



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116601491 A

(43) 申请公布日 2023.08.15

(21) 申请号 202180084721.3

Y·赫德尔

(22) 申请日 2021.12.17

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

(30) 优先权数据

63/127,536 2020.12.18 US

11105

专利代理师 张文辉

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.06.15

(51) Int.Cl.

G01N 33/543 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/064117 2021.12.17

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/133263 EN 2022.06.23

(71) 申请人 安托斯治疗股份有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 D·A·弗里德霍尔姆

D·M·布卢姆菲尔德

R·J·格拉斯普尔 J·E·弗里曼

权利要求书4页 说明书42页

序列表21页 附图5页

(54) 发明名称

用于检测针对因子XI和/或因子XIA抗体的  
抗药抗体的方法

(57) 摘要

本公开涉及用于在例如正利用因子XI和/或  
因子XIa治疗性抗体治疗的受试者中检测及测量  
针对所述因子XI和/或因子XIa治疗性抗体的抗  
药抗体(ADA)的方法。

1. 检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的抗药抗体(ADA)的方法,其中所述方法包括:

a. 将样品与酸一起温育以解离所述样品中存在的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体-抗原复合物和/或解离抗因子XI和/或抗因子XIa抗体-ADA复合物,以产生酸消化物,

b. 将所述酸消化物在包被有所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的板上温育,

c. 中和所述酸消化物,及

d. 使用钆化检测剂混合物检测所述ADA的存在。

2. 如权利要求1的方法,其中所述样品是来自受试者的样品。

3. 如权利要求1或2的方法,其中所述样品选自下组:来自受试者的血液、血浆或血清。

4. 如权利要求1的方法,其中所述方法包含制备所述样品的初始步骤。

5. 如权利要求1至4中任一项的方法,其中所述酸选自下组:乙酸、柠檬酸、磷酸及其混合物。

6. 如权利要求5的方法,其中所述酸是乙酸。

7. 如权利要求6的方法,其中所述乙酸的浓度为约300mM。

8. 如权利要求1至7中任一项的方法,其中所述抗原是因子XI和/或因子XIa。

9. 如权利要求1至8中任一项的方法,其中所述板包被有链霉抗生物素蛋白。

10. 如权利要求1至9中任一项的方法,其中所述板上的所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的浓度选自下组:约0.1 $\mu$ g/ml、约0.25 $\mu$ g/ml、约0.5 $\mu$ g/ml、约0.75 $\mu$ g/ml及约1 $\mu$ g/ml。

11. 如权利要求10的方法,其中所述板上的所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的浓度为约0.25 $\mu$ g/ml。

12. 如权利要求1至11中任一项的方法,其中所述中和允许所述ADA结合所述经包被板上的所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段。

13. 如权利要求1至12中任一项的方法,其中所述中和使用pH为约8.0的碱。

14. 如权利要求1至13中任一项的方法,其中所述中和使用选自下组的碱:Tris、磷酸盐、HEPES、三乙醇胺及其混合物。

15. 如权利要求14的方法,其中所述碱是Tris。

16. 如权利要求1至14中任一项的方法,其中所述钆化检测剂混合物包含抗体。

17. 如权利要求16的方法,其中所述抗体选自下组:抗人IgG、抗人IgM、抗人IgE、抗兔Ig及其任何组合。

18. 如权利要求1至17中任一项的方法,其中所述检测特异性地检测所述ADA而不检测因子XI和/或因子XIa。

19. 如权利要求1至18中任一项的方法,其进一步包括在所述温育后洗涤。

20. 如权利要求1至19中任一项的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的浓度为约0.25 $\mu$ g/ml。

21. 如权利要求1至20中任一项的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(VH),其包含SEQ ID NO:9或29中的互补决定区HCDR1、HCDR2及HCDR3;以及轻链可变区(VL),其包含SEQ ID NO:19或39中的互补决定区LCDR1、LCDR2、

LCDR3。

22. 如权利要求1至21中任一项的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段包含:

i. SEQ ID NO:23的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:24的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:25的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:34的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:35的轻链可变区CDR3;

ii. SEQ ID NO:26的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:27的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:28的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:36的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:37的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:38的轻链可变区CDR3;

iii. SEQ ID NO:43的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:44的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:45的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:47的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:37的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3;或

iv. SEQ ID NO:46的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:4的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:5的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:14的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3。

23. 如权利要求1至22中任一项的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段包含选自由SEQ ID NO:9、29及与其具有90%同一性的VH组成的组的重链可变区(VH);以及选自由SEQ ID NO:19、39及与其具有90%同一性的VL组成的组的轻链可变区(VL)。

24. 如权利要求1至23中任一项的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段包含选自由SEQ ID NO:9及29组成的组的重链可变区(VH);以及选自由SEQ ID NO:19及39组成的组的轻链可变区(VL)。

25. 如权利要求1至24中任一项的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体包含含有SEQ ID NO:31、11的氨基酸序列的重链及与其具有90%同一性的重链;以及含有SEQ ID NO:41、21的氨基酸序列的轻链及与其具有90%同一性的轻链。

26. 如权利要求1至25中任一项的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体包含含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的重链及含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的轻链。

27. 如权利要求1至26中任一项的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体是人单克隆抗体。

28. 如权利要求27的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体是人IgG1同种型。

29. 如权利要求27或28的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体在Fc域中包含D265A及P329A取代。

30. 检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的抗药抗体(ADA)的方法,

其中所述抗体或其抗原结合片段包含:

i. SEQ ID NO:23的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:24的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:25的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:34的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:35的轻链可变区CDR3;

ii. SEQ ID NO:26的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:27的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:28

的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:36的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:37的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:38的轻链可变区CDR3;

iii.SEQ ID NO:43的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:44的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:45的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:47的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:37的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3;或

iv.SEQ ID NO:46的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:4的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:5的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:14的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3

且其中所述方法包括:

a.将样品与酸一起温育以解离所述样品中存在的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体-抗原复合物和/或解离抗因子XI和/或抗因子XIa抗体-ADA复合物,以产生酸消化物,

b.将所述酸消化物在包被有所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的板上温育,

c.中和所述酸消化物,及

d.使用钒化检测剂混合物检测所述ADA的存在。

31.如权利要求30的方法,其中所述样品是来自受试者的样品。

32.如权利要求30或31的方法,其中所述样品选自下组:来自受试者的血液、血浆或血清。

33.如权利要求30的方法,其中所述方法包括制备所述样品的初始步骤。

34.如权利要求30至33中任一项的方法,其中所述酸选自下组:乙酸、柠檬酸、磷酸及其混合物。

35.如权利要求34的方法,其中所述酸是乙酸。

36.如权利要求35的方法,其中所述乙酸的浓度为约300mM。

37.如权利要求30至36中任一项的方法,其中所述抗原是因子XI和/或因子XIa。

38.如权利要求30至37中任一项的方法,其中所述板包被有链霉抗生物素蛋白。

39.如权利要求30至38中任一项的方法,其中所述板上的所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的浓度选自下组:约0.1 $\mu$ g/ml、约0.25 $\mu$ g/ml、约0.5 $\mu$ g/ml、约0.75 $\mu$ g/ml及约1 $\mu$ g/ml。

40.如权利要求39的方法,其中所述板上的所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的浓度为约0.25 $\mu$ g/ml。

41.如权利要求30至40中任一项的方法,其中所述中和允许所述ADA结合所述经包被板上的所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段。

42.如权利要求30至41中任一项的方法,其中所述中和使用pH为约8.0的碱。

43.如权利要求30至42中任一项的方法,其中所述中和使用选自下组的碱:Tris、磷酸盐、HEPES、三乙醇胺及其混合物。

44.如权利要求43的方法,其中所述碱是Tris。

45.如权利要求30至44中任一项的方法,其中所述钒化检测剂混合物包含抗体。

46.如权利要求45的方法,其中所述抗体选自下组:抗人IgG、抗人IgM、抗人IgE、抗兔Ig及其任何组合。

47. 如权利要求30至46中任一项的方法,其中所述检测特异性地检测所述ADA而不检测因子XI和/或因子XIa。

48. 如权利要求30至47中任一项的方法,其进一步包括在所述温育后洗涤。

49. 如权利要求30至48中任一项的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的浓度为约0.25 $\mu$ g/ml。

50. 如权利要求30至49中任一项的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段包含选自由SEQ ID NO:9、29及与其具有90%同一性的VH组成的组的重链可变区(VH);以及选自由SEQ ID NO:19、39及与其具有90%同一性的VL组成的组的轻链可变区(VL)。

51. 如权利要求30至50中任一项的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段包含选自由SEQ ID NO:9及29组成的组的重链可变区(VH);以及选自由SEQ ID NO:19及39组成的组的轻链可变区(VL)。

52. 如权利要求30至51中任一项的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体包含含有SEQ ID NO:31、11的氨基酸序列的重链及与其具有90%同一性的重链;以及含有SEQ ID NO:41、21的氨基酸序列的轻链及与其具有90%同一性的轻链。

53. 如权利要求30至52中任一项的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体包含含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的重链及含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的轻链。

54. 如权利要求30至53中任一项的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体是人单克隆抗体。

55. 如权利要求54的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体是人IgG1同种型。

56. 如权利要求54或55的方法,其中所述抗因子XI和/或抗因子XIa抗体在Fc域中包含D265A及P329A取代。

## 用于检测针对因子XI和/或因子XIIa抗体的抗药抗体的方法

[0001] 对相关申请的交叉引用

[0002] 本申请主张对2020年12月18日提交的美国临时专利申请号63/127,536的权益及优先权,其公开出于所有目的通过引用整体并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有序列表,该序列表已经以ASCII格式以电子方式提交并通过引用整体并入本文。该ASCII副本创建于2021年12月14日,名为ATD-010W0\_ST25.txt,且大小为39,185字节。

### 技术领域

[0005] 本发明一般涉及用于在例如利用因子XI和/或因子XIIa治疗性抗体治疗的受试者中检测及测量针对所述因子XI和/或因子XIIa治疗性抗体的抗药抗体(ADA)的方法。

### 背景技术

[0006] 对于减少血栓栓塞性并发症(例如中风、全身性栓塞、认知下降及死亡)的更安全疗法存在高度未满足的医疗需求,该疗法具有与现有疗法所展现相当或经改善的功效且具有较低的出血风险。

[0007] 因子XI(FXI)是在固有及外在凝血途径中均发挥作用的丝氨酸蛋白酶。因子XI以酶原形式作为同二聚体存在;在R369-I370处的肽键断裂后,因子XI被活化(因子XIIa、FXIIa)。FXII在高组织因子环境中的正常止血中起次要作用,但在血栓形成中起关键作用。遗传因子XI缺乏与缺血性中风及静脉血栓栓塞性事件的降低发病率降低有关(Salomon等人2008;Salomon等人(2011)Thromb Haemost.;105:269-73)。因子XI缺乏的患者的出血表现不常见,通常是轻微的,由损伤或创伤引起,且极少影响关键器官(Salomon等人2011)。

[0008] 已研究结合因子XI和/或因子XIIa的抗体。举例而言,WO 2016/207858阐述一种此类抗因子XI和/或因子XIIa抗体,其在本申请的表1中作为抗体1公开。本公开补充这些发展并提供进一步临床方法(包括剂量方案),以便以期望安全性及功效治疗患有特定血栓栓塞性病症的患者。此外,本公开通过提供包含足够稳定且适于施用于患者的此类FXII和/或FXIIa抗体的配制剂而补充此领域的早期发展。

### 发明内容

[0009] 本发明涉及用于检测及测量抗因子XI和/或活化因子XI(因子XIIa)抗体或其抗原结合片段的方法。

[0010] 因此,在一个方面中,本文提供检测针对抗因子XI和/或抗因子XIIa抗体或其抗原结合片段的抗药抗体(ADA)的方法,其中该方法包括:(a)将样品与酸一起温育以解离该样品中存在的抗因子XI和/或抗因子XIIa抗体-抗原复合物和/或解离抗因子XI和/或抗因子XIIa抗体-ADA复合物,以产生酸消化物,(b)将该酸消化物在包被有抗因子XI和/或抗因子XIIa抗体或其抗原结合片段的板上温育,(c)中和该酸消化物,及(d)使用钒化检测剂混合物

检测该ADA的存在。

[0011] 在一些实施方案中,样品是来自受试者的样品。在一些实施方案中,样品选自来自受试者的血液、血浆或血清组成的组。在一些实施方案中,方法包括制备样品的初始步骤。

[0012] 在一些实施方案中,酸选自下组:乙酸、柠檬酸、磷酸及其混合物。在一些实施方案中,酸是乙酸。在一些实施方案中,乙酸的浓度为约300mM。

[0013] 在一些实施方案中,抗原是因子XI和/或因子XIa。在一些实施方案中,板包被有链霉抗生物素蛋白。在一些实施方案中,板上的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的浓度选自下组:约0.1 $\mu$ g/ml、约0.25 $\mu$ g/ml、约0.5 $\mu$ g/ml、约0.75 $\mu$ g/ml及约1 $\mu$ g/ml。在一些实施方案中,板上的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的浓度为约0.25 $\mu$ g/ml。

[0014] 在一些实施方案中,中和允许ADA结合经包被板上的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,中和使用pH为约8.0的碱。在一些实施方案中,中和使用选自下组的碱:Tris、磷酸盐、HEPES、三乙醇胺及其混合物。在一些实施方案中,碱是Tris。

[0015] 在一些实施方案中,钐化检测剂混合物包含抗体。在一些实施方案中,抗体选自下组:抗人IgG、抗人IgM、抗人IgE、抗兔Ig及其任何组合。在一些实施方案中,检测特异性地检测ADA而不检测因子XI和/或因子XIa。

[0016] 在一些实施方案中,方法进一步包含在温育后洗涤。

[0017] 在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的浓度为约0.25 $\mu$ g/ml。

[0018] 在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(VH),其包含SEQ ID NO:9或29中的互补决定区HCDR1、HCDR2及HCDR3;以及轻链可变区(VL),其包含SEQ ID NO:19或39中的互补决定区LCDR1、LCDR2、LCDR3。

[0019] 在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段包含:i.SEQ ID NO:23的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:24的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:25的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:34的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:35的轻链可变区CDR3;ii.SEQ ID NO:26的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:27的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:28的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:36的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:37的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:38的轻链可变区CDR3;iii.SEQ ID NO:43的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:44的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:45的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:47的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:37的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3;或iv.SEQ ID NO:46的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:4的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:5的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:14的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3。

[0020] 在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段包含选自由SEQ ID NO:9、29及与其具有90%同一性的VH组成的组的重链可变区(VH);以及选自由SEQ ID NO:19、39及与其具有90%同一性的VL组成的组的轻链可变区(VL)。在某些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段包含选自由SEQ ID NO:9及29组成的组的

重链可变区 (VH) ;以及选自SEQ ID NO:19及39组成的组的轻链可变区 (VL) 。

[0021] 在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体包含含有SEQ ID NO:31、11的氨基酸序列的重链及与其具有90%同一性的重链;以及含有SEQ ID NO:41、21的氨基酸序列的轻链及与其具有90%同一性的轻链。在某些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体包含含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的重链及含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的轻链。

[0022] 在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体是人单克隆抗体。在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体是人IgG1同种型。在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体在Fc域中包含D265A及P329A取代。

[0023] 在另一方面中,本文提供检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的抗药抗体(ADA)的方法,其中该抗体或其抗原结合片段包含:i.SEQ ID NO:23的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:24的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:25的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:34的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:35的轻链可变区CDR3;ii.SEQ ID NO:26的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:27的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:28的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:36的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:37的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:38的轻链可变区CDR3;iii.SEQ ID NO:43的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:44的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:45的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:47的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:37的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3;或iv.SEQ ID NO:46的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:4的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:5的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:14的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3,且其中该方法包括:(a)将样品与酸一起温育以解离该样品中存在的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体-抗原复合物和/或解离抗因子XI和/或抗因子XIa抗体-ADA复合物,以产生酸消化物,(b)将该酸消化物在包被有抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的板上温育,(c)中和该酸消化物,及(d)使用钆化检测剂混合物检测该ADA的存在。

[0024] 在一些实施方案中,样品是来自受试者的样品。在一些实施方案中,样品选自下组:来自受试者的血液、血浆或血清。在一些实施方案中,方法包括制备样品的初始步骤。

[0025] 在一些实施方案中,酸选自下组:乙酸、柠檬酸、磷酸及其混合物。在一些实施方案中,酸是乙酸。在一些实施方案中,乙酸的浓度为约300mM。

[0026] 在一些实施方案中,抗原是因子XI和/或因子XIa。在一些实施方案中,板包被有链霉抗生物素蛋白。在一些实施方案中,板上的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的浓度选自下组:约0.1 $\mu$ g/ml、约0.25 $\mu$ g/ml、约0.5 $\mu$ g/ml、约0.75 $\mu$ g/ml及约1 $\mu$ g/ml。在一些实施方案中,板上的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的浓度为约0.25 $\mu$ g/ml。

[0027] 在一些实施方案中,中和允许ADA结合经包被板上的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,中和使用pH为约8.0的碱。在一些实施方案中,中和使用选自下组的碱:Tris、磷酸盐、HEPES、三乙醇胺及其混合物。在一些实施方案中,碱是Tris。

[0028] 在一些实施方案中,钆化检测剂混合物包含抗体。在一些实施方案中,抗体选自下组:抗人IgG、抗人IgM、抗人IgE、抗兔Ig及其任何组合。在一些实施方案中,检测特异性地检测ADA而不检测因子XI和/或因子XIa。

[0029] 在一些实施方案中,方法进一步包含在温育后洗涤。

[0030] 在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的浓度为约0.25 $\mu$ g/ml。

[0031] 在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段包含选自由SEQ ID NO:9、29及与其具有90%同一性的VH组成的组的重链可变区(VH);以及选自由SEQ ID NO:19、39及与其具有90%同一性的VL组成的组的轻链可变区(VL)。在某些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段包含选自由SEQ ID NO:9及29组成的组的重链可变区(VH);以及选自由SEQ ID NO:19及39组成的组的轻链可变区(VL)。

[0032] 在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体包含含有SEQ ID NO:31、11的氨基酸序列的重链及与其具有90%同一性的重链;以及含有SEQ ID NO:41、21的氨基酸序列的轻链及与其具有90%同一性的轻链。在某些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体包含含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的重链及含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的轻链。

[0033] 在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体是人单克隆抗体。在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体是人IgG1同种型。在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体在Fc域中包含D265A及P329A取代。

