(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114401741 A
(43)申请公布日 2022.04.26

(21)申请号 202080062753.9

(22)申请日 2020.07.10

(30)优先权数据
62/873,051 2019.07.11 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.03.07

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/041642 2020.07.10

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/007533 EN 2021.01.14

(71)申请人 拓维创新生物科技(香港)有限公司
地址 中国香港

(72)发明人 谭玉清 张镝 师丽华 冯文昌

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴

(51)Int.Cl.
A61K 39/395(2006.01)
C07K 16/24(2006.01)

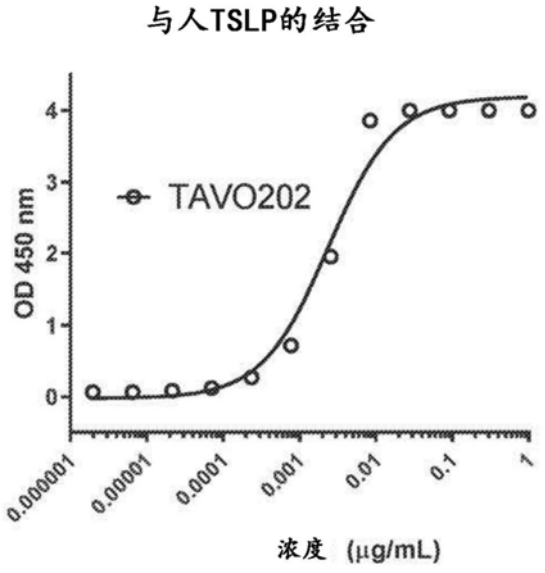
权利要求书3页 说明书34页
序列表23页 附图10页

(54)发明名称

干扰胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)受体信号传导的药剂

(57)摘要

本公开文本涉及特异性结合并中和(人)胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)的抗体(例如,人抗体)及其抗原结合片段。此类分子能够具有增加抗体半衰期、增加对蛋白酶的抗性和/或降低与$F_c\gamma$受体相互作用的能力的经修饰的F_c区。这些分子可用于治疗与TSLP相关障碍或疾病相关的过敏性和非过敏性炎症。



CN 114401741 A

1.一种分离的抗体或其抗原结合片段,所述分离的抗体或其抗原结合片段与胸腺基质淋巴细胞生成素TSLP特异性结合并且中和、抑制、阻断、消除、降低或干扰TSLP的活性。

2.根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或片段是具有如SEQ ID NO:1所示的重链可变区和如SEQ ID NO:2所示的轻链可变区的小鼠单克隆抗体或抗体片段。

3.根据权利要求1所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或片段包含如分别根据SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:5的重链的互补决定区(CDR)序列HCDR1、HCDR2、HCDR3。

4.根据权利要求1所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或片段包含如分别根据SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的轻链的互补决定区(CDR)序列LCDR1、LCDR2、LCDR3。

5.根据权利要求1所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或片段是人源化抗体或抗体片段。

6.根据权利要求5所述的抗体或抗原结合片段,其中所述人源化抗体或片段包含如SEQ ID NO:9所示的重链可变区。

7.根据权利要求5所述的抗体或抗原结合片段,其中所述人源化抗体或片段包含如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区。

8.根据权利要求5所述的抗体或抗原结合片段,其中所述人源化抗体或片段包含如SEQ ID NO:11所示的轻链可变区。

9.根据权利要求5所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或片段包含分别根据SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:5的重链的互补决定区(CDR)序列HCDR1、HCDR2、HCDR3以及分别根据SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的轻链的LCDR1、LCDR2、LCDR3,并且其中所述抗体或抗原结合片段包含与SEQ ID NO:9具有至少80%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:10或11具有至少80%序列同一性的轻链可变区。

10.根据权利要求5所述的抗体或抗原结合片段,其中所述人源化抗体包含如SEQ ID NO:12所示的人IgG重链序列。

11.根据权利要求5所述的抗体或抗原结合片段,其中所述人源化抗体包含如SEQ ID NO:13所示的人轻链序列。

12.根据权利要求5所述的抗体或抗原结合片段,其中所述人源化抗体包含如SEQ ID NO:14所示的人轻链序列。

13.根据权利要求5所述的抗体或抗原结合片段,其中所述人源化抗体包含如SEQ ID NO:15所示的人IgG重链序列。

14.根据权利要求5所述的抗体或抗原结合片段,其中所述人源化抗体包含如SEQ ID NO:16所示的人IgG重链序列。

15.根据权利要求1至14所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体是IgG_1、IgG_2、IgG_3或IgG_4同种型。

16.根据权利要求1至14所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体具有与亲本野生型抗体相比延长所述工程化抗体的半衰期的一个或多个F_c突变。

17.根据权利要求1至14所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体具有与亲本野生型

抗体相比增强所述工程化抗体对蛋白酶的蛋白水解降解的抗性的一个或多个F_c突变。

18.根据权利要求1至14所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体具有与亲本野生型抗体相比降低或消除工程化抗体的效应子功能的一个或多个F_c突变。

19.根据权利要求1至14所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体具有与亲本野生型抗体相比延长所述工程化抗体的半衰期并且降低其效应子功能的L234A、L235A、M428L和N434S F_c突变,根据EU索引进行残基编号。

20.根据权利要求5所述的抗体或抗原结合片段,其中所述人源化抗体或片段包含如SEQ ID NO:16所示的具有L234A、L235A、M428L、N434S Fc突变的人IgG1重链。

21.根据权利要求1至20所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或片段阻断人TSLP与其受体复合物的结合。

22.根据权利要求1至20所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或片段中和、降低或干扰TSLP对其受体复合物的功能活性。

23.根据权利要求1至20所述的抗体或抗原结合片段,其中在STAT5报告基因测定中,所述抗体或片段中和TSLP驱动的报告基因激活。

24.根据权利要求1至20所述的抗体或抗原结合片段,其中在细胞增殖测定中,所述抗体或片段中和TSLP驱动的表达TSLP受体复合物的细胞的增殖。

25.根据权利要求1至20所述的抗体或抗原结合片段,其中在细胞因子释放测定中,所述抗体或片段抑制TSLP驱动的细胞因子从人树突细胞中释放。

26.根据权利要求1至20所述的抗体或抗原结合片段,其中在动物哮喘模型中,所述抗体或片段抑制TSLP驱动的哮喘和肺部炎症。

27.一种分离的多核苷酸,所述分离的多核苷酸编码根据权利要求1-20所述的其抗TSLP IgG抗体。

28.一种载体,所述载体包含根据权利要求27所述的多核苷酸。

29.根据权利要求28所述的载体,所述载体是表达载体。

30.一种宿主细胞,所述宿主细胞包含根据权利要求28或29所述的载体。

31.一种产生根据权利要求1-20所述的抗TSLP IgG抗体或片段的方法,所述方法包括在表达所述抗TSLP IgG抗体或片段的条件下培养根据权利要求29所述的宿主细胞,以及分离所述抗TSLP IgG抗体或片段。

32.一种测量根据权利要求1-20所述的抗TSLP IgG抗体或片段的半衰期的方法。

33.一种测量根据权利要求1-20所述的抗TSLP IgG抗体或片段对蛋白水解降解的抗性的方法。

34.一种测量根据权利要求1-20所述的抗TSLP IgG抗体或片段的效应子功能的方法。

35.一种用于治疗有需要的受试者的TSLP介导的疾病或障碍的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的根据权利要求1-20所述的抗TSLP IgG抗体或片段。

36.根据权利要求35所述的方法,其中所述TSLP介导的疾病或障碍是哮喘,包括中度至重度不受控制的哮喘。

37.根据权利要求35所述的方法,其中所述TSLP介导的疾病或障碍是纤维化疾病和相关病症,包括系统性硬化症、系统性特发性肺纤维化和瘢痕疙瘩疾病。

38.根据权利要求35所述的方法,其中所述TSLP介导的疾病或障碍是慢性阻塞性肺病,

诸如肺气肿、慢性支气管炎和难治性哮喘。

39.根据权利要求35所述的方法，其中所述TSLP介导的疾病或障碍是炎性疾病，包括鼻炎、特应性皮炎、湿疹、系统性硬化症、食物过敏和炎性肠病。

40.根据权利要求35所述的方法，其中所述TSLP介导的疾病或障碍是某些癌症，包括肺癌、乳腺癌、胰腺癌、结直肠癌、成淋巴细胞性白血病、头颈癌。

41.根据权利要求35-40中任一项所述的方法，所述方法进一步包括向需要治疗的所述受试者施用第二药剂。

42.根据权利要求41所述的方法，其中所述第二药剂选自皮质类固醇、支气管扩张剂、抗组胺药、抗白三烯药物、PDE-4抑制剂;抗癌药、免疫调节药物和细胞因子疗法药物。

干扰胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)受体信号传导的药剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2019年7月11日提交的美国临时申请号62/873,051的优先权权益,将其通过引用以其整体并入本文。

[0003] 电子提交的文本文件的说明

[0004] 将以电子方式随同提交的文本文件的内容通过引用以其整体并入:计算机可读格式拷贝的序列表(文件名:TABI_002_01WO_SeqList_ST25;记录日期2020年7月3日;文件大小49千字节)。

背景技术

[0005] 胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)是一种白细胞介素7样细胞因子,其在免疫反应的调节和造血细胞的分化中起关键作用。TSLP在肺、皮肤和肠道的上皮细胞,胸腺髓质中的哈索尔小体,黏膜相关淋巴组织和扁桃体中广泛表达(Liu,Soumelis等人2007,Rochman和Leonard 2008,Sokol,Barton等人2008)。与肺、骨骼肌、肾、脾、卵巢、小肠和结肠中的表达水平相比,在心脏、肝、脾和前列腺中发现了高TSLP表达水平(Quentmeier,Drexler等人2001)。

[0006] 上皮细胞衍生的细胞因子是响应于环境和促炎刺激而产生的。它诱导T细胞吸引趋化因子从单核细胞释放并且促进髓样树突细胞的成熟。在胸腺内,TSLP激活髓样和浆细胞样树突细胞,从而产生调节性T细胞。通过其对树突细胞、T和B细胞的活性以及抗原特异性Th2细胞产生细胞因子,TSLP在调节2型(Th2、T2)免疫中很重要(Ziegler,Roan等人2013)。

[0007] TSLP通过由胸腺基质淋巴细胞生成素受体(TSLPR)和IL-7Rα链构成的异二聚体受体复合物进行信号传导(Verstraete,van Schie等人2014)。在结合其受体复合物后,TSLP可以激活多种信号转导通路(Zhong,Sharma等人2014)。通过TSLP刺激IL7R/TSLPR复合物诱导Janus激酶(JAK)的磷酸化和激活。激活的JAK进而调节多种转录(STAT)因子(包括STAT1、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b和STAT6)的活性。几种其他蛋白质(诸如AKT1、ERK1/2、JNK、核糖体蛋白S6激酶和4E-BP1)也通过TSLP刺激激活。此外,磷酸化蛋白质组学分析揭示了TSLP可以调节226种蛋白质(包括激酶和蛋白磷酸酶,诸如SHP-1和SHP-2)的磷酸化。

[0008] 已知TSLP参与炎症级联反应的启动,并且可以促进慢性疾病(包括过敏性哮喘、特应性皮炎、过敏性鼻炎、溃疡性结肠炎和许多慢性纤维增生性障碍)的发展(Vannella,Ramalingam等人2016)。研究还表明,TSLP参与免疫障碍,包括感染(Piliponsky等人2016)、癌症(De Monte等人2011)、自身免疫(Moret等人2011);以及参与先天性和适应性免疫反应(Ziegler,Roan,2013;Headley等人2009)。

[0009] TSLP是过敏性炎症(特别是2型炎症途径)的主调节剂,并且因此一直是治疗哮喘的有希望的靶标。哮喘是一种特征在于支气管炎症伴有管内的黏液产生增加的障碍。患有哮喘的人经历这样的症状,诸如由于长期气道高反应性导致的咳嗽、喘息、呼吸短促、胸部紧迫感、疼痛或压力,通常伴有嗜酸性粒细胞浸润(Ohta,Nagase等人2017)。尽管用具有或

没有口服糖皮质激素的高剂量吸入糖皮质激素连续治疗，一些患有严重哮喘的患者仍具有与持续的嗜酸性粒细胞炎症相关的频繁加重。一定比例的难治性(refractile)哮喘患者(对常规治疗没有反应的患者)具有最有可能由于非嗜酸性粒细胞、非Th2细胞群体导致的严重症状。与健康对照的气道相比，TSLP表达在患有哮喘的患者的气道中更高，并且其水平与Th2细胞因子和趋化因子表达和疾病严重程度相关(Gauvreau,O'Byrne等人2014)。最近，特折鲁单抗(Tezepelumab)(AMG 157)(一种特异性结合人TSLP的人抗TSLP IgG_2抗体)正在进行针对不受控制的哮喘的临床试验(Comeau,DESMEDT等人2006)(Comeau,Smothers等人2012)(Corren,Parnes等人2017)。

[0010] 除了靶向TSLP，三种针对IL-5的mAb也已经被批准用于患有严重哮喘并且具有嗜酸性粒细胞表型的患者，即美泊利单抗(Mepolizumab)和瑞利珠单抗(Reslizumab)(其与IL-5直接结合)以及贝那利珠单抗(Benralizumab)(其与IL-5受体结合)(Ortega,Liu等人2014)(Castro,Zangrilli等人2015)(Bleecker,FitzGerald等人2016)。度匹鲁单抗(Dupilumab)(一种与Il-4受体α链结合并且防止IL-4和IL-13二者结合的抗体)已经被批准用于患有中度至重度嗜酸性粒细胞性哮喘的患者(Castro,Corren等人2018)。值得注意的是，相对于具有较低水平的T2生物标记物的患者，所有这些治疗性抗体在具有增加水平的T2生物标记物的患者中似乎更有效。

[0011] TSLP在其他非过敏性疾病和几种纤维化病症中的盛行率也应当被视为进行靶向疗法的正当理由(Ying,Zhang 2015)。在系统性硬化症(一种自身免疫性疾病)中，TSLP在血管周区域和皮肤的免疫细胞中高度表达。TSLP在患有系统性硬化症的患者的皮肤上皮细胞、肥大细胞和成纤维细胞中上调(Usategui,Criado等人2013)。TSLP及其受体在患有特发性肺纤维化(一种严重的纤维化肺病)的患者的肺中强烈表达(Datta,Alexander等人2013)。在纤维化皮肤病中，在瘢痕疙瘩组织中，皮肤成纤维细胞响应于TGFβ而产生高水平的TSLP。

[0012] TSLP作为治疗靶标的进一步支持来自发现TSLP在多种肿瘤的开始和进展中起作用。这些肿瘤包括实体瘤(诸如乳腺肿瘤、结肠肿瘤和胰腺肿瘤)以及血液肿瘤(诸如B细胞急性淋巴细胞性白血病(B-ALL))(Corren,Ziegler 2019)。显示Th2型反应的肿瘤通常具有比主要是Th型反应的那些肿瘤更差的预后。肿瘤细胞分泌Il-1α和IL-1β，它们为癌症相关成纤维细胞表达TSLP所需，这表明肿瘤和肿瘤微环境在诱导TSLP中很重要。对人类宫颈癌细胞、胃癌和卵巢癌的研究也提供了证据证明在浸润肿瘤和基质的造血细胞与肿瘤本身之间存在TSLP介导的串扰。

[0013] 虽然TSLP在癌症中起重要作用，但其作为促肿瘤因子或抗肿瘤因子的功能取决于肿瘤的类型。转移性乳腺癌中的TSLP是一个深入研究的领域，但是在小鼠模型和人类乳腺肿瘤细胞系中一直存在矛盾的发现。类似地，TSLP在皮肤肿瘤中的作用是对立的。TSLP在B-ALL中的作用因在编码TSLP信号传导途径组分的基因中具有突变的基因病灶的存在而复杂化，所述基因病灶出现在50％-60％的预后不良患者中(Corren,Ziegler 2019)。

[0014] 这些观察结果表明了TSLP在人类疾病中的重要作用，并且TSLP和TSLP受体信号传导途径的破坏可能对缺乏有效治疗的疾病具有临床益处。以哮喘为例，全球由于哮喘相关症状导致的死亡率为大约250,000/年，并且预测到2025年这一数字将增长超过1亿(Pawankar 2014)。患有过敏性哮喘的人通常患有导致更复杂且更糟糕的结局的其他病症，

像糖尿病、肥胖、心血管疾病、胃食管疾病。约70％的哮喘患者也患有过敏症。过敏性疾病包括过敏反应、食物过敏、某些形式的哮喘、鼻炎、结膜炎、血管性水肿、荨麻疹、特应性皮炎、湿疹、嗜酸性粒细胞性障碍(包括嗜酸性粒细胞性食管炎)以及药物和昆虫过敏(Pawankar 2014)(Kay 2001)。

[0015] 由于高昂的医疗保健成本、发病率、对生活质量的影响、旷工、工作表现较差、患有过敏性和非过敏性疾病的患者群体的增加,无疑非常需要减少Th2细胞因子相关炎症。干扰TSLP受体结合和信号传导并且具有所需的功效和药代动力学特征的药剂(诸如中和抗体分子)对于抑制与慢性炎性病症相关的(T2高和T2低二者)症状是未满足的需求。

发明内容

[0016] 本公开文本提供了单克隆抗体及其抗原结合片段,所述单克隆抗体及其抗原结合片段特异性结合胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)并中和、抑制、阻断、消除、降低或干扰胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)的至少一种活性。可以通过如本文公开的抗体或其片段中和、抑制、阻断、消除、降低或干扰的TSLP的活性包括但不限于中和其受体复合物的TSLP激活等。在实施方案中,所述抗体是单克隆抗体,例如小鼠单克隆抗体或人源化抗体。在实施方案中,所述抗体是抗原结合抗体片段。

[0017] 本公开文本提供了一种针对人TSLP的小鼠单克隆抗体,指定为TAVO202,所述小鼠单克隆抗体包含氨基酸序列为SEQ ID NO.1的重链可变区序列和氨基酸序列为SEQ ID NO.2的轻链可变区序列。

[0018] 本公开文本提供了包含三个互补决定区(CDR)的TAVO202的重链可变区,所述三个互补决定区(CDR)指定为HCDR1、HCDR2和HCDR3,其中氨基酸序列分别如SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.4和SEQ ID NO.5所示。

[0019] 本公开文本提供了包含三个CDR的TAVO202的轻链可变区,所述三个CDR指定为LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中氨基酸序列分别如SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7和SEQ ID NO.8所示。

[0020] 本公开文本提供了TAVO202的一个人源化重链可变区,指定为202H2,其中氨基酸序列如SEQ ID NO.9所示。

[0021] 本公开文本提供了TAVO202的两个人源化轻链可变区,指定为202L3和202L4,其中氨基酸序列分别如SEQ ID NO.10和SEQ ID NO.11所示。

[0022] 在实施方案中,本公开文本提供了一种人源化抗体或其抗原结合片段,所述人源化抗体或其抗原结合片段包含分别根据SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7和SEQ ID NO.8的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。在一个实施方案中,所述人源化抗体包含与SEQ ID NO:9具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少99％序列同一性的重链可变区。在一个实施方案中,所述人源化抗体包含与SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:11具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少99％序列同一性的轻链可变区。

[0023] 作为非限制性例子,本公开文本提供了具有人IgG2 Fc的包含人源化重链可变区202H2和人源化轻链可变区202L3的针对TAVO202的第一人源化抗体,指定为TAVO6264,所述第一人源化抗体包含如SEQ ID NO.12所示的重链序列和如SEQ ID NO.13所示的轻链序列。

[0024] 本公开文本提供了具有人IgG2 Fc的包含人源化重链可变区202H2和人源化轻链可变区202L4的针对TAVO202的第二人源化抗体，指定为TAVO6265，所述第二人源化抗体包含如SEQ ID NO.12所示的重链序列和如SEQ ID NO.14所示的轻链序列。

[0025] 本公开文本提供了具有含L234F、L235E、D265A、F405L突变的人IgG1 Fc的包含人源化重链可变区202H2和人源化轻链可变区202L3的针对TAVO202的第三人源化抗体，指定为TAVO7264，所述第三人源化抗体包含如SEQ ID NO.15所示的重链序列和如SEQ ID NO.13所示的轻链序列。

[0026] 本公开文本提供了具有含L234F、L235E、D265A、F405L突变的人IgG1 Fc的包含人源化重链可变区202H2和人源化轻链可变区202L4的针对TAVO202的第四人源化抗体，指定为TAVO7265，所述第四人源化抗体包含如SEQ ID NO.15所示的重链序列和如SEQ ID NO.14所示的轻链序列。

