(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119343377 A
(43)申请公布日 2025.01.21

(21)申请号 202380046043.0
(22)申请日 2023.06.09
(30)优先权数据
63/350,832 2022.06.09 US
63/481,257 2023.01.24 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.12.09
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/068248 2023.06.09
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/240272 EN 2023.12.14
(71)申请人 圣塔安娜生物股份有限公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 P·艾姆塔格 E·博洛丁 N·艾姆塔格
(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
专利代理师 秦剑
(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

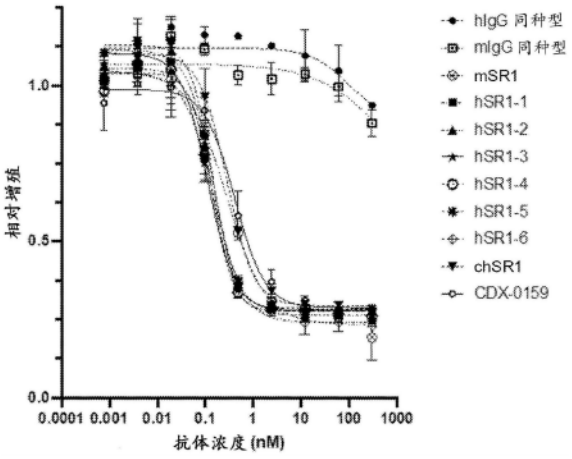
权利要求书17页 说明书72页 附图3页

(54)发明名称

靶向c-Kit和/或siglec的抗体及其用途

(57)摘要

不期望的肥大细胞活性与各种疾病或病症有关,例如过敏、炎症性疾病、自身免疫性疾病和癌症。仍然需要可以靶向c-Kit和/或siglec-6的新的和改进的治疗剂(例如,用于肥大细胞相关疾病或病症)。本文公开了能够与c-Kit和/或siglec-6结合的分子,例如抗体和抗体片段。本文公开了能够与c-Kit和/或siglec-6结合的分子,例如抗体和抗体片段。



CN 119343377 A

1.一种抗体或其抗原结合片段,其包含能够结合siglec-6的第一抗原结合结构域和能够结合c-Kit的第二抗原结合结构域。

2.如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域能够以比所述第二抗原结合结构域能够结合c-Kit更高的亲和力结合siglec-6。

3.如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域能够以特征在于K_D值低于约100uM、低于约100nM、低于约10nM、低于约1nM、低于约100pM、低于约10pM、低于约1pM、低于约100fM或低于约10fM的亲和力结合siglec-6。

4.如权利要求3所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域能够以特征在于K_D值介于约1nM与约900uM之间、介于约5nM与约500uM之间、介于约10nM与约100uM之间、介于约20nM与约10 10uM之间或介于约25与约500nM之间的亲和力结合c-Kit。

5.如权利要求1-4中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够结合表达siglect-6的细胞。

6.如权利要求1-5中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够结合肥大细胞。

7.如权利要求6所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段优先结合肥大细胞而非另一种免疫细胞。

8.如权利要求6所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述免疫细胞是T细胞、树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞或嗜碱性粒细胞。

9.如权利要求1-8中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段不诱导肥大细胞脱颗粒。

10.如权利要求1-9中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与能够结合silect-6的参考抗体相比具有相当或更低的内化率。

11.如权利要求10所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述能够结合siglect-6的参考抗体包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的重链可变(VH)区和含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链可变(VL)区。

12.如权利要求1-11中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与能够结合c-Kit的参考抗体相比具有相当或更低的毒性。

13.如权利要求12所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述能够结合c-Kit的参考抗体包含含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL区。

14.如权利要求1-13中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的重链互补决定区1(HCDR1),

具有SEQ ID NO:4或21的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

(b)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:11或32的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的重链互补决定区1(LCDR1),

具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3。

15.如权利要求14所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:4或21的氨基酸序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HCDR3;以及

(b)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:11或32的氨基酸序列的LCDR1,

具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的LCDR3。

16.如权利要求14所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)VH区,其包含:

(i)分别具有SEQ ID NO:3、4和5的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;或

(ii)分别具有SEQ ID NO:3、21和5的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;以及

(b)VL区,其包含:

(i)分别具有SEQ ID NO:11、12和13的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;或

(ii)分别具有SEQ ID NO:32、12和13的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

17.如权利要求14-16中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)包含与SEQ ID NO:2、20、23、25、27或29的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VH区;以及

(b)包含与SEQ ID NO:10、31、36或38的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VL区。

18.如权利要求17所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)具有SEQ ID NO:2、20、23、25、27或29的氨基酸序列的VH区;以及

(b)具有SEQ ID NO:10、31、36或38的氨基酸序列的VL区。

19.如权利要求17或18所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的VL区;

(b)具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL区;

(c)具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL区;

(d)具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL区;或

(e)具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL区。

20.如权利要求19所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL区。

21.如权利要求1-13中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:122的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:124的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

(b)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:127的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR1,

具有SEQ ID NO:128的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3。

22.如权利要求21所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:122的氨基酸序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:124的氨基酸序列的HCDR3;以及

(b)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的LCDR1,

具有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:139的氨基酸序列的LCDR3。

23.如权利要求21或22所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)包含与SEQ ID NO:121的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VH区;以及

(b)包含与SEQ ID NO:126的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VL区。

24.如权利要求23所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH区;以及

(b)具有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的VL区。

25.如权利要求1-13中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:133、141或149的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:134、142、150或160的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:135、143或151的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

(b)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:137、145、153或165的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR1,

具有SEQ ID NO:138、146或154的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:139、147或155的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3。

26.如权利要求25所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:133、141或149的氨基酸序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:134、142、150或160的氨基酸序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:135、143或151的氨基酸序列的HCDR3;以及

(b)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:137、145、153或165的氨基酸序列的LCDR1,

具有SEQ ID NO:138、146或154的氨基酸序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:139、147或155的氨基酸序列的LCDR3。

27.如权利要求25或26所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)VH区,其包含:

(i)分别具有SEQ ID NO:133、134和135的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(ii)分别具有SEQ ID NO:141、142和143的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(iii)分别具有SEQ ID NO:149、150和151的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;或

(iv)分别具有SEQ ID NO:149、160和151的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;以及

(b)VL区,其包含:

(i)分别具有SEQ ID NO:137、138和139的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(ii)分别具有SEQ ID NO:145、146和147的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(iii)分别具有SEQ ID NO:153、154和155的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;或

(iv)分别具有SEQ ID NO:165、154和155的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

28.如权利要求25-27中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)包含与SEQ ID NO:132、140、148、159或162的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VH区;以及

(b)包含与SEQ ID NO:136、144、152、164、167或169的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VL区。

29.如权利要求28所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)具有SEQ ID NO:132、140、148、159或162的氨基酸序列的VH区;以及

(b)具有SEQ ID NO:136、144、152、164、167或169的氨基酸序列的VL区。

30.如权利要求28或29所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)具有SEQ ID NO:132的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:139的氨基酸序列的VL

区;

(b)具有SEQ ID NO:140的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:144的氨基酸序列的VL区;或

(c)具有SEQ ID NO:148的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:152的氨基酸序列的VL区。

31.如权利要求28或29所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a)具有SEQ ID NO:159的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:164的氨基酸序列的VL区;

(b)具有SEQ ID NO:162的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:167的氨基酸序列的VL区;或

(c)具有SEQ ID NO:162的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VL区。

32.如权利要求1-31中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗原结合结构域包含:

(a)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:42或53的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

(b)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR1,

具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3。

33.如权利要求32所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗原结合结构域包含:

(a)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:42或53的氨基酸序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HCDR3;以及

(b)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的LCDR1,

具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的LCDR3。

34.如权利要求32所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗原结合结构域包含VH区,所述VH区包含:

(a)具有SEQ ID NO:60、61或62的氨基酸序列的HCDR1,

(b)具有SEQ ID NO:63、64、65、66、67或68的氨基酸序列的HCDR2,以及

(c)具有SEQ ID NO:69、70、71或72的氨基酸序列的HCDR3。

35.如权利要求32所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗原结合结构域包含

VH区,所述VH区包含:

(a)具有SEQ ID NO:90、91、92、93、94或95的氨基酸序列的LCDR1,

(b)具有SEQ ID NO:96或97的氨基酸序列的LCDR2,以及

(c)具有SEQ ID NO:98、99、100、101、102、103或104的氨基酸序列的LCDR3。

36.如权利要求32-35中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗原结合结构域包含:

(a)VH区,其包含:

(i)分别具有SEQ ID NO:41、42和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(ii)分别具有SEQ ID NO:41、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(iii)分别具有SEQ ID NO:60、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(iv)分别具有SEQ ID NO:61、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(v)分别具有SEQ ID NO:62、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(vi)分别具有SEQ ID NO:41、63和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(vii)分别具有SEQ ID NO:41、64和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(viii)分别具有SEQ ID NO:41、65和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(ix)分别具有SEQ ID NO:41、66和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(x)分别具有SEQ ID NO:41、67和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(xi)分别具有SEQ ID NO:41、68和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(xii)分别具有SEQ ID NO:41、53和69的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(xiii)分别具有SEQ ID NO:41、53和70的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(xiv)分别具有SEQ ID NO:41、53和71的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;或

(xv)分别具有SEQ ID NO:41、53和72的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;以及

(b)VL区,其包含:

(i)分别具有SEQ ID NO:46、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(ii)分别具有SEQ ID NO:90、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(iii)分别具有SEQ ID NO:91、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(iv)分别具有SEQ ID NO:92、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(v)分别具有SEQ ID NO:93、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(vi)分别具有SEQ ID NO:94、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(vii)分别具有SEQ ID NO:95、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(viii)分别具有SEQ ID NO:46、96和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(ix)分别具有SEQ ID NO:46、97和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(x)分别具有SEQ ID NO:46、47和98的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(xi)分别具有SEQ ID NO:46、47和99的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(xii)分别具有SEQ ID NO:46、47和100的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(xiii)分别具有SEQ ID NO:46、47和101的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(xiv)分别具有SEQ ID NO:46、47和102的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(xv)分别具有SEQ ID NO:46、47和103的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;或

(xvi)分别具有SEQ ID NO:46、47和104的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

37.如权利要求32-36中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗原结合结构域包含:

(a)包含与SEQ ID NO:40、52、55、57、59、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84或85的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VH区;以及

(b)包含与SEQ ID NO:45、87、89、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118或119的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VL区。

38.如权利要求37所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗原结合结构域包含:

(a)具有SEQ ID NO:40、52、55、57、59、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84或85的氨基酸序列的VH区;以及

(b)具有SEQ ID NO:45、87、89、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118或119的氨基酸序列的VL区。

39.如权利要求37或38所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗原结合结构域包含:

(a)具有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL区;

(b)具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL区;

(c)具有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL区;

(d)具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL区;

(e)具有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL区;

(f)具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VL区;或

(g)具有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VL区。

40.如权利要求39所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗原结合结构域包含:

具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL区。

41.如权利要求1-40中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:

(a)第一重链,其包含所述第一抗原结合结构域的所述VH区以及第一重链恒定(CH)区或其片段;

(b)第一轻链,其包含所述第一抗原结合结构域的所述VL区以及第一轻链恒定(CL)区或其片段;

(c)第二重链,其包含所述第二抗原结合结构域的所述VH区以及第二CH区或其片段;以及

(d)第二轻链,其包含所述第二抗原结合结构域的所述VL区以及第二CL区或其片段。

42.如权利要求41所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CH区和所述第二CH区各自包含与SEQ ID NO:130的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列。

43.如权利要求34或35所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一重链和所述第二重链形成异二聚体,任选地其中所述第一重链和所述第二重链中的一个包含位置366处的丝氨酸残基、位置368处的丙氨酸残基和位置407处的缬氨酸残基;并且另一重链包含位置366处的色氨酸残基,其中所述恒定区的编号按照EU索引。

44.如权利要求41-43中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CH区和/或所述第二CH区包含一个或多个增加所述抗体或抗原结合片段的血清半衰期的突变。

45.如权利要求44所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CH区和/或所述第二CH区是包含以下突变的人IgG1 CH:M252Y、S254T和T256E,其中所述恒定区的编号按照EU索引。

46.如权利要求43-45中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CH区和/或所述第二CH区包含一个或多个降低或消除效应功能的突变。

47.如权利要求46所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CH区和/或所述第二CH区是包含以下突变之一的人IgG1 CH,其中所述恒定区的编号按照EU索引:

(a)L234A和/或L235A;

(b)A327G、A330S和/或P331S;

(c)E233P、L234V、L235A和/或G236del;

(d)E233P、L234V和/或L235A;

(e)E233P、L234V、L235A、G236del、A327G、A330S和/或P331S;

(f)E233P、L234V、L235A、A327G、A330S和/或P331S;

(g)N297A;

(h)N297G;

(i)N297Q;

(j)L242C、N297C和/或K334C;

(k)A287C、N297G和/或L306C;

(l)R292C、N297G和/或V302C;

(m)N297G、V323C和/或I332C;

(n)V259C、N297G和/或L306C;

(o)L234F、L235Q、K322Q、M252Y、S254T和/或T256E;

(p)L234A、L235A和/或P329G;或

(q)L234A、L235Q和K322Q。

48.如权利要求46所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CH区和/或所述第二CH区是包含以下突变之一的人IgG2 CH,其中所述恒定区的编号按照EU索引:

(a)A330S和/或P331S;

(b)V234A、G237A、P238S、H268A、V309L、A330S和/或P331S;或

(c)V234A、G237A、H268Q、V309L、A330S、P331S、C232S、C233S、S267E、L328F、M252Y、

S254T和/或T256E。

49.如权利要求46所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CH区和/或所述第二CH区是包含以下突变之一的人IgG4 CH,其中所述恒定区的编号按照EU索引:

(a)E233P、F234V、L235A和/或G236del;

(b)E233P、F234V和/或L235A;

(c)S228P和/或L235E;或

(d)S228P和/或L235A。

50.如权利要求41-45中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CH区和/或所述第二CH区包含一个或多个增强效应功能的突变。

51.如权利要求50所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CH区和/或所述第二CH区是包含以下突变之一的人IgG1 CH,其中所述恒定区的编号按照EU索引:

(a)F243L、R292P、Y300L、V305I和/或P396L;

(b)S239D和/或I332E;

(c)S239D、I332E和/或A330L;

(d)S298A、E333A和/或K334A;

(e)G236A、S239D和/或I332E;

(f)K326W和/或E333S;

(g)S267E、H268F和/或S324T;或

(h)E345R、E430G和/或S440Y。

52.如权利要求43-51中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一重链和所述第二重链中的至少一个是非岩藻糖基化的。

53.如权利要求50所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段在细胞系中产生,所述细胞系

(a)具有α-1,6-岩藻糖基转移酶(Fut8)敲除;或

(b)过表达β1,4-N-乙酰葡萄糖胺基转移酶III(GnT-III)并任选过表达高尔基体μ-甘露糖苷酶II(ManII)。

54.如权利要求43-53中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CL区和/或所述第二CL区是人κ恒定区。

55.如权利要求43-54中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中:

(a)(i)所述第一抗原结合结构域包含:

包含分别具有SEQ ID NO:3、21和5的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3的VH区;以及

包含分别具有SEQ ID NO:32、12和13的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3的VL区;并且

(ii)所述第二抗原结合结构域包含:

包含分别具有SEQ ID NO:41、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3的VH区;以及

包含分别具有SEQ ID NO:46、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3的VL区;或

(b)(i)所述第一抗原结合结构域包含:

包含分别具有SEQ ID NO:122、123和124的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3的VH区;

以及

包含分别具有SEQ ID NO:127、128和129的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3的VL区;并且

(ii)所述第二抗原结合结构域包含:

包含分别具有SEQ ID NO:41、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3的VH区;以及

包含分别具有SEQ ID NO:46、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3的VL区。

56.如权利要求55所述的抗体或其抗原结合片段,其中:

(a)所述第一抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL区;并且

所述第二抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL区;或

(b)所述第一抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的VL区;并且

所述第二抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL区。

57.如权利要求1-56中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗原结合片段是Fab、Fab'、Fab2、F(ab')2、Fv、单链Fv(scFv)或双抗体。

58.如权利要求1-57中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与剂缀合。

59.如权利要求58所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述剂是细胞毒性剂或标记。

60.一种组合物,所述组合物包含如权利要求1-59中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

61.如权利要求60所述的组合物,其中所述抗体或抗原结合片段包含Fc区和与所述Fc区连接的N-糖苷连接的碳水化合物链,任选地其中所述N-糖苷连接的碳水化合物链中少于50%含有岩藻糖残基。

62.如权利要求61所述的组合物,其中所述N-糖苷连接的碳水化合物链中基本上没有N-糖苷连接的碳水化合物链含有岩藻糖残基。

63.一种能够与siglec-6结合的抗体或其抗原结合片段,其包含:

(a)重链可变(VH)区,其包含:

具有SEQ ID NO:133、141或149的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的重链互补决定区1(HCDR1),

具有SEQ ID NO:134、142、150或160的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:135、143或151的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

(b)轻链可变(VL)区,其包含:

具有SEQ ID NO:137、145、153或165的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的轻链互补决定区1(LCDR1),

具有SEQ ID NO:138、146或154的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:139、147或155的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3。

64.如权利要求63所述的抗体或其抗原结合片段,其包含:

(a)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:133、141或149的氨基酸序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:134、142、150或160的氨基酸序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:135、143或151的氨基酸序列的HCDR3;以及

(b)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:137、145、153或165的氨基酸序列的LCDR1,

具有SEQ ID NO:138、146或154的氨基酸序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:139、147或155的氨基酸序列的LCDR3。

65.如权利要求63所述的抗体或其抗原结合片段,其包含:

(a)(i)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:133的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:134的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:135的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

