



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119451987 A

(43) 申请公布日 2025. 02. 14

(21) 申请号 202380049031.3
(22) 申请日 2023.05.02
(30) 优先权数据
10-2022-0054434 2022.05.02 KR
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2024.12.23
(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/KR2023/005995 2023.05.02
(87) PCT国际申请的公布数据
W02023/214778 KO 2023.11.09
(71) 申请人 善萃科思生物科技有限公司
地址 韩国首尔
(72) 发明人 全在原 李秀仁 金荷娜

(74) 专利代理机构 北京东方亿思知识产权代理
有限责任公司 11258
专利代理师 蒋桂梅

(51) Int.Cl.
C07K 16/28 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

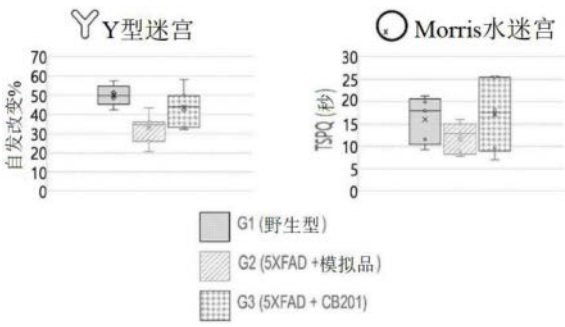
权利要求书5页 说明书49页
序列表（电子公布） 附图11页

(54) 发明名称

抗CD300c抗体或其抗原结合片段及其用于
预防或治疗退行性脑病的用途

(57) 摘要

本发明涉及一种用于预防或治疗退行性脑病的药物组合物,所述药物组合物包含抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者;一种用于使用所述药物组合物来预防或治疗退行性脑病的方法;一种用于预防或改善退行性脑病的饲料组合物,所述饲料组合物包含抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者;一种食物组合物;以及所述抗CD300c抗体及其抗原结合片段用于预防或治疗退行性脑病的用途。



1. 一种用于预防或治疗退行性脑病的药物组合物,所述药物组合物包含抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者作为活性成分。

2. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述退行性脑病是涉及认知功能障碍的疾病。

3. 根据权利要求2所述的药物组合物,其中所述认知功能障碍是选自由以下组成的组的一种或多种:认知下降、记忆障碍、语言障碍、视觉空间能力下降、定向力受损和执行功能障碍。

4. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述退行性脑病是选自由以下组成的组的一种或多种:痴呆、阿尔茨海默病、亨廷顿氏病、帕金森氏病、脑淀粉样血管病、淀粉样中风、荷兰型淀粉样变性、Tau蛋白病、轻度认知障碍、皮层基底节综合征、后部皮层萎缩、原发性进行性失语症、进行性核上性麻痹、皮层基底节变性(CBD)、肌萎缩侧索硬化症、克雅二氏病、失忆症、学习障碍和记忆障碍。

5. 根据权利要求4所述的药物组合物,其中所述痴呆是选自由以下组成的组的一种或多种:阿尔茨海默病痴呆、亨廷顿氏病痴呆、帕金森氏病痴呆、脑血管性痴呆、神经炎症性痴呆、脑梗塞性痴呆、老年性痴呆、路易体痴呆(DLB)、多发梗塞性痴呆(MID)、额颞叶变性(FTLD)、克雅二氏病痴呆、皮克病、皮层基底节变性痴呆、由于正常压力脑积水导致的痴呆和由于头部创伤导致的痴呆。

6. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述退行性脑病包括阿尔茨海默病。

7. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的任意一者或多者包含:

(i) 重链可变区,所述重链可变区包含:

由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR1:SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:151、SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:259、SEQ ID NO:271、SEQ ID NO:283和SEQ ID NO:295;

由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR2:SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:152、SEQ ID NO:164、SEQ ID NO:176、SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:200、SEQ ID NO:212、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:260、SEQ ID NO:272、SEQ ID NO:284和SEQ ID NO:296;以及

由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR3:SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:153、SEQ ID NO:165、SEQ ID NO:177、SEQ ID NO:189、SEQ ID NO:201、SEQ ID NO:213、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:261、SEQ ID NO:273、SEQ ID NO:285和SEQ ID NO:297;以及

(ii) 轻链可变区,所述轻链可变区包含:

由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR1:SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:178、SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:262、SEQ ID NO:274、SEQ ID NO:286和SEQ ID NO:298;

由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR2:序列号:SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:167、SEQ ID NO:179、SEQ ID NO:191、SEQ ID NO:203、SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:239、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:263、SEQ ID NO:275、SEQ ID NO:287和SEQ ID NO:299;以及

由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR3:SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:144、SEQ ID NO:156、SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:180、SEQ ID NO:192、SEQ ID NO:204、SEQ ID NO:216、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:252、SEQ ID NO:264、SEQ ID NO:276、SEQ ID NO:288和SEQ ID NO:300。

8. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的任意一者或多者包含:

(i) 重链可变区,所述重链可变区包含:

由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR1:SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:115和SEQ ID NO:221;

由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR2:SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:212;以及

由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR3:SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:117和SEQ ID NO:213;以及

(ii) 轻链可变区,所述轻链可变区包含:

由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR1:SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:118和SEQ ID NO:214;

由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR2:SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:215;以及

由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR3:SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:120和SEQ ID NO:216。

9. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的任意一者或多者选自:

(i) 重链可变区,所述重链可变区包含:由SEQ ID NO:79组成的CDR1、由SEQ ID NO:80组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:81组成的CDR3;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含:由

SEQ ID NO:82组成的CDR1、由SEQ ID NO:83组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:84组成的CDR3;

(ii) 重链可变区,所述重链可变区包含:由SEQ ID NO:115组成的CDR1、由SEQ ID NO:116组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:117组成的CDR3;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含:由SEQ ID NO:118组成的CDR1、由SEQ ID NO:119组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:120组成的CDR3;以及

(iii) 重链可变区,所述重链可变区包含:由SEQ ID NO:211组成的CDR1、由SEQ ID NO:212组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:213组成的CDR3;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含:由SEQ ID NO:214组成的CDR1、由SEQ ID NO:215组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:216组成的CDR3。

10. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述抗CD300c抗体或其抗原结合片段中的任意一者或多者包含:

重链可变区,所述重链可变区包含:由SEQ ID NO:79所示的氨基酸序列组成的CDR1、由SEQ ID NO:80所示的氨基酸序列组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列组成的CDR3;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含:由SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列组成的CDR1、由SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列组成的CDR3。

11. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的任意一者或多者包含:

重链可变区,所述重链可变区包含:分别由下式(1)至(3)所示的氨基酸序列组成的CDR1至CDR3,以及

轻链可变区,所述轻链可变区包含:分别由下式(4)至(6)所示的氨基酸序列组成的CDR1至CDR3:

(1) FTFX1X2X3X4MX5WVR

其中,

X1=G或S;

X2=S、R或D;

X3=N或Y;

X4=Y、A、G或H;并且

X5=S或H,

(2) X1ISX2SGX3X4TYYAX5

其中,

X1=T或A;

X2=G或S;

X3=T或G;

X4=S或Y;并且

X5=D或E,

(3) YCAX1X2X3X4X5X6X7X8X9W

其中,

X1=R或S;

X2=G或S;

X3=M、S、Y或I;

X4=W、Q、G或R;

X5=G或L;

X6=M、I或P;

X7=D、F或L;

X8=V或D;并且

X9=I、Y或不存在,

(4) CX1X2X3X4X5X6X7X8X9X10X11VX12W其中,

X1=T或S;

X2=G或R;

X3=K、N或S;

X4=H、N或S;

X5=R、I或G;

X6=H、G或I;

X7=T、I或S;

X8=R、A、K或不存在;

X9=R、S、G或不存在;

X10=N或不存在;

X11=Y或不存在;并且

X12=N、H或Q,

(5) X1X2X3X4RPSGVX5

其中,

X1=L、S、R或E;

X2=D、K或N;

X3=S或N;

X4=E、N、Q或K;并且

X5=P或R,

(6) YCX1X2X3X4X5X6X7X8X9X10VF其中,

X1=Q、A或S;

X2=S或A;

X3=Y或W;

X4=D或A;

X5=S、D或G;

X6=S、N或T;

X7=S、L、N或K;

X8=V、S、N或G;

X9=G、L、V或不存在;并且

X10=P或不存在。

12. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的任意一者或多者恢复或改善患有退行性脑病或有患退行性脑病风险的受试者的认知功能。

13. 一种预防或治疗退行性脑病的方法,所述方法包括向患有退行性脑病或有患退行性脑病风险的受试者施用抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的任意一者或多者。

14. 一种用于预防或治疗退行性脑病的食物组合物,所述食物组合物包含抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者作为活性成分。

15. 一种用于预防或治疗退行性脑病的饲料组合物,所述饲料组合物包含抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者作为活性成分。

16. 抗CD300c抗体或其抗原结合片段中的一者或多者用于预防或治疗退行性脑病的用途。

抗CD300c抗体或其抗原结合片段及其用于预防或治疗退行性脑病的用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于预防或治疗退行性脑病的药物组合物,所述药物组合物包含抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者;一种用于使用所述药物组合物来预防或治疗退行性脑病的方法;一种用于预防或治疗退行性脑病的饲料组合物或食物组合物,所述饲料组合物或食物组合物包含抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者;以及所述抗CD300c抗体和/或其抗原结合片段在预防或治疗退行性脑病中的用途。

背景技术

[0002] 阿尔茨海默病(AD)是退行性脑病的代表性示例,其特征为认知和记忆功能逐渐丧失以及中枢神经系统的神经退行性变,占痴呆症病例的大约50%。AD的特征在于存在淀粉样斑块、神经元纤维缠结、突触丧失、选择性神经元细胞死亡等。淀粉样斑块是由异常水平的细胞外淀粉样 β 肽诱发的,而神经元纤维缠结与细胞内过度磷酸化的tau蛋白的存在有关。AD症状的特征在于失忆症,以及失语症、运动障碍和失认症(无法识别物体、人、声音、形状或气味),这些都归因于与皮层联络区的关联。AD的发病率尤其在65岁之后增加,并且随着人口老龄化而在全球迅速增加。

[0003] 市售AD治疗有助于改善认知功能,但主要由AChE抑制剂和靶向暂时症状缓解的NMDA受体拮抗剂组成。阿杜卡努单抗(Aducanumab)是一种靶向淀粉样 β 蛋白的单克隆抗体药物,于2021年获得FDA批准。与现有的症状改善药物不同,阿杜卡努单抗靶向基础病理生理学,但关于其功效、副效应等存在争议。此外,已经报道了靶向PD-1/PD-L1信号传导过程以治疗AD的研究(非专利文献1)。此项研究发现阻断PD-1/PD-L1信号传导导致脑实质内单核细胞来源的巨噬细胞增加,并且最终提出了通过减少斑块和脑病变进行免疫学方法的可能性。AD治疗方的开发极具挑战性,并且成功率极低;然而,随着人口老龄化加速、AD患者的数量的增加以及与AD相关联的社会经济成本增长,存在开发各种根本治疗,而不是缓解症状的药物的需要。

[0004] 与此同时,CD300c(CD300抗原样家族成员C)蛋白是人类中由CD300c基因编码的蛋白质,其存在于各种肿瘤细胞和单核细胞的表面上。已揭露,通过抑制CD300c蛋白的活性或表达,可以经由提高免疫功能(例如,T细胞活化)来减少癌细胞的增殖(专利文献1)。

[0005] (专利文献1) 韩国专利申请公开号10-2021-0060355

[0006] (非专利文献1) 1. Rosenzweig, N., Dvir-Szternfeld, R., Tsitsou-Kampeli, A., Keren-Shaul, H., Ben-Yehuda, H., Weill-Raynal, P., Cahalon, L., Kertser, A., Baruch, K., Amit, I., Weiner, A., & Schwartz, M. PD-1/PD-L1 checkpoint blockade harnesses monocyte-derived macrophages to combat cognitive impairment in a tauopathy mouse model. *Nature Communications*, 10(1) (2019)。

发明内容

[0007] 【技术问题】

[0008] 本发明的目的是提供一种用于预防或治疗退行性脑病的药物组合物,所述药物组合物包含抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者;一种使用所述药物组合物来预防或治疗退行性脑病的方法;一种用于预防或改善退行性脑病的饲料组合物或食物组合物,所述饲料组合物或食物组合物包含抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者;以及所述抗CD300c抗体和/或其抗原结合片段用于预防或治疗退行性脑病的用途。

[0009] 【技术方案】

[0010] 本发明的目的是解决所有上述问题。

[0011] 本发明的另一目的为提供一种用于预防或治疗退行性脑疾病的抗体药物。

[0012] 本发明的仍另一目的是提供一种用于预防或治疗退行性脑病的组合物。

[0013] 本发明的仍另一目的是提供一种用于预防或治疗退行性脑病的方法。

[0014] 本发明的仍另一目的是提供所述抗CD300c抗体及其抗原结合片段在预防或治疗退行性脑疾病中的用途。

[0015] 【有益效应】

[0016] 根据本发明,特异性结合CD300c的抗体及其抗原结合片段可有效地作用于退行性脑病的预防剂或治疗剂。

[0017] 经由使用已经遗传修饰以表达与退行性脑病相关的基因的5xFAD小鼠进行Y型迷宫测试和Morris水迷宫测试,证实了抗CD300c抗体或其抗原结合片段可以显著恢复退行性脑病小鼠模型的认知和记忆功能。因此,抗CD300c抗体或其抗原结合片段对于预防或治疗退行性脑病具有有效的药物功效。

附图说明

[0018] 图1示出了使用结合ELISA确认抗CD300c单克隆抗体对CD300c抗原的结合亲和力的结果。

[0019] 图2示出了抗CD300c单克隆抗体CB201、CL10和SL18的重链可变区的序列比较结果。

[0020] 图3示出了使用表面等离子体共振(surface plasmon resonance, SPR)确认抗CD300c单克隆抗体对CD300c抗原的结合亲和力的结果。

[0021] 图4示出了确认抗CD300c单克隆抗体对细胞上的CD300c抗原的结合亲和力的结果。

[0022] 图5示出了通过细胞形态的观察确认抗CD300c单克隆抗体对单核细胞来源的巨噬细胞(MDM)分化的促进的结果。

[0023] 图6示出了通过对参与细胞信号传导的因子的分析来确认抗CD300c单克隆抗体对分化为MDM的促进的结果。

[0024] 图7示出了通过测量分化标志物(TNF- α 、IL-1 β 和IL-8)的产生来确认抗CD300c单克隆抗体CB201对分化为MDM的促进的结果。

[0025] 图8示出了通过测量分化标志物(TNF- α)的产生来确认抗CD300c单克隆抗体CL10和SL18对分化为MDM的促进的结果。

[0026] 图9示出了通过对细胞外蛋白质标志物的分析确认抗CD300c单克隆抗体对向MDM分化的促进的结果。

[0027] 图10示出了通过标志物分析(体内)确认抗CD300c单克隆抗体对分化为MDM的促进的结果。 α PD-1图中的CD206+区域和CB201图中的iNOS+区域的示例在各图中通过箭头指示。

[0028] 图11示出了通过标志物分析(体内)确认抗CD300c单克隆抗体对分化为MDM的促进的结果。

[0029] 图12示出了通过纳米线免疫分析确认抗CD300c单克隆抗体对分化为MDM及免疫系统的促进的变化的结果。

[0030] 图13示出了示出用于Y型迷宫测试的动物模型制备和实验方法的示意图。

[0031] 图14示出了来自在Morris水迷宫测试期间录制的视频的视频的图像。

[0032] 图15示出了示出Y型迷宫测试和Morris水迷宫测试的结果的量化的示意图。

具体实施方式

[0033] 下面对本发明进行详细描述。与此同时,本发明中所公开的各个描述和实施方式也可适用于其他的描述和实施方式。也就是说,本发明中所公开的各种要素的所有组合均落入本公开的范围内。另外,本发明的范围不受以下具体说明的限制。此外,贯穿本说明书参考并引用了大量论文和专利文献。所引用的论文和专利文件的公开内容以引用方式全文并入本文,以进一步阐明本发明的技术水平和描述。

[0034] 本发明的一个方面提供了一种用于预防或治疗退行性脑病的药物组合物,所述药物组合物包含抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者作为活性成分。

[0035] 在一个实施方式中,本发明的抗体可以具有促进单核细胞分化为单核细胞来源的巨噬细胞(MDM)或M1巨噬细胞的能力。这种促进能力可能相较于用于退行性脑病的一般治疗和免疫疗法有所增强,但不限于此。在本发明中,MDM可以是M1-MDM。

[0036] 本发明中,抗CD300c抗体及其抗原结合片段是指可特异性地结合CD300c蛋白的抗原结合分子,所述抗原结合分子可以抑制CD300c的反应,但不限于此。

[0037] 在本发明中,术语“CD300c”与“CD300c蛋白”或“CD300c抗原”可互换使用,并且是指CD300家族的成员,其是参与免疫调节的细胞表面蛋白。它可能在抗原呈递细胞、癌细胞或免疫细胞上表达,但不限于此。

[0038] 在本发明中,术语“抗体”是指可特异性地识别抗原位点的蛋白质分子,包括对特定抗原或其部分具有免疫反应性的免疫球蛋白。本发明的抗体包括多克隆抗体、单克隆抗体、全抗体和抗体片段。另外,本发明的抗体不受其来源的限制,包括小鼠、人、兔子、大鼠抗体等。本发明的抗体包括动物抗体、嵌合抗体(例如,人源化鼠抗体)、人源化抗体、多特异性抗体、二价或双特异性分子(例如,双特异性抗体)、双抗体、三抗体、四抗体、微型抗体和抗体缀合物(例如,抗体与(多)肽或化合物的缀合物)。本发明的抗体进一步包括单链抗体、scFv、抗体恒定区的衍生物、以及基于蛋白质支架的人工抗体,所述人工抗体保留与FcRn(新生儿Fc受体)的结合功能性。全抗体具有包含两条全长轻链(light chain,LC)和两条全长重链(heavy chain,HC)的结构,其中每条轻链可以经由二硫键与重链连接。这些全抗体包括诸如IgA、IgD、IgE、IgM和IgG的任何抗体,其中IgG包括亚型IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。此类抗体可以通过以下方式产生:根据常规方法将各基因克隆到表达载体中以获得由标志物

基因编码的蛋白质,以及然后通过常规方法制造所获得的蛋白质,但方法不限于此。

[0039] 在本发明中,前缀“抗”当与抗原相关时,意指该抗体与对应的抗原具有反应性。与特定抗原反应的抗体可以通过合成和/或重组方法,例如在噬菌体或类似载体中筛选重组抗体文库来制备,或通过用抗原或编码抗原的核酸对动物进行免疫来制备,但方法不限于此。

[0040] 在一个实施方式中,本发明的抗CD300c抗体可以指与CD300c反应的抗体。

[0041] 在本发明中,术语“片段”或“抗体片段”是指抗体的任何部分;scFv、dsFv、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fc、Fd、sdAb、纳米抗体等以及它们的组合,均可对应于抗体片段。抗体片段可以包含抗原识别位点,但不限于此。

[0042] 在本发明中,术语“抗原结合片段”是指保留抗原结合功能性的片段。在本发明中,抗原结合片段可以是包含能够识别抗原位点的区域的片段。

[0043] 在本发明中,Fd是指Fab片段中所包含的重链的部分。在本发明中,Fab具有包含轻链可变区和重链可变区、轻链恒定区、以及重链的第一恒定区(CH1结构域)的结构,并且具有一个抗原结合位点。Fab'与Fab的不同之处在于,Fab'包含铰链区,所述铰链区包含在重链的CH1结构域的C末端处的一个或多个半胱氨酸残基。当Fab'的铰链区中的半胱氨酸残基形成二硫键时,就形成了F(ab')₂抗体。Fv(可变片段)是指仅含有重链可变区和轻链可变区的最小抗体片段。二硫键稳定化的Fv(dsFv)具有通过二硫键连接的重链可变区和轻链可变区,而scFv(单链可变片段)通常具有通过肽接头连接的重链可变区和轻链可变区。dsFv可以进一步具有通过二硫键连接到scFv的重链可变区和轻链可变区。所述sdAb和纳米抗体是单可变结构域抗体片段,所述单可变结构域抗体片段可以包括例如通过对包含天然存在的单可变结构域(VH)和两个恒定结构域(CH2和CH3)的重链抗体的可变结构域进行蛋白质水解或经由使用基因重组技术所制备的抗体片段;或者通过人工修饰所述抗体的重链可变结构域或轻链可变结构域所制备的单结构域抗体片段,但不限于此。此类抗体片段可以使用蛋白酶获得(例如,Fab可以使用木瓜蛋白酶消化来获得,或者F(ab')₂片段可以使用胃蛋白酶消化获得),或经由基因重组技术产生,但不限于此。

[0044] 在一个实施方式中,本发明的抗CD300c抗体可以是单克隆抗体。

[0045] 在本发明中,术语“单克隆抗体”是指从基本上相同的抗体群体获得的具有单一分子组成的抗体分子,并且此类单克隆抗体表现出对特定表位的单一结合特异性和亲和力。

