



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 115279790 A

(43) 申请公布日 2022. 11. 01

(21) 申请号 202180008986.5

(22) 申请日 2021.01.13

(30) 优先权数据

62/960,663 2020.01.13 US

63/070,728 2020.08.26 US

63/091,717 2020.10.14 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2022.07.12

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/013200 2021.01.13

(87) PCT国际申请的公布数据
W02021/146256 EN 2021.07.22

(71) 申请人 戴纳立制药公司
地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 马克·S·丹尼斯 谷振宇

米哈利斯·S·卡里奥利斯

卡塔尔·S·马洪

凯瑟琳·M·梦露

约书亚·I·帕克

瑞秋·普罗洛克

亚当·P·西尔弗曼

贝蒂娜·范伦格里奇

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理
有限责任公司 11204

专利代理师 王达佐 洪欣

(51) Int. Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

权利要求书11页 说明书65页
序列表75页 附图35页

(54) 发明名称

抗TREM2抗体和其使用方法

(57) 摘要

在一个方面,提供了特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 蛋白的抗体。在一些实施方案中,所述抗体降低可溶性TREM2 (sTREM2) 的水平。在一些实施方案中,所述抗体增强TREM2活性。

1. 一种特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体, 其中所述抗体包含:

(a) 可变区, 其包含:

- i. CDR-H1序列, 其包含G-F-T-F-T- α_6 -F-Y-M-S (SEQ ID NO:28) 的序列, 其中 α_6 是D或N;
 - ii. CDR-H2序列, 其包含V-I-R-N- β_5 - β_6 -N- β_8 -Y-T- β_{11} - β_{12} -Y-N-P-S-V-K-G (SEQ ID NO:29) 的序列, 其中 β_5 是K或R; β_6 是A或P; β_8 是G或A; β_{11} 是A或T; 并且 β_{12} 是G或D;
 - iii. CDR-H3序列, 其包含 γ_1 -R-L- γ_4 -Y-G-F-D-Y (SEQ ID NO:30) 的序列, 其中 γ_1 是A或T; 并且 γ_4 是T或S;
 - iv. CDR-L1序列, 其包含Q-S-S-K-S-L-L-H-S- δ_{10} -G-K-T-Y-L-N (SEQ ID NO:31) 的序列, 其中 δ_{10} 是N或T;
 - v. CDR-L2序列, 其包含序列WMSTRAS (SEQ ID NO:8); 和
 - vi. CDR-L3序列, 其包含Q-Q-F-L-E- ϕ_6 -P-F-T (SEQ ID NO:32) 的序列, 其中 ϕ_6 是Y或F;
- (b) 经修饰以特异性结合至转铁蛋白受体的第一Fc多肽; 和
- (c) 第二Fc多肽。

2. 如权利要求1所述的抗体, 其中所述CDR-H1序列选自SEQ ID NOS:4或12。

3. 如权利要求1或2所述的抗体, 其中所述CDR-H2序列选自SEQ ID NOS:5、13或25。

4. 如权利要求1至3中任一项所述的抗体, 其中所述CDR-H3序列选自SEQ ID NOS:6、14或17。

5. 如权利要求1至4中任一项所述的抗体, 其中所述CDR-L1序列选自SEQ ID NOS:7或23。

6. 如权利要求1至5中任一项所述的抗体, 其中所述CDR-L3序列选自SEQ ID NOS:9或18。

7. 如权利要求1至6中任一项所述的抗体, 其中所述可变区包含:

(a) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L3; 或

(b) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L3; 或

(c) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L3; 或

(d) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L3; 或

(e) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-L3; 或

(f) 包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的

CDR-H2、包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-L3；
或

(g) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-L3。

8. 如权利要求1至7中任一项所述的抗体，其中所述可变区包含与SEQ ID NOS:2、10、15、19、21、24和26中的任一者具有至少85%序列同一性的V_H序列。

9. 如权利要求8所述的抗体，其中所述V_H序列与SEQ ID NO:15具有至少90%的序列同一性。

10. 如权利要求9所述的抗体，其中所述V_H序列与SEQ ID NO:15具有至少95%的序列同一性。

11. 如权利要求10所述的抗体，其中所述V_H序列包含SEQ ID NO:15。

12. 如权利要求8所述的抗体，其中所述V_H序列与SEQ ID NO:24具有至少90%的序列同一性。

13. 如权利要求12所述的抗体，其中所述V_H序列与SEQ ID NO:24具有至少95%的序列同一性。

14. 如权利要求13所述的抗体，其中所述V_H序列包含SEQ ID NO:24。

15. 如权利要求1至14中任一项所述的抗体，其中所述可变区包含与SEQ ID NOS:3、11、16、20、22和27中的任一者具有至少85%序列同一性的V_L序列。

16. 如权利要求15所述的抗体，其中所述V_L序列与SEQ ID NO:16具有至少90%的序列同一性。

17. 如权利要求16所述的抗体，其中所述V_L序列与SEQ ID NO:16具有至少95%的序列同一性。

18. 如权利要求17所述的抗体，其中所述V_L序列包含SEQ ID NO:16。

19. 如权利要求15所述的抗体，其中所述V_L序列与SEQ ID NO:22具有至少90%的序列同一性。

20. 如权利要求19所述的抗体，其中所述V_L序列与SEQ ID NO:22具有至少95%的序列同一性。

21. 如权利要求20所述的抗体，其中所述V_L序列包含SEQ ID NO:22。

22. 如权利要求15所述的抗体，其中所述V_L序列与SEQ ID NO:27具有至少90%的序列同一性。

23. 如权利要求22所述的抗体，其中所述V_L序列与SEQ ID NO:27具有至少95%的序列同一性。

24. 如权利要求23所述的抗体，其中所述V_L序列包含SEQ ID NO:27。

25. 如权利要求1至7中任一项所述的抗体，其中所述可变区包含：

- (a) 包含SEQ ID NO:15的V_H序列和包含SEQ ID NO:16的V_L序列；或
- (b) 包含SEQ ID NO:19的V_H序列和包含SEQ ID NO:20的V_L序列；或
- (c) 包含SEQ ID NO:21的V_H序列和包含SEQ ID NO:20的V_L序列；或

- (d) 包含SEQ ID NO:19的V_H序列和包含SEQ ID NO:22的V_L序列;或
- (e) 包含SEQ ID NO:21的V_H序列和包含SEQ ID NO:22的V_L序列;或
- (f) 包含SEQ ID NO:24的V_H序列和包含SEQ ID NO:20的V_L序列;或
- (g) 包含SEQ ID NO:26的V_H序列和包含SEQ ID NO:20的V_L序列;或
- (h) 包含SEQ ID NO:24的V_H序列和包含SEQ ID NO:22的V_L序列;或
- (i) 包含SEQ ID NO:26的V_H序列和包含SEQ ID NO:22的V_L序列;或
- (j) 包含SEQ ID NO:2的V_H序列和包含SEQ ID NO:3的V_L序列;或
- (k) 包含SEQ ID NO:10的V_H序列和包含SEQ ID NO:11的V_L序列;或
- (l) 包含SEQ ID NO:24的V_H序列和包含SEQ ID NO:27的V_L序列。

26. 如权利要求1至25中任一项所述的抗体,其中根据EU编号,所述第一Fc多肽包含:位置380处的Trp、Leu或Glu;位置384处的Tyr或Phe;位置386处的Thr;位置387处的Glu;位置388处的Trp;位置389处的Ser、Ala或Val;位置390处的Ser或Asn;位置413处的Thr或Ser;位置415处的Glu或Ser;位置416处的Glu;和位置421处的Phe。

27. 如权利要求26所述的抗体,其中所述第一Fc多肽结合至所述转铁蛋白受体的顶端结构域。

28. 如权利要求26或27所述的抗体,其中所述抗体与具有野生型Fc二聚体的抗体相比具有改善的脑摄取。

29. 如权利要求1至28中任一项所述的抗体,其中根据EU编号,所述第一Fc多肽具有T366W取代并且所述第二Fc多肽具有T366S、L368A和Y407V取代。

30. 如权利要求1至28中任一项所述的抗体,其中根据EU编号,所述第一Fc多肽具有T366S、L368A和Y407V取代并且所述第二Fc多肽具有T366W取代。

31. 如权利要求1至30中任一项所述的抗体,其中所述第一Fc多肽和/或所述第二Fc多肽包含降低效应功能的修饰。

32. 如权利要求31所述的抗体,其中根据EU编号,所述降低效应功能的修饰包含对位置234处的Ala和位置235处的Ala的取代。

33. 如权利要求1至32中任一项所述的抗体,其中所述第一Fc多肽和/或所述第二Fc多肽包含延长血清半衰期的相对于天然Fc序列的氨基酸修饰。

34. 如权利要求33所述的抗体,其中根据EU编号,所述氨基酸修饰包含对位置428处的Leu和位置434处的Ser的取代。

35. 如权利要求1至34中任一项所述的抗体,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:41或SEQ ID NO:64的序列,并且所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或SEQ ID NO:63的序列。

36. 如权利要求35所述的抗体,所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:41的所述第一Fc多肽;

(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:39的所述第二Fc多肽;和

(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。

37. 如权利要求35所述的抗体,所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:64的所述第一Fc

多肽;

(ii) 第二重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:63的所述第二Fc多肽;和

(iii) 两条轻链, 其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

38. 如权利要求35或36所述的抗体, 所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含以SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列或由其组成;

(ii) 第二HC, 其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成;和

(iii) 第一和第二轻链 (LC), 其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

39. 如权利要求35或37所述的抗体, 所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含以SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列或由其组成;

(ii) 第二HC, 其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成;和

(iii) 第一和第二轻链 (LC), 其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

40. 如权利要求1至34中任一项所述的抗体, 其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:44或SEQ ID NO:66的序列, 并且所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或SEQ ID NO:63的序列。

41. 如权利要求40所述的抗体, 所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:44的所述第一Fc多肽;

(ii) 第二重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:39的所述第二Fc多肽;和

(iii) 两条轻链, 其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

42. 如权利要求40所述的抗体, 所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:66的所述第一Fc多肽;

(ii) 第二重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:63的所述第二Fc多肽;和

(iii) 两条轻链, 其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

43. 如权利要求40或41所述的抗体, 所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含以SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列或由其组成;

(ii) 第二HC, 其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成;和

(iii) 第一和第二轻链 (LC), 其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

44. 如权利要求40或42所述的抗体, 所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含以SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列或由其组成;

(ii) 第二HC, 其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成;和

(iii) 第一和第二轻链 (LC), 其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

45. 如权利要求1至34中任一项所述的抗体, 其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:47或

SEQ ID NO:68的序列,并且所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或SEQ ID NO:63的序列。

46. 如权利要求45所述的抗体,所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:47的所述第一Fc多肽;

(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:39的所述第二Fc多肽;和

(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

47. 如权利要求45所述的抗体,所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:68的所述第一Fc多肽;

(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:63的所述第二Fc多肽;和

(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

48. 如权利要求45或46所述的抗体,所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:48所示的氨基酸序列或由其组成;

(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成;和

(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

49. 如权利要求45或47所述的抗体,所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列或由其组成;

(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成;和

(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

50. 如权利要求1至34中任一项所述的抗体,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:47或SEQ ID NO:68的序列,并且所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:61或SEQ ID NO:84的序列。

51. 如权利要求50所述的抗体,所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:47的所述第一Fc多肽;

(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:61的所述第二Fc多肽;和

(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

52. 如权利要求50所述的抗体,所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:68的所述第一Fc多肽;

(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:84的所述第二Fc多肽;和

(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

53. 如权利要求50或51所述的抗体,所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:48所示的氨基酸序列或由其组成;

(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列或由其组成;和
(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

54. 如权利要求50或52所述的抗体,所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列或由其组成;
(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列或由其组成;和
(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

55. 如权利要求1至34中任一项所述的抗体,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:50或SEQ ID NO:70的序列,并且所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或SEQ ID NO:63的序列。

56. 如权利要求55所述的抗体,所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:50的所述第一Fc多肽;

(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:39的所述第二Fc多肽;和

(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

57. 如权利要求55所述的抗体,所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:70的所述第一Fc多肽;

(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:63的所述第二Fc多肽;和

(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

58. 如权利要求55或56所述的抗体,所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列或由其组成;
(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成;和
(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

59. 如权利要求55或57所述的抗体,所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:71所示的氨基酸序列或由其组成;
(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成;和
(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

60. 一种特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体,其中所述抗体包含:

(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:41的第一Fc多肽;

(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:39的第二Fc多肽;和

(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

61. 如权利要求60所述的抗体,所述抗体包含:

- (i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列或由其组成;
- (ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成;和
- (iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

62. 一种特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体,其中所述抗体包含:

- (i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:64的第一Fc多肽;
- (ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:63的第二Fc多肽;和
- (iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。

63. 如权利要求62所述的抗体,所述抗体包含:

- (i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列或由其组成;
- (ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成;和
- (iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

64. 一种特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体,其中所述抗体包含:

- (i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:44的第一Fc多肽;
- (ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:39的第二Fc多肽;和
- (iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。

65. 如权利要求64所述的抗体,所述抗体包含:

- (i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列或由其组成;
- (ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成;和
- (iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

66. 一种特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体,其中所述抗体包含:

- (i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:66的第一Fc多肽;
- (ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:63的第二Fc多肽;和
- (iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。

67. 如权利要求66所述的抗体,所述抗体包含:

- (i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列或由其组成;
- (ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成;和

(iii) 第一和第二轻链 (LC), 其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

68. 一种特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体, 其中所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:47的第一Fc多肽;

(ii) 第二重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:39的第二Fc多肽; 和

(iii) 两条轻链, 其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

69. 如权利要求68所述的抗体, 所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含以SEQ ID NO:48所示的氨基酸序列或由其组成;

(ii) 第二HC, 其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成; 和

(iii) 第一和第二轻链 (LC), 其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

70. 一种特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体, 其中所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:68的第一Fc多肽;

(ii) 第二重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:63的第二Fc多肽; 和

(iii) 两条轻链, 其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

71. 如权利要求70所述的抗体, 所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含以SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列或由其组成;

(ii) 第二HC, 其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成; 和

(iii) 第一和第二轻链 (LC), 其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

72. 一种特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体, 其中所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:47的第一Fc多肽

(ii) 第二重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:61的第二Fc多肽; 和

(iii) 两条轻链, 其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

73. 如权利要求72所述的抗体, 所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含以SEQ ID NO:48所示的氨基酸序列或由其组成;

(ii) 第二HC, 其包含以SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列或由其组成; 和

(iii) 第一和第二轻链 (LC), 其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

74. 一种特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体, 其中所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:68的第一Fc多肽;

(ii) 第二重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:61的第二Fc多肽;和

(iii) 两条轻链, 其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

75. 如权利要求74所述的抗体, 所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含以SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列或由其组成;

(ii) 第二HC, 其包含以SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列或由其组成;和

(iii) 第一和第二轻链 (LC), 其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

76. 一种特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体, 其中所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:50的第一Fc多肽;

(ii) 第二重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:39的第二Fc多肽;和

(iii) 两条轻链, 其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

77. 如权利要求76所述的抗体, 所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含以SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列或由其组成;

(ii) 第二HC, 其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成;和

(iii) 第一和第二轻链 (LC), 其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

78. 一种特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体, 其中所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:70的第一Fc多肽;

(ii) 第二重链 (HC), 其包含有包含SEQ ID NO:24的 V_H 和包含SEQ ID NO:63的第二Fc多肽;和

(iii) 两条轻链, 其各自包含有包含SEQ ID NO:22的 V_L 。

79. 如权利要求78所述的抗体, 所述抗体包含:

(i) 第一重链 (HC), 其包含以SEQ ID NO:71所示的氨基酸序列或由其组成;

(ii) 第二HC, 其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成;和

(iii) 第一和第二轻链 (LC), 其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

80. 如权利要求1至79中任一项所述的抗体, 其中所述抗体降低可溶性TREM2蛋白 (sTREM2) 的水平。

81. 如权利要求1至80中任一项所述的抗体, 其中所述抗体增强TREM2活性。

82. 如权利要求1至81中任一项所述的抗体, 其中所述抗体增强吞噬作用或增强骨髓细胞、小胶质细胞或巨噬细胞的迁移、分化、功能或存活。

83. 如权利要求1至82中任一项所述的抗体,其中所述抗体增强小胶质细胞功能而不增加神经炎症。

84. 如权利要求1至83中任一项所述的抗体,其中所述抗体增强Syk磷酸化。

85. 如权利要求84所述的抗体,其中所述抗体在TREM2配体存在下增强Syk磷酸化。

86. 如权利要求1至85中任一项所述的抗体,其中所述抗体表现出与食蟹猴TREM2蛋白的交叉反应性。

87. 一种药物组合物,所述药物组合物包含权利要求1至86中任一项所述的分离抗体和药学上可接受的载剂。

88. 一种药盒,所述药盒包含:

权利要求1至86中任一项所述的分离抗体或权利要求87所述的药物组合物;以及其使用说明书。

89. 一种治疗受试者的神经退行性疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用权利要求1至86中任一项所述的分离抗体或权利要求87所述的药物组合物。

90. 如权利要求89所述的方法,其中所述神经退行性疾病选自以下组成的组:阿尔茨海默病、原发性年龄相关性tau蛋白病变、进行性核上性麻痹(PSP)、额颞叶痴呆、额颞叶痴呆伴与17号染色体相关的帕金森症、嗜银颗粒性痴呆、肌萎缩性侧索硬化、关岛型肌萎缩性侧索硬化/帕金森症-痴呆复合征(ALS-PDC)、皮质基底节变性、慢性创伤性脑病、克雅氏病、拳击手型痴呆、弥漫性神经原纤维缠结伴钙化、唐氏综合征、家族性英国型痴呆、家族性丹麦型痴呆、杰茨曼-斯脱司勒-史茵克病、球状胶质tau蛋白病变、瓜德罗普帕金森症伴痴呆、瓜德罗普PSP、哈勒沃登-施帕茨病、遗传性弥漫性脑白质病变合并轴索球样变(HDLS)、亨廷顿病、包涵体肌炎、多系统萎缩、强直性肌营养不良、Nasu-Hakola病、神经原纤维缠结优势型痴呆、C型尼曼-匹克病、苍白球-脑桥-黑质变性、帕金森病、匹克病、脑炎后帕金森症、朊病毒蛋白脑淀粉样血管病、进行性皮质下神经胶质增生、亚急性硬化性全脑炎和仅缠结型痴呆。

91. 一种降低患有神经退行性疾病的受试者中的sTREM2水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用权利要求1至86中任一项所述的分离抗体或权利要求87所述的药物组合物。

92. 一种增强患有神经退行性疾病的受试者中的TREM2活性的方法,所述方法包括向所述受试者施用权利要求1至86中任一项所述的分离抗体或权利要求87所述的药物组合物。

93. 一种分离的多核苷酸,所述分离的多核苷酸包含编码权利要求1至86中任一项所述的抗体的核苷酸序列。

94. 一种分离的多核苷酸,所述分离的多核苷酸包含编码SEQ ID NOS:42、45、48、51、53、54和61中的任一者的核苷酸序列。

95. 一种分离的多核苷酸,所述分离的多核苷酸包含编码SEQ ID NOS:42、53和54的核苷酸序列。

96. 一种分离的多核苷酸,所述分离的多核苷酸包含编码SEQ ID NOS:45、53和54的核苷酸序列。

97. 一种分离的多核苷酸,所述分离的多核苷酸包含编码SEQ ID NOS:48、53和54的核苷酸序列。

98.一种分离的多核苷酸,所述分离的多核苷酸包含编码SEQ ID NOS:48、52和54的核苷酸序列。

99.一种分离的多核苷酸,所述分离的多核苷酸包含编码SEQ ID NOS:51、53和54的核苷酸序列。

100.一种载体,所述载体包含权利要求93至99中任一项所述的多核苷酸。

101.一种宿主细胞,所述宿主细胞包含权利要求93至99中任一项所述的多核苷酸或权利要求100所述的载体。

102.一种表达特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的抗体的方法,所述方法包括:在适于表达所述抗体的条件下培养权利要求101所述的宿主细胞。

抗TREM2抗体和其使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2020年1月13日提交的美国临时专利申请第62/960,663号、2020年8月26日提交的美国临时专利申请第63/070,728号和2020年10月14日提交的美国临时专利申请第63/091,717号的优先权,所述临时专利申请的公开内容出于所有目的通过引用整体并入。

背景技术

[0003] 骨髓细胞上表达的触发受体-2 (TREM2) 是在小胶质细胞上表达的跨膜受体,并且被认为其在调控吞噬作用、细胞存活和促炎性细胞因子的产生中起作用。已在包括阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease)、Nasu-Hakola病、帕金森病 (Parkinson's disease)、肌萎缩性侧索硬化和额颞叶痴呆在内的神经退行性疾病中鉴定出TREM2突变。另外,已报道,在具有TREM2突变的阿尔茨海默病或额颞叶痴呆患者的脑脊髓液中,可溶性TREM2 (sTREM2) 的水平发生改变。

[0004] 仍然需要调节TREM2活性或sTREM2水平的治疗剂。

发明内容

[0005] 在一个方面,提供了特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的抗体。在一些实施方案中,所述抗体包含可结合至转铁蛋白受体蛋白质的经修饰的Fc多肽。在本文所公开的任何实施方案中,所述抗体可包含根据本文所提供的任何示例性序列的CDR、 V_H 和/或 V_L ,并且还可包含有包含如本文所述的转铁蛋白受体结合突变的经修饰的Fc多肽。

[0006] 在一些实施方案中,特异性结合至TREM2的抗体包含:

[0007] (a) 可变区,其包含:

[0008] i. CDR-H1序列,其包含G-F-T-F-T- α_6 -F-Y-M-S (SEQ ID NO:28) 的序列,其中 α_6 是D或N;

[0009] ii. CDR-H2序列,其包含V-I-R-N- β_5 - β_6 -N- β_8 -Y-T- β_{11} - β_{12} -Y-N-P-S-V-K-G (SEQ ID NO:29) 的序列,其中 β_5 是K或R; β_6 是A或P; β_8 是G或A; β_{11} 是A或T;并且 β_{12} 是G或D;

[0010] iii. CDR-H3序列,其包含 γ_1 -R-L- γ_4 -Y-G-F-D-Y (SEQ ID NO:30) 的序列,其中 γ_1 是A或T;并且 γ_4 是T或S;

[0011] iv. CDR-L1序列,其包含Q-S-S-K-S-L-L-H-S- δ_{10} -G-K-T-Y-L-N (SEQ ID NO:31) 的序列,其中 δ_{10} 是N或T;

[0012] v. CDR-L2序列,其包含序列WMSTRAS (SEQ ID NO:8);和

[0013] vi. CDR-L3序列,其包含Q-Q-F-L-E- ϕ_6 -P-F-T (SEQ ID NO:32) 的序列,其中 ϕ_6 是Y或F;

[0014] (b) 经修饰以特异性结合至转铁蛋白受体的第一Fc多肽;和

[0015] (c) 第二Fc多肽。

[0016] 在一些实施方案中,所述第一Fc多肽与所述第二Fc多肽缔合以形成Fc二聚体。

[0017] 在一些实施方案中,所述CDR-H1序列选自SEQ ID NOS:4或12。在一些实施方案中,所述CDR-H2序列选自SEQ ID NOS:5、13或25。在一些实施方案中,所述CDR-H3序列选自SEQ ID NOS:6、14或17。在一些实施方案中,所述CDR-L1序列选自SEQ ID NOS:7或23。在一些实施方案中,所述CDR-L3序列选自SEQ ID NOS:9或18。

[0018] 在一些实施方案中,所述可变区包含:

[0019] (a) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L3;或

[0020] (b) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L3;或

[0021] (c) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L3;或

[0022] (d) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L3;或

[0023] (e) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-L3;或

[0024] (f) 包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-L3;或

[0025] (g) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-L3。

[0026] 在一些实施方案中,所述可变区包含与SEQ ID NOS:2、10、15、19、21、24和26中的任一者具有至少85%序列同一性的 V_H 序列。

[0027] 在某些实施方案中,所述 V_H 序列与SEQ ID NO:15具有至少90%的序列同一性。在某些实施方案中,所述 V_H 序列与SEQ ID NO:15具有至少95%的序列同一性。在某些实施方案中,所述 V_H 序列包含SEQ ID NO:15。

[0028] 在某些实施方案中,所述 V_H 序列与SEQ ID NO:24具有至少90%的序列同一性。在某些实施方案中,所述 V_H 序列与SEQ ID NO:24具有至少95%的序列同一性。在某些实施方

案中,所述V_H序列包含SEQ ID NO:24。

[0029] 在这个方面的一些实施方案中,所述可变区包含与SEQ ID NOS:3、11、16、20、22和27中的任一者具有至少85%序列同一性的V_L序列。

[0030] 在某些实施方案中,所述V_L序列与SEQ ID NO:16具有至少90%的序列同一性。在某些实施方案中,所述V_L序列与SEQ ID NO:16具有至少95%的序列同一性。在某些实施方案中,所述V_L序列包含SEQ ID NO:16。

[0031] 在某些实施方案中,所述V_L序列与SEQ ID NO:22具有至少90%的序列同一性。在某些实施方案中,所述V_L序列与SEQ ID NO:22具有至少95%的序列同一性。在某些实施方案中,所述V_L序列包含SEQ ID NO:22。

[0032] 在某些实施方案中,所述V_L序列与SEQ ID NO:27具有至少90%的序列同一性。在某些实施方案中,所述V_L序列与SEQ ID NO:27具有至少95%的序列同一性。在某些实施方案中,所述V_L序列包含SEQ ID NO:27。

[0033] 在这个方面的一些实施方案中,所述可变区包含:

[0034] (a) 包含SEQ ID NO:15的V_H序列和包含SEQ ID NO:16的V_L序列;或

[0035] (b) 包含SEQ ID NO:19的V_H序列和包含SEQ ID NO:20的V_L序列;或

[0036] (c) 包含SEQ ID NO:21的V_H序列和包含SEQ ID NO:20的V_L序列;或

[0037] (d) 包含SEQ ID NO:19的V_H序列和包含SEQ ID NO:22的V_L序列;或

[0038] (e) 包含SEQ ID NO:21的V_H序列和包含SEQ ID NO:22的V_L序列;或

[0039] (f) 包含SEQ ID NO:24的V_H序列和包含SEQ ID NO:20的V_L序列;或

[0040] (g) 包含SEQ ID NO:26的V_H序列和包含SEQ ID NO:20的V_L序列;或

[0041] (h) 包含SEQ ID NO:24的V_H序列和包含SEQ ID NO:22的V_L序列;或

[0042] (i) 包含SEQ ID NO:26的V_H序列和包含SEQ ID NO:22的V_L序列;或

[0043] (j) 包含SEQ ID NO:2的V_H序列和包含SEQ ID NO:3的V_L序列;或

[0044] (k) 包含SEQ ID NO:10的V_H序列和包含SEQ ID NO:11的V_L序列;或

[0045] (l) 包含SEQ ID NO:24的V_H序列和包含SEQ ID NO:27的V_L序列。

[0046] 在这个方面的一些实施方案中,根据EU编号,所述第一Fc多肽包含:位置380处的Trp、Leu或Glu;位置384处的Tyr或Phe;位置386处的Thr;位置387处的Glu;位置388处的Trp;位置389处的Ser、Ala或Val;位置390处的Ser或Asn;位置413处的Thr或Ser;位置415处的Glu或Ser;位置416处的Glu;和位置421处的Phe。在一些实施方案中,所述第一Fc多肽结合至转铁蛋白受体的顶端结构域。在特定实施方案中,与具有野生型Fc二聚体的抗体相比,所述抗体具有改善的脑摄取。

[0047] 在某些实施方案中,根据EU编号,所述第一Fc多肽具有T366W取代并且所述第二Fc多肽具有T366S、L368A和Y407V取代。

[0048] 在其他实施方案中,根据EU编号,所述第一Fc多肽具有T366S、L368A和Y407V取代,并且所述第二Fc多肽具有T366W取代。

[0049] 在一些实施方案中,所述第一Fc多肽和/或所述第二Fc多肽包含降低效应功能的修饰。在某些实施方案中,根据EU编号,所述降低效应功能的修饰包含对位置234处的Ala和位置235处的Ala的取代。

[0050] 在一些实施方案中,所述第一Fc多肽和/或所述第二Fc多肽包含延长血清半衰期

的相对于天然Fc序列的氨基酸修饰。在某些实施方案中,根据EU编号,所述氨基酸修饰包含对位置428处的Leu和位置434处的Ser的取代。

[0051] 在这个方面的一些实施方案中,所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:41或SEQ ID NO:64的序列,并且所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或SEQ ID NO:63的序列。在某些实施方案中,所述抗体包含:(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:41的第一Fc多肽;(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:39的第二Fc多肽;和(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在某些实施方案中,所述抗体包含:(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的VH和包含SEQ ID NO:64的第一Fc多肽;(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的VH和包含SEQ ID NO:63的第二Fc多肽;和(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的VL。在特定实施方案中,所述抗体包含:(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列或由其组成;(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成;和(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。在某些实施方案中,所述抗体包含:(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列或由其组成;(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成;和(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0052] 在这个方面的一些实施方案中,所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:44或SEQ ID NO:66的序列,并且所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或SEQ ID NO:63的序列。在某些实施方案中,所述抗体包含:(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:44的第一Fc多肽;(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:39的第二Fc多肽;和(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在某些实施方案中,所述抗体包含:(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的VH和包含SEQ ID NO:66的第一Fc多肽;(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的VH和包含SEQ ID NO:63的第二Fc多肽;和(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的VL。在特定实施方案中,所述抗体包含:(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列或由其组成;(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成;和(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。在某些实施方案中,所述抗体包含:(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列或由其组成;(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成;和(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0053] 在这个方面的一些实施方案中,所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:47或SEQ ID NO:68的序列,并且所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或SEQ ID NO:63的序列。在某些实施方案中,所述抗体包含:(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:47的第一Fc多肽;(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:39的第二Fc多肽;和(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在某些实施方案中,所述抗体包含:(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的VH和包含SEQ ID NO:68的第一Fc多肽;(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的VH和包含SEQ ID NO:63的第二Fc多肽;和(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的VL。在特定实施方案中,所述抗体包含:(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:48所示的氨基酸序列或由其组成。

其组成；(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成；和(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。在某些实施方案中,所述抗体包含：(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列或由其组成；(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成；和(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0054] 在这个方面的一些实施方案中,所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:47或SEQ ID NO:68的序列,并且所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:61或SEQ ID NO:84的序列。在某些实施方案中,所述抗体包含：(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:47的第一Fc多肽；(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:61的第二Fc多肽；和(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在某些实施方案中,所述抗体包含：(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:68的第一Fc多肽；(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:84的第二Fc多肽；和(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在特定实施方案中,所述抗体包含：(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:48所示的氨基酸序列或由其组成；(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列或由其组成；和(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。在某些实施方案中,所述抗体包含：(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列或由其组成；(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列或由其组成；和(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0055] 在这个方面的一些实施方案中,所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:50或SEQ ID NO:70的序列,并且所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或SEQ ID NO:63的序列。在某些实施方案中,所述抗体包含：(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:50的第一Fc多肽；(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:39的第二Fc多肽；和(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在某些实施方案中,所述抗体包含：(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:70的第一Fc多肽；(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:63的第二Fc多肽；和(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在特定实施方案中,所述抗体包含：(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列或由其组成；(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成；和(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。在某些实施方案中,所述抗体包含：(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:71所示的氨基酸序列或由其组成；(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成；和(iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0056] 在另一方面,本公开提供了特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体,其中所述抗体包含：(i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:41的第一Fc多肽；(ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:39的第二Fc多肽；和(iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在一些实施方案中,所述抗体包含：(i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列或由其组成；(ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成；

和(iii)第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0057] 在另一方面,本公开提供了特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2)的分离抗体,其中所述抗体包含:(i)第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:64的第一Fc多肽;(ii)第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:63的第二Fc多肽;和(iii)两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在一些实施方案中,所述抗体包含:(i)第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列或由其组成;(ii)第二HC,其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成;和(iii)第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0058] 在另一方面,本公开提供了特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2)的分离抗体,其中所述抗体包含:(i)第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:44的第一Fc多肽;(ii)第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:39的第二Fc多肽;和(iii)两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在一些实施方案中,所述抗体包含:(i)第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列或由其组成;(ii)第二HC,其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成;和(iii)第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0059] 在另一方面,本公开提供了特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2)的分离抗体,其中所述抗体包含:(i)第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:66的第一Fc多肽;(ii)第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:63的第二Fc多肽;和(iii)两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在一些实施方案中,所述抗体包含:(i)第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列或由其组成;(ii)第二HC,其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成;和(iii)第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0060] 在另一方面,本公开提供了特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2)的分离抗体,其中所述抗体包含:(i)第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:47的第一Fc多肽;(ii)第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:39的第二Fc多肽;和(iii)两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在一些实施方案中,所述抗体包含:(i)第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:48所示的氨基酸序列或由其组成;(ii)第二HC,其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成;和(iii)第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0061] 在另一方面,本公开提供了特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2)的分离抗体,其中所述抗体包含:(i)第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:68的第一Fc多肽;(ii)第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:63的第二Fc多肽;和(iii)两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在一些实施方案中,所述抗体包含:(i)第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列或由其组成;(ii)第二HC,其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成;和(iii)第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0062] 在另一方面,本公开提供了特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体,其中所述抗体包含: (i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:47的第一Fc多肽; (ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:61的第二Fc多肽;和 (iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在一些实施方案中, (i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:48所示的氨基酸序列或由其组成; (ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列或由其组成;和 (iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0063] 在另一方面,本公开提供了特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体,其中所述抗体包含: (i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:68的第一Fc多肽; (ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:61的第二Fc多肽;和 (iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在一些实施方案中,所述抗体包含: (i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列或由其组成; (ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列或由其组成;和 (iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0064] 在另一方面,本公开提供了特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体,其中所述抗体包含: (i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:50的第一Fc多肽; (ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:39的第二Fc多肽;和 (iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在一些实施方案中,所述抗体包含: (i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列或由其组成; (ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或由其组成;和 (iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0065] 在另一方面,本公开提供了特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的分离抗体,其中所述抗体包含: (i) 第一重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:70的第一Fc多肽; (ii) 第二重链(HC),其包含有包含SEQ ID NO:24的V_H和包含SEQ ID NO:63的第二Fc多肽;和 (iii) 两条轻链,其各自包含有包含SEQ ID NO:22的V_L。在一些实施方案中,所述抗体包含: (i) 第一重链(HC),其包含以SEQ ID NO:71所示的氨基酸序列或由其组成; (ii) 第二HC,其包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列或由其组成;和 (iii) 第一和第二轻链(LC),其各自包含以SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列或由其组成。

[0066] 在本文所阐述的任何方面的一些实施方案中,所述抗体降低可溶性TREM2蛋白(sTREM2)的水平。在一些实施方案中,所述抗体增强TREM2活性。在一些实施方案中,所述抗体增强吞噬作用或增强骨髓细胞、小胶质细胞或巨噬细胞的迁移、分化、功能或存活。在一些实施方案中,所述抗体增强小胶质细胞功能而不增加神经炎症。在一些实施方案中,所述抗体增强Syk磷酸化。在一些实施方案中,所述抗体在TREM2配体存在下增强Syk磷酸化。在一些实施方案中,所述抗体表现出与食蟹猴TREM2蛋白的交叉反应性。

[0067] 在另一方面,本公开提供了一种药物组合物,其包含本文所阐述的分离抗体和药学上可接受的载剂。

[0068] 在另一方面,本公开提供了一种药盒,其包含:本文所阐述的分离抗体或本文所阐

述的药物组合物;和其使用说明书。

[0069] 在另一方面,本公开提供了一种治疗受试者的神经退行性疾病的方法,其包括向所述受试者施用本文所阐述的分离抗体或本文所阐述的药物组合物。在一些实施方案中,所述神经退行性疾病选自以下组成的组:阿尔茨海默病、原发性年龄相关性tau蛋白病变、进行性核上性麻痹(PSP)、额颞叶痴呆、额颞叶痴呆伴与17号染色体相关的帕金森症、嗜银颗粒性痴呆、肌萎缩性侧索硬化、关岛型肌萎缩性侧索硬化/帕金森症-痴呆复合征(amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex of Guam, ALS-PDC)、皮质基底节变性、慢性创伤性脑病、克雅氏病(Creutzfeldt-Jakob disease)、拳击手型痴呆、弥漫性神经原纤维缠结伴钙化、唐氏综合征(Down's syndrome)、家族性英国型痴呆(familial British dementia)、家族性丹麦型痴呆(familial Danish dementia)、杰茨曼-斯脱司勒-史茵克病(Gerstmann-Straussler-Scheinker disease)、球状胶质tau蛋白病变、瓜德罗普帕金森症伴痴呆(Guadeloupean parkinsonism with dementia)、瓜德罗普PSP、哈勒沃登-施帕茨病(Hallewörden-Spatz disease)、遗传性弥漫性脑白质病变合并轴索球样变(HDLS)、亨廷顿病(Huntington's disease)、包涵体肌炎、多系统萎缩、强直性肌营养不良、Nasu-Hakola病、神经原纤维缠结优势型痴呆、C型尼曼-匹克病(Niemann-Pick disease type C)、苍白球-脑桥-黑质变性、帕金森病、匹克病(Pick's disease)、脑炎后帕金森症、朊病毒蛋白脑淀粉样血管病(prion protein cerebral amyloid angiopathy)、进行性皮质下神经胶质增生、亚急性硬化性全脑炎和仅缠结型痴呆。

[0070] 在另一方面,本公开提供了一种降低患有神经退行性疾病的受试者中的sTREM2水平的方法,其包括向所述受试者施用本文所阐述的分离抗体或本文所阐述的药物组合物。

[0071] 在另一方面,本公开提供了一种增强患有神经退行性疾病的受试者中的TREM2活性的方法,其包括向所述受试者施用本文所阐述的分离抗体或本文所阐述的药物组合物。

[0072] 在另一方面,本公开提供了一种分离的多核苷酸,其包含编码本文所阐述抗体的核苷酸序列。

[0073] 在另一方面,本公开提供了一种分离的多核苷酸,其包含编码SEQ ID NO:42、45、48、51、53、54和61中的任一者的核苷酸序列。

[0074] 在另一方面,本公开提供了一种分离的多核苷酸,其包含编码SEQ ID NO:42、53和54的核苷酸序列。

[0075] 在另一方面,本公开提供了一种分离的多核苷酸,其包含编码SEQ ID NO:45、53和54的核苷酸序列。

[0076] 在另一方面,本公开提供了一种分离的多核苷酸,其包含编码SEQ ID NO:48、53和54的核苷酸序列。

[0077] 在另一方面,本公开提供了一种分离的多核苷酸,其包含编码SEQ ID NO:48、52和54的核苷酸序列。

[0078] 在另一方面,本公开提供了一种分离的多核苷酸,其包含编码SEQ ID NO:51、53和54的核苷酸序列。

[0079] 在另一方面,本公开提供了一种载体,其包含本文所阐述的多核苷酸。

[0080] 在另一方面,本公开提供了一种宿主细胞,其包含本文所阐述的多核苷酸或本文所阐述的载体。

[0081] 在另一方面,本公开提供了一种表达特异性结合至骨髓细胞上表达的人类触发受体2 (TREM2) 的抗体的方法,其包括:在适于表达所述抗体的条件下培养本文所阐述的宿主细胞。

附图说明

[0082] 图1A至图1H包括代表性抗TREM2抗体 (CL0020188) 的人源化且序列优化的变体在过表达人类TREM2-Dap12的HEK细胞中的剂量滴定细胞结合曲线。

[0083] 图2包括代表性ATV:TREM2和具有非转铁蛋白结合Fc的相应抗TREM2抗体 (“抗TREM2”) 与HEK 293细胞中的人类TREM2的剂量-反应结合曲线。

[0084] 图3包括代表性ATV:TREM2和相应抗TREM2抗体 (TREM2 IgG) 在表达TREM2的HEK 293细胞中的pSyk信号激活的剂量-反应曲线。

[0085] 图4A和图4B包括iPSC小胶质细胞响应于代表性ATV:TREM2处理的脂质清除的剂量-反应曲线。

[0086] 图5A和图5B显示在油酸攻击后用ATV:TREM2处理的iPSC源性小胶质细胞中脂质累积的代表性图像 (图5A) 和对所处理细胞中的脂质累积的量化 (图5B)。

[0087] 图5C是热图,其图解说明在髓鞘质攻击后用ATV:TREM2处理的iPSC源性小胶质细胞中的甘油三酯、酰基肉碱和TCA循环中间体物质的水平调节。

[0088] 图5D至图5F包括条形图,其图解说明在髓鞘质攻击后用ATV:TREM2处理的iPSC源性小胶质细胞中的代表性甘油三酯、酰基肉碱和TCA循环中间体物质水平的水平变化。

[0089] 图6A至6C包括条形图,其图解说明在髓鞘质攻击后用ATV:TREM2处理的iPSC源性小胶质细胞中的特定甘油三酯、神经酰胺和酰基肉碱物质的水平变化。

[0090] 图7A包括来自经用ATV:TREM2处理的iPSC源性小胶质细胞中的mTOR信号通路靶标的蛋白质印迹 (Western blot) 的代表性图像。

[0091] 图7B至图7E包括图解说明用ATV:TREM2处理的iPSC源性小胶质细胞中的mTOR信号通路靶标的水平变化的图。

[0092] 图8是图解说明用ATV:TREM2处理的iPSC源性小胶质细胞中的颗粒蛋白前体 (PGRN) 的水平变化的条形图。

[0093] 图9是图解说明用ATV:TREM2处理的iPSC源性小胶质细胞中的代表性双 (单酰基甘油) 磷酸酯 (BMP) 物质的水平变化的条形图。

[0094] 图10A是用ATV:TREM2处理的iPSC源性小胶质细胞中的氧消耗的代表性动力学图。

[0095] 图10B是图解说明在存在和不存在CPT1抑制剂的情形下用ATV:TREM2处理的iPSC源性小胶质细胞的最大呼吸容量的条形图。

[0096] 图11A是用抗TREM2抗体处理的人类巨噬细胞的细胞活力的剂量-反应曲线。

[0097] 图11B和图11C包括图解说明图11A中的剂量-反应曲线的EC₅₀和E_{max}的条形图。

[0098] 图12是用抗TREM2抗体处理的人类巨噬细胞中的相对细胞因子释放的热图。

[0099] 图13A至图13C包括图解说明用抗TREM2抗体处理的iPSC源性小胶质细胞中的甘油三酯物质的相对变化的火山图。

[0100] 图13D和图13E包括显示用抗TREM2抗体处理的iPSC源性小胶质细胞中的代表性甘油三酯物质的水平变化的条形图。

[0101] 图14A是TREM2水平随用抗TREM2抗体处理的iPSC源性小胶质细胞的细胞溶解物中的抗体浓度变化的图。

[0102] 图14B是TREM2水平随用抗TREM2抗体处理的iPSC源性小胶质细胞的细胞培养基中的抗体浓度变化的图。

[0103] 图15是图解说明在食蟹猴中给药的抗TREM2抗体的药物动力学概况的图。

[0104] 图16A和图16B是显示用ATV:TREM2或ATV:RSV治疗的TB36/hTfR KI小鼠脑中EdU⁺Iba⁺细胞/mm²(图16A)和相对Iba⁺面积(图16B)的图。

[0105] 图17A和图17B是显示用ATV:TREM2、相应TREM2抗体、参考抗体#2或ATV:RSV治疗的TB36/hTfR KI小鼠脑中EdU⁺Iba⁺细胞/mm²(图17A)和相对Iba⁺面积(图17B)的图。图表显示平均值±SEM和p值:利用Tukey多重比较检验的单因素方差分析(one-way ANOVA);*p≤0.05,**p≤0.01,***p≤0.001,****p≤0.0001。

[0106] 图18A和图18B是显示用ATV:TREM2、相应TREM2抗体、参考抗体#2或ATV:RSV治疗的TB36/hTfR KI小鼠脑中的细胞因子IP-10(图18A)和MCP-5(图18B)水平的图。图表显示跨越实验重复的平均值±SEM。图表显示平均值±SEM和p值:利用Tukey多重比较检验的单因素方差分析;**p≤0.01,***p≤0.001,****p≤0.0001。

[0107] 图19是显示用ATV:TREM2、相应TREM2抗体、参考抗体#2或ATV:RSV治疗的TB36/hTfR KI小鼠脑中的神经胶质标志物CSF1R水平的图。图表显示平均值±SEM和p值:利用Tukey多重比较检验的单因素方差分析;*p≤0.05,**p≤0.01,***p≤0.001,****p≤0.0001。

