(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119552251 A
(43)申请公布日 2025.03.04

(21)申请号 202411729596.9

(22)申请日 2019.07.12

(30)优先权数据
62/698,007 2018.07.13 US
62/860,184 2019.06.11 US
62/868,849 2019.06.28 US

(62)分案原申请数据
201980002132.9 2019.07.12

(71)申请人 艾利妥
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 T·施瓦贝 M·库内拉斯
A·罗森塔尔 R·佩查尔
A·B·库珀

(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
专利代理师 陈文平

(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
C07K 16/46(2006.01)
C12N 15/13(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 25/28(2006.01)
A61P 27/06(2006.01)
A61P 19/02(2006.01)
A61P 31/04(2006.01)
A61P 25/08(2006.01)
A61P 25/16(2006.01)
A61P 25/00(2006.01)
A61P 27/02(2006.01)

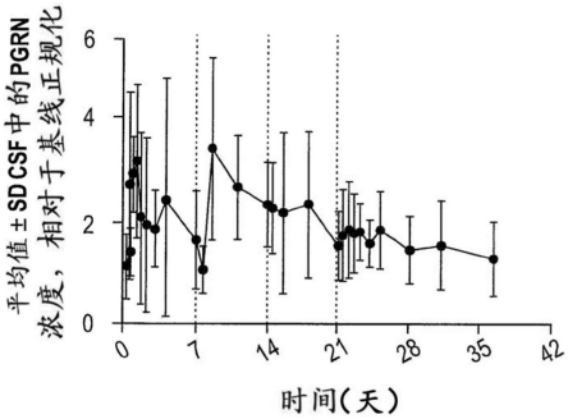
权利要求书6页 说明书135页
序列表（电子公布） 附图6页

(54)发明名称

抗分拣蛋白抗体及其使用方法

(57)摘要

本公开总体上涉及这样的组合物:其包括特异性结合分拣蛋白,例如人类分拣蛋白或哺乳动物分拣蛋白并且具有改善和/或增强的功能特征的抗体,例如单克隆抗体、嵌合抗体、亲和力成熟的抗体、人源化抗体、抗体片段等;以及此类组合物在预防、降低风险或治疗有需要的个体方面的用途。



CN 119552251 A

1.一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中

(a)所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIQQGYYGMDV(SEQ ID NO:5)的HVR-H3;并且所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3;

(b)所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIQQGYYGMDV(SEQ ID NO:5)的HVR-H3;并且所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRVS(SEQ ID NO:30)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQETPLT(SEQ ID NO:33)的HVR-L3;

(c)所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLES(SEQ ID NO:3)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIQQGYYGMDV(SEQ ID NO:5)的HVR-H3;并且所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3;

(d)所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ IDNO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;并且所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3;

(e)所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;并且所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSTGYNYLD(SEQ ID NO:9)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3;

(f)所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;并且所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQETPLT(SEQ ID NO:33)的HVR-L3;

(g)所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIQQGYYGMDV(SEQ ID NO:5)的HVR-H3;并且所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLHSNGYNYLD(SEQ ID NO:26)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQETPLT(SEQ ID NO:33)的HVR-L3;

(h)所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;并且所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQGLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:

27)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3;

(i)所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;并且所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:10)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3;或

(j)所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;并且所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:21)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

2.如权利要求1所述的抗体,其中所述抗分拣蛋白抗体:

(a)使细胞表面分拣蛋白水平降低的程度超过由包括含序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含序列SEQ ID NO:79的轻链可变区的抗分拣蛋白抗体所引起的降低水平;

(b)使细胞外的前颗粒体蛋白水平增加超过由包括含序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含序列SEQ ID NO:79的轻链可变区的抗分拣蛋白抗体所引起的增加水平;

(c)对分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用的抑制程度超过由包括含序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含序列SEQ ID NO:79的轻链可变区的抗分拣蛋白抗体所引起的抑制水平;或

(d)(a)-(c)的任何组合。

3.如权利要求1或权利要求2所述的抗体,其中所述抗体对人类分拣蛋白的解离常数(K_D)比包括含序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含序列SEQ ID NO:79的轻链可变区的抗分拣蛋白抗体低超过1倍且至多约2.1倍,其中所述K_D是通过FACS确定。

4.如权利要求1-3中任一项所述的抗体,其中所述抗体对人类分拣蛋白的解离常数(K_D)在约5.0E-10M至约1.0E-9M范围内,其中所述K_D是通过FACS确定;或在约250-500pM范围内,其中所述K_D是通过生物层干涉法确定。

5.一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中:所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2和含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;并且所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSTGYNYLD(SEQ ID NO:9)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

6.一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中:所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2和含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;并且所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

7.一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包括:

(a)含氨基酸序列SEQ ID NO:54的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:57的轻链可变区;

(b)含氨基酸序列SEQ ID NO:54的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:58的轻链可变区;

(c)含氨基酸序列SEQ ID NO:54的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:59的轻链可变区;

(d)含氨基酸序列SEQ ID NO:55的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:57的轻链可变区;

(e)含氨基酸序列SEQ ID NO:55的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:58的轻链可变区;

(f)含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:57的轻链可变区;

(g)含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:77的轻链可变区;

(h)含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:78的轻链可变区;

(i)含氨基酸序列SEQ ID NO:54的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:79的轻链可变区;

(j)含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:80的轻链可变区;

(k)含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:60的轻链可变区;

(l)含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:61的轻链可变区;或

(m)含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:72的轻链可变区。

8.一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:60的轻链可变区。

9.一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:57的轻链可变区。

10.一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:137的重链和含氨基酸序列SEQ ID NO:142的轻链。

11.一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:138的重链和含氨基酸序列SEQ ID NO:142的轻链。

12.如权利要求1-9中任一项所述的抗体,其中所述抗体属于IgG类别、IgM类别或IgA类别。

13.如权利要求12所述的抗体,其中所述抗体属于IgG类别且具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。

14.如权利要求13所述的抗体,其中:

(a)所述抗体是IgG1或IgG2同种型且Fc区包含在位置P331S处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号;

(b)所述抗体是IgG1同种型且所述Fc区包含在位置L234A、L235A和P331S处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号;

(c)所述抗体是IgG1、IgG2或IgG4同种型且所述Fc区包含在位置N297A处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号;或

(d)所述Fc区包含在位置S267E和L328F处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。

15.如权利要求14所述的抗体,其中所述抗体是IgG1同种型且所述Fc区包含在位置L234A、L235A和P331S处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。

16.如权利要求1-15中任一项所述的抗体,其中所述分拣蛋白是人类分拣蛋白。

17.如权利要求16所述的抗体,其中所述人类分拣蛋白包含氨基酸序列SEQ ID NO:81。

18.如权利要求1-16中任一项所述的抗体,其中所述分拣蛋白是野生型蛋白质、天然存在的变体或疾病变体。

19.如权利要求1-18中任一项所述的抗体,其中所述抗体是人类抗体、双特异性抗体、单克隆抗体、多价抗体或缀合的抗体。

20.如权利要求19所述的抗体,其中所述抗体是识别第一抗原和第二抗原的双特异性抗体。

21.如权利要求20所述的抗体,其中所述第一抗原是分拣蛋白且所述第二抗原是促进跨越血脑屏障转运的抗原。

22.如权利要求21所述的抗体,其中所述第二抗原选自由以下组成的组:分拣蛋白、转铁蛋白受体(TR)、胰岛素受体(HIR)、类胰岛素生长因子受体(IGFR)、低密度脂蛋白受体相关蛋白质1和2(LPR-1和2)、白喉毒素受体、CRM197、美洲驼单结构域抗体、TMEM 30(A)、蛋白质转导结构域、TAT、Syn-B、穿膜肽、聚精氨酸肽、血管肽、基础免疫球蛋白、Glut1、CD98hc和ANG1005。

23.如权利要求1-9和权利要求12-22中任一项所述的抗体,其中所述抗体是结合至人类分拣蛋白的抗体片段。

24.如权利要求23所述的抗体,其中所述抗体片段是Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')2、Fv或scFv片段。

25.一种分离的核酸,包含编码如权利要求1-24中任一项所述的抗体的核酸序列。

26.一种载体,其包含如权利要求25所述的核酸。

27.一种分离的宿主细胞,其包含如权利要求26所述的载体。

28.一种产生结合至分拣蛋白的抗体的方法,所述方法包括培养如权利要求27所述的宿主细胞,由此产生所述抗体。

29.如权利要求28所述的方法,其还包括回收由所述宿主细胞产生的所述抗体。

30.一种结合至分拣蛋白的分离的抗体,所述分离的抗体是通过如权利要求28或权利要求29所述的方法产生。

31.一种药物组合物,其包含如权利要求1-24和权利要求30中任一项所述的抗体和药

学上可接受的载体。

32.一种预防个体患疾病、病症或损伤,降低个体患疾病、病症或损伤的风险,或治疗患有疾病、病症或损伤的个体的方法,所述方法包括向所述个体施用治疗有效量的如权利要求1-24和权利要求30中任一项所述的抗体或如权利要求31所述的药物组合物。

33.如权利要求32所述的方法,其中所述疾病、病症或损伤选自由以下组成的组:额颞叶痴呆、进行性核上性麻痹、阿兹海默氏病、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、肌萎缩侧索硬化症、创伤性脑损伤、脊髓损伤、痴呆、中风、帕金森氏病、急性播散性脑脊髓炎、视网膜变性、年龄相关性黄斑变性、青光眼、多发性硬化、败血性休克、细菌感染、关节炎和骨关节炎。

34.如权利要求33所述的方法,其中所述疾病、病症或损伤选自额颞叶痴呆、进行性核上性麻痹、阿兹海默氏病和肌萎缩侧索硬化症。

35.一种抑制有需要个体的神经炎症、以短轴突过度生长和异常分支为特征的轴突病、小胶质细胞活化和炎性反应中的一种或多种的方法,所述方法包括向所述个体施用治疗有效量的如权利要求1-24和权利要求30中任一项所述的抗分拣蛋白抗体或如权利要求31所述的药物组合物。

36.一种促进有需要个体的伤口愈合、自体吞噬和聚集蛋白质清除中的一种或多种的方法,所述方法包括向所述个体施用治疗有效量的如权利要求1-24和权利要求30中任一项所述的抗分拣蛋白抗体或如权利要求31所述的药物组合物。

37.一种预防有需要个体患关节炎、降低有需要个体患关节炎的风险,或治疗有需要个体的关节炎的方法,所述方法包括向所述个体施用治疗有效量的如权利要求1-24和权利要求30中任一项所述的抗分拣蛋白抗体或如权利要求31所述的药物组合物。

38.一种降低有需要个体中一种或多种促炎性介体的表达的方法,所述方法包括向所述个体施用治疗有效量的如权利要求1-24和权利要求30中任一项所述的抗分拣蛋白抗体或如权利要求31所述的药物组合物。

39.如权利要求38所述的方法,其中所述一种或多种促炎性介体选自由以下组成的组:IL-6、IL12p70、IL12p40、IL-1β、TNF-α、CXCL1、CCL2、CCL3、CCL4和CCL5。

40.一种抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用的方法,所述方法包括使表达分拣蛋白的细胞暴露于如权利要求1-24和权利要求30中任一项所述的抗分拣蛋白抗体或如权利要求31所述的药物组合物。

41.如权利要求40所述的方法,其中所述细胞是在活体外。

42.如权利要求40所述的方法,其中所述细胞是在活体内。

43.如权利要求40-42中任一项所述的方法,其还包括降低所述细胞表面上表达的分拣蛋白的水平。

44.如权利要求40-43中任一项所述的方法,其中细胞外的前颗粒体蛋白水平增加。

45.一种增加有需要个体的前颗粒体蛋白的水平的方法,所述方法包括向所述个体施用治疗有效量的如权利要求1-24和权利要求30中任一项所述的抗分拣蛋白抗体或如权利要求31所述的药物组合物。

46.如权利要求45所述的方法,其中血浆中前颗粒体蛋白的水平增加。

47.如权利要求45所述的方法,其中脑脊髓液中前颗粒体蛋白的水平增加。

48.一种降低有需要个体的分拣蛋白的水平的方法,所述方法包括向所述个体施用治疗有效量的如权利要求1-24和权利要求30中任一项所述的抗分拣蛋白抗体或如权利要求31所述的药物组合物。

49.如权利要求48所述的方法,其中外周血白细胞中分拣蛋白的水平降低。

50.如权利要求32-34和45-49中任一项所述的方法,其中所述个体在编码前颗粒体蛋白的基因中具有一个或多个突变。

51.如权利要求50所述的方法,其中所述个体是所述编码前颗粒体蛋白的基因中的一个或多个功能丧失型突变的杂合子。

52.如权利要求50或51所述的方法,其中所述个体患有额颞叶痴呆、阿兹海默氏病或肌萎缩侧索硬化症,或有患额颞叶痴呆、阿兹海默氏病或肌萎缩侧索硬化症的风险。

53.如权利要求32-52中任一项所述的方法,其中所述抗分拣蛋白抗体包含两种或更多种抗分拣蛋白抗体。

抗分拣蛋白抗体及其使用方法

[0001] 本申请是申请日为2019年7月12日、申请号为201980002132.9、名称为“抗分拣蛋白抗体及其使用方法”的专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉参考

[0003] 本申请要求2018年7月13日提交的美国临时申请号62/698,007、2019年6月11日提交的美国临时申请号62/860,184和2019年6月28日提交的美国申请号62/868,849的权益,各案以引用的方式整体并入本文中。

[0004] 关于联邦资助的研究或开发的声明

[0005] 本发明是依据美国国家卫生研究院(National Institutes of Health)的授权号R44AG050363在政府的支持下完成的。美国政府在本发明中享有某些权利。

[0006] 以ASCII文本文档提交序列表

[0007] 以下以ASCII文本文档提交的内容是以全文引用的方式并入本文中:计算机可读形式(CRF)的序列表(文件名:735022001940SEQLIST.TXT,记录日期:2019年7月10日,大小:153KB)。

技术领域

[0008] 本公开涉及抗分拣蛋白抗体和此类抗体的治疗用途。

背景技术

[0009] 分拣蛋白是一种I型跨膜蛋白,用作若干配体的受体,并且用于将选择货物从反面高尔基体网状结构(trans-Golgi network,TGN)分选至次级内体和溶酶体以进行降解。分拣蛋白带有作为VPS10家族的一部分的与酵母VPS10P同源的较大细胞外结构域,并且含有10个刃片状β-螺旋桨结构和富含半胱氨酸的10CC模组(Nykjaer,A等,(2012)Trends Neurosci 35:261-270;和Zheng,Y等,(2011)PLoS One 6:e21023)。一小部分的分拣蛋白可由ADAM10或γ-分泌酶的活性遮蔽(<5%)(Nykjaer,A等(2012)Trends Neurosci 35:261-270;和Willnow,TE等(2011)Curr Opin Lipidol 22:79-85)。

[0010] 分拣蛋白结合分泌的蛋白质前颗粒体蛋白(protein Progranulin,PGRN)并将其作为溶酶体降解的目标,由此负调控PGRN的细胞外水平(Hu,F等(2010)Neuron 68,654-667)。与此相符,分拣蛋白的缺乏使活体内小鼠模型中且使活体外人类细胞中的血浆PGRN水平显著增加(Carrasquillo,M.M等(2010)Am J Hum Genet 87,890-897;Lee,W.C等(2014)Hum Mol Genet 23,1467-1478)。此外,已显示分拣蛋白中的多态现象与人体中的PGRN血清水平明显相关(Carrasquillo MM等(2010),Am J Hum Genet.10;87(6):890-7)。

[0011] 前颗粒体蛋白(PGRN)是一种分泌的生长因子样、营养性抗炎性蛋白,其还作为饮食诱发的肥胖和胰岛素抗性中所涉及的脂肪因子起到作用(Nguyen DA等(2013).Trends in Endocrinology and Metabolism,24,597-606)。前颗粒体蛋白缺乏占所有遗传型额颞叶痴呆(FTD;一种早期发作的神经退化性疾病)的约25%。在PGRN中具有杂合功能丧失型突变的患者中所述蛋白质的细胞外水平降低约50%且所述患者必定会患上FTD,使得PGRN成

为所述疾病的致病基因(Baker,M等(2006)Nature 442,916-919;Carecchio M等(2011)J Alzheimers Dis 27,781-790;Cruts,M等(2008)Trends Genet 24,186-194;Galimberti,D等(2010)J Alzheimers Dis 19,171-177)。此外,在阿兹海默氏病(Alzheimer's disease)患者中已鉴别出PGRN突变体对偶基因(Seelaar,H等(2011).Journal of neurology,neurosurgery,and psychiatry 82,476-486)。重要的是,PGRN在PGRN水平增加的若干疾病模型中起到保护作用,由此加速自局部缺血的行为恢复(Tao,J等(2012)Brain Res 1436,130-136;Egashira,Y.等(2013).J Neuroinflammation 10,105);抑制帕金森氏病(Parkinson's disease)模型中的运动缺陷(Van Kampen,J.M等(2014).PLoS One9,e97032);使肌萎缩侧索硬化症(Laird,A.S等(2010).PLoS One 5,e13368。)和关节炎(Tang,W等(2011).Science 332,478-484)的模型中的病变减少;以及预防阿兹海默氏病模型中的记忆缺陷(Minami,S.S等(2014).Nat Med 20,1157-1164)。

[0012] 分拣蛋白还直接结合至前神经营养素,诸如前神经生长因子(pro-NGF)、pro-BDNF、前神经营养素-3等,所述前神经营养素带有前肽结构域且典型地促细胞凋亡。此类前神经营养素前驱体是在应激期间释放,并且分拣蛋白参与调控它们的释放以及在接受细胞上结合并联合p75NTR一起刺激细胞凋亡(Willnow,TE等(2008)Nat Rev Neurosci9:899-909;Nykjaer,A等,Trends Neurosci 35:261-270;和Nykjaer,A等(2004)Nature 427:843-848;Hiroko Yano等(2009)J Neurosci.;29:14790-14802;TengH.K.等,J.Neurosci.25:5455-5463(2005))。分拣蛋白还直接结合至p75NTR(Skeldal S等(2012)J Biol Chem.;287:43798)。分拣蛋白还结合至神经降压素中与前颗粒体蛋白结合部分地重叠的区域(Quistgaard,EM等(2009)Nat Struct Mol Biol16:96-98;和Zheng,Y等,PLoS One 6:e21023)。分拣蛋白还与Trk受体NTRK1、NTRK2和NTRK3相互作用;并且可调控其顺向轴突转运和信号传导(Vaegter,CB等(2011)Nat.Neurosci.14:54-61)。分拣蛋白还与淀粉样前驱体蛋白相互作用并调控所述蛋白质的加工和运输以及由此引起的致病性β淀粉样肽的产生(Gustafsen C等(2013).J Neurosci.2;33(1):64-71)。

[0013] 另外,已经显示分拣蛋白可结合至载脂蛋白和脂蛋白脂肪酶;因此,其缺乏会导致肝中VLDL释放减少以及胆固醇减少(Willnow,TE等(2011)Curr Opin Lipidol 22:79-85;Kjolby,M等(2010)Cell Metab 12:213-223;Nilsson,SK等(2007)Biochemistry 46:3896-3904.;Nilsson,SK等(2008)J Biol Chem 283:25920-25927;和Klinger,SC等(2011)J Cell Sci 124:1095-1105)。近来,分拣蛋白还参与与APP(Gustafsen,C等(2013)J.Neurosc.33:64-71)以及与APP加工酶BACE1(Gustafsen,C等(2013)J.Neurosc.33:64-71;和Finan,GM等,J Biol Chem 286:12602-12616)的直接结合。分拣蛋白还结合至载脂蛋白E(APOE)、Aβ肽(Carlo,AS等(2013)J.Neurosc,33:358-370)以及PCSK9(Gustafsen等(2014)Cell Metab,19:310-318)。还已显示,分拣蛋白可结合至PCSK9并调控其细胞外水平,PCSK9引导低密度脂蛋白受体在溶酶体中降解,使LDL胆固醇水平增加(Gustafsen C等(2014).Cell Metab.2014年2月4日;19(2):310-8)。

[0014] 当分拣蛋白存在于细胞内囊泡诸如内体处时,使其氨基末端细胞外结构域引导朝向内腔,即囊泡中货物的所在地。不过,分拣蛋白的羧基末端细胞内/细胞质结构域结合至一系列接头蛋白质,所述蛋白质调控分拣蛋白从表面和在细胞内隔室内的运输。这些接头蛋白质包括AP2(一种调节从细胞表面的细胞吞噬的网格蛋白接头)和逆转运复合体

(Retromer Complex)/AP1,其调节从初级内体至高尔基体的移动以实现再循环;并且与GGA(定位于高尔基体的含γ-接头蛋白耳的ADP-核糖基化因子结合)家族蛋白相互作用以从高尔基体直接移动至初级内体,通常随后经由溶酶体降解。因此,分拣蛋白可在其内腔结构域处结合至配体,同时接合细胞质接头,由此决定所述分拣蛋白的目的地以确定细胞内命运,诸如前颗粒体蛋白和其它因子的降解。

[0015] 已经显示,通过分拣蛋白与诸如前颗粒体蛋白的蛋白质的各种相互作用,所述分拣蛋白和其多种配体参与各种疾病、病症和病状,诸如额颞叶痴呆、肌萎缩侧索硬化症、肌萎缩侧索硬化症-额颞叶痴呆表型、阿兹海默氏病、帕金森氏病、抑郁症、神经精神障碍、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、年龄相关性黄斑变性、青光眼、创伤性脑损伤、衰老、癫痫发作、伤口愈合、中风、关节炎和动脉粥样硬化性血管疾病。

[0016] 因此,需要如下治疗性抗体:特异性结合分拣蛋白且阻断分拣蛋白与其配体诸如前颗粒体蛋白的结合,或以其它方式调节所述配体的有效浓度,以便治疗与分拣蛋白活性有关的一种或多种疾病、病症和病状。

[0017] 本文所引用的所有参考文献,包括专利、专利申请和出版物在内,均以全文引用的方式并入本文中。

发明内容

[0018] 本公开总体上涉及包括特异性结合人类分拣蛋白的抗体的组合物和使用此类组合物的方法,所述抗体例如为单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、抗体片段等。

[0019] 在一些方面中,本公开提供一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链可变区包括含SEQ ID NO:1的HVR-H1、含SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3的HVR-H2和含SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:6的HVR-H3,并且所述轻链可变区包括含SEQ ID NO:8-27中任一个的HVR-L1、含SEQ ID NO:29或SEQ ID NO:30的HVR-L2和含SEQ ID NO:32的HVR-L3。

[0020] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含:重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIQQGYYGMDV(SEQ ID NO:5)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0021] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含:重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIQQGYYGMDV(SEQ ID NO:5)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRVS(SEQ ID NO:30)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQETPLT(SEQ ID NO:33)的HVR-L3。

[0022] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含:重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLES(SEQ ID NO:3)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIQQGYYGMDV(SEQ ID NO:5)的HVR-H3;和轻链

可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0023] 在一些方面中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含:重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0024] 在一些方面中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSTGYNYLD(SEQ ID NO:9)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0025] 在一些方面中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSTGYNYLD(SEQ ID NO:10)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0026] 在一些方面中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSTGYNYLD(SEQ ID NO:21)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0027] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQETPLT(SEQ ID NO:33)的HVR-L3。

[0028] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIQQGYYGMDV(SEQ ID NO:5)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLHSNGYNYLD(SEQ ID NO:26)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQETPLT(SEQ ID NO:33)的HVR-L3。

[0029] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQGLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:27)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0030] 在一些方面中,本公开提供一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG (SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2和含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV (SEQ ID NO:6)的HVR-H3;并且所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD (SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0031] 在一些方面中,本公开提供一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中所述抗体包括具有含氨基酸序列YSISSGYYWG (SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2和含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3的重链可变区;并且所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSTGYNYLD(SEQ ID NO:9)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0032] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体:(a)使细胞表面分拣蛋白水平降低的程度超过由包括含序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含序列SEQ ID NO:79的轻链可变区的抗分拣蛋白抗体所引起的降低水平;(b)使细胞外的前颗粒体蛋白水平增加超过由包括含序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含序列SEQ ID NO:79的轻链可变区的抗分拣蛋白抗体所引起的增加水平;(c)对分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用的抑制程度超过由包括含序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含序列SEQ ID NO:79的轻链可变区的抗分拣蛋白抗体所引起的抑制水平;或(d)(a)-(c)的任何组合。在以上方面中任一个的一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体:(a)使细胞表面分拣蛋白水平降低的程度超过由选自由以下组成的组的抗分拣蛋白抗体所引起的降低水平:S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-7或S-60-8;(b)使细胞外的前颗粒体蛋白水平增加超过由选自由以下组成的组的抗分拣蛋白抗体所引起的增加水平:S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-7或S-60-8;(c)对分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用的抑制程度超过由选自由以下组成的组的抗分拣蛋白抗体所引起的抑制水平:S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-7或S-60-8;或(d)(a)-(c)的任何组合。

[0033] 本公开的某些方面提供一种抗分拣蛋白抗体,所述抗分拣蛋白抗体具有含选自由SEQ ID NO:54-56组成的组的氨基酸序列的重链可变区;和/或含选自由SEQ ID NO:57-58、60-78或80组成的组的氨基酸序列的轻链可变区。

[0034] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:54的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:57的轻链可变区。

[0035] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:54的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:58的轻链可变区。

[0036] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:54的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:59的轻链可变区。

[0037] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:55的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:57的轻链可变区。

[0038] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:55的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:58的轻链可变区。

[0039] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:57的轻链可变区。

[0040] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:77的轻链可变区。

[0041] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:78的轻链可变区。

[0042] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:54的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:79的轻链可变区。

[0043] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:80的轻链可变区。

[0044] 在一些方面中,本公开提供一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:57的轻链可变区。

[0045] 在某些方面中,本公开提供一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:60的轻链可变区。

[0046] 在某些方面中,本公开提供一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:61的轻链可变区。

[0047] 在某些方面中,本公开提供一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:72的轻链可变区。

[0048] 在可以与任何前述方面组合的一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体属于IgG类别、IgM类别或IgA类别。在某些特定实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体属于IgG类别且具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。在本公开的一些实施方案中,提供一种属于IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型的抗分拣蛋白抗体,其中(a)所述抗体是IgG1或IgG2同种型且Fc区包含在位置P331S处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号;(b)所述抗体是IgG1同种型且Fc区包含在位置L234A、L235A和P331S处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号;(c)所述抗体是IgG1、IgG2或IgG4同种型且Fc区包含在位置N297A处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号;或(d)Fc区包含在位置S267E和L328F处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。在一些实施方案中,所述抗体是IgG1同种型且Fc区包含在位置L234A、L235A和P331S处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。

[0049] 在一些方面中,本公开提供一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:137的重链和含氨基酸序列SEQ ID NO:142的轻链。

[0050] 在一些方面中,本公开提供一种结合至分拣蛋白的抗体,其中所述抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:138的重链和含氨基酸序列SEQ ID NO:142的轻链。

[0051] 在本公开的某些实施方案中,所述分拣蛋白是人类蛋白质。在一些实施方案中,所述分拣蛋白是野生型蛋白质。在某些实施方案中,所述分拣蛋白是天然存在的变体。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体特异性结合至人类分拣蛋白。在可以与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述抗体是人类抗体、双特异性抗体、单克隆抗体、多价抗体、缀合的抗体或嵌合抗体。在某些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体是单克隆抗体。

[0052] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体是识别第一抗原和第二抗原的双特异性抗体。在某些实施方案中,本公开的双特异性抗体识别分拣蛋白和促进跨越血脑屏障转运的抗原。在一些特定实施方案中,第一抗原是分拣蛋白且第二抗原是分拣蛋白、转铁蛋白受体(TR)、胰岛素受体(HIR)、类胰岛素生长因子受体(IGFR)、低密度脂蛋白受体相关蛋白质1和2(LPR-1和2)、白喉毒素受体、CRM197、美洲驼单结构域抗体、TMEM30(A)、蛋白质转导结构域、TAT、Syn-B、穿膜肽、聚精氨酸肽、血管肽(angiopeppeptide)、基础免疫球蛋白(basigin)、Glut1、CD98hc或ANG1005。

[0053] 在本公开的某些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是结合至人类分拣蛋白的抗体片段。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是结合至选自由以下组成的组的一种或多种人类蛋白质的抗体片段:人类分拣蛋白、人类分拣蛋白的天然存在的变体和人类分拣蛋白的疾病变体。在可以与任何前述实施方案组合的某些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体片段是Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')2、Fv或scFv片段。

[0054] 在某些实施方案中,本公开提供一种抗分拣蛋白抗体,其中(a)抗分拣蛋白抗体增加细胞外前颗粒体蛋白水平、降低细胞分拣蛋白水平、抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用,或它们的任何组合;(b)抗分拣蛋白抗体降低细胞表面分拣蛋白水平、增加细胞外前颗粒体蛋白水平、抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用,或它们的任何组合;(c)抗分拣蛋白抗体降低细胞表面分拣蛋白水平、降低细胞内分拣蛋白水平、降低分拣蛋白总水平,或它们的任何组合;(d)抗分拣蛋白抗体诱导分拣蛋白降解、分拣蛋白裂解、分拣蛋白内化、分拣蛋白下调或它们的任何组合;(e)抗分拣蛋白抗体降低细胞分拣蛋白水平并抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用;(f)抗分拣蛋白抗体降低细胞分拣蛋白水平并增加细胞前颗粒体蛋白水平;和/或(g)抗分拣蛋白抗体增加前颗粒体蛋白的有效浓度。

[0055] 在某些实施方案中,本公开提供一种抗分拣蛋白抗体,其中所述抗分拣蛋白抗体降低细胞表面分拣蛋白水平、增加细胞外前颗粒体蛋白水平、抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用,或它们的任何组合。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的解离常数(K_D)比包括含序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含序列SEQ ID NO:79的轻链可变区的抗分拣蛋白抗体低高达2.5倍,其中所述K_D是通过FACS确定(参见例如实施例1)。在一些实施方案中,所述抗体对人类分拣蛋白的解离常数(K_D)比包括含序列SEQ IDNO:56的重链可变区和含序列SEQ ID NO:79的轻链可变区的抗分拣蛋白抗体低超过1倍且至多约2.1倍,其中所述K_D是通过FACS确定。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的解离常数(K_D)在约1.10E-8M至约4.68E-10M的范围内,其中所述K_D是通过FACS确定(参见例如实施例1);或在约270pM至约2910pM范围内,其中所述K_D是通过生物层干涉法确定(参见例如实施例4)。在一些实施方案中,所述抗体对人类分拣蛋白的解离常数(K_D)在约5.0E-10M至约1.0E-9M范围内,其中所述K_D是通过FACS确定;或在约250-500pM范围

内,其中所述K_D是通过生物层干涉法确定。

[0056] 在可以与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体(a)降低细胞表面分拣蛋白水平,其中如通过流式细胞测量术所测量,其半数最大有效浓度(EC_{50})小于150 pM;(b)使细胞表面分拣蛋白水平在1.25nM IgG下相对于对照降低超过约50%、在0.63nM IgG下降低超过约80%或在150nM IgG下降低超过约69%,此是通过流式细胞测量术测量;使前颗粒体蛋白分泌在0.63nM IgG下为对照的约1.13倍以上,或在50nM IgG下为对照的约1.22倍以上,此是通过标准ELISA测量;阻断前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合,其中如通过流式细胞测量术所测量,其半数最大有效浓度(EC_{50})小于.325nM;(e)使前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合在50nM IgG下相对于对照阻断超过约88%,或在150nM IgG下阻断超过约27.5%,此是通过流式细胞测量术测量;或(f)它们的任何组合。

[0057] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体(a)降低细胞表面分拣蛋白水平,其中如通过流式细胞测量术所测量,其半数最大有效浓度(EC_{50})小于681pM;(b)使细胞表面分拣蛋白水平在1.25nM IgG下相对于对照降低超过约40%、在0.6nM IgG下降低超过约29%或在150nM IgG下降低超过约62%,此是通过流式细胞测量术测量;(c)使前颗粒体蛋白分泌在0.63nM IgG下为对照的约1.11倍以上,或在50nM IgG下为对照的约1.75倍以上,此是通过标准ELISA测量;(d)阻断前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合,其中如通过流式细胞测量术所测量,其半数最大有效浓度(EC_{50})小于0.751nM;(e)使前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合在50nM IgG下相对于对照阻断超过约90%,或在150nM IgG下阻断超过约95%,此是通过流式细胞测量术测量;或(f)它们的任何组合。

[0058] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体与包含选自由以下组成的组的抗体的重链可变区结构域和轻链可变结构域的抗体竞争结合至分拣蛋白:S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24和它们的任何组合。在可以与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合与包含选自由以下组成的组的抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域的抗体基本上相同的分拣蛋白表位:S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-16、S-60-18、S-60-19和S-60-24。

[0059] 在另一方面中,本公开涉及一种由本文所描述方法中的任一种产生的抗体。在一些方面中,本公开提供一种分离的核酸,所述分离的核酸包含编码前述方面和实施方案中任一个的抗分拣蛋白抗体的核酸序列。因此,一些方面提供一种含有编码抗分拣蛋白抗体的核酸的载体,并且一些方面提供一种含此类载体的分离的宿主细胞。在某些方面中,本公开提供一种产生结合至分拣蛋白的抗分拣蛋白抗体的方法,所述方法包括培养此类分离的宿主细胞以产生所述抗分拣蛋白抗体。在某些实施方案中,所述方法还包括回收由所述细胞产生的抗体。在一些方面中,本文提供一种分离的抗体,所述分离的抗体结合至分拣蛋白且是由本公开的方法产生。

[0060] 在另一方面中,本公开涉及一种药物组合物,所述药物组合物包含本文所述的抗分拣蛋白抗体中的任一种和药学上可接受的载体。在一些实施方案中,本公开涉及本文所述的抗体或组合物中的任一种用于制备或制造药物的用途。在一些实施方案中,本公开涉及本文所述的抗体或组合物中的任一种用于制备或制造供治疗以下用的药物的用途:额颞叶痴呆、进行性核上性麻痹、阿兹海默氏病、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、肌萎

缩侧索硬化症、创伤性脑损伤、脊髓损伤、神经性疼痛、痴呆、中风、帕金森氏病、急性播散性脑脊髓炎、视网膜变性、年龄相关性黄斑变性、青光眼、多发性硬化、败血性休克、细菌感染、关节炎或骨关节炎。一些实施方案提供用于治疗方法中的本文所述的抗体或组合物。一些实施方案提供用于治疗以下的方法中的本文所述的抗体或组合物:额颞叶痴呆、进行性核上性麻痹、阿兹海默氏病、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、肌萎缩侧索硬化症、创伤性脑损伤、脊髓损伤、神经性疼痛、痴呆、中风、帕金森氏病、急性播散性脑脊髓炎、视网膜变性、年龄相关性黄斑变性、青光眼、多发性硬化、败血性休克、细菌感染、关节炎或骨关节炎。

[0061] 在某些方面中,本文提供一种预防个体患疾病、病症或损伤,降低个体患疾病、病症或损伤的风险,或治疗患有疾病、病症或损伤的个体的方法,所述方法包括向有需要个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体。在一些实施方案中,所述疾病、病症或损伤选自由以下组成的组:额颞叶痴呆、进行性核上性麻痹、阿兹海默氏病、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、肌萎缩侧索硬化症、创伤性脑损伤、脊髓损伤、神经性疼痛、痴呆、中风、帕金森氏病、急性播散性脑脊髓炎、视网膜变性、年龄相关性黄斑变性、青光眼、多发性硬化、败血性休克、细菌感染、关节炎和骨关节炎。在一些实施方案中,所述疾病、病症或损伤选自额颞叶痴呆、进行性核上性麻痹、阿兹海默氏病和肌萎缩侧索硬化症。

[0062] 在某些方面中,本文提供一种抑制神经炎症、以短轴突过度生长和异常分支为特征的轴突病、小胶质细胞活化和炎性反应中的一种或多种的方法,所述方法包括向个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体。

[0063] 在某些方面中,本文提供一种促进伤口愈合、自体吞噬和聚集蛋白质清除中的一种或多种的方法,所述方法包括向个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体。

[0064] 在某些方面中,本文提供一种预防个体患关节炎、降低其患关节炎的风险,或治疗其关节炎的方法,所述方法包括向所述个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体。

[0065] 在某些方面中,本文提供一种降低一种或多种促炎性介体的表达的方法,所述方法包括向个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体。在一些实施方案中,所述一种或多种促炎性介体选自由以下组成的组:IL-6、IL12p70、IL12p40、IL-1β、TNF-α、CXCL1、CCL2、CCL3、CCL4和CCL5。

[0066] 在一些方面中,本文提供一种抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用的方法,所述方法包括使表达分拣蛋白的细胞暴露于本公开的抗分拣蛋白抗体或药物组合物。在一些实施方案中,所述细胞是在活体外。在一些实施方案中,所述细胞是在活体内。在一些实施方案中,所述方法还包括降低细胞表面上表达的分拣蛋白的水平。在一些实施方案中,细胞外前颗粒体蛋白水平增加。

[0067] 在一些方面中,本文提供一种增加有需要个体的前颗粒体蛋白水平的方法,所述方法包括向所述个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体或药物组合物。在一些实施方案中,血浆中前颗粒体蛋白水平增加。在一些实施方案中,脑脊髓液中前颗粒体蛋白水平增加。在一些方面中,本文提供一种降低有需要个体的分拣蛋白水平的方法,所述方法包括向所述个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体或药物组合物。在一些实施方案中,外周血白细胞中分拣蛋白的水平降低。在一些实施方案中,所述个体在编码前颗粒体蛋白的基因中具有一个或多个突变。在一些实施方案中,所述个体是所述编码前颗粒体蛋白

的基因中的一个或多个功能丧失型突变的杂合子。在一些实施方案中,所述个体具有c9orf72六核苷酸重复扩增。所述个体患有额颞叶痴呆、阿兹海默氏病或肌萎缩侧索硬化症,或有患额颞叶痴呆、阿兹海默氏病或肌萎缩侧索硬化症的风险。

[0068] 在可以与任何前述方面或实施方案组合的一些实施方案中,本公开提供一种方法,其中所述抗分拣蛋白抗体包含两种或更多种抗分拣蛋白抗体。

附图说明

[0069] 图1A-图1C提供施用单次剂量的抗分拣蛋白抗体S-60-15.1[N33T]LALAPS(S-60-15.1[N33T]加含L234A/L235A/P331S突变的huIgG1)的非人类灵长类动物的药物代谢动力学和药效学研究。图1A提供在用指定抗分拣蛋白抗体剂量治疗后指定时间(小时)时外周血白细胞中SORT1的水平相对于基线的百分比。SORT1表达在所有抗分拣蛋白抗体测试剂量下均减少。较高抗体剂量(60mg/kg、200mg/kg)使得SORT1水平相较于较低抗分拣蛋白抗体剂量(5mg/kg、20mg/kg)更早且更长时间的降低。图1B提供在用指定抗分拣蛋白抗体剂量治疗后指定时间(小时)时血浆中PGRN的水平相对于基线的百分比。PGRN水平以时间和剂量依赖性方式增加。具体来说,对于所有抗分拣蛋白抗体测试剂量,血浆PGRN水平在C_{max}下为基线水平的3至4倍,并且在较高抗体剂量下在较长时间段内保持升高。图1C提供在用指定抗分拣蛋白抗体剂量治疗后指定时间(小时)时CSF中PGRN的水平相对于基线的百分比。在施用20mg/kg、60mg/kg或200mg/kg的动物中CSF PGRN水平为基线的2至3倍。如通过血浆PGRN水平(图1B)所观察到的,在较高抗体剂量组中CSF PGRN水平随时间保持升高。对于图1A-1C,n=3只动物/剂量。

[0070] 图2A-图2C提供施用重复剂量的抗分拣蛋白抗体S-60-15.1[N33T]LALAPS的非人类灵长类动物的药物代谢动力学和药效学研究。每周一次向动物(2只雄性和2只雌性)施用60mg/kg剂量的抗分拣蛋白抗体S-60-15.1[N33T]LALAPS,持续四周。给药日是由竖直虚线表示。图2A提供在指定时间(天数)时外周血白细胞(WBC)中SORT1浓度相对于基线的百分比的平均值(+/-标准差)。外周血白细胞中的SORT1水平在整个研究持续时间保持降低。图2B提供在指定时间(天数)时血浆中PGRN浓度相对于基线的百分比(经过正规化)的平均值(+/-标准差)。血浆PGRN水平在峰值水平下增加至为基线的5至6倍。在第四次和最后一次施用抗分拣蛋白抗体后观察到血浆PGRN降低;不过,血浆PGRN水平保持为基线的2倍。预防2C提供在指定时间(天数)时CSF中PGRN浓度相对于基线的百分比(经过正规化)的平均值(+/-标准差)。CSF PGRN水平为基线的3至4倍(图2C)。

具体实施方式

[0071] 定

[0072] 如本文所使用,术语“预防”包括针对个体特定疾病、病症或病状的发生或复发提供预防作用。个体可能易感染、易患上特定疾病、病症或病状,或有患上此类疾病、病症或病状的风险,但尚未被诊断患有所述疾病、病症或病状。

[0073] 如本文所使用,有患上特定疾病、病症或病状的“风险”的个体可能具有或可能不具有可检测的疾病或疾病症状,并且在本文所描述的治疗方法之前,可能已经展示或可能尚未展示可检测的疾病或疾病症状。“有风险”表示,个体具有如此项技术中所知的一个或

多个风险因子,所述一个或多个风险因子是与患上特定疾病、病症或病状相关的可测量的参数。具有这些风险因子中的一个或多个的个体患上特定疾病、病症或病状的概率高于不具有这些风险因子中的一个或多个的个体。

[0074] 如本文所使用,术语“治疗”是指旨在改变在临床病理学过程期间所治疗的个体的自然病程的临床干预。合意的治疗作用包括降低特定疾病、病症或病状的进展速率、改善或减轻其病理状态,以及缓解或改善其预后。举例来说,如果与特定疾病、病症或病状有关的一种或多种症状减轻或消除,那么个体被成功“治疗”。

[0075] “有效量”是指就剂量和在所需时间段内有效实现所希望治疗或预防结果至少所需的量。有效量可分一次或多次施用来提供。本文中的有效量可根据多种因素而变化,诸如疾病状态;个体的年龄、性别和体重;以及所述治疗在个体中引起所需反应的能力。有效量还为治疗有益作用超过治疗的任何有毒或有害作用的量。对于预防应用,有益或所需结果包括诸如消除或降低风险、减轻严重程度或延迟疾病发作的结果,包括在患上所述疾病期间所呈现的所述疾病的生物化学、组织学和/或行为症状、其并发症和中间病理表型。对于治疗应用,有益或所需结果包括诸如减少由所述疾病引起的一种或多种症状、增加罹患所述疾病的个体的生活质量、减小治疗所述疾病所需的其它药物治疗的剂量、增强另一药物治疗(诸如经由靶向进行的药物治疗)的作用、延迟所述疾病的进展和/或延长存活期的临床结果。药物、化合物或药物组合物的有效量是足以直接或间接地实现预防或治疗性治疗的量。如在临床环境中应了解,有效量的药物、化合物或药物组合物可结合或可不结合另一药物、化合物或药物组合物实现。因此,在施用一种或多种治疗剂的情况下可考虑“有效量”,并且单一剂在结合一种或多种其它剂时,可实现或实现了合意结果,那么可考虑以有效量给予。

[0076] 如本文所使用,与另一化合物或组合物“结合”施用包括同时施用和/或在不同时间施用。结合施用还涵盖以共配制剂施用,或以单独组合物施用,包括以不同给药频率或时间间隔,以及使用相同施用途径或不同施用途径施用。

[0077] 用于治疗、预防或降低风险目的的“个体”是指归类为哺乳动物的任何动物,包括人类、家畜和农畜,以及动物园动物、竞技动物或宠物,诸如狗、马、兔、牛、猪、仓鼠、沙鼠、小鼠、雪貂、大鼠、猫和类似动物。优选地,个体是人类。

[0078] 除非另外指示,否则术语“分拣蛋白”或“分拣蛋白多肽”在本文中可互换使用,在本文中是指来自任何哺乳动物来源(包括来自灵长类动物(例如人类和食蟹猴)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠))的任何天然分拣蛋白。在一些实施方案中,所述术语涵盖野生型序列和天然存在的变体序列,例如剪接变体或对偶基因变体。在一些实施方案中,所述术语涵盖“全长”未加工的分拣蛋白以及由在细胞中加工得到的任何分拣蛋白形式。在一些实施方案中,分拣蛋白是人类分拣蛋白。在一些实施方案中,例示性人类分拣蛋白的氨基酸序列是SEQ ID NO:81。

[0079] 术语“抗分拣蛋白抗体”、“结合至分拣蛋白的抗体”和“特异性结合分拣蛋白的抗体”是指如下的抗体:能够以足够亲和力结合分拣蛋白,使得所述抗体可用作靶向分拣蛋白的诊断剂和/或治疗剂。在一个实施方案中,如例如通过放射免疫测定(RIA)所测量,抗分拣蛋白抗体与不相关的非分拣蛋白多肽的结合程度是所述抗体与分拣蛋白的结合的不到约10%。在某些实施方案中,结合至分拣蛋白的抗体的解离常数(KD)<1μM、<100nM、<10nM、<

1nM、<0.1nM、<0.01nM或<0.001nM(例如10-8M或更低,例如10-8M至10-13M,例如10-9M至10-13M)。在某些实施方案中,抗分拣蛋白抗体结合至分拣蛋白的在不同物种的分拣蛋白间保守的表位。

[0080] 术语“免疫球蛋白”(Ig)在本文中可与“抗体”互换使用。术语“抗体”在本文中是以最广泛意义使用,并且特别涵盖单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)(包括由至少两个完整抗体形成的多特异性抗体),和抗体片段,只要所述抗体展现所需生物活性即可。

[0081] “天然抗体”通常是由两条相同轻(“L”)链和两条相同重(“H”)链构成的约150,000道尔顿(Dalton)的异四聚糖蛋白。每条轻链通过一个共价二硫键连接至重链,但二硫连键的数量在不同免疫球蛋白同种型的重链间有不同。每条重链和轻链还具有规律间隔的链内二硫桥。每条重链在一端具有可变结构域(V_H),随后为多个恒定结构域。每条轻链在一端具有一个可变结构域(V_L)且在其另一端具有一个恒定结构域;轻链的恒定结构域与重链的第一恒定结构域对齐,并且轻链可变结构域与重链可变结构域对齐。相信特定氨基酸残基在轻链与重链可变结构域之间形成界面。

[0082] 有关不同类别抗体的结构和特性,参见例如Basic and ClinicalImmunology,第8版,Daniel P.Stites,Abba I.Terr和Tristram G.Parslow(编),Appleton&Lange,Norwalk,CT,1994,第71页和第6章。

[0083] 来自任何脊椎动物物种的轻链基于其恒定结构域的氨基酸序列可以被分配成两种明显相异的类型(称为卡帕“κ”和兰布达(“λ”))之一。根据重链恒定结构域(CH)的氨基酸序列,可将免疫球蛋白分为不同类别或同种型。存在五类免疫球蛋白:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,其分别具有称为阿尔法(“α”)、德尔塔(“δ”)、艾普西隆(“ε”)、伽马(“γ”)和谬(“μ”)的重链。γ和α类别基于CH序列和功能的相对微小差异进一步分成亚类(同种型),例如人类表达以下亚类:IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。不同类别免疫球蛋白的次单元结构和三维构型是熟知的且大体上描述于例如Abbas等,Cellular and Molecular Immunology,第4版(W.B.Saunders Co.,2000)中。

[0084] 抗体,诸如本公开的抗分拣蛋白抗体的“可变区”或“可变结构域”是指所述抗体重链或轻链的氨基末端结构域。重链和轻链的可变结构域可分别称为“V_H”和“V_L”。这些结构域一般是抗体变化最大的部分(相对于同类别的其它抗体)且含有抗原结合位点。

