於兩個抗體樣本A和B，需要以下成對結合事件：A-A、A-B、B-A、B-B。對於「夾心」測定設置中的表位分箱，用樣本組中存在的所有不同抗體樣本修飾Octet感測器尖端。應用中到高的固定水平。攜帶不同抗體的感測器載入單體抗原，隨後經受抗體樣本之一，以檢查與捕獲的抗原的結合。如果第二抗體識別不同的表位，才預期發生另外的結合。

【0595】為了評估，監測抗原載入和二抗結合結束時的訊號，並根據足夠的抗原載入和可能的抗原解離檢查曲線。對於對照，即相同抗體（A-A，B-B）的雙重結合步驟；對於第二抗體，預計沒有另外的結合。比較所有不同抗體樣本對的雙重結合事件的一致性，例如，如果在樣本順序A-B（不同表位）中觀察到B的另外的結合，則預期樣本順序B-A也導致A的另外的結合。造成這種不一致的可能原因係例如部分重疊的表位，或抗原的載入不足。結果顯示在表12中。

[表12.]表位分箱.

MOR#	代表	親本	分箱
MOR044721	MOR044727	MOR043962	A1
MOR044722	MOR044727	MOR043962	A1
MOR044724	MOR044727	MOR043962	A1
MOR044726	MOR044727	MOR043963	A1
MOR044693	MOR044747	MOR042493	A3
MOR044694	MOR044747	MOR042493	A3
MOR044702	MOR044747	MOR042493	A3
MOR044746	MOR044747	MOR042493	A3
MOR044695	MOR044730	MOR042556	A1
MOR044728	MOR044730	MOR042556	A1
MOR044734	MOR044730	MOR042556	A1
MOR044737	MOR044730	MOR042556	A1
MOR044738	MOR044730	MOR042556	A1
MOR044739	MOR044730	MOR042556	A1
MOR044697	MOR044707	MOR042596	AB
MOR044698	MOR044707	MOR042596	AB

MOR044705	MOR044707	MOR042596	AB
MOR044708	MOR044707	MOR042596	AB
MOR044713	MOR044715	MOR042752	A3
MOR044716	MOR044715	MOR042752	A3
MOR044710	MOR044709	MOR042765	A3
MOR044717	MOR044709	MOR042765	A3
MOR044720	MOR044709	MOR042765	A3

內化測定

【0596】 為了分析抗體-受體複合物的內化，使用人Fc特異性pHrodo標記的Fab（「MorpHin」）。MorpHin與分析的抗體結合，並且在靶識別和內化後，可以藉由在酸性環境（溶酶體區室）中上升的紅色螢光訊號（發射最大值：566 nm-590 nm）檢測抗體複合物。

【0597】 將CHO-hDAP12-hTREM2細胞接種在96孔板（50 µl/孔，4.0E+05個細胞/ml）中，並使其在37°C和5% CO_2下附著過夜。第二天，將板在冰上冷卻30-60分鐘。將IgG（培養基中40 nM）與200 nM pHrodo標記的Fab MorpHin（各70 µl）在37°C預孵育30分鐘，隨後在冰上冷卻15分鐘，然後將50 µl的每種混合物添加至細胞並且在37°C和5% CO_2下孵育6小時。用DPBS（100 µl/孔）洗滌細胞兩次後，使用Accutase（50 µl/孔，20-30分鐘，37°C，5% CO2）分離細胞。添加150 µl洗滌緩衝液（DPBS+/ 3% FBS/ 0.02% NaN_3）後，將細胞離心並重懸於100 µl洗滌緩衝液中。使用FACS陣列裝置（96孔，532 nm，黃色/PE-通道）測量螢光，並使用FlowJo軟體分析結果。MOR03207用作陰性對照。結果顯示在表13中。

[表13]6小時後與對照（MOR03207）或對應的親本IgG相比，抗體結合後TREM2的內化。

MOR#	親本	內化;6小時後相比於背景的倍數	6小時後與親本相比的內化
MOR044721	MOR043962	19.6	0.3
MOR044722	MOR043962	18.1	0.3
MOR044724	MOR043962	5.5	0.1
MOR044726	MOR043963	26.1	0.5
MOR044693	MOR042493	33.5	0.7
MOR044694	MOR042493	37.2	0.8
MOR044702	MOR042493	40.1	0.8
MOR044746	MOR042493	33.3	0.7
MOR044695	MOR042556	39.4	0.9
MOR044728	MOR042556	32.2	0.7
MOR044734	MOR042556	34.9	0.8
MOR044737	MOR042556	29.3	0.6
MOR044738	MOR042556	33.7	0.7
MOR044739	MOR042556	30.2	0.7
MOR044697	MOR042596	30.0	0.8
MOR044698	MOR042596	57.1	1.5
MOR044705	MOR042596	62.4	1.6
MOR044708	MOR042596	36.6	0.9
MOR044713	MOR042752	34.5	1.0
MOR044716	MOR042752	33.4	0.9
MOR044710	MOR042765	37.6	1.2
MOR044717	MOR042765	35.4	1.1
MOR044720	MOR042765	37.2	1.1

穩定化測定 - 在CHO-hDAP12-hTREM2上PMA誘導的脫落

【0598】為了研究開發的IgG穩定細胞表面上的TREM2受體對抗PMA誘導的脫落的能力，將CHO-hDAP12-hTREM2細胞用於基於FACS的穩定化測定。為了避免PMA失活，將抗體和對照在無疊氮化物的測定緩衝液中稀釋（終濃度200 nM和20 nM），並與預冷卻的細胞（5.0x10^4細胞/孔，在無疊氮化物的測定緩衝液中稀釋）以300 rpm振盪在30°C下孵育45分鐘。添加終濃度為50 ng/ml的脫落酶刺激物PMA並與細胞-抗體 - 混合物以300 rpm振盪在4°C下孵育30分鐘。洗滌後，藉由與螢光標記的檢測抗體（山羊抗人IgG-Alexa 647；小鼠抗山羊

IgG-Alexa 647）在4℃孵育1小時來檢測結合的IgG。使用ForeCyt軟體在iQUE裝置上（384孔，約37 μL，西普時間（sip time）1秒）測量螢光。

穩定性測定 - 在CHO-hDAP12-hTREM2上的組成型脫落

【0599】 為了研究開發的IgG穩定細胞表面上的TREM2受體的能力，將CHO-hDAP12-hTREM2細胞以及親本細胞系CHO-hDAP12用於基於FACS的穩定化測定。將3.0x10^{4}個細胞/孔轉移到96孔細胞培養板的孔中，並使其在37℃和5% CO_2下附著約5-6小時。將IgG和對照抗體（MOR03207，多株山羊抗-hTREM2抗體（R＆D系統公司（R&D Systems）；AF1828））在培養基中稀釋，並以100 nM和10 nM的終濃度加入細胞中。脫落酶抑制劑DPC 333用作陽性對照（培養基中5 μM）。將細胞培養板在37℃和5% CO_2下孵育過夜。

【0600】 第二天，除去上清液，用50 μL accutase/孔在37℃和5% CO_2下分離黏附細胞約20-30分鐘。洗滌後，藉由與螢光標記的檢測抗體（山羊抗人IgG-Alexa 647；小鼠抗山羊IgG-Alexa 647）在4℃孵育1小時來檢測結合的IgG。使用ForeCyt軟體在iQUE裝置上（384孔，約37 μL，西普時間（sip time）2秒）測量螢光。

前導候選物

【0601】 對57個成熟的IgG的深入表徵後，選擇23個殖株作為前導候選物。表14列出了23個候選物的概況。

【0602】 [表14].前導候選物.

MOR#	親本	類型	框架	結構域	sDAS 風險	K_D SET [pM] 人	K_D SET [pM] 食蟹猴	小鼠交叉反應	TREM2活化（在 RGA 方面的倍數）	穩定 Mph-FACS	吞噬作用增強	工程化

44693	42493	穩定性抗體	VH6 κ1	IgSF	培養基	2	4	弱	1.5	++	+	無
44694			VH6 κ1	IgSF	低	9	4	+	1.3	++	++	無
44702			VH6 κ1	IgSF	低	5	4	+	1.6	++	++	無
44746			VH6 κ1	IgSF	低	3	4	+	1.3	++	++	無
44695	42556		VH6 κ1	IgSF	培養基	15		弱	n.d.	++	+	PTM 去除
44728			VH6 κ1	IgSF	低	2	1	+	1.1	++	++	PTM 去除
44734			VH6 κ1	IgSF	培養基	5	1	+	1.1	++	++	PTM 去除
44737			VH6 κ1	IgSF	培養基	3	1	+	1.1	++	+	PTM 去除
44738			VH6 κ1	IgSF	培養基	3	1	+	1	++	++	PTM 去除
44739			VH6 κ1	IgSF	培養基	4	2	+	1.1	++	++	PTM 去除
44697	42596		VH1B κ1	IgSF	低	57	56	弱	n.d.	++	+	無
44698			VH1B κ1	IgSF	低	46	39	弱	1	++	++	無
44705			VH1B κ1	IgSF	低	12		+	1	++	++	無
44708			VH1B κ1	IgSF	高	15	7	+	n.d.	++	++	無
44721	43962/3		VH1A κ1	IgSF	培養基	5	10	+	0.9	+	++	無
44722			VH1A κ1	IgSF	培養基	8	13	+	0.9	+	++	無
44724			VH1A κ1	IgSF	培養基	85	130	+	1.7	+	++	無
44726			VH1A κ1	IgSF	培養基	9	16	+	0.9	+	+	無
44713	42752	活化性抗體	VH1A κ1	IgSF	低	11	4	弱	n.d.	+	+	無
44716			VH1A κ1	IgSF			100	弱	2	+	++	無
44710	42765		VH5 λ2	IgSF	培養基	27	26	+	2.3	++	+	種系化
44717			VH5 λ2	IgSF	低	18	33	+	n.d.	+	無	種系化
44720			VH5 λ2	IgSF	培養基	8	10	+	n.d.	+	++	種系化

*由於異常值或高濃度應用的IgG導致的KD限制

【0603】 對於「穩定化Mph-FACS」和「吞噬作用增強」欄，分別用+和++表示中等和強烈滿足所需標準。

實例2：抗TREM2抗體對細胞表面TREM2的穩定

材料和方法

溶液平衡滴定（SET）

【0604】 溶液中的親和力測定基本上如文獻（Friguet, B 等人 J Immunol Methods[免疫方法雜誌], 1985. 77(2):第305-319頁）中所述進行。為了改善SET方法的靈敏度和準確度，將其從經典ELISA轉移到基於ECL的技術（Haenel, C 等人 Anal Biochem[生物化學年鑒], 2005. 339(1):第182-184頁）。

【0605】 根據製造商的說明書，用MSD Sulfo TAGTM NHS-酯（Meso Scale Discovery公司｜蓋瑟斯堡｜馬里蘭州｜美國）標記1 mg/mL山羊抗人Fab片段特異性抗體（Bethyl）。

【0606】 實驗在聚丙烯微量滴定板和含有0.5% BSA和0.02% 吐溫20的PBS（GIBCO 14190 ｜ pH 7.0-7.2）作為測定緩衝液中進行。製備未標記抗原的系列稀釋液，起始濃度至少比預期的K_D高至少10倍。沒有抗原的孔用於確定Bmax值；僅含有測定緩衝液的孔用於確定背景。在添加適量的結合物（抗體濃度類似於或低於預期的K_D，60 µL終體積）後，將混合物在室溫下孵育過夜。

【0607】 將MSD板用PBS中的3% BSA封閉，並在鏈黴親和素板（30 µL/孔）上用生物素化抗原（hTREM2 ECD (19-174)-hFc-bio）包被。用含有0.05% 吐溫20的PBS洗滌板後，將平衡的樣本轉移到板中並孵育20分鐘。孵育後，將30 µL/孔的MSD-Sulfo-標記的檢測抗體（抗人Fab｜最終稀釋液通常為1 : 2,000）加入洗滌的MSD板中，並在室溫下在Eppendorf振盪器（700 rpm）上孵育60分鐘。

【0608】 在洗滌MSD板並添加30 µL/孔MSD讀數緩衝液T和表面活性劑後，使用Sector Imager 6000（Meso Scale Discovery公司，蓋瑟斯堡，馬里蘭州，美國）檢測電化學發光訊號。

【0609】使用應用定製的擬合模型的XLfit（IDBS）軟體評估數據。對於Fab分子的K_D測定，使用根據Haenel, 2005的擬合模型（Haenel, C 等人 Anal Biochem[生物化學年鑒], 2005. 339(1):第182-184頁）。對於IgG分子和單體抗原的K_D測定，使用IgG的擬合模型，根據（Piehler, J 等人 J Immunol Methods[免疫方法雜誌], 1997. 201:第189-206頁）進行修飾。對於方程也參考（Della Ducata, D 等人 J Biomol Screening[生物分子篩選雜誌], 2015. 20(10):第1256-1267頁）。SET篩選（Della Ducata, D 等人 J Biomol Screening[生物分子篩選雜誌], 2015. 20(10):第1256-1267頁）原則上如上所述進行。為了藉由溶液平衡滴定對成熟的結合物進行分級，基於Haenel及其同事描述的原理應用模型（Haenel, C 等人 Anal Biochem[生物化學年鑒], 2005. 339(1):第182-184頁）。將恒定量的稀釋的BEL提取物（含有硼酸鹽緩衝液，EDTA和溶菌酶）用不同濃度的抗原平衡過夜。

【0610】然後將混合物轉移至預先用抗原包被的MSD板，並在孵育和洗滌後，添加合適的MSD-Sulfo-標記的檢測抗體。

【0611】隨後，使用Sector Imager 6000（Meso Scale Discovery公司｜蓋瑟斯堡｜馬里蘭州｜美國）藉由ECL檢測定量未結合的Fab的濃度。

【0612】使用XLfit（IDBS）軟體（應用如上所述之相應擬合模型）處理結果，以估計親和力並且從而鑒定藉由成熟最大程度改善的殖株。

經由SPR（Biacore）藉由無標記動力學測定K_D

【0613】對於K_D測定，使用抗體蛋白（IgG）的單體級分（至少90%單體含量，如藉由分析型SEC分析）。

【0614】藉由如下所述之SPR（Biacore T200）儀器進行藉由測定動力學速率常數的親和力測定。

經由抗體捕獲設置確定K_D

【0615】製備合適的高容量捕獲表面，例如，藉由使用EDC/NHS化學將適當的捕獲配位基共價固定到CM5晶片（Biacore，通用電氣醫療集團）上。合適的捕獲系統的實例係抗hu-Fc抗體（Biacore｜通用電氣醫療集團）或MabSelect SuRe配位基（通用電氣醫療集團）。

【0616】對於Fab片段的K_D測定，將hTREM2 ECD (19-174)-hFc作為配位基捕獲，並且Fab片段用作溶液中的分析物。對於IgG樣本的K_D測定，將IgG作為配位基捕獲，單體TREM2蛋白用作溶液中的分析物（例如hTREM2 ECD (19-174)-His、mTREM2 ECD (19-168)-His、或cyTREM2 ECD (19-174)-APP-Avi）。

【0617】在動力學實驗期間，使用六個至八個不同的分析物濃度（例如2倍連續稀釋）進行分析。在每個循環後，再生感測器表面以除去捕獲的抗體/抗原複合物，同時保持捕獲表面的完整性。使用空白注入的運行緩衝區進行參考。

數據的評估

【0618】用相應儀器的評估軟體（即Biacore T200評估軟體2.x或3.x（Biacore，通用電氣醫療集團））分別評估傳感圖。將所有傳感圖擬合到1：1結合模型以確定kon和koff速率常數，其用於計算K_D）。

蛋白質組譜分析（3P）

【0619】對於蛋白質組分析（Frese, K. et al. mAbs, 2013. 5(2):第279-287頁），將32種不同的蛋白質和對照以1.0 μg/mL的濃度在4°C在兩個384孔MSD標準板上包被過夜。

【0620】棄去包被溶液，用PBS中的50 µL 3%（w/v）BSA在微量滴定板振盪器（約500 rpm）上在室溫下封閉板1小時，然後用50 µL洗滌緩衝液（含0.05%（v/v）吐溫20的PBS）進行三次洗滌步驟。

【0621】將抗體樣本（Fab片段或IgG）在測定緩衝液（含0.5%（w/v）BSA、0.05%（v/v）吐溫20的PBS）中稀釋至100 nM和10 nM。作為對照，使用MOR參考mAb抗溶菌酶MOR03207 Fab或IgG（取決於樣本形式）和測定緩衝液。以30 µL/孔添加樣本和對照，並在微量滴定板振盪器上於室溫孵育3小時。

【0622】將板洗滌三次並每孔添加30 µL檢測抗體（ECL標記的抗人Fab）並在微量滴定板振盪器（約500 rpm）上孵育一小時。在洗滌MSD板並添加35 µL/孔MSD讀數緩衝液T和表面活性劑後，使用Sector Imager 6000（Meso Scale Discovery公司，蓋瑟斯堡，馬里蘭州，美國）檢測電化學發光訊號。

【0623】為了評估，將特定蛋白質上的抗體樣本的訊號除以參考mAb MOR03207的對應訊號，得到結合比（BR）。然後計算除對照之外的所有蛋白質（總共25個）的累積結合比（CBR）。

使用人質膜蛋白細胞陣列進行結合譜評估

背景篩選

【0624】將人HEK293細胞在載玻片上生長並固定。以2 µg/ml添加測試抗體。隨後將載玻片與AlexaFluor647標記的抗人IgG Fc檢測抗體一起孵育，然後進行螢光成像。該檢測抗體之前已經過驗證，可用於Retrogenix系統中檢測人IgG和人Fc融合蛋白。

初級篩選：

【0625】將編碼ZsGreen1和全長人質膜蛋白的4955個雙順反子表現載體一式兩份點樣到載玻片上，並且將人HEK293細胞進行反轉染（14個載玻片組/抗體）。在篩選的4955個人質膜蛋白中，超過3500個係獨特的基因。

【0626】在細胞固定後向每個載玻片中添加測試抗體，並藉由使用與預篩選中使用的相同的螢光二抗進行結合檢測。ZsGreen1螢光訊號用於確認正確的轉染並定位轉染細胞的斑點。蛋白質「命中」被定義為顯示與背景水平相比的升高訊號（Alexa 647通道）的一式兩份斑點。這係藉由使用ImageQuant軟體上網格化的圖像進行目視檢查來實現的。根據一式兩份斑點的強度，命中被分類為「強、中、弱或非常弱」。

細胞系

【0627】根據標準細胞培養程序產生表現hTREM2和hDAP12蛋白的CHO細胞系。用含有人hDAP12和hTREM2的cDNA的真核表現載體依次轉染CHO細胞。得到的CHO-hTREM2/hDAP12雙轉染細胞（CHO-hTREM2）在補充有10%胎牛血清、0.2 mg/ml G418和0.2 mg/mL潮黴素的DMEM/F12培養基中生長。藉由細胞解離緩衝液（Gibco 13151-014）收穫匯合的CHO細胞，並藉由如下所述之流動式細胞測量術定量細胞表面TREM2。類似地，產生CHO選殖細胞系，其重組表現hDAP12和小鼠TREM2或hDAP12和食蟹猴TREM2。

【0628】使用標準選殖程序產生嵌合人TREM2-人TREM1構建體。TREM2-IGSF-TREM1莖構建體含有TREM2的IGSF結構域、TREM1的莖區、隨後是TM和TREM2的細胞內結構域。TREM1-IGSF-TREM2莖構建體含有TREM1的IGSF結構域，TREM2的莖區，隨後是TM和TREM2的細胞內結構域。使用針對TREM2的uniprot Q9NZC2和針對TREM1的Q9NP99確定結構域邊界。從每個構

建體產生穩定的選殖細胞系，其穩定表現嵌合構建體和hDAP12。使用細胞解離緩衝液（Gibco 13151-014）收穫匯合的貼壁CHO細胞殖株，並藉由如下所述之流動式細胞測量術定量細胞表面表現的嵌合hTREM2莖-hTREM1-IGSF或TREM1-IGSF-TREM2莖。

【0629】 Kleinberger et al. 2014（Kleinberger, G 等人 Sci Transl Med[科學轉化醫學], 2014. 6(243):p.243ra86）首次描述了穩定表現由TREM2-細胞外結構域和DAP12組成的嵌合受體的HEK細胞系。類似地，諾華公司的科學家根據標準細胞培養程序產生表現人TREM2/DAP12嵌合受體的細胞系。

【0630】 THP1細胞係內源性TREM2和DAP12表現的人單核細胞。根據標準細胞培養程序用NFAT啟動子驅動的螢光素酶基因轉染該等細胞。在有限稀釋後，用PMA/離子黴素刺激殖株，並選擇一個殖株（THP1-B5），其顯示報告基因活性（RGA）增加超過10倍。

巨噬細胞產生

【0631】 根據製造商的方案，使用easySep™人單核細胞分離套組（幹細胞技術公司（Stemcell technologies））藉由陰性選擇從完全匿名的血沈棕黃層中分離人單核細胞。單核細胞在RPMI（補充有10%的胎牛血清，麩胺酸（1x，Gibco，61870-044），丙酮酸鈉（Gibco，11360-070），非必需胺基酸，含MCSF 40 ng/mL的HEPES（R&D系統公司，216-MC-025），和50 ng/mL IL4（R&D系統公司，204-IL-050）分化培養基）中經過5-6天分化為hM2A。用細胞解離緩衝液（Gibco 13151-014）收穫M2A巨噬細胞，並藉由如下所述之流動式細胞測量術評估細胞表面TREM2。對於大多數實驗，在來自兩個不同供體的血沈棕黃層上平行評估抗體。

FACS

【0632】為了測定hM2A、CHO-hTREM2或CHO-cynoTREM2上的抗體的細胞EC_{50}，用5 μM DPC333（ADAM10和ADAM17抑制劑；Qian, M 等人 Drug Metab Dispos[藥物代謝和處置], 2007. 35:第1916-1925頁）處理細胞。用accutase（Biolegend公司，423201）分離巨噬細胞，然後重懸浮於補充有50 μg/ml Fc封閉（BD，564220）的FACS緩衝液（PBS，2% FBS，0.5 mM EDTA，pH 8.0）中並在冰上孵育至少20分鐘。接下來將細胞在4°C在相同緩衝液中用寬濃度範圍的不同抗TREM2抗體染色1小時，然後是用PBS的洗滌步驟（250 g，4° C，3 min）。接下來將細胞在FACS/Fc封閉緩衝液中與AlexaFluor® 647 AffiniPure $F(ab')_2$片段山羊抗人IgG、$F(ab')_2$片段（傑克森免疫研究公司（Jackson Immuno Research），109-606-097）和LIVE/DEAD®可固定Aqua死細胞染色套組（用於在405 nm激發）（分子探針公司（Molecular Probes），L34966）一起在4°C下孵育30分鐘。在用PBS（250 g，4°C，3分鐘）進行第二洗滌步驟後，將細胞用固定緩衝液（Biolegend公司，420801）在室溫下固定15分鐘，再次洗滌並使用BD FACS Canto II（BD，V96300323）或FacsCalibur流式細胞儀評估螢光。使用FlowJo軟體（Millipore INC公司）評估對應於與細胞結合的TREM2抗體的程度的中值螢光強度。

穩定性測定 - 在CHO-hDAP12-hTREM2上的組成型脫落

【0633】為了研究開發的IgG穩定細胞表面上的TREM2受體的能力，將CHO-hDAP12-hTREM2細胞以及親本細胞系CHO-hDAP12用於基於FACS的穩定化測定。將3.0x10^4個細胞/孔轉移到96孔細胞培養板的孔中，並使其在37°C下在細胞培養箱中附著約5-6小時。將IgG同種型對照和對照抗體（MOR03207，多株山羊抗-hTREM2抗體（R&D系統公司；AF1828））在培養基中稀釋，並以

如圖中所示的最終濃度加入細胞中。脫落酶抑制劑DPC333用作陽性對照（培養基中5 μM）。將細胞培養板在37°C下在細胞培養箱中孵育。

【0634】第二天，除去上清液，用50 μL accutase/孔在37°C和5% CO2下分離黏附細胞約20-30分鐘。洗滌後，藉由與螢光標記的檢測抗體（山羊抗人IgG-Alexa 647；小鼠抗山羊IgG-Alexa 647）在4°C孵育1小時來檢測結合的IgG。使用ForeCyt軟體在iQUE裝置上（384孔，約37 μL，西普時間（sip time）2秒）測量螢光。可替代地，藉由使用非交叉封閉MOR041895 Fab片段，實現獨立於穩定性抗體的TREM2的直接檢測。

抗TREM2抗體對hM2A上表現的TREM2的穩定

【0635】將M2A分化的巨噬細胞用accutase（Biolegend公司，423201）分離，用PBS洗滌一次，然後在補充有50 μg/ml Fc封閉劑（Fab片段抗Fc受體，由諾華公司生產）的FACS緩衝液（PBS，2% FBS，0.5 mM EDTA，pH 8.0）中重懸浮，並在室溫下孵育至少20分鐘。接下來將抗TREM2抗體添加至細胞（圖中所示濃度），然後在37°C的細胞培養箱中孵育24小時。在第二天，將細胞進行FACS分析。FACS染色藉由用於穩定的抗TREM2抗體的直接染色來完成，或藉由用抗TREM2 Fab-His片段（MOR041895）染色來完成，該片段識別在TREM2處的與用於穩定的抗體有關的不同的非重疊表位。M2A巨噬細胞用PBS/1mM EDTA洗滌兩次以去除多餘的血清，再用FACS緩衝液洗滌一次，然後添加50 μg/ml Fc封閉劑（BD，564220）。為檢測用於穩定化的結合的抗TREM2抗體，添加AlexaFluor® 647 AffiniPure F(ab')$_2$片段山羊抗人IgG、F(ab')$_2$（傑克森免疫研究公司（Jackson Immuno Research），109-606-097）和LIVE/DEAD®可固定Aqua死細胞染色（分子探針公司（Molecular Probes），L34966）於冰上置30分鐘。

為直接染色TREM2，在冰上用His標記的Fab片段MOR041895（100 nM）處理另一個樣本10分鐘，然後添加抗His PE（美天旎公司（Miltenyi），130-092-691）和LIVE/DEAD®固定Aqua死細胞染色（分子探針公司，L34966）。在冰上放置30分鐘後，將細胞用FACS緩衝液洗滌一次，然後在室溫下用固定緩衝液（Biolegend，420801）固定15分鐘，再次洗滌，並使用BD FACS Canto II（BD，V96300323）或FacsCalibur流式細胞儀評估螢光。使用FlowJo軟體（Millipore INC公司）評估對應於與細胞結合的Fab片段的TREM2抗體的程度的中值螢光強度。

吞噬作用測定（FACS）

【0636】將M2A分化的巨噬細胞用accutase（Biolegend，423201）分離，並接種於組織培養板中的補充了Fc封閉劑（20 μ/ml）的分化培養基中。在37攝氏度的加濕細胞培養箱中培養2.5小時後，將抗體以圖中所示的濃度添加至巨噬細胞，並在37攝氏度的加濕細胞培養箱中再孵育18小時。除去細胞培養基，巨噬細胞用PBS洗滌兩次並重懸於分化培養基中。接下來，添加相同體積的補充有pHrodo紅金黃色葡萄球菌生物顆粒（吞噬作用共軛物，分子探針公司，A10010）的分化培養基，並將溶液離心（1分鐘，500 g）以同步吞噬作用，然後在37攝氏度的加濕細胞培養箱中孵育2.5小時。將細胞用PBS洗滌兩次，用accutase分離，再在冰上用FACS緩衝液洗滌，並在冰上在FACS緩衝液中重懸，然後在FACS Canto II（BD）上進行FACS分析。使用FlowJo軟體（Millipore INC）評估與細胞攝取吞噬作用程度相對應的中值螢光強度。實驗始終包括具有相同Fc沈默突變的同種型對照（MOR03207）抗體。該抗體不識別hM2A巨噬細胞上的表位。

吞噬作用測定（Incucyte）

【0637】用accutase StemPro（Gibco #A11105-01，Lot#1648949）分離人M2A分化的巨噬細胞或人iPS衍生的小膠質細胞，並將其懸浮在M2a巨噬細胞完全培養基中。除去細胞培養基，並將細胞重懸浮於RPMI + 0.5% FCS中。將50 µL製備的細胞懸浮液接種到96孔黑色透明板、聚-D-離胺酸、BD板的每個插入物中（7500（M2A）–10000（iPS衍生的小膠質細胞）個細胞/孔），並在37°C下黏附3小時。添加pHrodo標記的生物顆粒（或者：pHrodoGreen金黃色葡萄球菌生物顆粒- 埃森生物科學公司（Essen Bioscience） #4620或pHrodoGreen標記的凋亡SH-SY5Y細胞（1.2 x 10^5個細胞/孔）），並將板轉移到IncuCyte ZOOM平台中（該平台位於37 °C/5% CO_2的細胞培養箱內），直到測定結束。使用10倍物鏡每30分鐘對來自三個技術重複的每個孔拍攝兩張圖像，持續20小時，然後使用IncuCyteTM Basic軟體進行分析。

趨化性測定（Incucyte）

【0638】將M2A分化的巨噬細胞或人iPS衍生的小膠質細胞以5000（M2A巨噬細胞）或7500（iPS衍生的小膠質細胞）個細胞/孔接種至預包衣基質膠（GFR-康寧公司#354230 Lot：631008）的transwell板（埃森生物科學公司）中的完全培養基中。對於採用抗體處理的遷移分析，以100 nM補充了小膠質細胞每種抗TREM2抗體，或以100 nM補充了相應的同種型對照。將Transwell放入含有200 µl具有20 ng/ml重組C5a或100 ng/ml重組C5a的完全培養基的儲器板中。使用Incucyte S3®軟體（埃森生物科學公司）監測和分析Transwell遷移。

報告基因測定

【0639】為了刺激RGA活性，將全長抗體以10 µg/ml的濃度包被在高蛋白結合細胞培養板（葛萊娜公司（Greiner） #781094）上8-16小時。洗滌板後，將

已經用DPC333在完全培養基中處理16小時的THP-B5細胞接種在抗體包被的384孔板上16小時。接下來，根據製造商的說明（Steadylite plus螢光素酶檢測試劑，珀金埃爾默公司（Perkin Elmer），# 6066751），使用steadylite plus測定螢光素酶活性。結果表示為相對於對照Ab（IgG同種型）的刺激倍數。

Syk磷酸化測定

【0640】將2×10^{6}個人M2A巨噬細胞/孔接種在6孔培養皿中的含有2 μM DPC333的培養基中。24小時後，將細胞用PBS洗滌一次，並添加測定緩衝液（補充有1% FCS、10 mM HEPES、2 μM DPC333和50 μg/ml抗Fc Fab封閉劑的RPMI）。將細胞在37攝氏度孵育4小時。接下來從培養箱中取出細胞，置於冰上，並用冰冷的PBS洗滌一次。然後添加1 ml含有同型對照抗體或抗TREM2抗體（100 nM）的測定緩衝液。還包括市售的抗TREM2抗體（大鼠單株IgG2B，R&D公司，MAB17291）。在冰上繼續孵育18分鐘。此後，去除培養基，並用冰冷的PBS洗滌細胞以去除多餘的、未結合的TREM2抗體。然後添加1 ml不帶抗Fc封閉劑但補充了100 nM交聯抗體（對於大鼠抗TREM2一抗：傑克森免疫研究公司 #112005008，山羊抗大鼠IgG Fc-γ片段；對於人抗TREM2抗體：傑克森免疫研究公司#109-005-008，山羊抗人IgG Fc-γ片段）的預熱的測定緩衝液。在37°C下繼續孵育10分鐘。接下來將板放在冰上，用冷PBS和補充有蛋白酶/磷酸化終止劑（賽默飛世爾科技公司（Thermo scientific），#1861281，終止蛋白酶和磷酸酶抑制劑混合物；1:100）的冷裂解緩衝液（800 μl/孔；賽默飛世爾科技公司，#78501，M-PER哺乳動物蛋白提取試劑）洗滌一次。細胞裂解進行5分鐘，然後在4°C下以10'000g離心20分鐘。將上清液與抗syk抗體（細胞傳訊公司（Cell Signaling），殖株D3Z1E –XP，#13198；2.45 μg/ml）在室溫下伴隨輕輕攪拌孵

育1小時。將50 µl蛋白A/G珠（賽默飛世爾科技公司，#88802）添加到每個樣本中，並在室溫輕輕攪拌下繼續孵育1小時。接下來將樣本放入磁體（賽默飛世爾科技公司）中，並除去上清液。將珠用PBS-T（PBS + 0.1 % 吐溫20）洗滌3次，並用30 µl 1x WB上樣染料（NuPAGE，LDS上樣緩衝液Novex，NP0008）洗脫結合的蛋白。

【0641】 接下來將樣本在70攝氏度下加熱10分鐘，用磁體分離，並將25 µl的每個樣本上樣至4-12%的凝膠（NuPAGE 4-12% Bis-Tris Midi蛋白凝膠，10孔，Novex，WG1403BOX），使用MES（NuPAGE MES，Novex，NP0002）作為運行緩衝液。將蛋白質轉移到PVDF膜上，並用3% TopBlock緩衝液（LuBio，在PBS-T 0.1%中）封閉膜1小時，然後與抗磷酸-酪胺酸AB 4G10（小鼠單株，Millipore公司 #05-1050）在4°C孵育過夜。洗滌膜，並在室溫與clean blot抗體（Clean-Blot，IP檢測試劑（HRP），21230）一起孵育1小時，然後進行另一個洗滌步驟，並根據製造商的說明用ECL（ECL選擇試劑，通用電氣醫療集團，RPN 2235）進行檢測。

【0642】 為檢測總Syk，用Restore剝離緩衝液處理膜，然後使用兔抗人Syk抗體（細胞傳訊公司 #2712）和clean blot檢測試劑檢測總Syk。

人TREM2的CRISPR敲入（KI）（hTREM2 KI）

【0643】 人源化的TREM2小鼠係藉由CRISPR將包含牛生長激素聚A訊號的人TREM2 cDNA（同種型1，UniProt：Q9NZC2-1）引入小鼠TREM2基因的外顯子1的ATG產生的。藉由PCR篩選建立者動物的hTREM2表現並將其繁殖為純合子。骨髓來源的巨噬細胞由不同的建立者動物產生，並且hTREM2的表現以及

小鼠TREM2的缺乏均藉由FACS分析得以證實。選擇一個建立者系並對其進行TREM2基因座的序列分析，以驗證TREM2 cDNA是否正確插入基因組。

人源化TREM2 Crispr敲入小鼠的銅立榮模型

銅立榮模型中鼠源化MOR44698 TREM2抗體的預防/伴隨治療

【0644】銅立榮模型係一種毒素誘導的脫髓鞘模型，用於研究CNS的髓鞘形成過程，其中外周免疫系統的參與很小。銅立榮（一種銅螯合劑）誘導線粒體損傷，並最終誘導少突膠質細胞死亡，而少突膠質細胞先質細胞不受影響，並且仍可以發揮其正常功能（增殖、成熟和再髓鞘化）。銅立榮在齧齒動物中引起的中毒會誘導神經炎症、神經元損傷和脫髓鞘，然後恢復。銅立榮模型非常適合用於測試脫髓鞘疾病的再生治療範例，例如比如獨立於侵襲性外周免疫細胞而增強髓鞘再生的MS。

【0645】治療人源化的TREM2 Crispr敲入小鼠（hTREM-KI）（食物中0.2%）用銅立榮（雙(環己酮)草酸二腙，西格瑪奧德里奇公司（Sigma-Aldrich））處理共7周，其中在之前1天和之後每週兩次用44698和同種型對照MOR03207（簡稱：3207）i.p.，30 mg/kg處理。在研究過程中，進行了縱向非侵入性磁共振成像（MRI），以測量磁化傳遞率（MTR）和強度/對比度，分別考慮用於檢測髓磷脂和神經炎症。在用抗體和銅立榮進行預防/伴隨治療7周後，處死動物並在冠狀腦石蠟切片上進行組織學檢查。Iba1抗體用於評估小膠質細胞數量和形態，並且Luxol快藍染色用於分析髓磷脂含量。

銅立榮模型中鼠源化MOR44698 TREM2抗體的治療性治療

【0646】將hTREM-KI小鼠用銅立榮（食物中0.2%）處理5周，然後換成正常食物，並用44698和同種型對照3207 i.p.30 mg/kg每週治療兩次，持續2周。在

研究過程中，進行了縱向非侵入性磁共振成像（MRI），以測量磁化傳遞率（MTR）和強度/對比度。經過5周的銅立榮中毒，用抗體進行2周的治療性處理後，處死動物並在冠狀腦石蠟切片上進行組織學檢查。Iba1抗體用於評估小膠質細胞數量和形態，Luxol快藍染色用於分析髓磷脂含量。

【0647】 MRI：使用Biospec 70/30光譜儀（布魯克醫學系統公司（Bruker Medical Systems），埃特林根，德國）在7 T下運行進行測量。掃描器的操作軟體為Paravision 5.1（Bruker）。使用小鼠腦圓極化線圈（布魯克醫學系統公司, 型號1P T20063 V3；內徑23 mm）從麻醉的、自發呼吸的動物獲得圖像，用於射頻激發和檢測。既未應用心臟觸發也未應用呼吸觸發。在盒子中短時間引入後，用1.5%異氟烷（雅培公司（Abbott）, 卡姆（Cham）, 瑞士）在氧氣中藉由鼻錐給藥使動物保持麻醉狀態。在MRI訊號採集期間，將動物以俯臥位置於由樹脂玻璃製成的搖籃中，使用加熱墊將體溫保持在37±1°C，並監測呼吸。使用AT2加權的二維多層RARE（弛豫增強快速採集）序列來確定解剖學取向和評估訊號強度。隨後是二維多層梯度，稱為FLASH（快速低角度拍攝）採集，用於評估MTR。由於兩個序列具有相同的解剖學參數，因此在RARE圖像上執行用於評估的目的地區域的選擇，然後將其轉移到FLASH圖像。使用ParaVision軟體分析MRI圖像。採集的參數如下：(a) RARE序列：有效回波時間80 ms，重複時間3280 ms，RARE因子16、12平均值，視場20 x 18 mm2，矩陣尺寸213 x 192，圖元尺寸0.094 x 0.094 mm2，切片厚度0.5 mm，15個相鄰切片 。持續時間/頻寬1 ms/5400 Hz和0.64 ms/5344 Hz的Hermite脈衝分別用於射頻激發和重新聚焦。脂肪抑制藉由2.61 ms/1051 Hz持續時間/頻寬的高斯512脈衝，緊接著2 ms長的梯度擾流器實現。總採集時間為7分52.3秒；(b) FLASH序列：回波時間2.8 ms，重複時間252.8 ms，4

