

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2022 年 6 月 23 日 (23.06.2022)



(10) 国际公布号
WO 2022/127834 A1

(51) 国际专利分类号:
C07K 16/40 (2006.01) *C12N 15/63* (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2021/138447

(22) 国际申请日: 2021 年 12 月 15 日 (15.12.2021)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202011485792.8 2020 年 12 月 16 日 (16.12.2020) CN

(71) 申请人: 康诺亚生物医药科技(成都)有限公司 (KEYMED BIOSCIENCES CO., LTD) [CN/CN]; 中国四川省成都市双流区成都天府国际生物城中路 18 号 D2 号楼, Sichuan 610219 (CN)。

(72) 发明人: 徐刚(XU, Gang); 中国四川省成都市双流区成都天府国际生物城中路 18 号 D2 号楼, Sichuan 610219 (CN)。 陈博(CHEN, Bo); 中国四川省成都市双流区成都天府国际生物城中

路 18 号 D2 号楼, Sichuan 610219 (CN)。 王常玉(WANG, Changyu); 中国四川省成都市双流区成都天府国际生物城中路 18 号 D2 号楼, Sichuan 610219 (CN)。 张国惠(ZHANG, Guohui); 中国四川省成都市双流区成都天府国际生物城中路 18 号 D2 号楼, Sichuan 610219 (CN)。

(74) 代理人: 北京植德律师事务所(MERITS & TREE); 中国北京市东城区东直门南大街 1 号来福士中心办公楼 5 层, Beijing 100007 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,

(54) Title: DEVELOPMENT AND APPLICATION OF COMPLEMENT INHIBITOR

(54) 发明名称: 一种补体抑制剂的开发和应用

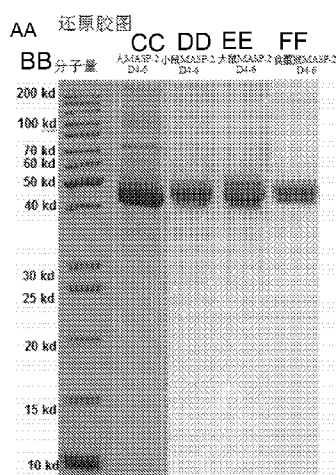


图 1

AA Reduction gel image
BB Molecular weight
CC Human MASP-2
DD Mouse MASP-2
EE Rat MASP-2
FF Cynomolgus monkey MASP-2

(57) Abstract: Provided are an antibody or antigen-binding portion thereof that binds MASP-2, and a use of the antibody or antigen-binding portion thereof in the preparation of a drug or kit for diagnosing, treating or preventing diseases associated with lectin pathway complement activation. The antibody can specifically recognize enzymatic activity domains CCP1-CCP2-SP of human, monkey, mouse and rat MASP-2, and effectively inhibit the production of a complement component C4b and a C3 convertase C4b2a.

(57) 摘要: 提供了一种结合MASP-2的抗体或其抗原结合部分, 以及该抗体或其抗原结合部分在制备用于诊断、治疗或预防与凝集素途径补体活化相关的疾病的药物或试剂盒中的用途。该抗体可以特异性识别人、猴、小鼠和大鼠MASP-2的酶活结构域CCP1-CCP2-SP, 有效抑制补体成分C4b及C3转化酶C4b2a的生成。

ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,
IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

一种补体抑制剂的开发和应用

技术领域

本公开涉及一种补体抑制剂及其应用，特别是 MASP-2 抑制性抗体及其应用。

背景技术

甘露聚糖结合凝集素相关丝氨酸蛋白酶 2 (Mannose-binding lectin-associated serine protease 2, MASP-2) 属于丝氨酸蛋白酶家族，是补体凝集素活化途径中的关键酶。MASP-2 含有 6 个结构域，分别为 N 端 CUB1、EGF、CUB2、CCP1、CCP2 和 C 端 SP 酶活结构域，分子量约为 75kDa。血液中的 MASP-2 通过 N 端 CUB1-EGF-CUB2 三个结构域，与凝集素途径识别分子甘露糖结合凝集素 (MBL)、集合素 11 (CL-K1) 和纤维胶凝蛋白 (Ficolin-1, Ficolin-2 和 Ficolin-3) 结合并形成复合物，当 MBL、CL-K1 或 ficolin 结合 D-甘露糖，N-乙酰基-D-葡萄糖胺或乙酰基等病原体相关分子模式 (PAMPs) 后，MASP-1 和 MASP-2 被顺序激活，活化的 MASP-2 裂解 C4 和 C2，裂解形成的片段 C4b 与 C2a 相互作用产生 C3 转化酶 (C4b2a)，C3 转化酶 (C4b2a) 激活 C3，导致 C5 转化酶 (C4b2a3b) 的产生以及能够引起微生物裂解的膜攻击复合物 (C5b-9) 的形成。C3 和 C4 的活化形式 (C3b 和 C4b) 共价沉积在外源靶表面上，其被多种吞噬细胞上的补体受体所识别，对相应的病原体产生吞噬。凝集素途径在机体抵御细菌、酵母菌、病毒等病原微生物的天然免疫中起重要作用。

在某些病理条件下，细胞受损破裂后，其内部糖基化修饰不完全的糖蛋白 (含高甘露糖“前体”聚糖簇) 释放，可被 MBL 以高亲和力识别并启动补体活化 (Maynard 等, J. Biol. Chem. 257:3788-3794, 1982); 同样，发生半乳糖修饰缺陷的 IgA 抗体形成的免疫复合物沉积在肾小球血管内壁等处，通过 MBL-MASP-2 激活补体凝集素途径，引起炎症反应。过度活化的炎症细胞释放的颗粒酶可能造成附近组织器官损伤，另外，活化的补体成分沉积在附近的细胞上，可导致补体膜攻击复合物的产生和细胞裂解。补体系统与多种急性或慢性疾病状况的发病机制相关，如 IgA 肾病 (IgAN)、缺血再灌注损伤、移植排斥、类风湿性关节炎、心肌梗塞、中风之后的血管重建、ARDS、败血症性休克、热烧伤之后的毛细血管渗漏、心肺分流术后炎症、多发性硬化、重症肌无力和阿尔茨海默病等。最近有研究显示，新型冠状病毒 COVID-19 感染造成的肺部、肾脏等多种组织损伤与补体凝集素途径相关 (Magro C 等 Transl Res. 2020 Jun; 220:1-13)，抑制 MASP-2 活性可极大降低 COVID-19 重症患者死亡率 (Rambaldi A 等 Immunobiology. 2020 Aug 9:152001)。

MASP-2 是凝集素途径中唯一可以切割 C4 的蛋白酶，在健康人血中的浓度远低于凝集素途径中 MASP-1 和其他补体成分含量。Kidmose R 等 (PNAS September 18, 2012 109 (38) 15425-15430) 显示，MASP-2 通过 CCP2 结构域与 C4 结合，导致后者发生变构并暴露酶切位点，CCP2 结构域的突变可以完全抑制 MASP-2 的活性。

发明内容

本公开涉及抗 MASP-2 抑制性抗体，用于抑制 MASP-2 依赖的补体活化的不良效果。

在一方面，本公开提供了一种结合 MASP-2 的抗体或其抗原结合部分。

在一方面，本公开提供了一种双特异性抗体或其抗原结合部分。

在一方面，本公开提供了编码前述的结合 MASP-2 的抗体或其抗原结合部分或双特异性抗体或其抗原结合部分的核酸。

在一方面，本公开提供了包含前述的核酸的载体。

在一方面，本公开提供了包含前述的载体的细胞。

在一方面，本公开提供了包含前述的抗体或其抗原结合部分、编码核酸、载体、细胞、组合物或试剂盒。

在一方面，本公开提供了治疗与 MASP-2 依赖性补体活化相关的疾病的方法，其包括下述步骤：向受试者施用治疗有效量的前述任一方面的抗体或其抗原结合片段、核酸、载体、细胞和/或组合物。

在一方面，本公开提供了前述任一方面的抗体或其抗原结合片段、核酸、载体、细胞和/或药物组合物在制备用于治疗受试者中与 MASP-2 依赖性补体活化相关的疾病的药物或试剂盒中的用途。

附图说明

图 1 示出了 MASP-2 D4-6 重组蛋白的 SDS-PAGE 结果。

图 2 示出了杂交瘤上清对 C4b 沉积的抑制。

图 3 示出了杂交瘤克隆嵌合抗体对 C4b 沉积的抑制。

图 4 示出了杂交瘤克隆嵌合抗体对 C3b 沉积的抑制。

图 5 示出了 ELISA 检测候选嵌合抗体与不同种属 MASP-2 D4-6 的结合。

图 6 示出了噬菌体展示库 Fab 候选克隆对 C4b 沉积的抑制。

图 7 示出了噬菌体库展示库 Fab 候选克隆纯化后对 C4b 沉积的抑制。

图 8 示出了 28O14 克隆突变后对 C4b 沉积的抑制。其中, Ser102 代表野生型抗体, 其 102 位为丝氨酸。Gly102、Tyr102、Ala102、Glu102、Gln102、Val102、Leu102 和 His102 代表突变型抗体, 其 102 位由丝氨酸分别突变为甘氨酸、酪氨酸、丙氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、缬氨酸、亮氨酸和组氨酸。

图 9A、B 示出了人源化 MASP-2 抗体对 C4b 沉积的抑制。

图 10A、B、C 示出了人源化 MASP-2 抗体对 C3b 沉积的抑制。

图 11 示出了 ELISA 检测人源化 MASP-2 抗体与不同种属抗原的结合。

图 12 示出了人源化 MASP-2 抗体在小鼠溶血性尿毒综合征模型中的药效。

具体实施方式

I. 定义

在本公开中, 除非另有说明, 否则本文中使用的科学和技术名词具有本领域技术人员所通常理解的含义。并且, 本文中所用的蛋白质和核酸化学、分子生物学、细胞和组织培养、微生物学、免疫学相关术语和实验室操作步骤均为相应领域内广泛使用的术语和常规步骤。同时, 为了更好地理解本公开, 下面提供相关术语的定义和解释。

本文提供的是特异性结合 MASP-2 的抗体(例如, 单克隆抗体)及其抗原结合片段。在具体的方面, 本文提供的是特异性结合 MASP-2 的单克隆抗 MASP-2 抗体, 其中所述抗 MASP-2 抗体包括亲本抗体的变体。在具体的方面, 本文提供的是特异性结合 MASP-2(例如, 人 MASP-2)的抗体。在特定的方面, 本文提供的是包含一个或多个氨基酸残基中的修饰的抗 MASP-2 抗体(例如, 重链可变区的框架区中 5-13 个氨基酸取代), 与没有所述修饰的亲本抗体相比, 其保持与抗原的亲和力。术语“MASP-2”是指本领域技术人员已知的任何 MASP-2 分子。例如所述 MASP-2 可以来自哺乳动物, 例如 MASP-2 可以是来自人。

本文所用术语“MASP-2 依赖性补体活化”包括凝集素途径的 MASP-2 依赖的活化, 其在生理条件下发生(即, 在存在 Ca^{2+} 的情况下), 导致凝集素途径 C3 转化酶 C4b2a 的形成, 并且在 C3 切割产物 C3b 的积累后导致 C5 转化酶 C4b2a (C3b)_n 的形成。

如本文所用术语“MASP-2 抑制性抗体”指任何抗 MASP-2 抗体或其 MASP-2 结合片段, 其结合或直接与 MASP-2 相互作用并有效地抑制 MASP-2 依赖的补体活化。用于本公开方法的 MASP-2 抑制性抗体可降低 MASP-2 依赖的补体活化大于 20%, 例如大于 30%, 或大于 40%, 或大于 50%, 或大于 60%, 或大于 70%, 或大于 80%, 或大于 90%, 或大于 95%。

术语“凝集素途径”是指通过血清和非血清糖结合蛋白(包括甘露聚糖结合凝集素(MBL)和纤维胶凝蛋白)的特异性结合而发生的补体活化。

如本文使用的和除非另作说明, 术语“约”或“大约”是指在给定值或范围的加或减 10% 之内。在需要整数的情况下, 该术语是指在给定值或范围的加或减 10% 之内、向上或向下舍入到最接近的整数。

就抗体链多肽序列而言, 短语“基本相同”可理解为表现出与参照多肽序列至少 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更多的序列同一性的抗体链。就核酸序列而言, 该术语可理解为表现出与参照核酸序列至少大于 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高的序列同一性的核苷酸序列。

序列“相同性”或“同一性”具有本领域公认的含义, 并且可以利用公开的技术计算两个核酸或多肽分子或区域之间序列相同性的百分比。可以沿着多核苷酸或多肽的全长或者沿着该分子的区域测量序列相同性。虽然存在许多测量两个多核苷酸或多肽之间的相同性的方法, 但是术语“相同性”是技术人员公知的 (Carrillo, H. & Lipman, D., SIAM J Applied Math 48:1073 (1988))。

“取代型”变体是天然序列中至少一个氨基酸残基被除去并被不同的氨基酸插入其相同位置的变体。所述取代可为单个的, 其中该分子中仅有一个氨基酸被取代; 或可为多个的, 其中该相同分子有两个或更多的氨基酸被取代。多个取代可位于连续的位点。同样, 一个氨基酸可被多个残基取代, 其中这样的变体包括取代和插入二者。“插入型”变体是一个或多个氨基酸被插入到紧邻一段天然序列某个特定位置处的氨基酸的变体。紧邻氨基酸意指与该氨基酸的 α -羧基或 α -氨基官能团连接。“缺失型”变体是天然氨基酸序列中一个或多个氨基酸被除去的变体。通常情况下, 缺失型变体在其分子的特定区域内有一个或两个氨基酸被缺失。

就抗体的可变结构域而言, 术语“可变”系指抗体之间有广泛序列差异的相关分子的某些部分, 且被用于针对其特异靶的特定抗体的特异识别和结合。但是, 可变性在抗体的整个可变结构域内不是均匀分布的。可变性集中在被称为互补决定区域 (CDRs; 即 CDR1、CDR2 和 CDR3) 或超变区的三个区段, 它们均位于轻链和重链的可变结构域内。可变结构域内保守程度更高的部分被称为构架 (FR) 区或构架序列。天然重链和轻链的每个可变结构域均包括四个 FR 区, 其主要采用 β -折叠构型, 它们藉三个 CDRs 连接起来, CDRs 形成环, 所述环连接 β -折叠结构并在某些情形下形成部分的 β -折叠结构。每条链的 CDRs 通常被 FR 区在邻近连接起来, 并且借助于来自其它链的 CDR, 有助于抗体靶结合位点 (表位或决定簇) 的形成。正如本文所使用, 免疫球蛋白氨基酸残基的编号是依据 Kabat 等人的免疫球蛋白氨基酸残基编号系统而进行的, 除非另有说明。一个 CDR 可具有特异结合关联表位的能力。

如本文所用, 抗体的“抗体片段”或“抗原结合片段”指全长抗体的任何部分, 其少于全长, 但是至少包含结合抗原的所述抗体的部分可变区(例如一个或多个 CDR 和/或一个或多个抗体结合位点), 并且因此保留结合特异性以及所述全长抗体的至少部分特异性结合能力。因此, 抗原结合片段指包含与衍生抗体片段的抗体结合相同抗原的抗原

结合部分的抗体片段。抗体片段包括通过酶促处理全长抗体所产生的抗体衍生物,以及合成产生的衍生物,例如重组产生的衍生物。抗体包括抗体片段。抗体片段的实例包括但不限于 Fab、Fab'、F(ab')₂、单链 Fv (scFv)、Fv、dsFv、双抗体、Fd 和 Fd' 片段以及其他片段,包括修饰的片段(参见,例如, *Methods in Molecular Biology*, Vol 207: *Recombinant Antibodies for Cancer Therapy Methods and Protocols* (2003); Chapter 1; p 3-25, Kipriyanov)。所述片段可以包括连接在一起的多条链,例如通过二硫键和/或通过肽接头。抗体片段一般包含至少或约 50 个氨基酸,并且典型至少或约 200 个氨基酸。抗原结合片段包括任何抗体片段,其在被插入抗体框架(例如通过置换相应区域)时获得免疫特异性地结合(即表现出至少或至少约 10^7 - 10^8 M⁻¹ 的 K_a) 抗原的抗体。“功能片段”或“抗 MASP-2 抗体的类似物”是可防止或实质降低所述受体结合配体或启动信号转导的能力的片段或类似物。正如本文所使用,功能片段一般与“抗体片段”含义相同,且就抗体而论,可指能防止或实质降低所述受体结合配体或启动信号转导的能力的片段,例如 Fv、Fab、F(ab')₂ 等等。“Fv”片段由一条重链的可变结构域和一条轻链的可变结构域藉非共价结合方式而形成的二聚体(V_H-V_L 二聚体)组成。在该构型中,每个可变结构域的三个 CDRs 相互作用,以确定 V_H-V_L 二聚体表面上的靶结合位点,与完整抗体的情况一样。所述六个 CDRs 共同赋予完整抗体的靶结合特异性。但是,即使是单个可变结构域(或仅包括 3 个靶特异的 CDRs 的 Fv 的一半),仍可具有识别和结合靶的能力。

如本文中所用,术语“双特异性”(Bispecific antibody, BsAb)指抗体和/或抗原结合分子能够特异性结合两种不同的抗原性决定簇,通常,双特异性抗体和/或抗原结合分子包含两种抗原结合位点,其中每种特异的不同的抗原性决定簇。在某些实施方案中,所述双特异性抗体和/或抗原结合分子能够同时结合两种抗原决定簇,特别是在两种不同的细胞上表达两种抗原性决定簇。

如本文所用,“单克隆抗体”指相同抗体的群体,表示单克隆抗体群体中的每个单独的抗体分子与其他抗体分子相同。这种特性与抗体的多克隆群体的特性相反,所述抗体的多克隆群体包含具有多种不同序列的抗体。单克隆抗体可以通过许多公知的方法来制备 (Smith et al. (2004) *J. Clin. Pathol.* 57, 912-917; 和 Nelson et al., *J. Clin. Pathol.* (2000), 53, 111-117)。例如,单克隆抗体可以通过永生 B 细胞来制备,例如通过与骨髓瘤细胞融合以产生杂交瘤细胞系或者通过用诸如 EBV 的病毒感染 B 细胞。重组技术还可以用来在体外通过用携带编码抗体的核苷酸的人工序列的质粒转化宿主细胞来从宿主细胞的克隆群体制备抗体。

如本文中所用,术语“杂交瘤”或“杂交瘤细胞”指由融合产抗体的淋巴细胞和不产抗体的瘤细胞而产生的细胞或细胞系(通常为骨髓瘤或淋巴瘤细胞)。如本领域普通技术人员所知的,杂交瘤可增殖并持续供应产生特定单克隆抗体。用于产生杂交瘤的方法为本领域已知的。当提及术语“杂交瘤”或“杂交瘤细胞”时,其还包括杂交瘤的亚克隆和后代细胞。

如本文所用,全长抗体是具有两条全长重链(例如 VH-CH1-CH2-CH3 或 VH-CH1-CH2-CH3-CH4)和两条全长轻链(VL-CL)和铰链区的抗体,例如通过抗体分泌 B 细胞天然产生的抗体以及合成产生的具有相同结构域的抗体。

术语“嵌合抗体”是指这样的抗体,其中可变区序列源自一个物种,恒定区序列源自另一物种,如其中可变区序列源自小鼠抗体及恒定区序列源自人抗体的抗体。

“人源化”抗体是指非人(例如小鼠)抗体形式,其是嵌合的免疫球蛋白、免疫球蛋白链或者其片段(如 Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂ 或者抗体的其它抗原结合亚序列),含有源自非人免疫球蛋白的最小序列。优选地,人源化抗体是人免疫球蛋白(接受者抗体),其中接受者抗体的互补决定区(CDR)的残基来自具有希望的特异性、亲和性和能力的非人物种(供体抗体)如小鼠、大鼠或者兔的 CDR 残基置换。

此外,在人源化中,还可能对 VH 和/或 VL 的 CDR1、CDR2 和/或 CDR3 区内的氨基酸残基进行突变,由此改善抗体的一或多种结合特性(例如亲和性)。可进行例如 PCR 介导的突变引入突变,其对抗体结合或其它功能特性的影响可利用本文所述的体外或体内测试评估。通常,引入保守性突变。此类突变可为氨基酸取代、添加或缺失。另外,CDR 内的突变通常不超过一个或两个。因此,本公开所述人源化抗体还涵盖 CDR 内包含 1 或 2 个氨基酸突变的抗体。

如本文所用,术语“CDR”指互补决定区(complementarity-determining region),已知抗体分子的每个重链和轻链具有 3 个 CDR。CDR 也称作高变区,且存在于抗体的每个重链和轻链的可变区中,在 CDR 的一级结构中具有非常高的变异性位点。本说明书中,重链的 CDR 由来自重链的氨基端序列的氨基端的 CDR1、CDR2、CDR3 表示,轻链的 CDR 由来自轻链的氨基端序列的氨基端的 CDR1、CDR2、CDR3 表示。这些位点在三级结构中彼此临近,并决定抗体所结合的抗原的特异性。

如本文所用,术语“表位”指抗体的互补位结合的抗原上的任何抗原决定簇。表位决定簇通常包含分子的化学活性表面分型,例如氨基酸或糖侧链,并且通常具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。

如本文所用,关于抗体或其抗原结合片段的“特异性结合”或“免疫特异性地结合”在本文中可交换使用,并且指抗体或抗原结合片段通过抗体和抗原的抗体结合位点之间的非共价相互作用与同种抗原形成一个或多个非共价键的能力。所述抗原可以是分离的抗原或存在于肿瘤细胞。通常,免疫特异性地结合(或特异性结合)抗原的抗体是以约或 1×10^7 M⁻¹ 或 1×10^8 M⁻¹ 或更大的亲和常数 K_a (或者 1×10^{-7} M 或 1×10^{-8} M 或更低的解离常数(K_d))结合所述抗原。亲和常数可以通过抗体反应的标准动力学方法来测定,例如,免疫测定、表面等离子共振 (SPR) (Rich and Myszkowski (2000) *Curr. Opin. Biotechnol.* 11:54; Englebienne (1998) *Analyst.* 123:1599)、等温滴定量热法 (ITC) 或本领域已知的其他动力学相互作用测定;还参见描述用于计算抗体的结合亲和力的示例性 SPR 和 ITC 方法的美国专利第 7,229,619 号)。用于实时检测和监测结合速率的仪器和方法是已知的,并且可商购(参见, Malmqvist (2000) *Biochem. Soc. Trans.* 27:335)。

如本文所用，术语“多核苷酸”和“核酸分子”指包含至少两个连接的核苷酸或核苷酸衍生物的寡聚体或聚合物，包括通常通过磷酸二酯键连接在一起的脱氧核糖核酸（DNA）和核糖核酸（RNA）。如本文所使用，术语“核酸分子”意欲包括DNA分子及RNA分子。核酸分子可为单链或双链，且可为cDNA。

如本文所用，分离的核酸分子是从存在于核酸分子的天然来源中的其他核酸分子分离的核酸分子。诸如cDNA分子的“分离的”核酸分子可以在通过重组技术制备时基本上不含其他细胞物质或培养基，或者在化学合成时基本上不含化学前体或其他化学成分。本文所提供的示例性分离的核酸分子包括编码所提供的抗体或抗原结合片段的分离的核酸分子。

如本文所用，关于核酸序列、区域、元件或结构域的“可操作地连接”表示核酸区域互相功能相关。例如，启动子可以可操作地连接至编码多肽的核酸，从而所述启动子调控或介导所述核酸的转录。

亦提供本文所述序列中所述序列的“保守序列修饰”，即不消除由核苷酸序列编码或含有氨基酸序列的抗体与抗原的结合的核苷酸及氨基酸序列修饰。这些保守序列修饰包括保守核苷酸及氨基酸取代以及核苷酸及氨基酸添加及缺失。例如，可通过本领域已知的标准技术（例如定点诱变及PCR介导的诱变）将修饰引入本文所述的序列表中。保守序列修饰包括保守氨基酸取代，其中氨基酸残基被替换为具有类似侧链的氨基酸残基。具有类似侧链的氨基酸残基的家族是本领域中已有定义的。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸（例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸）、具有酸性侧链的氨基酸（例如天冬氨酸、谷氨酸）、具有不带电极性侧链的氨基酸（例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸）、具有非极性侧链的氨基酸（例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸）、具有 β 分枝侧链的氨基酸（例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸）及具有芳香族侧链的氨基酸（例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸）。因此，抗MASP-2抗体中的预测的非必需氨基酸残基优选被来自同一侧链家族的另一氨基酸残基替代。鉴定不消除抗原结合的核苷酸及氨基酸保守取代的方法为本领域所熟知（例如，参见Brummell et al., *Biochem. 32*: 1180-1187 (1993); Kobayashi et al., *Protein Eng. 12*(10): 879-884 (1999); Burks et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94*: 412-417 (1997)）。

