



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118652337 A

(43) 申请公布日 2024. 09. 17

(21) 申请号 202410661138.X

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2016.01.29

C07K 16/28 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 39/395 (2006.01)

62/110071 2015.01.30 US

A61P 25/00 (2006.01)

62/258082 2015.11.20 US

(62) 分案原申请数据

201680008485.6 2016.01.29

(71) 申请人 动量制药公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 M·克里 D·J·金 L·E·凌

J·米多尔三世 S·罗伊

A·曼宁

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

专利代理师 初明明 彭昶

权利要求书1页 说明书39页

序列表(电子公布) 附图11页

(54) 发明名称

FCRN抗体及其使用方法

(57) 摘要

本发明涉及FCRN抗体及其使用方法。本发明的特征在于对人类新生儿Fc受体(FcRn)具有高结合亲和力的抗体。这些抗-FcRn抗体可用于例如促进受试者中自身抗体的清除,抑制受试者中的抗原呈递,阻断受试者中免疫应答例如阻断基于免疫复合体的免疫应答激活,以及治疗受试者中的免疫性疾病(例如自身免疫疾病)。

1. 一种与人FcRn结合的分离的抗体,该分离的抗体包含:
 - (1) 轻链可变区,其包含CDR L1、CDR L2和CDR L3,以及
 - (2) 重链可变区,其包含CDR H1、CDR H2和CDR H3,其中所述CDR L1具有TGTGSDVGSYNLVS (SEQ ID NO:1) 的序列,所述CDR L2具有GDSERPS (SEQ ID NO:2) 的序列,所述CDR L3具有SSYAGSGIYV (SEQ ID NO:3) 的序列,所述CDR H1具有TYAMG (SEQ ID NO:4) 的序列,所述CDR H2具有SIGASGSQTRYADS (SEQ ID NO:8) 的序列,和所述CDR H3具有LAIGDSY (SEQ ID NO:11) 的序列,并且其中所述分离的抗体包含重链,所述重链包含与SEQ ID NO:24具有至少95%同一性的序列。
2. 如权利要求1所述的分离的抗体,其中所述分离的抗体包含轻链,所述轻链包含SEQ ID NO:19的序列。
3. 如权利要求1所述的分离的抗体,所述抗体是IgG1。
4. 如权利要求1所述的分离的抗体,所述抗体包含 λ 轻链。
5. 如权利要求1所述的分离的抗体,所述抗体是唾液酸化的抗体。
6. 一种药物组合物,其包含如权利要求1-5中任一项所述的分离的抗体和一种或多种药学上可接受的赋形剂。
7. 如权利要求6所述的药物组合物,其中所述抗体处于治疗有效量。
8. 如权利要求6或7所述的药物组合物,其中所述一种或多种药学上可接受的赋形剂选自缓冲剂、抗氧化剂、防腐剂、聚合物、氨基酸和碳水化合物。
9. 如权利要求1-5中任一项所述的分离的抗体或如权利要求6-8中任一项所述的药物组合物在制备用于治疗慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经疾病 (CIDP) 的药物中的用途。
10. 药物组合物在制备用于治疗慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经疾病 (CIDP) 的药物中的用途,所述药物组合物包含一种或多种药学上可接受的赋形剂和与人FcRn结合的分离的抗体,该分离的抗体包含:
 - (1) 轻链可变区,其包含CDR L1、CDR L2和CDR L3,以及
 - (2) 重链可变区,其包含CDR H1、CDR H2和CDR H3,其中所述CDR L1具有TGTGSDVGSYNLVS (SEQ ID NO:1) 的序列,所述CDR L2具有GDSERPS (SEQ ID NO:2) 的序列,所述CDR L3具有SSYAGSGIYV (SEQ ID NO:3) 的序列,所述CDR H1具有TYAMG (SEQ ID NO:4) 的序列,所述CDR H2具有SIGASGSQTRYADS (SEQ ID NO:8) 的序列,和所述CDR H3具有LAIGDSY (SEQ ID NO:11) 的序列,并且其中所述分离的抗体包含重链,所述重链具有SEQ ID NO:24的序列,并且其中所述一种或多种药学上可接受的赋形剂选自缓冲剂、抗氧化剂、防腐剂、聚合物、氨基酸和碳水化合物。
11. 如权利要求10所述的用途,其中所述分离的抗体包含轻链,所述轻链具有SEQ ID NO:19的序列。

FCRN抗体及其使用方法

[0001] 本申请是申请日为2016年1月29日的中国专利申请201680008485.6“FCRN抗体及其使用方法”的分案申请202110605791.0的继续分案申请。

背景技术

[0002] 治疗性蛋白质(例如治疗性抗体)已快速成为用于免疫性疾病患者的临床上重要的药物类别。

发明内容

[0003] 本发明特征在于针对人新生儿Fc受体(FcRn)的新颖抗体。这些抗-FcRn抗体可用于(例如)促进受试者中自身抗体的清除,抑制受试者中的抗原呈递,阻止受试者中的免疫应答例如阻断基于免疫复合体的免疫应答激活,或治疗受试者中的免疫疾病(例如自身免疫疾病)。

[0004] 在一个方面,本发明特征在于与人FcRn结合的分离的抗体。该分离的抗体包含:(1)轻链可变区(其包括CDRL1、CDRL2、和CDRL3)以及(2)重链可变区(其包括CDRH1、CDRH2、和CDRH3),其中该CDRL1具有一种序列,该序列相对于TGTGSDVGSYNLVS(SEQ ID NO:1)的序列具有不超过两个氨基酸取代;该CDRL2具有一种序列,该序列相对于GDSEPS(SEQ ID NO:2)的序列具有不超过一个氨基酸取代;该CDRL3具有一种序列,该序列相对于SSYAGSGIYV(SEQ ID NO:3)的序列具有不超过一个氨基酸取代;该CDRH1具有一种序列,该序列相对于TYAMG(SEQ ID NO:4)、DYAMG(SEQ ID NO:5)、或NYAMG(SEQ ID NO:6)的序列具有不超过一个氨基酸取代;该CDRH2具有一种序列,该序列相对于SIGSSGAQTRYADS(SEQ ID NO:7)、SIGASGSQTRYADS(SEQ ID NO:8)、SIGASGAQTRYADS(SEQ ID NO:9)、或SIGASGGQTRYADS(SEQ ID NO:10)的序列具有不超过两个氨基酸取代;并且该CDRH3具有一种序列,该序列相对于LAIGDSY(SEQ ID NO:11)的序列具有不超过一个氨基酸取代。

[0005] 在一些实施例中,该抗体以低于200、150、100、50、或40pM的 K_D 结合人FcRn。

[0006] 在一些实施例中,该抗体结合人FcRn的 K_D 小于或等于一种抗体(其具有N022、N023、N024、N026、或N027的轻链可变区和重链可变区,并且进一步具有与其正在比较的抗体相同的Fc区)的 K_D 。

[0007] 在另一个方面,本发明特征在于分离的抗体,该分离的抗体包含:(1)轻链可变区(其包括CDR L1、CDR L2、和CDR L3)以及(2)重链可变区(其包括CDR H1、CDR H2、和CDR H3),其中该CDR L1具有 X_1 GTGSDVGSYN X_2 VS(SEQ ID NO:12)的序列,该CDR L2具有GDX X_3 X X_4 RPS(SEQ ID NO:13)的序列,该CDR L3具有 X_5 SYX X_6 GSGIYV(SEQ ID NO:14)的序列,该CDR H1具有Z X_1 YAMG(SEQ ID NO:15)的序列,该CDR H2具有SIGZ X_2 SGZ X_3 QTZ X_4 YADS(SEQ ID NO:16)的序列,并且该CDR H3具有LAZ X_5 Z X_6 DSY(SEQ ID NO:17)的序列,其中 X_1 是极性或疏水性氨基酸, X_2 是疏水性氨基酸, X_3 是极性或酸性氨基酸, X_4 是极性或酸性氨基酸, X_5 是极性或疏水性氨基酸, X_6 是疏水性氨基酸,Z X_1 是极性或酸性氨基酸,Z X_2 是极性或疏水性氨基酸,Z X_3 是G、S或A,Z X_4 是碱性氨基酸,Z X_5 是疏水性或碱性氨基酸,并且Z X_6 是G、S、D、Q或H,并且其中该抗体结合人FcRn的 K_D 小于

或等于一种抗体(其具有NO26的轻链可变区和重链可变区,并且进一步具有与其正在比较的抗体相同的Fc区)的 K_D 。在一些实施例中, X_1 是T、A、S或I。在其他实施例中, X_2 是L或I。在一些实施例中, X_3 是S、N或T。在又其他实施例中, X_4 是Q、E或N, X_5 是C、S、I或Y。在一些实施例中, X_6 是A或V, Z_1 是E、T、D或N。在另外的实施例中, Z_2 是S或A。在一些实施例中, Z_4 是K或R。在又其他实施例中, Z_5 是I、L或H。

[0008] 在另一个方面,本发明特征在于分离的抗体,该分离的抗体包含轻链可变区和重链可变区,该轻链可变区包括具有TGTGSDVGSYNLVS (SEQ ID NO:1)的序列的CDR L1、具有GDSERPS (SEQ ID NO:2)的序列的CDR L2、以及具有SSYAGSGIYV (SEQ ID NO:3)的序列的CDR L3,并且该重链可变区包括具有 Z_1 YAMG (SEQ ID NO:15)的序列的CDR H1、具有SIGZ₂SGZ₃QTRYADS (SEQ ID NO:18)的序列的CDR H2、以及具有LAIGDSY (SEQ ID NO:11)的序列的CDR H3,其中 Z_1 是T、D或N, Z_2 是S或A,并且 Z_3 是G、S或A。

[0009] 在一些实施例中,该分离的抗体包含具有TGTGSDVGSYNLVS (SEQ ID NO:1)的序列的CDR L1、具有GDSERPS (SEQ ID NO:2)的序列的CDR L2、具有SSYAGSGIYV (SEQ ID NO:3)的序列的CDR L3、具有TYAMG (SEQ ID NO:4)的序列的CDR H1、具有SIGSSGAQTRYADS (SEQ ID NO:7)的序列的CDR H2、以及具有LAIGDSY (SEQ ID NO:11)的序列的CDR H3。

[0010] 在一些实施例中,该分离的抗体包含具有TGTGSDVGSYNLVS (SEQ ID NO:1)的序列的CDR L1、具有GDSERPS (SEQ ID NO:2)的序列的CDR L2、具有SSYAGSGIYV (SEQ ID NO:3)的序列的CDR L3、具有DYAMG (SEQ ID NO:5)的序列的CDR H1、具有SIGASGSQTRYADS (SEQ ID NO:8)的序列的CDR H2、以及具有LAIGDSY (SEQ ID NO:11)的序列的CDR H3。

[0011] 在一些实施例中,该分离的抗体包含具有TGTGSDVGSYNLVS (SEQ ID NO:1)的序列的CDR L1、具有GDSERPS (SEQ ID NO:2)的序列的CDR L2、具有SSYAGSGIYV (SEQ ID NO:3)的序列的CDR L3、具有NYAMG (SEQ ID NO:6)的序列的CDR H1、具有SIGASGAQTRYADS (SEQ ID NO:9)的序列的CDR H2、以及具有LAIGDSY (SEQ ID NO:11)的序列的CDR H3。

[0012] 在其他实施例中,该分离的抗体包含具有TGTGSDVGSYNLVS (SEQ ID NO:1)的序列的CDR L1、具有GDSERPS (SEQ ID NO:2)的序列的CDR L2、具有SSYAGSGIYV (SEQ ID NO:3)的序列的CDR L3、具有TYAMG (SEQ ID NO:4)的序列的CDR H1、具有SIGASGGQTRYADS (SEQ ID NO:10)的序列的CDR H2、以及具有LAIGDSY (SEQ ID NO:11)的序列的CDR H3。

[0013] 在又其他实施例中,该分离的抗体包含具有TGTGSDVGSYNLVS (SEQ ID NO:1)的序列的CDR L1、具有GDSERPS (SEQ ID NO:2)的序列的CDR L2、具有SSYAGSGIYV (SEQ ID NO:3)的序列的CDR L3、具有TYAMG (SEQ ID NO:4)的序列的CDR H1、具有SIGASGSQTRYADS (SEQ ID NO:8)的序列的CDR H2、以及具有LAIGDSY (SEQ ID NO:11)的序列的CDR H3。

[0014] 在一些实施例中,本发明的分离的抗体的轻链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0015] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMYGDSEPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTGTQVTVLQGPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19)。

[0016] 在一些实施例中,本发明的分离的抗体的重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0017] EVQLLES GGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGSSGAQTRYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ
ID NO:20)。

[0018] 在其他实施例中,本发明的分离的抗体的重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0019] EVQLLES GGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSDYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGASGSQTRYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ
ID NO:21)。

[0020] 在其他实施例中,本发明的分离的抗体的重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0021] EVQLLES GGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSNYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGASGAQTRYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ
ID NO:22)。

[0022] 在一些实施例中,本发明的分离的抗体的重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0023] EVQLLES GGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGASGGQTRYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ
ID NO:23)。

[0024] 在其他实施例中,本发明的分离的抗体的重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0025] EVQLLES GGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGASGSQTRYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD

KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ
ID NO:24)。

[0026] 在另一个方面,本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体,其中该轻链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0027] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQQHPGKAPKLMYGDSEPSGVSNRFGSGK
SGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTGTKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY
PGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ
ID NO:19);并且该重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0028] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGSSGAQTRYADSVKGRF
TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ
ID NO:20)。

[0029] 在另一个方面,本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体,其中该轻链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0030] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQQHPGKAPKLMYGDSEPSGVSNRFGSGK
SGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTGTKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY
PGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ
ID NO:19);并且该重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0031] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTSDYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGASGSQTRYADSVKGRF
TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ
ID NO:21)。

[0032] 在另一个方面,本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体,其中该轻链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0033] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQQHPGKAPKLMYGDSEPSGVSNRFGSGK
SGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTGTKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY
PGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ
ID NO:19);并且该重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0034] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSNYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGASGAQTRYADSVKGRF
TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD

KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ
ID NO:22)。

[0035] 在另一个方面,本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体,其中该轻链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0036] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQQHPGKAPKLMYGDSEPSGVSNRFSGSK
SGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTGTKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY
PGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ
ID NO:19);并且该重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0037] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSAAASGFTSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGASGGQTRYADSVKGRF
TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ
ID NO:23)。

[0038] 在又另一个方面中,本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体,其中该轻链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0039] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQQHPGKAPKLMYGDSEPSGVSNRFSGSK
SGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTGTKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY
PGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ
ID NO:19);并且该重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0040] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSAAASGFTSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGASGSQTRYADSVKGRF
TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ
ID NO:24)。

[0041] 在一些实施例中,本发明的分离的抗体的重链可变区具有一种序列,该序列与SEQ ID NO:20-24中任一个的序列具有至少95%、97%、99%、或100%同一性。在其他实施例中,本发明的分离的抗体的轻链可变区具有一种序列,该序列与SEQ ID NO:19的序列具有至少95%、97%、99%、或100%同一性。

[0042] 在一些实施例中,本发明的分离的抗体进一步包括氨基酸取代N297A(相对于SEQ ID NO:20-24中任一个的序列)。

[0043] 在其他实施例中,该分离的抗体进一步包括氨基酸取代D355E和L357M(相对于SEQ ID NO:20-24中任一个的序列)。

[0044] 在其他实施例中,本发明的分离的抗体进一步包括以下氨基酸取代中的任何一个

或多个：A23V、S30R、L80V、A84T、E85D、A93V（相对于SEQ ID NO:20-24中任一个的序列）以及Q38H、V58I、和G99D（相对于SEQ ID NO:19的序列）。

[0045] 在又其他实施例中，本发明的分离的抗体在残基446处不含有C末端赖氨酸（相对于SEQ ID NO:20-24中任一个的序列）。

[0046] 在一些实施例中，以上方面中任何一项所述的抗体与人FcRn结合的 K_D 小于或等于以下抗体的 K_D ：该抗体具有N022、N023、N024、N026、或N027的轻链可变区和重链可变区并且还具有与其正在比较的抗体相同的Fc区。例如，在特定的 K_D 测定中，抗体的 K_D 小于200、150、100、50、或40pM。

[0047] 分配给本文所述的任何分离的抗体的互补决定区（CDR）和框架区（FR）的氨基酸位置根据Kabat（Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学意义的蛋白质的序列]，第5版，Public Health Service，National Institutes of Health[美国国立卫生研究院公共卫生服务部门]，Bethesda，MD[马里兰州贝塞斯达]（1991））的EU指数来定义。

[0048] 在另一个方面，本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体，其中该轻链可变区具有以下序列

[0049] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQQHPGKAPKLMYIGDSERPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTGTKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS（SEQ ID NO:19）；并且该重链可变区具有以下序列

[0050] EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGSSGAQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG（SEQ ID NO:20）。

[0051] 在另一个方面，本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体，其中该轻链可变区具有以下序列

[0052] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQQHPGKAPKLMYIGDSERPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTGTKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS（SEQ ID NO:19）；并且该重链可变区具有以下序列

[0053] EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGASGSQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG（SEQ ID NO:21）。

[0054] 在另一个方面,本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体,其中该轻链可变区具有以下序列

[0055] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQQHPGKAPKLMYGDSEKPSGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTGTKVTVLGGPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19);并且该重链可变区具有以下序列EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSNYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGASGAQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:22)。

[0056] 在另一个方面,本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体,其中该轻链可变区具有以下序列

[0057] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQQHPGKAPKLMYGDSEKPSGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTGTKVTVLGGPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19);并且该重链可变区具有以下序列

[0058] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGASGGQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:23)。

[0059] 在又另一个方面,本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体,其中该轻链可变区具有以下序列

[0060] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQQHPGKAPKLMYGDSEKPSGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTGTKVTVLGGPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19);并且该重链可变区具有以下序列

[0061] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGASGSQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:24)。

[0062] 在以上方面中任一项所述的一些实施例中,本发明的分离的抗体是单克隆抗体。

在一些实施例中,该分离的抗体是IgG1。在一些实施例中,该分离的抗体包括 λ 轻链。在一些实施例中,该分离的抗体包括 κ 轻链。在一些实施例中,该分离的抗体的Fc区上的糖基化位点是唾液酸化的(例如二唾液酸化的)。

[0063] 在以上方面中任一项所述的一些实施例中,本发明的分离的抗体是人源化抗体或完全人源抗体。

[0064] 在一些实施例中,该分离的抗体以1-100、5-150、5-100、5-75、5-50、10-50、或10-40pM的 K_D 结合至人FcRn。

[0065] 在一些实施例中,本发明的分离的抗体结合啮齿动物(例如小鼠或大鼠)的FcRn。在一些实施例中,本发明的分离的抗体以小于200、150、100、50、或40pM的 K_D 结合啮齿动物(例如小鼠或大鼠)的FcRn。