[0108] 图20是显示ATV:TREM2、相应TREM2抗体、参考抗体#2或ATV:RSV在TB36/hTfR KI小鼠中的血浆PK概况的图。

[0109] 图21是显示ATV:TREM2、相应TREM2抗体、参考抗体#2或ATV:RSV在TB36/hTfR KI小鼠中的脑PK概况的图。

具体实施方式

[0110] I. 引言

[0111] TREM2是在小胶质细胞、树突细胞、巨噬细胞和破骨细胞的细胞表面上表达的跨膜受体。不受特定理论束缚,据认为,在配体结合时,TREM2与跨膜衔接蛋白DNAX活化蛋白12(DAP12)形成信号传导复合物,所述复合物进而由蛋白激酶SRC酪氨酸磷酸化。据认为,经活化的TREM2/DAP12信号传导复合物通过募集例如Syk激酶的激酶并使其磷酸化而介导细胞内信号传导。TREM2/DAP12信号传导调节例如吞噬作用、细胞生长和存活的活性、促炎性细胞因子分泌和例如小胶质细胞和巨噬细胞的细胞的迁移。TREM2经历受调控的膜内蛋白分解,其中膜相关全长TREM2由金属蛋白酶ADAM10切割成从细胞脱落的sTREM2部分和进一步由γ-分泌酶降解的膜保留C末端片段。已报道,在患有阿尔茨海默病或额颞叶痴呆并具有TREM2突变的患者中sTREM2的水平发生改变。另外,TREM2中的突变与例如吞噬作用受损和小胶质细胞功能降低的功能改变相关。

[0112] 如下文实施例部分中所详述,已产生特异性结合至人类TREM2并且调节TREM2/DAP12信号传导复合物的一种或多种下游功能的抗体。在某些实施方案中,所述抗体还包含含有允许Fc多肽结合至转铁蛋白受体(来自例如人类的TfR)的突变的Fc多肽。在一些方面,

本文所公开的抗体能够经由修饰的Fc多肽结合至转铁蛋白受体蛋白质(例如,在脑内皮细胞(BEC)表面上表达),并且由此可比缺乏TfR结合Fc突变的抗体更有效地穿过血脑屏障(BBB)。在某些实施方案中,本文所公开的抗体包含Fc多肽中降低或消除效应功能的突变以及例如通过增加抗体Fc与Fc新生受体(FcRn)的结合而延长体内半衰期的突变。

[0113] 在一些实施方案中,所述抗TREM2抗体增强TREM2活性,例如增强吞噬作用或增强骨髓细胞、小胶质细胞或巨噬细胞的分化、功能、迁移或存活。因此,在另一方面,提供了增强例如患有神经退行性疾病的受试者中的TREM2活性的方法。

[0114] 在一些实施方案中,所述抗TREM2抗体降低sTREM2的脱落。因此,在另一方面,提供了降低例如患有神经退行性疾病的受试者中的sTREM2水平的方法。

[0115] II. 定义

[0116] 除非内容另外明确指示,否则如本文所用,单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数个指示物。因此,例如,对“抗体”的提及任选地包括两种或更多种此类分子的组合等。

[0117] 如本文所用,术语“约”和“大约”在用于修饰以数值或范围指定的量时,指示所述数值以及本领域技术人员已知合理的与所述值的偏差(例如 $\pm 20\%$ 、 $\pm 10\%$ 或 $\pm 5\%$)是在所列举值的预期含义内。

[0118] 如本文所用,术语“TREM2蛋白”是指由基因TREM2编码的在骨髓细胞上表达的触发受体2蛋白质。如本文所用,“TREM2蛋白”是指任何脊椎动物的天然(即野生型)TREM2蛋白,例如(但不限于)人类、非人类灵长类动物(例如食蟹猴)、啮齿类动物(例如小鼠、大鼠)和其他哺乳动物。在一些实施方案中,TREM2蛋白是具有UniprotKB登录号Q9NZC2(SEQ ID NO:1)中鉴定的序列的人类TREM2蛋白。

[0119] 如本文所用,术语“抗TREM2抗体”是指特异性结合至TREM2蛋白(例如人类TREM2)的抗体。

[0120] 如本文所用,术语“抗体”是指经由其可变区特异性结合至抗原的具有免疫球蛋白折叠的蛋白质。所述术语涵盖完整多克隆抗体、完整单克隆抗体、单链抗体、多特异性抗体如双特异性抗体、单特异性抗体、单价抗体、嵌合抗体、人源化抗体和人类抗体。如本文所用,术语“抗体”还包括经由其可变区保留结合特异性的抗体片段,包括(但不限于)Fab、F(ab')₂、Fv、scFv和二价scFv。抗体可含有分类为 κ 或 λ 的轻链。抗体可含有分类为 γ 、 μ 、 α 、 δ 或 ϵ 的重链,其依次分别定义免疫球蛋白类别IgG、IgM、IgA、IgD和IgE。

[0121] 如本文所用,术语“抗TREM2抗原结合部分”是指特异性结合至TREM2蛋白(例如人类TREM2)的抗原结合区段或实体。术语“抗原结合部分”和“抗原结合片段”在本文中可互换使用,并且是指抗体的一个或多个片段,所述片段保留经由抗体可变区特异性结合至抗原(例如TREM2蛋白)的能力。抗原结合片段的实例包括(但不限于)Fab片段(由V_L、V_H、CL和CH1结构域组成的单价片段)、F(ab')₂片段(包含两个在铰链区由二硫桥连接的Fab片段的二价片段)、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv(dsFv)、互补决定区(CDR)、V_L(轻链可变区)和V_H(重链可变区)。

[0122] 术语“可变区”或“可变结构域”是指抗体重链或轻链中源自种系可变(V)基因、多样性(D)基因或连接(J)基因(而不源自恒定(C μ 和C δ)基因区段)并且赋予抗体对结合至抗原的特异性的结构域。通常,抗体可变区包含四个保守“框架”区,其与三个高变“互补决定区”间杂排列。

[0123] 术语“互补决定区”或“CDR”是指每条链中的三个高变区,其中断由轻链和重链可变区确立的四个框架区。CDR主要负责抗体与抗原的表位的结合。每条链的CDR通常称为CDR1、CDR2和CDR3,其从N末端开始依序编号,并且通常还由特定CDR所处的链鉴定。因此, V_H CDR3或CDR-H3位于发现其的抗体重链的可变区中,而 V_L CDR1或CDR-L1是来自发现其的抗体轻链可变区的CDR1。

[0124] 不同轻链或重链的“框架区”或“FR”在一种物种内是相对保守的。抗体的框架区(即组成型轻链和重链的组合框架区)用于定位并对齐三维空间中的CDR。框架序列可从包括种系抗体基因序列的公共DNA数据库或已发表的参考文献中获得。例如,人类重链和轻链可变区基因的种系DNA序列可在人类和小鼠序列的“VBASE2”种系可变基因序列数据库中发现。

[0125] 可使用本领域中的各种众所周知的定义来确定CDR和框架区的氨基酸序列,例如Kabat、Chothia、国际ImMunoGeneTics数据库(IMGt)、AbM和所观察到的抗原触点(“接触”)。在一些实施方案中,CDR是根据接触定义来确定。参见MacCallum等人,J.Mol.Biol.,262:732-745(1996)。在一些实施方案中,CDR是通过Kabat、Chothia和/或接触CDR定义的组合来确定。

[0126] 术语“表位”是指抗原中由抗体CDR特异性结合的区域或区,并且可包括几个氨基酸或几个氨基酸的部分,例如5或6个或更多个(例如20或更多个)氨基酸或那些氨基酸的部分。例如,如果靶标是蛋白质,则表位可包含连续氨基酸(例如线性表位),或来自蛋白质的不同部分并且通过蛋白质折叠而靠近的氨基酸(例如不连续或构象表位)。在一些实施方案中,表位在一个氨基酸处(例如在丝氨酸或苏氨酸残基处)被磷酸化。

[0127] 如本文所用,关于抗TREM2抗体所用的短语“识别表位”意指所述抗体的CDR在所述表位处或抗原中含有所述表位的一部分处与抗原(即TREM2蛋白)相互作用或与其特异性结合。

[0128] “单克隆抗体”是指由单一细胞克隆或单一细胞系产生并且由一级氨基酸序列同一的抗体分子组成或基本上由其组成的抗体。

[0129] “多克隆抗体”是指从异质抗体群体获得的抗体,其中所述群体中的不同抗体结合至抗原的不同表位。

[0130] “嵌合抗体”是指如下抗体分子:其中恒定区或其一部分发生改变、替代或交换,使得抗原结合位点(即可变区、CDR或其一部分)连接至不同或改变的类别、效应功能和/或物种的恒定区,或者其中可变区或其一部分被具有不同或改变的抗原特异性的可变区(例如来自不同物种的CDR和框架区)改变、替代或交换。在一些实施方案中,嵌合抗体是单克隆抗体,其包含来自一种来源或物种(例如小鼠)的可变区和源自第二来源或物种(例如人类)的恒定区。本领域中阐述了产生嵌合抗体的方法。

[0131] “人源化抗体”是源自非人类来源(例如鼠类)的嵌合免疫球蛋白,其在CDR外含有最少量的源自非人类免疫球蛋白的序列。一般而言,人源化抗体将包含至少一个(例如两个)抗原结合可变结构域,其中CDR区基本上对应于非人类免疫球蛋白的那些CDR区并且框架区基本上对应于人类免疫球蛋白序列的那些框架区。人源化抗体还可包含免疫球蛋白恒定区(Fc)(通常为人类免疫球蛋白序列)的至少一部分。抗体人源化的方法是本领域中已知的。

[0132] “人类抗体”或“全人类抗体”是具有通常源自人类种系基因的人类重链和轻链序列的抗体。在一些实施方案中,所述抗体是由人类细胞、由利用人类抗体库的非人类动物(例如经遗传工程化以表达人类抗体序列的转基因小鼠)或由噬菌体展示平台产生。

[0133] 术语“特异性结合”是指结合至表位或靶标的分子(例如抗体或其抗原结合部分)以相较于其与另一表位或非靶标化合物(例如在结构上不同的抗原)的结合更大的亲和力、更大的亲合力和/或更长的持续时间结合至样品中的所述表位或靶标。在一些实施方案中,特异性结合至表位或靶标的抗体(或其抗原结合部分)是与所述表位或靶标的结合亲和力为与其他表位或非靶标化合物的亲和力的至少5倍(例如至少5倍、10倍、100倍、1,000倍、10,000倍或更大)的抗体(或其抗原结合部分)。如本文所用,术语“特异性结合特定表位或靶标”、“特异性结合至特定表位或靶标”或“对特定表位或靶标具有特异性”可例如通过分子对其所结合表位或靶标的平衡解离常数 K_D 为例如 10^{-4} M或更小(例如 10^{-5} M、 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M或 10^{-12} M)来展现。本领域技术人员将认识到,特异性结合至来自一种物种的靶标(例如TREM2蛋白)的抗体还可特异性结合至所述靶标(例如TREM2蛋白)的直系同源物。

[0134] 术语“结合亲和力”在本文中用于指两种分子之间(例如抗体(或其抗原结合部分)与抗原之间)的非共价相互作用的强度。因此,例如,除非另有指示或从上下文明显可见,否则所述术语可指抗体(或其抗原结合部分)与抗原之间的1:1相互作用。结合亲和力可通过测量平衡解离常数(K_D)来量化,所述常数是指解离速率常数(k_d ,时间 $^{-1}$)除以缔合速率常数(k_a ,时间 $^{-1}$ M $^{-1}$)。 K_D 可通过测量复合物形成和解离的动力学来测定,例如使用表面等离子体共振(SPR)方法,例如BiacoreTM系统;动力学排斥测定如KinExA[®];和生物层干涉(例如使用ForteBio[®] Octet平台)。如本文所用,“结合亲和力”不仅包括正式的结合亲和力,例如反映抗体(或其抗原结合部分)与抗原之间的1:1相互作用的那些亲和力,并且还包括 K_D 值经计算可反映亲合结合的表观亲和力。

[0135] 如本文所用,术语“交叉反应”是指抗体结合至除针对所述抗体的抗原以外的抗原的能力。在一些实施方案中,交叉反应性是指抗体结合至来自不同于针对所述抗体的抗原的另一物种的抗原的能力。作为一个非限制性实例,如本文所阐述的针对人类TREM2肽的抗TREM2抗体可表现出与来自不同物种(例如猴或小鼠)的TREM2肽或蛋白质的交叉反应性。

[0136] 如本文所用的“转铁蛋白受体”或“TfR”是指转铁蛋白受体蛋白1。人类转铁蛋白受体1多肽序列以SEQ ID NO:62示出。还已知来自其他物种的转铁蛋白受体蛋白1序列(例如黑猩猩,登录号XP_003310238.1;恒河猴,NP_001244232.1;狗,NP_001003111.1;牛,NP_001193506.1;小鼠,NP_035768.1;大鼠,NP_073203.1;和鸡,NP_990587.1)。术语“转铁蛋白受体”还涵盖示例性参考序列(例如人类序列)的等位基因变体,其是由转铁蛋白受体蛋白1染色体基因座处的基因编码。全长转铁蛋白受体蛋白质包括短的N末端细胞内区、跨膜区和大的细胞外结构域。细胞外结构域的特征在于三个结构域:蛋白酶样结构域、螺旋结构域和顶端结构域。人类转铁蛋白受体1的顶端结构域序列以SEQ ID NO:55示出。

[0137] 如本文所用的术语“CH3结构域”和“CH2结构域”是指免疫球蛋白恒定区结构域多肽。在IgG抗体的情况下,CH3结构域多肽是指如根据EU编号方案所编号从约位置341至约位置447的氨基酸区段,并且CH2结构域多肽是指如根据EU编号方案所编号从约位置231至约位置340的氨基酸区段。CH2和CH3结构域多肽还可通过IMGT(ImMunoGeneTics)编号方案来

编号,其中根据IMGT Scientific图表编号(IMGT网站),CH2结构域编号是1-110并且CH3结构域编号是1-107。CH2和CH3结构域是免疫球蛋白Fc区的一部分。在IgG抗体的情况下,Fc区是指如根据EU编号方案所编号从约位置231至约位置447的氨基酸区段。如本文所用,术语“Fc区”还可包括抗体铰链区的至少一部分。示例性部分铰链区序列以SEQ ID NO:57示出。

[0138] 当在多肽序列中鉴定给定氨基酸残基的情况下使用时,术语“对应于”、“参考……确定”或“参考……编号”是指当给定氨基酸序列与参考序列进行最大对齐和比较时,指定参考序列的所述残基的位置。因此,例如,在与SEQ ID NO:38进行最佳对齐时,当多肽中的氨基酸残基与SEQ ID NO:38中从氨基酸111至217的区中的氨基酸对齐时,所述残基“对应于”SEQ ID NO:38中的所述氨基酸。与参考序列比对的多肽不需要与参考序列的长度相同。

[0139] 如本文所用,术语“Fc多肽”是指天然存在的免疫球蛋白重链多肽的C末端区,其特征在于Ig折叠作为结构域。Fc多肽含有至少包括CH2结构域和/或CH3结构域的恒定区序列,并且可含有铰链区的至少一部分,但不含可变区。

[0140] “经修饰的Fc多肽”是指与野生型免疫球蛋白重链Fc多肽序列相比具有至少一个突变(例如取代、缺失或插入),但保留天然Fc多肽的总体Ig折叠或结构的Fc多肽。

[0141] 关于核酸或蛋白质(例如抗体)所用的术语“经分离”表示所述核酸或蛋白质基本上不含在天然状态下与其缔合的其他细胞组分。通常使用例如电泳(例如聚丙烯酰胺凝胶电泳)或色谱法(例如高效液相色谱法)的分析化学技术来测定纯度和均质性。在一些实施方案中,经分离的核酸或蛋白质(例如抗体)为至少85%纯、至少90%纯、至少95%纯或至少99%纯。

[0142] 术语“氨基酸”是指天然存在的和合成的氨基酸,以及作用方式与天然存在的氨基酸类似的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的那些氨基酸,以及后来被修饰的那些氨基酸,例如羟脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。天然存在的 α -氨基酸包括(但不限于)丙氨酸(Ala)、半胱氨酸(Cys)、天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、精氨酸(Arg)、赖氨酸(Lys)、亮氨酸(Leu)、甲硫氨酸(Met)、天冬酰胺(Asn)、脯氨酸(Pro)、谷氨酰胺(Gln)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)和其组合。天然存在的 α -氨基酸的立体异构体包括(但不限于)D-丙氨酸(D-Ala)、D-半胱氨酸(D-Cys)、D-天冬氨酸(D-Asp)、D-谷氨酸(D-Glu)、D-苯丙氨酸(D-Phe)、D-组氨酸(D-His)、D-异亮氨酸(D-Ile)、D-精氨酸(D-Arg)、D-赖氨酸(D-Lys)、D-亮氨酸(D-Leu)、D-甲硫氨酸(D-Met)、D-天冬酰胺(D-Asn)、D-脯氨酸(D-Pro)、D-谷氨酰胺(D-Gln)、D-丝氨酸(D-Ser)、D-苏氨酸(D-Thr)、D-缬氨酸(D-Val)、D-色氨酸(D-Trp)、D-酪氨酸(D-Tyr)和其组合。“氨基酸类似物”是指与天然存在的氨基酸具有相同基础化学结构(即, α 碳结合至氢、羧基、氨基和R基团)的化合物,例如高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基砷。此类类似物具有经修饰的R基团(例如,正亮氨酸)或经修饰的肽主链,但保留与天然存在的氨基酸相同的基础化学结构。“氨基酸模拟物”是指结构与氨基酸的一般化学结构不同,但作用方式与天然存在的氨基酸类似的化合物。氨基酸在本文中可由其通常已知的三字母符号或由IUPAC-IUB生物化学命名委员会(Biochemical Nomenclature Commission)推荐的单字母符号来提及。

[0143] 术语“多肽”和“肽”在本文中可互换使用以指呈单链的氨基酸残基聚合物。所述术

语适用于其中一个或多个氨基酸残基是相应天然存在的氨基酸的人工化学模拟物的氨基酸聚合物,以及天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。氨基酸聚合物可包含完全L-氨基酸、完全D-氨基酸或L和D氨基酸的混合物。

[0144] 如本文所用的术语“蛋白质”是指多肽或单链多肽的二聚体(即两种)或多聚体(即三种或更多种)。蛋白质的单链多肽可由共价键(例如二硫键)或非共价相互作用连接。

[0145] 术语“多核苷酸”和“核酸”可互换地指任何长度的核苷酸链,并且包括DNA和RNA。核苷酸可为脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、经修饰的核苷酸或碱基和/或其类似物或任何可通过DNA或RNA聚合酶并入至链中的底物。多核苷酸可包含经修饰的核苷酸,例如甲基化核苷酸和其类似物。本文考虑的多核苷酸的实例包括单链和双链DNA、单链和双链RNA以及具有单链和双链DNA和RNA混合物的杂合分子。

[0146] 术语“保守取代”和“保守突变”是指使得氨基酸被可分类为具有类似特征的另一氨基酸取代的改变。以这种方式定义的保守氨基酸群组类别的实例可包括:“带电/极性群组”,包括Glu(谷氨酸或E)、Asp(天冬氨酸或D)、Asn(天冬酰胺或N)、Gln(谷氨酰胺或Q)、Lys(赖氨酸或K)、Arg(精氨酸或R)和His(组氨酸或H);“芳香族群组”,包括Phe(苯丙氨酸或F)、Tyr(酪氨酸或Y)、Trp(色氨酸或W)和(组氨酸或H);和“脂肪族群组”,包括Gly(甘氨酸或G)、Ala(丙氨酸或A)、Val(缬氨酸或V)、Leu(亮氨酸或L)、Ile(异亮氨酸或I)、Met(甲硫氨酸或M)、Ser(丝氨酸或S)、Thr(苏氨酸或T)和Cys(半胱氨酸或C)。在每个群组内,还可鉴定出亚组。例如,可将带电或极性氨基酸群组细分成包括以下的亚组:“带正电亚组”,其包含Lys、Arg和His;“带负电亚组”,其包含Glu和Asp;和“极性亚组”,其包含Asn和Gln。在另一个实例中,可将芳香族或环状群组细分成包括以下的亚组:“氮环亚组”,其包含Pro、His和Trp;和“苯基亚组”,其包含Phe和Tyr。在另一个其他实例中,可将脂肪族群组细分成亚组,例如“脂肪族非极性亚组”,其包含Val、Leu、Gly和Ala;和“脂肪族略微极性亚组”,其包含Met、Ser、Thr和Cys。保守突变类别的实例包括上述亚组内氨基酸的氨基酸取代,例如(但不限于):Lys取代Arg或反之亦然,使得可维持正电荷;Glu取代Asp或反之亦然,使得可维持负电荷;Ser取代Thr或反之亦然,使得可维持游离-OH;和Gln取代Asn或反之亦然,使得可维持游离-NH₂。在一些实施方案中,疏水性氨基酸取代天然存在的疏水性氨基酸(例如在活性部位中)以保持疏水性。

[0147] 在两个或更多个多肽序列的情况下,术语“同一”或“同一性”百分比是指,当在比较窗口或指定区域内进行比较和对齐以获得最大对应时,如使用序列比较算法或通过人工对齐和目视检查所测量,两个或更多个序列或子序列相同或在指定区域内具有指定百分比(例如至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%或更大)的同一氨基酸残基。

[0148] 对于多肽的序列比较,通常一个氨基酸序列用作参考序列,候选序列与其进行比较。可使用本领域技术人员可获得的各种方法来实施对齐,例如目视对齐或使用已知算法使用可公开获得的软件以达到最大对齐。此类程序包括BLAST程序、ALIGN、ALIGN-2(Genentech, South San Francisco, Calif.)或Megalign(DNASTAR)。本领域技术人员可确定用于达到最大对齐的对齐参数。出于本申请的目的,对于多肽序列的序列比较,使用BLASTP算法,其为利用默认参数用于对齐两个蛋白质序列的标准蛋白质BLAST。

[0149] 如在本文中可互换使用的术语“受试者”、“个体”和“患者”是指哺乳动物,包括(但

不限于) 人类、非人类灵长类动物、啮齿类动物(例如大鼠、小鼠和天竺鼠)、兔、牛、猪、马和其他哺乳动物物种。在一个实施方案中,受试者、个体或患者是人类。

[0150] 术语“治疗(treating/treatment)”等在本文中通常用于指获得期望的药理学和/或生理学效应。“治疗(Treating或treatment)”可指在治疗或改善神经退行性疾病(例如阿尔茨海默病或本文所阐述的另一神经退行性疾病)方面获得成功的任何指标,包括任何客观或主观参数,例如减轻、缓解、患者存活改进、存活时间或存活率增加、症状减少或使患者更能耐受所述疾病、退化或衰退的速率减缓或者患者的身体或精神健康状况改进。症状的治疗或改善可基于客观或主观参数。治疗的效应可与不接受所述治疗的个体或个体群进行比较,或与在治疗之前或在治疗期间不同时间的同一患者进行比较。

[0151] 术语“药学上可接受的赋形剂”是指在生物学上或药理学上适用于人类或动物中的非活性药物成分,例如(但不限于)缓冲剂、载剂或防腐剂。

[0152] 如本文所用,剂(例如,如本文所阐述的抗体)的“治疗量”或“治疗有效量”是所述剂治疗、缓和、减轻或降低受试者疾病症状的严重程度的量。“治疗量”的剂(例如,如本文所阐述的抗体)可改善患者存活、增加存活时间或存活率、减少症状、使损伤、疾病或疾患(例如神经退行性疾病)更耐受、减缓退化或衰退的速率或改善患者的身体或精神健康状况。

[0153] 术语“施用”是指将剂、化合物或组合物递送至生物作用的期望部位的方法。这些方法包括(但不限于)局部递送、肠胃外递送、静脉内递送、真皮内递送、肌肉内递送、鞘内递送、结肠递送、直肠递送或腹膜内递送。在一个实施方案中,如本文所述的抗体经静脉内施用。

[0154] 术语“对照”或“对照值”是指参考值或基线值。本领域技术人员可确定适当对照。在一些情况中,可相对于同一受试者或实验内的基线确定对照值,例如,在用抗TREM2抗体治疗前所获得的sTREM2测量值可为同一受试者中治疗后的sTREM2水平测量值的对照值。在其他情况中,可相对于对照受试者(例如健康对照或疾病对照)或对照受试者群体中的平均值(例如健康对照或疾病对照,例如10、20、50、100、200、500、1000名或更多名对照受试者的群体)确定对照值,例如,可将受试者在基线或治疗后的sTREM2水平测量值与健康对照值进行比较。

[0155] III. 抗TREM2抗体

[0156] 在一个方面,提供了特异性结合至TREM2蛋白的抗体。在一些实施方案中,所述抗体特异性结合至人类TREM2蛋白。在一些实施方案中,抗TREM2抗体对TREM2的选择性优于其他TREM样受体(例如TREM1)。

[0157] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体是包含如本文所公开的一个或多个互补决定区(CDR)、重链可变区和/或轻链可变区序列的抗体。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含如本文所公开的一个或多个CDR、重链可变区和/或轻链可变区序列,并且还包含一种或多种如本文所公开的功能特性,例如增强TREM2活性(例如增强吞噬作用或增强例如骨髓细胞、小胶质细胞或巨噬细胞的细胞的迁移、分化、功能或存活)的抗体或降低sTREM2水平的抗体。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含Fc多肽,所述Fc多肽包含一种或多种如本文所阐述的修饰。

[0158] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体是嵌合抗体。在一些实施方案中,抗TREM2抗体是人源化和/或亲和力成熟的抗体。

[0159] 抗TREM2序列

[0160] 在一些实施方案中,重链序列或其一部分和/或轻链序列或其一部分是源自本文所阐述的抗TREM2抗体(例如,克隆CL0020306、克隆CL0020188或克隆CL0020307)。这些克隆的CDR、重链可变区和轻链可变区氨基酸序列在表8中列出。

[0161] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含一个或多个选自由以下组成的组的CDR:

[0162] (a) 与SEQ ID NOS:4和12中的任一者的氨基酸序列具有至少90%序列同一性或相对于SEQ ID NOS:4和12中的任一者的氨基酸序列具有至多两个氨基酸取代的重链CDR1 (CDR-H1) 序列;

[0163] (b) 与SEQ ID NOS:5、13和25中的任一者的氨基酸序列具有至少90%序列同一性或相对于SEQ ID NOS:5、13和25中的任一者的氨基酸序列具有至多两个氨基酸取代的重链CDR2 (CDR-H2) 序列;

[0164] (c) 与SEQ ID NOS:6、14和17中的任一者的氨基酸序列具有至少90%序列同一性或相对于SEQ ID NOS:6、14和17中的任一者的氨基酸序列具有至多两个氨基酸取代的重链CDR3 (CDR-H3) 序列;

[0165] (d) 与SEQ ID NOS:7和23中的任一者的氨基酸序列具有至少90%序列同一性或相对于SEQ ID NOS:7和23中的任一者的氨基酸序列具有至多两个氨基酸取代的轻链CDR1 (CDR-L1) 序列;

[0166] (e) 与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少90%序列同一性或相对于SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至多两个氨基酸取代的轻链CDR2 (CDR-L2) 序列;和

[0167] (f) 与SEQ ID NOS:9和18中的任一者的氨基酸序列具有至少90%序列同一性或相对于SEQ ID NOS:9和18中的任一者的氨基酸序列具有至多两个氨基酸取代的轻链CDR3 (CDR-L3) 序列。

[0168] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含(a)至(f)中的两者、三者、四者、五者或全部六者。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含(a)的CDR-H1、(b)的CDR-H2和(c)的CDR-H3。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含(d)的CDR-L1、(e)的CDR-L2和(f)的CDR-L3。在一些实施方案中,具有至多两个氨基酸取代的CDR相对于参考序列具有一个氨基酸取代。在一些实施方案中,具有至多两个氨基酸取代的CDR相对于参考序列具有两个氨基酸取代。在一些实施方案中,所述至多两个氨基酸取代是保守取代。

[0169] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含一个或多个选自由以下组成的组的CDR:

[0170] (a) CDR-H1序列,其包含SEQ ID NOS:4和12中的任一者的氨基酸序列;

[0171] (b) CDR-H2序列,其包含SEQ ID NOS:5、13和25中的任一者的氨基酸序列;

[0172] (c) CDR-H3序列,其包含SEQ ID NOS:6、14和17中的任一者的氨基酸序列;

[0173] (d) CDR-L1序列,其包含SEQ ID NOS:7和23中的任一者的氨基酸序列;

[0174] (e) CDR-L2序列,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;和

[0175] (f) CDR-L3序列,其包含SEQ ID NOS:9和18中的任一者的氨基酸序列。

[0176] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含(a)至(f)中的两者、三者、四者、五者或全部六者。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含(a)的CDR-H1、(b)的CDR-H2和(c)的CDR-H3。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含(d)的CDR-L1、(e)的CDR-L2和(f)的CDR-L3。

[0177] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含:

[0178] (a) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L3；或

[0179] (b) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L3；或

[0180] (c) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L3；或

[0181] (d) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L3；或

[0182] (e) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-L3；或

[0183] (f) 包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-L3；或

[0184] (g) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR-H2、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-L3。

[0185] 在一些实施方案中，抗TREM2抗体包含重链可变区，所述重链可变区包含与SEQ ID NOS:2、10、15、19、21、24和26中的任一者具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，抗TREM2包含重链可变区，所述重链可变区包含SEQ ID NOS:2、10、15、19、21、24和26中的任一者的氨基酸序列。

[0186] 在一些实施方案中，抗TREM2抗体包含轻链可变区，所述轻链可变区包含与SEQ ID NOS:3、11、16、20、22和27中的任一者具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，抗TREM2抗体包含轻链可变区，所述轻链可变区包含SEQ ID NOS:3、11、16、20、22和27中的任一者的氨基酸序列。

[0187] 在一些实施方案中，抗TREM2抗体包含：重链可变区，其包含与SEQ ID NOS:2、10、15、19、21、24和26中的任一者具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列；轻链可变区，其包含与SEQ ID NOS:3、11、16、

20、22和27中的任一者具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2包含:重链可变区,其包含SEQ ID NOS:2、10、15、19、21、24和26中的任一者的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含SEQ ID NOS:3、11、16、20、22和27中的任一者的氨基酸序列。

[0188] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含:

[0189] (a) 与SEQ ID NO:2具有至少85%序列同一性的 V_H 序列和与SEQ ID NO:3具有至少85%序列同一性的 V_L 序列;或

[0190] (b) 与SEQ ID NO:10具有至少85%序列同一性的 V_H 序列和与SEQ ID NO:11具有至少85%序列同一性的 V_L 序列;或

[0191] (c) 与SEQ ID NO:15具有至少85%序列同一性的 V_H 序列和与SEQ ID NO:16具有至少85%序列同一性的 V_L 序列;或

[0192] (d) 与SEQ ID NO:19具有至少85%序列同一性的 V_H 序列和与SEQ ID NO:20具有至少85%序列同一性的 V_L 序列;或

[0193] (e) 与SEQ ID NO:21具有至少85%序列同一性的 V_H 序列和与SEQ ID NO:20具有至少85%序列同一性的 V_L 序列;或

[0194] (f) 与SEQ ID NO:19具有至少85%序列同一性的 V_H 序列和与SEQ ID NO:22具有至少85%序列同一性的 V_L 序列;或

[0195] (g) 与SEQ ID NO:21具有至少85%序列同一性的 V_H 序列和与SEQ ID NO:22具有至少85%序列同一性的 V_L 序列;或

[0196] (h) 与SEQ ID NO:24具有至少85%序列同一性的 V_H 序列和与SEQ ID NO:20具有至少85%序列同一性的 V_L 序列;或

[0197] (i) 与SEQ ID NO:26具有至少85%序列同一性的 V_H 序列和与SEQ ID NO:20具有至少85%序列同一性的 V_L 序列;或

[0198] (j) 与SEQ ID NO:24具有至少85%序列同一性的 V_H 序列和与SEQ ID NO:22具有至少85%序列同一性的 V_L 序列;或

[0199] (k) 与SEQ ID NO:26具有至少85%序列同一性的 V_H 序列和与SEQ ID NO:22具有至少85%序列同一性的 V_L 序列;或

[0200] (l) 与SEQ ID NO:24具有至少85%序列同一性的 V_H 序列和与SEQ ID NO:27具有至少85%序列同一性的 V_L 序列。

[0201] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含一个或多个由本文所公开的共有序列所涵盖的序列。作为一个非限制性实例,可通过将来自相同(或相似)种系的抗体的重链或轻链序列(例如CDR)对齐来鉴定共有序列。在一些实施方案中,可从含有相同(或相似)长度和/或具有至少一个高度相似CDR(例如高度相似CDR3)的序列的抗体产生共有序列。在一些实施方案中,可将这些抗体中的此类序列对齐并进行比较以鉴定保守的氨基酸或基序(即,序列中的改变可能改变蛋白质功能的情形)和/或发生序列变异的区(即,序列的变异不太可能显著影响蛋白质功能的情形)。或者,可通过将结合至相同或相似(例如重叠)表位的抗体的重链或轻链序列(例如CDR)对齐来鉴定共有序列,以确定保守的氨基酸或基序(即序列中的改变可能改变蛋白质功能的情形)和序列对齐发生变异的区(即序列的变异不太可能显著影响蛋白质功能的情形)。在一些实施方案中,可在与如本文所公开的抗TREM2抗体识别

相同或相似表位的抗体中鉴定出一个或多个共有序列。示例性共有序列包括SEQ ID NOS: 28-32。在SEQ ID NOS: 28-32的共有序列中,大写字母代表在对齐序列(例如对齐CDR序列)中绝对保守的氨基酸残基,而“X”或希腊字母(例如“ α ”、“ β ”、“ γ ”、“ δ ”、“ ϵ ”或“ ϕ ”)代表在对齐序列中不绝对保守的氨基酸残基。应了解,在选择插入在由“X”或希腊字母标记的位置处的氨基酸时,在一些实施方案中,所述氨基酸选自在所对齐序列的相应位置处发现的那些氨基酸。

[0202] 克隆CL0020188、CL0020306、CL0020307和CL0020188的变体

[0203] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含:

[0204] (a) CDR-H1序列,其包含G-F-T-F-T- α_6 -F-Y-M-S (SEQ ID NO: 28)的序列,其中 α_6 是D或N;

[0205] (b) CDR-H2序列,其包含V-I-R-N- β_5 - β_6 -N- β_8 -Y-T- β_{11} - β_{12} -Y-N-P-S-V-K-G (SEQ ID NO: 29)的序列,其中 β_5 是K或R; β_6 是A或P; β_8 是G或A; β_{11} 是A或T;并且 β_{12} 是G或D;

[0206] (c) CDR-H3序列,其包含 γ_1 -R-L- γ_4 -Y-G-F-D-Y (SEQ ID NO: 30)的序列,其中 γ_1 是A或T;并且 γ_4 是T或S;

[0207] (d) CDR-L1序列,其包含Q-S-S-K-S-L-L-H-S- δ_{10} -G-K-T-Y-L-N (SEQ ID NO: 31)的序列,其中 δ_{10} 是N或T;

[0208] (e) CDR-L2序列,其包含WMSTRAS (SEQ ID NO: 8)的序列;和

[0209] (f) CDR-L3序列,其包含Q-Q-F-L-E- ϕ_6 -P-F-T (SEQ ID NO: 32)的序列,其中 ϕ_6 是Y或F。

[0210] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含选自SEQ ID NOS: 4和12的CDR-H1序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含选自SEQ ID NOS: 5、13和25的CDR-H2序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含选自SEQ ID NOS: 6、14和17的CDR-H3序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含选自SEQ ID NOS: 7和23的CDR-L1序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含选自SEQ ID NOS: 9和18的CDR-L3序列。

[0211] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NOS: 2、10、15、19、21、24和26中的任一者具有至少85%序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NOS: 2、10、15、19、21、24和26中的任一者的氨基酸序列。

[0212] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ ID NOS: 3、11、16、20、22和27中的任一者具有至少85%序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NOS: 3、11、16、20、22和27中的任一者的氨基酸序列。

[0213] 克隆CL0020188

[0214] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含有包含SEQ ID NO: 4的氨基酸序列的CDR-H1序列、包含SEQ ID NO: 5的氨基酸序列的CDR-H2序列、包含SEQ ID NO: 17的氨基酸序列的CDR-H3序列、包含SEQ ID NO: 7的氨基酸序列的CDR-L1序列、包含SEQ ID NO: 8的氨基酸序列的CDR-L2序列和包含SEQ ID NO: 18的氨基酸序列的CDR-L3序列。

[0215] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:15具有至少85%序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列。

[0216] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:16具有至少85%序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0217] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:15具有至少85%序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列;和轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:16具有至少85%序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;和轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0218] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含有分别包含SEQ ID NOS:4、5和17的氨基酸序列的重链CDR1-3,并且其与SEQ ID NO:15具有至少85%的序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性)。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含有分别包含SEQ ID NOS:7、8和18的氨基酸序列的轻链CDR1-3,并且其与SEQ ID NO:16具有至少85%的序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性)。

[0219] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体与如本文所阐述的抗体(例如,包含有分别包含SEQ ID NOS:4、5、17、7、8和18的氨基酸序列的重链CDR1-3和轻链CDR1-3的抗体,或包含有包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的轻链可变区的抗体)竞争结合。

[0220] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含有包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1序列、包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR-H2序列、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3序列、包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR-L1序列、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2序列和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L3序列。

[0221] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:24具有至少85%序列同一性(例如至少90%、95%或97%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列。

[0222] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:22具有至少85%序列同一性(例如至少90%、95%或97%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列。

[0223] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变

区包含与SEQ ID NO:24具有至少85%序列同一性(例如至少90%、95%或97%序列同一性)的氨基酸序列;和轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:22具有至少85%序列同一性(例如至少90%、95%或97%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;和轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列。

[0224] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含有分别包含SEQ ID NOS:4、25和17的氨基酸序列的重链CDR1-3,并且其与SEQ ID NO:24具有至少85%的序列同一性(例如至少90%、95%或97%的序列同一性)。在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含轻链可变区,所述轻链可变区包含有分别包含SEQ ID NOS:23、8和18的氨基酸序列的轻链CDR1-3,并且其与SEQ ID NO:22具有至少85%的序列同一性(例如至少90%、95%或97%的序列同一性)。

[0225] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分与如本文所阐述的抗体(例如,包含有分别包含SEQ ID NOS:4、25、17、23、8和18的氨基酸序列的重链CDR1-3和轻链CDR1-3的抗体,或包含有包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区的抗体)竞争结合。

[0226] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含有包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1序列、包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR-H2序列、包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3序列、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1序列、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2序列和包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-L3序列。

[0227] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:24具有至少85%序列同一性(例如至少90%、95%或97%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列。

[0228] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:27具有至少85%序列同一性(例如至少90%、95%或97%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0229] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:24具有至少85%序列同一性(例如至少90%、95%或97%序列同一性)的氨基酸序列;和轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:27具有至少85%序列同一性(例如至少90%、95%或97%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;和轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0230] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含有分别包含SEQ ID NOS:4、25和17的氨基酸序列的重链CDR1-3,并且其与SEQ ID NO:24具有至少85%的序列同一性(例如至少90%、95%或97%的序列同一性)。在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含轻链可变区,所述轻链可变区包含有分别包含SEQ ID NOS:7、8和9的氨基酸序列的轻链CDR1-3,并且其与SEQ ID NO:27具有至少85%的序列同一性(例如至少90%、95%或97%的序列同一性)。

[0231] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分是与如本文所阐述的抗体(例如,包含有分别包含SEQ ID NOS:4、25、17、7、8和9的氨基酸序列的重链CDR1-3和轻链CDR1-3的抗体,或包含有包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的轻链可变区的抗体)竞争结合的抗体。

[0232] 克隆CL0020306

[0233] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含有包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-H1序列、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-H2序列、包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR-H3序列、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1序列、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR-L2序列和包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-L3序列。

[0234] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:2具有至少85%序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列。

[0235] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:3具有至少85%序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列。

[0236] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:2具有至少85%序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列;和轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:3具有至少85%序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;和轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列。

[0237] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含有分别包含SEQ ID NOS:4、5和6的氨基酸序列的重链CDR1-3,并且其与SEQ ID NO:2具有至少85%的序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性)。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含有分别包含SEQ ID NOS:7、8和9的氨基酸序列的轻链CDR1-3,并且其与SEQ ID NO:3具有至少85%的序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性)。

[0238] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体与如本文所阐述的抗体(例如,包含有分别包含SEQ ID NOS:4、5、6、7、8和9的氨基酸序列的重链CDR1-3和轻链CDR1-3的抗体,或包含有包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的轻链可变区的抗体)竞争结合。

[0239] 克隆CL0020307

[0240] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含有包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR-H1序列、包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR-H2序列、包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR-H3序列、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR-L1序列、包含SEQ ID NO:8的氨基酸

序列的CDR-L2序列和包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-L3序列。

[0241] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:10具有至少85%序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体或抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

[0242] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:11具有至少85%序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列。

[0243] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与SEQ ID NO:10具有至少85%序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列;和轻链可变区,所述轻链可变区包含与SEQ ID NO:11具有至少85%序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列;和轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列。

[0244] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含有分别包含SEQ ID NOS:12、13和14的氨基酸序列的重链CDR1-3,并且其与SEQ ID NO:10具有至少85%的序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性)。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含轻链可变区,所述轻链可变区包含有分别包含SEQ ID NOS:7、8和9的氨基酸序列的轻链CDR1-3,并且其与SEQ ID NO:11具有至少85%的序列同一性(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性)。

[0245] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体是与如本文所阐述的抗体(例如,包含有分别包含SEQ ID NOS:12、13、14、7、8和9的氨基酸序列的重链CDR1-3和轻链CDR1-3的抗体,或包含有包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的轻链可变区的抗体)竞争结合的抗体。

[0246] 抗TREM2抗体的结合特性

[0247] 在一些实施方案中,如本文所阐述特异性结合至TREM2蛋白的抗体结合至在细胞上表达的TREM2(例如,内源性表达TREM2的原代细胞或细胞系,例如人类巨噬细胞,或例如如下文实施例部分中所阐述的已经工程化以表达TREM2的原代细胞或细胞系)。在一些实施方案中,如本文所阐述的特异性结合至TREM2蛋白的抗体结合至经纯化或重组的TREM2蛋白或其一部分,或结合至包含TREM2或其一部分的嵌合蛋白质(例如包含TREM2的Fc融合蛋白或包含TREM2的胞外域的Fc融合蛋白)。

[0248] 在一些实施方案中,特异性结合至人类TREM2蛋白的抗体表现出与另一物种的一种或多种其他TREM2蛋白的交叉反应性。在一些实施方案中,特异性结合至人类TREM2蛋白的抗体表现出与食蟹猴(“cyno”)TREM2蛋白的交叉反应性。在一些实施方案中,特异性结合至人类TREM2蛋白的抗体表现出与小鼠TREM2蛋白的交叉反应性。在一些实施方案中,抗TREM2抗体表现出与人类TREM2、食蟹猴TREM2和小鼠TREM2的交叉反应性。

[0249] 用于分析结合亲和力、结合动力学和交叉反应性的方法是本领域中已知的。这些方法包括(但不限于)固相结合测定(例如ELISA测定)、免疫沉淀、表面等离子体共振(例如Biacore™(GE Healthcare,Piscataway,NJ))、动力学排斥测定(例如KinExA®)、流式细胞术、荧光活化细胞分选(FACS)、生物层干涉(例如Octet™(FortéBio,Inc.,Menlo Park,CA))和蛋白质印迹分析。在一些实施方案中,使用ELISA测定结合亲和力和/或交叉反应性。用于实施ELISA测定的方法是本领域中已知的,并且也阐述于下文实施例部分中。在一些实施方案中,使用表面等离子体共振(SPR)来确定结合亲和力、结合动力学和/或交叉反应性。在一些实施方案中,使用动力学排斥测定来确定结合亲和力、结合动力学和/或交叉反应性。在一些实施方案中,使用生物层干涉测定来确定结合亲和力、结合动力学和/或交叉反应性。

[0250] 抗TREM2抗体识别的表位

[0251] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体识别人类TREM2中与如本文所阐述的抗体克隆所识别的表位相同或基本上相同的表位。如本文所用,关于如本文所阐述的抗体克隆所识别的表位所用的术语“基本上相同”意指,抗TREM2抗体识别与如本文所阐述的抗体克隆所识别的表位同一、在其内部或与其几乎同一(例如与其具有至少90%的序列同一性,或相对于其具有一个、两个或三个氨基酸取代,例如保守取代)或与如本文所阐述的抗体克隆所识别的表位具有大量重叠(例如至少50%、60%、70%、80%、90%或95%重叠)的表位。

[0252] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体识别人类TREM2中与选自由克隆CL0020306、克隆CL0020188、克隆CL0020307和其变体组成的组的抗体克隆所识别的表位相同或基本上相同的表位。