作为另一选择，在另一实施方案中，可通过例如饱和诱变沿抗MASP-2抗体编码序列的全部或一部分随机引入突变，且可针对改良的结合活性筛选所得经修饰抗MASP-2抗体。

如本文所用，“表达”指通过多核苷酸的转录和翻译产生多肽的过程。多肽的表达水平可以利用本领域已知的任何方法来评价，包括例如测定从宿主细胞产生的多肽的量的方法。这类方法可以包括但不限于通过ELISA定量细胞裂解物中的多肽，凝胶电泳之后考马斯蓝染色，Lowry蛋白测定以及Bradford蛋白测定。

如本文所用，“宿主细胞”是用于接受、保持、复制和扩增载体的细胞。宿主细胞还可以用来表达载体所编码的多肽。当宿主细胞分裂时，载体中所含的核酸复制，从而扩增核酸。宿主细胞可以是真核细胞或原核细胞。合适的宿主细胞包括但不限于CHO细胞、各种COS细胞、HeLa细胞、HEK细胞例如HEK 293细胞。

如本文所用，“载体”是可复制的核酸，当载体转化入适当的宿主细胞时，可以从该载体表达一种或多种异源蛋白。关于载体包括那些通常通过限制酶切消化和连接可以将编码多肽或其片段的核酸引入其中的载体。关于载体还包括那些包含编码多肽的核酸的载体。载体用来将编码多肽的核酸引入宿主细胞，用于扩增核酸或者用于表达/展示核酸所编码的多肽。载体通常保持游离，但是可以设计为使基因或其部分整合入基因组的染色体。还考虑人工染色体的载体，例如酵母人工载体和哺乳动物人工染色体。这类媒介物的选择和用途是本领域技术人员公知的。

如本文所用，载体还包括“病毒载体”或“病毒的载体”。病毒的载体是工程化的病毒，其可操作地连接至外源基因以将外源基因转移（作为媒介物或穿梭（shuttle））入细胞。

如本文所用，“表达载体”包括能够表达DNA的载体，所述DNA与诸如启动子区的能够影响这类DNA片段表达的调控序列可操作地连接。这类额外的片段可以包括启动子和终止子序列，并且任选地可以包括一个或多个复制起点、一个或多个选择标记、增强子、多腺苷酸化信号等。表达载体一般来源于质粒或病毒DNA，或者可以包含这两者的元件。因此，表达载体指重组DNA或RNA构建体，例如质粒、噬菌体、重组病毒或其他载体，当引入适当的宿主细胞时，导致克隆DNA的表达。适当的表达载体是本领域技术人员公知的，并且包括在真核细胞和/或原核细胞中可复制的表达载体以及保持游离的表达载体或者整合入宿主细胞基因组的表达载体。

如本文所用，“治疗”患有疾病或疾病状况的个体表示所述个体的症状部分或全部缓解，或者在治疗后保持不变。因此，治疗包括预防、治疗和/或治愈。预防指防止潜在疾病和/或防止症状恶化或疾病发展。治疗还包括所提供的任何抗体或其抗原结合片段以及本文所提供的组合物的任何药理学用途。

如本文所用，“疗效”表示由个体的治疗所导致的效果，其改变、通常改良或改善疾病或疾病状况的症状，或者治愈疾病或疾病状况。

如本文所用，“治疗有效量”或“治疗有效剂量”指施用于对象之后至少足以产生疗效的物质、化合物、材料或包含化合物的组合物的量。因此，其为防止、治愈、改善、阻滞或部分阻滞疾病或病症的症状所必需的量。

如本文所用，“预防有效量”或“预防有效剂量”指在施用于对象时会具有预期的预防效果的物质、化合物、材料或包含化合物的组合物的量，例如，防止或延迟疾病或症状的发生或复发，减少疾病或症状发生或复发的可能性。完全预防有效剂量不必通过施用一个剂量发生，并且可以仅在施用一系列剂量之后发生。因此，预防有效量可以在一次或多次施用中施用。

如本文中所使用的，术语“患者”或“受试者”是指哺乳动物，例如人。

II. 具体实施方案详述

在一方面，本公开提供了一种结合 MASP-2 的抗体或其抗原结合部分，其包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 7、8、9、17、18、26、27、28、36、37、38、46、47、60、65、66、67、79、85、86、94、95、96、104、105、113、114、126、127、128、136、137、138、141、149、150、151、165、183、192 或其任何变体的重链 CDR，和/或选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 12、13、14、21、22、23、31、32、33、41、42、43、50、51、52、57、70、71、72、82、91、108、109、110、117、118、123、131、132、133、144、145、146、154、155、156、161、162、168、173、174、201、202、207、216 或其任何变体的轻链 CDR。

根据前一方面的抗体或其抗原结合部分，其包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 7、26、36、65、94、126、136、149 或其任何变体的重链 CDR1，选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 8、17、27、37、46、66、85、95、104、113、127、137、150、165、183、192 或其任何变体的重链 CDR2，选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 9、18、28、38、47、60、67、79、86、96、105、114、128、138、141、151 或其任何变体的重链 CDR3；和/或选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 12、21、31、41、50、70、99、108、117、123、131、144、154、161、201、216 或其任何变体的轻链 CDR1，选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 13、22、32、42、51、57、71、100、109、118、132、145、155、162、168、173、202、207 或其任何变体的轻链 CDR2，选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 14、23、33、43、52、72、82、91、101、110、133、146、156、174 或其任何变体的轻链 CDR3。

根据前一方面的抗体或其抗原结合部分，其包含选自下列的重链和轻链的 CDR 组合：

- (1) 分别包含 SEQ ID NO: 7、8、9 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 12、13、14 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (2) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、18 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 21、22、23 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (3) 分别包含 SEQ ID NO: 26、27、28 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 31、32、33 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (4) 分别包含 SEQ ID NO: 36、37、38 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 41、42、43 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (5) 分别包含 SEQ ID NO: 7、46、47 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 50、51、52 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (6) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、18 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 21、57、23 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (7) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、60 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 50、51、52 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (8) 分别包含 SEQ ID NO: 65、66、67 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 70、71、72 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (9) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、47 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 50、51、52 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (10) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、79 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 50、51、82 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (11) 分别包含 SEQ ID NO: 36、85、86 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 41、42、43 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (12) 分别包含 SEQ ID NO: 36、85、86 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 41、42、91 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (13) 分别包含 SEQ ID NO: 94、95、96 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 99、100、101 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (14) 分别包含 SEQ ID NO: 7、104、105 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 108、109、110 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (15) 分别包含 SEQ ID NO: 26、113、114 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 117、118、33 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (16) 分别包含 SEQ ID NO: 94、95、96 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 123、100、101 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (17) 分别包含 SEQ ID NO: 126、127、128 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 131、132、133 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (18) 分别包含 SEQ ID NO: 136、137、138 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 131、132、133 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (19) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、141 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 144、145、146 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (20) 分别包含 SEQ ID NO: 149、150、151 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 154、155、156 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；
- (21) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、9 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 161、

162、14 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

(22) 分别包含 SEQ ID NO: 7、165、9 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 144、168、14 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

(23) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、9 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 144、173、174 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

(24) 分别包含 SEQ ID NO: 136、183、138 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 216、132、133 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

(25) 分别包含 SEQ ID NO: 126、192、128 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 216、132、133 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

(26) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、141 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 201、202、146 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

(27) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、141 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和/或分别包含 SEQ ID NO: 201、207、146 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列。

根据前一方面的抗体或其抗原结合部分，其包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 5、15、24、34、44、53、58、63、73、77、83、92、102、111、119、124、134、139、147、157、163、169、175、177、179、181、184、186、188、190、193、195、197 或其任何变体的重链可变区，和/或选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 10、19、29、39、48、55、61、68、75、80、87、89、97、106、115、121、129、142、152、159、166、171、199、203、205、208、210、212、214 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 5 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 10 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 15 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 19 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 24 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 29 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 34 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 39 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 44 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 48 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 53 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 55 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 58 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 61 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 63 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 68 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 73 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 75 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 77 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 80 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 83 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 87 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 83 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 89 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 92 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 97 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 102 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 106 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 111 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 115 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 119 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 121 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 124 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 129 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 134 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 129 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 139 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 142 或其任何变体的轻链可变区；

7

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 179 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 210 或其任何变体的轻链可变区；

在一些优选的实施方案中，抗体或其抗原结合部分包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 179 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 212 或其任何变体的轻链可变区。

在一方面，本公开提供了一种双特异性或多特异性分子，其包含前述任一方面的抗体或其抗原结合部分。

在本公开的一些优选实施方案中，抗体或其抗原结合部分是人源化的。

在一方面，本公开提供了编码根据前述任一方面的抗体或其抗原结合部分或双特异性或多特异性分子的核酸分子。

在一些优选的实施方案中，核酸包含选自 SEQ ID NO. 6、16、25、35、45、54、59、64、74、78、84、93、103、112、120、125、135、140、148、158、164、170、176、178、180、182、185、187、189、191、194、196、198 或其任何变体的抗体重链可变区核酸序列，和/或选自 SEQ ID NO. 11、20、30、40、49、56、62、69、76、81、88、90、98、107、116、122、130、143、153、160、167、172、200、204、206、209、211、213、215 或其任何变体的抗体轻链可变区核酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 6 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 11 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 16 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 20 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 25 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 30 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 35 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 40 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 45 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 49 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 54 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 56 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 59 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 62 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 64 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 69 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 74 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 76 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 78 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 81 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 84 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 88 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 84 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 90 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 93 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 98 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 103 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 107 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 112 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 116 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 120 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 122 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 125 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 130 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 135 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 130 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 140 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 143 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 148 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 153 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 158 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 160 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

在一些优选的实施方案中，核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 164 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和

在一方面，本公开提供了结合 MASP-2 的抗体或其抗原结合部分，其与前述任一方面的抗体或其抗原结合部分

具有至少大于 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性。

在一方面，本公开提供了编码如前述任一方面的抗体或其抗原结合部分的核酸分子，或与其具有至少大于 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性的核酸分子。

在一方面，本公开提供了包含如前述任一方面的核酸的载体。

在一方面，本公开提供了包含如前述任一方面的载体的细胞。

在一方面，本公开一种组合物，其包含前述的抗体或其抗原结合部分、双特异性或多特异性分子、核酸、载体和/或细胞。

本公开的抗体在各种 MASP-2 被不利地表达或发现的疾病中可用作治疗或诊断工具。

用本公开的 MASP-2 抑制剂治疗与 MASP-2 依赖性补体活化相关的疾病的方法包括下述步骤：向受试者施用治疗有效量的前述任一方面的抗体或其抗原结合片段或核酸分子或载体或细胞或药物组合物。

MASP-2 依赖的补体活化已被指示为促进很多急性和慢性疾病状态的发病机制，包括 MASP-2 依赖的补体介导的血管状况、缺血再灌注损伤、动脉粥样硬化、炎症胃肠道病症、肺部状况、体外再灌注过程、骨骼肌状况、肾状况、皮肤状况、器官或组织移植、神经系统病症或损伤、血液病症、泌尿生殖道状况、糖尿病、化疗或辐射治疗、恶性肿瘤、内分泌紊乱、凝血障碍，或眼科状况。因此，本公开的 MASP-2 抑制性抗体可以用于治疗上述疾病和状况。

本公开一个优选实施方式的临床状况是慢性的炎症性疾病。慢性的炎症性疾病可以是例如自体免疫性炎症状况。

自体免疫性炎症状况(在此也称为“自体免疫失调”)可以被宽松地归类入那些主要局限于特定器官或组织和那些影响整个身体的疾病。器官特异性失调(和受影响的器官)的实例包括多发性硬化(包被在神经突起上的髓鞘质)、I 型糖尿病(胰腺)、桥本氏甲状腺炎(甲状腺)、恶性贫血(胃)、阿狄森氏病(肾上腺)、重症肌无力(神经肌肉接点上的乙酰胆碱受体)、类风湿性关节炎(关节衬面)、葡萄膜炎(眼)、银屑病(皮肤)、格-巴二氏综合症(神经细胞)和葛雷夫斯氏病(甲状腺)。系统性的自体免疫疾病包括系统性红斑狼疮、肾小球肾炎(glomeronephritis)和皮炎。

在本公开的一个实施方式中，优选的临床状况选自类风湿性关节炎或系统性红斑狼疮。

自体免疫失调的其他实例包括哮喘、湿疹、异位皮炎(atopical dermatitis)、接触性皮炎、其他湿疹性皮炎、脂溢性皮炎、鼻炎、扁平疣、天疱疮(Pemphigus)、大疱性类天疱疮、大疱性表皮松解、荨麻疹、血管性水肿、脉管炎、红斑、皮肤嗜曙红细胞增多、局限性脱发、动脉硬化、原发性胆汁性肝硬化和肾病综合征。相关的疾病包括肠炎、如腹部疾病(coeliac disease)、直肠炎、嗜曙红性胃肠炎、肥大细胞增生症、炎症性肠病、Crohn's 病和溃疡性结肠炎，以及与食物有关的过敏。

在本公开的另一个实施方式中，临床状况以大块(massive)的细胞丧失为特征，例如由于程序性细胞死亡或坏死。坏死或程序性细胞死亡可以由许多种因素诱导。

在本公开的优选实施方式中，临床状况是缺血性/重灌注性损伤。缺血可以由各种原因引发，例如在中风、心肌梗塞、大手术或器官移植之后。因而，临床状况可以由例如中风、心肌梗塞、大手术或器官移植引起的缺血性/重灌注性损伤。

因此，临床状况可以是缺血性/重灌注性损伤，其是 PTCA(经皮腔内冠状动脉成形术)或 CABG(冠状动脉旁路移植术)的结果。此外，临床状况可以是缺血性/重灌注性损伤，其是急性心肌梗塞或脑缺血的结果。

包含 MASP-2 抑制剂的药物的给药剂量一般根据受治疗者年龄、体重、身高、性别、一般疾病状况和病史而变化。举例来说，可在大约 0.010-10.0mg/kg、优选 0.010-1.0mg/kg、更优选 0.010-0.1mg/kg 受治疗者体重的剂量范围内给予 MASP-2 抑制剂，例如 MASP-2 抗体。在某些实施方案中，组合物包含抗 MASP-2 抗体和 MASP-2 抑制肽的组合。

包含 MASP-2 抑制剂的组合物和方法可任选包括一种或多种另外的治疗药物，它们可增强 MASP-2 抑制剂的活性，或者以相加或协同的方式提供相关治疗功能。例如，一种或多种 MASP-2 抑制剂可与一种或多种消炎和/或镇痛药物联用。可对另外药物的含量和选择加以确定以获得所需的治疗结果。合适的消炎和/或镇痛药物包括：5-羟色胺受体拮抗剂；5-羟色胺受体激动剂；组胺受体拮抗剂；缓激肽受体拮抗剂；激肽释放酶抑制剂；速激肽受体拮抗剂，包括神经激肽 1 和神经激肽 2 受体亚型拮抗剂；降钙素基因相关肽(CGRP)受体拮抗剂；白介素受体拮抗剂；花生四烯酸代谢物合成途径中有活性的酶的抑制剂，包括磷脂酶抑制剂，包括 PLA2 同工型抑制剂和 PLC γ 同工型抑制剂、环加氧酶(COX)抑制剂(它可以是 COX-1、COX-2 的抑制剂或非选择性 COX-1 和 COX-2 的抑制剂)、脂加氧酶抑制剂；前列腺素类受体拮抗剂，包括类二十烷酸 EP-1 和 EP-4 受体亚型拮抗剂以及血栓烷受体亚型拮抗剂；白三烯受体拮抗剂，包括白三烯 B4 受体亚型拮抗剂和白三烯 D4 受体亚型拮抗剂；阿片样物质受体激动剂，包括 μ -阿片样物质、 δ -阿片样物质和 κ -阿片样物质受体亚型激动剂；嘌呤受体激动剂和拮抗剂，包括 P2x 受体拮抗剂和 P2Y 受体激动剂；腺苷三磷酸(ATP)敏感性钾通道开放剂；MAP 激酶抑制剂；烟酸乙酰胆碱抑制剂；以及 α 肾上腺素能受体激动剂(包括 α -1、 α -2 和非选择性的 α -1 和 α -2 激动剂)。

当用于抑制或治疗再狭窄时，本公开的 MASP-2 抑制剂可与一种或多种抗再狭窄药物组合进行同时给药。合适的抗再狭窄药物包括：抗血小板药，包括凝血酶抑制剂和受体拮抗剂、腺苷二磷酸(ADP)受体拮抗剂(亦称噻吩受体 1 受体拮抗剂)、血栓烷抑制剂和受体拮抗剂以及血小板膜糖蛋白受体拮抗剂；细胞黏着分子的抑制剂，包括选择蛋白抑制剂和整联蛋白自由基；抗趋化药；白介素受体拮抗剂；以及胞内信号转导抑制剂，包括蛋白激酶 C(PKC)抑制剂和蛋白酪氨酸磷酸酶、胞内蛋白酪氨酸激酶抑制剂的调节剂、src 同源 2(SH2)结构域的抑制剂和钙通道拮抗剂。

本公开的 MASP-2 抑制剂也可与一种或多种其它的补体抑制剂联用。目前还没有补体抑制剂获准用于人体，然

而已经证明一些药物体内阻断补体。这类药物中的许多也是有毒的，或者只是部分抑制剂，这些药物的使用限于用作研究工具。K76COOH 和 羧基司他甲磺酸盐是两种在移植动物模型中具有一定疗效的药物。研究表明低分子量肝素也有效调节补体活性。我们认为这些小分子抑制剂可用作与本发明 MASP-2 抑制剂联用的药物。

其它天然存在的补体抑制剂可用于与本发明的 MASP-2 抑制剂联用。补体的生物学抑制剂包括可溶性补体因子 1(sCR1)。这是一种可在人细胞的外膜上找到的天然存在的抑制剂。其它膜抑制剂包括 DAF、MCP 和 CD59。已经对重组形式的体外和体内抗补体活性进行了测定。sCR1 表明在异种移植中是有效的，异种移植中补体系统(替代和经典两者)在新移植器官灌注血液几分钟内就引起过度反应排斥综合征。sCR1 的使用保护并延长了移植器官的存活时间，表明器官存活机制中的补体途径。

适于与本发明的组合物联用的其它补体抑制剂还包括例如由 Alexion Pharmaceuticals, Inc. New Haven 正在开发的单克隆抗体(MoAb)Connecticut，以及抗备解素单克隆抗体(MoAb)。

当用于治疗关节炎(例如骨关节炎和类风湿性关节炎)时，本发明的 MASP-2 抑制剂可与一种或多种软骨保护药联用，软骨保护药可包括一种或多种软骨合成代谢的促进剂和/或一种或多种软骨分解代谢的抑制剂，适当包括同时给药的合成代谢剂(anabolic agent)和分解代谢抑制剂(catabolic inhibitory agent)两者。合适的促合成代谢的软骨保护药包括白介素(IL)受体激动剂，包括 IL-4、IL-10、IL-13、rhIL-4、rhIL-10 和 rhIL-13 以及嵌合 IL-4、IL-10 或 IL-13；转化生长因子 β 超家族激动剂(包括 TGF- β 、TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3)，骨形成蛋白包括 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7(OP-1)和 OP-2/BMP-8，生长分化因子包括 GDF-5、GDF-6 和 GDF-7，重组 TGF- β 和 BMP，以及嵌合 TGF- β 和 BMP；胰岛素样生长因子，包括 IGF-1；以及成纤维细胞生长因子，包括 bFGF。合适的抑制分解代谢的软骨保护药包括白介素-1(IL-1)受体拮抗剂(IL-1ra)，包括可溶性 IL-1 受体(shuIL-1R)、rshuIL-1R、rhIL-1ra、抗 IL1 抗体、AF11567 和 AF12198；肿瘤坏死因子(TNF)受体拮抗剂(TNF- α)，包括 sTNFR1 和 sTNFR2 在内的可溶性受体、重组 TNF 可溶性受体和嵌合 TNF 可溶性受体，包括嵌合 rhTNFR: Fc、Fc 融合可溶性受体和抗 TNF 抗体；环加氧酶-2(COX-2 特异性)抑制剂；包括 DuP 697、SC-58451、塞来考昔(celecoxib)、罗非考昔(rfecoxib)、尼美舒利(nimesulide)、双氯芬酸(diclofenac)、美洛昔康(meloxicam)、吡罗昔康(piroxicam)、NS-398、RS-57067、SC-57666、SC-58125、氟舒胺(flosulide)、依托度酸(etodolac)、L-745,337 和 DFU-T-614；促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)抑制剂，包括 ERK1、ERK2、SAPK1、SAPK2a、SAPK2b、SAPK2d、SAPK3 的抑制剂，包括 SB 203580、SB 203580 碘、SB202190、SB 242235、SB 220025、RWJ 67657、RWJ 68354、FR 133605、L-167307、PD 98059、PD 1693 16；核因子 κ B(NF κ B)抑制剂，包括咖啡酸苯乙酯(CAPE)、DM-CAPE、SN-50 肽、hymenialdisine 和吡咯烷酮二硫代氨基甲酸酯；一氧化氮合酶(NOS)抑制剂，包括 NG-1-甲基-L-精氨酸、1400W、二苯撑碘、S-甲基异硫脲、S-(羧乙基)异硫脲、L-N6-(1-亚氨基乙基)赖氨酸、1, 3-PBITU、2-乙基-2-硫代假脲、氨基胍、N ω -硝基-L-精氨酸、N ω -硝基-L-精氨酸甲酯，基质金属蛋白酶(MMP)的抑制剂，包括 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-7、MMP-8、MMP-9、MMP-10、MMP-11、MMP-12、MMP-13、MMP-14 和 MMP-15 的抑制剂，包括 U-24522、米诺环素(minocycline)、4-Abz-Gly-Pro-D-Leu-D-Ala-NHOH、Ac-Arg-Cys-Gly-Val-Pro-Asp-NH₂、重组人 TIMP1、重组人 TIMP2 以及磷阿米酮(phosphoramidon)；细胞黏着分子，包括整联蛋白激动剂和拮抗剂，包括 α V β 3 MoAb LM 609 和锯鳞螯素(echistatin)；抗趋化剂，包括 F-Met-Leu-Phe 受体、IL-8 受体、MCP-1 受体和 MIP1-I/RANTES 受体；胞内信号转导抑制剂，包括(a)蛋白激酶抑制剂，包括(i)蛋白激酶 C(PKC)抑制剂(同工酶)包括抑激酶素 C(calphostin C)、G-6203 和 GF109203X 以及(ii)蛋白酪氨酸激酶抑制剂；(b)胞内蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP 酶)调节剂；和(c)SH2 结构域抑制剂(src 同源 2 结构域)。

对于一些应用来说，将本发明的 MASP-2 抑制剂与痉挛抑制剂联用可能是有利的。例如，对泌尿生殖系统应用来说，包括至少一种平滑肌痉挛抑制剂和/或至少一种抗炎药可能是有利的，对血管手术来说，包括至少一种血管痉挛抑制剂和/或至少一种抗炎药和/或至少一种抗再狭窄药可能是有益的。痉挛抑制剂的合适实例包括：5-羟色胺 2 受体亚型拮抗剂；速激肽受体拮抗剂；一氧化氮供体；ATP 敏感性钾通道开放剂；钙通道拮抗剂；以及内皮缩血管肽受体拮抗剂。

在本公开的一个实施方案中，以单剂量或多剂量施用抗体。

如果根据本发明以多次剂量施用前述抗体，则优选以至少 3 次剂量、至少 4 次剂量、至少 5 次剂量、至少 6 次剂量、至少 7 次剂量、至少 8 次剂量、至少 9 次剂量或至少 10 次剂量且优选至多 30 次剂量、25 次剂量、20 次剂量、15 次剂量或 10 次剂量施用前述抗体。优选以至少 7 天、至少 10 天、至少 14 天或至少 20 天的时间间隔施用前述抗体的剂量。优选以 7 至 30 天、10 至 20 天且优选为约 14 天的时间间隔施用前述抗体的剂量。

在一方面，本发明提供了前述任一方面的抗体或其抗原结合片段或核酸分子或载体或细胞或药物组合物在制备用于治疗受试者中与 MASP-2 依赖性补体活化相关的疾病的药物中的用途。

在一方面，本发明提供了一种试剂盒，其包含前述的抗体或其抗原结合部分、双特异性或多特异性分子、核酸分子、载体、细胞和/或组合物。

本发明试剂盒包括本发明的抗体、其片段、同源物、其衍生物等，例如带标记或具有细胞毒性的缀合物，以及抗体使用说明书、杀死特定类型细胞的缀合物等等。该说明书可包括在体外、体内或离体使用抗体、缀合物等的指导。抗体可以是液体形式或固体，通常是冻干的。该试剂盒可包含其它适宜的试剂，如缓冲液、重构溶液以及为了预定用途的其它必要成分。考虑了以预定量包装好的试剂组合与用于其用途的说明书，用途例如用于治疗用途或用于进行诊断测定。当抗体是带标记的时，例如用酶标记的，那么该试剂盒可包括底物和酶所需的辅因子(例如提供可检测生色团或荧光团的底物前体)。此外，其它添加剂，如稳定剂、缓冲液(例如封闭缓冲液或裂解缓冲液)等