[0085] 术语“可变”是指可变结构域某些区段的序列在抗体(诸如本公开的抗分拣蛋白抗体)间广泛不同的事实。可变结构域介导抗原结合且决定特定抗体对其特定抗原的特异性。然而,可变性并非均匀分布于整个可变结构域中。而是,其集中在轻链和重链可变结构域中称为高变区(HVR)的三个区段中。可变结构域中保守性相对较高的部分称为框架区(FR)。天然重链和轻链的可变结构域各自包含由三个HVR连接的四个FR区,主要呈β-折叠构型,所述区域形成连接β-折叠结构,并且在一些情况下形成β-折叠结构的一部分的环。每条链中的HVR是通过FR区紧密保持在一起,并且与来自另一条链的HVR促成抗体的抗原结合位点的形成(参见Kabat等,Sequences of Immunological Interest,第五版,National Institute of Health,Bethesda,MD(1991))。恒定结构域不直接参与抗体与抗原的结合,但展现各种效应功能,诸如使抗体参与抗体依赖性细胞毒性。

[0086] “分离的”抗体,诸如本公开的抗分拣蛋白抗体,是从其产生环境(例如天然或重组

地)的组分鉴别、分离和/或回收的抗体。优选地,分离的多肽不与其产生环境中的所有其它污染组分缔合。其产生环境的污染组分,诸如由重组转染的细胞产生的组分,是典型地会干扰有关所述抗体的研究、诊断或治疗应用的物质,并且可包括酶、激素和其它蛋白质或非蛋白质溶质。在优选实施方案中,所述多肽将纯化:(1)达到通过例如Lowry法确定的以重量计超过95%,并且在一些实施方案中达到以重量计超过99%的抗体;(2)达到利用转杯式测序仪足以获得N末端或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度;或(3)使用考马斯蓝(Coomassie blue)或优选地银染色,在非还原或还原条件下通过SDS-PAGE确定达到均质。由于所述抗体的天然环境中的至少一种组分将不存在,所以分离的抗体包括在重组T细胞内原位产生的抗体。不过,通常分离的多肽或抗体将通过至少一个纯化步骤制备。

[0087] 如本文所使用,术语“单克隆抗体”是指从基本上同源的抗体群获得的抗体,即,除可能微量存在的可能天然存在的突变和/或翻译后修饰(例如异构化、酰胺化等)外,构成所述群的各个抗体是相同的,诸如本公开的抗分拣蛋白抗体。单克隆抗体针对单一抗原位点具有高度特异性。与典型地包括针对不同决定子(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相比,每一单克隆抗体是针对抗原上单个决定子。除特异性外,单克隆抗体的优势还在于,所述抗体是由融合瘤培养物合成,未受其它免疫球蛋白污染。修饰语“单克隆”指示抗体是从基本上同源的抗体群获得的性质,而不应解释为需要通过任何特定方法产生所述抗体。举例来说,待根据本发明使用的单克隆抗体可通过多种技术制备,包括但不限于以下方法中的一种或多种:具有DNA、病毒样粒子、多肽和/或细胞中的一种或多种的动物的免疫接种方法,所述动物包括但不限于大鼠、小鼠、兔、豚鼠、仓鼠和/或鸡;融合瘤法;B细胞克隆法;重组DNA方法;和用于在具有部分或全部的编码人类免疫球蛋白序列的人类免疫球蛋白基因座或基因的动物中产生人类或类人类抗体的技术。

[0088] 术语“全长抗体”、“完整抗体”或“全抗体”可互换使用,意指呈基本上完整形式的抗体,诸如本公开的抗分拣蛋白抗体,与抗体片段相对。特定来说,全抗体包括具有包括Fc区在内的重链和轻链的抗体。恒定结构域可以是天然序列恒定结构域(例如人类天然序列恒定结构域)或其氨基酸序列变体。在一些情况下,完整抗体可具有一种或多种效应功能。

[0089] “抗体片段”包含完整抗体的一部分,优选地完整抗体的抗原结合区和/或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab’、F(ab’)$_2$和Fv片段;双功能抗体;线性抗体(参见美国专利5,641,870,实施例2;Zapata等,Protein Eng.8(10):1057-1062(1995));单链抗体分子;和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0090] 木瓜蛋白酶消化抗体,诸如本公开的抗分拣蛋白抗体,产生两个相同的抗原结合片段,称为“Fab”片段;和残留的“Fc”片段,此名称反映容易结晶的能力。Fab片段由完整L链连同H链的可变区结构域(V_H)和一条重链的第一恒定结构域(C_H1)组成。每个Fab片段关于抗原结合均为单价的,即,该Fab片段具有单一抗原结合位点。胃蛋白酶处理抗体得到单一大F(ab’)$_2$片段,所述片段大致对应于两个二硫键连接的具有不同抗原结合活性的Fab片段且仍能够使抗原交联。Fab’片段与Fab片段的不同之处在于,F(ab’)片段在C_H1结构域的羧基末端处含有若干另外残基,包括抗体铰链区中的一个或多个半胱氨酸。Fab’-SH在本文中为其中恒定结构域的半胱氨酸残基带有游离硫醇基的Fab’的名称。F(ab’)$_2$抗体片段最初是以Fab’片段对产生,在所述Fab’片段之间具有铰链半胱氨酸。抗体片段的其它化学偶合也是已知的。

[0091] Fc片段包含通过二硫键保持在一起的两条H链的羧基末端部分。抗体的效应功能是由Fc区中的序列决定,所述区域还由某些类型细胞上所见的Fc受体(FcR)所识别。

[0092] "Fv"是含有完整抗原识别和结合位点的最小抗体片段。所述片段是由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构成的二聚物组成。由这两个结构域折叠得到六个高变环(由H和L链各得到3个环),所述高变环提供供抗原结合的氨基酸残基并使抗体具有抗原结合特异性。不过,即使单一可变结构域(或仅包含对抗原具有特异性的三个HVR的一半Fv)也还能识别并结合抗原,但亲和力低于完整结合位点。

[0093] "单链Fv",又缩写为"sFv"或"scFv",是包含连接成单一多肽链的VH和VL抗体结构域的抗体片段。优选地,sFv多肽还包含在V_H与V_L结构域之间的多肽连接体,所述连接体使sFv能够形成抗原结合所需结构。关于sFv的评述,参见Pluckthun,The Pharmacology of Monoclonal Antibodie,第113卷,Rosenburg和Moore编,Springer-Verlag,New York,第269-315页(1994)。

[0094] 抗体,诸如本公开的抗分拣蛋白抗体的"功能片段"包含完整抗体中保持FcR结合能力或具有改变的FcR结合能力的一部分,一般包括完整抗体的抗原结合区或可变区,或者抗体的F区。抗体片段的实例包括线性抗体、单链抗体分子和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0095] 术语"双功能抗体"是指通过在V_H与V_L结构域之间用短连接体(约5-10个残基)构建sFv片段(参见前一段),以使得实现可变结构域的链间而非链内配对,由此产生二价片段(即,具有两个抗原结合位点的片段)来制备的小抗体片段。双特异性双功能抗体是两个"交叉"sFv片段的异二聚体,其中两个抗体的V_H和V_L结构域存在于不同多肽链上。

[0096] 如本文所使用,"嵌合抗体"是指如下抗体(免疫球蛋白):在所述抗体中重链和/或轻链的一部分与来源于特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而所述一条或多条链的其余部分与来源于另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,诸如本公开的嵌合抗分拣蛋白抗体,以及此类抗体的片段,只要其展现所需生物活性即可。本文所关注的嵌合抗体包括PRIMATIZED®抗体,其中所述抗体的抗原结合区是来源于通过例如用所关注抗原对猕猴进行免疫接种而产生的抗体。如本文所使用,"人源化抗体"是作为"嵌合抗体"的子集使用。

[0097] 非人类(例如鼠类)抗体的"人源化"形式,诸如本公开的抗分拣蛋白抗体的人源化形式,是包含来自非人类HVR的氨基酸残基和来自人类FR的氨基酸残基的嵌合抗体。在某些实施方案中,人源化抗体将包含至少一个且典型地两个可变结构域的基本上全部,其中所有或基本上所有HVR(例如CDR)均对应于非人类抗体的HVR且所有或基本上所有FR均对应于人类抗体的FR。人源化抗体任选地可包含来源于人类抗体的抗体恒定区的至少一部分。抗体,例如非人类抗体的"人源化形式"是指已经历人源化的抗体。

[0098] "人类抗体"是氨基酸序列对应于由人类产生和/或使用如本文所公开的用于制备人类抗体的任何技术制备的抗体,诸如本公开的抗分拣蛋白抗体的氨基酸序列的抗体。所述关于人类抗体的定义特别排除包含非人类抗原结合残基的人源化抗体。人类抗体可使用此项技术中已知的各种技术制造,包括噬菌体展示文库和基于酵母的平台技术。人类抗体可通过将抗原施用于转基因动物制备,所述转基因动物经改良以响应于抗原攻击产生此类抗体,但其内源性基因座失能,例如免疫接种至xenomouse;以及经由人类B细胞融合瘤技术

产生。

[0099] 术语“高变区”、“HVR”或“HV”当在本文中使用时,是指抗体可变结构域中序列高变和/或形成结构确定的环的区域,诸如本公开的抗分拣蛋白抗体的所述区域。一般来说,抗体包含六个HVR:三个在V_H中(H1、H2、H3),并且三个在V_L中(L1、L2、L3)。在天然抗体中,H3和L3展示六个HVR中的最高多样性,并且相信特别是H3在赋予抗体精细特异性方面起到独特作用。仅由重链组成的天然存在的骆驼抗体在无轻链存在下起作用且稳定。

[0100] 多种HVR描述在使用中且涵盖于本文中。在一些实施方案中,HVR可基于序列可变性而作为Kabat互补决定区(CDR)且为最常用的(Kabat等,见上文)。在一些实施方案中,HVR可为Chothia CDR。Chothia而是指结构环的位置(Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987))。在一些实施方案中,HVR可为AbMHVR。AbM HVR表示Kabat CDR与Chothia结构环之间的折衷,并且被Oxford Molecular的AbM抗体建模软件使用。在一些实施方案中,HVR可为“contact”HVR。“contact”HVR是基于对可用复杂晶体结构的分析。这些HVR各自的残基如下所示。

[0101]

环	Kabat	AbM	Chothia	Contact
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (Kabat 编号)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (Chothia 编号)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0102] HVR可包含如下的“延伸的HVR”:VL中的24-36或24-34(L1)、46-56或50-56(L2),和89-97或89-96(L3);和VH中的26-35(H1)、50-65或49-65(优选实施方案)(H2),和93-102、94-102或95-102(H3)。关于这些延伸的HVR定义中的每一种,可变结构域残基均根据Kabat等(见上文)编号。

[0103] “框架”或“FR”残基是除如本文中所定义的HVR残基以外的可变结构域残基。

[0104] 如本文所使用,“接受体人类框架”是包含来源于人类免疫球蛋白框架或人类共同框架的V_L或V_H框架的氨基酸序列的框架。“来源于”人类免疫球蛋白框架或人类共同框架的接受体人类框架可包含其相同氨基酸序列,或其可包含预先存在的氨基酸序列变化。在一些实施方案中,预先存在的氨基酸变化的数量是10个或更少、9个或更少、8个或更少、7个或更少、6个或更少、5个或更少、4个或更少、3个或更少或2个或更少。当在VH中存在预先存在的氨基酸变化时,优选地所述变化仅在位置71H、73H和78H中的三个、两个或一个处发生;例如,在所述位置处的氨基酸残基可以为71A、73T和/或78A。在一个实施方案中,VL接受体人类框架的序列与V_L人类免疫球蛋白框架序列或人类共同框架序列相同。

[0105] “人类共同框架”是表示所选人类免疫球蛋白V_L或V_H框架序列中最常出现的氨基酸残基的框架。一般来说,人类免疫球蛋白V_L或V_H序列选自可变结构域序列亚组。一般来说,所述序列亚组是如Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991)中的亚

组。实例包括对于V_L,所述亚组可为根据Kabat等(见上文)中的亚组κI、κII、κIII或κIV。另外,对于V_H,所述亚组可为根据Kabat等(见上文)中的亚组I、亚组II或亚组III。

[0106] 在例如本公开的抗分拣蛋白抗体的指定位置处的"氨基酸修饰"是指所述指定残基的取代或缺失,或邻近所述指定残基的至少一个氨基酸残基的插入。"邻近"指定残基的插入意指在其一个至两个残基范围内的插入。所述插入可以在指定残基的N末端或C末端。本文中优选的氨基酸修饰是取代。

[0107] "亲和力成熟的"抗体,诸如本公开的抗分拣蛋白抗体,是在其一个或多个HVR中具有一个或多个改变,使得所述抗体对抗原的亲和力较不具有所述改变的亲本抗体有所改善的抗体。在一个实施方案中,亲和力成熟的抗体对目标抗原具有纳摩尔浓度或甚至皮摩尔浓度的亲和力。亲和力成熟的抗体是利用此项技术中已知的程序产生。举例来说,Marks等,Bio/Technology 10:779-783(1992)描述了通过VH和VL结构域改组进行的亲和力成熟。HVR和/或框架残基的随机诱变描述于以下中:例如Barbas等,Proc Nat.Acad.Sci.USA 91:3809-3813(1994);Schier等,Gene 169:147-155(1995);Yelton等,J.Immunol.155:1994-2004(1995);Jackson等,J.Immunol.154(7):3310-9(1995);和Hawkins等,J.Mol.Biol.226:889-896(1992)。

[0108] 如本文所使用,术语"特异性识别"或"特异性结合"是指决定在包括生物分子的异质分子群存在下存在目标的所述目标与抗体诸如本公开的抗分拣蛋白抗体之间可测量且可再现的相互作用,诸如吸引或结合。举例来说,特异性或优先结合至目标或表位的抗体,诸如本公开的抗分拣蛋白抗体是相较于其与其它目标或所述目标的其它表位的结合,以更高亲和力、亲合力、更容易结合此目标或表位和/或结合持续时间更长的抗体。通过阅读此定义,还应理解,例如,特异性或优先结合至第一目标的抗体(或部分)可以或可以不特异性或优先结合至第二目标。因此,"特异性结合"或"优先结合"未必需要(但其可以包括)独占性结合。特异性结合至目标的抗体的缔合常数可为至少约10^3M^{-1}或10^4M^{-1},有时约10^5M^{-1}或10^6M^{-1},在其它情况下约10^6M^{-1}或10^7M^{-1}、约10^8M^{-1}至10^9M^{-1},或约$10^{10}M^{-1}$至$10^{11}M^{-1}$或更高。可以使用多种免疫测定方式选择与特定蛋白质特异性免疫反应的抗体。举例来说,固相ELISA免疫测定常用于选择与蛋白质特异性免疫反应的单克隆抗体。有关可用于确定特异性免疫反应性的免疫测定方式和条件的说明,参见例如Harlow和Lane(1988)Antibodies,A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Publications,New York。

[0109] 如本文所使用,分拣蛋白与第二蛋白质之间的"相互作用"涵盖但不限于蛋白质-蛋白质相互作用、物理相互作用、化学相互作用、结合、共价结合和离子结合。如本文所使用,当抗体破坏、减少或完全消除两种蛋白质之间的相互作用时,抗体"抑制所述两种蛋白质之间的相互作用"。当本公开的抗体或其片段结合至两种蛋白质之一时,所述抗体或其片段"抑制所述两种蛋白质之间的相互作用"。

[0110] "激动剂"抗体或"活化"抗体是在抗体结合抗原之后,诱导(例如增加)抗原的一种或多种活性或功能的抗体,诸如本公开的激动剂抗分拣蛋白抗体。

[0111] "阻断"抗体、"拮抗剂"抗体或"抑制性"抗体是在抗体结合抗原之后抑制或减少(例如降低)抗原与一种或多种配体的结合,和/或在抗体结合抗原之后抑制或减少(例如降低)抗原的一种或多种活性或功能的抗体,诸如本公开的抗分拣蛋白抗体。在一些实施方案中,阻断抗体、拮抗剂抗体或抑制性抗体基本上或完全地抑制抗原与一种或多种配体的结

合和/或所述抗原的一种或多种活性或功能。

[0112] 抗体“效应功能”是指由抗体Fc区(天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)引起的生物活性,并且随抗体同种型而变化。

[0113] 术语“Fc区”在本文中用于定义免疫球蛋白重链的C末端区域,包括天然序列Fc区和变体Fc区。尽管免疫球蛋白重链Fc区的边界可能不同,但人类IgG重链Fc区通常界定为从位置Cys226处或从Pro230的氨基酸残基延伸至其羧基末端。在例如抗体制造或纯化期间,或通过重组工程改造编码抗体重链的核酸,可移除Fc区的C末端赖氨酸(根据EU编号系统的残基447)。因此,完整抗体的组成可以包含移除所有K447残基的抗体群、未移除K447残基的抗体群,和具有含和不含K447残基的抗体的混合物的抗体群。适用于本公开的抗体中的天然序列Fc区包括人类IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。

[0114] “天然序列Fc区”包含与自然界中所见Fc区的氨基酸序列相同的氨基酸序列。天然序列人类Fc区包括天然序列人类IgG1 Fc区(非A异型和A异型);天然序列人类IgG2Fc区;天然序列人类IgG3 Fc区;和天然序列人类IgG4 Fc区,以及其天然存在的变体。

[0115] “变体Fc区”包含由于至少一个氨基酸修饰,优选地一个或多个氨基酸取代而不同于天然序列Fc区的氨基酸序列。优选地,相较于天然序列Fc区或亲本多肽Fc区,变体Fc区在天然序列Fc区中或亲本多肽Fc区中具有至少一个氨基酸取代,例如约一个至约十个氨基酸取代,并且优选地约一个至约五个氨基酸取代。本文中的变体Fc区优选地与天然序列Fc区和/或亲本多肽Fc区具有至少约80%同源性,并且最优选与其具有至少约90%同源性,更优选与其具有至少约95%同源性。

[0116] “Fc受体”或“FcR”描述结合至抗体Fc区的受体。优选的FcR是天然序列人类FcR。此外,优选的FcR是结合IgG抗体的受体(γ受体)且包括FcγRI、FcγRII和FcγRIII亚类的受体,包括这些受体的变体和替代性剪接形式,FcγRII受体包括FcγRIIA(“活化受体”)和FcγRIIB(“抑制性受体”),所述受体具有类似氨基酸序列,主要差异在于其细胞质结构域。活化受体FcγRIIA在其细胞质结构域中含有免疫受体酪氨酸活化基序(“ITAM”)。抑制性受体FcγRIIB在其细胞质结构域中含有免疫受体酪氨酸基抑制基序(“ITIM”)。其它FcR,包括将来会鉴别的FcR,均涵盖在本文的术语“FcR”中。FcR还可延长抗体的血清半衰期。如本文所使用,关于肽、多肽或抗体序列的“氨基酸序列同一性百分比(%)”和“同源性”是指在比对候选序列与特定肽或多肽序列并在必要时引入空位以达到最大序列同一性百分比之后,并且在不将任何保守型取代视为序列同一性的一部分的情况下,所述候选序列中与所述特定肽或多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。可以通过在此项技术的技能范围内的多种方式,例如使用公开可用的计算机软件,诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或MEGALIGN™(DNASTAR)软件,实现比对以达到确定氨基酸序列同一性百分比的目的。所属领域技术人员可以确定适于测量比对的参数,包括此项技术内已知的在所比较的序列的全长内实现最大比对所需的任何演算法。

[0117] “分离的”细胞是在产生其的环境中从通常与其相连的至少一种污染细胞鉴别和分离的分子和细胞。在一些实施方案中,分离的细胞不与同产生环境有关的所有组分相连。所述分离的细胞呈现的形式不同于其在自然界中发现的形式或环境。分离的细胞有别于天然存在于组织、器官或个体中的细胞。在一些实施方案中,分离的细胞是本公开的宿主细胞。

[0118] 编码抗体,诸如本公开的抗分拣蛋白抗体的“分离的”核酸分子是在产生所述核酸分子的环境中从通常与其相连的至少一种污染核酸分子鉴别并分离的核酸分子。优选地,分离的核酸不与同产生环境有关的所有组分相连。编码本文的多肽和抗体的分离的核酸分子呈现的形式不同于其在自然界发现的形式或环境。因此,分离的核酸分子有别于天然存在于细胞中编码本文的多肽和抗体的核酸。

[0119] 如本文所使用,术语“载体”打算指能够转运其所连接的另一核酸的核酸分子。一类载体是“质粒”,意指其中可以连接另外DNA区段的环状双股DNA。另一类载体是噬菌体载体。另一类载体是病毒载体,其中可以将另外DNA区段连接至病毒基因组中。某些载体能够在引入所述载体的宿主细胞中自主复制(例如具有细菌复制起点的细菌载体和游离型哺乳动物载体)。其它载体(例如非游离型哺乳动物载体)可以在引入宿主细胞中之后整合至宿主细胞基因组中,并由此与宿主基因组一起复制。此外,某些载体能够引导其可操作地连接的基因的表达。此类载体在本文中称为“重组表达载体”,或简称为“表达载体”。一般来说,重组DNA技术中利用的表达载体通常呈质粒形式。在本说明书中,由于质粒是最常用的载体形式,所以“质粒”与“载体”可互换使用。

[0120] “聚核苷酸”或“核酸”在本文中可互换使用,指任何长度的核苷酸的聚合物,并且包括DNA和RNA。核苷酸可以是脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、修饰的核苷酸或碱基,和/或其类似物,或者是可通过DNA或RNA聚合酶,或通过合成反应并入聚合物中的任何底物。

[0121] “宿主细胞”包括可作为或已作为载体的接受体以并入聚核苷酸插入物的个别细胞或细胞培养物。宿主细胞包括单一宿主细胞的子代,并且所述子代可能由于天然突变、意外突变或有意突变而与原始亲本细胞未必完全相同(在形态或基因组DNA补体方面)。宿主细胞包括在活体内由本公开的聚核苷酸转染的细胞。

[0122] 如本文所使用,“载体”包括在所用剂量和浓度下对暴露于其的细胞或哺乳动物无毒的药学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂。

[0123] 如本文所使用,术语“约”是指熟习本技术领域者易于了解的相应值的常见误差范围。对“约”一个值或参数的提及在本文中包括(并描述)针对所述值或参数本身的实施方案。

[0124] 除非上下文另作清楚地指示,否则如本文和所附权利要求书中所使用,单数形式“一个(种)(a/an)”和“所述”包括多个指示物。举例来说,对一种“抗体”的提及是对一种至多种抗体的提及,诸如摩尔量,并且包括所属领域技术人员已知的其等效物等等。

[0125] 应了解,本文所描述的本公开的方面和实施方案包括“包含”方面和实施方案,“由所述方面和实施方案组成”和“基本上由所述方面和实施方案组成”。

[0126] 综迹

[0127] 本公开部分地涉及展现一种或多种相对于抗分拣蛋白抗体S-60改善和/或增强的功能特征的抗分拣蛋白抗体,所述S-60具有如WO2016164637中所述的重链可变区和轻链可变区。非限制性改善和/或增强的功能特征包括例如抗体能够以较高亲和力结合分拣蛋白;降低细胞表面分拣蛋白水平;减小半数最大有效浓度(EC_{50})以降低细胞表面分拣蛋白水平;改善细胞表面分拣蛋白水平的最大降低;增加分拣蛋白配体:例如前颗粒体蛋白(PGRN)的细胞外分泌;减小半数最大有效浓度(EC_{50})以阻断PGRN与分拣蛋白的结合;改善对PGRN与分拣蛋白的结合的最大阻断;或它们的任何组合。本文还涵盖具有不同Fc变体的抗分拣蛋白

抗体,所述抗分拣蛋白抗体展现一种或多种改善和/或增强的功能特征,包括减小半数最大有效浓度(EC_{50})以降低细胞表面分拣蛋白水平;改善细胞表面分拣蛋白水平的最大降低;增加分拣蛋白配体:例如前颗粒体蛋白(PGRN)的细胞外分泌;减小半数最大有效浓度(EC_{50})以阻断PGRN与分拣蛋白的结合;以及改善PGRN与分拣蛋白的结合的最大阻断。

[0128] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体在降低细胞表面分拣蛋白水平方面的效力高于具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体。在一些实施方案中,效力是通过针对降低细胞表面细胞SORT1水平的半数最大有效浓度(EC_{50})来测量。

[0129] 本公开还涉及制备和使用如本文所述的抗分拣蛋白抗体的方法;含有此类抗体的药物组合物;编码此类抗体的核酸;以及含有编码此类抗体的核酸的宿主细胞。

[0130] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体可具有一种或多种活性,所述一种或多种活性至少部分归因于所述抗体通过诱导分拣蛋白降解、下调、裂解、受体脱敏化和/或溶酶体靶向来降低分拣蛋白水平(例如细胞表面水平)的能力。在一些实施方案中,抗分拣蛋白抗体展现以下一种或多种特性:a.对人类分拣蛋白的解离常数(K_D)低于具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体的K_D;b.以低于具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体的半数最大有效浓度(EC_{50})降低细胞表面分拣蛋白水平(例如降低在活体外表达人类分拣蛋白的经工程改造的细胞上的细胞表面分拣蛋白水平);c.当例如通过荧光活化细胞分选(FACS)确定解离常数(K_D)时,对于人类分拣蛋白的K_D可在约0.560nM至约1.63nM范围内;d.当例如通过生物层干涉法确定解离常数(K_D)时,对于人类分拣蛋白的K_D可在约0.270nM至约2.910nM范围内;e.当例如在活体外通过FACS确定半数最大有效浓度(EC_{50})时,以可在约72.58pM至约103.6pM范围内的EC_{50}降低细胞表面分拣蛋白水平(例如降低在活体外表达人类分拣蛋白的经工程改造的细胞上的细胞表面分拣蛋白水平);f.降低细胞表面分拣蛋白水平,最大降低可在约51.33%至88.76%范围内;g.增加细胞外PGRN分泌高于具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体引起的分泌;h.阻断PGRN与分拣蛋白的结合(例如阻断PGRN与在活体外表达人类分拣蛋白的经工程改造的细胞上的分拣蛋白的结合),当例如在活体外通过FACS确定半数最大有效浓度(EC_{50})时,其EC_{50}可在约.325nM至约2.27nM范围内;和/或i.改善对PGRN与分拣蛋白的结合的最大阻断高于具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体的阻断作用。

[0131] 有利地,相较于对照抗分拣蛋白抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的对照抗分拣蛋白抗体),本公开的抗分拣蛋白抗体更有效地降低(例如高达约3.02倍)细胞表面分拣蛋白水平(例如具有较低EC_{50})(参见例如实施例2)。在一些实施方案中,相较于对照抗分拣蛋白抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的对照抗分拣蛋白抗体),本公开的抗分拣蛋白抗体以较低EC_{50}(高达约5.36倍)更有效地减少PGRN与分拣蛋白的结合(参见例如实施例3)。此外,相较于对照抗分拣蛋白抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的对照抗分拣蛋白抗体),本公开的抗分拣蛋白抗体对分拣蛋白具有较高亲和力(例如高达约2.79倍的较高亲和力)(例如,如通过FACS或生物层干涉法所测量的较低K_D值)(参见例如实施例1和4)。出人意外地是,对分拣蛋白的亲和力较高未必与降低细胞表面分拣蛋白水平的能力或效力增加相关(参见例如实施例2和4),也未必与阻断PGRN与分拣蛋白的结合的能力或效力增加相关(参见例如实施例3和4)。

[0132] 本公开还涉及在制造、储存和活体内施用期间具有改善的稳定性的抗分拣蛋白抗体。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体在各种应激条件下具有改善的稳定性(参见例如实施例4)。

[0133] 分拣蛋白

[0134] 在一个方面中,本公开提供与本公开的分拣蛋白内的一个区域,诸如表位相互作用或以其它方式结合的抗体,诸如分离的(例如单克隆)抗体。在一些实施方案中,所述抗体以改善/增强的动力学(例如相对于具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)与本公开的分拣蛋白内的一个区域,诸如表位相互作用或以其它方式结合。在一些实施方案中,所述抗体以低于对照抗体(例如相对于具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)的半数最大有效浓度(EC_{50})与人类分拣蛋白内的一个区域,诸如表位相互作用或以其它方式结合。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合至分拣蛋白并在结合至分拣蛋白后,调节一种或多种分拣蛋白活性,例如与细胞上的分拣蛋白表达相关的活性。本公开的分拣蛋白包括但不限于哺乳动物分拣蛋白、人类分拣蛋白、小鼠分拣蛋白和大鼠分拣蛋白。例示性分拣蛋白序列显示于表32中。

[0135] 分拣蛋白有不同名称,如分拣蛋白1、SORT1、100kDa NT受体、糖蛋白95(GP95)、前颗粒体蛋白受体(PGRN-R)和神经降压素受体3(NT-3或NTR-3)。分拣蛋白是编码I型膜受体的有831个氨基酸的蛋白质。已知各种分拣蛋白同源物,包括但不限于人类分拣蛋白、大鼠分拣蛋白和小鼠分拣蛋白。人类分拣蛋白的氨基酸序列以SEQ ID NO:81陈述于下(其中预测参与前颗粒体蛋白结合的关键氨基酸残基以粗体描绘且预测的pro-NGF结合区加下划线):

[0136]

```
          10         20         30         40         50
MERPWGAADG LSRWPHGLGL LLLLQLLPPS TLSQDRLDAP PPPAAPLPRW
          60         70         80         90        100
SGPIGVSWGL RAAAAGGAFP RGGRWRRSAP GEDEECGRVR DFVAKLANNT
         110        120        130        140        150
HQHVFDDLRG SVSLSWVGDS TGVILVLTTF HVPLVIMTFG QSKLYRSEDY
         160        170        180        190        200
GKNFKDITDL INNTFIRTEF GMAIGPENSG KVVLTAEVSG GSRGGRIFRS
         210        220        230        240        250
SDFAKNFVQT DLPFHPLTQM MYSPQNSDYL LALSTENGLW VSKNFGGKWE
         260        270        280        290        300
EIHKAVCLAK WGSDNTIFFT TYANGSCKAD LGALELWRTS DLGKSFKTIG
         310        320        330        340        350
VKIYSFGLGG RFLFASVMAD KDTTRRIHVS TDQGDTWSMA QLPSVGQEQF
         360        370        380        390        400
YSILAANDDM VFMHVDEPGD TGFGTIFTSD DRGIVYSKSL DRHLYTTTGG
         410        420        430        440        450
ETDFTNVTSL RGVYITSVLS EDNSIQTMIT FDQGGRWTHL RKPENSECDA
         460        470        480        490        500
TAKNKNECSL HIHASYSISQ KLNVPMAPLS EPNAVGIVIA HGSVGDAISV
         510        520        530        540        550
MVPDVYISDD GGYSWTKMLE GPHYYTILDS GGIIVAIEHS SRPINVIKFS
         560        570        580        590        600
TDEGQCWQTY TFTRDPIYFT GLASEPGARS MNISIWGFTE SFLTSQWVSY
         610        620        630        640        650
TIDFKDILER NCEEKDYTIW LAHSTDPEDY EDGCILGYKE QFLRLRKSSV
         660        670        680        690        700
CQNGRDYVVT KQPSICLCSL EDFLCDFGYY RPENDSKCVE QPELKGHDLE
         710        720        730        740        750
FCLYGREEHL TTNGYRKIPG DKCQGGVNPV REVKDLKKKC TSNFLSPEKQ
         760        770        780        790        800
NSKSNSVPII LAIVGLMLVT VVAGVLIVKK YVCGGRFLVH RYSVLQQHAE
         810        820        830
ANGVDGVDAL DTASHTNKSG YHDDSDEDLL E
```

[0137] 小鼠分拣蛋白的氨基酸序列陈述于SEQ ID NO:82中：

[0138]
MERPRGAADG LLRWPLGLLL LLQLLPPAAV GQDRLDAPPP PAPPLLRWAG PVGVSWGLRA
AAPGGPVPRA GRWRRGAPAE DQDCGRLPDF IAKLTNNTHQ HVFDDLSGSV SLSWVGDSTG
VILVLTTFQV PLVIVSFGQS KLYRSEDYGK NFKDITNLIN NTFIRTEFGM AIGPENSGKV
ILTAEVSGGS RGGRVFRSSD FAKNFVQTDL PFHPLTQMMY SPQNSDYLLA LSTENGLWVS
KNFGEKWEEI HKAVCLAKWG PNNIIFFTTH VNGSCKADLG ALELWRTSDL GKTFKTIGVK
IYSFGLGGRF LFASVMADKD TTRRIHVSTD QGDTWSMAQL PSVGQEQFYS ILAANEDMVF
MHVDEPGDTG FGTIFTSDDR GIVYSKSLDR HLYTTTGGET DFTNVTSLRG VYITSTLSED
NSIQSMITFD QGGRWEHLRK PENSKCDATA KNKNECSLHI HASYSISQKL NVPMAPLSEP
NAVGIVIAHG SVGDAISVMV PDVYISDDGG YSWAKMLEGP HYYTILDSGG IIVAIEHSNR
PINVIKFSTD EGQCWQSYVF TQEPIYFTGL ASEPGARSMN ISIWGFTESF ITRQWVSYTV
DFKDILERNC EEDDYTTWLA HSTDPGDYKD GCILGYKEQF LRLRKSSVCQ NGRDYVVAKQ
PSVCPCSLED FLCDFGYFRP ENASECVEQP ELKGHELEFC LYGKEEHLTT NGYRKIPGDK
CQGGMNPARE VKDLKKKCTS NFLNPTKQNS KSNSVPIILA IVGLMLVTVV AGVLIVKKYV
CGGRFLVHRY SVLQQHAEAD GVEALDSTSH AKSGYHDDSD EDLLE

[0139] 大鼠分拣蛋白的氨基酸序列陈述于SEQ ID NO:83中：

[0140]
MERPRGAADG LLRWPLGLLL LLQLLPPAAV GQDRLDAPPP PAPPLLRWAG PVGVSWGLRA
AAPGGPVPRA GRWRRGAPAE DQDCGRLPDF IAKLTNNTHQ HVFDDLSGSV SLSWVGDSTG
VILVLTTFQV PLVIVSFGQS KLYRSEDYGK NFKDITNLIN NTFIRTEFGM AIGPENSGKV
ILTAEVSGGS RGGRVFRSSD FAKNFVQTDL PFHPLTQMMY SPQNSDYLLA LSTENGLWVS
KNFGEKWEEI HKAVCLAKWG PNNIIFFTTH VNGSCKADLG ALELWRTSDL GKTFKTIGVK
IYSFGLGGRF LFASVMADKD TTRRIHVSTD QGDTWSMAQL PSVGQEQFYS ILAANDDMVF
MHVDEPGDTG FGTIFTSDDR GIVYSKSLDR HLYTTTGGET DFTNVTSLRG VYITSTLSED
NSIQSMITFD QGGRWEHLQK PENSKCDATA KNKNECSLHI HASYSISQKL NVPMAPLSEP
NAVGIVIAHG SVGDAISVMV PDVYISDDGG YSWAKMLEGP HYYTILDSGG IIVAIEHSNR
PINVIKFSTD EGQCWQSYVF SQEPVYFTGL ASEPGARSMN ISIWGFTESF LTRQWVSYTI
DFKDILERNC EENDYTTWLA HSTDPGDYKD GCILGYKEQF LRLRKSSVCQ NGRDYVVAKQ
PSICPCSLED FLCDFGYFRP ENASECVEQP ELKGHELEFC LYGKEEHLTT NGYRKIPGDR
CQGGMNPARE VKDLKKKCTS NFLNPKKQNS KSSSVPIILA IVGLMLVTVV AGVLIVKKYV
CGGRFLVHRY SVLQQHAEAD GVEALDTASH AKSGYHDDSD EDLLE

[0141] 在一些实施方案中,分拣蛋白是包括信号序列的前驱蛋白。在一些实施方案中,分拣蛋白是成熟蛋白质。在一些实施方案中,成熟分拣蛋白不包括信号序列。在一些实施方案中,成熟分拣蛋白是在细胞上表达。

[0142] 本公开的分拣蛋白包括若干结构域,包括但不限于信号序列、前体肽、内腔结构域、Vps10p结构域、10CC结构域、跨膜结构域和细胞质结构域。另外,本公开的蛋白质在多种组织,包括但不限于脑、脊髓、心脏和骨胳肌、甲状腺、胎盘和睾丸中高水平表达。

[0143] 因此,如本文所使用,本公开的“分拣蛋白”包括但不限于哺乳动物分拣蛋白、人类分拣蛋白、灵长类动物分拣蛋白、小鼠分拣蛋白和大鼠分拣蛋白。另外,本公开的抗分拣蛋白抗体可结合哺乳动物分拣蛋白、人类分拣蛋白、灵长类动物分拣蛋白、小鼠分拣蛋白和大鼠分拣蛋白中的一种或多种内的表位。

[0144] 分拣蛋白结构域

[0145] 本公开的分拣蛋白含有若干结构域,诸如含有Asp盒基序、十个刃片状β-螺旋桨结

构和疏水性环的Vps10p结构域;以及10CC结构域。

[0146] 如本文所公开,本公开的分拣蛋白与前神经营养素或神经营养素之间的相互作用是由含有十个刃片状β-螺旋桨结构和Asp盒基序的Vps10p结构域介导。在某些实施方案中,本公开的分拣蛋白含有Vps10p结构域,所述结构域包括十个刃片状β-螺旋桨结构且位于人类分拣蛋白(SEQ ID NO:81)的氨基酸残基78-611或对应于SEQ ID NO:81的氨基酸残基78-611的哺乳动物分拣蛋白的氨基酸残基内。在某些实施方案中,人类分拣蛋白(SEQ ID NO:81)的氨基酸残基190-220或对应于SEQ ID NO:81的氨基酸残基190-220的哺乳动物分拣蛋白的氨基酸残基是位于Vps10p结构域内。

[0147] 本公开的Vps10p结构域可包括Asp盒基序。如本文所使用,Asp盒基序具有以下序列:(S/T)-X-(D/N)-X-X-X-X-(W/F/Y)(SEQ ID NO:84)或X-X-(S/T)-X-(D/N)-X-G-X-(T/S)-(W/F/Y)-X(SEQ ID NO:85),其中X表示任何氨基酸。在人类分拣蛋白中,Asp盒基序是SSDFAKNF(SEQ ID NO:86),位于人类分拣蛋白的氨基酸残基200-207处。因此,在某些实施方案中,Asp盒基序位于人类分拣蛋白(SEQ ID NO:81)的氨基酸残基200-207或对应于SEQ ID NO:81的氨基酸残基200-207的哺乳动物分拣蛋白的氨基酸残基处。

[0148] 如本文所公开,本公开的分拣蛋白与p75之间的相互作用是由Vps10p结构域的疏水性环的10CC结构域介导。

[0149] 在某些实施方案中,本公开的分拣蛋白含有10CC结构域,所述结构域位于人类分拣蛋白(SEQ ID NO:81)的氨基酸残基610-757或对应于SEQ ID NO:81的氨基酸残基610-757的哺乳动物分拣蛋白的氨基酸残基内。在优选实施方案中,人类分拣蛋白(SEQ ID NO:81)的氨基酸残基592-593、610-660和/或667-749,或对应于SEQ ID NO:81的氨基酸残基592-593、610-660和/或667-749的哺乳动物分拣蛋白的氨基酸残基是位于分拣蛋白的10CC结构域内。

[0150] 在其它实施方案中,本公开的分拣蛋白在Vps10p结构域内含有疏水性环,所述Vps10p结构域位于人类分拣蛋白(SEQ ID NO:81)的氨基酸残基130-141或对应于SEQ ID NO:81的氨基酸残基130-141的哺乳动物分拣蛋白的氨基酸残基内。

[0151] 所属领域技术人员应理解,本公开的结构域的起始和终止残基可取决于所用计算机建模程序或用于确定所述结构域的方法而变化。

[0152] 分拣蛋白结合配偶体

[0153] 本公开的分拣蛋白可与一种或多种蛋白质相互作用(例如结合),所述一种或多种蛋白质包括但不限于前颗粒体蛋白(PGRN);神经营养素,诸如前神经营养素、前神经营养素-3、神经营养素-3、前神经营养素-4/5、神经营养素-4/5、前神经生长因子(Pro-NGF)、神经生长因子(NGF)、前脑源性神经营养因子(Pro-BDNF)和脑源性神经营养因子(BDNF);神经降压素、p75、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)、载脂蛋白E(APOE)、淀粉样前驱体蛋白、Aβ肽、PCSK9、p75NTR和受体相关蛋白(RAP)。

[0154] 前颗粒体蛋白(PGRN)

[0155] 已经显示,本公开的分拣蛋白与前颗粒体蛋白直接相互作用(例如结合)并介导前颗粒体蛋白的降解(例如Zheng,Y等(2011)PLoSONE6(6):e21023)。

[0156] 前颗粒体蛋白有不同名称,如PGRN、前上皮素(proepithelin)、颗粒体蛋白-上皮素前驱体、PC(前列腺癌)细胞源性生长因子(PCDGF)和顶体颗粒蛋白(acrogranin)。前颗粒

体蛋白是编码68.5kDa的分泌型糖蛋白的含593个氨基酸的蛋白质,所述糖蛋白具有7.5个较小颗粒蛋白(上皮素)基序重复序列,范围从6-25kDa,可从前驱体PGRN蛋白水解裂解。前颗粒体蛋白裂解产物的实例包括但不限于颗粒体蛋白A/上皮素1、颗粒体蛋白B上皮素2、颗粒体蛋白C、颗粒体蛋白D、颗粒体蛋白E、颗粒体蛋白F、颗粒体蛋白G和任何其它已知的源自前颗粒体蛋白的肽产物。

[0157] 因此,增加前颗粒体蛋白水平、降低细胞表面分拣蛋白水平和/或阻断分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用(例如结合)的本公开的抗分拣蛋白抗体将有益于预防下列与前颗粒体蛋白表达和/或活性的水平降低、细胞死亡(例如神经元细胞死亡)有关的病状和/或疾病、降低患病风险或治疗所述病状和/或疾病:额颞叶痴呆、阿兹海默氏病、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤、长期抑郁、动脉粥样硬化性血管性疾病、正常衰老的不想要症状、痴呆、混合型痴呆、克-雅二氏病(Creutzfeldt-Jakobdisease)、正常压脑积水、肌萎缩侧索硬化症、亨廷顿氏病(Huntington'sdisease)、τ蛋白病、中风、急性创伤、慢性创伤、狼疮、急慢性结肠炎、克隆氏病(Crohn'sdisease)、炎症性肠病、溃疡性结肠炎、疟疾、特发性震颤、中枢神经系统性狼疮、白塞特氏病(Behcet'sdisease)、帕金森氏病、路易体痴呆(dementia with Lewybodies)、多系统萎缩、椎间盘退化、夏-德二氏综合征(Shy-Dragersyndrome)、进行性核上性麻痹、皮质基底节变性、急性播散性脑脊髓炎、肉芽肿性病、肉状瘤病、衰老性疾病、年龄相关性黄斑变性、青光眼、色素性视网膜炎、视网膜变性、呼吸道感染、败血病、眼部感染、全身感染、炎症性病症、关节炎、多发性硬化、代谢病症、肥胖症、胰岛素抵抗、2型糖尿病、组织或血管损伤、损伤和/或正常衰老的一种或多种不想要症状。另外,增加前颗粒体蛋白水平、降低细胞表面分拣蛋白水平和/或阻断分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用(例如结合)的本公开的抗分拣蛋白抗体可抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用,可诱导一种或多种前颗粒体蛋白活性,可减少前颗粒体蛋白或其片段的内体内化,且/或可增加前颗粒体蛋白的有效浓度。

[0158] 在一些实施方案中,增加前颗粒体蛋白水平、降低细胞表面分拣蛋白水平和/或阻断分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用(例如结合)的本公开的抗分拣蛋白抗体结合至以下氨基酸残基内的一个或多个氨基酸:人类分拣蛋白(SEQ ID NO:81)的氨基酸残基131-138、175-181、190-220、199-220、190-211、196-207、196-199、200-207、203-207、207-231、207-227、212-221、233-243、237-247、237-260、297-317、314-338、367-391、429-443、623-632和/或740-749;或对应于SEQ ID NO:81的氨基酸残基131-138、175-181、190-220、199-220、190-211、196-207、196-199、200-207、203-207、207-231、207-227、212-221、233-243、237-247、237-260、297-317、314-338、367-391、429-443、623-632和/或740-749的哺乳动物分拣蛋白的氨基酸残基。在其它实施方案中,增加前颗粒体蛋白水平、降低细胞表面分拣蛋白水平和/或阻断分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用(例如结合)的本公开的抗分拣蛋白抗体可结合以下一个或多个氨基酸:人类分拣蛋白(SEQ ID NO:81)的氨基酸残基His131、Val132、Pro133、Leu134、Val135、Ile136、Met137、Thr138、Arg196、Phe198、Arg199、Phe203、Lys205、Phe207、Thr210、Thr218、Tyr222、Ser223、Ser227、Ser242、Lys243、Lys248、Lys254、Lys260、Ser305、Phe306、Gly307、Arg311、Phe314、Ser316、Arg325、Arg326、Ile327、Phe350、Tyr351、Ser352、Ile353、Asn373、Ser379、Arg382、Tyr386、Ser595和/或Glu700;或对应于SEQ ID NO:81的一个或多个氨基酸残基His131、Val132、Pro133、Leu134、Val135、

Ile136、Met137、Thr138、Arg196、Phe198、Arg199、Phe203、Lys205、Phe207、Thr210、Thr218、Tyr222、Ser223、Ser227、Ser242、Lys243、Lys248、Lys254、Lys260、Ser305、Phe306、Gly307、Arg311、Phe314、Ser316、Arg325、Arg326、Ile327、Phe350、Tyr351、Ser352、Ile353、Asn373、Ser379、Arg382、Tyr386、Ser595和/或Glu700的哺乳动物分拣蛋白的氨基酸残基。

[0159] 其它分拣蛋白配体

[0160] 已经显示,本公开的分拣蛋白可与前神经营养素(例如pro-NGF)直接相互作用(例如结合),所述pro-NGF带有前结构域且典型地促进细胞凋亡。所述结合可经由分拣蛋白上对应于SEQ ID NO:81的氨基酸残基163-174的线性表位介导。还已显示,本公开的分拣蛋白可与分拣蛋白的β-螺旋桨结构内的神经降压素相互作用(例如结合)且已经显示,重要接触是在人类分拣蛋白的丝氨酸283处。

[0161] 还已显示,本公开的分拣蛋白与分拣蛋白的10CC结构域或分拣蛋白的Vps10p结构域的疏水性环内的低亲和力神经生长因子(NGF)受体(p75)相互作用(例如结合)。如本文所公开,本公开的分拣蛋白可与p75一起充当前神经营养素的辅助受体,所述前神经营养素诱导细胞凋亡信号传导。另外,已经显示,本公开的分拣蛋白与淀粉样前驱蛋白(APP)相互作用(例如结合)。

[0162] 已经显示,本公开的分拣蛋白与脂蛋白脂肪酶(LpL)相互作用(例如结合)。如本文所公开,本公开的分拣蛋白结合至LpL并改变LpL的降解。已经显示,本公开的分拣蛋白与载脂蛋白AV(APOA5)相互作用(例如结合)。如本文所公开,本公开的分拣蛋白结合至APOA5并改变APOA5的降解。

[0163] 已经显示,本公开的分拣蛋白与载脂蛋白E(APOE、APOE2、APOE3、APOE4)相互作用(例如结合)。如本文所公开,本公开的分拣蛋白结合至APOE以及APOE所携带的剂诸如Aβ肽,并改变其降解和转运。此外,已经显示,本公开的分拣蛋白与受体相关蛋白(RAP)相互作用(例如结合)。另外,已经显示,本公开的分拣蛋白与前蛋白转化酶枯草溶菌素9(Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9,PCSK9)相互作用(例如结合),并将其分泌至循环中。