[0253] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体在TREM2的茎部区(stalk region)内的表位处结合至人类TREM2。在一些实施方案中,抗TREM2抗体识别人类TREM2中包含SEQ ID NO:1的残基129-172或残基131-169、在所述残基内部或由所述残基组成的表位。在一些实施方案中,抗TREM2抗体识别人类TREM2中包含SEQ ID NO:1的残基129-148(例如SEQ ID NO:1的143-148)、在所述残基内部或由所述残基组成的表位。在一些实施方案中,抗TREM2抗体是激活TREM2/DAP12信号传导(例如通过诱导例如Syk的激酶的磷酸化)并且在TREM2的茎部区内的表位处结合至人类TREM2的激动剂。在一些实施方案中,抗TREM2抗体在TREM2的茎部区内的表位处结合至人类TREM2并且抑制蛋白酶(例如ADAM17)对TREM2的切割。

[0254] 抗TREM2抗体的功能特性

[0255] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体(例如具有如所公开的一个或多个CDR、重链可变区和/或轻链可变区序列的抗体)在如本文所公开的一种或多种TREM2活性中起作用。例如,在一些实施方案中,抗TREM2抗体调节sTREM2蛋白的水平(例如从细胞表面脱落至细胞外样品中的sTREM2的水平),调节与TREM2/DAP12信号传导复合物相互作用的激酶(例如Syk激酶)的募集或磷酸化和/或调节信号传导复合物下游的一种或多种活性,例如吞噬作用、细胞生长、细胞存活、细胞分化、细胞因子分泌或细胞迁移。

[0256] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强由配体所诱导的一种或多种TREM2活性(例如如本文所阐述的那些活性)。在一些实施方案中,配体是脂质配体。TREM2脂质配体的实例包括(但不限于)1-棕榈酰基-2-(5'-氧代-戊酰基)-sn-甘油-3-磷酸胆碱(POVPC)、2-花生四烯酰基甘油(2-AG)、7-酮基胆固醇(7-KC)、24(S)羟基胆固醇(24OHC)、25(S)羟基胆固醇(25OHC)、27-羟基胆固醇(27OHC)、酰基肉碱(AC)、烷基酰基甘油磷酸胆碱(PAF)、 α -半乳糖

基神经酰胺 (KRN7000)、双(单酰基甘油)磷酸酯 (BMP)、心磷脂 (CL)、神经酰胺、神经酰胺-1-磷酸酯 (C1P)、胆固醇基酯 (CE)、胆固醇磷酸酯 (CP)、二酰基甘油34:1 (DG34:1)、二酰基甘油38:4 (DG 38:4)、二酰基甘油焦磷酸酯 (DGPP)、二氢神经酰胺 (DhCer)、二氢鞘磷脂 (DhSM)、醚磷脂酰胆碱 (PCe)、游离胆固醇 (FC)、半乳糖基神经酰胺 (GalCer)、半乳糖基神经鞘氨醇 (GalSo)、神经节苷酯GM1、神经节苷酯GM3、葡萄糖基神经鞘氨醇 (GlcSo)、汉克氏平衡盐溶液 (Hank's Balanced Salt Solution, HBSS)、Kdo2-脂质A (KLA)、乳糖神经酰胺 (LacCer)、溶血烷基酰基甘油磷酸胆碱 (LPAF)、溶血磷脂酸 (LPA)、溶血磷脂酰胆碱 (LPC)、溶血磷脂酰乙醇胺 (LPE)、溶血磷脂酰基甘油 (LPG)、溶血磷脂酰肌醇 (LPI)、溶血鞘磷脂 (LSM)、溶血磷脂酰丝氨酸 (LPS)、N-酰基-磷脂酰乙醇胺 (NAPE)、N-酰基-丝氨酸 (NSer)、氧化磷脂酰胆碱 (oxPC)、棕榈酸-9-羟基-硬脂酸 (PAHSA)、磷脂酰乙醇胺 (PE)、磷脂酰基乙醇 (PEtOH)、磷脂酸 (PA)、磷脂酰胆碱 (PC)、磷脂酰基甘油 (PG)、磷脂酰肌醇 (PI)、磷脂酰丝氨酸 (PS)、二氢鞘氨醇、二氢鞘氨醇-1-磷酸酯 (Sa1P)、鞘磷脂 (SM)、神经鞘氨醇、神经鞘氨醇-1-磷酸酯 (So1P) 和硫脂。

[0257] sTREM2脱落的调节

[0258] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体改变样品中sTREM2蛋白的水平,例如从细胞表面脱落至细胞外样品中的sTREM2的水平。在一些实施方案中,抗TREM2抗体降低sTREM2的水平。

[0259] 在一些实施方案中,如果所处理样品中sTREM2的量与对照值相比减少至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或更多,则抗TREM2抗体降低sTREM2的水平。在一些实施方案中,如果所处理样品中sTREM2的量与对照值相比减少至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或更多,则抗TREM2抗体降低sTREM2的水平。在一些实施方案中,对照值是未经处理的样品(例如来自未用抗TREM2抗体处理的TREM2表达细胞的上清液,或来自未经抗TREM2抗体治疗的受试者的样品)或经适当非TREM2结合抗体处理的样品中的sTREM2的量。

[0260] 在一些实施方案中,使用包含流体的样品(例如血液、血浆、血清、尿液或脑脊髓液)测量sTREM2脱落。在一些实施方案中,样品包含脑脊髓液。在一些实施方案中,样品包含来自细胞培养物的上清液(例如来自内源性表达TREM2的原代细胞或细胞系(例如人类巨噬细胞)或例如如下文实施例部分中所阐述的已经工程化以表达TREM2的原代细胞或细胞系的上清液)。

[0261] 在一些实施方案中,使用免疫测定测量样品中的sTREM2水平。免疫测定是本领域中已知的并且包括(但不限于)酶免疫测定(EIA),例如酶倍增免疫测定(EMIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、微粒酶免疫测定(MEIA);免疫组织化学(IHC);免疫细胞化学;毛细管电泳免疫测定(CEIA);放射免疫测定(RIA);免疫荧光;化学发光免疫测定(CL);和电致化学发光免疫测定(ECL)。在一些实施方案中,使用ELISA测定来测量sTREM2水平。在一些实施方案中,使用如下文实施例部分中所阐述的ELISA测定来测量sTREM2水平。

[0262] 激酶募集或磷酸化的调节

[0263] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体诱导与TREM2/DAP12信号传导复合物相互作用的激酶(例如(但不限于)Syk、ZAP70、PI3K、Erk、AKT或GSK3b)的磷酸化。在一些实施方案中,抗TREM2抗体诱导与TREM2/DAP12信号传导复合物相互作用的激酶的磷酸化,而不阻断天然

TREM2配体的结合。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强由TREM2配体(例如脂质配体)诱导的与TREM2/DAP12信号传导复合物相互作用的激酶的磷酸化。在一些实施方案中,抗TREM2抗体诱导或增强Syk的磷酸化。在一些实施方案中,如果用抗TREM2抗体处理的样品中的Syk磷酸化水平与对照值相比提高至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或更多,则抗TREM2抗体诱导或增强Syk的磷酸化。在一些实施方案中,如果用抗TREM2抗体处理的样品中的Syk磷酸化水平为对照值的至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或更多,则抗TREM2抗体诱导Syk的磷酸化。在一些实施方案中,对照值是未经处理的样品(例如包含未用抗TREM2抗体处理的TREM2表达细胞的样品,或来自未经抗TREM2抗体治疗的受试者的样品)、或已经TREM2配体而非抗TREM2抗体处理的样品、或经适当非TREM2结合抗体处理的样品中的Syk磷酸化水平。

[0264] 为检测和/或量化样品中的磷酸化(例如Syk磷酸化),在一些实施方案中,使用免疫测定。在一些实施方案中,所述免疫测定是酶免疫测定(EIA)、酶倍增免疫测定(EMIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、微粒酶免疫测定(MEIA)、免疫组织化学(IHC)、免疫细胞化学、毛细管电泳免疫测定(CEIA)、放射免疫测定(RIA)、免疫荧光、化学发光免疫测定(CL)或电致化学发光免疫测定(ECL)。在一些实施方案中,使用利用放大发光邻近均相测定(AlphaLISA®, PerkinElmer Inc.)的免疫测定来检测和/或量化磷酸化。

[0265] 在一些实施方案中,使用包含一种或多种细胞的样品测量磷酸化,所述细胞是例如一种或多种TREM2表达细胞(例如内源性表达TREM2的原代细胞或细胞系,例如人类巨噬细胞或iPSC源性小胶质细胞,或例如如下文实施例部分中所阐述的已经工程化以表达TREM2的原代细胞或细胞系)。在一些实施方案中,样品包含流体,例如血液、血浆、血清、尿液或脑脊髓液。在一些实施方案中,样品包含组织(例如肺、脑、肾、脾、神经组织或骨骼肌)或来自此组织的细胞。在一些实施方案中,样品包含内源性流体、组织或细胞(例如来自人类或非人类受试者)。

[0266] 吞噬作用的调节

[0267] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强对死细胞碎片、组织碎片、淀粉样β颗粒或外来物质的吞噬作用。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强吞噬作用而不阻断天然TREM2配体的结合。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强由TREM2配体(例如脂质配体)诱导的吞噬作用。在一些实施方案中,如果在用抗TREM2抗体处理的样品中的吞噬作用水平与对照值相比提高至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或更多,则抗TREM2抗体增强吞噬作用。在一些实施方案中,如果在用抗TREM2抗体处理的样品中的吞噬作用水平为对照值的至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或更多,则抗TREM2抗体增强吞噬作用。在一些实施方案中,对照值是在未经处理的样品、已经TREM2配体而非抗TREM2抗体处理的样品或经适当非TREM2结合抗体处理的样品中的吞噬作用水平。

[0268] 在一些实施方案中,使用吞噬作用测定利用经标记的底物测量吞噬作用。吞噬作用测定是本领域中已知的。在一些实施方案中,在包含内源性表达TREM2的细胞(例如人类巨噬细胞或小胶质细胞)的样品上实施吞噬作用测定。在一些实施方案中,在包含已经工程化以表达TREM2的细胞的样品上实施吞噬作用测定。在一些实施方案中,使用如下文实施例部分中所阐述的人类巨噬细胞吞噬作用测定来测量吞噬作用。

[0269] 细胞分化、功能、迁移和存活的调节

[0270] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强细胞迁移、细胞存活、细胞功能或细胞分化(例如骨髓细胞、巨噬细胞和小胶质细胞,包括iPSC源性小胶质细胞和疾病相关的小胶质细胞)。疾病相关的小胶质细胞和检测疾病相关的小胶质细胞的方法阐述于Keren-Shaul等人,Cell,2017,169:1276-1290中。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强一种或多种细胞类型(例如骨髓细胞、巨噬细胞或小胶质细胞)的细胞迁移。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强一种或多种细胞类型(例如骨髓细胞、巨噬细胞或小胶质细胞)的细胞存活。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强一种或多种细胞类型(例如骨髓细胞、巨噬细胞或小胶质细胞)的细胞功能。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强一种或多种细胞类型(例如骨髓细胞、巨噬细胞或小胶质细胞)的细胞分化。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强骨髓细胞的迁移、存活、功能和/或分化。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强巨噬细胞的迁移、存活、功能和/或分化。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强小胶质细胞的迁移、存活、功能和/或分化。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强小胶质细胞活化。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强疾病相关的小胶质细胞的迁移、存活、功能和/或分化。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强细胞迁移、细胞存活、细胞功能或细胞分化,而不阻断天然TREM2配体的结合。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强由TREM2配体(例如脂质配体)诱导的细胞迁移、细胞存活、细胞功能或细胞分化。

[0271] 在一些实施方案中,如果用抗TREM2抗体处理的样品中的活性(例如迁移、存活、功能或分化)水平与对照值相比提高至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或更多,则抗TREM2抗体增强细胞迁移、细胞存活、细胞功能或细胞分化。在一些实施方案中,如果用抗TREM2抗体处理的样品中的活性(例如迁移、存活、功能或分化)水平为对照值的至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或更多,则抗TREM2抗体增强细胞迁移、细胞存活、细胞功能或细胞分化。在一些实施方案中,对照值是未经处理的样品(例如未用抗TREM2抗体处理的样品)、已经TREM2配体而非抗TREM2抗体处理的样品或经适当非TREM2结合抗体处理的样品中的活性(例如迁移、存活、功能或分化)水平。

[0272] 在一些实施方案中,使用趋化作用测定来测量细胞迁移。趋化作用测定是本领域中已知的。在一些实施方案中,在包含内源性表达TREM2的细胞(例如人类巨噬细胞)的样品上实施细胞迁移测定(例如趋化作用测定)。在一些实施方案中,在包含已经工程化以表达TREM2的细胞的样品上实施细胞迁移测定(例如趋化作用测定)。在一些实施方案中,使用如下文实施例部分中所阐述的人类巨噬细胞趋化作用测定来测量细胞迁移。

[0273] 在一些实施方案中,使用细胞活力测定来测量细胞存活。细胞活力测定是本领域中已知的。在一些实施方案中,在包含内源性表达TREM2的细胞(例如人类巨噬细胞)的样品上实施细胞存活测定(例如细胞活力测定)。在一些实施方案中,在包含已经工程化以表达TREM2的细胞的样品上实施细胞存活测定(例如细胞活力测定)。在一些实施方案中,使用如下文实施例部分中所阐述的人类巨噬细胞活力测定来测量细胞存活。

[0274] 在一些实施方案中,使用适于所测量细胞的功能测定来测量细胞功能。例如,在一些实施方案中,使用例如如下文实施例部分中所阐述的吞噬作用测定来评价巨噬细胞功能。

[0275] 在一些实施方案中,通过评价内源性表达TREM2的细胞的分化能力来测量细胞分化。例如,在一些实施方案中,例如如下文实施例部分中所阐述,通过评价巨噬细胞从单核细胞分化的能力来测量细胞分化。

[0276] 在一些实施方案中,在体内测量小胶质细胞的活化。在一些实施方案中,使用TSP0-PET成像测量小胶质细胞活化。TSP0-PET成像是本领域中已知的。

[0277] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强小胶质细胞功能而不增加神经炎症。可通过测量细胞因子(例如炎性细胞因子)的水平来确定神经炎症的水平,所述细胞因子例如(但不限于)TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-1ra、TGF β 、IL-15或IFN- γ 。在一些实施方案中,使用免疫测定来测量细胞因子水平,例如酶免疫测定(EIA)、酶倍增免疫测定(EMIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、微粒酶免疫测定(MEIA)、免疫组织化学(IHC)、免疫细胞化学、毛细管电泳免疫测定(CEIA)、放射免疫测定(RIA)、免疫荧光、化学发光免疫测定(CL)或电致化学发光免疫测定(ECL)。

[0278] IV. 具有抗TREM2抗原结合部分的蛋白质的Fc多肽突变

[0279] 在一些方面,抗TREM2抗体包含两个Fc多肽,其中的一者或两者可各自包含独立选择的修饰(例如突变)或者可为野生型Fc多肽,例如人类IgG1 Fc多肽。可引入至一个或两个Fc多肽中的突变的非限制性实例包括例如允许Fc多肽(或包含其的抗体)结合至BBB受体(例如转铁蛋白受体(TfR)蛋白质(例如人类或食蟹猴TfR,例如可在脑内皮细胞上表达))的突变,提高血清稳定性、调节效应功能、影响糖基化、降低人类中的免疫原性和/或提供Fc多肽的杵臼异二聚化的突变。

[0280] 转铁蛋白受体结合突变

[0281] 在一些实施方案中,抗TREM2抗体包括包含有允许Fc多肽结合至TfR蛋白的修饰(例如氨基酸取代)的Fc多肽。简言之,结合至在例如脑内皮细胞上表达的TfR蛋白(例如其顶端结构域)在一些实施方案中可允许本公开的经修饰的Fc多肽或包含其的抗体经由受体介导的胞吞转送作用穿过血脑屏障。在某些实施方案中,受体介导的胞吞转送作用可增强或改进包含Fc多肽的蛋白质存在于脑中的能力(即,位于血脑屏障的管腔侧上),这可容许改进与CNS中的TREM2的结合和其他功能,例如靶标的清除、中和或免疫耗竭等。

[0282] 针对Fc(例如CH2和/或CH3部分、片段或结构域)的示例性TfR结合氨基酸修饰以及包含所述氨基酸修饰的Fc多肽及其部分阐述于PCT专利公开第W0 2018/152326A1中。这些氨基酸修饰、TfR结合Fc多肽序列和TfR结合Fc多肽以及用于产生并测试其的技术通过引用并入本文。本公开的Fc二聚体的一个或两个Fc多肽可经工程化以包含允许与TfR结合的修饰。在某些实施方案中,Fc二聚体的一个Fc多肽包含允许与TfR结合的修饰,而另一Fc多肽则不包含所述修饰。

[0283] 在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含YxTEWSS (SEQ ID NO:58) 基序。在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含TxxExxxxF (SEQ ID NO:59) 基序。在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含YxTEWSS (SEQ ID NO:58) 和TxxExxxxF (SEQ ID NO:59) 基序。

[0284] 在一些实施方案中,根据EU编号,经修饰的Fc多肽包含位置380、389、390和415处的野生型氨基酸残基,其中所述野生型氨基酸残基在SEQ ID NO:38中的相应位置处发现。

[0285] 在一些实施方案中,根据EU编号,抗TREM2抗体包括具有以下氨基酸的Fc多肽:位置380处的Trp、Leu或Glu;位置384处的Tyr或Phe;位置386处的Thr;位置387处的Glu;位置

388处的Trp;位置389处的Ser、Ala或Val;位置390处的Ser或Asn;位置413处的Thr或Ser;位置415处的Glu或Ser;位置416处的Glu;和位置421处的Phe。

[0286] 在一些实施方案中,根据EU编号,抗TREM2抗体包括具有以下氨基酸的Fc多肽:位置380处的Trp;位置384处的Tyr;位置386处的Thr;位置387处的Glu;位置388处的Trp;位置389处的Ser;位置390处的Ser;位置413处的Thr;位置415处的Glu;位置416处的Glu;和位置421处的Phe。

[0287] 在一些实施方案中,根据EU编号,抗TREM2抗体包括具有以下氨基酸的Fc多肽:位置380处的Glu;位置384处的Phe;位置386处的Thr;位置387处的Glu;位置388处的Trp;位置389处的Ser;位置390处的Asn;位置413处的Ser;位置415处的Glu;位置416处的Glu;和位置421处的Phe。

[0288] 在一些实施方案中,根据EU编号,抗TREM2抗体包括具有以下氨基酸的Fc多肽:位置380处的Glu;位置384处的Tyr;位置386处的Thr;位置387处的Glu;位置388处的Trp;位置389处的Val;位置390处的Asn;位置413处的Thr;位置415处的Glu;位置416处的Glu;和位置421处的Phe。

[0289] 在一些实施方案中,根据EU编号,抗TREM2抗体包括具有以下氨基酸的Fc多肽:位置380处的Glu;位置384处的Tyr;位置386处的Thr;位置387处的Glu;位置388处的Trp;位置389处的Ser;位置390处的Asn;位置413处的Ser;位置415处的Glu;位置416处的Glu;和位置421处的Phe。

[0290] 在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含与SEQ ID NOS:40、43、46和49中的任一者所示的氨基酸序列具有至少90%同一性的序列。在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含SEQ ID NOS:41、44、47和50中的任一者所示的氨基酸序列或由其组成。

[0291] 经修饰的Fc多肽的其他实例阐述于表8中。

[0292] 促进Fc多肽异二聚化的突变

[0293] 在一些实施方案中,如本文所公开的抗TREM2抗体中所存在的Fc多肽包括杵臼突变以促进异二聚体形成并阻碍同二聚体形成。通常,所述修饰在第一多肽的界面处引入突起(“杵”)并且在第二多肽的界面中引入相应空腔(“臼”),从而使得突起可定位于空腔中以便促进异二聚体形成并由此阻碍同二聚体形成。通过用较大侧链(例如酪氨酸或色氨酸)代替来自第一多肽的界面的小氨基酸侧链来构建突起。通过用较小氨基酸侧链(例如丙氨酸或苏氨酸)代替大的氨基酸侧链在第二多肽的界面中产生大小与突起相同或相似的补偿性空腔。在一些实施方案中,此类其他突变在Fc多肽中的位置不会对Fc多肽与BBB受体(例如TfR)的结合具有负面(例如抑制性)效应。

[0294] 在用于二聚化的杵臼方法的一个说明性实施方案中,存在于本文所阐述蛋白质中的一个Fc多肽的位置366(根据EU编号方案编号)包含色氨酸代替天然苏氨酸。二聚体中的另一Fc多肽在位置407处(根据EU编号方案编号)具有缬氨酸代替天然酪氨酸。另一Fc多肽还可包含取代,其中位置366处(根据EU编号方案编号)的天然苏氨酸被丝氨酸取代并且位置368处(根据EU编号方案编号)的天然亮氨酸被丙氨酸取代。因此,本公开的抗TREM2蛋白的一个Fc多肽具有T366W杵突变并且另一Fc多肽具有Y407V突变,其通常伴随有T366S和L368A臼突变。

[0295] 在一些实施方案中,一个或两个Fc多肽也可经工程化以含有用于异二聚化的其他

修饰,例如对CH3-CH3界面内为天然带电或疏水性补丁(patch)修饰的接触残基进行静电工程化。

[0296] 在一些实施方案中,可引入延长血清半衰期的修饰。例如,在一些实施方案中,存在于本公开的抗TREM2蛋白中的一个或两个Fc多肽可包含如根据EU编号方案所编号在位置252处的酪氨酸、位置254处的苏氨酸和位置256处的谷氨酸。因此,一个或两个Fc多肽可具有M252Y、S254T和T256E取代。或者,根据EU编号,一个或两个Fc多肽可具有M428L和/或N434S取代。或者,一个或两个Fc多肽可具有N434S或N434A取代。

[0297] Fc效应功能

[0298] 在一些实施方案中,本文所公开的抗TREM2蛋白中的一个或两个Fc多肽可包含降低效应功能的修饰,即,在结合至在介导效应功能的效应细胞上表达的Fc受体时诱导某些生物学功能的能力降低。抗体效应功能的实例包括(但不限于)C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC)、Fc受体结合、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)、下调细胞表面受体(例如B细胞受体)和B细胞活化。效应功能可随抗体类别而变化。例如,天然人类IgG1和IgG3抗体可在结合至存在于免疫系统细胞上的适当Fc受体时引发ADCC和CDC活性;并且天然人类IgG1、IgG2、IgG3和IgG4可在结合至存在于免疫细胞上的适当Fc受体时引发ADCP功能。

[0299] 在一些实施方案中,一个或两个Fc多肽可包括调节效应功能的修饰。

[0300] 在一些实施方案中,一个或两个Fc多肽可包含降低或消除效应功能的修饰。降低效应功能的说明性Fc多肽突变包括(但不限于)CH2结构域中的取代,例如根据EU编号方案在位置234和235处。例如,在一些实施方案中,一个或两个Fc多肽可包含位置234和235处的丙氨酸残基。因此,一个或两个Fc多肽可具有L234A和L235A(LALA)取代。

[0301] 调节效应功能的其他Fc多肽突变包括(但不限于)以下:位置329可具有脯氨酸被甘氨酸、精氨酸、丝氨酸或足够大至破坏在Fc的脯氨酸329与Fc γ RIII的色氨酸残基Trp 87和Trp 110之间形成的Fc/Fc γ 受体界面的氨基酸残基取代的突变。根据EU编号方案,其他说明性取代包括S228P、E233P、L235E、N297A、N297D、N297G和P331S。还可存在多个取代,例如根据EU编号方案,人类IgG1 Fc区的L234A和L235A;人类IgG1 Fc区的L234A、L235A和P329G;人类IgG1 Fc区的L234A、L235A和P329S;人类IgG4 Fc区的S228P和L235E;人类IgG1 Fc区的L234A和G237A;人类IgG1 Fc区的L234A、L235A和G237A;人类IgG2 Fc区的V234A和G237A;人类IgG4 Fc区的L235A、G237A和E318A;和人类IgG4 Fc区的S228P和L236E。在一些实施方案中,一个或两个Fc多肽可具有一个或多个调节ADCC的氨基酸取代,例如根据EU编号方案在位置298、333和/或334处的取代。

[0302] FcRn结合位点和延长血清半衰期的突变

[0303] 在某些方面,存在于本公开的抗TREM2蛋白中的Fc多肽(例如经修饰的Fc多肽)可包含FcRn结合位点。在一些实施方案中,FcRn结合位点是在Fc多肽或其片段内。

[0304] 在一些实施方案中,FcRn结合位点包含天然FcRn结合位点。在一些实施方案中,FcRn结合位点相对于天然FcRn结合位点的氨基酸序列不包含氨基酸变化。在一些实施方案中,天然FcRn结合位点是IgG结合位点,例如人类IgG结合位点。在一些实施方案中,FcRn结合位点包含改变FcRn结合的修饰。

[0305] 在一些实施方案中,FcRn结合位点具有一个或多个经突变(例如经取代)的氨基酸

残基,其中所述突变延长血清半衰期或不会基本上缩短血清半衰期(即,当在相同条件下测定时,与在突变位置具有野生型残基的对应体Fc多肽相比,血清半衰期缩短不超过25%)。在一些实施方案中,根据EU编号方案,FcRn结合位点具有一个或多个在位置251-256、428和433-436处被取代的氨基酸残基。

[0306] 在一些实施方案中,相对于天然人类IgG序列,FcRn结合位点处或附近的一个或多个残基经突变以延长多肽的血清半衰期。在一些实施方案中,将突变引入至位置252、254和256中的一者、两者或三者中。在一些实施方案中,突变是M252Y、S254T和T256E。在一些实施方案中,Fc多肽还包含突变M252Y、S254T和T256E。在特定实施方案中,存在于本公开的抗TREM2蛋白中的一个或两个Fc多肽可包含如根据EU编号方案所编号在位置252处的酪氨酸、位置254处的苏氨酸和位置256处的谷氨酸。因此,一个或两个Fc多肽可具有M252Y、S254T和T256E取代。

[0307] 在一些实施方案中,突变是M428L和/或N434S。在一些实施方案中,Fc多肽还包含具有或不具有M428L的突变N434S。在一些实施方案中,根据EU编号方案,Fc多肽包含在位置T307、E380和N434的一者、两者或所有三者处的突变。在一些实施方案中,所述突变是T307Q和N434A。在一些实施方案中,Fc多肽包含突变T307A、E380A和N434A。在一些实施方案中,根据EU编号方案,Fc多肽包含在位置T250和M428处的突变。在一些实施方案中,Fc多肽包含突变T250Q和/或M428L。在一些实施方案中,根据EU编号方案,Fc多肽包含在位置M428和N434处的突变。在一些实施方案中,Fc多肽包含突变M428L和N434S。在一些实施方案中,本公开的抗体可包含两个Fc多肽,其中所述两个Fc多肽各自包含M428L和/或N434S取代。在一些实施方案中,Fc多肽包含N434S或N434A突变。在一些实施方案中,本公开的抗体可包含两个Fc多肽,其中所述两个Fc多肽各自包含N434S或N434A取代。

[0308] V. 抗体的制备

[0309] 在一些实施方案中,通过利用抗原或抗原混合物对一种或多种动物(例如小鼠、兔或大鼠)实施免疫以诱导抗体反应来制备抗体。在一些实施方案中,抗原或抗原混合物与佐剂(例如弗氏佐剂(Freund's adjuvant))结合施用。在初始免疫后,可施用一次或多次所述一种或多种抗原的后续加强注射以改善抗体产生。在免疫后,从例如脾和/或淋巴样组织收获抗原特异性B细胞。为产生单克隆抗体,使B细胞与骨髓瘤细胞融合,随后对其进行抗原特异性筛选。制备抗体的方法也阐述于下文实施例部分中。

[0310] 编码目标抗体的重链和轻链的基因可从细胞中克隆,例如,编码单克隆抗体的基因可从杂交瘤中克隆并用于产生重组单克隆抗体。编码单克隆抗体的重链和轻链的基因文库也可从杂交瘤或浆细胞中制得。或者,可使用噬菌体或酵母展示技术来鉴定特异性结合至所选抗原的抗体和Fab片段。也可使抗体具有双特异性,即能够识别两种不同抗原。抗体也可作为异源缀合物(例如两种共价连接的抗体)或免疫毒素。

[0311] 抗体可使用任何数目的表达系统(包括原核和真核表达系统)来产生。在一些实施方案中,表达系统是哺乳动物细胞表达系统,例如杂交瘤或CHO细胞表达系统。许多此类系统可从商业供应商广泛获得。在抗体包含 V_H 和 V_L 区二者的实施方案中,可使用单一载体例如在二顺反子表达单元中或不同启动子的控制下表达 V_H 和 V_L 区。在其他实施方案中,可使用单独载体表达 V_H 和 V_L 区。如本文所阐述的 V_H 或 V_L 区可任选地在N末端包含甲硫氨酸。

[0312] 在一些实施方案中,抗体是嵌合抗体。制备嵌合抗体的方法是本领域中已知的。例

如,可制备其中来自一种物种(例如小鼠)的抗原结合区(重链可变区和轻链可变区)与另一物种(例如人类)的效应区(恒定结构域)融合的嵌合抗体。作为另一实例,可制备其中一种抗体的效应区被不同免疫球蛋白类别或亚类的效应区取代的“类别转换”嵌合抗体。

[0313] 在一些实施方案中,抗体是人源化抗体。通常,使非人类抗体人源化以降低其免疫原性。人源化抗体通常包含一个或多个非人类可变区(例如CDR)或其部分(例如源自小鼠可变区序列),并且可能包含一些非人类框架区或其部分,并且还包含一个或多个源自人类抗体序列的恒定区。使非人类抗体人源化的方法是本领域中已知的。可使用转基因小鼠或其他生物体(例如其他哺乳动物)来表达人源化或人类抗体。使抗体人源化的其他方法包括例如可变结构域表面重修、CDR移植、移植特异性决定残基(SDR)、导向选择和框架改组。

[0314] 作为人源化的替代,可产生全人类抗体。作为一个非限制性实例,可产生转基因动物(例如小鼠),所述转基因动物在免疫后能够在不产生内源性免疫球蛋白的情形下产生完整人类抗体库。例如,已阐述嵌合和种系突变小鼠中抗体重链连接区(JH)基因的同型接合缺失导致完全抑制内源性抗体产生。将人类种系免疫球蛋白基因阵列转移到此类种系突变小鼠中将使得在受到抗原攻击后产生人类抗体。作为另一实例,可通过基于杂交瘤的方法产生人类抗体,例如通过使用原代人类B细胞以供生成产生人类单克隆抗体的细胞系。

[0315] 人类抗体也可使用噬菌体展示或酵母展示技术来产生。在噬菌体展示中,使可变重链和可变轻链基因的库扩增并在噬菌体展示载体中表达。在一些实施方案中,抗体文库是从人类来源扩增的天然库。在一些实施方案中,抗体文库是通过克隆重链和轻链序列并重组以产生大量具有不同抗原特异性的抗体而制得的合成文库。噬菌体通常展示抗体片段(例如Fab片段或scFv片段),然后筛选其与目标抗原的结合。

[0316] 在一些实施方案中,产生抗体片段(例如Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv、V_H或V_{HH})。已开发出各种技术用于产生抗体片段。传统上,这些片段是经由完整抗体的蛋白水解消化而得到的。然而,现在可直接使用重组宿主细胞来产生这些片段。例如,可从抗体噬菌体文库分离出抗体片段。或者,可从大肠杆菌(E.coli)细胞中直接回收Fab'-SH片段并进行化学偶联以形成F(ab')₂片段。根据另一方法,可从重组宿主细胞培养物直接分离出F(ab')₂片段。其他产生抗体片段的技术对于本领域技术人员将是显而易见的。

[0317] 在一些实施方案中,使抗体或抗体片段结合至另一分子(例如聚乙二醇(聚乙二醇化)或血清白蛋白),以提供延长的体内半衰期。

[0318] VI. 核酸、载体和宿主细胞

[0319] 在一些实施方案中,使用重组方法制备如本文所公开的抗TREM2抗体。因此,在一些方面,本公开提供了分离的核酸,其包含编码如本文所阐述的任何抗TREM2抗体的核酸序列(例如本文所阐述的CDR、重链可变区和轻链可变区中的任何一者或多者);包含此类核酸的载体;和其中引入所述核酸的宿主细胞,其用于复制抗体编码核酸和/或表达所述抗体。

[0320] 在一些实施方案中,多核苷酸(例如分离的多核苷酸)包含编码如本文所阐述抗体的核苷酸序列(例如,如上文标题为“抗TREM2抗体序列”的部分中所阐述)。在一些实施方案中,多核苷酸包含编码下文表8中所公开的一种或多种氨基酸序列(例如CDR、重链或轻链序列)的核苷酸序列。在一些实施方案中,多核苷酸包含编码与下文表8中所公开的序列(例如CDR、重链或轻链序列)具有至少85%序列同一性(例如至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一

性)的氨基酸序列的核苷酸序列。在一些实施方案中,如本文所阐述的多核苷酸可操作地连接至异源核酸,例如异源启动子。

[0321] 含有编码本公开的抗体或其片段的多核苷酸的合适的载体包括克隆载体和表达载体。尽管所选克隆载体可根据意欲使用的宿主细胞而变化,但可用克隆载体通常能够自我复制,可具有特定限制性核酸内切酶的单一靶标和/或可携带可用于选择含有所述载体的克隆的标志物的基因。实例包括质粒和细菌病毒,例如pUC18、pUC19、Bluescript(例如pBS SK+)和其衍生物、mpl8、mpl9、pBR322、pMB9、ColE1、pCR1、RP4、噬菌体DNA和穿梭载体(例如pSA3和pAT28)。这些和许多其他克隆载体可从商业供应商如BioRad、Stratagene和Invitrogen获得。

[0322] 表达载体通常是含有本公开的核酸的可复制的多核苷酸构建体。表达载体可作为游离基因或作为染色体DNA的组成部分在宿主细胞中复制。合适的表达载体包括(但不限于)质粒、病毒载体(包括腺病毒、腺相关病毒、逆转录病毒)和任何其他载体。

[0323] 用于克隆或表达如本文所阐述的多核苷酸或载体的合适的宿主细胞包括原核或真核细胞。在一些实施方案中,宿主细胞是原核的。在一些实施方案中,宿主细胞是真核的,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴样细胞。在一些实施方案中,宿主细胞是人类细胞,例如人类胚肾(HEK)细胞。

[0324] 在另一方面,提供了制备如本文所阐述的抗TREM2抗体的方法。在一些实施方案中,所述方法包括在适于表达所述抗体的条件下培养如本文所阐述的宿主细胞(例如表达如本文所阐述的多核苷酸或载体的宿主细胞)。在一些实施方案中,随后从宿主细胞(或宿主细胞培养基)回收所述抗体。

[0325] VII. 使用抗TREM2抗体的治疗方法

[0326] 在另一方面,提供了使用如本文所公开的抗TREM2抗体(例如,如上文部分III中所阐述的抗TREM2抗体)的治疗方法。在一些实施方案中,提供了治疗神经退行性疾病的方法。在一些实施方案中,提供了调节一种或多种TREM2活性(例如在患有神经退行性疾病的受试者中)的方法。

[0327] 在一些实施方案中,提供了治疗神经退行性疾病的方法。在一些实施方案中,神经退行性疾病选自以下组成的组:阿尔茨海默病、原发性年龄相关性tau蛋白病变、进行性核上性麻痹(PSP)、额颞叶痴呆、额颞叶痴呆伴与17号染色体相关的帕金森症、嗜银颗粒性痴呆、肌萎缩性侧索硬化、关岛型肌萎缩性侧索硬化/帕金森症-痴呆复合征(ALS-PDC)、皮质基底节变性、慢性创伤性脑病、克雅氏病、拳击手型痴呆、弥漫性神经原纤维缠结伴钙化、唐氏综合征、家族性英国型痴呆、家族性丹麦型痴呆、杰茨曼-斯脱司勒-史茵克病、球状胶质tau蛋白病变、瓜德罗普帕金森症伴痴呆、瓜德罗普PSP、哈勒沃登-施帕茨病、遗传性弥漫性脑白质病变合并轴索球样变(HDLS)、亨廷顿病、包涵体肌炎、多系统萎缩、强直性肌营养不良、Nasu-Hakola病、神经原纤维缠结优势型痴呆、C型尼曼-匹克病、苍白球-脑桥-黑质变性、帕金森病、匹克病、脑炎后帕金森症、朊病毒蛋白脑淀粉样血管病、进行性皮质下神经胶质增生、亚急性硬化性全脑炎和仅缠结型痴呆。在一些实施方案中,神经退行性疾病是阿尔茨海默病。在一些实施方案中,神经退行性疾病是Nasu-Hakola病。在一些实施方案中,神经退行性疾病是额颞叶痴呆。在一些实施方案中,神经退行性疾病是帕金森病。在一些实施方案中,所述方法包括向受试者施用特异性结合至人类TREM2蛋白的分离抗体或其抗原结合

片段(例如,如本文所阐述的抗TREM2抗体)或包含如本文所阐述的抗TREM2抗体的药物组合物。

[0328] 在一些实施方案中,如本文所阐述的抗TREM2抗体(或其抗原结合部分或药物组合物)用于治疗特征在于TREM2突变的神经退行性疾病。在一些实施方案中,特征在于TREM2突变的神经退行性疾病是阿尔茨海默病,例如特征在于TREM2中的R47H突变的阿尔茨海默病。

[0329] 在一些实施方案中,提供了调节受试者(例如患有神经退行性疾病的受试者)中的一种或多种TREM2活性的方法。在一些实施方案中,所述方法包括调节sTREM2的水平;调节与TREM2/DAP12信号传导复合物相互作用的激酶(例如Syk激酶)的募集或磷酸化;调节吞噬作用(例如对细胞碎片、淀粉样 β 颗粒等的吞噬作用);调节细胞迁移(例如骨髓细胞、巨噬细胞、小胶质细胞和疾病相关的小胶质细胞的迁移);和/或调节细胞分化(例如对于骨髓细胞、巨噬细胞、小胶质细胞和疾病相关的小胶质细胞)。在一些实施方案中,提供了增强患有神经退行性疾病的受试者中的一种或多种TREM2活性的方法。在一些实施方案中,提供了降低患有神经退行性疾病的受试者中的sTREM2水平的方法。在一些实施方案中,调节受试者中的一种或多种TREM2活性的方法包括向所述受试者施用特异性结合至人类TREM2蛋白的分离抗体或其抗原结合部分(例如,如本文所阐述的抗TREM2抗体)或包含如本文所阐述的抗TREM2抗体的药物组合物。

[0330] 在一些实施方案中,待治疗的受试者是人类,例如成人或儿童。

[0331] 在一些实施方案中,提供了减少患有神经退行性疾病的受试者中的斑块累积的方法。在一些实施方案中,所述方法包括向所述受试者施用如本文所阐述的抗体或药物组合物。在一些实施方案中,所述受试者患有阿尔茨海默病。在一些实施方案中,所述受试者是神经退行性疾病的动物模型(例如5XFAD或APP/PS1小鼠模型)。在一些实施方案中,通过淀粉样斑块成像和/或Tau成像,例如使用正电子发射断层摄影术(PET)扫描来测量斑块累积。在一些实施方案中,施用抗TREM2抗体使斑块累积与基线值(例如在施用抗TREM2抗体之前,受试者中的斑块累积水平)相比减少至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%。

[0332] 在一些实施方案中,以治疗有效量或剂量向受试者施用抗TREM2抗体。然而,剂量可根据若干种因素而变化,包括所选施用途径、组合物的制剂、患者反应、疾病的严重程度、受试者体重和处方医师的判断。剂量可根据个别患者的需要随时间增加或减少。在某些情况下,最初给予患者较低剂量,然后将其增加至患者可耐受的有效剂量。有效量的确定完全在本领域技术人员的能力范围内。

[0333] 如本文所阐述的抗TREM2抗体的施用途径可为口服、腹膜内、透皮、皮下、静脉内、肌内、鞘内、吸入、经局部、病灶内、经直肠、支气管内、经鼻、透粘膜、经肠、经眼或经耳递送,或本领域中已知的任何其他方法。在一些实施方案中,口服、静脉内或腹膜内施用所述抗体。

[0334] 在一些实施方案中,将抗TREM2抗体(和任选地另一种治疗剂)在延长时间段内施用给受试者,例如达至少30天、40天、50天、60天、70天、80天、90天、100天、150天、200天、250天、300天、350天或更长时间。

[0335] VIII. 药物组合物和药盒

[0336] 在另一方面,提供了包含特异性结合至人类TREM2蛋白的抗体的药物组合物和药

盒。在一些实施方案中,所述药物组合物和药盒用于治疗神经退行性疾病。在一些实施方案中,所述药物组合物和药盒用于调节(例如增强或抑制)一种或多种TREM2活性,例如Syk磷酸化。在一些实施方案中,所述药物组合物和药盒用于调节(例如降低)sTREM2水平。

[0337] 药物组合物

[0338] 在一些实施方案中,提供了包含抗TREM2抗体或其抗原结合片段的药物组合物。在一些实施方案中,抗TREM2抗体是如上文部分III中所阐述的抗体或其抗原结合片段。

[0339] 在一些实施方案中,药物组合物包含如本文所阐述的抗TREM2抗体,并且还包含一种或多种药学上可接受的载剂和/或赋形剂。药学上可接受的载剂包括在生理学上相容并且不会干扰或以其他方式抑制活性剂活性的任何溶剂、分散介质或包衣。本领域中众所周知各种药学上可接受的赋形剂。

[0340] 在一些实施方案中,载剂适于静脉内、肌肉、口服、腹膜内、鞘内、透皮、局部或皮下施用。药学上可接受的载剂可含有一种或多种用于例如稳定组合物或增加或降低活性剂吸收的生理学上可接受的化合物。生理学上可接受的化合物可包括例如碳水化合物,例如葡萄糖、蔗糖或葡聚糖;抗氧化剂,例如抗坏血酸或谷胱甘肽;螯合剂;低分子量蛋白质;降低活性剂的清除或水解的组合物;或赋形剂或其他稳定剂和/或缓冲剂。其他药学上可接受的载剂和其制剂是本领域中众所周知的。

[0341] 本文所阐述的药物组合物可以本领域技术人员已知的方式来制造,例如借助于常规混合、溶解、造粒、糖衣丸制造、乳化、囊封、包埋或冻干工艺。以下方法和赋形剂仅为示例性的并且决不具有限制性。

[0342] 对于口服施用,可通过将抗TREM2抗体与本领域中众所周知的药学上可接受的载剂组合进行配制。此类载剂使得能够将化合物配制为片剂、丸剂、糖衣丸、胶囊、乳液、亲脂性和亲水性悬浮液、液体、凝胶、糖浆、浆液、悬浮液等,以供待治疗的患者口服摄取。用于口服使用的药物制剂可通过以下方式来获得:将化合物与固体赋形剂混合,任选地研磨所得混合物,并且在添加合适的辅助剂(在需要时)后处理颗粒混合物以获得片剂或糖衣丸核心。合适的赋形剂包括例如填充剂,例如糖,包括乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨糖醇;纤维素制剂,例如玉米淀粉、小麦淀粉、大米淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠;和/或聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。在需要时,可添加崩解剂,例如交联聚乙烯吡咯烷酮、琼脂或海藻酸或其盐如海藻酸钠。

[0343] 抗TREM2抗体可经配制以用于通过注射肠胃外施用,例如通过团注或连续输注。对于注射,可通过将一种或多种化合物溶解、悬浮或乳化于水性或非水性溶剂(例如植物油或其他相似油、合成脂肪族酸甘油酯、高级脂肪族酸或丙二醇的酯)中将其配制成制剂;并且在需要时,与例如增溶剂、等渗剂、悬浮剂、乳化剂、稳定剂和防腐剂的常规添加剂一起配制。在一些实施方案中,可将化合物配制于水溶液中,例如配制于生理学上相容的缓冲液中,例如汉克氏溶液(Hanks's solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)或生理盐水缓冲液。注射用制剂可以单位剂型(例如于安瓿中或于多剂量容器中)呈递,并且添加防腐剂。组合物可呈例如于油性或水性媒介物中的悬浮液、溶液或乳液的形式,并且可含有例如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂的配制剂。

[0344] 通常,用于体内施用的药物组合物是无菌的。可根据本领域中已知的方法来实现灭菌,例如热灭菌、蒸汽灭菌、无菌过滤或辐照。

[0345] 本公开的药物组合物的剂量和期望药物浓度可根据所设想的特定用途而变化。适当剂量或施用途径的确定完全在本领域技术人员的技能范围内。上文部分VII中还阐述了合适的剂量。