[0034] 本公开的其他实施方案及细节在下文中呈现。

[0035] 附图简述

[0036] 图1是用于检测食蟹猴样品中的抗药抗体(ADA)的初始桥接测定的示意图。

[0037] 图2是用于检测食蟹猴样品中的ADA的具有因子XI/因子XIa消减步骤的经改善桥接测定的示意图。

[0038] 图3是用于检测食蟹猴样品中的ADA的利用钆化抗猴Ig的经改善桥接测定的示意图。

[0039] 图4是食蟹猴样品的ADA测定的示意图。

[0040] 图5是人样品的ADA测定的示意图。

[0041] 详细说明

[0042] 定义

[0043] 为便于理解本发明,许多术语及短语定义于下文。

[0044] 除非上下文不适当,否则如本文所用,术语“一(a, an)”表示“一个或多个”且包括复数形式。

[0045] 如本文所用,术语“FXI蛋白”、“FXI抗原”及“FXI”可互换使用,且是指不同物种中的因子XI蛋白。因子XI是哺乳动物血浆凝血因子XI,一种以25-30nM的浓度作为酶原存在于人血浆中的糖蛋白,当通过有限的蛋白水解转化为活性丝氨酸蛋白酶时,参与血液凝固的固有途径。

[0046] 术语“FXIa蛋白”、“FXIa抗原”及“FXIa”可互换使用,且是指不同物种中的活化FXI蛋白。酶原因子XI经由血液凝固的接触阶段或通过凝血酶介导的血小板表面活化转化为其活性形式,即凝血因子XIa(FXIa)。在因子XI的此活化期间,切割两条链的每一者中的内部肽键,此导致活化因子XIa,一种由通过二硫键连接在一起的两条重链及两条轻链组成的丝氨酸蛋白酶。此丝氨酸蛋白酶FXIa将凝血因子IX转化为IXa,其随后活化凝血因子X(Xa)。Xa然后可以介导凝血因子II/凝血酶活化。举例而言,人FXI具有如表1中所示的序列(SEQ ID

NO:1)且已阐述于先前报告及文献中(Mandle RJ Jr等人(1979)Blood;54(4):850;NCBI参考序列:AAA51985)。

[0047] 在本公开的上下文中,术语“FXI”及“FXIa”(及诸如此类)分别包括天然FXI及FXIa蛋白的突变体及变体,其具有与以上提及的报告中所述的天然一级结构(氨基酸序列)基本上相同的氨基酸序列。

[0048] 如本文所用,术语“催化域”、“丝氨酸蛋白酶催化域”及类似术语意指氨基酸Ile370至Val607,如自循环中的成熟蛋白质的N端的Glu1开始计数。其亦可阐述为FXI的C端处的残基388-625。如本文所用,术语“活性位点”意指包含氨基酸His413、Asp462及Ser557的催化三联体。(Bane及Gailani(2014)Drug Disc.19(9))。

[0049] 如本文所用,术语“抗体”意指整个抗体及其任何抗原结合片段(即“抗原结合部分”)或单链。整个抗体是包括由二硫键相互连接的至少两条重(H)链及两条轻(L)链的糖蛋白。每一重链包含重链可变区(在本文中缩写为VH)及重链恒定区。重链恒定区包含三个域:CH1、CH2及CH3。每一轻链包括轻链可变区(在本文中缩写为VL)及轻链恒定区。轻链恒定区包含一个域CL。VH及VL区可以进一步细分成高变区(称为互补决定区(CDR)),其间散布有更保守的区域(称为框架区(FR))。每一VH及VL由三个CDR及四个FR构成,其自氨基端至羧基端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链及轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合域。抗体的恒定区可介导免疫球蛋白与宿主组织或因子(包括免疫系统的各种细胞(例如效应细胞)及经典补体系统的第一组分(C1q))的结合。在一些特定方面中,抗体可以为单克隆抗体、人抗体、人源化抗体、骆驼化抗体或嵌合抗体。抗体可以为任何同种型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA及IgY)、类别(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)或子类的。

[0050] 抗原结合位点的CDR可以通过Kabat等人,J.Biol.Chem.252,6609-6616(1977)及Kabat等人,Sequences of protein of immunological interest.(1991),Chothia等人,J.Mol.Biol.196:901-917(1987)及MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996)中所述的方法确定。在这些定义下确定的CDR在彼此进行比较时通常包括氨基酸残基的重叠或子集。在某些实施方案中,术语“CDR”是如由以下所定义的CDR:MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996)及Martin A.,Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains,于Antibody Engineering中,Kontermann及Dubel编,第31章,第422-439页,Springer-Verlag,Berlin(2001)。在某些实施方案中,术语“CDR”是如由以下所定义的CDR:Kabat等人,J.Biol.Chem.252,6609-6616(1977)及Kabat等人,Sequences of protein of immunological interest.(1991)。在某些实施方案中,抗体的重链CDR及轻链CDR使用不同惯例进行定义。举例而言,在某些实施方案中,重链CDR根据MacCallum(同上)定义,且轻链CDR根据Kabat(同上)定义。CDRH1、CDRH2及CDRH3表示重链CDR,且CDRL1、CDRL2及CDRL3表示轻链CDR。

[0051] 如本文所用,术语“药物递送配制剂”或“静脉内药物递送配制剂”是指包含活性剂与惰性或活性载剂的组合的药物配制剂,此使得组合物尤其适于体内或离体诊断或治疗用途。

[0052] 如本文所用,术语“受试者”及“患者”是指欲通过本文所述的方法及组合物治疗的生物体。此类生物体优选包括(但不限于)哺乳动物(例如鼠类、猿猴、马、牛、猪、灵长类动

物、犬、猫及诸如此类),且更优选包括人。在某些实施方案中,受试者是食蟹猴。在某些实施方案中,受试者是人。

[0053] 如本文所用,“血栓栓塞性病症”或类似术语是指其中固有和/或常见凝血途径经异常活化或非自然失活(例如,无治疗手段)的许多病况或疾病。这些病况包括(但不限于)血栓栓塞性中风及其他类型的缺血性起源的中风、心房颤动、心房颤动中的中风预防(SPAF)、深静脉血栓形成、静脉血栓栓塞及肺栓塞。这些亦可以包括预防及治疗导管相关性血栓形成(例如肿瘤患者中的希克曼导管(Hickman catheter))(其中导管变得形成血栓)及体外膜氧合(ECMO)(其中导管及氧合膜形成血凝块)。

[0054] 如本文所用,“血栓栓塞性病症”或类似术语亦可指许多以下本公开的抗FXI和/或FXIa抗体或其抗原结合片段可以用于预防或治疗者:

[0055] -疑似或确诊心律失常(诸如阵发性、持续性或永久性心房颤动或心房扑动)患者的血栓栓塞;

[0056] -心房颤动中的中风预防(SPAF),其亚群体是经历经皮冠状动脉介入治疗(PCI)的AF患者;

[0057] -处于高出血风险的患者的急性静脉血栓栓塞事件(VTE)治疗及扩展二级VTE预防;

[0058] -静脉血栓栓塞,其中受试者是儿科受试者(儿科VTE);

[0059] -暂时性脑缺血发作(TIA)或非致残性中风后的二级预防及心力衰竭伴窦性心律中血栓栓塞性事件的预防中的脑及心血管事件;

[0060] -出血性中风;

[0061] -因心律失常而经历心脏复律的受试者的左心房血块形成及血栓栓塞;

[0062] -心律失常消融术之前、期间或之后的血栓形成;

[0063] -静脉血栓形成,这包括但不限于治疗及二级预防下肢或上肢中的深静脉或浅静脉血栓形成、腹腔及胸腔静脉中的血栓形成、窦血栓形成及颈静脉的血栓形成;

[0064] -静脉或动脉中任何人工表面上的血栓形成,例如导管、起搏器导线、合成动脉移植植物;机械或生物心脏瓣膜或左心室辅助装置;

[0065] -有或没有静脉血栓形成患者的肺栓塞;

[0066] -慢性血栓栓塞性肺动脉高压(CTEPH);

[0067] -破裂动脉粥样硬化斑块上的动脉血栓形成、动脉内假体或导管上的血栓形成及表面上正常动脉中的血栓形成,这包括(但不限于)急性冠状动脉综合征、ST段抬高心肌梗死、非ST段抬高心肌梗死、不稳定性心绞痛、支架血栓形成、动脉系统中的任何人工表面的血栓形成及有或没有肺动脉高压的受试者的肺动脉血栓形成;

[0068] -经历经皮冠状动脉介入治疗(PCI)的患者的血栓形成及血栓栓塞;

[0069] -心源性及隐源性中风;

[0070] -非中枢神经系统性栓塞(非CNS全身性栓塞);

[0071] -患有侵袭性和非侵袭性癌症恶性肿瘤患者的血栓形成;

[0072] -留置导管上的血栓形成;

[0073] -重症患者的血栓形成及血栓栓塞;

[0074] -心脏血栓形成及血栓栓塞,其包括(但不限于)心肌梗死后的心脏血栓形成、与诸

如心脏动脉瘤、心肌纤维化、心脏扩大和功能不全、心肌炎及心脏中的人工表面的病况有关的心脏血栓形成；

[0075] -患有瓣膜性心脏疾病伴或不伴心房颤动的患者的血栓栓塞；

[0076] -机械或生物瓣膜假体上的血栓栓塞；

[0077] -在简单或复杂心脏畸形的的心脏修复后具有天然或人工心脏补片、动脉或静脉导管的患者的血栓栓塞；

[0078] -膝置换手术、髌置换手术及矫形外科、胸部或腹部手术后的静脉血栓形成及血栓栓塞；

[0079] -包括颅内及脊髓介入的神经外科手术后动脉或静脉血栓形成；

[0080] -先天性或获得性易栓症，其包括(但不限于)莱顿第五因子(factor VLeiden)、凝血酶原突变、抗凝血酶III、蛋白C及蛋白S缺陷、因子XIII突变、家族性纤维蛋白原不良血症、先天性纤维蛋白溶酶原缺乏、因子XI水平升高、镰状细胞病、抗磷脂综合征、自体免疫疾病、慢性肠病、肾病综合征、溶血性尿毒症、骨髓增生性疾病、弥散性血管内凝血、阵发性夜间血红蛋白尿及肝素诱导的血小板减少症；

[0081] -慢性肾病中的血栓形成及血栓栓塞；以及

[0082] -经历血液透析的患者及经历体外膜氧合的患者的血栓形成及血栓栓塞。

[0083] 如本文所用，术语“谷”或“谷水平”是指在施用下一剂量药物之前所述药物所达到的最低浓度。

[0084] 如本公开中所用，术语“治疗(treat、treating或treatment)”及其他语法等同物包括缓解、减弱、减轻或预防疾病、病况或症状、预防额外症状、改善或预防症状的潜在代谢病因、抑制疾病或病况，例如阻止疾病或病况的发展、缓解疾病或病况、使疾病或病况消退、缓解由疾病或病况造成的病况或终止疾病或病况的症状，且意欲包括防治性。术语进一步包括达成治疗性益处和/或防治性益处。治疗性益处意指根除或改善所治疗的潜在病症。同样，治疗性益处利用根除或改善一种或多种与潜在病症相关的生理症状达成，使得在患者中观察到改善，但患者可能仍受到潜在病症的折磨。

[0085] 如本文所用，术语“小瓶”是指容纳药物产品的容器。在一些实施方案中，小瓶可以为小瓶、袋、笔或注射器。

[0086] 如本文所用，术语“药物产品”是指本文所述的抗因子XI/XIa抗体(例如，表1中所公开的抗体1)及赋形剂(例如，组氨酸缓冲剂、糖及聚山梨醇酯)。

[0087] 术语“约”是指不会改变药剂在配制剂制备及疾病或病症治疗中的功效的药剂的浓度或量的任何最小改变。在某些实施方案中，术语“约”可包括指定数值或数据点的 $\pm 5\%$ 、 $\pm 10\%$ 或 $\pm 15\%$ 。

[0088] 范围在本公开中可以表述为自“约”一个特定值和/或至“约”另一特定值。当表述此类范围时，另一方面包括自一个特定值和/或至另一特定值。类似地，当值通过使用先行词“约”表述为近似值时，应理解，该特定值形成另一方面。进一步应了解，每一范围的终点在与另一终点有关及与另一终点无关两种情况下均有效。亦应了解，本公开中公开大量值，且每一值除该值自身以外亦公开为“约”该特定值。亦应理解，在整个申请中，数据以多种不同格式提供，且此数据表示终点及起点以及数据点的任何组合的范围。举例而言，若公开特定数据点“10”及特定数据点“15”，则应理解，视为公开大于、大于或等于、小于、小于或等

于、及等于10及15以及10与15之间。亦应理解,亦公开两个特定单元之间的每一单元。例如,若公开10与15,则亦公开11、12、13及14。

[0089] 在整个说明书中,其中将组合物阐述为具有、包括或包含特定组分,或其中将过程及方法阐述为具有、包括或包含特定步骤,另外预期存在基本上由所叙述的组分组成或由所叙述组分组成的本发明组合物,且存在基本上由所叙述的处理步骤组成或由所叙述的处理步骤组成的本发明的过程及方法。

[0090] 除非另外规定,否则一般而言,指定百分比的组合物以重量计。此外,若变量未附带定义,则以变量的先前定义为准。

[0091] 抗因子XI和/或活化因子XI(因子XIa)抗体

[0092] 在一些实施方案中,本公开提供检测针对结合人、兔、狒狒及食蟹猴FXI和/或FXIa的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法。在某些实施方案中,抗因子FXI和/或抗因子FXIa抗体可包含具有SEQ ID NO:9或29的氨基酸序列的重链可变域(VH)。在某些实施方案中,抗体包含具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH。本公开亦提供检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法,其中该抗体特异性结合至FXI和/或FXIa蛋白,且包含具有下文表1中所列示VH CDR中任一者的氨基酸序列的VH CDR。具体而言,本公开提供检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法,其中该抗体特异性结合至FXI和/或FXIa蛋白(例如人、兔、狒狒及食蟹猴FXI和/或FXIa),且包含下文表1中所列示VH CDR中任一者的氨基酸序列的一个、二个、三个或以上VH CDR(或替代地由其组成)。(参见2016年6月24日提出申请且作为W02016/207858公开的PCT国际专利申请号PCT/IB2016/053790,其整体以引用的方式并入本文中)。

[0093] 在一些实施方案中,本公开提供检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法,其中该抗体特异性结合至FXI和/或FXIa蛋白(例如人、兔、狒狒及食蟹猴FXI和/或FXIa),且包含具有SEQ ID NO:19或39的氨基酸序列的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中,抗体包含具有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的VL。本公开亦提供检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法,其中该抗体特异性结合至FXI和/或FXIa蛋白(例如人、兔、狒狒及食蟹猴FXI和/或FXIa),且包含具有下文表1中所列示VL CDR中任一者的氨基酸序列的VL CDR。具体而言,本公开提供检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法,其中该抗体特异性结合至FXIa蛋白(例如人、兔、狒狒及食蟹猴FXI和/或FXIa),且包含具有下文表1中所列示VL CDR中任一者的氨基酸序列的一个、二个、三个或以上VL CDR(或替代地由其组成)。

[0094] 在一些实施方案中,其他抗因子XI和/或抗因子XIa抗体用于检测本文所述ADA的方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法),且可包括经突变、但在CDR区中与表1中所述序列中所绘示的CDR区仍具有至少60、70、80、85、90或95%同一性的氨基酸。在一些实施方案中,抗体包括突变氨基酸序列,其中与表1中所述序列中所绘示的CDR区相比时,CDR区中的不超过1、2、3、4或5个氨基酸经突变。

[0095] 表1.FXI/FXIa抗体、Fab及FXI/FXIa蛋白的实例

[0096]

序列描述	序列标识符 (SEQ ID NO:)	氨基酸或聚核苷酸序列
人 FXIa 全长蛋白质序列(NCBI 参考序列: AAA51985)	1	MIFLYQVVHFILFTSVSGECVTQLLKDTCFEGGDIT TVFTPSAKYQCQVVCTYHPRCLLFTFTAESPSEDPTR WFTCVLKDSVTETLPRVNRATAISGYSFKQCSHQI SACNKDIYVDLDMKGINYNSSVAKSAQECQERCT DDVHCHFFTYATRQFPSLEHRNICLLKHTQTGTPT RITKLDKVVSGFSLKSCALSNLACIRDIFPNTVFAD SNIDSVMAPDAFVSGRICTHHPGCLFFTFFSQEW KESQRNLCLLKTSEGLPSTRIKSKALSGFSLQSC RHSIPVFCHSSFYHDTDFLGEELDIVAAKSHEACQ KLCTNAVRCQFFTYTPAQASCNEGKGKCYLKLSS NGSPTKILHGRGGISGYTLRLCKMDNECTTKIKPRI VGGTASVRGEWPWQVTLHTTSPTQRHLCGGSIG NQWILTAAHCFYGVESPKILRVYSGILNQSEIKEDT SFFGVQEIIHDQYKMAESGYDIALKLETTVNYTD SQRPICLPSKGDRNVIYTDWVTGWGYRKLKRDKI QNTLQKAKIPLVTNEECQKRYRGHKITHKMICAG YREGGKDACKGDSGGPLSCKHNEVWHLVGITSW

[0097]

		GEGCAQRERPGVYTNVVEYVDWILEKTQAV
人 FXIa 全长核苷酸 序列(NCBI 参考序 列: NM_000128.3)	2	AGGCACACAGGCAAAATCAAGTTCTACATCTGT CCCTGTGTATGTCACTTGTTTGAATACGAAATAA AATTAATAAAATAAATTCAGTGTATTGAGAAAG CAAGCAATTCTCTCAAGGTATATTTCTGACATAC TAAGATTTTAACGACTTTCACAAATATGCTGTAC TGAGAGAGAATGTTACATAACATTGAGAACTAG TACAAGTAAATATTAAGTGAAGTGACCATTTC CTACACAAGCTCATTGAGAGGAGGATGAAGACC ATTTTGGAGGAAGAAAAGCACCCCTTATTAAGAA TTGCAGCAAGTAAGCCAACAAGGTCTTTTCAGG ATGATTTTCTTATATCAAGTGGTACATTTTCA TATTTACTTCAGTTTCTGGTGAATGTGTGACTCA GTTGTTGAAGGACACCTGCTTTGAAGGAGGGGA CATTACTACGGTCTTCACACCAAGCGCCAAGTA CTGCCAGGTAGTCTGCACTTACCACCCAAGATG TTTACTCTTCACTTTCACGGCGGAATCACCATCT GAGGATCCCACCCGATGGTTTACTTGTGTCTCTGA AAGACAGTGTTACAGAAACACTGCCAAGAGTGA ATAGGACAGCAGCGATTTCTGGGTATTCTTTCAA GCAATGCTCACACCAAATAAGCGCTTGCAACAA AGACATTTATGTGGACCTAGACATGAAGGGCAT AAACTATAACAGCTCAGTTGCCAAGAGTGCTCA AGAATGCCAAGAAAGATGCACGGATGACGTCCA CTGCCACTTTTTACGTACGCCACAAGGCAGTTT CCCAGCCTGGAGCATCGTAACATTTGTCTACTGA AGCACACCCAAACAGGGACACCAACCAGAATA ACGAAGCTCGATAAAGTGGTGTCTGGATTTTCA CTGAAATCCTGTGCACTTTCTAATCTGGCTTGTA TTAGGGACATTTTCCCTAATACGGTGTGTTGCAGA CAGCAACATCGACAGTGTGATGGCTCCCGATGC TTTTGTCTGTGGCCGAATCTGCACTCATCATCCC GGTTGCTTGTTTTTTACCTTCTTTTCCCAGGAATG GCCCAAAGAATCTCAAAGAAATCTTTGTCTCCTT

