202306993

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202306993 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 02 月 16 日

(21)申請案號：111117846 (22)申請日： 中華民國 111 (2022) 年 05 月 12 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/28 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)*
*C12N15/13 (2006.01)* *C12N15/63 (2006.01)*
*C12N15/64 (2006.01)* *A61P25/00 (2006.01)*

(30)優先權：2021/05/14 美國 63/188,800

(71)申請人：美商建南德克公司 (美國) GENENTECH, INC. (US)
美國

(72)發明人：艾契佛利亞 拉拉薩 艾諾 ECHEVERRIA LARRAZA, AINHOA (ES)；漢森 大衛 凡爾納 HANSEN, DAVID VERNE (US)；赫尼爾 伊西得洛 HOTZEL, ISIDRO (US)；蕭怡君 HSIAO, YI-CHUN (TW)；林 中花 LIN, ZHONGHUA (US)；西夏沙雅 黛雅 SESHASAYEE, DHAYA (US)；支 秉正 CHIH, BENNY (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：82 項 圖式數：27 共 340 頁

(54)名稱

ＴＲＥＭ２之促效劑

(57)摘要

本申請案尤其揭示特異性地結合至人類 TREM2 (表現在第二型髓系細胞上之觸發受體) 的某些抗體。在一些實施例中，該等抗體作為 TREM2 促效劑。在一些實施例中，本文的抗體特異性地結合至完整之人類 TREM2 的莖區，而不與可溶性 TREM2 結合，該可溶性 TREM2 為殘基 H157 與 S158 之間的 TREM2 切割的產物。在一些實施例中，該等抗體作為 TREM2 促效劑，該等抗體特異性地結合至 TREM2 的莖區，解離常數範圍為 10 nM 至低至 100-500 pM、10-50 pM 或 1-10 pM，特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位，且不與可溶性 TREM2 結合。在一些實施例中，本文之抗體亦在人類小神經膠質細胞模型中及活體內小鼠模型中抑制可溶性 TREM2 的脫落，降低血漿、CSF 及/或腦中可溶性 TREM2 之量，增強人類小神經膠質細胞的存活，及增加人類小神經膠質細胞模型中的 Aβ 斑塊形成及壓密 (例如，如藉由人類小神經膠質細胞中增加之 Aβ 斑塊強度及/或增加之 X04 斑塊強度所測量)，並且因此可提供許多神經保護活性。

This application discloses, inter alia, certain antibodies that specifically bind to human TREM2 (triggering receptor expressed on myeloid cells 2). In some embodiments, the antibodies act as TREM2 agonists. In some embodiments, antibodies herein specifically bind to the stalk region of intact, human TREM2, without binding to soluble TREM2, which is the product of TREM2 cleavage between residues H157 and S158. In some embodiments, the antibodies act as TREM2 agonists, specifically bind to the stalk region of TREM2 with dissociation constants ranging from 10 nM to as low as 100-500 pM, 10-50pM, or 1-10 pM, specifically bind to a TREM2 epitope spanning the H157-S158 cleavage site, and do not bind to soluble TREM2. In some embodiments, antibodies herein also inhibit shedding of soluble TREM2 in a human microglia cell model and in vivo in a mouse model, decrease levels of soluble TREM2 in plasma, CSF and/or the brain, enhance survival of human microglia cells, and increase Aβ plaque formation and

compaction in a human microglia model (for example, as measured by increased Aβ plaque intensity and/or increased X04 plaque intensity in human microglia), and thus, may provide a number of neuroprotective activities.

指定代表圖：

| 活動 | 物種 | 免疫原及方法 | 動物融合 | 人類 TREM2 ELISA 陽性 | 人類 TREM2 FACS 陽性 | 獨特殖株 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | SD 大鼠 | 人類 TREM2 pDNA 基因槍 | 3 | 88 | 71 | 15 |
| 3 | SD 大鼠 | 人類 TREM2 ECD 蛋白 | 3 | 900 | 346 | 174 |
| 5 | SD 大鼠 | 人類 TREM2 EV | 2 | 366 | 270 | 5 |
| 6 | TREM2 KO 小鼠 | 人類 TREM2 ECD TREM2 | 5 | 18 | 18 | 5 |
| 8 | TREM2 KO 小鼠 | 人類 TREM2 pDNA HTV | 6 | 278 | 242 | 30 |

*圖 1*

# 【發明摘要】

【中文發明名稱】　TREM2 之促效劑

【英文發明名稱】　AGONISTS OF TREM2

【中文】本申請案尤其揭示特異性地結合至人類 TREM2 (表現在第二型髓系細胞上之觸發受體) 的某些抗體。在一些實施例中，該等抗體作為 TREM2 促效劑。在一些實施例中，本文的抗體特異性地結合至完整之人類 TREM2 的莖區，而不與可溶性 TREM2 結合，該可溶性 TREM2 為殘基 H157 與 S158 之間的 TREM2 切割的產物。在一些實施例中，該等抗體作為 TREM2 促效劑，該等抗體特異性地結合至 TREM2 的莖區，解離常數範圍為 10 nM 至低至 100-500 pM、10-50 pM 或 1-10 pM，特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位，且不與可溶性 TREM2 結合。在一些實施例中，本文之抗體亦在人類小神經膠質細胞模型中及活體內小鼠模型中抑制可溶性 TREM2 的脫落，降低血漿、CSF 及/或腦中可溶性 TREM2 之量，增強人類小神經膠質細胞的存活，及增加人類小神經膠質細胞模型中的 Aβ 斑塊形成及壓密 (例如，如藉由人類小神經膠質細胞中增加之 Aβ 斑塊強度及/或增加之 X04 斑塊強度所測量)，並且因此可提供許多神經保護活性。

【英文】This application discloses, inter alia, certain antibodies that specifically bind to human TREM2 (triggering receptor expressed on myeloid cells 2). In some embodiments, the antibodies act as TREM2 agonists. In some embodiments, antibodies herein specifically bind to the stalk region of intact, human TREM2,

without binding to soluble TREM2, which is the product of TREM2 cleavage between residues H157 and S158. In some embodiments, the antibodies act as TREM2 agonists, specifically bind to the stalk region of TREM2 with dissociation constants ranging from 10 nM to as low as 100-500 pM, 10-50pM, or 1-10 pM, specifically bind to a TREM2 epitope spanning the H157-S158 cleavage site, and do not bind to soluble TREM2. In some embodiments, antibodies herein also inhibit shedding of soluble TREM2 in a human microglia cell model and in vivo in a mouse model, decrease levels of soluble TREM2 in plasma, CSF and/or the brain, enhance survival of human microglia cells, and increase Aβ plaque formation and compaction in a human microglia model (for example, as measured by increased Aβ plaque intensity and/or increased X04 plaque intensity in human microglia), and thus, may provide a number of neuroprotective activities.

【指定代表圖】

圖 1

# 【發明說明書】

【中文發明名稱】　TREM2 之促效劑

【英文發明名稱】　AGONISTS OF TREM2

【技術領域】

【0001】該申請案*尤其*揭示特異性地結合至 TREM2 的某些抗體。在一些實施例中，該等抗體作為 TREM2 促效劑。

【先前技術】

【0002】TREM2 (表現在第二型髓系細胞上之觸發受體) 為一種活化性免疫細胞受體，於腦內在小神經膠質細胞內表現 (Hickman et al., *Nat. Neurosci.* 16(12): 1896-1905 (2013); Zhang et al., *Neuron* 89: 37-53 (2016); Deczkowska 等人，*Cell* 181:1207-1217 (2020)；Hansen 等人，*J. Cell Biology* 217(2): 459-472 (2018)；Yeh 等人，*Trends Mol. Med.* 23:512-533 (2017))。某些 TREM2 突變已被鑑定為阿滋海默症 (AD) 之風險因素 (Guerreiro et al., *N. Engl. J. Med.* 368: 117-27 (2013); Jonsson et al., *N. Engl. J. Med.*368: 107-116 (2013))。亦在小鼠模型中進行研究，以了解 TREM2 如何影響 AD 病理，諸如 β-澱粉樣蛋白 (Aβ) 斑塊及 tau 蛋白的磷酸化聚集體之發展。一個新顯現之共識為，當 TREM2 功能受損時，Aβ 斑塊的壓密形態較少，並且對周圍神經元突的破壞更大 (Meilandt et al., *J Neurosci.* 40:1872-19 (2020); Wang et al., *J. Exp. Medicine* 213:667-675 (2016); Yuan et al., *Neuron* 90:724-739 (2016))。

【0003】 已發現 Aβ 聚集體直接與結合至重組 TREM2 細胞外域，儘管其他研究表明某些磷脂為 TREM2 之相關配體。當 APOE 或 APOJ 經脂質化時，TREM2 亦結合至它們並促進含有 APOE/APOJ 之脂質顆粒的攝取。(Yeh 等人，*Neuron* 91: 328-340 (2016)。)此外，當 Aβ 寡聚物結合至 APOE/APOJ 脂質顆粒時，小神經膠質細胞對 Aβ 的攝取及降解加速，該過程部分地由 TREM2 媒介。連接後，TREM2 引發 DAP12/Fyn/Syk 傳訊級聯反應，影響許多小神經膠質細胞過程，包括吞噬作用、胞吞作用、趨化作用、CSF-1 媒介之存活、聚集體降解及代謝變化。因此，TREM2 似乎為因應澱粉樣蛋白及脂質的小神經膠質細胞活性之核心。

【發明內容】

【0004】 本揭示涉及特異性地結合至 TREM2 並用作 TREM2 促效劑的抗體，該等抗體可能具有一組特別獨特的特徵，可用於治療神經退化性疾病，諸如阿滋海默症 (AD) 及多發性硬化症 (MS)。

【0005】 TREM2 蛋白為一種細胞跨膜蛋白，它在稱為莖區的細胞外區內被切割，產生可溶性肽，稱為「可溶性 TREM2」或「sTREM2」。TREM2 在*活體內*的切割被認為發生在殘基 H157 與 S158 之間，從而產生 sTREM2。本揭示描述具有特異性地結合至不溶性完整 TREM2 中之莖區而不與切割產物 sTREM2 結合的獨特特性的抗體。例如，本文之某些抗體不僅用作 TREM2 促效劑，而且特異性地結合至 TREM2 之莖域，解離常數範圍為 10 nM 至低至 100-500 pM、10-50 pM 或 1-10 pM，並且特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位。此等抗體特異性地結合至 TREM2 莖區，而不與可溶性 TREM2 結合。

【0006】此等抗體對未經切割之 TREM2 的特異性可能在*活體內*有幾種潛在益處，包括在*活體內*給藥及/或阻斷切割位點後避免抗體與周邊及大腦中之可溶性 TREM2 的不希望之結合，並降低從細胞表面脫落的 sTREM2 之量。可溶性 TREM2 結合的缺少在*活體內*可能有益，例如，藉由允許更多經給藥之抗 TREM2 抗體到達細胞表面上未經切割之 TREM2 的所欲標靶。作為示例而非限制，這種獨特的結合譜可以防止抗體在*活體內*不希望地結合至可溶性 TREM2，並確保抗體更特異性地靶向中樞神經系統內細胞表面上的 TREM2 而不是周邊之 sTREM2。

【0007】因此，本揭示涵蓋某些抗體，該等抗體：(a) 特異性地結合至 TREM2 莖域，且更特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位，並且 (b) 不與可溶性 TREM2 結合，因此可能不存在*活體內*可溶性 TREM2 結合的風險。在一些實施例中，本揭示之抗體亦 (c) 作為 TREM2 促效劑，例如，藉由在經培養之細胞中誘導 NFAT 控制之基因表現及/或 Syk 激酶磷酸化，及 (d) 對 TREM2 表現出非常高的親和力，例如，以例如 100-500 pM、10-50 pM 或 1-10 pM 的解離常數特異性地結合至 TREM2。在一些實施例中，本文之抗體亦在人類小神經膠質細胞模型中及*活體內*小鼠模型中抑制可溶性 TREM2 的脫落，降低血漿、CSF 及/或腦中可溶性 TREM2 之量，增強人類小神經膠質細胞的存活，及增加人類小神經膠質細胞模型中的 Aβ 斑塊形成及壓密 (例如，如藉由人類小神經膠質細胞中增加之 Aβ 斑塊強度及/或增加之 X04 斑塊強度所測量)，並且因此可提供許多神經保護活性。本揭示*尤其*涵蓋一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含重鏈可變區 (VH)，該重鏈可變區 (VH) 包含：包含 SEQ ID NO: 1、9、11、19 或 62 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 2、10、12、20、55、63、65 或 73 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含如下胺基

酸序列的 CDR-H3：$X_1$-$X_2$-$X_3$-Y，其中 $X_1$ 及 $X_2$ 一起為 I-L 或 L，且其中 $X_3$ 為 D 或 E。

【0008】本揭示亦涵蓋，例如，一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含重鏈可變區 (VH)，該重鏈可變區 (VH) 包含：包含 SEQ ID NO: 1、9、11、19 或 62 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 2、10、12、20、55、63、65 或 73 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含如下胺基酸序列的 CDR-H3：$X_1$-$X_2$-$X_3$-Y，其中 $X_1$ 及 $X_2$ 一起為 I-L 或 L，且其中 $X_3$ 為 D 或 E；及輕鏈可變區 (VL)，該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 4、27、37、47、57 或 67 之胺基酸序列的 CDR-L1；包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2；及包含 SEQ ID NO: 6、29、39、49、59 或 69 之胺基酸序列的 CDR-L3。本揭示進一步涵蓋，例如，一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含重鏈可變區 (VH)，該重鏈可變區 (VH) 包含：包含 SEQ ID NO: 1、9、11 或 19 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 2、10、12 或 20 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含如下胺基酸序列的 CDR-H3：$X_1$-$X_2$-$X_3$-Y，其中 $X_1$ 及 $X_2$ 一起為 I-L 或 L，且其中 $X_3$ 為 D 或 E；及輕鏈可變區 (VL)，該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1；包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2；及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3。

【0009】在本文的一些實施例中，該抗體具有以下特性中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、六種或更多種、或全部：

(a) 特異性地結合至 TREM2 的莖域（stalk domain）；

(b) 不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合；

(c) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽；

(d) 特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位；

(e) 相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽顯示降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)；

(f) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 1 nM、小於 0.7 nM、小於 0.6 nM、小於 0.5 nM、小於 0.4 nM、小於 0.3 nM 之 KD 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2；及

(g) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。

【0010】 此外，在一些實施例中，該抗體具有源自大鼠 IGHV6-8 種系片段的 VH 序列及/或其中抗體具有源自大鼠 IGKV2S11 種系片段的 VL 序列。在一些實施例中，該輕鏈可變區 (VL) 包含：包含 SEQ ID NO: 4、27 或 67 之胺基酸序列的 CDR-L1；包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2；及包含 SEQ ID NO: 6、29 或 69 之胺基酸序列的 CDR-L3。在一些實施例中，該輕鏈可變區 (VL) 包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1；包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2；及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3。在一些實施例中，該重鏈可變區 (VH) 包含：包含 SEQ ID NO: 1 或 9 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 2 或 10 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的 CDR-H3；並且其中該輕鏈可變區 (VL) 包含：

包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3；或者該重鏈可變區 (VH) 包含：包含 SEQ ID NO: 11 或 19 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 12 或 20 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 CDR-H3；並且誃中該輕鏈可變區 (VL) 包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3。在一些實施例中，該抗體包含與 SEQ ID NO: 7、17、30、40、50、60、70、76、77、78、81、82、83、133、135、137、139、146、148、150 或 152 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH。在一些實施例中，該抗體包含與 SEQ ID NO: 7、17、133、135、137、139、146、148、150 或 152 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH。在一些實施例中，該抗體包含與 SEQ ID NO: 8、18、31、41、51、61、71、79、80、84、85、132、134、136、138、145、147、149 或 151 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL。在一些實施例中，該抗體包含與 SEQ ID NO: 8、18、132、134、136、138、145、147、149 或 151 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL。在一些實施例中，該抗體包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 7、17、133、135、137、139、146、148、150 或 152 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 8、18、132、134、136、138、145、147、149 或 151 之胺基酸序列。

【0011】 本揭示*尤其*亦涵蓋一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含：

(a) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列

的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(b) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(c) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(d) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(e) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序

列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(f) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 39 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(g) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(h) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 54 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 55 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含 SEQ ID NO: 56 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列的 CDR-L3；或

(i) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 64 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 65 之胺基酸序

列的 CDR-H2；及包含 SEQ ID NO: 66 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 67 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 68 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的 CDR-L3。

【0012】在一些實施例中，該抗體

包含上述部分 (a) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH；

包含上述部分 (b) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH；

包含上述部分 (c) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH；

包含上述部分 (d) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH；

包含上述部分 (e) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH；

包含上述部分 (f) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH；

包含上述部分 (g) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH；

包含上述部分 (h) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH；或者

包含上述部分 (i) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 70 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH。

【0013】在一些實施例中，該抗體

包含上述部分 (a) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL；

包含上述部分 (b) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL；

包含上述部分 (c) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL；

包含上述部分 (d) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL；

包含上述部分 (e) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 31 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL；

包含上述部分 (f) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL；

包含上述部分 (g) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL；

包含上述部分 (h) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL；或者

包含上述部分 (i) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL。

【0014】在一些情況下，該抗體

包含上述部分 (a) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列；

包含上述部分 (b) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列；

包含上述部分 (c) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；

包含上述部分 (d) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；

包含上述部分 (e) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列；

包含上述部分 (f) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列；

包含上述部分 (g) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列；

包含上述部分 (h) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列；或者

包含上述部分 (i) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 70 之胺基酸序列。

【0015】 在一些情況下，該抗體

包含上述部分 (a) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列；

包含上述部分 (b) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列；

包含上述部分 (c) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；

包含上述部分 (d) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；

包含上述部分 (e) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 31 之胺基酸序列；

包含上述部分 (f) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；

包含上述部分 (g) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列；

包含上述部分 (h) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列；或者

包含上述部分 (i) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列。

【0016】 在一些情況下，該抗體包含：VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列；及 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列。在一些情況下，該抗體包含：VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；及 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列。在一些情況下，該抗體包含 VL，相較於人類 IGKV2-28*01 種系，該 VL 在框架區中包含 1 至 5 個胺基酸取代，視情況其中該等胺基酸取代包含 Q100P 及/或 V104L。在一些情況下，該抗體：

包含上述部分 (a) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 145 之胺基酸序列；

包含上述部分 (b) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 145 之胺基酸序列；

包含上述部分 (a) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 147 之胺基酸序列；

包含上述部分 (b) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 147 之胺基酸序列；

包含上述部分 (a) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 149 之胺基酸序列；

包含上述部分 (b) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 149 之胺基酸序列；

包含上述部分 (a) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 151 之胺基酸序列；

包含上述部分 (b) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 151 之胺基酸序列；

包含上述部分 (c) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 132 之胺基酸序列；

包含上述部分 (d) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 132 之胺基酸序列；

包含上述部分 (c) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 134 之胺基酸序列；

包含上述部分 (d) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 134 之胺基酸序列；

包含上述部分 (c) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 136 之胺基酸序列；

包含上述部分 (d) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 136 之胺基酸序列；

包含上述部分 (c) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 138 之胺基酸序列；或者

包含上述部分 (d) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 138 之胺基酸序列。

【0017】在一些實施例中，本文之抗體具有以下特性中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、六種或更多種、或全部：

(a) 特異性地結合至 TREM2 的莖域；

(b) 不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合；

(c) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽；

(d) 特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位；

(e) 相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽顯示降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)；

(f) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 1 nM、小於 0.7 nM、小於 0.6 nM、小於 0.5 nM、小於 0.4 nM、或小於 0.3 nM、或 100-500 pM 或 100-200 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2；及

(g) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM、或小於 2 pM、或 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。

【0018】本申請案亦涵蓋，例如，一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含：

VH，其包含 SEQ ID NO: 146 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 145 之胺基酸序列；

VH，其包含 SEQ ID NO: 148 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 147 之胺基酸序列；

VH，其包含 SEQ ID NO: 150 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 149 之胺基酸序列；或

VH，其包含 SEQ ID NO: 152 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 151 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體具有以下特性中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、或全部：

(a) 特異性地結合至 TREM2 的莖域；

(b) 不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合；

(c) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽；

(d) 特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位；

(e) 相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽顯示降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)；及

(f) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 1 nM、小於 0.7 nM、小於 0.6 nM、小於 0.5 nM、小於 0.4 nM、或小於 0.3 nM、或 100-500 pM 或 100-200 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。

【0019】 本申請案進一步涵蓋，例如，一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含：

VH，其包含 SEQ ID NO: 133 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 132 之胺基酸序列；

VH，其包含 SEQ ID NO: 135 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 134 之胺基酸序列；

VH，其包含 SEQ ID NO: 137 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 136 之胺基酸序列；或

VH，其包含 SEQ ID NO: 139 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 138 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體具有以下特性中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、或全部：

(a) 特異性地結合至 TREM2 的莖域；

(b) 不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合；

(c) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽；

(d) 特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位；

(e) 相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽顯示降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)；及

(f) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM、或小於 2 pM、或 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。

【0020】在一些情況下，本文之抗體具有以下特徵中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、六種或更多種、七種或更多種、八種或更多種、或全部：

(a) 在表現人類 TREM2 之 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中誘導螢光素酶報導子活性；

(b) 降低血漿中*活體內* sTREM2 之量；

(c) 在表現人類 TREM2 之 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中抑制 sTREM2 的脫落；

(d) 在人類 MDM 細胞中誘導酪胺酸磷酸化；

(e) 在人類 MDM 細胞中的 SYK 磷酸化；

(f) 在缺乏 IL-34 及 CSF-1 之情形下，增強人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞的存活；

(g) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中抑制 sTREM2 的脫落；

(h) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中誘導 SYK 磷酸化；及

(i) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中存在 Aβ 寡聚物之情形下，增加總 Aβ 斑塊強度及/或平均 X04 斑塊強度 (例如，如本文實例 17 之測定中所述)。在一些實施例中，本文之抗體在脫靶結合測定 (例如，如本文實例 10 中所述) 中亦具有低脫靶結合分數 (例如，< 1 的分數)。

【0021】在一些實施例中，該抗體為抗體片段，諸如 Fv、單鏈 Fv (scFv)、Fab、Fab' 或 $(Fab')_2$。在一些實施例中，該抗體為 IgG 抗體，諸如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 抗體。在一些此類情況下，該抗體包含野生型人類 IgG1 或 IgG4 Fc 區。在一些此類情況下，該抗體包含人類 IgG1 Fc 區，該人類 IgG1 Fc 區包含 (a) N297G 取代，(b) L234A、L235A 及 P329G 取代 (LALAPG 取代)，或 (c) N297G、M428L 及 N434S 取代。在本文的一些實施例中，該抗體

具有降低之效應子功能，或為無效應子，或不與 FcγR 結合。在一些實施例中，該抗體包含人類 IgG1 Fc 區，該人類 IgG1 Fc 區包含 N297G 取代。在本文的一些實施例中，該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列的重鏈，及/或包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列的輕鏈。在一些實施例中，該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成但缺少 SEQ ID NO: 144 之 C 端離胺酸或缺少 SEQ ID NO: 144 之 C 端甘胺酸及離胺酸的重鏈，及/或包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成的輕鏈。在一些實施例中，該抗體包含：由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成的重鏈，及/或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成的輕鏈。在本文的一些實施例中，該抗體包含人類 IgG4 Fc 區，該人類 IgG4 Fc 區包含 S228P 取代或者包含 S228P、M252Y、S254T 及 T256E 取代。在本文的一些實施例中，該抗體為全長抗體。在本文的一些實施例中，該抗體為在重鏈恆定區中缺少 C 端離胺酸的 IgG 抗體。

【0022】 本文之揭示亦涵蓋，例如，一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列所組成的重鏈，及/或包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列所組成的輕鏈。本文之揭示進一步涵蓋一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成的重鏈，及/或包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成的輕鏈。本文之揭示亦涵蓋一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成但缺少 SEQ ID

NO: 144 之 C 端離胺酸或缺少 SEQ ID NO: 144 之 C 端甘胺酸及離胺酸的重鏈，及/或包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成的輕鏈。本揭示亦涵蓋一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含：由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成的重鏈，及/或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成的輕鏈。在一些實施例中，該抗體特異性地結合至 TREM2 莖域且不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合，並且其中該抗體特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位，及/或相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，該抗體係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽。在一些實施例中，該抗體特異性地結合至 TREM2 莖域且不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合，並且其中該抗體為 TREM2 促效劑。在本文的一些實施例中，該抗體具有以下特性中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、六種或更多種、或全部：

(a) 特異性地結合至 TREM2 的莖域；

(b) 不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合；

(c) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽；

(d) 特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位；

(e) 相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽顯示降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)；

(f) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 1 nM、小於 0.7 nM、小於 0.6 nM、小於 0.5 nM、小於 0.4 nM、小於 0.3 nM 之 KD 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2；及

(g) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些實施例中，例如，相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，該抗體對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽顯示降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)；及/或藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM、或小於 2 pM、或 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。並且在一些實施例中，該抗體具有以下特性中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、六種或更多種、七種或更多種、八種或更多種、或全部：

(a) 在表現人類 TREM2 之 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中誘導螢光素酶報導子活性；

(b) 降低血漿中*活體內* sTREM2 之量；

(c) 在表現人類 TREM2 之 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中抑制 sTREM2 的脫落；

(d) 在人類 MDM 細胞中誘導酪胺酸磷酸化；

(e) 在人類 MDM 細胞中的 SYK 磷酸化；

(f) 在缺乏 IL-34 及 CSF-1 之情形下，增強人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞的存活；

(g) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中抑制 sTREM2 的脫落；

(h) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中誘導 SYK 磷酸化；及

(i) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中存在 Aβ 寡聚物之情形下，增加總 Aβ 斑塊強度及/或平均 X04 斑塊強度 (例如，如本文實例 17 之測定中所述)。在一些實施例中，該抗體在脫靶結合測定 (例如，如本文實例 10 中所述) 中亦具有低脫靶結合分數 (例如，< 1 的分數)。

【0023】 本文之揭示亦涵蓋一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，其中該 VH 包含：包含 SEQ ID NO: 11 或 19 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 12 或 20 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 CDR-H3，並且進一步地其中該抗體特異性地結合至 TREM2 莖域並且不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合，其中該抗體為 TREM2 促效劑，並且其中該抗體特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位，及/或相較於與由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，該抗體係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽。在一些實施例中，例如，相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，該抗體對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽顯示降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)；及/或藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM、或小於 2 pM、或 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。並且在

一些實施例中，該抗體具有以下特性中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、六種或更多種、七種或更多種、八種或更多種、或全部：

(a) 在表現人類 TREM2 之 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中誘導螢光素酶報導子活性；

(b) 降低血漿中*活體內* sTREM2 之量；

(c) 在表現人類 TREM2 之 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中抑制 sTREM2 的脫落；

(d) 在人類 MDM 細胞中誘導酪胺酸磷酸化；

(e) 在人類 MDM 細胞中的 SYK 磷酸化；

(f) 在缺乏 IL-34 及 CSF-1 之情形下，增強人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞的存活；

(g) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中抑制 sTREM2 的脫落；

(h) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中誘導 SYK 磷酸化；及

(i) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中存在 Aβ 寡聚物之情形下，增加總 Aβ 斑塊強度及/或平均 X04 斑塊強度 (例如，如本文實例 17 之測定中所述)。在一些實施例中，該抗體在脫靶結合測定 (例如，如本文實例 10 中所述) 中亦具有低脫靶結合分數 (例如，< 1 的分數)。此外，在一些實施例中，該 VH 包含 SEQ ID NO: 17、133、135、137 或 139 之胺基酸序列，或者其中該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成的重鏈。在一些情況下，該抗體包含人類 IgG1 Fc 區，該人類 IgG1 Fc 區包含 (a) N297G 取代，(b) L234A、L235A 及 P329G 取代 (LALAPG 取代)，或 (c) N297G、M428L 及 N434S 取代。在一些情況下，該抗體具有降低之效應子功能，或為無效應子，或不與 FcγR 結合。

【0024】在本文的一些實施例中，該抗體為雙特異性或多特異性抗體，或者與至少一種其他分子共價地或非共價地結合。在一些情況下，該抗體與至少一種其他分子共價地或非共價地結合，其中該至少一種其他分子包含檢測標記及/或藥物。

【0025】本揭示亦包括一種醫藥組成物，該醫藥組成物包含如本文所述之抗體及醫藥上可接受之載劑。本揭示亦涵蓋一種經分離之核酸或者兩種或更多種核酸的集組，其編碼本文所揭示之抗體。本揭示亦包括一種經分離之載體，其包含一種或多種編碼本文抗體之重鏈及輕鏈的核酸。本揭示進一步涵蓋一種經分離之宿主細胞，其包含該核酸或載體。本揭示亦涵蓋一種產生特異性地結合至人類 TREM2 之抗體的方法，其包含在適合於表現該抗體之條件下培養該宿主細胞。在一些情況下，該方法包括自該宿主細胞中回收該抗體。本揭示亦涵蓋藉由該方法產生的抗體。

【0026】本揭示進一步包括一種在有此需要之個體中治療與 TREM2 功能喪失相關之病症的方法，其包含向該個體投予本文之抗體或本文之醫藥組成物。在一些實施例中，本揭示包括一種在有此需要之個體中降低 sTREM2 之量的方法，其包含向該個體投予本文之抗體或本文之醫藥組成物。在一些情況下，該病症為神經發炎或神經退化性疾病，或該個體患有神經發炎或神經退化性疾病。在一些情況下，該神經發炎或神經退化性疾病為阿滋海默症、帕金森病、額顳葉失智症、失智症、多發性硬化症 (MS)、肌肉萎縮性側索硬化症 (ALS)、Nasu-Hakola 病、格林-巴利綜合徵 (Guillain-Barré Syndrome, GBS)、胞溶體貯積症、神經鞘磷脂代謝障礙 (Neimann-Pick C)、黏多糖病 II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病變、神經白塞病 (neuro-Behcet's disease)、視神經脊髓炎 (NMO)、視神經炎、多發性肌炎、皮肌炎、中風、橫貫性脊髓炎、

外傷性腦損傷或脊髓損傷。在一些情況下，該疾病為阿滋海默症。在一些情況下，該疾病為 MS。

【0027】 本揭示亦涵蓋本文之抗體或醫藥組成物，其用於在有此需要之個體中治療與 TREM2 功能喪失相關之病症。在一些實施例中，本文之揭示涵蓋本文之抗體或醫藥組成物，其用於在有此需要之個體中降低 sTREM2 之量。在一些情況下，該病症為神經發炎或神經退化性疾病，或該個體患有神經發炎或神經退化性疾病。在一些情況下，該神經發炎或神經退化性疾病為阿滋海默症、帕金森病、額顳葉失智症、失智症、多發性硬化症 (MS)、肌肉萎縮性側索硬化症 (ALS)、Nasu-Hakola 病、格林-巴利綜合徵 (Guillain-Barré Syndrome, GBS)、胞溶體貯積症、神經鞘磷脂代謝障礙 (Neimann-Pick C)、黏多糖病 II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病變、神經白塞病 (neuro-Behcet's disease)、視神經脊髓炎 (NMO)、視神經炎、多發性肌炎、皮肌炎、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷或脊髓損傷。在一些情況下，該疾病為阿滋海默症。在一些情況下，該疾病為 MS。

【0028】 本揭示進一步包括本文之抗體或本文之醫藥組成物的用途，其用於製備用於在有此需要之個體中治療與 TREM2 功能喪失相關之病症的藥物。本文之揭示亦包括本文之抗體或本文之醫藥組成物的用途，其用於製備用於在有此需要之個體中降低 sTREM2 之量的藥物。在一些情況下，該病症為神經發炎或神經退化性疾病，或該個體患有神經發炎或神經退化性疾病。在一些情況下，該神經發炎或神經退化性疾病為阿滋海默症、帕金森病、額顳葉失智症、失智症、多發性硬化症 (MS)、肌肉萎縮性側索硬化症 (ALS)、Nasu-Hakola 病、格林-巴利綜合徵 (Guillain-Barré Syndrome, GBS)、胞溶體貯積症、神經鞘磷脂代謝障礙 (Neimann-Pick C)、黏多糖病 II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病變、神經白塞病 (neuro-Behcet's disease)、視神經脊髓炎

(NMO)、視神經炎、多發性肌炎、皮肌炎、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷或脊髓損傷。在一些情況下，該疾病為阿滋海默症。在一些情況下，該疾病為 MS。

【0029】附加之目的及優點將部分地如以下說明書所述，且部分地將從該說明書中了解，或者可藉由實踐得知。該等目的及優點將藉由隨附申請專利範圍中特定指出之要素及組合來實現和獲得。應理解，前述一般描述及以下詳細描述均僅為例示性及說明性的，且不限制申請專利範圍。例如，除本文所描繪及要求保護的各種實施例之外，本文所揭示之標的亦涉及具有本文所揭示及要求保護之特徵的其他組合的其他實施例。因此，本文所呈現之特定特徵，尤其是作為態樣或實施例所呈現者，可在本文所揭示之標的範圍內以其他方式彼此組合，使得本文所揭示之標的包括本文所揭示之特徵的任何合適的組合。出於說明及描述的目的，呈現了本文所揭示之標的之特定實施例的描述。其並非旨在窮舉或將本文所揭露之標的限制為所揭露的那些實施例。

【圖式簡單說明】

【0030】

圖 1 顯示藉由使用不同免疫策略之融合瘤獲得的抗 TREM2 殖株的總結。

圖 2A-B 提供多種 TREM2 莖胜肽序列及三種不同抗體與每種肽的結合強度。

圖 2A 顯示 TREM2 莖區內之肽片段序列。位於殘基 157 與 158 之間的 TREM2 切割位點側翼的 TREM2 殘基以粗體顯示。圖 2B 顯示三種抗體與圖 2A 之肽的結合資料 (以 nM 計)。結合以灰色陰影顯示 (較深之陰影指示較強之結合) 及 $A_{620}$ 吸光度值。

圖 3A-B 顯示抗 TREM2 抗體的輕鏈及重鏈可變區胺基酸序列。相對於 3.10C2 可變區序列的胺基酸差異以黑色指示。根據 Chothia 或 Kabat 的 CDR 區在序列上方指示，且 Kabat CDR 定義亦加底線。圖 3A 顯示 5 個殖株的輕鏈可變區序列。圖 3B 顯示 6 個殖株的重鏈可變區序列。

圖 4 顯示具有與不同輕鏈組合的來自大鼠庫深度定序資料集之 IGHV6-8 殖株的抗體的 ELISA 篩選。表中的莖、149-158、159-175 及抑制素分別指代 TREM2 之莖區、莖之片段 149-158 及 159-175 以及 30-mer 抑制素控制肽。ELISA 訊號以灰色陰影顯示。IMGT 定義中之殖株的 CDR H3 序列 (長度 5) 顯示在左側之列中。殖株 3.10C2 僅與它自己的同源輕鏈配對。KV2S11 指代在種系序列組態中具有 IGK2S11 種系片段的輕鏈，並且與 3.10C2 抗體組具有類似的 VJ 連接序列。

圖 5 顯示影響抗 TREM2 抗體結合之丙胺酸/甘胺酸突變的總結。灰色框指示影響解離速率結合或不同抗體之總結合的突變。TREM2 中的胺基酸殘基及位置顯示在該表之頂部行中。TREM2 中位於蛋白質切割位點側翼的兩個殘基在同一行中以灰色突出顯示。抗體 AL2p-31 為小鼠抗體 9F5 的人源化高親和力變異體。抗體 Para.09 具有抗體 3.2H7 輕鏈。

圖 6A-B 顯示人源化 3.10C2 CDR 移植物變異體序列。可變區序列與用於人源化的人類框架序列比對。與框架序列 (頂部序列) 的差異以黑色突出顯示。Kabat 定義中的 CDR 區加底線。各圖中的「3.10C2」指代大鼠 3.10C2 可變區序列。圖 6A 顯示 3 個變異體的輕鏈可變區序列。圖 6B 顯示 4 個變異體的重鏈可變區序列。

圖 7A-B 顯示 3.10C2 CDR 移植物殖株的表現產量。圖 7A 顯示表現產量，如藉由具有不同重鏈及輕鏈人源化變異體之人源化 IgG 變異體的效價 (mg/L) 所測量的。殖株 L9 及 L10 分別與殖株 L1 及 L5 相同 (參見圖 6A)，但在框架 4 中具有

Q100P 突變。圖 7B 顯示人源化 3.10C2-H1 重鏈變異體與人源化 3.10C2-L1 變異體或大鼠 3.10C2 輕鏈組合之 Fab 片段的表現產量 (mg)。

圖 8A-B 顯示人源化 3.27H7 輕鏈及 Para.09 重鏈 CDR 移植物變異體序列。可變區序列與用於人源化的人類框架序列比對。與框架序列 (頂部序列) 的差異以黑色突出顯示。Kabat 定義中的 CDR 區加底線。「3.27H7」及「Para.09」為大鼠可變區序列。圖 8A 顯示三個變異體的輕鏈可變區序列。圖 8B 顯示四個變異體的重鏈可變區序列。

圖 9A-B 顯示抗體 h3.10C2.v1 之可變區及 CDR 的序列。Kabat CDR 區加底線。圖 9A 顯示輕鏈可變區序列。圖 9B 顯示重鏈可變區序列。

圖 10 顯示抗體 3.10C2 的掃描誘變。圖 10 顯示抗體 3.10C2 重鏈 CDR 單點突變體在 37°C 的解離速率分佈。在同一組實驗中確定之抗體 3.10C2 的解離速率用虛線顯示。指示了相對於野生型 3.10C2 具有較低解離速率之兩個 3.10C2 點突變體，每個突變體的倍數改善顯示在括號中。顯示了 440 個突變體的資料。

圖 11 顯示在 CHO 細胞中產生的 Para.09 之大鼠及人源化變異體的蛋白 A 層析後的表現產量 (mg/L)。指示每種抗體的同型。

圖 12A-B 顯示抗體 hPara.09.v2 之可變區的胺基酸序列。Kabat CDR 區加底線。圖 12A 顯示輕鏈可變區序列。圖 12B 顯示重鏈可變區序列。

圖 13A 及 B 顯示 hPara.09.v2 及 hPara.09.v2 突變體之輕鏈 (圖 13A) 及重鏈 (圖 13B) 的序列及 CDR 區。突出顯示了輕鏈中的 Q100P、I58V 及 V104L 突變以及相對於 hPara.09.v2 的其他突變。Kabat CDR 區加底線。

圖 14A-B 顯示抗體 h3.10C2.v1 及 h3.10C2.v1 突變體之輕鏈 (圖 14A) 及重鏈 (圖 14B) 可變區的序列及 CDR 區。突出顯示了輕鏈中的 Q100P、I58V 及 L104V 突變。Kabat CDR 區加底線。

圖 15 顯示四種抗 TREM2 抗體 (親本及人源化) 的標準化桿狀病毒 (BV) ELISA 反應性：具有大鼠可變區及人類 IgG1 恆定區的嵌合殖株以及人源化變異體 h3.10C2.v1 及 hPara.09.v2，其中人類 IgG1 恆定區具有 N297G 突變以消除 Fc 受體結合。

圖 16 顯示在*活體外*結合至可溶性 TREM2 (sTREM2) 及不與其結合的抗體。圖 16 顯示經測試之抗體的 sTREM2 結合的標準化值：對照抗體 1.16B8 (CTL)、大鼠 Para.09 – LC 3.27H7 mIgG2a LALAPG (Para09)、大鼠 3.10C2 mIgG2a LALAPG (3.10C2)、大鼠 3.18E5 mIgG2a LALAPG (3.18E5)、大鼠 3.50G1 mIgG2a LALAPG (3.50G1)、大鼠 3.27H7 mIgG2a LALAPG (3.27H7)、大鼠 3.36F5 mIgG2a LALAPG (3.36F5)、A.9F5 (本文中亦稱為 9F5)、AL2p-12、AL2p-31、AL2p-58、BM.3D3、BM.42E8、BM.RS9、BM.14D3 及 BM.14D8。

圖 17 顯示 mIgG2a 形式之重組抗體的 Jurkat 報導子活性。Jurkat 細胞經工程改造以在 NFAT (經活化之 T 細胞的核因子) 之控制下表現螢光素酶，並表現人類 TREM2。圖 17 顯示 8 種抗體，其等在細胞中誘導中度至強螢光素酶表現：3.10C2、3.18E5、3.27H7、3.50G1、3.17G12、3.27H5、3.41B10 及 3.47B1。

圖 18A-B 顯示遞增濃度之大鼠抗人及人源化抗 TREM2 抗體對於在表現人類 TREM2 之 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中之螢光素酶表現的效應。顯示了在 24 小時後在存在不同濃度的 mIgG2 LALAPG 形式之大鼠抗人抗體 (圖 18A) 及人源化 hPara.09.v2 及 h3.10C2.v1 抗體 (圖 18B) 之情形下的螢光素酶訊號。

圖 19A-C 顯示大鼠抗人 3.10C2、3.18E5、3.27H7 及 3.50G1 mIgG2a LALAPG 抗體在表現 hTREM2 突變體 R47H (圖 19A)、R62H (圖 19B) 或 H157Y (圖 19C) 之 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞株中對螢光素酶表現的誘導。

圖 20A-B 及 D 顯示，在 24 小時後，大鼠抗人及人源化抗體對於在表現 hTREM2 之 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞株中之 sTREM2 脫落的效應，如

藉由 ELISA 所測量的。圖 20A 顯示遞增濃度之大鼠 1.20A2 mIgG2a LALAPG、大鼠 Para.09 mIgG2a LALAPG 及大鼠 3.10C2 mIgG2a LALAPG 抗體對於 sTREM2 之量的效應。圖 20B 顯示人類 IgG1 N297G 形式的人源化 h3.10C2.v1 及 hPara.09.v2 抗體的效應。圖20D 顯示人源化抗體 hPara.09 v2、hPara.09.v2 Q100P/V104L 及 hPara.09.v2 Q100P 的效應。圖 20C 顯示由 hPara.09 v2、hPara.09.v2 Q100P/V104L 及 hPara.09.v2 Q100P 抗體誘導的螢光素酶表現。

圖 21 顯示抗體 3.10C2、3.18E5、3.27H7、3.50G1 及 9F5 與鼠 IgG2 LALAPG 對於人類誘導性富潛能幹細胞 (iPSC) 衍生之小神經膠質細胞中之 TREM2 脫落的效應。

圖 22A-C 顯示在與人源化抗 TREM2 抗體孵育規定之 10 至 20 分鐘時間段 (圖 22A-B) 或與規定之劑量範圍的抗體 (圖 22C) 孵育後，原代人類單核球衍生之巨噬細胞 (hMDM) 細胞中的泛磷酸化酪胺酸 (pY) 量 (圖 22A) 及磷酸化 SYK (pSYK) 之量 (圖 22B-C)。在圖 22B 中，亦與經修飾以降低 TREM2 表現的 hMDM 細胞 (gTREM2) 進行了磷酸化之比較。圖 22C 顯示遞增劑量之人源化抗體 hPara.09.v2 N297G 或 hPara.09.v2 Q100P/V104L N297G 或者對照抗體對於 SYK 磷酸化的效應。測量 pSYK 之量並將其標準化為總 SYK 量。n = 6，來自 3 個獨立的生物標本。

圖 23A-E 顯示大鼠抗人及人源化抗 TREM2 抗體促進人類誘導性富潛能幹細胞 (iPSC) 小神經膠質細胞存活。圖 23A 顯示藉由用遞增劑量之 hPara.09 v2、h3.10C2.v1 治療誘導的野生型 (WT，細線) 或 TREM2 KO (KO，虛線) iPSC 小神經膠質細胞的存活，測量為藉由對照抗體 (gD hIgG1 N297G) 治療誘導之反應的倍數。誤差條 +/- SEM。圖 23B 顯示 iPSC-MG 細胞因應於用遞增劑量 (0、1、10、100 ng) 之抗體治療的存活。抗體根據 TREM2 結合進行分組 (殘基跨度

顯示在圖的頂部)。誤差條 +/- SEM。圖 23C 顯示人源化抗體 (hPara09.v2 N297G、hPara09.v2.Q100P/V104L N297G) 在 iPSC-MG 中在 1、4 及 24 小時之時間點的 pSYK 誘導。誤差條 +/- SEM。* P<0.05，** P<0.01，****< 0.0001。圖 23D 顯示在存在及缺乏 SYK 抑制劑 (SYKi) 之情形下，遞增濃度之人源化 Para.09.v2 抗體或抗 gD 對照抗體對於小神經膠質細胞存活的效應。誤差條 +/- SEM。圖 23E 顯示，如相較於對照抗 gD 抗體，所列之抗 TREM2 抗體的小神經膠質細胞存活及 $EC_{50}$ (以 nM 計，顯示在曲線圖下方之表中)。誤差條 +/- SEM。

圖 24A-C 顯示人源化抗 TREM2 抗體增加 iPSC-MG 澱粉樣蛋白 β 斑塊形成及壓密。圖 24A 顯示用 hPara.09.Q100P hIgG1 N297G 或對照 gD.hIgG1.N297G 治療的 iPSC 小神經膠質細胞周圍的 Aβ 斑塊樣結構及 Aβ 聚集體形成的免疫螢光影像。從左到右，屏顯示：Aβ，澱粉樣蛋白斑塊染色 (甲氧基 X04 染色)、小神經膠質細胞染色 (IBA1 染色) 及來自全部三種染色的合併影像，顯示 IBA1 陽性小神經膠質細胞、Aβ，及澱粉樣蛋白斑塊的染色共置。圖 24B 顯示在存在遞增濃度之幾種人源化抗 TREM2 抗體或對照抗 gD 抗體之情形下的總 Aβ 斑塊強度，該等抗體全部為人類 IgG1 N297G 形式。每種抗體的 $EC_{50}$ 值以 nM 計提供在曲線圖下方之表中。誤差條 +/- SEM。圖 24C 顯示在遞增濃度之幾種人源化抗 TREM2 抗體或對照抗 gD 抗體時的平均 X04 iPSC-MG 斑塊強度，該等抗體全部為人類 IgG1 N297G 形式。每種抗體的 $EC_{50}$ 值以 nM 計提供在曲線下方之表中。

圖 25A-25C 顯示用抗 TREM2 或對照抗體治療的小鼠中 sTREM2 之量。圖 25A-B 顯示來自用鼠 IgG2 LALAPG 形式之 3.10C2 及 Para.09 抗體治療之小鼠的血漿 (圖 25A) 及腦勻漿 (圖 25B) 樣品中 sTREM2 相對於對照抗體 (gp120) 的百分比。圖 25C 顯示，如相較於同型對照，來自用遞增劑量之鼠 IgG2a

LALAPG 形式之 Para.09 及 AL2p58 抗體治療的小鼠血漿中 sTREM2 之量 (pg/ml)。

圖 26A-F 顯示來自用 h3.10C2.v1.hIgG1.N297G、hPara.09.v2.hIgG1.N297G 或抗 gD.hIgG1.N297G 對照抗體給藥之食蟹獼猴的 CSF、血漿及腦溶胞產物樣品中隨時間推移的 sTREM2 之量。圖 26A-C 顯示歷時 2 天測量的在 CSF (圖 26A)、血漿 (圖 26B) 及腦 (圖 26C) 中 sTREM2 之量。圖 26D-F 顯示歷時 28 天測量的在CSF (圖 26D)、血漿 (圖 26E) 及腦 (圖 26F) 中 sTREM2 之量。

圖 27 顯示來自用 3.10C2、Para.09 或對照抗體治療之小鼠的腦切片，對該等切片進行對增殖標記物 Ki67 的染色。細胞增殖表示為每 4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (DAPI) 陽性細胞數的平均 Ki67+ 細胞數。

【實施方式】

**定義**

【0031】 如本文所使用，術語「約」係指數值 (包括例如整數、分數及百分比)，無論是否明確指出皆如此。術語「約」一般是指本領域普通技術人員將認為等同於所述值 (例如，具有相同之功能或結果) 的數值範圍 (例如，所述範圍 +/-5-10%)。當諸如「至少」及「約」等術語位於數值或範圍列表之前時，這些術語將修改列表中所提供之所有值或範圍。在一些情況下，術語「約」可包括四捨五入到最接近之有效數字的數值。

【0032】 除非另有定義，否則與本發明結合使用之科學及技術術語應具有通常知識者所一般理解之含義。此外，除非上下文另有要求，否則單數術語應包括複數且復數術語應包括單數。

【0033】在本申請案中，除非另外陳述，否則所用之「或」意指「及/或」。在多重附屬請求項之背景中，所用之「或」僅以替代形式重新提及多於一個前述獨立或附屬請求項。同樣，除非另外具體陳述，否則諸如「要素」或「組分」等術語涵蓋包含一個單元之要素及組分以及包含多於一個亞單元之要素及組分兩種情況。

【0034】與重組 DNA、寡核苷酸合成、組織培養及轉化 (例如，電穿孔、脂轉染)、酶促反應及純化技術結合使用的示例性技術在例如 Sambrook 等人 Molecular Cloning: A Laboratory Manual ($2^{nd}$ ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.(1989)) 等中有所描述。

【0035】應理解，除非另有指示，否則根據本揭示所用之下列術語具有下列含義：

【0036】如本文所用，除非另有明確說明 (亦即鼠 TREM2 或食蟹獼猴 TREM2 等)，否則「TREM2」或「表現在第二型髓系細胞上之觸發受體」指代人類 TREM2 蛋白 (「hTREM2」)。包括胺基酸 1 至 18 之訊號序列的示例性 hTREM2 胺基酸序列顯示在 SEQ ID NO: 21 中，而沒有該訊號序列之示例性序列顯示在 SEQ ID NO: 22 中。包括訊號序列之 TREM2 衣亦可稱為蛋白質之「前驅物」或「前蛋白」形式，而沒有訊號序列之 TREM2 可以稱為蛋白質的「成熟」形式。蛋白質的膜結合形式包括 V 型免疫球蛋白 (Ig) 域 (在胺基酸 19 至 128 處)，然後是 TREM2「莖」域 (在胺基酸 129 至 174 處；SEQ ID NO: 90)，其等共同形成蛋白質之「細胞外域」，然後是跨膜域 (殘基 175 至 197) 及胞質域 (殘基 198 至 230)。蛋白質的可溶性形式，本文之「可溶性 TREM2」或「sTREM2」，可以藉由莖域中的切割或藉由可變剪接在體內產生。例如，蛋白酶可以在 H157 與 S158 之間切割蛋白質，切割可溶性 TREM2，包含蛋白質之 N 端部分直至 H157，例如殘基 19 至 157。示例性 sTREM2 胺基酸序列顯示

在 SEQ ID NO: 23 中。可能將其切割掉以形成 sTREM2 的蛋白質部分亦稱為「胞外域」，包含殘基 19 至 157。本文中一般而言，如本文所用，術語「TREM2」指代蛋白質的膜結合形式，除非上下文明確說明蛋白質的兩種形式皆經引用。此外，hTREM2 包含幾種同型或對偶基因，其天然序列或剪接可能不同於 SEQ ID No: 21 及 22中所示及如本文實例部分中所述者。除非提及特定同型或序列，否則術語 TREM2 包含全部此等天然形式的 TREM2。

【0037】「親和力」係指分子 (例如抗體) 之單一結合位點與其結合配偶體 (例如抗原) 之間的非共價交互作用總和的強度。除非另有說明，否則如本文中所使用的「結合親和力」，係指反映結合對成員 (例如抗體及抗原) 之間 1:1 交互作用之內在結合親和力。分子 X 對於其搭配物 Y 之親和力通常可藉由解離常數 ($K_D$) 來表示。可以藉由本領域已知的習知方法測量親和力，包括彼等本文所述之方法。下面描述了用於測量結合親和力的具體說明性和例示性方法。

【0038】本文之術語「抗體」指代一種分子，其包含重鏈之至少互補決定區 (CDR) 1、CDR2 及 CDR3 以及輕鏈之至少 CDR1、CDR2 及 CDR3，其中該分子能夠結合至抗原。該術語在最寬廣意義上使用且涵蓋各種抗體結構，包括但不限於單株抗體、多株抗體、多特異性抗體 (例如雙特異性抗體、雙抗體等)、全長抗體、單鏈抗體、抗體結合物、抗體片段，只要其等展示出所欲之 TREM2 特異性結合活性即可。

【0039】「經分離之」抗體為以及自其天然環境之組分中分離出來的抗體。在一些實施例中，將抗體純化至大於 95% 或 99% 純度，藉由 (例如) 電泳 (例如 SDS-PAGE、等電聚焦 (IEF)、毛細管電泳) 或層析 (例如，離子交換或反相 HPLC) 方法測定。關於評估抗體純度之方法的綜述，參見例如 Flatman 等人，*J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007)。

【0040】「抗原」指代抗體的標靶，亦即，抗體所特異性地結合的分子。術語「表位 (epitope)」表示蛋白質或非蛋白質抗原上抗體結合的位點。蛋白質上之表位可由連續的胺基酸延伸形成 (線性表位) 或包含非連續的胺基酸 (構形表位)，例如，由於抗原的折疊，亦即，藉由蛋白質抗原的三級折疊而在空間上接近。線性表位通常在蛋白抗原暴露於變性劑後仍被抗體結合，而構象表位通常在變性劑處理後被破壞。在一些情況下，本文中的 TREM2「表位」可以「跨越」分子中的位點，諸如天然蛋白酶切割位點或斷裂點，這意味著一個或多個抗體殘基與該切割位點任一側之抗原之間存在密切接觸點，或者意味著抗體結合至跨越該位點的 TREM2 肽。在此類情況下，TREM2 表位包括切割位點或斷裂點每一側的殘基。

【0041】在本揭示中，「特異性地結合」或「特異性結合」及類似術語意指結合親和力足夠強以致結合對的成員之間的交互作用不能歸因於隨機分子締合 (亦即「非特異性結合」)。特異性結合通常需要 1 μM 或更小的解離常數 ($K_D$)。例如，特異性結合通常可能涉及 10 nM 或更小的對於 TREM2 之 $K_D$。

【0042】「抗 TREM2 抗體」或「TREM2 抗體」或「特異性地結合 TREM2 的抗體」或「結合至 TREM2 的抗體」及類似片語指代特異性地結合至本文所定義之 TREM2 的抗體。

【0043】本文中的某些抗體「不與可溶性 TREM2 結合」。如本文所用，這意指當在 ELISA 測定中測定時，該抗體可能不顯示任何超過 10% 的與 sTREM2 之結合，並且在一些情況下不顯示任何超過 5% 的與 sTREM2 之結合，其中結合百分比經標準化為陽性對照抗體 1.16B8 的結合百分比，該陽性對照抗體與 sTREM2 至結合設置為 100%。對照抗體 1.16B8 輕鏈序列顯示在 SEQ ID NO: 170 中，且其重鏈序列顯示在 SEQ ID NO: 171 中。在一些實施例中，ELISA 測定可以如下文實例 11 及圖 16 中所示進行。在一些實施例中，抗體