(ii)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR1,

具有SEQ ID NO:138的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:139的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3;或

(b)(i)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:141的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:142的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:143的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

(ii)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR1,

具有SEQ ID NO:146的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:147的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3;或

(c)(i)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:149的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:150或160的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:151的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

(ii)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:153或165的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR1,

具有SEQ ID NO:154的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:155的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3。

66.如权利要求65所述的抗体或其抗原结合片段,其包含:

(a)(i)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:134的氨基酸序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:135的氨基酸序列的HCDR3;以及

(ii)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的LCDR1,

具有SEQ ID NO:138的氨基酸序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:139的氨基酸序列的LCDR3;或

(b)(i)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:141的氨基酸序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:142的氨基酸序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:143的氨基酸序列的HCDR3;以及

(ii)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的LCDR1,

具有SEQ ID NO:146的氨基酸序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:147的氨基酸序列的LCDR3;或

(c)(i)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:149的氨基酸序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:150或160的氨基酸序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:151的氨基酸序列的HCDR3;以及

(ii)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:153或165的氨基酸序列的LCDR1,

具有SEQ ID NO:154的氨基酸序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:155的氨基酸序列的LCDR3。

67.如权利要求63-66中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包含:

(a)VH区,其包含:

(i)分别具有SEQ ID NO:133、134和135的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(ii)分别具有SEQ ID NO:141、142和143的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(iii)分别具有SEQ ID NO:149、150和151的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;或

(iv)分别具有SEQ ID NO:149、160和151的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;以及

(b)VL区,其包含:

(i)分别具有SEQ ID NO:137、138和139的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(ii)分别具有SEQ ID NO:145、146和147的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(iii)分别具有SEQ ID NO:153、154和155的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;或

(iv)分别具有SEQ ID NO:165、154和155的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

68.如权利要求63-67中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中

所述VH区包含与SEQ ID NO:132、140、148、159或162的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列;并且

所述VL区包含与SEQ ID NO:136、144、152、164、167或169的氨基酸序列具有至少70％、至少80％、至少90％或至少95％序列一致性的氨基酸序列。

69.如权利要求63-68中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中

所述VH区包含SEQ ID NO:132、140、148、159或162的氨基酸序列;并且

所述VL区包含SEQ ID NO:136、144、152、164、167或169的氨基酸序列。

70.如权利要求63-69中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中

(a)所述VH区包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列;

(b)所述VH区包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列;或

(c)所述VH区包含SEQ ID NO:148的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列。

71.如权利要求63-69中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中

(a)所述VH区包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列;

(b)所述VH区包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列;或

(c)所述VH区包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列。

72.如权利要求63-71中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是人源化抗体。

73.一种能够与siglec-6结合的人源化抗体或其抗原结合片段,其包含:

(a)重链可变结构域(VH),其包含:

具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链互补决定区1(HCDR1),

具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HCDR3;以及

(a)轻链可变结构域(VL),其包含:

具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的轻链互补决定区1(LCDR1),

具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的LCDR3。

74.如权利要求73所述的抗体或其抗原结合片段,其中

所述VH区包含与SEQ ID NO:20、23、25、27或29的氨基酸序列具有至少70％、至少80％、至少90％或至少95％序列一致性的氨基酸序列;并且

所述VL区包含与SEQ ID NO:31、36或38的氨基酸序列具有至少70％、至少80％、至少90％或至少95％序列一致性的氨基酸序列。

75.如权利要求73或74所述的抗体或其抗原结合片段,其中

所述VH区包含SEQ ID NO:20、23、25、27或29的氨基酸序列;并且

所述VL区包含SEQ ID NO:31、36或38的氨基酸序列。

76.如权利要求73-75中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中

(a)所述VH区包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列;

(b)所述VH区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列;

(c)所述VH区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列;或

(d)所述VH区包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列。

77.如权利要求76所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述VH区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列。

78.如权利要求63-77中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段能够以最多约10nM、最多约5nM或最多约1nM的K_D值结合siglec-6。

79.如权利要求63-78中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段

(a)能够结合人siglec-6;

(b)能够结合食蟹猴siglec-6;

(c)能够结合肥大细胞,任选地优先于另一种免疫细胞(例如,T细胞、树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞或嗜碱性粒细胞);

(d)不诱导肥大细胞脱颗粒;和/或

(e)与能够结合silect-6的参考抗体相比具有相当或更低的内化率,任选地其中所述参考抗体包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的VL区。

80.一种能够与c-Kit结合的人源化抗体或其抗原结合片段,其包含:

(a)重链可变结构域(VH),其包含:

具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列或与其有1个氨基酸差异的序列的重链互补决定区1(HCDR1),

具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列或与其有1个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列或与其有1个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

(a)轻链可变结构域(VL),其包含:

具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列或与其有1个氨基酸差异的序列的轻链互补决定区1(LCDR1),

具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列或与其有1个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列或与其有1个氨基酸差异的序列的LCDR3。

81.如权利要求80所述的抗体或其抗原结合片段,其包含

(a)VH区,其包含:

具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HCDR1,

具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HCDR2,以及

具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HCDR3;以及

(b)VL区,其包含:

具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的LCDR1,
具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的LCDR2,以及
具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的LCDR3。

82.如权利要求80所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述VH包含:
(a)具有SEQ ID NO:60、61或62的氨基酸序列的HCDR1,
(b)具有SEQ ID NO:63、64、65、66、67或68的氨基酸序列的HCDR2,以及
(c)具有SEQ ID NO:69、70、71或72的氨基酸序列的HCDR3。

83.如权利要求80或82所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述VL包含:
(a)具有SEQ ID NO:90、91、92、93、94或95的氨基酸序列的LCDR1,
(b)具有SEQ ID NO:96或97的氨基酸序列的LCDR2,以及
(c)具有SEQ ID NO:98、99、100、101、102、103或104的氨基酸序列的LCDR3。

84.如权利要求80-83中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中:
(a)所述VH区包含:
(i)分别具有SEQ ID NO:41、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;
(ii)分别具有SEQ ID NO:60、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;
(iii)分别具有SEQ ID NO:61、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;
(iv)分别具有SEQ ID NO:62、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;
(v)分别具有SEQ ID NO:41、63和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;
(vi)分别具有SEQ ID NO:41、64和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;
(vii)分别具有SEQ ID NO:41、65和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;
(viii)分别具有SEQ ID NO:41、66和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;
(ix)分别具有SEQ ID NO:41、67和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;
(x)分别具有SEQ ID NO:41、68和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;
(xi)分别具有SEQ ID NO:41、53和69的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;
(xii)分别具有SEQ ID NO:41、53和70的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;
(xiii)分别具有SEQ ID NO:41、53和71的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;或
(xiv)分别具有SEQ ID NO:41、53和72的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;并且
(b)所述VL区包含:
(i)分别具有SEQ ID NO:46、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;
(ii)分别具有SEQ ID NO:90、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;
(iii)分别具有SEQ ID NO:91、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;
(iv)分别具有SEQ ID NO:92、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;
(v)分别具有SEQ ID NO:93、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;
(vi)分别具有SEQ ID NO:94、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;
(vii)分别具有SEQ ID NO:95、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;
(viii)分别具有SEQ ID NO:46、96和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;
(ix)分别具有SEQ ID NO:46、97和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;
(x)分别具有SEQ ID NO:46、47和98的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;
(xi)分别具有SEQ ID NO:46、47和99的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(xii)分别具有SEQ ID NO:46、47和100的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(xiii)分别具有SEQ ID NO:46、47和101的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(xiv)分别具有SEQ ID NO:46、47和102的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

(xv)分别具有SEQ ID NO:46、47和103的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;或

(xvi)分别具有SEQ ID NO:46、47和104的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

85.如权利要求80-84中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含与SEQ ID NO:52、55、57、59、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84或85的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列;并且

所述VL区包含与SEQ ID NO:87、89、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118或119的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列。

86.如权利要求80-85中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含SEQ ID NO:52、55、57、59、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84或85的氨基酸序列;并且

所述VL区包含SEQ ID NO:87、89、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118或119的氨基酸序列。

87.如权利要求80-86中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中

(a)所述VH区包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列;

(b)所述VH区包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列;

(c)所述VH区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列;

(d)所述VH区包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列;

(e)所述VH区包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列;

(f)所述VH区包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列;或

(g)所述VH区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列。

88.如权利要求87所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述VH区包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列。

89.如权利要求80-88中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段能够以介于约10与约500nM之间、介于约20与约100nM之间;或介于约25与约80nM之间的K_D值结合siglec-6。

90.如权利要求80-89中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段

(a)能够结合人c-Kit;

(b)能够结合食蟹猴c-Kit;和/或

(c)与能够结合c-Kit的参考抗体相比具有相当或更低的毒性,任选地其中所述参考抗体包含含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL区。

91.如权利要求63-90中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗原结合片段是Fab、F(ab')2、Fab'、单链Fv(scFv)、Fv片段、Fd片段或双抗体。

92.如权利要求63-91中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含抗体重链恒定区,任选地其中所述恒定区是人IgG重链恒定区,任选地其中所述人IgG重链恒定区是IgG1重链恒定区。

93.如权利要求92所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述恒定区包含一个或多个增加所述抗体或其抗原结合片段的血清半衰期的突变。

94.如权利要求92或93所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述恒定区包含一个或多个降低或消除效应功能的突变。

95.如权利要求92或93所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述恒定区包含一个或多个增强效应功能的突变。

96.如权利要求63-95中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第一重链和所述第二重链中的至少一个是无岩藻糖基化的(例如至少75%无岩藻糖基化)。

97.如权利要求63-96中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其与治疗剂或标记缀合。

98.一种多核苷酸,所述多核苷酸编码如权利要求1-59和63-97中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

99.一种表达载体,其包含如权利要求96所述的多核苷酸。

100.一种宿主细胞,其包含如权利要求98所述的多核苷酸或如权利要求99所述的表达载体。

101.如权利要求100所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞是哺乳动物或昆虫细胞。

102.如权利要求100或101所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞(a)包含Fut8敲除;和/或(b)过表达GnT-III并任选过表达ManII。

103.一种药物组合物,所述药物组合物包含如权利要求1-59和63-97中任一项所述的抗体或其抗原结合片段以及药学上可接受的载剂。

104.一种治疗有需要的受试者的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的如权利要求1-59和63-97中任一项所述的抗体或其抗原结合片段、如权利要求58-60中任一项所述的组合物或如权利要求103所述的药物组合物。

105.如权利要求104所述的方法,其中所述疾病或病症是肥大细胞相关疾病或病症。

106.如权利要求105所述的方法,其中所述疾病或病症是自身免疫性疾病、过敏、炎症、瘙痒或癌症。

107.如权利要求104-106中任一项所述的方法,其中所述疾病或病症与siglec-6和/或c-Kit的表达相关。

靶向c-Kit和/或siglec的抗体及其用途

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2022年6月9日提交的美国临时专利申请第63/350,832号;以及2023年1月24日提交的美国临时专利申请第63/481,257号的优先权,各临时专利申请的全部内容出于所有目的特此以引用方式并入。

背景技术

[0003] 肥大细胞(MC)是先天免疫细胞,在炎症过程中发挥关键作用。当MC被激活时,它会向环境中分泌各种免疫介质,例如细胞因子、白三烯和大量蛋白酶。肥大细胞的分化、生长和存活受到局部组织环境因子的强烈调控。干细胞因子(SCF)和IL-3是最佳表征的因子之一。不期望的肥大细胞活性与各种疾病或病症有关,例如过敏、炎症性疾病、自身免疫性疾病和癌症。

[0004] c-Kit是一种III型受体酪氨酸激酶,并且是一种众所周知的细胞表面受体,可与其生理配体SCF结合。c-Kit参与各种细胞内信号传导途径,并且在胚胎发生和成年期期间具有多种功能。c-Kit在MC中高度表达;在完全分化后,MC依靠c-Kit依赖性信号传导进行存活、发挥功能和生长。已经开发了c-Kit抗体,例如CDX-0158。

[0005] Siglec-6是唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素(siglecs)的CD33相关亚家族的成员。Siglec-6存在于人肥大细胞、一些B细胞以及胎盘的细胞滋养层和合胞体滋养层上。已经表明siglec-6对IgE介导的肥大细胞应答和非IgE介导的肥大细胞应答都具有抑制活性。

[0006] 仍然需要可以靶向c-Kit和/或siglec-6的新的和改进的治疗剂(例如,用于肥大细胞相关疾病或病症)。

发明内容

[0007] 本申请提供了能够结合c-Kit和/或siglec-6的抗原结合位点。

[0008] 在一个方面,提供了抗体或其抗原结合片段,其包含能够结合siglec-6的第一抗原结合结构域和能够结合c-Kit的第二抗原结合结构域。

[0009] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域能够以比第二抗原结合结构域能够结合c-Kit更高的亲和力结合siglec-6。在一些实施方案中,第一抗原结合结构域能够以特征在于K_D值低于约100uM、低于约100nM、低于约10nM、低于约1nM、低于约100pM、低于约10pM、低于约1pM、低于约100fM或低于约10fM的亲和力结合siglec-6。在一些实施方案中,第一抗原结合结构域能够以特征在于K_D值介于约1nM与约900uM之间、介于约5nM与约500uM之间、介于约10nM与约100uM之间、介于约20nM与约10 10uM之间或介于约25与约500nM之间的亲和力结合c-Kit。

[0010] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够结合表达silect-6的细胞。

[0011] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够结合肥大细胞。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段优先结合肥大细胞而非另一种免疫细胞。在一些实施方案中,免疫细胞是T细胞、树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞或嗜碱性粒细胞。

[0012] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段不诱导肥大细胞脱颗粒。

[0013] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段与能够结合silect-6的参考抗体相比具有相当或更低的内化率。在一些实施方案中,能够结合siglect-6的参考抗体包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的重链可变(VH)区和含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链可变(VL)区。

[0014] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段与能够结合c-Kit的参考抗体相比具有相当或更低的毒性。在一些实施方案中,能够结合c-Kit的参考抗体包含含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL区。

[0015] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0016] (a)VH区,其包含:具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的重链互补决定区1(HCDR1),具有SEQ ID NO:4或21的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

[0017] (b)VL区,其包含:具有SEQ ID NO:11或32的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的重链互补决定区1(LCDR1),具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3。

[0018] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0019] (a)VH区,其包含:具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR1,具有SEQ ID NO:4或21的氨基酸序列的HCDR2,以及具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HCDR3;以及

[0020] (b)VL区,其包含:具有SEQ ID NO:11或32的氨基酸序列的LCDR1,具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的LCDR2,以及具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的LCDR3。

[0021] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0022] (a)VH区,其包含:

[0023] (i)分别具有SEQ ID NO:3、4和5的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;或

[0024] (ii)分别具有SEQ ID NO:3、21和5的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;以及

[0025] (b)VL区,其包含:

[0026] (i)分别具有SEQ ID NO:11、12和13的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;或

[0027] (ii)分别具有SEQ ID NO:32、12和13的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0028] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0029] (a)包含与SEQ ID NO:2、20、23、25、27或29的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VH区;以及

[0030] (b)包含与SEQ ID NO:10、31、36或38的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VL区。

[0031] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0032] (a)具有SEQ ID NO:2、20、23、25、27或29的氨基酸序列的VH区;以及

[0033] (b)具有SEQ ID NO:10、31、36或38的氨基酸序列的VL区。

[0034] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0035] (a)具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的

VL区;

[0036] (b)具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL区;

[0037] (c)具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL区;

[0038] (d)具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL区;或

[0039] (e)具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL区。

[0040] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL区。

[0041] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0042] (a)VH区,其包含:

[0043] 具有SEQ ID NO:122的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR1,

[0044] 具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

[0045] 具有SEQ ID NO:124的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

[0046] (b)VL区,其包含:

[0047] 具有SEQ ID NO:127的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR1,

[0048] 具有SEQ ID NO:128的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

[0049] 具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3。

[0050] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0051] (a)VH区,其包含:

[0052] 具有SEQ ID NO:122的氨基酸序列的HCDR1,

[0053] 具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的HCDR2,以及

[0054] 具有SEQ ID NO:124的氨基酸序列的HCDR3;以及

[0055] (b)VL区,其包含:

[0056] 具有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的LCDR1,

[0057] 具有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的LCDR2,以及

[0058] 具有SEQ ID NO:139的氨基酸序列的LCDR3。

[0059] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0060] (a)包含与SEQ ID NO:121的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VH区;以及

[0061] (b)包含与SEQ ID NO:126的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VL区。

[0062] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0063] (a)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH区;以及

[0064] (b)具有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的VL区。

[0065] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0066] (a)VH区,其包含:

[0067] 具有SEQ ID NO:133、141或149的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR1,

[0068] 具有SEQ ID NO:134、142、150或160的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

[0069] 具有SEQ ID NO:135、143或151的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

[0070] (b)VL区,其包含:

[0071] 具有SEQ ID NO:137、145、153或165的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR1,

[0072] 具有SEQ ID NO:138、146或154的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

[0073] 具有SEQ ID NO:139、147或155的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3。

[0074] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0075] (a)VH区,其包含:

[0076] 具有SEQ ID NO:133、141或149的氨基酸序列的HCDR1,

[0077] 具有SEQ ID NO:134、142、150或160的氨基酸序列的HCDR2,以及

[0078] 具有SEQ ID NO:135、143或151的氨基酸序列的HCDR3;以及

[0079] (b)VL区,其包含:

[0080] 具有SEQ ID NO:137、145、153或165的氨基酸序列的LCDR1,

[0081] 具有SEQ ID NO:138、146或154的氨基酸序列的LCDR2,以及

[0082] 具有SEQ ID NO:139、147或155的氨基酸序列的LCDR3。

[0083] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0084] (a)VH区,其包含:

[0085] (i)分别具有SEQ ID NO:133、134和135的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0086] (ii)分别具有SEQ ID NO:141、142和143的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0087] (iii)分别具有SEQ ID NO:149、150和151的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;或

[0088] (iv)分别具有SEQ ID NO:149、160和151的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;以及

[0089] (b)VL区,其包含:

[0090] (i)分别具有SEQ ID NO:137、138和139的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0091] (ii)分别具有SEQ ID NO:145、146和147的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0092] (iii)分别具有SEQ ID NO:153、154和155的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;或

[0093] (iv)分别具有SEQ ID NO:165、154和155的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0094] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0095] (a)包含与SEQ ID NO:132、140、148、159或162的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VH区;以及

[0096] (b)包含与SEQ ID NO:136、144、152、164、167或169的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VL区。

[0097] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0098] (a)具有SEQ ID NO:132、140、148、159或162的氨基酸序列的VH区;以及

[0099] (b)具有SEQ ID NO:136、144、152、164、167或169的氨基酸序列的VL区。

[0100] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0101] (a)具有SEQ ID NO:132的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:139的氨基酸序列的VL区;

[0102] (b)具有SEQ ID NO:140的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:144的氨基酸序列的VL区;或

[0103] (c)具有SEQ ID NO:148的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:152的氨基酸序列的VL区。

[0104] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包含:

[0105] (a)具有SEQ ID NO:159的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:164的氨基酸序列的VL区;

[0106] (b)具有SEQ ID NO:162的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:167的氨基酸序列的VL区;或

[0107] (c)具有SEQ ID NO:162的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VL区。

[0108] 在一些实施方案中,第二抗原结合结构域包含:

[0109] (a)VH区,其包含:

[0110] 具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR1,

[0111] 具有SEQ ID NO:42或53的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

[0112] 具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

[0113] (b)VL区,其包含:

[0114] 具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR1,

[0115] 具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

[0116] 具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3。

[0117] 在一些实施方案中,第二抗原结合结构域包含:

[0118] (a)VH区,其包含:

[0119] 具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HCDR1,

[0120] 具有SEQ ID NO:42或53的氨基酸序列的HCDR2,以及

[0121] 具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HCDR3;以及

[0122] (b)VL区,其包含:

[0123] 具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的LCDR1,

[0124] 具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的LCDR2,以及

[0125] 具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的LCDR3。

[0126] 在一些实施方案中,第二抗原结合结构域包含VH区,其包含:

[0127] (a)具有SEQ ID NO:60、61或62的氨基酸序列的HCDR1,

[0128] (b)具有SEQ ID NO:63、64、65、66、67或68的氨基酸序列的HCDR2,以及

[0129] (c)具有SEQ ID NO:69、70、71或72的氨基酸序列的HCDR3。在一些实施方案中,第二抗原结合结构域包含VH区,其包含:

[0130] (a)具有SEQ ID NO:90、91、92、93、94或95的氨基酸序列的LCDR1,

[0131] (b)具有SEQ ID NO:96或97的氨基酸序列的LCDR2,以及

[0132] (c)具有SEQ ID NO:98、99、100、101、102、103或104的氨基酸序列的LCDR3。

[0133] 在一些实施方案中,第二抗原结合结构域包含:

[0134] (a)VH区,其包含:

[0135] (i)分别具有SEQ ID NO:41、42和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0136] (ii)分别具有SEQ ID NO:41、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0137] (iii)分别具有SEQ ID NO:60、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0138] (iv)分别具有SEQ ID NO:61、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0139] (v)分别具有SEQ ID NO:62、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0140] (vi)分别具有SEQ ID NO:41、63和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0141] (vii)分别具有SEQ ID NO:41、64和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0142] (viii)分别具有SEQ ID NO:41、65和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0143] (ix)分别具有SEQ ID NO:41、66和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0144] (x)分别具有SEQ ID NO:41、67和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0145] (xi)分别具有SEQ ID NO:41、68和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0146] (xii)分别具有SEQ ID NO:41、53和69的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0147] (xiii)分别具有SEQ ID NO:41、53和70的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0148] (xiv)分别具有SEQ ID NO:41、53和71的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;或

[0149] (xv)分别具有SEQ ID NO:41、53和72的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;以及

[0150] (b)VL区,其包含:

[0151] (i)分别具有SEQ ID NO:46、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0152] (ii)分别具有SEQ ID NO:90、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0153] (iii)分别具有SEQ ID NO:91、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0154] (iv)分别具有SEQ ID NO:92、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0155] (v)分别具有SEQ ID NO:93、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0156] (vi)分别具有SEQ ID NO:94、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0157] (vii)分别具有SEQ ID NO:95、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0158] (viii)分别具有SEQ ID NO:46、96和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0159] (ix)分别具有SEQ ID NO:46、97和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0160] (x)分别具有SEQ ID NO:46、47和98的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0161] (xi)分别具有SEQ ID NO:46、47和99的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0162] (xii)分别具有SEQ ID NO:46、47和100的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0163] (xiii)分别具有SEQ ID NO:46、47和101的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0164] (xiv)分别具有SEQ ID NO:46、47和102的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0165] (xv)分别具有SEQ ID NO:46、47和103的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;或

[0166] (xvi)分别具有SEQ ID NO:46、47和104的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0167] 在一些实施方案中,第二抗原结合结构域包含:

[0168] (a)包含与SEQ ID NO:40、52、55、57、59、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84或85的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VH区;以及

[0169] (b)包含与SEQ ID NO:45、87、89、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118或119的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列的VL区。

[0170] 在一些实施方案中,第二抗原结合结构域包含:

[0171] (a)具有SEQ ID NO:40、52、55、57、59、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84或85的氨基酸序列的VH区;以及

[0172] (b)具有SEQ ID NO:45、87、89、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118或119的氨基酸序列的VL区。

[0173] 在一些实施方案中,第二抗原结合结构域包含:

[0174] (a)具有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL区;

[0175] (b)具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL区;

[0176] (c)具有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL区;

[0177] (d)具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL区;

[0178] (e)具有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL区;

[0179] (f)具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VL区;或

[0180] (g)具有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VL区。

[0181] 在一些实施方案中,第二抗原结合结构域包含:具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL区。

[0182] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:

[0183] (a)第一重链,其包含第一抗原结合结构域的VH区以及第一重链恒定(CH)区或其片段;

[0184] (b)第一轻链,其包含第一抗原结合结构域的VL区以及第一轻链恒定(CL)区或其片段;

[0185] (c)第二重链,其包含第二抗原结合结构域的VH区以及第二CH区或其片段;以及

[0186] (d)第二轻链,其包含第二抗原结合结构域的VL区以及第二CL区或其片段。

[0187] 在一些实施方案中,第一和第二CH区各自包含与SEQ ID NO:130的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列。

[0188] 在一些实施方案中,第一和第二重链形成异二聚体,任选地其中第一和第二重链中的一个包含位置366处的丝氨酸残基、位置368处的丙氨酸残基和位置407处的缬氨酸残基;并且另一重链包含位置366处的色氨酸残基,其中恒定区的编号按照EU索引。

[0189] 在一些实施方案中,第一和/或第二CH区包含一个或多个降低或消除效应功能的突变。在一些实施方案中,第一和/或第二CH区是包含以下突变之一的人IgG1 CH,其中恒定区的编号按照EU索引:(a)L234A和/或L235A;(b)A327G、A330S和/或P331S;(c)E233P、L234V、L235A和/或G236del;(d)E233P、L234V和/或L235A;(e)E233P、L234V、L235A、G236del、A327G、A330S和/或P331S;(f)E233P、L234V、L235A、A327G、A330S和/或P331S;(g)N297A;(h)N297G;(i)N297Q;(j)L242C、N297C和/或K334C;(k)A287C、N297G和/或L306C;(l)R292C、N297G和/或V302C;(m)N297G、V323C和/或I332C;(n)V259C、N297G和/或L306C;(o)L234F、L235Q、K322Q、M252Y、S254T和/或T256E;(p)L234A、L235A和/或P329G;或(q)L234A、L235Q和K322Q。在一些实施方案中,第一和/或第二CH区是包含以下突变之一的人IgG2 CH,其中恒定区的编号按照EU索引:(a)A330S和/或P331S;(b)V234A、G237A、P238S、H268A、V309L、A330S和/或P331S;或(c)V234A、G237A、H268Q、V309L、A330S、P331S、C232S、C233S、S267E、L328F、M252Y、S254T和/或T256E。在一些实施方案中,第一和/或第二CH区是包含以下突变之一的人IgG4 CH,其中恒定区的编号按照EU索引:(a)E233P、F234V、L235A和/或G236del;(b)E233P、F234V和/或L235A;(c)S228P和/或L235E;或(d)S228P和/或L235A。

[0190] 在一些实施方案中,第一和/或第二CH区包含一个或多个增强效应功能的突变。在一些实施方案中,第一和/或第二CH区是包含以下突变之一的人IgG1 CH,其中恒定区的编号按照EU索引:(a)F243L、R292P、Y300L、V305I和/或P396L;(b)S239D和/或I332E;(c)S239D、I332E和/或A330L;(d)S298A、E333A和/或K334A;(e)G236A、S239D和/或I332E;(f)K326W和/或E333S;(g)S267E、H268F和/或S324T;或(h)E345R、E430G和/或S440Y。

[0191] 在一些实施方案中,第一和第二重链中的至少一个是非岩藻糖基化的。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段在以下细胞系中产生:(a)具有α-1,6-岩藻糖基转移酶(Fut8)敲除的细胞系;或(b)过表达β1,4-N-乙酰葡萄糖胺基转移酶III(GnT-III)并任选过表达高尔基体μ-甘露糖苷酶II(ManII)的细胞系。

[0192] 在一些实施方案中,第一和/或第二CL区是人κ恒定区。

[0193] 在一些实施方案中,

[0194] (a)(i)第一抗原结合结构域包含:

[0195] 包含分别具有SEQ ID NO:3、21和5的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3的VH区;以及

[0196] 包含分别具有SEQ ID NO:32、12和13的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3的VL区;并且

[0197] (ii)第二抗原结合结构域包含:

[0198] 包含分别具有SEQ ID NO:41、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3的VH区;以及

[0199] 包含分别具有SEQ ID NO:46、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3的VL区;或

[0200] (b)(i)第一抗原结合结构域包含:

[0201] 包含分别具有SEQ ID NO:122、123和124的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3的VH区;以及

[0202] 包含分别具有SEQ ID NO:127、128和129的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3的VL区;并且

[0203] (ii)第二抗原结合结构域包含:

[0204] 包含分别具有SEQ ID NO:41、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3的VH区;以及

[0205] 包含分别具有SEQ ID NO:46、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3的VL区;或

[0206] 在一些实施方案中,(a)第一抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL区;并且第二抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL区;或

[0207] (b)第一抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的VL区;并且第二抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的VL区。

[0208] 在一些实施方案中,抗原结合片段是Fab、Fab'、Fab2、F(ab')2、Fv、单链Fv(scFv)或双抗体。

[0209] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段与剂缀合。在一些实施方案中,剂是细胞毒性剂或标记。

[0210] 在另一方面,提供了包含上述抗体或其抗原结合片段的组合物。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含Fc区和与Fc区连接的N-糖苷连接的碳水化合物链,任选地其中少于50%的N-糖苷连接的碳水化合物链含有岩藻糖残基。在一些实施方案中,基本上没有N-糖苷连接的碳水化合物链含有岩藻糖残基。

[0211] 在另一方面,提供了能够结合siglec-6的抗体或其抗原结合片段,其包含:

[0212] (a)重链可变(VH)区,其包含:

[0213] 具有SEQ ID NO:133、141或149的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的重链互补决定区1(HCDR1),

[0214] 具有SEQ ID NO:134、142、150或160的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

[0215] 具有SEQ ID NO:135、143或151的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

[0216] (b)轻链可变(VL)区,其包含:

[0217] 具有SEQ ID NO:137、145、153或165的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的

序列的轻链互补决定区1(LCDR1),

[0218] 具有SEQ ID NO:138、146或154的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

[0219] 具有SEQ ID NO:139、147或155的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3。

[0220] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含:

[0221] (a)VH区,其包含:

[0222] 具有SEQ ID NO:133、141或149的氨基酸序列的HCDR1,

[0223] 具有SEQ ID NO:134、142、150或160的氨基酸序列的HCDR2,以及

[0224] 具有SEQ ID NO:135、143或151的氨基酸序列的HCDR3;以及

[0225] (b)VL区,其包含:

[0226] 具有SEQ ID NO:137、145、153或165的氨基酸序列的LCDR1,

[0227] 具有SEQ ID NO:138、146或154的氨基酸序列的LCDR2,以及

[0228] 具有SEQ ID NO:139、147或155的氨基酸序列的LCDR3。

[0229] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含:

[0230] (a)(i)VH区,其包含:

[0231] 具有SEQ ID NO:133的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR1,

[0232] 具有SEQ ID NO:134的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

[0233] 具有SEQ ID NO:135的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

[0234] (ii)VL区,其包含:

[0235] 具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR1,

[0236] 具有SEQ ID NO:138的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

[0237] 具有SEQ ID NO:139的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3;或

[0238] (b)(i)VH区,其包含:

[0239] 具有SEQ ID NO:141的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR1,

[0240] 具有SEQ ID NO:142的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

[0241] 具有SEQ ID NO:143的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

[0242] (ii)VL区,其包含:

[0243] 具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR1,

[0244] 具有SEQ ID NO:146的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

[0245] 具有SEQ ID NO:147的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3;或

[0246] (c)(i)VH区,其包含:

[0247] 具有SEQ ID NO:149的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR1,

[0248] 具有SEQ ID NO:150或160的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

[0249] 具有SEQ ID NO:151的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

[0250] (ii)VL区,其包含:

[0251] 具有SEQ ID NO:153或165的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR1,

[0252] 具有SEQ ID NO:154的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

[0253] 具有SEQ ID NO:155的氨基酸序列或与其有1或2个氨基酸差异的序列的LCDR3。

[0254] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含:

[0255] (a)(i)VH区,其包含:

[0256] 具有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的HCDR1,具有SEQ ID NO:134的氨基酸序列的HCDR2,以及具有SEQ ID NO:135的氨基酸序列的HCDR3;以及(ii)VL区,其包含:

[0257] 具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的LCDR1,具有SEQ ID NO:138的氨基酸序列的LCDR2,以及具有SEQ ID NO:139的氨基酸序列的LCDR3;或(b)(i)VH区,其包含:

[0258] 具有SEQ ID NO:141的氨基酸序列的HCDR1,具有SEQ ID NO:142的氨基酸序列的HCDR2,以及具有SEQ ID NO:143的氨基酸序列的HCDR3;以及(ii)VL区,其包含:

[0259] 具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的LCDR1,具有SEQ ID NO:146的氨基酸序列的LCDR2,以及具有SEQ ID NO:147的氨基酸序列的LCDR3;或(c)(i)VH区,其包含:

[0260] 具有SEQ ID NO:149的氨基酸序列的HCDR1,

[0261] 具有SEQ ID NO:150或160的氨基酸序列的HCDR2,以及

[0262] 具有SEQ ID NO:151的氨基酸序列的HCDR3;以及

[0263] (ii)VL区,其包含:

[0264] 具有SEQ ID NO:153或165的氨基酸序列的LCDR1,

[0265] 具有SEQ ID NO:154的氨基酸序列的LCDR2,以及

[0266] 具有SEQ ID NO:155的氨基酸序列的LCDR3。

[0267] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含:

[0268] (a)VH区,其包含:

[0269] (i)分别具有SEQ ID NO:133、134和135的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0270] (ii)分别具有SEQ ID NO:141、142和143的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0271] (iii)分别具有SEQ ID NO:149、150和151的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;或

[0272] (iv)分别具有SEQ ID NO:149、160和151的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;以及

[0273] (b)VL区,其包含:

[0274] (i)分别具有SEQ ID NO:137、138和139的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0275] (ii)分别具有SEQ ID NO:145、146和147的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0276] (iii)分别具有SEQ ID NO:153、154和155的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

或

[0277] (iv)分别具有SEQ ID NO:165、154和155的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0278] 在一些实施方案中,VH区包含与SEQ ID NO:132、140、148、159或162的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列;并且VL区包含与SEQ ID NO:136、144、152、164、167或169的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列。

[0279] 在一些实施方案中,VH区包含SEQ ID NO:132、140、148、159或162的氨基酸序列;并且VL区包含SEQ ID NO:136、144、152、164、167或169的氨基酸序列。

[0280] 在一些实施方案中,(a)VH区包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列;(b)VH区包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列;或(c)VH区包含SEQ ID NO:148的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列。

[0281] 在一些实施方案中,(a)VH区包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列;(b)VH区包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列;或(c)VH区包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列。

[0282] 在一些实施方案中,抗体是人源化抗体。

[0283] 在另一方面,提供了能够结合siglec-6的抗体或其抗原结合片段,其包含:

[0284] (a)重链可变结构域(VH),其包含:

[0285] 具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链互补决定区1(HCDR1),

[0286] 具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HCDR2,以及

[0287] 具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HCDR3;以及

[0288] (a)轻链可变结构域(VL),其包含:

[0289] 具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的轻链互补决定区1(LCDR1),

[0290] 具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的LCDR2,以及

[0291] 具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的LCDR3。

[0292] 在一些实施方案中,VH区包含与SEQ ID NO:20、23、25、27或29的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列;并且VL区包含与SEQ ID NO:31、36或38的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列。

[0293] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含:VH区包含SEQ ID NO:20、23、25、27或29的氨基酸序列;并且VL区包含SEQ ID NO:31、36或38的氨基酸序列。

[0294] 在一些实施方案中,(a)VH区包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列;

[0295] (b)VH区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列;

