



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115003699 A

(43) 申请公布日 2022. 09. 02

(21) 申请号 202080094665.7

S • V • 萨拉查

(22) 申请日 2020.12.04

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 封新琴

(30) 优先权数据

62/944,298 2019.12.05 US

63/005,110 2020.04.03 US

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.07.26

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/063339 2020.12.04

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/113655 EN 2021.06.10

(71) 申请人 艾利妥

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 T • 施瓦贝 I • 塔西

A • 罗森塔尔 龙华

权利要求书4页 说明书71页

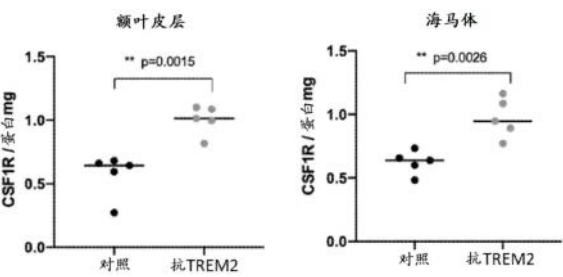
序列表58页 附图4页

(54) 发明名称

抗TREM2抗体的使用方法

(57) 摘要

本公开总体上涉及抗TREM2抗体在预防有需要的个体的疾病、降低所述疾病的风险或治疗所述疾病中的用途。



1. 一种治疗或预防CSF1R缺陷型疾病的方法,所述方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的结合至TREM2蛋白的抗体,其中所述抗体是激动剂并且其中所述抗体诱导一种或多种TREM2活性。

2. 如权利要求1所述的方法,其中所述抗体增强由一种或多种TREM2配体与所述TREM2蛋白的结合诱导的一种或多种TREM2活性。

3. 如权利要求2所述的方法,其中所述抗体增强所述一种或多种TREM2活性而不阻断所述一种或多种TREM2配体与所述TREM2蛋白的结合。

4. 如权利要求2或权利要求3所述的方法,其中所述抗体增强所述一种或多种TREM2配体与所述TREM2蛋白的结合。

5. 如权利要求3-4中任一项所述的方法,其中所述一种或多种TREM2配体选自由以下组成的组:大肠杆菌细胞、凋亡细胞、核酸、阴离子脂质、阴离子脂质、APOE、APOE2、APOE3、APOE4、阴离子APOE、阴离子APOE2、阴离子APOE3、阴离子APOE4、脂化APOE、脂化APOE2、脂化APOE3、脂化APOE4、两性离子脂质、带负电的磷脂、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰胆碱、鞘磷脂、膜磷脂、脂化蛋白、蛋白脂质、脂化肽和脂化 β 淀粉样肽以及它们的任何组合。

6. 如权利要求2-5中任一项所述的方法,其中所述抗体在不存在TREM2的细胞表面簇集的情况下增强所述一种或多种TREM2活性。

7. 如权利要求2-5中任一项所述的方法,其中所述抗体通过诱导或保留TREM2的细胞表面簇集来增强所述一种或多种TREM2活性。

8. 如权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述TREM2蛋白是哺乳动物蛋白或人蛋白。

9. 如权利要求8所述的方法,其中所述TREM2蛋白是野生型蛋白、天然存在的变体或疾病变体。

10. 如权利要求1-9中任一项所述的方法,其中由所述抗体诱导或增强的所述一种或多种TREM2活性选自由以下组成的组:

a. TREM2结合至DAP12;

b. DAP12磷酸化;

c. Syk激酶活化;

d. 调节一种或多种选自由IFN- β 、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IL-8、CRP、CD86、MCP-1/CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CCR2、CXCL-10、Gata3、IL-20家族成员、IL-33、LIF、IFN- γ 、OSM、CNTF、CSF-1、OPN、CD11c、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18和IL-23组成的组的促炎介质,任选地其中所述调节在一种或多种选自由以下组成的组的细胞中发生:巨噬细胞、M1巨噬细胞、活化M1巨噬细胞、M2巨噬细胞、树突细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞和小胶质细胞;

e. 将Syk募集至DAP12/TREM2复合物;

f. 增加一种或多种TREM2依赖性基因的活性,任选地其中所述一种或多种TREM2依赖性基因包括活化T细胞核因子(NFAT)转录因子;

g. 增加树突细胞、巨噬细胞、M1巨噬细胞、活化M1巨噬细胞、M2巨噬细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞、小胶质细胞、M1小胶质细胞、活化M1小胶质细胞和M2小胶质细胞或它们的任何组合的存活;

h. 调节一种或多种选自CD83、CD86 MHC II类、CD40以及它们的任何组合组成的组的刺激性分子的表达,任选地其中所述CD40在树突细胞、单核细胞、巨噬细胞或它们的任何组合上表达,并且任选地其中所述树突细胞包括骨髓源性树突细胞;

i. 增加记忆力;以及

j. 减少认知缺陷。

11. 如权利要求1-10中任一项所述的方法,其中所述抗体促进在不存在CSF1的情况下培养的巨噬细胞的存活。

12. 如权利要求1-11中任一项所述的方法,其中所述抗体降低体内可溶性TREM2的血浆水平。

13. 如权利要求1-12中任一项所述的方法,其中所述抗体阻断TREM2的裂解。

14. 如权利要求1-13中任一项所述的方法,其中与未治疗的个体或用对照抗体治疗的个体相比,所述抗体在所述个体中诱导CSF1R的表达或增加CSF1R的水平。

15. 如权利要求14所述的方法,其中CSF1R表达的所述诱导或CSF1R水平的所述增加在所述个体的脑中发生。

16. 如权利要求1-15中任一项所述的方法,其中所述方法包括测量来自所述个体的样品中的CSF1R水平的步骤。

17. 如权利要求1-16中任一项所述的方法,其中所述抗体是鼠抗体、人源化抗体、双特异性抗体、多价抗体、缀合抗体或嵌合抗体。

18. 如权利要求1-17中任一项所述的方法,其中所述抗体是单克隆抗体。

19. 如权利要求1-18中任一项所述的方法,其中所述抗体结合至SEQ ID NO:1的氨基酸残基124-153内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基124-153的氨基酸残基;SEQ ID NO:1的氨基酸残基129-153内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基129-153的氨基酸残基;SEQ ID NO:1的氨基酸残基140-149内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基140-149的氨基酸残基;SEQ ID NO:1的氨基酸残基149-157内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基149-157的氨基酸残基;或SEQ ID NO:1的氨基酸残基153-162内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基153-162的氨基酸残基。

20. 如权利要求1-19中任一项所述的方法,其中所述抗体结合至选自SEQ ID NO:1的D140、L141、W142、F143、P144、E151、D152、H154、E156和H157组成的组的一个或多个氨基酸残基,或哺乳动物TREM2蛋白上的对应于选自SEQ ID NO:1的D140、L141、W142、F143、P144、E151、D152、H154、E156和H157组成的组的氨基酸残基的一个或多个氨基酸残基。

21. 如权利要求1-20中任一项所述的方法,其中所述抗体包含有包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区和包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的轻链可变区,其中所述HVR-H1包含氨基酸序列YAFSSQWMN (SEQ ID NO:34),所述HVR-H2包含氨基酸序列RIYPPGGDTNYAGKFQG (SEQ ID NO:35),所述HVR-H3包含氨基酸序列ARLLRNQPGESYAMDY (SEQ ID NO:31),所述HVR-L1包含氨基酸序列RSSQSLVHSNRYTYLH (SEQ ID NO:41),所述HVR-L2包含氨基酸序列KVSNRFS (SEQ ID NO:33),并且所述HVR-L3包含氨基酸序列SQSTRVPYT (SEQ ID NO:32)。

22. 如权利要求1-21中任一项所述的方法,其中所述抗体包含有包含SEQ ID NO:27的

氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的轻链可变区。

23. 如权利要求1-20中任一项所述的方法,其中所述抗体包含有包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区和包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的轻链可变区,其中所述HVR-H1包含氨基酸序列YAFSSDWMN(SEQ ID NO:36),所述HVR-H2包含氨基酸序列RIYPGEGDTNYARKFHG(SEQ ID NO:37),所述HVR-H3包含氨基酸序列ARLLRNKPGESYAMDY(SEQ ID NO:38),所述HVR-L1包含氨基酸序列RTSQSLVHSNAYTYLH(SEQ ID NO:39),所述HVR-L2包含氨基酸序列KVSNRVS(SEQ ID NO:40),并且所述HVR-L3包含氨基酸序列SQSTRVPYT(SEQ ID NO:32)。

24. 如权利要求1-20或23中任一项所述的方法,其中所述抗体包含有包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的轻链可变区。

25. 如权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述抗体是片段并且所述片段是Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv或scFv片段。

26. 如权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述抗体属于IgG类、IgM类或IgA类。

27. 如权利要求26所述的方法,其中所述抗体属于IgG类并且具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。

28. 如权利要求27所述的方法,其中所述抗体具有人IgG1同种型并且在Fc区中在残基位置P331S和E430G处包含氨基酸取代,其中残基的编号是根据EU编号。

29. 如权利要求1-22中任一项所述的方法,其中所述抗体包含:

- a. 包含SEQ ID NO:43的氨基酸的重链和包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的轻链;或
- b. 包含SEQ ID NO:44的氨基酸的重链和包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的轻链。

30. 如权利要求1-20或23-24中任一项所述的方法,其中所述抗体包含:

- a. 包含SEQ ID NO:45的氨基酸的重链和包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链;或
- b. 包含SEQ ID NO:46的氨基酸的重链和包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链。

31. 如权利要求1-30中任一项所述的方法,其中所述个体是人。

32. 如权利要求1-31中任一项所述的方法,其中所述CSF1R缺陷型疾病是伴有轴突球状体和色素性胶质细胞的成人发作型脑白质病变(ALSP)。

33. 如权利要求1-31中任一项所述的方法,其中所述CSF1R缺陷型疾病是儿童发作型脑白质病变。

34. 如权利要求1-33中任一项所述的方法,其中所述个体在CSF1R基因中具有突变。

35. 如权利要求34所述的方法,其中所述突变在CSFR1基因的编码胞内蛋白酪氨酸激酶结构域的部分中。

36. 如权利要求34所述的方法,其中所述突变在CSFR1基因的外显子11-21中的任一者中。

37. 如权利要求34-36中任一项所述的方法,其中所述个体就CSFR1基因中的所述突变来说是杂合的。

38. 如权利要求34-36中任一项所述的方法,其中所述个体就CSFR1基因中的所述突变来说是纯合的。

39. 如权利要求1-38中任一项所述的方法,其中所述个体具有选自以下组成的组的疾病特征或处于所述疾病特征的风险中:脑白质病变、轴突损伤、轴突球状体、髓鞘损伤、髓鞘损失、胶质增生、自发荧光载脂巨噬细胞和轴突破坏。

40. 如权利要求1-39中任一项所述的方法, 其中所述个体具有选自由以下组成的组的症状或处于所述症状的风险中: 脑白质异常、行为改变、痴呆、帕金森症、癫痫发作、运动性失语症、失写症、失算症、失用症、运动徐缓、动作迟缓、中枢神经系统脱髓鞘、抑郁、抑郁症、额叶痴呆、胶质增生、反射亢进、反射增加、跖伸肌反应、轻偏瘫、四肢轻瘫、脑白质病变、记忆障碍、健忘、记忆丧失、记忆问题、记忆力差、缄默症、不会说话、哑、中枢神经系统神经元损失、脑细胞损失、姿势不稳定、平衡障碍、快速进展、强直、肌肉强直、拖曳步态、拖曳行走、锥体束征、痉挛、不自主肌肉僵硬、不自主肌肉收缩、不自主肌肉痉挛、人格问题、执行功能障碍。

41. 如权利要求1-40中任一项所述的方法, 其中所述个体患有选自由以下组成的组的疾病: 额颞叶痴呆 (FTD)、皮质基底节综合征 (CBS)、皮质基底节变性 (CBD)、阿尔茨海默病 (AD)、多发性硬化症 (MS)、伴有皮质下梗死和脑白质病变的非典型脑常染色体显性动脉病变 (CADASIL) 和帕金森病 (PD)。

42. 一种监测正在被施用抗TREM2抗体的个体的治疗的方法, 所述方法包括在所述个体接受一个或多个剂量的抗TREM2抗体之前和之后测量来自所述个体的样品中的CSF1R水平。

43. 如权利要求42所述的方法, 所述方法还包括基于所述样品中的CSF1R水平评估所述个体中所述抗TREM2抗体的活性的步骤。

44. 如权利要求42或43所述的方法, 其中所述样品来自所述个体的脑脊液或所述个体的血液。

抗TREM2抗体的使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2019年12月5日提交的美国临时申请第62/944,298号和2020年4月3日提交的美国临时申请第63/005,110号的权益,所述申请各自特此以引用方式整体并入。

[0003] 以ASCII文本文件提交的序列列表

[0004] 以下以ASCII文本文件形式提交的内容以引用方式整体并入本文:计算机可读形式(CRF)的序列列表(文件名:735022003240SEQLIST.TXT,记录日期:2020年12月2日,大小:88KB)。

发明领域

[0005] 本公开涉及抗TREM2抗体的治疗性用途。

[0006] 发明背景

[0007] 伴有轴突球状体和色素性胶质细胞的成人发作型脑白质病变(ALSP)、儿童发作型脑白质病变是罕见的致命性神经系统疾病,会改变累及个体的中枢神经系统的“白质”(Freeman等人(2009年)“Adult onset leukodystrophy with neuroaxonal spheroids: Clinical, neuroimaging and neuropathologic observations.”Brain Pathol.19(1):39-47.PMID:18422757;Rademakers等人(2011)“Mutations in the colony stimulating factor 1receptor(CSF1R)gene cause hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids.”Nat Genet.44(2):200-205.PMID:22197934;Oosterhof等人(2019)“Homozygous Mutations in CSF1R Cause a Pediatric-Onset Leukoencephalopathy and Can Result in Congenital Absence of Microglia.”Am J Hum Genet.104(5):936-947.PMID:30982608)。此前,ALSP被认为是两种不同的疾病,即遗传性弥漫性脑白质病变(HDLS)和家族性色素性正色性脑白质病变(POLD)。然而,鉴于患有HDLS和POLD的患者可能有色素性胶质细胞和球状体,HDLS和POLD被认为是ALSP所涵盖的同一疾病谱的一部分(Nicholson等人(2013)“CSF1R mutations link POLD and HDLS as a single disease entity.”Neurology 80(11):1033-1040.PMID:23408870)。

[0008] 患有ALSP和儿童发作型脑白质病变的患者通常会在脑的轴突中出现肿胀,称为球状体。最近的研究已将CSF1R基因的突变与ALSP和儿童发作型脑白质病变联系起来(Rademakers等人(2011);Nicholson等人(2013);Oosterhof等人(2019);Guo等人(2019)“Bi-allelic CSF1R Mutations Cause Skeletal Dysplasia of Dysosteosclerosis-Pyle Disease Spectrum and Degenerative Encephalopathy with Brain Malformation.”Am J Hum Genet.104(5):925-935.PMID:30982609)。

[0009] 人CSF1R基因编码一种称为集落刺激因子1受体(CSF1R)的蛋白质。集落刺激因子1(CSF-1)是一种同型二聚体糖蛋白,是CSF1R的主要配体(Sherr等人(1988)“Colony-stimulating factor-1receptor(c-fms).”J Cell Biochem 38(3):179-187.PMID:2852667)。CSF1R是属于PDGF受体家族的III型酪氨酸激酶生长因子受体。受体家族的成员具有由免疫球蛋白样结构域、跨膜结构域和蛋白激酶结构域组成的蛋白质结构。具体而言,

CSF1R由高度糖基化的细胞外配体结合结构域、跨膜结构域和细胞内蛋白酪氨酸激酶结构域构成。CSF1R存在于各种细胞类型(包括巨噬细胞)的外膜中,并充当集落刺激因子1(CSF-1)的生长因子受体(Pridans等人(2013)“CSF1R mutations in hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids are loss of function.”Sci Rep 3:3012.PMID:24145216;Ridge等人(1990)“FMS mutations in myelodysplastic,leukemic, and normal subjects.”87(4):1377-1380.PMID:2406720;Oosterhof等人;Rademaker等人)。已显示经由CSF1R的信号传导可调节巨噬细胞(包括小胶质细胞)的增殖和发育。具体而言,CSF1R信号传导可能负责大多数成熟巨噬细胞(包括脑的小胶质细胞)的产生。CSF1R缺乏会对脑中小胶质细胞的发育产生负面影响(Swerdlow等人(2009)“Autosomal dominant subcortical gliosis presenting as frontotemporal dementia.”Neurology 72(3):260-267.PMID:19153373;Baba等人(2006)“Hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids:clinical,pathologic and genetic studies of a new kindred.”Acta Neuropathol.111(4):300-311.PMID:16523341;Oosterhof等人;Rademaker等人;Guo等人,2019)。

[0010] 目前,对于患有ALSP、儿童发作型脑白质病变及相关疾病的患者,尚无有效的治疗选择。可用的治疗方法是控制疾病症状,而不是治疗疾病。因此,本领域需要新的治疗方法,以提供治疗选择并改善患有ALSP、小儿发病的脑白质病变和相关疾病的患者的结果。

[0011] 本文引用的所有参考文献包括专利申请和公布特此以引用方式整体并入。

发明内容

[0012] 本公开总体上涉及治疗患有CSF1R缺陷型疾病的个体的方法,所述方法包括向所述个体施用结合至TREM2蛋白的抗体,其中所述抗体是激动剂。

[0013] 本公开的某些方面至少部分地基于以下发现:与在CSF1R抑制剂和对照IgG存在下生长的人巨噬细胞相比,激动性抗TREM2抗体显著提高了在CSF1R抑制剂存在下生长的人巨噬细胞的活力(参见例如实施例2)。

[0014] 因此,在一方面,本公开提供了一种治疗或预防CSF1R缺陷型疾病的方法,所述方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的结合至TREM2蛋白的抗体,其中所述抗体是激动剂并且其中所述抗体诱导一种或多种TREM2活性。

[0015] 在一些实施方案中,所述抗体增强由一种或多种TREM2配体与所述TREM2蛋白的结合诱导的一种或多种TREM2活性。在一些实施方案中,所述抗体增强所述一种或多种TREM2活性而不阻断所述一种或多种TREM2配体与所述TREM2蛋白的结合。在一些实施方案中,所述抗体增强所述一种或多种TREM2配体与所述TREM2蛋白的结合。在一些实施方案中,所述一种或多种TREM2配体选自以下组成的组:大肠杆菌细胞、凋亡细胞、核酸、阴离子脂质、阴离子脂质、APOE、APOE2、APOE3、APOE4、阴离子APOE、阴离子APOE2、阴离子APOE3、阴离子APOE4、脂化APOE、脂化APOE2、脂化APOE3、脂化APOE4、两性离子脂质、带负电的磷脂、磷脂酰丝氨酸、磷脂、磷脂酰胆碱、鞘磷脂、膜磷脂、脂化蛋白、蛋白脂质、脂化肽和脂化β淀粉样肽以及它们的任何组合。在一些实施方案中,所述抗体在不存在TREM2的细胞表面簇集的情况下增强所述一种或多种TREM2活性。在一些实施方案中,所述抗体通过诱导或保留TREM2的细胞表面簇集来增强所述一种或多种TREM2活性。

[0016] 在一些实施方案中,所述TREM2蛋白是哺乳动物蛋白或人蛋白。在一些实施方案中,所述TREM2蛋白是野生型蛋白、天然存在的变体或疾病变体。

[0017] 在一些实施方案中,由所述抗体诱导或增强的所述一种或多种TREM2活性选自以下组成的组:(a) TREM2结合至DAP12;(b) DAP12磷酸化;(c) Syk激酶活化;(d) 调节一种或多种选自IFN- β 、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IL-8、CRP、CD86、MCP-1/CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CCR2、CXCL-10、Gata3、IL-20家族成员、IL-33、LIF、IFN- γ 、OSM、CNTF、CSF-1、OPN、CD11c、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18和IL-23组成的组的促炎介质,任选地其中所述调节在一种或多种选自以下组成的组的细胞中发生:巨噬细胞、M1巨噬细胞、活化M1巨噬细胞、M2巨噬细胞、树突细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞和小胶质细胞;(e) 将Syk募集至DAP12/TREM2复合物;(f) 增加一种或多种TREM2依赖性基因的活性,任选地其中所述一种或多种TREM2依赖性基因包括活化T细胞核因子(NFAT)转录因子;(g) 增加树突细胞、巨噬细胞、M1巨噬细胞、活化M1巨噬细胞、M2巨噬细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞、小胶质细胞、M1小胶质细胞、活化M1小胶质细胞和M2小胶质细胞或它们的任何组合的存活;(h) 调节一种或多种选自CD83、CD86 MHC II类、CD40以及它们的任何组合组成的组的刺激性分子的表达,任选地其中所述CD40在树突细胞、单核细胞、巨噬细胞或它们的任何组合上表达,并且任选地其中所述树突细胞包括骨髓源性树突细胞;(i) 增加记忆力;以及(j) 减少认知缺陷。

[0018] 在一些实施方案中,所述抗体促进在不存在CSF1的情况下培养的巨噬细胞的存活。在一些实施方案中,所述抗体降低体内可溶性TREM2的血浆水平。在一些实施方案中,所述抗体阻断TREM2的裂解。在一些实施方案中,与未治疗的个体或用对照抗体治疗的个体相比,所述抗体在所述个体中诱导CSF1R的表达或增加CSF1R的水平。在一些实施方案中,CSF1R表达的所述诱导或CSF1R水平的所述增加在所述个体的脑中发生。在一些实施方案中,所述方法包括测量来自所述个体的样品中的CSF1R水平的步骤。

[0019] 在一些实施方案中,所述抗体是鼠抗体、人源化抗体、双特异性抗体、多价抗体、缀合抗体或嵌合抗体。在一些实施方案中,所述抗体是单克隆抗体。

[0020] 在一些实施方案中,所述抗体结合至SEQ ID NO:1的氨基酸残基124-153内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基124-153的氨基酸残基;SEQ ID NO:1的氨基酸残基129-153内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基129-153的氨基酸残基;SEQ ID NO:1的氨基酸残基140-149内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基140-149的氨基酸残基;SEQ ID NO:1的氨基酸残基149-157内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基149-157的氨基酸残基;或SEQ ID NO:1的氨基酸残基153-162内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基153-162的氨基酸残基。

[0021] 在一些实施方案中,所述抗体结合至选自SEQ ID NO:1的D140、L141、W142、F143、P144、E151、D152、H154、E156和H157组成的组的一个或多个氨基酸残基,或哺乳动物TREM2蛋白上的对应于选自SEQ ID NO:1的D140、L141、W142、F143、P144、E151、D152、H154、E156和H157组成的组的氨基酸残基的一个或多个氨基酸残基。

[0022] 在一些实施方案中,所述抗体包含有包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区

和包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的轻链可变区,其中所述HVR-H1包含氨基酸序列YAFSSQWMN (SEQ ID NO:34),所述HVR-H2包含氨基酸序列RIYPGGDTNYAGKFQG (SEQ ID NO:35),所述HVR-H3包含氨基酸序列ARLLRNQPGESYAMDY (SEQ ID NO:31),所述HVR-L1包含氨基酸序列RSSQSLVHSNRYTYLH (SEQ ID NO:41),所述HVR-L2包含氨基酸序列KVSNRFS (SEQ ID NO:33),并且所述HVR-L3包含氨基酸序列SQSTRVPYT (SEQ ID NO:32)。

[0023] 在一些实施方案中,所述抗体包含有包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的轻链可变区。

[0024] 在一些实施方案中,所述抗体包含有包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区和包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的轻链可变区,其中所述HVR-H1包含氨基酸序列YAFSSDWMN (SEQ ID NO:36),所述HVR-H2包含氨基酸序列RIYPGEGDTNYARKFHG (SEQ ID NO:37),所述HVR-H3包含氨基酸序列ARLLRNKPGESYAMDY (SEQ ID NO:38),所述HVR-L1包含氨基酸序列RTSQSLVHSNAYTYLH (SEQ ID NO:39),所述HVR-L2包含氨基酸序列KVSNRVS (SEQ ID NO:40),并且所述HVR-L3包含氨基酸序列SQSTRVPYT (SEQ ID NO:32)。

[0025] 在一些实施方案中,所述抗体包含有包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的轻链可变区。

[0026] 在一些实施方案中,所述抗体是片段并且所述片段是Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv或scFv片段。在一些实施方案中,所述抗体属于IgG类、IgM类或IgA类。在一些实施方案中,所述抗体属于IgG类并且具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。在一些实施方案中,所述抗体具有人IgG1同种型并且在Fc区中在残基位置P331S和E430G处包含氨基酸取代,其中残基的编号是根据EU编号。

[0027] 在一些实施方案中,所述抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:43的氨基酸的重链和包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的轻链;或(b)包含SEQ ID NO:44的氨基酸的重链和包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的轻链。

[0028] 在一些实施方案中,所述抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:45的氨基酸的重链和包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链;或(b)包含SEQ ID NO:46的氨基酸的重链和包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链。

[0029] 在一些实施方案中,所述个体是人。在一些实施方案中,所述CSF1R缺陷型疾病是伴有轴突球状体和色素性胶质细胞的成人发作型脑白质病变(ALSP)。在一些实施方案中,所述CSF1R缺陷型疾病是儿童发作型脑白质病变。

[0030] 在一些实施方案中,所述个体在CSF1R基因中具有突变。在一些实施方案中,所述突变在CSFR1基因的编码胞内蛋白酪氨酸激酶结构域的部分中。在一些实施方案中,所述突变在CSFR1基因的外显子11-21中的任一者中。在一些实施方案中,所述个体就CSFR1基因中的所述突变来说是杂合的。在一些实施方案中,所述个体就CSFR1基因中的所述突变来说是纯合的。

[0031] 在一些实施方案中,所述个体具有选自由以下组成的组的疾病特征或处于所述疾病特征的风险中:脑白质病变、轴突损伤、轴突球状体、髓鞘损伤、髓鞘损失、胶质增生、自发荧光载脂巨噬细胞和轴突破坏。在一些实施方案中,所述个体具有选自由以下组成的组的症状或处于所述症状的风险中:脑白质异常、行为改变、痴呆、帕金森症、癫痫发作、运动性失语症、失写症、失算症、失用症、运动徐缓、动作迟缓、中枢神经系统脱髓鞘、抑郁、抑郁症、

额叶痴呆、胶质增生、反射亢进、反射增加、跖伸肌反应、轻偏瘫、四肢轻瘫、脑白质病变、记忆障碍、健忘、记忆丧失、记忆问题、记忆力差、缄默症、不会说话、哑、中枢神经系统神经元损失、脑细胞损失、姿势不稳定、平衡障碍、快速进展、强直、肌肉强直、拖曳步态、拖曳行走、锥体束征、痉挛、不自主肌肉僵硬、不自主肌肉收缩、不自主肌肉痉挛、人格问题、执行功能障碍。

[0032] 在一些实施方案中,所述个体患有选自以下组成的组的疾病:额颞叶痴呆(FTD)、皮质基底节综合征(CBS)、皮质基底节变性(CBD)、阿尔茨海默病(AD)、多发性硬化症(MS)、伴有皮质下梗死和脑白质病变的非典型脑常染色体显性动脉病变(CADASIL)和帕金森病(PD)。

[0033] 在一方面,本公开提供了一种监测正在被施用抗TREM2抗体的个体的治疗的方法,所述方法包括在所述个体接受一个或多个剂量的抗TREM2抗体之前和之后测量来自所述个体的样品中的CSF1R水平。在一些实施方案中,所述方法包括基于所述样品中的CSF1R水平评估所述个体中所述抗TREM2抗体的活性的步骤。在一些实施方案中,所述样品来自所述个体的脑脊液或所述个体的血液。

[0034] 应理解,本文所述的各个实施方案的性质中的一者、一些或全部可组合以形成本发明的其他实施方案。本领域技术人员将明了本发明的这些和其他方面。本发明的这些和其他实施方案由以下详细说明进一步描述。

附图说明

[0035] 图1示出了M-CSF撤除后抗TREM2激动性抗体对人巨噬细胞活力的影响。具体而言,图1示出了M-CSF撤除后人巨噬细胞的细胞活力的倍数变化。实心三角形代表用单独的M-CSF (50ng/mL) 处理的人巨噬细胞,空心三角形代表用IgG1 (10 μ g/mL) 处理的人巨噬细胞,空心圆圈代表用AL2p-58huIgG1 PSEG (1 μ g/mL) 处理的人巨噬细胞,而实心圆圈代表用AL2p-58huIgG1 PSEG (10 μ g/mL) 处理的人巨噬细胞。每种处理N=3名供体;误差条代表平均数标准误差(SEM)。

[0036] 图2示出了CSF1-受体(CSF1R)抑制后抗TREM2激动性抗体对人巨噬细胞活力的影响。具体而言,图2示出了用CSF1R抑制剂(PLX3397)处理的人巨噬细胞的细胞活力的倍数变化。实心三角形代表用单独的IgG1 (10 μ g/mL) 处理的人巨噬细胞,空心三角形代表用单独的PLX3397 (30nM) 处理的人巨噬细胞,空心圆圈代表用单独的AL2p-58huIgG1 PSEG (10 μ g/mL) 处理的人巨噬细胞,并且实心圆圈代表用PLX3397 (30nM) 和AL2p-58huIgG1 PSEG (10 μ g/mL) 两者处理的人巨噬细胞。每种处理N=3名供体;误差条代表平均数标准误差(SEM)。

[0037] 图3示出了抗TREM2激动性抗体对非人灵长类动物中CSF1R蛋白表达的影响。示出了在用对照IgG或增加浓度的AL2p-58huIgG1PSEG处理后来自额叶皮层的样品中CSF1R蛋白表达的变化;p值是用学生t检验计算的。

[0038] 图4示出了施用AL2p-58huIgG1或对照的非人灵长类动物的额叶皮层和海马体中的CSF1R蛋白浓度。向非人灵长类动物每周一次静脉内施用对照或AL2p-58huIgG1,共计5次剂量(N=5/组)。提供了在第五次施用AL2p-58huIgG1或对照后48小时额叶皮层(左图)和海马体(右图)中的CSF1R蛋白浓度(ng CSF1R蛋白/mg总蛋白)。

具体实施方式

[0039] 本文提供了通过施用TREM2的激动剂来治疗与CSF1R信号传导的缺陷或其他不足相关的病症和疾病的方法。此类疾病或病症包括但不限于与CSF1R突变相关的疾病,诸如儿童发作型脑白质病变;伴有轴突球状体和色素性胶质细胞的成人发作型脑白质病变(ALSP);伴有球状体的弥漫性遗传性脑白质病变;伴有神经轴突球状体的成人发作型脑白质营养不良;伴有神经轴突球状体的常染色体显性脑白质病变;伴有轴突球状体的遗传性弥漫性脑白质病变(HDLS);神经轴突脑白质营养不良;色素性正色性脑白质营养不良;和家族性色素性正色性脑白质病变(POLD)。TREM2的激动剂包括诱导一种或多种TREM2活性并且/或者增强由一种或多种配体与TREM2结合所诱导的一种或多种活性的抗TREM2抗体。举例来说,激动剂抗TREM2抗体可降低可溶性TREM2,诱导脾酪氨酸激酶(Syk)磷酸化,诱导TREM2与DAP12结合,诱导DAP12磷酸化,增加树突细胞、巨噬细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞(Kupffer cell)和小胶质细胞(microglial cell/microglia)的增殖、存活和/或功能,或者增加TREM2依赖性基因的活性和/或表达。

[0040] 定义

[0041] 如本文所用,术语“预防”包括提供关于特定疾病、病症或疾患的发生或复发的防治,包括延迟可倾向于、易于患特定疾病、病症或疾患,或处于发生所述疾病、病症或疾患的风险中但尚未诊断出患有所述疾病、病症或疾患的个体的所述疾病、病症或疾患的发作。