[0027] 本公开文本提供了具有含L234A、L235A、M428L、N434S突变的人IgG1 Fc的包含人源化重链可变区202H2和人源化轻链可变区202L3的针对TAVO202的第五人源化抗体，指定为TAVO9764，所述第五人源化抗体包含如SEQ ID NO.16所示的重链序列和如SEQ ID NO.13所示的轻链序列。

[0028] 本公开文本提供了具有含L234A、L235A、M428L、N434S突变的人IgG1 Fc的包含人源化重链可变区202H2和人源化轻链可变区202L4的针对TAVO202的第六人源化抗体，指定为TAVO9765，所述第六人源化抗体包含如SEQ ID NO.16所示的重链序列和如SEQ ID NO.14所示的轻链序列。

[0029] 所述抗TSLP单克隆抗体可以是全长IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4抗体，或者可以仅包含包括F_{ab}、$F(_{ab'})_2$或scFv片段在内的抗原结合部分，所述抗原结合部分特异性结合(例如，人)TSLP，中和、抑制、阻断、消除、降低或干扰TSLP的至少一种活性。可以修饰抗体骨架以影响功能，例如以消除残留的效应子功能。

[0030] 本公开文本还提供了当与野生型抗体相比时，具有延长的半衰期的抗TSLP单克隆抗体。通过将抗体的C_{H2}和C_{H3}结构域用选自以下的任一组突变工程化可以实现当与亲本野生型抗体相比时半衰期的延长：M252Y/S254T/T256E、M428L/N434S、T250Q/M428L、N434A和T307A/E380A/N434A，根据EU索引进行残基编号。

[0031] 本公开文本还提供了对在残基222-237(EU编号)之间或所述残基处切割野生型抗体的蛋白酶的蛋白水解降解具有增强的抗性的抗TSLP单克隆抗体。通过在缺失了G236的铰链区中用E233P/L234V/L235A突变工程化可以实现当与亲本野生型抗体相比时对蛋白水解降解的抗性，根据EU索引进行残基编号。

[0032] 本公开文本还提供了包含本公开文本的多核苷酸的载体。

[0033] 本公开文本还提供了一种产生本公开文本的抗TSLP单克隆抗体的方法，所述方法包括在表达所述抗体的条件下培养本公开文本的宿主细胞，以及纯化所述抗体。

[0034] 本公开文本还提供了一种药物组合物，所述药物组合物包含本公开文本的抗TSLP抗体或其抗原结合片段以及药学上可接受的载体。

[0035] 本公开文本还提供了检测抗TSLP抗体的结合的方法。

[0036] 本公开文本还提供了阻断TSLP与其受体TLPR的结合的方法，所述方法包括使所述TSLPR与本文提供的任一种抗TSLP抗体或其抗原结合片段接触。

[0037] 本公开文本还提供了一种治疗哮喘的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的所提供的针对TSLP的抗体。

[0038] 本公开文本还提供了一种治疗COPD和特发性肺纤维化的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的所提供的针对TSLP的抗体。

[0039] 本公开文本还提供了一种治疗特应性皮炎的症状的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的所提供的针对TSLP的抗体。

[0040] 本公开文本还提供了一种治疗湿疹的症状的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的所提供的针对TSLP的抗体。

[0041] 本公开文本还提供了一种治疗其他过敏性状态(诸如嗜酸性粒细胞性食管炎)的症状的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的所提供的针对TSLP的抗体。

[0042] 本公开文本还提供了一种治疗炎性肠病的症状的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的所提供的针对TSLP的抗体。

[0043] 本公开文本还提供了一种治疗纤维化病症(诸如系统性硬化症、系统性特发性肺纤维化和瘢痕疙瘩疾病)的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的所提供的针对TSLP的抗体。

[0044] 本公开文本还提供了一种治疗癌症(即,乳腺癌、胰腺癌、结直肠癌、成淋巴细胞性白血病、头颈癌)的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的所提供的针对TSLP的抗体。

附图说明

[0045] 图1:小鼠单克隆抗人TSLP抗体TAVO202与(A)人和(B)小鼠TSLP的结合。

[0046] 图2:(A).在用人TSLP受体复合物转染的BAF细胞中,在通过人TSLP刺激后细胞增殖的反应。(B).TAVO202剂量依赖性地中和人TSLP驱动的细胞增殖。

[0047] 图3:(A).在萤光素酶报告测定中,在通过人TSLP刺激后的剂量依赖性STAT5报告基因表达。(B).在人TSLP驱动的报告基因表达测定中,TAVO202对报告基因表达的剂量依赖性中和。

[0048] 图4:TAVO202的重链和轻链可变区与人源化V_H和V_L变体的序列比对。可以通过将人源化V_H变体(202H2)和两个人源化V_L变体(202L3和202L4)与不同的IgG Fc配对来形成人源化抗体。

[0049] 图5:示例性人源化抗TSLP IgG抗体在(A)非还原和(B)还原条件下的SDS-PAGE分析。(C).示例性抗TSLP IgG抗体的尺寸排阻色谱(SEC)分析。

[0050] 图6:示例性人源化抗TSLP IgG抗体与(A)人和(B)食蟹猴TSLP的结合。

[0051] 图7:在STAT5报告基因表达测定中,示例性人源化抗TSLP IgG抗体中和人TSLP驱动的报告基因激活。

[0052] 图8:人源化抗TSLP IgG抗体中和人TSLP驱动的CCL17从分离自两种供体的树突细胞中释放。

[0053] 图9:具有半衰期延长Fc突变的人源化抗TSLP IgG抗体TAVO9765和缺乏此类突变的TAVO7265在pH 6.0下与小鼠FcRn的结合。

[0054] 图10:抗TSLP抗体在食蟹猴中的PK曲线。将具有用以延长半衰期的Fc突变的抗TSLP抗体(TAVO9765)以4mg/kg静脉内剂量施用至食蟹猴。在给药后时间点直到第35天显示血浆浓度。

具体实施方式

[0055] 定义

[0056] 本文使用的术语仅用于描述实施方案,而不旨在是限制性的。除非另有定义,否则本文所用的所有技术和科学术语均具有与本公开文本所涉及领域的普通技术人员通常所理解的相同的含义。在描述和要求保护本公开文本时,将使用以下术语。

[0057] 除非上下文另有明确规定,否则如在本说明书和所附权利要求中所用的,单数形式“一种/一个(a)”、“一种/一个(an)”和“所述”包括复数指示物。因此,例如,对“一种/一个细胞”的提及包括两种/个或更多种/个细胞的组合,等等。

[0058] “抗体”意在是广义的,并且包括免疫球蛋白分子,包括单克隆抗体(包括鼠、人、人源化和嵌合单克隆抗体)、抗体片段、双特异性或多特异性抗体、二聚、四聚或多聚抗体、单链抗体、结构域抗体;以及免疫球蛋白分子的包含所需特异性的抗原结合位点的任何其他修饰构型。“全长抗体分子”由通过二硫键相互连接的两条重链(HC)和两种轻链以及其多聚体(例如IgM)组成。每条重链由重链可变区(V_H)和重链恒定区(由结构域C_{H1}、铰链、C_{H2}和C_{H3}组成)组成。每条轻链由轻链可变区(V_L)和轻链恒定区(C_L)组成。V_H和V_L区可以进一步细分为具有高变性的区域,称为互补决定区(CDR),散布有框架区(FR)。每个V_H和V_L由三个CDR和四个FR区段构成,按照以下顺序从氨基至羧基末端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。

[0059] “互补决定区(CDR)”是抗体中的“抗原结合位点”。CDR可以使用多种术语定义:(i)互补决定区(CDR)(V_H中的三个(HCDR1、HCDR2、HCDR3)和V_L中的三个(LCDR1、LCDR2、LCDR3))是基于序列变异性(Wu和Kabat 1970)(Kabat,National Institutes of等人1991);(ii)“高变区”、“HVR”或“HV”(V_H中的三个(H1、H2、H3)和V_L中的三个(L1、L2、L3))是指如通过Chothia和Lesk所定义的在结构上高度可变的抗体可变结构域的区域(Chothia和Lesk 1987)。国际免疫遗传学(International ImMunoGeneTics,IMGT)数据库(http://www_imgt_org)提供了抗原结合位点的标准化编号和定义。在CDR、HV与IMGT描绘之间的对应关系描述于Lefranc等人(Lefranc,Pommie等人2003)。除非在本说明书中另有明确说明,否则如本文所用的术语“CDR”、“HCDR1”、“HCDR2”、“HCDR3”、“LCDR1”、“LCDR2”和“LCDR3”包括通过同上(Kabat、Chothia或IMGT)所述的任一种方法所定义的CDR。

[0060] 可以将免疫球蛋白根据重链恒定区氨基酸序列分配至五个主要类别IgA、IgD、IgE、IgG和IgM。IgA和IgG进一步细分类为同种型IgA_1、IgA_2、IgG_1、IgG_2、IgG_3和IgG_4。可以将任何脊椎动物物种的抗体轻链基于其恒定区的氨基酸序列分配至两种明显不同的类型(称为kappa(κ)和lambda(λ))之一。

[0061] “抗体片段”是指这样的免疫球蛋白分子部分,其保留重链和/或轻链抗原结合位点(诸如重链互补决定区(HCDR)1、2和3,轻链互补决定区(LCDR)1、2和3)、重链可变区(V_H)或轻链可变区(V_L)。抗体片段包括熟知的F_{ab}、$F(_{ab'})_2$、F_d和F_v片段以及由一个V_H结构域组成的结构域抗体(dAb)。V_H和V_L结构域可以经由合成接头连接在一起以形成多种类型的单链抗

体设计，其中V_H/V_L结构域可以分子内配对或在V_H和V_L结构域由单独的单链抗体构建体表达的情况下分子间配对以形成一价抗原结合位点，诸如单链Fv(scFv)或双抗体；例如描述于国际专利公开号WO 1998/44001、WO 1988/01649、WO 1994/13804和WO 1992/01047中。

[0062] “单克隆抗体”是指这样的抗体群体，其中在每条重链和每条轻链中具有单一氨基酸组成，除了可能的熟知的改变，诸如从抗体重链去除C末端赖氨酸。单克隆抗体通常结合一个抗原表位，除了双特异性单克隆抗体结合两个不同的抗原表位。单克隆抗体可以在抗体群体内具有异质糖基化。单克隆抗体可以是单特异性的或多特异性的，或者一价的、二价的或多价的。双特异性抗体包括在术语单克隆抗体内。

[0063] “分离的抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体或抗体片段(例如，特异性结合例如TSLP的分离的抗体基本上不含特异性结合除TSLP之外的抗原的抗体)。

[0064] “分离的抗体”涵盖被分离至更高纯度的抗体，诸如80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％纯的抗体。

[0065] “人源化抗体”是指这样的抗体，其中抗原结合位点衍生自非人物种并且可变区框架衍生自人免疫球蛋白序列。人源化抗体可以包括在框架中的取代，使得框架可以不是表达的人免疫球蛋白或人免疫球蛋白种系基因序列的精确拷贝。

[0066] “人抗体”是指具有这样的重链和轻链可变区的抗体，其中框架和抗原结合位点二者均衍生自人来源的序列并且优化为当向人类受试者施用时具有最小的免疫反应。如果抗体含有恒定区或恒定区的一部分，则恒定区也衍生自人来源的序列。

[0067] 除非另有明确说明，否则在整个说明书中氨基酸残基在抗体恒定区中的编号是根据EU索引，如Kabat等人(Kabat,National Institutes of等人1991)中所述。

[0068] 本文使用常规的单字母和三字母氨基酸密码，如表1所示。

[0069] 表1.

[0070]

氨基酸	三字母密码	单字母密码
丙氨酸	Ala	A
精氨酸	Arg	R
天冬酰胺	Asn	N
天冬氨酸	Asp	D
半胱氨酸	Cys	C
谷氨酸	Gln	E
谷氨酰胺	Glu	Q
甘氨酸	Gly	G
组氨酸	His	H
异亮氨酸	Ile	I

[0071]

亮氨酸	Leu	L
赖氨酸	Lys	K
甲硫氨酸	Met	M
苯丙氨酸	Phe	F
脯氨酸	Pro	P
丝氨酸	Ser	S
苏氨酸	Thr	T
色氨酸	Trp	W
酪氨酸	Tyr	Y
缬氨酸	Val	V

[0072] 多肽(例如,抗原结合蛋白或抗体)的“变体”包含这样的氨基酸序列,其中一个或多个氨基酸残基插入相对于另一个多肽序列的氨基酸序列中、从所述氨基酸序列中缺失和/或取代到所述氨基酸序列中。变体包括与本文提供的抗体或片段或与具有所述DNA或氨基酸序列的抗体或片段具有列举的百分比同一性的抗体及其片段。

[0073] 术语“同一性”是指如通过比对并且比较两种或更多种多肽分子或者两种或更多种核酸分子的序列所确定的所述序列之间的关系。“百分比同一性”、“百分比同源性”、“序列同一性”或“序列同源性”等意指在比较的分子中氨基酸之间或核苷酸之间的相同残基的百分比,并且基于所比较的最小的分子的尺寸计算。对于这些计算,优选地通过特定的数学模型或计算程序(即,“算法”)解决比对中的空位(如果有的话)。可以用于计算比对的核酸或多肽的同一性的方法包括以下文献中所述的那些:Computational Molecular Biology,(Lesk,A.M.编辑),1988,纽约:Oxford University Press;Biocomputing Informatics and Genome Projects,(Smith,D.W.编辑),1993,纽约:Academic Press;Computer Analysis of Sequence Data,第I部分,(Griffin,A.M.和Griffin,H.G.编辑),1994,新泽西州:Humana Press;von Heinje,G.,1987,Sequence Analysis in Molecular Biology,纽约:Academic Press;Sequence Analysis Primer,(Gribskov,M.和Devereux,J.编辑),1991,纽约:M.Stockton Press;以及Carillo等人,1988,SIAM J.Applied Math.48:1073。在计算百分比同一性时,通常以得到各序列间最大匹配的方式比对所比较的序列。

[0074] 哺乳动物IgG重链的恒定区域序列按顺序指定为C_{H1}-铰链-C_{H2}-C_{H3}。IgG的“铰链”、“铰链区”或“铰链结构域”通常被定义为包括Glu216并且在人IgG_1的Pro230处终止,根据EU索引;但是在功能上,链的柔性部分可以被认为包括称为上铰链区和下铰链区的另外的残基(诸如从Glu216至Gly237),并且下铰链指的是Fc区的残基233至239,$F_c\gamma R$结合通常归因此处。其他IgG同种型的铰链区可以通过放置第一个和最后一个半胱氨酸残基从而形成重链间S-S键来与IgG_1序列对齐。尽管如根据EU索引编号的边界可以略微变化,但C_{H1}结构域与V_H结构域相邻并且在免疫球蛋白重链分子的铰链区的氨基末端,并且包括免疫球蛋白重链的第一(最氨基末端)恒定区,例如从约EU位置118-215。F_c结构域从氨基酸231延伸到氨基酸447;C_{H2}结构域从约Ala231至Lys340或Gly341;并且C_{H3}从约Gly341或Gln342至Lys447。C_{H1}区的IgG重链恒定区的残基在Lys处终止。含F_c结构域的分子至少包含抗体恒定区的C_{H2}和C_{H3}结构域,并且因此至少包含IgG重链恒定区的从约Ala231至Lys447的区域。含F_c结构域的分子可以任选地包含至少部分铰链区。

[0075] “表位”是指抗体特异性结合的抗原部分。表位通常由化学活性(诸如极性、非极性或疏水性)表面分组的部分(诸如氨基酸或多糖侧链)组成,并且可以具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。表位可以由形成构象空间单元的连续和/或不连续的氨基酸构成。对于不连续的表位,通过蛋白质分子的折叠,来自抗原的线性序列的不同部分的氨基酸在三维空间中靠近。抗体“表位”取决于用于鉴定表位的方法。

[0076] 如本文所用的“前导序列”包括可以由哺乳动物细胞处理的任何信号肽,包括人B2M前导序列。此类序列是本领域熟知的。

[0077] 术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用,并且是指任何长度的氨基酸的聚合形式,其可以包括编码和非编码的氨基酸、化学或生物化学修饰的或衍生的氨基酸以及具有经修饰的肽骨架的多肽。所述术语还包括具有多肽的共翻译(例如,信号肽切割)和翻译后修饰的多肽,所述修饰例如像二硫键形成、糖基化、乙酰化、磷酸化、蛋白水解切割等。此外,如本文所用,“多肽”是指包括对天然序列的修饰(诸如缺失、添加和取代(如应是本领人员已知的在本质上通常是保守的))的蛋白质,如果蛋白质维持所需活性的话。这些修饰可能是刻意的(如通过定点诱变),或者可能是偶然的(诸如通过产生蛋白质的宿主的突变、或由于PCR扩增或其他重组DNA方法引起的错误)。

[0078] 如本文所用的描述核酸分子的术语“重组”意指基因组、cDNA、病毒、半合成和/或合成来源的多核苷酸,所述多核苷酸凭借其来源或操纵不与其在自然界中与之缔和的多核苷酸序列的全部或一部分缔和。如关于蛋白质或多肽所用的术语“重组”是指通过重组多核苷酸的表达产生的多肽。如关于宿主细胞或病毒所用的术语“重组”是指已经引入了重组多核苷酸的宿主细胞或病毒。在本文中也使用重组来指代关于这样的材料(例如,细胞、核酸、蛋白质或载体),所述材料已经通过引入异源材料(例如,细胞、核酸、蛋白质或载体)进行修饰。

[0079] 术语“多核苷酸”、“寡核苷酸”、“核酸”和“核酸分子”在本文中可互换使用,包括核苷酸(核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸)的聚合形式。此术语仅指代分子的一级结构。

[0080] “载体”是指能够在生物系统内被复制或可以在此类系统之间移动的多核苷酸。载体多核苷酸通常含有这样的元件(诸如复制起点、聚腺苷酸化信号或选择标记),其发挥功能以便于在利用能够复制载体的生物组分的生物系统(诸如细胞、病毒、动物、植物)和重构的生物系统中复制或维持这些多核苷酸。载体多核苷酸可以是单链或双链的DNA或RNA分子、cDNA或这些的杂交体。

[0081] “表达载体”是指这样的载体,其可以在生物系统或重构的生物系统中用于指导由存在于表达载体中的多核苷酸序列编码的多肽的翻译。

[0082] “价”是指指定数量的对抗原具有特异性的结合位点在分子中的存在。因此,术语“一价”、“二价”、“四价”和“六价”分别是指一个、两个、四个和六个对抗原具有特异性的结合位点在分子中的存在。

[0083] 如本文所用,关于核酸序列、蛋白质或多肽所用的术语“异源”意指这些分子不天然存在于衍生出异源核酸序列、蛋白质或多肽的细胞中。例如,编码插入不是人细胞的细胞中的人多肽的核酸序列是在该背景下的异源核酸序列。然而,异源核酸可以衍生自不同的生物体或动物物种,此类核酸不需要衍生自异源的单独的生物体物种。例如,在一些情况下,合成的核酸序列或由其编码的多肽对于引入它的细胞可能是异源的,因为细胞先前不

含合成的核酸。因此，合成的核酸序列或由其编码的多肽对人细胞可以被认为是异源的，例如，即使合成的核酸序列或由其编码的多肽的一种或多种组分最初衍生自人细胞。

[0084] 如本文所用，“宿主细胞”表示以单细胞实体培养的体内或体外真核细胞或来自多细胞生物体(例如，细胞系)的细胞，所述真核细胞可以被用作或已经被用作核酸(例如，包含编码本公开文本的多聚多肽的核苷酸序列的表达载体)的受体，并且包括已经由核酸进行遗传修饰的原始细胞的后代。应理解，由于天然、偶然或刻意突变，单个细胞的后代的形态或者基因组或总DNA互补体可能不一定与原始亲本完全相同。

[0085] “重组宿主细胞”(也称为“遗传修饰的宿主细胞”)是已经引入异源核酸(例如，表达载体)的宿主细胞。例如，通过将异源核酸(例如，对真核宿主细胞外源的外来核酸或通常在真核宿主细胞中不存在的重组核酸)引入合适的真核宿主细胞中来对遗传修饰的真核宿主细胞进行遗传修饰。

[0086] “特异性结合(specific binding)”或“特异性结合(specifically binds)”或“结合”是指与其他抗原相比，抗体与特异性抗原以更大的亲和力结合。通常，当结合的平衡解离常数(K_D)是约1×10^{-8}M或更小，例如约1×10^{-9}M或更小、约1×10^{-10}M或更小、约1×10^{-11}M或更小或者约1×10^{-12}M或更小，通常K_D是与非特异性抗原(例如，BSA、酪蛋白)结合的K_D的至少一百分之一时，抗体“特异性结合”。可以使用标准程序测量K_D。