[0346] 药盒

[0347] 在一些实施方案中,提供了包含抗TREM2抗体的药盒。在一些实施方案中,抗TREM2抗体是如上文部分III中所阐述的抗体或其抗原结合片段。

[0348] 在一些实施方案中,药盒还包含一种或多种额外治疗剂。例如,在一些实施方案中,药盒包含如本文所阐述的抗TREM2抗体,并且还包含一种或多种用于治疗神经退行性疾病(例如阿尔茨海默病)的额外治疗剂。在一些实施方案中,治疗剂是用于治疗神经退行性疾病的认知或行为症状的剂(例如抗抑郁药、多巴胺激动剂或抗精神病药)。在一些实施方案中,治疗剂是神经保护剂(例如卡比多巴(carbidopa)/左旋多巴(levodopa)、抗胆碱能剂、多巴胺能剂、单胺氧化酶B(MAO-B)抑制剂、儿茶酚-O-甲基转移酶(COMT)抑制剂、谷氨酸能剂、组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂、大麻素、半胱天冬酶抑制剂、褪黑激素、抗炎剂、激素(例如雌激素或黄体酮)或维生素)。

[0349] 在一些实施方案中,药盒包含如本文所阐述的抗TREM2抗体,并且还包含一种或多种用于测量sTREM2水平的试剂。在一些实施方案中,药盒包含如本文所阐述的抗TREM2抗体,并且还包含一种或多种用于测量TREM2活性(例如用于测量Syk磷酸化)的试剂。

[0350] 在一些实施方案中,药盒还包含指导性材料,所述指导性材料含有用于实践本文所阐述方法的说明(即方案)(例如使用所述药盒用于如上文部分VI中所阐述的治疗方法的说明书)。尽管指导性材料通常包含书面或印刷材料,但它们并不限于此。本公开考虑能够存储此类说明书并将其传达给最终用户的任何媒体。此类媒体包括(但不限于)电子存储媒体(例如磁盘、磁带、盒式磁带、芯片)、光学媒体(例如CD-ROM)等。此类媒体可包括提供此类指导性材料的互联网站的地址。

[0351] IX. 实施例

[0352] 本公开将借助于具体实施例更详细地阐述。以下实施例仅出于说明性目的提供,而不旨在以任何方式限制本公开。

[0353] 实施例1. 抗TREM2抗体的产生和初始表征

[0354] 小鼠Fc融合人类TREM2 ECD的重组表达和纯化

[0355] 将人类TREM2(UniProtKB ID-Q9NZC2)的胞外域(残基19-172)与在N末端区的来自小鼠IgG κ 链V-III的分泌信号氨基酸1-20(UniProtKB ID-P01661)和在C末端区的小鼠Fc标签以及TREM2 ECD与Fc之间的GGGGS(SEQ ID NO:34)一起亚克隆到pRK载体中。

[0356] 使用Expi293FTM表达系统试剂盒,根据制造商的说明书将经纯化的质粒转染到Expi293FTM细胞(Thermo Fisher)中。为抑制N-连接聚糖的成熟并减少糖基化异质性,在转染后立即将高甘露糖苷酶I抑制剂基福尼辛(kifunensine)(Sigma)以1 μ g/mL的浓度添加到培养物中。使转染细胞在定轨振荡器(Infors HT Multitron)中在125rpm和37 $^{\circ}$ C下于6% CO₂的加湿气氛中温育。转染后16小时,将ExpiFectamineTM293转染增强剂1和2添加到细胞,并且在转染后96小时收获培养基上清液。向澄清的上清液中补充无EDTA的蛋白酶抑制剂(Roche)并储存在-80 $^{\circ}$ C下。

[0357] 对于rhTREM2-Fc分离,将澄清的培养基上清液加载到HiTrap MabSelect SuRe蛋

白质A亲和柱(GE Healthcare Life Sciences)上,并用200mM精氨酸和137mM琥珀酸盐缓冲液pH 5.0洗涤。融合蛋白在100mM QB柠檬酸盐缓冲液pH 3.0和50mM NaCl中洗脱。洗脱后,立即将1M Tris-HCl缓冲液pH 8.0添加到蛋白质溶液中以中和pH。在Superdex 200increase 10/300GL柱(GE Healthcare Life Sciences)上通过尺寸排阻色谱法(SEC)分离蛋白质聚集体。SEC流动相缓冲液保持为20mM Tris-HCl pH 8.0、100mM NaCl和50mM精氨酸,其也是蛋白质储存缓冲液。所有色谱步骤均在AKTA pure或AKTA Avant系统(GE Healthcare Life Sciences)上实施。

[0358] 带His标签的TREM2 ECD的重组表达和纯化

[0359] 将TREM2(UniProtKB-Q9NZC2)的胞外域(残基19-172)与在N末端区的来自小鼠Igκ链V-III的分泌信号氨基酸1-20(UniProtKB ID-P01661)和在C末端区的6X-His标签(SEQ ID NO:35)一起亚克隆于pRK载体中。通过测序验证插入物并实施maxi prep质粒纯化。

[0360] 使用Expi293FTM表达系统试剂盒,根据制造商的说明书将经纯化的质粒转染到Expi293FTM细胞(Thermo Fisher)中。使转染细胞在定轨振荡器(Infors HT Multitron)中在125rpm和37℃下于6%CO₂的加湿气氛中温育。转染后16小时,将ExpiFectamineTM293转染增强剂1和2添加到细胞,并且在转染后96小时收获培养基上清液。

[0361] 向收获的培养基中补充1M咪唑pH 8.0至最终浓度为10mM,并使用孔径为0.4微米的NalgeneTMRapid-FlowTM一次性过滤器单元(Thermo Fisher)进行过滤。将HisPurTMNi-NTA树脂(Thermo Fisher)用MQ水洗涤并用加载缓冲液(20mM Tris pH 8.0、150mM NaCl和10mM咪唑)平衡。使用重力流方法实施亲和纯化。将收获的培养基加载到树脂上,并用补充有50mM和100mM咪唑的加载缓冲液洗涤非特异性结合的蛋白质。用20mM Tris pH 8.0、150mM NaCl和200mM咪唑洗脱结合的带His标签的TREM2胞外域。使用Amicon 10kDa浓缩器浓缩所洗脱的蛋白质,并使用AKTA Avant系统(GE Healthcare Life Sciences)通过凝胶过滤色谱法对所浓缩的蛋白质进行进一步纯化。将蛋白质加载到用1x PBS平衡的HiLoad Superdex 200 16/600(GE Healthcare Life Sciences)柱上,并使用1x PBS作为运行缓冲液进行洗脱和分级分离。在变性和天然条件下,通过聚丙烯酰胺(PAGE)凝胶电泳分析所洗脱级分。通过分析型尺寸排阻色谱法和完整蛋白质质量测定进一步表征所洗脱级分。使用来自PAGE和分析型表征的结果来汇集高度糖基化的蛋白质级分,并将这些蛋白质级分等分并储存在-80℃下。

[0362] 抗体的产生

[0363] 使用标准方案,利用rhTREM2-Fc免疫原或表达全长Trem2受体的BWZ细胞对啮齿类动物(小鼠和大鼠)实施免疫。使用在不同时间点收集的血清,在整个免疫过程中测量滴度。使用流式细胞术,利用rhTREM2-Fc免疫原和表达全长TREM2的BWZ活细胞实施对抗原特异性免疫反应的检测。候选抗体的选择标准包括如通过流式细胞术所检测的啮齿类动物抗体产生和与TREM2结合的特异性。从动物免疫组织(包括脾、淋巴结和骨髓)中分离出抗体分泌细胞。

[0364] 对单细胞悬浮液进行分析以确定所分泌抗体的结合性质。将抗体分泌细胞加载到微流体装置中并在纳升体积反应室中分离,以使得能够使用基于荧光和明场图像的显微镜术测定来检测所分泌抗体(例如,参见美国专利第9,188,593号)。实施涉及检测抗体与抗原包被微珠粒的结合、检测荧光标记的可溶性抗原与珠粒上所固定抗体的结合以及检测抗体

与细胞表面表达抗原的结合的结合测定。细胞表面表达的抗原包括细胞表面上所呈递抗原的重组形式和天然形式二者。

[0365] 使用图像分析来鉴定展现阳性荧光信号的室,这指示存在产生具有期望性质的抗体的单细胞,并且回收室的内容物并在384孔板中溶解(例如,参见美国专利第10,087,408号)。然后使单细胞溶解物经受RT-PCR,以扩增重链和轻链可变区序列。然后对所得扩增子进行测序以确定来自所选单细胞的成对重链和轻链可变区的cDNA序列。人工检查所得序列并分析,以确定序列多样性和体细胞超突变。基于筛选数据和序列多样性选择表达序列。测试表达的抗体以证实抗原结合特异性。

[0366] 实施例2.抗TREM2抗体的序列优化和人源化

[0367] 对示例性抗TREM2抗体进行序列优化和人源化,接着表征结合动力学和结合特异性。

[0368] 通过在CDR序列内搜索易于化学修饰的残基(例如天冬酰胺脱酰氨基序(NG)、天冬氨酸异构化基序(DS)和潜在氧化残基(色氨酸(W)和甲硫氨酸(M))并用保守和种系残基进行氨基酸取代以消除此类序列不利因素来进行序列优化。然后使用Biacore和剂量滴定细胞结合来分析抗TREM2抗体的人源化且序列优化的变体与HEK293-H6细胞的结合动力学(关于代表性方案,参见实施例5)。

[0369] 实施例3.产生具有经修饰的Fc多肽的抗TREM2抗体(“ATV:TREM2”)

[0370] 将人源化的亲和力成熟抗TREM2抗体的Fd(V_H +CH1)区(SEQ ID NOS:22和24)克隆到表达载体中,所述表达载体包含编码经工程化以结合至人类转铁蛋白受体(TfR)的Fc多肽(CH3C.35.23.1.1、CH3C.35.23.3、CH3C.35.23.3cisLALA或CH3C.35.24)的序列或编码结合至食蟹猴转铁蛋白受体的Fc多肽(CH3C.35.21)的序列。Fc多肽编码序列还含有“杵”(T366W)突变以防止同二聚化并促进与包含“臼”(T366S/L368A/Y407V)突变的Fc多肽异二聚化。还将Fd区克隆到相应“臼”载体中,所述载体包含编码含有臼突变但缺少TfR结合突变的Fc多肽的序列。编码序列(Fd-杵-Fc和Fd-臼-Fc构建体二者)还含有铰链区“LALA”(L234A;L235A)突变以降低效应功能(Wines等人,J.Immunol.164:5313-5318(2000)和FcCH3区“LS”(M428L;N434S)突变以增加与FcRn的结合(例如,参见Zallevsky等人,Nat.Biotech.28(2):157-159(2010))。由载体表达的最终编码的重链序列在表1中列出。

[0371] 表1.ATV:TREM2序列

ATV:TREM2	第一重链	第二重链
#1	SEQ ID NO:42	SEQ ID NO:53
#2	SEQ ID NO:45	SEQ ID NO:53
#3	SEQ ID NO:48	SEQ ID NO:53
#4	SEQ ID NO:48	SEQ ID NO:52
#5	SEQ ID NO:51	SEQ ID NO:53

[0373] 将上文所提及的相应杵臼载体连同相应轻链载体(SEQ ID NO:54)一起以1:1:2的杵:臼:轻链比率共转染到ExpiCHO或Expi293细胞中。通过蛋白质A色谱法、接着制备型尺寸排阻色谱法(SEC)纯化表达的蛋白质以分离经纯化的抗TREM2蛋白。

[0374] 如下测定抗TREM2蛋白与人类转铁蛋白受体的结合:使抗人类Fab固定在CM5芯片上,并且捕获抗TREM2蛋白。使连续稀释(例如浓度为1-1,000nM)的全长人类TfR或人类TfR

顶端结构域流经所述芯片(180秒缔合时间),然后使其解离。使用1:1结合模型实施拟合。

[0375] 实施例4.抗TREM2抗体的表征

[0376] 以下部分阐述为评估所产生的抗TREM2抗体的结合和功能特性所进行的各种测定。

[0377] 通过Biacore动力学测量进行亲和力测量

[0378] 使用表面等离子体共振(Biacore™8K仪器)测量抗TREM2抗体对人类和食蟹猴TREM2 ECD的亲和力。使用人类Fab捕获试剂盒(GE Healthcare Life Sciences,目录号28958325)在Biacore Series S CM5传感器芯片(GE Healthcare Life Sciences,目录号29149604)上捕获抗TREM2抗体。以30 μ L/min的流量注射重组人类或食蟹猴TREM2的3倍连续稀释液。监测抗体结合300秒,接着在HBS-EP+运行缓冲液(GE Healthcare Life Sciences,目录号BR100669)中监测抗体解离600+秒。通过从空白流动槽减去RU值来校正结合反应。使用同时拟合 k_{on} 和 k_{off} 的1:1Langmuir模型进行动力学分析。从 k_{on} 和 k_{off} 计算 K_D 结合值。

[0379] 在表达TREM2的HEK细胞中评价TREM2结合

[0380] 如下在表达人类TREM2的HEK 293细胞中评价抗TREM2抗体的结合特性。

[0381] 通过用分别表达野生型人类TREM2和DAP12以及单独DAP12的载体转染细胞来产生稳定表达人类TREM2/DAP12的HEK 293细胞系。选择稳定表达克隆,并且通过流式细胞术评价细胞表面TREM2表达。使用APC缀合的大鼠抗人类/小鼠-TREM2单克隆抗体(R&D,目录号MAB17291)来检测表面TREM2表达。选择显示最高野生型TREM2表达水平的克隆并命名为“HEK293-H6”。通过蛋白质印迹分析稳定表达DAP12的克隆,并且将所选择的克隆命名为“HEK293-DAP12#1”。

[0382] 通过0.05%胰蛋白酶收获过表达人类TREM2的HEK 293(HEK293-H6)和过表达GFP的HEK 293(B5),并在37℃下温育2小时。温育后,将细胞离心并在FACS缓冲液(PBS+0.5%BSA)中洗涤两次。使混合细胞以每个细胞系 10^6 /mL的密度重悬于含有人类Trustain FcX溶液(Biolegend,目录号422302)的FACS缓冲液中。将混合细胞系以200,000个细胞/孔接种于96孔圆底板中并在室温下温育20分钟。温育后,将细胞离心并与剂量滴定的抗TREM2抗体一起在冰上温育45分钟。温育后,将细胞离心并用FACS缓冲液洗涤三次。然后使细胞与二级抗体(Alexa Fluor 647AffiniPure F(ab')₂片段山羊抗人类IgG(H+L),Jackson ImmunoResearch Laboratories,目录号109-606-088,1:800稀释)一起在冰上温育30分钟。温育后,将细胞用FACS缓冲液洗涤三次,重悬于100 μ L FACS缓冲液中,并通过流式细胞术(BD FACSCanto II, San Jose, CA)进行分析,每个样品获得30,000个事件。通过FlowJo软件计算每细胞的平均荧光强度,并使用其生成剂量反应结合曲线。

[0383] TREM2依赖性pSyk信号传导的激活

[0384] 使用来自Perkin-Elmer的市售AlphaLisa测定,在人类巨噬细胞中或HEK293-H6细胞中测量TREM2依赖性pSyk信号传导的激活。

[0385] 对于涉及使用含有70%DOPC和30%POPS的脂质囊泡的所有实验,在实验的两周内如下制备脂质囊泡:在玻璃小瓶中将7mg DOPC(1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱)和3mg POPS(1-棕榈酰基-2-油酰基-sn-甘油-3-磷酸-L-丝氨酸)组合于氯仿中并在N₂气流下干燥1-2小时,或直至完全干燥为止。使脂质混合物重悬于1mL HBSS(最终脂质浓度为约10mg/mL)中并涡旋2-3分钟。随后,使用构建有一个100-nm孔径膜的Avanti微型挤出机挤出脂质

悬浮液,以在10mg/mL下形成小的单层囊泡。

[0386] 1.在细胞中给与抗体

[0387] 在测定前一天,将人类巨噬细胞或HEK293-H6细胞分别以100,000个细胞/孔或40,000个细胞/孔平铺在包被有聚-D-赖氨酸的96孔板中。抗体以10点连续稀释进行稀释至PBS中,其中各点间3倍稀释。对于拮抗剂剂量-反应曲线,抗体/PBS混合物中还包括最终浓度为1mg/mL的含有70%DOPC和30%POPS的脂质囊泡。使用Biotek 405/406洗板机将细胞用HBSS洗涤3次,之后使用Hamilton Nimbus液体处置器添加50μL/孔的抗体/PBS(含有或不含有囊泡)溶液。然后将细胞板转移到37℃温育器中持续5分钟。通过轻轻弹击板去除脂质体/抗体溶液,并且使用液体处置器添加40μL含有1μM PMSF的溶解缓冲液(Cell Signaling Technologies,CST)。然后使溶解物冷冻在-80℃下或立即在AlphaLisa测定中进行测定。

[0388] 如下制备用于测定的人类巨噬细胞。遵循RosetteSep人类单核细胞富集混合剂方案(Stemcell Technologies,参考#15068)从新鲜血液分离出人类单核细胞。将所分离出的单核细胞在洗涤缓冲液(PBS+2%FBS)中洗涤并重悬于10mL ACK溶解缓冲液(ThermoFisher Scientific,目录号A10492)中以使红细胞溶解。添加二十(20)mL洗涤缓冲液以停止细胞溶解,并且将样品离心并用培养基(RPMI,10%Hyclone FBS、1%丙酮酸钠、1%Glutamax、1%非必需氨基酸和1%青霉素-链霉素)再洗涤一次。然后在250-mL烧瓶中使人类单核细胞在培养基中在50ng/mL人类重组M-CSF(Gibco,目录号PHC9501)存在下分化成巨噬细胞。在第3天掺入新鲜人类M-CSF,并且随后在第5天收获人类巨噬细胞并用于测定。

[0389] 2.AlphaLisa测定

[0390] 使用Perkin Elmer pSyk AlphaLisa试剂盒的标准方案测定细胞溶解物中的pSyk。简言之,将10μL溶解物/孔转移到白色不透明384孔Optiplate(Perkin Elmer)中。接下来,向每孔中添加5μL受体混合物(含有受体珠粒的工作溶液),接着用箔封条将板密封并在室温下温育1小时。随后,在弱光条件下将5μL供体混合物(含有供体珠粒的工作溶液)添加到每孔中。将板再次密封并在室温下温育1小时。最后,使用Perkin Elmer EnVision读板器上的AlphaLisa设置读板。

[0391] 人类巨噬细胞中的存活测定

[0392] 遵循RosetteSep人类单核细胞富集混合剂方案(Stemcell Technologies,目录号15068)分离出人类单核细胞。将所分离出的单核细胞在洗涤缓冲液(PBS+2%FBS)中洗涤并重悬于10mL ACK溶解溶液(ThermoFisher Scientific,目录号A10492)中以使红细胞溶解。添加二十(20)mL洗涤缓冲液以停止溶解。将细胞悬浮液离心并用培养基(RPMI 1640+10%FBS+青霉素/链霉素)洗涤一次。使细胞以 10^6 个细胞μL/mL的密度重悬于培养基中并用于下文所阐述的存活测定中。

[0393] 在测定前一天,使96孔板预包被有剂量滴定的抗TREM2抗体或同种型对照(45μL/孔,总计12个点),并在4℃下温育过夜。在过夜温育后,将预包被板用PBS洗涤两次,然后在低浓度的人类M-CSF(5ng/mL,Gibco,目录号PHC9501)存在下加载人类单核细胞(10^5 个细胞/孔)。在37℃下5天后,吸出培养基,并且将100μL PBS+100μL Celltiter-glo培养基(Promega,目录号G7571)添加到每个孔中。温育10分钟后,将细胞培养基转移到适合于使用光度计的多孔板中,并记录细胞活力的发光。

[0394] 脂质储存测定

[0395] 在测定前,使用市售试剂盒(来自StemCell Technologies的STEMdiff造血试剂盒)使所诱导的人类多能干细胞(iPSC)首先分化成造血祖细胞(HPC)。将HPC转移到含有原代人类星状细胞的板中并共培养14-21天。在共培养中的漂浮细胞主要鉴定为成熟小胶质细胞(>80%)后,使用所述小胶质细胞进行测定。

[0396] 将细胞(iPSC源性人类小胶质细胞,30,000个细胞/孔)平铺在PDL包被的96孔板上的全血清培养基中。在37℃下24小时后,将培养基换成含有油酸-白蛋白(10μM或33μM最终浓度,Sigma 03008)或经纯化的未经标记的髓鞘质(50μg/mL最终浓度,使用Safaiyan等人(2016,Nature Neuroscience 19(8):995-998)中所阐述的方法,从野生型C57Bl/6小鼠脑(Jackson Laboratories)纯化)的全血清培养基。在37℃下脂质处理24小时后,将培养基换成含有抗TREM2抗体的培养基。对于单点实验,所用抗TREM2-抗体浓度为100nM。对于剂量-反应曲线,将含有100nM抗TREM2抗体的培养基3倍连续稀释,总计10个点。使用RSV作为对照。如下文所阐述,使细胞在37℃下再温育48小时,之后使用Bodipy染色剂使细胞成像,或提取细胞用于脂质体学。

[0397] 为进行Bodipy成像,取出上清液,并且使细胞在37℃下在含有1:2500的1mg/mL Bodipy 493/503于DMSO中的溶液(Thermo-Fisher D3922)和1滴/mL Nucblue (ThermoFisher,目录号R37605)的活细胞成像缓冲液(Life Technologies,目录号A14291DJ)中温育30分钟。温育期后,去除染色溶液,并且对细胞进行活体成像或固定在4%多聚甲醛中。使用Opera Phoenix高内涵共焦成像仪上的针对Bodipy的Alexa 488通道以及DAPI照明设置对细胞进行成像。使用与所述仪器一起提供的Harmony软件上的斑点查找算法分析脂质斑点。

[0398] 对于脂质组学分析,使细胞在冰上保持的同时用PBS洗涤一次。将70μL体积的含有1:100内标准品的9:1甲醇:水溶液添加到96孔板中的细胞。使板在振荡器上在4℃和1200rpm下搅动20分钟,然后以300xg离心5分钟。将50μL上清液样品转移到LCMS小瓶中并保持在-80℃下直至在仪器上进行分析。

[0399] 通过与电喷雾质谱(QTRAP 6500+,Sciex,Framingham,MA,USA)耦合的液相色谱法(Shimadzu Nexera X2系统,Shimadzu Scientific Instrument,Columbia,MD,USA)分析脂质水平。对于每个分析,在55℃下使用0.25mL/min的流量将5μL样品注射在BEH C18 1.7μm,2.1×100mm柱(Waters Corporation,Milford,Massachusetts,USA)上。对于正电离模式,流动相A由含有10mM甲酸铵+0.1%甲酸的60:40乙腈/水(v/v)组成;流动相B由含有10mM甲酸铵+0.1%甲酸的90:10异丙醇/乙腈(v/v)组成。对于负电离模式,流动相A由含有10mM乙酸铵的60:40乙腈/水(v/v)组成;流动相B是由含有10mM乙酸铵的90:10异丙醇/乙腈(v/v)组成。梯度编程如下:0.0-8.0min为45%B至99%B,8.0-9.0min在99%B下,9.0-9.1min至45%B,并且9.1-10.0min在45%B下。应用以下设置以正或负离子模式实施电喷雾电离:气帘气为30;碰撞气体设置为中等;离子喷雾电压为5500(正模式)或4500(负模式);温度为250℃(正模式)或600℃(负模式);离子源气体1为50;离子源气体2为60。使用Analyst 1.6.3(Sciex)以多反应监测模式(MRM)实施数据采集,其中参数为以下:驻留时间(msec)和碰撞能量(CE);去簇电位(DP)为80;入口电位(EP)为10(正模式)或-10(负模式),并且碰撞室出口电位(CXP)为12.5(正模式)或-12.5(负模式)。使用非内源性内标准品混合物对脂质进行量化。基于保留时间和市售参考标准品(Avanti Polar Lipids,Birmingham,AL,USA)

的MRM性质来鉴定脂质。

[0400] TREM2依赖性mTOR信号传导的激活

[0401] 培养野生型iPSC源性人类小胶质细胞,并用抗TREM2抗体(100nM最终浓度)和DMSO或市售mTOR抑制剂(Selleckchem,目录号AZD8055,20nM最终浓度)处理96小时。随后使经处理的细胞溶解,并且制备细胞溶解物用于蛋白质印迹,以研究mTOR通路中的主要信号传导靶标的磷酸化。用于蛋白质印迹的一级抗体是从Cell Signaling Technologies获得:(1)磷酸-mTOR(Ser2448),产品号5536T;(2)mTOR(7C10),产品号2983T;(3)磷酸-AKT(Ser473),产品号9271T;(3)磷酸-GSK-3 β (Ser9),产品号5558T;(4)磷酸-S6核糖体蛋白(S235/236),产品号4858T;(5)磷酸-4E-BP1(Thr37/46),产品号2855T;(6) β -肌动蛋白,产品号58169S。

[0402] 实施例5.结果

[0403] 抗体CL0020188的人源化且序列优化的变体的结合特性分析结果提供于表2和图1A至图1H中。对CL0020188 CDR-H2序列(SEQ ID NO:5)和CDR-L1序列(SEQ ID NO:7)中的NG基序进行修饰,移植至人类框架区上并进行分析。表2提供了在HEK293-H6细胞中如通过Biacore所测量的 K_D 值和如通过剂量滴定结合测定所测量的 EC_{50} 值。图1A至图1H包括人源化且序列优化的变体与HEK293-H6细胞所表达的TREM2结合的代表性剂量-反应曲线。变体由实心黑色圆圈(●)表示,而同种型对照由空心白色圆圈(°)表示。

[0404] 表2.CL0020188的序列优化且人源化变体的结合特性

[0405]

克隆	hV _H	hV _L	K_D	EC_{50}
CL0020188-1	NG/移植物	NG/移植物	2.3nM	0.42nM
CL0020188-2	NG/3m	NG/移植物	3.4nM	0.26nM
CL0020188-3	NG/移植物	TG/移植物	6.8nM	0.64nM
CL0020188-4	NG/3m	TG/移植物	4.8nM	0.44nM
CL0020188-5	NA/移植物	NG/移植物	5.1nM	0.45nM
CL0020188-6	NA/3m	NG/移植物	4.0nM	0.31nM
CL0020188-7	NA/移植物	TG/移植物	10nM	0.68nM
CL0020188-8	NA/3m	TG/移植物	7.3nM	0.51nM
亲代			9.5nM	0.44nM

[0406] 3m=V_H中的A24G/L45P/V48L

[0407] 如表2中所说明,如通过Biacore所测量,CL0020188的人源化且序列优化的克隆与亲代抗体($K_D=9.5nM$)相比展现相似的对hTREM2的亲合力值。这与表1中所说明的HEK293-H6细胞中的细胞结合结果一致,其中相应剂量-反应曲线提供于图1A至图1H中。与亲代抗体($EC_{50}=0.44nM$)相比,人源化且序列优化的克隆对HEK293-H6细胞中所表达的TREM2展现相当的亚纳摩尔的亲合力。综上所述,所述结果指示亲代抗体与人源化且序列优化的变体之间的结合动力学相当。

[0408] 实施例3中所阐述的ATV:TREM2变体的结果汇总于下表3中。图2中图解说明基于与表达人类TREM2的HEK细胞的结合和通过FACS分析的示例性细胞结合曲线。

[0409] 表3.ATV:TREM2特性的汇总

ATV:TREM2	Biacore K _D (nM)			EC ₅₀ (nM)
	人类 TREM2	食蟹猴 TREM2	人类 TIR	人类 TREM2 HEK
[0410] #1	TBD	TBD	TBD	TBD
#2	5.4	2.4	650	4.9
#3	3.0	2.2	1400	4.6
#4	2.0	2.2	TBD	TBD
#5	5.7	2.4	620	3.6

[0411] TBD=待测定

[0412] 还评估了抗体在HEK-H6细胞中的TREM2依赖性pSyk信号传导、促进人类巨噬细胞存活的能力和调节iPSC源性人类小胶质细胞(下文中称为“iPSC小胶质细胞”或“iMG”)中的脂质累积的能力。图3图解说明ATV:TREM2变体(ATV:TREM2#3)和相应抗TREM2抗体的结果。ATV:TREM2能够相较于相应TREM2抗体使表达TREM2的HEK293-H6细胞中的pSyk信号传导激活至显著更大的程度,表明向分子添加ATV可增加其效力(图3)。另外,ATV:TREM2诱导巨噬细胞存活,其中EC₅₀为4.1±0.3nM。最后,抗TREM2抗体展示降低髓鞘质处理的iMG中的脂质累积的能力(图4A和图4B),其中抑制脂质储存的IC₅₀为0.20nM(97.7±0.3%最大抑制)。

[0413] 实施额外研究,以研究ATV:TREM2减少脂质累积的能力。图5A至图5F和图6A至图6C显示,代表性ATV:TREM2变体(ATV:TREM2#3)减少脂质累积,同时增强脂肪酸氧化中间体,表明ATV:TREM2在增强线粒体功能中的潜在作用。如通过Bodipy染色所图解说明,用油酸脂质攻击(33μM)处理的细胞(iMG)在与ATV:TREM2一起温育后能够减少脂质累积(图5A和图5B)。用髓鞘质处理24小时的iMG在与ATV:TREM2一起温育48小时后的LCMS分析指示,ATV:TREM2减少甘油三酯(TG)物质,同时伴随增加β-氧化中间体(酰基肉碱)和TCA循环中间体(图5C至图5F)。图5C提供热图,其显示所呈现的倍数变化>1.5(p<0.05)的所有TG、酰基肉碱和TCA循环中间体物质,而图5D至图5F图解说明在攻击后与ATV:TREM2或同种型对照一起温育的媒介物和髓鞘质攻击的iMG中的代表性物质的变化。图6A至图6C图解说明在髓鞘质攻击后与ATV:TREM2或同种型对照一起温育的iMG中的特定TG、酰基肉碱和TCA循环中间体物质的变化。如图6A至图6C中所绘示,ATV:TREM2减少所有TG和神经酰胺物质,同时增加某些短链酰基肉碱物质,这表明ATV:TREM2可增强线粒体功能。

[0414] 小胶质细胞增殖与mTOR信号激活和接合相关。因此,探索ATV:TREM2在下游mTOR通路信号传导中的作用。通过蛋白质印迹分析在存在和不存在mTOR抑制剂的情形下与代表性ATV:TREM2变体(ATV:TREM2#3)一起温育的野生型iPSC小胶质细胞中的mTOR信号通路靶标的磷酸化状态。图7A图解说明mTOR信号通路靶标的代表性蛋白质印迹图像。对蛋白质印迹数据的量化提供于图7B至图7E中(磷酸化水平相对于β-肌动蛋白加载对照进行归一化)。对于每个独立实验(n=6),将每个ATV:TREM2处理样品的磷酸化水平与同种型抗体对照处理样品进行比较。结果显示,ATV:TREM2激活mTOR通路信号传导,如相对于同种型对照,在ATV:TREM2处理的样品中,mTOR在丝氨酸²⁴⁸⁸处、AKT在丝氨酸⁴⁷³处、核糖体蛋白S6(RPS6)在丝氨酸^{235/236}处和GSK3b在丝氨酸⁹处的磷酸化水平增加所证明(图7B至图7E;统计概要:“ns”(p>0.05);“*”(p<0.01);“**”(p<0.001))。RPS6是mTORC1复合物下游的信号靶标,并且GSK3b是mTORC2复合物下游的信号靶标。对于图5A至图7E中所生成的所有数据,ATV:TREM2#3的同种型对照(“ISO”)含有表5中所提供的序列。

[0415] 实施例6. ATV:TREM2溶酶体功能障碍中的作用

[0416] 研究了ATV:TREM2在溶酶体功能中的作用。为评估对溶酶体功能的影响,在用ATV:TREM2变体处理的iPSC源性小胶质细胞(“iMG”)中测量颗粒蛋白前体(PGRN)和双(单酰基甘油)磷酸酯(BMP)的水平。

[0417] 为评价ATV:TREM2对PGRN水平的影响,将iMG以30,000个细胞/孔的密度平铺在96孔板中,并与ATV:TREM2#3(100nM)一起温育72小时,之后收集细胞上清液和细胞溶解物并使用比色夹心式ELISA分析颗粒蛋白前体(PGRN)水平。

[0418] 为测量PGRN水平,将Thermo Scientific 384孔Maxisorp板用稀释于磷酸盐缓冲盐水(PBS)中的4 μ g/mL捕获抗体(来自DuoSet ELISA试剂盒的R&D抗PGRN抗体,目录号DY2420)包被并在4 $^{\circ}$ C下温育过夜。利用于PBS中的3%BSA将样品孔封闭90分钟。将细胞样品以1:10稀释于PBS中的3%BSA中并添加到板上的每个样品孔中,接着在室温下温育90分钟。随后将稀释至125ng/mL的检测抗体(来自DuoSet ELISA试剂盒的R&D抗PGRN抗体,目录号DY2420)添加到每个样品孔中,并且使板在室温下温育90分钟。最后,将HRP缀合的链霉亲和素(来自DuoSet ELISA试剂盒的R&D SA-HRP,目录号DY2420)以1:200稀释并添加到每个样品孔中。使板在室温下温育20分钟。在用PBS洗涤样品孔后,添加显色试剂(TMB底物)并使其反应5分钟,之后用4N H₂SO₄停止反应。使用BioTek Synergy Neo2读板器测量吸光度,并且通过与四参数逻辑曲线拟合的标准曲线中进行内插来确定PGRN水平。如图8中所图解说说明,相对于同种型对照,与ATV:TREM2一起温育增加了上清液和细胞溶解物二者中的PGRN水平。

[0419] 为评估对BMP水平的影响,将iMG用髓鞘质或媒介物攻击24小时,接着与ATV:TREM2#3(100nM)一起温育48小时。经由添加含有内标准品混合物的甲醇提取细胞脂质,并类似于国际PCT公开第W0 2020/112889中所阐述,通过液相色谱-质谱(LC-MS/MS)在Q-trap 6500(SCIEX)上测量BMP丰度。使用BMP(14:0_14:0)作为内标准品对BMP物质进行量化并且基于其保留时间和MRM性质进行鉴定。校正同位素重叠后,使用MultiQuant 3.02(Sciex)实施量化。以所测量的所有物质的中值脂质含量对BMP物质进行归一化。使用二辛可宁酸(bicinchoninic acid,BCA)测定(Pierce,Rockford,IL,USA)测量蛋白质浓度。图9中图解说说明代表性BMP结果。如图9中所示,经髓鞘质攻击并且随后用ATV:TREM2处理的iMG降低了BMP物质的水平,这表明由髓鞘质诱导的溶酶体攻击有可能得以挽救。

[0420] 如图8和图9中所图解说说明,使iMG与ATV:TREM2一起温育增加了PGRN水平并校正髓鞘质诱导的BMP水平,这表明ATV:TREM2在调节溶酶体效应中的作用。在图8和图9中,ATV:TREM2#3的同种型对照(ISO)含有表5中所提供的序列。

[0421] 实施例7. ATV:TREM2在线粒体呼吸中的作用

[0422] 为评估对线粒体呼吸的影响,使用Seahorse XFe96分析仪(Agilent)并使用来自Seahorse XF棕榈酸酯氧化应激试剂盒(Agilent 103693)的材料和方案对用ATV:TREM2变体或同种型对照处理的iPSC源性小胶质细胞(“iMG”)中的氧消耗进行测量。在Seahorse实验之前,使细胞在XF96微量板(Agilent,目录号102416)上与ATV:TREM2#3(100nM)或同种型对照一起培养72小时。使细胞经受由补充有0.5mM葡萄糖(Agilent 103577)、1mM谷氨酰胺(Agilent 103579)、0.5mM L-肉碱(Seahorse XF棕榈酸酯氧化应激试剂盒的一部分)和1% Hyclone FBS的Seahorse XF RPMI(Agilent 103576)构成的底物限制性培养基达16小时,

之后进行Seahorse实验。在即将进行实验前对细胞给与棕榈酸酯-BSA缀合物(166 μ M)或BSA对照。使用依序注射(1)乙莫克舍(etomoxir)(4 μ M)(肉碱棕榈酰基转移酶1(CPT1)抑制剂)或媒介物、(2)寡霉素(1.5 μ M)(ATP合酶复合物V抑制剂)、(3)羰基氰化物4-(三氟甲氧基)苯基脒(FCCP,线粒体解偶联剂,1 μ M)和(4)鱼藤酮/抗霉素(各0.5mM,分别为复合物I和复合物III的抑制剂)来评价细胞的线粒体呼吸容量。在实验过程期间,通过Seahorse分析仪(Agilent)测量氧消耗率。表4中提供了用于评价线粒体呼吸的实验条件的汇总。

[0423] 表4.实验条件

条件	抗体	CPT1抑制剂	回收底物
1	同种型对照	乙莫克舍	BSA(对照)
2	ATV:TREM2	媒介物	BSA(对照))
3	同种型对照	乙莫克舍	棕榈酸(PAL)
4	ATV:TREM2	媒介物	棕榈酸(PAL)
5	同种型对照	乙莫克舍	BSA(对照)
6	ATV:TREM2	媒介物	BSA(对照))
7	同种型对照	乙莫克舍	棕榈酸(PAL)
8	ATV:TREM2	媒介物	棕榈酸(PAL)

[0425] 图10A中图解说明氧消耗的代表性动力学图,并且图10B中提供了图解说明细胞的最大呼吸容量的条形图。如所述图中所示,ATV:TREM2增加最大呼吸,增加程度类似于脂肪酸底物棕榈酸(PAL)的程度。在CPT1抑制剂存在下,这种效应减弱。所述结果指示,ATV:TREM2增强最大线粒体呼吸,并且这种效应似乎是由增强的脂肪酸氧化容量所赋予。

[0426] 实施例8. ATV:TREM2比较性质

[0427] 将ATV:TREM2#1和ATV:TREM2#3的性质与WO 2019/028292中所阐述的结合TREM2的参考抗体的那些性质进行比较。参考抗体#1(“Ref. Ab. #1”)的重链和轻链序列分别由SEQ ID NOs:74和75表示。参考抗体#2(“Ref. Ab. #2”)的重链和轻链序列分别由SEQ ID NOs:76和75表示。表5中提供了每个抗TREM2抗体的同种型对照的重链和轻链序列。

[0428] 表5.同种型对照序列

同种型对照	第一重链	第二重链	轻链
参考抗体#1和#2的ISO	SEQ ID NO:77	SEQ ID NO:77	SEQ ID NO:78
ATV:TREM2#1的ISO	SEQ ID NO:79	SEQ ID NO:81	SEQ ID NO:82
ATV:TREM2#3的ISO	SEQ ID NO:80	SEQ ID NO:81	SEQ ID NO:82

[0430] ATV:TREM2相较于参考抗体在体外更强效并诱导更少的炎症(更少的细胞因子释放)

[0431] 使用实施例4中所阐述的人类巨噬细胞存活测定来评价抗TREM2抗体。图11A图解说明抗TREM2抗体的细胞活力剂量-反应曲线,其中“ISO”是指ATV:TREM2#3的同种型对照(表5)。从剂量-反应曲线所确定的相应效力(EC50)和最大反应(Emax)值提供于图11B和图11C中;个别标记代表来自人类细胞供体(n=3)的单一值。图11A至图11C中所提供的结果指示,ATV:TREM2#3相较于参考抗体#1和#2在体外更强效地促进人类巨噬细胞存活。

[0432] 在另一项实验中,将人类巨噬细胞用100nM表面固定的抗TREM2抗体处理五天,之后收集每组细胞的细胞培养基并使用Luminex xMAP技术和基于珠粒的市售多任务测定试

剂盒 (Human Cytokine 42-Plex Discovery Assay®, Eve Technologies Corp.) 分析细胞因子释放。图12中图解说明相对细胞因子释放水平的热图 (Z评分用于作图)。图12中的结果说明, ATV:TREM2#3相较于参考抗体#1和#2在人类巨噬细胞中诱导更少的炎症。

[0433] 总之, ATV:TREM2#3、参考抗体#1和参考抗体#2能够促进人类巨噬细胞存活和增殖 (图11A)。然而, ATV:TREM2#3相对于参考抗体#1和#2显示出更强的细胞存活效力并且总体细胞因子标志减少 (图11B、图11C和图12)。

[0434] ATV:TREM2能够降低攻击后的甘油三酯物质水平

[0435] 通过如实施例4中所阐述的脂质储存测定 (使用10 μ M油酸攻击) 评价抗TREM2抗体。图13A至图13E中提供了ATV:TREM2#3、参考抗体#1和参考抗体#2的结果。

[0436] 图13A至图13C图解说明如通过LCMS所量化的在iPSC源性小胶质细胞 (“iMG”) 中甘油三酯物质的截止值为 $p < 0.05$ 并且倍数变化 > 1.5 的火山图。以每个抗体的同种型对照对数数据进行归一化。如图13A至图13C中所示, ATV:TREM2#3能够调节给与油酸后的甘油三酯 (TG) 物质, 而参考抗体不会显著地改变油酸攻击后的TG物质水平。图13D和图13E图解说明代表性TG物质测量的条形图, 其中数据相对于ATV:TREM2#3的同种型对照进行归一化。

[0437] ATV:TREM2能够在体外调节TREM2水平

[0438] 为评估抗TREM2抗体如何影响iPSC源性小胶质细胞 (“iMG”) 中的TREM2水平, 使iMG与各种浓度的ATV:TREM2#3或参考抗体#1一起温育72小时, 接着测量iMG细胞溶解物和细胞培养基中的TREM2水平。如下测量TREM2。简言之, 在室温下将MSD小斑点链霉亲和素板 (Meso Scale Discovery) 用生物素化的山羊抗hTREM2多克隆抗体 (R&D Systems, BAF1828) 包被1小时。然后用MSD封闭A缓冲液 (Meso Scale Discovery) 将板在室温下封闭1小时。利用测定缓冲液 (于TBST中的25%MSD封闭A缓冲液) 制备/稀释样品和标准品, 并且在封闭后将30 μ L样品和标准品加载到板中。在室温下温育1小时后, 用TBST洗涤板, 并且接着在室温下与一级抗体 (ATV:TREM2#3) 结合1小时。然后, 将经稀释的带碘基标签的山羊抗人类IgG (Southern Biotech, 2049-01) 添加到板中, 并在室温下温育1小时。在用TBST洗涤后, 使用2x MSD读取缓冲液T使MSD板显色, 接着使用MSD Sector读板器进行检测。通过使用Meso Scale Discovery软件 (Discovery Workbench) 拟合标准曲线, 将MSD值转换为TREM2的绝对量。

[0439] 图14A和图14B显示在与抗TREM2抗体一起温育后, TREM2水平随iMG细胞溶解物和细胞培养基中的抗体浓度变化的图。每种抗体的TREM2水平相对于其特定同种型对照进行归一化。在图14A和图14B中, “ISO” 代表ATV:TREM2#3的同种型对照。如图14A中所图解说明, 总TREM2的水平随着用ATV:TREM2#3和参考抗体#1处理的iMG细胞溶解物中抗体量的增加而增加。相比之下, 可溶性TREM2的水平随着抗体处理细胞的细胞培养基中抗体量的增加而降低。

[0440] ATV:TREM2在非人类灵长类动物中展现优异药物动力学概况

[0441] 在非人类灵长类动物中研究抗TREM2抗体的药物动力学 (PK) 性质。简言之, 向年龄范围为36至53个月的年轻成年/成年雄性食蟹猴静脉内施用单一剂量的30mg/kg试验品 (表6, $n = 5$ 只/群组)。在给药后24、168和336小时收集CSF样品。

[0442] 结果在表6和图15中进行说明。表6显示了非人类灵长类动物脑脊髓液 (CSF) 中的抗TREM2抗体的PK值。ATV:TREM2变体的PK值显示, 相对于TREM2 Ab (缺乏对转铁蛋白受体的

结合能力;重链和轻链序列分别由SEQ ID NOs:83和54表示)和参考抗体#1,这些抗体在CSF中的暴露较高。

[0443] 表6.非人类灵长类动物中抗TREM2抗体的CSF药物动力学概况

	试验品	剂量(mg/kg)	C _{max} (nM)	T _{max} (hr)	AUC _{0-最后} (nM*hr)
[0444]	ATV:TREM2 #1	30	3.17	24	822.59
	ATV:TREM2 #3	30	1.49	24	461.79
	ISO*	30	3.23	24	618.90
[0445]	TREM2 Ab	30	0.98	24	280.38
	参考抗体#1	30	0.70	24	166.69

[0446] *ATV:TREM2#1的同种型对照

[0447] 图15图解说明经给药的非人类灵长类动物的CSF中抗TREM2抗体的PK概况。如图15和表6中所说明,ATV:TREM2显示相较于参考抗体#1的至少2倍的CSF PK增加。

[0448] 实施例9.人源化TREM2小鼠中的ATV:TREM2性质

[0449] 为研究ATV:TREM2在体内的效应,生成了表达人类TREM2的BAC转基因小鼠。将这些小鼠与美国专利第10,143,187号中所阐述的人类转铁蛋白受体敲入小鼠杂交,以允许表征本文所阐述的ATV:TREM2分子。