[0042] 如本文所用,处于发生特定疾病、病症或疾患“风险中”的个体可具有或可不具有可检测的疾病或疾病症状,并且可在本文所述的治疗方法之前已展示或可未展示可检测的疾病或疾病症状。“处于风险中”表示个体具有一种或多种风险因素,所述风险因素是如本领域所已知的与特定疾病、病症或疾患的发生相关的可测量参数。具有这些风险因素中的一者或多者的个体发生特定疾病、病症或疾患的机率高于不具有这些风险因素中的一者或多者的个体。

[0043] 如本文所用,术语“治疗”是指经设计以改变所治疗个体在临床病理学进程期间的天然进程的临床干预。期望治疗效应包括降低特定疾病、病症或疾患的进展速率、改善或减轻病理状态,以及缓解或改良预后。举例来说,如果一种或多种与特定疾病、病症或疾患相关的症状缓和或消除,那么个体得到成功地“治疗”。

[0044] “有效量”是指至少在所需剂量下和在所需时间段内有效实现所需治疗或预防结果的量。有效量可以一或多次施用来提供。本文的有效量可根据以下等因素而有所变化:诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重以及治疗在个体内引发所需反应的能力。有效量还为治疗有益效应胜过治疗的任何毒性或有害效应的量。对于预防性用途来说,有益或所需结果包括消除或降低疾病的风险、减轻其严重程度或延迟其发作,所述疾病包括疾病的生物化学、组织学和/或行为症状、在疾病发展期间呈现的其并发症和中间病理学表型。对于治疗性用途来说,有益或所需结果包括诸如以下的临床结果:减少由疾病引起的一种或多种症状,提高患病者的生活质量,减少治疗疾病所需的其他药剂的剂量,增强另一药剂的效应,诸如延迟疾病的进展并且/或者延长存活。药物、化合物或药物组合物的有效量是足以直接或间接实现预防性或治疗性治疗的量。如在临床背景下所理解,药物、化合物或药物组合物的有效量可或可不结合另一药物、化合物或药物组合物来实现。因此,可认为“有效量”是在施用一种或多种治疗剂的背景下进行,并且如果结合一种或多种其他剂可实现或实现

了期望结果,那么可认为单一剂是以有效量给予。

[0045] 用于治疗、预防或降低风险目的的“个体”是指分类为哺乳动物的任何动物,包括人、家养和农场动物以及动物园动物、运动型动物或宠物,诸如狗、马、兔、牛、猪、仓鼠、沙鼠、小鼠、雪貂、大鼠、猫等。在一些实施方案中,个体是人。

[0046] 如本文所用,与另一化合物或组合物“结合”施用包括同时施用和/或于不同时间施用。结合施用还涵盖作为共配制剂施用或作为分开的组合物施用,包括以不同给药频率或间隔,以及使用相同施用途或不同施用途。

[0047] 术语“免疫球蛋白”(Ig)在本文中可与“抗体”互换使用。本文中的术语“抗体”是以最广泛意义使用且具体而言涵盖单克隆抗体、多克隆抗体、由至少两种完整抗体形成的多特异性抗体(例如,双特异性抗体)和抗体片段,只要其展现所需的生物活性即可。

[0048] 基础4链抗体单元是由两条相同轻(L)链和两条相同重(H)链构成的异四聚体糖蛋白。 V_H 和 V_L 配对一起形成单一抗原结合位点。关于不同类别抗体的结构和性质,参见例如Basic and Clinical Immunology,第8版,Daniel P.Stites、Abba I.Terr和Tristram G.Parslow(编辑),Appleton&Lange,Norwalk,CT,1994,第71页和第6章。

[0049] 基于其恒定结构域的氨基酸序列,可将来自任何脊椎动物物种的L链归类为两种明显不同类型(称为卡帕(“ κ ”)和拉姆达(“ λ ”))中的一者。根据其重链(CH)恒定结构域的氨基酸序列,可将免疫球蛋白归类为不同类别或同种型。存在五类免疫球蛋白:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,其重链分别定名为阿尔法(“ α ”)、德尔塔(“ δ ”)、伊普西龙(“ ϵ ”)、伽马(“ γ ”)和缪(“ μ ”)。基于CH序列和功能的相对较小差异将 γ 和 α 类别进一步划分成亚类(同种型),例如人表达以下亚类:IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。不同类别的免疫球蛋白的亚单位结构和三维构型已众所周知且通常描述于例如Abbas等人,Cellular and Molecular Immunology,第4版(W.B.Saunders Co.,2000)中。

[0050] “天然抗体”通常为约150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白,其由两条相同轻(L)链和两条相同重(H)链构成。每一轻链是由一个共价二硫键连接至重链,而在不同免疫球蛋白同种型的重链中二硫键联的数目各不相同。每一重链和轻链还具有规则地间隔开的链内二硫桥。每一重链在一端具有可变结构域(V_H),之后为多个恒定结构域。每一轻链在一端具有可变结构域(V_L)且在其另一端具有恒定结构域;轻链的恒定结构域与重链的第一恒定结构域对齐,并且轻链可变结构域与重链的可变结构域对齐。据信,特定氨基酸残基在轻链可变结构域与重链可变结构域之间形成界面。

[0051] “分离的”抗体(诸如本公开的分离的抗TREM2抗体)是已从其产生环境的组分(例如,天然或重组)鉴别、分离和/或回收的抗体。优选地,分离的多肽不与来自其产生环境的基本上所有其他污染性组分缔合。来自其产生环境的污染性组分(诸如源自重组转染细胞的那些组分)是通常将干扰抗体的研究、诊断或治疗用途的物质,并且可包括酶、激素和其他蛋白质性或非蛋白质性溶质。在优选实施方案中,将多肽纯化:(1)至如通过例如Lowry方法所确定大于95重量%的抗体,并且在一些实施方案中,至大于99重量%;(2)至通过使用旋杯式测序仪足以获得至少15个N末端或内部氨基酸序列残基的程度,或(3)至通过SDS-PAGE在非还原或还原条件下使用考马斯蓝(Coomassie blue)或优选银染色的均质性。

[0052] 抗体(诸如本公开的抗TREM2抗体)的“可变区”或“可变结构域”是指抗体的重链或轻链的氨基末端结构域。重链和轻链的可变结构域可分别称为“ V_H ”和“ V_L ”。这些结构域通常

是抗体的最可变部分(相对于相同类别的其他抗体)且含有抗原结合位点。

[0053] 术语“可变”是指抗体(诸如本公开的抗TREM2抗体)之间可变结构域的某些区段的序列差异极大的事实。可变结构域介导抗原结合且界定特定抗体对其特定抗原的特异性。然而,可变性在整个可变结构域跨度中并非均匀分布。相反,其在轻链可变结构域和重链可变结构域二者中均集中于三个称为高变区(HVR)的区段中。可变结构域的更保守的部分称为框架区(FR)。天然重链和轻链的可变结构域各自包含4个由三个HVR连结的主要采用 β 折叠构型的FR区,所述HVR形成连结且在一些情况下形成 β 折叠结构的一部分的环。每一链中的HVR通过FR区保持紧密靠近,并且与来自另一链的HVR一起促进形成抗体的抗原结合位点(参见Kabat等人,Sequences of Immunological Interest,第5版National Institute of Health,Bethesda,MD(1991))。恒定结构域并不直接参与抗体与抗原的结合,但展现各种效应功能,诸如抗体参与抗体依赖性细胞毒性。

[0054] 如本文所用,术语“单克隆抗体”是指从基本上同质抗体的群体获得的抗体(诸如本公开的单克隆抗TREM2抗体),即,除可以少量存在的可能的天然存在的突变和/或翻译后修饰(例如,异构化、酰胺化等)以外,构成所述群体的个别抗体均相同。单克隆抗体针对单一抗原位点具有高度特异性。与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相比,每一单克隆抗体是针对抗原上的单一决定簇。除其特异性以外,单克隆抗体的优势在于其可通过杂交瘤培养物合成,基本上不受其他免疫球蛋白的污染。修饰词“单克隆”指示抗体的特征在于从基本上同质抗体群体获得,并且不应解释为需要通过任一特定方法来产生所述抗体。举例来说,根据本发明使用的单克隆抗体可通过多种技术来制得,所述技术包括例如杂交瘤方法(例如,Kohler和Milstein.,Nature,256:495-97(1975);Hongo等人,Hybridoma,14(3):253-260(1995);Harlow等人,Antibodies:A Laboratory Manual,(Cold Spring Harbor Laboratory Press,第2版1988);Hammerling等人,Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681(Elsevier,N.Y.,1981))、重组DNA方法(参见例如美国专利第4,816,567号)、噬菌体展示技术(参见例如Clackson等人,Nature,352:624-628(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.222:581-597(1992);Sidhu等人,J.Mol.Biol.338(2):299-310(2004);Lee等人,J.Mol.Biol.340(5):1073-1093(2004);Fellouse,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 101(34):12467-472(2004);以及Lee等人,J.Immunol.Methods 284(1-2):119-132(2004)、酵母呈递技术(参见例如W02009/036379A2;W02010105256;W02012009568;和Xu等人,Protein Eng.Des.Sel.,26(10):663-70(2013),以及用于在具有部分或全部人免疫球蛋白基因座或编码人免疫球蛋白序列的基因的动物中产生人或人样抗体的技术(参见例如W0 1998/24893;W0 1996/34096;W0 1996/33735;W0 1991/10741;Jakobovits等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 90:2551(1993);Jakobovits等人,Nature362:255-258(1993);Bruggemann等人,Year in Immunol.7:33(1993);美国专利第5,545,807号;第5,545,806号;第5,569,825号;第5,625,126号;第5,633,425号;和第5,661,016号;Marks等人,Bio/Technology10:779-783(1992);Lonberg等人,Nature 368:856-859(1994);Morrison,Nature 368:812-813(1994);Fishwild等人,Nature Biotechnol.14:845-851(1996);Neuberger,Nature Biotechnol.14:826(1996);以及Lonberg和Huszar,Intern.Rev.Immunol.13:65-93(1995)。

[0055] 术语“全长抗体”、“完整抗体”或“全抗体”可互换使用,是指与抗体片段相对的呈

其基本上完整形式的抗体(诸如本公开的抗TREM2抗体)。具体而言,全抗体包括具有重链和轻链且包括Fc区的那些抗体。恒定结构域可为天然序列恒定结构域(例如,人天然序列恒定结构域)或其氨基酸序列变体。在一些情况下,完整抗体可具有一种或多种效应功能。

[0056] “抗体片段”包含完整抗体的一部分,优选完整抗体的抗原结合区和/或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段;双抗体(diabody);线性抗体(参见美国专利5,641,870,实施例2;Zapata等人,Protein Eng. 8(10):1057-1062(1995));单链抗体分子和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0057] 抗体(诸如本公开的抗TREM2抗体)的木瓜蛋白酶消化产生两个相同抗原结合片段(称为“Fab”片段)和残余“Fc”片段,其名称反映了其易于结晶的能力。Fab片段由整个L链以及H链的可变区结构域(V_H)和一条重链的第一恒定结构域(C_H1)组成。每一Fab片段关于抗原结合均是单价的,即其具有单一抗原结合位点。抗体经胃蛋白酶处理产生单一大F(ab')₂片段,所述片段大致对应于能够结合并交联抗原的两个经二硫键连接的Fab片段。Fab'片段与Fab片段的区别之处在于在C_H1结构域的羧基末端具有几个额外残基,所述残基包括一个或多个来自抗体铰链区的半胱氨酸。本文将其中恒定域的一个或多个半胱氨酸残基具有游离巯基的Fab'称为Fab'-SH。F(ab')₂抗体片段可作为在其间具有铰链半胱氨酸的Fab'片段对产生。还已知抗体片段的其他化学偶合。

[0058] Fc片段包含通过二硫键保持在一起的两条H链的羧基末端部分。抗体的效应功能是由Fc区中的序列决定,所述区由某些细胞类型上发现的Fc受体(FcR)识别。

[0059] “Fv”是含有完全抗原识别和结合位点的最小抗体片段。此片段由一个重链可变区结构域与一个轻链可变区结构域呈紧密非共价缔合形式的二聚体组成。从这两个结构域的折叠产生6个超变环(从H链和L链各自产生3个环),所述超变环贡献用于抗原结合的氨基酸残基且赋予抗体抗原结合特异性。然而,即使单一可变结构域(或仅包含三个对抗原具有特异性的HVR的Fv的一半)还具有识别且结合抗原的能力,但其亲和力低于完整结合位点。

[0060] 还缩写为“sFv”或“scFv”的“单链Fv”是包含连结成单一多肽链的V_H和V_L抗体结构域的抗体片段。优选地,sFv多肽还包含在V_H与V_L结构域之间的多肽接头,所述接头使sFv能够形成抗原结合所需的结构。关于sFv的综述,参见Plückthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 第113卷, Rosenberg和Moore编辑, Springer-VerLAG-3, New York, 第269-315页(1994)。

[0061] 抗体(诸如本公开的抗TREM2抗体)的“功能片段”包含完整抗体的一部分,所述部分通常包括完整抗体的抗原结合区或可变区或抗体的保留或具有修饰的FcR结合能力的Fc区。

[0062] 术语“双抗体”是指通过以下方式制备的小抗体片段:用V_H与V_L结构域之间的短接头(约5-10个残基)构建sFv片段(参见前述段落),使得实现可变结构域的链间而非链内配对,由此产生二价片段,即具有两个抗原结合位点的片段。双抗体更详细地描述于例如EP 404,097; WO 93/11161; Hollinger等人, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 90:6444-48(1993)中。

[0063] 如本文所用,“嵌合抗体”是指其中重链和/或轻链的一部分与源自特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而所述链的其余部分与源自另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源的抗体(诸如本公开的嵌合抗TREM2抗体),以及所述抗体的片段,只要其展现所需生物学活性即可(美国专利第4,

816,567号;Morrison等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA,81:6851-55(1984))。嵌合抗体包括其中抗体的可变区源自鼠抗体而恒定区源自人抗体的抗体。如本文所用,“人源化抗体”是“嵌合抗体”的子组。

[0064] 非人(例如,鼠)抗体的“人源化”形式(诸如本公开的抗TREM2抗体的人源化形式)是含有最少量源自非人免疫球蛋白的序列的嵌合抗体。在一个实施方案中,人源化抗体是人免疫球蛋白(接受者抗体),其中来自接受者的HVR的残基由来自诸如小鼠、大鼠、兔或非人灵长类动物等非人物种(供体抗体)的HVR的具有所需特异性、亲和力和/或能力的残基置换。在一些情况下,人免疫球蛋白的FR残基由相应的非人残基置换。此外,人源化抗体可包含接受者抗体或供体抗体中不存在的残基。可进行这些修饰以进一步改善抗体性能,诸如结合亲和力。一般而言,人源化抗体将包含基本上全部的至少一个、且通常两个可变结构域,其中全部或基本上全部的高变环对应于非人免疫球蛋白序列的那些高变环,并且全部或基本上全部的FR区为人免疫球蛋白序列的那些FR区,但FR区可包括改善抗体性能(诸如结合亲和力、异构化、免疫原性等)的一个或多个个别FR残基取代。FR中的这些氨基酸取代的数量通常在H链中不超过6,并且在L链中不超过3。人源化抗体任选地还将包含免疫球蛋白恒定区(Fc)(通常为人免疫球蛋白恒定区)的至少一部分。关于其他细节,参见例如Jones等人,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature 332:323-329(1988);以及Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。还参见例如Vaswani和Hamilton,Ann.Allergy,Asthma&Immunol.1:105-115(1998);Harris,Biochem.Soc.Transactions 23:1035-1038(1995);Hurle和Gross,Curr.Op.Biotech.5:428-433(1994);和美国专利第6,982,321号和第7,087,409号。

[0065] “人抗体”是具有与抗体(诸如本公开的抗TREM2抗体)的氨基酸序列对应的氨基酸序列的抗体,其已使用如本文所公开或以其他方式在本领域中已知的用于制备人抗体的任何技术制备。此人抗体定义明确排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。人抗体可使用本领域已知的各种技术(包括噬菌体展示文库)来产生。Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.,227:381(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.,222:581(1991)。另外可用于制备人单克隆抗体的方法描述于以下文献中: Cole等人,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,第77页(1985);Boerner等人,J.Immunol.,147(1):86-95(1991)。还参见van Dijk和van de Winkel,Curr.Opin.Pharmacol.5:368-74(2001)。人抗体可通过向转基因动物施用抗原来制备,所述动物已经过修饰从而响应抗原激发产生此类抗体,但其内源性基因座已失能,例如,经免疫的xenomice(关于XENOMOUSE™技术,参见例如美国专利第6,075,181号和第6,150,584号)。关于经由人B细胞杂交瘤技术所产生的人抗体,还参见例如Li等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA,103:3557-3562(2006)。或者,人抗体还可通过采用酵母文库和如例如W02009/036379A2;W02010105256;W02012009568;和Xu等人,Protein Eng.Des.Sel.,26(10):663-70(2013)中所公开的方法来制备。

[0066] 术语“高变区”或“HVR”在本文中使用是指抗体可变结构域(诸如本公开的抗TREM2抗体的可变结构域)的在序列上高变和/或形成结构上界定环的区。一般而言,抗体包含6个HVR;3个在VH中(H1、H2、H3),并且3个在VL中(L1、L2、L3)。在天然抗体中,H3和L3展示6个HVR的大部分多样性,并且据信尤其H3在赋予抗体良好特异性方面具有独特作用。参见例如Xu等人,Immunity13:37-45(2000);Johnson和Wu,Methods in Molecular Biology248:

1-25 (Lo编辑, Human Press, Totowa, NJ, 2003))。实际上, 仅由重链组成的天然存在的骆驼科动物抗体在不存在轻链下具有功能性和稳定性。参见例如Hamers-Casterman等人, Nature 363:446-448 (1993) 和Sheriff等人, Nature Struct. Biol. 3:733-736 (1996)。

[0067] 本文使用且涵盖许多HVR的描述。在一些实施方案中, HVR可以是基于序列可变性的Kabat互补决定区 (CDR) 且使用最为广泛 (Kabat等人, 上文文献)。在一些实施方案中, HVR可以是Chothia CDR。而Chothia是指结构环的位置 (Chothia和Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))。在一些实施方案中, HVR可以是AbM HVR。AbM HVR表示Kabat CDR与Chothia结构环之间的折衷, 并且用于Oxford Molecular的AbM抗体建模软件中。在一些实施方案中, HVR可以是“contact”HVR。“contact”HVR是基于对可获得的复杂晶体结构的分析。来自这些HVR中每一者的残基如下所示。

	环	Kabat	AbM	Chothia	Contact
[0068]	L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
	L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
	L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
	H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (Kabat 编号)
	H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (Chothia 编号)
	H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
	H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0069] HVR可包含如下“延伸HVR”: VL中的24-36或24-34 (L1)、46-56或50-56 (L2) 和89-97或89-96 (L3) 以及VH中的26-35 (H1)、50-65或49-65 (优选实施方案) (H2) 和93-102、94-102或95-102 (H3)。对于这些延伸HVR定义中的每一者, 根据Kabat等人 (上文文献) 对可变结构域残基进行编号。

[0070] “框架”或“FR”残基是除如本文所定义的HVR残基以外的那些可变结构域残基。

[0071] 词组“如Kabat中的可变结构域残基编号”或“如Kabat中的氨基酸位置编号”和其变化形式是指用于Kabat等人 (上文文献) 中的所汇编抗体的重链可变结构域或轻链可变结构域的编号系统。使用此编号系统, 实际线性氨基酸序列可含有较少或额外的对应于可变结构域的FR或HVR的缩短或插入的氨基酸。举例来说, 重链可变结构域可包括在H2的残基52后的单氨基酸插入物 (根据Kabat的残基52a) 和重链FR残基82后的插入残基 (例如, 根据Kabat的残基82a、82b和82c等)。可通过将抗体序列的同源区与“标准”Kabat编号序列比对应来确定给定抗体残基的Kabat编号。

[0072] Kabat编号系统通常在提及可变结构域中的残基 (大约轻链的残基1-107和重链的残基1-113) 时使用 (例如, Kabat等人, Sequences of Immunological Interest, 第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))。“EU编号系统”、“EU编号”或“EU索引”通常在提及免疫球蛋白重链恒定区中的残基时使用 (例如, Kabat等人, 上文文献中所报道的EU索引)。“如Kabat中的EU索引”是指人IgG1 EU抗体的残基编号。对抗体可变结构域中的残基编号的提及意指根据Kabat编号系统进行的残基编号。对抗体恒定结构域中的残基编号的提及意指根据EU编号系统进行的残基编号 (参见例如美国专利公布第2010-280227号)。

[0073] 如本文所用的“受体人框架”是包含源自人免疫球蛋白框架或人共有框架的VL或

VH框架的氨基酸序列的框架。“源自”人免疫球蛋白框架或人共有框架的受体人框架可包含其相同氨基酸序列,或其可含有先前存在的氨基酸序列变化。在一些实施方案中,先前存在的氨基酸变化的数目为10或更小、9或更小、8或更小、7或更小、6或更小、5或更小、4或更小、3或更小或2或更小。在VH中存在先前存在的氨基酸变化的情形下,那些变化优选仅发生在位置71H、73H和78H中的三者、两者或一者处;举例来说,那些位置处的氨基酸残基可以是71A、73T和/或78A。在一个实施方案中,VL受体人框架的序列与VL人免疫球蛋白框架序列或人共有框架序列同一。

[0074] “人共有框架”是代表在人免疫球蛋白VL或VH框架序列的选择中最常出现的氨基酸残基的框架。一般而言,人免疫球蛋白VL或VH序列的选择是来自可变结构域序列的亚组。一般而言,序列的亚组是如Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD (1991)中的亚组。对于VL,亚组可例如为如Kabat等人,上文文献中的亚组 κ I、 κ II、 κ III或 κ IV。另外,对于VH,亚组可例如为如Kabat等人,上文文献中的亚组I、亚组II或亚组III。

[0075] 在例如本公开的抗TREM2抗体的指定位置处的“氨基酸修饰”是指指定残基的取代或缺失或邻近指定残基的至少一个氨基酸残基的插入。“邻近”指定残基插入意指在其一至两个残基范围内插入。插入可以在指定残基的N末端或C末端。本文的优选氨基酸修饰是取代。

[0076] “亲和力成熟的”抗体(诸如本公开的亲和力成熟的抗TREM2抗体)是在其一个或多个HVR中具有一个或多个改变的抗体,与不具有那些改变的亲本抗体相比,所述改变使得所述抗体对抗原的亲和力有所改善。在一个实施方案中,亲和力成熟的抗体对靶抗原具有纳摩尔级或甚至皮摩尔级亲和力。亲和力成熟的抗体通过本领域已知的程序来产生。举例来说,Marks等人,Bio/Technology 10:779-783 (1992)描述了通过VH和VL结构域改组实现的亲和力成熟。HVR和/或框架残基的随机诱变描述于例如以下文献中:Barbas等人Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813 (1994); Schier等人Gene 169:147-155 (1995); Yelton等人J. Immunol. 155:1994-2004 (1995); Jackson等人,J. Immunol. 154 (7):3310-9 (1995); 以及Hawkins等人,J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992)。

[0077] 如本文所用,术语“特异性结合”是指靶标与抗体之间(诸如抗TREM2抗体与TREM2之间)的可测量且可再现的结合相互作用,其决定在异质分子群体(诸如生物分子)内靶标的存在。举例来说,特异性结合至靶标或靶标表位的抗体(诸如本公开的抗TREM2抗体)是相较于其结合至其他不相关靶标或表位例如以更大亲和力或亲合力优先结合此靶标或表位的抗体。还应理解,特异性结合至第一靶标的抗体可以或可以不特异性结合至第二靶标。因此,“特异性结合”不一定需要(但其可包括)排他性结合。特异性结合至靶标的抗体可具有至少约 10^3M^{-1} 或 10^4M^{-1} 、有时约 10^5M^{-1} 或 10^6M^{-1} 、在其他情况下约 10^6M^{-1} 或 10^7M^{-1} 、约 10^8M^{-1} 至 10^9M^{-1} 、或约 10^{10}M^{-1} 至 10^{11}M^{-1} 更高的缔合常数。可使用多种免疫测定形式来选择与特定蛋白质特异性免疫反应的抗体。举例来说,通常使用固相ELISA免疫测定来选择与蛋白质特异性免疫反应的单克隆抗体。关于可以用来确定特异性免疫反应的免疫测定形式和条件的描述,参见例如Harlow和Lane (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, New York或Vashist和Luong (2018) Handbook of Immunoassay Technologies, Approaches, Performances, and Applications, Academic Press。

[0078] 如本文所用,当抗体通过结合至两种蛋白质中的一者来破坏、减少或完全消除所述两种蛋白质之间的相互作用时,所述抗体“抑制所述两种蛋白质之间的相互作用”。

[0079] “激动剂”抗体是在与靶标结合后诱导(例如,增加)靶标的一种或多种活性或功能的抗体。

[0080] “拮抗剂”抗体或“阻断”抗体是这样的抗体:在抗体结合抗原后减少或消除(例如,降低)抗原与一种或多种结合配偶体的结合并且/或者在抗体结合抗原后减少或消除(例如,降低)抗原的一种或多种活性或功能。在一些实施方案中,拮抗剂抗体或阻断抗体基本上或完全抑制抗原与一种或多种配体的结合和/或抗原的一种或多种活性或功能。

[0081] 抗体“效应功能”是指那些可归因于抗体Fc区(天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)的生物学活性,并且随抗体同种型而有所变化。

[0082] 术语“Fc区”在本文中用于定义免疫球蛋白重链的C末端区域,包括天然序列Fc区和变体Fc区。尽管免疫球蛋白重链的Fc区的边界可有所变化,但通常将人IgG重链Fc区界定为从位置Cys226处的氨基酸残基或从Pro230延伸至其羧基末端。Fc区的C末端赖氨酸(根据EU编号系统的残基447)可在例如抗体的产生或纯化期间或通过重组工程改造编码抗体重链的核酸来去除。因此,完整抗体的组成可包含去除全部K447残基的抗体群体、未去除K447残基的抗体群体,以及具有含有和不含有K447残基的抗体混合物的抗体群体。适用于本公开的抗体中的天然序列Fc区包括人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。

[0083] “天然序列Fc区”包含与自然界中发现的Fc区的氨基酸序列同一的氨基酸序列。天然序列人Fc区包括天然序列人IgG1 Fc区(非A和A同种异型);天然序列人IgG2 Fc区;天然序列人IgG3 Fc区;和天然序列人IgG4 Fc区,以及它们的天然存在的变体。

[0084] “变体Fc区”包含以至少一个氨基酸修饰(优选一个或多个氨基酸取代)而区别于天然序列Fc区氨基酸序列的氨基酸序列。优选地,变体Fc区与天然序列Fc区相比具有至少一个氨基酸取代,例如天然序列Fc区中的约1个至约10个氨基酸取代,并且优选地约1个至约5个氨基酸取代。本文中的变体Fc区优选地将与天然序列Fc区具有至少约80%同源性,并且最优选地与其具有至少约90%同源性,更优选地与其具有至少约95%同源性。

[0085] “Fc受体”或“FcR”描述了结合至抗体的Fc区的受体。优选的FcR是天然序列人FcR。此外,优选的FcR是结合IgG抗体的FcR(γ 受体)且包括Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII亚类的受体,包括这些受体的等位基因变体和选择性剪接形式,Fc γ RII受体包括Fc γ RIIA(“活化性受体”)和Fc γ RIIB(“抑制性受体”),这些受体具有相似的氨基酸序列,主要差异在于其细胞质结构域。活化性受体Fc γ RIIA在其细胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的活化基序(“ITAM”)。抑制性受体Fc γ RIIB在其细胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(“ITIM”)。(参见例如M. Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997))。FcR综述于Ravetch和Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991); Capel等人, *Immunomethods* 4:25-34 (1994); 以及de Haas等人, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995)中。本文的术语“FcR”涵盖其他FcR。FcR还可延长抗体的血清半衰期。

[0086] 可在例如表达人FcR的转基因小鼠或经转染人细胞系中或在施用具有变体Fc区的多肽的灵长类动物中测定人FcR高亲和力结合多肽与FcR的体内结合和血清半衰期。WO 2004/42072 (Presta) 描述了具有改善的或减少的与FcR的结合的抗体变体。还参见例如Shields等人, *J. Biol. Chem.* 9 (2):6591-6604 (2001)。

[0087] 如本文所用,关于肽、多肽或抗体序列的“氨基酸序列同一性百分比(%)”和“同源性”是指在比对序列且引入空位(如果需要)以实现最大序列同一性百分比后,并且不将任何保守取代视为序列同一性的一部分的情况下,候选序列中与特定肽或多肽序列中的氨基酸残基同一的氨基酸残基的百分比。为测定氨基酸序列同一性百分比的比对可以通过本领域技术范围内的多种方式实现,例如,使用公开获得的计算机软件诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或MEGALIGN™(DNASTAR)软件。本领域技术人员可确定用于测量比对的适当参数,包括本领域已知的在所比较序列的全长范围内实现最大比对所需要的任何算法。

[0088] 例如编码抗体(诸如本公开的抗TREM2抗体)的“分离的”核酸分子是从其产生环境中通常与其缔合的至少一种污染性核酸分子鉴别且分离的核酸分子。优选地,分离的核酸基本上不与同产生环境相关的所有组分缔合。编码本文的多肽和抗体的分离的核酸分子与细胞中天然存在的核酸不同。

[0089] 如本文所用,术语“载体”意在指代能够转运与其连接的另一核酸的核酸分子。一类载体为“质粒”,其是指其中可连接额外DNA区段的环状双链DNA。另一类载体为噬菌体载体。另一类载体为病毒载体,其中其他DNA区段可连接至病毒基因组中。某些载体能够在已引入其的宿主细胞中进行自主复制(例如,具有细菌复制起点的细菌载体和游离型哺乳动物载体)。其他载体(例如非游离型哺乳动物载体)可在引入宿主细胞中时整合至所述宿主细胞的基因组中,并且由此随宿主基因组一同复制。此外,某些载体能够引导与其可操作地连接的基因的表达。此类载体在本文中称为“重组表达载体”或简称“表达载体”。一般而言,在重组DNA技术中可用的表达载体通常呈质粒形式。由于质粒是载体的最常用形式,所以在本说明书中“质粒”与“载体”可互换使用。

[0090] 如本文中可互换使用的“多核苷酸”或“核酸”是指任何长度的核苷酸聚合物,并且包括DNA和RNA。核苷酸可为脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、修饰的核苷酸或碱基和/或其类似物或任一可通过DNA或RNA聚合酶或通过合成反应并入至聚合物中的底物。多核苷酸可包含修饰的核苷酸,诸如甲基化核苷酸及其类似物。如果存在,可在聚合物的组装之前或之后赋予对核苷酸结构的修饰。非核苷酸组分可中断核苷酸的序列。多核苷酸可包含在合成之后进行的一种或多种修饰,诸如缀合至标记。其他类型的修饰包括例如“帽子”;用类似物取代天然存在的核苷酸中的一者或多者;和核苷酸间修饰,诸如例如具有不带电键联(例如,磷酸甲基酯、磷酸三酯、氨基磷酸酯、氨基甲酸酯等)和具有带电键联(例如,硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯等)的那些修饰;含有侧接部分诸如例如蛋白质(例如,核酸酶、毒素、抗体、信号肽、聚-L-赖氨酸等)的那些修饰;具有嵌入剂(例如,吡啶、补骨脂素等)的那些修饰;含有螯合剂(例如,金属、放射性金属、硼、氧化金属等)的那些修饰;含有烷基化剂的那些修饰;具有修饰的键联(例如, α 变旋异构核酸等)的那些修饰;以及多核苷酸的未修饰形式。此外,通常存在于糖中的羟基中的任一者均可由例如磷酸酯基团、磷酸酯基团置换,由标准保护基团保护,或经活化以与额外核苷酸形成额外键联,或可缀合至固体或半固体支持物。5'和3'末端OH可被磷酸化或者被胺或具有1至20个碳原子的有机封端基团部分取代。其他羟基也可被衍生化成标准保护基团。多核苷酸还可含有本领域通常已知的核糖或脱氧核糖糖的类似形式,包括例如2'-O-甲基-、2'-O-烯丙基-、2'-氟-或2'-叠氨基-核糖、碳环糖类似物、 α -变旋异构糖、差向异构糖(诸如阿拉伯糖、木糖或来苏糖(lyxose))、吡喃糖、呋喃糖、景天庚酮糖(sedoheptulose)、非环类似物和碱性核苷类似物(诸如甲基核糖苷)。一个或多个磷酸