[0098]

		AAAACATCTGAGAGTGGATTGCCAGTACACGC ATTAAAAAGAGCAAAGCTCTTTCTGGTTTCAGTC TACAAAGCTGCAGGCACAGCATCCCAGTGTTCT GCCATTCTTCATTTTACCATGACACTGATTTCTT GGGAGAAGAACTGGATATTGTTGCTGCAAAAAG TCACGAGGCCTGCCAGAACTGTGCACCAATGC CGTCCGCTGCCAGTTTTTTACCTATACCCCAGCC CAAGCATCCTGCAACGAAGGGAAGGGCAAGTGT TACTTAAAGCTTTCTTCAAACGGATCTCCAATA AAATACTTCACGGGAGAGGAGGCATCTCTGGAT ACACATTAAGGTTGTGTAATAATGGATAATGAGT GTACCACCAAATCAAGCCAGGATCGTTGGAG GAACTGCGTCTGTTCGTGGTGAGTGGCCGTGGC AGGTGACCCTGCACACAACCTCACCCACTCAGA GACACCTGTGTGGAGGCTCCATCATTGAAACC AGTGGATATTAACAGCCGCTCACTGTTTCTATGG GGTAGAGTCACCTAAGATTTTGCCTGTCTACAGT GGCATTTTAAATCAATCTGAAATAAAAGAGGAC ACATCTTTCTTTGGGGTTCAAGAAATAATAATCC ATGATCAGTATAAAATGGCAGAAAGCGGGTATG ATATTGCCTTGTTGAAACTGGAAACCACAGTGA ATTACACAGATTCTCAACGACCCATATGCCTGCC TTCCAAAGGAGATAGAAATGTAATATAACTGA TTGCTGGGTGACTGGATGGGGGTACAGAAAAC AAGAGACAAAATACAAAATACTCTCCAGAAAGC CAAGATACCCTTAGTGACCAACGAAGAGTGCCA GAAGAGATACAGAGGACATAAAATAACCCATA AGATGATCTGTGCCGGCTACAGGGAAGGAGGGA AGGACGCTTGCAAGGGAGATTCGGGAGGCCCTC TGTCTGCAAACACAATGAGGTCTGGCATCTGG TAGGCATCACGAGCTGGGGCGAAGGCTGTGCTC AAAGGGAGCGGCCAGGTGTTTACACCAACGTGG TCGAGTACGTGGACTGGATTCTGGAGAAAAC AAGCAGTGTGAATGGGTTCCAGGGGCCATTGG
--	--	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0099]

		AGTCCCTGAAGGACCCAGGATTTGCTGGGAGAG GGTGTTGAGTTCCTGTGCCAGCATGCTTCCTCC ACAGTAACACGCTGAAGGGGCTTGGTGTTTGT AGAAAATGCTAGAAGAAAACAACTGTCACAA GTTGTTATGTCCAAAACCTCCCGTTCTATGATCGT TGTAGTTTGTGTTGAGCATTGAGTCTCTTTGTTTT GATCACGCTTCTATGGAGTCCAAGAATTACCAT AAGGCAATATTTCTGAAGATTACTATATAGGCA GATATAGCAGAAAATAACCAAGTAGTGGCAGTG GGGATCAGGCAGAAGAACTGGTAAAAGAAGCC ACCATAAATAGATTTGTTCGATGAAAGATGAAA ACTGGAAGAAAGGAGAACAAGACAGTCTTCA CCATTTTGCAGGAATCTACTCTGCCTATGTGA ACACATTTCTTTTGTAAGAAAGAAATTGATTGC ATTTAATGGCAGATTTTCAGAATAGTCAGGAAT TCTTGTCATTTCCATTTTAAAATATATATTA AAAATCAGTTCGAGTAGACACGAGCTAAGAGTG AATGTGAAGATAACAGAATTTCTGTGTGGAAGA GGATTACAAGCAGCAATTTACCTGGAAGTGATA CCTTAGGGGCAATCTTGAAGATACACTTTCCTGA AAAATGATTTGTGATGGATTGTATATTTATTTAA AATATCTTGGGAGGGGAGGCTGATGGAGATAGG GAGCATGCTCAAACCTCCCTAAGACAAGCTGCT GCTGTGACTATGGGCTCCCAAAGAGCTAGATCG TATATTTATTTGACAAAAATCACCATAGACTGCA TCCATACTACAGAGAAAAACAATTAGGGCGCA AATGGATAGTTACAGTAAAGTCTTCAGCAAGCA GCTGCCTGTATTCTAAGCACTGGGATTTTCTGTT TCGTGCAAATATTTATCTCATTATTGTTGTGATC TAGTTCAATAACCTAGAATTTGAATTGTCACCAC ATAGCTTTCAATCTGTGCCAACAACTATACAATT CATCAAGTGTG
抗体 2		

[0100]

HCDR1 (Kabat)	3	TAAMS
HCDR2 (Kabat)	4	GISGSGSSTYYADSVKG
HCDR3 (Kabat)	5	ELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (Chothia)	6	GFTFSTA
HCDR2 (Chothia)	7	SGSGSS
HCDR3 (Chothia)	8	ELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (IMGT)	43	GFTFSTAA
HCDR2 (IMGT)	44	ISGSGSST
HCDR3 (IMGT)	45	ARELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (Combined)	46	GFTFSTAAMS
HCDR2 (Combined)	4	GISGSGSSTYYADSVKG
HCDR3 (Combined)	5	ELSYLYSGYYFDY
VH	9	QVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSTAAMS WVRQAPGKGLEWVSGISGSGSSTYYADSVKGRFT ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELSYL YSGYYFDYWGGQTLTVSS
编码 VH 的 DNA	10	CAGGTGCAATTGCTGGAAAGCGGCGGTGGCCTG GTGCAGCCGGGTGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGC GCGGCGTCCGGATTCACCTTTTCTACTGCTGCTA TGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCAAAGGTC TCGAGTGGGTTTCCGGTATCTCTGGTTCTGGTTC TTCTACCTACTATGCGGATAGCGTGAAAGGCCG CTTTACCATCAGCCGCGATAATTCGAAAAACAC CCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGA AGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGA ACTGTCTTACCTGTACTCTGGTTACTACTTCGATTAC TGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGCTCA
重链	11	QVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSTAAMS WVRQAPGKGLEWVSGISGSGSSTYYADSVKGRFT ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELSYL

		<p>YSGYYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK  STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV  HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN  HKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPPCPAPEAAGG  PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV  KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL  TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK  GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS  DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL  TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLS  PGK</p>
<p>编码重链的 DNA</p>	<p>12</p>	<p>CAGGTGCAATTGCTGGAAAGCGGCGGTGGCCTG  GTGCAGCCGGGTGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGC  GCGGCGTCCGATTACCTTTTCTACTGCTGCTA  TGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCAAAGGTC  TCGAGTGGGTTTCCGGTATCTCTGGTTCTGGTTC  TTCTACCTACTATGCGGATAGCGTGAAAGGCCG  CTTTACCATCAGCCGCGATAATTCGAAAAACAC  CCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGA  AGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGAAC  GTCTTACCTGTACTCTGGTACTACTTCGATTAC  TGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGCTCA  GCCTCCACCAAGGGTCCATCGGTCTTCCCCCTGG  CACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAG  CGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC  CCGAACCGGTGACGGTGTTCGTGGAACCTCAGGCG  CCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG  TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG  CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC  CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCC  CAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGC  CCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCAC  CGTGCCCAGCACCTGAAGCAGCGGGGGGACCGT  CAGTCTTCTTCCCCCAAACCAAGGACAC</p>

[0101]

[0102]

		CCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG GTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA GCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGT CCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGG CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAA AGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAG ACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCT TCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCT CCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACA CGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
LCDR1 (Kabat)	13	SGSSSNIGSNDVS
LCDR2 (Kabat)	14	KNYNRPS
LCDR3 (Kabat)	15	SAWDQRQFDVV
LCDR1 (Chothia)	16	SSSNIGSND
LCDR2 (Chothia)	17	KNY
LCDR3 (Chothia)	18	WDQRQFDV
LCDR1 (IMGT)	47	SSNIGSND
LCDR2 (IMGT)	37	KNY
LCDR3 (IMGT)	15	SAWDQRQFDVV
LCDR1 (Combined)	33	SGSSSNIGSNDVS
LCDR2 (Combined)	14	KNYNRPS
LCDR3 (Combined)	15	SAWDQRQFDVV

[0103]

VL	19	DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGSNDVSW YQLPGTAPKLLIYKNYNRPSGVPDRFSGSKSGTS ASLAITGLQAEDEADYYCSAWDQRQFDVVFVGGGT KLTVL
编码 VL 的 DNA	20	GATATCGTGCTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAGC GGTGCACCGGGCCAGCGCGTGACCATTAGCTGT AGCGGCAGCAGCAGCAACATTGGTTCTAACGAC GTGTCTTGGTACCAGCAGCTGCCGGGCACGGCG CCGAAACTGCTGATCTACAAAACTACAACCGC CCGAGCGGCGTGCCGGATCGCTTTAGCGGATCC AAAAGCGGCACCAGCGCCAGCCTGGCGATTACC GGCCTGCAAGCAGAAGACGAAGCGGATTATTAC TGCTCTGCTTGGGACCAGCGTCAGTTCGACGTTG TGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCTA
轻链	21	DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGSNDVSW YQLPGTAPKLLIYKNYNRPSGVPDRFSGSKSGTS ASLAITGLQAEDEADYYCSAWDQRQFDVVFVGGGT KLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT VAPTECS
编码轻链 DNA	22	GATATCGTGCTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAGC GGTGCACCGGGCCAGCGCGTGACCATTAGCTGT AGCGGCAGCAGCAGCAACATTGGTTCTAACGAC GTGTCTTGGTACCAGCAGCTGCCGGGCACGGCG CCGAAACTGCTGATCTACAAAACTACAACCGC CCGAGCGGCGTGCCGGATCGCTTTAGCGGATCC AAAAGCGGCACCAGCGCCAGCCTGGCGATTACC GGCCTGCAAGCAGAAGACGAAGCGGATTATTAC TGCTCTGCTTGGGACCAGCGTCAGTTCGACGTTG TGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCTAG GTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTT CCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAA

[0104]

		GGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTAC CCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGAT AGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACC ACACCCTCAAACAAGCAACAACAAGTACGCG GCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCAG TGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTC ACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGT GGCCCCTACAGAATGTTC A
抗体 1		
HCDR1 (Kabat)	23	TAAMS
HCDR2 (Kabat)	24	GISGSGSSTYYADSVKG
HCDR3 (Kabat)	25	ELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (Chothia)	26	GFTFSTA
HCDR2 (Chothia)	27	SGSGSS
HCDR3 (Chothia)	28	ELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (IMGT)	43	GFTFSTAA
HCDR2 (IMGT)	44	ISGSGSST
HCDR3 (IMGT)	45	ARELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (Combined)	46	GFTFSTAAMS
HCDR2 (Combined)	4	GISGSGSSTYYADSVKG
HCDR3 (Combined)	5	ELSYLYSGYYFDY
VH	29	QVQLLESGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTAAMS WVRQAPGKGLEWVSGISGSGSSTYYADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELSYL YSGYYFDYWGQGLTVSS
编码 VH 的 DNA	30	CAGGTGCAGCTGCTGGAATCAGGCGGCGGACTG GTGCAGCCTGGCGGTAGCCTGAGACTGAGCTGC GCTGCTAGTGGCTTACCTTTAGCACCGCCGCTA TGAGCTGGGTTTCGACAGGCCCCAGGAAAGGCC

[0105]

		TCGAGTGGGTCTCAGGGATTAGCGGTAGCGGCT CTAGCACCTACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCC GGTTCACTATCTCTAGGGATAACTCTAAGAACA CCCTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCG AGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGAGC TGAGCTACCTGTATAGCGGCTACTACTTCGACTA CTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAG C
重链	31	QVQLLESGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTAAMS WVRQAPGKGLEWVSGISGSGSSTYYADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELSYL YSGYYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVKPKCDKTHCPPCPAPPELLGPP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
编码重链 DNA	32	CAGGTGCAGCTGCTGGAATCAGGCGGCGGACTG GTGCAGCCTGGCGGTAGCCTGAGACTGAGCTGC GCTGCTAGTGGCTTACCTTTAGCACCGCCGCTA TGAGCTGGGTTTCGACAGGCCCCAGGAAAGGCC TCGAGTGGGTCTCAGGGATTAGCGGTAGCGGCT CTAGCACCTACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCC GGTTCACTATCTCTAGGGATAACTCTAAGAACA CCCTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCG AGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGAGC TGAGCTACCTGTATAGCGGCTACTACTTCGACTA CTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAG CGCTAGCACTAAGGGCCCCTCCGTGTTCCTCTG

[0106]

		GCCCCTTCCAGCAAGTCTACCTCCGGCGGCACA GCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CTGAGCCTGTGACAGTGCCTGGA ACTCTGGCG CCCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGT GCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCC GTGGTACAGTGCCTTCAAGCAGCCTGGGCACC CAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCT TCCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAGCCT AAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCC TGCCCTGCTCCTGAACTGCTGGGCGGCCCTTCTG TGTTCCTGTTCCCTCCAAAGCCCAAGGACACCT GATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGT GGTGGTGGCCGTGTCCACGAGGATCCTGAAGT GAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT GCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAAC AGTACA ACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGC TGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCA AAGAGTACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCC TGGCCGCCCTATCGAAAAGACAATCTCCAAGG CCAAGGGCCAGCCTAGGGAACCCAGGTGTACA CCCTGCCACCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGA ACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTT CTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCT AACGGCCAGCCTGAGAACA ACTACAAGACCACC CCTCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCC TGTACTCCAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGT GGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGA TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGA AGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGCAAG
LCDR1 (Kabat)	33	SGSSSNIGSNDVS
LCDR2 (Kabat)	34	KNYNRPS
LCDR3 (Kabat)	35	SAWDQRQFDVV
LCDR1 (Chothia)	36	SSSNIGSND

[0107]

LCDR2 (Chothia)	37	KNY
LCDR3 (Chothia)	38	WDQRQFDV
LCDR1 (IMGT)	47	SSNIGSND
LCDR2 (IMGT)	37	KNY
LCDR3 (IMGT)	15	SAWDQRQFDVV
LCDR1 (Combined)	33	SGSSSNIGSNDVS
LCDR2 (Combined)	14	KNYNRPS
LCDR3 (Combined)	15	SAWDQRQFDVV
VL	39	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNDVSW YQQLPGTAPKLLIYKNYNRPSGVPDRFSGSKSGTS ASLAISGLQSEDEADYYCSAWDQRQFDVVFGGGT KLTVL
编码 VL 的 DNA	40	CAGTCAGTCCTGACTCAGCCCCCTAGCGCTAGT GGCACCCCTGGTCAAAGAGTGACTATTAGCTGT AGCGGCTCTAGCTCTAATATCGGCTCTAACGAC GTCAGCTGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCGCC CCTAAGCTGCTGATCTATAAGAATAAATAGG CCTAGCGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGATCT AAATCAGGGACTTCTGCTAGTCTGGCTATTAGC GGCCTGCAGTCAGAGGACGAGGCCGACTACTAC TGTAGCGCCTGGGATCAGCGTCAGTTCGACGTG GTGTTTCGGCGGAGGCACTAAGCTGACCGTGCTG
轻链	41	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNDVSW YQQLPGTAPKLLIYKNYNRPSGVPDRFSGSKSGTS ASLAISGLQSEDEADYYCSAWDQRQFDVVFGGGT KLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT VAPTECS

[0108]	编码轻链 DNA	42	<p>CAGTCAGTCCTGACTCAGCCCCCTAGCGCTAGT  GGCACCCCTGGTCAAAGAGTGACTATTAGCTGT  AGCGGCTCTAGCTCTAATATCGGCTCTAACGAC  GTCAGCTGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCGCC  CCTAAGCTGCTGATCTATAAGAACTATAATAGG  CCTAGCGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGATCT  AAATCAGGGACTTCTGCTAGTCTGGCTATTAGC  GGCCTGCAGTCAGAGGACGAGGCCGACTACTAC  TGTAGCGCCTGGGATCAGCGTCAGTTCGACGTG  GTGTTTCGGCGGAGGCACTAAGCTGACCGTGCTG  GGTCAACCTAAGGCTGCCCCAGCGTGACCCTG  TTCCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAAC  AAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTC  TACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCC  GACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACC  ACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTAC  GCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCGAG  CAGTGGAAGAGCCACAGGTCCTACAGCTGCCAG  GTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGAAAAGAC  CGTGGCCCCAACCGAGTGCAGC</p>
--------	----------	----	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0109] 在一些实施方案中,用于检测本文所述ADA的方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)中的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体包含氨基酸序列,其中氨基酸已经突变,但与表1中所述的序列具有至少60、65、70、75、80、85、90或95%同一性。在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体包括突变氨基酸序列,其中与表1中所述序列中所绘示的可变区相比时,可变区中的不超过1、2、3、4或5个氨基酸经突变,同时保持实质上相同抗原结合活性。

[0110] 由于这些抗体中的每一者可结合至FXI和/或FXIa,因此可将VH、VL、全长轻链及全长重链序列(氨基酸序列及编码氨基酸序列的核苷酸序列)“混合并匹配”以产生本公开的其他FXI和/或FXIa结合抗体。可使用本领域已知的结合测定(例如,ELISA及实施例部分中所述的其他测定)测试此类“混合并匹配”的FXI和/或FXIa结合抗体。在混合并匹配这些链时,来自特定VH/VL配对的VH序列应由结构类似的VH序列代替。同样,来自特定全长重链/全长轻链配对的全长重链序列应由结构类似的全长重链序列代替。同样,来自特定VH/VL配对的全长轻链序列应由结构类似的全长轻链序列代替。

[0111] 因此,为用于本文所述方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)中,本公开提供经分离抗体或其抗原结合片段,其具有:重链可变域,其包含选自由SEQ ID NO:9及29组成的组的氨基酸序列;以及轻链可变域,其包含选自由SEQ ID NO:19及39组成的组的氨基酸序列,其中该抗体特异性结合至FXI和/或FXIa(例

如人、兔、狒狒及食蟹猴FXIa)。

[0112] 在某些实施方案中,本公开提供经分离抗体或其抗原结合片段,其具有包含分别选自SEQ ID NO:9及29;或19及39的氨基酸序列的重链可变域及轻链可变域,其用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。

[0113] 在用于本文所述的方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)的某些实施方案中,本文所提供特异性结合至人FXI和/或FXIa的抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变区及含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的轻链可变区。

[0114] 在用于本文所述的方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)的某些实施方案中,本文所提供特异性结合至人FXI和/或FXIa的抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的重链可变区及含有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的轻链可变区。