[0450] 人类TREM2 BAC转基因模型的生成

[0451] 为研究ATV:TREM2在体内的效应,通过使用经修饰的BAC DNA CTD-2210D2 (ThermoFisher Scientific;目录号96012)生成若干种表达人类TREM2的转基因小鼠品系。在原始BAC DNA CTD-2210D2中,人类TREM2编码区和其调控元件侧接两个其他TREM样基因 TREML1和TREML2。为避免这些TREM样基因的干扰,通过缺失TREML1的外显子1和TREML2的外显子3来消除其表达。将这种工程化的BAC CTD-2210D2 DNA构建体注入到来自C57BL/6J小鼠的小鼠受精卵的原核中。获得两种独立的始祖品系(称为TB36和TB45),并且其显示具有种系传递。

[0452] 为表征并比较这两种转基因品系,使用半合子转基因动物和野生型非转基因同胎仔畜对照进行分析。使用尾部基因组DNA的qPCR分析确定人类TREM2拷贝数。通过qRT-PCR和anMSD测定来测量脑、肝脏、肺和脾中的人类TREM2 mRNA和蛋白质水平。通过qRT-PCR分析脑分选小胶质细胞中的人类TREML1和TREML2mRNA。通过FACS对骨髓源性巨噬细胞(BMDM)中的表面TREM2表达进行量化。通过体外BMDM存活测定评估人类TREM2功能。

[0453] 在TB36或TB45中均未检测到人类TREML1和TREML2,这表明这些基因成功缺失。qPCR分析显示,在TB36和TB45中分别存在两个和一个人类TREM2转基因拷贝,相对于TB45,TB36在脑和外周组织中的人类TREM2表达相应较高。体外存活测定显示,人类TREM2激动剂抗体在TB36品系中所触发的反应强于TB45品系。

[0454] 基于这种离体和体外表征,我们选择TB36用于以下育种和体内研究。使半合子TB36小鼠与C57BL/6J进一步回交三轮,然后与hTfR KI小鼠(阐述于美国专利第10,143,187号中)配种,以生成人类TREM2 BAC半合子;hTfR KI同型接合小鼠以供体内研究。

[0455] ATV:TREM2在TB36/hTfR KI小鼠中的药物动力学和药效学反应

[0456] 为确定ATV:TREM2是否可在体内触发小胶质细胞反应,在第0天将单一剂量的ATV:TREM2#3或相应同种型对照(ATV:RSV) (100mg/kg) 静脉内施用给TB36/hTfR KI小鼠,并且在

给药后第1天或第4天将小鼠处死以用于离体分析。处死时,通过腹膜内注射2.5%Avertin使动物麻醉。经由心脏穿刺将末梢血收集于EDTA管中并缓慢颠倒(10次),然后在4℃下以15,350g离心7分钟。将血浆(顶层)转移到1.5-ml埃彭道夫管(Eppendorf tube)中并储存在-80℃下直至测量。在采血后,通过预拉取的玻璃毛细管从小脑延髓池收集CSF样品,然后转移到0.5mL Protein LoBind埃彭道夫管中以在4℃下以12,700rpm离心7分钟。使CSF样品的上清液在干冰上快速冷冻并储存在-80℃下直至测量。然后对动物灌注冷的PBS并解剖出脑,并且将两个半球分离。将右半脑在4℃下于4%多聚甲醛中浸渍固定24小时,然后转移到含有0.1%叠氮化钠的磷酸盐缓冲盐水(PBS)溶液中以供储存,直至准备好进行30%蔗糖处理和切片。将左半脑切成两片并在两个管中快速冷冻,以分别进行PK测量和其他靶标接合/细胞因子分析。

[0457] 在给药后1天和4天评价人类IgG的血浆和脑水平并且示于下表7中。

[0458] 表7. TB36/hTfR-KI小鼠中的血浆和脑药物动力学概况

TB36 * hTfR-KI	血浆		脑	
	ATV:RSV [hIgG] uM	ATV:188-14 [hIgG] uM	ATV:RSV [hIgG] nM	ATV:188-14 [hIgG] nM
24 小时	2.96 ± 0.17	1.78 ± 0.073	34.1 ± 3.2	24.4 ± 1.6
96 小时	0.401 ± 0.074	0.29 ± 0.013	13.8 ± 1.8	6.67 ± 1.0

[0460] ATV:TREM2对小胶质细胞增殖的影响

[0461] 在第0天用ATV:TREM2#3或ATV:RSV治疗后,在第0天、第1天、第2天和第3天将四个剂量的5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU,80mg/kg)(可并入至新近合成DNA中的胸苷类似物)腹膜内施用给小鼠。

[0462] 为检测增殖性小胶质细胞(EdU+Iba1+),用Click-iT EdU成像试剂盒(ThermoFisher Scientific,C10637)处理给药后第4天的脑切片,接着进行Iba1免疫染色。EdU-Iba1染色表明,ATV:TREM2与同种型对照相比显著地增加脑中的新生小胶质细胞数目(EdU+Iba1+;图16A)和总小胶质细胞覆盖面积(Iba1+面积;图16B),由此证明ATV:TREM2与对照相比显著地增加小胶质细胞增殖。

[0463] ATV:TREM2与非ATV TREM2抗体相比在小鼠模型中对小胶质细胞增殖的效力显著更强

[0464] 为确定ATV:TREM2的最低有效剂量并与非ATV TREM2抗体进行比较,在第0天将单一剂量的ATV:TREM2#3(1、3、10、30mg/kg)或相应TREM2参考抗体("TREM2 Ab";30mg/kg)、参考抗体#2(30mg/kg)或同种型对照(ATV:RSV;30mg/kg)静脉内施用给TB36/hTfR KI小鼠。为测量小胶质细胞增殖,在抗体治疗后第0天、第1天、第2天和第3天向小鼠IP施用EdU。在第1天和第4天处死(take down)小鼠以进行分析。EdU-Iba1双染色显示来自1mg/kg至10mg/kg的ATV:TREM2给药动物的新生小胶质细胞在第4天的剂量依赖性增加,其中10mg/kg ATV:TREM2显示对小胶质细胞增殖的影响最大(图17A和图17B)。此外,1mg/kg ATV:TREM2对小胶质细胞增殖的影响略微高于(统计学上不显著)抗TREM2或参考抗体#2,尽管给药高30倍。

[0465] ATV:TREM2短暂地增加TB36/hTfR KI小鼠中的脑细胞因子水平

[0466] 为确定ATV:TREM2对细胞因子(例如趋化因子)水平的影响,使用小鼠细胞因子阵

列/趋化因子阵列44-Plex (MD44) 测量TB36/hTfR KI小鼠的终末血浆和脑溶解物(通过Cell Signaling溶解缓冲液#9803制备)中的细胞因子水平。我们发现,用ATV:TREM2#3进行治疗未改变血浆中所测量的细胞因子水平,但在给药后24小时急剧地增加脑中所测量的一些细胞因子水平(例如IP-10和MCP-5),并且这些细胞因子水平在给药后96小时恢复到基线水平。3mg/kg的ATV:TREM2#3对脑细胞因子水平具有最大影响(图18A和图18B)。

[0467] ATV:TREM2增加TB36/hTfR KI小鼠中的脑CSF1R水平

[0468] 为确定ATV:TREM2对神经胶质标志物CSF1R的水平的影响,使用市售ELISA试剂盒(Abcam ab240681)测量TB36/hTfR KI小鼠的脑溶解物(通过Cell Signaling溶解缓冲液#9803制备)中的CSF1R蛋白质水平。我们发现,增加剂量的ATV:TREM2#3使得治疗后1天和治疗后4天的CSF1R蛋白质水平增加(图19)。

[0469] ATV:TREM2的血浆PK概况

[0470] ATV:TREM2#3的剂量在1mg/kg至100mg/kg范围内时,观察到血浆PK的成比例增加。在24小时,匹配剂量的30mg/kg ATV:TREM2#3、参考抗体#2和TREM2 Ab的血浆浓度无显著差异。与相同剂量的ATV:TREM2#3和TREM2 Ab相比,参考抗体#2似乎具有较低的清除率(图20)。

[0471] ATV:TREM2的脑PK概况

[0472] 在24小时,10mg/kg的ATV:TREM2#3的脑浓度与30mg/kg的TREM2 Ab相似,并且1-3mg/kg的ATV:TREM2#3的脑浓度与30mg/kg的参考抗体#2相似。在剂量为3mg/kg至10mg/kg的ATV:TREM2#3下观察到超出比例的增加,并且在其他剂量下观察到成比例增加。在96小时,10mg/kg的ATV:TREM2#3的脑浓度与30mg/kg的TREM2 Ab和参考抗体#2相似(图21)。总之,ATV:TREM2#3的脑摄取效率高于TREM2 Ab和参考抗体#2。

[0473] 表8.非正式序列表

[0474]

SEQ ID NO	序列	说明
1	MEPLRLLILLFVTELSGAHNTTVFQGVAGQSLQ VSCPYDSMKHWGRRKAWCRQLGEKGPCQRV VSTHNLWLLSFLRRWNGSTAITDDTLGGTLTIT LRNLQPHDAGLYQCQSLHGSEADTLRKVLVEV LADPLDHRDAGDLWFPGESESFEDAHVEHSISR SLLEGEIPFPPTSILLLLACIFLIKILAASALWAAA WHGQKPGTHPPSELDCGHDPGYQLQTLPLGLRD T	人类 TREM2 蛋白
2	EVKLLDSGGGLVQAGGSLRLSCAGSGFTFTDF YMSWIRQPPGKAPEWLGVIRNKANGYTAGYN PSVKGRFTISRDNNTQNILYLQMNTLRAEDTAIY YCARLSYGFDYWGQGVMTVSS	CL0020306 V _H
3	DIVMTQGALPNPVPSPGESASITCQSSKSLHSNG KTYLNWYLQRPQSPQLLIYWMSTRASGVSDR FSGSGSGTDFTLKISSVEAEDVGVYYCQQFLEF PFTFGSGTKLEIK	CL0020306 V _L
4	GFTFTDFYMS	CL0020306 CDR-H1; CL0020164 CDR-H1; CL0020188 和变体 CL0020188-1、 CL0020188-2、 CL0020188-3、

[0475]

SEQ ID NO	序列	说明
		CL0020188-4、 CL0020188-5、 CL0020188-6、 CL0020188-7 和 CL0020188-8 的 CDR-H1
5	VIRNKANGYTAGYNPSVKG	CL0020306 CDR-H2; CL0020188 和变 体 CL0020188-1、 CL0020188-2、 CL0020188-3 和 CL0020188-4 的 CDR-H2
6	ARLSYGFDY	CL0020306 CDR-H3
7	QSSKSLLSNGKTYLN	CL0020306 CDR-L1; CL0020164 CDR-L1; CL0020307 CDR-L1; CL0020307-1 CDR-L1; CL0020188 和变 体 CL0020188-1、 CL0020188-2、 CL0020188-5 和 CL0020188-6 的 CDR-L1
8	WMSTRAS	CL0020306 CDR-L2; CL0020307 CDR-L2; CL0020307-1 CDR-L2; CL0020164 CDR-L2; CL0020188 和变 体 CL0020188-1、 CL0020188-2、 CL0020188-3、 CL0020188-4、

[0476]

SEQ ID NO	序列	说明
		CL0020188-5、 CL0020188-6、 CL0020188-7 和 CL0020188-8 的 CDR-L2
9	QQFLEFPFT	CL0020306 CDR-L3; CL0020307 CDR-L3; CL0020307-1 CDR-L3
10	EVKLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNFY MSWIRQPPGRAPEWLGVIRNRPNNGYTTDYNPS VKGRFTISRDNNTQNILYLQMSTLRADDTAFYYC TRLTYGFDYWGQGVMVTSS	CL0020307 V _H
11	DIVMTQGALPNPVPSPGESASITCQSSKSLHNSG KTYLNWYLQRPQGSPQLLIYWMSTRASGVSDR FSGSGSGTDFTLKISSVEAEVGVYYCQQFLEF PFTFGSGTKLEIK	CL0020307 V _L
12	GFTFTNFYMS	CL0020307 CDR-H1
13	VIRNRPNNGYTTDYNPSVKG	CL0020307 CDR-H2
14	TRLTYGFDY	CL0020307 CDR-H3
15	EVKLLDSGGGLVQAGGSLRLSCAGSGFTFTDF YMSWIRQPPGKAPEWLGVIRNKANGYTAGYN PSVKGRFTISRDNNTQNILYLQMNTLRAEDTAIY YCARLTYGFDYWGQGVMVTSS	CL0020188 V _H
16	DIVMTQGALPNPVPSPGESASITCQSSKSLHNSG KTYLNWYLQRPQGSPQLLIYWMSTRASGVSDR FSGSGSGTDFTLKISSVEAEVGVYYCQQFLEY PFTFGSGTKLEIK	CL0020188 V _L
17	ARLTYGFDY	CL0020188 和变 体 CL0020188-1、 CL0020188-2、 CL0020188-3、 CL0020188-4、 CL0020188-5、 CL0020188-6、 CL0020188-7 和 CL0020188-8 的 CDR-H3; CL0020164 CDR-H3

[0477]

SEQ ID NO	序列	说明
18	QQFLEYPFT	CL0020188 和变体 CL0020188-1、CL0020188-2、CL0020188-3、CL0020188-4、CL0020188-5、CL0020188-6、CL0020188-7 和 CL0020188-8 的 CDR-L3
19	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFYMSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANGYTAGYNPSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLTYGFDYWGQGT LTVSS	CL0020188-1 V _H ; CL0020188-3 V _H
20	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCQSSKSLH SNGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYWMSTRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQFLEYPFTFGQGTKVEIK	CL0020188-1 V _L ; CL0020188-2 V _L ; CL0020188-5 V _L ; CL0020188-6 V _L
21	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFTDFYMSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANGYTAGYNPSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLTYGFDYWGQGT LTVSS	CL0020188-2 V _H ; CL0020188-4 V _H
22	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCQSSKSLHSTGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYWMSTRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQFLEYPFTFGQGTKVEIK	CL0020188-3 V _L ; CL0020188-4 V _L ; CL0020188-7 V _L ; CL0020188-8 V _L
23	QSSKSLHSTGKTYLN	变体 CL0020188-3、 CL0020188-4、 CL0020188-7 和 CL0020188-8 的 CDR-L1
24	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFYMSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANAYTAGYNPSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLTYGFDYWGQGT LTVSS	CL0020188-5 V _H ; CL0020188-7 V _H
25	VIRNKANAYTAGYNPSVKG	变体 CL0020188-5、 CL0020188-6、

[0478]

SEQ ID NO	序列	说明
		CL0020188-7 和 CL0020188-8 的 CDR-H2
26	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFTDFYMSWVRQAPGKGPEWLSVIRNKANAYTAGYNPSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLTYGFDYWGQGTLVTVSS	CL0020188-6 V _H ; CL0020188-8 V _H
27	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCQSSKSLLSN GKTLYLNWYQQKPGQPPKLLIYWMSTRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQFL EFPFTFGQGTKVEIK	CL0020307-1 V _L
28	G-F-T-F-T- α_6 -F-Y-M-S, 其中 α_6 是 D 或 N	CDR-H1 共有序列
29	V-I-R-N- β_5 - β_6 -N- β_8 -Y-T- β_{11} - β_{12} -Y-N-P-S-V-K-G, 其中 β_5 是 K 或 R; β_6 是 A 或 P; β_8 是 G 或 A; β_{11} 是 A 或 T; 并且 β_{12} 是 G 或 D	CDR-H2 共有序列
30	γ_1 -R-L- γ_4 -Y-G-F-D-Y, 其中 γ_1 是 A 或 T; 并且 γ_4 是 T 或 S	CDR-H3 共有序列
31	Q-S-S-K-S-L-L-H-S- δ_{10} -G-K-T-Y-L-N, 其中 δ_{10} 是 N 或 T	CDR-L1 共有序列
32	Q-Q-F-L-E- ϕ_6 -P-F-T, 其中 ϕ_6 是 Y 或 F	CDR-L3 共有序列
33	000	
34	GGGGS	接头序列
35	HHHHHH	6X-His 标签
36	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP	重链恒定结构域 1 (CH1)
37	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	轻链恒定结构域 (CL)
38	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	野生型人类 Fc 序列 位置 231-447 EU 索引编号
39	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	具有白、LALA 和 LS 突变的 Fc 多肽

[0479]

SEQ ID NO	序列	说明
	KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	
40	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFS SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	克隆 35.21
41	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSS YKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFS SCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	具有杵、LALA 和 LS 突变的克 隆 CH3C.35.21 Fc 多肽
42	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFY MSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANAYTAGYNP SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARLTYGFDYWGQGT LTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWWEWESYGTE WSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQ GFVFS SCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	具有杵、LALA 和 LS 突变的抗 TREM2 / CH35.21 重链
43	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFS SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	克隆 CH3C.35.23.1.1
44	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFS CSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	具有杵、LALA 和 LS 突变的克 隆 CH3C.35.23.1.1 Fc 多肽
45	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFY MSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANAYTAGYNP	具有杵、LALA 和 LS 突变的抗

[0480]

SEQ ID NO	序列	说明
	SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARLTYGFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTE WSNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQ GFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	TREM2 / CH35.23.1.1 重链
46	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYK TTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	克隆 CH3C.35.23.3
47	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVN YKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVF SCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	具有杵、LALA 和 LS 突变的 CH3C.35.23.3 Fc 多肽
48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFY MSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANAYTAGYNP SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARLTYGFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTE WVNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQ GFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	具有杵、LALA 和 LS 突变的抗 TREM2 / CH35.23.3 重链
49	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYK TTPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	克隆 CH3C.35.23.4

[0481]

SEQ ID NO	序列	说明
50	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFS CSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	具有杵、LALA 和 LS 突变的 CH3C.35.23.4 Fc 多肽
51	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFY MSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANAYTAGYNP SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARLTYGFDYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTE WSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQ GFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	具有杵、LALA 和 LS 突变的抗 TREM2 / CH35.23.4 重链
52	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFY MSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANAYTAGYNP SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARLTYGFDYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	具有白和 LS 突 变的抗 TREM2 重链
53	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFY MSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANAYTAGYNP SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARLTYGFDYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP	具有白、LALA 和 LS 突变的抗 TREM2 重链

[0482]

SEQ ID NO	序列	说明
	ENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	
54	DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCSQSSKSLHSTG KTYLNWYLQKPGQSPQLLIYWMSTRASGVPDR FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQFLEY PFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	抗 TREM2 轻链
55	NSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVT GKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKI TFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAEL SFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGL PNIPVQTISRAAAELFGNMEGDCPSDWKTDST CRMVTSESKNVKLTVS	人类 Tfr 顶端结 构域
56	GGGGSGGGGS	接头
57	DKTHTCPPCP	人类 IgG1 铰链 序列的一部分
58	YxTEWSS	CH3 基序(Tfr-结 合)
59	TxxExxxxF	CH3 基序(Tfr-结 合)
60	MMDQARSFAFSNLFGEPLSYTRFSLARQVDGD NSHVEMKLGVDDEENTDNNTKANGTKPKRCG GNICYGTIAVIIFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTEC ERLAGTESPAREEPEEDFPAAPRLYWDDLKRKL SEKLDTTDFTSTIKLLNENLYVPREAGSQKDEN LALYIENQFREFKLSKVWRDQHFKIQVKDSA QNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATV TGKLVHANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGK ITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKAD LSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSG LPNIPVQTISRAAAELFGNMEGDCPSDWKTDS TCKMVTSENKSVKLTVSNVLKETKILNIFGVIK GFVEPDHYVVVGAQRDAWGPGAACKSSVGTAL LLKLAQMFSDMVLKDGFPQRSIIFASWSAGDF GSVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLG TSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDVKHPVTGRSLY QDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFC FCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKVAR AAAEVAGQFVIKLTHDTELNDYERYNSQLLLF LRDLNQYRADVKEMGLSLQWLYSARGDFFRA TSRLTTDFRNAEKRDKFVMMKKLNDRVMRVEY YFLSPYVSPKESPFHRVFWGSGSHTLSALLESL KLRRQNNSAFNETLFRNQLALATWTIQGAANA LSGDVWDIDNEF	食蟹猴 Tfr

[0483]

SEQ ID NO	序列	说明
61	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	具有白和 LS 突变的 Fc 多肽
62	MMDQARSAFSNLFGEPLSYTRFSLARQVDGD NSHVEMKLAVIDEENADNNTKANVTCKPKRCS GSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTE CERLAGTESPVREEPGEDFPAARRLYWDDLKR KLSEKLDSTDTGTIKLLNENSYPREAGSQKD ENLALYVENQFREFKLSKVWRDQHFVKIQVKD SAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAA TVTGLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRA GKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVN AELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRS SGLPNIPVQTISRAAA EKLFGNMEGDCPSDWKT DSTCRMVTSSESKNVKLT VSNVLKEIKILNIFGVI KGFVEPDHYVVVGAQRDAWGPGAAGSGVGT ALLLKL AQMFSDMVLKDGFPQRSIIFASWSAG DFGSVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAV LGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQF LYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAV SFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIERIPELNKV ARAAAEVAGQFVIKLTHDVELNLDYERYNSQL LSFVRDLNQYRADIKEMGLSLQWLYSARGDFF RATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDRVMRV EYHFLSPYVSPKESPF RHVFWGSGSHTLPALLE NLKLRKQNNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAA NALSGDVWDIDNEF	人类转铁蛋白受体蛋白 1 (TFR1)
63	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG	截短的具有白、LALA 和 LS 突变的 Fc 多肽
64	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWWE SYGTEWSS YKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVF SCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG	截短的具有杵、LALA 和 LS 突变的克隆 CH3C.35.21 Fc 多肽
65	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFY MSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANAYTAGYNP	截短的具有杵、LALA 和 LS 突变

[0484]

SEQ ID NO	序列	说明
	SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARLTYGFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWVESYGTE WSSYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVTKEEWQQ GFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG	的抗 TREM2 / CH35.21 重链
66	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNY KTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFS CSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG	截短的具有杆、 LALA 和 LS 突变 的克隆 CH3C.35.23.1.1 Fc 多肽
67	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFY MSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANAYTAGYNP SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARLTYGFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTE WSNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVSKEEWQQ GFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG	截短的具有杆、 LALA 和 LS 突变 的抗 TREM2 / CH35.23.1.1 重链
68	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVF SCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG	截短的具有杆、 LALA 和 LS 突变 的 CH3C.35.23.3 Fc 多肽
69	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFY MSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANAYTAGYNP SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARLTYGFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT	截短的具有杆、 LALA 和 LS 突变 的抗 TREM2 / CH35.23.3 重链

SEQ ID NO	序列	说明
	CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTE WVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQ GFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG	
70	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFS CSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG	截短的具有杵、 LALA 和 LS 突变的 CH3C.35.23.4 Fc 多肽
71	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFY MSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANAYTAGYNP SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARLTYGFDYWGQGT LTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTE WSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQ GFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG	截短的具有杵、 LALA 和 LS 突变的 抗 TREM2 / CH35.23.4 重链
72	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFY MSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANAYTAGYNP SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARLTYGFDYWGQGT LTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG	截短的具有白和 LS 突变的抗 TREM2 重链
73	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFY MSWVRQAPGKGLEWVSVIRNKANAYTAGYNP SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARLTYGFDYWGQGT LTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNS	截短的具有白、 LALA 和 LS 突变的 抗 TREM2 重 链

[0485]

[0486]

SEQ ID NO	序列	说明
	GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG	
74	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFSSQWMNWVRQAPGQRLEWIGRIYPGGGDTNYAGKFQGRVTITADTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLLRNQPGESYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK	参考抗体#1 重链
75	DVVMVTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSLVHSNRYTYLHWYQQKPGQSPKLLIYKVSNNRFGVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTRVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	参考抗体#1 和#2 轻链
76	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFSSQWMNWVRQAPGQRLEWIGRIYPGGGDTNYAGKFQGRVTITADTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLLRNQPGESYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHGALHNHYTQKSLSLSPGK	参考抗体#2 重链
77	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSITSDY	参考抗体#1 和#2

[0487]

SEQ ID NO	序列	说明
	AWNWIRQPPGKGLEWIGYMSYSGSTRYNPSLR SRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR GWPLAYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	的同种型对照， 重链
78	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMY WYQQKPGQAPRLLIYDTSNLAGIPARFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQWSSYPITFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC	参考抗体#1 和#2 的同种型对照， 轻链
79	QVTLRSGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSG MSVGWIRQPPGKALEWLADIWWDDKKDYNPS LKSRLTISKDTSKNQVVLKVTNMEPADTATYY CARSMITNWFYFDVWGAGTTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWVESYGT EWSSYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQ QGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	ATV:TREM2 #1 的同种型对照， 具有杵、LALA 的重链
80	QVTLRSGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSG MSVGWIRQPPGKALEWLADIWWDDKKDYNPS LKSRLTISKDTSKNQVVLKVTNMEPADTATYY CARSMITNWFYFDVWGAGTTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGT EWNVNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQ	ATV:TREM2 #3 的同种型对照， 具有杵、LALA 的重链

[0488]

SEQ ID NO	序列	说明
	QGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
81	QVTLRSGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSG MSVGWIRQPPGKALEWLADIWWDDKKDYNPS LKSRLTISKDTSKNQVVLKVTNMEPADTATYY CARSMITNWFYFDVWGAGTTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	ATV:TREM#1 和 #3 的同种型对 照, 具有白、 LALA 的重链
82	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCKCQLSVGYMH WYQQKPGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRFSGSGS GTEFTLTISSLQPDDFATYYCFQGSGLYPFTFGGG TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC	ATV:TREM2 #1 和#3 的同种型对 照, 轻链
83	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDFY MSWVRQAPGKGLEWVS VIRNKANAYTAGYNP SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARLTYGFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	具有 LALA 突变的 抗 TREM2 重 链
84	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPG	截短的具有白和 LS 突变的 Fc 多 肽

序列表

<110> 戴纳立制药公司 (DENALI THERAPEUTICS INC.)

<120> 抗TREM2抗体和其使用方法

<130> 102342-004030PC-1229813

<140>

<141>

<150> 63/091,717

<151> 2020-10-14

<150> 63/070,728

<151> 2020-08-26

<150> 62/960,663

<151> 2020-01-13

<160> 84

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 230

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 1

```

Met Glu Pro Leu Arg Leu Leu Ile Leu Leu Phe Val Thr Glu Leu Ser
1           5           10           15
Gly Ala His Asn Thr Thr Val Phe Gln Gly Val Ala Gly Gln Ser Leu
          20           25           30
Gln Val Ser Cys Pro Tyr Asp Ser Met Lys His Trp Gly Arg Arg Lys
          35           40           45
Ala Trp Cys Arg Gln Leu Gly Glu Lys Gly Pro Cys Gln Arg Val Val
          50           55           60
Ser Thr His Asn Leu Trp Leu Leu Ser Phe Leu Arg Arg Trp Asn Gly
65           70           75           80
Ser Thr Ala Ile Thr Asp Asp Thr Leu Gly Gly Thr Leu Thr Ile Thr
          85           90           95
Leu Arg Asn Leu Gln Pro His Asp Ala Gly Leu Tyr Gln Cys Gln Ser
          100          105          110
Leu His Gly Ser Glu Ala Asp Thr Leu Arg Lys Val Leu Val Glu Val
          115          120          125
Leu Ala Asp Pro Leu Asp His Arg Asp Ala Gly Asp Leu Trp Phe Pro
          130          135          140
Gly Glu Ser Glu Ser Phe Glu Asp Ala His Val Glu His Ser Ile Ser

```

145	150	155	160
Arg Ser Leu Leu Glu Gly Glu Ile Pro Phe Pro Pro Thr Ser Ile Leu			
	165	170	175
Leu Leu Leu Ala Cys Ile Phe Leu Ile Lys Ile Leu Ala Ala Ser Ala			
	180	185	190
Leu Trp Ala Ala Ala Trp His Gly Gln Lys Pro Gly Thr His Pro Pro			
	195	200	205
Ser Glu Leu Asp Cys Gly His Asp Pro Gly Tyr Gln Leu Gln Thr Leu			
	210	215	220
Pro Gly Leu Arg Asp Thr			
225	230		

<210> 2

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 2

Glu Val Lys Leu Leu Asp Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe			
	20	25	30
Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Pro Glu Trp Leu			
	35	40	45
Gly Val Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Ala Gly Tyr Asn Pro			
	50	55	60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Gln Asn Ile			
65	70	75	80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr			
	85	90	95
Tyr Cys Ala Arg Leu Ser Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val			
	100	105	110
Met Val Thr Val Ser Ser			
	115		

<210> 3

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 3

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Gly	Ala	Leu	Pro	Asn	Pro	Val	Pro	Ser	Gly
1				5					10					15	
Glu	Ser	Ala	Ser	Ile	Thr	Cys	Gln	Ser	Ser	Lys	Ser	Leu	Leu	His	Ser
			20				25						30		
Asn	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	Leu	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser
		35					40					45			
Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Met	Ser	Thr	Arg	Ala	Ser	Gly	Val	Ser
	50					55					60				
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
65				70						75				80	
Ser	Ser	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Phe
			85						90					95	
Leu	Glu	Phe	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
			100					105						110	

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 4

Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Phe	Tyr	Met	Ser
1			5					10	

<210> 5

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 5

Val	Ile	Arg	Asn	Lys	Ala	Asn	Gly	Tyr	Thr	Ala	Gly	Tyr	Asn	Pro	Ser
1				5					10					15	
Val	Lys	Gly													

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 6

Ala Arg Leu Ser Tyr Gly Phe Asp Tyr

1 5

<210> 7

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 7

Gln Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 8

Trp Met Ser Thr Arg Ala Ser

1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 9

Gln Gln Phe Leu Glu Phe Pro Phe Thr

1 5

<210> 10

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 10

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asn Phe

20 25 30

Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Arg Ala Pro Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Val Ile Arg Asn Arg Pro Asn Gly Tyr Thr Thr Asp Tyr Asn Pro

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Gln Asn Ile

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Thr Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Phe Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val

100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 11

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 11

Asp Ile Val Met Thr Gln Gly Ala Leu Pro Asn Pro Val Pro Ser Gly

1 5 10 15

Glu Ser Ala Ser Ile Thr Cys Gln Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Trp Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Ser
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Ser Val Glu Ala Glu Val Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe
 85 90 95
 Leu Glu Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 12

Gly Phe Thr Phe Thr Asn Phe Tyr Met Ser
 1 5 10

<210> 13

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 13

Val Ile Arg Asn Arg Pro Asn Gly Tyr Thr Thr Asp Tyr Asn Pro Ser
 1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 14

Thr Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr
 1 5

$\langle 210 \rangle$ 15

<211> 118

<212> PRT

〈213〉 人工序列 (Artificial Sequence)

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 来源

〈223〉 /注释=“人工序列的描述:合成多核苷酸”

<400> 15

[illegible]

16

 $\langle 211 \rangle$ 112

<212> PRT

〈213〉 人工序列 (Artificial Sequence)

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 来源

〈223〉 /注释=“人工序列的描述:合成多核苷酸”

<400> 16

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Gly	Ala	Leu	Pro	Asn	Pro	Val	Pro	Ser	Gly
1				5				10						15	
Glu	Ser	Ala	Ser	Ile	Thr	Cys	Gln	Ser	Ser	Lys	Ser	Leu	Leu	His	Ser
			20					25						30	
Asn	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	Leu	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser
		35					40					45			
Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Met	Ser	Thr	Arg	Ala	Ser	Gly	Val	Ser

50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly	Ser Gly Ser Gly Thr	Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65	70	75
Ser Ser Val Glu Ala Glu	Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys	Gln Gln Phe
85	90	95
Leu Glu Tyr Pro Phe Thr	Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu	Glu Ile Lys
100	105	110

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 17

Ala Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 18

Gln Gln Phe Leu Glu Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 19

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 19

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe

20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Val Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Ala Gly Tyr Asn Pro
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Ala Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 20

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 20

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Trp Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe
 85 90 95
 Leu Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 21

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 21

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe
           20           25           30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
           35           40           45
Ser Val Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Ala Gly Tyr Asn Pro
           50           55           60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65           70           75           80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
           85           90           95
Tyr Cys Ala Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
           100          105          110
Leu Val Thr Val Ser Ser
           115

```

<210> 22

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 22

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1           5           10           15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
           20           25           30
Thr Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
           35           40           45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Trp Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Pro
           50           55           60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65           70           75           80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe
           85           90           95

```

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

<210> 23

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 23

Gln Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Thr Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10 15

<210> 24

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 24

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe
 20 25 30

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

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

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 25

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 25

Val Ile Arg Asn Lys Ala Asn Ala Tyr Thr Ala Gly Tyr Asn Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 26

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 26

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe
20 25 30

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

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

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 27

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 27

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Asp	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Leu	Gly
1				5				10					15		
Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Asn	Cys	Gln	Ser	Ser	Lys	Ser	Leu	Leu	His	Ser
			20				25					30			
Asn	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro
		35				40					45				
Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Met	Ser	Thr	Arg	Ala	Ser	Gly	Val	Pro
	50					55				60					
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile
65				70				75					80		
Ser	Ser	Leu	Gln	Ala	Glu	Asp	Val	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Phe
			85				90					95			
Leu	Glu	Phe	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
			100				105					110			

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<220>

<221> 变体

<222> (6) .. (6)

<223> /置换="Asn"

<220>

<221> 位点

<222> (1) .. (10)

<223> /注释="序列中给出的变体残基对变体位置的注解中的那些没有偏好"

<400> 28

Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Phe	Tyr	Met	Ser
1				5				10	

<210> 29

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"
<220>
<221> 变体
<222> (5) .. (5)
<223> /置换="Arg"
<220>
<221> 变体
<222> (6) .. (6)
<223> /置换="Pro"
<220>
<221> 变体
<222> (8) .. (8)
<223> /置换="Ala"
<220>
<221> 变体
<222> (11) .. (11)
<223> /置换="Thr"
<220>
<221> 变体
<222> (12) .. (12)
<223> /置换="Asp"
<220>
<221> 位点
<222> (1) .. (19)
<223> /注释="序列中给出的变体残基对变体位置的注解中的那些没有偏好"
<400> 29
Val Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Ala Gly Tyr Asn Pro Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly
<210> 30
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"
<220>
<221> 变体
<222> (1) .. (1)

<223> /置换="Thr"
<220>
<221> 变体
<222> (4) .. (4)
<223> /置换="Ser"
<220>
<221> 位点
<222> (1) .. (9)
<223> /注释="序列中给出的变体残基对变体位置的注解中的那些没有偏好"
<400> 30
Ala Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr
1 5
<210> 31
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"
<220>
<221> 变体
<222> (10) .. (10)
<223> /置换="Thr"
<220>
<221> 位点
<222> (1) .. (16)
<223> /注释="序列中给出的变体残基对变体位置的注解中的那些没有偏好"
<400> 31
Gln Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15
<210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"
<220>
<221> 变体

<222> (6) .. (6)
<223> /置换="Phe"
<220>
<221> 位点
<222> (1) .. (9)
<223> /注释="序列中给出的变体残基对变体位置的注解中的那些没有偏好"
<400> 32
Gln Gln Phe Leu Glu Tyr Pro Phe Thr
1 5
<210> 33
<400> 33
000
<210> 34
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"
<400> 34
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5
<210> 35
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述:合成6xHis标签"
<400> 35
His His His His His His
1 5
<210> 36
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 36

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35					40					45		
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
			50				55					60			
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70				75					80	
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90						95	
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
			100					105					110		

Pro

<210> 37

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 37

Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu
1				5					10					15	
Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe
			20					25					30		
Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln
			35					40					45		
Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser
			50				55				60				
Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu
65					70				75					80	
Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser
			85					90						95	
Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys					
			100					105							

<210> 38

<211> 217

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 38

Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
1				5					10					15	
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
			20					25					30		
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr
		35					40					45			
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
	50					55					60				
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
65				70					75					80	
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
			85					90					95		
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
		100						105					110		
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu
	115						120					125			
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
	130					135					140				
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
145				150					155					160	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
			165					170					175		
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
		180					185					190			
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
		195				200					205				
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys							
	210					215									

<210> 39

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 39

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 115 120 125
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 145 150 155 160
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175
 Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 180 185 190
 Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln
 195 200 205
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215

<210> 40

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 40

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 115 120 125
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Ser Asp Ile Ala Val Trp Trp Glu Ser Tyr Gly Thr Glu Trp Ser Ser
 145 150 155 160
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Thr Lys Glu Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val
 180 185 190
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 195 200 205
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215

<210> 41

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 41

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35			40			45									
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
50			55			60									
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
65			70			75			80						
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
85			90			95									
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
100			105			110									
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu
115			120			125									
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
130			135			140									
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Trp	Trp	Glu	Ser	Tyr	Gly	Thr	Glu	Trp	Ser	Ser
145			150			155			160						
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
165			170			175									
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Thr	Lys	Glu	Glu	Trp	Gln	Gln	Gly	Phe	Val
180			185			190									
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His	Ser	His	Tyr	Thr	Gln
195			200			205									
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys							
210			215												

42

448 <211>

⟨212⟩ PRT

〈213〉 人工序列 (Artificial Sequence)

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 来源

〈223〉 /注释=“人工序列的描述:合成多核苷酸”

42

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Phe
			20					25					30		
Tyr	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ser	Val	Ile	Arg	Asn	Lys	Ala	Asn	Ala	Tyr	Thr	Ala	Gly	Tyr	Asn	Pro
	50					55					60				

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr			
65	70	75	80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr			
	85	90	95
Tyr Cys Ala Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
	100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro			
	115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly			
	130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn			
145	150	155	160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln			
	165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser			
	180	185	190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser			
	195	200	205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr			
	210	215	220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser			
225	230	235	240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg			
	245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro			
	260	265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala			
	275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val			
	290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
305	310	315	320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr			
	325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
	340	345	350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys			
	355	360	365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Trp Trp Glu Ser			

370	375	380
Tyr Gly Thr Glu Trp Ser Ser Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
385	390	395
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Thr Lys Glu		400
	405	410
Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala		415
	420	425
Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		430
	435	440
		445
<210> 43		
<211> 217		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"		
<400> 43		
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		
1	5	10
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		
	20	25
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr		30
	35	40
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu		45
	50	55
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		60
65	70	75
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		80
	85	90
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln		95
	100	105
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu		110
	115	120
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		125
	130	135
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Phe Gly Thr Glu Trp Ser Asn		140
145	150	155
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		160
	165	170
		175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Ser Lys Glu Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val
 180 185 190
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 195 200 205
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215

<210> 44

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 44

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 115 120 125
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Phe Gly Thr Glu Trp Ser Asn
 145 150 155 160
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Ser Lys Glu Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val
 180 185 190
 Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln

195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
210	215	
<210> 45		
<211> 448		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"		
<400> 45		
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1 5 10 15		
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe		
20 25 30		
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35 40 45		
Ser Val Ile Arg Asn Lys Ala Asn Ala Tyr Thr Ala Gly Tyr Asn Pro		
50 55 60		
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr		
65 70 75 80		
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
85 90 95		
Tyr Cys Ala Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
100 105 110		
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro		
115 120 125		
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
130 135 140		
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn		
145 150 155 160		
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
165 170 175		
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser		
180 185 190		
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser		
195 200 205		
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		
210 215 220		

His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
225					230				235					240	
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
				245					250					255	
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
			260						265					270	
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
		275							280					285	
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
	290								295					300	
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr
305					310					315					320
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr
				325						330					335
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu
			340						345						350
Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys
		355							360						365
Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser
		370							375						380
Phe	Gly	Thr	Glu	Trp	Ser	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp
385						390					395				400
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Ser	Lys	Glu
				405						410					415
Glu	Trp	Gln	Gln	Gly	Phe	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala
			420						425					430	
Leu	His	Ser	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys
		435							440					445	

<210> 46

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 46

Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
1					5				10					15	
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val

20	25	30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr		
35	40	45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu		
50	55	60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
65	70	75
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
85	90	95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln		
100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu		
115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Tyr Gly Thr Glu Trp Val Asn		
145	150	155
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
165	170	175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Thr Lys Glu Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val		
180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln		
195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
210	215	

<210> 47

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 47

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		
1	5	10
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		
20	25	30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr		
35	40	45

Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
50						55					60				
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
65				70					75					80	
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
			85						90					95	
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
			100					105					110		
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu
		115					120					125			
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
		130				135					140				
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Tyr	Gly	Thr	Glu	Trp	Val	Asn
145				150					155					160	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
			165					170					175		
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Thr	Lys	Glu	Glu	Trp	Gln	Gln	Gly	Phe	Val
		180					185					190			
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His	Ser	His	Tyr	Thr	Gln
		195					200					205			
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys							
		210				215									

<210> 48

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 48

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1			5					10					15		
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Phe
			20					25				30			
Tyr	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35				40					45				
Ser	Val	Ile	Arg	Asn	Lys	Ala	Asn	Ala	Tyr	Thr	Ala	Gly	Tyr	Asn	Pro
		50				55					60				
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr

65	70	75	80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr			
	85	90	95
Tyr Cys Ala Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
	100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro			
	115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly			
	130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn			
145	150	155	160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln			
	165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser			
	180	185	190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser			
	195	200	205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr			
	210	215	220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser			
225	230	235	240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg			
	245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro			
	260	265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala			
	275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val			
	290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
305	310	315	320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr			
	325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
	340	345	350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys			
	355	360	365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
	370	375	380

Tyr Gly Thr Glu Trp Val Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Thr Lys Glu
 405 410 415
 Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 49
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"
 <400> 49
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 115 120 125
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Tyr Gly Thr Glu Trp Ser Asn
 145 150 155 160
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Ser Lys Glu Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val

	180		185		190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln					
	195		200		205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
	210		215		
<210> 50					
<211> 217					
<212> PRT					
<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
<220>					
<221> 来源					
<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"					
<400> 50					
Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys					
1	5		10		15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val					
	20		25		30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr					
	35		40		45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu					
	50		55		60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His					
65	70		75		80
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys					
	85		90		95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln					
	100		105		110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu					
	115		120		125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro					
	130		135		140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Tyr Gly Thr Glu Trp Ser Asn					
145	150		155		160
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu					
	165		170		175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Ser Lys Glu Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val					
	180		185		190
Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln					
	195		200		205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

210

215

<210> 51

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 51

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe

20

25

30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

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

50

55

60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr

65

70

75

80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85

90

95

Tyr Cys Ala Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115

120

125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130

135

140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145

150

155

160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165

170

175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180

185

190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195

200

205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210

215

220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser

225	230	235	240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg			
	245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro			
	260	265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala			
	275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val			
	290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
305	310	315	320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr			
	325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
	340	345	350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys			
	355	360	365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
	370	375	380
Tyr Gly Thr Glu Trp Ser Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp			
385	390	395	400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Ser Lys Glu			
	405	410	415
Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala			
	420	425	430
Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	435	440	445
<210> 52			
<211> 448			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<221> 来源			
<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"			
<400> 52			
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe			
	20	25	30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ser Val Ile Arg Asn Lys Ala Asn Ala Tyr Thr Ala Gly Tyr Asn Pro		
50	55	60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr		
65	70	75
80		
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
85	90	95
Tyr Cys Ala Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro		
115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn		
145	150	155
160		
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser		
180	185	190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser		
195	200	205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		
210	215	220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser		
225	230	235
240		
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
260	265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
305	310	315
320		
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		

340	345	350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys		
355	360	365
Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
370	375	380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
385	390	395
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
405	410	415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala		
420	425	430
Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
435	440	445
<210> 53		
<211> 448		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"		
<400> 53		
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1 5 10 15		
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe		
20 25 30		
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35 40 45		
Ser Val Ile Arg Asn Lys Ala Asn Ala Tyr Thr Ala Gly Tyr Asn Pro		
50 55 60		
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr		
65 70 75 80		
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
85 90 95		
Tyr Cys Ala Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
100 105 110		
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro		
115 120 125		
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
130 135 140		

Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
145					150					155					160
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
			165					170						175	
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
			180					185					190		
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser
		195					200					205			
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
	210					215					220				
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
225					230				235						240
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
			245						250					255	
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
			260					265					270		
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
		275					280					285			
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
	290					295					300				
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr
305					310				315						320
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr
			325						330				335		
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu
		340						345					350		
Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys
		355					360					365			
Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser
	370					375				380					
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp
385					390				395						400
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser
			405						410				415		
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala
		420						425				430			
Leu	His	Ser	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys
	435						440					445			