二酯键联可由替代连接基团置换。这些替代连接基团包括但不限于以下实施方案：其中磷酸酯由P(O)S(“硫代酯”)、P(S)S(“二硫代酯”)、(O)NR₂(“酰胺化物”)、P(O)R、P(O)OR’、CO或CH₂(“甲缩醛”)置换，其中每个R或R’独立地为H或任选地含有醚(-O-)键联、芳基、烯基、环烷基、环烯基或芳烷基(araldyl)的取代或未取代的烷基(1-20个C)。多核苷酸中未必所有键联都是相同的。前述说明适用于本文提及的所有多核苷酸，包括RNA和DNA。

[0091] “宿主细胞”包括可含有或含有例如并入一种或多种多核苷酸插入物的一种或多种载体或其他外源核酸的个别细胞或细胞培养物。在一些实施方案中，载体或其他外源核酸并入宿主细胞的基因组中。宿主细胞包括单一宿主细胞的子代，并且子代可因天然突变、偶然突变或有意突变而未必与原始亲本细胞完全相同(在形态上或在基因组DNA互补序列上)。宿主细胞包括在体内经本发明的多核苷酸转染的细胞。

[0092] 如本文所用，“载体”包括在所采用剂量和浓度下对暴露于其的细胞或哺乳动物无毒的药理学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂。通常，生理学上可接受的载体是pH缓冲水溶液。生理学上可接受的载体的实例包括缓冲剂，诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸；抗氧化剂，包括抗坏血酸；低分子量(小于约10个残基)多肽；蛋白质，诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白；亲水性聚合物，诸如聚乙烯吡咯烷酮；氨基酸，诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸；单糖、二糖和其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合剂，诸如EDTA；糖醇，诸如甘露醇或山梨醇；成盐平衡离子，诸如钠；和/或非离子型表面活性剂，诸如TWEENTM、聚乙二醇(PEG)和PLURONICSTM。

[0093] 如本文所用，术语“约”是指本技术领域技术人员易于了解的个别值的常见误差范围。在本文中提及“约”一个值或参数包括(且描述)关于所述值或参数本身的实施方案。

[0094] 除非上下文另外明确地指示，否则如本文和所附权利要求书中所使用，单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数个指示物。举例来说，提及一种“抗体”是提及一种至多种抗体，诸如摩尔量，并且包括本领域技术人员已知的其等效物等等。

[0095] 应理解，本文所述的本公开的方面和实施方案包括“包含”方面和实施方案、“由方面和实施方案组成”和“基本上由方面和实施方案组成”。

[0096] 本公开的方法

[0097] 本公开提供了治疗患有CSF1R缺陷型疾病的个体、预防所述个体或降低所述个体的风险的方法，所述方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的结合至TREM2蛋白的抗体，其中所述抗体是激动剂。

[0098] 如本文所用，“CSF1R缺陷型疾病”是指由CSF1R信号传导的缺陷或其他不足引起的任何疾病、病症或疾患。在某些实施方案中，所述疾病、病症或疾患涉及与被认为具有“野生型”功能或具有被认为在正常范围内的功能的CSF1R蛋白相比功能降低的CSF1R蛋白。在一些实施方案中，CSF1R缺陷型疾病的特征在于累及个体中CSF1R基因的突变。突变通常会导致累及个体的CSF1R功能降低。突变可为任何类型，包括例如错义突变、插入缺失或产生截短蛋白质产物的突变。

[0099] 不希望受理论束缚，据信激动性TREM2将改善患有CSF1R缺陷型疾病的个体中CSF1R缺陷的影响。在某些实施方案中，如本文所述的TREM2抗体可活化或增加CSF1R下游的信号传导以补偿或以其他方式挽救CSF1R缺陷。在某些实施方案中，如本文所述的TREM2抗体可诱导或增加缺乏信号传导的CSF1R的表达，其中增加此类CSF1R的量导致足够量的信号

传导。

[0100] CSF1R缺陷型疾病包括但不限于儿童发作型脑白质病变和伴有轴突球状体和色素性胶质细胞的成人发作型脑白质病变(ALSP)。在一些实施方案中,CSF1R缺陷型疾病是ALSP。在一些实施方案中,CSF1R缺陷型疾病是儿童发作型脑白质病变。

[0101] 伴有轴突球状体和色素性胶质细胞的成人发作型脑白质病变

[0102] 在一些实施方案中,本公开提供了治疗、预防患有ALSP的个体或降低其风险的方法,所述方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的结合至TREM2蛋白的抗体,其中所述抗体是激动剂。

[0103] 伴有轴突球状体和色素性胶质细胞的成人发作型脑白质病变(ALSP)是一种常染色体显性神经系统疾患,其特征为脑特定区域的变化。ALSP是由编码CSF1R的基因的突变引起的。“脑白质病变”是脑白质的损伤,是ALSP的典型特征。此外,由称为球状体的肿胀引起的轴突损伤是ALSP的另一常见特征。其他常见ALSP疾病特征包括髓鞘损伤、髓鞘损失、胶质增生、自发荧光载脂巨噬细胞和轴突破坏。此外,据信髓鞘和轴突的损伤会导致患有ALSP的个体出现许多神经体征和症状(Oosterhof等人;Rademaker等人,Guo等人,2019)。

[0104] ALSP的常见症状包括但不限于脑白质异常、行为改变、痴呆、帕金森症、癫痫发作、运动性失语症、失写症、失算症、失用症、运动徐缓、动作迟缓、中枢神经系统脱髓鞘、抑郁、抑郁症、额叶痴呆、胶质增生、反射亢进、反射增加、跖伸肌反应、轻偏瘫、四肢轻瘫、脑白质病变、记忆障碍、健忘、记忆丧失、记忆问题、记忆力差、缄默症、不会说话、哑、中枢神经系统神经元损失、脑细胞损失、姿势不稳定、平衡障碍、快速进展、强直、肌肉强直、拖曳步态、拖曳行走、锥体束征、痉挛、不自主肌肉僵硬、不自主肌肉收缩、不自主肌肉痉挛、人格问题和执行功能障碍。

[0105] 此前,现称为ALSP的疾病被认为是两种不同的疾病,即伴有轴突球状体的遗传性弥漫性脑白质病变(HDLS)和家族性色素性正色性脑白质病变(POLD)。事实上,临床医生认为色素性胶质细胞是POLD的特征,但不是HDLS的特征。此外,临床医生认为球状体是HDLS的特征,但不是POLD的特征。然而,对每种疾病的临床和病理特征的详细分析表明,HDLS和POLD患者出现色素性胶质细胞和球状体。因此,现在认为HDLS和POLD是ALSP所涵盖的同一疾病谱的一部分(Nicholson等人(2013年))。

[0106] ALSP的示例性替代名称包括但不限于伴有球状体的弥漫性遗传性脑白质病变;伴有神经轴突球状体的成人发作型脑白质营养不良;伴有神经轴突球状体的常染色体显性脑白质病变;伴有轴突球状体的遗传性弥漫性脑白质病变(HDLS);神经轴突脑白质营养不良;色素性正色性脑白质营养不良;和家族性色素性正色性脑白质病变(POLD)。

[0107] 在一些实施方案中,施用抗TREM2激动剂抗体可预防伴有轴突球状体和色素性胶质细胞的成人发作型脑白质病变(ALSP)、降低所述疾病的风险和/或治疗所述疾病。在一些实施方案中,施用抗TREM2抗体在患有伴有轴突球状体和色素性胶质细胞的成人发作型脑白质病变(ALSP)的个体中诱导一种或多种TREM2活性。不希望受理论束缚,据信激动性TREM2将减少患有ALSP的个体中CSF1R缺陷的影响。

[0108] 儿童发作型脑白质病变

[0109] 儿童发作型脑白质病变是一种由CSF1R基因突变引起的罕见的致命性神经系统疾病。儿童发作型脑白质病变以不同的儿童表型为特征,包括:1)发育退化,2)发病时运动技

能障碍,3) 癫痫,和4) 认知能力下降。最近的研究表明,与由CSF1R基因杂合突变引起的ALSP相比,患有儿童发作型脑白质病变的个体具有CSF1R基因纯合突变。此外,虽然患有儿童发作型脑白质病变的患者有许多与ALSP重叠的神经影像学特征,但他们也具有患有ALSP的个体所不存在的独特神经影像学特征 (Oosterhof等人 (2019))。

[0110] 在一些实施方案中,施用抗TREM2激动剂抗体可预防儿童发作型脑白质病变、降低所述疾病的风险和/或治疗所述疾病。在一些实施方案中,施用抗TREM2抗体在患有儿童发作型脑白质病变的个体中诱导一种或多种TREM2活性。不希望受理论束缚,据信激动性TREM2将减少患有儿童发作型脑白质病变的个体中CSF1R缺陷的影响。

[0111] CSF1R突变

[0112] 在一些实施方案中,患有CSF1R缺陷型疾病的个体在CSF1R基因中具有突变。如上文所详述,人CSF1R基因编码集落刺激因子1受体 (CSF1R)。CSF1R也可用以下名称之一指示: C-FMS、CD115、CD115抗原、CSF-1受体、CSF-1R、CSF1R_HUMAN、CSFR、FIM2、FMS、FMS原癌基因、CSF-1-R、M-CSF-R、BANDDOS、v-FMS和c-FMS原癌基因。CSF1R基因的染色体位置是5q32,其分子位置是5号染色体上的碱基对150,053,291至150,113,372。此外,CSF1R基因的GenBank标识符是NG_012303。

[0113] CSF1R蛋白是属于PDGF受体家族的III型酪氨酸激酶生长因子受体。具体而言,CSF1R由高度糖基化的细胞外配体结合结构域、跨膜结构域和细胞内蛋白酪氨酸激酶结构域构成。CSF1R是一种细胞表面受体,主要作为CSF-1的受体,CSF-1是一种调节单核吞噬细胞(包括小胶质细胞)的存活、增殖、分化和功能的细胞因子。CSF-1与CSF1R的结合导致受体同源二聚体的形成和随后细胞质结构域中若干酪氨酸残基的自磷酸化。

[0114] 可使用本领域中已知的任何测序方法来鉴别CSF1R基因中的突变。举例来说,可用于鉴别CSF1R突变的测序方法的非详尽列表包括Sanger测序、全外显子组测序和下一代测序。

[0115] 在一些实施方案中,CSF1R基因中的突变在所述基因中编码细胞内蛋白酪氨酸激酶结构域的部分中。在一些实施方案中,CSF1R基因中的突变在外显子11-21中的任一者中。在一些实施方案中,患有CSF1R缺陷型疾病的个体就CSF1R基因中的突变来说是杂合的。在一些实施方案中,患有CSF1R缺陷型疾病的个体就CSF1R基因中的突变来说是纯合的。在一些实施方案中,CSF1R基因中的突变在所述基因中编码免疫球蛋白样结构域的部分中。在一些实施方案中,CSF1R基因中的突变在所述基因中编码跨膜结构域的部分中。在一些实施方案中,CSF1R基因中的突变在所述基因中编码调节性近膜结构域的部分中。

[0116] CSF1R基因的示例性突变包括但不限于c.1754-2A>G (p.G585_K619delinsA)、c.1766G>A (p.G589E)、c.1897G>A (p.E633K)、c.2297T>C (p.M766T)、c.2308G>C (p.A770P)、c.2320-2A>G (p.C774_N814del)、c.2324T>A (p.I775N)、c.2381T>C (p.I794T)、c.2442+5G>C (p.C774_N814delinsQLQSHVGPSPSSPQAQ)、c.2509G>T (p.D837Y)、c.2546_2548delTCT (p.F849del)、c.2546T>C (p.F849S)、c.2603T>C (p.L868P)、c.2624T>C (p.M875T) 和c.2632C>A (p.P878T) (Oosterhof等人;Rademaker等人)。

[0117] 在一些实施方案中,施用本公开的抗TREM2抗体可预防由CSF1R突变体引起的CSF1R缺陷型疾病,降低所述疾病的风险,并且/或者治疗所述疾病。在一些实施方案中,施用抗TREM2抗体可在患有由CSF1R突变体引起的CSF1R缺陷型疾病的个体中诱导一种或多种

TREM2活性。

[0118] 合并症

[0119] 患有CSF1R缺陷型疾病的个体可能会患上并且/或者已被诊断出患有其他疾病,诸如例如额颞叶痴呆(FTD)、皮质基底节综合征(CBS)、皮质基底节变性(CBD)、阿尔茨海默病(AD)、多发性硬化症(MS)、伴有皮质下梗死和脑白质病变的非典型脑常染色体显性动脉病变(CADASIL)和帕金森病(PD)。

[0120] TREM2蛋白

[0121] 本公开提供了对患有CSF1R缺陷型疾病的个体进行治疗、预防或降低其风险的方法,所述方法包括向所述个体施用结合至TREM2蛋白的抗体,其中所述抗体是激动剂。

[0122] 骨髓细胞-2上表达的触发受体(TREM2)不同地称为TREM-2、TREM2a、TREM2b、TREM2c、骨髓细胞上表达的触发受体-2a和单核细胞上表达的触发受体-2。TREM2是230个氨基酸的膜蛋白。TREM2是主要在骨髓系细胞上表达的免疫球蛋白样受体,所述细胞包括但不限于巨噬细胞、树突细胞、单核细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞、破骨细胞和小胶质细胞。在一些实施方案中,TREM2与DAP12形成受体信号传导复合物。在一些实施方案中,TREM2磷酸化并经由DAP12(ITAM结构域衔接蛋白)进行信号传导。在一些实施方案中,TREM2信号传导导致PI3K或其他细胞内信号的下游活化。在骨髓细胞上,Toll样受体(TLR)信号对于TREM2活性的活化是重要的,例如在感染反应的背景下。TLR还在病理性炎症性反应中起关键作用,例如,在巨噬细胞和树突细胞上表达的TLR。

[0123] 本公开的TREM2蛋白包括但不限于人TREM2蛋白(Uniprot登录号Q9NZC2;SEQ ID NO:1)和非人哺乳动物TREM2蛋白,诸如小鼠TREM2蛋白(Uniprot登录号Q99NH8;SEQ ID NO:2)、大鼠TREM2蛋白(Uniprot登录号D3ZZ89;SEQ ID NO:3)、恒河猴(Rhesus monkey)TREM2蛋白(Uniprot登录号F6QVF2;SEQ ID NO:4)、食蟹猴TREM2蛋白(NCBI登录号XP_015304909.1;SEQ ID NO:5)、马TREM2蛋白(Uniprot登录号F7D6L0;SEQ ID NO:6)、猪TREM2蛋白(Uniprot登录号H2EZZ3;SEQ ID NO:7)和狗TREM2蛋白(Uniprot登录号E2RP46;SEQ ID NO:8)。如本文所用,“TREM2蛋白”是指野生型序列和天然存在的变体序列两者。

[0124] 在一些实施方案中,人TREM2氨基酸序列的实例在下文中如SEQ ID NO:1所示:

[0125]

```

      10      20      30      40      50      60
MEPLRLIL L FVTELSGAHN TTVFQGVAGQ SLQVSCP YDS MKHWGRRKAW CRQLGEKGPC

      70      80      90     100     110     120
QRVVSTHNLW LLSFLRRWNG STAITDDTLG GTLTITLRNL QPHDAGLYQC QSLHGSEADT

      130     140     150     160     170     180
LRKVLVEVLA DPLDHRDAGD LWFPGESESF EDAHVEHSIS RSLLEGEIPF PPTSILLLLA

      190     200     210     220     230
CIFLIKILAA SALWAAAWHG QKPGTHPPSE LDCGHDPGYQ LQTLPGLRDT

```

[0126] 在一些实施方案中,人TREM2是包括信号肽的前蛋白。在一些实施方案中,人TREM2是成熟蛋白。在一些实施方案中,成熟TREM2蛋白不包括信号肽。在一些实施方案中,成熟TREM2蛋白在细胞上表达。在一些实施方案中,TREM2含有位于人TREM2(SEQ ID NO:1)的氨基酸残基1-18处的信号肽;位于人TREM2(SEQ ID NO:1)的氨基酸残基29-112处的细胞外免疫球蛋白样可变型(IgV)结构域;位于人TREM2(SEQ ID NO:1)的氨基酸残基113-174处的额外细胞外序列;位于人TREM2(SEQ ID NO:1)的氨基酸残基175-195处的跨膜结构域;和位于

人TREM2 (SEQ ID NO:1)的氨基酸残基196-230处的细胞内结构域。TREM2裂解位点已被确定为出现在组氨酸157的C末端侧(参见W02018/015573),并且该位点处的裂解导致TREM2细胞外结构域相关部分的脱落,可作为对应于TREM2该部分的可溶性TREM2 (sTREM2)的增加检测到。

[0127] 人TREM2的跨膜结构域在氨基酸残基186处含有赖氨酸,所述赖氨酸可与DAP12中的天冬氨酸相互作用,DAP12是转导来自TREM2、TREM1和其他相关IgV家族成员的信号传导的关键转接蛋白。

[0128] 抗TREM2抗体

[0129] 本公开的某些方面涉及结合至TREM2蛋白的抗体(例如,单克隆抗体),其中所述抗TREM2抗体是激动剂。在一些实施方案中,本公开的抗体结合成熟TREM2蛋白。在一些实施方案中,本公开的抗体结合成熟TREM2蛋白,其中所述成熟TREM2蛋白在细胞上表达。在一些实施方案中,本公开的抗体结合在一种或多种选自以下的人细胞上表达的TREM2蛋白:人树突细胞、人巨噬细胞、人单核细胞、人破骨细胞、人皮肤朗格汉斯细胞、人库普弗细胞、人小胶质细胞以及它们的任何组合。

[0130] 诱导活性和/或增强配体诱导的活性的抗TREM2抗体

[0131] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体是诱导一种或多种TREM2活性的激动剂抗体。在一些实施方案中,抗体在与表达于细胞上的TREM2蛋白结合后诱导TREM2的一种或多种活性。

[0132] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体结合至TREM2蛋白而不与一种或多种TREM2配体竞争与TREM2蛋白的结合、不抑制一种或多种TREM2配体与TREM2蛋白的结合或不以其他方式阻断一种或多种TREM2配体与TREM2蛋白的结合。TREM2配体的实例包括但不限于由大肠杆菌(E.coli)细胞表达的TREM2配体、凋亡细胞、核酸、阴离子脂质、APOE、APOE2、APOE3、APOE4、阴离子APOE、阴离子APOE2、阴离子APOE3、阴离子APOE4、脂化APOE、脂化APOE2、脂化APOE3、脂化APOE4、两性离子脂质、带负电的磷脂、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰胆碱、鞘磷脂、膜磷脂、脂化蛋白、蛋白脂质、脂化肽和脂化β淀粉样肽。因此,在某些实施方案中,所述一种或多种TREM2配体包含大肠杆菌细胞、凋亡细胞、核酸、阴离子脂质、两性离子脂质、带负电的磷脂、磷脂酰丝氨酸(PS)、磷脂酰胆碱、鞘磷脂(SM)、磷脂、脂化蛋白、蛋白脂质、脂化肽和脂化β淀粉样肽。

[0133] 在本公开的方法中使用的抗TREM2抗体是激动剂抗体。在一些实施方案中,结合TREM2蛋白的本公开抗体可包括由于其表位特异性结合TREM2并活化一种或多种TREM2活性的激动剂抗体。在一些实施方案中,此类抗体可结合至TREM2上的配体结合位点并模拟一种或多种TREM2配体的作用,或者通过结合至非配体结合位点的一个或多个结构域来刺激TREM2转导信号。在一些实施方案中,抗体不与配体竞争与TREM2的结合或不以其他方式阻断配体与TREM2的结合。在一些实施方案中,抗体与一种或多种TREM2配体相加或协同作用以活化和/或增强一种或多种TREM2活性,如下文所述。

[0134] 本公开的激动剂抗TREM2抗体可展示结合TREM2而不阻断一种或多种TREM2配体的同时结合的能力。本公开的抗TREM2抗体可进一步展示与一种或多种TREM2配体的加性和/或协同功能相互作用。因此,在一些实施方案中,在与本公开的抗TREM2抗体和本公开的一种或多种TREM2配体的组合结合时,TREM2的最大活性可大于(例如,增强)在暴露于饱和浓

度的单独配体或饱和浓度的单独抗体时TREM2的最大活性。此外,在抗体存在下,在给定浓度的TREM2配体下的TREM2的活性可较大(例如,增强)。

[0135] 因此,在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体与一种或多种TREM2配体具有加性效应以在与TREM2蛋白结合时增强一种或多种TREM2活性。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体与一种或多种TREM2配体协同以增强一种或多种TREM2活性。在一些实施方案中,与不存在抗体下一种或多种TREM2配体诱导一种或多种TREM2活性的效力相比,本公开的抗TREM2抗体增加一种或多种TREM2配体诱导一种或多种TREM2活性的效力。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体在不存在TREM2的细胞表面簇集的情况下增强一种或多种TREM2活性。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体通过诱导或保留TREM2的细胞表面簇集来增强一种或多种TREM2活性。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体通过在一种或多种免疫细胞上表达的一种或多种Fc- γ 受体簇集,所述免疫细胞包括但不限于B细胞和小胶质细胞。在一些实施方案中,在原代细胞上或细胞系上测量由一种或多种TREM2配体与TREM2蛋白的结合诱导的一种或多种TREM2活性的增强,所述原代细胞包括但不限于树突细胞、骨髓源性树突细胞、单核细胞、小胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞和库普弗细胞。

[0136] 在某些实施方案中,与在不存在本公开抗TREM2抗体的情况下由一种或多种TREM2配体与TREM2的结合诱导的一种或多种TREM2活性水平相比,增强由一种或多种TREM2配体与TREM2蛋白的结合诱导的一种或多种TREM2活性的所述抗TREM2抗体诱导至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少11倍、至少12倍、至少13倍、至少14倍、至少15倍、至少16倍、至少17倍、至少18倍、至少19倍、至少20倍或更多倍的一种或多种TREM2活性的增加。

[0137] 在一些实施方案中,可通过本公开的抗TREM2抗体和/或本公开的一种或多种TREM2配体诱导并且/或者增强的TREM2活性包括但不限于:TREM2结合至DAP12;DAP12磷酸化;Syk激酶活化;调节一种或多种选自IFN- β 、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、YM-1、IL-6、IL-8、CRP、CD86、MCP-1/CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CCR2、CXCL-10、Gata3、Rorc、IL-20家族成员、IL-33、LIF、IFN- γ 、OSM、CNTF、GM-CSF、CSF-1、MHC-II、OPN、CD11c、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18和IL-23的促炎介质,任选地其中所述调节在一种或多种选自以下的细胞中发生:巨噬细胞、M1巨噬细胞、活化M1巨噬细胞、M2巨噬细胞、树突细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞和小胶质细胞;将Syk、ZAP70或两者募集至DAP12/TREM2复合物;增加一种或多种TREM2依赖性基因的活性,任选地其中所述一种或多种TREM2依赖性基因包括活化T细胞核因子(NFAT)转录因子;增加树突细胞、巨噬细胞、M1巨噬细胞、活化M1巨噬细胞、M2巨噬细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞、小胶质细胞、M1小胶质细胞、活化M1小胶质细胞和M2小胶质细胞或它们的任何组合的存活;调节一种或多种选自CD83、CD86 MHC II类、CD40以及它们的任何组合的刺激分子的表达,任选地其中所述CD40在树突细胞、单核细胞、巨噬细胞或它们的任何组合上表达,并且任选地其中所述树突细胞包括骨髓源性树突细胞;增加记忆力;以及减少认知缺陷。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体在施用至个体时增加记忆并且/或者减少认知缺陷。

[0138] Syk磷酸化

[0139] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体可在结合至于细胞中表达的TREM2蛋白

后诱导脾酪氨酸激酶 (Syk) 磷酸化。

[0140] 脾酪氨酸激酶 (Syk) 是细胞内信号传导分子,所述细胞内信号传导分子通过使若干种底物磷酸化在TREM2下游起作用,由此促进信号传导复合物的形成,从而导致细胞活化和炎症过程。

[0141] 在一些实施方案中,激动剂TREM2抗体诱导Syk活化的能力通过培养小鼠巨噬细胞以及测量细胞提取物中Syk蛋白的磷酸化状态来确定。在一些实施方案中,使来自野生型 (WT) 小鼠、TREM2敲除 (KO) 小鼠和缺乏功能性Fc受体共同 γ 链基因表达的小鼠 (Fc γ R KO; 参考文献:Takai T 1994.Cell 76 (3):519-29) 的骨髓源性巨噬细胞 (BMDM) 在1%血清RPMI中饥饿4小时,接着用PBS-EDTA从组织培养皿中取出,用PBS洗涤,然后计数。在一些实施方案中,在冰上将细胞用全长TREM2抗体或对照抗体包被15分钟。在一些实施方案中,在用冷PBS洗涤之后,将细胞在山羊抗人IgG存在下在37°C下孵育指定的时间段。在一些实施方案中,在刺激之后,用裂解缓冲液 (1%v/v NP-40%、50mM Tris-HCl (pH 8.0)、150mM NaCl、1mM EDTA、1.5mM MgCl₂、10%甘油,加上蛋白酶和磷酸酶抑制剂) 使细胞裂解,随后在4°C下以16,000g离心10分钟以去除不可溶物质。在一些实施方案中,接着用抗Syk抗体 (对于BMDM为N-19,或对于人DC为4D10, Santa Cruz Biotechnology) 使裂解物免疫沉淀。在一些实施方案中,将沉淀的蛋白质通过SDS-PAGE分级,转移至PVDF膜并用抗磷酸酪氨酸抗体 (4G10, Millipore) 探测。在一些实施方案中,为了确认所有底物得到充分免疫沉淀,用抗Syk抗体 (Abcam, 对于BMDM) 或抗Syk (Novus Biological, 对于人DC) 重新探测免疫印迹。在一些实施方案中,如 (例如Peng等人, (2010) Sci Signal., 3 (122):ra38) 中所述用增强化学发光 (ECL) 系统 (GE healthcare) 进行可视化。

[0142] DAP12结合和磷酸化

[0143] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体可诱导TREM2与DAP12的结合。在其他实施方案中,本公开的抗TREM2抗体可在结合至于细胞中表达的TREM2蛋白后诱导DAP12磷酸化。在其他实施方案中,TREM2介导的DAP12磷酸化由一种或多种SRC家族酪氨酸激酶诱导。Src家族酪氨酸激酶的实例包括但不限于Src、Syk、Yes、Fyn、Fgr、Lck、Hck、Blk、Lyn和Frk。

[0144] DAP12不同地称为TYRO蛋白酪氨酸激酶结合蛋白、TYROBP、KARAP和PLOS。DAP12是在其细胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的活化基序 (ITAM) 的跨膜信号传导蛋白。在某些实施方案中,抗TREM2抗体可在其ITAM基序中诱导DAP12磷酸化。可使用本领域中已知的用于确定蛋白质磷酸化 (诸如DAP12磷酸化) 的任何方法。

[0145] 在一些实施方案中,DAP12由SRC家族激酶磷酸化,从而导致Syk激酶、ZAP70激酶或两者至DAP12/TREM2复合物的募集和活化。

[0146] 在一些实施方案中,TREM2抗体诱导DAP12活化的能力通过培养小鼠巨噬细胞以及测量细胞提取物中DAP12蛋白的磷酸化状态来确定。在一些实施方案中,在用抗体刺激之前,使小鼠野生型 (WT) 骨髓源性巨噬细胞 (BMDM) 和TREM2敲除 (KO) BMDM在1%血清RPMI中饥饿4小时。在一些实施方案中,在冰中将 15×10^6 个细胞与全长TREM2抗体或对照抗体一起孵育15分钟。在一些实施方案中,将细胞洗涤并在山羊抗人IgG存在下在37°C下孵育指定的时间段。

[0147] 在一些实施方案中,在刺激之后,用裂解缓冲液 (1%v/v正十二烷基- β -D-麦芽糖苷、50mM Tris-HCl (pH 8.0)、150mM NaCl、1mM EDTA、1.5mM MgCl₂、10%甘油,加上蛋白酶

和磷酸酶抑制剂)使细胞裂解,随后在4℃下以16,000g离心10分钟以去除不可溶物质。

[0148] 在一些实施方案中,用第二TREM2抗体(R&D Systems)使细胞裂解物免疫沉淀。在一些实施方案中,将沉淀的蛋白质通过SDS-PAGE分级,转移至PVDF膜并用抗磷酸酪氨酸Ab(4G10, Millipore)探测。在一些实施方案中,将膜剥离并用抗DAP12抗体(Cells Signaling, D7G1X)进行再探测。在一些实施方案中,用于TREM2免疫沉淀的每种细胞裂解物含有等量的蛋白质,如对照抗体(抗肌动蛋白, Santa Cruz)所指示的。

[0149] 表达TREM2的细胞的增殖、存活和功能性

[0150] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体在结合至于细胞中表达的TREM2蛋白后可增加树突细胞、巨噬细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞和小胶质细胞的增殖、存活和/或功能。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体不抑制一种或多种先天免疫细胞的生长(例如,增殖和/或存活)。

[0151] 小胶质细胞是一类胶质细胞,是脑和脊髓的驻留巨噬细胞,因此充当中枢神经系统(CNS)中主动免疫防御的第一和主要形式。小胶质细胞构成脑内总胶质细胞群体的20%。小胶质细胞不断清除CNS中的斑块、受损神经元和感染原。脑和脊髓视为“免疫豁免”器官,这是因为它们通过一系列称为血脑屏障的内皮细胞与身体的其他部分分开,这可防止大部分感染到达脆弱的神经组织。在感染原直接引入至脑或跨越血脑屏障的情形下,小胶质细胞必须快速反应以减少炎症并且在感染原损害敏感神经组织之前将其破坏。由于来自身体其他部分的抗体不可用(很少有抗体足够小而穿过血脑屏障),因此小胶质细胞必须能够识别异物,将其吞噬并且充当使T细胞活化的抗原呈递细胞。由于此过程必须快速完成以防止潜在的致命损害,因此小胶质细胞对CNS中即使小的病理性变化也极敏感。它们部分地因具有独特钾通道实现此敏感性,所述钾通道对细胞外钾的即使小的变化也有反应。

[0152] 如本文所用,本公开的巨噬细胞包括但不限于M1巨噬细胞、活化M1巨噬细胞和M2巨噬细胞。如本文所用,本公开的小胶质细胞包括但不限于M1小胶质细胞、活化M1小胶质细胞和M2小胶质细胞。

[0153] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体可增加树突细胞、单核细胞和/或巨噬细胞上CD83和/或CD86的表达。