3.17A9 用作該測定中之檢測劑。檢測抗體 3.17A9 輕鏈序列顯示在 SEQ ID NO: 168 中，且其重鏈序列顯示在 SEQ ID No: 169 中。本文中之某些抗體「不與 FcγR 結合」，或具有「不與 FcγR 結合」的重鏈恆定區或 Fc 區，這意味著在合適的*活體外*結合測定中未檢測到高於痕量水平的結合。

【0044】 術語「重鏈」指代包含至少重鏈可變區、具有或不具有前導序列的多肽。在一些實施例中，重鏈包含重鏈恆定區之至少一部分。術語「全長重鏈」指代包含重鏈可變區及重鏈恆定區、具有或不具有前導序列的多肽。

【0045】 術語「輕鏈」指代包含至少輕鏈可變區、具有或不具有前導序列的多肽。在一些實施例中，輕鏈包含輕鏈恆定區之至少一部分。術語「全長輕鏈」指代包含輕鏈可變區及輕鏈恆定區、具有或不具有前導序列的多肽。

【0046】 如本文所用，術語「高變區」或「HVR」指代抗體可變區中序列高變並決定抗原結合特異性的各個區，例如「互補決定區」(「CDR」)。通常，抗體包含六個 CDR：三個在 VH 中 (CDR-H1 或重鏈 CDR1、CDR-H2、CDR-H3)，及三個在 VL 中 (CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3)。除非另有指示，否則 CDR 係根據本文之序列表確定，且重鏈及輕鏈之區及域的胺基酸位置係根據 Kabat 等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)* 中描述之 Kabat 編號系統編號。在一些情況下，序列表中同時提供 Kabat 及 Chothia 重鏈 CDR1 及 CDR2。在 SEQ ID No: 1 至 6 及 9 至 10 以及 11 至 16 及 19 至 20 的情況下，Kabat 及 Chothia CDR 在 CDR-H1 及 CDR-H2 中不同，但在其餘四個 CDR 中相同。熟習此項技術者將理解，亦可以根據 McCallum 或任何其他科學上可接受之命名系統來確定 CDR 名稱。參見，例如，Chothia 與 Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)；Kabat 等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)；

MacCallum 等人 *J. Mol. Biol.* 262: 732-745 (1996))。存在於胺基酸殘基 27c 至 36 (L1)、46 至 55 (L2)、89 至 96 (L3)、30 至 35b (H1)、47 至 58 (H2) 及 93 至 101 (H3) 處的抗原接觸點構建 MacCallum CDR。

【0047】「框架」或「FR」指代不作為互補決定區 (CDR) 之一部分的可變區殘基的殘基。可變區之 FR 通常由四個 FR 組成：FR1、FR2、FR3、及 FR4。因此，CDR 及 FR 序列通常以如下順序出現在 VH (或 VL) 中：FR1-CDR-H1(CDR-L1)-FR2-CDR-H2(CDR-L2)-FR3-CDR-H3(CDR-L3)-FR4。

【0048】術語「可變區 (variable region)」或「可變域 (variable domain)」係指參與抗體與抗原結合的抗體重鏈或輕鏈之域。天然抗體之重鏈及輕鏈 (分別為 VH 及 VL) 之可變域通常具有類似的結構，且每個域均包含四個保守性框架區 (FR) 及三個互補決定區 (CDR)。參見例如 Kindt 等人，*Kuby Immunology*，第 6 版，W.H. Freeman and Co.，第 91 頁 (2007)。可變域可包含：重鏈 (HC) CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3，其含有或不含 FR1 及/或FR4 之全部或一部分；及輕鏈 (LC) CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3，其含有或不含 FR1 及/或FR4 之全部或一部分。即，可變域可缺少 FR1 及/或 FR4 的一部分，只要其保留抗原結合活性即可。單個 VH 或 VL 域可能足以賦予抗原結合特異性。此外，可以使用 VH 或 VL 域從結合抗原的抗體中分離結合特定抗原的抗體，以分別篩選互補 VL 或 VH 域的文庫。參見，例如，Portolano 等人，*J. Immunol.* 150: 880-887 (1993)；Clarkson 等人，*Nature* 352: 624-628 (1991)。

【0049】抗體的輕鏈及重鏈「恆定區」指代在 FR 及 CDR 及可變區之外的額外序列部分。某些抗體片段可能缺少全部或一些恆定區。從 N 端 至 C 端，每條重鏈具有可變域 (VH)，亦稱為可變重鏈域或重鏈可變區，接著係三個重鏈恆定域 (CH1、CH2及CH3)。類似地，從 N 端至 C 端，每條輕鏈具有可變域 (VL)，亦稱為可變輕鏈域或輕鏈可變區，接著為輕鏈恆定 (CL) 域。

【0050】本文中的術語「Fc 區域」，用於定義包含至少一部分恆定區域的免疫球蛋白重鏈的 C 端區域。該術語包括天然序列 Fc 區域和變異體 Fc 區域。在一個態樣中，人 IgG 重鏈 Fc 區域從 Cys226 或 Pro230 延伸至重鏈的羧基端。但是，由宿主細胞產生的抗體可能經歷重鏈 C 端的一種或多種，特別是一種或兩種胺基酸之轉譯後切割。因此，由宿主細胞透過表現編碼全長重鏈的特定核酸分子而產生的抗體可包括全長重鏈，或者可包括全長重鏈的切割變體。重鏈的最後兩個 C 端胺基酸為甘胺酸 (G446) 及離胺酸 (K447，根據 Kabat EU 索引編號)。因此，可以存在或可以不存在 Fc 區域之 C 端離胺酸 (Lys447) 或 C 端甘胺酸 (Gly446) 及離胺酸 (Lys447)。因此，「全長 IgG1」例如包括含有 Gly446 和 Lys447、或不含 Lys447、或不含 Gly446 和 Lys447 兩者的 IgG1。除非另有說明，否則包括 Fc 區域之重鏈之胺基酸序列在本文中表示不含 C 端甘胺酸-離胺酸二肽。在一個態樣中，根據本發明所述之抗體中包含重鏈，該重鏈包括如本文所指定之 Fc 區域，其可包含 Gly446 和 Lys447 (根據 EU 指數編號)。在一個態樣中，根據本發明所述之抗體中包含重鏈，該重鏈包括如本文所指定之 Fc 區域，其可包含 Gly446 (根據 EU 指數編號)。除非本文另有說明，否則 Fc 區或恆定區中胺基酸殘基之編號根據 EU 編號系統 (亦稱為 EU 索引) 進行，如 Kabat 等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991 中所述。

【0051】「效用功能 (effector function)」，係指歸因於抗體的 Fc 區域的那些生物活性，其隨抗體同型而變化。抗體效用功能的實例包括：C1q 結合和補體依賴性細胞毒性 (CDC)；Fc 受體結合；抗體依賴性細胞媒介之細胞毒性 (ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體 (例如 B 細胞受體) 的下調；以及 B 細胞活化。具有「完整效應子功能」的抗體，例如，包含具備其特定同型之天然、完整效應子功能的重鏈恆定區或 Fc 區，諸如野生型重鏈恆定區或 Fc 區，或者具

備尚未顯示影響效應子功能之修飾的重鏈恆定區或 Fc 區。相比之下，抗體重鏈恆定區或 Fc 區可以多種方式進行修飾，諸如藉由胺基酸取代、插入或缺失，或藉由醣基化修飾，以降低或增強效應子功能，取決於抗體的用途。本文中，一些抗體可能具有「完整效應子功能」，而其他者可能為「無效應子」，意指其等不顯示可檢測的 CDC 或 ADCC 活性，或者其等包含先前已顯示不具有可檢測之 CDC 或 ADCC 活性的重鏈恆定區或 Fc 區。在其他情況下，抗體可具有突變型 Fc 區或重鏈恆定區，相較於對應之野生型 Fc 或重鏈恆定區，該突變型 Fc 區或重鏈恆定區具有「降低的效應子功能」(例如，先前已顯示具有降低的效應子功能者，或在此處的抗體背景下，具有降低的效應子功能者)。相較於對應之野生型 Fc 區，具有降低的效應子功能的此類抗體可以例如顯示較低程度的 CDC 及/或 ADCC 活性及/或 FcγR 結合活性，及/或例如，可以保留一些效應子功能，諸如結合至特定 Fc 受體諸如 FcRn，但伴有低或不可檢測的 CDC 或 ADCC 或 FcγR 結合活性。

【0052】 抗體之「類別 (class)」係指為其重鏈所具有的恆定域或恆定區之類型。有五大類抗體：IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM，且該等種類中之若干種可進一步分為亞類 (同型)，例如 $IgG_1$、$IgG_2$、$IgG_3$、$IgG_4$、$IgA_1$ 及 $IgA_2$。在某些態樣中，該抗體是屬 $IgG_1$ 同型。在某些態樣中，該抗體是屬 $IgG_1$ 同型，具有 P329G、L234A 及 L235A 突變以減少 Fc 區效應子功能。在其他態樣中，該抗體是屬 $IgG_2$ 同型。在某些態樣中，該抗體是屬 $IgG_4$ 同型，在鉸鏈區中具有 S228P 突變以改善 $IgG_4$ 抗體之穩定性。在一些態樣中，該抗體可具有非人類 IgG 恆定區，並且可以為例如鼠 IgG2a 抗體，諸如鼠 IgG2a LALAPG 抗體。對應於不同類別之免疫球蛋白的重鏈恆定域分別稱為 α、δ、ε、γ 及 μ。基於其恆定域之胺基酸序列，抗體之輕鏈可被歸類為兩種類型中的一種，稱為卡帕 (κ) 及蘭姆達 (λ)。

【0053】「抗體片段」指代除完整抗體以外的分子，其包含完整抗體的一部分，該部分結合該完整抗體所結合之抗原 (亦即 TREM2)。抗體片段之示例包括但不限於 Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$；雙抗體 (diabody)；線性抗體；單鏈抗體分子 (例如，scFv 及 scFab)；單域抗體 (dAb)；及從抗體片段所形成之多重特異性抗體。關於某些抗體片段的綜述，參見 Holliger 及 Hudson, Nature Biotechnology 23:1126-1136 (2005)。

【0054】術語「全長抗體」、「完整抗體」及「全抗體」在本文中可互換使用，指代具有與天然抗體結構實質上類似的結構或，在 IgG 抗體的情況係，具有含有如本文中所定義之 Fc 區的重鏈之抗體。

【0055】術語"嵌合"抗體是指其中重鏈和/或輕鏈的一部分源自特定來源或物種，而重鏈及/或輕鏈的其餘部分源自不同來源或物種的抗體。

【0056】「人源化 (humanized)」抗體係指包含來自非人 CDR 之胺基酸殘基及來自人 FR 之胺基酸殘基之嵌合抗體。在某些態樣中，人源化抗體將包括實質上所有至少一個 (且通常兩個) 可變域，其中所有或實質上所有 CDR 對應於非人抗體之其等，及所有或實質上所有 FR 對應對於人抗體之其等。人源化抗體視情況可包含衍生自人抗體之抗體恆定區之至少一部分。抗體 (例如非人抗體) 之「人源化形式 (humanized form)」係指已經歷人源化之抗體。

【0057】如本文所用的術語「單株抗體」係指獲自實質上同源抗體群體之抗體，即包含群體的個別抗體是相同的和/或結合相同的抗原決定位，除了例如含有天然生成之突變或於單株抗體製劑生產過程中產生的可能的變異體抗體之外，此等變異體通常係以少量存在。與通常包括針對不同決定位 (抗原決定基) 之不同抗體之多株抗體製劑相反，單株抗體製劑之每個單株抗體係針對於抗原上的單一決定位。因此，修飾詞「單株」表示抗體之特徵係獲自實質上同質之抗體群體，且不應解釋為需要藉由任何特定方法產生抗體。例如，意欲根

據本發明使用的單株抗體可藉由多種技術來製造，包括但不限於融合瘤方法、重組DNA方法、噬菌體展示方法、及利用包含全部或部分人免疫球蛋白基因座之轉殖基因動物之方法，本文描述此等方法及用於製備單株抗體之其他例示性方法。

【0058】「多特異性」抗體為特異性地結合至超過一種標靶抗原的抗體，而「雙特異性」抗體為一種特異性地結合至兩種抗原的抗體。「抗體結合物」為與一個或多個異源分子結合的抗體，該一個或多個異源分子包括但不限於治療劑或標記。

【0059】相對於參照多肽序列所述之「胺基酸序列同一性百分比 (%)」，是指候選序列中胺基酸殘基與參照多肽序列中之胺基酸殘基相同之百分比，在比對序列並引入差異後 (如有必要)，可實現最大的序列同一性百分比，並且不考慮將任何保守取代作為序列同一性之一部分。為確定胺基酸序列同一性百分比之目的而進行的比對可透過本領域中技術範圍內之各種方式實現，例如，使用公開可用的電腦軟體諸如 BLAST、BLAST-2、Clustal W、Megalign (DNASTAR) 軟件或 FASTA 程式套件實現。本領域之技術人員可確定用於比對序列之合適參數，包括在所比較之序列全長上實現最大比對所需之任何演算法。可替代地，可使用序列比較電腦程式 ALIGN-2 生成同一性百分比值。ALIGN-2 序列比較電腦程式由建南德克公司開發，並且其源代碼已與用戶文檔一起歸檔在位於美國華盛頓特區 20559 的美國著作權局，其已經注冊 (美國版權註冊號 TXU510087) 並在 WO 2001/007611 中有所描述。

【0060】除非另有說明，否則出於本文之目的，使用 FASTA 套件 36.3.8c 版或更高版本的 ggsearch 程式及 BLOSUM50 比較矩陣來生成胺基酸序列同一性百分比值。FASTA 程式包由以下作者開發：W. R. W. R. Pearson 與 D. J. Lipman (1988),「Improved Tools for Biological Sequence Analysis」, PNAS

85:2444-2448；W. R. Pearson (1996)「Effective protein sequence comparison」Meth. Enzymol. 266:227- 258；及 Pearson 等人(1997) (Genomics 46:24-36)，並可從以下網址公開存取：www.fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/fasta_down.shtml 或 www.Ebi.ac.uk/Tools/sss/fasta。可替代地，可使用透過 fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/index.cgi 存取的公用伺服器，使用 ggsearch (global protein:protein) 程式和預設選項 (BLOSUM50; open: -10; ext: -2; Ktup = 2) 比較序列，以確保執行全局而不是局部比對。胺基酸同一性百分比提供於輸出比對標題中。

【0061】術語「核酸分子」或「多核苷酸」包括任何包含核苷酸聚合物的化合物及/或物質。每個核苷酸由鹼基具體而言嘌呤或嘧啶鹼基 (即，胞嘧啶 (C)、鳥嘌呤 (G)、腺嘌呤 (A)、胸腺嘧啶 (T) 或尿嘧啶 (U))、糖 (即，脫氧核糖或核糖) 及磷酸基團構成。通常，核酸分子通過鹼基序列進行描述，其中該鹼基代表核酸分子的一級結構 (線性結構)。鹼基序列通常由 5’ 至 3’ 表示。在本文中，術語核酸分子包括：去氧核糖核酸 (DNA)，其包括例如互補 DNA (cDNA) 和基因體 DNA；核糖核酸 (RNA)，特定而言信使 RNA (mRNA)；DNA 或 RNA 的合成形式；以及包含兩個或更多個這些分子的混合聚合物。核酸分子可以是線性或環狀的。此外，術語核酸分子包括正義股及反義股，以及單股及雙股形式。此外，本文所述之核酸分子可包含天然存在或非天然存在之核苷酸。非天然存在之核苷酸的例子包括帶有衍生糖、磷酸鹽連接或化學修飾殘基的經修飾之核苷酸鹼基。核酸分子還包括適於在活體外及/或活體內例如在宿主或患者體內直接表現本發明之抗體的載體的 DNA 和 RNA 分子。此等 DNA (例如，cDNA) 或 RNA (例如，mRNA) 載體可以是未修飾的或經過修飾的。例如，mRNA 可經過化學修飾以增強 RNA 載體之穩定性及/或編碼分子之表現，

從而將 mRNA 注入個體活體內以產生抗體 (參見例如 Stadler 等人，Nature Medicine 2017，在線發表于 2017 年 6 月 12 日，doi:10.1038/nm.4356 或 EP 2 101 823 B1)。

【0062】「分離的」核酸係指已經與其天然環境的組分分離的核酸分子。分離的核酸包括通常包含核酸分子之細胞中所含之核酸分子，但是核酸分子存在於染色體外或與自然染色體位置不同之染色體位置。

【0063】「經分離之編碼抗 TREM2 抗體的核酸」係指編碼抗 TREM2 抗體重鏈和輕鏈 (或其片段) 之一種或多種核酸分子，包括在單個載體或單獨抗體中之此等核酸分子，並且此等核酸分子存在於宿主細胞中的一個或多個位置。

【0064】如本文所用，術語「載體」是指一種核酸分子，其能夠傳送與其連接之另一種核酸。該術語包括作為自我複制核酸結構之載體以及摻入已引入該宿主細胞的基因體中的載體。某些載體能夠引導與其操作性連接之核酸的表現。這些載體在本文中稱為「表現載體」。

【0065】術語「宿主細胞」、「宿主細胞株」和「宿主細胞培養物」可互換使用，涉及已向其中引入外源性核酸的細胞，包括此等細胞的子代細胞。

【0066】術語「訊號序列」或「前導序列」指代位於多肽之 N 端的胺基酸殘基序列，其促進多肽從哺乳動物細胞分泌。前導序列可以在多肽從哺乳動物細胞輸出時被切割，形成成熟蛋白質。前導序列可以為天然的或合成的，並且它們可能與它們所接附之蛋白質異源或同源。非限制性示例性前導序列亦包括來自異源蛋白質的前導序列。在一些實施例中，抗體缺少前導序列。在一些實施例中，抗體包含至少一個前導序列，其可以選自天然抗體前導序列及異源前導序列。

【0067】如本文所用，術語「脫落」指代藉由蛋白質莖區的蛋白水解切割從膜結合之 TREM2 產生可溶性 TREM2 的過程。在*活體內*，「脫落」可能

發生在細胞表面，例如，由於金屬蛋白酶或其他酶對細胞膜上之 TREM2 的切割。在一些情況下，在蛋白質的 H157 與 S158 之間發生切割，從胞外域殘基 19 至 157 形成 sTREM2。

【0068】 如本文所用，術語「促效劑」指代一種物質，諸如抗體，其引起其所結合之分子的至少一種活性或功能增加，或以其他方式活化或幫助活化該分子。如本文所用，術語「拮抗劑」指代一種物質，諸如抗體，其引起其所結合之分子的至少一種活性或功能降低，或以其他方式阻斷或抑制其該分子的至少一種活性或功能。

【0069】 例如，本文之「促效劑抗 TREM2 抗體」或類似片語指代在表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 報導子細胞中誘導螢光素酶報導子活性的抗體及/或在表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 報導子細胞中、在人類單核球衍生之巨噬細胞 (MDM) 細胞中及/或在人類誘導性富潛能幹細胞 (iPSC) 衍生之小神經膠質細胞中誘導 SYK 磷酸化 (p-SYK) 的抗體。如本文所述，例如，促效劑抗 TREM2 抗體亦可具有其他活性，諸如在缺乏 IL-34 及 CSF-1 之情形下增強人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞的存活，及活化人類巨噬細胞及小神經膠質細胞中的 TREM2 傳訊，及其他活性。

【0070】 術語「個體」及「患者」在本文中可互換使用以指代人類。在一些實施例中，亦提供治療其他哺乳動物的方法，該等其他哺乳動物包括但不限於囓齒動物、猿猴、貓、犬、馬、牛、豬、綿羊、山羊、哺乳類實驗室動物、哺乳類農場動物、哺乳類運動動物及哺乳類寵物。

【0071】 如本文所用，「治療」涵蓋用於人類或其他哺乳動物之疾病的任何治療劑的投予或施加，並且包括抑制疾病或疾病的進展，抑制或減緩疾病或其進展，遏制或減緩其發展，抑制、降低或減緩疾病之至少一種症狀的發展，減緩到疾病發作的時間，預防至少一種疾病症狀的發作，減緩到至少一種

疾病症狀的發作時間，部分地或完全地緩解疾病，或治癒疾病，例如，藉由引起退化，或者恢復或修復喪失、缺失或缺陷功能；或者刺激低效過程。術語「抑制 (inhibition)」或「抑制 (inhibit)」指代任何症狀或表型特徵的減少或停止，或指代該症狀或特徵的發生率、程度或可能性的降低或停止。

【0072】「醫藥上可接受之載劑」指代本領域習用於與治療劑一起使用的無毒固體、半固體或液體填充劑、稀釋劑、包封材料、調配助劑或載劑，其等一起構成用於向個體投予的「醫藥組成物」。醫藥上可接受之載劑在所採用之劑量及濃度下對接受者無毒性並且與調配物之其他成分相容。醫藥上可接受之載劑適用於所採用之調配物。例如，如果治療劑係待口服投予，則載劑可以為凝膠膠囊。如果治療劑係待皮下投予，則載劑理想地對皮膚沒有刺激性並且不會引起注射部位反應。

【0073】本文之術語「有效量」指代足以產生所欲結果的量，該所欲結果為諸如如上所述之治療、抑制或降低。

**獨特抗 TREM2 抗體之開發**

【0074】本文之揭示涵蓋抗 TREM2 抗體。在本文的一些實施例中，該等抗體具有一組獨特的特性。例如，本文中的某些抗體 (a) 在跨越殘基 157 與 158 之間的切割位點的表位處特異性地結合至 TREM2 莖域，並且亦特異性地結合至由 TREM2 之殘基 151 至 165 組成的多肽，(b) 不與可溶性 TREM2 結合，且因此可能不存在*活體內*可溶性 TREM2 結合的顯著風險，(c) 作為 TREM2 促效劑，及 (d) 以例如 100-500 pM、10-50 pM 或 1-10 pM 的解離常數特異性地結合至 TREM2。

【0075】如下文實例部分所述，本文之特定示例性抗體部分地在大鼠抗人 TREM2 抗體的初始篩選之後獲得。發現，不同於篩選中發現的其他抗體且不同於其他先前描述的抗 TREM2 抗體，特異性地結合至 TREM2 的胺基酸 151

至 165 區中之結合表位的一組特定的大鼠抗人 TREM2 抗體具有相對高的親和力及與可溶性 TREM2 之結合的缺少兩者。該組抗體包括大鼠抗人抗體 3.10C2、3.50G1、3.18E5、3.27H7 (亦稱為「3.10C2 組抗體」) 及 3.36F5。(參見圖3A-3B，且亦參見圖2A-2B 及 16。)

【0076】 對重鏈可變區執行進一步的經 TREM2 免疫之大鼠免疫庫深度定序實驗，以獲得對 TREM2 具有更高親和力的抗體。該實驗導致對 Para.09 重鏈可變區的鑑定，其與 3.10C2 組抗體株性地無關，並且相較於先前鑑定之 3.10C2 組抗體，重鏈 CDR3 不同。(參見圖 4 及 8B。) Para.09 重鏈可變區係與來自先前鑑定之 3.10C2 組抗體的輕鏈可變區組合。所得 Fab 片段對人類及食蟹獼猴 TREM2 的親和力約為 1-5 pM (亦即 1-5E x $10^{-12}$ M)。(參見表 1 及實例 5。)

【0077】 然後將大鼠抗人抗體人源化。抗體 h3.10C2.v1 及 hPara.09.v2 為本文之人源化抗體的示例。(參見圖 9A-B 及 12A-B。) 然後執行人源化抗體之輕鏈框架區的進一步修飾，例如，以改善特性，諸如表現產量。例如，在輕鏈框架區之位置 58、100 及/或 104 處之特定修飾 (例如，I58V、Q100P 及/或 V104L，(如本文所用，命名規則為「胺基酸-位置-新胺基酸」，亦即，I58V 表示位置 58 處之胺基酸 I 變為胺基酸 V)) 導致人源化抗體不僅保留了起始大鼠抗人抗體的特徵，諸如對 TREM2 莖域的高親和力，而且亦以相對高的產量表現。此類示例性抗體顯示在圖 13A-B 及 14A-B 中。如下文實例 11 及 13 至 17 中進一步描述的，例如，本文之抗體為 TREM2 促效劑並且亦在*活體外*及*活體內*展示許多其他有益的生物學特性。

**示例性抗 TREM2 抗體序列**

【0078】 在一些實施例中，本揭示涵蓋一種經分離之抗體，其特異性地結合至 TREM2，其中該抗體包含重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，其中

VH 包含：包含 SEQ ID NO: 1、9、11、19 或 62 之胺基酸序列的 CDR-H1 及包含 SEQ ID NO: 2、10、12、20、55、63、65 或 73 之胺基酸序列的 CDR-H2。在一些實施例中，該 VL 包含：包含 SEQ ID NO: 4、27、37、47、57 或 67 之胺基酸序列的 CDR-L1；包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2；及包含 SEQ ID NO: 6、29、39、49、59 或 69 之胺基酸序列的 CDR-L3。在一些實施例中，該 VH 包含：包含如下胺基酸序列的 CDR-H3：$X_1$-$X_2$-$X_3$-Y，其中 $X_1$ 及 $X_2$ 一起為 I-L 或 L，並且其中 $X_3$ 為 D 或 E。在一些實施例紅，該抗體包含源自大鼠 IGHV6-8 種系片段的 VH。在一些實施例中，該抗體包含源自大鼠 IGKV2S11 種系片段的 VL。在一些實施例中，該抗體包含源自大鼠 IGHV6-8 的 VH 及源自大鼠 IGKV2S11 的 VL。

【0079】在一些實施例中，本揭示涵蓋一種經分離之抗體，其特異性地結合至 TREM2，其中該抗體包含重鏈可變區 (VH)，該 VH 包含：包含 SEQ ID NO: 1、9、11、19 或 62 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 2、10、12、20、55、63、65 或 73 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含如下胺基酸序列的 CDR-H3：$X_1$-$X_2$-$X_3$-Y，其中 $X_1$ 及 $X_2$ 一起為 I-L 或 L，且其中 $X_3$ 為 D 或 E；及輕鏈可變區 (VL)，該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 4、27、37、47、57 或 67 之胺基酸序列的 CDR-L1；包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2；及包含 SEQ ID NO: 6、29、39、49、59 或 69 之胺基酸序列的 CDR-L3。例如，此類抗體顯示在圖 3A-3B 中。示例包括包含 3.10C2、3.50G1、3.18E5、3.36F5 及 3.27H7 以及 Para.09 之重鏈 Kabat CDR 的抗體。在一些情況下，該抗體包含重鏈可變區 (VH)，該 VH 包含：包含 SEQ ID NO: 1、9、11 或 19 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 2、10、12 或 20 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含如下胺基酸序列的 CDR-H3：$X_1$-$X_2$-$X_3$-Y，其中 $X_1$ 及 $X_2$ 一起為 I-L 或 L，且其中 $X_3$ 為 D 或 E；及輕鏈可變區 (VL)，該輕鏈可變區包

含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1；包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2；及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3。

【0080】在一些情況下，該輕鏈可變區 (VL) 包含 3.10C2 或 3.27H7 之輕鏈 CDR。例如，該抗體輕鏈可變區可包含：包含 SEQ ID NO: 4、27 或 67 之胺基酸序列的 CDR-L1；包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2；及包含 SEQ ID NO: 6、29 或 69 之胺基酸序列的 CDR-L3。在一些情況下，該抗體包含 3.27H7 之輕鏈 CDR，亦即，包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1；包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2；及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3。

【0081】在一些情況下，該重鏈可變區 (VH) 包含：包含 SEQ ID NO: 1 或 9 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 2 或 10 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的 CDR-H3；並且其中該輕鏈可變區 (VL) 包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 6之胺基酸序列的 CDR-L3。在其他情況下，該重鏈可變區 (VH) 包含：包含 SEQ ID NO: 11 或 19 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 12 或 20 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 CDR-H3；並且其中該輕鏈可變區 (VL) 包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 6之胺基酸序列的 CDR-L3。

【0082】在一些實施例中，本文之抗體可包含與圖 3B 中所示之序列的重鏈可變區胺基酸序列至少 90%、95%、97% 或 99% 相同的重鏈可變區胺基酸序列。在一些實施例中，本文之抗體可包含與圖 6B 中所示之序列的重鏈可變區胺基酸序列至少 90%、95%、97% 或 99% 相同的重鏈可變區胺基酸序列。在一些實施例中，本文之抗體可包含與圖 8B 中所示之序列的重鏈可變區胺基

酸序列至少 90%、95%、97% 或 99% 相同的重鏈可變區胺基酸序列。在一些實施例中，本文之抗體可包含與圖 9B 中所示之序列的重鏈可變區胺基酸序列至少 90%、95%、97% 或 99% 相同的重鏈可變區胺基酸序列。在一些實施例中，本文之抗體可包含與圖 12B 中所示之序列的重鏈可變區胺基酸序列至少 90%、95%、97% 或 99% 相同的重鏈可變區胺基酸序列。在一些實施例中，本文之抗體可包含與圖 13B 中所示之序列的重鏈可變區胺基酸序列至少 90%、95%、97% 或 99% 相同的重鏈可變區胺基酸序列。在一些實施例中，本文之抗體可包含與圖 14B 中所示之序列的重鏈可變區胺基酸序列至少 90%、95%、97% 或 99% 相同的重鏈可變區胺基酸序列。在一些實施例中，該等抗體框架區可以為嵌合的或人源化的。

【0083】 在一些情況下，該抗體包含與 SEQ ID NO: 7 或 17 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH。在一些實施例中，該抗體包含與 SEQ ID NO: 7、17、30、40、50、60、70、76、77、78、81、82、83、133、135、137、139、146、148、150 或 152 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH。在一些實施例中，該抗體包含與 SEQ ID NO: 7、17、133、135、137、139、146、148、150 或 152 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH。在其他情況下，該抗體包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 7、17、30、40、50、60、70、76、77、78、81、82、83、133、135、137、139、146、148、150 或 152 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 7、17、133、135、137、139、146、148、150 或 152 之胺基酸序列。

【0084】 在一些實施例中，該抗體輕鏈可變區包含與圖 3A 中所示之序列的胺基酸序列至少 90%、95%、97% 或 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體輕鏈可變區包含與圖 6A 中所示之序列的胺基酸序列至少 90%、

95%、97% 或 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體輕鏈可變區包含與圖 8A 中所示之序列的胺基酸序列至少 90%、95%、97% 或 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體輕鏈可變區包含與圖 9A 中所示之序列的胺基酸序列至少 90%、95%、97% 或 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體輕鏈可變區包含與圖 12A 中所示之序列的胺基酸序列至少 90%、95%、97% 或 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體輕鏈可變區包含與圖 13A 中所示之序列的胺基酸序列至少 90%、95%、97% 或 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體輕鏈可變區包含與圖 14A 中所示之序列的胺基酸序列至少 90%、95%、97% 或 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該等輕鏈可變區框架為人源化的或嵌合的。

【0085】 在一些實施例中，該抗體包含與 SEQ ID NO: 8 或 18 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL。在一些實施例中，該抗體包含與 SEQ ID NO: 8、18、31、41、51、61、71、79、80、84、85、132、134、136、138、145、147、149 或 151 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL。在一些實施例中，該抗體包含與 SEQ ID NO: 8、18、132、134、136、138、145、147、149 或 151 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL。在一些實施例中，該抗體包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 8 或 18 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 8、18、31、41、51、61、71、79、80、84、85、132、134、136、138、145、147、149 或 151 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 8、18、132、134、136、138、145、147、149 或 151 之胺基酸序列。

【0086】 在一些實施例中，該抗體包含抗體 3.10C2、3.50G1、3.18E5、3.36F5、3.27H7 或 Para.09 之重鏈 CDR 及抗體 3.27H7 之輕鏈 CDR。在一些實

施例中，該抗體包含抗體 3.10C2 或 Para.09 之重鏈 CDR 及抗體 3.27H7 之輕鏈 CDR。(參見圖 3A-B。) 在一些實施例中，該抗體為人源化抗體或嵌合抗體。

【0087】 在一些實施例中，該抗體包含以下 CDR 集組中之一者：

(a) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(b) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(c) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(d) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可

變區包含：包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(e) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(f) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 39 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(g) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(h) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 54 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 55 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含 SEQ ID NO: 56 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可

變區包含：包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列的 CDR-L3；或

(i) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 64 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 65 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含 SEQ ID NO: 66 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 67 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 68 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的 CDR-L3。CDR (a) 至 (i) 在隨後的四個段落中也有提及。

【0088】 在一些實施例中，該抗體：

(a) 包含來自上一段落之 (a) 或 (b) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH；

(c) 包含來自上一段落之 (c) 或 (d) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH；

(e) 包含來自上一段落之 (e) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH；

(f) 包含來自上一段落之 (f) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH；

(g) 包含來自上一段落之 (g) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH；

(h) 包含來自上一段落之 (h) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH；或者

(i) 包含來自上一段落之 (i) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 70 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH

【0089】 在一些實施例中，該抗體：

(a) 包含上述 (a) 或 (b) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL；

(c) 包含上述 (c) 或 (d) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL；

(e) 包含上述 (e) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 31 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL；

(f) 包含上述 (f) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL；

(g) 包含上述 (g) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL；

(h) 包含上述 (h) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL；或者

(i) 包含上述 (i) 的 CDR 並且進一步包含與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL。

【0090】 在一些情況下，該抗體：

(a) 包含 (a) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列；

(b) 包含 (b) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列；

(c) 包含 (c) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；

(d) 包含 (d) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；

(e) 包含 (e) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列；

(f) 包含 (f) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列；

(g) 包含 (g) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列；

(h) 包含 (h) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列；或

(i) 包含 (i) 的 CDR 並且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 70 之胺基酸序列

【0091】在一些情況下，該抗體：

(a) 包含 (a) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列；

(b) 包含 (b) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列；

(c) 包含 (c) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；

(d) 包含 (d) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；

(e) 包含 (e) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 31 之胺基酸序列；

(f) 包含 (f) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；

(g) 包含 (g) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列；

(h) 包含 (h) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列；或

(i) 包含 (i) 的 CDR 並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列。

【0092】 如上所述，在一些實施例中，該 VH 及/或VL 為人源化的。在一些實施例中，該抗體包含如圖 6A-B 所示的輕鏈及重鏈，例如，將 3.10C2L1 與 3.10C2H1、H3 或 H5 組合，或將 3.10C2L5 與 3.10C2H1、H3 或 H5 組合。在一些實施例中，該抗體包含如圖 8A-B 所示的輕鏈及重鏈，例如將 3.27H7L1 與 Para.09H1、H5 或 H7 組合，或將 3.27H7L6 與 Para.09H1、H5 或 H7 組合。在一些實施例中，該抗體包含 VH，該 VH 包含：包含 SEQ ID NO: 1 或 11 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 2 或 12 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含如下胺基酸序列的 CDR-H3：$X_1$-$X_2$-$X_3$-Y，其中 $X_1$ 及 $X_2$ 一起為 I-L 或 L，並且其中 $X_3$ 為 D 或 E；並且進一步包含與人類 IGHV-73*01 (SEQ ID NO: 74) 之彼等 VH 框架區至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VH 框架區。(參見圖 6B 及 8B。) 在一些實施例中，該抗體包含 VL，該 VL 包含：包含 SEQ ID NO: 4、14 或 27 之胺基酸序列的 CDR-L1；包含 SEQ ID NO: 5、

15 或 28 之胺基酸序列的 CDR-L2；及包含 SEQ ID NO: 6、16 或 29 之胺基酸序列的 CDR-L3；並且進一步包含與人類 IGKV-28*01 (SEQ ID NO: 75) 之彼等 VL 框架區至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同的 VL 框架區。(參見圖 6A 和圖 8A。) 在一些實施例中，該抗體包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 76、77 或 78 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 79 或 80 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 76、77 或 78 之胺基酸序列；並且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 79 或 80 之胺基酸序列。(參見圖 6A-B。) 在一些實施例中，該抗體包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 81、82 或 83 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 84 或 85 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 81、82 或 83 之胺基酸序列；並且包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 84 或 85 之胺基酸序列。(參見圖8A-B。)

【0093】 在如上所述的一些實施例中，該抗體包含：VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列；及 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列。(參見圖 9A-B；亦即，h3.10C2.v1。) 在如上所述的一些實施例中，該抗體包含：VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；及 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列。(參見圖 10A-B；亦即，hPara.09.v2。) 在任何上述實施例中，該抗體可以為人源化的或嵌合的 (亦即，具有人源化的或嵌合的框架區)。

【0094】 在一些實施例中，該等抗體之框架區在人源化後經進一步修飾，例如以改善特性，諸如表現產量。在一些實施例中，該抗體包含根據 SEQ ID NO: 18 的輕鏈，但在框架區中的一個至五個殘基處具有取代。在一些實施例中，該抗體包含根據 SEQ ID NO: 18 的輕鏈，但在框架區中之 I58、Q100 及

V104 中之一者或多者處具有取代，諸如 I58V、Q100P 及/或 V104L。在一些實施例中，該抗體包含根據 SEQ ID NO: 18 的輕鏈，但具有 Q100P 取代、I58V 及 Q100P 取代兩者、或 Q100P 及 V104L 取代兩者。(參見，例如，圖 13A 和圖 14A。) 在一些此類實施例中，該抗體包含以下 VH 及 VL 集組中之一者：(a) SEQ ID No: 133 及 132 (抗體 hPara.09.v2 Q100P)；(b) SEQ ID No: 135 及 134 (抗體 hPara.09.v2 I58V/Q100P)；(c) SEQ ID No: 137 及 136 (抗體 hPara.09.v2 Q100P/V104L)；(d) SEQ ID No: 146 及 145 (抗體 h3.10C2.v1 Q100P)；(e) SEQ ID No: 148 及 147 (抗體 h3.10C2.v1 I58V/Q100P)；或 (f) SEQ ID No: 150 及 149 (抗體 h3.10C2.v1 Q100P/V104L)。在其他實施例中，該抗體包含 SEQ ID No: 139 及 138 之 VH 及 VL (h3.10C2.H1-3.10C2.L10)。在又其他實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 152 及 151 之 VH 及 VL (hPara.09.H5-3.10C2.L10)。

【0095】 在一些實施例中，相較於人類 IGKV2-28*01 種系，該抗體包含在框架區中包含 1 至 10 個胺基酸取代的 VL (參見圖 8A，其顯示 IGKV2-28*01 的 Kabat/Chothia 框架及 CDR 區)。在一些情況下，相較於人類 IGKV2-28*01，該抗體包含在框架區中包含 1 至 5 個胺基酸取代的 VL。在一些實施例中，此等胺基酸取代包含 Q100P 或 V104L 或 Q100P 及 V104L 兩者。在一些此類情況下，該 VL 在位置 58 處包含 Val，而在其他情況下，該 VL 在位置 58 處包含 Ile (例如，相較於 IGKV2-28*01，Q100P 及 58V 或者 Q100P 及 V58I)。

【0096】 在本文的任何實施例中，該抗體可以為抗體片段，諸如 Fv、單鏈 Fv (scFv)、Fab、Fab' 或 $(Fab')_2$。在其他實施例中，該抗體可以為全抗體 (亦即，包含重鏈及輕鏈恆定區。) 在其他實施例中，該抗體可以為 IgG、IgA 或 IgM 抗體。在一些實施例中，該抗體可具有野生型人類 IgG1 Fc 區或野生型人類 IgG4 Fc 區、人類 IgG4 S228P Fc 區、人類 IgG4 S228P/M252Y/S254T/T256E Fc 區、人類 IgG1 N297G Fc 區、人類 IgG1 LALAPG (L234A/L235A/P329G) Fc

區或人類 IgG1 N297G/M428L/N434S Fc 區。如果是鼠 IgG 抗體，該抗體可以為 mIgG1 或 mIgG2 或 mIgG2 LALAPG 抗體。在一些情況下，該抗體可以包含全長重鏈及/或全長輕鏈。在一些情況下，該抗體可能缺少重鏈恆定區的 C 端 Lys 或者 C 端 Lys 及 Gly 殘基。在其他情況下，該抗體含有彼等 C 端殘基中之一者或兩者。

【0097】 在一些實施例中，該抗體包含重鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成。在一些實施例中，該抗體包含輕鏈，該輕鏈包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成。在一些實施例中，該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成的重鏈，及/或包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成的輕鏈。在一些實施例中，該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成但缺少 SEQ ID NO: 144 之 C 端離胺酸或缺少 SEQ ID NO: 144 之 C 端甘胺酸及離胺酸的重鏈，及包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成的輕鏈。在一些實施例中，該抗體包含重鏈，該重鏈包含與 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含輕鏈，該輕鏈包含與 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含：重鏈，該重鏈包含與 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列；及輕鏈，該輕鏈包含與 SEQ ID NO: 176 之胺基

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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含：重鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成，視情況不具有 C 端離胺酸或甘胺酸-離胺酸；及輕鏈，該輕鏈包含與 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含：重鏈，該重鏈包含與 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列；及輕鏈，該輕鏈包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成。在一些實施例中，該抗體包含重鏈，相較於 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列，該重鏈包含具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含輕鏈，相較於 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列，該輕鏈包含具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含：重鏈，相較於 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列，該重鏈包含具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失的胺基酸序列；及輕鏈，相較於 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列，該輕鏈包含具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含：重鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成，視情況沒有 C 端離胺酸或甘胺酸-離胺酸；及輕鏈，相較於 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列，該輕鏈包含具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含：重鏈，相較於 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列，該重鏈包含具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失的胺基酸序列；及

輕鏈，該輕鏈包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成。在任何上述允許 SEQ ID NO: 144 及/或 SEQ ID NO: 176 中之序列變異的情況下，在一些實施例中，此類序列變異限於抗體框架及/或恆定區，使得抗體亦包含 SEQ ID NO: 11、12 及 13 或替代性地 19、20 及 13 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 14、15 及 16 的輕鏈 CDR。在其他實施例中，SEQ ID NO: 144 及/或 SEQ ID NO: 176 中的此類序列變異限於抗體恆定區，使得抗體亦包含 SEQ ID NO: 17 及/或 18。

【0098】 在一些情況下，該抗體可以為雙特異性的或多特異性的。在一些情況下，該抗體可以與另一分子 (諸如標記或藥物) 直接結合或透過連接子結合。

【0099】 在一些情況下，該抗體具有完整效應子功能。在一些情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區具有降低的效應子功能。在其他情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區為無效應子。例如，抗體治療劑之 Fc 區可以結合至補體組分 C1q 及 Fc-γ 受體 (FcγR)，以引發細胞效應子反應，諸如吞噬作用、細胞激素釋放及活性氧物質的產生。(參見，例如，X.Wang 等人，*Protein & Cell* 9: 63-73 (2018); S.B.Mkaddem 等人，*Frontiers in Immunology*，可在 https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00811 (2019) 獲得。) 此等途徑的過度活化可能對 CNS 有害，特別是在病理情況下。(D.J. DiSabato 等人，*J. Neurochemistry* 139(S2): 136-153 (2016)。) 臨床上，針對澱粉樣蛋白 β 的抗體治療劑具有完整效應子功能並結合至澱粉樣蛋白 β 聚集體，大大增加了潛在有害副作用 ARIA (澱粉樣蛋白相關成像異常) 的發生率，而尚未觀察到僅結合至單體形式之澱粉樣蛋白 β 的抗體或具有降低的效應子功能的抗體所致的 ARIA。(M. Filippi 等人，*JAMA Neurol.* 79(3): 291-304 (2022)。) 在一些實施例中，例如如本文實例及圖式中所述，本文之具有降低的效應子功能的抗體 (諸如包含具有 LALAPG

或 N297G 突變之人類 IgG1 重鏈恆定區，如上所述) 足以經由 TREM2 刺激在 CNS 中引發小神經膠質細胞反應。

**示例性抗體變異體、片段及恆定區**

【0100】 在另一態樣中，本文的特異性地結合至 TREM2 之抗體可單獨或組合地併入任何特徵，如以下部分中所述。

**抗體片段**

【0101】 在某些實施例中，本文提供的抗體是抗體片段。抗體片段包括但不限於 Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$、Fv 和 scFv 片段以及下文所述之其他片段。關於某些抗體片段的綜述，*參見* Hudson 等人，*Nat. Med.* 9:129-134 (2003)。關於 scFv 片段的綜述，*參見例如*，Pluckthün，收錄於 *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*，第 113 卷，Rosenburg 與 Moore 編撰，(Springer-Verlag，New York)，第 269-315 頁 (1994)；*亦參見* WO 93/16185；及美國專利第 5,571,894 號及第 5,'87,458 號。關於包含補救受體結合表位殘基且具有增加的*活體內*半衰期之 Fab 及 $F(ab')_2$ 片段的論述，*參見*美國專利第 5,869,046 號。

【0102】 雙功能抗體為具有兩個抗原結合位點 (其可係二價或雙特異性的) 之抗體片段。參見例如 EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson 等人，*Nat. Med.* 9:129-134 (2003)；及 Hollinger 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993)。Hudson 等人，*Nat. Med.* 9:129-134 (2003) 中亦描述三功能抗體及四功能抗體。

【0103】 單域抗體為包含抗體之重鏈可變域之全部或部分或抗體之輕鏈可變域之全部或部分之抗體片段。在某些實施例中，單域抗體為人類單域抗體 (Domantis, Inc., Waltham, MA；*參見例如*，美國專利第 6,248,516 號)。

【0104】抗體片段可藉由各種技術製造，包括但不限於如本文所述之完整抗體之蛋白水解消化以及重組宿主細胞（*例如大腸桿菌*或噬菌體）之產生。

**嵌合和人源化抗體**

【0105】在某些實施例中，本文所提供之抗體為嵌合抗體。某些嵌合抗體描述於*例如*美國專利第 4,816,567 號；及 Morrison 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984))。在一個實例中，嵌合抗體包含非人類可變區 (*例如*，衍生自小鼠、大鼠、倉鼠、兔或非人類靈長類動物 (諸如猴) 之可變區)及人類恆定區。在又一個實例中，嵌合抗體為「類別轉換」抗體，其中類或子類相比於其親代抗體已發生變更。嵌合抗體包括其抗原結合片段。

【0106】在某些實施例中，嵌合抗體為人源化抗體。通常，非人抗體為人源化抗體以降低對人的免疫原性，同時保留親代非人抗體之特異性及親和力。一般而言，人源化抗體包含一個或多個可變域，其中 HVR（例如 CDR）或其部分衍生自非人抗體，且 FR（或其部分）衍生自人抗體序列。人源化抗體視情況將包含人恆定區之至少一部分。在一些實施例中，人源化抗體中之一些 FR 殘基經來自非人抗體（例如衍生 HVR 殘基之抗體）之對應殘基取代，例如以恢復或提高抗體特異性或親和力。

【0107】人源化抗體及其製備方法綜述於*例如* Almagro 與 Fransson，*Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008) 中，並且進一步描述於*例如*：Riechmann 等人，*Nature* 332:323-329 (1988)；Queen 等人，*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989)；美國專利第 5,821,337 號、第 7,527,791 號、第 6,982,321 號及第 7,087,409 號；Kashmiri 等人，*Methods* 36:25-34 (2005) (具體描述了決定區 (SDR) 接枝)；Padlan，*Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (描述了「表面重塑」)；Dall'Acqua 等人，*Methods* 36:43-60 (2005) (描述了「FR 改

組」)；Osbourn 等人，*Methods* 36:61-68 (2005)；及 Klimka 等人，*Br. J. Cancer*，83:252-260 (2000) (描述了 FR 改組的「導向選擇」法)。

【0108】 可以用於人源化的人類框架區包括但不限於：使用「最佳匹配」方法選擇的框架區 (*參見例如* Sims 等人，*J. Immunol.* 151:2296 (1993))；源自輕鏈或重鏈可變區之特定亞組的人類抗體之共有序列的框架區 (*參見例如*：Carter 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，89:4285 (1992)；及 Presta 等人，*J. Immunol.*，151:2623 (1993))；人類成熟之 (體細胞突變) 框架或人類種系框架區 (*參見例如* Almagro 與 Fransson，*Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008))；及源自篩選 FR 文庫的框架區 (*參見例如* Baca 等人，*J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997)；及 Rosok 等人，*J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996))。

【0109】 在一些實施例中，人源化抗體可以包含人類 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 重鏈恆定區。

**雙特異性或多特異性抗體**

【0110】 在某些實施例中，本文所提供之抗體為多特異性抗體，例如，雙特異性抗體。多特異性抗體是對至少兩個不同位點具有結合特異性的單株抗體。在某些實施例中，結合特異性之一者為 TREM2，且另一者為針對任何其他抗原。在某些實施例中，雙特異性抗體可與 TREM2 的兩個不同表位結合。雙特異性抗體亦可用於定位藥物諸如細胞毒劑或將檢測標記定位於表現 TREM2 的細胞。在一些實施例中，多特異性抗體 (*例如*，雙特異性抗體) 包含第一可變域，該第一可變域包含如本文所述之 CDR 或可變區。雙特異性抗體可製成全長抗體或抗體片段。

【0111】 製備多特異性抗體的技術包括但不限於，具有不同特異性的兩個免疫球蛋白重鏈-輕鏈對的重組共表現 (*參見* Milstein 與 Cuello，*Nature* 305: 537 (1983))、WO 93/08829 及 Traunecker 等人，*EMBO J.* 10: 3655 (1991))，及

「杵臼 (knob-in-hole)」工程改造 (*參見例如*，美國專利第 5,731,168 號)。多特異性抗體也可藉由以下方法製備：用於製備抗體 Fc-異二聚體分子的工程靜電轉向效應 (WO 2009/089004A1)；交聯兩個或更多個抗體或片段(*參見例如*美國專利第 4,676,980 號；及 Brennan 等人, *Science*, 229: 81 (1985))；使用白胺酸拉鏈產生雙特異性抗體 (*參見例如* Kostelny 等人, *J. Immunol.*, 1”8(5):1547-1553 (1992))；使用「雙抗體」技術以用於製備雙特異性抗體片段 (*參見例如* Hollinger 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993))；及使用單鏈 Fv (sFv) 二聚體 (*參見例如* Gruber 等人, *J. Immunol.*, 152:5368 (1994))；及按照*例如* Tutt 等人 *J. Immunol.* 147: 60 (1991) 所述之方法製備三特異性抗體。

【0112】 本文亦包括具有三個或更多個抗原結合位點之工程化抗體，包括「章魚抗體」(Octopus antibodies) (*參見例如* US 2006/0025576)。

**其他抗體變異體**

【0113】 在某些實施例中，考慮到本文提供之抗體的胺基酸序列變異體。例如，可能希望改善抗體的結合親和力及/或其他生物學特性。可藉由將適當的修飾引入編碼抗體的核苷酸序列中，或藉由肽合成來製備抗體之胺基酸序列變異體。此等修飾包括例如抗體之胺基酸序列中的殘基的缺失及/或插入及/或取代。可實施刪除、插入和取代之任意組合以得到最終構建體，前提條件是最終構建體具有所需之特徵，*例如*抗原結合特徵。所生成的人源化變異體之具體示例描述於例如本文之圖6A-B、8A-B、9A-B 及 12A-B 中。

**取代、插入和刪除變異體**

【0114】 在某些實施例中，提供了具有一個或多個胺基酸取代之抗體變異體。取代誘變的目標位點包括 HVR 和 FR。保守取代顯示在表 A 的「較佳取代」標題下。在表A中「例示性取代」的標題下提供了更實質性的變化，並且如以下參考胺基酸側鏈類別進一步描述。胺基酸取代可引入至所關注抗體中，

且針對如下所欲之活性篩選產物：*例如*，保留/改善之抗原結合、降低之免疫原性、或增加或降低之 ADCC 或 CDC 活性。

**表 A**

| 原始<br>殘基 | 例示性<br>取代 | 較佳<br>取代 |
|---|---|---|
| Ala (A) | Val；Leu；Ile | Val |
| Arg (R) | Lys；Gln；Asn | Lys |
| Asn (N) | Gln；His；AspIys；Arg | Gln |
| Asp (D) | Glu；Asn | Glu |
| CysI) | 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；正白胺酸 | Leu |
| Leu (L) | 正白胺酸；Ile；Val；Met；Ala；Phe | Ile |
| Lys (K) | Arg；Gln；Asn | Arg |
| Met (M) | Leu；Phe；Ile | Leu |
| Phe (F) | Trp；Leu；Val；Ile；Ala；Tyr | Tyr |
| Pro (P) | Ala | Ala |
| Ser (S) | Thr | Thr |
| Thr (T) | Val；Ser | Ser |
| Trp (W) | Tyr；Phe | Tyr |
| Tyr (Y) | Trp；Phe；Thr；Ser | Phe |
| Val (V) | Ile；Leu；Met；Phe；Ala；正白胺酸 | Leu |

【0115】胺基酸可根據常見的側鏈特性進行分組：

(1) 疏水性：正白胺酸，Met，Ala，Val，Leu，Ile；

(2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

(3) 酸性：Asp，Glu；

(4) 鹼性：His，Lys，Arg;

(5) 影響鏈取向之殘基：Gly，Pro；

(6) 芳香族：Trp，Tyr，Phe。

非保守取代需要將這些類別中之一類的成員交換為另一類的成員。

【0116】 一種類型的取代變異體涉及取代親代抗體 (*例如*人源化或人類抗體) 之一個或多個高變區殘基。一般而言，選用於進一步研究之所得變異體相對於親代抗體將在某些生物特性方面具有修飾 (*例如*改良) (*例如*親和力提高、免疫原性減少)，及/或將實質上保留親代抗體之某些生物特性。一種示例性取代型變異體為親和力成熟抗體，其可*例如*使用基於噬菌體顯示之親和力成熟技術 (諸如本文所述之技術) 便利地生成。簡言之，將一個或多個 HVR 殘基突變，並且將變異體抗體顯示在噬菌體上並篩選特定的生物學活性 (*例如*結合親和力)。

【0117】 可以在 HVR 中作出改變 (*例如*，取代)，*例如*以改善抗體親和力。此等改變可以在 HVR「熱點」中進行，*亦即*由密碼子編碼的殘基在體細胞成熟期間經歷高頻率突變 (*參見例如* Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)) 及/或與抗原接觸的殘基，並測試所得變異體 VH 或 VL 之結合親和力。透過構建和從二級文庫中重選來進行親和力成熟，例如在 Hoogenboom 等人，*Methods in Molecular Biology* 178:1-37（O'Brien 等人編輯，Human Press, Totowa, NJ, (2001)）中已有描述。在親和力成熟的一些實施例中，透過多種方法（例如，易錯 PCR、鏈改組或寡核苷酸定向誘變）中的任一種將多樣性引入選擇用於成熟的變異基因中。然後創建第二文庫。然後篩選該文庫，以識別具