<210> 54

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 54

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1           5           10           15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
           20           25           30
Thr Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
           35           40           45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Trp Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Pro
           50           55           60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65           70           75           80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe
           85           90           95
Leu Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           100          105          110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
           115          120          125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
           130          135          140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145          150          155          160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
           165          170          175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
           180          185          190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
           195          200          205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
           210          215

```

<210> 55

<211> 181

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 55

Asn Ser Val Ile Ile Val Asp Lys Asn Gly Arg Leu Val Tyr Leu Val
 1 5 10 15
 Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Val Ala Tyr Ser Lys Ala Ala Thr Val Thr
 20 25 30
 Gly Lys Leu Val His Ala Asn Phe Gly Thr Lys Lys Asp Phe Glu Asp
 35 40 45
 Leu Tyr Thr Pro Val Asn Gly Ser Ile Val Ile Val Arg Ala Gly Lys
 50 55 60
 Ile Thr Phe Ala Glu Lys Val Ala Asn Ala Glu Ser Leu Asn Ala Ile
 65 70 75 80
 Gly Val Leu Ile Tyr Met Asp Gln Thr Lys Phe Pro Ile Val Asn Ala
 85 90 95
 Glu Leu Ser Phe Phe Gly His Ala His Leu Gly Thr Gly Asp Pro Tyr
 100 105 110
 Thr Pro Gly Phe Pro Ser Phe Asn His Thr Gln Phe Pro Pro Ser Arg
 115 120 125
 Ser Ser Gly Leu Pro Asn Ile Pro Val Gln Thr Ile Ser Arg Ala Ala
 130 135 140
 Ala Glu Lys Leu Phe Gly Asn Met Glu Gly Asp Cys Pro Ser Asp Trp
 145 150 155 160
 Lys Thr Asp Ser Thr Cys Arg Met Val Thr Ser Glu Ser Lys Asn Val
 165 170 175
 Lys Leu Thr Val Ser
 180

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 56

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

<210> 57

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 57

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 58

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2) .. (2)

<223> 任何氨基酸

<400> 58

Tyr Xaa Thr Glu Trp Ser Ser

1 5

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2) .. (3)

<223> 任何氨基酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5) .. (8)

<223> 任何氨基酸

<400> 59

Thr Xaa Xaa Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Phe

1 5

<210> 60

<211> 760

<212> PRT

<213> 食蟹猴 (*Macaca fascicularis*)

<400> 60

Met	Met	Asp	Gln	Ala	Arg	Ser	Ala	Phe	Ser	Asn	Leu	Phe	Gly	Gly	Glu
1				5					10					15	
Pro	Leu	Ser	Tyr	Thr	Arg	Phe	Ser	Leu	Ala	Arg	Gln	Val	Asp	Gly	Asp
				20					25					30	
Asn	Ser	His	Val	Glu	Met	Lys	Leu	Gly	Val	Asp	Glu	Glu	Glu	Asn	Thr
				35					40					45	
Asp	Asn	Asn	Thr	Lys	Ala	Asn	Gly	Thr	Lys	Pro	Lys	Arg	Cys	Gly	Gly
				50					55					60	
Asn	Ile	Cys	Tyr	Gly	Thr	Ile	Ala	Val	Ile	Ile	Phe	Phe	Leu	Ile	Gly
65						70				75					80
Phe	Met	Ile	Gly	Tyr	Leu	Gly	Tyr	Cys	Lys	Gly	Val	Glu	Pro	Lys	Thr
						85				90					95
Glu	Cys	Glu	Arg	Leu	Ala	Gly	Thr	Glu	Ser	Pro	Ala	Arg	Glu	Glu	Pro
						100				105				110	
Glu	Glu	Asp	Phe	Pro	Ala	Ala	Pro	Arg	Leu	Tyr	Trp	Asp	Asp	Leu	Lys
						115				120				125	
Arg	Lys	Leu	Ser	Glu	Lys	Leu	Asp	Thr	Thr	Asp	Phe	Thr	Ser	Thr	Ile
						130				135				140	
Lys	Leu	Leu	Asn	Glu	Asn	Leu	Tyr	Val	Pro	Arg	Glu	Ala	Gly	Ser	Gln
145						150				155					160
Lys	Asp	Glu	Asn	Leu	Ala	Leu	Tyr	Ile	Glu	Asn	Gln	Phe	Arg	Glu	Phe
						165				170				175	
Lys	Leu	Ser	Lys	Val	Trp	Arg	Asp	Gln	His	Phe	Val	Lys	Ile	Gln	Val
						180				185				190	
Lys	Asp	Ser	Ala	Gln	Asn	Ser	Val	Ile	Ile	Val	Asp	Lys	Asn	Gly	Gly
						195				200				205	
Leu	Val	Tyr	Leu	Val	Glu	Asn	Pro	Gly	Gly	Tyr	Val	Ala	Tyr	Ser	Lys
						210				215				220	
Ala	Ala	Thr	Val	Thr	Gly	Lys	Leu	Val	His	Ala	Asn	Phe	Gly	Thr	Lys
225						230				235					240
Lys	Asp	Phe	Glu	Asp	Leu	Asp	Ser	Pro	Val	Asn	Gly	Ser	Ile	Val	Ile
						245				250				255	
Val	Arg	Ala	Gly	Lys	Ile	Thr	Phe	Ala	Glu	Lys	Val	Ala	Asn	Ala	Glu
						260				265				270	
Ser	Leu	Asn	Ala	Ile	Gly	Val	Leu	Ile	Tyr	Met	Asp	Gln	Thr	Lys	Phe
						275				280				285	
Pro	Ile	Val	Lys	Ala	Asp	Leu	Ser	Phe	Phe	Gly	His	Ala	His	Leu	Gly
						290				295				300	

Thr Gly Asp Pro Tyr Thr Pro Gly Phe Pro Ser Phe Asn His Thr Gln			
305	310	315	320
Phe Pro Pro Ser Gln Ser Ser Gly Leu Pro Asn Ile Pro Val Gln Thr			
	325	330	335
Ile Ser Arg Ala Ala Ala Glu Lys Leu Phe Gly Asn Met Glu Gly Asp			
	340	345	350
Cys Pro Ser Asp Trp Lys Thr Asp Ser Thr Cys Lys Met Val Thr Ser			
	355	360	365
Glu Asn Lys Ser Val Lys Leu Thr Val Ser Asn Val Leu Lys Glu Thr			
	370	375	380
Lys Ile Leu Asn Ile Phe Gly Val Ile Lys Gly Phe Val Glu Pro Asp			
385	390	395	400
His Tyr Val Val Val Gly Ala Gln Arg Asp Ala Trp Gly Pro Gly Ala			
	405	410	415
Ala Lys Ser Ser Val Gly Thr Ala Leu Leu Leu Lys Leu Ala Gln Met			
	420	425	430
Phe Ser Asp Met Val Leu Lys Asp Gly Phe Gln Pro Ser Arg Ser Ile			
	435	440	445
Ile Phe Ala Ser Trp Ser Ala Gly Asp Phe Gly Ser Val Gly Ala Thr			
	450	455	460
Glu Trp Leu Glu Gly Tyr Leu Ser Ser Leu His Leu Lys Ala Phe Thr			
465	470	475	480
Tyr Ile Asn Leu Asp Lys Ala Val Leu Gly Thr Ser Asn Phe Lys Val			
	485	490	495
Ser Ala Ser Pro Leu Leu Tyr Thr Leu Ile Glu Lys Thr Met Gln Asp			
	500	505	510
Val Lys His Pro Val Thr Gly Arg Ser Leu Tyr Gln Asp Ser Asn Trp			
	515	520	525
Ala Ser Lys Val Glu Lys Leu Thr Leu Asp Asn Ala Ala Phe Pro Phe			
	530	535	540
Leu Ala Tyr Ser Gly Ile Pro Ala Val Ser Phe Cys Phe Cys Glu Asp			
545	550	555	560
Thr Asp Tyr Pro Tyr Leu Gly Thr Thr Met Asp Thr Tyr Lys Glu Leu			
	565	570	575
Val Glu Arg Ile Pro Glu Leu Asn Lys Val Ala Arg Ala Ala Ala Glu			
	580	585	590
Val Ala Gly Gln Phe Val Ile Lys Leu Thr His Asp Thr Glu Leu Asn			
	595	600	605
Leu Asp Tyr Glu Arg Tyr Asn Ser Gln Leu Leu Leu Phe Leu Arg Asp			

610	615	620
Leu Asn Gln Tyr Arg Ala Asp Val Lys Glu Met Gly Leu Ser Leu Gln		
625	630	635
Trp Leu Tyr Ser Ala Arg Gly Asp Phe Phe Arg Ala Thr Ser Arg Leu		
645	650	655
Thr Thr Asp Phe Arg Asn Ala Glu Lys Arg Asp Lys Phe Val Met Lys		
660	665	670
Lys Leu Asn Asp Arg Val Met Arg Val Glu Tyr Tyr Phe Leu Ser Pro		
675	680	685
Tyr Val Ser Pro Lys Glu Ser Pro Phe Arg His Val Phe Trp Gly Ser		
690	695	700
Gly Ser His Thr Leu Ser Ala Leu Leu Glu Ser Leu Lys Leu Arg Arg		
705	710	715
Gln Asn Asn Ser Ala Phe Asn Glu Thr Leu Phe Arg Asn Gln Leu Ala		
725	730	735
Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly Asp		
740	745	750
Val Trp Asp Ile Asp Asn Glu Phe		
755	760	
<210> 61		
<211> 217		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"		
<400> 61		
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		
1	5	10
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		
20	25	30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr		
35	40	45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu		
50	55	60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
65	70	75
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
85	90	95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln		
100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu		
115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn		
145	150	155
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
165	170	175
Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val		
180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln		
195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
210	215	
<210> 62		
<211> 760		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 62		
Met Met Asp Gln Ala Arg Ser Ala Phe Ser Asn Leu Phe Gly Gly Glu		
1	5	10
Pro Leu Ser Tyr Thr Arg Phe Ser Leu Ala Arg Gln Val Asp Gly Asp		
20	25	30
Asn Ser His Val Glu Met Lys Leu Ala Val Asp Glu Glu Glu Asn Ala		
35	40	45
Asp Asn Asn Thr Lys Ala Asn Val Thr Lys Pro Lys Arg Cys Ser Gly		
50	55	60
Ser Ile Cys Tyr Gly Thr Ile Ala Val Ile Val Phe Phe Leu Ile Gly		
65	70	75
Phe Met Ile Gly Tyr Leu Gly Tyr Cys Lys Gly Val Glu Pro Lys Thr		
85	90	95
Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Thr Glu Ser Pro Val Arg Glu Glu Pro		
100	105	110
Gly Glu Asp Phe Pro Ala Ala Arg Arg Leu Tyr Trp Asp Asp Leu Lys		
115	120	125
Arg Lys Leu Ser Glu Lys Leu Asp Ser Thr Asp Phe Thr Gly Thr Ile		
130	135	140

Lys	Leu	Leu	Asn	Glu	Asn	Ser	Tyr	Val	Pro	Arg	Glu	Ala	Gly	Ser	Gln
145					150					155					160
Lys	Asp	Glu	Asn	Leu	Ala	Leu	Tyr	Val	Glu	Asn	Gln	Phe	Arg	Glu	Phe
			165						170					175	
Lys	Leu	Ser	Lys	Val	Trp	Arg	Asp	Gln	His	Phe	Val	Lys	Ile	Gln	Val
		180						185					190		
Lys	Asp	Ser	Ala	Gln	Asn	Ser	Val	Ile	Ile	Val	Asp	Lys	Asn	Gly	Arg
	195						200					205			
Leu	Val	Tyr	Leu	Val	Glu	Asn	Pro	Gly	Gly	Tyr	Val	Ala	Tyr	Ser	Lys
	210					215					220				
Ala	Ala	Thr	Val	Thr	Gly	Lys	Leu	Val	His	Ala	Asn	Phe	Gly	Thr	Lys
225					230					235					240
Lys	Asp	Phe	Glu	Asp	Leu	Tyr	Thr	Pro	Val	Asn	Gly	Ser	Ile	Val	Ile
			245						250					255	
Val	Arg	Ala	Gly	Lys	Ile	Thr	Phe	Ala	Glu	Lys	Val	Ala	Asn	Ala	Glu
			260					265						270	
Ser	Leu	Asn	Ala	Ile	Gly	Val	Leu	Ile	Tyr	Met	Asp	Gln	Thr	Lys	Phe
	275						280					285			
Pro	Ile	Val	Asn	Ala	Glu	Leu	Ser	Phe	Phe	Gly	His	Ala	His	Leu	Gly
	290					295					300				
Thr	Gly	Asp	Pro	Tyr	Thr	Pro	Gly	Phe	Pro	Ser	Phe	Asn	His	Thr	Gln
305					310					315					320
Phe	Pro	Pro	Ser	Arg	Ser	Ser	Gly	Leu	Pro	Asn	Ile	Pro	Val	Gln	Thr
			325						330					335	
Ile	Ser	Arg	Ala	Ala	Ala	Glu	Lys	Leu	Phe	Gly	Asn	Met	Glu	Gly	Asp
		340						345					350		
Cys	Pro	Ser	Asp	Trp	Lys	Thr	Asp	Ser	Thr	Cys	Arg	Met	Val	Thr	Ser
	355						360					365			
Glu	Ser	Lys	Asn	Val	Lys	Leu	Thr	Val	Ser	Asn	Val	Leu	Lys	Glu	Ile
	370					375				380					
Lys	Ile	Leu	Asn	Ile	Phe	Gly	Val	Ile	Lys	Gly	Phe	Val	Glu	Pro	Asp
385				390						395					400
His	Tyr	Val	Val	Val	Gly	Ala	Gln	Arg	Asp	Ala	Trp	Gly	Pro	Gly	Ala
			405						410					415	
Ala	Lys	Ser	Gly	Val	Gly	Thr	Ala	Leu	Leu	Leu	Lys	Leu	Ala	Gln	Met
		420						425					430		
Phe	Ser	Asp	Met	Val	Leu	Lys	Asp	Gly	Phe	Gln	Pro	Ser	Arg	Ser	Ile
	435						440					445			
Ile	Phe	Ala	Ser	Trp	Ser	Ala	Gly	Asp	Phe	Gly	Ser	Val	Gly	Ala	Thr

450	455	460
Glu Trp Leu Glu Gly Tyr Leu Ser Ser Leu His Leu Lys Ala Phe Thr		
465	470	475
Tyr Ile Asn Leu Asp Lys Ala Val Leu Gly Thr Ser Asn Phe Lys Val		480
	485	490
Ser Ala Ser Pro Leu Leu Tyr Thr Leu Ile Glu Lys Thr Met Gln Asn		495
	500	505
Val Lys His Pro Val Thr Gly Gln Phe Leu Tyr Gln Asp Ser Asn Trp		510
	515	520
Ala Ser Lys Val Glu Lys Leu Thr Leu Asp Asn Ala Ala Phe Pro Phe		525
	530	535
Leu Ala Tyr Ser Gly Ile Pro Ala Val Ser Phe Cys Phe Cys Glu Asp		540
545	550	555
Thr Asp Tyr Pro Tyr Leu Gly Thr Thr Met Asp Thr Tyr Lys Glu Leu		560
	565	570
Ile Glu Arg Ile Pro Glu Leu Asn Lys Val Ala Arg Ala Ala Ala Glu		575
	580	585
Val Ala Gly Gln Phe Val Ile Lys Leu Thr His Asp Val Glu Leu Asn		590
	595	600
Leu Asp Tyr Glu Arg Tyr Asn Ser Gln Leu Leu Ser Phe Val Arg Asp		605
	610	615
Leu Asn Gln Tyr Arg Ala Asp Ile Lys Glu Met Gly Leu Ser Leu Gln		620
625	630	635
Trp Leu Tyr Ser Ala Arg Gly Asp Phe Phe Arg Ala Thr Ser Arg Leu		640
	645	650
Thr Thr Asp Phe Gly Asn Ala Glu Lys Thr Asp Arg Phe Val Met Lys		655
	660	665
Lys Leu Asn Asp Arg Val Met Arg Val Glu Tyr His Phe Leu Ser Pro		670
	675	680
Tyr Val Ser Pro Lys Glu Ser Pro Phe Arg His Val Phe Trp Gly Ser		685
	690	695
Gly Ser His Thr Leu Pro Ala Leu Leu Glu Asn Leu Lys Leu Arg Lys		700
705	710	715
Gln Asn Asn Gly Ala Phe Asn Glu Thr Leu Phe Arg Asn Gln Leu Ala		720
	725	730
Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly Asp		735
	740	745
Val Trp Asp Ile Asp Asn Glu Phe		750
	755	760

<210> 63

<211> 216

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 63

Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
1				5					10					15	
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
			20					25					30		
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr
		35					40					45			
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
	50					55				60					
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
65				70					75					80	
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
			85					90					95		
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
		100					105					110			
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu
	115					120					125				
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
	130					135					140				
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
145				150					155				160		
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
			165					170					175		
Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
		180					185					190			
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His	Ser	His	Tyr	Thr	Gln
		195				200					205				
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly								
	210					215									

<210> 64

<211> 216

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 64