平均值，視場20 x 18 mm2，矩陣尺寸213 x 192，圖元尺寸0.094 x 0.094 mm2，切片厚度0.5 mm，15個相鄰切片。0.9 ms/6000 Hz持續時間/頻寬和30°翻轉角的Hermite脈衝用於射頻激發。藉由15 ms/182.7 Hz持續時間/頻寬的高斯脈衝引入MTR對比度，其中射頻峰值幅度為7.5 μT，照射偏移為2500 Hz。然後使用相同的參數重複採集，但不引入MTR對比度。然後使用公式MTR =（S0-SMTR）/S0計算MTR，其中S0和SMTR分別表示在沒有和有MTR對比度引入的情況下FLASH採集中的訊號強度。兩組數據的總採集時間為6分31.6秒。

【0648】在殺死動物之前，用磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）進行經心臟灌注，然後在某些情況下再用4%多聚甲醛（PFA）進行灌注。隨後分離腦或半腦，並在4°C下在4% PFA中固定48小時。一些半腦被深凍。

【0649】組織學：固定後，藉由增加乙醇系列脫水處理腦進行石蠟包埋。在安裝在SuperFrost+載玻片（賽默飛世爾科技公司（Thermo Fisher Scientific））上的3 μm石蠟切片上進行石蠟切片的自動免疫組織化學，並使用Discovery XT技術公司（泛塔納公司（Ventana）/羅氏診斷公司（Roche Diagnostics））自動免疫染色。將切片脫石蠟、再水合，根據抗體藉由用CC1細胞調理緩衝液加熱28-68分鐘進行抗原修復，在室溫下根據抗體用抗體稀釋劑（泛塔納公司）稀釋的一抗孵育1-3小時，與在抗體稀釋液中稀釋的相應生物素化的二抗一起孵育，使用DAB-Mab套組反應並用蘇木精II和上藍劑試劑（泛塔納公司）複染。在熱自來水中用肥皂洗滌載玻片，並在冷自來水下沖洗以除去肥皂，然後脫水並用Pertex包埋。對於LFB染色，將載玻片脫蠟並再水化為95%乙醇。然後將載玻片在LFB溶液（Solvent Blue 38（西格瑪公司 S3382）在95%乙醇和10%乙酸（西格瑪公司695092）中）中於60°C孵育過夜，在95%乙醇中漂洗1分鐘，然後在蒸餾

水中漂洗2分鐘並在0.05%碳酸鋰中漂洗5秒。隨後，將載玻片在70%乙醇中漂洗兩次持續10秒，然後在蒸餾水中漂洗2分鐘。在新鮮配製的0.05%碳酸鋰（Merck 105680）、70%乙醇和蒸餾水中反復漂洗，直到白質（髓磷脂）的藍色與無色灰質之間形成鮮明的對比。最後，將載玻片開始用95%乙醇脫水並固定在Pertex中。

【0650】抗體：一抗係：兔抗小鼠MBP（Dako公司 A0623）1：1000；兔抗小鼠GST-π（MBL 312）1 : 500；兔抗Iba1（和光純藥工業株式會社（Wako）019-19741, 50 μg/100 μl）1 : 500；兔抗GFAP（Dako公司 Z0334）1 : 5000；兔抗小鼠MOG（艾博抗公司（abcam） ab32760）1 : 100；兔抗dMBP（Millipore公司 AB5864）1 : 3000；小鼠抗神經絲（科文斯公司（Covance） SMI312）1 : 5000；兔抗小鼠ALDH1L1（艾博抗公司ab87117）1 : 1000；兔抗小鼠NeuN（Milli-hole公司 ABN78）1 : 2000；大鼠抗小鼠CD107a（伯樂公司 MCA4707T）1 : 200；兔抗小鼠NG2（艾博抗公司ab129051）1 : 200；山羊抗Iba1（賽默飛世爾科技公司 PA5–18039）1：250。二級檢測抗體係：生物素化的山羊抗兔IgG（傑克森免疫研究公司 111-065-144）1 : 1000；生物素化的山羊抗兔IgG（載體公司（Vector）BA-1000）1 : 200或1 : 1000；生物素化的山羊抗兔IgG（載體公司 BA-9200）1 : 1000；生物素化的山羊抗兔IgG（載體公司 BA-9400）1 : 200。

【0651】組織學圖像分析：基於來自組織學染色的腦切片的圖像分析，對小膠質細胞/星形膠質細胞數量和形態進行定量評估，基於MS Visual Studio 2010和來自Matrox MIL V9庫（Matrox Inc公司）的許多功能開發了專有的圖像分析平台（ASTORIA公司，自動存儲圖像分析（Automated Stored Image Analysis），諾華製藥集團（Novartis Pharma AG））。為了檢測和分析細胞體、近端和遠端突起，執行以下步驟序列：1.用Aperio的Scanscope（萊卡生物系統集團（Leica

Biosystems AG））以20倍的放大倍數掃描帶有腦切片的載玻片，以評估（棕色）免疫組織化學染色的小膠質細胞（Iba1）或星形膠質細胞（GFAP）細胞體的近端和遠端突起。2.根據以下步驟，使用ImageScope軟體（V12.1.0.5029，Aperio，萊卡生物系統集團）處理每個圖像：A：顏色反卷積以獲得棕色染色而沒有藍色；B：藉由閾值處理、形態學關閉、填充孔、打開和消除太小的對象，從白色背景中分割腦組織，從而產生有效組織和樣本區域的二元掩模；C：基於在充分黑暗區域（指示細胞體）的顏色去卷積的棕色圖像的藍色通道的平均灰度值，對細胞體的單獨分割進行自我調整閾值化。計算的閾值用於二值化，並且在大小過濾之後產生細胞體掩模圖像（在有效樣本區域內）；d：藉由形態頂帽轉換進行突起分割，其大小可以選擇較薄的突起。再次應用自我調整閾值分割突起（使用先前確定的棕色對象的灰度平均值），然後對頂帽圖像進行二值化並對結果對象進行大小過濾；E：減去細胞體（也可能已經被頂帽閾值選擇）以獲得真實突起的圖像掩模；F：最終使突起薄化用於長度計算；G：近端突起：使用預定義數量的細胞體擴張來定義近端細胞體的參考（標誌物）區域，採用圍繞細胞體中心的圓來定義近端突起的截止邊界。然後，帶有標誌物的、在擴張的細胞體中的並受到圓形影響區限制的近端突起（「近端變薄的變薄的」集）在細胞體中心周圍重建。藉由「近端的變薄的突起」集中具有標誌物的所有突起的重建，收集「最終近端突起」；H：將細胞體添加到近端突起中以獲得一組「可見小膠質細胞」；I：遠端突起：僅從近端突起重建突起（即忽略背景中或來自不同聚焦平面的細胞體的突起），然後減去定義近端突起的圓形區域，以產生一組遠端突起；J：在計算細胞體以及「可見小膠質細胞」（圓形參考區域內單個

細胞體+近端突起複合體）的光密度時，使用局部背景（不可見小膠質細胞）作為參考；K：計算細胞體、近端和遠端突起的形態特徵（大小、形成因子、長度）。

用CSF1R激酶抑制劑BLZ945的小膠質細胞消耗和群體恢復

【0652】 BLZ945消耗模型可以評估抗TREM2抗體支持TREM2的營養活性的功效。

【0653】 集落刺激因子1受體（CSF1R）傳訊途徑對於小膠質細胞存活至關重要。該CSF1R激酶抑制劑BLZ945誘導小膠質細胞消耗，一旦移除BLZ945，小膠質細胞就會在腦中群體恢復。如前所述進行BLZ945處理和分析（Beckmann，N等人，Acta Neuropathol Commun[神經病理學通訊學報]，2018. 6(1)）。

【0654】 動物用169 mg/kg的BLZ945處理，每天一次（qd），每次口服（p.o.）10 ml/kg至少持續5天。BLZ945在0.5%甲基纖維素水溶液和0.1%吐溫-80中製備。讓動物隨意獲取食物和水。

【0655】 BLZ945處理之前（至少1天），期間（持續至少5天）或之後至少3天用抗體或同素異型對照每週一次30 mg/kg腹腔內處理動物。在殺死動物之前，用磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）進行經心臟灌注，然後在某些情況下再用4%多聚甲醛（PFA）進行灌注。隨後分離腦或半腦，並在4°C下在4% PFA中固定48小時。將一些半腦冷凍或新鮮放入冷PBS中。

【0656】 組織學：固定後，藉由增加乙醇系列脫水處理腦進行石蠟包埋。在安裝在SuperFrost+載玻片（賽默飛世爾科技公司（Thermo Fisher Scientific））上的3 μm石蠟切片上進行石蠟切片的自動免疫組織化學，並使用Discovery XT技術公司（泛塔納公司（Ventana）/羅氏診斷公司（Roche Diagnostics））自動

免疫染色。將切片脫石蠟、再水合，根據抗體藉由用CC1細胞調理緩衝液加熱28-68分鐘進行抗原修復，在室溫下根據抗體用抗體稀釋劑（泛塔納公司）稀釋的一抗孵育1-3小時，與在抗體稀釋液中稀釋的相應生物素化的二抗一起孵育，使用DAB-Mab套組反應並用蘇木精II和上藍劑試劑（泛塔納公司）複染。在熱自來水中用肥皂洗滌載玻片，並在冷自來水下沖洗以除去肥皂，然後脫水並用Pertex包埋。對於LFB染色，將載玻片脫蠟並再水化為95%乙醇。然後將載玻片在LFB溶液（Solvent Blue 38（西格瑪公司 S3382）在95%乙醇和10%乙酸（西格瑪公司695092）中）中於60°C孵育過夜，在95%乙醇中漂洗1分鐘，然後在蒸餾水中漂洗2分鐘並在0.05%碳酸鋰中漂洗5秒。隨後，將載玻片在70%乙醇中漂洗兩次持續10秒，然後在蒸餾水中漂洗2分鐘。在新鮮配製的0.05%碳酸鋰（Merck 105680）、70%乙醇和蒸餾水中反復漂洗，直到白質（髓磷脂）的藍色與無色灰質之間形成鮮明的對比。最後，將載玻片開始用95%乙醇脫水並固定在Pertex中。

【0657】抗體：一抗係：兔抗Iba1（和光純藥工業株式會社（Wako）019-19741, 50 μg/100 μl）1 : 500；兔抗GFAP（Dako公司 Z0334）1 : 5000；小鼠抗神經絲（科文斯公司（Covance） SMI312）1 : 5000；兔抗小鼠ALDH1L1（艾博抗公司ab87117）1 : 1000；兔抗小鼠NeuN（Milli-hole公司 ABN78）1 : 2000；大鼠抗小鼠CD107a（伯樂公司 MCA4707T）1 : 200；山羊抗Iba1（賽默飛世爾科技公司 PA5–18039）1 : 250。二級檢測抗體係：生物素化的山羊抗兔IgG（傑克森免疫研究公司 111-065-144）1 : 1000；生物素化的山羊抗兔IgG（載體公司（Vector） BA-1000）1 : 200或1 : 1000；生物素化的山羊抗兔IgG（載體公司 BA-9200）1 : 1000；生物素化的山羊抗兔IgG（載體公司 BA-9400）1 : 200。

【0658】組織學圖像分析：基於來自組織學染色的腦切片的圖像分析，對小膠質細胞/星形膠質細胞數量和形態進行定量評估，基於MS Visual Studio 2010和來自Matrox MIL V9庫（Matrox Inc公司）的許多功能開發了專有的圖像分析平台（ASTORIA公司，自動存儲圖像分析（Automated Stored Image Analysis），諾華製藥集團（Novartis Pharma AG））。為了檢測和分析細胞體、近端和遠端突起，執行以下步驟序列：1.用Aperio的Scanscope（萊卡生物系統集團（Leica Biosystems AG））以20倍的放大倍數掃描帶有腦切片的載玻片，以評估（棕色）免疫組織化學染色的小膠質細胞（Iba1）或星形膠質細胞（GFAP）細胞體的近端和遠端突起。2.根據以下步驟，使用ImageScope軟體（V12.1.0.5029，Aperio，萊卡生物系統集團）處理每個圖像：A：顏色反卷積以獲得棕色染色而沒有藍色；B：藉由閾值處理、形態學關閉、填充孔、打開和消除太小的對象，從白色背景中分割腦組織，從而產生有效組織和樣本區域的二元掩模；C：基於在充分黑暗區域（指示細胞體）的顏色去卷積的棕色圖像的藍色通道的平均灰度值，對細胞體的單獨分割進行自我調整閾值化。計算的閾值用於二值化，並且在大小過濾之後產生細胞體掩模圖像（在有效樣本區域內）；D：藉由形態頂帽轉換進行突起分割，其大小可以選擇較薄的突起。再次應用自我調整閾值分割突起（使用先前確定的棕色對象的灰度平均值），然後對頂帽圖像進行二值化並對結果對象進行大小過濾；E：減去細胞體（也可能已經被頂帽閾值選擇）以獲得真實突起的圖像掩模；F：最終使突起薄化用於長度計算；G：近端突起：使用預定義數量的細胞體擴張來定義近端細胞體的參考（標誌物）區域，採用圍繞細胞體中心的圓來定義近端突起的截止邊界。然後，帶有標誌物的、在擴張的細胞體中的並受到圓形影響區限制的近端突起（「近端變薄的變薄的」集）在細胞

體中心周圍重建。藉由「近端的變薄的突起」集中具有標誌物的所有突起的重建，收集「最終近端突起」；H：將細胞體添加到近端突起中以獲得一組「可見小膠質細胞」；I：遠端突起：僅從近端突起重建過程（即忽略背景中或來自不同聚焦平面的細胞體的突起），然後減去定義近端突起的圓形區域，以產生一組遠端突起；J：在計算細胞體以及「可見小膠質細胞」（圓形參考區域內單個細胞體+近端突起複合體）的光密度時，使用局部背景（不可見小膠質細胞）作為參考；K：計算細胞體、近端和遠端突起的形態特徵（大小、形成因子、長度）。

人源化TREM2 Crispr敲入小鼠的MPTP模型

【0659】 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氫吡啶（MPTP）係一種毒素，可在人中引起類似於帕金森氏症的症狀。MPTP被星形細胞單胺氧化酶B代謝，生成活性代謝物1-甲基-4-苯基吡啶鎓（MPP+），其然後被神經元藉由多巴胺（DA）轉運蛋白（DAT）吸收。其中，MPP+在線粒體基質中積累並抑制呼吸鏈的複合物I，從而削弱線粒體ATP的生成。由於複合物I抑制，這種ATP消耗以及過量的活性氧（ROS）形成會導致細胞死亡。全身性MPTP給藥可在小鼠中特異性誘導多巴胺能細胞死亡，這伴有增加的神經炎症。MPTP模型先前已有描述（Ren，M等人，Exp Neurol[實驗神經學]，2018. 302:p.205-213）。

【0660】 將人源化的TREM2 Crispr敲入小鼠（hTREM-KI）用MPTP以15 mg/kg腹腔注射4次處理1天，注射分隔2小時。在MPTP處理前一天、MPTP處理後兩天和四天腹腔注射30 mg/kg的44698和同種型對照MOR03207（簡稱：3207）。MPTP處理後7天，處死動物並在冠狀腦自由漂浮切片上進行免疫螢光。酪胺酸羥化酶（TH）用抗體染色，顯微拍照（10倍物鏡），紋狀體的染色面積用Fiji軟體定量。

【0661】在殺死動物之前，用磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）進行經心臟灌注，然後在某些情況下再用4%多聚甲醛（PFA）進行灌注。隨後分離腦或半腦，並在4°C下在4% PFA中固定24-48小時。將一些半腦冷凍或新鮮放入冷PBS中。

【0662】組織學：固定後，將腦包埋在PBS中的2%瓊脂糖中，並產生自由漂浮的切片（至少20 μm-30 μm厚）。將切片轉移至24孔板中，用PBS洗滌，並在2%（v/v）正常山羊或馬血清（載體實驗室公司（Vector Laboratories））中孵育1小時，該山羊或馬血清在補充有1%（w/v）牛血清白蛋白（BSA）和0.3%（v/v）Triton X-100的PBS中（此處稱為第1天緩衝液）。然後將切片在含有對應一抗（兔抗酪胺酸羥化酶（TH），Millipore AB152）的第1天緩衝液中放置過夜。第二天，將切片用補充有0.3% BSA和0.1% Triton X-100的PBS（此處稱為第2天緩衝液）洗滌兩次，與第2天緩衝液中的對應的螢光標記的二抗孵育1小時，用第2天緩衝液洗滌兩次，在PBS中洗滌三次，然後固定在載玻片上並蓋上蓋玻片。用ImageJ分析免疫染色的切片。

食蟹猴的PK研究

【0663】為了評估非人類靈長類動物中抗體的PK並實現人類PK建模，在食蟹猴中進行了PK研究。在第1天和第106天，分別用載體、10、30或100 mg/kg的MOR044698處理4組動物，每組3隻。分別在給藥前、給藥後48和168小時獲取CSF。給藥前和給藥後0.5、4、8、24、48、72、96和168小時以及給藥後第15、29、43、57、71、85和99天採血。

【0664】將藉由Elisa評估抗體在CSF和血液中的濃度，以及兩個隔室中抗體與sTREM2的結合。

結果

來自初始和備用淘選的抗體的特性

【0665】在淘選實驗之後的篩選努力鑒定了*體外*以nM親和力與TREM2的人細胞外結構域結合的抗體（表15）。為了鑒定抗體是否識別TREM2的莖區或IgSF結構域，使用兩種不同的TREM2-TREM1嵌合蛋白在ELISA測定中評估抗體。一個構建體含有TREM2 IgSF結構域，接著係TREM1莖區，另一個蛋白質由TREM1 IgSF結構域然後是TREM2莖區進行組裝。大多數抗體識別TREM2-IgSF-TREM1莖構建體。MOR041874與TREM2的莖區結合，不識別hTREM2 IgSF-T1莖蛋白。MOR041895僅與全長TREM2結合。

【0666】抗體還以nM親和力與CHO細胞中的重組表現的人TREM2結合，並藉由THP1-B5細胞中的NFAT啟動子活化TREM2依賴性傳訊（表15）。

【0667】抗體還結合在人M2A巨噬細胞中內源表現的TREM2（表15，最後一欄）。

[表15].

抗體	**hTREM2 Fc 直接 Elisa EC_{50} [nM]**	**Elisa hTREM1 IgSF-T2 莖 -hFc-bio**	**Elisa hTREM2 IgSF-T1 莖 -hFc-bio**	**FACS CHO-DAP12-hTREM2 EC_{50} [nM]**	**活化 THP1 B5-NFAT 報告基因，活化倍數**	**與 hM2A（FACS）結合**
MOR042492	1.0	否	是	6.1	1.2	是
MOR042493	0.9	否	是	6.8	1.4	是
MOR042495	1.3	否	是	N.D.	N.D.	-
MOR042496	2.5	否	是	9.7	N.D.	-
MOR042497	1.0	否	是	3.8	N.D.	弱
MOR042511	3.2	否	是	7.9	N.D.	
MOR042512	3.0	否	是	8.3	N.D.	
MOR042556	1.7	否	是	8.1	1.5	是
MOR042561	2.9	否	是	3.5	N.D.	
MOR042566	1.8	否	是	3.4	N.D.	
MOR042585	1.3	否	是	1.9	N.D.	弱
MOR042588	1.7	否	是	2.5	N.D.	弱
MOR042589	10.9	否	是	4.9	1.8	是
MOR042590	1.6	否	是	4.2	N.D.	弱

MOR042596	2.4	否	是	3.4	1.6	是
MOR042600	0.8	弱	是	4.8	1.7	是
MOR042733	0.6	否	是	N.D.	N.D.	是
MOR042752	1.4	否	是	N.D.	2.1	是
MOR042765	1.6	否	是	N.D.	2.4	是
MOR042778	3.4	否	是	0.4	N.D.	弱
MOR041874	46.1	是	否	0.3		是
MOR041895	16.7	否	否	2.5		

【0668】為了評估抗TREM2抗體的穩定性特性，用100 nM抗體處理CHO-hDAP12-hTREM2細胞約16小時。此後，用FACS分析評估TREM2細胞表面表現。

【0669】如圖2所示，一些IgSF結合物增加TREM2細胞表面表現，這表明ADAM17（例如MOR042492、MOR042493、MOR042556、MOR042589、MOR042596、MOR042752、MOR042765）造成的TREM2脫落受損。

【0670】在下一步驟中，針對抗體MOR042492和MOR042589移除PTM，並對若干個穩定性抗體進行親和力成熟。

[表16].藉由SET篩選測定K_D。

抗體	**K_D [pM]**
MOR044743	10585
MOR044741	6886
MOR044742	5699
MOR044744	6801
MOR044746	<600
MOR044698	<600
MOR044724	<600
MOR044722	<600
MOR044700	<600
MOR044701	<600
MOR044703	<600
MOR044747	<600
MOR044695	<600
MOR044728	<600
MOR044734	<600

MOR044737	<600
MOR044738	<600
MOR044739	<600
MOR044729	<600
MOR044730	<600
MOR044731	<600
MOR044733	<600
MOR044735	<600
MOR044736	<600
MOR044740	<600
MOR044716	<600
MOR044726	<600
MOR044705	<600
MOR044708	<600
MOR044704	<600
MOR044706	<600
MOR044707	<600
MOR044748	<600
MOR044721	<600
MOR044702	<600
MOR044714	<600
MOR044715	<600
MOR044710	<600
MOR044720	<600
MOR044713	<600
MOR044709	<600
MOR044711	<600
MOR044712	<600
MOR044718	<600
MOR044719	<600
MOR044745	<600
MOR044749	<600
MOR044694	<600
MOR044697	660
MOR044693	<600
MOR044723	<600
MOR044717	<600
MOR044725	<600
MOR044727	<600
MOR044750	<600

【0671】作為親和力成熟抗體對人TREM2的結合親和力的粗略估計，使用hTREM2 ECD（19-174）進行SET篩選實驗。在該體外測定中，若干個抗體對重組表現的人TREM2具有亞納莫耳結合親和力（表16）。

[表17].hM2A中抗體的效力和對重組表現的蛋白質和細胞系的選擇性。

抗體	使用FACS [nM]在hM2A下的EC_{50}	與親本CHO或缺乏TREM2（FACS）的THP-1的非特異性結合	與PMA處理的hM2A（FACS）結合
MOR044743	<2	是	是
MOR044741	<2	是	是
MOR044742	<2	是	否
MOR044744	<2	是	否
MOR044746	<2	否	否
MOR044698	<2	否	否
MOR044724	<2	否	否
MOR044722	<2	否	否
MOR044700	>2	否	否
MOR044701	<2	否	否
MOR044703	>2	否	否
MOR044747	<2	否	否
MOR044695	>2	否	否
MOR044728	<2	否	是
MOR044734	<2	否	否
MOR044737	<2	否	否
MOR044738	<2	否	否
MOR044739	<2	否	否
MOR044729	>2	否	否
MOR044730	<2	否	是
MOR044731	<2	否	否
MOR044733	>2	是	是
MOR044735	>2	否	否
MOR044736	>2	是	否
MOR044740	>2	是	否
MOR044716	<2	否	否
MOR044726	>2	是	否
MOR044705	<2	否	否

MOR044708	<2	否	否
MOR044706	>2	是	否
MOR044707	>2	否	否
MOR044748	>2	否	否
MOR044721	<2	否	否
MOR044702	<2	否	否
MOR044714	>2	是	否
MOR044715	<2	是	否
MOR044710	>2	是	否
MOR044720	<2	否	否
MOR044713	<2	否	否
MOR044709	>2	是	否
MOR044711	>2	是	否
MOR044712	>2	否	否
MOR044718	>2	是	否
MOR044719	>2	是	否
MOR044745	>2	是	否
MOR044749	>2	否	否
MOR044694	>2	否	否
MOR044697	<2	否	否
MOR044693	<2	否	否
MOR044723	<2	是	否
MOR044717	>2	否	否
MOR044725	<2	是	否
MOR044727	>2	是	否
MOR044750	>2	是	否

【0672】接下來使用FACS分析篩選與來自不同供體的hM2A巨噬細胞中內源表現的TREM2的結合的抗體。若干個抗體顯示結合EC_{50}低於2 nM。此外，大多數抗體不結合親本（未轉染的）CHO細胞或不結合已經進行CRISPR遺傳工程改造而沒有TREM2表現的THP-1細胞（表17）。

[表18].測定在源自不同供體的hM2A巨噬細胞中內源表現的人TREM2的細胞EC50。

抗體	中值 ± SD [nM]	n	供體1 [nM]	供體2 [nM]	供體3 [nM]	供體4 [nM]
MOR044746	0.59 ± 0.09	4	0.73	0.54	0.54	0.64
MOR044698	0.56 ± 0.15	4	0.86	0.55	0.55	0.56
MOR044713	0.85 ± 1.79	4	4.38	0.73	0.89	0.80
MOR044716	0.45 ± 0.22	4	0.55	0.08	0.35	0.35
MOR044724	0.28 ± 6.19	4	12.64	0.26	0.20	0.30
MOR044743	0.46 ± 0.19	4	0.46	0.79	0.35	0.46
MOR044741	0.74 ± 0.13	4	0.83	0.81	0.55	0.67
MOR044735	7.63 ± 67.89	4	141.10	8.56	0.68	6.69

【0673】 與重組表現系統相反，人M2A巨噬細胞內源性表現TREM2和DAP12。在該細胞系統中，TREM2蛋白進行翻譯後加工，並且與人中的體內情況相比表現非常相似。

【0674】 測定抗體對hM2A巨噬細胞中內源表現的人TREM2的EC_{50}（表18）。n描繪了不同實驗的數量，並且在每個實驗中，已經從$CD14^+$單核細胞分化的巨噬細胞衍生自不同的供體。結果表明使用FACS分析，大多數抗體對人M2A的具有亞納莫耳的抗體結合親和力。給出每個供體的單獨值。最出人意料的是，一些抗體（例如44724、44713、44735和44716）顯示出在不同供體之間結合親和力的高度可變性，而其他（例如，MOR044746和MOR44698）則在測試的不同供體之間顯示出一致的結合模式。

【0675】 [表19].測定抗體識別的TREM2結構域以及與食蟹猴TREM2的結合。

抗體	hTREM2 ECD (19-174)-hFc | S/BG	cyTREM2 ECD (19-174)-hFc | S/BG	hTREM1 IgSF-hTREM2 莖-hFc | S/BG	hTREM2 IgSF-hTREM1 莖-hFc| S/BG
MOR044743	>5	>5	>30	<11
MOR044741	>5	>5	>30	<11
MOR044742	>5	>5	>30	<11
MOR044744	>5	>5	>30	<11

MOR044746	>5	>5	<2	>20
MOR044698	>5	>5	<2	>20
MOR044724	>5	>5	<2	>20
MOR044722	>5	>5	<2	19
MOR044700	>5	>5	<2	>20
MOR044701	>5	>5	<2	>20
MOR044703	>5	>5	<2	>20
MOR044747	>5	>5	<2	>20
MOR044695	>5	>5	<2	>20
MOR044728	>5	>5	<2	>20
MOR044734	>5	>5	<2	>20
MOR044737	>5	>5	<2	>20
MOR044738	>5	>5	<2	>20
MOR044739	>5	>5	<2	>20
MOR044729	>5	>5	<2	>20
MOR044730	>5	>5	<2	>20
MOR044731	>5	>5	<2	>20
MOR044733	>5	>5	<2	>20
MOR044735	>5	>5	<2	>20
MOR044736	>5	>5	<2	>20
MOR044740	>5	>5	<2	>20
MOR044716	>5	>5	<2	>20
MOR044726	>5	>5	<2	19
MOR044705	>5	>5	<2	11
MOR044708	>5	>5	<2	13
MOR044706	>5	>5	<2	11
MOR044707	>5	>5	<2	17
MOR044748	>5	>5	<2	10
MOR044721	>5	>5	<2	>20
MOR044702	>5	>5	<2	>20
MOR044714	>5	>5	<2	>20
MOR044715	>5	>5	<2	>20
MOR044710	>5	>5	<2	>20
MOR044720	>5	>5	<2	20
MOR044713	>5	>5	<2	>20
MOR044709	>5	>5	<2	>20
MOR044711	>5	>5	<2	>20
MOR044712	>5	>5	<2	>20
MOR044718	>5	>5	<2	19
MOR044719	>5	>5	<2	>20
MOR044745	>5	>5	<2	>20
MOR044749	>5	>5	<2	>20
MOR044694	>5	>5	<2	>20

MOR044697	>5	>5	<2	>20
MOR044693	>5	>5	<2	>20
MOR044723	>5	>5	<2	>20
MOR044717	>5	>5	<2	20
MOR044725	>5	>5	<2	19
MOR044727	>5	>5	<2	>20
MOR044750	>5	>5	<2	>20

【0676】 使用重組產生的蛋白質，研究了TREM2的哪個蛋白質結構域（莖區域的IGSF）被抗TREM2抗體識別（表19）。所有抗體以超過5倍的訊號:背景比與全長細胞外TREM2構建體結合。抗體MOR044743、MOR044741、MOR0044742和MOR044744與TREM2的莖區強烈相互作用，而大多數其他抗體係IGSF結合物。

【0677】 該等實驗還顯示該等抗體與食蟹猴TREM2的ECD的交叉反應性（表19）。

[表20].抗體的物理化學特性的探索性測定。

抗體	**分析型SEC（%單體）**	**pI（電腦模擬預測）**	**Tm（°C，pH 5.5，IgG數據）**	**疏水性（M $(NH_4)_2SO_4$，His pH 6.0）**
MOR044743	97.9	9.4	74.0	1.01
MOR044741	98.2	9.4	76.5	1.01
MOR044742	95.1	9.3	73.0	0.84
MOR044744	90.6	9.3	72.5	0.89
MOR044746	95.8	8.6	76.0	0.87
MOR044698	97.9	9.4	75.5	1.03
MOR044724	94.4	7.2	82.5	0.53
MOR044722	95.2	7.2	84.0	0.49
MOR044700	96.4	8.9	77.0	0.87
MOR044701	95.9	9	77.5	0.79
MOR044703	95.6	9	79.5	0.89
MOR044747	94.4	8.9	85.0	0.81
MOR044695	95.3	9.1	71.0	0.55
MOR044728	94.1	8.6	85.0	0.63
MOR044734	94.1	8.9	80.0	0.76
MOR044737	95.3	9.1	81.0	0.75
MOR044738	92.2	8.6	83.0	0.80

MOR044739	94.9	8.9	81.5	0.73
MOR044729	93.2	8.9	81.0	0.76
MOR044730	95.4	8.9	80.0	0.73
MOR044731	97.1	8.6	79.5	0.80
MOR044733	95.5	9.1	79.0	0.81
MOR044735	91.1	8.6	82.0	0.80
MOR044736	94.8	8.9	84.5	0.62
MOR044740	95.1	8.2	79.0	0.49
MOR044716	96.3	8.9	79.0	0.37
MOR044726	92.5	7.5	84.5	0.70
MOR044705	98.0	9.4	71.0	0.95
MOR044708	84.3	9.4	65.0	0.44
MOR044706	87.7	9.4	69.5	0.78
MOR044707	98.2	9.4	72.5	0.97
MOR044748	95.8	9.4	74.0	0.82
MOR044721	94.0	7.2	83.5	0.59
MOR044702	95.6	9	79.0	0.81
MOR044714	99.2	9.1	83.5	0.21
MOR044715	96.2	9.1	83.0	0.48
MOR044710	98.1	9.2	65.5	0.48
MOR044720	98.5	9	64.0	0.65
MOR044713	97.6	8.7	80.0	0.83
MOR044709	98.6	9.2	82.0	0.54
MOR044711	98.6	9	69.5	0.08
MOR044712	97.7	9.2	65.0	0.19
MOR044718	98.4	9.2	68.5	0.26
MOR044719	99.4	9.3	64.0	0.50
MOR044745	97.3	9.3	77.5	0.56
MOR044749	98.8	9	76.0	0.42
MOR044694	95.9	8.6	76.0	0.84
MOR044697	97.4	9.4	75.0	0.90
MOR044693	95.6	8.6	74.5	0.86
MOR044723	93.6	7.5	82.5	0.44
MOR044717	99.3	9.2	63.0	0.92
MOR044725	94.1	7.8	83.0	0.33
MOR044727	95.2	7.5	83.0	0.44
MOR044750	93.6	7.8	83.0	0.40

【0678】為了進一步表徵抗體的生物化學和生物物理特性，評估抗體的單體含量、等電點、解鏈溫度和疏水性（表20）。

【0679】 若干個抗體顯示出優異的生物化學和生物物理學特性（即單體含量> 94%，pI>7.1，TM>75，並且疏水性>0.4），例如，MOR044746、MOR044698、MOR044724、MOR044722、MOR044716、MOR044705、MOR044713。

[表21].經由SPR藉由無標記動力學測定K_D。

抗體	hTREM2 ECD (19-174)-hFc [pM]	cyTREM2 ECD (19-174)-APP-Avi) [pM]
MOR044746	3	4
MOR044698	46	39
MOR044713	11	4
MOR044716	150	100
MOR044724	85	130

【0680】 為了精確評估抗體的結合親和力，藉由SPR進行藉由測量動力學速率常數的親和力測定。此外，進行與食蟹猴TREM2的比較（表21）。在進行該等實驗之前，分析抗體蛋白（IgG）的單體級分的量（藉由分析型SEC至少90%單體含量）。

【0681】 抗體對重組表現的食蟹猴或人TREM2 ECD結構域的K_D的測定揭示了pM親和力。人和食蟹猴TREM2相比，該等親和力相似。

【0682】 為了進一步評估TREM2抗體的特異性，用PMA處理人M2A巨噬細胞，並使用FACS分析評估抗體與該等巨噬細胞的結合（圖3）。已顯示PMA活化蛋白酶例如ADAM17，導致從TREM2 ECD從hM2A脫落（Feuerbach, D 等人 Neurosci Lett[神經科學通訊], 2017. 92:p.202-209）。在PMA處理後，AF1828 Ab不再與M2A巨噬細胞結合（比較第一和第二柱條）。

【0683】 然而，若干個抗體（例如MOR44728、MOR46021、MOR46022、MOR46023、MOR46025、MOR46026、MOR46028、MOR46029和MOR46030）

仍然結合人M2A巨噬細胞的細胞表面上的結構，這表明非特異性結合。在PMA處理後，若干個抗體（例如MOR44694、MOR44698、MOR44705、MOR44746）缺乏與人M2A巨噬細胞的結合。

【0684】為了進一步研究抗體的非靶標相關結合特性，對選定的一組抗體進行蛋白質組譜分析。結果顯示抗體的累積結合比率低於150，這代表IgG沒有可檢測的非特異性結合（表22）。

[表22].蛋白質組譜分析（3P）中非特異性結合的測定。

抗體	累積結合比率
MOR044746	<150
MOR044698	<150
MOR044713	<150
MOR044716	<150
MOR044724	<150
MOR044743	<150

【0685】重組表現嵌合TREM2-TREM1構建體的CHO細胞用於鑒定TREM2蛋白內抗體的結合位點。使用FACS分析，證明所有抗體與全長WT-人TREM2結合（圖4A）。抗體MOR044698、MOR044713、MOR044716、MOR044724和MOR044746與表現TREM2-IgSF-TREM1莖蛋白的細胞系（圖4B）結合，但不與表現TREM1-IgSF-TREM2莖蛋白的細胞系（圖4C）結合。抗體MOR44743和MOR041874顯示出相反結合模式，即該等抗體與表現TREM1-IgSF-TREM2莖蛋白的細胞系結合但不與表現TREM2-IgSF-TREM1莖蛋白的細胞系結合。MOR3207係同種型對照抗體，抗人僅是二級FACS染色抗體。

【0686】在下一組實驗中，評估了使用重組細胞表現系統的抗體效力。使用FACS分析測定抗體對重組表現食蟹猴或人TREM2的CHO細胞的EC_{50}（表

23）。在表現人TREM2的CHO細胞中，顯示抗體展示亞納莫耳結合親和力。在表現食蟹猴TREM2的細胞系中，與表現人TREM2的細胞相比，結合親和力在相似的範圍內。

[表23].使用FACS分析測定表現CHO-cynoTREM2和CHO-人TREM2的細胞系的細胞EC_{50}。

抗體	**CHO-hTREM2 [nM]**	**CHO-cyTREM2 [nM]**
MOR044746	0.16	0.65
MOR044698	0.20	0.46
MOR044713	0.26	0.71
MOR044716	0.24	0.63
MOR044724	0.13	0.31

【0687】 用100 nM抗TREM2抗體對來自不同供體的hM2A進行過夜處理。接下來，使用非交叉封閉Fab片段MOR041895評估細胞表面的TREM2表現。與抗體MOR044741、MOR044743相對比，與抗體MOR044746、MOR044698、MOR044713、MOR044716和MOR044724一起孵育導致細胞表面的TREM2穩定化。所有抗體顯示亞納莫耳親和力和對TREM2的相似Bmax（如之前所確定的）。然而，MOR044746、MOR044698、MOR044713、MOR044716和MOR044724與IgSF結構域結合，而MOR044741和MOR044743與TREM2的莖區結合（圖5）。表24顯示TREM2細胞表面表現與同種型對照（MOR03207）相關的倍數增加。n表示不同實驗的數量，並且在每個實驗中，巨噬細胞衍生自不同的供體。

