



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 119156401 A

(43) 申请公布日 2024.12.17

(21) 申请号 202380039071.X

塔玛拉·谢列坚宁

(22) 申请日 2023.04.06

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

(30) 优先权数据

22167341.1 2022.04.08 EP

23164858.5 2023.03.28 EP

专利代理师 张福誉 韩晓帆

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.11.07

(51) Int.Cl.

C07K 16/18 (2006.01)

G01N 33/577 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2023/059222 2023.04.06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/194565 EN 2023.10.12

(71) 申请人 AC免疫有限公司

地址 瑞士

(72) 发明人 奥斯卡·阿道夫松

鲁斯·吕蒂卡特

权利要求书10页 说明书102页

序列表(电子公布) 附图3页

(54) 发明名称

抗TDP-43结合分子

(57) 摘要

提供了与磷酸化TDP-43特异性结合的TDP-43结合分子,以及编码所述结合分子的核酸分子。这些结合分子可用于诊断和治疗应用,并可包含在合适的组合物和试剂盒中。它们可用于涉及使用捕获抗体对和检测抗体对的配对测定。它们可用于监测与TDP-43相关的疾病,包括用于测试候选治疗剂。

1. TDP-43结合分子,其与磷酸化TDP-43特异性结合,其中所述结合分子包含:

a) 含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

b) 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

c) 含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

d) 含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

e) 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

f) 含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

g) 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

h) 含有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:115的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:116的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL-CDR3。

2. 权利要求1所述的TDP-43结合分子,其中根据(a)、(c)、(f)或(g)中任一者所述的结合分子与TDP-43阳性包涵体结合。

3. 权利要求2所述的TDP-43结合分子,其中与TDP-43阳性包涵体结合是通过免疫组织化学来确定的。

4. 前述权利要求中任一项所述的TDP-43结合分子,其与人TDP-43(SEQ ID NO:1)的包含磷酸化氨基酸残基pS375、pS379、pS403、pS404、pS409和/或pS410的表位结合或者与非人

TDP-43中的等同表位结合。

5. 前述权利要求中任一项所述的TDP-43结合分子,其与人TDP-43 (SEQ ID NO:1)的包含磷酸化氨基酸残基pS403和/或pS404的表位结合或者与非人TDP-43中的等同表位结合。

6. 权利要求5所述的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子以13nM或更小,优选5nM或更小,优选2nM或更小的KD与所述表位结合,优选地其中所述表位包含对应于SEQ ID NO:1第396至409位氨基酸的GFNGGFG (pS) (pS)MDSKS (SEQ ID NO:8) 或由其组成,更优选地其中所述KD通过表面等离子体共振来测量。

7. 权利要求1至4中任一项所述的TDP-43结合分子,其与人TDP-43 (SEQ ID NO:1)的包含磷酸化氨基酸残基pS409和/或pS410的表位结合或者与非人TDP-43中的等同表位结合。

8. 权利要求7所述的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子以3.5nM或更小,优选2.5nM或更小,优选1.7nM或更小的KD与所述表位结合,优选地其中所述表位包含对应于SEQ ID NO:1第401至413位氨基酸的FGSSMDSK (pS) (pS)GWG (SEQ ID NO:9) 或由其组成,更优选地其中所述KD通过表面等离子体共振来测量。

9. 权利要求1至4中任一项所述的TDP-43结合分子,其与人TDP-43 (SEQ ID NO:1)的包含磷酸化氨基酸残基pS375和/或pS379的表位结合或者与非人TDP-43中的等同表位结合。

10. 权利要求9所述的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子以21.5nM或更小的KD与所述表位结合,优选地其中所述表位包含对应于SEQ ID NO:1第370至384位氨基酸的GNNSY (pS)GSN (pS)GAAIG (SEQ ID NO:5) 或由其组成,更优选地其中所述KD通过表面等离子体共振来测量。

11. TDP-43结合分子,优选地其与磷酸化TDP-43结合,所述TDP-43结合分子包含:

a. 含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

b. 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

c. 含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

d. 含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

e. 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的

VL-CDR3;或者

f. 含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

g. 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

h. 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

i. 含有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:115的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:116的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL-CDR3。

12. TDP-43结合分子,其与TDP-43阳性内涵体结合,其中所述结合分子包含:

a. 含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

b. 含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

c. 含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

d. 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

e. 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3。

13. TDP-43结合分子,其与错折叠的聚集TDP-43和非聚集的生理性TDP-43结合,其中所

述TDP-43结合分子包含含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3。

14. 权利要求13所述的TDP-43结合分子,其与人TDP-43 (SEQ ID NO:1) 的第361至414位氨基酸残基内的表位结合或者与非人TDP-43中的等同表位结合。

15. 权利要求13或14中任一项所述的TDP-43结合分子,其以0.39nM或更小的KD与人TDP-43 (SEQ ID NO:1) 结合,优选地其中所述KD通过表面等离子体共振来测量。

16. 前述权利要求中任一项所述的TDP-43结合分子,其包含:

a. 含有SEQ ID NO:10的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:14的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:14的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL);或者

b. 含有SEQ ID NO:20的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:24的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:24的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL);或者

c. 含有SEQ ID NO:30的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:34的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL);或者

d. 含有SEQ ID NO:40的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:44的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:44的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL);或者

e. 含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:54的序列的轻链可变区 (VL);或者

f. 含有SEQ ID NO:60的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:60的氨基酸序列具有至少98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:64的序列的轻链可变区 (VL);或者

g. 含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:74的序列的轻链可变区 (VL);或者

h. 含有SEQ ID NO:80的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:80的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:84的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:84的氨基酸序列具有至少97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL);或者

i. 含有SEQ ID NO:110的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:110的氨基酸序列

具有至少92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:114的序列的轻链可变区(VL)。

17. 前述权利要求中任一项所述的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子是抗体或其抗原结合片段。

18. 前述权利要求中任一项所述的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子是IgA、IgD、IgE、IgM、IgG1、IgG2、IgG2a、IgG2b、IgG3或IgG4抗体,或其抗原结合片段。

19. 前述权利要求中任一项所述的TDP-43结合分子,其中所述结合分子是免疫缀合物。

20. 权利要求19所述的TDP-43结合分子,其中所述免疫缀合物包含顺磁珠。

21. 权利要求19所述的TDP-43结合分子,其中所述免疫缀合物包含生物素。

22. 权利要求19所述的TDP-43结合分子,其中所述免疫缀合物包含另外的治疗分子。

23. 前述权利要求中任一项所述的TDP-43结合分子,其用于人或兽医治疗和/或诊断。

24. 权利要求23所述应用的TDP-43结合分子,其中所述TDP-43结合分子是治疗工具或诊断工具。

25. 权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子,其用于研究用途,特别是作为分析工具或参考分子。

26. 权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子,其用于预防、减轻、治疗和/或诊断与TDP-43相关的疾病、障碍和/或异常。

27. 权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子,其用于预防、减轻、治疗和/或诊断TDP-43蛋白质病。

28. 权利要求27所述应用的TDP-43结合分子,其中所述TDP-43结合分子用作诊断或监测TDP-43蛋白质病的诊断工具。

29. 根据权利要求27或28所述应用的TDP-43结合分子,其中所述TDP-43蛋白质病是以下任一种:

a. 与TDP-43聚集体相关的疾病、障碍和/或异常,其选自肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)、行为变异型额颞痴呆(bvFTD)、语义变异型原发性进行性失语(svPPA)、非流利性/语法缺失型原发性进行性失语(naPPA)、阿尔茨海默病(AD)、唐氏综合征(DS)、家族性英国型痴呆、帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA))、皮质基底节变性(CBD)、尼曼-皮克病(NP,包括C型NP)、面部起病的感觉运动神经元病(FOSMN)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、慢性创伤性脑病、佩里综合征、佩吉特病、多聚谷氨酰胺病(例如亨廷顿病(HD)和脊髓小脑性共济失调3型(SCA3,也称为马查多-约瑟夫病))、海马硬化伴痴呆、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、原发性侧索硬化(PLS)、进行性肌萎缩;或者

b. 由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B、亨廷顿蛋白(HTT)、共济失调蛋白3(ATXN3)基因的突变或变异相关风险等位基因引起的疾病。

30. 根据权利要求27至29中任一项所述应用的TDP-43结合分子,其中所述TDP-43蛋白质病是以下任一种:

a. 与TDP-43聚集体相关的疾病、障碍和/或异常,其选自肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴

呆 (FTD, 包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND (也称为ALS-FTD)、阿尔茨海默病 (AD)、唐氏综合征 (DS)、帕金森病 (PD) 和相关病症 (包括PD痴呆 (PDD)、路易体痴呆 (DLB)、多系统萎缩 (MSA))、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病 (LATE)、肌原纤维肌病 (例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、原发性侧索硬化 (PLS)、进行性肌萎缩;或者

b. 由颗粒蛋白前体 (GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪肽蛋白 (VCP)、血管生成蛋白 (ANG)、结蛋白 (DES)、肌收缩蛋白 (MYOT)、TMEM106B基因的突变或变异相关风险等位基因引起的疾病。

31. 根据权利要求27至30中任一项所述应用的TDP-43结合分子, 其中与TDP-43相关的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病是肌萎缩侧索硬化 (ALS)。

32. 根据权利要求27至30中任一项所述应用的TDP-43结合分子, 其中与TDP-43相关的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病是阿尔茨海默病 (AD)。

33. 根据权利要求27至30中任一项所述应用的TDP-43结合分子, 其中与TDP-43相关的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病是额颞痴呆 (FTD)。

34. 根据权利要求27至30所述应用的TDP-43结合分子, 其中与TDP-43相关的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病是边缘主导年龄相关性TDP-43脑病 (LATE)。

35. 根据权利要求27至30中任一项所述应用的TDP-43结合分子, 其中与TDP-43相关的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病是额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND。

36. 药物组合物, 其包含权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子以及可药用载体和/或赋形剂。

37. 诊断组合物, 其包含权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子以及可接受的载体和/或赋形剂。

38. 核酸分子, 其编码权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子。

39. 权利要求38所述的核酸分子, 其包含如下所示的核苷酸序列: SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:79, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO:118或SEQ ID NO:119。

40. 重组载体, 其包含权利要求38或39所述的核酸。

41. 宿主细胞, 其包含权利要求38或39所述的核酸和/或者权利要求40所述的载体。

42. 宿主细胞, 其表达根据权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子。

43. 表达载体, 其包含权利要求38或39所述的核酸分子。

44. 无细胞表达系统, 其包含权利要求43所述的表达载体。

45. 用于产生TDP-43结合分子, 特别是抗体或其抗原结合片段的方法, 所述方法包括以下步骤:

a. 在适合产生所述结合分子, 特别是所述抗体或其抗原结合片段的条件下培养权利要求41或42所述的宿主细胞或者权利要求44所述的无细胞表达系统; 以及

b. 分离所述结合分子, 特别是所述抗体或其抗原结合片段。

46. 权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子, 其用于检测和/或定量样品中的TDP-43, 其中所述样品是唾液、尿液、鼻分泌物、血液 (包括全血、血浆和血清、富血小板血

浆、血小板胞质溶胶级分)、脑和/或CSF样品、脑和/或ISF样品,更特别地是血液、脑、CSF和/或ISF样品。

47. 权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子,其用于检测和/或定量样品中的磷酸化TDP-43,其中所述样品是唾液、尿液、鼻分泌物、血液(包括全血、血浆和血清、富血小板血浆、血小板胞质溶胶级分)、脑和/或CSF样品、脑和/或ISF样品,更特别地是血液、脑、CSF和/或ISF样品。

48. 权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子在配对测定中的用途,所述配对测定包括以下步骤:

- a. 将样品与捕获抗体和检测抗体一起孵育;
- b. 将步骤a中获得的混合物与适合由所述检测抗体进行检测的试剂一起孵育;
- c. 测量由所述检测抗体发出的信号;

其中所述捕获抗体选自根据权利要求1至22中任一项中所限定的抗体。

49. 权利要求48所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述检测抗体选自根据权利要求1至22中任一项中所限定的抗体。

50. 权利要求48或49所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述试剂是链霉亲和素- β -D-半乳糖苷酶。

51. 权利要求48至50中任一项所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述捕获抗体和/或检测抗体与磷酸化TDP-43结合,优选与磷酸化TDP-43特异性结合。

52. 权利要求48至50中任一项所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述捕获抗体和/或检测抗体与错折叠的聚集TDP-43和非聚集的生理性TDP-43结合。

53. 权利要求48至52中任一项所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述捕获抗体包含:

i. 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

ii. 含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

iii. 含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3。

54. 权利要求48至53中任一项所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述检测抗体包含:

i. 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

ii. 含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的

VH-CDR2、含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VL-CDR3；或者

iii. 含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3；或者

iv. 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3；或者

v. 含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3。

55. 权利要求53或54所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述检测抗体包含:

a. 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3;

并且所述捕获抗体包含:

b. 含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3。

56. 权利要求53或54所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述检测抗体包含:

a. 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;

并且所述捕获抗体包含:

b. 含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VL-CDR3。

57. 权利要求53或54所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述检测抗体包含:

a. 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的

VL-CDR3;

并且所述捕获抗体包含:

b. 含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3。

58. 权利要求53或54所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述检测抗体包含:

a. 含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;

并且所述捕获抗体包含:

b. 含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3。

59. 对样品中的磷酸化TDP-43进行定量的方法,所述方法包括使所述样品与根据权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子接触。

60. 权利要求59所述的定量方法,其中所述样品从对象获得。

61. 权利要求60所述的方法,其中所述样品是人血液、脑脊液(CSF)、组织间液(ISF)、唾液、鼻分泌物和/或尿液,优选血液、CSF或ISF。

62. 权利要求59至61中任一项所述的定量方法,其还包括将从所述样品中检测到的TDP-43水平与对照进行比较。

63. 权利要求62所述的定量方法,其中所述对照包含磷酸化TDP-43。

64. 权利要求62或63所述的定量方法,其中所述对照使用已知量的针对磷酸化TDP-43的校准物进行确定。

65. 对从对象获得的样品中的磷酸化TDP-43进行定量的方法,所述方法包括使用权利要求48至58中任一项所述的TDP-43结合分子。

66. 使用来自对象的样品在两个或更多个时间点监测与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的方法,其包括使所述样品与权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子接触,其中;

a. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43和/或磷酸化TDP-43的水平变化指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的改变;或者

b. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43和/或磷酸化TDP-43的水平无显著变化指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症没有改变。

67. 使用来自对象的样品在两个或更多个时间点监测与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的方法,其包括使所述样品与权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子接触,其中;

a. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43和/或磷酸化TDP-43的水平更高指

示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的进展;或者

b. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43和/或磷酸化TDP-43的水平更低指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的消退;或者

c. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43和/或磷酸化TDP-43的水平无显著变化指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症没有进展。

68. 使用来自对象的样品在两个或更多个时间点监测与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的方法,其包括使所述样品与权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子接触,其中;

a. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43和/或磷酸化TDP-43的水平更高指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的消退;或者

b. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43和/或磷酸化TDP-43的水平更低指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的进展;或者

c. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43和/或磷酸化TDP-43的水平无显著变化指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症没有进展。

69. 权利要求66至68中任一项所述的方法,其在治疗组与安慰剂组之间的匹配样品中在多个时间点进行,以监测候选治疗在限定时间段内的有效性。

70. 试剂盒,其用于诊断与TDP-43相关的疾病、障碍和/或异常或者TDP-43蛋白质病,或者用于权利要求59至69中任一项所述的方法,所述试剂盒包含根据权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子。

71. 权利要求70所述的试剂盒,其包含根据权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子作为捕获抗体,并包含不同的根据权利要求1至22中任一项所述的TDP-43结合分子作为检测抗体。

72. 权利要求71所述的试剂盒,其中所述试剂盒还包含磁性颗粒,所述捕获抗体与所述磁性颗粒连接或者可以与所述磁性颗粒连接。

73. 权利要求71或72所述的试剂盒,其中所述检测抗体被直接或间接标记。

74. 权利要求71至73中任一项所述的试剂盒,其还包含含有所述TDP-43结合分子的容器。

抗TDP-43结合分子

技术领域

[0001] 本发明属于分子量为43kDa的反式激活应答DNA结合蛋白(TDP-43或TARDBP)的领域。本发明涉及与TDP-43和相关TARDBP基因产物结合的分子,特别是抗TDP-43抗体或者其抗原结合片段或衍生物以及它们的用途。本发明提供了诊断、预防、减轻和/或治疗与TDP-43及其多种同种型相关的病症和/或异常的手段和方法,该病症和/或异常包括但不限于肌萎缩侧索硬化(Amyotrophic Lateral Sclerosis,ALS)、额颞痴呆(Frontotemporal Dementia,FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病(Frontotemporal Lobar Degeneration with Motor Neuron Disease)FTLD-MND(也称为ALS-FTD)、阿尔茨海默病(Alzheimer's Disease,AD)、唐氏综合征(Down Syndrome,DS)、帕金森病(Parkinson's Disease,PD)和相关病症(包括PD痴呆(PD with Dementia,PDD)、路易体痴呆(dementia with Lewy Bodies,DLB)、多系统萎缩(multiple system atrophy,MSA))、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(limbic-predominant age-related TDP-43encephalopathy,LATE)、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、原发性侧索硬化(Primary Lateral Sclerosis,PLS)、进行性肌萎缩、以及具有散发性和遗传性起源二者的疾病(包括由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪氨酸蛋白(valosin-containing protein,VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B基因的突变或变异相关风险等位基因引起的遗传病例)。本发明提供了具有独特的序列、结构和稳定性的新的高亲和力抗体和抗体衍生物,其用作诊断、预防、监测、减轻和/或治疗TDP-43相关病症和/或异常的工具。本发明还提供了新的表位特异性TDP-43结合分子,其允许单独或组合在体内或人生物样品中靶向和检测先前不可及的TDP-43形式。

背景技术

[0002] TDP-43及其在中枢神经系统蛋白质病中的作用

[0003] 以蛋白质在中枢神经系统(central nervous system,CNS)和外周器官中病理性聚集为特征的病症(蛋白质病)是世界上失能(disability)和死亡率的主要原因之一。进行病理性聚集的蛋白质之一是分子量为43kDa的反式激活应答DNA结合蛋白(TARDBP或TDP-43)。TDP-43蛋白质病(由TDP-43的聚集形式引起)包括但不限于肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND、行为变异型额颞痴呆(Behavioural Variant Frontotemporal Dementia,bvFTD)、语义变异型原发性进行性失语(Semantic Variant Primary Progressive Aphasia,svPPA)、非流利性/语法缺失型原发性进行性失语(Nonfluent/Agrammatic Primary Progressive Aphasia,naPPA)、阿尔茨海默病(AD)、唐氏综合征(DS)、家族性英国型痴呆、帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA))、皮质基底节变性(Corticobasal degeneration,CBD)、尼曼-皮克病(Niemann-Pick disease,NP,包括C型NP)、面部起病的感觉运动神经元病(Facial-Onset Sensory Motor Neuronopathy,FOSMN)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、慢性创伤性脑病、佩里综合征(Perry syndrome)、佩吉特病(Paget

disease)、多聚谷氨酰胺病(例如亨廷顿病(Huntington's disease,HD)和脊髓小脑性共济失调3型(spino cerebellar ataxia type 3,SCA3,也称为马查多-约瑟夫病(Machado Joseph disease))、海马硬化伴痴呆(hippocampal sclerosis with dementia)、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、原发性侧索硬化(PLS)、进行性肌萎缩(Lagier-Tourenne et al.,Human Molecular Genetics,2010,Vol.19,Review Issue 1R46-R64;de Boer et al..Journal of Neurology,Neurosurgery and Psychiatry 2020Vol.92,Issue 1,86-95;Nelson et al.,Journal of Neuropathology&Experimental Neurology 2020,Vol.75,Issue 6,June 2016,Pages 482-498)。这些包括具有散发性和遗传性起源二者的疾病,包括由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、含缬酪蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、亨廷顿蛋白(huntingtin,HTT)、共济失调蛋白3(ATXN3)、结蛋白(DES)或肌收缩蛋白(MYOT)基因的突变或变异相关风险等位基因引起的遗传病例。

[0004] 2006年,TDP-43被鉴定为在绝大部分具有tau阴性、泛素阳性包涵体的额颞叶变性(frontotemporal lobar degeneration,FTLD)(之后称为FTLD-TDP)的病例中以及在大多数肌萎缩侧索硬化(ALS)病例中积累的蛋白质(Arai et al.,Biochemical and Biophysical Research Communications 351(2006)602-611;Neumann et al.,Science 314,(2006),130-133)。

[0005] 来自患者脑的聚集TDP-43显示出大量异常修饰,包括过度磷酸化、泛素化、乙酰化、以及通过蛋白水解切割的C端片段(Arai et al.,Biochemical and Biophysical Research Communications 351(2006)602-611;Neumann et al.,Science 314,(2006),130-133;Neumann et al.,Acta Neuropathol.(2009)117:137-149;Hasegawa et al.,(2008)Annals of Neurology Vol 64No 1,60-70;Cohen et al.,Nat Commun.6:5845,2015)。TDP-43病理状况的另一个特征性特征是TDP-43从核到胞质的再分布和积累。FTLD-TDP的标志性病变是神经元胞质包涵体和胶质细胞胞质包涵体(分别为NCI和GCI)和营养不良性神经突(dystrophic neurite,DN),其对TDP-43、以及泛素和p62具有免疫反应性,但对其他神经退行性疾病相关蛋白质呈阴性。包涵体形态及其组织分布的差异与特定突变和/或临床表现相关。迄今为止,通过组织学分类描述了四种类型的TDP-43病理状况(Mackenzie and Neumann,J.Neurochem.(2016)138(增刊1),54-70)。FTLD-TDP A型病例的特征在于大量的短的营养不良性神经突(DN)和紧凑的椭圆形或新月形NCI,主要在新皮质II层(Mackenzie et al.,2016J.Neurochem.138(增刊1),54-70,图2f)。这种病理状况的情况通常在临床上在行为变异型额颞痴呆(bvFTD)或非流利性/语法变异型原发性进行性失语(nonfluent/agrammatic variants of Primary Progressive Aphasia,nfvPPA)的情况下出现,并且与颗粒蛋白前体(GRN)突变相关。B型病例在浅表和深皮质层二者中均显示出中等数目的紧凑或颗粒状NCI,且具有相对较少的DN和NII(神经元核内包涵体(neuronal intranuclear inclusion);Mackenzie et al.,2016J.Neurochem.138(增刊1),54-70,图2g)。发现大多数同时出现FTD和ALS症状的病例具有FTLD-TDP B型病理状况。C型病例有大量长而弯曲的神经突,主要在浅表皮质层中,具有很少或没有NCI(Mackenzie et al.,2016J.Neurochem.138(增刊1),54-70,图2j)。这种病理状况特别地在出现语义变异型原发性进行性失语(svPPA)的病例中。FTLD-TDP D型显示在新皮质层中具有丰富的豆状神经元

核内包涵体 (neuronal intranuclear inclusion, NII) 和短的DN, 且具有仅稀少的NCI (Mackenzie et al., 2016 J. Neurochem. 138 (增刊1), 54-70, 图2k)。这种病理状况模式仅在VCP与包涵体肌炎 (inclusion body myositis, IBM) 相关的病例中发现。

[0006] TDP-43蛋白质病的遗传形式

[0007] 已在散发性和家族性ALS患者以及患有遗传性FTD的患者中鉴定出了三十八个TARDBP显性负性突变, 其主要位于编码富含甘氨酸的结构域的序列中 (Lagier-Tourenne and Cleveland, Cell 136, 2009, 1001-1004, 图1)。ALS相关的TARDBP突变使蛋白质更易聚集 (Ticozzi et al., CNS Neurol. Disord. Drug Targets. 2010, 9 (3), 285-296.), 从而使TDP-43聚集与临床疾病表现相联系。

[0008] FTD中的TDP-43

[0009] 额颞痴呆 (FTD) 是一个临床术语, 其涵盖基于额和颞叶的变性 (即称为额颞叶变性 (FTLD) 的病理性特征) 的广泛范围的病症。FTD是65岁以下年龄组中早期退行性痴呆的第二大最主要原因 (Le Ber, Revue Neurologique 169 (2013) 811-819)。FTD表现为数种综合征, 包括以人格和行为变化为特征的bvFTD; 以语言功能变化为特征的语义痴呆 (semantic dementia, SD) 和进行性非流利性失语 (progressive nonfluent aphasia, PNFA); 以运动功能障碍为特征的皮质基底节综合征 (corticobasal syndrome, CBS)、进行性核上性麻痹综合征和运动神经元疾病 (FTD-MND)。这些综合征的临床诊断复杂并且最终结论只能通过进行死后组织病理学分析以检测聚集的蛋白质并确定受影响的脑区域而得出。就病理性蛋白质包涵体而言, 约45%的病例显示出错折叠Tau的病理性积累, 45%的病例具有病理性TDP-43并且较小的亚组具有肉瘤融合蛋白 (fused in sarcoma, FUS) 和其他蛋白质的聚集体。

[0010] ALS中的TDP-43

[0011] 肌萎缩侧索硬化 (ALS) 是神经退行性病症, 其特征在于上和下运动神经元的过早丧失。ALS的进展以致命性麻痹和呼吸衰竭为特征, 其病程从诊断到死亡为1至5年。在大多数散发性ALS病例中, 该神经病理状况的特征在于初级运动皮质、脑干运动核、脊髓和相关白质道的神经元和胶质细胞中TDP-43的异常胞质积累。伴有痴呆的ALS涉及运动外新皮质和海马中TDP-43的积累。TDP-43磷酸化在ALS患者中的作用已借助于抗体进行了探索, 所述抗体与核和胞质的包涵体中磷酸化TDP-43特异性结合, 其中氨基酸S379、S403、S404、S409、S410为TDP-43磷酸化的主要位点 (Hasegawa et al., Ann Neurol 2008; 64: 60-70; Neumann et al., Acta Neuropathol (2009) 117: 137-149)。

[0012] AD中的TDP-43

[0013] TDP-43病理状况发生在多达57%的患有阿尔茨海默病的患者的脑中 (Josephs KA et al., Acta Neuropathol. 2014; 127 (6) : 811-824; Josephs KA et al., Acta Neuropathol. 2014; 127 (3) : 441-450; McAleese et al., Brain Pathol. 2017 Jul; 27 (4) : 472-479)。TDP-43聚集与患者的年龄相关, 并且与AD中认知下降、记忆丧失和颞内侧萎缩相关。显示出在AD中, TDP-43代表与颞叶内侧中 β 淀粉样蛋白和Tau病理状况共有重叠脑分布的第二或独立的病理状况。AD相关病理性TDP-43遵循常规的进行性沉积模式, 这种模式已通过所谓的AD中TDP-43 (TAD) 分期方案进行了描述: TDP-43首先在杏仁核中沉积 (I期), 然后在海马、边缘、颞中沉积并且最终在额叶纹状体 (frontostriatum) 中沉积 (V期) (Josephs KA et al., Acta Neuropathol. 2014; 127 (6) : 811-824; Josephs KA et al., Acta

Neuropathol. 2014;127(3):441-450)。

[0014] 聚集TDP-43的病理性扩散

[0015] 尽管ALS和FTD发作和初始症状在患者间明显不同,但疾病进展的共同特征是病理状况从最初的病灶区域向大多数神经元扩散。症状的持续恶化可通过TDP-43病理状况的进展性扩散来解释。ALS患者脑中的TDP-43病理状况显示以四阶段过程扩散并且认为使用顺行轴突运输通过离皮质轴突透射经突触发生传播(Brettschneider et al., Ann Neurol. 2013 July; 74(1):20-38.)。最近的实验证据表明, β 淀粉样蛋白、tau、 α -突触核蛋白和TDP-43在神经组织中的病理性蛋白质传播是通过共享的朊病毒样机制发生的(Hasegawa et al., 2017),但起点和地形学扩散模式是不同的(Brettschneider J et al., Nature Rev. Neuroscience, 2015, 109)。这些共享传播机制的一个方面被认为是病理性蛋白质聚集体的细胞间扩散。该过程由以下组成:聚集体从病变细胞释放,被幼稚型(受影响较小的)细胞摄取,以及随后通过胞内蛋白质的模板化构象变化对病理性蛋白质构象进行播种(seed)。在TDP-43的情况下,功能性TDP-43蛋白质的隔离(sequestration)可能足够极端而导致细胞缺陷(包括功能丧失机制)。

[0016] TDP-43细胞间扩散已在分子水平上在数种体外模型中进行了研究,其中来自患者脑的不溶性TDP-43制备物能够诱导受体细胞中的胞内聚集体形成(Nonaka et al., Cell Reports 4(2013), 124-134; Feiler et al., 2015; Porta et al., Nat. Comm., 2018)。此外,已观察到胞内TDP-43聚集体可在扩散至接下来的细胞之前与外泌体联合释放(Nonaka et al., Cell Reports 4(2013), 124-134)。类似地,腺病毒转导的TDP-43表达导致磷酸化和泛素化的且更重要地能够充当用于启动细胞间扩散的种子的胞质聚集体(Ishii et al., PLoS ONE 12(6):e0179375, 2017)。患者来源的病理性TDP-43在颅内接种到转基因小鼠和野生型小鼠之后还可导致内源性TDP-43广泛沉积(Porta et al., Nat. Comm., 2018)。

[0017] 神经退行性疾病(包括TDP-43蛋白质病)的鉴别诊断(differential diagnostic)策略

[0018] 基于临床表现的FTD诊断是不充分的,因为临床表现可与其他疾病重叠,特别是在早期阶段。因此,开发生物化学生物标志物来区分不同类型的FTD病理状况是重要的健康相关目标。针对TDP-43不同构象的抗体的开发将是产生更加灵敏且具有特异性的诊断工具的必需步骤。与生物化学生物标志物并行,成像生物标志物的开发可使得能够实现TDP-43蛋白质病中病理状况的早期且特异性检测。对脑中TDP-43沉积进行成像的能力可作为TDP-43蛋白质病的诊断和药物开发的重大成就。使用细胞可渗透的抗体片段可使得能够实现这样的检测。

[0019] 神经退行性疾病中最早的事件是获得使蛋白质有毒(聚集)的替代构象。此外,这种聚集的构象可通过将内源性正常蛋白质募集到错折叠的构象中而自传播,作为所观察到的通过受影响组织而扩散的机制基础。

[0020] 允许对TDP-43的特定同种型或翻译后修饰进行差异靶向的抗体提供了许多优点,因为它们可区分这些蛋白质的疾病相关构象和功能性内源性构象。这些独特的特征为改善诊断和治疗应用提供了潜力,因为这样的抗体可区分先前不可及的TDP-43和TDP-43来源的靶标。因此,这些特征对于开发灵敏且具有特异性的诊断和治疗而言至关重要。这样的TDP-43亚种的高亲和力和选择性靶向对于TDP-43蛋白质病而言特别重要,因为TDP-43聚集可导

致对TDP-43功能的显性负性作用,其如果与功能性TDP-43的无意靶向(inadvertent targeting)相组合的话可加剧疾病。TDP-43蛋白质病的预防和治疗

[0021] TDP-43聚集和病理扩散是ALS和FTD(目前不可治愈的致命性疾病)的主要标志。使用TDP-43结合分子减缓或预防这些致病过程有可能预防或治疗ALS、FTD和上述其他TDP-43蛋白质病。

[0022] TDP-43的正常细胞功能和分布

[0023] 反式激活应答(transactive response,TAR)DNA结合蛋白43kDa(TDP-43)是由染色体1p36.2上的TARDBP基因编码的具有414个氨基酸的蛋白质(也称为ALS10)。多种TARDBP mRNA包含六个(或可能七个)外显子的差异性剪接,所述外显子编码具有共享氨基酸序列的多肽同种型的异质集合(D'Alton et al.,RNA,2015)。在本申请中,TDP-43是指人参考序列(Q13148)及其同种型,包括由差异性剪接产生的多肽、蛋白水解片段和翻译后修饰的多肽。TDP-43属于异质核糖核蛋白(hnRNP)RNA结合蛋白家族(Wang et al.,Trends in Molecular Medicine Vol.14No.11,2008,479-485;Lagier-Tourenne et al.,Human Molecular Genetics,2010,Vol.19,Review Issue 1R46-R64)。TDP-43包含五个功能结构域(Warraich et al.,The International Journal of Biochemistry&Cell Biology 42 (2010)1606-1609,图1):两个RNA识别基序(RRM1和RRM2),其具有两个高度保守的六聚核糖核蛋白2(RNP2)和八聚核糖核蛋白1(RNP1)区域;核输出信号(nuclear export signal,NES)和核定位信号(nuclear localization signal,NLS),使其能够在核和胞质之间穿梭,转运结合的mRNA;以及位于C端的富含甘氨酸的结构域,其介导蛋白质-蛋白质相互作用。TDP-43参与RNA加工的多个方面,包括转录、剪接、转运和稳定化(Buratti and Baralle,FEBS Journal 277 (2010)2268-2281)。TDP-43是高度保守、普遍表达且表达经严格自调节的蛋白质,并且其在核与胞质之间穿梭。TDP-43参与RNA加工的多个阶段,包括转录、剪接、转运和稳定化,所有这些都对神经元功能至关重要。因此,维持TDP-43功能对于产生结构上正确的神经元基因产物以及避免产生潜在的有害产物(包括TDP-43自身的易聚集形式)而言是必不可少的。