[0046] 一般而言,抗体具有重链和轻链,所述重链和轻链中的每一者都包括恒定区和可变区。轻链和重链的可变区各包括三个被称为互补决定区(complementarity-determining region,CDR)的高变区,以及四个构架区(framework region,FR)。

[0047] CDR的主要功能是结合抗原的表位。每条链的CDR通常从N末端开始依次称为CDR1、CDR2和CDR3,并且也通过它们所位于的链来鉴定。CDR散布在被称为不变区域(FR)的区域之间,这些区域是相对保守的。重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)各由从氨基末端到羧基末端按以下次序布置的三个CDR和四个FR组成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。重链可变区的CDR可以称为HCDR1、HCDR2和HCDR3,而轻链可变区的CDR可以称为LCDR1、LCDR2和LCDR3。重链可变区的FR可以称为HFR1、HFR2、HFR3和HFR4,并且轻链可变区的FR可以称为LFR1、LFR2、LFR3和LFR4。

[0048] 在一个实施方式中,本发明的抗体及其抗原结合片段中的一者或多者可以包含:

[0049] (i) 重链可变区,所述重链可变区包含:由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR1:SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:151、SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:259、SEQ ID NO:271、SEQ ID NO:283和SEQ ID NO:295;由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR2:SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:152、SEQ ID NO:164、SEQ ID NO:176、SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:200、SEQ ID NO:212、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:260、SEQ ID NO:272、SEQ ID NO:284和SEQ ID NO:296;以及由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR3:SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:153、SEQ ID NO:165、SEQ ID NO:177、SEQ ID NO:189、SEQ ID NO:201、SEQ ID NO:213、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:261、SEQ ID NO:273、SEQ ID NO:285和SEQ ID NO:297;以及

[0050] (ii) 轻链可变区,所述轻链可变区包含:由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR1:SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:178、SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:262、SEQ ID NO:274、SEQ ID NO:286和SEQ ID NO:298;由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR2:序列号:SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:167、SEQ ID NO:179、SEQ ID NO:191、SEQ ID NO:203、SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:239、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:263、SEQ ID NO:275、SEQ ID NO:287和SEQ ID NO:299;以及由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR3:SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:144、SEQ ID NO:156、SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:180、SEQ ID NO:192、SEQ ID NO:204、SEQ ID NO:216、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:252、SEQ ID NO:264、SEQ ID NO:276、SEQ ID NO:288和SEQ ID NO:300。

[0051] 在一个实施方式中,在本发明的抗CD300c抗体或其抗原结合片段的重链可变区的完整氨基酸序列中,从第一个氨基酸至CDR1之前的氨基酸的氨基酸序列可以为重链可变区的FR1;从CDR1之后的氨基酸至CDR2之前的氨基酸的氨基酸序列可以为重链可变区的FR2;从CDR2之后的氨基酸至CDR3之前的氨基酸的氨基酸序列可以为重链可变区的FR3;并且从CDR3之后的氨基酸至重链可变区的完整氨基酸序列的最后一个氨基酸的序列可以为重链可变区的FR4。在本发明的抗CD300c抗体或其抗原结合片段的轻链可变区的完整氨基酸序列中,从第一个氨基酸至CDR1之前的氨基酸的氨基酸序列可以为轻链可变区的FR1;从CDR1

之后的氨基酸至CDR2之前的氨基酸的氨基酸序列可以为轻链可变区的FR2;从CDR2之后的氨基酸至CDR3之前的氨基酸的氨基酸序列可以为轻链可变区的FR3;并且从CDR3之后的氨基酸至轻链可变区的完整氨基酸序列的最后一个氨基酸的序列可以为轻链可变区的FR4。另外,重链可变区的FR1至FR4的多核苷酸和轻链可变区的FR1至FR4的多核苷酸可以与氨基酸序列类似地定义。因此,在本发明的抗体中,重链可变区的FR1至FR4和轻链可变区的FR1至FR4的氨基酸序列,以及编码所述氨基酸序列的多核苷酸序列可以从SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:400鉴定。

[0052] 在另一个实施方式中,本发明的抗体及其抗原结合片段中的一者或多者可以包含:(i)重链可变区,所述重链可变区包含:由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR1:SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:115和SEQ ID NO:211;由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR2:SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:212;以及由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR3:SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:117和SEQ ID NO:213;以及(ii)轻链可变区,所述轻链可变区包含:由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR1:SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:118和SEQ ID NO:214;由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR2:SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:215;以及由选自由以下组成的组的氨基酸序列组成的CDR3:SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:120和SEQ ID NO:216。

[0053] 在前述实施方式中的一个实施方式中,本发明的抗体及其抗原结合片段中的一者或多者可以选自以下(i)至(iii):(i)这样的抗体及其抗原结合片段,所述抗体及其抗原结合片段包含:重链可变区,所述重链可变区包含由SEQ ID NO:79组成的CDR1、由SEQ ID NO:80组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:81组成的CDR3;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含由SEQ ID NO:82组成的CDR1、由SEQ ID NO:83组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:84组成的CDR3;(ii)这样的抗体及其抗原结合片段,所述抗体及其抗原结合片段包含:重链可变区,所述重链可变区包含由SEQ ID NO:115组成的CDR1、由SEQ ID NO:116组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:117组成的CDR3;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含由SEQ ID NO:118组成的CDR1、由SEQ ID NO:119组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:120组成的CDR3;以及(iii)这样的抗体及其抗原结合片段,所述抗体及其抗原结合片段包含:重链可变区,所述重链可变区包含由SEQ ID NO:211组成的CDR1、由SEQ ID NO:212组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:213组成的CDR3;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含由SEQ ID NO:214组成的CDR1、由SEQ ID NO:215组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:216组成的CDR3。

[0054] 在前述实施方式的一个实施方式中,本发明的抗体及其抗原结合片段中的一者或多者可以包含:(i)重链可变区,所述重链可变区包含由SEQ ID NO:79所示的氨基酸序列组成的CDR1、由SEQ ID NO:80所示的氨基酸序列组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列组成的CDR3;以及(ii)轻链可变区,所述轻链可变区包含由SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列组成的CDR1、由SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列组成的CDR2、以及由SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列组成的CDR3。

[0055] 在一个实施方式中,本发明的抗体及其抗原结合片段中的一者或多者可以包含:重链可变区,所述重链可变区由以下中的任一者组成:SEQ ID NO:303、SEQ ID NO:307、SEQ ID NO:311、SEQ ID NO:315、SEQ ID NO:319、SEQ ID NO:323、SEQ ID NO:327、SEQ ID NO:331、SEQ ID NO:335、SEQ ID NO:339、SEQ ID NO:343、SEQ ID NO:347、SEQ ID NO:351、SEQ

ID NO:355、SEQ ID NO:359、SEQ ID NO:363、SEQ ID NO:367、SEQ ID NO:371、SEQ ID NO:375、SEQ ID NO:379、SEQ ID NO:383、SEQ ID NO:387、SEQ ID NO:391、SEQ ID NO:395和SEQ ID NO:399;以及轻链可变区,所述轻链可变区由以下中的任一者组成:SEQ ID NO:304、SEQ ID NO:308、SEQ ID NO:312、SEQ ID NO:316、SEQ ID NO:320、SEQ ID NO:324、SEQ ID NO:328、SEQ ID NO:332、SEQ ID NO:336、SEQ ID NO:340、SEQ ID NO:344、SEQ ID NO:348、SEQ ID NO:352、SEQ ID NO:356、SEQ ID NO:360、SEQ ID NO:364、SEQ ID NO:368、SEQ ID NO:372、SEQ ID NO:376、SEQ ID NO:380、SEQ ID NO:384、SEQ ID NO:388、SEQ ID NO:392、SEQ ID NO:396和SEQ ID NO:400,但不限于此。

[0056] 在前述实施方式的一个实施方式中,抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者可以包含:重链可变区,所述重链可变区由SEQ ID NO:327、SEQ ID NO:339和SEQ ID NO:371中的任一者组成;以及轻链可变区,所述轻链可变区由SEQ ID NO:328、SEQ ID NO:340和SEQ ID NO:372中的任一者组成,但不限于此。

[0057] 在前述实施方式的一个实施方式中,抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者可以包含:由SEQ ID NO:327组成的重链可变区和由SEQ ID NO:328组成的轻链可变区,但不限于此。

[0058] 在一个实施例中,本发明的抗CD300c抗体及其抗原结合片段的重链可变区中的一者或多者可以由以下中的任一者编码:SEQ ID NO:305、SEQ ID NO:309、SEQ ID NO:313、SEQ ID NO:317、SEQ ID NO:321、SEQ ID NO:325、SEQ ID NO:329、SEQ ID NO:333、SEQ ID NO:337、SEQ ID NO:341、SEQ ID NO:345、SEQ ID NO:349、SEQ ID NO:353、SEQ ID NO:357、SEQ ID NO:361、SEQ ID NO:365、SEQ ID NO:369、SEQ ID NO:373、SEQ ID NO:377、SEQ ID NO:381、SEQ ID NO:385、SEQ ID NO:389、SEQ ID NO:393、SEQ ID NO:397和SEQ ID NO:341,并且本发明的抗CD300c抗体及其抗原结合片段的轻链可变区中的一者或多者可以由以下中的任一者编码:SEQ ID NO:306、SEQ ID NO:310、SEQ ID NO:314、SEQ ID NO:318、SEQ ID NO:322、SEQ ID NO:326、SEQ ID NO:330、SEQ ID NO:334、SEQ ID NO:338、SEQ ID NO:342、SEQ ID NO:346、SEQ ID NO:350、SEQ ID NO:354、SEQ ID NO:358、SEQ ID NO:362、SEQ ID NO:366、SEQ ID NO:370、SEQ ID NO:374、SEQ ID NO:378、SEQ ID NO:382、SEQ ID NO:386、SEQ ID NO:390、SEQ ID NO:394、SEQ ID NO:398和SEQ ID NO:402,但不限于此。

[0059] 在另一实施方式中,本发明的抗体及其抗原结合片段中的一者或多者可以包含:重链可变区,所述重链可变区包含由下述式(1)至(3)分别表示的氨基酸序列组成的CDR1至CDR3;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含由下述式(4)至(6)分别表示的氨基酸序列组成的CDR1至CDR3:

[0060] FTFX1X2X3X4MX5WVR(1) 其中,

[0061] X1=G或S;

[0062] X2=S、R或D;

[0063] X3=N或Y;

[0064] X4=Y、A、G或H;并且

[0065] X5=S或H;

[0066] X1ISX2SGX3X4TYYAX5(2) 其中,

[0067] X1=T或A;

- [0068] X2=G或S;
[0069] X3=T或G;
[0070] X4=S或Y;并且
[0071] X5=D或E;
[0072] YCAX1X2X3X4X5X6X7X8X9W (3)
[0073] 其中,
[0074] X1=R或S;
[0075] X2=G或S;
[0076] X3=M、S、Y或I;
[0077] X4=W、Q、G或R;
[0078] X5=G或L;
[0079] X6=M、I或P;
[0080] X7=D、F或L;
[0081] X8=V或D;并且
[0082] X9=I、Y或不存在;
[0083] CX1X2X3X4X5X6X7X8X9X10X11VX12W (4)
[0084] 其中,
[0085] X1=T或S;
[0086] X2=G或R;
[0087] X3=K、N或S;
[0088] X4=H、N或S;
[0089] X5=R、I或G;
[0090] X6=H、G或I;
[0091] X7=T、I或S;
[0092] X8=R、A、K或不存在;
[0093] X9=R、S、G或不存在;
[0094] X10=N或不存在;
[0095] X11=Y或不存在;并且
[0096] X12=N、H或Q;
[0097] X1X2X3X4RPSGVX5 (5)
[0098] 其中,
[0099] X1=L、S、R或E;
[0100] X2=D、K或N;
[0101] X3=S或N;
[0102] X4=E、N、Q或K;并且
[0103] X5=P或R;并且
[0104] YCX1X2X3X4X5X6X7X8X9X10VF (6)
[0105] 其中,X1=Q、A或S;
[0106] X2=S或A;

[0107] X3=Y或W;

[0108] X4=D或A;

[0109] X5=S、D或G;

[0110] X6=S、N或T;

[0111] X7=S、L、N或K;

[0112] X8=V、S、N或G;

[0113] X9=G、L、V或不存在;并且

[0114] X10=P或不存在。

[0115] 在一个实施方式中,本发明的抗体及其抗原结合片段中的一者或多者可以包括表1所示的25种抗体中的一种或多种抗体,包括CK1、CK2、CK3、CL4、CL5、CL6、CB201、CL8、CL9、CL10、SK11、SK12、SK13、SK14、SK15、SK16、SK17、SL18、CB301_H3L1_A10、CB301_H3L1_A12、CB301_H3L1_E6、CB301_H3L1_F4、CB301_H3L1_G11、CB301_OPALTL_B5和CB301_OPALTL_E6。

[0116] [表1]

[0117]

抗体	噬菌体 类型	结构域	氨基酸序列 (CDR1、CDR2 和 CDR3 依次加粗并加 下划线。)	SEQ ID NO:
CK1	κ	重链可 变区	全序列 EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASG <u>F</u> <u>TF</u> SR YAMTWVR QAPGKGLEWVSS <u>SMS</u> <u>GTGGTTY</u> ADSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVYY<u>YCARGAYGFD</u> <u>HW</u>GQGLTVTVSS	303
			CDR1 <u>FTFSRYAMTWVR</u>	7
			CDR2 <u>SMSGTGGTTYAD</u>	8
			CDR3 <u>YCARGAYGFDHW</u>	9
		轻链可 变区	全序列 EIVLTQSPGTL SLSPGERATLS <u>CRASQSI</u> <u>GNYLNWY</u> QKPGQAPRLLIY <u>DASNLE</u> <u>TGIP</u> DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYY <u>YCQOSSAIPYTF</u> GQGGTKVEIK	304
			CDR1 <u>CRASQSIGNYLNW</u>	10
			CDR2 <u>DASNLETGIP</u>	11
			CDR3 <u>YCQOSSAIPYTF</u>	12
CK2	κ	重链可 变区	全序列 EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASG <u>F</u> <u>TF</u> SS YGMHWVR QAPGKGLEWV <u>S</u> <u>AISG</u> <u>SGT</u> SIYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYY<u>YCARGGTA</u><u>FDYW</u> GQGLTVTVSS	307
			CDR1 <u>FTFSSYGMHWVR</u>	19
			CDR2 <u>AISGSGTSIYYAD</u>	20

[0118]

			CDR3	<u>YCARGGTAFDYW</u>	21
		轻链可变区	全序列	EIVLTQSPGTL ~~SL~~ SPGERATLS <u>CRASQRS</u> <u>DNYLAWY</u> QQKPGQAPRLLIY <u>DASNRA</u> <u>TGIP</u> DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYY <u>CQOQSYSTPFTF</u> GQGGTKVETK	308
			CDR1	<u>CRASQRS</u> <u>DNYLAW</u>	22
			CDR2	<u>DASNRA</u> <u>TGIP</u>	23
			CDR3	<u>YCQOQSYSTPFTF</u>	24
CK3	κ	重链可变区	全序列	RVQLLES ~~GG~~ LVQPGGSLRLS <u>CAASGF</u> <u>TFSSYAISWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>ATSGS</u> <u>GRATYYAD</u> SVKGRFTISRDN ~~SKNT~~ LYL QMNSLRAEDTAVYY <u>YCARDTW</u> <u>WEGYF</u> <u>DLW</u> GQGTLVTVSS	311
			CDR1	<u>TFSSYAISWVR</u>	31
			CDR2	<u>ATSGS</u> <u>GRATYYAD</u>	32
			CDR3	<u>YCARDTW</u> <u>WEGYF</u> <u>DLW</u>	33
		轻链可变区	全序列	EIVLTQSPGTL ~~SL~~ SPGERATLS <u>CQASHIS</u> <u>THLNWY</u> QQKPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> <u>GIP</u> DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YY <u>CQOQYNTYPPTF</u> GQGGTKVEIK	312
			CDR1	<u>CQASHIS</u> <u>THLNW</u>	34
			CDR2	<u>GASSRAT</u> <u>GIP</u>	35
			CDR3	<u>YCQOQYNTYPPTF</u>	36
CL4	λ	重链可变区	全序列	RVQLLES ~~GG~~ LVQPGGSLRLS <u>CAASGF</u> <u>TFGSNYMSWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>TISG</u> <u>SGTSTYYAD</u> SLKGRFTISRDN ~~SKNT~~ LYL QMNSLRAEDTAVYY <u>YCARGM</u> <u>WGMDV</u> <u>WG</u> QGT ~~LV~~ TVSS	315
			CDR1	<u>FTFGSNYMSWVR</u>	43

[0119]

		轻链可变区	CDR2	<u>TISGSGTSTYYAD</u>	44
			CDR3	<u>YCARGMWGMDVW</u>	45
			全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRTIS <u>CTGKHR</u> <u>HTVNWYQL</u> PGTAPKLLIY <u>LDSE</u> <u>RPSG</u> <u>VPDR</u> FSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCQSYDSSSVVFEGGGTKLTVL	316
			CDR1	<u>CTGKHRHTVNW</u>	46
			CDR2	<u>LDSE</u> <u>RPSGVP</u>	47
			CDR3	<u>YCQSYDSSSVVF</u>	48
CL5	λ	重链可变区	全序列	RVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>F</u> <u>TFSSYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSS <u>SISG</u> <u>GGYG</u> <u>TTYAD</u> SVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYY <u>YCARSTVWAFDI</u> <u>WGQ</u> GLTVTVSS	319
			CDR1	<u>FTFSSYAMHWVR</u>	55
			CDR2	<u>SISGGYG</u> <u>TTYAD</u>	56
			CDR3	<u>YCARSTVWAFDIW</u>	57
		轻链可变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRTIS <u>CSGNNIG</u> <u>SKSVHWYQQL</u> PGTAPKLLIY <u>DVSKRPS</u> <u>ERPDR</u> FSGSKSGTSASLAISDLRSEDEA DY <u>YCQSF</u> DSSGTWIFEGGGTKLTVL	320
			CDR1	<u>CSGNNIGSKSVHW</u>	58
			CDR2	<u>DVSKRPSERPD</u>	59
CL6	VH3VL1	重链可变区	CDR3	<u>YCQSF</u> DSSGTWIF	60
			全序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>F</u> <u>TFSSYGMHWVR</u> QAPGKGLEWVSA <u>ISG</u> <u>SGGST</u> <u>YYAD</u> SVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYY <u>YCAVSGAGRGFF</u> <u>DYW</u> GGGLTVTVSS	323

[0120]

			CDR1	<u>FTFSSYGMHWVR</u>	67
			CDR2	<u>AISGSGGSTYYAD</u>	68
			CDR3	<u>YCAVSGAGRGFDDYW</u>	69
		轻链可变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRTIS <u>CSGSSSNI</u> <u>GSNYVYW</u> YQQLPGTAPKLLIY <u>EDNKR</u> <u>PSGVP</u> DRFSGSGSGTSASLAISGLRSEDE ADYY <u>CSSYTSSSTVIF</u> GGGGTKLTVL	324
			CDR1	<u>CSGSSSNI</u> <u>GSNYVYW</u>	70
			CDR2	<u>EDNKR</u> <u>PSGVP</u>	71
			CDR3	<u>YC</u> <u>SSYTSSSTVIF</u>	72
	CB201	重链可变区	全序列	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGF <u>F</u> <u>TF</u> <u>SR</u> <u>Y</u> <u>A</u> <u>M</u> <u>S</u> <u>W</u> <u>R</u> <u>Q</u> <u>A</u> <u>P</u> <u>G</u> <u>K</u> <u>G</u> <u>L</u> <u>E</u> <u>W</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>A</u> <u>I</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>T</u> <u>Y</u> <u>A</u> <u>D</u> <u>S</u> <u>V</u> <u>K</u> <u>G</u> <u>R</u> <u>F</u> <u>T</u> <u>I</u> <u>S</u> <u>R</u> <u>D</u> <u>N</u> <u>S</u> <u>K</u> <u>N</u> <u>T</u> <u>L</u> <u>Y</u> LQMNSLRAEDTAVYY <u>Y</u> <u>C</u> <u>A</u> <u>R</u> <u>S</u> <u>S</u> <u>Q</u> <u>G</u> <u>I</u> <u>F</u> <u>D</u> <u>I</u> <u>W</u> GQGTLVTVSS	327
			CDR1	<u>FTFSRYAMSWVR</u>	79
			CDR2	<u>AISGSGGSTYYAD</u>	80
			CDR3	<u>YCARSSQGIFDIW</u>	81
		轻链可变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRTIS <u>CSGNNIG</u> <u>TRRVH</u> <u>W</u> YQQLPDTAPKLLIY <u>SKNNRPS</u> <u>GVP</u> DRFSGSGSGTSASLAISGLRSEDEA DY <u>Y</u> <u>C</u> <u>A</u> <u>A</u> <u>W</u> <u>D</u> <u>D</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>P</u> <u>V</u> <u>F</u> GGGGTKLTVL	328
			CDR1	<u>CSGNNIGTRRVHW</u>	82
			CDR2	<u>SKNNRPSGVP</u>	83
			CDR3	<u>YCAAWDDSLSGPVF</u>	84
CL8	VH3VL1	重链可变区	全序列	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGF <u>F</u> <u>TF</u> <u>SS</u> <u>Y</u> <u>A</u> <u>M</u> <u>S</u> <u>W</u> <u>R</u> <u>Q</u> <u>A</u> <u>P</u> <u>G</u> <u>K</u> <u>G</u> <u>L</u> <u>E</u> <u>W</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>A</u> <u>I</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>T</u> <u>Y</u> <u>A</u> <u>D</u> <u>S</u> <u>V</u> <u>K</u> <u>G</u> <u>R</u> <u>F</u> <u>T</u> <u>I</u> <u>S</u> <u>R</u> <u>N</u> <u>N</u> <u>S</u> <u>K</u> <u>N</u> <u>T</u> <u>L</u> <u>Y</u> LQMNSLRAEDTAVYY <u>Y</u> <u>C</u> <u>A</u> <u>R</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>R</u> <u>Y</u> <u>A</u> <u>D</u> <u>L</u> <u>T</u>	331