【0688】 該等數據表明，與TREM2的IgSF結構域結合的抗體抑制脫落酶如ADAM17導致的胞外域釋放並增加TREM2的細胞表面表現。

[表24].抗TREM2抗體對hM2A中細胞表面TREM2的穩定化的定量。

抗體	與同種型相比，細胞表面TREM2增加倍數	n
MOR044746	5.1	3
MOR044698	7.9	3
MOR044713	3.9	3
MOR044716	2.9	3
MOR044724	4.2	3
MOR044741	0.7	2
MOR044743	0.8	2

【0689】來自不同供體的hM2A用100 nM（圖6A）或10 nM（圖6B）的抗TREM2抗體處理。16-20小時後，使用pHrodo標記的金黃色葡萄球菌生物顆粒作為捕獲物對細胞進行吞噬作用測定。穩定TREM2細胞表面表現的抗體（MOR044746、MOR044698、MOR044713、MOR044716和MOR044724）促進hM2A的吞噬作用。相反，不增加細胞表面表現的MOR044741和MOR044743也不增強pHrodo金黃色葡萄球菌生物顆粒的攝取。抗體MOR044746、MOR044698、MOR044713、MOR044716和MOR044724以10 nM在吞噬作用測定中也是有效的（圖6B）。該等數據表明結合TREM2的IgSF結構域的抗體增加了hM2A的吞噬能力。

【0690】接下來，將不同濃度的穩定TREM2的抗體與hM2A巨噬細胞一起孵育，然後在16-20小時後進行吞噬作用測定。與同種型對照相比，抗體44698和44716在兩個供體中甚至在測試的最低濃度（1 nM）處增強了pHrodo金黃色葡萄球菌生物顆粒攝取進入hM2A。抗體44746和44713的最低活性濃度也是1 nM，但僅對一個供體。44694的最低活性濃度為3 nM，但也僅對一個供體（圖7A，7B）。

【0691】圖8顯示抗體對THP1-B5細胞中內源表現的TREM2的活化誘導NFAT啟動子驅動的螢光素酶活性。用同種型對照或不同的抗TREM2抗體包被

板。抗體MOR044746、MOR044698、MOR044713、MOR044716和MOR044724活化TREM2依賴性基因轉錄。

【0692】 圖9（A，B）顯示在用同種型對照抗體（MOR03207或ratIC）或抗TREM2抗體（MOR044698或rathT2）處理後，藉由來自人M2A巨噬細胞的西方印漬術測定的Syk磷酸化。在指出的情況下（X-交聯：+），然後用抗-Fc交聯抗體（x-交聯）處理。

【0693】 如圖9A中所示，TREM2抗體44698增加人M2A巨噬細胞中TREM2誘發的Syk磷酸化。MOR044698以及市售的R＆D大鼠抗人TREM2抗體即使在不存在抗Fc交聯抗體的情況下也增強syk磷酸化（圖9A中比較泳道1與2和泳道5與6）。添加交聯抗體後，這種效果大大增強（比較泳道3與4和泳道7與8）。添加交聯抗體MOR044698後，與大鼠抗人TREM2抗體相比，觀察到對syk磷酸化的更強作用（參見泳道4和8）。

【0694】 該等實驗表明，在具有內源性TREM2表現的人細胞系統中，Ab MOR044698顯示—與穩定TREM2的活性同時地—TREM2激動活性。

【0695】 在下一組實驗中，評估高分子量物質、低分子量物質的存在以及純化的抗體的純度（表25）。使用尺寸排阻層析（SEC）分離天然條件下大小不同的單株抗體變異體。短期聚集由低分子量物質（LMW）的形成表示。短期聚集藉由低分子量物質（LMW）的形成來表示。高分子量物質（HMW）藉由尺寸排阻層析（SEC）和使用十二烷基硫酸鈉（CE-SDS）的毛細管凝膠電泳測量，並且表明抗體形成聚集體的傾向，由於免疫原性等原因不需要聚集體。高分子量物質（HMW）表示純化的材料的不需要的特性。使用十二烷基硫酸鈉（CE-SDS）的毛細管凝膠電泳基於分子量的差異分離蛋白質，並且可以在非還

原或還原條件下進行。降解產物、低分子量物質（LMW）（包括剪切）和副產物（HMW）的含量表明純化的材料的品質。如下所示，所有分子在可開發性方面顯示出有利的品質屬性。

【0696】 [表25].最終分析特徵：純化的抗體的純度和高/低分子量物質。

抗體	HMW (%, SEC)	LMW (%, SEC)	LMW* (%, 還原 CE-SDS Beckman)	純度 (%, 還原 CE-SDS Beckman)	LMW** (%, 非還原 CE-SDS Beckman)	純度 (%, 非還原 CE-SDS Beckman)
MOR044698D	0.0	0.1	1.1	98.4	3.5	96.5
MOR044746D	0.1	0.0	2.9	95.9	3.6	96.4
MOR044698E	0.1	0.2	1.0	98.4	3.6	96.4
MOR044746E	0.8	0.0	2.8	96.2	3.0	97.0
MOR044698 B	0.0	0.1	1.1	98.0	3.5	96.5
MOR044746B	0.2	0.0	2.6	96.3	3.4	96.6
MOR044698C	0.0	0.1	1.2	98.0	3.7	96.3
MOR044746C	0.2	0.0	2.8	96.4	3.6	96.4
MOR044698F	0.0	0.1	1.2	98.0	3.9	96.1
MOR044746F	0.1	0.0	2.9	95.9	3.2	96.8

注釋：

*還原型CE-SDS：報告的LMW包括潛在的非糖基化HC。

**非還原型CE-SDS：報告的LMW包括潛在的抗體片段。

【0697】 在進一步的實驗中，研究了純化的抗體的分子量、糖化、糖基化、剪切產物和序列變體（表26）。蛋白質糖化係還原糖（例如葡萄糖、半乳糖和果糖）與蛋白質胺基團之間的非酶促糖基化。對於治療性蛋白質，糖化的潛在影響包括封閉生物功能位點或進一步降解，該降解誘導聚集。糖基化作為蛋白質翻譯後修飾的常見形式，係多種酶介導的過程，藉由該過程，寡糖側鏈共價連接至天冬醯胺（N-連接）或絲胺酸/蘇胺酸（O-連接）的側鏈。治療性糖蛋白

的碳水化合物組分通常是決定其藥理學特性（包括穩定性、溶解度/生物利用度、體內活性、藥物動力學 和免疫原性）的關鍵。剪切（片段化）係重組治療性蛋白質的常見類型的生物化學降解。它通常與宿主細胞系中的蛋白酶活性相關，並且對蛋白質藥物的品質、物理穩定性和潛在的免疫原性具有影響。如下所示，所有分子在可開發性方面顯示出有利的MS譜。

[表26].最終分析特徵：純化的抗體的抗體質量、糖化、糖基化剪切和序列變體。

抗體	質量符合（HC，LC）	糖化LC [%]	N-糖基化	CDR剪切 [%]	其他剪切 [%]	序列變體
MOR044698D	是	≤2	正常複合物	< LOD	< LOD	< LOD
MOR044746D	是	3	正常複合物	< LOD	< LOD	< LOD
MOR044698E	是	3	正常複合物	< LOD	< LOD	< LOD
MOR044746E	是	3	正常複合物	< LOD	< LOD	< LOD
MOR044698B	是	3	正常複合物	< LOD	< LOD	< LOD
MOR044746B	是	≤2	正常複合物	< LOD	< LOD	< LOD
MOR044698C	是	3	正常複合物	< LOD	< LOD	< LOD
MOR044746C	是	3	正常複合物	< LOD	< LOD	< LOD
MOR044698F	是	3	正常複合物	< LOD	< LOD	< LOD
MOR044746F	是	3	正常複合物	< LOD	< LOD	< LOD

HC: 重鏈

LC: 輕鏈

LOD: 檢測限

【0698】下一組實驗評估了純化的抗體的生物物理特性（即差異相互作用參數、黏度、疏水性、解鏈溫度和等電點）（表27）。差異相互作用參數（DIP）係膠體穩定性的量度，其係分子由於與疏水性表面殘基等相關的弱吸引力而締合的傾向。它可以與分子的黏度相關。黏度係由於內部摩擦力引起的流動阻力，其在流體運動時發生。它對分子的可開發性和給藥具有強烈影響。測量蛋白質表面疏水性的直接方法係確定其在用硫酸銨洗脫期間的保留時間。疏水性係濃縮過程中蛋白質聚集和不利影響的關鍵風險因素。差示掃描螢光法（DSF）藉由應用增加的溫度梯度確定蛋白質的轉變解折疊溫度。熱穩定性（藉由差示掃描螢光法DSF在pH 5.5下測量的解鏈溫度Tm）係蛋白質隨溫度通常因為疏水核心的暴露而聚集和/或解折疊的傾向。熱誘導的解折疊係典型的雙態模型，其在折疊狀態和解折疊狀態之間具有急劇過渡，其中Tm值被定義為蛋白質解折疊轉變的溫度的中點。報導了Fab的Tm，它係分子熱穩定性的指標。解折疊的起始點係分子熱穩定性的另一個指標，決定了蛋白質開始解折疊的溫度。等電點（pI）係抗體沒有淨電荷時的pH，其值取決於抗體含有的帶電胺基酸。它對分子的純化過程有影響。已知mAb的pI對PK行為具有實質性影響，而與新生兒Fc受體FcRn介導的再循環無關。pI值在8-9範圍內的治療性抗體在給藥後充分攝取，因為生理pH為7.4。如下所示，所有分子在可開發性方面顯示出有利的生物物理特性。

[表27].最終分析特徵：純化的抗體的生物物理特性。

抗體	**DIP[mL/g]**	**在50 mg/mL處的黏度（cP）**	**HIC[M] $(NH_4)_2SO_4$，pH6.0**	**藉由DSF在pH 5.5處的Tm [°C]**	**解折疊開始（°C，DSF）**	**pI（電腦模擬）**
MOR044698D	22	1.51	1.02	75	56	9.4

MOR044746D	5	1.48	0.86	76	58	8.6
MOR044698E	20	1.43	1.02	75	54	9.5
MOR044746E	8	1.45	0.86	75	57	8.9
MOR044698 B	28	1.43	1.04	76	58	9.4
MOR044746B	8	1.46	0.88	75	57	8.6
MOR044698C	20	1.49	1.05	76	55	9.5
MOR044746C	7	1.51	0.88	75	54	8.9
MOR044698F	13	1.44	1.02	76	51	9.3
MOR044746F	18	1.43	0.86	75	51	8.2

【0699】 在人質膜蛋白結合細胞陣列上分析抗TREM2抗體譜以測試它們的選擇性（表28）。MOR044716與表現TYRO3、SEZ6L2和TGM2的細胞結合。MOR044716對未轉染細胞的背景訊號可能與該等脫靶之一的內源表現有關。與SEZL2和TGM2相反，TYRO3經常在Retrogenix篩選中被鑒定，並被認為係該平台上的「黏性」受體。然而，訊號強度（弱/中）足以將其視為潛在的特定脫靶。MOR044724與表現CD36和CRHBP的細胞結合。

【0700】 TREM2係MOR044746、MOR044698和MOR044713的唯一特異性靶標，表明該等抗體的高水平的選擇性。除了它們的主要靶標，MOR044716和MOR044724還分別識別3個和2個相關的脫靶。

[表28].使用人質膜蛋白細胞陣列進行TREM2抗體的結合譜評估

命中	登錄號	測試分子				
		MOR044746	MOR044698	MOR044713	MOR044716	MOR044724
TREM2（同種型3）	BC032362	強	強	強	培養基	中/強
TYRO3	NM_006293.3				弱/中	
SEZ6L2	BC000567.2				弱/中	
CD36	BC008406					弱/中
TGM2	NM_004613.2				弱	
CRHBP	BC018038.1					弱/中

【0701】用抗TREM2抗體預處理後，使用獨立於FACS分析的技術在人M2A巨噬細胞中進行吞噬作用實驗（圖10）。另外，使用兩種不同的同種型對照抗體（MOR3207和ACE27716）以及市售的TREM2抗血清（TREM2 R&D）。與基於FACS的吞噬作用測定相反，吞噬作用進行經3小時的時間，並針對細胞內pHrodo生物顆粒積累評估曲線下面積。與hIgG同種型對照抗體相比，MOR044746和MOR044698顯示出吞噬作用的統計學顯著的促進作用。

【0702】已證實使用市售的pHrodo標記的金黃色葡萄球菌為捕獲物時hM2A巨噬細胞中的吞噬作用的促進（參見圖6、7和10）。磷脂醯絲胺酸已被描述為與TREM2結合的配位基（Kober, C 和Bret, TJ J Mol Biol[分子生物學雜誌], 2017. 429(11):第1607-1629頁）並在凋亡細胞中的質膜上暴露。此外，體內TREM2似乎參與去除細胞碎片。因此，凋亡的SH-SY5Y細胞用pH敏感染料pHrodo標記並用作吞噬細胞捕獲物（圖11）。類似於用pHrodo標記的金黃色葡萄球菌獲得的結果。與兩種同種型對照抗體MOR03207和ACE27716相比，金黃色葡萄球菌與抗TREM2抗體MOR044698和MOR044746預孵育在3-12小時的時間內增加了M2A巨噬細胞的吞噬能力。

【0703】總之，圖6、7、10和11表明，當使用兩種不同的捕獲物和兩種不同的實驗讀數時，抗TREM2抗體MOR044698和MOR044746增加M2A巨噬細胞的吞噬能力。

【0704】已顯示TREM2參與破骨細胞的趨化應答（Humphrey 等人 J Bone Min Res[骨礦物質研究雜誌], 2006. 21:237-245. 201(4):第647-657頁）。因此，在人M2a巨噬細胞中評估抗TREM2抗體對趨化應答的影響。使用20 ng/ml的化學引

誘物C5a與100 nM MOR044698或MOR044746組合，觀察到與兩種同種型對照抗體MOR03207和ACE27716相比的趨化性的統計學顯著增強（參見圖12）。

【0705】該實驗顯示MOR044698和MOR044746在人M2A巨噬細胞中對第二TREM2依賴性生理細胞讀數（趨化性）顯示功效。

【0706】類似地，對於用人M2A巨噬細胞獲得的結果，與兩種同種型對照抗體MOR03207和ACE27716相比，人iPS衍生的小膠質細胞樣細胞與抗TREM2抗體MOR044698和MOR044746的預孵育在20小時的時間內增加了pHrodo標記的凋亡SH-SY5Y細胞的吞噬能力（參見圖13）。

【0707】已顯示TREM2參與小膠質細胞的趨化應答（Takahashi, K 等人 J Exp Med[實驗醫學雜誌], 2005. 201(4):第647-657頁）。因此，在人iPS衍生的小膠質細胞樣細胞中評估抗TREM2抗體對趨化應答的影響。使用20 ng/ml的化學引誘物C5a與100 nM MOR044698或MOR044746組合，觀察到與兩種同種型對照抗體MOR03207和ACE27716相比的趨化性的統計學顯著增強（參見圖14）。

【0708】該等實驗表明，MOR044698或MOR044746增加了另一種人源細胞系統（小膠質細胞）的吞噬功效和第二TREM2依賴性生理細胞讀數（趨化性）。

人源化TREM2 Crispr敲入小鼠的銅立榮模型

銅立榮模型中鼠源化MOR44698 TREM2抗體的預防/伴隨治療

【0709】如圖15A所示，Luxol快藍沒有檢測到胼胝體（corpus callosum，CC）中髓磷脂的差異。這與MRI（圖15B）一致，MRI在CC中的MTR中也沒有顯示出明顯差異。針對小膠質細胞標誌物Iba1的定量免疫組織學分析在44698處理的小鼠內的CC中顯示出比同種型處理減少的數量（圖15C）和降低的活化狀態（圖15D）。這與MRI一致，MRI在CC中觀察到降低的MRI強度（圖15E）。

銅立榮模型中鼠源化MOR44698 TREM2抗體的治療性治療

【0710】如圖15A所示，與3207相比，Luxol快藍檢測到CC中髓鞘的顯著增加。這與MRI一致，MRI也顯示出在44698處理的情況下，CC中MTR增加（圖15B）。針對小膠質細胞標誌物Iba1的定量免疫組織學分析顯示，與同種型對照相比，44698處理的小鼠中CC的數量（圖15C）和活化狀態（圖15D）沒有差異。這與MRI一致，MRI觀察到CC中的MRI強度在治療組之間沒有變化（圖15E）。

【0711】該等數據表明，如果治療地投與44698抗TREM2抗體，其對髓鞘形成過程具有有益作用，並改變小膠質細胞數量和活化，這意味著TREM2抗體在以下疾病中具有潛在的治療益處，所述疾病為任何發生脫髓鞘或預期在中樞或周圍神經系統中發生髓鞘再生的疾病，包括但不限於：多發性硬化，包括臨床孤立綜合症、原發進展性MS、復發緩解性MS、瑪律堡多發性硬化和繼發進展性MS、林巴厘綜合症及其慢性對應徵、慢性炎症性脫髓鞘性多發性神經病、抗MAG周圍神經病變、夏科-馬里-圖思病（Charcot–Marie–Tooth disease）及其對應的遺傳性壓迫易感性神經病、與維生素B12缺乏症相關的神經病、巴羅同心性硬化、希爾德彌漫性硬化症（Schilder's diffuse sclerosis）、和德維克病（Devic's disease）、腦橋中央髓鞘溶解症、脊髓病如脊髓癆（梅毒性脊髓病）、腦白質病例如進行性多灶性白質腦病（由JC病毒活化引起）、腦白質營養不良、視神經炎、橫貫性脊髓炎、視神經脊髓炎、銅缺乏相關疾病（周圍神經病變、脊髓病和視神經病變）、進行性炎症性周圍神經病變、慢性炎症性脫髓鞘性多發性神經病（CIDP）和其他歸納於炎症性脫髓鞘疾病術語下的具有免疫系統損害的疾病。

人源化TREM2 Crispr敲入小鼠的MPTP模型

【0712】 MPTP處理後7天，處死動物並在冠狀腦自由漂浮切片上進行免疫螢光。酪胺酸羥化酶（TH）用抗體染色，顯微拍照，紋狀體的染色面積用Fiji軟體定量。TH由多巴胺能神經元特異性表現，並且在它們死亡後可以在位於黑質中的多巴胺能細胞以其長軸突突出到的紋狀體中觀察到TH減少。

【0713】 如圖16A所示，與原初動物（未經處理的對照野生型）相比，經MPTP和同種型對照3207處理的動物顯示出明顯降低的紋狀體TH陽性染色（%面積），而44698處理的小鼠比同種型對照處理的動物顯示出實質上更多的TH染色。在圖16B中係來自不同處理組的紋狀體的代表性顯微螢光圖片（放大倍數10x）。

【0714】 該數據表明了TREM2抗體潛在的神經保護作用，暗示其針對神經退行性疾病的普遍的潛在益處，該等疾病包括但不限於：帕金森氏症、多系統萎縮、進行性核上性麻痺、皮質基底節變性、和路易氏體失智（DLB）、突觸核蛋白病、tau病、威爾遜氏病、腦鐵積聚神經退行性疾病、特發性基底神經節鈣化、額顳葉失智和與17號染色體相關的帕金森氏症、脆性X相關性震顫/共濟失調綜合症、缺血性中風、出血性中風、短暫性腦缺血發作、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症（ALS）、又稱運動神經元疾病（MND）或Lou Gehrig病、原發性側索硬化（PLS）、進行性肌萎縮（PMA）、進行性延髓麻痺、假性延髓麻痺、和單一性肌萎縮（MMA）、額顳葉失智（FTD）、FTD行為變異、語義變異原發性進行性失語、非流利的語法失能變異原發進行性失語、皮質基底綜合症、進行性核上性麻痺、和與運動神經元病相關的FTD、皮克氏病、額顳葉變性、酒精性失智、血管性失智、皮質基底節變性和克－亞二氏症（Creutzfeldt-Jakob disease）。

實例3：交叉封閉實驗

材料和方法

【0715】使用CHO-hDAP12-hTREM2細胞評估Fab MOR041877或Fab MOR041895或Fab MOR042596與全IgG MOR041877（IgSF結合物）、MOR41895（需要莖和IgSF來結合）、MOR042596（IgSF結合物和MOR044698的親本）、MOR044698和MOR03207（同種型對照）的交叉封閉活性。將CHO-hDAP12-hTREM2細胞在補充有5 μM DPC333的培養基中培養過夜以增加TREM2的細胞表面表現。第二天，將CHO-hDAP12-hTREM2細胞用accutase分離，使用PBS洗滌一次，並以4×10^6個細胞/ml的濃度重懸浮於FACS緩衝液（PBS，2% FBS，0.5 mM EDTA，pH 8.0）中。根據來自英傑公司（Invitrogen）的製造商的方案MAN0006869，用Alexa Fluor 647（AF647）標記Fab片段MOR041877、MOR041895和MOR042596。將100 nM全IgG抗體與15 μl的細胞懸浮液混合於30 μl的總體積中，並在冰上孵育30分鐘。將細胞用PBS洗滌一次，並與AF647標記的100 nM Fab片段在冰上孵育30分鐘，用PBS洗滌兩次，用細胞固定緩衝液（Biolegend公司）固定，並重懸浮於FACS緩衝液中。在BD FACS canto儀器上進行採集。

結果

【0716】Fab片段MOR041877的結合不受與MOR041895預孵育的影響（圖17A），因為其與使用同種型對照MOR03207預孵育或不進行任何預處理（最後一欄）獲得了類似的訊號。與MOR042596和MOR044698的預孵育強烈降低了Fab MOR041877的結合，顯示了這三種抗體具有重疊的表位。藉由與衍生自該Fab的全IgG預孵育，Fab MOR41895的結合降低，但藉由與MOR041877、MOR044698

或MOR042596預孵育，其結合未降低。全IgG MOR041877、MOR044698和MOR042596與TREM2的結合似乎促進了Fab41895的接近，從而導致訊號強度增加（圖17B）。最後，全IgG MOR041877、MOR044698或MOR042596的預結合完全抑制了Fab MOR042596隨後的結合，表明MOR041877和MOR044698與MOR042596共用相同的表位（圖17C）。總體而言，該等實驗表明，親和力成熟的MOR044698與親本抗體MOR042596結合相同的表位。

實例4：MOR041877和MOR042596的表徵

【0717】抗體MOR041877和MOR042596與在CHO-hDAP12-hTREM2細胞中重組表現的人TREM2結合，也與在人M2A巨噬細胞中表現的TREM2結合，並激活THP-B5細胞中TREM2依賴性報告基因活性（參見表29）。該等數據表明兩種抗體均顯示出對TREM2的高親合力並直接活化TREM2。

[表29].MOR041877和MOR042596在不同細胞系統中的表徵。

測定	MOR041877	MOR042596
CHO-hDAP12-hTREM2的FACS（EC_{50}，nM）	0.5	3.4
hM2A中的FACS（EC_{50}，nM）	0.7	37
THP-B5細胞中的RGA（相比於BG增加倍數）	2.1	1.8

【0718】另外，用100 nM抗TREM2抗體MOR042596或同種型對照（MOR03207）處理hM2A巨噬細胞。16-20小時後，使用不同濃度的pHrodo標記的*金黃色葡萄球菌*作為吞噬性捕獲物，對細胞進行吞噬作用測定。在使用的金黃色葡萄球菌的整個濃度範圍內，MOR042596顯著增強了hM2A巨噬細胞的吞噬能力（圖18）。這表明MOR042596增加了M2A巨噬細胞中的TREM2傳訊和TREM2依賴性效應子功能。

實例5：人TREM2/MOR042596 Fab複合物的X射線晶體結構

【0719】 測定人TREM2（SEQ ID NO: 1的殘基19-174，其後是His-tag；SEQ ID NO: 139）與MOR042596的Fab片段（SEQ ID NO: 15的殘基1–222，和SEQ ID NO: 82位殘基1–214）結合的晶體結構。如下所述，使用單獨的表現系統製備複合物的個體組分，並將其組合以產生純化的複合物。然後使用X射線晶體學獲得TREM2與MOR042596結合的衍射數據，這闡明了抗原結合位點。

SEQ ID NO: 139

HNTTVFQGVA GQSLQVSCPY DSMKHWGRRK AWCRQLGEKG PCQRVVSTHN LWLLSFLRRW NGSTAITDDT LGGTLTITLR NLQPHDAGLY QCQSLHGSEA DTLRKVLVEV LADPLDHRDA GDLWFPGESE SFEDAHVEHS ISRSLLEGEI PFPPTSHHHH HH

蛋白質產生

【0720】 藉由大規模暫態轉染在哺乳動物細胞中表現人TREM-2（SEQ ID NO: 1的殘基19-174，其後是His-tag；SEQ ID NO: 139）。簡單地說，將質體DNA與聚乙烯胺（PEI 25k, 波利塞斯公司（PolyScience））以1 : 2混合，並使其形成膠束複合物持續30分鐘。起始接種培養物含有2 mg DNA和4 mg PEI/1L培養物。藉由將該等混合物以2 μg DNA : 3×10^6個細胞的比例添加到HEK 293-6E細胞（英傑公司）中來實現轉染。在37 °C和5% CO_2下在開口燒瓶中振盪，使細胞在V3培養基（生物概念公司（Bioconcept Ltd.） Amimed）中生長。轉染後130 h收集培養上清液，藉由添加50 mM Tris pH 8.5、300 mM NaCl、5%甘油和10 mM咪唑進行修飾，然後使用NiNTA-親和層析進行純化。使用包含20 mM咪唑的相同緩衝液在柱上洗滌蛋白質，並在250 mM咪唑中洗脫。藉由尺寸排阻層析（superdex

75），用含有50mM Tris pH7.5、150mM NaCl、10%甘油的緩衝液，對TREM2進行進一步純化。藉由SDS-PAGE測定，所得蛋白質的純度>90%。

【0721】 為了製備MOR042596，用編碼二硫鍵橋連FabCys的重鏈和輕鏈的哺乳動物表現載體DNA轉染真核HEK293-T細胞。在轉染後第7天收穫細胞培養物上清液，並進行CH1親和層析（Capture Select IgG-CH1，賽默飛世爾科技公司（Thermo Scientific））。將緩衝液交換至20 mM Tris、100 mM NaCl pH 7.5，並對樣本進行無菌過濾（0.2 μm孔徑）。藉由UV-分光光度法測定蛋白質濃度，並使用SDS-PAGE在變性、還原和非還原條件下分析FabCys的純度。進行HP-SEC以分析處於天然狀態的FabCys製劑。

TREM2 – MOR042596 Fab複合物的體外重組

【0722】 然後將純化的TREM2與MOR042596 Fab以1 : 1的莫耳比（濃度藉由OD A280測量）混合。然後將該複合物濃縮，接著上樣到用50mM Tris pH7.5、150mM NaCl、5%甘油平衡的Superdex 75柱（GE醫療集團生命科學部（GE Healthcare Life Sciences））上。藉由SDS-PAGE對峰級分進行分析，並將選定的級分合併進行結晶試驗。

結晶和結構確定

【0723】 將TREM2-MOR042596 Fab複合物濃縮至7.5 mg/ml，然後在執行結晶篩選之前以20,000 × g離心10分鐘。使用坐滴蒸汽擴散裝置在20 °C下使晶體生長。將0.2 μl TREM2-MOR42596複合物與0.2 μl含20% PEG3350、0.2M酒石酸鉀鈉的儲液混合，並將液滴針對80 μl儲液進行平衡。用20%甘油作為凍存保護劑從母液中收穫晶體，並在液氮中直接快速冷凍。

【0724】在瑞士同步輻射光源（Swiss Light Source）光束線X10SA（Villigen，瑞士）下，使用PILATUS 6M檢測器在1.000Å波長收集數據集。在APRV程式套件中（Kroemer M, Dreyer MK, Wendt KU 2004. APRV - a program for automated data processing, refinement and visualization[APRV - 用於自動數據處理、細化和視覺化的程式]. Acta Cryst.[晶體學報] D60: 1679-82），分別使用XDS和XSCALE對在0.25°振盪角楔形處記錄的衍射圖像進行處理和縮放（Kabsch W, 1993. Automatic processing of rotation diffraction data from crystals of initially unknown symmetry and cell constants[自動處理來自最初未知的對稱性和晶胞常數的晶體的旋轉衍射數據] J.Appl.Cryst.[應用晶體學雜誌] 26: 795-800）。藉由使用移相器（McCoy AJ, Grosse-Kunstleve RW, Adams PD等人. 2007. Phaser crystallographic software.[移相器晶體學軟體] J.Appl.Cryst.[應用晶體學雜誌] 40: 658-74）的分子置換並且以Fab和TREM2 Ig結構域的同源性模型作為搜索模型來獲得初始結構。在Coot（Emsley P, Cowtan K (2004) Coot: model-building tools for molecular graphics.[Coot：用於分子圖形的模型構建工具] Acta Cryst.[晶體學報] D60: 2126-32.）和autoBuster（Bricogne G, Blanc E, Brandl M等人. (2009) BUSTER, 版本 2.8.0. 劍橋, 英國, 全相公司（Global Phasing Ltd.））中分別進行模型的手動重建和隨後的結構細化。

hTREM2上的MOR042596結合表位的闡釋

【0725】如上所述，我們獲得了人TREM2/MOR042596 Fab複合物的X射線共晶體結構。圖19顯示了TREM2殘基與MOR042596相互作用的概況。

【0726】從TREM2/MOR042596-Fab複雜結構中，我們推導了TREM2表位，其涵蓋了huTREM上的三個單獨的序列區域，如表30所給出。所有hTREM2

同種型（SEQ ID NO.1-3）共有前161個殘基，它包含訊息肽和整個IgSF結構域；因此，如下所示（例如表30、31和33），所有這三種hTREM2同工型的表位和殘基編號在該範圍（即，直至並且包括殘基R161）內都相同。

[表30].結合MOR042596的TREM2表位

hTREM2上的序列段	**殘基**
1區	D39-S40-M41-K42；W44-G45-R46
2區	W70-L71-L72；F74
3區	T88-L89-G90

MOR044698和MOR042596之間的相似性以及結合MOR044698的hTREM2表位

【0727】如圖19所示，hTREM2與MOR042596的重鏈和輕鏈均相互作用。緊密相關的Fab MOR044698與MOR042596在六個TREM2結合環中的五個（即HCDR1、HCDR2、HCDR2、LCDR1和LCDR2）中享有相同的序列，而僅LCDR3不同。表31給出了該等環的序列以及TREM2/MOR042596 Fab複合物結構中5 Å距離內的TREM2殘基，表32給出了MOR042596和MOR044698的LCDR3序列的比較。

【0728】[表31].MOR042596的HCDR和LCDR序列以及5 Å內TREM2上的相互作用殘基。

CDR	**序列**	**SEQ ID NO**	**5Å內hTREM2上的相互作用殘基**
HCDR1	GYTFTGYHMS	4	W44 ；W70-L71 ；T88-L89
HCDR2	VINPVSGNTVYAQKFQG	5	W44 ；L71-L72 ；F74 ；L89-G90
HCDR3	IPSYTYAFDY	6	M41 ；W44-G45 ；W70-L71
LCDR1	RASQDISNYLA	17	M41-K42; R46
LCDR2	RASSLQS	18	R46
LCDR3	QQHGHSPTT	78	D39-S40-M41-K42

[表32].MOR042596和MOR044698的LCDR3序列。

候選物ID	LCDR3									
MOR044698	F	Q	Y	R	H	M	P	S	Q	T
MOR042596	Q	Q	H	G	H	S	P	-	T	T
序列編號（卡巴特）	89	90	91	92	93	94	95	95a	96	97

【0729】為了評估兩個Fab之間LCDR3差異的結構含義，我們建立了MOR044698的同源性模型。我們使用MOR042596的晶體結構作為模板，並使用CCG MOE版本2018.01作為建模軟體在標準設定下[Molecular Operating Environment [分子操作環境](MOE), 2018.01; 化學計算集團（Chemical Computing Group） ULC: 蒙特利爾, QC, 加拿大, 2018]構建模型。圖20顯示了兩個Fab與TREM2的交界處。在HCDR1-3和LCDR1-2相同的情況下，唯一要討論的差異在於LCDR3。從表32可以得出，有若干個保守的殘基（例如Pro95，其對LCDR3環的構象有決定性影響）。在TREM2和兩個Fab的交界處，MOR042596和MOR044698相比，存在三個位置發生重要變化/突變：第92位甘胺酸變為精胺酸，第94位絲胺酸變為甲硫胺酸，並在MOR044698的位置95a插入了絲胺酸。絲胺酸95a的插入不會引起主要的構象變化，而只會引起蛋白質骨架的輕微改變。剩餘的位置92和94上兩個主要胺基酸變化（代表側鏈的主要變化）可以被構建到LCDR3預先存在的環結構中（如在MOR042596晶體結構中所觀察到的），而不會導致與TREM2發生任何碰撞或不利的接觸。在位置89、91和96還有其他差異。位置89和96不參與與TREM2的任何接觸，位置91的組胺酸-酪胺酸突變僅容許側鏈構象的少量改變。總的來說，在LCDR1和LCDR2和LCDR3（其顯得具有不變的環構象，並且與MOR044698中的TREM2具有保守的接觸）中的重鏈相

同、輕鏈相同情況下，我們因此得出結論，兩個Fabs MOR042596和MOR044698之間的TREM2表位相同。

人TREM2/MOR041877 Fab複合物的X射線晶體結構

【0730】 測定人TREM2（SEQ ID NO: 1的殘基19-174，其後是His-tag；SEQ ID NO: 139）與MOR041877的Fab片段（SEQ ID NO: 95的殘基1–224，和SEQ ID NO: 106位殘基1–216）結合的晶體結構。如下所述，使用單獨的表現系統製備複合物的個體組分，並將其組合以產生純化的複合物。然後使用X射線晶體學獲得TREM2與MOR041877結合的衍射數據，這闡明了抗原結合位點。

蛋白質產生

【0731】 如上文對MOR042596所描述的，表現並純化人TREM-2蛋白。

【0732】 為了產生MOR041877，用編碼二硫鍵橋連FabCys的重鏈和輕鏈的哺乳動物表現載體DNA轉染真核HKB11細胞。在轉染後第3或7天收穫細胞培養物上清液，並進行CH1親和層析（Capture Select IgG-CH1，賽默飛世爾科技公司（Thermo Scientific））。將緩衝液交換到1X 杜氏PBS（pH 7.2，英傑公司（Invitrogen））中，並將樣本無菌過濾（0.2 μm孔徑）。藉由UV-分光光度法測定蛋白質濃度，並使用CE-SDS（LabChip GXII，珀金埃爾默公司（Perkin Elmer））在變性、還原和非還原條件下分析FabCys的純度。進行HP-SEC以分析處於天然狀態的FabCys製劑。

TREM2 – MOR041877 Fab複合物的體外重組

【0733】 然後將純化的TREM2與MOR042596 Fab以1 : 1的莫耳比（濃度藉由OD A280測量）混合。然後將該複合物濃縮，接著上樣到用50mM Tris pH7.5、150mM NaCl、5%甘油平衡的Superdex 75柱（GE醫療集團生命科學部（GE

Healthcare Life Sciences））上。藉由SDS-PAGE對峰級分進行分析，並將選定的級分合併進行結晶試驗。

結晶和結構確定

【0734】將TREM2-MOR042596複合物濃縮至7.5 mg/ml，然後在執行結晶篩選之前以20,000 × g離心10分鐘。使用坐滴蒸汽擴散裝置在20 °C下使晶體生長。將0.2 µl TREM2–MOR41877複合物與0.2 µl含20% PEG3350、0.2M酒石酸鉀鈉的儲液混合，並將液滴針對80 µl儲液進行平衡。用20%甘油作為凍存保護劑從母液中收穫晶體，並在液氮中直接快速冷凍。

【0735】在瑞士同步輻射光源（Swiss Light Source）光束線X10SA（Villigen，瑞士）下，使用PILATUS 6M檢測器在1.000Å波長收集數據集。在APRV程式套件（Kroemer M等人. 2004）中，分別使用XDS和XSCALE（Kabsch WJ 1993）對0.25°振盪角楔形處記錄的衍射圖像進行處理和縮放。藉由使用移相器（McCoy AJ 等人, 2007）的分子置換並且以Fab和TREM2 Ig結構域的同源性模型作為搜索模型來獲得初始結構。分別在Coot（Emsley P等人. 2004）和autoBuster（G等人. 2009）中進行模型的手動重建和隨後的結構細化。

hTREM2上的MOR041877結合表位的闡釋

【0736】如上所述，我們獲得了人TREM2/MOR041877 Fab複合物的X射線共晶體結構。圖21顯示了TREM2殘基與MOR041877相互作用的概況。

【0737】從TREM2/MOR041877 Fab複合物結構中，我們推導了結合MOR041877的TREM2表位，如表33所示。

[表33].結合MOR041877的TREM2表位。

hTREM2上的序列段	**殘基**

1區	S40-M41；W44-G45；R47
2區	H67-N68-L69-W70-L71-L72；F74-L75；R77
3區	D87-T88-L89

【0738】表34給出了HCDR和LCDR環的序列以及TREM2/ MOR041877 Fab 複合物結構中5 Å距離內的TREM2殘基。

[表34].MOR041877的HCDR和LCDR序列以及5 Å內TREM2上的相互作用殘基。

CDR	**序列**	**SEQ ID NO**	**5Å內hTREM2上的相互作用殘基**
HCDR1	GFSLSTSGVGVS	84	N68-L69
HCDR2	LIFSDHDKIYSTSLKT	85	H67 ;L69 ;L72 ;F74-L75 ;R77
HCDR3	TLIDRSVYFDY	86	W44-G45 ;R47 ;N68-L69-W70-L71-L72
LCDR1	SGSSSNIGHHYVS	97	S40-M41;W44; W70-L71;T88-L89
LCDR2	DNTNRPS	98	-
LCDR3	ATWDGLMNSIV	99	L71-L72 ;F74 ;D87 ;L89