[0066] 在另一个方面,本发明特征在于编码本文所述的任何分离的抗体的核酸分子。

[0067] 在又另一个方面,本发明特征在于含有编码本文所述的任何抗体的核酸分子的载体。

[0068] 在另一个方面,本发明特征在于表达本文所述的任何分离的抗体的宿主细胞。该宿主细胞包括编码本文所述的任何分离的抗体的核酸分子或含有编码本文所述的任何分离的抗体的核酸分子的载体,其中该核酸分子或载体由该宿主细胞表达。

[0069] 在一些实施例中,该宿主细胞是中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。在一些实施例中,该宿主细胞是Sp2细胞或NS0细胞。

[0070] 在另一个方面,本发明特征在于制备本文所述的任何分离的抗体的方法。该方法包括:a)提供宿主细胞,其包括编码本文所述的任何分离的抗体的核酸分子或含有编码本文所述的任何分离的抗体的核酸分子的载体,并且b)在允许形成抗体的条件下在该宿主细胞中表达该核酸分子或载体。

[0071] 在一些实施例中,该方法包括从宿主细胞中回收抗体的步骤,例如浓度为约1-100、1-50、1-25、2-50、5-50、或2-20mg/ml。

[0072] 在其他实施例中,该方法中使用的宿主细胞是CHO细胞。

[0073] 在另一个方面,本发明特征在于包含本文所述的任何分离的抗体和一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂的药物组合物。

[0074] 在一些实施例中,药物组合物包含治疗有效剂量的量的抗体。

[0075] 在另一个方面,本发明特征在于增加受试者中IgG分解代谢的方法。在另一个方面,本发明特征在于减少受试者中的自身抗体的方法。在又另一个方面,本发明特征在于治疗或减少受试者中基于免疫复合体的免疫应答激活的方法。这些方法包括向受试者给予本文所述的任何分离的抗体或包含本文所述的任何分离的抗体的药物组合物。

[0076] 在一些实施例中,受试者中的免疫应答是急性或慢性免疫应答。

[0077] 在一些实施例中,受试者具有选自下组的医学病症或者急性免疫应答被选自下组的医学病症激活,该组由以下各项组成:寻常天疱疮、狼疮肾炎、重症肌无力、格-巴二氏综合征、抗体介导的排斥、重大抗磷脂抗体综合征、免疫复合体介导的血管炎、肾小球炎、离子通道病、视神经脊髓炎、自身免疫性听力损失、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、自身免疫性溶血性贫血(AIHA)、免疫性嗜中性粒细胞减少症、扩张型心肌病、以及血清病。

[0078] 在一些实施例中,受试者具有选自下组的医学病症或者慢性免疫应答被选自下组

的医学病症激活,该组由以下各项组成:慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经疾病(CIDP)、全身性狼疮、适用于急性治疗的慢性疾病形式、反应性关节炎、原发性胆汁性肝硬化、溃疡性结肠炎、以及抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)相关性血管炎。

[0079] 在一些实施例中,受试者具有自身免疫疾病或免疫应答被自身免疫疾病激活。具体地,该自身免疫疾病选自下组,该组由以下各项组成:斑秃、强直性脊柱炎、抗磷脂综合征、青铜色皮肤病(Addison's disease)、溶血性贫血、自身免疫性肝炎、肝炎、白塞氏病(Behcets disease)、大疱性类天疱疮、心肌病、口炎性腹泻-皮炎、慢性疲劳免疫功能障碍综合征、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经疾病、变应性肉芽肿性血管炎(Churg-Strauss syndrome)、瘢痕性类天疱疮、局限性硬皮病(CREST综合征)、冷凝集素病、克罗恩氏病、皮炎、盘状狼疮、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛、纤维肌炎、格雷夫斯病、桥本氏甲状腺炎、甲状腺功能减退症、炎症性肠病、自身免疫性淋巴增生综合征、特发性肺纤维化、IgA肾病、胰岛素依赖性糖尿病、幼年型关节炎、扁平苔藓、狼疮、美尼尔氏病(Ménière's Disease)、混合性结缔组织病、多发性硬化症、恶性贫血、结节性多动脉炎、多软骨炎、多腺性综合征、风湿性多肌痛、多发性肌炎、原发性无丙种球蛋白血症、原发性胆汁性肝硬化、银屑病、雷诺氏现象、莱特尔氏综合征、风湿热、类风湿关节炎、结节病、硬皮病、肖格伦综合征、僵人综合征、大动脉炎、颞动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、白癜风、以及韦格纳氏肉芽肿病。

[0080] 定义

[0081] 本文中的术语“抗体”以最广泛的含义使用,并且涵盖各种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)和抗体片段,只要它们表现出FcRn抗原结合活性即可。

[0082] “抗体片段”包含完整抗体的一部分,优选完整抗体的抗原结合区或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段、双抗体、线性抗体、单链抗体分子和多特异性抗体。

[0083] 如本文所用,术语“分离的抗体”是指已经从其生产性宿主细胞环境的组分中分离和/或回收的抗体。其生产性宿主细胞环境的污染物组分是会干扰抗体的研究、诊断或治疗用途的物质。污染物组分可以包括酶、激素和其他蛋白质或非蛋白质溶质。在一些实施例中,将抗体纯化(1)至大于95重量%的抗体(如通过例如Lowry方法确定的),并且在一些实施例中大于99重量%;(2)至足以通过使用例如旋转杯式测序仪获得N末端或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度,或(3)至同质,在还原或非还原条件下使用例如考马斯蓝或银染通过SDS-PAGE确定的。分离的抗体包含重组细胞内的原位抗体。然而,通常通过至少一个纯化步骤制备分离的抗体。如按照FDA“工业指导(Guidance for Industry)”文件推荐进行的基于ELISA的HCP测定法确定的,分离的抗体的药物制剂通常具有小于250ppm(例如,小于200ppm、150ppm、100ppm)的宿主细胞蛋白(HCP)。

[0084] 如本文所用,术语“单克隆抗体”是指从基本上同质的抗体群体获得的抗体,即群体中的各个抗体具有相同的一级序列,除了可能以少量存在的天然发生的突变。单克隆抗体是高度特异性的并针对单个抗原位点(即人FcRn上的表位)。与通常包括针对不同表位的不同抗体的多克隆抗体制剂相反,每个单克隆抗体针对抗原上的单个表位。修饰语“单克隆”表示抗体的特征是从基本上同质的抗体群体获得,并且不被解释为需要通过任何特定

方法产生抗体。

[0085] 如本文所用,术语“可变区”和“可变结构域”是指抗体的轻链和重链的部分,包括互补决定区(CDR,例如CDR L1、CDR L2、CDR L3、CDR H1、CDR H2和CDR H3)和框架区(FR)的氨基酸序列。根据本发明使用的方法,分配给CDR和FR的氨基酸位置根据Kabat (Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学意义的蛋白质的序列],第5版,Public Health Service,National Institutes of Health[美国国立卫生研究院公共卫生服务部门],Bethesda,MD[马里兰州贝塞斯达],(1991))来定义。使用该编号系统,实际的线性氨基酸序列可以包含与可变区的CDR(在此进一步定义的)或FR(在此进一步定义的)的缩短或插入对应的更少或另外的氨基酸。例如,重链可变区可以在CDR H2的残基52后包括单个插入残基(即,根据Kabat的残基52a)以及在重链FR的残基82后包括插入残基(即,根据Kabat的残基82a、82b、82c等)。可以通过在抗体序列与“标准的”Kabat编号序列同源的区域进行比对来确定给定抗体的残基Kabat编号。

[0086] 如本文所用,术语“互补决定区”和“CDR”是指抗体可变结构域的区域,其可以是序列上高变的和/或形成结构上定义的环。CDR也被称为高变区。轻链可变区和重链可变区各具有三个CDR。轻链可变区包含CDR L1、CDR L2、和CDR L3。重链可变区包含CDR H1、CDR H2、和CDR H3。每个CDR可以包括来自Kabat定义的互补决定区的氨基酸残基(即在轻链可变区中的大约残基24-34(CDR L1)、50-56(CDR L2)和89-97(CDR L3)以及在重链可变区中的大约残基31-35(CDR H1)、50-65(CDR H2)和95-102(CDRH3))。

[0087] 如本文所用,术语“FcRn”是指结合IgG抗体(例如,IgG1抗体)的Fc区的新生儿Fc受体。示例性FcRn是具有UniProt ID No.P55899的人FcRn。据信人FcRn负责通过将组成型内化的IgG结合并转运到细胞表面以进行IgG的再循环来保持IgG的半衰期。

[0088] 如本文所用,术语“亲和力”和“结合亲和力”是指两个分子之间的结合相互作用的强度。通常,结合亲和力是指分子的单个结合位点与其结合配偶体(例如分离的抗体及其靶标(例如,本发明的分离的抗-FcRn抗体和人FcRn))之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另有说明,结合亲和力是指内在结合亲和力,其反映了结合对成员之间的1:1相互作用。两个分子之间的结合亲和力通常通过解离常数(K_D)或亲和常数(K_A)来描述。彼此之间具有低结合亲和力的两个分子通常缓慢结合,容易趋向于解离,并表现出较大的 K_D 。彼此之间具有高亲和力的两个分子通常容易结合,趋向于保持结合更长久,并表现出较小的 K_D 。在实例2(“SPR方法”)中描述了确定人FcRn抗体的 K_D 的一种方法。使用这种方法,N022、N023、N024、N026、和N027的 K_D 分别为31、31.4、35.5、36.5、和19.3pM。

[0089] 如本文所用,术语“抑制IgG结合FcRn”是指本发明的抗-FcRn抗体阻断或抑制IgG(例如IgG1)与人FcRn结合的能力。在一些实施例中,本发明的抗-FcRn抗体(例如)在IgG结合的人FcRn上的位点处结合FcRn。因此,本发明的抗-FcRn抗体能够抑制IgG(例如,受试者的自身抗体)与FcRn的结合。在一些实施例中,分子(例如,本发明的抗-FcRn抗体)基本上或完全抑制与IgG的结合。在一些实施例中,IgG的结合降低10%、20%、30%、50%、70%、80%、90%、95%或甚至100%。

[0090] 如本文所用,术语“疏水性氨基酸”是指具有相对低水溶性的氨基酸。疏水性氨基酸包括但不限于亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸和脯氨酸。本发明中特别优选的疏水性氨基酸是丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸。

[0091] 如本文所用,术语“极性氨基酸”是指在其侧链中具有由带不同电负性的原子诱导的化学极性的氨基酸。极性氨基酸的极性取决于氨基酸侧链中原子之间的电负性和侧链结构的不对称性。极性氨基酸包括但不限于丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、酪氨酸、色氨酸、天冬酰胺和谷氨酰胺。本发明特别优选的极性氨基酸是丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、半胱氨酸和酪氨酸。

[0092] 如本文所用,术语“酸性氨基酸”是指其侧链含有pKa在3.5和4.5之间的羧酸基团的氨基酸。酸性氨基酸包括但不限于天冬氨酸和谷氨酸。

[0093] 如本文所用,术语“碱性氨基酸”是指其侧链含有pKa在9.5和13之间的氨基的氨基酸。碱性氨基酸包括但不限于组氨酸、赖氨酸和精氨酸。

[0094] 如本文所用,术语“同一性百分比(%)”是指候选序列(例如本发明的抗-FcRn抗体)的氨基酸(或核酸)残基与参比序列(例如野生型抗-FcRn抗体)的氨基酸(或核酸)残基在比对这些序列和引入缺口(如果必要的话)后的同一性百分比,引入缺口是为了实现最大同一性百分比(即,缺口可以在候选序列和参比序列中的一者或两者中引入用于最佳比对并且出于比较目的可以忽略非同源序列)。出于确定序列同一性百分比的目的的比对可以用本领域技术中的多种方式来实现,例如使用公众可得的计算机软件,如BLAST、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域的技术人员可以确定用于测量比对的适当参数,包括为了实现在被比较的序列的全长上进行最大比对所需要的任何算法。在一些实施例中,给定候选序列对、与、或针对给定参比序列的氨基酸(或核酸)序列同一性百分比(可替代地被描述为具有或包含对、与、或针对给定参比序列的某一氨基酸(或核酸)序列同一性百分比的给定候选序列)计算如下:

[0095] $100 \times (A/B \text{ 的分数})$

[0096] 其中A是在候选序列和参比序列的比对中记为相同的氨基酸(或核酸)残基的数目,并且其中B是参比序列中的氨基酸(或核酸)残基的总数。在候选序列的长度不等于参比序列的长度的一些实施例中,候选序列相对于参比序列的氨基酸(或核酸)序列同一性百分比不等于参比序列相对于候选序列的氨基酸(或核酸)序列同一性百分比。

[0097] 在具体实施例中,出于比较参比序列与候选序列的比对可以显示该候选序列在该候选序列的全长或该候选序列的连续氨基酸(或核酸)残基的选定部分上表现出50%至100%同一性。出于比较目的而比对的候选序列的长度为参比序列长度的至少30%,例如至少40%,例如至少50%、60%、70%、80%、90%或100%。当候选序列中的位置被与参比序列中的相应位置相同的氨基酸(或核酸)残基占据时,则分子在该位置处是相同的。

[0098] 如本文所用,术语“宿主细胞”是指包含从其相应的核酸表达蛋白质所需要的必要细胞组件(例如,细胞器)的一种运载体。这些核酸通常包含在核酸载体中,这些核酸载体可以通过本领域已知的常规技术(例如转化、转染、电穿孔、磷酸钙沉淀、直接显微注射等)引入到宿主细胞中。宿主细胞可以是原核细胞(例如细菌细胞),或真核细胞(例如哺乳动物细胞(例如,CHO细胞))。如本文所述,宿主细胞用于表达编码本发明的抗-FcRn抗体的一种或多种多肽。

[0099] 如本文所用,术语“载体”是指一种核酸分子,该核酸分子能够转运它已经连接上的另一种核酸。一种类型的载体是“质粒”,其是指可以连接另外的DNA片段的环状双链DNA环。另一种类型的载体是噬菌体载体。另一种类型的载体是病毒载体,其中另外的DNA区段

可以连接到病毒基因组中。某些载体能够在引入它们的宿主细胞中自主复制(例如,具有细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体)。其他载体(例如非附加型哺乳动物载体)可以在引入宿主细胞后整合到宿主细胞的基因组中,从而与宿主基因组一起复制。此外,某些载体能够指导它们可操作地连接的基因的表达。此类载体在本文中被称为“重组表达载体”(或简称为“重组载体”)。通常,在重组DNA技术中有用的表达载体通常是以质粒的形式。

[0100] 如本文所用,术语“受试者”是指哺乳动物,例如优选人类。哺乳动物包括但不限于人类和家畜和农场动物,例如猴子(例如食蟹猴)、小鼠、狗、猫、马和牛等。

[0101] 如本文所用,术语“药物组合物”是指含有活性成分以及一种或多种赋形剂和稀释剂以使得该活性成分适用于给予方法的一种药学或药物配制品。本发明的药物组合物包含与抗-FcRn抗体相容的药学上可接受的组分。药物组合物可以是处于水性形式用于静脉内或皮下给予或处于片剂或胶囊形式用于口服给予。

[0102] 如本文所用,术语“药学上可接受的载体”是指药物组合物中的一种赋形剂或稀释剂。药学上可接受的载体必须与配制品的其他成分相容并且对接受者无害。在本发明中,药学上可接受的载体必须为Fc构建体提供适当的药物稳定性。载体的性质由于给予模式而不同。例如,对于静脉内给予,通常使用水性溶液载体;对于口服给予,优选固体载体。

[0103] 如本文所用,术语“治疗有效量”是指有效诱导受试者或患者所希望的生物效应或有效治疗具有在此描述的病症或失调的患者的量,例如药物剂量。在此还应理解的是“治疗有效量”可以解释为以一个剂量或以任何剂量或途径使用,单独使用或与其他治疗剂组合使用产生所希望的治疗效果的量。

附图说明

[0104] 图1包括显示在pH6.0下抗体N022-N024、N026和N027与人或食蟹猴FcRn的IgG竞争性结合的两个图和一个表。

[0105] 图2包括显示抗体N023、N024、N026和N027对小鼠中IgG分解代谢的影响的图。

[0106] 图3包括显示抗体N027对小鼠中IgG水平和靶标占用的剂量依赖性作用的图。

[0107] 图4包括显示在给予不同剂量的抗体N027后食蟹猴中IgG分解代谢和靶标占用的选择性诱导的图。

[0108] 图5包括显示小鼠中N027的生物分布的图。

[0109] 图6包括实验时间线和显示N027在小鼠胶原抗体诱导的关节炎模型中的功效的图。

[0110] 图7包括实验时间线和显示N027在小鼠慢性特发性血小板减少性紫癜(ITP)模型中的功效的两个图。

[0111] 发明详细说明

[0112] 本发明特征在于以高亲和力结合人新生儿Fc受体(FcRn)的分离的抗体。本发明特征在于抗-FcRn抗体,用于制备抗-FcRn抗体的方法和组合物,以及阻断FcRn活性、减少基于免疫复合体的免疫应答激活和治疗免疫性疾病的方法。

[0113] I. 抗-FcRn抗体

[0114] 总体上,本发明特征在于以高亲和力结合人FcRn的分离的抗体。本发明的抗-FcRn抗体是指可以结合人FcRn并抑制IgG(例如IgG自身抗体)与FcRn结合的抗体。在一些实施例

中,该抗体是单克隆抗体。在其他实施例中,该抗体是多克隆抗体。在一些实施例中,该抗体选自下组,该组由以下各项组成:嵌合抗体、亲和力成熟的抗体、人源化抗体和人源抗体。在某些实施例中,抗体是抗体片段,例如Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂或scFv。

[0115] 在一些实施例中,该抗体是嵌合抗体。例如,抗体含有来自接合到异源非人源序列、人源序列或人源化序列(例如框架序列和/或恒定结构域序列)的非人供体的抗原结合序列。在一个实施例中,非人供体是小鼠。在另一个实施例中,抗原结合序列是合成的,例如通过诱变(例如,噬菌体展示筛选等)获得。在另一个实施例中,嵌合抗体具有非人(例如,小鼠)可变区和人恒定区。在一个实例中,将小鼠轻链可变区与人 κ 轻链融合。在另一个实例中,小鼠重链可变区与人IgG1恒定区融合。

