



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109563158 B

(45) 授权公告日 2022.08.09

(21) 申请号 201780029742.9

凯伦·苏·克里斯托弗森

(22) 申请日 2017.04.03

托尼·桑永·布云

(65) 同一申请的已公布的文献号

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

申请公布号 CN 109563158 A

专利代理人 封新琴

(43) 申请公布日 2019.04.02

(51) Int.CI.

C07K 16/18 (2006.01)

(30) 优先权数据

C07K 16/36 (2006.01)

62/317,897 2016.04.04 US

C07K 16/40 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 39/395 (2006.01)

2018.11.13

(86) PCT国际申请的申请数据

(56) 对比文件

PCT/US2017/025784 2017.04.03

CN 101918444 A, 2010.12.15

(87) PCT国际申请的公布数据

CN 104220454 A, 2014.12.17

W02017/176651 EN 2017.10.12

CN 104884088 A, 2015.09.02

(73) 专利权人 比奥贝拉蒂美国公司

JP 2020078304 A, 2020.05.28

地址 美国加利福尼亚州

审查员 李阳

(72) 发明人 桑迪普·帕尼克 格雷汉姆·帕里

权利要求书2页 说明书50页

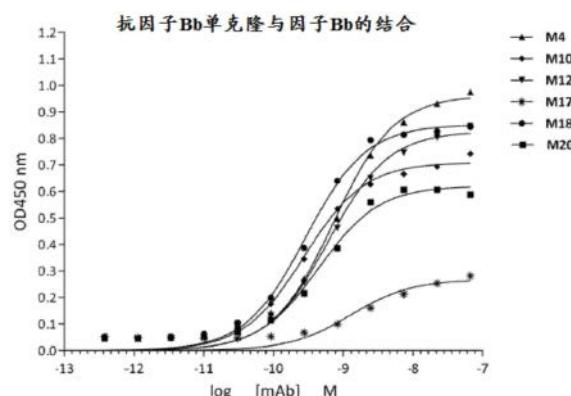
序列表25页 附图28页

(54) 发明名称

抗补体因子BB抗体以及其用途

(57) 摘要

本公开提供了抗补体因子Bb抗体，以及包含所述抗体的组合物。所述抗Bb抗体可用于治疗补体介导的病症。本公开提供了治疗补体介导的病症的方法。



1. 一种对补体因子Bb具有特异性的人源化抗体,其中所述抗体包含:包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体VL区的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,和包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体VH区的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,而且其中所述CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3是根据Kabat、Chothia、MacCallum或Lefranc定义的。

2. 如权利要求1所述的人源化抗体,其中所述抗体以至少 10^{-8} M的亲和力结合人补体Bb蛋白和/或所述抗体抑制C3b/Bb介导的C3裂解。

3. 如权利要求1或2所述的人源化抗体,其中所述抗体包含人源化轻链框架区和/或人源化重链框架区。

4. 如权利要求1或2所述的人源化抗体,其中所述抗体选自由以下组成的组:Ig单体、Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scAb和Fv。

5. 如权利要求3所述的人源化抗体,其中所述抗体选自由以下组成的组:Ig单体、Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scAb和Fv。

6. 如权利要求1或2所述的人源化抗体,其中所述抗体包含存在于单独多肽中的或存在于单一多肽中的轻链区和重链区。

7. 如权利要求3所述的人源化抗体,其中所述抗体包含存在于单独多肽中的或存在于单一多肽中的轻链区和重链区。

8. 如权利要求4所述的人源化抗体,其中所述抗体包含存在于单独多肽中的或存在于单一多肽中的轻链区和重链区。

9. 如权利要求5所述的人源化抗体,其中所述抗体包含存在于单独多肽中的或存在于单一多肽中的轻链区和重链区。

10. 如权利要求1或2所述的人源化抗体,其中

所述CDR-L1的氨基酸序列是SEQ ID NO: 1的氨基酸序列,

所述CDR-L2的氨基酸序列是SEQ ID NO: 2的氨基酸序列,

所述CDR-L3的氨基酸序列是SEQ ID NO: 3的氨基酸序列,

所述CDR-H1的氨基酸序列是SEQ ID NO: 4的氨基酸序列,

所述CDR-H2的氨基酸序列是SEQ ID NO: 5的氨基酸序列,和

所述CDR-H3的氨基酸序列是SEQ ID NO: 6的氨基酸序列。

11. 如权利要求10所述的人源化抗体,其中所述抗体以至少 10^{-8} M的亲和力结合人补体Bb蛋白和/或所述抗体抑制C3b/Bb介导的C3裂解。

12. 如权利要求10或11所述的人源化抗体,其中所述抗体包含人源化轻链框架区和/或人源化重链框架区。

13. 如权利要求10或11所述的人源化抗体,其中所述抗体选自由以下组成的组:Ig单体、Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scAb和Fv。

14. 如权利要求12所述的人源化抗体,其中所述抗体选自由以下组成的组:Ig单体、Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scAb和Fv。

15. 如权利要求10或11所述的人源化抗体,其中所述抗体包含存在于单独多肽中的或存在于单一多肽中的轻链区和重链区。

16. 如权利要求12所述的人源化抗体,其中所述抗体包含存在于单独多肽中的或存在于单一多肽中的轻链区和重链区。

17. 如权利要求13所述的人源化抗体,其中所述抗体包含存在于单独多肽中的或存在于单一多肽中的轻链区和重链区。

18. 如权利要求14所述的人源化抗体,其中所述抗体包含存在于单独多肽中的或存在于单一多肽中的轻链区和重链区。

19. 一种药物组合物,其包含如权利要求1-18中任一项所述的人源化抗体;以及药学上可接受的赋形剂。

20. 如权利要求1-18中任一项所述的人源化抗体在制备用于在需要其的个体中抑制C3b/Bb介导的C3裂解的药物组合物中的用途。

21. 如权利要求1-18中任一项所述的人源化抗体在制备用于治疗患有阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)或非典型溶血性尿毒症综合征(aHUS)、的个体的药物组合物中的用途。

22. 如权利要求20或21所述的用途,其中所述药物组合物产生选自由以下组成的组的结果:

- a) 抑制补体替代途径(AP)活性;
- b) 抑制膜攻击复合物的形成;
- c) 抑制C3b/Bb介导的C3裂解;
- d) 降低流体或组织中C3a和/或C3b的水平;
- e) 抑制因子B的裂解;
- f) 抑制AP介导的细胞溶解;
- g) 抑制AP介导的溶血;
- h) 抑制细胞或组织上AP介导的C3b、C3d或其它C3分裂产物的沉积;
- i) 抑制红细胞上AP介导的C3b沉积;
- j) 减少所述个体的循环中因子Bb的量;和
- k) 减少所述个体的血浆中因子Bb的量。

23. 如权利要求20或21所述的用途,其中与对照相比,所述药物组合物使个体的血浆和/或循环中的因子Bb的量减少至少30%,任选地其中所述对照是在没有施用所述抗Bb抗体的情况下个体血浆中因子Bb的量,或者在施用所述抗Bb抗体之前所述个体血浆中因子Bb的量。

24. 如权利要求20或21所述的用途,其中与对照相比,所述药物组合物抑制AP活性,抑制MAC的形成,抑制C3b/Bb介导的C3裂解,和/或使个体细胞、组织或流体中补体AP介导的溶血抑制至少30%,任选地其中所述对照是在没有施用抗Bb抗体时个体血浆中因子Bb的量,或在施用所述抗Bb抗体前个体血浆中因子Bb的量。

25. 如权利要求20或21所述的用途,其中所述药物组合物进一步包括一种或多种另外的治疗剂。

抗补体因子BB抗体以及其用途

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求2016年4月4日提交的美国临时专利申请号62/317,897的权益，所述临时专利申请以引用的方式整体并入本文。

[0003] 引言

[0004] 补体系统是先天性免疫系统的一部分。它的主要作用是“补充”抗体和吞噬细胞清除生物体内的有害病原体的能力。然而，补体系统的异常活化确实发生并且在从自身免疫性疾病到器官移植范围内的各种各样的病理环境中对宿主组织造成损伤。许多抗补体疗法正在临床开发中以防止由补体系统的异常活化引起的损伤。

[0005] 补体系统包括三种单独的上游活化途径，其全部会聚在共同的末端途径上。所述途径中的两种由特异性和不同的机制诱导：经典途径 (CP) 在抗体与抗原结合时接合，并且凝集素途径 (LP) 被病原体表面上的碳水化合物残基活化。替代途径 (AP) 的独特之处在于它在基础水平持续活跃，被称为“AP慢速运转”；其活性可经由正反馈扩增回路，外来表面和受损细胞上的各种信号大大增加。AP扩增回路的主要驱动因素是AP转化酶 (C3bBb)。当酶原因子B被裂解以产生分裂产物fBb时形成这种酶，所述分裂产物与表面结合的C3b快速缔合以形成活性酶C3bBb。C3bBb然后继续裂解中心C3蛋白的另外分子，从而导致产生调理素 (C3b, iC3b)、过敏毒素 (C3a和C5a) 和末端细胞溶解复合物 (MAC; C5b-9)。

发明内容

[0006] 本公开提供了抗补体因子Bb抗体，以及包含所述抗体的组合物。所述抗Bb抗体可用于治疗补体介导的病症。本公开提供了治疗补体介导的病症的方法。

[0007] 本公开提供了一种对补体因子Bb具有特异性的人源化抗体，其中所述抗体选自由以下组成的组：a) 包含抗体轻链可变 (VL) 区的轻链互补决定区 (CDR) 的抗体，所述抗体轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:7；b) 包含抗体重链可变 (VH) 区的轻链CDR的抗体，所述抗体重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:8；c) 包含抗体VL区的轻链CDR的抗体，所述抗体VL区包含氨基酸序列SEQ ID NO:15；d) 包含抗体VH区的重链CDR的抗体，所述抗体VH区包含氨基酸序列SEQ ID NO:16；e) 包含抗体VL区的轻链CDR的抗体，所述抗体VL区包含氨基酸序列SEQ ID NO:23；f) 包含抗体VH区的重链CDR的抗体，所述抗体VH区包含氨基酸序列SEQ ID NO:24；g) 包含抗体VL区的轻链CDR的抗体，所述抗体VL区包含氨基酸序列SEQ ID NO:31；h) 包含抗体VH区的重链CDR的抗体，所述抗体VH区包含氨基酸序列SEQ ID NO:32；i) 包含抗体VL区的轻链CDR的抗体，所述抗体VL区包含氨基酸序列SEQ ID NO:39；j) 包含抗体VH区的重链CDR的抗体，所述抗体VH区包含氨基酸序列SEQ ID NO:40；k) 包含抗体VL区的轻链CDR的抗体，所述抗体VL区包含氨基酸序列SEQ ID NO:47；以及l) 包含抗体VH区的重链CDR的抗体，所述抗体VH区包含氨基酸序列SEQ ID NO:48。在一些情况下，所述抗体选自由以下组成的组：a) 抗体，所述抗体包含：包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体VL区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体VH区的重链CDR；b) 抗体，所述抗体包含：包含氨基酸序列SEQ ID NO:15的抗体VL区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:16的抗体VH区的重链

CDR;c) 抗体,所述抗体包含:包含氨基酸序列SEQ ID NO:23的抗体VL区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:24的抗体VH区的重链CDR;d) 抗体,所述抗体包含:包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的抗体VL区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:32的抗体VH区的重链CDR;e) 抗体,所述抗体包含:包含氨基酸序列SEQ ID NO:39的抗体VL区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:40的抗体VH区的重链CDR;以及f) 抗体,所述抗体包含:包含氨基酸序列SEQ ID NO:47的抗体VL区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:48的抗体VH区的重链CDR。本公开提供了一种对补体因子Bb具有特异性的人源化抗体,其中所述抗体选自由以下组成的组:a) 包含轻链可变区的抗体,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2 和SEQ ID NO:3;b) 包含重链可变区的抗体,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6;c) 包含轻链可变区的抗体,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11;d) 包含重链可变区的抗体,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14;e) 包含轻链可变区的抗体,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:19;f) 包含重链可变区的抗体,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22;g) 包含轻链可变区的抗体,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:27;h) 包含重链可变区的抗体,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30;i) 包含轻链可变区的抗体,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34和SEQ ID NO:35;j) 包含重链可变区的抗体,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38;k) 包含轻链可变区的抗体,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42和SEQ ID NO:43;以及l) 包含重链可变区的抗体,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45和SEQ ID NO:46。在一些情况下,所述抗体选自由以下组成的组:a) 抗体,所述抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:1的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:2的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:3的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:4的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的CDR-H2和具有氨基酸序列SEQ ID NO:6的CDR-H3;b) 抗体,所述抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:10的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:11的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:12的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:13的CDR-H2和具有氨基酸序列SEQ ID NO:14的CDR-H3;c) 抗体,所述抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:17的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:18的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:19的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:20的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:21的CDR-H2和具有氨基酸序列SEQ ID NO:22的CDR-H3;d) 抗体,所述抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:25的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:26的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:27的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:28的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:29的CDR-H2和具有氨基酸序列SEQ ID NO:30的CDR-H3;e) 抗体,所述抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:33的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:34的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:35的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:36的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:37的CDR-H2和具有氨基酸序列SEQ ID NO:38的CDR-H3;以及f) 抗体,所述抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:41的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:42的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:43的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:44的CDR-H1、具有氨基酸序

列SEQ ID NO:45的CDR-H2和具有氨基酸序列SEQ ID NO:46的CDR-H3。在一些情况下，所述抗体结合人补体Bb蛋白的亲和力为至少 10^{-8} M。在一些情况下，所述抗体抑制C3b/Bb介导的C3裂解。在一些情况下，所述抗体包含人源化轻链框架区。在一些情况下，所述抗体包含人源化重链框架区。在一些情况下，所述抗体包含人源化轻链框架区和人源化重链框架区。在一些情况下，所述抗体选自由以下组成的组：Ig单体、Fab片段、F(ab')₂片段、Fd片段、scFv、scAb、dAb、Fv、单结构域重链抗体和单结构域轻链抗体。在一些情况下，所述抗体包含存在于单独多肽中的轻链区和重链区。在一些情况下，所述抗体包含存在于单一多肽中的轻链区和重链区。

[0008] 本公开提供了一种药物组合物，所述药物组合物包含如前一段落或本文其它地方所描述的抗体；以及药学上可接受的赋形剂。本公开提供了一种无菌容器，所述无菌容器包括所述药物组合物。

[0009] 本公开提供了一种抑制有需要的个体中C3b/Bb介导的C3裂解的方法，所述方法包括向所述个体施用有效量的如上文或本文其它地方所描述的抗体，或有效量的如上文或本文其它地方所描述的药物组合物。在一些情况下，所述施用是静脉内施用。在一些情况下，所述施用是皮下施用。在一些情况下，所述施用是肌内施用。本公开提供了一种治疗患有补体介导的疾病或病症的个体的方法，所述方法包括向所述个体施用有效量的如上文或本文其它地方所描述的抗体，或有效量的如上文或本文其它地方所描述的药物组合物。在一些情况下，所述施用是静脉内施用。在一些情况下，所述施用是皮下施用。在一些情况下，所述施用是肌内施用。在一些情况下，所述施用产生选自由以下组成的组的结果：a) 抑制补体替代途径(AP)活性；b) 抑制膜攻击复合物的形成；c) 抑制C3b/Bb介导的C3裂解；d) 降低流体或组织中C3a和/或C3b的水平；e) 抑制因子B的裂解；f) 抑制AP介导的细胞溶解；g) 抑制AP介导的溶血；h) 抑制细胞或组织上AP介导的C3b、C3d或其它C3分裂产物的沉积；i) 抑制红细胞上AP介导的C3b沉积；j) 减少所述个体的循环中因子Bb的量；k) 减少所述个体的血浆中因子Bb的量；以及l) 抑制过敏毒素的产生。

附图说明

[0010] 图1描绘通过酶联免疫吸附测定(ELISA)抗因子Bb单克隆抗体(mAb)与人因子Bb的结合。

[0011] 图2描绘抗因子Bb mAb与因子Bb的结合的EC50。

[0012] 图3描绘抗因子Bb mAb与可溶性因子Bb对可溶性因子B的结合的比率。

[0013] 图4描绘抗因子Bb mAb与可溶性因子Bb对可溶性因子B的结合的比率；以及通过尺寸排阻色谱法抗因子Bb mAb与因子B的结合。

[0014] 图5描绘抗因子Bb mAb与食蟹猴因子B和因子Bb的结合亲和力。

[0015] 图6描绘抗因子Bb mAb对补体替代途径(AP)活性的抑制(如使用Wieslab ELISA试剂盒所测定)。

[0016] 图7描绘抗因子Bb mAb对AP介导的兔红细胞的溶血的抑制。

[0017] 图8描绘抗因子Bb mAb对兔红细胞(RBC)上AP介导的C3b沉积的抑制。

[0018] 图9描绘抗因子Bb mAb对补体AP活性的抑制。

[0019] 图10描绘抗因子Bb mAb对食蟹猴补体AP活性和人补体AP活性的抑制(Wieslab

ELISA试剂盒)。

[0020] 图11描绘抗因子Bb mAb对食蟹猴AP介导的兔红细胞的溶血的抑制。

[0021] 图12A-12F提供表1,其提供VH和VL区的氨基酸序列,以及本公开的抗Bb mAb的实例的互补决定区(CDR)。

[0022] 图13提供人因子Bb的氨基酸序列(SEQ ID NO:49)。

[0023] 图14描绘在用CD55/CD59抗体预处理的人RBC上本公开的因子Bb抗体对AP途径介导的溶血的抑制。

[0024] 图15描绘因子Bb嵌合抗体嵌合M10和嵌合M4对补体替代途径(AP)的抑制。

[0025] 图16描绘在来自患有阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)的患者的RBC上抗因子Bb嵌合抗体嵌合M10对AP途径介导的溶血的抑制。

[0026] 图17描绘在食蟹猴中抗因子Bb嵌合抗体嵌合M10和嵌合M4的药物代谢动力学(PK)。

[0027] 图18描绘在食蟹猴中抗因子Bb嵌合抗体M10的药效学(PD)。

[0028] 图19描绘在食蟹猴中抗因子Bb嵌合抗体M4的药效学。

[0029] 图20描绘在体外人血清中嵌合抗因子Bb嵌合M4诱导的C3降解。

[0030] 图21描绘在体内食蟹猴中嵌合抗因子Bb嵌合M10诱导的(上图)和嵌合抗因子Bb嵌合M4诱导的(下图)C3降解。

[0031] 图22描绘因子H的衰变加速因子(DAF)活性的抗因子Bb抗体M4阻断。

[0032] 图23描绘抗因子Bb M4对CD55的DAF活性的影响。

[0033] 定义

[0034] 术语“抗体”和“免疫球蛋白”包括任何同种型的抗体或免疫球蛋白、保留与抗原的特异性结合的抗体片段(包括但不限于Fab、Fv、scFv和Fd片段)、嵌合抗体、人源化抗体、单链抗体(scAb)、单结构域抗体(dAb)、单结构域重链抗体、单结构域轻链抗体、双特异性抗体、多特异性抗体以及包含抗体和非抗体蛋白质的抗原结合(在本文中也称为抗原结合)部分的融合蛋白。所述抗体可例如用放射性同位素、产生可检测产物的酶、荧光蛋白等可检测地标记。所述抗体可进一步缀合至其它部分,如特异性结合对的成员,例如生物素(生物素-生物素蛋白特异性结合对的成员)等。所述抗体也可与固相支持体结合,所述固相支持体包括但不限于聚苯乙烯板或珠粒等。所述术语还包括Fab'、Fv、F(ab')₂和或保留与抗原的特异性结合的其它抗体片段,以及单克隆抗体。如本文所用,单克隆抗体是由一组相同细胞产生的抗体,所述细胞全部都是通过重复细胞复制从单细胞产生的。也就是说,细胞的克隆仅产生单一抗体种类。虽然可使用杂交瘤生产技术产生单克隆抗体,但也可使用本领域技术人员已知的其它生产方法(例如,源自抗体噬菌体展示文库的抗体)。抗体可以是单价或二价的。抗体可以是Ig单体,其是由四条多肽链组成的“Y形”分子:通过二硫键连接的两条重链和两条轻链。

[0035] 如本文所用的术语“人源化免疫球蛋白”是指包含不同起源的免疫球蛋白的部分的免疫球蛋白,其中至少一部分包含人起源的氨基酸序列。例如,人源化抗体可包含源自具有必需特异性的非人起源(如小鼠)的免疫球蛋白和源自人起源的免疫球蛋白序列(例如,嵌合免疫球蛋白)的部分,所述部分是通过常规技术(例如,合成)化学连接在一起或者使用遗传工程化技术作为连续多肽(例如,可表达编码嵌合抗体的蛋白质部分的DNA以产生连续

多肽链)制备的。人源化免疫球蛋白的另一个实例是含有一个或多个免疫球蛋白链的免疫球蛋白,所述免疫球蛋白链包含源自非人起源的抗体的CDR和源自人起源的轻链和/或重链的框架区(例如,有或无框架变化的CDR-接枝抗体)。术语人源化免疫球蛋白还包括嵌合或CDR-接枝的单链抗体。参见例如,Cabilly等人,美国专利号4,816,567;Cabilly等人,欧洲专利号0,125,023 B1;Boss等人,美国专利号4,816,397;Boss等人,欧洲专利号0,120,694 B1;Neuberger,M.S.等人,WO 86/01533;Neuberger,M.S.等人,欧洲专利号0,194,276 B1;Winter,美国专利号5,225,539;Winter,欧洲专利号0,239,400 B1;Padlan,E.A.等人,欧洲专利申请号0,519,596 A1。关于单链抗体,还参见,Ladner等人,美国专利号4,946,778;Huston,美国专利号5,476,786;以及Bird,R.E.等人,Science,242:423-426(1988))。

[0036] 例如,可使用合成和/或重组核酸产生人源化免疫球蛋白,以制备编码所需人源化链的基因(例如,cDNA)。例如,可使用PCR诱变方法构建编码人源化可变区的核酸(例如,DNA)序列,以改变编码人或人源化链的DNA序列,如来自先前人源化可变区的DNA模板(参见例如,Kamman,M.,等人,Nucl.Acids Res.,17:5404(1989));Sato,K.,等人,Cancer Research,53:851-856(1993);Daugherty,B.L.等人,Nucleic Acids Res.,19(9):2471-2476(1991);以及Lewis,A.P.和J.S.Crowe,Gene,101:297-302(1991))。使用这些或其它合适的方法,也可容易地制备变体。例如,可诱变克隆的可变区,并且可选择编码具有所需特异性的变体的序列(例如,来自噬菌体文库;参见例如,Krebber等人,美国专利号5,514,548;Hoogenboom等人,1993年4月1日公布的WO 93/06213))。

[0037] “抗体片段”包含完整抗体的一部分,例如完整抗体的抗原结合或可变区。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(Zapata等人,Protein Eng.8(10):1057-1062(1995));结构域抗体(dAb;Holz等人(2003)Trends Biotechnol.21:484);单链抗体分子;以及由抗体片段形成的多特异性抗体。抗体的木瓜蛋白酶消化产生两个称为“Fab”片段的相同抗原结合片段,所述片段各自具有单个抗原结合位点和残余“Fc”片段,其名称反映易于结晶的能力。胃蛋白酶处理产生F(ab')₂片段,其具有两个抗原结合位点且仍能够交联抗原。

[0038] “Fv”是含有完全抗原识别和结合位点的最小抗体片段。此区由处于紧密、非共价缔合的一个重链可变结构域和一个轻链可变结构域的二聚体组成。在此构型中,每个可变结构域的三个CDR相互作用以限定V_H-V_L二聚体表面上的抗原结合位点。总之,六个CDR赋予抗体抗原结合特异性。然而,甚至单个可变结构域(或仅包含三个对抗原具有特异性的CDR的一半Fv)具有识别和结合抗原的能力,但是与整个结合位点相比,处于较低的亲和力下。

[0039] “Fab”片段也含有轻链的恒定结构域和重链的第一恒定结构域(CH₁)。Fab片段因在重链CH₁结构域的羧基末端添加少量残基(包括一个或多个来自抗体铰链区的半胱氨酸)而不同于Fab'片段。Fab'-SH是本文中的Fab'的名称,其中恒定结构域的半胱氨酸残基带有游离巯基。F(ab')₂抗体片段最初以之间具有铰链半胱氨酸的Fab'片段对形式产生。抗体片段的其它化学偶联也是已知的。

[0040] 来自任何脊椎动物物种的抗体(免疫球蛋白)的“轻链”可基于其恒定结构域的氨基酸序列指定为两种明显不同类型(称为κ和λ)中的一者。取决于其重链的恒定结构域的氨基酸序列,免疫球蛋白可归属于不同的类别。存在五种主要类别的免疫球蛋白:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,并且若干这些类别可进一步分成亚类(同种型),例如IgG1、IgG2、IgG3、

IgG4、IgA和IgA2。所述亚类可进一步分成类型,例如IgG2a和IgG2b。

[0041] “单链Fv”或“sFv”或“scFv”抗体片段包含抗体的 V_H 和 V_L 结构域,其中这些结构域存在于单一多肽链中。在一些情况下,Fv多肽还包含在 V_H 与 V_L 结构域之间的多肽接头,所述多肽接头使得sFv能够形成抗原结合所需的结构。关于sFv的综述,参见Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷,Rosenburg and Moore编辑, Springer-Verlag,New York,第269-315页(1994)。

[0042] 术语“双抗体”是指具有两个抗原结合位点的小抗体片段,所述片段包含在同一多肽链(V_H-V_L)中与轻链可变结构域(V_L)连接的重链可变结构域(V_H)。通过使用太短而不允许在同一链上的两个结构域之间配对的接头,所述结构域被迫与另一链的互补结构域配对并建立两个抗原结合位点。双抗体更充分描述于例如EP 404,097;WO 93/11161;以及 Hollinger等人(1993) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448中。

[0043] 如本文所用,术语“亲和力”是指两种试剂(例如抗体和抗原)的可逆结合的平衡常数,并表示为解离常数(K_D)。与抗体对不相关的氨基酸序列的亲和力相比,亲和力可大至少1倍、大至少2倍、大至少3倍、大至少4倍、大至少5倍、大至少6倍、大至少7倍、大至少8倍、大至少9倍、大至少10倍、大至少20倍、大至少30倍、大至少40倍、大至少50倍、大至少60倍、大至少70倍、大至少80倍、大至少90倍、大至少100倍或大至少1,000倍或更多。抗体对靶蛋白的亲和力可以是,例如,约100纳摩尔(nM)至约0.1nM、约100nM至约1皮摩尔(pM)或约100nM至约1飞摩尔(fM)或更大。如本文使用,术语“亲合力”是指在稀释之后,两种或更多种试剂的复合物对于解离的抗性。术语“免疫反应性”和“优先结合”关于抗体和/或抗原结合片段在本文中可互换使用。

[0044] 术语“结合”是指归因于例如共价、静电、疏水性和离子和/或氢键相互作用的两个分子之间的直接缔合,包括相互作用如盐桥键和水桥键。本公开的抗Bb抗体特异性地结合至补体Bb蛋白内的表位。“特异性结合”是指亲和力为至少约 10^{-7} M或更高,例如 5×10^{-7} M、 10^{-8} M、 5×10^{-8} M和更高的结合。“非特异性结合”是指亲和力小于约 10^{-7} M的结合,例如亲和力为 10^{-6} M、 10^{-5} M、 10^{-4} M等的结合。

[0045] 如本文所用,术语“CDR”或“互补决定区”意图是指在重链和轻链多肽的可变区内发现的非连续抗原结合位点.CDR已经由Lefranc等人(2003) Developmental and Comparative Immunology 27:55(在本文还称为“Lefranc 2003”);Kabat等人,J.Biol.Chem.252:6609-6616(1977);Kabat等人,U.S.Dept.of Health and Human Services,“Sequences of proteins of immunological interest”(1991)(在本文还称为 Kabat 1991);Chothia等人,J.Mol.Biol.196:901-917(1987)(在本文还称为Chothia 1987);以及MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996)描述,其中所述定义包括当彼此比较时氨基酸残基的重叠或子集。然而,应用任一定义来指抗体或其接枝抗体或变体的CDR意图处于如本文所定义和使用的术语的范围内。如通过以上引用的参考文献中的每个所定义的涵盖CDR的氨基酸残基作为比较被列举在以下表2中。表1中列出的CDR(图12A-12F中所提供)是根据Lefranc 2003所定义。

[0046] 表2:CDR定义

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³
V_H CDR-1	31-35	26-32	30-35

V_H CDR-2	50-65	53-55	47-58
V_H CDR-3	95-102	96-101	93-101
V_L CDR-1	24-34	26-32	30-36
V_L CDR-2	50-56	50-52	46-55
V_L CDR-3	89-97	91-96	89-96

[0048] ¹残基编号遵循Kabat等人,同上的命名法

[0049] ²残基编号遵循Chothia等人,同上的命名法

[0050] ³残基编号遵循MacCallum等人,同上的命名法

[0051] 如本文所用,术语“CDR-L1”、“CDR-L2”和“CDR-L3”分别是指轻链可变区中的第一、第二和第三CDR。如本文所用,术语“CDR-H1”、“CDR-H2”和“CDR-H3”分别是指重链可变区中的第一、第二和第三CDR。如本文所用,术语“CDR-1”、“CDR-2”和“CDR-3”分别是指任一链的可变区的第一、第二和第三CDR。

[0052] 如本文所用,术语“框架”当关于抗体可变区使用时意图指抗体的可变区内的CDR区之外的所有氨基酸残基。可变区框架通常是长度介于约100-120个氨基酸之间的不连续的氨基酸序列,但仅意图指所述CDR植物的那些氨基酸。如本文所用,术语“框架区”意图指由CDR分开的框架的每个结构域。

[0053] “分离的”抗体是已经鉴定且与其天然环境的组分分离和/或从其天然环境的组分回收的抗体。其天然环境的污染物组分是将干扰抗体的诊断或治疗用途的材料,并且可包括酶、激素和其它蛋白质或非蛋白质溶质。在一些情况下,抗体将:(1)被纯化至如通过Lowry法所测定大于90重量%、大于95重量%或大于98重量%的抗体,例如大于99重量%;(2)被纯化至足以通过使用旋杯式测序仪获得N末端或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度;或(3)通过使用考马斯蓝或银染色,在还原或非还原条件下进行的十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)被纯化至均质。分离的抗体包括重组细胞内的原位抗体,因为抗体的天然环境的至少一种组分将不存在。在一些实例中,将通过至少一个纯化步骤来制备分离的抗体。

[0054] 在本文可互换使用的术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”是指具有任何长度的氨基酸的聚合形式,其可包括遗传编码和非遗传编码的氨基酸、化学或生物化学修饰的或衍生的氨基酸以及具有修饰的肽主链的多肽。所述术语包括融合蛋白,包括但不限于具有异源氨基酸序列的融合蛋白、具有异源和同源前导序列的融合体,具有或不具有N末端甲硫氨酸残基;免疫标记蛋白;等。

[0055] 如本文所用,术语“治疗(treatment)”、“治疗(treating)”、“治疗(treat)”等是指获得所需药理学和/或生理学作用。所述作用就完全或部分预防疾病或其症状而言可为防治性的和/或就部分或完全治愈疾病和/或可归因于所述疾病的不利作用而言可为治疗性的。如本文所用的“治疗(Treatment)”涵盖对哺乳动物,特别是人的疾病的任何治疗,并且包括:(a)预防所述疾病在可易患所述疾病但尚未诊断为患有所述疾病的受试者中发生;(b)抑制所述疾病,即遏止其发展;以及(c)减轻所述疾病,即导致所述疾病消退。

[0056] 可在本文中互换使用的术语“个体”、“受试者”、“宿主”和“患者”是指哺乳动物,包括但不限于鼠科动物(大鼠、小鼠)、非人灵长类动物、人、犬科动物、猫科动物、有蹄类动物(例如,马科动物、牛科动物、绵羊科动物、猪科动物、山羊科动物)等。这些术语还包括具有