[0164] 在抗分拣蛋白抗体中任一种的一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体还可抑制(例如阻断)分拣蛋白与本公开的一种或多种其它分拣蛋白配体之间的相互作用。在一些实施方案中,所述一种或多种其它配体是以下一种或多种:前神经营养素、神经降压素、低亲和力神经生长因子(NGF)受体(p75)、淀粉样前驱蛋白、脂蛋白脂肪酶、载脂蛋白AV、载脂蛋白、受体相关蛋白和/或前蛋白转化酶枯草溶菌素9。此类抗体可有益于预防与一种或多种其它分拣蛋白配体表达和/或活性的水平降低、细胞死亡(例如神经元细胞死亡)相关的病状和/或疾病、降低患所述病状和/或疾病的风险,或治疗所述病状和/或疾病。在一些实施方案中,所述一种或多种其它配体是以下一种或多种:前神经营养素、神经降压素、低亲和力神经生长因子(NGF)受体(p75)、淀粉样前驱蛋白、脂蛋白脂肪酶、载脂蛋白AV、载脂蛋白、受体相关蛋白和/或前蛋白转化酶枯草溶菌素9。

[0165] 抑制(例如阻断)分拣蛋白与本公开的一种或多种其它分拣蛋白配体之间的相互作用的本公开的抗分拣蛋白抗体还可预防由一种或多种其它分拣蛋白配体诱导的细胞死亡(例如细胞凋亡)。在一些实施方案中,所述一种或多种其它配体是以下一种或多种:前神经营养素、神经降压素、低亲和力神经生长因子(NGF)受体(p75)、淀粉样前驱蛋白、脂蛋白

脂肪酶、载脂蛋白AV、载脂蛋白、受体相关蛋白和/或前蛋白转化酶枯草溶菌素9。

[0166] 在抗分拣蛋白抗体中任一种的一些实施方案中,抑制(例如阻断)分拣蛋白与本公开的一种或多种分拣蛋白配体之间的相互作用的本公开的抗分拣蛋白抗体结合以下氨基酸残基内的一个或多个氨基酸:人类分拣蛋白(SEQ ID NO:81)的氨基酸残基131-138、175-181、190-220、199-220、190-211、196-207、196-199、200-207、203-207、207-231、207-227、212-221、233-243、237-247、237-260、297-317、314-338、367-391、429-443、623-632和/或740-749;或对应于SEQ ID NO:81的氨基酸残基131-138、175-181、190-220、199-220、190-211、196-207、196-199、200-207、203-207、207-231、207-227、212-221、233-243、237-247、237-260、297-317、314-338、367-391、429-443、623-632和/或740-749的哺乳动物分拣蛋白的氨基酸残基。在一些实施方案中,所述一种或多种其它配体是以下一种或多种:前神经营养素、神经降压素、低亲和力神经生长因子(NGF)受体(p75)、淀粉样前驱蛋白、脂蛋白脂肪酶、载脂蛋白AV、载脂蛋白、受体相关蛋白和/或前蛋白转化酶枯草溶菌素9。

[0167] 在抗分拣蛋白抗体中任一种的其它实施方案中,抑制(例如阻断)分拣蛋白与本公开的一种或多种分拣蛋白配体之间的相互作用的本公开的抗分拣蛋白抗体结合以下氨基酸残基的一个或多个氨基酸:人类分拣蛋白(SEQ ID NO:81)的氨基酸残基His131、Val132、Pro133、Leu134、Val135、Ile136、Met137、Thr138、Arg196、Phe198、Arg199、Phe203、Lys205、Phe207、Thr210、Thr218、Tyr222、Ser223、Ser227、Ser242、Lys243、Lys248、Lys254、Lys260、Ser305、Phe306、Gly307、Arg311、Phe314、Ser316、Arg325、Arg326、Ile327、Phe350、Tyr351、Ser352、Ile353、Asn373、Ser379、Arg382、Tyr386、Ser595和/或Glu700;或对应于SEQ ID NO:81的一个或多个氨基酸残基His131、Val132、Pro133、Leu134、Val135、Ile136、Met137、Thr138、Arg196、Phe198、Arg199、Phe203、Lys205、Phe207、Thr210、Thr218、Tyr222、Ser223、Ser227、Ser242、Lys243、Lys248、Lys254、Lys260、Ser305、Phe306、Gly307、Arg311、Phe314、Ser316、Arg325、Arg326、Ile327、Phe350、Tyr351、Ser352、Ile353、Asn373、Ser379、Arg382、Tyr386、Ser595和/或Glu700的哺乳动物分拣蛋白的氨基酸残基。在一些实施方案中,所述一种或多种其它配体是以下一种或多种:前神经营养素、神经降压素、低亲和力神经生长因子(NGF)受体(p75)、淀粉样前驱蛋白、脂蛋白脂肪酶、载脂蛋白AV、载脂蛋白、受体相关蛋白和/或前蛋白转化酶枯草溶菌素9。

[0168] 分拣蛋白抗体

[0169] 本公开的某些方面涉及包含一种或多种改善和/或增强的功能特征的抗分拣蛋白抗体。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含一种或多种相对于抗分拣蛋白抗体S-60改善和/或增强的功能特征,所述S-60具有如WO2016164637中所述的重链可变区和轻链可变区。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对于分拣蛋白(例如人类分拣蛋白)的亲和力高于对照抗分拣蛋白抗体(例如包含对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的对照抗分拣蛋白抗体)的亲和力。在一些实施方案中,相对于对照抗体(例如包含对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的对照抗分拣蛋白抗体),本公开的抗分拣蛋白抗体以更高程度且以更低半数最大有效浓度(EC50)降低细胞分拣蛋白水平(细胞表面水平)。在一些实施方案中,相对于包含对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体,本公开的抗分拣蛋白抗体改善细胞表面分拣蛋白水平的最大降低。在一些实施方案中,相对于包含对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体,本公开的抗分拣蛋白抗体

增加细胞外前颗粒体蛋白(PGRN)的分泌。在一些实施方案中,相对于对照抗体(例如包含对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的对照抗分拣蛋白抗体),本公开的抗分拣蛋白抗体以更高程度且以更低半数最大有效浓度(EC50)阻断PGRN与分拣蛋白的结合。在一些实施方案中,相对于包含对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体,本公开的抗分拣蛋白抗体改善对PGRN与分拣蛋白的结合的最大阻断。

[0170] 本文还涵盖具有不同Fc变体的抗分拣蛋白抗体,其展现一种或多种相对于包含对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体改善和/或增强的功能特征,包括减小半数最大有效浓度(EC50)以降低细胞表面分拣蛋白水平;改善细胞表面分拣蛋白水平的最大降低;增加PGRN的细胞外分泌;减小半数最大有效浓度(EC50)以阻断PGRN与分拣蛋白的结合;和改善对PGRN与分拣蛋白的结合的最大阻断。

[0171] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体是人类抗体、双特异性抗体、单克隆抗体、多价抗体、缀合的抗体或嵌合抗体。

[0172] 在一个优选实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体是单克隆抗体。

[0173] 抗分拣蛋白抗体结合表位

[0174] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合至本公开的分拣蛋白和/或天然存在的变体。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合至分拣蛋白,其中所述分拣蛋白是人蛋白质。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合至分拣蛋白,其中所述分拣蛋白是野生型蛋白质。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合至分拣蛋白,其中所述分拣蛋白是天然存在的变体。

[0175] 在某些优选实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体特异性结合至人类分拣蛋白。

[0176] 本公开的某些方面提供结合不连续分拣蛋白表位的抗分拣蛋白抗体。在一些实施方案中,所述不连续分拣蛋白表位包含两种或更多种肽、三种或更多种肽、四种或更多种肽、五种或更多种肽、六种或更多种肽、七种或更多种肽、八种或更多种肽、九种或更多种肽,或10种或更多种肽。在一些实施方案中,所述肽各自包含氨基酸序列SEQ ID NO:81的五个或更多个、六个或更多个、七个或更多个、八个或更多个、九个或更多个、10个或更多个、11个或更多个、12个或更多个、13个或更多个、14个或更多个、15个或更多个、16个或更多个、17个或更多个、18个或更多个、19个或更多个、20个或更多个、21个或更多个、22个或更多个、23个或更多个、24个或更多个、25个或更多个、26个或更多个、27个或更多个、28个或更多个、29个或更多个或30个或更多个氨基酸残基;或对应于氨基酸序列SEQ ID NO:81的哺乳动物分拣蛋白上的五个或更多个、六个或更多个、七个或更多个、八个或更多个、九个或更多个、10个或更多个、11个或更多个、12个或更多个、13个或更多个、14个或更多个、15个或更多个、16个或更多个、17个或更多个、18个或更多个、19个或更多个、20个或更多个、21个或更多个、22个或更多个、23个或更多个、24个或更多个、25个或更多个、26个或更多个、27个或更多个、28个或更多个、29个或更多个或30个或更多个氨基酸残基。本公开的其它方面提供结合至分拣蛋白的构象表位的抗分拣蛋白抗体。

[0177] 本公开的某些方面提供结合至人类分拣蛋白(SEQ ID NO:81)的氨基酸残基207-231内;或对应于SEQ ID NO:81的氨基酸残基207-231的哺乳动物分拣蛋白上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸的抗分拣蛋白抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体结合至以下氨基酸残基的一个或多个氨基酸:人类分拣蛋白(SEQ ID NO:81)的氨基酸残基

Thr218、Tyr222、Ser223和/或Ser227;或对应于SEQ ID NO:81的氨基酸残基Thr218、Tyr222、Ser223和/或Ser227的哺乳动物分拣蛋白上的氨基酸残基。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体结合至以下氨基酸残基的一个或多个氨基酸:人类分拣蛋白(SEQ ID NO:81)的氨基酸残基F105、L108、R109、G110、I537、F569、E590、F592、L593、S595和/或W597;或对应于SEQ ID NO:81的氨基酸残基F105、L108、R109、G110、I537、F569、E590、F592、L593、S595和/或W597的哺乳动物分拣蛋白上的氨基酸残基。本公开的其它方面提供结合至具有氨基酸残基(S/T)-X-(D/N)-X-X-X-X-(W/F/Y)的表位的抗分拣蛋白抗体,其中X表示任何氨基酸(SEQ ID NO:84)。

[0178] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合至在细胞表面上表达的本公开的分拣蛋白且裸抗体抑制所述分拣蛋白与选自以下的蛋白质之间的相互作用(例如结合):前颗粒体蛋白(PGRN)、前神经营养素、神经营养素、前神经营养素-3、神经营养素-3、前神经营养素-4/5、神经营养素-4/5、前神经生长因子(pro-NGF)、神经生长因子(NGF)、前脑源性神经营养因子(pro-BDNF)、脑源性神经营养因子(BDNF)、神经降压素、p75、分拣蛋白前肽(Sort-pro)、淀粉样前驱蛋白(APP)、Aβ肽、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)、载脂蛋白E(APOE)、PCSK9和受体相关蛋白(RAP)。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合至细胞表面上表达的本公开的分拣蛋白且裸抗体抑制分拣蛋白与PGRN之间的相互作用(例如结合)。

[0179] 在一些实施方案中,结合至本公开的分拣蛋白的本公开的抗分拣蛋白抗体通过降低可与细胞表面上或细胞内部前颗粒体蛋白、前神经营养素、神经营养素、前神经营养素-3、神经营养素-3、前神经营养素-4/5、神经营养素-4/5、前神经生长因子(pro-NGF)、神经生长因子(NGF)、前脑源性神经营养因子(pro-BDNF)、脑源性神经营养因子(BDNF)、神经降压素、p75、分拣蛋白前肽(Sort-pro)、淀粉样前驱蛋白(APP)、Aβ肽、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)、载脂蛋白E(APOE)、PCSK9和受体相关蛋白(RAP)相互作用的分拣蛋白的有效水平来抑制所述分拣蛋白与这些蛋白质之间的相互作用(例如结合)。

[0180] 在一些实施方案中,结合至本公开的分拣蛋白的本公开的抗分拣蛋白抗体通过诱导分拣蛋白降解来抑制所述分拣蛋白与前颗粒体蛋白、前神经营养素、神经营养素、前神经营养素-3、神经营养素-3、前神经营养素-4/5、神经营养素-4/5、前神经生长因子(pro-NGF)、神经生长因子(NGF)、前脑源性神经营养因子(pro-BDNF)、脑源性神经营养因子(BDNF)、神经降压素、p75、分拣蛋白前肽(Sort-pro)、淀粉样前驱蛋白(APP)、Aβ肽、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)、载脂蛋白E(APOE)、PCSK9和受体相关蛋白(RAP)之间的相互作用(例如结合)。

[0181] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合至人类分拣蛋白或其同源物,包括但不限于哺乳动物分拣蛋白或非人类灵长类动物的分拣蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体特异性结合至人类分拣蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合至人类分拣蛋白且不与来自其它物种的分拣蛋白直系同源物或同源物交叉反应。

[0182] 抗分拣蛋白抗体竞争性结合

[0183] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体竞争性抑制选自表1-表29中所列任何抗体的至少另一种抗分拣蛋白抗体的结合。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗

体竞争性抑制选自以下的至少一种抗体的结合:S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9(如WO2016164637中所描述);或S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24;和它们的任何组合。

[0184] 在一些实施方案中,当本公开的抗分拣蛋白抗体使一种或多种选自以下的抗体与分拣蛋白的结合相较于在无所述抗分拣蛋白抗体存在下与分拣蛋白的结合减少在约50%至100%范围内的量时:S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9(如WO2016164637中所描述);或S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24;和它们的任何组合,所述抗分拣蛋白抗体与一种或多种选自以下的抗分拣蛋白抗体竞争结合至分拣蛋白:S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9(如WO2016164637中所描述);或S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24;和它们的任何组合。

[0185] 在一些实施方案中,当本公开的抗分拣蛋白抗体使一种或多种选自以下的抗体与分拣蛋白的结合相较于在无所述抗分拣蛋白抗体存在下与分拣蛋白的结合减少至少50%、至少55%、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%时:S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9(如WO2016164637中所描述);或S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24;和它们的任何组合,所述抗分拣蛋白抗体与一种或多种选自以下的抗分拣蛋白抗体竞争结合至分拣蛋白:S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9(如WO2016164637中所描述);或S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16

[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24;和它们的任何组合。

[0186] 在一些实施方案中,使一种或多种选自S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9(如WO2016164637中所描述);或S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24;和它们的任何组合的抗体与分拣蛋白的结合减少100%的本公开的抗分拣蛋白抗体指示,所述抗分拣蛋白抗体基本上完全地阻断一种或多种选自以下的抗分拣蛋白抗体与分拣蛋白的结合:S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9(如WO2016164637中所描述);或S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24;和它们的任何组合。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体和所述一种或多种选自S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9(如WO2016164637中所描述);或S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24;和它们的任何组合的抗体的存在量对应于10:1比率、9:1比率、8:1比率、7:1比率、6:1比率、5:1比率、4:1比率、3:1比率、2:1比率、1:1比率、0.75:1比率、0.5:1比率、0.25:1比率、0.1:1比率、0.075:1比率、0.050:1比率、0.025:1比率、0.01:1比率、0.0075:比率、0.0050:1比率、0.0025:1比率、0.001:比率、0.00075:1比率、0.00050:1比率、0.00025:1比率、0.0001:比率、1:10比率、1:9比率、1:8比率、1:7比率、1:6比率、1:5比率、1:4比率、1:3比率、1:2比率、1:0.75比率、1:0.5比率、1:0.25比率、1:0.1比率、1:0.075比率、1:0.050比率、1:0.025比率、1:0.01比率、1:0.0075比率、1:0.0050比率、1:0.0025比率、1:0.001比率、1:0.00075比率、1:0.00050比率、1:0.00025比率或1:0.0001比率的抗分拣蛋白抗体比一种或多种选自以下的抗体:S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9(如WO2016164637中所描述);或S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24;和它们的任何组合。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体的存在量相较于一种或多种选自以下的抗体的量过量约1.5倍至100倍范围内或超

过100倍:S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9(如WO2016164637中所描述);或S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24;和它们的任何组合。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体的存在量相较于一种或多种选自以下的抗体的量过量约2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、55倍、60倍、65倍、70倍、75倍、80倍、85倍、90倍、95倍或100倍:S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9(如WO2016164637中所描述);或S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24;和它们的任何组合。

[0187] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合至人类分拣蛋白中与由至少一种选自表1-表29中所列任何抗体的抗体所结合的分拣蛋白表位相同或重叠的表位。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合至人类分拣蛋白中与由至少一种选自以下的抗体所结合的分拣蛋白表位相同或重叠的表位:S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9(如WO2016164637中所描述);或S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24;和它们的任何组合。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合与由至少一种选自表1-表29中所列任何抗体的抗体所结合基本上相同的分拣蛋白表位。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合与由至少一种选自以下的抗体所结合基本上相同的分拣蛋白表位:S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9(如WO2016164637中所描述);或S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24;和它们的任何组合。有关定位抗体所结合的表位的详细例示性方法提供于Morris (1996)“EpitopeMappingProtocols,”Methodsin Molecular Biology第66卷(Humana Press,Totowa,NJ)中。

[0188] 此项技术中已知的任何适合的竞争测定或分拣蛋白结合测定,诸如BIAcor分析、

ELISA测定或流式细胞测量术,均可用于确定抗分拣蛋白抗体是否与一种或多种选自以下的抗体竞争结合至分拣蛋白:S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9(如WO2016164637中所描述);或S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5 [N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24;和它们的任何组合。在一种例示性竞争测定中,在包含结合至分拣蛋白的第一经标记抗体(例如人类或非人类灵长类动物)和正测试与所述第一抗体竞争结合至分拣蛋白的能力的第二未标记抗体的溶液中培育固定的分拣蛋白或在细胞表面上表达分拣蛋白的细胞。第二抗体可以存在于融合瘤上清液中。作为对照,在包含第一标记的抗体但不含第二未标记抗体的溶液中培育固定的分拣蛋白或表达分拣蛋白的细胞。在允许第一抗体结合至分拣蛋白的条件下培育之后,移除过量的未结合抗体,并测量与固定的分拣蛋白或表达分拣蛋白的细胞缔合的标记的量。如果测试样品中与固定的分拣蛋白或表达分拣蛋白的细胞缔合的标记的量相对于对照样品实质上减少,那么此指示第二抗体与第一抗体竞争结合至分拣蛋白。参见Harlow和Lane(1988)Antibodies:A LaboratoryManual第14章(ColdSpring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,NY)。

[0189] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体与包含选自由以下组成的组的抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域的抗体竞争结合至分拣蛋白:S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24和它们的任何组合。

[0190] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合与包含选自由以下组成的组的抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域的抗体基本上相同的分拣蛋白表位:S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-16、S-60-18、S-60-19和S-60-24。

[0191] 另外的抗分拣蛋白抗体,例如特异性结合至本公开的分拣蛋白的抗体可以通过此项技术中已知的各种测定进行鉴别、筛选和/或其物理/化学特性和/或生物活性表征。

[0192] 抗分拣蛋白抗体重链和轻链可变区

[0193] A.重链HVR

[0194] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含选自HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3(如表14-表16中所示)的一个或多个(例如一个或多个、两个或更多个或全部三个)HVR的重链可变区。在一些实施方案中,所述重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3(如表14-表16中所示)。

[0195] 在一些实施方案中,HVR-H1包含序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)。在一些实施方案中,HVR-H2包含根据式I的序列:TIYHSGSTYYNPSLX$_1$S(SEQ ID NO:4),其中X$_1$是K或E。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自SEQ ID NO:2-3的序列。在一些实施方案中,HVR-H3包含根据式II的序列:ARQGSIX$_1$QGYYGMDV (SEQ ID NO:7)。在一些实施方案中,HVR-H3包含选自SEQ ID NO:5-6的序列。

[0196] 在一些实施方案中,HVR-H1包含与氨基酸序列SEQ ID NO:1至少约90%、至少约

91％、至少约92％、至少约93％、至少约94％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％、至少约99％或100％相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包括含有取代(例如相对于氨基酸序列SEQ ID NO:1的保守取代、插入或缺失)但保持结合至分拣蛋白的能力的氨基酸序列。在某些实施方案中,HVR-H1氨基酸序列SEQ ID NO:1中有至多1个、至多2个、至多3个、至多4个或至多5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在一些实施方案中,HVR-H2包含与选自SEQ ID NO:2-3的氨基酸序列至少约90％、至少约91％、至少约92％、至少约93％、至少约94％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％、至少约99％或100％相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包括含有取代(例如相对于选自SEQ ID NO:2-3的氨基酸序列的保守取代、插入或缺失)但保持结合至分拣蛋白的能力的氨基酸序列。在某些实施方案中,在选自SEQ ID NO:2-3的HVR-H2氨基酸序列中有至多1个、至多2个、至多3个、至多4个或至多5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在一些实施方案中,HVR-H3包含与选自SEQ ID NO:5-6的氨基酸序列至少约90％、至少约91％、至少约92％、至少约93％、至少约94％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％、至少约99％或100％相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H3包括含有取代(例如相对于选自SEQ ID NO:5-6的氨基酸序列的保守取代、插入或缺失)但保持结合至分拣蛋白的能力的氨基酸序列。在某些实施方案中,在选自SEQ ID NO:5-6的HVR-H3氨基酸序列中有至多1个、至多2个、至多3个、至多4个或至多5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。

[0197] 在一些实施方案中,重链可变区包括含序列YSISSGYYWG (SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含根据式I的序列的HVR-H2和含根据式II的序列的HVR-H3。

[0198] 在一些实施方案中,重链可变区包括含序列SEQ ID NO:1的HVR-H1、含选自序列SEQ ID NO:2-3的HVR-H2和含选自序列SEQID NO:5-6的HVR-H3。

[0199] 在一些实施方案中,重链可变区包含抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5 [N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15 [N33A]、S-60-15.16 [N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24或它们的任何组合的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3(如表14-表16中所示)。

[0200] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括重链可变区,其中所述重链可变区包含以下一个或多个:(a)含与抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的HVR-H1氨基酸序列至少85％、至少86％、至少87％、至少88％、至少89％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的HVR-H1;(b)含与抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4 [N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、

S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的HVR-H2氨基酸序列至少85％、至少86％、至少87％、至少88％、至少89％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)含与抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的HVR-H3氨基酸序列至少85％、至少86％、至少87％、至少88％、至少89％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的HVR-H3。

[0201] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2以及含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3。

[0202] B.轻链HVR

[0203] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含选自HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3(如表17-表19中所示)的一个或多个(例如一个或多个、两个或更多个或全部三个)HVR的轻链可变区。在一些实施方案中,所述轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3(如表17-表19中所示)。

[0204] 在一些实施方案中,HVR-L1包含根据式III的序列:RSSQX_1LLX_2SX_3GYNYLD(SEQ ID NO:28),其中X_1是S或G,X_2是R或H,并且X_3是N、T、S、G、R、D、H、K、Q、Y、E、W、F、I、V、A、M或L。在一些实施方案中,HVR-L1包含选自SEQ ID NO:8-27的序列。在一些实施方案中,HVR-L1包含以下序列:RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)、RSSQSLLRSTGYNYLD (SEQ ID NO:9)、RSSQSLLRSSGYNYLD(SEQ ID NO:10)、RSSQSLLRSGGYNYLD(SEQ ID NO:11)、RSSQSLLRSRGYNYLD (SEQ ID NO:12)、RSSQSLLRSDGYNYLD (SEQ ID NO:13)、RSSQSLLRSHGYNYLD(SEQ ID NO:14)、RSSQSLLRSKGYNYLD(SEQ ID NO:15)、RSSQSLLRSQGYNYLD (SEQ ID NO:16)、RSSQSLLRSYGYNYLD(SEQ ID NO:17)、RSSQSLLRSEGYNYLD (SEQ ID NO:18)、RSSQSLLRSWGYNYLD(SEQ ID NO:19)、RSSQSLLRSFGYNYLD(SEQ ID NO:20)、RSSQSLLRSIGYNYLD (SEQ ID NO:21)、RSSQSLLRSVGYNYLD (SEQ ID NO:22)、RSSQSLLRSAGYNYLD (SEQ ID NO:23)、RSSQSLLRSMGYNYLD (SEQ ID NO:24)、RSSQSLLRSLGYNYLD(SEQ ID NO:25)、RSSQSLLHSNGYNYLD(SEQ ID NO:26)或RSSQGLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:27)。在一些实施方案中,HVR-L1包含序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)。在另一具体实施方案中,HVR-L1包含序列RSSQSLLRSTGYNYLD(SEQ ID NO:9)(如表19中所示)。

[0205] 在一些实施方案中,HVR-L2包含根据式IV的序列:LGSNRX1S(SEQ ID NO:31),其中X1是A或V。在一些实施方案中,HVR-L2包含选自SEQ ID NO:29-30的序列。

[0206] 在一些实施方案中,HVR-L3包含根据式V的序列:MQQQEX1PLT(SEQ ID NO:34),其中X1是A或T。在一些实施方案中,HVR-L3包含选自SEQ ID NO:32-33的序列。

[0207] 在一些实施方案中,HVR-L1包含与选自SEQ ID NO:8-27的氨基酸序列至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-L1包括含有取代(例如相对于选自SEQ ID NO:8-27的氨基酸序列的保守取代、插入或缺失)但保持结合至分拣蛋白的能力的氨基酸序列。在某些实施方案中,在选自SEQ ID NO:8-27的HVR-L1氨基酸序列中有至多1个、至多2个、至多3个、至多4个或至多5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在一些实施方案中,HVR-L2包含与选自SEQ ID NO:29-30的氨基酸序列至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-L2包括含有取代(例如相对于选自SEQ ID NO:29-30的氨基酸序列的保守取代、插入或缺失)但保持结合至分拣蛋白的能力的氨基酸序列。在某些实施方案中,在选自SEQ ID NO:29-30的HVR-L2氨基酸序列中有至多1个、至多2个、至多3个、至多4个或至多5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在一些实施方案中,HVR-L3包含与选自SEQ ID NO:32-33的氨基酸序列至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-L3包括含有取代(例如相对于选自SEQ ID NO:32-33的氨基酸序列的保守取代、插入或缺失)但保持结合至分拣蛋白的能力的氨基酸序列。在某些实施方案中,在选自SEQ ID NO:32-33的HVR-L3氨基酸序列中有至多1个、至多2个、至多3个、至多4个或至多5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。

[0208] 在一些实施方案中,所述轻链可变区包括含根据式III的序列的HVR-L1、含根据式IV的序列的HVR-L2和含根据式V的序列的HVR-L3。在一些实施方案中,所述轻链可变区包括含选自序列SEQ ID NO:8-27的HVR-L1、含选自序列SEQ ID NO:29-30的HVR-L2和含选自序列SEQ ID NO:32-33的HVR-L3。

[0209] 在一些实施方案中,轻链可变区包含抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5 [N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10 [N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16 [N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24或它们的任何组合的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3(如表17-表19中所示)。

[0210] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括轻链可变区,其中所述轻链可变区包含以下一个或多个:(a)含与抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5 [N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10 [N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12 [N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的HVR-L1氨基酸序列至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的HVR-L1;(b)含与抗体S-

60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2 [N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7 [N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10 [N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12 [N33F]、S-60-15.13 [N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的HVR-L2氨基酸序列至少85％、至少86％、至少87％、至少88％、至少89％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)含与抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4 [N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的HVR-L3氨基酸序列至少85％、至少86％、至少87％、至少88％、至少89％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的HVR-L3。

[0211] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2以及含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0212] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列RSSQSLLRSTGYNYLD(SEQ ID NO:9)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2以及含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0213] C.重链HVR和轻链HVR

[0214] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含选自HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3(如表14-表16中所示)的一个或多个(例如一个或多个、两个或更多个或全部三个)HVR的重链可变区;以及含选自HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3(如表17-表19中所示)的一个或多个(例如一个或多个、两个或更多个或全部三个)HVR的轻链可变区。在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3(如表14-表16中所示)且轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3(如表17-表19中所示)。

[0215] 在一些实施方案中,重链可变区包括含序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含根据式I的序列的HVR-H2和含根据式II的序列的HVR-H3,并且轻链可变区包括含根据式III的序列的HVR-L1、含根据式IV的序列的HVR-L2和含根据式V的序列的HVR-L3。在一些实施方案中,重链可变区包括含序列SEQ ID NO:1的HVR-H1、含选自序列SEQ ID NO:2-3的HVR-H2和含选自序列SEQ ID NO:5-6的HVR-H3,并且轻链可变区包括含选自序列SEQID NO:8-27的HVR-L1、含选自序列SEQ ID NO:29-30的HVR-L2和含选自序列SEQ ID NO:32-33的HVR-L3。

[0216] 在一些方面中,重链可变区包括含序列SEQ ID NO:1的HVR-H1、含选自序列SEQ ID NO:2-3的HVR-H2和含选自序列SEQ IDNO:5-6的HVR-H3,并且轻链可变区包括含选自序列SEQ ID NO:8-27的HVR-L1、含选自序列SEQ ID NO:29-30的HVR-L2和含序列SEQ ID NO:32的HVR-L3。

[0217] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24或它们的任何组合的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3(如表14-表16中所示)的重链可变区;以及含抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19、S-60-24或它们的任何组合的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3(如表17-表19中所示)的轻链可变区。

[0218] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区和含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的轻链可变区,其中所述抗体包含抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15 [N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3(如表14-表19中所示)。

[0219] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链可变区包含以下一个或多个:(a)含与抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的HVR-H1氨基酸序列至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的HVR-H1;(b)含与抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的HVR-H2氨基酸序列至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)含与抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9

[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的HVR-H3氨基酸序列至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的HVR-H3;并且其中所述轻链可变区包含以下一个或多个:(a)含与抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的HVR-L1氨基酸序列至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的HVR-L1;(b)含与抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2 [N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6 [N33H]、S-60-15.7 [N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的HVR-L2氨基酸序列至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)含与抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的HVR-L3氨基酸序列至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的HVR-L3。

[0220] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含:重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIQQGYYGMDV(SEQ ID NO:5)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0221] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含:重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIQQGYYGMDV(SEQ ID NO:5)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRVS(SEQ ID NO:30)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQETPLT(SEQ ID NO:33)的HVR-L3。

[0222] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含:重链可变区,所述重链可变区

包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLES(SEQ ID NO:3)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIQQGYYGMDV(SEQ ID NO:5)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0223] 在一些方面中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含:重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0224] 在一些方面中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括:重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSTGYNYLD(SEQ ID NO:9)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0225] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含:重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQETPLT(SEQ ID NO:33)的HVR-L3。

[0226] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含:重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIQQGYYGMDV(SEQ ID NO:5)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQSLLHSNGYNYLD(SEQ ID NO:26)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQETPLT(SEQ ID NO:33)的HVR-L3。

[0227] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含:重链可变区,所述重链可变区包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2、含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含氨基酸序列RSSQGLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:27)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2和含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0228] D.重链可变区

[0229] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含选自SEQ ID NO:54-56的氨基酸序列的重链可变区。在一些实施方案中,重链可变区包含与选自SEQ ID NO:54-56的氨基酸序列至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至

少约96％、至少约97％、至少约98％、至少约99％或100％相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,重链可变区包括含有取代(例如相对于选自SEQ ID NO:54-56的氨基酸序列的保守取代、插入或缺失)但保持结合至分拣蛋白的能力的氨基酸序列。在某些实施方案中,在选自SEQ ID NO:54-56的重链可变区氨基酸序列中有至多1个、至多2个、至多3个、至多4个、至多5个、至多6个、至多7个、至多8个、至多9个或至多10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。

[0230] 在一些实施方案中,所述重链可变区包含氨基酸序列SEQ IDNO:56。

[0231] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的重链可变区(如表30中所示)。

[0232] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列YSISSGYYWG(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含氨基酸序列TIYHSGSTYYNPSLKS(SEQ ID NO:2)的HVR-H2以及含氨基酸序列ARQGSIKQGYYGMDV(SEQ ID NO:6)的HVR-H3的重链可变区。

[0233] E.轻链可变区

[0234] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含选自SEQ ID NO:57-80的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,所述轻链可变区包含与选自SEQ ID NO:57-80的氨基酸序列至少约90％、至少约91％、至少约92％、至少约93％、至少约94％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％、至少约99％或100％相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,轻链可变区包括含有取代(例如相对于选自SEQ ID NO:57-80的氨基酸序列的保守取代、插入或缺失)但保持结合至分拣蛋白的能力的氨基酸序列。在某些实施方案中,在选自SEQ ID NO:57-80的轻链可变区氨基酸序列中有至多1个、至多2个、至多3个、至多4个、至多5个、至多6个、至多7个、至多8个、至多9个或至多10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。

[0235] 在一些实施方案中,所述轻链可变区包括氨基酸序列SEQ ID NO:57。在一些实施方案中,所述轻链可变区包括氨基酸序列SEQ ID NO:60。

[0236] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的轻链可变区(如表31中所示)。

[0237] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括轻链可变区,包括含氨基酸序列RSSQSLLRSNGYNYLD(SEQ ID NO:8)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2以及含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0238] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括轻链可变区,包括含氨基酸序列RSSQSLLRSTGYNYLD(SEQ ID NO:9)的HVR-L1、含氨基酸序列LGSNRAS(SEQ ID NO:29)的HVR-L2以及含氨基酸序列MQQQEAPLT(SEQ ID NO:32)的HVR-L3。

[0239] F重链可变区和轻链可变区

[0240] 在一些方面中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含选自由SEQ IDNO:54-56组成的组的氨基酸序列的重链可变区;和/或含选自由SEQID NO:57-80组成的组的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,所述重链可变区包含与选自SEQ ID NO:54-56的氨基酸序列至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或100%相同的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含与选自SEQ IDNO:57-80的氨基酸序列至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含有取代(例如相对于选自SEQID NO:54-56的氨基酸序列的保守取代、插入或缺失)但保持结合至分拣蛋白的能力的氨基酸序列的重链可变区,以及含有取代(例如相对于选自SEQ ID NO:57-80的氨基酸序列的保守取代、插入或缺失)但保持结合至分拣蛋白的能力的氨基酸序列的轻链可变区。在某些实施方案中,在选自SEQ ID NO:54-56的重链可变区氨基酸序列中有至多1个、至多2个、至多3个、至多4个、至多5个、至多6个、至多7个、至多8个、至多9个或至多10个氨基酸经取代、插入和/或缺失;并且在选自SEQ ID NO:57-80的轻链可变区氨基酸序列中有至多1个、至多2个、至多3个、至多4个、至多5个、至多6个、至多7个、至多8个、至多9个或至多10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。

[0241] 在一些方面中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含选自由SEQ ID NO:54-56组成的组的氨基酸序列的重链可变区;和/或含选自由SEQ ID NO:57-58、60-78和80组成的组的氨基酸序列的轻链可变区。

[0242] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合至分拣蛋白,其中所述抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:54的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:57的轻链可变区;含氨基酸序列SEQ ID NO:54的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:58的轻链可变区;含氨基酸序列SEQ ID NO:54的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:59的轻链可变区;含氨基酸序列SEQ ID NO:55的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:57的轻链可变区;含氨基酸序列SEQ ID NO:55的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:58的轻链可变区;含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:57的轻链可变区;含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:77的轻链可变区;含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:78的轻链可变区;含氨基酸序列SEQ ID NO:54的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:79的轻链可变区;或含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含氨基酸序列SEQ ID NO:80的轻链可变区。

[0243] 在一个方面中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括具有氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和具有氨基酸序列SEQ ID NO:57的轻链可变区。

[0244] 在一个方面中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括具有氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和具有氨基酸序列SEQ ID NO:60的轻链可变区。

[0245] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12

[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的重链可变区(如表30中所示);以及抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的轻链可变区(如表31中所示)。

[0246] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含选自SEQ ID NO:56和60的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,所述抗体包含S-60-15[N33(wt)]的重链可变区(如表30中所示)和抗体S-60-15[N33(wt)]的轻链可变区(如表31中所示)。在一些实施方案中,所述抗体包含S-60-15.1[N33T]的重链可变区(如表30中所示)和抗体S-60-15.1[N33T]的轻链可变区(如表31中所示)。

[0247] 例示性抗分拣蛋白抗体

[0248] 在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含选自以下的抗体的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白单克隆抗体:S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含选自以下的抗体的重链和轻链的抗分拣蛋白单克隆抗体:S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24。

[0249] (1)S-60-10

[0250] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含与抗体S-60-10的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:54至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列;且/或轻链可变结构域包含与抗体S-60-10的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:57至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-10的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:54至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的重链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含抗体S-60-10的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗

体包括含与抗体S-60-10的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:57至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的轻链可变结构域,其中所述轻链可变结构域包含抗体S-60-10的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-10的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:54具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％同一性的重链可变结构域(VH)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-10的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:54中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-10的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:54中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-10或SEQ ID NO:54的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-10的HVR-H1氨基酸序列;(b)抗体S-60-10的HVR-H2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-10的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-10的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:57具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％同一性的轻链可变结构域(VL)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-10的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:57中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-10的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:57中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-10或SEQ ID NO:57的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR序列:(a)抗体S-60-10的HVR-L1氨基酸序列;(b)抗体S-60-10的HVR-L2氨基酸序列;以及(c)抗体S-60-10的HVR-L3氨基酸序列。

[0251] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:105或SEQ ID NO:106的重链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:139的轻链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:105或SEQ ID NO:106的重链和含氨基酸序列SEQ IDNO:139的轻链。

[0252] (2)S-60-11

[0253] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含与抗体S-60-11的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:54至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列;且/或轻链可变结构域包含与抗体S-60-11的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:58至少

90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-11的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:54至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的重链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含抗体S-60-11的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-11的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:58至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的轻链可变结构域,其中所述轻链可变结构域包含抗体S-60-11的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-11的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:54具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％同一性的重链可变结构域(VH)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-11的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:54中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-11的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:54中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-11或SEQ ID NO:54的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-11的HVR-H1氨基酸序列;(b)抗体S-60-11的HVR-H2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-11的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-11的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:58具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％同一性的轻链可变结构域(VL)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-11的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:58中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-11的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:58中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-11或SEQ ID NO:58的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-11的HVR-L1氨基酸序列;(b)抗体S-60-11的HVR-L2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-11的HVR-L3氨基酸序列。

[0254] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:105或SEQ ID NO:106的重链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:140的轻链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:105或SEQ ID NO:106的重链和含氨基酸序列SEQ ID NO:140的轻链。

[0255] (3)S-60-12

[0256] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含与抗体S-60-12的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:54至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列;且/或轻链可变结构域包含与抗体S-60-12的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:59至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-12的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:54至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的重链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含抗体S-60-12的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-12的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:59至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的轻链可变结构域,其中所述轻链可变结构域包含抗体S-60-12的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-12的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:54具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的重链可变结构域(VH)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-12的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:54中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-12的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:54中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-12或SEQ ID NO:54的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-12的HVR-H1氨基酸序列;(b)抗体S-60-12的HVR-H2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-12的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-12的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:59具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的轻链可变结构域(VL)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-12的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:59中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-12的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ IDNO:59中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-12或SEQ ID NO:59的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-

60-12的HVR-L1氨基酸序列;(b)抗体S-60-12的HVR-L2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-12的HVR-L3氨基酸序列。

[0257] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:105或SEQ ID NO:106的重链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:141的轻链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:105或SEQ ID NO:106的重链和含氨基酸序列SEQ ID NO:141的轻链。

[0258] (4)S-60-13

[0259] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含与抗体S-60-13的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:55至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列;且/或轻链可变结构域包含与抗体S-60-13的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:57至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-13的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:55至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的重链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含抗体S-60-13的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-13的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:57至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的轻链可变结构域,其中所述轻链可变结构域包含抗体S-60-13的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-13的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:55具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的重链可变结构域(VH)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-13的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:55中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-13的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:55中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-13或SEQ ID NO:55的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-13的HVR-H1氨基酸序列;(b)抗体S-60-13的HVR-H2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-13的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-13的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:57具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的轻链可变结构域(VL)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-13的轻链可变结

构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:57中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-13的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ IDNO:57中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-13或SEQ ID NO:57的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-13的HVR-L1氨基酸序列;(b)抗体S-60-13的HVR-L2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-13的HVR-L3氨基酸序列。

[0260] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:135或SEQ ID NO:136的重链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:139的轻链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:135或SEQ ID NO:136的重链和含氨基酸序列SEQ ID NO:139的轻链。

[0261] (5)S-60-14

[0262] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含与抗体S-60-14的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:55至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列;且/或轻链可变结构域包含与抗体S-60-14的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:58至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-14的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:55至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的重链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含抗体S-60-14的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-14的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:58至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的轻链可变结构域,其中所述轻链可变结构域包含抗体S-60-14的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-14的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:55具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的重链可变结构域(VH)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-14的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:55中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-14的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:55中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-14或SEQ ID NO:55的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-14的HVR-H1氨基酸序列;(b)

抗体S-60-14的HVR-H2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-14的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-14的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:58具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的轻链可变结构域(VL)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-14的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:58中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-14的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:58中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-14或SEQ ID NO:58的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-14的HVR-L1氨基酸序列;(b)抗体S-60-14的HVR-L2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-14的HVR-L3氨基酸序列。

[0263] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:135或SEQ ID NO:136的重链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:140的轻链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:135或SEQ ID NO:136的重链和含氨基酸序列SEQ ID NO:140的轻链。

[0264] (6)S-60-15

[0265] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含与抗体S-60-15的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:56至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列;且/或轻链可变结构域包含与抗体S-60-15的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:57至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-15的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:56至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的重链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含抗体S-60-15的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-15的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ IDNO:57至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的轻链可变结构域,其中所述轻链可变结构域包含抗体S-60-15的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-15的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:56具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的重链可变结构域(VH)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-15的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列

SEQ ID NO:56中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-15的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:56中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-15或SEQ ID NO:56的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-15的HVR-H1氨基酸序列;(b)抗体S-60-15的HVR-H2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-15的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-15的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:57具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的轻链可变结构域(VL)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-15的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:57中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-15的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ IDNO:57中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-15或SEQ ID NO:57的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-15的HVR-L1氨基酸序列;(b)抗体S-60-15的HVR-L2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-15的HVR-L3氨基酸序列。

[0266] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:137或SEQ ID NO:138的重链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:139的轻链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:137或SEQ ID NO:138的重链和含氨基酸序列SEQ ID NO:139的轻链。

[0267] (7)S-60-15.1

[0268] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含与抗体S-60-15.1的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:56至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列;且/或轻链可变结构域包含与抗体S-60-15.1的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:60至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-15.1的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:56至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的重链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含抗体S-60-15.1的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-15.1的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ IDNO:60至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的轻链可变结构域,其中所述轻链可变结构域包

含抗体S-60-15.1的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-15.1的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:56具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的重链可变结构域(VH)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-15.1的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:56中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-15.1的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:56中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-15.1或SEQ ID NO:56的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-15.1的HVR-H1氨基酸序列;(b)抗体S-60-15.1的HVR-H2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-15.1的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-15.1的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:60具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的轻链可变结构域(VL)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-15.1的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:60中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-15.1的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:60中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-15.1或SEQ IDNO:60的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-15.1的HVR-L1氨基酸序列;(b)抗体S-60-15.1的HVR-L2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-15.1的HVR-L3氨基酸序列。

[0269] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:137或SEQ ID NO:138的重链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:142的轻链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:137或SEQ ID NO:138的重链和含氨基酸序列SEQ IDNO:142的轻链。

[0270] (8)S-60-16

[0271] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含与抗体S-60-16的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:56至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列;且/或轻链可变结构域包含与抗体S-60-16的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:77至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-16的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:56至少90%、至

少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的重链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含抗体S-60-16的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-16的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ IDNO:77至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的轻链可变结构域,其中所述轻链可变结构域包含抗体S-60-16的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-16的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:56具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％同一性的重链可变结构域(VH)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-16的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:56中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-16的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:56中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-16或SEQ ID NO:56的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-16的HVR-H1氨基酸序列;(b)抗体S-60-16的HVR-H2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-16的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-16的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:77具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％同一性的轻链可变结构域(VL)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-16的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:77中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-16的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ IDNO:77中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-16或SEQ ID NO:77的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-16的HVR-L1氨基酸序列;(b)抗体S-60-16的HVR-L2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-16的HVR-L3氨基酸序列。

[0272] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:137或SEQ ID NO:138的重链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:131的轻链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:137或SEQ ID NO:138的重链和含氨基酸序列SEQ ID NO:131的轻链。

[0273] (9)S-60-18

[0274] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含与抗体S-60-18的重链可变结构域氨基酸序列或与氨

基酸序列SEQ ID NO:56至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列;且/或轻链可变结构域包含与抗体S-60-18的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:78至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-18的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:56至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的重链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含抗体S-60-18的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-18的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ IDNO:78至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％相同的氨基酸序列的轻链可变结构域,其中所述轻链可变结构域包含抗体S-60-18的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-18的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:56具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％同一性的重链可变结构域(VH)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-18的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:56中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-18的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:56中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-18或SEQ ID NO:56的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-18的HVR-H1氨基酸序列;(b)抗体S-60-18的HVR-H2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-18的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-18的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:78具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％同一性的轻链可变结构域(VL)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-18的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:78中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-18的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:78中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-18或SEQ ID NO:78的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-18的HVR-L1氨基酸序列;(b)抗体S-60-18的HVR-L2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-18的HVR-L3氨基酸序列。

[0275] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:137

或SEQ ID NO:138的重链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:132的轻链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:137或SEQ ID NO:138的重链和含氨基酸序列SEQ ID NO:132的轻链。

[0276] (10)S-60-19

[0277] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含与抗体S-60-19的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:54至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列;且/或轻链可变结构域包含与抗体S-60-19的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:79至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-19的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:54至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的重链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含抗体S-60-19的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-19的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:79至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的轻链可变结构域,其中所述轻链可变结构域包含抗体S-60-19的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-19的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:54具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的重链可变结构域(VH)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-19的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:54中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-19的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:54中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-19或SEQ ID NO:54的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-19的HVR-H1氨基酸序列;(b)抗体S-60-19的HVR-H2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-19的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-19的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:79具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的轻链可变结构域(VL)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-19的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:79中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-19的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ IDNO:79中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或

缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-19或SEQ ID NO:79的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-19的HVR-L1氨基酸序列;(b)抗体S-60-19的HVR-L2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-19的HVR-L3氨基酸序列。

[0278] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:105或SEQ ID NO:106的重链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:133的轻链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:105或SEQ ID NO:106的重链和含氨基酸序列SEQ IDNO:133的轻链。

[0279] (11)S-60-24

[0280] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含与抗体S-60-24的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:56至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列;且/或轻链可变结构域包含与抗体S-60-24的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:80至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-24的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:56至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的重链可变结构域,其中所述重链可变结构域包含抗体S-60-24的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含与抗体S-60-24的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:80至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同的氨基酸序列的轻链可变结构域,其中所述轻链可变结构域包含抗体S-60-24的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-24的重链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:56具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的重链可变结构域(VH)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-24的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:56中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-24的重链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:56中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-24或SEQ ID NO:56的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-24的HVR-H1氨基酸序列;(b)抗体S-60-24的HVR-H2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-24的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含与抗体S-60-24的轻链可变结构域氨基酸序列或与氨基酸序列SEQ ID NO:80具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少

95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％同一性的轻链可变结构域(VL)序列,并且含有取代(例如相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗分拣蛋白抗体保持结合至分拣蛋白的能力。在某些实施方案中,在抗体S-60-24的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:80中有总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体S-60-24的轻链可变结构域氨基酸序列或氨基酸序列SEQ ID NO:80中有总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失出现在HVR外的区域(即,在FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失出现在FR区中。任选地,抗分拣蛋白抗体包含抗体S-60-24或SEQ ID NO:80的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体S-60-24的HVR-L1氨基酸序列;(b)抗体S-60-24的HVR-L2氨基酸序列;和(c)抗体S-60-24的HVR-L3氨基酸序列。

[0281] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:137或SEQ ID NO:138的重链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含氨基酸序列SEQ ID NO:137或SEQ ID NO:138的重链和含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的轻链。