[0115] 在用于本文所述的方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)的某些实施方案中,本公开提供(i)经分离抗体,其具有:全长重链,其包含已针对在哺乳动物细胞中的表达进行优化的选自由SEQ ID NO:11或31组成的组的氨基酸序列,及全长轻链,其包含已针对在哺乳动物细胞中的表达进行优化的选自由SEQ ID NO:21或41组成的组的氨基酸序列;或(ii)包含其抗原结合部分的功能性蛋白。在某些实施方案中,本公开提供经分离抗体或其抗原结合片段,其具有包含分别选自SEQ ID NO:11及31;或21及41的氨基酸序列的重链及轻链,其用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。

[0116] 在用于本文所述的方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)的某些实施方案中,本文所提供特异性结合至人FXI和/或FXIa的抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的重链及含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的轻链。

[0117] 在用于本文所述的方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)的某些实施方案中,本文所提供特异性结合至人FXI和/或FXIa的抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的重链可变区及含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的轻链可变区。

[0118] 如本文所用,术语“互补决定区”及“CDR”是指抗体可变区内赋予抗原特异性及结合亲和性的氨基酸序列。一般而言,在每一重链可变区中存在三个CDR(HCDR1、HCDR2、HCDR3),且在每一轻链可变区中存在三个CDR(LCDR1、LCDR2、LCDR3)。

[0119] 给定CDR的精确氨基酸序列边界可使用许多熟知方案中的任一者容易地确定,包括由以下阐述的那些:Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”第5版.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(“Kabat”编号方案)、Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948(“Chothia”编号方案)、Lefranc等人,(2003)Dev.Comp.Immunol.,27,55-77(“IMGT”编号方案)或“Combined”系统。

[0120] 举例而言,在Kabat下,重链可变域(VH)中抗体2的CDR氨基酸残基编号为31-35(HCDR1)、50-66(HCDR2)及99-111(HCDR3);且轻链可变域(VL)中的CDR氨基酸残基编号为22-35(LCDR1)、51-57(LCDR2)及90-100(LCDR3)。在Chothia下,VH中的CDR氨基酸编号为26-

32 (HCDR1)、52-57 (HCDR2) 及99-111 (HCDR3);且VL中的氨基酸残基编号为25-33 (LCDR1)、51-53 (LCDR2) 及92-99 (LCDR3)。通过组合Kabat及Chothia二者的CDR定义,CDR由人VH中的氨基酸残基26-35 (HCDR1)、50-66 (HCDR2) 及99-111 (HCDR3) 以及人VL中的氨基酸残基22-35 (LCDR1)、51-57 (LCDR2) 及90-100 (LCDR3) 组成。通过组合Kabat及Chothia二者的CDR定义,“Combined”CDR由人VH中的氨基酸残基26-35 (HCDR1)、50-66 (HCDR2) 及99-108 (HCDR3) 以及人VL中的氨基酸残基24-38 (LCDR1)、54-60 (LCDR2) 及93-101 (LCDR3) 组成。作为另一实例,在IMGT下,重链可变域 (VH) 中的CDR氨基酸残基编号为26-33 (HCDR1)、51-58 (HCDR2) 及97-108 (HCDR3);且轻链可变域 (VL) 中的CDR氨基酸残基编号为27-36 (LCDR1)、54-56 (LCDR2) 及93-101 (LCDR3)。表1提供抗FXI/FXIIa抗体(例如,抗体2及抗体1)的示例性Kabat、Chothia、Combined及IMGT HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3。在另一方面中,本公开提供FXIIa结合抗体,其包含如表1中所述的重链及轻链CDR1、CDR2及CDR3或其组合。抗体的VH CDR1的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:3及23中。抗体的VH CDR2的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:4及24中。抗体的VH CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:5及25中。抗体的VL CDR1的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:13及33中。抗体的VL CDR2的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:14及34中。抗体的VL CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:15及35中。该CDR区使用Kabat系统描绘。

[0121] 或者,如使用Chothia系统 (Al-Lazikani等人,(1997) JMB 273,927-948) 所定义,抗体的VH CDR1的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:6及26中。抗体的VH CDR2的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:7及27中。抗体的VH CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:8及28中。抗体的VL CDR1的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:16及36中。抗体的VL CDR2的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:17及37中。抗体的VL CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:18及38中。

[0122] 或者,如使用Combined系统所定义,抗体的VH CDR1的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:46中。抗体的VH CDR2的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:4中。抗体的VH CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:5中。抗体的VL CDR1的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:33中。抗体的VL CDR2的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:14中。抗体的VL CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:15中。

[0123] 或者,如使用IMGT编号方案所定义,抗体的VH CDR1的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:43中。抗体的VH CDR2的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:44中。抗体的VH CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:45中。抗体的VL CDR1的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:47中。抗体的VL CDR2的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:37中。抗体的VL CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:15中。

[0124] 鉴于这些抗体中的每一者均可以结合至FXI和/或FXIIa且抗原结合特异性主要由CDR1、2及3区提供,故可以将VH CDR1、2及3序列以及VL CDR1、2及3序列“混合并匹配”(即,可以混合并匹配来自不同抗体的CDR),但每一抗体优选含有VH CDR1、2及3以及VL CDR1、2及3以产生本公开的其他FXI和/或FXIIa结合分子。此类“混合并匹配”的FXI和/或FXIIa结合抗体可使用本领域已知的结合测定及那些阐述于实施例中的那些(例如ELISA、SET、BIACORE™测定)测试。在混合并匹配VH CDR序列时,来自特定VH序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列应代替为结构类似的CDR序列。同样,在混合并匹配VL CDR序列时,来自特定VL序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列应代替为结构类似的CDR序列。对普通技术人员而言将显而易见

的是,新颖VH及VL序列可以通过使用来自本文针对本公开的单克隆抗体显示的CDR序列的结构相似序列取代一个或多个VH和/或VL CDR区序列产生。除前述以外,在一个实施方案中,本文所述抗体的抗原结合片段可包含VH CDR1、2及3或VL CDR 1、2及3,其中该片段作为单一可变域结合至FXI和/或FXIa。应注意,抗体1及抗体2的CDR序列是相同的。

[0125] 在本公开的某些实施方案中,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的抗体或其抗原结合片段可以具有表1中所述Fab的重链及轻链序列。更特定而言,抗体或其抗原结合片段可以具有抗体2及抗体1的重链及轻链序列。

[0126] 在本公开的某些实施方案中,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的特异性结合FXI和/或FXIa的抗体或其抗原结合片段包含重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3、轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2及轻链可变区CDR3,如由Kabat所定义及表1中所阐述。举例而言,在本公开的某些实施方案中,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的特异性结合FXI和/或FXIa的抗体或其抗原结合片段包含重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3、轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2及轻链可变区CDR3,如由Chothia所定义及表1中所阐述。在其他实施方案中,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的特异性结合FXI和/或FXIa的抗体或其抗原结合片段包含重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3、轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2及轻链可变区CDR3,如由Combined系统所定义及表1中所阐述。在本公开的某些实施方案中,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的特异性结合FXI和/或FXIa的抗体或其抗原结合片段包含重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3、轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2及轻链可变区CDR3,如由IMGT所定义及表1中所阐述。

[0127] 在用于本文所述的方法(例如,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中)的某些实施方案中,本公开包括特异性结合至FXI和/或FXIa的抗体,其包含SEQ ID NO:3的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:4的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:5的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:13的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:14的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3。

[0128] 在某些实施方案中,本公开包括特异性结合至FXI和/或FXIa的抗体,其包含SEQ ID NO:23的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:24的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:25的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:34的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:35的轻链可变区CDR3,其用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。

[0129] 在某些实施方案中,本公开包括特异性结合至FXI和/或FXIa的抗体,其包含SEQ ID NO:6的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:7的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:8的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:16的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:17的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID NO:18的轻链可变区CDR3,其用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。

[0130] 在某些实施方案中,本公开包括特异性结合至FXI和/或FXIa的抗体,其包含SEQ ID NO:26的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:27的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:28的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:36的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:37的轻链可变区CDR2;以及SEQ ID

NO:38的轻链可变区CDR3,其用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。

[0131] 在某些实施方案中,本文提供特异性结合至FXI和/或FXIa的抗体,其包含SEQ ID NO:43的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:44的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:45的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:47的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:37的轻链可变区CDR2及SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3,其用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。

[0132] 在某些实施方案中,本文提供特异性结合至FXI和/或FXIa的抗体,其包含SEQ ID NO:46的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:4的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:5的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:14的轻链可变区CDR2及SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3,其用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。

[0133] 在某些实施方案中,本公开包括特异性结合至表1中所述的FXI和/或FXIa的抗体或抗原结合片段,其用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。在用于本文所述方法的特定实施方案中,结合FXI和/或FXIa的抗体或抗原结合片段是抗体2及抗体1,其用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。

[0134] 如本文所用,若抗体的可变区或全长链自使用人种系免疫球蛋白基因的系统获得,则人抗体包含为特定种系序列的“产物”或“衍生自”其的重链或轻链可变区或全长重链或轻链。此类系统包括用感兴趣抗原免疫携带人免疫球蛋白基因的转基因小鼠或用感兴趣抗原筛选展示于噬菌体上的人免疫球蛋白基因文库。为人种系免疫球蛋白序列的“产物”或“衍生自”其的人抗体可通过以下方式鉴定:比较人抗体的氨基酸序列与人种系免疫球蛋白的氨基酸序列,并选择在序列上与人抗体序列最接近(即,最大同一性%)的人种系免疫球蛋白序列。

[0135] 为特定人种系免疫球蛋白序列的“产物”或“衍生自”其的人抗体与种系序列相比可能含有氨基酸差异,这是由于例如天然存在的体细胞突变或有意引入定点突变。然而,在VH或VL框架区中,所选人抗体在氨基酸序列上通常与由人种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列至少90%相同,且含有当与其他物种的种系免疫球蛋白氨基酸序列(例如鼠类种系序列)相比时将人抗体鉴定为人的氨基酸残基。在某些情形下,人抗体在氨基酸序列上可以与由种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列至少60%、70%、80%、90%或至少95%或甚至至少96%、97%、98%或99%相同。

[0136] 通常,重组人抗体在VH或VL框架区中与由人种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列将展示不超过10个氨基酸差异。在某些情形下,人抗体与由种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列可以展示不超过5个或甚至不超过4个、3个、2个或1个的氨基酸差异。人种系免疫球蛋白基因的实例包括但不限于下文阐述的可变域种系片段以及DP47及DPK9。

[0137] 同源抗体

[0138] 在用于本文所述方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)的再其他实施方案中,本公开提供抗体或其抗原结合片段,其包含与表1中所述的序列(例如SEQ ID NO:29、31、39或41)同源的氨基酸序列,且抗体结合至FXI

和/或FXIa蛋白(例如人、兔、狒狒及食蟹猴FXIa),且保留表1中所阐述的那些抗体(例如抗体2及抗体1)的期望功能性质。在某些实施方案中,此类同源抗体保留表1中所述的CDR氨基酸序列(例如Kabat CDR、Chothia CDR、IMGT CDR或Combined CDR)。

[0139] 举例而言,在一些实施方案中,本公开提供经分离抗体或其功能性抗原结合片段,其包含重链可变域及轻链可变域,其中重链可变域包含与选自下组的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:9及29;轻链可变域包含与选自下组的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:19及39;且抗体特异性结合至FXI和/或FXIa(例如人、兔、狒狒及食蟹猴FXIa),其用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。在某些实施方案中,经分离抗体或其功能性抗原结合片段包含重链可变域及轻链可变域,其中该重链可变域包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;轻链可变域包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;且抗体特异性结合至FXI和/或FXIa(例如人、兔、狒狒及食蟹猴FXIa),其用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。在某些实施方案中,经分离抗体或其功能性抗原结合片段包含重链可变域及轻链可变域,其中重链可变域包含与SEQ ID NO:29的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;轻链可变域包含与SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;且抗体特异性结合至FXI和/或FXIa(例如人、兔、狒狒及食蟹猴FXIa),其用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。在本公开的某些实施方案中,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的抗体的重链及轻链序列分别包含如由Kabat所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:3、4、5、13、14及15。在本公开的某些实施方案中,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的抗体的重链及轻链序列分别包含如由Chothia所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:6、7、8、16、17及18。在某些实施方案中,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的抗体的重链及轻链序列分别包含如由Combined系统所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:46、4、5、33、14及15。在某些实施方案中,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的抗体的重链及轻链序列分别包含如由IMGT所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:43、44、45、47、37及15。

[0140] 在用于本文所述方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)的其他实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体的VH和/或VL氨基酸序列可以与表1中所阐释的序列50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同。在其他实施方案中,VH和/或VL氨基酸序列可以是相同的,除了在不超过约1、2、3、4或5个氨基酸位置中的氨基酸取代。具有与表1中所阐述那些的VH及VL区具有高(例如80%或以上)同一性的VH及VL区的抗体可以通过分别编码SEQ ID NO:10或30及SEQ ID NO:20及40的核酸分子的诱变(例如定点或PCR介导的诱变)获得,然后使用本文所述的功能测定测试经编码的改变抗体的保留功能。

[0141] 在用于本文所述方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结

合片段的ADA的方法)的其他实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体的全长重链和/或全长轻链氨基酸序列可与表1中所阐释的序列(例如SEQ ID NO:11和/或21、或31和/或41)50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同。具有与SEQ ID NO:11或31中任一者的全长重链及SEQ ID NO:21或41中任一者的全长轻链具有高(例如80%或以上)同一性的全长重链及全长轻链的抗体可通过编码此类多肽的核酸分子的诱变(例如定点或PCR介导的诱变)获得,然后使用本文所述的功能测定测试经编码的改变抗体的保留功能。

[0142] 在一个方面中,本文提供用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的经分离抗体或其功能性抗原结合片段,其包含重链及轻链,其中重链包含与选自下组的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:11及31;轻链包含与选自下组的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:21及41;且抗体特异性结合至FXI和/或FXIa(例如人、兔、狒狒及食蟹猴FXIa)。在一个实施方案中,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的经分离抗体或其功能性抗原结合片段包含重链及轻链,其中重链包含与SEQ ID NO:11的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;轻链包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;且抗体特异性结合至FXI和/或FXIa(例如人、兔、狒狒及食蟹猴FXIa)。在某些实施方案中,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的经分离抗体或其功能性抗原结合片段包含重链及轻链,其中重链包含与SEQ ID NO:31的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;轻链包含与SEQ ID NO:41的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;且抗体特异性结合至FXI和/或FXIa(例如人、兔、狒狒及食蟹猴FXIa)。在本公开的某些方面中,重链及轻链序列进一步分别包含如由Kabat所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:3、4、5、13、14及15。在本公开的某些实施方案中,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的抗体或其功能性抗原结合片段的重链及轻链序列分别包含如由Chothia所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:6、7、8、16、17及18。在某些实施方案中,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的抗体或其功能性抗原结合片段的重链及轻链序列分别包含如由Combined系统所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:46、4、5、33、14及15。在某些实施方案中,用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的抗体或其功能性抗原结合片段的重链及轻链序列分别包含如由IMGT所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:43、44、45、47、37及15。

[0143] 在用于本文所述方法的其他实施方案中,全长重链和/或全长轻链核苷酸序列可与表1中所阐释的序列(例如SEQ ID NO:12和/或22、或32和/或42)60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同。

[0144] 在用于本文所述方法的其他实施方案中,重链核苷酸序列的可变区和/或轻链核苷酸序列的可变区可与表1中所阐释的序列(例如SEQ ID NO:10和/或20、或30和/或40)60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同。

[0145] 如本文所用,两个序列间的同一性%随该序列共有的相同位置数变化(即,同一

性% = 相同位置数/总位置数 × 100), 考虑到为达成两个序列最佳比对而需要引入的空位数及每一空位的长度。两个序列间的序列比较及同一性%测定可使用数学算法来完成, 如下文非限制性实例中所述。

[0146] 本文所述的经分离抗FXI和/或FXIa抗体或其抗原结合片段可为单克隆抗体、人或人源化抗体、嵌合抗体、单链抗体、Fab片段、Fv片段、F(ab')<sub>2</sub>片段或scFv片段和/或IgG同种型(例如IgG1, 例如人IgG1)。在特定实施方案中, 本文所述的抗FXI和/或抗FXIa抗体是重组人抗体。在特定实施方案中, 本文所述的抗FXI和/或抗FXIa抗体人IgG1/lambda(λ)抗体。在特定实施方案中, 本文所述的抗FXI和/或抗FXIa抗体是包含经工程化以减少潜在的效应物功能(例如ADCC和/或CDC)的Fc域(例如包含D265A和/或P329A取代的人Fc域)的人IgG1/lambda(λ)抗体。

[0147] 另外或替代地, 本公开的蛋白质序列可以进一步用作“查询序列”来执行针对公共数据库的搜索, 以例如鉴定相关序列。举例而言, 此类搜索可以使用Altschul等人, 1990J.Mol.Biol.215:403-10的BLAST程序(版本2.0)执行。

[0148] 具有保守修饰的抗体

[0149] 在某些其他实施方案中, 用于本文所述方法(例如, 检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)中的本发明抗体具有包含CDR1、CDR2及CDR3序列的重链可变区及包含CDR1、CDR2及CDR3序列的轻链可变区, 其中这些CDR序列中的一者或多者具有基于本文所述抗体的特定氨基酸序列或其保守修饰, 且其中这些抗体保留本公开的FXIa结合抗体的期望功能性质。

[0150] 因此, 为用于本文所述的方法中, 在一些实施方案中, 本公开提供经分离抗体或其抗原结合片段, 其由包含CDR1、CDR2及CDR3序列的重链可变区及包含CDR1、CDR2及CDR3序列的轻链可变区组成, 其中: 重链可变区CDR1氨基酸序列选自下组: SEQ ID NO:3及23及其保守修饰; 重链可变区CDR2氨基酸序列选自下组: SEQ ID NO:4及24及其保守修饰; 重链可变区CDR3氨基酸序列选自下组: SEQ ID NO:5及25及其保守修饰; 轻链可变区CDR1氨基酸序列选自下组: SEQ ID NO:13及33及其保守修饰; 轻链可变区CDR2氨基酸序列选自下组: SEQ ID NO:14及34及其保守修饰; 轻链可变区CDR3氨基酸序列选自下组: SEQ ID NO:15及35及其保守修饰; 且抗体或其抗原结合片段特异性结合至FXIa。

[0151] 在一个方面中, 本文提供经分离抗体或其抗原结合片段, 其由包含CDR1、CDR2及CDR3序列的重链可变区及包含CDR1、CDR2及CDR3序列的轻链可变区组成, 其中: 重链可变区CDR1氨基酸序列选自下组: 那些表1中所阐述的那些及其保守修饰; 重链可变区CDR2氨基酸序列选自下组: 那些表1中所阐述的那些及其保守修饰; 重链可变区CDR3氨基酸序列选自下组: 那些表1中所阐述的那些及其保守修饰; 轻链可变区CDR1氨基酸序列选自下组: 那些表1中所阐述的那些及其保守修饰; 轻链可变区CDR2氨基酸序列选自下组: 那些表1中所阐述的那些及其保守修饰; 轻链可变区CDR3氨基酸序列选自下组: 那些表1中所阐述的那些及其保守修饰; 且抗体或其抗原结合片段特异性结合至FXIa。