补体系统的任何动物,如哺乳动物、鱼类和一些无脊椎动物。因此,这些术语包括含有补体系统的哺乳动物、鱼类和无脊椎动物、伴侣动物、农业动物、工作动物、动物园动物和实验室动物。

[0057] “治疗有效量”或“有效量”是指抗补体Bb抗体的当施用于哺乳动物或其它受试者以治疗疾病时足以实现所述疾病的这种治疗的量。“治疗有效量”将根据抗补体Bb抗体、疾病和其严重程度以及待治疗受试者的年龄、体重等而变化。

[0058] “生物样品”包括从个体获得的多种样品类型并且可用于诊断或监测测定。所述定义包括生物起源的血液和其它液体样品、固体组织样品如活组织检查标本或源自其的组织培养物或细胞及其子代。所述定义还包括在取得之后以任何方式操作的样品,如用试剂处理、增溶或针对某些组分如多核苷酸来加以富集。术语“生物样品”包括临床样品,并且还包括培养中的细胞、细胞上清液、细胞溶解产物、血清、血浆、生物学流体和组织样品。术语“生物样品”包括尿液、唾液、脑脊髓液、间质液、眼内液、滑液、血液组分如血浆和血清等。术语“生物样品”还包括固体组织样品、组织培养样品和细胞样品。

[0059] 在进一步描述本发明之前,应当理解本发明不限于所描述的特定实施方案,因而,当然也可有所变化。还应理解,本文使用的术语仅出于描述特定实施方案的目的,且并不意图是限制性的,因为本发明的范围将仅受所附权利要求限制。

[0060] 在提供值的范围的情况下,应理解本发明内涵盖所述范围的上限与下限之间的各介入值,准确到下限的单位的十分之一(除非上下文另外清楚指示),以及所述陈述范围内的任何其它陈述值或介入值。这些较小范围的上限和下限可独立地包括在更小的范围内,并且也涵盖在本发明内,服从所陈述范围内任何明确排除的极限值。在所陈述范围包括所述极限值中的一个或两个的情况下,本发明中还包括排除那些所包括的极限值中的任一个或两个的范围。

[0061] 除非另外定义,本文使用的所有技术性和科学性术语具有与本发明所属领域的技术人员通常所理解的相同的含义。虽然在实践或检测本发明时也可使用与本文中描述的方法和材料类似或等同的任何方法和材料,但是现在描述优选的方法和材料。为了公开和描述公布在引用时所涉及的方法和/或材料,本文中提到的所有公布均以引用的方式并入本文。

[0062] 必须指出,如本文和在所附权利要求书中所使用,单数形式“一个(a) /一种(an)”和“所述(the)”包括复数对象,除非上下文另外清楚地指出。因此,例如,提及“一种抗Bb抗体”包括多种此类抗体并且提及“所述组合物”包括提及一种或多种组合物及其为本领域技术人员所已知的等效物等。进一步指出,权利要求书可经拟订以排除任何任选的要素。因此,这样的陈述旨在用作使用与权利要求要素的叙述有关的排他性术语如“单独”、“仅”等或使用“否定型”限定的前提基础。

[0063] 应理解,出于清晰目的而在分开的实施方案的上下文中所描述的本发明的某些特征也可在单个实施方案中组合提供。相反,为简洁起见而在单个实施例的背景下描述的本发明的不同特征也可以单独地或以任何适合的子组合形式提供。属于本发明的实施方案的所有组合确切地涵盖在本发明中并且在本文中公开如同每个和每一种组合均单独地和明确地公开一样。此外,各种实施方案及其要素的所有子组合也明确地由本发明涵盖并且在本文中公开,如同每个和每一这样的子组合均单独地且明确地在本文中公开一样。

[0064] 本文中讨论的公布仅仅提供它们在本申请的提交日期之前的公开内容。本文没有任何内容被解释为承认本发明不能由于现有发明而有权先于这种公布。此外，所提供的出版日期可不同于实际出版日期，其可能需要单独证实。

具体实施方式

[0065] 本公开提供了抗补体因子Bb抗体，以及包含所述抗体的组合物。所述抗Bb抗体可用于治疗补体介导的病症。本公开提供了治疗补体介导的病症的方法。

[0066] 抗补体BB抗体

[0067] 本公开提供了抗补体Bb抗体和包含此类抗体的药物组合物。本公开的抗补体Bb抗体在本文中也称为“抗Bb”抗体或“抗因子Bb”抗体。在一些情况下，本公开的抗补体Bb抗体是人源化的。在一些情况下，本公开的抗补体Bb抗体包含至少一个人源化轻链可变区(VL)框架区。在一些情况下，本公开的抗补体Bb抗体包含至少一个人源化重链可变区(VH)框架区。在一些情况下，本公开的抗补体Bb抗体包含至少一个人源化VL框架区和至少一个人源化VH框架区。

[0068] 框架区的人源化降低了抗体在人中引发人-抗-小鼠-抗体(HAMA)应答的风险。可进行本领域公认的测定免疫应答的方法以监测特定患者或临床试验期间的HAMA应答。施用人源化抗体的患者可在施用疗法开始时和期间进行免疫原性评估。例如，通过使用本领域技术人员已知的方法(包括表面等离子体共振技术(BIACORE)和/或固相酶联免疫吸附测定(ELISA)分析)检测来自患者的血清样品中针对人源化治疗试剂的抗体来测量HAMA应答。在许多情况下，本公开的人源化抗Bb抗体基本上不会在人受试者中引发HAMA应答。

[0069] 来自人可变区框架残基的某些氨基酸基于它们对CDR构象和/或结合抗原的可能影响来选择以进行取代。鼠CDR区与人可变框架区的非天然并置可产生非天然的构象限制，所述限制除非通过取代某些氨基酸残基进行校正，否则导致结合亲和力的丧失。

[0070] 用于取代的氨基酸残基的选择可部分地通过计算机建模来确定。用于产生免疫球蛋白分子的三维图像的计算机硬件和软件是本领域中已知的。通常，从免疫球蛋白链或其结构域的解析结构开始产生分子模型。将待建模的链针对氨基酸序列相似性与解析的三维结构的链或结构域进行比较，并选择显示最大序列相似性的链或结构域作为构建分子模型的起始点。选择共享至少50%序列同一性的链或结构域用于建模，例如，选择共享至少60%、至少70%、至少80%、至少90%序列同一性或更高序列同一性的那些链或结构域用于建模。对解析的起始结构进行修饰以允许所建模的免疫球蛋白链或结构域中的实际氨基酸与起始结构中的实际氨基酸之间的差异。然后将修饰的结构组装成复合免疫球蛋白。最后，通过能量最低化且通过验证所有原子在彼此适当的距离内以及键长和角度在化学上可接受的极限内来细化模型。

[0071] CDR和框架区是如Lefranc等人(2003)Developmental and Comparative Immunology 27:55(在本文还称为“Lefranc 2003”);Kabat,Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health,Bethesda,Md.,1987和1991)所定义。替代结构定义已经由Chothia等人,J.Mol.Biol.196:901(1987);Nature 342:878(1989);和J.Mol.Biol.186:651(1989)(统称为“Chothia”)提出。当如Kabat,上文所定义的框架残基构成如Chothia,上文所定义的结构环残基时，可选择存在于小鼠抗体中的氨基酸

用于取代到人源化抗体中。“与CDR区相邻”的残基包括与人源化免疫球蛋白链的一级序列中的一个或多个CDR紧邻的位置中,例如,在与由Kabat所定义的CDR或由Chothia(参见例如,Chothia和Lesk JMB 196:901 (1987))定义的CDR紧邻的位置中的氨基酸残基。这些氨基酸特别可能与CDR中的氨基酸相互作用,并且如果选自受体,则使供体CDR变形并降低亲和力。此外,相邻的氨基酸可与抗原直接相互作用(Amit等人,Science,233:747 (1986)),并且从供体中选择这些氨基酸可以是令人希望的,以保持在原始抗体中提供亲和力的所有抗原接触。

[0072] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M10抗体的一个、两个或三个VL CDR,其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含M10抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M10抗体的一个、两个或三个VL CDR;和重链可变区,所述重链可变区包含M10抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在这些实施方案中的一些中,所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区(FR)。

[0073] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M10抗体的一个、两个或三个VL CDR,其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含M10抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M10抗体的一个、两个或三个VL CDR;和重链可变区,所述重链可变区包含M10抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在这些实施方案中的一些中,所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0074] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M10抗体的一个、两个或三个VL CDR,其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含M10抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M10抗体的一个、两个或三个VL CDR;和重链可变区,所述重链可变区包含M10抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在这些实施方案中的一些中,所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0075] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VL CDR,其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VL CDR;和重链可变区,所述重链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在这些实施方案中的一些中,所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0076] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VL CDR,其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻

链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VL CDR;和重链可变区,所述重链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在这些实施方案中的一些中,所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0077] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VL CDR,其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VL CDR;和重链可变区,所述重链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在这些实施方案中的一些中,所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0078] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VL CDR,其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VL CDR;和重链可变区,所述重链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在这些实施方案中的一些中,所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0079] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VL CDR,其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VL CDR;和重链可变区,所述重链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在这些实施方案中的一些中,所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0080] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VL CDR,其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VL CDR;和重链可变区,所述重链可变区包含M4抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在这些实施方案中的一些中,所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0081] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M20抗体的一个、两个或三个VL CDR,其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含M20抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M20抗体的一个、两个或三个VL CDR;和重链可变区,所述重链可变区包含M20抗体的一个、两个或三个VH CDR,其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在这些实施方案中的一些中,所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0082] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含M20抗体

的一个、两个或三个VL CDR, 其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含重链可变区, 所述重链可变区包含M20抗体的一个、两个或三个VH CDR, 其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含M20抗体的一个、两个或三个VL CDR; 和重链可变区, 所述重链可变区包含M20抗体的一个、两个或三个VH CDR, 其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在这些实施方案中的一些中, 所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0083] 在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含M20抗体的一个、两个或三个VL CDR, 其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含重链可变区, 所述重链可变区包含M20抗体的一个、两个或三个VH CDR, 其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含M20抗体的一个、两个或三个VL CDR; 和重链可变区, 所述重链可变区包含M20抗体的一个、两个或三个VH CDR, 其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在这些实施方案中的一些中, 所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0084] 在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含M17抗体的一个、两个或三个VL CDR, 其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含重链可变区, 所述重链可变区包含M17抗体的一个、两个或三个VH CDR, 其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含M17抗体的一个、两个或三个VL CDR; 和重链可变区, 所述重链可变区包含M17抗体的一个、两个或三个VH CDR, 其中所述CDR是如Lefranc 2003所定义。在这些实施方案中的一些中, 所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0085] 在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含M17抗体的一个、两个或三个VL CDR, 其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含重链可变区, 所述重链可变区包含M17抗体的一个、两个或三个VH CDR, 其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含M17抗体的一个、两个或三个VL CDR; 和重链可变区, 所述重链可变区包含M17抗体的一个、两个或三个VH CDR, 其中所述CDR是如Kabat 1991所定义。在这些实施方案中的一些中, 所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0086] 在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含M17抗体的一个、两个或三个VL CDR, 其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含重链可变区, 所述重链可变区包含M17抗体的一个、两个或三个VH CDR, 其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含M17抗体的一个、两个或三个VL CDR; 和重链可变区, 所述重链可变区包含M17抗体的一个、两个或三个VH CDR, 其中所述CDR是如Chothia 1987所定义。在这些实施方案中的一些中, 所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0087] 在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含轻链区, 所述轻链区包含选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的一个、两个或三个CDR。在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含重链区, 所述重链区包含选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的一个、两个或三个CDR。在一些情况下, 本公开的抗Bb抗体包含:a) 轻链区, 所述轻链区包含选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的一个、两个或三个CDR; 和b) 重链区, 所述重链区包含选

自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的一个、两个或三个CDR。在这些实施方案中的一些中，所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0088] 在一些情况下，本公开的抗Bb抗体包含轻链区，所述轻链区包含选自SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11的一个、两个或三个CDR。在一些情况下，本公开的抗Bb抗体包含重链区，所述重链区包含选自SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14的一个、两个或三个CDR。在一些情况下，本公开的抗Bb抗体包含：a) 轻链区，所述轻链区包含选自SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11的一个、两个或三个CDR；和b) 重链区，所述重链区包含选自SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14的一个、两个或三个CDR。在这些实施方案中的一些中，所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0089] 在一些情况下，本公开的抗Bb抗体包含轻链区，所述轻链区包含选自SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:19的一个、两个或三个CDR。在一些情况下，本公开的抗Bb抗体包含重链区，所述重链区包含选自SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22的一个、两个或三个CDR。在一些情况下，本公开的抗Bb抗体包含：a) 轻链区，所述轻链区包含选自SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:19的一个、两个或三个CDR；和b) 重链区，所述重链区包含选自SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22的一个、两个或三个CDR。在这些实施方案中的一些中，所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0090] 在一些情况下，本公开的抗Bb抗体包含轻链区，所述轻链区包含选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:27的一个、两个或三个CDR。在一些情况下，本公开的抗Bb抗体包含重链区，所述重链区包含选自SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28和SEQ ID NO:29的一个、两个或三个CDR。在一些情况下，本公开的抗Bb抗体包含：a) 轻链区，所述轻链区包含选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:27的一个、两个或三个CDR；和b) 重链区，所述重链区包含选自SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28和SEQ ID NO:29的一个、两个或三个CDR。在这些实施方案中的一些中，所述抗Bb抗体包含人源化V_H和/或V_L框架区。

[0091] 在一些情况下，人源化V_H框架或V_L框架是共有人框架。共有人源化框架可代表人免疫球蛋白V_L或V_H框架序列的选择中最常出现的氨基酸残基。

[0092] 适合用于与如本文所述的V_H CDR一起使用的共有人V_H框架区的非限制性实例包括(亚群III共有区)：

[0093] a) V_H FR1:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:50)；

[0094] b) V_H FR2:WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:51)；

[0095] c) V_H FR3:RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:52)；以及

[0096] d) V_H FR4:WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:54)。

[0097] 在一些情况下，V_H FR3包含在位置71、73和/或78处的氨基酸取代；例如，其中RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:52) 中的加下划线且加粗的R是氨基酸71 (Kabat编号)；RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:52) 中的加下划线且加粗的N是氨基酸73 (Kabat编号)；并且RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:52) 中的加下划线且加粗的L是氨基酸78 (Kabat编号)。例如，在一些情况下，氨基酸71是A；和/或氨基酸73是T；和/或氨基酸78是A。作为一个实例，在一些情况下，合适的共有人源化V_H FR3包含氨基酸序列：RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:54)。

[0098] 适合用于与如本文所述的V_H CDR一起使用的共有人V_H框架区的非限制性实例包括

(亚群I共有区)：

[0099] a) V_H FR1:QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKAS (SEQ ID NO:55)；

[0100] b) V_H FR2:WVRQAPGQGLEWM (SEQ ID NO:56)；

[0101] c) V_H FR3:RVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC (SEQ ID NO:57)；以及

[0102] d) V_H FR4:WGQGTLTVSS (SEQ ID NO:58)。

[0103] 适合用于与如本文所述的 V_H CDR一起使用的共有人 V_H 框架区的非限制性实例包括
(亚群II共有区)：

[0104] a) V_H FR1:QVQLQESGPGLVKPSQTLSLCTVS (SEQ ID NO:59)；

[0105] b) V_H FR2:WIRQPPGKGLEWI (SEQ ID NO:60)；

[0106] c) V_H FR3:RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO:61)；以及

[0107] d) V_H FR4:WGQGTLTVSS (SEQ ID NO:62)。

[0108] 适合用于与如本文所述的 V_L CDR一起使用的共有人 V_L 框架区的非限制性实例包括

(亚群I共有区)：

[0109] a) V_L FR1:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:63)；

[0110] b) V_L FR2:WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:64)；

[0111] c) V_L FR3:GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:65)；以及

[0112] d) V_L FR4:FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:66)。

[0113] 适合用于与如本文所述的 V_L CDR一起使用的共有人 V_L 框架区的非限制性实例包括

(亚群II共有区)：

[0114] a) V_L FR1:DIVMTQSPSLPVTPGEPASISC (SEQ ID NO:67)；

[0115] b) V_L FR2:WYLQKPGQSPQLLIY (SEQ ID NO:68)；

[0116] c) V_L FR3:GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC (SEQ ID NO:69)；以及

[0117] d) V_L FR4:FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:70)。

[0118] 适合用于与如本文所述的 V_L CDR一起使用的共有人 V_L 框架区的非限制性实例包括

(亚群III共有区)：

[0119] a) V_L FR1:DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC (SEQ ID NO:71)；

[0120] b) V_L FR2:WYQQKPGQPPKLLIY (SEQ ID NO:72)；

[0121] c) V_L FR3:GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDFAVYYC (SEQ ID NO:73)；以及

[0122] d) V_L FR4:FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:74)。

[0123] 适合用于与如本文所述的 V_L CDR一起使用的共有人 V_L 框架区的非限制性实例包括

(亚群IV共有区)：

[0124] a) V_L FR1:DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC (SEQ ID NO:71)；

[0125] b) V_L FR2:WYQQKPGQPPKLLIY (SEQ ID NO:72)；

[0126] c) V_L FR3:GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDFAVYYC (SEQ ID NO:73)；以及

[0127] d) V_L FR4:FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:74)。

[0128] 在一些情况下，本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区，所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3。

[0129] 在一些情况下，本公开的抗Bb抗体包含重链可变区，所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6。

[0130] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11。

[0131] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14。

[0132] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:19。

[0133] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22。

[0134] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:26。

[0135] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28和SEQ ID NO:29。

[0136] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:1的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:2的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:3的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:4的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的CDR-H2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO:6的CDR-H3。

[0137] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:10的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:11的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:12的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:13的CDR-H2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO:14的CDR-H3。

[0138] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:17的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:18的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:19的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:20的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:21的CDR-H2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO:22的CDR-H3。

[0139] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:25的CDR-L1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:2的CDR-L2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:26的CDR-L3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:27的CDR-H1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:28的CDR-H2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO:29的CDR-H3。

[0140] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与选自由SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:30组成的组的氨基酸序列85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0141] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:7中列出的氨基酸序列85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0142] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:15中列出的氨基酸序列85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0143] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ

ID NO:23中列出的氨基酸序列85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0144] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:30中列出的氨基酸序列85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0145] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与选自由SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:31组成的组的氨基酸序列85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0146] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:8中列出的氨基酸序列85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0147] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:16中列出的氨基酸序列85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0148] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:24中列出的氨基酸序列85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0149] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:31中列出的氨基酸序列85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0150] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:7 90%相同的氨基酸序列。

[0151] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:15 90%相同的氨基酸序列。

[0152] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:23 90%相同的氨基酸序列。

[0153] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:30 90%相同的氨基酸序列。

[0154] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:8 90%相同的氨基酸序列。

[0155] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:16 90%相同的氨基酸序列。

[0156] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:24 90%相同的氨基酸序列。

[0157] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:31 90%相同的氨基酸序列。

[0158] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:7 95%相同的氨基酸序列。

[0159] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:15 95%相同的氨基酸序列。

[0160] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:23 95%相同的氨基酸序列。

[0161] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:30 95%相同的氨基酸序列。

[0162] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:8 95%相同的氨基酸序列。

[0163] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:16 95%相同的氨基酸序列。

[0164] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:24 95%相同的氨基酸序列。

[0165] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:31 95%相同的氨基酸序列。

[0166] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:7。

[0167] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:8。

[0168] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:15。

[0169] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:16。

[0170] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:23。

[0171] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:24。

[0172] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:30。

[0173] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:31。

[0174] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:7 90%相同的氨基酸序列;和重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:8 90%相同的氨基酸序列。

[0175] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:15 90%相同的氨基酸序列;和重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:16 90%相同的氨基酸序列。

[0176] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:23 90%相同的氨基酸序列;和重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:24 90%相同的氨基酸序列。

[0177] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:30 90%相同的氨基酸序列;和重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:31 90%相同的氨基酸序列。

[0178] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:7 95%相同的氨基酸序列;和重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:8 95%相同的氨基酸序列。

[0179] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:15 95%相同的氨基酸序列;和重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:16 95%相同的氨基酸序列。

[0180] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:23 95%相同的氨基酸序列;和重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:24 95%相同的氨基酸序列。

[0181] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:30 95%相同的氨基酸序列;和重链可变区,所述重链可变区包含与氨基酸序列SEQ ID NO:31 95%相同的氨基酸序列。

[0182] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:7;和重链可变区,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:8。

[0183] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:15;和重链可变区,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:16。

[0184] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:23;和重链可变区,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:24。

[0185] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:30;和重链可变区,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:31。

[0186] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体特异性地结合补体Bb蛋白内的表位,其中所述抗体与包含以下的抗体竞争结合所述表位:包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体轻链可变区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体重链可变区的重链CDR。

[0187] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体特异性地结合补体Bb蛋白内的表位,其中所述抗体与包含以下的抗体竞争结合所述表位:包含氨基酸序列SEQ ID NO:15的抗体轻链可变区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:16的抗体重链可变区的重链CDR。

[0188] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体特异性地结合补体Bb蛋白内的表位,其中所述抗体与包含以下的抗体竞争结合所述表位:包含氨基酸序列SEQ ID NO:23的抗体轻链可变区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:24的抗体重链可变区的重链CDR。

[0189] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体特异性地结合补体Bb蛋白内的表位,其中所述抗体与包含以下的抗体竞争结合所述表位:包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的抗体轻链可变区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的抗体重链可变区的重链CDR。

[0190] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含:包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的抗体轻链可变区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的抗体重链可变区的重链CDR。

[0191] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含:包含氨基酸序列SEQ ID NO:15的抗体轻链可变区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:16的抗体重链可变区的重链CDR。

[0192] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含:包含氨基酸序列SEQ ID NO:23的抗体轻链可变区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:24的抗体重链可变区的重链CDR。

[0193] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含:包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的抗体轻链可变区的轻链CDR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的抗体重链可变区的重链CDR。

[0194] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体结合来自具有补体系统的个体的补体Bb蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗Bb抗体结合来自具有补体系统的哺乳动物、鱼类或无脊椎动物的补体Bb蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗Bb抗体结合哺乳动物补体Bb蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗Bb抗体结合人补体Bb蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗Bb抗体结合具有图13中描绘的氨基酸序列的氨基酸26-259的补体Bb蛋白。图13提供智人补体Bb蛋白的氨基酸序列;氨基酸26-259是成熟蛋白质。

[0195] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体结合补体Bb蛋白的亲和力为 10^{-8} M至 10^{-9} M、 10^{-9} M至 10^{-10} M或 10^{-10} M至 10^{-11} M。

[0196] 在一些情况下,与抗Bb抗体对因子B的结合相比,本公开的抗Bb抗体表现出对因子Bb的优先结合。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体结合因子Bb,但基本上不结合可溶性因子B。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体结合因子Bb的亲和力比所述抗体对因子B的亲和力高至少2倍、至少2.5倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少7.5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少50倍、至少75倍或至少100倍。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体结合因子Bb的亲和力比所述抗体对因子B的亲和力高2倍至2.5倍、2.5倍至5倍、5倍至10倍、10倍至15倍、15倍至20倍、20倍至25倍、25倍至50倍、50倍至75倍或75倍至100倍。在一些情况下,i)本公开的抗Bb抗体与因子Bb的结合与ii)本公开的抗Bb抗体与因子B的结合的比率是至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少25:1、至少50:1、至少75:1或至少100:1。在一些情况下,i)本公开的抗Bb抗体与因子Bb的结合与ii)本公开的抗Bb抗体与因子B的结合的比率是2:1至5:1、5:1至10:1、10:1至25:1、25:1至50:1、50:1至75:1或75:1至100:1。

[0197] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体结合因子B和因子Bb两者。

[0198] 在一些情况下,与在抗Bb抗体不存在下AP活性的水平相比,本公开的抗Bb抗体使替代途径(AP)活性抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制AP活性的 IC_{50} 为 10^{-7} M至 10^{-9} M,例如 IC_{50} 为 10^{-7} M至 5×10^{-7} M、 5×10^{-7} M至 10^{-8} M、 10^{-8} M至 5×10^{-8} M或 5×10^{-8} M至 10^{-9} M。

[0199] 在一些情况下,与在抗Bb抗体不存在下形成的MAC的量相比,本公开的抗Bb抗体使膜攻击复合物(MAC)的形成抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%。

[0200] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制C3b/Bb介导的C3裂解。C3b/Bb也称为“C3转化酶”。在一些情况下,与在抗Bb抗体不存在下C3的裂解相比,本公开的抗Bb抗体使C3b/Bb介导的C3裂解抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制C3b/Bb介导的C3裂解的 IC_{50} 为 10^{-7} M至 10^{-9} M,例如 IC_{50} 为 10^{-7} M至 5×10^{-7} M、 5×10^{-7} M至 10^{-8} M、 10^{-8} M至 5×10^{-8} M或 5×10^{-8} M至 10^{-9} M。

[0201] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制C3b/Bb介导的C3裂解,从而减少C3裂解产

物的产生。例如,在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制C3b/Bb介导的C3裂解,从而与在抗Bb抗体不存在下C3裂解产物的产生相比,使C3裂解产物(例如,C3a和/或C3b)的产生减少至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%。在一些情况下,本公开的抑制C3b/Bb介导的C3裂解的抗Bb抗体包含分别存在于M17VH和VL中的VH和VL CDR。在一些情况下,本公开的抑制C3b/Bb介导的C3裂解的抗Bb抗体包含分别存在于M10VH和VL中的VH和VL CDR。

[0202] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体结合因子B并抑制因子B的裂解。例如,在一些情况下,与在抗Bb抗体不存在下的因子B裂解相比,本公开的抗Bb抗体使因子B裂解抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或超过95%。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制C3b/Bb形成。

[0203] 在一些情况下,与在抗Bb抗体不存在下细胞溶解的程度相比,本公开的抗Bb抗体使补体AP介导的细胞溶解抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%。细胞溶解测定可用于确定AP介导的细胞溶解的抑制程度。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制AP介导的细胞溶解的IC₅₀为10⁻⁷M至10⁻⁹M,例如IC₅₀为10⁻⁷M至5x 10⁻⁷M、5x 10⁻⁷M至10⁻⁸M、10⁻⁸M至5x 10⁻⁸M或5x 10⁻⁸M至10⁻⁹M。

[0204] 在一些情况下,与在抗Bb抗体不存在下溶血的程度相比,本公开的抗Bb抗体使补体AP介导的溶血抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%。兔红细胞(RBC)溶血测定可用于确定AP介导的溶血的抑制程度。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制AP介导的溶血的IC₅₀为10⁻⁷M至10⁻⁹M,例如IC₅₀为10⁻⁷M至5x 10⁻⁷M、5x 10⁻⁷M至10⁻⁸M、10⁻⁸M至5x 10⁻⁸M或5x 10⁻⁸M至10⁻⁹M。

[0205] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制细胞或组织上AP介导的C3b、C3d或其它C3分裂产物的沉积。例如,在一些情况下,与不施用抗Bb抗体情况下或在施用抗Bb抗体之前细胞或组织上C3b、C3d或其它C3分裂产物的沉积的量相比,本公开的抗Bb抗体使所述细胞或组织上AP介导的C3b、C3d或其它C3分裂产物的沉积抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制细胞或组织上AP介导的C3b、C3d或其它C3分裂产物的沉积的IC₅₀为10⁻⁷M至10⁻⁹M,例如IC₅₀为10⁻⁷M至5x 10⁻⁷M、5x 10⁻⁷M至10⁻⁸M、10⁻⁸M至5x 10⁻⁸M或5x 10⁻⁸M至10⁻⁹M。

[0206] 在一些情况下,与在抗Bb抗体不存在下细胞或组织上C3b沉积的量相比,本公开的抗Bb抗体使细胞或组织上AP介导的C3b沉积抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制细胞或组织上AP介导的C3b沉积的IC₅₀为10⁻⁷M至10⁻⁹M,例如IC₅₀为10⁻⁷M至5x 10⁻⁷M、5x 10⁻⁷M至10⁻⁸M、10⁻⁸M至5x 10⁻⁸M或5x 10⁻⁸M至10⁻⁹M。

[0207] 在一些情况下,与在抗Bb抗体不存在下RBC上C3b沉积的量相比,本公开的抗Bb抗体使红细胞(RBC)上AP介导的C3b沉积抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少

50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制RBC上AP介导的C3b沉积的IC₅₀为10⁻⁷M至10⁻⁹M,例如IC₅₀为10⁻⁷M至5x 10⁻⁷M、5x 10⁻⁷M至10⁻⁸M、10⁻⁸M至5x 10⁻⁸M或5x 10⁻⁸M至10⁻⁹M。

[0208] 在一些情况下,当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时,本公开的抗Bb抗体减少所述个体的循环中因子Bb的量。例如,在一些情况下,与不施用抗Bb抗体情况下个体的循环中因子Bb的量相比或与施用抗Bb抗体之前个体的循环中因子Bb的量相比,当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时,本公开的抗Bb抗体使所述个体的循环中因子Bb的量减少至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。

[0209] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制因子H(fH)与C3bBb(补体替代途径C3转化酶)的相互作用。在一些情况下,与在抗Bb抗体不存在下fH与C3bBb的相互作用相比,本公开的抗Bb抗体使fH与C3bBb的相互作用抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。在一些情况下,本公开的抑制fH与C3bBb的相互作用的抗Bb抗体包含分别存在于M4 VH和VL中的VH和VL CDR。

[0210] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制因子H(fH)与C3bBb(补体替代途径C3转化酶)的结合。在一些情况下,与在抗Bb抗体不存在下fH与C3bBb的结合相比,本公开的抗Bb抗体使fH与C3bBb的结合抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。在一些情况下,本公开的抑制fH与C3bBb的结合的抗Bb抗体包含分别存在于M4VH和VL中的VH和VL CDR。

[0211] 在一些情况下,本公开的抑制fH与C3bBb的相互作用的抗Bb抗体诱导C3的降解。在一些情况下,当这种抗体以一个或多个剂量施用至有需要的个体时,与不施用抗Bb抗体情况下体液或组织中C3的量相比,或与施用抗Bb抗体之前所述个体的循环中因子Bb的量相比,本公开的抑制fH与C3bBb的相互作用的抗Bb抗体使所述个体的体液或组织中C3的量减少至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。体液包括例如血清、血浆、淋巴液、细胞外液、血液等。

[0212] 在一些情况下,本公开的抑制fH与C3bBb的结合的抗Bb抗体诱导C3的降解。在一些情况下,当这种抗体以一个或多个剂量施用至有需要的个体时,与不施用抗Bb抗体情况下体液或组织中C3的量相比,或与施用抗Bb抗体之前所述个体的循环中因子Bb的量相比,本公开的抑制fH与C3bBb的结合的抗Bb抗体使所述个体的体液或组织中C3的量减少至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。体液包括例如血清、血浆、淋巴液、细胞外液、血液等。

[0213] 在一些情况下,当这种抗体以一个或多个剂量施用至患有灾难性抗磷脂抗体综合征的个体时,与不施用抗Bb抗体情况下体液或组织中C3的量相比,或与施用抗Bb抗体之前所述个体的循环中因子Bb的量相比,本公开的抑制fH与C3bBb的相互作用的抗Bb抗体使所述个体的体液或组织中C3的量减少至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。

[0214] 在一些情况下,当这种抗体以一个或多个剂量施用至患有灾难性抗磷脂抗体综合征的个体时,与不施用抗Bb抗体情况下体液或组织中C3的量相比,或与施用抗Bb抗体之前所述个体的循环中因子Bb的量相比,本公开的抑制fH与C3bBb的结合的抗Bb抗体使所述个体的体液或组织中C3的量减少至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。

[0215] 本公开提供了实施方案的待人源化的任何抗Bb抗体。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含人源化框架区。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含人源化轻链框架区。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含人源化重链框架区。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含人源化轻链框架区和人源化重链框架区。