有所需之親和性的任何抗體變異體。引入多樣性的另一種方法涉及 HVR 定向方法，其中若干 HVR 殘基（例如，一次 4-6 個殘基）是隨機的。可特異性地鑑定抗原結合所涉及之 HVR 殘基，*例如*，使用丙胺酸掃描突變誘發或模型化來鑑定。特別地，CDR-H3 和 CDR-L3 經常成為靶點。

【0118】 在某些實施例中，取代、插入或缺失可在一個或多個 HVR 內發生，只要這樣的改變實質上不降低抗體結合抗原的能力。例如，可在 HVR 中作成基本上不降低結合親和力的保守改變 (*例如*，本文所提供之保守取代)。例如，此等修改可能在 HVR 中之抗原接觸殘基之外。在上文提供的變異體 VH 和 VL 序列的某些實施例中，每個 HVR 保持不變抑或含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代。

【0119】 鑑定可以靶向誘變的抗體的殘基或區域的可用方法稱為「丙胺酸掃描誘變」，如下列所述：Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085。在此方法中，殘基或標靶殘基組 (*例如*，帶電殘基，諸如 Arg、Asp、His、Lys 及 Glu) 經鑑定且經中性或帶負電胺基酸 (*例如*，丙胺酸或聚丙胺酸) 置換以確定抗體與抗原之交互作用是否受影響。可在胺基酸位置引入更多取代，表明對初始取代具有良好的功能敏感性。可替代地或另外地，可使用抗原-抗體複合物之晶體結構來識別抗體與抗原之間的接觸點。此等接觸殘基和鄰近殘基可靶向或消除為取代的候選物。可篩選變異體以確定它們是否包含所需之特性。

【0120】 胺基酸序列插入包括胺基及/或羧基末端融合體之長度，從一個殘基到包含一百個或更多殘基之多肽，以及單個或多個胺基酸殘基的序列內插入。末端插入的實例包括具有 N 端甲硫胺醯基殘基的抗體。抗體分子之其他插入變異體包括抗體之 N 或 C 端與增加抗體的血清半衰期的酶 (例如，對於 ADEPT) 或多肽的融合。

**醣基化變異體**

【0121】 Fc 區醣基化之改變，及某些 Fc 區突變，可以藉由增強或降低效應子功能來影響抗體的效應子功能，或者在一些情況下可能使抗體無效應子。

【0122】 在某些實施例中，改變本文提供的抗體以增加或減少抗體發生醣基化之程度。抗體中添加或缺失醣基化位點可透過改變胺基酸序列以使得產生或去除一個或多個醣基化位點而方便地實現。

【0123】 當抗體包含 Fc 區域時，可改變與其相連的碳水化合物。由哺乳動物細胞產生的天然抗體通常包含分支的雙觸角寡醣，該寡醣通常藉由 N-鍵聯附接至 Fc 區之 CH2 域的 Asn297。*參見例如* Wright 等人 *TIBTECH* 15:26-32 (1997)。寡醣可包括各種碳水化合物，*例如*，甘露糖、N-乙醯基葡萄糖胺 (GlcNAc)、半乳糖及唾液酸，及接附至雙觸寡醣結構之「莖」中之 GlcNAc 的岩藻醣。在一些實施例中，可對本發明之抗體中的寡醣進行修飾，以產生具有某些改善之特性的抗體變體。

【0124】 在一個態樣中，抗體可以經修飾以降低或消除 Asn297 之醣基化，諸如藉由將該殘基突變為甘胺酸或另一種胺基酸 (N297G)。在其他情況下，Fc 區中之其他殘基可以經修飾以降低 ADCC 活性及/或 CDC 活性或者以降低或修飾 Fc-γ 受體結合。

【0125】 在另一實施例中，提供具有碳水化合物結構的抗體變異體，該碳水化合物結構缺少接附 (直接或間接地) 至 Fc 區之岩藻醣。例如，此等抗體中的岩藻醣含量可為 1% 至 80%、1% 至 65%、5% 至 65% 或 20% 至 40%。藉由計算 Asn297 醣鏈中岩藻醣的平均含量來測定岩藻醣相對於藉由 MALDI-TOF 質譜術測得的連接至 Asn 297 的所有醣結構（例如，複合物、雜合和高甘露醣結構）的總和之含量，例如，WO 2008/077546 中所述。Asn297 指代位於 Fc 區中約位置 297 (Fc 區殘基之 Eu 編號) 處之天冬醯胺殘基；然而，由於抗體之輕

微序列變異，Asn297 亦可位於位置 297 上游或下游約 ±3 個胺基酸處，*亦即*，位置 294 與 300 (EU 編號) 之間。此類岩藻醣基化變異體可具有改善的 ADCC 功能。*參見例如*，美國專利公開案第 US 2003/0157108 號 (Presta, L.)；第 US 2004/0093621 號 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。與「去岩藻醣基化」或「岩藻醣缺乏」抗體變異體相關的出版物示例包括：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki 等人，*J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004)；Yamane-Ohnuki 等人，*Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)。能夠產生去岩藻醣基化抗體之細胞株之示例包括缺乏蛋白質岩藻醣基化之 Lec13 CHO 細胞 (Ripka 等人 *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986)；美國專利申請案第 US 2003/0157108 號, Presta, L；及 WO 2004/056312 A1，Adams 等人，尤其在實例 11)，及基因敲除細胞株，諸如 α-1,6-岩藻醣基轉移酶基因 *FUT8* 基因敲除 CHO 細胞 (*參見例如* Yamane-Ohnuki 等人 *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)；Kanda, Y. 等人, *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006)；及 WO2003/085107)。在一些實施例中，抗體可具有人類 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 重鏈恆定區，例如，包含在 Asn297 (EU 編號) 處的突變以降低岩藻醣基化或替代性地消除醣基化。在一些實施例中，抗體可具有 Asn297Ala 或 Asn297Gly 突變。

【0126】 抗體變異體進一步提供有二分式寡醣，*例如*，其中接附至抗體之 Fc 區的雙觸角型寡醣被 GlcNAc 二分。此類抗體變異體可具有減少的岩藻醣基化及/或改善的 ADCC 功能。此類抗體變異體之示例描述，於*例如*，WO 2003/011878 (Jean-Mairet 等人)；美國專利第 6,602,684 號 (Umana 等人)；及 US

2005/0123546 (Umana 等人) 中。亦提供了在寡醣上具有至少一個連接至 Fc 區域之半乳糖殘基的抗體變異體。此等抗體變體可具有改善的 CDC 功能。此類抗體變異體描述於，*例如*，WO 1997/30087 (Patel 等人)；WO 1998/58964 (Raju, S.)；及 WO 1999/22764 (Raju, S.) 中。

**Fc 區域變異體**

【0127】 在某些實施例中，可將一種或多種胺基酸修飾引入本文提供的抗體的Fc區中，從而產生Fc區變異體。Fc 區變異體可包含人類 Fc 區序列 (*例如*，人類 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 Fc 區)，其在一個或多個胺基酸位置包含胺基酸修飾 (*例如*，取代)。

【0128】 於某些實施例中，本發明涉及一種抗體變異體，其具備一些但不是全部效應子功能 (亦即以產生具有降低之效應子功能的抗體或者以產生無效應子抗體)，這可使其成為應用的理想候選者，在該等應用中，抗體的*活體內*半衰期很重要而某些效應子功能 (諸如補體及 ADCC) 為不必要或有害的。可實施*活體外*及/或*活體內*細胞毒性測定，以確認 CDC 及/或 ADCC 活性之下降/耗竭。例如，可實施 Fc 受體 (FcR) 結合測定，以確保抗體缺乏 FcγR 結合 (因此可能缺乏 ADCC 活性)，但保留 FcRn 結合能力。用於媒介 ADCC 的主要細胞 NK 細胞僅表現 FcγRIII，而單核球表現 Fc(RI、FcγRII、及 FcγRIII。FcR 在造血細胞上之表現匯總於 Ravetch 和 Kinet 的論文 (*Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)) 之第 464 頁的表 3 中。用以評估所關注分子之 ADCC 活性的*活體外*測定之非限制性示例描述於美國專利第 5,500,362 號中 (*參見例如*，Hellstrom, I. 等人 *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)) 及 Hellstrom, I 等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985)；5,821,337 (*參見* Bruggemann, M. 等人, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))。替代性地，可採用非放射性測定方法 (*參見*例如，用於流式細胞分析技術的 ACTI™ 非放射性細胞毒性測定

(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA)；及 CytoTox 96® 非放射性細胞毒性測定 (Promega, Madison, WI))。用於此等分析的有用的效應細胞包括外周血單核細胞 (PBMC) 及自然殺手 (NK) 細胞。替代性地或此外，可在*活體內*評估所關注分子之 ADCC 活性，*例如*，在動物模型中，諸如 Clynes 等人 *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998) 中所揭示之動物模型。還可實施 C1q 結合測定以確認該抗體無法結合 C1q 並因此缺乏 CDC 活性。*參見例如*，WO 2006/029879 及 WO 2005/100402 中之 C1q 及 C3c 結合 ELISA。為評估補體活化，可進行 CDC 測定 (*參見*例如，Gazzano-Santoro 等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)；Cragg, M.S. 等人, *Blood* 101:1045-1052 (2003)；及 Cragg, M.S. 與 M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004))。亦可使用此項技術中已知之方法來進行 FcRn 結合及*活體內*清除率/半衰期測定 (*參見例如*，Petkova, S.B. 等人, *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006))。

【0129】 具有降低之效應子功能的抗體包括彼等具有 Fc 區殘基 238、265、269、270、297、327 及 329 中之一者或多者之取代者 (美國專利第 6,737,056 號；殘基之 EU 編號)。此類 Fc 突變體包括具有在胺基酸位置 265、269、270、297 及 327 中之兩者或更多者處之取代的 Fc 突變體，包括其中殘基 265 及 297 由丙胺酸取代的所謂「DANA」Fc 突變體 (美國專利第 7,332,581 號；EU 編號)。在一些實施例中，抗體包含根據 EU 編號慣例在胺基酸位置 265 處的經工程化之丙胺酸。在一些實施例中，抗體包含根據 EU 編號慣例在胺基酸位置 297 處的經工程化之丙胺酸。

【0130】 描述了某些與 FcR 之結合得到改善或減弱的抗體變異體。(*參見例如*，美國專利第 6,737,056 號；WO 2004/056312 及 Shields 等人, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)。)

【0131】在某些實施例中，抗體變異體包含具有改善 ADCC 之一個或多個胺基酸取代，*例如*，在 Fc 區之位置 298、333 及/或 334 (殘基之 EU 編號) 處之取代的 Fc 區。

【0132】在一些實施例中，在 Fc 區中作出改變，得到改變 (*亦即*，改善或減少) 的 C1q 結合及/或補體依賴性細胞毒性 (CDC)，*例如*，如美國專利第 6,194,551 號、WO 99/51642 及 Idusogie 等人 *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000) 中所述。

【0133】具有更長半衰期並改善了與新生兒 Fc 受體 (FcRn) (其負責將母體 IgG 轉移給胎兒，見 Guyer 等人 *J. Immunol.* 117:587 (1976) 和 Kim 等人 *J. Immunol.* 24:249 (1994)) 之結合的抗體描述於 US2005/0014934 (Hinton 等人) 中。那些抗體包含其中具有一個或多個取代之 Fc 區域，其改善了 Fc 區域與 FcRn 之結合。此類 Fc 變異體包括在一個或多個 Fc 區域殘基上發生取代之 Fc 變異體：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424 或 434 (EU 編號)，*例如*，Fc 區域殘基 434 之取代 (美國專利第 7,371,826 號)。亦*參見* Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988)；美國專利第 5,648,260 號；美國專利第 5,624,821 號；及 WO 94/29351 涉及 Fc 區變異體的其他實例。

【0134】在一些實施例中，該抗體可具有野生型人類 IgG1 Fc 區或野生型人類 IgG4 Fc 區、人類 IgG4 S228P Fc 區、人類 IgG4 S228P/M252Y/S254T/T256E Fc 區、人類 IgG1 N297G Fc 區、人類 IgG1 LALAPG (L234A/L235A/P329G) Fc 區或人類 IgG1 N297G/M428L/N434S Fc 區。(全部位置皆採用 EU 編號。)

**半胱胺酸工程化抗體變異體**

【0135】在某些實施例中，可能希望創建經半胱胺酸工程化之抗體，*例如*「thioMAb」，其中抗體之一個或多個殘基由半胱胺酸殘基取代。在特定實施例中，取代殘基出現在抗體之可進入的位點。透過用半胱胺酸取代那些殘基，反應性硫醇基團由此被定位在抗體之可進入的位點，並可用於使抗體與其他部分 (例如藥物部分或連接子-藥物部分) 結合，以形成免疫結合物，如本文進一步所述。在某些實施例中，以下任何一個或多個殘基可被半胱胺酸取代：輕鏈的 V205 (Kabat 編號)；重鏈的 A118 (EU 編號)；及重鏈 Fc 區的 S400 (EU 編號)。經半胱胺酸工程化之抗體可如*例如*美國專利第 7,521,541 號中所述者生成。

**抗體衍生物及結合物**

【0136】在某些實施例中，本文所提供之抗體可進一步經修飾以含有本技術領域中已知且容易獲得的額外非蛋白質部分。適用於抗體之衍生化的部分包括但不限於水溶性聚合物。水溶性聚合物之非限制性實例包括但不限於聚乙二醇 (PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、葡聚醣、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啶酮、聚-1,3-二氧戊環、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/馬來酸酐共聚物、聚胺基酸 (均聚物或無規共聚物) 以及右旋糖酐或聚(N-乙烯吡咯啶酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、環氧丙烷/環氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化多元醇 (例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛由於其水中之穩定性而可能在製造中具有優勢。該聚合物可具有任何分子量，且可聚支鏈或無支鏈。連接至抗體的聚合物之數量可以變化，並且如果連接的聚合物超過一種，則它們可以為相同或不同之分子。通常，用於衍生化的聚合物之數量及/或類型可基於以下考慮因素來確定，該等考慮因素包括但不限於待改善之抗體的特定性質或功能、抗體衍生物是否將用於指定條件下的治療中等。

【0137】在另一實施例中，提供了可藉由暴露於輻射而選擇性加熱之抗體及非蛋白質部分的結合物。在一個實施例中，非蛋白質部分為奈米碳管(Kam 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605，2005)。輻射可具有任何波長，並且包括但不限於不損害普通細胞但是將非蛋白質部分加熱至接近抗體-非蛋白質部分的細胞被殺死之溫度的波長。

【0138】在一些實施例中，抗 TREM2 抗體與檢測標記及/或藥物結合。如本文所用，檢測標記為促進抗體的檢測及/或促進抗體所結合至之分子的檢測的部分。非限制性示例性檢測標記包括但不限於放射性同位素、螢光基團、酶基團、化學發光基團、生物素、表位標籤、金屬結合標籤等。

**特定抗 TREM2 抗體的示例性特性**

【0139】如本文實例中所述，從本文篩選鑑定了一組大鼠抗人抗 TREM2 抗體，隨後進行深度定序分析，該等抗體具有一組獨特的特性，包括例如，(a) 在跨越殘基 157 與 158 之間的切割位點之表位處特異性地結合至 TREM2 莖域，並且亦特異性地結合至由殘基 151 至 165 所組成之多肽，並且更特異性地結合在 hTREM2 之殘基 151 至 161 內，(b) 不與可溶性 TREM2 結合，(c) 作為 TREM2 促效劑，及 (d) 以高親和力特異性地結合至 TREM2。此等大鼠抗人抗體 3.10C2、3.27H7、3.50G1、3.18E5 (「3.10C2 組」)、3.36F5 及 Para.09 以及其等之人源化變異體，可能具有此等及額外特性，該等特性在下文更詳細地描述。

結合親和力

【0140】在一些實施例中，本文之抗體以高親和力特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。例如，在一些實施例中，本文之抗 TREM2 抗體可以例如藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 1 nM、小於 0.5 nM、小於 100 pM、小於 50 pM、小於 25 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、

小於 3 pM、或小於 2 pM 的 $K_D$ 結合至人類 TREM2。在一些實施例中，本文之抗 TREM2 抗體可以例如藉由 SPR 在 37°C 以小於 1 nM、小於 0.5 nM、小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM、或小於 2 pM 的 $K_D$ 結合至食蟹獼猴 TREM2。

【0141】 在一些實施例中，本文之抗 TREM2 抗體以小於 500 pM (亦即，小於 0.5 nM) 之 $K_D$ 結合至 hTREM2。在一些實施例中，本文之抗 TREM2 抗體以小於 200 pM (亦即，小於 0.2 nM) 之 $K_D$ 結合至 hTREM2。在一些實施例中，本文之抗 TREM2 抗體以小於 100 pM (亦即，小於 0.1 nM) 之 $K_D$ 結合至 hTREM2。在一些實施例中，本文之抗 TREM2 抗體以小於 50 pM (亦即，小於 5E-11M 或小於 0.05 nM) 之 $K_D$ 結合至 hTREM2。在一些實施例中，本文之抗 TREM2 抗體以 10-100 pM、10-50 pM、10-25 pM 或 1-10 pM 之 $K_D$ 結合至 hTREM2。在一些實施例中，本文之抗 TREM2 抗體以小於 500 pM (亦即，小於 5E-10M 或小於 0.5 nM) 之 $K_D$ 結合至食蟹獼猴 TREM2。在一些實施例中，本文之抗 TREM2 抗體以小於 200 pM (亦即，小於 2E-10M 或小於 0.2 nM) 之 $K_D$ 結合至食蟹獼猴 TREM2。在一些實施例中，本文之抗 TREM2 抗體以小於 100 pM (亦即，小於 1E-10M 或小於 0.1 nM) 之 $K_D$ 結合至食蟹獼猴 TREM2。在一些實施例中，本文之抗 TREM2 抗體以小於 50 pM (亦即，小於 5E-11M 或小於 0.05 nM) 之 $K_D$ 結合至食蟹獼猴 TREM2。在一些實施例中，本文之抗 TREM2 抗體以 10-100 pM、10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 結合至食蟹獼猴 TREM2。在一些實施例中，本文之抗 TREM2 抗體以 100-500 pM、10-100 pM、10-50 pM、10-25 pM 或 1-10 pM 之 $K_D$ 結合至人類及食蟹獼猴 TREM2 兩者。

【0142】 例如，原始大鼠抗人 3.10C2 抗體之 Fab 及 IgG 版本兩者皆以約 200 pM 之 $K_D$ 結合至 hTREM2。例如，h3.10C2.v1 以介於 100 與 500 pM 之間

的 $K_D$ 結合至人類及食蟹獼猴 TREM2 兩者。例如，具有基於 3.10C2 抗體組的 Para.09 重鏈及不同輕鏈之大鼠抗人抗體以介於1 與 5 pM 之間的 $K_D$ 結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。人源化 hPara.09.v2 以 10-25 pM 之 $K_D$ 結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。3.10C2 的進一步人源化版本以 100-200 pM 之 $K_D$ 結合至人類及食蟹獼猴 TREM2，且 Para.09 的進一步人源化版本以 10-50 pM 之 $K_D$ 結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。

【0143】 本文之 $K_D$ 可以藉由 SPR 測量，例如，使用 BIACORE® SPR測定。例如，使用 BIACORE®-2000 或 BIACORE®-3000 或 BIACORE®-T200 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) 的測定可以用固定化抗體晶片進行。可以藉由同時擬合締合及解離感測圖，使用簡單之一對一 Langmuir 結合模型 (例如，藉由 BIACORE® 評價軟體版本 3.2) 來計算締合速率 (kon) 及解離速率 (koff)。根據 koff/kon 比率來計算平衡解離常數 ($K_D$)。*參見例如*，Chen 等人, *J. Mol. Biol.* 293:865-881 (1999)。

【0144】 在以下實例中，親和力係藉由 SPR 以兩種形式之一測量。在一種形式中，將 TREM2-Fc 固定在蛋白 A 晶片上，且使用可溶性抗 TREM2 Fab 片段作為配體。在第二種形式中，將抗 TREM2 IgG 固定在抗 CH1 Biacore™ 晶片上，且使用可溶性單體 TREM2 作為配體。例如，表 1、4 及 6 中所示的 $K_D$ 測量值係藉由 SPR 在 37°C 確定。

表位及可溶性 TREM2 結合之缺少，以及 TREM2 脫落的抑制

【0145】 如實例部分所示，本揭示提供抗體，其等特異性地結合在跨越 hTREM2 之殘基 129 至 174 (參見 SEQ ID NO: 90) 的 TREM2 之莖域內但不與可溶性 TREM2 (sTREM2；hTREM2 的殘基19 至 157) 結合，與文獻中先前作為莖結合物描述的其他抗 TREM2 抗體相反，sTREM2 係透過殘基 H157 與 S158 之間的 TREM2 切割形成，且通常包含 TREM2 的殘基 19 至 157。在一些實施例

中，結合至 TREM2 之莖域可藉由對包含 TREM2 的殘基 129 至 174 (SEQ ID NO: 90) 或殘基 129 至 175 (SEQ ID NO: 177；圖. 2A) 之多肽執行結合測定來顯示，該多肽包含莖域及第一個跨膜域殘基。本文所提供之結果顯示，本揭示之 3.10C2、Para.09、3.50G1、3.18E5、3.36F5 或 3.27H7 抗體，以及本文所述之彼等抗體的人源化版本諸如Para.09.v2、3.10C2.v1，可能結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的表位，該表位在 H157 至 S158 切割位點處的 TREM2 切割時被破壞，並且不存在於 sTREM2 中。(參見例如，圖 2A-B 及 5。) 相比之下，文獻中描述的許多抗 TREM2 抗體顯示結合至可溶性 TREM2 且可能辨識不被完整 TREM2 之切割破壞的不同表位，即使在一些情況下，其等可能接觸切割位點周圍的殘基 (參見例如，圖 5)。因此，本揭示提供抗體，該等抗體具有未見於其他抗 TREM2 抗體中之特性，亦即，結合至完整 TREM2 但不與 sTREM2 結合的能力，儘管似乎與結合 sTREM2 之先前抗體的類似區域交互作用。

【0146】 如前所述，本文之某些抗體不與可溶性 TREM2 結合。如本文所用，這意指當在 ELISA 測定中測定時，該抗體可能不顯示任何超過 10% 的與 sTREM2 之結合，並且在一些情況下不顯示任何超過 5% 的與 sTREM2 之結合，其中結合百分比經標準化為陽性對照抗體 1.16B8 的結合百分比，該陽性對照抗體與 sTREM2 至結合設置為 100%。對照抗體 1.16B8 輕鏈序列顯示在 SEQ ID NO: 170 中，且其重鏈序列顯示在 SEQ ID NO: 171 中。在一些實施例中，使用抗體 3.17A9 作為 ELISA 測定中的檢測劑。檢測抗體 3.17A9 輕鏈序列顯示在 SEQ ID NO: 168 中，且重鏈序列顯示在 SEQ ID NO: 169 中。在一些實施例中，包含 hTREM2 之殘基 19 至 157 的多肽可用於測定結合 (例如，SEQ ID NO: 21 的殘基 19 至 157)。在一些實施例中，抗體在 ELISA 測定中不與可溶性 TREM2 結合，其中結合係針對對照抗體 1.16B8 之結合進行標準化，其中檢測抗體 3.17A9 用作檢測試劑，並且其中 sTREM2 為包含 SEQ ID NO: 21 之殘基

19 至 157 的多肽。在一些實施例中，ELISA 測定可以如下文實例 11 中及圖 16 中所示進行。

【0147】 例如，如本文之實例 11 中所示，人類 TREM2 ELISA 測定藉由將待測試之抗體作為捕獲試劑塗佈到盤孔上並且使用經生物素化之 IgV 反應性單株抗體 3.17A9 作為檢測試劑來測量抗體至 sTREM2 的結合。對照抗體 1.16B8 用作陽性對照抗體以建立 sTREM2 結合的標準。例如，在該測定中，大鼠 Para.09 – LC 3.27H7 mIgG2a LALAPG (Para09)、大鼠 3.10C2 mIgG2a LALAPG (3.10C2)、大鼠 3.18E5 mIgG2a LALAPG (3.18E5)、大鼠 3.50G1 mIgG2a LALAPG (3.50G1)、大鼠 3.27H7 mIgG2a LALAPG (3.27H7)、大鼠 3.36F5 mIgG2a LALAPG (3.36F5) 全部未顯示至 sTREM2 的任何結合 (參見圖 16，其顯示，與 1.116B8 對照相反，彼等抗體的標準化 sTREM2 結合接近於零)。亦測試了具有 hIgG1 N297G 恆定區的人源化抗體 Para.09.v2 抗體的 sTREM2 結合，並且與具有 mIgG2 LALAPG 的大鼠 Para.09 一樣，未顯示至 sTREM2 的任何結合。據此，在一些實施例中，本文之抗體，諸如圖 16 中所示之彼等及此類抗體的人源化變異體，諸如 Para.09.v2、3.10C2.v1，不與可溶性 TREM2 結合。在一些實施例中，彼等抗體結合至 TREM2 莖域但不與可溶性 TREM2 結合。

【0148】 結合至 sTREM2 的缺少在*活體內*可能是有利的，因為它可以顯著降低或消除*活體內*抗體與 sTREM2 之間不希望的結合的可能性。例如，不受機制限制，sTREM2 反而可以作為抗 TREM2 抗體的「誘餌」，使得*活體內*的抗體分子不太容易結合至細胞表面上的 TREM2。

【0149】 如本文之實例及附圖中所示，本文之抗體亦可在跨越 H157 至 S158 切割位點之區處結合至 TREM2 之莖區內的殘基，具體而言在 TREM2 的 149 至 168、146 至 169、146 至 161 及 151 至 165 範圍的殘基內。該獨特的跨

越切割位點的表位可以解釋為什麼本文之抗體既可以結合至 TREM2 莖結合但又不與可溶性 TREM2 結合。(參見例如圖 5。) 在一些實施例中，相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，本文之抗體以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 及/或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽。在一些情況下，相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，本文之抗體以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 149 至 168 (SEQ ID NO: 93)、胺基酸 146 至 169 (SEQ ID NO: 95)、胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 及/或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽。在一些實施例中，相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 所組成之 TREM2 多肽及相較於特異性地結合至由胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成者，本文之抗體以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 及/或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽。在一些情況下，相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 所組成之 TREM2 多肽及相較於特異性地結合至由胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成者，本文之抗體以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 149 至 168 (SEQ ID NO: 93)、胺基酸 146 至 169 (SEQ ID NO: 95)、胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 及/或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽。

【0150】 如本文所提供的實例中所示，資料表明本揭示之抗體特異性地結合至 TREM2 之殘基 151 至 161 內的表位。(參見圖 2A 及圖 2B。）在一些實施例中，本文之抗體結合至包括 Asp-152、His-154、Val-155、Glu-156、His-157、Ser-158、Ile-159 及 Ser-160 中之一者或多者、跨越 H157 至 S158 處之

TREM2 切割位點的表位。(參見圖 5。) 在一些實施例中，本文之抗體結合至包含殘基 152、154、157、158 及 159 的表位。在一些實施例中，本文之抗體特異性地結合至包括 Asp-152、His-157 及 Ile-159 的表位。在某些實施例中，本文之抗體結合至包括殘基 Asp-152、His-154、Val-155、Glu-156、His-157 及 Ile-159 中之一者或多者的表位。在一些實施例中，本文之抗體結合至包括 Glu-156 及 Ser-160 的表位。丙胺酸掃描分析顯示，例如，抗體 Para.09 (其包含與抗體 3.27H7 之輕鏈可變區配對的 Para.09 重鏈可變區) 的 TREM2 結合受到在 Asp-152、His-157 及 Ile-159 處丙胺酸突變的影響。(圖 5。) Para.09 及 3.10C2 在丙胺酸掃描測定中具有類似的模式，除了 3.10C2 的結合額外地受到 H154 及 S158 處丙胺酸突變的影響。(圖 5。)

【0151】 在一些實施例中，相較於不特異性地結合至 TREM2 的對照抗體 (例如，同型對照)，本文之抗體，諸如 Para.09 或 3.10C2，包括此類抗體的人源化變異體諸如 Para.09.v2 及 3.10C2.v1，亦降低*活體內* sTREM2 之量，諸如在鼠血漿、CSF 或腦組織中，如藉由 ELISA 測定所測量的。例如，在一些實施例中，ELISA 測定可以藉由確定在存在抗 TREM2 抗體之情形下孵育的血漿、CSF 或腦組織樣品中可溶性 TREM2 之量相較於使用同型對照抗體者的變化來進行。在存在抗 TREM2 抗體之情形下降低的 sTREM2 之量指示 sTREM2 脫落受到抑制。

【0152】 如下文實例 18A-B 中所示，結合至 sTREM2 的缺少亦與這種*活體內* sTREM2 耗竭 (在鼠血漿、CSF 及腦組織中) 相關。與比較抗體相反，用示例性抗體 Para.09 治療導致低於基線對照量的顯著降低之血漿 sTREM2 之量，而用比較抗 TREM2 抗體治療使血漿中 sTREM2 之量增加數倍。(實例 18B 及圖 25C。) 例如，在 mIgG2 LALAPG 背景下的 Para.09 抗體在投予後在小鼠中導致血漿中可溶性 TREM2 之量降低 70-85%，持續至少 7 天，而比較抗體歷經

同一時間段使 sTREM2 之量增加超過 2 倍。(圖 25C。) 因此，在一些實施例中，本文之抗體諸如 Para.09 及 3.10C2 及其人源化變異體諸如 Para.09.v2 及 3.10C2.v1 在向小鼠投予後導致鼠血漿中可溶性 TREM2 之量降低，持續至少 7 天。因此，具有增加的對完整 TREM2 之特異性並且缺少*活體內*結合至 sTREM2 的本揭示之抗體在升高之 sTREM2 之量係非所欲者之情形下可能具有特別的效用。

【0153】 據此，本文中之抗體諸如 Para.09 及 3.10C2 及其人源化變異體可具有以下特性中之任何一種或多種：(a) 特異性地結合至 TREM2 之莖域；(b) 不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合；(c) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽的親和力，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽；(d) 特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位；(e) 相較於對野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代的 TREM2 莖域多肽的結合親和力降低 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)；及 (f) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM，或小於 2 pM，或 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些情況下，抗體可以具備上述特性中的兩種或更多種、上述特性中的三種或更多種、上述特性中的四種或更多種、上述特性中的五種或更多種或上述特性的全部。例如，在一些情況下，本文之抗體不與可溶性 TREM2 結合並且亦顯示特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位及/或顯示相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，以較高親和力特異性地結合至由胺基

酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽。在一些此類情況下，該抗體亦藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM、或小於 2 pM、或 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。例如，在一些情況下，本文之抗體不與可溶性 TREM2 結合並且特異性地結合至 TREM2 之莖域。在一些情況下，本文之抗體不與可溶性 TREM2 結合，並且相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，具有對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)。在一些此類情況下，該抗體亦藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM、或小於 2 pM、或 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。此外，在一些情況下，該抗體亦具有完整的效應子功能。在一些情況下，該抗體亦具有 Fc 區，該 Fc 區具有降低的效應子功能。在其他情況下，該抗體亦具有 Fc 區，該 Fc 區為無效應子。例如，在一些情況下，該抗體包含具有 N297G 取代的 hIgG1 Fc 區。

【0154】 在某些示例性實施例中，該抗體包含重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，其中該 VH 包含：包含 SEQ ID NO: 11 或 19 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 12 或 20 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 CDR-H3，並且進一步地其中該抗體不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合，其中該抗體為如以下部分中進一步描述的 TREM2 促效劑。在一些實施例中，該 VH 包含 SEQ ID NO: 17、133、135、137 或 139 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO: 17、133、135、137 或 139 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列；或者該抗體包含重鏈，該重鏈包含具有或不具有 C 端離胺酸或 C 端甘胺酸-離胺酸的 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由具有或不具有 C 端離胺酸或 C 端甘胺酸-離胺酸的 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成，或包含與 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些情況下，抗體亦特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位，及/或相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成的 TREM2 多肽，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成的 TREM2 多肽。在一些情況下，該抗體不與可溶性 TREM2 結合，並且相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，具有對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)。在一些情況下，該抗體亦藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM、或小於 2 pM、或 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。此外，在一些情況下，該抗體亦具有完整的效應子功能。在一些情況下，該抗體亦具有 Fc 區，該 Fc 區具有降低的效應子功能。在其他情況下，該抗體亦具有 Fc 區，該 Fc 區為無效應子。例如，在一些情況下，該抗體包含具有 N297G 取代的 hIgG1 Fc 區。在任何此等情況下，在一些實施例中，該抗體可具備 3.10C2、3.50G1、3.18E5、3.36F5 或 3.27H7 的輕鏈 CDR 1 至 3。

【0155】本文所述之抗體亦可具有下一部分中所述的額外生物活性中之一種或多種及本部分中所述的上述特性之任何組合。

額外的生物活性

【0156】在一些實施例中，本文之抗體，諸如 Para.09 及 3.10C2 及其人源化變異體，可具有以下進一步之特徵中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、六種或更多種、七種或更多種、八種或更多種、或全部：(a) 在表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中誘導螢光素酶報導子活性；(b) 降低血漿中*活體內* sTREM2 之量；(c) 在表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中抑制 sTREM2 的脫落；(d) 在人類 MDM 細胞中誘導酪胺酸磷酸化；(e) 在人類 MDM 細胞中誘導 SYK 磷酸化；(f) 在缺乏 IL-34 及 CSF-1 之情形下增強人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞的存活；(g) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中抑制 sTREM2 的脫落；(h) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中誘導 SYK 磷酸化；及 (i) 在存在 Aβ 寡聚物之情形下在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中增加總 Aβ 斑塊強度及/或平均 X04 斑塊強度 (例如，如本文實例 17 的測定中所述)。

【0157】據此，在一些實施例中，本文之抗體，諸如 Para.09 及 3.10C2 及其人源化變異體，亦在經培養之細胞中 (包括在已經工程化以表現人類 TREM2 的 Jurkat 細胞中，或替代性地，在人類單核球衍生之巨噬細胞 (MDM) 或人類誘導性富潛能幹細胞 (iPSC) 衍生之小神經膠質細胞中) 降低 sTREM2 之量 (亦即，抑制 sTREM2 脫落)。在一些情況下，細胞培養測定中的 sTREM2 之量可以藉由 ELISA 測定來測量。

【0158】在一些實施例中，本文之抗體為 TREM2 促效劑。例如，在一些實施例中，本文之抗體在表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 報導子細胞中誘導報導子表現。例如，TREM2 活性可能導致細胞傳訊事件，從而導致在 NFAT (經活化之 T 細胞的核因子) 控制下的基因表現增強。例如，可以使用 Jurkat 細胞評估 NFAT 活性，該細胞經工程化以因應於 NFAT 轉錄因子對基因表現的活化而表現報導子諸如螢火蟲螢光素酶。為了測試抗 TREM2 抗體對 NFAT 控制

之基因表現的影響，可以構建表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 報導子細胞。在一些實施例中，本文之抗體在表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 報導子細胞中增強報導子表現。(參見圖 18A-B。) 在一些實施例中，本文之抗體亦在表現人類 TREM2 突變體諸如 hTREM2 R47H、hTREM2 R62H 及/或 H157Y 的 Jurkat-NFAT 報導子細胞中增強報導子表現。(參見圖 19A-C。)

【0159】 TREM2 活性，及據此，抗 TREM2 抗體的促效作用，亦可一般藉由酪胺酸殘基的磷酸化之量或藉由 Syk 激酶的磷酸化之量來評估，Syk 激酶為一種在 TREM2 相關細胞傳訊時被磷酸化的激酶。因此，在一些實施例中，本文之抗體增加 TREM2 活性，如藉由在表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 報導子細胞、人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞或人類 MDM 細胞中之一者或多者中泛磷酸化酪胺酸 (pY) 之量及磷酸化 Syk 激酶 (p-SYK) 之量中之一者或兩者的增加所測量的。在一些實施例中，本文之抗體在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞及人類 MDM 細胞中增加 SYK 磷酸化。

【0160】 在一些實施例中，當在缺乏 IL-34 及 CSF-1 (其等通常為促進細胞存活及生長所需) 之情形下培養人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞時，本文之抗體亦增強彼等細胞的存活。例如，人源化抗體 hPara.09.v2、h3.10C2.v1、hPara.09 Q100P V104L 及 hPara.09 Q100P 各自增強 iPSC 衍生之小神經膠質細胞存活，且 $EC_{50}$ 範圍為 65 pM 至 610 pM (分別為 65 pM、350 pM、190 pM 及 610 pM)。(參見實例 17 及圖 23E。) 據此，在一些實施例中，本文之抗體可以在缺乏 IL-34 及 CSF-1 之情形下增強 iPSC 衍生之小神經膠質細胞存活，且 $EC_{50}$ 範圍為 60 pM 至 700 pM，諸如 60 pM 至 400 pM，或 60 pM 至 200 pM。此外，在一些實施例中，相較於同型對照抗體，抗體可在缺乏 IL-34 及 CSF-1 之情形下將小神經膠質細胞存活增強至少 3 倍或 3-8 倍，諸如 3-6倍、3-5 倍、5-8 倍或 3-4 倍。(參見圖 23D-E。)

【0161】在一些實施例中，本文之抗體在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中存在 Aβ 寡聚物之情形下增加 Aβ 斑塊強度及/或增加 X04 斑塊強度。(參見實例 17 及圖 24A-C。) 例如，當用特定標記物染料染色 iPSC 衍生之小神經膠質細胞時，可以將斑塊形成及壓密測量為增加的強度，該等特定標記物染料為諸如彼等辨識 Aβ 者 (亦即，測量「Aβ 強度」或「Aβ 斑塊強度」) 或彼等辨識 Aβ 斑塊者 (X04 標記物，測量「X04 強度」或「X04 斑塊強度」)。在一些情況下，可以確定「總」Aβ 斑塊強度。並且在一些情況下，可以測量「平均」X04 斑塊強度。用於測量斑塊形成及壓密、總 Aβ 斑塊強度及平均 X04 斑塊強度之測定的示例顯示在實例 17 及圖 24A-C 中。

【0162】在一些實施例中，本文之抗體在 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中增加 Aβ 斑塊形成及壓密，如藉由相較於同型對照抗體，總 Aβ 斑塊強度及平均 X04 強度中之一者或兩者的增加所示。例如，在一些實施例中，相較於同型對照抗體，抗體的存在使總 Aβ 斑塊強度增加 4-6 倍。在一些實施例中，本文之抗體具有介於 100 與 800 nM 之間的用於增加總 Aβ 斑塊強度的 $EC_{50}$。例如，如圖 24B 中所示，抗體 hPara.09.v2、h3.10C2.v1、hPara.09 Q100P V104L 及 hPara.09 Q100P 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞模型斑塊測定中增加總 Aβ 斑塊強度，且 $EC_{50}$ 分別為 330 nM、130 nM、770 nM 及 120 nM。此外，在一些實施例中，相較於同型對照抗體，抗體的存在使該測定中之平均 X04 斑塊強度增加 2-3 倍。在一些實施例中，本文之抗體具有介於 10 與 500 nM 之間的用於增加平均 X04 斑塊強度的 $EC_{50}$。例如，如圖 24C 中所示，抗體 hPara.09.v2、h3.10C2.v1、hPara.09 Q100P V104L 及 hPara.09 Q100P 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞模型斑塊測定中增加平均 X04 斑塊強度，且 $EC_{50}$ 分別為 320 nM、11 nM、40 nM 及 500 nM。

【0163】例如，來自表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 報導子細胞及來自 MDM 及 iPSC 衍生之小神經膠質細胞模型的資料指示，本文之抗體可能具有神經保護活性。例如，本文之抗體可以具有以下生物活性的組合：增強人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞的存活，增加 p-SYK 磷酸化及/或 NFAT 控制之基因表現，及在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中存在 Aβ 寡聚物之情形下促進 Aβ 斑塊形成及壓密。在一些實施例中，本文之抗體在 BV ELISA 測定中亦顯示很少或沒有顯著的脫靶結合。(Hötzel 等人, *Landes Bioscience* dx.doi.org/10.4161/mabs.22189 (2012)。) 示例性 BV ELISA 測定如下文實例 10 中所述。在此類測定中，例如，抗體可以具有高 (分數 > 5)、中等 (分數為 1 至 5) 及低 (不可檢測，分數 < 1) 的脫靶結合。在一些實施例中，當本文之抗體與先前確定為具有高中等及低脫靶結合分數的抗體平行測試時，發現本文之抗體具有低脫靶結合分數，亦即低於 1。(參見圖 15。) 特別地，在人類 IgG1 N297G 恆定區背景中製備的 3.10C2.v1 及 Para.09.v2 在該測定中顯示低脫靶結合 (亦即，分數小於 1)，儘管亦具有分別在 100 至 500 pM 及 10 至 50 pM 範圍的對 TREM2 之親和力。例如，該測定中的低分數可能指示抗體不太可能結合至不正確的*活體內*標靶，這與在人類及食蟹獼猴中的良好藥代動力學特性相關，並且可能有利於降低由於*活體內*脫靶結合所致的毒性及副作用。

**某些示例性人源化抗體的序列及特性**

抗體 h3.10C2.v1

【0164】在一些態樣中，本揭示涉及包含重鏈可變區及輕鏈可變區的抗體，其中該重鏈可變區包含胺基酸序列，該胺基酸序列包含 3.10C2 抗體之重鏈 CDR，該等重鏈 CDR 包含 SEQ ID NO: 1、2 及 3 (Kabat) 或包含 SEQ ID No: 9、10 及 3 (Chothia)。(參見圖 9B。) 在一些實施例中，該抗體包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中該輕鏈可變區包含胺基酸序列，該胺基酸序列包含

3.10C2.v1 抗體之輕鏈 CDR，該等輕鏈 CDR 基於 3.27H7 之輕鏈 CDR Fab，包含 SEQ ID NO: 4、5 及 6。(參見圖 9A。) 在一些實施例中，該抗體包含 3.10C2.v1 之重鏈及輕鏈 CDR，該等 CDR 包含 SEQ ID NO: 1 至 6。在一些實施例中，該抗體包含 3.10C2.v1 之重鏈及輕鏈 CDR，該等 CDR 包含 SEQ ID NO: 9、10、3、4、5 及 6。

【0165】 在一些實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 1、2 及 3 或替代性地 9、10 及 3 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 4、5 及 6 的輕鏈 CDR，且進一步包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 1、2 及 3 或替代性地 9、10 及 3 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 4、5 及 6 的輕鏈 CDR，且進一步包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 1、2 及 3 或替代性地 9、10 及 3 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 4、5 及 6 的輕鏈 CDR，且進一步包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 1、2 及 3 或替代性地 9、10 及 3 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 4、5 及 6 的輕鏈 CDR，且進一步包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列。在一些

實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 1、2 及 3 或替代性地 9、10 及 3 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 4、5 及 6 的輕鏈 CDR，且進一步包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 1、2 及 3 或替代性地 9、10 及 3 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 4、5 及 6 的輕鏈 CDR，且進一步包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列，但在 SEQ ID NO: 7 之重鏈框架區中具有至多 5 個，諸如 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失。在一些實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 1、2 及 3 或替代性地 9、10 及 3 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 4、5 及 6 的輕鏈 CDR，且進一步包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列，但在 SEQ ID NO: 8 之輕鏈框架區中具有至多 5 個，諸如 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失。在一些實施例中，抗體包含：包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的重鏈可變區及包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈可變區，但在 SEQ ID NO: 7 及/或 SEQ ID NO: 8 之框架區中具有至多 5 個胺基酸取代、插入或缺失，諸如 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失。

【0166】 在一些實施例中，該抗體包含：包含 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列的重鏈可變區及包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施例中，該抗體進一步包含重鏈及/或輕鏈恆定區。

【0167】 在本文的任何實施例中，該抗體可以為抗體片段，諸如 Fv、單鏈 Fv (scFv)、Fab、Fab’ 或 $(Fab')_2$。在其他實施例中，該抗體可以為全抗體 (亦即，包含重鏈及輕鏈恆定區。) 在其他實施例中，該抗體可以為 IgG、IgA 或 IgM 抗體。在一些實施例中，該抗體可具有野生型人類 IgG1 Fc 區或野生型人類 IgG4 Fc 區、人類 IgG4 S228P Fc 區、人類 IgG4 S228P/M252Y/S254T/T256E Fc 區、人類 IgG1 N297G Fc 區、人類 IgG1 LALAPG (L234A/L235A/P329G) Fc

區或人類 IgG1 N297G/M428L/N434S Fc 區。如果是鼠 IgG 抗體，該抗體可以為 mIgG1 或 mIgG2 或 mIgG2 LALAPG 抗體。在一些情況下，抗體可以包含全長重鏈及/或全長輕鏈。在一些情況下，該抗體可能缺少重鏈恆定區的 C 端 Lys 或者 C 端 Lys 及 Gly 殘基。在其他情況下，該抗體含有彼等 C 端殘基中之一者或兩者。在一些情況下，該抗體可以為雙特異性的或多特異性的。在一些情況下，該抗體可以與另一分子 (諸如標記或藥物) 直接結合或透過連接子結合。在一些情況下，該抗體具有完整效應子功能。在一些情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區具有降低的效應子功能。在其他情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區為無效應子。例如，在一些情況下，該抗體包含具有 N297G 取代的 hIgG1 Fc 區。

【0168】在一些實施例中，該抗體可具有下文更詳細描述的某些特性。例如，在一些態樣中，該抗體具有以下特徵中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、或全部：(a) 特異性地結合至 TREM2 的莖域且特異性地結合至由 hTREM2 之殘基 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成的多肽；(b) 不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合；及 (c) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37℃ 以小於 1 nM、小於 0.7 nM、小於 0.6 nM、小於 0.5 nM、小於 0.4 nM、或小於 0.3 nM、或 100- 500 pM 或 100-200 pM 的 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在又一些態樣中，該抗體亦可 (d) 特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位；(e) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成的 TREM2 多肽，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成的 TREM2 多肽；及 (f) 相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，顯示對獨立地包含 D152A、H157A 及 I159A 取代的 TREM2 莖域多肽降低的結合親和力 (例如，

如藉由雙層干涉術所測量)。據此，在一些情況下，該抗體 (a) 不與可溶性 TREM2 結合並且 (b) 特異性地結合至 TREM2 之莖域。在一些情況下，該抗體 (a) 不與可溶性 TREM2 結合並且 (b) 特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位及/或 (c) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽。在一些情況下，該抗體 (a) 不與可溶性 TREM2 結合並且 (b) 相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，具有對獨立地包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)。在又一些情況下，該抗體 (c) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 1 nM、小於 0.7 nM、小於 0.6 nM、小於 0.5 nM、小於 0.4 nM、或小於 0.3 nM、或 100-500 pM 或 100-200 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。

【0169】 在一些態樣中，該抗體為 TREM2 促效劑，其特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位且不與可溶性 TREM2 結合。在一些態樣中，該抗體為 TREM2 促效劑，其特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位；不與可溶性 TREM2 結合；並且藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 1 nM、小於 0.7 nM、小於 0.6 nM、小於 0.5 nM、小於 0.4 nM、或小於 0.3 nM、或 100-500 pM 或 100-200 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些態樣中，該抗體為 TREM2 促效劑，其特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位；且不與可溶性 TREM2 結合。在任何此等情況下，該抗體可以進一步具有下文列出之進一步之特性 (a) 至 (i) 中的一者或多者。

【0170】在一些情況下，該抗體在脫靶結合測定諸如 BV ELISA 測定 (一個示例為如本文實例 10 中所述者進行的測定) 中亦具有低脫靶結合分數 (例如，< 1 的分數)。在一些情況下，此類抗體可作為 TREM2 促效劑，並且亦可還具有下文列出之特性 (a) 至 (i) 中的一者或多者。

【0171】具體而言，在一些態樣中，該抗體亦可具有以下特徵中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、六種或更多種、七種或更多種、八種或更多種、或全部：(a) 在表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 報導子細胞中誘導螢光素酶報導子活性；(b) 降低血漿中*活體內* sTREM2 之量；(c) 在 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中抑制 sTREM2 的脫落及/或誘導人類 TREM2 的內化；(d) 在表現人類 TREM2 的人類 MDM 細胞中誘導酪胺酸磷酸化；(e) 在表現人類 TREM2 的人類 MDM 細胞中誘導 SYK 磷酸化 (p-SYK)；(f) 增強人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞的存活；(g) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中抑制 sTREM2 的脫落；(h) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中活化 TREM2 傳訊；及 (i) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中存在 Aβ 寡聚物之情形下增加總 Aβ 斑塊強度及/或平均 X04 斑塊強度。

h3.10C2.v1 變異體抗體

【0172】在一些實施例中，本文之抗體可包含 h3.10C2.v1 之重鏈及輕鏈 CDR 以及 h3.10C2.v1 抗體之重鏈框架區，如上文所述及圖9A-B 中所示，但在抗體輕鏈中具有額外的修飾，例如，如圖 14A 中所示。例如，在一些實施例中，可以在框架區中作出某些輕鏈修飾以改善表現產量等，如下文實例中所述。

【0173】在一些實施例中，該抗體包含以下 VH 及 VL 集組中之一者：(a) SEQ ID No: 146 及 145 (抗體 h3.10C2.v1 Q100P)；(b) SEQ ID No: 148 及 147 (抗

體 h3.10C2.v1 I58V/Q100P)；或 (c) SEQ ID No: 150 及 149 (抗體 h3.10C2.v1 Q100P/V104L)。在一些實施例中，該抗體進一步包含重鏈及/或輕鏈恆定區。

【0174】 在本文的任何實施例中，該抗體可以為抗體片段，諸如 Fv、單鏈 Fv (scFv)、Fab、Fab' 或 $(Fab')_2$。在其他實施例中，該抗體可以為全抗體 (亦即，包含重鏈及輕鏈恆定區。) 在其他實施例中，該抗體可以為 IgG、IgA 或 IgM 抗體。在一些實施例中，該抗體可具有野生型人類 IgG1 Fc 區或野生型人類 IgG4 Fc 區、人類 IgG4 S228P Fc 區、人類 IgG4 S228P/M252Y/S254T/T256E Fc 區、人類 IgG1 N297G Fc 區、人類 IgG1 LALAPG (L234A/L235A/P329G) Fc 區或人類 IgG1 N297G/M428L/N434S Fc 區。如果是鼠 IgG 抗體，該抗體可以為 mIgG1 或 mIgG2 或 mIgG2 LALAPG 抗體。在一些情況下，抗體可以包含全長重鏈及/或全長輕鏈。在一些情況下，該抗體可能缺少重鏈恆定區的 C 端 Lys 或者 C 端 Lys 及 Gly 殘基。在其他情況下，該抗體含有彼等 C 端殘基中之一者或兩者。在一些情況下，該抗體可以為雙特異性的或多特異性的。在一些情況下，該抗體可以與另一分子 (諸如標記或藥物) 直接結合或透過連接子結合。在一些情況下，該抗體具有完整效應子功能。在一些情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區具有降低的效應子功能。在其他情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區為無效應子。例如，在一些情況下，該抗體包含具有 N297G 取代的 hIgG1 Fc 區。

【0175】 在一些實施例中，該抗體可具有下文更詳細描述的某些特性。例如，在一些態樣中，該抗體具有以下特徵中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、或全部：(a) 特異性地結合至 TREM2 的莖域；(b) 不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合；及 (c) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 1 nM、小於 0.7 nM、小於 0.6 nM、小於 0.5 nM、小於 0.4 nM、或小於 0.3 nM、或 100- 500 pM 或 100-200 pM 的 $K_D$ 特異性地結

合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在又一些態樣中，該抗體亦可 (d) 特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位；(e) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成的 TREM2 多肽，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成的 TREM2 多肽；及 (f) 相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，顯示對獨立地包含 D152A、H157A 及 I159A 取代的 TREM2 莖域多肽降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)。據此，在一些情況下，該抗體 (a) 不與可溶性 TREM2 結合並且 (b) 特異性地結合至 TREM2 之莖域。在一些情況下，該抗體 (a) 不與可溶性 TREM2 結合並且 (b) 特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位及/或 (c) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽。在一些情況下，該抗體 (a) 不與可溶性 TREM2 結合並且 (b) 相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，具有對獨立地包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)。在一些此等情況下，該抗體亦 (c) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 1 nM、小於 0.7 nM、小於 0.6 nM、小於 0.5 nM、小於 0.4 nM、或小於 0.3 nM、或 100-500 pM 或 100-200 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。

【0176】 在一些態樣中，該抗體為 TREM2 促效劑，其特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位且不與可溶性 TREM2 結合。在一些態樣中，該抗體為 TREM2 促效劑，其特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位；不與可溶性 TREM2 結合；並且藉由表面電漿子共振

(SPR) 在 37°C 以小於 1 nM、小於 0.7 nM、小於 0.6 nM、小於 0.5 nM、小於 0.4 nM、或小於 0.3 nM、或 100-500 pM 或 100-200 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些態樣中，該抗體為 TREM2 促效劑，其特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位；且不與可溶性 TREM2 結合。

【0177】 在一些情況下，該抗體在脫靶結合測定 (如本文實例 10 中所述者進行) 中亦具有低脫靶結合分數 (例如，< 1 的分數)。在一些情況下，此類抗體可作為 TREM2 促效劑，並且亦可還具有下文列出之特性 (a) 至 (i) 中的一者或多者。

【0178】 具體而言，在一些態樣中，該抗體亦可具有以下進一步之特徵中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、六種或更多種、七種或更多種、八種或更多種、或全部：(a) 在表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 報導子細胞中誘導螢光素酶報導子活性；(b) 降低血漿中*活體內* sTREM2 之量；(c) 在 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中抑制 sTREM2 的脫落；(d) 在人類 MDM 細胞中誘導酪胺酸磷酸化；(e) 在人類 MDM 細胞中誘導 SYK 磷酸化；(f) 在缺乏 IL34 及 CSF1 之情形下增強人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞的存活；(g) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中抑制 sTREM2 的脫落；(h) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中誘導 SYK 磷酸化；及 (i) 在存在 Aβ 寡聚物之情形下在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中增加總 Aβ 斑塊強度及/或平均 X04 斑塊強度。

【0179】 在一些實施例中，抗體包含以下 VH 及 VL 集組中之一者：(a) SEQ ID No: 146 及 145 (抗體 h3.10C2.v1 Q100P)；(b) SEQ ID No: 148 及 147 (抗體 h3.10C2.v1 I58V/Q100P)；及 (c) SEQ ID No: 150 及 149 (抗體 h3.10C2.v1 Q100P/V104L)。