[0152] 在用于本文所述方法中的其他实施方案中, 针对在哺乳动物细胞中的表达进行优化的本公开的抗体具有全长重链序列及全长轻链序列, 其中这些序列中的一者或多者具有基于本文所述抗体的特定氨基酸序列或其保守修饰, 且其中这些抗体保留本公开的FXIa结合抗体的期望功能性质。因此, 本公开提供针对在哺乳动物细胞中的表达进行优化的经分

离抗体,其由全长重链及全长轻链组成,其中全长重链具有选自SEQ ID NO:11或31及其保守修饰的组的氨基酸序列;且全长轻链具有选自SEQ ID NO:21或41及其保守修饰的组的氨基酸序列;且抗体特异性结合至FXI和/或FXIa(例如人、兔、狒狒及食蟹猴FXIa)。

[0153] 结合至相同表位的抗体

[0154] 在一些实施方案中,本公开提供与表1中所述的FXI和/或FXIa结合抗体竞争相同表位的抗体,其用于本文所述的方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)中。因此,额外抗体可基于其在FXI和/或FXIa结合测定中与本公开的其他抗体竞争的能力(例如,通过与相同或重叠表位结合,以统计上显著的方式竞争性地抑制结合)来鉴定。测试抗体抑制本公开的抗体与FXI和/或FXIa蛋白结合的能力展示,测试抗体可与彼抗体竞争结合FXI和/或FXIa;根据非限制性理论,此类抗体可与其所竞争的抗体结合至FXI和/或FXIa蛋白上的相同或相关(例如,结构相似或空间上邻近)表位。在某个实施方案中,与本公开的抗体结合至FXI和/或FXIa上的相同表位的抗体是人单克隆抗体。可如本文所阐述来制备及分离此类人单克隆抗体。

[0155] 如本文所用,当竞争抗体与本公开的抗体或抗原结合片段(例如抗体1或抗体2)结合至相同FXI和/或FXIa表位,且在等摩尔浓度的竞争抗体存在下抑制本公开的抗体或抗原结合片段的FXI和/或FXIa结合多于50%(例如,80%、85%、90%、95%、98%或99%)时,则抗体“竞争”结合。此可例如通过本领域技术人员熟知的方法中的任一者在竞争性结合测定中测定。

[0156] 如本文所用,除非所述竞争抗体或其抗原结合片段与本公开的抗体或抗原结合片段结合相同FXI和/或FXIa表位或重叠FXI和/或FXIa表位,否则抗体或其抗原结合片段不与本公开的FXI和/或FXIa抗体或抗原结合片段(例如抗体1或抗体2)“竞争”。如本文所用,竞争抗体或其抗原结合片段不包括以下中的一者:(i)空间上阻断本公开的抗体或抗原结合片段结合其靶标(例如,若所述竞争抗体结合至附近、非重叠FXI和/或FXIa表位且物理上阻碍本公开的抗体或抗原结合片段结合其靶标);和/或(ii)结合至不同、非重叠FXI和/或FXIa表位并诱导FXI和/或FXIa蛋白的构象改变,使得所述蛋白质不再以不存在所述构象改变的情形下将发生的方式由本公开的FXI和/或FXIa抗体或抗原结合片段结合。

[0157] 经工程化及经修饰抗体

[0158] 在一些实施方案中,用于本文所述方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)中的本公开的抗体可进一步使用具有本文所示VH和/或VL序列中的一者或多者的抗体作为起始材料以工程化经修饰抗体来制备,该经修饰抗体可改变起始抗体的性质。抗体可通过修饰一个或两个可变区(即,VH和/或VL)内、例如一个或多个CDR区内和/或一个或多个框架区内的一个或多个残基来工程化。另外或替代地,抗体可以通过修饰恒定区内的残基来工程化,例如以改变抗体的效应物功能。

[0159] 可以执行的一种类型的可变区工程化是CDR接枝。抗体与靶标抗原主要经由位于六个重链及轻链互补决定区(CDR)中的氨基酸残基相互作用。出于此原因,CDR内的氨基酸序列在个别抗体之间较CDR外的序列更多样化。由于CDR序列负责大部分抗体-抗原相互作用,故可通过构建表达载体来表达模拟特异性天然存在抗体的性质的重组抗体,该表达载体包含来自特异性天然存在抗体、接枝于具有不同性质的不同抗体的框架序列上的CDR序列(参见例如Riechmann,L等人,1998 Nature 332:323-327;Jones,P.等人,1986 Nature

321:522-525;Queen,C.等人,1989Proc.Natl.Acad.,U.S.A.86:10029-10033;授予Winter的美国专利号5,225,539及授予Queen等人的美国专利号5,530,101;5,585,089;5,693,762及6,180,370)。

[0160] 因此,本公开的另一实施方案涉及用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中的经分离抗体或其抗原结合片段,其包含重链可变区,该重链可变区分别包含具有选自下组的氨基酸序列的CDR1序列:SEQ ID NO:3及23;具有选自下组的氨基酸序列的CDR2序列:SEQ ID NO:4及24;具有选自下组的氨基酸序列的CDR3序列:SEQ ID NO:5及25;以及轻链可变区,该轻链可变区分别具有具有选自下组的氨基酸序列的CDR1序列:SEQ ID NO:13及33;具有选自下组的氨基酸序列的CDR2序列:SEQ ID NO:14及34;以及具有选自下组的氨基酸序列的CDR3序列:SEQ ID NO:15及35。因此,此类抗体含有单克隆抗体的VH及VL CDR序列,但可以含有不同于这些抗体的框架序列。

[0161] 此类框架序列可自包括种系抗体基因序列的公共DNA数据库或公开参考文献来获得。举例而言,人重链及轻链可变区基因的种系DNA序列可见于“VBase”人种系序列数据库,以及Kabat,E.A.等人,1991Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,美国卫生及公共服务部(U.S.Department of Health and Human Services),NIH出版物编号91-3242;Tomlinson,I.M.等人,1992J.Mol.Biol.227:776-798;以及Cox,J.P.L.等人,1994Eur.J Immunol.24:827-836;这些各自的内容以引用方式明确并入本文中。

[0162] 用于本公开抗体中的框架序列的实例是与由本公开的所选抗体使用的框架序列(例如有共有序列)和/或由本公开的单克隆抗体使用的框架序列结构类似的那些。可将VH CDR1、2及3序列及VL CDR1、2及3序列接枝于具有与衍生出框架序列的种系免疫球蛋白基因中发现的序列相同的序列的框架区上,或可将CDR序列接枝于与种系序列相比含有一个或多个突变的框架区上。例如已发现,在某些情况下,有益地突变框架区内的残基以维持或增强抗体的抗原结合能力(例如,参见授予Queen等人的美国专利号5,530,101;5,585,089;5,693,762及6,180,370)。可用作支架以在其上建立本文所述抗体及抗原结合片段的框架包括但不限于VH1A、VH1B、VH3、Vk1、V12及Vk2。

[0163] 因此,为用于本文所述方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)中,本发明的另一实施方案涉及经分离FXIa结合抗体或其抗原结合片段,其包含重链可变区,其包含选自由SEQ ID NO:9及29组成的组的氨基酸序列或在此类序列的框架区中具有一个、二个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列,且进一步包含轻链可变区,其包含选自由SEQ ID NO:19或39组成的组的氨基酸序列或在此类序列的框架区中具有一个、二个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列。

[0164] 另一类型的可变区修饰是VH和/或VL CDR1、CDR2和/或CDR3区内的氨基酸残基的突变,以由此改善感兴趣抗体的一种或多种结合性质(例如亲和性),称为“亲和力成熟”。可以执行定点诱变或PCR介导的诱变以引入突变,且对抗体结合的效应或感兴趣的其他功能性质可在如本文所述及实施例部分中所提供的体外或体内测定中评估。可引入保守修饰(如上文所论述)。突变可为氨基酸取代、添加或缺失。另外,通常改变CDR区内的不超过一个、二个、三个、四个或五个残基。

[0165] 因此,在用于本文所述方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗

原结合片段的ADA的方法)中的另一实施方案中,本公开提供经分离抗FXIa结合抗体或其抗原结合片段,其由以下组成:重链可变区,该重链可变区具有VH CDR1区,其由选自具有SEQ ID NO:3及23的组的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3及23相比具有一个、二个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列组成;VH CDR2区,其具有选自由SEQ ID NO:4及24组成的组的氨基酸序列或与SEQ ID NO:4及24相比具有一个、二个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列;VH CDR3区,其具有选自由SEQ ID NO:5及25组成的组的氨基酸序列或与SEQ ID NO:5及25相比具有一个、二个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列;VL CDR1区,其具有选自由SEQ ID NO:13及33组成的组的氨基酸序列或与SEQ ID NO:13及33相比具有一个、二个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列;VL CDR2区,其具有选自由SEQ ID NO:14及34组成的组的氨基酸序列或与SEQ ID NO:14及34相比具有一个、二个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列;以及VL CDR3区,其具有选自由SEQ ID NO:15及35组成的组的氨基酸序列或与SEQ ID NO:15及35相比具有一个、二个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列。

[0166] 因此,在用于本文所述方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)中的另一实施方案中,本公开提供经分离抗FXIa结合抗体或其抗原结合片段,其由以下组成:重链可变区,该重链可变区具有VH CDR1区,其由选自具有SEQ ID NO:6及26的组的氨基酸序列或与SEQ ID NO:6及26相比具有一个、二个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列组成;VH CDR2区,其具有选自由SEQ ID NO:7及27组成的组的氨基酸序列或与SEQ ID NO:7及27相比具有一个、二个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列;VH CDR3区,其具有选自由SEQ ID NO:8及28组成的组的氨基酸序列或与SEQ ID NO:8及28相比具有一个、二个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列;VL CDR1区,其具有选自由SEQ ID NO:16及36组成的组的氨基酸序列或与SEQ ID NO:16及36相比具有一个、二个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列;VL CDR2区,其具有选自由SEQ ID NO:17及37组成的组的氨基酸序列或与SEQ ID NO:17及37相比具有一个、二个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列;以及VL CDR3区,其具有选自由SEQ ID NO:18及38组成的组的氨基酸序列或与SEQ ID NO:18及38相比具有一个、二个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列。

[0167] 具有延长半衰期的抗体

[0168] 在一些实施方案中,本公开提供特异性结合至FXIa蛋白的抗体,其在体内具有延长半衰期,其用于本文所述方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)中。当抗因子XI和/或抗因子XIa抗体用于治疗患者的方法时,具有延长半衰期的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体可与检测ADA的方法相关,且因此与ADA方法及治疗性抗因子XI和/或抗因子XIa抗体的生理及临床相关性对于患者的疾病或病症的治疗或维持是有益的。

[0169] 有许多因素可能影响蛋白质的体内半衰期,例如,肾过滤、肝脏代谢、蛋白水解酶(蛋白酶)降解及免疫原性反应(例如,蛋白质的抗体中和及由巨噬细胞及树突细胞的摄取)。可以使用多种策略延长本公开抗体的半衰期,例如,通过化学联接至聚乙二醇(PEG)、reCODE PEG、抗体支架、聚唾液酸(PSA)、羟乙基淀粉(HES)、白蛋白结合配体及碳水化合物遮蔽物(carbohydrate shields);通过遗传融合以使蛋白质结合至血清蛋白(诸如白蛋白、

IgG、FcRn及转铁蛋白)；通过偶联(遗传上或化学上)至结合至血清蛋白的其他结合部分，例如纳米抗体、Fab、DARPin、avimer、亲和体和抗运载蛋白；通过遗传融合至rPEG、白蛋白、白蛋白的域、白蛋白结合蛋白及Fc；或通过掺入纳米载剂、缓慢释放配制剂或医疗装置中。

[0170] 为延长体内抗体的血清循环，惰性聚合物分子(诸如高分子量PEG)可以在有或没有多官能接头的情形下通过PEG至抗体的N或C端的位点特异性缀合或经由赖氨酸残基上存在的 $\epsilon$ -氨基附接至抗体或其片段。为聚乙二醇化抗体，通常在一个或多个PEG基团变为附接至抗体或抗体片段的条件下使抗体或其片段与聚乙二醇(PEG)(诸如PEG的反应性酯或醛衍生物)反应。聚乙二醇化可通过与反应性PEG分子(或类似反应性水溶性聚合物)的酰化反应或烷基化反应来执行。如本文所用，术语“聚乙二醇”意欲涵盖用于衍生其他蛋白质的PEG的任一形式，例如单(C1-C10)烷氧基-或芳氧基-聚乙二醇或聚乙二醇-马来酰亚胺。在某些实施方案中，待聚乙二醇化的抗体是无糖基化抗体。将使用直链或支化聚合物衍生化以使生物活性损失最小。缀合程度可通过SDS-PAGE及质谱密切监测以确保PEG分子与抗体的正确缀合。未反应的PEG可通过尺寸排阻或离子交换层析与抗体-PEG缀合物分离。可使用本领域技术人员熟知的方法(例如，通过本文所述的免疫测定)测试PEG衍生的抗体的结合活性以及体内功效。用于聚乙二醇化蛋白质的方法是本领域已知的且可应用于本公开的抗体。参见(例如)Nishimura等人的EP 0 154 316及Ishikawa等人的EP 0 401 384。

[0171] 其他经修饰的聚乙二醇化技术包括重构化学正交定向工程化技术(ReCODE PEG)，其经由包括tRNA合成酶及tRNA的重构系统将化学特定侧链并入生物合成蛋白质中。此技术使得能够将多于30个新氨基酸掺入大肠杆菌(*E. coli*)、酵母及哺乳动物细胞中的生物合成蛋白质中。tRNA在琥珀密码子所在的任何位置掺入非天然氨基酸，此将琥珀自终止密码子转换为发出掺入化学特定氨基酸的信号的终止密码子。

[0172] 重组聚乙二醇化技术(rPEG)亦可用于血清半衰期延长。此技术涉及基因上融合300-600个氨基酸非结构化蛋白质尾至现有药物蛋白质。由于此类非结构化蛋白质链的表观分子量比其实际分子量大约15倍，因此蛋白质的血清半衰期极大地增加。与需要化学缀合及再纯化的传统聚乙二醇化相比，制造过程极大地简化且产物是均质的。

[0173] 聚唾液酸化是另一技术，其使用天然聚合物聚唾液酸(PSA)以延长有效寿命并改善治疗性肽及蛋白质的稳定性。PSA是唾液酸(糖)的聚合物。当用于蛋白质及治疗性肽药物递送时，聚唾液酸为缀合提供保护性微环境。此增加治疗性蛋白质在循环中的活性寿命并防止其被免疫系统识别。PSA聚合物天然存在于人体中。其为某些细菌所采用，这些细菌经过数百万年进化以PSA聚合物包被其壁。这些天然聚唾液酸化细菌然后能够通过分子模拟来破坏身体的防御系统。PSA(大自然的终极隐形技术)可容易地自这些细菌大量生产并具有预定物理特性。细菌PSA是完全非免疫原性的，即使与蛋白质偶联时，因为其化学上与人体中的PSA相同。

[0174] 另一技术包括使用连接至抗体的羟乙基淀粉(“HES”)衍生物。HES是衍生自糯玉米淀粉的改性天然聚合物且可由人体的酶代谢。通常施用HES溶液以替代不足的血容量并改善血液的流变性质。抗体的羟乙基淀粉化能够通过增加分子的稳定性以及减少肾清除率而延长循环半衰期，这导致增加的生物活性。通过改变不同参数(例如，HES的分子量)，可客制化宽范围的HES抗体缀合物。

[0175] 具有增加的体内半衰期的抗体亦可通过将一个或多个氨基酸修饰(即，取代、插入

或缺失)引入至IgG恒定域或其FcRn结合片段(优选Fc或铰链Fc域片段)中生成。参见例如国际公开号W0 98/23289;国际公开号W0 97/34631;以及美国专利号6,277,375。

[0176] 此外,抗体可以缀合至白蛋白(例如人血清白蛋白;HSA),以使得抗体或抗体片段在体内更稳定或具有更长体内半衰期。这些技术为本领域所熟知,参见例如国际申请号W0 93/15199、号W0 93/15200及号W0 01/77137;以及欧洲专利号EP 413,622。另外,在如上所述双特异性抗体的上下文中,抗体的特异性可经设计以使得抗体的一个结合域结合至FXIa,而抗体的第二结合域结合至血清白蛋白、优选HAS。

[0177] 增加半衰期的策略在纳米抗体、基于纤连蛋白的粘合剂及期望增加的体内半衰期的其他抗体或蛋白质中尤其有用。

[0178] 抗体缀合物

[0179] 在一些实施方案中,本公开提供用于本文所述方法(例如,检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法)中的抗体或其片段,其特异性结合至与异源蛋白质或多肽(或其片段,优选至少10、至少20、至少30、至少40、至少50、至少60、至少70、至少80、至少90或至少100个氨基酸的多肽)重组融合或化学缀合(包括共价及非共价缀合两者)的FXIa蛋白,以生成融合蛋白。具体而言,本公开提供融合蛋白,其包含本文所述抗体的抗原结合片段(例如Fab片段、Fd片段、Fv片段、F(ab)2片段、VH域、VH CDR、VL域或VL CDR)及异源蛋白、多肽或肽,其用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。用于将蛋白质、多肽或肽融合或缀合至抗体或抗体片段的方法为本领域已知。参见例如美国专利号5,336,603、5,622,929、5,359,046、5,349,053、5,447,851和5,112,946;欧洲专利号EP 307,434及EP 367,166;国际公开号W0 96/04388及W0 91/06570;Ashkenazi等人,1991,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:10535-10539;Zheng等人,1995,J.Immunol.154:5590-5600;以及Vil等人,1992,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:11337-11341。

[0180] 可以通过基因改组、基序改组、外显子改组和/或密码子改组(通称为“DNA改组”)的技术生成其他融合蛋白。可采用DNA改组来改变本发明抗体或其片段(例如具有较高亲和力及较低解离速率的抗体或其片段)的活性。一般而言,参见美国专利号5,605,793、5,811,238、5,830,721、5,834,252及5,837,458;Patten等人,1997,Curr.Opinion Biotechnol.8:724-33;Harayama,1998,Trends Biotechnol.16(2):76-82;Hansson,等人,1999,J.Mol.Biol.287:265-76;以及Lorenzo及Blasco,1998,Biotechniques 24(2):308-313(这些专利及出版物各自全文以引用方式并入本文中)。可以通过在重组之前经受易错PCR的随机诱变、随机核苷酸插入或其他方法来改变抗体或其片段或编码抗体或其片段。编码特异性结合FXIa蛋白的抗体或其片段的多核苷酸可以与一种或多种异源分子的一种或多种组分、基序、区段、部分、域、片段等重组。