[0121]

				<u>SGQGTLVTVSS</u>	
			CDR1	<u>FTFSSYAMSWVR</u>	91
			CDR2	<u>AISGSGGSTYYAD</u>	92
			CDR3	<u>YCARSGRYADLTSG</u>	93
		轻链可变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRTIS <u>CSGSNSNI</u> <u>GNNYVSWY</u> QQLPDTPPKLLIY <u>DNNKRP</u> <u>SGVP</u> PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDE ADY <u>YC</u> <u>SSYTSSSTVMF</u> GGGKLTVL	332
			CDR1	<u>CSGSNSNIGNNYVSW</u>	94
			CDR2	<u>DNNKRPSGVP</u>	95
			CDR3	<u>YC</u> <u>SSYTSSSTVMF</u>	96
CL9	VH3VL1	重链可变区	全序列	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>F</u> <u>TFSSYYWSWVR</u> QAPGKGLEWVSA <u>ISG</u> <u>SGGSTYYAD</u> SVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVY <u>YCARIDVYGFDI</u> <u>WGQ</u> GTLVTVSS	335
			CDR1	<u>FTFSSYYWSWVR</u>	103
			CDR2	<u>AISGSGGSTYYAD</u>	104
			CDR3	<u>YCARIDVYGFDIW</u>	105
		轻链可变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRTIS <u>CSGSTSNI</u> <u>GTNYVYWY</u> QQLPGTAPKLLIY <u>DNNNR</u> <u>PSGVP</u> PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDE ADY <u>YCQTWDSSTDVVF</u> GGGKLTVL	336
			CDR1	<u>CSGSTSNIGTNYVYW</u>	106
			CDR2	<u>DNNNRPSGVP</u>	107
			CDR3	<u>YCQTWDSSTDVVF</u>	108
CL10	VH3VL1	重链可变区	全序列	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>F</u> <u>TFSSYGMHWVR</u> QAPGKGLEWVSA <u>ISG</u> <u>SGGSTYYAD</u> SVKGRFTISRDN SKNTLY	339

[0122]

				LQMNSLRAEDTAVY <u>YCASGYGLMDV</u> <u>WGQGT</u> LVTVSS	
			CDR1	<u>FTFSSYGMHWVR</u>	115
			CDR2	<u>AISGSGGSTYYAD</u>	116
			CDR3	<u>YCASGYGLMDVW</u>	117
		轻链可变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRTIS <u>CTRSSGII</u> <u>ASNYVQW</u> YQQLPGTAPKLLIY <u>RNNQR</u> <u>PSGVP</u> DRFSGSGSGTSASLAISGLRSEDE ADYY <u>CSSYAGNNLV</u> FGGGTKLTVL	340
			CDR1	<u>CTRSSGIIASNYVQW</u>	118
			CDR2	<u>RNNQRPSGVP</u>	119
			CDR3	<u>YCSSYAGNNLV</u>	120
SK11	κ	重链可变区	全序列	RVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>F</u> <u>TFSTYGMHWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>AISG</u> <u>SGGSTYYAD</u> SVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVY <u>YCARGLSGLDY</u> <u>WGQGT</u> LVTVSS	343
			CDR1	<u>FTFSTYGMHWVR</u>	127
			CDR2	<u>AISGSGGSTYYAD</u>	128
			CDR3	<u>YCARGLSGLDYW</u>	129
		轻链可变区	全序列	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLS <u>CRSSQGI</u> <u>TNYLAW</u> YQQKPGQAPRL LIY <u>DASNRA</u> <u>TGIP</u> DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYY <u>CQQSYSTPLT</u> FGGQTKVEIK	344
			CDR1	<u>CRSSQGITNYLAW</u>	130
			CDR2	<u>DASN RATGIP</u>	131
			CDR3	<u>YCQQSYSTPLT</u>	132
SK12	κ	重链可变区	全序列	RVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>F</u> <u>TFSSYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>AISG</u>	347

[0123]

				<u>SGGDTYHAD</u> SVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVY <u>YCTRGLSGFDYW</u> GQGLTVTVSS	
			CDR1	<u>FTFSSYAMHWVR</u>	139
			CDR2	<u>AISGSGGDTYHAD</u>	140
			CDR3	<u>YCTRGLSGFDYW</u>	141
		轻链可 变区	全序列	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLS <u>CRASQSI</u> <u>SSYLNWY</u> QQKPGQAPRLLIY <u>DASNRAP</u> <u>GIP</u> DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV <u>YYCQSYSIPITE</u> GQGTKVEIKFSD	348
			CDR1	<u>CRASQSISSYLNW</u>	142
			CDR2	<u>DASNRAPGIP</u>	143
			CDR3	<u>YCQSYSIPITE</u>	144
		重链可 变区	全序列	RVQLLES GGLVQPGGSLRLSCAASG <u>F</u> <u>TFSDYAMSWVR</u> QAPGKGLEWVSS <u>SISS</u> <u>SSYIYYTD</u> SVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVY <u>YCARGGYGFDYW</u> G QGLTVTVSS	351
			CDR1	<u>FTFSDYAMSWVR</u>	151
			CDR2	<u>SISSSSYIYYTD</u>	152
			CDR3	<u>YCARGGYGFDYW</u>	153
		轻链可 变区	全序列	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLS <u>CRASQSI</u> <u>SSYLNWY</u> QQKPGQAPRLLIY <u>SASSRPQ</u> <u>GIP</u> DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV <u>YYCQYDDLPTF</u> GQGTKVEIK	352
			CDR1	<u>CRASQSISSYLNW</u>	154
			CDR2	<u>SASSRPQGIP</u>	155
			CDR3	<u>YCQYDDLPTF</u>	156
SK14	K	重链可	全序列	EVQLLES GGLVQPGGSLRLSCAASG <u>F</u>	355

[0124]

SK15	κ	变区		<u>TFSNFAIAWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>AI</u> <u>SGR</u> <u>GTSTYYAD</u> SVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVY <u>YCARGVSGFDSW</u> GQGTLVTVSS	
			CDR1	<u>FTFSNFAIAWVR</u>	163
			CDR2	<u>AI</u> <u>SGRGTSTYYAD</u>	164
			CDR3	<u>YCARGVSGFDSW</u>	165
		轻链可变区	全序列	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLS <u>CRASQSI</u> <u>SSHLAWY</u> QQKPGQAPRLLIY <u>DTSNRAT</u> <u>GIP</u> DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YY <u>CQ</u> <u>QSYSTP</u> <u>PF</u> FGGQGTKVEIK	356
			CDR1	<u>CRASQSI</u> <u>SSHLAW</u>	166
			CDR2	<u>DTSNRATGIP</u>	167
			CDR3	<u>YCQ</u> <u>QSYSTP</u> <u>PF</u>	168
		重链可变区	全序列	RVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>F</u> <u>TFSSYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>AI</u> <u>NG</u> <u>SGGSTYYAD</u> SVKGRFTISRDN SKNTLY LQTNSLRAEDTAVY <u>YCARGLQGF</u> <u>FDYW</u> GQGTLVTVSS	359
			CDR1	<u>FTFSSYAMHWVR</u>	175
			CDR2	<u>AI</u> <u>NGSGGSTYYAD</u>	176
			CDR3	<u>YCARGLQGF</u> <u>FDYW</u>	177
		轻链可变区	全序列	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLS <u>CQASQDI</u> <u>TNYLNWY</u> QQKPGQAPRLLIY <u>DASSLET</u> <u>GIP</u> DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YY <u>CQ</u> <u>QSYSTP</u> <u>IT</u> FGGQGTKVEIK	360
			CDR1	<u>CQASQDI</u> <u>TNYLNW</u>	178
			CDR2	<u>DASSLETGIP</u>	179
			CDR3	<u>YCQ</u> <u>QSYSTP</u> <u>IT</u>	180

[0125]

SK16	κ	重链可变区	全序列	RVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>F</u> <u>TFSSYAMSWVR</u> QAPGKGLEWV <u>SAING</u> <u>SGGSTLYAD</u> SVKGRFTISRDN <u>SKNTLY</u> LQMNSLRAEDTAV <u>YYCARGVSGFDSW</u> GQGTLVTVSS	363
			CDR1	<u>FTFSSYAMSWVR</u>	187
			CDR2	<u>AINGSGGSTLYAD</u>	188
			CDR3	<u>YCARGVSGFDSW</u>	189
		轻链可变区	全序列	EIVLTQSPGTL <u>SLSPGERATLS</u> <u>CRISQ</u> <u>SIS</u> <u>SYLNWY</u> QKPGQAP <u>RLLIY</u> <u>DASLRAT</u> <u>GIP</u> DRFSGSGSGTDFT <u>LISRLEPEDFAV</u> <u>YYCQ</u> <u>SYKTPITF</u> GQGTKVEIK	364
			CDR1	<u>CRISQSISSYLNW</u>	190
			CDR2	<u>DASLRATGIP</u>	191
			CDR3	<u>YYCQSYKTPITF</u>	192
		重链可变区	全序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>F</u> <u>TFSSYYWSWVR</u> QAPGKGLEWV <u>STITG</u> <u>SGGSTDYAN</u> SVKGRFTISRDN <u>SKNTLY</u> LQMNSLRAEDTAV <u>YYCATGGGIFDYW</u> GQGTLVTVSS	367
			CDR1	<u>FTFSSYYWSWVR</u>	199
			CDR2	<u>TITGSGGSTDYAN</u>	200
			CDR3	<u>YCATGGGIFDYW</u>	201
SK17	κ	轻链可变区	全序列	EIVLTQSPGTL <u>SLSPGERATLS</u> <u>CQASQTI</u> <u>SNYLNWY</u> QKPGQAP <u>RLLIY</u> <u>DASNRA</u> <u>TGIP</u> DRFSGSGSGTDFT <u>LISRLEPEDFA</u> V <u>YYCQ</u> <u>QYNSYPPS</u> <u>FG</u> GQGTKVEIK	368
			CDR1	<u>CQASQTISNYLNW</u>	202
		重链可变区	CDR2	<u>DASNRA</u> <u>TGIP</u>	203

[0126]

			CDR3	<u>YCQQYNSYPPSF</u>	204
SL18	λ	重链可变区	全序列	RVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>F</u> <u>TFSDYHMHWVR</u> QAPGKGLEWVST <u>TISS</u> <u>SGGYTYAE</u> SVKSRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVY <u>YCARSIRLPLDY</u> <u>WGQGT</u> LVTVSS	371
			CDR1	<u>FTFSDYHMHWVR</u>	211
			CDR2	<u>TISSSGGYTYAE</u>	212
			CDR3	<u>YCARSIRLPLDYW</u>	213
		轻链可变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRVTIS <u>CSGNNIG</u> <u>SKGVHW</u> YQQLPGTAPKLLIY <u>EDSKRPS</u> <u>GVR</u> DRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DY <u>YCQSYDSTKGVVF</u> GGGTKLTVL	372
			CDR1	<u>CSGNNIGSKGVHW</u>	214
			CDR2	<u>EDSKRPSGVR</u>	215
			CDR3	<u>YCQSYDSTKGVVF</u>	216
		重链可变区	全序列	EVQLLESGGGLVQSGGSLRLSCAASG <u>F</u> <u>TFSSYGMHWVR</u> QAPGKGLEWVSA <u>ISG</u> <u>SGGSTYYAD</u> SVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVY <u>YCVRGYGAMDV</u> <u>WGQGT</u> LVTVSS	375
			CDR1	<u>FTFSSYGMHWVR</u>	223
			CDR2	<u>AISGSGGSTYYAD</u>	224
			CDR3	<u>YCVRGYGAMDVW</u>	225
CB301_ H3L1_A 10	VH3VL1	轻链可变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRVTIS <u>CTRSSGSI</u> <u>ASNYVQW</u> YQQLPGTAPKLLIY <u>RNNQR</u> <u>PSGVP</u> DRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDE ADY <u>YCSSYTTSTLVF</u> GGGTKLTVL	376
			CDR1	<u>CTRSSGSIASNYVQW</u>	226

[0127]

CB301_ H3L1_A 12	VH3VL1	重链可变区	CDR2	<u>RNNQRPSGVP</u>	227
			CDR3	<u>YCSSYTTSSTLVF</u>	228
			全序列	EVQLLES G GGLVQP G GSLRLSCAASG <u>F</u> <u>TFSSYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>AI</u> <u>SG</u> <u>SGGSTYYAD</u> SVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLR A KDTAVY <u>Y</u> <u>CASGYGLMDV</u> <u>WGQGT</u> LVTVSS	379
			CDR1	<u>FTFSSYAMHWVR</u>	235
			CDR2	<u>AISGSGGSTYYAD</u>	236
			CDR3	<u>YCASGYGLMDVW</u>	237
		轻链可变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRVTIS <u>CTGTSSD</u> <u>VGNYNLVSWY</u> QQLPGTAPKLLIY <u>SNN</u> <u>QRPSGVP</u> PDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADY <u>Y</u> <u>CSSYTGSNALLE</u> FGGGTKLTV L	380
			CDR1	<u>CTGTSSDVGNYNLVSW</u>	238
			CDR2	<u>SNNQRPSGVP</u>	239
			CDR3	<u>YCSSYTGSNALLE</u>	240
CB301_ H3L1_E 6	VH3VL1	重链可变区	全序列	EVQLLES G GGLVQP G GSLRLSCAASG <u>F</u> <u>TFSSYAMSWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>AI</u> <u>SG</u> <u>SGGSTYYAD</u> SVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLR A EDTAVY <u>Y</u> <u>CARWHYSFDY</u> <u>WGQGT</u> LVTVSS	383
			CDR1	<u>FTFSSYAMSWVR</u>	247
			CDR2	<u>AISGSGGSTYYAD</u>	248
			CDR3	<u>YCARWHYSFDYW</u>	249
		轻链可变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRVTIS <u>CRGNNIG</u> <u>SKRVHWY</u> QQLPGTAPKLLIY <u>SYNHRPS</u> <u>GVP</u> PDRFSGSKSGTSASLAITGLRSEDEA	384

[0128]

				<u>DYYCNTWDDSL</u> <u>EGPV</u> <u>FGGGTKLTVL</u>	
			CDR1	<u>CRGNNIGSKRVHW</u>	250
			CDR2	<u>SYNHRPSGVP</u>	251
			CDR3	<u>YCNTWDDSL</u> <u>EGPV</u> <u>F</u>	252
CB301_ H3L1_F 4	VH3VL1	重链可变区	全序列	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCAASG <u>F</u> <u>TFSGYAMSWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>AI</u> <u>SG</u> <u>SGGSTYYAD</u> SVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVY <u>YCARSP</u> <u>SGLFDY</u> <u>WGQGT</u> <u>LVTVSS</u>	387
			CDR1	<u>FTFSGYAMSWVR</u>	259
			CDR2	<u>AI</u> <u>SGSGGSTYYAD</u>	260
			CDR3	<u>YCARSP</u> <u>SGLFDY</u> <u>W</u>	261
		轻链可变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRTIS <u>CGGNNIG</u> <u>SKRVHW</u> YQQLPGTAPKLLI <u>YNTSNKH</u> <u>SGVP</u> PDRFSGSKSGTSASL AISGLRSEDE ADY <u>YCSSY</u> <u>LQQHS</u> <u>L</u> <u>F</u> <u>EGGGTKLTVL</u>	388
			CDR1	<u>CGGNNIGSKRVHW</u>	262
			CDR2	<u>NTSNKHSGVP</u>	263
			CDR3	<u>YCSSY</u> <u>LQQHS</u> <u>L</u> <u>F</u>	264
CB301_ H3L1_G 11	VH3VL1	重链可变区	全序列	EVQLLES GGGLVQPGGSSS ASSCAASG <u>F</u> <u>TFSSYAMSWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>AI</u> <u>SG</u> <u>SGGSTYYAD</u> SVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVY <u>YCTRFVGA</u> <u>IGAF</u> <u>DY</u> <u>WGQGT</u> <u>LVTVSS</u>	391
			CDR1	<u>FTFSSYAMSWVR</u>	271
			CDR2	<u>AI</u> <u>SGSGGSTYYAD</u>	272
			CDR3	<u>YCTRFVGA</u> <u>IGAFDY</u> <u>W</u>	273
		轻链可变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRTIS <u>CSGNNIG</u> <u>SRSVHW</u> YQQLPGTAPKLLI <u>YRNNORPS</u>	392

[0129]

CB301_ OPALT L_B5	OPALTL	重链可变区		<u>GVPDRFSGSGKSGTSASLAISGLRSEDEA</u> <u>DYYCAAWDDSLSGPVF</u> GGGTKLTVL	
			CDR1	<u>CSGNNIGSRSVHW</u>	274
			CDR2	<u>RNNQRPSGVP</u>	275
			CDR3	<u>YCAAWDDSLSGPVF</u>	276
		轻链可变区	全序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF <u>TFSHYAMSWVR</u> QAPGKGLEWVSAISG SGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARGWDSPTLT YFDSWGQGT LVT VSS	395
			CDR1	<u>FTFSHYAMSWVR</u>	283
			CDR2	<u>AISGSGGSTYYAD</u>	284
			CDR3	<u>YCARGWDSPTLT YFDSW</u>	285
			全序列	QSVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGTSSNI GNNDVSWYQQLPGTAPKLLIYQDTKR PSGVPDRFSGSGKSGTSASLAISGLRSEDE ADYYCAAWDDSLSGPVFGGGTKLTVL	396
			CDR1	<u>CSGTSSNIGNNDVSW</u>	286
			CDR2	<u>QDTKRPSGVP</u>	287
			CDR3	<u>YCAAWDDSLSGPVF</u>	288
CB301_ OPALT L_E6	OPALTL	重链可变区	全序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF <u>TFSSYGMHWVR</u> QAPGKGLEWVSAISG SGGYTYADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARWHYSFDY WGQGT LVT VSS	399
			CDR1	<u>FTFSYGMHWVR</u>	295
			CDR2	<u>AISGSGGYTYAD</u>	296
			CDR3	<u>YCARWHYSFDYW</u>	297
		轻链可变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSSNI	400

[0130]		变区		<u>GNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYRNNQR</u> <u>PSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDE</u> <u>ADYYCQSYDNSNVLF</u> <u>FGGGTKLTVL</u>	
			CDR1	<u>CSGSSSNIGNNYVSW</u>	298
			CDR2	<u>RNNQRPSGVP</u>	299
			CDR3	<u>YCQSYDNSNVLF</u>	300

[0131] 在本发明中,可变区的CDR是根据Kabat等人设计的系统通过常规方法确定的(参见[Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest(5th),National Institutes of Health,Bethesda,MD. (1991)])。虽然本发明中所使用的CDR编号遵循Kabat方法,但是包含通过其他方法(例如IMGT方法、Chothia方法和AbM方法)确定的CDR的抗体也被包括在本发明的范围内。

[0132] 如果本发明的抗体包含恒定区,则所述抗体可以包含来源于IgG、IgA、IgD、IgE、IgM或它们的组合或杂交体的恒定区。

[0133] 在本发明中,术语“组合”意指在形成二聚体或多聚体时,编码相同来源的单链免疫球蛋白恒定区的多肽与不同来源的单链多肽形成组合。例如,二聚体或多聚体可以由选自IgG、IgA、IgD、IgE和IgM的恒定区组成的组的两个或更多个恒定区形成。

[0134] 在本发明中,术语“杂交体”意指在单链免疫球蛋白重链恒定区内存在与两种或更多种不同来源的免疫球蛋白重链恒定区对应的序列。例如,由选自IgG、IgA、IgD、IgE和IgM的CH1、CH2、CH3和CH4组成的组的一个至四个结构域组成的结构域杂交体是可能的。