[0087] 如本文所有，术语“治疗(treatment)”、“治疗(treating)”等是指获得所需的药理和/或生理作用。所述作用就完全或部分预防疾病或其症状而言可以是预防性的和/或就部分或完全治愈疾病和/或可归因于疾病的不利影响而言可以是治疗性的。

[0088] 如本文所用，“治疗”涵盖哺乳动物(例如，人)的疾病的任何治疗，并且包括：(a)预防疾病在可能易患疾病但尚未被诊断为患有所述疾病的受试者中发生；(b)抑制疾病，即遏止其发展；以及(c)缓解疾病，即导致疾病消退。

[0089] 在本文中可互换使用的术语“个体”、“受试者”、“宿主”和“患者”是指哺乳动物，包括但不限于鼠(例如，大鼠、小鼠)、兔类动物(例如，兔)、非人灵长类动物、人、犬科动物、猫科动物、有蹄类动物(例如，马、牛、绵羊、猪、山羊)等。

[0090] “治疗有效量”或“有效量”是指当施用至哺乳动物或其他受试者用于治疗疾病时足以影响对于疾病的这种治疗的一种药剂的量或两种药机的合并量。“治疗有效量”将根据一种或多种药剂、疾病及其严重程度以及待治疗的受试者的年龄、体重等而变化。

[0091] 在进一步描述本公开文本之前，应理解，本公开文本并不限于所描述的实施方案，因为此类实施方案当然可以变化。还应理解，本文所用的术语仅用于描述实施方案，并不旨在是限制性的，因为本公开文本的范围将仅受所附权利要求的限制。

[0092] 抗TSLP抗体和抗原结合片段的组合物

[0093] 本文描述了特异性结合TSLP并中和、抑制、阻断、消除、降低或干扰TSLP的至少一种活性(例如，TSLP对其受体复合物的功能活性)的单克隆抗体及其抗原结合片段。抗TSLP抗体和抗原结合片段可以治疗性地施用至受试者以治疗TSLP介导的疾病。

[0094] 本公开文本提供了从小鼠杂交瘤筛选中鉴定出来的小鼠单克隆抗体，指定为TAVO202，所述小鼠单克隆抗体特异性结合人胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)并中和、抑制、阻断、消除、降低或干扰人胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)的至少一种活性。TAVO202包含氨基酸序列为SEQ ID NO.1的重链可变区序列和氨基酸序列为SEQ ID No.2的轻链可变

区序列。TAVO202的重链可变区包含三个互补决定区，指定为HCDR1、HCDR2和HCDR3，其中氨基酸序列分别如SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.4和SEQ ID NO.5所示。TAVO202的轻链可变区包含三个互补决定区，指定为LCDR1、LCDR2和LCDR3，其中氨基酸序列分别如SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7和SEQ ID NO.8所示。

[0095] 抗人TSLP小鼠单克隆抗体TAVO202的重链可变区序列(SEQ ID NO:1)

[0096] QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYTFSSYWVNWVKQRPGQGLEWIGQIYPGDGDTDYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGTYYNNYYGTDYWGQGTSVTVSS

[0097] 重链的三个CDR的序列加下划线。

[0098] 抗人TSLP小鼠单克隆抗体TAVO202的轻链可变区序列(SEQ ID NO:2)

[0099] EIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLHWYQQKSETSPKPWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPLTFGGGTKLEIK

[0100] 轻链的三个CDR的序列加下划线。

[0101] 抗人TSLP小鼠单克隆抗体TAVO202的HCDR1序列(SEQ ID NO:3)

[0102] GYTFSSYWVN

[0103] 抗人TSLP小鼠单克隆抗体TAVO202的HCDR2序列(SEQ ID NO:4)

[0104] QIYPGDGDTD

[0105] 抗人TSLP小鼠单克隆抗体TAVO202的HCDR3序列(SEQ ID NO:5)

[0106] GTYYNNYYGTDY

[0107] 抗人TSLP小鼠单克隆抗体TAVO202的LCDR1序列(SEQ ID NO:6)

[0108] SVSSSISSSNLH

[0109] 抗人TSLP小鼠单克隆抗体TAVO202的LCDR2序列(SEQ ID NO:7)

[0110] GTSNLAS

[0111] 抗人TSLP小鼠单克隆抗体TAVO202的LCDR3序列(SEQ ID NO:8)

[0112] QQWSSYPLT

[0113] 可以通过将小鼠CDR移植到人种系支架上而将小鼠抗人TSLP抗体TAVO202人源化。通过回复突变保留了一些关键的小鼠残基，以实现更高的稳定性和更好的表达，同时使免疫原性最小化。对于TAVO202，用在框架中的一对回复突变，基于IGHV1-69*02设计了一个人源化VH变体(202H2)，并且基于IGKV1-9*01(202L3)和基于IGKV6-21*01(202L4)设计了两个人源化VL变体。

[0114] 基于前述内容，本公开文本提供了TAVO202的一个人源化重链可变区，指定为202H2，其中氨基酸序列如SEQ ID NO.9所示。

[0115] 人源化重链可变区202H2序列(SEQ ID NO:9)

[0116] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWVNWVRQAPGQGLEWIGQIYPGDGDTDYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGTYYNNYYGTDYWGQGTTVTVSS

[0117] 人源化重链的三个CDR的序列加下划线。

[0118] 本公开文本提供了TAVO202的两个人源化轻链可变区，指定为202L3和202L4，其中氨基酸序列分别如SEQ ID NO.10和SEQ ID NO.11所示。

[0119] 人源化轻链可变区202L3序列(SEQ ID NO:10)

[0120] DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCSVSSSISSSNLHWYQQKPGKAPKPWIYGTSNLASGVPSRFSGSGSG

TEYTLTISSLQPEDAATYYCQQWSSYPLTFGQGTKLEIK

[0121] 人源化轻链的三个CDR的序列加下划线。

[0122] 人源化轻链可变区202L4序列(SEQ ID NO:11)

[0123] EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSVSSSISSSNLHWYQQKPDQSPKPWIYGTSNLASGVPSRFSGSGSG TDYTLTINSLEAEDAATYYCQQWSSYPLTFGQGTKLEIK

[0124] 人源化轻链的三个CDR的序列加下划线。

[0125] 作为非限制性例子,通过将人源化202H2重链可变区和两个人源化轻链可变区202L3和202L4与不同的IgG Fc配对,可以产生TAVO202的六种人源化抗体(图4,表2)。

[0126] 表2.示例性抗体

[0127]

人源化的mAb	V_H	V_L	Fc
TAVO6264	202H2	202L3	IgG2

[0128]

TAVO6265	202H2	202L4	IgG2
TAVO7264	202H2	202L3	IgG1（L234F、L235E、D265A、F405L）
TAVO7265	202H2	202L4	IgG1（L234F、L235E、D265A、F405L）
TAVO9764	202H2	202L3	IgG1（L234A、L235A、M428L、N434S）
TAVO9765	202H2	202L4	IgG1（L234A、L235A、M428L、N434S）

[0129] 本公开文本提供了具有人IgG2 Fc的包含人源化重链可变区202H2和人源化轻链可变区202L3的针对TAVO202的第一人源化抗体,指定为TAVO6264,所述第一人源化抗体包含如SEQ ID NO.12所示的重链序列和如SEQ ID NO.13所示的轻链序列。

[0130] 本公开文本提供了具有人IgG2 Fc的包含人源化重链可变区202H2和人源化轻链可变区202L4的针对TAVO202的第二人源化抗体,指定为TAVO6265,所述第二人源化抗体包含如SEQ ID NO.12所示的重链序列和如SEQ ID NO.14所示的轻链序列。

[0131] 本公开文本提供了具有含L234F、L235E、D265A、F405L突变的人IgG1 Fc的包含人源化重链可变区202H2和人源化轻链可变区202L3的针对TAVO202的第三人源化抗体,指定为TAVO7264,所述第三人源化抗体包含如SEQ ID NO.15所示的重链序列和如SEQ ID NO.13所示的轻链序列。

[0132] 本公开文本提供了具有含L234F、L235E、D265A、F405L突变的人IgG1 Fc的包含人源化重链可变区202H2和人源化轻链可变区202L4的针对TAVO202的第四人源化抗体,指定为TAVO7265,所述第四人源化抗体包含如SEQ ID NO.15所示的重链序列和如SEQ ID NO.14所示的轻链序列。

[0133] 本公开文本提供了具有含L234A、L235A、M428L、N434S突变的人IgG1 Fc的包含人

源化重链可变区202H2和人源化轻链可变区202L3的针对TAVO202的第五人源化抗体，指定为TAVO9764，所述第五人源化抗体包含如SEQ ID NO.16所示的重链序列和如SEQ ID NO.13所示的轻链序列。

[0134] 本公开文本提供了具有含L234A、L235A、M428L、N434S突变的人IgG1 Fc的包含人源化重链可变区202H2和人源化轻链可变区202L4的针对TAVO202的第六人源化抗体，指定为TAVO9765，所述第六人源化抗体包含如SEQ ID NO.16所示的重链序列和如SEQ ID NO.14所示的轻链序列。

[0135] 具有IgG2 Fc的基于202H2的抗TSLP人源化抗体重链(SEQ ID NO:12)

[0136] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWVNWVRQAPGQGLEWIGQIYPGDGDTDYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGTYYNNYYGTDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0137] 重链的可变结构域的序列加下划线。

[0138] 基于202L3的抗TSLP人源化抗体轻链(SEQ ID NO:13)

[0139] DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCSVSSSISSSNLHWYQQKPGKAPKPWIYGTSNLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDAATYYCQQWSSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0140] 轻链的可变结构域的序列加下划线。

[0141] 基于202L4的抗TSLP人源化抗体轻链(SEQ ID NO:14)

[0142] EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSVSSSISSSNLHWYQQKPDQSPKPWIYGTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTINSLEAEDAATYYCQQWSSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0143] 轻链的可变结构域的序列加下划线。

[0144] 具有含L234F、L235E、D265A、F405L突变的IgG1 Fc的基于202H2的抗TSLP人源化抗体重链(SEQ ID NO:15)

[0145] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWVNWVRQAPGQGLEWIGQIYPGDGDTDYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGTYYNNYYGTDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**F**E**L**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF**L**LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0146] 重链的可变结构域的序列加下划线。L234F、L235E、D265A、F405L突变加粗。

[0147] 具有含L234A、L235A、M428L、N434S突变的IgG1 Fc的基于202H2的抗TSLP人源化抗体重链(SEQ ID NO:16)

[0148] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWVNWVRQAPGQGLEWIGQIYPG DGDTDYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGTYYNNYYGTD YWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSL SLSPGK

[0149] 重链的可变结构域的序列加下划线。L234A、L235A、M428L、N434S突变加粗。

[0150] 本公开文本还提供了双特异性抗体或多特异性抗体的制备，所述制备可以包括通过具有Fab或scFv结构域接合任两个、三个或四个TSLP表位，所述Fab或scFv结构域包含TAVO202的一个人源化重链可变区和TAVO202的两个人源化轻链可变区中的一个，所述一个人源化重链可变区指定为202H2，其中氨基酸序列如SEQ ID NO.9所示，所述两个人源化轻链可变区指定为202L3和202L4，其中氨基酸序列分别如SEQ ID NO.10和SEQ ID NO.11所示。例如，这可以是具有Fab或scFv结构域202H2与202L3和202H2与202L4或者可以接合两个、三个或四个表位的结构域的任何其他排列的双特异性抗体。

[0151] 本公开文本的TSLP结合抗体和片段涵盖保留与TSLP特异性结合的足够能力的抗原结合片段。如本文所用的TSLP结合片段可以包括抗体的任何3个或更多个连续氨基酸(例如，4个或更多个、5个或更多个、6个或更多个、8个或更多个或甚至10个或更多个连续氨基酸)，并且涵盖Fab、Fab'、F(ab')2和F(v)片段，或单独的轻链或重链可变区或其部分。这些片段缺乏完整抗体的F_c片段，从循环中清除地较快，并且与完整抗体相比可以具有更少的非特异性组织结合。这些片段可以使用熟知的方法从完整抗体产生，例如通过用酶(诸如木瓜蛋白酶(以产生Fab片段)或胃蛋白酶(以产生F(ab')2片段))进行蛋白水解切割而产生。

[0152] 本公开文本的TSLP结合抗体和片段还可以涵盖双抗体，所述双抗体是这样的二价抗体，其中VH和VL结构域在单条多肽链上表达，但是使用足够短以致不允许在同一条链上的两个结构域之间配对的接头，从而迫使所述结构域与另一条链的互补结构域配对并且产生两个抗原结合位点。

[0153] 本公开文本的TSLP结合抗体和片段还可以涵盖与TSLP结合的单链抗体片段(scFv)。scFv包含与抗体轻链可变区(V_L)可操作地连接的抗体重链可变区(V_H)，其中重链可变区和轻链可变区一起或单独地形成结合TSLP的结合位点。此类TSLP结合片段可以通过本领域已知的方法和由氨基酸Gly和Ser构成的柔性蛋白质接头制备，所述方法例如像抗体分子的重链和轻链可变部分的合成或PCR介导的扩增。克隆所得的DNA片段以用于在大肠杆菌(E.coli)或哺乳动物细胞中表达。从宿主细胞中纯化表达的TSLP结合片段。

[0154] 本公开文本的TSLP结合抗体和片段涵盖包含两条重链和两条轻链的全长抗体。示例性人抗体或人源化抗体包括IgG、IgM、IgE、IgA和IgD抗体。本发明的抗体可以属于任何类别(IgG、IgM、IgE、IgGA、IgD等)或同种型。例如，人抗体可以包含IgG Fc结构域，诸如同种型IgG1、IgG2、IgG3或IgG4中的至少一种。

[0155] 在一些情况下，IgG Fc结构域包含与作为SEQ ID NO:17的IgG1 Fc序列具有至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少98％、至少99％或100％氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0156] 在一些情况下,IgG Fc结构域包含与作为SEQ ID NO:18的IgG2 Fc序列具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0157] 在一些情况下,IgG Fc结构域包含与作为SEQ ID NO:19的IgG3 Fc序列具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0158] 在一些情况下,IgG Fc结构域包含与作为SEQ ID NO:20的IgG4 Fc序列具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0159] 可以将S228P突变做到IgG4抗体中以增强IgG_4稳定性。

[0160] IgG_1 F_c(SEQ ID NO:17):

[0161] KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0162] IgG_2 F_c(SEQ ID NO:18):

[0163] TVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0164] IgG_3 F_c(SEQ ID NO:19):

[0165] RVELKTPLGDTTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0166] IgG_4 F_c(SEQ ID NO:20)

[0167] RVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0168] 本发明的抗TSLP抗体可以包含经修饰的F_c区,其中经修饰的F_c区相对于野生型F_c区包含至少一个氨基酸修饰。在一些实施方案中,本发明的抗TSLP抗体提供有经修饰的F_c区,其中在生物环境中当与亲本野生型抗体相比时,修饰天然存在的F_c区以延长抗体的半衰期,例如血清半衰期或通过体外测定测量的半衰期。

[0169] 可以单独或组合做出的示例性突变是T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257I、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435A和H435R突变,或白蛋白结合肽融合到Fc的C末端上,其中与没有所述Fc突变的对照相比,循环抗体半衰期延长。

[0170] 在某些实施方案中,通过在作为SEQ ID NO:21的IgG1 Fc中用M252Y/S254T/T256E突变工程化可以实现半衰期的延长,根据EU索引进行残基编号(Dall'Acqua,Kiener等人

2006)。

[0171] 在某些实施方案中,通过在作为SEQ ID NO:22的IgG1 Fc中用M428L/N434S突变工程化也可以实现半衰期的延长(Zalevsky,Chamberlain等人2010)。

[0172] 在某些实施方案中,通过在作为SEQ ID NO:23的IgG1 Fc中用T250Q/M428L突变工程化也可以实现半衰期的延长(Hinton,Xiong等人2006)。

[0173] 在某些实施方案中,通过在作为SEQ ID NO:24的IgG1 Fc中用N434A突变工程化也可以实现半衰期的延长(Shields,Namenuk等人2001)。

[0174] 在某些实施方案中,通过在作为SEQ ID NO:25的IgG1 Fc中用T307A/E380A/N434A突变工程化也可以实现半衰期的延长(Petkova,Akilesh等人2006)。

[0175] 可以在小鼠的PK研究中评价相对于具有天然IgG F_c的抗体Fc工程化对抗体的半衰期延长的影响。

[0176] 具有M252Y/S254T/T256E突变的IgG_1 F_c(SEQ ID NO:21)

[0177] KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK

[0178] 具有M428L/N434S突变的IgG_1 F_c(SEQ ID NO:22)

[0179] KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHY
TQKSLSLSPGK

[0180] 具有T250Q/M428L突变的IgG_1 F_c(SEQ ID NO:23)

[0181] KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNHY
TQKSLSLSPGK

[0182] 具有N434A突变的IgG_1 F_c(SEQ ID NO:24)

[0183] KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHAHY
TQKSLSLSPGK

[0184] 具有T307A/E380A/N434A突变的IgG_1 F_c(SEQ ID NO:25)

[0185] KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLAVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVAWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHAHY
TQKSLSLSPGK

[0186] 在一些实施方案中,本发明的抗TSLP抗体提供有经修饰的F_c区,其中修饰天然存在的F_c区以增强抗体对在残基222-237(EU编号)之间或所述残基处切割野生型抗体的蛋白酶的蛋白水解降解的抗性。

[0187] 在某些实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段进一步包含这样的突变，所述突变在Fc的下铰链区(例如，相当于IgG1 Fc的残基222-237)中并且允许相对于具有内源性蛋白水解活性的天然IgG1抗体，在环境中的蛋白酶抗性(例如，对MMP-3、MMP-7、MMP-12、MMP-13、组织蛋白酶G、胃蛋白酶、IdeS或GluV8降解的抗性)增加。

[0188] 在某些实施方案中，通过在缺失了G236的铰链区中用E233P/L234V/L235A突变工程化可以实现当与作为SEQ ID NO:26的亲本野生型抗体相比时对蛋白水解降解的抗性，根据EU索引进行残基编号(Kinder,Greenplate等人2013)。

[0189] 具有E233P/L234V/L235A突变并缺失了G236的IgG_1 F_c(SEQ ID NO:26)

[0190] KVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP

[0191] EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS

[0192] NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

[0193] ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY

[0194] TQKSLSLSPGK

[0195] 在不需要效应子功能的情况下，可以进一步工程化本公开文本的抗体以在抗体F_c中引入至少一个突变，所述至少一个突变降低抗体与激活F_cγ受体(F_cγR)的结合和/或降低F_c效应子功能(诸如C1q结合、补体依赖性细胞毒性(CDC)、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)或吞噬作用(ADCP))。

[0196] 可以突变以降低抗体与激活F_cγR的结合并且随后降低效应子功能的F_c位置是例如以下文献中所述的那些：(Xu,Alegre等人2000)(Vafa,Gilliland等人2014)(Bolt,Routledge等人1993)(Chu,Vostiar等人2008)(Shields,Namenuk等人2001)。具有最小的ADCC、ADCP、CDC、Fc介导的细胞激活的Fc突变也已经被描述为IgG1、IgG2和IgG4的σ突变(Tam,McCarthy等人2017)。

[0197] 可以单独或组合做出的示例性突变是在IgG_1、IgG_2、IgG_3或IgG_4上的K214T、E233P、L234V、L234A、G236缺失、V234A、F234A、L235A、G237A、P238A、P238S、D265A、S267E、H268A、H268Q、Q268A、N297A、A327Q、P329A、D270A、Q295A、V309L、A327S、L328F、A330S和P331S突变。

[0198] 可以做出以降低ADCC的示例性组合突变是在IgG_1上的L234A/L235A、在IgG_2上的V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S、在IgG_4上的F234A/L235A、在IgG_4上的S228P/F234A/L235A、在IgG_1、IgG_2、IgG_3或IgG_4上的N297A、在IgG_2上的V234A/G237A、在IgG_1上的K214T/E233P/L234V/L235A/G236缺失/A327G/P331A/D365E/L358M、在IgG_2上的H268Q/V309L/A330S/P331S、在IgG_1上的S267E/L328F、在IgG_1上的L234F/L235E/D265A、在IgG_1上的L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S、在IgG_4上的S228P/F234A/L235A/G237A/P238S和在IgG_4上的S228P/F234A/L235A/G236缺失/G237A/P238S。也可以使用杂交体$IgG_{2/4}F_c$结构域，诸如具有来自IgG_2的残基117-260和来自IgG_4的残基261-447的F_c。