抗體 hPara.09.v2

【0180】在一些實施例中，該抗體包含抗體 Para.09.v2 之重鏈及輕鏈 CDR，其中重鏈 CDR 係基於 Para.09 重鏈並且輕鏈 CDR 係基於 3.27H7 Fab。在一些實施例中，本文之抗體包含 SEQ ID NO: 11、12 及 13 (Kabat) 或替代性地 19、20 及 13 (Chothia) 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 14、15 及 16 的輕鏈 CDR。在一些實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 11、12 及 13 (Kabat) 或替代性地 19、20 及 13 (Chothia) 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 14、15 及 16 的輕鏈 CDR，且進一步包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 11、12 及 13 或替代性地 19、20 及 13 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 14、15 及 16 的輕鏈 CDR，且進一步包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 11、12 及 13 或替代性地 19、20 及 13 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 14、15 及 16 的輕鏈 CDR，且進一步包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 11、12 及 13 或替代性地 19、20 及 13 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 14、15 及 16 的輕鏈 CDR，且進一步包含重鏈可變

區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 11、12 及 13 或替代性地 19、20 及 13 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 14、15 及 16 的輕鏈 CDR，且進一步包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 11、12 及 13 或替代性地 19、20 及 13 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 14、15 及 16 的輕鏈 CDR，且進一步包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列，但在 SEQ ID NO: 17 之重鏈框架區中具有至多 5 個，諸如 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失。在一些實施例中，該抗體包含 SEQ ID NO: 11、12 及 13 或替代性地 19、20 及 13 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 14、15 及 16 的輕鏈 CDR，且進一步包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列，但在 SEQ ID NO: 18 之輕鏈框架區中具有至多 5 個，諸如 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失。在一些實施例中，抗體包含：包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列的重鏈可變區及包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列的輕鏈可變區，但在 SEQ ID NO: 17 及/或 SEQ ID NO: 18 之框架區中具有至多 5 個胺基酸取代、插入或缺失，諸如 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失。

【0181】 在一些實施例中，該抗體包含：包含 SEQ ID NO:17 之胺基酸序列的重鏈可變區及包含 SEQ ID NO:18 之胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施例中，該抗體進一步包含重鏈及/或輕鏈恆定區。

【0182】 在本文的任何實施例中，該抗體可以為抗體片段，諸如 Fv、單鏈 Fv (scFv)、Fab、Fab' 或 $(Fab')_2$。在其他實施例中，該抗體可以為全抗體 (亦即，包含重鏈及輕鏈恆定區。) 在其他實施例中，該抗體可以為 IgG、IgA 或 IgM 抗體。在一些實施例中，該抗體可具有野生型人類 IgG1 Fc 區或野生型人類 IgG4 Fc 區、人類 IgG4 S228P Fc 區、人類 IgG4 S228P/M252Y/S254T/T256E

Fc 區、人類 IgG1 N297G Fc 區、人類 IgG1 LALAPG (L234A/L235A/P329G) Fc 區或人類 IgG1 N297G/M428L/N434S Fc 區。如果是鼠 IgG 抗體，該抗體可以為 mIgG1 或 mIgG2 或 mIgG2 LALAPG 抗體。在一些情況下，抗體可以包含全長重鏈及/或全長輕鏈。在一些情況下，該抗體可能缺少重鏈恆定區的 C 端 Lys 或者 C 端 Lys 及 Gly 殘基。在其他情況下，該抗體含有彼等 C 端殘基中之一者或兩者。在一些情況下，該抗體可以為雙特異性的或多特異性的。在一些情況下，該抗體可以與另一分子 (諸如標記或藥物) 直接結合或透過連接子結合。在一些情況下，該抗體具有完整效應子功能。在一些情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區具有降低的效應子功能。在其他情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區為無效應子。例如，在一些情況下，該抗體包含具有 N297G 取代的 hIgG1 Fc 區。

【0183】 在一些實施例中，該抗體包含重鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成。在一些實施例中，該抗體包含輕鏈，該輕鏈包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成。在一些實施例中，該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成的重鏈，及/或包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成的輕鏈。在一些實施例中，該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成但缺少 SEQ ID NO: 144 之 C 端離胺酸或缺少 SEQ ID NO: 144 之 C 端甘胺酸及離胺酸的重鏈，及包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成的輕鏈。在一些實施例中，該抗體包含重鏈，該重鏈包含與 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗

體包含輕鏈，該輕鏈包含與 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含：重鏈，該重鏈包含與 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列；及輕鏈，該輕鏈包含與 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含：重鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成，視情況不具有 C 端離胺酸或甘胺酸-離胺酸；及輕鏈，該輕鏈包含與 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含：重鏈，該重鏈包含與 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列至少 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% 或至少 99% 相同的胺基酸序列；及輕鏈，該輕鏈包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成。在一些實施例中，該抗體包含重鏈，相較於 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列，該重鏈包含具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含輕鏈，相較於 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列，該輕鏈包含具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含：重鏈，相較於 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列，該重鏈包含具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失的胺基酸序列；及輕鏈，相較於 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列，該輕鏈包含具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失的

胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含：重鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成，視情況沒有 C 端離胺酸或甘胺酸-離胺酸；及輕鏈，相較於 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列，該輕鏈包含具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失的胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體包含：重鏈，相較於 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列，該重鏈包含具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、插入或缺失的胺基酸序列；及輕鏈，該輕鏈包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成。在任何上述允許 SEQ ID NO: 144 及/或 SEQ ID NO: 176 中之序列變異的情況下，在一些實施例中，此類序列變異限於抗體框架及/或恆定區，使得抗體亦包含 SEQ ID NO: 11、12 及 13 或替代性地 19、20 及 13 的重鏈 CDR，及/或 SEQ ID NO: 14、15 及 16 的輕鏈 CDR。在其他實施例中，SEQ ID NO: 144 及/或 SEQ ID NO: 176 中的此類序列變異限於抗體恆定區，使得抗體亦包含 SEQ ID NO: 17 及/或 18。

【0184】 在一些實施例中，該抗體可具有下文更詳細描述的某些特性。

【0185】 例如，在一些態樣中，該抗體具有以下特徵中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、或全部：(a) 特異性地結合至 TREM2 的莖域；(b) 不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合；及 (c) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM，諸如 10-50 pM 或 10-25 pM 的 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在又一些態樣中，該抗體亦可 (d) 特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位；(e) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成的 TREM2 多肽，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID

NO: 97) 所組成的 TREM2 多肽；及 (f) 相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，顯示對獨立地包含 D152A、H157A 及 I159A 取代的 TREM2 莖域多肽降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)。據此，舉例來說，在一些態樣中，該抗體特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位並且不與可溶性 TREM2 結合。在一些此類情況下，該抗體亦以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM，諸如 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些態樣中，該抗體特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位及/或相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽；並且亦不與可溶性 TREM2 結合。在一些此類情況下，該抗體亦藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM，諸如 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些態樣中，該抗體特異性地結合至 TREM2 的莖域；並且不與可溶性 TREM2 結合。在一些此類情況下，該抗體亦以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM，諸如 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些態樣中，該抗體不與可溶性 TREM2 結合；且藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM，諸如 10-50 pM 或 10-25 pM 的 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些情況下，該抗體不與可溶性 TREM2 結合並且相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，具有對

獨立地包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)。在一些此類情況下，該抗體亦以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM，諸如 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些情況下，該抗體具有完整效應子功能。在一些情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區具有降低的效應子功能。在其他情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區為無效應子。例如，在一些情況下，該抗體包含具有 N297G 取代的 hIgG1 Fc 區。

【0186】 在一些情況下，該抗體在脫靶結合測定 (如本文實例 10 中所述者進行) 中亦具有低脫靶結合分數 (例如，< 1 的分數)。在一些情況下，相較於包含 3.10C2 之重鏈及輕鏈 CDR 的抗體，該抗體可能具有較低的對人類 TREM2 的 $K_D$。

【0187】 在一些態樣中，該抗體為 TREM2 促效劑，其特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位且不與可溶性 TREM2 結合。在一些態樣中，該抗體為 TREM2 促效劑，其特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位；不與可溶性 TREM2 結合。在一些態樣中，該抗體為 TREM2 促效劑，其特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位；且不與可溶性 TREM2 結合；並且亦藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM，諸如 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些情況下，該抗體具有完整效應子功能。在一些情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區具有降低的效應子功能。在其他情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區為無效應子。例如，在一些情況下，該抗體包含具有 N297G 取代的 hIgG1 Fc 區。

【0188】在任何此等情況下，該抗體可以進一步具有下文列出之進一步之特性 (a) 至 (i) 中的一者或多者。

【0189】具體而言，在一些態樣中，該抗體亦可具有以下特徵中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、六種或更多種、七種或更多種、八種或更多種、或全部：(a) 在表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 報導子細胞中誘導螢光素酶報導子活性；(b) 降低血漿中*活體內* sTREM2 之量；(c) 在表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中抑制 sTREM2 的脫落；(d) 在人類 MDM 細胞中誘導酪胺酸磷酸化；(e) 在人類 MDM 細胞中誘導 SYK 磷酸化；(f) 在缺乏 IL-34 及 CSF-1 之情形下增強人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞的存活；(g) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中抑制 sTREM2 的脫落；(h) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中誘導 SYK 磷酸化；及 (i) 在存在 Aβ 寡聚物之情形下在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中增加總 Aβ 斑塊強度及/或平均 X04 斑塊強度。在一些實施例中，相較於包含 3.10C2 之重鏈及輕鏈 CDR 的抗體，該抗體可具有較高的螢光素酶報導子活性 (例如，如本文實例中所述的在 Jurkat-NFAT 報導子測定中的較低 EC50)。在一些實施例中，相較於包含 3.10C2 之重鏈及輕鏈 CDR 的抗體，該抗體可在 Jurkat-NFAT 報導子細胞中顯示對 sTREM2 脫落的更大抑制作用 (例如，在如實例中所述的測定中)。

hPara.09.v2 變異體抗體

【0190】在一些實施例中，本文之抗體可包含 hPara.09.v2 之重鏈及輕鏈 CDR 以及 hPara.09.v2 抗體之重鏈框架區，如上文所述及圖12A-B 中所示，但在抗體輕鏈中具有額外的修飾，例如，如圖 13A 中所示。例如，在一些實施例中，可以在框架區中作出某些輕鏈修飾以改善表現產量，如下文實例中所述。

【0191】在一些此類實施例中，該抗體包含以下 VH 及 VL 集組中之一者：(a) SEQ ID No: 133 及 132 (抗體 hPara.09.v2 Q100P)；(b) SEQ ID No: 135 及 134 (抗體 hPara.09.v2 I58V/Q100P)；(c) SEQ ID No: 137 及 136 (抗體 hPara.09.v2 Q100P/V104L)。在一些實施例中，該抗體進一步包含重鏈及/或輕鏈恆定區。在一些實施例中，該抗體輕鏈包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成。

【0192】在本文的任何實施例中，該抗體可以為抗體片段，諸如 Fv、單鏈 Fv (scFv)、Fab、Fab' 或 $(Fab')_2$。在其他實施例中，該抗體可以為全抗體 (亦即，包含重鏈及輕鏈恆定區。) 在其他實施例中，該抗體可以為 IgG、IgA 或 IgM 抗體。在一些實施例中，該抗體可具有野生型人類 IgG1 Fc 區或野生型人類 IgG4 Fc 區、人類 IgG4 S228P Fc 區、人類 IgG4 S228P/M252Y/S254T/T256E Fc 區、人類 IgG1 N297G Fc 區、人類 IgG1 LALAPG (L234A/L235A/P329G) Fc 區或人類 IgG1 N297G/M428L/N434S Fc 區。如果是鼠 IgG 抗體，該抗體可以為 mIgG1 或 mIgG2 或 mIgG2 LALAPG 抗體。在一些情況下，抗體可以包含全長重鏈及/或全長輕鏈。在一些情況下，該抗體可能缺少重鏈恆定區的 C 端 Lys 或者 C 端 Lys 及 Gly 殘基。在其他情況下，該抗體含有彼等 C 端殘基中之一者或兩者。在一些情況下，該抗體可以為雙特異性的或多特異性的。在一些情況下，該抗體可以與另一分子 (諸如標記或藥物) 直接結合或透過連接子結合。在一些情況下，該抗體具有完整效應子功能。在一些情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區具有降低的效應子功能。在其他情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區為無效應子。例如，在一些情況下，該抗體包含具有 N297G 取代的 hIgG1 Fc 區。

【0193】在一些實施例中，該抗體可具有下文更詳細描述的某些特性。例如，在一些態樣中，該抗體具有以下特徵中的一種或多種、兩種或更多種、

三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、或全部：(a) 特異性地結合至TREM2 的莖域；(b) 不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合；及 (c) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM、或小於 2 pM、或 10-50 pM 或 10-25 pM 的 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在又一些態樣中，該抗體亦可 (d) 特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位；(e) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成的 TREM2 多肽，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成的 TREM2 多肽；及 (f) 相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，顯示對獨立地包含 D152A、H157A 及 I159A 取代的 TREM2 莖域多肽降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)。據此，舉例來說，在一些態樣中，該抗體特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位並且不與可溶性 TREM2 結合。在一些此類情況下，該抗體亦以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM，諸如 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些態樣中，該抗體特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位及/或相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽；並且亦不與可溶性 TREM2 結合。在一些此類情況下，該抗體亦以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM，諸如 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。藉由表面電漿子共振

(SPR) 在 37℃。在一些態樣中，該抗體特異性地結合至 TREM2 的莖域；並且不與可溶性 TREM2 結合。在一些此類情況下，該抗體亦以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM，諸如 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些態樣中，該抗體不與可溶性 TREM2 結合；且藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37℃ 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM，諸如 10-50 pM 或 10-25 pM 的 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些情況下，該抗體不與可溶性 TREM2 結合並且相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，具有對獨立地包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)。在一些此類情況下，該抗體亦以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM，諸如 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些情況下，該抗體具有完整效應子功能。在一些情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區具有降低的效應子功能。在其他情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區為無效應子。例如，在一些情況下，該抗體包含具有 N297G 取代的 hIgG1 Fc 區。

【0194】在一些情況下，該抗體在脫靶結合測定 (如本文實例 10 中所述者進行) 中亦具有低脫靶結合分數 (例如，< 1 的分數)。在一些情況下，相較於包含 3.10C2 之重鏈及輕鏈 CDR 的抗體，該抗體可能具有較低的對人類 TREM2 的 $K_D$。在一些態樣中，該抗體為 TREM2 促效劑，其特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位且不與可溶性 TREM2 結合。在一些態樣中，該抗體為 TREM2 促效劑，其特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位；不與可溶性 TREM2 結合。在一些態樣中，該

抗體為 TREM2 促效劑，其特異性地結合至跨越 TREM2 之 H157 至 S158 切割位點的表位；且不與可溶性 TREM2 結合；並且亦藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37°C 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM，諸如 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。在一些情況下，該抗體具有完整效應子功能。在一些情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區具有降低的效應子功能。在其他情況下，該抗體具有 Fc 區，該 Fc 區為無效應子。例如，在一些情況下，該抗體包含具有 N297G 取代的 hIgG1 Fc 區。

【0195】 在任何此等情況下，該抗體可以進一步具有下文列出之進一步之特性 (a) 至 (i) 中的一者或多者。

【0196】 在一些態樣中，該抗體亦可具有以下特徵中的一種或多種、兩種或更多種、三種或更多種、四種或更多種、五種或更多種、六種或更多種、七種或更多種、八種或更多種、或全部：(a) 在表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 報導子細胞中誘導螢光素酶報導子活性；(b) 降低血漿中*活體內* sTREM2 之量；(c) 在表現人類 TREM2 的 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中抑制 sTREM2 人類 TREM2 的脫落；(d) 在人類 MDM 細胞中誘導酪胺酸磷酸化；(e) 在人類 MDM 細胞中誘導 SYK 磷酸化；(f) 在缺乏 IL-34 及 CSF-1 之情形下增強人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞的存活；(g) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中抑制 sTREM2 的脫落；(h) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中誘導 SYK 磷酸化；及 (i) 在存在 Aβ 寡聚物之情形下在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中增加總 Aβ 斑塊強度及/或平均 X04 斑塊強度。在一些實施例中，相較於包含 3.10C2 之重鏈及輕鏈 CDR 的抗體，該抗體可具有較高的螢光素酶報導子活性 (例如，如本文實例中所述的在 Jurkat-NFAT 報導子測定中的較低 EC50)。在一些實施例中，相較於包含 3.10C2 之重鏈及輕鏈 CDR 的抗體，該抗體可在

Jurkat-NFAT 報導子細胞中顯示對 sTREM2 脫落的更大抑制作用 (例如，在如實例中所述的測定中)。

【0197】 在一些實施例中，抗體包含以下 VH 及 VL 集組中之一者：(a) SEQ ID No: 133 及 132 (抗體 hPara.09.v2 Q100P)；(b) SEQ ID No: 135 及 134 (抗體 hPara.09.v2 I58V/Q100P)；(c) SEQ ID No: 137 及 136 (抗體 hPara.09.v2 Q100P/V104L)。

**編碼抗體的核酸**

【0198】 還提供了包含編碼抗 TREM2 抗體之一條或多條鏈的多核苷酸的核酸分子。在一些實施例中，核酸分子包含編碼抗 TREM2 抗體之重鏈或輕鏈的多核苷酸。在一些實施例中，核酸分子包含編碼重鏈的多核苷酸及編碼抗 TREM2 抗體之輕鏈的多核苷酸兩者。在一些實施例中，第一核酸分子包含編碼重鏈的第一多核苷酸，並且第二核酸分子包含編碼輕鏈的第二多核苷酸。

【0199】 在一些此類實施例中，該重鏈及輕鏈係從一個核酸分子表現或從兩個獨立的核酸分子表現為兩個獨立的多肽。在一些實施例中，諸如當抗體為 scFv 時，單個多核苷酸編碼包含連接在一起的重鏈及輕鏈兩者的單個多肽。

【0200】 在一些實施例中，編碼抗 TREM2 抗體之重鏈或輕鏈的多核苷酸包含編碼前導序列的核苷酸序列，該前導序列在翻譯時位於重鏈或輕鏈的 N 端。如上所述，該前導序列可以為天然的重鏈或輕鏈前導序列，或者可以為另一種異源前導序列。

【0201】 可以使用本領域習用的重組 DNA 技術構建核酸分子。在一些實施例中，核酸分子為適合在選定宿主細胞中表現的表現載體。

**載體及宿主細胞以及生產方法**

【0202】 提供了包含編碼抗 TREM2 重鏈及/或抗 TREM2 輕鏈的多核苷酸的載體。還提供了包含編碼抗 TREM2 重鏈及/或抗 TREM2 輕鏈的多核苷酸的

載體。此類載體包括但不限於，DNA 載體、噬菌體載體、病毒載體、逆轉錄病毒載體等。在一些實施例中，載體包含編碼重鏈的第一多核苷酸序列及編碼輕鏈的第二多核苷酸序列。在一些實施例中，重鏈及輕鏈從載體表現為兩個獨立的多肽。在一些實施例中，重鏈及輕鏈表現為單個多肽的一部分，例如當該抗體為 scFv 時。

【0203】 在一些實施例中，第一載體包含編碼重鏈的多核苷酸並且第二載體包含編碼輕鏈的多核苷酸。在一些實施例中，第一載體及第二載體以類似的量 (諸如類似的莫耳量或類似的質量量) 轉染到宿主細胞中。在一些實施例中，將 5:1 至 1:5 之莫耳比或質量比的第一載體及第二載體轉染到宿主細胞中。在一些實施例中，使用介於 1:1 與 1:5 之間的編碼重鏈之載體與編碼輕鏈之載體的質量比。在一些實施例中，使用 1:2 的編碼重鏈之載體與編碼輕鏈之載體的質量比。

【0204】 在一些實施例中，選擇經優化用於在 CHO 或 CHO 衍生之細胞中或在 NSO 細胞中表現多肽的載體。示例性的此類載體描述於例如 Running Deer 等人, *Biotechnol. Prog.*20:880-889 (2004)。

【0205】 在一些實施例中，選擇用於抗 TREM2 重鏈及/或抗 TREM2 輕鏈在動物 (包括人類) 中之*活體內*表現的載體。在一些此類實施例中，多肽之表現處於以組織特異性方式起作用的啟動子的控制之下。例如，肝特異性啟動子描述於例如 PCT 公開號 WO 2006/076288 中

【0206】 對於抗 TREM2 抗體之重組生產，將*例如*上述的編碼抗體之核酸分離並插入一種或多種載體中，以在宿主細胞中進一步選殖及/或表現。此等核酸可使用習用方法 (例如，藉由使用能夠與編碼抗體重鏈和輕鏈的基因特異性結合的寡核苷酸探針) 輕易地分離並測序。

【0207】 適用於選殖或表現編碼抗體之載體的宿主細胞包括本文所述之原核或真核細胞。例如，抗體可能在細菌中產生，特別是在無需醣基化和 Fc 效應子功能的情況下。對於抗體片段及多肽在細菌中之表現，*參見例如*美國專利第 5,648,237 號、第 5,789,199 號及第 5,840,523 號。(亦*參見* Charlton, *Methods in Molecular Biology, 第 248 卷* (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), 第 245-254 頁，其描述抗體片段在*大腸桿菌*中之表現。)在表現後，抗體可與細菌細胞糊中的可溶性部分分離，並可經過進一步純化。

【0208】 除原核生物以外，真核微生物（諸如絲狀真菌或酵母菌）也為合適的抗體編碼載體的選殖或表現宿主，包括其醣基化途徑已被「人源化」的真菌和酵母菌株，從而導致具有部分或完全人醣基化模式的抗體的產生。*參見* Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004) 及 Li 等人, *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)。

【0209】 用於表現醣基化抗體的合適的宿主細胞也來源於多細胞生物 (無脊椎動物和脊椎動物)。無脊椎動物細胞之實例包括植物及昆蟲細胞。已鑑別出許多桿狀病毒毒株，其可與昆蟲細胞聯合使用，尤其用於轉染草地貪夜蛾 (*Spodoptera frugiperda*) 細胞。

【0210】 植物細胞培養物亦可以用作宿主。參見例如美國專利第 5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978 及 6,417,429 號（描述在基因轉殖植物中生產抗體的 PLANTIBODIES™ 技術）。

【0211】 脊椎動物細胞也可用作宿主。例如，可使用適於在懸浮液中生長的哺乳動物細胞株。可用的哺乳動物宿主細胞株的其他示例包括：由 SV40 (COS-7) 轉化的猴腎 CV1 株；人胚胎腎株 (293 或 293 細胞，如*例如* Graham 等人，*J. Gen Virol.* 36:59 (1977) 中所述)；幼地鼠腎細胞 (BHK)；小鼠賽特利細胞 (TM4 細胞，如*例如* Mather , *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980) 中所述；猴腎細胞

(CV1)；非洲綠猴腎細胞 (VERO-76)；人類子宮頸癌細胞 (HELA)；犬腎細胞 (MDCK)；Buffalo 大鼠肝細胞 (BRL 3A)；人類肺細胞 (W138)；人類肝細胞 (Hep G2)；小鼠乳腺腫瘤 (MMT 060562)；TRI 細胞，如*例如* Mather 等人, *Annals N.Y.Acad. Sci*. 383:44-68 (1982) 所述；MRC 5 細胞；及 FS4 細胞。其他可用的哺乳動物宿主細胞株包括中華倉鼠卵巢 (CHO) 細胞，包括 DHFR$^-$ CHO 細胞 (Urlaub 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980))；及骨髓瘤細胞株，例如 Y0、NS0 和 Sp2/0。對於某些適用於抗體生產的哺乳動物宿主細胞株的綜述，*參見例如*，Yazaki 與 Wu, *Methods in Molecular Biology, 第 248 卷* (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), 第 255-268 頁 (2003)。

【0212】 可以藉由任何合適的方法純化抗 TREM2 抗體。此類方法包括但不限於，使用親和基質或疏水交互作用層析術。合適的親和配體包括 TREM2 ECD 及結合抗體恆定區的配體。例如，可以使用蛋白 A、蛋白 G、蛋白 A/G 或抗體親和力管柱來結合恆定區並純化抗 TREM2 抗體。疏水交互作用層析術，例如，丁基或苯基管柱，亦可能適用於純化一些多肽。許多純化多肽的方法係本領域中已知者。在一些實施例中，抗 TREM2 抗體係在無細胞之系統中生產。非限制性示例性無細胞之系統在例如 Sitaraman 等人, *Methods Mol. Biol.* 498: 229-44 (2009)；Spirin, *Trends Biotechnol.* 22: 538-45 (2004)；Endo 等人, *Biotechnol. Adv.* 21: 695-713 (2003) 中描述。

**醫藥使用方法**

【0213】 本揭示亦涵蓋例如在醫藥治療中使用本文之抗 TREM2 抗體的方法。例如，本揭示涵蓋在個體中治療與 TREM2 功能喪失相關之病症的方法。本揭示亦涵蓋降低個體中 sTREM2 之量的方法。

【0214】 在一些情況下，該病症為神經發炎或神經退化性疾病。示例包括，例如，阿滋海默症、帕金森病、額顳葉失智症、失智症、多發性硬化症

(MS)、肌肉萎縮性側索硬化症 (ALS)、Nasu-Hakola 病、格林-巴利綜合徵 (GBS)、胞溶體貯積症、神經鞘磷脂代謝障礙 (Neimann-Pick C)、黏多糖病 II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病變、神經白塞病、視神經脊髓炎 (NMO)、視神經炎、多發性肌炎、皮肌炎、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷或脊髓損傷。在一些情況下，該病症為阿滋海默症。在一些情況下，該病症為 MS。

【0215】 例如，阿滋海默症 (AD) 的病理特點包括形成澱粉樣蛋白斑塊的 β-澱粉樣肽之細胞外沉積物以及被稱為神經原纖維纏結的聚集之過度磷酸化 tau 的細胞內沉積物。此等病理之後為大腦發炎增加，包括經活化之星形膠質細胞及小神經膠質細胞，及神經退化。AD 的家族性形式可能由早老素 1/2 及澱粉樣蛋白前驅蛋白基因中之突變引起的。表現此等人類突變以及 Tau 蛋白中之突變的基因轉殖小鼠在 Abeta 病理學、過度磷酸化 Tau 及神經退化中顯示出類似的年齡依賴性增加。引起 TREM2 功能喪失的突變導致不規則的小神經膠質細胞斑塊壓密、斑塊周圍的神經炎性營養不良升高、abeta 誘導的 tau 病理學及神經退化升高。不希望受理論束縛，增強 TREM2 活性可增強小神經膠質細胞活性，並藉由吞噬或壓密成毒性較小的澱粉樣蛋白斑塊來促進毒性澱粉樣蛋白-β 肽的去除，從而治療 AD。

【0216】 多發性硬化症 (MS) 為一種以 CNS 中自體免疫相關脫髓鞘為特徵的疾病。在患者中，該疾病呈現為症狀，諸如共濟失調、肢體無力及視神經炎及其他神經系統效應的發作。目前的治療涉及免疫抑制劑，並且有效性可能有限，而沒有任何療法可以有效地預防或逆轉該疾病。已提出髓鞘再生療法作為治療及可能逆轉 MS 的方法。促進寡樹突細胞從祖細胞 (OPC) 分化為成熟的有髓鞘寡樹突細胞的化合物及療法已被認為是一種可能的髓鞘再生療法以及修飾神經膠質細胞的治療。具體而言，小神經膠質細胞被認為在清除髓鞘碎片、

促進新髓鞘形成中發揮作用。TREM2 功能喪失導致髓鞘形成不足性腦白質失氧症，且 TREM2 敲除小鼠在 MS 動物模型中對髓鞘再生及恢復有嚴重損害。不希望受理論束縛，TREM2 途徑的活化可加速髓鞘再生，從而治療 MS。

【0217】在各種實施例中，抗 TREM2 抗體可以藉由各種途徑在*活體內*投予，包括但不限於，口服、靜脈內、皮下、腸胃外、鼻內、肌肉內、皮內、局部、透皮及鞘內，或以其他方式藉由植入或吸入投予。主題組成物可以配製成固體、半固體、液體或氣體形式的製劑；包括但不限於錠劑、膠囊劑、散劑、顆粒劑、軟膏劑、溶液劑、栓劑、灌腸劑、注射劑、吸入劑及氣霧劑。編碼抗 TREM2 抗體的核酸分子可以直接投予或在載體諸如病毒載體中投予。可根據預期應用選擇合適的調配物及投予路徑。

【0218】在各種實施例中，包含抗 TREM2 抗體的組成物以具有多種醫藥上可接受之載劑的調配物提供 (參見例如，Gennaro, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus*, 20th ed. (2003)；Ansel 等人, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,* 7th ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004)；Kibbe 等人, *Handbook of Pharmaceutical Excipients,* 3rd ed., Pharmaceutical Press (2000))。可獲得各種醫藥上可接受之載劑，該等載劑包括媒劑、佐劑及稀釋劑。此外，亦提供各種醫藥上可接受之輔助物質，諸如 pH 調節劑及緩沖劑、張力調節劑、穩定劑、潤濕劑等。非限制性示例性載劑包括鹽水、緩衝鹽水、葡萄糖、水、甘油、乙醇及其組合。

【0219】在各種實施例中，包含抗 TREM2 抗體的組成物可藉由將其等溶解、懸浮或乳化於水性或非水性溶劑諸如植物油或其他油類、合成脂肪酸甘油酯類、高級脂肪酸之酯類或丙二醇中來配製以用於注射或輸注；並且如果需要，可以使用習用添加劑，諸如增溶劑、等張劑、懸浮劑、乳化劑、穩定劑及

防腐劑。在各種實施例中，該等組成物可以例如使用加壓的可接受之推進劑，諸如二氯二氟甲烷、丙烷、氮等配製以用於吸入。在各種實施例中，該等組成物亦可諸如用可生物降解或不可生物降解的聚合物配製成緩釋微膠囊。非限制性示例性可生物降解調配物包括聚乳酸-乙醇酸聚合物。非限制性示例性不可生物降解調配物包括聚甘油脂肪酸酯。製備此類製劑的某些方法例如在 EP 1 125 584 A1 中描述。

【0220】 還提供了包含一個或多個容器的醫藥包及套組，每個容器含有一個或多個劑量的抗 TREM2 抗體。在一些實施例中，提供單位劑量，其中該單位劑量含有預定量的組成物，該組成物包含抗 TREM2 抗體，具有或不具有一種或多種額外藥劑。在一些實施例中，該單位劑量提供在一次性使用的預填充注射器中以用於注射。在各種實施例中，單位劑量中所含的組成物可包含鹽水、蔗糖等；緩沖劑，諸如磷酸鹽等；及/或在穩定且有效的 pH 範圍內配製。替代性地，在一些實施例中，該組成物可以作為凍乾粉末提供，該凍乾粉末可以在添加合適的液體例如無菌水後重構。在一些實施例中，該組成物包含一種或多種抑制蛋白質聚集的物質，包括但不限於蔗糖及精胺酸。在一些實施例中，本發明的組成物包含肝素及/或蛋白聚醣。

## 實例

### 實例 1：大鼠抗 TREM2 抗體的製備

### A. 材料與方法

【0221】 為了生成抗人 TREM2 抗體，對 Sprague Dawley 大鼠 (Charles River, Hollister, CA) 或 TREM2 敲除小鼠 (Genentech, South San Francisco) 用經由基因槍或流體動力尾靜脈 (HTV) 注射遞輸的各種抗原形式進行免疫：用完全弗氏佐劑 (Complete Freund's Adjuvant) 或 Ribi 乳化的人類 TREM2 細胞外域

(ECD) 蛋白；表現人類全長 TREM2 的細胞外囊泡 (EV)；或編碼全長人類 TREM2 的 pDNA (圖 1)。

【0222】 從經免疫之動物收穫淋巴結及脾臟，並如下分離 B 細胞。對於大鼠，使用來自 BD Biosciences 的生物素化抗體 (CD4、CD8a、CD11b/c、CD161、HIS48、IgM) 混合液富集經類型轉換之 B 細胞，然後使用鏈黴抗生物素蛋白珠進行磁力分離 (Miltenyi Biotec, San Diego, CA)。對於小鼠，使用泛 B 細胞分離套組 (Miltenyi Biotec, San Diego, CA) 富集 B 細胞，然後對 IgM 陽性 B 細胞 (生物素化抗 IgM II/41，BD Biosciences) 進行磁力耗竭。藉由電融合 (Harvard Apparatus, Holliston, MA)，將 IgM 耗竭的 B 細胞與 Sp2ab 骨髓瘤細胞 (Abeome, Athens, GA) 融合。在 Clonacell-HY 培養基 C (StemCell Technologies, Canada) 中隔夜恢復後，在 HAT (次黃嘌呤-胺基喋呤-胸苷) (Sigma-Aldrich) 中選擇細胞。然後收穫融合的融合瘤並且用抗大鼠 IgG-Alexa 488 (Jackson ImmunoResearch) 對大鼠融合瘤進行染色，或用抗小鼠 IgG FITC (Bethyl Labs) 對小鼠融合瘤進行染色，及用螢光結合之人類 TREM2-Alexa Fluor 643 (Novus Biological) 染色。使用 FACSAriaIII 分選器 (BD，Franklin Lakes, NJ) 將單個 IgG+/人類 TREM2+ 融合瘤細胞分選到 96 孔盤中並培養 7 天。藉由針對人類 TREM2 抗原的 ELISA 來篩選上清液，並放大 ELISA 陽性殖株。使用表現 DOX 可誘導人類 TREM2 的 293 細胞及功能活性，藉由 FACS 篩選來自融合瘤上清液的經純化之 IgG (Gamma Bind Plus，GE Healthcare, Pittsburgh, PA) 的細胞表面結合。

**B. 結果**

【0223】 總計 1,650 個融合瘤殖株以 ELISA 形式特異性地結合經固定之人類 TREM2 (圖 1)。此等之中，947 個在 FACS 中結合至表現人類 TREM2 的

293 細胞 (圖 1)。然後對 FACS 陽性融合瘤殖株的免疫球蛋白基因之可變區定序。

【0224】 鑑定出總計 229 個獨特的殖株，其中大部分來自用人類 TREM2 ECD 免疫的 SD 大鼠 (圖 1)。獨特的 FACS 陽性抗 TREM2 殖株之可變區序列用於藉由基因合成 (GeneWiz) 而選殖為小鼠 IgG2a、具有 LALAPG 的無效應子小鼠 IgG2a (L234A/L235A/P329G，Eu 編號系統)、嵌合人類 IgG1、嵌合無效應子人類 IgG1 LALAPG (L234A/ L235A/P329G) 及嵌合無效應子人類 IgG1 N297G。將重組 IgG 在 CHO 細胞中瞬時表現，並藉由蛋白 A 及粒徑篩析層析術進行純化。亦將選定之殖株在 CHO 細胞中轉殖為嵌合人類 Fab 片段，並藉由抗 CH1 親和力層析術及粒徑篩析層析術進行純化。

**實例 2：抗 TREM2 殖株的表位特異性**

**A. 材料與方法**

【0225】 篩選抗體與來自人類 TREM2 莖的肽 (TREM2 殘基 129-174) 的結合。具有重疊序列 (範圍在 TREM2 殘基 129 至 175) 的肽係用於提供對整個莖的覆蓋 (圖 2A)。使用酶聯免疫吸附測定 (ELISA) 將抗體表位定位到人類 TREM2 的莖區。在塗佈有鏈黴抗生物素蛋白的 ELISA 盤中捕獲重疊的經生物素化之肽。用與辣根過氧化物酶結合的抗小鼠 IgG 檢測抗體對肽的結合。

**B. 結果**

【0226】 發現了幾個結合至人類 TREM2 之莖胜肽片段的抗體組，其中三種大鼠抗人抗體一般結合至 TREM2 的殘基 151 至 161：圖 2B 中的抗體 3.10C2、3.18E5 及 3.50G1 (結合親和力以 nM 計)。特別地，相較於結合至殘基 129 至 175 所組成的肽，此等三種抗體一樣好 (如果不是更好) 地結合至 hTREM2 莖的殘基 146 至 169、146 至 161、149 至 168 或 151 至 165 的肽。此等四種肽各自涵蓋從 hTREM2 莖之殘基 151 至殘基 161 的區，並且包括在

hTREM2 莖上的 His157 至 Ser158 切割位置，其亦在圖 2A 中描述。相較於對 129 至 175 肽的親和力，此等抗體對全部其他經測試之肽的親和力顯著降低。

**實例 3：大鼠抗 TREM2 抗體的親和力**

**A. 材料與方法**

【0227】測試了四十六種大鼠抗人抗體對 hTREM2 及食蟹獼猴 TREM2 莖的結合親和力。使用 Biacore™ T200 儀器藉由表面電漿子共振 (SPR) 測量對 hTREM2 莖及食蟹獼猴 TREM2 莖的抗體結合親和力。將 TREM2 莖抗原 (人類或食蟹獼猴) 固定在抗人 IgG1 Fc Biacore™ 晶片上，並使抗 TREM2 抗體殖株在 37°C 結合至經固定組織 TREM2。測量並記錄結合親和力 $K_D$ (nM)。

**B. 結果**

【0228】測量了四十六種測試抗體針對 hTREM2 莖的結合親和力——所測量的 $K_D$ 值範圍為 1.13 μM 至 0.01 nM。選擇幾種抗體以用於針對食蟹獼猴 TREM2 莖的結合測量。在所測試的初始抗體組中，五種抗體 (3.10C2、3.50G1、3.18E5、3.36F5 及 3.27H7) 具有特別低的對人類及食蟹獼猴 TREM2 莖區的 $K_D$ 值。抗體 3.10C2、3.50G1、3.18E5、3.36F5 及 3.27H7 對 hTREM2 莖的結合親和力分別為 0.24 nM、0.61 nM、0.26 nM、10 nM 及 0.22 nM。抗體 3.10C2、3.50G1、3.18E5、3.36F5 及 3.27H7 對食蟹獼猴 TREM2 莖的結合親和力分別為 0.25 nM、0.57 nM、0.30 nM、12 nM 及 0.26 nM。此等殖株為相同 B 細胞株性譜系中的獨立殖株，且其等之 CDR 以及 3.10C2、3.50G1、3.18E5、3.36F5 及 3.27H7 之可變區的序列顯示在圖3A-B 中。在初始五種抗體中，四種抗體具有低於 1 nM 的 $K_D$ 值，具體而言 3.10C2、3.50G1、3.18E5 及 3.27H7。此等四種抗體在下文中統稱為「3.10C2 組」抗體。

**實例 4：大鼠抗體殖株之深度定序及殖株 Para.09 的鑑定**

【0229】 進行進一步的研究，目的為從經免疫之大鼠抗體庫深度定序資料集中鑑定殖株，此等殖株將會具有與 3.10C2、3.50G1、3.18E5 及 3.27H7 抗體組 (統稱為「3.10C2 組」) 及 3.36F5 抗體殖株類似的結合及活性特性，但具有甚至更高的對 TREM2 的親和力。

**A. 基本原理及介紹**

【0230】 先前已經顯示，在嚙齒動物抗體庫中，儘管 CDR H3 具有多樣性，但對共享相同 $V_H$ 及 $V_L$ 種系片段之抗原具有特異性的抗體傾向於以高頻率共享表位特異性 (Hsiao 等人, *mAbs* 12:1, 1722541, doi:10.1080/19420862.2020.1722541 (2020))。因此，如果來自具有 IGHV6-8 及 IGKV2S11 種系片段但具有不同 CDR H3 序列的經免疫之大鼠的其他抗體是 TREM2 特異性的，此等抗體可能辨識與 3.10C2 組抗體相同的表位。對於來自受感染供體的抗 HIV-1 gp120 抗體，已經描述了以類似方式結合抗原的株性地獨立之抗體的挖掘 (Zhu 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110:E4088-E4097, doi:10.1073/pnas.1306262110 (2013)。)。然而，在 3.10C2 抗體組的情況下，與用於 HIV-1 抗體者類似的種系發生 (phylogenetic) 技術不可用。對於這一點，有至少三個原因：(1) 3.10C2 組抗體的突變負荷相對低；(2) 3.10C2 組抗原結合抗體對於抗原結合的重要特徵未知；及 (3) 與 3.10C2 組相同類別的株性獨立之抗體未知。僅在高度類似的長 CDR H3 序列的情境中描述藉由深度定序挖掘交叉譜系、交叉供體抗體，該等序列為從庫中挖掘具體株性類型提供基本序列資訊 (Zhu 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110:E4088-E4097, doi:10.1073/pnas.1306262110 (2013))。相比之下，在這種情況下可用於挖掘 3.10C2 組的株性地獨立之抗體庫的資訊相對有限，包括非常短的 CDR H3 序列，該序列提供很少的具體序列資訊以用於挖掘。因此，在 3.10C2 組中僅 $V_H$ 及 $V_L$ 種系片段配對資訊可用於挖掘，但該信

息缺少對挖掘的特異性，因為該庫中很多具有不同特異性 (包括對 TREM2 以外的抗原的特異性) 的殖株共享相同的種系片段配對。

【0231】 此外，殖株 3.36F5 具有與 3.10C2 組殖株非常類似的 $V_H$，其具有大鼠 IGHV6-8 種系片段及 Kabat CDR H3 序列 LDY (或 IMGT 系統中的 TGLDY)，但具有不同的輕鏈，其具有種系片段 IGKV2U18 (Goldstein 等人, *Commun. Biol.* 2:304, doi:10.1038/s42003-019-0551-y (2019) 中描述的種系片段)。(參見圖 3B。) 因此，具有類似 IGKV 片段的輕鏈亦可取代 3.10C2 組殖株來挖掘深度定序資料集。最後，因為此等殖株並非來自相同 B 細胞，與 3.10C2 組殖株共享相同特異性的株性地獨立之 VH 序列可能來自任何表現重鏈 IGHV6-8 種系片段及輕鏈 IGKV2S11、IGKV2U18 或類似種系片段的經 TREM2 免疫之大鼠。

【0232】 最近描述了深度定序資料集中株性譜系外的殖株挖掘策略 (Richardson 等人, *mAbs* doi:10.1080/19420862.2020.1869409 (2021))。然而，與此處描述的方法不同，該方法依賴於包括 CDR H3 在內的胺基酸同一性並且僅限於具有相同 CDR H3 長度的序列 (Richardson 等人, 2021)。這裡使用的搜索策略完全忽略 CDR H3 序列，甚至允許不同的 CDR H3 長度，這與目前持有的 CDR H3 為主要特異性決定因素的觀點相矛盾，這一觀點隱含在 Richardson 等人的搜索策略中，該搜索策略在用於殖株選擇的同一性計算中包括 CDR H3 序列。此外，與 Richardson 等人不同，我們在此描述的方法不明確要求殖株之間具有給定水平的在任何一組殘基上的胺基酸同一性，僅使用 $V_H$ 種系片段，並且事實上，試圖鑑定具有大相徑庭之 CDR H3 序列的殖株。因此，相較於 Richardson 等人之方法，忽略 CDR H3 序列特性而藉由 $V_H$ 種系片段進行挖掘，原則上允許更廣泛地搜索具有相同表位特異性的獨立殖株，同時消除對如由 Zhu 等人實施者的資訊豐富之序列特性的需求。

**B. 材料與方法**

【0233】 使用大鼠特異性引子進行 cDNA 合成及 PCR 擴增，藉由雙末端 Illumina 定序對 3 只經免疫之大鼠的 $V_H$ 庫進行定序。簡而言，使用來自同一組經合併之 3 隻大鼠 (3.10C2 組殖株係使用淋巴結組織藉由融合瘤而源自該等大鼠) 的骨髓及脾臟組織來提取總 RNA 並用於 RT-PCR 步驟以擴增全庫 $V_H$ 片段，該步驟使用對於編碼框架 1 區第一個殘基的序列具特異性的大鼠 $V_H$ 種系片段引子及對於大鼠 IgG 及 IgA 同型具特異性的恆定區引子。將擴增子提交以在 Illumina HiSeq™ 儀器中進行雙末端定序。如前所述，將序列讀段組裝成全長 VH 序列並使用 Absolve™ 解析種系片段及 CDR 邊界 (Goldstein 等人, *Commun. Biol.* 2:304, doi:10.1038/s42003-019-0551-y (2019))。

【0234】 選擇來自具有 IGHV6-8 種系片段及不同 CDR H3 序列的獨立株性型的 29 個殖株，並與 3.10C2 株性組的不同輕鏈配對以表現 IgG 片段。將編碼所選變異體之全長重鏈及輕鏈的 DNA 殖株以 1-ml 的規模轉染到 Expi293 細胞中，並如前所述藉由蛋白 A 層析術純化 IgG (Bos et al., *Biotechnol. Bioeng.* 112:1832-4, doi:10.1002/bit.25601 (2015); Luan et al., *Mabs* 10:624-35, doi:10.1080/19420862.2018.1445450 (2018))。

【0235】 以 ELISA 形式測試殖株與 TREM2 莖胜肽的結合。每個殖株之重鏈 CDR3 顯示在圖 4 (左列) 中。

**C. 結果**

【0236】 在 29 個選定之殖株中，一個被稱為 Para.09 的殖株當在 ELISA 中與 3.10C2 組 之輕鏈配對時強勁地結合至人類 TREM2 莖胜肽 (TREM2 殘基 129 至 175)並且結合至從殘基 149 至 158 的 TREM2 肽片段，類似於 3.10C2 對照 (圖 4)。殖株 Para.09 之 CDR H3 序列比 3.10C2 組的 CDR H3 長 1 個殘基，並且具有不同的 IGHJ 種系片段 (IGHJ3 而非 IGHJ2)，顯示 Para.09 不是 3.10C2

組的株性變異體，而是在大鼠庫中獨立生成的株性譜系。此外，當忽略插入時，相對於 3.10C2 組，Para.09 在 CDR H3 中具有 2 個胺基酸差異 (對於 3.10C2 及 Para.09 分別為 TG-LDY 與 T***D***IL***E***Y，插入加底線，且差異以粗體及斜體突出顯示) (圖 3B)。換言之，Para.09 之 CDR H3 的殘基中只有一半 (在 IMGT 系統中為 6 個中的 3 個，在 Kabat 系統中為 4 個中的 2 個) 在殖株 3.10C2 中的類似位置處是相同的。突出顯示 Para.09 相對於 3.10C2 類殖株的獨立株性起源，Para.09 在重鏈框架 4 區中具有大鼠 IGHJ3 種系片段，而 3.10C2 組殖株具有大鼠 IGHJ2 種系片段。

【0237】 此外，單獨的 CDR H3 序列不預測 TREM2 結合物。這以殖株 Para.10 為例，其在與 3.10C2 組或種系輕鏈中的任一者配對時不與 TREM2 莖或肽片段 149 至 158 (亦即由 3.10C2 組中的抗體結合的表位) 結合 (圖3A-B)。該殖株的 CDR H3 比 3.10C2 組中長 1 個殘基 (並且與 Para.09 CDR H3 之長度相同)，而在其他位置處沒有區別 (對於 3.10C2 及 Para.10 分別為 TGL-DY 與 TGLGDY，插入加底線)。換言之，在 Para.09 CDR H3 區中沒有明顯的序列特性，這使得該殖株成為明顯的抗 TREM2 候選者。最後，深度定序資料集中 3.10C2 組及 Para.09 譜系序列的頻率解釋了不太可能藉由融合瘤發現 Para.09 殖株的原因：而在深度定序資料集中，有 8,283 個讀段計數是關於 147 個獨特的 3.10C2 組 $V_H$ 序列的，只有 47 個序列讀段是關於 4 個獨特的 Para.09 相關 $V_H$ 殖株的。鑑於 3.10C2 組 VH 序列的計數頻率在該組中只有 174 個融合瘤中的 4 個，因此推測藉由融合瘤或類似技術鑑定出低頻 Para.09 殖株的可能性非常低。

**實例 5：Para.09 Fab 片段的結合親和力**

**A. 材料與方法**

【0238】藉由 SPR 在 Biacore™ T200 儀器中測試包含與輕鏈抗體 3.10C2、3.18E5、3.27H7 及 3.50G1 (「3.10C2 組」) 配對之殖株 Para.09 之重鏈的抗體片段對人類及食蟹獼猴 TREM2 的親和力。簡而言，將殖株變異體表現為 Fab 片段，並藉由抗 CH1 親和力層析術然後藉由粒徑篩析層析術純化。將 TREM2-Fc 抗原固定在抗人 IgG1 Fc Biacore™ 晶片上，並使可溶性 Para.09 變異體及 3.10C2 殖株 Fab 片段在 37°C 結合至經固定之 TREM2。

**B. 結果**

【0239】相較於包含抗體 3.10C2 之重鏈及輕鏈可變區的 Fab，全部 Para.09 殖株變異體皆顯示顯著較高的親和力，無論使用何種輕鏈，且儘管相對於 3.10C2，Para.09 中之 CDR H1 及 H2 具有高度類似性 (表 1)。這指示 CDR H3 對於較高的結合親和力至關重要。在結合動力學中，較高的親和力藉由較高的締合速率 ($k_a$) 及較低的解離速率 ($k_d$) 兩者反映。結果顯示在下表 1 中。

**表 1：具有不同輕鏈之 Para.09 殖株 Fab 片段在 37°C 對人類及食蟹獼猴 TREM2 的親和力。**

| | 人類 TREM2 | | | 食蟹獼猴 TREM2 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Fab 片段 (輕鏈)** | **$K_D$ (M)** | **$k_a$ (1/Ms)** | **$k_d$ (1/s)** | **$K_D$ (M)** | **$k_a$ (1/Ms)** | **$k_d$ (1/s)** |
| 3.10C2 (3.10C2) | 2.0E-10 | 8.5E+05 | 1.7E-04 | 2.2E-10 | 6.8E+05 | 1.5E-04 |
| Para.09 (3.10C2) | 3.8E-12 | 7.1E+06 | 2.7E-05 | 1.6E-12 | 4.8E+06 | 7.8E-06 |
| Para.09 (3.18E5) | 5.0E-12 | 5.6E+06 | 2.8E-05 | 2.4E-12 | 3.8E+06 | 8.9E-06 |
| Para.09 (3.27H7) | 4.2E-12 | 6.3E+06 | 2.7E-05 | 2.5E-12 | 4.8E+06 | 1.2E-05 |
| Para.09 (3.50G1) | 1.1E-12 | 5.1E+06 | 5.8E-06 | 2.0E-12 | 3.9E+06 | 7.9E-06 |

**實例 6：TREM2 莖中與抗體交互作用之殘基的定位 (mapping)**

**A. 材料與方法**

【0240】雖然預計 Para.09 的表位與 3.10C2 組中的抗體駐留在相同區內，但基於抗體如何生成，執行更詳細的研究以評估單個殘基對於結合的重要

性。殖株 Para.09、抗體 3.10C2 及 3.10C2 組的其他抗體諸如 3.50G1 的表位定位係藉由測試與具有殘基 149 至 161 的單個丙胺酸點突變或在位置 153 處之丙胺酸至甘胺酸突變的合成 TREM2 肽的結合來進行 (圖 5)。在 Octet Red 儀器中藉由生物層干涉儀 (BLI) 測試對合成肽的結合，將合成肽固定在鏈黴抗生物素蛋白塗佈的感測器尖端中，並使肽結合至游離的可溶性 Fab 片段，以避免遮掩對於結合之效應的親合力效應。這是必要的，因為單突變對於抗體結合的效應由於其等之高親和力而不明顯，尤其是 Para.09，即使對突變體的親和力降低，它也能強勁地結合至突變型肽。因此，使用 Fab 片段的結合降低或更快解離作為該等突變對於抗體結合之影響的讀出。

**B. 結果**

【0241】 重疊肽定位為 3.10C2、3.18E5 及 3.50G1 的表位提供近似跨度，該表位來自從殘基 Glu-151 至介於殘基 Ile-159 到 Arg-161 (含) 之間的間隔的範圍 (圖 2A-B)。如本實例中所述，藉由突變掃描對 3.10C2、3.50G1 及 Para.09 的進一步定位顯示，具有對結合重要之側鏈的殘基位於從 Asp-152 至 Ile-159 (含) 的範圍內，與結合至重疊肽相一致。如圖 5 所示，抗體 3.10C2 及 3.50G1 (兩者皆在 3.10C2 組中) 具有類似的結合譜，且該等合成肽在位置 152、154、157、158 及 159 處包含丙胺酸突變，該等丙胺酸突變跨越 TREM2 切割位點，各自影響 Fab 片段至肽的結合。具體而言，對於 3.10C2、3.50G1 及 Para.09 抗體中之各者，用於結合的重要 TREM2 殘基側鏈至少包括 Asp-152、His-157 及 Ile-159。對與具有 TREM2 之殘基 148 至 165 的肽複合的 huPara.09.v2 Q100P 及 hu3.10C2.v1 Q100P 的晶體結構的檢查 (解析度 = 2Å) 額外地顯示，TREM2 與兩種抗體的主要接觸係由殘基 Asp-152、His-154、Val-155、Glu-156、His-157 及 Ile-159 媒介 (藉由掃描誘變鑑定的殘基加底線)。抗體 3.50G1 亦受到 E156A 及 S160A 突變的影響，而 3.10C2 則不然。根據本揭

示的另一個抗體殖株 3.47B1 具有影響結合至 TREM2 的更受限制的一組突變，其中僅 H157A 及 I159A 對於結合具有可檢測的效應 (圖 5)。包含與抗體 3.27H7 之輕鏈可變區配對的 Para.09 重鏈可變區的抗體 Para.09 (因此，本文亦稱為 Para.09-L27H7)，具有與 3.10C2 類似的模式，但沒有觀察到突變 H154A 及 S158A 對於結合的影響 (圖 5)。對晶體結構的進一步檢查顯示，3.10C2 及 Para.09 在複合物結構中高度類似，且接觸之角度及數量以及疏水袋之深度的差異可能是由兩種抗體的不同 CDR H3 長度帶來的，這可以解釋所觀察到之差異。

【0242】 還使用突變掃描評估了幾種先前描述之抗 TREM2 抗體至 TREM2 之莖區的結合。對於抗體 14D3 及 14D8 (例如，在 WO2018015573中描述)，A153G 突變影響結合，而 D152A 及 S158A 突變不影響結合 (圖 5)，指示 3.10C2 組與 Para.09 之間相對於14D3/14D8 抗體的表位特異性差異。相較於 3.10C2、3.50G1 及 Para.09-L27H7 抗體，先前描述的 9F5 及 AL2p-31 抗體 (在 WO2017062672 及/或 WO201928292 中描述)，後者為 9F5 的人源化及親和力成熟的版本，具有對於突變的不同敏感度模式，該等突變從殘基 150 延伸至殘基 156 或恰好在切割位點之前的 157 (圖 5)。與 3.10C2、3.50G1 及 Para.09-L27H7 相反，從殘基 158 至 161 的丙胺酸突變不影響 9F5 及 AL2p-31 Fab 的結合。因此，此等先前描述之抗體表現出的不同之處在於，其等不與切割位點任一側的殘基交互作用，而僅與在切割後見於 sTREM2 中的殘基交互作用。