也可包括在内。多种试剂的相对量可以改变而提供试剂溶液的浓缩物,这就提供了用户灵活性、节省空间、节省试剂等。这些试剂也可以干粉形式提供,通常是冻干形式,包括赋形剂,它在溶解时可提供具有适当浓度的试剂溶液。

在一方面,本公开提供了前述的抗体或其抗原结合部分、双特异性或多特异性分子、核酸分子、载体、细胞和/或组合物抗在制备用于诊断、治疗或预防与 MASP-2 依赖性补体活化相关的疾病的药物或试剂盒中的用途。

此外,本公开的抗体还可用于免疫测定、纯化方法以及其它用到免疫球蛋白或其片段的方法。此类用途在本领域为人所熟知。

相应地,本公开还提供包含本公开的抗 MASP-2 的抗体或其片段的组合物,抗体方便地和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂组合,这是本领域的常规做法。

本公开所使用的术语“药物组合物”系指多种制备物的制剂。含有治疗有效量的多价抗体的制剂为无菌液体溶液、液体悬浮剂或冻干形式,任选地包含稳定剂或赋形剂。

应当理解,根据前述实施方案的治疗剂将与合适的药学上可接受的载体、赋形剂、以及其它被掺入制剂中以提供改善的转移、递送、耐受性等的试剂一同施用。大量适当的制剂可见于所有药物化学工作者已知的药典中: Remington's Pharmaceutical Sciences (第 15 版, Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1975)), 特别是其中 Blaug、Seymour 的第 87 章。这些制剂包括例如粉末、糊剂、膏剂、凝胶剂、蜡、油、脂质、含脂质(阳离子或阴离子)载体(例如 Lipofectin™)、DNA 缀合物、无水吸浆、水包油和油包水乳液、乳液聚乙二醇(各种分子量的聚乙二醇)、半固态凝胶以及含有聚乙二醇的半固态混合物。任何前述混合物均可适用于根据本公开的治疗或疗法,条件是制剂中的活性成分不被制剂灭活并且制剂在生理学上是相容的并耐受给药途径。

在另一个实施方案中,针对 MASP-2 的抗体可用于本领域中已知的与 MASP-2 定位和/或定量相关的方法(例如,用于测定适当生理样品中的 MASP-2 和/或 MASP-2 的水平,用于诊断方法,用于蛋白成像等等)。在一个给定实施方案中,对 MASP-2 或其衍生物、片段、类似物或同系物具有特异性的、包含源于抗体的抗原结合结构域的抗体,被用作药物学活性化合物(下文称为“治疗剂”)。

在另一个实施方案中,可通过标准技术例如免疫亲和、色谱或免疫沉淀,使用对 MASP-2 具有特异性的抗体来分离 MASP-2 多肽。针对 MASP-2 蛋白质的抗体(或其片段)可用于检测生物样品中的蛋白质。在一些实施方案中,在生物样品中可检测 MASP-2 作为临床测试过程的一部分,例如,用于确定给定治疗方案的功效。将抗体偶联(即物理连接)到可检测物质可有利于检测。可检测物质的示例包括各种酶、辅基、荧光材料、发光材料、生物发光材料和放射性材料。合适的酶的示例包括辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;合适的辅基复合物的示例包括链霉亲和素/生物素和亲和素/生物素;合适的荧光材料的示例包括伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白;发光材料的一个示例包括鲁米诺;生物发光材料的示例包括荧光素酶、荧光素和水母蛋白,并且合适放射性材料的示例包括 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 或 ^3H 。

在另一个实施方案中,根据本公开的抗体可用作检测样品中 MASP-2 或其蛋白质片段存在的试剂。在一些实施方案中,抗体包含可检测标记。抗体为多克隆抗体,或更优选单克隆抗体。使用完整的抗体或其片段(例如 Fab、scFv 或 F(ab')_2)。关于抗体的术语“标记”旨在包括通过将可检测物质偶联(即物理连接)到该抗体来直接标记该抗体,以及通过与直接标记的另一种试剂反应来间接标记该抗体。间接标记的示例包括使用荧光标记的第二抗体检测第一抗体,以及用生物素进行末端标记抗体,以便能够用荧光标记的链霉亲和素进行检测。术语“生物样品”旨在包括从受试者分离的组织、细胞和生物学流体,以及受试者体内存在的组织、细胞和流体。因此,使用的术语“生物样品”包括血液和血液中的级分或组分,包括血清、血浆、或淋巴液。换言之,前述实施方案的检测方法可用于在体外及体内检测生物样品中的分析物 mRNA、蛋白质或基因组 DNA。例如,分析物 mRNA 体外检测技术包括 Northern 杂交和原位杂交。分析物蛋白质体外检测技术包括酶联免疫吸附测定(ELISA)、Western 印迹、免疫沉淀、以及免疫荧光。分析物基因组 DNA 体外检测技术包括 Southern 杂交。用于进行免疫测定的过程描述于例如“ELISA: Theory and Practice: Methods in Molecular Biology”, 第 42 卷, J.R.Crowther (编辑) Human Press, Totowa, N.J., 1995; “Immunoassay”, E. Diamandis 和 T. Christopoulos, Academic Press, Inc., San Diego, Calif., 1996; 以及“Practice and Theory of Enzyme Immunoassays”, P.Tijssen, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1985。此外,分析物蛋白质的体内检测技术包括向受试者体内导入标记的抗分析物蛋白抗体。例如,可以用放射性标记标记抗体,然后可以通过标准成像技术检测受试者体内该放射性标记物的存在和位置。

可将本文所述抗体和其衍生物、片段、类似物和同系物掺入适于施用的药物组合物中。制备此类组合物所涉及的原理和考虑事项以及选择组分的指南在本领域中是熟知的。

此类组合物通常包含抗体和药学上可接受的载体。当使用抗体片段时,与靶蛋白结合结构域特异性结合的最小抑制片段可为优选的。例如,基于抗体的可变区序列,可以设计保留结合靶蛋白质序列能力的肽分子。此类肽可化学合成和/或通过重组 DNA 技术产生(参见例如 Marasco 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:7889-7893 (1993))。

如本文所用,术语“药学上可接受的载体”旨在包括与药物给药相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延缓剂等。合适的药学上可接受的载体描述于最新版的 Remington's Pharmaceutical Sciences 中,这是本领域的标准参考书目,其以引用方式并入本文。此类载体或稀释剂的优选示例包括但不限于水、盐水、林格氏溶液、葡萄糖溶液和 5% 的人血清白蛋白。也可以使用脂质体和非水性载体,例如固定化油。将此类介质和试剂用于药物活性物质是本领域熟知的。除去任何常规的介质或试剂与抗体不相容之外,设想其在组合物中的用途。

将前述实施方案的药物组合物配制成与其预期施用途径相容。给药途径的示例包括肠胃外,例如静脉内、皮内、

皮下、经口（例如吸入）、经皮（即局部的）、经粘膜和直肠给药。用于肠胃外、皮内或皮下施用的溶液或悬浮液可包括以下组分：注射用无菌稀释剂例如水、盐溶液、固定油、聚乙二醇类、甘油、丙二醇或其它合成溶剂；抗菌剂，例如苯醇或对羟基苯甲酸甲酯；抗氧化剂，例如抗坏血酸或亚硫酸氢钠；螯合剂，例如乙二胺四乙酸（EDTA）；缓冲剂，例如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐、以及调节渗透压的试剂，例如氯化钠或右旋糖。pH 可用酸或碱进行调节，例如盐酸或氢氧化钠。可将肠胃外制剂包装在安瓿、一次性注射器或玻璃或塑料制多剂量小瓶内。

适于注射用途的药物组合物包括无菌水性溶液（在此是水溶性的）或分散体以及用于即时制备无菌注射液或分散体的无菌粉末。对于静脉内施用，合适的药理学上可接受的载体包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EL™（BASF, Parsippany, N.J.）或磷酸盐缓冲盐水（PBS）。在所有情况下，组合物必须是无菌的并且应当为流动性达到易于注射的程度。其在制造和储存条件下必须是稳定的并且必须能防止微生物例如细菌和真菌的污染作用。载体可以是含有例如水、乙醇、多元醇（例如，甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等）的溶剂或分散介质，及其适宜的混合物。例如通过利用涂层例如卵磷脂，在分散体情况下维持所需颗粒尺寸，以及利用表面活性剂，可以保持适宜的流动性。对微生物作用的防止可以通过各种抗菌剂和抗真菌剂例如对羟基苯甲酸酯、氯代丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等来实现。在许多情况下，将优选在组合物中包含等渗剂，例如糖、多元醇（诸如甘露糖醇、山梨醇）、氯化钠。注射用组合物的延长吸收可通过在前述组合物中包含延缓吸收的试剂例如单硬脂酸铝和明胶来达到。

根据需要，可以通过将抗体以所需量掺入具有上文所列成分中的一种或组合（按需要）的合适溶剂中来制备无菌注射溶液，然后过滤消毒。一般来讲，通过将抗体掺入含有碱性分散介质和上文所列那些中的所需其它成分的无菌载体中来制备分散体。就用于制备无菌注射溶液的无菌粉末而言，制备方法是获得粉末的真空干燥和冷冻干燥，该粉末包含活性成分和任何另外的期望成分，它们来自前述的这些成分的无菌过滤溶液。

对于吸入给药，从包含合适推进剂如二氧化碳等气体的加压容器或分配器或者喷雾器以气溶胶喷雾形式递送化合物。

还可以通过经粘膜或透皮方式全身给药。对于经粘膜或透皮给药，在制剂中使用适于渗透屏障的渗透剂。此类渗透剂通常在本领域是通常所知的，并且包括如用于经粘膜给药的去污剂、胆盐和夫西地酸衍生物。经粘膜给药可以通过使用喷雾剂或栓剂来实现。对于透皮给药，可将一种或多种前述抗体配制成为如本领域通常所知的膏剂、软膏、凝胶、或霜膏。

还可将化合物以栓剂（例如，具有常规栓剂基质，如可可脂或其它甘油酯）或滞留性灌肠剂形式进行制备以用于经直肠递送。

在一个实施方案中，前述抗体可用防止其不被身体迅速消除的载体制备，例如缓释/控释制剂，包括植入体和微胶囊化递送体系。可使用可生物降解、可生物相容的聚合物，例如乙烯-乙酸乙烯酯、聚酐、聚乙醇酸、胶原、聚乳酸和聚乳酸。用于制备此类制剂的方法对于本领域技术人员而言是显而易见的。

尤其有利的是以剂量单位形式配制肠胃外组合物以易于施用和剂量的一致性。如本文所用，剂量单位形式是指用于待治疗的受试者，适合作为单位剂量的物理上可分离的单位；每个单位含有经计算与所需药物载体结合产生期望治疗效果的预定量的一种或多种前述抗体。前述实施方案的剂量单位形式的规格由以下指示并直接取决于：抗体的独特特征和待实现的具体治疗效果，和用于治疗个体的此类抗体的调配领域中固有的局限性。

前述药物组合物可与给药说明书一起放于容器、包装、或分配器中。

本文所述制剂还可根据要治疗的具体情况而包含多于一种前述抗体，优选具有互补活性但对彼此无负面影响的。另选地或除此之外，组合物可例如包含增强其功能的试剂，诸如细胞毒素试剂、细胞因子、化学治疗剂、或生长抑制剂。此类分子以对预期目的有效的量适当地联合存在。例如，可以在试剂盒中联合存在，也可以在使用中联合存在。

在一个实施方案中，一种或多种前述抗体可在联合治疗中施用，即与其它试剂例如治疗剂（其可用于治疗病理学病症或障碍，例如各种形式的自身免疫性疾病和炎症性疾病）联合。术语“联合”在本文中是指将试剂基本上同步地，同时地或顺次地给予。如果顺次给予，则在开始施用第二种化合物时，两种化合物中的第一种仍优选在治疗位点处以有效浓度被检测到。在一种情况下，“联合”也可以是在试剂盒中同时包含本公开的抗体和其他治疗剂。

例如，联合治疗可包含本文所述一种或多种抗体与一种或多种附加治疗剂（例如一种或多种细胞因子和生长因子抑制剂、免疫抑制剂、抗炎剂、代谢抑制剂、酶抑制剂、和/或细胞毒素或细胞生长抑制剂，如下更详述的）共同配制和/或共同施用。此类联合治疗可有利地利用较低剂量的施用的治疗剂，因而避免了与各种单一疗法相关的可能毒性或并发症。

本公开实验证明，本公开提供的多种可高亲和力结合 MASP-2 并抑制凝集素介导的补体活化的单克隆抗体及其变体可以特异性识别人、猴、小鼠和大鼠 MASP-2 的酶活结构域 CCP1-CCP2-SP，在低浓度条件下即可有效抑制 C4b 及 C3 转化酶 C4b2a 的生成，其阻断活性比已知抗体高 50-200 倍。在恒河猴中进行的预毒理研究结果显示，动物对高剂量新型 MASP-2 抗体耐受良好，无任何毒性反应，其疗效与安全性均优于同类抗体。

为了达到清楚和简洁描述的目的，本文中作为相同的或分开的一些实施方案的一部分来描述特征，然而，将要理解的是，本公开的范围可包括具有所描述的所有或一些特征的组合的一些实施方案。

实施例

实施例 1、凝集素途径 MASP-2 活性检测

血浆中 MBL 识别重复的 N-氨基半乳糖或甘露糖结构后，可顺序激活丝氨酸蛋白酶 MASP-1 和 MASP-2，活

化的 MASP-2 裂解补体成分 C4 和 C2, 形成的 C4b 沉积在孔板上, 可被抗 C4b 抗体识别; C4 和 C2 裂解产物形成的 C3 转化酶 C4b2a, 切割补体成分 C3 后, 形成的 C3b 沉积在孔板上, 可被抗 C3b 抗体识别。因此, 通过检测凝集素激活反应中 C4b 或 C3b 的产生, 可显示 MASP-2 抗体对血清中 MASP-2 的抑制活性。

C4 裂解活性测定

在酶标板加入 20 μ g/ml 甘露聚糖(Sigma, M7504), 4 $^{\circ}$ C 包被过夜。2% BSA 室温封闭 60 分钟后, 加入 0.5% 稀释入血清, 4 $^{\circ}$ C 过夜。洗涤后, 加入 50 μ l/孔不同浓度的 MASP-2 抗体 (起始浓度为 30 μ g/ml, 5 倍梯度稀释, 共稀释 9 个梯度), 4 $^{\circ}$ C 预孵 30 分钟后, 加入 50 μ l 2 μ g/ml 人 C4 蛋白 (CompTech, #A105), 37 $^{\circ}$ C 反应 90 分钟。洗板后, 加入 1:1000 稀释的 Biotin 标记的人 C4b 多抗 (ASSAYPRO, #11223-05021), 室温孵育 90 分钟, 加入 1:5000 过氧化物酶-链亲和素 (Jackson ImmunoResearch 016-030-084) 室温孵育 60 分钟, 加入 TMB 显色液, 37 $^{\circ}$ C 避光显色约 10 分钟, 终止反应并读取 OD 值。

C3 转化酶活性测定

在酶标板加入 20 μ g/ml 甘露聚糖, 4 $^{\circ}$ C 包被过夜。2% BSA 室温封闭 60 分钟后, 加入 0.5% 人血清稀释的 MASP-2 抗体 (起始浓度为 60 μ g/ml, 5 倍梯度稀释, 共稀释 9 个梯度), 37 $^{\circ}$ C 反应 90 分钟, 加入 1:500 兔抗人 C3/C3b/C3c 多抗 (Proteintech, #21337-1-AP), 室温孵育 60 分钟, 加入 1:5000 HRP 标记的羊抗兔二抗 (Jackson ImmunoResearch 111-035-144), 室温孵育 60 分钟, 加入 TMB 显色液, 37 $^{\circ}$ C 避光显色约 10 分钟, 终止反应并读取 OD 值。

实施例 2、MASP-2 重组蛋白的制备

将编码人 MASP-2 酶活结构域 CCP1-CCP2-SP 的序列, 克隆到真核表达质粒中, N 端融合 his6 标签方便纯化, 转染 HEK293E 细胞培养 7 天后, 收集培养基上清液, 经镍整合柱纯化得到人 MASP-2 D4-6 重组蛋白 (SEQ ID NO. 1)。同样, 分别得到食蟹猴 MASP-2 D4-6 (SEQ ID NO. 2)、小鼠 MASP-2 D4-6 (SEQ ID NO. 3) 和大鼠 MASP-2 D4-6 (SEQ ID NO. 4) 重组蛋白。图 1 示出了人、食蟹猴、小鼠和大鼠 MASP-2 D4-6 重组蛋白的 SDS-PAGE 结果。

实施例 3、动物免疫和杂交瘤抗体的制备

选择 6 周 BALB/c 雌性小鼠, 使用人或食蟹猴 MASP-2 D4-6 重组蛋白与弗氏佐剂等体积混合, 进行皮下或足垫免疫。初次免疫两周后, 进行加强免疫, 待免疫小鼠血清滴度达到 1:100000, 进行冲击免疫, 三天后取小鼠脾和外周淋巴结, 分离得到 B 细胞。

取适量的 B 细胞和 SP2/0 细胞融合, 在含有 HAT 的 DMEM 完全培养基中筛选, 杂交瘤细胞置于 5% CO₂ 37 $^{\circ}$ C 条件下培养 5-7 天。包被人或食蟹猴 MASP-2 D4-6 重组蛋白 (1 μ g/mL), 通过 ELISA 检测杂交瘤培养上清, 共有 778 个单克隆抗体可交叉识别人或食蟹猴的 MASP-2。收获上清, 通过 C4 裂解活性测定, 其中 61 个克隆具有显著的 MASP-2 抑制活性 (如图 2 所示)。

根据杂交瘤筛选的结果, 采用 TRNzol 裂解法提取候选杂交瘤单克隆细胞的 RNA, 然后逆转录合成单链 cDNA, 以此为模板扩增得到杂交瘤单克隆细胞中抗体的可变区序列。

MASP-2 抗体可变区序列如下:

表 1、MASP-2 鼠源抗体的可变区序列

MASP-2 鼠源 抗体	HCVR		HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR		LCDR1	LCDR2	LCDR3
	氨基酸 序列	核苷酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	核苷酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列
1B2	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
3B9	15	16	7	17	18	19	20	21	22	23
4F8	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
5J11	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43
9P13	44	45	7	46	47	48	49	50	51	52
10H9	53	54	7	17	18	55	56	21	57	23
10L3	58	59	7	17	60	61	62	50	51	52
11F8	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72
11G8	73	74	7	17	47	75	76	50	51	52
14K22	77	78	7	17	79	80	81	50	51	82
16A15	83	84	36	85	86	87	88	41	42	43
16A17	83	84	36	85	86	89	90	41	42	91
20J6	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101
21E1	102	103	7	104	105	106	107	108	109	110
24G17	111	112	26	113	114	115	116	117	118	33
25L15	119	120	94	95	96	121	122	123	100	101
28O14	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133

克隆: 1B2

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 5 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 6 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 7、8、9 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <--  
DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSI TSDYAWNWIRQFSGDKLEWMG YISYSGSTSYNPSLKSRI  
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->  
ITRDTSKNQFFLHLSSVTEDTATYFCAR YWGDYWGHGTTTLTVSS
```

核酸序列

GATGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA
CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAACCTGGATCCGGCAGTTTTCAGGAGACAACTGGAGTGGAT
GGGCTACATAAGCTACAGTGGTTCCTACTAGCTATAACCCATCTCTCAAAAGTCGAATCTCTATCACTCGAGAC
ACATCCAAGAACCAGTTCTTCTGCACTTGAGTTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTTCTGTGCAA
GATATTGGGGCGACTACTGGGGCCACGGCACCCTCTCACAGTCTCTCTCA

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 10 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 11 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、13、14 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----  
DSVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTC KASHNVGTINVAWFQQKPGQSPKGLIY SASYSRSSGVPDRFTGSGSGT  
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->  
DFTLTISNVQSEDLAEYFC LQYNSNPLTFGGGTKLEVK
```

核酸序列

GACAGTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTATGTCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCTGCAAGG
CCAGTCACAATGTGGGTACTAATGTAGCCTGGTTTCAACAGAAACCAGGACAATCTCTAAAGGACTGATTTA
CTCGGCATCTTACCGGTCCAGTGGAGTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGGACAGACTTCACTCTC
ACCATCAGCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAGTATTTCTGTCTACAATATAACAGCAATCCTCTGACGT
TCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAGGTCAAG

克隆: 3B9

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 15 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 16 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 7、17、18 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <--  
DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSI TSDYAWNWIRQFPGNKLEWMG YISYSGRTSYNPSLKSRLS  
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->  
ITRDTSKNQFFLQLNSVSSADTATYYCAI ISTAVDFDYWGQGTTLTVSS
```

核酸序列

GATGTACAACCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA
CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAACCTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAACTGGAGTGGAT
GGGCTACATAAGTTACAGTGGTGCCTAGTTACAACCCCTCTCTCAAAAGTCGACTCTCTATCACTCGAGAC
ACATCCAAGAACCAGTTCTTCTGCACTTGAATTCTGTGAGTTCTGCGGACACAGCCACGTATTACTGTGCAA
TTATTTCTACGGCAGTAGACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCCTCTCACAGTCTCTCTCA

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 19 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 20 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 21、22、23 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----  
QTVLTQSPAISASLGERVTMTCT TASSSVSSSYLLWYQQKPGSSPKLWIY STSKLASGVPVRFSGSGSG  
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->  
TSYSLTISMEADDAATYYC LQYNRSPLTFGAGTKLELK
```

核酸序列

CAAACCTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCTAGGGGAACGGGTCAACATGACCTGCACTG
CCAGCTCAAGTGTAAGTTCCAGTTACTTGTCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGATCCTCCCCAACTCTGGAT
TTATAGCACATCCAAGTTGGCTTCTGGAGTCCCAGTTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCT
CTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGACGATGCTGCCACTTATTACTGCCTCCAGTATAATCGTTCCCCGCTCA
CGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

克隆: 4F8

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 24 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 25 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 26、27、28 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <--  
EVQLQESGPGLVKPSQSLSLACTVTGYSI TSDYAHWIRQFPGNKLEWMG FISYSGRTNYNPLTSRI  
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->  
ITRDTSKNQFFLQLNSVTEDTATYYCAR SYDYWFGYWGQGTTLTVSA
```

核酸序列

GAGGTCCAGCTGCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCGCCTGCACTGTCA
CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGCACTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAACTGGAGTGGAT
GGGCTTCATAAGCTACAGTGGTAGAATACTACAACCCACCTCTCACAAGTCGAATCTCTATCACTCGAGAC
ACATCCAAGAACCAGTTCTTCTGCACTTGAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAA
GATCATATGATTACTGGTTTGGTTATTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 29 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 30 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 31、32、33 所示。

```
<-----FR1----->      CDR1      <-----FR2----->  CDR2 <-----
NVLMTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLEWYMQKPGQSPKLLIYTVSRRFSGVPDRFSG
-----FR3----->      CDR3      <---FR4--->
SGSGTDFTLKISRVEADLGVYYCFQGSHPVPTFGAGTKLELK
```

核酸序列

```
AATGTTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGAT
CTAGTCAGAGTCTTGTACATAGTAATGGAAACACCTATTTAGAATGGTACATGCAGAAACAGGCCAGTCTCC
AAAGCTCCTGATCTACACAGTTTCCAGACGATTTTCTGGGGTCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGG
ACAGATTTACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTATTGCTTTCAAGGTTTCA
ATGTTCCGGTCACGTTCTGGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA
```

克隆: 5J11

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 34 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 35 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 36、37、38 所示。

```
<-----FR1----->      CDR1      <---FR2--->      CDR2      <---
DVQLQESGPGVLKPSQSLSLTCTVTGYSTSDYANKWIRQFPGNKLEWMGYISYSGSTSYNPSLKGRIS
-----FR3----->      CDR3      <---FR4--->
ITRDTSKNQFFLHLQSVTIEDTATYYCAILGYFAMDYWGQGTPTVTVSS
```

核酸序列

```
GATGTACAACCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA
CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAAGTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAACTGGAGTGGAT
GGGCTACATAAGTTACAGTGGCAGCAGTCTACAACCTTCTCTCAAAGGTCGAATCTCTATCACTCGAGAC
ACATCCAAGAACCAGTTTTTCTGCACTTGAATCTGTGACTATTGAGGACACAGCCACCTATTACTGTGCAA
TACTAGGTTACTTTGCTATGACTACTGGGGCAAGGAACCCAGTCACCGTCTCCTCA
```

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 39 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 40 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 41、42、43 所示。