[0199] 在一些实施方案中，本发明的抗TSLP抗体提供有经修饰的F_c区，其中修饰天然存在的F_c区以促进通过F_c异二聚化产生双特异性抗体。

[0200] 在某些实施方案中，通过在两种亲本抗体上用F405L和K409R突变工程化以及在称为Fab臂交换的方法中产生双特异性抗体可以实现Fc异二聚化(Labrijn,Meesters等人2014)。

[0201] 在某些实施方案中，还可以通过用以促进杵臼(Knob-in-Hole)策略的Fc突变实现

Fc异二聚化(参见例如,国际公开号WO 2006/028936)。将具有小侧链的氨基酸(臼)引入亲本抗体的一个F_c结构域中,并且将具有大侧链的氨基酸(杵)引入另一个F_c结构域中。在两条重链共表达后,由于具有"臼"的重链与具有"杵"的重链的优先相互作用,形成异二聚体(Ridgway,Presta等人1996)。

[0202] 形成杵和臼的示例性F_c突变对是:T366Y/F405A、T366W/F405W、F405W/Y407A、T394W/Y407T、T394S/Y407A、T366W/T394S、F405W/T394S和T366W/T366S/L368A/Y407V。

[0203] 在某些实施方案中,还可以通过用以促进静电匹配的相互作用策略的Fc突变实现Fc异二聚化(Gunasekaran,Pentony等人2010)。可以用突变工程化以在一个Fc结构域处产生带正电的残基并且在另一个Fc结构域处产生带负电的残基,如美国专利公开号US 2010/0015133;美国专利公开号US 2009/0182127;美国专利公开号US 2010/028637或美国专利公开号US 2011/0123532中所述。重链异二聚化可以通过两个突变的Fc之间的静电匹配的相互作用形成。

[0204] 进一步包含保守修饰的本公开文本的抗体在本公开文本的范围内。

[0205] "保守修饰"是指不显著影响或改变含有氨基酸序列的抗体的结合特征的氨基酸修饰。保守修饰包括氨基酸取代、添加和缺失。保守取代是氨基酸被具有类似侧链的氨基酸残基替代的那些。具有类似侧链的氨基酸残基的家族是定义明确的,并且包括具有以下侧链的氨基酸:酸性侧链(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、碱性侧链(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、非极性侧链(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸)、不带电的极性侧链(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、色氨酸)、芳香族侧链(例如,苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸、酪氨酸)、脂肪族侧链(例如,甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丝氨酸、苏氨酸)、酰胺(例如,天冬酰胺、谷氨酰胺)、β-支链侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和含硫侧链(半胱氨酸、甲硫氨酸)。此外,多肽中的任何天然残基也可以被丙氨酸取代,如先前已经针对丙氨酸扫描诱变所述((MacLennan,Rice等人1998);(Sasaki和Sutoh 1998))。对本公开文本的抗体的氨基酸取代可以通过已知方法(例如通过PCR诱变)进行(美国专利号4,683,195)。可替代地,可以例如使用编码11种氨基酸(Ala、Cys、Asp、Glu、Gly、Lys、Asn、Arg、Ser、Tyr、Trp)的随机(NNK)或非随机密码子(例如,DVK密码子)产生变体文库。可以使用本文所述的测定来测试所得抗体变体的特征。

[0206] 本公开文本的抗体可以通过诸如糖基化、异构化、去糖基化或非天然存在的共价修饰(诸如添加聚乙二醇部分(聚乙二醇化)和脂化)等过程进行翻译后修饰。此类修饰可以在体内或在体外发生。例如,本公开文本的抗体可以与聚乙二醇缀合(PEG化),以改善其药代动力学特征。缀合可以通过本领域技术人员已知的技术进行。已经证明治疗性抗体与PEG的缀合可增强药效学同时不干扰功能(Leong,DeForge等人2001,Yang,Basu等人2003,Knight,Jordan等人2004)。

[0207] 可以修饰本公开文本的抗体以改善稳定性、选择性、交叉反应性、亲和力、免疫原性或在本公开文本的范围内的其他所希望的生物或生物物理特性。抗体的稳定性受到多种因素的影响,所述因素包括(1)影响其固有稳定性的单独结构域的核心填充;(2)对HC和LC配对产生影响的蛋白质/蛋白质界面相互作用;(3)掩埋极性和带电残基;(4)极性和带电残基的H键合网;以及(5)在其他分子内和分子间力之间的表面电荷和极性残基分布(Worn和

Pluckthun 2001)。可以基于抗体的晶体结构或在某些情况下通过分子建模来鉴定潜在的结构不稳定残基,并且可以通过在所鉴定的残基中产生和评价具有突变的变体来测试所述残基对抗体稳定性的影响。增加抗体稳定性的方法之一是提高如通过差示扫描量热法(DSC)测量的热转化中点(T_m)。通常,蛋白质T_m与其稳定性相关并且与其对在溶液中解折叠和变性以及依赖于蛋白质解折叠的趋势的降解过程的易感性逆相关(Remmele和Gombotz 2000)。许多研究已经发现了如通过DSC测量为热稳定性的配制品的物理稳定性与通过其他方法测量的物理稳定性的排名之间的相关性(Maa和Hsu 1996,Remmele,Nightlinger等人1997,Gupta和Kaisheva 2003,Bedu-Addo,Johnson等人2004,Zhang,Roy等人2004)。配制品研究表明Fab T_m对相应mAb的长期物理稳定性具有影响。

[0208] 本公开文本的抗体可以在F_c区中具有氨基酸取代,所述氨基酸取代可以改善制造和药物稳定性。IgG_1的例子是在铰链221-DKTHTC-226中的H224S(或H224Q)(Eu编号),其彻底阻断诱导的切割(Yates,Gunasekaran等人2010);并且对于IgG_4,S228P突变阻断半抗体交换(Angal,King等人1993,Labrijn,Buijsse等人2009)。

[0209] 抗TSLP抗体的表达和纯化

[0210] 本公开文本的抗TSLP抗体和片段可以由单一核酸(例如,包含编码抗体的轻链和重链多肽的核苷酸序列的单一核酸)编码,或者由两种或更多种单独的核酸(其中的每种编码抗体或抗体片段的不同部分)编码。

[0211] 作为非限制性例子,本公开文本提供了作为SEQ ID NO:27的核酸序列,其编码具有IgG2 Fc的基于202H2的抗TSLP人源化抗体重链;作为SEQ ID NO:28的核酸序列,其编码基于202L3的抗TSLP抗体轻链序列;以及作为SEQ ID NO:29的核酸序列,其编码基于202L4的抗TSLP抗体轻链序列。

[0212] 具有IgG2 Fc的基于202H2的抗TSLP人源化抗体重链的核苷酸序列(SEQ ID NO:27)

[0213] caagtgcagctggtgcagtccggagccgaggtgaagaagcccggctccagcgtgaaggtgagctgcaaagcctccggctacaccttcagcagctactgggtgaactgggtcagacaagcccccggccaaggactggagtggattggccagatctatcccggcgacggcgacaccgattacgcccagaagttccaaggcagagccacactgaccgccgacaagtccaccagcaccgcctacatggagctgagctctctgaggagcgaggataccgccgtgtacttctgcgctagaggcacctactacaacaactactacggcaccgactactggggccaaggcaccaccgtgaccgtgagcagcgccagcaccaagggcccatccgtcttccccctggcccccttgctccagaagcacctccgagagcacagccgccctcggatgtctggtgaaagactacttccccgagcctgtgaccgtgagctggaacagcggcgccctgacaagcggcgtgcatacctttcctgccgtgctgcagagcagcggcctgtactccctgtccagcgtggtgaccgtgcccagcagcaatttcggcacccagacctacacctgtaacgtggatcacaagccctccaacaccaaagtggacaagaccgtggagaggaagtgctgtgtggaatgcccccccttgtcctgcccctcccgtggctggccccagcgtgttcctcttccctcccaagcccaaggacaccctcatgatcagcagaacacccgaggtgacctgcgtcgtggtggacgtgtcccacgaggaccccgaggtgcagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcacaacgccaagaccaagcccagggaggagcagttcaattccaccttcagggtggtgagcgtgctgaccgtggtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtgagcaacaagggcctgcccgcccccatcgaaaagaccatttccaaaaccaaaggccagcccagggagccccaggtgtacacactgccccccagcagagaggagatgacaaagaaccaggtgagcctgacatgcctggtgaagggcttttaccctagcgacatcgctgtggagtgggagagcaacggccagcccgagaacaactacaagacaacccctcccatgctggattccgatggctc

cttcttcctgtactccaagctgaccgtggacaagagcaggtggcagcagggcaacgtgttctcctgttccgtgatg
catgaggccctgcacaaccactacacccagaagtccctgagcctgagccccggcaag

[0214] 基于202L3的抗TSLP人源化抗体轻链的核苷酸序列(SEQ ID NO:28)gatatccagct
gacccagagccccagctttctgagcgctagcgtgggagacagagtgaccatcacatgcagcgtgtccagcagcatc
agcagcagcaatctgcactggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagccttggatctacggaaccagcaatc
tggccagcggcgtgcctagcagattttccggatccggaagcggcaccgagtacacactgaccatcagctctctgca
gcccgaagacgccgctacctactactgccagcagtggagcagctaccctctgaccttcggccaaggcaccaagctg
gagatcaagcgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactg
cctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctcca
atcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacg
ctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtca
caaagagcttcaacaggggagagtgt

[0215] 基于202L4的抗TSLP人源化抗体轻链的核苷酸序列(SEQ ID NO:29)

[0216] gagatcgtgctgacccagagccccgatttccagtccgtgacccccaaggagaaggtgaccattacatg
ctccgtgagcagcagcatcagcagcagcaatctgcactggtaccagcagaagcccgatcagagccccaagccttgg
atttacggcacaagcaatctggccagcggagtgccctccagattcagcggcagcggaagcggcaccgactacacac
tgaccatcaactctctggaggccgaggatgccgccacctactactgccagcagtggagcagctaccctctgacctt
cggccaaggcaccaagctggaaatcaagcgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgag
cagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtgga
aggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacag
cctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcag
ggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

[0217] 可以将核酸插入载体(例如,核酸表达载体和/或靶向载体)中。此类载体可以以多种方式使用,例如用于在细胞或转基因动物中表达抗TSLP结合抗体或抗体片段。通常选择在将使用载体的宿主细胞中具有功能的载体。编码抗TSLP结合抗体或片段的核酸分子可以在原核、酵母、昆虫(杆状病毒系统)和/或真核宿主细胞中扩增/表达。宿主细胞的选择将部分取决于抗TSLP结合抗体或片段是否进行翻译后修饰(例如,糖基化和/或磷酸化)。如果是这样的话,优选酵母、昆虫或哺乳动物宿主细胞。表达载体通常含有一种或多种以下组分:启动子、一个或多个增强子序列、复制起点、转录终止序列、含有供体和受体剪接位点的完整内含子序列、用于分泌的前导序列、核糖体结合位点、聚腺苷酸化序列、用于插入编码待表达的多肽的核酸的多接头区和可选择标记元件。

[0218] 在大多数情况下,在抗TSLP抗体或片段的N末端处工程化前导序列或信号序列以引导其分泌。抗TSLP抗体或片段从宿主细胞的分泌将导致信号肽从抗体或片段中去除。因此,成熟抗体或片段将缺乏任何前导序列或信号序列。在一些情况下,诸如在真核宿主细胞表达系统中需要糖基化的情况下,可以操纵多种前序列以改善糖基化或产率。例如,可以改变信号肽的肽酶切割位点,或者添加也可能影响糖基化的前序列。

[0219] 本公开文本进一步提供了包含本公开文本的核酸或载体的细胞(例如,分离的或纯化的细胞)。所述细胞可以是能够用本公开文本的核酸或载体转化以便产生由此编码的多肽的任何类型的细胞。为了表达抗TSLP结合抗体或片段,将如上所述获得的编码部分或

全长轻链和重链的DNA插入表达载体中，使得基因与转录和翻译控制序列可操作地连接。

[0220] 将核酸和载体引入分离的细胞中和转化的宿主细胞的体外培养和选择的方法是本领域已知的，并且包括使用氯化钙介导的转化、转导、缀合、三亲本杂交、DEAE、葡聚糖介导的转染、感染、与脂质体膜融合、用DNA包被的微弹高速轰击、直接显微注射至单个细胞和电穿孔。

[0221] 在将本公开文本的核酸或载体引入细胞中后，将细胞在适用于表达编码序列的条件下培养。然后可以从细胞中分离抗体、抗原结合片段或抗体的一部分。

[0222] 在某些实施方案中，可以将一起编码抗TSLP结合抗体或其抗原结合片段的两种或更多种载体引入细胞中。

[0223] 已经分泌到细胞培养基中的抗TSLP结合抗体或片段的纯化可以使用多种技术完成，所述技术包括亲和、免疫亲和或离子交换色谱，分子筛色谱，制备型凝胶电泳或等电点聚焦，色谱聚焦和高压液相色谱。例如，可以通过用蛋白A(其选择性结合F_c区)的亲和色谱纯化包含F_c区的抗体。

[0224] 修饰形式的抗体或抗原结合片段可以用在其羧基或氨基末端处的亲和标签(诸如六组氨酸)或其他小肽(诸如FLAG(Eastman Kodak Co.，康涅狄格州纽黑文)或myc(Invitrogen))制备，并且通过一步亲和柱纯化。例如，多组氨酸以高亲和力和特异性与镍结合，因此镍的亲和柱(诸如Qiagen®镍柱)可以用于纯化多组氨酸标记的选择性结合剂。在一些情况下，可以采用多于一个的纯化步骤。

[0225] 修饰形式的抗体或抗原结合片段可以用在其羧基或氨基末端处的亲和标签(诸如六组氨酸)或其他小肽(诸如FLAG(Eastman Kodak Co.，康涅狄格州纽黑文)或myc(Invitrogen))制备，并且通过一步亲和柱纯化。例如，多组氨酸以高亲和力和特异性与镍结合，因此镍的亲和柱(诸如Qiagen®镍柱)可以用于纯化多组氨酸标记的选择性结合剂。在一些情况下，可以采用多于一个的纯化步骤。

[0226] TSLP

[0227] 胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)是一种上皮细胞衍生的蛋白质，属于牵涉在过敏性炎症中的细胞因子家族(Cianferoni和Spergel 2014)。它主要由非造血细胞(诸如成纤维细胞、上皮细胞和不同样细胞)产生，并且通过激活抗原呈递细胞在T细胞群体的成熟中起重要作用。TSLP是响应于促炎刺激而产生的，并且主要通过影响树突细胞以产生T辅助(Th)2细胞因子来驱动过敏性炎症反应。

[0228] 人TSLP具有两种亚型。长形式的TSLP(lfTSLP)在几种组织(包括心脏、肝和前列腺)中表达，并且诱导T细胞吸引趋化因子从单核细胞中释放，并且促进CD11c-树突细胞的成熟。它可以通过直接激活肥大细胞来诱导过敏性炎症(Reche，Soumelis等人2001，Zhang和Zhou 2012)。亚型2是短形式的TSLP(sfTSLP)，并且是口腔黏膜、皮肤的角质形成细胞和唾液腺中的主要形式，并且可以作为抗微生物肽发挥作用(Bjerkan，Sonesson等人2016)。人TSLP映射到染色体5q22.1(Quentmeier，Drexler等人2001)。

[0229] lfTSLP的氨基酸序列提供为SEQ ID No.30，其中前28个氨基酸构成信号肽，并且Y29至Q159是成熟形式。sfTSLP的氨基酸序列提供为SEQ ID No.31。

[0230] 长形式TSLP lfTSLP的氨基酸序列(SEQ ID NO:30)

[0231] MFPFALLYVLSVSFRKIFILQLVGLVLTYDFTNCDFEKIKAAYLSTISKDLITYMSGTKSTEFNNTVSC

SNRPHCLTEIQSLTFNPTAGCASLAKEMFAMKTKAALAIWCPGYSETQINATQAMKKRRKRKVTTNKCLEQVSQLQG LWRRFNRPLLKQQ

[0232] 短形式TSLP sfTSLP的氨基酸序列(SEQ ID NO:31)

[0233] MFAMKTKAALAIWCPGYSETQINATQAMKKRRKRKVTTNKCLEQVSQLQGLWRRFNRPLLKQQ

[0234] TSLP受体(TSLPR)以低亲和力结合TSLP,并且是血细胞生成素家族的成员(Park,Martin等人2000)。IL-7受体α链(IL-7Rα)和TSLPR的组合为TSLP的高亲和力结合所需以形成三元复合物(Verstraete,van Schie等人2014)。三元复合物对于细胞增殖和信号传导是必需的。

[0235] 在TSLP结合后,诱导STAT5磷酸化,导致下游转录因子的表达。尽管最初的结果表明TSLP接合在TSLPR复合物上激活STAT5而没有可检测的JAK激活,但最近的结果证明,JAK1和JAK2(其分别与IL-7Rα和TSLPR链结合)为TSLP介导的STAT5激活所需(Rochman,Kashyap等人2010)。许多细胞因子刺激的其他信号传导途径(诸如ERK1,2和p70S6K的激活)不参与TSLP活性(Quentmeier,Drexler等人2001)。

[0236] 小鼠与人TSLP之间的同源性是43%,并且对于TSLPR,同源性是39%,物种之间没有交叉反应性。尽管鼠与人TSLP之间以及鼠与人TSLPR之间的氨基酸序列同一性较差,但TSLP与其受体在两个物种中的高亲和力结合均需要IL-7Rα的事实表明人TSLP和TLPLR是小鼠TSLP和TSLPR的直系同源物。因此,小鼠模型已经被用于各种生物学研究,包括嵌合的人TSLP和人TSLPR转基因小鼠品系的使用(Francis,Milford等人2016)。

[0237] TSLP表达与许多疾病状态有联系,所述疾病状态包括哮喘(Ying,O'Connor等人2005)、炎性关节炎(Koyama,Ozawa等人2007)、炎性肠病(Park,Jeong等人2017)、特应性皮炎(Ebner,Nguyen等人2007)、湿疹、嗜酸性粒细胞性食管炎和其他过敏性状态(Soumelis和Liu 2004)、(Soumelis,Reche等人2002)。了解TSLP产生的机制以及阻断产生的那些潜在物质可能会提供更好的方法来预防或治疗这些病症。因此,靶向TSLP可以抑制参与哮喘和Th2细胞因子介导的炎性障碍的多种生物途径(Gauvreau,O'Byrne等人2014)。

[0238] 抗TSLP抗体的结合和功能活性

[0239] 本公开文本涵盖相比于其他抗原以更高的亲和力与TSLP选择性结合的抗TSLP单克隆抗体或抗体片段。抗TSLP单克隆抗体和片段可以与人TSLP选择性结合,而且还与非人TSLP可检测地结合。可替代地或另外地,TSLP结合抗体和抗体片段可以对重组人TSLP和内源性人TSLP具有相同或基本上相同的效力。

[0240] 本领域详细描述了体外和基于细胞的测定用于确定TSLP抗体与其靶标的结合。例如,可以通过以下方式来确定TSLP与其受体的结合:固定TSLP结合抗体,用固定化的抗体螯合TSLP,并且确定TSLP是否与抗体结合,并且使可溶性形式的受体与结合的TSLP/抗体复合物接触并且确定可溶性受体是否与复合物结合。所述方案还可以包括使可溶性受体与固定化的抗体接触,然后与TSLP接触,以确认可溶性受体不与固定化的抗体结合。可以使用Biacore®仪器进行此方案以用于结合相互作用的动力学分析。还可以采用这种方案来确定抗体或其他分子是允许还是阻断TSLP与其受体的结合。

[0241] 对于其他TSLP/受体结合测定,可以通过在存在或不存在TSLP抗体或其TSLP结合片段的情况下比较TSLP与其受体的结合来确定允许或阻断TSLP与其受体的结合。在测定读出方面阻断被鉴定为与含有相应缓冲剂或稀释剂但是不含TSLP抗体或其TSLP结合片段的

对照样品相比，在存在抗TSLP抗体或其TSLP结合片段的情况下TSLP与其受体的结合的指定降低。测定读出可以定性地观察，以指示存在或不存在阻断，或者可以定量地观察，以指示由于抗体或片段的存在导致的结合降低的百分比或倍数。当TSLP结合抗体或TSLP结合片段基本上阻断TSLP与其受体的结合时，与在不存在所述抗体或片段的情况下相同浓度的TSLP与其受体的结合相比，TSLP与其受体的结合降低至少10倍、可替代地至少约20倍、可替代地至少约50倍、可替代地至少约100倍、可替代地至少约1000倍、可替代地至少约10000倍或更多。