[0154] 如本文所用,如果用本公开的抗TREM2抗体治疗的受试者中树突细胞、巨噬细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞和/或小胶质细胞的增殖速率、存活和/或功能大于未用所述抗TREM2抗体治疗的相应受试者中树突细胞、巨噬细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞和/或小胶质细胞的增殖速率、存活和/或功能,那么巨噬细胞、树突细胞、单核细胞和/或小胶质细胞的增殖速率、存活和/或功能可包括增加的表达。在一些实施方案中,与未用本公开的抗TREM2抗体治疗的相应受试者中树突细胞、巨噬细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞和/或小胶质细胞的增殖速率、存活和/或功能相比,本公开的抗TREM2抗体可使受试者中树突细胞、巨噬细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞和/或小胶质细胞的增殖速率、存活和/或功能增加例如至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少100%、至少110%、至少115%、至少120%、至少125%、至少130%、至少135%、至少140%、至少145%、至少150%、至少160%、至少170%、至少180%、

至少190%或至少200%。在其他实施方案中,与未用本公开的抗TREM2抗体治疗的相应受试者中树突细胞、巨噬细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞和/或小胶质细胞的增殖速率、存活和/或功能相比,本公开的抗TREM2抗体可使受试者中树突细胞、巨噬细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞和/或小胶质细胞的增殖速率、存活和/或功能增加例如至少1.5倍、至少1.6倍、至少1.7倍、至少1.8倍、至少1.9倍、至少2.0倍、至少2.1倍、至少2.15倍、至少2.2倍、至少2.25倍、至少2.3倍、至少2.35倍、至少2.4倍、至少2.45倍、至少2.5倍、至少2.55倍、至少3.0倍、至少3.5倍、至少4.0倍、至少4.5倍、至少5.0倍、至少5.5倍、至少6.0倍、至少6.5倍、至少7.0倍、至少7.5倍、至少8.0倍、至少8.5倍、至少9.0倍、至少9.5倍或至少10倍。

[0155] 在一些实施方案中,为了评价抗TREM2抗体诱导或增强体外细胞存活的能力,将缺乏FcγRI、FcγRIII和FcεRI受体的γ链亚基的巨噬细胞(FcγR1K0小鼠,参考文献:Takai T、Li M、Sylvestre D、Clynes R、Ravetch J. (1994). Cell, 76:519-529)在板结合的抗TREM2抗体存在下培养,并且当细胞在次优生长条件下培养时测定细胞活力。在一些实施方案中,通过用冷PBS冲洗胫骨和股骨骨髓细胞来获得来自FcγR1 K0小鼠(Taconic,模型584)的鼠骨髓前体细胞。在一些实施方案中,在用PBS一次洗涤之后,使用ACK裂解缓冲液(Lonza)使红细胞裂解,用PBS洗涤两次并以 0.5×10^6 个细胞/ml重悬浮在具有指示量的产生巨噬细胞的M-CSF(PeproTech)的完全RPMI培养基(10%FCS,青霉素/链霉素,Gln,neAA)中。在一些实施方案中,为了分析骨髓源性巨噬细胞的细胞活力,如上制备细胞并以 2.5×10^4 个/200μl铺板在具有在经非组织培养物处理的板中的次优量的M-CSF(10ng/ml)的96孔板中,持续两天。在一些实施方案中,然后使用ToxGlo™试剂盒(Promega)定量细胞并将发光确定为细胞活力的量度。在一些实施方案中,所有实验均在存在或不存在抗TREM2抗体或同种型对照抗体的情况下实施。

[0156] TREM2依赖性基因表达

[0157] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体可增加TREM2依赖性基因的活性和/或表达,诸如活化T细胞核因子(NFAT)转录因子家族的一种或多种转录因子。

[0158] 在一些实施方案中,在NFAT(活化T细胞核因子)启动子的控制下使用荧光素酶报告基因评价可溶性全长抗TREM2抗体活化小鼠或人TREM2依赖性基因的能力。在一些实施方案中,将源自小鼠胸腺淋巴瘤T淋巴细胞的细胞系BW5147.G.1.4(ATCC®TIB48™)用小鼠TREM2和DAP12以及Cignal Lenti NFAT-荧光素酶病毒(Qiagen)感染。在一些实施方案中,或者将BW5147.G.1.4细胞系用人TREM2/DAP12融合蛋白和Cignal Lenti NFAT-荧光素酶病毒(Qiagen)感染。在一些实施方案中,作为信号传导的阳性对照,将PMA(0.05μg/ml)和离子霉素(0.25μM)一起添加。在一些实施方案中,将细胞与可溶性抗TREM2和同种型对照抗体一起孵育6小时,并通过将OneGlo试剂(Promega)添加到每个孔中并在室温下在板振荡器上孵育3分钟来测量荧光素酶活性。在一些实施方案中,使用BioTek酶标仪测量荧光素酶信号。在一些实施方案中,细胞由于内源性配体的存在或由于自发性受体聚集而展示强直性TREM2依赖性信号传导,这导致TREM2信号传导。

[0159] 在一些实施方案中,例如利用体外细胞测定来测量由一种或多种TREM2配体与TREM2蛋白的结合诱导的一种或多种TREM2活性的增强。在一些实施方案中,一种多种TREM2活性的增加可通过本文所述的或本领域已知的任何合适的基于细胞的体外测定或合适的

体内模型来测量,例如通过利用基于荧光素酶的报告基因测定来测量TREM2依赖性基因表达,使用蛋白质印迹分析来测量下游信号传导配偶体(诸如Syk)的TREM2诱导的磷酸化的增加,或通过利用流式细胞术诸如荧光活化细胞分选法(FACS)来测量TREM2活化的标志物的细胞表面水平的变化。可使用本文所述的或本领域已知的任何基于细胞的体外测定或合适的体内模型来测量TREM2与一种或多种TREM2配体之间的相互作用(例如,结合)。

[0160] 在一些实施方案中,通过基于细胞的体外测定来测量一种或多种TREM2活性的增加。在一些实施方案中,为了评价抗TREM2抗体增强体外细胞存活的能力,将缺乏FcγRI、FcγRIII和FcεRI受体的γ链亚基的巨噬细胞(Fcγr1K0小鼠,参考文献:Takai T、Li M、Sylvestre D、Clynes R、Ravetch J. (1994). Cell, 76:519-529)在板结合的抗TREM2抗体存在下培养,并且当细胞在次优生长条件下培养时测定细胞活力。在一些实施方案中,通过用冷PBS冲洗胫骨和股骨骨髓细胞来获得来自Fcγr1 K0小鼠(Taconic,模型584)的鼠骨髓前体细胞。在一些实施方案中,在用PBS一次洗涤之后,使用ACK裂解缓冲液(Lonza)使红细胞裂解,用PBS洗涤两次并以 0.5×10^6 个细胞/ml重悬浮在具有指示量的产生巨噬细胞的M-CSF(Peprotech)的完全RPMI培养基(10%FCS,青霉素/链霉素,Gln,neAA)中。在一些实施方案中,为了分析骨髓源性巨噬细胞的细胞活力,如上制备细胞并以 2.5×10^4 个/200μl铺板在具有在经非组织培养物处理的板中的次优量的M-CSF(10ng/ml)的96孔板中,持续两天。在一些实施方案中,然后使用ToxGlo™试剂盒(Promega)定量细胞并将发光确定为细胞活力的量度。在一些实施方案中,所有实验均在存在或不存在抗TREM2抗体或同种型对照抗体的情况下实施。

[0161] 在一些实施方案中,通过基于细胞的体内测定来测量一种或多种TREM2活性的增加。在一些实施方案中,为了评价抗TREM2抗体增加体内免疫细胞的数量能力,对C57B16小鼠腹膜内(IP)注射抗TREM2抗体或小鼠IgG1同种型对照抗体,并且然后通过FACS定量脑中免疫细胞的数量。在一些实施方案中,每组三至四只小鼠接受40mg/kg抗TREM2抗体或同种型对照抗体mIgG1(克隆MOPC-21,Bioxcell)的IP注射。在一些实施方案中,48小时后,收获整个脑,用PBS冲洗,在37℃下在含有1mg/ml胶原酶的PBS中孵育并通过细胞过滤器(cell strainer)进行处理以获得单细胞悬浮液。在一些实施方案中,然后在冰上将细胞与抗CD45-PerCp-Cy7、抗CD11b-PerCP-Cy5.5、抗Gr1-FITC抗体以及细胞活力染料(Life Technologies,目录号L34957)一起孵育30分钟,然后用冷FACS缓冲液洗涤两次。在一些实施方案中,然后通过FACS分析4%PFA固定的样品。在一些实施方案中,在BD FACSCanto™II细胞仪(Becton Dickinson)上获取数据并用FlowJo软件进行分析。

[0162] 在一些实施方案中,当TREM2配体在其 EC_{50} 浓度下使用时,与在不存在本公开的抗TREM2抗体的情况下由TREM2配体与TREM2蛋白的结合诱导的TREM2依赖性基因转录的水平相比,如果所述抗体在范围为约0.5nM至约50nM、或大于50nM的浓度下使用时诱导范围为约1.5倍至约6倍、或多于6倍的配体诱导的TREM2依赖性基因转录的增加,则所述抗TREM2抗体增强由TREM2配体与TREM2蛋白的结合诱导的一种或多种TREM2活性。在一些实施方案中,当TREM2配体在其 EC_{50} 浓度下使用时,与在不存在所述抗TREM2抗体的情况下由TREM2配体与TREM2蛋白的结合诱导的TREM2依赖性基因转录的水平相比,当在范围为约0.5nM至约50nM、或大于50nM的浓度下使用时,配体诱导的TREM2依赖性基因转录的增加为至少1.5倍、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少11倍、

至少12倍、至少13倍、至少14倍、至少15倍、至少16倍、至少17倍、至少18倍、至少19倍、至少20倍或更多倍。

[0163] 在一些实施方案中,所述抗TREM2抗体在至少0.5nM、至少0.6nM、至少0.7nM、至少0.8nM、至少0.9nM、至少1nM、至少2nM、至少3nM、至少4nM、至少5nM、至少6nM、至少7nM、至少8nM、至少9nM、至少10nM、至少15nM、至少20nM、至少25nM、至少30nM、至少35nM、至少40nM、至少45nM、至少46nM、至少47nM、至少48nM、至少49nM或至少50nM的浓度下使用。在一些实施方案中,TREM2配体是磷脂酰丝氨酸(PS)。在一些实施方案中,TREM2配体是鞘磷脂(SM)。在一些实施方案中,一种或多种TREM2活性的增加可通过本文所述的或本领域已知的任何合适的基于细胞的体外测定或合适的体内模型来测量。在一些实施方案中,使用基于荧光素酶的报告基因测定来测量在存在和不存在抗体的情况下配体诱导的TREM2依赖性基因表达的倍数增加,如例如W02017/062672和W02019/028292所述。

[0164] 如本文所用,利用本文所述的或本领域已知的任何体外测定或基于细胞的培养物测定,如果在饱和抗体浓度下,本公开的抗TREM2抗体使配体与TREM2的结合降低小于20%,则所述抗TREM2抗体不竞争、不抑制或不以其他方式阻断一种或多种TREM2配体与TREM2之间的相互作用(例如,结合)。在一些实施方案中,利用本文所述的或本领域已知的任何体外测定或基于细胞的培养物测定,在饱和抗体浓度下,本公开的抗TREM2抗体使一种或多种TREM2配体与TREM2之间的相互作用(例如,结合)抑制小于20%、小于19%、小于18%、小于17%、小于16%、小于15%、小于14%、小于13%、小于12%、小于11%、小于10%、小于9%、小于8%、小于7%、小于6%、小于5%、小于4%、小于3%、小于2%、或小于1%。

[0165] 减少可溶性TREM2的抗TREM2抗体

[0166] 在一些实施方案中,激动剂抗TREM2抗体减少可溶性TREM2(sTREM2)。在一些实施方案中,激动剂抗TREM2抗体降低从细胞的细胞表面“脱落”到细胞外样品中(例如,脱落)的sTREM2的水平。在一些实施方案中,所述抗体结合至TREM2的某一区域,从而阻断TREM2的裂解。在此类实施方案中,所述抗体结合至包含His157的区域,即TREM2的裂解位点。

[0167] 与不存在抗TREM2抗体的情况下sTREM2的量相比,抗TREM2抗体对TREM2裂解的抑制程度与存在抗TREM2抗体的情况下可溶性TREM2(sTREM2)的量负相关。举例来说,如通过例如基于ELISA的sTREM2定量所测定的,当在存在抗TREM2抗体的情况下sTREM2的量为不存在抗TREM2抗体的情况下sTREM2的量的0-90%、优选0-80%、更优选0-70%、甚至更优选0-60%、甚至更优选0-50%且甚至更优选0-20%时,所述抗TREM2抗体可被视为抑制TREM2的裂解的抗TREM2抗体。

[0168] 在一些实施方案中,如果经处理样品中的sTREM2的量与对照值相比降低至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或更多,则抗TREM2抗体降低sTREM2的水平。在一些实施方案中,如果经处理样品中的sTREM2的量与对照值相比降低至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或更多倍,则抗TREM2抗体降低sTREM2的水平。在一些实施方案中,对照值是未经处理的样品(例如,来自未用抗TREM2抗体处理的表达TREM2的细胞的上清液,或来自未用抗TREM2抗体处理的受试者的样品)或用适当的非TREM2结合抗体处理的样品中的sTREM2的量。

[0169] 在一些实施方案中,使用包含流体(例如,血液、血浆、血清、尿液或脑脊液)的样品测量sTREM2脱落。在一些实施方案中,样品包括脑脊液。在一些实施方案中,样品包括来自

细胞培养物的上清液(例如,来自内源性表达TREM2的原代细胞或细胞系(诸如人巨噬细胞),或已经工程改造以表达TREM2的原代细胞或细胞系的上清液)。

[0170] 在一些实施方案中,使用免疫测定来测量样品中的sTREM2的水平。免疫测定在本领域中是已知的并且包括但不限于酶免疫测定(EIA)(诸如酶倍增免疫测定(EMIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、微粒酶免疫测定(MEIA))、免疫组织化学(IHC)、免疫细胞化学、毛细管电泳免疫测定(CEIA)、放射免疫测定(RIA)、免疫荧光、化学发光免疫测定(CL)和电化学发光免疫测定(ECL)。在一些实施方案中,使用ELISA测定来测量sTREM2水平。

[0171] 在一些实施方案中,可使用ELISA测定来定量细胞培养物上清液中的sTREM2的水平。在一些实施方案中,使用Meso Scale Discovery SECTOR Imager 2400进行对人sTREM2的ELISA。在一些实施方案中,将链霉亲和素包被的96孔板在含0.5%牛血清白蛋白(BSA)和0.05%Tween 20的PBS(pH 7.4)(封闭缓冲液)中于4℃下封闭过夜。在一些实施方案中,将板与在封闭缓冲液中稀释的生物素化的多克隆山羊抗人TREM2捕获抗体(0.25mg/ml;R&D Systems)一起振荡1小时。在一些实施方案中,随后将板用含0.05%Tween 20的PBS(洗涤缓冲液)洗涤四次,并将其在室温下与在补充有蛋白酶抑制剂(Sigma)的含0.25%BSA和0.05%Tween 20的PBS(pH 7.4)(测定缓冲液)中1:4稀释的样品一起孵育2小时。在一些实施方案中,将重组人TREM2蛋白(Holzel Diagnostika)在测定缓冲液中以两倍连续稀释度稀释并用于标准曲线(浓度范围,4000至62.5pg/ml)。在一些实施方案中,将板用洗涤缓冲液洗涤3次,持续5分钟,之后在室温下与在封闭缓冲液中稀释的小鼠单克隆抗TREM2抗体(1mg/ml;Santa Cruz Biotechnology;B-3)一起孵育1小时。在一些实施方案中,在另外三次洗涤步骤之后,将板与SULFO-TAG标记的抗小鼠二抗(1:1000;Meso Scale Discovery)一起孵育并在黑暗中孵育1小时。在一些实施方案中,将板用洗涤缓冲液洗涤三次,随后在PBS中进行两次洗涤步骤,并通过添加Meso Scale Discovery Read缓冲液显色。在一些实施方案中,使用Meso Scale Discovery SECTORImager 2400阅读器测量电化学刺激后620nm处的光发射。在一些实施方案中,为了定量分泌的sTREM2的水平,一式两份地分析来自生物学重复的条件培养基。在一些实施方案中,使用MasterPlex ReaderFit软件(MiraiBio Group,Hitachi Solutions America)通过五参数逻辑拟合生成sTREM2标准曲线。在一些实施方案中,随后将sTREM2的水平归一化为从蛋白质印迹定量的未成熟TREM2的水平。

[0172] 在一些实施方案中,sTREM2可以是细胞TREM2受体的无活性变体。在一些实施方案中,sTREM2可存在于外周诸如血浆中,或受试者的脑中,并且可隔离(sequester)抗TREM2抗体。此类隔离的抗体将无法结合并活化例如细胞上存在的细胞TREM2受体。因此,在某些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体(诸如本公开的激动剂抗TREM2抗体)不结合至可溶性TREM2。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体(诸如本公开的激动剂抗TREM2抗体)不结合至体内可溶性TREM2。在一些实施方案中,本公开的不结合可溶性TREM2的激动剂抗TREM2抗体可结合至TREM2上的表位,所述表位例如可包括细胞TREM2的在sTREM2中不包含的细胞外结构域的一部分,例如氨基酸残基161-175内的一个或多个氨基酸残基;可处于TREM2的跨膜部分处或附近;或者可包括TREM2的跨膜部分。

[0173] 影响TREM2簇集的抗体

[0174] 在体内,本公开的抗TREM2抗体可通过多种潜在机制活化受体。在一些实施方案中,本公开的激动性抗TREM2抗体由于恰当表位特异性具有活化呈溶液形式的TREM2而不必

与二抗簇集、在板上结合、或通过Fc γ 受体簇集的能力。在一些实施方案中，本公开的抗TREM2抗体具有人抗体的同种型，诸如IgG2，所述同种型由于其独特的结构具有使受体簇集、或使受体保持在簇集构型中、从而活化受体（诸如TREM2）而不结合至Fc受体的固有能力（例如White等人，(2015) Cancer Cell 27,138-148）。

[0175] 在某些实施方案中，激动剂抗TREM2抗体可诱导或维持在细胞表面上的簇集以活化TREM2并转导信号。在某些实施方案中，具有恰当表位特异性的激动剂抗TREM2抗体可诱导或维持在细胞表面上的TREM2簇集并且/或者活化TREM2。在一些实施方案中，激动剂抗TREM2抗体结合至SEQ ID NO:1的氨基酸残基124-153内的一个或多个氨基酸，或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基124-153的氨基酸残基；SEQ ID NO:1的氨基酸残基129-153内的一个或多个氨基酸，或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基129-153的氨基酸残基；SEQ ID NO:1的氨基酸残基140-149内的一个或多个氨基酸，或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基140-149的氨基酸残基；SEQ ID NO:1的氨基酸残基149-157内的一个或多个氨基酸，或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基149-157的氨基酸残基；或SEQ ID NO:1的氨基酸残基153-162内的一个或多个氨基酸，或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基153-162的氨基酸残基。在一些实施方案中，激动剂抗TREM2抗体结合至选自由SEQ ID NO:1的D140、L141、W142、F143、P144、E151、D152、H154、E156和H157组成的组的一个或多个氨基酸残基，或哺乳动物TREM2蛋白上的对应于选自由SEQ ID NO:1的D140、L141、W142、F143、P144、E151、D152、H154、E156和H157组成的组的氨基酸残基的一个或多个氨基酸残基。在一些实施方案中，本公开的抗TREM2抗体可通过结合至相邻细胞上的Fc γ 受体而使受体（例如，TREM2）簇集。抗体的恒定IgG Fc部分与Fc γ 受体的结合导致抗体的聚集，并且抗体进而使所述抗体通过其可变区所结合至的受体聚集（Chu等人(2008) Mol Immunol, 45:3926-3933；和Wilson等人，(2011) Cancer Cell 19, 101-113）。可使用本领域技术人员已知的任何合适的测定（诸如在W02017/062672和W02019/028292中描述的那些测定）来确定抗体簇集。

[0176] 其他机制也可用于使受体（例如，TREM2）簇集。举例来说，在一些实施方案中，交联在一起的抗体片段（例如，Fab片段）可用于以与如上文所述的具有结合Fc γ 受体的Fc区的抗体相似的方式使受体（例如，TREM2）簇集。在一些实施方案中，如果交联的抗体片段（例如，Fab片段）诱导细胞表面上的受体簇集并且结合靶标（例如，TREM2）上的适当表位，则所述交联的抗体片段可充当激动剂抗体。

[0177] 依赖于结合至Fc γ R受体来活化靶向受体的抗体如果被工程改造成消除Fc γ R结合，则可能丧失其激动剂活性（参见例如Wilson等人，(2011) Cancer Cell 19,101-113；Armour等人，(2003) Immunology 40 (2003) 585-593）；和White等人，(2015) Cancer Cell 27,138-148）。因此，认为当具有适当表位特异性的本公开的抗TREM2抗体具有Fc结构域时，所述抗体可活化TREM2。

[0178] 示例性抗体Fc同种型和修饰提供于下表A中。在一些实施方案中，抗体具有下表A中所列的Fc同种型。

[0179] 表A：能够结合Fc γ 受体的示例性抗体Fc同种型

[0180]

Fc 同种型	突变(EU 编号方案)
IgG1	N297A
IgG1	D265A 和 N297A
IgG1	D270A
IgG1	L234A 和 L235A L234A 和 G237A L234A 和 L235A 和 G237A
IgG1	P238D 和/或 L328E 和/或 S267E/L328F 和/或 E233 和/或 G237D 和/或 H268D 和/或 P271G 和/或 A330R
IgG1	P238D 和 L328E 和 E233D 和 G237D 和 H268D 和 P271G 和 A330R
IgG1	P238D 和 L328E 和 G237D 和 H268D 和 P271G 和 A330R
IgG1	P238D 和 S267E 和 L328F 和 E233D 和 G237D 和 H268D 和 P271G 和 A330R

[0181]

Fc 同种型	突变(EU 编号方案)
IgG1	P238D 和 S267E 和 L328F 和 G237D 和 H268D 和 P271G 和 A330R
IgG2	V234A 和 G237A
IgG4	L235A 和 G237A 和 E318A
IgG4	S228P 和 L236E
IgG2/4 杂合体	IgG2 aa 118 至 260 和 IgG4 aa 261 至 447 H268Q 和 V309L; 和 A330S 和 P331S
IgG1	C226S 和 C229S 和 E233P 和 L234V 和 L235A
IgG1	L234F 和 L235E 和 P331S
IgG2	C232S 或 C233S
IgG2	A330S 和 P331S
IgG1	S267E 和 L328F 单独的 S267E
IgG2	S267E 和 L328F
IgG4	S267E 和 L328F
IgG2	WT HC 与 κ (轻链) LC HC C127S 与 κ LC κ LC C214S κ LC C214S 和 HC C233S κ LC C214S 和 HC C232S 以上所列任何突变中的任一者以及 A330S 和 P331S 突变 WT IgG1 的 F(ab') ₂ 片段和以上所列突变中的任一者
IgG1	用 IgG2 的 CH1 和铰链区取代 IgG1 的恒定重链 1 (CH1)和铰链区 ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDPHKPS NTKVDKTVR KCCVECPPCP (SEQ ID NO: 42) 具有 κ LC
IgG1	以上所列突变中的任一者连同 A330L/A330S 和/或 L234F 和/或 L235E 和/或 P331S
IgG1、IgG2 或 IgG4	以上所列突变中的任一者连同 M252Y 和/或 S254T 和/或 T256E
小鼠 IgG1	用于小鼠疾病模型

[0182]	Fc 同种型	突变(EU 编号方案)
	IgG4	WT
	IgG1	以上所列突变中的任一者连同 E430G、E430S、E430F、E430T、E345K、E345Q、E345R、E345Y、S440Y、S440W 和/或它们的任何组合。
	IgG2	以上所列突变中的任一者连同 E430G、E430S、E430F、E430T、E345K、E345Q、E345R、E345Y、S440Y、S440W 和/或它们的任何组合。

[0183] 在一些实施方案中,抗体属于IgG类、IgM类或IgA类。在一些实施方案中,抗体具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。

[0184] 结合人活化Fcγ受体I、IIA、IIC、IIIA、IIIB和/或小鼠Fcγ受体I、III和IV的具有人IgG1或IgG3同种型的抗体及其突变体(例如Stroh1(2009)Current Opinion in Biotechnology 2009,20:685-691)也可以在体内充当激动剂抗体,但可能与ADCC相关效应有关。然而,与抑制性Fcγ受体FcγRIIB相比,此类Fcγ受体似乎不太可用于体内抗体结合(参见例如White等人,(2013)Cancer Immunol.Immunother.62,941-948;和Li等人,(2011)Science 333(6045):1030-1034.)。

[0185] 在某些实施方案中,抗体具有IgG2同种型。在一些实施方案中,抗体含有人IgG2恒定区。在一些实施方案中,人IgG2恒定区包括Fc区。在一些实施方案中,抗体独立于结合至Fc受体诱导一种或多种TREM2活性、DAPI2活性或两者。在一些实施方案中,抗体结合抑制性Fc受体。在某些实施方案中,抑制性Fc受体是抑制性Fc-γ受体IIB(FcγIIB),其最小化或消除ADCC。在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个修饰。举例来说,在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个氨基酸取代(例如,相对于相同同种型的野生型Fc区)。在一些实施方案中,所述一个或多个氨基酸取代选自V234A(Alegre等人,(1994)Transplantation 57:1537-1543.31;Xu等人,(2000)Cell Immunol,200:16-26),G237A(Cole等人(1999)Transplantation,68:563-571)、H268Q、V309L、A330S、P331S(US 2007/0148167;Armour等人(1999)Eur J Immunol 29:2613-2624;Armour等人(2000)The Haematology Journal 1(增刊1):27;Armour等人(2000)The Haematology Journal 1(增刊1):27)、C232S和/或C233S(White等人,(2015)Cancer Cell 27,138-148)、S267E、L328F(Chu等人,(2008)Mol Immunol,45:3926-3933)、M252Y、S254T和/或T256E,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。

[0186] 在一些实施方案中,抗体具有重链恒定结构域中含有C127S氨基酸取代的IgG2同种型,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例(White等人,(2015)Cancer Cell 27,138-148;Lightle等人,(2010)PROTEIN SCIENCE 19:753-762;和W02008079246)。

[0187] 在一些实施方案中,抗体具有κ轻链恒定结构域中含有C214S氨基酸取代的IgG2同种型,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例(White等人,(2015)Cancer Cell 27,138-148;Lightle等人,(2010)PROTEIN SCIENCE 19:753-762;和W02008079246)。

[0188] 在某些实施方案中,抗体具有IgG1同种型。在一些实施方案中,抗体含有小鼠IgG1恒定区。在一些实施方案中,抗体含有人IgG1恒定区。在一些实施方案中,人IgG1恒定区包括Fc区。在一些实施方案中,抗体结合抑制性Fc受体。在某些实施方案中,抑制性Fc受体是

抑制性Fc- γ 受体IIB(Fc γ IIB)。在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个修饰。举例来说,在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个氨基酸取代(例如,相对于相同同种型的野生型Fc区)。在一些实施方案中,所述一个或多个氨基酸取代选自N297A(Bolt S等人(1993)Eur J Immunol 23:403-411)、D265A(Shields等人(2001)R.J.Biol.Chem.276,6591-6604)、L234A、L235A(Hutchins等人(1995)Proc Natl Acad Sci USA,92:11980-11984;Alegre等人,(1994)Transplantation 57:1537-1543.31;Xu等人,(2000)Cell Immunol,200:16-26)、G237A(Alegre等人(1994)Transplantation 57:1537-1543.31;Xu等人(2000)Cell Immunol,200:16-26)、C226S、C229S、E233P、L234V、L234F、L235E(McEarchern等人,(2007)Blood,109:1185-1192)、P331S(Sazinsky等人,(2008)Proc Natl Acad Sci USA 2008,105:20167-20172)、S267E、L328F、A330L、M252Y、S254T和/或T256E,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。

[0189] 在一些实施方案中,抗体包括IgG2同种型重链恒定结构域1(CH1)和铰链区(White等人,(2015)Cancer Cell 27,138-148)。在某些实施方案中,IgG2同种型CH1和铰链区含有ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNF GTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCP(SEQ ID NO:42)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体Fc区含有S267E氨基酸取代、L328F氨基酸取代或两者和/或N297A或N297Q氨基酸取代,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。

[0190] 在某些实施方案中,抗体具有IgG4同种型。在一些实施方案中,抗体含有人IgG4恒定区。在一些实施方案中,人IgG4恒定区包括Fc区。在一些实施方案中,抗体结合抑制性Fc受体。在某些实施方案中,抑制性Fc受体是抑制性Fc- γ 受体IIB(Fc γ IIB)。在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个修饰。举例来说,在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个氨基酸取代(例如,相对于相同同种型的野生型Fc区)。在一些实施方案中,所述一个或多个氨基酸取代选自L235A、G237A、S228P、L236E(Reddy等人,(2000)J Immunol,164:1925-1933)、S267E、E318A、L328F、M252Y、S254T和/或T256E,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。

[0191] 在某些实施方案中,抗体具有杂合IgG2/4同种型。在一些实施方案中,抗体包括含有根据人IgG2的EU编号的氨基酸118至260和根据人IgG4的EU编号的氨基酸261-447的氨基酸序列(WO 1997/11971;WO 2007/106585)。

[0192] 在某些实施方案中,抗体含有小鼠IgG4恒定区(Bartholomaeus等人,(2014).J.Immunol.192,2091-2098)。

[0193] 在一些实施方案中,Fc区还含有一个或多个选自以下的额外氨基酸取代:根据EU编号的A330L、L234F、L235E或P331S;以及它们的任何组合。

[0194] 在某些实施方案中,抗体含有一个或多个在Fc区中选自以下的残基位置处的氨基酸取代:C127S、L234A、L234F、L235A、L235E、S267E、K322A、L328F、A330S、P331S、E345R、E430G、S440Y和它们的任何组合,其中残基的编号是根据EU编号。在一些实施方案中,Fc区含有在位置E430G、L243A、L235A和P331S处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。在一些实施方案中,Fc区含有在位置E430G和P331S处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。在一些实施方案中,Fc区含有在位置E430G和K322A处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。在一些实施方案中,Fc区含有在位置E430G、A330S和P331S处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。在一些实施方案中,Fc区含有在位置

E430G、K322A、A330S和P331S处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。在一些实施方案中,Fc区含有在位置E430G、K322A和A330S处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。在一些实施方案中,Fc区含有在位置E430G、K322A和P331S处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。在一些实施方案中,Fc区含有在位置S267E和L328F处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。在一些实施方案中,Fc区含有在位置C127S处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。在一些实施方案中,Fc区含有在位置E345R、E430G和S440Y处的氨基酸取代,其中残基位置的编号是根据EU编号。

[0195] 在一些实施方案中,抗体具有人IgG1同种型并且在Fc区中在残基位置P331S和E430G处包含氨基酸取代,其中残基的编号是根据EU编号。在残基位置P331S和E430G处包含氨基酸取代的Fc区可称为“PSEG”。

[0196] 其他IgG突变

[0197] 在一些实施方案中,本文所述IgG1变体中的一者或多者可与A330L突变(Lazar等人,(2006)Proc Natl Acad Sci USA,103:4005-4010)或L234F、L235E和/或P331S突变中的一者或多者(Sazinsky等人,(2008)Proc Natl Acad Sci USA,105:20167-20172)组合以消除补体活化,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。在一些实施方案中,本文所述的IgG变体可与一个或多个突变组合以延长人类血清中的抗体半衰期(例如根据EU编号惯例的M252Y、S254T、T256E突变)(Dall'Acqua等人,(2006)J Biol Chem,281:23514-23524;和Strohl等人,(2009)Current Opinion in Biotechnology,20:685-691)。