[0282] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合与包含选自由以下组成的组的抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域的抗体基本上相同的分拣蛋白表位:S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15 [N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-16、S-60-18、S-60-19和S-60-24。

[0283] 在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是抗分拣蛋白单克隆抗体S-60-10。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是结合与S-60-10基本上相同的分拣蛋白表位的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-10的重链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-10的轻链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-10的重链可变区和轻链可变区的分离的抗体。

[0284] 在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是抗分拣蛋白单克隆抗体S-60-11。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是结合与S-60-11基本上相同的分拣蛋白表位的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-11的重链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-11的轻链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-11的重链可变区和轻链可变区的分离的抗体。

[0285] 在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是抗分拣蛋白单克隆抗体S-60-12。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是结合与S-60-12基本上相同的分拣蛋白表位的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-12的重链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-12的轻链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-12的重链可变区和轻链可变区的分离的抗体。

[0286] 在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是抗分拣蛋白单克隆抗体S-60-13。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是结合与S-60-13基本上相同的分拣蛋白表位的分离

的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-13的重链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-13的轻链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-13的重链可变区和轻链可变区的分离的抗体。

[0287] 在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是抗分拣蛋白单克隆抗体S-60-14。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是结合与S-60-14基本上相同的分拣蛋白表位的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-14的重链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-14的轻链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-14的重链可变区和轻链可变区的分离的抗体。

[0288] 在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是抗分拣蛋白单克隆抗体S-60-15。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是结合与S-60-15基本上相同的分拣蛋白表位的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-15的重链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-15的轻链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-15的重链可变区和轻链可变区的分离的抗体。

[0289] 在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是抗分拣蛋白单克隆抗体S-60-15.1。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是结合与S-60-15.1基本上相同的分拣蛋白表位的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-15.1的重链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-15.1的轻链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-15.1的重链可变区和轻链可变区的分离的抗体。

[0290] 在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是抗分拣蛋白单克隆抗体S-60-16。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是结合与S-60-16基本上相同的分拣蛋白表位的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-16的重链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-16的轻链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-16的重链可变区和轻链可变区的分离的抗体。

[0291] 在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是抗分拣蛋白单克隆抗体S-60-18。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是结合与S-60-18基本上相同的分拣蛋白表位的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-18的重链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-18的轻链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-18的重链可变区和轻链可变区的分离的抗体。

[0292] 在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是抗分拣蛋白单克隆抗体S-60-19。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是结合与S-60-19基本上相同的分拣蛋白表位的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-19的重链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-19的轻链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-19

的重链可变区和轻链可变区的分离的抗体。

[0293] 在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是抗分拣蛋白单克隆抗体S-60-24。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是结合与S-60-24基本上相同的分拣蛋白表位的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-24的重链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-24的轻链可变区的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是包含单克隆抗体S-60-24的重链可变区和轻链可变区的分离的抗体。

[0294] 在某些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是拮抗剂抗体。在某些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体是激动剂抗体。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体属于IgG类别、IgM类别或IgA类别。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体属于IgG类别且具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。

[0295] 另外的抗分拣蛋白抗体,例如特异性结合至本公开的分拣蛋白的抗体可以通过此项技术中已知的各种测定进行鉴别、筛选和/或物理/化学特性和/或生物活性表征。

[0296] 本公开的某些方面涉及两种或更多种抗分拣蛋白抗体的用途,相较于使用相应单一抗分拣蛋白抗体,所述抗体当一起使用时展示加和或协同作用。

[0297] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体是结合至人类分拣蛋白的抗体片段。

[0298] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体是结合至一种或多种选自由以下组成的组的人类蛋白质的抗体片段:人类分拣蛋白、人类分拣蛋白的天然存在的变体和人类分拣蛋白的疾病变体。

[0299] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体是抗体片段,其中所述抗体片段是Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')2、Fv或scFv片段。

[0300] 抗体框架

[0301] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含选自VH FR1、VHFR2、VHFR3和VHFR4(如表20-表23中所示)的一个或多个(例如一个或多个、两个或更多两个、三个或更多个或全部四个)框架区的重链可变区。在一些实施方案中,VHFR1包含序列QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSG(SEQ ID NO:35)。在一些实施方案中,VHFR2包含序列WIRQPPGKGLEWIG(SEQ ID NO:36)。在一些实施方案中,VHFR3包含根据式VI的序列:X_1VTISVDTSKNQFSLX_2LSSVTAADTAVYYC(SEQ ID NO:39),其中X_1是Q或R,并且X_2是E或K。在一些实施方案中,VH FR3包含选自由SEQ ID NO:37-38组成的组的序列。在一些实施方案中,VH FR4包含序列WGQGTTVTVSS(SEQ ID NO:40)。在一些实施方案中,抗体包含重链可变区,其包括含序列SEQ ID NO:35的VHFR1、含序列SEQ ID NO:36的VHFR2、根据式VI的VHFR3和含序列SEQID NO:40的VHFR4。

[0302] 在一些实施方案中,抗体包含重链可变区,所述重链可变区包括含序列SEQ ID NO:35的VH FR1、含序列SEQ ID NO:36的VHFR2、含选自序列SEQ ID NO:37-38的VHFR3和含序列SEQ IDNO:40的VHFR4。

[0303] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-

60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的VHFR1、VHFR2、VHFR3和VHFR4(如表20-表23中所示)的重链可变区。

[0304] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含选自VLFR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4(如表24-表27中所示)的一个或多个(例如一个或多个、两个或更多个、三个或更多个或全部四个)框架区的轻链可变区。在一些实施方案中,VL FR1包含根据式VII的序列:DIVMTQSPLSLPVTPGX$_1$X$_2$ASISC(SEQ ID NO:44),其中X$_1$是E或G,并且X$_2$是P或S。在一些实施方案中,VL FR1包含选自由SEQ ID NO:41-43组成的组的序列。在一些实施方案中,VL FR2包含根据式VIII的序列:WYLQKPGQX$_1$PQLLIY(SEQ ID NO:47),其中X$_1$是S或P。在一些实施方案中,VL FR2包含选自由SEQ ID NO:45-46组成的组的序列。在一些实施方案中,VL FR3包含根据式IX的序列:GVPDRX$_1$SGSGSGTDFTLKISRX$_2$EAEDVGX$_3$YYC(SEQ IDNO:52),其中X$_1$是F或L,X$_2$是A或V,并且X$_3$是V或A。在一些实施方案中,VL FR3包含选自由SEQ ID NO:48-51组成的组的序列。在一些实施方案中,VL FR4包含序列FGGGTKVEIK(SEQ IDNO:53)。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含轻链可变区,其包括含根据式VII的序列的VL FR1、含根据式VIII的序列的VL FR2、含根据式IX的序列的VL FR3和含序列SEQ ID NO:53的VL FR4。

[0305] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含轻链可变区,其包括含选自序列SEQ ID NO:41-43的VL FR1、含选自序列SEQID NO:45-46的VL FR2、含选自序列SEQ ID NO:48-51的VL FR3和含序列SEQ ID NO:53的VL FR4。

[0306] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10 [N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16 [N33M]、S-60-15.17 [N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4(如表24-表27中所示)的轻链可变区。

[0307] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含选自VH FR1、VHFR2、VHFR3和VHFR4(如表20-表23中所示)的一个或多个(例如一个或多个、两个或更多个、三个或更多个或全部四个)框架区的重链可变区,和含选自VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4(如表24-表27中所示)的一个或多个(例如一个或多个、两个或更多个、三个或更多个或全部四个)框架区的轻链可变区。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含:重链可变区,所述重链可变区包括含序列SEQ ID NO:35的VH FR1、含序列SEQ ID NO:36的VH FR2、含根据式VI的VHFR3和含序列SEQ ID NO:40的VHFR4;和轻链可变区,所述轻链可变区包括含根据式VII的序列的VL FR1、含根据式VIII的序列的VL FR2、含根据式IX的序列的VL FR3和含序列SEQ ID NO:53的VL FR4。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包含:重链可变区,所述重链可变区包括含序列SEQ ID NO:35的VHFR1、含序列SEQ ID NO:36的VH FR2、含选自序列SEQ ID NO:37-38的VHFR3和含序列SEQ ID NO:40的VH FR4;轻链可变区,所述轻链可变区包括含选自序列SEQ ID NO:41-43的VL FR1、含选自序列SEQ ID NO:45-46的VL FR2、含选自序列SEQID NO:48-51的VL FR3和含序列SEQ ID NO:53的VL FR4。

[0308] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体包括含抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的VH FR1、VH FR2、VH FR3和VHFR4(如表20-表23中所示)的重链可变区;以及含抗体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19或S-60-24的VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4(如表24-表27中所示)的轻链可变区。

[0309] 抗分拣蛋白抗体活性

[0310] 在所述抗分拣蛋白抗体中任一种的某些方面中,本公开的抗分拣蛋白抗体可抑制分拣蛋白的一种或多种活性,包括但不限于降低细胞分拣蛋白水平(例如细胞表面分拣蛋白水平、细胞内分拣蛋白水平和/或总分拣蛋白水平);增加前颗粒体蛋白水平(例如细胞外前颗粒体蛋白水平和/或细胞前颗粒体蛋白水平);和抑制前颗粒体蛋白与分拣蛋白之间的相互作用(例如结合)。如本文所预期,本公开的抗分拣蛋白抗体可抑制分拣蛋白的另外活性,包括但不限于抑制与以下一种或多种的相互作用(例如结合):本公开的前神经营养素(前神经营养素-3、前神经营养素4/5、pro-NGF、pro-BDNF等)、本公开的神经营养素(神经营养素-3、神经营养素4/5、NGF、BDNF等)、神经降压素、p75、分拣蛋白前肽(Sort-pro)、淀粉样前驱蛋白(APP)、Aβ肽、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)、载脂蛋白E(APOE)和受体相关蛋白(RAP);减少PCSK9的分泌;减少β淀粉样肽的产生。

[0311] 在某些实施方案中,本公开提供一种抗分拣蛋白抗体,其中(a)抗分拣蛋白抗体增加细胞外前颗粒体蛋白水平、降低细胞分拣蛋白水平、抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用,或它们的任何组合;(b)抗分拣蛋白抗体降低细胞表面分拣蛋白水平、增加细胞外前颗粒体蛋白水平、抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用,或它们的任何组合;(c)抗分拣蛋白抗体降低细胞表面分拣蛋白水平、降低细胞内分拣蛋白水平、降低分拣蛋白总水平,或它们的任何组合;(d)抗分拣蛋白抗体诱导分拣蛋白降解、分拣蛋白裂解、分拣蛋白内化、分拣蛋白下调或它们的任何组合;(e)抗分拣蛋白抗体降低细胞分拣蛋白水平并抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用;(f)抗分拣蛋白抗体降低细胞分拣蛋白水平并增加细胞前颗粒体蛋白水平;和/或(g)抗分拣蛋白抗体增加前颗粒体蛋白的有效浓度。

[0312] 在某些实施方案中,本公开提供一种抗分拣蛋白抗体,其中所述抗分拣蛋白抗体降低细胞表面分拣蛋白水平、增加细胞外前颗粒体蛋白水平、抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用,或它们的任何组合。

[0313] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体(a)降低细胞表面分拣蛋白水平,其中如通过流式细胞测量术所测量,其半数最大有效浓度(EC_{50})小于150pM;(b)使细胞表面分

拣蛋白水平在1.25nM IgG下相对于对照降低超过约50％、在0.63nM IgG下降低超过约80％或在150nM IgG下降低超过约69％,此是通过流式细胞测量术测量;使前颗粒体蛋白分泌在0.63nM IgG下为对照的约1.13倍以上,或在50nM IgG下为对照的约1.22倍以上,此是通过标准ELISA测量;阻断前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合,其中如通过流式细胞测量术所测量,其半数最大有效浓度(EC_{50})小于0.325nM;(e)使前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合在50nM IgG下相对于对照阻断超过约88％,或在150nM IgG下阻断超过约27.5％,此是通过流式细胞测量术测量;或(f)它们的任何组合(参见例如实施例2-4)。

[0314] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体(a)降低细胞表面分拣蛋白水平,其中如通过流式细胞测量术所测量,其半数最大有效浓度(EC_{50})小于681pM;(b)使细胞表面分拣蛋白水平在1.25nM IgG下相对于对照降低超过约40％、在0.6nM IgG下降低超过约29％或在150nM IgG下降低超过约62％,此是通过流式细胞测量术测量;(c)使前颗粒体蛋白分泌在0.63nM IgG下为对照的约1.11倍以上,或在50nM IgG下为对照的约1.75倍以上,此是通过标准ELISA测量;(d)阻断前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合,其中如通过流式细胞测量术所测量,其半数最大有效浓度(EC_{50})小于0.751nM;(e)使前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合在50nM IgG下相对于对照阻断超过约90％,或在150nM IgG下阻断超过约95％,此是通过流式细胞测量术测量;或(f)它们的任何组合(参见例如实施例2-4)。

[0315] 降低分拣蛋白水平

[0316] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合至细胞表面上表达的本公开的分拣蛋白并在结合至所述表面表达的分拣蛋白之后,调节(例如诱导或抑制)本公开的一种或多种分拣蛋白活性。

[0317] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体减少活体外细胞分拣蛋白水平。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体可减少活体内(例如个体的脑中和/或周围器官中)细胞分拣蛋白水平。在一些实施方案中,细胞分拣蛋白水平降低包含细胞表面分拣蛋白水平降低。如本文所使用,如果通过任何活体外基于细胞的测定或本文所描述或此项技术中已知的适合活体内模型测量,抗分拣蛋白抗体在饱和抗体浓度(例如0.6nM、0.63nM、1.25nM、50nM或150nM)下和/或相对于对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)诱导细胞表面分拣蛋白水平降低,那么所述抗体降低细胞表面分拣蛋白水平。在一些实施方案中,细胞分拣蛋白水平降低包含细胞内分拣蛋白水平降低。如本文所预期,如果通过任何活体外基于细胞的测定或本文所描述或此项技术中已知的适合活体内模型测量,抗分拣蛋白抗体在饱和抗体浓度下和/或相对于对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)诱导细胞内分拣蛋白水平降低,那么所述抗体降低细胞内分拣蛋白水平。在一些实施方案中,细胞分拣蛋白水平降低包含总分拣蛋白水平降低。如本文所预期,如果通过任何活体外基于细胞的测定或本文所描述或此项技术中已知的适合活体内模型测量,抗分拣蛋白抗体在饱和抗体浓度下和/或相对于对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)诱导总分拣蛋白水平降低,那么所述抗体降低总分拣蛋白水平。

[0318] 如本文所使用,分拣蛋白水平可指编码分拣蛋白的基因的表达水平;一种或多种编码分拣蛋白的转录物的表达水平;分拣蛋白的表达水平;和/或细胞内和/或细胞表面上存在的分拣蛋白的量。此项技术中已知的用于测量基因表达、转录、翻译和/或蛋白质丰度

水平或定位的任何方法均可用于确定分拣蛋白水平。

[0319] 细胞分拣蛋白水平可指但不限于细胞表面分拣蛋白水平、细胞内分拣蛋白水平和总分拣蛋白水平。在一些实施方案中,细胞分拣蛋白水平降低包括细胞表面分拣蛋白水平降低。在一些实施方案中,降低细胞分拣蛋白水平(例如细胞表面分拣蛋白水平)的本公开的抗分拣蛋白抗体具有以下一种或多种特征:(1)抑制或降低一种或多种分拣蛋白活性;(2)能够抑制或减少分拣蛋白与其一种或多种配体的结合;(3)能够减少分拣蛋白表达细胞中的分拣蛋白表达;(4)能够与分拣蛋白相互作用、结合分拣蛋白或识别分拣蛋白;(5)能够与分拣蛋白特异性相互作用或结合;以及(6)能够治疗、改善或预防本文所描述或预期的疾病或病症的任何方面。

[0320] 在一些实施方案中,本公开的分离的抗分拣蛋白抗体诱导分拣蛋白下调。在一些实施方案中,本公开的分离的抗分拣蛋白抗体诱导分拣蛋白裂解。在一些实施方案中,本公开的分离的抗分拣蛋白抗体诱导分拣蛋白内化。在一些实施方案中,本公开的分离的抗分拣蛋白抗体诱导分拣蛋白脱落。在一些实施方案中,本公开的分离的抗分拣蛋白抗体诱导分拣蛋白降解。在一些实施方案中,本公开的分离的抗分拣蛋白抗体诱导分拣蛋白脱敏化。在一些实施方案中,本公开的分离的抗分拣蛋白抗体充当配体模拟物以瞬时活化分拣蛋白。在一些实施方案中,本公开的分离的抗分拣蛋白抗体充当配体模拟物并在瞬时活化分拣蛋白之后诱导细胞分拣蛋白水平降低和/或对分拣蛋白与一种或多种分拣蛋白配体之间相互作用(例如结合)的抑制。在一些实施方案中,本公开的分离的抗分拣蛋白抗体充当配体模拟物并在瞬时活化分拣蛋白之后诱导分拣蛋白降解。在一些实施方案中,本公开的分离的抗分拣蛋白抗体充当配体模拟物并在瞬时活化分拣蛋白之后诱导分拣蛋白裂解。在一些实施方案中,本公开的分离的抗分拣蛋白抗体充当配体模拟物并在瞬时活化分拣蛋白之后诱导分拣蛋白内化。在一些实施方案中,本公开的分离的抗分拣蛋白抗体充当配体模拟物并在瞬时活化分拣蛋白之后诱导分拣蛋白脱落。在一些实施方案中,本公开的分离的抗分拣蛋白抗体充当配体模拟物并在瞬时活化分拣蛋白之后诱导分拣蛋白表达下调。在一些实施方案中,本公开的分离的抗分拣蛋白抗体充当配体模拟物并在瞬时活化分拣蛋白之后诱导分拣蛋白脱敏化。

[0321] 在某些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体可通过诱导分拣蛋白降解来降低细胞分拣蛋白水平(例如细胞表面分拣蛋白水平、细胞内分拣蛋白水平和/或总分拣蛋白水平)。因此,在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体诱导分拣蛋白降解。

[0322] 本公开的抗分拣蛋白抗体可以在皮摩尔浓度范围内的半数最大有效浓度(EC_{50})(例如当在活体外测量时)降低细胞分拣蛋白水平(例如细胞表面水平)。在某些实施方案中,所述抗体的EC_{50}小于约680.9pM。在某些实施方案中,所述抗体的EC_{50}是约72.58pM至约680.9nM。在某些实施方案中,所述抗体的EC_{50}是约103.6pM至约680.9nM。在某些实施方案中,所述抗体的EC_{50}小于约600pM、500pM、400pM、300pM、200pM、100pM、50pM、40pM、30pM、20pM、10pM、1pM或0.5pM。

[0323] 在一些实施方案中,所述抗体的EC_{50}小于约或等于约675pM、650pM、625pM、600pM、575pM、550pM、525pM、500pM、475pM、450pM、425pM、400pM、375pM、350pM、325pM、300pM、275pM、250pM、225pM、200pM、175pM、150pM、125pM、100pM、90pM、80pM、70pM、60pM、50pM、40pM、30pM、20pM、10pM、9pM、8pM、7pM、6pM、5pM、4pM、3pM、2pM、1pM或0.5pM。

[0324] 在一些实施方案中,所述抗体的EC_{50}小于约680.9pM。在一些实施方案中,所述抗体的EC_{50}大于约或等于约0.1pM、0.5pM、1pM、10pM、20pM、30pM、40pM、50pM、60pM、70pM、80pM、90pM、100pM、125pM、150pM、175pM、200pM、225pM、250pM、275pM、300pM、325pM、350pM、375pM、400pM、425pM、450pM、475pM、500pM、525pM、550pM、575pM、600pM、625pM、650pM、675pM。即,所述抗体的EC_{50}可在具有约675pM、650nM、650pM、625pM、600pM、575pM、550pM、525pM、500pM、475pM、450pM、425pM、400pM、375pM、350pM、325pM、300pM、275pM、250pM、225pM、200pM、175pM、150pM、125pM、100pM、90pM、80pM、70pM、60pM、50pM、40pM、30pM、20pM、10pM、1pM或0.5pM的上限和约0.1pM、0.5pM、1pM、10pM、20pM、30pM、40pM、50pM、60pM、70pM、80pM、90pM、100pM、125pM、150pM、175pM、200pM、225pM、250pM、275pM、300pM、325pM、350pM、375pM、400pM、425pM、450pM、475pM、500pM、525pM、550pM、575pM、600pM、625pM、650pM或675pM的独立选择的下限的任何范围内,其中所述下限小于所述上限。在一些实施方案中,所述抗体的EC_{50}是约1pM、2pM、3pM、4pM、5pM、6pM、7pM、8pM、9pM、10pM、15pM、20pM、25pM、30pM、35pM、40pM、45pM、50pM、55pM、60pM、65pM、70pM、75pM、80pM、85pM、90pM、95pM、100pM、105pM、110pM、115pM、120pM、125pM、130pM、135pM、140pM、145pM、150pM、155pM、160pM、165pM、170pM、175pM、180pM、185pM、190pM、195pM或200pM中的任一个。

[0325] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体降低细胞表面分拣蛋白水平,如通过流式细胞测量术所测量,其半数最大有效浓度(EC_{50})小于150pM。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体的EC_{50}是约103.6pM。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体的EC_{50}是约72.58pM。

[0326] 在一些实施方案中,如通过流式细胞测量术所测量,本公开的抗分拣蛋白抗体使细胞表面分拣蛋白水平在1.25nM IgG下降低超过40%或在0.63nM IgG下降低超过约80%。在一些实施方案中,如通过流式细胞测量术所测量,本公开的抗分拣蛋白抗体使细胞表面分拣蛋白水平在1.25nM IgG下降低约60.92%。在一些实施方案中,如通过流式细胞测量术所测量,本公开的抗分拣蛋白抗体使细胞表面分拣蛋白水平在150nM IgG下降低约69.3%。在一些实施方案中,如通过流式细胞测量术所测量,本公开的抗分拣蛋白抗体使细胞表面分拣蛋白水平在150nM IgG下降低约70.3%。

[0327] 此项技术中已知多种测量抗体EC_{50}值的方法,包括例如流式细胞测量术(参见例如实施例2)。在一些实施方案中,EC_{50}是使用经工程改造成表达人类分拣蛋白的细胞测量。在一些实施方案中,EC_{50}是在约4℃的温度下测量。在一些实施方案中,EC_{50}是在约25℃的温度下测量。在一些实施方案中,EC_{50}是在约35℃的温度下测量。在一些实施方案中,EC_{50}是在约37℃的温度下测量。在一些实施方案中,EC_{50}是使用单价抗体(例如Fab)或呈单价形式的全长抗体确定。在一些实施方案中,EC_{50}是使用含有展示增强的Fc受体结合的恒定区的抗体确定。在一些实施方案中,EC_{50}是使用含有展示减少的Fc受体结合的恒定区的抗体确定。

[0328] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体在降低细胞表面分拣蛋白水平方面的效力高于对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体以低于对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)的EC_{50}(例如在活体外测量)降低细胞分拣蛋白水平(例如细胞表面水平)。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体以比对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)的EC_{50}低至少约

5％、至少约10％、至少约15％、至少约20％、至少约25％、至少约30％、至少约35％、至少约40％、至少约45％、至少约50％、至少约55％、至少约60％、至少约65％、至少约70％、至少约75％、至少约80％、至少约85％、至少约90％、至少约95％或至少约99％的EC_{50}降低细胞分拣蛋白水平(例如细胞表面水平)。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体以比对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)的EC_{50}低至少约1倍、至少约1.1倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约6倍、至少约7倍、至少约8倍、至少约9倍、至少约10倍、至少约12.5倍、至少约15倍、至少约17.5倍、至少约20倍、至少约22.5倍、至少约25倍、至少约27.5倍、至少约30倍、至少约50倍或至少约100倍的EC_{50}降低细胞分拣蛋白水平(例如细胞表面水平)。

[0329] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体的EC_{50}比对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)低至少1.5倍。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体的EC_{50}比对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)低至少1.1倍。

[0330] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体(a)降低细胞表面分拣蛋白水平,其中如通过流式细胞测量术所测量,其半数最大有效浓度(EC_{50})小于681pM;(b)使细胞表面分拣蛋白水平在1.25nM IgG下相对于对照降低超过约40％、在0.6nM IgG下降低超过约29％或在150nM IgG下降低超过约62％,此是通过流式细胞测量术测量;(c)使前颗粒体蛋白分泌在0.63nM IgG下为对照的约1.11倍以上,或在50nM IgG下为对照的约1.75倍以上,此是通过标准ELISA测量;(d)阻断前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合,其中如通过流式细胞测量术所测量,其半数最大有效浓度(EC_{50})小于0.751nM;(e)使前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合在50nM IgG下相对于对照阻断超过约90％,或在150nM IgG下阻断超过约95％,此是通过流式细胞测量术测量;或(f)它们的任何组合(参见例如实施例2-4)。

[0331] 增加前颗粒体蛋白水平

[0332] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体增加活体外细胞外前颗粒体蛋白水平。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体可增加或在活体内(例如个体的脑、血液和/或周围器官中)增加细胞前颗粒体蛋白水平。如本文所使用,如果通过任何活体外基于细胞的测定或本文所描述或此项技术中已知的基于组织(诸如基于脑组织)的测定测量,抗分拣蛋白抗体在饱和抗体浓度(例如0.6nM、0.63nM、1.25nM、50nM或150nM)下和/或相对于对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)诱导细胞外前颗粒体蛋白增加,那么所述抗体增加细胞外前颗粒体蛋白水平。如本文所预期,如果通过任何活体外基于细胞的测定或本文所描述或此项技术中已知的基于组织(诸如基于脑组织)的测定测量,抗分拣蛋白抗体在饱和抗体浓度(例如0.6nM、0.63nM、1.25nM、50nM或150nM)下和/或相对于对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)诱导细胞前颗粒体蛋白增加,那么所述抗体增加细胞前颗粒体蛋白水平。

[0333] 如本文所使用,前颗粒体蛋白水平可指编码前颗粒体蛋白的基因的表达水平;一种或多种编码前颗粒体蛋白的转录物的表达水平;前颗粒体蛋白的表达水平;和/或由细胞分泌和/或在细胞内存在的前颗粒体蛋白的量。此项技术中已知的用于测量基因表达、转录、翻译、蛋白质丰度、蛋白质分泌水平和/或蛋白质定位的任何方法均可用于确定前颗粒体蛋白水平。

[0334] 如本文所使用,前颗粒体蛋白水平可指但不限于细胞外前颗粒体蛋白水平、细胞内前颗粒体蛋白水平和总前颗粒体蛋白水平。在一些实施方案中,前颗粒体蛋白水平增加包含细胞外前颗粒体蛋白水平增加。

[0335] 在一些实施方案中,如通过标准ELISA所测量,本公开的抗分拣蛋白抗体在0.63nM IgG下使前颗粒体蛋白分泌为对照的约1.11倍以上。在一些实施方案中,如通过标准ELISA所测量,本公开的抗分拣蛋白抗体在0.63nM IgG下使前颗粒体蛋白分泌为对照的约1.42倍。在一些实施方案中,如通过标准ELISA所测量,本公开的抗分拣蛋白抗体使前颗粒体蛋白分泌在50nM IgG下为对照的约1.75倍以上。在一些实施方案中,如通过标准ELISA所测量,本公开的抗分拣蛋白抗体在50nM IgG下使前颗粒体蛋白分泌为对照的约1.97倍。在一些实施方案中,如通过标准ELISA所测量,本公开的抗分拣蛋白抗体在50nM IgG下使前颗粒体蛋白分泌为对照的约2.29倍。

[0336] 此项技术中已知多种测量前颗粒体蛋白分泌的方法,包括例如ELISA(参见例如实施例2和4)。在一些实施方案中,EC_{50}是在活体外使用表达人类分拣蛋白的细胞测量。在一些实施方案中,前颗粒体蛋白分泌是使用单价抗体(例如Fab)或呈单价形式的全长抗体确定。在一些实施方案中,前颗粒体蛋白分泌是使用含有展示增强的Fc受体结合的恒定区的抗体确定。在一些实施方案中,前颗粒体蛋白分泌是使用含有展示减少的Fc受体结合的恒定区的抗体确定。

[0337] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体在增加前颗粒体蛋白水平方面的效力高于对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体以低于对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)的EC_{50}(例如在活体外测量)增加前颗粒体蛋白水平(例如细胞外水平)。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体使前颗粒体蛋白水平(例如细胞外水平)相对于对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)增加至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或至少约99%。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体使前颗粒体蛋白的水平(例如细胞外水平)增加至为对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)的至少约1倍、至少约1.1倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约6倍、至少约7倍、至少约8倍、至少约9倍、至少约10倍、至少约12.5倍、至少约15倍、至少约17.5倍、至少约20倍、至少约22.5倍、至少约25倍、至少约27.5倍、至少约30倍、至少约50倍或至少约100倍。

[0338] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体使前颗粒体蛋白水平增加至为对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)的约1.1倍。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体使前颗粒体蛋白水平增加至为对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)的约1.3倍。

[0339] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体增加前颗粒体蛋白的有效浓度。前颗粒体蛋白的有效浓度是指血浆或脑脊髓液中前颗粒体蛋白的浓度。在一些实施方案中,前颗粒体蛋白有效浓度的增加是增加超过1.5倍。在一些实施方案中,前颗粒体蛋白的有效

浓度增加保持7-28天。

[0340] 减少分拣蛋白与结合配偶体之间的相互作用

[0341] 在某些实施方案中,抗分拣蛋白抗体抑制本公开的分拣蛋白与一种或多种选自以下的蛋白质之间的相互作用(例如结合):前颗粒体蛋白、前神经营养素、神经营养素、前神经营养素-3、神经营养素-3、前神经营养素-4/5、神经营养素-4/5、前神经生长因子(pro-NGF)、神经生长因子(NGF)、前脑源性神经营养因子(pro-BDNF)、脑源性神经营养因子(BDNF)、神经降压素、p75、分拣蛋白前肽(Sort-pro)、淀粉样前驱蛋白(APP)、Aβ肽、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)、载脂蛋白E(APOE)、PCSK9和受体相关蛋白(RAP),和/或天然存在的变体。在一个特定实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体抑制本公开的分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用(例如结合)。

[0342] 在一些实施方案中,抗分拣蛋白抗体可抑制本公开的分拣蛋白与本公开的神经营养素,诸如前神经营养素、前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF和BDNF之间的相互作用(例如结合)。在其它实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体可抑制本公开的分拣蛋白与神经降压素之间的相互作用(例如结合)。在其它实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体可抑制本公开的分拣蛋白与p75之间的相互作用(例如结合)。在其它实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体可抑制本公开的分拣蛋白与Sort-pro之间的相互作用(例如结合)。在其它实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体可抑制本公开的分拣蛋白与APP之间的相互作用(例如结合)。在其它实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体可抑制Aβ肽的产生。在其它实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体可抑制PCSK9的转运和分泌。在其它实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体可抑制本公开的分拣蛋白与LpL之间的相互作用(例如结合)。在其它实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体可抑制本公开的分拣蛋白与APOA5之间的相互作用(例如结合)。在其它实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体可抑制本公开的分拣蛋白与APOE之间的相互作用(例如结合)。在其它实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体可抑制本公开的分拣蛋白与RAP之间的相互作用(例如结合)。

[0343] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体结合至细胞表面上表达的本公开的分拣蛋白且裸抗体抑制分拣蛋白与一种或多种分拣蛋白配体之间的相互作用(例如结合)。在一些实施方案中,结合至本公开的分拣蛋白的本公开的抗分拣蛋白抗体通过降低可与细胞表面上或细胞内部一种或多种分拣蛋白配体的相互作用的分拣蛋白的有效水平来抑制所述分拣蛋白与这些蛋白质之间的相互作用(例如结合)。在一些实施方案中,结合至本公开的分拣蛋白的本公开的抗分拣蛋白抗体通过诱导分拣蛋白降解来抑制所述分拣蛋白与一种或多种分拣蛋白配体之间的相互作用(例如结合)。

[0344] A.减少分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用

[0345] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体增加前颗粒体蛋白水平和/或降低细胞分拣蛋白水平,同时阻断(例如抑制)分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用(例如结合)。因此,在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体阻断分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用(例如结合)。如本文所使用,如果在任何活体外测定或本文所述或此项技术中已知的基于细胞的培养测定中,抗分拣蛋白抗体在饱和抗体浓度(例如0.6nM、0.63nM、1.25nM、50nM或150nM)下使前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合相对于对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)减少,那么所述抗分拣蛋白抗体

阻断分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用(例如结合)。

[0346] 本公开的抗分拣蛋白抗体可以在皮摩尔范围内的半数最大有效浓度(EC_{50})(例如当在活体外测量时)减少前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合。在某些实施方案中,所述抗体的EC_{50}小于约2.2nM。在某些实施方案中,所述抗体的EC_{50}小于约1.22nM。在某些实施方案中,所述抗体的EC_{50}小于约751pM。在某些实施方案中,所述抗体的EC_{50}是约325pM至约751nM。在某些实施方案中,所述抗体的EC_{50}是约405pM至约751nM。在某些实施方案中,所述抗体的EC_{50}是约588pM至约751nM。在某些实施方案中,所述抗体的EC_{50}小于约2.2nM、2.1nM、2.0nM、1.9nM、1.8nM、1.7nM、1.6nM、1.5nM、1.4nM、1.3nM、1.2nM、1.1nM、1.0nM、900pM、800pM、700pM、600pM、500pM、400pM、300pM、200pM、100pM、50pM、40pM、30pM、20pM、10pM、1pM或0.5pM。

[0347] 在一些实施方案中,所述抗体对于减少前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合的EC_{50}小于约或等于约2.2nM、2.1nM、2.0nM、1.9nM、1.8nM、1.7nM、1.6nM、1.5nM、1.4nM、1.3nM、1.2nM、1.1nM、1.0nM、900pM、800pM、700pM、600pM、500pM、475pM、450pM、425pM、400pM、375pM、350pM、325pM、300pM、275pM、250pM、225pM、200pM、175pM、150pM、125pM、100pM、90pM、80pM、70pM、60pM、50pM、40pM、30pM、20pM、10pM、9pM、8pM、7pM、6pM、5pM、4pM、3pM、2pM、1pM或0.5pM。

[0348] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体的EC_{50}是约1.22nM。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体的EC_{50}是约588pM。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体的EC_{50}是约405pM。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体的EC_{50}是约325pM。

[0349] 此项技术中已知多种测量抗体EC_{50}值的方法,包括例如流式细胞测量术(参见例如实施例3)。在一些实施方案中,有关减少前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合的EC_{50}是在活体外使用表达人类分拣蛋白的细胞测量。在一些实施方案中,EC_{50}是在约4℃的温度下测量。在一些实施方案中,EC_{50}是在约25℃的温度下测量。在一些实施方案中,EC_{50}是在约35℃的温度下测量。在一些实施方案中,EC_{50}是在约37℃的温度下测量。在一些实施方案中,有关减少前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合的EC_{50}是使用单价抗体(例如Fab)或呈单价形式的全长抗体确定。在一些实施方案中,EC_{50}是使用含有展示增强的Fc受体结合的恒定区的抗体确定。在一些实施方案中,有关减少前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合的EC_{50}是使用含有展示减少的Fc受体结合的恒定区的抗体确定。

[0350] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体在减少前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合方面的效力高于对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体以低于对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)的EC_{50}(例如在活体外测量)减少前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体以比对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)的EC_{50}低至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或至少约99%的EC_{50}减少前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体以比对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)的EC_{50}低至少约1倍、至少

约1.1倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约6倍、至少约7倍、至少约8倍、至少约9倍、至少约10倍、至少约12.5倍、至少约15倍、至少约17.5倍、至少约20倍、至少约22.5倍、至少约25倍、至少约27.5倍、至少约30倍、至少约50倍或至少约100倍的EC_{50}减少前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合。

[0351] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体的EC_{50}比对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)低至少1.3倍。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体的EC_{50}比对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)低至少1.8倍。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体的EC_{50}比对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)低至少1.9倍。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体的EC_{50}比对照抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)低至少2.3倍。

[0352] 任何活体外基于细胞的测定或本文所描述或此项技术中已知的适合活体内模型均可用于测量分拣蛋白与一种或多种分拣蛋白配体之间的相互作用(例如结合)的抑制或减少。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体通过减少分拣蛋白表达(例如通过减少细胞表面分拣蛋白水平)来抑制或减少分拣蛋白与一种或多种分拣蛋白配体之间的相互作用(例如结合)。在一些实施方案中,利用任何活体外测定或本文所描述或此项技术中已知的基于细胞的培养测定,本公开的抗分拣蛋白抗体在饱和抗体浓度下使分拣蛋白与一种或多种分拣蛋白配体之间的相互作用(例如结合)抑制或减少至少约21%、至少22%、至少23%、至少24%、至少25%、至少26%、至少27%、至少28%、至少29%、至少30%、至少31%、至少32%、至少33%、至少34%、至少35%、至少36%、至少37%、至少38%、至少39%、至少40%、至少41%、至少42%、至少43%、至少44%、至少45%、至少46%、至少47%、至少48%、至少49%、至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更高百分比。在一些实施方案中,如通过流式细胞测量术所测量,本公开的抗分拣蛋白抗体使前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合在50nM IgG下阻断超过90%或在150nM IgG下阻断超过约96%。在一些实施方案中,如通过流式细胞测量术所测量,本公开的抗分拣蛋白抗体使前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合在50nM IgG下阻断约90.74%。在一些实施方案中,如通过流式细胞测量术所测量,本公开的抗分拣蛋白抗体使前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合在150nM IgG下阻断约96.5%。在一些实施方案中,如通过流式细胞测量术所测量,本公开的抗分拣蛋白抗体使前颗粒体蛋白与分拣蛋白的结合在150nM IgG下阻断约96.9%。

[0353] 降低促炎性介体的表达

[0354] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体在结合至细胞中表达的分拣蛋白之后,可降低促炎性介体的表达。

[0355] 如本文所使用,促炎性介体是直接或间接(例如借助于促炎性信号传导路径)参与诱导、活化、促进或以其它方式减少炎性反应的机制的蛋白质。此项技术中已知用于鉴别和

表征促炎性介体的任何方法均可使用。

[0356] 促炎性介体的实例包括但不限于细胞因子,诸如I型和II型干扰素、IL-6、IL12p70、IL12p40、IL-1β、TNF-α、IL-8、CRP、IL-20家族成员、IL-33、LIF、OSM、CNTF、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18和CRP。促炎性介体的其它实例包括但不限于趋化介素,诸如CXCL1、CCL2、CCL3、CCL4和CCL5。

[0357] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体可减少促炎性介体IL-6、IL12p70、IL12p40、IL-1β、TNF-α、CXCL1、CCL2、CCL3、CCL4和CCL5的功能性表达和/或分泌。在某些实施方案中,促炎性介体的表达减少是在巨噬细胞、树突状细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉氏细胞(Langerhans cell of skin)、库鲁弗细胞(Kupffer cell)和/或小胶质细胞中发生。减少表达可以包括但不限于,减少基因表达、减少转录表达或减少蛋白质表达。此项技术中已知用于确定基因、转录物(例如mRNA)和/或蛋白质表达的任何方法均可使用。举例来说,北方印迹分析(Northern blot analysis)可用于确定促炎性介体的基因表达水平,RT-PCR可用于确定促炎性介体的转录水平,并且西方印迹分析(Western blot analysis)可用于确定促炎性介体的蛋白质水平。

[0358] 如本文所使用,如果促炎性介体在用分拣蛋白剂,诸如本公开的激动剂抗分拣蛋白抗体治疗的个体的一个或多个细胞中的表达高于在未用所述激动剂抗分拣蛋白抗体治疗的相应个体的一个或多个细胞中表达的所述促炎性介体的表达,那么所述促炎性介体可具有减少的表达。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体可使个体的一个或多个细胞中促炎性介体的表达相较于例如未用所述抗分拣蛋白抗体治疗的相应个体的一个或多个细胞中促炎性介体的表达减少至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少100%、至少110%、至少115%、至少120%、至少125%、至少130%、至少135%、至少140%、至少145%、至少150%、至少160%、至少170%、至少180%、至少190%,或至少200%。在其它实施方案中,抗分拣蛋白抗体可使个体的一个或多个细胞中促炎性介体的表达相较于例如未用所述抗分拣蛋白抗体治疗的相应个体的一个或多个细胞中促炎性介体的表达减少至少1.5倍、至少1.6倍、至少1.7倍、至少1.8倍、至少1.9倍、至少2.0倍、至少2.1倍、至少2.15倍、至少2.2倍、至少2.25倍、至少2.3倍、至少2.35倍、至少2.4倍、至少2.45倍、至少2.5倍、至少2.55倍、至少3.0倍、至少3.5倍、至少4.0倍、至少4.5倍、至少5.0倍、至少5.5倍、至少6.0倍、至少6.5倍、至少7.0倍、至少7.5倍、至少8.0倍、至少8.5倍、至少9.0倍、至少9.5倍,或至少10倍。

[0359] 在一些实施方案中,根据以上任一实施方案的抗分拣蛋白抗体可并入如以下章节1-7中所述的任何特征中的一种或其组合:

[0360] (1)抗分拣蛋白抗体结合亲和力

[0361] 在本文所提供的抗体中的任一种的一些实施方案中,所述抗体的解离常数(Kd)<1μM、<100nM、<10nM、<1nM、<0.1nM、<0.01nM或<0.001nM(例如为10^{-8}M或更低,例如10^{-8}M至10^{-13}M,例如10^{-9}M至10^{-13}M)。

[0362] 本公开的抗分拣蛋白抗体可对目标抗原(例如人类分拣蛋白或哺乳动物分拣蛋白)具有纳摩尔浓度或甚至皮摩尔浓度的亲和力。在某些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对目标抗原(例如人类分拣蛋白或哺乳动物分拣蛋白)的结合亲和力是通过解离常数

K_D来度量。解离常数可经由任何分析技术确定,包括任何生物化学或生物物理学技术,诸如荧光活化细胞分选(FACS)、流式细胞测量术、酶联免疫吸附测定(ELISA)、表面等离子体共振(SPR)、生物层干涉(参见例如ForteBio的Octet System)、meso scale discover(参见例如MSD-SET)、等温滴定量热法(ITC)、差示扫描量热法(DSC)、圆二色性(CD)、停流分析,和比色或荧光蛋白质熔融分析;或细胞结合测定。在一些实施方案中,分拣蛋白的K_D是在约25℃的温度下确定。在一些实施方案中,解离常数(K_D)可在4℃或室温下,利用例如FACS或生物层干涉测定测量。

[0363] 在一些实施方案中,分拣蛋白的K_D是在约4℃的温度下确定。在一些实施方案中,K_D是使用单价抗体(例如Fab)或呈单价形式的全长抗体确定。在一些实施方案中,K_D是使用二价抗体和单体重组分拣蛋白确定。

[0364] 在某些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白、哺乳动物分拣蛋白或二者的K_D是使用如本文所描述的FACS测量(参见例如实施例1和4)。在某些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白、哺乳动物分拣蛋白或二者的K_D是使用如本文所描述的生物层干涉法测量(参见例如实施例4)。

[0365] 在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的解离常数(K_D)比包括含序列SEQ ID NO:56的重链可变区和含序列SEQ ID NO:79的轻链可变区的抗分拣蛋白抗体低高达约2.5倍,其中所述K_D是通过FACS确定(参见例如实施例1)。在一些实施方案中,所述抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的解离常数(K_D)在约1.10E-8M至约4.68E-10M的范围内,其中所述K_D是通过FACS确定(参见例如实施例1);或在约270pM至约2910pM范围内,其中所述K_D是通过生物层干涉法确定(参见例如实施例4)。

[0366] 在某些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白、哺乳动物分拣蛋白或二者的K_D可低于100nM、低于90nM、低于80nM、低于70nM、低于60nM、低于50nM、低于40nM、低于30nM、低于20nM、低于10nM、低于9nM、低于8nM、低于7nM、低于6nM、低于5nM、低于4nM、低于3nM、低于2nM、低于1nM、低于0.5nM、低于0.1nM、低于0.09nM、低于0.08nM、低于0.07nM、低于0.06nM、低于0.05nM、低于0.04nM、低于0.03nM、低于0.02nM、低于0.01nM、低于0.009nM、低于0.008nM、低于0.007nM、低于0.006nM、低于0.005nM、低于0.004nM、低于0.003nM、低于0.002nM、低于0.001nM或低于0.001nM。

[0367] 本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白、哺乳动物分拣蛋白或二者的解离常数(K_D)可低于10nM、低于9.5nM、低于9nM、低于8.5nM、低于8nM、低于7.5nM、低于7nM、低于6.9nM、低于6.8nM、低于6.7nM、低于6.6nM、低于6.5nM、低于6.4nM、低于6.3nM、低于6.2nM、低于6.1nM、低于6nM、低于5.5nM、低于5nM、低于4.5nM、低于4nM、低于3.5nM、低于3nM、低于2.5nM、低于2nM、低于1.5nM、低于1nM、低于0.95nM、低于0.9nM、低于0.89nM、低于0.88nM、低于0.87nM、低于0.86nM、低于0.85nM、低于0.84nM、低于0.83nM、低于0.82nM、低于0.81nM、低于0.8nM、低于0.75nM、低于0.7nM、低于0.65nM、低于0.64nM、低于0.63nM、低于0.62nM、低于0.61nM、低于0.6nM、低于0.55nM、低于0.5nM、低于0.45nM、低于0.4nM、低于0.35nM、低于0.3nM、低于0.29nM、低于0.28nM、低于0.27nM、低于0.26nM、低于0.25nM、低于0.24nM、低于0.23nM、低于0.22nM、低于0.21nM、低于0.2nM、低于0.15nM、低于0.1nM、低于0.09nM、低于0.08nM、低于0.07nM、低于0.06nM、低于0.05nM、低于0.04nM、低于0.03nM、低于0.02nM、低于0.01nM、低于0.009nM、低于0.008nM、低于0.007nM、低于0.006nM、低于0.005nM、低于

0.004nM、低于0.003nM、低于0.002nM或低于0.001nM。

[0368] 在某些实施方案中,当例如K_D是通过FACS确定时,所述抗体对分拣蛋白的解离常数(K_D)是约0.560nM至约1.63nM。在某些实施方案中,当例如K_D是通过生物层干涉法确定时,所述抗体对分拣蛋白的解离常数(K_D)是约0.270nM至约2.910nM。在一些实施方案中,所述抗体对人类分拣蛋白、小鼠分拣蛋白或二者的解离常数(K_D)在约0.36nM至约0.43nM范围内,或低于1.02nM。在一些实施方案中,所述解离常数低于1.02nM。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的解离常数是0.560nM或更低。

[0369] 在一个特定实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的解离常数是约0.560nM。在一个特定实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的解离常数是约0.423nM。在一个特定实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的解离常数是约0.365nM。在一个特定实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的解离常数是约0.344nM。在一个特定实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的解离常数是约0.298nM。在一个特定实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的解离常数是约0.270nM。在另一个特定实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的解离常数是约0.260nM。

[0370] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对于分拣蛋白的解离常数(K_D)低于对照抗分拣蛋白抗体(例如包含对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的对照抗分拣蛋白抗体)的K_D。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对目标(例如人类分拣蛋白)的K_D比对照抗分拣蛋白抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)对目标的K_D低至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或至少约99%。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对目标(例如人类分拣蛋白)的K_D比对照抗分拣蛋白抗体(例如具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体)对目标的K_D低至少约1倍、至少约1.1倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约6倍、至少约7倍、至少约8倍、至少约9倍、至少约10倍、至少约12.5倍、至少约15倍、至少约17.5倍、至少约20倍、至少约22.5倍、至少约25倍、至少约27.5倍、至少约30倍、至少约50倍、至少约100倍、至少约200倍、至少约300倍、至少约400倍、至少约500倍、至少约600倍、至少约700倍、至少约800倍、至少约900倍或至少约1000倍。

[0371] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的K_D比具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体低至少100倍。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的K_D比具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体低至少50倍。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的K_D比具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体低至少10倍。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的K_D比具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体低至少5倍。在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的K_D比具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体低至少2倍。