實例6：三周銅立榮模型中鼠源化TREM2抗體（MOR044698-mu）的預防/伴隨治療

【0739】銅立榮模型係一種毒素誘導的脫髓鞘模型，用於研究CNS的髓鞘形成過程，其中外周免疫系統的參與很小。銅立榮（一種銅螯合劑）誘導線粒體損傷，並最終誘導少突膠質細胞死亡，而少突膠質細胞先質細胞不受影響，並且仍可以發揮其正常功能（增殖、成熟和再髓鞘化）。銅立榮模型非常適合用於測試脫髓鞘疾病的再生治療範例，例如比如獨立於侵襲性外周免疫細胞而增強髓鞘再生的MS。

【0740】藉由CRISPR/Cas技術將包含牛生長激素聚A訊號序列的人TREM2 cDNA引入小鼠TREM2基因的ATG中來產生人源化TREM2小鼠。建立者

系的特徵係它們在骨髓衍生的巨噬細胞和腦小膠質細胞中表現hTREM2。然後藉由靶向基因座擴增（TLA）確認轉基因的整合。

【0741】將人源化TREM2 Crispr敲入小鼠（hTREM-KI）用cuprizone（食物中的0.2%）處理3周，在此之前一天以及在此之後每週兩次MOR044698-mu（包含SEQ ID NO：140的輕鏈序列和SEQ ID NO：141的重鏈序列）和同種型對照MOR03207（簡稱：3207）i.p., 30 mg/kg。在用抗體和銅立榮進行預防/伴隨治療3周後，處死動物並在冠狀自由漂浮的腦切片（20 μm-30 μm厚）上進行組織學。使用TREM2和Iba1抗體評估小膠質細胞中的hTREM2水平。

【0742】如圖22A、22B所示，在MOR044698-mu處理的動物中，皮質中Iba1陽性小膠質細胞中的hTREM2水平比在3周的銅立榮模型中的同種型高約3倍。hTREM2（經AF1828抗體染色）的定量係藉由斐濟（Fiji）（轉換為8位）在閾值（Iba1，綠色：10，TREM2，紅色：15）下對螢光tiff圖像（棧最大化並匯出為tiff快照，無需進行圖像調整，20倍）定量來進行的。讀數：面積%；將TREM2%面積歸一化為Iba1%面積（x100），平均每隻動物皮層有兩個圖像棧，每隻動物染色了2個腦切片，每個腦部切片有1個圖像棧。

結論

【0743】該等數據表明，用MOR044698進行的全身治療穩定腦中小膠質細胞中的TREM2，並且由此增加其水平，並可能導致TREM2傳訊和功能增強。

總結

【0744】總體而言，採用了一種策略來鑒定一個或多個TREM2抗體，其藉由減少組成型或炎症誘導的TREM2的脫落並由此增加TREM2的細胞活性來促

進TREM2在人細胞系統（即巨噬細胞或小膠質細胞）中的功能。此類抗體可用於治療多種神經退行性疾病。

【0745】 已鑒定出抗TREM2抗體（hTREM2抗體），它們以亞納莫耳級的細胞親和力與人M2A巨噬細胞結合，並且顯示出極少的供體到供體之間的變異。本發明的抗體結合人TREM2的IgSF結構域，並且還識別食蟹猴TREM2。這已在體外ELISA和細胞系中得到證實。出人意料地，該等抗體與TREM2的結合抑制TREM2胞外域從人M2A巨噬細胞的脫落，並因此增加了細胞表面上TREM2的表現。在功能上，本發明的TREM2抗體還在人巨噬細胞以及人iPS衍生的小膠質細胞樣細胞中增強吞噬能力並增強C5a介導的趨化性。此外，本發明的抗體還增強人巨噬細胞以及人iPS來源的小膠質細胞樣細胞的趨化性。本發明的抗體還直接活化TREM2，如藉由NFAT依賴性細胞報導基因測定以及藉由在TREM2刺激後人巨噬細胞中syk磷酸化增加所示。

【0746】 本發明的抗體顯示出對TREM2的高度特異性，不與任何其他靶標結合並且是全人抗體。本發明的抗體顯示與TREM2上IgSF區中之新表位結合，並表現出穩定和活化TREM2。

【0747】 本發明的抗體還已經基於它們開發的適合性進行了選擇：例如本發明的抗體在CDR中缺乏翻譯後修飾，它們不聚集，它們係由細胞系統大量產生，它們不顯示剪切產物，並表現出明確的熔點和等電點。最後，它們增加的半衰期導致在腦中更長的持續作用，其容許劑量優化以達到預期的臨床效果並減少給藥頻率，從而提高患者依從性。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

無

【序列表】

<110> 諾華公司（NOVARTIS AG）

<120> 穩定TREM2之抗體

<150> US 62/745,798
<151> 2018-10-15

<150> US 62/835,289
<151> 2019-04-17

<150> US 62/890,665
<151> 2019-08-23

<150> US 62/892,517
<151> 2019-08-27

<160> 141

<170> PatentIn 版本3.5

<210> 1
<211> 230
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1

```
Met Glu Pro Leu Arg Leu Leu Ile Leu Leu Phe Val Thr Glu Leu Ser
1               5                  10                  15


Gly Ala His Asn Thr Thr Val Phe Gln Gly Val Ala Gly Gln Ser Leu
            20                  25                  30


Gln Val Ser Cys Pro Tyr Asp Ser Met Lys His Trp Gly Arg Arg Lys
        35                  40                  45


Ala Trp Cys Arg Gln Leu Gly Glu Lys Gly Pro Cys Gln Arg Val Val
    50                  55                  60


Ser Thr His Asn Leu Trp Leu Leu Ser Phe Leu Arg Arg Trp Asn Gly
65                  70                  75                  80
```

Ser Thr Ala Ile Thr Asp Asp Thr Leu Gly Gly Thr Leu Thr Ile Thr
85 90 95

Leu Arg Asn Leu Gln Pro His Asp Ala Gly Leu Tyr Gln Cys Gln Ser
100 105 110

Leu His Gly Ser Glu Ala Asp Thr Leu Arg Lys Val Leu Val Glu Val
115 120 125

Leu Ala Asp Pro Leu Asp His Arg Asp Ala Gly Asp Leu Trp Phe Pro
130 135 140

Gly Glu Ser Glu Ser Phe Glu Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser
145 150 155 160

Arg Ser Leu Leu Glu Gly Glu Ile Pro Phe Pro Pro Thr Ser Ile Leu
165 170 175

Leu Leu Leu Ala Cys Ile Phe Leu Ile Lys Ile Leu Ala Ala Ser Ala
180 185 190

Leu Trp Ala Ala Ala Trp His Gly Gln Lys Pro Gly Thr His Pro Pro
195 200 205

Ser Glu Leu Asp Cys Gly His Asp Pro Gly Tyr Gln Leu Gln Thr Leu
210 215 220

Pro Gly Leu Arg Asp Thr
225 230

<210> 2
<211> 219
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2

Met Glu Pro Leu Arg Leu Leu Ile Leu Leu Phe Val Thr Glu Leu Ser
1 5 10 15

Gly Ala His Asn Thr Thr Val Phe Gln Gly Val Ala Gly Gln Ser Leu
20 25 30

Gln Val Ser Cys Pro Tyr Asp Ser Met Lys His Trp Gly Arg Arg Lys
35 40 45

Ala Trp Cys Arg Gln Leu Gly Glu Lys Gly Pro Cys Gln Arg Val Val
50 55 60

Ser Thr His Asn Leu Trp Leu Leu Ser Phe Leu Arg Arg Trp Asn Gly
65 70 75 80

Ser Thr Ala Ile Thr Asp Asp Thr Leu Gly Gly Thr Leu Thr Ile Thr
85 90 95

Leu Arg Asn Leu Gln Pro His Asp Ala Gly Leu Tyr Gln Cys Gln Ser
100 105 110

Leu His Gly Ser Glu Ala Asp Thr Leu Arg Lys Val Leu Val Glu Val
115 120 125

Leu Ala Asp Pro Leu Asp His Arg Asp Ala Gly Asp Leu Trp Phe Pro
130 135 140

Gly Glu Ser Glu Ser Phe Glu Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser
145 150 155 160

Arg Ala Glu Arg His Val Lys Glu Asp Asp Gly Arg Lys Ser Pro Gly
165 170 175

Glu Val Pro Pro Gly Thr Ser Pro Ala Cys Ile Leu Ala Thr Trp Pro
180 185 190

Pro Gly Leu Leu Val Leu Leu Trp Gln Glu Thr Thr Leu Pro Glu His
195 200 205

Cys Phe Ser Trp Thr Leu Glu Ala Gly Thr Gly

210 215

<210> 3
<211> 222
<212> PRT
<213> 智人

<400> 3

Met Glu Pro Leu Arg Leu Leu Ile Leu Leu Phe Val Thr Glu Leu Ser
1 5 10 15

Gly Ala His Asn Thr Thr Val Phe Gln Gly Val Ala Gly Gln Ser Leu
20 25 30

Gln Val Ser Cys Pro Tyr Asp Ser Met Lys His Trp Gly Arg Arg Lys
35 40 45

Ala Trp Cys Arg Gln Leu Gly Glu Lys Gly Pro Cys Gln Arg Val Val
50 55 60

Ser Thr His Asn Leu Trp Leu Leu Ser Phe Leu Arg Arg Trp Asn Gly
65 70 75 80

Ser Thr Ala Ile Thr Asp Asp Thr Leu Gly Gly Thr Leu Thr Ile Thr
85 90 95

Leu Arg Asn Leu Gln Pro His Asp Ala Gly Leu Tyr Gln Cys Gln Ser
100 105 110

Leu His Gly Ser Glu Ala Asp Thr Leu Arg Lys Val Leu Val Glu Val
115 120 125

Leu Ala Asp Pro Leu Asp His Arg Asp Ala Gly Asp Leu Trp Phe Pro
130 135 140

Gly Glu Ser Glu Ser Phe Glu Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser
145 150 155 160

Arg Pro Ser Gln Gly Ser His Leu Pro Ser Cys Leu Ser Lys Glu Pro
165 170 175

Leu Gly Arg Arg Asn Pro Leu Pro Thr His Phe His Pro Ser Pro Pro
180 185 190

Gly Leu His Leu Ser His Gln Asp Ser Ser Ser Gln Arg Pro Leu Gly
195 200 205

Cys Ser Leu Ala Trp Thr Glu Ala Arg Asp Thr Ser Thr Gln
210 215 220

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 4

Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr His Met Ser
1 5 10

<210> 5
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 5

Val Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Val Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 6
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 6

Ile Pro Ser Tyr Thr Tyr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 7

Gly Tyr His Met Ser
1 5

<210> 8
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 8

Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
1 5

<210> 9
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 9

Asn Pro Val Ser Gly Asn
1 5

<210> 10
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 10

Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr His
1 5

<210> 11
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 11

Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr
1 5

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

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 12

Ala Arg Ile Pro Ser Tyr Thr Tyr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 13
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 13

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Val Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ile Pro Ser Tyr Thr Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 14
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 14
caggtgcaat tggtgcagag cggtgcggaa gtgaaaaaac cgggtgccag cgtgaaagtt 60

agctgcaaag cgtccggata taccttcact ggttaccata tgtcttgggt gcgccaggcc 120

ccgggccagg gcctcgagtg gatgggcgtt atcaacccgg tttctggcaa cacggtttac 180

gcgcagaaat ttcagggccg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240

atggaactga gccgtctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtatcccg 300

tcttacactt acgctttcga ttactggggc caaggcaccc tggtgactgt tagctca 357

<210> 15
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 15

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Val Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ile Pro Ser Tyr Thr Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 16
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 16
caggtgcaat tggtgcagag cggtgcggaa gtgaaaaaac cgggtgccag cgtgaaagtt 60

agctgcaaag cgtccggata taccttcact ggttaccata tgtcttgggt gcgccaggcc 120

ccgggccagg gcctcgagtg gatgggcgtt atcaacccgg tttctggcaa cacggtttac 180

gcgcagaaat ttcagggccg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240

atggaactga gccgtctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtatcccg 300

tcttacactt acgctttcga ttactggggc caaggcaccc tggtgactgt tagctcagcc 360

tccaccaagg gtccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 420

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 540

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 600

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 660

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagcagc gggggggaccg 720

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 780

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 840

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900

acgtaccggg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1080

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1347

<210> 17
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 17

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 18
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 18

Arg Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 19
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 19

Phe Gln Tyr Arg His Met Pro Ser Gln Thr
1 5 10

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 20

Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 21
<211> 3

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 21

Arg Ala Ser
1

<210> 22
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 22

Tyr Arg His Met Pro Ser Gln
1 5

<210> 23
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 23

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 24
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 24

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Tyr Arg Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Tyr Arg His Met Pro Ser
85 90 95

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

<210> 25
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 25
gatatccaga tgacccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc 60

attacctgca gagccagcca ggacatttct aactacctgg cttggtacca gcagaaaccg 120

ggcaaagcgc cgaaactatt aatctaccgt gcttcttctc tgcaaagcgg cgtgccgagc 180

cgctttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcaccctga ccattagctc tctgcaaccg 240

gaagactttg cgacctatta ttgcttccag taccgtcata tgccgtctca gacctttggc 300

cagggcacga aagttgaaat taaa 324

<210> 26
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 26

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


Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30


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


Tyr Arg Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60


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


Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Tyr Arg His Met Pro Ser
                85                  90                  95


Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
            100                 105                 110


Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
        115                 120                 125


Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
    130                 135                 140


Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145                 150                 155                 160
```

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 27
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 27
gatatccaga tgacccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc 60

attacctgca gagccagcca ggacatttct aactacctgg cttggtacca gcagaaaccg 120

ggcaaagcgc cgaaactatt aatctaccgt gcttcttctc tgcaaagcgg cgtgccgagc 180

cgctttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcaccctga ccattagctc tctgcaaccg 240

gaagactttg cgacctatta ttgcttccag taccgtcata tgccgtctca gacctttggc 300

cagggcacga aagttgaaat taaacgtacg gtggccgctc ccagcgtgtt catcttcccc 360

cccagcgacg agcagctgaa gagcggcacc gccagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc 420

taccccccggg aggccaaggt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagag cggcaacagc 480

caggaaagcg tcaccgagca ggacagcaag gactccacct acagcctgag cagcaccctg 540

accctgagca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaggt gacccaccag 600

ggcctgtcca gccccgtgac caagagcttc aaccggggcg agtgt 645

<210> 28
<211> 357

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 28
caagtgcaac tcgtgcagtc aggagccgaa gtcaagaagc ctggagcctc ggtcaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggata cactttcact ggataccaca tgtcgtgggt cagacaggct 120

cctggccaag ggctggagtg gatgggcgtc atcaacccgg tgtcgggtaa taccgtgtac 180

gcccagaagt tccagggtcg cgtgaccatg acccgggata cctccattag caccgcgtac 240

atggagctca gccggttgag atccgaggat accgccgtgt actactgtgc gcggatcccg 300

tcctacactt acgccttcga ctattggggc caggggactc ttgtcaccgt gtcctcg 357

<210> 29
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 29

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Val Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ile Pro Ser Tyr Thr Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 30
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 30
caagtgcaac tcgtgcagtc aggagccgaa gtcaagaagc ctggagcctc ggtcaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggata cactttcact ggataccaca tgtcgtgggt cagacaggct 120

cctggccaag ggctggagtg gatgggcgtc atcaacccgg tgtcgggtaa taccgtgtac 180

gcccagaagt tccagggtcg cgtgaccatg acccgggata cctccattag caccgcgtac 240

atggagctca gccggttgag atccgaggat accgccgtgt actactgtgc gcggatcccg 300

tcctacactt acgccttcga ctattggggc caggggactc ttgtcaccgt gtcctcggcc 360

tccactaagg gcccaagtgt gtttcccctg gcccccagca gcaagtctac ttccggcgga 420

actgctgccc tgggttgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac agtgtcctgg 480

aactctgggg ctctgacttc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc 540

ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgacagtg ccctccagct ctctgggaac ccagacctat 600

atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt ggagcccaag 660

agctgcgaca agacccacac ctgccccccc tgcccagctc cagaactgct gggagggcct 720

tccgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagcag gacccccgag 780

gtgacctgcg tggtggtgga cgtgtcccac gaggacccag aggtgaagtt caactggtac 840

gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagccca gagaggagca gtacaacagc 900

acctacaggg tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaagaa 960

tacaagtgca aagtctccaa caaggccctg ccagccccaa tcgaaaagac aatcagcaag 1020

gccaagggcc agccacggga gccccaggtg tacaccctgc cccccagccg ggaggagatg 1080

accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaagggct tctaccccag cgatatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc cccagtgctg 1200

gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag 1260

cagggcaacg tgttcagctg cagcgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacacccag 1320

aagtccctga gcctgagccc cggcaag 1347

<210> 31
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 31
gacattcaga tgacccagtc cccgtcgtcc ctgtccgcat ccgtgggcga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcctcaca ggatatttcc aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggaaaggccc cgaagctgct gatctaccgg gcgtcctcct tgcaatcggg agtgccaagc 180

cgcttttctg gttccgggag cgggactgac ttcaccctga ctattagcag cctgcagccc 240

gaagatttcg ctacctacta ctgcttccag taccggcaca tgccctcaca aaccttcgga 300

cagggcacca aagtcgagat caag 324

<210> 32
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 32
gacattcaga tgacccagtc cccgtcgtcc ctgtccgcat ccgtgggcga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcctcaca ggatatttcc aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggaaaggccc cgaagctgct gatctaccgg gcgtcctcct tgcaatcggg agtgccaagc 180

cgcttttctg gttccgggag cgggactgac ttcaccctga ctattagcag cctgcagccc 240

gaagatttcg ctacctacta ctgcttccag taccggcaca tgccctcaca aaccttcgga 300

cagggcacca aagtcgagat caagcgtacg gtggccgctc ccagcgtgtt catcttcccc 360

cccagcgacg agcagctgaa gagcggcacc gccagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc 420

taccccgggg aggccaaggt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagag cggcaacagc 480

caggagagcg tcaccgagca ggacagcaag gactccacct acagcctgag cagcaccctg 540

accctgagca aggccgacta cgagaagcat aaggtgtacg cctgcgaggt gacccaccag 600

ggcctgtcca gccccgtgac caagagcttc aacaggggcg agtgc 645

<210> 33
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 33

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Val Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ile Pro Ser Tyr Thr Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 34
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 34
caagtgcaac tcgtgcagtc aggagccgaa gtcaagaagc ctggagcctc ggtcaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggata cactttcact ggataccaca tgtcgtgggt cagacaggct 120

cctggccaag ggctggagtg gatgggcgtc atcaacccgg tgtcgggtaa taccgtgtac 180

gcccagaagt tccagggtcg cgtgaccatg acccgggata cctccattag caccgcgtac 240

atggagctca gccggttgag atccgaggat accgccgtgt actactgtgc gcggatcccg 300

tcctacactt acgccttcga ctattggggc caggggactc ttgtcaccgt gtcctcggcc 360

tccactaagg gcccgtcagt gttccccctt gcgccatcct cgaagtcaac ctccggagga 420

actgccgcac tgggttgcct cgtgaaagac tatttcccgg aacccgtcac tgtctcctgg 480

aactcaggag cgctcaccag cggagtgcat acctttcctg cggtgctgca gtccagcggc 540

ctgtactccc tgagctccgt cgtgaccgtc ccctcgtcgt ccctgggaac ccaaacctac 600

atttgcaacg tcaatcacaa gccaagcaac actaaggtgg acaagagagt ggagcccaag 660

tcctgcgata agacccacac ctgtcctccc tgtccggcac ctgaactgct tggtggacct 720

tccgtgttcc tgttcccgcc caagccaaaa gacaccctga tgatctcccg cactccggaa 780

gtcacttgcg tggtcgtggc cgtgtcccac gaggaccccg aggtcaagtt taattggtac 840

gtggacggag tggaagtgca caacgccaag accaagccgc gggaagaaca gtacaactcc 900

acctaccgcg tggtgtccgt cctgactgtg ctccaccagg actggctgaa cggaaaggag 960

tacaagtgca aagtgtccaa caaggcactg gctgccccta tcgaaaagac tatctccaag 1020

gccaagggcc aacctaggga gccccaggtg tacacgttgc ctccttcccg cgaagaaatg 1080

actaagaacc aggtgtcgct gacctgtctc gtgaaagggt tctacccctc tgacatcgcc 1140

gtggaatggg agtcaaacgg acagcctgag aacaactata agaccacacc acctgtcctg 1200

gactccgacg gctccttctt cctgtactca aagttgaccg tggacaagtc gcggtggcaa 1260

cagggcaacg tgttctcttg ctccgtgatg cacgaagccc tgcacaacca ctacacccaa 1320

aagtcgctca gcctctcccc cggaaag 1347

<210> 35
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 35

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Val Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ile Pro Ser Tyr Thr Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 36
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 36
caagtgcaac tcgtgcagtc aggagccgaa gtcaagaagc ctggagcctc ggtcaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggata cactttcact ggataccaca tgtcgtgggt cagacaggct 120

cctggccaag ggctggagtg gatgggcgtc atcaacccgg tgtcgggtaa taccgtgtac 180

gcccagaagt tccagggtcg cgtgaccatg acccgggata cctccattag caccgcgtac 240

atggagctca gccggttgag atccgaggat accgccgtgt actactgtgc gcggatcccg 300

tcctacactt acgccttcga ctattggggc caggggactc ttgtcaccgt gtcctcggcc 360

tccactaagg gcccgtcagt gttccccctt gcgccatcct cgaagtcaac ctccggagga 420

actgccgcac tgggttgcct cgtgaaagac tatttcccgg aacccgtcac tgtctcctgg 480

aactcaggag cgctcaccag cggagtgcat acctttcctg cggtgctgca gtccagcggc 540

ctgtactccc tgagctccgt cgtgaccgtc ccctcgtcgt ccctgggaac ccaaacctac 600

atttgcaacg tcaatcacaa gccaagcaac actaaggtgg acaagagagt ggagcccaag 660

tcctgcgata agacccacac ctgtcctccc tgtccggcac ctgaactgct tggtggacct 720

tccgtgttcc tgttcccgcc caagccaaaa gacaccctga tgatctcccg cactccggaa 780

gtcacttgcg tggtcgtgga cgtgtcccac gaggaccccg aggtcaagtt taattggtac 840

gtggacggag tggaagtgca caacgccaag accaagccgc gggaagaaca gtacaactcc 900

acctaccgcg tggtgtccgt cctgactgtg ctccaccagg actggctgaa cggaaaggag 960

tacaagtgca aagtgtccaa caaggcactg ccagccccta tcgaaaagac tatctccaag 1020

gccaagggcc aacctaggga gccccaggtg tacacgttgc ctccttcccg cgaagaaatg 1080

actaagaacc aggtgtcgct gacctgtctc gtgaaagggt tctacccctc tgacatcgcc 1140

gtggaatggg agtcaaacgg acagcctgag aacaactata agaccacacc acctgtcctg 1200

gactccgacg gctccttctt cctgtactca aagttgaccg tggacaagtc gcggtggcaa 1260

cagggcaacg tgttctcttg ctccgtgctg cacgaagccc tgcacagcca ctacacccaa 1320

aagtcgctca gcctctcccc cggaaag 1347

<210> 37
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 37

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Val Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ile Pro Ser Tyr Thr Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 38
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 38
caagtgcaac tcgtgcagtc aggagccgaa gtcaagaagc ctggagcctc ggtcaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggata cactttcact ggataccaca tgtcgtgggt cagacaggct 120

cctggccaag ggctggagtg gatgggcgtc atcaacccgg tgtcgggtaa taccgtgtac 180

gcccagaagt tccagggtcg cgtgaccatg acccgggata cctccattag caccgcgtac 240

atggagctca gccggttgag atccgaggat accgccgtgt actactgtgc gcggatcccg 300

tcctacactt acgccttcga ctattggggc caggggactc ttgtcaccgt gtcctcggcc 360

tccactaagg gcccgtcagt gttccccctt gcgccatcct cgaagtcaac ctccggagga 420

actgccgcac tgggttgcct cgtgaaagac tatttcccgg aacccgtcac tgtctcctgg 480

aactcaggag cgctcaccag cggagtgcat acctttcctg cggtgctgca gtccagcggc 540

ctgtactccc tgagctccgt cgtgaccgtc ccctcgtcgt ccctgggaac ccaaacctac 600

atttgcaacg tcaatcacaa gccaagcaac actaaggtgg acaagagagt ggagcccaag 660

tcctgcgata agacccacac ctgtcctccc tgtccggcac ctgaactgct tggtggacct 720

tccgtgttcc tgttcccgcc caagccaaaa gacaccctga tgatctcccg cactccggaa 780

gtcacttgcg tggtcgtggc cgtgtcccac gaggaccccg aggtcaagtt taattggtac 840

gtggacggag tggaagtgca caacgccaag accaagccgc gggaagaaca gtacaactcc 900

acctaccgcg tggtgtccgt cctgactgtg ctccaccagg actggctgaa cggaaaggag 960

tacaagtgca aagtgtccaa caaggcactg gctgccccta tcgaaaagac tatctccaag 1020

gccaagggcc aacctaggga gccccaggtg tacacgttgc ctccttcccg cgaagaaatg 1080

actaagaacc aggtgtcgct gacctgtctc gtgaaagggt tctacccctc tgacatcgcc 1140

gtggaatggg agtcaaacgg acagcctgag aacaactata agaccacacc acctgtcctg 1200

gactccgacg gctccttctt cctgtactca aagttgaccg tggacaagtc gcggtggcaa 1260

cagggcaacg tgttctcttg ctccgtgctg cacgaagccc tgcacagcca ctacacccaa 1320

aagtcgctca gcctctcccc cggaaag 1347

<210> 39
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 39

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Val Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ile Pro Ser Tyr Thr Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr
245 250 255

Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 40
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 40
caagtgcaac tcgtgcagtc aggagccgaa gtcaagaagc ctggagcctc ggtcaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggata cactttcact ggataccaca tgtcgtgggt cagacaggct 120

cctggccaag ggctggagtg gatgggcgtc atcaacccgg tgtcgggtaa taccgtgtac 180

gcccagaagt tccagggtcg cgtgaccatg acccgggata cctccattag caccgcgtac 240

atggagctca gccggttgag atccgaggat accgccgtgt actactgtgc gcggatcccg 300

tcctacactt acgccttcga ctattggggc caggggactc ttgtcaccgt gtcctcggcc 360

tccactaagg gcccgtcagt gttccccctt gcgccatcct cgaagtcaac ctccggagga 420

actgccgcac tgggttgcct cgtgaaagac tatttcccgg aacccgtcac tgtctcctgg 480

aactcaggag cgctcaccag cggagtgcat acctttcctg cggtgctgca gtccagcggc 540

ctgtactccc tgagctccgt cgtgaccgtc ccctcgtcgt ccctgggaac ccaaacctac 600

atttgcaacg tcaatcacaa gccaagcaac actaaggtgg acaagagagt ggagcccaag 660

tcctgcgata agacccacac ctgtcctccc tgtccggcac ctgaactgct tggtggacct 720

tccgtgttcc tgttcccgcc caagccaaaa gacaccctgt atatcactcg cgaaccggaa 780

gtcacttgcg tggtcgtgga cgtgtcccac gaggaccccg aggtcaagtt taattggtac 840

gtggacggag tggaagtgca caacgccaag accaagccgc gggaagaaca gtacaactcc 900

acctaccgcg tggtgtccgt cctgactgtg ctccaccagg actggctgaa cggaaaggag 960

tacaagtgca aagtgtccaa caaggcactg ccagccccta tcgaaaagac tatctccaag 1020

gccaagggcc aacctaggga gccccaggtg tacacgttgc ctccttcccg cgaagaaatg 1080

actaagaacc aggtgtcgct gacctgtctc gtgaaagggt tctacccctc tgacatcgcc 1140

gtggaatggg agtcaaacgg acagcctgag aacaactata agaccacacc acctgtcctg 1200

gactccgacg gctccttctt cctgtactca aagttgaccg tggacaagtc gcggtggcaa 1260

cagggcaacg tgttctcttg ctccgtgatg cacgaagccc tgcacaacca ctacacccaa 1320

aagtcgctca gcctctcccc cggaaag 1347

<210> 41
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 41

Gly Asp Ser Val Ser Ser Ser Ser Ala Ala Trp Asn
1 5 10

<210> 42
<211> 18

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 42

His Ile Gly Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Glu Tyr Ala Val Ser Val
1 5 10 15

Lys Ser

<210> 43
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 43

Gly Met Tyr Gly Ser Val Pro Tyr Lys Glu Gly Tyr Tyr Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 44
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 44

Ser Ser Ser Ala Ala Trp Asn
1 5

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多肽

<400> 45

Gly Asp Ser Val Ser Ser Ser Ser Ala
1 5

<210> 46
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 46

Gly Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr
1 5

<210> 47
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 47

Gly Asp Ser Val Ser Ser Ser Ser Ala Ala
1 5 10

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 48

Ile Gly Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn
1 5

<210> 49
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 49

Ala Arg Gly Met Tyr Gly Ser Val Pro Tyr Lys Glu Gly Tyr Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Ile

<210> 50
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 50

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

Trp Leu Gly His Ile Gly Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Glu Tyr Ala
50 55 60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Met Tyr Gly Ser Val Pro Tyr Lys Glu Gly
100 105 110

Tyr Tyr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 51
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 51
caggtgcaat tgcagcagag cggtccgggc ctggtgaaac cgagccagac cctgagcctg 60

acctgcgcga tttccggaga tagcgtgagc tcttcttctg ctgcttggaa ctggattcgt 120

cagagcccga gccgtggcct cgagtggctg ggccatatcg gttaccgtag caaatggtac 180

aacgaatatg ccgtgagcgt gaaaagccgc attaccatta acccggatac ttcgaaaaac 240

cagtttagcc tgcaactgaa cagcgtgacc ccggaagata cggccgtgta ttattgcgcg 300

cgtggtatgt acggttctgt tccctacaaa gaaggttact acttcgatat ttggggccaa 360

ggcaccctgg tgactgttag ctca 384

<210> 52
<211> 458
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 52

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

Trp Leu Gly His Ile Gly Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Glu Tyr Ala
50 55 60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Met Tyr Gly Ser Val Pro Tyr Lys Glu Gly
100 105 110

Tyr Tyr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
130 135 140

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
195 200 205

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

```
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225                 230                 235                 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
                245                 250                 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
            260                 265                 270

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
        275                 280                 285

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
    290                 295                 300

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305                 310                 315                 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
                325                 330                 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
            340                 345                 350

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
        355                 360                 365

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
    370                 375                 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385                 390                 395                 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
                405                 410                 415

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
            420                 425                 430
```

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 53
<211> 1374
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 53
caggtgcaat tgcagcagag cggtccgggc ctggtgaaac cgagccagac cctgagcctg 60

acctgcgcga tttccggaga tagcgtgagc tcttcttctg ctgcttggaa ctggattcgt 120

cagagcccga gccgtggcct cgagtggctg ggccatatcg gttaccgtag caaatggtac 180

aacgaatatg ccgtgagcgt gaaaagccgc attaccatta acccggatac ttcgaaaaac 240

cagtttagcc tgcaactgaa cagcgtgacc ccggaagata cggccgtgta ttattgcgcg 300

cgtggtatgt acggttctgt tccctacaaa gaaggttact acttcgatat ttggggccaa 360

ggcaccctgg tgactgttag ctcagcctcc accaagggtc catcggtctt ccccctggca 420

ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca gcggccctgg gctgcctggt caaggactac 480

ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc 540

ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc 600

tccagcagct tgggcaccca gacctacatc tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc 660

aaggtggaca agagagttga gcccaaatct tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc 720

ccagcacctg aagcagcggg gggaccgtca gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac 780

accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa 840

gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 900

aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgggtgg tcagcgtcct caccgtcctg 960

caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca 1020

gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 1080

accctgcccc catcccggga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 1140

aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 1200

aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag 1260

ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 1320

gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg taaa 1374

<210> 54
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 54

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Asp Leu Asn
1 5 10

<210> 55
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 55

Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser
1 5

<210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多肽

<400> 56

Gln Gln Tyr Thr Asp Glu Ser Met Thr
1 5

<210> 57
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 57

Ser Gln Gly Ile Ser Ser Asp
1 5

<210> 58
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 58

Ala Ala Ser
1

<210> 59
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 59

Tyr Thr Asp Glu Ser Met
1 5

<210> 60
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 60

Gln Gly Ile Ser Ser Asp
1 5

<210> 61
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<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 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Asp
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 62
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 62
gatatccaga tgacccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc 60

attacctgca gagccagcca gggtatttct tctgacctga actggtacca gcagaaaccg 120

ggcaaagcgc cgaaactatt aatctacgct gcttctaacc tgcaaagcgg cgtgccgagc 180

cgctttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcaccctga ccattagctc tctgcaaccg 240

gaagactttg cgacctatta ttgccagcag tacactgacg aatctatgac ctttggccag 300

ggcacgaaag ttgaaattaa a 321

<210> 63
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<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 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Asp
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 64
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 64
gatatccaga tgacccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc 60

attacctgca gagccagcca gggtatttct tctgacctga actggtacca gcagaaaccg 120

ggcaaagcgc cgaaactatt aatctacgct gcttctaacc tgcaaagcgg cgtgccgagc 180

cgctttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcaccctga ccattagctc tctgcaaccg 240

gaagactttg cgacctatta ttgccagcag tacactgacg aatctatgac ctttggccag 300

ggcacgaaag ttgaaattaa acgtacggtg gccgctccca gcgtgttcat cttcccccc 360

agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420

ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480

gaaagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gt 642

<210> 65
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 65
caagtgcaac tccagcagtc aggaccgggg ttggtcaagc cttcgcagac cctgtccctc 60

acttgcgcca ttagcggaga ttcggtgtcg tcgtcgtcag ccgcctggaa ctggattaga 120

cagtcccctt cccgagggct ggagtggctg ggccacatcg gataccgcag caagtggtac 180

aacgaatacg ccgtcagcgt gaagtcacgc atcaccatca acccggatac tagcaagaac 240

cagttcagcc tccagttgaa ctccgtgacc ccggaggata ccgccgtgta ctactgtgcg 300

cggggcatgt acggatccgt gccgtacaag gagggatact acttcgacat ttggggccag 360

gggactcttg tcaccgtgtc ctcg 384

<210> 66
<211> 458
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 66

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

Trp Leu Gly His Ile Gly Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Glu Tyr Ala
50 55 60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Met Tyr Gly Ser Val Pro Tyr Lys Glu Gly
100 105 110

Tyr Tyr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
130 135 140

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
195 200 205

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
275 280 285

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
355 360 365

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 67
<211> 1374
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 67
caagtgcaac tccagcagtc aggaccgggg ttggtcaagc cttcgcagac cctgtccctc 60

acttgcgcca ttagcggaga ttcggtgtcg tcgtcgtcag ccgcctggaa ctggattaga 120

cagtcccctt cccgagggct ggagtggctg ggccacatcg gataccgcag caagtggtac 180

aacgaatacg ccgtcagcgt gaagtcacgc atcaccatca acccggatac tagcaagaac 240

cagttcagcc tccagttgaa ctccgtgacc ccggaggata ccgccgtgta ctactgtgcg 300

cggggcatgt acggatccgt gccgtacaag gagggatact acttcgacat ttggggccag 360

gggactcttg tcaccgtgtc ctcggcctcc actaagggcc caagtgtgtt tcccctggcc 420

cccagcagca agtctacttc cggcggaact gctgccctgg gttgcctggt gaaggactac 480

ttccccgagc ccgtgacagt gtcctggaac tctggggctc tgacttccgg cgtgcacacc 540

ttccccgccg tgctgcagag cagcggcctg tacagcctga gcagcgtggt gacagtgccc 600

tccagctctc tgggaaccca gacctatatc tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc 660

aaggtggaca agagagtgga gcccaagagc tgcgacaaga cccacacctg cccccctgc 720

ccagctccag aactgctggg agggccttcc gtgttcctgt tcccccccaa gcccaaggac 780

accctgatga tcagcaggac ccccgaggtg acctgcgtgg tggtggacgt gtcccacgag 840

gacccagagg tgaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc 900

aagcccagag aggagcagta caacagcacc tacagggtgg tgtccgtgct gaccgtgctg 960

caccaggact ggctgaacgg caaagaatac aagtgcaaag tctccaacaa ggccctgcca 1020

gccccaatcg aaaagacaat cagcaaggcc aagggccagc cacgggagcc ccaggtgtac 1080

accctgcccc ccagccggga ggagatgacc aagaaccagg tgtccctgac ctgtctggtg 1140

aagggcttct accccagcga tatcgccgtg gagtgggaga gcaacggcca gcccgagaac 1200

aactacaaga ccacccccc agtgctggac agcgacggca gcttcttcct gtacagcaag 1260

ctgaccgtgg acaagtccag gtggcagcag ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac 1320

gaggccctgc acaaccacta cacccagaag tccctgagcc tgagccccgg caag 1374

<210> 68
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 68
gacattcaga tgacccagtc cccgtcgtcc ctgtccgcat ccgtgggcga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcctcaca gggaatttcc tccgacctga actggtatca gcagaagcct 120

ggaaaggccc cgaagctgct gatctacgcc gcgtccaact tgcaatcggg agtgccaagc 180

cgcttttctg gttccgggag cgggactgac ttcaccctga ctattagcag cctgcagccc 240

gaagatttcg ctacctacta ctgccaacag tacacagatg aatccatgac cttcggacag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 69
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 69
gacattcaga tgacccagtc cccgtcgtcc ctgtccgcat ccgtgggcga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcctcaca gggaatttcc tccgacctga actggtatca gcagaagcct 120

ggaaaggccc cgaagctgct gatctacgcc gcgtccaact tgcaatcggg agtgccaagc 180

cgcttttctg gttccgggag cgggactgac ttcaccctga ctattagcag cctgcagccc 240

gaagatttcg ctacctacta ctgccaacag tacacagatg aatccatgac cttcggacag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacggtg gccgctccca gcgtgttcat cttccccccc 360

agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420

ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480

gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc 642

<210> 70
<211> 458
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 70

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