[0181] 此外,抗体或其片段可以融合至标志物序列(诸如肽)以促进纯化。在某些实施方案中,标志物氨基酸序列是六组氨酸肽(SEQ ID NO:48),诸如尤其提供于pQE载体中的标签(QIAGEN,Inc.,9259 Eton Avenue,Chatsworth,CA,91311),其中许多是市售的。如例如Gentz等人,1989,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:821-824中所述,六组氨酸(SEQ ID NO:48)提供融合蛋白的便利纯化。可用于纯化的其他肽标签包括(但不限于)血凝素(“HA”)标签(其对应于衍生自流感血凝素蛋白的表位)(Wilson等人,1984,Cell 37:767)及“flag”标

签。

[0182] 在其他实施方案中,用于检测ADA的抗体可以缀合至诊断性或可检测试剂。此类检测可通过将抗体偶联至可检测物质来完成,可检测物质包括(但不限于)各种酶,诸如但不限于辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;辅基,诸如但不限于链霉抗生物素蛋白/生物素及抗生物素蛋白/生物素;荧光材料,诸如但不限于伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明(rhodamine)、二氯三嗪基胺荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白;发光材料,诸如但不限于鲁米诺;生物发光材料,诸如但不限于萤光素酶、萤光素及水母素(aequorin);放射性材料,诸如但不限于碘( $^{131}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ 及 $^{121}\text{I}$ )、碳( $^{14}\text{C}$ )、硫( $^{35}\text{S}$ )、氚( $^3\text{H}$ )、铟( $^{115}\text{In}$ 、 $^{113}\text{In}$ 、 $^{112}\text{In}$ 、及 $^{111}\text{In}$ )、锝( $^{99}\text{Tc}$ )、钛( $^{201}\text{Ti}$ )、镓( $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ )、钯( $^{103}\text{Pd}$ )、钼( $^{99}\text{Mo}$ )、氙( $^{133}\text{Xe}$ )、氟( $^{18}\text{F}$ )、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{159}\text{Gd}$ 、 $^{149}\text{Pm}$ 、 $^{140}\text{La}$ 、 $^{175}\text{Yb}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{142}\text{Pr}$ 、 $^{105}\text{Rh}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{68}\text{Ge}$ 、 $^{57}\text{Co}$ 、 $^{65}\text{Zn}$ 、 $^{85}\text{Sr}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{153}\text{Gd}$ 、 $^{169}\text{Yb}$ 、 $^{51}\text{Cr}$ 、 $^{54}\text{Mn}$ 、 $^{75}\text{Se}$ 、 $^{113}\text{Sn}$ 及 $^{117}\text{Tm}$ ;以及使用各种正电子发射断层扫描的正电子发射金属及非放射性顺磁性金属离子。在某些实施方案中,用于检测ADA的抗体包含于钆化检测剂混合物中。

[0183] 在一些实施方案中,本公开进一步涵盖缀合至治疗性部分的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其片段的用途,其用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。抗体或其片段可缀合至治疗性部分,例如细胞毒素(例如,细胞生长抑制或杀细胞剂)、治疗剂或放射性金属离子(例如, $\alpha$ -发射体)。细胞毒素或细胞毒性剂包括对细胞有害的任何药剂。

[0184] 此外,抗体或其片段可缀合至调节给定生物反应的治疗性部分或药物部分,且此类缀合抗体可用于检测针对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的ADA的方法中。治疗性部分或药物部分不应解释为限于经典化学治疗剂。举例而言,药物部分可为具有期望生物活性的蛋白质、肽或多肽。此类蛋白质可以包括(例如)毒素,诸如相思豆毒素、蓖麻毒素A、假单胞菌外毒素(pseudomonas exotoxin)、霍乱毒素(cholera toxin)或白喉类毒素;蛋白质,诸如肿瘤坏死因子、 $\alpha$ -干扰素、 $\beta$ -干扰素、神经生长因子、血小板衍生生长因子、组织纤溶酶原激活物、细胞凋亡剂、抗血管生成剂;或生物反应调节剂诸如,例如淋巴因子。

[0185] 此外,抗体可缀合至治疗性部分,例如放射性金属离子(例如 $\alpha$ -发射体,例如 $^{213}\text{Bi}$ )或可用于将放射性离子(包括但不限于 $^{131}\text{In}$ 、 $^{131}\text{Lu}$ 、 $^{131}\text{Y}$ 、 $^{131}\text{Ho}$ 、 $^{131}\text{Sm}$ )缀合至多肽的大环螯合剂。在某些实施方案中,大环螯合剂是1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸(DOTA),其可经由接头分子附接至抗体。此类接头分子是本领域中众所周知的且阐述于Denardo等人,1998,Clin Cancer Res.4(10):2483-90;Peterson等人,1999,Bioconjug.Chem.10(4):553-7;以及Zimmerman等人,1999,Nucl.Med.Biol.26(8):943-50中,其各自全文以引用方式并入。

[0186] 将治疗性部分缀合至抗体的技术是熟知的,参见例如Arnon等人,“Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy”,Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy,Reisfeld等人(编辑),第243-56页(Alan R.Liss, Inc.1985);Hellstrom等人,“Antibodies For Drug Delivery”,Controlled Drug Delivery(第2版),Robinson等人(编辑),第623-53页(Marcel Dekker, Inc.1987);Thorpe,

“Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy:A Review”,*Monoclonal Antibodies 84:Biological And Clinical Applications*,Pinchera等人(编辑),第475-506页(1985);“Analysis,Results,And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy”,*Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*,Baldwin等人(编辑),第303-16页(Academic Press 1985)及Thorpe等人,1982,*Immunol.Rev.*62:119-58。

[0187] 抗体亦可衔接至固体支持物,其尤其可用于靶标抗原的免疫测定或纯化。此类固体支持物包括(但不限于)玻璃、纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙(nylon)、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。

[0188] 抗药抗体(ADA)检测及测量

[0189] 本发明人开发定性和/或定量检测样品的抗因子XI/XIa ADA的新颖方法,其有效减少及消除ADA检测中药物或靶标的存在所造成的干扰问题。

[0190] 用于ADA的测定

[0191] 因此,本文阐述检测对抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的抗药抗体(ADA)的方法,其中该方法包括:将样品与酸一起温育以解离该样品中存在的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体-抗原复合物和/或解离抗因子XI和/或抗因子XIa抗体-ADA复合物以产生酸消化物,将该酸消化物在包被有抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的板上温育,中和该酸消化物,及使用钒化检测剂混合物检测该ADA的存在。在某些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体是抗体1。

[0192] 在一些实施方案中,样品是来自受试者(例如,人受试者)的样品。在一些实施方案中,样品选自下组:来自受试者(例如,人受试者)的血液、血浆或血清。在一些实施方案中,样品不自受试者获得。在一些实施方案中,样品是经制备用于测试的体外样品,例如包含药物、靶标及ADA的样品。在方法的某些实施方案中,方法包括制备样品的初始步骤。

[0193] 用于解离抗因子XI和/或抗因子XIa抗体-抗原复合物和/或解离抗因子XI和/或抗因子XIa抗体-ADA复合物的适宜酸包括(例如且不限于)乙酸、丙酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸或磷酸或其混合物。在一些实施方案中,酸选自下组:乙酸、柠檬酸、磷酸及其混合物。在某些实施方案中,酸是乙酸。本文预期,特定酸或酸组合的pH可使用例如本领域中已知的方法调整至期望pH。酸(例如,乙酸)的浓度可为约50mM、约100mM、约150mM、约200mM、约250mM、约300mM、约350mM、约400mM或约500mM。在某些实施方案中,酸(例如,乙酸)的浓度为约300mM。

[0194] 样品可与用于解离的酸一起温育期望时间长度。举例而言,样品可与酸一起温育约5分钟、约10分钟、约15分钟、约30分钟、约45分钟或约60分钟。在某些实施方案中,样品与酸一起温育约10分钟。在某些实施方案中,将样品与酸一起在室温下温育。本文预期所述温育的温度可影响温育所需的时间,即在低于室温温育的样品将需要较长温育时间,且在高于室温温育的样品将需要较短温育时间。

[0195] 测定板可首先用分子(例如蛋白质)包被以增强药物(例如抗体1)对板的亲和力。在某些实施方案中,板包被有链霉抗生物素蛋白,且药物经生物素化。在某些实施方案中,板包被有镍,且药物具有组氨酸标签(例如6x-His)。在某些实施方案中,板包被有针对小肽标签的抗体,且药物经修饰(例如以基因或化学方式)以表达所述标签(例如V5、Flag、Myc、

HA、GST、GFP等)。增强药物/蛋白质的亲和力的替代技术为本领域已知。

[0196] 抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段的浓度可以根据测定条件而变化。在一些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段(例如抗体1)的浓度介于约0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 与约0.45 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 之间、介于约0.10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 与约0.40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 之间、介于约0.15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 与约0.35 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 之间或介于约0.20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 与约0.30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 之间。在某些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段(例如抗体1)的浓度选自下组:0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 及1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。在某些实施方案中,抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段(例如抗体1)的浓度为约0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

[0197] 在一些实施方案中,方法包括中和步骤,其中中和允许ADA结合至经包被板上的抗因子XI和/或抗因子XIa抗体或其抗原结合片段(例如抗体1)。在某些实施方案中,中和使用pH为约8.0的碱。本文预期,特定碱或碱组合的pH可例如使用本领域中已知的方法调整至用于中和的期望pH。

[0198] 用于中和步骤的适宜碱包括(例如且不限于)Tris、磷酸盐、CAPS、CHAPS、EDTA、EGTA、HEPES、PIPES、MOPS、三(羟甲基)甲基甘氨酸、甘氨酸、组氨酸、三乙醇胺及其混合物。在某些实施方案中,碱选自下组:Tris、磷酸盐、HEPES、三乙醇胺及其混合物。在某些实施方案中,碱是Tris。在某些实施方案中,碱是pH为约8.0的Tris。

[0199] 在一些实施方案中,使用钆化检测剂混合物检测ADA。在某些实施方案中,钆化检测剂混合物包含抗体。在某些实施方案中,抗体是抗人IgG、抗人IgM、抗人IgE、抗兔Ig或其任何组合。在某些实施方案中,钆化检测剂混合物包含钆化抗人IgG。在某些实施方案中,钆化检测剂混合物包含钆化抗人IgM。在某些实施方案中,钆化检测剂混合物包含钆化抗人IgE。在某些实施方案中,钆化检测剂混合物包含钆化抗兔Ig。在某些实施方案中,钆化检测剂混合物包含所述钆化抗体的组合。

[0200] 在一些实施方案中,方法包括在上述步骤中任一者之后的洗涤步骤。在某些实施方案中,方法包括在温育之后洗涤。洗涤步骤可利用适宜洗涤缓冲液执行,例如Tris-HCl缓冲盐水(TBS)、TBS Tween 20、磷酸盐缓冲盐水(PBS)、PBS Tween 20等。在一些实施方案中,洗涤步骤利用PBS Tween 20执行。在某些实施方案中,洗涤步骤利用PBS 0.05% Tween 20执行。

[0201] 在一些实施方案中,板在添加样品之前经封闭。示例性封闭缓冲液可包含(例如且不限于)牛血清白蛋白(BSA)、牛奶、山羊血清、胎牛血清(FBS)、马血清(HS)或酪蛋白。在某些实施方案中,封闭缓冲液包含于含tween-20的磷酸盐缓冲盐水(PBS-T)中的BSA。在某些实施方案中,于PBS-T中的BSA的浓度为约1%、约2.5%、约5%、约7.5%及约10%。在某些实施方案中,于PBS-T中的BSA的浓度为约5%。

[0202] 如图1中所示,在本文所述测定的一些实施方案中,将包含生物素化抗体1 1、钆化抗体1 2及抗抗体1抗体3的混合物与样品(例如,血液、血浆或血清)一起温育并添加至链霉抗生物素蛋白包被板4。在某些实施方案中,可检测信号(例如,化学发光信号,例如光5)与抗抗体1抗体的浓度成比例产生。在某些实施方案中,样品(例如血液、血浆或血清)来自食蟹猴。

[0203] 如图2中所示,在本文所述测定的一些实施方案中,将包含抗体1 10、抗抗体1 11、同二聚体FXI和/或FXIa 12、抗抗体1-FXI/FXIa复合物13及抗抗体1-抗体1复合物14的样品

(例如血液、血浆或血清)与珠(例如链霉抗生物素蛋白珠)15一起温育,其中珠偶联至抗FXI抗体16,以形成消滅样品。然后将消滅样品与酸17一起温育以解离消滅样品中存在的抗体1-抗体1复合物,以形成解离样品。将解离样品与包含生物素化抗体1 18、钆化抗体1 19及抗体1抗体的混合物一起温育并添加至链霉抗生物素蛋白包被板20。在某些实施方案中,可检测信号(例如,化学发光信号,例如光)与抗体1抗体的浓度成比例产生。在某些实施方案中,样品(例如血液、血浆或血清)来自食蟹猴。

[0204] 如图3中所示,在本文所述测定的一些实施方案中,将包含生物素化抗体1 30、钆化抗猴免疫球蛋白31及抗体1抗体32的混合物与包含同二聚体FXI和/或FXIa 33的样品(例如血液、血浆或血清)一起温育并添加至链霉抗生物素蛋白包被板34。在某些实施方案中,可检测信号(例如,化学发光信号,例如光35)与抗体1抗体的浓度成比例产生。在某些实施方案中,钆化抗猴免疫球蛋白未检测到内源性FXI/FXIa二聚体。在某些实施方案中,样品(例如血液、血浆或血清)来自食蟹猴。

[0205] 如图4中所示,在本文所述测定的一些实施方案中,将包含抗体1 40、抗体1 41、同二聚体FXI和/或FXIa 42、抗体1-FXI/FXIa复合物43及抗体1-抗体1复合物44的样品(例如血液、血浆或血清)与酸45一起温育以解离样品中存在的抗体1-抗体1复合物,以形成酸消化物。将酸消化物与包含生物素化抗体1、钆化抗猴或抗兔免疫球蛋白46及抗体1抗体的混合物一起温育并添加至高结合板(例如,高结合ELISA板47)。在某些实施方案中,可检测信号(例如,化学发光信号,例如光48)与抗体1抗体的浓度成比例产生。在某些实施方案中,钆化抗猴或抗兔免疫球蛋白未检测到内源性FXI/FXIa二聚体。在某些实施方案中,样品(例如血液、血浆或血清)来自食蟹猴。

[0206] 如图5中所示,在本文所述测定的一些实施方案中,将包含抗体1 50、抗体1 51、同二聚体FXI和/或FXIa 52、抗体1-FXI/FXIa复合物53及抗体1-抗体1复合物54的样品(例如血液、血浆或血清)与酸55一起温育以解离样品中存在的抗体1-抗体1复合物和/或抗体1-FXI/FXIa复合物,以形成酸消化物。将酸消化物添加至包被有抗体1的板56,且通过添加适宜碱57(例如Tris)中和酸消化物。钆化检测剂混合物58包含钆化抗人IgG、抗人IgM、钆化抗人IgE及钆化抗兔Ig。在某些实施方案中,可检测信号(例如,化学发光信号,例如光)与抗体1抗体的浓度成比例产生。在某些实施方案中,钆化检测剂混合物未检测到内源性FXI/FXIa二聚体。在某些实施方案中,钆化检测剂混合物未检测到抗体1。在某些实施方案中,样品(例如血液、血浆或血清)来自人。

## 实施例

[0207] 现在一般性地描述本发明,参考以下实施例将更易于理解本发明,这些实施例仅出于阐释本公开的某些方面及实施方案的目的而被包括,且不意在以任何方式限制本公开的范围。

[0208] 实施例1:针对食蟹猴样品的因子XI和/或因子XIa抗药抗体测定(ADA)的开发

[0209] 初始,食蟹猴血清中抗因子XI及抗因子XIa (FXI/FXIa)抗药抗体(ADA)的存在使用标准桥接测定(图1)进行测定。将包含生物素化抗体1、钆化抗体1及抗体1ADA的混合物添加至链霉抗生物素蛋白包被板。化学发光反应的光产生与ADA成比例产生。然而,此方法导致高百分比的伪阳性,因为内源性蛋白质靶标即同二聚体FXI/FXIa正桥接标记的抗体1。

[0210] 因此假设引入内源性同二聚体FXI/FXIa靶标的消减步骤将降低高伪阳性率。因此,在上述桥接测定之前添加其他两个步骤:内源性FXI/FXIa利用抗FXI/FXIa包被珠的消减,随后是药物自抗体的酸解离(图2)。然而,利用抗FXI抗体的消减步骤是效率低下的,且未检测到血清中靶标干扰的改善。

[0211] 因此,测试利用钆化抗猴Ig作为检测剂的新测定格式(图3)。信号:噪声比测定揭示FXI干扰的显著改善,如下表2中所示。

[0212]

表 2. 利用钉化抗猴 Ig 的 ADA 测定的信号与噪声比。

	缓冲液				猴血清				人血清			
	ADA	靶标 (1 µg/ml) +ADA	靶标 (10 µg/ml) +ADA	靶标 (50 µg/ml) +ADA	ADA	靶标 (1 µg/ml) +ADA	靶标 (10 µg/ml) +ADA	靶标 (50 µg/ml) +ADA	ADA	靶标 (1 µg/ml) +ADA	靶标 (10 µg/ml) +ADA	靶标 (50 µg/ml) +ADA
ADA (ng/ ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
无药物	58.44	64.23	57.07	54.52	51.11	50.68	43.01	36.84	44.79	46.47	38.99	35.10
	100	23.16	19.06	17.20	16.74	15.83	12.76	11.35	14.05	13.72	11.34	10.17
药物 (120 mg/ml)	500	2.48	2.23	2.26	1.83	1.97	1.69	1.88	2.02	1.90	1.90	2.10
	100	1.39	1.28	1.28	1.20	1.16	0.98	1.18	1.20	1.11	1.16	1.11

[0213] 用于食蟹猴ADA检测的最终测定格式的示意图绘示于图4中。测定验证参数的汇总显示于表3中。药物耐受性及靶标干扰结果汇总于表4中。

[0214] 表3. 食蟹猴中的ADA验证的汇总

验证参数	结果	符合接受准则?
筛选切断点 (第1层)	在7个测定中筛选47名个体。S:N比 >1.16 的筛选切断点的样品是潜在阳性的。	报告如所见。这是合理切断点
验证性切断点(第2层)	抗体1为400 µg/mL; 在7个测定中47名个体。验证性切断点为29.35%抑制。	报告如所见。这是合理切断点
[0215] 滴定切断点 (第3层)	S:N比 >1.27 的样品的最高稀释度	报告如所见。这是合理切断点
相对灵敏度	使用兔多克隆作为代用品, 在混合食蟹猴血清中为3.77 ng/mL	是。符合FDA指南的推荐灵敏度(500 ng/mL)
精确度	高阳性对照: 1.17-14.31% 低阳性对照: 3.94-11.16%	是, 所有均<20%
选择性	10/10名非强化个体为阴性 在LPC下的10/10名经强化个体为阳性	是