[0296] (c)VH区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列;或

[0297] (d)VH区包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:38的氨基酸

序列。

[0298] 在一些实施方案中,VH区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列。

[0299] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够以最多约10nM、最多约5nM或最多约1nM的K_D值结合siglec-6。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段(a)能够结合人siglec-6;(b)能够结合食蟹猴siglec-6;(c)能够结合肥大细胞,任选地优先于另一种免疫细胞(例如,T细胞、树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞或嗜碱性粒细胞);(d)不诱导肥大细胞脱颗粒;和/或(e)与能够结合siglec-6的参考抗体相比具有相当或更低的内化率,任选地其中参考抗体包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的VL区。

[0300] 在另一方面,提供了能够结合c-Kit的人源化抗体或其抗原结合片段,其包含:

[0301] (a)重链可变结构域(VH),其包含:

[0302] 具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列或与其有1个氨基酸差异的序列的重链互补决定区1(HCDR1),

[0303] 具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列或与其有1个氨基酸差异的序列的HCDR2,以及

[0304] 具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列或与其有1个氨基酸差异的序列的HCDR3;以及

[0305] (a)轻链可变结构域(VL),其包含:

[0306] 具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列或与其有1个氨基酸差异的序列的轻链互补决定区1(LCDR1),

[0307] 具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列或与其有1个氨基酸差异的序列的LCDR2,以及

[0308] 具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列或与其有1个氨基酸差异的序列的LCDR3。

[0309] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含:

[0310] (a)VH区,其包含:

[0311] 具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HCDR1,

[0312] 具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HCDR2,以及

[0313] 具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HCDR3;以及

[0314] (b)VL区,其包含:

[0315] 具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的LCDR1,

[0316] 具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的LCDR2,以及

[0317] 具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的LCDR3。

[0318] 在一些实施方案中,VH包含:

[0319] (a)具有SEQ ID NO:60、61或62的氨基酸序列的HCDR1,

[0320] (b)具有SEQ ID NO:63、64、65、66、67或68的氨基酸序列的HCDR2,以及

[0321] (c)具有SEQ ID NO:69、70、71或72的氨基酸序列的HCDR3。

[0322] 在一些实施方案中,VL包含:

[0323] (a)具有SEQ ID NO:90、91、92、93、94或95的氨基酸序列的LCDR1,

[0324] (b)具有SEQ ID NO:96或97的氨基酸序列的LCDR2,以及

[0325] (c)具有SEQ ID NO:98、99、100、101、102、103或104的氨基酸序列的LCDR3。

[0326] 在一些实施方案中,

[0327] (a)VH区包含:

[0328] (i)分别具有SEQ ID NO:41、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0329] (ii)分别具有SEQ ID NO:60、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0330] (iii)分别具有SEQ ID NO:61、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0331] (iv)分别具有SEQ ID NO:62、53和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0332] (v)分别具有SEQ ID NO:41、63和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0333] (vi)分别具有SEQ ID NO:41、64和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0334] (vii)分别具有SEQ ID NO:41、65和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0335] (viii)分别具有SEQ ID NO:41、66和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0336] (ix)分别具有SEQ ID NO:41、67和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0337] (x)分别具有SEQ ID NO:41、68和43的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0338] (xi)分别具有SEQ ID NO:41、53和69的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0339] (xii)分别具有SEQ ID NO:41、53和70的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;

[0340] (xiii)分别具有SEQ ID NO:41、53和71的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;或

[0341] (xiv)分别具有SEQ ID NO:41、53和72的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;并且

[0342] (b)VL区包含:

[0343] (i)分别具有SEQ ID NO:46、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0344] (ii)分别具有SEQ ID NO:90、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0345] (iii)分别具有SEQ ID NO:91、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0346] (iv)分别具有SEQ ID NO:92、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0347] (v)分别具有SEQ ID NO:93、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0348] (vi)分别具有SEQ ID NO:94、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0349] (vii)分别具有SEQ ID NO:95、47和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0350] (viii)分别具有SEQ ID NO:46、96和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0351] (ix)分别具有SEQ ID NO:46、97和48的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0352] (x)分别具有SEQ ID NO:46、47和98的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0353] (xi)分别具有SEQ ID NO:46、47和99的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0354] (xii)分别具有SEQ ID NO:46、47和100的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0355] (xiii)分别具有SEQ ID NO:46、47和101的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0356] (xiv)分别具有SEQ ID NO:46、47和102的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0357] (xv)分别具有SEQ ID NO:46、47和103的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;或

[0358] (xvi)分别具有SEQ ID NO:46、47和104的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0359] 在一些实施方案中,VH区包含与SEQ ID NO:52、55、57、59、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84或85的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列;并且VL区包含与SEQ ID NO:87、89、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118或119的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列。

[0360] 在一些实施方案中,VH区包含SEQ ID NO:52、55、57、59、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84或85的氨基酸序列;并且VL区包含SEQ ID NO:87、89、105、106、107、108、

109、110、111、112、113、114、115、116、117、118或119的氨基酸序列。

[0361] 在一些实施方案中,

[0362] (a)VH区包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列;

[0363] (b)VH区包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列;

[0364] (c)VH区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列;

[0365] (d)VH区包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列;

[0366] (e)VH区包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列;

[0367] (f)VH区包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列;或

[0368] (g)VH区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列。

[0369] 在一些实施方案中,VH区包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,并且VL区包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列。

[0370] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段能够以介于约10与约500nM之间、介于约20与约100nM之间;或介于约25与约80nM之间的K_D值结合siglec-6。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段(a)能够结合人c-Kit;(b)能够结合食蟹猴c-Kit;和/或(c)与能够结合c-Kit的参考抗体相比具有相当或更低的毒性,任选地其中参考抗体包含含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL区。

[0371] 在一些实施方案中,上述抗原结合片段是Fab、F(ab')2、Fab'、单链Fv(scFv)、Fv片段、Fd片段或双抗体。

[0372] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含抗体重链恒定区,任选地其中所述恒定区是人IgG重链恒定区,任选地其中所述人IgG重链恒定区是IgG1重链恒定区。在一些实施方案中,恒定区包含一个或多个降低或消除效应功能的突变。在一些实施方案中,恒定区包含一个或多个增强效应功能的突变。在一些实施方案中,第一和第二重链中的至少一个是无岩藻糖基化的(例如,至少75%无岩藻糖基化)。

[0373] 在一些实施方案中,本文所述的抗体或抗原结合片段与治疗剂或标记缀合。

[0374] 在另一方面,提供了编码本文所述的抗体或其抗原结合片段的多核苷酸。在另一方面,提供了包含所述多核苷酸的表达载体。在另一方面,提供了包含所述多核苷酸或所述表达载体的宿主细胞。在一些实施方案中,宿主细胞是哺乳动物或昆虫细胞。在一些实施方案中,宿主细胞(a)包含Fut8敲除;和/或(b)过表达GnT-III并任选过表达ManII。

[0375] 在另一方面,提供了包含本文所述的抗体或其抗原结合片段的药物组合物。

[0376] 在另一方面,提供了治疗有需要的受试者的疾病或病症的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的本文所述的抗体或其抗原结合片段或本文所述的药物组合物。在一些实施方案中,疾病或病症是肥大细胞相关疾病或病症。在一些实施方案中,疾病或病症是自

身免疫性疾病、过敏、炎症、瘙痒或癌症。在一些实施方案中,疾病或病症与siglec-6和/或c-Kit的表达相关。

附图说明

[0377] 图1描绘了SR1 c-Kit抗体对M-07e细胞中干细胞因子(SCF)依赖性细胞增殖的抑制。

[0378] 图2描绘了c-Kit/siglec 6双特异性抗体对M-07e细胞中SCF依赖性细胞增殖的抑制。

[0379] 图3显示,具有正常、效应子沉默或效应子增强的Fc结构域的人源化siglec-6抗体hRND-3不诱导肥大细胞脱颗粒,如通过β-己糖胺酶释放所测量。IFNγ处理肥大细胞以上调FcγRI不会导致siglec-6抗体的脱颗粒作用。以FcεRIα交联抗体加SCF和PMA/离子霉素处理作为阳性对照。

具体实施方式

[0380] 定义

[0381] 除非上下文不合适,否则如本文所用的术语“一个”和“一种”意指“一个或多个/一种或多种”并且包括复数个/种。

[0382] 如本文所用,当在本文中用于提及值时,术语“约”、“大约”和“与之相当”在参考值的上下文中指代与该参考值类似的值。一般来讲,熟悉上下文的本领域的技术人员将理解该上下文中“约”、“大约”和“与之相当”所涵盖的相关变化程度。例如,在一些实施方案中,术语“约”、“大约”和“与之相当”可以涵盖在所提及的值的25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小以内的值范围。

[0383] 如本文所用,术语“拮抗”、“中和”或“阻断”在用于提及抗体或其抗原结合片段时,旨在指抗体或其片段与其靶标的结合导致抑制该靶标的至少一些生物活性。

[0384] 如本文所用,“抗体”是指氨基酸序列包括与指定抗原特异性结合的免疫球蛋白及其片段的多肽,或其片段。根据本发明的抗体可以是任何类型(例如,IgA、IgD、IgE、IgG或IgM)或亚型(例如,IgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)。本领域的普通技术人员将理解,抗体的特征序列或部分可以包括在抗体的一个或多个区域(例如,可变区、高变区、恒定区、重链、轻链及其组合)中发现的氨基酸。此外,本领域的普通技术人员将理解,抗体的特征序列或部分可以包括一条或多条多肽链,并且可以包括在相同多肽链中或不同多肽链中发现的序列元素。

[0385] 如本文所用,“抗体模拟物”是指能够模拟抗体结合抗原的能力的任何分子,但不限于抗体结构。抗体模拟物的实例包括但不限于亲合体(Affibody)、Affilin、Affimer、Afftin、Alphabody、Anticalin、avimer、Centyrin、DARPin、Fynomer、单抗体(monobody)和nanoCLAMP。

[0386] 抗体的“抗原结合片段”包含完整抗体的一部分,该部分仍然能够结合抗原。在某些实施方案中,抗体的木瓜蛋白酶消化产生两个相同的抗原结合片段,称为“Fab”片段,以及残余的“Fc”片段,其名称反映了其易于结晶的能力。Fab片段由整条轻链以及重链的可变

区结构域(V_H)和一条重链的第一恒定结构域(C_H1)组成。每个Fab片段就抗原结合而言都是单价的,即它具有单个抗原结合位点。在某些实施方案中,用胃蛋白酶处理抗体产生单个大的F(ab')$_2$片段,其粗略地对应于两个具有不同抗原结合活性的二硫键连接的Fab片段并且仍然能够交联抗原。Fab'片段与Fab片段的不同之处在于其在C_H1结构域的羧基末端添加了几个残基,包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸。Fab'-SH表示其中恒定结构域的(多个)半胱氨酸残基具有游离硫醇基的Fab'。F(ab')$_2$抗体片段最初以其间具有铰链半胱氨酸的Fab'片段对的形式产生。抗体片段的其它化学偶联也是已知的。

[0387] 如本文所用,术语"抗原结合位点"是指能够与抗原结合的任何分子或分子的任何部分。在人抗体中,抗原结合位点由重链("H")和轻链("L")的N端可变区("V")的氨基酸残基形成。重链和轻链V区内的三个高度发散的区段被称为"高变区",它们位于被称为"框架区"或"FR"的更保守的侧翼区段之间。因此,术语"FR"是指在免疫球蛋白的高变区之间和相邻处天然存在的氨基酸序列。在人抗体中,轻链的三个高变区和重链的三个高变区在三维空间中彼此相对排列,形成抗原结合表面。抗原结合表面与结合抗原的三维表面互补,重链和轻链各自的三个高变区被称为"互补决定区"或"CDR"。在某些动物中,例如骆驼和软骨鱼,抗原结合位点可能由单个抗体链形成,从而提供"单结构域抗体"。抗原结合位点也可以是抗体模拟物或存在于抗体模拟物中。

[0388] CDR可以通过Kabat等人,J.Biol.Chem.252,6609-6616(1977)以及Kabat等人,Sequences of Protein of Immunological Interest.(1991)、Chothia等人,J.Mol.Biol.196:901-917(1987)和MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996)中描述的方法确定。根据这些定义确定的CDR在相互比较时通常包括氨基酸残基的重叠或子集。在某些实施方案中,术语"CDR"是如MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996)和Martin A.,Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains,Antibody Engineering,Kontermann和Dubel编,第31章,第422-439页,Springer-Verlag,Berlin(2001)所定义的CDR。在某些实施方案中,术语"CDR"是如Kabat等人,J.Biol.Chem.252,6609-6616(1977)和Kabat等人,Sequences of Protein of immunoological interest.(1991)所定义的CDR。在某些实施方案中,抗体的重链CDR和轻链CDR使用不同的惯例来定义。例如,在某些实施方案中,重链CDR根据MacCallum(上文)定义,并且轻链CDR根据Kabat(上文)定义。CDRH1、CDRH2和CDRH3表示重链CDR,CDRL1、CDRL2和CDRL3表示轻链CDR。

[0389] 如本文所用,本公开的分子(例如抗原结合位点)与给定靶标(例如FCER1或c-Kit)的"结合亲和力"可以通过本领域技术人员已知的多种方法来确定。此类方法包括但不限于荧光滴定、ELISA(酶联免疫吸附测定)、量热法(例如等温滴定量热法(ITC))和表面等离子体共振(SPR)。

[0390] 如本文所用,"双特异性"是指分子能够特异性结合至少两个不同的靶标。通常,双特异性分子包含两个抗原结合位点,每个位点针对不同的靶标具有特异性。在一些实施方案中,双特异性分子能够同时结合两个靶标。

[0391] 如本文所用,除非另有说明,"c-Kit"是指UniProt P10721定义的人c-Kit,包括人c-Kit的变体、异型体和物种同源物。c-Kit也称为"KIT"、"CD117"、"肥大细胞/干细胞生长因子受体Kit"、"SCFR"、"原癌基因c-Kit"或"酪氨酸蛋白激酶Kit",它们可互换使用。

[0392] 如本文所用,“可检测亲和力”是指以亲和常数结合给定靶标的能力,通常通过K_D或EC_{50}测量,亲和常数最多为约10^{-5}M或更低(较低的K_D或EC_{50}值反映出更好的结合能力)。较低的亲和力已无法通过诸如ELISA(酶联免疫吸附测定)等常用方法测量,因此具有次要意义。

[0393] 如本文所用,术语“表位”是与抗体分子可变区中的特定抗原结合位点相互作用的抗原决定簇,抗原结合位点称为互补位,并由抗体的六个互补决定区组成。单一抗原可以具有一个以上表位。表位可能是构象的或线性的。构象表位由来自线性多肽链不同段的空间并列氨基酸组成。线性表位由多肽链中相邻的氨基酸残基组成。

[0394] “Fc”片段包含通过二硫键连接在一起的两条重链的羧基末端部分。抗体的效应功能由Fc区中的序列决定,该区域也被某些类型细胞中的Fc受体(FcR)识别。

[0395] 关于抗原(例如,siglec-6或c-Kit)的“片段”是指抗原的N末端和/或C末端截短或蛋白质结构域。在一些实施方案中,抗原的片段保留了全长抗原被本公开的抗体或其抗原结合片段识别和/或结合的能力。

[0396] 如本文所用,“岩藻糖基化”或“岩藻糖基化的”是指附着在抗体肽骨架上的寡糖内存在岩藻糖残基。具体而言,岩藻糖基化抗体包含位于抗体Fc区所附着的一个或两个N-连接寡糖的最内层N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)残基处的α(1,6)连接岩藻糖。“非岩藻糖基化”、“无岩藻糖基化”或“岩藻糖缺乏”抗体是指包含Fc区的糖基化抗体变体,其中附着于Fc区的碳水化合物结构具有减少的岩藻糖或缺乏岩藻糖。在一些实施方案中,非岩藻糖基化或岩藻糖缺乏的抗体相对于细胞系中产生的相同抗体上的岩藻糖量具有减少的岩藻糖。在一些实施方案中,具有减少的岩藻糖或缺乏岩藻糖的抗体具有改善的ADCC功能。

[0397] “岩藻糖基化程度”是岩藻糖基化的寡糖相对于所有寡糖的百分比,其可以通过本领域中已知的方法来鉴定,例如在N-糖苷酶F处理的抗体组合物中通过基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法(MALDI-TOF MS)来评估。在“完全岩藻糖基化抗体”的组合物中,基本上所有寡糖都包含岩藻糖残基,即被岩藻糖基化。在一些实施方案中,完全岩藻糖基化抗体的组合物具有至少约90%的岩藻糖基化程度。相反,在“完全非岩藻糖基化抗体”的组合物中,基本上没有寡糖被岩藻糖基化。在一些实施方案中,完全非岩藻糖基化抗体的组合物具有小于约10%的岩藻糖基化程度。在“部分岩藻糖基化抗体”的组合物中,只有一部分寡糖包含岩藻糖。此类组合物中的单个抗体可以在Fc区中的N-连接寡糖中不包含岩藻糖残基、在Fc区中的一个N-连接寡糖中包含岩藻糖残基或者在Fc区中的两个N-连接寡糖中包含岩藻糖残基,前提是该组合物不包含基本上所有在Fc区中的N-连接寡糖中缺乏岩藻糖残基的单个抗体,也不包含基本上所有在Fc区中的两个N-连接寡糖中均含有岩藻糖残基的单个抗体。在一个实施方案中,部分岩藻糖基化抗体的组合物具有约10%至约80%(例如,约50%至约80%、约60%至约80%或约70%至约80%)的岩藻糖基化程度。用于测量岩藻糖基化程度的测定法以及用于产生具有改变、减少或消除的岩藻糖基化的抗体的方法和细胞系是本领域已知的(参见例如WO 2023/044390A1)。