[0116] 在一个方面,本发明特征在于能够结合人FcRn的分离的抗体。该分离的抗体包含:(1)轻链可变区(其包括CDRL1、CDRL2、和CDRL3)以及(2)重链可变区(其包括CDRH1、CDRH2、和CDRH3),其中该CDRL1具有一种序列,该序列与TGTGSDVGSYNLVS(SEQ ID NO:1)的序列具有至少92%同一性;该CDRL2具有一种序列,该序列与GDSEPS(SEQ ID NO:2)的序列具有至少85%同一性;该CDRL3具有一种序列,该序列与SSYAGSGIYV(SEQ ID NO:3)的序列具有至少90%同一性;该CDRH1具有一种序列,该序列与以下序列具有至少80%同一性:TYAMG(SEQ ID NO:4)、DYAMG(SEQ ID NO:5)、或NYAMG(SEQ ID NO:6);该CDRH2具有一种序列,该序列与以下序列具有至少92%同一性:SIGSSGAQTRYADS(SEQ ID NO:7)、SIGASGSQTRYADS(SEQ ID NO:8)、SIGASGAQTRYADS(SEQ ID NO:9)、或SIGASGGQTRYADS(SEQ ID NO:10);并且该CDRH3具有一种序列,该序列与LAIGDSY(SEQ ID NO:11)的序列具有至少85%同一性。在一些实施例中,该抗体以低于200、150、100、50、或40pM的K_D结合人FcRn。在一些实施例中,该抗体结合人FcRn的K_D小于或等于一种抗体(其具有N022、N023、N024、N026、或N027的轻链可变区和重链可变区,并且进一步具有与其正在比较的抗体相同的Fc区)的K_D。

[0117] 在一些实施例中,本发明的分离的抗体具有:CDRL1,其具有X₁TGTGSDVGSYNX₂VS(SEQ ID NO:12)的序列;CDRL2,其具有GDX₃X₄RPS(SEQ ID NO:13)的序列;CDRL3,其具有X₅SYX₆GSGIYV(SEQ ID NO:14)的序列;CDRH1,其具有Z₁YAMG(SEQ ID NO:15)的序列;CDRH2,其具有SIGZ₂SGZ₃QTZ₄YADS(SEQ ID NO:16)的序列;以及CDRH3,其具有LAZ₅Z₆DSY(SEQ ID NO:17)的序列;其中X₁是极性或非极性氨基酸(例如,优选是T、A、S或I),X₂是非极性氨基酸(例如,优选是L或I),X₃是极性氨基酸(例如,优选是S、N或T),X₄是极性或非极性氨基酸(例如,优选是Q、E或N),X₅是极性或非极性氨基酸(例如,优选是C、S、I或Y),X₆是非极性氨基酸(例如,优选是A或V),Z₁是极性或非极性氨基酸(例如,优选是E、T、D或N),Z₂是极性或非极性氨基酸(例如,优选是S或A),Z₃是G、S或A,Z₄是非极性氨基酸(例如,优选是K或R),Z₅是非极性或非极性氨基酸(例如,优选是I、L或H),并且Z₆是G、S、D、Q或H,并且其中该抗体以小于200、150、100、50、或40pM的K_D结合人FcRn。

[0118] 在其他实施例中,本发明的分离的抗体具有:CDRL1,其具有TGTGSDVGSYNLVS(SEQ ID NO:1)的序列;CDRL2,其具有GDSEPS(SEQ ID NO:2)的序列;CDRL3,其具有SSYAGSGIYV(SEQ ID NO:3)的序列;CDRH1,其具有Z₁YAMG(SEQ ID NO:15)的序列;CDRH2,其具有SIGZ₂SGZ₃QTRYADS(SEQ ID NO:18)的序列;以及CDRH3,其具有LAIGDSY(SEQ ID NO:11)的序列;其中Z₁是T、D或N,Z₂是S或A,并且Z₃是G、S或A。

[0119] 表1显示了本发明的一些示例性抗-FcRn抗体的轻链和重链互补决定区(CDR)的氨

基酸序列。

[0120] 表1

[0121]	抗-FcRn 抗体	CDR L1	CDR L2	CDR L3	CDR H1	CDR H2	CDR H3
	N022	TGTGSDVG SYNLVS (SEQ ID NO: 1)	GDSERP S (SEQ ID NO: 2)	SSYAGS GIYV (SEQ ID NO: 3)	TYAMG (SEQ ID NO: 4)	SIGSSGAQT RYADS (SEQ ID NO: 7)	LAIGDSY (SEQ ID NO: 11)
[0122]	N023	TGTGSDVG SYNLVS (SEQ ID NO:	GDSERP S (SEQ ID	SSYAGS GIYV (SEQ ID	DYAMG (SEQ ID NO: 5)	SIGASGSQT RYADS (SEQ ID NO:	LAIGDSY (SEQ ID NO: 11)
		1)	NO: 2)	NO: 3)		8)	
	N024	TGTGSDVG SYNLVS (SEQ ID NO: 1)	GDSERP S (SEQ ID NO: 2)	SSYAGS GIYV (SEQ ID NO: 3)	NYAMG (SEQ ID NO: 6)	SIGASGAQT RYADS (SEQ ID NO: 9)	LAIGDSY (SEQ ID NO: 11)
	N026	TGTGSDVG SYNLVS (SEQ ID NO: 1)	GDSERP S (SEQ ID NO: 2)	SSYAGS GIYV (SEQ ID NO: 3)	TYAMG (SEQ ID NO: 4)	SIGASGGQT RYADS (SEQ ID NO: 10)	LAIGDSY (SEQ ID NO: 11)
	N027	TGTGSDVG SYNLVS (SEQ ID NO: 1)	GDSERP S (SEQ ID NO: 2)	SSYAGS GIYV (SEQ ID NO: 3)	TYAMG (SEQ ID NO: 4)	SIGASGSQT RYADS (SEQ ID NO: 8)	LAIGDSY (SEQ ID NO: 11)

[0123] 表2显示了本发明的这些示例性抗-FcRn抗体的轻链可变区和重链可变区的SEQ ID NO。

[0124] 表2

[0125]	抗-FcRn 抗体	轻链可变区	重链可变区
	N022	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 20
	N023		SEQ ID NO: 21
	N024		SEQ ID NO: 22
	N026		SEQ ID NO: 23
	N027		SEQ ID NO: 24

[0126] 在一些实施例中,本发明的分离的抗体的轻链可变区具有一种序列,该序列与以

下序列具有至少90%同一性

[0127] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMIYG

[0128] DSRPSGVSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTG

[0129] TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD

[0130] SSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19)。

[0131] 在一些实施例中,本发明的分离的抗体的重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0132] EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSS

[0133] IGSSGAQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI

[0134] GDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP

[0135] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK

[0136] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE

[0137] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT

[0138] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL

[0139] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:20)。

[0140] 在一些实施例中,本发明的分离的抗体的重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0141] EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMGWVRQAPGKGLEWVSS

[0142] IGASGSQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI

[0143] GDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP

[0144] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK

[0145] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE

[0146] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT

[0147] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL

[0148] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:21)。

[0149] 在一些实施例中,本发明的分离的抗体的重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0150] EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMGWVRQAPGKGLEWVSS

[0151] IGASGAQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI

[0152] GDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP

[0153] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK

[0154] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE

[0155] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT

[0156] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM

[0157] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:22)。

[0158] 在其他实施例中,本发明的分离的抗体的重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0159] EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSS
[0160] IGASGGQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI
[0161] GDSYWGGQTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
[0162] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
[0163] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
[0164] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT
[0165] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
[0166] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:23)。

[0167] 在又其他实施例中,本发明的分离的抗体的重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0168] EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSS
[0169] IGASGSQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI
[0170] GDSYWGGQTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
[0171] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
[0172] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
[0173] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT
[0174] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
[0175] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:24)。

[0176] 本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体,其中该轻链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGT
GSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMIYGDSEPSGVSNRFSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVF
GTGKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYA
ASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19);并且该重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0177] EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSS
[0178] IGSSGAQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI
[0179] GDSYWGGQTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
[0180] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
[0181] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
[0182] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT
[0183] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
[0184] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:20)。

[0185] 本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体,其中该轻链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGT

GSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMYGDSEPSGVSNRFSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVF
GTGKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYA
ASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19); 并且该重链可变区具有一
种序列, 该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0186] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMGWVRQAPGKGLEWVSS
[0187] IGASGSQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI
[0188] GDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
[0189] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK
[0190] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
[0191] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT
[0192] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
[0193] TKNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:21)。

[0194] 本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体, 其中该轻链可
变区具有一种序列, 该序列与以下序列具有至少90%同一性QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGT
GSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMYGDSEPSGVSNRFSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVF
GTGKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYA
ASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19); 并且该重链可变区具有一
种序列, 该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0195] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMGWVRQAPGKGLEWVSS
[0196] IGASGAQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI
[0197] GDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
[0198] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK
[0199] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
[0200] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT
[0201] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
[0202] TKNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:22)。

[0203] 本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体, 其中该轻链可
变区具有一种序列, 该序列与以下序列具有至少90%同一性QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGT
GSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMYGDSEPSGVSNRFSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVF
GTGKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYA
ASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19); 并且该重链可变区具有一
种序列, 该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0204] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSS
[0205] IGASGGQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI
[0206] GDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
[0207] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK
[0208] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE

[0209] VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT

[0210] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM

[0211] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:23)。

[0212] 本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体,其中该轻链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGT
GSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMYGDSEPSGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYICSSYAGSGIYVF
GTGTVTLVGGPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYA
ASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19);并且该重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0213] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSS

[0214] IGASGSQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI

[0215] GDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP

[0216] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK

[0217] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE

[0218] VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT

[0219] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM

[0220] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:24)。

[0221] 此外,在本文所述的任何抗-FcRn抗体中,抗体的重链可变区具有一种序列,该序列与SEQ ID NO:20-24中任一个的序列具有至少95%、97%、99%、或100%同一性。在本文所述的任何抗-FcRn抗体中,轻链可变区具有一种序列,该序列与SEQ ID NO:19的序列具有至少95%、97%、99%、或100%同一性。

[0222] 本发明的抗体可以在CDR之外(即在框架区(FR)中)进一步包含氨基酸取代、添加和/或缺失。在一些实施例中,本发明的抗体可以进一步包括以下氨基酸取代中的任何一个或多个:A23V、S30R、L80V、A84T、E85D、A93V(相对于SEQ ID NO:20-24中任一个的序列)以及Q38H、V58I、和G99D(相对于SEQ ID NO:19的序列)。

[0223] 在一些实施例中,本发明的抗体可以包括抗体的恒定区(例如,Fc区)中的氨基酸取代、添加和/或缺失,这些氨基酸取代、添加和/或缺失例如导致降低的效应子功能,例如减少的补体依赖性细胞溶解(CDC)、抗体依赖性细胞介导的细胞溶解(ADCC)、和/或抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)、和/或减少的B细胞杀伤。恒定区不直接参与抗体与其靶标的结合,而是表现出各种效应子功能,例如抗体参与抗体依赖性细胞毒性。在一些实施例中,本发明的抗体的特征在于在天然杀伤(NK)细胞上减少与人补体因子C1q和/或人Fc受体的结合(即不结合)。在其他实施例中,本发明的抗体的特征在于减少与人Fc γ RI、Fc γ RIIA和/或Fc γ RIIIA的结合(即不结合)。为了改变或减少抗体依赖性效应子功能,例如CDC、ADCC、ADCP和/或B细胞杀伤,本发明的抗体可以是IgG类并且含有一个或多个氨基酸取代E233、L234、G236、D265、D270、N297、E318、K320、K322、A327、A330、P331、和/或P329(根据Kabat(Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学意义的蛋白质的序列],第5版,Public Health Service,National Institutes of Health[美国国立卫生

研究院公共卫生服务部门], Bethesda, MD [马里兰州贝塞斯达], (1991)) 的 EU 指数来编号)。在一些实施例中, 抗体含有突变 L234A/L235A 或 D265A/N297A。优选地, 本发明的抗-FcRn 抗体相对于 SEQ ID NO: 20-24 中任一个的序列含有氨基酸取代 N297A, 这样使得本发明的抗体变为糖基化形式。所得到的非效应子抗体显示与补体或 Fc 受体 (即, 补体 C1q 结合) 非常小的结合, 表明低的 CDC 潜能。

[0224] 在其他实施例中, 本发明的抗体可以包括具有提高抗体稳定性的特异性氨基酸变化的抗体。

[0225] 此外, 在其他实施例中, 为了最小化潜在的免疫原性, 本发明的一些抗体 (例如 N024、N026 和 N027) 可以通过将氨基酸 D355 和 L357 替代 (相对于 SEQ ID NO: 20-24 中任一个的序列) 为谷氨酸和甲硫氨酸而经历从 G1m17.1 至 G1m17 的同种异型改变。

[0226] 在其他实施例中, 本发明的抗体 (例如 N022-N024、N026 和 N027) 相对于 SEQ ID NO: 20-24 中任一个的序列在残基 446 处不包含 C-末端赖氨酸。

[0227] 本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体, 其中该轻链可变区具有以下序列

[0228] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQQHPGKAPKLMYIG

[0229] DSERPSGVSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTG

[0230] TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD

[0231] SSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 19); 并且该重链可变区具有以下序列 EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGSSGAQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVSVLTIVLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 20)。

[0232] 本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体, 其中该轻链可变区具有以下序列

[0233] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQQHPGKAPKLMYIG

[0234] DSERPSGVSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTG

[0235] TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD

[0236] SSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 19); 并且该重链可变区具有以下序列 EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGASGSQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVSVLTIVLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 21)。

[0237] 本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体, 其中该轻链可

变区具有以下序列

[0238] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMYIG

[0239] DSEPSGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYICSSYAGSGIYVFGTG

[0240] TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD

[0241] SSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19); 并且该重链可变区具有以下序列EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMGWRQAPGKGLEWVSSIGASGAQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVSVLTIVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:22)。

[0242] 本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体,其中该轻链可变区具有以下序列

[0243] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMYIG

[0244] DSEPSGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYICSSYAGSGIYVFGTG

[0245] TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD

[0246] SSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19); 并且该重链可变区具有以下序列EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWRQAPGKGLEWVSSIGASGGQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVSVLTIVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:23)。

[0247] 本发明特征在于一种包含轻链可变区和重链可变区的分离的抗体,其中该轻链可变区具有以下序列

[0248] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMYIG

[0249] DSEPSGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYICSSYAGSGIYVFGTG

[0250] TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD

[0251] SSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19); 并且该重链可变区具有以下序列EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWRQAPGKGLEWVSSIGASGSQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVSVLTIVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:24)。

[0252] 在又其他实施例中,本发明的抗体是唾液酸化的抗体。

[0253] 在本文所述的任何抗-FcRn抗体中,在一些实施例中,抗体以小于200、150、100、50、或40pM的 K_D 结合小鼠或大鼠FcRn。

[0254] 在本文所述的任何抗-FcRn抗体中,在一些实施例中,抗体以1-100、5-150、5-100、5-75、5-50、10-50、或10-40pM的亲和力结合人FcRn。

[0255] 本发明的抗-FcRn抗体可以是免疫球蛋白抗体同种型IgG、IgE、IgM、IgA或IgD。优选地,抗-FcRn抗体是免疫球蛋白抗体同种型IgG。抗-FcRn抗体也可以是任何免疫球蛋白抗体同种型亚型。例如,抗-FcRn抗体可以是IgG亚型IgG1、IgG2、IgG3、或IgG4。优选地,抗-FcRn抗体是IgG1亚型。特别地,本发明的抗-FcRn抗体含有IgG G1m17或G1m17.1同种异型重链。在一些实施例中,抗-FcRn抗体的轻链可以是 κ 轻链、 λ 轻链、或 κ - λ 嵌合轻链。在优选的实施例中,本发明的抗-FcRn抗体含有全长 λ 轻链。

[0256] 在一些实施例中,本发明的抗体是单克隆的。本发明的抗体也可以是多克隆的、嵌合的、人源化的或完全人源的。在一些实施例中,本发明的抗体可以是亲和力成熟的。在其他实施例中,本发明的抗体可以是抗体片段。

[0257] 不受理论的约束,据信本发明的抗-FcRn抗体与IgG竞争结合人FcRn并抑制IgG与人FcRn的结合。通过本发明的抗体的氢氘交换的表位定位表明抗体结合FcRn上位于Fc-FcRn相互作用界面中和/或与其邻近的表位,这表明本发明的抗体通过直接抑制阻断IgG与FcRn的结合。此外,表位定位的结合位点远离FcRn的白蛋白结合位点。因此,不应当抑制血清白蛋白结合,并且不应当降低血清白蛋白水平。事实上,实验证据表明抗-FcRn抗体给予后小鼠白蛋白水平保持不变,表明白蛋白再循环不被抗体与FcRn的结合干扰。II. 唾液酸化的抗-FcRn抗体

[0258] 在一些实施例中,本发明的抗-FcRn抗体的Fc区的糖基化位点以摩尔计至少25%、50%、75%或更多被唾液酸化。本发明的抗体可以用唾液酸转移酶(ST6 Gal-I)进行唾液酸化,该唾液酸转移酶以有序的方式使底物唾液酸化。具体来说,在某些条件下,ST6唾液酸转移酶催化在抗-FcRn抗体的Fc区上的聚糖的 α 1,3臂上添加唾液酸,然后在 α 1,6臂上添加第二个唾液酸,随后从 α 1,3臂上去除唾液酸。

[0259] 本发明的分离的抗-FcRn抗体可以在生产性宿主细胞(例如哺乳动物细胞,例如共转染-或过表达-ST6唾液酸转移酶的哺乳动物细胞)的生产过程中进行唾液酸化。在其他实施例中,本发明的分离的抗-FcRn抗体可以在体外从生产性宿主细胞纯化后例如酶促地或通过化学共轭进行唾液酸化。生产唾液酸化的抗-FcRn抗体的方法描述于PCT公开W0 2014/179601中。

[0260] III. FcRn抑制

[0261] FcRn是I型跨膜蛋白,其作为结合IgG和结合血清白蛋白的、细胞内囊运输蛋白起作用。FcRn在内皮细胞、腔内上皮细胞、肝细胞、足细胞、粒细胞、单核细胞、巨噬细胞、树突细胞和NK细胞中表达,但不在B细胞或T细胞上表达。FcRn通过将组成型内化的IgG结合并转运回到细胞表面来维持IgG的半衰期。FcRn与Fc和血清白蛋白两者的结合在pH 6.0的早期内体中发生,随后将FcRn分选到囊泡中,该囊泡将FcRn结合的IgG或白蛋白转运回到细胞表面,其中FcRn在pH 7.4下快速释放IgG或白蛋白。这种转运周期通过将在循环中IgG和白蛋白循环利用并阻止转运到溶酶体降解来维持两者的半衰期。FcRn还捕获上皮细胞中内化的IgG-Fc并将其双向地转运至相对的顶端或基底外侧膜。该功能允许IgG转运至诸如胃肠道