[0216] 在一些情况下,主题抗Bb抗体包含一个或多个人源化框架区(FR)。在一些情况下,主题抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含已经人源化的一个、两个、三个或四个轻链FR。在一些实施方案中,主题抗Bb抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区从N末端至C末端依次包含:人源化轻链FR1;如本文所阐述的CDR-L1;人源化轻链FR2;如本文所阐述的CDR-L2;人源化轻链FR3;如本文所阐述的CDR-L3;以及人源化轻链FR4。在一些情况下,CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的对应氨基酸序列是以下组合中的一种:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11;SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:19;以及SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:26。

[0217] 例如,本公开的抗Bb抗体可包含轻链可变区,所述轻链可变区从N末端至C末端依次包含:人源化轻链FR1;包含氨基酸序列SEQ ID NO:1的CDR-L1;人源化轻链FR2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的CDR-L2;人源化轻链FR3;包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的CDR-L3;以及人源化轻链FR4。

[0218] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含已经人源化的一个、两个、三个或四个重链FR。在一些情况下,主题抗体包含重链可变区,所述重链可变区从N末端至C末端依次包含:人源化重链FR1;如本文所阐述的CDR-H1;人源化重链FR2;如本文所阐述的CDR-H2;人源化重链FR3;如本文所阐述的CDR-H3;以及人源化重链FR4。例如,主题抗体可包含重链可变区,所述重链可变区从N末端至C末端依次包含:人源化重链FR1;包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的CDR-H1;人源化重链FR2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的CDR-H2;人源化重链FR3;包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的CDR-H3;以及人源化重链FR4。在一些实施方案中,CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的对应氨基酸序列是以下组合中的一种:SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6;SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14;SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22;以及SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28和SEQ ID NO:29。

[0219] 例如,本公开的抗Bb抗体可包含重链可变区,所述重链可变区从N末端至C末端依次包含:人源化重链FR1;包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的CDR-L1;人源化重链FR2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的CDR-L2;人源化重链FR3;包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的CDR-L3;以及人源化重链FR4。

[0220] 在一些实施方案中,本公开的结合人补体Bb蛋白的抗Bb抗体还结合另一物种的补体Bb蛋白。在一些实施方案中,本公开的结合人补体Bb蛋白的抗Bb抗体还结合非人灵长类动物补体Bb蛋白。在一些实施方案中,本公开的结合人补体Bb蛋白的抗Bb抗体还结合啮齿

类动物补体Bb蛋白。啮齿类动物补体Bb蛋白的实例包括但不限于，豚鼠Bb蛋白、仓鼠Bb蛋白、小鼠Bb蛋白和大鼠Bb蛋白。在一些实施方案中，这种交叉反应性抗体以与所述抗体结合人补体Bb蛋白的相似数量级的K_D结合另一物种的补体Bb蛋白。

[0221] 在一些情况下，本公开的抗Bb抗体是结合补体Bb蛋白的Ig单体或其抗原结合片段。在一些情况下，本公开的抗Bb抗体是Ig单体。在一些情况下，本公开的抗Bb抗体是结合补体Bb蛋白的Ig单体的抗原结合片段。

[0222] 在一些情况下，本公开的抗Bb抗体选自由以下组成的组：Ig单体、Fab片段、F(ab')₂片段、Fd片段、scFv、scAb、dAb、Fv、单结构域重链抗体和单结构域轻链抗体。在一些情况下，本公开的抗Bb抗体是单链Fv (scFv) 抗体。

[0223] 在一些情况下，本公开的抗Bb抗体包含存在于单独多肽中的轻链区和重链区。

[0224] 在一些情况下，本公开的抗Bb抗体包含存在于单一多肽中的轻链区和重链区。

[0225] 在一些实施方案中，本公开的抗Bb抗体在单一多肽链中包含抗Bb重链CDR和抗Bb轻链CDR，例如，在一些实施方案中，主题抗体是scFv。在一些实施方案中，本公开的抗Bb抗体从N末端至C末端依次包含：长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第一氨基酸序列；CDR-L1；长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第二氨基酸序列；CDR-L2；长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第三氨基酸序列；CDR-L3；长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第四氨基酸序列；CDR-H1；长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第五氨基酸序列；CDR-H2；长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第六氨基酸序列；CDR-H3；以及长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第七氨基酸序列。在一些情况下，CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的对应氨基酸序列是以下组合中的一种：SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6；SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14；SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22；以及SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28和SEQ ID NO:29。例如，在一些情况下，本公开的抗Bb抗体从N末端至C末端依次包含：长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第一氨基酸序列；包含SEQ ID NO:1中列出的氨基酸序列的CDR-L1；长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第二氨基酸序列；包含SEQ ID NO:2中列出的氨基酸序列的CDR-L2；长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第三氨基酸序列；包含SEQ ID NO:3中列出的氨基酸序列的CDR-L3；长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第四氨基酸序列；包含SEQ ID NO:4中列出的氨基酸序列的CDR-H1；长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第五氨基酸序列；包含SEQ ID NO:5中列出的氨基酸序列的CDR-H2；长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第六氨基酸序列；包含SEQ ID NO:6中列出的氨基酸序列的CDR-H3；以及长度为约5个氨基酸至约25个氨基酸的第七氨基酸序列。

[0226] 在一些实施方案中，本公开的抗Bb抗体从N末端至C末端依次包含：轻链FR1区；CDR-L1；轻链FR2区；CDR-L2；轻链FR3区；CDR-L3；任选的轻链FR4区；接头区；任选的重链FR1区；CDR-H1；重链FR2区；CDR-H2；重链FR3区；CDR-H3；以及重链FR4区。在一些实施方案中，CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的对应氨基酸序列是以下组合中的一种：SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6；SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14；SEQ

ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22；以及SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28和SEQ ID NO:29。在这些实施方案的一些中，所述FR区中的一个或多个是人源化FR区。在这些实施方案的一些中，所述FR区中的每个是人源化FR区。接头区的长度可以是约5个氨基酸(aa)至约50个氨基酸，例如，长度为约5aa至约10aa、约10aa至约15aa、约15aa至约20aa、约20aa至约25aa、约25aa至约30aa、约30aa至约35aa、约35aa至约40aa、约40aa至约45aa或约45aa至约50aa。

[0227] 在一些情况下，本公开的抗Bb抗体从N末端至C末端依次包含：重链FR1区；CDR-H1；重链FR2区；CDR-H2；重链FR3区；CDR-H3；任选的重链FR4区；接头；任选的轻链FR1区；CDR-L1；轻链FR2区；CDR-L2；轻链FR3区；CDR-L3；以及轻链FR4区。在一些实施方案中，CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的对应氨基酸序列是以下组合中的一种：SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6；SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14；SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22；以及SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28和SEQ ID NO:29。在这些实施方案的一些中，所述FR区中的一个或多个是人源化FR区。在这些实施方案的一些中，所述FR区中的每个是人源化FR区。接头区的长度可以是约5个氨基酸至约50个氨基酸，例如，长度为约5aa至约10aa、约10aa至约15aa、约15aa至约20aa、约20aa至约25aa、约25aa至约30aa、约30aa至约35aa、约35aa至约40aa、约40aa至约45aa或约45aa至约50aa。

[0228] 适合使用主题抗体的接头包括“柔性接头”。如果存在，接头分子通常具有足够的长度以允许连接区之间的一些柔性移动。在一些实施方案中，接头分子通常是约6-50个原子长。接头分子也可以是例如芳基乙炔、含有2-10个单体单元的乙二醇低聚物、二胺、二酸、氨基酸或其组合。根据本公开，可使用可结合多肽的其它接头分子。

[0229] 合适的接头可容易地选择，并且可具有许多合适长度中的任一种，如1个氨基酸(例如，Gly)至20个氨基酸、2个氨基酸至15个氨基酸、3个氨基酸至12个氨基酸，包括4个氨基酸至10个氨基酸、5个氨基酸至9个氨基酸、6个氨基酸至8个氨基酸或7个氨基酸至8个氨基酸，并且可以是1、2、3、4、5、6或7个氨基酸。

[0230] 示例性柔性接头包括甘氨酸聚合物(G)_n、甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括，例如，(GS)_n、(GSGGS)_n(SEQ ID NO:75)和(GGGS)_n(SEQ ID NO:76)，其中n是至少一的整数)、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物以及本领域中已知的其它柔性接头。甘氨酸和甘氨酸-丝氨酸聚合物是令人感兴趣的，因为这些氨基酸两者均是相对非结构化的，并且因此可充当组分之间的中性系链。甘氨酸聚合物是特别令人感兴趣的，因为甘氨酸比甚至丙氨酸获得显著更多的phi-psi空间，并且比具有更长侧链的残基限制少的多(参见Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992))。示例性柔性接头包括但不限于GGSG(SEQ ID NO:77)、GGSGG(SEQ ID NO:78)、GSGSG(SEQ ID NO:79)、GSGGG(SEQ ID NO:80)、GGGSG(SEQ ID NO:81)、GSSSG(SEQ ID NO:82)等。普通技术人员将认识到，与上述任何元件缀合的肽的设计可包括全部或部分柔性的接头，以使得接头可包括柔性接头以及赋予较少柔性结构的一个或多个部分。

[0231] 在一些实施方案中，本公开的抗Bb抗体包含scFv多聚体。例如，在一些实施方案中，本公开的抗Bb抗体是scFv二聚体(例如，包含两个串联scFv(scFv₁)、scFv三聚体(例

如,包含三个串联scFv (scFv₃)、scFv四聚体(例如,包含四个串联scFv (scFv₄)) ,或者多于四个scFv(例如,串联)的多聚体。scFv单体可通过长度为约2个氨基酸至约10个氨基酸(aa),例如,长度为2aa、3aa、4aa、5aa、6aa、7aa、8aa、9aa或10aa的接头串联连接。合适的接头包括例如(Gly)_x,其中x是2至10的整数。其它合适的接头是以是论述的那些。在一些实施方案中,如上所述,主题scFv多聚体中的scFv单体中的每个是人源化的。

[0232] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体包含免疫球蛋白的恒定区(例如,Fc区)。所述Fc区(如果存在)可以是人Fc区或来自具有补体系统的任何动物的Fc区。在一些实施方案中,所述Fc区(如果存在)是人Fc区。在一些情况下,所述Fc区包含增加Fc对新生儿Fc受体(FcRn)的亲和力的一个或多个突变(例如,氨基酸取代);参见例如,Monnet等人(2015)Front. Immunol. 6:39。增加Fc多肽对FcRn的亲和力的氨基酸取代的实例包括,例如,M428L和N434S的组合;M252Y、S254T和T256E的组合。如果存在恒定区,则抗体可含有轻链和重链恒定区两者。合适的重链恒定区包括CH1、铰链、CH2、CH3和CH4区。本文描述的抗体包括具有所有类型的恒定区的抗体,包括IgM、IgG、IgD、IgA和IgE,以及任何同种型,包括IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。合适的重链Fc区的实例是人同种型IgG1 Fc。合适的重链Fc区的另一个实例是人同种型IgG2a Fc。合适的重链Fc区的又一个实例是人同种型IgG2b Fc。轻链恒定区可以是λ或κ。主题抗体(例如,主题人源化抗体)可包含来自多于一种类别或同种型的序列。抗体可表达为含有两条轻链和两条重链的四聚体、单独重链、轻链、Fab、Fab'F(ab')₂和Fv,或单链抗体,其中重链和轻链可变结构域通过间隔区来连接。

[0233] 在一些情况下,重链区具有同种型IgG4。在这些实施方案的一些中,铰链区包含S241P取代。参见例如,Angal等人(1993) Mol. Immunol. 30:105。在这些实施方案的一些中,铰链区包含L236E取代。参见例如,Reddy等人(2000) J. Immunol. 164:1925;和Klechevsky等人(2010) Blood 116:1685。在这些实施方案的一些中,铰链区包含S241P取代和L236E取代。

[0234] 主题抗体可在羧基末端包含游离硫醇(-SH)基团,其中所述游离硫醇基团可用于将抗体连接至第二多肽(例如,另一种抗体,包括主题抗体)、支架、载体等。

[0235] 在一些实施方案中,主题抗体包含一种或多种非天然存在的氨基酸。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含羰基、乙酰基、氨基氧基、肼基、酰肼基、氨基脲基团、叠氮基或炔基。关于合适的非天然存在的氨基酸,参见例如美国专利号7,632,924。包含非天然存在的氨基酸可提供与聚合物、第二多肽、支架等的键联。例如,与水溶性聚合物连接的主题抗体可通过使包含羰基的水溶性聚合物(例如,PEG)与抗体反应来制备,其中所述抗体包含非天然编码的氨基酸,所述氨基酸包含氨基氧基、肼、酰肼或氨基脲基团。作为另一个实例,与水溶性聚合物连接的主题抗体可通过使包含含炔的氨基酸的主题抗体与包含叠氮化物部分的水溶性聚合物(例如PEG)反应来制备;在一些情况下,所述叠氮化物或炔基通过酰胺键联连接至PEG分子。“非天然编码的氨基酸”是指不是20种常见氨基酸或吡咯赖氨酸或硒代半胱氨酸中的一种的氨基酸。可与术语“非天然编码的氨基酸”同义使用的其它术语是“非天然氨基酸”、“非天然氨基酸”、“非天然存在的氨基酸”,以及其各种带连字符的和不带连字符的型式。术语“非天然编码的氨基酸”还包括但不限于,通过天然编码的氨基酸(包括但不限于20种常见氨基酸或吡咯赖氨酸和硒代半胱氨酸)的修饰(例如翻译后修饰)产生、但本身不通过翻译复合物天然地并入生长中多肽链中的氨基酸。此类非天然存在的氨基酸的实例包括但不限于,N-乙酰基葡萄糖胺基-L-丝氨酸、N-乙酰基葡萄糖胺基-L-苏氨酸和O-磷

酸酪氨酸。

[0236] 在一些实施方案中，主题抗体与聚合物(例如，除多肽之外的聚合物)连接(例如，共价连接)。合适的聚合物包括例如，生物相容聚合物和水溶性生物相容聚合物。合适的聚合物包括合成聚合物和天然存在的聚合物。合适的聚合物包括，例如，取代的或未取代的直链或支链聚亚烷基、聚亚烯基或聚氧化烯聚合物或支链或非支链多糖，例如同或杂多糖。合适的聚合物包括例如，乙烯-乙烯醇共聚物(通常通过通用名称EVOH或商品名EVAL已知)；聚甲基丙烯酸丁酯；聚(羟基戊酸酯)；聚(L-乳酸)；聚己内酯；聚(丙交酯-共-乙交酯)；聚(羟基丁酸酯)；聚(羟基丁酸酯-共-戊酸酯)；聚二噁烷酮；聚原酸酯；聚酸酐；聚(乙醇酸)；聚(D,L-乳酸)；聚(乙醇酸-共-三亚甲基碳酸酯)；聚磷酸酯；聚磷酸酯氨基甲酸酯；聚(氨基酸)；氰基丙烯酸酯；聚(三亚甲基碳酸酯)；聚(亚氨基碳酸酯)；共聚(醚-酯)(例如，聚(环氧乙烷)-聚(乳酸)(PEO/PLA)共聚物)；聚亚烷基草酸酯；聚磷腈；生物分子，如纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维素、淀粉、胶原和透明质酸；聚氨酯；硅酮；聚酯；聚烯烃；聚异丁烯和乙烯- α -烯烃共聚物；丙烯酸聚合物和共聚物；乙烯基卤化物聚合物和共聚物，如聚氯乙烯；聚乙烯醚，如聚乙烯基甲基醚；聚偏二卤乙烯，如聚偏二氟乙烯和聚偏二氯乙烯；聚丙烯腈；聚乙烯酮；聚乙烯基芳烃，如聚苯乙烯；聚乙烯酯，如聚乙酸乙烯酯；乙烯基单体与彼此和烯烃的共聚物，如乙烯-甲基丙烯酸甲酯共聚物、丙烯腈-苯乙烯共聚物、ABS树脂和乙烯-乙酸乙烯酯共聚物；聚酰胺，如尼龙66和聚己内酰胺；醇酸树脂；聚碳酸酯；聚甲醛；聚酰亚胺；聚醚；环氧树脂；聚氨酯；人造丝；人造丝-三乙酸酯；纤维素；乙酸纤维素；丁酸纤维素；乙酸丁酸纤维素；玻璃纸；硝酸纤维素；丙酸纤维素；纤维素醚；非晶特氟龙；聚乙二醇)；以及羧甲基纤维素。

[0237] 合适的合成聚合物包括未取代的和取代的直链或支链聚(乙二醇)、聚(丙二醇)聚(乙二醇)及其衍生物，例如取代的聚(乙二醇)，如甲氧基聚(乙二醇)以及其衍生物。合适的天然存在的聚合物包括例如，白蛋白、直链淀粉、葡聚糖、糖原以及其衍生物。

[0238] 合适的聚合物可具有500Da至50,000Da，例如5,000Da至40,000Da或25,000至40,000Da的平均分子量。例如，在一些实施方案中，当主题抗体包含聚(乙二醇)(PEG)或甲氧基聚(乙二醇)聚合物时，所述PEG或甲氧基聚(乙二醇)聚合物可具有在约0.5千道尔顿(kDa)至1kDa、约1kDa至5kDa、5kDa至10kDa、10kDa至25kDa、25kDa至40kDa或40kDa至60kDa范围内的分子量。

[0239] 如上所述，在一些实施方案中，主题抗体与非肽合成聚合物共价连接。在一些实施方案中，主题抗体与PEG聚合物共价连接。在一些实施方案中，主题scFv多聚体与PEG聚合物共价连接。参见例如，Albrecht等人(2006)J. Immunol. Methods 310:100。适用于蛋白质的PEG化的方法和试剂是本领域熟知的，并且可在例如美国专利号5,849,860中找到。适于与蛋白质缀合的PEG通常在室温下可溶于水，并且具有通式R(O-CH₂-CH₂)_nO-R，其中R是氢或保护基团如烷基或烷醇基团，并且其中n是1至1,000的整数。当R是保护基团时，它通常具有1至8个碳。

[0240] 在一些实施方案中，与主题抗体缀合的PEG是线性的。在一些实施方案中，与主题抗体缀合的PEG是支链的。支链PEG衍生物，如美国专利号5,643,575中描述的那些，“星形-PEG”和多臂PEG，如在Shearwater Polymers, Inc. catalog “Polyethylene Glycol Derivatives 1997-1998”中描述的那些。星形PEG在本领域中，包括例如在美国专利号6,

046,305中进行了描述。

[0241] 主题抗体可以是糖基化的,例如,主题抗体可包含共价连接的碳水化合物或多糖部分。抗体的糖基化通常是N-连接的或O-连接的。N-连接是指碳水化合物部分连接至天冬酰胺残基的侧链。其中X是除脯氨酸之外的任何氨基酸的三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸是碳水化合物部分酶促连接于天冬酰胺侧链的识别序列。因此,在多肽中的这些三肽序列中的任何一个的存在产生潜在糖基化位点。O-连接的糖基化是指糖N-乙酰半乳糖胺、半乳糖或木糖之一与羟基氨基酸连接,最常见的是丝氨酸或苏氨酸,但是也可使用5-羟基脯氨酸或5-羟基赖氨酸。

[0242] 糖基化位点添加至抗体宜通过改变氨基酸序列以使得其含有上述三肽序列中的一个或多个来实现(对于N连接的糖基化位点)。改变也可通过对原始抗体的序列的一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基的添加或取代来进行(对于O-连接的糖基化位点)。类似地,糖基化位点的除去可通过抗体的天然糖基化位点内的氨基酸改变来实现。

[0243] 在一些实施方案中,主题抗体将包含“不透射线”的标记,例如可容易地使用例如x-射线可视化的标记。不透射线的材料是本领域技术人员所熟知的。最常见的不透射线的材料包括碘化物、溴化物或钡盐。其它不透射线的材料也是已知的,并且包括但不限于有机铋衍生物(参见例如,美国专利号5,939,045)、不透射线的多氨基甲酸酯(参见美国专利号5,346,981)、有机铋复合材料(参见例如,美国专利号5,256,334)、不透射线的钡多聚体复合物(参见例如,美国专利号4,866,132)等。

[0244] 可使用例如戊二醛、同双功能交联剂或异双功能交联剂将主题抗体共价连接至第二部分(例如,脂质、除主题抗体之外的多肽、合成聚合物、碳水化合物等)。戊二醛通过其氨基部分交联多肽。同双功能交联剂(例如,同双功能亚氨酸酯、同双功能N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)酯或同双功能巯基反应性交联剂)含有两个或更多个相同的反应性部分,并且可用于一步反应程序中,其中将交联剂添加至含有待连接的多肽混合物的溶液。同双功能NHS酯和亚氨酸酯交联含胺多肽。在弱碱性pH下,亚氨酸酯仅与伯胺反应以形成亚氨酰胺,并且交联多肽的总电荷不受影响。同双功能巯基反应性交联剂包括双马来酰亚胺基己烷(BMH)、1,5-二氟-2,4-二硝基苯(DFDNB)和1,4-二-(3',2'-吡啶基二硫代)丙酰胺基丁烷(DPDPB)。

[0245] 异双功能交联剂具有两个或更多个不同的反应性部分(例如,胺反应性部分和巯基反应性部分)并且通过胺或巯基反应性部分与所述多肽中的一种交联,然后通过未反应的部分与另一多肽反应。可获得多种异双功能卤代乙酰基交联剂,吡啶基二硫化物交联剂也是如此。碳二亚胺是用于将羧基与胺偶联的异双功能交联试剂的典型实例,其产生酰胺键。

[0246] 可将主题抗体固定在固体支持体上。合适的支撑体是本领域熟知的,并且尤其包括可商购的柱材料、聚苯乙烯珠粒、乳胶珠粒、磁珠、胶态金属颗粒、玻璃和/或硅芯片和表面、硝化纤维条、尼龙膜、duracyte、反应托盘(例如,多孔板)的孔、塑料管等。固体支撑体可包括多种物质中的任一种,包括例如玻璃、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚丙烯、聚乙烯、聚碳酸酯、葡聚糖、尼龙、直链淀粉、天然和改性纤维素、聚丙烯酰胺、琼脂糖和磁铁矿。用于将主题抗体固定到固体支撑体上的合适方法是熟知的,并且包括但不限于离子相互作用、疏水相互作用、共价相互作用等。固体支撑体可例如在水溶液中可溶或不可溶。在一些实施方案中,合适的固体支撑体通常不溶于水溶液。

[0247] 在一些实施方案中，主题抗体将包含可检测标记。合适的可检测标记包括可通过光谱、光化学、生物化学、免疫化学、电学、光学或化学方法检测的任何组合物。合适的包括但不限于磁珠(例如DynabeadsTM)、荧光染料(例如，异硫氰酸荧光素、德克萨斯红、若丹明、绿色荧光蛋白、红色荧光蛋白、黄色荧光蛋白等)、放射性标记(例如，³H、¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C或³²P)、酶(例如，辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、荧光素酶以及在酶联免疫吸附测定(ELISA)中常用的其它酶)和比色标记，如胶体金或有色玻璃或塑料(例如聚苯乙烯、聚丙烯、乳胶等)珠粒。

[0248] 在一些实施方案中，主题抗体包含造影剂或放射性同位素，其中造影剂或放射性同位素是适合用于成像的造影剂或放射性同位素，例如对人进行的成像程序。标记的非限制性实例包括放射性同位素，如¹²³I(碘)、¹⁸F(氟)、⁹⁹Tc(锝)、¹¹¹In(铟)和⁶⁷Ga(镓)，以及造影剂，如钆(Gd)、镝和铁。。放射性Gd同位素(¹⁵³Gd)也可用并且适用于非人哺乳动物中的成像程序。可使用标准技术标记主题抗体。例如，可使用氯胺T或1,3,4,6-四氯-3α,6α-二苯基甘脲对主题抗体进行碘化。对于氟化，在合成期间通过氟离子置换反应将氟添加至主题抗体。关于用此类放射性同位素合成蛋白质的综述，参见Muller-Gartner,H.,TIB Tech.,16:122-130(1998)和Saji,H.,Crit.Rev.Ther.Drug Carrier Syst.,16(2):209-244(1999)。还可通过标准技术用造影剂标记主题抗体。例如，可通过将低分子Gd螯合物如Gd二亚乙基三胺五乙酸(GdDTPA)或Gd四氮杂环十二烷四乙酸(GdDOTA)与抗体缀合来用Gd标记主题抗体。参见，Caravan等人，Chem.Rev.99:2293-2352(1999)和Lauffer等人，J.Magn.Reson.Imaging,3:11-16(1985)。可通过例如将聚赖氨酸-Gd螯合物缀合至抗体来用Gd标记主题抗体。参见例如，Curtet等人，Invest.Radiol.,33(10):752-761(1998)。或者，可通过将包含Gd螯合剂脂质的顺磁性聚合脂质体与抗生素素蛋白和生物素化的抗体一起孵育来用Gd标记主题抗体。参见例如，Sipkins等人，Nature Med.,4:623-626(1998)。

[0249] 合适的荧光蛋白包括但不限于，绿色荧光蛋白(GFP)或其变体、GFP的蓝色荧光变体(BFP)、GFP的青色荧光变体(CFP)、GFP的黄色荧光变体(YFP)、增强型GFP(EGFP)、增强型CFP(ECFP)、增强型YFP(EYFP)、GFPS65T、Emerald、Topaz(TYFP)、Venus、Citrine、mCitrine、GFPuv、去稳定化EGFP(dEGFP)、去稳定化ECFP(dECFP)、去稳定化EYFP(dEYFP)、mCFPm、Cerulean、T-Sapphire、CyPet、YPet、mKO、HcRed、t-HcRed、DsRed、DsRed2、DsRed-单体、J-Red、dimer2、t-dimer2(12)、mRFP1、pocilloporin、海肾GFP、Monster GFP、paGFP、Kaede蛋白和kindling蛋白、藻胆蛋白和藻胆蛋白缀合物，包括B-藻红蛋白、R-藻红蛋白和别藻蓝蛋白。荧光蛋白的其它例子包括mHoneydew、mBanana、mOrange、dTOMato、tdTomato、mTangerine、mStrawberry、mCherry、mGrape1、mRaspberry、mGrape2、mPlum(Shaner等人(2005)Nat.Methods 2:905-909)等。如描述于例如Matz等人(1999)Nature Biotechnol.17:969-973中的来自珊瑚虫物种的各种荧光和有色蛋白质中的任一种适合使用。

[0250] 在一些实施方案中，主题抗体与治疗剂缀合。本文公开的任何主题抗体可用于形成抗体-药剂缀合物。所述药剂可连接至轻链的N末端、轻链的C末端、重链的N末端或重链的C末端。在一些实施方案中，所述药剂连接至抗体的铰链或连接至抗体上的一个或多个其它位点。对于单链抗体，可将药剂连接至单链抗体的N或C末端。可使用本领域技术人员已知的技术将药剂直接或通过接头缀合至抗体。接头可以是可裂解的或不可裂解的。此类治疗剂的实例(例如，用于治疗)是本领域技术人员已知的。

[0251] 在一些实施方案中,主题抗体将与融合配偶体(例如配体);表位标签;肽;除抗体以外的蛋白质等连接(例如,共价或非共价连接)。合适的融合配偶体包括肽和多肽,所述肽和多肽赋予增强的体内稳定性(例如,增强的血清半衰期);提供易于纯化,例如(His)_n,例如6His等;提供从细胞分泌融合蛋白;提供表位标签,例如GST、血凝素(HA;例如,YPYDVPDYA;SEQ ID NO:83)、FLAG(例如,DYKDDDDK;SEQ ID NO:84)、c-myc(例如,EQKLISEEDL;SEQ ID NO:85)等;提供可检测的信号,例如产生可检测产物的酶(例如,β-半乳糖苷酶、荧光素酶)或本身可检测的蛋白质,例如绿色荧光蛋白、红色荧光蛋白、黄色荧光蛋白等;提供多聚化,例如多聚化结构域,如免疫球蛋白的Fc部分等。

[0252] 融合还可以包括亲和结构域,包括可与结合配偶体相互作用的肽序列,例如像固定在固体支持体上的可用于鉴定或纯化的肽序列。当与蛋白质融合时,连续的单个氨基酸(如组氨酸)可通过与树脂柱(如镍琼脂糖凝胶)的高亲和力结合用于融合蛋白的一步纯化。示例性亲和结构域包括His5 (HHHHH) (SEQ ID NO:86);HisX6 (HHHHHH) (SEQ ID NO:87);C-myc (EQKLISEEDL) (SEQ ID NO:88);Flag (DYKDDDDK) (SEQ ID NO:85);StrepTag (WSHPQFEK) (SEQ ID NO:89);血凝素,例如,HA标签 (YPYDVPDYA;SEQ ID NO:90);谷胱甘肽-S-转移酶(GST);硫氧还蛋白;纤维素结合结构域;RYIRS (SEQ ID NO:91);Phe-His-His-Thr (SEQ ID NO:92);壳多糖结合结构域;S-肽;T7肽;SH2结构域;C-端RNA标签,WEAAAREACCRECCARA (SEQ ID NO:93);金属结合结构域,例如,锌结合结构域或钙结合结构域,如来自钙结合蛋白的那些,例如,钙调蛋白、肌钙蛋白C、钙调磷酸酶B、肌球蛋白轻链、恢复蛋白、S-调控蛋白、视锥蛋白、VILIP、神经钙蛋白、海马钙蛋白、聚集蛋白、钙牵蛋白、钙蛋白酶大亚基、S100蛋白、小清蛋白、钙结合蛋白D9K、钙结合蛋白D28K以及钙网膜蛋白;内含肽;生物素;链霉抗生物素蛋白;MyoD;亮氨酸拉链序列;以及麦芽糖结合蛋白。

[0253] 在一些实施方案中,本公开的抗Bb抗体与促进穿过血脑屏障(BBB)的药剂一起配制。在一些实施方案中,所述抗体直接或通过接头融合至促进BBB杂交的化合物。这种化合物的实例包括但不限于载体分子、肽或蛋白质。在一些实施方案中,本公开的抗Bb抗体将与结合内源性BBB受体的多肽融合。将本公开的抗Bb抗体与结合内源性BBB受体的多肽连接有助于穿过BBB,例如,在涉及向有需要的个体施用本公开的抗Bb抗体的主题治疗方法(参见下文)中。结合内源性BBB受体的合适多肽包括特异性地结合内源性BBB受体的抗体,例如单克隆抗体或其抗原结合片段。合适的内源性BBB受体包括但不限于胰岛素受体、转铁蛋白受体、瘦蛋白受体、脂蛋白受体和胰岛素样生长因子受体。参见例如,美国专利公布号2009/0156498。

[0254] 作为实例,主题抗Bb抗体可以是双特异性抗体,所述双特异性抗体包含特异性地结合补体Bb蛋白中的表位的第一抗原结合部分;和结合内源性BBB受体的第二抗原结合部分。例如,在一些实例中,主题抗Bb抗体是双特异性抗体,所述双特异性抗体包含特异性地结合Bb蛋白中的表位的第一抗原结合部分;和结合转铁蛋白受体的第二抗原结合部分。

[0255] 例如,本公开的抗Bb抗体可与促进穿过BBB的肽融合,所述肽具有约15个氨基酸至约25个氨基酸的长度,并且包含与以下肽中的一个至少约85%氨基酸序列相同的氨基酸序列:Angiopep-1 (TFFYGGCRGKRNNFKTEEY) (SEQ ID NO:93);Angiopep-2 (TFFYGGSRGKRNNFKTEEY) (SEQ ID NO:94);cys-Angiopep-2 (CTFFYGGSRGKRNNFKTEEY) (SEQ ID NO:95);Angiopep-2-cys (TFFYGGSRGKRNNFKTEEYC) (SEQ ID NO:96);以及抑肽酶片段

(TFVYGGCRAKNNFKS) (SEQ ID NO:97)。参见例如,美国专利公布号2011/0288011;和2009/0016959。促进穿过BBB的肽可与抗Bb轻链区的N末端、抗Bb轻链区的C末端、抗Bb重链区的N末端、抗Bb重链区的C末端、主题抗Bb单链抗体的N末端、主题抗Bb单链抗体的C末端等融合。