```
<-----FR1----->      CDR1      <---FR2--->      CDR2      <-----
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVVDVAWYQQKSGQSPKSLIYLASNRRHTGVPDRFTGSGSGT
-----FR3----->      CDR3      <---FR4--->
DFTLTISNVQSEDLADYFCLQHWSYPLTFGGGTKLEIK
```

核酸序列

```
GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACTTCAGTAGGAGACAGGGTCAGCATCACCTGCAAGG
CCAGTCAGAATGTTCTGTGTTGACGTTGCCTGGTATCAACAGAAATCAGGGCAGTCTCCTAAATCACTGATTTA
CTTGGCATCCAACCGGCACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC
ACCATTAGCAATGTGCAATCTGAAGACCTGGCAGATTATTTCTGTCTACAACATTGGAGTTATCCTCTGACGT
TCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA
```

克隆: 9P13

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 44 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 45 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 46、47 所示。

```
<-----FR1----->      CDR1      <---FR2--->      CDR2      <---
DVQLQESGPGVLKPSQSLSLTCTVTGYSTSDYANWIRQFPGNLEWMGYISYSGRTSYNPSLIGRIS
-----FR3----->      CDR3      <---FR4--->
ITRDTTKNQFFLQLNSVSTEDTATYYCAKLAGGHGMDYWGQGTSTVTVSS
```

核酸序列

```
GATGTGACGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA
CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAAGTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACACATTGGAGTGGAT
GGGCTATATAAGTTATAGTGGTAGGACTAGCTACAACCCATCTCTGATAGGTCGAATCTCAATCACTCGAGAC
ACAACCAAGAACCAGTTCTTCTGCACTTGAATCTGTGTCTACTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAA
AATTGCGCGGAGGACATGGGATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
```

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 48 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 49 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 50、51、52 所示。

```
<-----FR1----->      CDR1      <---FR2--->      CDR2      <-----
NIVMTQSQQFMSTSVGDRVSVTCASQNVDTNVAWYQQKPGQSPKALIYSASYRYS GVPDRFTGSGSGT
-----FR3----->      CDR3      <---FR4--->
DFTLTISNVQSEDLAEYFCLQYNSYLTTFGSGTKLELK
```

核酸序列

```
AACATTGTGATGACCCAGTCTCAACAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCTGCAAGG
CCAGTCAGAATGTGGATACTAATGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGACAATCTCCTAAAGCACTGATTTA
CTCGGCATCTTACCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC
ACCATCAGCAATGTGCACTCTGAAGACTTGGCAGAATATTTCTGTCTGCAATATAATAGTTACCTCACGTTTCG
GTTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA
```

克隆: 10H9

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 53 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 54 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 7、17、18 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <--
DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIQFPGNKLEWMGYISYSGRTSYNPSLKSRLS
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
VTRDTSKNQFFLQLNSVNAADTATYYCAIISTAVDFDYWGQGTTLTVSS
```

核酸序列

```
GATGTACAACCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAGACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA
CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAACCTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAACTGGAGTGGAT
GGGCTACATAAGTTACAGTGGTCGCACCTAGCTACAACCCCTCTCTCAAGAGTCGACTCTCTGTCACTCGAGAC
ACATCCAAGAACCAGTTCTTCTGTCAGTTGAATTCTGTGAATGCTGCGGACACAGCCACGTATTACTGTGCAA
TTATTTCTACGGCAGTAGACTTTGACTACTGGGGCCAAGGACCACTCTCACAGTCTCTCTCA
```

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 55 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 56 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 21、57、23 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----
QIVLTQSPAIMSASLGERVTMTCTASSSVSSSYLLWYQQKPGSSPKLWIYSSSKLASGVPVRFSGSGS
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
TSYSLTISMEADAATYYCLQYNRSPLTFGAGTKLELK
```

核酸序列

```
CAAAATTGTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCTAGGGGAACGGGTACCATGACCTGCACTG
CCAGCTCAAGTGTAAGTTCCAGTTACTTGCTCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGATCCTCCCCAACTCTGGAT
TTATAGCTCATCCAAGTTGGCTTCTGGAGTCCCAGTTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCT
CTCACAAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCTCCAGTATAATCGTTCCCGCTCA
CGTTCGGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA
```

克隆: 10L3

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 58 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 59 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 7、17、60 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <--
DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIQFPGNKLEWMGYISYSGRTSYNPSLKSRLS
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
ITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCAKLGGGHGMDYWGQGTSTVTVSS
```

核酸序列

```
GATGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA
CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAACCTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAAATTGGAGTGGAT
GGGCTACATAAGTTATAGTGGTAGGACTAGCTACAACCCATCTCTGAAAAGTCGAATCTCAATCACTCGAGAC
ACATCCAAGAACCAGTTCTTCTGTCAGTTGAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAA
AATTGGGCGGAGGACATGGGATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCTCTCA
```

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 61 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 62 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 50、51、52 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----
IVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTKASQNVDTNVAWYQQKPGQSPKALISASRYRSGVPDRFTGSGSGTD
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
FTLTISNVQSEDLAEYFCLOYNSTLTFGSGTKLELK
```

核酸序列

```
ACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCTGCAAGGC
CAGTCAGAATGTGGATACTAATGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAAAGCGCTGATTTAC
TCGGCATCCTACCGTTACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCA
CCATCAGCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAGTATTCTGTCTGCAATATAACAGCTACCTCACGTTTCGG
TTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA
```

克隆: 11F8

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 63 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 64 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 65、66、67 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-
QVTLKESGPGILKPSQTLILTCSFSGFSLNTSGMGVGVWIRQPSGKGLEWLAHIWDDDDKDYNPSLKSQV
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
TISKDTSTNQVFLKITSVDTADGATYYCVRDITFLDAMDYWGQGTSTVTVSS
```

核酸序列

```
CAAGTTACTCTAAAAGAGTCTGGCCCTGGGATATTGAAGCCCTCACAGACCTCATTCTGACTTGTTCTTTCT
CTGGGTTTTCACTGAACACTTCTGGTATGGGTGTAGGCTGGATTCTGTCAGCCTTCAGGGAAGGGTCTGGAGTG
GCTGGCACACATTTGGTGGGATGATGATAAGGACTATAACCCATCCCTGAAGAGCCAAGTCACAATCTCCAAG
GATACCTCCACAAACCAGGTGTTCTCAAGATCACCAGTGTGGACACTGCAGATGGTGCCACTTACTACTGTG
```

TTCGAGATACTACGTTTTTAGATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 68 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 69 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 70、71、72 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
 DVLMTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQSIVHRNGNTFLEWYLQKPGQSPKLLIYRVSNRFS GVPDRFSG
 -----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
 SSGTDFTLKISRVEAEDLGVIYCFQGSHPVFTFGSGTKLEIK

核酸序列

GATGTTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGGT
 CTAGTCAGAGCATTGTACATCGTAATGGAAACACCTTTTTAGAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCC
 AAAGCTCCTGATCTACAGGGTTTCCAACCGATTCTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGG
 ACAGATTTACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTACTGCTTTCAAGGTTTAC
 ATGTTCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAA

克隆: 11G8

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 73 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 74 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 7、17、47 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <--
 DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWN WIRQLPGNKLEWVGYSISYSGRTSYNPSLKSRI S
 -----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
 ITRDTTKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCAKLAGGHGMDYWGQGTSTVTVSS

核酸序列

GATGTGACGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA
 CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAACCTGGATCCGGCAGTTACCAGGAAACAAATTGGAGTGGGT
 GGGCTATATAAGTTATAGTGGTAGGACTAGCTACAACCCATCTCTGAAAAGTCGAATCTCAATCACTCGAGAC
 ACAACCAAGAACCAGTTCTTCTGCACTTGAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAA
 AGTTGGCCGGGGACATGGGATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 75 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 76 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 50、51、52 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
 NIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCASQNVDTNVAWYQQKPGQSPKALIHSA SYRYS GVPDRFTGSGSGT
 -----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
 DFILITISNVQSEDLAEYFC LQYNSYLT FGS GTKLELK

核酸序列

AACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCTGCAAGG
 CCAGTCAGAATGTGGATACTAATGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAAAGCACTGATTCA
 CTCGGCATCTACCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTTCACTCTC
 ACCATCAGTAATGTGCACTCTGAAGACTTGGCAGAGTATTTCTGTCTGCAATATAACAGCTACCTCACGTTTCG
 GTTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

克隆: 14K22

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 77 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 78 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 7、17、79 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <--
 DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWN WIRQFPNGKLEWMGYISYSGRTSYNPSLKSRI S
 -----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
 ITRDTSKNQFFLHLNSVTTEDTATYFCAVLGLYFDYWGQGTPLTVSS

核酸序列

GATGTGACGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA
 CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAACCTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAAACTGGAGTGGAT
 GGGCTACATAAGCTACAGTGGTAGAACTAGCTACAACCCATCTCTCAAAAGTCGAATCTCTATCACTCGAGAC
 ACATCCAAGAACCAGTTCTTCTGCACTTGAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTTCTGTGCAG
 TACTGGGACTCTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCCCTCTCACAGTCTCCTCA

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 80 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 81 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 50、51、82 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
 DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCASQNVDTNVAWYQQKPGQSPKALIYSA SYRYS GVPDRFTGSGSGT
 -----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
 DFILITISNVQSEDLAEYFC HQFNSNPLTFGAGTKLELK

核酸序列

GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCTGCAAGG
 CCAGTCAGAATGTGGATACTAATGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAAAGCACTGATTTA
 CTCGGCATCTACCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC
 ACCATCAGCAATGTGCACTCTGAAGACTTGGCAGAATATTTCTGTCCCAATTTAACAGCAATCCTCTCACGT
 TCGGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

克隆：16A15

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 83 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 84 所示，其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 36、85、86 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <--  
DVQLQESGPGVLVPSQSLSLTCTVTGYSITSDYANKWIRQFPGNKLEWMGYISYSGSTSYHPSLKGRIS  
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->  
ITRDTSKNQFFLQLNSVTADDTATYYCAILGYYAMDYWGQGTSTVTVSS
```

核酸序列

```
GATGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA  
CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAAATGGATCCGGCAGTTCCAGGAAACAACTGGAATGGAT  
GGGCTACATAAGCTACAGTGGTTCCACTAGCTATCACCCATCTCTCAAAGGTCGAATCTCCATCACTCGAGAC  
ACATCCAAGAACCAGTTCTTCCCTGCAGTTGAATTCTGTGACTGCTGACGACACAGCCACATATTACTGTGCAA  
TATTAGGTTACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
```

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 87 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 88 所示，其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 41、42、43 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----  
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVKVDVAWYQQKSGQSPRALIYLASNRRHTGVPDRFTGSGSGT  
----FR3-----> CDR3 <----FR4---->  
DFTLTITNVQSEDLADYFCLOHWSYPLTFGGGKLEIK
```

核酸序列

```
GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGTATCACCTGCAAGG  
CCAGTCAGAATGTTTCGTGTTGACGTAGCCTGGTATCAACAGAAATCAGGGCAGTCTCCTAGAGCACTGATTTA  
CTTGGCATCCAACCGGCACACTGGAGTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC  
ACCATTACCAATGTGCAATCTGAGGACCTGGCAGATTATTTCTGTCTACAACATTGGAGTTATCCTCTGACGT  
TCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA
```

克隆：16A17

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 83 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 84 所示，其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 36、85、86 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <--  
DVQLQESGPGVLVPSQSLSLTCTVTGYSITSDYANKWIRQFPGNKLEWMGYISYSGSTSYHPSLKGRIS  
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->  
ITRDTSKNQFFLQLNSVTADDTATYYCAILGYYAMDYWGQGTSTVTVSS
```

核酸序列

```
GATGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA  
CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAAATGGATCCGGCAGTTCCAGGAAACAACTGGAATGGAT  
GGGCTACATAAGCTACAGTGGTTCCACTAGCTATCACCCATCTCTCAAAGGTCGAATCTCCATCACTCGAGAC  
ACATCCAAGAACCAGTTCTTCCCTGCAGTTGAATTCTGTGACTGCTGACGACACAGCCACATATTACTGTGCAA  
TATTAGGTTACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
```

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 89 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 90 所示，其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 41、42、91 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----  
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVKVDVAWYQQKSGQSPRALIYLASNRRHTGVPDRFTGSGSGT  
----FR3-----> CDR3 <----FR4---->  
DFTLTITNVQSEDLADYFCPOHWSYPLTFGGGKLEIK
```

核酸序列

```
GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGTATCACCTGCAAGG  
CCAGTCAGAATGTTTCGTGTTGACGTAGCCTGGTATCAACAGAAATCAGGGCAGTCTCCTAGAGCACTGATTTA  
CTTGGCATCCAACCGGCACACTGGAGTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC  
ACCATTACCAATGTGCAATCTGAGGACCTGGCAGATTATTTCTGTCCACAACATTGGAGTTATCCTCTGACGT  
TCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA
```

克隆：20J6

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 92 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 93 所示，其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 94、95、96 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <--  
KVKLVESGGDLVKPGGSLKISCTASGTFISNYAMSWIRQTPDKRLEWVATVSSGGPYTYYPDSVKGRTF  
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->  
ISRDN AENTLYLQMSLRSDDTAIYYCARQIYSDYDVTYWGQGTSLTVSA
```

核酸序列

```
AAAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAAAATCTCCTGTACAGCCT  
CTGGATTCACTTTTCACTAATATGCCATGTCTTGGATTGCCAGACTCCGGACAAGAGGCTGGAGTGGGTCGC  
AACCCTTAGTAGTGGTGGTCCTTACACCTACTATCCAGACAGTGTGAAGGGGCGATTACCATCTCCAGAGAC  
AATGCCGAAAACACCCTGTACCTGCAATGAGCAGTCTGAGGTCTGATGACACGGCCATATATTACTGTGCAA
```

GGCAGATCTACTCTGATTACGACGTCCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 97 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 98 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 99、100、101 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
QIVLSQSPAILSASPGTETVTMTCT**RASSSVSFMY**WLQQKPGSSPQPWLY**ATSNLAS**GVPARFSGSGSGTS
-----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
YSLTITRVEAEDAATYYC**QOWSFRPWT**FGGGTKLEIK

核酸序列

CAAAATTGTCTCTCTCCAGTCTCCAGCAATCCTGTCTGCATCTCCAGGGGAGACGGTCACAATGACTTGCAGGG
CCAGTTCAGGTGTAAGTTTCATGTACTGGCTCCAGCAGAAGCCAGGTTCTCTCCCCCAACCCTGGATTTATGC
CACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCCCTCACA
ATCACCAGAGTGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGTCAACAGTGGAGTTTTAGACCGTGGACGTTTCG
GTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA

克隆: 21E1

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 102 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 103 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 7、104、105 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <--
DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGFSI**TSDYAWN**WIRQFPGNKLEWMG**YISYSGRTNYPNPSLKS**SRFS
-----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
ITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCAR**SYDYWFPY**WGQGLTVTVSA

核酸序列

GATGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA
CTGGCTTCTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAAGTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAACTGGAGTGGAT
GGGTACATAAGCTACAGTGGTAGAACTAACTACAACCCATCTCTCAAAAGTCGATTCTCTATCACTCGAGAC
ACATCCAAGAACCAGTTCTTCTGCAGTTGAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAA
GATCATATGATTACTGGTTTCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 106 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 107 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 108、109、110 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
DVLMTQTPSLPLVSLGDQASIS**CRSSQSIVHSNGNTFLE**WYLQKPGQSPKLLIY**KVSNRFS**GVPPDRFSG
-----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVIY**CFQGSHPVT**FGAGTKLELK

核酸序列

GATGTTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCACTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGAT
CTAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATGGAACACCTTTTTGGAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCC
AAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGG
ACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTACTGCTTTCAAGGTTTAC
ATATCCGGTCACGTTCCGGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

克隆: 24G17

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 111 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 112 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 26、113、114 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <--
EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGFSI**TSDYAWN**WIRQFPGNKLEWMG**FINYSGRNTNYPNPSLTS**SRIS
-----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
IIRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCAR**SYDFWFGY**WGQGLTVTVSA

核酸序列

GAGGTCCAGCTGCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA
CTGGCTTCTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGCACTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAACTGGAGTGGAT
GGGCTTCATAAACTACAGTGGTAGAACTAACTACAACCCATCTCTCACAAGTCGAATCTCTATCATTCGGGAC
ACATCCAAGAACCAGTTCTTCTGCAGTTGAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAA
GATCATATGATTTCTGGTTTGGTTATTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 115 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 116 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 117、118、33 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
NVLMTQSPLSLPLVSLGDQASIS**CRSSQSIVHSNGNTYLE**WYMQKPGQSPKLLIY**TVSKRFS**GVPPDRFSG
-----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVIY**CFQGSHPVT**FGAGTKLELK

核酸序列

AATGTTTTGATGACCCAAAGTCCACTCTCCCTGCCTGTCACTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGAT
CTAGTCAGAGTATTGTACATAGTAATGGAACACCTATTTAGAATGGTATATGCAGAAACCAGGCCAGTCTCC
AAAGCTCCTGATCTACACAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGG
ACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTATTGCTTTCAAGGTTTAC
ATGTCCGGTCACGTTCCGGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

克隆: 25L15

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 119 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 120 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 94、95、96 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <--
KVKLVESGGDLVKPGGSLKISCAASGFTFSNYAMSWIRQTPDKRLEWVATVSSGGPYTYYPDSVKGRFT
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
ISRDN AENTLYLQMSLRSDDTAIYYCARQIYSDYDVTYWGQGLTVTSA
```

核酸序列

```
AAAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAAATCTCCTGTGCAGCCT
CTGGATTCACATTTTCAGTAACATATGCCATGTCTTGGATTCCGACACTCCGGACAAGAGGCTGGAGTGGGTCGC
AACCGTTAGTAGTGGTGGTCCTTACACCTACTATCCAGACAGTGTGAAGGGGCGATTACCATCTCCAGAGAC
AATGCCGAAAACACCCTGTACCTGCAAAATGAGCAGTCTGAGGTCTGATGACACGGCCATTTATTACTGTGCAA
GGCAGATCTACTCTGATTACGACGTCCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA
```

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 121 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 122 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 123、100、101 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----
QIVLSQSPAILSPGETVTMTCRVSSSVSYMYWLQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTS
----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
YSLTITRVEAEDAATYYCQQWSFRPWTFGGGTKLEIK
```

核酸序列

```
CAAAATTGTCTCTCTCCAGTCTCCAGCAATCCTGTCTGCATCTCCAGGGGAGACGGTCACAATGACTTGCAGGG
TCAGTTCAAGTGTAAAGTTACATGTACTGGCTCCCAACAGAAGCCAGGATCCTCCCCAAACCCTGGATTATGC
CACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCCCTCACA
ATCACCAGAGTGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGTGACAGTGGAGTTTTAGACCGTGGACGTTTCG
GTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA
```

克隆: 28O14

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 124 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 125 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 126、127、128 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <--
QVQLQQSGTELARPGASVRMSCKASGYTFRSHTMHWVKQRPQGLEWIGYINPSTGYINYNQKFKDKAT
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
LTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSNYSYYYGMDYWGQGTSTVTSS
```

核酸序列

```
CAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGGACTGAACTGGCAAGACCTGGGGCCTCAGTGAGGATGTCCTGCAAGGCTT
CTGGCTACACCTTTAGGAGTCACACGATGCACTGGGTAAAACAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGG
ATACATTAATCCTAGCACTGGTTATATTAATTAACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTGCAGAC
AAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAA
GAAGTAACTACTCTTATTACTATGGTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
```

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 129 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 130 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 131、132、133 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----
DIVMTQSHKFMSTSVGDRVTITCKASQDVNTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASRYRTGVPDRFTGSGSGT
----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
DFTFTISSLQAEDLAVYYCQQHYNIPLTFGAGTKLELK
```

核酸序列