**實例 7：抗體 3.10C2 的人源化**

**A. 材料與方法**

【0243】 藉由 CDR 移植將抗體 3.10C2 在 VK2 及 VH3 框架中人源化。簡而言，將大鼠抗體之 CDR 區移植到輕鏈 IGKV2-28*01 及重鏈 IGKV3-73*01 框架中，此等框架為此等抗體的最接近之人種系 (圖 6A-B)。對於輕鏈，CDR

區包括 Kabat 位置 24 至 34 (CDR L1)、50 至 56 (CDR L2) 及 89 至 97 (CDR L3)，且對於重鏈，包括 Kabat 位置 26 至 35 (CDR H1 )、50 至 65 (CDR H2) 及 93 至 102 (CDR H3)。將稱為「游標 (Vernier)」位置以及在大鼠抗體與人類種系之間不同的域界面中的大鼠框架殘基添加到 CDR 移植物中以挽救與抗原的結合，如其在 CDR 移植物人源化中正常地進行者 (參見例如美國專利第 8,426,147 號)。在這種情況下，此等殘基包括輕鏈殘基 2、4 及 68 以及重鏈框架殘基 24、48、49、76 及 78 (圖 6A-B)。將具有不同組人類及小鼠框架殘基的變異體在 Expi293 細胞中表現為人類 IgG1，並藉由蛋白 A 層析術純化。

【0244】 藉由將重鏈變異體與 3.10C2-L1 輕鏈組合來測試人源化重鏈變異體的親和力。將此等變異體表現為 Fab 片段，藉由蛋白 A 層析術純化，並使用 Biacore™ T200 儀器測試對塗佈在蛋白 A 晶片上之 TREM2-Fc 的親和力。

**B. 結果**

【0245】 具有帶有全部大鼠框架游標殘基之 3.10C2-L1 輕鏈變異體的人源化變異體的純化產量始終很低 (圖 7A)。具有大鼠框架殘基 Thr-2 以及人類殘基 Met-4 及 Gly-68 的另一種輕鏈變異體 3.10C2-L5 在 Expi293 細胞中也始終具有低產量 (圖 7A)。

【0246】 兩種人源化變異體 3.10C2-H3/3.10C2-L1 及 3.10C2-H5/3.10C2-L1 Fab 片段具有與大鼠 3.10C2 Fab 片段相當的解離速率，但具有顯著降低的締合速率 (表 2)。其他變異體具有顯著較低的解離速率 (表 2)。

**表 2：在 37°C 篩選人源化 3.10C2 重鏈變異體**

| 大鼠框架殘基 | Fab 變異體 | $k_a$ ($M^{-1}s^{-1}$) | $k_d$ ($s^{-1}$) |
|---|---|---|---|
| N/A | 大鼠 3.10C2 | 7.2E+05 | 1.9E-04 |
| T24、A49、T76、I78 | H3 | 3.7E+04 | 5.6E-04 |
| T24、I48、A49、I78 | H5 | 1.7E+05 | 8.0E-04 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| T24、A49 | H7 | 1.2E+06 | 1.8E-02 |
| T24、I78 | H2 | 5.2E+05 | 5.9E-03 |
| I48、I78 | H4 | 1.2E+06 | 2.4E-02 |
| T24、A49、I78 | H6 | 2.1E+05 | 1.3E-03 |

【0247】 人源化變異體的低表現與測試之 Fab 變異體在溶液中的意外低締合速率相結合，表明表現及產物品質上存在缺陷。在幾種人源化重鏈變異體 (圖 7A) 仍保留對應於重鏈 (HH) 二聚物之溶析峰的情境中，在輕鏈中用 Gln-100 (人類殘基) 替換 Pro-100 (大鼠殘基)，該位置為人源化中通常不包括的的框架 4 位置，在輕鏈 L9 及 L10 (分別對應於具有 Pro-100 的輕鏈 1 及 5) 中恢復了 IgG 的表現。

【0248】 使用輕鏈 Pro-100 突變體的結果表明，較差的表現是由於輕鏈中的缺陷。我們藉由表現由 3.10C2-H1 重鏈 (具有框架位置 24、48、49、76 及 78 作為 3.10C2 大鼠殘基的人源化變異體) 與人源化 3.10C2-L1 或大鼠 3.10C2 輕鏈組合構成的雜合 Fab 片段來證實這一點。3.10C2-H1/3.10C2-L1 人源化變異體表現較差，而具有 3.10C2-H1 重鏈及大鼠 3.10C2 輕鏈的雜合 Fab 片段表現強勁 (圖 7B)，證實人源化 3.10C2 的輕鏈在表現上有缺陷。我們研究了 3.10C2 抗體組的其他輕鏈是否更適合人源化及表現。

【0249】 我們測試了抗 TREM2 抗體 3.27H7 的人源化輕鏈變異體 (3.10C2 的株性變異體) 與人源化 3.10C2 重鏈配對是否會導致人源化變異體的更好表現及產物品質。將 3.27H7 輕鏈在與 3.10C2 輕鏈相同的框架中人源化，在移植物中包括輕鏈框架殘基 2、4、58 及 68 (圖 8A-B)。將人源化 3.10C2 重鏈變異體與人源化 3.27H7 輕鏈變異體組合以產生具有 N297G 突變的人 IgG1。

【0250】表現並純化了四種人源化 3.10C2/3.27H7 雜合變異體。藉由蛋白質 A 層析術純化後，3.10C2-H1/3.27H7-L1 殖株以 246 mg/L 在瞬時轉染的 CHO 細胞中表現良好，並且顯示具有 99.5% 材料的單分散峰。

【0251】變異體 3.10C2-H3/3.27H7-L1 IgG 及 3.10C2-H3/3.27H7-L6 IgG 以 364 及 408 mg/L 在 CHO 細胞中亦表現良好。然而，一些重鏈-重鏈 (HH) 二聚物可藉由質譜在經純化之樣品中檢測到。

【0252】變異體 3.10C2-H1/3.27H7-L6 IgG 以 356 mg/L 在 CHO 細胞中良好表現，藉由粒徑篩析層析術顯示單分散峰，並且在非還原條件下藉由質譜未檢測到 HH 二聚物。該變異體係重新命名為 h3.10C2.v1，且其序列如圖 9A-B 中所示。

【0253】h3.10C2.v1 (圖 9A-B) 對於人類及食蟹獼猴 TREM2 的親和力係藉由 SPR 在 Biacore™ T200 一起中以兩種形式在 37°C 測定。在一種形式中，將 TREM2-Fc 固定在蛋白 A 晶片上，且使用可溶性抗 TREM2 Fab 片段作為配體。在第二種形式中，將抗 TREM2 IgG 固定在抗 CH1 Biacore™ 晶片上，且使用可溶性單體 TREM2 作為配體。人源化抗體 h3.10C2.v1 對 hTREM2 的親和力範圍為 390 至 420 pM，而對食蟹獼猴 TREM2 的親和力類似，為 430 pM (表 3)。因此，發現人源化抗 TREM2 h3.10C2.v1 表現良好並保留對人類及食蟹獼猴 TREM2 兩者的高親和力。

**實例 8：藉由飽和誘變使抗體 3.10C2 重鏈的親和力成熟**

**A. 材料與方法**

【0254】藉由重疊重組 PCR 構建基於 3.10C2 抗體重鏈的突變體文庫，目的為進一步改善抗體親和力。將編碼重鏈及輕鏈的 DNA 片段混合，每種突變體一個混合物，並用於以 1 ml 規模轉染 Expi293 細胞，並如前所述藉由蛋白

A 層析術進行純化 (Bos et al., *Biotechnol. Bioeng.* (2015); Luan et al., *Mabs* (2018))。

【0255】 所得文庫由單個 IgG 殖株組成，每個殖株在重鏈可變區中具有一個突變每分子。在 Biacore™ 8K 儀器中藉由 SPR 篩選殖株的分解速率 (解離速率)，使用抗人 Fab 晶片捕獲突變 IgG 且使用可溶性單體 TREM2 作為配體。

**B. 結果**

【0256】 相對於親本 3.10C2 殖株，所生成的數百個包含突變 T93E 及 T93H 的突變型殖株中只有 2 個殖株的解離速率顯著降低但降低幅度相對小 (1.4 至 2 倍) (圖 10)。有趣的是，突變 G94D 及 D101E，亦即 Para.09 相對於抗體 3.10C2 中相同位置的相應 CDR H3 殘基，減少 3.10C2 對 TREM2 的結合親和力 (G94D) 或消除結合 (D101E) (圖 10)，指示 Para.09 的 CDR H3 在結構上不等同於 3.10C2 的 CDR H3。此外，掃描誘變 (圖 10) 指示殖株 3.10C2 的親和力幾乎達到最大值，並且不能藉由重鏈 CDR 的誘變輕易改善。因此，使用殖株 Para.09 實現的針對與 3.10C2 組相同之表位的實質性較高親和力要求 CDR H3 的實質性變化，包括插入，該等變化係藉由探索相同結構性 CDR H3 序列之變異的傳統親和力優化方法所不容易獲得者但並非 CDR H3 中結構上不同的解決方案。

**實例 9：抗體 Para.09 的人源化**

**A. 材料與方法**

【0257】 使用與用於抗體 3.10C2 者相同的框架，藉由 CDR 移植在 VK2 及 VH3 框架中將包含 Para.09 重鏈可變區及 3.27H7 輕鏈可變區的抗體 Para.09 (亦稱為 Para.09-27H7) 人源化。簡而言，將大鼠 Para.09 VH 序列的 CDR 區移植到重鏈 IGKV3-73*01 框架中，該框架為該抗體的最接近之人種系 (圖 9B)。用於 Para.09人源化的輕鏈使用與上述抗體 3.27H7 相同的人源化輕鏈變異體 (圖

9A)。將稱為「游標」位置以及在大鼠抗體與人類種系之間不同的域界面中的大鼠框架殘基添加到 CDR 移植物中以挽救與抗原的結合，如實例 7 中關於 3.10C2 抗體人源化所述。一種具有全部框架游標位置的稱為 Para.09-H1/3.2/H7-L1 的變異體在 CHO 細胞中表現為具有 N297G 突變的人類 IgG1。

B. 結果

[0258] 相較於具有小鼠 IgG2a 或人類 IgG1 恆定區的嵌合抗體，人源化 Para.09-H1/3.2/H7-L1 的純化產量較低 (圖 11)。然而，與 3.2/H7-L6 配對的人源化 Para.09-H1 重鏈 (與 h3.10C2.v1 中之輕鏈相同的輕鏈) 在 CHO 細胞中的表現得到高的 IgG 之量 (314 mg/L 培養物)，沒有 HMW 聚物且 IgG 組裝的其他副產物相對較少。對具有較少大鼠框架殘基之重鏈變異體的進一步分析導致將 Para.09-H5 鑑定為具有最少大鼠殘基的變異體，其在與輕鏈 3.2/H7-L6 結合時在 CHO 細胞中得到高的 IgG 表現之量 (544 mg/L 培養物)，沒有可檢測的 HMW 聚物。該變異體稱為 hPara.09.v2，且其序列如圖12A-B 中所示。該變異體係重命名為 hPara.09.v2 (圖 12A-B)，其對 TREM2 的單價親和力係如上文對 h3.10C2.v1 IgG 及 Fab 片段所述測定，對 hTREM2 的單價親和力範圍為 11 至 21 pM，且對食蟹獼猴 TREM2 的單價親和力範圍為 18 至 22 pM (表 3)。

表 3：hPara.09.v2 及 h3.10C2.v1 對人類 TREM2 及食蟹獼猴 TREM2 的結合親和力

| | 抗體型態 | 人源化 | 形式 | 人類 hTREM2 | | | 食蟹獼猴 cTREM2 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | $K_D$ (pM) | $k_a$ (1/Ms) | $k_d$ (1/s) | $K_D$ (pM) | $k_a$ (1/Ms) | $k_d$ (1/s) |
| hPara.09.v2 | 人源化 | 人源化 | Fab | 21 | $8.0\times10^{6}$ | $6.1\times10^{-2}$ | 22 | $2.9\times10^{6}$ | $6.5\times10^{-2}$ |
| h3.10C2.v1 | | | | 890 | $1.5\times10^{6}$ | $1.2\times10^{-3}$ | 430 | $4.6\times10^{6}$ | $2.0\times10^{-3}$ |
| hPara.09.v2 | | | IgG | 16 | $5.5\times10^{6}$ | $8.6\times10^{-5}$ | | | |
| h3.10C2.v1 | | | | 920 | $6.4\times10^{6}$ | $5.5\times10^{-3}$ | | | |
| Para.09 | 嵌合 | 嵌合 | Fab | 15 | $2.3\times10^{6}$ | $3.6\times10^{-5}$ | 18 | $2.5\times10^{6}$ | $4.1\times10^{-5}$ |
| 3.10C2 | | | | 1190 | $9.1\times10^{5}$ | $1.1\times10^{-3}$ | 920 | $9.1\times10^{5}$ | $8.6\times10^{-4}$ |
| Para.09 | | | IgG | 11 | $2.0\times10^{6}$ | $2.2\times10^{-5}$ | | | |
| 3.10C2 | | | | 920 | $7.8\times10^{5}$ | $7.6\times10^{-4}$ | | | |

【0259】總之，確定了一系列大鼠抗 TREM2 抗體的 TREM2 結合表位並測量了結合親和力。參見實例 1 至 6。候選抗體經工程化以改善 TREM2 親和力及表現產量，並進行人源化。參見實例 7 至 9。所鑑定的抗體包括：(1) 大鼠 Para.09 (其包含 3.27H7 輕鏈及 Para.09 重鏈；亦即 Para.09-L27H7；序列顯示在圖 3A-B 中)，(2) 人源化 Para.09.v2 (亦即 hPara.09.v2；序列顯示在圖 12A-B 中)，(3) 大鼠 3.10C2 (序列顯示在圖 6A-B 中)，(4) 人源化 3.10C2.v1 (亦即 h.310.C2.v1；序列顯示在圖 9A-B)。

**實例 10：脫靶結合的測定**

**A. 材料與方法**

【0260】使用桿狀病毒顆粒作為抗原，用 ELISA 測定測試大鼠及人源化抗體結合至「脫靶」(亦即，除預期之 TREM2 以外的標靶) 的潛力 (BV ELISA；Hötzel 等人, *Landes Bioscience* dx.doi.org/10.4161/mabs.22189 (2012))。如前所述，藉由將抗體樣品的 ELISA 吸光度讀數除以沒有測試抗體之空白孔的吸光度讀數來進行標準化。(*同前*。) 平行測試了之前顯示在該測定中具有高 (分數 > 5)、中等 (分數約為 5) 及低 (不可檢測，分數低於 1) 脫靶結合的對照抗體。測試了四種抗體，具有大鼠可變區及人類 IgG1 恆定區的嵌合殖株以及人源化變異體 h3.10C2.v1 及 hPara.09.v2，其中人類 IgG1 恆定區具有 N297G 突變。

**B. 結果**

【0261】具有人類 IgG1 恆定區的嵌合大鼠抗體在測定中具有非常低的反應性，分數低於 1 (圖 15)。類似地，人源化抗 TREM2 抗體 h3.10C2.v1 及 hPara.09.v2 (兩者皆作為人類 IgG1 N297G) 的標準化 BV ELISA 分數低於 1 (圖 15)，指示沒有可檢測的脫靶結合傾向。因此，人源化 h3.10C2.v1 及

hPara.09.v2 抗體具有對 TREM2 的高親和力，在中至低微微莫耳（picomolar）範圍內，同時保留有利的、低或不可檢測的脫靶結合潛力。

**實例 11：結合至可溶性 TREM2 的確定**

**A. 材料與方法**

【0262】使用人類 TREM2 ELISA 測定來測量超過四十種抗體與可溶性 TREM2 (sTREM2) 的結合，如下所示：將測試抗 hTREM2 抗體塗佈到盤孔上作為捕獲試劑，並使用經生物素化之 IgV 反應性單株抗體 3.17A9 作為檢測試劑。抗體 1.16B8 用作對照抗體以建立 sTREM2 結合的標準。將塗有測試或對照抗體的盤與來自表現 hTREM2 之基因轉殖小鼠的骨髓衍生之巨噬細胞 (BMDM) 培養物的稀釋培養上清液一起孵育。sTREM2 由表現 hTREM2 的 BMDM 培養物組成性地產生並脫落到培養物上清液中。對於檢測，在 450 nm 記錄測量值；並且對於背景，在 570 nm 記錄測量值。利用在 R&D Systems 套組中提供的試劑來選擇 3.17A9/1.16B8 抗體對，因為商業試劑與一些所測試抗體的 sTREM2 檢測不兼容。對照抗體 1.16B8 輕鏈序列顯示在 SEQ ID NO: 170 中，且其重鏈序列顯示在 SEQ ID NO: 171 中。檢測抗體 3.17A9 輕鏈序列顯示在 SEQ ID NO: 168 中，且重鏈序列顯示在 SEQ ID NO: 169 中。

**B. 結果**

【0263】圖 16 顯示抗體的 sTREM2 結合的值。將結合標準化為對照 (CTL) 抗體 1.16B8，其設置為 1。標準化的 sTREM2 結合顯示為：大鼠 Para.09 – LC 3.27H7 mIgG2a LALAPG (Para09)、大鼠 3.10C2 mIgG2a LALAPG (3.10C2)、大鼠 3.18E5 mIgG2a LALAPG (3.18E5)、大鼠 3.50G1 mIgG2a LALAPG (3.50G1)、大鼠 3.27H7 mIgG2a LALAPG (3.27H7)、大鼠 3.36F5 mIgG2a LALAPG (3.36F5)、A.9F5、AL2p-12、AL2p-31、AL2p-58、BM.3D3、BM.42E8、BM.RS9、BM.14D3 及 BM.14D8。經測試之抗體大鼠 Para.09 – LC

3.27H7 mIgG2a LALAPG (Para09)、大鼠 3.10C2 mIgG2a LALAPG (3.10C2)、大鼠 3.18E5 mIgG2a LALAPG (3.18E5)、大鼠 3.50G1 mIgG2a LALAPG (3.50G1)、大鼠3.27H7 mIgG2a LALAPG (3.27H7)、大鼠 3.36F5 mIgG2a LALAPG (3.36F5) 包含 mIgG2a LALAPG 重鏈恆定區。在經測試之抗體中，僅 3.10C2、Para.09 及株性地相關之抗體 3.18E5、3.50G1、3.27H7 及 3.36F5 未顯示與 sTREM2 的任何結合 (參見圖 16，其顯示與 1.116B8 對照相反，彼等標準化的 sTREM2 結合接近零的抗體)。亦測試了具有 hIgG1 N297G 恆定區的人源化抗體 Para.09.v2 抗體的 sTREM2 結合，並且與具有 mIgG2 LALAPG 的大鼠 Para.09 一樣，未顯示至 sTREM2 的任何結合。

【0264】 此外，在該實驗中測試了先前在文獻中描述為結合至莖 hTREM2 的九種抗體，包括 A.9F5 (亦稱為 9F5)、AL2p-12、AL2p-31、AL2p-58、BM.3D3、BM.42E8、BM.RS9、BM.14D3 及 BM.14D8，在例如 WO2018015573、WO201955841、WO2017062672 及/或 WO201928292 中描述。與 3.10C2、Para.09、3.18E5、3.50G1、3.27H7 及 3.36F5 抗體不同，此處測試的九種先前描述之抗體在該測定中結合至 sTREM2 (參見圖 16，其顯示對於彼等抗體，標準化的 sTREM2 結合為 0.5 至 1.5)。當與經測試之抗體的結合譜一起考慮時，這一結果令人驚訝，因為經測試之抗體在 TREM2 莖區具有表位，且該結果可能反映了相較於先前描述之抗體，3.10C2、Para.09、3.18E5、3.50G1、3.27H7 及 3.36F5 抗體的獨特表位。(參見例如圖 5。)

【0265】 早前實例中描述的肽圖譜及突變掃描結果可以為在 3.10C2/Para.09/3.50G1 與抗體 9F5 及其衍生物之間觀察到的結合至可溶性 TREM2 的差異提供基礎。Para.09、3.10C2 及 3.50G1 的表位跨越 His-157 與 Ser-158 之間的 ADAM10 切割位點，且切割位點兩側皆有重要的接觸位點，如藉由突變掃描及結構分析所確定的。(參見圖 5。) 相反，如上文實例 6 中所

述，A.9F5 (圖 5 中的 9F9) 及其衍生物 AL2p-31 的表位完全位於 TREM2 切割位點的 N 端側。(參見圖 5。)TREM2 接觸點的這種差異可以解釋觀察到的結合至 sTREM2 的差異，導致此等先前描述之抗體結合至可溶性 TREM2。

【0266】 然而，令人驚訝的是，抗體 14D3 及 14D8 具有結合至丙胺酸突變型肽的模式，該模式看起來與抗體 3.10C2、3.50G1 及 Para.09 (圖 5) 類似，但仍顯示出以單價及生理相關方式強勁地結合至 sTREM2 (圖 16)。這非常令人驚訝，因為具有非常高親和力的 3.10C2 及 Para.09 可以預期保留對可溶性 TREM2 中部分表位的結合，而較低親和力 (3 至 5 nM) 的 14D3 及 14D8 抗體可能更容易失去與此等部分表位的結合。這表明，早前實例中描述的結合譜可能無法解釋抗 TREM2 抗體與 TREM2 之間的全部交互作用，該等交互作用是抗 TREM2 抗體區分全長、膜結合 TREM2 與可溶性 TREM2 形式所必需的，進一步確立了本揭示之抗體的獨特性。

【0267】 因此，如此等結果所示，具有 3.10C2、Para.09、3.18E5 及 3.50G1 抗體結合譜的抗體是獨特的。此等抗體有效地結合至 TREM2 莖區，而不與可溶性 TREM2 結合。此等抗體的特異性可具有幾種潛在益處，包括在*活體內*給藥後允許周邊及腦中的可溶性 TREM2 保留獨立於所給藥的抗體。此等抗體對跨越完整 TREM2 之切割位點的其等表位的高親和力及其等結合至經切割之可溶性 TREM2 的缺少可能以幾種方式在*活體內*有益，亦即，從允許更多所給藥之抗 TREM2 抗體到達細胞表面上 TREM2 的所欲標靶，以降低從細胞表面脫落的 sTREM2 之量。

**實例 12：抗 TREM2 抗體誘導 TREM2 依賴性及 NFAT 驅動的螢光素酶活性**

**A. 材料與方法**

【0268】 使用基於 Jurkat 的螢光素酶報導子細胞株來測試全長抗 hTREM2 抗體誘導人類 TREM2 相關傳訊的能力。TREM2 活化及其在細胞膜處

與 DAP12 (12 千道爾頓的 DNAX 活化蛋白) 的交互作用可誘導 Syk 激酶 (脾酪胺酸激酶，其磷酸化形式稱為 pSYK 或磷酸化-SYK) 的磷酸化及細胞質中的其他細胞傳訊事件，最終導致經活化之 T 細胞核因子 (NFAT) 控制之基因表現的活化。因此，Syk 激酶的磷酸化及 NFAT 控制之基因表現兩者皆可用於確定抗體對 TREM2 活性的影響及抗體是否促效 TREM2。在該測定中，Jurkat 細胞經設計以在 NFAT 反應元件的控制下表現螢光素酶報導子，並且亦共表現人類 TREM2 及 DAP12，以便測試添加抗體是否會由於 NFAT 的活化而誘導報導子的表現。

【0269】 親本 Jurkat 螢光素酶報導子細胞株 (人類 T 淋巴球；Signosis) 經設計為在 NFAT 反應元件的控制下穩定地表現螢火蟲螢光素酶報導子。然後使用基於 MSCV 的逆轉錄病毒載體轉導親本 Jurkat 螢光素酶報導子細胞株以共表現 TREM2 (野生型或突變體) 及 DAP12，以生成 Jurkat-NFAT 螢光素酶 TREM2 報導子細胞株。

【0270】 相較於同型對照抗體，Jurkat 報導子測定用於測試抗人 TREM2 抗體的促效作用。將每種抗體及同型對照以 10 ug/mL 的可溶形式添加到 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中，並在 37°C 孵育 24 小時。藉由添加 Bright-Glo™ 受質 (Promega 目錄號 E2610) 來測量螢光素酶活性。在室溫孵育 3 分鐘後，使用 Tecan 讀盤器上的 M1000 程式記錄發光測量值。

【0271】 為了確定抗人 TREM2 抗體的時間依賴性報導子活性，在添加用於測量螢光素酶活性的 Bright-Glo™ 受質之前，將 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞在存在抗 TREM2 抗體 (各自為 10 μg/mL) 之情形下培養 3、6 或 24 小時。

**B. 結果**

【0272】在 Jurkat 報導子測定中篩選了在實例 1 之篩選中鑑定的五十六種大鼠抗人 TREM2 抗體 (以重組 mIgG2a 的形式)。相較於同型對照，在此等 56 種抗體中，只有 8 種抗體，包括四種「3.10C2 組」抗體：3.10C2、3.18E5、3.27H7 及 3.50G1 以 Luc RLU (螢光素酶相對光單位) 誘導螢光素酶報導子活性，表明此等抗 TREM2 抗體可以模擬 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中的天然配體活性 (圖 17)。在彼等 8 種抗體中，四種「3.10C2 組」抗體：3.10C2、3.18E5、3.27H7 及 3.50G1 表明相當強的促效作用，而其他四種經測試之抗體僅顯示適度的促效活性 (圖 17)。其餘 48 種經測試之抗體的 Luc RLU 值低於同型對照。此等資料表明，相較於結合該莖區之外部的抗體，特異性地結合至 TREM2 莖之位置 151 至 165 處的特定表位的 3.10C2 組抗體具有相對強的促效劑活性。

【0273】同樣的 56 種抗體亦在使用 Jurkat-NFAT 報導子細胞的時間進程測定中進行了測試。在經測試之抗體中，相較於同型，「3.10C2 組」抗體 3.10C2、3.18E5、3.27H7 及 3.50G1 亦表明強烈的時間依賴性促效劑活性 (Luc RLU 倍數變化)。

**實例 13：mIgG2a LALAPG 或 hIgG1 N297G 形式的抗 TREM2 抗體在 Jurkat 報導子細胞中誘導螢光素酶活性**

**A. 材料與方法**

【0274】大鼠抗人抗體 Para.09 及 3.10C2 經工程化為包含鼠 IgG2a LALAPG Fc 區 (以降低 Fc 的效應子功能)，並進一步在 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中測試促效劑活性。人源化抗體 Para.09.v2 及 3.10C2 經類似地工程化為人類 IgG1 N297G 形式以降低效應子功能，並且亦進行測試。如上文實例 12 中所述，進行基於 Jurkat 的螢光素酶報導子測定。為了測試抗人 TREM2 抗

體的劑量依賴性活性，在存在連續稀釋的抗人 TREM2 抗體之情形下將 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞培養 24 小時。

【0275】 還評估了針對常見 hTREM2 突變的抗 hTREM2 抗體活性：構建了 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞株，其分別表現三種 hTREM2 突變體：R47H、R62H 及 H157Y。此等突變體的存在可能與阿滋海默症風險增加相關聯。

【0276】 在添加 Bright-Glo™ 受質 (Promega 目錄號 E2610) 以測量螢光素酶驅動的發光之前，收集上清液樣品用於 TREM2 脫落分析。

**B. 結果**

【0277】 在 24 小時的時間點，大鼠及人源化抗體兩者皆表明促效劑活性，如藉由螢光素酶報導子活性的誘導所示。參見圖 18A (大鼠抗體) 及圖 18B (人源化抗體)。此等資料進一步表明大鼠及人源化 Para.09 及 3.10C2 抗體兩者皆具有促效劑活性，並且此類活性與抗體效應子功能無關。

【0278】 四種「3.10C2 組」抗體 (mIgG2a LALAPG 形式) 3.10C2、3.18E5、3.27H7 及 3.50G1 亦在經工程化以分別表現三種 hTREM2 突變體 R47H (圖 19A)、R62H (圖 19B) 及 H157Y (圖 19C) 的 Jurkat-NFAT 報導子細胞中誘導螢光素酶活性。此等結果表明，抗 hTREM2 抗體具有針對野生型 hTREM2 及針對此等 hTREM2 突變兩者的促效劑活性，並且因此，其等可能對具有此等突變型 TREM2 蛋白的患者有用。

**實例 14：mIgG2a LALAPG 或 hIgG1 N297G 形式的抗 TREM2 抗體在 Jurkat 報導子細胞中阻斷 TREM2 脫落**

**A. 材料與方法**

【0279】 TREM2 脫落，釋放可溶性 TREM2，可能在阿滋海默症患者發病前數十年發生。可溶性 TREM2 結合至澱粉樣蛋白斑塊可能反過來中斷小神

經膠質細胞對神經元保護性斑塊的壓密。因此，在實例 12 及 13 中描述的 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中測試了本文之大鼠及人源化 Para.09 及 3.10C2 抗體兩者，以確定其等是否亦可抑制 TREM2 脫落。為了確定可溶性抗人 TREM2 抗體在 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中的 TREM2 脫落抑制活性，在 24 小時的時間點從報導子測定盤收穫上清液，並使用 ELISA 測定來測量 sTREM2，如上文實例 11 中所述。

【0280】 接下來將 Jurkat-NFAT 報導子及 TREM2 脫落抑制測定中人源化 Para.09 變異體 hPara.09 v2、hPara.09 v2.Q100P/V104L 及 hPara.09.v2 Q100P 的活性與人源化 3.10C2.v1 抗體的活性進行比較。在存在連續稀釋的人源化抗體之情形下將 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞培養 24 小時，並如上所述進行測試。

**B. 結果**

【0281】 在 ELISA 測定中，相較於相同形式的其他經測試之抗體，mIgG2a LALAPG 形式的 Para.09 表明最強的 TREM2 脫落抑制活性。相較於 hIgG1 N297G 形式的人源化抗體 h3.10C2 v1，hIgG1 N297G 形式的人源化抗體 hPara.09.v2 表明較強的 TREM2 脫落抑制作用 (參見圖 20B)。顯示大鼠抗體對 sTREM2 脫落的抑制與另一種抗體 (1.20A2 mIgG2a LALAPG) 相反，後者在該測定中顯示微不足道的脫落抑制。(參見圖 20A)。

【0282】 變異體 hPara.09 v2.Q100P/V104L 及 hPara.09.v2 Q100P 與 hPara.09v2 相同，Q100P/V104L 和 Q100P 突變分別除外 (圖13A-B)。如圖20C-D 所示，hIgG1 N297G 形式的 hPara.09 v2、hPara.09 v2.Q100P/V104L 及 hPara.09.v2 Q100P 表明相當的活性。此外，與實例 13 中所示之結果相一致，相較於人源化 3.10C2.v1 抗體，彼等三種 Para.09 人源化抗體的活性較高。

[0283] 在 Jurkat NFAT 螢光素酶報導子細胞中測量的 TREM2 抗體的效力 ($EC_{50}$) 及 TREM2 脫落抑制 ($IC_{50}$) 總結在下表 4 中。

表 4：TREM2 抗體的效力 ($EC_{50}$) 及 TREM2 脫落抑制 ($IC_{50}$)

| 嵌入 [REM2 AL | [C50, ng/mL | [C50, ng/mL |
|---|---|---|
| hPara.09.v2 | 24.52 | 1631.50 |
| hPara.09.v2.Q100P/A401L | 23.28 | 1143.90 |
| hPara.09.v2.Q100P | 17.80 | 1028.40 |
| 3.10C2.v1.hIgG1.N297Q | 76.00 | 975.00 |
| 大鼠.para.09.mIgG2a.LALAPG | 40.00 | NA |
| 大鼠.3.10C2.mIgG1a.LALAPG | 2790.50 | NA |
| 大鼠.1.20A2.mIgG2a.LALAPG | NA | 7915.00 |

(NA：不可用)

實例 15：可溶性抗 TREM2 抗體在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中阻斷 TREM2 脫落

A。 材料與方法

[0284] 由於 TREM2 在活體內在小神經膠質細胞中表現，接下來在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中測試對 TREM2 脫落的抑制作用。為了確定抗人 TREM2 抗體在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞 (Cellular Dynamics) 中對 TREM2 脫落的抑制作用，在存在 10ug/mL 的可溶性抗 TREM2 mIgG2a LALAPG 抗體之情形下，用維持培養基 (Cellular Dynamics) 培養 iPSC 小神經膠質細胞。ADAM10 蛋白酶抑制劑 GI254023X (Sigma-Aldrich) 用作阻斷 sTREM2 切割及脫落的陽性對照。在第 3 天收集培養上清液樣品，使用 R&D 測定套組進行 ELISA 測定。

B。 結果

[0285] 大鼠抗人 TREM2 抗體 3.10C2、3.18E5、3.27H7 及 3.50G1 降低 sTREM2的水平與 GI254023X (α 分泌酶 ADAM10 的有效及選擇性含腸蛋白酶抑制劑) 相當，而之前描述的抗體 9E5 抑制 TREM2 脫落的程度較小 (圖 21)。

此等資料表明，TREM2 脫落被 3.10C2、3.18E5、3.27H7 及 3.50G1 促效性抗 TREM2 抗體阻斷，且細胞膜結合的 TREM2 亦可被此等相同的抗體穩定化。此等資料也證實了來自 Jurkat-NFAT 細胞的資料，該等細胞為在*活體內*表現 TREM2 的細胞類型。

**實例 16：在原代人類單核球衍生之巨噬細胞 (MDM) 中在 TREM2 刺激後的磷酸酪胺酸及 pSYK 活化**

【0286】 如上所述，TREM2 在細胞膜處與 DAP12 的結合導致 TREM2 相關細胞傳訊的活化，部分直至 Syk 激酶 (SYK) 的磷酸化，以形成 pSYK。因此，在人類巨噬細胞模型系統中確定了抗 TREM2 抗體對 SYK 磷酸化以及對泛酪胺酸磷酸化的效應，以便進一步評估該等抗體的促效劑活性。為了確保磷酸化的變化是由 TREM2 活性所致，還在 TREM2 缺失的情境中進行了測試。以人類 IgG1 N297G 形式測試抗體以降低抗體效應子活性。

**A. 材料與方法**

**1. 人類單核球衍生之巨噬細胞的分離與培養**

【0287】 使用 Ficoll® Paque Plus (Sigma Aldrich) 從同意的健康供體膚色血球層中分離人類周邊血單核細胞 (PBMC)。接下來，根據套組說明，使用經典單核球分離套組 (Miltenyi Biotec) 從 PBMC 中分離 $CD14^{+}C16^{-}$ 單核球。收集流經物並以 300 x *g* 的速度旋轉 10 分鐘，然後重新懸浮在生長培養基中。將細胞稀釋至最終濃度為 10% DMSO，冷凍並儲存在液氮中以備將來使用。對於每個實驗，將來自多個供體的等分試樣解凍，並將單核球衍生之巨噬細胞 (hMDM) 在含有 10% 熱滅活血清及 50 ng/mL 重組人類 M-CSF (Peprotech) 的高葡萄糖 DMEM 中分化培養 5 至 7 天，每隔一天更換一次部分培養基。

【0288】 為了形成靶向 TREM2 的導引 RNA 雙螺旋，將基於序列 TTGTAGATTCCGCAGCGTAA 或 AATGGTGAGAGTGCCACCCA 或

TACCAGTGCCAGAGCCTCCA (分別為 SEQ ID No: 173、174 及 175) 的 Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA (Integrated DNA Technologies) 在雙螺旋緩衝液 (Integrated DNA Technologies) 中溶解至 100 uM 並以 1 比 1 的莫耳比與以 100 uM 溶解在 Duplex 緩衝液中的 Alt-R tracrRNA 混合。crRNA 及 tracrRNA 混合物藉由在 95°C 孵育 5 分鐘進行雜交，然後在室溫孵育 15 分鐘並在 -20°C 儲存。藉由將 crRNA/tracrRNA 雙螺旋與 5 µg Alt-RS.p.HiFi Cas9 核酸酶 V3 (Integrated DNA Technologies) 以 3 比 1 的莫耳比混合並在室溫孵育至少 15 分鐘，形成核糖核蛋白複合物。將兩個獨立的導引 RNA 序列的兩個核糖核蛋白複合物以 1 比 1 的比率組合，並且將兩個導引 RNA 皆轉染到 hMDM 中。

【0289】 為了生成 TREM2 缺陷細胞池，在解凍後 16 至 24 小時收集 hMDM，以 500 x *g* 離心 5 分鐘，然後重新懸浮在 P3 原代核轉染溶液 (Lonza) 中，濃度為 2-4 x106 個細胞每 20 µL 反應。將每個 20 µL 反應與總計 10 µg 的與三個 TREM2 靶向導引 RNA 複合的 Cas9 混合，並立即轉移到提供的 nucleofector 匣式條帶 (Lonza)。將條帶裝載到 Lonza 4D-Nucleofector (4D-nucleofector Core Unit: Lonza, AAF-1002B；4D Nucleofector X Unit: AAF-1002X) 中並使用 CM-137 脈衝程式進行電穿孔。回收細胞，將其在生長培養基中稀釋至 106 個細胞每 mL 並鋪盤 5 至 7 天。藉由 TIDE 分析及 FACS 證實了有效的敲除 (>90%)。

**2. 泛酪胺酸及 SYK 磷酸化的測量**

【0290】 對於全部實驗，在添加抗 TREM2 抗體之前，將 hMDM 切換到低葡萄糖培養基中並剝奪 M-CSF 及血清 24 小時。將 hMDM 與抗體在 37°C 孵育 10 或 20 分鐘。抗體刺激後，去除培養基並在含有完整微型蛋白酶抑制劑 (Roche) 及 phosSTOP (Roche) 磷酸酶抑制劑的 RIPA 緩衝液中溶解細胞。收集蛋白質溶胞產物後，樣品用於測量泛磷酸化酪胺酸 (pY) 及磷酸化 SYK 活性兩

者。對於 pY 表現，使樣品基於西方墨點法進行電泳，並將膜在 4°C 與 P-Y-1000 (1:1000，Cell Signaling Technology) 及抗 β 肌動蛋白 (1:1000，Sigma Aldrich) 孵育隔夜。次日，在室溫在黑暗中添加二級螢光抗體 1 小時，並使用 Odyssey 紅外成像平台 (1:10,000, LI-COR) 成像。在 ImageStudio Lite (LI-COR) 中計算帶強度，並且在標準化為同型對照之前將全部樣品標準化為加載對照。

【0291】 根據套組說明，使用各自的 AlphaLISA® SureFire® Ultra™ 測定 (PerkinElmer) 來測量總 SYK 及磷酸化-SYK。簡而言，將蛋白質溶胞產物與受體珠孵育 1 小時，然後在黑暗中與塗佈有鏈黴抗生物素蛋白的供體珠孵育 1 小時。之後，使用兼容的 Synergy™ Neo2 讀盤器 (BioTek) 對盤成像。對於磷酸化 SYK 定量，首先將樣品標準化為總 SYK，然後標準化為同型對照抗體。

**B. 結果**

【0292】 在圖 22A 中，泛磷酸化酪胺酸活性係基於西方墨點法評估。相對於同型對照，hPara.09.v2 N297G 治療表明，在刺激後 20 分鐘時，pY 顯著增加。在圖 22B 中，磷酸化 SYK 之量係使用 alphaLISA® 測定套組測量，全部樣品皆標準化為總 SYK 之量。在 20 分鐘時，從 hPara09.v2 及 h3.10C2.v1 抗體兩者中觀察到 pSYK 顯著增加。在抗體治療後 20 分鐘，在 TREM2 缺陷細胞 (用 Cas9 核糖核蛋白複合物轉染的細胞，該複合物包括靶向 TREM2 或 gTREM2 的導引 RNA) 中沒有觀察到 pSYK 增加。平均值 ± SEM，來自 5 個獨立生物標本的 n = 6，或來自 2 個獨立生物標本的 n = 2，對於 gTREM2，**p<0.01 ***p<0.001 (相較於同型對照條件，單因子變異數分析及 Dunnett 檢定)。如圖 22C 所示，用人源化抗體 hPara.09.v2 N297G 及 hPara.09.v2 Q100P/V104L N297G 刺激在原代hMDM 中增加磷酸 SYK 之量。

**實例 17：抗 TREM2 抗體 Para.09 促進人類 iPSC 小神經膠質細胞存活**

【0293】 由於 TREM2 在腦中在小神經膠質細胞中表現，因此在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞模型系統中進行進一步的實驗，以確定抗體對於小神經膠質細胞存活、sTREM2 脫落、SYK 磷酸化及 Aβ 斑塊形成及壓密的效應。

**A. 材料與方法**

**1. iPSC 小神經膠質細胞存活測定 ($EC_{50}$ 實驗)**

**i. 抗體塗佈**

【0294】 對於 384 孔盤 (Cell Carrier Ultra，Perkin Elmer) 的塗佈，在冷 DMEM/F12 (Gibco) 中製備 1 mg/mL 的 N297G 及 LALAPG 變異體 h3.10C2.v1 及 hPara.09.v2.N297G 的儲備溶液。將儲備溶液混合並用於在 96 孔試劑主體 (Greiner Bio-One) 中進行連續稀釋。使用配備自動多通道移液器 (Voyager 125 µL，Integra) 的移液機器人 (Assist Plus，Integra)，藉由 25 µL/孔的重複分配 (n = 4 至 6) 將塗佈溶液轉移到 384 孔盤中。為了最大限度地減少蒸發及邊緣效應，以 DPBS (Sigma-Aldrich) 填充外孔。短暫離心後，將盤在 37°C、5% $CO_2$ 及 95% 濕度下孵育隔夜。

**ii. iPSC 小神經膠質細胞培養基製備**

【0295】 所使用之基礎培養基為含有以下的基本培養基 (BrainPhys Basal，StemCell Technologies)：B27 補充劑 (Gibco)、N2 補充劑 (Gibco)、 1 mM 肌酸 (Sigma)、200 nM L-抗壞血酸 2-磷酸倍半鎂 (Sigma)、20 ng/ mL 重組 BDNF (Peprotech)、20 ng/mL 重組人類 GDNF (Peprotech)、1 µg/mL 層連結蛋白小鼠蛋白 (Gibco)、0.5 mM Glutamax™ (Gibco)、50 U/mL 青黴素-鏈黴素 (Gibco)、0.1 mg/mL Normocin™ (InvivoGen)、5 ng/mL 重組人類 TGF-β1 (Peprotech，HEK293 衍生)、1.5 ng/mL 羊毛膽固醇 (Avanti)、0.1 ng/mL 油酸 (Cayman Chemicals)、0.001 ng/ mL 11(Z)-二十碳烯酸 (Cayman Chemicals)、460

μM 1-硫甘油 (Sigma-Aldrich)、10 μg/mL 胰島素、5.5 μg/mL 運鐵蛋白、6.7 ng/mL 亞硒酸鈉 (ITS-G，Gibco)、5.4 μg/mL 人胰島素溶液 (Sigma)。BDNF、GDNF、TGF-β1、IL-34 及 M-CSF 在 0.1% BSA 中重構。羊毛膽固醇、油酸及 11(Z)-二十碳烯酸每個月在乙醇中新鮮製備。為了獲得完全的小神經膠質細胞培養基，減少的小神經膠質細胞培養基係以 100 ng/mL 重組人類 IL-34 (Peprotech) 及 25 ng/mL 重組人類 M-CSF (Peprotech) 補充。為了製備最低營養素小神經膠質細胞培養基，基礎培養基係以 25 ng/mL 重組人類 IL-34 (Peprotech) 及 0.313 ng/mL 重組人類 M-CSF (Peprotech) 補充。

**iii. iPSC 小神經膠質細胞解凍、接種及培養**

【0296】 將人類野生型或 TREM2KO iPSC 衍生之小神經膠質細胞 (iCell Microglia，Fujifilm Cellular Dynamics, Inc.) 在完全的小神經膠質細胞培養基中解凍。計數後，將細胞離心並重新懸浮在最低營養素小神經膠質細胞培養基中。對於細胞存活測定，吸出先前塗佈之 384 孔盤 (Cell Carrier Ultra，Perkin Elmer) 的塗佈溶液，並將細胞以 8,000 個細胞/孔接種在 50 μL 的相應培養基中。將盤短暫離心並將細胞在 37°C、5% $CO_2$ 及 95% 濕度下培養 3 天。

**iv. 上清液的收集及細胞的固定**

【0297】 培養 3 天後，藉由配備自動多通道移液器 (Voyager 125 μL，Integra) 的移液機器人 (Assist Plus，Integra) 收集細胞的上清液。抽吸速度設置為 2 μL/sec，且移液高度保持在盤底上方 1 至 1.2 mm，以避免干擾細胞層。將 30 μL/孔轉移至 384 深孔微孔盤 (Greiner Bio-One)。收集上清液後，立即將細胞在 DPBS (Sigma-Aldrich) 中的 4% PFA (Electron Microscopy Science)、4% 蔗糖 (Sigma-Aldrich) 中在室溫固定 1 小時。固定後，細胞用 DPBS (Sigma-Aldrich) 洗滌兩次。

**2. 免疫染色**

【0298】在免疫染色之前，將細胞與在 DPBS (Sigma-Aldrich) 中含有 2% 正常驢血清 (JacksounImmuno Research)、1% BSA (JacksonImmuno Research) 及 0.1% Triton X-100 (Sigma-Aldrich) 的阻斷緩衝液在室溫孵育 1 小時。將初級兔抗 Iba1 多株抗體 (1:500，Wako) 稀釋在阻斷溶液中，在室溫孵育 1 小時，並且細胞用阻斷緩衝液洗滌三次。在阻斷緩衝液中製備二級 Cy3 驢抗兔 (1:600，JacksonImmuno Research)、Alexa Fluor™ 488 Phalloidin (1:1000，Invitrogen) 及 Hoechst 33342 (1:10000，Invitrogen) 並在室溫再孵育一小時。二次染色後，藉由 DPBS (Sigma-Aldrich) 的重複添加及抽吸將細胞洗滌 6 次，並在黑暗中儲存直至成像。

**3. 成像**

【0299】在配備 20x 水浸物鏡的自動高內涵影像儀 (Opera Phenix® 高含量篩選系統，Perkin Elmer) 上對含有經染色之小神經膠質細胞的微孔盤成像。全部孔的平鋪掃描 (3 x 3 平鋪) 皆以旋轉盤共聚焦模式 (影像尺寸 1080 x 1080 像素，像素尺寸 0.598 μm) 獲取，得到 2.88 $mm^2$ (每孔的 ~27%) 的有效視野。每個位置在三個螢光通道中成像。在 405 nm 進行核染料 Hoechst 33342 的激發，並在 456 nm 檢測到主要發射訊號。藉由在 488 nm 激發 Alexa Fluor™ 488 Phalloidin，在 522 nm 檢測肌動蛋白。藉由在 561 nm 處激發 Cy3 來觀察 Iba1，主要在 599 nm 發射。

**4. iPSC 小神經膠質細胞 Aβ 斑塊形成測定**

【0300】為了測試盤結合之抗 TREM2 抗體在 Aβ 斑塊形成及壓密中的效應，執行*活體外*人類 iPSC-MG 斑塊形成測定，該測定使用合成 Aβ 寡聚物來模擬在 AD 腦中發現的升高的 Aβ 寡聚物之量。如本實例之部分 1 中所述，在存在對照抗體 (gD hIgG1 N297G) 或遞增濃度之抗 TREM2 抗體之情形下，在存在 Aβ 寡聚物而沒有 IL-34 及 CSF-1 之情形下，培養 iPSC 小神經膠質細胞。Aβ 寡

聚物係藉由將重構至 100 μM 之 Aβ 單體 (1-42) (Anaspec) 在 BrainPhys™ 基本培養基中在 4°C 孵育 24 小時所生成的。在鋪盤後立即將 Aβ 寡聚物以 2.5 μM 的最終濃度施加至細胞。將細胞孵育 2 天，然後固定並對 Aβ、甲氧基-X04 (澱粉樣斑塊染料) 及 IBA1 進行染色。在配備 20x 空氣物鏡的自動高內涵影像儀 (IN CELL 6000，General Electric) 上對含有經染色之小神經膠質細胞的微孔盤成像。獲取全部孔的平鋪掃描 (3 x 3 平鋪)。每個位置在四個螢光通道中成像。在 405 nm 進行Aβ 斑塊結合染料甲氧基-X04 的激發，並在 456 nm 檢測到主要發射訊號。藉由在 488 nm 激發 Alexa Fluor™ 488 Phalloidin，在 522 nm 檢測肌動蛋白。藉由在 561 nm 處激發 Cy3 來觀察 Iba1，主要在 599 nm 發射。使用 647 nM 的激發波長，藉由抗 6E10 抗體觀察 Aβ。

**5. AlphaLISA® 測定**

【0301】 不同形式的 48 或 96 孔細胞培養微孔盤用 DMEM/F12 (Gibco) 中的 200 μg/mL 抗體塗佈。96 孔盤 (Greiner Bio-One) 以 50 μL/孔塗佈，且 48 孔盤 (Greiner Bio-One) 以 150 μL/孔塗佈，並在 37°C、5% $CO_2$、95% 濕度下孵育隔夜。如本實例之部分 1 中所述，將 iPSC 小神經膠質細胞進行鋪盤並培養。

**6. 溶胞產物製備**

【0302】 培養 3 天後，藉由用溶解緩衝液 (超溶解緩衝液，Perkin Elmer) 溶解細胞，獲得用於測量 Tyr525/526 上之磷酸化及內源 SYK 之總量的樣品。去除使用過的培養基，並將新鮮製備的 1x 溶解緩衝液添加到微孔盤中 (對於 48 孔為 100 μL，對於 96 孔為 60 μL)。將盤在室溫在盤振盪器 (350 rpm) 上攪拌 10 分鐘。藉由將溶胞產物連續攜帶到相同培養條件 (N = 3 至 4，n = 2 至 3) 的未溶解複製孔中來產生濃縮樣品。將盤在室溫再攪拌 10 分鐘，然後將濃縮的溶胞產物轉移到 96 孔深孔盤 (Greiner Bio-One) 並在 -80°C 冷凍。

**7. Luminex 測定**

【0303】 使用 Luminex 多分析物分析技術 (Inflammation 20-Plex Human ProcartaPlex™ Panel) 對收集的小神經膠質細胞培養上清液進行多重蛋白質定量。根據製造商的協定來使用測定套組。為了獲得足夠的樣品體積，匯集相同條件的多個孔的上清液，並重複分析所匯集的樣品。在 Luminex™ MAGPIX™ 儀器系統 (Invitrogen) 上讀取測定盤。

**8. SYK 磷酸化測定**

【0304】 為了確定抗 TREM2 抗體是否誘導 SYK 磷酸化，將野生型 iPSC-MG 在沒有 IL-34 及 CSF-1 的培養基中並且在存在盤結合之抗體的情形下在 48 孔盤中培養，該等盤結合之抗體為：對照 (gD hIgG1 N297G)、抗 TREM2 hPara.09.V2 hIgG1 N297G 或變異體 hPara.Q100P.V104L hIgG1 N297G 抗體。在所指示之時間點 (1 小時、4 小時、24 小時) 將細胞鋪盤，然後溶解細胞並用 AlphaLISA® 測定分析 pSYK 及總 SYK。在每個時間點將該比率進一步標準化為使用抗 gD 對照抗體測量的比率。對於每種條件，有 n=4 個孔。藉由 ELISA 測量來自經治療之細胞的蛋白質溶胞產物中磷酸 SYK 與總 SYK 的比率。

**B. 結果**

**1. 抗 TREM2 抗體促進人類 iPSC-MG 存活**

【0305】 藉由在沒有 IL-34 及 CSF-1 (在正常情況下，其等為小神經膠質細胞存活所需) 之情形下培養人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞 (iPSC-MG)，我們測試了相較於對照抗 gD 抗體，抗 TREM2 抗體 3.10C2v1 及 hPara09.v2 (在 IgG1 N297G 背景中) 是否促進 iPSC-MG 存活。(圖 23A)。使用對照抗體，大多數小神經膠質細胞在沒有 IL-34 及 CSF-1 之情形下培養 3 天後死亡。相比之下，3.10C2v1 及 hPara09.v2 以劑量依賴性方式促進 iPSC-MG 存活。為了驗證生存效應係透過 TREM2 傳訊所媒介的，還在 TREM2 敲除 (KO) iPSC 小神經

膠質細胞中測試了抗體。抗體 3.10C2v1 及 hPara09.v2 不促進 TREM2-KO iPSC 小神經膠質細胞存活。因此，抗 TREM2 促效劑抗體 3.10C2v1 及 hPara09.v2 以 TREM2 依賴性方式促進 iPSC-MG 存活。

【0306】 使用來自 6 個表位箱中之各者的具有最高親和力的 2 至 4 個抗體殖株，使用人類 iPSC-MG 存活測定來篩選來自實例 1 之篩選的顯示結合至 hTREM2 之不同區的抗 TREM2 抗體 (圖23B)。對應於 3.10C2 組的表位箱中之抗體即使在 1 ng 及 10 ng 時亦顯示最高的存活活性。因此，3.10C2 組抗體在促進 iPSC-MG 小神經膠質細胞存活方面顯示最高的促效劑活性。

**2. 抗 TREM2 抗體在 iPSC-MG 中誘導 pSYK 依賴性存活**

【0307】 TREM2 透過其與 DAP12 的締合發出訊號，DAP12 透過其基於細胞溶質免疫受體酪胺酸之活化基序 (ITAM) 募集 SYK。因此，SYK 為 TREM2 傳訊的下游效應子。如圖 23C 所示，相較於對照抗 gD 抗體，hPara.09.V2 hIgG1 N297G 及變異體 hPara.Q100P.V104L hIgG1 N297G 抗體在孵育 1 小時的時間點顯示磷酸化 SYK 升高 2 倍，並且在 4 小時的時間點顯示超過 10 倍誘導 (誤差條 +/- SEM。* P<0.05，** P<0.01，****< 0.0001，使用二因子變異數分析)。磷酸化 SYK 之量在 24 小時的時間點恢復到對照量。與上述對於人類 MDM 細胞的結果相一致，兩種抗體皆經由 SYK 激酶在 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中引發 TREM2 傳訊增加。