[0256] 在一些实施方案中,主题抗体包含多胺修饰。主题抗体的多胺修饰增强修饰的抗体在BBB处的穿透性。可用天然存在的或合成的多胺修饰主题抗体。参见例如,美国专利号5,670,477。有用的天然存在的多胺包括腐胺、亚精胺、精胺、1,3-二氨基丙烷、去甲亚精胺、syn-高亚精胺、热胺、热精胺、嗜热性五胺、高嗜热性五胺和刀豆四胺。腐胺、亚精胺和精胺特别有用。合成多胺由经验式 $C_xH_yN_z$ 组成,可以是3-12个碳原子的环状或非环状、支链或非支链的烃链,其进一步包括1-6个NR或N(R)₂部分,其中R是H、(C₁-C₄)烷基、苯基或苄基。可使用任何标准交联方法将多胺与抗体连接。

[0257] 在一些实施方案中,对主题抗体进行修饰以包括碳水化合物部分,其中所述碳水化合物部分可与所述抗体共价连接。在一些实施方案中,对主题抗体进行修饰以包括脂质部分,其中所述脂质部分可与所述抗体共价连接。合适的脂质部分包括,例如,N-脂肪酰基,如N-月桂酰基、N-油酰基等;脂肪胺,如十二烷基胺、油酰基胺等;C3-C16长链脂肪族脂质;等。参见例如,美国专利号6,638,513)。在一些实施方案中,将主题抗体并入(例如,包封)到脂质体中。

[0258] 产生主题抗体的方法

[0259] 主题抗体(本公开的抗Bb抗体)可通过任何已知方法产生,例如用于蛋白质合成的常规合成方法;重组DNA方法等。在一些实施方案中,主题抗体通过选自由重组产生和化学合成组成的组的方法产生。

[0260] 当主题抗体是单链多肽时,其可使用标准化学肽合成技术合成。在化学合成多肽的情况下,合成可通过液相或固相进行。固相多肽合成(SPPS)是用于化学合成主题抗体的合适方法的实例,其中将序列的C-末端氨基酸连接至不溶性支持体,随后依次添加序列中剩余氨基酸。各种形式的SPPS(如Fmoc和Boc)可用于合成主题抗体。用于固相合成的技术由以下描述:Barany和Merrifield,Solid-Phase Peptide Synthesis;第3-284页The Peptides:Analysis, Synthesis, Biology. 第2卷:Special Methods in Peptide Synthesis, Part A., Merrifield, 等人J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2156 (1963); Stewart等人,Solid Phase Peptide Synthesis, 第2版Pierce Chem. Co., Rockford, Ill. (1984);以及Ganesan A. 2006 Mini Rev. Med. Chem. 6:3-10 and Camarero JA等人2005 Protein Pept Lett. 12:723-8。简言之,用构建肽链的功能单元处理小的不溶性多孔珠粒。在偶联/脱保护的重复循环后,将附着的固相的游离N-末端胺与单个N-保护的氨基酸单元偶联。然后将此单元脱保护,从而显示新的N-末端胺,另外的氨基酸可连接至所述N-末端胺。肽保持固定在固相上并在裂解掉之前经历过滤过程。

[0261] 标准重组方法可用于产生主题抗体。例如,将编码轻链和重链可变区的核酸(任选地与恒定区连接)插入表达载体中。所述轻链和重链可克隆在相同或不同的表达载体中。编码免疫球蛋白链的DNA区段与表达载体中的控制序列可操作地连接,所述控制序列确保免疫球蛋白多肽的表达。表达控制序列包括但不限于,启动子(例如,天然相关或异源启动子)、信号序列、增强子元件、抑制子元件和转录终止序列。表达控制序列可以是能够转化或转染真核宿主细胞(例如COS或CHO细胞)的载体中的真核启动子系统。一旦已经将载体并入

适当宿主中,就将宿主保持在适于核苷酸序列的高水平表达以及所述抗体的收集和纯化的条件下。

[0262] 由于密码的简并性,多种核酸序列可编码每种免疫球蛋白氨基酸序列。所需的核酸序列可通过从头固相DNA合成或通过早期制备的所需多核苷酸变体的聚合酶链式反应(PCR)诱变来产生。寡核苷酸介导的诱变是用于制备靶多肽DNA的取代、缺失和插入变体的合适方法的实例。参见Adelman等人,DNA 2:183 (1983)。简言之,通过将编码所需突变的寡核苷酸杂交至单链DNA模板来改变靶多肽DNA。在杂交后,使用DNA聚合酶来合成并入寡核苷酸引物并编码靶多肽DNA中的选定改变的模板的整个第二互补链。

[0263] 合适的表达载体通常可在宿主生物体中作为游离基因或宿主染色体DNA的整体部分复制。通常,表达载体含有选择标记(例如,氨苄青霉素抗性、潮霉素抗性、四环素抗性、卡那霉素抗性或新霉素抗性)以允许检测用所需DNA序列转化的那些细胞。

[0264] 大肠杆菌是可用于克隆编码主题抗体的多核苷酸的原核生物宿主细胞的实例。适合使用的其它微生物宿主包括杆菌,如枯草芽孢杆菌;和其它肠杆菌科,如沙门氏菌属、沙雷氏菌属和各种假单胞菌属物种。在这些原核生物宿主中,还可制备表达载体,其通常将含有与宿主细胞相容的表达控制序列(例如,复制起点)。此外,将存在任何数量的各种熟知的启动子,如乳糖启动子系统、色氨酸(*trp*)启动子系统、 β -内酰胺酶启动子系统或来自噬菌体 λ 的启动子系统。启动子通常将控制表达(任选地用操纵基因序列),并且具有核糖体结合位点序列等,用于起始和完成转录和翻译。

[0265] 其它微生物诸如酵母也可用于表达。酵母菌属(例如,酿酒酵母)和毕赤酵母属是具有合适的载体的合适的酵母宿主细胞的实例,所述载体根据需要具有表达控制序列(例如,启动子)、复制起点、终止序列等。典型启动子包括3'-磷酸甘油酸激酶和其它糖解酶。在其它事项中,可诱导酵母启动子包括来自乙醇脱氢酶、异细胞色素C和负责麦芽糖和半乳糖利用的酶的启动子。

[0266] 除微生物外,哺乳动物细胞(例如,在体外细胞培养中生长的哺乳动物细胞)也可用于表达和产生本公开的抗Bb抗体(例如,编码主题抗Bb抗体的多核苷酸)。参见Winnacker, From Genes to Clones, VCH Publishers, N.Y., N.Y. (1987)。合适的哺乳动物宿主细胞包括CHO细胞系、各种Cos细胞系、HeLa细胞、骨髓瘤细胞系和转化的B细胞或杂交瘤。用于这些细胞的表达载体可包括表达控制序列,如复制起点、启动子和增强子(Queen等人, Immunol. Rev. 89:49 (1986))以及必需的加工信息位点,如核糖体结合位点、RNA剪接位点、聚腺苷酸化位点和转录终止子序列。合适的表达控制序列的实例是源自免疫球蛋白基因、SV40、腺病毒、牛乳头瘤病毒、巨细胞病毒等的启动子。参见Co等人,J. Immunol. 148: 1149 (1992)。

[0267] 一旦合成(化学地或重组地),完整抗体、其二聚体、单个轻链和重链或其它形式的主题抗体(例如,scFv等)就可根据本领域的标准程序进行纯化,包括硫酸铵沉淀、亲和柱、柱色谱法、高效液相色谱法(HPLC)纯化、凝胶电泳等(通常参见Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, N.Y., (1982)))。主题抗体可以是基本上纯的,例如至少约80%至85%纯、至少约85%至90%纯、至少约90%至95%纯或98%至99%或更高纯度,例如,不含诸如细胞碎片、除主题抗体以外的大分子等的污染物。

[0268] 组合物

[0269] 本公开提供了一种包含本公开的抗Bb抗体的组合物。除主题抗体之外，主题抗体组合物还可包含以下中的一种或多种：盐，例如NaCl、MgCl₂、KCl、MgSO₄等；缓冲液，例如Tris缓冲液、N-(2-羟乙基)哌嗪-N'-(2-乙磺酸)(HEPES)、2-(N-吗啉代)乙磺酸(MES)、2-(N-吗啉代)乙磺酸钠盐(MES)、3-(N-吗啉代)丙磺酸(MOPS)、N-三[羟甲基]甲基-3-氨基丙磺酸(TAPS)等；增溶剂；洗涤剂，例如非离子型洗涤剂，如Tween-20等；蛋白酶抑制剂；甘油；等。

[0270] 核酸分子、表达载体和宿主细胞

[0271] 本公开提供了包含编码本公开的抗Bb抗体的核苷酸序列的核酸分子。

[0272] 在一些实施方案中，本公开的核酸包含编码主题抗Bb抗体的核苷酸序列，所述抗Bb抗体包含与选自由SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:30组成的组的氨基酸序列至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%氨基酸序列相同的轻链可变区。在一些实施方案中，本公开的核酸包含编码主题抗Bb抗体的核苷酸序列，所述抗Bb抗体包含轻链可变区，所述轻链可变区包含选自由SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:30组成的组的氨基酸序列。

[0273] 在一些实施方案中，本公开的核酸包含编码主题抗Bb抗体的核苷酸序列，所述抗Bb抗体包含与选自由SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:31组成的组的氨基酸序列至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%氨基酸序列相同的重链可变区。在一些实施方案中，本公开的核酸包含编码主题抗Bb抗体的核苷酸序列，所述抗Bb抗体包含重链可变区，所述重链可变区包含选自由SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:31组成的组的氨基酸序列。

[0274] 在一些实施方案中，本公开的核酸包含编码主题抗Bb抗体的核苷酸序列，所述抗Bb抗体包含轻链可变区，所述轻链可变区包含以下组合中的一种中的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3：SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3；SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11；SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:19；以及SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:26。

[0275] 在一些实施方案中，本公开的核酸包含编码主题抗Bb抗体的核苷酸序列，所述抗Bb抗体包含重链可变区，所述重链可变区包含以下组合中的一种中的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3：SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6；SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14；SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22；SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28和SEQ ID NO:29。

[0276] 在一些实施方案中，本公开的核酸包含编码主题抗Bb抗体的核苷酸序列，所述抗Bb抗体包含轻链可变区和重链可变区。

[0277] 包含编码主题抗体的核苷酸序列的核酸可与一种或多种调控元件(如启动子和增强子)可操作地连接，所述调控元件允许在预期靶细胞(例如，经遗传修饰以合成编码的抗体的细胞)中表达核苷酸序列。

[0278] 合适的启动子和增强子元件是本领域已知的。用于原核生物宿主细胞的合适启动子包括但不限于，噬菌体T7RNA聚合酶启动子；T3启动子；T5启动子；λP启动子；trp启动子；lac操纵子启动子；杂合启动子，例如lac/tac杂合启动子、tac/trc杂合启动子、trp/lac启动子、T7/lac启动子；trc启动子；tac启动子等；gpt启动子；araBAD启动子；体内调控的启动子，如ssaG启动子或相关启动子(参见例如，美国专利公布号20040131637)、pagC启动子

(Pulkkinen和Miller,J.Bacteriol.,1991;173(1):86-93;Alpuche-Aranda等人,PNAS,1992;89(21):10079-83)、nirB启动子(Harborne等人(1992)Mol.Micro.6:2805-2813)等(参见例如,Dunstan等人(1999)Infect.Immun.67:5133-5141;McKelvie等人(2004)Vaccine 22:3243-3255;以及Chatfield等人(1992)Biotechnol.10:888-892);sigma70启动子,例如共有sigma70启动子(参见例如,GenBank登录号AX798980、AX798961和AX798183);固定相启动子,例如dps启动子、spv启动子等;源自致病岛SPI-2的启动子(参见例如,W096/17951);actA启动子(参见例如,Shetron-Rama等人(2002)Infect.Immun.70:1087-1096);rpsM启动子(参见例如,Valdivia和Falkow(1996).Mol.Microbiol.22:367);tet启动子(参见例如,Hillen,W.和Wissmann,A.(1989)In Saenger,W.和Heinemann,U.(编辑),Topics in Molecular and Structural Biology,Protein-Nucleic Acid Interaction.Macmillan,London,UK,第10卷,第143-162页);SP6启动子(参见例如,Melton等人(1984)Nucl.Acids Res.12:7035);等。用于原核生物如大肠杆菌的合适强启动子包括但不限于Trc、Tac、T5、T7和P_λ。用于细菌宿主细胞中的操纵基因的非限制性实例包括乳糖启动子操纵基因(当与乳糖接触时LacI抑制子蛋白改变构象,从而防止LacI抑制子蛋白结合操纵基因)、色氨酸启动子操纵基因(当与色氨酸复合时,TrpR抑制子蛋白具有结合操纵基因的构象;在不存在色氨酸的情况下,TrpR抑制子蛋白具有不结合操纵基因的构象)和tac启动子操纵基因(参见例如,deBoer等人(1983)Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.80:21-25)。

[0279] 在一些实施方案中,例如,为了在酵母细胞中表达,合适的启动子是组成型启动子,如ADH1启动子、PGK1启动子、ENO启动子、PYK1启动子等;或调控型启动子,如GAL1启动子、GAL10启动子、ADH2启动子、PH05启动子、CUP1启动子、GAL7启动子、MET25启动子、MET3启动子、CYC1启动子、HIS3启动子、ADH1启动子、PGK启动子、GAPDH启动子、ADC1启动子、TRP1启动子、URA3启动子、LEU2启动子、ENO启动子、TP1启动子和AOX1(例如,用于毕赤酵母属中)。

[0280] 为了在真核细胞中表达,合适的启动子包括但不限于,轻链和/或重链免疫球蛋白基因启动子和增强子元件;巨细胞病毒立即早期启动子;单纯疱疹病毒胸苷激酶启动子;早期和晚期SV40启动子;存在于逆转录病毒的长末端重复序列中的启动子;小鼠金属硫蛋白-I启动子;以及各种本领域已知的组织特异性启动子。

[0281] 选择适当的载体和启动子在本领域普通技术人员的水平内。

[0282] 包含编码主题抗体的核苷酸序列的核酸可存在于表达载体和/或克隆载体中。本公开提供了一种重组载体,所述重组载体包含核酸,所述核酸包含在克隆载体中编码主题抗体的核苷酸序列。本公开还提供了一种重组分子,所述重组分子包含核酸,所述核酸包含编码主题抗体的核苷酸序列,所述主题抗体与表达载体中的适当调控序列可操作地连接,以确保编码的抗体的表达。当主题抗体包含两种单独的多肽时,可将包含编码两种多肽的核苷酸序列的核酸克隆在同一载体或单独的载体中以形成一种或多种重组载体。重组载体可包括选择标记、复制起点和提供重组载体的复制和/或维持的其它特征。

[0283] 大量合适的载体和启动子是本领域技术人员已知的;许多可商购获得以用于产生主题重组分子。作为举例提供以下载体。细菌:pBs、phagescript、PsiX174、pBluescript SK、pBs KS、pNH8a、pNH16a、pNH18a、pNH46a(Stratagene,La Jolla,Calif.,USA);pTrc99A、pKK223-3、pKK233-3、pDR540和pRIT5(Pharmacia,Uppsala,Sweden)。真核生物:pWLneo、

pSV2cat、pOG44、PXR1、pSG (Stratagene) pSVK3、pBPV、pMSG 和 pSVL (Pharmacia)。

[0284] 表达载体通常具有位于启动子序列附近的方便的限制性位点,以提供编码异源蛋白质的核酸序列的插入。可存在可在表达宿主中操作的选择标记。合适的表达载体包括但不限于病毒载体。病毒载体的实例包括但不限于,基于以下的病毒载体:牛痘病毒;脊髓灰质炎病毒;腺病毒(参见例如,Li等人,Invest Ophthalmol Vis Sci 35:2543 2549,1994;Borras等人,Gene Ther 6:515 524,1999;Li和Davidson,PNAS 92:7700 7704,1995;Sakamoto等人,H Gene Ther 5:1088 1097,1999;W0 94/12649;W0 93/03769;W0 93/19191;W0 94/28938;W0 95/11984和W0 95/00655);腺相关病毒(参见例如,Ali等人,Human Gene Ther 9:81 86,1998,Flannery等人,PNAS 94:6916 6921,1997;Bennett等人,Invest Ophthalmol Vis Sci 38:28572863,1997;Jomary等人,Gene Ther 4:683 690,1997,Rolling等人,Human Gene Ther 10:641 648,1999;Ali等人,Human Mol Genet 5:591 594,1996;Srivastava于W0 93/09239中,Samulski等人,J. Virol. (1989) 63:3822-3828;Mendelson等人,Virology (1988) 166:154-165;以及Flotte等人,PNAS (1993) 90:10613-10617);SV40;单纯疱疹病毒;逆转录病毒载体(例如,鼠白血病病毒、脾坏死病毒和源自逆转录病毒如劳斯肉瘤病毒、哈维肉瘤病毒、禽类白血病病毒、人免疫缺陷病毒的载体(参见例如,Miyoshi等人,PNAS 94:10319 23,1997;Takahashi等人,J. Virol. 73:7812 7816,1999)、骨髓组织增殖性肉瘤病毒和乳腺肿瘤病毒);等。

[0285] 如上所述,主题核酸包含编码本公开的抗Bb抗体的核苷酸序列。在一些实施方案中,主题核酸包含编码主题抗体的重链和轻链CDR的核苷酸序列,其中CDR编码序列间散布有编码FR的核苷酸序列。在一些实施方案中,编码FR的核苷酸序列是人编码FR的核苷酸序列。

[0286] 宿主细胞

[0287] 本公开提供用主题核酸遗传修饰的分离的遗传修饰的宿主细胞(例如,体外细胞)。本公开提供了用主题重组表达载体遗传修饰的分离的遗传修饰的宿主细胞(例如,体外细胞)(包含含有编码本公开的抗Bb抗体的核苷酸序列的核酸)。在一些实施方案中,主题分离的遗传修饰的宿主细胞可产生主题抗体。这种细胞被称为重组细胞或遗传修饰的细胞或遗传修饰的宿主细胞。重组细胞包含重组核酸(例如,重组表达载体),所述重组核酸包含编码主题抗体的核苷酸序列。

[0288] 合适的宿主细胞包括真核宿主细胞,诸如哺乳动物细胞、昆虫宿主细胞、酵母细胞;以及原核细胞,如细菌细胞。主题核酸至宿主细胞中的引入可例如受磷酸钙沉淀、DEAE葡聚糖介导的转染、脂质体介导的转染、电穿孔或其它已知方法影响。

[0289] 合适的哺乳动物细胞包括原代细胞和永生化细胞系。合适的哺乳动物细胞系包括人细胞系、非人灵长类动物细胞系、啮齿动物(例如,小鼠、大鼠)细胞系等。合适的哺乳动物细胞系包括但不限于HeLa细胞(例如,美国典型培养物保藏所(ATCC)号CCL-2)、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞(例如,ATCC号CRL9618、CCL61、CRL9096)、293细胞(例如,ATCC号CRL-1573)、Vero细胞、NIH 3T3细胞(例如,ATCC号CRL-1658)、Huh-7细胞、BHK细胞(例如,ATCC号CCL10)、PC12细胞(ATCC号CRL1721)、COS细胞、COS-7细胞(ATCC号CRL1651)、RAT1细胞、小鼠L细胞(ATCC号CCL1.3)、人胚肾(HEK)细胞(ATCC号CRL1573)、HLHepG2细胞等。在一些情况下,所述细胞是HEK细胞。在一些情况下,所述细胞是CHO细胞,例如CHO-K1细胞(ATCC号CCL-

61)、CHO-M细胞、CHO-DG44细胞(ATCC号PTA-3356)等。在一些实施方案中,宿主细胞是COS细胞。在一些实施方案中,宿主细胞是293细胞。在一些实施方案中,宿主细胞是CHO细胞。

[0290] 合适的酵母细胞包括但不限于巴斯德毕赤酵母、芬兰毕赤酵母、喜海藻糖毕赤酵母、*kocelamae*毕赤酵母、膜醭毕赤酵母、仙人掌毕赤酵母、耐热毕赤酵母、柳毕赤酵母、松栎毕赤酵母、皮杰普毕赤酵母、树干毕赤酵母、甲醇毕赤酵母、毕赤酵母属、酿酒酵母、酵母属、多形汉逊酵母、克鲁维酵母菌属、乳酸克鲁维酵母、白色念珠菌、构巢曲霉、黑曲霉、米曲霉、里氏木霉、*Chrysosporium lucknowense*、镰孢菌属、禾谷镰孢菌、镰片镰孢菌、粗糙脉孢菌、菜茵衣藻等。在一些实施方案中,宿主细胞是酵母属。在一些实施方案中,宿主细胞是毕赤酵母属。

[0291] 合适的原核细胞包括但不限于,大肠杆菌、芽孢杆菌属(例如枯草芽孢杆菌)、乳杆菌属等多种实验室菌株中的任一种。参见例如,Carrier等人(1992)J. Immunol. 148:1176-1181;美国专利号6,447,784;和Sizemore等人(1995)Science 270:299-302。通常,实验室菌株为非病原性菌株。在一些实施方案中,宿主细胞是大肠杆菌。在一些实施方案中,宿主细胞是枯草芽孢杆菌。

[0292] 药物组合物

[0293] 本公开提供了组合物,包括包含本公开的抗Bb抗体的药物组合物。通常,药物组合物(在本文中也称为制剂)包含有效量的主题抗体。“有效量”是指足以产生所需结果的剂量,所述结果例如减少与补体介导的疾病或病症相关的不良症状、改善补体介导的疾病或病症的症状、减缓补体介导的疾病或病症的进展等。通常,与对照相比,所需的结果至少是补体介导的疾病或病症的症状的减轻。在一些实施方案中,配制和/或修饰主题抗体以使抗体能够穿过血脑屏障。在一些实施方案中,以避免血脑屏障的这样一种方式递送主题抗体。在一些实施方案中,本公开的抗Bb抗体与促进穿过血脑屏障的药剂一起配制。在一些实施方案中,主题抗体直接或通过接头融合至促进穿过血脑屏障的化合物。

[0294] 制剂

[0295] 在本公开的方法中,可使用能够产生所需治疗效果或诊断效果的任何方便手段将本公开的抗Bb抗体施用于宿主。因此,抗Bb抗体可并入用于治疗性施用的各种制剂中。更具体地,主题抗体可通过与适当的药学上可接受的载体、药学上可接受的稀释剂或其它药学上可接受的赋形剂组合来被配制成药物组合物,并且可被配制成固体、半固体、液体或气态形式的制剂,如片剂、胶囊、粉末、颗粒、软膏、溶液、栓剂、注射液、吸入剂和气雾剂。在一些实施方案中,药物组合物包含主题抗体和药学上可接受的赋形剂。

[0296] 在药物剂型中,主题抗体可以其药学上可接受的盐的形式施用,或者它们也可单独或与其它药学活性化合物适当联合以及组合使用。以下方法和赋形剂仅仅是示例性的并且绝不是限制性的。

[0297] 对于口服制剂,主题抗体可单独使用或与适当的添加剂组合使用以制成片剂、粉末、颗粒或胶囊,例如与常规添加剂,如乳糖、甘露醇、玉米淀粉或马铃薯淀粉;与粘合剂,如结晶纤维素、纤维素衍生物、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶;与崩解剂,如玉米淀粉、马铃薯淀粉或羧甲基纤维素钠;与润滑剂,如滑石或硬脂酸镁;以及(如果需要)与稀释剂、缓冲剂、润湿剂、防腐剂和调味剂。

[0298] 可通过将主题抗体溶解、悬浮或乳化于水性或非水性溶剂,如植物油或其它类似

油、丙二醇、合成脂肪酸甘油酯、可注射有机酯(例如,油酸乙酯)、高级脂肪酸的酯或丙二醇中;且必要时与常规添加剂,如增溶剂、等张剂、悬浮剂、乳化剂、稳定剂和防腐剂一起来将所述抗体配制成用于注射的制剂。胃肠外媒介物包括氯化钠溶液、林格氏右旋糖、右旋糖和氯化钠、乳酸化林格氏液或不挥发性油。静脉内媒介物包括流体和营养补充剂、电解质补充剂(如基于林格氏右旋糖的那些补充剂)等。此外,取决于药物组合物的预期用途,本公开的药物组合物可包含其它药剂,如多巴胺或精神药理学药物。

[0299] 通过将具有所需纯度的主题抗体与任选的生理学上可接受的载体、其它赋形剂、稳定剂、表面活性剂、缓冲剂和/或张度剂混合来制备包含主题抗体的药物组合物。可接受的载体、其它赋形剂和/或稳定剂在所用剂量和浓度下对接受者无毒,并且包括缓冲剂,如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸、谷胱甘肽、半胱氨酸、蛋氨酸和柠檬酸;防腐剂(如乙醇、苯甲醇、苯酚、间甲酚、对氯间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵或其组合);氨基酸如精氨酸、甘氨酸、鸟氨酸、赖氨酸、组氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、蛋氨酸、丝氨酸、脯氨酸以及其组合;单糖、二糖和其它碳水化合物;低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,如明胶或血清白蛋白;螯合剂如EDTA;糖如海藻糖、蔗糖、乳糖、葡萄糖、甘露糖、麦芽糖、半乳糖、果糖、山梨糖、棉子糖、葡糖胺、N-甲基葡糖胺、半乳糖胺和神经氨酸;和/或非离子型表面活性剂,如Tween、Brij Pluronics、Triton-X或聚乙二醇(PEG)。

[0300] 所述药物组合物可呈液体形式、冻干形式或从冻干形式重构的液体形式,其中冻干制剂在施用前用无菌溶液重构。用于重构冻干组合物的标准方法是添加回一定体积的纯水(通常等于冻干过程中除去的体积);然而,包含抗菌剂的溶液可用于产生用于胃肠外施用的药物组合物;还参见Chen (1992) Drug Dev Ind Pharm 18, 1311-54。

[0301] 主题药物组合物中的示例性抗体浓度可在约1mg/mL至约200mg/mL或约50mg/mL至约200mg/mL或约150mg/mL至约200mg/mL的范围内。

[0302] 可在pH缓冲溶液中,例如,在约4.0至约7.0或约5.0至约6.0或可替代地约5.5范围内的pH下制备抗体的水性制剂。适合于此范围内的pH的缓冲剂的实例包括磷酸盐、组氨酸、柠檬酸盐、琥珀酸盐、乙酸盐缓冲剂和其它有机酸缓冲剂。缓冲剂浓度可以是约1mM至约100mM或约5mM至约50mM,这取决于例如缓冲剂和制剂的所需张度。

[0303] 可在抗体制剂中包含张度剂以调节制剂的张度。示例性张度剂包括氯化钠、氯化钾、甘油以及来自氨基酸、糖以及其组合的组的任何组分。在一些实施方案中,水性制剂是等渗的,但高渗或低渗溶液可能是合适的。术语“等渗”表示具有与其进行比较的一些其它溶液(如生理盐溶液或血清)相同的张度的溶液。张度剂可以约5mM至约350mM的量,例如以100mM至350nM的量使用。

[0304] 还可将表面活性剂添加至抗体制剂中以减少配制的抗体的聚集和/或最小化制剂中颗粒的形成和/或减少吸附。示例性表面活性剂包括聚氧乙烯脱水山梨糖醇脂肪酸酯(Tween)、聚氧乙烯烷基醚(Brij)、烷基苯基聚氧乙烯醚(Triton-X)、聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物(泊洛沙姆,普朗尼克)和十二烷基硫酸钠(SDS)。合适的聚氧乙烯脱水山梨糖醇-脂肪酸酯的实例是聚山梨醇酯20(以商标Tween 20TM销售)和聚山梨醇酯80(以商标Tween 80TM销售)。合适的聚乙烯-聚丙烯共聚物的实例是以名称Pluronic®F68或Poloxamer 188TM销售的那些。合适的聚氧乙烯烷基醚的实例是以商标BrijTM销售的那些。表面活性剂的示例性

浓度可在约0.001%至约1%w/v的范围内。

[0305] 还可添加冻干保护剂以在冻干过程中保护不稳定的活性成分(例如蛋白质)免受去稳定化条件。例如,已知的冻干保护剂包括糖(包括葡萄糖和蔗糖);多元醇(包括甘露醇、山梨糖醇和甘油);和氨基酸(包括丙氨酸、甘氨酸和谷氨酸)。可以约10mM至500nM的量包含冻干保护剂。

[0306] 在一些实施方案中,主题制剂包含主题抗体和一种或多种上述鉴定的试剂(例如,表面活性剂、缓冲剂、稳定剂、张度剂)并且基本上不含一种或多种防腐剂,如乙醇、苯甲醇、苯酚、间甲酚、对氯间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵以及其组合。在其它实施方案中,防腐剂例如在约0.001至约2%(w/v)范围内的浓度下包含在制剂中。

[0307] 例如,主题制剂可以是适于胃肠外施用的液体或冻干制剂,并且可包含:约1mg/mL至约200mg/mL的主题抗体;约0.001%至约1%的至少一种表面活性剂;约1mM至约100mM的缓冲剂;任选约10mM至约500mM的稳定剂;以及约5mM至约305mM的张度剂;并且具有约4.0至约7.0的pH。

[0308] 作为另一个实例,主题胃肠外制剂是液体或冻干制剂,所述液体或冻干制剂包含:约1mg/mL至约200mg/mL的主题抗体;0.04%Tween 20w/v;20mM L-组氨酸;以及250mM蔗糖;并且具有5.5的pH。

[0309] 作为另一个实例,主题胃肠外制剂包含冻干制剂,所述冻干制剂包含:1) 15mg/mL的主题抗体;0.04%Tween 20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM蔗糖;并且具有5.5的pH;或2) 75mg/mL的主题抗体;0.04%Tween 20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM蔗糖;并且具有5.5的pH;或3) 75mg/mL的主题抗体;0.02%Tween 20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM蔗糖;并且具有5.5的pH;或4) 75mg/mL的主题抗体;0.04%Tween 20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM海藻糖;并且具有5.5的pH;或5) 75mg/mL的主题抗体;0.02%Tween 20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM海藻糖;并且具有5.5的pH。

[0310] 作为另一个实例,主题胃肠外制剂是液体制剂,所述液体制剂包含:1) 7.5mg/mL的主题抗体;0.02%Tween 20w/v;120mM L-组氨酸;和250 125mM蔗糖;并且具有5.5的pH;或2) 37.5mg/mL的主题抗体;0.02%Tween 20w/v;10mM L-组氨酸;和125mM蔗糖;并且具有5.5的pH;或3) 37.5mg/mL的主题抗体;0.01%Tween 20w/v;10mM L-组氨酸;和125mM蔗糖;并且具有5.5的pH;或4) 37.5mg/mL的主题抗体;0.02%Tween 20w/v;10mM L-组氨酸;125mM海藻糖;并且具有5.5的pH;或5) 37.5mg/mL的主题抗体;0.01%Tween 20w/v;10mM L-组氨酸;和125mM海藻糖;并且具有5.5的pH;或6) 5mg/mL的主题抗体;0.02%Tween 20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM海藻糖;并且具有5.5的pH;或7) 75mg/mL的主题抗体;0.02%Tween 20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM甘露醇;并且具有5.5的pH;或8) 75mg/mL的主题抗体;0.02%Tween 20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM甘露醇;并且具有5.5的pH;或9) 150mg/mL的主题抗体;0.02%Tween 20w/v;20mM L-组氨酸;和140mM氯化钠;并且具有5.5的pH;或10) 150mg/mL的主题抗体;0.02%Tween 20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM甘露醇;并且具有5.5的pH;或11) 150mg/mL的主题抗体;0.02%Tween 20w/v;20mM L-组氨酸;和140mM氯化钠;并且具有5.5的pH;或12) 10mg/mL的主题抗体;0.01%Tween 20w/v;20mM L-组氨酸;和40mM氯化钠;并且具有5.5的pH。