[0024] TDP-43及其易聚集形式的胞内消除是通过数种不同降解途径完成的,所述降解途径包括泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin proteasome system,UPS)、自噬-溶酶体途径(autophagy-lysosomal pathway,ALP)以及分子伴侣介导的自噬(chaperone mediated autophagy,CMA),如体外细胞培养和体内研究二者(Wang et al.,2010,Ormeno et al.,2020)中所示。这些消除TDP-43的胞内机制的效力受TDP-43同种型产生和翻译后修饰的差异所控制。特别值得注意的是,细胞中已经存在的聚集TDP-43的负担对其消除速率具有显著的负作用。

[0025] TDP-43在神经退行性疾病的病理状况中的可能作用已被报道,其中在额颞变性(FTD)亚型以及在大多数肌萎缩侧索硬化(ALS)病例中显示出过度磷酸化TDP-43蛋白包涵体的积累(Arai et al.,2006;Neumann et al.,2006)。除FTD和ALS之外,另外的生物化学和免疫组织化学分析已同样表明,磷酸化TDP-43作为患有运动神经元病(motor neuron disease,MND)、阿尔茨海默病(AD)、路易体痴呆、帕金森病(PD)、进行性核上性麻痹(Progressive Supranuclear Palsy,PSP)、皮克病(Pick's disease,PiD)、多系统萎缩(MSA)的患者以及患有亨廷顿病(HD)的患者中大脑皮层和海马中胞质泛素免疫反应性病变

的主要成分 (Davidson et al., 2009)。在胶质细胞和神经元二者中均观察到了该病理状况,其中TDP-43阳性包涵体通常(至少部分)与在这些疾病中发现的更具特征性的包涵体共定位,例如Tau、 α -突触核蛋白、 β -淀粉样蛋白和扩增多聚谷氨酰胺 (Amador-Oriz et al., 2007, Nakashima-Yasuda et al., 2007, Higashi et al., 2007, Schwab et al., 2008, Uryu et al., 2008)。

[0026] 现有技术

[0027] 专利申请W02009/008529公开了与TDP-43蛋白的异常聚集体特异性结合的抗体。

[0028] 专利申请W02011005628A1公开了与TDP-43结合的抗体以及评估对象中存在或不存在神经退行性疾病的方法,其包括将对象的组织样品中的TDP-43进行表征,其中组织是脑脊液。

[0029] 专利申请W02008/042190公开了与TDP-43结合的抗体以及评估对象中存在或不存在神经退行性疾病的方法,其包括将来自所述对象的组织样品中的TDP-43进行表征。

[0030] 专利申请W02020/234473公开了TDP-43特异性结合分子,特别是抗TDP-43抗体或其抗原结合片段或衍生物以及它们的用途,以及诊断、预防、减轻和/或治疗与TDP-43聚集体相关的疾病、障碍和/或异常的方法,所述与TDP-43聚集体相关的疾病、障碍和/或异常包括但不限于额颞痴呆 (FTD)、肌萎缩侧索硬化 (ALS)、阿尔茨海默病 (AD)、帕金森病 (PD)、慢性创伤性脑病 (Chronic Traumatic Encephalopathy, CTE) 和边缘主导年龄相关性TDP-43脑病 (LATE)。

发明内容

[0031] 鉴于前述内容,需要这样的TDP-43结合分子,其选择性靶向存在于人组织和生物流体中的特定TDP-43同种型和/或TDP-43的翻译后修饰形式(即磷酸化形式)。这样的结合分子可用于原位检测、测量或消除神经元细胞中的TDP-43物质或者被储存或释放到其他组织或生物体液中的TDP-43物质。此外,它们可用作评价或筛查其他TDP-43结合分子的活性的工具。

[0032] 使用所述TDP-43结合分子开发灵敏且具有特异性的生物流体免疫测定是紧迫的任务,并且将允许区分具有其中TDP-43蛋白质病在疾病病因或疾病进展中发挥作用的病理状况的个体或个体组。还迫切需要类似的测定用于评价这样的候选治疗策略,所述候选治疗策略靶向TDP-43或TDP-43相关途径,其可区分疾病相关的病理过程和正常的细胞功能。鉴于TDP-43蛋白质病在很大程度上伴随着TDP-43功能的全面丧失,因此区分TDP-43的促进健康形式和病理形式的能力至关重要。

[0033] 本发明涉及TDP-43结合分子。本文中所述的TDP-43结合分子与人TDP-43 (SEQ ID NO:1) 的第361至414位氨基酸残基内的表位结合或者与非人TDP-43中的等同表位结合。在一个实施方案中,TDP-43结合分子与包含人TDP-43 (SEQ ID NO:1) 的磷酸化氨基酸残基pS403、pS404、pS409和/或pS410中的至少一种、两种、三种或四种的表位结合,或者与非人TDP-43中的等同表位结合。在另一个实施方案中,TDP-43结合分子与包含人TDP-43 (SEQ ID NO:1) 的磷酸化氨基酸残基pS375和/或pS379中的至少一种或两种的表位结合,或者与非人TDP-43中的等同表位结合。如本文中所示,磷酸化丝氨酸残基被描述为pS,其中氨基酸残基根据SEQ ID NO:1中所示的人TDP-43氨基酸序列进行编号。在一个实施方案中,TDP-43结合

分子与包含人TDP-43 (SEQ ID NO:1)的磷酸化氨基酸残基pS403和/或pS404的表位结合,或者与非人TDP-43中的等同表位结合。在另一个实施方案中,TDP-43结合分子与包含人TDP-43 (SEQ ID NO:1)的磷酸化氨基酸残基pS409和/或pS410的表位结合,或者与非人TDP-43中的等同表位结合。在另一个实施方案中,TDP-43结合分子与包含人TDP-43 (SEQ ID NO:1)的磷酸化氨基酸残基pS375和/或pS379的表位结合,或者与非人TDP-43中的等同表位结合。与以上列出的一种、两种、三种或四种特征的组合无关,本发明的结合分子,优选抗体或其抗原结合片段,可降低体内TDP-43特异性包涵体和/或磷酸化TDP-43内的TDP-43水平。

[0034] 本发明的TDP-43结合分子可用于药物筛查测定。因此,本发明还提供了本发明TDP-43结合分子在筛查TDP-43靶向药物的测定或方法中、例如在评估TDP-43靶向药物效力的测定或方法中的用途。

[0035] 在以下经编号的实施方案中概括了本发明:

[0036] 1. TDP-43结合分子,其与磷酸化TDP-43特异性结合,其中所述结合分子包含:

[0037] a) 含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0038] b) 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0039] c) 含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0040] d) 含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0041] e) 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0042] f) 含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0043] g) 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序

列的VL-CDR3。

[0044] 1'. TDP-43结合分子,其与磷酸化TDP-43特异性结合,其中所述结合分子包含:

[0045] a) 含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0046] b) 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0047] c) 含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0048] d) 含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0049] e) 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0050] f) 含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0051] g) 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0052] h) 含有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:115的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:116的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0053] 2. 实施方案1所述的TDP-43结合分子,其中根据(a)、(c)、(f)或(g)中任一者所述的结合分子与TDP-43阳性包涵体结合。

[0054] 3. 实施方案2所述的TDP-43结合分子,其中与TDP-43阳性包涵体结合是通过免疫组织化学来确定的。

[0055] 4. 前述实施方案中任一项所述的TDP-43结合分子,其与人TDP-43 (SEQ ID NO:1)

的包含磷酸化氨基酸残基pS403、pS404、pS409和/或pS410的表位结合或者与非人TDP-43中的等同表位结合。

[0056] 4'. 实施方案1至3中任一项所述的TDP-43结合分子,其与人TDP-43 (SEQ ID NO:1)的包含磷酸化氨基酸残基pS375、pS379、pS403、pS404、pS409和/或pS410的表位结合或者与非人TDP-43中的等同表位结合。

[0057] 5. 前述实施方案中任一项所述的TDP-43结合分子,其与人TDP-43 (SEQ ID NO:1)的包含磷酸化氨基酸残基pS403和/或pS404的表位结合或者与非人TDP-43中的等同表位结合。

[0058] 6. 实施方案5所述的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子以13nM或更小,优选5nM或更小,优选2nM或更小的KD与表位结合,优选地其中所述表位包含对应于SEQ ID NO:1第396至409位氨基酸的GFNGGFG (pS) (pS)MDSKS (SEQ ID NO:8) 或由其组成,更优选地其中所述KD通过表面等离子体共振来测量。

[0059] 7. 实施方案1至4中任一项所述的TDP-43结合分子,其与人TDP-43 (SEQ ID NO:1)的包含磷酸化氨基酸残基pS409和/或pS410的表位结合或者与非人TDP-43中的等同表位结合。

[0060] 8. 实施方案7所述的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子以3.5nM或更小,优选2.5nM或更小,优选1.7nM或更小的KD与所述表位结合,优选地其中所述表位包含对应于SEQ ID NO:1第401至413位氨基酸的FGSSMSDK (pS) (pS)GWG (SEQ ID NO:9) 或由其组成,更优选地其中所述KD通过表面等离子体共振来测量。

[0061] 8'. 实施方案1至4中任一项所述的TDP-43结合分子,其与人TDP-43 (SEQ ID NO:1)的包含磷酸化氨基酸残基pS375和/或pS379的表位结合或者与非人TDP-43中的等同表位结合。

[0062] 8''. 实施方案8' 所述的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子以21.5nM或更小的KD与所述表位结合,优选地其中所述表位包含对应于SEQ ID NO:1第370至384位氨基酸的GNNSY (pS) GSN (pS) GAAIG (SEQ ID NO:5) 或由其组成,更优选地其中所述KD通过表面等离子体共振来测量。

[0063] 9. TDP-43结合分子,优选地其与磷酸化TDP-43结合,所述TDP-43结合分子包含:

[0064] a. 含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0065] b. 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0066] c. 含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0067] d. 含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0068] e. 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0069] f. 含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0070] g. 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0071] h. 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0072] 9'. TDP-43结合分子, 优选地其与磷酸化TDP-43结合, 所述TDP-43结合分子包含:

[0073] a. 含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0074] b. 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0075] c. 含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0076] d. 含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0077] e. 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列

的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0078] f.含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0079] g.含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0080] h.含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0081] i.含有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:115的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:116的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0082] 10. TDP-43结合分子,其与TDP-43阳性内涵体结合,其中所述结合分子包含:

[0083] a.含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0084] b.含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0085] c.含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0086] d.含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0087] e.含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0088] 11. TDP-43结合分子,其与错折叠的聚集TDP-43和非聚集的生理性TDP-43结合,其中所述TDP-43结合分子包含含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0089] 12. 实施方案11所述的TDP-43结合分子,其与人TDP-43 (SEQ ID NO:1) 的第361至414位氨基酸残基内的表位结合或者与非人TDP-43中的等同表位结合。

[0090] 13. 实施方案11或12中任一项所述的TDP-43结合分子,其以0.39nM或更小的KD与人TDP-43 (SEQ ID NO:1) 结合,优选地其中所述KD通过表面等离子体共振来测量。

[0091] 14. 前述实施方案中任一项所述的TDP-43结合分子,其包含:

[0092] a. 含有SEQ ID NO:10的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:14的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:14的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL);或者

[0093] b. 含有SEQ ID NO:20的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:24的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:24的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL);或者

[0094] c. 含有SEQ ID NO:30的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:34的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL);或者

[0095] d. 含有SEQ ID NO:40的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:44的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:44的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL);或者

[0096] e. 含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:54的序列的轻链可变区 (VL);或者

[0097] f. 含有SEQ ID NO:60的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:60的氨基酸序列具有至少98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:64的序列的轻链可变区 (VL);或者

[0098] g. 含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:74的序列的轻链可变区 (VL);或者

[0099] h. 含有SEQ ID NO:80的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:80的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH);以及含有SEQ ID NO:84的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:84的氨基酸序列具有至少97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL)。

[0100] 14'. 前述实施方案中任一项所述的TDP-43结合分子,其包含:

[0101] a. 含有SEQ ID NO:10的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:14的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:14的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者

[0102] b. 含有SEQ ID NO:20的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:24的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:24的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者

[0103] c. 含有SEQ ID NO:30的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:34的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者

[0104] d. 含有SEQ ID NO:40的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:44的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:44的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者

[0105] e. 含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:54的序列的轻链可变区(VL);或者

[0106] f. 含有SEQ ID NO:60的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:60的氨基酸序列具有至少98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:64的序列的轻链可变区(VL);或者

[0107] g. 含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:74的序列的轻链可变区(VL);或者

[0108] h. 含有SEQ ID NO:80的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:80的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:84的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:84的氨基酸序列具有至少97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者

[0109] i. 含有SEQ ID NO:110的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:110的氨基酸序列具有至少92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:114的序列的轻链可变区(VL)。

[0110] 15. 前述实施方案中任一项所述的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子是抗体或其抗原结合片段。

[0111] 16. 前述实施方案中任一项所述的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子是IgA、IgD、IgE、IgM、IgG1、IgG2、IgG2a、IgG2b、IgG3或IgG4抗体,或其抗原结合片段。

[0112] 17. 前述实施方案中任一项所述的TDP-43结合分子,其中所述结合分子是免疫缀合物。

- [0113] 18. 实施方案17所述的TDP-43结合分子,其中所述免疫缀合物包含顺磁珠。
- [0114] 19. 实施方案17所述的TDP-43结合分子,其中所述免疫缀合物包含生物素。
- [0115] 20. 实施方案17所述的TDP-43结合分子,其中所述免疫缀合物包含另外的治疗分子。
- [0116] 21. 前述实施方案中任一项所述的TDP-43结合分子,其用于人或兽医治疗和/或诊断。
- [0117] 22. 实施方案21所述应用的TDP-43结合分子,其中所述TDP-43结合分子是治疗工具或诊断工具。
- [0118] 23. 实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子,其用于研究用途,特别是作为分析工具或参考分子。
- [0119] 24. 实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子,其用于预防、减轻、治疗和/或诊断与TDP-43相关的疾病、障碍和/或异常。
- [0120] 25. 实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子,其用于预防、减轻、治疗和/或诊断TDP-43蛋白质病。
- [0121] 26. 实施方案25所述应用的TDP-43结合分子,其中所述TDP-43结合分子用作诊断或监测TDP-43蛋白质病的诊断工具。
- [0122] 27. 根据实施方案25或26中任一项所述应用的TDP-43结合分子,其中所述TDP-43蛋白质病是以下任一种:
- [0123] a. 与TDP-43聚集体相关的疾病、障碍和/或异常,其选自肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)、行为变异型额颞痴呆(bvFTD)、语义变异型原发性进行性失语(svPPA)、非流利性/语法缺失型原发性进行性失语(naPPA)、阿尔茨海默病(AD)、唐氏综合征(DS)、家族性英国型痴呆、帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA))、皮质基底节变性(CBD)、尼曼-皮克病(NP,包括C型NP)、面部起病的感觉运动神经元病(FOSMN)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、慢性创伤性脑病、佩里综合征、佩吉特病、多聚谷氨酰胺病(例如亨廷顿病(HD)和脊髓小脑性共济失调3型(SCA3,也称为马查多-约瑟夫病))、海马硬化伴痴呆、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、原发性侧索硬化(PLS)、进行性肌萎缩;或者
- [0124] b. 由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪肽蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B、亨廷顿蛋白(HTT)、共济失调蛋白3(ATXN3)基因的突变或变异相关风险等位基因引起的疾病。
- [0125] 28. 根据实施方案25至27中任一项所述应用的TDP-43结合分子,其中所述TDP-43蛋白质病是以下任一种:
- [0126] a. 与TDP-43聚集体相关的疾病、障碍和/或异常,其选自肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)、阿尔茨海默病(AD)、唐氏综合征(DS)、帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA))、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、原发性侧索硬化(PLS)、进行性肌萎缩;或者

[0127] b. 由颗粒蛋白前体 (GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪肽蛋白 (VCP)、血管生成蛋白 (ANG)、结蛋白 (DES)、肌收缩蛋白 (MYOT)、TMEM106B基因的突变或变异相关风险等位基因引起的疾病。

[0128] 29. 根据实施方案25至28中任一项所述应用的TDP-43结合分子,其中与TDP-43相关的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病是肌萎缩侧索硬化 (ALS)。

[0129] 30. 根据实施方案25至28中任一项所述应用的TDP-43结合分子,其中与TDP-43相关的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病是阿尔茨海默病 (AD)。

[0130] 31. 根据实施方案25至28中任一项所述应用的TDP-43结合分子,其中与TDP-43相关的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病是额颞痴呆 (FTD)。

[0131] 32. 根据实施方案25至28所述应用的TDP-43结合分子,其中与TDP-43相关的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病是边缘主导年龄相关性TDP-43脑病 (LATE)。

[0132] 33. 根据实施方案25至28中任一项所述应用的TDP-43结合分子,其中与TDP-43相关的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病是额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND。

[0133] 34. 药物组合物,其包含实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子以及可药用载体和/或赋形剂。

[0134] 34'. 诊断组合物,其包含实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子以及可接受的载体和/或赋形剂。

[0135] 35. 核酸分子,其编码实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子。

[0136] 35'. 实施方案35所述的核酸,其包含如下所示的核苷酸序列:SEQ ID NO:18,SEQ ID NO:19,SEQ ID NO:28,SEQ ID NO:29,SEQ ID NO:38,SEQ ID NO:39,SEQ ID NO:48,SEQ ID NO:49,SEQ ID NO:58,SEQ ID NO:59,SEQ ID NO:68,SEQ ID NO:69,SEQ ID NO:79,SEQ ID NO:88,SEQ ID NO:89,SEQ ID NO:118或SEQ ID NO:119。

[0137] 36. 重组载体,其包含实施方案35所述的核酸。

[0138] 37. 宿主细胞,其包含实施方案35所述的核酸和/或实施方案36所述的载体。

[0139] 38. 宿主细胞,其表达根据实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子。

[0140] 39. 表达载体,其包含实施方案35所述的核酸分子。

[0141] 40. 无细胞表达系统,其包含实施方案39所述的表达载体。

[0142] 41. 用于产生TDP-43结合分子,特别是抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括以下步骤:

[0143] a. 在适合产生所述结合分子,特别是所述抗体或其抗原结合片段的条件下培养实施方案37或38所述的宿主细胞或者实施方案40所述的无细胞表达系统;以及

[0144] b. 分离所述结合分子,特别是所述抗体或其抗原结合片段。

[0145] 41'. 实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子,其用于检测和/或定量样品中的TDP-43,其中所述样品是唾液、尿液、鼻分泌物、血液(包括全血、血浆和血清、富血小板血浆(platelets rich plasma)、血小板胞质溶胶级分(platelets cytosol fraction))、脑和/或CSF样品、脑和/或ISF样品,更特别地是血液、脑、CSF和/或ISF样品。

[0146] 42'. 实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子,其用于检测和/或定量样品中的磷酸化TDP-43,其中所述样品是唾液、尿液、鼻分泌物、血液(包括全血、血浆和血清、富血小板血浆、血小板胞质溶胶级分)、脑和/或CSF样品、脑和/或ISF样品,更特别地是血液、

脑、CSF和/或ISF样品。

[0147] 42. 实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子在配对测定中的用途, 所述配对测定包括以下步骤:

[0148] a. 将样品与捕获抗体和检测抗体一起孵育;

[0149] b. 将步骤a中获得的混合物与适合由所述检测抗体进行检测的试剂一起孵育;

[0150] c. 测量由所述检测抗体发出的信号;

[0151] 其中所述捕获抗体选自如实施方案1至20中任一项中所限定的抗体。

[0152] 43. 实施方案42所述的TDP-43结合分子的用途, 其中所述检测抗体选自如实施方案1至20中任一项中所限定的抗体。

[0153] 44. 实施方案42或43所述的TDP-43结合分子的用途, 其中所述试剂是链霉亲和素- β -D-半乳糖苷酶。

[0154] 45. 实施方案42至44中任一项所述的TDP-43结合分子的用途, 其中所述捕获抗体和/或检测抗体与磷酸化TDP-43结合, 优选与磷酸化TDP-43特异性结合。

[0155] 46. 实施方案42至44中任一项所述的TDP-43结合分子的用途, 其中所述捕获抗体和/或检测抗体与错折叠的聚集TDP-43和非聚集的生理性TDP-43结合。

[0156] 47. 实施方案42至46中任一项所述的TDP-43结合分子的用途, 其中所述捕获抗体包含:

[0157] i. 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3; 或者

[0158] ii. 含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VL-CDR3; 或者

[0159] iii. 含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0160] 48. 实施方案42至47所述的TDP-43结合分子的用途, 其中所述检测抗体包含:

[0161] i. 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3; 或者

[0162] ii. 含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VL-CDR3; 或者

[0163] iii. 含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸

序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0164] 48'. 实施方案42至47所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述检测抗体包含:

[0165] i. 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0166] ii. 含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0167] iii. 含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0168] iv. 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0169] v. 含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0170] 49. 实施方案47或48所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述检测抗体包含:

[0171] a. 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3;

[0172] 并且所述捕获抗体包含:

[0173] b. 含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0174] 49'. 实施方案47或48所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述检测抗体包含:

[0175] a. 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;

[0176] 并且所述捕获抗体包含：

[0177] b. 含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0178] 49” . 实施方案47或48所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述检测抗体包含：

[0179] a. 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3；

[0180] 并且所述捕获抗体包含：

[0181] b. 含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0182] 49”’ . 实施方案47或48所述的TDP-43结合分子的用途,其中所述检测抗体包含：

[0183] a. 含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3；

[0184] 并且所述捕获抗体包含：

[0185] b. 含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0186] 50. 对样品中的磷酸化TDP-43进行定量的方法,所述方法包括使所述样品与根据实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子接触。

[0187] 51. 实施方案50所述的定量方法,其中所述样品从对象获得。

[0188] 51’ . 实施方案51所述的方法,其中所述样品是人血液、脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)、组织间液(interstitial fluid, ISF)、唾液、鼻分泌物和/或尿液,优选血液、CSF或ISF。

[0189] 52. 实施方案50或51所述的定量方法,其还包括将从所述样品中检测到的TDP-43水平与对照进行比较。

[0190] 53. 实施方案52所述的定量方法,其中所述对照包含磷酸化TDP-43。

[0191] 54. 实施方案52或53所述的定量方法,其中所述对照使用已知量的针对磷酸化TDP-43的校准物进行确定。

[0192] 55. 对从对象获得的样品中的磷酸化TDP-43进行定量的方法,所述方法包括使用实施方案42至49中任一项所述的TDP-43结合分子。

[0193] 55’ . 使用来自对象的样品在两个或更多个时间点监测与TDP-43相关的疾病、障碍

和/或病症的方法,其包括使所述样品与实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子接触,其中;

[0194] a. 与一个或更多早期样品相比后期样品中TDP-43和/或磷酸化TDP-43的水平更高指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的进展;或者

[0195] b. 与一个或更多早期样品相比后期样品中TDP-43和/或磷酸化TDP-43的水平更低指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的消退;或者

[0196] c. 与一个或更多早期样品相比后期样品中TDP-43和/或磷酸化TDP-43的水平无显著变化指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症没有进展。

[0197] 55". 使用来自对象的样品在两个或更多时间点监测与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的方法,其包括使所述样品与实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子接触,其中;

[0198] a. 与一个或更多早期样品相比后期样品中TDP-43和/或磷酸化TDP-43的水平更高指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的消退;或者

[0199] b. 与一个或更多早期样品相比后期样品中TDP-43和/或磷酸化TDP-43的水平更低指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的进展;或者

[0200] c. 与一个或更多早期样品相比后期样品中TDP-43和/或磷酸化TDP-43的水平无显著变化指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症没有进展。

[0201] 55'''. 实施方案55' 或55'' 所述的方法,其在治疗组和安慰剂组之间的匹配样品中在多个时间点进行,以监测候选治疗在限定时间段内的有效性。

[0202] 56. 试剂盒,其用于诊断与TDP-43相关的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病,或者用于权利要求50至55中任一项所述的方法,所述试剂盒包含根据实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子。

[0203] 57. 实施方案56所述的试剂盒,其包含根据实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子作为捕获抗体,并包含不同的根据实施方案1至20中任一项所述的TDP-43结合分子作为检测抗体。

[0204] 58. 实施方案57所述的试剂盒,其中所述试剂盒还包含磁性颗粒,所述捕获抗体与所述磁性颗粒连接或者可以与所述磁性颗粒连接。

[0205] 59. 实施方案57或58所述的试剂盒,其中所述检测抗体被直接或间接标记。

[0206] 60. 实施方案57至59中任一项所述的试剂盒,其还包含含有所述TDP-43结合分子的容器。

[0207] 为避免疑义,在提及经编号的实施方案时,这旨在也涵盖提及对应撇号(')实施方案(例如,提及实施方案1涵盖着1和1')。

[0208] 在一些实施方案中,本发明涵盖结合分子,特别是与磷酸化TDP-43特异性结合的如本文中所述的本发明抗体及其抗原结合片段,以及这些结合分子用于诊断、预防、减轻和/或治疗与TDP-43聚集体相关的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病的用途,所述与TDP-43聚集体相关的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病包括但不限于,肌萎缩侧索硬化(ALS),额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病),额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD),行为变异型额颞痴呆(bvFTD),语义变异型原发性进行性失语(svPPA),非流利性/语法缺失型原发性进行性失语(naPPA),阿尔茨海默病(AD),唐氏综合征(DS),家

族性英国型痴呆,帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA)),皮质基底节变性(CBD),尼曼-皮克病(NP,包括C型NP),面部起病的感觉运动神经元病(FOSMN),边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE),慢性创伤性脑病,佩里综合征,佩吉特病,多聚谷氨酰胺病(例如亨廷顿病(HD)和脊髓小脑性共济失调3型(SCA3,也称为马查多-约瑟夫病)),海马硬化伴痴呆,肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良),原发性侧索硬化(PLS),进行性肌萎缩,由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪肽蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B、亨廷顿蛋白(HTT)、共济失调蛋白3(ATXN3)基因的突变或变异相关风险等位基因引起的疾病。优选地,这些结合分子用于诊断、预防、减轻和/或治疗与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病的用途针对肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)、阿尔茨海默病(AD)、唐氏综合征(DS)、帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA))、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、原发性侧索硬化(PLS)、进行性肌萎缩、以及具有散发性和遗传性起源二者的疾病(包括由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪肽蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B基因的突变或变异相关风险等位基因引起的遗传病例)。更优选地,该用途针对肌萎缩侧索硬化(ALS)。更优选地,该用途针对额颞痴呆(FTD)。更优选地,该用途针对边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)。更优选地,该用途针对阿尔茨海默病(AD)。更优选地,该用途针对额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)。

[0209] 在另一个实施方案中,使TDP-43结合分子,特别是本发明的(如本文中所述对TDP-43具有特异性的)抗TDP-43抗体或其抗原结合片段与样品接触,以检测、诊断和/或监测与TDP-43相关,特别是与疑似TDP-43或其他蛋白质病(特别地包括TDP-43相关蛋白质病)中TDP-43的聚集或易聚集形式(与正常的功能性TDP-43不同)相关的疾病、障碍和/或异常,包括但不限于肌萎缩侧索硬化(ALS),额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病),额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD),行为变异型额颞痴呆(bvFTD),语义变异型原发性进行性失语(svPPA),非流利性/语法缺失型原发性进行性失语(naPPA),阿尔茨海默病(AD),唐氏综合征(DS),家族性英国型痴呆,帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA)),皮质基底节变性(CBD),尼曼-皮克病(NP,包括C型NP),面部起病的感觉运动神经元病(FOSMN),边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE),慢性创伤性脑病,佩里综合征,佩吉特病,多聚谷氨酰胺病(例如亨廷顿病(HD)和脊髓小脑性共济失调3型(SCA3,也称为马查多-约瑟夫病)),海马硬化伴痴呆,肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良),原发性侧索硬化(PLS),进行性肌萎缩,或者由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪肽蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B、亨廷顿蛋白(HTT)、共济失调蛋白3(ATXN3)基因的突变或变异相关风险等位基因引起的疾病;以及这些相比于非TDP-43相关临床表现的区别。

[0210] 在一个实施方案中,本发明涵盖结合分子,特别是与磷酸化TDP-43特异性结合的如本文中所述的本发明抗体或其抗原结合片段,以及这些结合分子(特别是这些抗体)用于

检测样品中特定磷酸化TDP-43来源的物质的存在的用途。因此,本发明的TDP-43结合分子,例如本文中所述的抗TDP43抗体可特别用于对临床样品,特别是人血液、脑脊液(CSF)、组织间液(ISF)、唾液、鼻分泌物和/或尿液筛查该样品中TDP-43的存在,例如通过使用基于ELISA的测定或表面适应测定(surface adapted assay)进行。在一些情况下,可使用组织样品,例如脑组织样品。本发明的方法和组合物还具有诊断症状前疾病和/或监测疾病进展和/或治疗效力方面的应用。根据一些实施方案,使对TDP-43具有特异性的抗体(例如,全长抗体或者抗体的TDP-43结合片段或衍生物)与样品(例如,血液、脑脊液(CSF)、组织间液(ISF)、唾液、鼻分泌物、尿液或脑组织)接触,以检测肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)、行为变异型额颞痴呆(bvFTD)、语义变异型原发性进行性失语(svPPA)、非流利性/语法缺失型原发性进行性失语(naPPA)、阿尔茨海默病(AD)、唐氏综合征(DS)、家族性英国型痴呆、帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA))、皮质基底节变性(CBD)、尼曼-皮克病(NP,包括C型NP)、面部起病的感觉运动神经元病(FOSMN)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、慢性创伤性脑病、佩里综合征、佩吉特病、多聚谷氨酰胺病(例如亨廷顿病(HD)和脊髓小脑性共济失调3型(SCA3,也称为马查多-约瑟夫病))、海马硬化伴痴呆、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、原发性侧索硬化(PLS)、进行性肌萎缩。在一个实施方案中,使对TDP-43具有特异性的抗体(例如,全长抗体或者抗体的TDP-43结合片段或衍生物)与样品(例如,血液、脑脊液(CSF)、组织间液(ISF)、唾液、鼻分泌物、尿液或脑组织)接触,以检测、诊断和/或监测由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B、亨廷顿蛋白(HTT)、共济失调蛋白3(ATXN3)基因的突变或变异相关风险等位基因引起的疾病。

[0211] 本发明的TDP-43结合分子可用于检测和/或定量合适样品中的TDP-43,优选的是磷酸化TDP-43。样品可以是无细胞样品,例如血液、CSF、ISF、唾液、鼻分泌物或尿液。在一个优选实施方案中,无细胞样品可以是血液、CSF或ISF。“血液”包括全血和衍生样品,例如血清和血浆。“血浆”包括衍生样品,例如血小板。“血小板”包括衍生样品,例如血小板胞质溶胶级分。样品可以是细胞样品,例如组织,优选脑组织。对合适的TDP-43物质进行定量或检测。在一个实施方案中,在无细胞样品中定量或检测可溶性TDP-43或磷酸化TDP-43(例如在实施例8中检测来自人血浆的TDP-43)。在一个实施方案中,在无细胞样品中定量或检测可溶性TDP-43或磷酸化TDP-43(例如在实施例9中检测来自来源于人血浆的血小板级分的TDP-43)。在另一个实施方案中,在细胞样品(优选脑组织)中定量或检测TDP-43包涵体(例如在实施例7中检测磷酸化TDP-43包涵体)。

[0212] 本发明的TDP-43结合分子可用于对合适样品(特别是临床样品,例如血液、CSF、ISF、唾液、鼻分泌物或尿液)中的磷酸化TDP-43进行定量。已知许多合适的免疫测定形式。因此,该方法(例如ELISA、MSD(Meso Scale Discovery)、HTRF(均相时间分辨荧光(Homogeneous Time Resolved Fluorescence))、SIMOA[®]和AlphaLISA)可出于诊断目的而实施。本文中表明,本发明的结合分子具有磷酸化位点特异性、高亲和力、与脑组织中的人TDP-43病理状况的结合、在高灵敏度免疫测定中的效用。使用本发明的结合分子对合适样品中磷酸化TDP-43进行定量的方法也可用于选择治疗(用于对象的另外的治疗)。因此,

设想了一个个性化治疗方法。可根据这样的方法在治疗之前或之后获取样品。

[0213] 在一些实施方案中,本发明的TDP-43结合分子用于配对测定,所述配对测定包括以下步骤:将样品与捕获抗体和检测抗体一起孵育,所述捕获抗体包含与顺磁珠缀合的本文中所述的TDP-43结合分子,所述检测抗体包含与生物素缀合的本文中所述的TDP-43结合分子;将获得的溶液与适合由检测抗体进行检测的试剂(例如链霉亲和素- β -D-半乳糖苷酶)一起孵育;测量由检测抗体发出的信号。在一些实施方案中,捕获抗体或检测抗体是与错折叠的聚集TDP-43和非聚集的生理性TDP-43结合的TDP-43结合分子。在一些实施方案中,捕获抗体或检测抗体与磷酸化TDP-43特异性结合。在一个实施方案中,捕获抗体与错折叠的聚集TDP-43和非聚集的生理性TDP-43结合,并且检测抗体与磷酸化TDP-43特异性结合。在另一个实施方案中,检测抗体与错折叠的聚集TDP-43和非聚集的生理性TDP-43结合,并且捕获与磷酸化TDP-43特异性结合。

[0214] 在另一些实施方案中,本发明提供了用于预防、减轻和/或治疗与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病的方法。根据一个实施方案,本发明的方法包括向对象施用有效浓度的本文中所述的结合分子,特别是对TDP-43具有特异性的本发明的抗体(例如,全长抗体或者抗体的TDP-43结合片段或衍生物)。在另一个实施方案中,本发明提供了用于预防、减轻和/或治疗TDP-43蛋白质病的方法。根据一些实施方案,施用结合分子,特别是对磷酸化TDP-43具有特异性的本文中所述的本发明抗体或其抗原结合片段,以治疗、减轻和/或预防肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、阿尔茨海默病(AD)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND。在另一个实施方案中,施用结合分子,特别是对磷酸化TDP-43具有特异性的本文中所述的本发明抗体或其抗原结合片段,以预防、减轻和/或治疗选自以下的神经退行性疾病:肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、阿尔茨海默病(AD)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND。