【0308】 為了測試 TREM2 活化媒介之存活是否需要 SYK 激酶活性，將人類 iPSC-MG 與抗 TREM2 抗體 hPara.09.V2 hIgG1 N297G 在存在 250 nM 之 SYK 抑制劑 PRT-060318 (PRT318) 的情形下孵育 (圖 23D)。在存在 SYK 抑制劑之情形下，hPara.09.V2 hIgG1 N297G 不促進 iPSC-MG 存活，指示 TREM2 媒介之存活功能需要 SYK 活性。

【0309】 iPSC-MG 測定進一步用於確定抗 TREM2 抗體殖株的 $EC_{50}$。如圖 23E 所示，經測試之抗 TREM2 抗體在亞奈米莫耳範圍內促進 iPSC-MG 存活。

【0310】 此等資料進一步證實，抗體在巨噬細胞及小神經膠質細胞模型中透過 SYK 的磷酸化來有效地活化 TREM2 傳訊。

**3. 抗 TREM2 抗體及 TREM2 針對阿滋海默症的神經保護功能**

【0311】 先前的幾項研究指示，TREM2 活性調節 Aβ 小神經膠質細胞堆積成緻密斑塊，並且這可能在阿滋海默症 (AD) 中賦予重要的神經保護活性。(Ulrich 等人, *ACS Chem Neurosci* doi: 10.1021/acschemneuro.5b00313 (2016)；Yeh FL 等人, *Trends Mol Med* doi: 10.1016/j.molmed.2017.03.008 (2017)；Bohlen CJ 等人, *Ann Rev Genet* doi: 10.1146/annurev-genet-112618-043515 (2019)；Wang Y 等人, *J Exp Med* doi: 10.1084/jem.20151948 (2016)；Meilandt WJ 等人, *J Neurosci* doi: 10.1523/JNEUROSCI.1871-19.2019 (2020)。)

【0312】 圖 24A 單獨地及組合地 (合併的) 顯示經對照抗 gD 抗體或 hPara09.Q100P 治療的細胞的染色，此等細胞具有 Aβ (β)、澱粉樣斑塊 (X04) 及 IBA1 的標記物。將 Aβ 寡聚物添加到人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞培養物中 2 天，導致強勁的 Aβ 斑塊狀結構形成及 Aβ 聚集體的形成 (圖 24A 左側的 Aβ 屏)。澱粉樣蛋白特異性結合染料 Methoxy-X04 結合至在澱粉樣蛋白斑塊中發現的 Aβ 肽的特異性確認 (Klunk WE 等人, *Neutopathol Exp Neurol* doi: 10.1093/jnen/61.9.797 (2002))。使用 X04 染色來確認觀察到的聚集體為由小神經膠質細胞形成的澱粉樣蛋白斑。(圖 24A，中心的 X04 屏。) IBA1 標記物標記小神經膠質細胞。在圖 24A 中，右側的 IBA1 屏顯示在存在 hPara09.Q100P hIgG1 N279G 抗體之情形下強度更高的 IBA1 染色。

【0313】 Aβ 及 X04 染色強度的增加各自反映了澱粉樣斑塊的形成及壓密。相較於對照抗體，hPara09.Q100P hIgG1 N279G 增強在人類 iPSC 小神經膠質細胞中增強 Aβ 聚集體的形成 (圖 24A)。Aβ 聚集體在經對照抗體治療的細胞中更分散，而在存在抗 TREM2 hPara09.Q100P hIgG1 N279G 抗體之情形下形成的 Aβ 聚集體更亮且密實得多，並且是圓的 (圖 24A，Aβ 屏)。增加的 Aβ 染色指示，因應於抗 TREM2 hPara09.Q100P hIgG1 N279G 抗體，有更多的 Aβ 肽被壓密到 Aβ 聚集體的相同區域中。與 Aβ 染色相一致，在存在抗 TREM2 之情形下 Aβ 聚集體中亦存在強度更高的 X04 染色，指示更多的染料結合至特定的澱粉樣蛋白斑樣狀結構結合 (圖 24A，X04 屏)。相較於對照，在存在抗 TREM2 之情形下，在澱粉樣斑塊周圍檢測到更多的小神經膠質細胞 (圖 24A，合併的 (Merged) 屏)。

【0314】 除了測試 hPara09.Q100P hIgG1 N279G 之外，在該測定中亦測試了幾種人源化抗 TREM2 抗體。為了將總澱粉樣斑塊形成定量，測量總 X04 強度並將其標準化為無抗體對照。每個條件 N = 4 個孔。誤差條 +/- SEM。在存在抗 TREM2 抗體之情形下，澱粉樣蛋白斑樣狀結構增加至多 5 倍。(圖 24B)。為了測量澱粉樣蛋白斑塊壓密，測量了每個 Aβ 聚集體區域內的斑塊染料 X04 染色的平均強度。圖 24C 顯示在遞增抗體濃度下的平均 X04 iPSC-MG 斑塊強度。每種抗體的 $EC_{50}$ 值以 nM 計提供在曲線下方之表中。如圖 24C 所示，抗 TREM2 抗體將平均 X04 強度增加了至多 3 倍。

【0315】 因此，用本揭示之抗 TREM2 抗體治療表明磷酸化 SYK 比率增加了至多 10 倍，指示 TREM2 訊號活化，並導致在缺乏所需小神經膠質細胞生長因子 IL-34 及 CSF-1 之情形下小神經膠質細胞存活增加 5-8 倍。在存在模擬 AD 病理性腦環境的 Aβ 寡聚物之情形下，抗 TREM2 抗體亦使 Aβ 斑塊形成及壓密增加了 3-5 倍，如藉由總 Aβ 斑塊強度及平均 X04 斑塊強度的增加所測量

的。該增加的小神經膠質細胞存活可能允許更多的小神經膠質細胞作用於 Aβ 寡聚物並將它們堆積成澱粉樣蛋白斑塊。因此，此等抗體可以藉由在人類小神經膠質細胞中活化 TREM2 傳訊、功能性地增加小神經膠質細胞存活及促進 Aβ 壓實成澱粉樣蛋白斑塊來提供活體內神經保護。

**實例 18A：3.10C2 及 Para.09 的全身性投予在小鼠中降低活體內可溶性 TREM2 之量**

**A. 材料與方法**

【0316】 藉由腹膜內 (i.p.) 投予，在 PS2APP 小鼠 TREM2 敲除 (KO) 背景下用 3.10C2、Para.09 (大鼠 Para.09-LC 3.27H7) 或對照 gp120 IgG 抗體向表現人 TREM2 的基因轉殖小鼠給藥。每種抗體包含 mIgG2a LALAPG 主鏈。在第 0 天投予 20 mg/kg 及 80 mg/kg 的劑量，並且在第 3 天收集血漿及腦樣品。

【0317】 小鼠為 7 至 8 月齡。用阿佛丁麻醉小鼠並藉由心臟穿刺收集血液。將小鼠腦用冷磷酸鹽緩衝鹽水 (PBS) 灌注，取出並沿中線分開。將一個半球在 4% PFA 中滴注固定 48 小時，然後轉移到 PBS 中，然後轉移到 30% 蔗糖中進行冷凍保存。在滑動切片機上作成冠狀切片 (35 µm)。從另一半腦中分離出海馬體及皮質並迅速冷凍。將皮質組織在 10 體積的含有蛋白酶抑制劑混合液 (Roche 目錄號 4693159001) 及 PhosSTOP™ (Roche 目錄號 4906837001) 之 TBS (50 mm Tris pH 7.5，150 mm NaCl) 中均質化；每 100 mg 組織使用 1 ml 溶解緩衝液。隨後，將一個 3 mm 不銹鋼珠 (Qiagen) 添加到每個試管中，並使用 Qiagen TissueLyser™ II 在 30 Hz 將樣品均質化 3 分鐘。然後藉由在 4°C 以 20,000 x-g 離心 20 分鐘來澄清經均質化之樣品。將上清液轉移到新試管中並儲存在 -80°C。

【0318】 使用藉由 R&D Systems (目錄號 DY1828-05) 進行的人類 TREM2 ELISA 測定來測試血漿及腦溶胞產物中的 sTREM2。將測定套組中提

供的人類 sTREM2 捕獲抗體 (AF1828) 稀釋在 PBS 中並固定在 96 孔盤中。阻斷並洗滌盤後，添加經稀釋的樣品及標準品，並在室溫孵育 2 小時。洗滌後，將人類 sTREM2 檢測抗體稀釋並再孵育 2 小時。將盤再洗滌一次並與鏈黴抗生物素蛋白-HRP 孵育 20 分鐘，然後在室溫用受質溶液孵育 20 分鐘。停止反應後，使用兩個濾光片讀取盤，對於檢測，在 450 nm 讀取，且對於背景，在 570 nm 讀取。在藉由將光密度與濃度作圖獲得的標準曲線上確定濃度。

**B. 結果**

【0319】 相對於在投予對照抗體 (gp120) 後測量的可溶性 TREM2 之量，3.10C2.mIgG2a LALAPG 及 Para.09. mIgG2a LALAPG 抗體的投予在血漿 (圖 25A) 及腦均質物 (圖 25B) 樣品兩者中皆引起可溶性 TREM2 之量的劑量依賴性降低。sTREM2 的降低可能指示抗體阻斷了脫落，或者替代性地其等可能在活化後誘導受體的內化。sTREM2 的降低表明治療性抗體可以與*活體內*周邊及腦中的標靶接合。

**實例 18B：Para09 投予導致*活體內*血漿可溶性 TREM2 之量降低，與使用比較物抗 TREM2 抗體時所見的效應相反**

**A. 材料與方法**

【0320】 藉由 i.p. 投予，在 PS2APP 小鼠 TREM2 敲除 (KO) 背景下用 Para.09 (大鼠 Para.09-LC 3.27H7)、比較物抗體 AL2p58 或對照 gp120 IgG 抗體向表現人 TREM2 的基因轉殖小鼠 (5 至 6 月齡) 給藥。每種抗體包含 mIgG2a LALAPG 主鏈。所投予之劑量為：Para09 – 100 mg/kg、200 mg/kg；Al2p58 – 20 mg/kg、100 mg/kg、200 mg/kg；gp120 同型對照 – 200 mg/kg。在第 3 天或第 7 天收集終末血漿。

【0321】 如實例 18A 中所述，進行動物處置、組織收集及處理、以及藉由 R&D Systems 進行的人類 TREM2 ELISA 測定。用阿佛丁麻醉小鼠並藉由心

臟穿刺收集血液。使用藉由 R&D Systems (目錄號 DY1828-05) 進行的人類 TREM2 ELISA 測定來測試血漿溶胞產物中的 sTREM2。將測定套組中提供的人類 sTREM2 捕獲抗體稀釋在 PBS 中並固定在 96 孔盤中。阻斷並洗滌盤後，添加經稀釋的樣品及標準品，並在室溫孵育 2 小時。洗滌後，將人類 sTREM2 檢測抗體稀釋並再孵育 2 小時。將盤再洗滌一次並與鏈黴抗生物素蛋白-HRP 孵育 20 分鐘，然後在室溫用受質溶液孵育 20 分鐘。停止反應後，使用兩個濾光片讀取盤，對於檢測，在 450 nm 讀取，且對於背景，在 570 nm 讀取。在藉由將光密度與濃度作圖獲得的標準曲線上確定濃度。

**B. 結果**

【0322】 Para.09 mIgG2a LALAPG 抗體的投予在血漿樣品中引起可溶性 TREM2 之量實質性地且劑量依賴性地降低 70%-85% (圖 25C)。相比之下，相對於使用對照抗體時觀察到的 sTREM2 之量，比較物抗 TREM2 抗體 (其已被描述為結合至 TREM2 之莖區，AL2p58 (參見 WO2019028292)，並且在早前實例中顯示結合至 sTREM2) 顯示血漿 sTREM2 之量顯著增加超過 2 倍。如圖 25C 所示，在用 AL2p58 治療的動物中，血漿 sTREM2 之量的這種增加在治療後持續至少 7 天。因此，Para09 的投予降低了血漿中的 sTREM2 之量，而比較物抗體的投予具有相反的效果，亦即引起*活體內*血漿 sTREM2 之量的長期且顯著之增加，這可能是結合至 sTREM2 的非所欲之副作用。

**實驗 18C：h3.10C2.v1 及 hPara.09.v2 抗體的單劑量靜脈內注射在食蟹獼猴中降低*活體內*可溶性 TREM2 之量**

**A. 材料與方法**

【0323】 在第 1 天，用 50 或 200 mg/kg 的 h3.10C2.v1.huIgG1.N297G、hPara.09.v2.hIgG.N297G 或對照抗體 ( 抗 gD.hIgG1.N297G) 對大約 2 至 3 歲的本地雌性食蟹獼猴進行靜脈內給藥。藉由手術在食蟹獼猴腰椎中植入鞘內導管，

以進行 CSF 樣品收集。經由周邊靜脈從有意識的動物收集血液樣品。對動物實施安樂死並進行大體屍檢以收集腦樣品。從小腦、大腦皮質及海馬體收集 30 至 50 mg 的腦穿刺物。對於在給藥後持續時間為 2 天的組群，在第 -7 天、第 0 天、第 1 天及第 2 天收集 CSF 及血漿樣品，對於在給藥後持續時間為 28 天的組群，在第 -7 天、第 0 天、第 1 天、第 2 天、第 4 天、第 7 天、第 10 天、第 14 天、第 21 天及第 28 天收集樣品。將在第 -7 天及第 0 天在治療前收集的樣品進行平均以確定基線可溶性 TREM2 (sTREM2) 濃度。從在研究第 3 天及第 29 天實施安樂死的動物收集腦樣品。

【0324】 使用商用人類 TREM2 ELISA 套組 (Origene EA102484) 來確定食蟹獼猴 CSF、血漿及腦溶胞產物中的可溶性 TREM2 之量。96 孔盤預塗佈有抗 TREM2 捕獲抗體。向每個孔中添加 100 µL 標準品、對照或樣品，並在 37°C 孵育 90 分鐘。藉由抽吸去除孔中的內容物，並將 100 µL 的經稀釋之生物素化檢測抗體添加到每個孔中。在 37°C 孵育 1 小時後，用洗滌緩衝液將盤洗滌 3 次。向盤中添加 100 µL/孔的親和素-過氧化物酶二級檢測試劑，並將盤在 37°C 進一步孵育 30 分鐘。將盤洗滌 5 次後，添加 90 µL/孔的顯色試劑，並將盤培養 15 至 25 分鐘。添加 100 µL/孔的停止溶液以停止顯色。在 450 nm 與參考波長 650 nm 下測量吸光度。自標準曲線之 4 參數擬合外推樣本濃度。可報導的測定範圍為 0.0313 至 2.0 ng/mL，CSF 的下限定量為 156 pg/mL，血漿為 313 pg/mL，且腦溶胞產物為 94 pg/mL。

**B. 結果**

【0325】 相較於對照組，在 h3.10C2.v1.huIgG1.N297G 及 hPara.09.v2.hIgG.N297G 組中的大多數樣品中觀察到 sTREM2 降低的總體趨勢 (圖 26A-26C)。在血漿中觀察到最大幅度的降低 (治療組相對於對照組 >/=50%)，然後是 CSF，然後是腦。用 h3.10C2.v1.huIgG1.N297G 或

hPara.09.v2.hIgG.N297G 治療似乎在 CSF 及腦中顯示劑量依賴性反應。相較於 h3.10C2.v1.huIgG1.N297G，hPara.09.v2.hIgG.N297G 在腦及 CSF 中顯示最大幅度的 sTREM2 降低。對於運行 28 天的 50 mg/kg 組，在腦、CSF 及血漿中觀察到 sTREM2 的降低，尤其是在十天時 (圖 26D-26F)。

【0326】 sTREM2 的降低表明，治療性抗體可以與腦及 CSF 中的*活體內*完整 TREM2 標靶接合，並且亦在周邊中導致 sTREM2 的長期降低。

**實例 19：TREM2 活化抗體增加*活體內*細胞增殖**

**A. 材料與方法**

【0327】 將自由浮動冠狀切片 (35 μm，每隻動物兩個) 在 PBS 中洗滌兩次，每次 5 分鐘，然後用 PBS-Triton X100 (0.1%) 洗滌兩次，每次 10 分鐘。然後將切片在 Dako Target Retrieval Solution (Roche 目錄號 S236784-2) 中在 105C 孵育 10 分鐘，在 PBS 中洗滌，然後在 PBS 中的 5% 牛血清白蛋白 (BSA) 0.3% Triton X100 中在室溫阻斷 2 至 3 小時。將初級抗體 (小鼠單株 Ki67；BD Pharmigen 目錄號 556003) 按 1:100 稀釋並在 4°C 孵育隔夜，將驢抗小鼠 Alexa555 二級抗體在 RT 孵育 2 小時。將切片封固在 Superfrost™ plus (Fisherbrand) 載玻片上，並用 Prolong™ Gold plus DAPI 抗褪色封固介質覆蓋。使用 NanoZoomer® S60 或 XR (Hamamatsu Corp, San Jose, CA) 數位全玻片掃描儀以 200x 放大率進行免疫螢光玻片的影像獲取。每個通道的理想曝光係基於具有最亮強度的樣品所確定的，並設置為整組載玻片作為批次運行。

【0328】 對 3.10C2、Para09 或對照 gp120 IgG 抗體 (每種抗體包含 mIgG2a LALAPG 主鏈) 治療的小鼠的腦切片進行對增殖標記物 Ki67 的染色，併計算 Ki67+/DAPI+ 細胞數。將對於 Ki67 及 DAPI 為陽性的細胞計數，並從每隻動物的兩個切片取平均值。

**B. 結果**

【0329】 如圖 27 所示，相較於經同型對照治療的小鼠，Para.09 (以 80mg/kg) 在單次注射後三天時顯著增加 Ki67+ 細胞數。Ki67+ 細胞的單因子變異數分析發現顯著的治療效應 (F (4, 15) = 3.477 P=0.0336)，藉由 Tukey 事後多重比較，Para.09 (80 mg/kg) 與對照同型 (gp120，80 mg/kg) 之間存在顯著差異 (p<0.05)。該資料證實 Para.09 誘導 TREM2 途徑活化並增加*活體內*細胞增殖。

**實例 20：抗 TREM2 抗體對於人類阿滋海默症鼠模型中澱粉樣蛋白及 Tau 病理學的效應**

【0330】 阿滋海默症 (AD) 的病理特點包括形成澱粉樣蛋白斑塊的 β-澱粉樣肽之細胞外沉積物以及被稱為神經原纖維纏結的聚集之過度磷酸化 tau 的細胞內沉積物。此等病理之後為大腦發炎增加，包括經活化之星形膠質細胞及小神經膠質細胞，及神經退化。在早老素 2 及澱粉樣前體蛋白中表現人類突變 (該等突變引起家族形式的 AD) 的基因轉殖小鼠 (PS2APP 小鼠) 顯示與 AD 患者類似的 Aβ 病理學的年齡依賴性增加。與 Tau 突變 P301L 小鼠 (TauPS2APP 小鼠) 雜交的 PS2APP 小鼠顯示 AD 病理學的額外特點，包括過度磷酸化的 Tau 及神經退化。在小鼠 Trem2 敲除背景下，使表現人類 TREM2 (hTREM2 BAC) 的小鼠與 TauPS2APP 小鼠交配，以便測試使用抗 TREM2 抗體活化人類 Trem2 是否藉由吞噬或壓密成毒性較小的澱粉樣蛋白斑塊來增強小神經膠質細胞活性並促進有毒澱粉樣蛋白-β 肽的去除。在這項研究中，每組 14 至 16 隻 TauPS2APP-hTrem2 小鼠從 34 週齡開始每週或每個月 (每 4 週) 接受低劑量或高劑量之抗 TREM2 抗體或對照 IgG 抗體的全身性注射，持續 16 週。藉由在治療開始及結束時對小鼠成像，藉由體積 MRI 監測腦萎縮的變化。

【0331】 在給藥完成時，收集血漿及腦樣品以藉由 ELISA 測量抗體暴露量，將一個半腦固定在多聚甲醛中進行免疫組織化學染色，並收集皮質及海馬組織進行生化分析。使用澱粉樣蛋白染色劑 (諸如甲氧基-X04) 對斑塊形成進行

組織學染色。藉由用小神經膠質細胞標記物 (諸如 Iba1 及甲氧基-X04) 染色來評估斑塊周圍的小神經膠質細胞聚集及形態變化。為了確定治療是否改變斑塊相關神經退化症 (神經炎性失氧症) 的發展，用甲氧基-X04 及溶酶體蛋白標記物 (例如 LAMP1) 對切片進行對斑塊的共同染色，該標記物在神經炎性失氧症中在斑塊周圍蓄積。

【0332】 抗 TREM2 抗體治療對於海馬體中 pTau 及神經退化的組織學測量的效應係藉由進行對各種形式之磷酸化及聚集之 tau 的染色 (例如，用 AT8、PHF1、MC1 及 p212/214 抗體) 來測量。神經退化係藉由用胺基銅銀染料對切片染色來評估，該染料檢測正在退化之軸突及過程。神經絲輕鏈 (NfL) 為正在退化之軸突的可溶性標記物，其亦可藉由 ELISA 從血漿及 CSF 測量。

**實例 21：抗 TREM2 抗體在多發性硬化症模型中的效應**

【0333】 多發性硬化症 (MS) 為一種以 CNS 中自體免疫相關脫髓鞘為特徵的疾病。在患者中，該疾病呈現為症狀，諸如共濟失調、肢體無力及視神經炎及其他神經系統效應的發作。在銅立榮 (cuprizone) 誘導的 MS 脫髓鞘模型中測試抗 TREM2 抗體對 TREM2 途徑的活化是否加速髓鞘再生。銅立榮為一種有毒的銅螯合劑，當將其引入嚙齒動物食物 (.2 至 .25%) 中時，其可靠地靶向寡樹突細胞，從而在腦內引起沿著白質束的脫髓鞘病變，這類似於在人類 MS 患者中觀察到的脫髓鞘。通常對小鼠治療 4 週，此時胼胝體的病變可藉由 MRI 檢測到。從銅立榮食物中脫除後，進行銅立榮後治療 3 天，正常的野生型小鼠顯示降解之髓磷脂的蓄積 (藉由進行對 dMBP 的染色來測量)、完整髓磷脂的減少 (藉由 Solochrome 花青染色測量) 以及星形膠質細胞 (GFAP) 及小神經膠質細胞 (Iba1 ) 浸潤到病變位點。野生型小鼠中增加的前驅及成熟寡樹突細胞 (Olig2) 通常在第 3 天升高，從而支持髓鞘再生，這通常在進行銅立榮後治療 14 天時完成。電子顯微鏡亦可用於量化白質束中的髓鞘再生之量。

【0334】使用 hTREM2-BAC 基因轉殖小鼠測試抗 TREM2 抗體治療對於髓鞘再生事件的影響：將小鼠暴露於銅立榮食物四週以誘導病變，然後用抗 TREM2 抗體或同型對照抗體諸如 gp120 治療對，同時去除銅立榮食物。通常，每組包括 5 至 10 隻小鼠。組包括食用對照食物或銅立榮食物持續 4 週的小鼠，然後將食用銅立榮食物持續 4 週的小鼠組放置為食用對照食物 3、7 或 14 天。在食用 4 週的銅立榮食物後，小鼠接受單次高劑量的抗 TREM2 或對照抗體，並且在抗體注射後 3、7 或 14 天收集腦及血漿樣品。使用高解析度成像及自動分析軟體 (MATLAB) 對胼胝體病變的染色切片 (例如，每個個體 6 至 18 個切片) 進行量化。藉由電子顯微鏡測量來自抗體注射後 14 天的樣品的髓鞘再生。

【0335】儘管為了清楚理解起見，藉由圖示及實例的方式對上述發明進行了詳細描述，但是此等描述及實例不應被解釋是限製本發明之範圍。本文引用的所有專利及科學文獻的揭露內容皆以引用的方式明確納入其所有內容。

**序列表**

【0336】下表提供本文之文本及圖式中描述或引用的某些序列。在 SEQ ID No: 90、92 至 93 及 95 至 101 中，TREM2 殘基 H157 及 S158，亦即蛋白質中切割位點的位置，加底線。

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 1 | 3.10C2.v1 重鏈 CDR1 | NVWMH |
| 2 | 3.10C2.v1 重鏈 CDR2 | HIKAKSDNYATYYAESVKG |
| 3 | 3.10C2.v1 重鏈 CDR3 | LDY |
| 4 | 3.10C2.v1 輕鏈 CDR1 | RSSRSLLTSKGITSLY |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 5 | 3.10C2.v1 輕鏈 CDR2 | RMSNLAS |
| 6 | 3.10C2.v1 輕鏈 CDR3 | AQFLVYPYT |
| 7 | h3.10C2.V1 重鏈可變區 | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFPFSNVWMHWVRQASG KGLEWIAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKTTIYLQMN SLKTEDTAVYYCTGLDYW GQGTTVTVSS |
| 8 | h3.10C2.V1 輕鏈可變區 | DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSRSLLTSKGITSLYWYLQKP GQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCAQFLVYPYTFGQGTKVEIK |
| 9 | 3.10C2.v1 重鏈 CDR1 (Chothia) | GFPFSNV |
| 10 | 3.10C2.v1 重鏈 CDR2 (Chothia) | KAKSDNYA |
| 11 | PARA.09.v2 重鏈 CDR1 | NVWLH |
| 12 | PARA.09 及 PARA.09.v2 重鏈 CDR2 | HIKAKSDNYATYYAESVKG |
| 13 | PARA.09 及 PARA.09.v2 重鏈 CDR3 | ILEY |
| 14 | PARA.09 及 PARA.09.v2 輕鏈 CDR1 | RSSRSLLTSKGITSLY |
| 15 | PARA.09 及 PARA.09.v2 輕鏈 CDR2 | RMSNLAS |
| 16 | PARA.09 及 PARA.09.v2 輕鏈 CDR3 | AQFLVYPYT |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 17 | hPARA.09.V2 重鏈可變區 | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFPFSNVWLHWVRQASGK GPEWVAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTVYLQMN SLKTEDTAVYYCTDILEYWGQGTLVTVSS |
| 18 | hPARA.09.V2 輕鏈可變區 | DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSRSLLTSKGITSLYWYLQKP GQSPQLLIYRMSNLASGIPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCAQFLVYPYTFGQGTKVEIK |
| 19 | PARA.09 及 PARA.09v2 重鏈 CDR1 (Chothia) | GFPFSNV |
| 20 | PARA.09 及 PARA.09.v2 重鏈 CDR2 (Chothia) | KAKSDNYA |
| 21 | 人類 TREM2 NP_061838.1 (包括訊號序列) | MEPLRLLILL FVTELSGAHN TTVFQGVAGQ SLQVSCPYDS MKHWGRRKAW CRQLGEKGPC QRVVSTHNLW LLSFLRRWNG STAITDDTLG GTLTITLRNL QPHDAGLYQC QSLHGSEADT LRKVLVEVLA DPLDHRDAGD LWFPGESESF EDAHVEHSIS RSLLEGEIPF PPTSILLLLA CIFLIKILAA SALWAAAWHG QKPGTHPPSE LDCGHDPGYQ LQTLPGLRDT |
| 22 | 人類 TREM2 (無訊號序列) | HN TTVFQGVAGQ SLQVSCPYDS MKHWGRRKAW CRQLGEKGPC QRVVSTHNLW LLSFLRRWNG STAITDDTLG GTLTITLRNL QPHDAGLYQC QSLHGSEADT LRKVLVEVLA DPLDHRDAGD LWFPGESESF EDAHVEHSIS RSLLEGEIPF PPTSILLLLA CIFLIKILAA SALWAAAWHG QKPGTHPPSE LDCGHDPGYQ LQTLPGLRDT |
| 23 | 可溶性人類 TREM2 (TREM2 胞外域) | HN TTVFQGVAGQ SLQVSCPYDS MKHWGRRKAW CRQLGEKGPC QRVVSTHNLW LLSFLRRWNG STAITDDTLG GTLTITLRNL QPHDAGLYQC QSLHGSEADT LRKVLVEVLA DPLDHRDAGD LWFPGESESF EDAHVEH |
| 24 | 3.10C2 重鏈 CDR1 | NVWMH |
| 25 | 3.10C2 重鏈 CDR2 | HIKAKSDNYATYYAESVKG |
| 26 | 3.10C2 重鏈 CDR3 | LDY |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 27 | 3.10C2 輕鏈 CDR1 | RSSKSLLGVRDITSLY |
| 28 | 3.10C2 輕鏈 CDR2 | RMSNLAS |
| 29 | 3.10C2 輕鏈 CDR3 | AQFLRYPYT |
| 30 | 3.10C2 重鏈可變區 | EVQLVETGGSLVQPGKSLKLTCATSGFPFSNVWMHWVRQSPEKQLEWIAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKTSIYLQMNSLKEDDTAIYYCTGLDYWGQGVMVTVSS |
| 31 | 3.10C2 輕鏈可變區 | DTVLTQAPLSLSVTPGESASISCRSSKSLLGVRDITSLYWYLQKPGKSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSETDFTLKISEVETEDVGVYYCAQFLRYPYTFGPGTKLELK |
| 32 | 3.10C2 重鏈 CDR1 (Chothia) | GFPFSNV |
| 33 | 3.10C2 重鏈 CDR2 (Chothia) | KAKSDNYA |
| 34 | 3.50G1 重鏈 CDR1 | NVWMH |
| 35 | 3.50G1 重鏈 CDR2 | HIKAKSDNYATYYAESVKG |
| 36 | 3.50G1 重鏈 CDR3 | LDY |
| 37 | 3.50G1 輕鏈 CDR1 | RSNKSLLGIRDITSLY |
| 38 | 3.50G1 輕鏈 CDR2 | RMSNLAS |
| 39 | 3.50G1 輕鏈 CDR3 | AQFLRYPYT |
| 40 | 3.50G1 重鏈可變區 | EVQLVETGGSLVQPGKSLKLTCATSGFPFSNVWMHWVRQSPEKQLEWIAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKTSIYLQMNSLKDDDTAIYYCTGLDYWGQGVMVTVSS |
| 41 | 3.50G1 輕鏈可變區 | DTVLTQAPLSVSVTPGESASISCRSNKSLLGIRDITSLYWFLQKPGKSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSETDFTLKISEVETEDVGVYYCAQFLRYPYTFGPGTKLELQ |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 42 | 3.50G1 重鏈 CDR1 (Chothia) | GFPFSNV |
| 43 | 3.50G1 重鏈 CDR2 (Chothia) | KAKSDNYA |
| 44 | 3.18E5 重鏈 CDR1 | NVWMH |
| 45 | 3.18E5 重鏈 CDR2 | HIKAKSDNYATYYAESVKG |
| 46 | 3.18E5 重鏈 CDR3 | LDY |
| 47 | 3.18E5 輕鏈 CDR1 | RSNKSLLGIRDITSLY |
| 48 | 3.18E5 輕鏈 CDR2 | RMSNLAS |
| 49 | 3.18E5 輕鏈 CDR3 | AQFLRYPYT |
| 50 | 3.18E5 重鏈可變區 | EVQLVETGGSLVQPGKSLKLTCATSGFPFSNVWMHWVRQSPEKQLEWIAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKTTIYLQMNSLKEADTAIYYCTGLDYWGQGVMVTVSS |
| 51 | 3.18E5 輕鏈可變區 | DTVLTQAPLSVSVTPGESASISCRSNKSLLGIRDITSLYWYLQKPGKSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSETDFTLKISEVETEDVGVYYCAQFLRYPYTFGPGTKLELK |
| 52 | 3.18E5 重鏈 CDR1 (Chothia) | GFPFSNV |
| 53 | 3.18E5 重鏈 CDR2 (Chothia) | KAKSDNYA |
| 54 | 3.36F5 重鏈 CDR1 | NVWMH |
| 55 | 3.36F5 重鏈 CDR2 | QIKGKSDNYATYYAESLQG |
| 56 | 3.36F5 重鏈 CDR3 | LDY |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 57 | 3.36F5 輕鏈 CDR1 | RSNKSLLSSKGITSLY |
| 58 | 3.36F5 輕鏈 CDR2 | RMSNLAS |
| 59 | 3.36F5 輕鏈 CDR3 | AQFLQYPYT |
| 60 | 3.36F5 重鏈可變區 | [圖 3B 中提供之序列] |
| 61 | 3.36F5 輕鏈可變區 | [圖 3A 中提供之序列] |
| 62 | 3.36F5 重鏈 CDR1 (Chothia) | GFTFTNV |
| 63 | 3.36F5 重鏈 CDR2 (Chothia) | KGKSDNYA |
| 64 | 3.27H7 重鏈 CDR1 | NVWLH |
| 65 | 3.27H7 重鏈 CDR2 | QIKARSDNYATYYAESVKG |
| 66 | 3.27H7 重鏈 CDR3 | LDY |
| 67 | 3.27H7 輕鏈 CDR1 | RSSRSLLTSKGITSLY |
| 68 | 3.27H7 輕鏈 CDR2 | RMSNLAS |
| 69 | 3.27H7 輕鏈 CDR3 | AQFLVYPYT |
| 70 | 3.27H7 重鏈可變區 | EVQLVETGGSLVQPGGSLKLTCATSGFPFSNVWLHWIRRSPEKQ LEWVAQIKARSDNYATYYAESVKGRFIVSRDDSKTTIYLQMNN LKEEDTAIYYCTGLDYWGQGVMVTVSS |
| 71 | 3.27H7 輕鏈可變區 | DVVLTQAPLSVSVTPGESASISCRSSRSLLTSKGITSLYWYLQKP GMSPHLLIYRMSNLASGIPDRFSGSGSETDFTLKISEVEPEDVGV YYCAQFLVYPYTFGAGTKLELK |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 72 | 3.27H7 重鏈 CDR1 (Chothia) | GFPFSNV |
| 73 | 3.27H7 重鏈 CDR2 (Chothia) | KARSDNYA |
| 74 | IGHV3-73*01 種系重鏈 | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSGSAMHWVRQASGK GLEWVGRIRSKANSYATAYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMN SLKTEDTAVYYCTRMDVWGQGTTVTVSS |
| 75 | IGKV2-28*01 種系輕鏈 | DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKP GQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQALQTPYTFGQGTKLEIK |
| 76 | 3.10C2-H1 重鏈可變區 | EVQLVETGGSLVQPGKSLKLTCATSGFPFSNVWMHWVRQSPEK QLEWIAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKTSIYLQMNS LKEDDTAIYYCTGLDYWGQGVMVTVSS |
| 77 | 3.10C2-H3 重鏈可變區 | EVQLVETGGSLVQPGKSLKLTCATSGFPFSNVWMHWVRQSPEK QLEWIAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKTSIYLQMNS LKEDDTAIYYCTGLDYWGQGVMVTVSS |
| 78 | 3.10C2-H5 重鏈可變區 | EVQLVETGGSLVQPGKSLKLTCATSGFPFSNVWMHWVRQSPEK QLEWIAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKTSIYLQMNS LKEDDTAIYYCTGLDYWGQGVMVTVSS |
| 79 | 3.10C2-L1 輕鏈可變區 | DTVLTQAPLSLSVTPGESASISCRSSKSLLGVRDITSLYWYLQKP GKSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSETDFTLKISEVETEDVGV YYCAQFLRYPYTFGPGTKLELK |
| 80 | 3.10C2-L5 輕鏈可變區 | DTVLTQAPLSLSVTPGESASISCRSSKSLLGVRDITSLYWYLQKP GKSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSETDFTLKISEVETEDVGV YYCAQFLRYPYTFGPGTKLELK |
| 81 | Para.09-H1 重鏈可變區 | EVQLVETGGSLVQPGKSLRLTCATSGFPFSNVWLHWVRQSPEK HPEWVAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKSSVFLQMN SLKEEDTAIYYCTDILEYWGQGTLVTVSS |
| 82 | Para.09-H5 重鏈可變區 | EVQLVETGGSLVQPGKSLRLTCATSGFPFSNVWLHWVRQSPEK HPEWVAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKSSVFLQMN SLKEEDTAIYYCTDILEYWGQGTLVTVSS |
| 83 | Para.09-H7 重鏈可變區 | EVQLVETGGSLVQPGKSLRLTCATSGFPFSNVWLHWVRQSPEK HPEWVAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKSSVFLQMN SLKEEDTAIYYCTDILEYWGQGTLVTVSS |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 84 | 3.27H7-L1 輕鏈可變區 | DVVLTQAPLSVSVTPGESASISCRSSRSLLTSKGITSLYWYLQKP GMSPHLLIYRMSNLASGIPDRFSGSGSETDFTLKISEVEPEDVGV YYCAQFLVYPYTFGAGTKLELK |
| 85 | 3.27H7-L6 輕鏈可變區 | DVVLTQAPLSVSVTPGESASISCRSSRSLLTSKGITSLYWYLQKP GMSPHLLIYRMSNLASGIPDRFSGSGSETDFTLKISEVEPEDVGV YYCAQFLVYPYTFGAGTKLELK |
| 86 | 人類 IgG1 Fc 區 | EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK |
| 87 | 人類 IgG1 N297G Fc 區 | EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY**G**STYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK |
| 88 | 鼠 IgG2 Fc 區 | AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPAS STKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMI SLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDY NSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPK GSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTN NGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCS VVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK |
| 89 | 鼠 IgG2 LALAPG Fc 區 | AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPAS STKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLM ISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDY NSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPK GSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTN NGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCS VVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK |
| 90 | hTREM2 莖 129-174 | LADPLDHRDAGDLWFPGESESFEDAHVE**HS**ISRSLLEGEIPFPPTS |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 91 | hTREM2 莖 129-148 | LADPLDHRDAGDLWFPGESE |
| 92 | hTREM2 莖 139-158 | GDLWFPGESESFEDAHVE**HS** |
| 93 | hTREM2 莖 149-168 | SFEDAHVE**HS**ISRSLLEGEI |
| 94 | hTREM2 莖 159-175 | ISRSLLEGEIPFPPTSI |
| 95 | hTREM2 莖 146-169 | ESESFEDAHVE**HS**ISRSLLEGEIP |
| 96 | hTREM2 莖 146-161 | ESESFEDAHVE**HS**ISR |
| 97 | hTREM2 莖 151-165 | EDAHVE**HS**ISRSLLE |
| 98 | hTREM2 莖 155-169 | VE**HS**ISRSLLEGEIP |
| 99 | hTREM2 莖 152-161 | DAHVE**HS**ISR |
| 100 | hTREM2 莖 154-164 | HVE**HS**ISRSLL |
| 101 | hTREM2 莖 151-161 | EDAHVE**HS**ISR |
| 102 | 3.10C2 HC CDR3 (IMGT) | TGLDY |
| 103 | Para.01 HC CDR3 (IMGT) | ILAYS |
| 104 | Para.02 HC CDR3 (IMGT) | TLGAY |
| 105 | Para.03 HC CDR3 (IMGT) | TPGVY |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 106 | Para.04 HC CDR3 (IMGT) | TRFDY |
| 107 | Para.05 HC CDR3 (IMGT) | REGFDY |
| 108 | Para.06 HC CDR3 (IMGT) | RGRLVD |
| 109 | Para.07 HC CDR3 (IMGT) | RNYFDY |
| 110 | Para.08 HC CDR3 (IMGT) | RSGPSY |
| 111 | Para.09 HC CDR3 (IMGT) | TDILEY |
| 112 | Para.10 HC CDR3 (IMGT) | TGLGDY |
| 113 | Para.11 HC CDR3 (IMGT) | TPAFDY |
| 114 | Para.12 HC CDR3 (IMGT) | TRLGDY |
| 115 | Para.13 HC CDR3 (IMGT) | TRQLGG |
| 116 | Para.14 HC CDR3 (IMGT) | TSGSLY |
| 117 | Para.15 HC CDR3 (IMGT) | TSPPDY |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 118 | Para.16 HC CDR3 (IMGT) | LPKGFAY |
| 119 | Para.17 HC CDR3 (IMGT) | PRDLGDY |
| 120 | Para.18 HC CDR3 (IMGT) | SLFFNYH |
| 121 | Para.19 HC CDR3 (IMGT) | SPRGFAY |
| 122 | Para.20 HC CDR3 (IMGT) | STAPFAY |
| 123 | Para.21 HC CDR3 (IMGT) | TFNNFDS |
| 124 | Para.22 HC CDR3 (IMGT) | TGSYFDY |
| 125 | Para.23 HC CDR3 (IMGT) | TLFFNYH |
| 126 | Para.24 HC CDR3 (IMGT) | TLGGYNY |
| 127 | Para.25 HC CDR3 (IMGT) | TPGNFNY |
| 128 | Para.26 HC CDR3 (IMGT) | TSGGFDY |
| 129 | Para.27 HC CDR3 (IMGT) | TSGYFDY |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 130 | Para.28 HC CDR3 (IMGT) | TVTLGAY |
| 131 | Para.29 HC CDR3 (IMGT) | TYRGFDF |
| 132 | hPara.09.v2 Q100P 輕鏈可變區 | DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSRSLLTSKGITSLYWYLQKP GQSPQLLIYRMSNLASGIPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCAQFLVYPYTFGPGTKVEIK |
| 133 | hPara.09.v2-Q100P 重鏈可變區 | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFPFSNVWLHWVRQASGK GPEWVAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTVYLQMN SLKTEDTAVYYCTDILEYWGQGTLVTVSS |
| 134 | hPara.09.v2 I58V/Q100P 輕鏈可變區 | DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSRSLLTSKGITSLYWYLQKP GQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCAQFLVYPYTFGPGTKVEIK |
| 135 | hPara.09.v2 I58V/Q100P 重鏈可變區 | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFPFSNVWLHWVRQASGK GPEWVAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTVYLQMN SLKTEDTAVYYCTDILEYWGQGTLVTVSS |
| 136 | hPara.09.v2 Q100P/V104L 輕鏈可變區 | DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSRSLLTSKGITSLYWYLQKP GQSPQLLIYRMSNLASGIPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCAQFLVYPYTFGPGTKLEIK |
| 137 | hPara.09.v2 Q100P/V104L 重鏈可變區 | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFPFSNVWLHWVRQASGK GPEWVAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTVYLQMN SLKTEDTAVYYCTDILEYWGQGTLVTVSS |
| 138 | hPara.09.H5-3.10C2.L10 輕鏈可變區 | DTVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLGVRDITSLYWYLQKP GQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCAQFLRYPYTFGPGTKVEIK |
| 139 | hPara.09.H5-3.10C2.L10 重鏈可變區 | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFPFSNVWLHWVRQASGK GPEWVAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTVYLQMN SLKTEDTAVYYCTDILEYWGQGTLVTVSS |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 140 | Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA 1 | TTGTAGATTCCGCAGCGTAA |
| 141 | Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA 2 | AATGGTGAGAGTGCCACCCA |
| 142 | Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA 3 | TACCAGTGCCAGAGCCTCCA |
| 143 | H3.10C2.H1.hIgG1.N297G | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFPFSNVWMHWVRQASGKGLEWIAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKTTIYLQMNSLKTEDTAVYYCTGLDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 144 | hPara.09.H5.hIgG1.N297G (亦稱為 hPara.09.v2.hIgG1.N297G) | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFPFSNVWLHWVRQASGKGPEWVAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNSLKTEDTAVYYCTDILEYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 145 | h3.10C2.v1 Q100P 輕鏈可變區 | DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSRSLLTSKGITSLYWYLQKPGQSPQLLIYRMSNLASGIPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQFLVYPYTFGPGTKVEIK |
| 146 | h3.10C2.v1-Q100P 重鏈可變區 | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFPFSNVWMHWVRQASGKGLEWIAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKTTIYLQMNSLKTEDTAVYYCTGLDYWGQGTTVTVSS |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 147 | h3.10C2.v1 I58V/Q100P 輕鏈可變區 | DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSRSLLTSKGITSLYWYLQKP GQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCAQFLVYPYTFGPGTKVEIK |
| 148 | h3.10C2.v1 I58V/Q100P 重鏈可變區 | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFPFSNVWMHWVRQASG KGLEWIAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKTTIYLQMN SLKTEDTAVYYCTGLDYWGQGTTVTVSS |
| 149 | h3.10C2.v1 Q100P/V104L 輕鏈可變區 | DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSRSLLTSKGITSLYWYLQKP GQSPQLLIYRMSNLASGIPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCAQFLVYPYTFGPGTKLEIK |
| 150 | h3.10C2.v1 Q100P/V104L 重鏈可變區 | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFPFSNVWMHWVRQASG KGLEWIAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKTTIYLQMN SLKTEDTAVYYCTGLDYWGQGTTVTVSS |
| 151 | h3.10C2.H1-3.10C2.L10 輕鏈可變區 | DTVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLGVRDITSLYWYLQKP GQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCAQFLRYPYTFGPGTKVEIK |
| 152 | h3.10C2.H1-3.10C2.L10 重鏈可變區 | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFPFSNVWMHWVRQASG KGLEWIAHIKAKSDNYATYYAESVKGRFTISRDDSKTTIYLQMN SLKTEDTAVYYCTGLDYWGQGTTVTVSS |
| 153 | hPara.09.H5-3.10C2.L10 CDR L1 | RSSKSLLGVRDITSLY |
| 154 | hPara.09 中所示。H5-3.10C2.L10 CDR L2 | RMSNLAS |
| 155 | hPara.09 中所示。H5-3.10C2.L10 CDR L3 | AQFLRYPYT |
| 156 | hPara.09 中所示。H5-3.10C2.L10 CDR H1 | NVWLH |
| 157 | hPara.09 中所示。H5- | HIKAKSDNYATYYAESVKG |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| | 3.10C2.L10 CDR H2 | |
| 158 | hPara.09 中所示。H5-3.10C2.L10 CDR H3 | ILEY |
| 159 | h3.10C2.H1-3.10C2.L10 輕鏈 CDR1 | RSSKSLLGVRDITSLY |
| 160 | h3.10C2.H1-3.10C2.L10 輕鏈 CDR2 | RMSNLAS |
| 161 | h3.10C2.H1-3.10C2.L10 輕鏈 CDR3 | AQFLRYPYT |
| 162 | h3.10C2.H1-3.10C2.L10 重鏈 CDR1 | NVWMH |
| 163 | h3.10C2.H1-3.10C2.L10 重鏈 CDR2 | HIKAKSDNYATYYAESVKG |
| 164 | h3.10C2.H1-3.10C2.L10 重鏈 CDR3 | LDY |
| 165 | 人類 IgG1 Fc LALAPG | EPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL**G**APIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK |
| 166 | 人類 IgG4 Fc | ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLGK |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| 167 | 人類 IgG4 Fc S228P | ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLGK |
| 168 | 3.17A9 輕鏈 | DIQMTQSPSFLSASVGDRVTINCKVSQNVDRNLNWYQQNLGEP PKPLINFANSLQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYFCL QHNSWPLTFGSGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVC FLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSS TLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC |
| 169 | 3.17A9 重鏈 | EVQLQQSGAELGKPGTSIKLSCKVSGFNIRSTFMHWVNQRPGKG LEWIGRIDPANGNTVYGEKFKNKATLTADTSSNTAYMQLSQLK SDDTAIYFCALEFGVSWFEYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAP VCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVL QSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGP TIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPP EEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPV LDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTK SFSRTPGK |
| 170 | 1.16B8 輕鏈 | DIQMTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISNYLNWYQQKPDGTI KPLIYYTSNLQSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISSLEPEDFAMYYCQ QYDSSPWTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVC FLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSS TLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC |
| 171 | 1.16B8 重鏈 | EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFTFSDSAMAWVRQAPKK GLEWVATIIYDTSSTYYRDSVKGRFTISRDNAKSTLYLQMDSLR SEDTATYYCALFGVDVMDAWGQGASVTVSSAKTTAPSVYPLAP VCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVL QSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGP TIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVD VSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQ HQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP PPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTE |

| Seq Id. 編號 | 說明 | 序列 |
|---|---|---|
| | | PVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT TKSFSRTPGK |
| 172 | 鼠 κ (輕鏈) 恆定區 | RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDG SERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCE ATHKTSTSPIVKSFNRNEC |
| 173 | Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA 之序列 | TTGTAGATTCCGCAGCGTAA |
| 174 | Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA 之序列 | AATGGTGAGAGTGCCACCCA |
| 175 | Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA 之序列 | TACCAGTGCCAGAGCCTCCA |
| 176 | hPara.09v2 輕鏈 | DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSRSLLTSKGITSLYWYLQKP GQSPQLLIYRMSNLASGIPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCAQFLVYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| 177 | 包含肽殘基 129-175 的 hTREM2 莖域 (圖 2A) | LADPLDHRDAGDLWFPGESESFEDAHVE**HS**ISRSLLEGEIPFPPTS |

【序列表】

<110> 美商建南德克公司(GENENTECH, INC.)