[0372] 在一个特定实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的K_D比具有对

应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体低约2.79倍。在另一特定实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体对人类分拣蛋白的K_D比具有对应于S-60的重链可变区和轻链可变区的抗分拣蛋白抗体低约2.05倍。

[0373] (2)抗体片段

[0374] 在本文所提供的抗体中任一种的一些实施方案中,所述抗体是抗体片段。抗体片段包括但不限于Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')$_2$、Fv和scFv片段,以及下文所述的其它片段。关于某些抗体片段的评述,参见Hudson等,Nat.Med.9:129-134(2003)。关于scFv片段的评述,参见例如WO 93/16185;和美国专利号5571894和5587458。关于包含救助受体结合表位残基并具有延长的活体内半衰期的Fab和F(ab')$_2$片段的论述,参见美国专利号5869046。

[0375] 双功能抗体是具有两个抗原结合位点的抗体片段,其可以为二价或双特异性的。参见例如EP404097;WO 1993/01161;Hudson等,Nat.Med.9:129-134(2003)。三功能抗体和四功能抗体还描述于Hudson等,Nat.Med.9:129-134(2003)中。单结构域抗体是包含抗体的所有或一部分重链可变结构域或所有或一部分轻链可变结构域的抗体片段。在某些实施方案中,单结构域抗体是人类单结构域抗体(参见例如美国专利号6248516)。

[0376] 抗体片段可通过各种技术制备,包括但不限于如本文中所述的完整抗体的蛋白水解消化以及由重组宿主细胞(例如大肠杆菌(E.coli)或噬菌体)产生。

[0377] 在一些实施方案中,所述抗体片段是与第二分拣蛋白抗体和/或与一种或多种特异性结合致病蛋白质的抗体组合使用,所述致病蛋白质选自:β淀粉样蛋白或其片段、τ蛋白、IAPP、α-突触核蛋白、TDP-43、FUS蛋白、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷顿蛋白(huntingtin)、降血钙素、超氧化物歧化酶、共济失调蛋白、路易小体、心房利钠因子、胰岛淀粉样多肽、胰岛素、载脂蛋白AI、血清淀粉样蛋白A、镁町(medin)、泌乳素、转甲状腺素蛋白、溶菌酶、β2微球蛋白、凝溶胶蛋白、角膜上皮蛋白、抑半胱氨酸蛋白酶蛋白、免疫球蛋白轻链AL、S-IBM蛋白、重复序列相关非ATG(RAN)翻译产物、二肽重复(DPR)肽、甘氨酸-丙氨酸(GA)重复肽、甘氨酸-脯氨酸(GP)重复肽、甘氨酸-精氨酸(GR)重复肽、脯氨酸-丙氨酸(PA)重复肽、脯氨酸-精氨酸(PR)重复肽和它们的任何组合。

[0378] (3)嵌合抗体和人源化抗体

[0379] 在本文所提供的抗体中任一种的一些实施方案中,所述抗体是嵌合抗体。某些嵌合抗体描述于例如美国专利号4816567中。在一个实施例中,嵌合抗体包含非人类可变区(例如来源于小鼠、大鼠、仓鼠、兔或诸如猴的非人类灵长类动物的可变区)和人类恒定区。在另一实施例中,嵌合抗体是"类别转换"抗体,其中类别或子类已从亲本抗体的类别或子类改变。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0380] 在本文所提供的抗体中任一种的一些实施方案中,所述抗体是人源化抗体。典型地,使非人类抗体人源化以降低对人类的免疫原性,同时保留亲本非人类抗体的特异性和亲和力。在某些实施方案中,人源化抗体在人体中基本上不具免疫原性。在某些实施方案中,人源化抗体对目标的亲和力与来自得到所述人源化抗体的另一物种的抗体基本上相同。参见例如美国专利号5530101、5693761、5693762和5585089。在某些实施方案中,鉴别出可经修饰而不降低抗原结合结构域的天然亲和力,同时降低免疫原性的抗体可变结构域的氨基酸。参见例如美国专利号5766886和5869619。一般来说,人源化抗体包含一个或多个可变结构域,其中HVR(或其部分)是来源于非人类抗体,并且FR(或其部分)是来源于人类抗体

序列。人源化抗体任选地还包含人类恒定区的至少一部分。在一些实施方案中,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人类抗体(例如作为HVR残基来源的抗体)的相应残基取代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0381] 人源化抗体和其制备方法评述于例如Almagro等,Front.Biosci.13:161 9-1633(2008)中,并且进一步描述于例如美国专利号5821337、7527791、6982321和7087409中。可以用于人源化的人类框架区包括但不限于:使用"最优选拟合"法选择的框架区(参见例如Sims等,J.Immunol.151:2296(1993));来源于具有特定亚组的轻链或重链可变区的人类抗体的共同序列的框架区(参见例如Carter等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);和Presta等,J.Immunol.,151:2623(1993));人类成熟(体细胞突变)框架区或人类种系框架区(参见例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008));以及由筛选FR文库得到的框架区(参见例如Baca等,J.Biol.Chem.272:10678-10684(1997)和Rosok等,J.Biol.Chem.271:22611-22618(1996))。

[0382] (4)人类抗体

[0383] 在本文所提供的抗体中任一种的一些实施方案中,所述抗体是人类抗体。人类抗体可以使用此项技术中已知的各种技术制造。人类抗体大体上描述于van Dijk等人,Curr.Opin.Pharmacol.5:368-74(2001),和Lonberg,Curr.Opin.Immunol.20:450-459(2008)中。

[0384] 人类抗体可以通过向转基因动物施用免疫原来制备,所述转基因动物被修饰成响应于抗原攻击而产生完整人类抗体或具有人类可变区的完整抗体。可用人类Ig基因座的较大片段工程改造无法产生小鼠抗体的小鼠品系以使得所述小鼠在无小鼠抗体存在下产生人类抗体。较大的人类Ig片段可保留较大可变基因多样性以及对抗体产生和表达的适当调控。通过采用小鼠机器进行抗体多样化和选择以及缺乏对人类蛋白质的免疫耐受性,在这些小鼠品系中再产生的人类抗体谱系可得到针对包括人类抗原在内的任何所关注抗原具有高亲和力的完全人类抗体。使用融合瘤技术,可产生并选择具有所需特异性的抗原特异性人类MAb。某些例示性方法描述于美国专利号5545807、EP 546073和EP546073中。还参见例如美国专利号6075181和6150584,描述XENOMOUSE™技术;美国专利号5770429,描述HUMAB®技术;美国专利号7041870,描述K-M MOUSE®技术;和美国专利申请公开案号US 2007/0061900,描述VELOCIMOUSE®技术。来自由所述动物产生的完整抗体的人类可变区可以例如通过与不同人类恒定区组合进行进一步修饰。

[0385] 人类抗体还可通过基于融合瘤的方法制备。已描述用于产生人类单克隆抗体的人类骨髓瘤和小鼠-人类异源骨髓瘤细胞系。(参见例如Kozbor J.Immunol.133:3001(1984)和Boerner等,J.Immunol.147:86(1991))。经由人类B细胞融合瘤技术产生的人类抗体还描述于Li等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1 03:3557-3562(2006)中。其它方法包括例如美国专利号7189826(描述由融合瘤细胞系产生单克隆人类IgM抗体)中所描述的方法。人类融合瘤技术(三源融合瘤技术)还描述于Vollmers等,Histology and Histopathology 20(3):927-937(2005)和Vollmers等,Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology 27(3):185-91(2005)中。还可通过分离选自人类源性噬菌体展示文库的Fv克隆可变结构域序列来产生人类抗体。然后,此类可变结构域序列可以与所需人类恒定结构域组合。下文描述从抗体文库选择人类抗体的技术。

[0386] 在本文所提供的抗体中任一种的一些实施方案中,所述抗体是通过活体外方法和/或筛选具有一种或多种所希望活性的抗体的组合文库而分离的人类抗体。适合实例包括但不限于噬菌体展示(CAT,Morphosys,Dyax,Biosite/Medarex,Xoma,Symphogen,Alexion(前身为Proliferon),Affimed)、核糖体展示(CAT)、基于酵母的平台(Adimab)和类似方法。在某些噬菌体展示方法中,通过聚合酶链反应(PCR)分开克隆VH和VL基因的谱系并在噬菌体文库中随机重组,然后可以如Winter等,Ann.Rev.Immunol.,12:433-455(1994)中所述筛选抗原结合噬菌体。举例来说,此项技术中已知用于产生噬菌体展示文库和筛选所述文库中具有所希望结合特征的抗体的多种方法。还参见Sidhu等,J.Mol.Biol.338(2):299-310,2004;Lee等,J.Mol.Biol.340(5):1073-1093,2004;Fellouse Proc.Natl.Acad.Sci.USA101(34):12467-12472(2004);和Lee等,J.Immunol.Methods284(-2):119-132(2004)。噬菌体典型地以单链Fv(scFv)片段或Fab片段形式展示抗体片段。来自经免疫来源的文库提供抗免疫原的高亲和力抗体而无需构建融合瘤。作为替代,如Griffiths等,EMBO J.12:725-734(1993)中所述,可对天然谱系(例如来自人类)进行克隆以提供针对多种非自身抗原和自身抗原的单一抗体来源,而无需进行任何免疫接种。最后,如Hoogenboom等,J.Mol.Biol.,227:381-388(1992)所述,还可通过从干细胞克隆未重排的V基因区段且使用含有随机序列的PCR引物编码高可变HVR3区且完成活体外重排来合成制造原初文库。描述人类抗体噬菌体文库的专利公开案包括例如:美国专利号5750373,以及美国专利公开案号2007/0292936和2009/0002360。从人类抗体文库分离的抗体在本文中被视为人类抗体或人类抗体片段。

[0387] (5)包括Fc区的恒定区

[0388] 在本文所提供的抗体中任一种的一些实施方案中,所述抗体包含Fc。在一些实施方案中,Fc是人类IgG1、IgG2、IgG3和/或IgG4同种型。在一些实施方案中,所述抗体属于IgG类别、IgM类别或IgA类别。

[0389] 在本文所提供的抗体中任一种的某些实施方案中,所述抗体具有IgG2同种型。在一些实施方案中,抗体含有人类IgG2恒定区。在一些实施方案中,人类IgG2恒定区包括Fc区。在一些实施方案中,所述抗体诱导一种或多种分拣蛋白活性或与结合至Fc受体无关。在一些实施方案中,所述抗体结合抑制性Fc受体。在某些实施方案中,抑制性Fc受体是抑制性Fcγ受体IIB(FcγIIB)。

[0390] 在本文所提供的抗体中任一种的某些实施方案中,所述抗体具有IgG1同种型。在一些实施方案中,抗体含有小鼠IgG1恒定区。在一些实施方案中,抗体含有人类IgG1恒定区。在一些实施方案中,人类IgG1恒定区包括Fc区。在一些实施方案中,所述抗体结合抑制性Fc受体。在某些实施方案中,抑制性Fc受体是抑制性Fcγ受体IIB(FcγIIB)。

[0391] 在本文所提供的抗体中任一种的某些实施方案中,所述抗体具有IgG4同种型。在一些实施方案中,抗体含有人类IgG4恒定区。在一些实施方案中,人类IgG4恒定区包括Fc区。在一些实施方案中,所述抗体结合抑制性Fc受体。在某些实施方案中,抑制性Fc受体是抑制性Fcγ受体IIB(FcγIIB)。

[0392] 在本文所提供的抗体中任一种的某些实施方案中,所述抗体具有混合IgG2/4同种型。在一些实施方案中,所述抗体包括包含人类IgG2的根据EU编号的氨基酸118至260和包含人类IgG4的根据EU编号的氨基酸261-447的氨基酸序列(WO1997/11971;WO2007/

106585)。

[0393] 在一些实施方案中,Fc区增加丛集,而不会活化补体,与包括不含氨基酸取代的Fc区的相应抗体形成对比。在一些实施方案中,所述抗体诱导由所述抗体特异性结合的目标的一种或多种活性。在一些实施方案中,所述抗体结合分拣蛋白。

[0394] 另外,可能希望对本公开的抗分拣蛋白抗体进行修饰以改变效应功能和/或延长抗体的血清半衰期。举例来说,可对恒定区上的Fc受体结合位点进行修饰或突变以移除或降低与某些Fc受体,诸如Fcγ RI、Fcγ RII和/或Fcγ RIII的结合亲和力,以降低抗体依赖性细胞介导的细胞毒性。在一些实施方案中,通过移除抗体Fc区(例如在IgG的CH2结构域中)的N-糖基化来减弱效应功能。在一些实施方案中,如WO99/58572以及Armour等,MolecularImmunology40:585-593(2003);Reddy等,J.Immunology164:1925-1933(2000)中所描述,通过修饰人类IgG中诸如233-236、297和/或327-331的区域来减弱效应功能。在一些实施方案中,还可能希望对本公开的抗分拣蛋白抗体进行修饰以改变效应功能,从而增加针对含ITIM的FcgRIIb(CD32b)的选择性,由此在不活化体液反应(包括抗体依赖性细胞介导的细胞毒性和抗体依赖性细胞吞噬作用)的情况下增加相邻细胞上分拣蛋白抗体的丛集。

[0395] 举例来说,为了延长抗体的血清半衰期,如美国专利5739277中所描述,可以将挽救受体结合表位并入抗体(尤其是抗体片段)中。如本文所使用,术语“挽救受体结合表位”是指IgG分子(例如IgG_1、IgG_2、IgG_3或IgG_4)的Fc区中引起IgG分子的活体内血清半衰期延长的表位。其它氨基酸序列修饰。

[0396] (6)多特异性抗体

[0397] 多特异性是抗体对至少两个不同表位,包括在同一或另一多肽(例如一个或多个本公开的分拣蛋白多肽)上的那些表位具有结合特异性。在一些实施方案中,所述多特异性抗体可为双特异性抗体。在一些实施方案中,所述多特异性抗体可为三特异性抗体。在一些实施方案中,所述多特异性抗体可为四特异性抗体。此类抗体可以来源于全长抗体或抗体片段(例如$F(ab')_2$双特异性抗体)。在一些实施方案中,所述多特异性抗体包含结合至分拣蛋白上的第一位点的第一抗原结合区且包含结合至分拣蛋白上的第二位点的第二抗原结合区。在一些实施方案中,所述多特异性抗体包含结合至分拣蛋白的第一抗原结合区和结合至第二多肽的第二抗原结合区。

[0398] 本文提供的多特异性抗体包含第一抗原结合区,其中所述第一抗原结合区包含本文所述的结合至分拣蛋白的抗体的六个HVR;和结合至第二多肽的第二抗原结合区。在一些实施方案中,第一抗原结合区包含本文所述的抗体的V_H或V_L。

[0399] 在多特异性抗体中任一种的一些实施方案中,所述第二多肽是a)有助于跨越血脑屏障转运的抗原;(b)有助于跨越血脑屏障转运的抗原,其选自转铁蛋白受体(TR)、胰岛素受体(HIR)、类胰岛素生长因子受体(IGFR)、低密度脂蛋白受体相关蛋白质1和2(LPR-1和2)、白喉毒素受体、CRM197、美洲驼单结构域抗体、TMEM30(A)、蛋白质转导结构域、TAT、Syn-B、穿膜肽、聚精氨酸肽、血管肽和ANG1005;(c)致病蛋白质,其选自β淀粉样蛋白、寡聚β淀粉样蛋白、β淀粉样蛋白斑块、淀粉样前驱蛋白或其片段、τ蛋白、IAPP、α-突触核蛋白、TDP-43、FUS蛋白、C9orf72(染色体9开放阅读框架72)、c9RAN蛋白、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷顿蛋白、降血钙素、超氧化物歧化酶、共济失调蛋白、共济失调蛋白1、共济失调蛋白2、共济失调蛋白

3、共济失调蛋白7、共济失调蛋白8、共济失调蛋白10、路易小体、心房利钠因子、胰岛淀粉样多肽、胰岛素、载脂蛋白AI、血清淀粉样A、medin、催乳素、转甲状腺素蛋白、溶酶体、β2微球蛋白、凝乳胶蛋白、角膜上皮蛋白、抑半胱氨酸蛋白酶蛋白、免疫球蛋白轻链AL、S-IBM蛋白、重复序列相关非ATG(RAN)翻译产物、二肽重复(DPR)肽、甘氨酸-丙氨酸(GA)重复肽、甘氨酸-脯氨酸(GP)重复肽、甘氨酸-精氨酸(GR)重复肽、脯氨酸-丙氨酸(PA)重复肽、泛素和脯氨酸-精氨酸(PR)重复肽;(d)在免疫细胞上表达的配体和/或蛋白质,其中所述配体和/或蛋白质选自CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA-4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、BTLA、KIR、GAL9、TIM3、A2AR、LAG-3和磷脂酰丝氨酸;和/或(e)在一个或多个肿瘤细胞上表达的蛋白质、脂质、多糖或糖酯,和它们的任何组合。

[0400] 此项技术中已知多种有助于跨越血脑屏障转运的抗原(参见例如GabathulerR.Neurobiol.Dis.37:48-57(2010))。此类第二抗原包括但不限于,转铁蛋白受体(TR);胰岛素受体(HIR);类胰岛素生长因子受体(IGFR);低密度脂蛋白受体相关蛋白1和2(LPR-1和2);白喉毒素受体,包括CRM197(白喉毒素的一种无毒突变体);羊驼单结构域抗体,诸如TMEM 30(A)(翻转酶);蛋白质转导结构域,诸如TAT、Syn-B或穿膜肽;聚精氨酸或大体上带正电的肽;Angiopep肽,诸如ANG1005(参见例如,Gabathuler,2010);和富集在血脑屏障内皮细胞上的其它细胞表面蛋白(参见例如Daneman等,PLoS One5(10):e13741(2010))。

[0401] 多价抗体可以识别分拣蛋白抗原,以及但不限于另外抗原Aβ肽、抗原或α-突触核蛋白蛋白质抗原,或τ蛋白抗原,或TDP-43蛋白质抗原,或朊病毒蛋白抗原,或亨廷顿蛋白抗原,或RAN,翻译产物抗原,包括由甘氨酸-丙氨酸(GA)、甘氨酸-脯氨酸(GP)、甘氨酸-精氨酸(GR)、脯氨酸-丙氨酸(PA)或脯氨酸-精氨酸(PR)构成的二肽重复(DPR肽),胰岛素受体、类胰岛素生长因子受体。转铁蛋白受体或有助于抗体跨越血脑屏障转移的任何其它抗原。在一些实施方案中,第二多肽是转铁蛋白。在一些实施方案中,第二多肽是τ蛋白。在一些实施方案中,第二多肽是Aβ。在一些实施方案中,第二多肽是TREM2。在一些实施方案中,第二多肽是α-突触核蛋白。

[0402] 多价抗体含有至少一条多肽链(且优选为两条多肽链),其中所述一条或多条多肽链包含两个或更多个可变结构域。举例来说,所述一条或多条多肽链可以包含VD1-$(X1)_n$-VD2-$(X2)_n$-Fc,其中VD1是第一可变结构域,VD2是第二可变结构域,Fc是Fc区的一条多肽链,X1和X2表示氨基酸或多肽,并且n是0或1。类似地,所述一条或多条多肽链可以包含V_H-C_H1-柔性连接体-V_H-C_H1-Fc区链;或V_H-C_H1-V_H-C_H1-Fc区链。本文中的多价抗体优选地还包含至少两个(且优选四个)轻链可变结构域多肽。本文中的多价抗体可以例如包含约两个至约八个轻链可变结构域多肽。此处涵盖的轻链可变结构域多肽包含轻链可变结构域且任选地,还包含CL结构域。

[0403] 用于制备多特异性抗体的技术包括但不限于具有不同特异性的两个免疫球蛋白重链-轻链对的重组共表达(参见Milstein和Cuello,Nature305:537(1983)、WO93/08829和Traunecker等,EMBO J.10:3655(1991));和“杵臼结构”工程改造(参见例如美国专利号5731168)。还参见WO2013/026833(CrossMab)。多特异性抗体还可通过以下方式制备:工程改造静电牵引作用以制备抗体Fc-杂二聚体分子(WO 2009/089004A1);使两种或更多种抗体交联(参见例如美国专利号4676980);使用亮氨酸;使用“双功能抗体”技术制备双特异性

抗体片段(参见例如Hollinger等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90:6444-6448(1993));以及使用单链Fv(scFv)二聚体(参见例如Gruber等,J.Immunol.,152:5368(1994));以及制备三特异性抗体,如例如Tutt等,J.Immunol.147:60(1991)中所述。

[0404] 本文还包括具有三个或更多个抗原结合位点的工程改造的抗体,包括“章鱼(Octopus)抗体”(参见例如US2006/0025576)。本文中的抗体还包括“双重作用FAb”或“DAF”,所述“双重作用FAb”或“DAF”包含结合至多种分拣蛋白的抗原结合位点(参见例如US2008/0069820)。

[0405] (7)具有改善的稳定性的抗体

[0406] 还涵盖本公开的抗分拣蛋白抗体或其抗体片段的氨基酸序列修饰,所述氨基酸序列修饰改善在制造、储存和活体内施用期间的稳定性。举例来说,可能希望经由多种路径减少本公开的抗体或抗体片段的降解(包括但不限于氧化和脱酰胺)。抗体或抗体片段的氨基酸序列变体是通过将适当核苷酸变化引入编码所述抗体或抗体片段的核酸中,或通过肽合成来制备。此类修饰包括例如抗体氨基酸序列内残基的缺失和/或插入和/或取代。可进行缺失、插入和取代的任何组合以获得最终构建体,只要最终构建体具有所需特征(即,减少对降解的易感性)。

[0407] 在一些实施方案中,本公开的抗分拣蛋白抗体的HVR-L1区中的天冬酰胺(N33)位点可借助于脱酰胺而易于降解。在某些实施方案中,S-60-15(SEQ ID NO:8)的HVR-L1区中的天冬酰胺(N33)位点可能易于脱酰胺。在脱酰胺后,S-60-15的HVR-L1区中的天冬酰胺(N33)位点使Asn变为Asp/IsoAsp。在某些实施方案中,S-60-15的HVR-L1区中的天冬酰胺(N33)位点可被取代以防止或减少脱酰胺。在HVR-L1区的天冬酰胺(N33)位点中具有氨基酸取代的S-60-15的非限制性例示性氨基酸序列变体包括S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4 [N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]或S-60-15.17[N33L]。

[0408] (8)抗体变体

[0409] 在本文所提供的抗体中任一种的一些实施方案中,涵盖抗体的氨基酸序列变体。举例来说,可能需要改善抗体的结合亲和力和/或其它生物学特性。

[0410] (i)取代、插入和缺失变体

[0411] 在本文所提供的抗体中任一种的一些实施方案中,提供具有一个或多个氨基酸取代的抗体变体。抗体的氨基酸序列变体可通过将适当修饰引入编码所述抗体的核苷酸序列中或通过肽合成进行制备。所述修饰包括例如在抗体的氨基酸序列内进行残基的缺失和/或插入和/或取代。表37:氨基酸取代

[0412]

原始残基	例示性取代	优选的取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸	Leu

[0413] 通过选择对维持(a)多肽主链在取代区域中的结构,例如折叠或螺旋构象;(b)分子在目标位点处的电荷或疏水性;或(c)侧链的体积的影响显著不同的取代来实现抗体生物学特性的实质变化。天然存在的残基是基于常见侧链特性而分成以下各组:

[0414] (1)疏水性:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0415] (2)中性亲水性:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;

[0416] (3)酸性:Asp、Glu;

[0417] (4)碱性:His、Lys、Arg;

[0418] (5)影响链取向的残基:Gly、Pro;和

[0419] (6)芳族:Trp、Tyr、Phe。

[0420] 举例来说,非保守取代可涉及这些类别之一的成员被来自另一类别的成员替换。此类取代的残基可以引入例如人类抗体中与非人类抗体同源的区域中,或引入所述分子的非同源区中。

[0421] 在使本文所描述的多肽或抗体改变时,根据某些实施方案,可考虑氨基酸的疏水性指数。各氨基酸的疏水性指数是基于其疏水性和电荷特征指定。氨基酸的疏水性指数为:

异亮氨酸(+4.5);缬氨酸(+4.2);亮氨酸(+3.8);苯丙氨酸(+2.8);半胱氨酸/胱氨酸(+2.5);甲硫氨酸(+1.9);丙氨酸(+1.8);甘氨酸(-0.4);苏氨酸(-0.7);丝氨酸(-0.8);色氨酸(-0.9);酪氨酸(-1.3);脯氨酸(-1.6);组氨酸(-3.2);谷氨酸(-3.5);谷氨酰胺(-3.5);天冬氨酸(-3.5);天冬酰胺(-3.5);赖氨酸(-3.9);以及精氨酸(-4.5)。

[0422] 疏水氨基酸指数在赋予蛋白质相互作用生物功能方面的重要性是此项技术中所知的。Kyte等,J.Mol.Biol.,157:105-131(1982)。已知某些氨基酸可以取代具有类似疏水性指数或评分的其它氨基酸且仍保持类似生物活性。在基于疏水性指数进行变化时,在某些实施方案中,包括疏水性指数在±2内的氨基酸取代。在某些实施方案中,包括疏水性指数在±1内的氨基酸取代,并且在某些实施方案中,包括疏水性指数在±0.5内的氨基酸取代。

[0423] 此项技术中还应了解,可以基于亲水性有效进行类似氨基酸的取代,特别是在由此产生的生物功能性蛋白质或肽拟用于免疫实施方案中,如在本发明的情形中时。在某些实施方案中,如由相邻氨基酸的亲水性所管控,蛋白质的最大局部平均亲水性与其免疫原性和抗原性相关,即与所述蛋白质的生物学特性相关。

[0424] 已向这些氨基酸残基指定以下亲水性值:精氨酸(+3.0);赖氨酸(+3.0±1);天冬氨酸(+3.0±1);谷氨酸(+3.0±1);丝氨酸(+0.3);天冬酰胺(+0.2);谷氨酰胺(+0.2);甘氨酸(0);苏氨酸(-0.4);脯氨酸(-0.5±1);丙氨酸(-0.5);组氨酸(-0.5);半胱氨酸(-1.0);甲硫氨酸(-1.3);缬氨酸(-1.5);亮氨酸(-1.8);异亮氨酸(-1.8);酪氨酸(-2.3);苯丙氨酸(-2.5);以及色氨酸(-3.4)。在基于类似亲水性值进行变化时,在某些实施方案中,包括亲水性值在±2内的氨基酸取代,在某些实施方案中,包括亲水性值在±1内的氨基酸取代,并且在某些实施方案中,包括亲水性值在±0.5内的氨基酸取代。还可基于亲水性鉴别伯胺基酸序列中的表位。这些区域也称为"表位核心区"。

[0425] 在某些实施方案中,取代、插入或缺失可发生在一个或多个HVR内,只要所述改变基本上不降低抗体结合抗原的能力即可。举例来说,可在HVR中进行基本上不降低结合亲和力的保守性改变(例如,如本文所提供的保守性取代)。所述改变可例如在HVR中的抗原接触残基之外。在以上提供的变异VH和VL序列的某些实施方案中,每一HVR未改变或含有不超过一个、两个或三个氨基酸取代。

[0426] 氨基酸序列插入物包括长度范围从一个残基至含一百个或更多个残基的多肽的氨基和/或羧基末端融合物,以及具有单个或多个氨基酸残基的序列内插入物。末端插入物的实例包括具有N末端甲硫胺酰基残基的抗体。抗体分子的其它插入变体包括抗体的N末端或C末端与酶(例如,对于ADEPT来说)或延长抗体的血清半衰期的多肽的融合物。

[0427] 不参与维持抗体适当构象的任何半胱氨酸残基一般还可被丝氨酸取代,以改善分子的氧化稳定性并防止异常交联。反之,可以将半胱氨酸键添加至抗体中以改善其稳定性(特别是在抗体是抗体片段,诸如Fv片段的情况下)。

[0428] (ii)糖基化变体

[0429] 在本文所提供的抗体中任一种的一些实施方案中,使所述抗体改变以增加或减小抗体糖基化的程度。在抗体上添加或缺失糖基化位点可以通过改变氨基酸序列以产生或移除一个或多个糖基化位点来便利地实现。

[0430] 抗体的糖基化典型地是N连接或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。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸(其中X是除脯氨酸外的任何氨基酸)是将碳水化合物部分经酶连接至天冬酰胺侧链的识别序列。因此,在多肽中这些三肽序列中任一个的存在产生潜在的糖基化位点。O-连接的糖基化是指糖N-乙酰半乳糖胺、半乳糖或木糖连接至羟基氨基酸,最常见是丝氨酸或苏氨酸,不过还可使用5-羟基脯氨酸或5-羟基赖氨酸。

[0431] 在抗体中添加糖基化位点便利地通过改变氨基酸序列,以使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)。所述改变还可通过原始抗体序列中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)。

[0432] 在抗体包含Fc区的情况下,可以改变与其连接的碳水化合物。由哺乳动物细胞产生的天然抗体典型地包含分支的双触角(biantennary)寡糖,所述寡糖一般通过N-连键连接至Fc区CH2结构域的根据Kabat编号的Asn297。寡糖可包括各种碳水化合物,例如甘露糖、N-乙酰基葡糖胺(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸,以及连接至双触角寡糖结构的“主干”中的GlcNAc的岩藻糖。在一些实施方案中,可以对本发明抗体中的寡糖进行修饰以产生具有某些改善的特性的抗体变体。

[0433] 在一个实施方案中,提供具有缺乏与Fc区连接(直接或间接)的岩藻糖的碳水化合物结构的抗体变体。参见例如美国专利公开案号2003/0157108和2004/0093621。涉及“脱岩藻糖基化”或“缺乏岩藻糖”的抗体变体的公开案的实例包括:US 2003/0157108;US 2003/0115614;US 2002/0164328;US2004/0093621;US2004/0132140;US 2004/0110704;US 2004/0110282;US2004/0109865;Okazaki等,J.Mol.Biol.336:1239-1249(2004);Yamane-Ohnuki等,Biotech.Bioeng.87:614(2004)。能够产生脱岩藻糖基化抗体的细胞系的实例包括缺乏蛋白质岩藻糖基化的Led3CHO细胞(Ripka等,Arch.Biochem.Biophys.249:533-545(1986);US2003/0157108);和基因敲除细胞系,诸如α-1,6-岩藻糖基转移酶基因FUT8基因敲除的CHO细胞(参见例如Yamane-Ohnuki等,Biotech.Bioeng.87:614(2004)和Kanda,Y.等,Biotechnol.Bioeng.,94(4):680-688(2006))。

[0434] (iii)修饰的恒定区

[0435] 在本文所提供的抗体中任一种的一些实施方案中,所述抗体Fc是抗体Fc同种型和/或修饰。在一些实施方案中,抗体Fc同种型和/或修饰能够结合至Fcγ受体。

[0436] 在本文所提供的抗体中任一种的一些实施方案中,所述修饰的抗体Fc是IgG1的修饰的Fc。在一些实施方案中,IgG1的修饰的Fc包含一个或多个修饰。举例来说,在一些实施方案中,IgG1的修饰的Fc包含一个或多个氨基酸取代(例如相对于同一同种型的野生型Fc区)。在一些实施方案中,所述一个或多个氨基酸取代选自N297A(BoltS等(1993)EurJImmunol23:403-411)、D265A(Shields等(2001)R.J.Biol.Chem.276,6591-6604)、L234A、L235A(Hutchins等(1995)ProcNatl AcadSci USA,92:11980-11984;Alegre等(1994)Transplantation57:1537-1543.31;Xu等(2000)CellImmunol,200:16-26)、G237A(Alegre等(1994)Transplantation57:1537-1543.31;Xu等(2000)CellImmunol,200:16-26)、C226S、C229S、E233P、L234V、L234F、L235E(McEarchern等(2007)Blood,109:1185-1192)、P331S(Sazinsky等(2008)ProcNatlAcadSciUSA2008,105:20167-20172)、S267E、L328F、A330L、M252Y、S254T和/或T256E,其中所述氨基酸位置是根据EU编号惯例。在本文所提供的抗体中任一种的一些实施方案中,所述抗体是IgG1同种型且Fc区包含在位置L234A、

L235A和P331S处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。

[0437] 在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的N297A突变。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的D265A和N297A突变。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的D270A突变。在一些实施方案中,所述IgG1的修饰的Fc包含根据EU编号的L234A和L235A突变。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的L234A和G237A突变。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的L234A、L235A和G237A突变。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的P238D、L328E、E233、G237D、H268D、P271G和A330R突变中的一个或多个(包括全部)。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的S267E/L328F突变中的一个或多个。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的P238D、L328E、E233D、G237D、H268D、P271G和A330R突变。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的P238D、L328E、G237D、H268D、P271G和A330R突变。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的P238D、S267E、L328E、E233D、G237D、H268D、P271G和A330R突变。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的P238D、S267E、L328E、G237D、H268D、P271G和A330R突变。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的C226S、C229S、E233P、L234V和L235A突变。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的L234F、L235E和P331S突变。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的S267E和L328F突变。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的S267E突变。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含IgG1的恒定重链1(CH1)和铰链区被含κ轻链的IgG2的CH1和铰链区(根据EU编号的IgG2的氨基酸118-230)取代。

[0438] 在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包括两个或更多个氨基酸取代,所述取代使抗体从集相较于具有不包括所述两个或更多个氨基酸取代的Fc区的相应抗体增加,同时不活化补体。因此,在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述IgG1的修饰的Fc是包含Fc区的抗体,其中所述抗体包含根据EU编号在位置E430G处的氨基酸取代以及在Fc区中选自以下的残基位置处的一个或多个氨基酸取代:L234F、L235A、L235E、S267E、K322A、L328F、A330S、P331S和它们的任何组合。在一些实施方案中,所述IgG1的修饰的Fc包含根据EU编号在位置E430G、L243A、L235A和P331S处的氨基酸取代。在一些实施方案中,所述IgG1的修饰的Fc包含根据EU编号在位置E430G和P331S处的氨基酸取代。在一些实施方案中,所述IgG1的修饰的Fc包含根据EU编号在位置E430G和K322A处的氨基酸取代。在一些实施方案中,所述IgG1的修饰的Fc包含根据EU编号在位置E430G、A330S和P331S处的氨基酸取代。在一些实施方案中,所述IgG1的修饰的Fc包含根据EU编号在位置E430G、K322A、A330S和P331S处的氨基酸取代。在一些实施方案中,所述IgG1的修饰的Fc包含根据EU编号在位置E430G、K322A和A330S处的氨基酸取代。在一些实施方案中,所述IgG1的修饰的Fc包含根据EU编号在位置E430G、K322A和P331S处的氨基酸取代。

[0439] 在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述IgG1的修饰的Fc可在本文中还包含根据EU编号惯例与A330L突变(Lazar等,Proc Natl Acad Sci USA,103:4005-4010

(2006)),或L234F、L235E和/或P331S突变中的一个或多个(Sazinsky等,Proc Natl Acad Sci USA,105:20167-20172(2008))的组合,以消除补体活化。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述IgG1的修饰的Fc可还包含根据EU编号的以下一个或多个:A330L、A330S、L234F、L235E和/或P331S。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述IgG1的修饰的Fc还可包含一个或多个延长抗体在人血清中的半衰期的突变(例如根据EU编号惯例,M252Y、S254T和T256E突变中的一个或多个(包括全部))。在IgG1的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述IgG1的修饰的Fc可还包含根据EU编号的以下一个或多个:E430G、E430S、E430F、E430T、E345K、E345Q、E345R、E345Y、S440Y和/或S440W。

[0440] 本公开的其它方面涉及具有修饰的恒定区(即,Fc区)的抗体。依赖于结合至FcgR受体来活化目标受体的抗体如果经工程改造成消除FcgR结合,那么可能丧失其激动剂活性(参见例如Wilson等,CancerCell19:101-113(2011);Armour等,Immunology40:585-593(2003);和White等,CancerCell27:138-148(2015))。因此,认为当具有正确表位特异性的本公开的抗分拣蛋白抗体具有来自人类IgG2同种型(CH1和铰链区)的Fc结构域或能够优先结合抑制性FcgRIIBr受体的另一类Fc结构域或其变体时,所述抗体可以活化目标抗原,同时具有最少不良作用。

[0441] 在本文所提供的抗体中任一种的一些实施方案中,所述经修饰抗体Fc是IgG2的修饰的Fc。在一些实施方案中,IgG2的修饰的Fc包含一个或多个修饰。举例来说,在一些实施方案中,IgG2的修饰的Fc包含一个或多个氨基酸取代(例如相对于同一同种型的野生型Fc区)。在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,根据EU编号惯例,所述一个或多个氨基酸取代选自V234A(Alegre等,Transplantation57:1537-1543(1994);Xu等,CellImmunol,200:16-26(2000));G237A(Cole等,Transplantation,68:563-571(1999));H268Q、V309L、A330S、P331S(US2007/0148167;Armour等,Eur J Immunol29:2613-2624(1999);Armour等,TheHaematology Journal 1(Suppl.1):27(2000);Armour等,TheHaematology Journal 1(Suppl.1):27(2000))、C219S和/或C220S(White等,Cancer Cell 27,138-148(2015));S267E、L328F(Chu等,Mol Immunol,45:3926-3933(2008));和M252Y、S254T和/或T256E。在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置V234A和G237A处的氨基酸取代。在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置C219S或C220S处的氨基酸取代。在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置A330S和P331S处的氨基酸取代。在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置S267E和L328F处的氨基酸取代。

[0442] 在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号惯例的C127S氨基酸取代(White等(2015)Cancer Cell 27,138-148;Lightle等,Protein Sci.19:753-762(2010);和WO 2008/079246)。在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述抗体具有含κ轻链恒定结构域的IgG2同种型,所述κ轻链恒定结构域包含根据EU编号惯例的C214S氨基酸取代(White等,Cancer Cell 27:138-148(2015);Lightle等,Protein Sci.19:753-762(2010);和WO 2008/079246)。

[0443] 在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号惯例的C220S氨基酸取代。在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述抗体具有含κ轻链

恒定结构域的IgG2同种型,所述κ轻链恒定结构域包含根据EU编号惯例的C214S氨基酸取代。

[0444] 在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号惯例的C219S氨基酸取代。在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述抗体具有含κ轻链恒定结构域的IgG2同种型,所述κ轻链恒定结构域包含根据EU编号惯例的C214S氨基酸取代。

[0445] 在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包括IgG2同种型重链恒定结构域1(CH1)和铰链区(White等,Cancer Cell 27:138-148(2015))。在IgG2的修饰的Fc中任一种的某些实施方案中,IgG2同种型CH1和铰链区包含根据EU编号的118-230的氨基酸序列。在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,根据EU编号惯例,所述抗体Fc区包含S267E氨基酸取代、L328F氨基酸取代或两者,和/或N297A或N297Q氨基酸取代。

[0446] 在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc还包含根据EU编号在位置E430G、E430S、E430F、E430T、E345K、E345Q、E345R、E345Y、S440Y和S440W处的一个或多个氨基酸取代。在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc可还包含一个或多个延长抗体在人血清中的半衰期的突变(例如根据EU编号惯例,M252Y、S254T和T256E突变中的一个或多个(包括全部))。在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc可还包含A330S和P331S。

[0447] 在IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc是IgG2/4混合Fc。在一些实施方案中,IgG2/4混合Fc包含IgG2的氨基酸118至260和IgG4的氨基酸261至447。在任何IgG2的修饰的Fc的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置H268Q、V309L、A330S和P331S处的一个或多个氨基酸取代。

[0448] 在IgG1和/或IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号选自A330L、L234F、L235E或P331S;和它们的任何组合的一个或多个另外氨基酸取代。

[0449] 在IgG1和/或IgG2的修饰的Fc中任一种的某些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在选自以下的残基位置处的一个或多个氨基酸取代:C127S、L234A、L234F、L235A、L235E、S267E、K322A、L328F、A330S、P331S、E345R、E430G、S440Y和它们的任何组合。在IgG1和/或IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置E430G、L243A、L235A和P331S处的氨基酸取代。在IgG1和/或IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置E430G和P331S处的氨基酸取代。在IgG1和/或IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置E430G和K322A处的氨基酸取代。在IgG1和/或IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置E430G、A330S和P331S处的氨基酸取代。在IgG1和/或IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置E430G、K322A、A330S和P331S处的氨基酸取代。在IgG1和/或IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置E430G、K322A和A330S处的氨基酸取代。在IgG1和/或IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置E430G、K322A和P331S处的氨基酸取代。在IgG1和/或IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置S267E和L328F处的氨基酸取代。在IgG1和/或IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置C127S处的氨基酸取代。在IgG1和/或IgG2的修饰的Fc中任一种的一些实施

方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置E345R、E430G和S440Y处的氨基酸取代。

[0450] 在本文所提供的抗体中任一种的一些实施方案中,所述经修饰抗体Fc是IgG4的修饰的Fc。在一些实施方案中,IgG4的修饰的Fc包含一个或多个修饰。举例来说,在一些实施方案中,IgG4的修饰的Fc包含一个或多个氨基酸取代(例如相对于同一同种型的野生型Fc区)。在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,根据EU编号惯例,所述一个或多个氨基酸取代选自L235A、G237A、S229P、L236E(Reddy等J Immunol164:1925-1933(2000))、S267E、E318A、L328F、M252Y、S254T和/或T256E。在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc还可包含根据EU编号惯例的L235A、G237A和E318A。在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc还可包含根据EU编号惯例的S228P和L235E。在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述IgG4的修饰的Fc还可包含根据EU编号惯例的S267E和L328F。

[0451] 在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述IgG4的修饰的Fc可以与根据EU编号惯例的S228P突变(Angal等,Mol Immunol.30:105-108(1993))和/或与(Peters等,J BiolChem.287(29):24525-33(2012))中所描述的一个或多个突变组合以增进抗体稳定化。

[0452] 在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述IgG4的修饰的Fc可还包含一个或多个延长抗体在人血清中的半衰期的突变(例如根据EU编号惯例,M252Y、S254T和T256E突变中的一个或多个(包括全部))。

[0453] 在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号的L235E。在IgG4的修饰的Fc中任一种的某些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在选自以下的残基位置处的一个或多个氨基酸取代:C127S、F234A、L235A、L235E、S267E、K322A、L328F、E345R、E430G、S440Y和它们的任何组合。在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置E430G、L243A、L235A和P331S处的氨基酸取代。在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置E430G和P331S处的氨基酸取代。在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置E430G和K322A处的氨基酸取代。在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置E430处的氨基酸取代。在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc区包含根据EU编号在位置E430G和K322A处的氨基酸取代。在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置S267E和L328F处的氨基酸取代。在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置C127S处的氨基酸取代。在IgG4的修饰的Fc中任一种的一些实施方案中,所述Fc包含根据EU编号在位置E345R、E430G和S440Y处的氨基酸取代。

[0454] (9)其它抗体修饰

[0455] 在所述抗体中任一种的一些实施方案中,所述抗体是衍生物。术语“衍生物”是指包括除氨基酸(或核酸)的插入、缺失或取代外的化学修饰的分子。在某些实施方案中,衍生物包含共价修饰,包括但不限于与聚合物、脂质或其它有机或无机部分的化学键结。在某些实施方案中,经化学修饰的抗原结合蛋白的循环半衰期可高于未经化学修饰的抗原结合蛋白。在某些实施方案中,经化学修饰的抗原结合蛋白可具有改善的靶向所需细胞、组织和/或器官的能力。在某些实施方案中,衍生物抗原结合蛋白经共价修饰成包括一个或多个水溶性聚合物连接,包括但不限于聚乙二醇、聚氧乙二醇或聚丙二醇。参见例如美国专利号

4640835、4496689、4301144、4670417、4791192和4179337。在某些实施方案中,衍生物抗原结合蛋白包含一种或多种聚合物,包括但不限于单甲氧基聚乙二醇、葡聚糖、纤维素、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、聚1,3-二氧杂环戊烷、聚1,3,6-三氧杂环己烷、乙烯/顺丁烯二酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或无规共聚物)、聚(N-乙烯吡咯烷酮)-聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙基化多元醇(例如甘油)和聚乙烯醇,以及所述聚合物的混合物。

[0456] 在某些实施方案中,衍生物经聚乙二醇(PEG)次单元共价修饰。在某些实施方案中,一种或多种水溶性聚合物在衍生物的一个或多个特定位置处,例如在氨基末端处键结。在某些实施方案中,一种或多种水溶性聚合物随机连接至衍生物的一个或多个侧链。在某些实施方案中,使用PEG改善抗原结合蛋白的治疗能力。在某些实施方案中,使用PEG改善人源化抗体的治疗能力。某些此类方法论述于例如美国专利号6133426中,所述案件出于任何目的以引用的方式并入本文中。

[0457] 具有与模板肽类似的特性的肽类似物在医药行业中常作为非肽药物使用。这些类型的非肽化合物称为“肽模拟物”或“肽基模拟物”。Fauchere,J.Adv.Drug Res.,15:29(1986);和Evans等,J.Med.Chem.,30:1229(1987),所述案件出于任何目的以引用的方式并入本文中。此类化合物通常是借助于计算机化分子建模开发。可以使用结构类似于治疗上有用的肽的肽模拟物产生类似治疗或预防作用。一般来说,肽基模拟物在结构上类似于典范多肽(即,具有生物化学特性或药理学活性的多肽),诸如人类抗体,但具有通过此项技术中熟知的方法,任选地经选自以下的连键置换的一个或多个肽连键:$-CH_2NH-$、$-CH_2S-$、$-CH_2-CH_2-$、-CH-CH-(顺式和反式)、$-COCH_2-$、$-CH(OH)CH_2-$和$-CH_2SO-$。在某些实施方案中,共同序列的一个或多个氨基酸被同一类型的D-氨基酸系统性取代(例如D-赖氨酸替代L-赖氨酸)可以用于产生更稳定的肽。此外,还可通过此项技术中已知的方法(Rizo和Gierasch,Ann.Rev.Biochem.,61:387(1992),出于任何目的以引用的方式并入本文中),例如通过添加能够形成分子内二硫桥以使肽环化的内部半胱氨酸残基,产生包含共同序列或基本上相同的共同序列变化的受限肽。

[0458] 药物缀合涉及将生物活性细胞毒性(抗癌)有效负载或药物与特异性靶向某一肿瘤标记物(例如在理想情况下,仅在肿瘤细胞中或其上发现的多肽)的抗体偶合。抗体追踪体内的这些蛋白质并将其自身连接至癌细胞的表面。抗体与目标蛋白(抗原)之间的生物化学反应触发肿瘤细胞中的信号,所述肿瘤细胞然后吸收或内化所述抗体以及细胞毒素。在ADC内化之后,释放细胞毒性药物并杀灭癌症。由于此靶向作用,理想的情况是,所述药物较其它化学治疗剂具有更少副作用且提供更宽的治疗窗。缀合抗体的技术已有公开且为此项技术中已知的(参见例如Jane de Lartigue,OncLive,2012年7月5日;ADCReview on antibody-drug conjugates;和Ducry等,Bioconjugate Chemistry 21(1):5-13(2010))。

[0459] 结合测定和其它测定

[0460] 可例如通过已知方法,诸如ELISA、表面等离子体共振(SPR)、西方印迹法、流式细胞测量术、FACS、生物层干涉法等测试本公开的抗分拣蛋白抗体的抗原结合活性。

[0461] 在一些实施方案中,可使用竞争测定来鉴别与本文所述抗体中的任一种竞争的抗体。在一些实施方案中,可使用竞争测定鉴别与表1-表30中所列或包含选自以下的抗体的重链可变区和轻链可变区的抗体中的任一种竞争结合至分拣蛋白的抗体:S-60、S-60-1、S-