[0215] 在另一个实施方案中,施用结合分子,特别是对TDP-43具有特异性的本文中所述的本发明抗体或其抗原结合片段,以预防、减轻和/或治疗选自以下的疾病:肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)、行为变异型额颞痴呆(bvFTD)、语义变异型原发性进行性失语(svPPA)、非流利性/语法缺失型原发性进行性失语(naPPA)、阿尔茨海默病(AD)、唐氏综合征(DS)、家族性英国型痴呆、帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA)、皮质基底节变性(CBD)、尼曼-皮克病(NP,包括C型NP)、面部起病的感觉运动神经元病(FOSMN)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、慢性创伤性脑病、佩里综合征、佩吉特病、多聚谷氨酰胺病(例如亨廷顿病(HD)和脊髓小脑性共济失调3型(SCA3,也称为马查多-约瑟夫病)、海马硬化伴痴呆、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、原发性侧索硬化(PLS)、进行性肌萎缩。在另一个实施方案中,施用结合分子,特别是对TDP-43具有特异性的本文中所述的本发明抗体或其抗原结合片段,以预防、减轻和/或治疗由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B、亨廷顿蛋白(HTT)、共济失调蛋白3(ATXN3)基因的突变或变异相关风险等位基因引起的疾病。

具体实施方式

[0216] 定义

[0217] 反式激活应答 (TAR) DNA结合蛋白43kDa (本文中称为TDP-43) 是由染色体1p36.2上的TARDBP基因编码的具有414个氨基酸的蛋白质 (也称为ALS10)。多种TARDBP mRNA包含六个 (或可能七个) 外显子的差异性剪接, 所述外显子编码具有共享氨基酸序列的多肽同种型的异质集合 (d' Alton et al., RNA)。TDP-43属于异质核糖核蛋白 (hnRNP) RNA结合蛋白家族 (Wang et al., Trends in Molecular Medicine Vol.14No.11, 2008, 479-485; Lagier-Tourenne et al., Human Molecular Genetics, 2010, Vol.19, Review Issue 1R46-R64)。TDP-43包含五个功能结构域 (Warraich et al., The International Journal of Biochemistry&Cell Biology 42 (2010) 1606-1609, 图1): 两个RNA识别基序 (RRM1和RRM2), 其具有两个高度保守的六聚核糖核蛋白2 (RNP2) 和八聚核糖核蛋白1 (RNP1) 区域; 核输出信号 (NES) 和核定位信号 (NLS), 使其能够在核和胞质之间穿梭, 转运结合的mRNA; 以及位于C端的富含甘氨酸的结构域, 其介导蛋白质-蛋白质相互作用。TDP-43参与RNA加工的多个方面, 包括转录、剪接、转运和稳定化 (Buratti and Baralle, FEBS Journal 277 (2010) 2268-2281)。TDP-43是高度保守、普遍表达且表达经严格自调节的蛋白质, 并且其在核与胞质之间穿梭。

[0218] 在本申请中, TDP-43是指人参考序列 (Q13148) 及其同种型, 包括保留了与结合分子结合的表位的经翻译后修饰的多肽和蛋白水解片段。人TDP-43具有以下序列:

```
MSEYIRVTEDENDPIEIPSEDDGTVLLSTVTAQFPGACGLRYRNPVSQLMRGVRLVEGI  
LHAPDAGWGNLVYVVNYPKDNKRKMDETDASSAVKVKRAVQKTSDLIVLGLPWKTT  
EQDLKEYFSTFGEVLMVQVKKDLKTGHSGKGFVRFTEYETQVKVMSQRHMIDGRWC
```

[0219]

```
DCKLPNSKQSQDEPLRSRKVFVGRCTEDMTEDELREFFSQYGDVMDVFIPKPFRAFAFV  
TFADDQIAQSLCGEDLIKGISVHISNAEPKHNSNRQLERSGRFGGNPGGFGNQGGFGNS  
RGGGAGLGNQGSNMGGGMNFGAFSINPAMMAAAQAALQSSWGMMLASQQNQS  
GPSGNNQNQGNMQREPNAFGSGNNSYSGSNSGAAIGWGSASNAGSGSGFNGGGFGSS  
MDSKSSGWGM (SEQ ID NO: 1)。
```

[0220] 本文中使用的“抗原结合分子”是可与抗原, 特别是TDP-43特异性或选择性结合的任何分子。结合分子可包括或可以是抗体或其片段。抗TDP-43结合分子是在特定识别位点 (表位) 与TDP-43蛋白结合分子, 例如抗TDP-43抗体或其片段。即, 本发明的抗原结合分子与SEQ ID NO: 1的氨基酸序列内的表位结合。本文中提供的抗原结合分子 (特别是抗体或其抗原结合片段) 识别全长TDP-43。另一些抗TDP-43结合分子还可包括多价分子、多特异性分子 (例如, 双抗体 (diabody))、融合分子、适配体、亲合体 (avimer) 或者其他天然存在或重组产生的分子。在本发明中可用的举例说明性抗原结合分子包括抗体样分子。抗体样分子是可通过与靶分子结合来表现功能的分子 (参见例如, Current Opinion in Biotechnology 2006, 17: 653-658; Current Opinion in Biotechnology 2007, 18: 1-10; Current Opinion in Structural Biology 1997, 7: 463-469; Protein Science 2006, 15: 14-27), 并且包括例如, DARPin (WO 2002/020565)、亲和体 (Affibody) (WO 1995/001937)、亲合体 (WO 2004/044011; WO 2005/040229)、Adnectin (WO 2002/032925) 和 fynomer (WO 2013/135588)。

[0221] 本文中使用的术语“抗TDP-43抗体”和“与TDP-43结合的抗体”或简称为“抗体”是指以下抗体,其能够以足够的亲和力结合TDP-43,使得该抗体可用作靶向TDP-43的诊断剂和/或治疗剂。通常,本文中使用的术语“抗体”以最广泛的含义使用,并涵盖多种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体或双互补位抗体)、完全人抗体和抗体片段,只要它们表现出期望的抗原结合活性即可。本发明中的抗体还可以是嵌合抗体、重组抗体、重组抗体的抗原结合片段、抗体或者在噬菌体表面上显示的或在嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR) T细胞表面上显示的抗体。

[0222] 抗体的“抗原结合片段”或“其功能片段”是指不同于完整或全长抗体的包含完整或全长抗体的一部分并且结合(完全或部分地)与完整或全长抗体结合的抗原的分子。抗体片段的一些实例包括但不限于Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂;双抗体;线性抗体;单链抗体分子(例如scFv);和由抗体片段形成的多特异性抗体。抗原结合片段也可称为“功能片段”,因为它们保留了它们所来源的原始抗体的结合功能。

[0223] “与蛋白质限定区域内的表位结合的抗体”是这样的抗体,其要求在该区域内存在一个或更多个氨基酸以与蛋白质结合。

[0224] 在某些实施方案中,“与蛋白质限定区域内的表位结合的抗体”通过突变分析来鉴定,其中蛋白质的氨基酸被突变,并且抗体与所得经改变蛋白质(例如包含该表位的经改变蛋白质)的结合被确定为是与未经改变蛋白质的结合的至少20%。在一些实施方案中,“与蛋白质限定区域内的表位结合的抗体”通过突变分析来鉴定,其中蛋白质的氨基酸被突变,并且抗体与所得经改变蛋白质(例如包含该表位的经改变蛋白质)的结合被确定为是与未经改变蛋白质的结合的至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%。在某些实施方案中,抗体的结合通过FACS、WB或通过合适的结合测定(例如ELISA)来确定。

[0225] 本发明的上下文中使用的术语“与.....结合”定义了至少两个“抗原相互作用位点”彼此的结合(相互作用)。根据本发明,术语“抗原相互作用位点”定义了多肽的基序,即本发明的抗体或抗原结合片段的一部分,其显示出与TDP-43的特定抗原或特定抗原组进行特异性相互作用的能力。所述结合/相互作用也应理解为定义“特异性识别”。根据本发明,术语“特异性识别”意指抗体能够与本文中限定的TDP-43的至少两个氨基酸进行特异性相互作用和/或结合,特别是与人TDP-43(SEQ ID NO:1)第361至414位氨基酸残基内的至少两个氨基酸进行相互作用/结合。

[0226] 术语“泛TDP-43抗体”是指与错折叠的聚集TDP-43和非聚集的生理性TDP-43,包括单体TDP-43、寡聚TDP-43、经翻译后修饰的TDP-43(例如磷酸化、泛素化、乙酰化、类泛素化和/或甲基化)、聚集TDP-43和经截短TDP-43结合的抗体。

[0227] 根据本发明可互换使用的术语“特异性相互作用”、“特异性结合(specific binding)”和“特异性结合(specifically binds)”,意指本发明的抗体或其抗原结合片段不与或基本上不与具有相似结构的(多)肽进行交叉反应。因此,在一个或更多个磷酸化残基处与磷酸化TDP-43特异性结合的本发明TDP-43结合分子不与或基本上不与在这些一个或更多个残基处未磷酸化的TDP-43进行交叉反应。因此,在本发明的一些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段与由人TDP-43(SEQ ID NO:1)的氨基酸残基内的特定磷酸化氨基酸序列形成的TDP-43结构进行特异性结合/相互作用,更特别地与由人TDP-43(SEQ ID

NO:1)的磷酸化氨基酸残基pS403、pS404、pS409或pS410内的特定氨基酸序列形成的TDP-43结构进行结合/相互作用,甚至更特别地与选自人TDP-43(SEQ ID NO:1)的pS403、pS404、pS409或pS410的至少一个或两个磷酸化丝氨酸进行结合/相互作用。在这样的实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段不与或基本上不与人TDP-43(SEQ ID NO:1)的非磷酸化S403、S404、S409或S410进行交叉反应。

[0228] 在本发明的一些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段与由人TDP-43(SEQ ID NO:1)的氨基酸残基内的特定磷酸化氨基酸序列形成的TDP-43结构进行特异性结合/相互作用,更特别地与由人TDP-43(SEQ ID NO:1)的磷酸化氨基酸残基pS375或pS379内的特定氨基酸序列形成的TDP-43结构进行结合/相互作用,甚至更特别地与选自人TDP-43(SEQ ID NO:1)的pS375或pS379的至少一个磷酸化丝氨酸进行结合/相互作用。在这样的实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段不与或基本上不与人TDP-43(SEQ ID NO:1)的非磷酸化S375或S379进行交叉反应。

[0229] 在一些实施方案中,TDP-43结合分子与以下二者结合:错折叠的聚集TDP-43和非聚集的生理性TDP-43,包括单体TDP-43、寡聚TDP-43、经翻译后修饰的TDP-43(例如磷酸化、泛素化、乙酰化、类泛素化和/或甲基化)、聚集TDP-43和经截短TDP-43。在本发明的一些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段与由人TDP-43(SEQ ID NO:1)第361至375位氨基酸残基内的特定氨基酸序列形成的TDP-43结构进行特异性结合/相互作用。

[0230] 包涵体涉及不被膜结合的多种胞内非活的物质。包涵体可包含储存的营养物/滋养物质(deutoplasmic substance)、分泌产物和色素颗粒。“TDP-43阳性包涵体”或“阳性染色的包涵体”是指携带疾病特异性翻译后修饰(例如磷酸化、泛素化、类泛素化和乙酰化)的TDP-43致病性沉积物。TDP-43致病性沉积物可包含该蛋白质的全长和/或特定截短形式。

[0231] 本文中所述的TDP-43结合分子与TDP-43阳性包涵体结合,特别与包含磷酸化TDP-43、由磷酸化TDP-43组成或基本上由磷酸化TDP-43组成的TDP-43阳性包涵体结合。TDP-43阳性包涵体可以是胞质包涵体。对于可用于TDP-43阳性包涵体的染色测定的详细描述,可参考实施例7。

[0232] 正在研究的抗原结合分子,特别是抗体或其抗原结合片段的组的交叉反应性可例如通过以下来测试:评估在常规条件下(参见例如Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1988) 和 *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1999)) 抗体或其抗原结合片段的所述组与目的(多)肽以及与许多或多或少(结构上和/或功能上)紧密相关的(多)肽的结合。只有与如本文中限定的某些TDP-43结构,例如如本文中限定的TDP-43的特定表位或(多)肽/蛋白质结合但不与或基本上不与同一TDP-43的任何其他表位或(多)肽结合的那些构建体(即抗体、其抗原结合片段等)被认为对目的表位或(多)肽/蛋白质具有特异性,并被选择用以根据本文中提供的方法进行进一步研究。这些方法尤其可包括用结构上和/或功能上密切相关的分子进行的结合研究、阻断和竞争研究。这些结合研究还包括FACS分析、表面等离子体共振(SPR,例如,用BIAcore™进行)、分析型超速离心、等温滴定量热法、荧光各向异性、荧光光谱或通过经放射性标记的配体结合测定。

[0233] 因此,可通过本领域中已知的方法和本文中所述的方法实验性地确定特异性。这样的方法包括但不限于Western印迹,ELISA-、RIA-、ECL-、IRMA-测试和肽扫描。

[0234] 本文中使用的术语“单克隆抗体”是指从基本上同质的抗体群体获得的抗体,即除可能以少量存在的可能天然发生的突变之外,构成该群体的单独抗体是相同的。单克隆抗体是高度特异性的,针对单一抗原位点。单克隆抗体的优点在于:其可通过杂交瘤培养物合成,基本上不受其他免疫球蛋白污染。术语“单克隆”指示该抗体在基本上同质的抗体群体中的特征,并且不应解释为要求该抗体通过任何特定方法来产生。如上所述,根据本发明使用的单克隆抗体可通过Kohler, Nature 256(1975), 495描述的杂交瘤方法来制备。

[0235] 本文中使用的术语“多克隆抗体”是指在一种或更多种其他不同抗体之中或者在存在一种或更多种其他不同抗体的情况下产生的抗体。一般而言,多克隆抗体由B淋巴细胞在存在数种产生不同抗体的其他B淋巴细胞的情况下产生。通常,多克隆抗体从经免疫接种的动物中直接获得。

[0236] 本文中使用的术语“完全人抗体”是指仅包含人免疫球蛋白蛋白质序列的抗体。如果在小鼠中、小鼠细胞中或来源于小鼠细胞的杂交瘤中产生,则完全人抗体可包含鼠糖链。类似地,“小鼠抗体”或“鼠抗体”是指仅包含小鼠/鼠免疫球蛋白蛋白质序列的抗体。或者,如果在大鼠中、大鼠细胞中、来源于大鼠细胞的杂交瘤中产生,则“完全人抗体”可包含大鼠糖链。类似地,术语“大鼠抗体”是指仅包含大鼠免疫球蛋白序列的抗体。完全人抗体还可例如通过噬菌体展示来产生,噬菌体展示是广泛使用的筛查技术,其能够产生和筛查完全人抗体。噬菌体抗体也可用于本发明的上下文中。噬菌体展示方法描述于例如US 5,403,484、US 5,969,108和US 5,885,793中。能够开发完全人抗体的另外的技术涉及对小鼠杂交瘤技术的修改。对小鼠进行转基因以使其含有人免疫球蛋白基因座以交换其自身的小鼠基因(参见例如,US 5,877,397)。

[0237] 术语“嵌合抗体”是指这样的抗体:所述抗体包含与来自另外的人或非人物种(例如小鼠、马、兔、狗、牛、鸡)的抗体区域(例如,恒定区)融合的本发明可变区或者嵌合有该抗体区域的本发明可变区。

[0238] 术语抗体还涉及重组人抗体、异源抗体和异源杂合抗体(heterohybrid antibody)。术语“重组(人)抗体”包括通过重组手段制备、表达、产生或分离的所有人序列抗体,例如,从对人免疫球蛋白基因而言是转基因的动物(例如,小鼠)中分离的抗体,使用转染到宿主细胞中的重组表达载体来表达的抗体,从重组、组合的人抗体文库中分离的抗体,或者通过涉及将人免疫球蛋白基因序列剪接至其他DNA序列的任何其他手段制备、表达、产生或分离的抗体。这样的重组的人抗体具有来源于人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区(如果存在的话)。然而,可对这样的抗体进行体外诱变(或者,当使用对人Ig序列而言是转基因的动物时,进行体内体细胞诱变),并且因此重组抗体的VH和VL区的氨基酸序列是这样的序列:其尽管来源于人种系VH和VL序列并与之相关但可能不天然存在于体内人抗体种系文库中。

[0239] “异源抗体”相对于产生这样的抗体的转基因非人生物体进行定义。该术语是指具有以下氨基酸序列或编码核酸序列的抗体:所述氨基酸序列或编码核酸序列对应于在不由转基因非人动物组成的生物体中存在的那些,并且通常来自除转基因非人动物物种之外的物种。

[0240] 术语“异源杂合抗体”是指具有不同生物体来源的轻链和重链的抗体。例如,具有与鼠轻链缔合的人重链的抗体是异源杂合抗体。异源杂合抗体的一些实例包括嵌合抗体和

人源化抗体。

[0241] 非人(例如鼠或兔)抗体的“人源化”形式是含有来源于非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(例如Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂或抗体的其他抗原结合亚序列)。通常,人源化抗体是人免疫球蛋白(接受体抗体),其中来自接受体的互补决定区(complementary determining region,CDR)的残基被具有期望的特异性、亲和力和能力的来自非人物种(例如小鼠、大鼠或兔)(供体抗体)的CDR的残基替代。在一些情况下,人免疫球蛋白的Fv框架残基被相应的非人残基替代。此外,人源化抗体可包含既不存在于接受体抗体中也不存在于导入的CDR或框架序列中的残基。进行这些修饰以进一步改进和优化抗体性能。一般而言,人源化抗体将包含至少一个并且通常是两个的可变结构域中的基本上全部,其中所有或基本上所有的CDR区对应于非人免疫球蛋白的那些,并且所有或基本上所有的FR区是人免疫球蛋白共有序列的那些。人源化抗体还可包含免疫球蛋白恒定区(Fc)(通常是人免疫球蛋白的恒定区)的至少一部分。对于另外的细节,参见:Jones et al.,Nature 321(1986),522-525;Reichmann Nature 332(1998),323-327和Presta Curr Op Struct Biol2(1992),593-596。

[0242] 用于抗体人源化的流行方法涉及CDR接枝,其中将来自非人‘供体’抗体的功能性抗原结合位点接枝到人‘接纳体’抗体上。CDR接枝方法是本领域中已知的,并且描述于例如US 5,225,539、US 5,693,761和US 6,407,213中。另一相关方法是从转基因动物中产生人源化抗体,该动物经遗传改造以包含能够进行基因重排和基因转换的一个或更多个人源化免疫球蛋白基因座(参见例如,US 7,129,084)。

[0243] 因此,在本发明的上下文中,术语“抗体”涉及完整的免疫球蛋白分子以及这样的免疫球蛋白分子的部分(即,“其抗原结合片段”)。此外,如上所述,该术语涉及经修饰和/或经改变的抗体分子。该术语还涉及重组或合成产生/合成的抗体。该术语还涉及完整的抗体及其抗体片段,例如分离的轻链和重链、Fab、Fv、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂。术语抗体还包括但不限于完全人抗体、嵌合抗体、人源化抗体、CDR接枝抗体和抗体构建体,如单链Fv(single chain Fv,scFv)或抗体融合蛋白。

[0244] 在本发明的上下文中,“单链Fv”或“scFv”抗体片段具有抗体的V_H和V_L结构域,其中这些结构域存在于单个多肽链中。通常,scFv多肽还在V_H和V_L结构域之间包含多肽接头,其使scFv能够形成所期望的抗原结合结构。描述用于产生单链抗体的技术例如描述于Plückthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,Rosenburg and Moore eds.Springer-Verlag,N.Y.(1994),269-315中。

[0245] 本文中使用的“Fab片段”包含一条轻链,以及一条重链的C_H1和可变区。Fab分子的重链不能与另一重链分子形成二硫键。

[0246] “Fc”区包含两个含有抗体的C_H2和C_H3结构域的重链片段。两个重链片段通过两个或更多个二硫键以及通过C_H3结构域的疏水相互作用保持在一起。

[0247] “Fab'片段”包含一条轻链,以及一条重链的一部分,所述一条重链的一部分包含V_H结构域和C_H1结构域并还包含在C_H1和C_H2结构域之间的区域,使得可在两个Fab'片段的两条重链之间形成链间二硫键以形成F(ab')₂分子。

[0248] “F(ab')₂片段”包含两条轻链和两条重链,所述重链包含在C_H1和C_H2结构域之间的恒定区的一部分,使得在两条重链之间形成链间二硫键。因此,F(ab')₂片段由通过两条重

链之间的二硫键保持在一起的两个Fab'片段构成。

[0249] “Fv区”包含来自重链和轻链二者的可变区,但缺少恒定区。

[0250] 根据本发明使用的人源化抗体、人源化抗体构建体、人源化抗体片段、人源化抗体衍生物(全部是Ig来源的),或其相应的免疫球蛋白链可使用本领域中已知的常规技术进一步修饰,例如通过单独或组合使用氨基酸缺失、插入、替换、添加和/或重组和/或本领域中已知的任何其他修饰。用于在免疫球蛋白链的氨基酸序列为基础的DNA序列中引入这样的修饰的方法是本领域技术人员公知的;参见例如,Sambrook et al.,Molecular Cloning:ALaboratory Manual;Cold Spring Harbor Laboratory Press,第2版(1989)和第3版(2001)。术语“Ig来源的结构域”特别地涉及包含至少一个CDR的(多)肽构建体。所列举的Ig来源的结构域的片段或衍生物限定以下(多)肽,其是以上抗体分子的一部分和/或通过化学/生物化学或分子生物学方法进行修饰。相应的方法是本领域中已知的,并且尤其描述于实验室手册(参见,Sambrook et al.,Molecular Cloning:ALaboratory Manual;Cold Spring Harbor Laboratory Press,第2版(1989)和第3版(2001);Gerhardt et al.,Methods for General and Molecular Bacteriology ASM Press(1994);Lefkovits,Immunology Methods Manual:The Comprehensive Sourcebook of Techniques;Academic Press(1997);Golemis,Protein-Protein Interactions:AMolecular Cloning Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press(2002))中。

[0251] 本文中使用的术语“CDR”涉及“互补决定区”,其是本领域中公知的。CDR是免疫球蛋白的一部分,其决定所述分子的特异性并且与特定配体接触。CDR是所述分子的最可变的并且有助于这些分子的多样性。每个V结构域中均存在三个CDR区:CDR1、CDR2和CDR3。CDR-H示出了可变重链的CDR区,而CDR-L涉及可变轻链的CDR区。VH意指可变重链,而VL意指可变轻链。Ig来源区域的CDR区可如Kabat“Sequences of Proteins of Immunological Interest”,第5版.NIH出版物no.91-3242U.S.Department of Health and Human Services(1991)中所述进行确定。本文中提供的CDR序列根据Kabat进行定义。然而,技术人员将理解,本发明旨在涵盖这样的结合分子,其中的CDR序列是根据任何可用的标识/编号方案来定义的。例如,可采用以下编号方案来定义CDR:Chothia(免疫球蛋白高变区的典型结构,Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins.Chothia C,Lesk AM.J Mol Biol.1987Aug 20;196(4):901-17)、IMGT(IMGT,国际免疫遗传学数据库,the international ImMunoGeneTics database.Giudicelli V,Chaume D,Bodmer J,Müller W,Busin C,Marsh S,Bontrop R,Marc L,Malik A,Lefranc MP.Nucleic Acids Res.1997Jan 1;25(1):206-11和用于免疫遗传学分析的独特数据库编号系统,Unique database numbering system for immunogenetic analysis.Lefranc MP.Immunol Today.1997Nov;18(11):509)、MacCallum(MacCallum RM,Martin AC,Thornton JM,J Mol Biol.1996Oct 11;262(5):732-45)以及Martin(Abhinandan KR,Martin ACR.Analysis and improvements to Kabat and structurally correct numbering of antibody variable domains.Mol Immunol.(2008) 45:3832-9.10.1016/j.molimm.2008.05.022)。

[0252] 因此,在本发明的上下文中,以上本文中所述的抗体分子选自完整抗体(免疫球蛋白,例如IgG1、IgG2、IgA1、IgA2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgD或IgE)、F(ab)-、Fab'-SH-、Fv-

Fab' -、F(ab')₂-片段、嵌合抗体、CDR接枝抗体、完全人抗体、二价抗体构建体、抗体融合蛋白、合成抗体、二价单链抗体、三价单链抗体和多价单链抗体。

[0253] “人源化方法”在本领域中是公知的,并且特别针对抗体分子,例如Ig来源的分子进行描述。术语“人源化”是指包含来源于非人抗体的序列的一些部分的非人(例如,鼠)抗体或其片段(例如Fv、Fab、Fab'、F(ab'))、scFv或抗体的其他抗原结合部分序列)的人源化形式。人源化抗体包括人免疫球蛋白,其中来自人免疫球蛋白互补决定区(CDR)的残基被具有所期望结合特异性、亲和力和能力的来自非人物种(例如小鼠、大鼠或兔)的CDR的残基替代。一般而言,人源化抗体将包含至少一个,并且通常是两个的可变结构域中的基本上全部,其中所有或基本上所有的CDR区对应于非人免疫球蛋白的那些,并且所有或基本上所有的FR区是人免疫球蛋白共有序列的那些。最佳地,人源化抗体还将包含免疫球蛋白恒定区(Fc)(通常是人免疫球蛋白的恒定区)的至少一部分;尤其参见,Jones et al.,*Nature* 321(1986),522-525,Presta,*Curr.Op.Struct.Biol.*2(1992),593-596。用于使非人抗体人源化的方法是本领域中公知的。通常,人源化抗体具有从非人来源中引入其中的一个或更多个氨基酸,仍保留了该抗体的原始结合活性。用于使抗体/抗体分子人源化的方法还详述于Jones et al.,*Nature* 321(1986),522-525;Reichmann et al.,*Nature* 332(1988),323-327;以及Verhoeyen et al.,*Science* 239(1988),1534-1536中。人源化抗体的一些具体实例,例如针对EpCAM的抗体在本领域中是已知的(参见例如LoBuglio,*Proceedings of the American Society of Clinical Oncology Abstract*(1997),1562和Khor,*Proceedings of the American Society of Clinical Oncology Abstract*(1997),847)。

[0254] 因此,在本发明的上下文中,提供了可成功用于药物组合物中的抗体分子或其抗原结合片段。

[0255] 本发明的抗体或抗原结合片段的特异性不仅可由如上限定的该抗体或抗原结合片段的氨基酸序列的性质来表示,而且还可由该抗体能够结合的表位来表示。因此,在一个实施方案中,本发明涉及与本发明的抗体识别相同表位的抗TDP-43抗体或其抗原结合片段,特别是抗磷酸化TDP-43抗体或其抗原结合片段。

[0256] 本领域技术人员可理解,表位可包含在TDP-43蛋白中,但是也可包含在其降解产物中或者可以是化学合成的肽。指示氨基酸位置仅为了显示相应氨基酸序列在(全长人)TDP-43蛋白的序列(SEQ ID NO:1)中的位置。本发明涵盖所有包含表位的肽。所述肽可以是长度大于100个氨基酸的多肽的一部分,或者可以是小于100个,优选小于50个,更优选小于25个氨基酸,甚至更优选小于16个氨基酸的小肽。这样的肽的氨基酸可以是天然氨基酸或非天然氨基酸(例如, β -氨基酸、 γ -氨基酸、D-氨基酸)或其组合。此外,本发明可涵盖表位的相应逆反肽(retro-inverso peptide)。所述肽可以是未结合的或结合的。其可与例如小分子(例如,药物或荧光团)、高分子量聚合物(例如,聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)、聚乙烯亚胺(polyethylene imine, PEI)、甲基丙烯酸羟丙酯(hydroxypropylmethacrylate, HPMA)等)或蛋白质、脂肪酸、糖部分进行结合或者可插入膜中。

[0257] 为了测试所讨论的抗体和本发明的抗体是否识别相同的表位,可进行以下竞争研究:将以3种MOI(感染复数(multiplicity of infection))感染的Vero细胞在20小时之后与不同浓度的作为竞争者的所讨论抗体孵育1小时。在第二孵育步骤中,以100nM的恒定浓

度施加本发明的抗体,并使用针对本发明抗体的恒定结构域的荧光标记抗体,通过流式细胞术检测其结合。以与所讨论抗体的浓度成反比例(成反比)进行结合指示着两种抗体识别相同表位。然而,可使用本领域中已知的许多其他测定。

[0258] 本发明还涉及针对磷酸化TDP-43的天然多肽和重组多肽的特异性抗体的产生。该产生例如基于动物如小鼠的免疫接种。然而,在本发明中还设想了用于产生抗体/抗血清的其他动物。例如,单克隆抗体和多克隆抗体可由兔、小鼠、山羊、驴等产生。可将编码TDP-43的相应所选择多肽的多核苷酸亚克隆到合适的载体中,其中使重组多肽在能够表达的生物体,例如在细菌中表达。因此,可将表达的重组蛋白经腹膜内注射到小鼠中,并且所得特异性抗体可例如从通过心脏内血液穿刺提供的小鼠血清中获得。本发明还设想通过使用如所附实施例中例示的DNA疫苗策略来产生针对天然多肽和重组多肽的特异性抗体。DNA疫苗策略是本领域中公知的,并且涵盖脂质体介导的递送,通过基因枪或喷射注射以及肌内或皮内注射进行。因此,针对磷酸化TDP-43的多肽或蛋白质或表位(特别是本文中提供的抗体的表位)的抗体可通过肌内直接注射表达磷酸化TDP-43的所期望多肽或蛋白质或表位的载体以对动物直接进行免疫接种来获得,所述表位特别地是位于人TDP-43(SEQ ID NO:1)第361至414位氨基酸残基内的本发明抗体表位,更特别地是与由人TDP-43(SEQ ID NO:1)的磷酸化氨基酸残基pS403、pS404、pS409、pS410内的特定氨基酸序列形成的TDP-43结构进行结合或相互作用的表位。

[0259] 可使用ELISA对获得的特异性抗体的量进行定量,这也在下文中进行了描述。用于产生抗体的另外的方法是本领域中公知的,参见例如Harlow and Lane,“Antibodies, A Laboratory Manual”, CSH Press, Cold Spring Harbor, 1988。

[0260] 因此,在指定的测定条件下,特定的抗体与TDP-43的相应表位彼此结合,而不与样品中存在的其他组分以显著量结合。在这样的条件下与靶分析物的特异性结合可能需要结合部分,该结合部分针对其对特定靶分析物的特异性进行选择。可使用多种免疫测定形式来选择与特定抗原特异性反应的抗体。例如,常规地使用固相ELISA免疫测定来选择与分析物特异性免疫反应的单克隆抗体。对可用于确定特异性免疫反应性的免疫测定形式和条件的描述参见Shepherd and Dean(2000), Monoclonal Antibodies: A Practical Approach, Oxford University Press and/or Howard and Bethell。通常来说,特异性或选择性反应将是背景信噪比的至少两倍,并且更通常是背景的超过10至100倍大。本领域技术人员能够提供和产生针对新的多肽的特异性结合分子。对于特异性结合测定,其可容易地用于避免不期望的交叉反应性,例如,可通过已知方法容易地纯化和选择多克隆抗体(参见Shepherd and Dean, loc. Cit.)。

[0261] 抗体的“类别”是指其重链所具有的恒定结构域或恒定区的类型。抗体存在五种主要类别: IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,并且这些中的数种可进一步划分为亚类(同种型),例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。对应于不同类别的免疫球蛋白的重链恒定结构域分别称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 。

[0262] 在某些实施方案中,考虑了本文中提供的抗体的氨基酸序列变体。例如,可期望改善抗体的结合亲和力和/或其他生物学特性。抗体的氨基酸序列变体可通过将合适的修饰引入到编码抗体的核苷酸序列中,或通过肽合成来制备。这样的修饰包括例如,抗体氨基酸序列中残基的缺失和/或其中的插入和/或其替换。可进行缺失、插入和替换的任意组合以

获得最终的构建体,前提是最终的构建体具有所期望的特征,例如抗原结合。

[0263] 在某些实施方案中,提供了具有一个或多个氨基酸替换的抗体变体。替换型诱变的目的位点包括CDR和FR。保守替换示于表1中“优选替换”的标题下。更多的替换型变化提供于表1中“示例性替换”的标题下,并且如以下参考氨基酸侧链类别所进一步描述的。可将氨基酸替换引入目的抗体中,并针对所期望活性,例如,保留/改善的抗原结合、降低的免疫原性或改善的ADCC或CDC来筛查产物。

[0264] 表1

原始残基	示例性替换	优选替换
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp; Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸 ; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu

Phe (F)	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; 正亮氨酸	Leu

[0265] 氨基酸可根据共同的侧链特性进行分组:

[0266] (1) 疏水性:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0267] (2) 中性亲水性:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;

[0268] (3) 酸性:Asp、Glu;

[0269] (4) 碱性:His、Lys、Arg;

[0270] (5) 影响链取向的残基:Gly、Pro;