[0198] 在一些实施方案中,本公开的IgG4变体可与根据EU编号惯例的S228P突变(Angal等人,(1993)Mol Immunol,30:105-108)和/或与Peters等人,(2012)J Biol Chem.13;287(29):24525-33)中所述的一个或多个突变组合以增强抗体稳定化。

[0199] 示例性抗TREM2抗体

[0200] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体以高亲和力结合至TREM2,是激动剂,并诱导一种或多种TREM2活性。在一些实施方案中,与不存在分离的抗体的情况下由一种或多种TREM2配体与TREM2蛋白的结合诱导的一种或多种TREM2活性相比,抗TREM2抗体增强由一种或多种TREM2配体与TREM2蛋白的结合诱导的一种或多种TREM2活性。在一些实施方案中,抗TREM2抗体增强一种或多种TREM2活性,而不与一种或多种TREM2配体竞争与TREM2蛋白的结合或以其他方式阻断一种或多种TREM2配体与TREM2蛋白的结合。在一些实施方案中,抗体是人源化抗体、双特异性抗体、多价抗体或嵌合抗体。此类抗体的示例性描述存在于整个本公开中。在一些实施方案中,抗体是识别第一抗原和第二抗原的双特异性抗体。

[0201] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体结合至人TREM2或其同系物,包括但不限于哺乳动物(例如,非人哺乳动物)TREM2蛋白、小鼠TREM2蛋白(Uniprot登录号Q99NH8)、大鼠TREM2蛋白(Uniprot登录号D3ZZ89)、恒河猴TREM2蛋白(Uniprot登录号F6QVF2)、食蟹猴TREM2蛋白(NCBI登录号XP_015304909.1)、马TREM2蛋白(Uniprot登录号F7D6L0)、猪TREM2蛋白(Uniprot登录号H2EZZ3)和狗TREM2蛋白(Uniprot登录号E2RP46)。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体特异性结合至人TREM2。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体特异性结合至食蟹猴TREM2。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体特异性结合至人TREM2和食蟹猴TREM2两者。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体诱导至少一种本公开的TREM2活性。

[0202] 抗TREM2抗体结合区

[0203] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体结合至SEQ ID NO:1的氨基酸残基124-153内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基124-153的氨基酸残基;SEQ ID NO:1的氨基酸残基129-153内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基129-153的氨基酸残基;SEQ ID NO:1的氨基酸残基140-149内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基140-149的氨基酸残基;SEQ ID NO:1的氨基酸残基149-157内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基149-157的氨基酸残基;或SEQ ID NO:1的氨基酸残基153-162内的一个或多个氨基酸,或TREM2蛋白上的对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基153-162的氨基酸残基。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体结合SEQ ID NO:1的氨基酸残基D140、L141、W142、F143、P144、E151、D152、H154、E156和H157中的一者或多者,或哺乳动物TREM2蛋白上的对应于选自SEQ ID NO:1的D140、L141、W142、F143、P144、E151、D152、H154、E156和H157组成的组的氨基酸残基的一个或多个氨基酸残基。

[0204] 抗TREM2抗体轻链可变区和重链可变区

[0205] 在一些实施方案中,将在本公开的方法中使用的抗TREM2抗体描述于W02019/028292中,所述文献以引用方式并入本文。在一些实施方案中,将在本公开的方法中使用的抗TREM2抗体诱导或增强以下TREM2活性中的一者或多者:TREM2结合至DAP12;DAP12磷酸化;Syk激酶活化;调节一种或多种选自IFN- β 、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、YM-1、IL-6、IL-8、CRP、CD86、MCP-1/CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CCR2、CXCL-10、Gata3、Rorc、IL-20家族成员、IL-33、LIF、IFN- γ 、OSM、CNTF、GM-CSF、CSF-1、MHC-II、OPN、CD11c、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18和IL-23的促炎介质,任选地其中所述调节在一种或多种选自以下的细胞中发生:巨噬细胞、M1巨噬细胞、活化M1巨噬细胞、M2巨噬细胞、树突细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞和小胶质细胞;将Syk、ZAP70或两者募集至DAP12/TREM2复合物;增加一种或多种TREM2依赖性基因的活性,任选地其中所述一种或多种TREM2依赖性基因包括活化T细胞核因子(NFAT)转录因子;增加树突细胞、巨噬细胞、M1巨噬细胞、活化M1巨噬细胞、M2巨噬细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤朗格汉斯细胞、库普弗细胞、小胶质细胞、M1小胶质细胞、活化M1小胶质细胞和M2小胶质细胞或它们的任何组合的存活;调节一种或多种选自CD83、CD86 MHC II类、CD40以及它们的任何组合的刺激分子的表达,任选地其中所述CD40在树突细胞、单核细胞、巨噬细胞或它们的任何组合上表达,并且任选地其中所述树突细胞包括骨髓源性树突细胞;增加记忆力;以及减少认知缺陷。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体在施用至个体时增加记忆并且/或者减少认知缺陷。

[0206] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中重链可变结构域包含以下一项或多项:(a)HVR-H1,其包含与SEQ ID NO:34具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;(b)HVR-H2,其包含与SEQ ID NO:35具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;和(c)HVR-H3,其包含与SEQ ID NO:31具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少

92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列；并且/或者其中轻链可变结构域包含以下一项或多项：(a) HVR-L1，其包含与SEQ ID NO:41具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列；(b) HVR-L2，其包含与SEQ ID NO:33具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列；和(c) HVR-L3，其包含与SEQ ID NO:32具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。

[0207] 在一些实施方案中，本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域，其中重链可变结构域包含以下一项或多项：(a) HVR-H1，其包含与SEQ ID NO:36具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列；(b) HVR-H2，其包含与SEQ ID NO:37具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列；和(c) HVR-H3，其包含与SEQ ID NO:38具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列；并且/或者其中轻链可变结构域包含以下一项或多项：(a) HVR-L1，其包含与SEQ ID NO:39具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列；(b) HVR-L2，其包含与SEQ ID NO:40具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列；和(c) HVR-L3，其包含与SEQ ID NO:32具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。

[0208] 在一些实施方案中，本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域，其中重链可变区包含有包含氨基酸序列YAFSSDWMN (SEQ ID NO:36) 的HVR-H1、包含氨基酸序列RIYPGEGDTNYARKFHG (SEQ ID NO:37) 的HVR-H2、包含氨基酸序列ARLLRNKPGESYAMDY (SEQ ID NO:38) 的HVR-H3，并且轻链可变区包含有包含氨基酸序列RTSQSLVHSNAYTYLH (SEQ ID NO:39) 的HVR-L1、包含氨基酸序列KVSNRVS (SEQ ID NO:40) 的HVR-L2和包含氨基酸序列SQSTRVPYT (SEQ ID NO:32) 的HVR-L3。在一些实施方案中，本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域，其中重链可变区包含有包含氨基酸序列YAFSSQWMN (SEQ ID NO:34) 的HVR-H1、包含氨基酸序列RIYPGGGDTNYAGKFQG (SEQ ID NO:35) 的HVR-H2、包含氨基酸序列ARLLRNQPGESYAMDY (SEQ ID NO:31) 的HVR-H3，并且轻链可变区包含有包含氨基酸序列RSSQSLVHSNRYTYLH (SEQ ID NO:41) 的HVR-L1、包含氨基酸序列KVSNRFS (SEQ ID NO:33) 的HVR-L2和包含氨基酸序列SQSTRVPYT (SEQ ID NO:32) 的HVR-L3。在一些实施方案中，本公

开的抗TREM2抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区包含一个、两个、三个或四个选自VH FR1、VH FR2、VH FR3和VH FR4的框架区,其中:VH FR1包含选自由SEQ ID NO: 9-11组成的组的序列,VH FR2包含选自由SEQ ID NO:12和13组成的组的序列,VH FR3包含选自SEQ ID NO:14和15组成的组的序列,并且VH FR4包含SEQ ID NO:16的序列;并且/或者轻链可变区包含一个、两个、三个或四个选自VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4的框架区,其中:L FR1包含选自由SEQ ID NO:17-20组成的组的序列,VL FR2包含选自由SEQ ID NO:21和22组成的组的序列,VL FR3包含选自由SEQ ID NO:23和24组成的组的序列,并且VL FR4包含选自由SEQ ID NO:25和26组成的组的序列。

[0209] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中重链可变结构域包含与抗体AL2p-47的重链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:28的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸系列;并且/或者轻链可变结构域包含与抗体AL2p-47的轻链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:29的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸系列。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含与抗体AL2p-47的重链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:28的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列,其中重链可变结构域包含抗体AL2p-47的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含与抗体AL2p-47的轻链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:29的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列,其中轻链可变结构域包含抗体AL2p-47的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含与抗体AL2p-47的重链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:28的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的重链可变结构域(VH)序列且含有取代(例如,相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗TREM2抗体保留结合至TREM2的能力。在某些实施方案中,在抗体AL2p-47的重链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:28的氨基酸序列中总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体AL2p-47的重链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:28的氨基酸序列中总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失发生在FR区中。任选地,抗TREM2抗体包含抗体AL2p-47或SEQ ID NO:28的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,所述VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a) 抗体AL2p-47的HVR-H1氨基酸序列、(b) 抗体AL2p-47的HVR-H2氨基酸序列和(c) 抗体AL2p-47的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含与抗体AL2p-47的

轻链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:29的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的轻链可变结构域(VL)序列且含有取代(例如,相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗TREM2抗体保留结合至TREM2的能力。在某些实施方案中,在抗体AL2p-47的轻链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:29的氨基酸序列中总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体AL2p-47的轻链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:29的氨基酸序列中总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失发生在FR区中。任选地,抗TREM2抗体包含抗体AL2p-47或SEQ ID NO:29的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,所述VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)抗体AL2p-47的HVR-L1氨基酸序列、(b)抗体AL2p-47的HVR-L2氨基酸序列和(c)抗体AL2p-47的HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗体包含有包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的轻链可变区。

[0210] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中重链可变结构域包含与抗体AL2p-58的重链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:27的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸系列;并且/或者轻链可变结构域包含与抗体AL2p-58的轻链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸系列。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含与抗体AL2p-58的重链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:27的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列,其中重链可变结构域包含抗体AL2p-58的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含与抗体AL2p-58的轻链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列,其中轻链可变结构域包含抗体AL2p-58的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含与抗体AL2p-58的重链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:27的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的重链可变结构域(VH)序列且含有取代(例如,相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗TREM2抗体保留结合至TREM2的能力。在某些实施方案中,在抗体AL2p-58的重链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:27的氨基酸序列中总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体AL2p-58的重链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID

NO:27的氨基酸序列中总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失发生在FR区中。任选地,抗TREM2抗体包含抗体AL2p-58或SEQ ID NO:27的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,所述VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a) 抗体AL2p-58的HVR-H1氨基酸序列、(b) 抗体AL2p-58的HVR-H2氨基酸序列和(c) 抗体AL2p-58的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含与抗体AL2p-58的轻链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的轻链可变结构域(VL)序列且含有取代(例如,相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗TREM2抗体保留结合至TREM2的能力。在某些实施方案中,在抗体AL2p-58的轻链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:30的氨基酸序列中总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体AL2p-58的轻链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:30的氨基酸序列中总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失发生在FR区中。任选地,抗TREM2抗体包含抗体AL2p-58或SEQ ID NO:30的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,所述VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a) 抗体AL2p-58的HVR-L1氨基酸序列、(b) 抗体AL2p-58的HVR-L2氨基酸序列和(c) 抗体AL2p-58的HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗体包含有包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的轻链可变区。

[0211] 在一些实施方案中,所述抗体包含:包含SEQ ID NO:43的氨基酸的重链和包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的轻链;或包含SEQ ID NO:44的氨基酸的重链和包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的轻链。

[0212] 在一些实施方案中,所述抗体包含:包含SEQ ID NO:45的氨基酸的重链和包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链;或包含SEQ ID NO:46的氨基酸的重链和包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链。

[0213] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中重链可变结构域包含以下一项或多项:(a) HVR-H1,其包含与SEQ ID NO:50具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;(b) HVR-H2,其包含与SEQ ID NO:51具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;和(c) HVR-H3,其包含与SEQ ID NO:52具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;并且/或者其中轻链可变结构域包含以下一项或多项:(a) HVR-L1,其包含与SEQ ID NO:53具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;(b) HVR-L2,其包含与SEQ ID NO:54具有至少85%、至少

86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列；和(c) HVR-L3,其包含与SEQ ID NO:55具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。

[0214] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中重链可变结构域包含以下一项或多项:(a) HVR-H1,其包含与SEQ ID NO:58具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;(b) HVR-H2,其包含与SEQ ID NO:59具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;和(c) HVR-H3,其包含与SEQ ID NO:60具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;并且/或者其中轻链可变结构域包含以下一项或多项:(a) HVR-L1,其包含与SEQ ID NO:61具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;(b) HVR-L2,其包含与SEQ ID NO:62具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;和(c) HVR-L3,其包含与SEQ ID NO:63具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。

[0215] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中重链可变结构域包含以下一项或多项:(a) HVR-H1,其包含与SEQ ID NO:66具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;(b) HVR-H2,其包含与SEQ ID NO:67具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;和(c) HVR-H3,其包含与SEQ ID NO:68具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;并且/或者其中轻链可变结构域包含以下一项或多项:(a) HVR-L1,其包含与SEQ ID NO:69具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;(b) HVR-L2,其包含与SEQ ID NO:70具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;和(c) HVR-L3,其包含与SEQ ID NO:71具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、

至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。

[0216] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中重链可变结构域包含与抗体42E8.H1的重链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:56的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸系列;并且/或者轻链可变结构域包含与抗体42E8.H1的轻链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:57的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸系列。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含与抗体42E8.H1的重链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:56的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列,其中重链可变结构域包含抗体42E8.H1的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含与抗体42E8.H1的轻链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:57的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列,其中轻链可变结构域包含抗体42E8.H1的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含与抗体42E8.H1的重链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:56的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的重链可变结构域(VH)序列且含有取代(例如,相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗TREM2抗体保留结合至TREM2的能力。在某些实施方案中,在抗体42E8.H1的重链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:56的氨基酸序列中总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体42E8.H1的重链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:56的氨基酸序列中总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失发生在FR区中。任选地,抗TREM2抗体包含抗体42E8.H1或SEQ ID NO:56的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,所述VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a) 抗体42E8.H1的HVR-H1氨基酸序列、(b) 抗体42E8.H1的HVR-H2氨基酸序列和(c) 抗体42E8.H1的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含与抗体42E8.H1的轻链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:57的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的轻链可变结构域(VL)序列且含有取代(例如,相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗TREM2抗体保留结合至TREM2的能力。在某些实施方案中,在抗体42E8.H1的轻链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:57的氨基酸序列中总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺

失。在某些实施方案中,在抗体42E8.H1的轻链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:57的氨基酸序列中总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失发生在FR区中。任选地,抗TREM2抗体包含抗体42E8.H1或SEQ ID NO:57的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,所述VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a) 抗体42E8.H1的HVR-L1氨基酸序列、(b) 抗体42E8.H1的HVR-L2氨基酸序列和(c) 抗体42E8.H1的HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗体包含有包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的轻链可变区。

[0217] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中重链可变结构域包含与抗体RS9.F6的重链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:64的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸系列;并且/或者轻链可变结构域包含与抗体RS9.F6的轻链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸系列。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含与抗体RS9.F6的重链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:64的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列,其中重链可变结构域包含抗体RS9.F6的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含与抗体RS9.F6的轻链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列,其中轻链可变结构域包含抗体RS9.F6的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含与抗体RS9.F6的重链可变结构域氨基酸序列或与SEQ ID NO:64的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的重链可变结构域(VH)序列且含有取代(例如,相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗TREM2抗体保留结合至TREM2的能力。在某些实施方案中,在抗体RS9.F6的重链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:64的氨基酸序列中总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体RS9.F6的重链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:64的氨基酸序列中总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失发生在FR区中。任选地,抗TREM2抗体包含抗体RS9.F6或SEQ ID NO:64的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,所述VH包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a) 抗体RS9.F6的HVR-H1氨基酸序列、(b) 抗体RS9.F6的HVR-H2氨基酸序列和(c) 抗体RS9.F6的HVR-H3氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含与抗体RS9.F6的轻链可变结构域氨基酸序列或

与SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的轻链可变结构域(VL)序列且含有取代(例如,相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗TREM2抗体保留结合至TREM2的能力。在某些实施方案中,在抗体RS9.F6的轻链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:65的氨基酸序列中总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在抗体RS9.F6的轻链可变结构域氨基酸序列或SEQ ID NO:65的氨基酸序列中总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失发生在FR区中。任选地,抗TREM2抗体包含抗体RS9.F6或SEQ ID NO:65的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,所述VL包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a) 抗体RS9.F6的HVR-L1氨基酸序列、(b) 抗体RS9.F6的HVR-L2氨基酸序列和(c) 抗体RS9.F6的HVR-L3氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗体包含有包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的轻链可变区。

[0218] 在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中重链可变结构域包含与SEQ ID NO:72的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸系列;并且/或者轻链可变结构域包含与SEQ ID NO:73的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸系列。在一些实施方案中,抗TREM2抗体包含与SEQ ID NO:72的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的重链可变结构域(VH)序列且含有取代(例如,相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗TREM2抗体保留结合至TREM2的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:72的氨基酸序列中总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:72的氨基酸序列中总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失发生在FR区中。任选地,抗TREM2抗体包含SEQ ID NO:72的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,本公开的抗TREM2抗体包含与SEQ ID NO:73的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的轻链可变结构域(VL)序列且含有取代(例如,相对于参考序列的保守取代、插入或缺失),但包含所述序列的抗TREM2抗体保留结合至TREM2的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:73的氨基酸序列中总计1至10个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:73的氨基酸序列中总计1至5个氨基酸经取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,FR区中)。在一些实施方案中,取代、插入或缺失发生在FR区中。任选地,抗TREM2抗体包含SEQ ID NO:73的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含有包含SEQ

ID NO:72的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的轻链可变区。

[0219] 在一些实施方案中,本公开的激动剂抗TREM2抗体是AL2p-58huIgG1 PSEG。在一些实施方案中,本公开的激动剂抗TREM2抗体是AL2p-47huIgG1。

[0220] 表B:序列

[0221]

SEQ ID NO	序列	描述
1	MEPLRLLILLFVTELSGAHNTT VFQGVAGQSLQVSCPYDSMK HWGRRKAWCRQLGEKGPCQ RVVSTHNLWLLSFLRRWNGS TAITDDTLGGTLTITLRNLQPH DAGLYQCQSLHGSEADTLRK VLVEVLADPLDHRDAGDLWF PGESESFEDAHVEHSISRSLLE GEIPFPPTSILLLLACIFLIKILA ASALWAAAWHGQKPGTHPPS ELDCGHDPGYQLQTLPLGRDT	人 TREM2 蛋白
2	MGPLHQFLLLLITALSQALNTT VLQGMAGQSLRVSCITYDALK HWGRRKAWCRQLGEEGPCQR VVSTHGVWLLAFLKKRNGST VIADDTLAGTVTITLKNLQAG DAGLYQCQSLRGREAEVLQK VLVEVLEDPLDDQDAGDLWV PEESSSFEGAQVEHSTSRNQET SFPPTSILLLLACVLLSKFLAAS ILWAVARGRQKPGTPVVRGL DCGQDAGHQLQILTGPGGT	小鼠 TREM2 蛋白
3	MEPLHVFVLLLVTLSQALNT TVLQGVAGQSLRVSCITYDAL RHWGRRKAWCRQLAEEGPCQ RVVSTHGVWLLAFLRKQNGS TVITDDTLAGTVTITLRNLQAG DAGLYQCQSLRGREAEVLQK VVVEVLEDPLDDQDAGDLWV	大鼠 TREM2 蛋白

[0222]

	PEESESFEGAQVEHSTSSQVSS CGSPLTYHLPPKEPIRKDLLPT HFHSSPPGLCPPEQASYSQHPL GCGQQQAEAGDTCGQWARL	
4	MPDPLFSAVQGKDKILHKALC ICPWPBGKGGMEPLRLLILLFAT ELSGAHNTTVFQGVQSLQV SCPYDSMKHWGRRKAWCRQ LGEKGPCQRVVSTHNLWLLSF LRRRNGSTAITDDTLGGTLTIT LRNLQPHDAGFYQCQSLHGSE ADTLRKVLVEVLADPLDHRD AGDLWVPGESSEFEDAHVEHS ISRSLLGEIIPFPPTSVLLLLACI FLIKILAASALWAAAWHGQKP GTHPPSEPDCGHDPGHQLQTL PGLRDT	恒河猴 TREM2 蛋白
5	MEPLRLLILLFATELSGAHNTT VFQGVQSLQVSCPYDSMK HWGRRKAWCRQLGEKGPCQ RVVSTHNLWLLSFLRRRNGST AITDDTLGGTLTITLRNLQPHD AGFYQCQSLHGSEADTLRKVL VEVLADPLDHRDAGDLWVPG ESESFEDAHVEHSISRSLLGEI FPPTSVLLLLACIFLIKILAAS ALWAAAWHGQKPGTHPPSEP DCGHDPGHQLQTLPLGLRDT	食蟹猴 TREM2 蛋白
6	MEPLPLLILLSVAELSRGHNTT VFQGTAGRSLKVSCPYNLSMH WGRRKAWCRQLGEDGPCQQ VVSTHSLWLLSFLKRRNGSTV ITDDALGGILTITLRNLQAHDA GFYQCQSLHGGEADTLRKVL VEVLADPLDHQEPGDLWIPKE SESFEDAQVEHSISRSLVEEEIP SLPTSILLLLACIFLSKLLAASA IWAAAWHGQKQETPPASEPD RGHDPGYQLHTLTGERDT	马 TREM2 蛋白
7	METLGLLLLLWVAELSRAHN TSVFQGTAGQSLRVSCSYNSL	猪 TREM2 蛋白

[0223]

	KHWGRRKAWCRQLSEEGLCQ HVVSTHPTWLLSFLKRRNGST AITDDALGGTLTITLRNLQAH DAGLYQCQSLHGSEADTLKK VLVEVLADPLESQSKSFQDVQ MEHSISRNLSEESLFPPTSTLFL LACVFLSKLLVASALWAAAW HGHKQRTSPAGGLDCGRDPG DQDQTLTDELGESSDQDQTLT ELRDT	
8	MEPLWLLILLAVTELSGAHNT TVFQGMAGRSLQVSCPYNLSK HWGRRKAWCRQVDKEGPCQ RVVSTHRSWLLSFLKRWNGST AIVDDALGGTLTITLRNLQAH DAGLYQCQSLYGDEADTLRK VLVEVLADPLDHLDPGDLWIP EESKGFEDAHVEPSVSRSLSEE EIPFPPTSILFLLACIFLSKFLAA SALWAAAWRGQKLGTPQASE LDCSCDPGYQLQTLTEPRDM	狗 TREM2 蛋白
9	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASG	VH FR1
10	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASG	VH FR1
11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASG	VH FR1
12	WVRQAPGQGLEWMG	VH FR2
13	WVRQAPGQRLEWIG	VH FR2
14	RVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYC	VH FR3
15	RVTITADTSASTAYMELSSLRS EDTAVYYC	VH FR3
16	WGQGTLLTVSS	VH FR4
17	DVVMQTPLSLSVTPGQPASIS C	VL FR1
18	GVVMQTPLSLSVTPGQPASIS C	VL FR1

[0224]

19	GVVMAQTPLSLSVTPGQPASIS C	VL FR1
20	DVVMTQSPDSLAVSLGERATI NC	VL FR1
21	WYLQKPGQSPQLLIY	VL FR2
22	WYQQKPGQSPKLLIY	VL FR2
23	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISR V EAEDVGVIYYC	VL FR3
24	GVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SL QAEDVAVIYYC	VL FR3
25	FGQGTKLEIK	VL FR4
26	FGGGTKVEIK	VL FR4
27	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYAFSSQWMNWVRQ APGQRLEWIGRIYPGGGDTNY AGKFQGRVTITADTSASTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARLLRN QPGESYAMDYWGQGTLVTVS S	AL2p-58 - 重 链可变结构域
28	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYAFSSDWMNWVRQ APGQGLEWMGRIYPGEGDTN YARKFHGRVTITADESTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARLLR NKPGEYAMDYWGQGTLVTV SS	AL2p-47 - 重 链可变结构域
29	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASIS CRTSQSLVHSNAYTYLHWYL QKPGQSPQLLIYKVSNRVSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVIYYCSQSTRVPYTFGQG TKLEIK	AL2p-47 - 轻 链可变结构域
30	DVVMTQSPDSLAVSLGERATI NCRSSQSLVHSNRYTYLHWY QQKPGQSPKLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVIYYCSQSTRVPYTFGQ GTKLEIK	AL2p-58 - 轻 链可变结构域

[0225]

31	ARLLRNQPGESYAMDY	AL2p-58 - HVR-H3
32	SQSTRVPYT	AL2p-58; AL2p-47 - HVR-L3
33	KVSNRFS	AL2p-58 - HVR-L2
34	YAFSSQWMN	AL2p-58 - HVR-H1
35	RIYPPGGDTNYAGKFQG	AL2p-58 - HVR-H2
36	YAFSSDWMN	AL2p-47 - HVR-H1
37	RIYPPGEGDTNYARKFHG	AL2p-47 - HVR-H2
38	ARLLRNKPGESYAMDY	AL2p-47 - HVR-H3
39	RTSQSLVHSNAYTYLH	AL2p-47 - HVR-L1
40	KVSNRVS	AL2p-47 - HVR-L2
41	RSSQSLVHSNRYTYLH	AL2p-58 - HVR-L1
42	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTVERKCCVE CPPCP	IgG2 同种型重 链恒定结构域 1 (CH1)和铰链区
43	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYAFSSQWMNWVRQ APGQRLEWIGRIYPPGGDTNY AGKFQGRVTITADTSASTAYM ELSSLRSEDVAVYYCARLLRN QPGESYAMDYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGL	AL2p-58 huIgG1 PSEG - 重链

[0226]

	YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPASIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMH GALHNHYTQKSLSLSPGK	
44	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYAFSSQWMNWVRQ APGQRLEWIGRIYPGGGDTNY AGKFQGRVTITADTSASTAYM ELSSLRSEDNAVYYCARLLRN QPGESYAMDYWGQGTLLTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPASIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMH GALHNHYTQKSLSLSPG	AL2p-58 huIgG1 PSEG - 重链
45	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYAFSSDWMNWVRQ APGQGLEWMGRIYPGEGDTN YARKFHGRVTITADESTSTAY MELSSLRSEDNAVYYCARLLR NKPGEYAMDYWGQGTLLTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG	AL2p-47 huIgG1 - 重链

[0227]

	GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHNKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	
46	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYAFSSDWMNWVRQ APGQGLEWMGRIYPGEGDTN YARKFHGRVTITADESTSTAY MELSSLRSEDNAVYYCARLLR NKPGEYAMDYWGQGTLLTVV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHNKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG	AL2p-47 huIgG1 - 重链
47	DVVMTQSPDSLAVSLGERATI NCRSSQSLVHSNRYTYLHWY QQKPGQSPKLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYCSQSTRVPYTFGQ	AL2p-58 huIgG1 PSEG - 轻链

[0228]

	GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC	
48	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASIS CRTSQSLVHSNAYTYLHWYL QKPGQSPQLLIYKVSNRVSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVVYYCSQSTRVPYTFGQG TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC	AL2p-47 huIgG1 - 轻链
49	D/Ex0-2Y _{xx} L/IX6-8Y _{xx} L/I	受体基序
50	GYSITSDYAWN	42E8.H1 CDR-H1
51	YINYSGRITIYNPSLKS	42E8.H1 CDR-H2
52	ARWNGNYGFAY	42E8.H1 CDR-H3
53	RSSQSLVHINGNTYLH	42E8.H1 CDR-L1
54	KVSNRFS	42E8.H1 CDR-L2
55	SQTTHALFT	42E8.H1 CDR-L3
56	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLT CTVTGYSITSDYAWNWIRQFP GNKLEWMGYINYSGRITIYNPS LKSRIITRDTSKNHFFLQLISV TTEDTATYYCARWNGNYGFA YWGQGTLVTVSA	42E8.H1 重链可变区
57	DWMTQNPLSLPVSLGDQASIS CRSSQSLVHINGNTYLHWYLQ	42E8.H1 轻链可变区

[0229]

	KPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAED LGVY FCSQTTHALFTFGSGTKLEIK	
58	GYTFTSY	RS9.F6 CDR-H1
59	IGRSDPTTGGTNYNE	RS9.F6 CDR-H2
60	VRTSGTGDY	RS9.F6 CDR-H3
61	RSSQSLVHNNGNTFLH	RS9.F6 CDR-L1
62	VSNRFS	RS9.F6 CDR-L2
63	SQTTHVPPT	RS9.F6 CDR-L3
64	QVQLQQPGAELVKPGASVKLS CKASGYTFTSYWMHWVKQSP GRGLEWIGRSDPTTGGTNYNE KFKTKATLTVDKPSSTAYMQL SSLTSDDSAVYYCVRTSGTGD YWGQGTSLTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGGTTGSSVT	RS9.F6 重链可变区
65	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASI SCRSSQSLVHNNGNTFLHWYL QKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE DLGVYFCSQTTHVPPTFGGGT KLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCF	RS9.F6 轻链可变区
66	GFTFTDFY	WO2018/01557 3 共有 CDR-H1
67	IRNKANGYTT	WO2018/01557 3 共有 CDR-H2
68	ARIGINNGGSLDYWG	WO2018/01557 3 共有

[0230]

		CDR-H3
69	QSLLYSENNQDY	WO2018/01557 3 共有 CDR-L1
70	GAS	WO2018/01557 3 共有 CDR-L2
71	EQTYSYPYT	WO2018/01557 3 共有 CDR-L3
72	EVKLLES GGGLVQPGGSMRLS CAASGFTFTDFYMNWIRQPAG KAPEWLGLIRNKANGYTTEY NPSVKGRFTISRDNQTQNMLYL QMNTLR*EDTATYYCARIGIN NGGSLDYWGQGVMVTVSS	WO2018/01557 3 共有 重链可变区 序列中的星号 (*)可以是任何 氨基酸。
73	DILINQSPASLTVSAGEKVTMS CKSSQSLLYSENNQDYLA WYQQKPGQFPKLLIYGASNRHTG VPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQ AEDLADYYCEQTYSYPYT FGA GTKLELK	WO2018/01557 3 共有 轻链可变区
74	GFTFTDFY	WO2018/01557 3 14D3 CDR-H1
75	IRNKTKGYTT	WO2018/01557 3 14D3 CDR-H2
76	ARIGVNNGGSLDYWG	WO2018/01557 3 14D3 CDR-H3
77	QSLLYSENNQDY	WO2018/01557 3 14D3 CDR-L1
78	GAS	WO2018/01557 3 14D3 CDR-L2

[0231]

79	EQTYSYPYT	WO2018/01557 3 14D3 CDR-L3
80	EVKLLEFGGGLVQPGGSMRLS CAASGFTFTDFYMNWIRQPAG RAPEWLGLIRNKTGKYTTEYN RSVKGRFTISRDNNTQNMLYLQ MNSLRPEDTATYYCARIGVNN GGSLDYWGQGVMVTVSS	WO2018/01557 3 14D3 重链可变区
81	DILIIQSPASLTVSAGARVTMS CKSSQSLLYSENNQDYLAWEY QQKPGQFPKLLIYGASNRHTG VPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQ AEDLADYYCEQTYSYPYTFGA GTKLELK	WO2018/01557 3 14D3 轻链可变区
82	GFTFTDFY	WO2018/01557 3 14D8 CDR-H1
83	IRNKANGYTT	WO2018/01557 3 14D8 CDR-H2
84	ARIGINNGGSLDYWG	WO2018/01557 3 14D8 CDR-H3
85	QSLLYSEKNQDY	WO2018/01557 3 14D8 CDR-L1
86	GAS	WO2018/01557 3 14D8 CDR-L2
87	EQTYSYPYT	WO2018/01557 3 14D8 CDR-L3
88	EVKLLESGGGLVQPGGSMRLS CAASGFTFTDFYMNWIRQPAG KAPEWLGLIRNKANGYTTVY NPSVKGRFTISRDNNTQNMLYL QMNTLRGEDTATYYCARIGIN NGGSLDYWGQGVMVTVSS	WO2018/01557 3 14D8 重链可变区