```
GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTGGGAGACAGGGTCACCATCACCTGCAAGG
CCAGTCCAGGATGTAAATACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGACAATCTCCTAAACTACTGATTTA
CTCGGCATCCTACCGGTACACTGGGGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACTTTC
ACCATCAGCAGTTTACAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTGACCAACATTATAATATTCCGCTCACGT
TCGGTGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA
```

将上述抗体的轻链可变区克隆入含有人轻链恒定区的载体, 将重链可变区克隆入含有人重链恒定区的载体, 质粒共转染 CHO-S 细胞, 完整的 IgG 抗体经表达分泌入培养基中, 37°C 5%CO₂ 125rpm 表达 7 天后, 收集上清, 采用 Protein A 层析纯化得到嵌合体 IgG, 通过分光光度法测定 IgG 的浓度。对照抗体 17D20_352IN11(OMS646) 按文献 US20120282263 合成。

按照实施例 1 的方法, 检测各嵌合抗体的对裂解 C4 反应的抑制活性, 读取 OD450nm 的值, 收集数据后使用 GraphPad Prism 5 软件计算结果。结果如图 3 所示, 嵌合体 10L3、3B9、16A17、4F18、25L15、28O14 和 1B2 在 C4 裂解活性测定中, 对 MASP-2 的抑制活性显著强于对照抗体。

按照实施例 1 的方法, 对筛选出来的优势嵌合抗体进行 C3 转化酶活性的抑制试验, 收集数据后使用 GraphPad Prism 5 软件计算结果。结果如图 4 所示, 在 C3 转化酶活性试验中, 优势嵌合体 10L3、3B9、16A17、4F18、25L15、28O14 和 1B2 显示出极强的抑制活性, 显著强于对照抗体。

亲和力评价

在 96 孔酶标板上包被 $1\mu\text{g/mL}$ 的人 MASP-2 D4-6 重组蛋白, 4°C 孵育过夜。2% 脱脂牛奶室温封闭 1 小时, 加入梯度稀释的 MASP-2 抗体——嵌合体 10L3、3B9、16A17、4F18、25L15、28O14 和 1B2 (起始浓度为 $30\mu\text{g/mL}$, 1:4 梯度稀释), 室温孵育 60 分钟, 加入 1:4000 比例稀释的 Goat anti-human Fc-HRP, 室温孵育 60 分钟。TMB 显色 10 分钟, 加入浓硫酸终止反应, 测定 OD450nm, 使用 Graph Pad Prism 5 软件计算结果。

结果如图 5 所示, 嵌合体抗体与人、食蟹猴、大鼠、小鼠 MASP-2 均有结合 (表 2)。

表 2、MASP-2 抗体与各种属蛋白的结合

EC50 (nM)	人 MASP-2	食蟹猴 MASP-2	大鼠 MASP-2	小鼠 MASP-2
1B2	0.015	0.014	1.439	0.947
3B9	0.025	0.038	1.624	4.393
4F18	0.004	0.003	0.127	0.287
10L3	0.022	0.016	30.19	30.90
16A17	0.014	0.014	4.296	1.973
25L15	0.012	0.008	0.021	0.023
28O14	0.033	0.043	-	-

采用表面等离子共振技术 (SPR/Biacore T200), 将 $0.1\mu\text{g/mL}$ 的抗体捕获到 Protein A 芯片表面, 设置捕获时间 40 秒, 流速为 $10\mu\text{L/min}$, 芯片用缓冲液冲洗至基线平稳, 再将梯度稀释的抗原以 $30\mu\text{L/min}$ 的流速流过芯片, 设置结合时间 120 秒, 解离时间 600 秒, 以 Langmuir 1:1 kinetics 模式拟合得到平衡解离常数 (KD)。候选抗体与各种属 MASP-2 抗原的亲和力如表 3 所示。

表 3、MASP-2 抗体与各种属蛋白的亲和力

KD(nM)	人 MASP-2	食蟹猴 MASP-2	大鼠 MASP-2	小鼠 MASP-2
1B2	0.002	0.078	微弱	632
3B9	0.067	0.051	1043	476
4F18	0.108	24.76	2471	218
10L3	0.070	1.290	微弱	214
16A17	0.008	0.063	微弱	487
25L15	0.120	0.920	167	499
28O14	0.090	0.010	162	767
对照抗体	21.1	8.750	88.5	225

实施例 4、噬菌体抗体文库构建和筛选

取实施例 3 中得到的部分免疫小鼠 B 细胞, 提取总 RNA, 分别利用轻、重链特异性引物逆转录得到抗体 cDNA 文库。以可变区引物特异扩增抗体可变区片段, 经酶切克隆到噬菌体质粒, 构建基于 M13 噬菌体的抗体 Fab 噬菌体展示文库, 库容为 1×10^{10} 。

采用传统噬菌体淘洗法进行文库筛选。在免疫管 (Immuno tube) 上包被 MASP-2 D4-6 重组蛋白, 每个筛选反应加入约 1×10^{12} 噬菌体进行孵育和淘洗。经过 2 轮淘洗, 挑取单克隆, 接种至 96 孔 U 形板中进行培养和诱导表达, 取培养上清对 MASP-2 重组蛋白进行 ELISA 检测。共得到 494 个可交叉识别人、食蟹猴、大鼠和小鼠 MASP-2 的单克隆 Fab 抗体, 其中 34 个克隆可抑制 MASP-2 催化的 C4b 沉积 (图 6)。

将上述具有抑制活性的 Fab 克隆重新诱导表达后, 纯化得到 Fab 抗体, 通过 C4 裂解活性测定检测 MASP-2 抗体的抑制活性。结果如图 7 所示, 其中单克隆抗体 3H6、14F11、16B11、20C8、21A3 和 21B1 在浓度大于 $0.01\mu\text{g/mL}$ 时, 对 MASP-2 催化 C4b 沉积的抑制活性最为显著。

采用表面等离子共振技术 (SPR/Biacore T200), 利用 Protein A 芯片捕获 Anti-Flag 抗体, 将 $10\mu\text{g/mL}$ 含 Flag 标签的纯化 Fab 抗体捕获到芯片表面, 设置捕获时间 40 秒, 流速为 $10\mu\text{L/min}$, 芯片用缓冲液冲洗至基线平稳, 再将梯度稀释的 MASP-2 抗原作为分析物依次注入, 分别测定 Fab 与不同种属抗原之间的亲和力。数据通过 Biacore T200 Evaluation software 3.1 软件, 以 Langmuir 1:1 kinetics 模式拟合。表 4 显示单抗 16B11 和 14F11 与各种属 MASP-2 抗原的亲和力。

表 4、MASP-2 抗体 (Fab) 与抗原的亲和力

MASP-2	16B11			14F11		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
人	2.15E+06	8.75E-05	4.07E-11	9.48E+05	1.63E-04	1.72E-10
食蟹猴	1.66E+06	1.81E-04	1.09E-10	2.46E+10	1.14E+02	4.66E-09
小鼠	4.61E+06	8.11E-03	1.76E-09	6.44E+07	1.16E+00	1.80E-08
大鼠	1.84E+06	9.31E-03	5.06E-09	3.34E+06	1.82E-03	5.46E-10

通过 Sanger 测序法得到 Fab 抗体的可变区序列，如下：

表 5、MASP-2 鼠源抗体的可变区序列

MASP-2 鼠源 抗体	HCVR		HCVR1	HCVR2	HCVR3	LCVR		LCVR1	LCVR2	LCVR3
	氨基酸 序列	核苷酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	核苷酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列
3H6	134	135	136	137	138	129	130	131	132	133
16B11	139	140	7	17	141	142	143	144	145	146
14F11	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156
20C8	157	158	7	17	9	159	160	161	162	14
21A3	163	164	7	165	9	166	167	144	168	14
21B1	169	170	7	17	9	171	172	144	173	174

克隆：3H6

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 134 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 135 所示，其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 136、137、138 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <--
 QVQLQQSGTELRPGASVKMSCKASGYTFATYSIHVVKQRPQGLEWIGYINPSSGYTNYNQKFRDKAT
 -----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
 LTADRSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARVYYTFYHAMDYWGQGTSTVTVSS

核酸序列

CAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGGACTGAACTGGCAAGACCTGGGGCCTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTT
 CTGGCTACACCTTTGCTACCTACTCGATACACTGGGTAAAACAGAGGCCTGGGCAGGGTCTGGAATGGATTGG
 ATACATTAATCCTAGCAGTGGTTATACTAATTACAATCAGAAGTTCAGGGACAAGGCCACATTGACTGCAGAC
 AGATCCTCCAACACAGCCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAA
 GAGTCTACTATACTTTTTACCATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 129 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 130 所示，其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 131、132、133 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
 DIVMTQSHKFMSTSVGDRVTITCKASQDVNTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASRYTGVDPDRFTGSGSGT
 -----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
 DFTFTISSQLAEDLAVYYCQOHYNIPLTFGAGTKLELK

核酸序列

GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTGGGAGACAGGGTCACCATCACCTGCAAGG
 CCAGTCAGGATGTAAATACTGCTGTAGCTGGTATCAACAGAAACCAGGACAATCTCCTAAACTACTGATTTA
 CTCGGCATCCTACCGGTACACTGGGGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACTTTT
 ACCATCAGCAGTTTACAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTGCAACATATAATATTCCGCTCACGT
 TCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

克隆：16B11

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 139 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 140 所示，其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 7、17、141 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <--
 QMQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSTSDYAWNWIQFPGNKLEWMGYISYSGRTSYNPSLKSRI
 -----FR3-----> CDR3<-----FR4----->
 ITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARHYGDYWGQGTTLTVSS

核酸序列

CAGATGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA
 CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCTTGAAGTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAACTGGAGTGGAT
 GGGTACATAAGCTACAGTGGTAGGACTAGCTACAACCCATCTCTCAAAAGTCGAATCTCTATCACTCGAGAC
 ACATCCAAGAACCAGTTCTTCTGCACTTGAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAA
 GACACTACGGAGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 142 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 143 所示，其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 144、145、146 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
 DIVMTQSQKLMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTINVAWYQQKPGQSPKALYYSASYRNSGVPDRFTGSGSGT
 -----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
 DFTLTISNVQSEDLAEYFCQQFNTNPLTFGSGTKLEIK

核酸序列

GACATTGTGATGACTCAGTCTCAAAAACATCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCTGCAAGG
 CCAGTCAGAATGTGGGTACTAATGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAAAGCACTGATTTA
 CTCGGCATCCTACCGGAACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGTTCTGGGACAGATTTCACTCTC
 ACCATCAGCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAGTATTTCTGTCTGCAATTTAACACCAATCCTCTCACGT
 TCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAATAAAA

克隆: 14F11

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 147 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 148 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 149、150、151 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <--
 QVQLQQSGPQLLRPGASVKISCKASGFSTTNHWIHWVKQRPQGLEWIGMIDPSDSETGLNQKFRDKAT
 -----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
 LTVDKSSSTAYMHLNPTSSEDSAVYYCARLGIDHGYIYAMDFWGQGTSTVSS

核酸序列

CAGGTTACAGTCGACGAGTCTGGGCCTCAGTACTTAGGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTT
 CTGGTTTCTCATTACCAACCAGTGGATACACTGGGTGAAACAGAGGCCTGGACAAGGTCTTGAGTGGATTGG
 CATGATTGATCCTTCCGATAGTGAACCTGCCTCAATCAGAAGTTCAGGGACAAGGCCACATTGACTGTAGAC
 AAGTCTCCAGCACAGCCTACATGCACCTCAACAGCCGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAA
 GATTGGGAATCCATGATGGTTACTACATCTATGCTATGGACTTTTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTC
 CTCA

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 152 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 153 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 154、155、156 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
 NIVMTQSPKSMMSVGERVTLSCKASENVGTIVSWYQQKPEQSPKLLIYGASNRYTGVPDRFTGSGSAT
 -----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
 DFTLTISNVQAEADLADYHCGQSYSYPLTTFGAGTKLELK

核酸序列

AACATTGTAATGACCCAATCTCCCAAATCCATGTCCATGTCTAGTAGGAGAGAGGGTCACCTTGAGCTGCAAGG
 CCAGTGAGAATGTGGGTACTTATGTATCCTGGTATCAACAGAAACCAGAGCAGTCTCCTAAACTGCTGATATA
 CGGGGCATCAACCCGGTACACTGGGGTCCCCGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGCAACAGATTTCACTCTG
 ACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGCAGATTATCACTGTGGACAGAGTTACAGCTATCCGCTCACGT
 TCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

克隆: 20C8

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 157 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 158 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 7、17、9 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <--
 EVQLQESGPGLVKPSQSLTCSVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYISYSGRTSYNPSLKSRIS
 -----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
 ITRDTSKNQFFLQLISVTTEDTATYYCARYWGDYWGQGTTLTVSS

核酸序列

GAGGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCTCTGTCA
 CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAAGTGGATCCGGCAGTTCCAGGAAACAAGCTGGAGTGGAT
 GGGCTACATAAGTTACAGTGGTAGAAGTACGTACAACCCATCTCTCAAAGTGAATCTCTATCACTCGAGAC
 ACATCCAAGAACCAGTTCTTCTGCAAGTGGATTTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTATTGTGCAA
 GATATTGGGGCGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 159 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 160 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 161、162、14 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
 DIVMTQSQKFISTSIGDRVSVTCKASQDVGGHVAWFQQRPGQSPKPLIYSATFRHSGVPDRFTGSGSGT
 -----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
 DFTLTISNLQSEDLAEYVCLQYNSNPLTTFPGTKLELK

核酸序列

GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATCTCCACATCAATAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCTGCAAGG
 CCAGTCAGGATGTGGGTGGACATGTGGCCTGGTTTCAACAGAGACCCGGGCAATCTCCTAAACCTCTGATTTA
 TTCGGCAACCTTCCGGCACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTCACGGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC
 ACCATCAGTAATCTACAGTCTGAGGACTTGGCAGAATATGTCTGTCTGCAATATAACAGTAATCCACTCACGT
 TCGGTCTCGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

克隆: 21A3

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 163 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 164 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 7、165、9 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <--
DVQLQESGPGVLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIROFPGNKLEWMGYISYSGRTSYNPLYLSRIS
-----FR3-----> CDR3<----FR4---->
ITRDTSKNQFFLQLNSVTEDTATYYCARYWGDYWGQGTTLTVSS
```

核酸序列

```
GATGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA
CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAACCTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAACTGGAGTGGAT
GGGCTACATAAGCTACAGTGGTCGCCTAGCTACAACCCATATCTCAAAAGTCAATTTCTATCACTCGAGAC
ACATCCAAGAACCAGTTCTTCTGCAGTTGAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAA
GATATTGGGGCGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCTCTCA
```

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 166 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 167 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 144、168、14 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCASQNVGTINVAWYKQKPGQSPKALIYSASVYRHSVGPDRFTGSGSGT
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
DFTLTISNVQSEDLAEYFCLOYNNSNPLTFGAGTKLELK
```

核酸序列

```
GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCTGCAAGG
CCAGTCAGAATGTGGGTACTAATGTAGCCTGGTATAAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAAAGCACTGATTTA
CTCGGCATCTTACCGGCACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC
ACCATCAGCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAGTATTTCTGTCTGCAATATAACAGCAATCCTCTCACGT
TCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA
```

克隆: 21B1

重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 169 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 170 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 7、17、9 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <--
DVQLQESGPGVLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIROFPGNKLEWMGYISYSGRTSYNPSLSRIS
-----FR3-----> CDR3<----FR4---->
ITRDTSKNQFFLQLNSVTAEDTATYYCARYWGDYWGQGTTLTVSS
```

核酸序列

```
GATGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCA
CTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAACCTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAACTGGAGTGGAT
GGGCTACATAAGCTACAGTGGTCGCCTAGCTACAACCCATCTCTCAAAAGTCAATTTCTATCACTCGAGAC
ACATCCAAGAACCAGTTCTTCTGCAGTTGAATTCTGTGACTGCTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAA
GATATTGGGGCGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCTCTCA
```

轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 171 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 172 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 144、173、174 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCASQNVGTINVAWYKQKPGQSPKALIYSTSYRSSVGPDRFTGSGSGT
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
DFTLTISNVQSEDLAEYFCQQFNSNPLTFGGGTKLELK
```

核酸序列

```
GACATTGTGATGACACAGTCTCAAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCTGCAAGG
CCAGTCAGAATGTGGGTACTAATGTAGCCTGGTTTCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAAAGCACTGATTTA
CTCGACATCTTACCGGTCCAGTGGAGTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC
ACCATCAGCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAGTACTTCTGTCTGCAATTTAACAGCAATCCTCTCACGT
TCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA
```

实施例 5、MASP-2 抗体的人源化

选择亲和力高、活性较强的鼠抗 28O14、3H6 和 16B11 进行可变区序列人源化改造。首先将克隆 28O14 重链 CDR3 糖基化位点 NYS, 进行定点突变, 突变体在 E.coli 原核表达成 Fab, 亲和力检测显示, 28O14 重链 CDR3 糖基化位点去除后, 第 102 位由丝氨酸突变为丙氨酸的 S-A 突变体 (Ala102) 不影响 MASP-2 结合活性(如图 8 所示)。

将鼠抗体序列与人抗体胚系序列进行比对, 找出同源性好、维持抗体结构核心的关键氨基酸序列完全相同、同时在人体出现频率高的人胚系轻链基因, 进行鼠抗体 CDR 移植; 利用计算机进行同源建模, 分析 CDR 区及其周边框架氨基酸序列, 避免分子表面电荷或疏水区域集中分布。人源化设计共得到 3 个重链和 6 个轻链 16B11 变体, 4 个重链和 1 个轻链 3H6 变体, 4 个重链和 1 个轻链 28O14 变体, 以及 3 个重链和 6 个轻链 16B11 变体。

人源化序列如下:

表 6、MASP-2 人源化源抗体的重链可变区序列

MASP-2 人源 化源抗体	HCVR		HCDR1	HCDR2	HCDR3
	氨基酸序列	核苷酸序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列
h16B11 H1	175	176	7	17	141
h16B11 H2	177	178	7	17	141
h16B11 H3	179	180	7	17	141
h3H6 H1	181	182	136	183	138
h3H6 H2	184	185	136	183	138
h3H6 H3	186	187	136	183	138
h3H6 H4	188	189	136	183	138
h28O14 H1	190	191	126	192	128
h28O14 H2	193	194	126	192	128
h28O14 H3	195	196	126	192	128
h28O14 H4	197	198	126	192	128

表 7、MASP-2 人源化源抗体的轻链可变区序列

MASP-2 人源 化源抗体	LCVR		LCDR1	LCDR2	LCDR3
	氨基酸序列	核苷酸序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列
h16B11 K1	199	200	201	202	146
h16B11 K2	203	204	201	202	146
h16B11 K3	205	206	201	207	146
h16B11 K4	208	209	201	202	146
h16B11 K5	210	211	201	202	146
h16B11 K6	212	213	201	207	146
h28O14 K1	214	215	216	132	133
h3H6 K1	214	215	216	132	133

h16B11:

h16B11 H1

h16B11 H1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 175 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 176 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 7、17、141 所示。

```

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
QMQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGLEWIGYISYSGRTSYNPSLKSRTVISRD
-----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHYGDYWGQGLTVTVSS

```

核酸序列

```

CAGATGCAGCTGCAAGAGTCTGGACCTGGACTGGTCAAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGTACCGTGT
CCGGCTACAGCATCACAAGCGACTACGCCTGGAAGTGGATCAGACAGCCTCCTGGCAAAGGCCTCGAGTGGAT
CGGCTACATCAGCTACAGCGGCAGAACAGCTACAACCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCAGAGAC
ACCAGCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGATACAGCCGTGTACTACTGCGCTA
GACACTACGGCGATTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCAAGTGTCTATCT

```

h16B11 H2

h16B11 H2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 177 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 178 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 7、17、141 所示。

```

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGLEWIGYISYSGRTSYNPSLKSRTVISRD
-----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHYGDYWGQGLTVTVSS

```

核酸序列

```

CAGCTCCAGCTGCAAGAGTCTGGACCTGGACTGGTCAAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGTACCGTGT
CCGGCTACAGCATCACAAGCGACTACGCCTGGAAGTGGATCAGACAGCCTCCTGGCAAAGGCCTCGAGTGGAT
CGGCTACATCAGCTACAGCGGCAGAACAGCTACAACCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCAGAGAC
ACCAGCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGATACAGCCGTGTACTACTGCGCTA
GACACTACGGCGATTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCAAGTGTCTATCT

```

h16B11 H3

h16B11 H3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 179 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 180 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 7、17、141 所示。

```

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGLEWIGYISYSGRTSYNPSLKSRTVISVD

```

-----FR3----->CDR3<----FR4--->
TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHYGDYWGQGLVTVSS

核酸序列

CAGTCCAGCTGCAAGAGTCTGGACCTGGACTGGTCAAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGTACCGTGT
CCGGCTACAGCATCACAAGCGACTACGCCTGGAAGTGGATCAGACAGCCTCCTGGCAAAGGCCTCGAGTGGAT
CGGCTACATCAGCTACAGCGGCAGAACCGCTACAACCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTAGAC
ACCAGCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGATACAGCCGTGTACTACTGCGCTA
GACACTACGGCGATTACTGGGGCCAGGAACCTGGTCACAGTGTCTATCT

h3H6:

h3H6 H1

h3H6 H1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 181 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 182 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 136、183、138 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFATYSIHWVRQAPGQGLEWMGYINPSSGYTNYNQKFQGRVTLTAD
-----FR3-----> CDR3 <----FR4--->
KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVYYTFYHAMDYWGQGTITVTVSS

核酸序列

CAGGTTTCAGCTGGTTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCAGCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTA
GCGGTACACCTTCGCCACCTACAGCATCCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAGGGACTTGAGTGGATGGG
CTACATCAACCCAGCTCTGGCTACACCAACTACAACCAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCCCTCACAGCCGAC
AAGTCTACAAGCACCGCCTACATGGAAGTGAAGCAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA
GAGTGTACTACACATTCTACCACGCCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACAAACAGTGACCGTTAGCTCT

h3H6 H2

h3H6 H2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 184 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 185 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 136、183、138 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFATYSIHWVRQAPGQGLEWMGYINPSSGYTNYNQKFQGRVTLTAD
-----FR3-----> CDR3 <----FR4--->

ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVYYTFYHAMDYWGQGTITVTVSS 核酸序列

CAGGTTTCAGCTGGTTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCAGCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTA
GCGGTACACCTTCGCCACCTACAGCATCCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAGGGACTTGAGTGGATGGG
CTACATCAACCCAGCTCTGGCTACACCAACTACAACCAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCCCTCACAGCCGAC
AAGTCTACAAGCACCGCCTACATGGAAGTGAAGCAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA
GAGTGTACTACACATTCTACCACGCCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACAAACAGTGACCGTTAGCTCT

h3H6 H3

h3H6 H3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 186 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 187 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 136、183、138 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFATYSIHWVRQAPGQGLEWMGYINPSSGYTNYNQKFQGRVTTITAD
-----FR3-----> CDR3 <----FR4--->
KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVYYTFYHAMDYWGQGTITVTVSS

核酸序列

CAGGTTTCAGCTGGTTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCAGCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTA
GCGGTACACCTTCGCCACCTACAGCATCCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAGGGACTTGAGTGGATGGG
CTACATCAACCCAGCTCTGGCTACACCAACTACAACCAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCATCACAGCCGAC
AAGTCTACAAGCACCGCCTACATGGAAGTGAAGCAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA
GAGTGTACTACACATTCTACCACGCCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACAAACAGTGACCGTTAGCTCT

h3H6 H4

h3H6 H4 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 188 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 189 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 136、183、138 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFATYSIHWVRQAPGQGLEWMGYINPSSGYTNYNQKFQGRVTTITAD
-----FR3-----> CDR3 <----FR4--->

ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVYYTFYHAMDYWGQGTITVTVSS 核酸序列

CAGGTTTCAGCTGGTTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCAGCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTA
GCGGTACACCTTCGCCACCTACAGCATCCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAGGGACTTGAGTGGATGGG
CTACATCAACCCAGCTCTGGCTACACCAACTACAACCAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCATCACAGCCGAC
AAGTCTACAAGCACCGCCTACATGGAAGTGAAGCAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA
GAGTGTACTACACATTCTACCACGCCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACAAACAGTGACCGTTAGCTCT

h28O14:

h28O14 H1

h28O14 H1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 190 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 191 所示, 其 CDR1、CDR2

和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 126、192、128 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1<-----FR2-----> CDR2 <-----
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFRSHTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPSTGYINYNQKFQGRVTLTAD
-----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSNYAYYYGMDYWGQGTITVTVSS
```

核酸序列

```
CAGGTTTCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCAGCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTA
GCGGCTACACCTTCAGATCCACACCATGCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAGGGACTTGAGTGGATGGG
CTACATCAACCCAGCAGCCGGCTATATCAACTACAACAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCCCTACAGCCGAC
AAGTCTACAAGCAGCCGCTACATGGAAGTGAAGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA
GAAGCAACTACGCTACTACTACGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTCTCTTCT
```

h28O14 H2

h28O14 H2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 193 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 194 所示，其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 126、192、128 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1<-----FR2-----> CDR2 <-----
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFRSHTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPSTGYINYNQKFQGRVTLTAD
-----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSNYAYYYGMDYWGQGTITVTVSS
```

核酸序列

```
CAGGTTTCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCAGCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTA
GCGGCTACACCTTCAGATCCACACCATGCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAGGGACTTGAGTGGATGGG
CTACATCAACCCAGCAGCCGGCTATATCAACTACAACAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCCCTACAGCCGAC
GAGTCTACAAGCAGCCGCTACATGGAAGTGAAGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA
GAAGCAACTACGCTACTACTACGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTCTCTTCT
```

h28O14 H3

h28O14 H3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 195 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 196 所示，其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 126、192、128 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1<-----FR2-----> CDR2 <-----
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFRSHTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPSTGYINYNQKFQGRVTTITAD
-----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
```

KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSNYAYYYGMDYWGQGTITVTVSS 核酸序列

```
CAGGTTTCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCAGCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTA
GCGGCTACACCTTCAGATCCACACCATGCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAGGGACTTGAGTGGATGGG
CTACATCAACCCAGCAGCCGGCTATATCAACTACAACAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCATCACAGCCGAC
AAGTCTACAAGCAGCCGCTACATGGAAGTGAAGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA
GAAGCAACTACGCTACTACTACGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTCTCTTCT
```

h28O14 H4

h28O14 H4 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 197 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 198 所示，其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 126、192、128 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1<-----FR2-----> CDR2 <-----
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFRSHTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPSTGYINYNQKFQGRVTTITAD
-----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSNYAYYYGMDYWGQGTITVTVSS
```

核酸序列

```
CAGGTTTCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCAGCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTA
GCGGCTACACCTTCAGATCCACACCATGCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAGGGACTTGAGTGGATGGG
CTACATCAACCCAGCAGCCGGCTATATCAACTACAACAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCATCACAGCCGAC
GAGTCTACAAGCAGCCGCTACATGGAAGTGAAGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA
GAAGCAACTACGCTACTACTACGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTCTCTTCT
```

h16B11:

h16B11 K1

h16B11 K1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 199 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 200 所示，其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 201、202、146 所示。

```
<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQNVGTNVAWYQQKPKGKPKALIISASYRESGVPSRFSGSGSGTDFTL
--FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
TISSLQPEDFATYFCQQFNTNPLTFGGGTKVEIK
```

核酸序列