[0135] 另外,在本发明中,抗体的可变区和恒定区的来源可以相同或不同,并且CDR、除CDR以外的可变区、和恒定区的来源可以相同或不同。

[0136] 在前述实施方式中的一个实施方式中,抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者可以优选地包含与表1中所呈现的CDR序列或重链可变区和轻链可变区序列相比具有80%或更多、85%或更多、90%或更多,更优选地95%或更多,并且最优选地98%或更多的序列同一性的序列。

[0137] 在一个实施方式中,可以考虑本发明的抗体的氨基酸序列的变体。为维持或增强本发明的抗CD300c抗体及其抗原结合片段的功能而以本领域实践的通常水平制备的变体也可以被包括在本发明中,只要本发明的抗CD300c抗体及其抗原结合片段的这些变体具有与本发明相同或对应的特性即可。例如,这些变体可以是那些改善抗体的结合亲和力和/或其他生物学性质的变体。可以通过向编码分子的核苷酸序列中引入适当的修饰或通过肽合成来制备抗体的氨基酸序列变体。此类修饰包括例如从抗体的氨基酸序列中缺失残基,和/或向此类氨基酸序列中插入残基,和/或取代此类氨基酸序列内的残基。可以执行任何缺失、插入和取代的组合以达到最终的构建体,但最终的构建体应保留所需的性质,例如抗原结合性质。用于诱导取代突变的感兴趣的位点包括重链可变区(heavy chain variable region,HVR)和构架区(framework region,FR)。在表2中的项目“优选的取代”下提供了保守取代,并且所述保守取代将在下面关于氨基酸侧链类(1)至(6)进一步描述。可以将氨基酸取代引入到感兴趣的分子中,并筛选产物以获得所需的活性,例如保留/改善的抗原结

合、降低的免疫原性或改善的ADCC或CDC。

[0138] [表2]

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
[0139] Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
亮氨酸 (L)	正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Ile
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
[0140] Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸	Leu

[0141] 氨基酸可根据其常规侧链性质分组如下：

[0142] (1) 疏水性：正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

[0143] (2) 中性亲水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

[0144] (3) 酸性：Asp、Glu；

[0145] (4) 碱性：His、Lys、Arg；

[0146] (5) 影响链取向的残基：Gly、Pro；和

[0147] (6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

[0148] 非保守取代涉及将这些类别中的一种类别的成分与另一种类别的成分进行交换。

[0149] 在本发明中，术语“氨基酸序列变体”包括实质性变体，在所述实质性变体中在亲本抗体结合分子（例如，人源化或人抗体）的高变区的一个或多个残基中存在氨基酸取代。

通常,所选择并制备用于进一步研究的变体与亲本抗体结合分子相比将具有对特定生物学性质的修饰,例如改进(例如,增加的亲和力、降低的免疫原性),或者将基本上保留亲本抗原结合分子的特定生物学性质。例示性取代变体是亲和力成熟的抗体,所述亲和力成熟的抗体可以例如使用本领域已知的基于噬菌体展示的亲和力成熟技术方便地产生。简而言之,使高变区(HVR)中的一个或多个残基发生突变,并将变体抗原结合分子展示在噬菌体上并筛选特定的生物活性(例如,结合亲和力)。在某些实施方式中,取代、插入或缺失可以在一个或多个HVR内发生,只要这种修饰不会显著降低抗原结合分子结合抗原的能力即可。例如,可以在HVR中进行不会显著降低结合亲和力的保守修饰(例如,如本文所提供的保守取代)。氨基酸序列插入可能不仅包括单个或多个氨基酸残基的序列内的插入,而且还包括长度在从单个残基到超过一百个残基的多肽的范围内的氨基末端和/或羧基末端融合。末端插入的示例包括具有N末端甲硫氨酰残基的抗体。所述分子的其他插入变体可以包括与延长抗体的血清半衰期的多肽的N末端或C末端的融合。此外,分子的其他插入变体可以包括与促进穿过血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)的多肽的N末端或C末端融合。

[0150] 在本发明中,编码抗体CK1的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:3所示;编码抗体CK1的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:4至SEQ ID NO:6所示;抗体CK1的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:7至SEQ ID NO:9所示;并且抗体CK1的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:10至SEQ ID NO:12所示。

[0151] 编码抗体CK2的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:13至SEQ ID NO:15所示;编码抗体CK2的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:16至SEQ ID NO:18所示;抗体CK2的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:19至SEQ ID NO:21所示;并且抗体CK2的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:22至SEQ ID NO:24所示。

[0152] 编码抗体CK3的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:25至SEQ ID NO:27所示;编码抗体CK3的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:28至SEQ ID NO:30所示;抗体CK3的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:31至SEQ ID NO:33所示;并且抗体CK3的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:34至SEQ ID NO:36所示。

[0153] 编码抗体CL4的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:37至SEQ ID NO:39所示;编码抗体CL4的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:40至SEQ ID NO:42所示;抗体CL4的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:43至SEQ ID NO:45所示;并且抗体CL4的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:46至SEQ ID NO:48所示。

[0154] 编码抗体CL5的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:49至SEQ ID NO:51所示;编码抗体CL5的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:52至SEQ ID NO:54所示;抗体CL5的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:55至SEQ ID NO:57所示;并且抗体CL5的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:58至SEQ ID NO:60所示。

[0155] 编码抗体CL6的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:61至

SEQ ID NO:63所示;编码抗体CL6的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:64至SEQ ID NO:66所示;抗体CL6的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:67至SEQ ID NO:69所示;并且抗体CL6的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:70至SEQ ID NO:72所示。

[0156] 编码抗体CB201的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:73至SEQ ID NO:75所示;编码抗体CB201的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:76至SEQ ID NO:78所示;抗体CB201的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:79至SEQ ID NO:81所示;并且抗体CB201的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:82至SEQ ID NO:84所示。

[0157] 编码抗体CL8的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:85至SEQ ID NO:87所示;编码抗体CL8的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:88至SEQ ID NO:90所示;抗体CL8的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:91至SEQ ID NO:93所示;并且抗体CL8的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:94至SEQ ID NO:96所示。

[0158] 编码抗体CL9的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:97至SEQ ID NO:99所示;编码抗体CL9的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:100至SEQ ID NO:102所示;抗体CL9的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:103至SEQ ID NO:105所示;并且抗体CL9的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:106至SEQ ID NO:108所示。

[0159] 编码抗体CL10的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:109至SEQ ID NO:111所示;编码抗体CL10的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:112至SEQ ID NO:114所示;抗体CL10的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:115至SEQ ID NO:117所示;并且抗体CL10的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:118至SEQ ID NO:120所示。

[0160] 编码抗体SK11的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:121至SEQ ID NO:123所示;编码抗体SK11的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:124至SEQ ID NO:126所示;抗体SK11的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:127至SEQ ID NO:129所示;并且抗体SK11的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:130至SEQ ID NO:132所示。

[0161] 编码抗体SK12的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:133至SEQ ID NO:135所示;编码抗体SK12的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:136至SEQ ID NO:138所示;抗体SK12的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:139至SEQ ID NO:141所示;并且抗体SK12的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:142至SEQ ID NO:144所示。

[0162] 编码抗体SK13的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:145至SEQ ID NO:147所示;编码抗体SK13的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:148至SEQ ID NO:150所示;抗体SK13的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:151至SEQ ID NO:153所示;并且抗体SK13的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:154至SEQ ID NO:156所示。

[0163] 编码抗体SK14的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:157至SEQ ID NO:159所示;编码抗体SK14的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:160至SEQ ID NO:162所示;抗体SK14的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:163至SEQ ID NO:165所示;并且抗体SK14的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:166至SEQ ID NO:168所示。

[0164] 编码抗体SK15的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:169至SEQ ID NO:171所示;编码抗体SK15的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:172至SEQ ID NO:174所示;抗体SK15的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:175至SEQ ID NO:177所示;并且抗体SK15的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:178至SEQ ID NO:180所示。

[0165] 编码抗体SK16的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:181至SEQ ID NO:183所示;编码抗体SK16的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:184至SEQ ID NO:186所示;抗体SK16的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:187至SEQ ID NO:189所示;并且抗体SK16的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:190至SEQ ID NO:192所示。

[0166] 编码抗体SK17的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:193至SEQ ID NO:195所示;编码抗体SK17的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:196至SEQ ID NO:198所示;抗体SK17的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:201所示;并且抗体SK17的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:202至SEQ ID NO:204所示。

[0167] 编码抗体SL18的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:205至SEQ ID NO:207所示;编码抗体SL18的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:208至SEQ ID NO:210所示;抗体SL18的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:211至SEQ ID NO:213所示;并且抗体SL18的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:214至SEQ ID NO:216所示。

[0168] 编码抗体CB301_H3L1_A10的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:217至SEQ ID NO:219所示;编码抗体CB301_H3L1_A10的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:220至SEQ ID NO:222所示;抗体CB301_H3L1_A10的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:223至SEQ ID NO:225所示;并且抗体CB301_H3L1_A10的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:226至SEQ ID NO:228所示。

[0169] 编码抗体CB301_H3L1_A12的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:229至SEQ ID NO:231所示;编码抗体CB301_H3L1_A12的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:232至SEQ ID NO:234所示;抗体CB301_H3L1_A12的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:235至SEQ ID NO:237所示;并且抗体CB301_H3L1_A12的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:238至SEQ ID NO:240所示。

[0170] 编码抗体CB301_H3L1_E6的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:241至SEQ ID NO:243所示;编码抗体CB301_H3L1_E6的轻链可变区的CDR1至CDR3的

多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:244至SEQ ID NO:246所示;抗体CB301_H3L1_E6的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:247至SEQ ID NO:249所示;并且抗体CB301_H3L1_E6的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:250至SEQ ID NO:252所示。

[0171] 编码抗体CB301_H3L1_F4的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:253至SEQ ID NO:255所示;编码抗体CB301_H3L1_F4的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:256至SEQ ID NO:258所示;抗体CB301_H3L1_F4的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:259至SEQ ID NO:261所示;并且抗体CB301_H3L1_F4的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:262至SEQ ID NO:264所示。

[0172] 编码抗体CB301_H3L1_G11的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:265至SEQ ID NO:267所示;编码抗体CB301_H3L1_G11的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:268至SEQ ID NO:270所示;抗体CB301_H3L1_G11的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:271至SEQ ID NO:273所示;并且抗体CB301_H3L1_G11的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:274至SEQ ID NO:276所示。

[0173] 编码抗体CB301_OPALTL_B5的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:277至SEQ ID NO:279所示;编码抗体CB301_OPALTL_B5的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:280至SEQ ID NO:282所示;抗体CB301_OPALTL_B5的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:283至SEQ ID NO:285所示;并且抗体CB301_OPALTL_B5的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:286至SEQ ID NO:288所示。

[0174] 编码抗体CB301_OPALTL_E6的重链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:289至SEQ ID NO:291所示;编码抗体CB301_OPALTL_E6的轻链可变区的CDR1至CDR3的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:292至SEQ ID NO:294所示;抗体CB301_OPALTL_E6的重链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:295至SEQ ID NO:297所示;并且抗体CB301_OPALTL_E6的轻链可变区的CDR1至CDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:298至SEQ ID NO:300所示。

[0175] 进一步,编码抗体CK1的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CK1的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CK1的重链可变区的氨基酸序列、抗体CK1的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:301至SEQ ID NO:304所示。

[0176] 编码抗体CK2的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CK2的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CK2的重链可变区的氨基酸序列、抗体CK2的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:305至SEQ ID NO:308所示。

[0177] 编码抗体CK3的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CK3的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CK3的重链可变区的氨基酸序列、抗体CK3的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:309至SEQ ID NO:312所示。

[0178] 编码抗体CL4的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CL4的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CL4的重链可变区的氨基酸序列、抗体CL4的轻链可变区的氨基酸序列分别如

SEQ ID NO:313至SEQ ID NO:316所示。

[0179] 编码抗体CL5的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CL5的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CL5的重链可变区的氨基酸序列、抗体CL5的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:317至SEQ ID NO:320所示。

[0180] 编码抗体CL6的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CL6的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CL6的重链可变区的氨基酸序列、抗体CL6的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:321至SEQ ID NO:324所示。

[0181] 编码抗体CB201的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CB201的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CB201的重链可变区的氨基酸序列、抗体CB201的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:325至SEQ ID NO:328所示。

[0182] 编码抗体CL8的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CL8的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CL8的重链可变区的氨基酸序列、抗体CL8的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:329至SEQ ID NO:332所示。

[0183] 编码抗体CL9的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CL9的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CL9的重链可变区的氨基酸序列、抗体CL9的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:333至SEQ ID NO:336所示。

[0184] 编码抗体CL10的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CL10的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CL10的重链可变区的氨基酸序列、抗体CL10的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:337至SEQ ID NO:340所示。

[0185] 编码抗体SK11的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体SK11的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体SK11的重链可变区的氨基酸序列、抗体SK11的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:341至SEQ ID NO:344所示。

[0186] 编码抗体SK12的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体SK12的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体SK12的重链可变区的氨基酸序列、抗体SK12的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:345至SEQ ID NO:348所示。

[0187] 编码抗体SK13的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体SK13的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体SK13的重链可变区的氨基酸序列、抗体SK13的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:349至SEQ ID NO:352所示。

[0188] 编码抗体SK14的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体SK14的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体SK14的重链可变区的氨基酸序列、抗体SK14的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:353至SEQ ID NO:356所示。

[0189] 编码抗体SK15的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体SK15的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体SK15的重链可变区的氨基酸序列、抗体SK15的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:357至SEQ ID NO:360所示。

[0190] 编码抗体SK16的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体SK16的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体SK16的重链可变区的氨基酸序列、抗体SK16的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:361至SEQ ID NO:364所示。

[0191] 编码抗体SK17的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体SK17的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体SK17的重链可变区的氨基酸序列、抗体SK17的轻链可变区的氨基酸序列分

别如SEQ ID NO:365至SEQ ID NO:368所示。

[0192] 编码抗体SL18的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体SL18的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体SL18的重链可变区的氨基酸序列、抗体SL18的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:369至SEQ ID NO:372所示。

[0193] 编码抗体CB301_H3L1_A10的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CB301_H3L1_A10的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CB301_H3L1_A10的重链可变区的氨基酸序列、抗体CB301_H3L1_A10的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:373至SEQ ID NO:376所示。

[0194] 编码抗体CB301_H3L1_A12的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CB301_H3L1_A12的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CB301_H3L1_A12的重链可变区的氨基酸序列、抗体CB301_H3L1_A12的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:377至SEQ ID NO:380所示。

[0195] 编码抗体CB301_H3L1_E6的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CB301_H3L1_E6的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CB301_H3L1_E6的重链可变区的氨基酸序列、抗体CB301_H3L1_E6的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:381至SEQ ID NO:384所示。

[0196] 编码抗体CB301_H3L1_F4的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CB301_H3L1_F4的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CB301_H3L1_F4的重链可变区的氨基酸序列、抗体CB301_H3L1_F4的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:385至SEQ ID NO:388所示。

[0197] 编码抗体CB301_H3L1_G11的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CB301_H3L1_G11的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CB301_H3L1_G11的重链可变区的氨基酸序列、抗体CB301_H3L1_G11的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:389至SEQ ID NO:392所示。

[0198] 编码抗体CB301_OPALTL_B5的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CB301_OPALTL_B5的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CB301_OPALTL_B5的重链可变区的氨基酸序列、抗体CB301_OPALTL_B5的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:393至SEQ ID NO:396所示。

[0199] 编码抗体CB301_OPALTL_E6的重链可变区的多核苷酸序列、编码抗体CB301_OPALTL_E6的轻链可变区的多核苷酸序列、抗体CB301_OPALTL_E6的重链可变区的氨基酸序列、抗体CB301_OPALTL_E6的轻链可变区的氨基酸序列分别如SEQ ID NO:397至SEQ ID NO:400所示。

[0200] CD300C ECD的氨基酸序列及编码其的多核苷酸序列分别如SEQ ID NO:401和SEQ ID NO:402所示。

[0201] 本发明的抗体及其抗原结合片段中的一者或多者可以通过与CD300c接合来诱导对分化为单核细胞来源的巨噬细胞(MDM)或M1巨噬细胞的促进,但不限于此。

[0202] 在先前所述的实施方式中的一个实施方式中,抗CD300c抗体及其抗原结合片段可以特异性地结合CD300c蛋白的细胞外结构域。CD300c的细胞外结构域可以是人类CD300c蛋白的细胞外结构域并且包括由SEQ ID NO:402表示的氨基酸序列。

[0203] 在一个实施方式中,本发明的抗体和/或其抗原结合片段具有恢复或改善患有退行性脑病或有患退行性脑病风险的受试者的认知功能的能力。认知功能可以包括认知能力、记忆力、语言能力、视觉空间能力、定向力、执行功能,或它们的组合。

[0204] 在一个实施方式中,本发明的抗体可以具有促进单核细胞分化为MDM(单核细胞来源的巨噬细胞)或M1巨噬细胞的能力,并且与一般的退行性脑病治疗和免疫疗法相比,这种

促进能力可能会增强。因此,其预期对甚至通过一般的退行性脑病治疗和免疫疗法仍无法治愈的患者的退行性脑病表现出明显的预防或治疗效应。

[0205] 在本发明中,术语“退行性脑病”意指由神经细胞损伤引起的脑病,并且可能伴有认知功能障碍。认知功能障碍可以包括认知下降、记忆障碍、语言障碍、视觉空间能力下降、定向力受损、以及执行功能障碍,或它们的组合。

[0206] 在一个实施方式中,退行性脑病可以包括选自由以下组成的组的一者或多者:痴呆、阿尔茨海默病、亨廷顿氏病、帕金森氏病、脑淀粉样血管病、淀粉样中风、荷兰型淀粉样变性、Tau蛋白病、轻度认知障碍、皮层基底节综合征、后部皮层萎缩、原发性进行性失语症、进行性核上性麻痹、皮层基底节变性(corticobasal degeneration,CBD)、肌萎缩侧索硬化症、克雅二氏病、失忆症、学习障碍和记忆障碍,但不限于此。

[0207] 痴呆症是指由脑损伤或疾病所导致的认知功能下降或逐渐下降,并且通常可包括定向力障碍、记忆力、判断力、智力受损、情绪不稳定,或它们的组合。所述痴呆可以包括选自由以下组成的组的一者或多者:阿尔茨海默病痴呆、亨廷顿氏病痴呆、帕金森氏病痴呆、血管性痴呆、神经炎症性痴呆、脑梗塞性痴呆、老年性痴呆、路易体痴呆(dementia with Lewy bodies,DLB)、多发梗塞性痴呆(multi-infarct dementia,MID)、额颞叶变性(frontotemporal lobar degeneration,FTLD)、克雅二氏病痴呆、皮克病痴呆、皮质基底核退化痴呆、正常压力脑积水痴呆和头部创伤引起的痴呆,但不限于此。

[0208] 在一个实施方式中,退行性脑病可以是阿尔茨海默病。

[0209] 在本发明的一个实施方式中,通过使用诱发了退行性脑病的5xFAD小鼠的Y型迷宫测试证实,通过施用抗CD300c抗体,由于诱导退行性脑病而减少的改变行为在统计学上得到了显著恢复。

[0210] 另外,在本发明的另一实施方式中,通过Morris水迷宫测试证实,通过施用抗CD300c抗体,由于退行性脑病的诱导而诱发了退行性脑病的5xFAD小鼠的下降的认知能力和记忆力在统计学上得到了显著恢复。

[0211] 此外,在本发明的另一实施方式中,证实了本发明的抗CD300c抗体具有促进单核细胞分化为单核细胞来源的巨噬细胞(MDM)或M1巨噬细胞的能力。本发明的退行性脑病可以通过促进单核细胞分化为MDM或M1巨噬细胞来预防或治疗,并且此类结果表明本发明的抗CD300c抗体和/或其抗原结合片段也可以通过促进分化为MDM或M1巨噬细胞来治疗各种退行性脑病(例如,亨廷顿氏病和帕金森氏病)。

[0212] 本发明的组合物用于预防或治疗退行性脑病,并且其中所包含的抗体及其抗原结合片段中的任意一者或多者可以用于恢复或改善患有退行性脑病或有患退行性脑病风险的受试者的认知功能。

[0213] 在本发明中,术语“治疗”通常指获得所需的药理学和/或生理学效应,并且可以包括通过施用本发明的组合物来改善、延缓或有益地改变退行性脑病的症状的所有动作。此外,由于脑部疾病的性质,维持当前状态而不使症状恶化的动作也可被包括在治疗中。这种效应就部分或完全治愈疾病和/或由此类疾病引起的副作用而言具有治疗效应。所期望的治疗效应包括预防疾病的发生或复发、改善症状、减少疾病的任何直接或间接的病理后果、减慢疾病的进展速率、改善或减轻疾病病症、以及缓解或改善预后,但不限于此。