[0398] 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,即,构成该群体的各个抗体是相同的,除了可以微量存在的可能的天然存在的突变。单克隆抗体具有高度特异性(针对单一抗原位点)。另外,与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的常规(多克隆)抗体制品相比,每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。修饰语“单克

隆”指示从基本上同质的抗体群体获得的抗体的特性并且不应解释为需要通过任何特定方法产生该抗体。例如,单克隆抗体可以通过杂交瘤方法制成,或者可以通过重组DNA方法制成(参见例如美国专利号4,816,567)。“单克隆抗体”也可从噬菌体抗体库中分离。

[0399] 如本文所用,术语“药物组合物”是指活性剂与惰性或活性载剂的组合,从而使组合物特别适于体内或离体的诊断或治疗用途。

[0400] 如本文所用,术语“药学上可接受的盐”是指本申请所述化合物的任何药学上可接受的盐(例如,酸或碱),其在给受试者施用后能够提供本申请所述化合物或其活性代谢物或残留物。如本领域技术人员已知,本申请所述化合物的“盐”可以源自无机或有机酸和碱。

[0401] 示例性的酸包括但不限于盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、高氯酸、富马酸、马来酸、磷酸、乙醇酸、乳酸、水杨酸、琥珀酸、对甲苯磺酸、酒石酸、乙酸、柠檬酸、甲磺酸、乙磺酸、甲酸、苯甲酸、丙二酸、萘-2-磺酸、苯磺酸等。其它酸,例如草酸,虽然本身不是药学上可接受的,但可以用于制备可用作中间体的盐,以获得本申请所述的化合物及其药学上可接受的酸加成盐。

[0402] 示例性的碱包括但不限于碱金属(例如钠)氢氧化物、碱土金属(例如镁)氢氧化物、氨、以及式NW_4^+的化合物(其中W是C_{1-4}烷基)等。

[0403] 示例性的盐包括但不限于:乙酸盐、己二酸盐、海藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、草酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、苯基丙酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐、十一烷酸盐等。盐的其他实例包括本申请所述的化合物的阴离子与合适的阳离子例如Na^+、NH_4^+和NW_4^+(其中W是C_{1-4}烷基)等复合。

[0404] 对于治疗用途,本申请所述的化合物的盐被认为是药学上可接受的。然而,非药学上可接受的酸和碱的盐也可以用于例如制备或纯化药学上可接受的化合物。

[0405] 如本文所用,除非另有说明,“siglec-6”是指UniProt 043699定义的人siglec-6,包括人siglec-6的变体、异型体和物种同源物。Siglec-6也称为“SIGLEC6”、“唾液酸结合Ig样凝集素6”、“CD33抗原样1”、“CD33L”、“CD33L1”、“CD33L2”、“CD327”、“CDw327”、“肥胖结合蛋白1”或“OB-BP1”,它们可互换使用。

[0406] 如本文所用,术语“受试者”和“患者”是指要通过本文所述的方法和组合物治疗的生物体。此类生物体优选包括但不限于哺乳动物(例如鼠类、猿类、马科动物、牛科动物、猪科动物、犬科动物、猫科动物等),并且更优选包括人。

[0407] 如本文所用,短语“治疗有效量”和“有效量”可互换使用,指的是在必要的剂量下和时间段内,有效实现所需治疗结果的量。治疗有效量可能因多种因素而异,例如疾病类型(例如癌症)、疾病状态、年龄、性别和/或个体体重,以及免疫缀合物(或其药物组合物)在个体中引发所需反应的能力。有效量还可以是免疫缀合物或其药物组合物的任何毒性或有害作用被治疗有益作用抵消的量。

[0408] 如本文所用,“治疗”某种疾患或该疾患的“治疗”(例如,本文所述的疾患,例如癌症)是一种获得有益或所需结果(例如临床结果)的方法。有益或所需结果可以包括但不限于减轻或改善一种或多种症状或疾患;降低疾病、病症或疾患的程度;稳定(即,不恶化)疾

病、病症或疾患的状态;预防疾病、病症或疾患(例如,原发性癌症和/或继发性转移)的扩散;延迟或减缓疾病、病症或疾患的进展;改善或减轻疾病、病症或疾患;以及部分或全部以及可检测或不可检测的缓解。

[0409] 抗原结合位点

[0410] 能够结合c-Kit的抗原结合位点

[0411] 在另一方面,本申请提供了能够结合c-Kit的抗原结合位点。

[0412] 在一些实施方案中,提供了能够结合c-Kit的抗原结合位点,以抗体模拟物的形式存在。在一些实施方案中,提供了抗原结合位点,其是能够结合c-Kit并且作为本文所述的抗体模拟物存在的抗原结合位点的变体,其中此类抗原结合位点包含与能够结合c-Kit并且作为本文所述的抗体模拟物存在的抗原结合位点的氨基酸序列至少85%、至少87.5%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的氨基酸序列。

[0413] 在一些实施方案中,提供了能够结合c-Kit的抗原结合位点,以抗体(例如双特异性抗体)的形式存在。在一些实施方案中,提供了抗原结合位点,其是能够结合c-Kit并且作为本文所述的抗体存在的抗原结合位点的变体,其中此类抗原结合位点包含与能够结合c-Kit并且作为本文所述的抗体存在的所述抗原结合位点所包含的氨基酸序列至少85%、至少87.5%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的氨基酸序列。

[0414] 在一些实施方案中,提供的能够结合c-Kit的抗原结合位点包含重链可变结构域(VH),其包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,和/或轻链可变结构域(VL),其包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。在一些实施方案中,提供的能够结合c-Kit的抗原结合位点包含VH和VL,其中VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,VL包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,且其中CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3各自独立地选自表10中描述的VH或VL的那些。根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定VH和VL的CDR。在某些实施方案中,抗原结合位点包含CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其各自独立地选自表10中描述的那些。在一些实施方案中,提供了抗原结合位点,其是本文所述的能够结合c-Kit的抗原结合位点的变体,其中此类抗原结合位点具有与表10中描述的CDR序列各自相差不超过两个氨基酸残基(例如,两个或一个氨基酸残基)的CDR序列。在一些实施方案中,提供了抗原结合位点,其是本文所述的能够结合c-Kit的抗原结合位点的变体,其中此类抗原结合位点具有一组六个CDR,其序列总体上与选自表10的一组CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3相差不超过两个氨基酸残基(例如,两个或一个氨基酸残基)。在一些实施方案中,提供了抗原结合位点,其是本文所述的能够结合c-Kit的抗原结合位点的变体,其中此类抗原结合位点具有一组六个CDR,其序列总体上与具有选自表10的一组VH和VL的抗c-Kit的序列相差不超过两个氨基酸残基(例如,两个或一个氨基酸残基)。

[0415] 在一些实施方案中,提供的能够结合c-Kit的抗原结合位点包含如表10所述的VH序列和如表10所述的VL序列。在一些实施方案中,提供了抗原结合位点,其是本文所述的能够结合c-Kit的抗原结合位点,例如具有选自表10的一组VH和VL的抗c-Kit的变体,其中此类抗原结合位点具有(1)包含与表10中描述的VH的氨基酸序列至少85%、至少87.5%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%

或至少99％一致的氨基酸序列的VH;以及(2)包含与表10中描述的VL的氨基酸序列至少85％、至少87.5％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致的氨基酸序列的VL。

[0416] 在一些实施方案中,提供的能够结合c-Kit的抗原结合位点包含如表10所述的重链序列和如表10所述的轻链序列。在一些实施方案中,提供了抗原结合位点,其是本文所述的能够结合c-Kit的抗原结合位点,例如具有选自表10的一组重链和轻链的抗c-Kit的变体,其中此类抗原结合位点具有(1)包含与表10中描述的重链的氨基酸序列至少85％、至少87.5％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致的氨基酸序列的重链;以及(2)包含与表10中描述的轻链的氨基酸序列至少85％、至少87.5％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致的氨基酸序列的轻链。

[0417] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自鼠SR1。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:40的氨基酸序列至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:45至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:40和45的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。在某些实施方案中,VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,分别包含SEQ ID NO:41、42和43的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,分别包含SEQ ID NO:46、47和48的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含(a)VH,其包含分别包含SEQ ID NO:41、42和43的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;和(b)VL,其包含分别包含SEQ ID NO:46、47和48的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3。

[0418] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自人源化SR1-1。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:52的氨基酸序列至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:87至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,VH包含SEQ ID NO:52、55、57、59、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84或85的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含SEQ ID NO:87、89、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118或119的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:52和87的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。在某些实施方案中,VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,分别包含SEQ ID NO:41、53和43的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,分别包含SEQ ID NO:46、47和48的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含(a)VH,其包含分别包含SEQ ID NO:41、53和43的氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;和(b)VL,其包含分别包含SEQ ID NO:46、47和48的氨基酸序

列的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0419] 在某些实施方案中,人源化SR1-1变体包含CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其各自的序列与分别具有SEQ ID NO:52和87的VH和VL序列的根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3相差不超过一个氨基酸。在某些实施方案中,VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,其各自的序列与SEQ ID NO:41、53和43分别相差不超过一个氨基酸。在某些实施方案中,VL包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其各自的序列与SEQ ID NO:46、47和48分别相差不超过一个氨基酸。在某些实施方案中,人源化SR1-1变体包含CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其序列总体上与分别具有SEQ ID NO:52和87的VH和VL序列的根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3相差至少一个氨基酸残基(例如,一个、两个或三个)。在某些实施方案中,VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,其序列总体上分别与SEQ ID NO:41、53和43相差至少一个氨基酸残基。在某些实施方案中,VL包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其序列总体上分别与SEQ ID NO:46、47和48相差至少一个氨基酸残基。在某些实施方案中,CDR-H1包含SEQ ID NO:60、61或62的氨基酸序列。在某些实施方案中,CDR-H2包含SEQ ID NO:63、64、65、66、67或68的氨基酸序列。在某些实施方案中,CDR-H3包含SEQ ID NO:69、70、71或72的氨基酸序列。在某些实施方案中,CDR-L1包含SEQ ID NO:90、91、92、93、94或95的氨基酸序列。在某些实施方案中,CDR-L2包含SEQ ID NO:96或97的氨基酸序列。在某些实施方案中,CDR-L3包含SEQ ID NO:98、99、100、101、102、103或104的氨基酸序列。

[0420] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自人源化SR1-2。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:55的氨基酸序列至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:87至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:55和87的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。

[0421] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自人源化SR1-3。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:57的氨基酸序列至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:87至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:57和87的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。

[0422] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自人源化SR1-4。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:59的氨基酸序列至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:87

至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:59和87的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。

[0423] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自人源化SR1-5。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:52的氨基酸序列至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:89至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:52和89的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。

[0424] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自人源化SR1-6。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:55的氨基酸序列至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:89至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:55和89的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。

[0425] 在上述每个实施方案中,本文设想结合c-Kit的VH和/或VL序列可以在VH和/或VL的框架区中含有氨基酸改变(例如,至少1、2、3、4、5或10个氨基酸取代、缺失或添加),而不会影响其对c-Kit的能力。例如,本文设想结合c-Kit的VH和VL序列可能含有半胱氨酸异二聚化突变,从而有利于VH和VL之间形成二硫桥键以形成scFv。

[0426] 在某些实施方案中,本文公开的抗原结合位点以小于或等于以下的K_D值(大于或等于以下的亲和力)结合人c-Kit:900uM、500uM、250uM、100uM、50uM、25uM、10uM、9uM、8uM、7uM、6uM、5uM、4uM、3uM、2uM、1uM、900nM、800nM、700nM、600nM、500nM、400nM、300nM、200nM、100nM、90nM、80nM、70nM、60nM、50nM、45nM、40nM、35nM、30nM、25nM、20nM、15nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM、1nM、0.5nM、0.4nM、0.3nM、0.2nM、0.1nM、90pM、80pM、70pM、60pM、50pM、45pM、40pM、35pM、30pM、25pM、20pM、15pM、10pM、9pM、8pM、7pM、6pM、5pM、4pM、3pM、2pM或1pM。在某些实施方案中,本申请的抗原结合位点以高于或等于以下的K_D值(低于或等于以下的亲和力)结合人c-Kit:1pM、2pM、3pM、4pM、5pM、6pM、7pM、8pM、9pM、10pM、15pM、20pM、25pM、30pM、35pM、40pM、45pM、50pM、60pM、70pM、80pM、90pM、0.1nM、0.2nM、0.3nM、0.4nM、0.5nM、0.6nM、0.7nM、0.8nM、0.9nM、1nM、2nM、3nM、4nM、5nM、6nM、7nM、8nM、9nM、10nM、15nM、20nM、25nM、30nM、35nM、40nM、45nM、50nM、60nM、70nM、80nM、90nM、100nM、150nM、200nM、250nM、300nM、400nM、500nM、600nM、700nM、800nM、900nM、1uM、2uM、3uM、4uM、5uM、6uM、7uM、8uM、9uM、10uM、25uM、50uM、100uM、250uM、500uM或900uM。在某些实施方案中,本申请的抗原结合位点以皮摩尔至微摩尔范围内的K_D值结合人c-Kit。在某些实施方案中,本申请的抗原结合位点以下列范围内的K_D值结合人c-Kit:约1pM至约900uM、1pM至约500uM、1pM

至约100uM、1pM至约50uM、1pM至约10uM、1pM至约5uM、1pM至约1uM、1pM至约500nM、1pM至约100nM、1pM至约50nM、1pM至约10nM、1pM至约5nM、1pM至约1nM、1pM至约500pM、1pM至约100pM、1pM至约50pM、1pM至约10pM、1pM至约5pM、5pM至约900uM、5pM至约500uM、5pM至约100uM、5pM至约50uM、5pM至约10uM、5pM至约5uM、5pM至约1uM、5pM至约500nM、5pM至约100nM、5pM至约50nM、5pM至约10nM、5pM至约5nM、5pM至约1nM、5pM至约500pM、5pM至约100pM、5pM至约50pM、5pM至约10pM、10pM至约900uM、10pM至约500uM、10pM至约100uM、10pM至约50uM、10pM至约10uM、10pM至约5uM、10pM至约1uM、10pM至约500nM、10pM至约100nM、10pM至约50nM、10pM至约10nM、10pM至约5nM、10pM至约1nM、10pM至约500pM、10pM至约100pM、10pM至约50pM、50pM至约900uM、50pM至约500uM、50pM至约100uM、50pM至约50uM、50pM至约10uM、50pM至约5uM、50pM至约1uM、50pM至约500nM、50pM至约100nM、50pM至约50nM、50pM至约10nM、50pM至约5nM、50pM至约1nM、50pM至约500pM、50pM至约100pM、100pM至约900uM、100pM至约500uM、100pM至约100uM、100pM至约50uM、100pM至约10uM、100pM至约5uM、100pM至约1uM、100pM至约500nM、100pM至约100nM、100pM至约50nM、100pM至约10nM、100pM至约5nM、100pM至约1nM、100pM至约500pM、500pM至约500uM、500pM至约100uM、500pM至约50uM、500pM至约10uM、500pM至约5uM、500pM至约1uM、500pM至约500nM、500pM至约100nM、500pM至约50nM、500pM至约10nM、500pM至约5nM、500pM至约1nM、1nM至约500uM、1nM至约100uM、1nM至约50uM、1nM至约10uM、1nM至约5uM、1nM至约1uM、1nM至约500nM、1nM至约100nM、1nM至约50nM、1nM至约10nM、1nM至约5nM、5nM至约100uM、5nM至约50uM、5nM至约10uM、5nM至约5uM、5nM至约1uM、5nM至约500nM、5nM至约100nM、5nM至约50nM、5nM至约10nM、10nM至约10uM、10nM至约5uM、10nM至约1uM、10nM至约500nM、10nM至约100nM、10nM至约50nM、50nM至约10uM、50nM至约5uM、50nM至约1uM、50nM至约500nM、50nM至约100nM、100nM至约10uM、100nM至约5uM、100nM至约1uM、100nM至约500nM、500nM至约10uM、500nM至约5uM、500nM至约1uM、1uM至约10uM、1uM至约5uM或5uM至约10uM。在一些实施方案中,使用标准结合测定法(例如生物层干涉法)来测量K_D值。

[0427] 在一些实施方案中,本文公开的抗原结合位点以与结合人c-Kit相当的亲和力(K_D值)结合食蟹猴c-Kit。在一些实施方案中,在同一测定中测量的抗原结合位点对食蟹猴c-Kit的亲和力相对于其对人c-Kit的亲和力的差异在2倍、3倍、5倍或10倍以内(对人c-Kit的亲和力更大或对食蟹猴c-Kit的亲和力更大)。

[0428] 在一些实施方案中,本文公开的抗原结合位点结合细胞表面上表达的c-Kit。

[0429] 在一些实施方案中,本文公开的抗原结合位点不显著结合其他c-Kit家族成员。在一些实施方案中,本文公开的抗原结合位点不显著结合PDGFRa、PDGFRb、CSF1R或FLT3。

[0430] 能够结合siglec-6的抗原结合位点

[0431] 在另一方面,本申请提供了能够结合siglec-6的抗原结合位点。

[0432] 在一些实施方案中,提供了能够结合siglec-6的抗原结合位点,以抗体模拟物的形式存在。在一些实施方案中,提供了抗原结合位点,其是能够结合siglec-6并且作为本文所述的抗体模拟物存在的抗原结合位点的变体,其中此类抗原结合位点包含与能够结合siglec-6并且作为本文所述的抗体模拟物存在的抗原结合位点的氨基酸序列至少85%、至少87.5%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的氨基酸序列。

[0433] 在一些实施方案中,提供了能够结合siglec-6的抗原结合位点,以抗体(例如双特异性抗体)的形式存在。在一些实施方案中,提供了抗原结合位点,其是能够结合siglec-6并且作为本文所述的抗体存在的抗原结合位点的变体,其中此类抗原结合位点包含与能够结合siglec-6并且作为本文所述的抗体存在的所述抗原结合位点所包含的氨基酸序列至少85%、至少87.5%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的氨基酸序列。