<120> TREM2 之促效劑

<130> 01164-0014-00PCT

<150> US 63/188,800
<151> 2021-05-14

<160> 177

<170> PatentIn 第 3.5 版

<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2.v1 重鏈 CDR1

<400> 1

Asn Val Trp Met His
1 5

<210> 2
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2.v1 重鏈 CDR2

<400> 2

His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 3
<211> 3

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2.v1 重鏈 CDR3

<400> 3

Leu Asp Tyr
1

<210> 4
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2.v1 輕鏈 CDR1

<400> 4

Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser Lys Gly Ile Thr Ser Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2.v1 輕鏈 CDR2

<400> 5

Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2.v1 輕鏈 CDR3

<400> 6

Ala Gln Phe Leu Val Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 7
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.V1 重鏈可變區

<400> 7

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Thr Thr
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 8
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.V1 輕鏈可變區

<400> 8

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser
20 25 30

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

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

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

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

Leu Val Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 9
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2.v1 重鏈 CDR1 (Chothia)

<400> 9

Gly Phe Pro Phe Ser Asn Val
1 5

<210> 10
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2.v1 重鏈 CDR2 (Chothia)

<400> 10

Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala
1 5

<210> 11
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：PARA.09 重鏈 CDR1

<400> 11

Asn Val Trp Leu His
1 5

<210> 12
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：PARA.09 重鏈 CDR2

<400> 12

His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 13
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成：PARA.09 重鏈 CDR1

<400> 13

Ile Leu Glu Tyr
1

<210> 14
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：PARA.09 輕鏈 CDR1

<400> 14

Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser Lys Gly Ile Thr Ser Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：PARA.09 輕鏈 CDR1

<400> 15

Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：PARA.09 輕鏈 CDR1

<400> 16

Ala Gln Phe Leu Val Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 17
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPARA.09.V2 重鏈可變區

<400> 17

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Asp Ile Leu Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 18
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPARA.09.V2 輕鏈可變區

<400> 18

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser
20 25 30

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

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

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

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

Leu Val Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：PARA.09 重鏈 CDR1 (Chothia)

<400> 19

Gly Phe Pro Phe Ser Asn Val
1 5

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成：PARA.09 重鏈 CDR2 (Chothia)

<400> 20

Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala
1 5

<210> 21
<211> 230
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 位點
<222> (1)..(230)
<223> 人類 TREM2 NP_061838.1(包括訊號序列)

<400> 21

Met Glu Pro Leu Arg Leu Leu Ile Leu Leu Phe Val Thr Glu Leu Ser
1 5 10 15

Gly Ala His Asn Thr Thr Val Phe Gln Gly Val Ala Gly Gln Ser Leu
20 25 30

Gln Val Ser Cys Pro Tyr Asp Ser Met Lys His Trp Gly Arg Arg Lys
35 40 45

Ala Trp Cys Arg Gln Leu Gly Glu Lys Gly Pro Cys Gln Arg Val Val
50 55 60

Ser Thr His Asn Leu Trp Leu Leu Ser Phe Leu Arg Arg Trp Asn Gly
65 70 75 80

Ser Thr Ala Ile Thr Asp Asp Thr Leu Gly Gly Thr Leu Thr Ile Thr
85 90 95

Leu Arg Asn Leu Gln Pro His Asp Ala Gly Leu Tyr Gln Cys Gln Ser
100 105 110

Leu His Gly Ser Glu Ala Asp Thr Leu Arg Lys Val Leu Val Glu Val

115 120 125

Leu Ala Asp Pro Leu Asp His Arg Asp Ala Gly Asp Leu Trp Phe Pro
130 135 140

Gly Glu Ser Glu Ser Phe Glu Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser
145 150 155 160

Arg Ser Leu Leu Glu Gly Glu Ile Pro Phe Pro Pro Thr Ser Ile Leu
165 170 175

Leu Leu Leu Ala Cys Ile Phe Leu Ile Lys Ile Leu Ala Ala Ser Ala
180 185 190

Leu Trp Ala Ala Ala Trp His Gly Gln Lys Pro Gly Thr His Pro Pro
195 200 205

Ser Glu Leu Asp Cys Gly His Asp Pro Gly Tyr Gln Leu Gln Thr Leu
210 215 220

Pro Gly Leu Arg Asp Thr
225 230

<210> 22
<211> 212
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 位點
<222> (1)..(212)
<223> 人類 TREM2 (無訊號序列)

<400> 22

His Asn Thr Thr Val Phe Gln Gly Val Ala Gly Gln Ser Leu Gln Val
1 5 10 15

Ser Cys Pro Tyr Asp Ser Met Lys His Trp Gly Arg Arg Lys Ala Trp
20 25 30

Cys Arg Gln Leu Gly Glu Lys Gly Pro Cys Gln Arg Val Val Ser Thr
35 40 45

His Asn Leu Trp Leu Leu Ser Phe Leu Arg Arg Trp Asn Gly Ser Thr
50 55 60

Ala Ile Thr Asp Asp Thr Leu Gly Gly Thr Leu Thr Ile Thr Leu Arg
65 70 75 80

Asn Leu Gln Pro His Asp Ala Gly Leu Tyr Gln Cys Gln Ser Leu His
85 90 95

Gly Ser Glu Ala Asp Thr Leu Arg Lys Val Leu Val Glu Val Leu Ala
100 105 110

Asp Pro Leu Asp His Arg Asp Ala Gly Asp Leu Trp Phe Pro Gly Glu
115 120 125

Ser Glu Ser Phe Glu Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser Arg Ser
130 135 140

Leu Leu Glu Gly Glu Ile Pro Phe Pro Pro Thr Ser Ile Leu Leu Leu
145 150 155 160

Leu Ala Cys Ile Phe Leu Ile Lys Ile Leu Ala Ala Ser Ala Leu Trp
165 170 175

Ala Ala Ala Trp His Gly Gln Lys Pro Gly Thr His Pro Pro Ser Glu
180 185 190

Leu Asp Cys Gly His Asp Pro Gly Tyr Gln Leu Gln Thr Leu Pro Gly
195 200 205

Leu Arg Asp Thr
210

<210> 23
<211> 139
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 位點
<222> (1)..(139)
<223> 可溶性人類 TREM2 (TREM2 胞外域)

<400> 23

```
His Asn Thr Thr Val Phe Gln Gly Val Ala Gly Gln Ser Leu Gln Val
1               5                  10                  15

Ser Cys Pro Tyr Asp Ser Met Lys His Trp Gly Arg Arg Lys Ala Trp
            20                  25                  30

Cys Arg Gln Leu Gly Glu Lys Gly Pro Cys Gln Arg Val Val Ser Thr
        35                  40                  45

His Asn Leu Trp Leu Leu Ser Phe Leu Arg Arg Trp Asn Gly Ser Thr
    50                  55                  60

Ala Ile Thr Asp Asp Thr Leu Gly Gly Thr Leu Thr Ile Thr Leu Arg
65                  70                  75                  80

Asn Leu Gln Pro His Asp Ala Gly Leu Tyr Gln Cys Gln Ser Leu His
                85                  90                  95

Gly Ser Glu Ala Asp Thr Leu Arg Lys Val Leu Val Glu Val Leu Ala
            100                 105                 110

Asp Pro Leu Asp His Arg Asp Ala Gly Asp Leu Trp Phe Pro Gly Glu
        115                 120                 125

Ser Glu Ser Phe Glu Asp Ala His Val Glu His
    130                 135
```

<210> 24

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2 重鏈 CDR1

<400> 24

Asn Val Trp Met His
1 5

<210> 25
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2 重鏈 CDR2

<400> 25

His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 26
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2 重鏈 CDR3

<400> 26

Leu Asp Tyr
1

<210> 27
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2 輕鏈 CDR1

<400> 27

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Gly Val Arg Asp Ile Thr Ser Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 28
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2 輕鏈 CDR2

<400> 28

Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2 輕鏈 CDR3

<400> 29

Ala Gln Phe Leu Arg Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 30
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2 重鏈可變區

<400> 30

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Thr Ser
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Asp Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 31
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2 輕鏈可變區

<400> 31

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

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

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

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

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

Ser Glu Val Glu Thr Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Phe
85 90 95

Leu Arg Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 32
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2 重鏈 CDR1 (Chothia)

<400> 32

Gly Phe Pro Phe Ser Asn Val
1 5

<210> 33
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2 重鏈 CDR2 (Chothia)

<400> 33

Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala
1 5

<210> 34
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.50G1 重鏈 CDR1

<400> 34

Asn Val Trp Met His
1 5

<210> 35
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.50G1 重鏈 CDR2

<400> 35

His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 36
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.50G1 重鏈 CDR3

<400> 36

Leu Asp Tyr
1

<210> 37
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.50G1 輕鏈 CDR1

<400> 37

Arg Ser Asn Lys Ser Leu Leu Gly Ile Arg Asp Ile Thr Ser Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 38
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.50G1 輕鏈 CDR2

<400> 38

Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 39
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.50G1 輕鏈 CDR3

<400> 39

Ala Gln Phe Leu Arg Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 40
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.50G1 重鏈可變區

<400> 40

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Thr Ser
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Asp Asp Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 41
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.50G1 輕鏈可變區

<400> 41

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

Glu Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Asn Lys Ser Leu Leu Gly Ile
20 25 30

Arg Asp Ile Thr Ser Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Lys Ser
35 40 45

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

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

Ser Glu Val Glu Thr Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Phe
85 90 95

Leu Arg Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Leu Gln
100 105 110

<210> 42
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.50G1 重鏈 CDR1 (Chothia)

<400> 42

Gly Phe Pro Phe Ser Asn Val
1 5

<210> 43
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.50G1 重鏈 CDR2 (Chothia)

<400> 43

Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala
1 5

<210> 44
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.18E5 重鏈 CDR1

<400> 44

Asn Val Trp Met His
1 5

<210> 45
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.18E5 重鏈 CDR2

<400> 45

His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 46
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.18E5 重鏈 CDR3

<400> 46

Leu Asp Tyr
1

<210> 47
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.18E5 輕鏈 CDR1

<400> 47

Arg Ser Asn Lys Ser Leu Leu Gly Ile Arg Asp Ile Thr Ser Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 48
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.18E5 輕鏈 CDR2

<400> 48

Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 49
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.18E5 輕鏈 CDR3

<400> 49

Ala Gln Phe Leu Arg Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 50
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.18E5 重鏈可變區

<400> 50

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Thr Thr
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Ala Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 51
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.18E5 輕鏈可變區

<400> 51

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

Glu Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Asn Lys Ser Leu Leu Gly Ile
20 25 30

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

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

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

Ser Glu Val Glu Thr Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Phe
85 90 95

Leu Arg Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.18E5 重鏈 CDR1 (Chothia)

<400> 52

Gly Phe Pro Phe Ser Asn Val
1 5

<210> 53
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.18E5 重鏈 CDR2 (Chothia)

<400> 53

Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala
1 5

<210> 54
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.36F5 重鏈 CDR1

<400> 54

Asn Val Trp Met His
1 5

<210> 55
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.36F5 重鏈 CDR2

<400> 55

Gln Ile Lys Gly Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Leu Gln Gly

<210> 56
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.36F5 重鏈 CDR3

<400> 56

Leu Asp Tyr
1

<210> 57
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.36F5 輕鏈 CDR1

<400> 57

Arg Ser Asn Lys Ser Leu Leu Ser Ser Lys Gly Ile Thr Ser Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 58
<211> 7
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.36F5 輕鏈 CDR2

<400> 58

Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 59
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.36F5 輕鏈 CDR3

<400> 59

Ala Gln Phe Leu Gln Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 60
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.36F5 重鏈可變區

<400> 60

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

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

Trp Leu His Trp Ile Arg Arg Ser Pro Glu Asn Gln Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Gln Ile Lys Gly Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 61
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.36F5 輕鏈可變區

<400> 61

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

Glu Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Ser Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Lys Val Glu Thr Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Phe
85 90 95

Leu Gln Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 62
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.36F5 重鏈 CDR1 (Chothia)

<400> 62

Gly Phe Thr Phe Thr Asn Val
1 5

<210> 63
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.36F5 重鏈 CDR2 (Chothia)

<400> 63

Lys Gly Lys Ser Asp Asn Tyr Ala
1 5

<210> 64
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.27H7 重鏈 CDR1

<400> 64

Asn Val Trp Leu His
1 5

<210> 65
<211> 19
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.27H7 重鏈 CDR2

<400> 65

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

Val Lys Gly

<210> 66
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.27H7 重鏈 CDR3

<400> 66

Leu Asp Tyr
1

<210> 67
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.27H7 輕鏈 CDR1

<400> 67

Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser Lys Gly Ile Thr Ser Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 68
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.27H7 輕鏈 CDR2

<400> 68

Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 69
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.27H7 輕鏈 CDR3

<400> 69

Ala Gln Phe Leu Val Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 70
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.27H7 重鏈可變區

<400> 70

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Ala Arg Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Ile Val Ser Arg Asp Asp Ser Lys Thr Thr
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 71
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.27H7 輕鏈可變區

<400> 71

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

Glu Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser
20 25 30

Lys Gly Ile Thr Ser Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Met Ser
35 40 45

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

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

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

Leu Val Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 72
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.27H7 重鏈 CDR1 (Chothia)

<400> 72

Gly Phe Pro Phe Ser Asn Val
1 5

<210> 73
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.27H7 重鏈 CDR2 (Chothia)

<400> 73

Lys Ala Arg Ser Asp Asn Tyr Ala
1 5

<210> 74
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：IGHV3-73*01 種系重鏈

<400> 74

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

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

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 75
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：IGKV2-28*01 種系輕鏈

<400> 75

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

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

Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 76
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2-H1 重鏈可變區

<400> 76

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Thr Ser
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Asp Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 77
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2-H3 重鏈可變區

<400> 77

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Thr Ser
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Asp Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 78
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2-H5 重鏈可變區

<400> 78

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Thr Ser
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Asp Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 79
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2-L1 輕鏈可變區

<400> 79

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

Glu Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Gly Val

20 25 30

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

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

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

Ser Glu Val Glu Thr Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Phe
85 90 95

Leu Arg Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 80
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2-L5 輕鏈可變區

<400> 80

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

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

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

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Glu Val Glu Thr Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Phe
85 90 95

Leu Arg Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 81
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.09-H1 重鏈可變區

<400> 81

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

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Thr Ser Gly Phe Pro Phe Ser Asn Val
20 25 30

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Val Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Asp Ile Leu Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 82
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.09-H5 重鏈可變區

<400> 82

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

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Thr Ser Gly Phe Pro Phe Ser Asn Val
20 25 30

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Val Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Asp Ile Leu Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 83
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.09-H7 重鏈可變區

<400> 83

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

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Thr Ser Gly Phe Pro Phe Ser Asn Val
20 25 30

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Val Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Asp Ile Leu Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 84
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.27H7-L1 輕鏈可變區

<400> 84

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

Glu Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser
20 25 30

Lys Gly Ile Thr Ser Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Met Ser
35 40 45

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

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

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

Leu Val Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 85
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.27H7-L6 輕鏈可變區

<400> 85

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

Glu Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser
20 25 30

Lys Gly Ile Thr Ser Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Met Ser
35 40 45

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

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

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

Leu Val Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 86
<211> 232
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 位點
<222> (1)..(232)
<223> 人類 IgG1 Fc 區

<400> 86

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 87
<211> 232
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 位點
<222> (1)..(232)
<223> 人類 IgG1 N297G Fc 區

<400> 87

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 88
<211> 330
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> 位點
<222> (1)..(330)
<223> 鼠 IgG2 Fc 區

<400> 88

Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
85 90 95

Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys
100 105 110

```
Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp
145                 150                 155                 160

Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg
                165                 170                 175

Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn
        195                 200                 205

Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly
    210                 215                 220

Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met
                245                 250                 255

Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe
        275                 280                 285

Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn
    290                 295                 300

Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
305                 310                 315                 320
```

Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
325 330

<210> 89
<211> 330
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> 位點
<222> (1)..(330)
<223> 鼠 IgG2 LALAPG Fc 區

<400> 89

Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
85 90 95

Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Asn Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp
145 150 155 160

Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg
165 170 175

Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln
180 185 190

His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn
195 200 205

Lys Asp Leu Gly Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly
210 215 220

Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met
245 250 255

Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu
260 265 270

Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe
275 280 285

Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn
290 295 300

Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
305 310 315 320

Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

325 330

<210> 90
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hTREM2 莖 129-174

<400> 90

Leu Ala Asp Pro Leu Asp His Arg Asp Ala Gly Asp Leu Trp Phe Pro
1 5 10 15

Gly Glu Ser Glu Ser Phe Glu Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser
20 25 30

Arg Ser Leu Leu Glu Gly Glu Ile Pro Phe Pro Pro Thr Ser
35 40 45

<210> 91
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hTREM2 莖 129-148

<400> 91

Leu Ala Asp Pro Leu Asp His Arg Asp Ala Gly Asp Leu Trp Phe Pro
1 5 10 15

Gly Glu Ser Glu
20

<210> 92
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hTREM2 莖 139-158

<400> 92

Gly Asp Leu Trp Phe Pro Gly Glu Ser Glu Ser Phe Glu Asp Ala His
1 5 10 15

Val Glu His Ser
20

<210> 93
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hTREM2 萃 149-168

<400> 93

Ser Phe Glu Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser Arg Ser Leu Leu
1 5 10 15

Glu Gly Glu Ile
20

<210> 94
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hTREM2 萃 159-175

<400> 94

Ile Ser Arg Ser Leu Leu Glu Gly Glu Ile Pro Phe Pro Pro Thr Ser
1 5 10 15

Ile

<210> 95
<211> 24
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hTREM2 莖 146-169

<400> 95

Glu Ser Glu Ser Phe Glu Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser Arg
1 5 10 15

Ser Leu Leu Glu Gly Glu Ile Pro
20

<210> 96
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hTREM2 莖 146-161

<400> 96

Glu Ser Glu Ser Phe Glu Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser Arg
1 5 10 15

<210> 97
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hTREM2 莖 151-165

<400> 97

Glu Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser Arg Ser Leu Leu Glu
1 5 10 15

<210> 98
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hTREM2 莖 155-169

<400> 98

Val Glu His Ser Ile Ser Arg Ser Leu Leu Glu Gly Glu Ile Pro
1 5 10 15

<210> 99
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hTREM2 莖 152-161

<400> 99

Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser Arg
1 5 10

<210> 100
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hTREM2 莖 154-164

<400> 100

His Val Glu His Ser Ile Ser Arg Ser Leu Leu
1 5 10

<210> 101
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hTREM2 莖 151-161

<400> 101

Glu Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser Arg
1 5 10

<210> 102

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.10C2 HC CDR3 (IMGT)

<400> 102

Thr Gly Leu Asp Tyr
1 5

<210> 103
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.01 HC CDR3 (IMGT)

<400> 103

Ile Leu Ala Tyr Ser
1 5

<210> 104
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.02 HC CDR3 (IMGT)

<400> 104

Thr Leu Gly Ala Tyr
1 5

<210> 105
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.03 HC CDR3 (IMGT)

<400> 105

Thr Pro Gly Val Tyr
1 5

<210> 106
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.04 HC CDR3 (IMGT)

<400> 106

Thr Arg Phe Asp Tyr
1 5

<210> 107
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.05 HC CDR3 (IMGT)

<400> 107

Arg Glu Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 108
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.06 HC CDR3 (IMGT)

<400> 108

Arg Gly Arg Leu Val Asp
1 5

<210> 109
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.07 HC CDR3 (IMGT)

<400> 109

Arg Asn Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 110
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.08 HC CDR3 (IMGT)

<400> 110

Arg Ser Gly Pro Ser Tyr
1 5

<210> 111
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.09 HC CDR3 (IMGT)

<400> 111

Thr Asp Ile Leu Glu Tyr
1 5

<210> 112
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.10 HC CDR3 (IMGT)

<400> 112

Thr Gly Leu Gly Asp Tyr

1 5

<210> 113
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.11 HC CDR3 (IMGT)

<400> 113

Thr Pro Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 114
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.12 HC CDR3 (IMGT)

<400> 114

Thr Arg Leu Gly Asp Tyr
1 5

<210> 115
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.13 HC CDR3 (IMGT)

<400> 115

Thr Arg Gln Leu Gly Gly
1 5

<210> 116
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.14 HC CDR3 (IMGT)

<400> 116

Thr Ser Gly Ser Leu Tyr
1 5

<210> 117
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.15 HC CDR3 (IMGT)

<400> 117

Thr Ser Pro Pro Asp Tyr
1 5

<210> 118
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.16 HC CDR3 (IMGT)

<400> 118

Leu Pro Lys Gly Phe Ala Tyr
1 5

<210> 119
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.17 HC CDR3 (IMGT)

<400> 119

Pro Arg Asp Leu Gly Asp Tyr
1 5

<210> 120
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.18 HC CDR3 (IMGT)

<400> 120

Ser Leu Phe Phe Asn Tyr His
1 5

<210> 121
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.19 HC CDR3 (IMGT)

<400> 121

Ser Pro Arg Gly Phe Ala Tyr
1 5

<210> 122
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.20 HC CDR3 (IMGT)

<400> 122

Ser Thr Ala Pro Phe Ala Tyr
1 5

<210> 123
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.21 HC CDR3 (IMGT)

<400> 123

Thr Phe Asn Asn Phe Asp Ser
1 5

<210> 124
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.22 HC CDR3 (IMGT)

<400> 124

Thr Gly Ser Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 125
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.23 HC CDR3 (IMGT)

<400> 125

Thr Leu Phe Phe Asn Tyr His
1 5

<210> 126
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.24 HC CDR3 (IMGT)

<400> 126

Thr Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr
1 5

<210> 127

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.25 HC CDR3 (IMGT)

<400> 127

Thr Pro Gly Asn Phe Asn Tyr
1 5

<210> 128
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.26 HC CDR3 (IMGT)

<400> 128

Thr Ser Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 129
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.27 HC CDR3 (IMGT)

<400> 129

Thr Ser Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 130
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.28 HC CDR3 (IMGT)

<400> 130

Thr Val Thr Leu Gly Ala Tyr
1 5

<210> 131
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Para.29 HC CDR3 (IMGT)

<400> 131

Thr Tyr Arg Gly Phe Asp Phe
1 5

<210> 132
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09.v2 Q100P 輕鏈可變區

<400> 132

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Phe

85 90 95

Leu Val Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 133
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09.v2 Q100P 重鏈可變區

<400> 133

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Asp Ile Leu Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 134

<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09.v2 I58V/Q100P 輕鏈可變區

<400> 134

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser
20 25 30

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

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

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

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

Leu Val Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 135
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09.v2 I58V/Q100P 重鏈可變區

<400> 135

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Asp Ile Leu Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 136
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09.v2 Q100P/V104L 輕鏈可變區

<400> 136

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser
20 25 30

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

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

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

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

Leu Val Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 137
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09.v2 Q100P/V104L 重鏈可變區

<400> 137

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95
```

Tyr Cys Thr Asp Ile Leu Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 138
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09.H5-3.10C2.L10 輕鏈可變區

<400> 138

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

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

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

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

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

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

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

<210> 139
<211> 115
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09.H5-3.10C2.L10 重鏈可變區

<400> 139

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Asp Ile Leu Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 140
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA 1

<400> 140
ttgtagattc cgcagcgtaa 20

<210> 141
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA 2

<400> 141
aatggtgaga gtgccaccca 20

<210> 142
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA 3

<400> 142
taccagtgcc agagcctcca 20

<210> 143
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：H3.10C2.H1.hIgG1.N297G

<400> 143

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Thr Thr
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
115 120 125

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145 150 155 160

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
180 185 190

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
195 200 205

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305 310 315 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 144
<211> 445
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09.H5.hIgG1.N297G

<400> 144

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Asp Ile Leu Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
            100                 105                 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
        115                 120                 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
    130                 135                 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145                 150                 155                 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
                165                 170                 175
```

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 145
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.v1 Q100P 輕鏈可變區

<400> 145

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Phe

85 90 95

Leu Val Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 146
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.v1 Q100P 重鏈可變區

<400> 146

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Thr Thr
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 147

<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.v1 I58V/Q100P 輕鏈可變區

<400> 147

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser
20 25 30

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

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

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

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

Leu Val Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 148
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.v1 I58V/Q100P 重鏈可變區

<400> 148

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Thr Thr
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 149
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.v1 Q100P/V104L 輕鏈可變區

<400> 149

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser
20 25 30

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

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

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

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

Leu Val Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 150
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.v1 Q100P/V104L 重鏈可變區

<400> 150

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Thr Thr
65                  70                  75                  80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95
```

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 151
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.H1-3.10C2.L10 輕鏈可變區

<400> 151

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

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

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

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

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

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

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

<210> 152
<211> 114
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.H1-3.10C2.L10 重鏈可變區

<400> 152

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

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

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

Ala His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Thr Thr
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 153
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09.H5-3.10C2.L10 CDR L1

<400> 153

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Gly Val Arg Asp Ile Thr Ser Leu Tyr

1 5 10 15

<210> 154
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09. H5-3.10C2.L10 CDR L2

<400> 154

Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 155
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09. H5-3.10C2.L10 CDR L3

<400> 155

Ala Gln Phe Leu Arg Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 156
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09. H5-3.10C2.L10 CDR H1

<400> 156

Asn Val Trp Leu His
1 5

<210> 157
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09. H5-3.10C2.L10 CDR H2

<400> 157

His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 158
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09. H5-3.10C2.L10 CDR H3

<400> 158

Ile Leu Glu Tyr
1

<210> 159
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.H1-3.10C2.L10 輕鏈 CDR1

<400> 159

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Gly Val Arg Asp Ile Thr Ser Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 160
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.H1-3.10C2.L10 輕鏈 CDR2

<400> 160

Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 161
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.H1-3.10C2.L10 輕鏈 CDR 3

<400> 161

Ala Gln Phe Leu Arg Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 162
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.H1-3.10C2.L10 重鏈 CDR1

<400> 162

Asn Val Trp Met His
1 5

<210> 163
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.H1-3.10C2.L10 重鏈 CDR2

<400> 163

His Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 164
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：h3.10C2.H1-3.10C2.L10 重鏈 CDR3

<400> 164

Leu Asp Tyr
1

<210> 165
<211> 232
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 位點
<222> (1)..(232)
<223> 人類 IgG1 Fc LALAPG

<400> 165

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 166
<211> 229
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 位點
<222> (1)..(229)
<223> 人類 IgG4 Fc

<400> 166

```
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1               5                  10                  15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
            20                  25                  30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
        35                  40                  45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
    50                  55                  60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65                  70                  75                  80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
                85                  90                  95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
            100                 105                 110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
        115                 120                 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
    130                 135                 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145                 150                 155                 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
                165                 170                 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
            180                 185                 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
```

195 200 205

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys
225

<210> 167
<211> 229
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 位點
<222> (1)..(229)
<223> 人類 IgG4 Fc S228P

<400> 167

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
195 200 205

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys
225

<210> 168
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.17A9 輕鏈

<400> 168

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

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

```
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Asn Leu Gly Glu Pro Pro Lys Pro Leu Ile
        35                  40                  45

Asn Phe Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
    130                 135                 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145                 150                 155                 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
            180                 185                 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
    210
```

<210> 169
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：3.17A9 重鏈

<400> 169

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

Ser Ile Lys Leu Ser Cys Lys Val Ser Gly Phe Asn Ile Arg Ser Thr
20 25 30

Phe Met His Trp Val Asn Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Val Tyr Gly Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Gln Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Leu Glu Phe Gly Val Ser Trp Phe Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr
180 185 190

Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
245 250 255

Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
260 265 270

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
275 280 285

Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val
290 295 300

Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
340 345 350

Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys
355 360 365

```
Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn
    370                 375                 380

Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
385                 390                 395                 400

Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
                405                 410                 415

Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
            420                 425                 430

Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
        435                 440                 445
```

<210> 170
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：1.16B8 輕鏈

<400> 170

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 171
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：1.16B8 重鏈

<400> 171

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

```
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Ile Tyr Asp Thr Ser Ser Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Leu Phe Gly Val Asp Val Met Asp Ala Trp Gly Gln Gly Ala Ser
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu
        115                 120                 125

Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp
            180                 185                 190

Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr
        195                 200                 205
```

Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser
245 250 255

Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp
260 265 270

Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln
275 280 285

Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser
290 295 300

Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Gly Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro
340 345 350

Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met
355 360 365

Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn
370 375 380

Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn
405 410 415

Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu
420 425 430

His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 172
<211> 107
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> 位點
<222> (1)..(107)
<223> 鼠 κ (輕鏈) 恆定區

<400> 172

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
35 40 45

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu
65 70 75 80

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser
85 90 95

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
100 105

<210> 173
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA 之序列

<400> 173
ttgtagattc cgcagcgtaa 20

<210> 174
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA 之序列

<400> 174
aatggtgaga gtgccaccca 20

<210> 175
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：Alt-R CRISPR-Cas9 crRNA 之序列

<400> 175
taccagtgcc agagcctcca 20

<210> 176
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：hPara.09v2 輕鏈

<400> 176

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

```
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Leu Thr Ser
            20                  25                  30