[0242] 根据本公开文本的用于所述用途的优选的抗TSLP抗体通常以高亲和力(例如，如用BIACORE确定的)(例如像对TSLP的平衡结合解离常数(KD)为约10nM或更小、约5nM或更小、约1nM或更小、约500pM或更小、或更优选地约250pM或更小、约100pM或更小、约50pM或更小、约25pM或更小、约10pM或更小、约5pM或更小、约3pM或更小、约1pM或更小、约0.75pM或更小、约0.5pM或更小或者约0.3pM或更小)与人TSLP结合。

[0243] 本公开文本的抗体或片段可以例如以约10nM或更小、约5nM或更小、约2nM或更小、约1nM或更小、约0.75nM或更小、约0.5nM或更小、约0.4nM或更小、约0.3nM或更小或甚至约0.2nM或更小的EC50与TSLP结合，如通过酶联免疫吸附测定(ELISA)确定的。

[0244] 优选地，本公开文本的抗体或抗体片段不与除TSLP之外的任何靶标交叉反应。例如，本发明的抗体和片段可以与TSLP结合，但是不与其他蛋白质可检测地结合，或者相对于与其他蛋白质的结合，在与TSLP的结合方面具有至少约100倍(例如，至少约150倍、至少约200倍或甚至至少约250倍)的选择性。

[0245] 可以使用肽阵列来确定本公开文本中所述的TSLP结合抗体或片段所结合的关键氨基酸残基(表位)，所述肽阵列例如像PepSpotTM肽阵列(JPT Peptide Technologies，德国柏林)，其中直接在膜上合成十二个氨基酸肽的扫描(跨越整个TSLP氨基酸序列，每个肽与前一个肽重叠11个氨基酸)。可替代地或另外地，可以进行抗体竞争实验，并且此类测定是本领域熟知的。

[0246] 本公开文本还涵盖与TSLP结合的中和抗体或其中和片段，以便中和其生物活性。可以通过生物活性的一种或多种指标(诸如在报告测定中TSLP刺激的报告基因表达)的测定来评估TSLP的生物活性的中和。还可以通过哮喘或特应性皮炎的动物模型在体内评估TSLP的生物活性的中和。优选地，本公开文本的TSLP结合抗体和片段中和与TSLP所结合的受体的信号传导功能联系的TSLP的生物活性。

[0247] 本发明的抗体或片段可以是与影响TSLP的生物活性的TSLP表位特异性结合的中和抗体或片段。本发明的抗体或片段可以与TSLP的中和敏感表位结合。当TSLP的中和敏感表位被本发明的抗体或片段之一结合时，结果是含有所述表位的生物活性的丧失。

[0248] 在某些实施方案中，本公开文本的抗体或其片段可以通过与直接参与TSLP的靶向活性的TSLP的表位结合来中和、抑制、阻断、消除、降低或干扰TSLP的活性。在另一个实施方案中，本公开文本的抗体或其片段可以通过与不直接参与TSLP的靶向活性的TSLP的表位结合来中和、抑制、阻断、消除、降低或干扰TSLP的活性，但是与其结合的抗体或片段在空间上或在构象上抑制、阻断、消除、降低或干扰TSLP的靶向活性。在又另一个实施方案中，本公开文本的抗体或其片段与不直接参与TSLP的靶向活性的TSLP的表位结合(即，非阻断抗体)，但是与其结合的抗体或片段导致TSLP的清除增强。

[0249] 在某些实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段：a)抑制TSLP与TSLPR的结合；b)降低TSLP依赖性基因的表达水平；c)抑制TSLP诱导的细胞增殖；d)抑制TSLP诱导的STAT5激活；和/或e)抑制TSLP诱导的CCL17从原代人树突细胞产生。

[0250] 药物组合物

[0251] 根据本公开文本的用于所述用途的TSLP结合抗体和抗体片段可以被配制为组合物，尤其是药物组合物，用于本文所述的方法。此类组合物包含治疗或预防有效量的本公开文本的TSLP结合抗体或抗体片段与合适的载体(例如，药学上可接受的药剂)的混合。通常，本公开文本的TSLP结合抗体和抗体片段被充分纯化以用于在被配制为药物组合物之前向动物施用。

[0252] 药学上可接受的药剂包括载体、赋形剂、稀释剂、抗氧化剂、防腐剂、着色剂、调味剂和稀释剂、乳化剂、助悬剂、溶剂、填充剂、疏松剂、缓冲剂、递送媒介物、张度剂、助溶剂、润湿剂、络合剂、缓冲剂、抗微生物剂和表面活性剂。

[0253] 所述组合物可以呈液体形式或者冻干或冷冻干燥形式，并且可以包括一种或多种冻干保护剂、赋形剂、表面活性剂、高分子量结构添加剂和/或疏松剂。

[0254] 组合物可以适用于肠胃外施用。示例性组合物适用于通过熟练技术人员可用的任何途径(诸如关节内、皮下、静脉内、肌内、腹膜内、脑内(脑实质内)、脑室内、肌内、眼内、动脉内、病灶内、直肠内、经皮、口服和吸入途径)注射或输注到动物中。

[0255] 本文所述的药物组合物可以以在特定局部环境中提供局部浓度的产物(例如，推注、储库效应)持续释放和/或增加的稳定性或半衰期的方式被配制用于受控或持续递送。

[0256] 使用方法

[0257] 本发明的抗体和片段可用于预防和治疗TSLP介导的疾病或医学病症，例如哮喘、过敏性鼻炎、特应性皮炎、过敏症和某些癌症。

[0258] 本公开文本的一方面提供了治疗中度至重度不受控制的哮喘(包括非Th2驱动的哮喘)的方法，所述方法通过向有需要的受试者施用治疗有效量的任一种主题抗体或其抗原结合片段和主题药物组合物。

[0259] 本公开文本的另一方面提供了治疗纤维化疾病和相关病症(包括系统性硬化症、系统性特发性肺纤维化和瘢痕疙瘩疾病)的方法，所述方法通过向有需要的受试者施用治疗有效量的任一种主题抗体或其抗原结合片段和主题药物组合物。

[0260] 本公开文本的另一方面提供了治疗慢性阻塞性肺病(诸如肺气肿、慢性支气管炎和难治性哮喘)的方法，所述方法通过向有需要的受试者施用治疗有效量的任一种主题抗体或其抗原结合片段和主题药物组合物。

[0261] 本公开文本的另一方面提供了治疗与炎性疾病相关的障碍(包括鼻炎、特应性皮炎、湿疹、食物过敏和炎性肠病)的方法；所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的任一种主题抗体或其抗原结合片段和主题药物组合物。

[0262] 本公开文本的另一方面提供治疗某些癌症(包括肺癌、乳腺癌、胰腺癌、结直肠癌、成淋巴细胞性白血病、头颈癌)的方法；所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的任一种主题抗体或其抗原结合片段和主题药物组合物。

[0263] 本公开文本的一方面还提供了本文提供的任一种抗体或其抗原结合片段在制造用于阻断TSLP与其受体TLPR的结合的药剂和/或用于预防和治疗TSLP介导的疾病或医学病

症(诸如本文提供的那些)的药剂中的用途。本公开文本的一方面还提供了所提供的抗体或其抗原结合片段用于阻断TSLP与其受体TLPR的结合和/或用于预防和治疗TSLP介导的疾病或医学病症(诸如本文提供的那些)的方法的用途。例如,在实施方案中,本公开文本提供了本文提供的抗体在用于治疗哮喘、COPD、特发性肺纤维化、特应性皮炎、湿疹、嗜酸性粒细胞性食管炎、炎性肠病、系统性硬化症、系统性特发性肺纤维化、瘢痕疙瘩疾病或癌症的方法中的用途。

[0264] 除了治疗用途,本发明的抗体和片段还可以用于使用常规免疫测定(诸如酶联免疫吸附测定(Rizos C.V.)、放射免疫测定(RIA)或组织免疫组织化学)检测TSLP(例如,在生物样品诸如血清或血浆中)的诊断方法中。

[0265] 用于检测生物样品中的TSLP的方法可以包括以下步骤:使生物样品与一种或多种本发明的抗体或片段接触,以及检测与TSLP结合的抗体或片段或者未结合的抗体或片段,从而检测生物样品中的TSLP。所述抗体或片段可以用可检测物质直接或间接标记以促进结合或未结合的抗体的检测。合适的可检测物质包括多种酶、辅基、荧光材料、发光材料和放射性材料。

[0266] 实施例

[0267] 提供以下实施例以更详细地描述本公开文本。它们旨在说明而非限制本公开文本。

[0268] 实施例1:小鼠抗TSLP抗体TAVO202的TSLP结合亲和力

[0269] 通过杂交瘤筛选,TAVO202被鉴定为小鼠抗人TSLP抗体。采用基于ELISA的结合测定来评价TAVO202与重组人TSLP的结合。在此测定中,将1μg/mL重组人TSLP(R&DSystems)包被在ELISA板上。将渐增浓度的TAVO202抗体施加到板上,并且通过HRP缀合的抗小鼠二抗检测它们与重组人TSLP的结合。观察到TAVO202剂量依赖性地结合重组人TSLP,EC50为2.4ng/mL(图1A)。

[0270] 也在类似的ELISA测定中通过将板用小鼠TSLP(R&D Systems)包被来评价TAVO202与小鼠TSLP的结合。TAVO202对小鼠TSLP没有显示出显著的结合亲和力(图1B)。

[0271] 实施例2:TAVO202对TSLP的中和的体外测定

[0272] 开发了TSLP介导的细胞增殖测定以评估TAVO202的功能活性。在此测定中,将人IL-7受体α(IL-7Rα)和TSLP受体(TSLPR)共转染到BAF3小鼠祖B细胞中。将重组人TSLP添加到转染的细胞中,并且两天后用细胞增殖测定来定量细胞增殖。观察到重组人TSLP可以以剂量依赖性的方式刺激转染的BAF3细胞系的增殖,EC50为0.18ng/mL(图2A)。

[0273] 为了评估TAVO202的功能活性,将渐增浓度的TAVO202连同0.5ng/mL人TSLP一起施加给用IL-7Rα和TSLPR共转染的BAF3细胞。观察到TAVO202可以剂量依赖性地中和TSLP在刺激转染的BAF3细胞增殖中的活性,IC50为6.6ng/mL(图2B)。

[0274] 除了细胞增殖测定,还开发了TSLP驱动的报告基因表达测定以评估TAVO202的功能活性。STAT5激活是在TSLP结合至并且激活其受体复合物(TSLPR:IL-7Rα)后发生的下游事件。在此测定中,将表达TSLPR、IL-7Rα的质粒和STAT5萤光素酶报告构建体瞬时转染到HEK293T细胞中。转染后一天,添加重组人TSLP,并且24小时后定量TSLP驱动的萤光素酶报告基因表达。观察到人TSLP可以剂量依赖性地驱动报告基因表达,EC50为1.4ng/mL(图3A)。

[0275] 为了评估TAVO202的功能活性,将渐增浓度的TAVO202连同10ng/mL人TSLP一起施

加给用IL-7Rα、TSLPR和STAT5萤光素酶报告基因共转染的HEK293T细胞。观察到TAVO202剂量依赖性地中和TSLP在刺激报告基因表达中的活性，IC50为20ng/mL(图3B)。

[0276] 实施例3：小鼠抗人TSLP抗体TAVO202的人源化

[0277] 通过将小鼠CDR移植到人种系支架上而将小鼠抗人TSLP抗体TAVO202人源化。通过回复突变保留了一些关键的小鼠残基，以实现更高的稳定性和更好的表达，同时使免疫原性最小化。对于TAVO202，用一对回复突变，基于IGHV1-69*02设计了一个人源化V_H变体(202H2)，并且分别基于IGKV1-9*01和IGKV6-21*01设计了两个人源化V_L变体(202L3和202L4)(图4)。通过人源化V_H变体与两个人源化V_L变体的组合，通过将202H2变体分别与202L3和202L4配对，产生了具有IgG2 Fc的两种人源化TAVO202抗体，指定为TAVO6264和TAVO6265(图4)。同样，通过将202H2变体分别与202L3和202L4配对，还产生了具有含L234F、L235E、D265A、F405L突变的IgG1 Fc的两种人源化TAVO202抗体，指定为TAVO7264和TAVO7265。此外，通过将202H2变体分别与202L3和202L4配对，还产生了具有含L234A、L235A、M428L、N434S突变的IgG1 Fc的两种人源化TAVO202抗体，指定为TAVO9764和TAVO9765(图4)。

[0278] 实施例4：人源化TAVO202的表达与纯化

[0279] 根据转染试剂盒说明书(Thermo Scientific)，将编码TAVO6264、TAVO6265、TAVO7264、TAVO7265、TAVO9764、TAVO9765的重链和轻链的质粒共转染到Expi293F细胞中。转染后五天将细胞离心，并且使上清液通过0.2μm过滤器。通过在蛋白A琼脂糖柱(GE Healthcare Life Sciences)上的亲和层析纯化上清液中的表达的抗体。将纯化的抗体通过透析缓冲液交换到DPBS(pH 7.2)中，并且通过280nm处的紫外吸光度确定蛋白质浓度。

[0280] 使纯化的人源化TAVO202抗体经受SDS-PAGE分析，并且TAVO7264和TAVO7265的例子示于图5A和图5B中。在还原条件下，所有四种抗体均显示出预期分子量的重链和轻链。在非还原条件下，所有四种抗体均迁移为具有大约150kDa分子量的主要蛋白质条带。还通过尺寸排阻色谱(SEC)评估纯化的人源化TAVO202抗体。图5C揭示了示例性抗体TAVO7264和TAVO7265的SEC曲线。

[0281] 实施例5：人源化TAVO202与TSLP的结合

[0282] 采用基于ELISA的结合测定来评价人源化TAVO202抗体与重组人TSLP抗原的结合。在此测定中，将1μg/mL重组人TSLP(R&D Systems)包被在ELISA板上。将渐增浓度的人源化TAVO202抗体施加到板上，并且通过HRP缀合的抗小鼠二抗检测它们与重组人TSLP的结合。作为例子，观察到TAVO6264和TAVO6265以与小鼠抗体TAVO202类似且相当的效力剂量依赖性地结合重组人TSLP(图6A)。

[0283] 也在类似的ELISA测定中通过将板用食蟹猴TSLP包被来评价人源化TAVO202抗体与食蟹猴TSLP的结合。TAVO7264和TAVO7265抗体均不能与猴TSLP结合(图6B)。

[0284] 为了进一步测量人源化抗体与固定化重组TSLP的结合，将使用Biacore进行表面等离子共振(SPR)结合测定。此测定不仅可以测量结合亲和力，而且还可以测量结合的动力学速率常数和热力学。

[0285] 实施例6：人源化TAVO202抗体对TSLP的中和的体外测定

[0286] 采用TSLP驱动的STAT5萤光素酶报告基因表达测定来评估人源化TAVO202抗体的功能活性。将渐增浓度的TAVO6264和TAVO6265连同10ng/mL人TSLP一起施加给用IL-7Rα、

TSLPR和STAT5萤光素酶报告基因共转染的HEK293T细胞。观察到TAVO6264和TAVO6265二者均可以以与TAVO202相当的IC50剂量依赖性地中和TSLP在刺激报告基因表达中的活性(图7)。

[0287] 实施例7:人源化TAVO202对TSLP介导的树突细胞激活的抑制

[0288] TSLP可以刺激原代人$CD1c^+$血液树突细胞的激活,其中CCL17趋化因子的分泌增加。建立离体测定以在中和TSLP驱动的CCL17从激活的树突细胞的释放中评价人源化TAVO202抗体。通过抗$CD1c^+$抗体包被的磁珠选择(Miltenyi Biotec)从供体外周血单个核细胞(PBMC)中分离$CD1c^+$树突细胞。将分离的细胞与重组人TSLP一起孵育,并且通过ELISA定量CCL17的释放。观察到在孵育48小时后,15ng/mL重组人TSLP可以刺激CCL17从激活的树突细胞中释放增加数倍。当连同TSLP一起以1ug/mL添加时,TAVO7264和TAVO7265二者均可以阻断TSLP驱动的CCL17从激活的树突细胞中释放。图8示出了从两种不同的供体分离的PBMC的测定结果。

[0289] 实施例8:人源化抗体的F_c工程化以延长半衰期和降低效应子功能

[0290] 为了改善人源化抗体的PK特征,可以将F_c突变引入IgG1抗体中以延长抗体半衰期。特别地,已经证明M428L/N434S突变可通过增加FcRn结合亲和力来延长抗体半衰期(Booth,Ramakrishnan等人2018)。此外,L234A/L235A F_c突变可以消除IgG1抗体的ADCC和CDC效应子功能(Hezareh,Hessell等人2001)。因此,产生了具有L234A/L235A/M428L/N434S(AALS)突变的基于202H1的人源化IgG1重链,其包含如SEQ ID NO.16所示的序列。通过将此Fc工程化的202H1重链与人源化202L3或202L4轻链配对,产生了两种具有延长的半衰期和降低的效应子功能的人源化TAVO202抗体,并且分别指定为TAVO9764和TAVO9765(图4)。

[0291] 为了研究F_c工程化抗体是否具有改善的FcRn结合亲和力,在基于ELISA的结合测定中评估TAVO9765和TAVO7265与小鼠FcRn的结合。将1μg/mL重组小鼠FcRn(R&D Systems)包被在ELISA板上。将渐增浓度的TAVO9765和TAVO7265抗体施加到板上,并且通过HRP缀合的抗人二抗检测在pH 6.0下它们与重组FcRn的结合。观察到具有Fc M428L/N434S突变的TAVO9765可以以与缺乏此类半衰期延长突变的TAVO7265相比好约10倍的效力结合FcRn(图9)。

[0292] 为了确定M428L/N434S突变是否可以延长抗TSLP抗体的循环半衰期,在食蟹猴PK模型中测试TAVO9765。在第0天,基于体重,将TAVO9765经3分钟以1.0mL/kg的体积以4mg/kg作为静脉内输注施用至雄性幼稚食蟹猴。在给药前以及在给药后1h、2h和第2天、第5天、第9天、第12天、第16天、第21天、第24天、第26天、第29天、第32天、第35天,将全血收集进EDTA-K2收集管中。将血浆通过在4℃下以3500xg离心10分钟分离,然后转移到微量离心管中以在-80℃下储存。通过标准ELISA方法测量血浆样品以检测人IgG。山羊抗人IgG是捕获抗体,并且HRP缀合的山羊抗人IgG(H+L)是检测抗体。捕获抗体和检测抗体的稀释因子分别是13,333和30,000。使用Winnonlin 6.4软件将PK数据用于分析半衰期、C_0、AUC、Vd和清除率。TAVO9765的血浆浓度与时间的PK曲线示于图10中。TAVO9765的PK参数如下:C_0:131405ng·mL^{-1},半衰期:26.131d,AUC_{0-t}:1268621ng·d·mL^{-1},AUC_{0-inf}:2128728ng·d·mL^{-1},清除率:1.879mL·kg^{-1}·d^{-1},Vd:71.049mL·kg^{-1}。

[0293] 参考文献

[0294] Angal,S.,D.J.King,M.W.Bodmer,A.Turner,A.D.Lawson,G.Roberts,B.Pedley

and J.R.Adair(1993)."A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human(IgG4)antibody."Mol Immunol 30(1):105-108.

[0295] Bedu-Addo,F.K.,C.Johnson,S.Jeyarajah,I.Henderson and S.J.Advant (2004)."Use of biophysical characterization in preformulation development of a heavy-chain fragment of botulinum serotype B:evaluation of suitable purification process conditions."Pharm.Res.21:1353-1361.

[0296] Bjerkan,L.,A.Sonesson and K.Schenck(2016)."Multiple Functions of the New Cytokine-Based Antimicrobial Peptide Thymic Stromal Lymphopoietin(TSLP)." Pharmaceuticals 9(3):41.

[0297] Bleecker,E.R.,J.M.FitzGerald,P.Chanez,A.Papi,S.F.Weinstein,P.Barker, S.Sproule,G.Gilmartin,M.Aurivillius,V.Werkstrom and M.Goldman(2016)."Efficacy and safety of benralizumab for patients with severe asthma uncontrolled with high-dosage inhaled corticosteroids and long-acting beta2-agonists(SIROCCO):a randomised,multicentre,placebo-controlled phase 3trial."Lancet 388(10056): 2115-2127.

[0298] Bolt,S.,E.Routledge,I.Lloyd,L.Chatenoud,H.Pope,S.D.Gorman,M.Clark and H.Waldmann(1993)."The generation of a humanized,non-mitogenic CD3 monoclonal antibody which retains in vitro immunosuppressive properties."Eur J Immunol 23(2):403-411.