[0434] 在一些实施方案中,提供的能够结合siglec-6的抗原结合位点包含重链可变结构域(VH),其包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,和/或轻链可变结构域(VL),其包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0435] 在一些实施方案中,提供的能够结合siglec-6的抗原结合位点包含VH和VL,其中VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,且VL包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其中CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3各自独立地选自表9中描述的VH或VL的那些。根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定VH和VL的CDR。在某些实施方案中,抗原结合位点包含CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其各自独立地选自表9中描述的那些。在一些实施方案中,提供了抗原结合位点,其是本文所述的能够结合siglec-6的抗原结合位点的变体,其中此类抗原结合位点具有与表9中描述的CDR序列各自相差不超过两个氨基酸残基(例如,两个或一个氨基酸残基)的CDR序列。在一些实施方案中,提供了抗原结合位点,其是本文所述的能够结合siglec-6的抗原结合位点的变体,其中此类抗原结合位点具有一组六个CDR,其序列总体上与选自表9的一组CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3相差不超过两个氨基酸残基(例如,两个或一个氨基酸残基)。在一些实施方案中,提供了抗原结合位点,其是本文所述的能够结合siglec-6的抗原结合位点的变体,其中此类抗原结合位点具有一组六个CDR,其序列总体上与具有选自表9的一组VH和VL的抗siglec-6的序列相差不超过两个氨基酸残基(例如,两个或一个氨基酸残基)。

[0436] 在一些实施方案中,提供的能够结合siglec-6的抗原结合位点包含如表9所述的VH序列和如表9所述的VL序列。在一些实施方案中,提供了抗原结合位点,其是本文所述的能够结合siglec-6的抗原结合位点,例如具有选自表9的一组VH和VL的抗siglec-6的变体,其中此类抗原结合位点具有(1)包含与表9中描述的VH的氨基酸序列至少85%、至少87.5%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的氨基酸序列的VH;以及(2)包含与表9中描述的VL的氨基酸序列至少85%、至少87.5%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的氨基酸序列的VL结构域。

[0437] 在一些实施方案中,提供的能够结合siglec-6的抗原结合位点包含如表9所述的重链序列和如表9所述的轻链序列。在一些实施方案中,提供了抗原结合位点,其是本文所述的能够结合siglec-6的抗原结合位点,例如具有选自表9的一组重链和轻链的抗siglec-6的变体,其中此类抗原结合位点具有(1)包含与表9中描述的重链的氨基酸序列至少85%、至少87.5%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的氨基酸序列的重链;以及(2)包含与表9中描述的轻链的氨基酸序列至少85%、至少87.5%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、

至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致的氨基酸序列的轻链。

[0438] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自鼠RND。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:10至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:2和10的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。在某些实施方案中,VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,分别包含SEQ ID NO:3、4和5的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,分别包含SEQ ID NO:11、12和13的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含(a)VH,其包含分别包含SEQ ID NO:3、4和5的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;和(b)VL,其包含分别包含SEQ ID NO:11、12和13的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3。

[0439] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自人源化RND-2。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:23的氨基酸序列至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:38至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:23和38的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。在某些实施方案中,VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,分别包含SEQ ID NO:3、21和5的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,分别包含SEQ ID NO:32、12和13的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含(a)VH,其包含分别包含SEQ ID NO:3、21和5的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;和(b)VL,其包含分别包含SEQ ID NO:32、12或13的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3。

[0440] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自人源化RND-3。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:25的氨基酸序列至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:38至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:25和38的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。在某些实施方案中,VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,分别包含SEQ ID NO:3、21和5的氨基酸序列。

[0441] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自人源化RND-4。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:27的氨基酸序列至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:38至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:27和38的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。在某些实施方案中,VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,分别包含SEQ ID NO:3、4和5的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,分别包含SEQ ID NO:32、12和13的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含(a)VH,其包含分别包含SEQ ID NO:3、4和5的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;和(b)VL,其包含分别包含SEQ ID NO:32、12或13的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3。

[0442] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自人源化RND-5。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:29的氨基酸序列至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:38至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:29和38的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。

[0443] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自JML-1。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:121的氨基酸序列至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:126至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:121和126的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。在某些实施方案中,VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,分别包含SEQ ID NO:122、123和124的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,分别包含SEQ ID NO:127、128和129的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含(a)VH,其包含分别包含SEQ ID NO:122、123和124的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;和(b)VL,其包含分别包含SEQ ID NO:127、128和129的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3。

[0444] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自鼠M2。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:132的氨基酸序列至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:136至少90％(例如至少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％)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:132和136的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。在某些实施方案中,

VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,分别包含SEQ ID NO:133、134和135的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,分别包含SEQ ID NO:137、138和139的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含(a)VH,其包含分别包含SEQ ID NO:133、134和135的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;和(b)VL,其包含分别包含SEQ ID NO:137、138和139的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3。

[0445] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自鼠M7。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:140的氨基酸序列至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:144至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:140和144的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。在某些实施方案中,VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,分别包含SEQ ID NO:141、142和143的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,分别包含SEQ ID NO:145、146和147的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含(a)VH,其包含分别包含SEQ ID NO:141、142和143的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;和(b)VL,其包含分别包含SEQ ID NO:145、146和147的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3。

[0446] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自鼠M11。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:148的氨基酸序列至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:152至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:148和152的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。在某些实施方案中,VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,分别包含SEQ ID NO:149、150和151的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,分别包含SEQ ID NO:153、154和155的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含(a)VH,其包含分别包含SEQ ID NO:149、150和151的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;和(b)VL,其包含分别包含SEQ ID NO:153、154和155的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3。

[0447] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自人源化M11-1。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:159的氨基酸序列至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:164至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:159和164的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。在某

些实施方案中,VH包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,分别包含SEQ ID NO:149、160和151的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,分别包含SEQ ID NO:165、154和155的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含(a)VH,其包含分别包含SEQ ID NO:149、160和151的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;和(b)VL,其包含分别包含SEQ ID NO:165、154和155的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3。

[0448] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自人源化M11-2。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:162的氨基酸序列至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:167至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:162和167的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。

[0449] 在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点源自人源化M11-3。例如,在某些实施方案中,本申请所述的抗原结合位点包含VH,所述VH包含与SEQ ID NO:162的氨基酸序列至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列,和VL,所述VL包含与SEQ ID NO:169至少90%(例如至少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%)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗原结合位点包含分别具有SEQ ID NO:162和169的VH和VL序列的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其是根据Kabat、AbM、Chothia或本领域已知的任何其他CDR确定方法确定的。

[0450] 在某些实施方案中,本文公开的抗原结合位点以小于或等于以下的K_D值(大于或等于以下的亲和力)结合人siglec-6:900nM、800nM、700nM、600nM、500nM、400nM、300nM、200nM、100nM、90nM、80nM、70nM、60nM、50nM、45nM、40nM、35nM、30nM、25nM、20nM、15nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM、1nM、0.5nM、0.4nM、0.3nM、0.2nM、0.1nM、90pM、80pM、70pM、60pM、50pM、40pM、30pM、20pM、10pM、9pM、8pM、7pM、6pM、5pM、4pM、3pM、2pM、1pM、0.9pM、0.8pM、0.7pM、0.6pM、0.5pM、0.4pM、0.3pM、0.2pM、0.1pM、90fM、80fM、70fM、60fM、50fM、40fM、30fM、20fM、10fM、9fM、8fM、7fM、6fM、5fM、4fM、3fM、2fM或1fM。在某些实施方案中,本文公开的抗原结合位点以小于或等于10nM的K_D值(大于或等于10nM的亲和力)结合人siglec-6。在某些实施方案中,本文公开的抗原结合位点以小于或等于以下的K_D值(大于或等于以下的亲和力)结合人siglec-6:0.1nM、0.2nM、0.3nM、0.4nM、0.5nM、0.6nM、0.7nM、0.8nM、0.9nM、1.0nM、1.1nM、1.2nM、1.3nM、1.4nM、1.5nM、1.6nM、1.7nM、1.8nM、1.9nM、2.0nM、2.1nM、2.2nM、2.3nM、2.4nM、2.5nM、2.6nM、2.7nM、2.8nM、2.9nM、3.0nM、3.1nM、3.2nM、3.3nM、3.4nM、3.5nM、3.6nM、3.7nM、3.8nM、3.9nM、4.0nM、4.1nM、4.2nM、4.3nM、4.4nM、4.5nM、4.6nM、4.7nM、4.8nM、4.9nM或5.0nM。在某些实施方案中,本申请的抗原结合位点以飞摩尔至纳摩尔范围内的K_D值结合人siglec-6。在某些实施方案中,本申请的抗原结合位点以下列范围内的K_D值结合人siglec-6:约1fM至约900nM、1fM至约500nM、1fM至约100nM、1fM至约50nM、1fM至约10nM、1fM至约5nM、1fM至约1nM、1fM至约500pM、1fM至约100pM、1fM至约50pM、1fM至约10pM、1fM至约5pM、1fM至约1pM、1fM至约500fM、1fM至约

100fM、1fM至约50fM、1fM至约10fM、1fM至约5fM、5fM至约900nM、5fM至约500nM、5fM至约100nM、5fM至约50nM、5fM至约10nM、5fM至约5nM、5fM至约1nM、5fM至约500pM、5fM至约100pM、5fM至约50pM、5fM至约10pM、5fM至约5pM、5fM至约1pM、5fM至约500fM、5fM至约100fM、5fM至约50fM、5fM至约10fM、10fM至约900nM、10fM至约500nM、10fM至约100nM、10fM至约50nM、10fM至约10nM、10fM至约5nM、10fM至约1nM、10fM至约500pM、10fM至约100pM、10fM至约50pM、10fM至约10pM、10fM至约5pM、10fM至约1pM、10fM至约500fM、10fM至约100fM、10fM至约50fM、50fM至约900nM、50fM至约500nM、50fM至约100nM、50fM至约50nM、50fM至约10nM、50fM至约5nM、50fM至约1nM、50fM至约500pM、50fM至约100pM、50fM至约50pM、50fM至约10pM、50fM至约5pM、50fM至约1pM、50fM至约500fM、50fM至约100fM、100fM至约900nM、100fM至约500nM、100fM至约100nM、100fM至约50nM、100fM至约10nM、100fM至约5nM、100fM至约1nM、100fM至约500pM、100fM至约100pM、100fM至约50pM、100fM至约10pM、100fM至约5pM、100fM至约1pM、100fM至约500fM、500fM至约900nM、500fM至约500nM、500fM至约100nM、500fM至约50nM、500fM至约10nM、500fM至约5nM、500fM至约1nM、500fM至约500pM、500fM至约100pM、500fM至约50pM、500fM至约10pM、500fM至约5pM、500fM至约1pM、1pM至约900nM、1pM至约500nM、1pM至约100nM、1pM至约50nM、1pM至约10nM、1pM至约5nM、1pM至约1nM、1pM至约500pM、1pM至约100pM、1pM至约50pM、1pM至约10pM、1pM至约5pM、5pM至约10nM、5pM至约5nM、5pM至约1nM、5pM至约500pM、5pM至约100pM、5pM至约50pM、5pM至约10pM、10pM至约10nM、10pM至约5nM、10pM至约1nM、10pM至约500pM、10pM至约100pM、10pM至约50pM、50pM至约10nM、50pM至约5nM、50pM至约1nM、50pM至约500pM、50pM至约100pM、100pM至约10nM、100pM至约5nM、100pM至约1nM、100pM至约500pM、500pM至约10nM、500pM至约5nM、500pM至约1nM、1nM至约10nM、1nM至约5nM或5nM至约10nM。在一些实施方案中,使用标准结合测定法(例如生物层干涉法)来测量K_D值。

[0451] 在一些实施方案中,本文公开的抗原结合位点以与结合人siglec-6相当的亲和力(K_D值)结合食蟹猴siglec-6。在一些实施方案中,在同一测定中测量的抗原结合位点对食蟹猴siglec-6的亲和力相对于其对人siglec-6的亲和力的差异在2倍、3倍、5倍或10倍以内(对人siglec-6的亲和力更大或对食蟹猴siglec-6的亲和力更大)。

[0452] 在一些实施方案中,本文公开的抗原结合位点结合细胞表面上表达的siglec-6。在一些实施方案中,本文公开的抗原结合位点结合肥大细胞。在一些实施方案中,本文公开的抗原结合位点优先结合肥大细胞而非其他免疫细胞(例如,T细胞、树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞或嗜碱性粒细胞)。

[0453] 在一些实施方案中,本文公开的抗原结合位点不显著结合其他siglec-6家族成员。在一些实施方案中,本文公开的抗原结合位点不显著结合siglec 1-5、7-12、14或15。

[0454] 在一些实施方案中,本文公开的抗原结合位点不诱导肥大细胞脱颗粒。

[0455] 含有抗原结合位点的分子

[0456] 本文还提供了含有公开的抗原结合位点的分子。此类分子可以是但不限于抗体或其抗原结合片段、抗体片段、纳米抗体、抗体模拟物等。

[0457] 在一些实施方案中,提供了含有公开的抗原结合位点的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段是多特异性的,例如双特异性的。在一些实施方案中,抗体是单克隆抗体。在一些实施方案中,抗体是人源化抗体。在一些实施方案中,抗体

是人抗体。在一些实施方案中,抗体是非岩藻糖基化抗体(无岩藻糖基化抗体)。在一些实施方案中,抗体被至多约90%、至多约80%、至多约70%、至多约60%、至多约50%、至多约40%、至多约30%、至多约25%、至多约20%、至多约15%、至多约10%、至多约5%、至多约4%、至多约3%、至多约2%、至多约1%岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是无岩藻糖基化抗体。在一些实施方案中,抗体至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%无岩藻糖基化。

[0458] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段能够结合c-Kit。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段能够结合siglec-6。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段能够结合c-Kit和siglec-6。

[0459] 在一些实施方案中,提供了含有公开的抗原结合位点的其抗体片段。例如,片段可以是但不限于Fab、scFab(单链Fab)、$F(ab')_2$、Fab'、单链Fv(scFv)、Fv片段或双抗体(scFv的二聚体)。在一些实施方案中,抗体片段是多特异性的,例如双特异性的。在一些实施方案中,抗体片段能够结合c-Kit。在一些实施方案中,抗体片段能够结合siglec-6。在一些实施方案中,抗体片段能够结合c-Kit和siglec-6。

[0460] 在一些实施方案中,提供了含有公开的抗原结合位点的抗体模拟物。例如,片段可以是但不限于亲合体、Affilin、Affimer、afftin、Alphabody、Anticalin、avimer、Centyrin、DARPin、Fynomer、单抗体或nanoCLAMP。在一些实施方案中,抗体模拟物是多特异性的,例如双特异性的。在一些实施方案中,抗体模拟物能够结合c-Kit。在一些实施方案中,抗体模拟物能够结合siglec-6。在一些实施方案中,抗体模拟物能够结合c-Kit和siglec-6。

[0461] 在一些实施方案中,提供了包含两个本文公开的抗原结合位点的双特异性分子。

[0462] 在一些实施方案中,双特异性分子包含本文所述的能够结合c-Kit的抗原结合位点。在一些实施方案中,双特异性分子包含本文所述的能够结合siglec-6的抗原结合位点。在一些实施方案中,双特异性分子包含本文所述的能够结合c-Kit的抗原结合位点和本文所述的能够结合siglec-6的抗原结合位点。

[0463] 在一些实施方案中,提供了双特异性分子,其包含:(i)本文所述的能够结合siglec-6的抗原结合位点;和(ii)本文所述的能够结合c-Kit的抗原结合位点。在一些实施方案中,双特异性分子包含第一抗原结合位点,所述第一抗原结合位点包含本文所述的能够结合siglec-6的抗原结合位点的VH区和VL区,以及第二抗原结合位点,所述第二抗原结合位点包含本文所述的能够结合c-Kit的抗原结合位点的VH区和VL区。在一些实施方案中,第一抗原结合位点(能够结合siglec-6)包含VH区和VL区,所述VH区和VL区是或源自本文所述的鼠RND、人源化RND或JML-1的VH/VL区;并且第二抗原结合结构域(能够结合c-Kit)包含VH区和VL区,所述VH区和VL区是或源自本文所述的鼠SR1或人源化SR1的VH/VL区。

[0464] 在一些实施方案中,双特异性分子能够结合表达silect-6的细胞。在一些实施方案中,双特异性分子能够结合表达c-Kit的细胞。在一些实施方案中,双特异性分子能够结合肥大细胞。在一些实施方案中,双特异性分子优先结合肥大细胞而非另一种免疫细胞(例如,T细胞、树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞或嗜碱性粒细胞)。在一些实施方案中,双特异性分子具有与能够结合siglect-6的参考抗原结合位点(例如,包含分别为SEQ ID NO:2

和10的VH和VL的抗体)相比相当或更低的内化率。在一些实施方案中,双特异性分子具有与能够结合c-Kit的参考抗原结合位点(例如,包含分别为SEQ ID NO:40和45的VH和VL的抗体)相比相当或更低的毒性。