的器官的内腔或将IgG或IgG-抗原复合物从内腔转运到基质层中的脉管系统或淋巴组织。

[0262] 为了研究FcRn对IgG体内平衡的贡献,已经对小鼠进行了工程化使得FcRn的轻链和重链的部分被“敲除”,这样使得这些蛋白质不被表达(Junghans等人,Proc Natl Acad Sci USA[美国国家科学院院刊]93:5512,1996)。在这些小鼠中,血清半衰期和IgG浓度显著降低,表明IgG体内平衡的FcRn依赖性机制。对啮齿动物模型(例如上述讨论的啮齿动物模型)的研究表明,FcRn的阻断可以增加IgG分解代谢,包括致病性自身抗体的分解代谢,从而抑制疾病(例如自身免疫性疾病)发展。FcRn还可以通过将免疫复合体转运到抗原降解和MHC加载区室来促成抗原呈递。

[0263] 本发明提供了以高亲和力结合人FcRn的分离的抗-FcRn抗体。本发明的抗-FcRn抗体与其他抗-FcRn抗体(例如,IgG、IgG自身抗体)竞争结合至FcRn并对其进行有效的抑制,从而增加其他抗-FcRn抗体(例如,IgG、IgG自身抗体)的分解代谢并减少其半衰期。本发明的抗-FcRn抗体可以用于治疗或减少受试者中免疫应答(例如由自身免疫疾病中的自身抗体引起的免疫应答)的基于免疫复合体的激活的方法中。

[0264] IV. 载体、宿主细胞和抗体产生

[0265] 本发明的抗-FcRn抗体可以由宿主细胞产生。该宿主细胞是指包含从其相应的核酸表达在此描述的多肽和构建体所需要的必要细胞组件(例如,细胞器)的运载体。这些核酸可以被包含在可以通过本领域已知的常规技术(例如转化、转染、电穿孔、磷酸钙沉淀、直接显微注射、感染等)引入到宿主细胞中的核酸载体中。核酸载体的选择部分取决于待使用的宿主细胞。通常,优选的宿主细胞是原核(例如细菌)或真核(例如哺乳动物)来源的。

[0266] 核酸载体构建和宿主细胞

[0267] 可以通过本领域已知的各种方法制备编码本发明的抗-FcRn抗体的氨基酸序列的核酸序列。这些方法包括但不限于寡核苷酸介导的(或定点)诱变和PCR诱变。编码本发明的抗-FcRn抗体的核酸分子可以使用标准技术(例如基因合成)来获得。可替代地,可以使用本领域的标准技术(例如QuikChange™诱变)使编码野生型抗-FcRn抗体的核酸分子突变以含有特异性氨基酸取代。可以使用核苷酸合成仪或PCR技术合成核酸分子。

[0268] 可以将编码本发明的抗-FcRn抗体的核酸序列插入到能够在原核或真核宿主细胞中复制和表达核酸分子的载体中。许多载体可用于本领域中,并且可用于本发明的目的。每种载体可以包含可以针对与特定宿主细胞的相容性进行调整和优化的各种组分。例如,载体组分可以包括但不限于复制起点、选择标记基因、启动子、核糖体结合位点、信号序列、编码感兴趣蛋白质的核酸序列、和转录终止序列。

[0269] 在一些实施例中,将哺乳动物细胞用作本发明的宿主细胞。哺乳动物细胞类型的实例包括但不限于:人胚肾(HEK)(例如HEK293、HEK 293F)、中国仓鼠卵巢(CHO)、HeLa、COS、PC3、Vero、MC3T3、NS0、Sp2/0、VERY、BHK、MDCK、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20、T47D、NS0(不内源产生任何免疫球蛋白链的鼠骨髓瘤细胞系)、CRL7030和HsS78Bst细胞。在其他实施例中,将大肠杆菌(E.coli)细胞用作本发明的宿主细胞。大肠杆菌菌株的实例包括但不限于大肠杆菌294(ATCC® 31,446)、大肠杆菌λ1776(ATCC® 31,537)、大肠杆菌BL21(DE3)(ATCC® BAA-1025)和大肠杆菌RV308(ATCC® 31,608)。不同的宿主细胞对于蛋白质产物的翻译后加工和修饰具有特征性和特殊性机制。可以选择适当的细胞系或宿主系统以确保所表达的抗-FcRn抗体的正确修饰和加工。可以使用本领域的常规技术(例如转化、转染、电

穿孔、磷酸钙沉淀和直接显微注射),将上述表达载体引入适当的宿主细胞中。一旦将载体引入用于蛋白质产生的宿主细胞中,宿主细胞在适合于诱导启动子、选择转化体或扩增编码所希望的序列的基因的常规营养培养基中培养。用于治疗性蛋白质的表达的方法是本领域已知的,参见,例如,Paulina Balbas、Argelia Lorence(编辑)Recombinant Gene Expression: Reviews and Protocols (Methods in Molecular Biology)[重组基因表达:回顾和协议(分子生物学方法)],Humana Press[胡马纳出版社];2004年第二版(2004年7月20日);以及Vladimir Voynov和Justin A. Caravella(编辑)Therapeutic Proteins: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology)[治疗性蛋白质:方法和协议(分子生物学方法)],Humana Press[胡马纳出版社];2012年第二版(2012年6月28日)。

[0270] 蛋白质生产、回收和纯化

[0271] 用于生产本发明的抗-FcRn抗体的宿主细胞可以在本领域已知的培养基中生长并适合于培养所选择的宿主细胞。用于哺乳动物宿主细胞的合适培养基的实例包括最低基础培养基(MEM)、杜氏改良伊戈尔培养基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium, DMEM)、Expi293TM表达培养基、补充胎牛血清(FBS)的DMEM、和RPMI-1640。用于细菌宿主细胞的合适培养基的实例包括Luria肉汤(LB)加必需的补充剂,例如选择试剂,例如氨苄青霉素。在合适的温度(例如从约20°C至约39°C,例如从25°C至约37°C,优选37°C)下,并且在如5%至10%(优选8%)的CO₂水平下培养宿主细胞。培养基的pH通常为从约6.8至7.4,例如7.0,主要取决于宿主生物体。如果在本发明的表达载体中使用诱导型启动子,则在适合于激活启动子的条件下诱导蛋白质表达。

[0272] 蛋白质回收通常涉及破坏宿主细胞,通常通过例如渗透压休克、超声处理或裂解这样的手段。一旦细胞被破坏,可以通过离心或过滤除去细胞碎片。可以将蛋白质进一步纯化。本发明的抗-FcRn抗体可以通过蛋白质纯化领域中已知的任何方法纯化,例如通过蛋白A亲和力、其他色谱法(例如离子交换、亲和力和尺寸排阻柱色谱)、离心、差异溶解度、或通过用于纯化蛋白质的任何其他标准技术。(参见Process Scale Purification of Antibodies[抗体的工艺规模纯化],Uwe Gottschalk(编辑),John Wiley&Sons, Inc.[约翰威利父子公司],2009)。在一些情况下,抗-FcRn抗体可以偶联至标记物序列,例如有助于纯化的肽。标记物氨基酸序列的实例是结合具有微摩尔亲和力的镍功能化琼脂糖亲和柱的六组氨酸肽(His-标签)。适用于纯化的其他肽标签包括但不限于,对应于来源于流感血球凝集素蛋白的表位的血球凝集素“HA”标签。

[0273] 可替代地,可以通过受试者(例如人)的细胞,例如在治疗的情景中,通过给予包含编码本发明的抗-FcRn抗体的核酸分子的载体(例如逆转录病毒载体、腺病毒载体、痘病毒载体(例如,牛痘病毒载体,例如改良的牛痘安卡拉(Modified Vaccinia Ankara, MVA))、腺相关病毒载体和α病毒载体来生产本发明的抗-FcRn抗体。载体一旦在受试者的细胞内(例如通过转化、转染、电穿孔、磷酸钙沉淀、直接显微注射、感染等)将促进抗-FcRn抗体的表达,该抗-FcRn抗体然后从细胞分泌。如果疾病或失调的治疗是希望的结果,则不需要进一步的行动。如果希望收集蛋白质,则可以从受试者收集血液,并通过本领域已知的方法从血液中纯化蛋白质。

[0274] V. 药物组合物和制剂

[0275] 本发明特征在于包含本文所述的一种或多种抗-FcRn抗体的药物组合物。在一些实施例中,本发明的药物组合物含有一种或多种本发明的抗体(例如N022-N024、N026、和N027)作为治疗性蛋白质。在其他实施例中,含有一种或多种本发明的抗体(例如N022-N024、N026、和N027)的本发明的药物组合物在治疗中可以与其他试剂(例如治疗性生物制剂和/或小分子)或组合物组合使用。除了治疗有效量的抗体之外,药物组合物可以含有一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂,其可以通过本领域技术人员已知的方法配制。

[0276] 药物组合物中可接受的载体和赋形剂在使用的剂量和浓度下对接受者无毒性。可接受的载体和赋形剂可以包括缓冲剂、抗氧化剂、防腐剂、聚合物、氨基酸和碳水化合物。本发明的药物组合物能以可注射配制品的形式肠胃外给予。可以使用无菌溶液或任何药学上可接受的液体作为媒介物来配制用于注射(即静脉内注射)的药物组合物。药学上可接受的媒介物包括但不限于无菌水、生理盐水和细胞培养基(例如,杜氏改良伊戈尔培养基(DMEM)、 α -改良的伊戈尔培养基(α -MEM)、F-12培养基)。配制方法是本领域已知的,参见例如,Banga(编辑)Therapeutic Peptides and Proteins:Formulation,Processing and Delivery Systems[治疗性肽和蛋白质:配制、加工和递送系统](第二版),Taylor&Francis Group,CRC Press[泰勒-弗朗西斯集团CRC出版社](2006)。

[0277] 可以根据需要以单位剂量形式产生药物组合物。包含在药物制剂中的活性成分(例如一种或多种本发明的抗-FcRn抗体(例如,N022-N024、N026、和N027,优选N027和/或N024))的量是使得提供在指定的范围内的合适剂量(例如,在0.01-500mg/kg体重范围内的剂量)的量。

[0278] VI.途径、剂量和给予

[0279] 可以将含有一种或多种抗-FcRn抗体(例如,N022-N024、N026、和N027,优选N027和/或N024)作为治疗性蛋白质的本发明的药物组合物配制用于静脉内给予、肠胃外给予、皮下给予、肌内给予、动脉内给予、鞘内给予或腹膜内给予。具体地,优选是静脉内给予。还可以将药物组合物配制用于口服、鼻腔、喷雾、气溶胶、直肠或阴道给予或经由口服、鼻腔、喷雾、气溶胶、直肠或阴道进行给予。对于可注射配制品,各种有效的药物载体是本领域已知的。

[0280] 本发明的药物组合物的剂量取决于以下因素:包括给予途径、待治疗的疾病以及受试者的身体特征(例如年龄、体重、一般健康状况)。通常,在单次剂量中包含的本发明的抗-FcRn抗体(例如,N022-N024、N026、和N027中的任何一个,优选N027或N024)的量可以是有效预防、延迟或治疗该疾病而不引起显著毒性的量。本发明的药物组合物可以包括本发明的抗-FcRn抗体的剂量范围为从0.01至500mg/kg(例如,0.01、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、250、300、350、400、450、或500mg/kg),并且在更具体的实施例中,为约1至约100mg/kg,并且在更具体的实施例中为约1至约50mg/kg。剂量可以由医师根据常规因素(例如疾病的程度和受试者的不同参数)进行调节。

[0281] 该药物组合物以与剂量配制品相容的方式并且以产生症状的改善或好转的治疗有效的这样的量来给予。药物组合物以各种剂型(例如静脉内剂型、皮下剂型和口服剂型(例如,可吸收溶液、药物释放胶囊))给予。通常,治疗性蛋白质以1-100mg/kg(例如1-50mg/kg)给予。含有抗-FcRn抗体(例如,N022-N024、N026、和N027中任一个,优选N027或N024)的本发明的药物组合物可以例如每日、每周、每月、每半年、每年一次或多次(例如,1-10次或

更多次),或者视医学需要向对其有需要的受试者进行给予。剂量能以单剂量或多剂量方案提供。随着患者的健康状况下降,医学病症改善或增加,给药之间的时间可以减少。

[0282] VII. 适应症

[0283] 通过本发明的抗-FcRn抗体阻断人FcRn在由IgG自身抗体驱动的疾病中具有治疗益处。FcRn阻断诱导整体IgG分解代谢和去除多种自身抗体而不扰乱血清白蛋白、小的循环代谢物或脂蛋白的能力提供了将自身抗体去除策略的效用和可及性扩大到自身抗体驱动的自身免疫疾病病理患者的方法。虽然本发明不受理论束缚,但是本发明的抗-FcRn抗体的主要作用机制可以是增加循环中致病性自身抗体的分解代谢,并且减少受影响组织中的自身抗体和免疫复合体沉积。

[0284] 含有一种或多种抗-FcRn抗体(例如,N022-N024、N026、和N027,优选N027和/或N024)的本发明的药物组合物和方法可用于促进致病性抗体(例如受试者中的IgG和IgG自身抗体)的分解代谢和清除,减少免疫应答,例如阻断受试者中基于免疫复合体的免疫应答激活,以及治疗受试者的免疫学病症或疾病。具体地,本发明的药物组合物和方法可用于减少或治疗基于免疫复合体的急性或慢性免疫应答激活。急性免疫应答可以被选自下组的医学病症激活,该组由以下各项组成:寻常天疱疮、狼疮肾炎、重症肌无力、格-巴二氏综合征、抗体介导的排斥、重大抗磷脂抗体综合征、免疫复合体介导的血管炎、肾小球炎、离子通道病、视神经脊髓炎、自身免疫性听力损失、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、自身免疫性溶血性贫血(AIHA)、免疫性嗜中性粒细胞减少症、扩张型心肌病、以及血清病。慢性免疫应答可以被选自下组的医学病症激活,该组由以下各项组成:慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经疾病(CIDP)、全身性狼疮、适用于急性治疗的慢性疾病形式、反应性关节炎、原发性胆汁性肝硬化、溃疡性结肠炎、以及抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)相关性血管炎。

[0285] 在一些实施例中,本发明的药物组合物和方法可用于减少或治疗由自身免疫性疾病激活的免疫应答。自身免疫疾病可以选自下组,该组由以下各项组成:斑秃、强直性脊柱炎、抗磷脂综合征、青铜色皮肤病(Addison's disease)、溶血性贫血、自身免疫性肝炎、肝炎、白塞氏病(Behcet's disease)、大疱性类天疱疮、心肌病、口炎性腹泻-皮炎、慢性疲劳免疫功能障碍综合征、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经疾病、变应性肉芽肿性血管炎(Churg-Strauss syndrome)、瘢痕性类天疱疮、局限性硬皮病(CREST综合征)、冷凝集素病、克罗恩氏病、皮炎、盘状狼疮、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛、纤维肌炎、格雷夫斯病、桥本氏甲状腺炎、甲状腺功能减退症、炎症性肠病、自身免疫性淋巴增生综合征、特发性肺纤维化、IgA肾病、胰岛素依赖性糖尿病、幼年型关节炎、扁平苔藓、狼疮、美尼尔氏病(Ménière's Disease)、混合性结缔组织病、多发性硬化症、恶性贫血、结节性多动脉炎、多软骨炎、多腺性综合征、风湿性多肌痛、多发性肌炎、原发性无丙种球蛋白血症、原发性胆汁性肝硬化、银屑病、雷诺氏现象、莱特尔氏综合征、风湿热、类风湿关节炎、结节病、硬皮病、肖格伦综合征、僵人综合征、大动脉炎、颞动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、白癜风、以及韦格纳氏肉芽肿病。

[0286] 具体地,本发明的药物组合物和方法可用于减少或治疗由全身性红斑狼疮、抗磷脂综合征、寻常天疱疮/大疱性类天疱疮、抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)相关性血管炎、重症肌无力或视神经脊髓炎激活的免疫应答。

具体实施方式

[0287] 1. 一种与人FcRn结合的分离的抗体,该分离的抗体包含:(1)轻链可变区,其包含CDR L1、CDR L2、和CDR L3,以及(2)重链可变区,其包含CDR H1、CDR H2、和CDR H3,其中

[0288] 所述CDR L1具有一种序列,该序列相对于TGTGSDVGSYNLVS (SEQ ID NO:1)的序列具有不超过两个氨基酸取代,

[0289] 所述CDR L2具有一种序列,该序列相对于GDSERPS (SEQ ID NO:2)的序列具有不超过一个氨基酸取代,

[0290] 所述CDR L3具有一种序列,该序列相对于SSYAGSGIYV (SEQ ID NO:3)的序列具有不超过一个氨基酸取代,

[0291] 所述CDR H1具有一种序列,该序列相对于TYAMG (SEQ ID NO:4)、DYAMG (SEQ ID NO:5)、或NYAMG (SEQ ID NO:6)的序列具有不超过一个氨基酸取代,

[0292] 所述CDR H2具有一种序列,该序列相对于SIGSSGAQTRYADS (SEQ ID NO:7)、SIGASGSQTRYADS (SEQ ID NO:8)、SIGASGAQTRYADS (SEQ ID NO:9)、或SIGASGGQTRYADS (SEQ ID NO:10)的序列具有不超过两个氨基酸取代,并且