60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-7、S-60-8、S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19和S-60-24。在某些实施方案中,此类竞争抗体结合至与表1-表30中所列或包含选自以下的抗体的重链可变区和轻链可变区的抗体中的任一种所结合相同的表位(例如线性或构象表位):S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-7、S-60-8、S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15[N33(wt)]、S-60-15.1[N33T]、S-60-15.2[N33S]、S-60-15.3[N33G]、S-60-15.4[N33R]、S-60-15.5[N33D]、S-60-15.6[N33H]、S-60-15.7[N33K]、S-60-15.8[N33Q]、S-60-15.9[N33Y]、S-60-15.10[N33E]、S-60-15.11[N33W]、S-60-15.12[N33F]、S-60-15.13[N33I]、S-60-15.14[N33V]、S-60-15.15[N33A]、S-60-15.16[N33M]、S-60-15.17[N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-19和S-60-24。有关定位抗体所结合的表位的详细例示性方法提供于Morris(1996)“Epitope Mapping Protocols,”Methods inMolecular Biology第66卷(Humana Press,Totowa,NJ)中。

[0462] 在一种例示性竞争测定中,在包含结合至分拣蛋白的第一标记的抗体(例如人类或非人类灵长类动物)和正测试与所述第一抗体竞争结合至分拣蛋白的能力的第二未标记抗体的溶液中培育固定的分拣蛋白或在细胞表面上表达分拣蛋白的细胞。第二抗体可以存在于融合瘤上清液中。作为对照,在包含第一标记的抗体但不含第二未标记抗体的溶液中培育固定的分拣蛋白或表达分拣蛋白的细胞。在允许第一抗体结合至分拣蛋白的条件下培育之后,移除过量的未结合抗体,并测量与固定的分拣蛋白或表达分拣蛋白的细胞缔合的标记的量。如果测试样品中与固定的分拣蛋白或表达分拣蛋白的细胞缔合的标记的量相对于对照样品实质上减少,那么此指示第二抗体与第一抗体竞争结合至分拣蛋白。参见Harlow和Lane(1988)Antibodies:ALaboratoryManual,第14章(ColdSpringHarbor Laboratory,ColdSpringHarbor,NY)。

[0463] 配体结合测定

[0464] 本文进一步提供筛选抗分拣蛋白抗体的方法,所述抗分拣蛋白抗体结合人类分拣蛋白(SEQ ID NO:81)的His131、Val132、Pro133、Leu134、Val135、Ile136、Met137、Thr138、Arg196、Phe198、Arg199、Phe203、Lys205、Phe207、Thr210、Thr218、Tyr222、Ser223、Ser227、Ser242、Lys243、Lys248、Lys254、Lys260、Ser305、Phe306、Gly307、Arg311、Phe314、Ser316、Arg325、Arg326、Ile327、Phe350、Tyr351、Ser352、Ile353、Asn373、Ser379、Arg382、Tyr386、Ser595和/或Glu700;或对应于SEQ ID NO:81的一个或多个氨基酸残基His131、Val132、Pro133、Leu134、Val135、Ile136、Met137、Thr138、Arg196、Phe198、Arg199、Phe203、Lys205、Phe207、Thr210、Thr218、Tyr222、Ser223、Ser227、Ser242、Lys243、Lys248、Lys254、Lys260、Ser305、Phe306、Gly307、Arg311、Phe314、Ser316、Arg325、Arg326、Ile327、Phe350、Tyr351、Ser352、Ile353、Asn373、Ser379、Arg382、Tyr386、Ser595和/或Glu700的哺乳动物分拣蛋白的氨基酸残基,由此阻断分拣蛋白与分拣蛋白配体(例如前颗粒体蛋白、前神经营养素、pro-NGF、pro-BDNF、pro-NT3、p75、APP、LpL、APOA5、APOE)之间的相互作用。在一些实施方案中,可合成肽文库,其中将分拣蛋白分割成通过一个氨基酸残基隔开的连续15聚体和25聚

体肽,并且随后将其点样至过滤器上。然后,可通过SPOT结合分析,针对在存在或不存在抗分拣蛋白抗体存在下与受体肽或与例如在人类分拣蛋白文库的His131、Val132、Pro133、Leu134、Val135、Ile136、Met137、Thr138、Arg196、Phe198、Arg199、Phe203、Lys205、Phe207、Thr210、Thr218、Tyr222、Ser223、Ser227、Ser242、Lys243、Lys248、Lys254、Lys260、Ser305、Phe306、Gly307、Arg311、Phe314、Ser316、Arg325、Arg326、Ile327、Phe350、Tyr351、Ser352、Ile353、Asn373、Ser379、Arg382、Tyr386、Ser595和/或Glu700处突变的肽相互作用的能力测试分拣蛋白配体的结合(参见Frank,R和Overwin,H(1996)Methods.Mol.Biol.66,149-169;Reineke,U等(2002)J.Immunol.Methods267,13-26;和Andersen,OS等,(2010)J,Biological Chemistry 285,12210-12222)。

[0465] 本文进一步提供筛选阻断分拣蛋白与分拣蛋白配体(前颗粒体蛋白、前神经营养素、pro-NGF、pro-BDNF、pro-NT3、p75、APP、LpL、APOA5、APOE)之间的相互作用(例如结合)的抗分拣蛋白抗体的方法。在一些实施方案中,可使用表面等离子体共振分析(例如Skeldal,S等(2012)JBiolChem.,287:43798;和Andersen,OS等,(2010)TheJournalOf BiologicalChemistry,285,12210-12222);下拉测定(例如Andersen,OS等(2010)TheJournalOfBiologicalChemistry,285,12210-12222);纤维素结合的蛋白质(例如Andersen,OS等(2010)TheJournalOfBiologicalChemistry,285,12210-12222);邻近接合测定(例如Gustafsen,C等(2013)TheJournalofNeuroscience,33:64-71)和/或在细胞结合测定中碱性磷酸酶标记的配体(例如Hu,F等(2010)Neuron68,654-667)表征分拣蛋白与分拣蛋白配体(前颗粒体蛋白、前神经营养素、pro-NGF、pro-BDNF、pro-NT3、p75、APP、LpL、APOA5、APOE)之间的相互作用。

[0466] 基于细胞的测定

[0467] 本文进一步提供筛选分拣蛋白结合拮抗剂,诸如抗分拣蛋白抗体的方法,所述方法包括使剂(例如抗分拣蛋白抗体)与在细胞表面上表达分拣蛋白的细胞接触。在一些实施方案中,使所述剂和细胞进一步与本公开的分拣蛋白配体接触。在一些实施方案中,细胞本身表达本公开的分拣蛋白配体。基于细胞的方法特别适于通过评估在细胞环境中对分拣蛋白与分拣蛋白配体之间相互作用的影响来筛选并验证分拣蛋白结合拮抗剂(例如抗分拣蛋白抗体)。

[0468] 因此,本公开的某些方面涉及一种在细胞表面上表达本公开的分拣蛋白的细胞。在一些实施方案中,所述细胞内源性表达本公开的分拣蛋白。在一些实施方案中,所述细胞经重组工程改造成表达本公开的分拣蛋白。在这些实施方案中的任一种中,由聚核苷酸编码的本公开的分拣蛋白(无论为内源性还是重组的)优选将至少包括翻译后加工、膜易位和靶向细胞表面所需的蛋白质结构域,包括但不限于信号肽和跨膜结构域。在一些实施方案中,所述信号肽和/或跨膜结构域可指内源性分拣蛋白信号肽和/或跨膜结构域。在其它实施方案中,所述信号肽和/或跨膜结构域可指已知促进在所需宿主细胞中的细胞表面表达的外源性信号肽和/或跨膜结构域。在优选实施方案中,分拣蛋白还将含有足以结合本公开的分拣蛋白配体的结构域。

[0469] 在这些实施方案中,可使用在细胞表面上表达本公开的分拣蛋白的任何细胞。在一些实施方案中,所述细胞在其细胞表面上内源性表达本公开的分拣蛋白。在一些实施方案中,所述细胞经重组工程改造成在其细胞表面上表达本公开的分拣蛋白。本公开的任何

适合分拣蛋白配体均可使用,以使其保持结合至细胞表面上表达的分拣蛋白的能力。所述分拣蛋白配体无需荧光标记。分拣蛋白配体的水平可通过此项技术中已知的任何测定(包括但不限于ELISA、SPR、西方印迹法、质谱法、免疫沉淀、肽微阵列等等)来检测。

[0470] 在一些实施方案中,本文所公开的方法涉及在使得表达分拣蛋白和分拣蛋白配体且将分拣蛋白配体释放至培养基中的条件下,在培养基中培养在细胞表面上表达分拣蛋白和分拣蛋白配体的细胞;使所述细胞与剂(例如抗分拣蛋白抗体)在使得分拣蛋白能够结合至分拣蛋白配体的条件下接触;以及检测所述培养基中分拣蛋白配体的水平相较于在所述剂不存在下所述培养基中分拣蛋白配体的水平的增加。分拣蛋白配体的水平增加指示,所述剂是分拣蛋白结合拮抗剂。不希望受理论束缚,认为在细胞表面上表达的分拣蛋白与分泌的分拣蛋白配体之间的相互作用将产生对分拣蛋白配体的内吞作用和溶酶体降解。因此,认为减弱此相互作用(例如通过添加本公开的分拣蛋白结合拮抗剂)使得培养基中分拣蛋白配体的水平随时间增加。

[0471] 在这些实施方案中,可使用在细胞表面上表达本公开的分拣蛋白且表达并分泌本公开的分拣蛋白配体的任何细胞。在一些实施方案中,所述细胞可在其细胞表面上内源性表达本公开的分拣蛋白。在一些实施方案中,所述细胞可内源性表达并分泌本公开的分拣蛋白配体。在一些实施方案中,所述细胞是U-251细胞,并且所述分拣蛋白配体是前颗粒体蛋白。在一些实施方案中,所述细胞可经重组工程改造成在其细胞表面上表达本公开的分拣蛋白。在一些实施方案中,所述细胞可经重组工程改造成表达并分泌本公开的分拣蛋白配体。

[0472] 在本文所描述的任何基于细胞的测定中,可使用本公开的分拣蛋白配体。在一些实施方案中,分拣蛋白配体是前颗粒体蛋白。所述分拣蛋白配体可为全长蛋白质,或其可为其分拣蛋白结合肽片段。

[0473] 核酸、载体和宿主细胞

[0474] 本公开的抗分拣蛋白抗体可使用如美国专利号4816567中所述的重组方法和组合物制造。在一些实施方案中,提供了分离的核酸,所述分离的核酸具有编码本公开的抗分拣蛋白抗体中任一种的核苷酸序列。所述核酸可编码包含抗分拣蛋白抗体的V_L的氨基酸序列和/或包含所述抗体的V_H的氨基酸序列(例如抗体的轻链和/或重链)。在一些实施方案中,提供包含所述核酸的一种或多种载体(例如表达载体)。在一些实施方案中,还提供包含所述核酸的宿主细胞。在一些实施方案中,所述宿主细胞包含(例如已经转导而具有):(1)包含核酸的载体,所述核酸编码包含抗体V_L的氨基酸序列和包含抗体V_H的氨基酸序列,或(2)第一载体和第二载体,所述第一载体包含编码包含抗体V_L的氨基酸序列的核酸,所述第二载体包含编码包含抗体V_H的氨基酸序列的核酸。在一些实施方案中,宿主细胞是真核细胞,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴细胞(例如Y0、NS0、Sp20细胞)。本公开的宿主细胞还包括但不限于分离的细胞、活体外培养的细胞和离体培养的细胞。

[0475] 提供制备本公开的抗分拣蛋白抗体的方法。在一些实施方案中,所述方法包括在适于表达抗分拣蛋白抗体的条件下,培养包含编码所述抗体的核酸的本公开的宿主细胞。在一些实施方案中,随后从宿主细胞(或宿主细胞培养基)回收抗体。

[0476] 对于重组产生本公开的抗分拣蛋白抗体,分离出编码所述抗分拣蛋白抗体的核酸,并将其插入一个或多个载体中以进一步在宿主细胞中克隆和/或表达。此核酸可以使用

习知程序(例如通过使用能够特异性结合至编码抗体重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)容易地分离并测序。

[0477] 包含编码本公开的抗分拣蛋白抗体中任一种或细胞表面表达的其片段或多肽(包括抗体)的核酸序列的适合载体包括但不限于克隆载体和表达载体。适合克隆载体可以根据标准技术构建,或者可以选自此项技术中可用的众多克隆载体。尽管所选克隆载体可以根据预期使用的宿主细胞而变化,但有用的克隆载体一般能够自我复制,可以具有特定限制性核酸内切酶的单一目标,且/或可以带有可用于选择含所述载体的克隆的标记物的基因。适合实例包括质粒和细菌病毒,例如pUC18、pUC19、Bluescript(例如pBSSK+)和其衍生物、mp18、mp19、pBR322、pMB9、ColE1、pCR1、RP4、噬菌体DNA,和穿梭载体,诸如pSA3和pAT28。这些和许多其它克隆载体可购自商业供应商,诸如BioRad、Strategene和Invitrogen。

[0478] 适于克隆或表达抗体编码载体的宿主细胞包括原核或真核细胞。举例来说,可在细菌中产生本公开的抗分拣蛋白抗体,特别是在不需要糖基化和Fc效应功能时。关于细菌中抗体片段和多肽的表达,参见例如美国专利号5648237、5789199和5840523。表达之后,可从细菌细胞浆的可溶部分中分离抗体且可进一步纯化。

[0479] 除原核生物外,真核微生物如丝状真菌或酵母,也是适于抗体编码载体的克隆或表达宿主,包括糖基化路径经“人源化”使得产生具有部分或完全人类糖基化模式的抗体的真菌和酵母菌株(例如Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-1414(2004);和Li等,Nat.Biotech.24:210-215(2006))。

[0480] 适于表达糖基化抗体的宿主细胞还可来源于多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括植物和昆虫细胞。已鉴别出可以与昆虫细胞联合使用,特别是用于转染草地粘虫(Spodoptera frugiperda)细胞的众多杆状病毒株。植物细胞培养物也可用作宿主(例如美国专利号5959177、6040498、6420548、7125978和6417429,描述用于在转基因植物中产生抗体的PLANTIBODIES™技术)。

[0481] 脊椎动物细胞也可用作宿主。举例来说,可以使用适于在悬浮液中生长的哺乳动物细胞系。有用哺乳动物宿主细胞系的其它实施例是经SV40转变的猴肾CV1细胞系(COS-7);人胚肾细胞系(293或293细胞,如例如Graham等,J.GenVirol.36:59(1977)中所述);幼仓鼠肾细胞(BHK);小鼠赛托利氏细胞(sertoli cell)(TM4细胞,如例如Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)中所述);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人子宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);布法罗大鼠(buffalo rat)肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳房肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,如例如Mather等,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)中所述;MRC 5细胞;和FS4细胞。其它有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR-CHO细胞(Urlaub等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA77:4216(1980));和骨髓瘤细胞系,诸如YO、NSO和Sp2/0。关于适于产生抗体的某些哺乳动物宿主细胞系的评述,参见例如Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo编,Humana Press,Totowa,NJ),第255-268页(2003)。

[0482] 药物组合物

[0483] 本文提供包含本公开的抗分拣蛋白抗体和药学上可接受的载体的药物组合物和/或药物配制剂。

[0484] 在一些实施方案中,药学上可接受的载体优选在所采用的剂量和浓度下对接受者无毒。本文所述的抗体可配制成呈固体、半固体、液体或气体形式的制剂。此类配制剂的实例包括但不限于片剂、胶囊、散剂、颗粒剂、油膏、溶液、栓剂、注射液、吸入剂、凝胶、微球体和气雾剂。取决于所需配制剂,药学上可接受的载体可包括药学上可接受的无毒载体或稀释剂,所述载体或稀释剂是常用于配制供动物或人类施用的药物组合物的媒剂。在某些实施方案中,药物组合物可以包含用于改变、维持或保持例如所述组合物的pH值、摩尔渗透压浓度、粘度、澄清度、颜色、等渗性、气味、无菌性、稳定性、溶解或释放速率、吸收或渗透性的配制材料。

[0485] 在某些实施方案中,药学上可接受的载体包括但不限于氨基酸(诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸);抗微生物剂;抗氧化剂(诸如抗坏血酸、亚硫酸钠或亚硫酸氢钠);缓冲剂(诸如硼酸盐、碳酸氢盐、Tris-HCl、柠檬酸盐、磷酸盐或其它有机酸);增积剂(诸如甘露糖醇或甘氨酸);螯合剂(诸如乙二胺四乙酸(EDTA));络合剂(诸如咖啡因、聚乙烯吡咯烷酮、β-环糊精或羟丙基-β-环糊精);填充剂;单糖;二糖;和其它碳水化合物(诸如葡萄糖、甘露糖或糊精);蛋白质(诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白);着色剂、调味剂和稀释剂;乳化剂;亲水性聚合物(诸如聚乙烯吡咯烷酮);低分子量多肽;成盐平衡离子(诸如钠);防腐剂(诸如苯扎氯铵(benzalkonium chloride)、苯甲酸、水杨酸、硫柳汞、苯乙醇、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、氯己定(chlorhexidine)、山梨酸或过氧化氢);溶剂(诸如甘油、丙二醇或聚乙二醇);糖醇(诸如甘露糖醇或山梨糖醇);悬浮剂;表面活性剂或润湿剂(诸如普流尼克(pluronic);PEG;脱水山梨糖醇酯;聚山梨醇酯,诸如聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80;曲通(triton);胺丁三醇;卵磷脂;胆固醇;泰洛沙伯(tyloxapal));稳定性增强剂(诸如蔗糖或山梨糖醇);张力增强剂(诸如碱金属卤化物,优选为氯化钠或氯化钾;甘露糖醇、山梨糖醇);递送媒剂;稀释剂;赋形剂和/或药物佐剂。有关适于各种类型施用的配制剂的其它实施例可见于Remington:The Science and Practice of Pharmacy, Pharmaceutical Press第22版(2013)中。有关药物递送方法的简要综述,参见Langer, Science 249:1527-1533(1990)。

[0486] 适于非经肠施用的配制剂包括水性和非水性、等渗无菌注射溶液,所述溶液可包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和使配制剂与预期接受者的血液等渗的溶质;以及水性和非水性无菌悬浮液,所述悬浮液可包括悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂。

[0487] 配制剂可被优化成在脑或中枢神经系统中保留和稳定。当将剂施用脑室中时,希望所述剂保留在所述隔室中,而不扩散或以其它方式跨越血脑屏障。稳定技术包括与诸如聚乙二醇、聚丙烯酰胺、中性蛋白质载体等基团交联、多聚化或连接,以便增加分子量。

[0488] 用于增加保留的其它策略包括将抗体,诸如本公开的抗分拣蛋白抗体覆埋在生物可降解或生物可蚀性植入物中。治疗活性剂的释放速率受经由聚合物基质转运的速率和植入物的生物降解速率控制。植入物可以为粒子、薄片、贴片、斑块板、纤维、微胶囊等,并且可以具有与所选插入部位相容的任何大小或形状。可以使用的生物可降解聚合物组合物可为当降解时会产生生理学上可接受的降解产物(包括单体)的有机酯或醚。酸酐、酰胺、原酸酯等可以单独使用,或与其它单体组合使用。所述聚合物将为缩合聚合物。聚合物可以为交联或未交联的。特别值得关注的是羟基脂肪族羧酸聚合物(均聚物或共聚物)和多糖。所关注的聚酯中尤其包括D-乳酸、L-乳酸、外消旋乳酸、羟基乙酸、聚己内酯的聚合物和其组合。尤

其值得关注的多糖是褐藻酸钙,和官能化纤维素,特别是以不溶于水、约5kD至500kD分子量为特征的羧甲基纤维素酯等。在本发明的植入物中还可采用生物可降解水凝胶。水凝胶典型地是以吸收液体为特征的共聚物材料。

[0489] 药物剂量

[0490] 本文所提供的抗体(和任何另外治疗剂)可通过任何适合手段施用,包括非经肠、肺内、鼻内、病灶内施用、脑脊髓内、颅内、脊柱内、滑膜内、鞘内、经口、局部或吸入途径。非经肠输注包括肌肉内施用、以浓注方式或通过经一段时间连续输注进行静脉内施用;动脉内、关节内、腹膜内或皮下施用。在一些实施方案中,所述施用是静脉内施用。在一些实施方案中,所述施用是皮下施用。部分取决于施用是短期还是长期,可通过任何适合途径,例如通过注射,诸如静脉内或皮下注射给药。本文涵盖多种给药时程,包括但不限于单次施用或在多个时间点多次施用、浓注施用和脉冲输注。

[0491] 本文所提供的抗体将以与优良医疗实践相符的方式配制、给药和施用。在此情形中待考虑的因素包括所治疗的特定病症、所治疗的特定哺乳动物、个别患者的临床状况、病症的起因、药物的递送部位、施用方法、施用排程和医学开业医师已知的其它因素。所述抗体未必但任选地用一种或多种当前用于预防或治疗所关注病症的剂一起配制。所述其它剂的有效量取决于配制剂中存在的抗体的量、病症或治疗的类型以及以上论述的其它因素。这些剂一般以相同剂量且利用本文所述的施用途径使用,或以本文所述剂量的约1%至99%使用,或以凭经验/临床上确定为适当的任何剂量和任何途径使用。

[0492] 特定抗分拣蛋白抗体的剂量可凭经验在已施用一次或多次抗分拣蛋白抗体的个体中确定。给与个体递增剂量的抗分拣蛋白抗体。为评估抗分拣蛋白抗体的功效,可监测本公开的疾病、病症或病状中任一种(例如额颞叶痴呆、阿兹海默氏病、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤、长期抑郁、动脉粥样硬化性血管性疾病,和正常衰老的不想要症状)的临床症状。

[0493] 为预防或治疗疾病,本发明抗体的适当剂量(当单独使用或与一种或多种其它另外治疗剂组合使用时)将取决于待治疗疾病的类型、抗体类型、疾病的严重程度和病程、施用抗体是实现预防还是治疗目的、先前疗法、患者的临床病史和对抗体的反应,以及主治医师的判断。抗体适于一次性或经一系列治疗施用患者。

[0494] 无论是(例如)通过一次或多次分开施用还是通过连续输注施用,取决于疾病的类型和严重程度,抗体可以约1μg/kg至15mg/kg(例如0.1mg/kg-10mg/kg)的初始候选剂量施用患者。取决于上文所提到的因素,一种典型日剂量可在约1μg/kg至100mg/kg或更高剂量的范围内。对于历经数天或更长时间的重复施用,取决于病状,治疗一般会持续至出现所需疾病症状抑制为止。所述抗体的一种例示性剂量将在约0.05mg/kg至约10mg/kg范围内。因此,可向患者施用约0.5mg/kg、2.0mg/kg、4.0 mg/kg或10 mg/kg (或它们的任何组合)的一次或多次剂量。所述剂量可间歇地施用,例如每周或每三周施用(例如以使得患者接受约两次至约二十次或例如约六次剂量的抗体)。在某些实施方案中,给药频率是每天三次、每天两次、每天一次、隔天一次、每周一次、每两周一次、每四周一次、每五周一次、每六周一次、每七周一次、每八周一次、每九周一次、每十周一次,或每月一次、每两个月一次、每三个月一次或更长时间一次。最初可以施用较高负荷剂量,随后施用一次或多次较低剂量。不过,其它给药方案也可能是有用的。此疗法的进展易于通过习知技术和测定监测。

[0495] 治疗用途

[0496] 在某些方面中,本公开的抗分拣蛋白抗体可用于预防个体患上疾病、病症或损伤,或降低个体患疾病、病症或损伤的风险,或治疗患疾病、病症或损伤的个体。本公开的抗分拣蛋白抗体可用于预防以下疾病、降低患以下疾病的风险或治疗以下疾病:细胞死亡(例如神经元细胞死亡)、额颞叶痴呆、阿兹海默氏病、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤、长期抑郁、动脉粥样硬化性血管性疾病、正常衰老的不想要症状、痴呆、混合型痴呆、克-雅二氏病、正常压脑积水、肌萎缩侧索硬化症、亨廷顿氏病、τ蛋白病、中风、急性创伤、慢性创伤、狼疮、急慢性结肠炎、克隆氏病、炎症性肠病、溃疡性结肠炎、疟疾、特发性震颤、中枢神经系统性狼疮、白塞特氏病、帕金森氏病、路易体痴呆、多系统萎缩、椎间盘退化、夏-德二氏综合征、进行性核上性麻痹、皮质基底节变性、急性播散性脑脊髓炎、肉芽肿性病、肉状瘤病、衰老性疾病、年龄相关性黄斑变性、青光眼、色素性视网膜炎、视网膜变性、呼吸道感染、败血病、眼部感染、全身感染、炎症性病症、关节炎、多发性硬化、代谢病症、肥胖症、胰岛素抵抗、2型糖尿病、组织或血管损伤、损伤和/或正常衰老的一种或多种不想要症状。

[0497] 在某些方面中,本文提供一种预防个体患疾病、病症或损伤,降低个体患疾病、病症或损伤的风险,或治疗患有疾病、病症或损伤的个体的方法,所述方法包括向有需要个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体。在一些实施方案中,所述疾病、病症或损伤选自由以下组成的组:额颞叶痴呆、进行性核上性麻痹、阿兹海默氏病、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、肌萎缩侧索硬化症、创伤性脑损伤、脊髓损伤、痴呆、中风、帕金森氏病、急性播散性脑脊髓炎、视网膜变性、年龄相关性黄斑变性、青光眼、多发性硬化、败血性休克、细菌感染、关节炎和骨关节炎。

[0498] 本公开的某些方面提供增加有需要个体中,诸如个体的脑、血液和/或周围器官中的前颗粒体蛋白水平的方法,所述方法是通过向所述个体施用治疗有效量的一种或多种本公开的抗分拣蛋白抗体实现。本公开的其它方面提供增加细胞外前颗粒体蛋白水平的方法,所述方法是通过使一个或多个细胞与一种或多种本公开的抗分拣蛋白抗体接触实现。在一些实施方案中,前颗粒体蛋白水平增加,但细胞分拣蛋白水平未降低。本公开的其它方面提供降低有需要个体中,诸如个体的脑和/或周围器官中的细胞分拣蛋白水平的方法,所述方法是通过向所述个体施用治疗有效量的一种或多种本公开的抗分拣蛋白抗体实现。本公开的其它方面提供降低一个或多个细胞中的细胞分拣蛋白水平的方法,所述方法包括使一个或多个细胞与一种或多种本公开的抗分拣蛋白抗体接触。

[0499] 本公开的其它方面提供用于增加有需要个体的前颗粒体蛋白的有效浓度且/或降低有需要个体的本公开的神经营养素(例如前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、前神经营养素、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)、神经降压素、p75、分拣蛋白前肽(Sort-pro)、淀粉样前驱蛋白(APP)、Aβ肽、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)、载脂蛋白E(APOE)、PCSK9和受体相关蛋白(RAP)的有效浓度的方法,所述方法是通过向所述个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体以抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白、本公开的神经营养素(例如前神经营养素,前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)、神经降压素、p75、分拣蛋白前肽(Sort-pro)、淀粉样前驱蛋白(APP)、Aβ肽、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)、

载脂蛋白E(APOE)和/或受体相关蛋白(RAP)之间的相互作用。

[0500] 本公开还提供抑制个体中分拣蛋白与前颗粒体蛋白、本公开的神经营养素(例如前神经营养素,前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)、神经降压素、p75、分拣蛋白前肽(Sort-pro)、淀粉样前驱蛋白(APP)、Aβ肽、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)、载脂蛋白E(APOE)、PCSK9和/或受体相关蛋白(RAP)之间的相互作用;以及分拣蛋白、前颗粒体蛋白、本公开的神经营养素(例如前神经营养素,前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)、神经降压素、p75、分拣蛋白前肽(Sort-pro)、淀粉样前驱蛋白(APP)、Aβ肽、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV (APOA5)、载脂蛋白E(APOE)和/或受体相关蛋白(RAP)的一种或多种活性的方法,所述方法是通过向所述个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体来进行。

[0501] 在某些方面中,本文提供一种预防个体患疾病、病症或损伤,降低个体患疾病、病症或损伤的风险,或治疗患有疾病、病症或损伤的个体的方法,所述方法包括向有需要个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体。

[0502] 如本文所公开,本公开的抗分拣蛋白抗体可用于预防以下疾病、降低患以下疾病的风险或治疗以下疾病:额颞叶痴呆、阿兹海默氏病、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤、长期抑郁、动脉粥样硬化性血管性疾病、正常衰老的不想要症状、痴呆、混合型痴呆、克-雅二氏病、正常压脑积水、肌萎缩侧索硬化症、亨廷顿氏病、τ蛋白病、中风、急性创伤、慢性创伤、狼疮、急慢性结肠炎、克隆氏病、炎症性肠病、溃疡性结肠炎、疟疾、特发性震颤、中枢神经系统性狼疮、白塞特氏病、帕金森氏病、路易体痴呆、多系统萎缩、椎间盘退化、夏-德二氏综合征、进行性核上性麻痹、皮质基底节变性、急性播散性脑脊髓炎、肉芽肿性病、肉状瘤病、衰老性疾病、年龄相关性黄斑变性、青光眼、色素性视网膜炎、视网膜变性、呼吸道感染、败血病、眼部感染、全身感染、炎症性病症、关节炎、多发性硬化、代谢病症、肥胖症、胰岛素抵抗、2型糖尿病、组织或血管损伤、损伤和正常衰老的一种或多种不想要症状。

[0503] 在一些实施方案中,本公开提供在有需要个体中预防个体患以下疾病、降低个体患以下疾病的风险或治疗患以下疾病的个体的方法:额颞叶痴呆、阿兹海默氏病、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤、长期抑郁、动脉粥样硬化性血管性疾病、正常衰老的不想要症状、痴呆、混合型痴呆、克-雅二氏病、正常压脑积水、肌萎缩侧索硬化症、亨廷顿氏病、τ蛋白病、中风、急性创伤、慢性创伤、狼疮、急慢性结肠炎、克隆氏病、炎症性肠病、溃疡性结肠炎、疟疾、特发性震颤、中枢神经系统性狼疮、白塞特氏病、帕金森氏病、路易体痴呆、多系统萎缩、椎间盘退化、夏-德二氏综合征、进行性核上性麻痹、皮质基底节变性、急性播散性脑脊髓炎、肉芽肿性病、肉状瘤病、衰老性疾病、年龄相关性黄斑变性、青光眼、色素性视网膜炎、视网膜变性、呼吸道感染、败血病、眼部感染、全身感染、炎症性病症、关节炎、多发性硬化、代谢病症、肥胖症、胰岛素抵抗、2型糖尿病、组织或血管损伤、损伤和正常衰老的一种或多种不想要症状,所述方法通过向所述个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体以实现以下目的:(i)抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白、本公开的神经营养素(例如前神经营养素,前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)、神经降压素、p75、分拣蛋白前肽(Sort-pro)、淀

粉样前驱蛋白(APP)、Aβ肽、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV (APOA5)、载脂蛋白E(APOE)和/或受体相关蛋白(RAP)之间的相互作用;和/或(ii)抑制分拣蛋白、前颗粒体蛋白、本公开的神经营养素(例如前神经营养素,前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)、神经降压素、p75、分拣蛋白前肽(Sort-pro)、淀粉样前驱蛋白(APP)、Aβ肽、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)、载脂蛋白E(APOE)和/或受体相关蛋白(RAP)的一种或多种活性。在一些实施方案中,本公开提供诱导有需要个体的伤口愈合的方法,所述方法是通过向所述个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体实现。

[0504] 本公开还提供促进细胞存活,诸如神经元细胞存活的方法,所述方法是通过施用本公开的抗分拣蛋白抗体以抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白、本公开的神经营养素(例如前神经营养素,前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)、神经降压素、p75、淀粉样前驱蛋白(APP)和Aβ肽之间的相互作用实现。所述抗分拣蛋白抗体可在活体外施用细胞以促进细胞存活。或者,所述抗分拣蛋白抗体可在活体内施用(例如通过向个体施用所述抗体)以促进细胞存活。

[0505] 在某些方面中,本文提供一种抑制神经炎症、以短轴突过度生长和异常分支为特征的轴突病、小胶质细胞活化和炎性反应中的一种或多种的方法,所述方法包括向个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体。

[0506] 本公开提供抑制神经炎症、以短轴突过度生长和异常分支为特征的轴突病、小胶质细胞活化和炎性反应并促进伤口愈合、自体吞噬和聚集蛋白质清除的方法,所述方法是通过施用本公开的抗分拣蛋白抗体以抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白、本公开的神经营养素(例如前神经营养素,前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)、神经降压素、p75、淀粉样前驱蛋白(APP)和Aβ肽之间的相互作用实现。所述抗分拣蛋白抗体可在活体外施用细胞。或者,所述抗分拣蛋白抗体可在活体内施用(例如通过向个体施用所述抗体)。

[0507] 在某些方面中,本文提供一种促进伤口愈合、自体吞噬和聚集蛋白质清除中的一种或多种的方法,所述方法包括向个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体。

[0508] 在某些方面中,本文提供一种预防个体患关节炎、降低其患关节炎的风险,或治疗其关节炎的方法,所述方法包括向所述个体施用治疗有效量的本公开的抗分拣蛋白抗体。

[0509] 本公开还提供通过向有需要的个体施用本公开的抗分拣蛋白抗体来减少一种或多种促炎性介体的表达的方法。在一些实施方案中,所述一种或多种促炎性介体选自:IL-6、IL12p70、IL12p40、IL-1β、TNF-α、CXCL1、CCL2、CCL3、CCL4和CCL5。

[0510] 在一些实施方案中,本公开的方法包括含两种或更多种抗分拣蛋白抗体的抗分拣蛋白抗体。

[0511] 痴呆

[0512] 痴呆是一种非特异性综合征(即,一组体征和症状),表现为先前未受损害的个体的总体认知能力严重丧失,超出由正常衰老可能预期的程度。痴呆可为由独特的全脑损伤引起的静态痴呆。或者,痴呆可以为进行性的,由于身体损伤或疾病而引起长期减退。尽管痴呆在老年人群中较为常见,但其也可在65岁前发生。痴呆所影响的认知区域包括但不限于记忆、注意力持续时间、语言和解决问题的能力。一般来说,在个体被诊断患有痴呆之前,

症状必须存在至少六个月。

[0513] 痴呆的例示性形式包括但不限于额颞叶痴呆、阿兹海默氏病、血管性痴呆、语义性痴呆和路易体痴呆。

[0514] 不希望受理论束缚,相信施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防痴呆、降低患痴呆的风险和/或治疗痴呆。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可在患痴呆的个体中诱导一种或多种前颗粒体蛋白活性(例如针对神经元的神经营养和/或存活活性,以及消炎活性)。

[0515] 额颞叶痴呆

[0516] 额颞叶痴呆(FTD)是由脑额叶进行性恶化引起的一种病状。随时间推移,退化可能进展至颞叶。FTD的发病率仅次于阿兹海默氏病(AD),在早老性痴呆病例中占20%。FTD的临床特征包括记忆减退、行为异常、性格改变和语言障碍(Cruts,M.和Van Broeckhoven,C.,Trends Genet.24:186-194(2008);Neary,D.等,Neurology 51:1546-1554(1998);Ratnavalli,E.,Brayne,C.,Dawson,K.和Hodges,J.R.,Neurology 58:1615-1621(2002))。

[0517] 相当大一部分的FTD病例是以常染色体显性方式遗传,但即使是在一个家族中,症状也可能跨越从伴随行为障碍的FTD至原发性进行性失语,甚至是皮质基底神经节变性的范围。与大多数神经退化性疾病相同,FTD可以患病脑中特定蛋白质聚集体的病理性存在为特征。在历史上,最初关于FTD的描述认识到在神经元纤维缠结或皮克体(Pick bodies)中存在过度磷酸化的τ蛋白的神经元内积累。在若干家族中鉴别出编码τ蛋白的基因的突变还证实微管相关τ蛋白的致病作用(Hutton,M.等,Nature 393:702-705(1998))。然而,大部分的FTD脑未显示过度磷酸化的τ蛋白积累,而是展现对泛素(Ub)和TAR DNA结合蛋白(TDP43)的免疫反应性(Neumann,M.等,Arch.Neurol.64:1388-1394(2007))。已经显示,大部分包含Ub的FTD病例(FTD-U)均带有前颗粒体蛋白基因的突变。

[0518] 前颗粒体蛋白突变引起单倍剂量不足且已知其存在于近50%的家族性FTD病例中,使得前颗粒体蛋白突变成为引起FTD的主要遗传促成因素。不希望受理论束缚,相信前颗粒体蛋白的功能丧失性杂合特性指示在健康个体中,前颗粒体蛋白表达在防止健康个体患上FTD方面起到剂量依赖性关键作用。因此,通过抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白之间的相互作用增加前颗粒体蛋白的水平可预防FTD、降低患FTD的风险和/或治疗FTD。

[0519] 在一些实施方案中,施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防FTD、降低患FTD的风险和/或治疗FTD。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患FTD个体中的一种或多种分拣蛋白活性。

[0520] 阿兹海默氏病

[0521] 阿兹海默氏病(AD)是痴呆的最常见形式。所述疾病无法治愈,随着其进展而恶化,并且最终导致死亡。AD最常在年龄超过65岁的人群中诊断出。不过,发病率不太高的早发型阿兹海默氏病发病要早得多。

[0522] 阿兹海默氏病的常见症状包括行为症状,诸如难以记住近期事件;认知症状、混乱、易怒和攻击性、情绪波动、语言障碍和长期记忆丧失。随着疾病进展,身体功能丧失,最终导致死亡。阿兹海默氏病在变得完全明显之前将发展未知且不同量的时间,而且所述疾病可在未诊断出的情况下进展数年。

[0523] 已经显示,分拣蛋白结合至淀粉样前驱蛋白(APP)和APP加工酶BACE1。不希望受理

论束缚,相信这些相互作用参与阿兹海默氏病。因此,并且不希望受理论束缚,相信可利用本公开的抗分拣蛋白抗体抑制此类相互作用且预防有需要个体患阿兹海默氏病、降低有需要个体患阿兹海默氏病的风险或治疗有需要个体的阿兹海默氏病。

[0524] 在一些实施方案中,并且不希望受理论束缚,相信抑制分拣蛋白与本公开的神经营养素(例如前神经营养素,前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)、p75、淀粉样前驱蛋白(APP)和/或Aβ肽之间的相互作用,或抑制分拣蛋白的一种或多种活性的本公开的抗分拣蛋白抗体可用于预防有需要个体患阿兹海默氏病、降低有需要个体患阿兹海默氏病的风险或治疗有需要个体的阿兹海默氏病。

[0525] 在一些实施方案中,施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防阿兹海默氏病、降低患阿兹海默氏病的风险和/或治疗阿兹海默氏病。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患阿兹海默氏病个体中的一种或多种分拣蛋白活性。

[0526] 血管性痴呆

[0527] 血管性痴呆(VaD)是相信由脑血管疾病(脑内的血管疾病)引起的记忆和其它认知功能的敏感的进行性恶化。脑血管疾病是脑(大脑)中的血管(血管系统)的进行性变化。最常见的年龄相关性血管变化是血管壁中胆固醇和其它物质的积累。由此引起管壁变厚且变硬,以及血管变窄,从而导致由受影响动脉供应至脑区域的血流减少或甚至完全停止。血管性痴呆患者通常存在与阿兹海默氏病(AD)患者类似的症状。然而,脑中的相关变化并非归因于AD病理学,而是脑中血流长期减少,最终导致痴呆。VaD被认为是老年人最常见的痴呆类型之一。VaD的症状包括记忆困难、难以组织和解决复杂问题、思维缓慢、心不在焉或“失神”、词不达意、情绪或行为变化诸如抑郁、易怒或冷漠,以及幻觉或错觉。

[0528] 不希望受理论束缚,相信分拣蛋白,或分拣蛋白与前颗粒体蛋白、本公开的神经营养素(例如前神经营养素,前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)、神经降压素、脂蛋白脂肪酶、载脂蛋白AV和/或受体相关蛋白之间的一种或多种相互作用参与血管性痴呆。因此,并且不希望受理论束缚,相信抑制分拣蛋白与本公开的神经营养素(例如前神经营养素,前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)、神经降压素、p75、分拣蛋白前肽(Sort-pro)、淀粉样前驱蛋白(APP)、Aβ肽、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)、载脂蛋白E(APOE)和/或受体相关蛋白(RAP)之间的相互作用;或抑制分拣蛋白的一种或多种活性的本公开的抗分拣蛋白抗体可用于预防有需要个体患血管性痴呆、降低有需要个体患血管性痴呆的风险或治疗有需要个体的血管性痴呆。

[0529] 在一些实施方案中,施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防VaD、降低患VaD的风险和/或治疗VaD。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患VaD个体中的一种或多种分拣蛋白活性。

[0530] 癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤和长期抑郁

[0531] 如本文所使用,视网膜营养不良是指涉及视网膜退化的任何疾病或病状。此类疾病或病状可导致视力丧失或完全失明。

[0532] 如本文所使用,癫痫发作包括癫痫性发作,并且指脑部异常过度或同步神经元活动引起的短暂性症状。外在影响可剧烈到猛烈的颠簸运动或温和到短暂意识丧失。癫痫发

作可表现为精神状态的改变、强直或阵挛性运动、惊厥和各种其它精神症状。

[0533] 创伤性脑损伤(TBI)还可称为颅内损伤。创伤性脑损伤是在外力创伤性损伤脑部时发生。创伤性脑损伤可基于严重程度、机制(闭合性或穿透性脑损伤)或其它特征(例如在特定位置或在广泛区域内发生)进行分类。

[0534] 脊髓损伤(SCI)包括由外伤而非疾病引起的脊髓的任何损伤。取决于脊髓和神经根损伤的部位,症状可变化极大,从疼痛至瘫痪,甚至是失禁。脊髓损伤是在各种"不完全"层面上描述,可从对患者无影响至"完全"损伤间变化,"完全"损伤意味着功能完全丧失。

[0535] 长期抑郁(LTD)是在长期模式化刺激后发生的神经元突触功效的活性依赖性降低,持续数小时或更长时间。长期抑郁可在中枢神经系统的许多区域中发生,并且机制取决于脑区域和发育进展而变化。长期抑郁可在海马体、小脑中以及释放各种神经传递质的不同类型神经元中发生。不希望受理论束缚,相信长期抑郁可与神经退化、痴呆和阿兹海默氏病相关。

[0536] 已经显示,前神经营养素(例如前神经营养素-4/5、神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF等)在癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤和长期抑郁中起到作用。

[0537] 因此,并且不希望受理论束缚,相信抑制分拣蛋白与本公开的神经营养素(例如前神经营养素,前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)之间的相互作用;或抑制分拣蛋白的一种或多种活性的本公开的抗分拣蛋白抗体可用于预防有需要个体患癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤和/或长期抑郁;降低有需要个体患癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤和/或长期抑郁的风险,或治疗有需要个体的癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤和/或长期抑郁。

[0538] 在一些实施方案中,施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤和/或长期抑郁;降低患癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤和/或长期抑郁的风险,或治疗癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤和/或长期抑郁。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤和/或长期抑郁的个体中的一种或多种分拣蛋白活性。

[0539] 动脉粥样硬化性血管性疾病

[0540] 如本文所使用,"动脉粥样硬化性血管性疾病"、"ASVD"和"动脉粥样硬化"可互换使用且指动脉壁因诸如胆固醇、脂质和甘油三酯的脂肪材料积累而变厚的任何病状。动脉粥样硬化性血管性疾病包括但不限于任何ASVD相关病状、病症或疾病,包括但不限于血栓栓塞、中风、局部缺血、梗塞、冠状动脉血栓症、心肌梗塞(例如心脏病发作)和跛行。

[0541] 如本文所公开,本公开的分拣蛋白通过结合脂质相关蛋白,诸如受体相关蛋白、脂蛋白脂肪酶和载脂蛋白APOA5和APOE而参与脂质调控。

[0542] 因此,并且不希望受理论束缚,相信抑制分拣蛋白与脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)、载脂蛋白E(APOE)和/或受体相关蛋白(RAP)之间的相互作用;抑制分拣蛋白的一种或多种活性的本公开的抗分拣蛋白抗体可用于预防有需要个体患一种或多种动脉粥样硬化性血管性疾病、降低有需要个体患一种或多种动脉粥样硬化性血管性疾病的风

险,或治疗有需要个体中的一种或多种动脉粥样硬化性血管性疾病。

[0543] 在一些实施方案中,施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防动脉粥样硬化性血管性疾病、降低患动脉粥样硬化性血管性疾病的风险和/或治疗动脉粥样硬化性血管性疾病。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患动脉粥样硬化性血管性疾病个体中的一种或多种分拣蛋白活性。

[0544] 衰老的不想要症状

[0545] 如本文所使用,衰老的不想要症状包括但不限于记忆丧失、行为变化、痴呆、阿兹海默氏病、视网膜退化、动脉粥样硬化性血管性疾病、听力丧失和细胞分解。

[0546] 在一些实施方案中,并且不希望受理论束缚,相信抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白、本公开的神经营养素(例如前神经营养素,前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)、神经降压素、p75、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)和/或受体相关蛋白(RAP)之间的相互作用;或抑制分拣蛋白的一种或多种活性的本公开的抗分拣蛋白抗体可用于预防衰老的一种或多种不想要症状、降低患衰老的一种或多种不想要症状的风险,或治疗衰老的一种或多种不想要症状。

[0547] 在一些实施方案中,施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防衰老的一种或多种不想要症状、降低患衰老的一种或多种不想要症状的风险和/或治疗衰老的一种或多种不想要症状。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节具有衰老的一种或多种不想要症状的个体中的一种或多种分拣蛋白活性。

[0548] 肌萎缩侧索硬化(ALS)

[0549] 如本文所使用,肌萎缩侧索硬化(ALS),或运动神经元疾病,或卢·贾里格病(Lou Gehrig's disease)可互换使用,并且指由不同病因引起的以迅速进行性虚弱、肌肉萎缩和肌束颤动、肌痉挛、讲话困难(构音困难)、难以吞咽(吞咽困难)和难以呼吸(呼吸困难)为特征的衰弱性疾病。

[0550] 由GRN基因中的杂合功能丧失性突变引起的PGRN单倍剂量不足使得CSFPGRN水平降低且导致患上具有TDP-43病变的额颞叶痴呆(FTD)(Sleegers等(2009)Ann Neurol 65:603;Smith等(2012)Am J Hum Genet 90:1102)。TDP-43还已鉴别为ALS中的主要致病蛋白,表明ALS与FTD之间的相似性。

[0551] 举例来说,在散发性和家族性ALS患者中已鉴别出TDP-43中的超过二十个显性突变(Lagier-Tourenne等(2009)Cell 136:1001)且在约95%的ALS病例中发现TDP-43阳性聚集体(Prasad等(2019)Front Mol Neurosci 12:25)。另外,ALS风险基因,诸如MOBP、C9ORF72、MOBKL2B、NSF和FUS还可引起FTD(Karch等(2018)JAMA Neurol 75:860)。此外,PGRN和C9ORF72突变还与异常小胶质细胞活化相关联,而异常小胶质细胞活化看来为FTD和ALS的另一常见病理学(Haukedal等(2019)J Mol Biol 431:1818)。其它证据还表明,ALS和FTD是与重叠遗传、神经病理学和临床特征密切相关的病状(Weishaupt等(2016)Trends Mol Med 22:769;McCauley等(2018)Acta Neuropathol 137:715)。总体来说,这些结果表明,两种疾病可得益于共用治疗方法,并且PGRN的遗传变异用作ALS过程的修饰物。

[0552] 在一些实施方案中,并且不希望受理论束缚,相信抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白、本公开的神经营养素(例如前神经营养素,前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)、神经降压素、p75、脂蛋白脂肪酶

(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)和/或受体相关蛋白(RAP)之间的相互作用;或抑制分拣蛋白的一种或多种活性的本公开的抗分拣蛋白抗体可用于预防ALS的一种或多种不想要症状,或治疗ALS的一种或多种不想要症状。

[0553] 在一些实施方案中,施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防ALS、降低患ALS的风险和/或治疗ALS。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患ALS个体中的一种或多种分拣蛋白活性。