[0214] 在本发明中,术语“预防”是指获得预防性治疗,即获得预防疾病,而不是治疗疾病

的效应。预防意指就部分或完全预防疾病或其症状而言获得所需的预防药理学和/或生理学效应。

[0215] 该药物组合物可进一步包含药学上可接受的载体。

[0216] 在本发明中,术语“药学上可接受的载体”是指对生物体没有刺激并且不损害所施用的化合物的生物活性和性质的载体或稀释剂。用于配制成液体溶液的组合物在药学上可接受的载体包括无菌且生物相容的那些载体,例如盐水、无菌水、林格氏溶液、缓冲盐水、白蛋白注射液、葡萄糖溶液、麦芽糊精溶液、甘油、乙醇、以及这些组分中的一种或多种组分的混合物,并且可以根据需要添加其他常规添加剂,例如抗氧化剂、缓冲剂和抑菌剂。进一步,可进一步添加稀释剂、分散剂、表面活性剂、粘合剂和润滑剂以将组合物配制成注射制剂(例如,水溶液、混悬剂、乳剂等)、丸剂、胶囊剂、颗粒剂或片剂。

[0217] 所述药物组合物可以为用于口服或肠胃外施用的各种剂型。在配制时,其是使用常用的填充剂、增量剂、粘合剂、润湿剂、崩解剂、表面活性剂、稀释剂或赋形剂制备的。用于口服施用的固体制剂包括片剂、丸剂、散剂、颗粒剂、胶囊剂等,其通过将一种或多种化合物与至少一种或多种赋形剂(例如,淀粉、碳酸钙、蔗糖或乳糖、明胶等)混合而制备。进一步,除了简单的赋形剂外,还可以使用润滑剂,诸如硬脂酸镁、滑石等。用于口服施用的液体制剂包括混悬剂、口服液、乳剂、糖浆等,除了诸如水和液体石蜡的简单稀释剂外,其还可含有各种赋形剂,例如润湿剂、甜味剂、调味剂、防腐剂等。用于肠胃外施用的制剂包括例如无菌水溶液、非水溶剂、混悬剂、乳剂、冻干制备物和栓剂。非水溶液和混悬剂可以包含丙二醇、聚乙二醇、植物油(例如橄榄油)、可注射的酯(例如油酸乙酯)等。用于栓剂的基质可能包括witepsol、macrogol、吐温61、可可脂、月桂酸甘油酯、甘油明胶等。

[0218] 所述药物组合物可以具有选自以下组成的组的任一种制剂:片剂、丸剂、散剂、颗粒剂、胶囊剂、混悬剂、口服液、乳剂、糖浆剂、无菌水溶液、非水溶剂、冻干制备物和栓剂。

[0219] 本发明的药物组合物可以以药学有效量施用于受试者。

[0220] 在本发明中,“药学有效量”是指足以以适用于医学治疗的合理效益风险比治疗疾病的量,并且有效剂量水平可以基于包括受试者的类型、严重程度、年龄和性别、脑部疾病的类型、药物的活性、对药物的敏感性、施用时间、施用途径和排泄速率、治疗时段、以及伴随用药在内的因素以及医学领域公知的其他因素来确定。本发明的组合物可以作为单一药剂施用,或者与其他治疗剂联合施用,并且可以与常规治疗剂顺序或同时地施用。其也可以以单剂量或多剂量施用。考虑到所有这些因素,施用可最大化效应并且具有最小的副作用的量是重要的,并且这可以由本领域技术人员容易地确定。

[0221] 在本发明中,术语“受试者”与“患者”和“个体”可互换使用,并且可以指需要预防或治疗退行性脑病的哺乳动物,例如灵长类动物(例如,人类)、宠物(例如,狗、猫等)、牲畜(例如,牛、猪、马、绵羊、山羊等)和实验动物(例如,大鼠、小鼠、豚鼠等)。在本发明的一个实施方式中,受试者可以是非人类或人类。

[0222] 本发明的另一个方面提供了一种预防或治疗退行性脑病的方法,所述方法包括向患有退行性脑病或有患退行性脑病风险的受试者施用抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者。

[0223] 所述抗CD300c抗体、其抗原结合片段、退行性脑病、受试者、预防和治疗如上文其他方面中所述。

[0224] 在本发明中,术语“施用”意指向受试者提供物质(例如,抗CD300c抗体和其抗原结合片段中的一者或多者)以达到预防或治疗目的(例如,预防或治疗退行性脑病)。

[0225] 本发明的抗体和/或抗原结合片段可以以多种方式施用,具体取决于是需要局部还是全身治疗以及待治疗的区域。向受试者施用本发明的抗体和/或抗原结合片段的方法可以由本领域技术人员容易地确定。施用途径可以是口服、肠胃外、吸入或局部。例如,肠胃外施用可以包括静脉内施用、皮下施用、腹膜内施用、肌内施用、直肠施用、阴道施用、鞘内施用、心室内施用或脑室内施用,但不限于此。在一个实施方式中,本发明的抗体和/或抗原结合片段可以使用本文所述的或本领域已知的各种合适的组合物和方法跨血脑屏障(BBB)递送。

[0226] 本发明的抗体和/或抗原结合片段的有效量或有效无毒量可以通过常规实验来确定。例如,本发明的抗体和/或抗原结合片段的治疗活性量可以取决于例如疾病的阶段、疾病的严重程度、受试者的年龄、性别、医学并发症和体重、以及抗体在受试者中引起所需反应的能力的因素而变化。可以调整本发明的抗体和/或抗原结合片段的剂量和施用途径以提供最佳治疗反应。例如,可以每日、每周、每两周、每三周、每四周等施用若干个分剂量,和/或可以取决于治疗情况的紧急程度按比例减少或增加剂量。

[0227] 本发明的抗体和/或抗原结合片段可以与一种或多种有效用于预防或治疗退行性脑病的其他药剂联合施用。此类其他药剂包括任何可改善或减轻退行性脑病的药剂,例如化合物、基因疗法、蛋白质(包括抗体),但不限于此。当本发明的抗体和/或抗原结合片段与其他药剂联合施用时,它们可以配制为单一组合物以同时递送,或配制为两种或更多种组合物(例如,试剂盒)以单独配制。可以将每种组分在与施用其他组分不同的时间施用于受试者。在具体的实施方式中,每次施用可以在给定的时段内以多个间隔非同时地给予(例如,单独地或顺序地)。进一步,个别成分可以通过相同或不同的途径施用于受试者。本发明的药物组合物可以与一种或多种已知的退行性脑病治疗联合使用。

[0228] 本发明的另一个方面提供了一种用于预防或改善退行性脑病的食物组合物,所述食物组合物包含抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者。

[0229] 抗CD300c抗体、其抗原结合片段、退行性脑病和预防如上文其他方面中所述。

[0230] 所述食物组合物可以是保健功能食物。

[0231] 在本发明中,术语“改善”意指其中使用抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者,降低疑似患有退行性脑病或患有退行性脑病的受试者的生存、复发和/或治疗耐药性,或改善或有益地改变症状的所有动作。

[0232] 在本发明中,术语“食物”包括食物的所有常规含义,例如肉类、香肠、面包、巧克力、糖果、小吃、蜜饯、披萨、拉面、其他面条、口香糖、乳制品(包括冰淇淋)、各种汤、饮料、茶、饮品、酒精饮料、维生素复合物和保健功能食品,并且不限于此,只要所述食物可包含本发明的抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者即可。当制造所述食物组合物时,可以添加本领域中通常添加的原料和成分来制造所述食物组合物,并且对类型没有特别限制。例如,与常规食物中一样,可以包括各种草药提取物、营养学上可接受的食物添加剂、天然碳水化合物等作为附加成分,但不限于此。可根据预期用途适当地确定活性成分的混合量。

[0233] 在本发明中,术语“保健功能食物”与特殊保健用途食物(food for special

health use, FoSHU) 同义, 并且是指使用特定成分作为原料, 或通过对食物材料中所含的特定成分使用诸如提取、浓缩、纯化、混合等方法而制造并加工以用于保健补充目的的食物。这些食物是指这样的食物, 所述食物经设计和加工以使成分在机体中充分发挥例如生物防御、调节生物节律、预防疾病和从疾病恢复的生物调节功能。用于保健功能食物的组合物可以执行与疾病预防、疾病恢复等相关的功能。本发明的保健功能食物可以与本领域中已知的术语 (例如功能性食物) 可互换地使用。

[0234] 本发明的另一个方面提供了一种用于预防或改善退行性脑病的饲料组合物, 所述饲料组合物包含抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者。

[0235] 所述抗CD300c抗体、其抗原结合片段、退行性脑病、预防和改善如上文其他方面中所述。

[0236] 所述饲料组合物还可以用于人以外的动物, 并且可以用于上述受试者, 例如包括牛、猪、羊、鸡、狗和人在内的哺乳动物和禽类, 但不限于此。

[0237] 除本发明的抗CD300c抗体及其抗原结合片段外, 所述饲料组合物还可以包含对于制药、营养学或饲料用途的可接受的已知载体、稳定剂或添加剂。示例包括为防止品质降级而添加的粘合剂、乳化剂、防腐剂等, 以及为增强功效而添加到饲料中的氨基酸、维生素、酶、调味剂、非蛋白氮化合物、硅酸盐、缓冲剂、提取物、寡糖等。此外, 还可以包含饲料混合物等, 但不限于此。饲料组合物还可以根据需要包含各种营养物, 例如维生素、氨基酸和矿物质、抗氧化剂和其他添加剂, 并且可以是适当的形式, 例如粉末、颗粒、丸粒、悬浮液等。本发明的饲料组合物可以单独供应或者与饲料混合以用于个别动物。本发明的饲料没有特别限制, 并且可以是任何饲料, 例如粉状饲料、固体饲料、干饲料、湿饲料、湿丸粒饲料、干丸粒饲料、挤出丸粒 (EP) 饲料、生饲料等。

[0238] 本发明的另一方面提供了抗CD300c抗体和/或其抗原结合片段用于预防或治疗退行性脑病的用途。

[0239] 在一个实施方式中, 可以通过促进单核细胞分化为MDM或M1巨噬细胞来预防或治疗退行性脑病。

[0240] 本发明的另一个方面提供了抗CD300c抗体和/或其抗原结合片段用于制造用于预防或治疗退行性脑病的组合物 (例如, 药物) 的用途。

[0241] 所述抗CD300c抗体、其抗原结合片段、退行性脑病、预防和治疗如上文其他方面中所述。

[0242] 本发明的另一个方面提供了一种用于促进单核细胞分化为MDM或M1巨噬细胞的方法, 所述方法包括向受试者施用抗CD300c抗体及其抗原结合片段中的一者或多者; 或将所述巨噬细胞处理成分离的细胞。

[0243] 受试者可以是患有退行性脑病或有患退行性脑病的风险的受试者, 但不限于此。

[0244] 本发明的另一个方面提供了抗CD300c抗体和/或其抗原结合片段在促进分化为MDM或M1巨噬细胞中的用途。

[0245] 用于促进分化为MDM或M1巨噬细胞的方法和/或用途可以在体外或体内进行。

[0246] 抗CD300c抗体、其抗原结合片段、受试者等如上文其他方面中所述。

[0247] **【实行本发明的模式】**

[0248] 在下文中, 将通过具体实施例对本发明进行详细说明。然而, 这些实施例仅是用于

说明本发明的优选实施方式,并且因此并非旨在将本发明的范围限制于此。与此同时,本说明书中未描述的技术事项也可以被本领域技术人员或相关技术领域的技术人员充分理解并容易地实施。

[0249] 实施例1.抗CD300c抗体(CB201、CL10和SL18)的制备

[0250] 使用编码抗CD300c单克隆抗体的碱基序列构建具有分离的重链和轻链的抗体表达载体,所述抗CD300c单克隆抗体以高结合亲和力特异性地结合CD300c抗原。

[0251] 为此,使用表3、表4和序列表中所示的CB201 CDR序列(CB201的氨基酸序列和编码所述氨基酸序列的多核苷酸序列),将基因分别插入到pCIW3.3载体中以分别表达重链和轻链。使用已知方法执行载体构建。将所构建的CB201重链和轻链表达载体与聚乙烯亚胺(PEI)按1:1的质量比混合,并转染到293T(人结肠癌细胞系)细胞中以诱导抗体表达。在第8天,将培养物离心以去除细胞并获得培养基。将所获得的培养基过滤,然后使用含有0.1M NaH_2PO_4 和0.1M Na_2HPO_4 (pH 7.0)的混合溶液重悬。将重悬浮的溶液使用蛋白A珠粒(GE Healthcare)通过亲和色谱法纯化,并最后使用洗脱缓冲液(Thermo Fisher)洗脱。

[0252] [表3]

[0253]

抗体	噬菌体类型	结构域		DNA 序列 (CDR1、CDR2 和 CDR3 按列出的次序加粗并加下划线。)	SEQ ID NO:
CB201	VH3VL1	重链可变区	全序列	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCT GGTGGAGGCTTGGTACAGCCT GGAGGTTCTCTTCGCCTCTCC TGTGCAGCCTCCGGATTCACT TTC <u>AGCCGCTACGCAATGAG</u> <u>CTGGGTCAGACAGGCACCAG</u>	325

[0254]

				GTAAGGGACTGGAGTGGGTC TCT <u>GCAATTAGCGGTAGCGG</u> <u>TGGTAGCACTTACTACGCAG</u> <u>AC</u> AGCGTGAAGGGTCGCTTC ACCATCTCACGCGACAACCTCC AAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTTCGCGCAGA GGACACTGCCGTGTATTACT <u>TG</u> <u>CGCACGTAGCAGCCAGGGT</u> <u>ATCTTCGACATCTGGGGACA</u> AGGTACTCTGGTCACTGTCTC CTCA	
			CDR1	<u>AGCCGCTACGCAATGAGCT</u> <u>GGGTCAGA</u>	73
			CDR2	<u>GCAATTAGCGGTAGCGGTG</u> <u>GTAGCACTTACTACGCAGAC</u>	74
			CDR3	<u>TGCGCACGTAGCAGCCAGG</u> <u>GTATCTTCGACATCTGGGGA</u>	75
		轻链可变区	全序列	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCA CCTTCAGCATCTGGTACTCCA GGTCAGCGCGTCACCATCAGC <u>TGCAGTGGTAACAATATCG</u> <u>GTA</u> CTAGACGCGTGCAATTGG TATCAGCAACTCCCAGACACC GCTCCTAAGCTCCTGATTTAC AGT <u>AAGAACAACCGTCCTAG</u> <u>TGGTGTG</u> CCCTGATCGCTTTTC TGGGTCCAAGTCTGGCACCTC AGCCTCTCTGGCTATCAGTGG	326

[0255]

				ACTTCGCTCCGAGGACGAGGC TGACTATTACT <u>TGCGCAGCAT</u> <u>GGGACGACAGCCTGAGCGG</u> <u>TCCTGTGTTC</u> GGCGGTGGGA CCAAACTGACCGTCCTA	
			CDR1	TGCAGTGGTAACAATATCGGT ACTAGACGCGTG	76
			CDR2	AAGAACAACCGTCCTAGTGGT GTG	77
			CDR3	TGCGCAGCATGGGACGACAG CCTGAGCGGTCCTGTGTTC	78

[0256] [表4]

[0257]

抗体	噬菌体 类型	结构域		氨基酸序列 (CDR1、CDR2 和 CDR3 按列出的 次序加粗并加下划线。)	SEQ ID NO:
CB201	VH3VL1	重链可 变区	全序列	EVQLLESGGGLVQPGSLRLSC AASG <u>FTFSRYAMSWVR</u> QAPG KGLEWVSA <u>ISGSGGSTYYADS</u> VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYY <u>YCARSSQGIFDI</u> <u>WGQGTL</u> TVSS	327
			CDR1	<u>FTFSRYAMSWVR</u>	79
			CDR2	<u>AISGSGGSTYYAD</u>	80
			CDR3	<u>YCARSSQGIFDIW</u>	81
		轻链可 变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRVTIS <u>CS</u> <u>GNNIGTRRVHWY</u> QQLPDTAP KLLIY <u>SKNNRPSGVP</u> DRFSGSK SGTSASLAISGLRSEDEADYY <u>YC</u>	328

[0258]				<u>AAWDDSLSGPVF</u> GGGGTKLTVL	
			CDR1	<u>CSGNNIGTRRVHW</u>	82
			CDR2	<u>SKNNRPSGVP</u>	83
			CDR3	<u>YCAAWDDSLSGPVF</u>	84

[0259] 抗CD300c单克隆抗体CL10和SL18也按照与CB201相同的方式使用表5至表8来生产。

[0260] [表5]

抗体	噬菌体类型	结构域		DNA 序列 (CDR1、CDR2 和 CDR3 按列出的次序加粗并加下划线。)	SEQ ID NO:
CL10	VH3VL1	重链可变区	全序列	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCT GGTGGAGGCTTGGTACAGCCT GGAGGTTCTCTTCGCCTCTCCT GTGCAG CCTCCGGATTCACTT <u>TCAGCA</u> <u>GCTACGGTATGCATTGGGTC</u> <u>AGACAGGCACCAGGTAAGGGA</u> CTGGAGTGGGTCT <u>CTGCAATT</u> <u>AGCGGTAGCGGTGGTAGCAC</u> <u>TTACTACGCAGACAG</u> CGTGAA GGGTCGCTTCACCATCTCACGC GACAACTCCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTTC GCGCAGAGGACACTGCCGTGT ATT <u>ACTGCGCAAGCGGTTAC</u> <u>GGTCTGATGGACGTGTGGG</u> <u>ACA</u> AGGTACTCTGGTCACTGTC TCCTCA	337
			CDR1	TCAGCAGCTACGGTATGCATTG	109

[0262]

				GGTCAGACA	
			CDR2	CTGCAATTAGCGGTAGCGGTG GTAGCACTTACTACGCAGACA G	110
			CDR3	ACTGCGCAAGCGGTTACGGTCT GATGGACGTGTGGGGACA	111
	轻链可变区	全序列		TCTGTGCTGACTCAGCCACCTT CAGCATCTGGTACTCCAGGTCA GCGCGTCACCATCAGCTGCAC <u>TCGTAGCAGCGGTATCATCG</u> <u>CAAGCAACTACGTGCAGTGGT</u> ATCAGCAACTCCCAGGCACCG CTCCTAAGCTCCTGATTTACCG <u>CAACAACCAGCGCCCTAGTG</u> <u>GTGTG</u> CCTGATCGCTTTTCTGG GTCCAAGTCTGGCACCTCAGCC TCTCTGGCTATCAGTGGACTTC GCTCCGAGGACGAGGCTGACT ATT <u>ACTGCAGCAGCTACGCA</u> <u>GGTAACAACAACCTGGTGTT</u> <u>CGG</u> CGGTGGGACCAAACCTGAC CGTCCTA	338
			CDR1	GCTGCACTCGTAGCAGCGGTAT CATCGCAAGCAACTACGTGCA	112
			CDR2	CGCAACAACCAGCGCCCTAGT GGTGTG	113
			CDR3	ACTGCAGCAGCTACGCAGGTA ACAACAACCTGGTGTTCCG	114

[0263] [表6]

[0264]

抗体	噬菌体类型	结构域		氨基酸序列 (CDR1、CDR2 和 CDR3 按列出的次序加粗并加下划线。)	SEQ ID NO:
CL10	VH3VL1	重链可变区	全序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASG <u>FTFSSYGMHWVR</u> QAPGKGL EWVSA <u>ISGSGGSTYYAD</u> SVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVY <u>YCASGYGLMDVW</u> GQGTLV TVSS	339
			CDR1	<u>FTFSSYGMHWVR</u>	115
			CDR2	<u>ISGSGGSTYYAD</u>	116
			CDR3	<u>YCASGYGLMDVW</u>	117
		轻链可变区	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRTIS <u>CTR</u> <u>SSGHASNYVQW</u> YQQLPGTAPKL LIY <u>RNNQRPSGVP</u> PDRFSGSKSGTS ASLAISGLRSEDEADY <u>YCSSYAG</u> <u>NNLVF</u> GGGTKLTVL	340
			CDR1	<u>CTRSSGHASNYVQW</u>	118
			CDR2	<u>RNNQRPSGVP</u>	119
			CDR3	<u>YCSSYAGNNLVF</u>	120

[0265] [表7]

[0266]

抗体	噬菌体类型	结构域		DNA 序列 (CDR1、CDR2 和 CDR3 按列出的次序加粗并加下划线。)	SEQ ID NO:
SL18	λ	重链可变区	全序列	CGAGTGCAGCTGCTGGAAAGT GGAGGTGGACTGGTGCAGCCT GGCGGCAGCCTGCGCCTGAGC	369

[0267]

				TGTGCCG CCAGCGGATT <u>TCACCTTCAGCG</u> <u>ATTATCATATGCATTGGGTTC</u> <u>GCCAAGCACCTGGCAAAGGCC</u> TGGAATGGGTGAGCACCAT <u>CA</u> <u>GCAGCAGCGGCGGCTATACC</u> <u>TATTATGCCGAAAGCGTGAAA</u> AGCCGCTTTACCATCAGCCGCG ATAACAGCAAAAACACCCTGT ATCTGCAGATGAACAGCCTGC GCGCCGAGGACACCGCAGTCT ACTACTGTG <u>CCCGATCGATAC</u> <u>GCCTGCCTCTGGATTATTGG</u> <u>GGACAAGGTACTCTGGTGACC</u> GTGAGCAG CA	
			CDR1	TCACCTTCAGCGATTATCATATGCATTGGGTTCG	205
			CDR2	TCAGCAGCAGCGGCGGCTATACCTATTATGCCGA	206
			CDR3	CCCGATCGATACGCCTGCCTCTGGATTATTGGGG	207
		轻链可变区	全序列	CAGAGCGTGCTGACCCAGCCT CCTAGCGCCTCCGGTACACCAG GACAGCGCGTGACTATTAGCT GTAG <u>GCGGCAACAACATCGGC</u> <u>AGCAAAGGCGTGCAATTGGTA</u> TCAGCAACTGCCTGGAAGTGC ACCTAAGCTGCTGATCT <u>ATGA</u> <u>AGATAGCAAACGCCCTAGCG</u>	370