[0299] Booth,B.J.,B.Ramakrishnan,K.Narayan,A.M.Wollacott,G.J.Babcock, Z.Shriver and K.Viswanathan(2018)."Extending human IgG half-life using structure-guided design."MAbs 10(7):1098-1110.

[0300] Castro,M.,J.Corren,I.D.Pavord,J.Maspero,S.Wenzel,K.F.Rabe,W.W.Busse, L.Ford,L.Sher,J.M.FitzGerald,C.Katelaris,Y.Tohda,B.Zhang,H.Staudinger, G.Pirozzi,N.Amin,M.Ruddy,B.Akinlade,A.Khan,J.Chao,R.Martincova,N.M.H.Graham, J.D.Hamilton,B.N.Swanson,N.Stahl,G.D.Yancopoulos and A.Teper(2018)."Dupilumab Efficacy and Safety in Moderate-to-Severe Uncontrolled Asthma."New England Journal of Medicine 378(26):2486-2496.

[0301] Castro,M.,J.Zangrilli,M.E.Wechsler,E.D.Bateman,G.G.Brusselle, P.Bardin,K.Murphy,J.F.Maspero,C.O'Brien and S.Korn(2015)."Reslizumab for inadequately controlled asthma with elevated blood eosinophil counts:results from two multicentre,parallel,double-blind,randomised,placebo-controlled, phase 3trials."Lancet Respir Med 3(5):355-366.

[0302] Chothia,C.and A.M.Lesk(1987)."Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins."J Mol Biol 196(4):901-917.

[0303] Chu,S.Y.,I.Vostiar,S.Karki,G.L.Moore,G.A.Lazar,E.Pong,P.F.Joyce, D.E.Szymkowski and J.R.Desjarlais(2008)."Inhibition of B cell receptor-mediated activation of primary human B cells by coengagement of CD19 and

FcgammaRIIb with Fc-engineered antibodies."Mol Immunol 45(15):3926-3933.

[0304] Cianferoni,A.and J.Spergel(2014)."The importance of TSLP in allergic disease and its role as a potential therapeutic target."Expert Rev Clin Immunol 10(11):1463-1474.

[0305] Comeau,M.R.,T.N.DESMEDT and D.R.Fitzpatrick(2006).Methods and compositions for treating allergic inflammation.WO 2006023791 A2.

[0306] Comeau,M.R.,J.F.Smothers,B.R.P.Yoon and C.Mehlin(2012).Methods of treating TSLP-related inflammatory disorders.US 8,163,284 B2

[0307] Corren,J.,J.R.Parnes,L.Wang,M.Mo,S.L.Roseti,J.M.Griffiths and R.van der Merwe(2017)."Tezepelumab in Adults with Uncontrolled Asthma."New England Journal of Medicine 377(10):936-946.

[0308] Corren,J.and Ziegler,S.F.(2019)."TSLP:from allergy to cancer."Nature Immunology 20:1603-1609.

[0309] Dall'Acqua,W.F.,P.A.Kiener and H.Wu(2006)."Properties of human IgG1s engineered for enhanced binding to the neonatal Fc receptor(FcRn)."J Biol Chem 281(33):23514-23524.

[0310] Datta,A,Alexander,R,Sulikowski M.G,et.al.(2013)"Evidence for a functional thymic stromal lymphopoietin signaling axis in fibrotic lung disease."J Immunol 191:4867-79.

[0311] De Monte L,et al.(2011)."Intratumor T helper type 2 cell infiltrate correlates with cancer-associated fibroblast thymic stromal lymphopoietin production and reduced survival in pancreatic cancer."J Exp Med.208(3):469-478.

[0312] Ebner,S.,V.A.Nguyen,M.Forstner,Y.H.Wang,D.Wolfram,Y.J.Liu and N.Romani(2007)."Thymic stromal lymphopoietin converts human epidermal Langerhans cells into antigen-presenting cells that induce proallergic T cells."J Allergy Clin Immunol 119(4):982-990.

[0313] Francis,O.L.,T.A.Milford,S.R.Martinez,I.Baez,J.S.Coats,K.Mayagoitia,K.R.Concepcion,E.Ginelli,C.Beldiman,A.Benitez,A.J.Weldon,K.Arogyaswamy,P.Shiraz,R.Fisher,C.L.Morris,X.B.Zhang,V.Filippov,B.Van Handel,Z.Ge,C.Song,S.Dovat,R.J.Su and K.J.Payne(2016)."A novel xenograft model to study the role of TSLP-induced CRLF2 signals in normal and malignant human B lymphopoiesis."Haematologica 101(4):417-426.

[0314] Gauvreau,G.M.,P.M.O'Byrne,L.-P.Boulet,Y.Wang,D.Cockcroft,J.Bigler,J.M.FitzGerald,M.Boedigheimer,B.E.Davis,C.Dias,K.S.Gorski,L.Smith,E.Bautista,M.R.Comeau,R.Leigh and J.R.Parnes(2014)."Effects of an Anti-TSLP Antibody on Allergen-Induced Asthmatic Responses."New England Journal of Medicine 370(22):2102-2110.

[0315] Gunasekaran,K.,M.Pentony,M.Shen,L.Garrett,C.Forte,A.Woodward,S.B.Ng,

T.Born,M.Retter,K.Manchulenko,H.Sweet,I.N.Foltz,M.Wittekind and W.Yan(2010)."Enhancing antibody Fc heterodimer formation through electrostatic steering effects:applications to bispecific molecules and monovalent IgG."J Biol Chem 285(25):19637-19646.

[0316] Gupta,S.and E.Kaisheva(2003)."Development of a multidose formulation for a humanized monoclonal antibody using experimental design techniques."AAPS PharmSci.5E8:2003.

[0317] Headley MB,Zhou B,Shih WX,Aye T,Comeau MR,Ziegler SF.(2009)"TSLP conditions the lung immune environment for the generation of pathogenic innate and antigen-specific adaptive immune responses."J Immunol.182(3):1641-1647.

[0318] Hezareh,M.,A.J.Hessell,R.C.Jensen,J.G.van de Winkel and P.W.Parren(2001)."Effector function activities of a panel of mutants of a broadly neutralizing antibody against human immunodeficiency virus type 1."J Virol 75(24):12161-12168.

[0319] Hinton,P.R.,J.M.Xiong,M.G.Johlfs,M.T.Tang,S.Keller and N.Tsurushita(2006)."An engineered human IgG1 antibody with longer serum half-life."J Immunol 176(1):346-356.

[0320] Kabat,E.A.,H.National Institutes of and U.Columbia(1991).Sequences of proteins of immunological interest.Bethesda,MD,U.S.Dept.of Health and Human Services,Public Health Service,National Institutes of Health.

[0321] Kay,A.B.(2001)."Allergy and Allergic Diseases."New England Journal of Medicine 344(1):30-37.

[0322] Kinder,M.,A.R.Greenplate,K.D.Grugan,K.L.Soring,K.A.Heeringa,S.G.McCarthy,G.Bannish,M.Perpetua,F.Lynch,R.E.Jordan,W.R.Strohl and R.J.Brezski(2013)."Engineered protease-resistant antibodies with selectable cell-killing functions."J Biol Chem 288(43):30843-30854.

[0323] Knight,D.M.,R.E.Jordan,M.Kruszynski,S.H.Tam,J.Giles-Komar,G.Treacy and G.A.Heavner(2004)."Pharmacodynamic enhancement of the anti-platelet antibody fab abciximab by site-specific pegylation."Platelets 15(7):409-418.

[0324] Koyama,K.,T.Ozawa,K.Hatsushika,T.Ando,S.Takano,M.Wako,F.Suenaga,Y.Ohnuma,T.Ohba,R.Katoh,H.Sugiyama,Y.Hamada,H.Ogawa,K.Okumura and A.Nakao(2007)."A possible role for TSLP in inflammatory arthritis."Biochemical and Biophysical Research Communications 357(1):99-104.

[0325] Labrijn,A.F.,A.O.Buijsse,E.T.van den Bremer,A.Y.Verwilligen,W.K.Bleeker,S.J.Thorpe,J.Killestein,C.H.Polman,R.C.Aalberse,J.Schuurman,J.G.van de Winkel and P.W.Parren(2009)."Therapeutic IgG4 antibodies engage in Fab-arm exchange with endogenous human IgG4 in vivo."Nat Biotechnol 27(8):767-771.

[0326] Labrijn,A.F.,J.I.Meesters,B.E.de Goeij,E.T.van den Bremer,J.Neijssen,M.D.van Kampen,K.Strumane,S.Verploegen,A.Kundu,M.J.Gramer,P.H.van Berkel,J.G.van de Winkel,J.Schuurman and P.W.Parren(2014)."Efficient generation of stable bispecific IgG1 by controlled Fab-arm exchange."Proc Natl Acad Sci U S A 110(13):5145-5150.

[0327] Lefranc,M.P.,C.Pommie,M.Ruiz,V.Giudicelli,E.Foulquier,L.Truong,V.Thouvenin-Contet and G.Lefranc(2003)."IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains."Dev Comp Immunol 27(1):55-77.

[0328] Leong,S.R.,L.DeForge,L.Presta,T.Gonzalez,A.Fan,M.Reichert,A.Chuntharapai,K.J.Kim,D.B.Tumas,W.P.Lee,P.Gribling,B.Snedecor,H.Chen,V.Hsei,M.Schoenhoff,V.Hale,J.Deveney,I.Koumenis,Z.Shahrokh,P.McKay,W.Galan,B.Wagner,D.Narindray,C.Hebert and G.Zapata(2001)."Adapting pharmacokinetic properties of a humanized anti-interleukin-8 antibody for therapeutic applications using site-specific pegylation."Cytokine 16(3):106-119.

[0329] Liu,Y.J.,V.Soumelis,N.Watanabe,T.Ito,Y.H.Wang,W.Malefyt Rde,M.Omori,B.Zhou and S.F.Ziegler(2007)."TSLP:an epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation."Annu Rev Immunol 25:193-219.

[0330] Maa,Y.F.and C.C.Hsu(1996)."Aggregation of recombinant human growth hormone induced by phenolic compounds."Int.J. Pharm.140:155-168.

[0331] MacLennan,D.H.,W.J.Rice,A.Odermatt and N.M.Green(1998)."Structure-function relationships in the Ca(2+)-binding and translocation domain of SERCA1:physiological correlates in Brody disease."Acta Physiol Scand Suppl 643:55-67.

[0332] Moret F.M,Hack C.E,van der Wurff-Jacobs KM,Radstake TR,Lafeber FP,van Roon JA.(2014)"Thymic stromal lymphopoietin,a novel proinflammatory mediator in rheumatoid arthritis that potently activates CD1c+myeloid dendritic cells to attract and stimulate T cells."Arthritis Rheumatol.66(5):1176-1184.

[0333] Ortega,H.G.,M.C.Liu,I.D.Pavord,G.G.Brusselle,J.M.FitzGerald,A.Chetta,M.Humbert,L.E.Katz,O.N.Keene,S.W.Yancey and P.Chanez(2014)."Mepolizumab treatment in patients with severe eosinophilic asthma."N Engl J Med 371(13):1198-1207.

[0334] Park,J.H.,D.Y.Jeong,L.Peyrin-Biroulet,M.Eisenhut and J.I.Shin(2017)."Insight into the role of TSLP in inflammatory bowel diseases."Autoimmun Rev 16(1):55-63.

[0335] Park,L.S.,U.Martin,K.Garka,B.Gliniak,J.P.Di Santo,W.Muller,D.A.Largaespada,N.G.Copeland,N.A.Jenkins,A.G.Farr,S.F.Ziegler,P.J.Morrissey,R.Paxton and J.E.Sims(2000)."Cloning of the murine thymic stromal

lymphopoietin(TSLP)receptor:Formation of a functional heteromeric complex requires interleukin 7 receptor."J Exp Med 192(5):659-670.

[0336] Pawankar,R.(2014)."Allergic diseases and asthma:a global public health concern and a call to action."World Allergy Organization Journal 7(1):1-3.

[0337] Petkova,S.B.,S.Akilesh,T.J.Sproule,G.J.Christianson,H.Al Khabbaz,A.C.Brown,L.G.Presta,Y.G.Meng and D.C.Roopenian(2006)."Enhanced half-life of genetically engineered human IgG1 antibodies in a humanized FcRn mouse model:potential application in humorally mediated autoimmune disease."Int Immunol 18(12):1759-1769.

[0338] Quentmeier,H.,H.G.Drexler,D.Fleckenstein,M.Zaborski,A.Armstrong,J.E.Sims and S.D.Lyman(2001)."Cloning of human thymic stromal lymphopoietin(TSLP)and signaling mechanisms leading to proliferation."Leukemia 15(8):1286-1292.

[0339] Piliponsky AM,Lahiri A,Truong,P et al.(2016)"Thymic stromal lymphopoietin improvessurvival and reduces inflammation in sepsis."Am J Respir Cell Mol Biol.55(2):264-274.

[0340] Reche,P.A.,V.Soumelis,D.M.Gorman,T.Clifford,M.Liu,M.Travis,S.M.Zurawski,J.Johnston,Y.J.Liu,H.Spits,R.de Waal Malefyt,R.A.Kastelein and J.F.Bazan(2001)."Human thymic stromal lymphopoietin preferentially stimulates myeloid cells."J Immunol 167(1):336-343.

[0341] Remmele,R.L.and W.R.Gombotz(2000)."Differential scanning calorimetry:A practical tool for elucidating stability of liquid biopharmaceuticals."Biopharm.13:36-46.

[0342] Remmele,R.L.,N.S.Nightlinger,S.Srinivasan and W.R.Gombotz(1997)."Interleukin-1receptor(IL-1R)liquid formulation development using differential scanning calorimetry."Pharm.Res.15:200-208.

[0343] Ridgway,J.B.,L.G.Presta and P.Carter(1996)."'Knobs-into-holes'engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization."Protein Eng 9(7):617-621.

[0344] Rizos C.V.,F.M.E.M.S.(2017)."The role of angiopoietin-like 3 in the metabolism of lipoproteins:therapeutic perspectives."Hell J Atheroscler 8:61-66.

[0345] Rochman,Y.,M.Kashyap,G.W.Robinson,K.Sakamoto,J.Gomez-Rodriguez,K.U.Wagner and W.J.Leonard(2010)."Thymic stromal lymphopoietin-mediated STAT5 phosphorylation via kinases JAK1 and JAK2 reveals a key difference from IL-7-induced signaling."Proc Natl Acad Sci U S A 107(45):19455-19460.

[0346] Rochman,Y.and W.J.Leonard(2008)."Thymic stromal lymphopoietin:a new cytokine in asthma."Curr Opin Pharmacol 8(3):249-254.

[0347] Sasaki,N.and K.Sutoh(1998)."Structure-mutation analysis of the ATPase site of Dictyostelium discoideum myosin II."Adv Biophys 35:1-24.

[0348] Shields,R.L.,A.K.Namenuk,K.Hong,Y.G.Meng,J.Rae,J.Briggs,D.Xie,J.Lai, A.Stadlen,B.Li,J.A.Fox and L.G.Presta(2001)."High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc gamma RI,Fc gamma RII,Fc gamma RIII,and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc gamma R."J Biol Chem 276(9):6591-6604.

[0349] Sokol,C.L.,G.M.Barton,A.G.Farr and R.Medzhitov(2008)."A mechanism for the initiation of allergen-induced T helper type 2 responses."Nat Immunol 9 (3):310-318.

[0350] Soumelis,V.and Y.J.Liu(2004)."Human thymic stromal lymphopoietin:a novel epithelial cell-derived cytokine and a potential key player in the induction of allergic inflammation."Springer Semin Immunopathol 25(3-4):325-333.

[0351] Soumelis,V.,P.A.Reche,H.Kanzler,W.Yuan,G.Edward,B.Homey,M.Gilliet, S.Ho,S.Antonenko,A.Lauerma,K.Smith,D.Gorman,S.Zurawski,J.Abrams,S.Menon, T.McClanahan,R.de Waal-Malefyt Rd,F.Bazan,R.A.Kastelein and Y.J.Liu(2002)." Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP."Nat Immunol 3(7):673-680.

[0352] Tam,S.H.,S.G.McCarthy,A.A.Armstrong,S.Somani,S.J.Wu,X.Liu,A.Gervais, R.Ernst,D.Saro,R.Decker,J.Luo,G.L.Gilliland,M.L.Chiu and B.J.Scallon(2017)." Functional,Biophysical,and Structural Characterization of Human IgG1 and IgG4 Fc Variants with Ablated Immune Functionality."Antibodies(Basel)6(3).

[0353] Usategui A,Criado G,Izquierdo E et al.(2013)"A profibrotic role for thymic stromal lymphopoietin in systemic sclerosis."Ann Rheum Dis 72:2018-23.

[0354] Vafa,O.,G.L.Gilliland,R.J.Brezski,B.Strake,T.Wilkinson,E.R.Lacy, B.Scallon,A.Teplyakov,T.J.Malia and W.R.Strohl(2014)."An engineered Fc variant of an IgG eliminates all immune effector functions via structural perturbations."Methods 65(1):114-126.

[0355] Vannella,K.M,et al.(2016)."Combinatorial targeting of TSLP,IL-25,and IL-33 in type 2 cytokie-driven inflammation and fibrosis."Sci.Transl.Med.8 (337):337ra65.

[0356] Verstraete,K.,L.van Schie,L.Vyncke,Y.Bloch,J.Tavernier,E.Pauwels, F.Peelman and S.N.Savvides(2014)."Structural basis of the proinflammatory signaling complex mediated by TSLP."Nat Struct Mol Biol 21(4):375-382.

[0357] Worn,A.and A.Pluckthun(2001)."Stability engineering of antibody single-chain Fv fragments."J Mol Biol 305(5):989-1010.

[0358] Wu,T.T.and E.A.Kabat(1970)."An analysis of the sequences of the variable regions of Bence Jones proteins and myeloma light chains and their

implications for antibody complementarity."J Exp Med 132(2):211-250.

[0359] Xu,D.,M.L.Alegre,S.S.Varga,A.L.Rothermel,A.M.Collins,V.L.Pulito, L.S.Hanna,K.P.Dolan,P.W.Parren,J.A.Bluestone,L.K.Jolliffe and R.A.Zivin (2000)."In vitro characterization of five humanized OKT3 effector function variant antibodies."Cell Immunol 200(1):16-26.

[0360] Yang,K.,A.Basu,M.Wang,R.Chintala,M.C.Hsieh,S.Liu,J.Hua,Z.Zhang, J.Zhou,M.Li,H.Phyu,G.Petti,M.Mendez,H.Janjua,P.Peng,C.Longley,V.Borowski, M.Mehlig and D.Filpula(2003)."Tailoring structure-function and pharmacokinetic properties of single-chain Fv proteins by site-specific PEGylation."Protein Eng 16(10):761-770.

[0361] Yates,Z.,K.Gunasekaran,H.Zhou,Z.Hu,Z.Liu,R.R.Ketchem and B.Yan (2010)."Histidine residue mediates radical-induced hinge cleavage of human IgG1."J Biol Chem 285(24):18662-18671.

[0362] Ying G,Zhang y,Tang G,Chen S.(2015)"Functions of thymic stromal lymphopoietin in non-allergic diseases."Cell Immunol 295:144-9.

[0363] Ying,S.,B.O'Connor,J.Ratoff,Q.Meng,K.Mallett,D.Cousins,D.Robinson, G.Zhang,J.Zhao,T.H.Lee and C.Corrigan(2005)."Thymic Stromal Lymphopoietin Expression Is Increased in Asthmatic Airways and Correlates with Expression of Th2-Attracting Chemokines and Disease Severity."The Journal of Immunology 174(12):8183-8190.

[0364] Zalevsky,J.,A.K.Chamberlain,H.M.Horton,S.Karki,I.W.Leung,T.J.Sproule, G.A.Lazar,D.C.Roopenian and J.R.Desjarlais(2010)."Enhanced antibody half-life improves in vivo activity."Nat Biotechnol 28(2):157-159.

[0365] Zhang,Y.,S.Roy,L.S.Jones,S.Krishnan,B.A.Kerwin,B.S.Chang,M.C.Manning, T.W.Randolph and J.F.Carpenter(2004)."Mechanism for benzyl alcohol-induced aggregation of recombinant human interleukin-1 receptor antagonist in aqueous solution."J.Pharm.Sci.93:3076-3089.

[0366] Zhang,Y.and B.Zhou(2012)."Functions of Thymic Stromal Lymphopoietin in Immunity and Disease."Immunologic Research 52(3):211-223.