[0554] 抑郁

[0555] 如本文所使用,抑郁或重度抑郁症(MDD)、临床抑郁、重度抑郁、单相抑郁、单相障碍、复发性抑郁或轻郁症可互换使用,并且指以持续性情绪低落发作伴随低自尊心和对正常应该感到愉悦的活动丧失兴趣或乐趣为特征的精神病症。

[0556] 在一些实施方案中,并且不希望受理论束缚,相信抑制分拣蛋白与前颗粒体蛋白、本公开的神经营养素(例如前神经营养素,前神经营养素-3、前神经营养素-4/5、pro-NGF、pro-BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4/5、NGF、BDNF等)、神经降压素、p75、脂蛋白脂肪酶(LpL)、载脂蛋白AV(APOA5)和/或受体相关蛋白(RAP)之间的相互作用;或抑制分拣蛋白的一种或多种活性的本公开的抗分拣蛋白抗体可用于预防抑郁的一种或多种不想要症状,或治疗抑郁的一种或多种不想要症状。

[0557] 在一些实施方案中,施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防抑郁、降低患抑郁的风险和/或治疗抑郁。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患抑郁个体中的一种或多种分拣蛋白活性。

[0558] 帕金森氏病

[0559] 帕金森氏病,可称为特发性或原发性帕金森病、运动功能减退-强直综合征(HRS)或震颤性麻痹,是影响运动系统控制的一种神经退化性脑病。脑中产多巴胺细胞的进行性死亡引起帕金森氏病的主要症状。帕金森氏病最常发于超过50岁的人群。帕金森氏病在大多数人中为特发性的(成因未知)。不过,遗传因素在所述疾病中也起到作用。

[0560] 帕金森氏病的症状包括但不限于手、臂、腿、颚和面部颤动;肢体和躯干肌肉僵硬;行动缓慢(运动徐缓);姿势不稳;难以步行;神经精神问题;言语或行为改变;抑郁;焦虑;疼痛;精神病;痴呆;幻觉;以及睡眠问题。

[0561] 在一些实施方案中,施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防帕金森氏病、降低患帕金森氏病的风险和/或治疗帕金森氏病。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患帕金森氏病个体中的一种或多种前颗粒体蛋白活性。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患帕金森氏病个体中的一种或多种分拣蛋白活性。

[0562] 亨廷顿氏病

[0563] 亨廷顿氏病(HD)是由亨廷顿蛋白基因(HTT)中的常染色体显性突变引起的一种遗传性神经退化性疾病。亨廷顿基因内细胞因子-腺嘌呤-鸟嘌呤(CAG)三联体重复序列扩增导致产生由所述基因编码的亨廷顿蛋白(Htt)的突变体形式。所述突变体亨廷顿蛋白(mHtt)有毒且导致神经元死亡。亨廷顿氏病的症状最常见于年龄介于35岁与44岁之间的人群,不过其还可见于任何年龄。

[0564] 亨廷顿氏病的症状包括但不限于运动控制问题、急动、胡乱运动(舞蹈病)、异常眼动、平衡障碍、癫痫发作、咀嚼困难、吞咽困难、认知问题、讲话改变、记忆障碍、思考困难、失

眠、疲劳、痴呆、性格改变、抑郁、焦虑及强迫行为。

[0565] 在一些实施方案中,施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防亨廷顿氏病、降低患亨廷顿氏病的风险和/或治疗亨廷顿氏病。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患亨廷顿氏病个体中的一种或多种前颗粒体蛋白活性。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患亨廷顿氏病个体中的一种或多种分拣蛋白活性。

[0566] τ蛋白病

[0567] τ蛋白病(Taupathy disease)或τ蛋白病变(Tauopathy)是由微管相关τ蛋白在脑内聚集引起的一类神经退化性疾病。阿兹海默氏病(AD)是最为熟知的τ蛋白病,并且涉及τ蛋白以不溶性神经纤维缠结(NFT)形式积累于神经元内。其它τ蛋白病和病症包括进行性核上性麻痹、拳击员痴呆(慢性创伤性脑病)、额颞叶痴呆和与染色体17相关的帕金森氏病、Lytico-Bodig病(关岛型帕金森氏病-痴呆复合征)、缠结为主型痴呆(Tangle-predominant dementia)、神经节胶质瘤和神经节细胞瘤、脑膜血管瘤病、亚急性硬化性全脑炎、铅中毒性脑病、结节性脑硬化、Hallervorden-Spatz病、脂褐质沉积症、皮克氏病、皮质基底节变性、嗜银颗粒疾病(AGD)、亨廷顿氏病和额颞叶退化。

[0568] 在一些实施方案中,施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防τ蛋白病、降低患τ蛋白病的风险和/或治疗τ蛋白病。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患τ蛋白病个体中的一种或多种前颗粒体蛋白活性。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患τ蛋白病个体中的一种或多种分拣蛋白活性。

[0569] 多发性硬化

[0570] 多发性硬化(MS)又可以称为播散性硬化或播散性脑脊髓炎。MS是脑和脊髓轴突周围的脂肪髓鞘受损,导致脱髓鞘和瘢痕形成以及众多体征和症状的一种炎症性疾病。

[0571] MS的症状包括但不限于感觉改变,诸如敏感性或麻刺感丧失;刺痛感或麻木,诸如感觉迟钝和感觉异常;肌肉软弱;阵挛;肌肉痉挛;移动困难;协调和平衡困难,诸如共济失调;讲话困难,诸如构音困难,或难以吞咽,诸如吞咽困难;视觉问题,诸如眼球震颤、视神经炎,包括光幻视和复视;疲劳;急性或慢性疼痛;以及排尿和排便困难;不同程度的认知障碍;情感症状抑郁或情绪不稳定;Uhthoff现象,此是由暴露于高于常温的环境温度引起的现存症状的恶化;和Lhermitte体征,此是在曲颈时蔓延至背部的一种触电感。

[0572] 在一些实施方案中,施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防多发性硬化、降低患多发性硬化的风险和/或治疗多发性硬化。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患多发性硬化个体中的一种或多种前颗粒体蛋白活性。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患多发性硬化个体中的一种或多种分拣蛋白活性。

[0573] 青光眼和黄斑变性

[0574] 青光眼描述但不限于以视神经受损导致视力丧失和失明为特征的一组疾病。青光眼通常是由角膜下方的前房中流体压力(=眼内压)增加引起。青光眼导致对视力至关重要的视网膜神经节细胞的连续损失。年龄相关黄斑变性通常影响老年人且主要引起作为中心视野的黄斑中的视力丧失。黄斑变性引起但不限于玻璃疣、色素改变、视觉扭曲、眼部出血、萎缩、视觉敏锐度下降、视力模糊、中心暗点、色觉减弱和对比敏感度降低。

[0575] 不希望受理论束缚,相信施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防青光眼和黄斑变性、降低患青光眼和黄斑变性的风险和/或治疗青光眼和黄斑变性。在一些实施方案中,施

用抗分拣蛋白抗体可调节患青光眼和黄斑变性个体中的一种或多种前颗粒体蛋白活性。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患青光眼和黄斑变性个体中的一种或多种分拣蛋白活性。

[0576] 退化性椎间盘疾病(DDD)

[0577] 退化性椎间盘疾病(DDD)描述但不限于椎间盘(IVD)经历广泛形态以及生物力学变化的一组疾病,并且其在临床上通常在出现下背痛的患者中表现。退化性椎间盘疾病典型地显示退化性纤维软骨和软骨细胞丛集,提示需要修复。可能或可能不存在炎症。DDD的病理发现包括椎骨凸出、椎骨脱离和/或不全脱位(椎骨滑脱)和椎管狭窄。

[0578] 不希望受理论束缚,相信施用本公开的抗分拣蛋白抗体可预防DDD、降低患DDD的风险和/或治疗DDD。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患DDD个体中的一种或多种前颗粒体蛋白活性。在一些实施方案中,施用抗分拣蛋白抗体可调节患DDD个体中的一种或多种分拣蛋白活性。

[0579] 疼痛

[0580] 疼痛描述但不限于由神经损伤,例如由外伤或疾病引起的神经性疼痛。此类损伤可包括周围神经和/或脊髓的损伤。已经显示,分拣蛋白拮抗剂可减轻神经性疼痛。(Richner M等(2019)Sci.Adv.5:eaav9946。)

[0581] 药盒/制造物品

[0582] 本文提供包括本文所描述的抗分拣蛋白抗体的制造物品(例如药盒)。制造物品可包括一个或多个含本文所描述的抗体的容器。容器可为任何适合的包装,包括但不限于小瓶、瓶、广口瓶、软包装(例如密封Mylar或塑料袋)和类似容器。容器可以为单位剂量、整批包装(例如多剂量包装)或次单位剂量的。

[0583] 在一些实施方案中,所述药盒可还包括第二剂。在一些实施方案中,所述第二剂是药学上可接受的缓冲剂或稀释剂,包括但不限于诸如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲生理盐水、林格氏溶液(Ringer's solution)和右旋糖溶液。在一些实施方案中,所述第二剂是药物活性剂。

[0584] 在任何制造物品的一些实施方案中,所述制造物品还包括根据本公开的方法的使用说明书。所述说明书一般包括有关预定治疗的剂量、给药时程和施用途径的信息。在一些实施方案中,所述说明书包含有关根据本公开的任何方法施用本公开的分离的抗体(例如本文所描述的抗分拣蛋白抗体)以预防个体患疾病、病症或损伤、降低个体患疾病、病症或损伤的风险,或治疗患疾病、病症或损伤的个体的说明,所述疾病、病症或损伤选自痴呆、额颞叶痴呆、阿兹海默氏病、高歇氏病(gauche's disease)、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤、动脉粥样硬化性血管性疾病、正常衰老的不想要症状、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、长期抑郁、帕金森氏病、亨廷顿氏病、τ蛋白病、多发性硬化、年龄相关性黄斑变性、青光眼、退化性椎间盘疾病(DDD)、克-雅二氏病、正常压脑积水、Nasu-Hakola病、中风、急性创伤、慢性创伤、狼疮、急慢性结肠炎、克隆氏病、炎症性肠病、溃疡性结肠炎、疟疾、特发性震颤、中枢神经系统性狼疮、白塞特氏病、混合型痴呆、路易体痴呆、多系统萎缩、夏-德二氏综合征、进行性核上性麻痹、皮质基底节变性、急性播散性脑脊髓炎、肉芽肿性病、肉状瘤病、衰老性疾病、色素性视网膜炎、视网膜变性、呼吸道感染、败血病、眼部感染、全身感染、狼疮、关节炎和伤口愈合。在一些实施方案中,所述疾病、病症或损伤是

额颞叶性痴呆。在一些实施方案中,所述说明书包括抗分拣蛋白抗体和第二剂(例如第二药物活性剂)的使用说明书。

[0585] 诊断用途

[0586] 本公开的分离的抗体(例如本文所描述的抗分拣蛋白抗体)还具有诊断效用。因此,本公开提供使用本公开的抗体或其功能片段用于诊断目的,诸如检测个体中或来源于个体的组织样品中的分拣蛋白的方法。

[0587] 在一些实施方案中,个体是人类。在一些实施方案中,个体是罹患本公开的疾病、病症或损伤或者有患上本公开的疾病、病症或损伤的风险的人类患者。在一些实施方案中,诊断方法涉及检测生物样品,诸如活检试样、组织或细胞中的分拣蛋白。使本公开的抗分拣蛋白抗体与生物样品接触并检测抗原结合的抗体。举例来说,活检试样可用本文所描述的抗分拣蛋白抗体染色以便检测和/或定量疾病相关细胞。检测方法可涉及抗原结合的抗体的定量。生物样品中的抗体检测可以用此项技术中已知的任何方法进行,包括免疫荧光显微镜检查、免疫细胞化学、免疫组织化学、ELISA、FACS分析、免疫沉淀或微型正电子发射计算机断层成像。在某些实施方案中,例如用^{18}F放射性标记抗体,并且随后利用微型正电子发射计算机断层成像分析进行检测。还可通过无创技术,诸如正电子发射断层成像(PET)、X射线计算机断层成像、单光子发射计算机断层成像(SPECT)、计算机断层成像(CT)和计算机轴位断层成像(CAT)对患者体内的抗体结合进行定量。

[0588] 在其它实施方案中,本公开的分离的抗体(例如本文所描述的抗分拣蛋白抗体)可以用于检测和/或定量例如从临床前疾病模型(例如非人类疾病模型)取得的脑试样中的小胶质细胞。因此,本公开的分离的抗体(例如本文所描述的抗分拣蛋白抗体)可用于在治疗后相较于对照组评价诸如额颞叶痴呆、阿兹海默氏病、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、动脉粥样硬化性血管性疾病、Nasu-Hakola病或多发性硬化的神经系统疾病或损伤模型中的治疗反应。

[0589] 参照以下实施例将更全面地理解本公开。然而,不应将所述实施例解释为限制本公开的范围。本公开通篇的所有引用内容均以引用的方式明确地并入本文中。

[0590] 实施例

[0591] 实施例1-3描述抗人类分拣蛋白抗体S-60的亲和力成熟变体的产生,以及关于所述变体对SORT1的结合亲和力和其在下调SORT1表达、增加PGRN分泌和阻断PGRN-SORT1结合方面的生物活性的表征。出人意外的是,发现生物活性改善未必与亲和力增加相关。

[0592] 实施例1:S-60变体的产生和SORT1结合亲和力的测量

[0593] 以下实施例的目的是产生抗人类分拣蛋白抗体S-60的亲和力成熟变体和表征所述亲和力成熟抗体与人类分拣蛋白(SORT1)的结合。

[0594] S-60亲和力成熟变体

[0595] 产生针对人类分拣蛋白(SORT1)的亲和力成熟抗体并测量其与SORT1的结合。抗SORT1抗体S-60以及S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-5、S-60-6、S-60-7、S-60-8和S-60-9在WO2016164637中已有描述。WO2016164637中S-60-9和S60的V_H和V_L序列是相同的,并且S-60在本文中将用于指所述抗体。WO2016164637中的S-60-5、S-60-6和S-60-7的V_H和V_L序列是相同的,并且S-60-7在本文中将用于指所述抗体。发现S-60是SORT1水平的强效下调剂且为SORT1与PGRN之间结合的强效阻断剂(参见例如WO2016164637中的表8-表10以及图6A

和图10D)。因此,选择S-60进行进一步亲和力成熟。

[0596] 如下文所描述,产生抗SORT1变体S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13、S-60-14、S-60-15、S-60-16、S-60-18、S-60-19和S-60-24。

[0597] 产生S-60亲和力成熟变体

[0598] 使抗SORT1抗体S-60亲和力成熟。简单地说,对于每一初始亲本抗体,在酵母中产生多样化抗体文库。通过利用标准分子克隆技术将亲本重链HVR-H3和轻链(LC)与所述重链(HC)的HVR-H1和HVR-H2区中预先存在的遗传多样性组合(称为"H1/H2"优化),在第一轮亲和力成熟中产生多样性。对于第二轮亲和力成熟,使重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L)序列优化,其中特别关注HVR-H3。

[0599] 用于筛选文库的选择压力包括人类SORT1抗原平衡滴定、亲本抗体Fab竞争动力学和使用多特异性试剂取消选择。然后,采用FACS流式细胞测量术,使用标准技术(参见例如Chao等,Nature Protocols,2006)观测并选择抗体。然后,将所需群体用于其它各轮选择中。

[0600] 如下纯化亲和力成熟的抗SORT1抗体:使克隆生长至饱和,并且然后在振荡下,在30℃下诱导48小时。诱导之后,使酵母细胞沉淀,并收集上清液进行纯化。使用蛋白质A管柱纯化免疫球蛋白并用乙酸(pH2.0)溶离。通过木瓜蛋白酶消化来产生Fab片段并在CaptureSelect IgG-CH1亲和基质(LifeTechnologies)上纯化。

[0601] 测量与SORT1的结合亲和力

[0602] 在SORT1结合测定中测试并比较抗SORT1抗体S-60和其亲和力成熟的变体。对于所述结合测定,通过胰蛋白酶处理来收集表达人SORT1的稳定HEK293T细胞,在PBS中洗涤,计数并以1×10^5个细胞/孔涂铺于96孔u型底板中。将所述板以1,400rpm旋转3分钟并将一级抗SORT1抗体或对照抗体添加于FACS缓冲液(PBS+2FBS)中并在冰上培育一小时。随后,如前所述对细胞进行离心,并用FACS缓冲液洗涤三次。然后,在FACS缓冲液中将细胞与抗人APC缀合的二级抗体(BD Biosciences)一起在冰上培育30分钟。再用FACS缓冲液洗涤细胞三次,并在BD FACS Canto或Intellicyt流式细胞仪上进行测定。以GFP阳性细胞群的PE通道中的中值荧光强度(MFI)测量结合。

[0603] 结果

[0604] 抗SORT1抗体与SORT1的结合亲和力显示于下表1中。基于huIgG1主链测试所有抗体。

[0605] 表1:与SORT1的结合亲和力。

[0606]

抗体 ID	K_D (M)	相对于 S-60 的变化倍数
S-60	1.15E-09*	
S-60-1	7.221E-09	0.16
S-60-2	1.101E-08	0.10
S-60-3	8.56E-10*	1.34
S-60-4	6.34E-10	1.81
S-60-7	7.87E-10	1.46

[0607]

S-60-8	4.68E-10	2.46
S-60-10	6.5E-10	1.77
S-60-11	6.5E-10	1.77
S-60-12	8.9E-10	1.29
S-60-13	7.5E-10	1.53
S-60-14	1.05E-09	1.10
S-60-15	5.60E-10	2.05
S-60-16	7.80E-10	1.47
S-60-18	1.63E-09	0.71
S-60-19	8.00E-10	1.44
S-60-24	7.55E-10*	1.52

[0608] *注意:K_D值表示两个实验的平均值。

[0609] 抗SORT1抗体S-60-3、S-60-4、S-60-7、S-60-8、S-60-10、S-60-11、S-60-13、S-60-15、S-60-16、S-60-19和S-60-24显示与SORT1的结合亲和力相较于S-60明显改善。具体来说,S-60-8和S-60-15展示测试变体与SORT1的最高结合亲和力,分别具有增加至为亲本抗体S-60的结合亲和力的2.46倍和2.05倍的变化。

[0610] 实施例2;S-60变体对SORT1表达和PGRN分泌的影响

[0611] 以下实施例的目的是表征抗人SORT1抗体S-60的亲和力成熟变体对SORT1表达和细胞外前颗粒体蛋白(PGRN)的水平的影响。

[0612] SORT1表达和PGRN分沁测定

[0613] 如实施例1中所述,产生S-60的亲和力成熟变体且随后通过FACS针对其下调SORT1和升高细胞外PGRN水平的能力进行筛选。为了测定抗SORT1抗体对SORT1表达和PGRN分泌的影响,将内源性表达SORT1并分泌PGRN的U251细胞与抗SORT1抗体S-60和亲和力成熟变体一起培育。通过FACS如下测量在不同抗体浓度下细胞表面的SORT1水平:将从0.023nM至150nM连续稀释的抗SORT1抗体S-60和亲和力成熟变体添加至以3×10^3个细胞/孔接种于96孔板中的U251细胞中。72小时后,利用胰蛋白酶收集细胞,在PBS中洗涤并用Dylight-650缀合的抗SORT1抗体S-2-11(如WO2016164637中所描述)标记以对残留SORT1蛋白质的水平进行定量。将细胞与5μg/ml S-2-11缀合的DyLight-650(Invitrogen)一起在冰上培育一小时后,在PBS+2FBS中洗涤细胞三次并使用FACSCanto™或Intellicyt流式细胞仪,以APC的中值荧光强度(MFI)对结合进行定量。

[0614] 通过标准ELISA如下测量在72小时过程中分泌至细胞上清液中的PGRN的量:收集细胞并收集培养基;使用R&D Systems的人类PGRN Duoset ELISA试剂盒,根据制造商的说明书测量培养基样品中的PGRN浓度。在Microsoft Excel和GraphPad Prism中分析数据。

[0615] 结果

[0616] 各测试S-60变体下调(DR)细胞表面SORT1水平的半数最大有效浓度(EC_{50})显示于表2中。对各测试S-60变体的SORT1 DR进行定量并以对照(未处理细胞)的百分比表示(表2-表4)。另外,对细胞外PGRN分泌水平进行定量并以相对于未处理对照的变化倍数表示,如表2-表4中所示。独立实验呈现于单独表(表2-表4)中。基于huIgG1 WT主链测试所有抗体。

[0617] 表2:S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-7和S-60-8的SORT1下调(DR)百

分比和PGRN分泌

[0618]

抗体ID	DR EC_{50} (M)	在 0.6 nM 抗体(IgG)下的 DR	在 0.62 或 0.63 nM 抗体(IgG)下的 PGRN 分泌(相对于对照的倍数)
S-60	6.81E-10	29.3	1.38
S-60-1	2.73E-10	50.4	1.60
S-60-2	4.20E-10	40.3	1.75
S-60-3	2.69E-10	43.0	1.77
S-60-4	4.18E-10	39.6	1.61
S-60-7	4.47E-10	32.6	1.40
S-60-8	5.76E-10	32.0	1.54

[0619] 表3:S-60、S-60-3、S-60-24、S-60-15、S-60-16、S-60-18和S-60-19的SORT1下调(DR)百分比和PGRN分泌。

[0620]

抗体ID	在 1.25nM 抗体(IgG)下的 DR	在 0.63nM 抗体(IgG)下的 PGRN 分泌(相对于对照的倍数)
S-60	40.17	1.11
S-60-3	61.50	1.32
S-60-24	65.20	1.35
S-60-15	60.92	1.42
S-60-16	70.14	1.42
S-60-18	51.33	1.13
S-60-19	55.46	1.35

[0621] 表4:S-60-24、S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13和S-60-14的SORT1下调(DR)百分比和PGRN分泌。

[0622]

抗体 ID	在 0.63nM 抗体(IgG)下的 DR	在 0.63nM 抗体(IgG)下的 PGRN 分泌(相对于对照的倍数)
S-60-24	81.48	1.62
S-60-10	85.41	1.85
S-60-11	88.76	1.89
S-60-12	87.38	1.89
S-60-13	82.33	1.77
S-60-14	80.47	1.81

[0623] 在分析SORT1$DREC_{50}$、使用0.6nM IgG的饱和抗体浓度情况下的SORT1DR百分比和使用0.62或0.63nM IgG的饱和抗体浓度情况下的PGRN分泌的第一次实验中,测试以下变体:S-60、S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-7和S-60-8。如表2中所示,S-60-3展示最低的$DREC_{50}$(0.269nM)和最高的PGRN分泌,为对照组的1.77倍,并且相对于S-60有改善,S-60显示是对照组的1.38倍。使用0.6 nM IgG,S-60-1展现测试变体对SORT1表达的最显著影响,使SORT1相较于对照组有50.4%下调,而S-60使SORT1下调29.3%。

[0624] 在随后的实验中,针对以下变体测定使用1.25nM IgG的饱和抗体浓度情况下的DR

百分比和使用0.63nM IgG的饱和抗体浓度情况下的PGRN分泌:S-60、S-60-3、S-60-24、S-60-15、S-60-16、S-60-18和S-60-19。如表3中所示,S-60-15和S-60-16展示最高的细胞外PGRN分泌水平且为对照组的1.42倍,相对于S-60有改善,S-60显示为对照组的1.11倍。实际上,这两种变体还使SORT1表达相较于S-60显著减少,分别使SORT1相对于对照组下调60.92%和70.14%,而S-60仅使SORT1下调40.17%。

[0625] 在第三次实验中,针对以下变体测定使用0.63nM IgG的饱和抗体浓度情况下的DR百分比和使用0.63nM IgG的饱和抗体浓度情况下的PGRN分泌:S-60-24、S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13和S-60-14。如表4中所示,S-60-11和S-60-12展示最高的细胞外PGRN分泌量且为对照组的1.89倍。S-60-11还展示在0.63nM IgG下最高的SORT1DR,使SORT1相对于对照组下调88.76%。

[0626] 结论

[0627] 如实施例1中表1中所示,相较于S-60和其它测试S-60变体,S-60-8和S-60-15展示与SORT1的最高结合亲和力和分别为4.68E-10M和5.60E-10的最低K_D值。然而,当与具有8.56E-10M的较高K_D值的特定变体S-60-3(表1)相比较时,S-60-8展示PGRN分泌的增加更小(表2),而相较于S-60-3,S-60-15展示PGRN分泌的增加倍数更高(表3)。另外,相较于S-60-3和S-60-15(在1.25nM IgG的饱和浓度下),S-60-8(在0.6nM IgG的饱和浓度下)展示SORT1表达的降低百分比更小(表2),S-60-3和S-60-15分别使SORT1下调61.50%和60.92%(表3)。因此,S-60-15在增加PGRN分泌方面的表现优于S-60-3,并且在下调细胞表面SORT1水平方面展现与S-60-3类似的作用,而S-60-8在增加PGRN分泌和下调细胞表面SORT1水平方面的表现优于S-60-3。

[0628] 本研究的结果指示,抗SORT1 S-60抗体变体在下调SORT1表达或增加PGRN分泌方面的相对功效无法通过其与分拣蛋白的相对结合亲和力预测。

[0629] 此外,相较于S-60和包括S-60-3在内的某些S-60变体(表3,最后一列),S-60-15显示PGRN分泌的最大增加。S-60-3又显示PGRN分泌相对于S-60-1、S-60-2、S-60-4、S-60-7和S-60-8(表2最后一列)有增加。因此,S-60-15是使PGRN分泌相对于所述S-60变体增加的有效抗体。增加PGRN分泌的能力是选择治疗性抗体以治疗诸如FTD和PGRN缺乏起到直接致病作用的其它病状的疾病中的重要特性。此类抗体可用于使PGRN水平恢复至或接近于野生型水平,由此治疗疾病。此外,所述特性是在活体内评估抗体活性时的重要药效学参数(参见下文实施例5)。

[0630] 实施例3:S-60变体阻断PGRN与SORT1的结合

[0631] 以下实施例的目的是表征抗人类SORT1抗体S-60的亲和力成熟变体对SORT1与天然配体PGRN之间的结合相互作用的影响。

[0632] SORT1-PGRN阻断测定

[0633] 还测试S-60变体阻断PGRN与SORT1的结合的能力。根据制造商的说明书,用来自ThermoScientific/Pierce的EZ-Link Micro NHS-PEG4试剂盒使重组人类PGRN(PGRN)(Adipogen)生物素化。通过病毒感染HEK293T细胞并用潮霉素(hygromycin)(Genscript custom project)进行阳性选择,产生表达全长未标记的人类SORT1(SORT1)的稳定细胞系。利用亲本HEK293T细胞作为对照细胞。

[0634] 收集SORT1表达细胞或对照细胞并在PBS中洗涤。将生物素化人类PGRN添加于含或

不含调定量抗SORT1抗体或对照人类IgG1同种型抗体的PBS+2％FBS中并在冰上培育2小时。在PBS+2％ FBS中洗涤细胞3次之后,在冰上,在抗生蛋白链菌素-APC(Streptavidin-APC)(BDBiosciences,1:100)中培育细胞30分钟。然后,再次洗涤细胞,使其再悬浮于PBS+2％FBS中并在FACSCanto™流式细胞仪(BD Biosciences,Mississauga,ON)上测定。以SORT1表达细胞群中APC的中值荧光强度(MFI)测量PGRN结合。通过FACS,在不存在或存在S-60和其变异抗体下测量生物素化PGRN与HEK293T细胞上表达的SORT1的结合。

[0635] 结果

[0636] 各测试S-60变体阻断PGRN与SORT1的结合的半数最大有效浓度(EC_{50})显示于表5-表7中。另外,针对阻断PGRN与SORT1的结合的最大水平进行定量并以使用50nM IgG或150nM IgG的饱和浓度实现的最大阻断百分比表示(表5-表7)。独立实验显示于以下单独表中。

[0637] 表5:S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-7、S-60-8和S-60对PGRN与HEK293T细胞上表达的SORT1的结合的阻断。

[0638]

抗体 ID	PGRN 结合阻断 EC_{50} (nM)	PGRN 结合阻断 (在 150nM 抗体(IgG)下的最大值%)
S-60-1	5.986	95.2
S-60-2	7.509	94.5
S-60-3	0.733	95.5
S-60-4	0.584	95.7
S-60-7	0.944	96.5
S-60-8	0.985	95.6
S-60	0.751	95.9

[0639] 表6:S-60、S-60-3、S-60-24、S-60-15、S-60-16、S-60-18和S-60-19对PGRN与HEK293T细胞上表达的SORT1的结合的阻断。

[0640]

抗体 ID	PGRN 结合阻断 EC_{50} (M)	PGRN 结合阻断 (在 50nM 抗体 (IgG)下的最大值%)
S-60	2.20E-09	90.13
S-60-3	1.76E-09	90.44
S-60-24	1.11E-09	88.94

[0641]

抗体 ID	PGRN 结合阻断 EC_{50} (M)	PGRN 结合阻断 (在 50nM 抗体 (IgG)下的最大值%)
S-60-15	1.22E-09	90.74
S-60-16	1.20E-09	90.44
S-60-18	2.27E-09	89.33
S-60-19	1.53E-09	90.15

[0642] 表7:S-60-24、S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13和S-60-14对PGRN与HEK293T细

胞上表达的SORT1的结合的阻断。

[0643]

抗体 ID	PGRN 结合阻断 EC_{50} (M)	PGRN 结合阻断 (在 50nM 抗体(IgG)下的最大值%)
S-60-24	4.70E-10	95.64
S-60-10	4.60E-10	93.84
S-60-11	4.10E-10	94.97
S-60-12	6.10E-10	93.26
S-60-13	5.60E-10	93.83
S-60-14	6.00E-10	93.67

[0644] 在测定PGRN结合阻断EC_{50}和在150 nM IgG的饱和浓度下PGRN与SORT1结合阻断的百分比的第一次实验中,测试以下变体:S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-7、S-60-8和S-60。如表5中所示,S-60-4展示最低的EC_{50}值(0.584nM),实现PGRN与SORT1的结合的95.7%阻断。在所测定的变体中,S-60-7展示PGRN结合的最大减少,阻断96.5%的PGRN与SORT1的结合,不过其在阻断PGRN结合方面展示的效率(较高EC_{50}值)低于S-60以及变体S-60-3和S-60-4。

[0645] 在分析PGRN结合阻断EC_{50}和在50 nM IgG的饱和浓度下PGRN与SORT1结合阻断的百分比的随后实验中,测试以下变体:S-60、S-60-3、S-60-24、S-60-15、S-60-16、S-60-18和S-60-19。如表6中所示,相较于S-60,S-60-24、S-60-15和S-60-16展示最低EC_{50}值,范围从1.11nM至1.22nM。此外,相较于S-60,S-60-15变体展示最强效力,实现对PGRN与SORT1的结合的90.74%阻断。

[0646] 在第三次实验中,测试以下变体:S-60-24、S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-13和S-60-14。如表7中所示,S-60-11展示最低的EC_{50}值(0.410nM),实现对PGRN与SORT1的结合的94.97%阻断。在所测定的变体中,S-60-24在PGRN结合方面展示最大降低,阻断95.64%的PGRN与SORT1的结合。

[0647] 结论

[0648] 如实施例1中表1中所示,相对于S-60和其它测试S-60变体,S-60-8和S-60-15展示与SORT1的最高结合亲和力,并且S-60-8对SORT1的亲和力最高。不过,当与S-60相比较时,S-60-8在阻断与PGRN的结合方面展示较低效率(相对于S-60的较高EC_{50}值)(表5),而S-60-15在阻断与PGRN的结合方面展示较高效率(相对于S-60减小的EC_{50}值)(表6)。此外,相较于S-60,S-60-8展示对PGRN与SORT1的结合的较低最大阻断百分比(表5),而相对于S-60,S-60-15展示对PGRN与SORT1的结合的较高最大阻断百分比(表6)。因此,当与S-60相比较时,S-60-15在阻断PGRN与SORT1的结合的EC_{50}值和阻断PGRN与SORT1的结合的最大阻断百分比方面的表达要优于S-60-8,不过实际上,S-60-8显示的与SORT1的结合亲和力高于S-60-15。

[0649] 因此,本研究的结果指示,抗SORT1 S-60抗体变体在阻断PGRN与SORT1的结合程度方面的相对功效无法通过其对SORT1的相对结合亲和力预测。

[0650] 实施例4:S-60-15稳定性和应激测试分析

[0651] 以下实施例的目的是表征作为先前实施例中所述S-60的亲和力成熟变体的S-60-15在各种应激测试条件下的稳定性。

[0652] 治疗性抗体的稳定性对于临床功效至关重要。在制造、储存和活体内施用期间,治疗性抗体有经由多种路径降解的风险。引起此类降解的因素仍知之甚少。鉴于S-60-15展示对SORT1的较高结合亲和力(参见实施例1)、细胞表面SORT1的水平的有效降低和细胞外PGRN分泌增加(参见实施例2)以及对PGRN与SORT1结合的实质阻断(参见实施例3)和在这些功能测试中优于显示对SORT1的亲和力更高的S-60-8的超出预期的表达,进一步评价S-60-15的稳定性。

[0653] pH和温度应激测试

[0654] 为了测量S-60-15内氨基酸残基的稳定性,使S-60-15样品经历pH和温度应激条件以模拟在制造、储存和活体内施用期间出现的应激条件。简单地说,使各个S-60-15样品在pH3.5或pH 5.0以及在40℃或50℃下经历应激测试。在各个时间点,即对于两种pH条件在第0天、第1天、第3天和第5天,以及对于高温应激条件在第0天、第7天、第14天和第30天,通过用DTT和IAA处理,随后胰蛋白酶消化来测试样品。使用耦接至Xevo G2-XS QTOF质谱仪的Waters ACQUITY UPLC,使用BEH C18管柱,通过液相色谱和质谱检测来分析消化的样品。结果示于表8中。

[0655]

表 8. 化学计量百分比表(各含修饰的肽%)。Deamid (脱酰胺); Oxid (氧化); CAM (脲基甲基)。

S-60-15 肽	修饰	无应激	pH5 d0	pH 5 d1	pH5 d3	pH5 d5	pH3.5 d0	pH3.5 d1	pH3.5 d3	pH3.5 d5	T40 d7	T40 d14	T40 d30	T50 d7	T50 d14	T50 d30
NQFSLK (SEQ ID NO:87)	Deamid	1.3	1.5	1.5	1.5	0.9	1.5	1.4	1.5	1.4	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.4
QGYYGMDVWGQGTTVT VSSASTK (SEQ ID NO:88)	Oxid M(1)	6.2	6.8	6.2	6.6	8.8	6.2	6.8	6.6	6.4	5.7	5.1	5.6	5.1	5.4	1.3
QGYYGMDVWGQGTTVT VSSASTK (SEQ ID NO:88)	Deamid Q(1)	0.5	0.6	0.6	0.6	0.7	0.6	0.6	0.6	0.6	0.8	1.0	1.0	1.4	2.3	3.6
DYFPEPVTVSWNSGALT SGV HTFPAVLQSSGLYSLSSV VTV PSSSLGTK (SEQ ID NO:89)	Deamid N(1) Oxid W(1)	3.3	3.3	3.3	3.3	3.8	3.4	3.4	3.4	3.2	3.2	3.1	0.0	3.2	3.1	3.2
DYFPEPVTVSWNSGALT SGV HTFPAVLQSSGLYSLSSV VTV PSSSLGTK (SEQ ID NO:89)	Deamid N(1)	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.3	0.4	0.5	0.8	0.7	1.0	1.5
DTLMISR (SEQ ID NO:90)	Oxid M(1)	3.1	3.6	3.4	3.5	3.5	3.6	3.1	3.4	3.3	4.0	4.4	5.8	5.2	7.2	12.2
TPEVTCVVVDVSQEDPE V QFNWYVDGVEVHNAK (SEQ ID NO:91)	Deamid N(1)	1.4	1.1	1.2	1.3	1.7	1.5	1.2	1.4	1.3	0.2	0.3	1.3	1.1	0.2	5.2
VVSVLTVLHQDWLNGK (SEQ ID NO:92)	Deamid N(1)	7.8	7.2	6.7	6.9	6.5	7.0	6.9	7.0	6.8	8.1	8.4	9.2	9.3	12.6	12.0

[0656]

S-60-15 肽	修饰	无应激	pH5 d0	pH 5 d1	pH5 d3	pH5 d5	pH3.5 d0	pH3.5 d1	pH3.5 d3	pH3.5 d5	T40 d7	T40 d14	T40 d30	T50 d7	T50 d14	T50 d30
EPQVYTLPPSQEEMTK (SEQ ID NO:93)	Oxid. M(1)	0.3	0.3	0.0	0.0	1.5	0.2	0.4	0.4	0.5	0.8	0.0	0.0	0.8	1.3	1.1
NQVSLTCLVK (SEQ ID NO:94)	Deamid N(1) CAM C(1)	1.9	2.1	2.0	2.0	1.7	2.0	2.0	2.0	1.9	1.9	2.1	1.9	2.1	2.5	2.0
GFYPSDIAVEWESNGQP ENNYK (SEQ ID NO:95)	Deamid N(1)	5.2	4.9	5.1	5.0	6.4	5.0	5.0	5.2	4.9	7.0	8.9	9.6	11.1	19.0	45.9
WQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQK (SEQ ID NO:96)	Deamid N(1) CAM C(1)	3.8	4.0	4.0	4.0	4.4	3.9	3.0	4.0	3.9	3.7	3.7	3.9	3.9	4.4	6.7
WQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQK (SEQ ID NO:96)	CAM C(1), Oxid. M(1)	1.6	1.8	1.8	1.8	1.9	1.8	1.8	1.9	1.8	1.8	1.9	2.6	2.2	2.6	5.1
DIVMTQSPLSLPVTPGEP ASISCR (SEQ ID NO:97)	CAM C(1), Oxid. M(1)	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	0.7	0.8	0.8	1.1	0.8	0.8	2.0
SSQSLLR (SEQ ID NO:98)	Deamid Q(1)	6.8	6.1	5.2	5.4	6.5	6.0	5.4	6.7	5.8	7.3	6.9	7.0	6.8	7.2	6.6
SNGYNYLDWYLQKPGQ SP QLLIYLGSNR (SEQ ID NO:99)	Deamid N(1)	11.2	9.3	9.4	9.3	12.4	9.8	9.7	9.8	9.6	15.7	20.3	21.9	30.7	45.4	65.6

[0657]

S-60-15 肽	修饰	无应激	pH5 d0	pH 5 d1	pH5 d3	pH5 d5	pH3.5 d0	pH3.5 d1	pH3.5 d3	pH3.5 d5	T40 d7	T40 d14	T40 d30	T50 d7	T50 d14	T50 d30
AEAEDVGVYYCMQQE AP LTFGGGTK (SEQ ID NO:100)	CAM C(1), Oxid. M(1)	0.5	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.5	0.6	1.1	0.8	1.1	2.1
SGTASVVCLLNNFYPR (SEQ ID NO:101)	Deamid N(1)	2.6	2.8	2.9	2.8	3.1	2.8	2.7	2.8	2.7	2.6	2.7	2.5	2.6	3.0	3.4
VDNALQSGNSQESVTEQ DSK (SEQ ID NO:102)	Deamid N(1)	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.4	0.4	0.4	0.5	0.5	0.5	0.6	0.8	1.3

[0658] 鉴别在应激后可能引起翻译后修饰(PTM)的氨基酸,并以动力学方式追踪由应激样品产生的相应肽片段。结果证实,两个天冬酰胺-甘氨酸位点(一个在S-60-15的重链(SEQ

ID NO:11)的Fc区中且一个在其轻链(SEQ ID NO:15)的Fab区中)最易于发生PTM,在50℃下储存30天之后分别展现45.9%和65.6%脱酰胺。其它PTM或裂解位点在应激测试后均未展现明显PTM或降解。

[0659] 天冬酰胺(N33)位点的脱酰胺

[0660] S-60-15的重链Fc区中的任何脱酰胺均不应影响S-60-15与SORT1的结合亲和力,这是因为所述区域不与SORT1直接相互作用。然而,S-60-15的Fab区中的天冬酰胺(N33)位点是在HVR-L1(SEQ ID NO:8)中,其为参与抗原结合的轻链互补决定区。因此,S-60-15的Fab区中天冬酰胺(N33)位点脱酰胺可能影响S-60-15与SORT1的结合亲和力。在脱酰胺后,S-60-15的Fab区中的天冬酰胺(N33)位点中Asn变为Asp/IsoAsp。

[0661] 利用定点诱变测试S-60-15的Fab区中天冬酰胺(N33)位点的脱酰胺和潜在氨基酸取代降低降解和脱酰胺可能性以及由此引起的制造不稳定性的作用。在S-60-15huIgG1的HVR-L1 N33位置中产生十七种不同点突变并使用标准程序测序。使用带有L234A/L235A/P331S(“LALAPS”基序)突变的G1m3或G1m(f)同种异型作为背景(Jefferis R和Lefranc M-P,Mabs,2009年7月-8月;1(4):332-338)。预期LALAPS点突变通过使效应功能,诸如Fcγ受体结合、补体活化和抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)减至最少来改善总体安全性。在各种实验中观察到由LALAPS突变引起的Fcγ受体结合、补体活化和ADCC减少(数据未示出)。在25℃下,在Pall ForteBio Octet RED96仪器上以5Hz速率收集生物层干涉(BLI)数据。使用9.0版ForteBio Data分析软件执行数据分析。标准动力学缓冲液(PBS、0.1BSA、0.02Tween-20,pH7.2)用于所述测定并用于制备试剂。对于所有测定,均在分析之前,在缓冲液中平衡传感器尖端。

[0662] 对于初始解离速率筛选,将S-60-15LALAPS N33和N33X突变体(1μg/mL,300秒上样时间)捕捉于抗人IgG Fc Capture Dip和Read Biosensors(Pall ForteBio,Menlo Park,CA)上。然后,将20nM组氨酸标记的人SORT1(R&D Systems,Minneapolis,MN)结合至捕捉的抗SORT1表面(200秒缔合时间,1200秒解离时间)。获得由此产生的BLI信号作为相对于参考(1μg/mL S60-15+0nM SORT1)传感器的反应差异。零配体对照(0μg/mL IgG+20nM SORT1)显示抗体与传感器尖端表面无可测量的非特异性结合。对于各N33突变体,应用使用1:1相互作用模型的完全、局部拟合进行提取缔合和解离速率常数(分别为k_a和k_d)。由k_d/k_a比率计算亲和力常数(K_D)。如表9中所示,在N33处进行不同氨基酸取代并在解离速率筛选(在非应激条件下)中测试与SORT1的结合。

[0663] 表9:提取的关于S-60-15 N33X突变体与SORT1的结合的k_a、k_d和K_D

[0664]

S-60-15变体	k_a $(Ms)^{-1}$	k_d (s^{-1})	K_D (pM)
S-60-15[N33(wt)]	5.12E+05	1.41E-04	270
S-60-15.1[N33T]	4.7E+05	1.67E-04	344
S-60-15.2[N33S]	5.63E+05	2.47E-04	440
S-60-15.3[N33G]	4.98E+05	4.11E-04	825
S-60-15.4[N33R]	5.24E+05	4.60E-04	880
S-60-15.5[N33D]	5.90E+05	6.10E-04	1000
S-60-15.6[N33H]	5.48E+05	4.60E-04	823
S-60-15.7[N33K]	5.63E+05	5.47E-04	965

S-60-15.8[N33Q]	6.09E+05	6.53E-04	905
S-60-15.9[N33Y]	5.11E+05	6.75E-04	1285
S-60-15.10[N33E]	6.76E+05	4.30E-03	2007
S-60-15.11[N33W]	6.01E+05	5.79E-04	960
S-60-15.12[N33F]	2.80E+05	8.16E-04	2910
S-60-15.13[N33I]	4.91E+05	2.28E-04	460
S-60-15.14[N33V]	4.45E+05	3.06E-04	690
S-60-15.15[N33A]	4.93E+05	3.15E-04	625
S-60-15.16[N33M]	4.95E+05	4.23E-04	850
S-60-15.17[N33L]	4.12E+05	4.25E-04	1030

[0665] 注意:k_a、k_d和K_D表示由多个实验得到的平均值。

[0666] 筛选此N33X突变体组显示,相较于N33野生型(wt)的270pM,模拟N33脱酰胺的S-60-15.5抗体(N33D)使得结合显著减少,并且K_D为1000pM(表9)。相比之下,S-60-15.1抗体(N33T)最优选地保持S-60-15与SORT1的亲和力,展示相对于所述组中野生型的最小K_D差异(表9)。

[0667] 此外,在独立实验中,对于呈huIgG1和huIgG1 LALAPS形式的S-60-15.1[N33T],使用多种SORT1浓度执行完全动力学测定。动力学数据示于表10中。动力学数据展示,S60-15.1[N33T]是呈huIgG1和huIgG1 LALAPS形式的高亲和力抗体。

[0668] 表10:呈huIgG1和huIgG1 LALAPS形式的S-60-15.1[N33T]的SORT1结合动力学数据。

[0669]

ID	k_a $(Ms)^{-1}$	k_d (s^{-1})	K_D (pM)
S-60-15.1[N33T]	5.99E+05	1.79E-04	298
S-60-15.1[N33T]LALAPS	4.79E+05	1.27E-04	260

[0670] 细胞结合和功能

[0671] 随后,如下文所描述,测试呈huIgG1和huIgG1 LALAPS形式的S-60-15.1[N33T]以及S-60-15.5[N33D]的细胞结合和功能性。

[0672] 如先前所描述,并行测试亲和力成熟的抗体S-60、S-60-15.1[N33T]和S-60-15.5[N33D]与HEK293T细胞上表达的人类SORT1的结合。结果示于表11中。相较于S-60,呈huIgG1或huIgG1 LALAPS形式的S-60-15.1[N33T]显示更高亲和力(表11),以及更低K_d和更高B_{max}。Fc变体看来对亲和力没有影响,仅S-60-15.1[N33T]huIgG1与huIgG1 LALAPS的K_d和B_{max}具有微小差异。完全脱酰胺形式的S-60-15.5[N33D]未显示出与人类SORT1表达细胞的任何显著结合(表11,N.B.(无结合)),表明N33残基酰胺化对于目标结合至关重要。

[0673] 表11:如通过FACS测量的细胞结合亲和力值。

[0674]

抗体ID	K_d (nM)	B_{max} (MFI)
S60	1.02	758381
S-60-15.5[N33D]	N.B.	N.B.
S-60-15.1[N33T]	0.3651	791996
S-60-15.1[N33T]LALAPS	0.4231	792791

[0675] 将内源性表达SORT1且分泌PGRN的U251细胞与不同浓度的抗SORT1抗体S-60、S-

60-15.1[N33T]或S-60-15.5[N33D]一起培育,并如实施例2中所述,通过FACS测量细胞表面SORT1水平。对照是未处理的细胞。为对分拣蛋白下调的百分比进行定量,使用150nM IgG的饱和抗体浓度。为对PGRN的分泌进行定量,使用50nM IgG的饱和抗体浓度。结果示于表12中。呈huIgG1或huIgG1 LALAPS形式的S-60-15.1[N33T]使得SORT1显著下调和PGRN的分泌增加。呈huIgG1或huIgG1 LALAPS形式的S-60-15.1[N33T]中SORT1的下调水平和PGRN的分泌增加水平相较于S-60显著改善。相较于呈huIgG1 LALAPS形式的S-60-15.1[N33T],呈huIgG1形式的S-60-15.1[N33T]仅展示EC_{50}和SORT1下调百分比的微小降低,并且具有微小的PGRN分泌增加倍数。相比之下,完全脱酰胺形式的S-60-15.5[N33D]在这些功能测定中每一种中的表达不如S-60;其未显示显著的SORT1下调且PGRN分泌量仅具有最小改变。

[0676] 表12:S60抗体变体引起的细胞表面SORT1下调(DR)。

[0677]