[0268]

				<u>GCGTGCGTGAT</u> TCGCTTTAGCG GTAGCAAATCAGGCACCAGCG CCAGCCTGGCCATCAGCGGCCT TCGCTCCGAAGATGAAGCCGA TTATTATTGTCAGAG <u>GCTATGAT</u> <u>AGCACCAAAGGCGTGGTGT</u> <u>TGGTGG</u> CGGTACCAAGC GACCGTGCTG	
			CDR1	GCGGCAACAACATCGGCAGCA AAGGCGTGCATTGGTA	208
			CDR2	ATGAAGATAGCAAACGCCCTA GCGGCGTGCGTGA	209
			CDR3	GCTATGATAGCACCAAAGGCG TGGTGTTTGGTGG	210

[0269]

[表8]

[0270]

抗体	噬菌体类型	结构域		氨基酸序列 (CDR1、CDR2 和 CDR3 按列出的 次序加粗并加下划线。)	SEQ ID NO:
SL18	λ	重链可变区	全序列	RVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASG <u>FTFSDYHMHWR</u> QAPGKGL EWVST <u>TISSGGYTYAE</u> SVKSRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYY <u>YCARSIRLPLDYW</u> GQGT LVTVSS	371
			CDR1	<u>FTFSDYHMHWR</u>	211
			CDR2	<u>TISSGGYTYAE</u>	212
			CDR3	<u>YCARSIRLPLDYW</u>	213
		轻链可变	全序列	QSVLTQPPSASGTPGQRTIS <u>CSG</u>	372

[0271]		区		<u>NNIGSKGVHWYQQLPGTAPKLLI</u> <u>YEDSKRPSGVRDRFSGSKSGTSA</u> <u>SLAISGLRSEDEADYYCQSYDST</u> <u>KGVVFGGGTKLTVL</u>	
			CDR1	<u>CSGNNIGSKGVHW</u>	214
			CDR2	<u>EDSKRPSGVR</u>	215
			CDR3	<u>YCQSYDSTKGVVE</u>	216

[0272] 实施例2.抗CD300c单克隆抗体对CD300c抗原的结合亲和力的确认(I):结合ELISA

[0273] 将CD300c抗原(250 μ g/mL)在包被缓冲液(0.1M碳酸钠,pH9.0)中稀释至800ng/mL的浓度,并将100 μ L的所述溶液添加到96孔板的各孔中,之后在4 $^{\circ}$ C孵育过夜,第二天,将微孔板用200 μ L的PBST洗涤三次。随后,将200 μ L的封闭缓冲液(5%脱脂乳)添加到各孔中,并在室温下封闭1小时。

[0274] 将抗CD300c单克隆抗体CB201在PBS中稀释至200 μ g/mL,并使用Nanodrop(产品名:NanoDrop One/Onec)确认浓度。然后,将CB201在PBS溶液中从10 μ g/mL连续稀释四倍,并将100 μ L的各稀释液添加到各孔中,然后使各孔在室温下反应1小时并用200 μ L的PBST洗涤三次。将二抗(缀合的抗Fc IgG)在封闭缓冲液中以1:10,000稀释,并将100 μ L添加到各孔中,之后在室温下孵育1小时。然后将所述孔用200 μ L的PBST洗涤三次。随后,将TMB和过氧化氢以1:1的比率混合,然后将100 μ L的所述混合物添加到各孔中,将各孔放置以在室温下反应7至9分钟。通过添加50 μ L的1N硫酸来停止反应,并使用酶标仪(产品名:Varioskan LUX)测量450nm处的吸光度以获得结合亲和力结果。

[0275] 此外,以与CB201相同的方式获得了抗CD300c单克隆抗体CL10和SL18的结合亲和力结果。

[0276] 结果,如图1所示,证实了抗CD300c单克隆抗体CB201、CL10和SL18均以浓度依赖性方式与CD300c结合,表明所有抗CD300c单克隆抗体CB201、CL10和SL18均对CD300c抗原具有优异的结合亲和力和特异性。

[0277] 从这些结果证实了,抗CD300c单克隆抗体CB201、CL10和SL18不仅对CD300c具有优异的结合亲和力和特异性,而且还具有相似的性质,这源于如图2所示的三种抗体的可变区序列的相似性。

[0278] 实施例3.抗CD300c单克隆抗体对CD300c抗原的结合亲和力的确认(II):表面等离子体共振(SPR)

[0279] 为了进一步确认CD300c抗原与抗CD300c单克隆抗体CB201之间的结合亲和力,进行表面等离子体共振实验。

[0280] 为了将CD300c固定在CM5芯片上,将5 μ g/mL的CD300c在10mM醋酸盐缓冲液(pH 5.5)中稀释。然后,将流率设置为10mL/min,并将目标共振单元(RU)设置为300RU。将CM5芯片用0.2M EDC和0.05M NHS的混合物激活,并用1M乙醇胺封闭以固定CM5芯片,使得CD300c的最终RU为399.2RU。然后将CB201在PBST中稀释至0 μ g/mL、0.195 μ g/mL、0.39 μ g/mL、0.78 μ g/mL、1.56 μ g/mL、3.125 μ g/mL和6.25 μ g/mL的浓度,并以240秒的结合时间、900秒的解离时

间和30 μ L/min的流率进行动力学/亲和力测试。然后将50mM的NaOH以30 μ L/min的流率流过具有固定的CD300c的CM5芯片达30秒来使表面再生。

[0281] 结果,如图3所示,分析KD值为5.199E-10M,并且证实了抗CD300c单克隆抗体的结合亲和力在0.52nM时处于亚纳摩尔水平。这指示抗CD300c单克隆抗体对抗原具有较高的结合亲和力。

[0282] 实施例4.抗CD300c单克隆抗体对细胞抗原识别的确认

[0283] 为了确认抗CD300c单克隆抗体(CB201)识别细胞抗原,执行FACS结合。

[0284] 为此,在293T细胞(ATCC)中过表达CD300c,并且将细胞以每试管 2×10^5 个细胞的密度分配到微量离心管中。将抗CD300c单克隆抗体从10 μ g/mL开始三倍连续稀释,并在CO₂培养箱中与细胞反应30分钟,之后用FACS缓冲液洗涤试管两次。随后,使在FACS缓冲液中进行1:100稀释的FITC缀合的抗人IgG(H+L)与结合到细胞上的抗CD300c单克隆抗体在CO₂培养箱中反应30分钟,之后用FACS缓冲液洗涤试管两次。然后使用CytoFLEX仪器(Beckman Coulter)测量FITC信号,并使用CytExpert程序获得MFI值。使用Sigmaplot程序,使用所获得的MFI值来绘制S形曲线,以计算EC50值(引起50%的最大反应的药物有效浓度)。结果,获得了293T细胞的EC50值为2.7nM。

[0285] 如图4所示,抗CD300c单克隆抗体与293T细胞的表面上过表达的CD300c以较强的亲和力结合,如由从FACS结合结果获得的S形曲线所指示。因此,证实了抗CD300c单克隆抗体在细胞水平上特异性地结合CD300c。

[0286] 实施例5.确认促进分化为单核细胞来源的巨噬细胞(MDM)(I):细胞形态观察

[0287] 为了在细胞形态上确认当用抗CD300c单克隆抗体处理时单核细胞分化为单核细胞来源的巨噬细胞(MDM)的模式,将用10 μ g/mL的抗CD300c单克隆抗体CB201处理的THP-1细胞(人单核细胞系)培养48小时,并且在显微镜下观察细胞形态。

[0288] 结果,如图5所示,证实了用抗CD300c单克隆抗体处理的实验组(CB201)中的THP-1细胞的形态由悬浮细胞变为圆形贴壁细胞,这是MDM的形态。

[0289] 由这些结果证实,通过抗CD300c单克隆抗体处理促进了单核细胞分化为MDM。

[0290] 实施例6.确认促进分化为MDM(II):细胞信号传导

[0291] 为了进一步证实用抗CD300c单克隆抗体CB201处理THP-1细胞增加了单核细胞至MDM的分化,确认丝裂原活化的蛋白激酶(MAPK)和NF- κ B的信号传导,MAPK和NF- κ B是分化为MDM的代表信号。

[0292] 为此,将THP-1细胞以 8.8×10^5 个细胞/孔的密度分配到6孔板中,并添加10 μ g/mL的抗CD300c单克隆抗体。作为对照,添加相同量的磷酸盐缓冲盐水(phosphate-buffered saline, PBS)。在培养48小时后,通过蛋白质印迹法确认用于MAPK信号传导的磷酸化的SAPK/JNK、磷酸化的ERK9p44/42)、以及磷酸化的p38,以及用于NF- κ B信号传导的磷酸化的NF- κ B。

[0293] 确认MAPK和NF- κ B的相应信号传导的结果如图6所示。证实与对照组相比,当用抗CD300c单克隆抗体处理时磷酸化的MAPK和NF- κ B的量增加。

[0294] 从这些结果证实,当用抗CD300c单克隆抗体处理时,用于分化为MDM的细胞信号传导会增加。

[0295] 实施例7.抗CD300c单克隆抗体的分化为MDM的能力的比较:三种分化标志物(TNF-

α 、IL-1 β 和IL-8)的产生的测量

[0296] 为了证实抗CD300c单克隆抗体和其他抗体的分化为MDM的能力,将THP-1细胞以 8.8×10^5 个细胞/孔分配到6孔板中,并用10 μ g/mL的抗CD300c单克隆抗体CB201处理。使用ELISA试剂盒确认分化为MDM的标志物TNF- α 、IL-1 β 和IL-8的产生。对于其他抗体,将人IgG同种型对照以10 μ g/mL浓度处理,并使用ELISA试剂盒确认TNF- α 、IL-1 β 和IL-8的产生。

[0297] 另外,将抗CD300c单克隆抗体CL10和SL18也按照与CB201相同的方式处理THP-1细胞,并使用ELISA试剂盒确认TNF- α 的产生。结果如图7(CB201)和图8(CL10和SL18)所示。

[0298] 如图7所示,证实了与用单独的同种型对照处理的对照组相比,抗CD300c单克隆抗体CB201显著增加了TNF- α 、IL-1 β 和IL-8的产生。同样地,如图8所示,证实了与用单独的同种型对照处理的对照组相比,抗CD300c单克隆抗体CL10和SL18显著增加了TNF- α 的产生。这表明抗CD300c单克隆抗体CL10和SL18具有与CB201相似的特性。

[0299] 由这些结果证实,抗CD300c单克隆抗体显著提高了单核细胞分化为MDM的能力。

[0300] 实施例8.抗CD300c单克隆抗体促进分化为MDM的能力的确认(III):细胞外蛋白表达标志物的确认

[0301] 为了确认在用抗CD300c单克隆抗体CB201处理后单核细胞分化为MDM,以与实施例6相同的方式通过FACS确认了在用CB201处理的THP-1细胞中分化为MDM的标志物蛋白的表达的变化。使用各自识别单核细胞标志物CD11b、MDM标志物CD80和M2巨噬细胞标志物CD206的抗体,确认它们的表达的变化。结果,如图9所示,证实在用CB201处理的细胞中MDM标志物CD80增加。

[0302] 根据这些结果证实,当用抗CD300c单克隆抗体CB201处理单核细胞时,细胞外蛋白质中MDM标志物的表达增加。这证实了CB201使单核细胞分化为MDM。

[0303] 实施例9.退行性脑病模型小鼠的制备

[0304] 购买8只雄性和8只雌性4-8周龄的5xFAD小鼠(来源:Jackson lab)和3只雄性和3只雌性6周龄的B6SJL F1/J小鼠(来源:Jackson lab),使其适应约4-5个月,并观察一般症状以确认其健康状况。使用健康动物进行实验。经改造以表达人类淀粉样前体蛋白(APP)和PSEN1基因,从而导致共五种与AD相关的突变(APP的瑞典突变(K670N/M671L)、佛罗里达突变(I716V)、伦敦突变(V717I),以及PSEN1的M146L和L286V突变)的5xFAD小鼠被选择为用于与包括阿尔茨海默病的症状、痴呆等在内的神经退行性疾病相关的病理研究的合适模型。(Tatsuhiko Ayabe等人,The Neuroscience of Dementia,2020,第2卷,833-847)。环境条件设置为在Notus Co.,Ltd.的第三动物养殖区中温度为 $23 \pm 3^\circ\text{C}$,相对湿度为 $55 \pm 15\%$,通风频率为10-20次/小时,光照时间为12小时(上午8点开灯并且晚上8点关灯),并且照度为150-300勒克斯。将实验动物分为三组:正常小鼠组(G1)、退行性脑病小鼠组(下文称为5xFAD对照组;G2)、施用CB201的退行性脑病小鼠组(下文称为CB201处理组;G3)。CB201处理组施用40mg/kg剂量的CB201,对照组(正常小鼠组和5xFAD对照组)施用相同体积的PBS。腹腔内地执行施用两次,分别在开始测试物质施用的当天(第0天)和开始测试物质施用后的第25天(第25天)。实验中所用的小鼠组如下表9中所示。

[0305] [表9]

[0306]	组别	性别	动物数量	动物编号	谱系	所施用的物质	剂量 (mg/kg)	剂量 (mL/kg)
	正常小鼠组 (G1)	雄 / 雌	3/3	1- 3/12- 14	B6SJL F1/J	媒介	-	10
	退行性脑病小鼠组 (5xFAD 对照组, G2)	雄 / 雌	4/4	4- 7/15- 18	5xFAD	媒介	-	10
	CB201 处理组 (G3)	雄 / 雌	4/4	8- 11/19- 22	5xFAD	CB201	40	10

[0307] 实施例10. 抗CD300c单克隆抗体在体内增加MDM的效应的证实

[0308] 为了证实抗CD300c单克隆抗体是否增加小鼠模型中的MDM,提取根据实施例9的方法施用了CB201的小鼠(CB201处理组;G3)的脑组织,并使用抗iNOS(即,MDM标志物)和CD206(即,M2巨噬细胞标志物)的抗体确认脑组织中MDM的比例。

[0309] 另外,以与实施例9中的CB201处理组相同的方式,通过向5xFAD小鼠施用40mg/kg的PD-1抗体代替40mg/kg的CB201,制备施用了抗PD-1抗体的小鼠的实验组。

[0310] 结果,如图10所示,与对照组(表9中的退行性脑病小鼠;G2)相比,在施用已知对改善退行性脑病的症状有效效应的抗PD-1抗体作为免疫疗法的实验组的脑组织中,MDM略有升高(iNOS略有升高)。然而,与对照组相比,施用抗CD300c单克隆抗体的实验组(表9中的CB201处理组;G3)的脑组织中MDM显著增加(iNOS显著增加),并且几乎未观察到M2巨噬细胞。

[0311] 从这些结果证实,与其他类型的免疫疗法相比,抗CD300c单克隆抗体CB201对使单核细胞分化为MDM具有显著效应。

[0312] 实施例11. 抗CD300c单克隆抗体增强分化为MDM基因的表达的证实

[0313] 为了证实抗CD300c单克隆抗体CB201在体内条件下对脑中MDM的效应,提取如实施例9中制备的CB201处理组(表9中的G3)中的小鼠的脑组织,并用细胞活力染料(DAPI)、抗总单核细胞标志物F4/80的抗体和抗MDM标志物CD11b的抗体(来源:Invitrogen)对细胞进行染色。然后使用CytoFLEX流式细胞仪读取数据,并使用FlowJo软件进行分析。

[0314] 作为相对于活细胞量化每种标志物的结果,如图11所示,证实了单核细胞标志物F4/80在用单独的抗CD300c单克隆抗体处理的小鼠的脑组织中的表达与对照组相比相似,而分化为MDM的标志物CD11b的表达增加(对应于图11中CD11b+中的M1MDM)。

[0315] 如下所述,证实了抗CD300c单克隆抗体对退行性脑病具有治疗效应,并且这些结果提示,抗CD300c单克隆抗体对退行性脑病的治疗效应是由于通过施用抗CD300c单克隆抗

体增加了脑组织中MDM的分化。

[0316] 实施例12. 纳米线免疫分析

[0317] 为了证实当施用抗CD300c单克隆抗体 (CB201) 后退行性脑病小鼠模型中免疫细胞和脑组织环境的变化, 从如实施例9中制备的CB201处理组 (表9中的G3) 提取脑组织。从这些组织中提取并纯化RNA, 并通过作为已知方法的纳米线免疫分析确认单核细胞标志物的变化。与对照组对比的观察结果如图12所示。

[0318] 如图12所示, 证实了在施用抗CD300c单克隆抗体后, 分化为MDM标志物CD163、Siglec1、Lyve1和C4b的表达增加, 而加剧脑中的退行性脑病进展的IL-10的表达减少。这证实分化出了脑组织中的MDM, 并且脑的免疫系统朝着治疗退行性脑病的方向变化。

[0319] 实施例13. Y型迷宫测试

[0320] 购买六周龄的5xFAD小鼠, 并使其适应约五个月, 以创建表现出与包括退行性脑病症状在内的神经退行性疾病相关的症状的退行性脑病模型。

[0321] 随后, 向退行性脑病模型腹腔内地 (IP) 施用40mpk的抗CD300c单克隆抗体 (CB201), 之后在第28天进行另一次施用, 并于第31天执行Y型迷宫测试。向对照组注射相同量的PBS。实验时间线如图13所示。

[0322] 用于Y型迷宫测试的实验装置由黑色亚克力板 (10cm×41cm×25cm) 制成的Y型迷宫组成, 其中各迷宫标识为区域A、B和C。将实验动物随机放置在随机区域中并使其自由活动7分钟。测量每只实验动物进入每个迷宫的次数和顺序, 以评估自发改变 (%)。当实验动物顺序地进入三个不同区域时, 识别为1分 (改变, 次序为ABC、BCA、CAB等), 而当非顺序地进入时则不计分。使用以下公式计算自发改变 (%) :

[0323] 自发改变 (%) = 实际改变 / 最大改变 (总条目数 - 2) × 100

[0324] 结果, 如图15所示, 实验结果证实, 与正常小鼠 (G1; 野生型) 相比, 退行性脑病小鼠模型 (G2; 5XFAD+模拟品) 中的自发改变减少, 而当向退行性脑病小鼠模型施用CB201 (G3; 5XFAD+CB201) 时, 自发改变恢复到正常小鼠 (G1; 野生型) 的水平87%。这些结果表明, 抗CD300c单克隆抗体可以作为缓解退行性脑病引起的例如认知能力下降和自发改变减少的症状的药物。

[0325] 实施例14. Morris水迷宫测试

[0326] 以与实施例13相同的方式向退行性脑病模型的小鼠施用CB201, 并于第35天至第40天执行Morris水迷宫测试。实验设备由圆形罐 (不锈钢, 直径150cm, 高度45cm)、逃生平台 (直径10cm, 高度30cm)、以及贴到壁上以便可以记住逃生平台的位置的四个标志物组成。罐内填充有温度为约22±2°C的水, 并且逃生平台根据实验目的安装在水面以上1cm处或水面以下0.5cm至1.5cm处。当放置在水面以下时, 水被用白色水基涂料变得不透明, 以便逃生平台是肉眼不可见的。水迷宫分为四个象限: 东北 (NE)、西北 (NW)、东南 (SE) 和西南 (SW)。逃生平台被放置在东北象限的中央, 并且剩余象限之一被用作起始位置。实验执行六天, 并且动物的起始象限和逃生平台的位置如下表10中所规定。

[0327] [表10]

[0328]

	第 1 天		第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天
	逃生平台位置	起始方向	逃生平台的位置: SW, 起始位置: 如下				无逃生平台
试验 1	SW	南	西	北	北	东	北
试验 2	NW	北	南	西	东	南	
试验 3	NE	南	北	东	西	西	
试验 4	中心	东	东	西	南	东	
试验 5	SE	西	南	南	北	北	
需注意, 在第 1 天, 改变逃生平台的位置和起始方向两者, 而在第 2 天至第 5 天, 逃生平台的位置保持恒定, 而起始方向改变。在第 6 天, 没有逃生平台, 并且执行试验一次。第 6 天的起始方向是距离逃生平台的先前位置最远的方向 (SW), 需要行进一定的距离才能进入之前学习过的逃生平台象限。							