[0232]

89	DILINQSPASLTVSTGEKVTMS CRSSQSLLYSEKNQDYLAWY QQKPGQFPKLLIYGASYRHTG VPDRFTGSGSGTDFTLTISVQ AEDLADYYCEQTYSPYTFGA GTKLELK	WO2018/01557 3 14D8 轻链可变区
90	GFTFTDFY	WO2018/01557 3 7A12 CDR-H1
91	IRNKANGYTT	WO2018/01557 3 7A12 CDR-H2
92	ARIGINNGGSLDYWG	WO2018/01557 3 7A12 CDR-H3
93	QSLLYSEKNQDY	WO2018/01557 3 7A12 CDR-L1
94	GAS	WO2018/01557 3 7A12 CDR-L2
95	EQTYSPYTT	WO2018/01557 3 7A12 CDR-L3
96	EVKLLESGGGLVQPGGSMRLS CAASGFTFTDFYMNWIRQPAG KAPEWLGLIRNKANGYTTQY NPSVKGRFTISRDNNTQNMLYL QMNTLRGEDTATYYCARIGIN NGGSLDYWGQGVMVTVSS	WO2018/01557 3 7A12 重链可变区
97	DILINQSPASLTVSAGEKVTMS CKSSQSLLYSEKNQDYLAWY QQKPGQSPKLLMYGASYRHT GVPDRFTGSGSGTDFTLTISV QAEDLADYYCEQTYSPYTFG AGTKLELK	WO2018/01557 3 7A12 轻链可变区
98	GFTFTDFY	WO2018/01557 3 8A11 CDR-H1

[0233]

99	IRNKTKGYTT	WO2018/01557 3 8A11 CDR-H2
100	ARIGVNNGGSLDYWG	WO2018/01557 3 8A11 CDR-H3
101	QSLLYSENNQDY	WO2018/01557 3 8A11 CDR-L1
102	GAS	WO2018/01557 3 8A11 CDR-L2
103	EQTYSYPYT	WO2018/01557 3 8A11 CDR-L3
104	EVKLLESGGGLVQPGGSMRLS CAASGFTFTDFYMNWIRQPAG KAPEWLGLIRNKTKGYTTEYN TSVKGRFTISRDNTQNMLYLQ MNSLRPEDTATYYCARIGVNN GGSLDYWGQGVMVTVSS	WO2018/01557 3 8A11 重链可变区
105	DILIIQSPASLTVSAGARVTMS CKSSQSLLYSENNQDYLAWEY QQKPGQFPKLLIYGASNRHTG VPDRFTGSGSGTDFLTISVQ AEDLADYYCEQTYSYPYTFGA GTKLELK	WO2018/01557 3 8A11 轻链可变区
106	GFTFTDFY	WO2018/01557 3 21A3 CDR-H1
107	IRNKANGYTT	WO2018/01557 3 21A3 CDR-H2
108	ARIGINNGGSLDYWG	WO2018/01557 3 21A3 CDR-H3
109	QSLLYSEKNQDY	WO2018/01557 3 21A3 CDR-L1

[0234]

110	GAS	WO2018/01557 3 21A3 CDR-L2
111	EQTYSYPYT	WO2018/01557 3 21A3 CDR-L3
112	EVKLLESGGGLVQPGGSMRLS CAASGFTFTDFYMNWIRQPAG KAPEWLGLIRNKANGYTTQY NPSVKGRFTISRDNNTQNMLYL QMNTLRGEDTATYYCARIGIN NGGSLDYWGQGVMVTSS	WO2018/01557 3 21A3 重链可变区
113	DILINQSPASLTVSAGEKVTMS CKSSQSLLYSEKNQDYLA WYQQKPGQSPKLLMYGASYRHT GVPDRFTGSGSGTDFTLTIS SVQAEDLADYYCEQTYSYPYTFG AGTKLELK	WO2018/01557 3 21A3 轻链可变区
114	GFTFTDFY	WO2018/01557 3 10C3 CDR-H1
115	IRNKTKGYTT	WO2018/01557 3 10C3 CDR-H2
116	ARIGTNNGGSLDYWG	WO2018/01557 3 10C3 CDR-H3
117	QSLLYSENNQDY	WO2018/01557 3 10C3 CDR-L1
118	GAS	WO2018/01557 3 10C3 CDR-L2
119	EQTYSYPYT	WO2018/01557 3 10C3 CDR-L3
120	EVKLLESGGGLVQPGGSMRLS CAASGFTFTDFYMNWIRQPAG ETPEWLGLIRNKTKGYTTEYN	WO2018/01557 3 10C3

[0235]

	PSVKGRFTISRDNTQNMLYLQ MNSLRPEDTATYYCARIGTNN GGSLDYWGQGVMVTVSS	重链可变区
121	DILIIQSPASLTVSAGARVTMS CKSSQSLLYSENNQDYLA WYQQKPGQFPKLLIYGASNRHTG VPDRFTGSGSGTDFTLTIS SVQAEDLADYYCEQTY SYPYTFGA GTKLELK	WO2018/01557 3 10C3 轻链可变区
122	GFTFTDFY	WO2018/01557 3 18F9 CDR-H1
123	IRNKVNGYRT	WO2018/01557 3 18F9 CDR-H2
124	ARIGINNGGSLDYWG	WO2018/01557 3 18F9 CDR-H3
125	QSLLYSENNQDY	WO2018/01557 3 18F9 CDR-L1
126	GAS	WO2018/01557 3 18F9 CDR-L2
127	EQTYSSYPYT	WO2018/01557 3 18F9 CDR-L3
128	EVKLLESGGGLVQPGGSMRLS CVVSGFTFTDFYMNWIRQAA GKAPEWLGLIRNKVNGYRTE YNPSVKGRFTISRDNIQNMLY LQMNTLRAEDTATYYCARIGI NNGGSLDYWGQGVMVTVSS	WO2018/01557 3 18F9 重链可变区
129	DILINQSPASLTVSAGEKVTMS CKSSQSLLYSENNQDYLA WYQQKPGQFPKLLIYGASNRHTG VPDRFTGSGSGTDFTLTIS SVQAEDLADYYCEQTY SYPYTFGA GTKLELK	WO2018/01557 3 18F9 轻链可变区

[0236]

130	GFTFTDFY	WO2018/01557 3 15C5 CDR-H1
131	IRNKAYGYTT	WO2018/01557 3 15C5 CDR-H2
132	ARIGINYGGSLDYWG	WO2018/01557 3 15C5 CDR-H3
133	QSLLYSESNQDY	WO2018/01557 3 15C5 CDR-L1
134	GAS	WO2018/01557 3 15C5 CDR-L2
135	EQTYSYPYT	WO2018/01557 3 15C5 CDR-L3
136	EVKLLESGGGLVQPGGSMRLS CAASGFTFTDFYMNWIRQPAG KAPEWLGLIRNKAYGYTTEY NPSVKGRFTISRDNQDMLYL QMNTLRAEDTATYYCARIGIN YGGSLDYWGQGVMVTSS	WO2018/01557 3 15C5 重链可变区
137	DILINQSPASLTVSAGEKVTVS CKSSQSLLYSESNQDYLAWYQ QKPGQFPKLLIYGASYRHTGV PDRFTGSGSGTDFTLTISSVQA EDLAHYICEQTYSYPYTFGAG TKLELK	WO2018/01557 3 15C5 轻链可变区
138	GFTFTDFY	WO2018/01557 3 1G6 CDR-H1
139	IRNKANGFTT	WO2018/01557 3 1G6 CDR-H2
140	ARIGINNGGSLDYWG	WO2018/01557 3 1G6 CDR-H3

[0237]	141	QSLLYSENKQDY	WO2018/01557 3 1G6 CDR-L1
	142	GAS	WO2018/01557 3 1G6 CDR-L2
	143	EQTYSYPYT	WO2018/01557 3 1G6 CDR-L3
	144	EVKLLESGGGLVQPGGSLRLS CVASGFTFTDFYMNWIRQPAG KAPEWLGLIRNKANGFTTEYN PSVKGRFTISRDNQTHMLYLQ MNTLRAEDTATYYCARIGINN GGSLDYWGQGVMVTVSS	WO2018/01557 3 1G6 重链可变区
	145	DILINQSPASLTVSTGEKVTMS CKSSQSLLYSENKQDYLAWY QQKPGQFPKLLIYGASNRHTG VPDRFTGSGSGTDFLTINIVQ AEDLADYYCEQTYSYPYTFGA GTKLELK	WO2018/01557 3 1G6 轻链可变区

[0238] 可由细胞系产生本公开的任何抗体。在一些实施方案中,细胞系可以是哺乳动物细胞系。在某些实施方案中,细胞系可以是杂交瘤细胞系。在其他实施方案中,细胞系可以是酵母细胞系。可使用本领域已知的适于抗体产生的任何细胞系来产生本公开的抗体。用于抗体产生的示例性细胞系描述于整个本公开中。

[0239] 抗体片段

[0240] 本公开的某些方面涉及结合至人TREM2、人TREM2的天然存在的变体和人TREM2的疾病变体中的一者或多者的抗体片段。在一些实施方案中,抗体片段是Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv或scFv片段。

[0241] 抗体框架

[0242] 本文所述抗体中的任一者还包括框架。在一些实施方案中,框架是人免疫球蛋白框架。举例来说,在一些实施方案中,抗体(例如,抗TREM2抗体)包含如任一上述实施方案中的HVR,并且还包含受体人框架,例如人免疫球蛋白框架或人共有框架。人免疫球蛋白框架可以是人抗体的一部分,或可通过用一个或多个人框架区置换一个或多个内源性框架使非人抗体人源化。可用于人源化的人框架区包括但不限于:使用“最佳拟合”方法选择的框架区(参见例如Sims等人,J.Immunol.151:2296(1993));源自轻链或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列的框架区(参见例如Carter等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);和Presta等人J.Immunol.,151:2623(1993));人成熟(体细胞突变的)框架区或人种系框架区(参见例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008));和源自筛选FR文库的框架区(参见例如Baca等人,J.Biol.Chem.272:10678-10684(1997)和Rosok

等人, J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996))。

[0243] 抗体制备

[0244] 本公开的抗TREM2抗体可涵盖多克隆抗体、单克隆抗体、人源化和嵌合抗体、人抗体、抗体片段(例如, Fab、Fab'-SH、Fv、scFv和F(ab')₂)、双特异性和多特异性抗体、多价抗体、文库源性抗体、具有改良的效应功能的抗体、含有抗体部分的融合蛋白和包括抗原识别位点(诸如具有本公开的TREM2蛋白的氨基酸残基的表位)的免疫球蛋白分子的任何其他修饰构型, 包括抗体的糖基化变体、抗体的氨基酸序列变体和共价修饰的抗体。抗TREM2抗体可以是人、鼠、大鼠或任何其他起源的抗体(包括嵌合或人源化抗体)。

[0245] (1) 多克隆抗体

[0246] 多克隆抗体(诸如抗TREM2多克隆抗体)通常通过多次皮下(sc)或腹膜内(ip)注射相关抗原和佐剂在动物中产生。可能有用的是使用双官能剂或衍生剂(例如, 马来酰亚胺基苯甲酰基磺基琥珀酰亚胺酯(经由半胱氨酸残基缀合)、N-羟基琥珀酰亚胺(经由赖氨酸残基)、戊二醛、琥珀酸酐、SOCl₂或R¹N=C=NR, 其中R和R¹独立地是低碳数烷基)使相关抗原(例如, 本公开的纯化或重组TREM2蛋白)与在待免疫物种体内具有免疫原性的蛋白质(例如, 钥孔虫咸血蓝蛋白(keyhole limpet hemocyanin, KLH)、血清白蛋白、牛甲状腺球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制剂)缀合。可采用的佐剂的实例包括弗氏完全佐剂(Freund's complete adjuvant)和MPL-TDM佐剂(单磷脂A、合成海藻糖二棒杆菌菌酸酯(trehalose dicorynomycolate))。本领域技术人员无需过多实验即可选择免疫方案。

[0247] 通过以下方式对动物进行针对所需抗原、免疫原性缀合物或衍生物的免疫: 将例如100μg(对于兔)或5μg(对于小鼠)的蛋白质或缀合物与3体积的弗氏完全佐剂合并, 并且将溶液皮下注射在多个位点。1个月后, 通过多位点皮下注射用占初始量1/5至1/10的于弗氏完全佐剂中的肽或缀合物对动物加强免疫。7天至14天后, 抽取动物的血液且对血清进行抗体效价测定。对动物加强免疫直至效价达到稳定状态。缀合物还可在重组细胞培养物中作为蛋白融合物来制得。此外, 诸如明矾等集聚剂适于增强免疫反应。

[0248] (2) 单克隆抗体

[0249] 单克隆抗体(诸如抗TREM2单克隆抗体)是从基本上同质抗体群体获得, 即, 除可少量存在的可能的天然存在的突变和/或翻译后修饰(例如, 异构化、酰胺化)以外, 构成所述群体的个别抗体均相同。因此, 修饰语“单克隆”指示抗体的特征并非离散抗体的混合物。

[0250] 举例来说, 抗TREM2单克隆抗体可使用首先由Köhler等人, Nature, 256:495 (1975)描述的杂交瘤方法来制得或可通过重组DNA方法(美国专利第4,816,567号)来制得。

[0251] 在杂交瘤方法中, 如上文所述对小鼠或其他适当宿主动物(诸如仓鼠)进行免疫以诱发产生或能够产生将与免疫所用蛋白质(例如, 本公开的纯化或重组TREM2蛋白)特异性结合的抗体的淋巴细胞。或者, 可在体外对淋巴细胞进行免疫。然后使用合适的融合剂(诸如聚乙二醇)使淋巴细胞与永生细胞系诸如骨髓瘤细胞融合, 以形成杂交瘤细胞(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 第59-103页(Academic Press, 1986))。

[0252] 可测定培养杂交瘤细胞的培养基以确定针对所需抗原(例如, 本公开的TREM2蛋白)的单克隆抗体的存在, 例如, 如通过免疫沉淀或通过体外结合测定(诸如放射免疫测定(RIA)或酶联测定(ELISA))测定的。此类技术和测定在本领域中是已知的。

[0253] 在鉴别产生具有所需特异性、亲和力和/或活性的抗体的杂交瘤细胞后,可对克隆进行亚克隆,并可通过常规免疫球蛋白纯化程序将亚克隆分泌的单克隆抗体与培养基、腹水或血清分离,举例来说,所述免疫球蛋白纯化程序诸如例如蛋白质A-琼脂糖色谱、羟基磷灰石色谱、凝胶电泳、透析、亲和色谱和如上文所述的其他方法。

[0254] 抗TREM2单克隆抗体还可通过重组DNA方法(例如,如上文所述的那些方法)制得。编码单克隆抗体的DNA可使用常规程序容易地分离并测序(例如,通过使用特异性结合至编码鼠抗体的重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)。杂交瘤细胞用作此DNA的优选来源。分离后,可将DNA置于表达载体中,然后将其转染至原本不产生免疫球蛋白的宿主细胞(诸如大肠杆菌细胞、猿猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或骨髓瘤细胞)中,以在所述重组宿主细胞中合成单克隆抗体。关于编码抗体的DNA在细菌中的重组表达的综述文章包括Skerra等人,Curr.Opin.Immunol.,5:256-262(1993)和Plückthun,Immunol.Rev.130:151-188(1992)。

[0255] 在某些实施方案中,抗TREM2抗体可从使用McCafferty等人,Nature,348:552-554(1990)中所述的技术产生的抗体噬菌体文库分离。Clackson等人,Nature,352:624-628(1991)和Marks等人,J.Mol.Biol.,222:581-597(1991)分别描述了从噬菌体文库分离鼠和人抗体。后续出版物描述通过链改组(Marks等人,Bio/Technology,10:779-783(1992))以及作为构建极大噬菌体文库的策略的组合感染和体内重组(Waterhouse等人,Nucl.Acids Res.,21:2265-2266(1993))来产生高亲和力(纳摩尔级(“nM”)范围)人抗体。

[0256] 还可例如通过以下方式来修饰编码抗体或其片段的DNA:用人重链和轻链恒定结构域的编码序列取代同源鼠序列(美国专利第4,816,567号;Morrison等人,Proc.Natl Acad.Sci.USA,81:6851(1984)),或将非免疫球蛋白多肽的全部或部分编码序列共价接合至免疫球蛋白编码序列。一般而言,此类非免疫球蛋白多肽取代抗体的恒定结构域,或其取代抗体的一个抗原组合位点的可变结构域以产生嵌合二价抗体,所述嵌合二价抗体包含一个对抗原具有特异性的抗原组合位点和另一个对不同抗原具有特异性的抗原组合位点。

[0257] (3) 人源化抗体

[0258] 本公开的抗TREM2抗体或其抗体片段可还包括人源化或人抗体。非人(例如,鼠)抗体的人源化形式是嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(诸如Fab、Fab'-SH、Fv、scFv、F(ab')₂或抗体的其他抗原结合子序列),其含有源自非人免疫球蛋白的最小序列。人源化抗体包括人免疫球蛋白(接受者抗体),其中来自接受者的互补决定区(CDR)的残基由来自诸如小鼠、大鼠或兔等非人物种(供体抗体)的CDR的具有所需特异性、亲和力和能力的残基置换。在一些情况下,人免疫球蛋白的Fv框架残基由相应非人残基置换。人源化抗体还可包含在接受者抗体和输入CDR或框架序列中均未发现的残基。一般而言,人源化抗体将包含基本上全部的至少一个、且通常两个可变结构域,其中全部或基本上全部的CDR区对应于非人免疫球蛋白的CDR区,并且全部或基本上全部的FR区为人免疫球蛋白共有序列的那些FR区。人源化抗体任选地还将包含免疫球蛋白恒定区(Fc)(通常为人免疫球蛋白恒定区)的至少一部分。Jones等人,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature 332:323-329(1988)和Presta,Curr.Opin.Struct.Biol.2:593-596(1992)。

[0259] 用于使非人抗TREM2抗体人源化的方法在本领域中是已知的。一般而言,人源化抗体具有从非人来源引入至其中的一个或多个氨基酸残基。这些非人氨基酸残基通常被称为

“输入”残基,它们通常取自“输入”可变结构域。人源化可大体上遵循Winter和合作者的方法(Jones等人,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature 332:323-327(1988);Verhoeyen等人,Science 239:1534-1536(1988))或经由用啮齿动物CDR或CDR序列取代人抗体的相应序列来进行。因此,此类“人源化”抗体为嵌合抗体(美国专利第4,816,567号),其中基本上少于一个完整人可变结构域已由来自非人物种的相应序列取代。实际上,人源化抗体通常为人抗体,其中一些CDR残基和可能的一些FR残基由来自啮齿动物抗体中类似位点的残基取代。

[0260] 待用于制备人源化抗体的人可变结构域(轻和重)的选择可能影响免疫原性。根据所谓的“最佳拟合”方法,针对已知人可变结构域序列的整个文库来筛选啮齿动物抗体的可变结构域的序列。然后将最接近啮齿动物序列的人序列视作人源化抗体的人框架(FR)。Sims等人,J.Immunol.,151:2296(1993);Chothia等人,J.Mol.Biol.,196:901(1987)。另一方法使用源自轻链或重链的特定子组的所有人抗体的共有序列的特定框架。相同框架可用于若干种不同的人源化抗体。Carter等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 89:4285(1992);Presta等人,J.Immunol.151:2623(1993)。

[0261] 人源化抗体优选保留对抗原的高亲和力和其他有利的生物学性质。为实现此目标,根据优选方法,通过使用亲本和人源化序列的三维模型分析亲本序列和各种概念性人源化产物的方法来制备人源化抗体。三维免疫球蛋白模型通常是可获得的并且为本领域技术人员所熟悉。可使用计算机程序,所述计算机程序说明且展示所选候选免疫球蛋白序列的可能的三维构型结构。检查这些展示内容允许分析残基在候选免疫球蛋白序列的功能行使中的可能作用,即分析影响候选免疫球蛋白与其抗原结合的能力的残基。以此方式,可从接受者序列和输入序列选择FR残基并组合,从而实现所需抗体特性,诸如对一种或多种靶抗原(例如,本公开的TREM2蛋白)的亲和力增加。一般而言,CDR残基直接地且最为实质性地参与影响抗原结合。

[0262] 涵盖人源化抗TREM2抗体的各种形式。举例来说,人源化抗TREM2抗体可以是抗体片段(诸如Fab)或完整抗体(诸如完整IgG1抗体)。

[0263] (4) 抗体片段

[0264] 在某些实施方案中,有利地使用抗TREM2抗体片段而非完整抗TREM2抗体。在一些实施方案中,较小的片段大小允许快速清除和更好的脑渗透。

[0265] 已开发出各种技术用于产生抗体片段。传统上,这些片段是经由蛋白水解消化完整抗体而获得的(参见例如Morimoto等人,J.Biochem.Biophys.Method.24:107-117(1992);和Brennan等人,Science 229:81(1985))。然而,例如使用编码本公开的抗TREM2抗体的核酸,这些片段现可由重组宿主细胞直接产生。Fab、Fv和scFv抗体片段全部均可在大肠杆菌中表达并从其分泌,由此允许大量这些片段的直接产生。抗TREM2抗体片段还可从如上文所论述的抗体噬菌体文库分离。或者,Fab'-SH片段可从大肠杆菌直接回收并通过化学偶联以形成F(ab')₂片段(Carter等人,Bio/Technology10:163-167(1992))。根据另一方法,F(ab')₂片段可直接从重组宿主细胞培养物分离。具有延长的体内半衰期的Fab和F(ab')₂抗体片段的产生描述于美国专利第5,869,046号中。在其他实施方案中,所选抗体是单链Fv片段(scFv)。参见WO 93/16185;美国专利第5,571,894号和美国专利第5,587,458号。抗TREM2抗体片段还可以是“线性抗体”,例如,如美国专利5,641,870中所述。此类线性

抗体片段可以是单特异性的或双特异性的。

[0266] (5) 双特异性抗体和多特异性抗体

[0267] 双特异性抗体 (BsAb) 是对至少两个不同表位 (包括在同一蛋白质或另一蛋白质 (例如, 一种或多种本公开的 TREM2 蛋白) 上的那些表位) 具有结合特异性的抗体。或者, BsAb 的一部分可臂接以结合至靶 TREM2 抗原, 并且另一部分可与结合至第二蛋白质的臂组合。此类抗体可以源自全长抗体或抗体片段 (例如, $F(ab')_2$ 双特异性抗体)。

[0268] (6) 效应功能工程改造

[0269] 还可能需修饰本公开的抗 TREM2 抗体以改良效应功能并且/或者延长抗体的血清半衰期。举例来说, 恒定区上的 Fc 受体结合位点可被修饰或突变以去除或降低与某些 Fc 受体 (诸如 $Fc\gamma RI$ 、 $Fc\gamma RII$ 和/或 $Fc\gamma RIII$) 的结合亲和力, 以降低抗体依赖性细胞介导的细胞毒性。在一些实施方案中, 通过去除抗体的 Fc 区 (例如, 在 IgG 的 CH₂ 结构域中) 的 N-糖基化来削弱效应功能。在一些实施方案中, 如 PCT WO 99/58572 和 Armour 等人, *Molecular Immunology* 40:585-593 (2003); Reddy 等人, *J. Immunology* 164:1925-1933 (2000) 中所述, 通过修饰诸如人 IgG 的 233-236、297 和/或 327-331 等区来削弱效应功能。在其他实施方案中, 还可能需修饰本公开的抗 TREM2 抗体以改良效应功能, 从而增加对含有 ITIM 的 $Fc\gamma RIIb$ (CD32b) 的发现选择性以增加 TREM2 抗体在临近细胞上的聚集而不使体液反应 (包括抗体依赖性细胞介导的细胞毒性和抗体依赖性细胞吞噬作用) 活化。

[0270] 举例来说, 为了延长抗体的血清半衰期, 可将补救受体结合表位并入至抗体 (尤其抗体片段) 中, 如美国专利 5,739,277 中所述。如本文所用, 术语“补救受体结合表位”是指 IgG 分子 (例如, IgG_1 、 IgG_2 、 IgG_3 或 IgG_4) 的 Fc 区的表位, 其负责延长 IgG 分子的体内血清半衰期。

[0271] (7) 其他氨基酸序列修饰

[0272] 还涵盖对本公开的抗 TREM2 抗体或其抗体片段的氨基酸序列修饰。举例来说, 可能期望改善抗体或抗体片段的结合亲和力和/或其他生物学性质。抗体或抗体片段的氨基酸序列变体是通过将适当核苷酸变化引入至编码所述抗体或抗体片段的核酸中或通过肽合成来制备。此类修改包括例如在抗体的氨基酸序列内残基的缺失和/或插入和/或取代。可进行缺失、插入和取代的任一组合以获得最终构建体, 条件是最终构建体具有所需特性 (即, 与本公开的 TREM2 蛋白结合或物理相互作用的能力)。氨基酸变化还可改变抗体的翻译后过程, 诸如改变糖基化位点的数目或位置。

[0273] 如 Cunningham 和 Wells 在 *Science*, 244:1081-1085 (1989) 中所述, 可用于鉴别抗 TREM2 抗体中是优选诱变位置的某些残基或区的方法称为“丙氨酸扫描诱变”。此处, 鉴别残基或靶残基组 (例如, 带电残基, 诸如 arg、asp、his、lys 和 glu), 并且由中性或带负电的氨基酸 (最优选为丙氨酸或聚丙氨酸) 置换以实现氨基酸与靶抗原的相互作用。然后通过取代位点或针对取代位点引入另外或其他变体来改良展现对取代具有功能敏感性的那些氨基酸位置。因此, 虽然要预先确定引入氨基酸序列变异的位点, 但无需预先确定突变本身的性质。举例来说, 为了分析给定位点处突变的性能, 在靶密码子或区处进行丙氨酸扫描诱变或随机诱变并且针对所需活性筛选所表达的抗体变体。

[0274] 氨基酸序列插入包括长度范围为一个残基至含有 100 或更多个残基的多肽的氨基 (“N”) 和/或羧基 (“C”) 末端融合, 以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实

例包括具有N末端甲硫氨酰基残基的抗体或与细胞毒性多肽融合的抗体。抗体分子的其他插入变体包括抗体的N末端或C末端与酶或延长抗体血清半衰期的多肽的融合物。

[0275] 另一类型的变体是氨基酸取代变体。这些变体在抗体分子中有至少一个氨基酸残基由不同残基置换。取代诱变的最受关注的位点包括高变区,但还涵盖FR改变。保守取代示于下表C中的“优选取代”标题下。如果所述取代引起生物学活性改变,那么可引入更重要的改变(表C中命名为“示例性取代”,或如下文关于氨基酸类别所进一步描述),并且对产物进行筛选。

[0276] 表C:氨基酸取代

原始残基	示例性取代	优选取代
Ala (A)	val; leu; ile	val
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gln; his; asp; lys; arg	gln
Asp (D)	glu; asn	glu
Cys (C)	ser; ala	ser
Gln (Q)	asn; glu	asn
Glu (E)	asp; gln	asp
Gly (G)	ala	ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; 正亮氨酸	leu
Leu (L)	正亮氨酸; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	tyr
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; 正亮氨酸	leu

[0278] 对抗体生物学性质的实质修饰可通过选择在维持以下特性的效应方面显著不同的取代来实现:(a)多肽主链在取代区域中的结构,例如折叠或螺旋构象;(b)分子在靶位点处的电荷或疏水性;或(c)侧链的体积。基于常见侧链性质将天然存在的残基分为以下各组:

[0279] (1)疏水性:正亮氨酸、met、ala、val、leu、ile;

[0280] (2) 中性亲水性:cys、ser、thr;

[0281] (3) 酸性:asp、glu;

[0282] (4) 碱性:asn、gln、his、lys、arg;

[0283] (5) 影响链取向的残基:gly、pro;和

[0284] (6) 芳香族:trp、tyr、phe。

[0285] 非保守性取代需要将这些类别之一的成员交换为另一类别。

[0286] 不参与维持抗体的适当构象的任一半胱氨酸残基通常还可被丝氨酸取代,以改善分子的氧化稳定性并防止异常交联。反之,可将一个或多个半胱氨酸键添加至抗体中以改善其稳定性(尤其在抗体是抗体片段(诸如Fv片段)的情形下)。

[0287] 一类特别优选的取代变体涉及取代亲本抗体(例如人源化或人抗TREM2抗体)的一个或多个高变区残基。一般而言,所得到的一种或多种选择用于进一步开发的变体将相对于产生所述变体的亲本抗体具有改善的生物学性质。产生此类取代变体的便利方法涉及使用噬菌体展示进行的亲和力成熟。简单地说,使若干高变区位点(例如6-7个位点)突变以在每一位点产生所有可能的氨基取代。由此产生的抗体变体以单价方式以与每一颗粒内所封装的M13基因III产物的融合物形式从丝状噬菌体颗粒展示出来。然后如本文所公开针对生物学活性(例如,结合亲和力)来筛选噬菌体展示的变体。为鉴别用于修饰的候选高变区位点,可进行丙氨酸扫描诱变以鉴别显著促进抗原结合的高变区残基。或者或另外,分析抗原-抗体复合物的晶体结构以鉴别抗体与抗原(例如,本公开的TREM2蛋白)之间的接触点可能是有益的。此类接触残基和临近残基是根据本文所详述的技术进行取代的候选物。一旦产生此类变体,就如本文所述对该组变体进行筛选,并且可选择在一个或多个相关测定中具有优越性质的抗体以供进一步开发。亲和力成熟还可通过采用酵母呈现技术来进行,所述技术诸如有例如在W02009/036379A2;W02010105256;W02012009568;和Xu等人,Protein Eng.Des.Sel.,26(10):663-70(2013)中所公开的技术。

[0288] 抗体的另一类氨基酸变体改变抗体的原始糖基化模式。改变意指缺失一个或多个于抗体中发现的碳水化合物部分,和/或增加一个或多个在抗体中不存在的糖基化位点。

[0289] 抗体的糖基化典型地是N连接或O连接的。N连接是指碳水化合物部分与天冬酰胺残基的侧链连接。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸(其中X是除脯氨酸外的任一氨基酸)是碳水化合物部分与天冬酰胺侧链酶促连接的识别序列。因此,多肽中存在这些三肽序列中的任一者均可产生潜在糖基化位点。O连接的糖基化是指糖N-乙酰基半乳糖胺、半乳糖或木糖中的一者与羟基氨基酸(最常见为丝氨酸或苏氨酸,但还可使用5-羟基脯氨酸或5-羟基赖氨酸)的连接。

[0290] 将糖基化位点添加至抗体通过改变氨基酸序列以使其含有上述三肽序列中的一者或多者便利地完成(对于N连接的糖基化位点)。还可通过向原始抗体的序列添加一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基或用一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基进行取代来实现所述改变(对于O连接的糖基化位点)。

[0291] (8) 其他抗体修饰

[0292] 本公开的抗TREM2抗体或其抗体片段可进一步被修饰以含有本领域已知且易于获得的其他非蛋白质性部分,或含有本领域已知且易于获得的不同类型的药物缀合物。优选地,适于抗体衍生化的部分是水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性实例包括但不限于