[0367] Zhong,J.,J.Sharma,R.Raju,S.M.Palapetta,T.S.K.Prasad,T.-C.Huang, A.Yoda,J.W.Tyner,D.van Bodegom,D.M.Weinstock,S.F.Ziegler and A.Pandey(2014)." TSLP signaling pathway map:a platform for analysis of TSLP-mediated signaling."Database:the journal of biological databases and curation 2014: bau007-bau007.

[0368] Ziegler,S.F.,F.Roan,B.D.Bell,T.A.Stoklasek,M.Kitajima and H.Han (2013)."The biology of thymic stromal lymphopoietin(TSLP)."Advances in pharmacology(San Diego,Calif.)66:129-155.

序列表

<110> 拓维创新生物科技(香港)有限公司

<120> 干扰胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)受体信号传导的药剂

<130> TABI-002/01WO

<150> US 62/873,051

<151> 2019-07-11

<160> 31

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 121

<212> PRT

<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 1

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

<210> 2

<211> 108

<212> PRT

<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 2

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Leu Met Ala Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

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

<210> 3
<211> 10
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 3
Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Val Asn
1 5 10

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 4
Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp
1 5 10

<210> 5
<211> 12
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 5
Gly Thr Tyr Tyr Asn Asn Tyr Tyr Gly Thr Asp Tyr
1 5 10

<210> 6
<211> 12
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 6
Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Ser Asn Leu His
1 5 10

<210> 7

<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 7
Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5
<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 8
Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5
<210> 9
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人源化重链可变区202H2
<400> 9
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Trp Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Asn Asn Tyr Tyr Gly Thr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 10
<211> 108
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人源化轻链可变区202L3
<400> 10

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

<210> 11
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人源化轻链可变区202L4
<400> 11

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

<210> 12
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 具有IgG2 Fc的基于202H2的抗TSLP人源化抗体重链
<400> 12

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

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

<210> 13
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 基于202L3的抗TSLP人源化抗体轻链
<400> 13

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

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

<210> 14
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 基于202L4的抗TSLP人源化抗体轻链
<400> 14

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

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

<210> 15
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 具有含L234F、L235E、D265A、F405L突变的IgG1 Fc的基于202H2的抗TSLP人源化抗体重链
<400> 15
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Trp Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Asn Asn Tyr Tyr Gly Thr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 16
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 具有含L234A、L235A、M428L、N434S突变的IgG1 Fc的基于202H2的抗TSLP人源化抗体重链
<400> 16

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu
420 425 430
His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 17
<211> 234
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> IgG1 Fc
<400> 17
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

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

<210> 18
<211> 230
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> IgG2 Fc
<400> 18

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

20 25 30

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
35 40 45

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
50 55 60

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
65 70 75 80

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
85 90 95

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
100 105 110

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
115 120 125

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
130 135 140

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
145 150 155 160

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
165 170 175

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
180 185 190

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
195 200 205

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
210 215 220

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 19

<211> 236

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IgG3 Fc

<400> 19

Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro
1 5 10 15

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
20 25 30

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

35 40 45

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
50 55 60

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
65 70 75 80

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

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
100 105 110

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
115 120 125

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
130 135 140

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
165 170 175

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
180 185 190

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
195 200 205

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
210 215 220

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230 235

<210> 20
<211> 231
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> IgG4 Fc
<400> 20

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
1 5 10 15

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
20 25 30

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
35 40 45

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

50 55 60

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
65 70 75 80
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
85 90 95
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
100 105 110
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
115 120 125
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
130 135 140
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
145 150 155 160
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
165 170 175
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
180 185 190
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
195 200 205
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
210 215 220
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
225 230

<210> 21
<211> 234
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 具有M252Y/S254T/T256E突变的IgG1 Fc
<400> 21

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

65 70 75 80
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
85 90 95
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
100 105 110
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
115 120 125
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
130 135 140
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
145 150 155 160
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
165 170 175
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
180 185 190
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
195 200 205
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
210 215 220
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 22
<211> 234
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 具有M428L/N434S突变的IgG1 Fc
<400> 22
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
1 5 10 15
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
20 25 30
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
35 40 45
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
50 55 60
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
65 70 75 80
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

85 90 95
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
100 105 110
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
115 120 125
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
130 135 140
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
145 150 155 160
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
165 170 175
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
180 185 190
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
195 200 205
Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr
210 215 220
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 23
<211> 234
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 具有T250Q/M428L突变的IgG1 Fc
<400> 23
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
1 5 10 15
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
20 25 30
Lys Pro Lys Asp Gln Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
35 40 45
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
50 55 60
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
65 70 75 80
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
85 90 95
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

100 105 110
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
115 120 125
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
130 135 140
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
145 150 155 160
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
165 170 175
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
180 185 190
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
195 200 205
Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
210 215 220
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 24
<211> 234
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 具有N434A突变的IgG1 Fc
<400> 24
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
1 5 10 15
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
20 25 30
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
35 40 45
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
50 55 60
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
65 70 75 80
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
85 90 95
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
100 105 110
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

115 120 125
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
130 135 140
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
145 150 155 160
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
165 170 175
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
180 185 190
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
195 200 205
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
210 215 220
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 25
<211> 234
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 具有T307A/E380A/N434A突变的IgG1 Fc
<400> 25
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
1 5 10 15
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
20 25 30
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
35 40 45
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
50 55 60
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
65 70 75 80
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Ala Val Leu
85 90 95
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
100 105 110
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
115 120 125
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

130 135 140

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

<210> 26
<211> 233
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 具有E233P/L234V/L235A突变并缺失了G236的IgG1 Fc
<400> 26
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
1 5 10 15
Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
20 25 30
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
35 40 45
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
50 55 60
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
65 70 75 80
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
85 90 95
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
100 105 110
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
115 120 125
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
130 135 140
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

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

<210> 27
<211> 1341
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 具有IgG2 Fc的基于202H2的抗TSLP人源化抗体重链
<400> 27

caagtgcagc tggtgcagtc cggagccgag gtgaagaagc ccggctccag cgtgaaggtg 60
agctgcaaag cctccggcta caccttcagc agctactggg tgaactgggt cagacaagcc 120
cccggccaag gactggagtg gattggccag atctatcccg gcgacggcga caccgattac 180
gcccagaagt tccaaggcag agccacactg accgccgaca agtccaccag caccgcctac 240
atggagctga gctctctgag gagcgaggat accgccgtgt acttctgcgc tagaggcacc 300
tactacaaca actactacgg caccgactac tggggccaag gcaccaccgt gaccgtgagc 360
agcgccagca ccaagggccc atccgtcttc cccctggccc cttgctccag aagcacctcc 420
gagagcacag ccgccctcgg atgtctggtg aaagactact tccccgagcc tgtgaccgtg 480
agctggaaca gcggcgccct gacaagcggc gtgcatacct ttcctgccgt gctgcagagc 540
agcggcctgt actccctgtc cagcgtggtg accgtgccca gcagcaattt cggcacccag 600
acctacacct gtaacgtgga tcacaagccc tccaacacca aagtggacaa gaccgtggag 660
aggaagtgct gtgtggaatg ccccccttgt cctgcccctc ccgtggctgg ccccagcgtg 720
ttcctcttcc ctcccaagcc caaggacacc ctcatgatca gcagaacacc cgaggtgacc 780
tgcgtcgtgg tggacgtgtc ccacgaggac cccgaggtgc agttcaactg gtacgtggac 840
ggcgtggagg tgcacaacgc caagaccaag cccagggagg agcagttcaa ttccaccttc 900
agggtggtga gcgtgctgac cgtggtgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 960
tgcaaggtga gcaacaaggg cctgcccgcc cccatcgaaa agaccatttc caaaaccaaa 1020
ggccagccca gggagcccca ggtgtacaca ctgccccccа gcagagagga gatgacaaag 1080
aaccaggtga gcctgacatg cctggtgaag ggcttttacc ctagcgacat cgctgtggag 1140
tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tacaagacaa cccctcccat gctggattcc 1200
gatggctcct tcttcctgta ctccaagctg accgtggaca agagcaggtg gcagcagggc 1260

aacgtgttct cctgttccgt gatgcatgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1320
ctgagcctga gccccggcaa g 1341
<210> 28
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 基于202L3的抗TSLP人源化抗体轻链
<400> 28
gatatccagc tgacccagag ccccagcttt ctgagcgcta gcgtgggaga cagagtgacc 60
atcacatgca gcgtgtccag cagcatcagc agcagcaatc tgcactggta ccagcagaag 120
cccggcaagg cccccaagcc ttggatctac ggaaccagca atctggccag cggcgtgcct 180
agcagatttt ccggatccgg aagcggcacc gagtacacac tgaccatcag ctctctgcag 240
cccgaagacg ccgctaccta ctactgccag cagtggagca gctaccctct gaccttcggc 300
caaggcacca agctggagat caagcgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645
<210> 29
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 基于202L4的抗TSLP人源化抗体轻链
<400> 29
gagatcgtgc tgacccagag ccccgatttc cagtccgtga cccccaagga gaaggtgacc 60
attacatgct ccgtgagcag cagcatcagc agcagcaatc tgcactggta ccagcagaag 120
cccgatcaga gccccaagcc ttggatttac ggcacaagca atctggccag cggagtgccc 180
tccagattca gcggcagcgg aagcggcacc gactacacac tgaccatcaa ctctctggag 240
gccgaggatg ccgccaccta ctactgccag cagtggagca gctaccctct gaccttcggc 300
caaggcacca agctggaaat caagcgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645
<210> 30

<211> 159
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 30

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

<210> 31
<211> 63
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 31

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

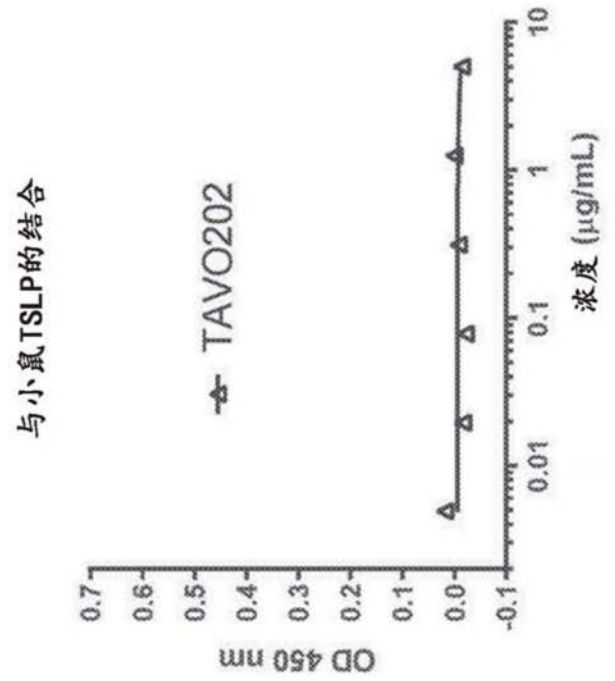

与小鼠TSLP的结合
TAVO202
OD 450 nm
浓度 (μg/mL)
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
-0.1
0.01
0.1
1
10

图1B

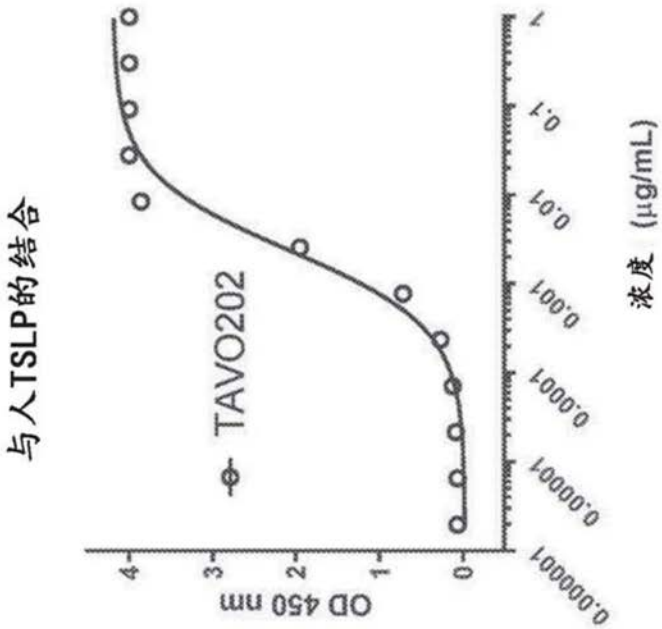

与人TSLP的结合
TAVO202
OD 450 nm
浓度 (μg/mL)
4
3
2
1
0
0.000001
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1

图1A

图1

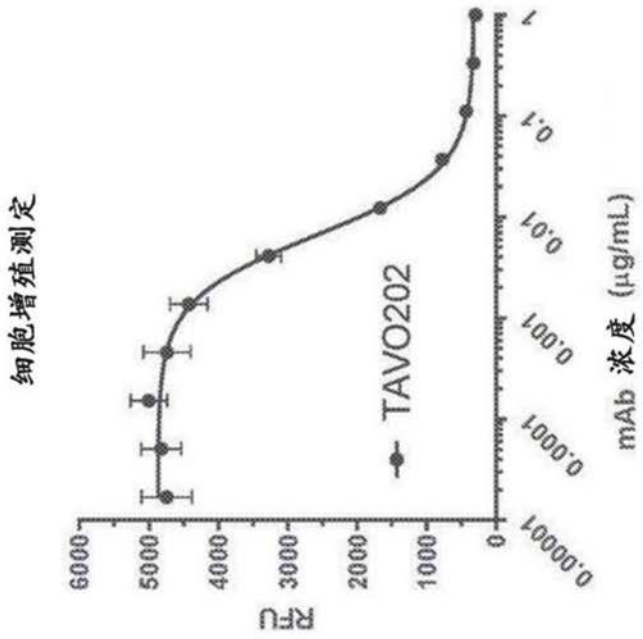

细胞增殖测定
TAVO202
RFU
mAb 浓度 (μg/mL)
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1

图2B

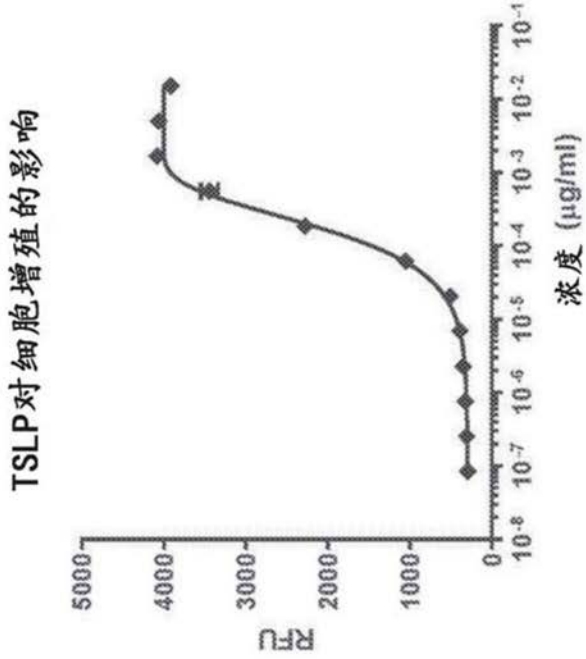

TSLP对细胞增殖的影响
RFU
浓度 (μg/ml)
5000
4000
3000
2000
1000
0
10-8
10-7
10-6
10-5
10-4
10-3
10-2
10-1

图2A

图2

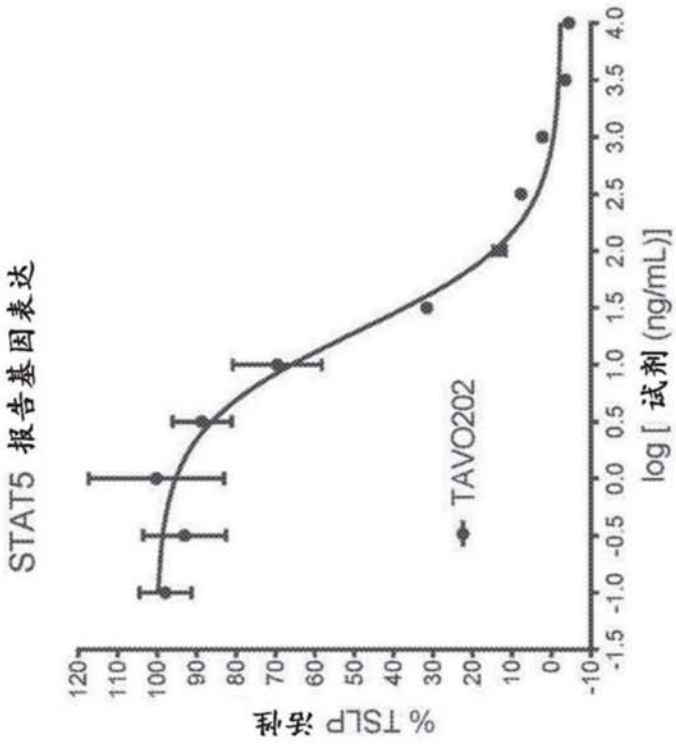

STAT5 报告基因表达
% TSLP 活性
log [试剂 (ng/mL)]
TAVO202
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
-1.5 -1.0 -0.5 0.0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0

图3B

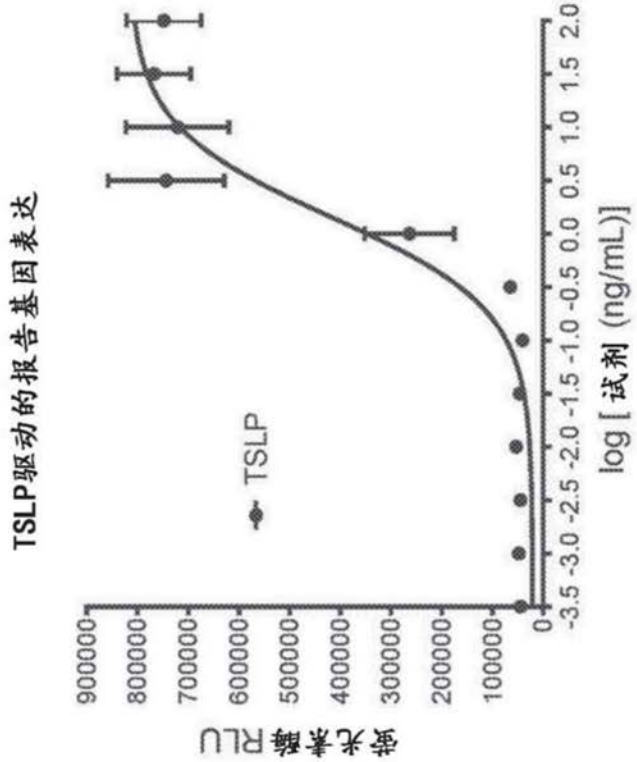

TSLP驱动的报告基因表达
萤光素酶 RLU
log [试剂 (ng/mL)]
TSLP
900000
800000
700000
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
-3.5 -3.0 -2.5 -2.0 -1.5 -1.0 -0.5 0.0 0.5 1.0 1.5 2.0