[0271] (6) 芳香族: Trp、Tyr、Phe。

[0272] 非保守替换将需要将这些类别之一的成员更换为另一类别。

[0273] 一种类型的替换型变体涉及替换亲本抗体(例如人源化或人抗体)的一个或更多个高变区残基。通常,选择用于进一步研究的所得变体将相对于亲本抗体在某些生物学特性方面有改进(例如,改善)(例如,提高的亲合力、降低的免疫原性);和/或将基本上保留亲本抗体的某些生物学特性。一种示例性替换型变体是亲合力成熟抗体,其可例如使用基于噬菌体展示的亲合力成熟技术(例如本文中所述的那些)而方便地产生。简言之,使一个或更多个CDR残基突变并将变体抗体展示在噬菌体上并针对特定的生物活性(例如,结合亲合力)进行筛查。

[0274] 可在CDR中进行改变(例如,替换),例如以提高抗体亲合力。这样的改变可在CDR“热点”,即由在体细胞成熟过程期间以高频率发生突变的密码子编码的残基(参见例如,Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196(2008)),和/或SDR(a-CDR)中进行,并测试所得变体VH或VL的结合亲合力。通过构建二级文库以及从二级文库中再选择而进行的亲合力成熟已经描述于例如Hoogenboom et al., in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001).)中。在亲合力成熟的一些实施方案中,通过多种方法(例如,易错PCR、链混编或寡核苷酸定向诱变)中的任一种将多样性引入到选择用于成熟的可变基因中。然后创建二级文库。然后筛查该文库以鉴定具有所期望亲和力的任何抗体变体。用于引入多样性的另一方法涉及CDR指导的方法,其中数个CDR残基(例如,一次4至6个残基)是随机化的。抗原结合中涉及的CDR残基可例如使用丙氨酸扫描诱变或建模来特别地鉴定。特别地,CDR-H3和CDR-L3通常被靶向。

[0275] 在某些实施方案中,替换、插入或缺失可在一个或更多个CDR中发生,只要这样的改变基本上不降低抗体结合抗原的能力即可。例如,可在CDR中进行基本上不降低结合亲和力的保守改变(例如,如本文中提供的保守替换)。这样的改变可在CDR“热点”或SDR之外。在上文提供的变体VH和VL序列的某些实施方案中,每个CDR是未经改变的,或包含不超过一个、两个或三个氨基酸替换。

[0276] 用于鉴定抗体的可靶向诱变的残基或区域的可用方法称为“丙氨酸扫描诱变”,如由Cunningham and Wells(1989) *Science*, 244:1081-1085所述。在该方法中,鉴定残基或靶残基组(例如,带电荷的残基,例如Arg、Asp、His、Lys和Glu),并将其用中性或带负电荷的氨基酸(例如,丙氨酸或聚丙氨酸)进行替代以确定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可在对初始替换显示出功能敏感性的氨基酸位置引入另外的替换。作为替代或补充,抗原-抗体复合物的晶体结构用于鉴定抗体与抗原之间的接触点。这样的接触残基和邻近残基可作为替换的候选物被靶向或消除。可对变体进行筛查以确定其是否包含所期望的特性。

[0277] 氨基酸序列插入包括:长度为一个残基至包含一百个或更多个残基的多肽的氨基末端和/或羧基末端融合,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的一些实例包括具有N端甲硫氨酰基残基的抗体。抗体分子的另一一些插入型变体包括抗体的N或C端与提高抗体的血清半衰期的酶(例如,对于ADEPT)或多肽的融合体。

[0278] 在某些实施方案中,本文中提供的抗体被改变以提高或降低抗体被糖基化的程度。针对抗体的糖基化位点的添加或缺失可通过改变氨基酸序列使得产生或去除一个或更多个糖基化位点而方便地实现。

[0279] 当抗体包含Fc区时,与其连接的碳水化合物可被改变。由哺乳动物细胞产生的天然抗体通常包含通常通过N键与Fc区之CH2结构域的Asn297进行连接的分支的双触角寡糖。参见例如,Wright et al.,TIBTECH 15:26-32(1997)。寡糖可包括多种碳水化合物,例如甘露糖、N-乙酰基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸,以及在双触角寡糖结构的“茎(stem)”中与GlcNAc连接的岩藻糖。在一些实施方案中,可对本发明抗体中的寡糖进行修饰,以产生具有某些经改善特性的抗体变体。

[0280] 在一个实施方案中,提供了具有缺少与Fc区(直接或间接)连接的岩藻糖的碳水化合物结构的抗体变体。例如,这样的抗体中岩藻糖的量可以是1%至80%、1%至65%、5%至65%、或20%至40%。岩藻糖的量通过计算Asn297的糖链中岩藻糖的平均量来确定,这相对于与Asn 297连接的所有糖结构(例如,复合、杂合和高甘露糖结构)的总和进行,如通过MALDI-TOF质谱所测量的,例如如WO 2008/077546中所述。Asn297是指位于Fc区中约第297位的天冬酰胺残基(Fc区残基的Eu编号;参见Edelman,G.M.et al.,Proc.Natl.Acad.USA, 63,78-85(1969));然而,由于抗体中的微小序列变化,因此Asn297也可位于第297位上游或下游约±3个氨基酸,即在第294位与第300位之间。这样的岩藻糖基化变体可具有改善的ADCC功能。参见例如,美国专利公开No.US2003/0157108(Presta,L.);US2004/0093621(Kyowa Hakko Kogyo Co.,Ltd)。与“去岩藻糖基化”或“岩藻糖缺陷型”抗体变体有关的出版物的一些实例包括:

[0281] US 2003/0157108;WO 2000/61739;WO2001/29246;US 2003/0115614;US 2002/0164328;US2004/0093621;US2004/0132140;US2004/0110704;US 2004/0110282;US 2004/0109865;WO 2003/085119;WO 2003/084570;WO 2005/035586;WO 2005/035778;WO2005/053742;WO2002/031140;Okazaki et al.,J.Mol.Biol.336:1239-1249(2004);Yamane-Ohnuki et al.,Biotech.Bioeng.87:614(2004)。

[0282] 能够产生去岩藻糖基化抗体的细胞系的一些实例包括蛋白质岩藻糖基化缺陷型Lec13 CHO细胞(Ripka et al.,Arch.Biochem.Biophys.249:533-545(1986);美国专利申请No US2003/0157108 A1,Presta,L;以及WO 2004/056312A1,Adams et al.,尤其在实施例11),以及敲除细胞系,例如 α -1,6-岩藻糖基转移酶基因FUT8,敲除CHO细胞(参见例如,Yamane-Ohnuki et al.,Biotech.Bioeng.87:614(2004);Kanda,Y.et al.,Biotechnol.Bioeng.,94(4):680-688(2006);以及WO2003/085107)。

[0283] 还提供了具有二等分的寡糖的抗体变体,例如,其中与抗体的Fc区连接的双触角寡糖被GlcNAc二等分。这样的抗体变体可具有降低的岩藻糖基化和/或改善的ADCC功能。这样的抗体变体的一些实例描述于例如WO 2003/011878(Jean-Mairet et al.);美国专利No.6,602,684(Umana et al.);以及US2005/0123546(Umana et al.)中。还提供了在与Fc区连接的寡糖中具有至少一个半乳糖残基的抗体变体。这样的抗体变体可具有改善的CDC功能。这样的抗体变体描述于例如WO 1997/30087(Patel et al.);WO 1998/58964(Raju,S.);以及WO 1999/22764(Raju,S.)中。

[0284] 在某些实施方案中,可将一种或更多种氨基酸修饰引入本文中提供的抗体的Fc区中,从而产生Fc区变体。Fc区变体可包含在一个或更多个氨基酸位置处含有氨基酸修饰(例如,替换)的人Fc区序列(例如,人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc区)。

[0285] 在某些实施方案中,本发明考虑了以下抗体变体,其具有一些但并非全部的效应

物功能,这使其成为其中抗体的体内半衰期是重要的而某些效应物功能(例如补体激活和ADCC)是不必要或有害的这样的应用的所期望候选物。可进行体外和/或体内细胞毒性测定,以确定CDC和/或ADCC活性的降低/耗尽。例如,可进行Fc受体(Fc receptor,FcR)结合测定以确保抗体缺乏Fc γ R结合(因此可能缺乏ADCC活性)但保留FcRn结合能力。介导ADCC的主要细胞NK细胞仅表达Fc γ R1,而单核细胞和小胶质细胞表达Fc γ R1、Fc γ R2和Fc γ R3。造血细胞上的FcR表达概述于Ravetch and Kinet,Annu.Rev.Immunol.9:457-492(1991)的第464页的表3中。评估目的分子的ADCC活性的体外测定的一些非限制性实例描述于美国专利No.5,500,362(参见例如,Hellstrom,I.et al.,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 83:7059-7063(1986))和Hellstrom,I et al.,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 82:1499-1502(1985);5,821,337(参见Bruggemann,M.et al.,J.Exp.Med.166:1351-1361(1987))中。

[0286] 或者,可采用非放射性测定方法(参见例如,用于流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定(CellTechnology,Inc.Mountain View,CA);以及CytoTox 96®非放射性细胞毒性测定(Promega,Madison,WI))。用于这样的测定的可用的效应细胞包括外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell,PBMC)和自然杀伤(Natural Killer,NK)细胞。

[0287] 作为替代或补充,可在体内,例如在动物模型例如公开于Clynes et al.,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 95:652-656(1998)中的动物模型中评估目的分子的ADCC活性。也可进行C1q结合测定以确定抗体不能结合C1q并因此缺乏CDC活性。参见例如,WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体激活,可进行CDC测定(参见例如,Gazzano-Santoro et al.,J.Immunol.Methods 202:163(1996);Cragg,M.S.etal.,Blood 101:1045-1052(2003);以及Cragg,M.S.and M.J.Glennie,Blood103:2738-2743(2004))。还可使用本领域中已知的方法进行FcRn结合和体内清除/半衰期的确定(参见例如,Petkova,S.B.et al.,Int'l.Immunol.18(12):1759-1769(2006))。

[0288] 具有降低的效应物功能的抗体包括Fc区第234位、第235位、第238位、第265位、第269位、第270位、第297位、第327位和第329位残基中的一个或更多个被替换的抗体(美国专利No.6,737,056)。描述了具有改善或减弱的与FcR的结合的某些抗体变体。(参见例如,美国专利No.6,737,056;WO 2004/056312,以及Shields et al.,J.Biol.Chem.9(2):6591-6604(2001))。这样的Fc突变体包括在第265位、第269位、第270位、第297位和第327位氨基酸中的两个或更多个处进行替换的Fc突变体,包括第265位和第297位残基被替换为丙氨酸的所谓的“DANA”Fc突变体(美国专利No.7,332,581),或者第265位残基被替换为丙氨酸以及第297位残基被替换为甘氨酸的所谓的“DANG”Fc突变体。或者,具有降低的效应物功能的抗体包括Fc区第234位、第235位和第329位残基中的一个或更多个被替换的抗体,即第234位和第235位残基被替换为丙氨酸以及第329位被替换为甘氨酸的所谓的“PG-LALA”Fc突变体(Lo,M.et al.,Journal of Biochemistry,292,3900-3908)。可使用在第234位、第235位和第321位的其他已知突变,即在CH2结构域中包含突变L234F/L235E/P331S的所谓的TM突变体(Oganesyan et al.Acta Cryst.D64,700-704.(2008))。来自人IgG4同种型的抗体包含突变S228P/L235E以使铰链稳定并降低FcR结合(Schlothauer et al,PEDS,29(10):457-466)。

[0289] 另一些Fc变体包括在以下Fc区残基中的一个或更多个处进行替换的Fc变体:第

238位、第256位、第265位、第272位、第286位、第303位、第305位、第307位、第311位、第312位、第317位、第340位、第356位、第360位、第362位、第376位、第378位、第380位、第382位、第413位、第424位或第434位；例如Fc区第434位残基被替换的Fc变体(美国专利No.7,371,826)。还参见Duncan&Winter, Nature322:738-40(1988)；美国专利No.5,648,260；美国专利No.5,624,821。

[0290] 在某些实施方案中,对Fc区进行突变以提高其在pH 6.0下对FcRn的亲合力并因此延长抗体半衰期。具有增强的对FcRn的亲合力的抗体包括以下Fc区残基中的一个或多个被替换的那些:第252位、第253位、第254位、第256位、第428位、第434位；包括具有替换M252Y/S254T/T256E的所谓的YTE突变(Dall'Acqua et al, J Immunol.169:5171-5180(2002))或LS突变M428L/N434S(Zalevsky et al, Nat Biotechnol.28(2):157-159(2010))。

[0291] 在某些实施方案中,可期望产生半胱氨酸改造抗体,例如“thioMAB”,其中抗体的一个或多个残基被半胱氨酸残基替换。在一些具体实施方案中,所替换的残基出现在抗体的可及位点。通过用半胱氨酸替换这些残基,反应性巯基由此位于抗体的可及位点,并且可用于将抗体与其他部分,例如药物部分或接头-药物部分缀合,以产生免疫缀合物,如本文中进一步所述。在某些实施方案中,以下残基中的任一个或多个可被半胱氨酸替换:轻链的V205(Kabat编号);重链的A118(EU编号);以及重链Fc区的S400(EU编号)。半胱氨酸改造抗体可如例如美国专利No.7,521,541中所述产生。

[0292] 在某些实施方案中,本文中提供的抗体还可被修饰以包含本领域中已知且容易获得的另外的非蛋白质性部分。适合于抗体衍生化的部分包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的一些非限制性实例包括但不限于聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇的共聚物、羧甲基纤维素、右旋糖酐、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧戊环、聚1,3,6-三噁烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或无规共聚物)、和右旋糖酐或聚(正乙烯基吡咯烷酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化多元醇(例如,甘油)、聚乙烯醇,及其混合物。聚乙二醇丙醛由于其在水中稳定因而可在制造中具有优势。该聚合物可具有任意分子量,并且可以是支化或非支化的。与抗体连接的聚合物的数目可变化,并且如果连接多于一个聚合物,则它们可以是相同或不同的分子。一般而言,用于衍生化的聚合物的数目和/或类型可基于以下考虑因素来确定,所述考虑因素包括但不限于待改进抗体的特定特性或功能、抗体衍生物是否将用于以下限定条件下的治疗中,等。

[0293] 在另一个实施方案中,提供了抗体与可通过暴露于辐射而选择性加热的非蛋白质性部分的缀合物。在一个实施方案中,非蛋白质性部分是碳纳米管(Kam et al., Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102:11600-11605(2005))。辐射可具有任何波长,并且包括但不限于不损害普通细胞但将非蛋白质性部分加热至杀伤邻近于抗体-非蛋白质性部分的细胞的温度的波长。

[0294] 抗体可使用重组方法和组合物来产生,例如如美国专利No.4,816,567中所述。在一个实施方案中,提供了经分离的编码本文中所述抗磷酸化TDP-43抗体的核酸。这样的核酸可编码包含抗体的VL的氨基酸序列和/或包含抗体的VH的氨基酸序列(例如,抗体的轻链和/或重链)。在另一个实施方案中,提供了包含这样的核酸的一种或更多种载体(例如,表达载体)。在另一个实施方案中,提供了包含这样的核酸的宿主细胞。在一个这样的实施方

案中,宿主细胞包含以下(例如,已经用以下进行转化):(1)载体,其包含编码包含抗体的VL的氨基酸序列和包含抗体的VH的氨基酸序列的核酸;或(2)第一载体和第二载体,所述第一载体包含编码包含抗体的VL的氨基酸序列的核酸,所述第二载体包含编码包含抗体的VH的氨基酸序列的核酸。在一个实施方案中,宿主细胞是真核的,例如,中国仓鼠卵巢(Chinese Hamster Ovary,CHO)细胞或淋巴样细胞(例如YO、NS0、Sp20)。在一个实施方案中,提供了制备抗磷酸化TDP-43抗体的方法,其中该方法包括:在适合于表达抗体的条件下,培养如上所提供的包含编码抗体的核酸的宿主细胞;以及任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)中回收抗体。

[0295] 对于重组产生本发明TDP-43抗体,分离例如如上所述的编码抗体的核酸,并将其插入一个或多个载体中,以进一步克隆和/或者在宿主细胞或无细胞表达系统中表达。这样的核酸可容易地使用常规操作来分离和测序(例如,通过使用能够与编码抗体的重链和轻链的基因特异性地结合的寡核苷酸探针来进行)。

[0296] 用于克隆或表达抗体编码载体的合适宿主细胞包括本文中所述的原核或真核细胞。例如,可在细菌中产生抗体,特别是在不需要糖基化和Fc效应物功能时。对于抗体片段和多肽在细菌中的表达,参见例如,美国专利No.5,648,237、5,789,199和5,840,523。(还参见Charlton,Methods in Molecular Biology,Vol.248(B.K.C.Lo,ed.,Humana Press,Totowa,NJ,2003),pp.245-254,描述了抗体片段在大肠杆菌(E.coli.)中的表达)。在表达之后,可从细菌细胞糊中分离在可溶性级分中的抗体,并可将其进一步纯化。

[0297] 除原核生物之外,真核微生物例如丝状真菌或酵母也是适合于抗体-编码载体的克隆或表达宿主,包括:其糖基化途径已被“人源化”从而导致产生具有部分或完全人糖基化模式的抗体的真菌和酵母菌株。参见Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-1414(2004);以及Li et al.,Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[0298] 用于表达糖基化抗体的合适宿主细胞也来源于多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的一些实例包括植物和昆虫细胞。已鉴定出许多杆状病毒株,其可与昆虫细胞结合使用,特别地用于转染草地贪夜蛾(Spodoptera frugiperda)细胞。

[0299] 植物细胞培养物也可用作宿主。参见例如,美国专利No 5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978和6,417,429(描述了用于在转基因植物中产生抗体的PLANTIBODIES™技术)。

[0300] 脊椎动物细胞也可用作宿主。例如,可使用适于悬浮生长的哺乳动物细胞系。可用的哺乳动物宿主细胞系的另一些实例是由SV40转化的猕猴肾CV1系(COS-7);人胚肾细胞系(293或293细胞,如描述于例如Graham et al.,J.Gen Viral.36:59(1977)中);幼仓鼠肾细胞(baby hamster kidney cell,BHK);小鼠塞托利(Sertoli)细胞(TM4细胞,如描述于例如Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)中);猕猴肾细胞(CV 1);非洲绿猕猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HeLa);犬肾细胞(MDCK);布法罗(buffalo)大鼠肝细胞(BRL3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,如描述于例如Mather et al.,Annals N.Y Acad.Sci.383:44-68(1982)中;MRC 5细胞;以及FS4细胞。另一些可用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR CHO细胞(Urlaub et al.,Proc.Natl.Acad.Cii.USA 77:4216(1980));以及骨髓瘤细胞系,例如YO、NS0和Sp2/0。对于适合于抗体产生的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,参见例如,Yazaki and

Wu, Methods in Molecular Biology, Val. 248 (B.K.C.Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)。

[0301] 对于递送分子穿过血脑屏障 (blood brain barrier, BBB), 存在数种本领域已知的方法, 例如施用途径的改变、对BBB的破坏及其通透性的改变、纳米粒递送、特洛伊木马方法 (Trojan horse approach)、受体介导的转运以及细胞和基因治疗。

[0302] 施用途径的改变可通过以下来实现: 直接注射到脑中 (参见例如, Papanastassiou et al., Gene Therapy 9:398-406 (2002)), 在脑中植入递送装置 (参见例如, Gillet al., Nature Med. 9:589-595 (2003); 和 Gliadel Wafers™, Guildford Pharmaceutical), 以及绕过BBB的鼻内施用 (Mittal et al, Drug Deliv. 21 (2):75-86. (2014))。

[0303] 屏障破坏的方法包括但不限于: 超声 (参见例如, 美国专利公开No. 2002/0038086); 渗透压 (例如, 通过施用高渗甘露醇 (Neuwelt, E.A., Implication of the Blood-Brain Barrier and its Manipulation, Vols 1&2, Plenum Press, N.Y. (1989))); 透化, 通过例如缓激肽或透化剂A-7 (参见例如, 美国专利No. 5, 112, 596、5, 268, 164、5, 506, 206和5, 686, 416)。

[0304] 改变BBB通透性的方法包括但不限于: 使用糖皮质激素阻断剂来提高血脑屏障的通透性 (参见例如, 美国专利申请公开No. 2002/0065259、2003/0162695和2005/0124533); 激活钾通道 (参见例如, 美国专利申请公开No. 2005/0089473); 以及抑制ABC药物转运蛋白 (参见例如, 美国专利申请公开No. 2003/0073713)。

[0305] 递送抗体或其抗体片段穿过血脑屏障的特洛伊木马递送方法包括但不限于: 使抗体阳离子化 (参见例如, 美国专利No. 5, 004, 697), 以及使用细胞穿透肽例如Tat肽从而得以进入CNS中。 (参见例如, Dietz et al., J. Neurochem. 104:757-765 (2008))。

[0306] 递送抗体或其抗原结合片段穿过血脑屏障的纳米粒递送方法包括但不限于: 将抗体或其抗原结合片段包封在脂质体或胞外囊泡例如外泌体中, 所述脂质体或胞外囊泡与与血脑屏障的血管内皮上的受体结合的抗体或抗原结合片段或作为替代的肽偶联 (不限于此) (参见例如, 美国专利申请公开No. 20020025313); 以及将抗体或其抗原结合片段包被在低密度脂蛋白颗粒中 (参见例如, 美国专利申请公开No. 20040204354) 或包被在载脂蛋白E中 (参见例如, 美国专利申请公开No. 20040131692)。

[0307] 本发明的抗体可被另外修饰以增强血脑屏障穿透。

[0308] 本发明的抗体或其抗原结合片段可与与血脑屏障受体结合的多肽融合。BBB受体包括但不限于转铁蛋白受体、胰岛素受体或低密度脂蛋白受体。多肽可以是肽、受体配体、单结构域抗体 (VHH)、scFv或Fab片段。

[0309] 本发明的抗体也可作为编码所述抗体的相应核酸来递送。这样的核酸分子可以是用于靶向递送至血脑屏障或CNS中的任何其他细胞类型的病毒载体的一部分。一个非限制性实例是包含编码本发明抗体的核酸分子的病毒载体, 其用于靶向递送至BBB的内皮细胞、BBB的周细胞或星形胶质细胞。在一些实施方案中, BBB的内皮细胞、BBB的周细胞或星形胶质细胞表达抗体并将抗体分泌到脑实质中。病毒载体可以是选自本领域已知的任何AAV血清型 (包括但不限于AAV1至AAV12) 的重组腺相关病毒载体 (recombinant adeno-associated viral vector, rAAV), 以使得抗体或抗体片段或抗体衍生物能够在细胞内表达或在脑实质中表达。

[0310] 递送本发明抗体或抗体片段或抗体衍生物穿过血脑屏障的细胞治疗方法包括但不限于:使用载体进行离体转染的内皮祖细胞(Endothelial Progenitor Cell,EPC)的归巢能力,以及通过这些细胞分泌抗体或抗体片段并向脑递送所述抗体或抗体片段,以克服血脑屏障的强大过滤活动(参见例如,Heller and al.,J Cell Mol Med.00:1-7 (2020));或者使用装载有经遗传改造细胞的聚合物细胞植入装置来分泌抗体或抗体片段(参见,例如Marroquin Belaunzaran et al.PloS ONE 6(4):e18268(2011))。

[0311] 可药用载体、稀释剂、佐剂和赋形剂在药物领域是公知的,并在例如以下中描述:

[0312] Remington's Pharmaceutical Sciences,15th or 18th Ed. (Alfonso R.Gennaro, ed.;MackPublishingCompany,Easton,PA,1990);Remington:the Science and Practice of Pharmacy 19th Ed. (Lippincott,Williams&Wilkins,1995);Handbook of Pharmaceutical Excipients,3rd Ed. (Arthur H.Kibbe,ed.;Amer.PharmaceuticalAssoc,1999);Pharmaceutical Codex:Principles andPracticeofPharmaceutics 12th Ed. (Walter Lund ed.;Pharmaceutical Press,London,1994);The United StatesPharmacopeia:The National Formulary(United States Pharmacopeial Convention);Fiedler's "Lexikon derHilfstoffe" 5th Ed.,Edition Cantor Verlag Aulendorf 2002;"The Handbook of Pharmaceutical Excipients",4th Ed.,American Pharmaceuticals Association,2003;以及GoodmanandGilman's:the Pharmacological Basis of Therapeutics (Louis S.Goodman and Lee E.Limbird,eds.;McGrawHill,1992),其公开内容通过引用在此并入。

[0313] 载体、稀释剂、佐剂和药物赋形剂可关于预期的施用途径和标准药物实践来选择。这些化合物在对其接受者无害的意义上必须是可接受的。

[0314] 待施用于对象的化合物的“有效量”是根据合理的医学判断适合于治疗、预防或减轻疾病、障碍或异常的剂量。具体的剂量水平和频率可取决于例如多种因素,包括:所用特定化合物的活性、该化合物的代谢稳定性和作用时长、施用方式和时间、排泄速率和药物组合。患者特异性的因素,例如年龄、体重、一般健康、性别、饮食以及特定病症的严重程度,也会影响待施用的量。

[0315] TDP-43结合分子的一些发明性实施方案

[0316] 在一些实施方案中,提供了包含以下的TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体或其抗原结合片段:

[0317] a) 含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0318] b) 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0319] c) 含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0320] d) 含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0321] e) 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0322] f) 含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0323] g) 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3。

[0324] 在一些实施方案中,提供了包含以下的TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体或其抗原结合片段:

[0325] a) 含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0326] b) 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0327] c) 含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0328] d) 含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0329] e) 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0330] f) 含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0331] g) 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0332] h) 含有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0333] 在一些实施方案中,提供了包含以下的TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体或其抗原结合片段:

[0334] a) 含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0335] b) 含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0336] c) 含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0337] d) 含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0338] e) 含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0339] f) 含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0340] g) 含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0341] 在一些实施方案中,提供了包含以下的TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体或其

抗原结合片段:

[0342] a) 含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0343] b) 含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0344] c) 含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0345] d) 含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0346] e) 含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0347] f) 含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0348] g) 含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0349] h) 含有SEQ ID NO:115的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:116的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0350] 在一些实施方案中,提供了包含以下的TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体或其抗原结合片段:

[0351] a) 重链可变区(VH),其包含:

[0352] i. 含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0353] ii. 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0354] iii. 含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0355] iv. 含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0356] v. 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0357] vi. 含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0358] vii. 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3;以及

[0359] b) 轻链可变区(VL),其包含:

[0360] i. 含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0361] ii. 含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0362] iii.含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0363] iv.含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0364] v.含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0365] vi.含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0366] vii.含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0367] 在一些实施方案中,提供了包含以下的TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体或其抗原结合片段:

[0368] a)重链可变区(VH),其包含:

[0369] i.含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0370] ii.含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0371] iii.含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0372] iv.含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0373] v.含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0374] vi.含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0375] vii.含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0376] viii.含有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH-CDR3;以及

[0377] b)轻链可变区(VL),其包含:

[0378] i.含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0379] ii.含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0380] iii.含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0381] iv.含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0382] v.含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列

的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0383] vi.含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0384] vii.含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0385] viii.含有SEQ ID NO:115的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:116的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0386] 在一些实施方案中,提供了包含以下的TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体或其抗原-片段:

[0387] a)重链可变区(VH),其包含:

[0388] i.含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:11具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:12具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:13具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0389] ii.含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:21具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:22具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:23具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0390] iii.含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:31具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:32具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:33具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0391] iv.含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:41具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:42具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:33具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0392] v.含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:51具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:52具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:53具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0393] vi.含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:61具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:62具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ

ID NO:63具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0394] vii.含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:81具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:82具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:83具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;以及

[0395] b) 轻链可变区 (VL), 其包含:

[0396] i. 含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:15具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:16具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:17具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0397] ii. 含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:25具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:26具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:27具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0398] iii. 含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:35具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:16具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:37具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0399] iv. 含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:45具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:46具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:47具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0400] v. 含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:55具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:26具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:57具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0401] vi. 含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:75具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:76具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:77具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0402] vii. 含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:85具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基

酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:16具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:87具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0403] 在一些实施方案中,提供了包含以下的TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体或其抗原结合片段:

[0404] a) 重链可变区(VH),其包含:

[0405] i. 含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:11具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:12具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:13具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0406] ii. 含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:21具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:22具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:23具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0407] iii. 含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:31具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:32具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:33具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0408] iv. 含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:41具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:42具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:33具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0409] v. 含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:51具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:52具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:53具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0410] vi. 含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:61具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:62具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:63具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0411] vii. 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:81具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:82具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性

的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:83具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;或者

[0412] viii.含有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO:111具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1;含有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:112具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2;以及含有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:113具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;以及

[0413] b) 轻链可变区 (VL), 其包含:

[0414] i.含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:15具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:16具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:17具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0415] ii.含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:25具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:26具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:27具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0416] iii.含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:35具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:16具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:37具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0417] iv.含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:45具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:46具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:47具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0418] v.含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:55具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:26具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:57具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0419] vi.含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:75具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:76具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:77具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0420] vii. 含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:85具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:16具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:87具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0421] viii. 含有SEQ ID NO:115的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:115具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1;含有SEQ ID NO:116的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:116具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2;以及含有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:117具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0422] 类似地,在一些实施方案中,提供了包含以下的TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体或其抗原结合片段:

[0423] a) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有SEQ ID NO: 11的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 11具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1, 含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO 12具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:13具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区 (VL) 包含含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:15具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1, 含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:16具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:17具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0424] b) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有SEQ ID NO: 21的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 21具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1, 含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:22具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO 23具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区 (VL) 包含含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:25具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1, 含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:26具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:27具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0425] c) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有SEQ ID NO: 31的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 31具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1, 含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:32具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2, 以及

含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO 33具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:35具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1,含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:16具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2,以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:37具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0426] d) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 41具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1,含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:42具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2,以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:33具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:45具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1,含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:46具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2,以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:47具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0427] e) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 51具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1,含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:52具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2,以及含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:53具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:55具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1,含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:26具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2,以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:57具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0428] f) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 61具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1,含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:62具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2,以及含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:63具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:55具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1,含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:26具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2,以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:57具有至少80%、

90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0429] g) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有SEQ ID NO: 51的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 51具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1, 含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:52具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:53具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3; 所述轻链可变区 (VL) 包含含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:75具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1, 含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:76具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:77具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3; 或者

[0430] h) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有SEQ ID NO: 81的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 81具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1, 含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:82具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:83具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3; 所述轻链可变区 (VL) 包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:85具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1, 含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:16具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:87具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0431] 类似地, 在一些实施方案中, 提供了包含以下的TDP-43结合分子, 特别是TDP-43抗体或其抗原结合片段:

[0432] a) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有SEQ ID NO: 11的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 11具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1, 含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO 12具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:13具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3; 所述轻链可变区 (VL) 包含含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:15具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1, 含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:16具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:17具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3; 或者

[0433] b) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有SEQ ID NO: 21的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 21具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1, 含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与

SEQ ID NO:22具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2,以及含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO 23具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:25具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1,含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:26具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2,以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:27具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0434] c) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 31具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1,含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:32具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2,以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO 33具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:35具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1,含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:16具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2,以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:37具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0435] d) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 41具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1,含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:42具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2,以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:33具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:45具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1,含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:46具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2,以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:47具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0436] e) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 51具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1,含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:52具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2,以及含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:53具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:55具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1,含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:26具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2,以

及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:57具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0437] f) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 61具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1, 含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:62具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:63具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3; 所述轻链可变区 (VL) 包含含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:55具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1, 含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:26具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:57具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3; 或者

[0438] g) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 51具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1, 含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:52具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:53具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3; 所述轻链可变区 (VL) 包含含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:75具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1, 含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:76具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:77具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3; 或者

[0439] h) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 81具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1, 含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:82具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:83具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3; 所述轻链可变区 (VL) 包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:85具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1, 含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:16具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2, 以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:87具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3; 或者

[0440] i) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的VH-CDR1或者含有与SEQ ID NO 111具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR1, 含有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的VH-CDR2或者含有与SEQ ID NO:112具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-

CDR2,以及含有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH-CDR3或者含有与SEQ ID NO:113具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:115的氨基酸序列的VL-CDR1或者含有与SEQ ID NO:115具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR1,含有SEQ ID NO:116的氨基酸序列的VL-CDR2或者含有与SEQ ID NO:116具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR2,以及含有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL-CDR3或者含有与SEQ ID NO:117具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0441] 类似地,在一些实施方案中,提供了包含以下的TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体或其抗原结合片段:

[0442] a) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0443] b) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0444] c) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0445] d) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0446] e) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0447] f) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0448] g) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有 SEQ ID NO: 51 的氨基酸序列的 VH-CDR1、含有 SEQ ID NO: 52 的氨基酸序列的 VH-CDR2 以及含有 SEQ ID NO: 53 的氨基酸序列的 VH-CDR3; 所述轻链可变区 (VL) 包含含有 SEQ ID NO: 75 的氨基酸序列的 VL-CDR1、含有 SEQ ID NO: 76 的氨基酸序列的 VL-CDR2 以及含有 SEQ ID NO: 77 的氨基酸序列的 VL-CDR3; 或者

[0449] h) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有 SEQ ID NO: 81 的氨基酸序列的 VH-CDR1、含有 SEQ ID NO: 82 的氨基酸序列的 VH-CDR2 以及含有 SEQ ID NO: 83 的氨基酸序列的 VH-CDR3; 所述轻链可变区 (VL) 包含含有 SEQ ID NO: 85 的氨基酸序列的 VL-CDR1、含有 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列的 VL-CDR2 以及含有 SEQ ID NO: 87 的氨基酸序列的 VL-CDR3。

[0450] 类似地, 在一些实施方案中, 提供了包含以下的 TDP-43 结合分子, 特别是 TDP-43 抗体或其抗原结合片段:

[0451] a) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有 SEQ ID NO: 11 的氨基酸序列的 VH-CDR1、含有 SEQ ID NO: 12 的氨基酸序列的 VH-CDR2 以及含有 SEQ ID NO: 13 的氨基酸序列的 VH-CDR3; 所述轻链可变区 (VL) 包含含有 SEQ ID NO: 15 的氨基酸序列的 VL-CDR1、含有 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列的 VL-CDR2 以及含有 SEQ ID NO: 17 的氨基酸序列的 VL-CDR3; 或者

[0452] b) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有 SEQ ID NO: 21 的氨基酸序列的 VH-CDR1、含有 SEQ ID NO: 22 的氨基酸序列的 VH-CDR2 以及含有 SEQ ID NO: 23 的氨基酸序列的 VH-CDR3; 所述轻链可变区 (VL) 包含含有 SEQ ID NO: 25 的氨基酸序列的 VL-CDR1、含有 SEQ ID NO: 26 的氨基酸序列的 VL-CDR2 以及含有 SEQ ID NO: 27 的氨基酸序列的 VL-CDR3; 或者

[0453] c) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有 SEQ ID NO: 31 的氨基酸序列的 VH-CDR1、含有 SEQ ID NO: 32 的氨基酸序列的 VH-CDR2 以及含有 SEQ ID NO: 33 的氨基酸序列的 VH-CDR3; 所述轻链可变区 (VL) 包含含有 SEQ ID NO: 35 的氨基酸序列的 VL-CDR1、含有 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列的 VL-CDR2 以及含有 SEQ ID NO: 37 的氨基酸序列的 VL-CDR3; 或者

[0454] d) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有 SEQ ID NO: 41 的氨基酸序列的 VH-CDR1、含有 SEQ ID NO: 42 的氨基酸序列的 VH-CDR2 以及含有 SEQ ID NO: 33 的氨基酸序列的 VH-CDR3; 所述轻链可变区 (VL) 包含含有 SEQ ID NO: 45 的氨基酸序列的 VL-CDR1、含有 SEQ ID NO: 46 的氨基酸序列的 VL-CDR2 以及含有 SEQ ID NO: 47 的氨基酸序列的 VL-CDR3; 或者

[0455] e) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有 SEQ ID NO: 51 的氨基酸序列的 VH-CDR1、含有 SEQ ID NO: 52 的氨基酸序列的 VH-CDR2 以及含有 SEQ ID NO: 53 的氨基酸序列的 VH-CDR3; 所述轻链可变区 (VL) 包含含有 SEQ ID NO: 55 的氨基酸序列的 VL-CDR1、含有 SEQ ID NO: 26 的氨基酸序列的 VL-CDR2 以及含有 SEQ ID NO: 57 的氨基酸序列的 VL-CDR3; 或者

[0456] f) 重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 所述重链可变区 (VH) 包含含有 SEQ ID NO: 61 的氨基酸序列的 VH-CDR1、含有 SEQ ID NO: 62 的氨基酸序列的 VH-CDR2 以及含有 SEQ ID

NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0457] g) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0458] h) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0459] i) 重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:115的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:116的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0460] 在另一个实施方案中,TDP-43抗体包含选自以下的重链可变结构域(VH):SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60和80,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体实施方案中,重链可变结构域(VH)包含选自以下的至少一个、两个或三个CDR:(a)包含选自SEQ ID NO:11、21、31、41、51、61和81的氨基酸序列的VH-CDR1;(b)包含选自SEQ ID NO:12、22、32、42、52、62和82的氨基酸序列的VH-CDR2;(c)包含选自SEQ ID NO:13、23、33、53、63和83的氨基酸序列的VH-CDR3。

[0461] 在另一个实施方案中,TDP-43抗体包含选自以下的重链可变结构域(VH):SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、80和110,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体实施方案中,重链可变结构域(VH)包含选自以下的至少一个、两个或三个CDR:(a)包含选自SEQ ID NO:11、21、31、41、51、61、81和111的氨基酸序列的VH-CDR1;(b)包含选自SEQ ID NO:12、22、32、42、52、62、82和112的氨基酸序列的VH-CDR2;(c)包含选自SEQ ID NO:13、23、33、53、63、83和113的氨基酸序列的VH-CDR3。

[0462] 在另一个实施方案中,TDP-43抗体包含选自以下的轻链可变结构域(VL):SEQ ID NO:14、24、34、44、54和84,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体实施方案中,轻链可变结构域(VL)包含选自以下的至少一个、两个或三个CDR:(a)包含选自SEQ ID NO:15、25、35、45、55、75和85的氨基酸序列的VL-CDR1;(b)包含选自SEQ ID NO:16、26、46和76的氨基酸序列的VL-CDR2;(c)包含选自SEQ ID NO:17、27、37、47、57、77和87的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0463] 在另一个实施方案中,TDP-43抗体包含选自以下的轻链可变结构域(VL):SEQ ID NO:14、24、34、44、54、64、74、84和114,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体实施方案中,轻链可变结构域(VL)包含选自以下的至少一个、两个或三个CDR:(a)包含选自SEQ ID NO:15、25、35、45、55、75、85和115的氨基酸序列的VL-CDR1;(b)包含选自SEQ ID NO:16、26、46、

76和116的氨基酸序列的VL-CDR2; (c) 包含选自SEQ ID NO:17、27、37、47、57、77、87和117的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0464] 在一些实施方案中,TDP-43抗体包含:

[0465] a. 含有SEQ ID NO:10的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 或者

[0466] b. 含有SEQ ID NO:20的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 或者

[0467] c. 含有SEQ ID NO:30的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 或者

[0468] d. 含有SEQ ID NO:40的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 或者

[0469] e. 含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 或者

[0470] f. 含有SEQ ID NO:60的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:60的氨基酸序列具有至少98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 或者

[0471] g. 含有SEQ ID NO:80的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:80的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH)。

[0472] 在一些实施方案中,TDP-43抗体包含:

[0473] a. 含有SEQ ID NO:10的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 或者

[0474] b. 含有SEQ ID NO:20的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 或者

[0475] c. 含有SEQ ID NO:30的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 或者

[0476] d. 含有SEQ ID NO:40的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 或者

[0477] e. 含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 或者

[0478] f. 含有SEQ ID NO:60的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:60的氨基酸序列具有至少98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 或者

[0479] g. 含有SEQ ID NO:80的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:80的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 或者

[0480] h. 含有SEQ ID NO:110的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:110的氨基酸序列具有至少92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH)。

[0481] 在一些实施方案中,TDP-43抗体包含:

[0482] a. 含有SEQ ID NO:14的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:14的氨基酸序

列具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL) ;或者

[0483] b. 含有SEQ ID NO:24的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:24的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL) ;或者

[0484] c. 含有SEQ ID NO:34的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL) ;或者

[0485] d. 含有SEQ ID NO:44的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:44的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL) ;或者

[0486] e. 含有SEQ ID NO:54的序列的轻链可变区 (VL) ;或者

[0487] f. 含有SEQ ID NO:84的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:84的氨基酸序列具有至少97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL) 。

[0488] 在一些实施方案中,TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体或抗原结合片段包含:

[0489] a) 选自以下的重链可变区 (VH) :

[0490] i. 包含SEQ ID NO:10的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH) ;或者

[0491] ii. 包含SEQ ID NO:20的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH) ;或者

[0492] iii. 包含SEQ ID NO:30的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH) ;或者

[0493] iv. 包含SEQ ID NO:40的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH) ;或者

[0494] v. 包含SEQ ID NO:50的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH) ;或者

[0495] vi. 包含SEQ ID NO:60的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:60的氨基酸序列具有至少98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH) ;或者

[0496] vii. 包含SEQ ID NO:80的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:80的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH) ;以及

[0497] b) 选自以下的轻链可变区 (VL) :

[0498] i. 包含SEQ ID NO:14的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:14的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL) ;或者

[0499] ii. 包含SEQ ID NO:24的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:24的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL) ;或者

[0500] iii. 包含SEQ ID NO:34的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL) ;或者

[0501] iv. 包含SEQ ID NO:44的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:44的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL) ;或者

[0502] v. 包含SEQ ID NO:54的序列的轻链可变区 (VL) ;或者

[0503] vi. 包含SEQ ID NO:64的序列的轻链可变区 (VL) ;或者

- [0504] vii.包含SEQ ID NO:74的序列的轻链可变区(VL);或者
- [0505] viii.包含SEQ ID NO:84的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:84的氨基酸序列具有至少97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL)。
- [0506] 在一些实施方案中,TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体或抗原结合片段包含:
- [0507] a)选自以下的重链可变区(VH):
- [0508] i.包含SEQ ID NO:10的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);或者
- [0509] ii.包含SEQ ID NO:20的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);或者
- [0510] iii.包含SEQ ID NO:30的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);或者
- [0511] iv.包含SEQ ID NO:40的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);或者
- [0512] v.包含SEQ ID NO:50的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);或者
- [0513] vi.包含SEQ ID NO:60的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:60的氨基酸序列具有至少98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);或者
- [0514] vii.包含SEQ ID NO:80的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:80的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);或者
- [0515] viii.包含SEQ ID NO:110的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:110的氨基酸序列具有至少92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及
- [0516] b)选自以下的轻链可变区(VL):
- [0517] i.包含SEQ ID NO:14的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:14的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者
- [0518] ii.包含SEQ ID NO:24的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:24的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者
- [0519] iii.包含SEQ ID NO:34的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者
- [0520] iv.包含SEQ ID NO:44的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:44的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者
- [0521] v.包含SEQ ID NO:54的序列的轻链可变区(VL);或者
- [0522] vi.包含SEQ ID NO:64的序列的轻链可变区(VL);或者
- [0523] vii.包含SEQ ID NO:74的序列的轻链可变区(VL);或者
- [0524] viii.包含SEQ ID NO:84的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:84的氨基酸序列具有至少97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者
- [0525] ix.包含SEQ ID NO:114的序列的轻链可变区(VL)。

[0526] 在一些实施方案中,TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体或其抗原结合片段包含:

[0527] a.含有SEQ ID NO:10的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:14的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:14的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者

[0528] b.含有SEQ ID NO:20的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:24的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:24的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者

[0529] c.含有SEQ ID NO:30的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:34的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者

[0530] d.含有SEQ ID NO:40的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:44的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:44的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者

[0531] e.含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:54的序列的轻链可变区(VL);或者

[0532] f.含有SEQ ID NO:60的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:60的氨基酸序列具有至少98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:64的序列的轻链可变区(VL);或者

[0533] g.含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:74的序列的轻链可变区(VL);或者

[0534] h.含有SEQ ID NO:80的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:80的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:84的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:84的氨基酸序列具有至少97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL)。

[0535] 在一些实施方案中,TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体或其抗原结合片段包含:

[0536] a.含有SEQ ID NO:10的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:14的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:14的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者

[0537] b.含有SEQ ID NO:20的序列的重链可变区(VH)或者与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:24的序列的轻链可变区(VL)或者与SEQ ID NO:24的氨基酸序列具有至少96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区(VL);或者

[0538] c. 含有SEQ ID NO:30的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 以及含有SEQ ID NO:34的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL); 或者

[0539] d. 含有SEQ ID NO:40的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 以及含有SEQ ID NO:44的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:44的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL); 或者

[0540] e. 含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 以及含有SEQ ID NO:54的序列的轻链可变区 (VL); 或者

[0541] f. 含有SEQ ID NO:60的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:60的氨基酸序列具有至少98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 以及含有SEQ ID NO:64的序列的轻链可变区 (VL); 或者

[0542] g. 含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 以及含有SEQ ID NO:74的序列的轻链可变区 (VL); 或者

[0543] h. 含有SEQ ID NO:80的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:80的氨基酸序列具有至少94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 以及含有SEQ ID NO:84的序列的轻链可变区 (VL) 或者与SEQ ID NO:84的氨基酸序列具有至少97%、98%或99%序列同一性的轻链可变区 (VL); 或者

[0544] i. 含有SEQ ID NO:110的序列的重链可变区 (VH) 或者与SEQ ID NO:110的氨基酸序列具有至少92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区 (VH); 以及含有SEQ ID NO:114的序列的轻链可变区 (VL)。

[0545] 在一些实施方案中, TDP-43抗体包含:

[0546] a. 含有SEQ ID NO:10的序列的重链可变区 (VH) 和含有SEQ ID NO:14的序列的轻链可变区 (VL); 或者

[0547] b. 含有SEQ ID NO:20的序列的重链可变区 (VH) 和含有SEQ ID NO:24的序列的轻链可变区 (VL); 或者

[0548] c. 含有SEQ ID NO:30的序列的重链可变区 (VH) 和含有SEQ ID NO:34的序列的轻链可变区 (VL); 或者

[0549] d. 含有SEQ ID NO:40的序列的重链可变区 (VH) 和含有SEQ ID NO:44的序列的轻链可变区 (VL); 或者

[0550] e. 含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区 (VH) 和含有SEQ ID NO:54的序列的轻链可变区 (VL); 或者

[0551] f. 含有SEQ ID NO:60的序列的重链可变区 (VH) 和含有SEQ ID NO:64的序列的轻链可变区 (VL); 或者

[0552] g. 含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区 (VH) 和含有SEQ ID NO:74的序列的轻链可变区 (VL); 或者

[0553] h.含有SEQ ID NO:80的序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:84的序列的轻链可变区(VL)。

[0554] 在一些实施方案中,TDP-43抗体包含:

[0555] a.含有SEQ ID NO:10的序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:14的序列的轻链可变区(VL);或者

[0556] b.含有SEQ ID NO:20的序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:24的序列的轻链可变区(VL);或者

[0557] c.含有SEQ ID NO:30的序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:34的序列的轻链可变区(VL);或者

[0558] d.含有SEQ ID NO:40的序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:44的序列的轻链可变区(VL);或者

[0559] e.含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:54的序列的轻链可变区(VL);或者

[0560] f.含有SEQ ID NO:60的序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:64的序列的轻链可变区(VL);或者

[0561] g.含有SEQ ID NO:50的序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:74的序列的轻链可变区(VL);或者

[0562] h.含有SEQ ID NO:80的序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:84的序列的轻链可变区(VL);或者

[0563] i.含有SEQ ID NO:110的序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:114的序列的轻链可变区(VL)。

[0564] 在一个优选实施方案中,TDP-43抗体包含:

[0565] a.含有SEQ ID NO:10的序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:14的序列的轻链可变区(VL);或者

[0566] b.含有SEQ ID NO:20的序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:24的序列的轻链可变区(VL);或者

[0567] c.含有SEQ ID NO:30的序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:34的序列的轻链可变区(VL);或者

[0568] d.含有SEQ ID NO:60的序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:64的序列的轻链可变区(VL)。

[0569] 在一些实施方案中,本发明涉及选自以下的TDP-43结合分子:ACI-8071-943.12A8-Ab1,ACI-8071-943.7H9-Ab1,ACI-8071-943.7D3-Ab1,ACI-8071-943.2E6-Ab1,ACI-8072-946.8H6-Ab1,ACI-8072-946.4G5-Ab1,ACI-8072-946.9D6-Ab1,ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2。优选地,TDP-43结合分子选自ACI-8071-943.12A8-Ab1,ACI-8071-943.7H9-Ab1,ACI-8071-943.7D3-Ab1,ACI-8072-946.4G5-Ab1。特别地,ACI-8071-943.12A8-Ab1和ACI-8071-943.7D3-Ab1可用作治疗性抗体。ACI-8071-943.7H9-Ab1和ACI-8072-946.4G5-Ab1可用作诊断/检测抗体,例如在配对测定中。

[0570] 在一些实施方案中,本发明涉及选自以下的TDP-43结合分子:ACI-8071-943.12A8-Ab1,ACI-8071-943.7H9-Ab1,ACI-8071-943.7D3-Ab1,ACI-8071-943.2E6-Ab1,

ACI-8072-946.8H6-Ab1, ACI-8072-946.4G5-Ab1, ACI-8072-946.9D6-Ab1, ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2, ACI-8070-942.30D12-Ab1。在一些实施方案中优选地, ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2, ACI-7071-809F12-Ab1-rec2, ACI-8072-946.4G5-Ab1和ACI-8071-943.7H9-Ab1可用作诊断/检测抗体,例如在配对测定中。

[0571] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸编码本文中所述的TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体及其片段。

[0572] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的重链可变区(VH)的SEQ ID NO:18。

[0573] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的轻链可变区(VL)的SEQ ID NO:19。

[0574] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的重链可变区(VH)的SEQ ID NO:28。

[0575] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的轻链可变区(VL)的SEQ ID NO:29。

[0576] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的重链可变区(VH)的SEQ ID NO:38。

[0577] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的轻链可变区(VL)的SEQ ID NO:39。

[0578] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的重链可变区(VH)的SEQ ID NO:48。

[0579] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的轻链可变区(VL)的SEQ ID NO:49。

[0580] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的重链可变区(VH)的SEQ ID NO:58。

[0581] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的轻链可变区(VL)的SEQ ID NO:59。

[0582] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的重链可变区(VH)的SEQ ID NO:68。

[0583] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的轻链可变区(VL)的SEQ ID NO:69。

[0584] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的轻链可变区(VL)的SEQ ID NO:79。

[0585] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的重链可变区(VH)的SEQ ID NO:88。

[0586] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的轻链可变区(VL)的SEQ ID NO:89。

[0587] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-43抗体的重链可变区(VH)的SEQ ID NO:118。

[0588] 在一些实施方案中,提供了(分离的)核酸,其中该(分离的)核酸包含编码抗TPD-

43抗体的轻链可变区(VL)的SEQ ID NO:119。

[0589] 组合物和方法

[0590] 本发明还涉及包含如本文中所述的本发明TDP-43结合分子,特别是抗体或其抗原结合片段以及可药用载体和/或赋形剂和/或稀释剂的药物组合物。

[0591] 在一些实施方案中,提供了药物组合物,其包含本文中所述的(分离的)抗体和可药用载体。

[0592] 在一些实施方案中,提供了包含以下的缀合的结合分子,特别是抗体或其抗原结合片段:本文中所述的结合分子,特别是抗体或其抗原结合片段,和缀合分子。本发明的缀合物可被称为免疫缀合物。根据本发明可使用任何合适的缀合分子。一些合适的实例包括但不限于:酶(例如碱性磷酸酶或辣根过氧化物酶)、亲和素、链霉亲和素、生物素、蛋白A/G、磁珠、荧光团、放射性同位素(即放射性缀合物)、顺磁珠、核酸分子、可检测标记、治疗剂、毒素和血脑屏障穿透部分。在本发明的一个实施方案中,免疫缀合物包含顺磁珠(捕获抗体)。在本发明的另一个实施方案中,免疫缀合物包含生物素(检测抗体)。缀合方法是本领域公知的,并且用于使抗体与标记或其他分子缀合的数种技术是可商购的,缀合通常是通过本发明结合分子中含有的氨基酸残基(例如赖氨酸、组氨酸或半胱氨酸)的。它们可依赖于例如NHS(琥珀酰亚胺)酯法、异硫氰酸酯法、碳二亚胺法和高碘酸盐法的方法。缀合可通过例如产生融合蛋白来实现。这在结合分子与另一蛋白质分子缀合的情况下是合适的。因此,可形成合适的遗传构建体,其允许本发明的结合分子与标记或其他分子的融合体的表达。缀合可以是合适的接头部分的,以确保抗体与缀合分子(例如可检测标记)的合适空间分离。然而,并非在所有情况下都需要接头。在一些实施方案中,本发明的TDP-43结合分子与可检测标记连接。

[0593] 本发明还涉及包含与一种或更多种治疗剂缀合的本文中提供的TDP-43结合分子的免疫缀合物,所述治疗剂例如:化学治疗剂或药物、生长抑制剂、毒素(例如细菌、真菌、植物或动物来源的蛋白质毒素、酶活性毒素,或其片段)、放射性同位素(即放射性缀合物)、血脑屏障穿透部分或可检测标记。存在多种用于改善如本文中讨论的穿过血脑屏障(BBB)的药物递送的技术,该讨论加以必要的修改应用。非侵入性技术包括所谓的“特洛伊木马方法”,其中缀合分子通过与BBB受体结合以及介导转运来递送本发明的结合分子。合适的分子可包含内源性配体或抗体,特别是单克隆抗体,其结合BBB受体上的特定表位。

[0594] 本发明还包括本发明抗体在配对测定(例如免疫测定或ELISA,用于检测或定量人样品中的磷酸化TDP-43)中的用途。对于可用的优选配对测定的详细描述,可参考实施例8。这样的测定包括将样品与本发明的至少两种不同的TDP-43结合分子一起孵育。本发明的两种不同的TDP-43结合分子并不彼此竞争与TDP-43的结合;它们结合不同的表位。一种结合分子通常是捕获抗体,其用于固定TDP-43;并且另一种结合分子是检测抗体,其与经固定的TDP-43结合并直接(在抗体被标记的情况下)或间接(通过下游信号生成系统,其可放大信号(例如酶促地放大信号)并可涉及与检测抗体结合的二抗)为测定提供信号。在一些优选实施方案中,测定可以是能够提供定量读出的数字测定。

[0595] 在一个实施方案中,测定包括以下步骤:

[0596] a. 将样品与捕获抗体一起孵育,所述捕获抗体可以是与顺磁珠缀合的本发明TDP-43结合分子;

[0597] b.向a)的溶液添加检测抗体,所述检测抗体可以是经标记的本发明TDP-43结合分子,例如与生物素缀合的本发明抗体;

[0598] c.任选地添加针对经标记TDP-43结合分子的底物,例如链霉素亲和素蛋白- β -D-半乳糖苷酶;

[0599] d.任选地使用磁性微板洗涤器将板进行洗涤;

[0600] e.读取经标记TDP-43结合分子发出的信号。

[0601] 在一个实施方案中,捕获抗体是免疫缀合物或TDP-43结合分子,特别是与顺磁珠缀合的本文中所述的抗体或其抗原结合片段。在一个优选实施方案中,捕获抗体与磷酸化TDP-43特异性结合。在另一个优选实施方案中,本发明的捕获抗体与错折叠的聚集TDP-43和非聚集的生理性TDP-43结合。

[0602] 在一个优选实施方案中,捕获抗体是选自包含以下的TDP-43结合分子的组的TDP-43结合分子:

[0603] a.重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0604] b.重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0605] c.重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0606] 在一个更优选实施方案中,捕获抗体包含含有重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)的TDP-43结合分子,所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0607] 在一个优选实施方案中,检测抗体与磷酸化TDP-43特异性结合。在另一个优选实施方案中,本发明的检测抗体与错折叠的聚集TDP-43和非聚集的生理性TDP-43结合。

[0608] 在一个优选实施方案中,捕获抗体与磷酸化TDP-43特异性结合。在另一个优选实施方案中,本发明的捕获抗体与错折叠的聚集TDP-43和非聚集的生理性TDP-43结合。

[0609] 在一个优选实施方案中,检测抗体是选自包含以下的TDP-43结合分子的组的TDP-43结合分子:

[0610] a.重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:

81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0611] b.重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0612] c.重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0613] d.含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0614] e.含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0615] 在一个优选实施方案中,检测抗体是选自包含以下的TDP-43结合分子的组的TDP-43结合分子:

[0616] a.重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0617] b.重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VL-CDR3;或者

[0618] c.重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0619] 在一个更优选实施方案中,检测抗体包含含有重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)的TDP-43结合分子,所述重链可变区(VH)包含含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2以及含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3;所述轻链可变区(VL)包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0620] 在本发明的一个实施方案中,捕获抗体与磷酸化TDP-43特异性结合,并且检测抗体与错折叠的聚集TDP-43和非聚集的生理性TDP-43结合。在本发明的另一个实施方案中,检测抗体与错折叠的聚集TDP-43和非聚集的生理性TDP-43结合,并且捕获抗体与磷酸化TDP-43特异性结合。在一个实施方案中,捕获抗体和检测抗体具有不同的表位。

[0621] 在一个实施方案中,检测抗体包含这样的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子包含含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL-CDR3;并且捕获抗体包含这样的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子包含含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3。在另一个实施方案中,用所限定的捕获和检测抗体来检测或定量TDP-43的配对测定可提供0.02pM的定量下限和/或0.09pM的检测下限。

[0622] 在一个实施方案中,检测抗体包含这样的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子包含含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;并且捕获抗体包含这样的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子包含含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VL-CDR3。在另一个实施方案中,用所限定的捕获和检测抗体来检测或定量磷酸化TDP-43的配对测定可提供0.13pM的定量下限和/或0.5pM的检测下限。

[0623] 在一个实施方案中,检测抗体包含这样的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子包含含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VL-CDR3;并且捕获抗体包含这样的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子包含含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3。在另一个实施方案中,用所限定的捕获和检测抗体来检测或定量磷酸化TDP-43的配对测定可提供0.17pM的定量下限和/或0.61pM的检测下限。

[0624] 在一个实施方案中,检测抗体包含这样的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子包含含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL-CDR3;并且捕获抗体包含这样的TDP-43结合分子,所述TDP-43结合分子包含含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VH-CDR1、含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VH-CDR2、含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的VH-CDR3、含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VL-CDR1、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的VL-CDR2以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的VL-CDR3。在另一个实施方案中,用所限定的捕获和检测抗体来检测或定量磷酸化TDP-43的配对测定可提供0.02pM的定量下限和/或0.8pM的检测下限。

[0625] 在一些实施方案中,提供了免疫缀合物,其中所述免疫缀合物包含本文中所述的(分离的)抗体和治疗剂。在一些实施方案中,提供了经标记的抗体,其包含本文中所述的抗体和可检测标记。

[0626] 在一些实施方案中,TDP-43结合分子是在其中所述TDP-43结合分子与另一合适的治疗剂共价连接的免疫缀合物的一部分。

[0627] 在一些实施方案中,TDP-43结合分子或包含其的免疫缀合物作为包含TDP-43结合分子的组合物存在。

[0628] 在一些实施方案中,TDP-43结合分子是以下的一部分:包含TDP-43结合分子或在其中所述TDP-43结合分子与另一合适的治疗剂共价连接的免疫缀合物的药物组合物,或包含与可药用载体和/或赋形剂和/或稀释剂组合的TDP-43结合分子的组合物。

[0629] 在一些实施方案中,TDP-43结合分子是包含TDP-43结合分子和可接受的载体和/或赋形剂和/或稀释剂的诊断组合物的一部分。

[0630] 在一些实施方案中,TDP-43结合分子是包含以下的检测和/或诊断试剂盒的一部分:TDP-43结合分子,或在其中所述TDP-43结合分子与另一合适的治疗剂共价连接的免疫缀合物,或包含TDP-43结合分子的组合物。

[0631] 还提供了包含本发明结合分子的试剂盒。特别地,这样的试剂盒可用于诊断应用。因此,提供了用于诊断与TDP-43相关,特别是与TDP-43聚集体相关的疾病、障碍和/或异常、或TDP-43蛋白质病、或者用于本发明方法的试剂盒,其包含本发明的TDP-43结合分子。这样的试剂盒可包含用于执行本文中提供的方法的所有必要组分。通常,每种组分都单独储存在单个整体包装中。包含在试剂盒中的合适的另外的组分是例如缓冲剂、可检测的染料、实验室用具(laboratory equipment)、反应容器、说明书等。使用说明书可针对使用该试剂盒的具体方法进行定制。还提供了经适当标记的本发明TDP-43结合分子,其可包含在这样的试剂盒中。

[0632] 在一些实施方案中,TDP-43结合分子用在用于诊断TDP-43蛋白质病的免疫诊断方法中。在一些实施方案中,TDP-43结合分子用作与治疗性TDP-43分子组合的诊断工具。

[0633] 在一些实施方案中,将TDP-43结合分子、或在其中所述TDP-43结合分子与另一合适的治疗剂共价连接的免疫缀合物、或包含TDP-43结合分子的组合物施用于有此需要的对象,或者用于诊断、预防、减轻或治疗与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病,包括但不限于肌萎缩侧索硬化(ALS),额颞痴呆

(FTD,包括嗜银颗粒病),额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD),阿尔茨海默病(AD),唐氏综合征(DS),帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA)),边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE),肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良),原发性侧索硬化(PLS),进行性肌萎缩,以及由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪肽蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B基因的突变或变异相关风险等位基因引起的疾病。

[0634] 在一些实施方案中,将TDP-43结合分子、或在其中所述TDP-43结合分子与另一合适的治疗剂共价连接的免疫缀合物、或包含TDP-43结合分子的组合物施用于有此需要的对象,或者用在用于诊断或监测与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病的方法中,所述与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病选自肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)、行为变异型额颞痴呆(bvFTD)、语义变异型原发性进行性失语(svPPA)、非流利性/语法缺失型原发性进行性失语(naPPA)、阿尔茨海默病(AD)、唐氏综合征(DS)、家族性英国型痴呆、帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA))、皮质基底节变性(CBD)、尼曼-皮克病(NP,包括C型NP)、面部起病的感觉运动神经元病(FOSMN)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、慢性创伤性脑病、佩里综合征、佩吉特病、多聚谷氨酰胺病(例如亨廷顿病(HD)和脊髓小脑性共济失调3型(SCA3,也称为马查多-约瑟夫病))、海马硬化伴痴呆、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、具有散发性和遗传性起源二者的疾病(包括由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪肽蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B、亨廷顿蛋白(HTT)、共济失调蛋白3(ATXN3)基因的突变或变异相关风险等位基因引起的遗传病例)。

[0635] 在另一个实施方案中,本发明涉及用于检测、诊断或监测与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病的任何方法,所述与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病是肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)、行为变异型额颞痴呆(bvFTD)、语义变异型原发性进行性失语(svPPA)、非流利性/语法缺失型原发性进行性失语(naPPA)、阿尔茨海默病(AD)、唐氏综合征(DS)、家族性英国型痴呆、帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA))、皮质基底节变性(CBD)、尼曼-皮克病(NP,包括C型NP)、面部起病的感觉运动神经元病(FOSMN)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、慢性创伤性脑病、佩里综合征、佩吉特病、多聚谷氨酰胺病(例如亨廷顿病(HD)和脊髓小脑性共济失调3型(SCA3,也称为马查多-约瑟夫病))、海马硬化伴痴呆、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、具有散发性和遗传性起源二者的疾病(包括由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪肽蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B、亨廷顿蛋白(HTT)、共济失调蛋白3(ATXN3)基因的突变或变异相关风险等位基因引起的遗传病例)。

[0636] 优选地,与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或

者TDP-43蛋白质病选自肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)、阿尔茨海默病(AD)、唐氏综合征(DS)、帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA))、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、以及具有散发性和遗传性起源二者的疾病(包括由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪氨酸蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B基因的突变或变异相关风险等位基因引起的遗传病例)。更优选地,与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病是肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、阿尔茨海默病(AD)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)。

[0637] 本发明还提供了使用来自对象的样品在两个或更多个时间点监测与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的方法,所述方法包括使样品与结合分子,特别是本发明的抗体或抗原结合片段接触,以及对样品中的TDP-43水平进行比较,其中;

[0638] a. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43水平变化指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的改变;或者

[0639] b. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43水平无显著变化指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症没有改变。

[0640] 本发明还提供了使用来自对象的样品在两个或更多个时间点监测与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的方法,所述方法包括使样品与结合分子,特别是本发明的抗体或抗原结合片段接触,以及对样品中的磷酸化TDP-43水平进行比较,其中;

[0641] a. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中磷酸化TDP-43水平变化指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的改变;或者

[0642] b. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中磷酸化TDP-43水平无显著变化指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症没有改变。

[0643] 本发明还提供了使用来自对象的样品在两个或更多个时间点监测与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的方法,所述方法包括使样品与结合分子,特别是本发明的抗体或抗原结合片段接触,以及对样品中的TDP-43水平进行比较,其中:

[0644] a. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43水平更高指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的进展;

[0645] b. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43水平更低指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的消退;或者

[0646] c. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43水平无显著变化指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症没有进展。

[0647] 或者,本发明还提供了使用来自对象的样品在两个或更多个时间点监测与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的方法,所述方法包括使样品与结合分子,特别是本发明的抗体或抗原结合片段接触,以及对样品中的TDP-43水平进行比较,其中:

[0648] a. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43水平更高指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的消退;或者

[0649] b. 与一个或更多个早期样品相比后期样品中TDP-43水平更低指示着与TDP-43相

关的疾病、障碍和/或病症的进展；或者

[0650] c. 与一个或更多早期样品相比后期样品中TDP-43水平无显著变化指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症没有进展。

[0651] 本发明还提供了使用来自对象的样品在两个或更多时间点监测与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的方法，所述方法包括使样品与结合分子，特别是本发明的抗体或抗原结合片段接触，以及对样品中的磷酸化TDP-43水平进行比较，其中：

[0652] a. 与一个或更多早期样品相比后期样品中磷酸化TDP-43水平更高指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的进展；

[0653] b. 与一个或更多早期样品相比后期样品中磷酸化TDP-43水平更低指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的消退；或者

[0654] c. 与一个或更多早期样品相比后期样品中磷酸化TDP-43水平无显著变化指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症没有进展。

[0655] 或者，本发明还提供了使用来自对象的样品在两个或更多时间点监测与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的方法，所述方法包括使样品与结合分子，特别是本发明的抗体或抗原结合片段接触，以及对样品中的磷酸化TDP-43水平进行比较，其中：

[0656] a. 与一个或更多早期样品相比后期样品中磷酸化TDP-43水平更高指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的消退；

[0657] b. 与一个或更多早期样品相比后期样品中磷酸化TDP-43水平更低指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的进展；或者

[0658] c. 与一个或更多早期样品相比后期样品中磷酸化TDP-43水平无显著变化指示着与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症没有进展。