[0329] 在第1天,通过使逃生平台可见来执行提示学习。每只动物以15秒间隔进行五次试验,时间限制为60秒。如果动物在60秒内找到逃生平台,则让它们在逃生平台上停留5秒钟,然后立即运送到饲养笼。如果动物在60秒内没有找到逃生平台,则将它们放置在逃生平台上20秒,然后立即运送到饲养笼。

[0330] 从第2天到第5天,执行隐藏平台试验以训练动物记住逃生平台的位置,所述试验通过将逃生平台放置在水面以下来隐藏逃生平台。每只动物以15秒的间隔进行五次试验。时间限制设置为60秒,并且如果动物在60秒内找到逃生平台,则让它们在逃生平台上停留5秒钟,然后立即运送到饲养笼。如果动物在60秒内没有找到逃生平台,则将它们放置在逃生平台上20秒,然后立即运送到饲养笼。

[0331] 在第6天,执行前瞻性随机开放盲终点(探测)试验。在不放置逃生平台的情况下,在第2天至第5天的试验期间将动物放置在距离平台放置位置最远的象限中,并且执行时间限制为60秒的单次试验。在提示学习和隐藏平台试验中,测量并记录逃生等待时间,所述逃生等待时间是实验动物找到平台所耗费的时间;以及找到平台所耗费的路径长度。游泳速度是通过将路径长度除以逃生等待时间来计算的。在第6天的探测试验期间,记录动物在平台先前所位于的象限中所耗费的时间。

[0332] 先前描述的Morris水迷宫测试被记录在视频中,如图14所示。如图14和图15所示,实验结果证实,退行性脑病小鼠模型(G2;5XFAD+模拟品)在平台象限中耗费的时间(TSPQ)与正常小鼠(G1;野生型)相比有所减少,而在施用CB201的组(G3;5XFAD+CB201)中,TSPQ恢复至正常小鼠(G1;野生型)的水平107%。这些结果证实,向疾病模型小鼠施用CB201可以恢复退行性脑病模型小鼠的认知和记忆能力。

[0333] 实施例15.统计分析

[0334] 假设测试结果的数据具有正态性,则使用单因素方差分析(one-way ANOVA)对测试结果进行检查。如果结果是显著的,则使用Dunnett多重比较检验执行事后检验,以分析各测试组之间的显著差异。使用Prism 7.04(GraphPad Software Inc.,San Diego,CA,

USA)) 执行统计分析, 并且p值小于0.05被认为是统计学上显著的。

[0335] 通过以上描述, 本领域的普通技术人员将能够认识到, 本发明可以在不改变其技术思想或本质特性的情况下以其他具体实施方式来实施。关于上述内容, 上述实施方式在所有方面仅应被视为说明性的而非限制性的。本发明的范围应当被理解为包括来源于下述权利要求及其等同概念的含义和范围而不是上述详细描述的所有变化或修改。