```

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1           5           10           15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
           20           25           30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
           35           40           45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
           50           55           60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65           70           75           80
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
           85           90           95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
           100          105          110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
           115          120          125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
           130          135          140
Ser Asp Ile Ala Val Trp Trp Glu Ser Tyr Gly Thr Glu Trp Ser Ser
145          150          155          160
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
           165          170          175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Thr Lys Glu Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val
           180          185          190
Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln
           195          200          205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
           210          215

```

<210> 65

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 65

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Phe
			20					25					30		
Tyr	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35				40						45			
Ser	Val	Ile	Arg	Asn	Lys	Ala	Asn	Ala	Tyr	Thr	Ala	Gly	Tyr	Asn	Pro
	50					55					60				
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr
65				70					75					80	
Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
			85					90					95		
Tyr	Cys	Ala	Arg	Leu	Thr	Tyr	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
			100					105					110		
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro
		115						120					125		
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
		130				135						140			
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
145				150					155					160	
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
			165					170					175		
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
			180					185					190		
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser
		195				200					205				
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
	210					215					220				
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
225				230					235					240	
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
			245					250					255		
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
			260					265					270		
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
	275					280					285				
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val

290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
305	310	315
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
	325	330
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
	340	345
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys		
	355	360
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Trp Trp Glu Ser		
370	375	380
Tyr Gly Thr Glu Trp Ser Ser Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
385	390	395
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Thr Lys Glu		
	405	410
Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala		
	420	425
Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
435	440	445

<210> 66

<211> 216

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 66

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		
1	5	10
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		
	20	25
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr		
	35	40
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu		
	50	55
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
65	70	75
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
	85	90
		95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 115 120 125
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Phe Gly Thr Glu Trp Ser Asn
 145 150 155 160
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Ser Lys Glu Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val
 180 185 190
 Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln
 195 200 205
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 210 215

<210> 67

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 67

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Val Ile Arg Asn Lys Ala Asn Ala Tyr Thr Ala Gly Tyr Asn Pro
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Ala Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn		
145	150	155
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser		
180	185	190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser		
195	200	205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		
210	215	220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser		
225	230	235
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
260	265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
305	310	315
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
340	345	350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys		
355	360	365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
370	375	380
Phe Gly Thr Glu Trp Ser Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
385	390	395
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Ser Lys Glu		
405	410	415
Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala		
420	425	430

Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

<210> 68

<211> 216

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 68

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 115 120 125
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Tyr Gly Thr Glu Trp Val Asn
 145 150 155 160
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Thr Lys Glu Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val
 180 185 190
 Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln
 195 200 205
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 210 215

<210> 69

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 69

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Phe	20	25	30	
Tyr	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	35	40	45	
Ser	Val	Ile	Arg	Asn	Lys	Ala	Asn	Ala	Tyr	Thr	Ala	Gly	Tyr	Asn	Pro	50	55	60	
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	65	70	75	80
Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	85	90	95	
Tyr	Cys	Ala	Arg	Leu	Thr	Tyr	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	100	105	110	
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	115	120	125	
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	130	135	140	
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	145	150	155	160
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	165	170	175	
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	180	185	190	
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	195	200	205	
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	210	215	220	
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	225	230	235	240
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	245	250	255	

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro			
260	265	270	
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala			
275	280	285	
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val			
290	295	300	
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
305	310	315	320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr			
325	330	335	
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
340	345	350	
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys			
355	360	365	
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
370	375	380	
Tyr Gly Thr Glu Trp Val Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp			
385	390	395	400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Thr Lys Glu			
405	410	415	
Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala			
420	425	430	
Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
435	440	445	

<210> 70

<211> 216

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 70

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys			
1	5	10	15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val			
20	25	30	
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr			
35	40	45	
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu			

50	55	60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
65	70	75
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
85	90	95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln		
100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu		
115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Tyr Gly Thr Glu Trp Ser Asn		
145	150	155
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
165	170	175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Ser Lys Glu Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val		
180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln		
195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
210	215	
<210> 71		
<211> 447		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"		
<400> 71		
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe		
20	25	30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ser Val Ile Arg Asn Lys Ala Asn Ala Tyr Thr Ala Gly Tyr Asn Pro		
50	55	60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr		
65	70	75
		80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
85	90	95
Tyr Cys Ala Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro		
115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn		
145	150	155
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser		
180	185	190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser		
195	200	205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		
210	215	220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser		
225	230	235
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
260	265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
305	310	315
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
340	345	350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys		
355	360	365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
370	375	380
Tyr Gly Thr Glu Trp Ser Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		

385	390	395	400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Ser Lys Glu			
	405	410	415
Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala			
	420	425	430
Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
	435	440	445
<210> 72			
<211> 447			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<221> 来源			
<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"			
<400> 72			
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe			
	20	25	30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
	35	40	45
Ser Val Ile Arg Asn Lys Ala Asn Ala Tyr Thr Ala Gly Tyr Asn Pro			
	50	55	60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr			
65	70	75	80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr			
	85	90	95
Tyr Cys Ala Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
	100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro			
	115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly			
	130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn			
145	150	155	160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln			
	165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser			
	180	185	190

Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser
195							200					205			
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
210						215					220				
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
225					230				235						240
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
				245					250					255	
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
			260					265					270		
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
		275					280						285		
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
290						295					300				
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr
305					310					315					320
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr
				325					330					335	
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu
			340					345						350	
Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys
		355					360						365		
Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser
		370				375						380			
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp
385					390					395					400
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser
				405					410					415	
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala
			420					425					430		
Leu	His	Ser	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
		435					440					445			

<210> 73

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 73

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Phe
			20					25					30		
Tyr	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ser	Val	Ile	Arg	Asn	Lys	Ala	Asn	Ala	Tyr	Thr	Ala	Gly	Tyr	Asn	Pro
	50					55					60				
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr
65				70					75					80	
Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
			85					90						95	
Tyr	Cys	Ala	Arg	Leu	Thr	Tyr	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
		100						105					110		
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro
		115						120					125		
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
	130					135					140				
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
145				150					155					160	
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
			165					170						175	
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
		180						185					190		
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser
	195					200						205			
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
	210					215					220				
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
225				230					235					240	
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
			245					250						255	
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
		260						265					270		
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
	275					280					285				
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
	290					295					300				

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
 355 360 365
 Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

<210> 74

<211> 453

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 74

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Gln
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gly Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Leu Leu Arg Asn Gln Pro Gly Glu Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

100	105	110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly		
115	120	125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly		
130	135	140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val		
145	150	155
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe		
165	170	175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val		
180	185	190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val		
195	200	205
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys		
210	215	220
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu		
225	230	235
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr		
245	250	255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val		
260	265	270
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val		
275	280	285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser		
290	295	300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu		
305	310	315
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala		
325	330	335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro		
340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln		
355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
385	390	395
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu		
405	410	415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 420 425 430
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 435 440 445
 Leu Ser Pro Gly Lys
 450
 <210> 75
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"
 <400> 75
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 20 25 30
 Asn Arg Tyr Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
 85 90 95
 Thr Arg Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

195	200	205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210	215	
<210> 76		
<211> 453		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"		
<400> 76		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1 5 10 15		
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Gln		
20 25 30		
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile		
35 40 45		
Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gly Lys Phe		
50 55 60		