[0216] 表4. 食蟹猴中的ADA验证的汇总

药物耐受性		靶标干扰	
抗抗体1抗体 (ng/mL)	预测的药物耐受性 (µg/mL)	抗抗体1抗体 (ng/mL)	预测的靶标干扰(µg/mL)
<b>500</b>	> 500	<b>500</b>	> 199
<b>100</b>	69.5	<b>100</b>	> 199
<b>33.3</b>	11.7	<b>33.3</b>	> 199
<b>11.1</b>	6.92	<b>11.1</b>	71.0
<b>3.70</b>	2.65	<b>3.70</b>	NA

[0218] 实施例2: 用于人样品的因子XI和/或因子XIa抗药抗体测定(ADA)的开发

[0219] 用于食蟹猴的测定适用于在人血清中验证。假设抗体1的测试需要采用Fab格式, 以避免来自抗人Ig的非特异性结合。抗体1使用胃蛋白酶或木瓜蛋白酶消化以生成F(ab')<sub>2</sub>片段。然而, 所得Fc片段使背景增加至不可接受的水平。保留Fc片段的负纯化产生极低产率的F(ab')<sub>2</sub>片段且无反应性。因此, 决定使用全长抗体格式。

[0220] 测定格式的示意图显示于图5中。简言之,96孔板用抗体1以0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的浓度包被,且随后用PBS-T中的5% BSA封阻。样品与300mM乙酸一起温育10分钟以解离抗因子XI和/或抗因子XIa抗体-抗原复合物并解离抗因子XI和/或抗因子XIa抗体-ADA复合物,形成酸消化物。将经封闭板洗涤并添加pH 8.0的1M Tris用于中和酸。然后将酸消化物在包被有抗体1的板上温育。添加抗人IgG/IgM、钆化抗人IgE及钆化抗兔Ig的检测剂混合物。与酸消化物一起温育后洗涤板。然后量化化学发光以检测抗体1ADA。

[0221] 测试FDA推荐的三层ADA测定条件:筛选测定中伪阳性率为5%的切断点、验证性测定中药物反应的特异性以及滴度测定中ADA浓度的半定量估计。

[0222] 筛选测定的结果汇总于表5中。将板以0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的浓度包被。钆化检测剂混合物包含0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的抗兔Ig、0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的抗人IgG/M及0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的抗人IgE。使用于PBS-T中的5%牛血清白蛋白(BSA)的缓冲液封闭板。测定结果展示高灵敏度与最小背景、FXI及药物干扰。

[0223] 表5. 人样品中ADA的筛选测定结果。

ADA 浓度( $\text{ng}/\text{mL}$ )	ADA	ADA+FXI (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	ADA+药物 (500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
500	745.90	741.72	6.05
167	385.26	364.72	2.85
18.5	57.39	51.75	1.24
6.17	19.94	18.91	1.24
0	0.84	<b>0.98</b>	1.20

[0225] 验证性测定的结果汇总于表6中。如所示,建立至少1.23 $\text{ng}/\text{mL}$ 的灵敏度。

[0226] 表6. 人样品中ADA的验证性测定结果。

ADA 浓度 ( $\text{ng}/\text{mL}$ )	筛选		验证性(400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 抗体 1)	
	ECL 计数	S:N	ECL 计数	抑制%
<b>500</b>	128742	521.22	828	99.36
<b>100</b>	37025	149.90	429	98.84
<b>33.3</b>	21558	87.28	307	98.58
<b>11.1</b>	7313	29.61	308	95.79
<b>3.70</b>	2545	10.30	327	87.15
<b>1.23</b>	939	3.80	266	71.67
<b>NC</b>	247	1.00	221	10.53

[0228] 药物耐受性滴定的结果汇总于表7中。所显示值是信号:噪声比。

[0229] 表7. 人样品中ADA的药物耐受性滴定结果。

[0230]

	药物耐受性( $\mu\text{g/mL}$ )					
ADA 浓度 ( $\text{ng/mL}$ )	0	12.5	25	50	100	500
500	264.67	20.38	13.60	9.48	6.12	2.91
100	93.31	5.41	3.97	2.84	2.31	1.40
33.3	37.43	2.60	2.04	1.70	1.55	1.09
11.1	14.45	1.56	1.45	1.28	1.17	1.24
3.70	5.89	1.22	1.15	1.19	1.25	1.27
NC	0.86	0.95	0.88	1.13	1.02	1.23

## 序列表

<110> 安托斯治疗股份有限公司

<120> 用于检测针对因子 XI 和/或因子 XIA 抗体的抗药抗体的方法

<130> ATD-010W0

<150> 63/127,536

<151> 2020-12-18

<160> 42

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 625

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

```

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

```

195	200	205
Val Phe Ala Asp Ser Asn Ile Asp Ser Val Met Ala Pro Asp Ala Phe		
210	215	220
Val Ser Gly Arg Ile Cys Thr His His Pro Gly Cys Leu Phe Phe Thr		
225	230	235
Phe Phe Ser Gln Glu Trp Pro Lys Glu Ser Gln Arg Asn Leu Cys Leu		
245	250	255
Leu Lys Thr Ser Glu Ser Gly Leu Pro Ser Thr Arg Ile Lys Lys Ser		
260	265	270
Lys Ala Leu Ser Gly Phe Ser Leu Gln Ser Cys Arg His Ser Ile Pro		
275	280	285
Val Phe Cys His Ser Ser Phe Tyr His Asp Thr Asp Phe Leu Gly Glu		
290	295	300
Glu Leu Asp Ile Val Ala Ala Lys Ser His Glu Ala Cys Gln Lys Leu		
305	310	315
Cys Thr Asn Ala Val Arg Cys Gln Phe Phe Thr Tyr Thr Pro Ala Gln		
325	330	335
Ala Ser Cys Asn Glu Gly Lys Gly Lys Cys Tyr Leu Lys Leu Ser Ser		
340	345	350
Asn Gly Ser Pro Thr Lys Ile Leu His Gly Arg Gly Gly Ile Ser Gly		
355	360	365
Tyr Thr Leu Arg Leu Cys Lys Met Asp Asn Glu Cys Thr Thr Lys Ile		
370	375	380
Lys Pro Arg Ile Val Gly Gly Thr Ala Ser Val Arg Gly Glu Trp Pro		
385	390	395
Trp Gln Val Thr Leu His Thr Thr Ser Pro Thr Gln Arg His Leu Cys		
405	410	415
Gly Gly Ser Ile Ile Gly Asn Gln Trp Ile Leu Thr Ala Ala His Cys		
420	425	430
Phe Tyr Gly Val Glu Ser Pro Lys Ile Leu Arg Val Tyr Ser Gly Ile		
435	440	445
Leu Asn Gln Ser Glu Ile Lys Glu Asp Thr Ser Phe Phe Gly Val Gln		
450	455	460
Glu Ile Ile Ile His Asp Gln Tyr Lys Met Ala Glu Ser Gly Tyr Asp		
465	470	475
Ile Ala Leu Leu Lys Leu Glu Thr Thr Val Asn Tyr Thr Asp Ser Gln		
485	490	495
Arg Pro Ile Cys Leu Pro Ser Lys Gly Asp Arg Asn Val Ile Tyr Thr		
500	505	510

Asp Cys Trp Val Thr Gly Trp Gly Tyr Arg Lys Leu Arg Asp Lys Ile  
 515 520 525  
 Gln Asn Thr Leu Gln Lys Ala Lys Ile Pro Leu Val Thr Asn Glu Glu  
 530 535 540  
 Cys Gln Lys Arg Tyr Arg Gly His Lys Ile Thr His Lys Met Ile Cys  
 545 550 555 560  
 Ala Gly Tyr Arg Glu Gly Gly Lys Asp Ala Cys Lys Gly Asp Ser Gly  
 565 570 575  
 Gly Pro Leu Ser Cys Lys His Asn Glu Val Trp His Leu Val Gly Ile  
 580 585 590  
 Thr Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Gln Arg Glu Arg Pro Gly Val Tyr  
 595 600 605  
 Thr Asn Val Val Glu Tyr Val Asp Trp Ile Leu Glu Lys Thr Gln Ala  
 610 615 620

Val

625

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 3278

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 2

aggcacacag gcaaaatcaa gttctacatc tgtccctgtg tatgtcactt gtttgaatac 60  
 gaaataaaat taaaaaata aattcagtgt attgagaaag caagcaattc tctcaaggta 120  
 tatttctgac atactaagat ttaacgact ttcacaaata tgctgtactg agagagaatg 180  
 ttacataaca ttgagaacta gtacaagtaa atattaaagt gaagtgacca tttcctacac 240  
 aagctcattc agaggaggat gaagaccatt ttggaggaag aaaagcacc ttattaagaa 300  
 ttgcagcaag taagccaaca aggtctttc aggatgattt tcttatatca agtggtagat 360  
 ttcatTTTTat ttacttcagt ttctggtgaa tgtgtgactc agttgttgaa ggacacctgc 420  
 tttgaaggag gggacattac tacggtcttc acaccaagcg ccaagtactg ccaggtagtc 480  
 tgcacttacc acccaagatg tttactcttc actttcacgg cggaatcacc atctgaggat 540  
 cccacccgat ggtttacttg tgtcctgaaa gacagtgtta cagaaacact gccaaagatg 600  
 aataggacag cagegatttc tgggtattct ttcaagcaat gctcacacca aataagcgct 660  
 tgcaacaaaag acatttatgt ggacctagac atgaaggga taaactataa cagctcagtt 720  
 gccaaagatg ctcaagaatg ccaagaaaga tgcacggatg acgtccactg ccaacttttc 780  
 acgtacgcca caaggcagtt tcccagcctg gagcatcgta acatttgtct actgaagcac 840  
 acccaaacag ggacaccaac cagaataacg aagctcgata aagtgggtgc tggattttca 900  
 ctgaaatcct gtgcactttc taatctggct tgtattaggg acattttccc taatacggtg 960  
 tttgcagaca gcaacatcga cagtgtcatg gctcccgatg cttttgtctg tggccgaatc 1020  
 tgcactcatc atcccggttg cttgtttttt accttctttt cccaggaatg gcccaaagaa 1080

tctcaaagaa atctttgtct ccttaaaca tctgagagtg gattgccag tacacgcatt 1140  
aaaaagagca aagctctttc tggtttcagt ctacaaagct gcaggcacag catcccagtg 1200  
ttctgccatt ctctatttta ccatgacact gatttcttgg gagaagaact ggatattggt 1260  
gctgcaaaaa gtcacgaggc ctgccagaaa ctgtgcacca atgccgtccg ctgccagttt 1320  
tttacctata ccccagccca agcatcctgc aacgaaggga agggcaagtg ttacttaaag 1380  
ctttcttcaa acggatctcc aactaaaata ctacacggga gaggaggcat ctctggatac 1440  
acattaaggt tgtgtaaaat ggataatgag tgtaccacca aatcaagcc caggatcggt 1500  
ggaggaactg cgtctgttcg tggtgagtgg ccgtggcagg tgaccctgca cacaacctca 1560  
cccactcaga gacacctgtg tggaggctcc atcattggaa accagtggat attaacagcc 1620  
gctcactgtt tctatggggg agagtcacct aagatcttgc gtgtctacag tggcatttta 1680  
aatcaatctg aaataaaaaga ggacacatct ttctttgggg ttcaagaaat aataatccat 1740  
gatcagtata aaatggcaga aagcgggtat gatattgctt tgttgaaact ggaaaccaca 1800  
gtgaattaca cagattctca acgaccata tgctgcctt ccaaaggaga tagaaatgta 1860  
atatacactg attgctgggt gactggatgg gggtacagaa aactaagaga caaatacaa 1920  
aatactctcc agaaagccaa gataccetta gtgaccaacg aagagtcca gaagagatac 1980  
agaggacata aaataacca taagatgac tgtgccggct acaggaagg agggaaggac 2040  
gcttgcaagg gagattcggg aggcctctg tctgcaaac acaatgaggt ctggcatctg 2100  
gtaggcatca cgagctgggg cgaaggctgt gctcaaagg agcggccagg tgtttacacc 2160  
aacgtggtcg agtacgtgga ctggattctg gagaaaactc aagcagtgtg aatgggttcc 2220  
caggggcat tggagtccct gaaggacca ggatttgctg ggagagggtg ttgagttcac 2280  
tgtgccagca tgcttctcc acagtaacac gctgaagggg cttggtgttt gtaagaaat 2340  
gctagaagaa acaaaactgt cacaagtgt tatgtccaaa actcccgtt tatgatcggt 2400  
gtagtttgtt tgagcattca gtctcttgt tttgatcac gttctatgg agtccaagaa 2460  
ttaccataag gcaatattc tgaagattac tatataggca gatatagcag aaaataacca 2520  
agtagtgga gtgggatca ggcagaagaa ctggtaaaag aagccacat aatagattt 2580  
gttcgatgaa agatgaaaac tggagaagaa gagaacaaag acagtcttca ccatcttgca 2640  
ggaatctaca ctctgcctat gtgaacacat ttcttttga aagaaagaaa ttgattgcat 2700  
ttaatggcag attttcagaa tagtcaggaa ttcttgcatt ttccatttta aaatatatat 2760  
taaaaaaaaa cagttcgagt agacacgagc taagagttaa tgtgaagata acagaatttc 2820  
tgtgtggaag aggattacaa gcagcaattt acctggaagt gataccttag gggcaatctt 2880  
gaagatacac tttcctgaaa aatgatttgt gatggattgt atatttattt aaaatatctt 2940  
gggaggggag gctgatggag atagggagca tgctcaaacc tcctaagac aagctgctgc 3000  
tgtgactatg ggctcccaaa gagctagatc gtatatttat ttgacaaaa tcaccataga 3060  
ctgcatccat actacagaga aaaaacaatt agggcgcaaa tggatagtta cagtaaagtc 3120  
ttcagcaagc agctgcctgt attctaagca ctgggatttt ctgttctgtg caaatattta 3180  
tctcattatt gttgtgatct agttcaataa cctagaattt gaattgtcac cacatagctt 3240  
tcaatctgtg ccaacaacta tacaattcat caagtgtg 3278

<210> 3

<211> 5

<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 3  
Thr Ala Ala Met Ser  
1 5  
<210> 4  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 4  
Gly Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15  
Gly  
<210> 5  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 5  
Glu Leu Ser Tyr Leu Tyr Ser Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr  
1 5 10  
<210> 6  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 6  
Gly Phe Thr Phe Ser Thr Ala  
1 5  
<210> 7  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 7

Ser Gly Ser Gly Ser Ser

1 5

<210> 8

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 8

Glu Leu Ser Tyr Leu Tyr Ser Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 9

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 9

Gln Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Ala

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Leu Ser Tyr Leu Tyr Ser Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 10

<211> 366

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 10

caggtgcaat tgctggaaag cggcggtggc ctggtgcagc cgggtggcag cctgcgtctg 60  
 agctgcgcgg cgccggatt cacctttct actgctgcta tgtcttgggt gcgccaggcc 120  
 ccgggcaaaag gtctcgagtg ggtttccggt atctctggtt ctggttcttc tacctactat 180  
 gcggatagcg tgaaaggccg cttaccatc agccgcgata attcgaaaaa caccctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgcg tgcggaagat acggcctgtt attattgcgc gcgtgaactg 300  
 tcttacctgt actctgggta ctacttcgat tactggggcc aaggcacct ggtgactggt 360  
 agctca 366

<210> 11

<211> 452

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 11

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

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro  
 165 170 175  
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
 180 185 190  
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn  
 195 200 205  
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser  
 210 215 220  
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala  
 225 230 235 240  
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
 245 250 255  
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser  
 260 265 270  
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu  
 275 280 285  
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr  
 290 295 300  
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn  
 305 310 315 320  
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro  
 325 330 335  
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln  
 340 345 350  
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val  
 355 360 365  
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
 370 375 380  
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro  
 385 390 395 400  
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr  
 405 410 415  
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 420 425 430  
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
 435 440 445  
 Ser Pro Gly Lys  
 450

<210> 12

<211> 1356

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 12

```

caggtgcaat tgctggaaag cggcgggtggc ctggtgcagc cgggtggcag cctgcgtctg 60
agctgcgcgg cgtccggatt caccttttct actgctgcta tgtcttgggt gcgccaggcc 120
ccgggcaaag gtctcgagtg ggtttccgggt atctctggtt ctggttcttc tacctactat 180
gcggatagcg tgaaaggccg ctttaccatc agccgcgata attcgaaaaa caccctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgcg tgcggaagat acggcctgtt attattgcgc gcgtgaactg 300
tcttacctgt actctggtta ctacttcgat tactggggcc aaggcaccct ggtgactggt 360
agctcagcct ccaccaaggg tccatcggtc tccccctgg caccctctc caagagcacc 420
tctgggggca cagcggccct gggtgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480
gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca cttccccggc tgtcctacag 540
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 600
cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt 660
gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gccagcacc tgaagcagcg 720
gggggaccgt cagtcttctt cttccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg 780
acccttgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagtcc 840
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 900
tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 960
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 1020
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1080
gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1140
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1200
cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1260
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1320
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa 1356

```

<210> 13

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 13

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Asp Val Ser

1

5

10

<210> 14



<220>

<223> 合成肽

<400> 18

Trp Asp Gln Arg Gln Phe Asp Val

1 5

<210> 19

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 19

Asp Ile Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Lys Asn Tyr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln

65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ala Trp Asp Gln Arg Gln

85 90 95

Phe Asp Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 20

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 20

gatatcgtgc tgaccagcc gccgagcgtg agcgggtgcac cgggccagcg cgtgaccatt 60

agctgtagcg gcagcagcag caacattggt tctaacgacg tgtcttggtta ccagcagctg 120

ccgggcacgg cgccgaaact gctgatctac aaaaactaca accgcccagag cggcgtgccg 180

gatcgcttta gcggatccaa aagcggcacc agcggccagcc tggcgattac cggcctgcaa 240

gcagaagacg aagcggatta ttactgctct gcttgggacc agcgtcagtt cgacgttgtg 300

tttggcggcg gcacgaagtt aaccgtccta 330

<210> 21  
 <211> 216  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成肽  
 <400> 21  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln  
 1                   5                   10                   15  
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn  
                   20                   25                   30  
 Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
                   35                   40                   45  
 Ile Tyr Lys Asn Tyr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
                   50                   55                   60  
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln  
 65                   70                   75                   80  
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ala Trp Asp Gln Arg Gln  
                   85                   90                   95  
 Phe Asp Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln  
                   100                   105                   110  
 Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu  
                   115                   120                   125  
 Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr  
                   130                   135                   140  
 Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys  
 145                   150                   155                   160  
 Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr  
                   165                   170                   175  
 Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His  
                   180                   185                   190  
 Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys  
                   195                   200                   205  
 Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
                   210                   215  
 <210> 22  
 <211> 648  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 22

gatatcgtgc tgaccagcc gccgagcgtg agcgggtgcac cgggccagcg cgtgaccatt 60  
agctgtagcg gcagcagcag caacattgggt tctaacgacg tgtcttggtta ccagcagctg 120  
ccgggacacg cgccgaaact gctgatctac aaaaactaca accgcccagag cggcgtgccg 180  
gatcgcttta gcggatccaa aagcggcacc agcggccagcc tggcgattac cggcctgcaa 240  
gcagaagacg aagcggatta ttactgctct gcttgggacc agcgtcagtt cgacgttgtg 300  
tttggcggcg gcacgaagtt aaccgtccta ggtagccca aggctgcccc ctcggtcact 360  
ctgttccccg cctcctctga ggagcttcaa gccacaagg ccacactggg gtgtctcata 420  
agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg gcttgggaagg cagatagcag ccccgtaag 480  
gcgggagtg agaccaccac accctccaaa caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc 540  
tatctgagcc tgacgcctga gcagtgggaag tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg 600  
catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg gccctacag aatgttca 648