[0659] 这样的方法通常相对于已知患有与TDP-43相关的疾病、障碍和/或病症的对象进行，可在治疗组与安慰剂组之间的匹配样品中在多个时间点进行，以监测候选治疗在限定时间段内的有效性。本发明的诊断组合物可用于这样的方法中。并入了合适的捕获抗体和检测抗体或其抗原结合片段的本文中所述的配对免疫测定可用于本发明的监测方法中。

[0660] 在一些实施方案中，TDP-43结合分子用于对样品中的磷酸化TDP-43进行定量的方法，所述方法包括使样品与本发明的TDP-43结合分子接触，将从样品中检测到的TDP-43水平与对照进行比较，所述对照任选地使用已知量的针对磷酸化TDP-43的校准物进行确定。在本发明的一个实施方案中，定量方法基于如本文中所述的配对分析。

[0661] 在一个实施方案中，定量方法包括以下步骤：

[0662] a. 将样品与如本文中所述的捕获抗体和检测抗体一起孵育；

[0663] b. 将步骤a中获得的混合物与适合由所述检测抗体进行检测的试剂一起孵育；

[0664] c. 测量由所述检测抗体发出的信号；

[0665] d. 将从样品中检测到的TDP-43水平与对照进行比较，所述对照任选地使用已知量的针对磷酸化TDP-43的校准物进行确定。

[0666] 校准物可以是肽、蛋白质或化合物，其用作已知浓度的标准或参考物质以允许对患者中的分析物水平进行定量。在本发明的一个实施方案中，校准物是肽，所述肽包含捕获抗体的表位和检测抗体的表位、由其组成、或基本上由其组成。在一个优选实施方案中，校准物选自全长TDP-43 (SEQ ID NO:1)、肽28 (SEQ ID NO:7通过三氧杂十三烷-琥珀酰胺酸

(Trioxatridecan-succinamic acid) 接头与SEQ ID NO:8连接) 和肽29(SEQ ID NO:7通过三氧杂十三烷-琥珀酰胺酸接头与SEQ ID NO:9连接)。

[0667] 在本发明的一个实施方案中,校准物是肽,所述肽包含捕获抗体的表位和检测抗体的表位、由其组成、或基本上由其组成。在一个优选实施方案中,校准物选自全长TDP-43(SEQ ID NO:1)、肽11(SEQ ID NO:4通过三氧杂十三烷-琥珀酰胺酸接头与SEQ ID NO:5连接)和肽23(SEQ ID NO:6通过三氧杂十三烷-琥珀酰胺酸接头与SEQ ID NO:5连接)。

[0668] 在一些实施方案中,TDP-43结合分子用于这样的方法,其中使本发明的TDP-43结合分子与样品(例如血液、脑脊液、组织间液(ISF)或脑组织)接触以检测肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)、行为变异型额颞痴呆(bvFTD)、语义变异型原发性进行性失语(svPPA)、非流利性/语法缺失型原发性进行性失语(naPPA)、阿尔茨海默病(AD)、唐氏综合征(DS)、家族性英国型痴呆、帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA)、皮质基底节变性(CBD)、尼曼-皮克病(NP,包括C型NP)、面部起病的感觉运动神经元病(FOSMN)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、慢性创伤性脑病、佩里综合征、佩吉特病、多聚谷氨酰胺病(例如亨廷顿病(HD)和脊髓小脑性共济失调3型(SCA3,也称为马查多-约瑟夫病)、海马硬化伴痴呆、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、原发性侧索硬化(PLS)、进行性肌萎缩。

[0669] 在一些实施方案中,TDP-43结合分子用于这样的方法,其中使本发明的TDP-43结合分子与样品(例如血液、脑脊液、组织间液(ISF)或脑组织)接触以检测由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪肽蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B、亨廷顿蛋白(HTT)、共济失调蛋白3(ATXN3)基因的突变或变异相关风险等位基因引起的疾病。在一些实施方案中,TDP-43结合分子用于这样的方法,其中使本发明的TDP-43结合分子与样品(例如血液、脑脊液、组织间液(ISF)或脑组织)接触以检测肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、阿尔茨海默病(AD)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND。

[0670] 在一些实施方案中,TDP-43结合分子用于这样的方法,其中使本发明的TDP-43结合分子与样品(例如血液、脑脊液、组织间液(ISF)或脑组织)接触以检测与TDP-43聚集体相关的疾病、障碍或异常,其选自肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)、行为变异型额颞痴呆(bvFTD)、语义变异型原发性进行性失语(svPPA)、非流利性/语法缺失型原发性进行性失语(naPPA)、阿尔茨海默病(AD)、唐氏综合征(DS)、家族性英国型痴呆、帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA)、皮质基底节变性(CBD)、尼曼-皮克病(NP,包括C型NP)、面部起病的感觉运动神经元病(FOSMN)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、慢性创伤性脑病、佩里综合征、佩吉特病、多聚谷氨酰胺病(例如亨廷顿病(HD)和脊髓小脑性共济失调3型(SCA3,也称为马查多-约瑟夫病)、海马硬化伴痴呆、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、原发性侧索硬化(PLS)、进行性肌萎缩。在一些实施方案中,TDP-43结合分子用于这样的方法,其中使本发明的TDP-43结合分子与样品(例如血液、脑脊液、组织间液(ISF)或脑组织)接触以检测由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪肽蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋

白 (MYOT)、TMEM106B、亨廷顿蛋白 (HTT)、共济失调蛋白3 (ATXN3) 基因的突变或变异相关风险等位基因引起的疾病。

[0671] 在一些实施方案中,将TDP-43结合分子、或在其中所述TDP-43结合分子与另一合适的治疗剂共价连接的免疫缀合物、或包含TDP-43结合分子的组合物施用于有此需要的对象,或者用于预防、减轻或治疗与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病,或者肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)、行为变异型额颞痴呆(bvFTD)、语义变异型原发性进行性失语(svPPA)、非流利性/语法缺失型原发性进行性失语(naPPA)、阿尔茨海默病(AD)、唐氏综合征(DS)、家族性英国型痴呆、帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA)、皮质基底节变性(CBD)、尼曼-皮克病(NP,包括C型NP)、面部起病的感觉运动神经元病(FOSMN)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、慢性创伤性脑病、佩里综合征、佩吉特病、多聚谷氨酰胺病(例如亨廷顿病(HD)和脊髓小脑性共济失调3型(SCA3,也称为马查多-约瑟夫病)、海马硬化伴痴呆、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、原发性侧索硬化(PLS)、进行性肌萎缩。在一些实施方案中,将TDP-43结合分子、或在其中所述TDP-43结合分子与另一合适的治疗剂共价连接的免疫缀合物、或包含TDP-43结合分子的组合物施用于有此需要的对象,或者用于预防、减轻或治疗由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪肽蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B、亨廷顿蛋白(HTT)、共济失调蛋白3(ATXN3)基因的突变或变异相关风险等位基因引起的疾病。

[0672] 在一些实施方案中,将TDP-43结合分子、或在其中所述TDP-43结合分子与另一合适的治疗剂共价连接的免疫缀合物、或包含TDP-43结合分子的组合物施用于有此需要的对象,或者用于治疗选自以下的疾病:肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD,包括嗜银颗粒病)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)、行为变异型额颞痴呆(bvFTD)、语义变异型原发性进行性失语(svPPA)、非流利性/语法缺失型原发性进行性失语(naPPA)、阿尔茨海默病(AD)、唐氏综合征(DS)、家族性英国型痴呆、帕金森病(PD)和相关病症(包括PD痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA)、皮质基底节变性(CBD)、尼曼-皮克病(NP,包括C型NP)、面部起病的感觉运动神经元病(FOSMN)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、慢性创伤性脑病、佩里综合征、佩吉特病、多聚谷氨酰胺病(例如亨廷顿病(HD)和脊髓小脑性共济失调3型(SCA3,也称为马查多-约瑟夫病)、海马硬化伴痴呆、肌原纤维肌病(例如包涵体肌炎、包涵体肌病、有镶边空泡的眼咽肌营养不良)、原发性侧索硬化(PLS)、进行性肌萎缩。在一些实施方案中,将TDP-43结合分子、或在其中所述TDP-43结合分子与另一合适的治疗剂共价连接的免疫缀合物、或包含TDP-43结合分子的组合物施用于有此需要的对象,或者用于治疗由颗粒蛋白前体(GRN)、TARDBP、C9ORF72、含缬酪肽蛋白(VCP)、血管生成蛋白(ANG)、结蛋白(DES)、肌收缩蛋白(MYOT)、TMEM106B、亨廷顿蛋白(HTT)、共济失调蛋白3(ATXN3)基因的突变或变异相关风险等位基因引起的疾病。优选地,所述疾病治疗有助于保持或提高心理认知,和/或降低脑中TDP-43聚集体的水平。

[0673] 在一些实施方案中,将TDP-43结合分子、或在其中所述TDP-43结合分子与另一合适的治疗剂共价连接的免疫缀合物、或包含TDP-43结合分子的组合物施用于有此需要的对象,或者用于制备用于治疗以下的药物:与根据本发明限定的TDP-43相关(特别是与TDP-43

聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病、或者肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、阿尔茨海默病(AD)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND。

[0674] 如本文中所述的抗TDP-43抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物的药物制剂通过将具有所期望纯度的这样的抗体或免疫缀合物与一种或更多种任意的可药用载体和/或赋形剂和/或稀释剂(Remington's Pharmaceutical Sciences第16版, 0sol, A.Ed. (1980))混合来制备。通常来说, 抗体或其片段被制备为冻干制剂或水溶液。可药用载体通常在所采用的剂量和浓度下对接受者无毒, 并且包括但不限于: 缓冲剂, 例如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸; 抗氧化剂, 包括抗坏血酸和甲硫氨酸; 防腐剂(例如十八烷基二甲基苄基氯化铵; 氯化六甲双铵; 苯扎氯铵; 苜蓿氯铵; 酚、丁醇或苜蓿醇; 对羟基苯甲酸烷基酯, 例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯; 邻苯二酚; 间苯二酚; 环己醇; 3-戊醇和间甲酚); 低分子量(少于约10个残基)多肽; 蛋白质, 例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白; 亲水聚合物, 例如聚乙烯吡咯烷酮; 氨基酸, 例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸; 单糖、二糖和其他碳水化合物, 包括葡萄糖、甘露糖或糊精; 螯合剂, 例如EDTA; 糖, 例如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨糖醇; 成盐反离子, 例如钠; 金属络合物(例如Zn蛋白质络合物); 和/或非离子表面活性剂, 例如聚乙二醇(PEG)。本文中的示例性可药用载体还包括间质药物分散剂, 例如可溶性中性活性透明质酸酶糖蛋白(soluble neutral-active hyaluronidase glycoprotein, sHASEGP), 例如人可溶性PH-20透明质酸酶糖蛋白, 例如rHuPH20(HYLENEX®, Baxter International, Inc.)。美国专利公开No. 2005/0260186和2006/0104968中描述了某些示例性sHASEGP(包括rHuPH20)和使用方法。在一个方面中, sHASEGP与一种或更多种另外的糖胺聚糖酶(glycosaminoglycanase)(例如软骨素酶)组合使用。可用于配制组合物的可药用赋形剂包括但不限于: 离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白例如人血清白蛋白、缓冲物质例如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐或电解质, 例如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质(例如羧甲基纤维素钠)、聚乙二醇、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。稀释剂可以是缓冲剂。其可包含选自磷酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐和酒石酸盐的盐, 和/或其中缓冲剂包含组氨酸、甘氨酸、TRIS甘氨酸、Tris、或其混合物。在本发明的上下文中还设想稀释剂是选自磷酸钾、乙酸/乙酸钠、柠檬酸/柠檬酸钠、琥珀酸/琥珀酸钠、酒石酸/酒石酸钠、和组氨酸/组氨酸HCl或其混合物的缓冲剂。

[0675] 美国专利No. 6, 267, 958中描述了示例性的冻干抗体或免疫缀合物制剂。水性抗体或免疫缀合物制剂包括美国专利No. 6, 171, 586和W02006/044908中所述的那些, 后者的制剂包含组氨酸-乙酸盐缓冲剂。

[0676] 本文中的制剂还可包含所治疗的特定适应证所需的多于一种活性成分, 优选是具有不对彼此产生不利影响的互补活性的那些。

[0677] 活性成分可被封装在所制备的微胶囊中, 例如通过凝聚技术或通过界面聚合, 例如, 羧基甲基纤维素或明胶-微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊, 分别在胶体药物递送系统(例如, 脂质体、白蛋白微球、微乳剂、纳米粒和纳米胶囊)中或者在粗乳剂(macroemulsion)中。这样的技术在Remington's Pharmaceutical Sciences第16版, 0sol,

A.Ed. (1980) 中公开。

[0678] 可制备持续释放制剂。持续释放制剂的一些合适实例包括含有抗体或免疫缀合物的固体疏水聚合物的半透性基质,该基质为成型制品的形式,例如膜或微胶囊。用于体内施用的制剂通常是无菌的。无菌性可通过例如经由无菌过滤膜进行的过滤来容易地实现。

[0679] 本文中提供的任何抗原结合分子、抗TDP-43抗体或免疫缀合物可用于方法,例如诊断方法或治疗方法中。本发明的TDP-43结合分子可用于治疗方法,或用于制备在治疗方法中待使用的药物,或用于治疗如根据本发明所限定的疾病。

[0680] 在另一个方面中,提供了抗TDP-43抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物,其用作药物。在另一些方面中,提供了抗磷酸化TDP-43抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物,其用于治疗。在某些实施方案中,提供了抗TDP-43抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物,其用于预防、诊断和/或治疗TDP-43蛋白质病。在本发明的一个优选实施方案中,提供了抗TDP-43抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物,其用于预防、诊断和/或治疗与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病,包括但不限于肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD)、边缘主导年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、阿尔茨海默病(AD)、额颞叶变性伴运动神经元病FTLD-MND(也称为ALS-FTD)。

[0681] 在另一个方面中,本发明提供了抗TDP-43抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物在制造或制备药物中的用途。在一个这样的实施方案中,该方法还包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂,例如如下所述。

[0682] 根据一些实施方案中的任一者,“对象”或“个体”可以是动物,哺乳动物,优选人。

[0683] 在另一个方面中,本发明提供了包含本文中提供的任何抗TDP-43抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物的药物制剂,其例如用于治疗方法中的任一种。在一个实施方案中,药物制剂包含本文中提供的任何抗TDP-43抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物,以及可药用载体和/或赋形剂和/或稀释剂(如在本文中其他部分所讨论的)。在另一个实施方案中,药物制剂包含本文中提供的任何抗TDP-43抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物,以及至少一种另外的治疗剂,例如如下所述。

[0684] 在治疗中,本发明的抗体或免疫缀合物可单独使用或与另外的药剂组合使用。例如,本发明的抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物可与靶向 α -突触核蛋白、BACE1、Tau、 β -淀粉样蛋白、TDP-43或神经炎症蛋白的至少一种另外的治疗剂共施用。

[0685] 以上所述的这样的组合治疗涵盖组合施用(其中两种或更多种治疗剂包含在同一或分开的制剂中)和分开施用,在分开施用的情况下,本发明的抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物的施用可在施用另外的治疗剂和/或佐剂之前、同时和/或之后发生。本发明的抗体(本发明的TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物还可与放射治疗组合使用。

[0686] 本发明的抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物(和任何另外的治疗剂)可通过任何合适的手段施用,包括肠胃外、肺内和鼻内、以及如果需要的话,进行局部治疗、病灶内、子宫内或膀胱内施用。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。给药可通过任何合适的途径,例如通过注射,例如静脉内或皮下注射来进行,这部分取决于该施用是短暂的还是长期的。本文中考虑了多种给药时间表,包括但不限于单次施用

或不同时间点内的多次施用,推注施用(bolus administration)和脉冲输注。

[0687] 本发明的抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物可以以与良好医学实践一致的方式配制、给药和施用。在该情况下考虑的因素包括:所治疗的与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的特定疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病;所治疗的特定哺乳动物;个体对象的临床状况;与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病的原因;药剂的递送部位;施用方法;施用方案;以及医学实践者已知的其他因素。抗体或免疫缀合物不需要但任选地与目前用于预防或治疗所讨论的与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病的一种或更多种药剂配制在一起。这样的另外的药剂的有效量取决于制剂中存在的抗体或免疫缀合物的量;与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病的类型;或者治疗,以及以上所讨论的其他因素。这些通常以与如本文中所述的相同的剂量和施用途径,或以本文中所述剂量的约1%至99%,或以凭经验/在临床上确定为合适的任何剂量和任何途径使用。

[0688] 对于预防或治疗疾病,本发明的抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物(当单独使用或与一种或更多种其他另外的治疗剂组合使用时)的合适剂量将取决于待治疗的疾病的类型、抗体或免疫缀合物的类型、疾病的严重程度和原因、施用抗体或免疫缀合物是出于预防目的还是治疗目的、先前治疗、对象的临床史和对抗体或免疫缀合物的响应、以及主治医师的判断。将抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物适当地以一次或通过一系列治疗施用于对象。根据疾病的类型和严重程度,约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至 $15\text{mg}/\text{kg}$ (例如 $0.1\text{mg}/\text{kg}$ 至 $10\text{mg}/\text{kg}$)的抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物可以是用于向对象施用的初始候选剂量,无论例如是通过一次或更多次分开的施用,还是通过连续输注。根据上述因素,一种典型的日剂量可以是约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至 $100\text{mg}/\text{kg}$ 或更高。对于在数天或更长时间内的重复施用,根据病症,通常将持续治疗直至出现期望的疾病症状抑制。抗体或免疫缀合物的一个示例性剂量是约 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ 至约 $10\text{mg}/\text{kg}$ 。因此,可向对象施用约 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 、 $2.0\text{mg}/\text{kg}$ 、 $4.0\text{mg}/\text{kg}$ 或 $10\text{mg}/\text{kg}$ 的一个或更多个剂量(或其任意组合)。这样的剂量可间歇地施用,例如,每周或每三周(例如,使对象接受约两个至约二十个,或例如约六个剂量的抗体)。可施用较高的初始负荷剂量,随后施用一个或更多个较低的剂量。然而,其他剂量方案可以是可用的。该治疗的进展容易通过常规技术和测定来监测。

[0689] 应当理解,任何以上制剂或治疗方法均可使用本发明的免疫缀合物和抗TDP-43抗体(TDP-43结合分子的优选类型)二者来进行。

[0690] 在本发明的另一个方面中,提供了包含上述可用于治疗、预防和/或诊断与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍或异常、或者TDP-43蛋白质病的物质的制品。该制品包含容器以及在容器上的或与容器相联接的标签或包装插入物。合适的容器包括例如,瓶、小瓶、注射器、IV溶液袋等。容器可由多种材料,例如玻璃或塑料形成。容器容纳单独地或与另一组合物组合有效治疗、预防和/或诊断与TDP-43相关(特别是与TDP-43聚集体相关)的疾病、障碍和/或异常、或者TDP-43蛋白质病的组合物,并且可具有无菌进出口(例如,容器可以是静脉内溶液袋或具有可通过皮下注射针刺穿的塞的小瓶)。组合物中的至少一种活性剂是本发明的抗体或免疫缀合物。标签或包装插入物指示该组合物用于治疗所选择的病症。

[0691] 此外,该制品可包含(a)第一容器,其中包含组合物,其中所述组合物包含本发明的抗体(TDP-43结合分子的优选类型)或免疫缀合物;以及(b)第二容器,其中包含组合物,其中所述组合物包含另外的治疗剂。本发明的该实施方案中的制品还可包含包装插入物,其指示该组合物可用于治疗特定病症。作为替代或补充,制品还可包含第二(或第三)容器,其包含可药用缓冲剂,例如抑菌性注射用水(bacteriostatic water for injection, BWFI)、磷酸缓冲盐水、林格溶液(Ringer's solution)或右旋糖溶液。其还可包含从商业和用户的角度来看所期望的另一些材料,包括另外的缓冲剂、稀释剂、过滤器、针和注射器。

[0692] 在另一个实施方案中,本发明涉及在对象中保持或提高认知记忆能力、运动和语言功能或者预防和/或减慢认知记忆能力、运动和语言功能的衰退的方法,其包括施用本发明的结合分子、本发明的免疫缀合物、本发明的组合物或本发明的药物组合物。

[0693] 在另一个实施方案中,本发明涉及降低TDP-43水平的方法,其包括施用本发明的结合分子、本发明的免疫缀合物、本发明的组合物或本发明的药物组合物。

[0694] 本发明的方法可包括施用至少一种另外的治疗剂,例如靶向 α -突触核蛋白、BACE1、tau、 β -淀粉样蛋白、TDP-43或神经炎症蛋白的至少一种另外的治疗剂。

[0695] 本发明还涉及检测TDP-43的方法,其包括使样品与本发明的结合分子,优选本发明的抗体接触,其中样品是来自对象的生物样品,例如选自脑样品、脑脊液样品、尿液样品或血液样品的样品。在一个实施方案中,检测TDP-43的方法包括使来源于血液样品的血浆与本发明的结合分子接触。

[0696] 在另一个实施方案中,检测TDP-43的方法包括使来源于血液样品的血小板与本发明的结合分子接触。

[0697] 在一个优选实施方案中,检测TDP-43的方法包括使来源于血液样品的血小板的胞质级分与本发明的结合分子接触。

[0698] 对于检测来源于血液样品的血小板中的TDP-43的方法,可参考实施例9。

[0699] 在某些实施方案中,如本文中提供的TDP-43结合分子,特别是TDP-43抗体及其片段的解离常数(dissociation constant, KD)为 $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 、 $\leq 0.1\text{nM}$ 、 $\leq 0.01\text{nM}$ 或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如 10^{-8}M 或更小,例如 10^{-8}M 至 10^{-13}M ,例如 10^{-9}M 至 10^{-13}M),特别是关于结合TDP-43,特别是可溶性TDP-43。例如,本发明的TDP-43结合分子对于磷酸化TDP-43的KD可以为 13nM 或更小,在一些具体实施方案中为 10nM 或 5nM 或更小,在一些更具体的实施方案中,对于磷酸化TDP-43的KD为 2nM 或更小。这在实施例5中参考表7针对本发明TDP-43结合分子与肽28(SEQ ID NO:7通过三氧杂十三烷-琥珀酰胺酸接头与SEQ ID NO:8连接)的结合来表明。在另一个实例中,本发明的TDP-43结合分子对于磷酸化TDP-43的KD可以为 3.5nM 或更小,在一些具体实施方案中为 2.5nM 或更小,在一些更具体的实施方案中,对于磷酸化TDP-43的KD为 1.7nM 或更小。这在实施例5中参考表7针对本发明TDP-43结合分子与肽29(SEQ ID NO:7通过三氧杂十三烷-琥珀酰胺酸接头与SEQ ID NO:9连接)的结合来表明。在另一个实例中,本发明TDP-43结合分子对于磷酸化TDP-43的KD可以为 25nM 或更小,在一些具体实施方案中为 21.5nM 或更小。这在实施例5中参考表8针对本发明TDP-43结合分子与具有pS375和pS379的人TDP-43第370至384位氨基酸(SEQ ID NO:5)的结合来表明。

[0700] 在一个实施方案中,与全长(full length, FL) TDP-43或TDP-43的肽(例如肽28, SEQ ID NO:7通过三氧杂十三烷-琥珀酰胺酸接头与SEQ ID NO:8连接;或肽29, SEQ ID NO:

7通过三氧杂十三烷-琥珀酰胺酸接头与SEQ ID NO:9连接)的结合亲和力可通过使用表面等离子体共振(SPR;Biacore 8K,GE Healthcare Life Sciences)确定解离常数(KD)来评价。对于可采用的合适SPR方法的详细描述,可参考实施例5。

[0701] 在另一个实施方案中,与全长(FL)TDP-43或TDP-43的肽(例如由氨基酸序列SEQ ID NO:5组成的肽)的结合亲和力可通过使用表面等离子体共振(SPR;Biacore 8K,GE Healthcare Life Sciences)确定解离常数(KD)来评价。对于可采用的合适SPR方法的详细描述,可参考实施例5。

[0702] 在一个实施方案中,TDP-43结合分子与在位置pS375和/或pS379处磷酸化的人TDP-43(SEQ ID NO:1)结合。TDP-43结合分子可以以0.23nM或更小的KD与在位置pS375和pS379处磷酸化的TDP-43(SEQ ID NO:1)结合;和/或者TDP-43结合分子可以以75.5nM或更小的KD与在位置pS375处磷酸化的TDP-43(SEQ ID NO:1)结合;和/或者TDP-43结合分子可以以0.28nM或更小的KD与在位置pS379处磷酸化的TDP-43(SEQ ID NO:1)结合。优选地,KD通过表面等离子体共振来测量。可参考实施例6,使用磷酸化肽370至384作为通过表面等离子体共振来确定KD的合适方法。

附图说明

[0703] 图1.用于使用SIMOA[®]测定技术测量来自健康对照和FTLD-TDP患者的血浆样品中的人TDP-43的免疫测定配对抗体ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2和ACI-7071-809F12-Ab1-rec2。(A)使用人TDP-43进行的校准曲线在不同日期运行,建立了0.021pM的检测限(Limit of DEtection,LOD)和0.09pM的LLOQ。(B)对来自健康对照和FTLD-TDP(语义痴呆、C90RF72或GRN)患者的人血浆中的TDP-43进行测量。

[0704] 图2.使用SIMOA[®]测定技术,通过免疫测定配对抗体ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2和ACI-7071-809F12-Ab1-rec2测量的在贫血小板血浆和富血小板血浆中以及在富血小板血浆的可溶性和不溶性级分中的TDP-43蛋白水平的图示。

[0705] 实施例

[0706] 实施例1:进行小鼠免疫接种以产生TDP-43和磷酸化TDP-43抗体

[0707] 将雌性野生型C57BL/6JolaHsd(C57BL/6)和BALB/c O1aHsd(BALB/c)小鼠(Harlan,U.S.A.)在10周龄时进行疫苗接种。

[0708] 对于使用基于脂质体的疫苗产生的抗体,根据WO2012/055933中描述和公布的方法并将该方法修改为使用全长人TDP-43(FL TDP-43)蛋白作为抗原,来制备疫苗制剂。

[0709] 为了产生TDP-43抗体,在存在作为佐剂的单磷酸基六酰基脂质-A,3-脱酰基(合成)(3D-(6-酰基)PHAD[®])的情况下,用存在于脂质体表面上的全长TDP-43蛋白对小鼠进行疫苗接种。在第0、4、8、21、35和60天通过皮下(subcutaneous,s.c.)注射对小鼠进行疫苗接种。在免疫接种之前7天(免疫前血浆)以及在第一次免疫接种之后第14、28、42、81和121天对小鼠采血并制备肝素化血浆。通过使用经固定的FL TDP-43作为靶标对血浆抗体进行ELISA来测量疫苗应答。将待用于产生免疫scFv噬菌体文库的小鼠在细胞收获之前另外地疫苗接种了三次每日腹膜内(intraperitoneal,i.p.)无佐剂加强注射。

[0710] 对于靶向磷酸化TDP-43的抗体,用以下对小鼠进行疫苗接种:代表人TDP-43第396

至409位氨基酸的抗原肽,其在第403和404位处携带磷酸化丝氨酸(“磷酸化Ser”) (分别为pS403和pS404);以及代表人TDP-43第401至413位氨基酸的抗原肽,其在第409和410位处携带磷酸化Ser(分别为pS409和pS410)。使用(间马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基)磺基琥珀酰亚胺酯通过马来酰亚胺缀合将肽抗原与钥孔戚血蓝蛋白(keyhole limpet haemocyanin, KLH)进行偶联。将氢氧化铝凝胶(Alhydrogel佐剂;Invivogen,France)与合成寡脱氧核苷酸(CpG ODN 1668;Microsynth,Switzerland)的混合物用作佐剂。在第0、7、14、28和42天,通过s.c.注射向各肢体(each limb)和颈部中进行疫苗接种。在免疫接种之前6天(免疫前血浆)以及在第一次免疫接种之后第21、35和50天进行采血并制备肝素化血浆。使用经固定的FL TDP-43和靶特异性磷酸化和非磷酸化肽通过ELISA来测量来自经免疫接种小鼠的血浆抗体的选择性,从而监测疫苗应答。针对对目的磷酸化位点的高度且特异性响应来选择小鼠,并使其在骨髓瘤融合之前疫苗接种不含佐剂的疫苗抗原的三次每日i.p.加强注射。

[0711] 产生杂交瘤并进行选择以用于亚克隆

[0712] 对小鼠进行安乐死,并使用来自小鼠的脾细胞进行与骨髓瘤细胞的融合。从成功融合的杂交瘤细胞系中筛查抗体如下进行。使用ELISA或基于Luminex珠的多重测定(Luminex,The Netherlands)来分析经稀释的(1:32)细胞培养上清液。

[0713] 使用含血清的选择培养基来培养活杂交瘤。选择与人FTD脑中TDP-43包涵体优先结合的杂交瘤以及与TDP-43的不同区域结合的克隆用于进一步亚克隆。在有限稀释之后,使克隆杂交瘤在含低免疫球蛋白的培养基中生长,并选择稳定的集落用于抗体筛查、选择、测序、以及在鼠IgG2a骨架上作为重组抗体进行表达,从而用于进一步表征、选择和测定开发。对于所示出的所有测定,使用这样的抗体,其作为重组制剂或者从杂交瘤上清液中纯化。

[0714] 实施例2:抗体测序

[0715] 对于源自小鼠杂交瘤克隆的所有序列,将细胞裂解物用于可变区的基因测序。使杂交瘤生长,将其收获并使用含有胍盐的裂解缓冲液裂解以使RNA酶失活。然后通过无RNA酶的DNA酶消除基因组DNA,并且将RNA采用基于二氧化硅的亲合柱使用多次洗涤来纯化并使用无RNA酶的水从柱中洗脱。一旦提取了RNA,就通过分光光度法测量其纯度和浓度。在变性琼脂糖凝胶上评估RNA的完整性,并将RNA使用逆转录酶(reverse transcriptase,RT)逆转录为cDNA。在添加RT反应混合物之前,将RNA加热至70°C持续10分钟以破坏RNA二级结构。将RT产物直接用于PCR扩增。对于cDNA的高保真PCR扩增,将对应于编码抗体的不同基因家族的可变区引物中的每个单独与用于VH链和VL链的引物分别混合(以50 μ l的总反应体积进行混合)。最初,使用简并引物库(由以下构成:VH为12以及VL为12),并且根据结果,使用第二库来获得PCR产物。在PCR反应之后,使用2%琼脂糖凝胶通过凝胶电泳来分析产物,并用溴化乙锭染色以使条带显现。将VL和VH的PCR产物单独地使用tris-乙酸盐-EDTA(tris-acetate-EDTA, TAE)在琼脂糖凝胶上进行纯化。使用与用于PCR的引物相同的引物,采用染料终止剂(dye-terminator)测序法对从凝胶切下的经纯化片段进行测序。以两个方向进行测序从而提供在两端的重叠。然后使用多重序列比对(Clustal工具)分析序列,并使用如由Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 91-3242(1991)所述的算法进行注释。重链可变结构域和轻链可变结构域(VH和VL)的核苷酸序列示于表2中。选定的VH链可变结构域和VL链可变结构域及其互补决定区(CDR)的翻译蛋白质序列示于表3

中。

[0716]

表2: 重链可变结构域和轻链可变结构域 (VH和VL) 的核苷酸序列

抗体名称	杂交瘤编码	VH	VL
ACI-8071-943.12A8-Ab1	943.12A8B4	GAGGTGCAGCTTGTGAGTCTGGTGGAG GATTGGTGCACCCTAAGGATCATTGCA ACTCTCATGTGCCCTCTGGTTTCACC TTCAATACCTATACCATGCACCTGGGTCC GCCAGGCTCCAGGAAGGGTTTGGAAT GGGTTGCTCGCATAGAAGTAAAAGGA GTAATTATGCAACATATTATGCCGATTC AGTGAAAGACAGATTCCACCATCTCCAG AGATGATTCACAAAAGCATGCTCTATCTG CAAATGAACAACCTGAAAACCTGAGGAC ACAGCCATATAATTAAGTGTGAGAGGCA CGGGAAGTTACTGGGGTCAAGGAACCT CAGTCAACCGTCTCCCTCA (SEQ ID NO: 18)	GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCAC TTTGTCCGGTTACCAATTGGACAGCCAGCCT CCATCTCTTGCAGGTCAAAGTCAGAGCCTC TTAGATCGTGTATGGAGAGACATATTTGAA TTGGTTGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTC CAAAGCCCTAATCTATCTGGTGTCTAAA CTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTTCCAC TGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTCACAC TGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA TTTGGGAGTTTATTAATTGCTGGGAAGGTA CACATCTTCCATTCGCGTTCGGCTCGGGG ACAAAAGTTGGAAAATAAAA (SEQ ID NO: 19)
ACI-8071-943.7H9-Ab1	943.7H9H8	GAAAATTCAGCTCCAGCAGTCTGGGACTG TGATGGCAAGGCCCTGGGGCTTCAGTGA AGATGTCTTGCAGAGACTTCTGGCTACAT	GATGTTGTGATGACCCAAAATCCACTCTC CCTGCCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCT CCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGACTT

[0717]