[0293] 所述CDR H3具有一种序列,该序列相对于LAIGDSY (SEQ ID NO:11)的序列具有不超过一个氨基酸取代。

[0294] 2. 如实施方案1所述的分离的抗体,其中所述抗体结合人FcRn的 K_D 小于或等于抗体N026的 K_D 。

[0295] 3. 如实施方案1所述的分离的抗体,其中

[0296] 所述CDR L1具有序列TGTGSDVGSYNLVS (SEQ ID NO:1),

[0297] 所述CDR L2具有序列GDSERPS (SEQ ID NO:2),

[0298] 所述CDR L3具有序列SSYAGSGIYV (SEQ ID NO:3),

[0299] 所述CDR H1具有序列TYAMG (SEQ ID NO:4),

[0300] 所述CDR H2具有序列SIGSSGAQTRYADS (SEQ ID NO:7),并且

[0301] 所述CDR H3具有序列LAIGDSY (SEQ ID NO:11)。

[0302] 4. 如实施方案1所述的分离的抗体,其中

[0303] 所述CDR L1具有序列TGTGSDVGSYNLVS (SEQ ID NO:1),

[0304] 所述CDR L2具有序列GDSERPS (SEQ ID NO:2),

[0305] 所述CDR L3具有序列SSYAGSGIYV (SEQ ID NO:3),

[0306] 所述CDR H1具有序列DYAMG (SEQ ID NO:5),

[0307] 所述CDR H2具有序列SIGASGSQTRYADS (SEQ ID NO:8),并且

[0308] 所述CDR H3具有序列LAIGDSY (SEQ ID NO:11)。

[0309] 5. 如实施方案1所述的分离的抗体,其中

[0310] 所述CDR L1具有序列TGTGSDVGSYNLVS (SEQ ID NO:1),

[0311] 所述CDR L2具有序列GDSERPS (SEQ ID NO:2),

[0312] 所述CDR L3具有序列SSYAGSGIYV (SEQ ID NO:3),

[0313] 所述CDR H1具有序列NYAMG (SEQ ID NO:6),

[0314] 所述CDR H2具有序列SIGASGAQTRYADS (SEQ ID NO:9),并且

[0315] 所述CDR H3具有序列LAIGDSY (SEQ ID NO:11)。

- [0316] 6.如实施方案1所述的分离的抗体,其中
- [0317] 所述CDR L1具有序列TGTGSDVGSYNLVS (SEQ ID NO:1),
- [0318] 所述CDR L2具有序列GDSERPS (SEQ ID NO:2),
- [0319] 所述CDR L3具有序列SSYAGSGIYV (SEQ ID NO:3),
- [0320] 所述CDR H1具有序列TYAMG (SEQ ID NO:4),
- [0321] 所述CDR H2具有序列SIGASGGQTRYADS (SEQ ID NO:10),并且
- [0322] 所述CDR H3具有序列LAIGDSY (SEQ ID NO:11)。
- [0323] 7.如实施方案1所述的分离的抗体,其中
- [0324] 所述CDR L1具有序列TGTGSDVGSYNLVS (SEQ ID NO:1),
- [0325] 所述CDR L2具有序列GDSERPS (SEQ ID NO:2),
- [0326] 所述CDR L3具有序列SSYAGSGIYV (SEQ ID NO:3),
- [0327] 所述CDR H1具有序列TYAMG (SEQ ID NO:4),
- [0328] 所述CDR H2具有序列SIGASGSQTRYADS (SEQ ID NO:8),并且
- [0329] 所述CDR H3具有序列LAIGDSY (SEQ ID NO:11)。
- [0330] 8.一种与人FcRn结合的分离的抗体,该分离的抗体包含:(1)轻链可变区,其包含CDR L1、CDR L2、和CDR L3,以及(2)重链可变区,其包含CDR H1、CDR H2、和CDR H3,其中
- [0331] 所述CDR L1具有序列 X_1 GTGSDVGSYN X_2 VS (SEQ ID NO:12),
- [0332] 所述CDR L2具有序列GDX X_3 X X_4 RPS (SEQ ID NO:13),
- [0333] 所述CDR L3具有序列 X_5 SYX X_6 GSGIYV (SEQ ID NO:14),
- [0334] 所述CDR H1具有序列Z X_1 YAMG (SEQ ID NO:15),
- [0335] 所述CDR H2具有序列SIGZ Z_2 SGZ Z_3 QTZ Z_4 YADS (SEQ ID NO:16),所述CDR H3具有序列LAZ Z_5 Z Z_6 DSY (SEQ ID NO:17),其中
- [0336] X_1 是极性或疏水性氨基酸,
- [0337] X_2 是疏水性氨基酸,
- [0338] X_3 是极性氨基酸,
- [0339] X_4 是极性或酸性氨基酸,
- [0340] X_5 是极性或疏水性氨基酸,
- [0341] X_6 是疏水性氨基酸,
- [0342] Z_1 是极性或酸性氨基酸,
- [0343] Z_2 是极性或疏水性氨基酸,
- [0344] Z_3 是G、S、或A,
- [0345] Z_4 是碱性氨基酸,
- [0346] Z_5 是疏水性或碱性氨基酸,并且
- [0347] Z_6 是G、S、D、Q或H,并且
- [0348] 其中所述抗体以小于200pM、150pM、100pM、50pM、或40pM的 K_D 结合人FcRn。
- [0349] 9.如实施方案8所述的分离的抗体,其中
- [0350] 所述CDR L1具有序列 X_1 GTGSDVGSYN X_2 VS (SEQ ID NO:12),
- [0351] 所述CDR L2具有序列GDX X_3 X X_4 RPS (SEQ ID NO:13),
- [0352] 所述CDR L3具有序列 X_5 SYX X_6 GSGIYV (SEQ ID NO:14),

- [0353] 所述CDR H1具有序列Z₁YAMG(SEQ ID NO:15),
- [0354] 所述CDR H2具有序列SIGZ₂SGZ₃QTZ₄YADS(SEQ ID NO:16),所述CDR H3具有序列LAZ₅Z₆DSY(SEQ ID NO:17),其中
- [0355] X₁是T、A、S或I,
- [0356] X₂是L或I,
- [0357] X₃是S、N或T,
- [0358] X₄是Q、E或N,
- [0359] X₅是C、S、I或Y,
- [0360] X₆是A或V,
- [0361] Z₁是E、T、D或N,
- [0362] Z₂是S或A,
- [0363] Z₃是G、S或A,
- [0364] Z₄是K或R,
- [0365] Z₅是I、L或H,并且
- [0366] Z₆是G、S、D、Q或H。
- [0367] 10.如实施方案8或9所述的分离的抗体,其中
- [0368] 所述CDR L1具有一种序列,该序列相对于TGTGSDVGSYNLVS(SEQ ID NO:1)的序列具有不超过两个氨基酸取代,
- [0369] 所述CDR L2具有一种序列,该序列相对于GDSERPS(SEQ ID NO:2)的序列具有不超过一个氨基酸取代,
- [0370] 所述CDR L3具有一种序列,该序列相对于SSYAGSGIYV(SEQ ID NO:3)的序列具有不超过一个氨基酸取代,
- [0371] 所述CDR H1具有一种序列,该序列相对于TYAMG(SEQ ID NO:4)、DYAMG(SEQ ID NO:5)、或NYAMG(SEQ ID NO:6)的序列具有不超过一个氨基酸取代,
- [0372] 所述CDR H2具有一种序列,该序列相对于SIGSSGAQTRYADS(SEQ ID NO:7)、SIGASGSQTRYADS(SEQ ID NO:8)、SIGASGAQTRYADS(SEQ ID NO:9)、或SIGASGGQTRYADS(SEQ ID NO:10)的序列具有不超过两个氨基酸取代,并且
- [0373] 所述CDR H3具有一种序列,该序列相对于LAIGDSY(SEQ ID NO:11)的序列具有不超过一个氨基酸取代。
- [0374] 11.一种分离的抗体,该分离的抗体包含轻链可变区和重链可变区,该轻链可变区包含具有序列TGTGSDVGSYNLVS(SEQ ID NO:1)的CDR L1、具有序列GDSERPS(SEQ ID NO:2)的CDR L2、和具有序列SSYAGSGIYV(SEQ ID NO:3)的CDR L3,并且该重链可变区包含CDR H1、CDR H2、和CDR H3,其中
- [0375] 所述CDR H1具有序列Z₁YAMG(SEQ ID NO:15),
- [0376] 所述CDR H2具有序列SIGZ₂SGZ₃QTRYADS(SEQ ID NO:18),并且所述CDR H3具有序列LAIGDSY(SEQ ID NO:11),并且其中
- [0377] Z₁是T、D或N,
- [0378] Z₂是S或A,并且
- [0379] Z₃是G、S或A。

[0380] 12. 如实施方案1-11中任一项所述的分离的抗体,其中所述轻链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0381] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMIIYG

[0382] DSEPSGVSNRFSKSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTG

[0383] TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD

[0384] SSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19)。

[0385] 13. 如实施方案1-12中任一项所述的分离的抗体,其中所述重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0386] EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSS

[0387] IGSSGAQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI

[0388] GDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP

[0389] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK

[0390] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE

[0391] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT

[0392] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL

[0393] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:20)。

[0394] 14. 如实施方案1-12中任一项所述的分离的抗体,其中所述重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0395] EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMGWVRQAPGKGLEWVSS

[0396] IGASGSQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI

[0397] GDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP

[0398] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK

[0399] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE

[0400] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT

[0401] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL

[0402] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:21)。

[0403] 15. 如实施方案1-12中任一项所述的分离的抗体,其中所述重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0404] EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMGWVRQAPGKGLEWVSS

[0405] IGASGAQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI

[0406] GDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP

[0407] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK

[0408] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE

[0409] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT

[0410] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM

[0411] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS

VMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:22)。

[0412] 16. 如实施方案1-12中任一项所述的分离的抗体,其中所述重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0413] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSS
[0414] IGASGGQTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI
[0415] GDSYWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
[0416] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK
[0417] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
[0418] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT
[0419] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
[0420] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS

VMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:23)。

[0421] 17. 如实施方案1-12中任一项所述的分离的抗体,其中所述重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性

[0422] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSS
[0423] IGASGSQTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI
[0424] GDSYWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
[0425] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK
[0426] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
[0427] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT
[0428] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
[0429] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS

VMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:24)。

[0430] 18. 一种分离的抗体,该分离的抗体包含轻链可变区和重链可变区,其中所述轻链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMIYGDSEPSGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTGTKVTVLGGPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19);并且

[0431] 所述重链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSSIGSSGAQTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:20)。

[0432] 19. 一种分离的抗体,该分离的抗体包含轻链可变区和重链可变区,其中所述轻链可变区具有一种序列,该序列与以下序列具有至少90%同一性QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMIYGDSEPSGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTGTKVTVLGGPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKY

YAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19); 并且

[0433] 所述重链可变区具有一种序列, 该序列与以下序列具有至少90%同一性EVQLLES
GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMGWVRQAPGKLEWVSSIGASGSQTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQM
NSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:21)。

[0434] 20. 一种分离的抗体, 该分离的抗体包含轻链可变区和重链可变区, 其中所述轻链
可变区具有一种序列, 该序列与以下序列具有至少90%同一性QSALTQPASVSGSPGQSITISCT
GTGSDVGSYNLVS WYQQHPGKAPKLM IYGD SERPSGVSNRFS GSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIY
VFGTG TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN
KYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19); 并且

[0435] 所述重链可变区具有一种序列, 该序列与以下序列具有至少90%同一性EVQLLES
GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMGWVRQAPGKLEWVSSIGASGAQTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQM
NSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:22)。

[0436] 21. 一种分离的抗体, 该分离的抗体包含轻链可变区和重链可变区, 其中所述轻链
可变区具有一种序列, 该序列与以下序列具有至少90%同一性QSALTQPASVSGSPGQSITISCT
GTGSDVGSYNLVS WYQQHPGKAPKLM IYGD SERPSGVSNRFS GSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIY
VFGTG TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN
YAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19); 并且

[0437] 所述重链可变区具有一种序列, 该序列与以下序列具有至少90%同一性EVQLLES
GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKLEWVSSIGASGGQTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQM
NSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:23)。

[0438] 22. 一种分离的抗体, 该分离的抗体包含轻链可变区和重链可变区, 其中所述轻链
可变区具有一种序列, 该序列与以下序列具有至少90%同一性QSALTQPASVSGSPGQSITISCT
GTGSDVGSYNLVS WYQQHPGKAPKLM IYGD SERPSGVSNRFS GSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIY
VFGTG TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN
YAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19); 并且

[0439] 所述重链可变区具有一种序列, 该序列与以下序列具有至少90%同一性EVQLLES
GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKLEWVSSIGASGSQTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQM

NSLRAEDTAVYYCARLAIGDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:24)。

[0440] 23. 如实施方案13-22中任一项所述的分离的抗体,其中所述重链可变区具有一种序列,该序列与SEQ ID NO:20-24中任一个的序列具有至少95%、97%、99%、或100%同一性。

[0441] 24. 如实施方案12-23中任一项所述的分离的抗体,其中所述轻链可变区具有一种序列,该序列与SEQ ID NO:19的序列具有至少95%、97%、99%、或100%同一性。

[0442] 25. 如实施方案1-24中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体相对于SEQ ID NO:20-24中任一个的序列进一步包含氨基酸取代N297A。

[0443] 26. 如实施方案1-25中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体相对于SEQ ID NO:20-24中任一个的序列进一步包含氨基酸取代D355E和L357M。

[0444] 27. 如实施方案1-26中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体进一步包含以下氨基酸取代中的任何一个或多个:相对于SEQ ID NO:20-24中任一个的序列的A23V、S30R、L80V、A84T、E85D、A93V,以及相对于SEQ ID NO:19的序列的Q38H、V58I、和G99D。

[0445] 28. 如实施方案1-27中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体相对于SEQ ID NO:20-24中任一个的序列在残基446处不包含C-末端赖氨酸。

[0446] 29. 一种分离的抗体,该分离的抗体包含轻链可变区和重链可变区,其中所述轻链可变区具有以下序列

[0447] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMIIYG

[0448] DSERPSGVSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTG

[0449] TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD

[0450] SSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19);并且

[0451] 所述重链可变区具有以下序列

[0452] EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSS

[0453] IGSSGAQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI

[0454] GDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP

[0455] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK

[0456] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE

[0457] VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT

[0458] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL

[0459] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:20)。

[0460] 30. 一种分离的抗体,该分离的抗体包含轻链可变区和重链可变区,其中所述轻链可变区具有以下序列

[0461] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQHPGKAPKLMIIYG

[0462] DSERPSGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTG
[0463] TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD
[0464] SSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19); 并且

[0465] 所述重链可变区具有以下序列

[0466] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMGWVRQAPGKGLEWVSS
[0467] IGASGSQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI
[0468] GDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
[0469] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
[0470] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
[0471] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT
[0472] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
[0473] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:21)。

[0474] 31. 一种分离的抗体, 该分离的抗体包含轻链可变区和重链可变区, 其中所述轻链可变区具有以下序列

[0475] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQQHPGKAPKLMIIYG
[0476] DSERPSGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTG
[0477] TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD
[0478] SSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19); 并且

[0479] 所述重链可变区具有以下序列

[0480] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMGWVRQAPGKGLEWVSS
[0481] IGASGAQTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAI
[0482] GDSYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
[0483] VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
[0484] PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
[0485] VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT
[0486] VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
[0487] TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:22)。

[0488] 32. 一种分离的抗体, 该分离的抗体包含轻链可变区和重链可变区, 其中所述轻链可变区具有以下序列

[0489] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTGSDVGSYNLVSQYQQHPGKAPKLMIIYG
[0490] DSERPSGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSGIYVFGTG
[0491] TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD
[0492] SSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:19); 并且

[0493] 所述重链可变区具有以下序列

[0494] EVQLLES GGG L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S T Y A M G W V R Q A P G K G L E W V S S
[0495] I G A S G G Q T R Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R L A I
[0496] G D S Y W G Q G T M V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P
[0497] V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K
[0498] P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E
[0499] V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T
[0500] V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M
[0501] T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S
V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G (SEQ ID NO:23)。

[0502] 33.一种分离的抗体,该分离的抗体包含轻链可变区和重链可变区,其中所述轻链可变区具有以下序列

[0503] Q S A L T Q P A S V S G S P G Q S I T I S C T G T G S D V G S Y N L V S W Y Q Q H P G K A P K L M I Y G
[0504] D S E R P S G V S N R F S G S K S G N T A S L T I S G L Q A E D E A D Y Y C S S Y A G S G I Y V F G T G
[0505] T K V T V L G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G A V T V A W K A D
[0506] S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T P E Q W K S H K S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S (SEQ ID NO:19);并且

[0507] 所述重链可变区具有以下序列

[0508] EVQLLES GGG L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S T Y A M G W V R Q A P G K G L E W V S S
[0509] I G A S G S Q T R Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R L A I
[0510] G D S Y W G Q G T M V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P
[0511] V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K
[0512] P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E
[0513] V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T
[0514] V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M
[0515] T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S
S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G (SEQ ID NO:24)。

[0516] 34.如实施方案1-33中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体是单克隆抗体。

[0517] 35.如实施方案1-34中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体是IgG1。

[0518] 36.如实施方案1-35中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体包含 λ 轻链。

[0519] 37.如实施方案1-36中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体是唾液酸化的抗体。

[0520] 38.一种核酸分子,其编码如实施方案1-37中任一项所述的分离的抗体。

[0521] 39.一种载体,其包含如实施方案38所述的核酸分子。

[0522] 40.一种宿主细胞,其表达如实施方案1-37中任一项所述的分离的抗体,其中所述宿主细胞包含如实施方案38所述的核酸分子或如实施方案39所述的载体,其中所述核酸分子或载体在所述宿主细胞中表达。

[0523] 41.如实施方案40所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞是中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。

[0524] 42.一种制备如实施方案1-37中任一项所述的分离的抗体的方法,其中所述方法

包括:

[0525] a) 提供包含如实施方案38所述的核酸分子或如实施方案39所述的载体的宿主细胞,并且

[0526] b) 在允许形成所述抗体的条件下,在所述宿主细胞中表达所述核酸分子或载体。

[0527] 43. 如实施方案42所述的方法,该方法进一步包括以约1-100mg/ml、1-50mg/ml、1-25mg/ml、2-50mg/ml、5-50mg/ml、或2-20mg/ml的浓度回收所述抗体的步骤。

[0528] 44. 如实施方案42或43所述的方法,其中所述宿主细胞是CHO细胞。

[0529] 45. 一种药物组合物,其包含如实施方案1-37中任一项所述的分离的抗体和一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

[0530] 46. 如实施方案45所述的药物组合物,其中所述抗体处于治疗有效量。

[0531] 47. 一种增加受试者中IgG分解代谢的方法,所述方法包括向所述受试者给予如实施方案1-37中任一项所述的分离的抗体或如实施方案45或46所述的药物组合物。

[0532] 48. 一种减少受试者中自身抗体的方法,所述方法包括向所述受试者给予如实施方案1-37中任一项所述的分离的抗体或如实施方案45或46所述的药物组合物。

[0533] 49. 一种减少受试者中基于免疫复合体的免疫应答激活的方法,所述方法包括向所述受试者给予如实施方案1-37中任一项所述的分离的抗体或如实施方案45或46所述的药物组合物。

[0534] 50. 如实施方案49所述的方法,其中所述免疫应答是所述受试者中的急性或慢性免疫应答。

[0535] 51. 如实施方案50所述的方法,其中所述急性免疫应答被选自下组的医学病症激活,该组由以下各项组成:寻常天疱疮、狼疮肾炎、重症肌无力、格-巴二氏综合征、抗体介导的排斥、重大抗磷脂抗体综合征、免疫复合体介导的血管炎、肾小球炎、离子通道病、视神经脊髓炎、自身免疫性听力损失、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、自身免疫性溶血性贫血(AIHA)、免疫性嗜中性粒细胞减少症、扩张型心肌病、以及血清病。

[0536] 52. 如实施方案50所述的方法,其中该受试者患有慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经疾病(CIDP)、全身性狼疮、反应性关节炎、原发性胆汁性肝硬化、溃疡性结肠炎、以及抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)相关性血管炎。