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		
65 70 75 80		
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85 90 95		
Ala Arg Leu Leu Arg Asn Gln Pro Gly Glu Ser Tyr Ala Met Asp Tyr		
100 105 110		
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly		
115 120 125		
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly		
130 135 140		
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val		
145 150 155 160		
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe		
165 170 175		
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val		
180 185 190		
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val		
195 200 205		
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys		
210 215 220		

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu			
225	230	235	240
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr			
	245	250	255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val			
	260	265	270
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val			
	275	280	285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser			
	290	295	300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu			
	305	310	315
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala			
	325	330	335
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro			
	340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln			
	355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala			
	370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr			
	385	390	395
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu			
	405	410	415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser			
	420	425	430
Val Met His Gly Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser			
	435	440	445

Leu Ser Pro Gly Lys

450

<210> 77

<211> 445

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 77

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

1	5	10	15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp			
20	25	30	
Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp			
35	40	45	
Ile Gly Tyr Met Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Arg Tyr Asn Pro Ser Leu			
50	55	60	
Arg Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser			
65	70	75	80
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Gly Trp Pro Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr			
100	105	110	
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro			
115	120	125	
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val			
130	135	140	
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala			
145	150	155	160
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly			
165	170	175	
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly			
180	185	190	
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys			
195	200	205	
Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys			
210	215	220	
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu			
225	230	235	240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu			
245	250	255	
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys			
260	265	270	
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys			
275	280	285	
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu			
290	295	300	
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys			
305	310	315	320

Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	
				325					330					335		
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	
				340					345					350		
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	
				355					360					365		
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	
				370					375					380		
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	
				385					390					395		
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	
				405					410					415		
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	
				420					425					430		
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys				
				435					440					445		

<210> 78

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 78

Glu	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
1	5				10				15							
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Ser	Ala	Ser	Ser	Ser	Val	Ser	Tyr	Met	
				20					25					30		
Tyr	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr	
				35					40					45		
Asp	Thr	Ser	Asn	Leu	Ala	Ser	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	
				50					55					60		
Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	
				65					70					75		
Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Trp	Ser	Ser	Tyr	Pro	Pro	Ile	
				85					90					95		
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	
				100					105					110		
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	

115	120	125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu	Leu Asn Asn Phe Tyr	Pro Arg Glu Ala
130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp	Asn Ala Leu Gln Ser Gly	Asn Ser Gln
145	150	155
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp	Ser Lys Asp Ser Thr Tyr	Ser Leu Ser
165	170	175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys	Ala Asp Tyr Glu Lys His	Lys Val Tyr
180	185	190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln	Gly Leu Ser Ser Pro Val	Thr Lys Ser
195	200	205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210		
<210> 79		
<211> 450		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"		
<400> 79		
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly	Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln	
1	5	10
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe	Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser	
20	25	30
Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg	Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu	
35	40	45
Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp	Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser	
50	55	60
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser	Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val	
65	70	75
Val Leu Lys Val Thr Asn Met Glu	Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr	
85	90	95
Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn	Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala	
100	105	110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val	
115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys	Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala	
130	135	140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
	165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
	180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys			
	195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp			
	210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly			
225	230	235	240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile			
	245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu			
	260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His			
	275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg			
	290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys			
305	310	315	320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu			
	325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr			
	340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu			
	355	360	365
Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Trp Trp			
	370	375	380
Glu Ser Tyr Gly Thr Glu Trp Ser Ser Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val			
385	390	395	400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Thr			
	405	410	415
Lys Glu Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val Phe Ser Cys Ser Val Met His			
	420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro			
	435	440	445
Gly Lys			

450
 <210> 80
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"
 <400> 80
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Glu Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile			
	245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu			
	260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His			
	275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg			
	290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys			
305	310	315	320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu			
	325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr			
	340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu			
	355	360	365
Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp			
	370	375	380
Glu Ser Tyr Gly Thr Glu Trp Val Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val			
385	390	395	400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Thr			
	405	410	415
Lys Glu Glu Trp Gln Gln Gly Phe Val Phe Ser Cys Ser Val Met His			
	420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro			
	435	440	445
Gly Lys			
	450		
<210> 81			
<211> 450			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<221> 来源			
<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"			
<400> 81			
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln			
1	5	10	15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser			

20	25	30
Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu		
35	40	45
Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser		
50	55	60
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val		
65	70	75
Val Leu Lys Val Thr Asn Met Glu Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr		
85	90	95
Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala		
100	105	110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val		
115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala		
130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser		
145	150	155
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val		
165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro		
180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys		
195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp		
210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly		
225	230	235
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile		
245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu		
260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		
275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg		
290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
305	310	315
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
325	330	335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 82
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"
 <400> 82
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr

115	120	125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys		
130	135	140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu		
145	150	155
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser		
165	170	175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala		
180	185	190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe		
195	200	205
Asn Arg Gly Glu Cys		
210		
<210> 83		
<211> 448		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"		
<400> 83		
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe		
20	25	30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ser Val Ile Arg Asn Lys Ala Asn Ala Tyr Thr Ala Gly Tyr Asn Pro		
50	55	60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr		
65	70	75
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
85	90	95
Tyr Cys Ala Arg Leu Thr Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro		
115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
130	135	140

Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
145					150					155					160
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
			165					170						175	
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
		180						185					190		
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser
	195						200					205			
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
	210					215					220				
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
225					230					235					240
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
			245						250					255	
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
		260						265					270		
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
	275						280						285		
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
	290					295					300				
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr
305					310				315						320
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr
			325						330				335		
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu
		340						345					350		
Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys
		355						360					365		
Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser
	370					375				380					
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp
385					390					395					400
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser
			405						410				415		
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala
		420						425					430		
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys
	435						440					445			

<210> 84

<211> 216

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成多核苷酸"

<400> 84

Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
1				5					10					15	
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
			20					25					30		
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr
		35				40					45				
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
	50					55				60					
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
65				70				75						80	
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
			85					90					95		
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
		100						105					110		
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu
	115					120						125			
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
	130					135					140				
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
145				150				155						160	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
			165					170					175		
Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
		180						185					190		
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His	Ser	His	Tyr	Thr	Gln
	195					200					205				
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly								
210						215									

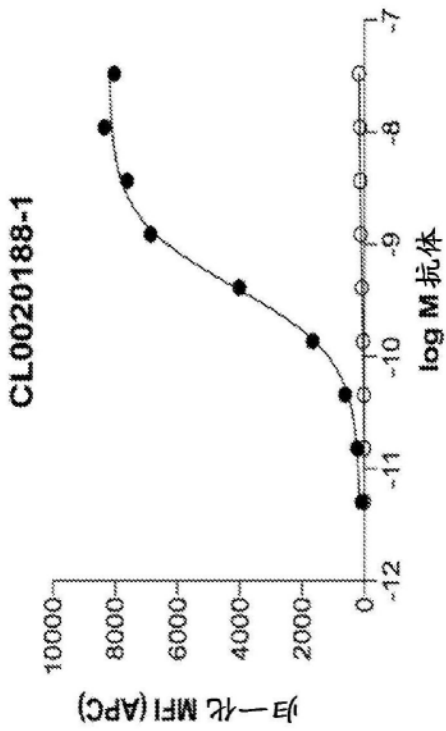


图1A

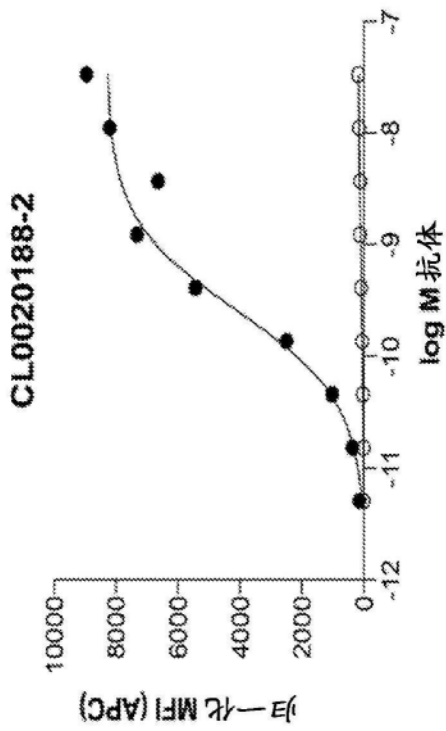


图1B

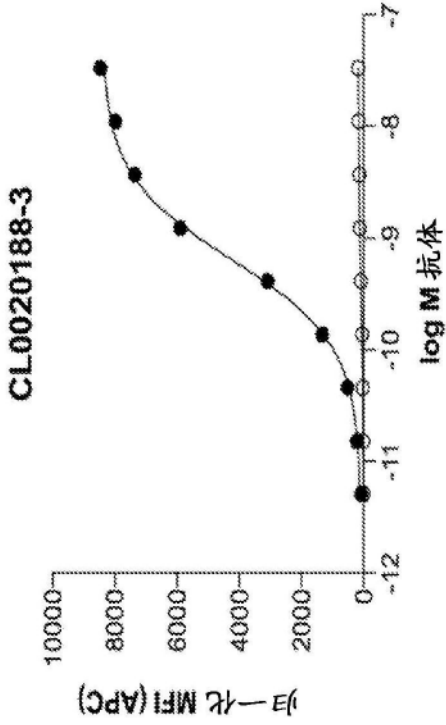


图1C

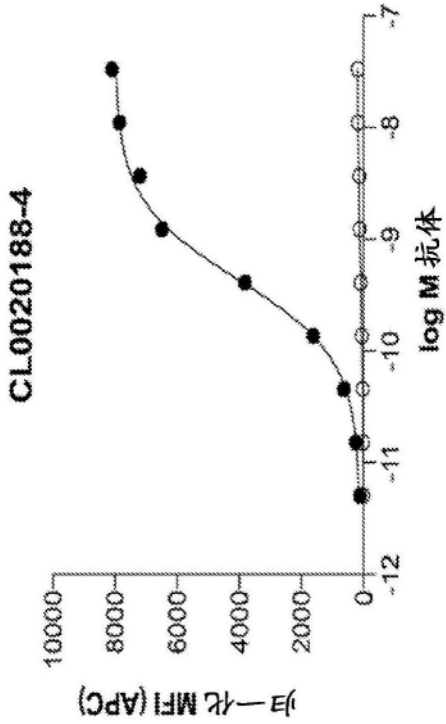


图1D

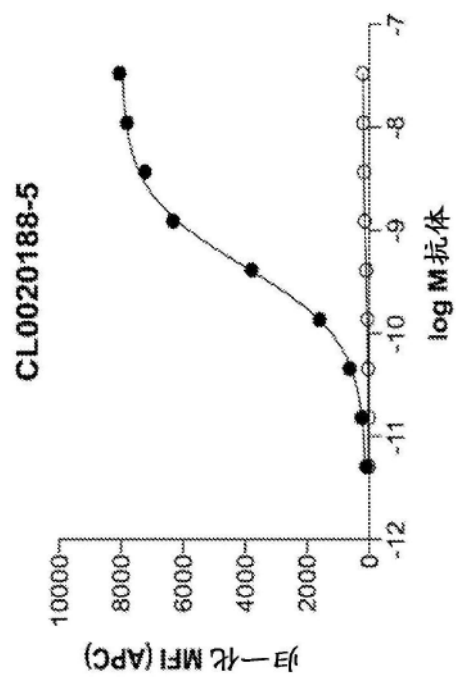


图1E

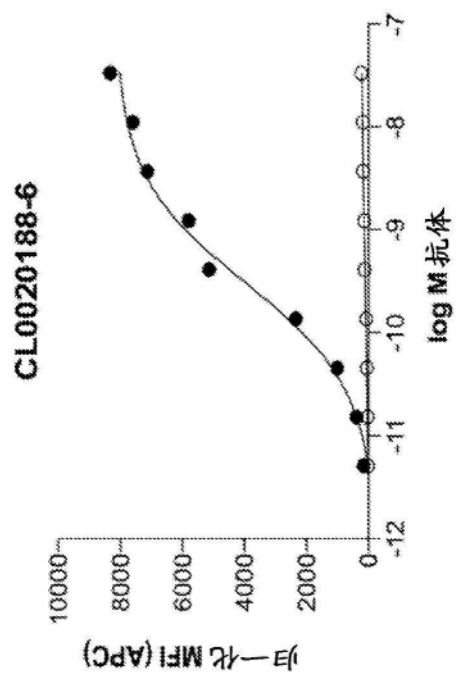


图1F

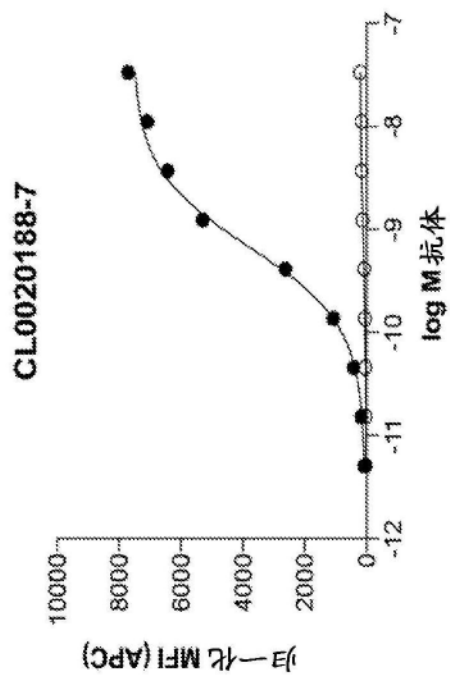


图1G

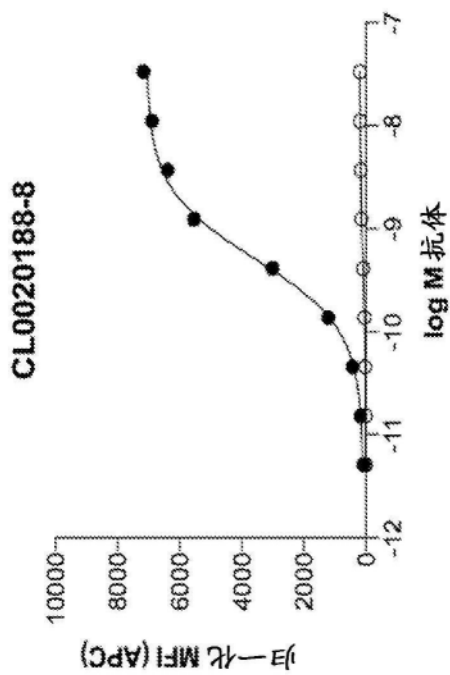


图1H

HEK细胞中的细胞结合

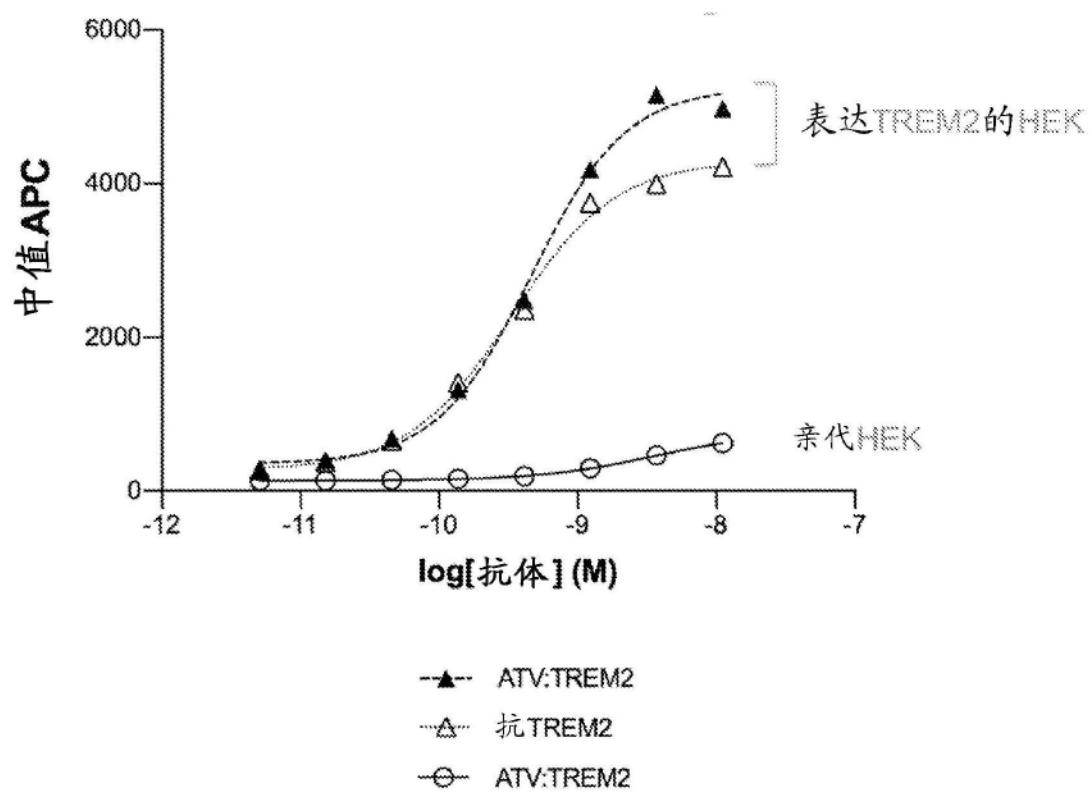


图2

表达TREM2的HEK中的pSYK信号传导

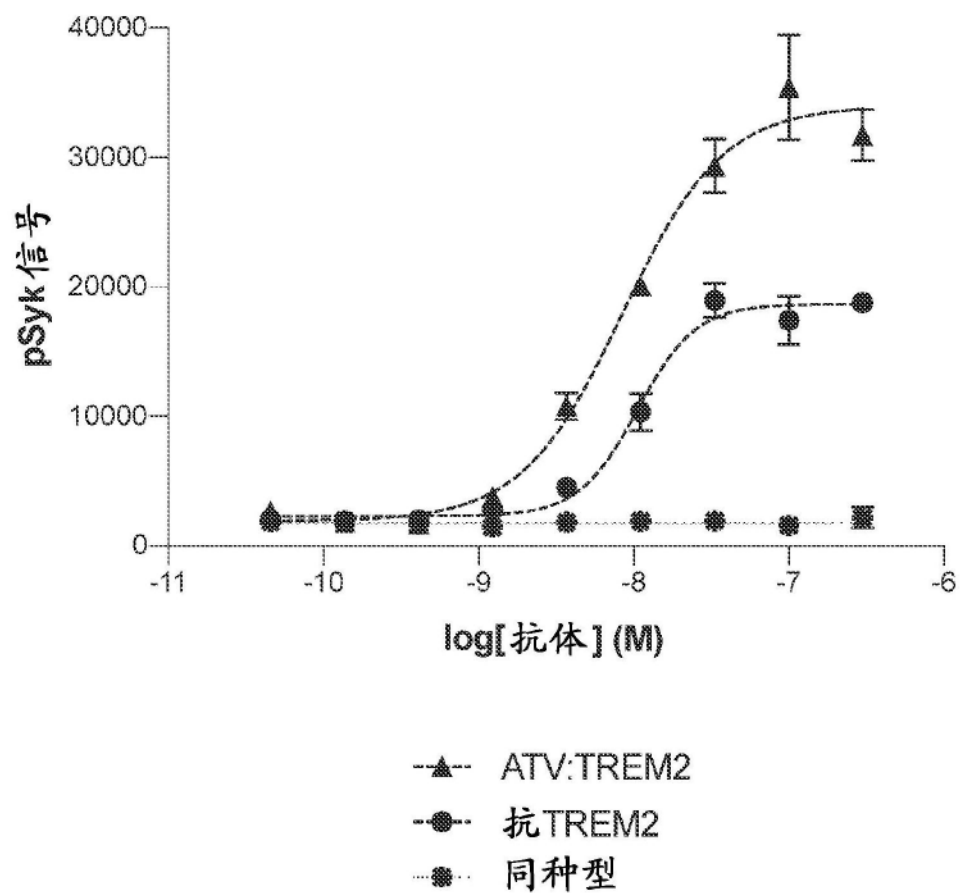


图3

ATV:TREM2

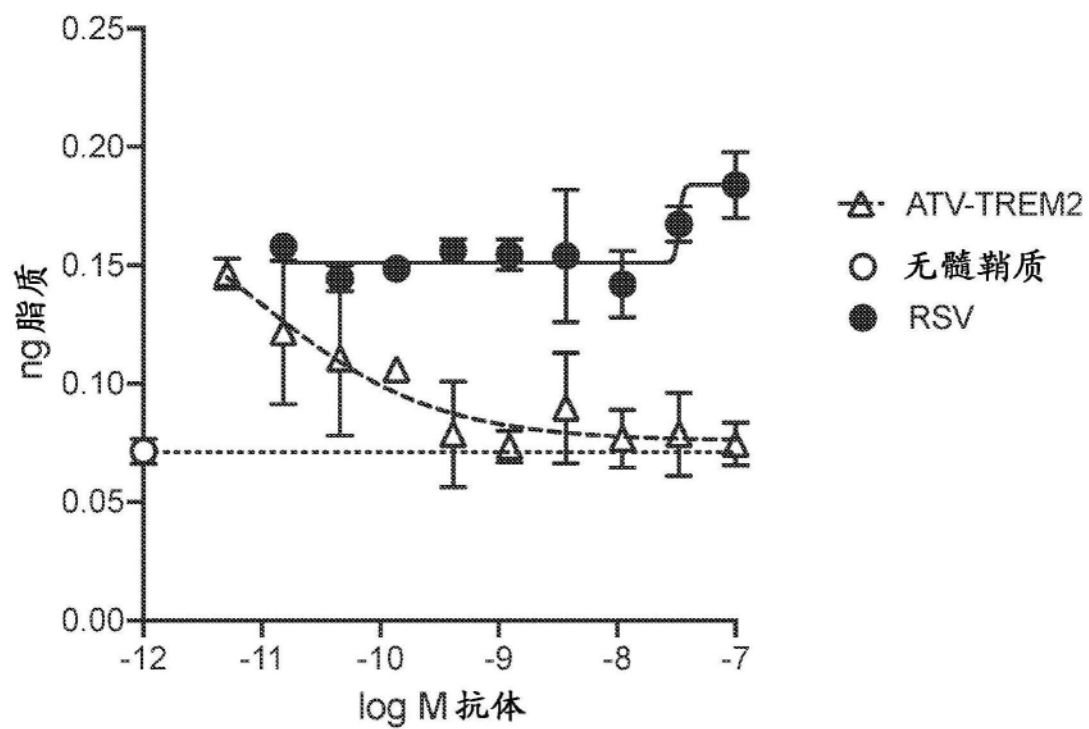


图4A

三酰基甘油 56:4/20:4

10nM 抗体

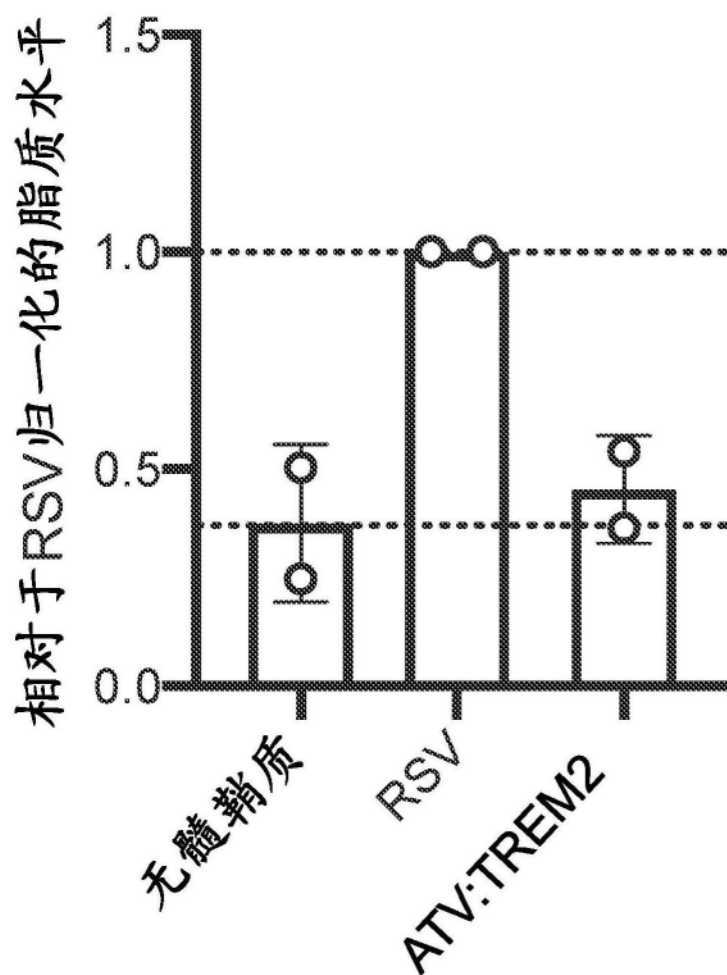


图4B

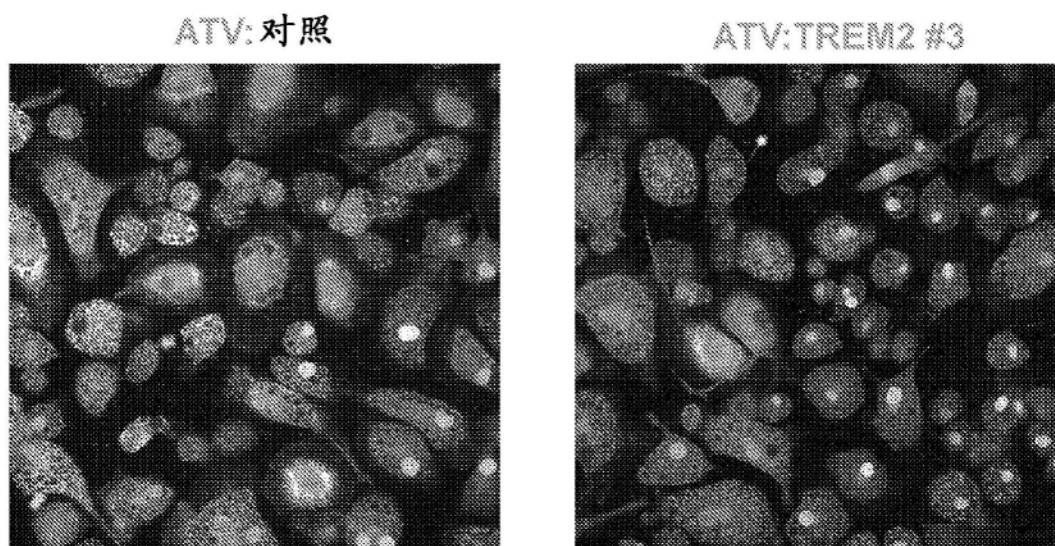


图5A

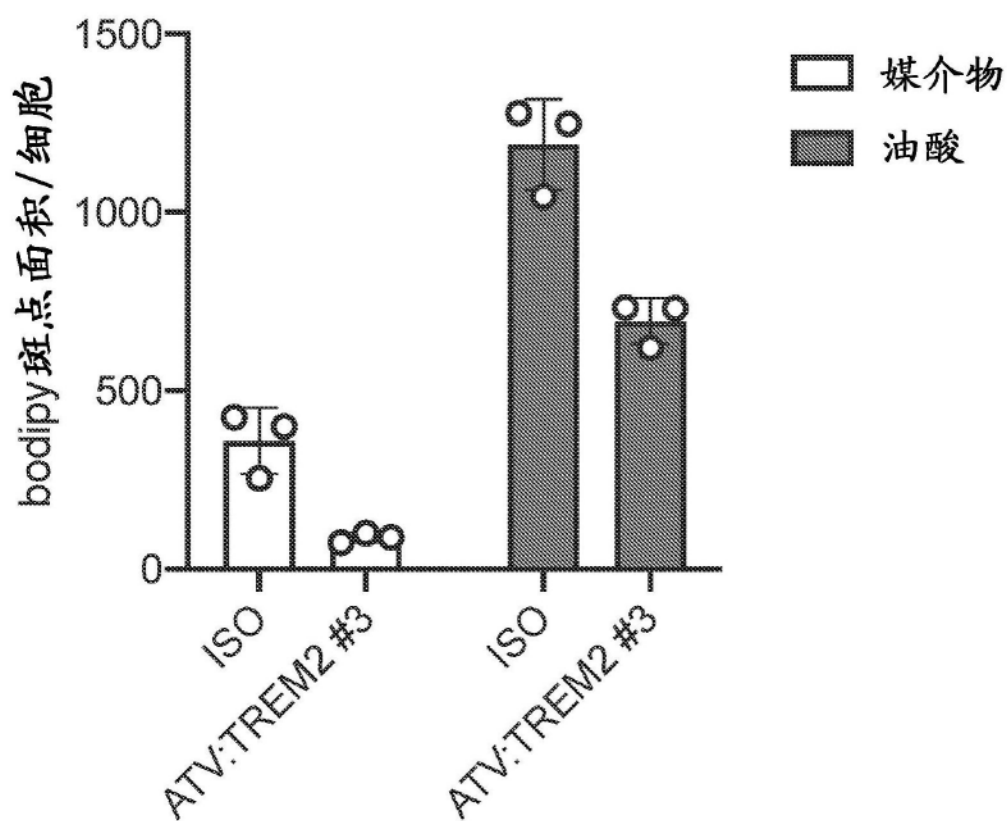
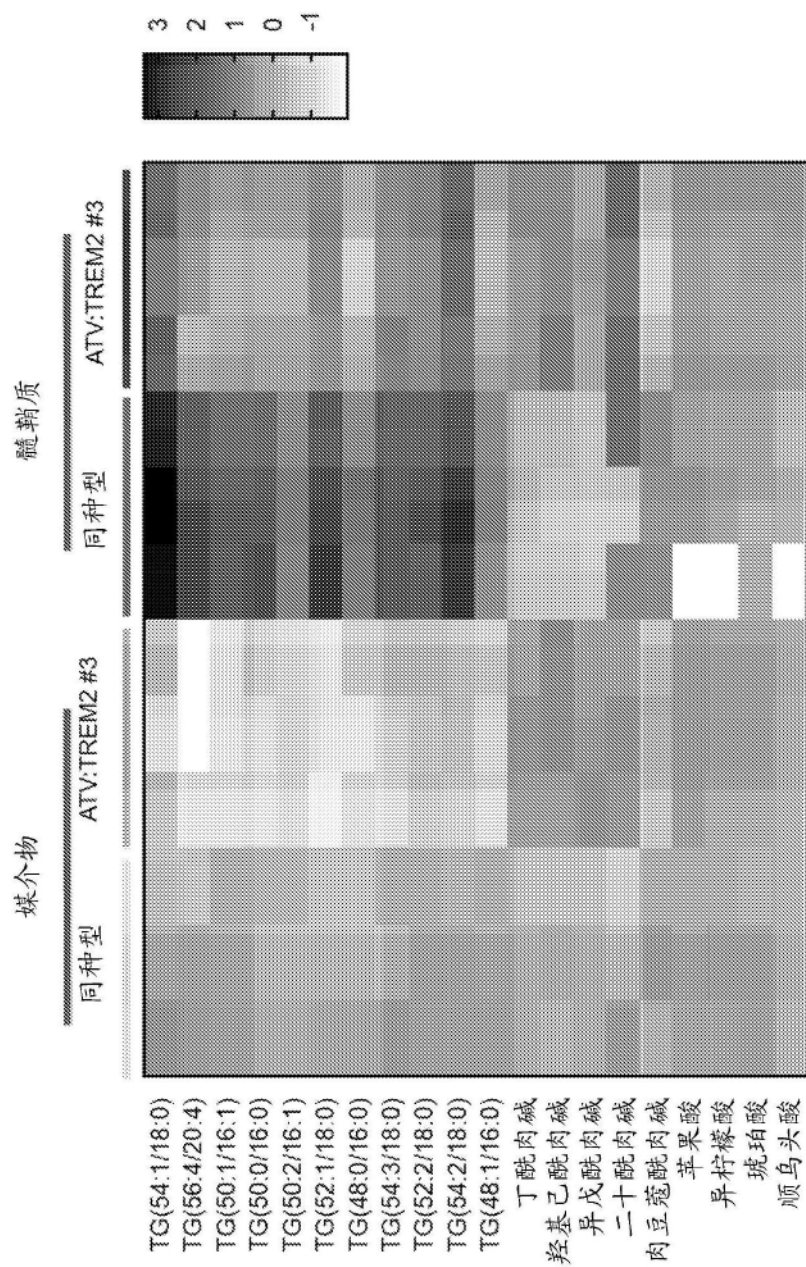


图5B



log₂ 倍数变化

热图显示所量测的 >200 种物质中倍数变化 > 1.5 且 p < 0.05 的所有物质

图5C

脂质: 甘油三酯 54:1/18:0

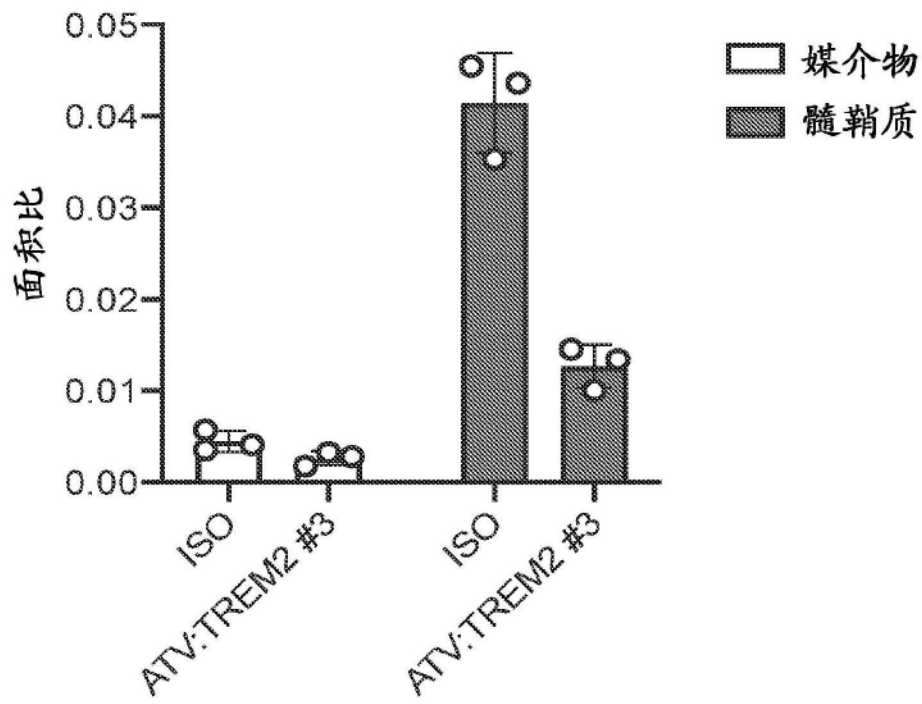


图5D

FAO: 丁酰肉碱

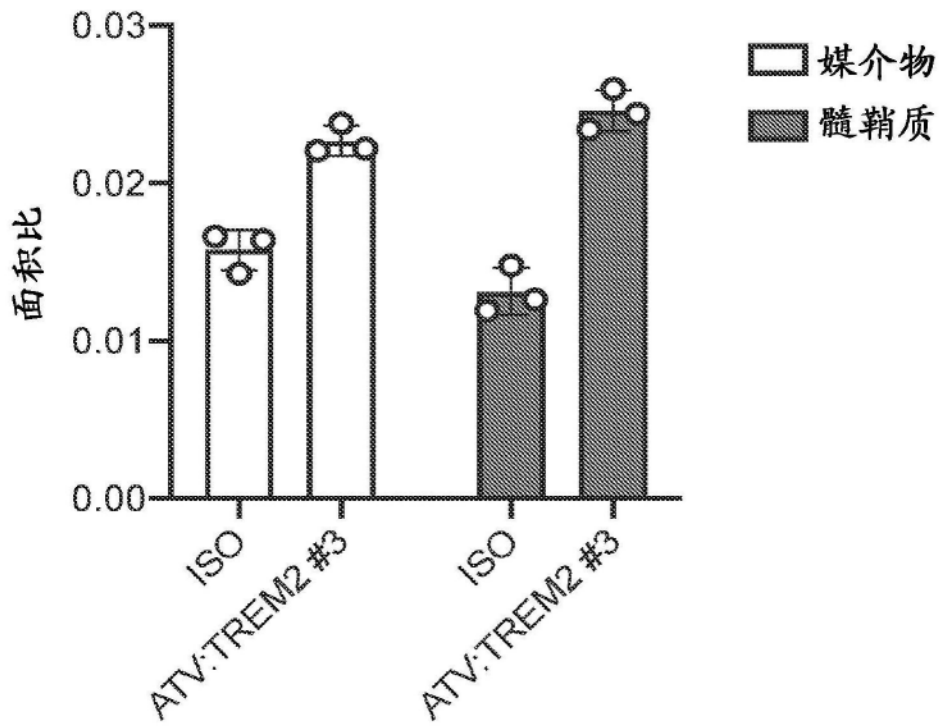


图5E

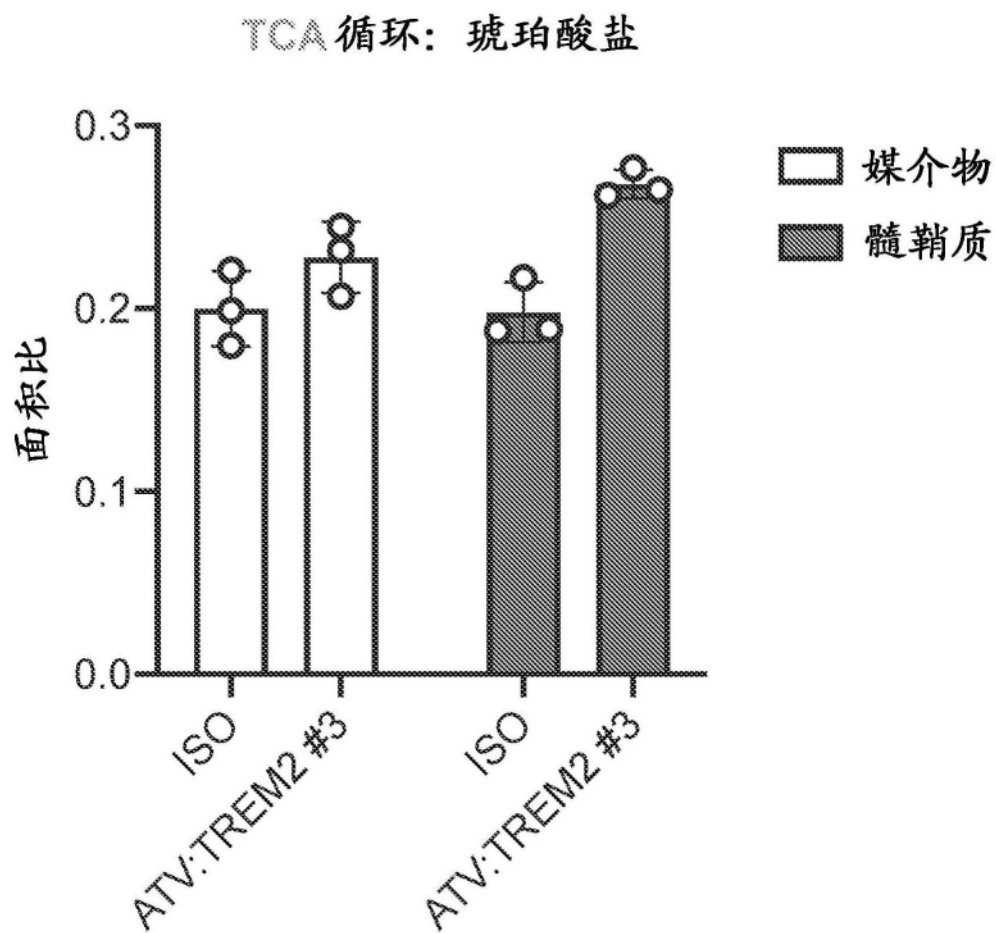


图5F

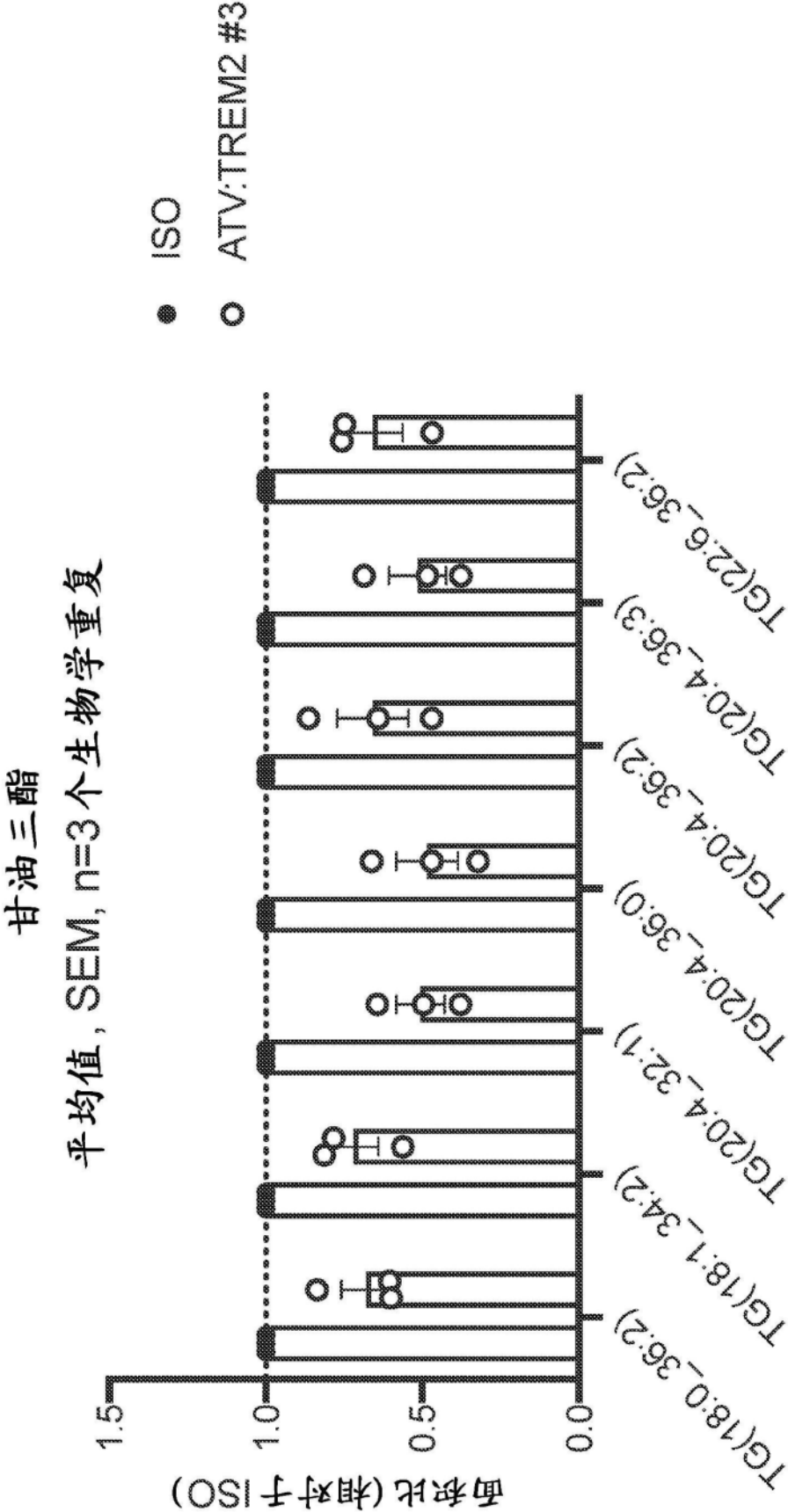


图6A

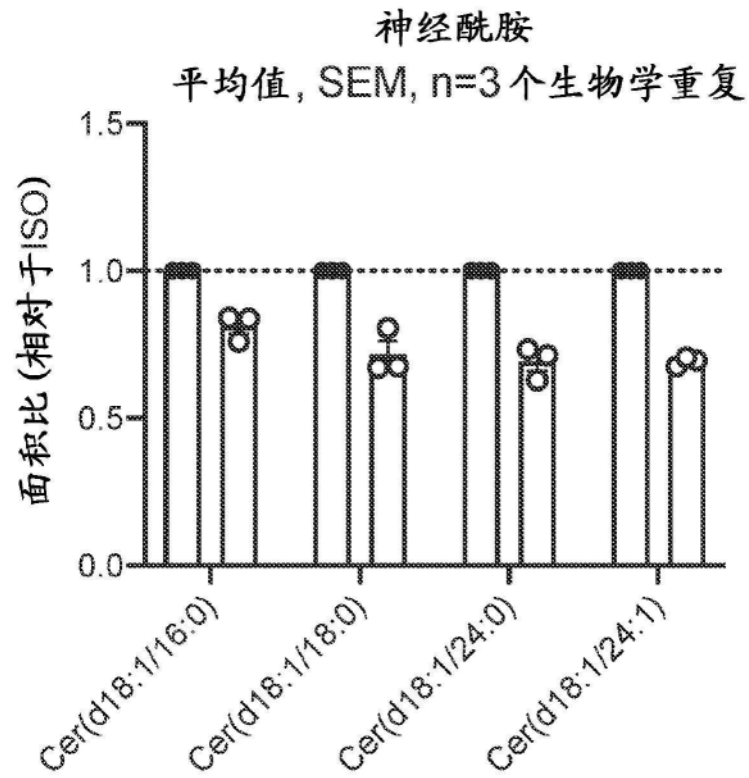


图6B

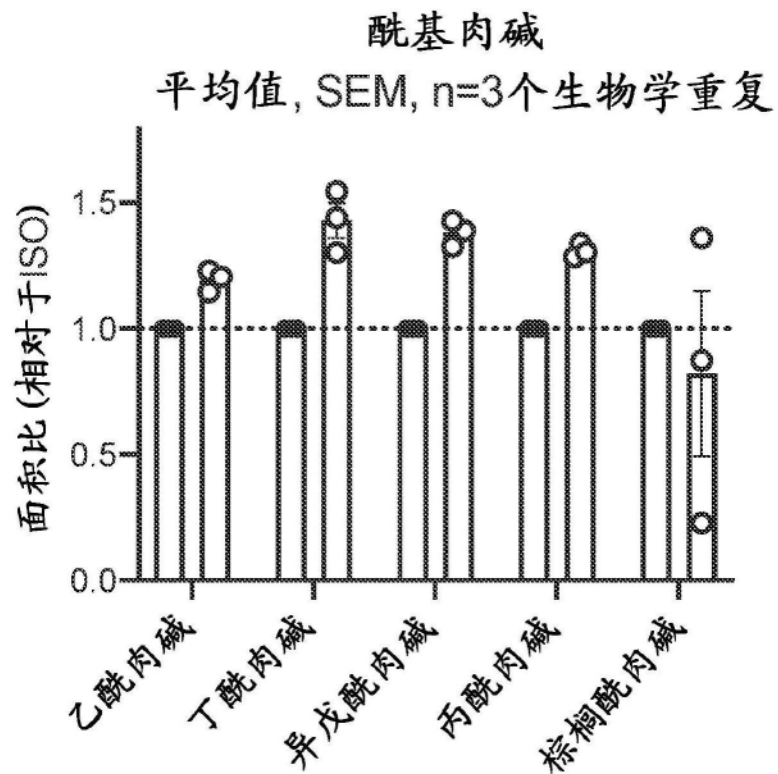


图6C

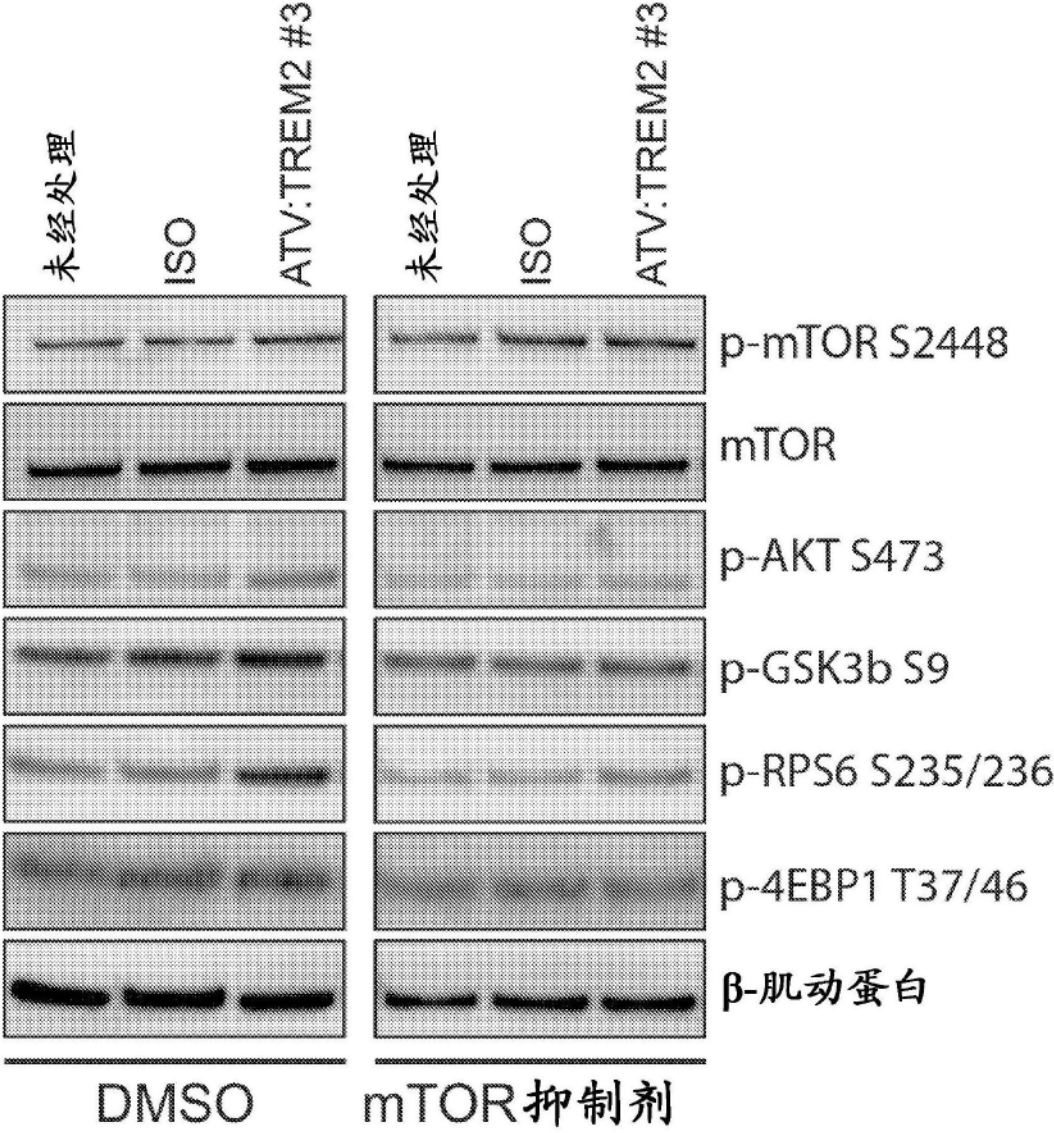


图7A

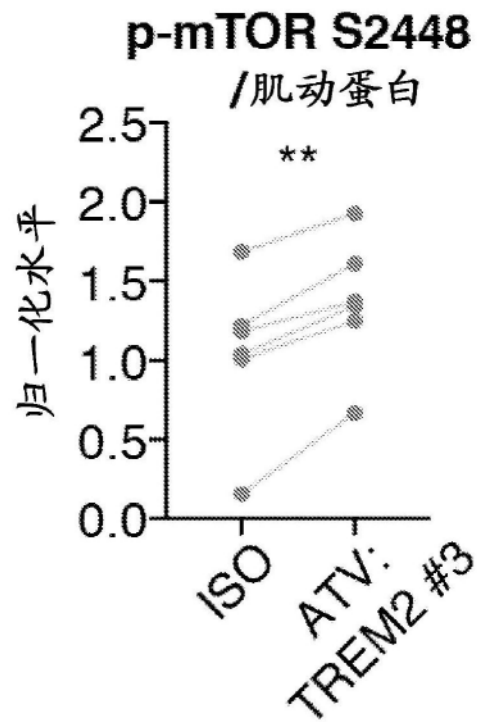


图7B

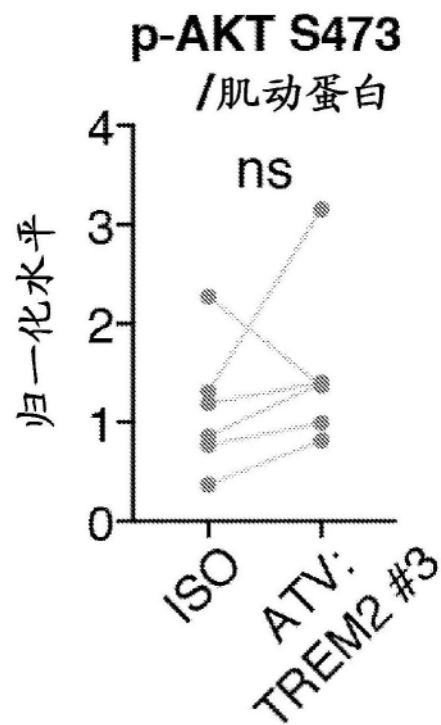


图7C

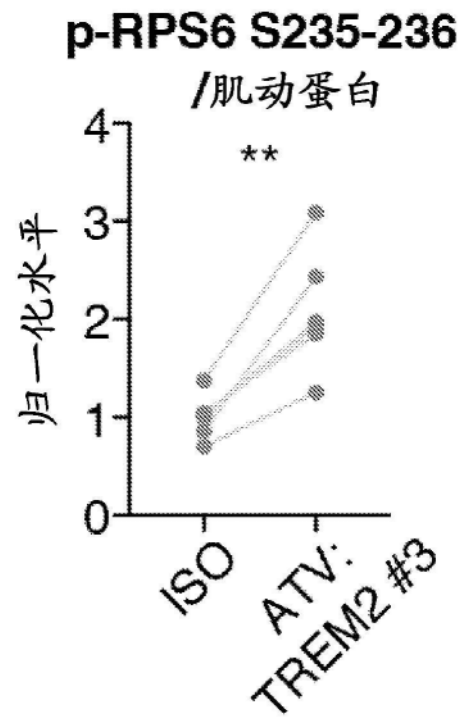


图7D

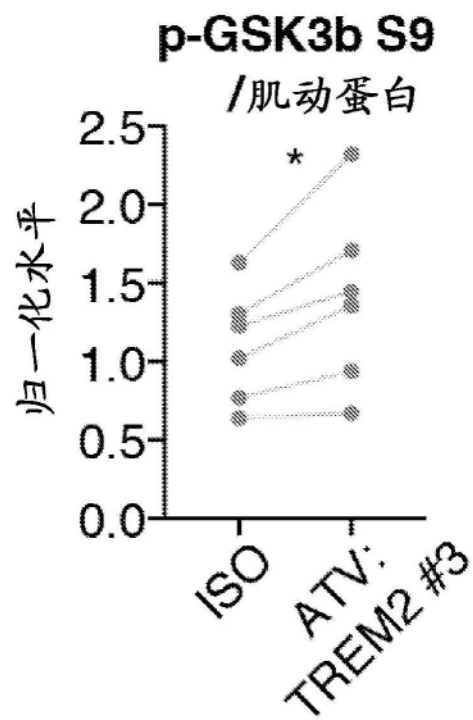


图7E

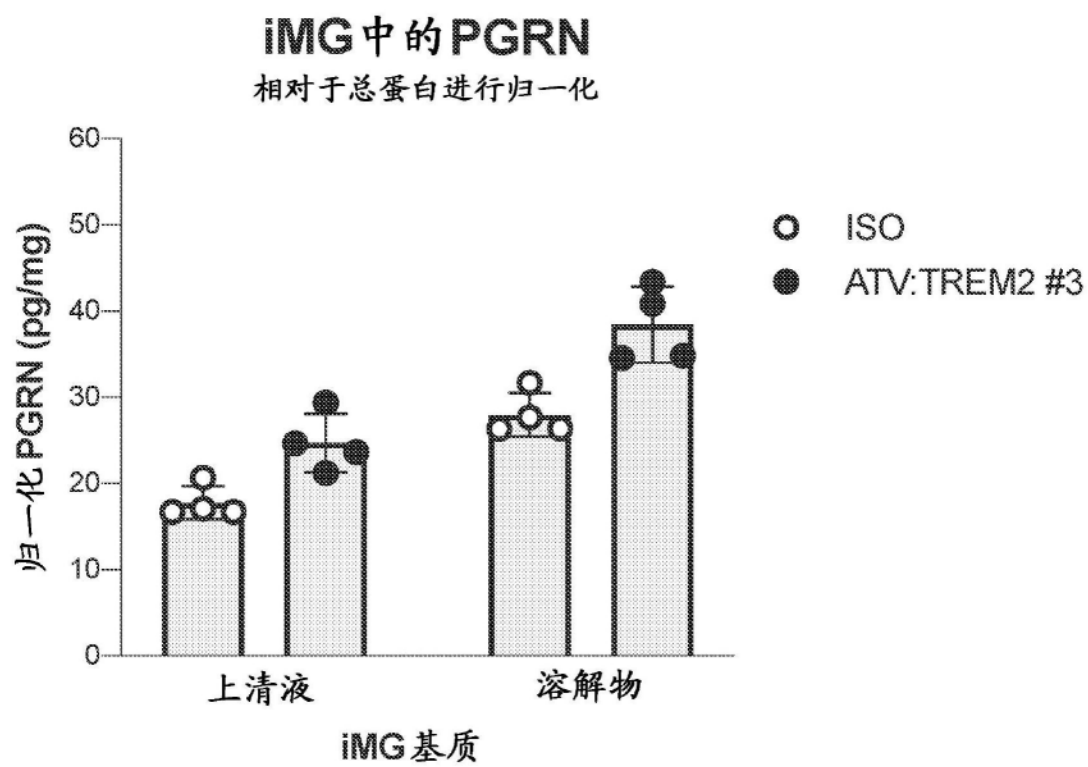


图8

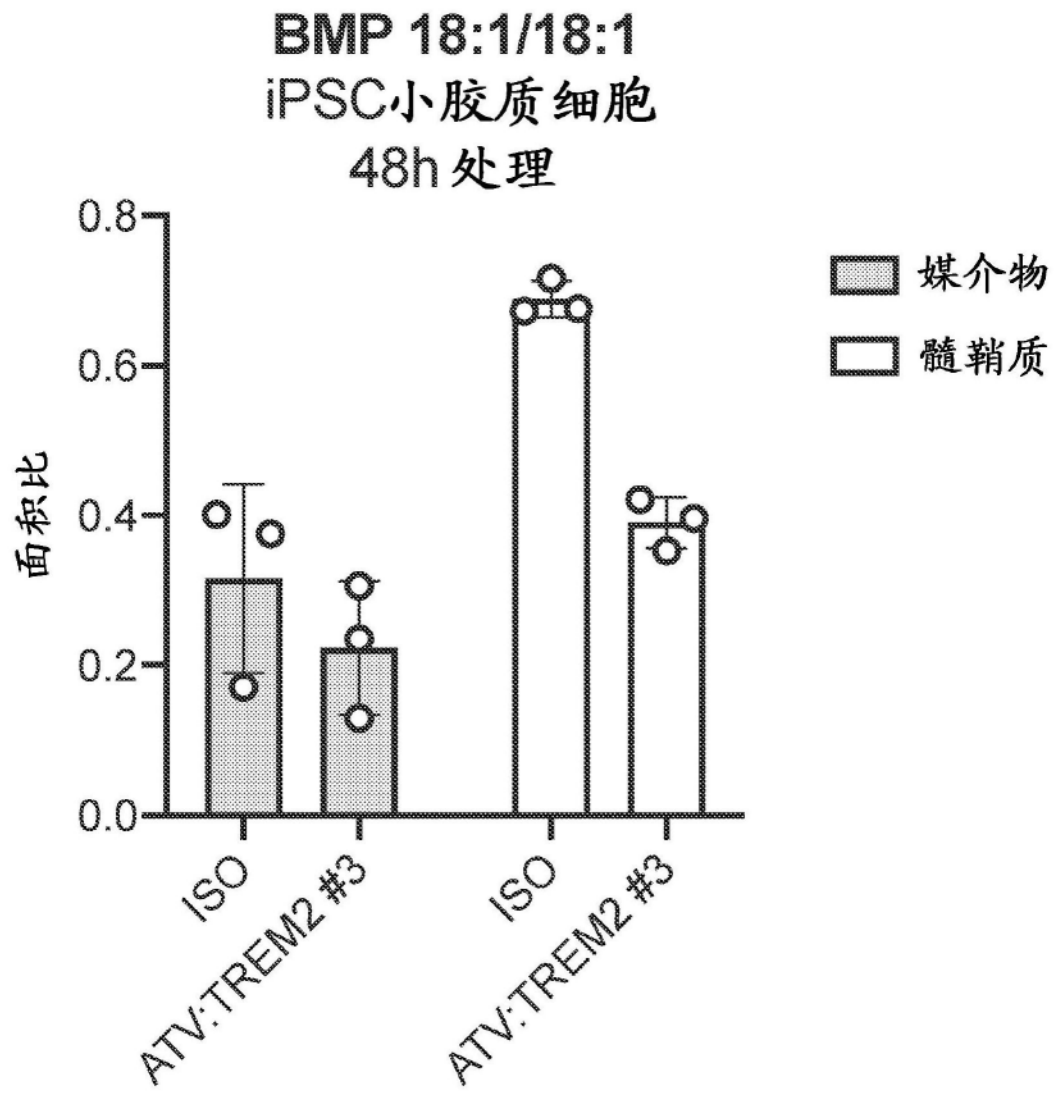


图9

动力学图

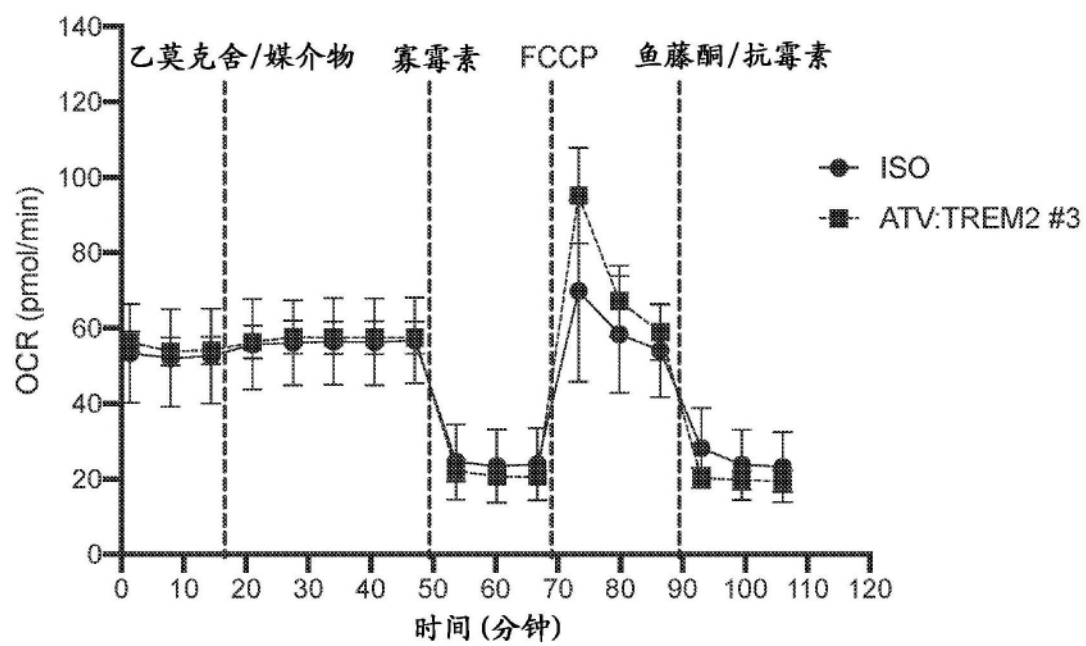


图10A

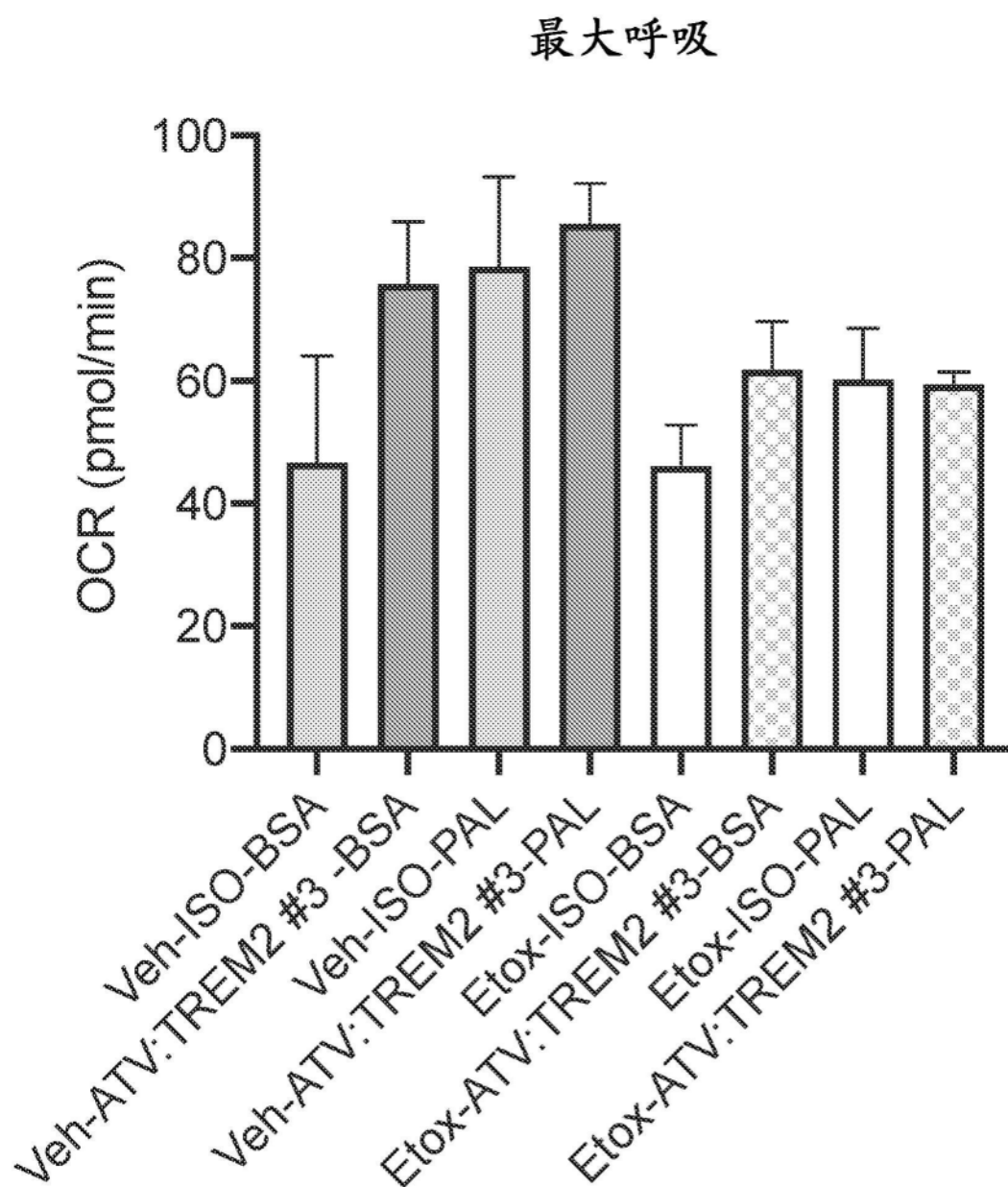


图10B

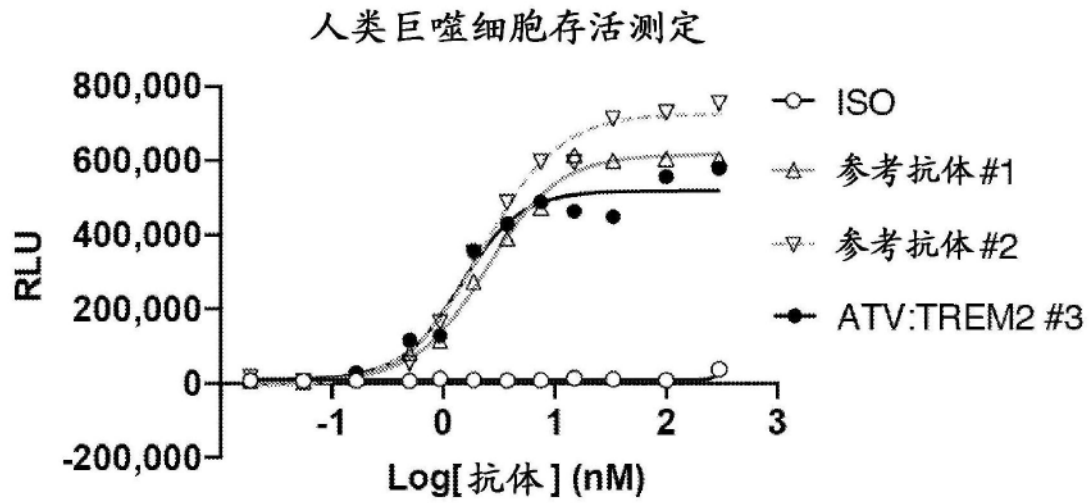


图11A

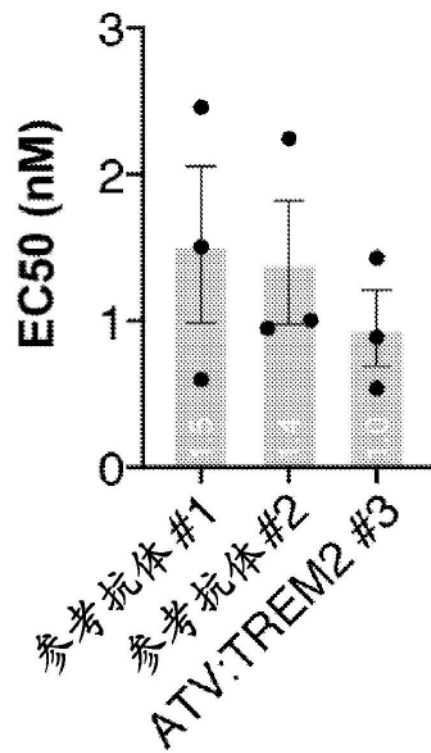


图11B

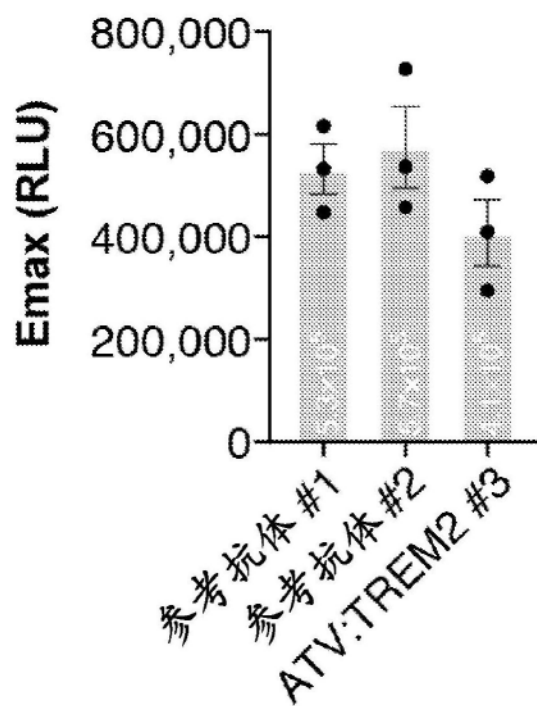


图11C

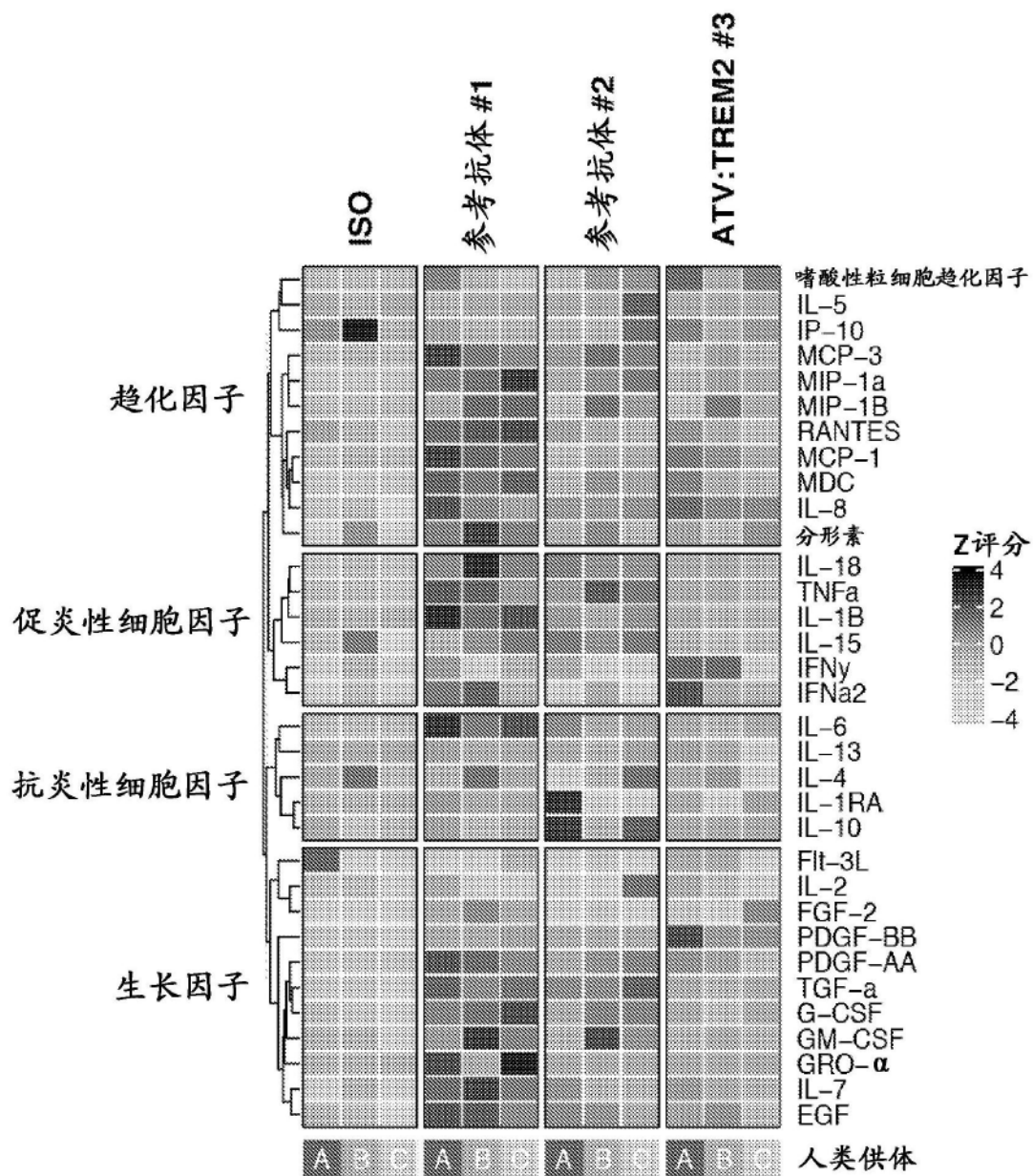


图12

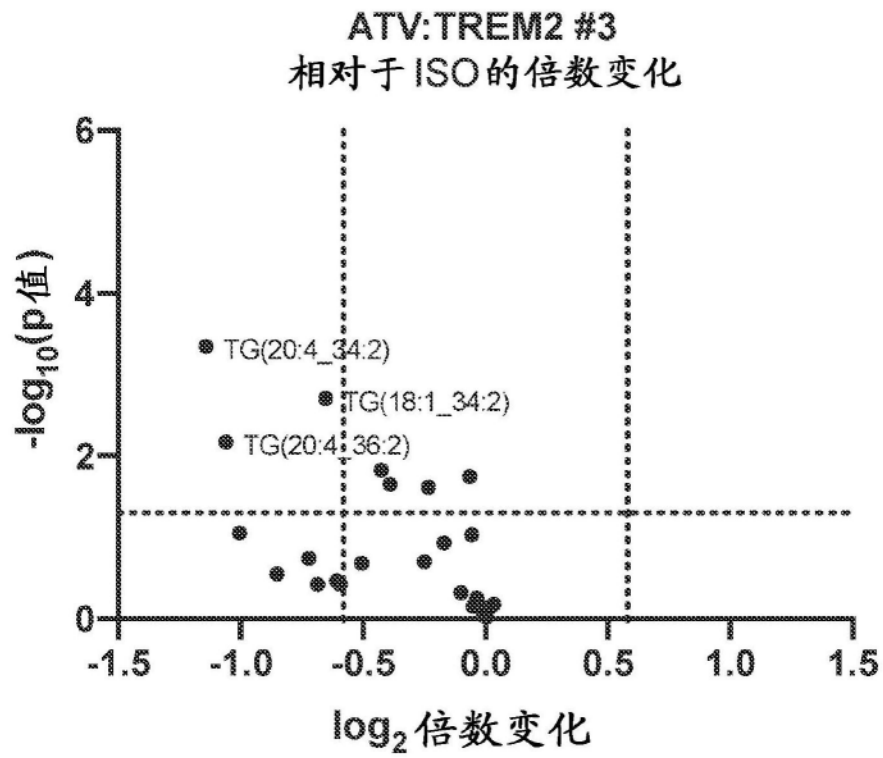


图13A

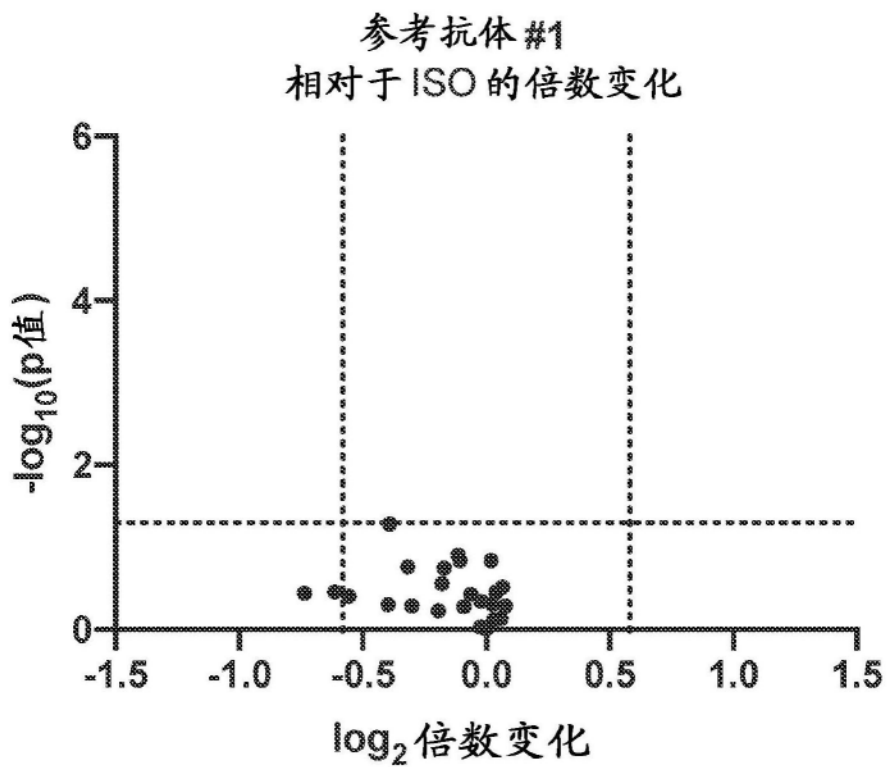


图13B

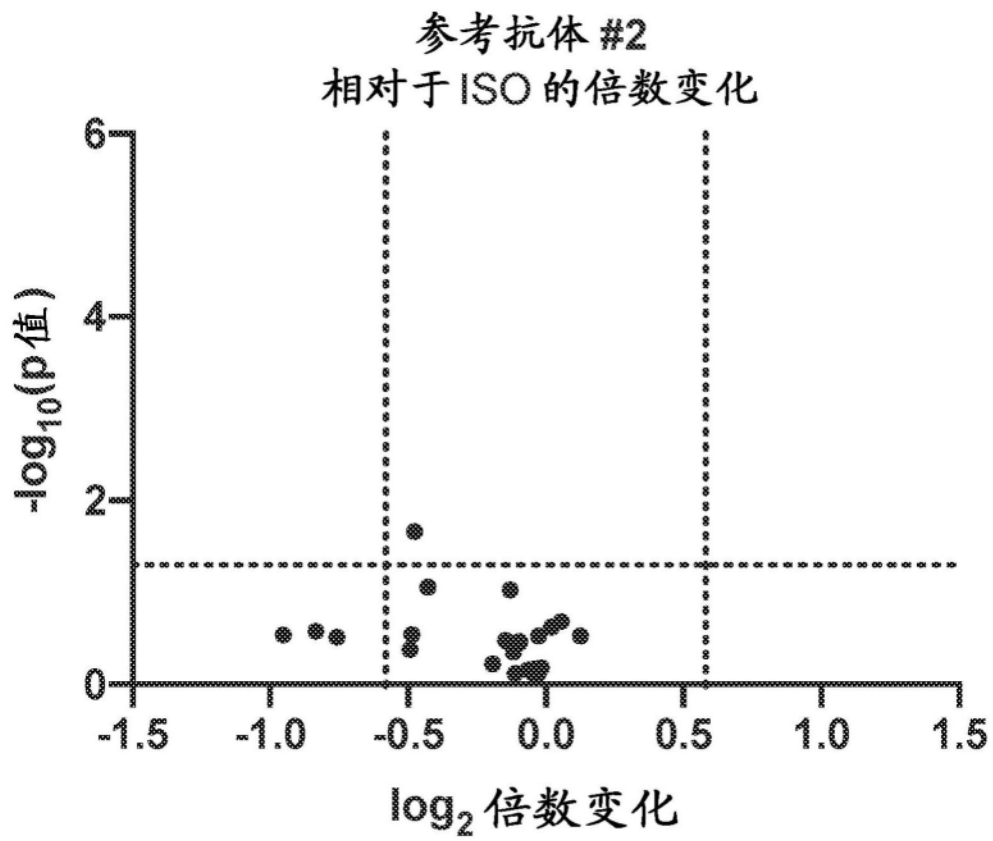


图13C

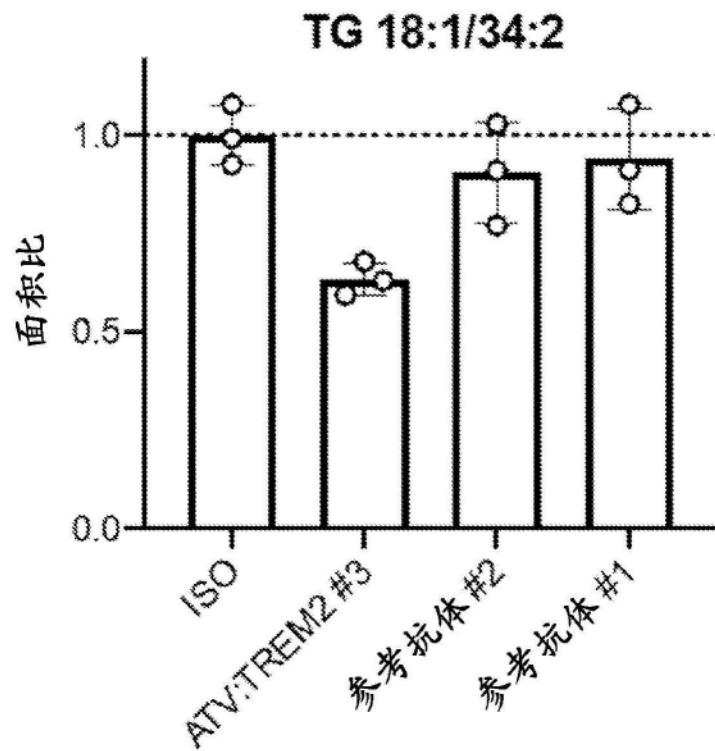


图13D

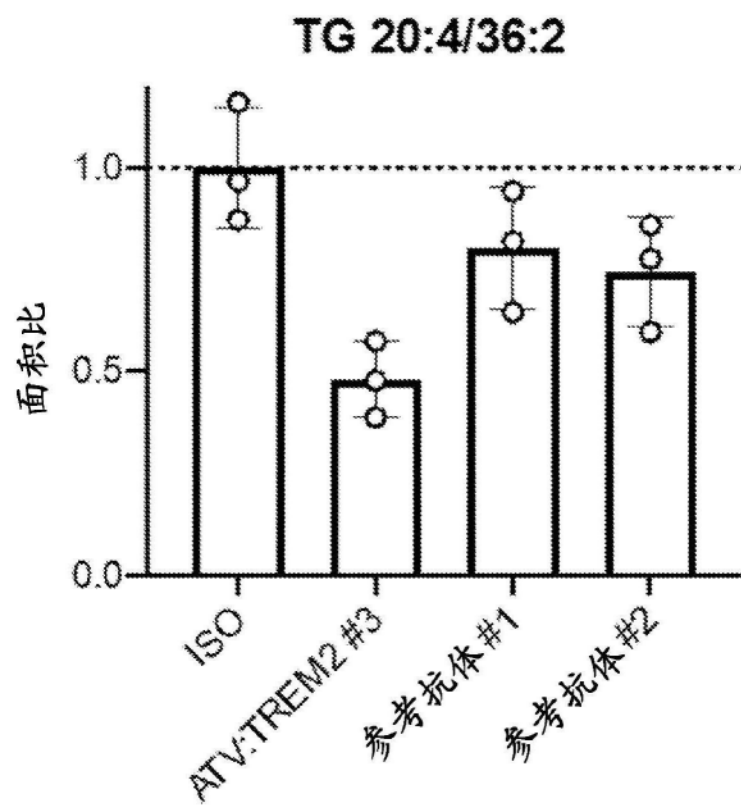
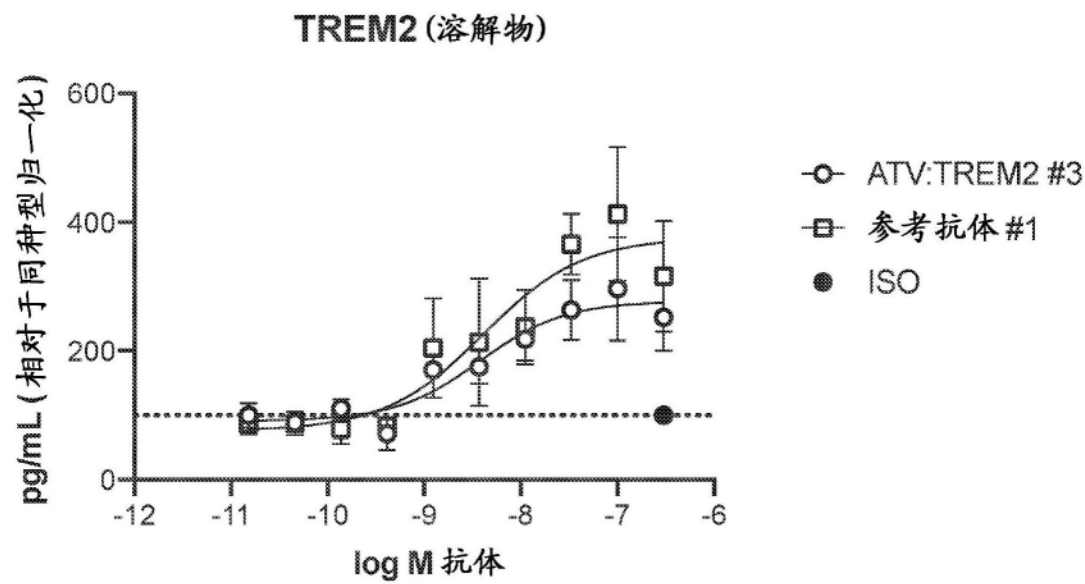
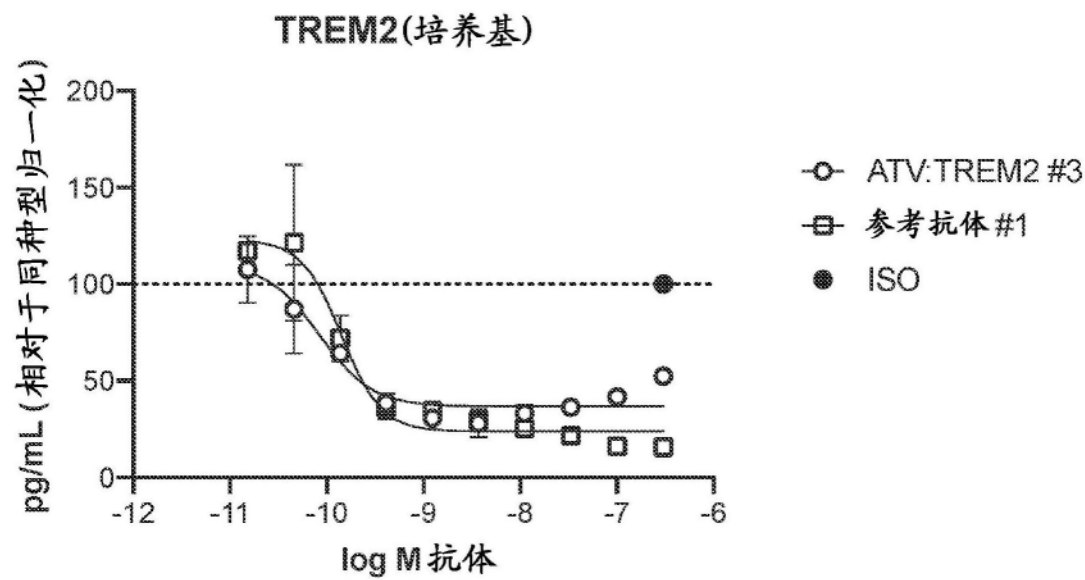


图13E



	ATV:TREM2 #3	参考抗体 #1
LogEC50	-8.424	-8.386
希尔斜率	0.9910	0.8515
EC50	3.768e-009	4.107e-009

图14A



	ATV:TREM2 #3	参考抗体 #1
LogEC50	-10.07	-9.847
希尔斜率	-1.602	-2.100
EC50	8.425e-011	1.423e-010

图14B

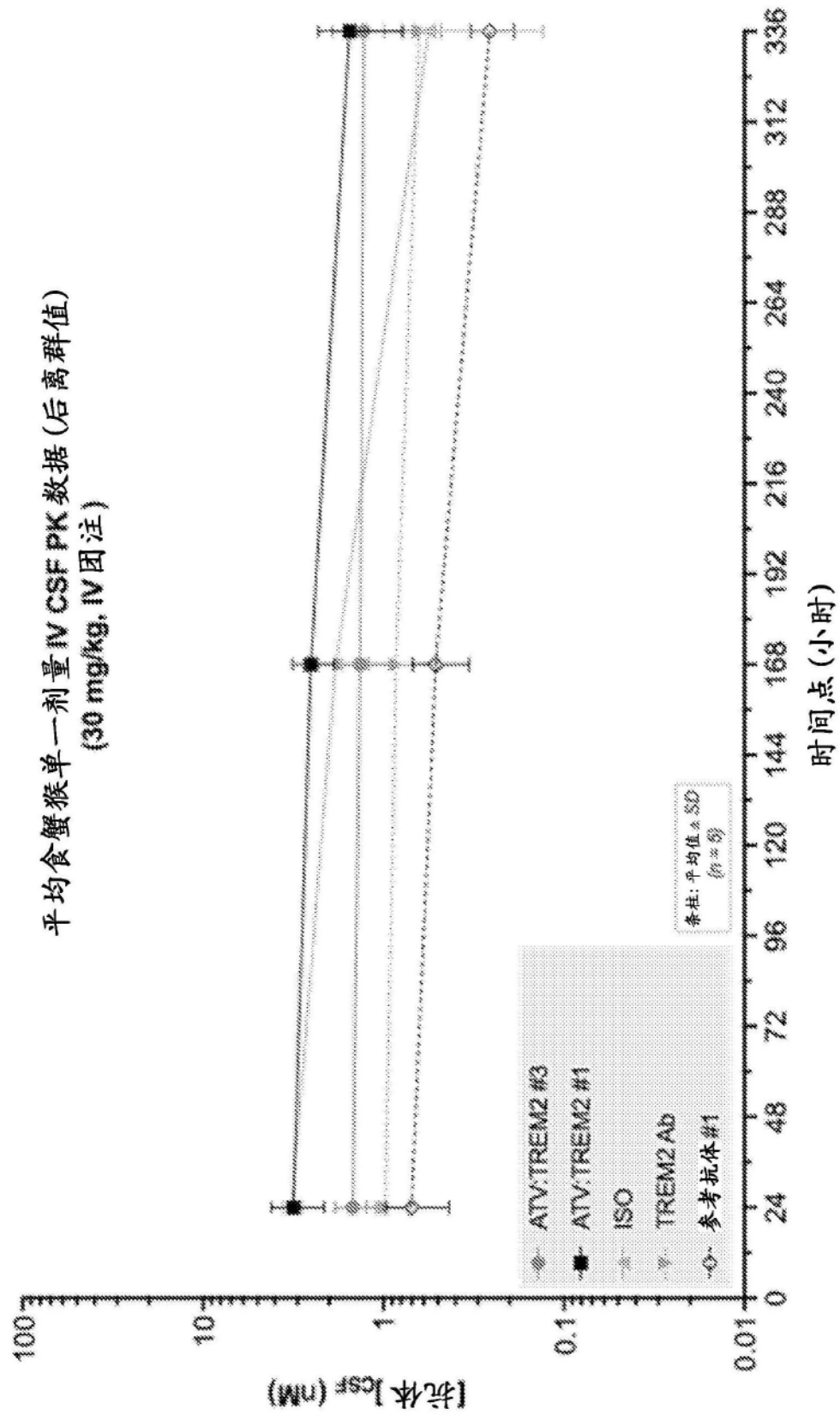


图15

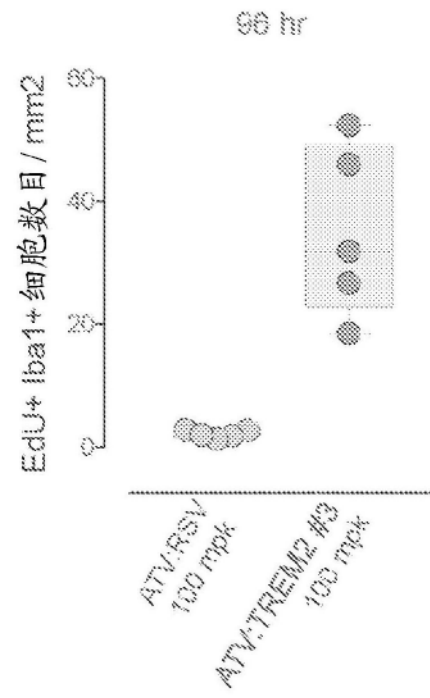


图16A

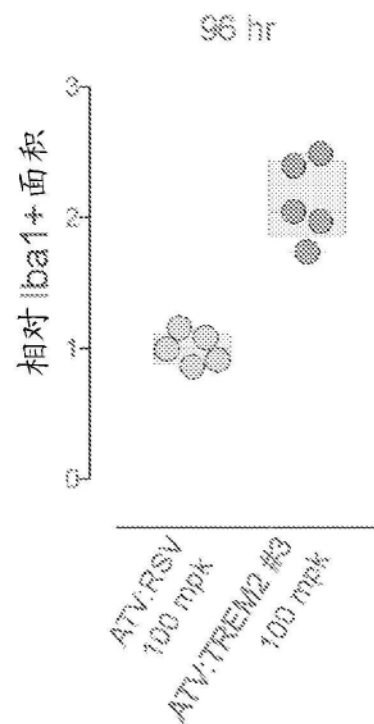


图16B

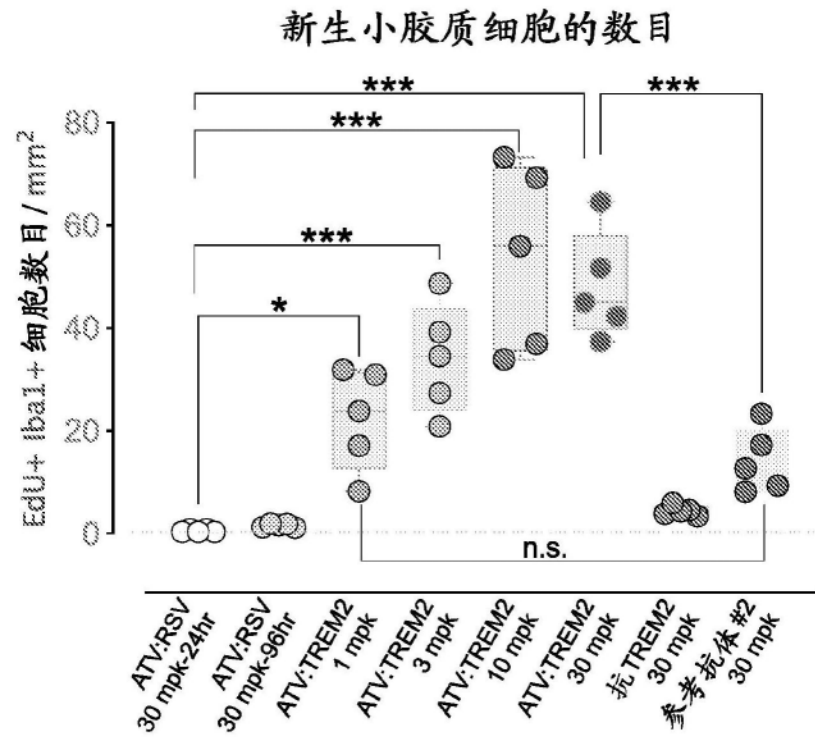


图17A

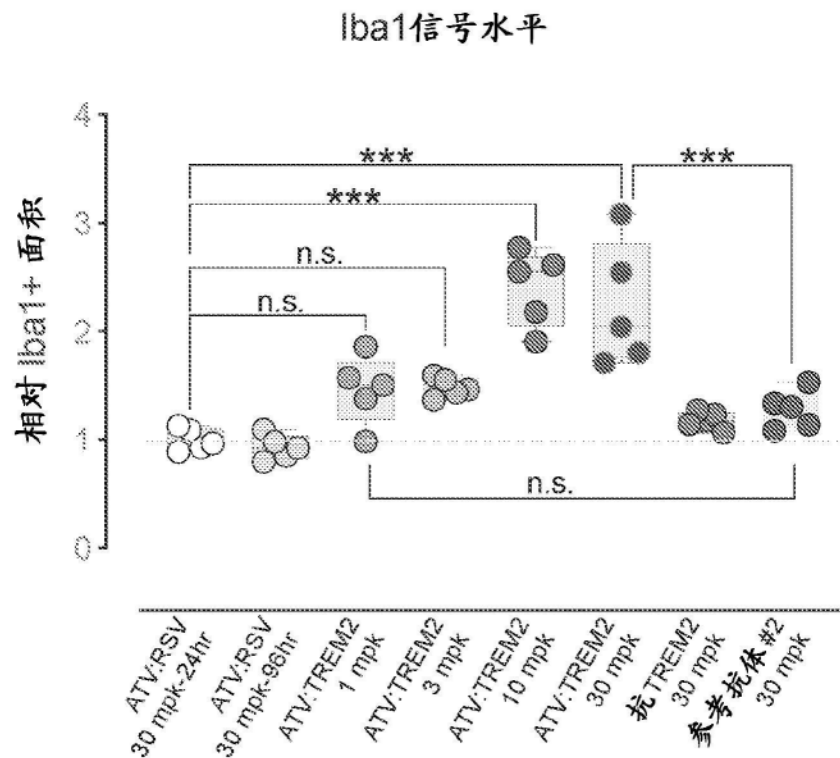


图17B

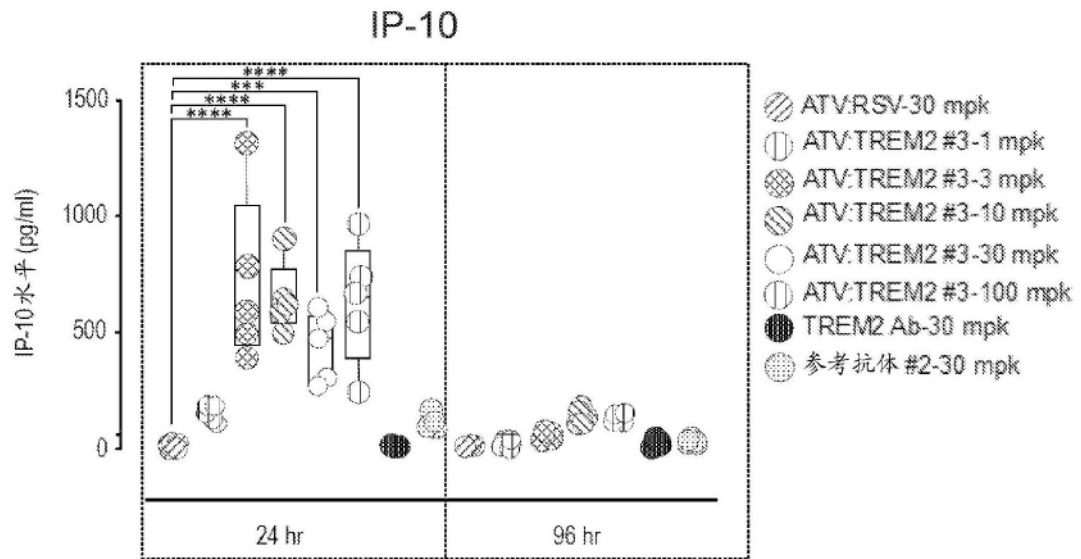


图18A

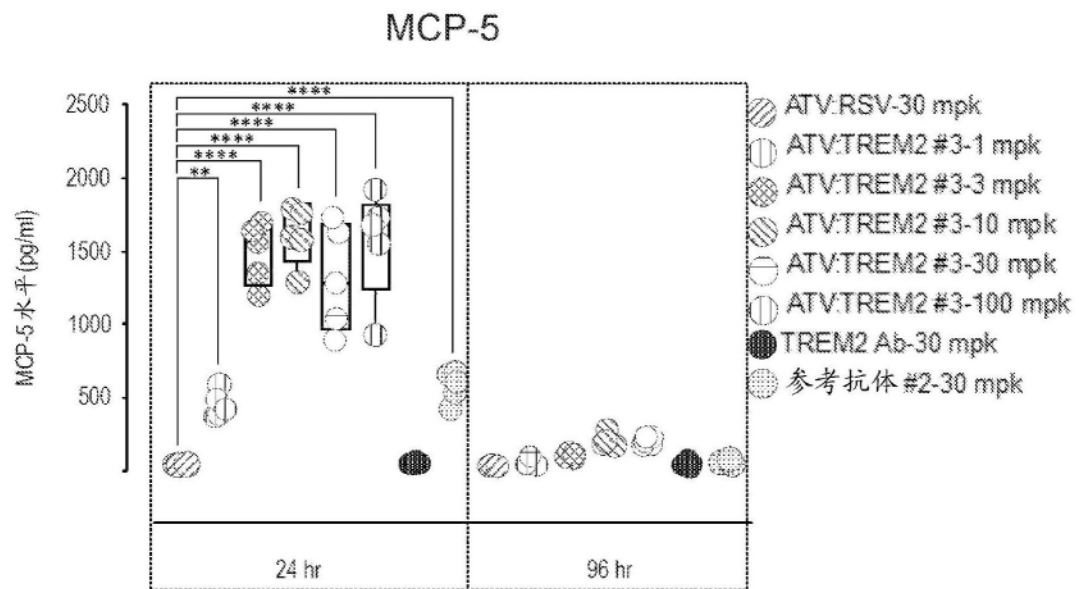


图18B

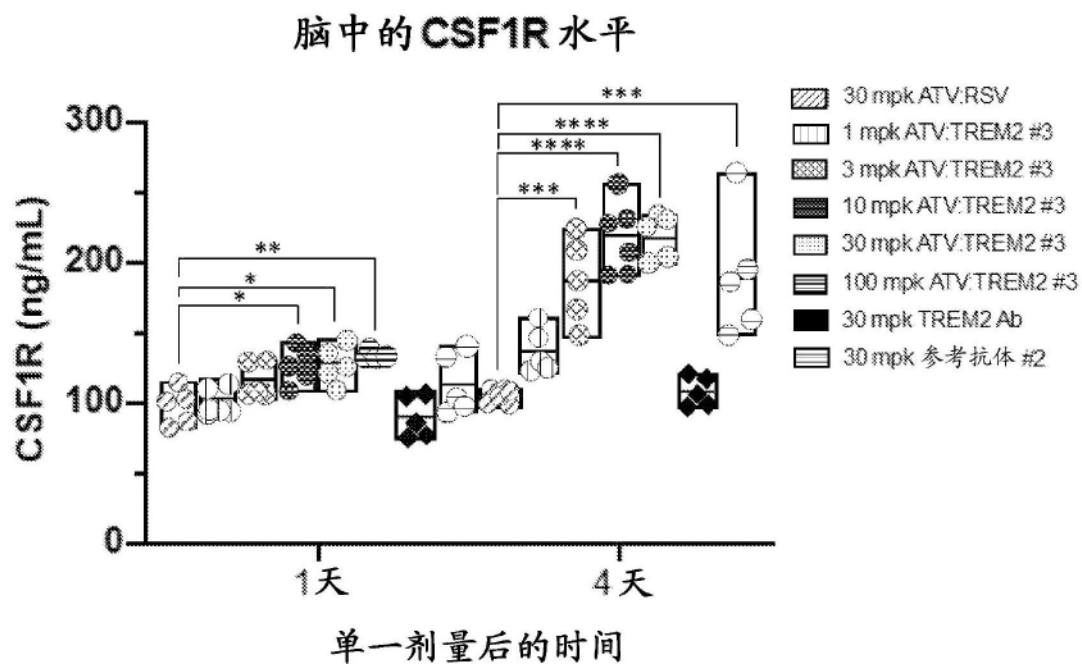


图19

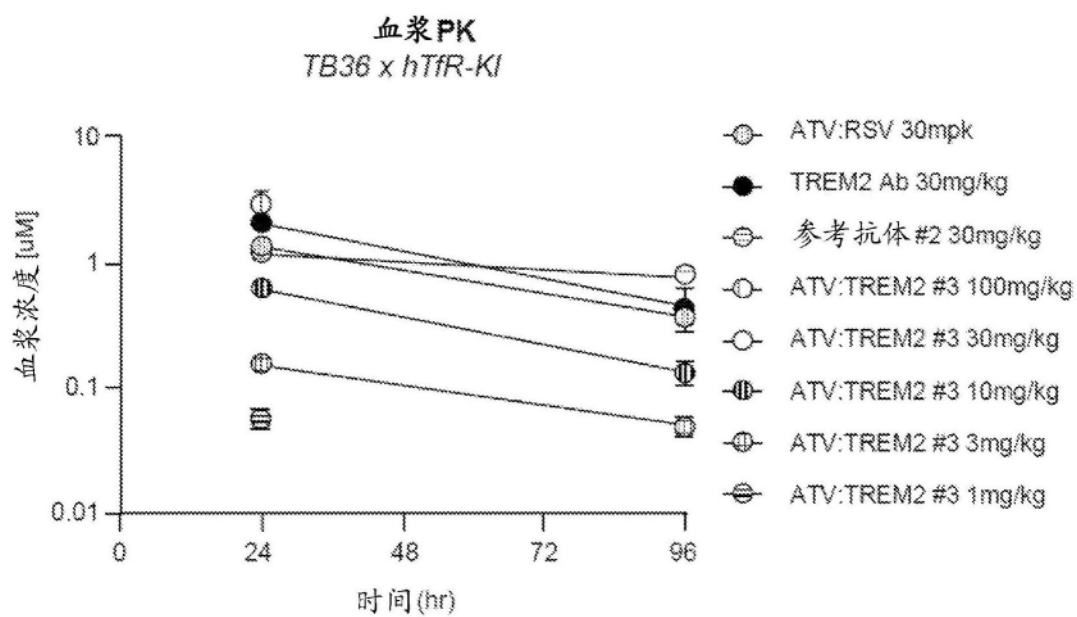


图20

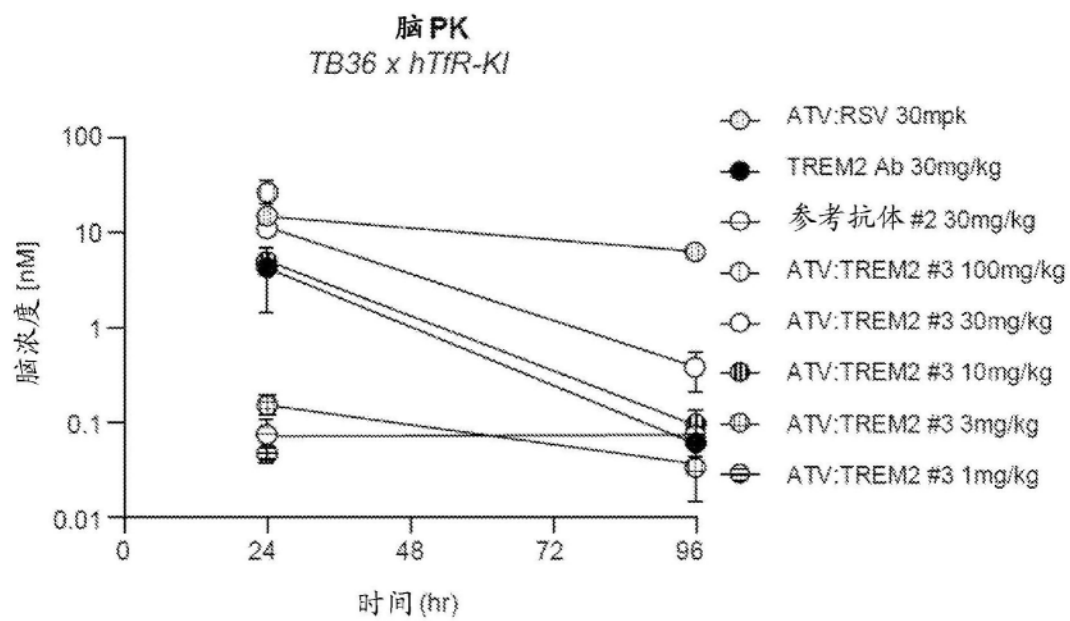


图21