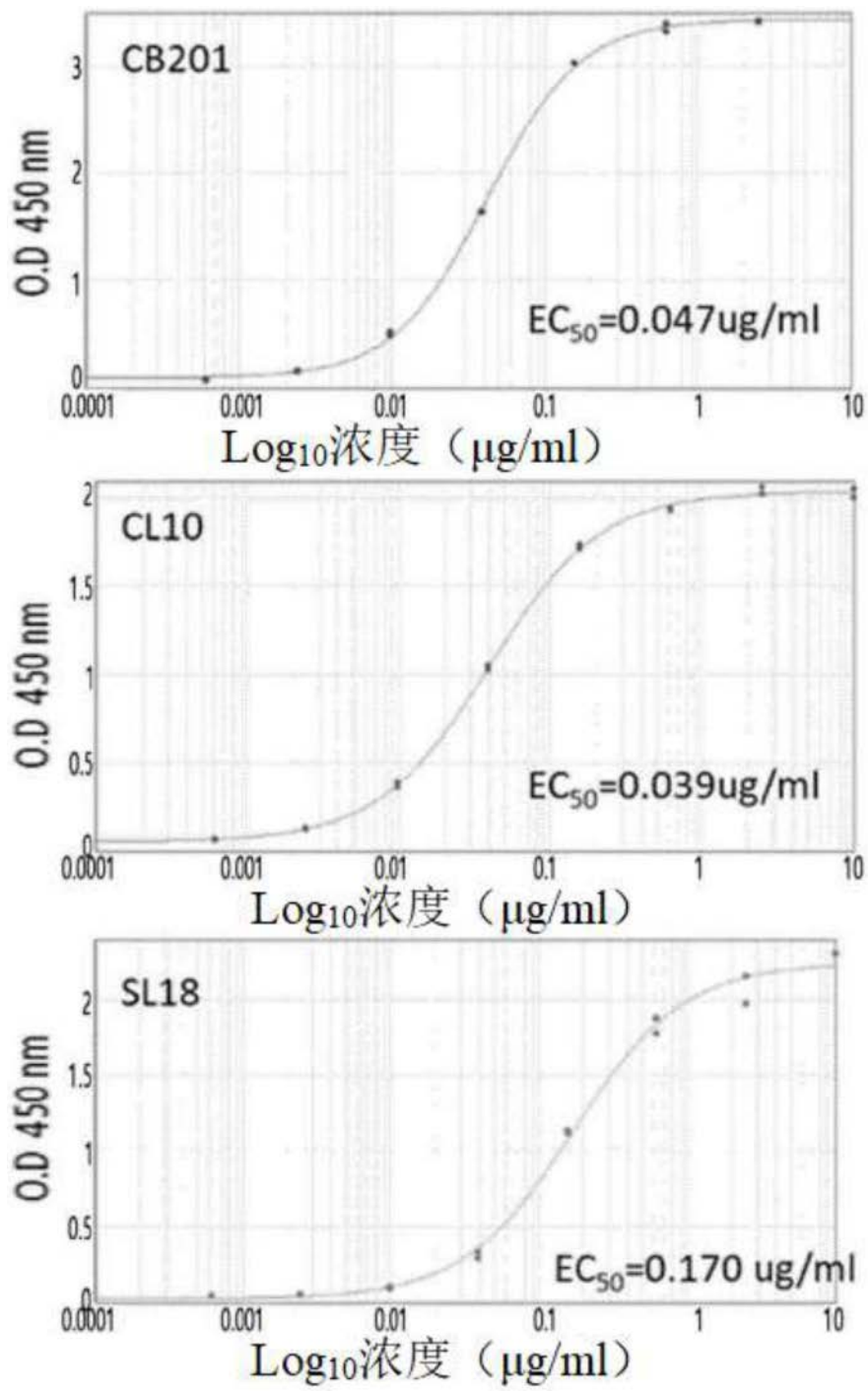


图1

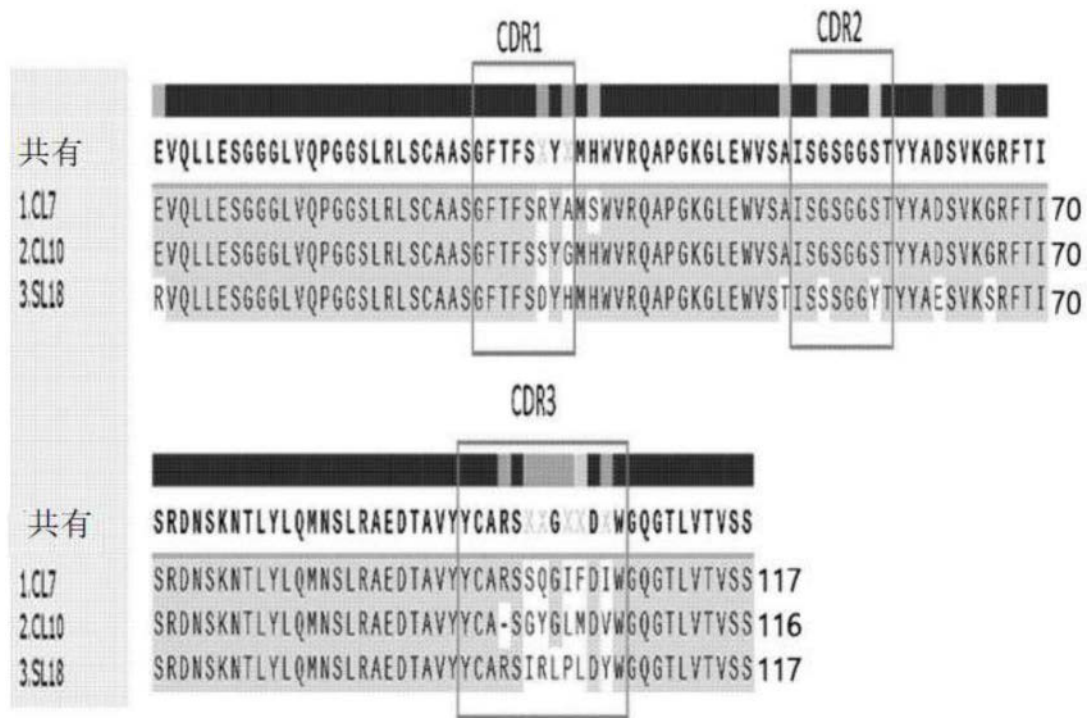


图2

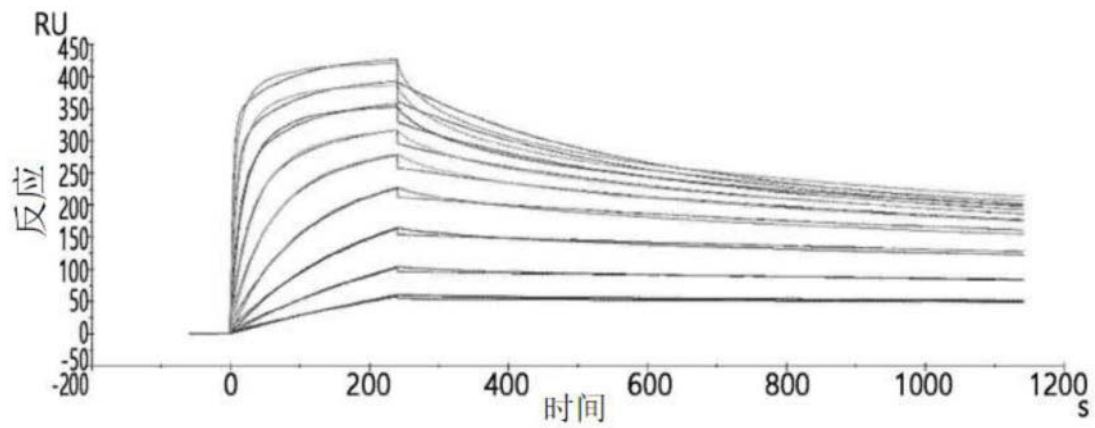


图3

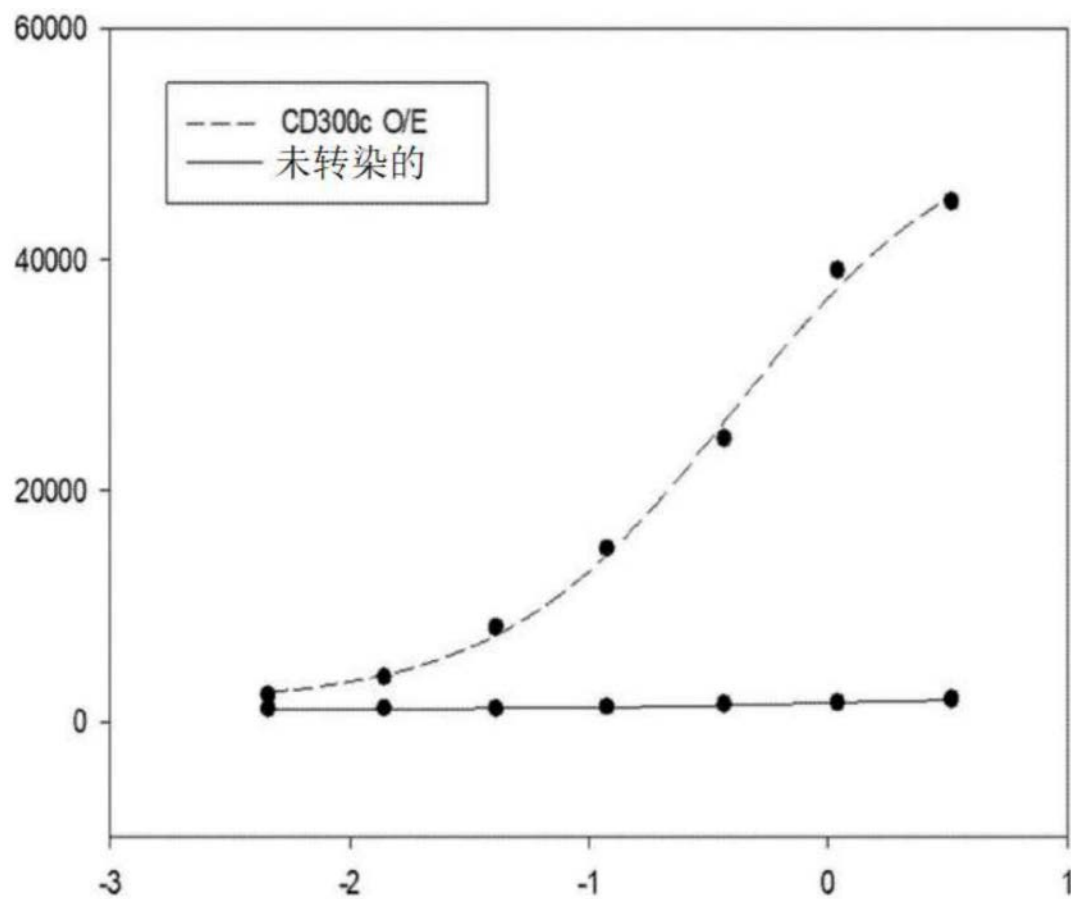


图4

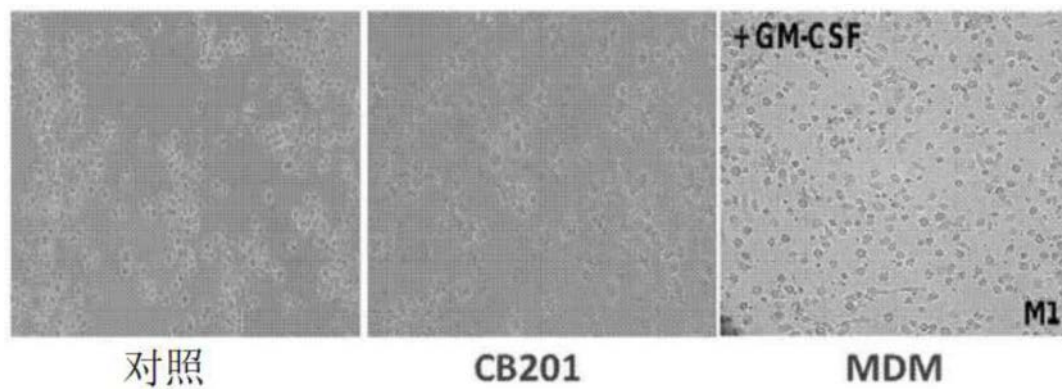


图5

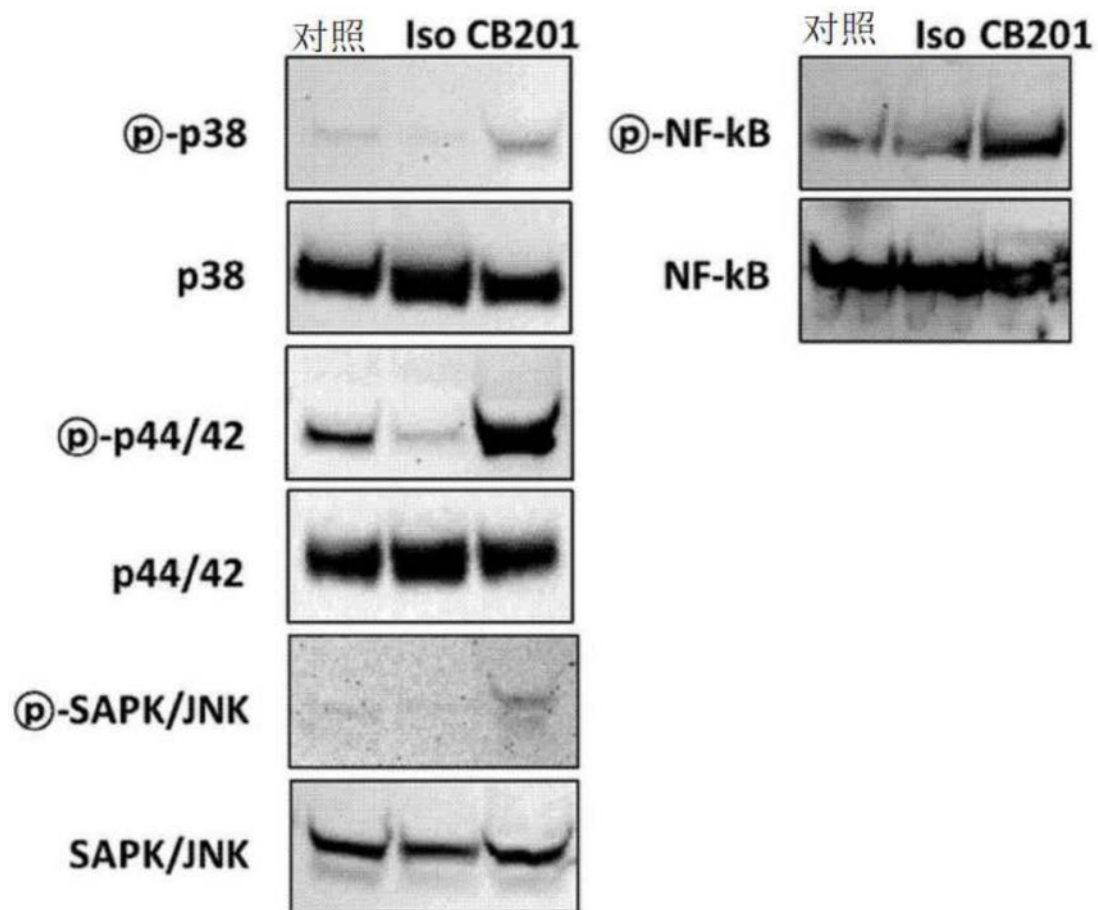


图6

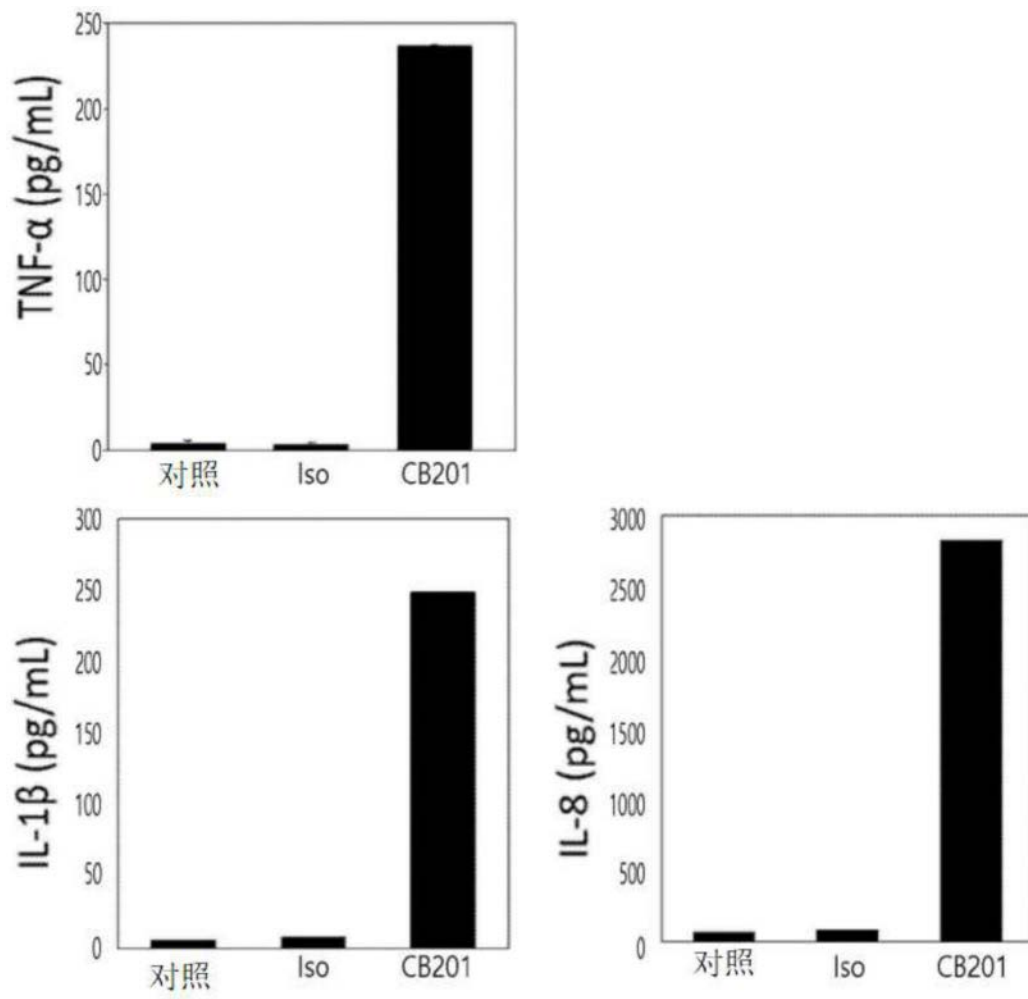


图7

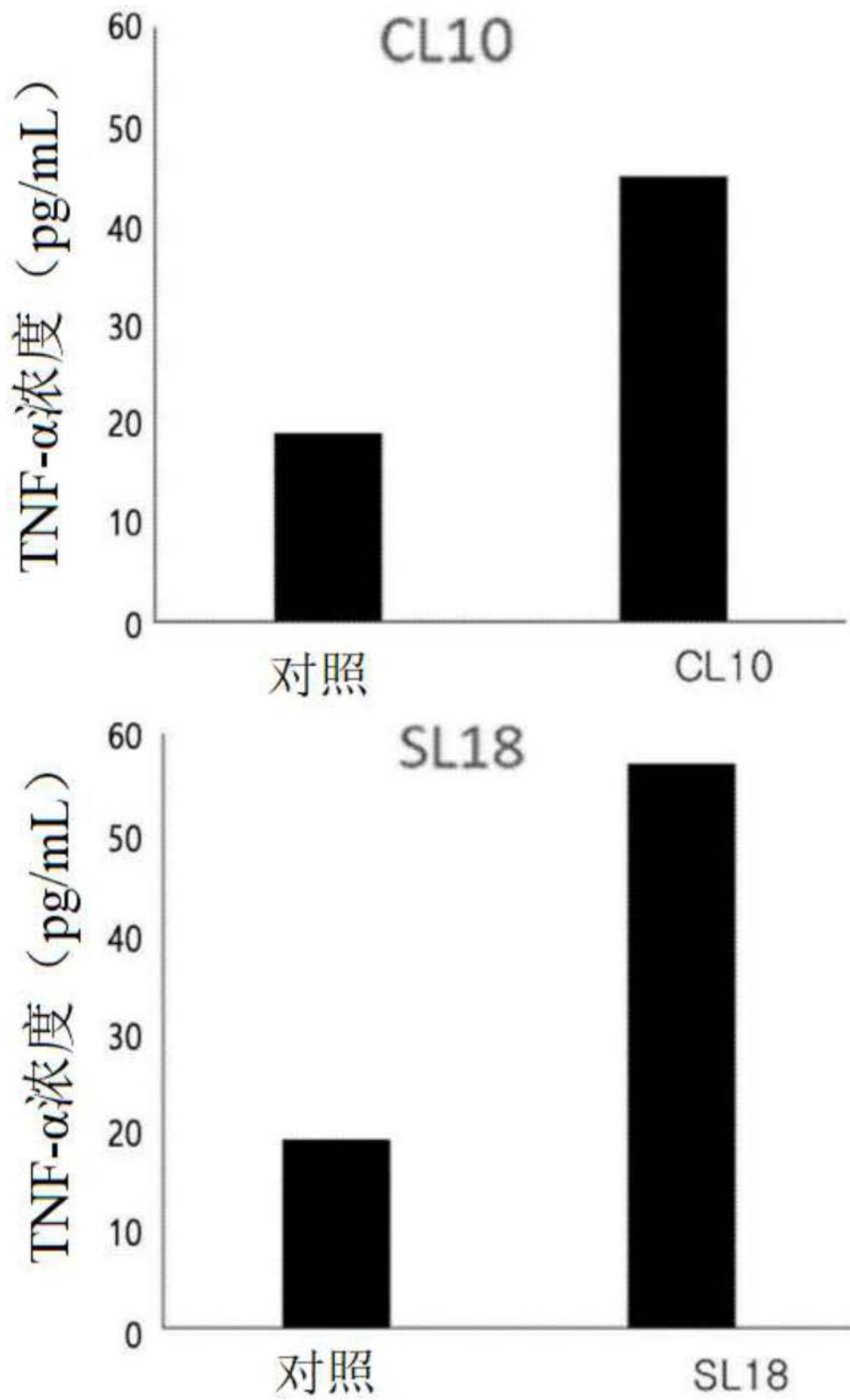


图8

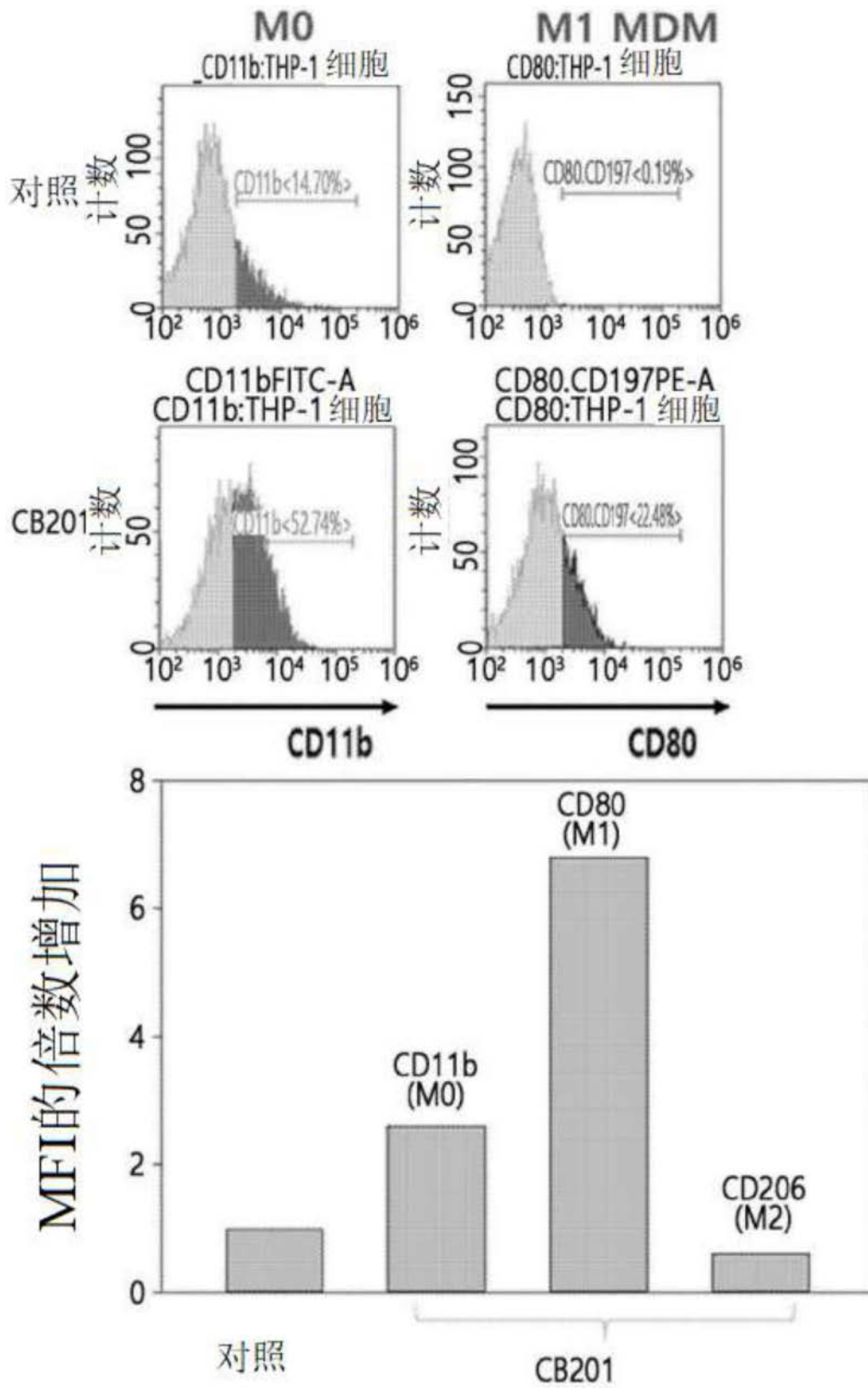


图9

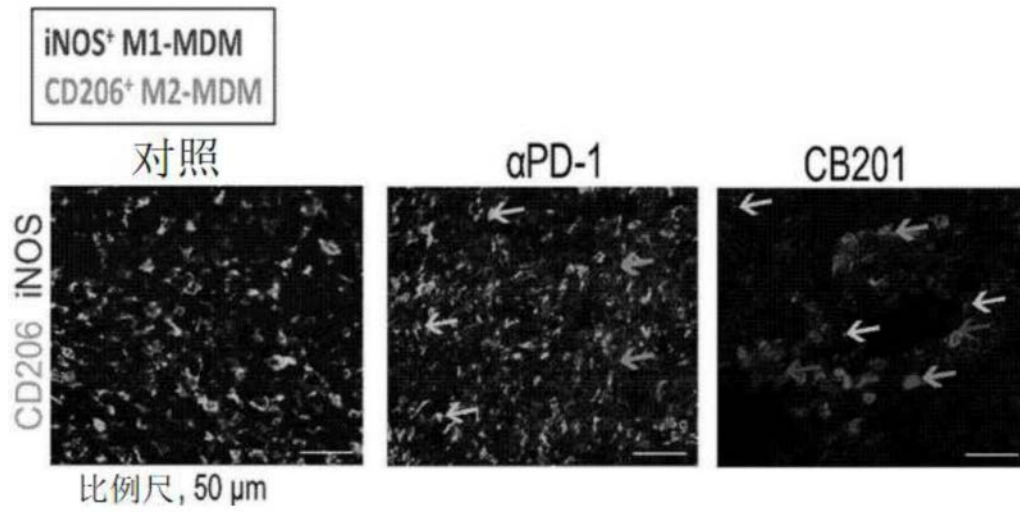


图10

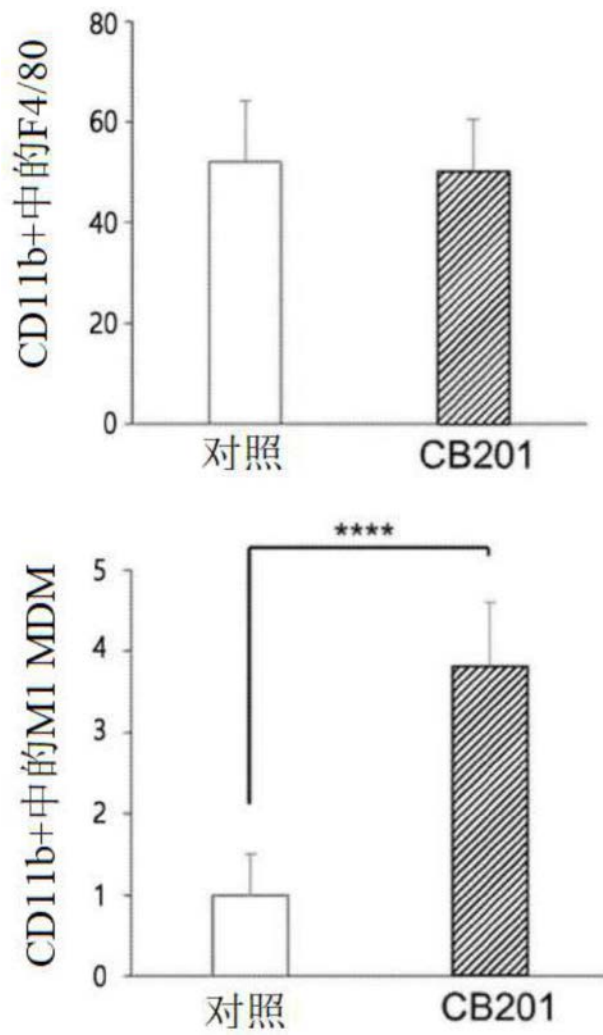


图11

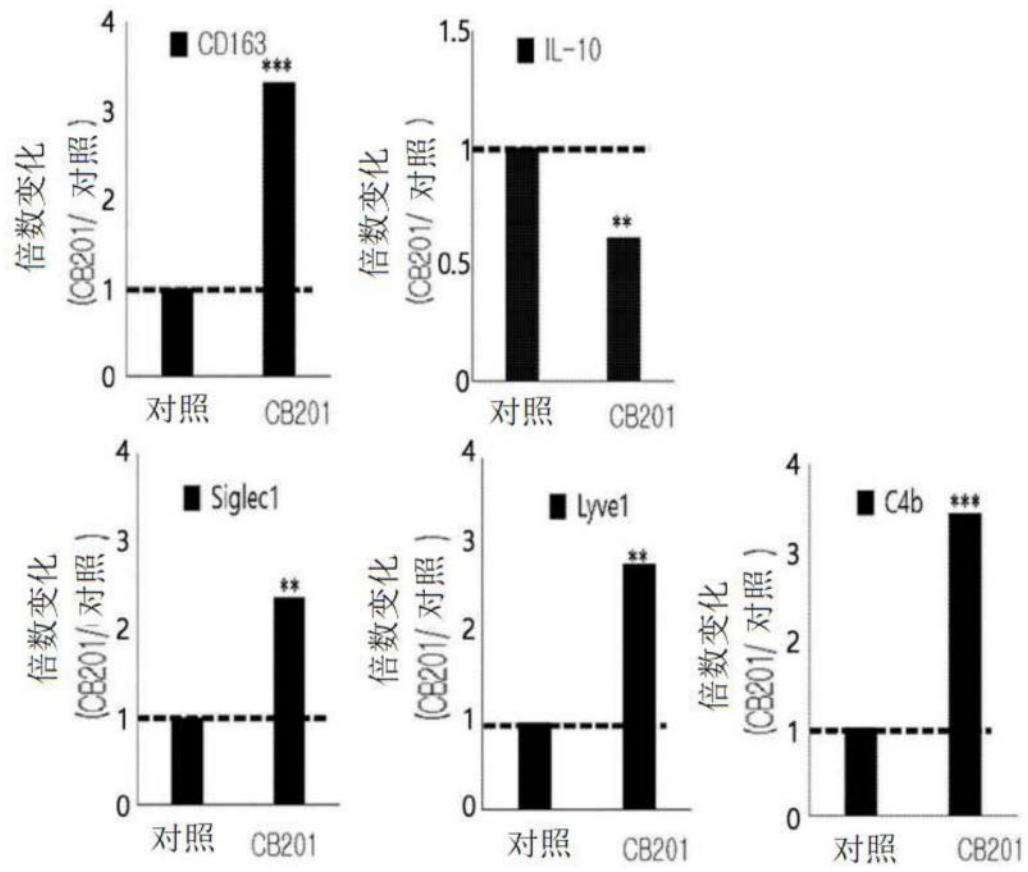


图12

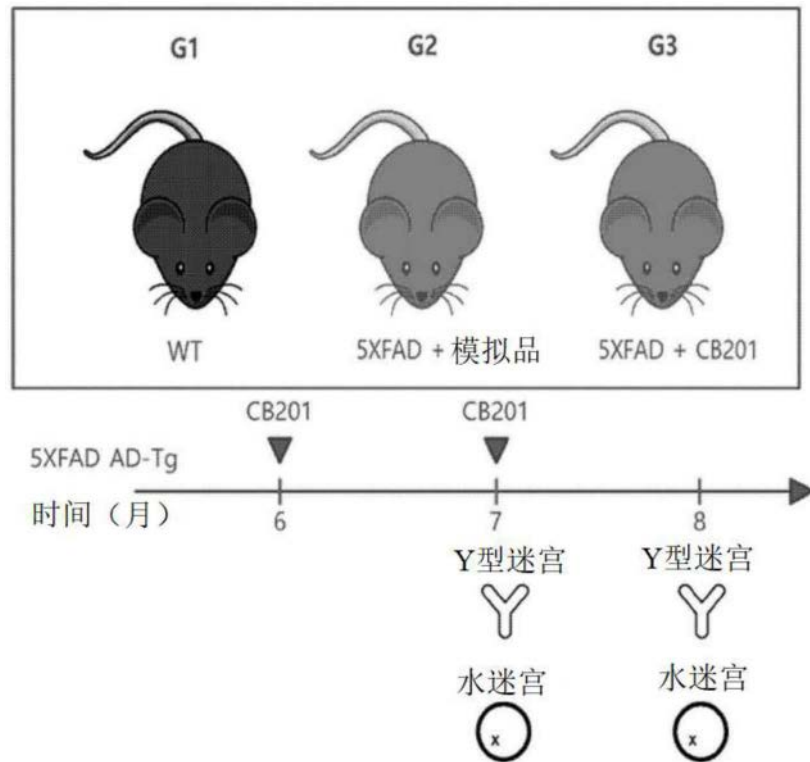


图13

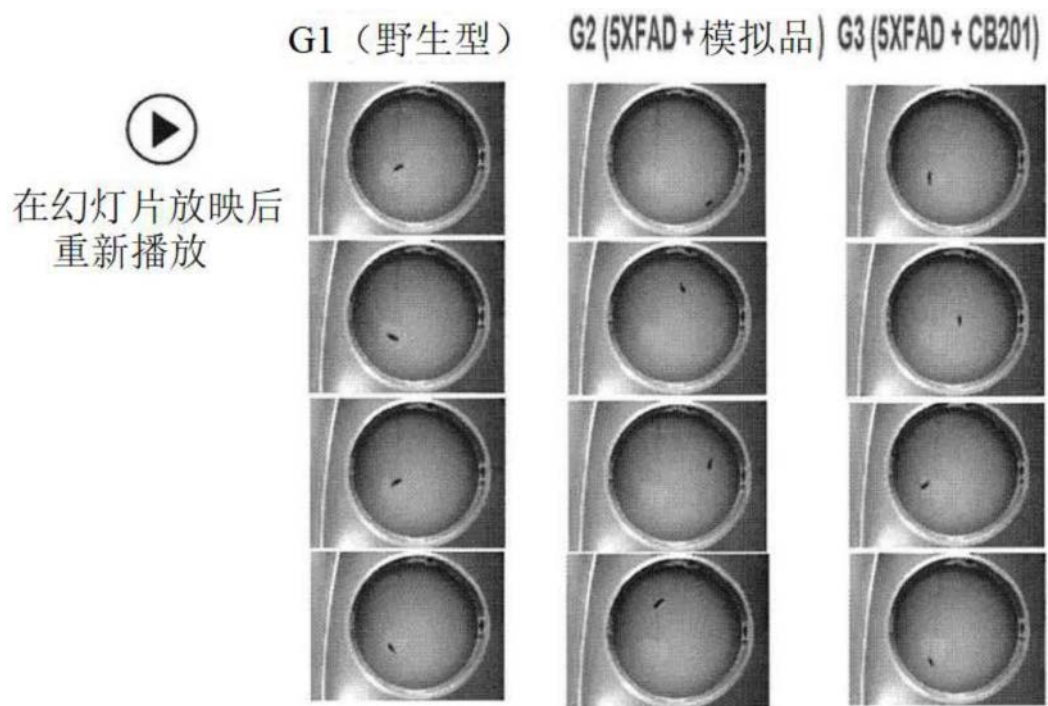


图14

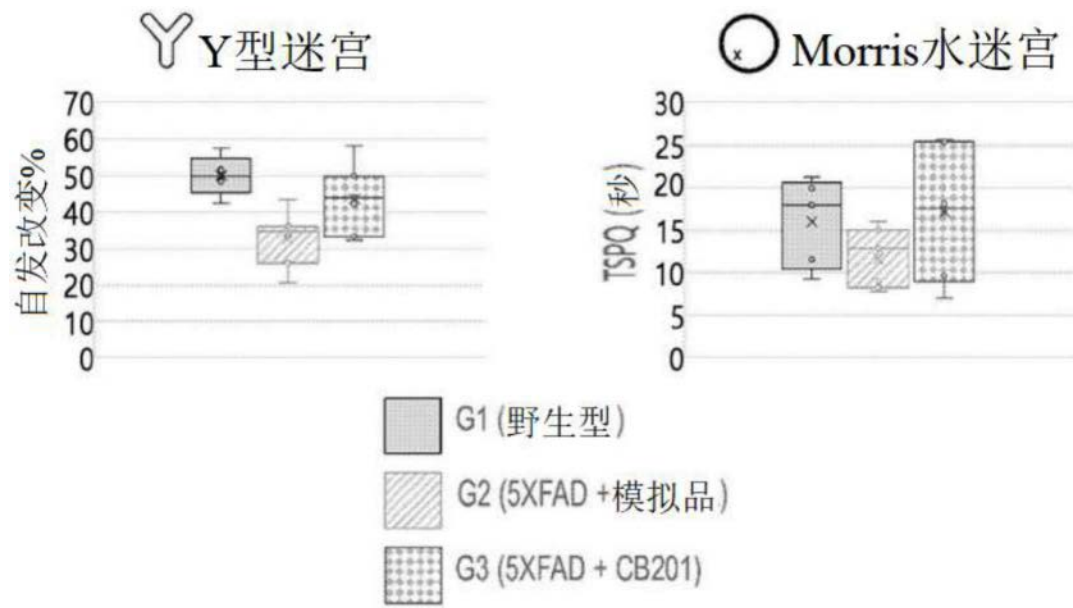


图15