[0537] 53. 如实施方案50所述的方法,其中该受试者患有自身免疫疾病。

[0538] 54. 如实施方案50所述的方法,其中该受试者患有选自下组的病症,该组由以下各项组成:斑秃、强直性脊柱炎、抗磷脂综合征、青铜色皮肤病、溶血性贫血、自身免疫性肝炎、肝炎、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、口炎性腹泻-皮炎、慢性疲劳免疫功能障碍综合征、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经疾病、变应性肉芽肿性血管炎、瘢痕性类天疱疮、局限性硬皮病(CREST综合征)、冷凝集素病、克罗恩氏病、皮炎、盘状狼疮、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛、纤维肌炎、格雷夫斯病、桥本氏甲状腺炎、甲状腺功能减退症、炎症性肠病、自身免疫性淋巴增生综合征、特发性肺纤维化、IgA肾病、胰岛素依赖性糖尿病、幼年型关节炎、扁平苔藓、狼疮、美尼尔氏病、混合性结缔组织病、多发性硬化症、恶性贫血、结节性多动脉炎、多软骨炎、多腺性综合征、风湿性多肌痛、多发性肌炎、原发性无丙种球蛋白血症、原发性胆汁性肝硬化、银屑病、雷诺氏现象、莱特尔氏综合征、风湿热、类风湿关节炎、结节病、硬皮病、肖格伦综合征、僵人综合征、大动脉炎、颞动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、

白癜风、以及韦格纳氏肉芽肿病。

[0539] 实例

[0540] 实例1-抗体产生

[0541] 使用骨粘连蛋白分泌信号将IgG重链和轻链核酸分子克隆到载体pCDNA 3.3中。HEK293F细胞在37°C和8%CO₂下在Expi293培养基中生长。以3x10⁶/ml的密度、每升1mg总DNA转染细胞。根据制造商的用法说明书在第2天和第3天添加增强剂,并且将细胞培养直至第5天或第6天(细胞活力降到50%至60%以下之前)。然后通过离心分离出细胞,并且将耗尽的培养基无菌过滤并在4°C下储存直至抗体纯化。通过双柱程序纯化抗体:POROS蛋白A层析,随后是POROSHS-50阳离子交换层析。前者从表达的抗体中分离出大部分宿主细胞蛋白,而后者去除重链二聚体、轻链二聚体和半抗体以及较高分子量的物质。基于SDS-PAGE凝胶分析将来自HS-50阳离子交换柱的级分合并,以便使全长抗体的纯度最大化。将收集的级分置于在pH7.2的PBS中平衡的SephadexG50缓冲交换柱上。将峰级分合并,使用30kDa的自旋浓缩器将其浓缩至大于10mg/ml,并且在-30°C下以2mg和5mg等分试样冷冻。通过SDS-PAGE检查最终的蛋白质样品的纯度。

[0542] 实例2-结合亲和力

[0543] 通过亲和力成熟,我们鉴定了超过100种抗-FcRn抗体,这些抗体与人FcRn的结合亲和力具有亚微摩尔范围内的K_D。选择五种抗体(N022-N024、N026和N027)用于进一步表征。使用表面等离子体共振(SPR)来确定这五种抗体中的每一种的结合率和解离率(分别为k_a和k_d)。简言之,将Bio-RadGLC传感器芯片插入到ProteOnXPR36中并进行空气初始化。在初始化后,适当时将运行的缓冲液切换至新鲜制备的缓冲液HBSP+(0.01M HEPES、0.15MNaCl、0.05%P20,pH7.4)或磷酸钠缓冲液(0.02M磷酸钠、0.15MNaCl、0.05%P20,pH6.0),用于剩余的测定和所有稀释。使用一次注射以30μl/min预处理芯片持续60秒(s),每一次注射具有0.5%SDS、50mMNaOH和10mMHCl。将来自GE医疗集团(GEHealthcare)(BR100839)的小鼠抗人Fc mAb在10mM乙酸盐缓冲液pH 5.0中稀释至10μg/ml,并且使用水平取向的标准胺偶联化学将约5,700个响应单位(RU)固定在GLC传感器芯片上。将待测试的抗-hFcRn mAb以垂直方向捕获到表面上,目的是在每个相互作用点固定约200个响应单位(RU)。将rhFcRn从1.25μg/ml开始进行五点三倍稀释系列稀释,留下一个泳道仅为缓冲液用于双重参考。分析物在水平方向以100μl/min流过传感器表面持续240s,解离时间为3,600s。通过在水平和垂直两个方向上以100μl/min注射3M MgCl₂持续30s来实现再生。对所有配体重复这些程序。

[0544] 使用ProteOn Manager软件进行数据分析。使用自动处理(Auto Process)工具对Y和X方向调整每个相互作用步骤,随后进行跨点(interspot)通道参考(去除非特异性相互作用)和空白通道双重参考(去除测定漂移)。用分组Rmax使用Langmuir 1:1动力学模型拟合数据。将在单次运行中从ProteOn Manager获得的k_a、k_d和K_D值平均,并且当N为3或更大时,在Microsoft Excel中计算它们的CV百分比。

[0545] 表3显示本发明的5种抗-FcRn抗体N022、N023、N024、N026和N027全部在pH 7.4以高亲和力结合人FcRn。本发明的抗-FcRn抗体在pH 7.4下与人FcRn结合的平衡解离常数K_D的范围为从19.4pM(N027)至36.5pM(N026)。表3还显示五种抗-FcRn抗体的快速结合率和缓慢解离率。在pH7.4下,与人FcRn结合的结合率在0.93-1.42X10⁶1/Ms的范围内。解离率在2.31-4.44X10⁶1/s的范围内。

[0546] 表3

[0547]		k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	R_{max}	Chi2	K_D (pM)
	N022	1.42E+06	4.42E-05	3.10E-11	146.93	7.65	31
	N023	9.27E+05	2.91E-05	3.14E-11	193.43	5.26	31.4
	N024	1.13E+06	4.03E-05	3.55E-11	181.17	6.12	35.5
	N026	1.22E+06	4.44E-05	3.65E-11	163.9	5.68	36.5
	N027	1.19E+06	2.31E-05	1.94E-11	211.33	7.81	19.4

[0548] 实例3-IgG竞争

[0549] 在异位表达细胞表面糖磷脂酰肌醇 (GPI) 连接的FcRn的人胚肾 (HEK) 293细胞上评价本发明的抗-FcRn抗体与IgG竞争结合人或食蟹猴FcRn的能力。人和食蟹猴FcRn α 氨基酸序列表现出97.5%的序列同一性。人和食蟹猴FcRn α 之间的355个氨基酸残基中有9个氨基酸残基不同,但没有一个是在表位映射结合区中。使用66nM荧光探针标记的非特异性IgG确定细胞结合的IgG的水平。IgG与细胞表面FcRn的结合在pH 6.0下进行,这允许IgG的Fc部分与FcRn相互作用。如图1所示,随着抗-FcRn抗体 (N022-N024、N026或N027) 的浓度增加,细胞结合的IgG的量显著降低。本发明的五种示例性抗-FcRn抗体中的每一个以浓度和饱和度依赖性方式抑制IgG的结合,证明抗-FcRn抗体 (N022-N024、N026和N027) 在pH 6.0下有效地与IgG竞争结合FcRn并抑制IgG结合FcRn的能力。抗体的EC50值范围在2nM和6nM之间。

[0550] 实例4-抗-FcRn抗体对小鼠中IgG分解代谢的影响

[0551] 为了测量本发明的抗-FcRn抗体对体内IgG分解代谢的影响,使用人FcRn转基因小鼠品系FcRn-/-hFcRn (32) Tg小鼠,其缺少小鼠FcRn但表达人FcRn,该人FcRn的组织分布类似于内源性小鼠和人FcRn。在第1天和第4天,向在第0天用500mg/kg人IgG注射的FcRn-/-hFcRn (32) Tg小鼠以10mg/kg给予单剂量的抗FcRn抗体。如图2所示,抗-FcRn抗体的给予增加了IgG的分解代谢,如在抗-FcRn抗体处理的小鼠中随时间测量的较低水平的IgG所观察到的。N024 (K_D = 35.5pM)、N026 (K_D = 36.5pM) 和N027 (K_D = 19.4pM) 的活性在10mg/kg下似乎相似。

[0552] 实例5-抗-FcRn抗体的体外和体内功能表征

[0553] 体外

[0554] 在异位表达细胞表面糖磷脂酰肌醇 (GPI) 连接的人或食蟹猴FcRn的人胚肾 (HEK) 293细胞上测量本发明的抗体的细胞结合亲和力。FcRn是I型跨膜蛋白,其IgG和白蛋白结合结构域朝向内体膜的腔内侧,或者当被转运到质膜时朝向细胞表面。在pH 7.4下抗-FcRn抗体与HEK293细胞上的细胞表面膜相关的FcRn的结合模拟在生理相关环境中和在只有Fab结构域而不是抗体的Fc结构域与FcRn相互作用的pH下的结合。FcRn细胞外结构域通过C末端工程化的GPI连接以高密度显示在细胞表面上。本发明的抗-FcRn抗体用荧光探针标记。允许抗体在冰上结合30分钟。然后在4°C下洗涤细胞,并使用荧光团标记的第二抗体 (例如山羊抗人IgG F(ab)₂) 检测结合的抗体。与人FcRn的结合是浓度依赖性的,并且本发明的抗体显示出范围从4nM至7nM的EC50值。

[0555] 也在内源表达的人FcRn上测量本发明的抗体的细胞结合亲和力。在小鼠和人血液中,单核细胞表达最高水平的FcRn并显示FcRn表达的最高阳性百分比。使用单核细胞系THP-1来评价抗-FcRn抗体在pH 7.4下与内源性人FcRn的结合。由于内源性FcRn主要在THP-

1细胞的细胞内内体小泡中,细胞首先用温和的洗涤剂渗透,并且在4°C下与抗-FcRn抗体一起在牛血清存在下孵育30分钟之前固定以阻断非特异性Fc受体结合。该测定能够区分与内源性人FcRn具有更好结合的抗体。抗-FcRn抗体与THP-1细胞的结合是浓度依赖性的。本发明的所有抗体(例如N022-N024、N026、和N027)显示出比IgG1更好的结合亲和力。抗体N027显示最高的结合亲和力,EC50值为3.0nM。

[0556] 在异位表达细胞表面GPI连接的FcRn的人胚肾(HEK)293细胞上评价本发明的抗-FcRn抗体与IgG竞争结合人或食蟹猴FcRn的能力。使用荧光探针标记的非特异性IgG确定细胞结合的IgG的水平。IgG与细胞表面FcRn的结合在pH 6.0下进行,这允许IgG的Fc部分与FcRn相互作用。如实例3和图1所示,随着抗-FcRn抗体的浓度增加,细胞结合的IgG的量显著降低。本发明的五种示例性抗-FcRn抗体(例如N022-N024、N026、和N027)中的每一个以浓度和饱和度依赖性方式抑制IgG的结合,证明抗-FcRn抗体在pH 6.0下有效地与IgG竞争结合FcRn并抑制IgG结合FcRn的能力。抗体的EC50值范围为从2nM至6nM。

[0557] 通过本发明的抗体的氢氘交换的表位定位表明抗体结合人FcRn上位于Fc-FcRn相互作用界面中和/或与其邻近的表位,这表明本发明的抗体通过直接抑制阻断IgG与FcRn的结合。此外,表位定位的结合位点远离FcRn的白蛋白结合位点,因此血清白蛋白结合不应当被抑制,并且血清白蛋白水平不应当降低。使用酶联免疫吸附测定(ELISA)来证实本发明的抗体不抑制血清白蛋白结合FcRn。将人FcRn的可溶性His-标记的细胞外结构域结合到平板表面,并且在pH 6.0下与浓度增加的抗-FcRn抗体预孵育。允许辣根过氧化物酶(HRP)耦联的人血清白蛋白与可溶性His标记的FcRn结合。没有一种抗体抑制白蛋白与FcRn结合。此外,体内实验证据还显示,在抗-FcRn抗体给予后小鼠白蛋白水平保持恒定,表明白蛋白再循环未被抗体与FcRn的结合干扰。

[0558] 体内

[0559] 为了测试本发明的抗-FcRn抗体对IgG分解代谢的体内影响,使用人FcRn转基因小鼠品系FcRn-/-hFcRn(32)Tg小鼠,其缺乏小鼠FcRn但表达人FcRn,该人FcRn的组织分布类似于内源性小鼠和人FcRn的组织分布。在第1天和第4天,向在第0天用人IgG注射的FcRn-/-hFcRn(32)Tg小鼠以10mg/kg给予单剂量的抗F-cRn抗体。如实例3和图2所示,抗-FcRn抗体的给予增加了IgG的分解代谢,如在抗-FcRn抗体处理的小鼠中随时间测量的较低水平的IgG所观察到的。N024($K_D=35.5\text{pM}$)、N026($K_D=36.5\text{pM}$)和N027($K_D=19.4\text{pM}$)的活性在10mg/kg下似乎相似。

[0560] 实例6-抗-FcRn抗体对小鼠中IgG水平和靶标占用的影响

[0561] 在向Tg32人FcRn(hFCGRT)转基因的、敲除小鼠FcRn(mFCGRT)的小鼠给予500mg/kg IVIg(示踪剂)后24小时静脉内(i.v.)给予N027。每天通过ELISA检测循环的人IgG。在用免疫表型分型细胞表面标记物孵育细胞随后进行固定和透化之后,通过荧光激活细胞分选(FACS)在来自裂解的全血的单核细胞中每天测量靶标占用。通过用Dy650标记的N027染色测量未占用的FcRn(n=4只雄性/组)。如图3所示,以剂量依赖性方式给予N027减少了IgG水平和未占用的FcRn的百分比。

[0562] 实例7-食蟹猴中IgG分解代谢和靶标占用的选择性诱导

[0563] 在t=0时在食蟹猴中i.v.给予N027。通过ELISA检测循环的内源性IgG和白蛋白。在用免疫表型分型细胞表面标记物孵育细胞随后进行固定和透化之后,通过FACS在来自裂

解的全血的单核细胞中测量靶标占用。通过用Dy650标记的N027染色测量未占用的FcRn。(n=3只雄性/组)。如图4所示,以剂量依赖性方式给予N027减少了IgG水平和未占用的FcRn的百分比,而血浆白蛋白水平保持不变。

[0564] 实例8-N027在小鼠中的生物分布

[0565] 向Tg32人FcRn转基因的、敲除小鼠FcRn的小鼠以30mg/kg i.v.给予荧光团(VT680)标记的N027或同种型人IgG1对照抗体。通过定量离体光学成像在各个器官中测量标记的抗体的水平。图5显示了在小鼠各器官中N027的生物分布。

[0566] 实例9-N027在小鼠胶原抗体诱导的关节炎中的功效

[0567] 通过在第1天腹膜内(i.p.)注射ArthritoMabTM混合物(MD生物科学公司(MD Biosciences))在Tg32人FcRn转基因的、敲除小鼠FcRn的小鼠中诱导胶原抗体诱导的关节炎,并且在第4天用100μg LPS i.p.诱导炎症性疾病活动。在疾病诱导和随机化后第6天,以5mg/kg i.v.治疗性地给予N027(箭头)。在随机化后第6天给予1g/kg的IVIG(阳性对照组)或运载体-PBS(阴性对照)(n=5/组)。如图6所示,当治疗性地给药时,N027在人转基因的FcRn小鼠中有效地抑制胶原抗体诱导的关节炎。

[0568] 实例10-N027在小鼠慢性特发性血小板减少性紫癜(ITP)中的功效

[0569] 通过连续输注抗血小板抗体(抗-CD41,MWReg30)皮下(s.c.)微渗透泵,在Tg32人FcRn(hFCGRT)转基因的、敲除小鼠FcRn(mFCGRT)的小鼠中诱导血小板减少。在泵植入后72小时(第3天)时循环血小板水平降低至 $300 \times 10^9/L$ 或更少。在泵植入后72小时(第3天)和120小时(第5天)治疗性地给予N027(A,n=4/组;B,n=7/组)。图7显示了N027对患有血小板减少症的小鼠中血小板水平的影响。

[0570] 其他实施例

[0571] 虽然本发明已经结合其具体实施例进行了描述,但是应当理解的是,本发明能够进行进一步的修改并且本申请旨在覆盖总体上遵循本发明的原理的本发明的任何变化、用途或改编,并且此类从本披露的偏离是在本发明所属领域中已知的或习惯的实践的范围内并且可以应用于上文所阐述的基本特征。

[0572] 所有出版物、专利和专利申请以其全部内容通过引用并入本文,其程度就像每个单独的出版物、专利或专利申请被具体地和单独地指明以其全部内容通过引用并入本文一样。