```
GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAG
CCAGCCAGAAGCTGGGCACAAACGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCTCCCAAGGCCTGATCTA
CAGCGCCAGCTACAGAGAGAGCGGCGTGCCTCTAGATTACGCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCCCTG
```

ACAATCTCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCTACCTACTTCTGCCAGCAGTTCAACACAAACCCTCTGACCT
TCGGCGGAGGCACCAAGGTGAAATCAAG

h16B11 K2

h16B11 K2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 203 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 204 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 201、202、146 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQNVGTNVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRESGVPSRFSGSGSGTDFTL
--FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
TISSLQPEDFATYFCQQFNTNPLTFGGGTKVEIK

核酸序列

GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAG
CCAGCCAGAACGTGGGCACAAACGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCTCCCAAGCTGCTGATCTA
CAGCGCCAGCTACAGAGAGAGCGGCGTGCCATCTAGATTAGCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCCTG
ACAATCTCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCTACCTACTTCTGCCAGCAGTTCAACACAAACCCTCTGACCT
TCGGCGGAGGCACCAAGGTGAAATCAAG

h16B11 K3

h16B11 K3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 205 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 206 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 201、207、146 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQNVGTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRQSGVPSRFSGSGSGTDFTL
--FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
TISSLQPEDFATYFCQQFNTNPLTFGGGTKVEIK

核酸序列

GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAG
CCAGCCAGAACGTGGGCACAAACGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCTCCCAAGGCGCTGATCTA
CAGCGCCAGCTACAGAGAGAGCGGCGTGCCATCTAGATTAGCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCCTG
ACAATCTCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCTACCTACTTCTGCCAGCAGTTCAACACAAACCCTCTGACCT
TCGGCGGAGGCACCAAGGTGAAATCAAG

h16B11 K4

h16B11 K4 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 208 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 209 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 201、202、146 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQNVGTNVAWYQQKPGQAPRALIYSASYRESGIIPARFSGSGSGTEFTL
--FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
TISSLQSEDFAVYFCQQFNTNPLTFGGGTKVEIK

核酸序列

GAGATCGTGATGACACAGAGCCCCGCCACACTGAGTGTGTCTCCAGGCGAAAGAGCTACCCTGAGCTGTAGAG
CCTCTCAGAACGTGGGCACAAACGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACAGGCTCCAGAGCGCTGATCTA
CAGCGCCAGCTACAGAGAGTCTGGCATCCCTGCTAGATTAGCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCCTG
ACAATCAGCAGCCTGCAGAGCGAGGACTTCGCCGTGTACTTCTGCCAGCAGTTCAACACAAACCCTCTGACCT
TCGGCGGAGGCACCAAGGTGAAATCAAG

h16B11 K5

h16B11 K5 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 210 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 211 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 201、202、146 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQNVGTNVAWYQQKPGQAPRLIYSASYRESGIIPARFSGSGSGTEFTL
--FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
TISSLQSEDFAVYFCQQFNTNPLTFGGGTKVEIK

核酸序列

GAGATCGTGATGACACAGAGCCCCGCCACACTGAGTGTGTCTCCAGGCGAAAGAGCTACCCTGAGCTGTAGAG
CCTCTCAGAACGTGGGCACAAACGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACAGGCTCCAGAGCTGCTGATCTA
CAGCGCCAGCTACAGAGAGTCTGGCATCCCTGCTAGATTAGCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCCTG
ACAATCAGCAGCCTGCAGAGCGAGGACTTCGCCGTGTACTTCTGCCAGCAGTTCAACACAAACCCTCTGACCT
TCGGCGGAGGCACCAAGGTGAAATCAAG

h16B11 K6

h16B11 K6 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 212 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 213 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 201、207、146 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQNVGTNVAWYQQKPGQAPRALIYSASYRQSGIIPARFSGSGSGTEFTL
--FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
TISSLQSEDFAVYFCQQFNTNPLTFGGGTKVEIK 核酸序列

GAGATCGTGATGACACAGAGCCCCGCCACACTGAGTGTGTCTCCAGGCGAAAGAGCTACCCTGAGCTGTAGAG
CCTCTCAGAACGTGGGCACAAACGTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACAGGCTCCAGAGCGCTGATCTA
CAGCGCCAGCTACAGACAGTCTGGCATCCCTGCTAGATTAGCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGATTACCCCTG
ACAATCAGCAGCCTGCAGAGCGAGGACTTCGCCGTGTACTTCTGCCAGCAGTCAACACAAACCCTCTGACCT
TCGGCGGAGGCACCAAGGTGAAATCAAG

h28O14:

h28O14 K1

h28O14 K1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 214 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 215 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 216、132、133 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASRYTGVPSRFSGSGSGTDFTL
--FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
TISSLQPEDFATYYCQQHYNIPLTFGGGTKVEIK

核酸序列

GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAG
CCAGCCAGGACGTGAACACAGCCGTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTA
CAGCGCCAGCTACAGATACACCGGCGTGCCTCTAGATTAGCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCCTG
ACAATCTCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGCACTACAACATCCCTCTGACCT
TCGGCGGAGGCACCAAGGTGAAATCAAG

h3H6 K:

h3H6 K1

h3H6 K1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 214 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 215 所示, 其 CDR1、CDR2 和 CDR3 分别如 SEQ ID NO. 216、132、133 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASRYTGVPSRFSGSGSGTDFTL
--FR3-----> CDR3 <-----FR4----->
TISSLQPEDFATYYCQQHYNIPLTFGGGTKVEIK

核酸序列

GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAG
CCAGCCAGGACGTGAACACAGCCGTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTA
CAGCGCCAGCTACAGATACACCGGCGTGCCTCTAGATTAGCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCCTG
ACAATCTCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGCACTACAACATCCCTCTGACCT
TCGGCGGAGGCACCAAGGTGAAATCAAG

将轻、重链分别进行全序列合成后, 克隆到含有抗体 kappa 链恒定区 Ckappa 或人 IgG4 恒定区 CH1-CH3 的真核表达载体, 将轻、重链质粒进行组合配对后, 转染 CHO-S 细胞, 37°C 表达 5-6 天, 收取培养上清, 通过 Protein A 柱进行纯化。

实施例 6、人源化抗体的 MASP-2 抑制活性

C4 裂解活性测定

按实施例 1 中 C4 裂解测定法, 将不同浓度的 MASP-2 抗体 (起始浓度为 30μg/ml, 5 倍梯度稀释, 共稀释 9 个梯度), 按每孔 50μl 加入反应孔, 放于 4°C 中反应 30 分钟。加入 50μl 2μg/ml C4 纯蛋白 (CompTech), 37°C 恒温培养箱中反应 90 分钟, 加入 C4b 抗体检测 C4b 沉积。由图 9A、9B 和表 8 可知, 人源化抗体均能显著抑制 MASP-2 活性。

表 8、MASP-2 人源化抗体对 C4b 沉积的抑制活性

人源化抗体	重链可变区	轻链可变区	IC50(nM)
h3H6 H1K1	h3H6 H1	h3H6 K1	0.014
h3H6 H2K1	h3H6 H2	h3H6 K1	0.086
h3H6 H3K1	h3H6 H3	h3H6 K1	0.017
h3H6 H4K1	h3H6 H4	h3H6 K1	0.090
h28O14 H1K1	h28O14 H1	h28O14 K1	0.083
h28O14 H2K1	h28O14 H2	h28O14 K1	0.324
h28O14 H3K1	h28O14 H3	h28O14 K1	0.064
h28O14 H4K1	h28O14 H4	h28O14 K1	0.338
h16B11 H1K1	h16B11 H1	h16B11 K1	0.020
h16B11 H1K2	h16B11 H1	h16B11 K2	0.051
h16B11 H1K3	h16B11 H1	h16B11 K3	0.021
h16B11 H2K1	h16B11 H2	h16B11 K1	0.020
h16B11 H2K2	h16B11 H2	h16B11 K2	0.032
h16B11 H2K3	h16B11 H2	h16B11 K3	0.012
h16B11 H3K1	h16B11 H3	h16B11 K1	0.098

h16B11 H3K2	h16B11 H3	h16B11 K2	1.691
h16B11 H3K3	h16B11 H3	h16B11 K3	0.440
对照抗体			0.909

C3 转化酶活性测定

按实施例1中C3转化酶活性测定法，将不同浓度的MASP-2抗体（起始浓度为30 μ g/ml，5倍梯度稀释，共稀释9个梯度），按每孔50 μ l加入反应孔，37 $^{\circ}$ C反应90分钟。加入1:500 C3b抗体，检测C3b沉积。由图10A、10B、10C和表9可知，各人源化抗体均能抑制C3b的沉积。

表 9、MASP-2 人源化抗体对 C3b 沉积的抑制活性

人源化抗体	重链可变区	轻链可变区	IC50(nM)
h3H6 H1K1	h3H6 H1	h3H6 K1	0.030
h3H6 H2K1	h3H6 H2	h3H6 K1	0.151
h3H6 H3K1	h3H6 H3	h3H6 K1	0.034
h3H6 H4K1	h3H6 H4	h3H6 K1	0.151
h28O14 H1K1	h28O14 H1	h28O14 K1	0.146
h28O14 H2K1	h28O14 H2	h28O14 K1	0.483
h28O14 H3K1	h28O14 H3	h28O14 K1	0.161
h28O14 H4K1	h28O14 H4	h28O14 K1	0.506
h16B11 H1K1	h16B11 H1	h16B11 K1	0.014
h16B11 H1K2	h16B11 H1	h16B11 K2	0.040
h16B11 H1K3	h16B11 H1	h16B11 K3	0.023
h16B11 H2K3	h16B11 H2	h16B11 K3	0.018
h16B11 H2K1	h16B11 H2	h16B11 K1	0.017
h16B11 H2K2	h16B11 H2	h16B11 K2	0.028
h16B11 H3K1	h16B11 H3	h16B11 K1	0.060
h16B11 H3K2	h16B11 H3	h16B11 K2	0.399
h16B11 H3K3	h16B11 H3	h16B11 K3	0.112
h16B11 H1K4	h16B11 H1	h16B11 K4	0.015
h16B11 H1K5	h16B11 H1	h16B11 K5	0.024
h16B11 H1K6	h16B11 H1	h16B11 K6	0.018
h16B11 H2K4	h16B11 H2	h16B11 K4	0.015
h16B11 H2K5	h16B11 H2	h16B11 K5	0.032
h16B11 H2K6	h16B11 H2	h16B11 K6	0.018
h16B11 H3K4	h16B11 H3	h16B11 K4	0.052
h16B11 H3K5	h16B11 H3	h16B11 K5	0.440
h16B11 H3K6	h16B11 H3	h16B11 K6	0.071
对照抗体			3.692

实施例 7、MASP-2 人源化抗体的亲和力

(1) ELISA 检测人源化 MASP-2 抗体对各种属抗原的亲和力

在 96 孔酶标板上包被 1 μ g/mL 的人 MASP-2 D4-6 重组蛋白，4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。2%脱脂牛奶室温封闭 1 小时，加入梯度稀释的 MASP-2 抗体（起始浓度为 30 μ g/ml，1:4 梯度稀释），室温孵育 60 分钟，加入 1:4000 比例稀释的山羊抗-人 Fc-HRP，室温孵育 60 分钟。TMB 显色 10 分钟，加入浓硫酸终止反应，测定 OD450nm，使用 Graph Pad Prism 5 软件计算结果。

结果如图 11 所示，MASP-2 人源化抗体与人、食蟹猴、大鼠、小鼠 MASP-2 均有结合，且亲和力相当。

(2) BIAcore 检测人源化抗体对人与小鼠 MASP-2 的亲和力

将 0.1 μ g/ml 的抗体捕获到 Protein A 芯片表面，设置捕获时间 40 秒，流速为 10 μ l/min，芯片用缓冲液冲洗至基线平稳，再将梯度稀释的抗原以 30 μ l/min 的流速流过芯片，设置结合时间 120 秒，解离时间 600 秒，拟合得到平衡解离常数 (KD)。亲和力测定数值见表 10。

表 10、MASP-2 抗体与 MASP-2 的亲和力

MASP-2 抗体	人 MASP-2 -D4-6			小鼠 MASP-2 -D4-6		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
h16B11 H1K1	3.26E+06	3.77E-07	1.16E-13	4.66E+06	1.38E-02	2.95E-09
h16B11 H1K2	5.00E+06	1.46E-06	2.92E-13	9.36E+06	1.18E-01	1.26E-08
h16B11 H1K3	6.35E+06	1.91E-07	3.01E-14	6.88E+06	3.71E-02	5.39E-09

h16B11 H1K4	4.33E+06	4.97E-05	1.15E-11	5.00E+06	8.47E-03	1.69E-09
h16B11 H1K5	3.81E+06	1.40E-04	3.69E-11	6.24E+06	6.42E-02	1.03E-08
h16B11 H1K6	4.60E+06	5.74E-05	1.25E-11	5.88E+06	2.16E-02	3.68E-09
h16B11 H2K1	4.91E+06	3.35E-05	6.83E-12	4.75E+06	1.44E-02	3.04E-09
h16B11 H2K2	4.66E+06	1.41E-04	3.02E-11	6.91E+06	8.71E-02	1.26E-08
h16B11 H2K3	5.23E+06	5.04E-05	9.63E-12	5.54E+06	3.42E-02	6.18E-09
h16B11 H2K4	4.23E+06	5.14E-05	1.22E-11	4.78E+06	8.63E-03	1.81E-09
h16B11 H2K5	3.88E+06	1.34E-04	3.46E-11	6.10E+06	5.95E-02	9.76E-09
h16B11 H2K6	4.67E+06	6.30E-05	1.35E-11	5.44E+06	2.25E-02	4.13E-09
h16B11 H3K1	3.61E+06	1.21E-04	3.34E-11	6.97E+06	6.73E-02	9.65E-09
h16B11 H3K2	3.51E+06	6.77E-04	1.93E-10	1.43E+09	2.76E+01	1.93E-08
h16B11 H3K3	3.63E+06	1.66E-04	4.57E-11	1.23E+07	1.90E-01	1.54E-08
h16B11 H3K4	2.97E+06	1.20E-04	4.03E-11	5.26E+06	6.06E-02	1.15E-08
h16B11 H3K5	3.04E+06	5.66E-04	1.87E-10	2.76E+06	9.55E-02	3.47E-08
h16B11 H3K6	3.07E+06	1.74E-04	5.66E-11	8.07E+06	1.80E-01	2.22E-08

实施例 8、志贺毒素 2 诱导小鼠溶血性尿毒综合征模型

以 STX2 的 cDNA 质粒(Sino Biological, 货号:EG40019-G)为模板,分别 PCR 扩增 E. coli O157:H7 的 STX2A (Arg23-Lys319)和 STX2B (Ala20-Asp89)基因片段,克隆到原核表达质粒中,其中 STX2A 蛋白 N 端融合 twin strep 标签以便于纯化,同时二者之间加入肠激酶切割位点 DDDDK。将构建好的 STX2 表达质粒转化至 TG1 大肠杆菌感受态细胞中,挑取单克隆至细菌培养基中,加入 IPTG 诱导培养过夜,收集菌体,先后加入 PPB 和 5mM MgSO₄ 溶液,裂解细菌细胞壁,离心收集外周质腔中的蛋白表达溶液,经 Strep-TactinX (Sino HaiGene, 货号: C0402)纯化得到志贺毒素 STX2 蛋白,加入 EK 肠激酶至蛋白收集液中,25℃孵育过夜,切除 twin strep 标签。

选择 18g 左右的 C57 BL/6 雌性小鼠,分为 MASP-2 抗体 0 mg/kg、3/ mg/kg、10 mg/kg 和 30mg/kg 共 4 个剂量组,每组 7 只。提前 2 小时尾静脉注射抗 MASP-2 抗体 h16B11 H2K4 (100μl),后腹腔注射 LPS (5μg/只, L6136-Sigma)和 STX2 (10ng/只)。给药后 60 小时开始监测小鼠的存活率,到达 HUS 病理的昏睡阶段就进行处死。结果如图 12 所示,抗 MASP-2 抗体能够明显延长小鼠的存活时间,且有剂量相关性。

权 利 要 求 书

1. 一种结合 MASP-2 的抗体或其抗原结合部分, 其包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 7、8、9、17、18、26、27、28、36、37、38、46、47、60、65、66、67、79、85、86、94、95、96、104、105、113、114、126、127、128、136、137、138、141、149、150、151、165、183、192 或其任何变体的重链 CDR, 和/或选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 12、13、14、21、22、23、31、32、33、41、42、43、50、51、52、57、70、71、72、82、91、108、109、110、117、118、123、131、132、133、144、145、146、154、155、156、161、162、168、173、174、201、202、207、216 或任何变体的轻链 CDR。
2. 根据权利要求 1 的抗体或其抗原结合部分, 其包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 7、26、36、65、94、126、136、149 或其任何变体的重链 CDR1, 选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 8、17、27、37、46、66、85、95、104、113、127、137、150、165、183、192 或其任何变体的重链 CDR2, 选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 9、18、28、38、47、60、67、79、86、96、105、114、128、138、141、151 或其任何变体的重链 CDR3; 和/或选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 12、21、31、41、50、70、99、108、117、123、131、144、154、161、201、216 或其任何变体的轻链 CDR1, 选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 13、22、32、42、51、57、71、100、109、118、132、145、155、162、168、173、202、207 或其任何变体的轻链 CDR2, 选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 14、23、33、43、52、72、82、91、101、110、133、146、156、174 或其任何变体的轻链 CDR3。
3. 根据权利要求 1 或 2 的抗体或其抗原结合部分, 其包含选自下列的重链和轻链的 CDR 组合:
 - (1) 分别包含 SEQ ID NO: 7、8、9 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 12、13、14 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (2) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、18 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 21、22、23 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (3) 分别包含 SEQ ID NO: 26、27、28 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 31、32、33 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (4) 分别包含 SEQ ID NO: 36、37、38 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 41、42、43 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (5) 分别包含 SEQ ID NO: 7、46、47 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 50、51、52 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (6) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、18 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 21、57、23 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (7) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、60 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 50、51、52 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (8) 分别包含 SEQ ID NO: 65、66、67 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 70、71、72 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (9) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、47 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 50、51、52 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (10) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、79 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 50、51、82 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (11) 分别包含 SEQ ID NO: 36、85、86 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 41、42、43 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (12) 分别包含 SEQ ID NO: 36、85、86 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 41、42、91 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (13) 分别包含 SEQ ID NO: 94、95、96 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 99、100、101 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (14) 分别包含 SEQ ID NO: 7、104、105 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 108、109、110 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (15) 分别包含 SEQ ID NO: 26、113、114 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 117、118、33 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (16) 分别包含 SEQ ID NO: 94、95、96 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 123、100、101 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (17) 分别包含 SEQ ID NO: 126、127、128 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 131、132、133 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (18) 分别包含 SEQ ID NO: 136、137、138 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 131、132、133 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;