[0311] 主题抗体可用于气雾剂制剂中以通过吸入施用。可将主题抗体配制成加压可接受

的推进剂,如二氯二氟甲烷、丙烷、氮等。如经鼻喷雾制剂的气雾剂制剂包括活性药剂与防腐剂和等张剂的纯净水溶液或其它溶液。此类制剂被调整至可与鼻粘膜相容的pH和等张状态。

[0312] 此外,主题抗体可通过与各种基质如乳化基质或水溶性基质混合来制成栓剂。主题抗体可通过栓剂直肠施用。所述栓剂可包括媒介物如可可脂、碳蜡和聚乙二醇,其在体温时熔化而在室温下固化。

[0313] 可提供用于口服或直肠施用的单位剂型(如糖浆、酏剂和悬浮剂),其中各种剂量单位(例如一茶匙、一汤匙、片剂或栓剂)含有预定量的组合物。类似地,用于注射或静脉内施用的单位剂型可以组合物形式包含主题抗体,所述组合物呈于无菌水、生理盐水或另一药学上可接受的载体中的溶液形式。

[0314] 如本文所用的术语“单位剂型”是指适合作为人和动物受试者的单一剂量的物理离散单元,各单元含有与药学上可接受的稀释剂、载体或媒介物结合的预定量的本公开的抗Bb抗体,所述预定量计算为足以产生所需效果的量。主题抗体的规格可取决于所用特定抗体和待实现的效果,以及在宿主中与每种抗体相关的药效学。

[0315] 其它施用方式也将用于本公开的方法。例如,主题抗体可配制成栓剂,并且在一些情况下,配制成气雾剂和鼻内组合物。对于栓剂,媒介物组合物将包括传统粘合剂和载体,如聚亚烷基二醇或甘油三酯。此类栓剂可由含有在约0.5%至约10% (w/w),例如约1%至约2%范围内的活性成分的混合物形成。

[0316] 鼻内制剂通常将包含既不会引起对鼻粘膜的刺激也不会显著干扰纤毛功能的媒介物。可使用稀释剂如水、水性盐水或其它已知物质。鼻用制剂还可含有防腐剂,如但不限于氯丁醇和苯扎氯铵。可存在表面活性剂以增强鼻粘膜对主题抗体的吸收。

[0317] 主题抗体可作为可注射制剂施用。通常,可注射组合物被制备为液体溶液或悬浮液;也可制备适于在注射之前溶解或悬浮于液体媒介物中的固体形式。制剂也可乳化或将抗体包封在脂质体媒介物中。

[0318] 合适的赋形剂媒介物是例如,水、盐水、右旋糖、甘油、乙醇等及其组合。此外(如果需要),所述媒介物可含有少量的辅助物质如润湿剂或乳化剂或pH缓冲剂。对本领域技术人员来说,制备此类剂型的实际方法是已知的或者将是显而易见的。参见,例如,Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 第17版, 1985.待施用的组合物或制剂将会(无论如何)含有一定量的足以在所治疗的受试者中实现所需状况的主题抗体。

[0319] 药学上可接受的赋形剂如媒介物、佐剂、载体或稀释剂对公众而言易于得到。此外,药学上可接受的辅助物质如pH调节剂和缓冲剂、张度调节剂、稳定剂、润湿剂等对公众而言易于得到。

[0320] 在一些情况下,将主题抗体配制成控释制剂。可使用本领域熟知的方法制备缓释制剂。缓释制剂的合适实例包括含有抗体的固体疏水性聚合物的半透性基质,其中所述基质呈成形物品(例如薄膜或微胶囊)的形式。缓释基质的实例包括聚酯、L-谷氨酸和L-谷氨酸乙酯的共聚物、不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯、水凝胶、聚丙交酯、可降解的乳酸-乙醇酸共聚物和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。生物活性的可能丧失和包含在缓释制剂中的抗体的免疫原性的可能变化可通过使用适当的添加剂、通过控制水分含量和通过开发特定的聚合物基

质组合物加以防止。

[0321] 在本公开的范围内的控制释放可被认为是指许多延长释放剂型中的任一种。出于本公开的目的,可认为以下术语基本上等效于控制释放:连续释放、控制释放、延迟释放、贮库、延长释放(*extended release*)、逐渐释放、立即释放、长期释放、程序化释放、延长释放(*prolonged release*)、按比例释放、延长释放(*protracted release*)、储库、延迟、缓慢释放、间隔释放、持续释放、时间包衣、定时释放、延迟作用、延长作用、分层时间作用、长效、长效作用、重复作用、减慢作用、持续作用和持续作用药物。这些术语的进一步论述可在Lesczek Krowczynski,Extended-Release Dosage Forms,1987(CRC Press, Inc.)中找到。

[0322] 各种控释技术涵盖非常广谱的药物剂型。控释技术包括但不限于物理系统和化学系统。

[0323] 物理系统包括但不限于,具有速率控制膜的储库系统,如微囊化、宏封装和膜系统;无速率控制膜的储层系统,如中空纤维、超微孔三乙酸纤维素和多孔聚合物基底和泡沫;整体系统,包括物理溶解在无孔、聚合物或弹性体基质中的那些系统(例如,不可侵蚀、易蚀、环境因素侵入和可降解)以及物理分散在无孔、聚合物或弹性体基质中的材料(例如,不易腐蚀、易蚀、环境因素侵入、可降解);层状结构,包括与外控制层化学上相似或不相似的储库层;以及其它物理方法,如渗透泵或吸附到离子交换树脂上。

[0324] 化学系统包括但不限于,聚合物基质的化学侵蚀(例如,非均匀或均匀侵蚀)或聚合物基质的生物侵蚀(例如,非均匀或均匀)。关于控释的系统类别的另外论述可在Agis F. Kydonieus,Controlled Release Technologies:Methods, Theory and Applications,1980(CRC Press, Inc.)中找到。

[0325] 存在许多被开发用于口服施用的控释药物制剂。这些包括但不限于渗透压控制的胃肠递送系统;流体压控制的胃肠递送系统;膜渗透控制的胃肠递送系统,其包括微孔膜渗透控制的胃肠递送装置;胃液抗性肠靶向控释胃肠递送装置;凝胶扩散控制的胃肠递送系统;以及离子交换控制的胃肠递送系统,其包括阳离子和阴离子药物。关于控释药物递送系统的另外信息可在Yie W. Chien,Novel Drug Delivery Systems,1992(Marcel Dekker, Inc.)中找到。

[0326] 剂量

[0327] 合适的剂量可由主治医师或其它合格的医务人员基于各种临床因素而确定。如在医学领域中众所周知,用于任一个患者的剂量取决于许多因素,包括患者的大小、体表面积、年龄、待施用的特定化合物、患者的性别、施用时间和途径、一般健康状况以及目前正在施用的其它药物。主题抗Bb抗体可以每个剂量介于1ng/kg体重与20mg/kg体重之间,例如介于0.1mg/kg体重至10mg/kg体重之间,例如介于0.5mg/kg体重至5mg/kg体重之间的量施用;然而,设想低于或高于此示例性范围的剂量,特别是考虑到上述因素。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体以每个剂量20mg/kg体重至100mg/kg的量施用;例如,在一些情况下,本公开的抗Bb抗体以每个剂量20mg/kg至25mg/kg、25mg/kg至30mg/kg、30mg/kg至35mg/kg、35mg/kg至40mg/kg、40mg/kg至45mg/kg、45mg/kg至50mg/kg、50mg/kg至55mg/kg、55mg/kg至60mg/kg、60mg/kg至65mg/kg、65mg/kg至70mg/kg、70mg/kg至75mg/kg、75mg/kg至80mg/kg、80mg/kg至85mg/kg、85mg/kg至90mg/kg、90mg/kg至95mg/kg或95mg/kg至100mg/kg体重的量施用。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体以每个剂量20mg/kg至40mg/kg体重的量施用。在一些情

况下,本公开的抗Bb抗体以每个剂量40mg/kg至60mg/kg体重的量施用。如果方案是连续输注,那么其也可在每分钟每千克体重1 μ g至10mg的范围内。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体以不依赖于重量的量施用。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体以每个剂量或每个总每日剂量50mg至500mg;例如每个剂量或每个总每日剂量50mg至75mg、75mg至100mg、100mg至150mg、150mg至200mg、200mg至250mg、250mg至300mg、300mg至400mg或400mg至500mg的量施用。

[0328] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体的剂量在0.001 μ g至1000 μ g的范围内;然而,设想低于或高于此示例性范围的剂量,特别是考虑到上述因素。在一些情况下,剂量可例如在约0.0001至100mg/kg或约0.01至5mg/kg(例如,0.02mg/kg、0.25mg/kg、0.5mg/kg、0.75mg/kg、1mg/kg、2mg/kg等)体重的范围内。例如,剂量可以是1mg/kg体重或10mg/kg体重或在1-10mg/kg的范围内,或至少1mg/kg。以上范围的中间剂量也意图在本发明的范围内。

[0329] 个体可每天、隔天地、每周或根据由经验分析决定的其它时程来施用此类剂量。示例性治疗需要以多剂量形式经延长的时间段(例如至少六个月)施用。另外的示例性治疗方案需要每两周一次或每月一次或每3至6个月一次施用。示例性剂量方案包括连续天的1-10mg/kg或15mg/kg、隔天30mg/kg或每周60mg/kg。在一些方法中,具有不同结合特异性的两种或更多种单克隆抗体可同时施用,在这种情况下施用的每种抗体的剂量落入所指示的范围。可通过定期评估来监测进展。

[0330] 技术人员将易于了解剂量水平和施用计划可随着特定抗体、症状的严重程度和受试者对副作用的敏感性而变化。给定化合物的优选剂量和施用计划可由本领域的技术人员通过多种方式容易地确定。

[0331] 施用途径

[0332] 使用适于药物递送的任何可用的方法和途径,包括体内和体外方法以及全身性和局部施用途径来将主题抗体施用至个体。

[0333] 常规和药学上可接受的施用途径包括鼻内、肌内、气管内、鞘内、颅内、皮下、皮内、局部、静脉内、腹膜内、动脉内(例如,通过颈动脉)、脊髓或脑递送、经直肠、经鼻、经口和其它肠内和胃肠外施用途径。施用途径可根据抗体和/或所需作用而组合(如果需要)或调整。主题抗体组合物可以单一剂量或多剂量施用。在一些情况下,口服施用主题抗体组合物。在一些情况下,通过吸入途径施用主题抗体组合物。在一些情况下,鼻内施用主题抗体组合物。在一些情况下,局部施用主题抗体组合物。在一些情况下,颅内施用主题抗体组合物。在一些情况下,静脉内施用主题抗体组合物。在一些情况下,鞘内施用主题抗体组合物。在一些情况下,皮下施用主题抗体组合物。在一些情况下,肌内施用主题抗体组合物。

[0334] 可使用任何可用的常规方法和适于递送常规药物的途径(包括全身或局部途径)将本公开的抗体施用至宿主。通常,本发明所考虑的施用途径包括但不必限于肠内、胃肠外或吸入途径。

[0335] 除了吸入施用以外的胃肠外施用途径包括但不必限于局部、透皮、皮下、肌内、眶内、囊内、脊柱内、胸骨内、鞘内和静脉内途径,即除了通过消化道以外的任何施用途径。可进行肠胃外施用以实现主题抗体的全身性或局部递送。当希望全身性递送时,施用通常涉及药物制剂的侵入性或全身性吸收的局部或粘膜施用。

[0336] 主题抗体也可通过肠内施用递送至受试者。肠内施用途径包括但不必限于口服和

直肠(例如使用栓剂)递送。

[0337] 所谓治疗是指与困扰宿主的病理病状相关的症状的至少改善,其中在广义上使用的改善是指与所治疗的病理病状(如补体介导的疾病或病症)相关的参数(例如症状)的量级的至少降低。因此,治疗还包括以下情形,其中病理病状或至少与其相关的症状被完全抑制,例如防止发生,或停止,例如终止,以使得宿主不再罹患所述病理病状或至少以所述病理病状为特征的症状。

[0338] 在一些情况下,通过注射和/或递送将主题抗体施用至例如脑动脉中的部位或直接施用至脑组织中。还可将主题抗体直接施用至靶部位,例如通过生物射弹递送至靶部位。

[0339] 各种宿主(其中术语“宿主”在本文中可与术语“受试者”、“个体”和“患者”互换使用)可根据主题方法治疗。通常此类宿主是“哺乳动物”或“非哺乳动物”,其中这些术语广泛用于描述在哺乳动物类内的生物体,包括食肉目动物(例如猫)、食草目动物(例如牛、马和绵羊)、杂食目动物(例如,狗、山羊和猪)、啮齿目动物(例如小鼠、豚鼠和大鼠)和灵长类动物(例如,人、黑猩猩和猴)。在一些情况下,宿主是具有补体系统的个体,如哺乳动物、鱼类或无脊椎动物。在一些情况下,宿主是含有补体系统的哺乳动物、鱼类或无脊椎动物、伴侣动物、农业动物、工作动物、动物园动物或实验室动物。在一些情况下,宿主是人。

[0340] 本公开提供了适合于含有组合物的容器,所述组合物包含用于施用于个体的主题抗Bb抗体。例如,可将主题抗体置于适于容纳药物组合物的容器内。容器可以是例如瓶子(例如,具有封闭装置,如帽)、泡罩包装(例如,其可提供每个泡罩一个或多个剂量的封闭)、小瓶、柔性包装(例如,密封的聚酯薄膜或塑料袋)、安瓿(用于溶液中的单剂量)、滴管、注射器、薄膜、管等。在一些情况下,容器(如无菌容器)包含主题药物组合物。在一些情况下,容器是瓶子或注射器。在一些情况下,容器是瓶子。在一些情况下,容器是注射器。

[0341] 提供了具有单位剂量(例如呈口服或可注射剂量)的主题抗体的试剂盒。在此类试剂盒中,除了含有单位剂量的容器外,还将是信息包装说明书,其描述抗体在治疗目标病理病状中的用途和伴随的益处。优选的化合物和单位剂量是本文以上所描述的那些。

[0342] 治疗补体介导的疾病或病症的方法

[0343] 本公开提供了治疗补体介导的疾病或病症的方法。所述方法通常涉及向有需要的个体施用有效量的本公开的抗Bb抗体。在一些情况下,施用主题抗Bb抗体调节个体的细胞、组织或液体中AP的活性,并治疗补体介导的疾病或病症。

[0344] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体的有效量是与不施用抗Bb抗体情况下或施用抗Bb抗体之前个体的细胞、组织或流体中的AP活性水平相比,可有效使所述细胞、组织或流体中的AP活性抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的量。在一些情况下,所述抗Bb抗体抑制AP活性的IC₅₀为10⁻⁷M至10⁻⁹M,例如IC₅₀为10⁻⁷M至5x 10⁻⁷M、5x 10⁻⁷M至10⁻⁸M、10⁻⁸M至5x 10⁻⁸M或5x 10⁻⁸M至10⁻⁹M。

[0345] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体的有效量是与不施用抗Bb抗体情况下或施用抗Bb抗体之前个体的细胞、组织或流体中形成的MAC的量相比,可有效使所述细胞、组织或流体中MAC的形成抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的量。

[0346] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体的有效量是与不施用抗Bb抗体情况下或施用抗

Bb抗体之前个体的细胞、组织或流体中C3的裂解相比,可有效使所述细胞、组织或流体中C3b/Bb介导的C3裂解抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的量。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制C3b/Bb介导的C3裂解的IC₅₀为10⁻⁷M至10⁻⁹M,例如IC₅₀为10⁻⁷M至5x 10⁻⁷M、5x 10⁻⁷M至10⁻⁸M、10⁻⁸M至5x 10⁻⁸M或5x 10⁻⁸M至10⁻⁹M。

[0347] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体的有效量是可有效抑制C3b/Bb介导的C3裂解且由此减少C3裂解产物的产生的量。例如,在一些情况下,本公开的抗Bb抗体的有效量是与不施用抗Bb抗体情况下或施用抗Bb抗体之前个体的细胞、组织或流体中C3裂解产物的产生相比,可有效使所述细胞、组织或流体中C3b/Bb介导的C3裂解抑制,由此使C3裂解产物(例如,C3a和/或C3b)的产生减少至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的量。

[0348] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体的有效量是与不施用抗Bb抗体情况下或施用抗Bb抗体之前个体的细胞的溶解程度相比,可有效使所述细胞的补体AP介导的溶解抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的量。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制AP介导的溶解的IC₅₀为10⁻⁷M至10⁻⁹M,例如IC₅₀为10⁻⁷M至5x 10⁻⁷M、5x 10⁻⁷M至10⁻⁸M、10⁻⁸M至5x 10⁻⁸M或5x 10⁻⁸M至10⁻⁹M。

[0349] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体的有效量是与不施用抗Bb抗体情况下或施用抗Bb抗体之前个体的细胞、组织或流体(例如,含RBC的流体)中溶血的程度相比,可有效使所述细胞、组织或流体中补体AP介导的溶血抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的量。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制AP介导的溶血的IC₅₀为10⁻⁷M至10⁻⁹M,例如IC₅₀为10⁻⁷M至5x 10⁻⁷M、5x 10⁻⁷M至10⁻⁸M、10⁻⁸M至5x 10⁻⁸M或5x 10⁻⁸M至10⁻⁹M。

[0350] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体的有效量是可有效抑制过敏毒素的产生的量。例如,在一些情况下,本公开的抗Bb抗体的有效量是与不施用抗Bb抗体情况下或施用抗Bb抗体之前产生的C3a和C5a的量相比,可有效使C3a和C5a的产生抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或超过95%的量。

[0351] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体的有效量是与不施用抗Bb抗体情况下或施用抗Bb抗体之前个体的细胞或组织上C3b、C3d或其它C3分裂产物的沉积的量相比,可有效使所述细胞或组织上AP介导的C3b、C3d或其它C3分裂产物的沉积抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的量。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制细胞或组织上AP介导的C3b、C3d或其它C3分裂产物的沉积的IC₅₀为10⁻⁷M至10⁻⁹M,例如IC₅₀为10⁻⁷M至5x 10⁻⁷M、5x 10⁻⁷M至10⁻⁸M、10⁻⁸M至5x 10⁻⁸M或5x 10⁻⁸M至10⁻⁹M。

[0352] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体的有效量是与不施用抗Bb抗体情况下或施用抗Bb抗体之前个体的细胞或组织上C3b沉积的量相比,可有效使所述细胞或组织上AP介导的C3b沉积抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的量。在一些情况下,

本公开的抗Bb抗体抑制细胞或组织上AP介导的C3b沉积的IC₅₀为10⁻⁷M至10⁻⁹M,例如IC₅₀为10⁻⁷M至5x 10⁻⁷M、5x 10⁻⁷M至10⁻⁸M、10⁻⁸M至5x 10⁻⁸M或5x 10⁻⁸M至10⁻⁹M。

[0353] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体的有效量是与不施用抗Bb抗体情况下或施用抗Bb抗体之前个体的RBC上C3b、C3d或其它C3分裂产物的沉积的量相比,可有效使所述个体的RBC上AP介导的C3b、C3d或其它C3分裂产物的沉积抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的量。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制RBC上AP介导的C3b、C3d或其它C3分裂产物的沉积的IC₅₀为10⁻⁷M至10⁻⁹M,例如IC₅₀为10⁻⁷M至5x 10⁻⁷M、5x 10⁻⁷M至10⁻⁸M、10⁻⁸M至5x 10⁻⁸M或5x 10⁻⁸M至10⁻⁹M。

[0354] 在一些情况下,本公开的抗Bb抗体的有效量是与不施用抗Bb抗体情况下或施用抗Bb抗体之前个体的RBC上C3b沉积的量相比,可有效使所述个体的RBC上AP介导的C3b沉积抑制至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%的量。在一些情况下,本公开的抗Bb抗体抑制RBC上AP介导的C3b沉积的IC₅₀为10⁻⁷M至10⁻⁹M,例如IC₅₀为10⁻⁷M至5x 10⁻⁷M、5x 10⁻⁷M至10⁻⁸M、10⁻⁸M至5x 10⁻⁸M或5x 10⁻⁸M至10⁻⁹M。

[0355] 在一些情况下,当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时,本公开的抗Bb抗体减少所述个体的循环中因子Bb的量。例如,在一些情况下,与不施用抗Bb抗体情况下个体的循环中因子Bb的量相比或与施用抗Bb抗体之前个体的循环中因子Bb的量相比,当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时,本公开的抗Bb抗体使所述个体的循环中因子Bb的量减少至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。

[0356] 在一些情况下,当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时,本公开的抗Bb抗体减少所述个体的血浆中因子Bb的量。例如,在一些情况下,与不施用抗Bb抗体情况下个体的血浆中因子Bb的量相比或与施用抗Bb抗体之前个体的血浆中因子Bb的量相比,当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时,本公开的抗Bb抗体使所述个体的血浆中因子Bb的量减少至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。

[0357] 在一些情况下,本公开的用于治疗患有补体介导的疾病或病症的个体的方法包括向所述个体施用本公开的抗Bb抗体或包含以下的药物组合物:a)本公开的抗Bb抗体;和b)适于向所述个体施用的药学上可接受的赋形剂。在一些情况下,个体是哺乳动物。在一些情况下,个体是人。施用可通过本领域技术人员已知的任何途径,包括本文公开的那些途径进行。在一些情况下,施用是静脉内施用。在一些情况下,施用是鞘内施用。在一些情况下,施用是肌内施用。在一些情况下,施用是皮下施用。在一些情况下,所述抗体是人源化的。

[0358] 适合用本公开的抗Bb抗体治疗的补体介导的疾病和病症包括与替代补体途径相关的疾病和病症。

[0359] 适合用本公开的抗Bb抗体治疗的补体介导的疾病和病症包括但不限于,阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、血栓性血小板减少性紫癜(TTP)、溶血性尿毒症综合征(HUS)、弥散性血管内凝血(DIC)、抗磷脂综合征(APS)、输血后紫癜和新生儿异体免疫性血小板减少症(NAITP)、缺血/再灌注损伤以及年龄相关性黄斑变

性 (AMD)。

[0360] 适合用本公开的抗Bb抗体治疗的补体介导的疾病和病症包括但不限于, 哮喘、非典型溶血性尿毒症综合征 (aHUS)、灾难性抗磷脂综合征 (亚瑟森综合征; 或CAPS)、致密物沉积病 (DDD)、C3肾小球肾炎 (C3GN)、年龄相关性黄斑变性 (AMD)、干性AMD、湿性AMD、获得性大疱性表皮松解症、类风湿性关节炎、II型膜增生性肾小球肾炎以及阵发性睡眠性血红蛋白尿症 (PNH)。

[0361] 在一些情况下, 补体介导的疾病或病症选自由以下组成的组: 缺血-再灌注损伤、非典型溶血性尿毒症综合征、血栓性血小板减少性紫癜、阵发性睡眠性血红蛋白尿症、致密物沉积病、年龄相关性黄斑变性、自发性妊娠丢失、寡免疫性血管炎、大疱性表皮松解症、复发性妊娠丢失、多发性硬化症、创伤性脑损伤、重症肌无力、冷凝集素病、皮肌炎、德戈斯病、格雷夫斯病、桥本氏甲状腺炎、I型糖尿病、银屑病、天疱疮、自身免疫性溶血性贫血、特发性血小板减少性紫癜、吉德帕斯丘综合征、多灶性运动神经病、视神经脊髓炎、抗磷脂综合征以及灾难性抗磷脂综合征。

[0362] AP相关病症和经典途径 (CP) 相关的病症包括例如, 缺血-再灌注损伤、非典型溶血性尿毒症综合征、血栓性血小板减少性紫癜、阵发性睡眠性血红蛋白尿症、致密物沉积病、年龄相关性黄斑变性、自发性妊娠丢失、寡免疫性血管炎、大疱性表皮松解症、复发性妊娠丢失、多发性硬化症、创伤性脑损伤、重症肌无力、冷凝集素病、皮肌炎、德戈斯病、格雷夫斯病、桥本氏甲状腺炎、I型糖尿病、银屑病、天疱疮、自身免疫性溶血性贫血、特发性血小板减少性紫癜、吉德帕斯丘综合征、多灶性运动神经病、视神经脊髓炎、抗磷脂综合征以及灾难性抗磷脂综合征。

[0363] 补体相关病症还包括补体相关的肺病症, 如但不限于哮喘、支气管炎、慢性阻塞性肺病 (COPD)、间质性肺病、 α -1抗胰蛋白酶缺乏症、肺气肿、支气管扩张、闭塞性细支气管炎、肺泡炎、结节病、肺纤维化和胶原血管病症。

[0364] 适合用本公开的抗Bb抗体治疗的补体介导的疾病和病症包括但不限于, 年龄相关性黄斑变性、阿尔茨海默病、肌萎缩侧索硬化、过敏反应、嗜银颗粒性痴呆、关节炎 (例如, 类风湿性关节炎)、哮喘、动脉粥样硬化、非典型溶血性尿毒症综合征、自身免疫性疾病、巴拉克尔-西蒙斯综合征、白塞氏病、英国型淀粉样血管病、大疱性类天疱疮、伯格氏病、C1q肾病、癌症、灾难性抗磷脂综合征、脑淀粉样血管病、冷凝集素病、皮质基底节变性、克罗伊茨费尔特-雅各布病、克罗恩氏病、冷球蛋白血症血管炎、拳击员痴呆、路易体痴呆 (DLB)、弥漫性神经原纤维缠结伴随钙化、盘状红斑狼疮、唐氏综合征、局灶性节段性肾小球硬化、思维形式障碍、额颞叶痴呆 (FTD)、额颞叶痴呆伴随与染色体17相关的帕金森病、额颞叶变性、格斯曼-施特劳斯-沙因克尔病、格林-巴利综合征、哈勒沃登-施帕茨病、溶血性尿毒症综合征、遗传性血管性水肿、低磷酸酯酶症、特发性肺炎综合征、免疫复合物疾病、包涵体肌炎、传染病 (例如由细菌 (例如, 脑膜炎奈瑟氏球菌或链球菌) 病毒 (例如, 人免疫缺陷病毒 (HIV)) 或其它传染因子引起的疾病)、炎性疾病、缺血/再灌注损伤、轻度认知障碍、免疫血小板减少性紫癜 (ITP)、钼辅因子缺乏症 (MoCD) A型、膜增生性肾小球肾炎 (MPGN) I、膜增生性肾小球肾炎 (MPGN) II (致密物沉积病)、膜性肾炎、多发梗塞性痴呆、狼疮 (例如, 系统性红斑狼疮 (SLE))、肾小球肾炎、川崎病、多灶性运动神经病、多发性硬化症、多系统萎缩症、重症肌无力、心肌梗死、肌强直性营养不良、视神经脊髓炎, 尼曼-皮克病C型、非关岛运动神经

元疾病与神经原纤维缠结、帕金森氏病、帕金森氏病伴随痴呆、阵发性睡眠性血红蛋白尿症、寻常性天疱疮、皮克病、脑炎性帕金森病、多发性肌炎、肌蛋白脑淀粉样血管病、进行性皮质下神经胶质过多症、进行性核上性麻痹、银屑病、败血症，志贺毒素大肠杆菌(STEC)-HuS、脊髓性肌萎缩、中风、亚急性硬化性全脑炎、仅缠结性痴呆、移植排斥、血管炎(例如，ANCA相关性血管炎)、韦格纳氏肉芽肿、镰状细胞病、冷球蛋白血症、混合型冷球蛋白血症、原发性混合型冷球蛋白血症、II型混合型冷球蛋白血症、III型混合型冷球蛋白血症、肾炎、狼疮性肾炎、大疱性类天疱疮、获得性大疱性表皮松解症、迟发性溶血性输血反应和血小板输注无效。

[0365] 组合疗法

[0366] 本公开的抗Bb抗体可单独施用至有需要的个体(例如，作为单一疗法)；或与一种或多种另外的治疗剂的组合疗法。

[0367] 如本文所用，“与……组合”是指使用，其中例如在第二化合物的整个施用过程中施用第一化合物；其中施用第一化合物持续一段时间，所述时间与第二化合物的施用重叠，例如其中第一化合物的施用在第二化合物的施用之前开始并且第一化合物的施用在第二化合物的施用结束之前结束；其中第二化合物的施用在第一化合物的施用之前开始并且第二化合物的施用在第一化合物的施用结束之前结束；其中第一化合物的施用在第二化合物的施用开始之前开始并且第二化合物的施用在第一化合物的施用结束之前结束；其中第二化合物的施用在第一化合物的施用开始之前开始并且第一化合物的施用在第二化合物的施用结束之前结束。因此，“组合”还可指涉及施用两种或更多种化合物的方案。如本文所用的“与……组合”还指两种或更多种化合物的施用，所述化合物可以相同或不同的制剂、相同或不同的途径和相同或不同的剂型类型施用。

[0368] 待治疗的个体

[0369] 适合用主题抗Bb抗体治疗的个体包括已被诊断为患有补体介导的疾病或病症的个体；对于发展补体介导的疾病或病症风险高于一般人群的个体(例如，具有遗传倾向于发展补体介导的疾病或病症的个体)；患有帕金森病伴随痴呆症(PDD)的个体；患有阿尔茨海默病的个体；患有阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)的个体；患有特发性血小板减少性紫癜(ITP)的个体；患有血栓性血小板减少性紫癜(TTP)的个体；患有溶血性尿毒综合征(HUS)的个体；患有弥散性血管内凝血(DIC)的个体；患有抗磷脂综合征(APS)的个体；患有输血后紫癜的个体；患有新生儿异体免疫性血小板减少症(NAITP)的个体；患有缺血/再灌注损伤的个体；患有年龄相关性黄斑变性(AMD)的个体。还包括患有上文列出的任一种补体介导的疾病或病症的个体。

[0370] 在一些情况下，个体是成年人。在一些情况下，成人是20岁或以上、30岁或以上、40岁或以上、50岁或以上、60岁或以上、70岁或以上或80岁或以上。例如，成人可以是20岁至30岁、30岁至40岁、40岁至50岁、50岁至60岁、60岁至70岁或大于70岁。在一些情况下，个体是人类儿童。在一些情况下，人类儿童不到20岁、不到10岁或者不到5岁。

[0371] 实施例

[0372] 提出以下实施例以便向本领域的普通技术人员提供如何制备和使用本发明的完全公开和说明，并且不意图限制本发明人看待其发明的范围，也不意图表示以下实验是进行的全部或仅有的实验。虽然已尽力确保所用数字(例如量、温度等)的准确性，但仍应考虑

一些实验误差和偏差。除非另外指明，否则份数是重量份，分子量是重均分子量，温度是摄氏度，并且压力是或接近大气压。可使用标准缩写，例如，bp，碱基对；kb，千碱基；pl，皮升；s或sec，秒；min，分钟；h或hr，小时；aa，氨基酸；kb，千碱基；bp，碱基对；nt，核苷酸；i.m.，肌内的(肌内地)；i.p.，腹膜内的(腹膜内地)；s.c.，皮下的(皮下地)等。

[0373] 实施例1：抗因子Bb单克隆抗体的产生

[0374] 如下产生抗因子Bb单克隆抗体(“因子Bb mAb”)M4、M10、M12、M17、M18和M20：用纯化的人因子Bb蛋白免疫NZBW小鼠产生杂交瘤文库，使用本领域技术人员已知的技术将所述杂交瘤文库针对与靶标的结合进行筛选(抗体溶液；参见例如，Galfre等人，Methods in Enzymology 73:346 (1981))。流式细胞术用于产生单细胞克隆，并且通过直接酶联免疫吸附测定(ELISA)筛选来自这些单个克隆的上清液与因子Bb相对于全长因子B的优先结合，如例如在Nix等人，Immunoassays, A Practical Approach, 编辑J.P.Gosling, 第239-261页，Oxford University Press (2000) 中所公开。选择二十个克隆，所述克隆显示相对于因子B特异性结合因子Bb的不同程度。将这些克隆在培养物中扩增，并且从杂交瘤上清液中纯化单克隆抗体。使用补体系统替代途径WIESLAB试剂盒(Euro Diagnostica, Sweden)进一步筛选纯化的mAb对替代途径(AP)活性的抑制。从这些结果，选择6个克隆用于进一步分析。