<210> 23

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 23

Thr Ala Ala Met Ser

1 5

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 24

Gly Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 25

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 25

Glu Leu Ser Tyr Leu Tyr Ser Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1                      5                      10

<210> 26

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 26

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Ala

1                      5

<210> 27

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 27

Ser Gly Ser Gly Ser Ser

1                      5

<210> 28

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 28

Glu Leu Ser Tyr Leu Tyr Ser Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1                      5                      10

<210> 29

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 29

Gln Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1                      5                      10                      15

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

<210> 30

<211> 366

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 30

caggtgcagc tgctggaatc aggcggcgga ctggtgcagc ctggcggtag cctgagactg 60  
 agctgcgctg ctagtggctt cacctttagc accgccgcta tgagctgggt tcgacaggcc 120  
 ccagggaaag gcctcgagtg ggtctcaggg attagcggtg gcggtcttag cacctactac 180  
 gccgatagcg tgaagggccg gttcactatc tctagggata actctaagaa caccctgtac 240  
 ctgcagatga atagcctgag agccgaggac accgccgtct actactgcgc tagagagctg 300  
 agctacctgt atagcggcta ctacttcgac tactggggtc aaggcacct ggtcacctg 360  
 tctagc 366

<210> 31

<211> 452

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 31

Gln Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Ala  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Glu Leu Ser Tyr Leu Tyr Ser Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro  
 115 120 125  
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr  
 130 135 140  
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr  
 145 150 155 160  
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro  
 165 170 175  
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
 180 185 190  
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn  
 195 200 205  
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser  
 210 215 220  
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu  
 225 230 235 240  
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
 245 250 255  
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser  
 260 265 270  
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu  
 275 280 285  
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr  
 290 295 300  
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn  
 305 310 315 320  
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Ala Ala Pro  
 325 330 335  
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln





<400> 36

Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Asp

1 5

<210> 37

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 37

Lys Asn Tyr

1

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 38

Trp Asp Gln Arg Gln Phe Asp Val

1 5

<210> 39

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 39

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Lys Asn Tyr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln

65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ala Trp Asp Gln Arg Gln

	85	90	95
Phe Asp Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
	100	105	110
<210> 40			
<211> 330			
<212> DNA			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成肽			
<400> 40			
cagtcagtcc tgactcagcc ccctagegct agtggcacc cttggctcaaag agtgactatt 60			
agctgtagcg gctctagetc taatateggc tetaacgacg tcagctggta tcagcagctg 120			
cccggcaccg cccctaaget gctgatctat aagaactata ataggcctag cggcgtgccc 180			
gataggttta gcggatctaa atcagggact tctgctagtc tggctattag cggcctgcag 240			
tcagaggacg aggccgacta ctactgtagc gcctgggatc agcgtcagtt cgacgtggtg 300			
ttcggcggag gcactaaget gaccgtgctg 330			
<210> 41			
<211> 216			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成肽			
<400> 41			
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln			
1 5 10 15			
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn			
20 25 30			
Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu			
35 40 45			
Ile Tyr Lys Asn Tyr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser			
50 55 60			
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln			
65 70 75 80			
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ala Trp Asp Gln Arg Gln			
85 90 95			
Phe Asp Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln			
100 105 110			
Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu			
115 120 125			

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr  
 130 135 140  
 Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys  
 145 150 155 160  
 Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr  
 165 170 175  
 Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His  
 180 185 190  
 Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys  
 195 200 205  
 Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 42

<211> 648

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 42

cagtcagtcc tgactcagcc ccctagcgct agtggcacc ctggtcaaag agtgactatt 60  
 agctgtagcg gctctagctc taatatcggc tetaacgacg tcagctggta tcagcagctg 120  
 cccggcaccg cccctaagct gctgatctat aagaactata ataggcctag cggcgtgccc 180  
 gataggttta gcggatctaa atcagggact tetgctagtc tggctattag cggcctgcag 240  
 tcagaggacg aggccgacta ctactgtagc gcctgggac agcgtcagtt cgacgtggtg 300  
 ttcggcggag gcactaagct gaccgtgctg ggtcaaccta aggctgcccc cagcgtgacc 360  
 ctgttcccc ccagcagcga ggagctgcag gccacaagg ccaccctggt gtgcctgac 420  
 agcgacttct acccaggcgc cgtgaccgtg gcctggaagg cgcacagcag ccccgtaag 480  
 gccggcgtgg agaccaccac cccagcaag cagagcaaca acaagtacgc cgccagcagc 540  
 tacctgagcc tgacccccga gcagtggaag agccacaggt cctacagctg ccaggtgacc 600  
 cacgagggca gcaccgtgga aaagaccgtg gcccacacc agtgcagc 648

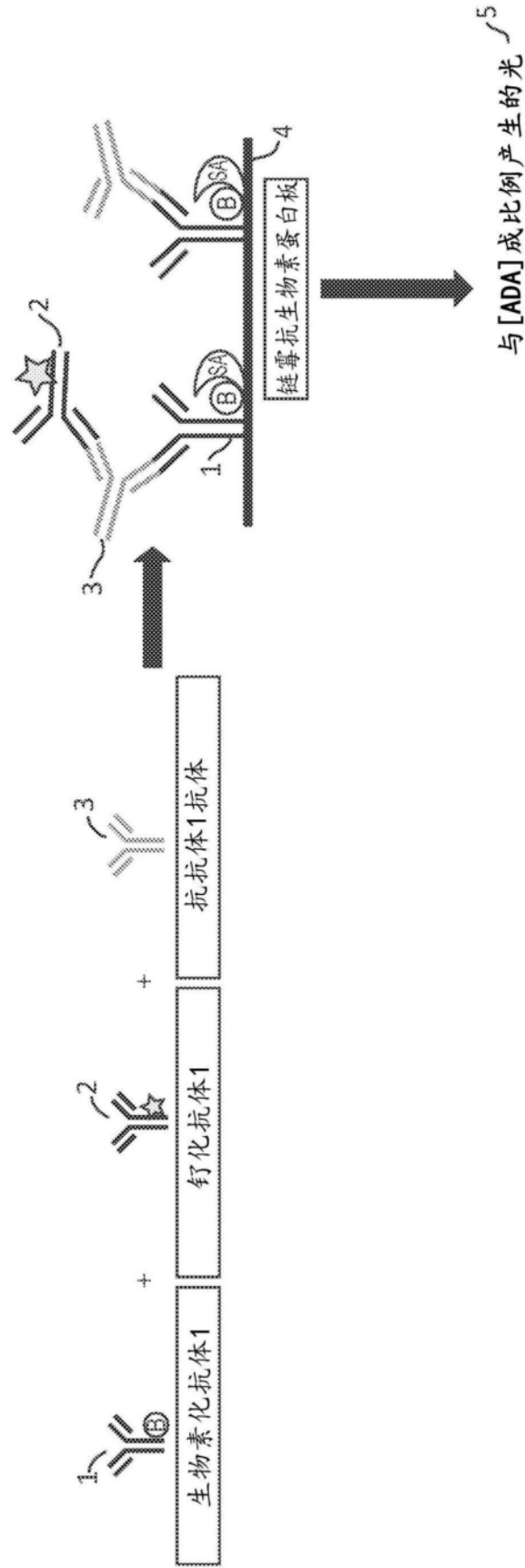


图1



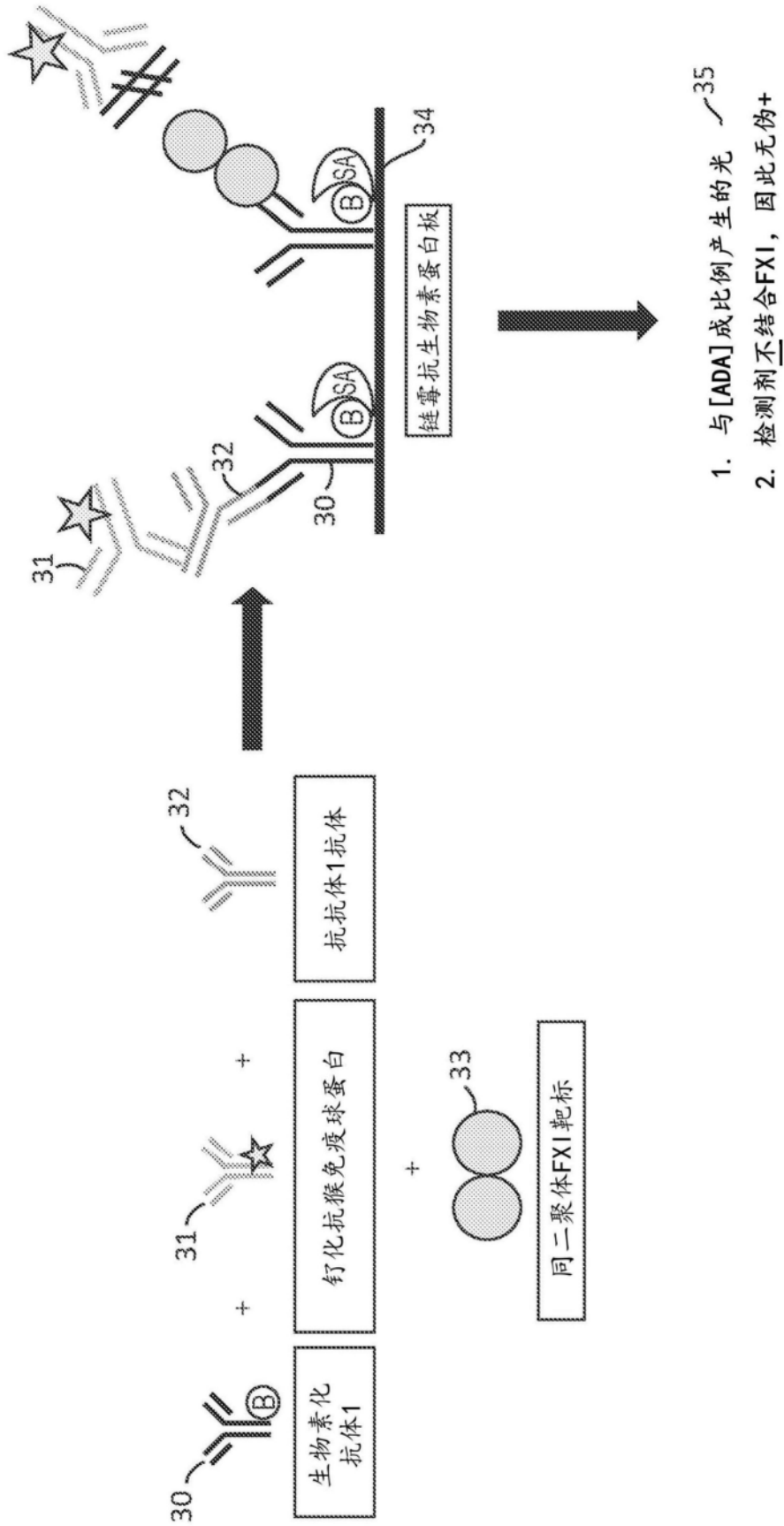


图3

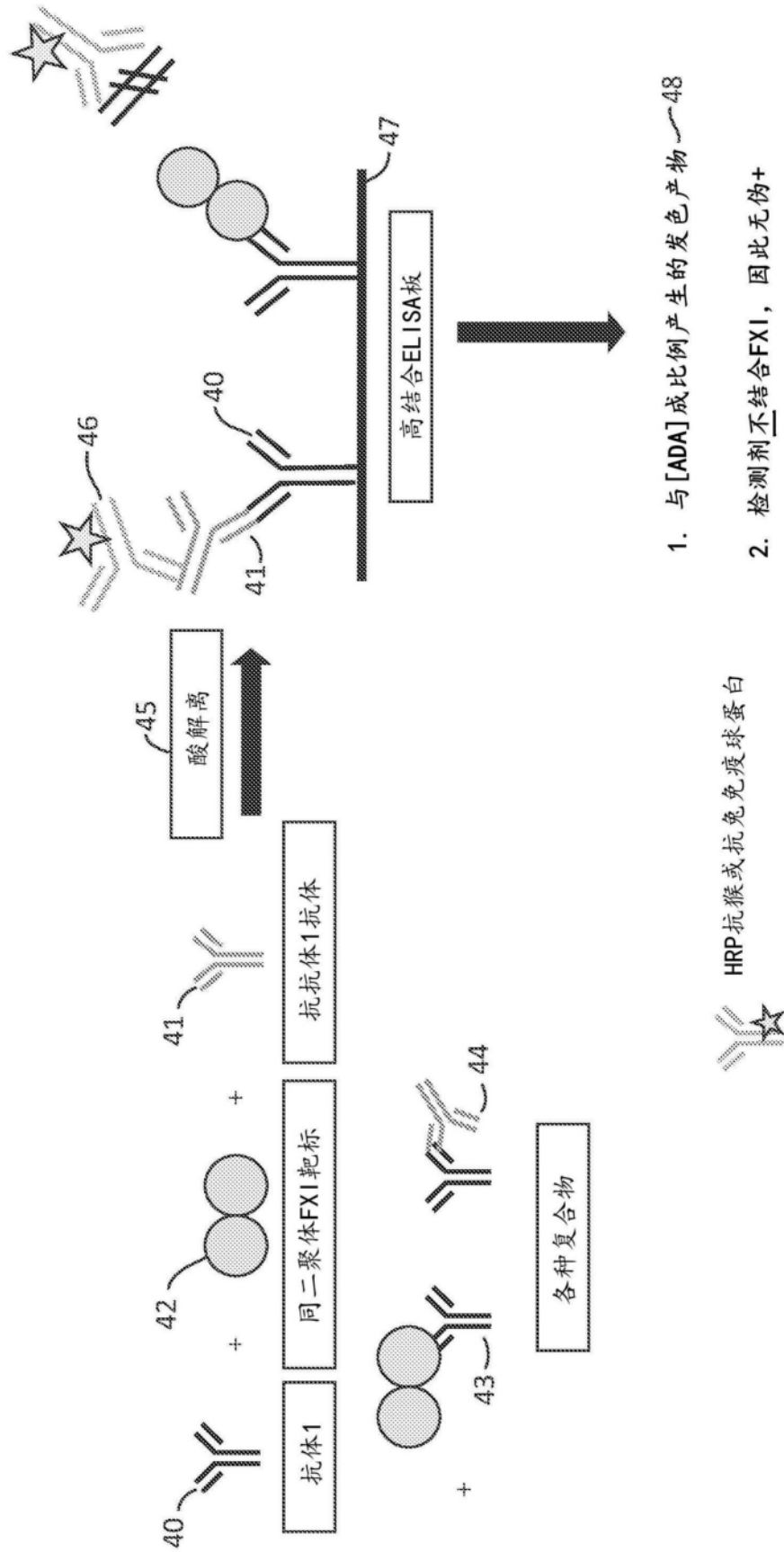


图4

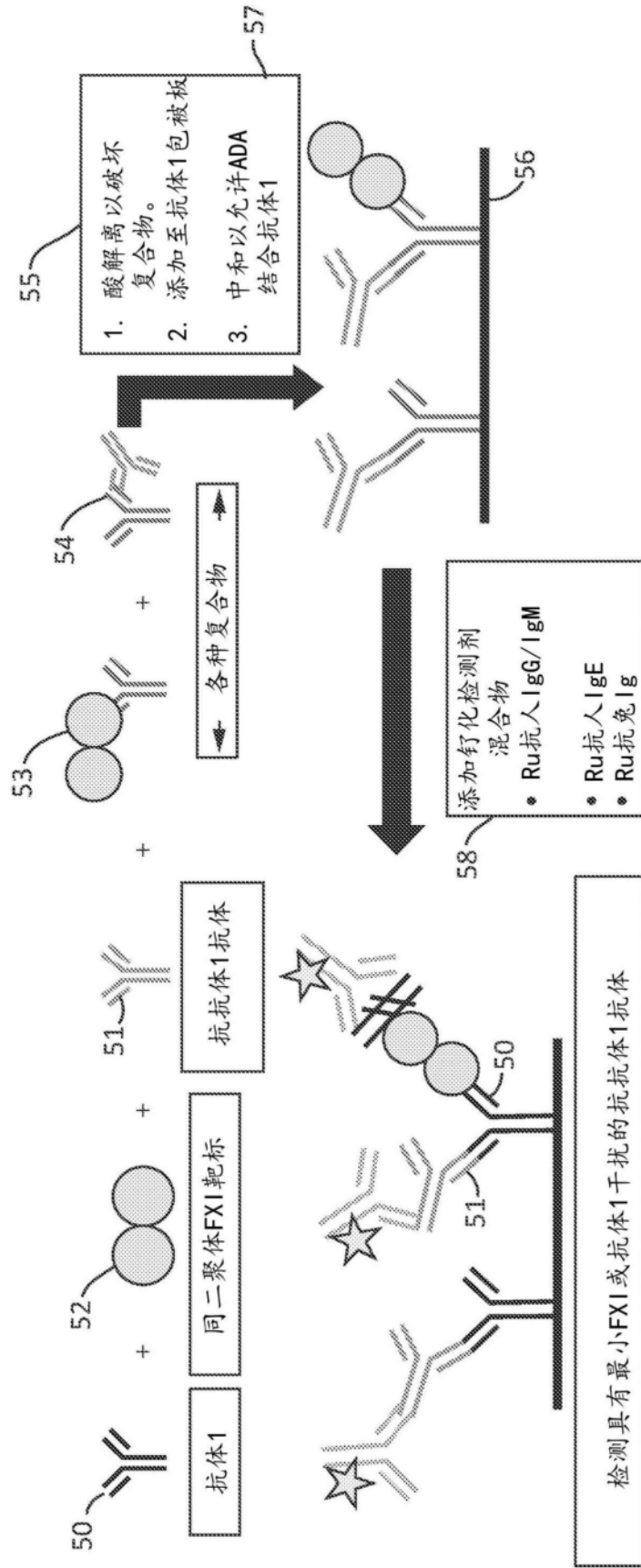


图5