```
Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
        35                  40                  45

Trp Leu Gly His Ile Gly Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Glu Tyr Ala
    50                  55                  60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65                  70                  75                  80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
                85                  90                  95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Met Tyr Gly Ser Val Pro Tyr Lys Glu Gly
            100                 105                 110

Tyr Tyr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
    130                 135                 140

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145                 150                 155                 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
                165                 170                 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
            180                 185                 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
        195                 200                 205

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
    210                 215                 220

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225                 230                 235                 240
```

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
275 280 285

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
355 360 365

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 71
<211> 1374
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 71
caagtgcaac tccagcagtc aggaccgggg ttggtcaagc cttcgcagac cctgtccctc 60

acttgcgcca ttagcggaga ttcggtgtcg tcgtcgtcag ccgcctggaa ctggattaga 120

cagtcccctt cccgagggct ggagtggctg ggccacatcg gataccgcag caagtggtac 180

aacgaatacg ccgtcagcgt gaagtcacgc atcaccatca acccggatac tagcaagaac 240

cagttcagcc tccagttgaa ctccgtgacc ccggaggata ccgccgtgta ctactgtgcg 300

cggggcatgt acggatccgt gccgtacaag gagggatact acttcgacat ttggggccag 360

gggactcttg tcaccgtgtc ctcggcctcc actaagggcc cgtcagtgtt ccccccttgcg 420

ccatcctcga agtcaacctc cggaggaact gccgcactgg gttgcctcgt gaaagactat 480

ttcccggaac ccgtcactgt ctcctggaac tcaggagcgc tcaccagcgg agtgcatacc 540

tttcctgcgg tgctgcagtc cagcggcctg tactccctga gctccgtcgt gaccgtcccc 600

tcgtcgtccc tgggaaccca aacctacatt tgcaacgtca atcacaagcc aagcaacact 660

aaggtggaca agagagtgga gcccaagtcc tgcgataaga cccacacctg tcctccctgt 720

ccggcacctg aactgcttgg tggaccttcc gtgttcctgt tcccgcccaa gccaaaagac 780

accctgatga tctcccgcac tccggaagtc acttgcgtgg tcgtggccgt gtcccacgag 840

gaccccgagg tcaagtttaa ttggtacgtg gacggagtgg aagtgcacaa cgccaagacc 900

aagccgcggg aagaacagta caactccacc taccgcgtgg tgtccgtcct gactgtgctc 960

caccaggact ggctgaacgg aaaggagtac aagtgcaaag tgtccaacaa ggcactggct 1020

gcccctatcg aaaagactat ctccaaggcc aagggccaac ctagggagcc ccaggtgtac 1080

acgttgcctc cttcccgcga agaaatgact aagaaccagg tgtcgctgac ctgtctcgtg 1140

aaagggttct acccctctga catcgccgtg gaatgggagt caaacggaca gcctgagaac 1200

aactataaga ccacaccacc tgtcctggac tccgacggct ccttcttcct gtactcaaag 1260

ttgaccgtgg acaagtcgcg gtggcaacag ggcaacgtgt tctcttgctc cgtgatgcac 1320

gaagccctgc acaaccacta cacccaaaag tcgctcagcc tctccccccgg aaag 1374

<210> 72
<211> 458
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 72

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

Trp Leu Gly His Ile Gly Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Glu Tyr Ala
50 55 60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Met Tyr Gly Ser Val Pro Tyr Lys Glu Gly
100 105 110

```
Tyr Tyr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
    130                 135                 140

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145                 150                 155                 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
                165                 170                 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
            180                 185                 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
        195                 200                 205

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
    210                 215                 220

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225                 230                 235                 240

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
                245                 250                 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
            260                 265                 270

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
        275                 280                 285

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
    290                 295                 300
```

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
355 360 365

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 73
<211> 1374
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 73
caagtgcaac tccagcagtc aggaccgggg ttggtcaagc cttcgcagac cctgtccctc 60

acttgcgcca ttagcggaga ttcggtgtcg tcgtcgtcag ccgcctggaa ctggattaga 120

cagtcccctt cccgagggct ggagtggctg ggccacatcg gataccgcag caagtggtac 180

aacgaatacg ccgtcagcgt gaagtcacgc atcaccatca acccggatac tagcaagaac 240

cagttcagcc tccagttgaa ctccgtgacc ccggaggata ccgccgtgta ctactgtgcg 300

cggggcatgt acggatccgt gccgtacaag gagggatact acttcgacat ttggggccag 360

gggactcttg tcaccgtgtc ctcggcctcc actaagggcc cgtcagtgtt ccccccttgcg 420

ccatcctcga agtcaacctc cggaggaact gccgcactgg gttgcctcgt gaaagactat 480

ttcccggaac ccgtcactgt ctcctggaac tcaggagcgc tcaccagcgg agtgcatacc 540

tttcctgcgg tgctgcagtc cagcggcctg tactccctga gctccgtcgt gaccgtcccc 600

tcgtcgtccc tgggaaccca aacctacatt tgcaacgtca atcacaagcc aagcaacact 660

aaggtggaca agagagtgga gcccaagtcc tgcgataaga cccacacctg tcctccctgt 720

ccggcacctg aactgcttgg tggaccttcc gtgttcctgt tcccgcccaa gccaaaagac 780

accctgatga tctcccgcac tccggaagtc acttgcgtgg tcgtggacgt gtcccacgag 840

gaccccgagg tcaagtttaa ttggtacgtg gacggagtgg aagtgcacaa cgccaagacc 900

aagccgcggg aagaacagta caactccacc taccgcgtgg tgtccgtcct gactgtgctc 960

caccaggact ggctgaacgg aaaggagtac aagtgcaaag tgtccaacaa ggcactgcca 1020

gcccctatcg aaaagactat ctccaaggcc aagggccaac ctagggagcc ccaggtgtac 1080

acgttgcctc cttcccgcga agaaatgact aagaaccagg tgtcgctgac ctgtctcgtg 1140

aaagggttct acccctctga catcgccgtg gaatgggagt caaacggaca gcctgagaac 1200

aactataaga ccacaccacc tgtcctggac tccgacggct ccttcttcct gtactcaaag 1260

ttgaccgtgg acaagtcgcg gtggcaacag ggcaacgtgt tctcttgctc cgtgctgcac 1320

gaagccctgc acagccacta cacccaaaag tcgctcagcc tctcccccgg aaag 1374

<210> 74
<211> 458
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 74

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30

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

Trp Leu Gly His Ile Gly Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Glu Tyr Ala
    50                  55                  60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65                  70                  75                  80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
                85                  90                  95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Met Tyr Gly Ser Val Pro Tyr Lys Glu Gly
            100                 105                 110

Tyr Tyr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
    130                 135                 140

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145                 150                 155                 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
                165                 170                 175
```

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
195 200 205

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
275 280 285

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
355 360 365

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 75
<211> 1374
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 75
caagtgcaac tccagcagtc aggaccgggg ttggtcaagc cttcgcagac cctgtccctc 60

acttgcgcca ttagcggaga ttcggtgtcg tcgtcgtcag ccgcctggaa ctggattaga 120

cagtcccctt cccgagggct ggagtggctg ggccacatcg gataccgcag caagtggtac 180

aacgaatacg ccgtcagcgt gaagtcacgc atcaccatca acccggatac tagcaagaac 240

cagttcagcc tccagttgaa ctccgtgacc ccggaggata ccgccgtgta ctactgtgcg 300

cggggcatgt acggatccgt gccgtacaag gagggatact acttcgacat ttggggccag 360

gggactcttg tcaccgtgtc ctcggcctcc actaagggcc cgtcagtgtt ccccccttgcg 420

ccatcctcga agtcaacctc cggaggaact gccgcactgg gttgcctcgt gaaagactat 480

ttcccggaac ccgtcactgt ctcctggaac tcaggagcgc tcaccagcgg agtgcatacc 540

tttcctgcgg tgctgcagtc cagcggcctg tactccctga gctccgtcgt gaccgtcccc 600

tcgtcgtccc tgggaaccca aacctacatt tgcaacgtca atcacaagcc aagcaacact 660

aaggtggaca agagagtgga gcccaagtcc tgcgataaga cccacacctg tcctccctgt 720

ccggcacctg aactgcttgg tggaccttcc gtgttcctgt tcccgcccaa gccaaaagac 780

accctgatga tctcccgcac tccggaagtc acttgcgtgg tcgtggccgt gtcccacgag 840

gaccccgagg tcaagtttaa ttggtacgtg gacggagtgg aagtgcacaa cgccaagacc 900

aagccgcggg aagaacagta caactccacc taccgcgtgg tgtccgtcct gactgtgctc 960

caccaggact ggctgaacgg aaaggagtac aagtgcaaag tgtccaacaa ggcactggct 1020

gcccctatcg aaaagactat ctccaaggcc aagggccaac ctagggagcc ccaggtgtac 1080

acgttgcctc cttcccgcga agaaatgact aagaaccagg tgtcgctgac ctgtctcgtg 1140

aaagggttct acccctctga catcgccgtg gaatgggagt caaacggaca gcctgagaac 1200

aactataaga ccacaccacc tgtcctggac tccgacggct ccttcttcct gtactcaaag 1260

ttgaccgtgg acaagtcgcg gtggcaacag ggcaacgtgt tctcttgctc cgtgctgcac 1320

gaagccctgc acagccacta cacccaaaag tcgctcagcc tctccccccgg aaag 1374

<210> 76
<211> 458
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 76

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

Trp Leu Gly His Ile Gly Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Glu Tyr Ala
50 55 60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Met Tyr Gly Ser Val Pro Tyr Lys Glu Gly
100 105 110

Tyr Tyr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
130 135 140

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
195 200 205

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
275 280 285

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
355 360 365

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 77
<211> 1374
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 77
caagtgcaac tccagcagtc aggaccgggg ttggtcaagc cttcgcagac cctgtccctc 60

acttgcgcca ttagcggaga ttcggtgtcg tcgtcgtcag ccgcctggaa ctggattaga 120

cagtcccctt cccgagggct ggagtggctg ggccacatcg gataccgcag caagtggtac 180

aacgaatacg ccgtcagcgt gaagtcacgc atcaccatca acccggatac tagcaagaac 240

cagttcagcc tccagttgaa ctccgtgacc ccggaggata ccgccgtgta ctactgtgcg 300

cggggcatgt acggatccgt gccgtacaag gagggatact acttcgacat ttggggccag 360

gggactcttg tcaccgtgtc ctcggcctcc actaagggcc cgtcagtgtt ccccccttgcg 420

ccatcctcga agtcaacctc cggaggaact gccgcactgg gttgcctcgt gaaagactat 480

ttcccggaac ccgtcactgt ctcctggaac tcaggagcgc tcaccagcgg agtgcatacc 540

tttcctgcgg tgctgcagtc cagcggcctg tactccctga gctccgtcgt gaccgtcccc 600

tcgtcgtccc tgggaaccca aacctacatt tgcaacgtca atcacaagcc aagcaacact 660

aaggtggaca agagagtgga gcccaagtcc tgcgataaga cccacacctg tcctccctgt 720

ccggcacctg aactgcttgg tggaccttcc gtgttcctgt tcccgcccaa gccaaaagac 780

accctgtata tcactcgcga accggaagtc acttgcgtgg tcgtggacgt gtcccacgag 840

gaccccgagg tcaagtttaa ttggtacgtg gacggagtgg aagtgcacaa cgccaagacc 900

aagccgcggg aagaacagta caactccacc taccgcgtgg tgtccgtcct gactgtgctc 960

caccaggact ggctgaacgg aaaggagtac aagtgcaaag tgtccaacaa ggcactgcca 1020

gcccctatcg aaaagactat ctccaaggcc aagggccaac ctagggagcc ccaggtgtac 1080

acgttgcctc cttcccgcga agaaatgact aagaaccagg tgtcgctgac ctgtctcgtg 1140

aaagggttct acccctctga catcgccgtg gaatgggagt caaacggaca gcctgagaac 1200

aactataaga ccacaccacc tgtcctggac tccgacggct ccttcttcct gtactcaaag 1260

ttgaccgtgg acaagtcgcg gtggcaacag ggcaacgtgt tctcttgctc cgtgatgcac 1320

gaagccctgc acaaccacta cacccaaaag tcgctcagcc tctcccccgg aaag 1374

<210> 78
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 78

Gln Gln His Gly His Ser Pro Thr Thr
1 5

<210> 79
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 79

His Gly His Ser Pro Thr
1 5

<210> 80
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<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 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Tyr Arg Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 81
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 81
gatatccaga tgacccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc 60

attacctgca gagccagcca ggacatttct aactacctgg cttggtacca gcagaaaccg 120

ggcaaagcgc cgaaactatt aatctaccgt gcttcttctc tgcaaagcgg cgtgccgagc 180

cgctttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcaccctga ccattagctc tctgcaaccg 240

gaagactttg cgacctatta ttgccagcag catggtcatt ctccgactac ctttggccag 300

ggcacgaaag ttgaaattaa a 321

<210> 82
<211> 214

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<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 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

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

Tyr Arg Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175
```

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 83
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 83
gatatccaga tgacccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc 60

attacctgca gagccagcca ggacatttct aactacctgg cttggtacca gcagaaaccg 120

ggcaaagcgc cgaaactatt aatctaccgt gcttcttctc tgcaaagcgg cgtgccgagc 180

cgctttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcaccctga ccattagctc tctgcaaccg 240

gaagactttg cgacctatta ttgccagcag catggtcatt ctccgactac ctttggccag 300

ggcacgaaag ttgaaattaa acgtacggtg gccgctccca gcgtgttcat cttcccccc 360

agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420

ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480

gaaagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gt 642

<210> 84
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 84

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Ser
1 5 10

<210> 85
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 85

Leu Ile Phe Ser Asp His Asp Lys Ile Tyr Ser Thr Ser Leu Lys Thr
1 5 10 15

<210> 86
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 86

Thr Leu Ile Asp Arg Ser Val Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 87
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 87

Thr Ser Gly Val Gly Val Ser
1 5

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 88

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val
1 5

<210> 89
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 89

Phe Ser Asp His Asp
1 5

<210> 90
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 90

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly
1 5 10

<210> 91
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多肽

<400> 91

Ile Phe Ser Asp His Asp Lys
1 5

<210> 92
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 92

Ala Arg Thr Leu Ile Asp Arg Ser Val Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 93
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 93

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

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

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

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

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Leu Ile Asp Arg Ser Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 94
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 94
caggtgcaat tgaaagaaag cggtccggcg ctggtgaaac cgacccagac cctgaccctg 60

acgtgcacct tttccggatt cagcctgtct acttccggtg ttggtgtgag ctggattcgc 120

cagccgccgg gcaaagcgct cgagtggctg gcgctgatct tctctgacca tgacaagatc 180

tatagcacca gcctgaaaac ccgtctgacc attagcaaag atacttcgaa aaaccaggtg 240

gtgctgacca tgaccaacat ggacccggtg gataccgcga cctattattg cgcgcgtact 300

ctgatcgacc gttctgttta cttcgattac tggggccaag gcaccctggt gactgttagc 360

tca 363

<210> 95
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 95

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

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

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

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

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Thr Leu Ile Asp Arg Ser Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 96
<211> 1353
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 96
caggtgcaat tgaaagaaag cggtccggcg ctggtgaaac cgacccagac cctgaccctg 60

acgtgcacct tttccggatt cagcctgtct acttccggtg ttggtgtgag ctggattcgc 120

cagccgccgg gcaaagcgct cgagtggctg gcgctgatct tctctgacca tgacaagatc 180

tatagcacca gcctgaaaac ccgtctgacc attagcaaag atacttcgaa aaaccaggtg 240

gtgctgacca tgaccaacat ggacccggtg gataccgcga cctattattg cgcgcgtact 300

ctgatcgacc gttctgttta cttcgattac tggggccaag gcaccctggt gactgttagc 360

tcagcctcca ccaagggtcc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gagagttgag 660

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agcagcgggg 720

ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900

aacagcacgt accgggtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcccag cccccatcga gaaaaccatc 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atcccgggag 1080

gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1200

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1260

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1320

acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaa 1353

<210> 97
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 97

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly His His Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 98
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 98

Asp Asn Thr Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 99
<211> 11

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 99

Ala Thr Trp Asp Gly Leu Met Asn Ser Ile Val
1 5 10

<210> 100
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 100

Ser Ser Ser Asn Ile Gly His His Tyr
1 5

<210> 101
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 101

Asp Asn Thr
1

<210> 102
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 102

Trp Asp Gly Leu Met Asn Ser Ile
1 5

<210> 103
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 103

Ser Ser Asn Ile Gly His His Tyr
1 5

<210> 104
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 104

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly His His
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Gly Leu Met
85 90 95

Asn Ser Ile Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 105
<211> 330
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 105
gatatcgtgc tgacccagcc gccgagcgtg agcggtgcac cgggccagcg cgtgaccatt 60

agctgtagcg gcagcagcag caacattggt catcattacg tgtcttggta ccagcagctg 120

ccgggcacgg cgccgaaact gctgatctac gacaacacta accgcccgag cggcgtgccg 180

gatcgcttta gcggatccaa aagcggcacc agcgccagcc tggcgattac cggcctgcaa 240

gcagaagacg aagcggatta ttactgcgct acttgggacg gtctgatgaa ctctatcgtg 300

tttggcggcg gcacgaagtt aaccgtccta 330

<210> 106
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 106

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly His His
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Gly Leu Met
85 90 95

Asn Ser Ile Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 107
<211> 648
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多核苷酸

<400> 107
gatatcgtgc tgacccagcc gccgagcgtg agcggtgcac cgggccagcg cgtgaccatt 60

agctgtagcg gcagcagcag caacattggt catcattacg tgtcttggta ccagcagctg 120

ccgggcacgg cgccgaaact gctgatctac gacaacacta accgcccgag cggcgtgccg 180

gatcgcttta gcggatccaa aagcggcacc agcgccagcc tggcgattac cggcctgcaa 240

gcagaagacg aagcggatta ttactgcgct acttgggacg gtctgatgaa ctctatcgtg 300

tttggcggcg gcacgaagtt aaccgtccta ggtcagccca aggctgcccc ctcggtcact 360

ctgttcccgc cctcctctga ggagcttcaa gccaacaagg ccacactggt gtgtctcata 420

agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg gcctggaagg cagatagcag ccccgtcaag 480

gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc 540

tatctgagcc tgacgcctga gcagtggaag tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg 600

catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg gcccctacag aatgttca 648

<210> 108
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 108

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Asp
1 5 10

<210> 109
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 109

Arg Ile Lys Ser Lys Ala Asp Ser Tyr Thr Ala Asp Tyr Ala Ala Pro
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 110
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 110

Ser His Tyr Ser Ala Phe Ala Tyr
1 5

<210> 111
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 111

Ser Tyr Ala Met Asp
1 5

<210> 112
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 112

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 113
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 113

Lys Ser Lys Ala Asp Ser Tyr Thr
1 5

<210> 114
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 114

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 115
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 115

Ile Lys Ser Lys Ala Asp Ser Tyr Thr Ala
1 5 10

<210> 116
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 116

Ala Arg Ser His Tyr Ser Ala Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 117
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 117

Glu Val Gln 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 Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Ala Asp Ser Tyr Thr Ala Asp Tyr Ala Ala
50 55 60

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

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

Tyr Cys Ala Arg Ser His Tyr Ser Ala Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 118
<211> 357

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 118
gaggtgcaat tggtggaaag cggcggtggc ctggtgaaac caggcggcag cctgcgcctg 60

agctgcgccg cctccggatt caccttttct tcttacgcta tggactgggt gcgccaggcc 120

ccgggcaaag gtctcgagtg ggtgggccgt atcaaatcta aagctgactc ttacactgct 180

gactatgccg ccccagtgaa aggccgcttt accattagcc gcgatgattc gaaaaacacc 240

ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaagatacgg ccgtgtatta ttgcgcgcgt 300

tctcattact ctgctttcgc ttactggggc caaggcaccc tggtgactgt tagctca 357

<210> 119
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 119

Glu Val Gln 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 Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Ala Asp Ser Tyr Thr Ala Asp Tyr Ala Ala
50 55 60

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

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

Tyr Cys Ala Arg Ser His Tyr Ser Ala Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

```
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445

Lys
```

<210> 120
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 120
gaggtgcaat tggtggaaag cggcggtggc ctggtgaaac caggcggcag cctgcgcctg 60

agctgcgccg cctccggatt caccttttct tcttacgcta tggactgggt gcgccaggcc 120

ccgggcaaag gtctcgagtg ggtgggccgt atcaaatcta aagctgactc ttacactgct 180

gactatgccg ccccagtgaa aggccgcttt accattagcc gcgatgattc gaaaaacacc 240

ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaagatacgg ccgtgtatta ttgcgcgcgt 300

tctcattact ctgctttcgc ttactggggc caaggcaccc tggtgactgt tagctcagcc 360

tccaccaagg gtccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 420

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 540

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 600

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 660

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagcagc gggggggaccg 720

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 780

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 840

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900

acgtaccggg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1080

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1347

<210> 121
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 121

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ser Val Asn
1 5 10

<210> 122
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 122

Arg Asn Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 123
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 123

Ser Ala Phe Asp Glu Ser Thr Lys Gly Val Val
1 5 10

<210> 124
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多肽

<400> 124

Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ser
1 5

<210> 125
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 125

Arg Asn Ser
1

<210> 126
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 126

Phe Asp Glu Ser Thr Lys Gly Val
1 5

<210> 127
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 127

Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ser
1 5

<210> 128
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 128

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

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

Ile Tyr Arg Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ala Phe Asp Glu Ser Thr
85 90 95

Lys Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 129
<211> 330
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 129
gatatcgtgc tgacccagcc gccgagcgtg agcggtgcac cgggccagcg cgtgaccatt 60

agctgtagcg gcagcagcag caacattggt tctaactctg tgaactggta ccagcagctg 120

ccgggcacgg cgccgaaact gctgatctac cgtaactcta accgcccgag cggcgtgccg 180

gatcgcttta gcggatccaa aagcggcacc agcgccagcc tggcgattac cggcctgcaa 240

gcagaagacg aagcggatta ttactgctct gctttcgacg aatctactaa aggtgttgtg 300

tttggcggcg gcacgaagtt aaccgtccta 330

<210> 130
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 130

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

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

Ile Tyr Arg Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ala Phe Asp Glu Ser Thr
85 90 95

Lys Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 131
<211> 648
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 131
gatatcgtgc tgacccagcc gccgagcgtg agcggtgcac cgggccagcg cgtgaccatt 60

agctgtagcg gcagcagcag caacattggt tctaactctg tgaactggta ccagcagctg 120

ccgggcacgg cgccgaaact gctgatctac cgtaactcta accgcccgag cggcgtgccg 180

gatcgcttta gcggatccaa aagcggcacc agcgccagcc tggcgattac cggcctgcaa 240

gcagaagacg aagcggatta ttactgctct gctttcgacg aatctactaa aggtgttgtg 300

tttggcggcg gcacgaagtt aaccgtccta ggtcagccca aggctgcccc ctcggtcact 360

ctgttcccgc cctcctctga ggagcttcaa gccaacaagg ccacactggt gtgtctcata 420

agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg gcctggaagg cagatagcag ccccgtcaag 480

gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc 540

tatctgagcc tgacgcctga gcagtggaag tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg 600

catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg gcccctacag aatgttca 648

<210> 132
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 132

Ala His Val Glu His Ser Ile Ser Arg Ser
1 5 10

<210> 133
<211> 1076
<212> DNA
<213> 智人

<400> 133
gggcagcgcc tgacatgcct gatcctctct tttctgcagt tcaagggaaa gacgagatct 60

tgcacaaggc actctgcttc tgcccttggc tggggaaggg tggcatggag cctctccggc 120

tgctcatctt actctttgtc acagagctgt ccggagccca caacaccaca gtgttccagg 180

gcgtggcggg ccagtccctg caggtgtctt gcccctatga ctccatgaag cactgggggga 240

ggcgcaaggc ctggtgccgc cagctgggag agaagggccc atgccagcgt gtggtcagca 300

cgcacaactt gtggctgctg tccttcctga ggaggtggaa tgggagcaca gccatcacag 360

acgataccct gggtggcact ctcaccatta cgctgcggaa tctacaaccc catgatgcgg 420

gtctctacca gtgccagagc ctccatggca gtgaggctga caccctcagg aaggtcctgg 480

tggaggtgct ggcagacccc ctggatcacc gggatgctgg agatctctgg ttccccgggg 540

agtctgagag cttcgaggat gcccatgtgg agcacagcat ctccaggagc ctcttggaag 600

gagaaatccc cttcccaccc acttccatcc ttctcctcct ggcctgcatc tttctcatca 660

agattctagc agccagcgcc ctctgggctg cagcctggca tggacagaag ccagggacac 720

atccacccag tgaactggac tgtggccatg acccagggta tcagctccaa actctgccag 780

ggctgagaga cacgtgaagg aagatgatgg gaggaaaagc ccaggagaag tcccaccagg 840

gaccagccca gcctgcatac ttgccacttg gccaccagga ctccttgttc tgctctggca 900

agagactact ctgcctgaac actgcttctc ctggaccctg gaagcaggga ctggttgagg 960

gagtggggag gtggtaagaa cacctgacaa cttctgaata ttggacattt taaacactta 1020

caaataaatc caagactgtc atatttagct ggataaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1076

<210> 134
<211> 280
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 134
cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc cccgcccatt 60

gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc attgacgtca 120

atgggtggag tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt atcatatgcc 180

aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgcccagta 240

catgacctta tgggactttc ctacttggca gtacatctac 280

<210> 135
<211> 266
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 135
ccacgttctg cttcactctc cccatctccc cccccctccc acccccaatt ttgtatttat 60

ttatttttta attattttgt gcagcgatgg gggcgggggg gggggggggg cgcgcgccag 120

gcggggcggg gcggggcgag gggcggggcg gggcgaggcg gagaggtgcg gcggcagcca 180

atcagagcgg cgcgctccga aagtttcctt ttatggcgag gcggcggcgg cggcggccct 240

ataaaaagcg aagcgcgcgg cgggcg 266

<210> 136
<211> 552
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 136
cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc cccgcccatt 60

gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc attgacgtca 120

atgggtggag tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt atcatatgcc 180

aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgcccagta 240

catgacctta tgggactttc ctacttggca gtacatctac tcgaggccac gttctgcttc 300

actctcccca tctccccccc ctccccaccc ccaattttgt atttatttat tttttaatta 360

ttttgtgcag cgatgggggc gggggggggg gggggcgcgg cgccaggcgg ggcggggcgg 420

ggcgaggggc ggggcggggc gaggcggaga ggtgcggcgg cagccaatca gagcggcgcg 480

ctccgaaagt ttccttttat ggcgaggcgg cggcggcggc ggccctataa aaagcgaagc 540

gcgcggcggg cg 552

<210> 137
<211> 97
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 137
gtaagtttag tctttttgtc ttttatttca ggtcccggat ccggtggtgg tgcaaatcaa 60

agaactgctc ctcagtggat gttgccttta cttctag 97

<210> 138

<211> 232
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多核苷酸

<400> 138
ctagagctcg ctgatcagcc tcgactgtgc cttctagttg ccagccatct gttgtttgcc 60

cctcccccgt gccttccttg accctggaag gtgccactcc cactgtcctt tcctaataaa 120

atgaggaaat tgcatcgcat tgtctgagta ggtgtcattc tattctgggg ggtggggtgg 180

ggcaggacag caaggggggag gattgggaag acaatagcag gcatgctggg ga 232

<210> 139
<211> 162
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hTREM2 殘基19-174 加His標籤

<400> 139

His Asn Thr Thr Val Phe Gln Gly Val Ala Gly Gln Ser Leu Gln Val
1 5 10 15

Ser Cys Pro Tyr Asp Ser Met Lys His Trp Gly Arg Arg Lys Ala Trp
20 25 30

Cys Arg Gln Leu Gly Glu Lys Gly Pro Cys Gln Arg Val Val Ser Thr
35 40 45

His Asn Leu Trp Leu Leu Ser Phe Leu Arg Arg Trp Asn Gly Ser Thr
50 55 60

Ala Ile Thr Asp Asp Thr Leu Gly Gly Thr Leu Thr Ile Thr Leu Arg
65 70 75 80

Asn Leu Gln Pro His Asp Ala Gly Leu Tyr Gln Cys Gln Ser Leu His
85 90 95

Gly Ser Glu Ala Asp Thr Leu Arg Lys Val Leu Val Glu Val Leu Ala
100 105 110

Asp Pro Leu Asp His Arg Asp Ala Gly Asp Leu Trp Phe Pro Gly Glu
115 120 125

Ser Glu Ser Phe Glu Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser Arg Ser
130 135 140

Leu Leu Glu Gly Glu Ile Pro Phe Pro Pro Thr Ser His His His His
145 150 155 160

His His

<210> 140
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 140

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Tyr Arg Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

```
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Tyr Arg His Met Pro Ser
                85                  90                  95

Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Asp Ala
            100                 105                 110

Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp
    130                 135                 140

Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val
145                 150                 155                 160

Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met
                165                 170                 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser
            180                 185                 190

Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys
        195                 200                 205

Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
    210                 215
```

<210> 141
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的多肽

<400> 141

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

```
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
            20                  25                  30

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

Gly Val Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Val Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Ile Pro Ser Tyr Thr Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser
            180                 185                 190

Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
        195                 200                 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys
```

210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser
245 250 255

Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser Glu Asp Asp
260 265 270

Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr
275 280 285

Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val
290 295 300

Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu
305 310 315 320

Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Ala Ala Pro Ile Glu Arg
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val
340 345 350

Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr
355 360 365

Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr
370 375 380

Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys
405 410 415

Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu
420 425 430

Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly
435 440 445

Lys

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段與骨髓細胞上表現的人觸發受體2 (hTREM2)蛋白的免疫球蛋白超家族(IgSF)結構域結合並穩定hTREM2蛋白(例如，SEQ ID NO:1、2或3)。

【請求項2】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合一個或多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46、R47、H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75、R77、D87、T88、L89和G90。

【請求項3】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的一個或多個選自由以下項組成之群組之殘基：D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46和R47，一個或多個選自由以下項組成之群組之殘基：H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75和R77，以及一個或多個選自由以下項組成之群組之殘基：D87、T88、L89和G90。

【請求項4】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的五個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基：D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46和R47，四個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基：H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75和R77，以及三個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基：D87、T88、L89和G90。

【請求項5】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的七個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基：D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46和R47，四個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基：H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75和R77，以及三個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基:D87、T88、L89和G90。

【請求項6】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的五個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基：D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46和R47，所有殘基H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75和R77，以及三個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基：D87、T88、L89和G90。

【請求項7】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合一個或多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【請求項8】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合兩個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【請求項9】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合三個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【請求項10】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合四個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【請求項11】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合五個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【請求項12】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合六個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【請求項13】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合七個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【請求項14】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合八個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【請求項15】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合九個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2

的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【請求項16】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的所有殘基S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【請求項17】

如請求項7至16中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合一個或多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的D39、K42、R46和G90。

【請求項18】

如請求項7至16中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合兩個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的D39、K42、R46和G90。

【請求項19】

如請求項7至16中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合三個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的D39、K42、R46和G90。

【請求項20】

如請求項7至15中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的所有殘基D39、K42、R46和G90。

【請求項21】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的所有殘基S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、

T88、L89、D39、K42、R46和G90。

【請求項22】

如請求項7至16中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合一個或多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的R47、H67、N68、L69、L75、R77和D87。

【請求項23】

如請求項7至16中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合兩個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的R47、H67、N68、L69、L75、R77和D87。

【請求項24】

如請求項7至16中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合三個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的R47、H67、N68、L69、L75、R77和D87。

【請求項25】

如請求項7至16中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合四個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的R47、H67、N68、L69、L75、R77和D87。

【請求項26】

如請求項7至16中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合五個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的R47、H67、N68、L69、L75、R77和D87。

【請求項27】

如請求項7至15中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其

抗原結合片段結合六個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的R47、H67、N68、L69、L75、R77和D87。

【請求項28】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的所有殘基S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88、L89、R47、H67、N68、L69、L75、R77和D87。

【請求項29】

如請求項1至28中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段活化hTREM2。

【請求項30】

如請求項1至29中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段促進表現TREM2的細胞中的一種或多種hTREM2依賴性生理活性。

【請求項31】

如請求項1至30中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段：

a) 增加吞噬作用，例如在表現hTREM2的細胞中增加吞噬作用，例如，其中該表現TREM2的細胞係hM2A巨噬細胞或人iPS衍生的小膠質細胞樣細胞，

b) 增加趨化性，例如在表現hTREM2的細胞中增加趨化性，例如，其中該表現TREM2的細胞係hM2a巨噬細胞或人iPS衍生的小膠質細胞樣細胞，

c) 增加人單核細胞系中NFAT驅動的報告基因活性，

d) 增加Syk磷酸化，例如在表現hTREM2的細胞中增加Syk磷酸化，例如，其中該表現TREM2的細胞係hM2A巨噬細胞，或

e) 增加a) 至d) 中兩項或更多項的任何組合。

【請求項32】

如請求項1至31中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中例如藉由FACS分析對hM2a巨噬細胞所測量，該抗體或其抗原結合片段以1 nM或更低的半最大有效濃度(EC_{50})結合hTREM2，例如結合細胞表面上的hTREM2。

【請求項33】

如請求項1至32中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中例如藉由FACS分析對hM2a巨噬細胞所測量，該抗體或其抗原結合片段以0.59 nM或更低的半最大有效濃度(EC_{50})結合hTREM2，例如結合細胞表面上的hTREM2。

【請求項34】

如請求項1至33中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中例如藉由表面電漿共振(SPR)測量，該抗體或其抗原結合片段以150 pM或更低的解離常數(K_D)結合hTREM2。

【請求項35】

如請求項1至34中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中例如藉由表面電漿共振(SPR)測量，該抗體或其抗原結合片段以50 pM或更低的解離常數(K_D)結合hTREM2。

【請求項36】

如請求項1至35中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其

抗原結合片段使表現hTREM2的細胞的細胞表面上的hTREM2蛋白穩定。

【請求項37】

如請求項36之抗體或其抗原結合片段，其中該表現hTREM2的細胞係巨噬細胞，例如M2a巨噬細胞、樹突細胞、破骨細胞、小膠質細胞、肥大細胞、單核細胞、肺上皮細胞、皮膚蘭格漢氏細胞(Langerhans cell of skin)、庫弗細胞(Kupffer cell)、嗜中性球或肝癌細胞。

【請求項38】

如請求項1至37中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段在hM2A巨噬細胞中以100 nM或更低的濃度減少hTREM2蛋白的胞外域的脫落。

【請求項39】

如請求項1至38中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中TREM2細胞表面表現增加3倍或更高。

【請求項40】

如請求項1至39中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中hTREM2的IgSF結構域包含SEQ ID NO 1、2和3中任一個的胺基酸殘基19至132。

【請求項41】

如請求項1至40中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中所述抗體或其抗原結合片段包含：

a) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 41或SEQ ID NO: 44或SEQ ID NO: 45或SEQ ID NO: 47；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 42或SEQ ID NO: 46、或SEQ ID NO: 48；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO:

43或SEQ ID NO: 49；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 54或SEQ ID NO: 57或SEQ ID NO: 60；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 55或SEQ ID NO: 58；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 56或SEQ ID NO: 59；

b) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 7或SEQ ID NO: 8或SEQ ID NO: 10；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 6或SEQ ID NO: 12；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 20或SEQ ID NO: 23；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 18或SEQ ID NO: 21；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 19或SEQ ID NO: 22；

c) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 7或SEQ ID NO: 8或SEQ ID NO: 10；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 6或SEQ ID NO: 12；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 20或SEQ ID NO: 23；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 18或SEQ ID NO: 21；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 78或SEQ ID NO: 79；或

d) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 84或SEQ ID NO: 87或SEQ ID NO: 88或SEQ ID NO: 90；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 85或SEQ ID NO: 89或SEQ ID NO: 91；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 86或SEQ ID NO: 92；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 97或SEQ ID NO: 100或SEQ ID NO: 103；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 98或SEQ ID NO: 101；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 99或SEQ ID NO: 102。

【請求項42】

一種抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2蛋白的IgSF結構域，其中所述抗體或其抗原結合片段包含：

a) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 41或SEQ ID NO: 44或SEQ ID NO: 45或SEQ ID NO: 47；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 42或SEQ ID NO: 46，或SEQ ID NO: 48；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 43或SEQ ID NO: 49；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 54或SEQ ID NO: 57或SEQ ID NO: 60；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 55或SEQ ID NO: 58；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 56或SEQ ID NO: 59；

b) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 7或SEQ ID NO: 8或SEQ ID NO: 10；重鏈可變區CDR2，

其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 6或SEQ ID NO: 12；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 20或SEQ ID NO: 23；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 18或SEQ ID NO: 21；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 19或SEQ ID NO: 22；

c) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 7或SEQ ID NO: 8或SEQ ID NO: 10；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 5或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 11；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 6或SEQ ID NO: 12；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 20或SEQ ID NO: 23；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 18或SEQ ID NO: 21；以及輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 78或SEQ ID NO: 79；或

d) 重鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 84或SEQ ID NO: 87或SEQ ID NO: 88或SEQ ID NO: 90；重鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 85或SEQ ID NO: 89或SEQ ID NO: 91；重鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 86或SEQ ID NO: 92；輕鏈可變區CDR1，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 97或SEQ ID NO: 100或SEQ ID NO: 103；輕鏈可變區CDR2，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 98或SEQ ID NO: 101；以及

輕鏈可變區CDR3，其包含以下，例如由以下組成：SEQ ID NO: 99或SEQ ID NO: 102。

【請求項43】

如請求項1至42中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含

a) 與SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 50具有至少95%序列同一性的VH多肽序列，和與SEQ ID NO: 24或SEQ ID NO: 61具有至少95%序列同一性的VL多肽序列；或

b) 與SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 93具有至少95%序列同一性的VH多肽序列，和與SEQ ID NO: 80或SEQ ID NO: 104具有至少95%序列同一性的VL多肽序列。

【請求項44】

如請求項1至43中任一項之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

a) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 7，例如由SEQ ID NO: 7組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 5，例如由SEQ ID NO: 5組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 6，例如由SEQ ID NO: 6組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 17，例如由SEQ ID NO: 17組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 18，例如由SEQ ID NO: 18組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 19，例如由SEQ ID NO: 19組成；

b) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 44，例如由SEQ ID NO: 44組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 42，例如由SEQ ID NO: 42