 - (19) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、141 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 144、145、146 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

(20) 分别包含 SEQ ID NO: 149、150、151 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 154、155、156 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

(21) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、9 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 161、162、14 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

(22) 分别包含 SEQ ID NO: 7、165、9 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 144、168、14 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

(23) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、9 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 144、173、174 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

(24) 分别包含 SEQ ID NO: 136、183、138 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 216、132、133 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

(25) 分别包含 SEQ ID NO: 126、192、128 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 216、132、133 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

(26) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、141 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 201、202、146 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

(27) 分别包含 SEQ ID NO: 7、17、141 的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和/或分别包含 SEQ ID NO: 201、207、146 的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列。

4. 根据权利要求 1 或 2 的抗体或其抗原结合部分, 其包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 5、15、24、34、44、53、58、63、73、77、83、92、102、111、119、124、134、139、147、157、163、169、175、177、179、181、184、186、188、190、193、195、197 或其任何变体的重链可变区, 和/或选自氨基酸序列 SEQ ID NO. 10、19、29、39、48、55、61、68、75、80、87、89、97、106、115、121、129、142、152、159、166、171、199、203、205、208、210、212、214 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 5 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 10 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 15 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 19 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 24 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 29 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 34 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 39 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 44 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 48 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 53 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 55 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 58 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 61 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 63 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 68 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 73 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 75 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 77 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 80 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 83 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 87 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 83 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 89 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 92 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 97 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 102 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 106 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 111 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 115 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 119 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 121 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 124 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 129 或其任何变体的轻链可变区;

优选地, 其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 134 或其任何变体的重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO. 129 或其

任何变体的轻链可变区；

优选地，其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 179 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 208 或其任何变体的轻链可变区；

优选地，其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 179 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 210 或其任何变体的轻链可变区；

优选地，其包含氨基酸序列 SEQ ID NO. 179 或其任何变体的重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO. 212 或其任何变体的轻链可变区。

5. 一种双特异性或多特异性分子，其包含权利要求 1-4 任一项所述的结合 MASP-2 的抗体或其抗原结合部分。

6. 根据权利要求 1-4 任一项所述的抗体或其抗原结合部分或权利要求 5 所述的双特异性或多特异性分子，所述抗体或其抗原结合部分是人性化的。

7. 编码根据权利要求 1-4 任一项所述的抗体或其抗原结合部分、权利要求 5 所述的双特异性或多特异性分子或权利要求 6 所述的抗体或其抗原结合部分或双特异性或多特异性分子的核酸；

优选地，所述核酸包含选自 SEQ ID NO. 6、16、25、35、45、54、59、64、74、78、84、93、103、112、120、125、135、140、148、158、164、170、176、178、180、182、185、187、189、191、194、196、198 或其任何变体的抗体重链可变区核苷酸序列，和/或选自 SEQ ID NO. 11、20、30、40、49、56、62、69、76、81、88、90、98、107、116、122、130、143、153、160、167、172、200、204、206、209、211、213、215、或其任何变体的抗体轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 6 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 11 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 16 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 20 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 25 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 30 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 35 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 40 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 45 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 49 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 54 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 56 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 59 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 62 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 64 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 69 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 74 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 76 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 78 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 81 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 84 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 88 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 84 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 90 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 93 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 98 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 103 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 107 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 112 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 116 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 120 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 122 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 125 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 130 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 135 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 130 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 140 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 143 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 148 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列

SEQ ID NO: 211 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列；

更优选地，所述核酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO: 180 或其任何变体的重链可变区核苷酸序列，和核苷酸序列 SEQ ID NO: 213 或其任何变体的轻链可变区核苷酸序列。

8. 包含权利要求 7 所述核酸的载体。

9. 包含权利要求 7 所述的核酸或权利要求 8 所述载体的细胞。

10. 一种组合物，其包含权利要求 1-4 任一项所述的抗体或其抗原结合部分、权利要求 5 所述的双特异性或多特异性分子、权利要求 6 所述的抗体或其抗原结合部分或双特异性或多特异性分子、权利要求 7 所述的核酸、权利要求 8 所述的载体和/或权利要求 9 所述的细胞。

11. 根据权利要求 10 的组合物，其还包含一种或多种另外的治疗药物；所述另外的药物选自：消炎和/或镇痛药物、抗再狭窄药物、其它的补体抑制剂、软骨保护药和/或痉挛抑制剂。

12. 一种试剂盒，其包含权利要求 1-4 任一项所述的抗体或其抗原结合部分、权利要求 5 所述的双特异性或多特异性分子、权利要求 6 所述的抗体或其抗原结合部分或双特异性或多特异性分子、权利要求 7 所述的核酸分子、权利要求 8 所述的载体、权利要求 9 所述的细胞和/或权利要求 10 或 11 所述的组合物。

13. 权利要求 1-4 任一项所述的抗体或其抗原结合部分、权利要求 5 所述的双特异性或多特异性分子、权利要求 6 所述的抗体或其抗原结合部分或双特异性或多特异性分子、权利要求 7 所述的核酸、权利要求 8 所述的载体、权利要求 9 所述的细胞和/或权利要求 10 或 11 所述的组合物在制备用于诊断、治疗或预防与凝集素途径补体活化相关的疾病的药物或试剂盒中的用途；

优选地，与 MASP-2 依赖性补体活化相关的疾病选自 MASP-2 依赖的补体介导的血管状况、缺血再灌注损伤、动脉粥样硬化、炎性胃肠道病症、肺部状况、体外再灌注过程、骨骼肌状况、肾状况、皮肤状况、器官或组织移植、神经系统病症或损伤、血液病症、泌尿生殖道状况、糖尿病、化疗或辐射治疗、恶性肿瘤、内分泌紊乱、凝血障碍，或眼科状况；细菌、真菌或病毒感染引起的补体活化相关损伤和疾病；

优选地，与 MASP-2 依赖性补体活化相关的疾病为自体免疫性炎症状况或自体免疫疾病；优选地，自体免疫性炎症状况选自多发性硬化(包被在神经突起上的髓鞘质)、I 型糖尿病(胰腺)、桥本氏甲状腺炎(甲状腺)、恶性贫血(胃)、阿狄森氏病(肾上腺)、重症肌无力(神经肌肉接点上的乙酰胆碱受体)、类风湿性关节炎、葡萄膜炎(眼)、银屑病(皮肤)、格-巴二氏综合症(神经细胞)、葛雷夫斯氏病(甲状腺)、系统性红斑狼疮、肾小球肾炎(glomeronephritis)、皮炎、哮喘、湿疹、异位皮炎(atopical dermatitis)、接触性皮炎、其他湿疹性皮炎、脂溢性皮炎、鼻炎、扁平疣、天疱疮(Pemphigus)、大疱性类天疱疮、大疱性表皮松解、荨麻疹、血管性水肿、脉管炎、红斑、皮肤嗜曙红细胞增多、局限性脱发、动脉硬化、原发性胆汁性肝硬化和肾病综合征，

优选地，与 MASP-2 依赖性补体活化相关的疾病选自肠炎、如腹部疾病(coeliac disease)、直肠炎、嗜曙红性胃炎、肥大细胞增生病、炎症性肠病、Crohn's 病和溃疡性结肠炎，以及与食物有关的过敏。

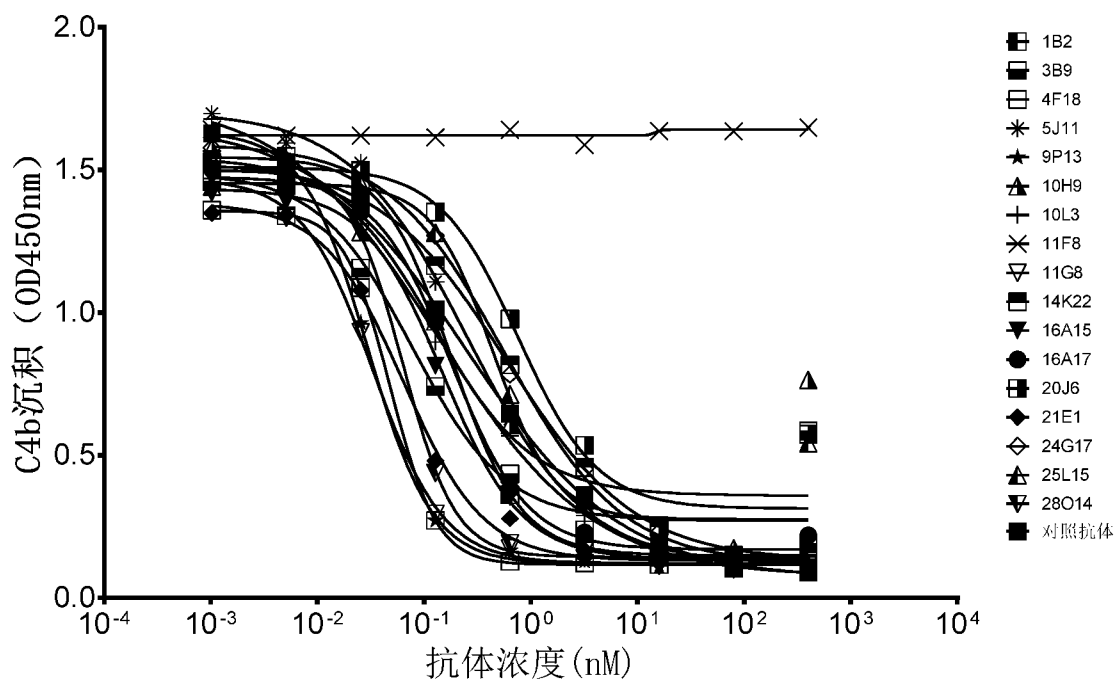


图 3

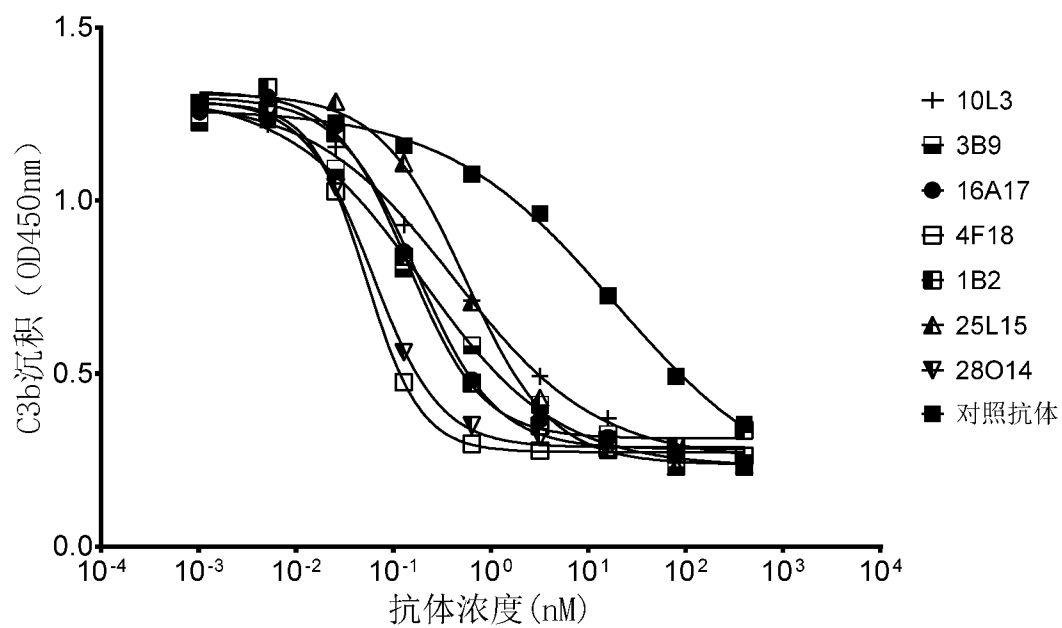


图 4

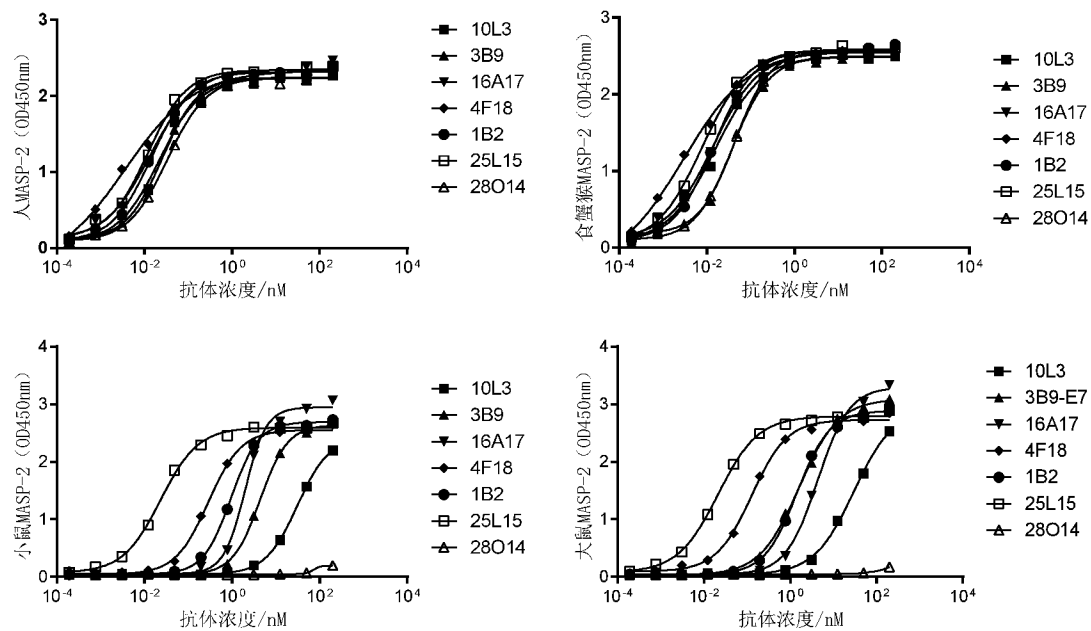


图 5

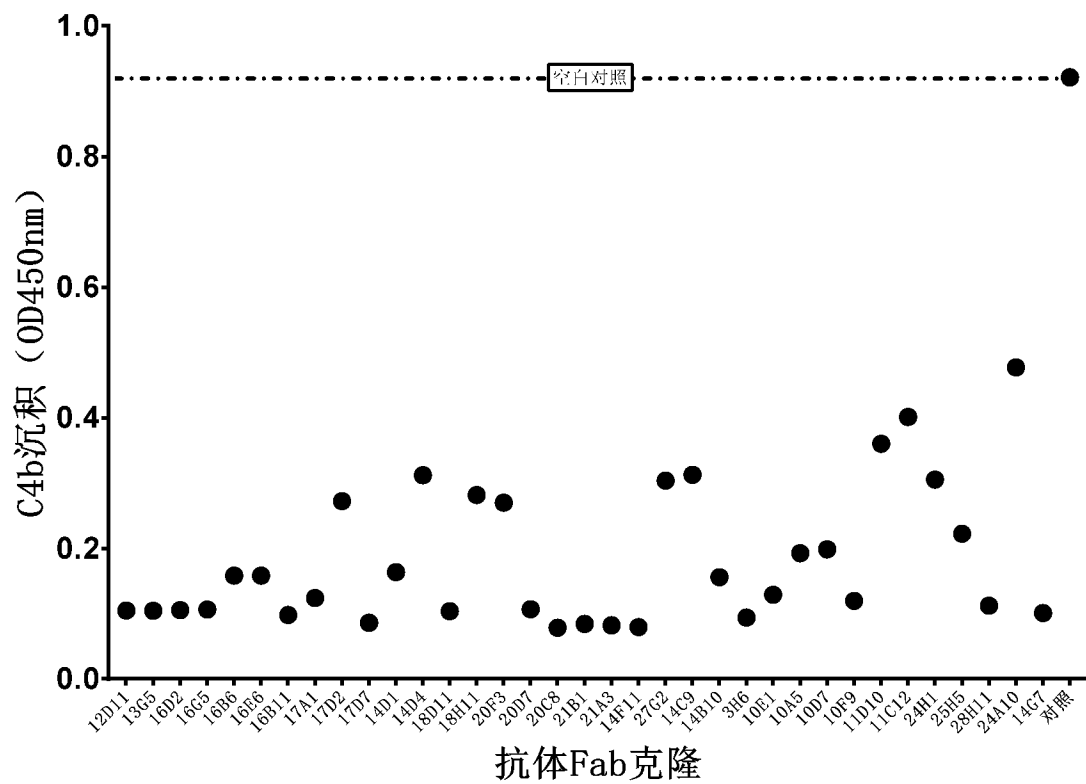


图 6

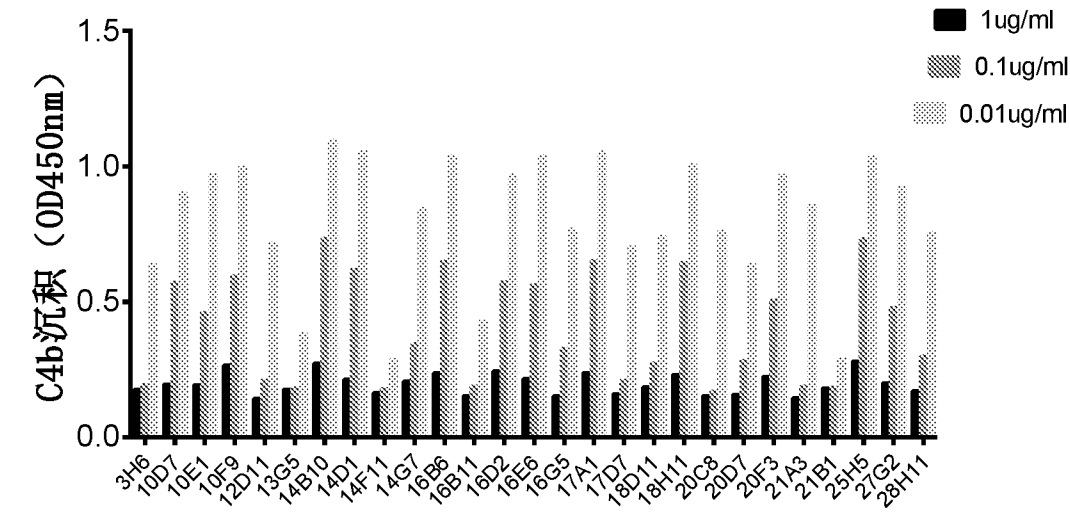


图 7

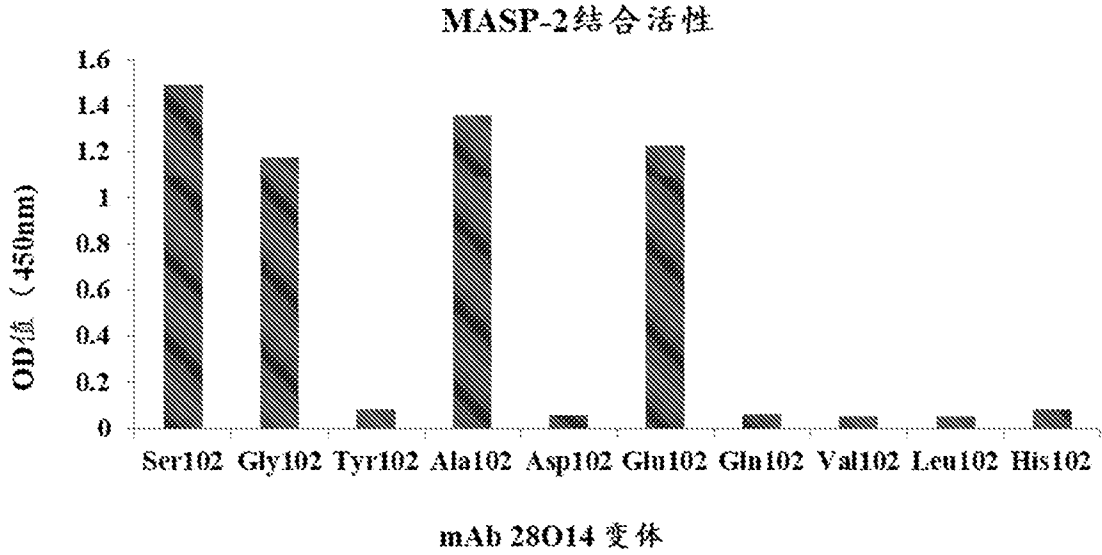


图 8

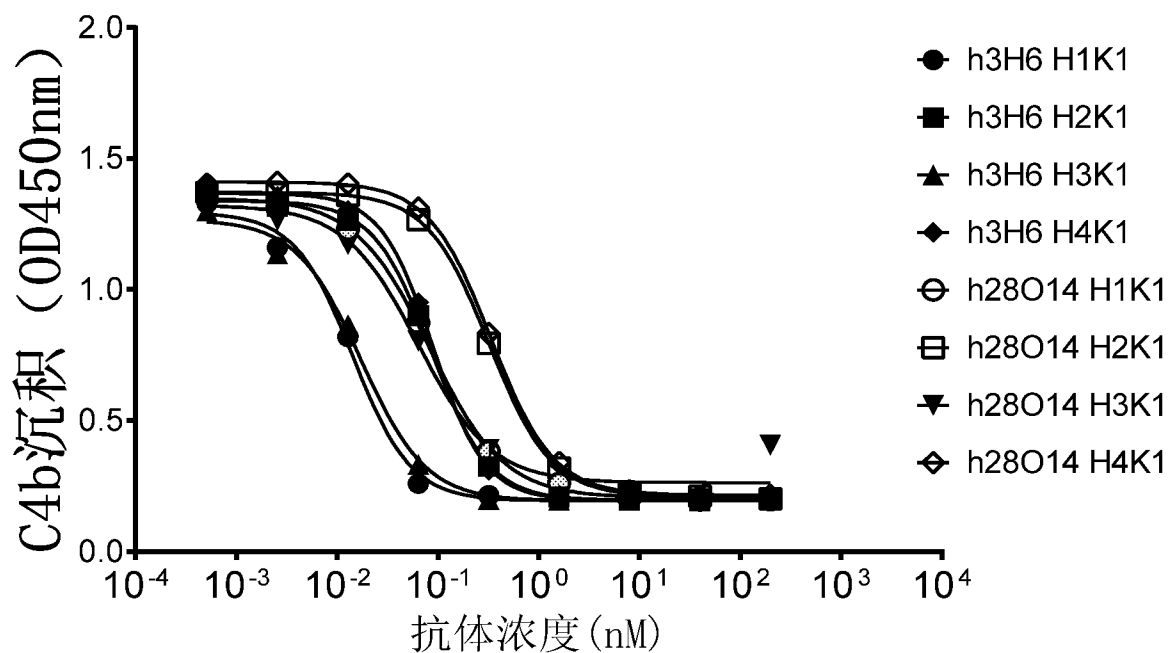


图 9A

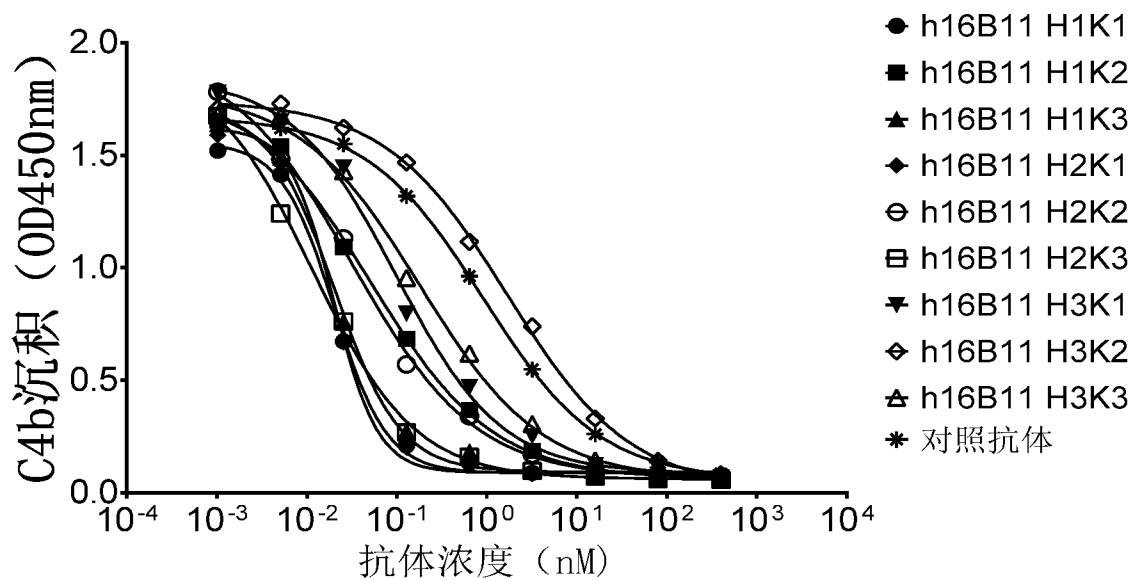


图 9B

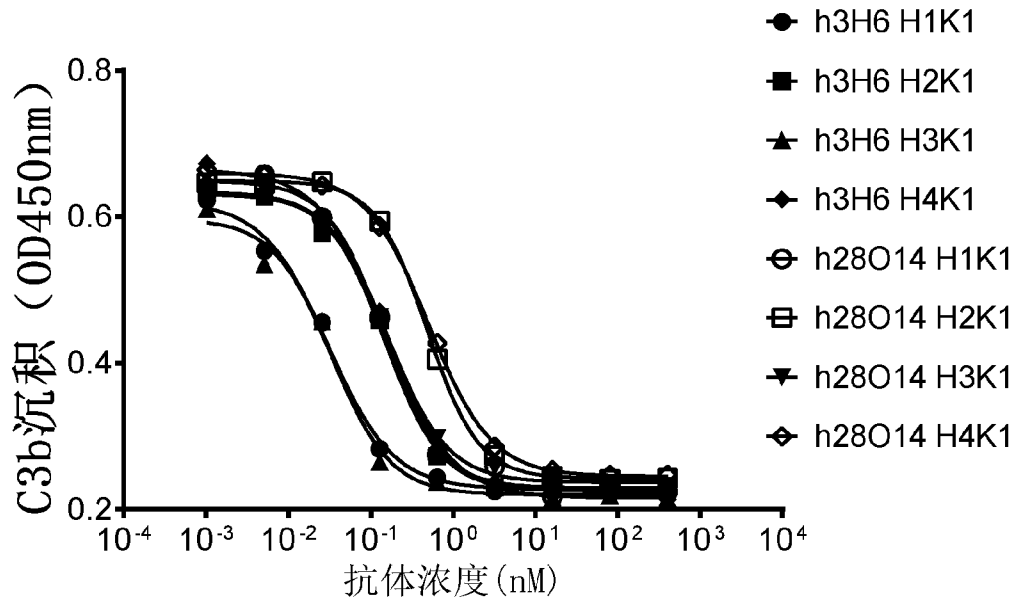


图 10A

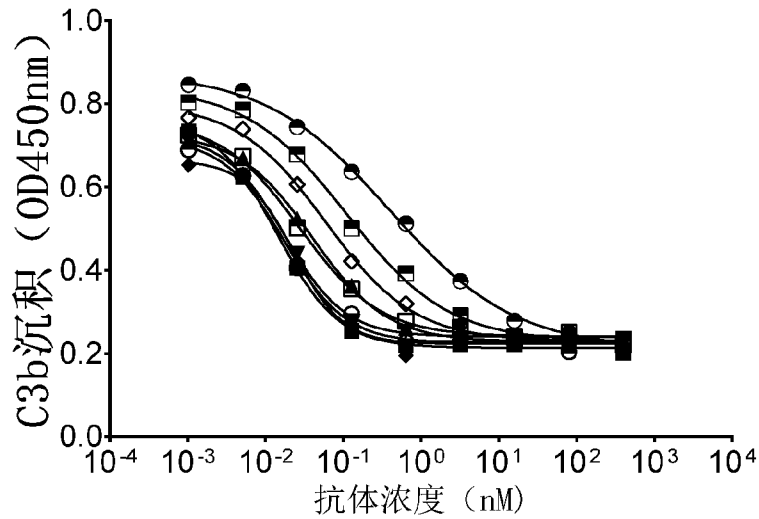


图 10B

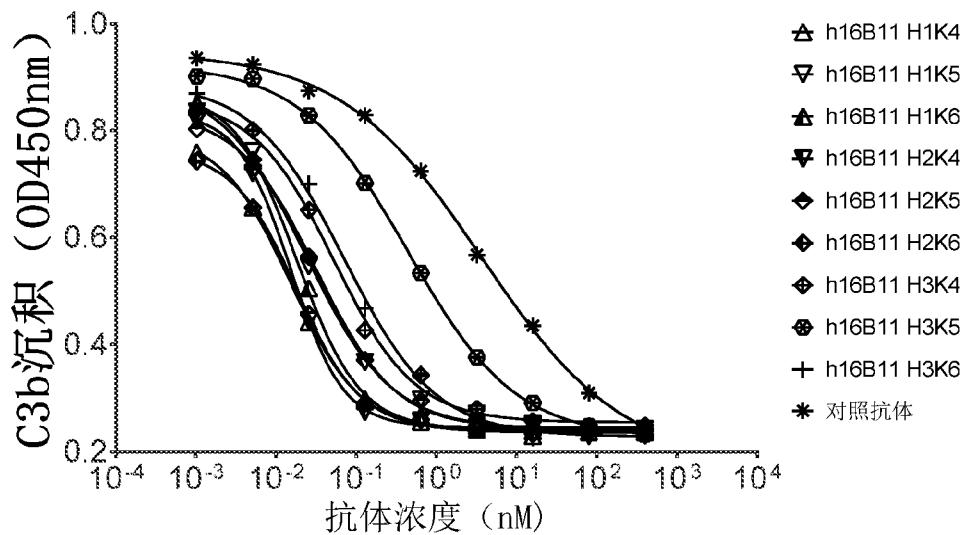


图 10C

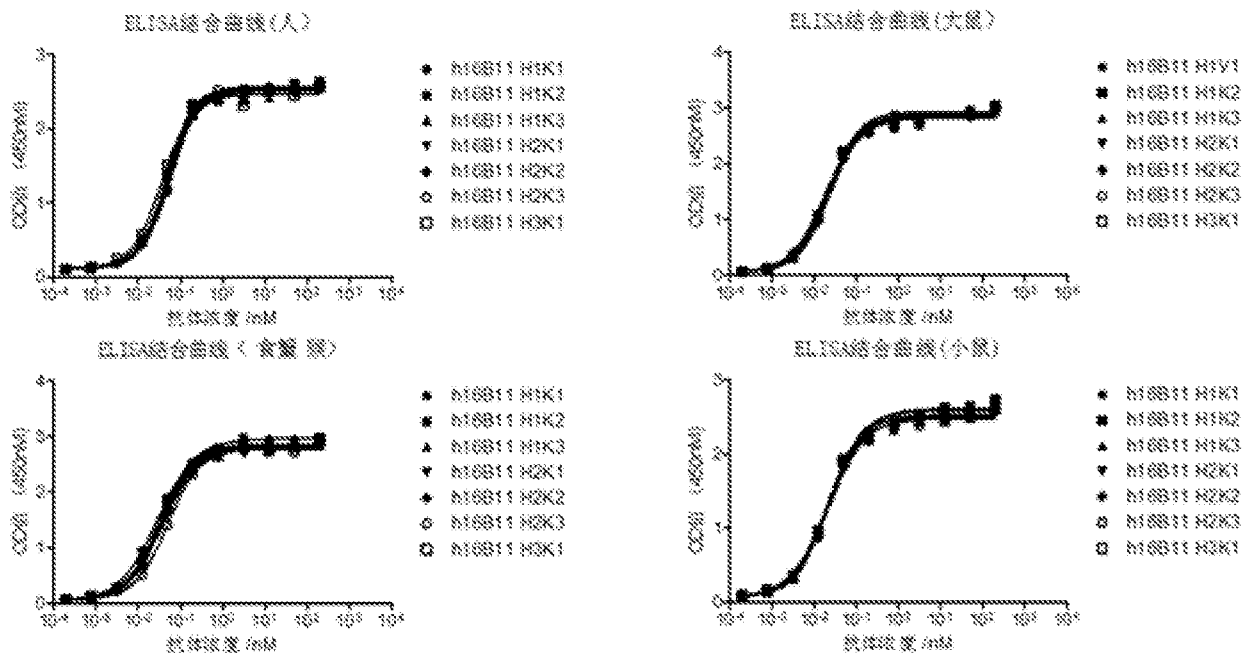


图 11

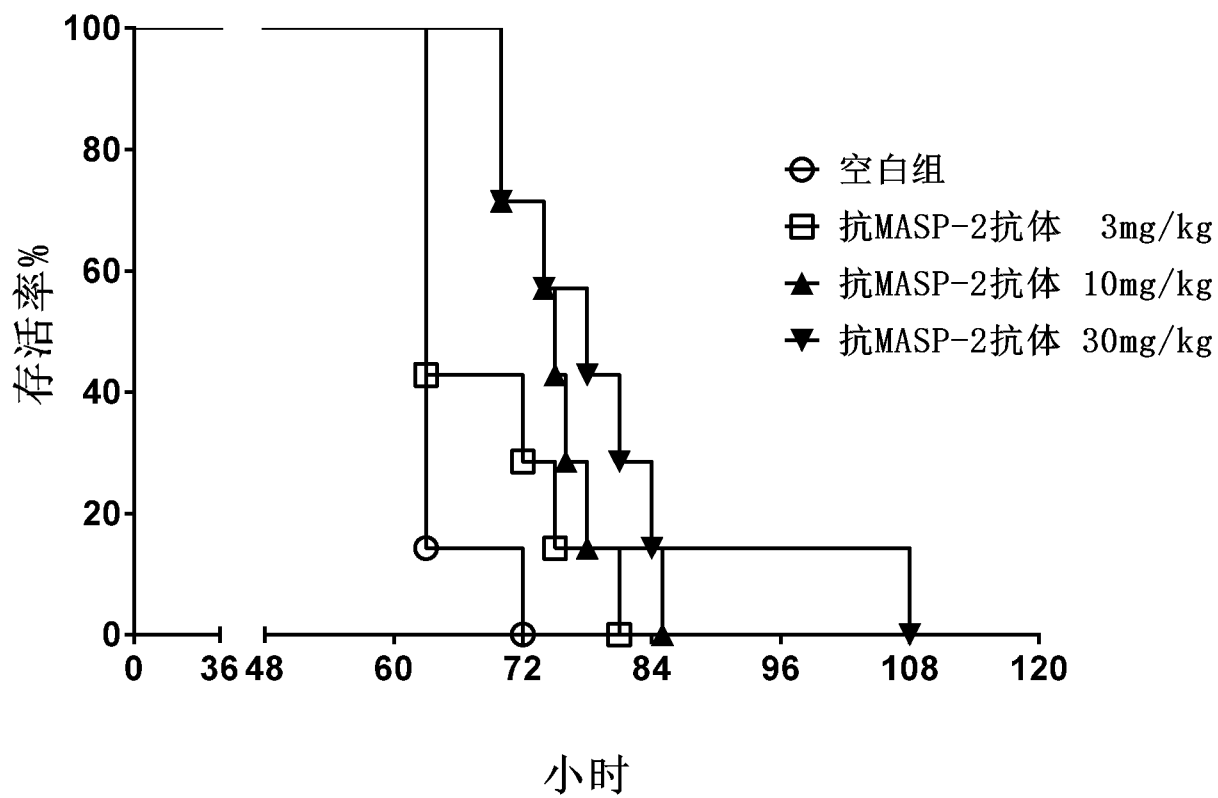


图 12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/138447

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 16/40(2006.01)i; C07K 16/46(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C12N 15/63(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K; C12N; A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNTXT; WPABS; WPABSC; ENTXTC; DWPI; VEN; CNKI; ISI; ELESEVER; NCBI; PUBMED; GOOGLE; GenBank; EMBL; STN; 万方; WANFANG; 中国专利生物序列检索系统数据库, Chinese Patent Biological Sequence Retrieval System Database D: masp-2, 甘露聚糖结合凝集素相关丝氨酸蛋白酶2, 抗体, antibody, SEQ ID NOS: 5-14

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	AU 2013201779 A1 (OMEROS CORP) 04 April 2013 (2013-04-04) see entire document	1-13 (in part)
A	AU 2011265532 A1 (UNIV LEICESTER et al.) 02 February 2012 (2012-02-02) see entire document	1-13 (in part)
A	WO 2012151481 A1 (OMEROS CORP et al.) 08 November 2012 (2012-11-08) see entire document	1-13 (in part)
A	WO 2019246367 A1 (OMEROS CORP) 26 December 2019 (2019-12-26) see entire document	1-13 (in part)
A	CN 102781471 A (OMEROS CORPORATION; UNIVERSITY OF LEICESTER) 14 November 2012 (2012-11-14) see entire document	1-13 (in part)



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 March 2022

Date of mailing of the international search report

16 March 2022

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing
100088, China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/138447

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed:
 - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- [1] Group 1: claims 1-13 (in part), which set forth the technical solution relating to an antibody or antigen binding portion thereof of which a HCVR and a LCVR are respectively as shown in SEQ ID NOs: 5 and 10, or having the sequences of 6 CDR regions.
- [2] Groups 2-4: claims 1-13 (in part), which set forth the technical solution relating to an antibody or antigen binding portion thereof of which a HCVR and a LCVR are respectively as shown in SEQ ID NOs: 15 and 19, 24 and 29, and 34 and 39, or having the sequences of 6 CDR regions.
- [3] Group 5: claims 1-13 (in part), which set forth the technical solution relating to an antibody or antigen binding portion thereof of which a HCVR and a LCVR are respectively as shown in SEQ ID NOs: 44 and 48, 58 and 61, 73 and 75, and 77 and 80, or having the sequences of 6 CDR regions.
- [4] Group 6: claims 1-13 (in part), which set forth the technical solution relating to an antibody or antigen binding portion thereof of which a HCVR and a LCVR are respectively as shown in SEQ ID NOs: 83 and 87, 83 and 89, or having the sequences of 6 CDR regions.
- [5] Groups 7-13: claims 1-13 (in part), which set forth the technical solution relating to an antibody or antigen binding portion thereof of which a HCVR and a LCVR are respectively as shown in SEQ ID NOs: 53 and 55, 63 and 68, 92 and 97, 102 and 106, 111 and 115, 119 and 121, 124 and 129, or having the sequences of 6 CDR regions.
- [6] Group 14: claims 1-13 (in part), which set forth the technical solution relating to an antibody or antigen binding portion thereof of which a HCVR and a LCVR are respectively as shown in SEQ ID NOs: 134 and 129 or the HCVR is selected from SEQ ID NOs: 181, 184, 186, 188, 190, 193, 195, and 197 and the LCVR is selected from SEQ ID NO: 214, or having the sequences of 6 CDR regions.
- [7] Group 15: claims 1-13 (in part), which set forth the technical solution relating to an antibody or antigen binding portion thereof of which a HCVR and a LCVR are respectively as shown in SEQ ID NOs: 139 and 142 or the HCVR is selected from SEQ ID NOs: 175, 177, and 179 and the LCVR is selected from SEQ ID NOs: 199, 203, 205, 208, 210, and 212, or having the sequences of 6 CDR regions.
- [8] Groups 16-17: claims 1-13 (in part), which set forth the technical solution relating to an antibody or antigen binding portion thereof of which a HCVR and a LCVR are respectively as shown in SEQ ID NOs: 147 and 152, 163 and 166, or having the sequences of 6 CDR regions.