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

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

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

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

Leu Val Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
        115                 120                 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
    130                 135                 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145                 150                 155                 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
                165                 170                 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
            180                 185                 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
        195                 200                 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
```

210 215

<210> 177
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：包含肽殘基 129-175 的 hTREM2 莖域 (圖 2A)

<400> 177

Leu Ala Asp Pro Leu Asp His Arg Asp Ala Gly Asp Leu Trp Phe Pro
1 5 10 15

Gly Glu Ser Glu Ser Phe Glu Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser
20 25 30

Arg Ser Leu Leu Glu Gly Glu Ile Pro Phe Pro Pro Thr Ser
35 40 45

# 【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含重鏈可變區 (VH)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 1、9、11、19 或 62 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 2、10、12、20、55、63、65 或 73 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含如下胺基酸序列的 CDR-H3：$X_1$-$X_2$-$X_3$-Y，其中 $X_1$ 及 $X_2$ 一起為 I-L 或 L，且其中 $X_3$ 為 D 或 E。

【請求項2】

一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含重鏈可變區 (VH)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 1、9、11、19 或 62 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 2、10、12、20、55、63、65 或 73 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含如下胺基酸序列的 CDR-H3：$X_1$-$X_2$-$X_3$-Y，其中 $X_1$ 及 $X_2$ 一起為 I-L 或 L，且其中 $X_3$ 為 D 或 E；及輕鏈可變區 (VL)，該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 4、27、37、47、57 或 67 之胺基酸序列的 CDR-L1；包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2；及包含 SEQ ID NO: 6、29、39、49、59 或 69 之胺基酸序列的 CDR-L3。

【請求項3】

一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含重鏈可變區 (VH)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 1、9、11 或 19 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 2、10、12 或 20 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含如下胺基酸序列的 CDR-H3：$X_1$-$X_2$-$X_3$-Y，其中 $X_1$ 及 $X_2$ 一起為 I-L 或 L，且其中 $X_3$ 為

D 或 E；及輕鏈可變區 (VL)，該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1；包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2；及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3。

【請求項4】

如請求項 1 至 3 中任一項之經分離之抗體，其中該抗體具有以下特性中之一個或多個：

(a)特異性地結合至 TREM2 的莖域（stalk domain）；

(b)不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合；

(c)相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽；

(d)特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位；

(e)相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽顯示降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)；

(f) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37℃ 以小於 1 nM、小於 0.7 nM、小於 0.6 nM、小於 0.5 nM、小於 0.4 nM、小於 0.3 nM 之 KD 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2；及

(g)藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37℃ 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM 或小於 2 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。

【請求項5】

如請求項 1 至 4 中任一項之經分離之抗體，其中該抗體具有源自大鼠

IGHV6-8 種系片段的 VH 序列及/或其中該抗體具有源自大鼠 IGKV2S11 種系片段的 VL 序列。

【請求項6】

如請求項 1 至 5 中任一項之抗體，其中該輕鏈可變區 (VL) 包含：包含 SEQ ID NO: 4、27 或 67 之胺基酸序列的 CDR-L1；包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2；及包含 SEQ ID NO: 6、29 或 69 之胺基酸序列的 CDR-L3。

【請求項7】

如請求項 1 至 6 中任一項之抗體，其中該輕鏈可變區 (VL) 包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1；包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2；及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3。

【請求項8】

如請求項 1 至 7 中任一項之抗體，其中：

(a) 該重鏈可變區 (VH) 包含：包含 SEQ ID NO: 1 或 9 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 2 或 10 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的 CDR-H3；且其中該輕鏈可變區 (VL) 包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3；或

(b) 該重鏈可變區 (VH) 包含：包含 SEQ ID NO: 11 或 19 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 12 或 20 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 CDR-H3；且其中該輕鏈可變區 (VL) 包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 6

之胺基酸序列的 CDR-L3。

【請求項9】

如請求項 1 至 8 中任一項之抗體，其中該抗體包含與 SEQ ID NO: 7、17、30、40、50、60、70、76、77、78、81、82、83、133、135、137、139、146、148、150 或 152 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VH。

【請求項10】

如請求項 1 至 8 中任一項之抗體，其中該抗體包含與 SEQ ID NO: 7、17、133、135、137、139、146、148、150 或 152 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VH。

【請求項11】

如請求項 1 至 10 中任一項之抗體，其中該抗體包含與 SEQ ID NO: 8、18、31、41、51、61、71、79、80、84、85、132、134、136、138、145、147、149 或 151 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VL。

【請求項12】

如請求項 1 至 10 中任一項之抗體，其中該抗體包含與 SEQ ID NO: 8、18、132、134、136、138、145、147、149 或 151 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VL。

【請求項13】

如請求項 1 至 12 中任一項之抗體，其中該抗體包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 7、17、133、135、137、139、146、148、150 或 152 之胺基酸序列。

【請求項14】

如請求項 1 至 13 中任一項之抗體，其中該抗體包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 8、18、132、134、136、138、145、147、149 或 151 之胺基酸序列。

【請求項15】

一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含：

(a)重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(b)重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(c)重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(d)重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(e)重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(f) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 39 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(g)重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列的 CDR-H1，包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列的 CDR-H2，及包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列的 CDR-L3；

(h)重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 54 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 55 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含 SEQ ID NO: 56 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列的 CDR-L3；或

(i) 重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，該重鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 64 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 65 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含 SEQ ID NO: 66 之胺基酸序列的 CDR-H3；該輕鏈可變區包含：包含 SEQ ID NO: 67 之胺基酸序列的 CDR-L1，包含 SEQ ID NO: 68 之胺基酸序列的 CDR-L2，及包含 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的 CDR-L3。

【請求項16】

如請求項 15 之抗體，其中該抗體

(a) 包含如請求項 15(a) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VH；

(b) 包含如請求項 15(b) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VH；

(c) 包含如請求項 15(c) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VH；

(d) 包含如請求項 15(d) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 17

之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VH；

(e) 包含如請求項 15(e) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VH；

(f) 包含如請求項 15(f) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VH；

(g) 包含如請求項 15(g) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VH；

(h) 包含如請求項 15(h) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VH；或

(i) 包含如請求項 15(i) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 70 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VH。

【請求項17】

如請求項 15 或 16 之抗體，其中該抗體

(a) 包含如請求項 15(a) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VL；

(b) 包含如請求項 15(b) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之

VL；

(c) 包含如請求項 15(c) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VL；

(d) 包含如請求項 15(d) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VL；

(e) 包含如請求項 15(e) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 31 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VL；

(f) 包含如請求項 15(f) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VL；

(g) 包含如請求項 15(g) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VL；

(h) 包含如請求項 15(h) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VL；或

(i) 包含如請求項 15(i) 之 CDR，且進一步包含與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列至少 90%、至少 95%、至少 97% 或至少 99% 相同之 VL。

【請求項18】

如請求項 15、16 或 17 之抗體，其中該抗體

(a) 包含如請求項 15(a) 之 CDR，且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列；

(b) 包含如請求項 15(b) 之 CDR，且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列；

(c) 包含如請求項 15(c) 之 CDR，且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；

(d) 包含如請求項 15(d) 之 CDR，且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；

(e) 包含如請求項 15(e) 之 CDR，且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列；

(f) 包含如請求項 15(f) 之 CDR，且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列；

(g) 包含如請求項 15(g) 之 CDR，且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列；

(h) 包含如請求項 15(h) 之 CDR，且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列；或

(i) 包含如請求項 15(i) 之 CDR，且進一步包含 VH，該 VH 包含 SEQ ID NO: 70 之胺基酸序列。

【請求項19】

如請求項 15 至 18 中任一項之抗體，其中該抗體

(a) 包含如請求項 15(a) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列；

(b) 包含如請求項 15(b) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列；

(c) 包含如請求項 15(c) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；

(d) 包含如請求項 15(d) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；

(e) 包含如請求項 15(e) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 31 之胺基酸序列；

(f) 包含如請求項 15(f) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；

(g) 包含如請求項 15(g) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列；

(h) 包含如請求項 15(h) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列；或

(i) 包含如請求項 15(i) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列。

【請求項20】

如請求項 15 至 18 中任一項之抗體，其中該抗體包含 VH 及 VL，該 VH 包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列，且該 VL 包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列。

【請求項21】

如請求項 15 至 18 中任一項之抗體，其中該抗體包含 VH 及 VL，該 VH 包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列，且該 VL 包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列。

【請求項22】

如請求項 15 至 18 中任一項之抗體，其中該抗體包含 VL，相較於人

類 IGKV2-28*01 種系，該 VL 在框架區中包含 1 至 5 個胺基酸取代，視情況地其中該等胺基酸取代包含 Q100P 及/或 V104L。

【請求項23】

如請求項 15 至 18 之抗體，其中該抗體：

(a) 包含如請求項 15(a) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 145 之胺基酸序列；

(b) 包含如請求項 15(b) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 145 之胺基酸序列；

(c) 包含如請求項 15(a) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 147 之胺基酸序列；

(d) 包含如請求項 15(b) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 147 之胺基酸序列；

(e) 包含如請求項 15(a) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 149 之胺基酸序列；

(f) 包含如請求項 15(b) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 149 之胺基酸序列；

(g) 包含如請求項 15(a) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 151 之胺基酸序列；

(h) 包含如請求項 15(b) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 151 之胺基酸序列；

(i) 包含如請求項 15(c) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 132 之胺基酸序列；

(j) 包含如請求項 15(d) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 132 之胺基酸序列；

(k) 包含如請求項 15(c) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 134 之胺基酸序列；

(l) 包含如請求項 15(d) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 134 之胺基酸序列；

(m)包含如請求項 15(c) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 136 之胺基酸序列；

(n) 包含如請求項 15(d) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 136 之胺基酸序列；

(o) 包含如請求項 15(c) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 138 之胺基酸序列；或

(p) 包含如請求項 15(d) 之 CDR，且進一步包含 VL，該 VL 包含 SEQ ID NO: 138 之胺基酸序列。

【請求項24】

如請求項 15 至 23 中任一項之經分離之抗體，其中該抗體具有以下特性中之一個或多個：

(a) 特異性地結合至 TREM2 的莖域；

(b) 不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合；

(c) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽；

(d) 特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位；

(e) 相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽顯示降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)；

(f) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37℃ 以小於 1 nM、小於 0.7 nM、小於 0.6 nM、小於 0.5 nM、小於 0.4 nM、或小於 0.3 nM、或 100-500 pM 或 100-200 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2；及

(g) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37℃ 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM、或小於 2 pM、或 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。

【請求項25】

一種經分離之抗體，其特異性地結合表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含：

(a) VH，其包含 SEQ ID NO: 146 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 145 之胺基酸序列；

(b) VH，其包含 SEQ ID NO: 148 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 147 之胺基酸序列；

(c) VH，其包含 SEQ ID NO: 150 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 149 之胺基酸序列；或

(d) VH，其包含 SEQ ID NO: 152 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 151 之胺基酸序列。

【請求項26】

如請求項 25 之經分離之抗體，其中該抗體具有以下特性中之一個或

多個：

(a) 特異性地結合至 TREM2 的莖域；

(b) 不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合；

(c) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽；

(d) 特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位；

(e) 相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽顯示降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)；及

(f) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37℃ 以小於 1 nM、小於 0.7 nM、小於 0.6 nM、小於 0.5 nM、小於 0.4 nM、或小於 0.3 nM、或 100-500 pM 或 100-200 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。

【請求項27】

一種經分離之抗體，其特異性地結合表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含：

(a) VH，其包含 SEQ ID NO: 133 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 132 之胺基酸序列；

(b) VH，其包含 SEQ ID NO: 135 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 134 之胺基酸序列；

(c) VH，其包含 SEQ ID NO: 137 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 136 之胺基酸序列；或

(d) VH，其包含 SEQ ID NO: 139 之胺基酸序列，及 VL，其包含 SEQ ID NO: 138 之胺基酸序列。

【請求項28】

如請求項 27 之經分離之抗體，其中該抗體具有以下特性中之一個或多個：

(a) 特異性地結合至 TREM2 的莖域；

(b) 不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合；

(c) 相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽；

(d) 特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位；

(e) 相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽顯示降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)；及

(f) 藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37℃ 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM、或小於 2 pM、或 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。

【請求項29】

如請求項 1 至 28 中任一項之抗體，其中該抗體具有以下特性中之一個或多個：

(a) 在表現人類 TREM2 之 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中誘導螢光素酶報導子活性；

(b) 降低血漿中活體內 sTREM2 之量；

(c) 在表現人類 TREM2 之 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中抑制 sTREM2 的脫落；

(d) 在人類 MDM 細胞中誘導酪胺酸磷酸化；

(e) 在人類 MDM 細胞中誘導 SYK 磷酸化；

(f) 在缺乏 IL-34 及 CSF-1 之情形下，增強人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞的存活；

(g) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中抑制 sTREM2 的脫落；

(h) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中誘導 SYK 磷酸化；及

(i) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中存在 Aβ 寡聚物之情形下，增加總 Aβ 斑塊強度及/或平均 X04 斑塊強度 (例如，如本文實例 17 之測定中所述)。

【請求項30】

如請求項 1 至 29 中任一項之抗體，其中該抗體在脫靶結合測定 (例如，如本文實例 10 中所述) 中具有低脫靶結合分數 (例如，< 1 的分數)。

【請求項31】

如請求項 1 至 30 中任一項之抗體，其為抗體片段，諸如 Fv、單鏈 Fv (scFv)、Fab、Fab'或 $(Fab')_2$。

【請求項32】

如請求項 1 至 30 中任一項之抗體，其為 IgG 抗體，諸如 IgG1、IgG2、

IgG3 或 IgG4 抗體。

【請求項33】

如請求項 32 之抗體，其中該抗體包含野生型人類 IgG1 或 IgG4 Fc 區。

【請求項34】

如請求項 33 之抗體，其中該抗體包含人類 IgG1 Fc 區，該人類 IgG1 Fc 區包含 (a) N297G 取代，(b) L234A、L235A 及 P329G 取代 (LALAPG 取代)，或 (c) N297G、M428L 及 N434S 取代。

【請求項35】

如請求項 33 或 34 之抗體，其中該抗體具有降低之效應子功能，或為無效應子，或不與 FcγR 結合。

【請求項36】

如請求項 1 至 35 中任一項之抗體，其中該抗體包含人類 IgG1 Fc 區，該人類 IgG1 Fc 區包含 N297G 取代。

【請求項37】

如請求項 1 至 36 中任一項之抗體，其中該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列的重鏈，及/或包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列的輕鏈。

【請求項38】

如請求項 1 至 36 中任一項之抗體，其中該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成但缺少 SEQ ID NO: 144 之 C 端離胺酸或缺少 SEQ ID NO: 144 之 C 端甘胺酸及離胺酸的重鏈，及/或包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成的輕鏈。

【請求項39】

如請求項 1 至 36 中任一項之抗體，其中該抗體包含：由SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成的重鏈，及/或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成的輕鏈。

【請求項40】

如請求項 33 之抗體，其中該抗體包含人類 IgG4 Fc 區，該人類 IgG4 Fc 區包含 S228P 取代或包含 S228P、M252Y、S254T 及 T256E 取代。

【請求項41】

如請求項 1 至 30 或請求項 32 至 36 或請求項 40 中任一項之抗體，其為全長抗體。

【請求項42】

如請求項 1 至 30 或請求項 32 至 36 或請求項 40 中任一項之抗體，其為在重鏈恆定區中缺少 C 端離胺酸的 IgG 抗體。

【請求項43】

一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列所組成的重鏈，及/或包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列所組成的輕鏈。

【請求項44】

一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成的重鏈，及/或包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成的輕鏈。

【請求項45】

一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含：包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成但缺少 SEQ ID NO: 144 之 C 端離胺酸或缺少 SEQ ID NO: 144 之 C 端甘胺酸及離胺酸的重鏈，及/或包含 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成的輕鏈。

【請求項46】

一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸發受體 (TREM2)，其中該抗體包含：由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成的重鏈，及/或由 SEQ ID NO: 176 之胺基酸序列所組成的輕鏈。

【請求項47】

如請求項 43 至 46 中任一項之經分離之抗體，其中該抗體特異性地結合至 TREM2 莖域且不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合，且其中該抗體特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位，及/或相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，該抗體係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽。

【請求項48】

如請求項 43 至 46 中任一項之經分離之抗體，其中該抗體特異性地結合至 TREM2 莖域且不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合，且其中該抗體為 TREM2 促效劑。

【請求項49】

一種經分離之抗體，其特異性地結合至表現在第二型髓系細胞上之觸

發受體 (TREM2)，其中該抗體包含重鏈可變區 (VH) 及輕鏈可變區 (VL)，其中該 VH 包含：包含 SEQ ID NO: 11 或 19 之胺基酸序列的 CDR-H1；包含 SEQ ID NO: 12 或 20 之胺基酸序列的 CDR-H2；及包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 CDR-H3；且進一步其中該抗體特異性地結合至 TREM2 莖域且不與可溶性 TREM2 (sTREM2) 結合，其中該抗體為 TREM2 促效劑，且其中該抗體特異性地結合至跨越 H157 至 S158 切割位點的 TREM2 表位，及/或相較於特異性地結合至由胺基酸 139 至 158 (SEQ ID NO: 92) 及/或胺基酸 159 至 175 (SEQ ID NO: 94) 所組成之 TREM2 多肽，該抗體係以較高親和力特異性地結合至由胺基酸 146 至 161 (SEQ ID NO: 96) 或胺基酸 151 至 165 (SEQ ID NO: 97) 所組成之 TREM2 多肽。

【請求項50】

如請求項 43 至 49 中任一項之經分離之抗體，其中相較於與野生型 TREM2 莖域多肽的結合親和力，該抗體對包含 D152A、H157A 及 I159A 取代之 TREM2 莖域多肽顯示降低的結合親和力 (例如，如藉由雙層干涉術所測量)；及/或藉由表面電漿子共振 (SPR) 在 37℃ 以小於 100 pM、小於 50 pM、小於 10 pM、小於 7 pM、小於 5 pM、小於 4 pM、小於 3 pM、或小於 2 pM、或 10-50 pM 或 10-25 pM 之 $K_D$ 特異性地結合至人類及食蟹獼猴 TREM2。

【請求項51】

如請求項 43 至 50 中任一項之經分離之抗體，其中該抗體具有以下特性中之一個或多個：

(a) 在表現人類 TREM2 之 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中誘導螢光素酶報導子活性；

(b) 降低血漿中活體內 sTREM2 之量；

(c) 在表現人類 TREM2 之 Jurkat-NFAT 螢光素酶報導子細胞中抑制 sTREM2 的脫落；

(d) 在人類 MDM 細胞中誘導酪胺酸磷酸化；

(e) 在人類 MDM 細胞中誘導 SYK 磷酸化；

(f) 在缺乏 IL-34 及 CSF-1 之情形下，增強人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞的存活；

(g) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中抑制 sTREM2 的脫落；

(h) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中誘導 SYK 磷酸化；及

(i) 在人類 iPSC 衍生之小神經膠質細胞中存在 Aβ 寡聚物之情形下，增加總 Aβ 斑塊強度及/或平均 X04 斑塊強度 (例如，如本文實例 17 之測定中所述)。

【請求項52】

如請求項 43 至 51 中任一項之抗體，其中該抗體在脫靶結合測定 (例如，如本文實例 10 中所述) 中具有低脫靶結合分數 (例如，< 1 的分數)。

【請求項53】

如請求項 47 至 52 中任一項之抗體，其中該 VH 包含 SEQ ID NO: 17、133、135、137 或 139 之胺基酸序列，或其中該抗體包含重鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列或由 SEQ ID NO: 144 之胺基酸序列所組成。

【請求項54】

如請求項 47 至 53 中任一項之抗體，其中該抗體包含人類 IgG1 Fc 區，該人類 IgG1 Fc 區包含 (a) N297G 取代，(b) L234A、L235A 及 P329G 取代 (LALAPG 取代)，或 (c) N297G、M428L 及 N434S 取代。

【請求項55】

如請求項 47 至 54 中任一項之抗體，其中該抗體具有降低之效應子功能，或為無效應子，或不與 FcγR 結合。

【請求項56】

如請求項 1 至 55 中任一項之抗體，其為雙特異性或多特異性抗體，或其與至少一種其他分子共價地或非共價地結合。

【請求項57】

如請求項 56 之抗體，其中該抗體與至少一種其他分子共價地或非共價地結合，其中該至少一種其他分子包含檢測標記及/或藥物。

【請求項58】

一種醫藥組成物，其包含如請求項 1 至 57 中任一項之抗體及醫藥上可接受之載劑。

【請求項59】

一種經分離之核酸或兩種或更多種核酸的集組，其編碼如請求項 1 至 57 中任一項之抗體。

【請求項60】

一種經分離之載體，其包含編碼如請求項 1 至 57 中任一項之抗體之重鏈及輕鏈的一種或多種核酸。

【請求項61】

一種經分離之宿主細胞，其包含如請求項 59 之核酸或如請求項 60 之載體。

【請求項62】

一種產生特異性地結合至 TREM2 之抗體的方法，其包含在適合於該抗體之表現的條件下培養如請求項 61 之宿主細胞。

【請求項63】

如請求項 62 之方法，其進一步包含自該宿主細胞中回收該抗體。

【請求項64】

一種抗體，其藉由如請求項 62 或 63 之方法來產生。

【請求項65】

一種在有此需要之個體中治療與 TREM2 功能喪失相關之病症的方法，其包含向該個體投予如請求項 1 至 57 中任一項之抗體或如請求項 58 之醫藥組成物。

【請求項66】

一種在有此需要之個體中降低 sTREM2 之量的方法，其包含向該個體投予如請求項 1 至 57 中任一項之抗體或如請求項 58 之醫藥組成物。

【請求項67】

如請求項 65 或 66 之方法，其中該病症為神經發炎或神經退化性疾病，或其中該個體患有神經發炎或神經退化性疾病。

【請求項68】

如請求項 67 之方法，其中該神經發炎或神經退化性疾病為阿滋海默症、帕金森病、額顳葉失智症、失智症、多發性硬化症 (MS)、肌肉萎縮性側索硬化症 (ALS)、Nasu-Hakola 病、格林-巴利綜合徵 (Guillain-Barré Syndrome, GBS)、胞溶體貯積症、神經鞘磷脂代謝障礙 (Neimann-Pick C)、黏多糖病 II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病變、神經白塞病 (neuro-Behcet's disease)、視神經脊髓炎 (NMO)、視神經炎、多發性肌炎、皮肌炎、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷或脊髓損傷。

【請求項69】

如請求項 68 之方法，其中該疾病為阿滋海默症。

【請求項70】

如請求項 68 之方法，其中該疾病為 MS。

【請求項71】

如請求項 1 至 57 中任一項之抗體或如請求項 58 之醫藥組成物，其用於在有此需要的個體中治療與 TREM2 功能喪失相關的病症。

【請求項72】

如請求項 1 至 57 中任一項之抗體或如請求項 58 之醫藥組成物，其用於在有此需要的個體中降低 sTREM2 之量。

【請求項73】

如請求項 71 或 72 所述用途之抗體，其中該病症為神經發炎或神經退化性疾病，或其中該個體患有神經發炎或神經退化性疾病。

【請求項74】

如請求項 73 所述用途之抗體，其中該神經發炎或神經退化性疾病為阿滋海默症、帕金森病、額顳葉失智症、失智症、多發性硬化症 (MS)、肌肉萎縮性側索硬化症 (ALS)、Nasu-Hakola 病、格林-巴利綜合徵 (Guillain-Barré Syndrome, GBS)、胞溶體貯積症、神經鞘磷脂代謝障礙 (Neimann-Pick C)、黏多糖病 II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病變、神經白塞病 (neuro-Behcet's disease)、視神經脊髓炎 (NMO)、視神經炎、多發性肌炎、皮肌炎、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷或脊髓損傷。

【請求項75】

如請求項 74 所述用途之抗體，其中該疾病為阿滋海默症。

【請求項76】

如請求項 74 所述用途之抗體，其中該疾病為 MS。

【請求項77】

一種如請求項 1 至 57 中任一項之抗體或如請求項 58 之醫藥組成物的用途，其用於製備用於在有此需要之個體中治療與 TREM2 功能喪失相關之病症的藥物。

【請求項78】

一種如請求項 1 至 57 中任一項之抗體或如請求項 58 之醫藥組成物的用途，其用於製備用於在有此需要之個體中降低 sTREM2 之量的藥物。

【請求項79】

如請求項 77 或 78 之用途，其中該病症為神經發炎或神經退化性疾病，或其中該個體患有神經發炎或神經退化性疾病。

【請求項80】

如請求項 79 之用途，其中該神經發炎或神經退化性疾病為阿滋海默症、帕金森病、額顳葉失智症、失智症、多發性硬化症 (MS)、肌肉萎縮性側索硬化症 (ALS)、Nasu-Hakola 病、格林-巴利綜合徵 (Guillain-Barré Syndrome, GBS)、胞溶體貯積症、神經鞘磷脂代謝障礙 (Neimann-Pick C)、黏多糖病 II/IIIB、異染性白質失養症、多灶性運動神經病變、神經白塞病 (neuro-Behcet's disease)、視神經脊髓炎 (NMO)、視神經炎、多發性肌炎、皮肌炎、中風、橫貫性脊髓炎、外傷性腦損傷或脊髓損傷。

【請求項81】

如請求項 80 之用途，其中該疾病為阿滋海默症。

【請求項82】

如請求項 80 之用途，其中該疾病為 MS。

# [(發明圖式)]

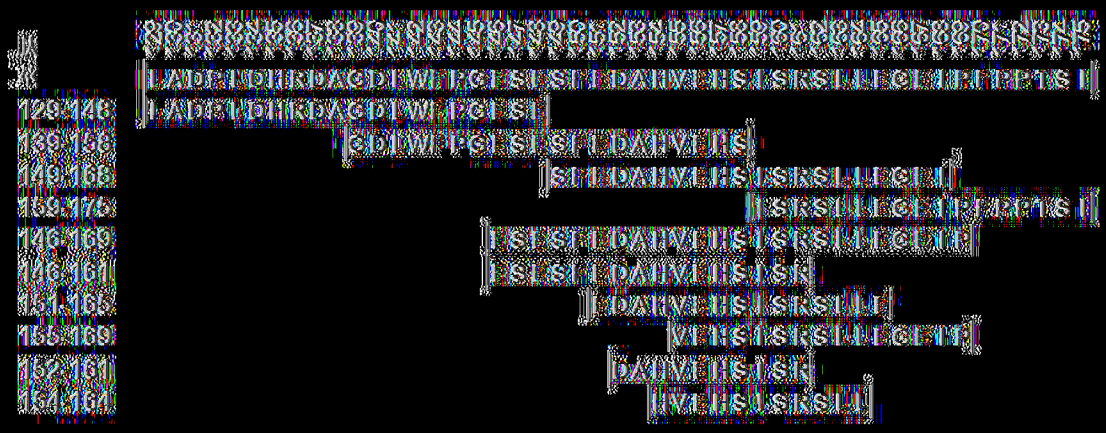


圖 2A

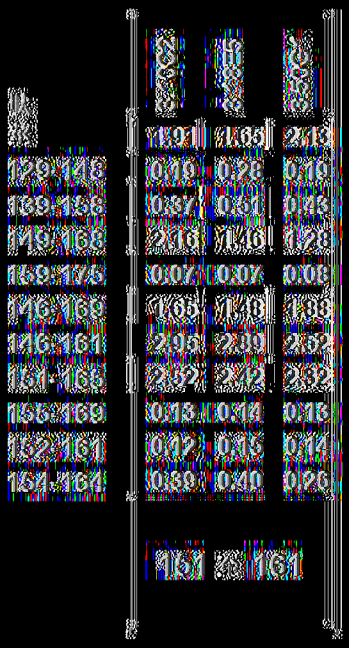


圖 2B

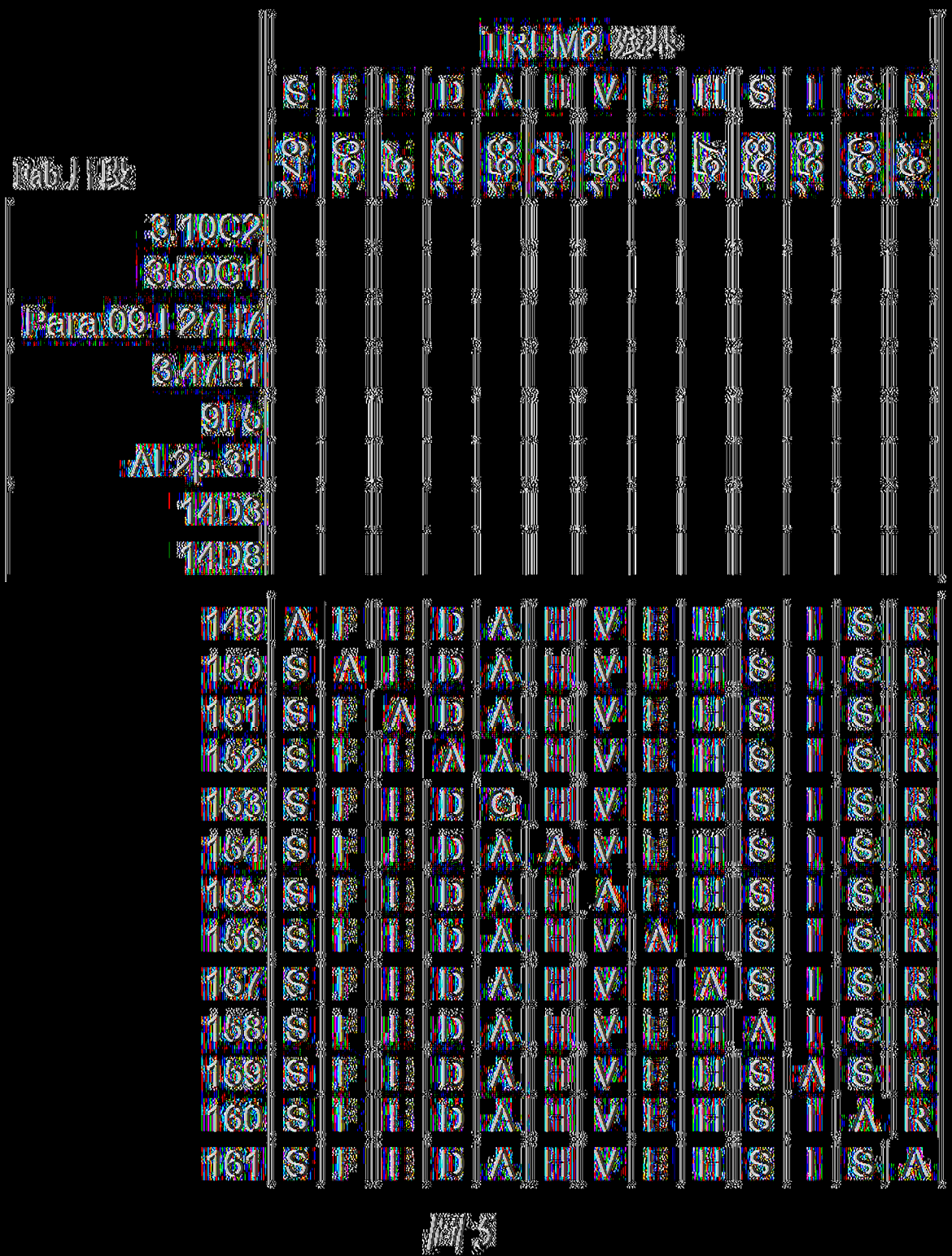

LRI M2 發現
Tab J 股
3.10C2
3.60C1
Para.09 1 2/4 17
3.4/51
9.6
Al 2p 31
1406
1408
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158
159
160
161

圖5

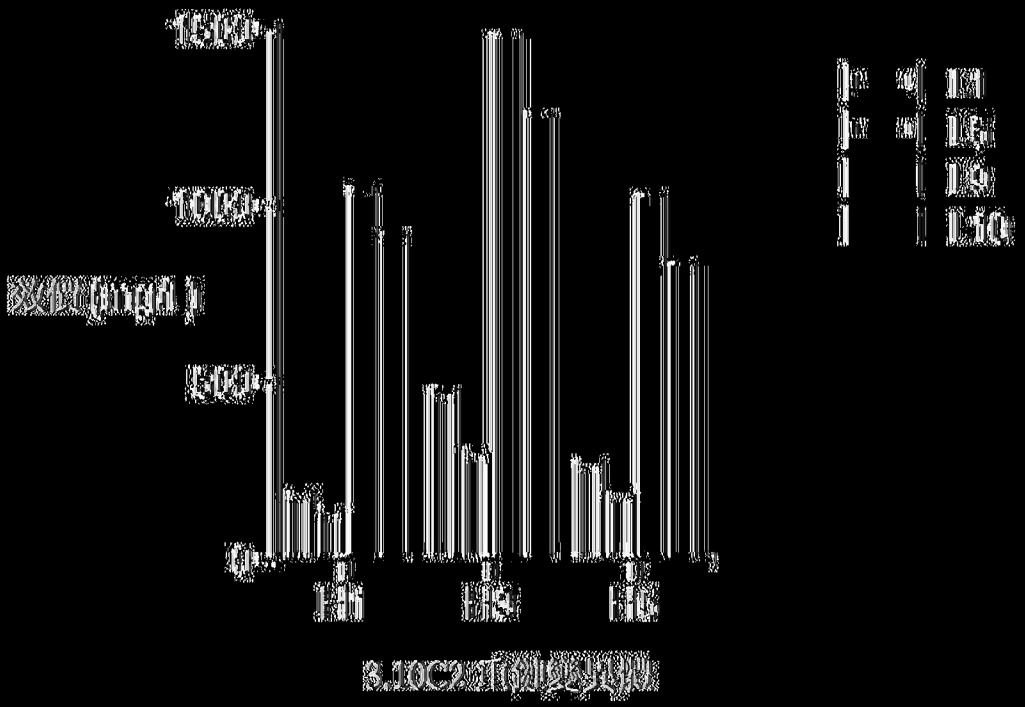


圖 7A

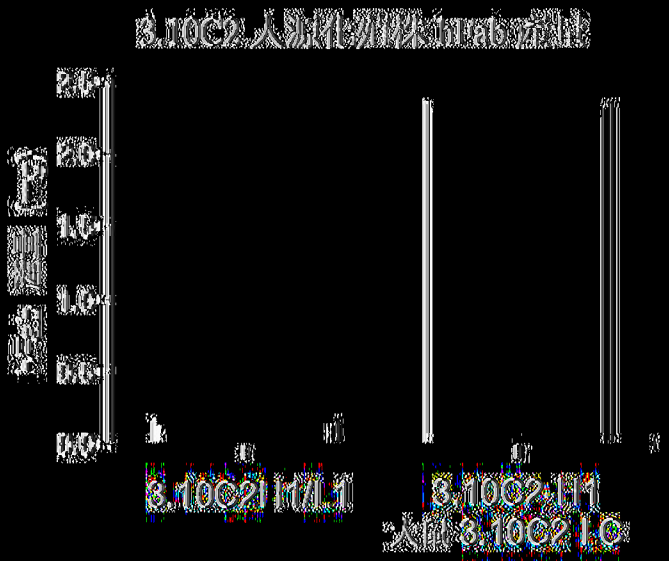


圖 7B

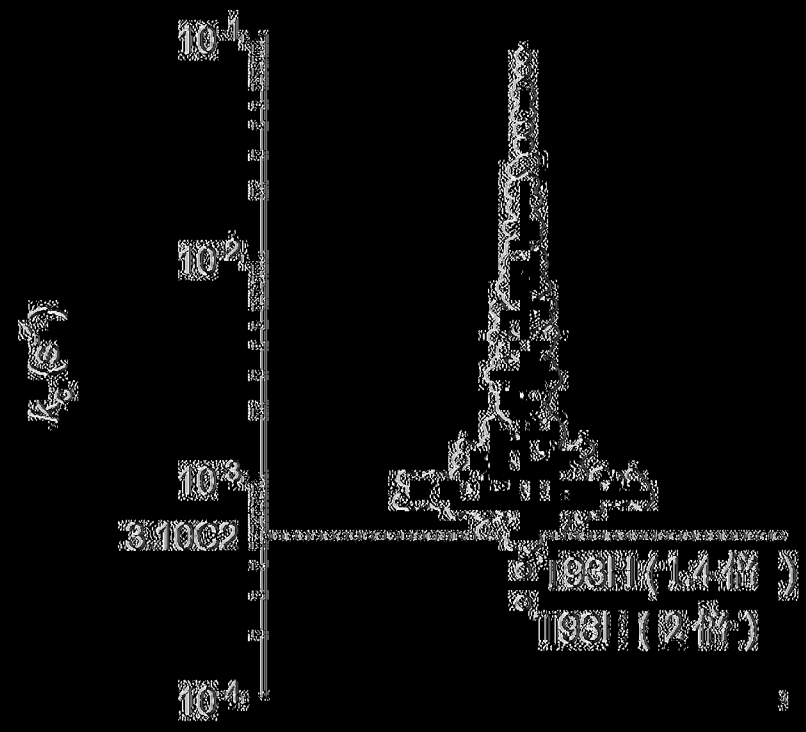

10
10
10
3×10C2
10
1961
1961

圖 10

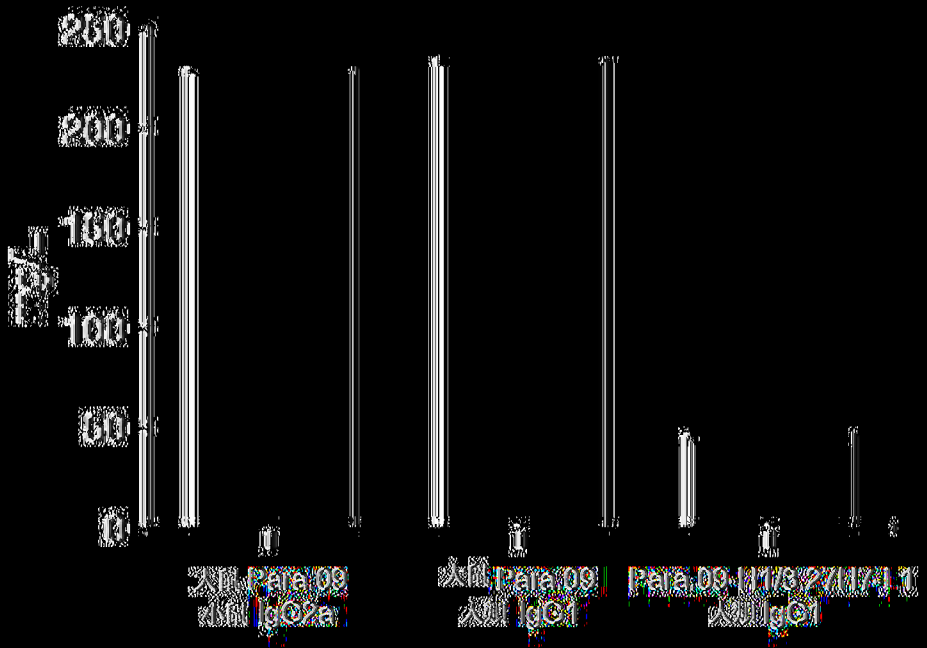
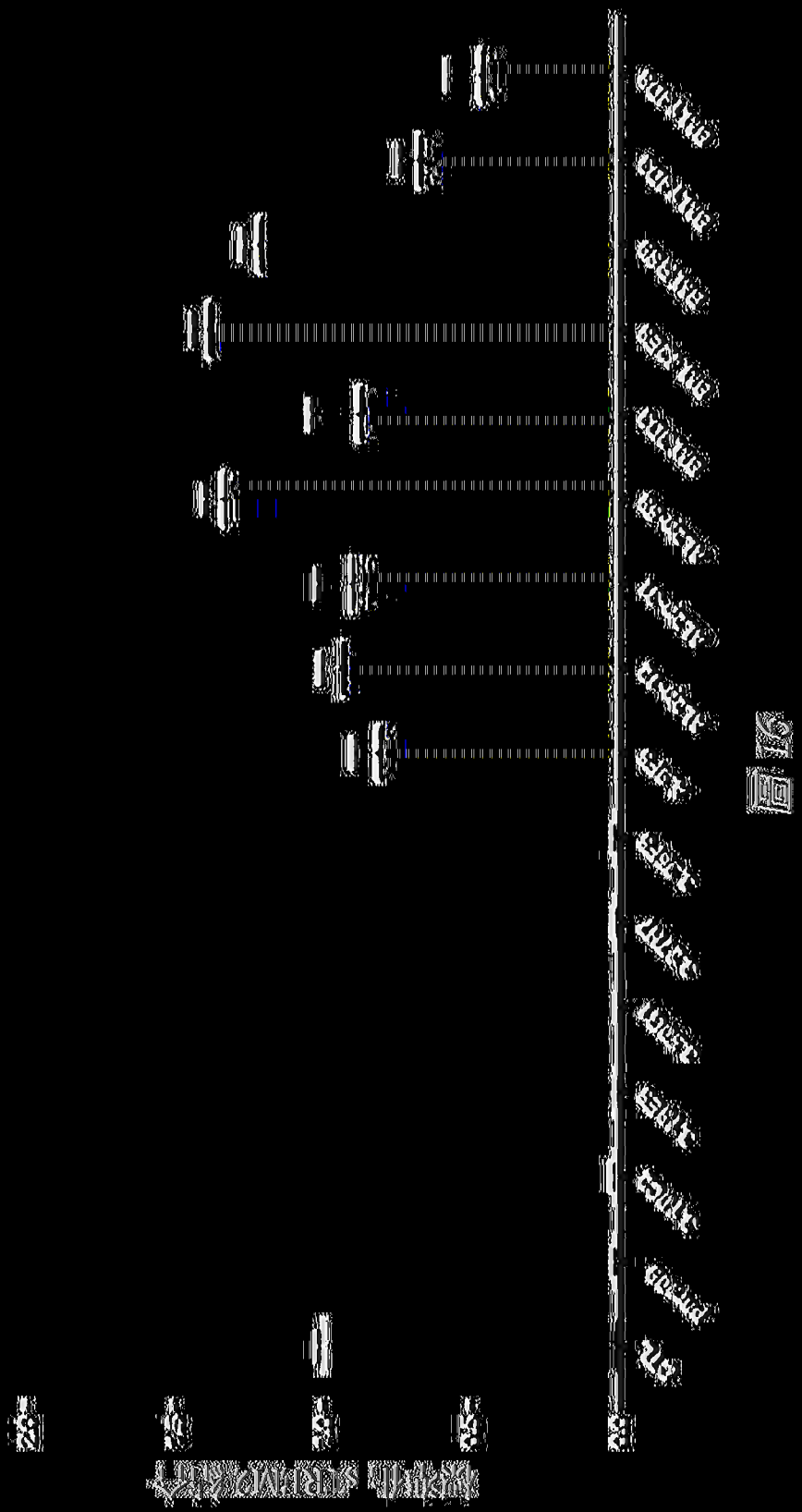

260
200
160
100
60
0
Para 09
Para 09
Para 09

圖 11

BVLLISA
30
25
20
10
5
0
微血管
低對照
Sample 1
Sample 2
Sample 3
Sample 4
Sample 5

圖 15



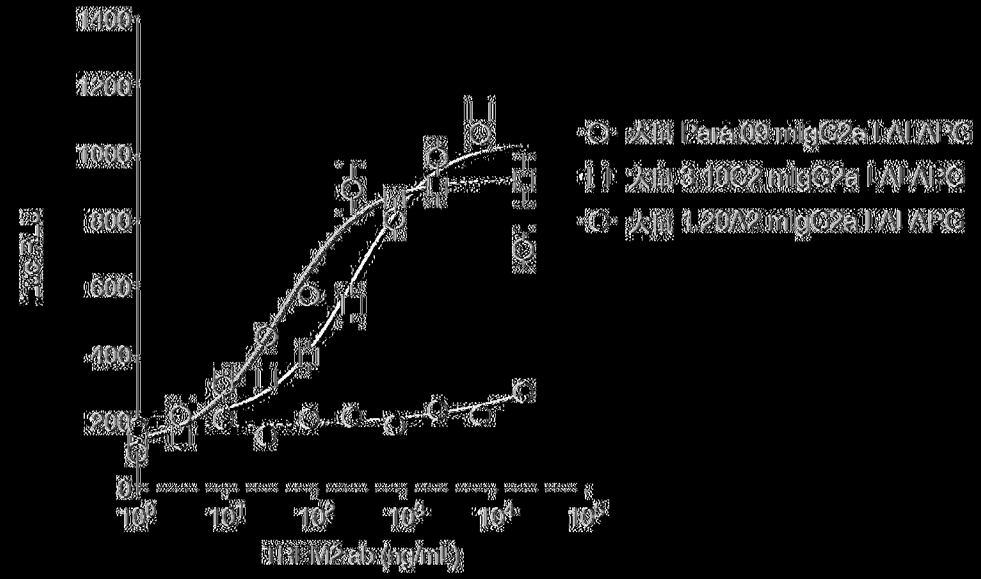

1400
1200
1000
800
600
400
200
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
hPara.09.mIgG2a.hAPG
h3.10G2.mIgG2a.hAPG
h20A2.mIgG2a.hAPG
TRT M2ab (ng/mL)

圖 3A

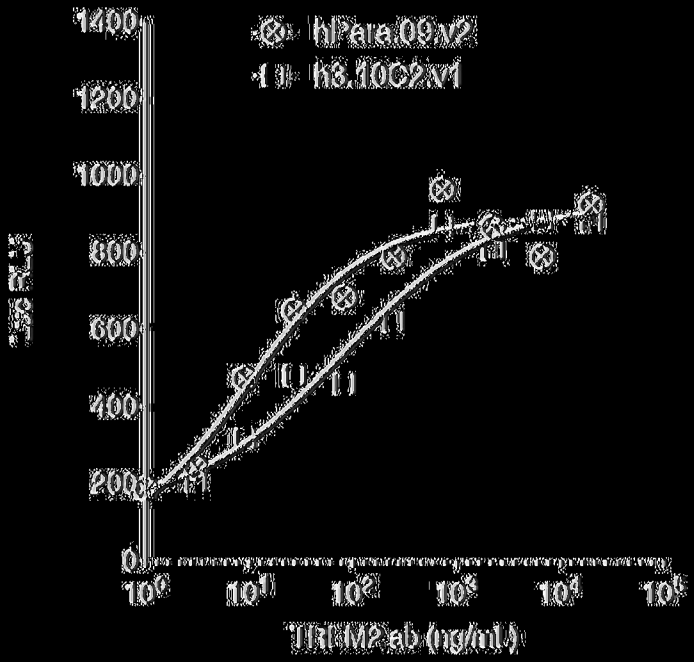

1400
1200
1000
800
600
400
200
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
hPara.09.v2
h3.10G2.v1
TRT M2ab (ng/mL)

圖 3B

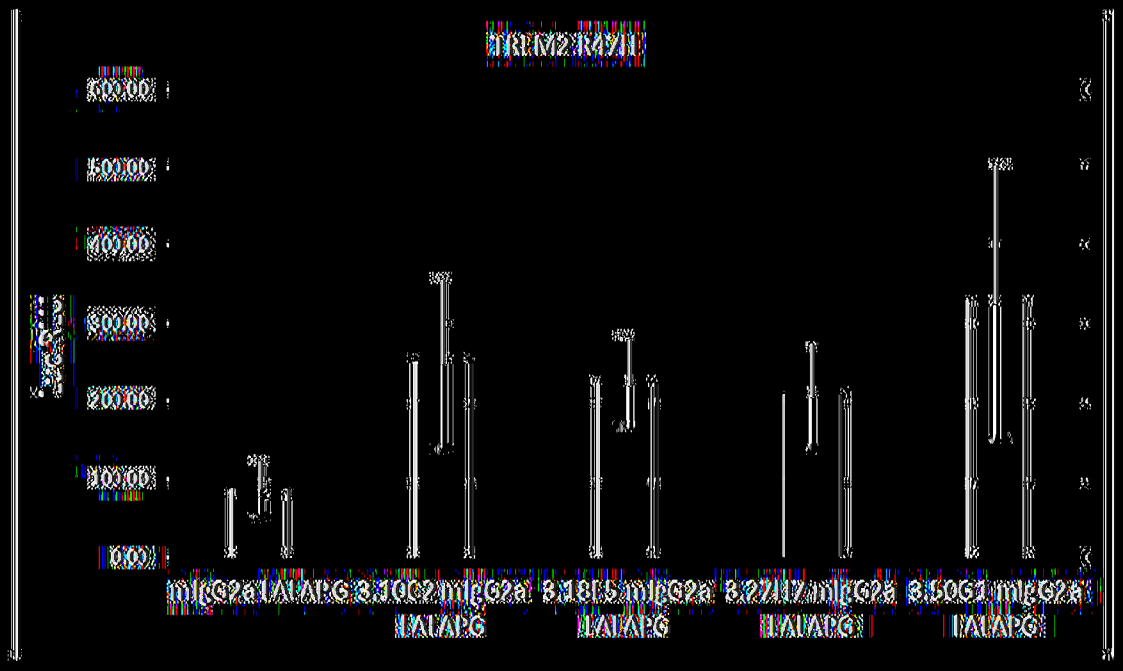

TRIM2 R421I
600.00
500.00
400.00
300.00
200.00
100.00
0.00
mIgG2a LALAPG
3.10G2 mIgG2a LALAPG
3.18F5 mIgG2a LALAPG
3.27H7 mIgG2a LALAPG
3.50G1 mIgG2a LALAPG

圖 19A

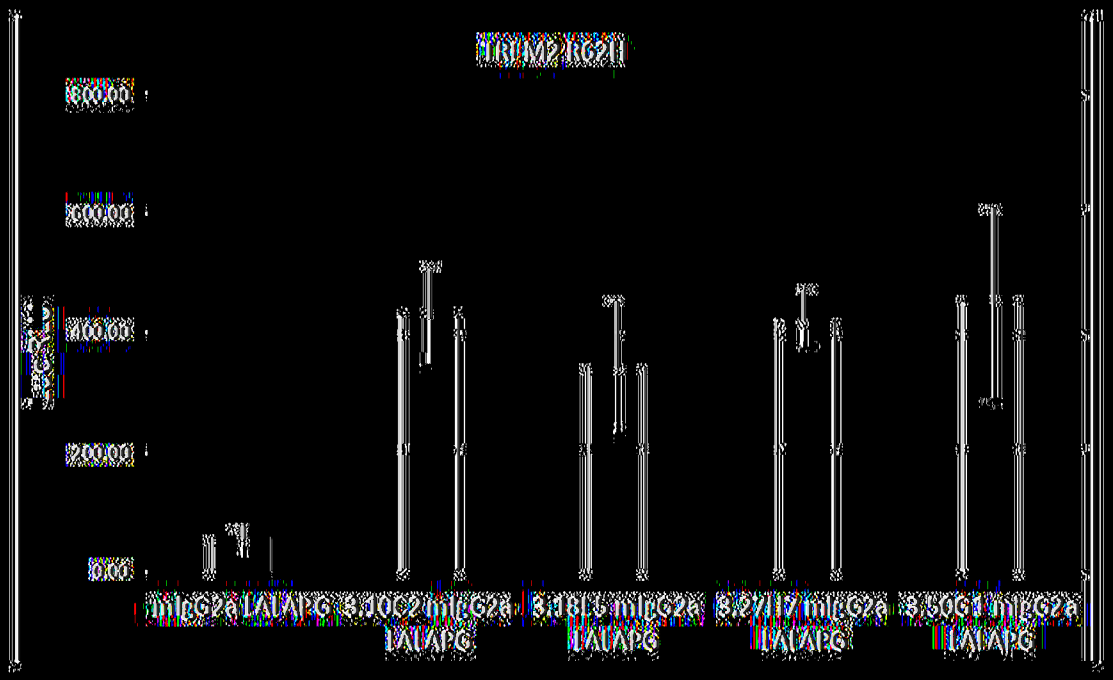

TRIM2 R421I
600.00
500.00
400.00
300.00
200.00
0.00
mIgG2a LALAPG
3.10G2 mIgG2a LALAPG
3.18F5 mIgG2a LALAPG
3.27H7 mIgG2a LALAPG
3.50G1 mIgG2a LALAPG

圖 19B

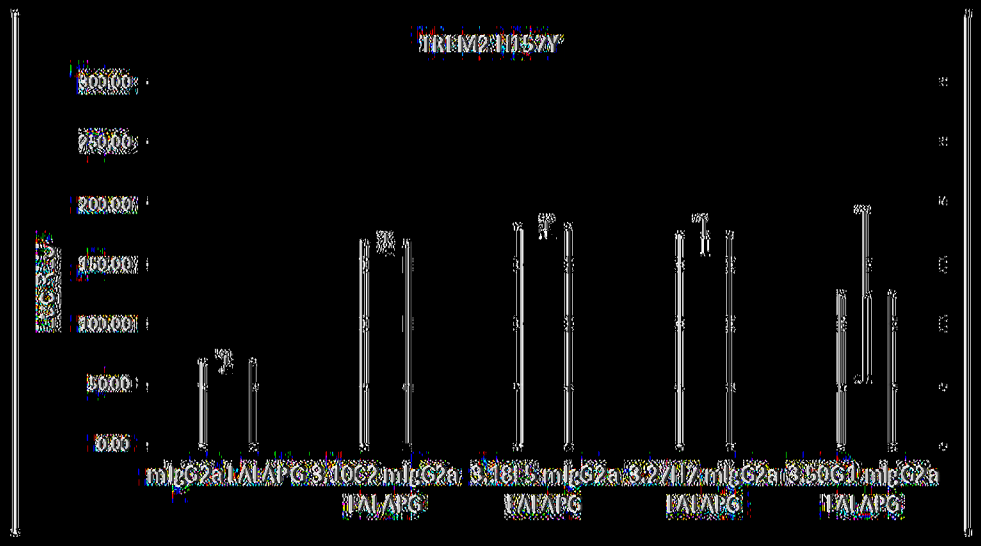

TRIM21-N152A
mIgG2a/LALAPG
3.40G2.mIgG2a/LALAPG
3.18F5.mIgG2a/LALAPG
3.2Z17.mIgG2a/LALAPG
3.60G1.mIgG2a/LALAPG

圖 19C

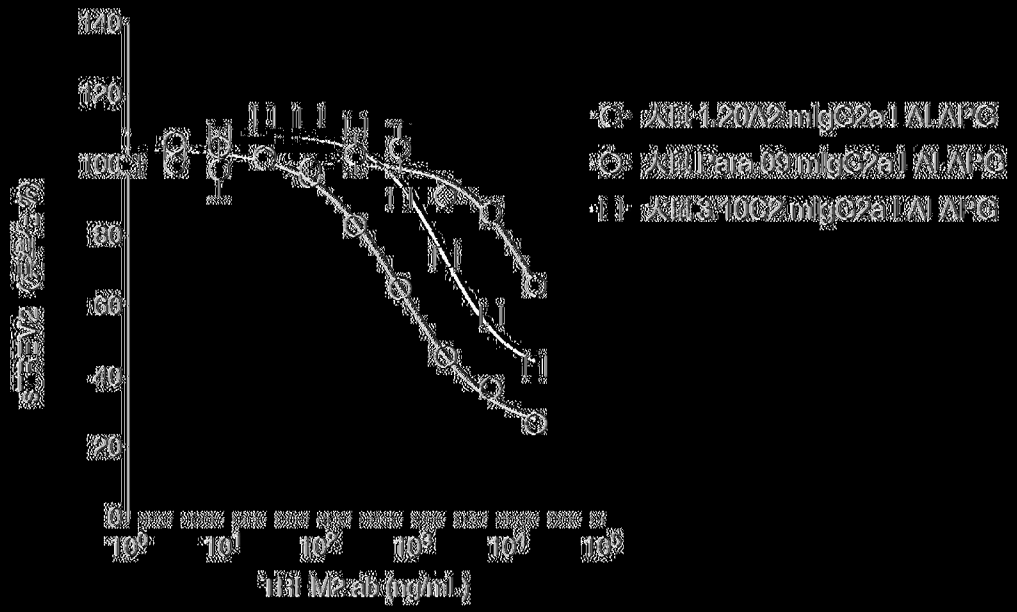

anti-TRIM21 mAb (ng/mL)
C: 2XH1.20A2.mIgG2a/LALAPG
G: 2XH1.Para.09.mIgG2a/LALAPG
I: 2XH1.3.10G2.mIgG2a/LALAPG

圖 20A

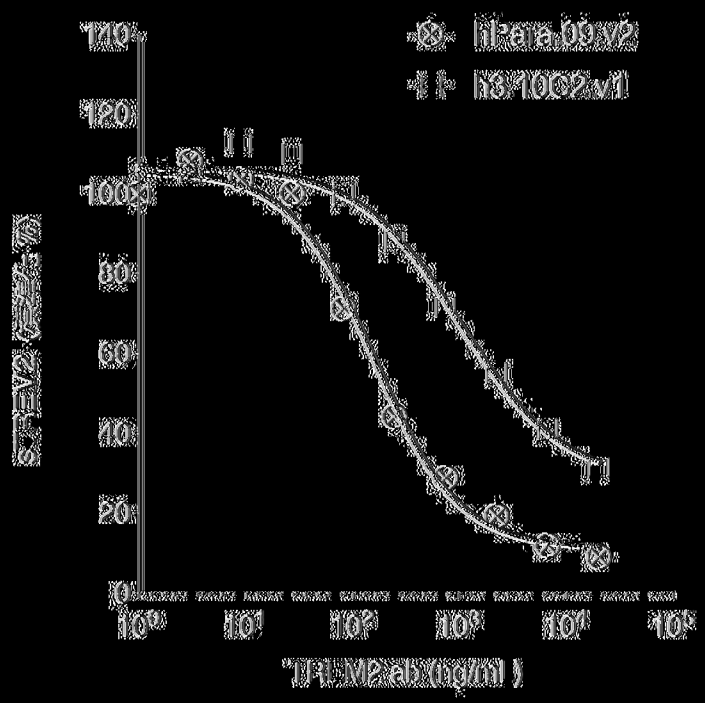

hIPara.09.v2
h3/10G2.v1
T/10
120
100
80
60
40
20
0
10⁰
10¹
10²
10³
10⁴
10⁵
TF1-M2.ab (ng/ml)

圖 20B

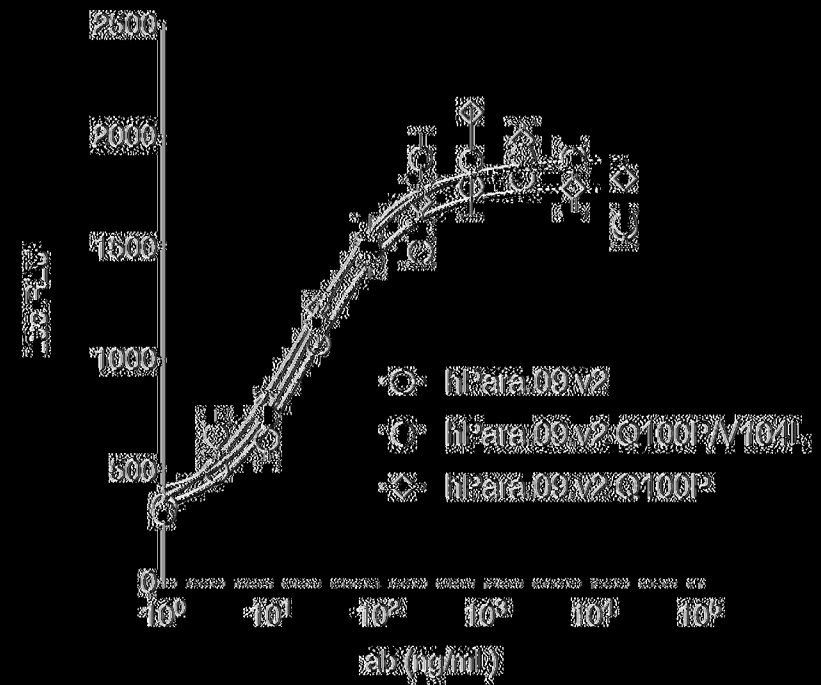

2500
2000
1500
1000
500
0
hIPara.09.v2
hIPara.09.v2-Q100P-V104R
hIPara.09.v2-Q100P
10⁰
10¹
10²
10³
10⁴
10⁵
ab (ng/ml)

圖 20C

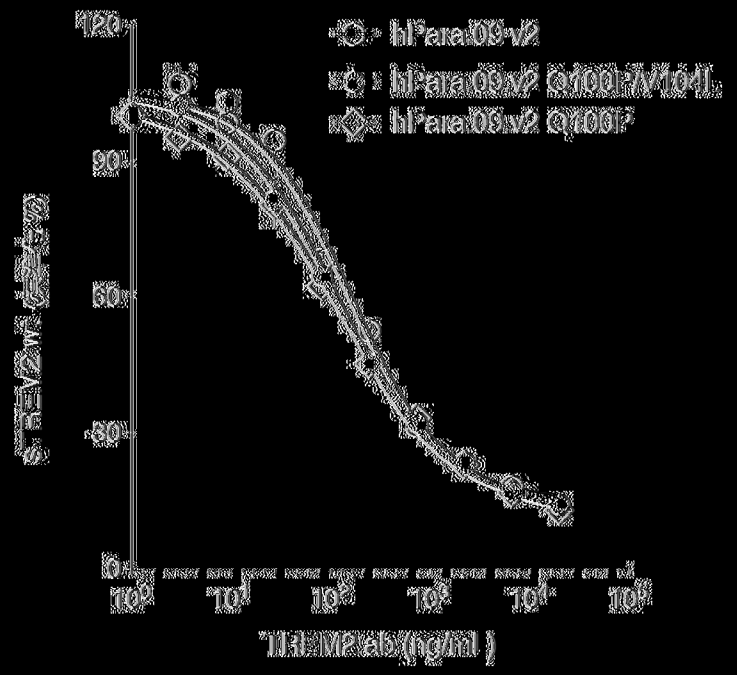

120
90
60
30
0
10²
10³
10⁴
10⁵
10⁶
10⁷
hIFnra09-v2
hIFnra09x/2 Q100PAV104L
hIFnra09x/2 Q100P

圖 20

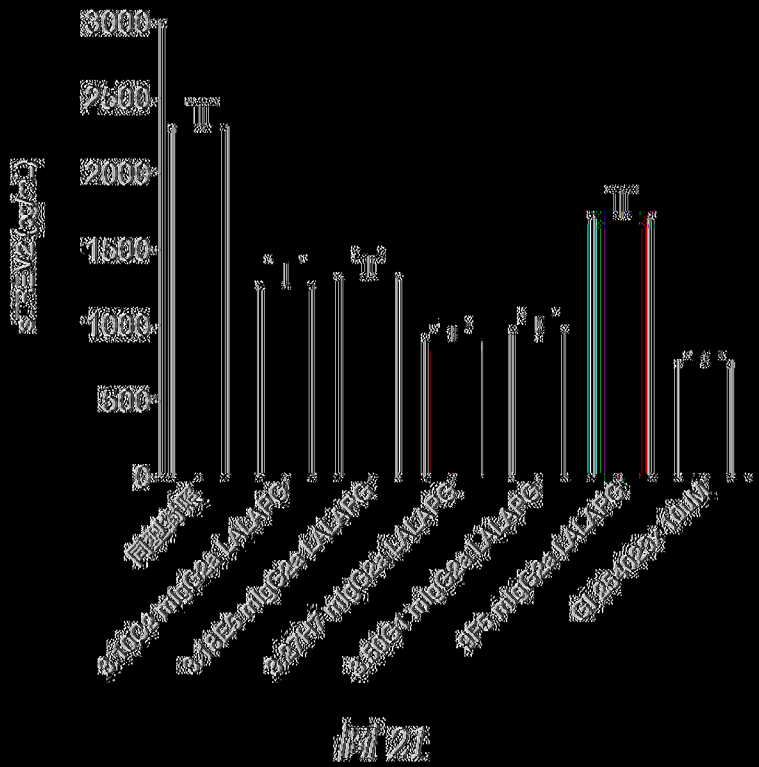
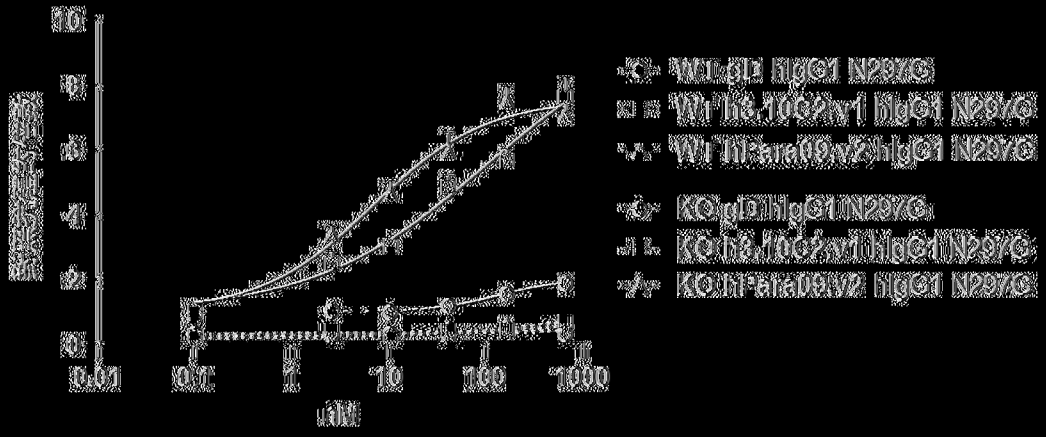

3000
2500
2000
1500
1000
500
0

圖 21

第 22C

IPSC-MG




第 23A

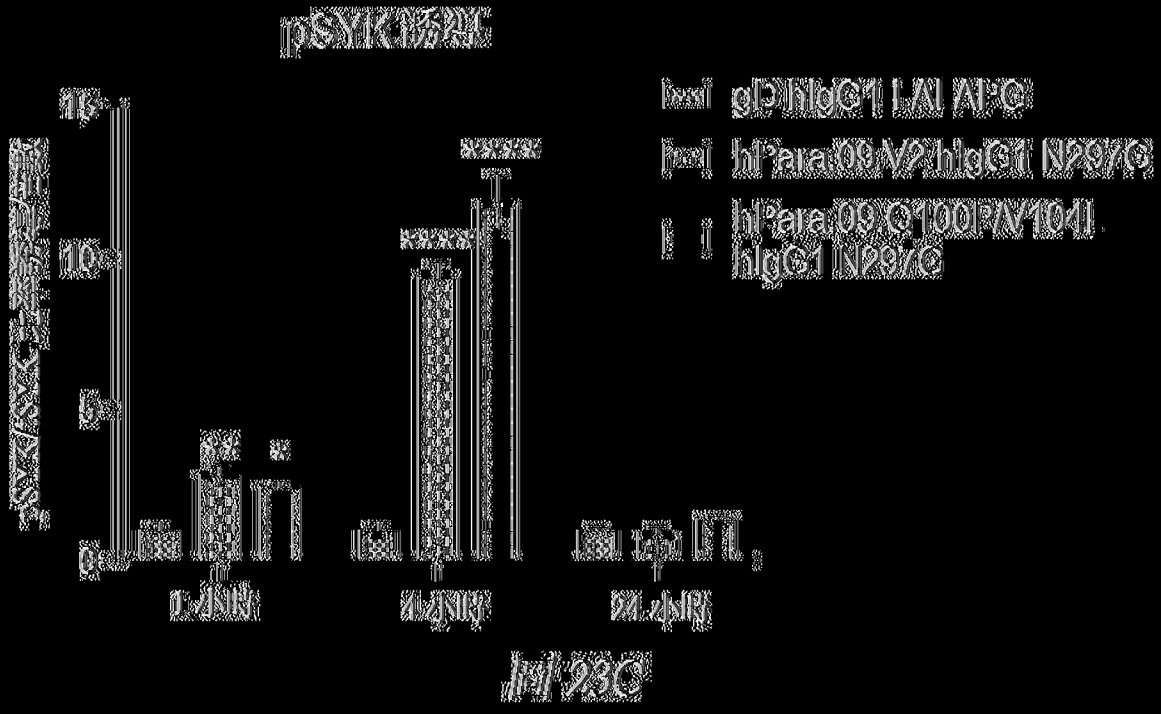

pSYK蛋白
gP hlgG1 LAl AP©
hP ara:09.V2 hlgG1 N297©
hP ara:09.©100P/V104I hlgG1 N297©
15
10
5
0
0小時
4小時
24小時
時間
23℃

圖 3A
Hearing Room Judge Name
Judge Name

圖 25A

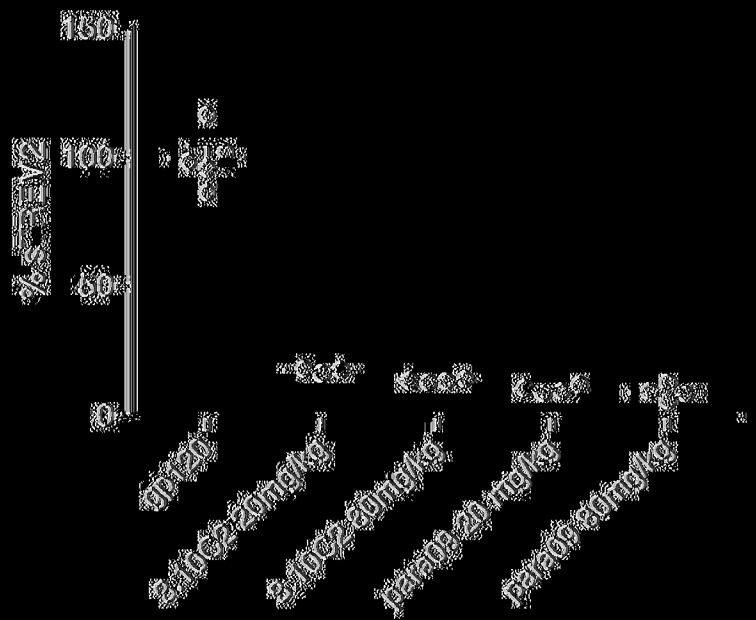
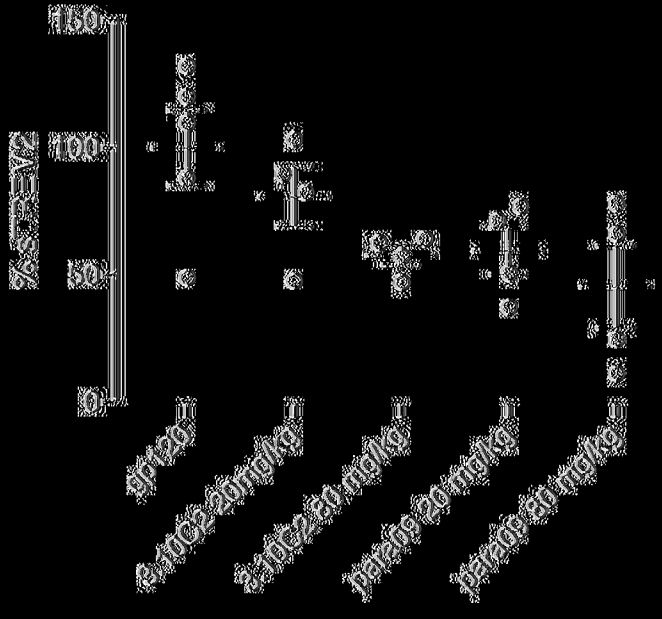
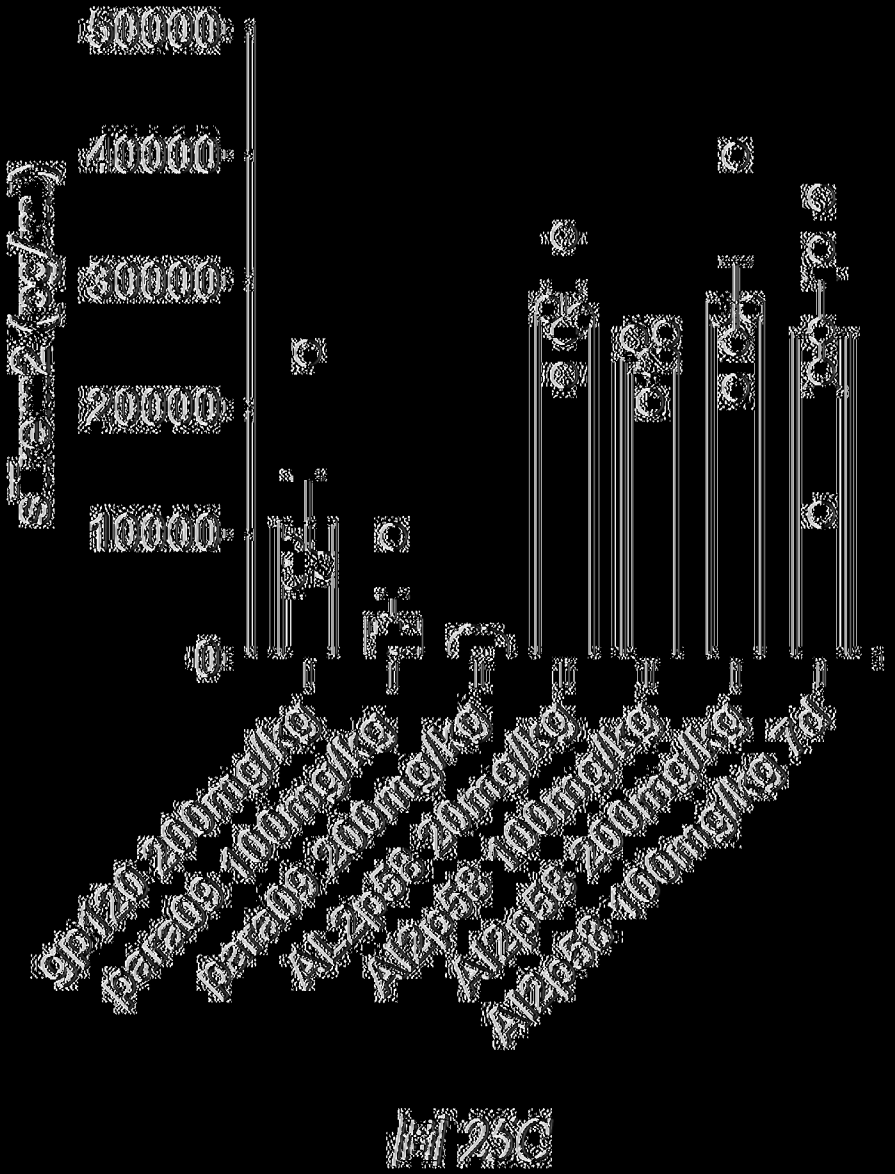

150
100
50
0
qpr120
3,10C2-20mg/kg
3,10C2-20mg/kg
para09-20mg/kg
para09-40mg/kg

圖 25B


150
100
50
0
qpr120
3,10C2-20mg/kg
3,10C2-30 mg/kg
para09-20mg/kg
para09-30 mg/kg

圖式


60000
40000
30000
20000
10000
0
細胞存活率(%)
QP120-200mg/kg
para05-100mg/kg
para02-200mg/kg
AL-2P58-20mg/kg
AQP58-100mg/kg
AQP58-200mg/kg
AQP58-400mg/kg
7d
時間 25C

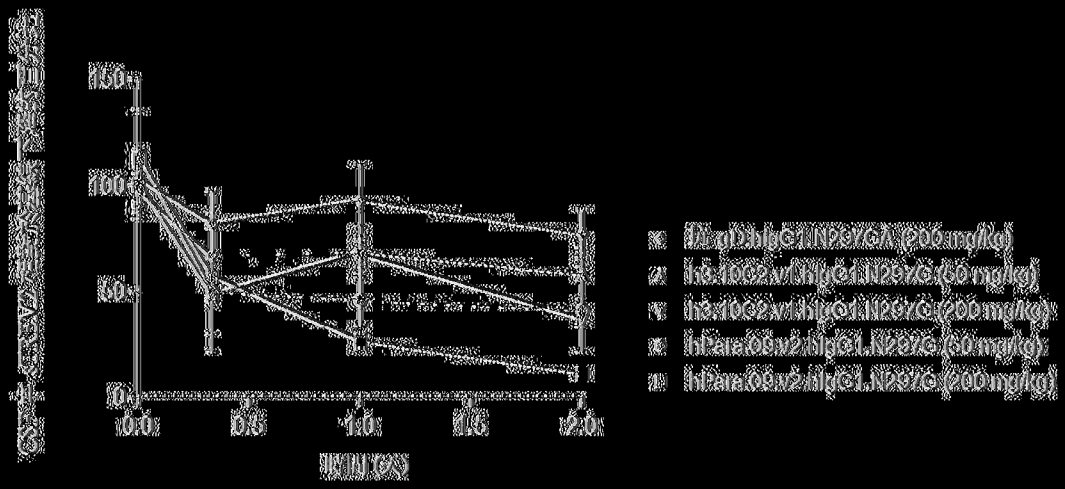



圖 26A

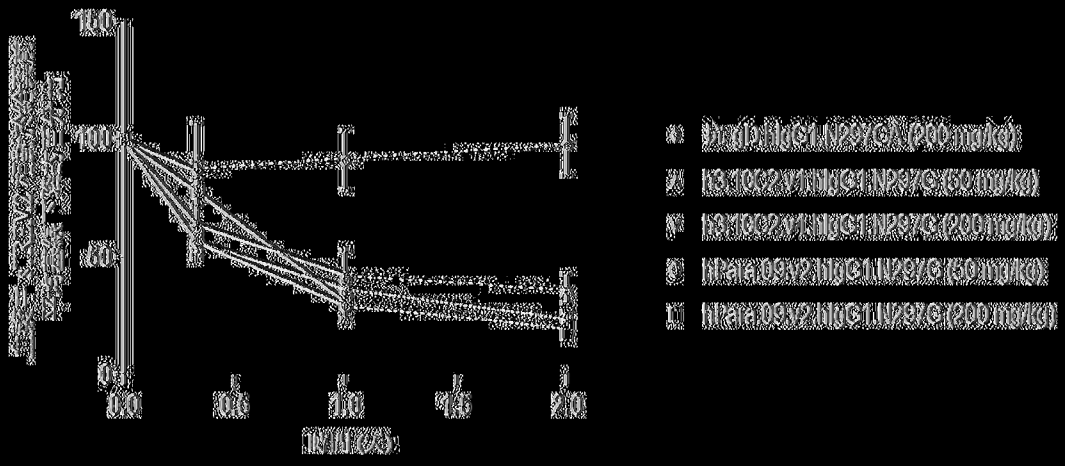



圖 26B

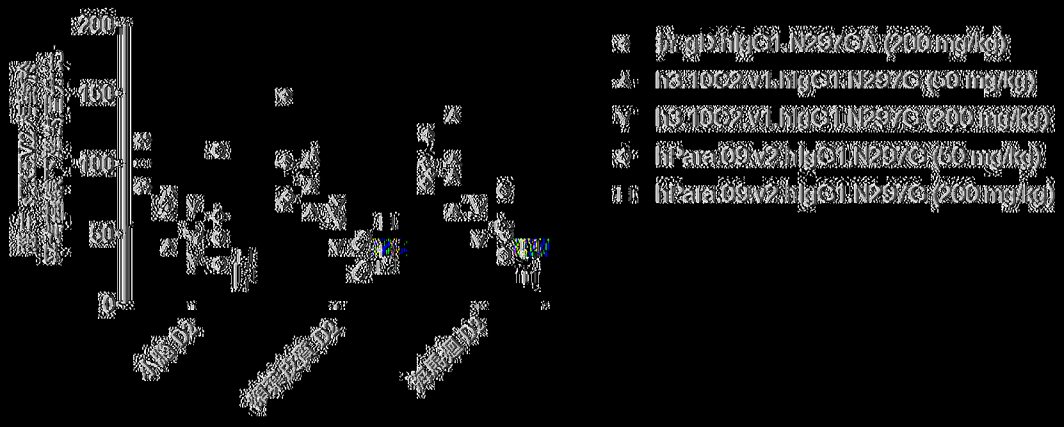

200
150
100
50
0
0
10
20
30
[h-gly.hl]gG1.N297A (200 mg/kg)
h3.10C2.v1.hl]gG1.N297A (50 mg/kg)
[h3.10C2.v1.hl]gG1.N297A (200 mg/kg)
[hl-para.09.v2.hl]gG1.N297A (50 mg/kg)
[hl-para.09.v2.hl]gG1.N297A (200 mg/kg)

圖 26C

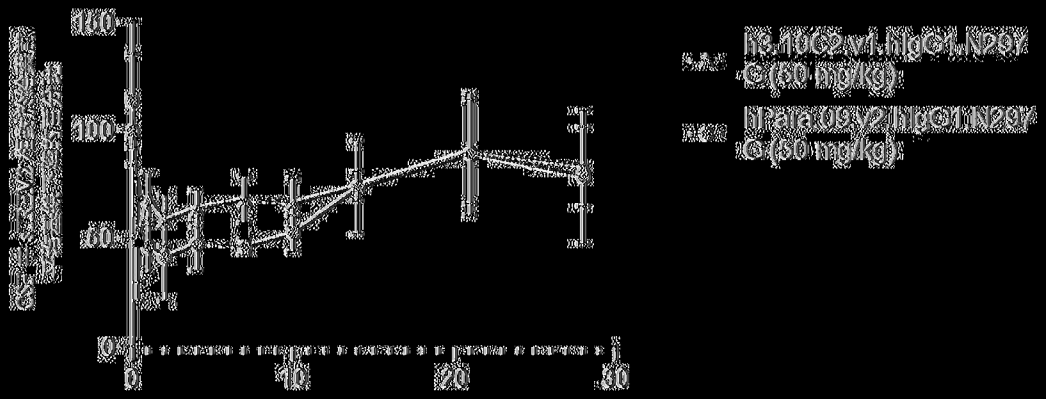

160
100
60
0
0
10
20
30
h3.10C2.v1.hl]gG1.N297A (50 mg/kg)
[hl-para.09.v2.hl]gG1.N297A (50 mg/kg)

圖 26D

- h3'10C2'v1.h1g@1.N29Y@(60 mg/kg)
- hl'ara.09.v2.h1g@1.N29Y@(60 mg/kg)

圖 26F

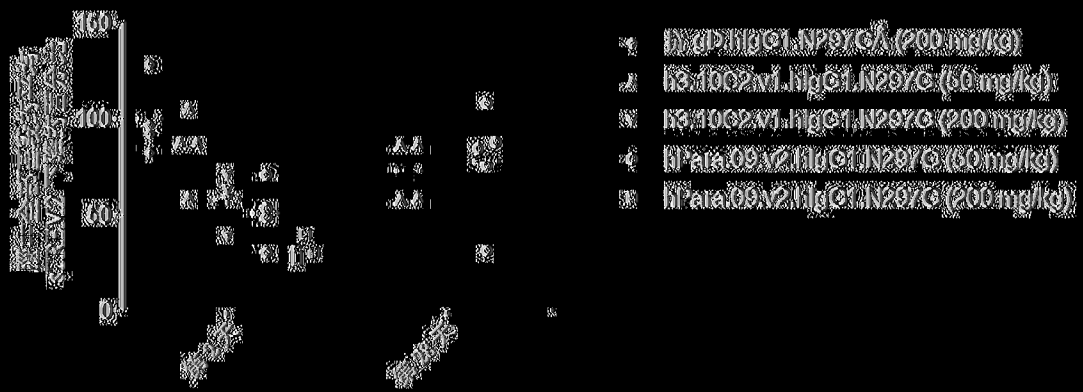



圖 26F

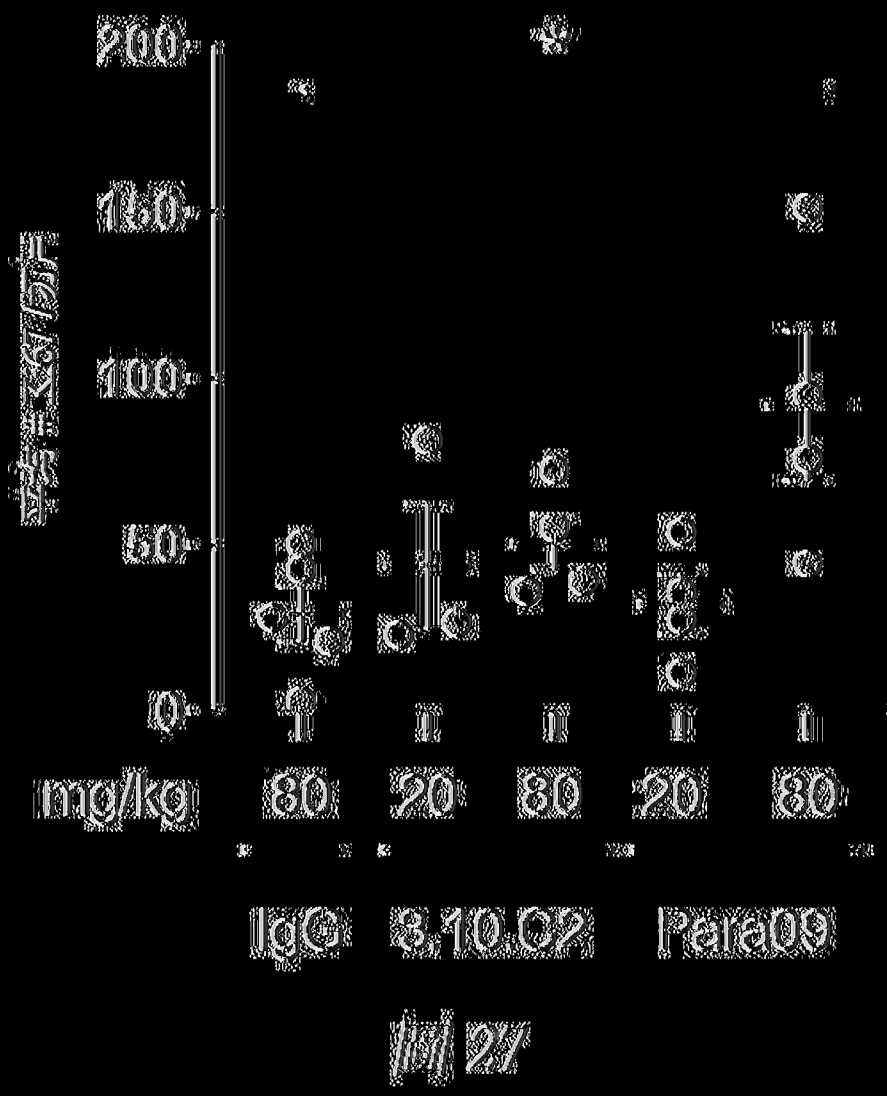



圖 27