抗体 ID	EC_{50} (pM)	在 150nM 抗体 (IgG)下的 DR%	在 50nM 抗体 (IgG)下的 PGRN 分泌，相对于对照的倍数
S-60	680.9	62.5	1.75
S-60-15.5 [N33D]	n.d.	3.4	1.22
S-60-15.1 [N33T]	72.58	69.3	2.29
S-60-15.1 [N33T] LALAPS	103.6	70.3	1.97

[0678] 如实施例3中所述,在不存在或存在抗SORT1抗体S-60、S-60-15.1[N33T]和S-60-15.5[N33D]下通过FACS测量生物素化PGRN与HEK293T细胞上表达的SORT1的结合。结果示于表13中。使用150nM IgG的饱和抗体浓度对PGRN与SORT1的结合的阻断百分比进行定量。

[0679] 表13:对PGRN与HEK293T细胞上表达的SORT1的结合的阻断。

[0680]

抗体 ID	EC_{50} (nM)	在 150nM 抗体(IgG)下的阻断百分比
S60	0.751	95.9
S-60-15.5 [N33D]	0.588	27.5
S-60-15.1 [N33T]	0.325	96.5
S-60-15.1 [N33T] LALAPS	0.405	96.9

[0681] 相较于S-60-15.5以及相较于S-60,含和不含LALAPS的S-60-15.1[N33T]变体展示最低EC_{50}值和对PGRN与SORT1结合的最高阻断水平。因此,S-60-15.1[N33T]在阻断PGRN与SORT1的结合方面的表现优于S-60和S-60-15.5。

[0682] 概括起来,发现S-60-15在储存应激下在N33处经历广泛脱酰胺(参见表8),使得降解和由此引起的制造不稳定性的可能性增加。先前描述的抗SORT1抗体S-60以及变体S-60-1、S-60-2、S-60-3、S-60-4、S-60-7和S-60-8还在V_L中的33位处含有天冬酰胺。具体来说,HVR-L1位点内N33脱酰胺化位点的位置可能影响S-60-15与SORT1的结合。作为若干测试S-60-15变体之一的S-60-15.1[N33T]相较于S-60-15保持与SORT1的显著结合亲和力(参见表

9)且相较于S-60显示出与SORT1显著改善的结合亲和力(参见表11;相较于表1中的S-60-15WT)。因为HVR-L1残基可接触抗原,所以此较高的结合亲和力保持性对于在HVR-L1内具有非优选取代的抗体是无法预料的。另外,出乎预料的是,相较于S-60,S-60-15.1[N33T]变体保持增加的SORT1下调、增加的PGRN分泌和增加的对PGRN与SORT1的结合的阻断(参见表12和表13)。这些结果还是出乎预料的,因为同样预期在HVR序列中的非优选取代可不利地影响抗体的功能特征。相反,S-60-15.1[N33T]通过移除在V_L中33位处的制造不稳定性而变得比先前描述的抗体稳定外,还保持下调细胞表面SORT1、增加PGRN分泌和阻断PGRN与SORT1的结合的所需特性。

[0683] 实施例5:抗分拣蛋白抗体在非人类灵长类动物中的PK和PD

[0684] 在本实施例中,在非人类灵长类动物中确定静脉内(IV)施用的抗分拣蛋白抗体S-60-15.1[N33T]LALAPS的药物代谢动力学(PK)和药效学(PD)。

[0685] 材料和方法

[0686] 单剂量药物代谢动力学和药效学研究

[0687] 对于单剂量药物代谢动力学研究,在第0天,向食蟹猴施用5mg/kg、20mg/kg、60mg/kg或200mg/kg的单次IV剂量的抗分拣蛋白抗体(n=3只动物/剂量)。之后,在多个时间点自动物抽取血液和CSF以获得血浆和脑脊髓液(CSF)中的抗分拣蛋白抗体浓度,作为抗分拣蛋白抗体药物代谢动力学的量度。还确定白细胞(WBC)上前颗粒体蛋白(PGRN)浓度和分拣蛋白(SORT1)水平,作为药效学的量度。

[0688] 使用ELISA测定,利用抗分拣蛋白抗体特异性抗独特型抗体测定抗分拣蛋白抗体的浓度。用可商购的ELISA试剂盒测定PGRN浓度。使用ELISA测定来测定白细胞上SORT1的水平,并以蛋白质浓度进行正规化。

[0689] 结果

[0690] 表14提供各测试抗分拣蛋白抗体剂量的血浆平均Cmax、平均AUC和$t_{1/2}$。

[0691] 表14.有关指定抗分拣蛋白抗体剂量的C_{max}、平均AUC和$t_{1/2}$(n=3/剂量)。

[0692]

抗体剂量	平均 C_{max} (μg/ml)	平均 AUC (μg × h/ml)	t ½小时
5mg/kg	156	2,870	4.7
20mg/kg	697	26,500	13.3
60mg/kg	2,570	118,000	42
200mg/kg	7,910	366,000	73.6

[0693] 如图1A中所示,在用任何测试抗分拣蛋白抗体剂量治疗非人类灵长类动物后,外周血白细胞中SORT1的表达水平降低。较高抗分拣蛋白抗体剂量(60mg/kg、200mg/kg)使得外周血白细胞中的SORT1水平相较于较低抗分拣蛋白抗体剂量(5mg/kg、20mg/kg)更早且更长时间的降低。

[0694] 通过单次IV注射施用抗分拣蛋白抗体的非人类灵长类动物的血浆中PGRN水平以时间和剂量依赖性方式增加(图1B)。具体来说,所有测试抗分拣蛋白抗体剂量在C_{max}下均使血浆PGRN水平为基线水平的3至4倍。在较高抗体剂量下,血浆PGRN水平在更长时段内保持升高。另外,血浆PGRN水平增加还与外周血白细胞中SORT1的表达水平降低相关。

[0695] 在通过单次IV注射施用抗分拣蛋白抗体的非人类灵长类动物中,CSF中PGRN的水

平也增加。如图1C中所示,在施用20mg/kg、60mg/kg或200mg/kg的动物中的CSF PGRN水平为基线的2至3倍。如通过血浆PGRN水平所观察到的,在较高抗体剂量组中CSF PGRN水平随时间保持升高。

[0696] 表15提供在非人类灵长类动物中有关各测试抗分拣蛋白抗体剂量的CSF平均C_{max}、平均AUC和$t_{1/2}$。抗分拣蛋白抗体CSF浓度平均为血浆中所观察到的量的约0.1%。

[0697] 表15.在非人类灵长类动物中抗分拣蛋白抗体CSF PK参数和估计的半衰期。

[0698]

[1]剂量水平	C_{max} (μg/mL)	AUC_{all} (h*μg/mL)	CL (mL/h/kg)	$t_{1/2}$ 小时 (天)
5mg/kg	20	184	20692	32.3 (1.34)
20mg/kg	2243	35717	745	23.8 (1)
60mg/kg	6842	113573	623	38.3 (1.6)
200mg/kg	4595	349187	1037	72.4 (3.02)

[0699] 重复剂量药物代谢动力学和药效学研究

[0700] 在遵循重复剂量方案施用抗分拣蛋白抗体的非人类灵长类动物中执行其它药物代谢动力学和药效学研究。在这些研究中,每周一次向动物(2只雄性和2只雌性)施用60mg/kg剂量的抗分拣蛋白抗体,持续四周。在之后的各个时间点,确定外周血白细胞中的SORT1表达水平。此外,还确定抗分拣蛋白抗体的血浆和CSF水平。

[0701] 如图2A中所示,外周血白细胞中的SORT1水平在整个研究持续时间保持降低。血浆PGRN水平在峰值水平下增加至为基线的5至6倍(图2B)。在第四次和最后一次施用抗分拣蛋白抗体后观察到血浆PGRN降低;不过,血浆PGRN水平保持为基线的2倍。另外,CSF PGRN水平为基线的3至4倍(图2C)。

[0702] 由平均Cmax和AUC_{0-168}所评估的全身抗分拣蛋白抗体暴露量在第1天是2100μg/mL和114,000μg/mL×h,并且在第22天是3020μg/mL和174,000μg/mL×h。这些结果显示,在第22天的暴露量高于第1天,指示所述抗体的某种程度积累。

[0703] 所述动物中抗分拣蛋白抗体的CSF浓度在血浆中所观察到的浓度的0.03%至0.12%范围内,与CSF中其它抗体的分布相符(Pestalozzi等(2000)J Clin Oncol 18(11):2349-51;Petereit等,(2009)Mult Scler 15(2):189-92)。

[0704] 总体来说,这些结果指示,S-60-15.1[N33T]变体尽管具有相对较短的半衰期,但在活体内具有持续活性,降低外周血白细胞中的SORT1水平以及增加血浆和CSF PGRN水平。

[0705] 此外,在4周和26周的重复剂量毒理学研究中每周以至多200mg/kg向食蟹猴IV施用S-60-15.1[N33T]是良好耐受的,并且基于那些和其它毒理学研究,并无妨碍进行人类临床研究的不良发现,所述毒理学研究包括有关细胞因子释放、死亡率、体重、呼吸速率和深度以及注射部位局部耐受性的评估。因此,S-60-15.1[N33T]适于在FTD和本文所涵盖的其它适应症的人类临床研究中进行测试。

[0706] 就分拣蛋白用作若干配体的受体且在细胞转运和信号传导中具有多种作用的事实来说,有关施用抗分拣蛋白抗体的毒性并无不良发现是令人惊讶的(Nykjaer,A等(2012)

Trends Neurosci 35:261-270)。由于分拣蛋白的多种配体和功能作用,已预计施用抗分拣蛋白抗体可引起脱靶效应;不过,S-60-15.1[N33T]抗体在施用剂量下良好耐受。

[0707] S-60抗体变体V_H区的序列、与S-60的比对和HVR位置

```
S-60       (SEQ ID NO: 56)  QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-1     (SEQ ID NO: 107) QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSVRYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYHSGSTYY 60
S-60-2     (SEQ ID NO: 108) QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSVRYWGWIRQPPGKGLEWIGAIYPSGSTYY 60
S-60-3     (SEQ ID NO: 109) QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-4     (SEQ ID NO: 110) QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-7     (SEQ ID NO: 111) QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-8     (SEQ ID NO: 112) QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-10    (SEQ ID NO: 54)  QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-11    (SEQ ID NO: 54)  QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-12    (SEQ ID NO: 54)  QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-13    (SEQ ID NO: 55)  QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-14    (SEQ ID NO: 55)  QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-15    (SEQ ID NO: 56)  QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-15.1  (SEQ ID NO: 56)  QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-16    (SEQ ID NO: 56)  QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-18    (SEQ ID NO: 56)  QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-19    (SEQ ID NO: 54)  QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60-24    (SEQ ID NO: 56)  QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYY 60
S-60 比对                   ****************************** ****************:** ******
S-60 HVR H1 (SEQ ID NO: 1) -------------------------YSISSGYYWG-----------------------
S-60 HVR H2 (SEQ ID NO: 2) ------------------------------------------------TIYHSGSTYY
```

[0708]

```
S-60       (SEQ ID NO: 56 续)   NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-1     (SEQ ID NO: 107 续)  NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-2     (SEQ ID NO: 108 续)  NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-3     (SEQ ID NO: 109 续)  NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-4     (SEQ ID NO: 110 续)  NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-7     (SEQ ID NO: 111 续)  NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-8     (SEQ ID NO: 112 续)  NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-10    (SEQ ID NO: 54 续)   NPSLKSQVTISVDTSKNQFSLELSSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-11    (SEQ ID NO: 54 续)   NPSLKSQVTISVDTSKNQFSLELSSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-12    (SEQ ID NO: 54 续)   NPSLKSQVTISVDTSKNQFSLELSSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-13    (SEQ ID NO: 55 续)   NPSLESRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-14    (SEQ ID NO: 55 续)   NPSLESRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-15    (SEQ ID NO: 56 续)   NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-15.1  (SEQ ID NO: 56 续)   NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-16    (SEQ ID NO: 56 续)   NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-18    (SEQ ID NO: 56 续)   NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-19    (SEQ ID NO: 54 续)   NPSLKSQVTISVDTSKNQFSLELSSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60-24    (SEQ ID NO: 56 续)   NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGTTVTVSS 122
S-60 比对                       ****:*:**************:********************:******************
S-60 HVR H2 (SEQ ID NO: 2 续)   NPSLKS------------------------------------------------------
S-60 HVR H3 (SEQ ID NO: 6)      ----------------------------------ARQGSIKQGYYGMDV-----------
```

[0709] S-60抗体变体V_L区的序列、与S-60的比对和HVR位置

```
S-60        (SEQ ID NO: 79)   DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-1      (SEQ ID NO: 113)  DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-2      (SEQ ID NO: 114)  DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-3      (SEQ ID NO: 115)  DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQPPQLLIYLGSNRV 60
S-60-4      (SEQ ID NO: 116)  DIVMTQSPLSLPVTPGESASISCRSSQGLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-7      (SEQ ID NO: 117)  DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-8      (SEQ ID NO: 118)  DIVMTQSPLSLPVTPGGPASISCRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-10     (SEQ ID NO: 57)   DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-11     (SEQ ID NO: 58)   DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-12     (SEQ ID NO: 59)   DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQPPQLLIYLGSNRV 60
S-60-13     (SEQ ID NO: 57)   DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-14     (SEQ ID NO: 58)   DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-15     (SEQ ID NO: 57)   DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-15.1   (SEQ ID NO: 60)   DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLRSTGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-16     (SEQ ID NO: 77)   DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-18     (SEQ ID NO: 78)   DIVMTQSPLSLPVTPGGPASISCRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-19     (SEQ ID NO: 79)   DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60-24     (SEQ ID NO: 80)   DIVMTQSPLSLPVTPGESASISCRSSQGLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA 60
S-60 比对                      ****************  *********.**:**************** ***********.
S-60 HVR L1 (SEQ ID NO: 27) ----------------------RSSQSLLHSNGYNYLD--------------------
S-60 HVR L2 (SEQ ID NO: 29) ----------------------------------------------------LGSNRA
```

[0710]

```
S-60        (SEQ ID NO: 79 续)      SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-1      (SEQ ID NO: 113 续)     SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-2      (SEQ ID NO: 114 续)     SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-3      (SEQ ID NO: 115 续)     SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-4      (SEQ ID NO: 116 续)     SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-7      (SEQ ID NO: 117 续)     SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-8      (SEQ ID NO: 118 续)     SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-10     (SEQ ID NO: 57 续)      SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-11     (SEQ ID NO: 58 续)      SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-12     (SEQ ID NO: 59 续)      SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-13     (SEQ ID NO: 57 续)      SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-14     (SEQ ID NO: 58 续)      SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-15     (SEQ ID NO: 57 续)      SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-15.1   (SEQ ID NO: 60 续)      SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-16     (SEQ ID NO: 77 续)      SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGAYYCMQQQEAPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-18     (SEQ ID NO: 78 续)      SGVPDRLSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-19     (SEQ ID NO: 79 续)      SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGGTKVEIK 112
S-60-24     (SEQ ID NO: 80 续)      SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGGTKVEIK 112
S-60 比对                           ******:***************.******.********:**************
S-60 HVR L2 (SEQ ID NO: 29 续)      S-----------------------------------------------------
S-60 HVR L3 (SEQ ID NO: 33)         ----------------------------------MQQQETPLT----------
```

[0711] 表16:抗SORT1抗体的重链HVRH1序列

[0712]

Ab	HVR H1	SEQ ID NO:
S-60; S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	YSISSGYYWG	1

[0713] 表17:抗SORT1抗体的重链HVR H2序列

[0714]

Ab	HVR H2	SEQ ID NO:
S-60; S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	TIYHSGSTYYNPSLKS	2
S-60-13; S-60-14	TIYHSGSTYYNPSLES	3
式 I	TIYHSGSTYYNPSLX_1S X_1 是 K 或 E	4

[0715] 表18:抗SORT1抗体的重链HVRH3序列

[0716]

Ab	HVR H3	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-19	ARQGSIQQGYYGMDV	5
S-60; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-24	ARQGSIKQGYYGMDV	6
式 II	ARQGSIX_1QGYYGMDV X_1 是 Q 或 K	7

[0717] 表19:抗SORT1抗体的轻链HVRL1序列

[0718]

Ab	HVR L1	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-16; S-60-18	RSSQSLLRSNGYNYLD	8
S-60-15.1 [N33T]	RSSQSLLRSTGYNYLD	9
S-60-15.2 [N33S]	RSSQSLLRSSGYNYL	10

[0719]

Ab	HVR L1	SEQ ID NO:
	D	
S-60-15.3 [N33G]	RSSQSLLRSGGYNY LD	11
S-60-15.4 [N33R]	RSSQSLLRSRGYNY LD	12
S-60-15.5 [N33D]	RSSQSLLRSDGYNY LD	13
S-60-15.6 [N33H]	RSSQSLLRSHGYNY LD	14
S-60-15.7 [N33K]	RSSQSLLRSKGYNY LD	15
S-60-15.8 [N33Q]	RSSQSLLRSQGYNY LD	16
S-60-15.9 [N33Y]	RSSQSLLRSYGYNY LD	17
S-60-15.10 [N33E]	RSSQSLLRSEGYNYL D	18
S-60-15.11 [N33W]	RSSQSLLRSWGYNY LD	19
S-60-15.12 [N33F]	RSSQSLLRSFGYNYL D	20
S-60-15.13 [N33I]	RSSQSLLRSIGYNYL D	21
S-60-15.14 [N33V]	RSSQSLLRSVGYNY LD	22
S-60-15.15 [N33A]	RSSQSLLRSAGYNY LD	23
S-60-15.16 [N33M]	RSSQSLLRSMGYNY LD	24
S-60-15.17 [N33L]	RSSQSLLRSLGYNYL D	25
S-60; S-60-19	RSSQSLLHSNGYNY LD	26
S-60-24	RSSQGLLRSNGYNY LD	27
式 III	RSSQX_1LLX_2SX_3GYN YLD X_1 是 S 或 G X_2 是 R 或 H X_3 是 N、T、S、G、R、D、H、K、Q、Y、E、W、F、I、V、A、M 或 L	28

[0720] 表20:抗SORT1抗体的轻链HVRL2序列

[0721]

Ab	HVR L2	SEQ ID NO:
S-60; S-60-10; S-60-11; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	LGSNRAS	29
S-60-12	LGSNRVS	30
式 IV	LGSNRX_1S X_1 是 A 或 V	31

[0722] 表21:抗SORT1抗体的轻链HVRL3序列

[0723]

Ab	HVR L3	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-24	MQQQEAPLT	32
S-60; S-60-12; S-60-18; S-60-19	MQQQETPLT	33
式 V	MQQQEX$_1$PLT X$_1$是A或T	34

[0724] 表22:抗SORT1抗体的重链框架1序列

[0725]

Ab	VH FR1	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	QVQLQESGPGLVKP SETLSLTCAVSG	35

[0726] 表23:抗SORT1抗体的重链框架2序列

[0727]

Ab	VH FR2	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	WIRQPPGKGLEWIG	36

[0728] 表24:抗SORT1抗体的重链框架3序列

[0729]

Ab	VH FR3	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-19	QVTISVDTSKNQFSL ELSSVTAADTAVYY C	37
S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-	RVTISVDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYY	38

[0730]

Ab	VH FR3	SEQ ID NO:
15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-24	C	
式 VI	X$_1$VTISVDTSKNQFS LX$_2$LSSVTAADTAVY YC X$_1$是Q或R X$_2$是E或K	39

[0731] 表25:抗SORT1抗体的重链框架4序列

[0732]

Ab	VH FR4	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	WGQGTTVTVSS	40

[0733] 表26:抗SORT1抗体的轻链框架1序列

[0734]

Ab	VL FR1	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-19	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	41
S-60-18	DIVMTQSPLSLPVTPGGPASISC	42
S-60-24	DIVMTQSPLSLPVTPGESASISC	43
式 VII	DIVMTQSPLSLPVTPGX_1X_2ASISC X_1是E或G X_2是P或S	44

[0735] 表27:抗SORT1抗体的轻链框架2序列

[0736]

Ab	VL FR2	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16	WYLQKPGQSPQLLIY	45

[0737]

Ab	VL FR2	SEQ ID NO:
[N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24		
S-60-12	WYLQKPGQPPQLLIY	46
式 VIII	WYLQKPGQX_1PQLLIY X_1是S或P	47

[0738] 表28:抗SORT1抗体的轻链框架3序列

[0739]

Ab	VL FR3	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-13; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]	GVPDRFSGSGSGTD FTLKISRAEAEDVGV YYC	48
S-60-11; S-60-12; S-60-14; S-60-19; S-60-24	GVPDRFSGSGSGTD FTLKISRVEAEDVGV YYC	49
S-60-16	GVPDRFSGSGSGTD FTLKISRVEAEDVGA YYC	50
S-60-18	GVPDRLSGSGSGTD FTLKISRVEAEDVGV YYC	51
式 IX	GVPDRX$_1$SGSGSGTD FTLKISRX$_2$EAEDVG X$_3$YYC X$_1$是F或L X$_2$是A或V X$_3$是V或A	52

[0740] 表29:抗SORT1抗体的轻链框架4序列

[0741]

Ab	VL FR4	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	FGGGTKVEIK	53

[0742] 表30:抗SORT1抗体的重链可变区序列

[0743]

Ab	HCVR	SEQ ID NO:
S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-19	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSG YSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIY HSGSTYYNPSLKSQVTISVDTSKNQFS LELSSVTAADTAVYYCARQGSIQQGY YGMDVWGQGTTVTVSS	54

[0744]

Ab	HCVR	SEQ ID NO:
S-30-13, S-60-14	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSG YSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIY HSGSTYYNPSLESRVTISVDTSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYCARQGSIQQGY YGMDVWGQGTTVTVSS	55
S-60、S-60-15 [N33 (wt)]、S-60-15.1 [N33T]、S-60-15.2 [N33S]、S-60-15.3 [N33G]、S-60-15.4 [N33R]、S-60-15.5 [N33D]、S-60-15.6 [N33H]、S-60-15.7 [N33K]、S-60-15.8 [N33Q]、S-60-15.9 [N33Y]、S-60-15.10 [N33E]、S-60-15.11 [N33W]、S-60-15.12 [N33F]、S-60-15.13 [N33I]、S-60-15.14 [N33V]、S-60-15.15 [N33A]、S-60-15.16 [N33M]、S-60-15.17 [N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-24	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSG YSISSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGTIY HSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGY YGMDVWGQGTTVTVSS	56

[0745] 表31:抗SORT1抗体的轻链可变区序列

[0746]

Ab	LCVR	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-13; S-60-15 [N33 (wt)]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	57
S-60-11; S-60-14	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	58
S-60-12	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSNGYNYLDWYLQKPGQPPQLLIY LGSNRVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG TKVEIK	59
S-60-15.1 [N33T]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSTGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	60
S-60-15.2 [N33S]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSSGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	61
S-60-15.3 [N33G]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSGGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	62
S-60-15.4 [N33R]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS	63

[0747]

Ab	LCVR	SEQ ID NO:
	LLRSRGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	
S-60-15.5 [N33D]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSDGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	64
S-60-15.6 [N33H]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSHGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	65
S-60-15.7 [N33K]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSKGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	66
S-60-15.8 [N33Q]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSQGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	67
S-60-15.9 [N33Y]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSYGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	68
S-60-15.10 [N33E]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSEGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	69
S-60-15.11 [N33W]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSWGYNYLDWYLQKPGQSPQLLI YLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIK	70
S-60-15.12 [N33F]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSFGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	71
S-60-15.13 [N33I]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSIGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	72
S-60-15.14 [N33V]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSVGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS	73

Ab	LCVR	SEQ ID NO:
	RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	
S-60-15.15 [N33A]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSAGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	74
S-60-15.16 [N33M]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSMGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	75
S-60-15.17 [N33L]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSLGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RAEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	76
S-60-16	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGAYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	77
S-60-18	DIVMTQSPLSLPVTPGGPASISCRSSQS LLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRLSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG TKVEIK	78
S-60, S-60-19	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG TKVEIK	79
S-60-24	DIVMTQSPLSLPVTPGESASISCRSSQG LLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIK	80

[0748]

[0749] 表32:分拣蛋白氨基酸序列

描述	序列	SEQ ID NO
人类分拣蛋白	10 20 30 40 50 MERPWGAADG LSRWPHGLGL LLLLQLLPPS TLSQDRLDAP PPPAAPLPRW 60 70 80 90 100 SGPIGVSWGL RAAAAGGAFP RGGRWRRSAP GEDEECGRVR DFVAKLANNT 110 120 130 140 150 HQHVFDDLRG SVSLSWVGDS TGVILVLTTF HVPLVIMTFG QSKLYRSEDY 160 170 180 190 200 GKNFKDITDL INNTFIRTEF GMAIGPENSG KVVLTAEVSG GSRGGRIFRS 210 220 230 240 250 SDFAKNFVQT DLPFHPLTQM MYSPQNSDYL LALSTENGLW VSKNFGGKWE 260 270 280 290 300 EIHKAVCLAK WGSDNTIFFT TYANGSCKAD LGALELWRTS DLGKSFKTIG	81

[0750]

[0751]

描述	序列	SEQ ID NO
	310 320 330 340 350 VKIYS**FG**LGG RFL**FA**S**V**MAD KDTT**RRI**HVS TDQGDTWSMA QLPSVGQEQ**F** 360 370 380 390 400 **YSI**LAANDDM VFMHVDEPGD TGFGTIFTSD DRGIVYSKSL DRHLYTTTGG 410 420 430 440 450 ETDFT**N**VTSL RGVYITSVLS EDNSIQTMIT FDQGGRWTHL RKPENSECDA 460 470 480 490 500 TAKNKNECSL HIHASYSISQ KLNVPMAPLS EPNAVGIVIA HGSVGDAISV 510 520 530 540 550 MVPDVYISDD GGYSWTKMLE GPHYYTILDS GGIIVAIEHS SRPINVIKFS 560 570 580 590 600 TDEGQCWQTY TFTRDPIYFT GLASEPGARS M**N**ISIWGFTE SFLTSQWVSY 610 620 630 640 650 TIDFKDILER NCEEKDYTIW LAHSTDPEDY EDGCILGYKE QFLRLRKSSV 660 670 680 690 700 CQNGRDYVVT KQPSICLCSL EDFLCDFGYY RPENDSKCVE QPELKGHDL**E** 710 720 730 740 750 FCLYGREEHL TTNGYRKIPG DKCQGGVNPV REVKDLKKKC TSNFLSPEKQ 760 770 780 790 800 NSKSNSVPII LAIVGLMLVT VVAGVLIVKK YVCGGRFLVH RYSVLQQHAE 810 820 830 ANGVDGVDAL DTASHTNKSG YHDDSDEDLL E	
小鼠分拣蛋白	MERPRGAADG LLRWPLGLLL LLQLLPPAAV GQDRLDAPPP PAPPLLRWAG PVGVSWGLRA AAPGGPVPRA GRWRRGAPAE DQDCGRLPDF IAKLTNNTHQ HVFDDLSGSV SLSWVGDSTG VILVLTTFQV PLVIVSFGQS KLYRSEDYGK NFKDITNLIN NTFIRTEFGM AIGPENSGKV ILTAEVSGGS RGGRVFRSSD FAKNFVQTDL PFHPLTQMMY SPQNSDYLLA LSTENGLWVS KNFGEKWEEI HKAVCLAKWG PNNIIFFTTH VNGSCKADLG ALELWRTSDL GKTFKTIGVK IYSFGLGGRF LFASVMADKD TTRRIHVSTD QGDTWSMAQL PSVGQEQFYS ILAANEDMVF MHVDEPGDTG FGTIFTSDDR GIVYSKSLDR HLYTTTGGET DFTNVTSLRG VYITSTLSED NSIQSMITFD QGGRWEHLRK PENSKCDATA KNKNECSLHI HASYSISQKL NVPMAPLSEP NAVGIVIAHG SVGDAISVMV PDVYISDDGG YSWAKMLEGP HYYTILDSGG IIVAIEHSNR PINVIKFSTD EGQCWQSYVF TQEPIYFTGL ASEPGARSMN ISIWGFTESF ITRQWVSYTV DFKDILERNC EEDDYTTWLA HSTDPGDYKD GCILGYKEQF LRLRKSSVCQ NGRDYVVAKQ PSVCPCSLED FLCDFGYFRP ENASECVEQP ELKGHELEFC LYGKEEHLTT NGYRKIPGDK CQGGMNPARE VKDLKKKCTS NFLNPTKQNS KSNSVPIILA IVGLMLVTVV AGVLIVKKYV CGGRFLVHRY SVLQQHAEAD GVEALDSTSH AKSGYHDDSD EDLLE	82
大鼠分拣蛋白	MERPRGAADG LLRWPLGLLL LLQLLPPAAV GQDRLDAPPP PAPPLLRWAG PVGVSWGLRA AAPGGPVPRA GRWRRGAPAE DQDCGRLPDF IAKLTNNTHQ HVFDDLSGSV SLSWVGDSTG VILVLTTFQV PLVIVSFGQS KLYRSEDYGK NFKDITNLIN NTFIRTEFGM AIGPENSGKV ILTAEVSGGS RGGRVFRSSD FAKNFVQTDL PFHPLTQMMY SPQNSDYLLA LSTENGLWVS KNFGEKWEEI HKAVCLAKWG PNNIIFFTTH VNGSCKADLG ALELWRTSDL GKTFKTIGVK IYSFGLGGRF LFASVMADKD TTRRIHVSTD QGDTWSMAQL PSVGQEQFYS ILAANDDMVF MHVDEPGDTG FGTIFTSDDR GIVYSKSLDR HLYTTTGGET DFTNVTSLRG VYITSTLSED NSIQSMITFD QGGRWEHLQK PENSKCDATA KNKNECSLHI HASYSISQKL NVPMAPLSEP NAVGIVIAHG SVGDAISVMV PDVYISDDGG YSWAKMLEGP HYYTILDSGG IIVAIEHSNR PINVIKFSTD EGQCWQSYVF SQEPVYFTGL ASEPGARSMN ISIWGFTESF LTRQWVSYTI DFKDILERNC EENDYTTWLA HSTDPGDYKD GCILGYKEQF LRLRKSSVCQ NGRDYVVAKQ PSICPCSLED FLCDFGYFRP ENASECVEQP ELKGHELEFC LYGKEEHLTT NGYRKIPGDR CQGGMNPARE VKDLKKKCTS NFLNPKKQNS KSSSVPIILA IVGLMLVTVV AGVLIVKKYV CGGRFLVHRY SVLQQHAEAD GVEALDTASH AKSGYHDDSD EDLLE	83

[0752] 表33:S-60-15肽序列

描述	序列	SEQ ID NO
Asp 盒基序	(S/T)-X-(D/N)-X-X-X-X-(W/F/Y) X 是任何氨基酸	84
Asp 盒基序	X-X-(S/T)-X-(D/N)-X-G-X-(T/S)-(W/F/Y)-X X 是任何氨基酸	85
人类分拣蛋白中的 Asp 盒基序 (残基 200-207)	SSDFAKNF	86
S-60-15 肽	NQFSLK	87
S-60-15 肽	QGYYGMDVWGQGTTVTVSSASTK	88
S-60-15 肽	DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTK	89
S-60-15 肽	DTLMISR	90
S-60-15 肽	TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK	91
S-60-15 肽	VVSVLTVLHQDWLNGK	92
S-60-15 肽	EPQVYTLPPSQEEMTK	93
S-60-15 肽	NQVSLTCLVK	94
S-60-15 肽	GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK	95
S-60-15 肽	WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK	96
S-60-15 肽	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCR	97
S-60-15 肽	SSQSLLR	98
S-60-15 肽	SNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNR	99
S-60-15 肽	AEAEDVGVYYCMQQQEAPLTFGGGTK	100
S-60-15 肽	SGTASVVCLLNNFYPR	101
S-60-15 肽	VDNALQSGNSQESVTEQDSK	102

[0753]

[0754] 表34:Fc结构域氨基酸序列

描述	序列	SEQ ID NO
huIgG1 LALAPS Fc	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQV	103

[0755]

[0756]

描述	序列	SEQ ID NO
	YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	
huIgG1 LALAPS Fc，不含 C 末端赖氨酸	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	104

[0757] 表35:全长重链氨基酸序列

描述	序列	SEQ ID NO
S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-19，具有含 C 末端赖氨酸的 Fc LALAPS	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGW IRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYYNPSLKSQVTISVDTS KNQFSLELSSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDV WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	105
S-60-10、S-60-11、S-60-12、S-60-19，具有不含 C 末端赖氨酸的 Fc LALAPS	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGW IRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYYNPSLKSQVTISVDTS KNQFSLELSSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDV WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG	106
S-60-13、S-60-14，具有含 C 末端赖氨酸的 Fc LALAPS	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGW IRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYYNPSLESRVTISVDTSK NQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDV WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR	135

[0759]

描述	序列	SEQ ID NO
	TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	
S-60-13、S-60-14，具有不含C末端赖氨酸的 Fc LALAPS	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGW IRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYYNPSLESRVTISVDTSK NQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDV WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG	136
S-60、S-60-15 [N33 (wt)]、S-60-15.1 [N33T]、S-60-15.2 [N33S]、S-60-15.3 [N33G]、S-60-15.4 [N33R]、S-60-15.5 [N33D]、S-60-15.6 [N33H]、S-60-15.7 [N33K]、S-60-15.8 [N33Q]、S-60-15.9 [N33Y]、S-60-15.10 [N33E]、S-60-15.11 [N33W]、S-60-15.12 [N33F]、S-60-15.13 [N33I]、S-60-15.14 [N33V]、S-60-15.15 [N33A]、S-60-15.16 [N33M]、S-60-15.17 [N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-24，具有含C末端赖氨酸的 Fc LALAPS	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGW IRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMD VWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	137
S-60、S-60-15 [N33 (wt)]、S-60-15.1 [N33T]、S-60-15.2 [N33S]、S-60-15.3 [N33G]、S-60-15.4 [N33R]、S-60-15.5 [N33D]、S-60-15.6 [N33H]、S-60-15.7 [N33K]、S-60-15.8 [N33Q]、S-60-15.9 [N33Y]、S-60-15.10 [N33E]、S-60-15.11 [N33W]、S-60-15.12 [N33F]、S-60-15.13 [N33I]、S-60-15.14 [N33V]、S-60-15.15 [N33A]、S-60-15.16 [N33M]、S-60-15.17 [N33L]、S-60-16、S-60-18、S-60-24，	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGW IRQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMD VWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG	138

描述	序列	SEQ ID NO
具有不含C末端赖氨酸的 Fc LALAPS		

[0760] 表36:全长轻链氨基酸序列

[0761]

描述	序列	SEQ ID NO
S-60-10; S-60-13; S-60-15 [N33 (wt)]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSNGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	139
S-60-11; S-60-14	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSNGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	140
S-60-12	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSNGYNYLDWYL QKPGQPPQLLIYLGSNRVSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCMQQQETPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	141
S-60-15.1 [N33T]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSTGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	142

[0762]

描述	序列	SEQ ID NO
S-60-15.2 [N33S]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSSGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	143
S-60-15.3 [N33G]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSGGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	144
S-60-15.4 [N33R]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSRGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	145
S-60-15.5 [N33D]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSDGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	146
S-60-15.6 [N33H]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSHGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK	119

[0763]

描述	序列	SEQ ID NO
	ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	
S-60-15.7 [N33K]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSKGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	120
S-60-15.8 [N33Q]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSQGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	121
S-60-15.9 [N33Y]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSYGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	122
S-60-15.10 [N33E]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSEGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	123
S-60-15.11 [N33W]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSWGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE	124

[0764]

描述	序列	SEQ ID NO
	AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	
S-60-15.12 [N33F]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSFGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	125
S-60-15.13 [N33I]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSIGYNYLDWYLQ KPGQSPQLLIYLGSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAE DVGVYYCMQQQEAPLTFGGG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	126
S-60-15.14 [N33V]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSVGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	127
S-60-15.15 [N33A]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSAGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	128
S-60-15.16 [N33M]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSMGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG	129

[0765]

描述	序列	SEQ ID NO
	GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	
S-60-15.17 [N33L]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSLGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRAEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	130
S-60-16	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLRSNGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGAYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	131
S-60-18	DIVMTQSPLSLPVTPGGPASIS CRSSQSLLRSNGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRLSGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCMQQQETPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	132
S-60, S-60-19	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLHSNGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCMQQQETPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	133
S-60-24	DIVMTQSPLSLPVTPGESASIS CRSSQGLLRSNGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGV	134

描述	序列	SEQ ID NO
	PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCMQQQEAPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	

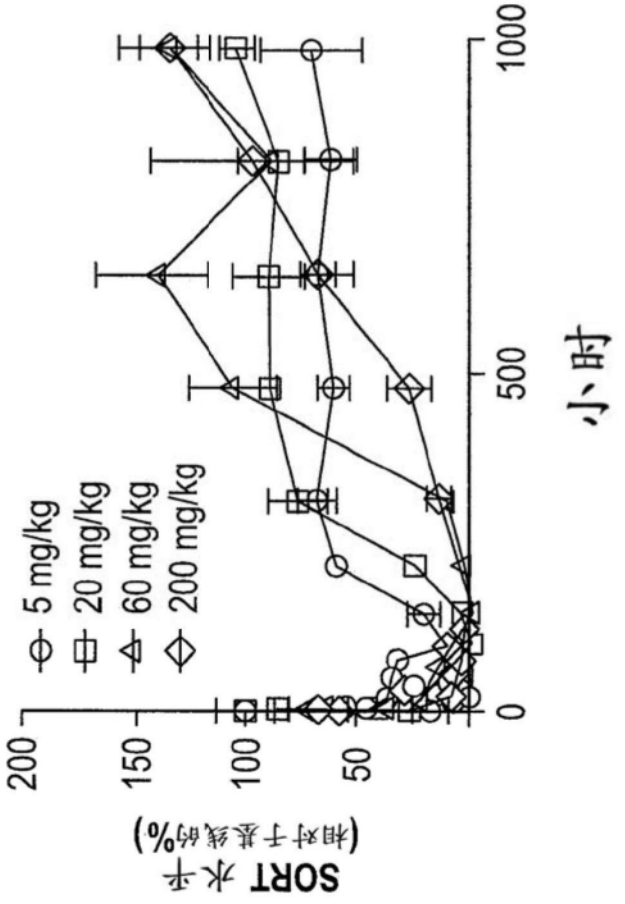

SORT 水平
(相对于基线的%)
200
150
100
50
0
500
1000
小时
5 mg/kg
20 mg/kg
60 mg/kg
200 mg/kg

图1A

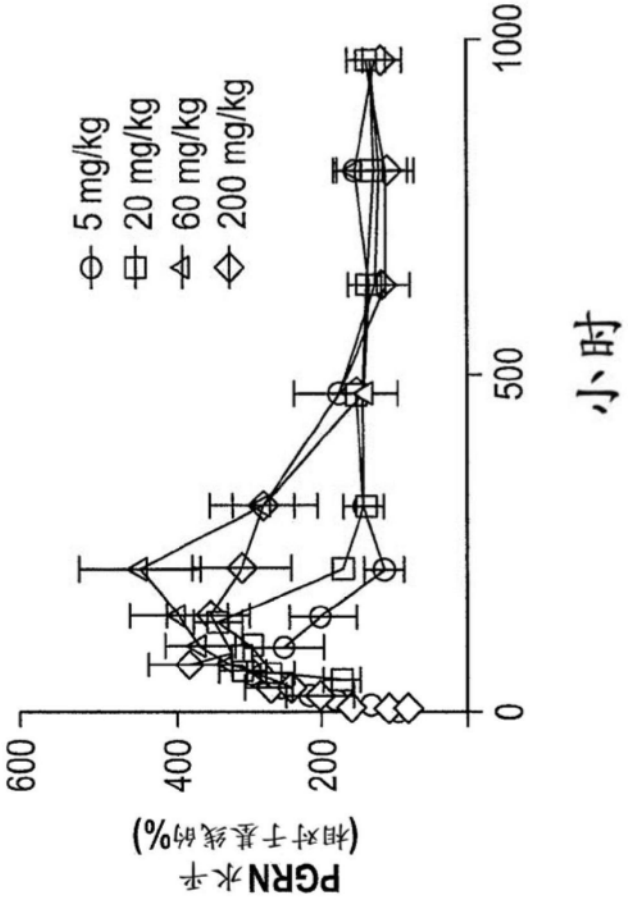

5 mg/kg
20 mg/kg
60 mg/kg
200 mg/kg
1000
500
0
小时
600
400
200
PGRN水平
(相对于基线的%)

图1B

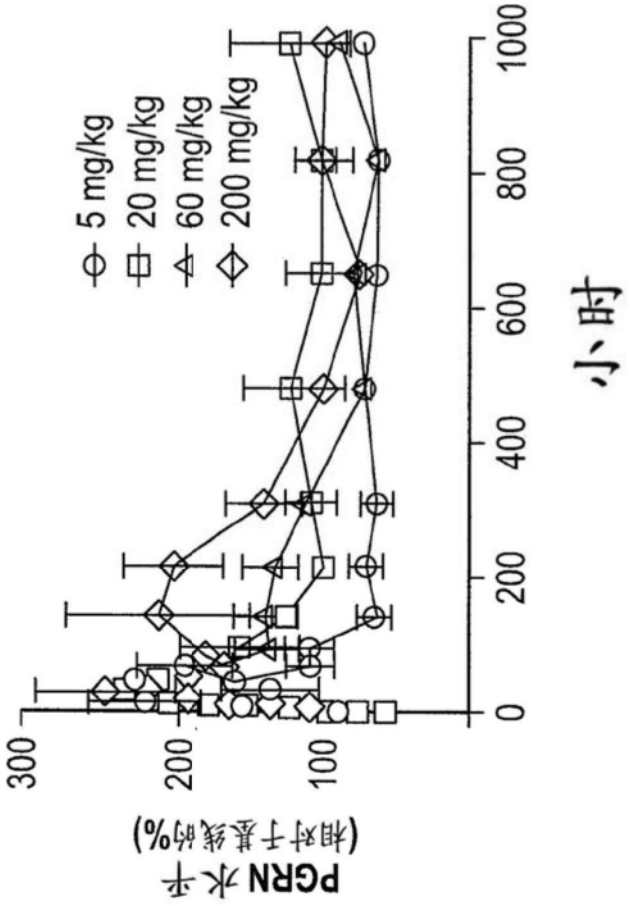

5 mg/kg
20 mg/kg
60 mg/kg
200 mg/kg
300
200
100
0
200
400
600
800
1000
小时
pGRN 水平
(相对于基线的%)

图1C

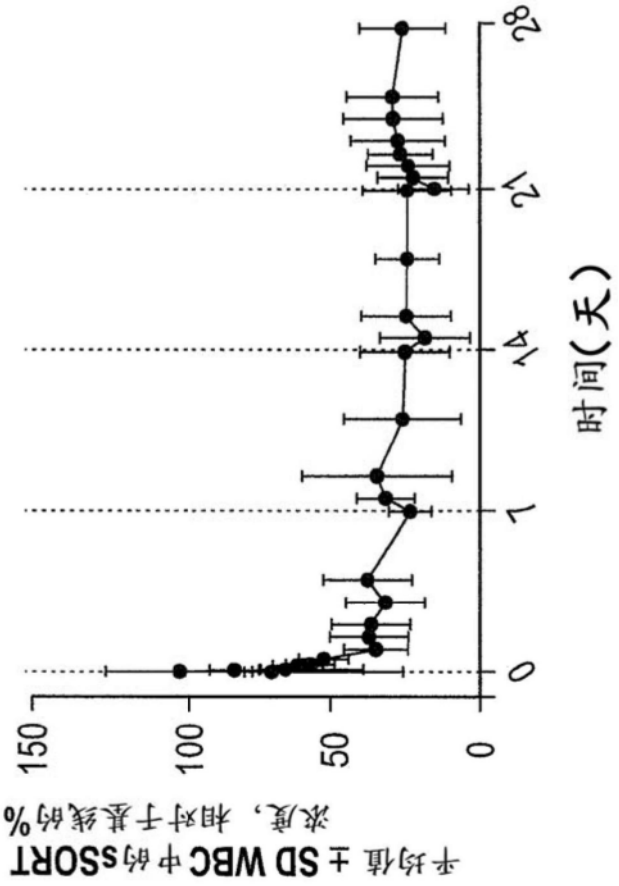


图2A

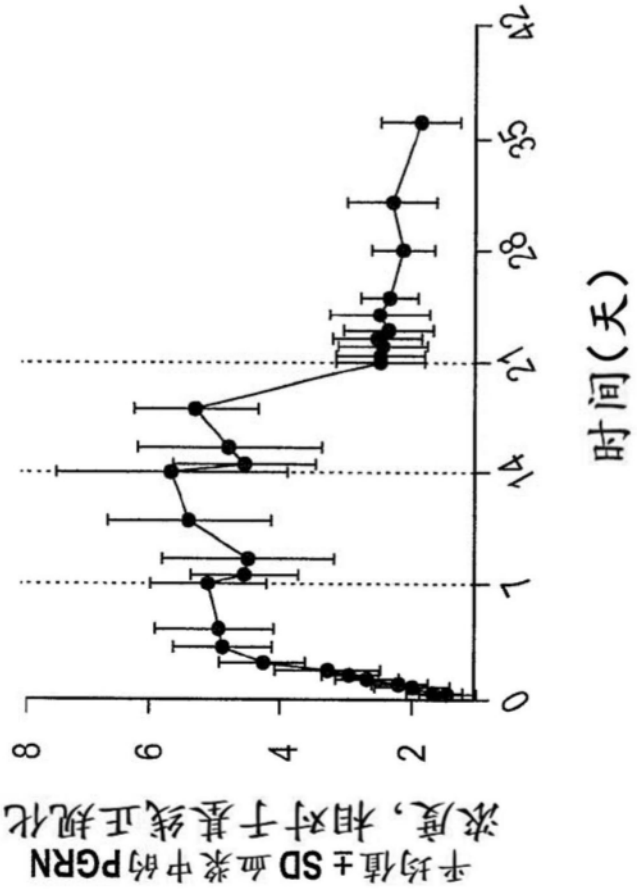


图2B

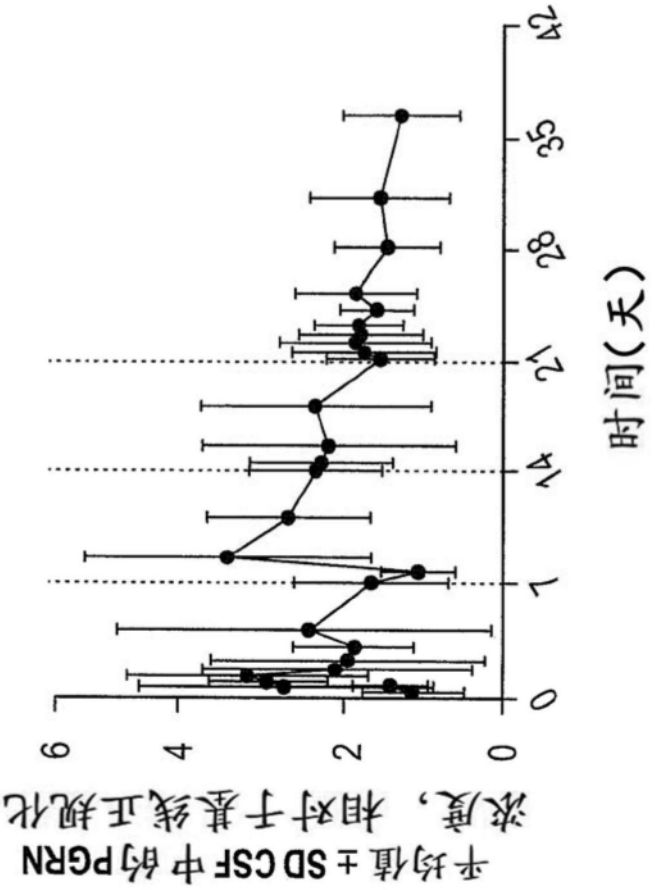


图2C