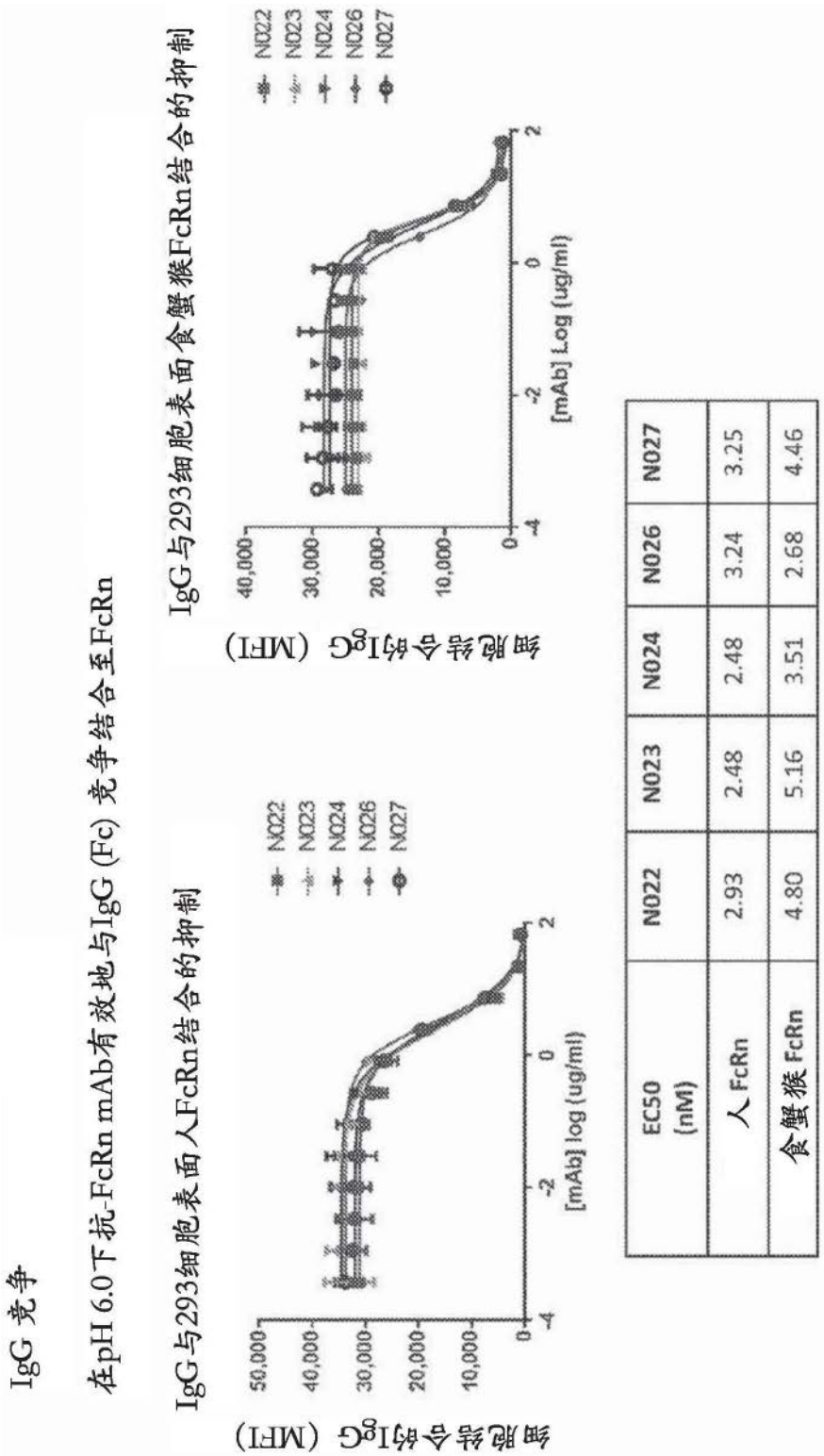


图1

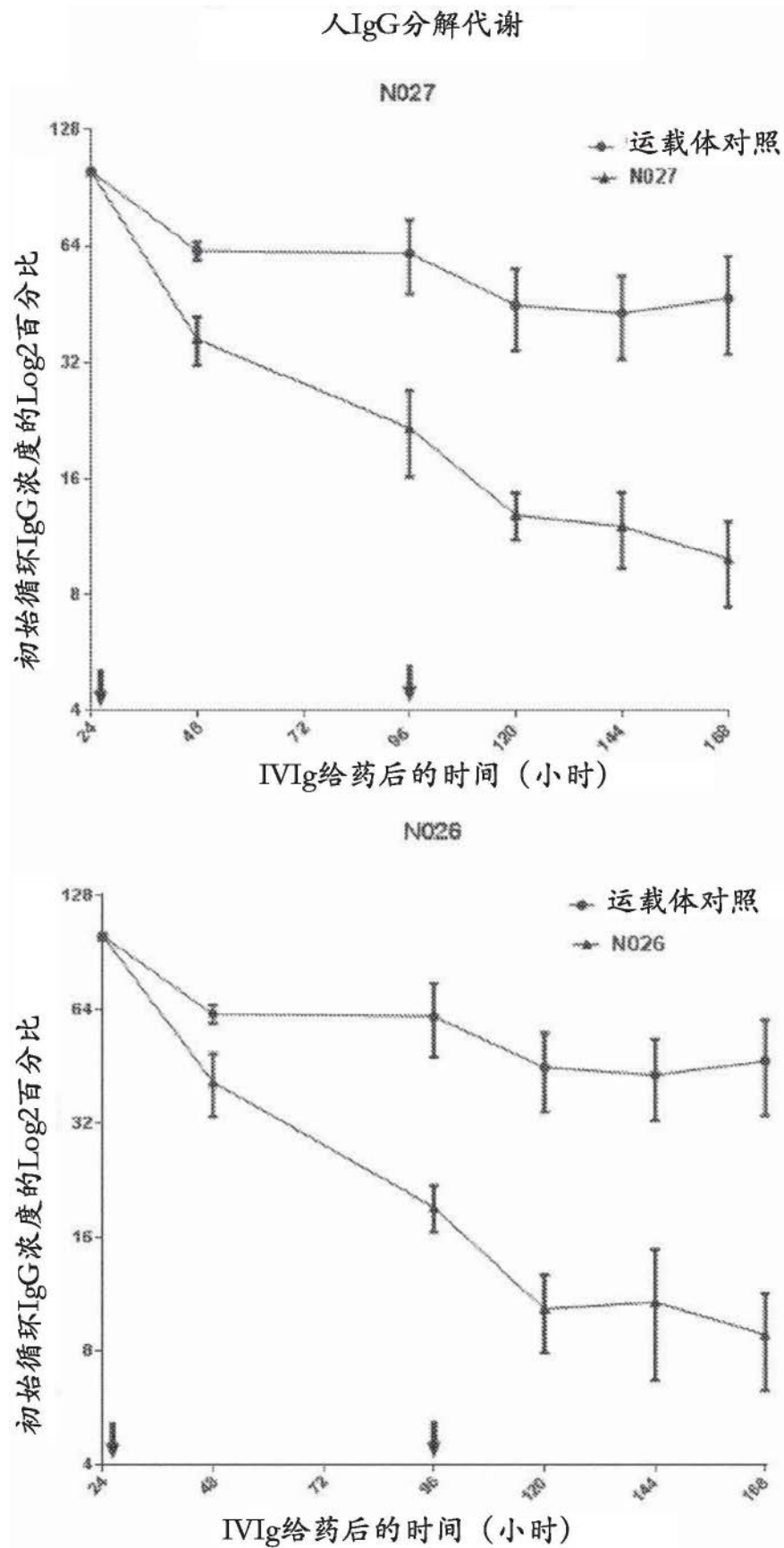


图2

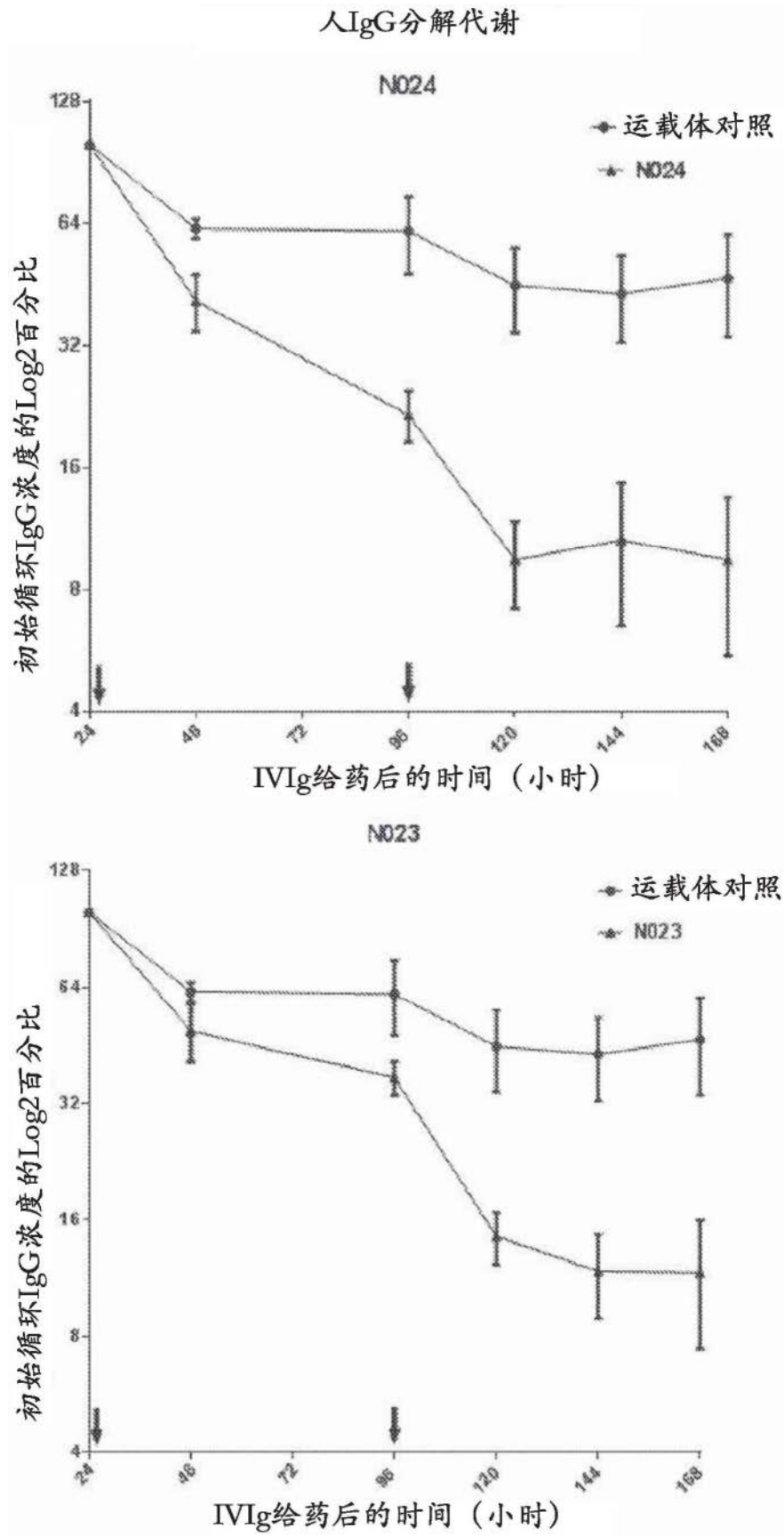


图2续

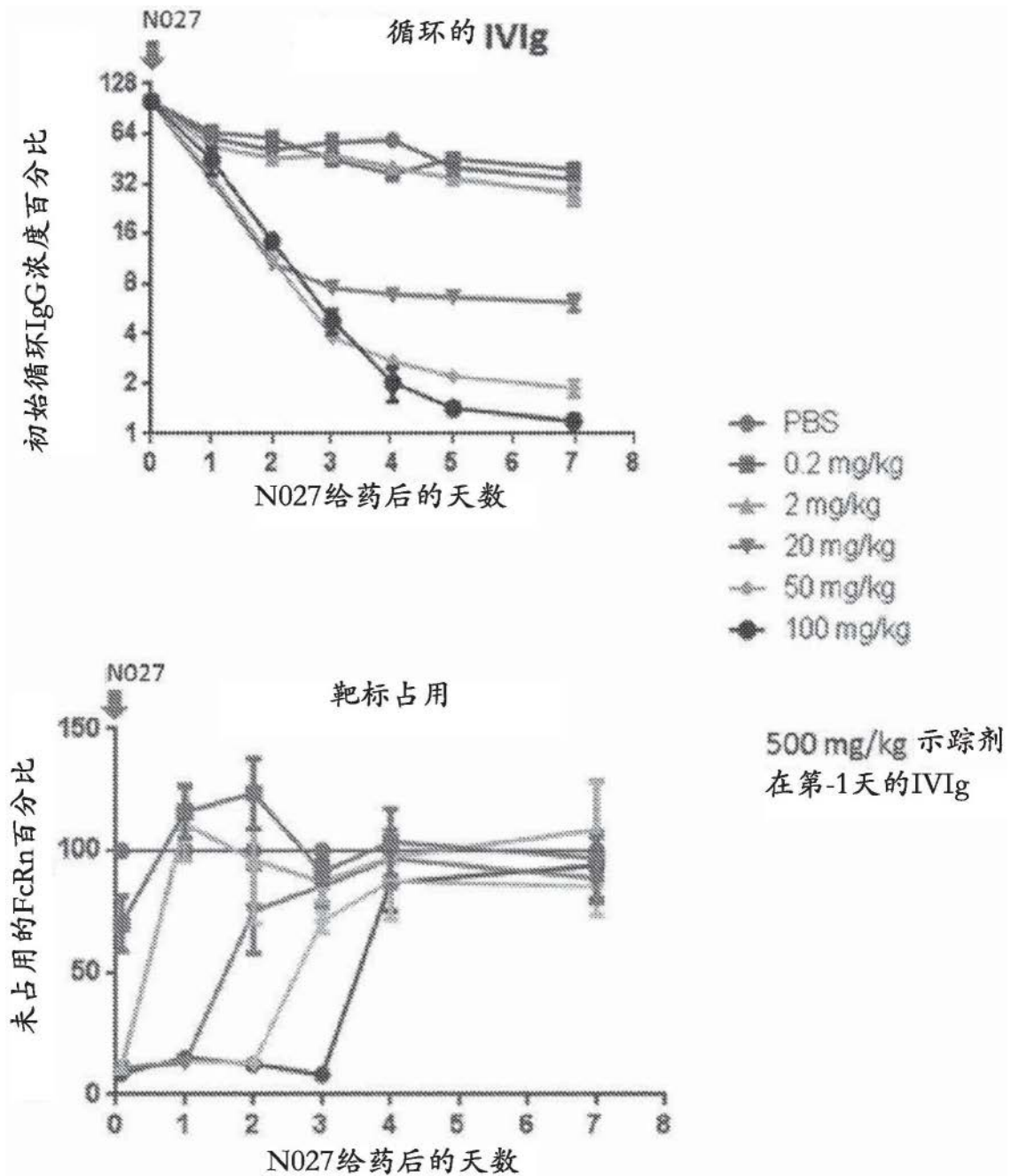


图3

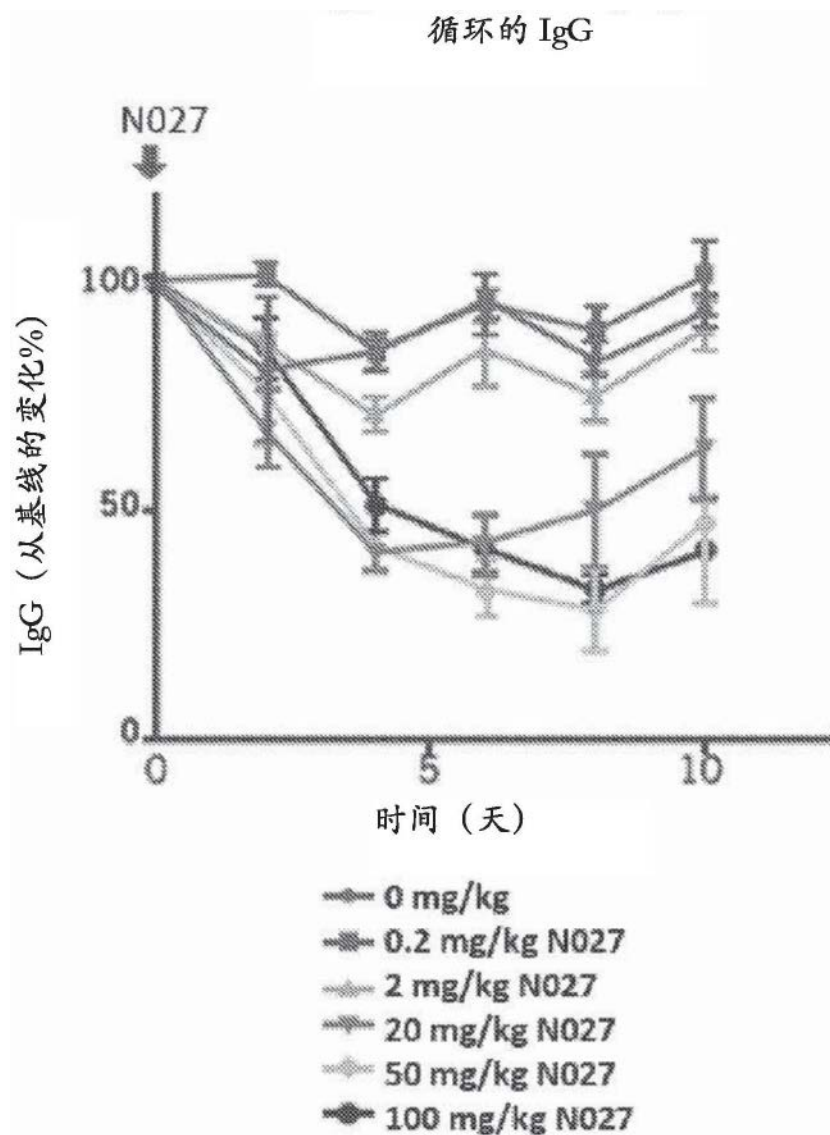


图4

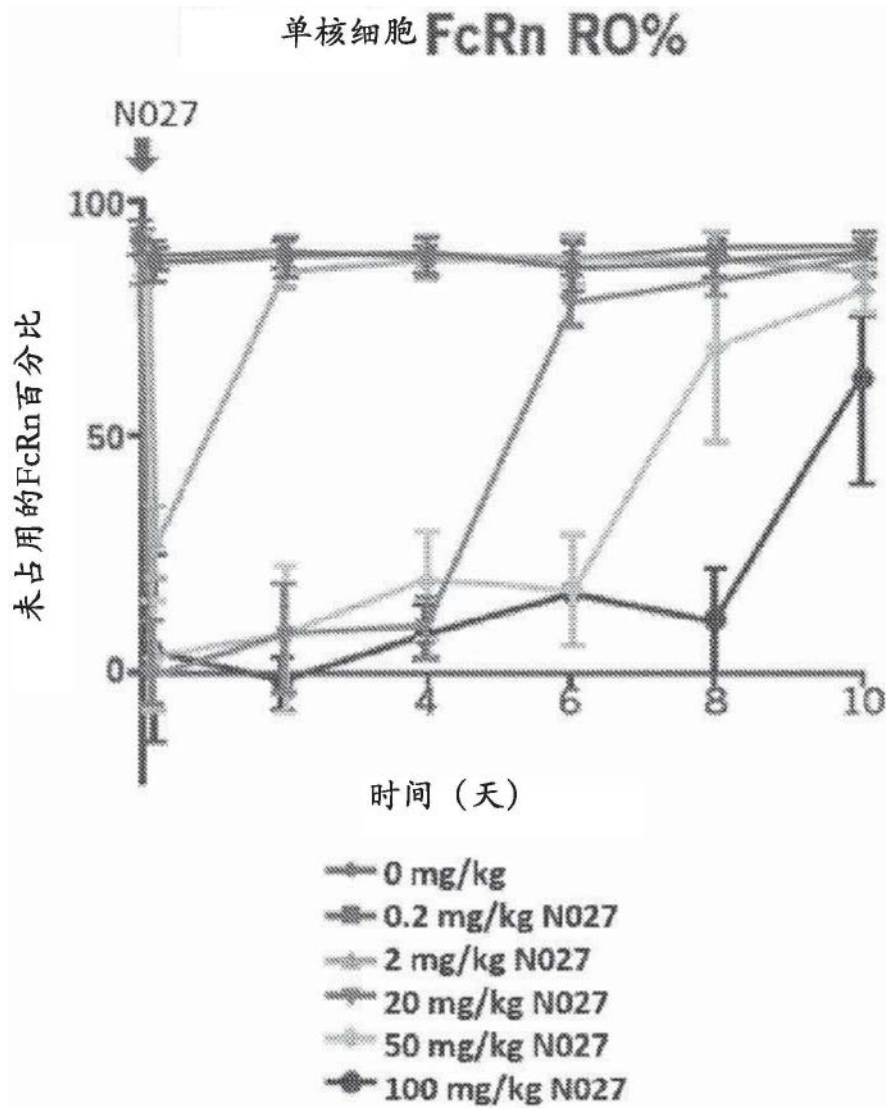