[0465] 本领域已知双特异性分子的各种形式和用途。根据本发明的双特异性分子不限于任何特定的双特异性形式或产生它的方法。

[0466] 在一些实施方案中,双特异性分子可以是双特异性抗体或其片段或衍生物,包括但不限于:(i)具有两个臂的单个抗体,每个臂包含不同的抗原结合位点;(ii)双特异性scFv,例如,经由肽接头连接的两个scFv;(iii)双可变结构域抗体(DVD-Ig),其中每个轻链和重链含有通过短肽键串联的两个可变结构域;(iv)双特异性$(Fab')_2$片段;(v)双抗体;(vi)串联双抗体(TandAb),两个双抗体的融合物;和(vii)"对接和锁定(DNL)-Fab3",由两个相同的Fab片段连接到不同的Fab片段组成的三价双特异性结合蛋白;(viii)具有工程化Fc以强制异二聚化的IgG样分子;(ix)重组IgG样双靶向分子,其中分子的两侧各自含有至少两种不同抗体的Fab片段或部分Fab片段;(x)IgG融合分子,其中全长IgG抗体与额外的Fab片段或部分Fab片段融合;(xi)Fc融合分子;(v)Fab融合分子;以及(vi)基于scFv和双抗体的重链抗体(例如,结构域抗体、纳米抗体),其中不同的scFv、双抗体或重链抗体(例如,结构域抗体、纳米抗体)彼此融合或与融合有重链恒定结构域、Fc区或其部分的另一个蛋白质或载体分子融合。

[0467] 具有工程化Fc的IgG样分子的实例包括但不限于triomab、旋钮进孔(knobs-into-holes,kih)分子(例如,具有共同轻链的kih IgG)、CrossMAb、orthoFab IgG分子、静电匹配分子、LUZ-Y分子、DIG-body和PIG-body分子、链交换工程化结构域体(SEEDbody)分子、Biclonics分子、FcΔAdp分子、双特异性IgG1和IgG2分子、Azymetric支架分子和DuoBody分子。重组IgG样双靶向分子的实例包括但不限于双靶向(DT)-Ig分子、二合一抗体、mAb^2和Zybody。IgG融合分子的实例包括但不限于DVD-Ig分子和IgG-scFv。Fc融合分子的实例包括但不限于scFv/Fc融合物、SCORPION分子和Fc-DART分子。Fab融合双特异性抗体的实例包括但不限于$F(ab)_2$分子、DNL分子和Fab-Fv分子。基于scFv和双抗体的结构域抗体的实例包括但不限于双特异性T细胞接合剂(BiTE)分子、串联双抗体分子(TandAb)、双亲和力重靶向技术(DART)分子、单链双抗体分子、TCR样抗体(AIT,ReceptorLogics)、人血清白蛋白scfv融合物、COMBODY分子、双靶向纳米抗体和双靶向仅重链结构域抗体。

[0468] 在某些实施方案中,公开的双特异性分子可以是含有一个或多个抗体模拟物的融合蛋白。在某些实施方案中,公开的双特异性分子可以是含有一个或多个抗体或其抗原结合片段的融合蛋白。在一些实施方案中,公开的双特异性分子可以是含有一个或多个抗体模拟物和一个或多个抗体或其抗原结合片段的融合蛋白。

[0469] 在一些实施方案中,含有公开的抗原结合位点的分子还包含抗体恒定区或其片段或变体。在一些实施方案中,抗体恒定区可以是例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE的重链恒定区;特别是选自例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的(例如,人)重链恒定区。在某些实施方案中,抗体恒定区或其片段或变体具有与例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD或IgE的重链恒定区,优选地,例如人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的重链恒定区至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗体恒定区可以是选自例如κ或λ的(例如,人)轻链恒

定区的轻链恒定区。恒定区可以被改变,例如突变,以修改抗体的性质(例如,增加或减少以下一项或多项:Fc受体结合、抗体糖基化、半胱氨酸残基的数量、效应细胞功能和/或补体功能)。在一个实施方案中,抗体具有效应功能和/或可以固定补体。在其他实施方案中,抗体不会募集效应细胞或固定补体。在另一个实施方案中,抗体具有降低的或没有结合Fc受体的能力。例如,它是同种型或亚型、片段或其他突变体,不支持与Fc受体结合,例如,它具有诱变或缺失的Fc受体结合区。

[0470] 在一些实施方案中,恒定区包含一个或多个降低效应功能的突变。例如,在某些实施方案中,恒定区包含IgG1的重链恒定区,其包含一个或多个以下突变,基于EU索引编号:(a)L234A和/或L235A;(b)A327G、A330S和/或P331S;(c)E233P、L234V、L235A和/或G236del;(d)E233P、L234V和/或L235A;(e)E233P、L234V、L235A、G236del、A327G、A330S和/或P331S;(f)E233P、L234V、L235A、A327G、A330S和/或P331S;(g)N297A;(h)N297G;(i)N297Q;(j)L242C、N297C和/或K334C;(k)A287C、N297G和/或L306C;(l)R292C、N297G和/或V302C;(m)N297G、V323C和/或I332C;(n)V259C、N297G和/或L306C;(o)L234F、L235Q、K322Q、M252Y、S254T和/或T256E;(p)L234A、L235A和/或P329G;或(q)L234A、L235Q和K322Q。在某些实施方案中,恒定区包含IgG2的重链恒定区,其包含一个或多个以下突变,基于EU索引编号:(a)A330S和/或P331S;(b)V234A、G237A、P238S、H268A、V309L、A330S和/或P331S;或(c)V234A、G237A、H268Q、V309L、A330S、P331S、C232S、C233S、S267E、L328F、M252Y、S254T和/或T256E。在某些实施方案中,恒定区包含IgG4的重链恒定区,其包含一个或多个以下突变,基于EU索引编号:(a)E233P、F234V、L235A和/或G236del;(b)E233P、F234V和/或L235A;(c)S228P和/或L235E;或(d)S228P和/或L235A。

[0471] 在一些实施方案中,恒定区包含一个或多个增强效应功能的突变。例如,在某些实施方案中,恒定区包含IgG1的重链恒定区,其包含一个或多个以下突变,基于EU索引编号:(a)F243L、R292P、Y300L、V305I和/或P396L;(b)S239D和/或I332E;(c)S239D、I332E和/或A330L;(d)S298A、E333A和/或K334A;(e)G236A、S239D和/或I332E;(f)K326W和/或E333S;(g)S267E、H268F和/或S324T;或(h)E345R、E430G和/或S440Y。

[0472] 在一些实施方案中,公开的抗原结合位点与抗体恒定区或其片段或变体连接。在某些实施方案中,抗原结合位点与IgG恒定区连接,包括铰链、CH_2和CH_3结构域(带或不带CH_1结构域)。

[0473] 在一些实施方案中,含有公开的抗原结合位点的分子还包含非岩藻糖基化的Fc区。在一些实施方案中,Fc区是非岩藻糖基化的IgG1Fc区。

[0474] 氨基酸序列修饰

[0475] 考虑了本文公开的抗原结合位点和含有抗原结合位点的分子(例如,抗体或其抗原结合片段)的氨基酸序列修饰。例如,可能希望改善抗体或抗原结合片段的结合亲和力和/或其它生物性质。氨基酸序列变体可以这样制备,例如,通过在编码抗原结合位点或含有抗原结合位点的分子的核酸序列中引入适当的核苷酸变化,或通过肽合成。此类修饰可包括例如在氨基酸序列内残基的缺失和/或插入和/或取代。可以进行缺失、插入和取代的任何组合,只要抗原结合位点或含有抗原结合位点的分子保留所需的特性和/或功能。在一些实施方案中,引入氨基酸变化来改变翻译后过程,例如改变糖基化位点的数量或位置。

[0476] 一种用于鉴定作为优选诱变位置的某些残基或区域的有用方法称为“丙氨酸扫描

诱变”。在该方法中,鉴定一个残基或一组靶残基(例如,带电荷的残基,诸如Arg、Asp、His、Lys和Glu),并用中性或带负电荷的氨基酸(最优选丙氨酸或聚丙氨酸)替换,以影响氨基酸与抗原的相互作用。然后通过在取代位点处或为取代位点引入另外的或其他变体来改进对取代表现出功能敏感性的那些氨基酸位置。因此,虽然引入氨基酸序列变异的位点是预先确定的,但突变本身的性质不需要预先确定。例如,为了分析给定位点处的突变的性能,可以在靶密码子或区域进行丙氨酸扫描或随机诱变,并且可以筛选表达的变体以获得所需的活性。

[0477] 氨基酸序列插入的实例包括但不限于长度范围为一个残基至含有一百个或更多个残基的多肽的氨基-和/或羧基-末端融合,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实例包括但不限于N-末端甲硫氨酰残基。

[0478] 在一些实施方案中,抗原结合位点或含有抗原结合位点的分子在一个末端与另一多肽融合,例如细胞毒性多肽、酶或增加抗体或抗原结合片段的血清半衰期的多肽。

[0479] 另一种类型的变体是氨基酸取代变体。这些变体在分子的氨基酸序列中有至少一个氨基酸残基被不同的残基替换。取代诱变最感兴趣的位点通常是高变区,但也考虑框架区改变。保守取代的实例显示在表1中“优选取代”的标题下。可以引入表1中“示例性取代”的标题下的更实质性的变化,或如下文参考氨基酸类别进一步描述的变化,并筛选所得的抗体或抗原结合片段。

[0480] 表1.示例性氨基酸取代

[0481]

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

[0482] 抗体生物性质的实质性修饰可以通过选择在维持(a)取代区域中多肽骨架的结构,例如片层或螺旋构象,(b)分子在靶位点处的电荷或疏水性,或(c)侧链的体积的作用上显著不同的取代来实现。天然存在的残基通常基于常见的侧链性质分为几类:

[0483] (1)疏水性的:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0484] (2)中性亲水性的:Cys、Ser、Thr;

[0485] (3)酸性的:Asp、Glu;

[0486] (4)碱性的:Asn、Gln、His、Lys、Arg;

[0487] (5)影响链取向的残基:Gly、Pro;以及

[0488] (6)芳族的:Trp、Tyr、Phe。

[0489] 非保守取代可能需要将这些类别之一的成员替换为另一类别。

[0490] 另外或可选地,不参与维持抗体或抗原结合片段的适当构象的半胱氨酸残基可以被取代,通常用丝氨酸取代,以改善分子的氧化稳定性并防止异常交联。相反,可以将半胱氨酸键添加到抗体中以改善其稳定性(特别是当抗体是抗体片段如Fv片段时)。

[0491] 在一些实施方案中,取代变体包含亲本抗体(例如人抗体)的一个或多个高变区残基内的取代。通常,选择相对于产生它们的亲本抗体具有改善的生物性质的所得变体用于进一步开发。

[0492] 产生这种取代变体的方法涉及使用噬菌体展示的亲和力成熟。在这种方法的一个实例中,几个高变区位点(例如,6-7个位点)发生突变以在每个位点产生所有可能的氨基酸取代。由此产生的抗体变体以单价方式展示,例如从丝状噬菌体颗粒融合到每个颗粒内包装的M13基因III产物。然后筛选噬菌体展示变体的生物活性(例如结合亲和力)。

[0493] 为了鉴定用于修饰的候选高变区位点,可以进行丙氨酸扫描诱变以鉴定对抗原结合有显著贡献的高变区残基。可选地或另外,分析抗原-抗体复合物的晶体结构以鉴定抗体或抗原结合片段与抗原之间的接触点可能是有益的。这样的接触残基和邻近残基是根据本文详述的技术进行取代的候选物。一旦产生这样的变体,就对变体组进行筛选,并且可以选择在一种或多种相关测定中具有优异性质的抗体用于进一步开发。

[0494] 在一些实施方案中,亲本抗体的原始糖基化模式被改变。此类改变可包括缺失抗体中发现的一个或多个碳水化合物部分,和/或添加抗体中不存在的一个或多个糖基化位点。

[0495] 抗体的糖基化通常是N-连接的或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的连接。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸(其中X是除脯氨酸之外的任何氨基酸)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,多肽中这些三肽序列中的任一个的存在产生潜在的糖基化位点。O-连接的糖基化是指糖N-乙酰半乳糖胺、半乳糖或木糖中的一种与羟基氨基酸(最常见的是丝氨酸或苏氨酸)的连接,尽管也可以使用5-羟基脯氨酸或5-羟基赖氨酸。

[0496] 通过改变抗体或抗原结合片段的氨基酸序列,使其含有一个或多个上述三肽序列(对于N-连接的糖基化位点),可以实现向抗体添加糖基化位点。也可以通过向原始抗体的序列添加或取代一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基来进行改变(对于O-连接的糖基化位点)。

[0497] 可通过本领域已知的多种方法制备编码抗体或抗原结合片段的氨基酸序列变体的核酸分子。这些方法包括但不限于从天然来源分离(在天然存在的氨基酸序列变体的情

况下)或通过抗体或其抗原结合片段的早期制备的变体或非变体形式的寡核苷酸介导的(或定点)诱变、PCR诱变和盒式诱变来制备。

[0498] 在一些实施方案中,使用增加血清半衰期的修饰。举例来说,补救受体结合表位可并入含有所公开的抗原结合位点的分子中,如例如美国专利第5,739,277号中所描述。如本文所用,术语"补救受体结合表位"是指IgG分子(例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)的Fc区的表位,其负责增加IgG分子的体内血清半衰期。

[0499] 制备抗原结合位点和含有抗原结合位点的分子的方法

[0500] 上文的蛋白质可以使用本领域技术人员熟知的重组DNA技术制备。

[0501] 例如,可以将编码含有公开的抗原结合位点的蛋白质的一个或多个核酸序列克隆到一个或多个表达载体中;所述表达载体可以稳定转染到能够表达基因的宿主细胞中。转染后,可以使用本领域已知的方法分离单个克隆用于细胞库生成,例如有限稀释、ELISA、FACS、显微术或ClonePix。克隆可以在适于生物反应器放大和维持包含本文公开的抗原结合位点的蛋白质的表达的条件下培养。可以使用本领域已知的方法分离和纯化蛋白质,例如离心、深度过滤、细胞裂解、均质化、冻融、亲和纯化、凝胶过滤、离子交换色谱、疏水相互作用交换色谱和混合模式色谱。

[0502] 因此,本文还提供了编码抗原结合位点的分离的核酸和含有抗原结合位点的分子(例如蛋白质),包含所述核酸的载体和宿主细胞,以及用于生产的重组技术。

[0503] 在某些实施方案中,提供了一种或多种分离的核酸,其包含编码本文公开的任何抗体的免疫球蛋白重链和/或免疫球蛋白轻链可变区的序列,以及一种或多种表达载体,其表达本文公开的任何抗体的免疫球蛋白重链和/或免疫球蛋白轻链可变区。还提供了包含一种或多种前述表达载体和/或分离的核酸的宿主细胞。

[0504] 在一些实施方案中,本公开的抗原结合位点和含有抗原结合位点的分子(例如蛋白质)可以与另一种剂,例如另一种治疗剂融合。融合蛋白的构建在本领域普通技术范围内。

[0505] 单克隆抗体

[0506] 单克隆抗体可以使用首先描述的杂交瘤方法制备,或者可以通过重组DNA方法(美国专利第4,816,567号)制备。

[0507] 在杂交瘤方法中,免疫小鼠或其它适当的宿主动物,例如仓鼠,以引发产生或能够产生特异性结合用于免疫的蛋白质的抗体的淋巴细胞。可选地或另外,可以在体外免疫淋巴细胞。免疫后,分离淋巴细胞,然后使用合适的融合剂(例如聚乙二醇)使其与骨髓瘤细胞系融合,以形成杂交瘤细胞。

[0508] 将如此制备的杂交瘤细胞接种于合适的培养基中并在其中生长,所述培养基优选含有一种或多种抑制未融合的亲本骨髓瘤细胞(也称为融合配偶体)生长或存活的物质。例如,如果亲本骨髓瘤细胞缺乏次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶(HGPRT或HPRT),则杂交瘤的选择性培养基通常将包括次黄嘌呤、氨基蝶呤和胸苷(HAT培养基),这些物质阻止HGPRT缺陷型细胞的生长。

[0509] 合适的融合配偶体的实例包括但不限于骨髓瘤细胞,所述骨髓瘤细胞有效融合,支持所选抗体产生细胞稳定高水平产生抗体,并且对选择未融合亲本细胞的选择性培养基敏感。合适的骨髓瘤细胞系的实例包括但不限于鼠骨髓瘤细胞系,例如衍生自MOPC-21和

MPC-11小鼠肿瘤的那些,其可从Salk Institute Cell Distribution Center,San Diego,Calif.USA获得,以及SP-2和衍生物,例如可从美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection,Rockville,Md.USA)获得的X63-Ag8-653细胞。还描述了用于产生人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人异源骨髓瘤细胞系。

[0510] 根据杂交瘤方法,然后测定杂交瘤细胞在其中生长的培养基中针对抗原的单克隆抗体的产生。例如,由杂交瘤细胞产生的单克隆抗体的结合特异性可以通过免疫沉淀或通过体外结合测定,例如放射免疫测定(RIA)或酶联免疫吸附测定(ELISA)来确定。

[0511] 单克隆抗体的结合亲和力可以例如通过Scatchard分析来确定。

[0512] 一旦鉴定了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,就可以例如通过有限稀释程序对克隆进行亚克隆并通过标准方法生长。用于此目的的合适培养基包括例如D-MEM或RPMI-1640培养基。此外,杂交瘤细胞可在动物中作为腹水肿瘤在体内生长,例如通过将细胞腹膜内注射到小鼠中。

[0513] 通过常规抗体纯化程序,例如亲和色谱(例如使用蛋白A或蛋白G-Sepharose®)或离子交换色谱、羟基磷灰石色谱、凝胶电泳、透析等,将亚克隆分泌的单克隆抗体适当地与培养基、腹水或血清分离。

[0514] 编码单克隆抗体的DNA可以使用常规程序(例如,通过使用能够与编码鼠抗体重链和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针)容易地分离和测序。杂交瘤细胞可用作此类DNA的优选来源。一旦分离,可以将DNA置于表达载体中,然后将其转染到原本不产生抗体蛋白的宿主细胞,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,以在重组宿主细胞中获得单克隆抗体的合成。