- [9] Group 18: claims 1-13 (in part), which set forth the technical solution relating to an antibody or antigen binding portion thereof of which a HCVR and a LCVR are respectively as shown in SEQ ID NOs: 157 and 159, 169 and 171, or having the sequences of 6 CDR regions.
- [10] Group 19: claims 1-13 (in part), which set forth the technical solution relating to an antibody or antigen binding portion thereof of which a HCVR and a LCVR or the sequences of 6 CDR regions are different from those in the groups 1-18.
- [11] The common technical feature among the groups 1-19 is that the antibody or antigen binding portion thereof binds to masp-2; however, the prior art document AU2013201779A1 (published on 04 April 2013, see the claims) discloses an anti-MASP-2 human monoclonal antibody. Therefore, the technical feature cannot constitute a special technical feature distinguished from the prior art. No corresponding experimental data is provided in the description to prove that the antibody of group 19 can also bind to masp-2 and has the same function as the antibodies of groups 1-18. Therefore, the group 19 and groups 1-18 do not share a same or corresponding special technical feature and do not comply with PCT Rules 13.1 and 13.2. Regarding groups 1-18, it is known in the art that except a camel antibody, the binding of antibodies from other sources to antigens depends on a combined action of 6 CDRs, the 6 CDRs together constitute a functional unit, and different antibodies involved in groups 1-18 do not have exactly the same 6 CDR sequences, and therefore, the 18 groups of inventions do not have a special technical feature that makes a contribution over the prior art, cannot be linked to each other, and do not comply with PCT Rules 13.1 and 13.2.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/138447

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: **claims 1-13 (in part), which set forth the technical solution relating to an antibody or antigen binding portion thereof of which a HCVR and a LCVR are respectively as shown in SEQ ID NOs: 5 and 10, or having the sequences of 6 CDR regions.**

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/138447

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
AU	2013201779	A1	04 April 2013	AU	2015270480	A1	21 January 2016
				AU	2015270480	B2	28 September 2017
				AU	2013201779	B2	07 January 2016
AU	2011265532	A1	02 February 2012	AU	2011265532	B2	24 April 2014
WO	2012151481	A1	08 November 2012	RU	2020120539	A	23 December 2021
				DK	2704743	T3	25 May 2020
				AU	2012250627	A1	21 March 2013
				AU	2012250627	B2	07 January 2016
				CA	3131223	A1	08 November 2012
				ZA	201308943	B	27 May 2015
				KR	20180086298	A	30 July 2018
				KR	102024016	B1	04 November 2019
				PL	2704743	T3	24 August 2020
				BR	112013028429	A2	21 July 2020
				IL	229208	A	25 March 2021
				KR	20160087917	A	22 July 2016
				KR	101882830	B1	31 July 2018
				HR	P20200887	T1	04 September 2020
				EP	3725811	A2	21 October 2020
				EP	3725811	A3	27 January 2021
				RS	60541	B1	31 August 2020
				NZ	715226	A	28 July 2017
				MX	361175	B	29 November 2018
				NZ	733310	A	24 December 2021
				US	2019119402	A1	25 April 2019
				US	10683367	B2	16 June 2020
				ME	03755	B	20 April 2021
				CL	2013003140	A1	23 May 2014
				US	2016002349	A1	07 January 2016
				US	9475885	B2	25 October 2016
				CA	2832871	A1	08 November 2012
				CA	2832871	C	15 January 2019
				LT	2704743	T	10 September 2020
				JP	2020097630	A	25 June 2020
				RU	2013153527	A	10 June 2015
				RU	2636038	C2	17 November 2017
				US	2021054099	A1	25 February 2021
				IN	3354KOLNP2013	A	14 February 2014
				CA	3025762	A1	08 November 2012
				CA	3025762	C	09 November 2021
				JP	2014515922	A	07 July 2014
				JP	5891298	B2	22 March 2016
				PT	2704743	T	17 June 2020
				MX	322982	B	22 August 2014
				MX	333580	B	29 September 2015
				MX	335511	B	03 December 2015
				CN	107011443	A	04 August 2017
				HU	E049154	T2	28 September 2020
				IL	229208	D0	30 January 2014
				RU	2017137872	A3	30 April 2019

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/138447

Patent document cited in search report				Publication date (day/month/year)		Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO	2019246367	A1	26 December 2019	RU	2017137872	A	30 April 2019
				RU	2725958	C2	07 July 2020
				JP	2018123148	A	09 August 2018
				AU	2019288459	A1	04 February 2021
				AU	2019288459	A2	18 March 2021
				EP	3836965	A1	23 June 2021
				US	2020140570	A1	07 May 2020
				KR	20210024003	A	04 March 2021
				EA	202190106	A1	13 April 2021
				CL	2020003324	A1	23 April 2021
				IL	279588	D0	01 March 2021
				CN	112638417	A	09 April 2021
				BR	112020025841	A2	23 March 2021
				PH	12020552188	A1	28 June 2021
				JP	2021527698	A	14 October 2021
				SG	11202012627U	A	28 January 2021
				CA	3104083	A1	26 December 2019
CN	102781471	A	14 November 2012	JO	P20200328	A1	22 December 2019
				KR	20120099680	A	11 September 2012
				KR	101759895	B1	20 July 2017
				NZ	624065	A	30 October 2015
				SI	2488203	T1	31 July 2017
				MX	354028	B	08 February 2018
				EP	2488203	A1	22 August 2012
				EP	2488203	A4	14 August 2013
				EP	2488203	B1	07 December 2016
				ES	2617920	T3	20 June 2017
				CA	2777845	A1	21 April 2011
				CA	2777845	C	01 August 2017
				US	2018291112	A1	11 October 2018
				KR	20170086131	A	25 July 2017
				KR	101788040	B1	19 October 2017
				MX	2012004343	A	22 May 2012
				MX	344322	B	13 December 2016
				HU	E030897	T2	28 June 2017
				NZ	599906	A	30 May 2014
				BR	112012008970	A2	10 December 2019
				JP	2013508301	A	07 March 2013
				JP	5911804	B2	27 April 2016
				RU	2012118506	A	27 November 2013
				RU	2600876	C2	27 October 2016
				US	2017233494	A1	17 August 2017
				LT	2488203	T	25 May 2017
				US	2014205598	A1	24 July 2014
				PT	2488203	T	10 March 2017
				JP	2015063567	A	09 April 2015
				CY	1118696	T1	12 July 2017
				CN	106390117	A	15 February 2017
				US	2011091450	A1	21 April 2011
				US	8652477	B2	18 February 2014

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/138447

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		EP 3150635 A2	05 April 2017
		EP 3150635 A3	21 June 2017
		AU 2010306581 A1	10 May 2012
		AU 2010306581 A2	10 May 2012
		AU 2010306581 B2	19 March 2015
		WO 2011047346 A1	21 April 2011
		CA 2971474 A1	21 April 2011
		DK 2488203 T3	13 March 2017
		PL 2488203 T3	31 August 2017

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2021/138447

A. 主题的分类

C07K 16/40(2006.01)i; C07K 16/46(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C12N 15/63(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07K; C12N; A61K

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNXTX;WPABS;WPABSC;ENTXTC;DWPI;VEN;CNKI;ISI;ELSEVER;NCBI;PUBMED;GOOGLE;GenBank;EMBL;STN;万方;中国专利生物序列检索系统数据库, 检索词:masp-2, 甘露聚糖结合凝集素相关丝氨酸蛋白酶2, 抗体, antibody, SEQ ID NOS: 5-14

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	AU 2013201779 A1 (OMEROS CORP) 2013年4月4日 (2013 - 04 - 04) 参见全文	1-13 (部分)
A	AU 2011265532 A1 (UNIV LEICESTER等) 2012年2月2日 (2012 - 02 - 02) 参见全文	1-13 (部分)
A	WO 2012151481 A1 (OMEROS CORP等) 2012年11月8日 (2012 - 11 - 08) 参见全文	1-13 (部分)
A	WO 2019246367 A1 (OMEROS CORP) 2019年12月26日 (2019 - 12 - 26) 参见全文	1-13 (部分)
A	CN 102781471 A (奥默罗斯公司, 莱斯特大学) 2012年11月14日 (2012 - 11 - 14) 参见全文	1-13 (部分)

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2022年3月10日

国际检索报告邮寄日期

2022年3月16日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局(ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

授权官员

马岚

电话号码 86-(10)-62412181

第I栏

核苷酸和/或氨基酸序列 (续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列表进行的:

a. ☒ 作为国际申请的一部分提交的:

☒ 附件C/ST. 25文本文件形式

☐ 纸件或图形文件形式

b. ☐ 根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:

c. ☐ 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:

☐ 附件C/ST. 25文本文件形式 (细则13之三. 1(a))

☐ 纸件或图形文件形式 (细则13之三. 1(b) 和行政规程第713段)

2. ☐ 另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围 (如适用) 的所需声明。

3. 补充意见:

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明, 即:

- [1] 组1: 权利要求1-13(部分), 请求保护涉及HCVR和LCVR分别如SEQ ID NO:5和10所示或具有其6个CDR区序列的抗体或其抗原结合部分的技术方案;
- [2] 组2-4: 权利要求1-13(部分), 请求保护涉及HCVR和LCVR分别如SEQ ID NO:15和19、24和29、34和39所示或具有其6个CDR区序列的抗体或其抗原结合部分的技术方案;
- [3] 组5: 权利要求1-13(部分), 请求保护涉及HCVR和LCVR分别如SEQ ID NO:44和48、58和61、73和75、77和80所示或具有其6个CDR区序列的抗体或其抗原结合部分的技术方案;
- [4] 组6: 权利要求1-13(部分), 请求保护涉及HCVR和LCVR分别如SEQ ID NO:83和87、83和89所示或具有其6个CDR区序列的抗体或其抗原结合部分的技术方案;
- [5] 组7-13: 权利要求1-13(部分), 请求保护涉及HCVR和LCVR分别如SEQ ID NO:53和55、63和68、92和97、102和106、111和115、119和121、124和129所示或具有其6个CDR区序列的抗体或其抗原结合部分的技术方案;
- [6] 组14: 权利要求1-13(部分), 请求保护涉及HCVR和LCVR分别如SEQ ID NO:134和129或HCVR选自SEQ ID NO:181、184、186、188、190、193、195、197和LCVR选自SEQ ID NO:214或具有其6个CDR区序列的抗体或其抗原结合部分的技术方案;
- [7] 组15: 权利要求1-13(部分), 请求保护涉及HCVR和LCVR分别如SEQ ID NO:139和142所示或HCVR选自SEQ ID NO:175、177、179和LCVR选自SEQ ID NO:199、203、205、208、210、212或具有其6个CDR区序列的抗体或其抗原结合部分的技术方案;
- [8] 组16-17: 权利要求1-13(部分), 请求保护涉及HCVR和LCVR分别如SEQ ID NO:147和152、163和166所示或具有其6个CDR区序列的抗体或其抗原结合部分的技术方案;
- [9] 组18: 权利要求1-13(部分), 请求保护涉及HCVR和LCVR分别如SEQ ID NO:157和159、169和171所示或具有其6个CDR区序列的抗体或其抗原结合部分的技术方案;
- [10] 组19: 权利要求1-13(部分), 请求保护HCVR和LCVR或其6个CDR区序列不同于组1-18的抗体或其抗原结合部分的技术方案。
- [11] 组1-19之间共同的技术特征是所述抗体或其抗原结合部分都与MASP-2结合, 但现有技术文献AU2013201779A1(公开日2013年4月4日, 参见权利要求书)中公开了抗MASP-2的人单克隆抗体, 因此上述技术特征不能构成与现有技术进行区别的特定技术特征。由于说明书中并没有给出相应的实验数据证明组19的抗体也能与MASP-2结合, 与组1-18的抗体具有相同的功能, 因此组19与组1-18之间不具备相同或相应的特定技术特征, 不符合PCT实施细则13.1和13.2的规定。对于组1-18, 由于本领域已知除骆驼抗体外, 其他来源的抗体与抗原的结合需要依赖于6个CDR的共同作用, 6个CDR区共同构成了其功能单元, 组1-18涉及的不同抗体相互之间并不具备完全相同的6个CDR序列, 因此上述18组发明相互之间也不具备对现有技术做出贡献的特定技术特征, 不能相互关联, 不符合PCT实施细则13.1和13.2的规定。

第III栏

缺乏发明单一性的意见(续第I页第3项)

1. ☐ 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费，本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。
2. ☐ 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索，本单位未通知缴纳任何加费。
3. ☐ 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费，本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求，具体地说，是权利要求：
4. ☒ 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此，本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明；包含该发明的权利要求是： 权利要求1-13（部分），请求保护涉及HCVR和LCVR分别如SEQ ID NO:5和10所示或具有其6个CDR区序列的抗体或其抗原结合部分的技术方案

对异议的意见

- ☐ 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，适用时，缴纳了异议费。
- ☐ 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。
- ☐ 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/138447

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
AU	2013201779	A1	2013年4月4日	AU	2015270480	A1	2016年1月21日
				AU	2015270480	B2	2017年9月28日
				AU	2013201779	B2	2016年1月7日
AU	2011265532	A1	2012年2月2日	AU	2011265532	B2	2014年4月24日
WO	2012151481	A1	2012年11月8日	RU	2020120539	A	2021年12月23日
				DK	2704743	T3	2020年5月25日
				AU	2012250627	A1	2013年3月21日
				AU	2012250627	B2	2016年1月7日
				CA	3131223	A1	2012年11月8日
				ZA	201308943	B	2015年5月27日
				KR	20180086298	A	2018年7月30日
				KR	102024016	B1	2019年11月4日
				PL	2704743	T3	2020年8月24日
				BR	112013028429	A2	2020年7月21日
				IL	229208	A	2021年3月25日
				KR	20160087917	A	2016年7月22日
				KR	101882830	B1	2018年7月31日
				HR	P20200887	T1	2020年9月4日
				EP	3725811	A2	2020年10月21日
				EP	3725811	A3	2021年1月27日
				RS	60541	B1	2020年8月31日
				NZ	715226	A	2017年7月28日
				MX	361175	B	2018年11月29日
				NZ	733310	A	2021年12月24日
				US	2019119402	A1	2019年4月25日
				US	10683367	B2	2020年6月16日
				ME	03755	B	2021年4月20日
				CL	2013003140	A1	2014年5月23日
				US	2016002349	A1	2016年1月7日
				US	9475885	B2	2016年10月25日
				CA	2832871	A1	2012年11月8日
				CA	2832871	C	2019年1月15日
				LT	2704743	T	2020年9月10日
				JP	2020097630	A	2020年6月25日
				RU	2013153527	A	2015年6月10日
				RU	2636038	C2	2017年11月17日
				US	2021054099	A1	2021年2月25日
				IN	3354K0LNP2013	A	2014年2月14日
				CA	3025762	A1	2012年11月8日
				CA	3025762	C	2021年11月9日
				JP	2014515922	A	2014年7月7日
				JP	5891298	B2	2016年3月22日
				PT	2704743	T	2020年6月17日
				MX	322982	B	2014年8月22日
				MX	333580	B	2015年9月29日
				MX	335511	B	2015年12月3日
				CN	107011443	A	2017年8月4日
				HU	E049154	T2	2020年9月28日
				IL	229208	D0	2014年1月30日
				RU	2017137872	A3	2019年4月30日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/138447

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2019246367	A1	2019年12月26日	RU	2017137872	A	2019年4月30日
				RU	2725958	C2	2020年7月7日
				JP	2018123148	A	2018年8月9日
				AU	2019288459	A1	2021年2月4日
				AU	2019288459	A2	2021年3月18日
				EP	3836965	A1	2021年6月23日
				US	2020140570	A1	2020年5月7日
				KR	20210024003	A	2021年3月4日
				EA	202190106	A1	2021年4月13日
				CL	2020003324	A1	2021年4月23日
				IL	279588	D0	2021年3月1日
				CN	112638417	A	2021年4月9日
				BR	112020025841	A2	2021年3月23日
				PH	12020552188	A1	2021年6月28日
				JP	2021527698	A	2021年10月14日
CN	102781471	A	2012年11月14日	SG	11202012627U	A	2021年1月28日
				CA	3104083	A1	2019年12月26日
				JO	P20200328	A1	2019年12月22日
				KR	20120099680	A	2012年9月11日
				KR	101759895	B1	2017年7月20日
				NZ	624065	A	2015年10月30日
				SI	2488203	T1	2017年7月31日
				MX	354028	B	2018年2月8日
				EP	2488203	A1	2012年8月22日
				EP	2488203	A4	2013年8月14日
				EP	2488203	B1	2016年12月7日
				ES	2617920	T3	2017年6月20日
				CA	2777845	A1	2011年4月21日
				CA	2777845	C	2017年8月1日
				US	2018291112	A1	2018年10月11日
				KR	20170086131	A	2017年7月25日
				KR	101788040	B1	2017年10月19日
				MX	2012004343	A	2012年5月22日
				MX	344322	B	2016年12月13日
				HU	E030897	T2	2017年6月28日
				NZ	599906	A	2014年5月30日
				BR	112012008970	A2	2019年12月10日
				JP	2013508301	A	2013年3月7日
				JP	5911804	B2	2016年4月27日
				RU	2012118506	A	2013年11月27日
				RU	2600876	C2	2016年10月27日
				US	2017233494	A1	2017年8月17日
				LT	2488203	T	2017年5月25日
				US	2014205598	A1	2014年7月24日
				PT	2488203	T	2017年3月10日
				JP	2015063567	A	2015年4月9日
				CY	1118696	T1	2017年7月12日
				CN	106390117	A	2017年2月15日
				US	2011091450	A1	2011年4月21日
				US	8652477	B2	2014年2月18日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/138447

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		EP 3150635 A2	2017年4月5日
		EP 3150635 A3	2017年6月21日
		AU 2010306581 A1	2012年5月10日
		AU 2010306581 A2	2012年5月10日
		AU 2010306581 B2	2015年3月19日
		WO 2011047346 A1	2011年4月21日
		CA 2971474 A1	2011年4月21日
		DK 2488203 T3	2017年3月13日
		PL 2488203 T3	2017年8月31日