[0375] 实施例2：抗因子Bb mAb与人因子Bb的结合

[0376] 通过ELISA测定因子Bb mAb的相对EC₅₀值。将未标记的纯化的人因子Bb(Complement Technologies; 1μg/mL)涂覆到高结合ELISA板上，并与递增量的纯化的mAb一起孵育(以10μg/mL开始的3倍连续稀释液)。使用辣根过氧化物酶(HRP)缀合的山羊抗小鼠二抗(Southern Biotech)进行检测，并与3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)1步Ultra TMB-ELISA底物溶液(Thermo Scientific)反应。用等体积的1N硫酸终止反应；并且测量OD_{450nm}处的吸光度。数据在图1中示出。使用PRISM软件计算每种单克隆的EC₅₀；EC₅₀值在图2中列出。所有mAb显示出良好亲和力，其中大多数具有在亚纳摩尔范围内的EC₅₀。

[0377] 图1. 纯化的抗因子Bb mAb与人因子Bb的结合。

[0378] 图2. 抗因子Bb mAb与人因子Bb的结合亲和力

[0379] 实施例3：抗因子Bb mAb对活化因子Bb的特异性

[0380] 在优化的抗原捕获ELISA形式中测定因子Bb抗体与活化的因子B相对于全长因子B酶原的优先结合，以评价与靶可溶性蛋白的结合。将1μg/mL抗体与山羊抗小鼠IgG涂覆的板(Pierce; Thermo Scientific)结合，然后与1μg/mL生物素化的因子Bb或因子B(Complement Technologies)一起孵育。用链霉抗生物素蛋白-HRP检测结合的因子Bb/B蛋白，并与TMB 1-步Ultra TMB-ELISA底物溶液(Thermo Scientific)反应。用等体积的1N硫酸终止反应；并且测量OD_{450nm}处的吸光度。计算因子Bb对比因子B的结合吸光度的比率(fBb/B比率)，并且结果在图3中示出。M17显示对因子Bb的几乎完全特异性，在此测定中没有可检测的与因子B的结合。M10和M18在此测定中显示类似的偏爱(fBb/B比率分别为5.5和8.4)，而M4、M12和M20显示无偏爱(fBb/B比率≥1)。

[0381] 通过尺寸排阻色谱法(SEC)评价因子Bb mAb与溶液中的全长因子B的结合。对于SEC，将100μg/mL纯化的因子B与达3倍摩尔过量的纯化的mAb一起孵育。在室温(RT)下孵育1小时后，将样品负载到TSKgel G3000SWx1凝胶过滤柱上。在色谱图中存在新的较高分子量峰以及游离因子B和游离抗体峰的减少表明形成抗原：抗体复合物。SEC的结果与在抗原捕

获ELISA中测定的结合特异性良好相关(图4)。通过ELISA显示对因子Bb具有特异性的M10、M17和M18在SEC中也不与全长因子B结合;M4、M12和M20通过ELISA显示无结合特异性,并且类似地在SEC中全部与全长因子B结合。

[0382] 图3.纯化的抗因子Bb mAb与可溶性因子B和因子Bb的结合。

[0383] 图4.与通过尺寸排阻色谱法(SEC)获得的结果相比,通过ELISA测定的抗因子Bb mAb与因子Bb对比因子B的结合的特异性(图3)。

[0384] 实施例4:抗因子Bb mAb与食蟹猴蛋白质的结合

[0385] 通过ELISA测定因子Bb mAb结合食蟹猴因子B或因子Bb的能力。将5 μ g/mL的每种纯化的蛋白质(Innovative Research;内部纯化的)涂覆到ELISA板上,与纯化的因子Bb mAb(以10 μ g/mL开始的3倍连续稀释液)一起孵育,并如实施例2中检测结合的抗体。使用Prism软件计算因子Bb对比因子B的EC₅₀值,并且在图5中示出。

[0386] 图5.纯化的抗因子Bb mAb与纯化的食蟹猴因子B或因子Bb的结合。

[0387] 实施例5:抗因子Bb mAb对补体替代途径(AP)的抑制

[0388] 使用补体系统替代途径WIESLAB®试剂盒测量因子Bb mAb对补体AP活性的抑制。这是一种基于平板的测定,所述测定使用脂多糖(LPS)来特异地活化替代途径,并且读数是随时间推移的终末膜攻击复合物(MAC)沉积。将11%正常人血清(Complement Technologies)与以200 μ g/mL开始的mAb或小鼠同种型对照的2倍连续稀释液一起孵育。测定每种浓度的V_{max},并且结果在图6中示出。所有抗因子Bb单克隆抗体都能够抑制AP介导的MAC沉积,其中M4/M12>M20>M10/M18>M17。

[0389] 在抑制经典途径的含有EGTA的缓冲液中使用人血清和兔红细胞测定因子Bb mAb对AP途径介导的溶血和C3b沉积的抑制。将抗因子Bb mAb或小鼠同种型对照(以100 μ g/mL开始的2倍稀释液)与10%人血清和兔红细胞(RBC)一起在37°C下孵育1小时。通过测量上清液的A_{540nm}并减去含有乙二胺四乙酸(EDTA)的对照孔中的背景吸光度来确定溶解的量。结果在图7中示出。所有因子Bb mAb都能够抑制AP介导的溶血,其中M4/M12>M20>M10/M18>M17。

[0390] 为了测定红细胞(RBC)上的C3分离产物沉积,用抗C3b抗体(6C9;Thermo Scientific)染色细胞沉淀,用山羊抗小鼠Alexa-647(Thermo Scientific)检测到阳性细胞,并通过流式细胞术进行分析。结果在图8中示出。所有因子Bb mAb都能够抑制RBC上的C3沉积,其中M4/M12>M20>M10/M18>M17。

[0391] 使用Prism软件计算所有三种测定中因子Bb mAb对AP活性的抑制的IC₅₀值,并且在图9中示出。在Wieslab测定中产生的IC₅₀值始终高于溶血/C3b沉积测定中,这可能是由于每种测定中使用的血清浓度的变化或终点测量差异。特别的,与溶血测定相比,因子Bb特异性M17在Wieslab测定中不是非常有效(IC₅₀的17.7倍差异;其它mAb显示在两种测定之间IC₅₀的4.4至5.9倍差异)。然而,所有测定都报道了抗因子Bb mAb之间相同相对功效,这与它们对因子Bb的特异性负相关。

[0392] 图6.抗因子Bb mAb对AP活性的抑制。

[0393] 图7.抗因子Bb mAb对AP途径介导的溶血的抑制。

[0394] 图8.抗因子Bb mAb对AP途径介导的C3b沉积的抑制。

[0395] 图9.使用三种不同的测定比较因子Bb mAb对AP活性的影响。使用Prism软件计算非线性曲线拟合和IC₅₀。

[0396] 实施例5:抗因子Bb mAb对食蟹猴AP的抑制

[0397] 使用补体系统替代途径WIESLAB®试剂盒测量抗因子Bb mAb M10对补体替代途径活性(AP)的抑制。将正常人血清或食蟹猴(“cyno”)猴血清(Innovative Research; 5.5%)与以100 μ g/mL开始的M10或小鼠同种型对照的2倍连续稀释液一起孵育。测定每种浓度的V_{max},并且结果在图10中示出。对于人和食蟹猴血清,此实验中M10的IC₅₀分别是9.79E-8和3.67E-7M。

[0398] 在抑制经典途径的含有EGTA的缓冲液中使用食蟹猴血清和兔红细胞测量抗因子Bb mAb对AP途径介导的溶血的抑制。将抗因子Bb mAb或小鼠同种型对照(以100 μ g/mL开始的2倍稀释液)与5%食蟹猴血清和兔RBC在37°C下一起孵育1小时。通过测量上清液的A_{540nm}并减去含有EDTA的对照孔中的背景吸光度来确定溶解的量。结果在图11中示出。M17不抑制食蟹猴血清介导的兔红细胞溶血。食蟹猴血清的IC₅₀值是如下:2.497E-8(M4)、2.202E-7(M10)、2.824E-8(M12)、2.319E-7(M18)和7.524E-7M(M20)。

[0399] 图10.抗因子Bb mAb对人或猴血清中的Wieslab AP活性的抑制。

[0400] 图11.抗因子Bb mAb对食蟹猴AP途径介导的兔RBC溶血的抑制。

[0401] 实施例6:抗因子Bb mAb的测序

[0402] 使用本领域技术人员已知的技术(LakePharma)进行因子Bb mAb的VH和VL区的氨基酸测序。具体地,从杂交瘤细胞系制备细胞沉淀并提取RNA。使用用于鼠抗体信号序列的简并引物库以及IgMVH、IgGVH、IgκVL和IgλVL的恒定区引物,通过逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)扩增V区。将从成功扩增中的每个获得的聚合酶链式反应(PCR)产物纯化并克隆到‘TA’克隆载体系统中,从所述克隆载体系统中获得序列。因子Bb mAB的VH和VL区以及CDR的推断的氨基酸序列在图12A-12F中提供。M10和M18VL和VH的序列相同,并且M4和M12VH和VL的序列相同。

[0403] 实施例7:抗Bb mAb的进一步表征

[0404] 在用CD55/CD59抗体预处理的人RBC上因子Bb抗体对AP途径介导的溶血的抑制(图14)

[0405] 患有阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)的患者由于细胞表面上补体调控因子(CD55和CD59)的缺乏而遭受补体介导的其红细胞(RBC)的溶解。用针对CD55和CD59的中和抗体预处理使得健康RBC对补体介导的溶解敏感。

[0406] 将用抗CD55和CD59抗体预处理的正常人红细胞与含有不同浓度的因子Bb抗体M4、M10、M17和M20以及小鼠IgG2a(同种型对照)的20%正常人血清一起孵育。反应缓冲液含有10mM Mg EGTA以阻断经典和凝集素补体途径。在37°C下120分钟后,将细胞离心。通过测量上清液的A_{540nm}并减去含有EDTA的对照孔中的背景吸光度来确定溶解的量。结果在图14中示出。仅用M10抗体获得溶血的完全抑制。

[0407] 抗因子Bb嵌合抗体的产生

[0408] 利用来自实施例6的DNA序列,合成杂交瘤克隆M4和M10的可变结构域(DNA 2.0)以及克隆所需的另外的侧翼序列。将可变结构域克隆到表达载体中,所述表达载体产生由小鼠可变区和人IgG4恒定区/Fc区组成的嵌合抗体。将构建体转染到HEK293细胞中,并使用蛋白A琼脂糖从培养物上清液中纯化。含有M10的可变区的嵌合抗体被称为“嵌合M10”。含有M4的可变区的嵌合抗体被称为“嵌合M4”。

[0409] 因子Bb嵌合抗体对补体替代途径(AP)的抑制(图15)

[0410] 使用补体系统替代途径 WIESLAB®试剂盒测量因子Bb嵌合抗体嵌合M10和嵌合M4对补体AP活性的抑制。将11%正常人血清(NHS; Complement Technologies)与以300 μ g/ml开始的嵌合抗体或其亲本单克隆小鼠抗体的2倍连续稀释液一起孵育。在测定结束时, 测量A405。数据在图15中示出。A405与沉积在板上的终末膜攻击复合物(MAC)的量成比例。绘制A405对抗体浓度。当与其相应的亲本单克隆小鼠抗体相比时,发现嵌合抗体在Wieslab替代途径测定中具有类似的效力。

[0411] 在来自患有阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)的患者的RBC上因子Bb嵌合抗体对AP途径介导的溶血的抑制(图16)

[0412] 将来自PNH患者的人红细胞与含有不同浓度的嵌合M10(M10的人/小鼠嵌合体)、抗人C5抗体或人IgG4(同种型对照)的20%+人血清一起孵育。反应缓冲液含有10mM Mg EGTA以阻断经典和凝集素补体途径。在37°C下180分钟后,将细胞离心。通过测量上清液的 $A_{540\text{nm}}$ 并减去含有EDTA的对照孔中的背景吸光度来确定溶解的量。结果在图16中示出。仅用嵌合M10抗体获得溶血的完全抑制。

[0413] 因子Bb嵌合抗体在食蟹猴中的药物代谢动力学(图17)

[0414] 为了确定因子Bb抗体在食蟹猴中的药物代谢动力学特性,将嵌合M10和嵌合M4各自以30mg/kg静脉内注射到3只猴子中。在注射后的不同时间,取得血浆样品用于分析。在高结合酶免疫测定(EIA)微量滴定板上用因子Bb(fBb)蛋白捕获稀释的血浆样品中的游离嵌合M10或嵌合M4。用缀合有辣根过氧化物酶(HRP)酶的山羊抗人IgG二抗检测捕获的抗体。洗涤微量滴定板以除去任何未结合的反应物,并且然后使四甲基联苯胺(TMB)底物与固定的HRP反应以产生生色产物。此生色产物在450nm波长下的吸光度与样品中嵌合M10或嵌合M4的浓度成正比。使用GraphPad Prism软件中的XY绘图功能和4-参数逻辑(4PL)线性回归函数分析来自ELISA的数据,以确定在给药后的每个时间点存在的游离嵌合M10或嵌合M4的量。数据在图17中示出。

[0415] 因子Bb嵌合抗体在食蟹猴中的药效学(图18和图19)

[0416] 为了确定因子Bb抗体在食蟹猴中的药效学特性,将嵌合M10和嵌合M4各自以30mg/kg静脉内注射到3只猴子中。在注射后的不同时间,取得血清样品用于分析。按照制造商的建议说明,分别使用补体系统替代途径和经典途径 WIESLAB®试剂盒测定血清样品的补体替代途径(CAP)和经典途径(CCP)活性。5.5%和0.99%的血清浓度分别用于替代和经典途径测定。将图18和图19中提供的图标准化至在抗体注射之前血清的活性。如图18中所示,嵌合M10抑制CAP活性,但不抑制CCP活性。如图19中所示,嵌合M4抑制CAP活性,并且抑制CCP活性的程度小于CAP活性的抑制。

[0417] 嵌合M4在体外诱导人血清中的C3降解(图20)

[0418] 将嵌合M4以0.1mg/ml的浓度添加至正常人血清,并在37°C下孵育。在不同时间点,取得样品以用于使用兔抗人C3多克隆抗体的蛋白质印迹分析。作为阴性对照,将缓冲液添加至血清。作为阳性对照,将眼镜蛇毒因子(CVF)(一种已知诱导C3降解的蛋白质)添加至正常人血清。如图20中所示,类似于眼镜蛇毒因子,嵌合M4以时间依赖性方式诱导C3降解。

[0419] 嵌合M4在体内诱导食蟹猴的C3降解(图21)

[0420] 使用夹心ELISA测定来自嵌合M10和嵌合M4的30mg/kg注射的食蟹猴血清样品的C3

水平。简言之,将纯化的山羊抗人C3抗体涂覆到高结合ELISA板上。在封闭后,将板与从嵌合M10和嵌合M4注射到猴子后的不同时间点取得的血浆样品一起孵育。在洗涤后,然后将板与生物素化的兔抗人C3a抗体一起孵育。再次洗涤后,将板与链霉抗生物素蛋白-辣根过氧化物酶(HRP)一起孵育。洗涤微量滴定板以除去任何未结合的反应物,并且然后使四甲基联苯胺(TMB)底物与固定的HRP反应以产生生色产物。此生色产物在450nm波长下的吸光度与样品中C3的浓度成正比。如图21(上图)中所示,在注射嵌合M10后未观察到C3水平的变化。如图21(下图)中所示,在注射嵌合M4后观察到C3的快速丧失。

[0421] 因子B/Bb抗体M4阻断因子H的衰变加速因子(DAF)活性(图22)

[0422] 使用Octet系统(Pall ForteBio),检查因子B/Bb抗体M4对因子H(FH)的C3转化酶的解离速率的影响。简言之,制备生物素化的备裂解素并与涂有链霉抗生物素蛋白的Octet探针结合。然后,将结合的备裂解素探针在含有C3转化酶的溶液中孵育,所述溶液通过混合C3b、因子B(FB)和因子D(FD)来制备。当C3转化酶结合备裂解素探针时,测量缔合。然后将探针转移至仅含有缓冲液的溶液中以测量C3转化酶与备裂解素结合的探针的解离。如图22中所示,当在解离步骤期间添加因子H时,可测量到C3转化酶与备裂解素探针的快速解离(右上)。如图22中所示,当在M4存在下制备C3转化酶时,未观察到因子H快速解离C3转化酶。

[0423] 因子B/Bb抗体M4不阻断CD55的DAF活性(图23)

[0424] 使用Octet系统(Pall ForteBio),检查因子B/Bb抗体M4对CD55的C3转化酶的解离速率的影响。简言之,制备生物素化的备裂解素并与涂有链霉抗生物素蛋白的Octet探针结合。然后将结合的备裂解素探针在含有C3转化酶的溶液(具有结合的因子B/Bb抗体M4)中孵育,所述溶液通过混合C3b、因子B、因子B/Bb抗体M4和因子D来制备。当C3转化酶(具有结合的抗体)结合备裂解素探针时,测量到缔合。然后将探针转移至仅含有缓冲液的溶液中以测量C3转化酶(具有结合的抗体)与备裂解素结合的探针的解离。如图23中所示,当在解离步骤期间添加CD55时,可测量到C3转化酶(具有结合的抗体)与备裂解素探针的快速解离(下图)。数据表明,因子B/Bb抗体与C3转化酶的结合不会阻断CD55解离C3转化酶复合物的能力。

[0425] 虽然本发明已经参考其特定实施方案进行了描述,但是本领域技术人员应理解,可在不脱离本发明的真实精神和范围下进行各种变化且可取代等效物。此外,为了使特定的场合、材料、物质的组合物、方法、方法步骤或步骤适应本发明的目的、精神和范围,可进行许多改进。所有此类修改均意图处于所附权利要求的范围内。

<110> 比奥贝拉蒂美国公司

<120> 抗补体因子BB抗体以及其用途

<130> TNRX-900WO

<140> PCT/US17/25784

<141> 2017-04-03

<150> 62/317,897

<151> 2016-04-04

<160> 98

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 1

Gln Asp Val Gly Thr Ala

1 5

<210> 2

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 2

Trp Ala Ser

1

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 3

His Gln His Ser Ser Asn Pro Leu Thr

1 5

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala

1 5

<210> 5

<211> 8

<212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 5

Ile Ser Asn Arg Gly Ser Tyr Thr
 1 5

<210> 6
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 6

Ala Arg Glu Arg Pro Met Asp Tyr
 1 5

<210> 7
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 7

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 [0002] 1 5 10 15

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

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys His Gln His Ser Ser Asn Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105

<210> 8
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 8

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Thr Ile Ser Asn Arg Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Arg Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 9
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

[0003] <400> 9

Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr
 1 5 10

<210> 10
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 10

Arg Met Ser
 1

<210> 11
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 11

Ala Gln Met Leu Glu Arg Pro Trp Thr
 1 5

<210> 12
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 12

Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Leu
 1 5

<210> 13

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 13

Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Ala
 1 5

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 14

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

[0004]

<210> 15

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 15

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

Thr Ser Ala Ser Ile Ser Cys Ser Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Met
 85 90 95

Leu Glu Arg Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 16
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成序列

 <400> 16

 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30

 Leu Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

 Gly Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Ala Phe Tyr Asn Gln Arg Phe
 50 55 60

 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala His
 65 70 75 80

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

 Ala Arg Leu Glu Asn Asp Tyr Gly Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

[0005] Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 17
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成序列

 <400> 17

 Gln Gly Ile Asn Asn Tyr
 1 5

<210> 18
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成序列

 <400> 18

Tyr Thr Ser
1

<210> 19
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>

<223> 合成序列

<400> 19

Gln Gln His Ser Lys Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 20

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe Gly Leu Gly
1 5 10

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 21

Ile Trp Trp Asn Asp Asp Lys
1 5

[0006]

<210> 22

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 22

Val Gln Ile Pro Tyr Gly Ser Arg Asn Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 23

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 23

Thr His Tyr Arg Ala Ser Ser Gly Ile Asn Ala Glu Tyr Met Gly Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ser Lys Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 24
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 24

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

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

Gly Leu Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala Ser Ile Trp Trp Asn Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Ser Asp
50 55 60

[0007]

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

Phe Leu Lys Ile Ser Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
85 90 95

Cys Val Gln Ile Pro Tyr Gly Ser Arg Asn Gly Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 25
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 25

Gln Asp Val Gly Ser Ala
1 5

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 26

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 27

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 27

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe Ala
1 5

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 28

Ile Ser Asn Gly Gly Gly Tyr Thr
1 5

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

[0008] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 29

Ala Arg Ile Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Glu Asp Trp Phe Ala Tyr
1 5 10 15

<210> 30

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 30

Asp Ile Val Met Thr Pro Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

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

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly His Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 31
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 31

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Ala Lys Arg Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Thr Ile Ser Asn Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60

Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

[0009]

Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Ile Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Glu Asp Trp Phe Ala Tyr Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 115 120

<210> 32
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 32

Ala Ala Ala Ala
 1

<210> 33
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 33

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 34
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 34

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 35
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 35

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 36
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

[0010] <220>
<223> 合成序列

<400> 36

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 37
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 37

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 38
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 38

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 39
<211> 4

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 39

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 40
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 40

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 41
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 41

Ala Ala Ala Ala
1
[0011]

<210> 42
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 42

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 43
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 43

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 44
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 44

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 45

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 45

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 46

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 46

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 47

<211> 4

<212> PRT

[0012] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 47

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 48

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 48

Ala Ala Ala Ala
1

<210> 49

<211> 764

<212> PRT

<213> 智人

<400> 49

Met Gly Ser Asn Leu Ser Pro Gln Leu Cys Leu Met Pro Phe Ile Leu
1 5 10 15

Gly Leu Leu Ser Gly Gly Val Thr Thr Pro Trp Ser Leu Ala Arg
20 25 30

Pro Gln Gly Ser Cys Ser Leu Glu Gly Val Glu Ile Lys Gly Gly Ser

35 40 45

Phe Arg Leu Leu Gln Glu Gly Gln Ala Leu Glu Tyr Val Cys Pro Ser

50 55 60

Gly Phe Tyr Pro Tyr Pro Val Gln Thr Arg Thr Cys Arg Ser Thr Gly

65 70 75 80

Ser Trp Ser Thr Leu Lys Thr Gln Asp Gln Lys Thr Val Arg Lys Ala

85 90 95

Glu Cys Arg Ala Ile His Cys Pro Arg Pro His Asp Phe Glu Asn Gly

100 105 110

Glu Tyr Trp Pro Arg Ser Pro Tyr Tyr Asn Val Ser Asp Glu Ile Ser

115 120 125

Phe His Cys Tyr Asp Gly Tyr Thr Leu Arg Gly Ser Ala Asn Arg Thr

130 135 140

Cys Gln Val Asn Gly Arg Trp Ser Gly Gln Thr Ala Ile Cys Asp Asn

145 150 155 160

Gly Ala Gly Tyr Cys Ser Asn Pro Gly Ile Pro Ile Gly Thr Arg Lys

165 170 175

[0013] Val Gly Ser Gln Tyr Arg Leu Glu Asp Ser Val Thr Tyr His Cys Ser

180 185 190

Arg Gly Leu Thr Leu Arg Gly Ser Gln Arg Arg Thr Cys Gln Glu Gly

195 200 205

Gly Ser Trp Ser Gly Thr Glu Pro Ser Cys Gln Asp Ser Phe Met Tyr

210 215 220

Asp Thr Pro Gln Glu Val Ala Glu Ala Phe Leu Ser Ser Leu Thr Glu

225 230 235 240

Thr Ile Glu Gly Val Asp Ala Glu Asp Gly His Gly Pro Gly Glu Gln

245 250 255

Gln Lys Arg Lys Ile Val Leu Asp Pro Ser Gly Ser Met Asn Ile Tyr

260 265 270

Leu Val Leu Asp Gly Ser Asp Ser Ile Gly Ala Ser Asn Phe Thr Gly

275 280 285

Ala Lys Lys Cys Leu Val Asn Leu Ile Glu Lys Val Ala Ser Tyr Gly

290 295 300

Val Lys Pro Arg Tyr Gly Leu Val Thr Tyr Ala Thr Tyr Pro Lys Ile

305 310 315 320

Trp Val Lys Val Ser Glu Ala Asp Ser Ser Asn Ala Asp Trp Val Thr

325 330 335

Lys Gln Leu Asn Glu Ile Asn Tyr Glu Asp His Lys Leu Lys Ser Gly
 340 345 350

Thr Asn Thr Lys Lys Ala Leu Gln Ala Val Tyr Ser Met Met Ser Trp
 355 360 365

Pro Asp Asp Val Pro Pro Glu Gly Trp Asn Arg Thr Arg His Val Ile
 370 375 380

Ile Leu Met Thr Asp Gly Leu His Asn Met Gly Gly Asp Pro Ile Thr
 385 390 395 400

Val Ile Asp Glu Ile Arg Asp Leu Leu Tyr Ile Gly Lys Asp Arg Lys
 405 410 415

Asn Pro Arg Glu Asp Tyr Leu Asp Val Tyr Val Phe Gly Val Gly Pro
 420 425 430

Leu Val Asn Gln Val Asn Ile Asn Ala Leu Ala Ser Lys Lys Asp Asn
 435 440 445

Glu Gln His Val Phe Lys Val Lys Asp Met Glu Asn Leu Glu Asp Val
 450 455 460

Phe Tyr Gln Met Ile Asp Glu Ser Gln Ser Leu Ser Leu Cys Gly Met
 465 470 475 480

[0014] Val Trp Glu His Arg Lys Gly Thr Asp Tyr His Lys Gln Pro Trp Gln
 485 490 495

Ala Lys Ile Ser Val Ile Arg Pro Ser Lys Gly His Glu Ser Cys Met
 500 505 510

Gly Ala Val Val Ser Glu Tyr Phe Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe
 515 520 525

Thr Val Asp Asp Lys Glu His Ser Ile Lys Val Ser Val Gly Gly Glu
 530 535 540

Lys Arg Asp Leu Glu Ile Glu Val Val Leu Phe His Pro Asn Tyr Asn
 545 550 555 560

Ile Asn Gly Lys Lys Glu Ala Gly Ile Pro Glu Phe Tyr Asp Tyr Asp
 565 570 575

Val Ala Leu Ile Lys Leu Lys Asn Lys Leu Lys Tyr Gly Gln Thr Ile
 580 585 590

Arg Pro Ile Cys Leu Pro Cys Thr Glu Gly Thr Thr Arg Ala Leu Arg
 595 600 605

Leu Pro Pro Thr Thr Cys Gln Gln Lys Glu Glu Leu Leu Pro
 610 615 620

Ala Gln Asp Ile Lys Ala Leu Phe Val Ser Glu Glu Glu Lys Lys Leu
 625 630 635 640

Thr Arg Lys Glu Val Tyr Ile Lys Asn Gly Asp Lys Lys Gly Ser Cys
645 650 655

Glu Arg Asp Ala Gln Tyr Ala Pro Gly Tyr Asp Lys Val Lys Asp Ile
660 665 670

Ser Glu Val Val Thr Pro Arg Phe Leu Cys Thr Gly Gly Val Ser Pro
675 680 685

Tyr Ala Asp Pro Asn Thr Cys Arg Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Ile
690 695 700

Val His Lys Arg Ser Arg Phe Ile Gln Val Gly Val Ile Ser Trp Gly
705 710 715 720

Val Val Asp Val Cys Lys Asn Gln Lys Arg Gln Lys Gln Val Pro Ala
725 730 735

His Ala Arg Asp Phe His Ile Asn Leu Phe Gln Val Leu Pro Trp Leu
740 745 750

Lys Glu Lys Leu Gln Asp Glu Asp Leu Gly Phe Leu
755 760

<210> 50
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

[0015] <220>
<223> 合成序列

<400> 50

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 51
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 51

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10

<210> 52
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成序列

<400> 52

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
20	25	30	

<210> 53
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 53

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
1	5	10	

<210> 54
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 54

Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln			
1	5	10	15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
20	25	30	

[0016]

<210> 55
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 55

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser			
20	25		

<210> 56
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 56

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
1	5	10	

<210> 57
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 57

Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu
1				5				10					15		

Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			20			25							30

<210> 58

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 58

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5				10		

<210> 59

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 59

[0017]

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

Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser
			20				25	

<210> 60

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 60

Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
1				5				10				

<210> 61

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 61

Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys
1				5				10					15		

Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			20				25						30

<210> 62
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 62

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 63
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 63

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

<210> 64
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0018] <220>
 <223> 合成序列

<400> 64

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 65
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 65

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 66
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 66

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 67
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 67

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys
 20

<210> 68
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 68

Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

[0019] <210> 69
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 69

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 70
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 70

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

<210> 71
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 71

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
 20

<210> 72
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 72

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 73
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 73

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15

[0020] Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 74
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 74

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

<210> 75
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<220>
 <221> Misc_特征
 <222> (1)...(5)
 <223> 此段残基可重复

<400> 75

Gly Ser Gly Gly Ser
 1 5

<210> 76

<211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成序列

 <220>
 <221> Misc_feature
 <222> (1) .. (4)
 <223> 此段残基可重复

 <400> 76

 Gly Gly Gly Ser
 1

 <210> 77
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成序列

 <400> 77

 Gly Gly Ser Gly
 1

 <210> 78
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 [0021] <220>
 <223> 合成序列

 <400> 78

 Gly Gly Ser Gly Gly
 1 5

 <210> 79
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成序列

 <400> 79

 Gly Ser Gly Ser Gly
 1 5

 <210> 80
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成序列

 <400> 80

 Gly Ser Gly Gly Gly
 1 5

 <210> 81

<211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成序列

 <400> 81

 Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5

<210> 82
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成序列

 <400> 82

 Gly Ser Ser Ser Gly
 1 5

<210> 83
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成序列

 <400> 83

[0022] Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
 1 5

<210> 84
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成序列

 <400> 84

 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 1 5

<210> 85
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成序列

 <400> 85

 Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
 1 5 10

<210> 86
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成序列

<400> 86

His His His His His
1 5

<210> 87

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 87

His His His His His His
1 5

<210> 88

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 88

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1 5 10

<210> 89

<211> 8

[0023] <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 89

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
1 5

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 90

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
1 5

<210> 91

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 91

Arg Tyr Ile Arg Ser
1 5

<210> 92
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 92

Phe His His Thr
 1

<210> 93
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 93

Trp Glu Ala Ala Ala Arg Glu Ala Cys Cys Arg Glu Cys Cys Ala Arg
 1 5 10 15

Ala

<210> 94
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0024] <220>
 <223> 合成序列

<400> 94

Thr Phe Phe Tyr Gly Gly Ser Arg Gly Lys Arg Asn Asn Phe Lys Thr
 1 5 10 15

Glu Glu Tyr

<210> 95
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 95

Cys Thr Phe Phe Tyr Gly Gly Ser Arg Gly Lys Arg Asn Asn Phe Lys
 1 5 10 15

Thr Glu Glu Tyr
 20

<210> 96
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成序列

<400> 96

Thr Phe Phe Tyr Gly Gly Ser Arg Gly Lys Arg Asn Asn Phe Lys Thr
1 5 10 15

Glu Glu Tyr Cys
20

<210> 97

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 97

[0025]