图3A

图3

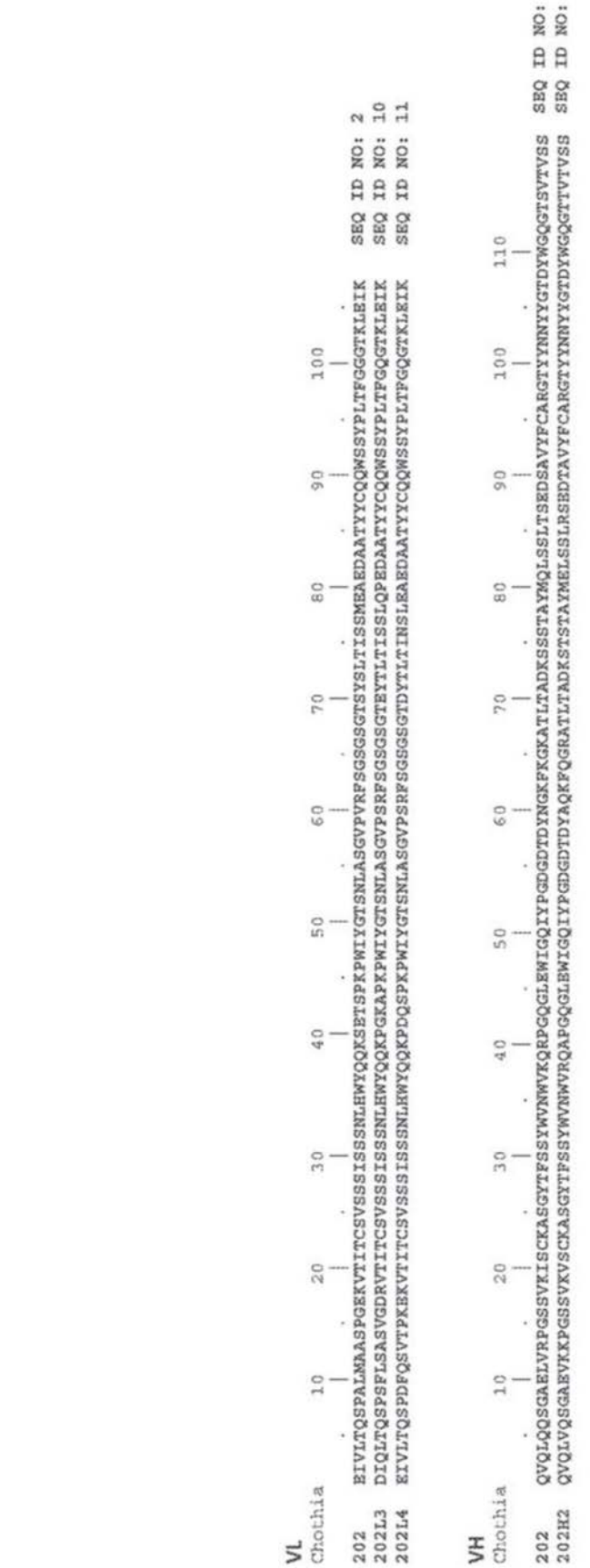

VL
Chothia 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
202 EIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLHWYQQKSETSPKPWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPLTFGGGTKLEIK SEQ ID NO: 2
202L3 DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCSVSSSISSSNLHWYQQKPGKAPKPWIYGTSNLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDAATYYCQQWSSYPLTFGQGTKLEIK SEQ ID NO: 10
202L4 EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSVSSSISSSNLHWYQQKPDQSPKPWIYGTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTINSLEAEDAATYYCQQWSSYPLTFGQGTKLEIK SEQ ID NO: 11
VH
Chothia 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110
202 QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYTFSSYWVNWVKQRPGQGLEWIGQIYPGDGDTDYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGTYYNNYYGTDYWGQGTSVTVSS SEQ ID NO:
202H2 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWVNWVRQAPGQGLEWIGQIYPGDGDTDYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGTYYNNYYGTDYWGQGTTVTVSS SEQ ID NO:
CDR加下划线

图4

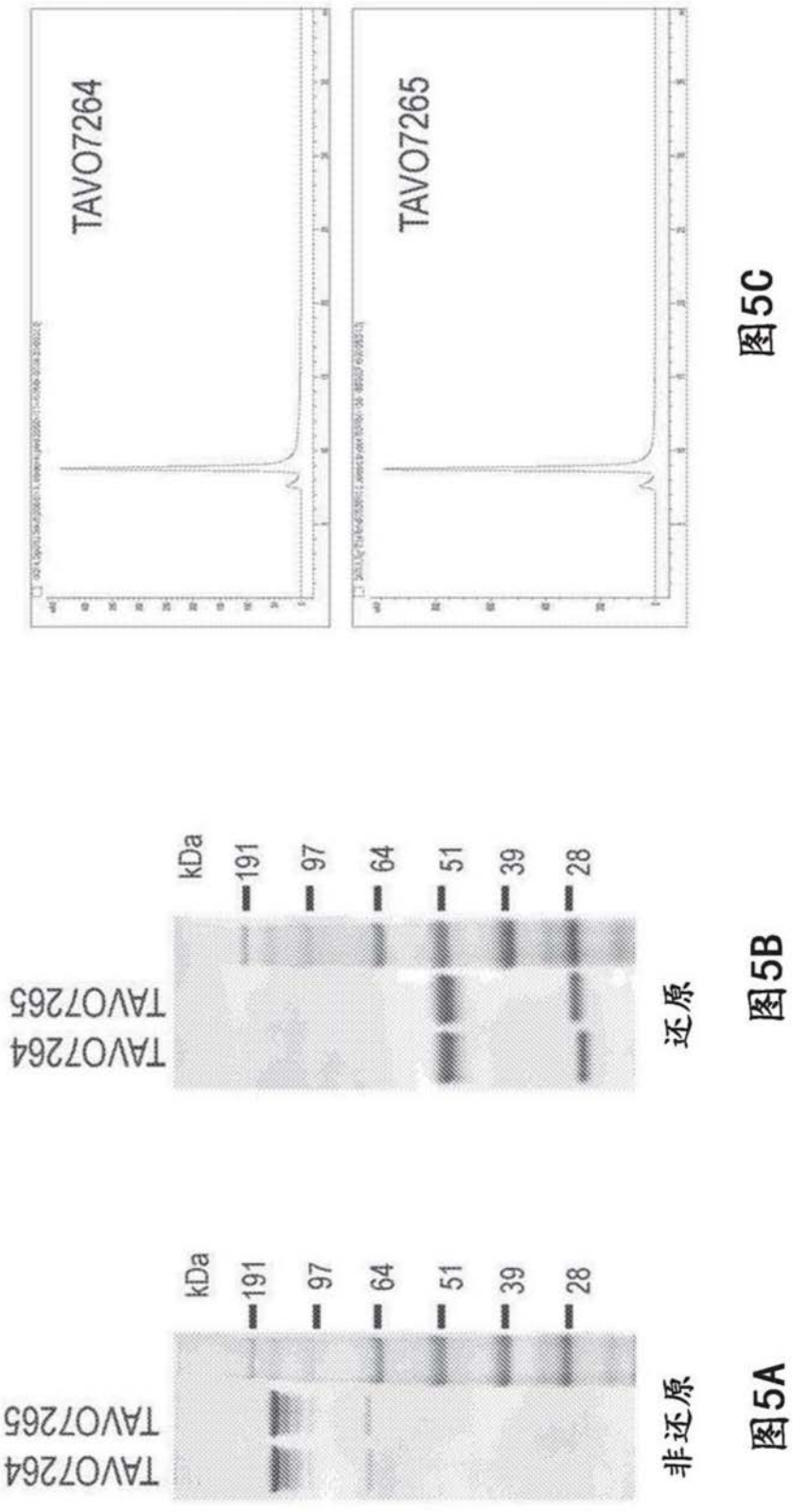

TAVO7264
TAVO7265
图5C
kDa
191
97
64
51
39
28
TAVO7265
TAVO7264
还原
图5B
kDa
191
97
64
51
39
28
TAVO7265
TAVO7264
非还原
图5A

图5

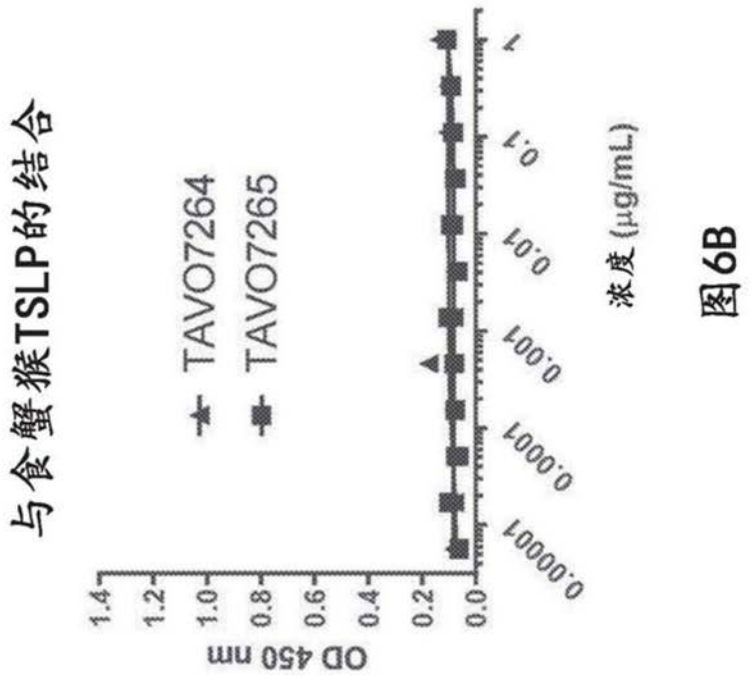

与食蟹猴TSLP的结合
TAVO7264
TAVO7265
OD 450 nm
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
0.00001
浓度 (μg/mL)

图6B

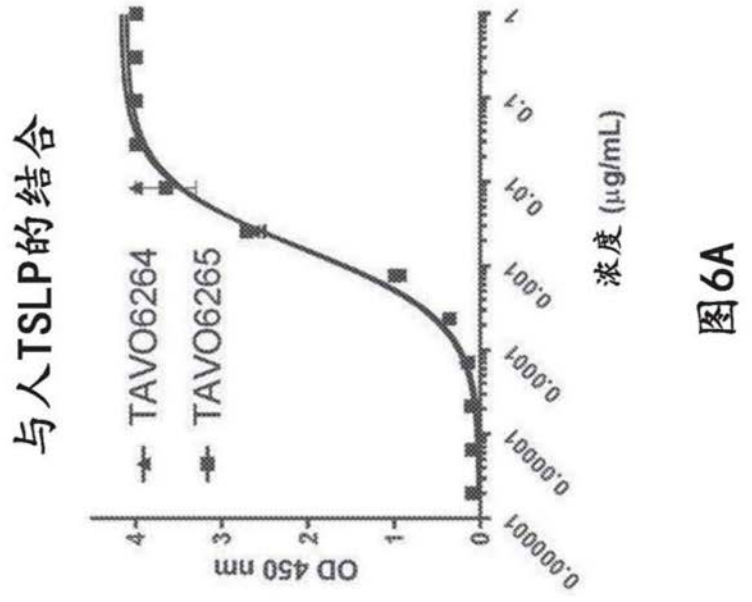

与人TSLP的结合
TAVO6264
TAVO6265
OD 450 nm
4
3
2
1
0
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
0.00001
0.000001
浓度 (μg/mL)

图6A

图6

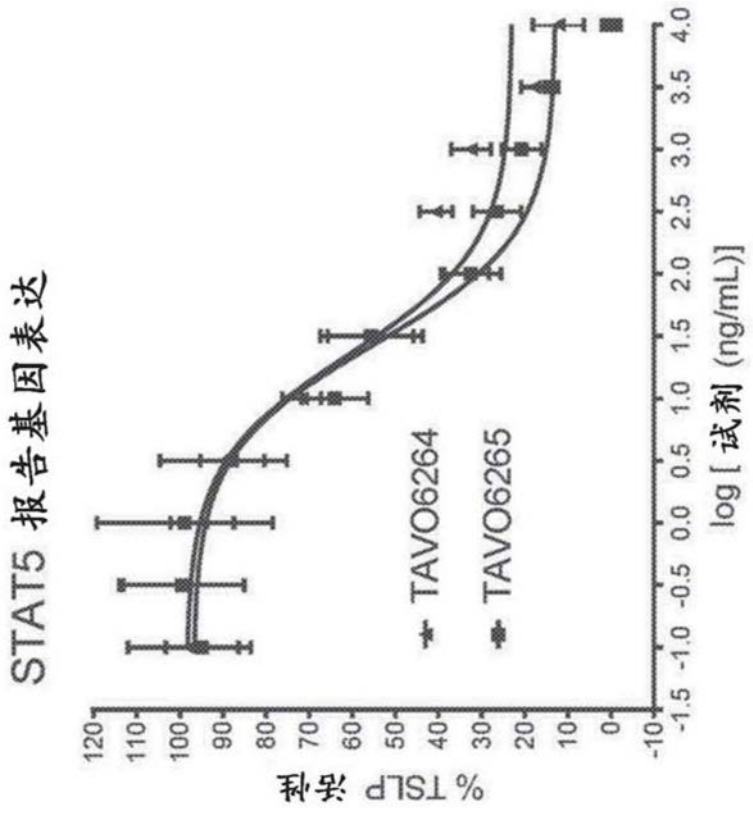

STAT5 报告基因表达
% TSLP 活性
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
-1.5 -1.0 -0.5 0.0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0
log [试剂 (ng/mL)]
TAVO6264
TAVO6265

图7

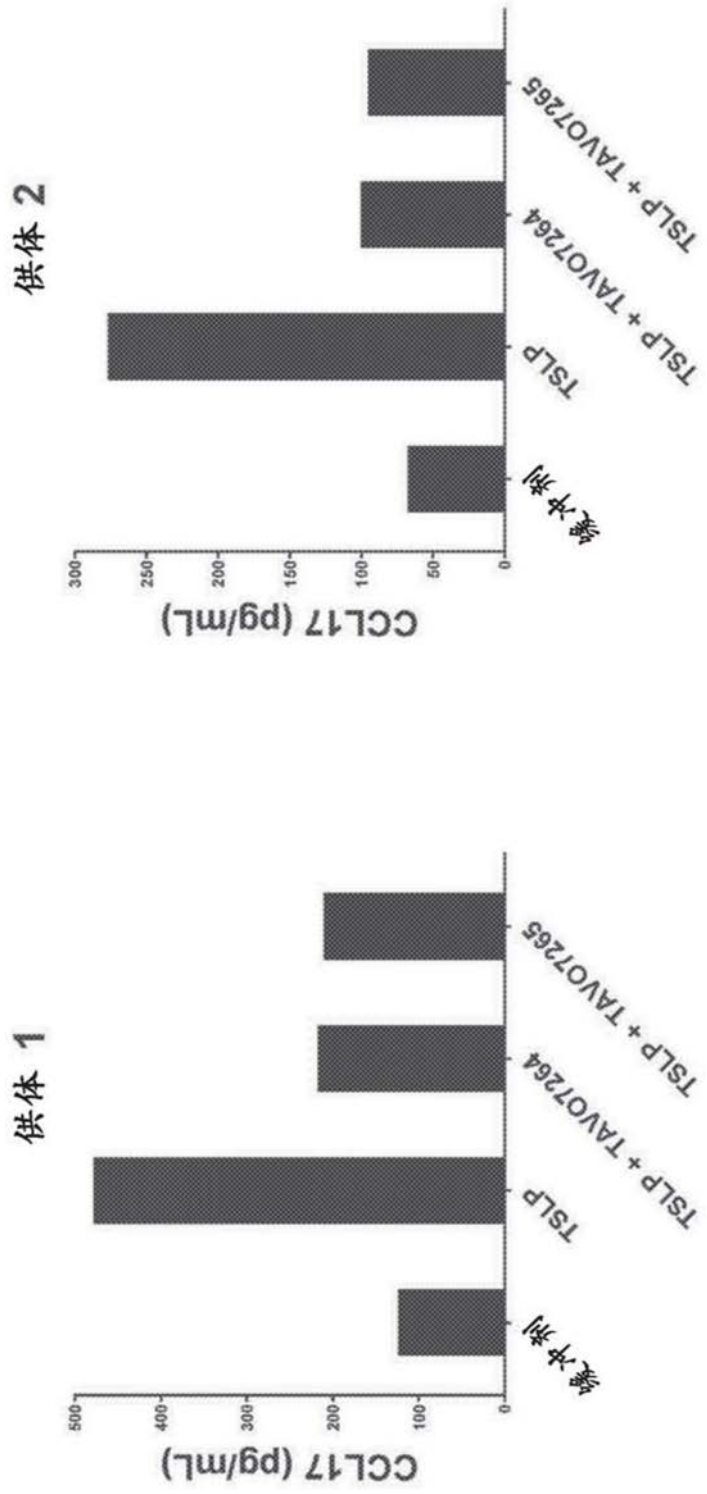

供体 2
CCL17 (pg/mL)
0
50
100
150
200
250
300
媒介剂
TSLP
TSLP + TAVO7264
TSLP + TAVO7265
供体 1
CCL17 (pg/mL)
0
100
200
300
400
500
媒介剂
TSLP
TSLP + TAVO7264
TSLP + TAVO7265

图8

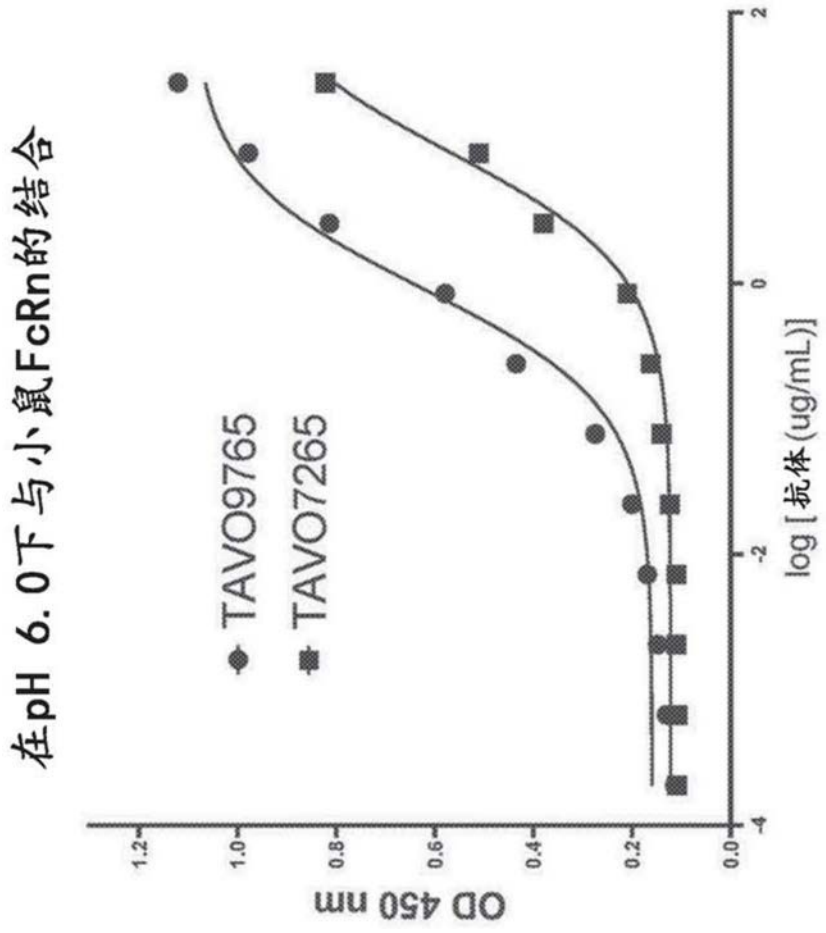

在pH 6.0下与小鼠FcRn的结合
TAVO9765
TAVO7265
OD 450 nm
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-4
-2
0
2
log [抗体(ug/mL)]

图9

向食蟹猴静脉内给药4 mg/kg抗TSLP抗体

参数	量	单位
C_0	131405	ng/mL
$t_{1/2}$	26.131	天
$AUC_{(0-t)}$	1268621	ng·天/mL
$AUC_{(0-inf)}$	2128728	ng·天/mL
CL	1.875	mL/(kg·天)
V_D	71.049	mL/kg

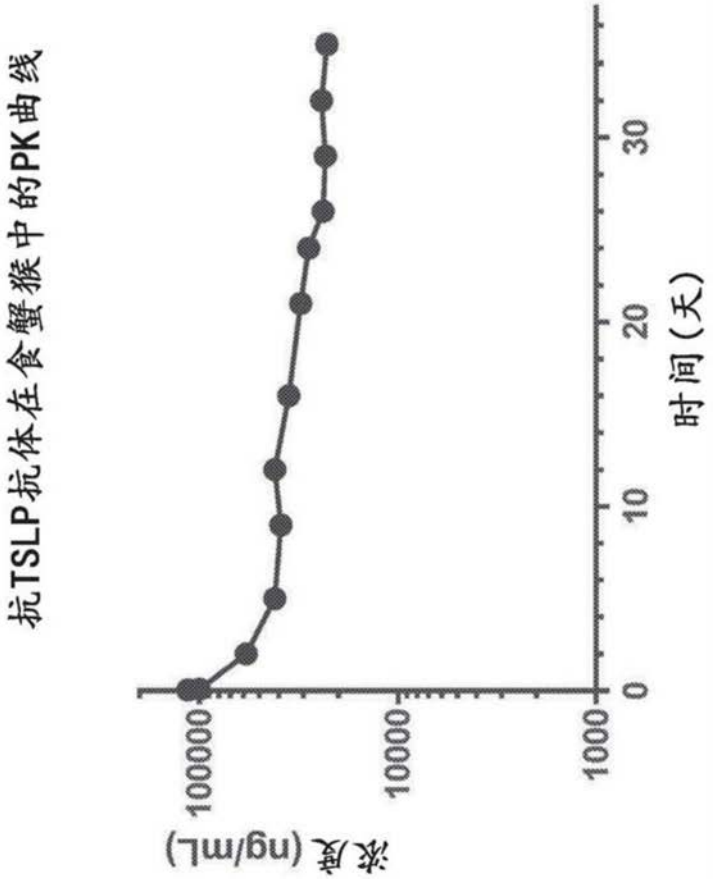


图10