組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 43，例如由SEQ ID NO: 43組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 54，例如由SEQ ID NO: 54組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 55，例如由SEQ ID NO: 55組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 56，例如由SEQ ID NO: 56組成；

c) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 7，例如由SEQ ID NO: 7組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 5，例如由SEQ ID NO: 5組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 6，例如由SEQ ID NO: 6組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 17，例如由SEQ ID NO: 17組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 18，例如由SEQ ID NO: 18組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 78，例如由SEQ ID NO: 78組成；或

d) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 87，例如由SEQ ID NO: 87組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 85，例如由SEQ ID NO: 85組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 86，例如由SEQ ID NO: 86組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 97，例如由SEQ ID NO: 97組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 98，例如由SEQ ID NO: 98組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 99，例如由SEQ ID NO: 99組成。

【請求項45】

如請求項1至43中任一項之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

a) SEQ ID NO: 8的重鏈可變區CDR1；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ

ID NO: 9，例如由SEQ ID NO: 9組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 6，例如由SEQ ID NO: 6組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 20，例如由SEQ ID NO: 20組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 21，例如由SEQ ID NO: 21組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 22，例如由SEQ ID NO: 22組成；

b) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 45，例如由SEQ ID NO: 45組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 46，例如由SEQ ID NO: 46組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 43，例如由SEQ ID NO: 43組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 57，例如由SEQ ID NO: 57組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 58，例如由SEQ ID NO: 58組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 59，例如由SEQ ID NO: 59組成；

c) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 8，例如由SEQ ID NO: 8組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 9，例如由SEQ ID NO: 9組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 6，例如由SEQ ID NO: 6組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 20，例如由SEQ ID NO: 20組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 21，例如由SEQ ID NO: 21組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 79，例如由SEQ ID NO: 79組成；或

d) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 88，例如由SEQ ID NO: 88組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 89，例如由SEQ ID NO: 89組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 86，例如由SEQ ID NO: 86組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 100，例如由SEQ ID NO: 100

組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 101，例如由SEQ ID NO: 101組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 102，例如由SEQ ID NO: 102組成。

【請求項46】

如請求項1至43中任一項之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

a) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 10，例如由SEQ ID NO: 10組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 11，例如由SEQ ID NO: 11組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 12，例如由SEQ ID NO: 12組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 23，例如由SEQ ID NO: 23組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 21，例如由SEQ ID NO: 21組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 19，例如由SEQ ID NO: 19組成；

b) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 47，例如由SEQ ID NO: 47組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 48，例如由SEQ ID NO: 48組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 49，例如由SEQ ID NO: 49組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 60，例如由SEQ ID NO: 60組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 58，例如由SEQ ID NO: 58組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 56，例如由SEQ ID NO: 56組成；

c) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 10，例如由SEQ ID NO: 10組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 11，例如由SEQ ID NO: 11組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 12，例如由SEQ ID NO: 12

組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 23，例如由SEQ ID NO: 23組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 21，例如由SEQ ID NO: 21組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 78，例如由SEQ ID NO: 78組成；或

d) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 90，例如由SEQ ID NO: 90組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 91，例如由SEQ ID NO: 91組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 92，例如由SEQ ID NO: 92組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 103，例如由SEQ ID NO: 103組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 101，例如由SEQ ID NO: 101組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 99，例如由SEQ ID NO: 99組成。

【請求項47】

如請求項1至43中任一項之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

a) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 4，例如由SEQ ID NO: 4組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 5，例如由SEQ ID NO: 5組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 6，例如由SEQ ID NO: 6組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 17，例如由SEQ ID NO: 17組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 18，例如由SEQ ID NO: 18組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 19，例如由SEQ ID NO: 19組成；

b) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 41，例如由SEQ ID NO: 41組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 42

組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 43，例如由SEQ ID NO: 43組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 54，例如由SEQ ID NO: 54組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 55，例如由SEQ ID NO: 55組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 56，例如由SEQ ID NO: 56組成；

c) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 4，例如由SEQ ID NO: 4組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 5，例如由SEQ ID NO: 5組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 6，例如由SEQ ID NO: 6組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 17，例如由SEQ ID NO: 17組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 18，例如由SEQ ID NO: 18組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 78，例如由SEQ ID NO: 78組成；或

d) 重鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 84，例如由SEQ ID NO: 84組成；重鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 85，例如由SEQ ID NO: 85組成；重鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 86，例如由SEQ ID NO: 86組成；輕鏈可變區CDR1，其包含SEQ ID NO: 97，例如由SEQ ID NO: 97組成；輕鏈可變區CDR2，其包含SEQ ID NO: 98，例如由SEQ ID NO: 98組成；以及輕鏈可變區CDR3，其包含SEQ ID NO: 99，例如由SEQ ID NO: 99組成。

【請求項48】

如請求項1至47中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：

a) VH和VL，該VH包含SEQ ID NO: 13，例如由其組成，該VL包含

SEQ ID NO: 24，例如由其組成；或

b) VH和VL，該VH包含SEQ ID NO: 50，例如由其組成，該VL包含SEQ ID NO: 61，例如由其組成；或

c) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 13具有至少95%同源性的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 24具有至少95%同源性的序列，例如由其組成；或

d) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 50具有至少95%同源性的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 61具有至少95%同源性的序列，例如由其組成；或

e) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 13差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 24差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成；或

f) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 50差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 61差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成；

g) VH和VL，該VH包含SEQ ID NO: 13，例如由其組成，該VL包含SEQ ID NO: 80，例如由其組成；或

h) VH和VL，該VH包含SEQ ID NO: 93，例如由其組成，該VL包含SEQ ID NO: 104，例如由其組成；或

i) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 13具有至少95%同源性的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 80具有至少95%同源性的序列，例如由其組成；或

j) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 93具有至少95%同源性的序

列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 104具有至少95%同源性的序列，例如由其組成；或

k) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 13差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 80差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成；或

l) VH和VL，該VH包含與SEQ ID NO: 93差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成，該VL包含與SEQ ID NO: 104差異至少1、2、3、4、5、6個胺基酸的序列，例如由其組成。

【請求項49】

如請求項1至48中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：

a) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 37、或SEQ ID NO: 39，例如由其組成，該輕鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 26，例如由其組成；

b) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 74、或SEQ ID NO: 76，例如由其組成，該輕鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 63，例如由其組成；

c) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 37或SEQ ID NO: 39具有至少95%序列同一性，該輕鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 26具有至少95%序列同一性；

d) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 74或SEQ ID NO: 76具有至少95%序列同一性，該輕鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 63具有至少95%序列同一性；

e) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 15，例如由其組成，該輕鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 82，例如由其組成；

f) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 95，例如由其組成，該輕鏈胺基酸序列包含SEQ ID NO: 106，例如由其組成；

g) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 15具有至少95%序列同一性，該輕鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 82具有至少95%序列同一性；或

h) 重鏈胺基酸序列和輕鏈胺基酸序列，該重鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 95具有至少95%序列同一性，該輕鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 106具有至少95%序列同一性。

【請求項50】

一種抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段與骨髓細胞上表現的人觸發受體2(hTREM2)的免疫球蛋白超家族(IgSF)結構域結合，該抗體或其抗原結合片段包含：

a) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 15，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 26，例如由其組成；

b) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 29，例如由其

組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 26，例如由其組成；

c) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 33，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 26，例如由其組成；

d) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 35，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 26，例如由其組成；

e) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 37，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 26，例如由其組成；

f) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 39，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 26，例如由其組成；

g) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 52，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 63，例如由其組成；

h) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 66，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 63，例如由其組成；

i) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 70，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 63，例如由其組成；

j) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 72，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 63，例如由其組成；

k) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 74，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 63，例如由其組成；

l) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 76，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 63，例如由其組成；

m) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 15，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 82，例如由其組成；或

n) 重鏈序列和輕鏈序列，該重鏈序列包含SEQ ID NO: 95，例如由其組成，該輕鏈序列包含SEQ ID NO: 106，例如由其組成。

【請求項51】

一種抗體或其抗原結合片段，其與如請求項1至50中任一項之任何抗體或其抗原結合片段競爭結合hTREM2蛋白。

【請求項52】

一種抗體或其抗原結合片段，其與如請求項1至51中任一項之任何抗體或其抗原結合片段的表位重疊的表位。

【請求項53】

如請求項1至52中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同種型。

【請求項54】

如請求項1至52中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含Fc區，該Fc區選自IgG1 Fc區、IgG2 Fc區、IgG4 Fc區、或IgG2/IgG4雜合Fc區。

【請求項55】

如請求項1至49或51至54中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含修飾的Fc區，該修飾的Fc區相比於親本抗體具有降低的抗體依賴性細胞毒性(ADCC)或補體依賴性細胞毒性(CDC)活性。

【請求項56】

如請求項1至55中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段係人或人源化抗體或其片段。

【請求項57】

如請求項1至56中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與另一個部分軛合。

【請求項58】

如請求項1至57中任一項之抗體，其中所述抗體屬於IgG1同種型。

【請求項59】

如請求項1至56中任一項之抗體，其中所述抗體係人或人源化抗體。

【請求項60】