Thr Phe Val Tyr Gly Gly Cys Arg Ala Lys Arg Asn Asn Phe Lys Ser
1 5 10 15

<210> 98

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列

<400> 98

Thr Phe Phe Tyr Gly Gly Cys Arg Gly Lys Arg Asn Asn Phe Lys Thr
1 5 10 15

Glu Glu Tyr

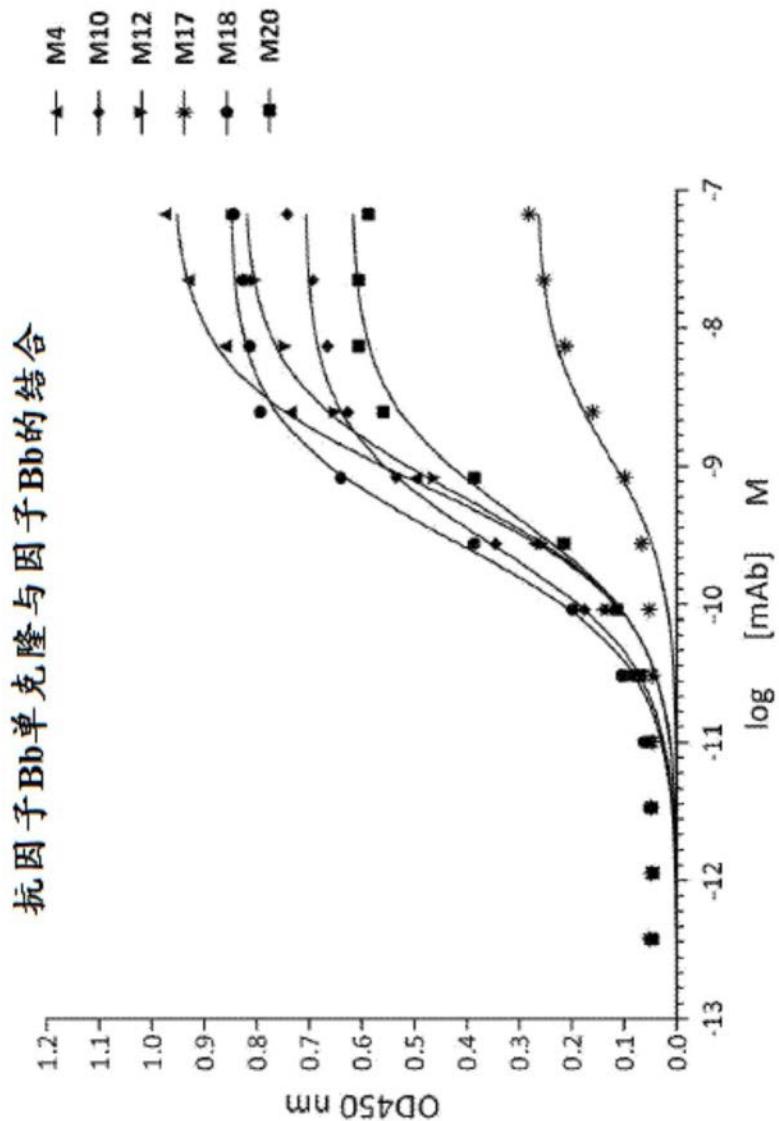


图1

抗因子Bb mAb的结合

克隆	与因子Bb的结合 (EC ₅₀ , M)
M4	8.735e-010
M10	3.345e-010
M12	7.612e-010
M17	3.140e-009
M18	3.360e-010
M20	5.461e-010

图2

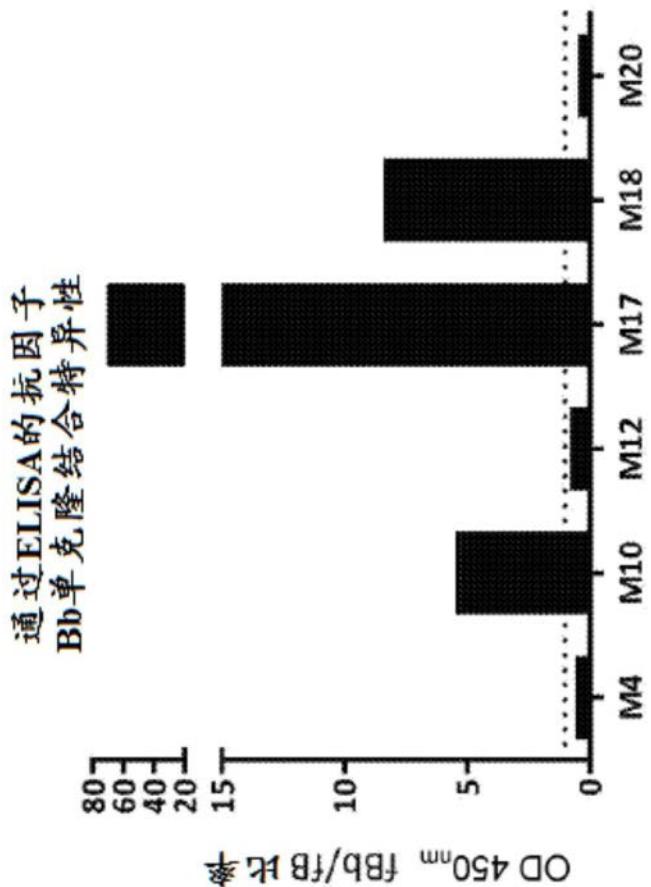


图3

与因子B对比因子Bb的结合的特异性

抗因子 Bb克隆	比率 OD f_{Bb}/f_B (ELISA)	与溶液中 的因子 B的结合(SEC)
M4	00.59	+
M10	05.49	-
M12	00.82	+
M17	70.66	-
M18	08.40	-
M20	00.50	+

图4

抗因子Bb mAb与食蟹猴因子B和因子Bb的结合

结合亲和力 (M)					
	M10	M12	M14	M17	M18
因子B	3.493E-09	5.563E-09	7.813E-09	未检测到	4.985E-09
因子Bb	4.88E-10	2.554E-09	2.503E-09	~ 2.639e-009	4.488E-10

图5

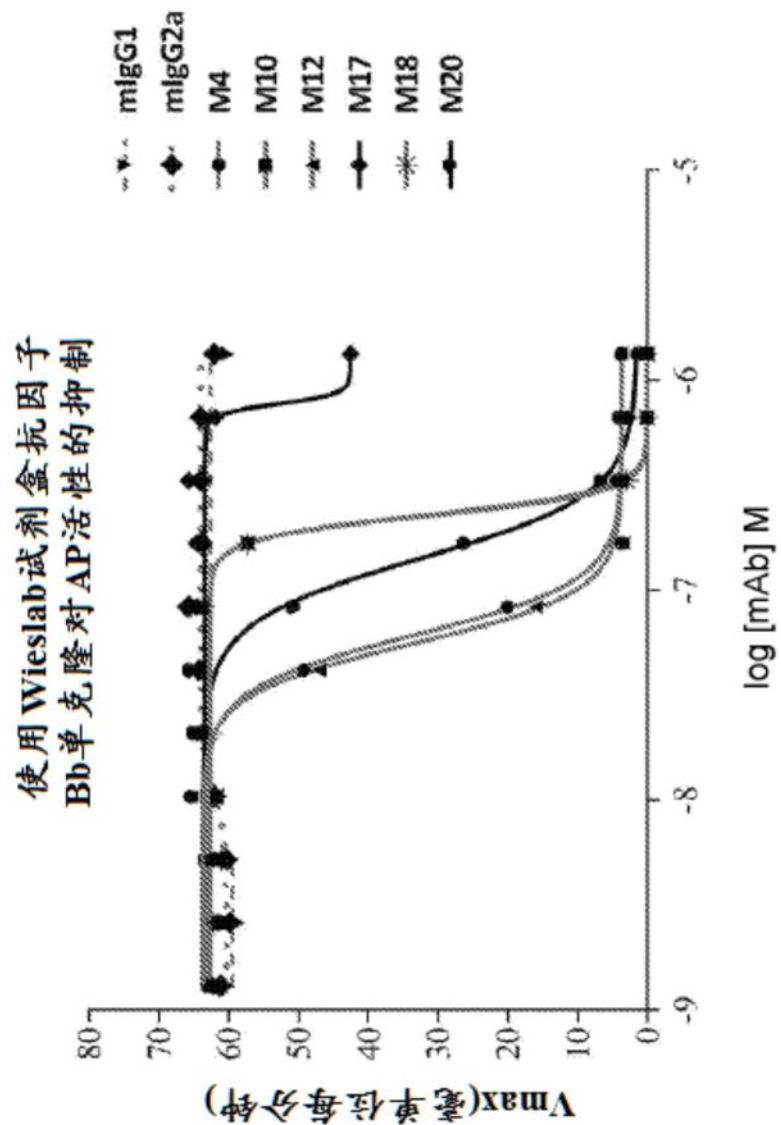


图6

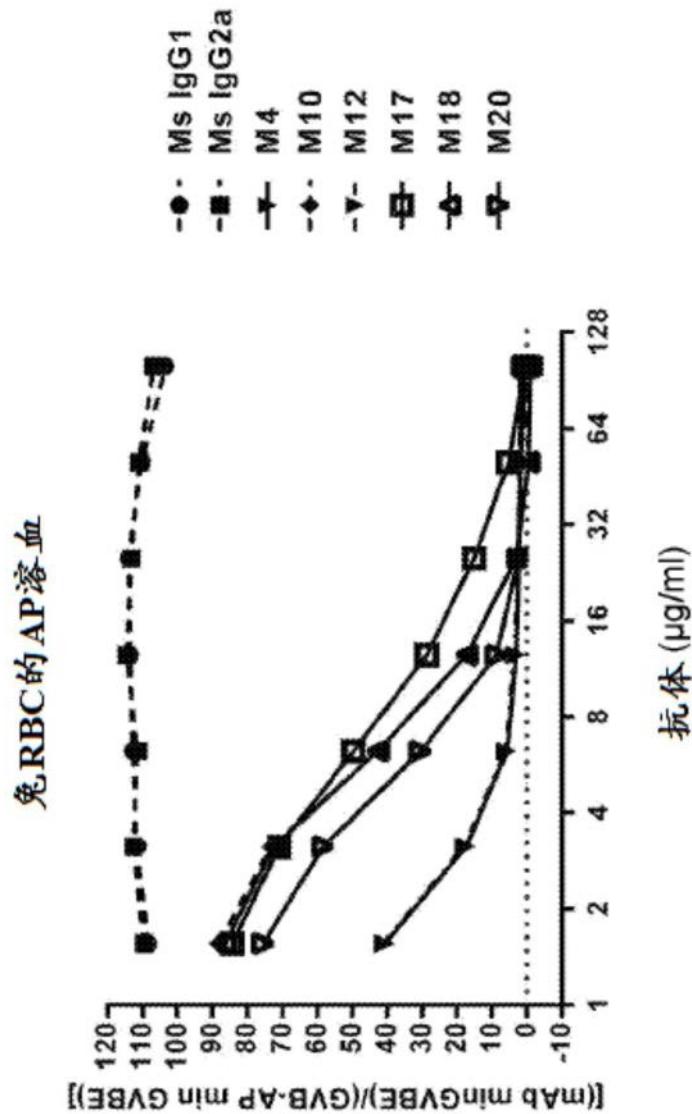


图7

抗因子Bb单克隆抗体对兔RBC上
AP介导的C3b沉积的抑制

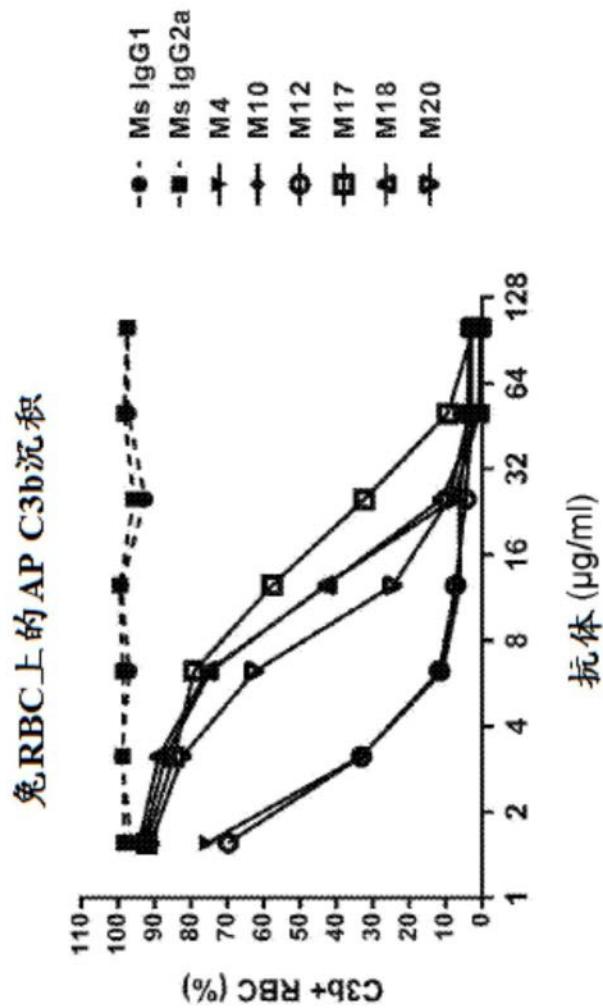


图8

抗因子Bb单克隆抗体对补体AP活性的抑制

克隆	Wieslab AP (IC ₅₀ , M)	AP 容血 (IC ₅₀ , M)	C3b 沉积 (IC ₅₀ , M)
M4	6.090E-008	1.32E-08	1.4E-08
M10	2.287E-007	3.84E-08	7.78E-08
M12	5.550E-008	1.17E-08	1.22E-08
M17	~7.706E-007	4.34E-08	1.2E-07
M18	2.258E-007	3.96E-08	7.68E-08
M20	1.417E-007	3.19E-08	5.41E-08

图9

抗因子Bb单克隆抗体对食蟹猴补体AP活性的抑制

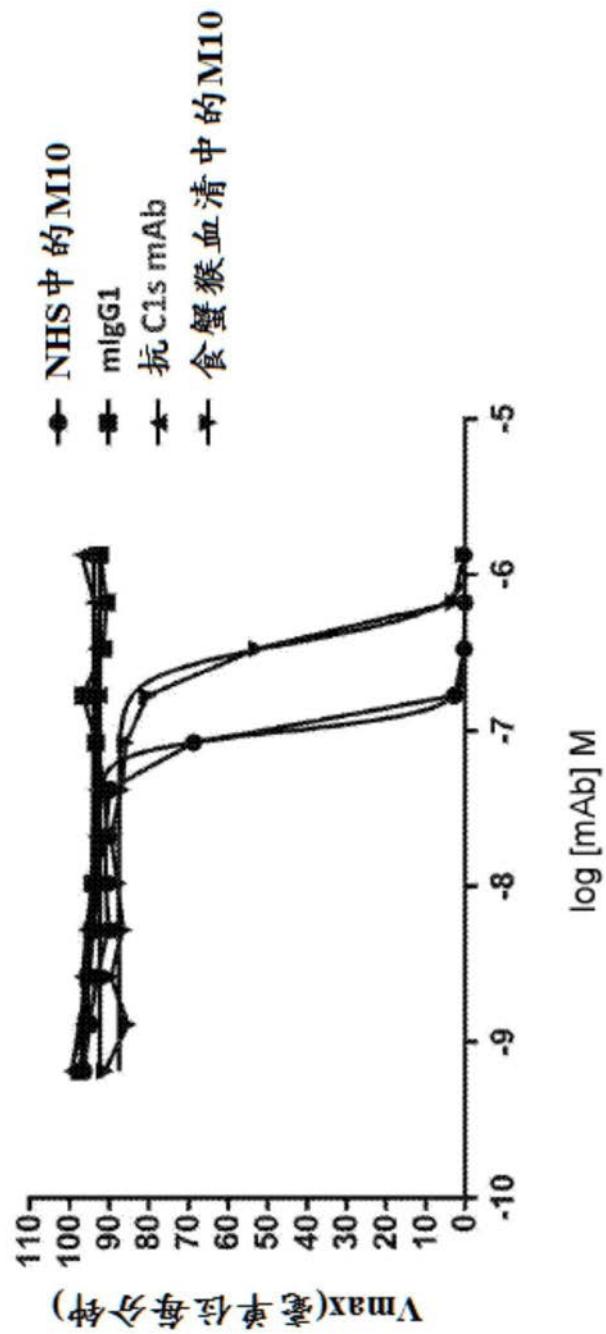


图10

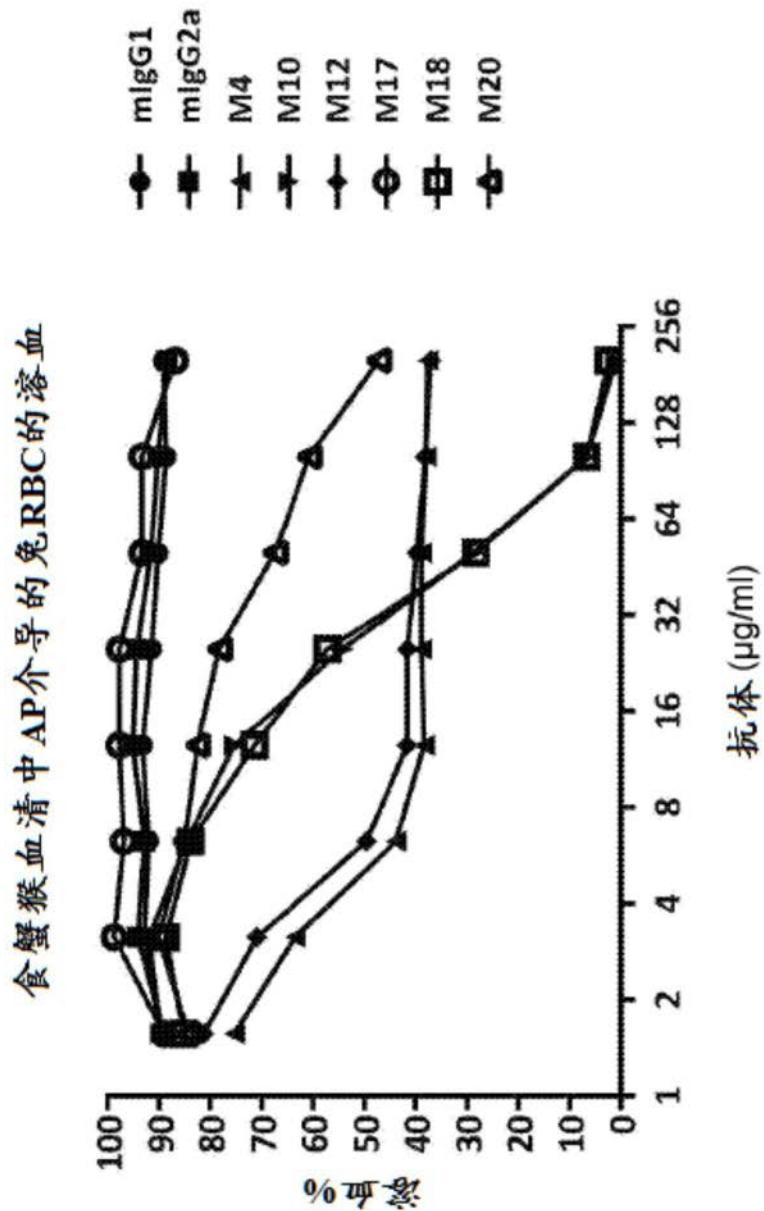


图11

表1：抗因子Bb抗体序列

抗体	CDR-1	CDR-2	CDR-3	V区
M10 VL	SEQ ID NO: 1 QDVGTA	SEQ ID NO: 2 WAS	SEQ ID NO: 3 EQHSSNPLT	SEQ ID NO: 7 DIVMTQSHKFMSSTVGDRVSITCKA SQDVGTAVAVYQQKPGQSPKLLIYW ASTRHTGVPRDFTGSGSGTDFITLT TNVQSEDLAVYFCHQHSSNPLTFGA GTKLELK
M10 VH	SEQ ID NO: 4 GFTFSNYA	SEQ ID NO: 5 ISNRGSYT	SEQ ID NO: 6 PERRPMDY	SEQ ID NO: 8 EVQLVESGGALVKPGGSLKLSCAAS GFTFSNYAMSWSVRQTPEKRLEWVAT ISNRGSYTYPDSVKGRFTISRDN KNTLYLQMSSLRSEDTALYYCARER PMDDYWGQGTTSVTVSS

图12A

表1，续

抗体	CDR-1	CDR-2	CDR-3	V区
SEQ ID NO: 9 KSSLHSNGITY M4 VL	SEQ ID NO: 10 RMS	SEQ ID NO: 11 AQMLERPW	SEQ ID NO: 15 DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCSS SKSLIHSGNIGHTYLYWYLLQRPGQSPQ LLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTD FTLRIISRVEAEDVGVYYCAQMMLERP WTFGGGTKEIK	
SEQ ID NO: 12 GYSEFTDYL M4 VH	SEQ ID NO: 13 INPYNGDA	SEQ ID NO: 14 ARLENDYGFY	SEQ ID NO: 16 EVQLQQSGPPELVKPGASVKMSCKAS GYSFTDYLMMWVKQSHGKSLEWIGR INPYNGDAFYNNQRFKGKATLTVDKS SSTAHMELRSLTSEDSSALYYCARLE NDYGETYWGQGTIVTVA	

图12B

表1，续

抗体	CDR-1	CDR-2	CDR-3	V _κ
M20 VL	SEQ ID NO: 17 QGINNY YTS	SEQ ID NO: 18 QQHSKLPWT	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 23 THYRASSGINAEXMGGDRVTLISCSA SQQINNYLNWYQQKPDGTVKLILYY TSSLHSGVPSRESGSGSGTDYSLTI SNLEPDEVATYYCQQHSKLPWTFGG GTKLEIK
M20 VH	SEQ ID NO: 20 GFSLSTFGLG	SEQ ID NO: 21 IWNDDK	SEQ ID NO: 22 VQIPYGSRNGFDY	SEQ ID NO: 24 QVTLKESGPGLQPSQTLSLTCFS GESLSTFGLGVGWIRQPSGKGLEWL ASIWNNDDKYYNSDLKRRPTISRDT SNSQVFLKISSVVDTADTATYFCVQI PYGSRNGFDYWGQGTSLLTVSS

图12C

表1，续

抗体	CDR-1	CDR-2	CDR-3	V区
M17 VL	SEQ ID NO: 25 QDVGSAA	SEQ ID NO: 2 WAS	SEQ ID NO: 26 QQYSSYPT	SEQ ID NO: 30 DIVMTPSHKFMSTSVGDRVSI
				CKA SQDVGSAVAVYQQKPGHSPKLLIFW ASTRHITGVPDRAFTGSGGTIDFTLTI SNVQSEDLADYFCQQYSYSSPYTFGG GTRLEIK
M17 VH	SEQ ID NO: 27 GFTFSNFA	SEQ ID NO: 28 ISNGGGT	SEQ ID NO: 29 ARIYYGSSYEDWFAY	SEQ ID NO: 31 EVQLVESGGVIVVKPGGSLKLSCAAS GFTFSNFAMSWVRQTPAKRLEWVAT ISNGGGTYYPDSVQGRFTISRDN NNTLYLQMSSLRSEDTALYYCARY YGSSYEDWFAYWGQGTLTVSA

图12D

表1，续

抗体	CDR-1	CDR-2	CDR-3	V区
M18 VL (具有与M10 VL相同的 序列)	SEQ ID NO: 1 QDVGTA	SEQ ID NO: 2 WAS	SEQ ID NO: 3 HQHSSNPLT	SEQ ID NO: 7 DIVMTOSHKEWMSTSVGDRVSITCKA SQDVGTAVAVYQQKPGQSPKLLIYW ASTRHTGVPDFRTGSGGTDFTLTI TNVQSEDLAVYFCHQHSSNPLTEFGA GTKLELK
M18 VH (具有与M10 VH相同的 序列)	SEQ ID NO: 4 GFTESNYA	SEQ ID NO: 5 ISNRGSYT	SEQ ID NO: 6 ARERPMDY	SEQ ID NO: 8 EVQLVESGGALVKPGGSLKLSCAAS GFTESNYAMSWSVRQTPERKLEWWAT ISNRGSYTYYPDSVKGRFTISRDNA KNTLYLQMSSLRSEDTALYYCARER FMDYWGQGTSVIVSS

图12E

表1，续

抗体	CDR-1	CDR-2	CDR-3	V区
M12 VL (具有与M4 VL相同的 序列)	SEQ ID NO: 9 KSLLHSNGITY	SEQ ID NO: 10 RMS	SEQ ID NO: 11 AQMLERPW†	SEQ ID NO: 15 DIVMTQAFSNPVTILGTASISCSS SKSLLHSNGITYLYWYLQRPGQSPO LLIYRMSNLASGVPDFSGSGSGCTD ETLRISRVEAEDVGWYYCAQMLERP WTFGGGTYKLEIK
M12 VH (具有与M4 VL相同的 序列)	SEQ ID NO: 12 SYSFTDYL	SEQ ID NO: 13 INPYNDA	SEQ ID NO: 14 ARLENDDYGFY	SEQ ID NO: 16 EVOLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS GYSFTDYLMMNWVKQSHGKSLEWIGR INPYNGDAFYNQRFKGKATLTVDKS SSTAHEMELRSLTSEDSALYYCARLE NDYGFYWWGQGTIVTVSA

图12F

IMGT编号系统用于鉴定所述CDR(参考Lefranc, M.-P. 等人, Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77 (2003))。

图13展示了因子Bb的等位基因分布。因子Bb由两个主要等位基因组成：**mgsn1spq1c**和**lmpfill1s**。因子Bb的等位基因分布如下：

等位基因	频率
mgsn1spq1c	0.61
lmpfill1s	0.39

因子Bb的等位基因分布随位置变化而变化，具体分布如下表所示：

位置	等位基因	频率
1	mgsn1spq1c	0.61
61	vcpsgffypyp	0.61
121	yntsdeisfh	0.61
181	yrledsvtyh	0.61
241	tiegvdaedg	0.61
301	asygvkpryg	0.61
361	avyssmmswpd	0.61
421	dyldvyyffgv	0.61
481	vwehrkgtdy	0.61
541	vggekrdlej	0.61
601	egttralrlp	0.61
661	qyapgydkvk	0.61
721	vvvdvcknqkr	0.61
1	lmpfill1s	0.39
61	swst1ktqdq	0.39
121	ktvrkaecra	0.39
181	anrtcqvngr	0.39
241	wsgqtaicdn	0.39
301	gagycsnpgi	0.39
361	pigtrkvgsq	0.39
421	smydtpqev	0.39
481	aeflsslte	0.39
541	segtpscqd	0.39
601	igasnftgak	0.39
661	kclvnliekv	0.39
721	ndwvtkqln	0.39
1	einyedhk1k	0.39
61	sgtnkkalq	0.39
121	lhnmgddpit	0.39
181	videirdlly	0.39
241	igkdrknpre	0.39
301	esqsls1cgm	0.39
361	ledvfyqmid	0.39
421	hvfkvkdmnen	0.39
481	cmgavvseyf	0.39
541	vltaaahcfv	0.39
601	dkkehsikvs	0.39
661	efydydvali	0.39
721	klknk1kyqq	0.39
1	tirpiclpct	0.39
61	trkevyikng	0.39
121	dkkgscerda	0.39
181	fijqvqviswg	0.39
241	gplntcrqdsg	0.39
301	gplivhkrssr	0.39
361	fiqvgviswg	0.39
421	1gf1	0.39
481	1gf1	0.39
541	1gf1	0.39
601	1gf1	0.39
661	1gf1	0.39
721	1gf1	0.39