聚乙二醇 (PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧戊环、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或无规共聚物)和葡聚糖或聚(n-乙烯吡咯烷酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、环氧丙烷/环氧乙烷共聚物(polypropylene oxide/ethylene oxide co-polymer)、聚氧乙烯化多元醇(例如,甘油)、聚乙烯醇及其混合物。由于其在水中的稳定性,聚乙二醇丙醛在生产中可能具有优势。聚合物可以是任何分子量,而且可以是分支的或不分支的。连接到抗体上的聚合物数目可以变化,而且如果连接了一个以上的聚合物,那么它们可以是相同或不同的分子。一般而言,可根据下列考虑来确定用于衍生化的聚合物的数目和/或类型,包括但不限于抗体要改进的具体性质或功能、抗体衍生物是否将用于确定条件下的治疗等。此类技术和其他合适的制剂公开于Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第20版,Alfonso Gennaro编辑,Philadelphia College of Pharmacy and Science(2000)。

[0293] 药物缀合涉及将生物活性细胞毒性(抗癌)有效载荷或药物与特异性靶向某一肿瘤标志物(例如理想地仅发现于肿瘤细胞中或肿瘤细胞上的蛋白质)的抗体偶联。抗体在体内追踪这些蛋白质并将自身附着至癌细胞表面。抗体与靶蛋白(抗原)之间的生物化学反应在肿瘤细胞中触发信号,然后所述肿瘤细胞将抗体与细胞毒素一起吸收或内化。在将ADC内化后,细胞毒性药物释放并杀死癌症。由于此靶向,因此理想地相较于其他化学治疗剂所述药物具有较低的副作用且给出更宽的治疗窗。缀合所公开抗体的技术在本领域中是已知的(参见例如Jane de Lartigue,OncLive 2012年7月5日;ADC Review on antibody-drug conjugates;和Ducry等人,(2010).Bioconjugate Chemistry21(1):5-13)。

[0294] (9) 结合测定和其他测定

[0295] 可例如通过已知方法(诸如ELISA、蛋白质印迹等)测试本公开的抗TREM2抗体的抗原结合活性。

[0296] 用于定位抗体所结合表位的详细示例性方法提供于Morris(1996)“Epitope Mapping Protocols,”Methods in Molecular Biology第66卷(Humana Press,Totowa,NJ)中。

[0297] 核酸、载体和宿主细胞

[0298] 可使用例如如美国专利第4,816,567号中所述的重组方法和组合物来产生本公开的抗TREM2抗体。在一些实施方案中,提供了具有编码本公开的任一抗TREM2抗体的核苷酸序列的分离的核酸。此类核酸可编码含有抗TREM2抗体的VL的氨基酸序列和/或含有所述抗体的VH的氨基酸序列(例如,抗体的轻链和/或重链)。在一些实施方案中,提供了一种或多种含有此类核酸的载体(例如,表达载体)。在一些实施方案中,还提供了含有此类核酸的宿主细胞。在一些实施方案中,宿主细胞含有以下各项(例如,已被以下各项转导):(1)含有编码含有抗体的VL的氨基酸序列和含有抗体的VH的氨基酸序列的核酸的载体,或(2)含有编码含有抗体的VL的氨基酸序列的核酸的第一载体,和含有编码含有抗体的VH的氨基酸序列的核酸的第二载体。在一些实施方案中,宿主细胞是真核细胞,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴样细胞(例如,Y0、NS0、Sp20细胞)。本公开的宿主细胞还包括但不限于分离的细胞、体外培养的细胞和离体培养的细胞。

[0299] 提供了制备本公开的抗TREM2抗体的方法。在一些实施方案中,所述方法包括在适于表达抗TREM2抗体的条件下培养含有编码所述抗体的核酸的本公开的宿主细胞。在一些

实施方案中,随后从宿主细胞(或宿主细胞培养基)回收所述抗体。

[0300] 为了重组产生本公开的抗TREM2抗体,将编码所述抗TREM2抗体的核酸分离并将其插入至一个或多个载体中以用于在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。可使用常规程序将此类核酸容易地分离并进行测序(例如,通过使用寡核苷酸探针,所述寡核苷酸探针能够特异性结合至编码抗体的重链和轻链的基因)。

[0301] 本文所述的含有编码本公开的任一抗TREM2抗体或其片段、多肽(包括抗体)的核酸序列的合适载体包括但不限于克隆载体和表达载体。合适克隆载体可根据标准技术来构建,或者可选自本领域可获得的大量克隆载体。虽然所选择的克隆载体可根据打算使用的宿主细胞而有所变化,但可用的克隆载体通常具有自复制的能力,可具有特定限制性核酸内切酶的单一靶标,并且/或者可携带可用于选择含有所述载体的克隆的标志物的基因。合适的实例包括质粒和细菌病毒,例如,pUC18、pUC19、Bluescript(例如,pBS SK+)及其衍生物、mpl8、mpl9、pBR322、pMB9、ColE1、pCR1、RP4、噬菌体DNA和穿梭载体(诸如pSA3和pAT28)。这些和许多其他克隆载体可购自商业供应商,诸如BioRad、Stratagene和Invitrogen。

[0302] 表达载体通常是含有本公开的核酸的可复制的多核苷酸构建体。表达载体可在宿主细胞中作为游离基因或作为染色体DNA的整合部分来复制。合适的表达载体包括但不限于质粒、病毒载体,包括腺病毒、腺相关病毒、反转录病毒、粘粒和PCT公布第WO 87/04462号中所公开的一种或多种表达载体。载体组件可通常包括但不限于以下一项或多项:信号序列;复制起点;一个或多个标志基因;合适转录控制元件(诸如启动子、增强子和终止子)。对于表达(即,翻译),通常还需要一个或多个翻译控制元件,诸如核糖体结合位点、翻译起始位点和终止密码子。

[0303] 可通过多种适当方式中的任一者将含有目标核酸的载体引入至宿主细胞中,所述方式包括电穿孔;采用氯化钙、氯化铷、磷酸钙、DEAE-葡聚糖或其他物质的转染;微粒轰击;脂转染;和感染(例如,其中载体是感染原(诸如牛痘病毒))。引入载体或多核苷酸的选择将通常取决于宿主细胞的特征。在一些实施方案中,载体含有含一个或多个编码本公开的抗TREM2抗体的氨基酸序列的核酸。

[0304] 适于克隆或表达编码抗体的载体的宿主细胞包括原核或真核细胞。举例来说,可以在细菌中产生本公开的抗TREM2抗体,特别是在不需要糖基化和Fc效应功能时。关于抗体片段和多肽在细菌中的表达(例如,美国专利第5,648,237号、第5,789,199号和第5,840,523号;和Charlton,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo编辑,Humana Press,Totowa,NJ,2003),第245-254页,其描述抗体片段在大肠杆菌中的表达)。表达之后,可从细菌细胞浆的可溶部分中分离抗体并且可进行进一步纯化。

[0305] 除了原核生物外,真核微生物诸如丝状真菌或酵母也是适于编码抗体的载体的克隆或表达宿主,包括其糖基化途径已经“人源化”从而导致产生具有部分或完全人糖基化样式的抗体的真菌和酵母菌株(例如Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-1414(2004);和Li等人,Nat.Biotech.24:210-215(2006))。

[0306] 还可使用脊椎动物细胞作为宿主。举例来说,可使用适应于在悬浮液中生长的哺乳动物细胞系。可用哺乳动物宿主细胞系的其他实例是由SV40转化的猴肾CV1系(COS-7);人胚肾系(293或293细胞,如例如Graham等人,J.Gen Virol.36:59(1977)中所述);幼仓鼠肾细胞(BHK);小鼠支持细胞(TM4细胞,如例如Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)中

所述);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人子宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK;布法罗大鼠肝细胞(buffalo rat liver cell)(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳房肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,如例如Mather等人,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)中所述;MRC 5细胞;和FS4细胞。其他可用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR-CHO细胞(Ur laub等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA77:4216(1980));和骨髓瘤细胞系,诸如Y0、NS0和Sp2/0。关于适于抗体产生的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,参见例如Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo编辑,Humana Press,Totowa,NJ),第255-268页(2003)。

[0307] 药物组合物和制剂

[0308] 本文提供了包含本公开的抗TREM2抗体和药学上可接受的载体的药物组合物。在一些实施方案中,本文提供了药物组合物,所述药物组合物在生理上可接受的载体、赋形剂或稳定剂中包含具有所需纯度的本公开的抗TREM2抗体(Remington's Pharmaceutical Sciences(1990)Mack Publishing Co.,Easton,Pa.)。可接受的载体、赋形剂或稳定剂在所采用的剂量和浓度下对接受者无毒。

[0309] 在各个实施方案中,包含抗TREM2抗体的药物组合物以具有药学上可接受的载体的制剂形式提供(参见例如Gennaro,Remington:The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons:Drugfacts Plus,第20版(2003);Ansel等人,Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,第7版,Lippencott Williams and Wilkins(2004);Kibbe等人,Handbook of Pharmaceutical Excipients,第3版,Pharmaceutical Press(2000))。适于肠胃外施用的制剂包括水性和非水性等渗无菌注射溶液,所述溶液可包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂以及使制剂与预期接受者的血液等渗的溶质;以及水性和非水性无菌混悬液,所述混悬液可包含助悬剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂。

[0310] 药物剂量和施用

[0311] 本文提供的抗TREM2抗体可通过任何合适的方式施用,所述方式包括肠胃外、肺内、鼻内、病灶内施用、脑脊髓内、颅内、脊柱内、滑膜内、鞘内、口服、局部或吸入途径。肠胃外输注包括肌内、以推注方式或通过经一段时间连续输注的静脉内施用、动脉内、关节内、腹膜内或皮下施用。在一些实施方案中,施用是静脉内施用。在一些实施方案中,施用是皮下施用。可通过任何合适的途径,例如通过注射(诸如静脉内或皮下注射)来给药,这部分地取决于施用是短暂或长期的。本文考虑包括但不限于在各种时间点单次或多次施用、推注施用和脉冲输注的各种给药方案。

[0312] 为预防或治疗疾病,抗TREM2抗体的适当剂量将取决于欲治疗疾病的类型、特定抗体、疾病的严重性和病程、抗体是出于预防还是治疗的目的施用、先前疗法、患者的病史和对抗体的反应,以及主治医师的判断。同时或通过一系列治疗将抗体适当地施用于患者。

[0313] 药盒/制品

[0314] 本公开还提供了含有本公开的分离的抗体(例如,本文所述的抗TREM2抗体)或其功能片段的药盒。本公开的药盒可包括一个或多个包含本公开的纯化抗体的容器。在一些实施方案中,所述药盒还包括用于根据本公开的方法使用的说明书。在一些实施方案中,这

些说明书包含对根据本公开的任何方法施用本公开的分离的抗体(例如,本文所述的抗TREM2抗体)以预防患有选自以下的疾病、病症或伤害的个体、降低所述个体的风险或治疗所述个体的说明:儿童发作型脑白质病变;伴有轴突球状体和色素性胶质细胞的成人发作型脑白质病变(ALSP);伴有球状体的弥漫性遗传性脑白质病变;伴有神经轴突球状体的成人发作型脑白质营养不良;伴有神经轴突球状体的常染色体显性脑白质病变;伴有轴突球状体的遗传性弥漫性脑白质病变(HDLS);神经轴突脑白质营养不良;色素性正色性脑白质营养不良;和家族性色素性正色性脑白质病变(POLD)。

[0315] 在一些实施方案中,说明书包括对如何检测例如个体、组织样品或细胞中的TREM2的说明。药盒可还包括对基于鉴别个体是否患有疾病和疾病阶段来选择适于治疗的个体的说明。

[0316] 在一些实施方案中,药盒还可包括本公开的另一抗体(例如,至少一种特异性结合至抑制性检查点分子的抗体、至少一种特异性结合至抑制性细胞因子的抗体和/或至少一种特异性结合至刺激性检查点蛋白的激动性抗体)和/或至少一种刺激性细胞因子。在一些实施方案中,药盒还可包括关于根据本公开的任何方法将抗体和/或刺激性细胞因子与本公开的分离的抗体(例如,本文所述的抗TREM2抗体)组合使用的说明书、关于将本公开的分离的抗体与抗体和/或刺激性细胞因子组合使用的说明书或关于使用本公开的分离的抗体和抗体和/或刺激性细胞因子的说明书。

[0317] 说明书通常包括关于用于预期治疗的剂量、给药时间表和施用途径的信息。容器可为单位剂量、散装包装(例如,多剂量包装)或亚单位剂量。本公开药盒中供应的说明书通常是标签或包装插页(例如,药盒中所包括的纸页)上的书面说明书,但也可接受机器可读的说明书(例如,载于磁性或光学储存盘上的说明书)。

[0318] 标签或包装插页指示组合物用于治疗例如本公开的疾病。可提供用于实践本文所述的任何方法的说明书。

[0319] 本公开的药盒呈合适包装形式。合适的包装包括但不限于小瓶、瓶、广口瓶、柔性包装(例如,密封Mylar或塑料袋)等。还涵盖与特定装置(诸如吸入器、经鼻施用装置(例如,雾化器))或输注装置(诸如微型泵)组合使用的包装。药盒可具有无菌进入孔(例如,容器可为静脉内溶液袋或具有可由皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。容器也可具有无菌进入孔(例如,容器可为静脉内溶液袋或具有可由皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。组合物中的至少一种活性剂是本公开的分离的抗体(例如,本文所述的抗TREM2抗体)。容器还可包含第二药物活性剂。

[0320] 药盒可任选地提供额外组分,诸如缓冲液和解释性信息。通常药盒包含容器和位于所述容器上或与所述容器相关联的标签或一个或多个包装插页。

[0321] 通过参考以下实施例将更全面地理解本公开。然而,不应将其解释为限制本公开的范围。本公开通篇的所有引用内容都特此以引用方式明确地并入。

[0322] 生物标志物

[0323] 在某些实施方案中,CSF1R水平用作如本文所述的TREM2抗体活性的生物标志物。在某些实施方案中,相对于未治疗的受试者或用对照抗体或安慰剂治疗的受试者,施用于受试者的TREM2抗体显著诱导CSF1R表达或增加CSF1R水平。在某些实施方案中,TREM2抗体增加CSF1R RNA或蛋白水平。在某些实施方案中,TREM2抗体使CSF1R RNA水平增加例如

10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些实施方案中,TREM2抗体使CSF1R蛋白水平增加例如10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些实施方案中,例如如在脑脊液中所检测的,脑中的CSF1R RNA或蛋白水平增加。在某些实施方案中,额叶皮质中的CSF1R RNA或蛋白水平增加。在某些实施方案中,海马体中的CSF1R RNA或蛋白水平增加。在某些实施方案中,血浆中的CSF1R RNA或蛋白水平增加。在某些实施方案中,CSF1R RNA或蛋白水平用作抗TREM2激动性抗体活性的生物标志物。在某些实施方案中,抗TREM2激动性抗体使CSF1R RNA水平增加例如10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些实施方案中,抗TREM2激动性抗体使CSF1R蛋白水平增加例如10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些实施方案中,例如如在脑脊液中所检测的,抗TREM2激动性抗体增加脑中的CSF1R RNA或蛋白质水平。在某些实施方案中,抗TREM2激动性抗体增加额叶皮层中的CSF1R RNA或蛋白质水平。在某些实施方案中,抗TREM2激动性抗体增加海马体中的CSF1RRNA或蛋白水平。在某些实施方案中,抗TREM2激动性抗体增加血浆中的CSF1R RNA或蛋白水平。

[0324] 在某些实施方案中,CSF1R RNA或蛋白水平用作AL2p-58huIgG1 PSEG活性的生物标志物。在某些实施方案中,AL2p-58huIgG1 PSEG使CSF1R RNA水平增加例如10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些实施方案中,AL2p-58huIgG1 PSEG使CSF1R蛋白水平增加例如10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些实施方案中,例如如在脑脊液中所检测的,AL2p-58huIgG1 PSEG增加脑中的CSF1R RNA或蛋白水平。在某些实施方案中,AL2p-58huIgG1 PSEG增加额叶皮层中的CSF1R RNA或蛋白水平。在某些实施方案中,AL2p-58huIgG1 PSEG增加海马体中的CSF1R RNA或蛋白水平。在某些实施方案中,AL2p-58huIgG1PSEG增加血浆中的CSF1R RNA或蛋白水平。

[0325] 在某些实施方案中,CSF1R RNA或蛋白水平用作AL2p-47huIgG1活性的生物标志物。在某些实施方案中,AL2p-47huIgG1使CSF1R RNA水平增加例如10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些实施方案中,AL2p-47huIgG1使CSF1R蛋白水平增加例如10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些实施方案中,例如如在脑脊液中所检测的,AL2p-47huIgG1增加脑中的CSF1R RNA或蛋白水平。在某些实施方案中,AL2p-47huIgG1增加额叶皮层中的CSF1R RNA或蛋白水平。在某些实施方案中,AL2p-47huIgG1增加海马体中的CSF1R RNA或蛋白水平。在某些实施方案中,AL2p-47huIgG1增加血浆中的CSF1R RNA或蛋白水平。

[0326] 在本文所述的治疗方法的一些实施方案中,所述方法包括测量来自个体的样品中的CSF1R水平的步骤。样品可能来自个体脑脊液的血液。CSF1R的RNA水平或CSF1R的蛋白水平可通过本领域技术人员已知的任何技术来测量。在一些实施方案中,在施用抗TREM2抗体之前和之后测量CSF1R水平并计算CSF1R水平的差异。在一些实施方案中,如果在施用抗TREM2抗体之后CSF1R水平增加,则认为抗TREM2抗体在个体中是有活性的。在一些实施方案中,如果在施用抗TREM2抗体之后CSF1R水平不增加,则认为抗TREM2抗体在个体中是无活性的。

[0327] 本公开提供了一种监测正在被施用抗TREM2抗体的个体的治疗的方法,所述方法

包括在个体接受一个或多个剂量的抗TREM2抗体之前和之后测量来自个体的样品中的CSF1R水平。在一些实施方案中,所述方法是监测正在被施用AL2p-58huIgG1 PSEG的个体的治疗。在一些实施方案中,所述方法是监测正在被施用AL2p-47huIgG1的个体的治疗。在一些实施方案中,样品来自个体的脑脊液或个体的血液。在一些实施方案中,所述方法还包括基于样品中的CSF1R水平评估个体中抗TREM2抗体活性的步骤。举例来说,在一些实施方案中,如果在施用抗TREM2抗体之后CSF1R水平升高,则认为抗TREM2抗体在个体中是有活性的,并且在一些实施方案中,如果在施用抗TREM2抗体之后CSF1R水平不增加,则认为抗TREM2抗体在个体中是无活性的。

[0328] 实施例

[0329] 实施例1:CSF1撤除后的人巨噬细胞活力

[0330] 为了评价在CSF1撤除后抗TREM2激动性抗体维持人巨噬细胞存活的能力,使用RosetteSep人单核细胞富集方案(Stem Cell Technologies)从全血分离人单核细胞。为了制备人单核细胞源性巨噬细胞,对单核细胞进行计数并将其铺板在完全RPMI培养基(RPMI,补充有Glutamax、青霉素/链霉素、非必需氨基酸、丙酮酸钠和10%热灭活胎牛血清)和50ng/ml M-CSF(Peprotech)中。6天后,收获分化的单核细胞(巨噬细胞)并以 1.0×10^5 个细胞/孔的密度铺板到96孔板上的带有M-CSF的完全RPMI培养基中。允许细胞过夜恢复。第7天,用无血清RPMI培养基置换细胞培养基,并用单独的M-CSF(50ng/mL)、IgG1(10 μ g/mL)、AL2p-58huIgG1 PSEG(1 μ g/mL)或AL2p-58huIgG1 PSEG(10 μ g/mL)处理细胞。在M-CSF撤除后的随后每一天,使用CellTiter-Glo发光活力测定(Promega)对细胞活力进行定量。

[0331] 如图1所示,相较于用单独的M-CSF(50ng/mL)、IgG1(10 μ g/mL)或AL2p-58huIgG1 PSEG(1 μ g/mL)处理的细胞,用AL2p-58huIgG1PSEG(10 μ g/mL)处理的人巨噬细胞的细胞活力显著增加。具体而言,相较于单独的M-CSF,10 μ g/mL的AL2p-58huIgG1 PSEG处理显著提高了细胞活力。

[0332] 实施例2:CSF1R抑制后的人巨噬细胞活力和存活

[0333] 实施例1中呈现的结果证明用抗TREM2激动性抗体处理可在M-CSF1撤除后维持人巨噬细胞的存活。然而,M-CSF1只是受体CSF1R的一种配体。在本实施例中,进行了实验以研究当受体CSF1R本身被抑制时抗TREM2激动性抗体对人巨噬细胞活力的影响。

[0334] 为了评价在CSF1R抑制后抗TREM2抗体维持人巨噬细胞存活的能力,测试了在存在CSF1R抑制剂PLX3397的情况下AL2p-58huIgG1 PSEG增强细胞活力和存活的能力(DeNardo等人,Cancer Discov(2011)1(1):54-67.22039576);Peng等人,J.of Exp Canc Res(2019)38(1):372.PMID:31438996)。与CSF1撤除实验类似,在第6天将人源巨噬细胞铺板到96孔板上并用IgG1、PLX3397(30nM)、AL2p-58huIgG1 PSEG(10 μ g/mL)处理或是在第7天用PLX3397和AL2p-58huIgG1 PSEG的组合处理,各物质均在完全RPMI培养基中。在随后每一天,使用CellTiter-Glo发光活力测定(Promega)对细胞活力进行定量。

[0335] 如图2所示,在存在CSF1R抑制的情况下用AL2p-58huIgG1PSEG处理维持人巨噬细胞的存活。具体而言,图2中呈现的数据证明用PLX3397(CSF1R抑制剂)处理的人巨噬细胞的细胞活力降低。然而,当用PLX3397处理的细胞也用AL2p-58huIgG1 PSEG处理时,细胞活力有显著改善。此外,这些数据指示,用PLX3397和AL2p-58huIgG1 PSEG两者处理的人巨噬细胞与未进行CSF1R抑制的细胞(例如用IgG1处理或用单独的AL2p-58huIgG1 PSEG处理)具有

相似的细胞活力水平。

[0336] 实施例3:抗TREM2激动性抗体增加非人灵长类动物中CSF1R蛋白的表达

[0337] 用对照IgG或增加浓度的AL2p-58huIgG1 PSEG抗体处理非人灵长类动物。测量来自额叶皮层的样品中的CSF1R蛋白水平。如图3所示,相较于对照处理,AL2p-58huIgG1 PSEG处理增加了额叶皮质中的CSF1R蛋白表达。为研究中使用的AL2p-58huIgG1 PSEG最低浓度的12.5倍的AL2p-58huIgG1 PSEG最高浓度导致CSFR1水平增加,相较于所指示对照这具有统计学意义。在一项可比较研究中,在用AL2p-58huIgG1 PSEG处理的非人灵长类动物中观察到与额叶皮层相比海马体中的CSFR1有所增加但不一致,这表明AL2p-58huIgG1 PSEG对脑某些部分中的CSF1R水平的影响相对于其他部分可能更大。

[0338] 实施例4:抗TREM2抗体增加非人灵长类动物额叶皮层和海马体中的CSF1R水平。

[0339] 该实施例描述了评价AL2p-58huIgG1对非人灵长类动物(食蟹猴)额叶皮层和海马体中CSF1R蛋白水平的影响的实验结果。AL2p-58huIgG1是具有包含野生型IgG1的Fc的抗TREM2抗体AL2p-58huIgG1 PSEG的变体。

[0340] 通过静脉内注射向食蟹猴施用每周一次剂量的对照或抗TREM2抗体AL2p-58huIgG1,总计五次剂量(每剂量组N=5)。在第5次剂量后48小时,收获脑组织并分析相应裂解物的CSF1R蛋白表达。

[0341] 如图4所示,相较于经对照处理的动物,在施用抗TREM2抗体AL2p-58huIgG1后,非人灵长类动物的额叶皮层和海马体中的CSF1R蛋白水平显著增加。

序列表

<110> 艾利妥

<120> 抗TREM2抗体的使用方法

<130> 73502-20032.40

<140> 尚未分配

<141> 同时随同提交

<150> US 63/005,110

<151> 2020-04-03

<150> US 62/944,298

<151> 2019-12-05

<160> 145

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 230

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 1

```

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

```

			165				170				175				
Leu	Leu	Leu	Ala	Cys	Ile	Phe	Leu	Ile	Lys	Ile	Leu	Ala	Ala	Ser	Ala
			180				185				190				
Leu	Trp	Ala	Ala	Ala	Trp	His	Gly	Gln	Lys	Pro	Gly	Thr	His	Pro	Pro
			195				200				205				
Ser	Glu	Leu	Asp	Cys	Gly	His	Asp	Pro	Gly	Tyr	Gln	Leu	Gln	Thr	Leu
			210				215				220				
Pro	Gly	Leu	Arg	Asp	Thr										
225			230												
<210> 2															
<211> 227															
<212> PRT															
<213> 小家鼠 (Mus musculus)															
<400> 2															
Met	Gly	Pro	Leu	His	Gln	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Ile	Thr	Ala	Leu	Ser
1			5				10				15				
Gln	Ala	Leu	Asn	Thr	Thr	Val	Leu	Gln	Gly	Met	Ala	Gly	Gln	Ser	Leu
			20				25				30				
Arg	Val	Ser	Cys	Thr	Tyr	Asp	Ala	Leu	Lys	His	Trp	Gly	Arg	Arg	Lys
			35				40				45				
Ala	Trp	Cys	Arg	Gln	Leu	Gly	Glu	Glu	Gly	Pro	Cys	Gln	Arg	Val	Val
			50				55				60				
Ser	Thr	His	Gly	Val	Trp	Leu	Leu	Ala	Phe	Leu	Lys	Lys	Arg	Asn	Gly
65			70				75				80				
Ser	Thr	Val	Ile	Ala	Asp	Asp	Thr	Leu	Ala	Gly	Thr	Val	Thr	Ile	Thr
			85				90				95				
Leu	Lys	Asn	Leu	Gln	Ala	Gly	Asp	Ala	Gly	Leu	Tyr	Gln	Cys	Gln	Ser
			100				105				110				
Leu	Arg	Gly	Arg	Glu	Ala	Glu	Val	Leu	Gln	Lys	Val	Leu	Val	Glu	Val
			115				120				125				
Leu	Glu	Asp	Pro	Leu	Asp	Asp	Gln	Asp	Ala	Gly	Asp	Leu	Trp	Val	Pro
130			135				140								
Glu	Glu	Ser	Ser	Ser	Phe	Glu	Gly	Ala	Gln	Val	Glu	His	Ser	Thr	Ser
145			150				155					160			
Arg	Asn	Gln	Glu	Thr	Ser	Phe	Pro	Pro	Thr	Ser	Ile	Leu	Leu	Leu	Leu
			165				170				175				
Ala	Cys	Val	Leu	Leu	Ser	Lys	Phe	Leu	Ala	Ala	Ser	Ile	Leu	Trp	Ala
			180				185				190				
Val	Ala	Arg	Gly	Arg	Gln	Lys	Pro	Gly	Thr	Pro	Val	Val	Arg	Gly	Leu

195	200	205
Asp Cys Gly Gln Asp Ala Gly His Gln Leu Gln Ile Leu Thr Gly Pro		
210	215	220
Gly Gly Thr		
225		
<210> 3		
<211> 228		
<212> PRT		
<213> 黑鼠 (Rattus rattus)		
<400> 3		
Met Glu Pro Leu His Val Phe Val Leu Leu Leu Val Thr Glu Leu Ser		
1 5 10 15		
Gln Ala Leu Asn Thr Thr Val Leu Gln Gly Val Ala Gly Gln Ser Leu		
20 25 30		
Arg Val Ser Cys Thr Tyr Asp Ala Leu Arg His Trp Gly Arg Arg Lys		
35 40 45		
Ala Trp Cys Arg Gln Leu Ala Glu Glu Gly Pro Cys Gln Arg Val Val		
50 55 60		
Ser Thr His Gly Val Trp Leu Leu Ala Phe Leu Arg Lys Gln Asn Gly		
65 70 75 80		
Ser Thr Val Ile Thr Asp Asp Thr Leu Ala Gly Thr Val Thr Ile Thr		
85 90 95		
Leu Arg Asn Leu Gln Ala Gly Asp Ala Gly Leu Tyr Gln Cys Gln Ser		
100 105 110		
Leu Arg Gly Arg Glu Ala Glu Val Leu Gln Lys Val Val Val Glu Val		
115 120 125		
Leu Glu Asp Pro Leu Asp Asp Gln Asp Ala Gly Asp Leu Trp Val Pro		
130 135 140		
Glu Glu Ser Glu Ser Phe Glu Gly Ala Gln Val Glu His Ser Thr Ser		
145 150 155 160		
Ser Gln Val Ser Ser Cys Gly Ser Pro Leu Thr Tyr His Leu Pro Pro		
165 170 175		
Lys Glu Pro Ile Arg Lys Asp Leu Leu Pro Thr His Phe His Ser Ser		
180 185 190		
Pro Pro Gly Leu Cys Pro Pro Glu Gln Ala Ser Tyr Ser Gln His Pro		
195 200 205		
Leu Gly Cys Gly Gln Gly Gln Ala Glu Ala Gly Asp Thr Cys Gly Gln		
210 215 220		
Trp Ala Arg Leu		

225

<210> 4

<211> 260

<212> PRT

<213> 恒河猴 (Macaca mulatta)

<400> 4

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

260

<210> 5

<211> 230

<212> PRT

<213> 食蟹猕猴 (*Macaca fascicularis*)

<400> 5

```

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

```

<210> 6

<211> 230

<212> PRT

<213> 家马 (Equus caballus)

<400> 6

```

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

```

<210> 7

<211> 233

<212> PRT

<213> 野猪 (Sus scrofa)

<400> 7

```

Met Glu Thr Leu Gly Leu Leu Leu Leu Leu Trp Val Ala Glu Leu Ser
1           5           10           15

```

Arg	Ala	His	Asn	Thr	Ser	Val	Phe	Gln	Gly	Thr	Ala	Gly	Gln	Ser	Leu	
20				25				30								
Arg	Val	Ser	Cys	Ser	Tyr	Asn	Ser	Leu	Lys	His	Trp	Gly	Arg	Arg	Lys	
35				40				45								
Ala	Trp	Cys	Arg	Gln	Leu	Ser	Glu	Glu	Gly	Leu	Cys	Gln	His	Val	Val	
50				55				60								
Ser	Thr	His	Pro	Thr	Trp	Leu	Leu	Ser	Phe	Leu	Lys	Arg	Arg	Asn	Gly	
65				70				75				80				
Ser	Thr	Ala	Ile	Thr	Asp	Asp	Ala	Leu	Gly	Gly	Thr	Leu	Thr	Ile	Thr	
85				90				95								
Leu	Arg	Asn	Leu	Gln	Ala	His	Asp	Ala	Gly	Leu	Tyr	Gln	Cys	Gln	Ser	
100				105				110								
Leu	His	Gly	Ser	Glu	Ala	Asp	Thr	Leu	Lys	Lys	Val	Leu	Val	Glu	Val	
115				120				125								
Leu	Ala	Asp	Pro	Leu	Glu	Ser	Gln	Ser	Lys	Ser	Phe	Gln	Asp	Val	Gln	
130				135				140								
Met	Glu	His	Ser	Ile	Ser	Arg	Asn	Leu	Ser	Glu	Glu	Ser	Leu	Phe	Pro	
145				150				155				160				
Pro	Thr	Ser	Thr	Leu	Phe	Leu	Leu	Ala	Cys	Val	Phe	Leu	Ser	Lys	Leu	
165				170				175								
Leu	Val	Ala	Ser	Ala	Leu	Trp	Ala	Ala	Ala	Trp	His	Gly	His	Lys	Gln	
180				185				190								
Arg	Thr	Ser	Pro	Ala	Gly	Gly	Leu	Asp	Cys	Gly	Arg	Asp	Pro	Gly	Asp	
195				200				205								
Gln	Asp	Gln	Thr	Leu	Thr	Asp	Glu	Leu	Gly	Glu	Ser	Ser	Asp	Gln	Asp	
210				215				220								
Gln	Thr	Leu	Thr	Glu	Leu	Arg	Asp	Thr								
225				230												
<210> 8																
<211> 230																
<212> PRT																
<213> 家犬 (Canis lupus familiaris)																
<400> 8																
Met	Glu	Pro	Leu	Trp	Leu	Leu	Ile	Leu	Leu	Ala	Val	Thr	Glu	Leu	Ser	
1				5				10				15				
Gly	Ala	His	Asn	Thr	Thr	Val	Phe	Gln	Gly	Met	Ala	Gly	Arg	Ser	Leu	
20				25				30								
Gln	Val	Ser	Cys	Pro	Tyr	Asn	Ser	Leu	Lys	His	Trp	Gly	Arg	Arg	Lys	
35				40				45								