		<p>ATTTACCAACTACTGGATGCACCTGGGTA AACAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAC TGGATAGGGACTATTTATCCTGGAATA GTGATACTGACTACAACCAAGAACTTTAA GGGCAAGGCCAACTGACTGCAGTCAC ATCCGCCAGCACTGCCTACATGGAGCTC AGCAGCCTGACAAATGAGGACTCTGCG GTCTATTTCTGTATAAGAGGGGGATGGG GAGGGTTTCCTTACTGGGGCCCAAGGGA CTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 28)</p>	<p>GTACACAGTAATGGAACACACCTATTTACA TTGGTACCTGCAGAAAGCCAGGCCAGTCTC CAAAGTTCTCTGATCCACAAAAGTTTCCAAC CGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTTCAG TGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTCACAC TCAAGATCAGAAGAGTGGAGGCTGAGGA TCTGGGAGTATATTTCTGTCTCAAAAGTA CACATGTTCCGTACACGTTCCGGAGGGGGG ACCAAGCTGGAAAATAAAA (SEQ ID NO: 29)</p>
<p>ACI-8071 - 943.7D3-Ab1</p>	<p>943.7D3E2</p>	<p>CAGGTCCAATTACAGCAGCCTGGGACT GAAC TGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTG AAACTGTCTGCAAGGCTTCTGGCTACA CCTTCACCAGGTACTGGATGCACTGGAT GAAACAGAGGCCAGGACAAAGGCCCTTGA GTGGATTGGAAATATTAATCCTAGCGAT GGTGTACCAACTACAATGAGAAGTTTC AAGAATAAGGCCCTCACTGACTGTAGAC AAATCCTCCAGTACAGCCTACATGCAGC</p>	<p>GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCAT TTTGTCCGGTTACCATTGGACAACCAGCCT CCATCTCTTGCAAGTCAGGTCAGAGCCTC TTAGATAGTGTGGATGGACATATCTTAA TTGGATGTTCCAGCGGCCAGGCCAGTCTC CAAAGCCCTAATCTATCTGGTGTCTAAA CTGGACTCTGGAGTCCCTTGACAGGTTTCAC TGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTCACAC TGAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA</p>

[0718]

<p>ACI-8071 - 943.2E6-Ab1</p>	<p>943.2E6E10</p>	<p>TCAGCAGGCTGACATCTGAGGACTCGG CGGTCTATTATTGTGCAAGACGGGCTC GGGCTACTGGGCCAAGGCACCACTCT CACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 38)</p>	<p>TTTGGAGTTTATCATTTGCTGGCAAGGTA CACATCTCCGTACACGTTCCGGAGGGGG ACCACGCTGGAATAAAA (SEQ ID NO: 39)</p>
		<p>CAGGTCCAACCTGCAGCAGCCTGGGACT GAACTGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTG AAGCTGTCCGTGCAAGGCTTCTGGCTACA CCTTACCAGCTACTGGATGCACTGGGT GAAGCAGAGGCCTGGACAAAGGCCTTGA GTGGATTGGAAATAATTAATCCTATCAAT AGTGATACTA ACTACAATGAGAAAGTTC AAGACCAAGGCCACACTGACTGTAGAC AAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGC TCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGC GGTCTATTATTGTGCAAGACGGGCTCG GGCTACTGGGCCAAGGCACCACTCTC ACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 48)</p>	<p>GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCAC TTTGTCCGTTACCAATTGGACAACCAAGCCT TCATCTCTTGCAAGTCAAGTCAAGAGCCTC TTAGATAGTAATGGAAGACATATCTGAA TTGGATGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTC CAAAGCGCCTAATCTATCTGTGGCTAAA CTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGCTCAC TGGCAGCGGATCAGGGACAGATTACACA CTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGG ATTTGGAGTTTATTATTGCTGGCAAGGT ACACATATTCCGTACACGTTCCGGAGGGGG GACCAAGCTGGAATAAAA (SEQ ID NO: 49)</p>

[0719]

<p>ACI-8072- 946.8H6-Ab1</p>	<p>946.8H6D10</p>	<p>GAGGAGCACCTGGTGGAGTCTGGGGGA GGCTTAGTGAAAGCCTGGAGGGTCCCTG AAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCA CTTTCAGTGACTATGGAATGCAGTGGGT TCGTCAAGGCTCCAGAGAAGGGGCTGGA GTGGGTTGCATACATTAGTAGTGGCAGT AGTACCATCTACTATGAAGACACAGTG AAGGGCCGATTCCACCATCTCCAGAGAC AATGCCAAGAACACCCTGTTCCCTGCAAA TGACCAGTCTGAGGTCTGAGGACACCGG CCATGTACTACTGTGTAAGGCCCTATGA TAACTACGGCCAAGGGACTCTGGTCACT GTCTCTGCA (SEQ ID NO: 58)</p>	<p>GATGTTTTGATGACCCAGACTCCACTCTC CCTGCCCTGCAGTCTTGGAGATCAAGCCT CCATCTCTTGCAGATCTAGTCAAGATATT GTCCATAGTAAATGGAACACACCTATTTAGA ATGGTACCTGCAGAAACCTGGCCAGTCTC CAAAGCTCCTGATCTACAAAAGTTTCCAAT CGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTTCAG TGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTCACAC TGAAGATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGA TGTGGAGTTTATTACTGTCTTTC AAGGTT CACATGTTTCTCGGACGTTCCGGGGGAGGC ACCAAGCTGGAATCAAA (SEQ ID NO: 59)</p>
<p>ACI-8072- 946.4G5-Ab1</p>	<p>946.4G5F1</p>	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGA GGCTTAGTGAAAGCCTGGAGGGTCCCTG AAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCA CTTTCAGTGACTATGGAATGCAGTGGGT TCGTCAAGGCTCCAGAGAAGGGGCTGGA GTGGGTTGCATACATTAGTAGTGGCAGT</p>	<p>GATGTTTTGATGACCCAAACTCCACTCTC CCTGCCCTGCAGTCTTGGAGATCAAGCCT CCATCTCTTGCAGATCTAGTCAAGAGCATT GTACATAGTAAATGGAACACACCTATTTAGA ATGGTACCTGCAGAAACCAAGGCCAGTCTC CAAAGCTCCTGATCTACAAAAGTTTCCAAC</p>

[0720]

		<p>AGTACCATCTACTATGCAGACACAGTGA AGGCCGATTTCACCATGTCCAGAGACA ATGCCAAGAACACCCCTGTTCTGCAAAAT GACCAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGC CATGTAATTAAGTTCAGGCCCTATGGA AACTACGGCCAAAGGGACTCTGGTCACT GTCTCTGCA (SEQ ID NO: 68)</p>	<p>CGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTTCAG TGGCAGTGATCAGGGACAGATTTTCACAC TCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA TCTGGGAGTTTATTACTGCTTTCAAGGTTT ACATGTTCCTCGGACGTTCCGGTGGAGGCA CCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 69)</p>
<p>ACI-8072- 946.9D6-Ab1</p>	<p>946.9D6F3</p>	<p>GAGGAGCACCTGGTGGAGTCTGGGGGA GGCTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCCTG AAATCTCCTGTGCAGCCCTCTGGATTCA CTTTCAGTGACTATGGAATGCAGTGGGT TCGTCAGGCTCCAGAGAAGGGGCTGGA GTGGGTTGCATACATTAGTAGTGGCAGT AGTACCATCTACTATGAAGACACAGTG AAGGGCCGATTCAACCATCTCCAGAGAC AATGCCAAGAACACCCCTGTTCCCTGCAAA TGACCAGTCTGAGGTCTGAGGACACCGG CCATGTACTACTGTGTAAGGCCCTATGA</p>	<p>GACATTTGTGCTGACACAGTCTCCTGCTTC CTTAGCTGTATCTCTGGGGCAGAGGGCCA CCATCTCATGCAGGGCCAGCAAAAGTGT AGTACATCTGGCTATAGTTATATGCACTG GTACCAACAGAAACCCAGGACAGCCACCC AAATCCTCATCTATCTTGCATCCAACCT AGAATCTGGGGTCCCCTGCCAGGTTTCAGTG GCAGTGGGCTCTGGGACAGACTTCACCCCTC AACATCCAATCCTGTGGAGGAGGAGGATG CTGCAACCTATTACTGTCAACACAGTAGG GAGCTTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCA CAAGCTGGAAATCAAA</p>

[0721]

<p>ACI-7071- 4665-B5- R3B-Ab2</p>	<p>4665-B5- R3B-B8</p>	<p>TAACTACGGCCAAGGACTCTGGTCACT GTCTCTGCA (SEQ ID NO: 58)</p> <p>CAGGTGCAGCTGAAGCAGTCTGGACCT GAGCTGGTGAAGCCTGGGCTTCAGTG AAGTTGTCTCTGCAAGGCTTCTGGCTACA CCTTCACAACCTACGATATAAAGTGGGT GAAGCAGAGGCCCTGGACAGGGACCTGA GTGGATTGGATGGATTTATCCTAGAGTT GGTAATACTAAGTACAATGAGAAGTTC AAGGACAAGGCCACATTGACTGTAGAC ACATCCTCCAGCACAGCGTACATGGAG CTCCACAGCCTGACATCTGAGGACTCTG CGGTCTATTTCTGTGCAAGCGCGTTGAC CTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACT GTCTCTGCA (SEQ ID NO: 88)</p>	<p>(SEQ ID NO: 79)</p> <p>GATGTTTTGATGACCCAAACTCCACTCAC TTTGTCCGGTTACCAATTGGACAACCCAGCCT CCATCTCTTTGCAAAGTCAAAGTCAGAGCCTC TTAGATAGTGATGGAAGACATATTTGAA TTGGTTGTTTCAGAGGCCAGGCCAGTCTC CAAAGCCCTAATCTATCTGTGTCTAAA CTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTTAC TGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTCACAC TGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA TTTGGGAGTTTATTAATCTGCTTTCAAGGTTT ACATGTTCCCTCTCACGTTTCGGTGTGGGA CCAAGCTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO: 89)</p>
<p>ACI-7069- 636E5-Ab1</p>	<p>636E5B8</p>	<p>GAGGTACATCTGGTGGAGTCTGGGGGA GACTTAGTGATGCCTGGAGGGTCCCTGA AGCTCTCCTGTGCAGCCCTCTGGATTTCAC</p>	<p>CAACTTGTGCTCACTCAGTCACTTCAGC CTCTTTCTCCCTGGGAGCCCTCAGCAAAAC TCACGTGCACCTTGAGTAGTCAGCACAGT</p>

[0722]

<p>如在 WO20202344 73 中所述</p>		<p>TTTCAGTAACTATGGCATGTCTTGGGTT CGCCAGACTCCAGACAAGAGGGCTGGAG TGGGTCGCAACCAATTAGTAGTGGTGGTA AATATATCAACTACTTAGACAGTTTGAA GGGGCGAATTCACCATCTCCAGAGACAA TGCCAAGAACACCCTATACCTGCAAAATG AGCAGTCTGAAGTCTGAGGATACAGCC ATGTATTACTGTGCAAAAGACTACGGTA GTGGCTGGGCTGGTTTGGCTTACTGGGG CCAAGGACTCTGTGCTACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 98)</p>	<p>ACGTACACCATTTGAATGGTATCAGCAACA GCCACTCAAGCCTCCTAAGTATGTGATGG AGCTTAAGAAAAGATGGAAGCCACAGCAC AGGTGATGGGATTCCTGATCGCTTCTCTG GATCCAGCTCTGGTGTGATCGGCTACCTT AGCATTTCCAACATCCAGCCCTGAAGATGA AGCAAATATACATCTGTGGTGTGGGTGATA CAATTAAGGAACAATTTGTGTATGTTTTC GGCGGTGGAACCAAGGTCACCTGTCTCTA (SEQ ID NO: 99)</p>
<p>ACI-7071 - 809F12-Ab1 如在 WO20202344 73 中所述</p>	<p>809F12D8</p>	<p>CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCT GGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGT CCATCACTTGCACTGTCTCTGGGTTTTC GTTAAACAGAAAATGGTGTACAGTGGGT TCGCCAGCCTCCAGGAAAGGGTCTGGA GTGGCTGGGAGTAATATGGCCTGGCCGG AAGCACAAATTGTAATTCGGCTCTCATG TCCAGACTGAGCATCAGCAAAAGACAAC TCCAAGAGTCAAGTTTTCTTAAAAATGA</p>	<p>GATGTTTTGATGACCCAAACTCCACTCTC CCTGCCCTGTCAGTCTTGGAGATCAGGCCCT CCATCTCTTGCAAGTCTAGTCAGAACATT GTACATAGTATTGGAACAACCTATTTAGA GTGGTACCTGCAGAAACCAAGCCAGTCTC CAAAGCTCCTGATCTACAAAAGTTTCCAAC CGATTTTCTGGGGTCCAGACAGGTTTCAG TGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTCACAC TCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA</p>

[0723]

		<p>ACAGTCTGCACACTGATGACACAGGCA TATATTACTGTGCCAGAGTAGGGGGTAA CTACGTGTGGACTATAATAACTACGCC TGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCT CTGCA (SEQ ID NO: 108)</p>	<p>TCTGGGAGTTTATTACTGCTTTCAAGGTTC ACATGTTCCGTACACGTTCCGGAGGGGGGA CCAAGCTAGAAATAAGA (SEQ ID NO: 109)</p>
<p>ACI-8070- 942.30D12- Ab1</p>	<p>942.30D12F 9</p>	<p>GATGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGA GGCTTAGTGCAGCCCTGGAGGGTCCCGG AAACTCTCCTGTGAAGCCTCTGGATTCA CTTTCAGTAGCAATTGGAATGCACCTGGGT TCGTCAAGGCTCCAGAGAAGGGGCTGGA GTGGGTCCGATATATTACTAGTGGCAGT AGTACCATCTACTATGCAGACACAGTGA AGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACA ATCCCAAGAACAACCCCTGTTCCCTGCAAAAT GACCAAGTCTAAGGCTGTGAGGACACGGC CATCTATTACTGTGCAGGATCTGGACCT GGGACTGACTACTGGGGCCAAGGCACC ACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 118)</p>	<p>GACATCAAGATGACCCAGTCTCCATCTTC CATGTATGCGTCTCTAGGAGAGAGAGTCA CTATCACTTGC AAGGCGAGTCAAGGACATT AATAGCTATTTAAGCTGTTCCAGCAGAA ACCAGGGAATCTCCTAAGACCCCTGATCT ATCGTGCAAACAGATTGGTTGATGGGGTC CCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGG GCAAGATTATTCTCTCACCATCAGCAGCC TGGAGTATGAAGATATGGGAAATTTATTAT TGTTACAGTATGATGAGTTTCCTCTCAC GTTCCGGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGA AA (SEQ ID NO: 119)</p>

[0724]

表3: 重链可变结构域和轻链可变结构域 (VH和VL) 及其CDR的氨基酸序列

抗体名称	杂交瘤编码	VH	VH CDR 1	VH CDR 2	VH CDR3	VL	VL CDR 1	VL CDR2	VL CDR3
ACI-8071-943.12A8-Ab1	943.12A8B4	EVQLVESGGGLVHPKGS LQLSCAASGFTFNTYTMHWVRQAPGKGLEWVARIRSKRSNYATYYADSVKIDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTEDTAIYYCVRGTGSYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 10)	TYTMH (SEQ ID NO: 11)	RIRSKRSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 12)	GTGSY (SEQ ID NO: 13)	DVVMQTQPLTSLVTIGQPASISCRSSQSLDRDGETYLNWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWE (SEQ ID NO: 14)	RSSQLLDRDGETYL (SEQ ID NO: 15)	LVSKLDS (SEQ ID NO: 16)	WEGTHLPFA (SEQ ID NO: 17)
ACI-8071-	943.7H9H8	EIQLQQSGTVMARPGASVKMSCKTSGYIFTNY	NYWMH	TIYPGNSDT	GGWGGFPY	DVVMQTQIPLSLPVSLGDAQASISCRSSQRLVHSNGNT	RSSQLVHSN	KVSNRFS	CQSTHVPYT

[0725]

943.7H9- Ab1		WMHWVKQRP GQGLDWIGTIY PGNSD TDYNQ NFKGKAKLTA VTSASTAYMEL SSLTNE DSAVY FCIRGGWGGFP YWGGQTLVTV SA (SEQ ID NO: 20)	(SEQ ID NO: 21) NFKG (SEQ ID NO: 22)	DYNQ (SEQ ID NO: 23)	YLHWYLQKPGQ SPKFLIHKVSNR FSGVPDRFSGSG SGTDFTLKIRRV EAEDLG VYFCC QSTHVPYTFGGG TKLEIK (SEQ ID NO: 24)	GNTY LH (SEQ ID NO: 25)	(SEQ ID NO: 26)	(SEQ ID NO: 27)
ACI-8071- 943.7D3- Ab1	943.7D3E2	QVQLQPGTEL VKPGASVKLSC KASGYTFTRY WMHWMKQRP GQGLEWIGNIN PSDGGTNYNE KFKNKASLTV DKSSSTAYMQ LSRLTSEDSAV YYCARRGSGY	RYWM H (SEQ ID NO: 31)	NINPS DGGT NYNE KFKN (SEQ ID NO: 32)	RGSG Y (SEQ ID NO: 33) SPKRLIYLVSKL DSGVPDRFTGSG SGTDFTLKISR EAEDLG VYHCW QGTHLPYTFGG GTTLEIK	KSGQS LLDSD GWTY LN (SEQ ID NO: 35)	LVSK LDS (SEQ ID NO: 16)	WQGT HLPYT (SEQ ID NO: 37)

[0726]

ACI-8071- 943.2E6- Ab1	943.2E6E10	WGQGTTLTVS S (SEQ ID NO: 30) QVQLQPGTEL VKPGASVKLSC KASGYTFTSY WMHWVKQRP GQGLEWIGNIN PINSDTNYNEK FKTKATLTVDK SSSTAYMQLSS LTSEDSAVYYC ARRGSGYWGQ GTTTLTVSS (SEQ ID NO: 40)	SYWM H (SEQ ID NO: 41)	NINPI NSDT NYNE KFKT (SEQ ID NO: 42)	RGSG Y (SEQ ID NO: 33)	(SEQ ID NO: 34) DVVMTQTPLTSL VTIGQPAFISCKS SQSLLDNSNGKTY LNWMLQRPQGS PKRLIYLVAKLD SGVPDRRLTGSGS GTDYTLKISRVE AEDLGYYCWWQ GTHIPYTFGGGT KLEIK (SEQ ID NO: 44)	KSSQS LLDSN GKTY LN (SEQ ID NO: 45)	LVAK LDS (SEQ ID NO: 46)	WQGT HIPYT (SEQ ID NO: 47)
ACI-8072- 946.8H6- Ab1	946.8H6D10	EEHLVESGGGL VKPGGSLKLSLSC AASGFTFSDYG MQWVRQAPEK GLEWVAYISSG	DYGM Q (SEQ ID NO: 51)	YISSG SSTIY YEDT VKG	PYDN Y (SEQ ID NO: 53)	DVLMQTPLSLP VSLGDQASISCR SSQSIVHSNGNT YLEWYLRKPGQ SPKLLIYKVSNR	RSSQS IVHSN GNTY LE	KVSN RFS (SEQ ID NO: 26)	FQGS VPRT (SEQ ID NO: 57)

[0727]

ACI-8072- 946.4G5- Ab1	946.4G5F1	SSTIYYEDTVK GRFTISRDNK NTLFLQMTSLR SEDAMYYCV RPYDNYGQGT LVTVSA (SEQ ID NO: 50)	DYGM H (SEQ ID NO: 61)	YISSG SSTIY YADT VKG (SEQ ID NO: 62)	PYGN Y (SEQ ID NO: 63)	FSGVPDRFSGSG SGTDFTLKISR EAEDVGYYCF QGSHVPRTFGG GTKLEIK (SEQ ID NO: 54)	RSSQS IVHSN GNTY LE (SEQ ID NO: 55)	KVSN RFS (SEQ ID NO: 26)	FQGS VPRT (SEQ ID NO: 57)
		EVQLVESGGGL VKPGGSLKLS AASGFTFSDY MHWVRQAPEK GLEWVA SSTIYYADTVK GRFTMSRDNA KNTLFLQMTSL RSEDAMYYC SRPYGNYGQG TLVTVSA (SEQ ID NO: 60)				DVLMTQTPLSLP VSLGDQASISCR SSQSIVHSNGNT YLEWYLQKPGQ SPKLLIYKVSNR FSGVPDRFSGSG SGTDFTLKISR EAEDLGYYCF QGSHVPRTFGG GTKLEIK (SEQ ID NO: 64)			

[0728]

ACI-8072- 946.9D6- Ab1	946.9D6F3	EEHLVESGGGL VKPGGSLKLS AASGFTFSDYG MQWVRQAPEK GLEWVAYISSG SSTIYYEDTVK GRFTISRDN NTLFLQMTSLR SEDAMYYCV RPYDNYGGGT LVTVSA (SEQ ID NO: 50)	DYGM Q (SEQ ID NO: 51)	YISSG SSTIY YEDT VKG (SEQ ID NO: 52)	PYDN Y (SEQ ID NO: 53)	DIVLTQSPASLA VSLGQRATISCR ASKSVSTSGYSY MHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLE SGVPARFSGSGS GTDFTLNHPVE EEDAATYYCQH SRELPTWTFGGGT KLEIK (SEQ ID NO: 74)	RASKS VSTSG YSYM H (SEQ ID NO: 75)	LASN LES (SEQ ID NO: 76)	QHSRE LPWT (SEQ ID NO: 77)
ACI-7071- 4665-B5- R3B-Ab2	4665-B5- R3B-B8	QVQLKQSGPEL VKPGASVKLS KASGYTFTTYD INWVKRPGQ GPEWIGWIYPR VGNTKYNEKF KDKATLTVDT SSTAYMELHSL	TYDIN (SEQ ID NO: 81)	WIYPR VGNT KYNE KFKD (SEQ ID NO: 82)	ALTY (SEQ ID NO: 83)	DVLMTQTPLTSL VTIGQPASISCKS SQSLDSDGKTY LNWLFQRPQGSP KRLIYLVSKLDS GVDPDRFTGSGG TDFTLKISRVEA EDLGVYYCFQG	KSSQS LLDSD GKTY LN (SEQ ID NO: 85)	LVSK LDS (SEQ ID NO: 16)	FQGS VPLT (SEQ ID NO: 87)

[0729]

ACI-7069-636E5-Ab1	636E5B8	TSEDSAVYFCA SALTYWGGQT LVTVSA (SEQ ID NO: 80)	NYGM S (SEQ ID NO: 91)	TISSG GKYIN YLDSL KG (SEQ ID NO: 92)	DYGS GWA WFAY (SEQ ID NO: 93)	SHVPLTFGAGTK LELK (SEQ ID NO: 84)	TLSSQ HSTYT IE (SEQ ID NO: 95)	GSHST GD (SEQ ID NO: 96)	GVGD TIKEQ FVYV (SEQ ID NO: 97)
如在 WO2020234473 中所述		EVHVESGGDL VMPGGSLKLS AASGFTFSNYG MSWVRQTPDK RLEWVATISSG GKYINYLDL GRFTISRDN NTLYLQMSL SEDAMYCA KDYGGGWA AYWGGTLVT VSA (SEQ ID NO: 90)	RNGV Q (SEQ ID NO: 101)	VIWP GGST NCNS ALMS (SEQ ID NO: 102)	VGGN YVWD YNNY A (SEQ ID NO: 103)	DVLMTQTPLSLP VSLGDQASISCR SSQNIVHSIGN YLEWYLQKPGQ SPKLLIYKVSNR FSGVPDRFSGSG SGTDFTLKISR EAEDLGVYYCF	RSSQN IVHSI GNTY LE (SEQ ID NO: 105)	KVSN RFS (SEQ ID NO: 26)	FQGS VPYT (SEQ ID NO: 107)

[0730]

WO20202 34473 中所述		TDDTGIYCAR VGGNYVWDY NNYAWGQGT L VTVSA (SEQ ID NO: 100)	SIGMH (SEQ ID NO: 111)	YITSG SSTIY YADT VKG (SEQ ID NO: 112)	SGPGT DY (SEQ ID NO: 113)	DIKMTQSPSSMY ASLGERVTITCK ASQDINSYLSWF QQKPGKSPKTLI YRANRLVDGVP SRFSGSGGQDY SLTISSLEYEDM GIYYCLQYDEFP LTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 114)	KASQ DINSY LS (SEQ ID NO: 115)	RANR LVD (SEQ ID NO: 116)	LQYD EFPLT (SEQ ID NO: 117)
ACI-8070- 942.30D1 2-Ab1	942.30D12F9	DVQLVESGGG LVQPGGSRKLS CEASGFTFSSIG MHWVRQAPEK GLEWVAYITSG SSTIYYADTVK GRFTISRDNPK NTLFLQMTSLR SEDTAIYYCAG SGPGTDYWGQ GTTLTVSS (SEQ ID NO: 110)							

[0731] 实施例3:通过免疫测定来确定靶结合

[0732] 使用夹心酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 来确

定抗体与磷酸化TDP-43和TDP-43结合的能力,其中每种抗体与第二TDP-43抗体配对,该第二TDP-43抗体先前在夹心免疫测定中表征了TDP-43结合和性能,即ACI-7071-809F12-Ab1-rec2(如W02020234473中所述)或ACI-7069-636E5-Ab1(如W02020234473中所述)。将ELISA板(Nunc™Edge™96孔未经处理的平底微孔板,ThermoFisher Scientific,Denmark)用在碳酸盐/碳酸氢盐缓冲液中的5 μ g/mL抗磷酸化TDP-43或抗TDP-43抗体进行包被,在4 $^{\circ}$ C下过夜。然后将板用0.05%吐温-20/PBS洗涤,并用在0.05%吐温-20/PBS中的1%牛血清白蛋白(bovine serum albumin,BSA)在37 $^{\circ}$ C下封闭1小时。然后将板如上所述进行再次洗涤。

[0733] 然后将靶肽或蛋白质的连续稀释物添加至板。对于采用抗磷酸化TDP-43抗体进行的测定,使用四种肽缀合物(肽11、23、28或29)中的一种,每种由两个TDP-43序列构成,一个经磷酸化以及一个未磷酸化,其用三氧杂十三烷-琥珀酰胺酸接头缀合在一起(Ttds、结合区域和序列示于表4中)。将肽11、23、28和29从0.5 μ M开始,以10倍连续稀释度进行添加。对于仅用TDP-43抗体进行的测定,将重组全长TDP-43(SEQ ID NO:1,FLTDP-43)从21.9pM开始进行3倍稀释。将板在37 $^{\circ}$ C下孵育1小时并随后进行洗涤。然后将2 μ g/mLPEG-生物素化的磷酸化TDP-43或TDP-43抗体分别添加至孔,并在37 $^{\circ}$ C下孵育1小时,在此之后将板进行洗涤。将辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase,HRP)缀合的链霉亲和素(R&D Systems,Switzerland)以在1% BSA和0.05%吐温-20/PBS中的1/200稀释度进行添加,在室温下持续45分钟。在最后的洗涤之后,将板用3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB;BD Biosciences,Switzerland)在振荡器(350rpm)上于室温下孵育10分钟,在此之后将1.2M氯化氢(HCl;Sigma,Switzerland)添加至板。使用ELISA板读取器(Tecan,Switzerland)在450nm处对板进行读取。

[0734] 将采用靶肽或蛋白质的连续稀释的这些ELISA用于确定并比较靶结合的半数最大有效浓度(EC50)。

[0735] 通过使用GraphPad Prism(8.4.3版)应用软件,使用校准物的四参数逻辑(4-PL)拟合,采用1/Y2加权,将450nm处的光密度针对靶肽或蛋白质浓度的对数进行作图,来分析数据。表5中总结了用于捕获和检测的EC50值。当抗体用于配对测定时,所有pS403/pS404 TDP-43抗体与肽28结合并且所有pS409/pS410 TDP-43抗体与肽29结合,其中针对靶捕获的EC50值为0.070至3.318nM并且针对靶检测的EC50值为0.249至1.959nM(表5)。

[0736] 当抗体用于配对测定时,pS375/pS379 TDP-43抗体与肽11和23结合,其中针对靶捕获的EC50值为0.904nM并且针对靶检测的EC50值为0.056nM(表5)。

[0737] 当抗体用于配对测定并且其中FL TDP-43作为测定靶标时,对于TDP-43抗体,针对靶捕获的EC50值为0.072至1.157nM并且针对靶检测的EC50值为0.070和0.181nM(表5)。

[0738] 表4.作为用于磷酸化TDP-43抗体和免疫测定的靶标或校准物而使用的肽

[0739]

校准物	TDP-43 校准物肽靶位点	肽的氨基酸序列和接头
肽 11	355 至 366、和 370 至 384 (具有 pS375 和 pS379)	NNQGNMQREPNA (SEQ ID NO: 4) 与 GNNSY{pS}GSN{pS}GAAIG (SEQ ID NO: 5) 通过三氧杂十三烷-琥珀酰胺酸接头连接
肽 23	180 至 195、199 至 213、和 370 至 384 (具有 pS375 和 pS379)	SKQSQDEPLRSRKVFVTEDELMTEDELREFFSQ (SEQ ID NO: 6) 与 GNNSY{pS}GSN{pS}GAAIG (SEQ ID NO: 5) 通过三氧杂十三烷-琥珀酰胺酸接头连接
肽 28	199 至 213、355 至 366、和 396 至 409 (具有 pS403 和 pS404)	TEDELMTEDELREFFSQNNQGNMQREPNA (SEQ ID NO: 7) 与 GFNGGFG{pS}{pS}MDSKS (SEQ ID NO: 8) 通过三氧杂十三烷-琥珀酰胺酸接头连接
肽 29	199 至 213、355 至 366、和 401 至 413 (具有 pS409 和 pS410)	TEDELMTEDELREFFSQNNQGNMQREPNA (SEQ ID NO: 7) 与 FGSSMDSK{pS}{pS}GWG (SEQ ID NO: 9) 通过三氧杂十三烷-琥珀酰胺酸接头连接

[0740]

表5. 如通过配对ELISA免疫测定所确定的EC50值

[0741]

抗体	人 TDP-43 靶位点	针对捕获的 EC50 (nM)	针对检测的 EC50 (nM)
ACI-8070-942.30D12-Ab1	pS375/pS379	0.904	0.056
ACI-8071-943.12A8-Ab1	pS403/pS404	0.293	0.249
ACI-8071-943.7H9-Ab1	pS403/pS404	0.070	0.313
ACI-8071-943.7D3-Ab1	pS403/pS404	0.170	0.181
ACI-8071-943.2E6-Ab1	pS403/pS404	3.318	0.563
ACI-8072-946.8H6-Ab1	pS409/pS410	0.111	1.122
ACI-8072-946.4G5-Ab1	pS409/pS410	0.196	1.959
ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2	366-369	0.072	0.181
ACI-7069-636E5-Ab1 (如 WO2020234473 中所述)	358-361	1.157	0.070
ACI-7071-809F12-Ab1-rec2 (如 WO2020234473 中所述)	199-213	0.181	NA

[0742]

数据不可用 (NA)。

[0743] 实施例4:通过捕获ELISA来表明TDP-43结合分子的磷酸化位点选择性。

[0744] 使用捕获ELISA测定对磷酸化TDP-43抗体进行评价并选择用于测定开发,以使用全长人TDP-43蛋白以及代表在第375、379、403、404、409或410位氨基酸处具有磷酸化丝氨酸残基的人TDP-43的C端区域的磷酸化肽二者来确定针对TDP-43和特异性磷酸化位点的结合特异性和捕获特性。将肽在N端进行生物素化,用于ELISA中的捕获检测或用于在芯片上固定以使用SPR (Biacore 8K, GE Healthcare Life Sciences) 进行亲和力测量。每种肽在代表全长人TDP-43蛋白的丝氨酸375 (pS375)、丝氨酸379 (pS379)、丝氨酸403 (pS403)、丝氨酸404 (pS404)、丝氨酸409 (pS409) 或丝氨酸410 (pS410) 位点的序列残基上被单磷酸化或双磷酸化。还包括代表相同区域(人TDP-43 (SEQ ID NO:1) 第366至414位氨基酸)但未磷酸化的肽。

[0745] 简言之,对于ELISA中的捕获检测,将96孔板的孔用在碳酸盐缓冲液中的5 μ g/mL山羊抗小鼠IgG (Fc γ 片段特异性) 进行包被,在4 $^{\circ}$ C下过夜。然后将板用0.05%吐温-20/PBS洗涤,并用在0.05%吐温-20/PBS中的1%牛血清白蛋白(BSA) 在37 $^{\circ}$ C下封闭1小时。然后以5 μ g/mL添加磷酸化TDP-43抗体并在37 $^{\circ}$ C下孵育2小时,在此之后如上所述将板进行洗涤。将代表每个磷酸化位点的或非磷酸化的生物素化肽在0.1% BSA和PBS中以0.5mM于37 $^{\circ}$ C下孵育1小时,在此之后将板进行洗涤。将链霉亲和素-HRP缀合物 (R&D Systems, Minnesota, United States) 以在PBS中的0.05%吐温-20/1% BSA中的1/200稀释度进行添加,在环境温度下在黑暗中持续45分钟。在最后洗涤之后,将板与TMB (Sigma-Aldrich, Switzerland) (HRP底物溶液) 一起孵育,并使用ELISA板读取器 (Tecan, Switzerland) 在405nm处读取。