图4续

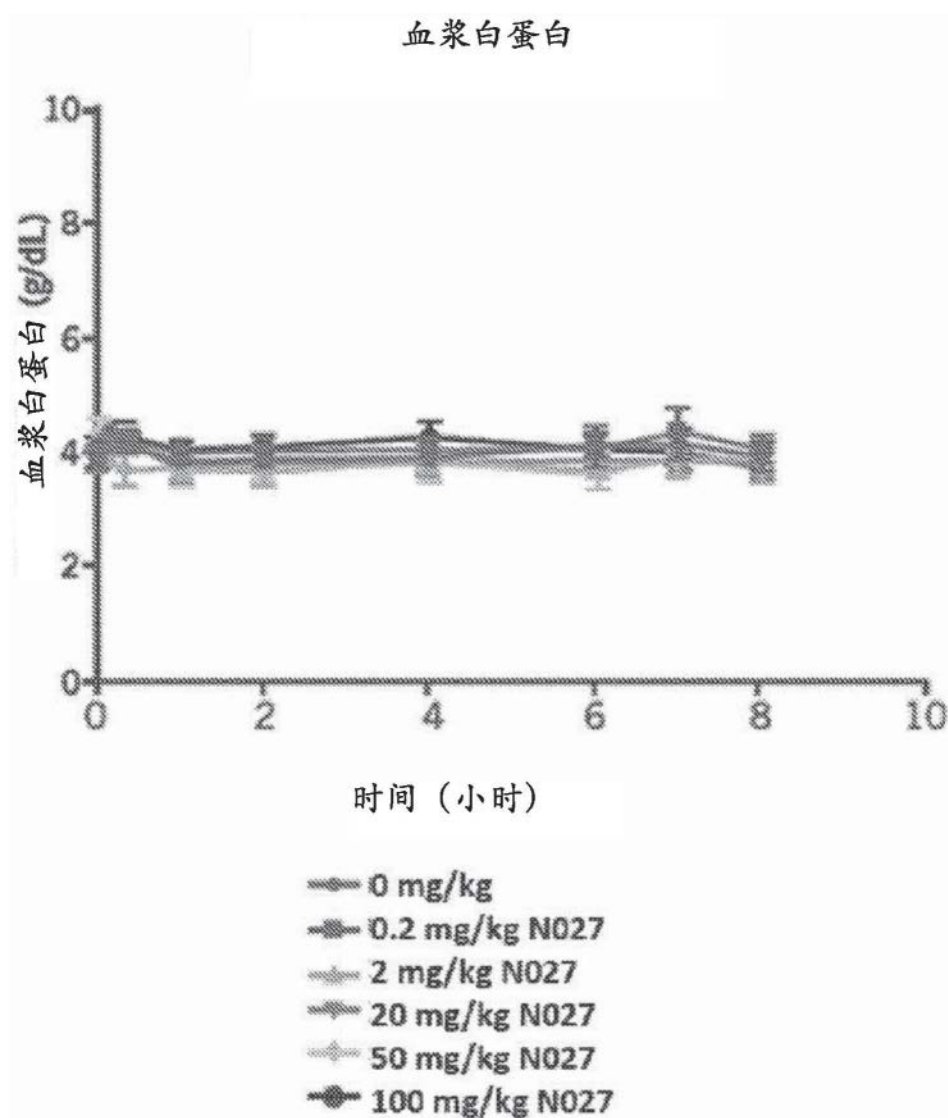


图4续

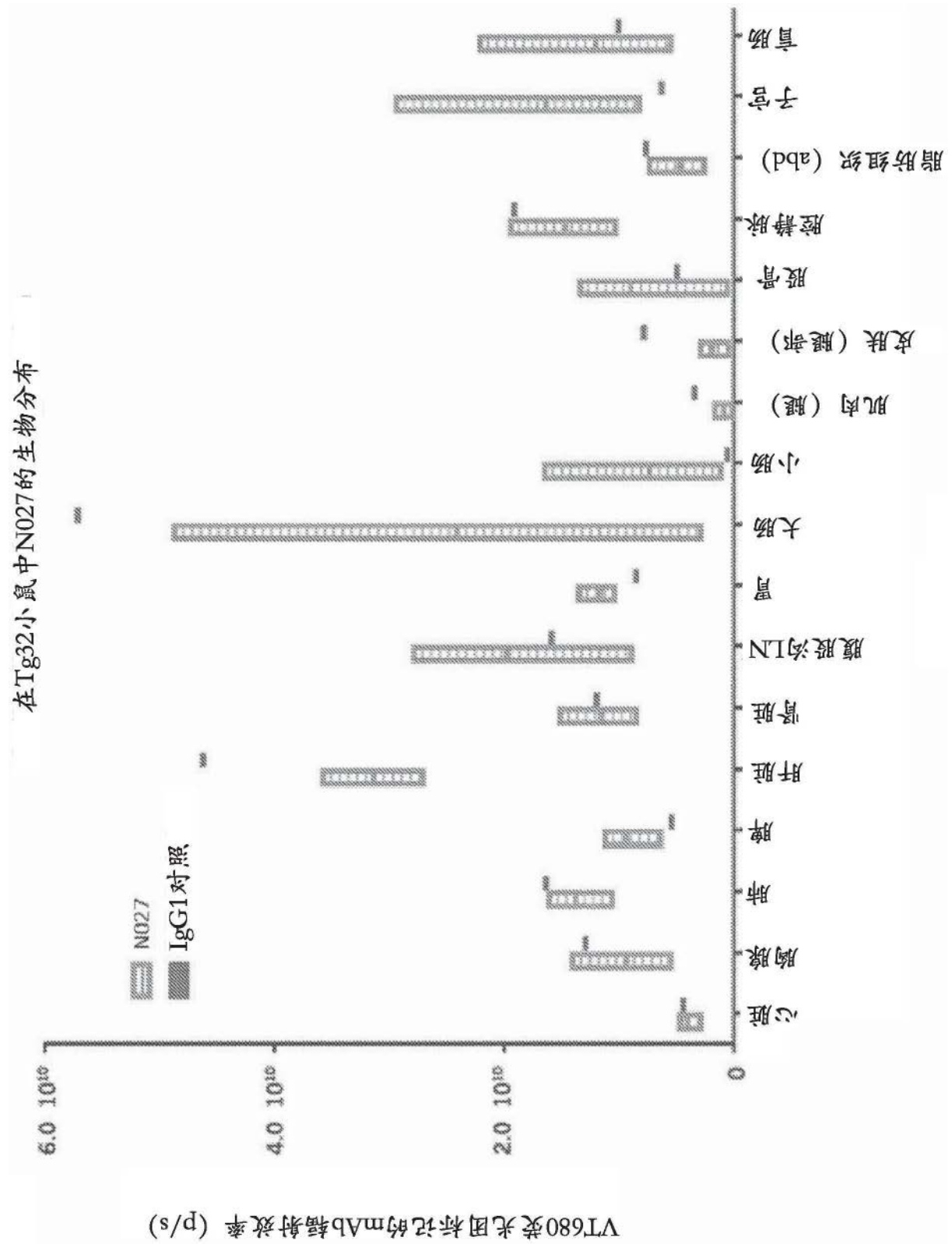


图5

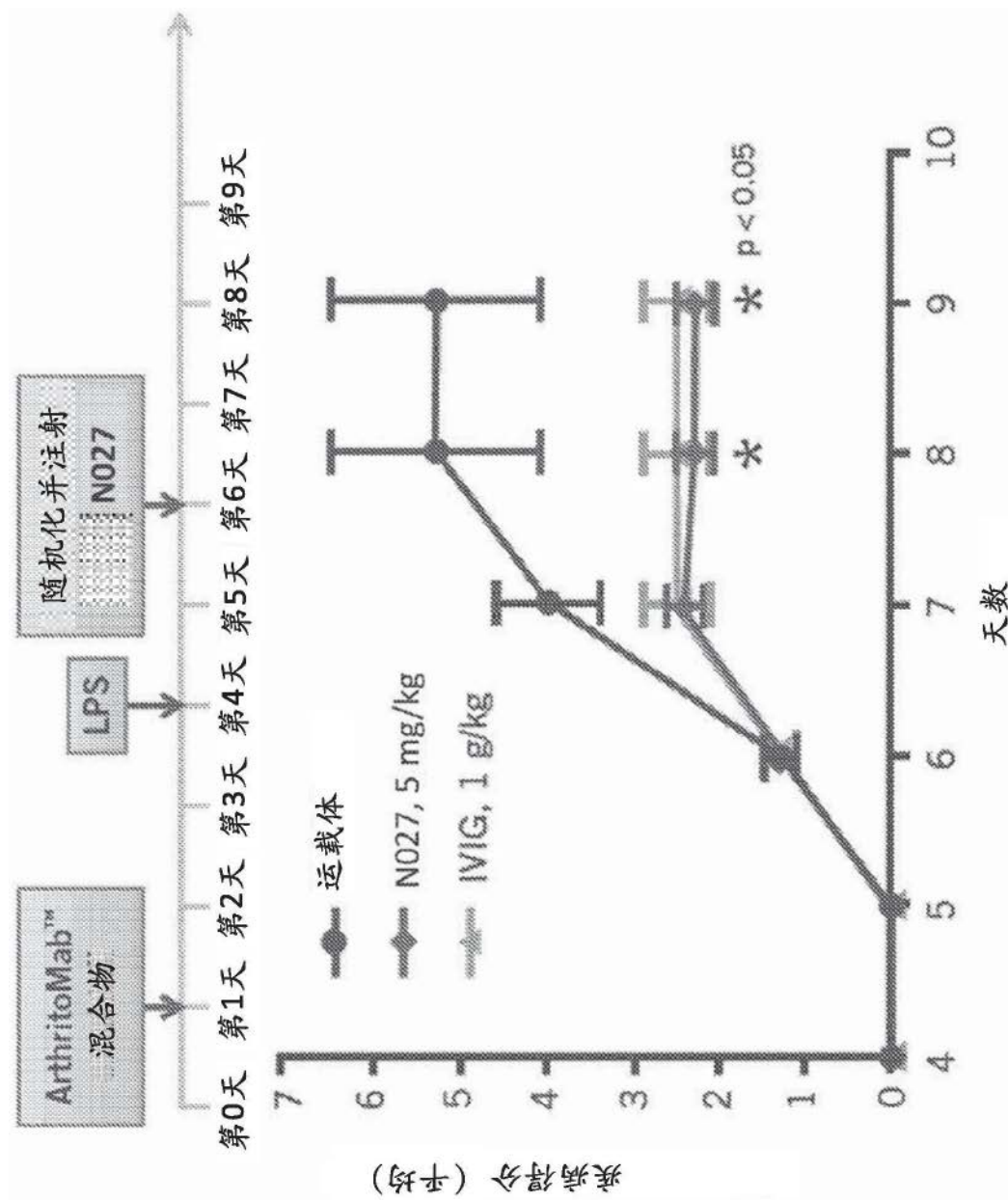


图6

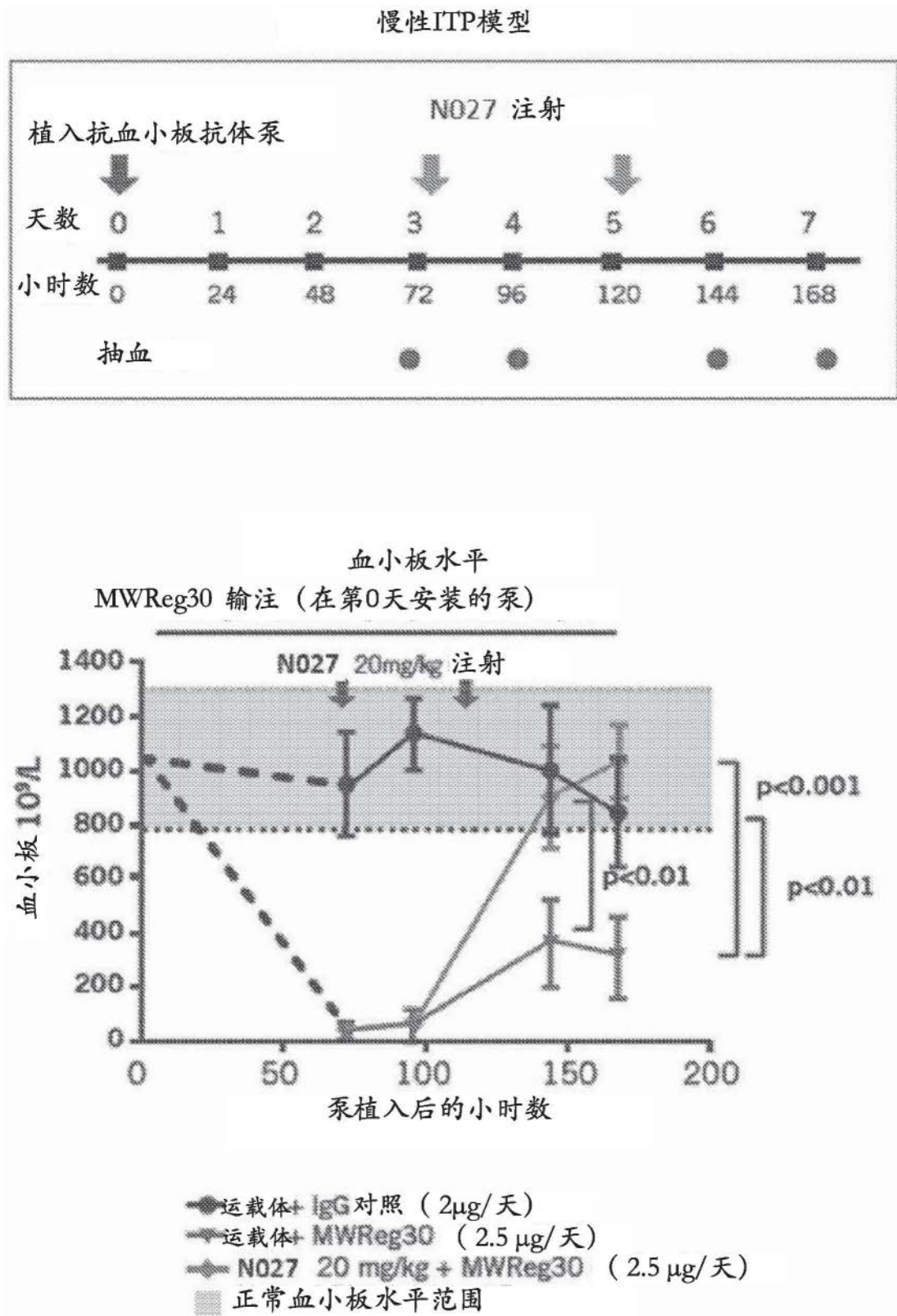


图7

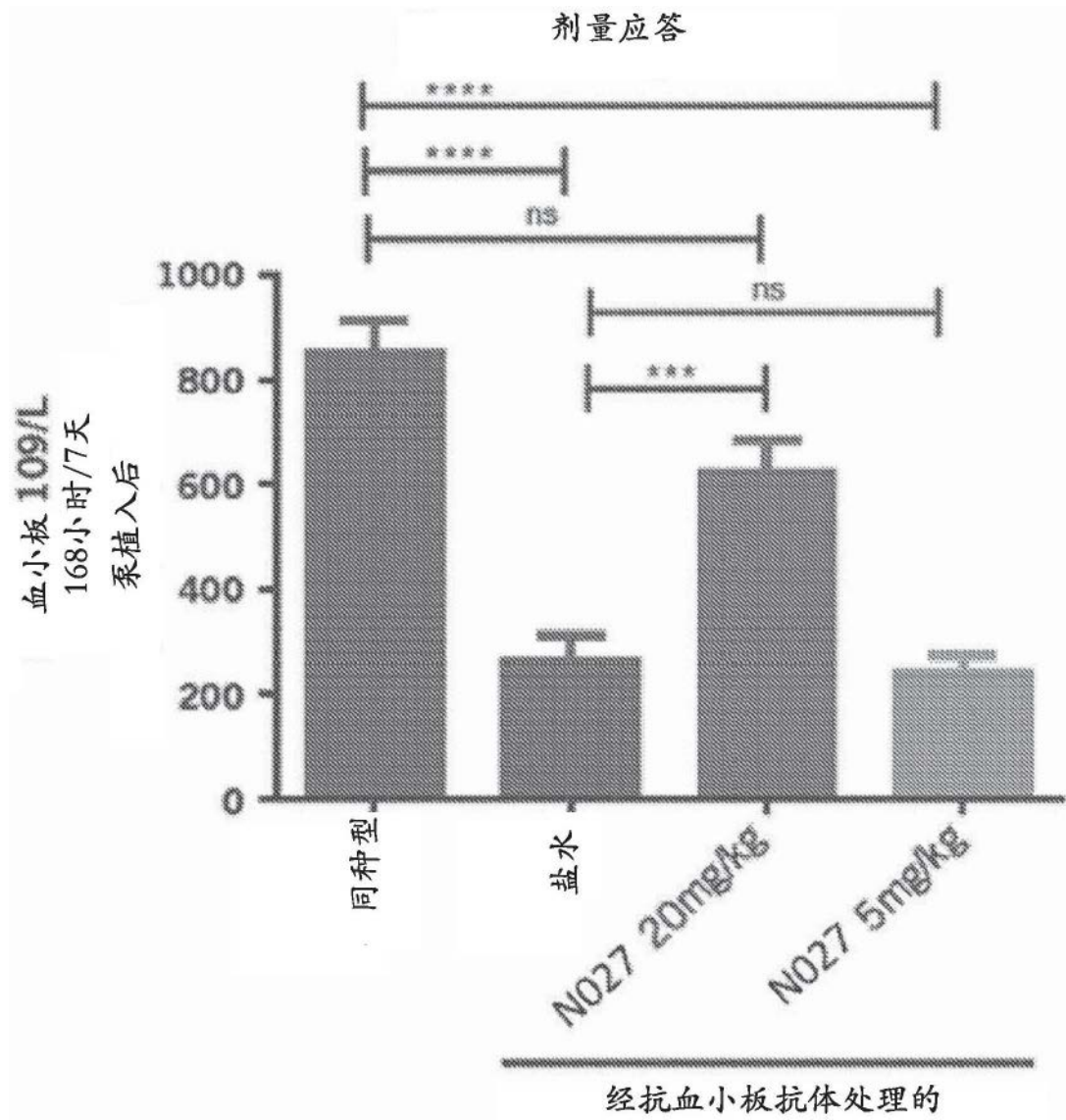


图7续