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

<210> 9

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<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		
20	25	

<210> 10

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 10

Glu 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

20 25

<210> 11

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 11

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly

20 25

<210> 12

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 12

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

<210> 13

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 13

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile Gly

1 5 10

<210> 14

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 14

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu

1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 15

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 15

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu

1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 16

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 17

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 17

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 18

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 18

Gly Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 19

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 19

Gly Val Val Met Ala Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 20

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 20

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys

20

<210> 21

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 21

Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 22

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 22

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 23

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 23

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

<210> 24

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 24

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 25

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 25

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 26

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 26

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 27

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 27

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Gln

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gly Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Leu Leu Arg Asn Gln Pro Gly Glu Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 28

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 28

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

<210> 29

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 29

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

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

<210> 30

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 30

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 20 25 30

Asn Arg Tyr Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

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

<210> 31

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 31

Ala Arg Leu Leu Arg Asn Gln Pro Gly Glu Ser Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5 10 15

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 32

Ser Gln Ser Thr Arg Val Pro Tyr Thr

1 5

<210> 33

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 33

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 34

Tyr Ala Phe Ser Ser Gln Trp Met Asn

1 5

<210> 35

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 35

Arg Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gly Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 36

Tyr Ala Phe Ser Ser Asp Trp Met Asn

1 5

<210> 37

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 37

Arg Ile Tyr Pro Gly Glu Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Arg Lys Phe His

1 5 10 15

Gly

<210> 38

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 38

Ala Arg Leu Leu Arg Asn Lys Pro Gly Glu Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 39

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 39

Arg Thr Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Ala Tyr Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 40

Lys Val Ser Asn Arg Val Ser

1 5

<210> 41

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 41

Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Val	His	Ser	Asn	Arg	Tyr	Thr	Tyr	Leu	His
1				5					10					15	

<210> 42

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 42

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

<210> 43

<211> 453

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 43

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ala	Phe	Ser	Ser	Gln
			20						25					30	

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

340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln		
355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
385	390	395
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu		
405	410	415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser		
420	425	430
Val Met His Gly Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser		
435	440	445
Leu Ser Pro Gly Lys		
450		
<210> 44		
<211> 452		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体		
<400> 44		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Gln		
20	25	30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile		
35	40	45
Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gly Lys Phe		
50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Leu Leu Arg Asn Gln Pro Gly Glu Ser Tyr Ala Met Asp Tyr		
100	105	110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly		
115	120	125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly		

130	135	140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys	Leu Val Lys Asp Tyr Phe	Pro Glu Pro Val
145	150	155
Thr Val Ser Trp Asn Ser	Gly Ala Leu Thr Ser Gly	Val His Thr Phe
165	170	175
Pro Ala Val Leu Gln Ser	Ser Gly Leu Tyr Ser	Leu Ser Ser Val Val
180	185	190
Thr Val Pro Ser Ser Ser	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr	Ile Cys Asn Val
195	200	205
Asn His Lys Pro Ser Asn	Thr Lys Val Asp Lys	Lys Val Glu Pro Lys
210	215	220
Ser Cys Asp Lys Thr His	Thr Cys Pro Pro Cys	Pro Ala Pro Glu Leu
225	230	235
Leu Gly Gly Pro Ser Val	Phe Leu Phe Pro Pro	Lys Pro Lys Asp Thr
245	250	255
Leu Met Ile Ser Arg Thr	Pro Glu Val Thr Cys	Val Val Val Asp Val
260	265	270
Ser His Glu Asp Pro Glu	Val Lys Phe Asn Trp	Tyr Val Asp Gly Val
275	280	285
Glu Val His Asn Ala Lys	Thr Lys Pro Arg Glu	Glu Gln Tyr Asn Ser
290	295	300
Thr Tyr Arg Val Val Ser	Val Leu Thr Val Leu	His Gln Asp Trp Leu
305	310	315
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys	Cys Lys Val Ser Asn	Lys Ala Leu Pro Ala
325	330	335
Ser Ile Glu Lys Thr Ile	Ser Lys Ala Lys Gly	Gln Pro Arg Glu Pro
340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro	Pro Ser Arg Asp Glu	Leu Thr Lys Asn Gln
355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu	Val Lys Gly Phe Tyr	Pro Ser Asp Ile Ala
370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn	Gly Gln Pro Glu Asn	Asn Tyr Lys Thr Thr
385	390	395
Pro Pro Val Leu Asp Ser	Asp Gly Ser Phe Phe	Leu Tyr Ser Lys Leu
405	410	415
Thr Val Asp Lys Ser Arg	Trp Gln Gln Gly Asn	Val Phe Ser Cys Ser
420	425	430
Val Met His Gly Ala Leu	His Asn His Tyr Thr	Gln Lys Ser Leu Ser
435	440	445

Leu Ser Pro Gly

450

<210> 45

<211> 453

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 45

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 Ala Phe Ser Ser Asp

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Glu Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Arg Lys Phe

50 55 60

His Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Leu Leu Arg Asn Lys Pro Gly Glu Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115 120 125

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

130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val

145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe

165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 245 250 255
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 260 265 270
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 275 280 285
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 290 295 300
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 305 310 315 320
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 325 330 335
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 340 345 350
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
 355 360 365
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 370 375 380
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 385 390 395 400
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 405 410 415
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 420 425 430
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 435 440 445
 Leu Ser Pro Gly Lys
 450
 <210> 46
 <211> 452
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成构建体
 <400> 46
 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 Ala Phe Ser Ser Asp
 20 25 30

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

340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln		
355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
385	390	395
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu		
405	410	415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser		
420	425	430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser		
435	440	445
Leu Ser Pro Gly		
450		
<210> 47		
<211> 219		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体		
<400> 47		
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly		
1	5	10
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser		
20	25	30
Asn Arg Tyr Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
35	40	45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser		
85	90	95
Thr Arg Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
100	105	110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
115	120	125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		

130	135	140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
145	150	155
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
165	170	175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
180	185	190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		
195	200	205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210	215	
<210> 48		
<211> 219		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体		
<400> 48		
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly		
1	5	10
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Thr Ser Gln Ser Leu Val His Ser		
20	25	30
Asn Ala Tyr Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
35	40	45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Val Ser Gly Val Pro		
50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser		
85	90	95
Thr Arg Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
100	105	110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
115	120	125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
130	135	140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
145	150	155
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		

	165	170	175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu			
	180	185	190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser			
	195	200	205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			

210

215

<210> 49

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 变体

<222> 1

<223> Xaa = Asp或Glu

<220>

<221> 变体

<222> 2, 3

<223> Xaa = 任何氨基酸,并且至多两个可存在或不存在

<220>

<221> 变体

<222> 5, 6

<223> Xaa = 任何氨基酸

<220>

<221> 变体

<222> 7

<223> Xaa = Leu或Ile

<220>

<221> 变体

<222> 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15

<223> Xaa = 任何氨基酸,并且至多两个可存在或不存在

<220>

<221> 变体

<222> 17, 18

<223> Xaa = 任何氨基酸

<220>

<221> 变体

<222> 19

<223> Xaa = Leu或Ile

<400> 49

Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr

1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 50

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn

1 5 10

<210> 51

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 51

Tyr Ile Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Ile Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 52

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 52

Ala Arg Trp Asn Gly Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 53

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 53

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ile Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 54

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 54

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 55

Ser Gln Thr Thr His Ala Leu Phe Thr
1 5

<210> 56

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 56

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

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

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

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

Leu Gln Leu Ile Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys

				85						90					95				
Ala	Arg	Trp	Asn	Gly	Asn	Tyr	Gly	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr				
				100					105					110					

Leu Val Thr Val Ser Ala

115

<210> 57

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 57

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

Gln	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Val	His	Ile	Asn
			20					25					30		

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

Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro	Asp
	50					55				60					

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

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

His	Ala	Leu	Phe	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	
		100						105					110		

<210> 58

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 58

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

1 5

<210> 59

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 59

Ile Gly Arg Ser Asp Pro Thr Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu

1 5 10 15

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 60

Val Arg Thr Ser Gly Thr Gly Asp Tyr

1 5

<210> 61

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 61

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Asn Asn Gly Asn Thr Phe Leu His

1 5 10 15

<210> 62

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 62

Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 63

Ser Gln Thr Thr His Val Pro Pro Thr

1 5

<210> 64

<211> 140

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 64

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ser Asp Pro Thr Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Thr Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Pro Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Thr Ser Gly Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Leu

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Val Cys Gly Gly Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr

130 135 140

<210> 65

<211> 140

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 65

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Asn

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35	40	45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Thr		
85	90	95
Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
100	105	110
Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu		
115	120	125
Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe		
130	135	140

<210> 66

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 66

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe Tyr

1 5

<210> 67

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 67

Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr

1 5 10

<210> 68

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 68

Ala Arg Ile Gly Ile Asn Asn Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

1	5	10	15
<210> 69			
<211> 12			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成构建体			
<400> 69			
Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Glu Asn Asn Gln Asp Tyr			
1	5	10	
<210> 70			
<211> 3			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成构建体			
<400> 70			
Gly Ala Ser			
1			
<210> 71			
<211> 9			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成构建体			
<400> 71			
Glu Gln Thr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr			
1	5		
<210> 72			
<211> 121			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成构建体			
<400> 72			
Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1	5	10	15
Ser Met Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe			
	20	25	30

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

<210> 73

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 73

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

Lys

<210> 74

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 74

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe Tyr

1 5

<210> 75

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 75

Ile Arg Asn Lys Thr Lys Gly Tyr Thr Thr

1 5 10

<210> 76

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 76

Ala Arg Ile Gly Val Asn Asn Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

1 5 10 15

<210> 77

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 77

Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Glu Asn Asn Gln Asp Tyr

1 5 10

<210> 78

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 78

Gly Ala Ser

1

<210> 79

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 79

Glu Gln Thr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 80

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 80

Glu Val Lys Leu Leu Glu Phe Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Thr Lys Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Ile Gly Val Asn Asn Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 81

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 81

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

Lys

<210> 82

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 82

Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Phe	Tyr
1				5			

<210> 83

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 83

Ile	Arg	Asn	Lys	Ala	Asn	Gly	Tyr	Thr	Thr
1			5				10		

<210> 84

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 84

Ala Arg Ile Gly Ile Asn Asn Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

1 5 10 15

<210> 85

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 85

Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Glu Lys Asn Gln Asp Tyr

1 5 10

<210> 86

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 86

Gly Ala Ser

1

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 87

Glu Gln Thr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 88

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 88

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

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

<210> 89

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 89

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

Lys

<210> 90

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 90

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe Tyr

1 5

<210> 91

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 91

Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr

1 5 10

<210> 92

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 92

Ala Arg Ile Gly Ile Asn Asn Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

1 5 10 15

<210> 93

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 93

Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Glu Lys Asn Gln Asp Tyr

1 5 10

<210> 94

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 94

Gly Ala Ser

1

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 95

Glu Gln Thr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr

1

5

<210> 96

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 96

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

1

5

10

15

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

20

25

30

Tyr Met Asn Trp Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Ala Pro Glu Trp Leu

35

40

45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Gln Tyr Asn Pro

50

55

60

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

65

70

75

80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Thr Tyr

85

90

95

Tyr Cys Ala Arg Ile Gly Ile Asn Asn Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp

100

105

110

Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 97

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 97

```

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

```

Lys

<210> 98

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 98

```

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe Tyr
1             5

```

<210> 99

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 99

```

Ile Arg Asn Lys Thr Lys Gly Tyr Thr Thr
1             5             10

```

<210> 100

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 100

Ala Arg Ile Gly Val Asn Asn Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

1 5 10 15

<210> 101

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 101

Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Glu Asn Asn Gln Asp Tyr

1 5 10

<210> 102

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 102

Gly Ala Ser

1

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 103

Glu Gln Thr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 104

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 104

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

<210> 105

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 105

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

Lys

<210> 106

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 106

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe Tyr

1 5

<210> 107

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 107

Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr

1 5 10

<210> 108

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 108

Ala Arg Ile Gly Ile Asn Asn Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

1 5 10 15

<210> 109

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 109

Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Glu Lys Asn Gln Asp Tyr

1 5 10

<210> 110

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 110

Gly Ala Ser

1

<210> 111

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 111

Glu Gln Thr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr

1

5

<210> 112

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 112

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

1

5

10

15

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

20

25

30

Tyr Met Asn Trp Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Ala Pro Glu Trp Leu

35

40

45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Gln Tyr Asn Pro

50

55

60

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

65

70

75

80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Thr Tyr

85

90

95

Tyr Cys Ala Arg Ile Gly Ile Asn Asn Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp

100

105

110

Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 113

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 113

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

Lys

<210> 114

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 114

Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Phe	Tyr
1				5			

<210> 115

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 115

Ile Arg Asn Lys Thr Lys Gly Tyr Thr Thr

1	5	10
<210> 116		
<211> 15		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体		
<400> 116		
Ala Arg Ile Gly Thr Asn Asn Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp Gly		
1	5	10 15
<210> 117		
<211> 12		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体		
<400> 117		
Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Glu Asn Asn Gln Asp Tyr		
1	5	10
<210> 118		
<211> 3		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体		
<400> 118		
Gly Ala Ser		
1		
<210> 119		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体		
<400> 119		
Glu Gln Thr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr		
1	5	
<210> 120		
<211> 122		

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 120

```

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

```

<210> 121

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 121

```

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

```

				85					90					95			
Thr	Tyr	Ser	Tyr	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu		
				100				105					110				

Lys

<210> 122

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 122

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe Tyr

1 5

<210> 123

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 123

Ile Arg Asn Lys Val Asn Gly Tyr Arg Thr

1 5 10

<210> 124

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 124

Ala Arg Ile Gly Ile Asn Asn Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

1 5 10 15

<210> 125

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 125

Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Glu Asn Asn Gln Asp Tyr

1	5	10
<210> 126		
<211> 3		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体		
<400> 126		
Gly Ala Ser		
1		
<210> 127		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体		
<400> 127		
Glu Gln Thr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr		
1	5	
<210> 128		
<211> 122		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体		
<400> 128		
Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1	5	10
Ser Met Arg Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe		15
	20	25
Tyr Met Asn Trp Ile Arg Gln Ala Ala Gly Lys Ala Pro Glu Trp Leu		30
	35	40
Gly Leu Ile Arg Asn Lys Val Asn Gly Tyr Arg Thr Glu Tyr Asn Pro		45
	50	55
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ile Gln Asn Met		60
65	70	75
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr		80
	85	90
Tyr Cys Ala Arg Ile Gly Ile Asn Asn Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp		95

				100					105						110
Gly	Gln	Gly	Val	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser						
		115							120						
<210>	129														
<211>	113														
<212>	PRT														
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)														
<220>															
<223>	合成构建体														
<400>	129														
Asp	Ile	Leu	Ile	Asn	Gln	Ser	Pro	Ala	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Ala	Gly
1				5					10					15	
Glu	Lys	Val	Thr	Met	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Tyr	Ser
			20						25				30		
Glu	Asn	Asn	Gln	Asp	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln
			35					40				45			
Phe	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Gly	Ala	Ser	Asn	Arg	His	Thr	Gly	Val
		50					55				60				
Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr
65					70					75				80	
Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Ala	Glu	Asp	Leu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Glu	Gln
				85						90				95	
Thr	Tyr	Ser	Tyr	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu
				100						105				110	
Lys															
<210>	130														
<211>	8														
<212>	PRT														
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)														
<220>															
<223>	合成构建体														
<400>	130														
Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Phe	Tyr								
1				5											
<210>	131														
<211>	10														
<212>	PRT														
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)														
<220>															

<223> 合成构建体

<400> 131

Ile Arg Asn Lys Ala Tyr Gly Tyr Thr Thr

1 5 10

<210> 132

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 132

Ala Arg Ile Gly Ile Asn Tyr Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

1 5 10 15

<210> 133

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 133

Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Glu Ser Asn Gln Asp Tyr

1 5 10

<210> 134

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 134

Gly Ala Ser

1

<210> 135

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 135

Glu Gln Thr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5
 <210> 136
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成构建体
 <400> 136
 Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Met Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe
 20 25 30
 Tyr Met Asn Trp Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Ala Pro Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Tyr Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Gln Asp Met
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Ala Arg Ile Gly Ile Asn Tyr Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 137
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成构建体
 <400> 137
 Asp Ile Leu Ile Asn Gln Ser Pro Ala Ser Leu Thr Val Ser Ala Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Val Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30
 Glu Ser Asn Gln Asp Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Phe Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Tyr Arg His Thr Gly Val
 50 55 60

<223> 合成构建体

<400> 141

Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Glu Asn Lys Gln Asp Tyr

1 5 10

<210> 142

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 142

Gly Ala Ser

1

<210> 143

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 143

Glu Gln Thr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 144

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 144

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Asn Trp Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Ala Pro Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Phe Thr Thr Glu Tyr Asn Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Ala Arg Ile Gly Ile Asn Asn Gly Gly Ser Leu Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 145

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 145

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

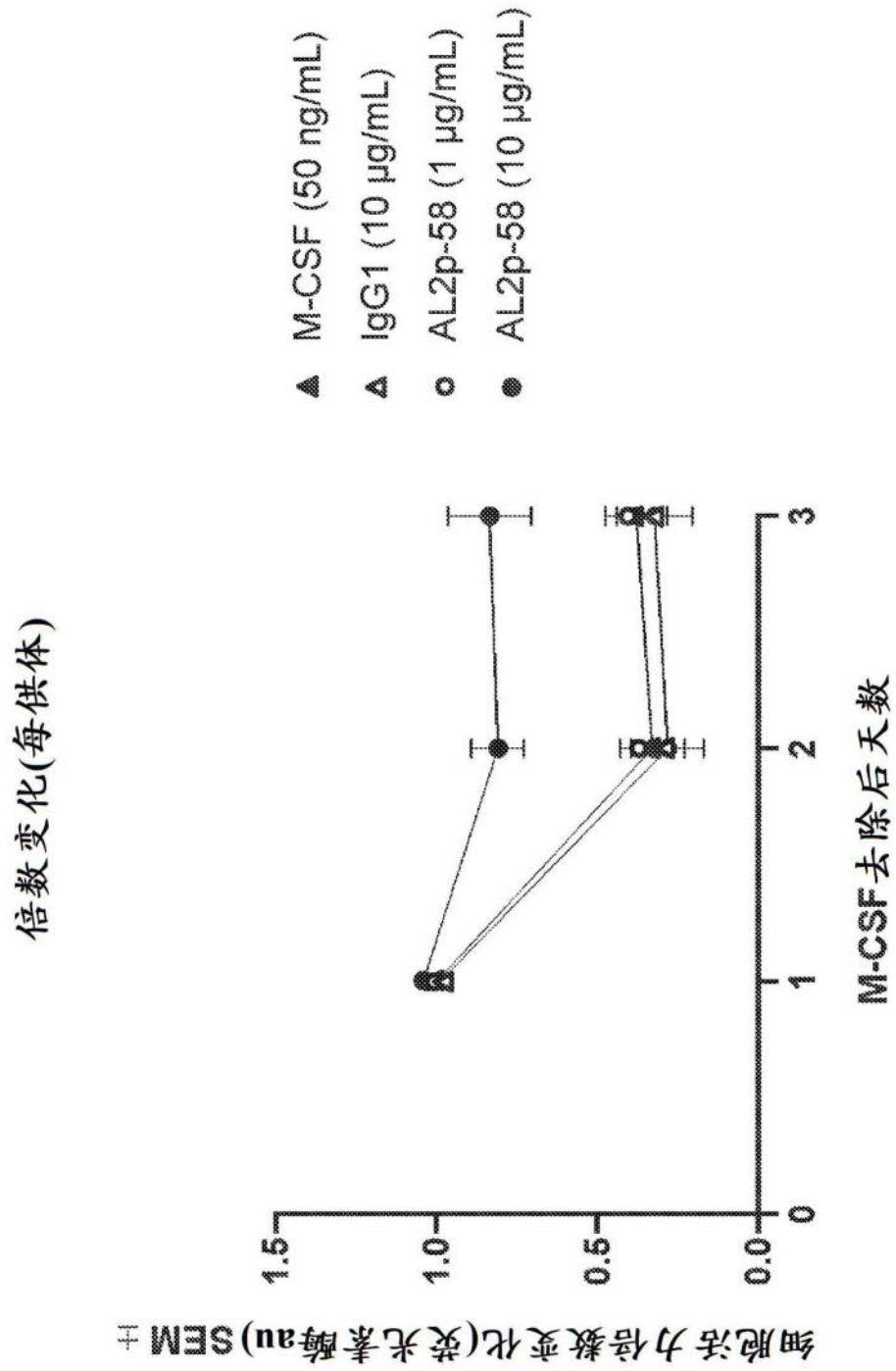


图1

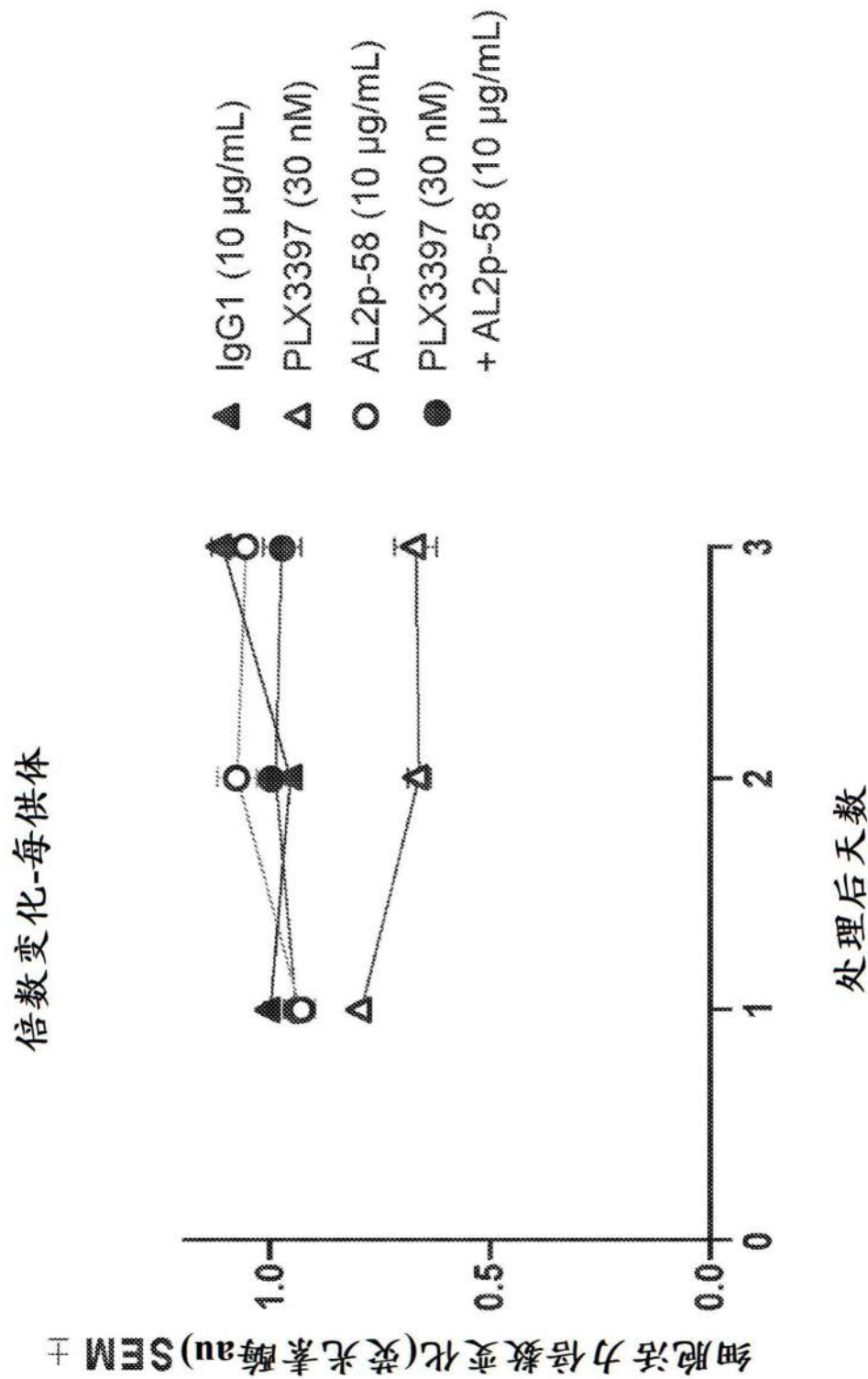


图2

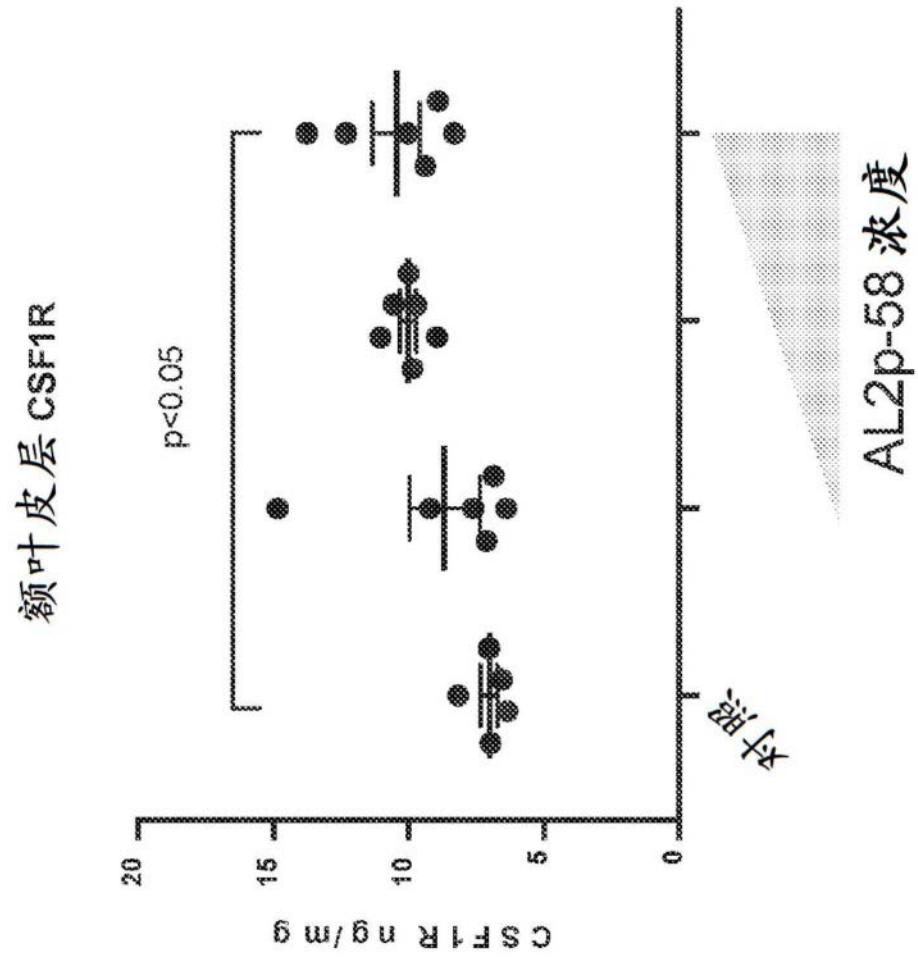


图3

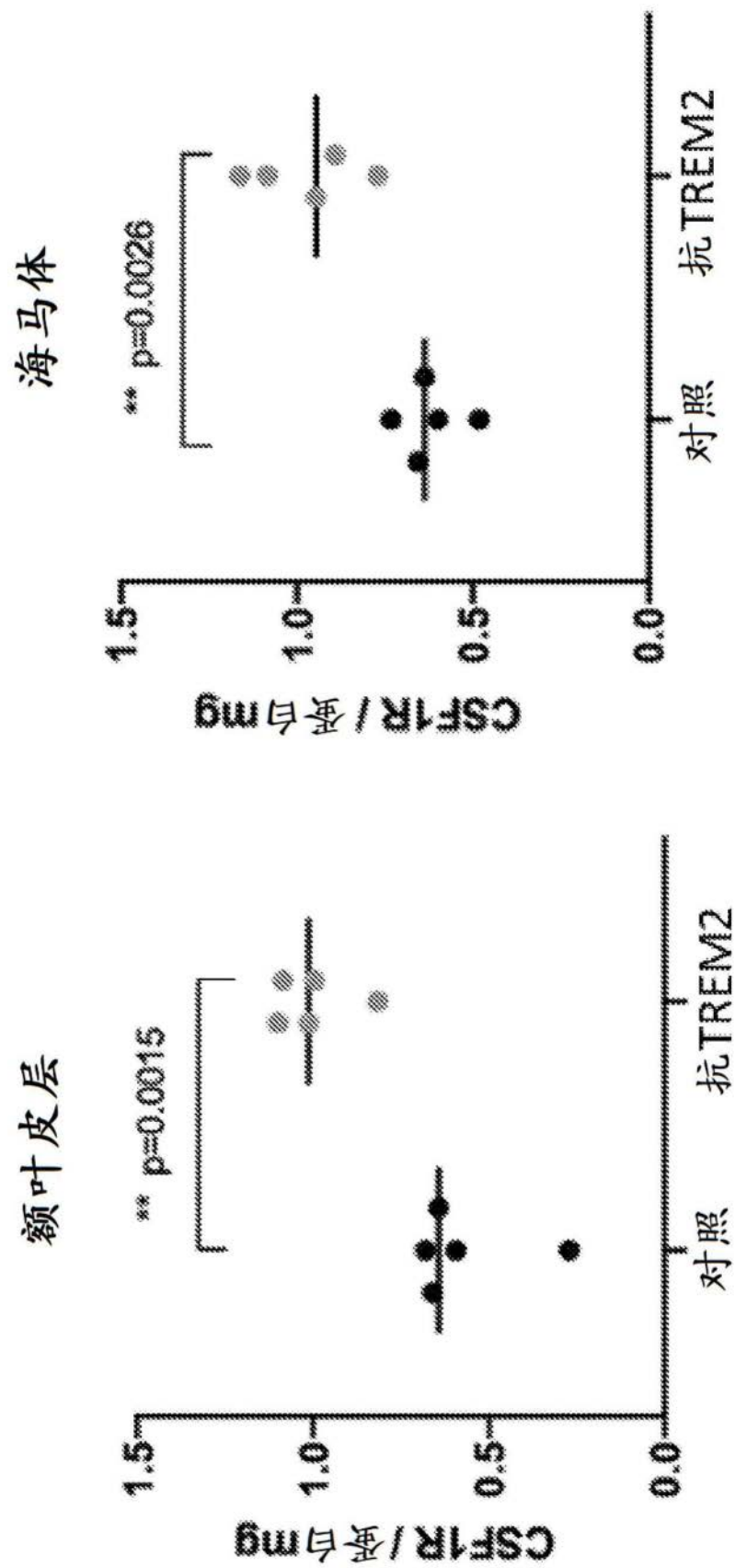


图4