[0746] 靶捕获的结合和选择性结果示于表6中。作为靶捕获的相对结合(信号强度和事件数目)表示为没有(-)、低(+)、中(++)或高(+++)。

[0747] 抗体ACI-8070-942.30D12-Ab1与具有pS375和pS379、或者pS379的磷酸化肽370至384结合。抗体ACI-8071-943.12A8-Ab1和ACI-8071-943.2E6-Ab1与具有pS403和pS404、或者pS403、或者pS404的磷酸化肽396至409结合。抗体ACI-8071-943.7H9-Ab1和ACI-8071-943.7D3-Ab1与具有pS403和pS404、或者pS403、或者pS404的磷酸化肽396至409结合,并与具有pS409和pS410、或者pS410的磷酸化肽401至413结合。抗体ACI-8072-946.8H6-Ab1, ACI-8072-946.4G5-Ab1, 和ACI-8072-946.9D6-Ab1与具有pS409和pS410、或者pS409、或者pS410的磷酸化肽401至413结合。没有一种磷酸化TDP-43抗体与非磷酸化肽366至414结合。抗体ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2仅与非磷酸化肽366至414结合,因为每种磷酸化肽均缺乏该抗体的结合表位,第366至369位残基。

[0748]

表6. 针对TDP-43磷酸化位点的结合选择性。数字是指由414个氨基酸组成的全长人TDP-43蛋白(SEQ ID NO: 1)的氨基酸残基序列编号。

抗体	人 TDP-43 区域和磷酸化位点									
	370-384 (pS375 和 pS379)	370-384 (pS375)	370-384 (pS379)	396- 409 (pS403 和 pS404)	396-409 (pS403)	396-409 (pS404)	401-413 (pS409 和 pS410)	401-413 (pS409)	401-413 (pS410)	366-414 (非 磷酸化)
ACI-8070-942.30D12-Ab1	+++	-	+++	-	-	-	-	-	-	-
ACI-8071-943.12A8-Ab1	-	-	-	+++	++	+	-	-	-	-
ACI-8071-943.7H9-Ab1	-	-	-	+++	+++	+++	++	-	+	-
ACI-8071-943.7D3-Ab1	-	-	-	+++	+++	+++	++	-	+	-
ACI-8071-943.2E6-Ab1	-	-	-	+++	++	+	-	-	-	-
ACI-8072-946.8H6-Ab1	-	-	-	-	-	-	+++	++	+++	-
ACI-8072-946.4G5-Ab1	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	-
ACI-8072-946.9D6-Ab1*	-	-	-	NA	NA	NA	+++	+++	+++	-
ACI-7071-4665-B5-R3B- Ab2	NA	NA	NA	-	-	-	-	-	-	+++

相对结合表示为没有 (-)、低 (+)、中 (++) 或高 (+++)。数据使用杂交瘤来产生 (*)。数据不可用 (NA)。

[0749] 实施例5:利用表面等离子体共振进行TDP-43结合分子的亲和力测量

[0750] 对于抗体

[0751] ACI-8071-943.12A8-Ab1, ACI-8071-943.7H9-Ab1, ACI-8071-943.7D3-Ab1, ACI-8071-943.2E6-Ab1, ACI-8072-946.8H6-Ab1, AACI-8072-946.4G5-Ab1, ACI-8072-946.9D6-Ab1, 和ACI-7071-809F12-Ab1-rec2,

[0752] 亲和力测量是使用CM5系列S传感器芯片在Biacore 8K仪器(Cytiva, Switzerland)上通过表面等离子体共振(SPR)进行的。

[0753] 仪器用运行缓冲液PBS-P+(10×PBS-P+在Milli-Q水中稀释至1×)进行准备(prime),并且CM5系列S传感器芯片(Cytiva, 29149603)的通道1至8的流通池(flow-cell, Fc)1至2用EDC/NHS(胺偶联试剂盒, BR100633, Cytiva)两种试剂1:1比例的新鲜溶液以10μL/分钟激活420秒,并且将山羊抗小鼠抗体(Jackson Immuno Research Labs, no115-005-164)以30μg/mL在10mM乙酸钠pH 5中固定420秒。接下来,将所有Fc用1M乙醇胺(Cytiva, BR100633)猝灭420秒。通过用10mM甘氨酸-HCl pH 1.5进行三次再生(持续30秒)来去除非共价结合的抗体。在乙醇胺猝灭之后评价固定水平。

[0754] 每个循环都以抗体的非共价捕获开始,该抗体在运行缓冲液中稀释至5μg/mL的终浓度并以10μL/分钟的流量注射持续120秒。所测量的抗体在通道1至8上被捕获,使Fc 1作为空白Fc。在每次抗体注射之后的120秒稳定期之后评价捕获水平。ACI-7071-809F12-Ab1-rec2用作对照,与肽28和29中代表的非磷酸化序列结合。

[0755] 肽28或29的注射使用单循环动力学在1.2至100nM(作为3倍连续稀释来制备)的提高的浓度的情况下进行。以30μL/分钟的流量以300秒/注射的接触时间进行注射。900秒的解离阶段在最后一次注射之后。通过持续60秒以10μL/分钟的流量两次注射10mM甘氨酸-HCl pH 1.7来使传感器表面再生,然后是120秒的稳定期。使用空白Fc 1和缓冲液循环对从单循环动力学获得的结果进行双重参考,并通过Biacore 8K评价软件(Cytiva)进行评价。使用具有可变反射指数(Reflective Index, RI)的1:1结合拟合模型获得了以下动力学参数:缔合速率常数(ka)、解离速率常数(kd)、亲和力常数(kd)和饱和响应(Rmax)。表7中报道了所有参数(除Rmax之外)。

[0756] 表7. 缔合、解离和亲和力常数(分别为ka、kd和KD)。

抗体	肽 28			肽 29		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
ACI-8071-943.12A8-Ab1	1.56E+08	1.45E+00	9.28	未测量到可检测的亲和力		
ACI-8071-943.7H9-Ab1	1.05E+06	2.40E-04	0.23	未测量到可检测的亲和力		
ACI-8071-943.7D3-Ab1	8.24E+04	4.04E-04	4.91	未测量到可检测的亲和力		
ACI-8071-943.2E6-Ab1	7.74E+04	9.86E-04	12.7	未测量到可检测的亲和力		
ACI-8072-946.8H6-Ab1	未测量到可检测的亲和力			1.43E+06	4.69E-03	3.28
ACI-8072-946.4G5-Ab1	未测量到可检测的亲和力			4.87E+05	8.17E-04	1.68
ACI-8072-946.9D6-Ab1*	未测量到可检测的亲和力			3.09E+05	7.07E-04	2.29
ACI-7071-809F12-Ab1-rec2	5.14E+05	2.31E-03	4.50	4.90E+05	3.43E-03	7.00

[0758] 数据是使用经纯化杂交瘤上清液得到的(*)。

[0759] 对于抗体ACI-8070-942.30D12-Ab1和ACI-7071-809F12-Ab1-rec2,亲和力在Biacore S200仪器(Cytiva,Switzerland)上测量。仪器用运行缓冲液HBS-P+(10×HBS-P+在Milli-Q水中稀释至1×)进行准备,并且CM7系列S传感器芯片(Cytiva,29147020)的流通池(Fc)1至4用EDC/NHS(胺偶联试剂盒2型,BR100633,Cytiva)两种试剂1:1比例的新鲜溶液以10μL/分钟激活420秒,并且将多克隆兔抗小鼠IgG抗体(Cytiva,29215281)以30μg/mL在10mM乙酸钠pH 5.0中固定420秒。接下来,将所有Fc用1M乙醇胺(Cytiva,BR100633)猝灭420秒。在乙醇胺猝灭之后评价固定水平。小鼠IgG2a同种型对照抗体和ACI-8070-942.30D12-Ab1分别在Fc 1和Fc 2上捕获。将抗体在10mM乙酸钠pH5.5中稀释至终浓度为50μg/mL,并使用目标固定水平功能进行注射,目标为10000RU。一旦达到最大捕获水平,就应用300秒稳定期,然后以10μL/分钟注射EDC/NHS(Cytiva,BR100633)的新鲜溶液30秒以交联所捕获的抗体。接下来,将所有Fc用1M乙醇胺(Cytiva,BR100633)猝灭30秒。Fc 1和Fc 2通道上的固定水平分别为4519和6638RU。仪器用运行缓冲液PBS-P+进行准备,并以30μL/分钟注射2小时以使传感器芯片表面稳定。单循环动力学注射在12.3至1000nM(作为3倍连续稀释度进行制备)的提高浓度的靶肽的情况下进行。以30μL/分钟的流量以300秒/注射的接触时间进行注射。600秒的解离阶段在最后一次注射之后。通过持续30秒以10μL/分钟的流量注射10mM甘氨酸-HCl pH 1.7来使传感器表面再生,然后是300秒的稳定期。使用空白Fc 1和缓冲液循环对从单循环动力学获得的结果进行双重参考,并使用Biacore insight评价软件(Cytiva)进行评价。将传感图数据用具有可变反射指数(RI)的1:1结合拟合模型进行拟合。表8中报道了动力学参数(除Rmax之外)。

[0760] 表8. 缔合、解离和亲和力常数(分别为ka、kd和KD)。

由氨基酸序列(SEQ ID NO: 5)组成的 TDP-43 肽 (包含 pS375 和 pS379)			
抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
ACI-8070-942.30D12-Ab1	2.08E+04	4.48E-04	21.5
ACI-7071-809F12-Ab1-rec2	未测量到可检测的亲和力		

[0762] 将传感图数据使用整体RI的参数用1:1结合拟合模型进行拟合。在最高浓度下信号低于5RU的抗体被认为是非结合物,在表7和表8中表示为没有可检测的亲和力。抗体ACI-8070-942.30D12-Ab1以21.5nM的亲和力(KD)与包含pS375和pS379的磷酸化肽370至384(SEQ ID NO:5)结合。抗体ACI-8071-943.12A8-Ab1,ACI-8071-943.7H9-Ab1,ACI-8071-943.7D3-Ab1,和ACI-8071-943.2E6-Ab1以0.23至12.7nM的亲和力(KD)与肽28结合。抗体ACI-8072-946.8H6-Ab1,ACI-8072-946.4G5-Ab1,和ACI-8072-946.9D6-Ab1以1.68至3.28nM的亲和力(KD)与肽29结合。抗体ACI-7071-809F12-Ab1-rec2分别以4.50和7.00nM的亲和力(KD)与肽28和肽29(二者均包含以下的表位:ACI-7071-809F12-Ab1-rec2,人TDP-43第199至213位残基)结合。

[0763] 实施例6:使用SPR进行亲合力测量

[0764] 通过使用SPR(Biacore T200,GE Healthcare Life Sciences)确定KD值来评价ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2与可溶性FL TDP-43的结合亲合力。通过胺偶联将重组人可溶性FLTDP-43固定在CM5系列S传感器芯片(GE Healthcare Life Sciences)上。将可溶性

TDP-43以在10mM乙酸钠(pH 4.5)中5 μ g/ml的浓度在5 μ l/分钟的流量下固定420秒,使得固定水平为150RU。为了评价KD值,将抗体ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2或对照抗人TDP-43抗体以在PBS-P+中3倍稀释度以起始于333nM并稀释降低至0.15nM进行注射。将抗体以50 μ l/分钟的流量注射,持续90秒的接触时间和700秒的解离阶段,随后在10mM甘氨酸-HCl(pH 1.7)下进行三次再生。对于优化的SPR方案,将抗体以起始于300nM并稀释降低至1.2nM进行3倍稀释,并且以30 μ l/分钟注射持续300秒,随后解离600秒。通过一次注射10mM甘氨酸-HCl(pH 1.7)使芯片表面再生。从结合动力学获得的结果使用空白流通池和缓冲液循环进行双重参考,并使用带有RI的整体1:1拟合模型进行评价。抗体ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2以0.39nM的KD($k_a=4.29E+04$ 1/Ms并且 $k_d=1.66E-05$ 1/s)与可溶性人TDP-43结合。

[0765] 抗体ACI-8070-942.30D12-Ab1的结合亲合力在Biacore 8K仪器(Cytiva, Switzerland)上进行。将包含pS375和pS379、pS375、或pS379的生物素化TDP-43磷酸化肽370至384以在10mM乙酸钠(pH 4.0)中190 μ g/ml的浓度在5 μ L/分钟的流量下持续60秒固定在SA系列S传感器芯片(Cytiva, Br100531)上的单独通道中,使得固定水平为68至104RU。将抗体ACI-8070-942.30D12-Ab1或对照抗人TDP-43抗体以1.2至100nM(作为在PBS-P+中的3倍连续稀释度进行制备)的提高浓度的单循环动力学进行注射。注射以30 μ L/分钟进行300秒,然后解离1800秒。通过一次注射10mM甘氨酸-HCl pH 1.7持续45秒来使芯片表面再生。从结合动力学获得的结果使用参考流通池和缓冲液循环进行双重参考,并通过Biacore Insight评价软件采用具有可变RI的整体1:1拟合模型进行评价。抗体ACI-8070-942.30D12-Ab1以0.23nM的KD与包含pS375和pS379的磷酸化肽370至384结合,以75.5nM的KD与包含pS375的磷酸化肽370至384结合,并以0.28nM的KD与包含pS379的磷酸化肽370至384结合。

[0766] 实施例7:通过免疫组织化学检测来自FTD A型对象的脑组织切片中的TDP-43包涵体

[0767] 通过对来自被诊断为患有具有TDP-43病理状况的额颞痴呆A型(FTD A型)患者的脑切片进行的免疫组织化学实验来评价靶标接合。人FTD A型脑组织从加利福尼亚大学旧金山分校(University of California San Francisco, UCSF)神经退行性疾病脑库获得。所有材料均从死后捐赠者中收集,UCSF神经退行性疾病脑库已从所述捐赠者获得关于脑尸检以及出于研究目的使用材料和临床信息的书面知情同意。将脑样品以10 μ m厚度切割,封固在显微镜载片上,并在-80 $^{\circ}$ C下储存直至用于染色。

[0768] 将冷冻的脑切片首先在室温下解冻,用4%多聚甲醛(paraformaldehyde, PFA)在4 $^{\circ}$ C下固定15分钟,并用磷酸缓冲盐水(phosphate buffered saline, PBS)洗涤3次。然后将组织用疏水性笔圈出,以使样品体积最小化并避免扩散。封闭采用在具有0.25% TritonX-100的PBS中的5%牛血清白蛋白(BSA)在室温下进行1小时。将切片用在具有0.25% TritonX-100的PBS中的2.5% BSA中稀释的一抗在4 $^{\circ}$ C下孵育过夜。将用作阳性对照的商业抗磷酸化TDP-43抗体以1:200进行稀释。将选定用于表征的磷酸化TPD-43抗体在1 μ g/mL下进行测试。将用缓冲液而非一抗进行的标记用作阴性对照(仅用于二抗)。次日,将切片用PBS洗涤3次。将Alexa Fluor-633标记的山羊抗大鼠用于阳性对照,并将Alexa Fluor-647标记的山羊抗小鼠用于抗磷酸化抗体。将切片用在PBS中以1:500进行稀释的二抗在室温下孵育30分钟。在用PBS进行三个洗涤步骤之后,在室温下将溶解在70%乙醇中的0.1%

Sudan Black添加至脑切片持续15分钟以使组织自发荧光最小化。在PBS中的三个最后洗涤步骤之后,添加具有DAPI的Prolong Antifade试剂,并将切片用盖玻片封固。将脑切片在黑暗中干燥,并使用DAPI和Cy3通道用Panoramic 150切片扫描仪成像。Cy3和DAPI通道中的暴露时间对所有样品保持相同。在阴性对照条件下未观察到染色。

[0769] FTD A型脑切片中TDP-43包涵体的染色示于表9中。包涵体特异性结合和染色的相对信号强度表示为没有(-)、低(+)、中(++)或高(+++)。

[0770] 抗体ACI-8071-943.12A8-Ab1,ACI-8071-943.7D3-Ab1,ACI-8072-946.4G5-Ab1,和ACI-8072-946.9D6-Ab1与FTD A型病理状况中聚集的TDP-43胞质包涵体特异性结合(表8,第一个结果列)。本发明磷酸化TDP-43抗体均不与核的、非聚集的、生理性TDP-43结合(表8,第二个结果列)。抗体ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2,其如所预期的与非磷酸化TDP-43、经染色的胞质TDP-43包涵体和经染色的核TDP-43结合。

[0771] 表9.来自FTD A型对象的脑组织中TDP-43病理状况的染色

抗体	TDP-43 胞质包涵体的 IHC 检测	细胞核 TDP-43 的 IHC 检测
ACI-8071-943.12A8-Ab1	+++	-
ACI-8071-943.7D3-Ab1	++	-
ACI-8072-946.4G5-Ab1	+	-
ACI-8072-946.9D6-Ab1*	+	-
ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2	+	+

[0773] TDP-43病理状况的相对染色表示为没有(-)、低(+)、中(++)或高(+++)。数据是使用经纯化杂交瘤上清液得到的(*)。

[0774] 实施例8:生物流体中的TDP-43的检测和定量

[0775] 实施例8A:采用ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2和ACI-7071-809F12-Ab1-rec2用于检测和定量生物流体中的TDP-43而进行的免疫测定

[0776] ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2用于开发免疫测定,以对人血浆中的TDP-43进行定量。单分子阵列(SIMOA®;Quanterix Corporation,U.S.A.)技术用于选择最佳的TDP-43抗体,以用于开发高灵敏度生物流体测定。简言之,在SIMOA测定中,靶特异性抗体(捕获抗体)与顺磁性颗粒(捕获试剂)偶联。分析物被捕获在半均相溶液中,并与检测抗体(detection antibody)(检测抗体(detector antibody))形成能够产生荧光产物的免疫复合物。在低浓度下,每个珠复合物将包含1或0种蛋白质,并被捕获到阵列上200,000飞托升(femtoliter)尺寸的微腔之一中。数字返回信号(开/关)提供了与常规的多重ELISA测定相比增强的灵敏度。ACI-7071-809F12-Ab1-rec2与顺磁珠缀合以用作捕获试剂,并且ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2被生物素化(#21335或#21362,ThermoFisher Scientific)以用作

检测抗体。使用三步方案进行测定,其中所有孵育步骤均在25℃下在微板振荡器(Quanterix Corporation)上进行,振荡设置为800rpm。将样品和校准物用抗体缀合的捕获珠孵育30分钟,用生物素化的检测抗体孵育10分钟,并用链霉亲和素-β-D-半乳糖苷酶(SBG;Quanterix Corporation)孵育10分钟。将板在每次孵育之间和测定结束时使用磁性微板洗涤器(Quanterix Corporation)进行洗涤,并用SR-XSIMOA®仪器(Quanterix Corporation)进行读取。通过调节与顺磁珠缀合的抗体的浓度、生物素化抗体的浓度、用于抗体生物素缀合的接头和生物素的摩尔比以及SBG的浓度来实现测定优化。将与捕获抗体缀合的顺磁珠在珠稀释剂(Quanterix Corporation)中稀释,将校准物和生物素化抗体在针对最优测定性能而专门配制的定制稀释剂中稀释,并将SBG在SBG稀释剂(Quanterix Corporation)中稀释。根据Quanterix SIMOA®测定限定,检测下限(lower limit of detection, LLOD)被确定为每个珠的平均酶(average enzyme per bead, AEB)的读出的平均空白+2.5倍标准偏差,并对应于0.021pM。定量下限(lower limit of quantification, LLOQ)设置为0.09pM,其为校准物的最低浓度,其中合并的CV≤20%以及从校准曲线反算的浓度为预期浓度的80%至120%。测定间变异性分析(图1A)表明校准曲线是可重复的。抗体ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2可以与第二TDP-43抗体配对,并用于使用SIMOA®免疫测定技术对生物流体中低浓度的TDP-43进行定量。

[0777] 为了表明所选定抗体在测量人血浆样品中的TDP-43中的性能,将测定另外用于对来自健康对照对象和来自FTLD-TDP(语义痴呆,C9orf72或GRN)患者的EDTA血浆中的TDP-43进行定量。结果表明,与来自健康对照的血浆相比,具有颗粒蛋白前体(GRN)变异或突变的FTLD-TDP患者的亚组中的血浆TDP-43浓度较低(图1B, $p=0.052$)。值显示为平均值±SD,其中p值使用单因素方差分析(One-way analysis of variance, ANOVA)进行确定,然后通过Benjamini、Krieger和Yekutieli的两阶段递增法(Two-stage step-up method)来控制错误发现率(false discovery rate, FDR)。结果表明,本文中所述的抗体成功检测/定量了患病对象和健康对照二者的人血浆样品中的TDP-43。

[0778] 实施例8B:采用

[0779] ACI-7069-636E5-Ab1, ACI-7071-4665-B5-Ab2, ACI-8071-943.7H9-Ab1, ACI-8072-946.4G5-Ab1和ACI-7071-809F12-Ab1-rec2用于检测和定量生物流体中的磷酸化TDP-43而进行的免疫测定

[0780] 对于测量TDP-43的测定,将ACI-7071-809F12-Ab1-rec2与用作捕获试剂的顺磁珠缀合并将ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2使用EZ-Link™ Sulfo-NHS-LC-生物素或EZ-Link™ NHS-PEG4-生物素(二者均由ThermoFisher Scientific提供)进行生物素化以用作检测抗体。对于靶向pS403/pS404 TDP-43的测定,将ACI-7069-636E5-Ab1或ACI-7071-809F12-Ab1-rec2与用作捕获试剂的顺磁珠缀合并将ACI-8071-943.7H9-Ab1使用EZ-Link™ Sulfo-NHS-LC-生物素或EZ-Link™ NHS-PEG4-生物素(二者均由ThermoFisher Scientific提供)进行生物素化以用作检测抗体。对于靶向pS409/pS410 TDP-43的测定,将ACI-7071-809F12-Ab1-rec2与用作捕获试剂的顺磁珠缀合并将ACI-8072-946.4G5-Ab1使用EZ-Link™ Sulfo-NHS-LC-生物素或EZ-Link™ NHS-PEG4-生物素(二者均由ThermoFisher Scientific提供)进行生物素化以用作检测抗体。如实施例8A中所述进行测定。根据Quanterix SIMOA®测定限定,对于每次测定,检测下限(LLOD)被确定为每个珠的平均酶

(AEB)的读出的平均空白+2.5倍标准偏差。定量下限 (LLOQ) 被确定为校准物的最低浓度,其中合并的变异系数(coefficient of variation,CV) $\leq 20\%$ 以及从校准曲线反算的浓度为预期浓度的80%至120%。在不同情况下重复进行测定,以评价测定间的变异性。

[0781] 使用QuanterixSIMOA[®]免疫测定平台测量人生物流体中TDP-43或磷酸化TDP-43的选定抗体对(用于实施例8A和8B二者)的特征性测定品质属性在表10中示出。免疫测定采用覆盖不同表位区域的不同抗体对进行开发,从而允许以飞摩尔定量下限对TDP-43和磷酸化TDP-43进行定量。

[0782]

表10. 在Quanterix SIMOA[®]免疫测定平台上建立和开发的TDP-43和磷酸化TDP-43生物流体测定。

TDP-43 测定 靶标	捕获 抗体	TDP-43 捕获 表位	检测 抗体	TDP-43 检测 表位	LLOD (pM)	LLOQ (pM)
RRM2 / C 端	ACI-7071-809F12-Ab1-rec2	199-213	ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2	366-369	0.02	0.09
C 端 / pS403/pS404	ACI-7069-636E5-Ab1	358-361	ACI-8071-943.7H9-Ab1	pS403/pS404	0.13	0.50
RRM2 / pS403/pS404	ACI-7071-809F12-Ab1-rec2	199-213	ACI-8071-943.7H9-Ab1	pS403/pS404	0.17	0.61
RRM2 / pS409/pS410	ACI-7071-809F12-Ab1-rec2	199-213	ACI-8072-946.4G5-Ab1	pS409/pS410	0.02	0.80

TDP-43 RNA 识别基序2 (RNA recognition motif 2, RRM2)。TDP-43羧基端 (C端)。检测下限 (LLOD)。定量下限 (LLOQ)。

[0783] 实施例9:血小板中的TDP-43的检测和定量

[0784] 将实施例8A的TDP-43检测测定(配对抗体ACI-7071-4665-B5-R3B-Ab2作为检测抗体并且ACI-7071-809F12-Ab1-rec2作为捕获抗体)用于通过以下测量来自健康对照对象的血液区室中的TDP-43:使用差速离心分离血小板级分并测量富血小板血浆、贫血小板血浆以及富集血小板的胞质溶胶级分和膜级分中的TDP-43。简言之,收集来自健康对象的新鲜血液,并自收集起2小时内将其在22°C下以 $200 \times g$ 离心10分钟。注意不要扰动血沉棕黄层(buffy coat),收集上清液的等分试样作为富血小板血浆并转移到小瓶中,在-80°C下储存直至使用。将剩余的上清液在22°C下以 $5'000 \times g$ 离心20分钟,以将贫血小板血浆与血小板沉淀物分离。小心收集上清液并转移到小瓶中,在-80°C下储存直至使用,并将沉淀物在Earle平衡盐溶液(Earle's Balanced Salt Solution, EBSS)中新鲜制备的EDTA中轻轻洗涤。为了将血小板胞质溶胶与膜级分分离,将沉淀物在含有蛋白酶(cOmplete, Roche)和磷酸酶(PhosSTOP, Roche)抑制剂混合物的 $1 \times$ RIPA缓冲液(Pierce)中裂解,使用与最初用于将贫血小板血浆与富血小板血浆分离的体积相同的体积。使用探头声波仪以30%振幅(amplitude)在冰上对样品进行声处理五次持续10秒,并随后在4°C下以 $20'000 \times g$ 离心10分钟,以将血小板胞质溶胶与膜级分分离。将上清液在-80°C下储存直至使用,并且将沉淀物重悬在测定稀释剂中并在-80°C下储存直至使用。如实施例8A中所述,使用SIMOA[®]测定来测量每种级分中的人TDP-43。针对每种级分的稀释度差异对TDP-43的定量进行了调整。结果表明,血液中的TDP-43几乎完全由血小板中的TDP-43代表,主要在血小板胞质溶胶级分中(图2)。数据表示为平均值 \pm SD。结果表明,本文中所述的抗体成功检测/定量了人血小板样品中的TDP-43,并且非常适合用于在高灵敏度生物流体免疫测定中检测和测量TDP-43。

[0785] 这些实例表明,这些TDP-43结合分子(抗体)的特征非常适合用于其预期用途,例如检测和测量病理性TDP-43翻译后物质,特别是已知与TDP-43蛋白质病相关的物质。这些特征包括磷酸化位点特异性、高亲和力、与脑组织中人TDP-43病理状况的结合、以及作为高灵敏度生物流体免疫测定的一部分的效用。

[0786] 除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。出于与本发明相关的所有目的,本文中具体提及的所有出版物和专利均通过引用以其整体并入。

[0787] 本发明的范围不受本文中所述的具体实施方案所限制。实际上,本发明的多种修改(除了本文中所述的那些之外)根据前面的描述和附图对于本领域技术人员将变得明显。这样的修改旨在落入所附权利要求书的范围内。而且,本文中所述的本发明的所有方面和实施方案均被认为是广泛适用的并且可与任何和所有其他一致的实施方案组合,包括从本发明的其他方面适当地(包括单独地(in isolation))取得的那些。

校准曲线

TDP-43测定

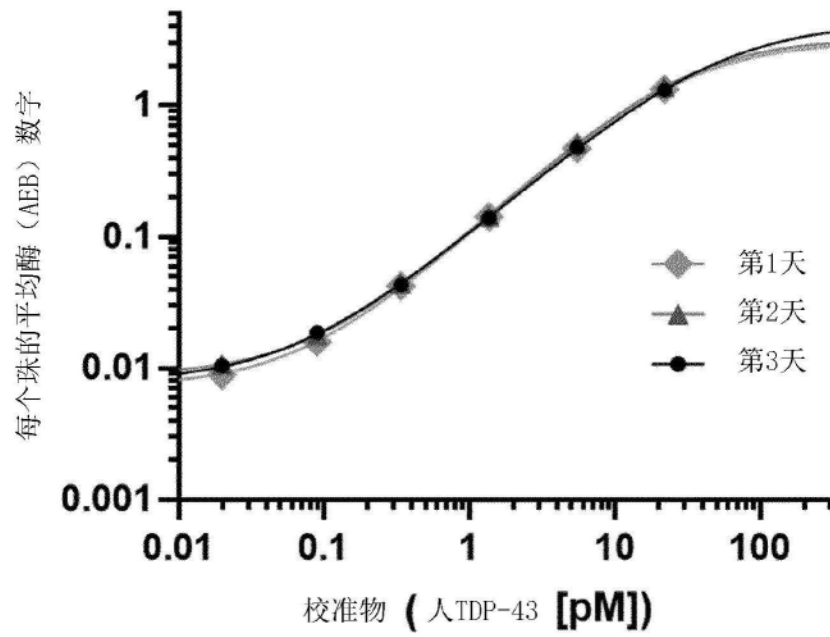


图1A

EDTA血浆中的TDP-43定量

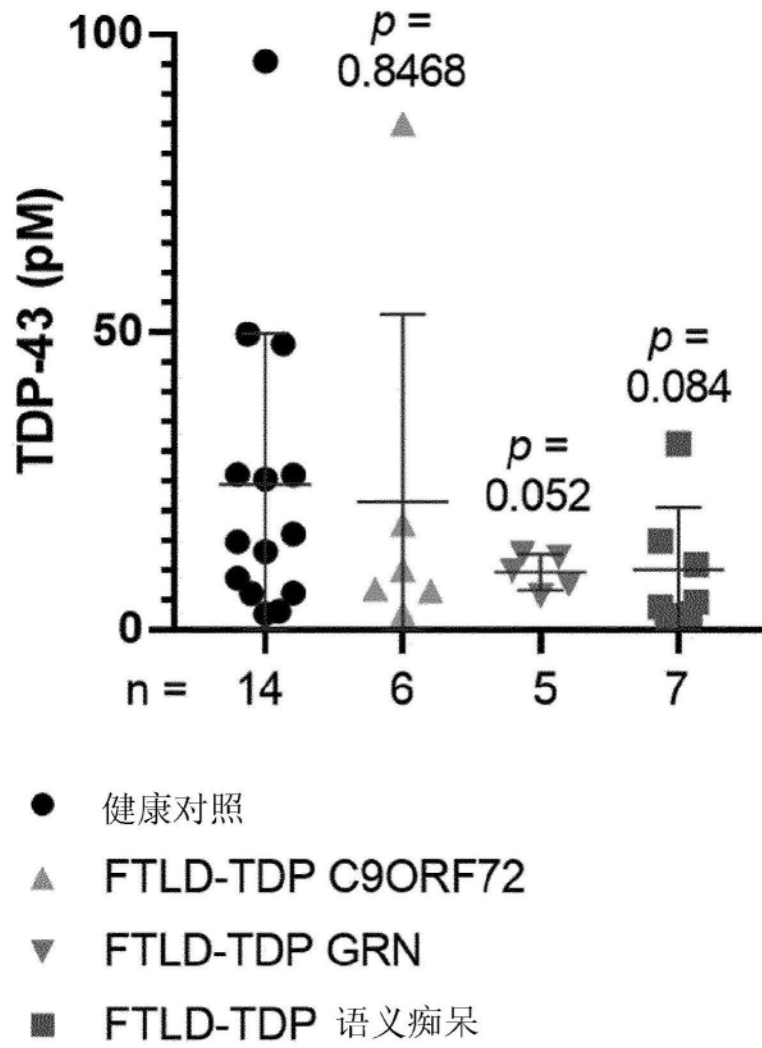


图1B

血小板级分中的TDP-43

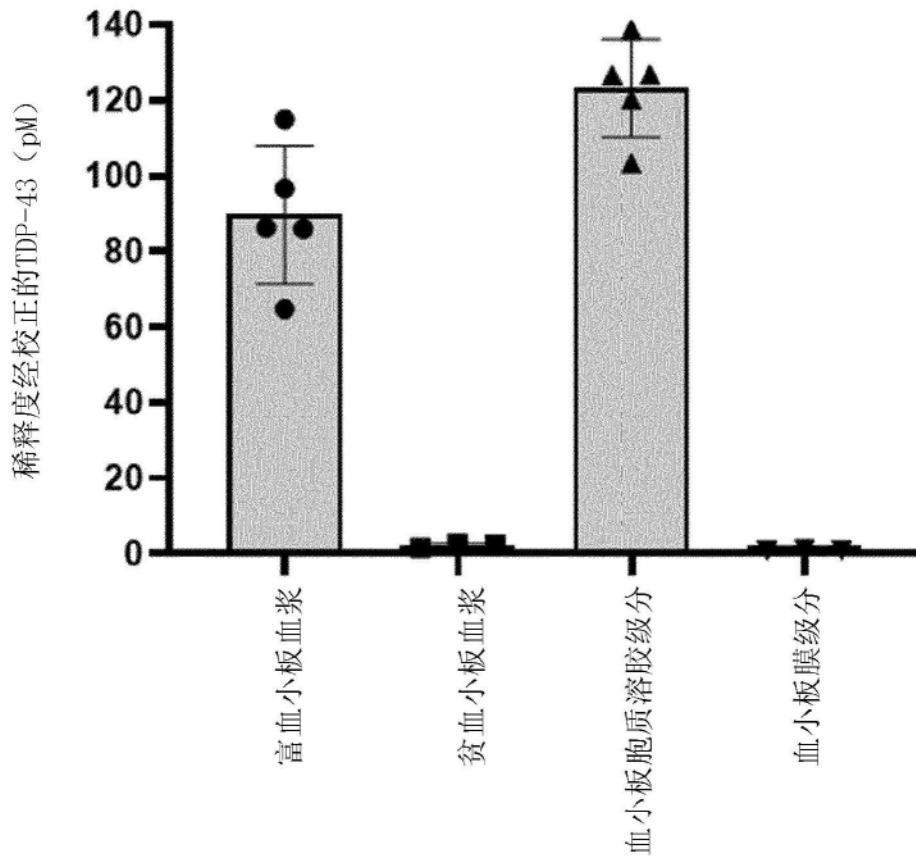


图2