如請求項1至57中任一項之抗體的抗原結合片段，其中該抗原結合片段選自Fab、F(ab')2、Fv片段、scFv、微抗體或雙抗體。

【請求項61】

如請求項1至60中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中所述抗體或其抗原結合片段係單株的。

【請求項62】

如請求項1至61中任一項之抗體，其中該抗體係多特異性抗體，例如雙特異性抗體。

【請求項63】

如請求項62之抗體，其中該多特異性抗體，例如雙特異性抗體，特異性結合hTREM2和人DAP12(12 kDa的DNAX活化蛋白)。

【請求項64】

如請求項1至63中任一項之抗體，其中所述抗體藉由該Fc區的突變而具有改變的效應子功能。

【請求項65】

一種核酸分子或核酸分子組，該核酸分子或核酸分子組編碼如請求項

1至64中任一項之抗體或其抗原結合片段中的任一種。

【請求項66】

如請求項65之核酸分子，其中該核酸係DNA。

【請求項67】

如請求項65或66之核酸分子或核酸分子組，該核酸分子或核酸分子組包含SEQ ID NO: 14、28、51、65、16、30、34、36、38、40、53、67、71、73、75、77、25、31、62、68、27、32、64、69、13、93、15、95、80、104、82或106中的一個或多個。

【請求項68】

一種載體，該載體包含如請求項65至67中任一項之核酸分子。

【請求項69】

如請求項68之載體，其中該載體係選殖載體或表現載體。

【請求項70】

如請求項68或69之載體，其中所述載體包含SEQ ID NO: 14、28、51、65、16、30、34、36、38、40、53、67、71、73、75、77、25、31、62、68、27、32、64、69、13、93、15、95、80、104、82或106中的一個或多個，或其編碼至少一個CDR區的片段。

【請求項71】

如請求項68至70中任一項之載體，其中該載體能夠在原核細胞和/或真核細胞中複製。

【請求項72】

如請求項68至71中任一項之載體，其中該載體選自DNA載體、RNA載體、質體、黏粒或病毒載體。

【請求項73】

如請求項68至72中任一項之載體，其還包含可檢測的和/或可選擇的標誌物。

【請求項74】

一組表現載體，其具有兩個如請求項68至73中任一項之表現載體，一個載體編碼 a) 包含SEQ ID NO: 13或50的至少一個VH結構域，及另一個載體編碼包含SEQ ID NO: 24或61的至少一個VL結構域；或

b) 包含SEQ ID NO: 13或93的至少一個VH結構域，及另一個載體編碼包含SEQ ID NO: 80或104的至少一個VL結構域。

【請求項75】

如請求項68至74中任一項之載體，其中該載體係病毒載體，視需要其中該病毒載體係慢病毒、腺病毒、腺相關病毒(AAV)、單純皰疹病毒(HSV)、細小病毒、逆轉錄酶病毒、痘瘡病毒、辛德畢斯病毒(Sinbis virus)、流感病毒、里奧病毒(reovirus)、新城雞瘟病毒(Newcastle disease virus)(NDV)、麻疹病毒、水皰性口炎病毒(VSV)、脊髓灰質炎病毒、痘病毒、塞內卡谷病毒(Seneca Valley virus)、柯薩奇病毒(coxsackievirus)、腸病毒、黏液瘤病毒或馬拉巴病毒(maraba virus)。

【請求項76】

如請求項75之載體，其中該載體係AAV載體。

【請求項77】

如請求項68至76中任一項之載體，其中該載體還包含啟動子。

【請求項78】

如請求項68至77中任一項之載體，其中該載體包含AAV9衣殼和AAV

載體質體，該AAV載體質體包含 (1) 衍生自AAV2的ITR，(2) CMV增強子(例如，包含SEQ ID NO: 134)，(3) CBA啟動子(例如，包含SEQ ID NO: 135)，(4) SV40內含子(例如，包含SEQ ID NO: 137)，(5) 編碼hTREM2抗體或其抗原結合片段(例如，如本文所述)的多核苷酸，和 (6) BGH 聚A訊號(例如，包含SEQ ID NO: 138)。

【請求項79】

如請求項78之載體，其中元件 (2) 至 (6) 從5'至3'佈置在該AAV載體質體上。

【請求項80】

如請求項78或79之載體，其中元件 (2) 至 (6) 中的任一個佈置在該AAV載體質體上的5’ ITR和3 'ITR之間。

【請求項81】

如請求項78至80中任一項之載體，其中該AAV載體係scAAV載體。

【請求項82】

如請求項68至75中任一項之載體，其中該載體係慢病毒載體。

【請求項83】

一種細胞，其包含如請求項64至66中任一項之核酸分子或核酸分子組或如請求項68至82中任一項之載體。

【請求項84】

一種產生hTREM2抗體或其抗原結合片段之方法，該方法包括：(i) 培養如申請專利範圍83所述之細胞，和 (ii) 從培養物中分離該hTREM2抗體或其抗原結合片段。

【請求項85】

一種藥物組成物，其包含如請求項1至64中任一項之抗體或其抗原結合片段、如請求項65至67中任一項之核酸分子或核酸分子組、如請求項68至82中任一項之載體或如請求項83之細胞，和藥學上可接受的載體。

【請求項86】

如請求項1至64中任一項之抗體或其抗原結合片段、如請求項65至67中任一項之核酸分子或核酸分子組、如請求項68至82中任一項之載體、如請求項83之細胞或如請求項85之藥物組成物，其用作藥物。

【請求項87】

如請求項1至64中任一項之抗體或其抗原結合片段、如請求項65至67中任一項之核酸分子或核酸分子組、如請求項68至82中任一項之載體、如請求項83之細胞或如請求項85之藥物組成物，其用於治療與hTREM2功能喪失相關的疾病。

【請求項88】

一種如請求項1至64中任一項之抗體或其抗原結合片段、如請求項65至67中任一項之核酸分子或核酸分子組、如請求項68至82中任一項之載體、如請求項83之細胞或如請求項85之藥物組成物的用途，其係用於製備供治療與hTREM2功能喪失相關的疾病之藥物。

【請求項89】

如請求項87之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如請求項88之用途，其中該疾病係神經炎症或神經退行性疾病，視需要，其中該神經炎症或神經退行性疾病係阿茲海默氏症、額顳葉失智、帕金森氏症、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、那須-哈柯拉病(Nasu-Hakola disease)、多發性硬化、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症

(ALS)、抗NMDA受體腦炎、自閉症、腦狼瘡(NP-SLE)、化療引起的周圍神經病變(CIPN)、帶狀皰疹後神經痛、慢性發炎去髓鞘型多發性神經病變(CIDP)、癲癇、格林-巴厘綜合症(Guillain-Barré Syndrom)(GBS)、包涵體肌炎、胞溶體貯積症、尼曼-皮克病(Niemann-Pick C)、黏多糖病II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病、重症肌無力、神經白塞病(Neuro-Behcet's Disease)、視神經脊髓炎(NMO)、視神經炎、多肌炎、皮肌炎、拉斯穆森腦炎(Rasmussen's encephalitis)、雷特氏症候群(Rett's Syndrome)、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷、脊椎損傷、病毒性腦炎或細菌性腦膜炎。

【請求項90】

如請求項87之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如請求項88之用途，其中該疾病係阿茲海默氏症。

【請求項91】

如請求項87之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如請求項88之用途，其中該疾病係帕金森氏症。

【請求項92】

如請求項87之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如請求項88之用途，其中該疾病係多發性硬化。

【請求項93】

如請求項87之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如請求項88之用途，其中該疾病係額顳葉失智。

【請求項94】

如請求項87之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如請求項88之用途，其中該抗體或其抗原結合片段、該核酸分子或核酸分子組、該載體、該細胞或該藥物組成物藉由口服、靜脈內、顱內、鞘內、皮下或鼻內途徑投與受試者。

【請求項95】

如請求項87之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如請求項88之用途，其中將該抗體或其抗原結合片段、該核酸分子或核酸分子組、該載體、該細胞或該藥物組成物與至少一種另外的治療劑或治療程序組合投與受試者。

【請求項96】

如請求項87之抗體或其抗原結合片段、核酸分子或核酸分子組、載體、細胞或藥物組成物，或如請求項88之用途，其中該抗體或其抗原結合片段、該核酸分子或核酸分子組、該載體、該細胞或該藥物組成物與至少一種另外的治療劑組合地投與受試者，其中所述治療劑包含以下一種或多種：BACE抑制劑、抗Tau抗體、Tau反義寡核苷酸、抗類澱粉β抗體、芬戈莫德(fingolimod)、BG12或富馬酸二甲酯、干擾素β或那他珠單抗(tysabri)。

【請求項97】

如請求項88之用途，其中該治療包括：

a) 測定從受試者獲得的樣本中的細胞表面hTREM2水平；

b) 選擇細胞表面hTREM2水平低於參考水平的受試者，其中該參考水平係從健康受試者獲得的樣本中的細胞表面hTREM2水平；以及

c) 向所選受試者投與治療有效量的如請求項1至64中任一項之抗體或其抗原結合片段、如請求項65至67中任一項之核酸分子或核酸分子組、如

請求項68至82中任一項之載體、如請求項83之細胞或如請求項85之藥物組成物。

【請求項98】

如請求項97之用途，其中該樣本包含腦脊液。

【請求項99】

如請求項97或98之用途，其中所述樣本中的細胞表面TREM2水平藉由選自以下的測定來確定：流動式細胞測量術、免疫組織化學、西方印漬術、免疫螢光測定、放射免疫測定法(RIA)、酶聯免疫吸附測定(ELISA)、均相時間分辨螢光(HTRF)或正電子發射斷層攝影術(PET)。

【請求項100】

一種如請求項1至64中任一項之抗體或其抗原結合片段、如請求項65至67中任一項之核酸分子或核酸分子組、如請求項68至82中任一項之載體、如請求項83之細胞或如請求項85之藥物組成物之用途，其係用於製造在受試者中穩定hTREM2蛋白的藥物。

【請求項101】

如請求項88和97至100中任一項之用途，其中該藥物用於與至少一種另外的治療劑或至少一種另外的治療程序組合使用。

【請求項102】

如請求項101之用途，其中所述另外的治療劑包含以下一種或多種：BACE抑制劑、抗Tau抗體、Tau反義寡核苷酸、抗類澱粉β抗體、芬戈莫德、BG12或富馬酸二甲酯、干擾素β或那他珠單抗。

【請求項103】

如請求項101項或102項所述之用途，其中該藥物與該另外的治療劑同

時、在該另外的治療劑之前或在該另外的治療劑之後投與。

【請求項104】

如請求項88和97至103中任一項之用途，其中該藥物之投與具有以下效果a-d中的一種或多種：

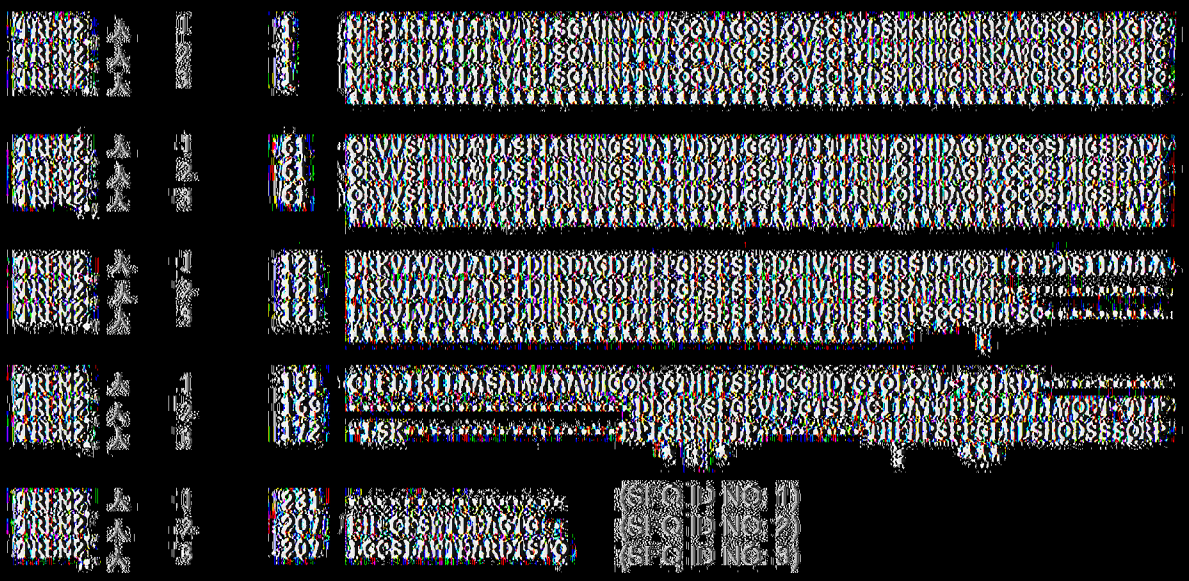
a) 增加TREM2依賴性細胞活性，如吞噬作用和趨化性，

b) 觸發TREM2依賴性基因轉錄，

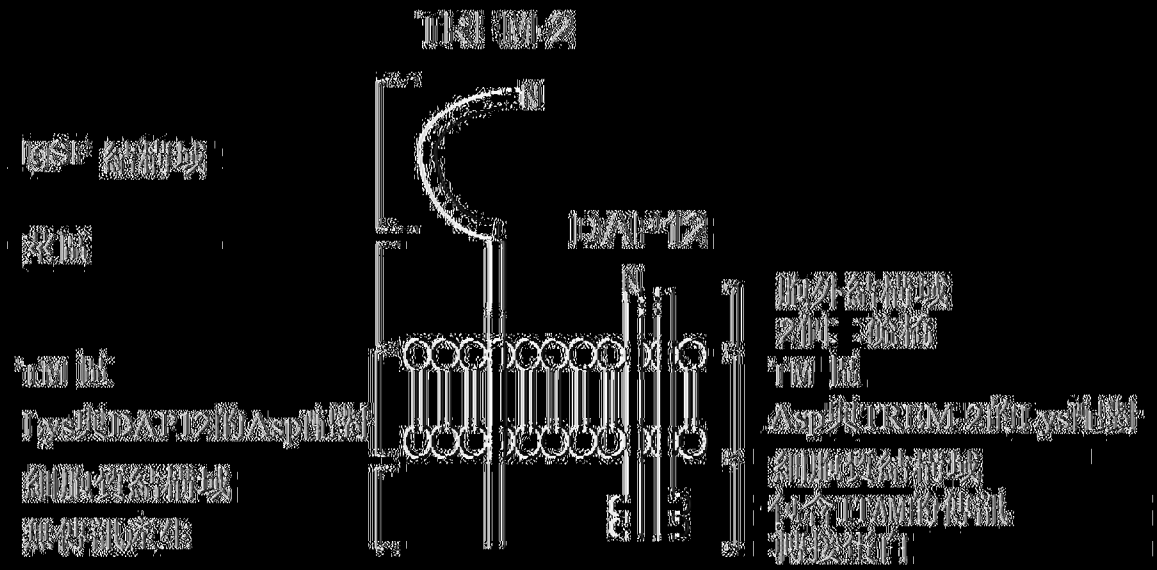
c) 增加經由Syk-磷酸化的TREM2依賴性細胞內傳訊途徑，

d) 增加細胞碎片的清除。

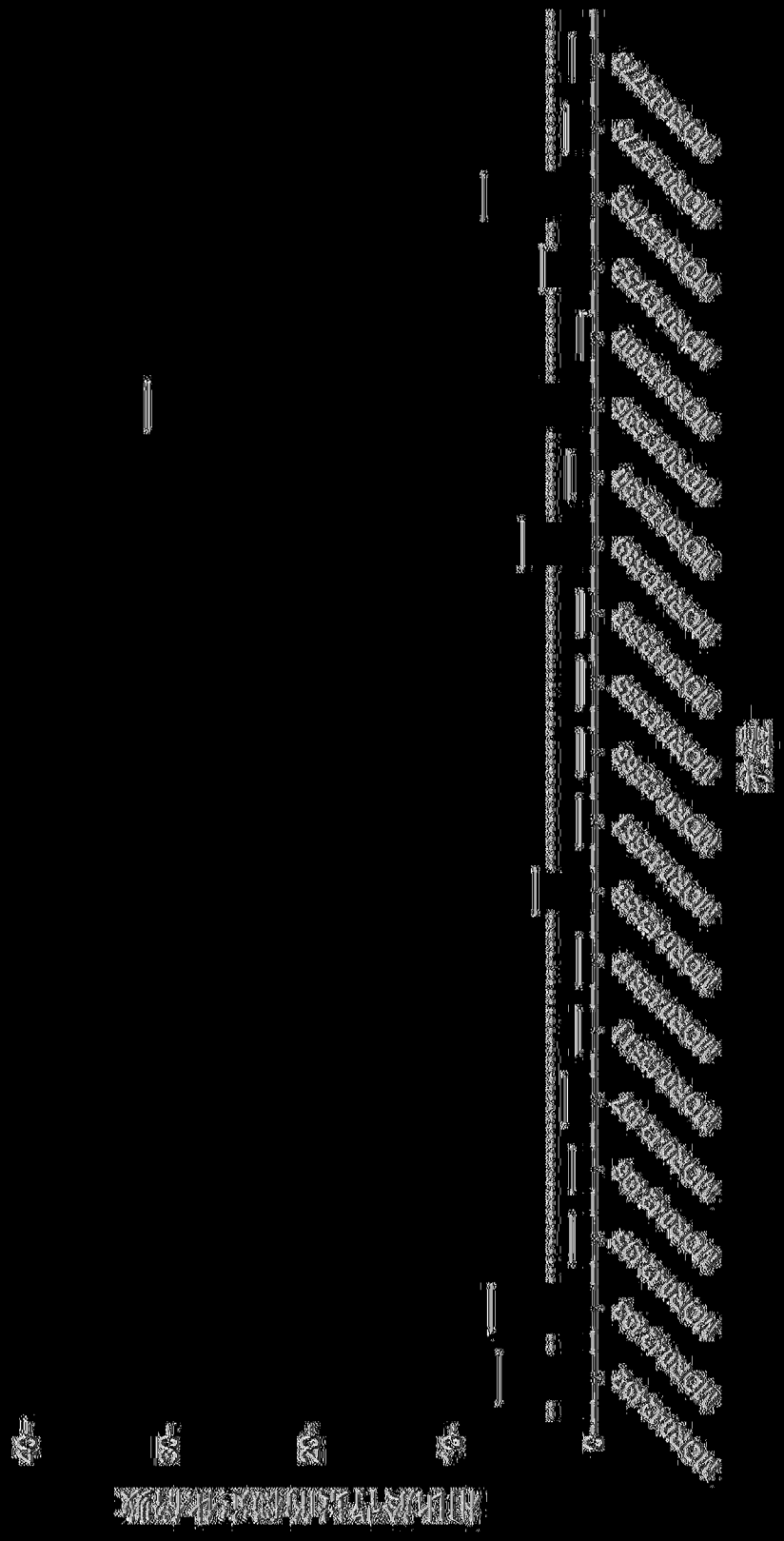
[發明圖式]



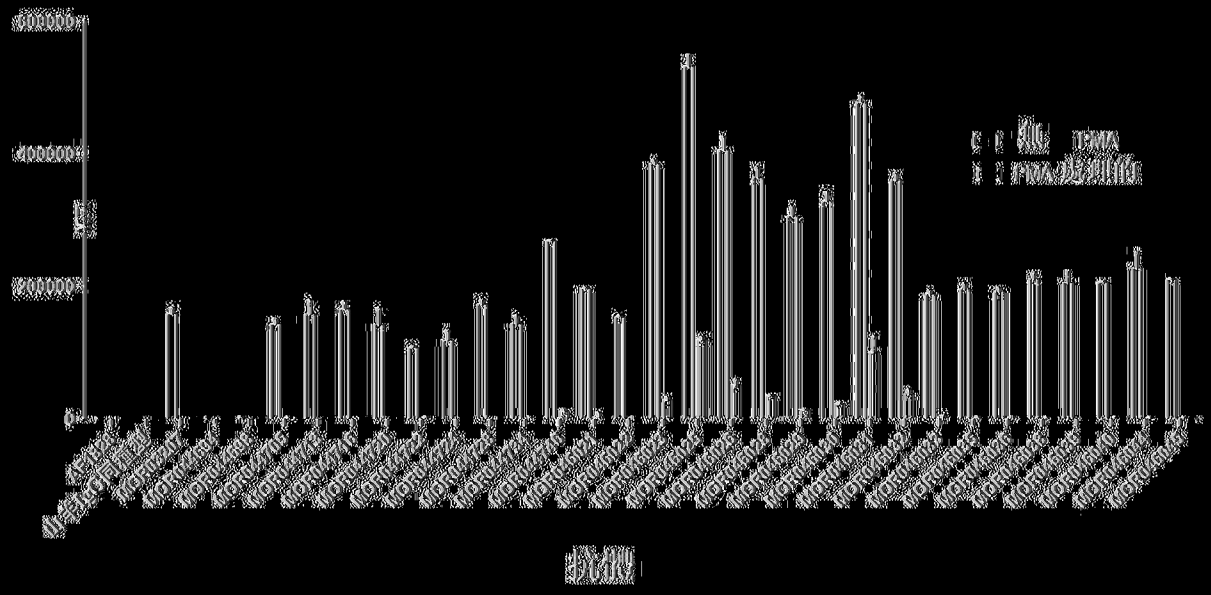
[圖 1A]



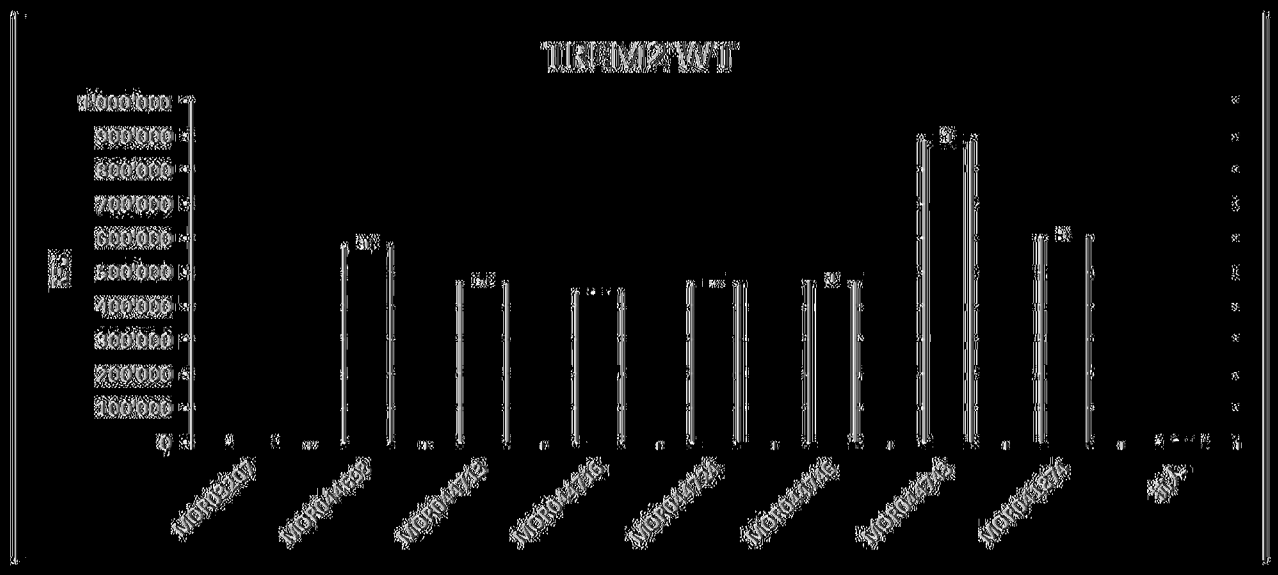
[圖 1B]



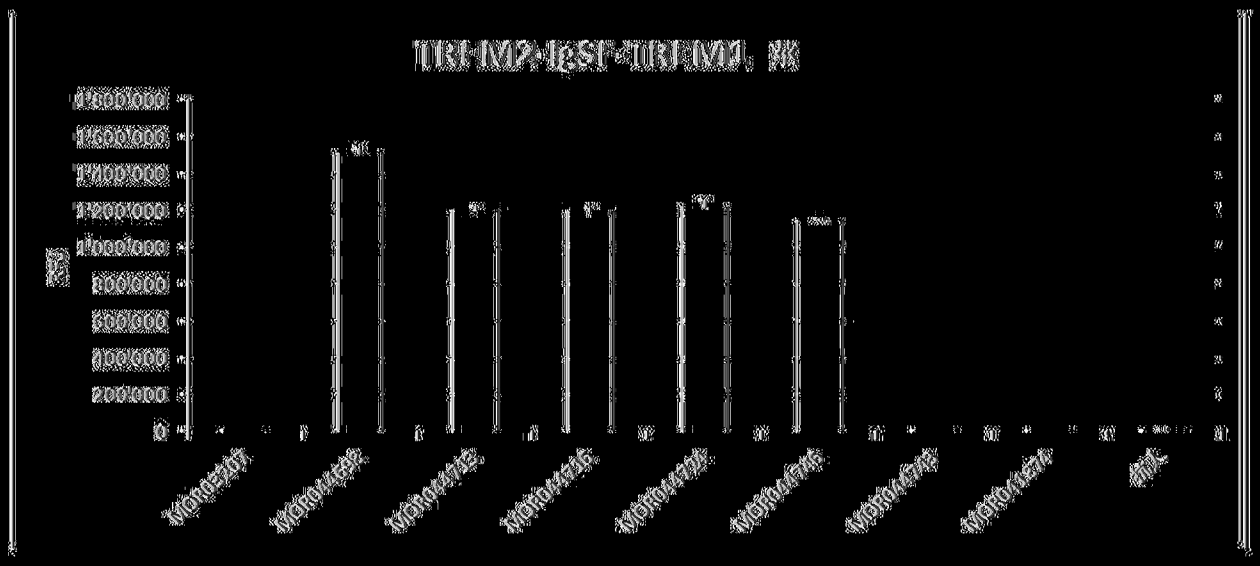
(圖 2)



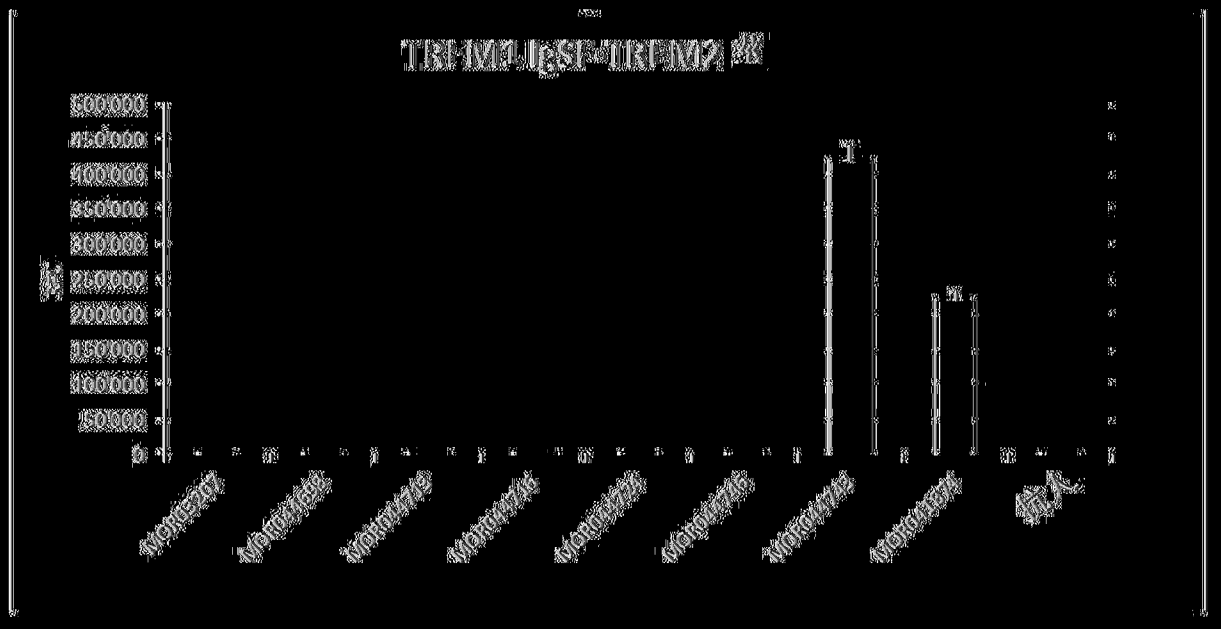
(圖 3)


1000000
900000
800000
700000
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0

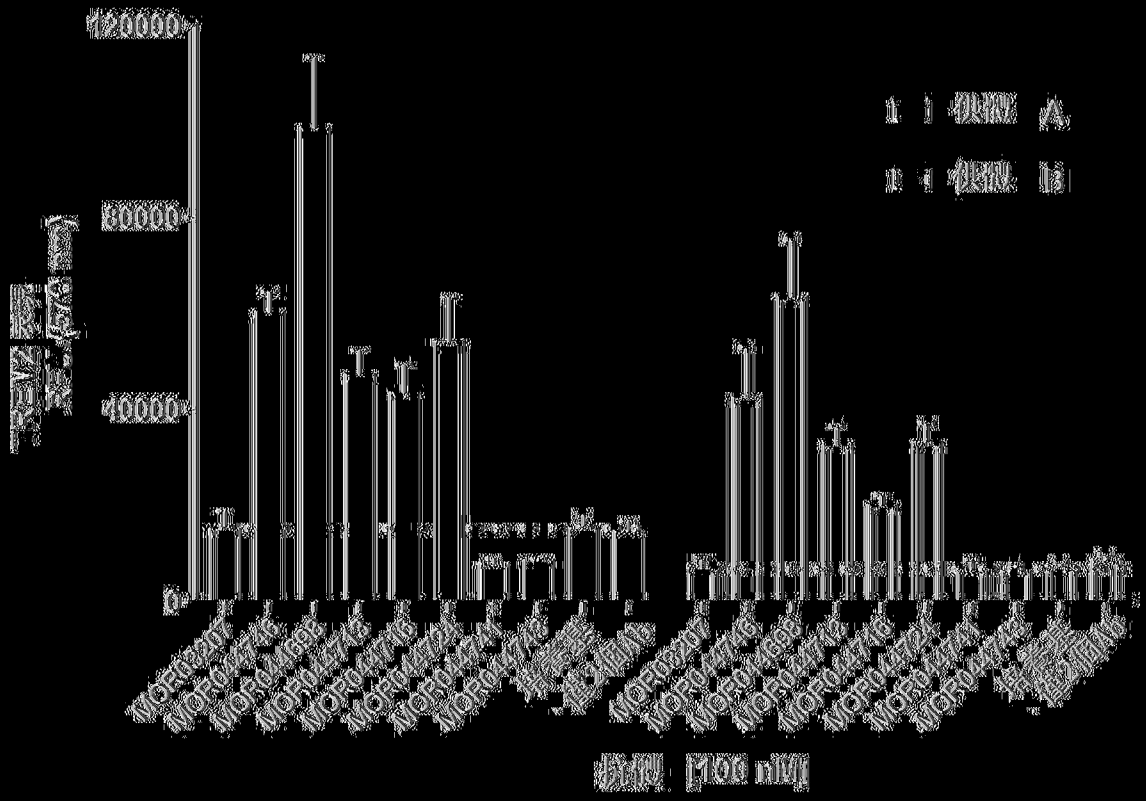
（圖 4A）

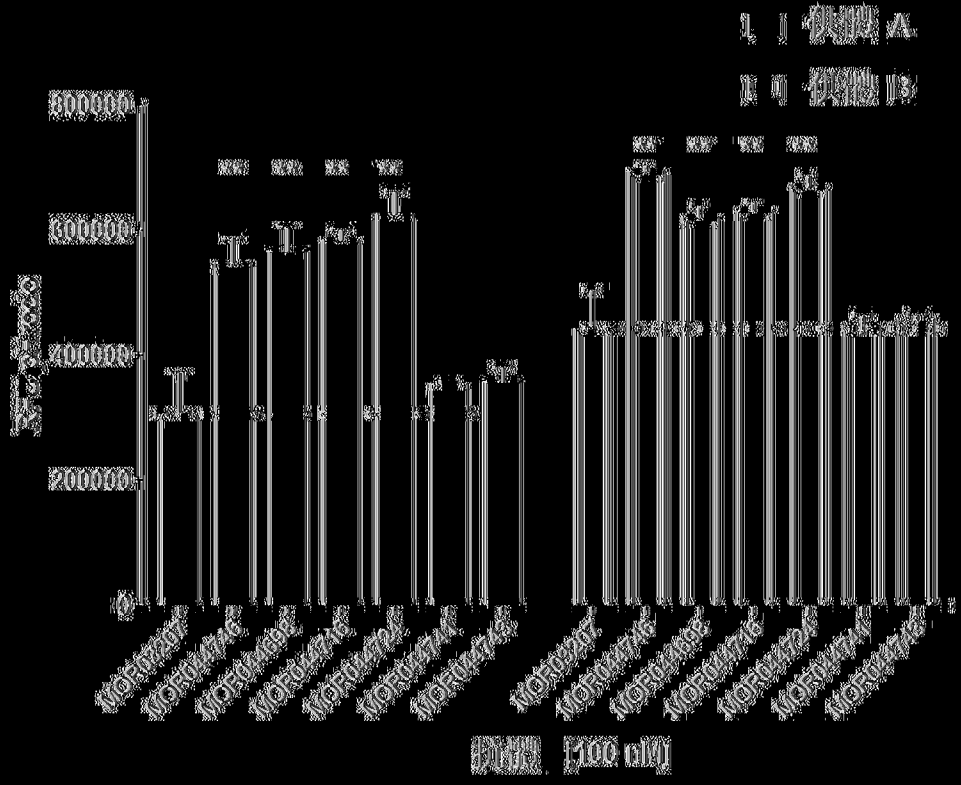

TRF-M2-IgSF-TRF-M1 蛋白
蛋白
1,800,000
1,600,000
1,400,000
1,200,000
1,000,000
800,000
600,000
400,000
200,000
0
M0R0E20T
M0R04468
M0R04412
M0R04416
M0R04418
M0R04476
M0R04478
M0R04474
對照

（圖 4B）

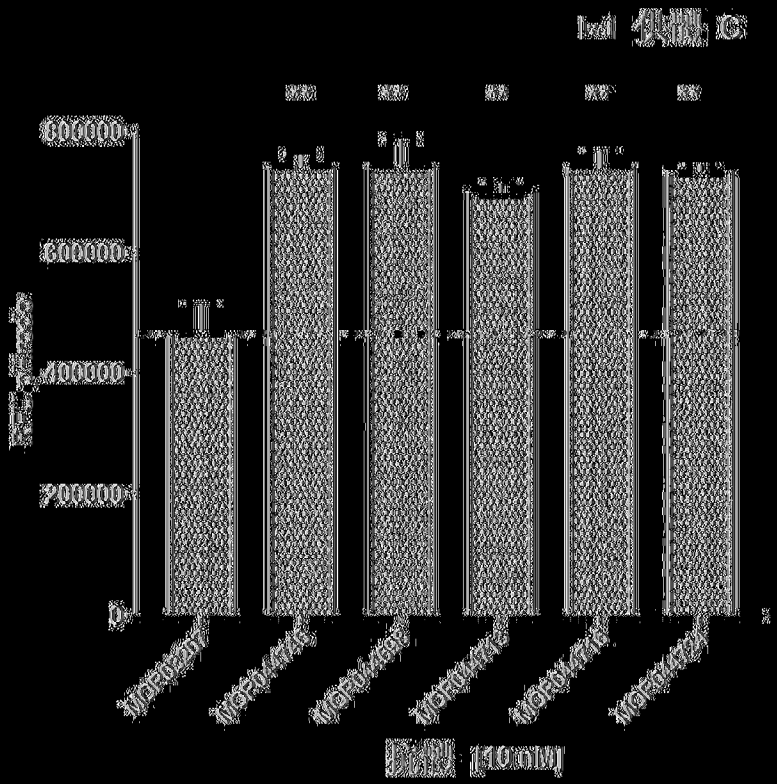

TRF-M1-IgSF-TRF-M2 蛋白
蛋白
500,000
450,000
400,000
350,000
300,000
250,000
200,000
150,000
100,000
50,000
0
M0R0E20T
M0R04468
M0R04412
M0R04416
M0R04418
M0R04476
M0R04478
M0R04474
對照

（圖 4C）


120000
80000
40000
0
比較例1
比較例2
比較例3
比較例4
比較例5
比較例6
比較例7
比較例8
比較例9
比較例10
比較例11
比較例12
比較例13
比較例14
比較例15
比較例16
比較例17
比較例18
比較例19
比較例20
比較例21
比較例22
比較例23
比較例24
比較例25
比較例26
比較例27
比較例28
比較例29
比較例30
比較例31
比較例32
比較例33
比較例34
比較例35
比較例36
比較例37
比較例38
比較例39
比較例40


800000
600000
400000
200000
0

(圖 6A)


800000
600000
400000
200000
0

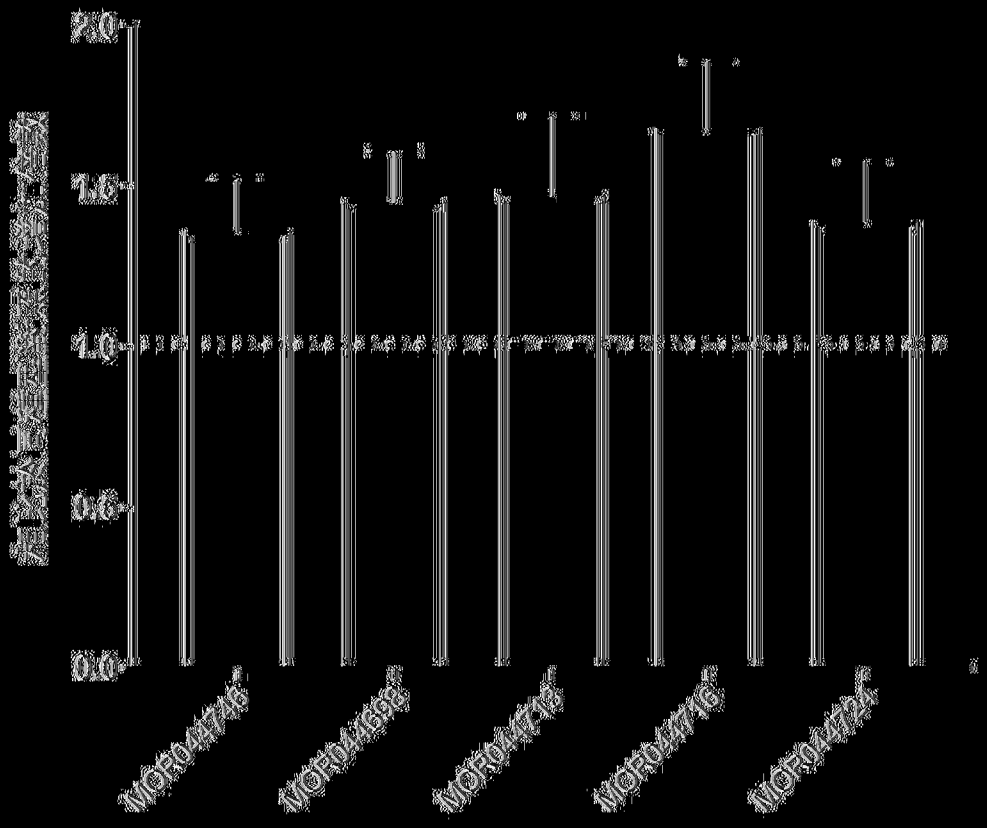
(圖 6B)

100 nM
10 nM
3 nM
1 nM
80000
60000
40000
20000
0

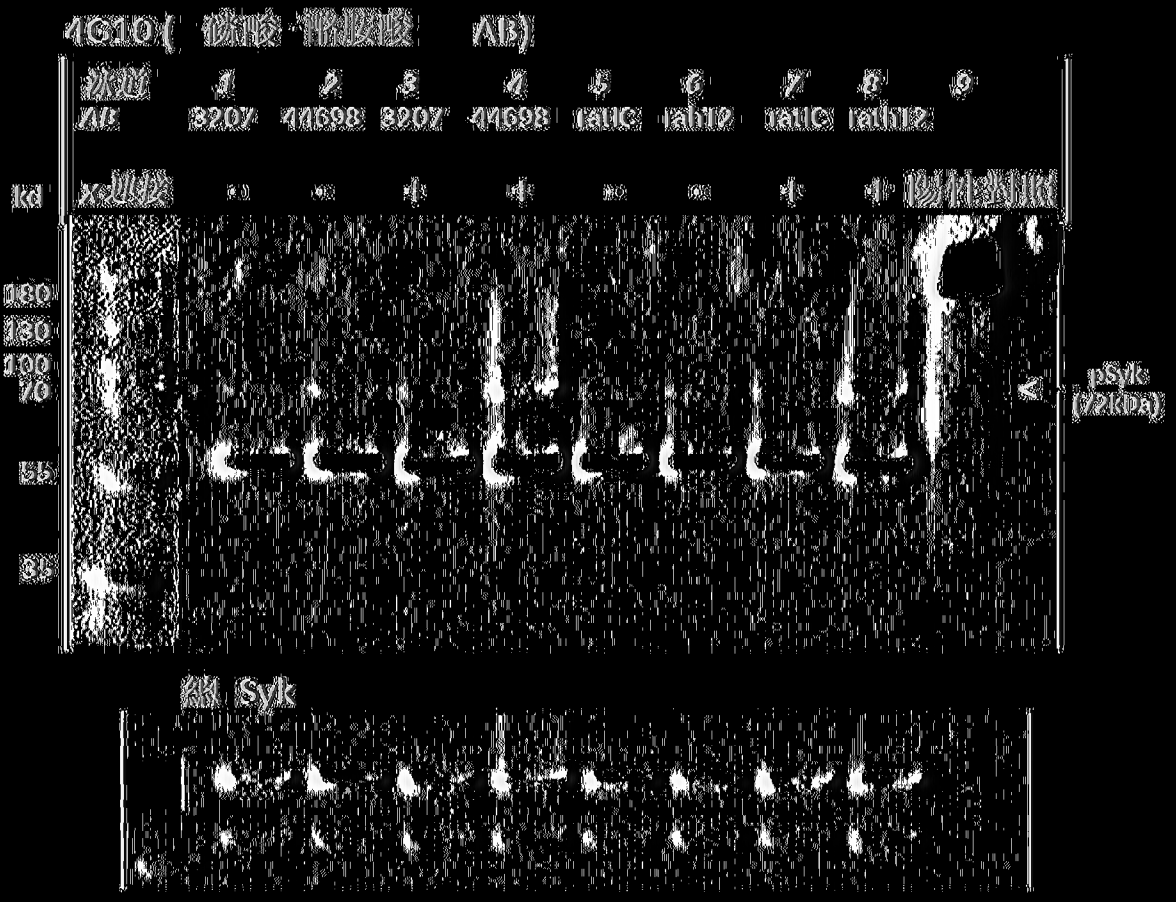
（圖 7A）

100 nM
10 nM
3 nM
1 nM
200000
150000
100000
50000
0

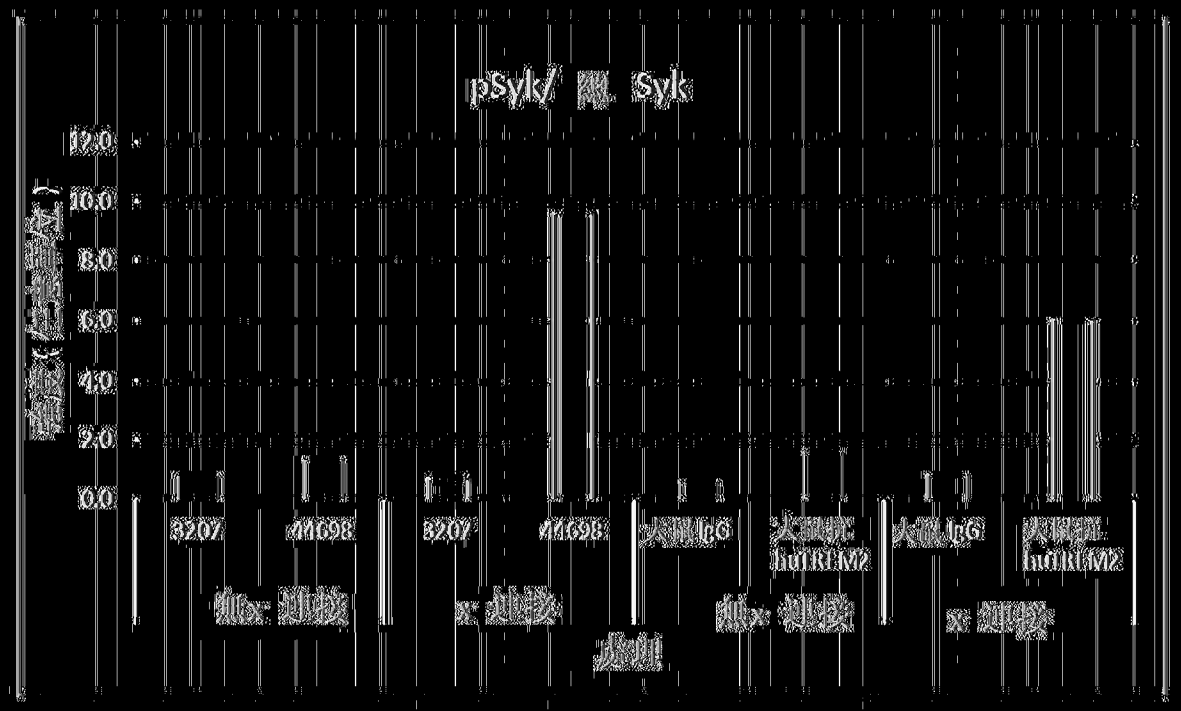
（圖 7B）


2.0
1.6
1.2
0.8
0.4
MOR044746
MOR044696
MOR044716
MOR044716
MOR044724

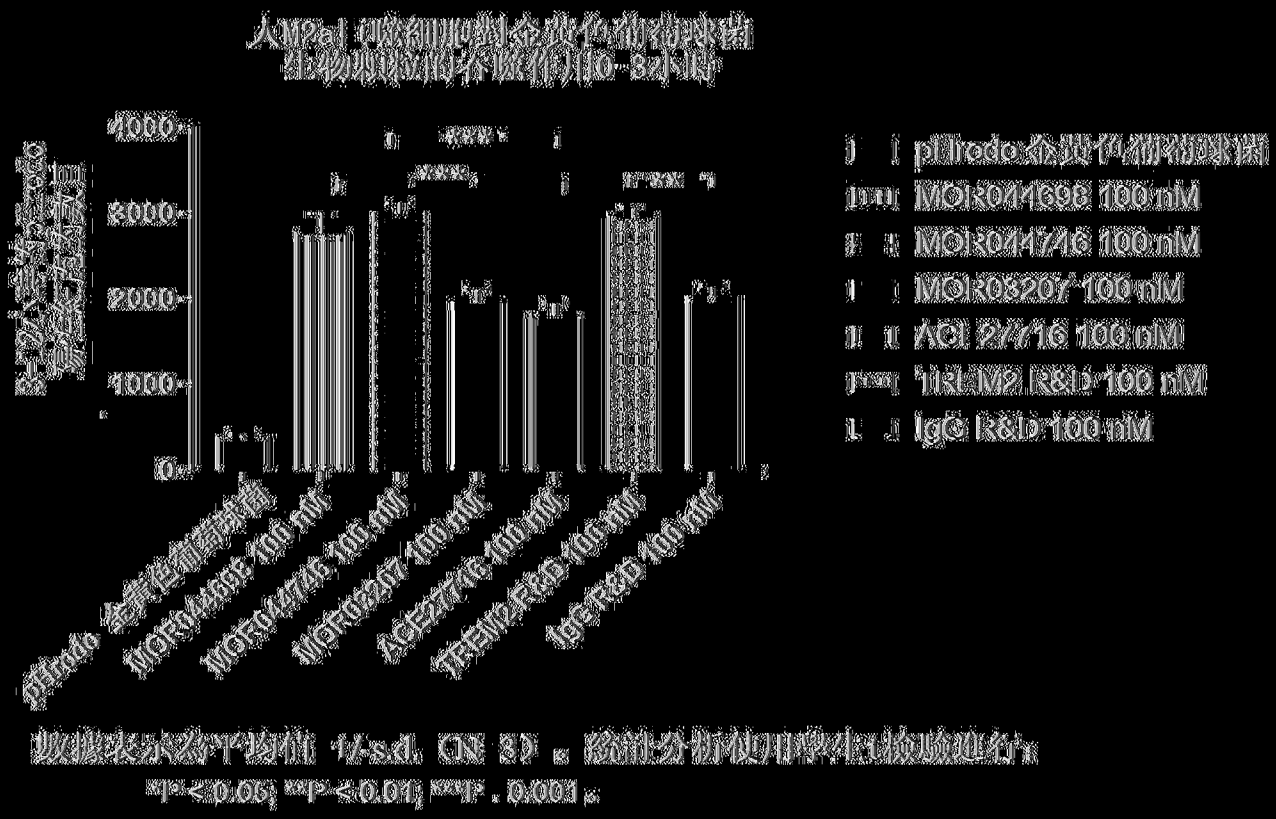
(圖 8)



（圖 9A）

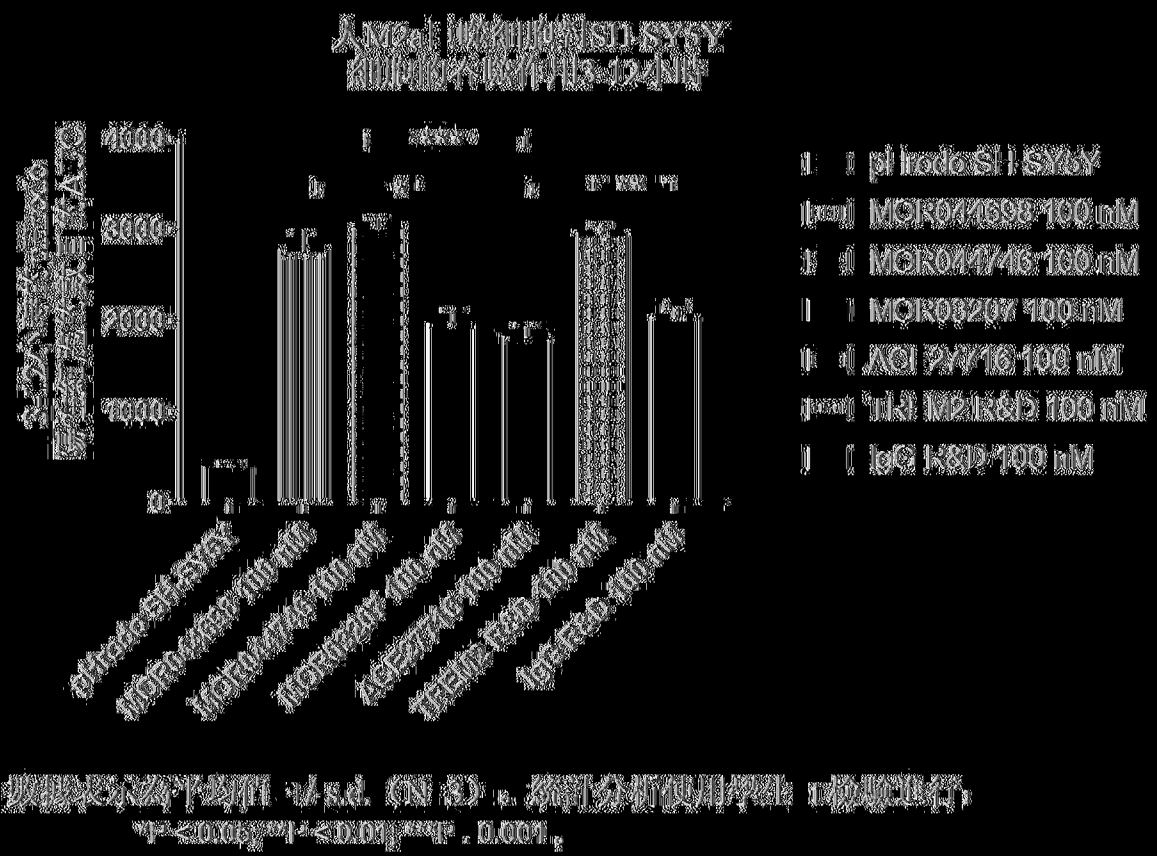

pSyk/ 總 Syk
12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
S207
AM698
S207
AM698
大鼠IgG
大鼠抗huIRTM2
大鼠IgG
大鼠抗huIRTM2
無x 刺激
x 刺激
無x 刺激
x 刺激
施用

（圖 9B）



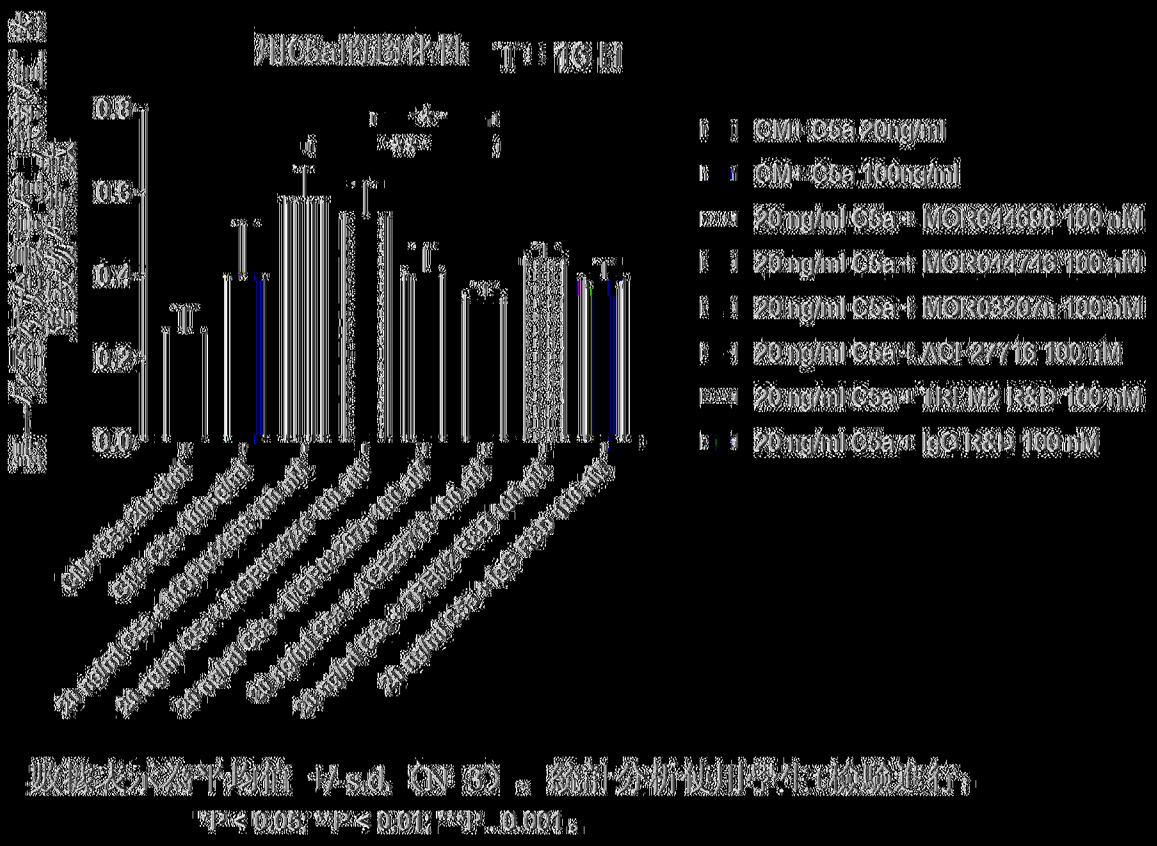
數據表示為平均值 ± s.d.（N = 3）。統計分析使用單因子ANOVA檢驗進行：
*p < 0.05；**p < 0.01；***p < 0.001。

（圖 10）

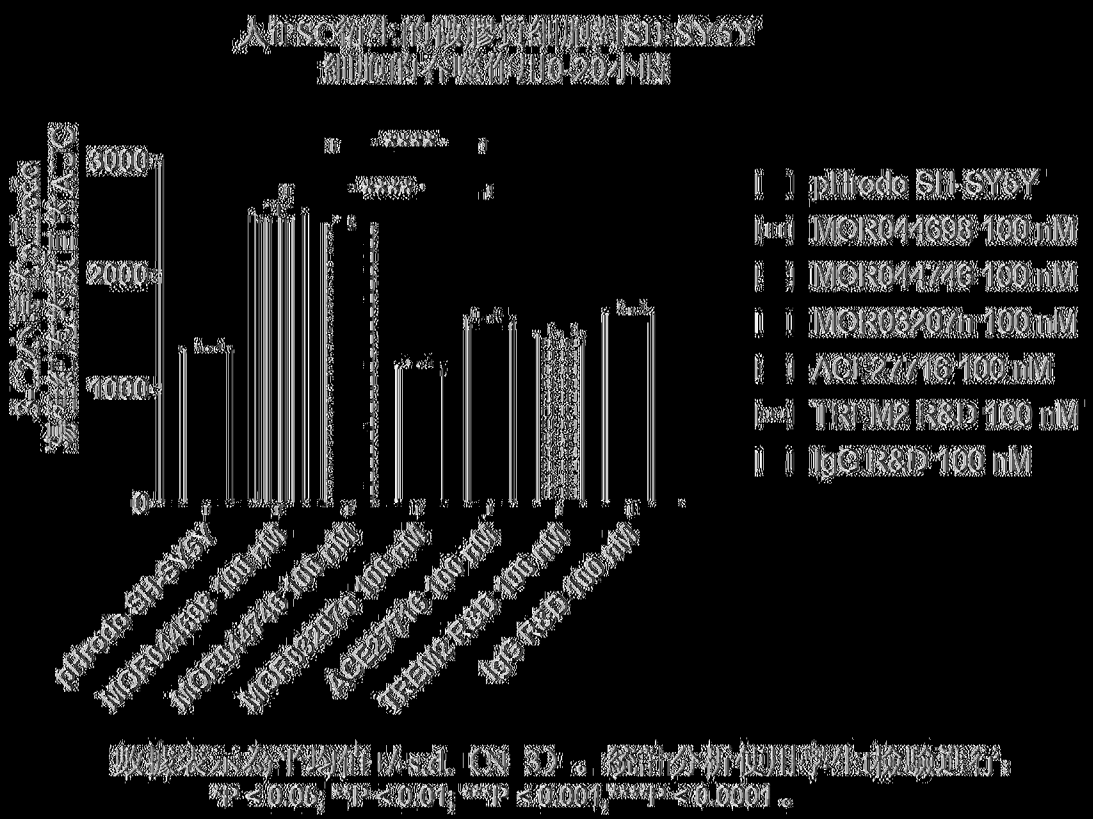


數據以平均值 ± s.d. (N = 3) 表示。統計分析使用學生 t 檢驗進行，
$^{*}p < 0.05$，$^{**}p < 0.01$，$^{***}p < 0.001$。

(圖 11)

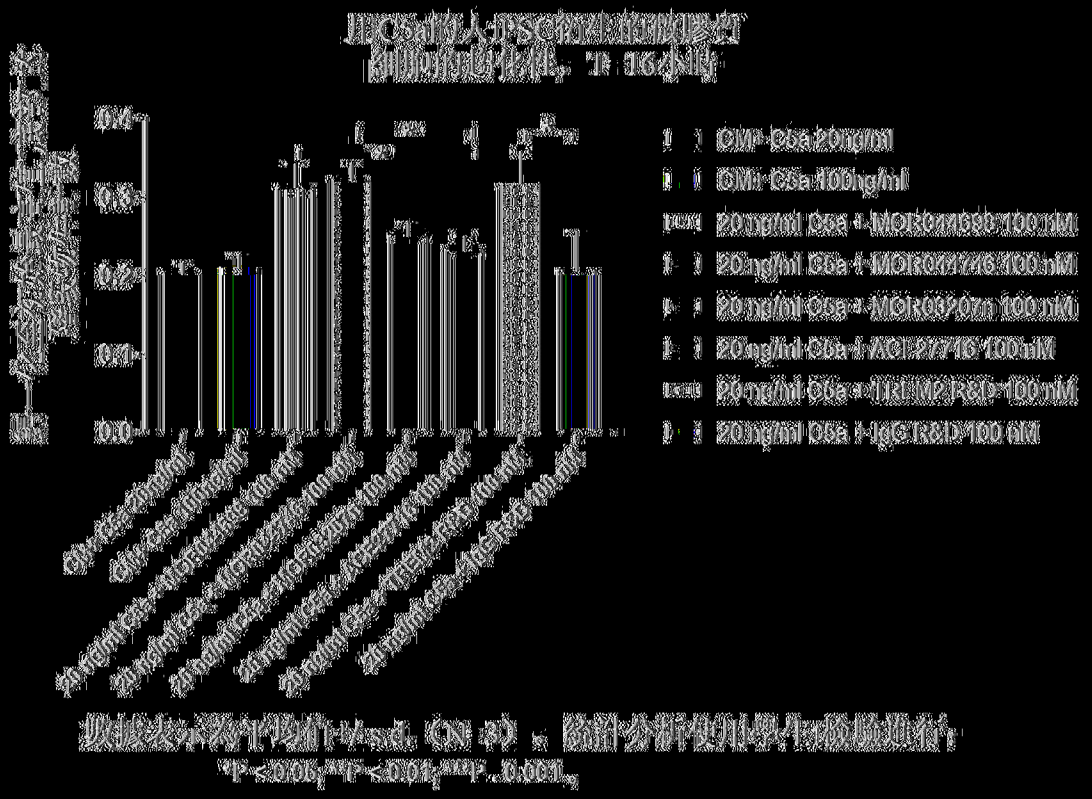

M1Ob細胞遷移率（TIRF）
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
OM+C5a 20ng/ml
OM+C5a 100ng/ml
20 ng/ml C5a + MOR047680 100 nM
20 ng/ml C5a + MOR044716 100 nM
20 ng/ml C5a + MOR03207n 100 nM
20 ng/ml C5a + ADI-27716 100 nM
20 ng/ml C5a + IKT M2 R&D 100 nM
20 ng/ml C5a + gO138I5 100 nM
數據表示為平均值 +/- s.d. (N = 3)。統計分析使用學生t檢驗進行。
*P < 0.05；**P < 0.01；***P < 0.001。

（圖 12）

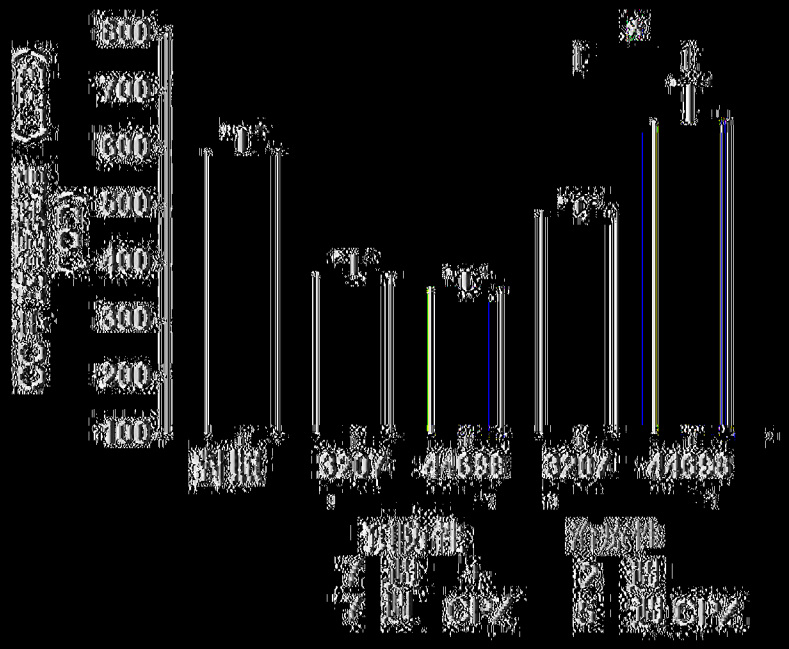


數據表示為平均值 ± SD。統計分析使用單因子 ANOVA 與 Tukey 事後檢定：
*P < 0.05；**P < 0.01；***P < 0.001；****P < 0.0001。

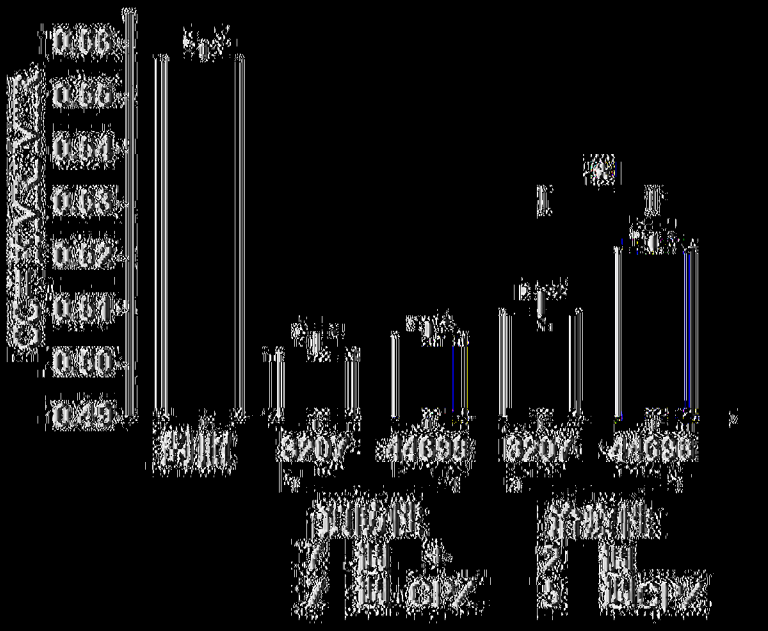
（圖13）


0.4
0.8
0.2
0.0
20 ng/ml OSa
20 ng/ml OSa + MOR03207
20 ng/ml OSa + MOR03207
20 ng/ml OSa + MOR03207
20 ng/ml OSa + MOR03207
20 ng/ml OSa + IgG
20 ng/ml OSa + MOR03207
20 ng/ml OSa + MOR03207
20 ng/ml OSa + IgG
P < 0.05
P < 0.01
P < 0.001

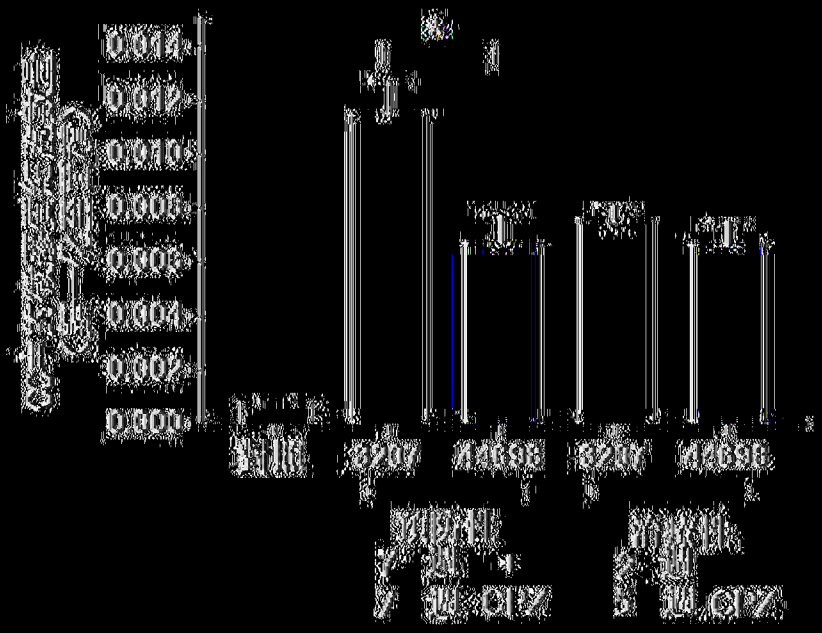
（圖14）


800
700
600
500
400
300
200
100
對照組
820Y
44698
820Y
44698
預防組
治療組

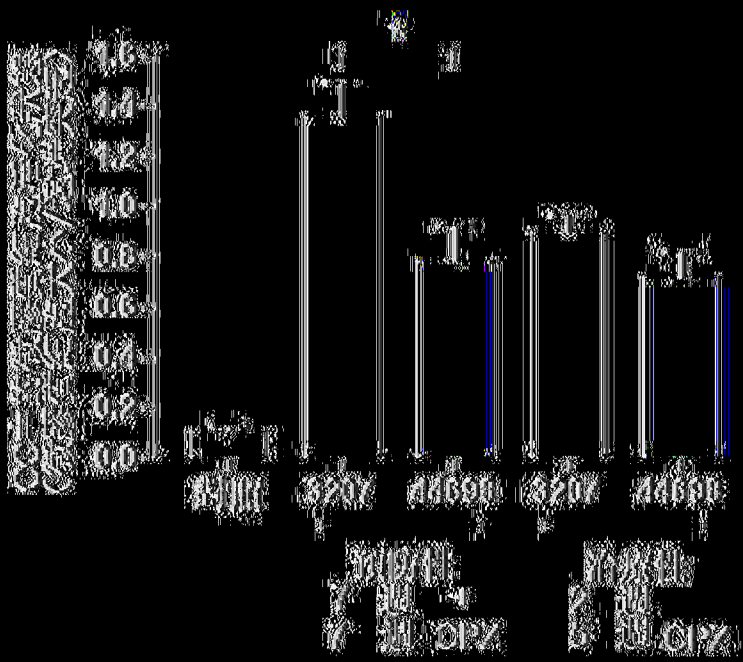
（圖 15A）


0.66
0.65
0.64
0.63
0.62
0.61
0.60
0.59
對照組
820Y
44698
820Y
44698
預防組
治療組

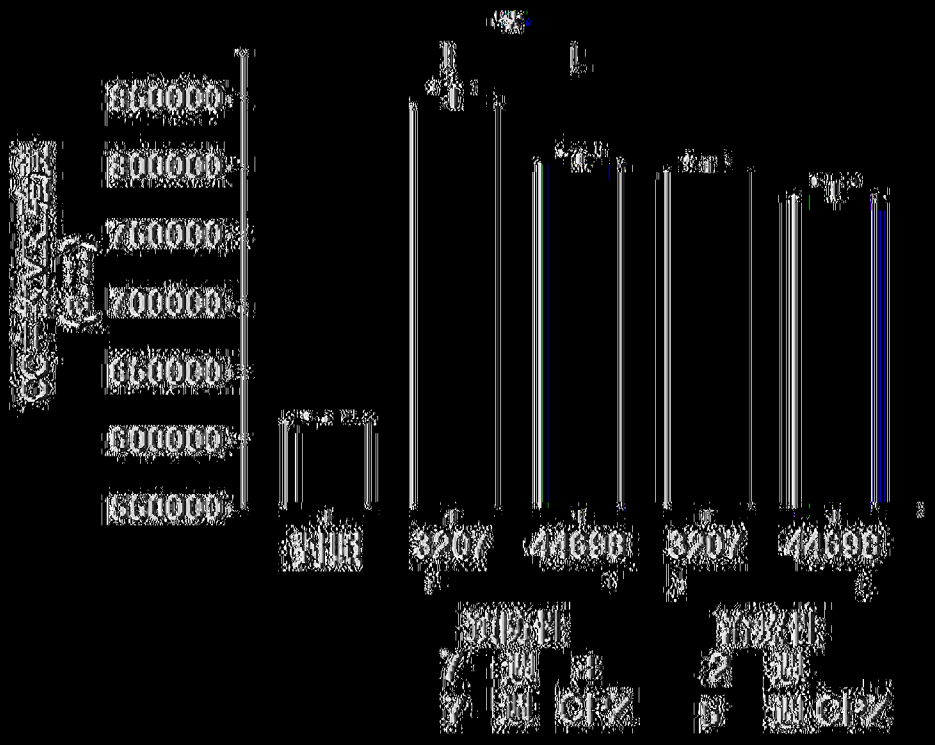
（圖 15B）



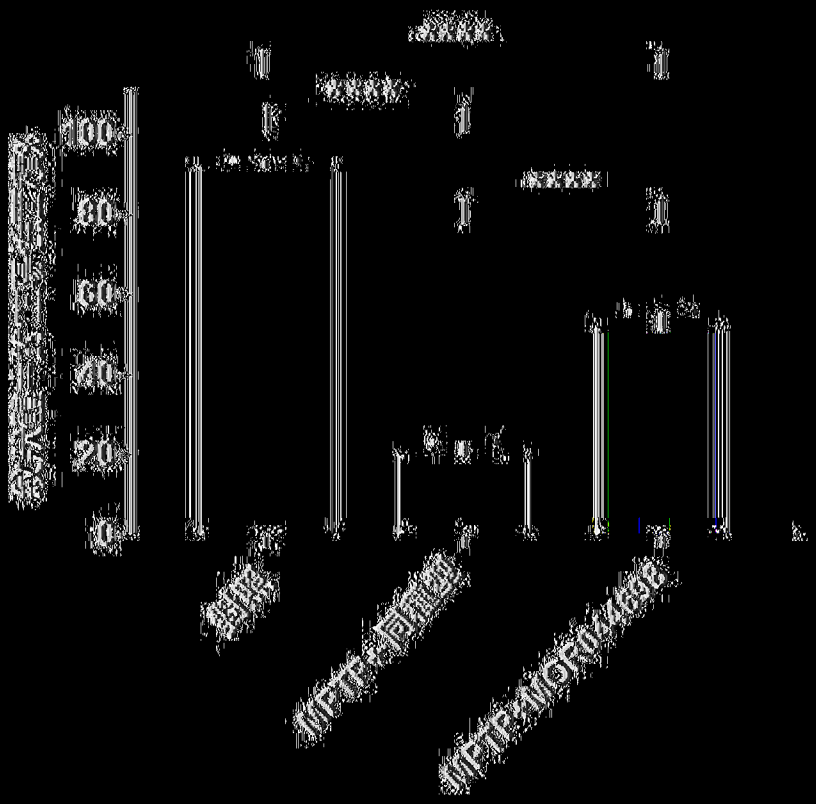
(圖 15C)



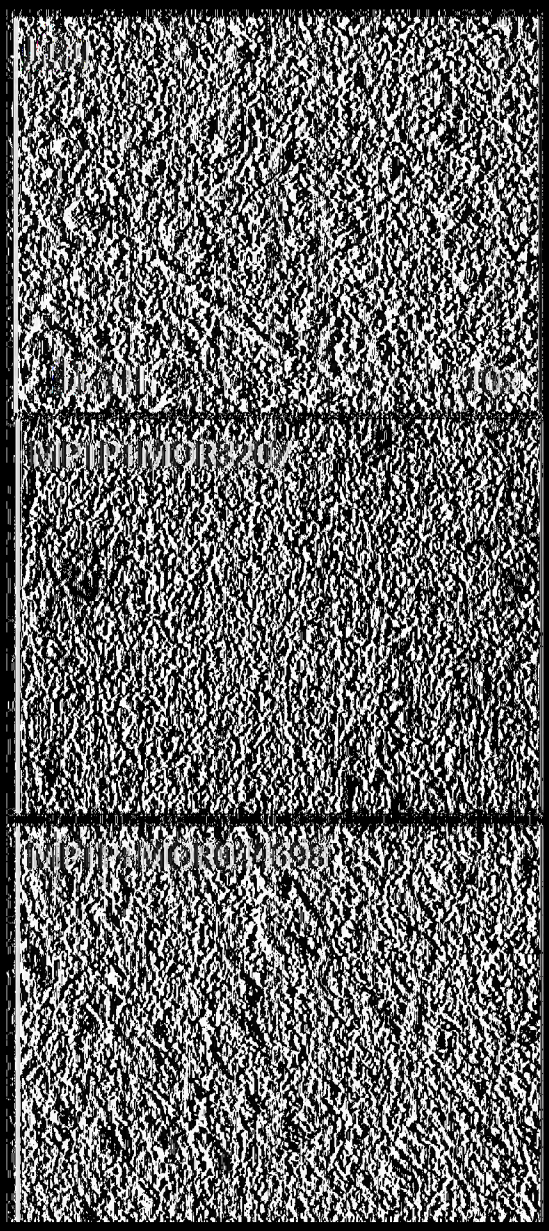
(圖 15D)


810000
800000
790000
780000
770000
760000
750000
740000
730000
720000
710000
700000
690000
680000
670000
660000
650000
640000
630000
620000
610000
600000
590000
580000
570000
560000
550000
540000
530000
520000
510000
500000
490000
480000
470000
460000
450000
440000
430000
420000
410000
400000
390000
380000
370000
360000
350000
340000
330000
320000
310000
300000
290000
280000
270000
260000
250000
240000
230000
220000
210000
200000
190000
180000
170000
160000
150000
140000
130000
120000
110000
100000
90000
80000
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
3/07
4/16週
3/07
4/16週
第1期
第2期
7週
2週
7週
6週

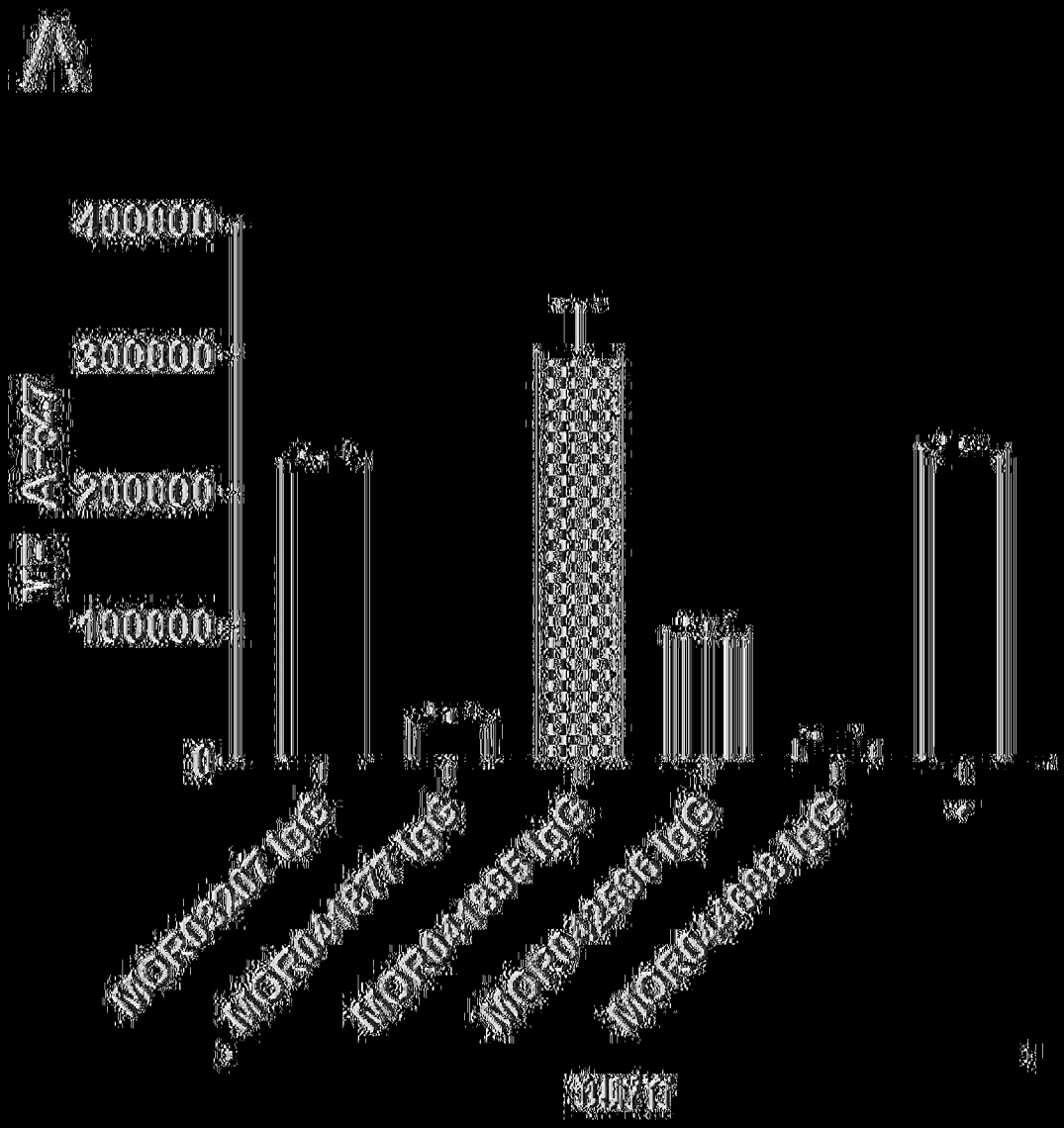
(圖 15E)



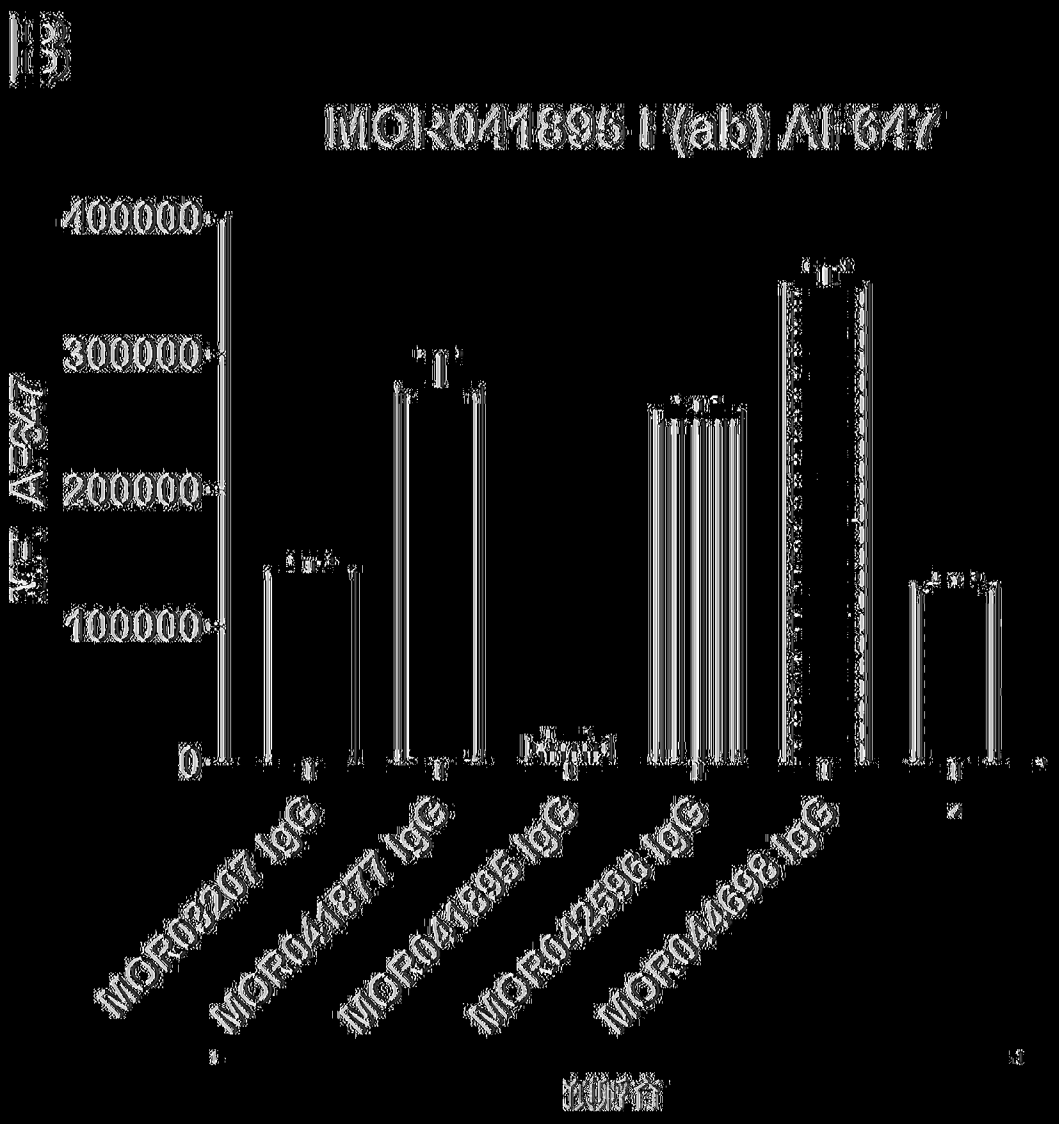
(圖 16A)



(圖 16B)

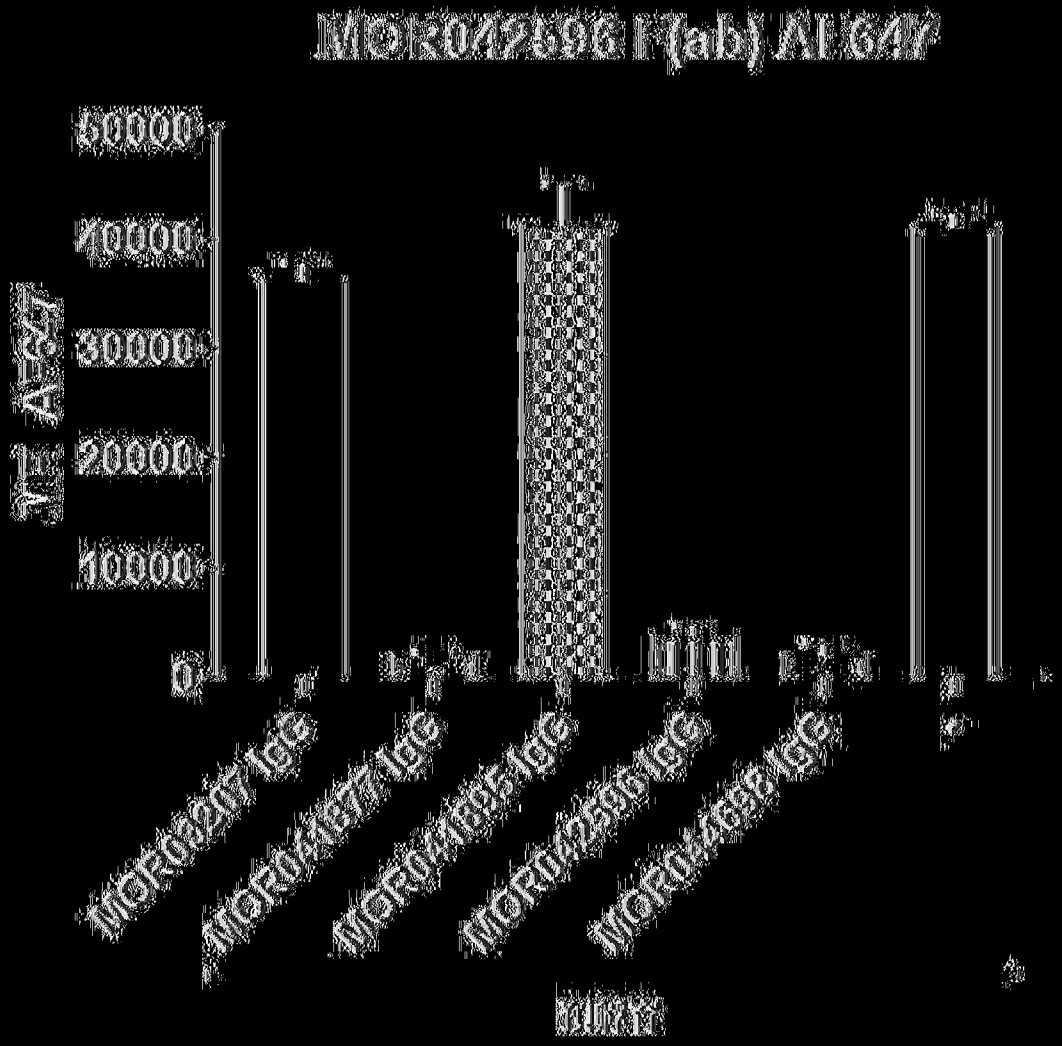

400000
300000
200000
100000
0
MOR03207 IgG
MOR04827 IgG
MOR04685 IgG
MOR04626 IgG
MOR04609 IgG

(圖 17A)

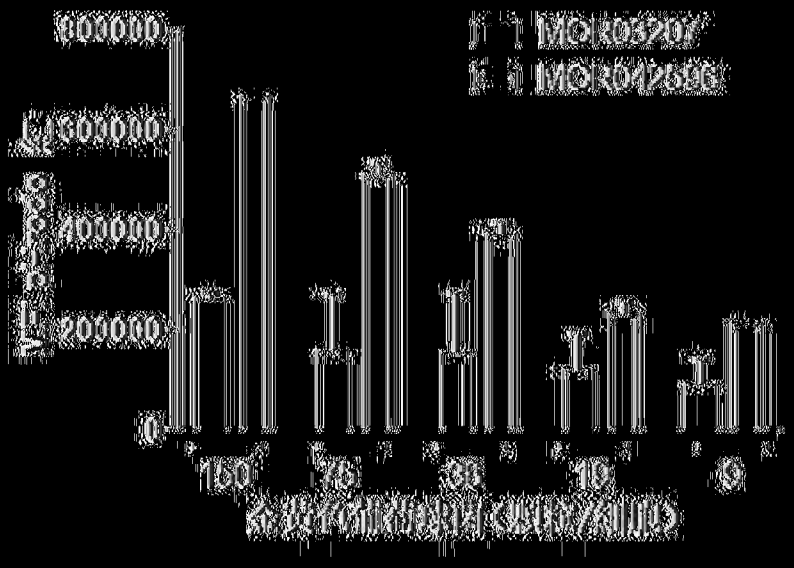

MOR041895 1 (ab) AF 647
400000
300000
200000
100000
0
MFI AF647
MOR03207 IgG
MOR041877 IgG
MOR041895 IgG
MOR042596 IgG
MOR044698 IgG
第1抑制劑

(圖 17B)

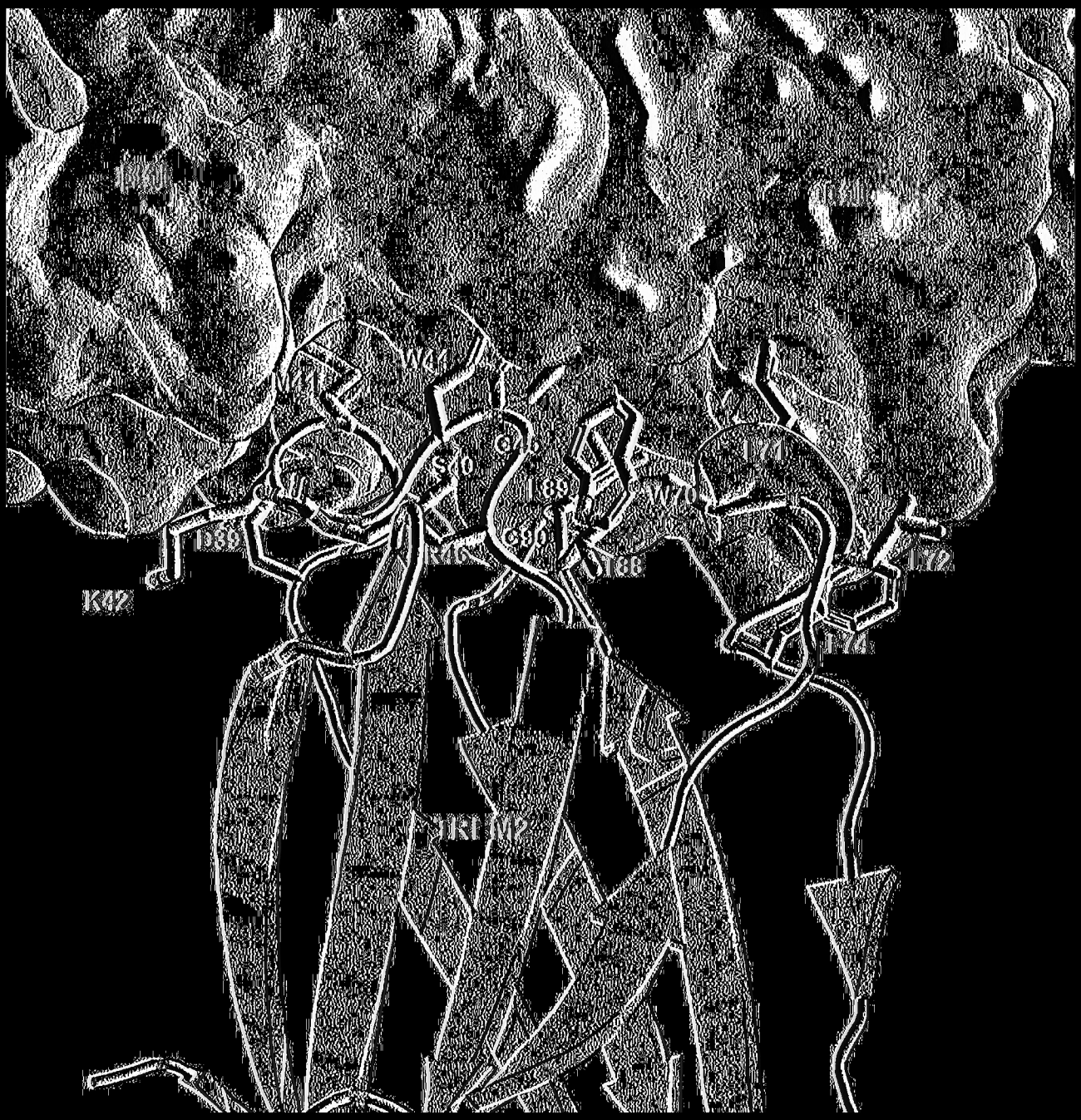
C


MOR04296 F(ab) AF647
60000
40000
30000
20000
10000
0
MFI
MOR04207 IgG
MOR04827 IgG
MOR04885 IgG
MOR04296 IgG
MOR04659 IgG

(圖 17C)



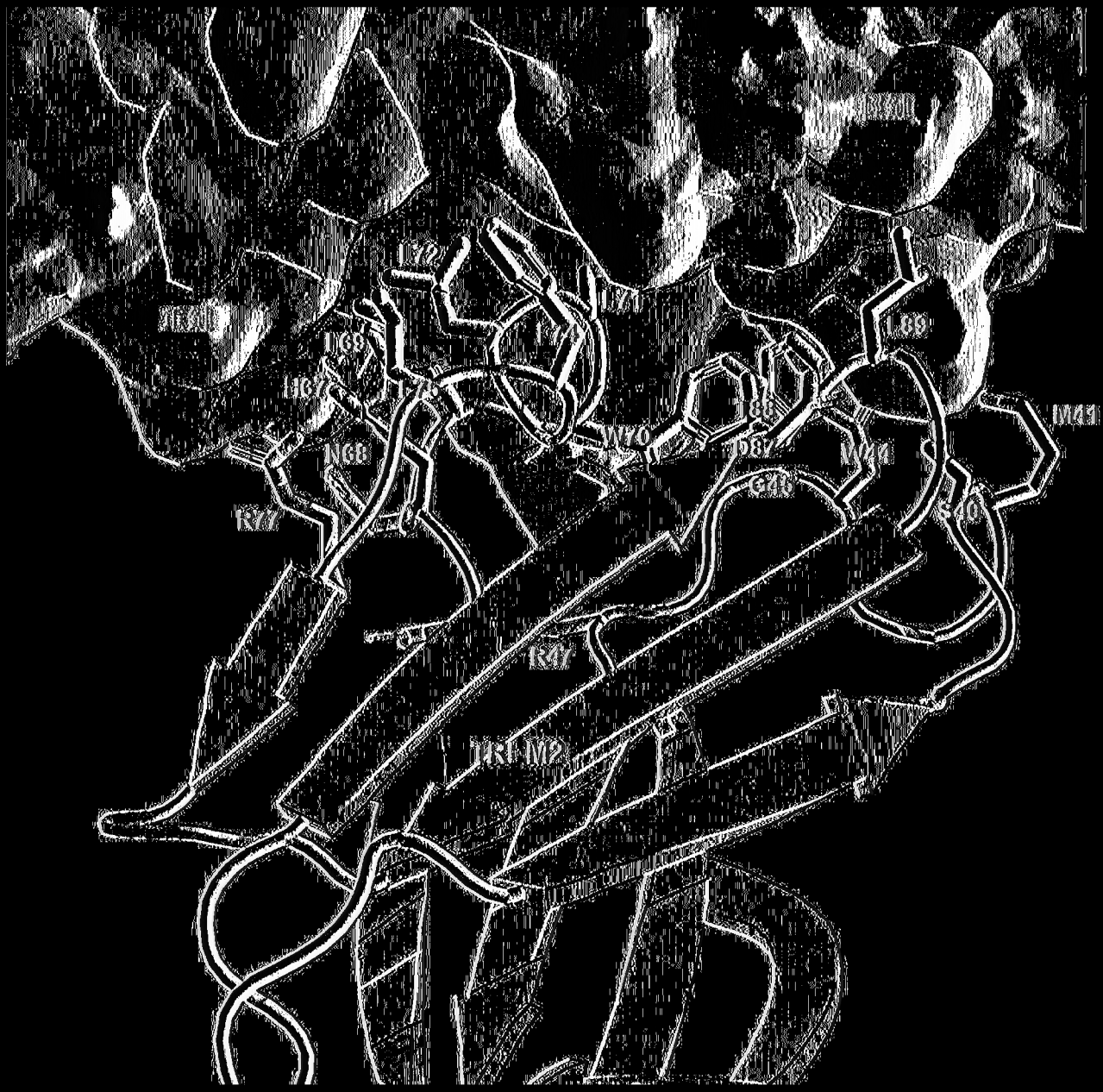
(圖 18)



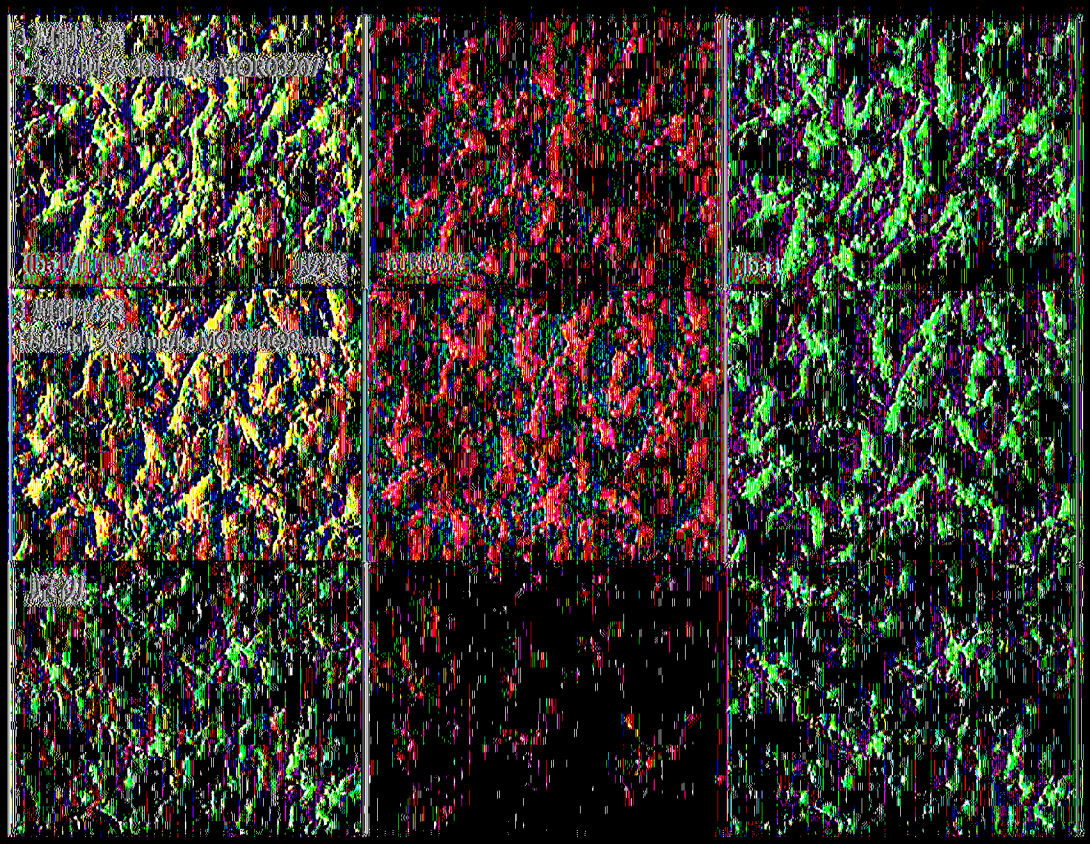
(圖 19)


89
G (A2696)
T (A4698)
96
T (A2696)
G (A4698)
90
G (A2696)
G1Rk3
M0R0A4698
96a
T (A2696)
S (A4698)
91
H (A2696)
(A4698)
T1Rk3
M0R0A2696
95
(N4796)
94
S (A2696)
M (A4698)
92
G (A2696)
R (A4698)
M41
93
H (N4796)
S40
K42
D38
TR1 M2

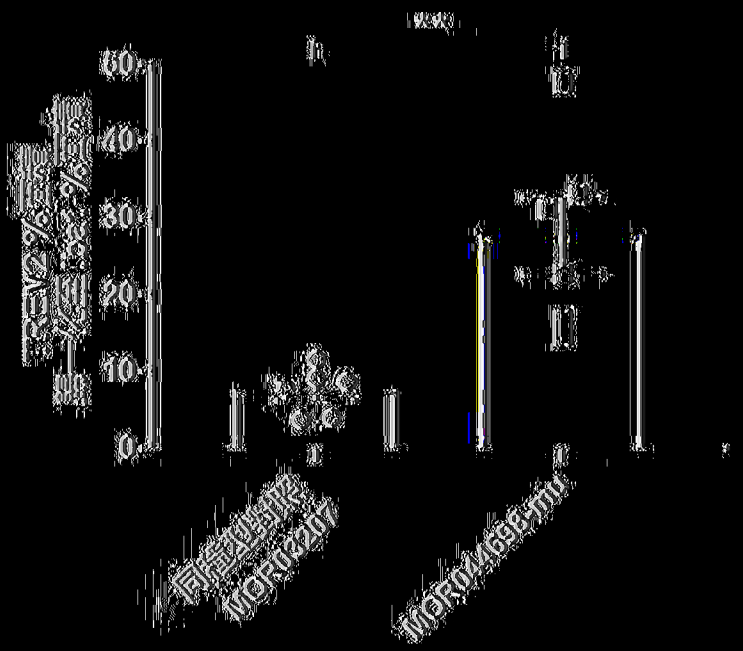
(圖 20)



(圖 21)



(圖 22A)



(圖 22B)

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段與骨髓細胞上表現的人觸發受體2 (hTREM2)蛋白的免疫球蛋白超家族(IgSF)結構域結合並穩定hTREM2蛋白(例如，SEQ ID NO:1、2或3)。

【請求項2】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合一個或多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46、R47、H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75、R77、D87、T88、L89和G90。

【請求項3】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的一個或多個選自由以下項組成之群組之殘基：D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46和R47，一個或多個選自由以下項組成之群組之殘基：H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75和R77，以及一個或多個選自由以下項組成之群組之殘基：D87、T88、L89和G90。

【請求項4】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的五個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基：D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46和R47，四個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基：H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75和R77，以及三個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基:D87、T88、L89和G90。

【請求項5】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的七個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基：D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46和R47，四個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基：H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75和R77，以及三個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基:D87、T88、L89和G90。

【請求項6】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合hTREM2的五個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基：D39、S40、M41、K42、W44、G45、R46和R47，所有殘基H67、N68、L69、W70、L71、L72、F74、L75和R77，以及三個或更多個選自由以下項組成之群組之殘基：D87、T88、L89和G90。

【請求項7】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合一個或多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【請求項8】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合兩個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【請求項9】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合三個或更多個選自以下群組之殘基，該群組由以下項組成：hTREM2的S40、M41、W44、G45、W70、L71、L72、F74、T88和L89。

【請求項10】

一種如說明書所述之發明。