图13

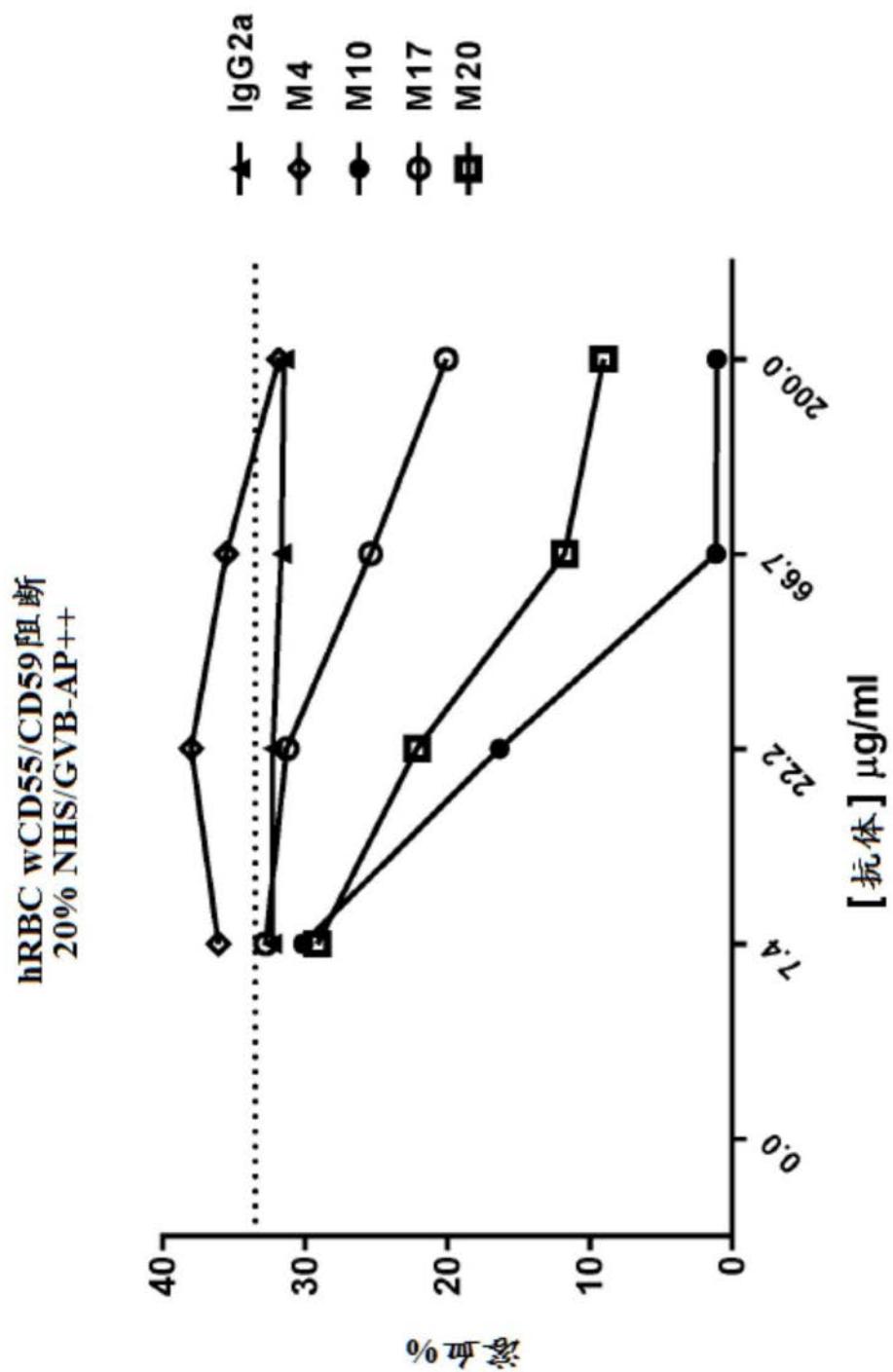


图14

Wieslab替代测定 5.5% NHS

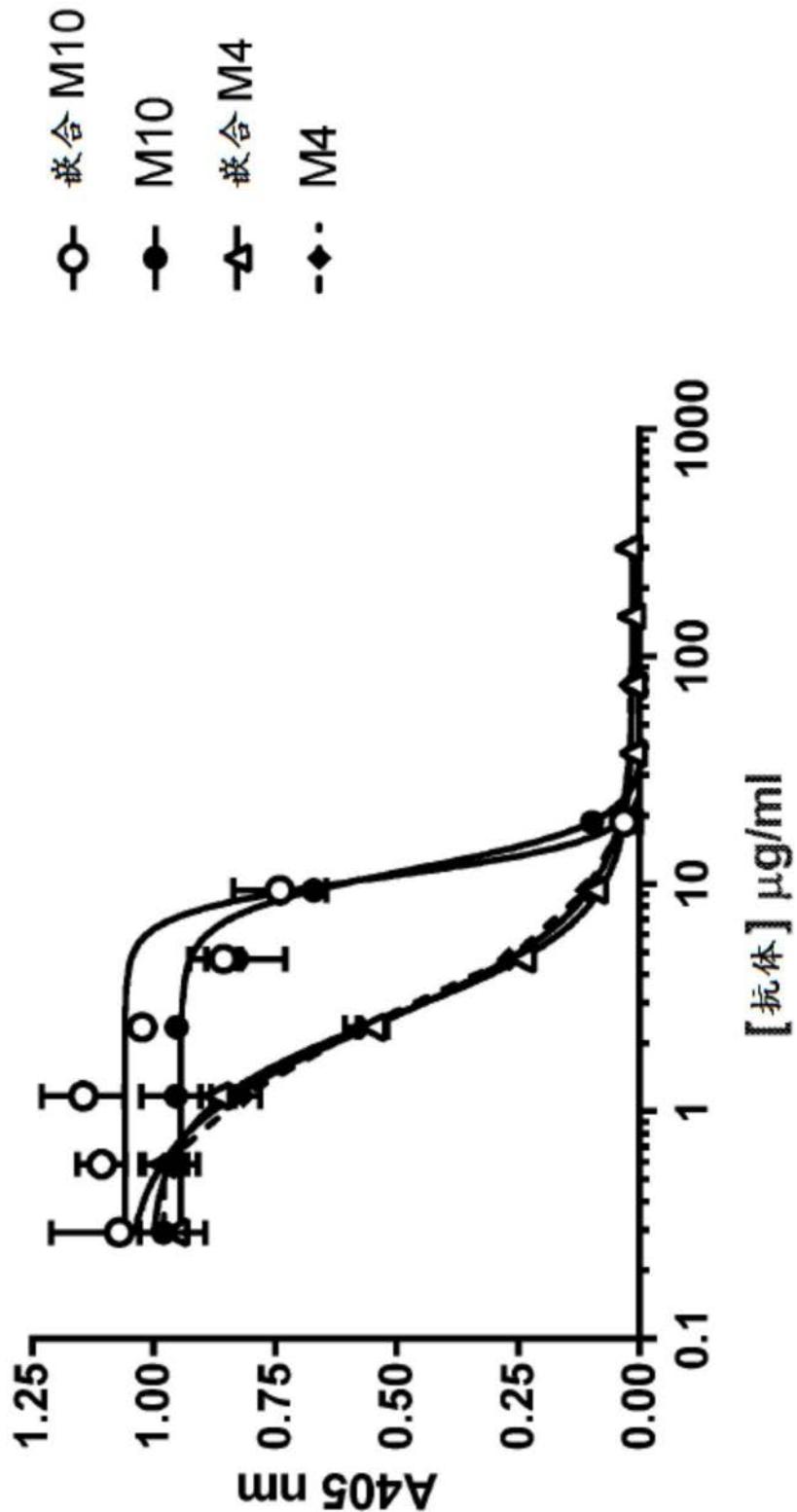


图15

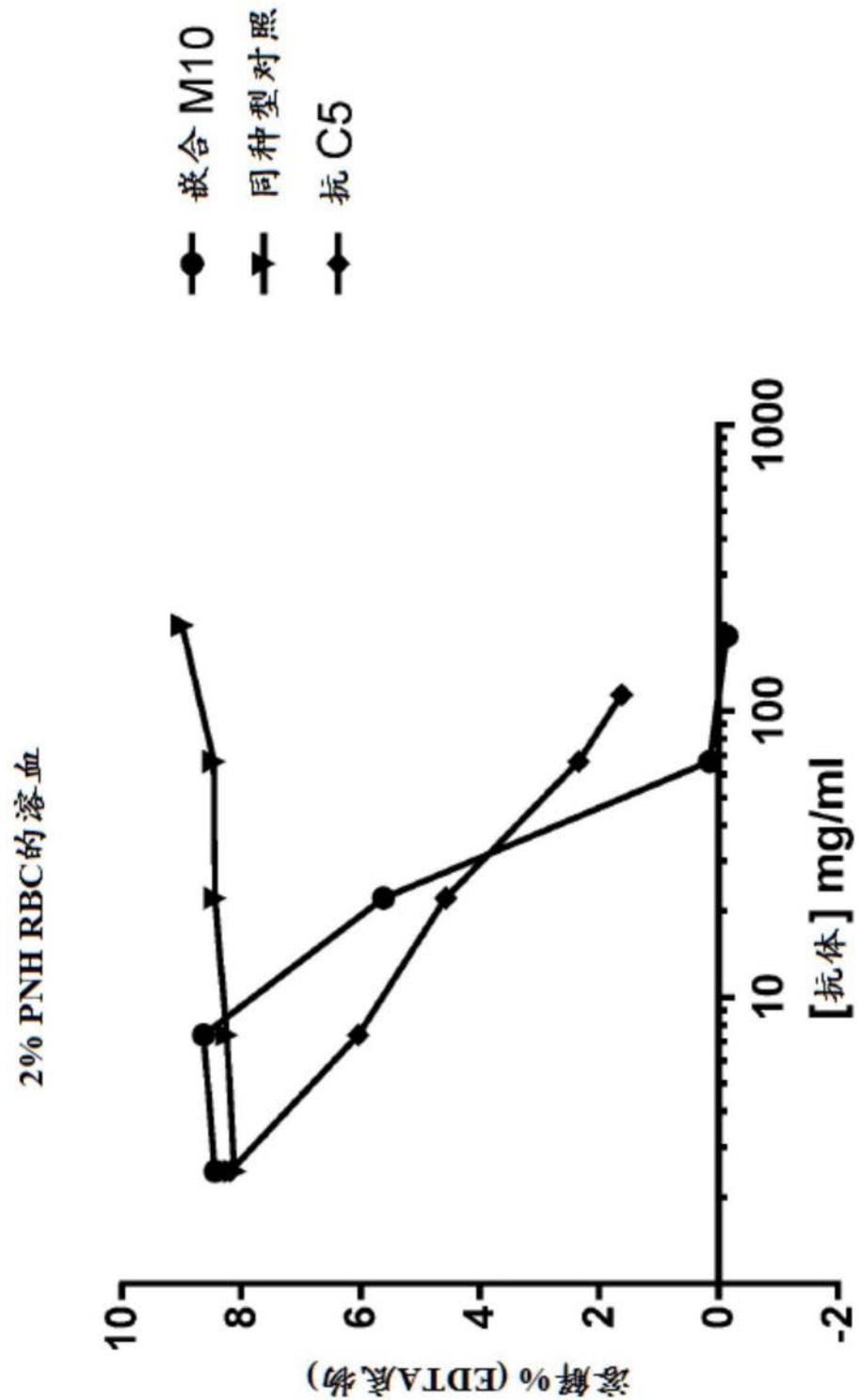
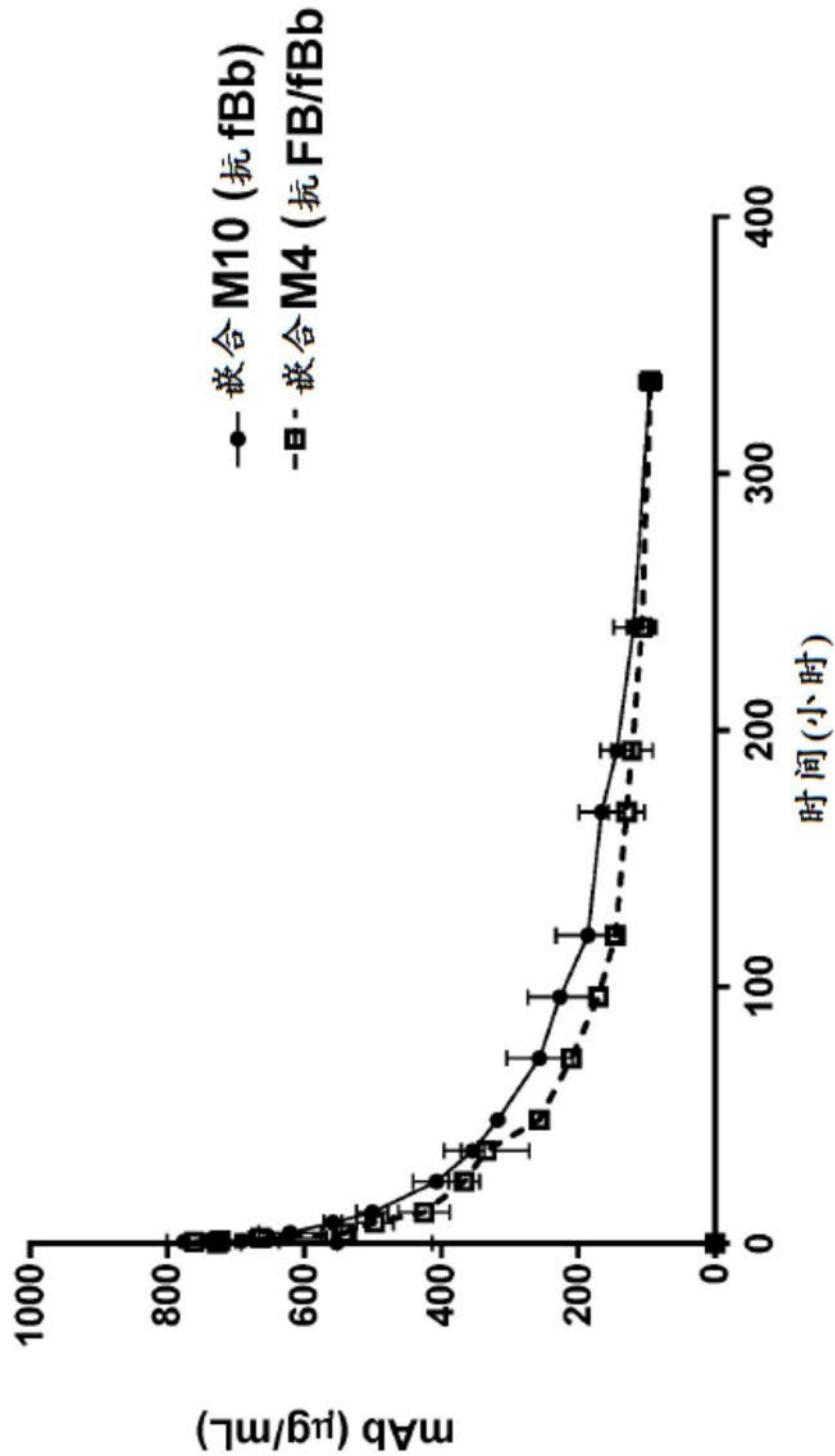


图16

食蟹猴PK样品中的游离嵌合M10和嵌合M4



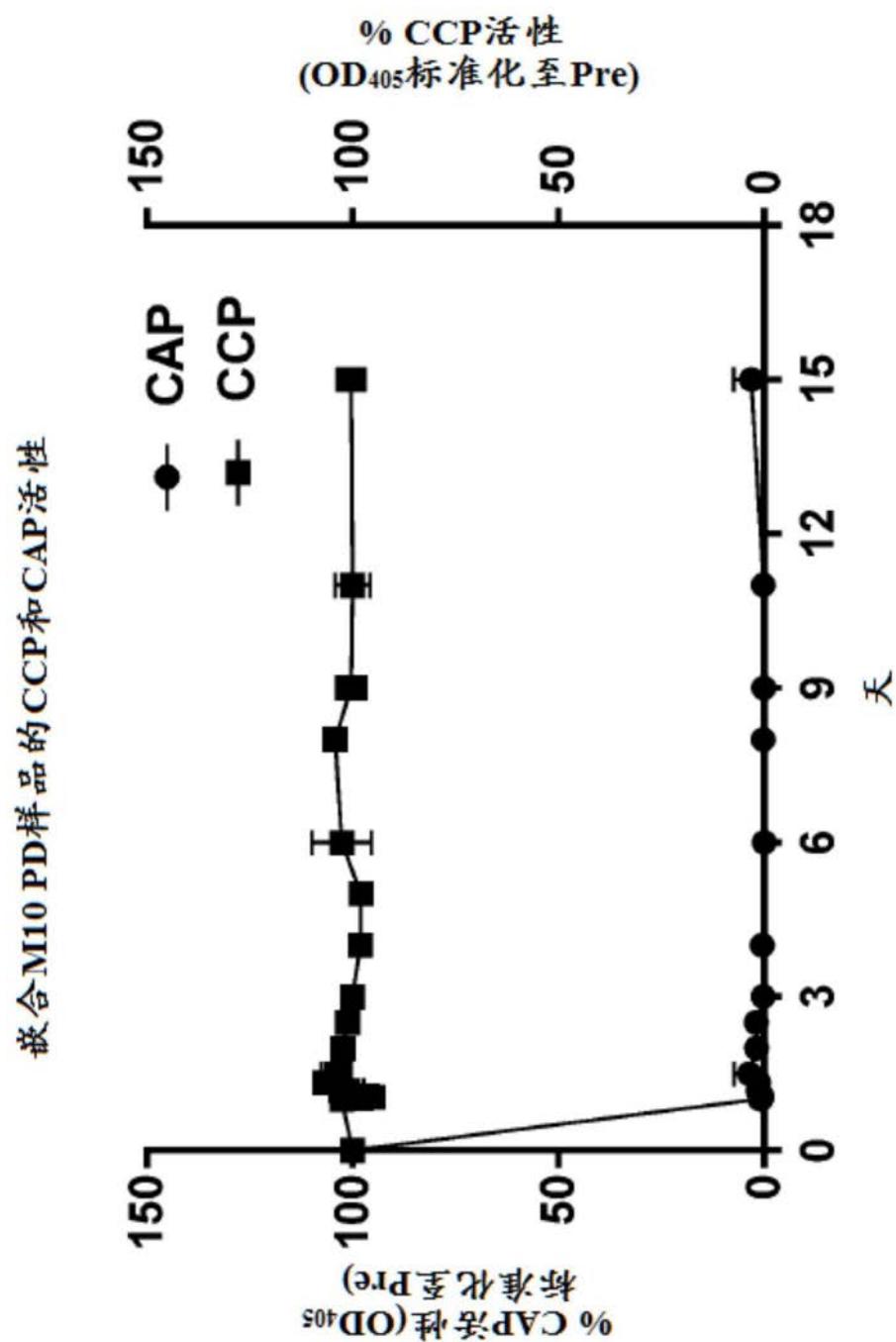


图18

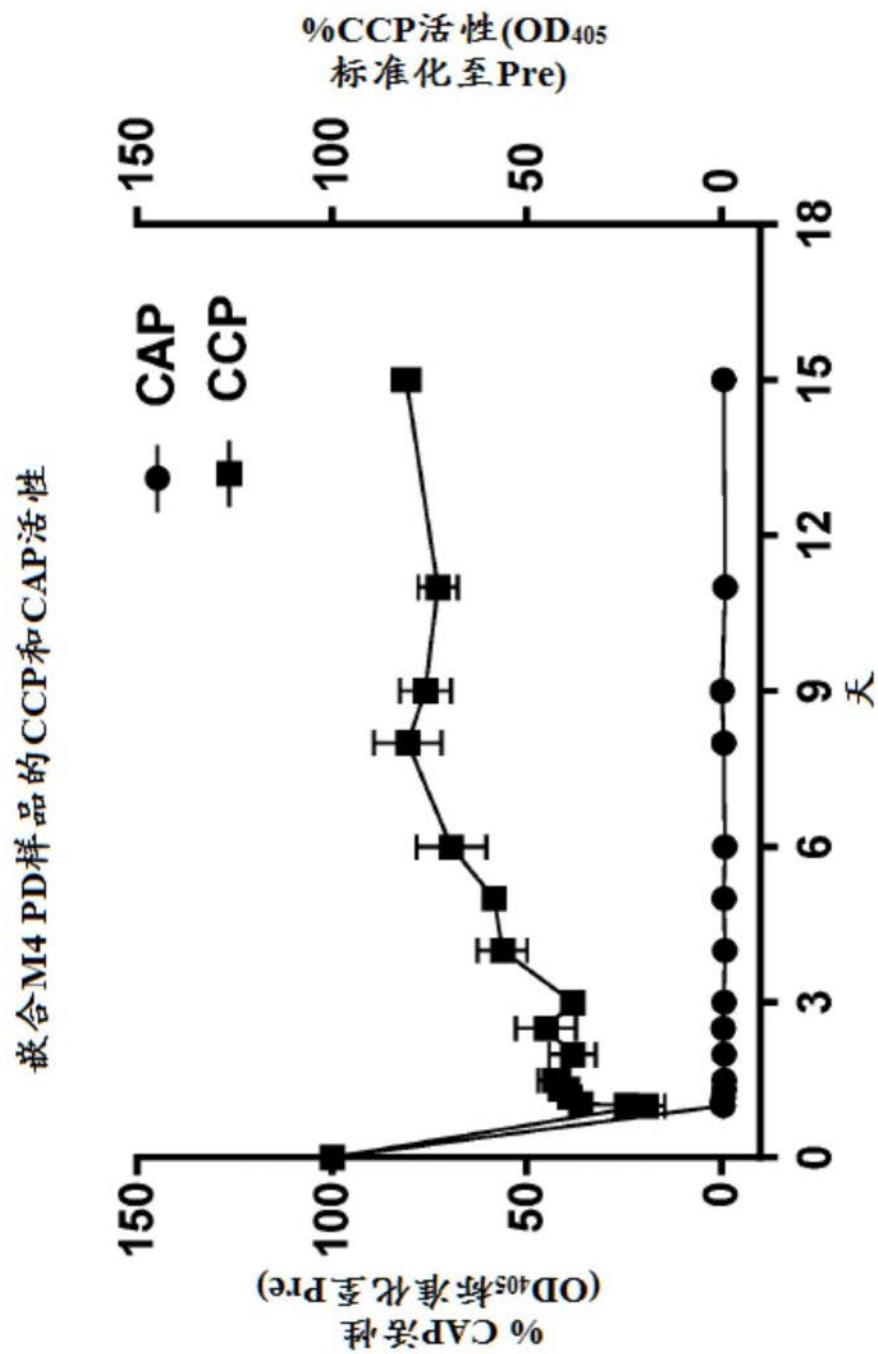


图19

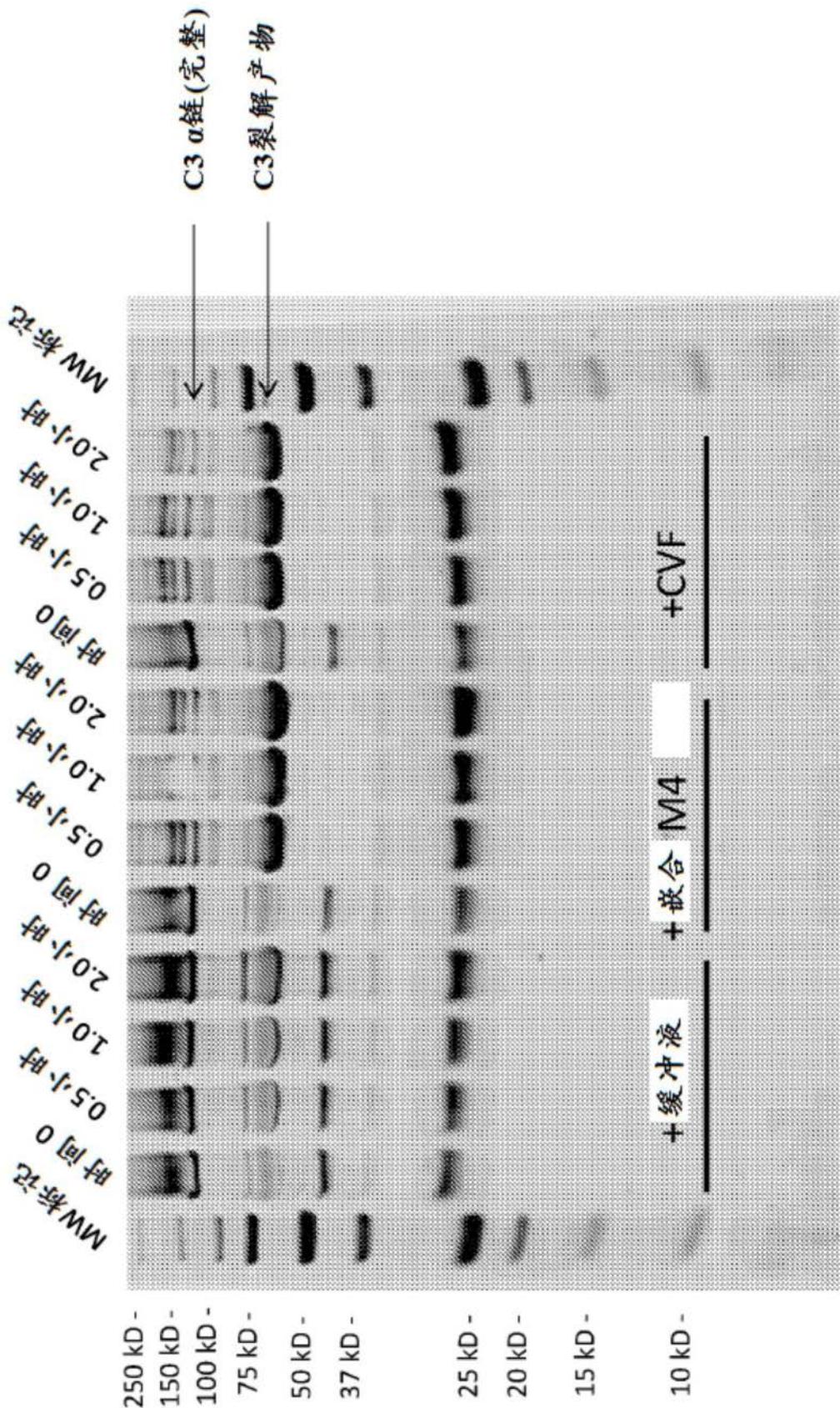


图20

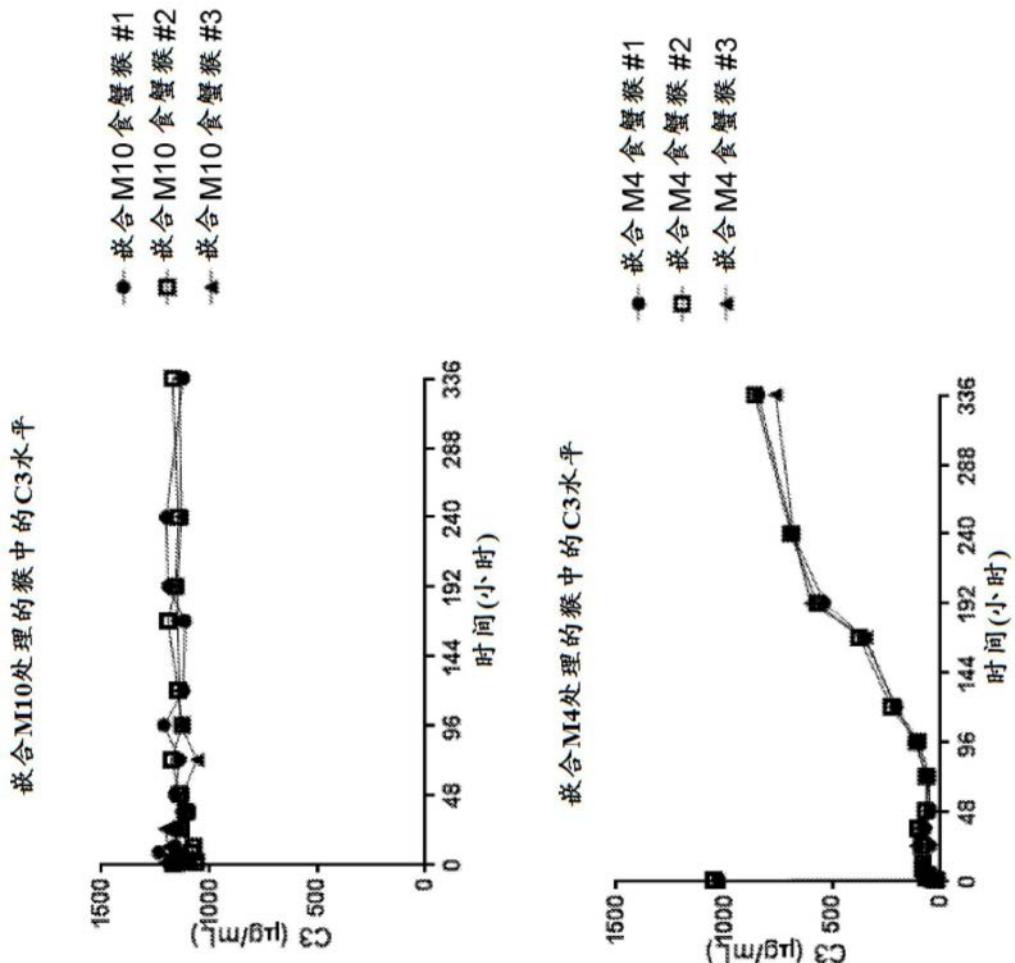


图21

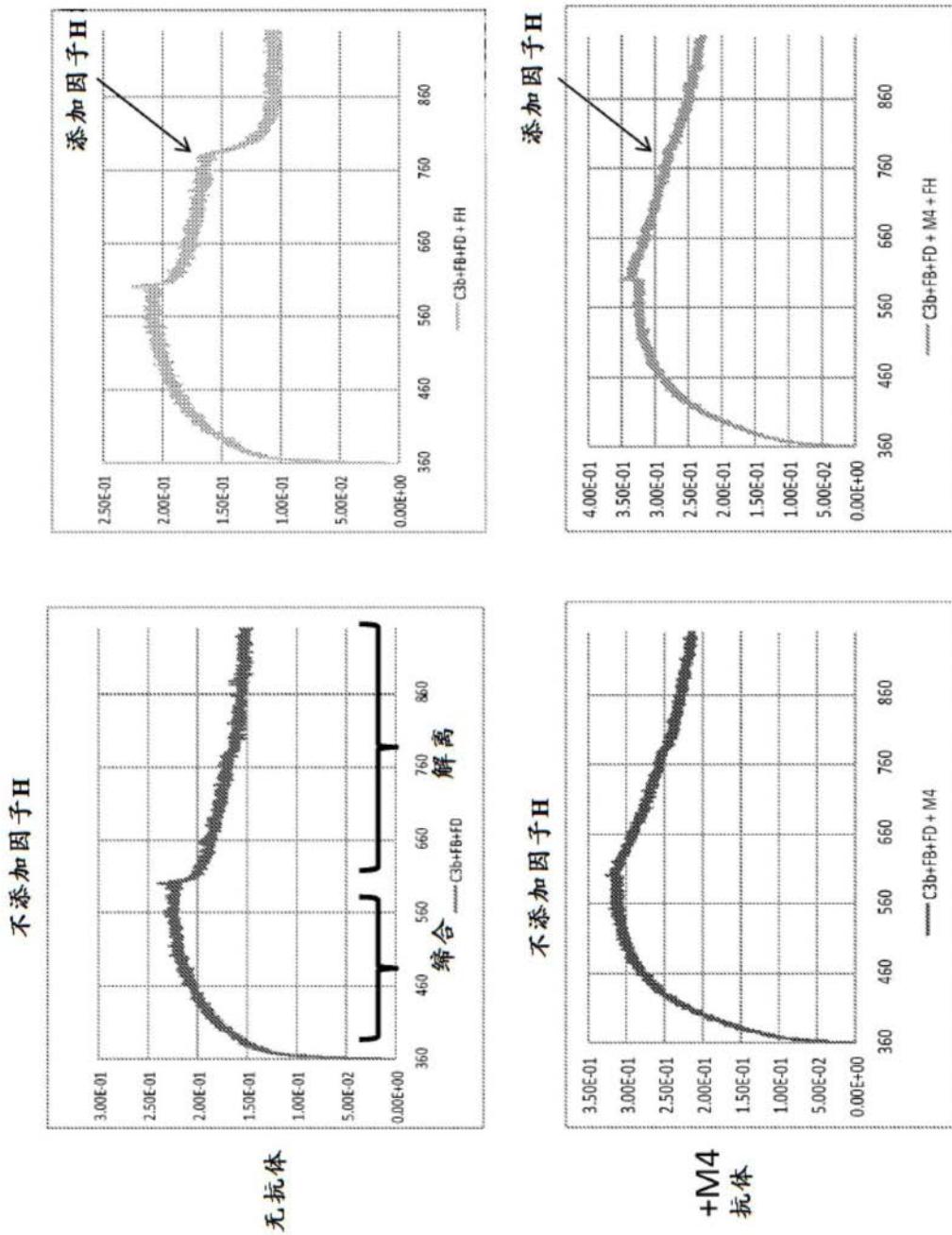


图22

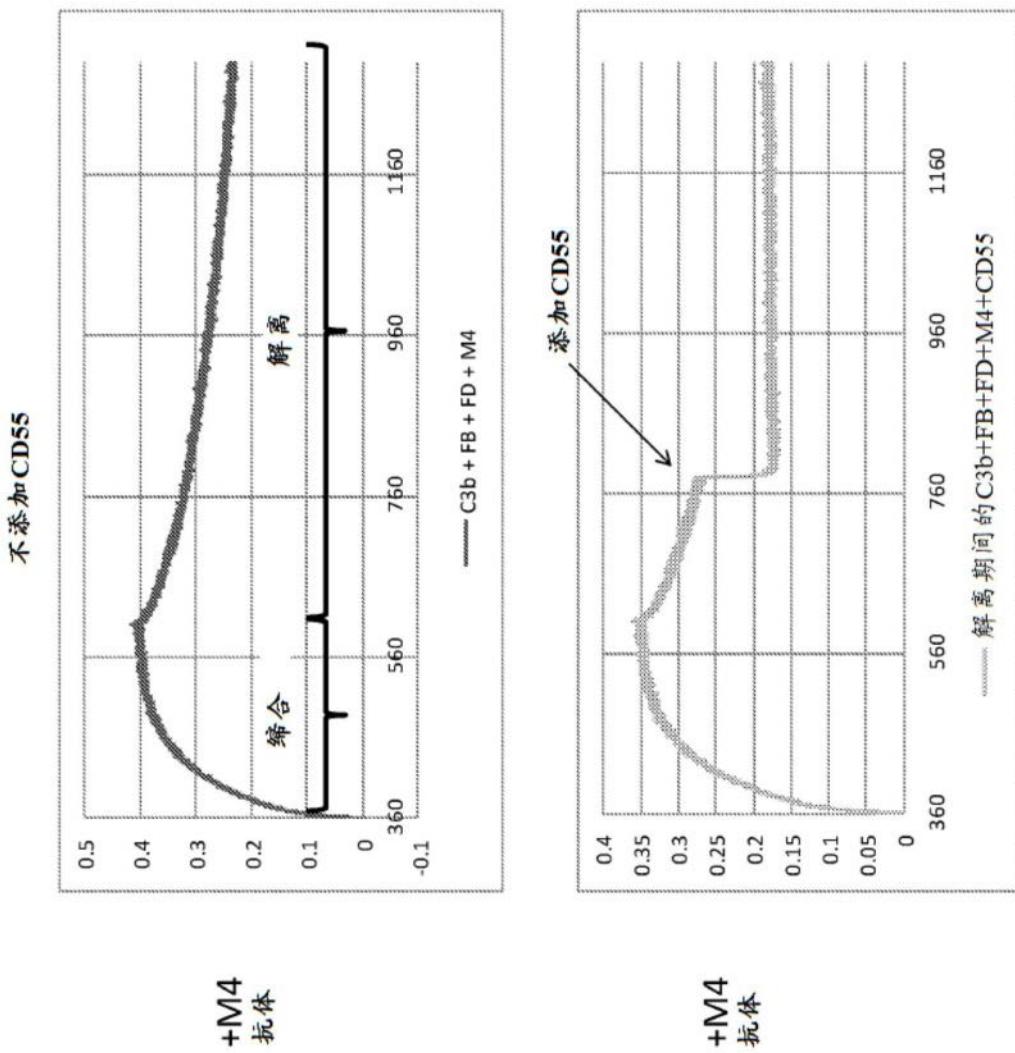


图23