[0515] 在某些实施方案中,从抗体噬菌体文库中分离单克隆抗体或抗体片段。可以例如通过链改组产生高亲和力(nM范围)的人抗体。组合感染和体内重组可以提供构建非常大的噬菌体文库的策略。这些技术是用于分离单克隆抗体的传统单克隆抗体杂交瘤技术的可行替代方案。

[0516] 可以修饰编码抗体的DNA以产生嵌合或融合抗体多肽,例如,通过用人重链和轻链恒定结构域(CH和CL)序列取代同源鼠序列(参见例如美国专利第4,816,567号),或通过将免疫球蛋白编码序列与非免疫球蛋白多肽(异源多肽)的全部或部分编码序列融合。

[0517] 人抗体和噬菌体展示方法

[0518] 人抗体可以通过本领域已知的方法产生,包括本文所述的方法。例如,可以产生转基因动物(例如小鼠),其在免疫后能够在不存在内源性免疫球蛋白产生的情况下产生完整的人抗体库。例如,已经描述了嵌合和种系突变小鼠中抗体重链连接区(JH)基因的纯合缺失导致内源性抗体产生的完全抑制。将人种系免疫球蛋白基因阵列转移到此类种系突变小鼠中将导致在抗原攻击后产生人抗体。参见例如美国专利号5,545,806、5,569,825、5,591,669;5,545,807;和WO 97/17852。

[0519] 可选地,噬菌体展示技术可用于从未免疫供体的免疫球蛋白可变(V)结构域基因库体外产生人抗体和抗体片段。根据该技术,将抗体V结构域基因框内克隆到丝状噬菌体(例如M13或fd)的主要或次要外壳蛋白基因中,并在噬菌体颗粒的表面上展示为功能性抗体片段。因为丝状颗粒含有噬菌体基因组的单链DNA拷贝,所以基于抗体的功能性质的选择也导致选择编码表现出那些性质的抗体的基因。因此,噬菌体模拟B细胞的一些性质。噬菌

体展示可以以多种形式进行。V基因区段的几种来源可用于噬菌体展示,例如来自V基因的随机组合文库,例如源自免疫小鼠脾脏的文库。可以构建来自未免疫的人供体的V基因库,并且可以基本上按照本领域中描述的方法分离针对不同阵列的抗原(包括自身抗原)的抗体。参见例如美国专利第5,565,332号和第5,573,905号。

[0520] 人抗体也可以通过体外活化的B细胞产生(参见例如美国专利第5,567,610号和第5,229,275号)。

[0521] 用于确定抗体是否与所公开的抗体结合相同的表位或与所公开的抗体竞争结合的竞争测定是本领域已知的。示例性竞争测定包括免疫测定(例如,ELISA测定、RIA测定)、表面等离子体共振(例如,Biacore分析)、生物层干涉法和流式细胞术。

[0522] 通常,竞争测定涉及使用与固体表面结合或在细胞表面上表达的抗原、测试抗体和参考抗体。参考抗体已标记,而测试抗体未标记。通过测定在测试抗体存在下与固体表面或细胞结合的标记的参考抗体的量来测量竞争性抑制。通常,测试抗体过量存在(例如,1x、5x、10x、20x或100x)。通过竞争测定鉴定的抗体(例如,竞争性抗体)包括与参考抗体结合相同表位或类似(例如,重叠)表位的抗体,以及结合足够接近参考抗体结合的表位的相邻表位以发生空间位阻的抗体。

[0523] 可以在两个方向上进行竞争测定,以确保标记的存在不干扰或以其他方式抑制结合。例如,在第一方向上,参考抗体被标记并且测试抗体未被标记,并且在第二方向上,测试抗体被标记并且参考抗体未被标记。

[0524] 如果过量的一种抗体(例如,1x、5x、10x、20x或100x)抑制另一种抗体的结合,例如抑制至少50%、75%、90%、95%或99%,如在竞争性结合测定中测量的,则测试抗体与参考抗体竞争与抗原的特异性结合。

[0525] 如果抗原中减少或消除一种抗体的结合的基本上所有氨基酸突变减少或消除另一种抗体的结合,则可以确定两种抗体结合相同的表位。如果仅减少或消除一种抗体的结合的氨基酸突变的子集减少或消除另一种抗体的结合,则可以确定两种抗体结合重叠表位。

[0526] 本文公开的抗体可以进一步优化(例如,亲和力成熟)以改善生物化学特征(包括亲和力和/或特异性),改善生物物理性质(包括聚集、稳定性、沉淀和/或非特异性相互作用),和/或降低免疫原性。亲和力成熟程序在本领域普通技术范围内。例如,可以通过DNA改组、链改组、CDR改组、随机诱变和/或位点特异性诱变将多样性引入免疫球蛋白重链和/或免疫球蛋白轻链中。

[0527] 在某些实施方案中,分离的人抗体含有一个或多个体细胞突变。在这些情况下,可以将抗体修饰为人种系序列以优化抗体(例如,通过称为种系化的过程)。

[0528] 通常,优化的抗体与衍生它的非优化(或亲本)抗体具有至少相同或基本上相同的对抗原的亲和力。例如,在某些实施方案中,当与亲本抗体相比时,优化的抗体对抗原具有更高的亲和力。

[0529] 药物组合物

[0530] 在某些实施方案中,将所提供的含有公开的抗原结合位点的分子与一种或多种药学上可接受的载剂一起掺入适于对受试者施用的药物组合物中。如本文所用,“药学上可接受的载剂”是指生理上相容的多种溶剂、分散介质、包衣、抗细菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸

收延迟剂等中的任一种。药学上可接受的载剂的实例包括但不限于水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、葡萄糖、甘油、乙醇等,以及它们的组合。

[0531] 在一些实施方案中,药物组合物包含一种或多种张力剂或稳定剂。此类张力剂或稳定剂的非限制性实例包括糖(例如蔗糖)、多元醇(例如甘露糖醇或山梨糖醇)和氯化钠。

[0532] 在一些实施方案中,药物组合物包含一种或多种增量剂和/或冻干保护剂(例如甘露糖醇或甘氨酸)、缓冲剂(例如磷酸盐、乙酸盐或组氨酸缓冲剂)、表面活性剂(例如聚山梨醇酯)、抗氧化剂(例如甲硫氨酸)和/或金属离子或螯合剂(例如乙二胺四乙酸(EDTA))。

[0533] 在一些实施方案中,药物组合物包含一种或多种辅助物质,例如润湿剂或乳化剂、防腐剂(例如苯甲醇)或缓冲剂,其可以增强本文公开的免疫缀合物的保质期和/或有效性。

[0534] 药物组合物可以以多种形式中的任一种提供。这些包括例如液体、半固体和固体剂型,例如液体溶液(例如,可注射和可输注溶液)、分散体或悬浮液、片剂、丸剂、粉末、脂质体和栓剂。某些形式的适合性可取决于预期的施用模式和治疗应用。

[0535] 在一些实施方案中,药物组合物是可注射或可输注溶液的形式。

[0536] 药物组合物通常是无菌的,并且在制造、运输和储存条件下是稳定的。药物组合物可以配制成例如溶液、微乳液、分散体、脂质体或其他有序结构。在一些实施方案中,药物组合物被配制为特别适合于高药物浓度的结构。例如,无菌可注射溶液可以通过将治疗剂(例如,免疫缀合物)以所需量掺入具有本文列举的成分中的一种或组合的适当溶剂中,任选地随后灭菌(例如,过滤灭菌)来制备。通常,可以通过将免疫缀合物掺入含有基础分散介质和其他成分(例如本文提及的那些另外的成分)的无菌媒介物中来制备分散体。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,制备方法的实例包括真空干燥和冷冻干燥,以例如从其先前无菌过滤的溶液产生免疫缀合物和任何另外的所需成分的粉末。

[0537] 溶液的适当流动性可以例如通过使用包衣如卵磷脂、通过维持某些粒度(例如在分散体的情况下)和/或通过使用表面活性剂来维持。可注射组合物的延长吸收可以例如通过在组合物中包括延迟吸收的剂(例如,单硬脂酸盐和/或明胶)来实现。

[0538] 治疗方法

[0539] 本申请提供了使用本文所述的分子(例如蛋白质,如抗体或其抗原结合片段)或药物组合物治疗疾病或病症的方法。本文公开的治疗方法通常包括向有需要的受试者(例如,人受试者)施用治疗有效量的所公开的含有抗原结合位点的分子或其药物组合物的步骤。

[0540] 在一些实施方案中,疾病或病症是肥大细胞相关疾病或病症。在一些实施方案中,肥大细胞相关疾病或病症与不期望的肥大细胞活性有关,例如肥大细胞的过度增殖。肥大细胞相关疾病或病症的非限制性实例包括上气道疾病例如过敏性鼻炎和鼻窦炎、异物吸入、声门狭窄、气管狭窄、喉气管软化、血管环、慢性阻塞性肺病(COPD)和充血性心力衰竭、嗜酸性支气管炎、多软骨炎、结节病、乳头状瘤病、关节炎(例如类风湿性关节炎)、韦格纳肉芽肿病、原发性胆汁性肝硬化、对口服免疫疗法有反应的过敏、由肥大细胞胆管病变引起的继发性硬化性胆管炎、瘙痒、由慢性肾病相关瘙痒或原发性胆汁性肝硬化引起或与其相关的瘙痒、肺移植或造血干细胞移植后的闭塞性细支气管炎综合征、炎性肠综合征、功能性消化不良、婴儿支气管肺发育不良、脑缺血、癫痫发作、由流感引起的肺炎、败血症、硬皮病、丛集性头痛、心脏纤维化、原发性硬化性胆管炎(PSC)、莫比汉氏病(Morbihan disease)、阿司匹林不耐受性哮喘、外阴痛、慢性骨盆疼痛综合征(前列腺炎)和癌症(例如肺癌)。

[0541] 在一些实施方案中,疾病或病症是自身免疫性疾病。在一些实施方案中,疾病或病症是过敏。在一些实施方案中,疾病或病症是炎症。在一些实施方案中,疾病或病症是瘙痒。在一些实施方案中,疾病或病症是癌症。

[0542] 治疗有效量可经由单剂量或经由多剂量(例如,至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个或至少十个剂量)施用。当经由多剂量施用时,可以使用多种合适的治疗方案中的任一种,包括定期施用(例如,每隔一天一次、每三天一次、每四天一次、每五天一次、每周三次、每周两次、每周一次、每两周一次、每三周一次等)。

[0543] 在治疗方法中有效的剂量方案(例如,每种治疗剂的量、疗法的相对时间等)可取决于疾病或疾患的严重程度以及受试者的体重和一般状态。例如,应用于哺乳动物(例如人)的包含治疗剂的特定组合物的治疗有效量可以由普通技术人员考虑哺乳动物的年龄、体重和状况的个体差异来确定。治疗有效量和/或最佳量也可以由本领域技术人员凭经验确定。

[0544] 含有抗原结合位点的分子或其药物组合物可以通过多种合适的途径中的任一种施用,包括但不限于全身途径,例如肠胃外(例如静脉内或皮下)或肠内途径。

[0545] 示例性实施方案的列表

[0546] 本发明通过下列非限制性示例性实施方案进一步描述:

[0547] 实施方案1.一种能够与FCER1A、FCER1B和/或FCER1G结合的抗原结合位点。

[0548] 实施方案2.实施方案1的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点能够与FCER1A结合。

[0549] 实施方案3.实施方案1的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点能够与FCER1B结合。

[0550] 实施方案4.实施方案1的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点能够与FCER1G结合。

[0551] 实施方案5.一种能够与c-Kit结合的抗原结合位点。

[0552] 实施方案6.一种能够与siglec-6结合的抗原结合位点。

[0553] 实施方案7.一种能够与siglec-8结合的抗原结合位点。

[0554] 实施方案8.实施方案1-7中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点作为单链可变片段(scFv)存在。

[0555] 实施方案9.实施方案1-7中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点作为抗体模拟物(例如亲合体、Affilin、Affimer、afftin、Alphabody、Anticalin、avimer、Centyrin、DARPin、Fynomer、单抗体或nanoCLAMP)存在。

[0556] 实施方案10.实施方案5和8-9中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0557] (a)SEQ ID NO:39、49、51、54、56或58中任一个所示的重链(HC)的互补决定区1(CDR1)、CDR2和/或CDR3;和/或

[0558] (b)SEQ ID NO:44、50、86或88中任一个所示的轻链(LC)的CDR1、CDR2和/或CDR3。

[0559] 实施方案11.实施方案5和8-10中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0560] (a)重链可变结构域(VH),其包含以下互补决定区:

[0561] CDR-H1,包含氨基酸序列:SYNMH(SEQ ID NO:41),

[0562] CDR-H2,包含氨基酸序列:VIYSGNGDTSYNQKFKG(SEQ ID NO:42)或IYSGNGDTSYNQKFKGK(SEQ ID NO:33),以及

[0563] CDR-H3,包含氨基酸序列:ERDTRFGN(SEQ ID NO:43);和/或

[0564] (b)轻链可变结构域(VL),其包含以下互补决定区:

[0565] CDR-L1,包含氨基酸序列:RASESVDIYGNSFMH(SEQ ID NO:46);

[0566] CDR-L2,包含氨基酸序列:LASNLES(SEQ ID NO:47);以及

[0567] CDR-L3,包含氨基酸序列:QQNNEDPYT(SEQ ID NO:48)。

[0568] 实施方案12.实施方案5和8-11中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0569] (a)包含与SEQ ID NO:39中所示的HC的VH具有至少85%一致性的氨基酸序列的VH;和/或

[0570] 包含与SEQ ID NO:44中所示的LC的VL具有至少85%一致性的氨基酸序列的VL;或

[0571] (b)包含与SEQ ID NO:49中所示的HC的VH具有至少85%一致性的氨基酸序列的VH;和/或

[0572] 包含与SEQ ID NO:50中所示的LC的VL具有至少85%一致性的氨基酸序列的VL;或

[0573] (c)包含与SEQ ID NO:51、54、56和58中任一个所示的HC的VH具有至少85%一致性的氨基酸序列的VH;和/或

[0574] 包含与SEQ ID NO:86或88中所示的LC的VL具有至少85%一致性的氨基酸序列的VL。

[0575] 实施方案13.实施方案5和8-12中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0576] (a)包含SEQ ID NO:39中所示的HC的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3并且与SEQ ID NO:39具有至少85%氨基酸序列一致性的HC;和/或

[0577] 包含SEQ ID NO:44中所示的LC的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3并且与SEQ ID NO:44具有至少85%氨基酸序列一致性的LC;或

[0578] (b)包含SEQ ID NO:49中所示的HC的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3并且与SEQ ID NO:49具有至少85%氨基酸序列一致性的HC;和/或

[0579] 包含SEQ ID NO:50中所示的LC的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3并且与SEQ ID NO:50具有至少85%氨基酸序列一致性的LC;或

[0580] (c)包含SEQ ID NO:51、54、56和58中任一个所示的HC的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3并且与其具有至少85%氨基酸序列一致性的HC;和/或

[0581] 包含SEQ ID NO:86或88中所示的LC的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3并且与其具有至少85%氨基酸序列一致性的LC。

[0582] 实施方案14.实施方案12或13的抗原结合位点,其中序列一致性为至少90%、95%、96%、97%、98%或99%。

[0583] 实施方案15.实施方案5和8-14中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0584] (a)SEQ ID NO:39中所示的HC的VH;和/或SEQ ID NO:44中所示的LC的VL;或

[0585] (b)SEQ ID NO:49中所示的HC的VH;和/或SEQ ID NO:50中所示的LC的VL;或

[0586] (c)SEQ ID NO:51、54、56和58中任一个所示的HC的VH;和/或SEQ ID NO:86或88所示的LC的VL。

[0587] 实施方案16.实施方案6和8-9中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0588] (a)SEQ ID NO:1、17、19、22、24、26或28中任一个所示的HC的CDR1、CDR2和/或CDR3;和/或

[0589] (b)SEQ ID NO:9、18、30、35或37中任一个所示的LC的CDR1、CDR2和/或CDR3。

[0590] 实施方案17.实施方案6、8-9和16中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0591] (a)VH,其包含以下互补决定区:

[0592] CDR-H1,包含氨基酸序列:SYWMH(SEQ ID NO:3),

[0593] CDR-H2,包含氨基酸序列:EIYPTNGGTTYNEKFKR(SEQ ID NO:4),以及

[0594] CDR-H3,包含氨基酸序列:EDFYAMDY(SEQ ID NO:5);和/或

[0595] (b)VL,其包含以下互补决定区:

[0596] CDR-L1,包含氨基酸序列:KSSQSLLDSDGKTCLN(SEQ ID NO:11);

[0597] CDR-L2,包含氨基酸序列:LVSKLDS(SEQ ID NO:12);以及

[0598] CDR-L3,包含氨基酸序列:WQGTHFPYT(SEQ ID NO:13)。

[0599] 实施方案18.实施方案6、8-9和16中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0600] (a)VH,其包含以下互补决定区:

[0601] CDR-H1,包含氨基酸序列:GYAFTSYWMH(SEQ ID NO:6),CDR-H2,包含氨基酸序列:EIYPTNGGTT(SEQ ID NO:7),以及

[0602] CDR-H3,包含氨基酸序列:EDFYAMDY(SEQ ID NO:8);和/或

[0603] (b)VL,其包含以下互补决定区:

[0604] CDR-L1,包含氨基酸序列:KSSQSLLDSDGKTCLN(SEQ ID NO:14);

[0605] CDR-L2,包含氨基酸序列:LVSKLDS(SEQ ID NO:15);以及

[0606] CDR-L3,包含氨基酸序列:WQGTHFPYT(SEQ ID NO:16)。

[0607] 实施方案19.实施方案6、8-9和16-18中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0608] (a)包含与SEQ ID NO:1中所示的HC的VH具有至少85%一致性的氨基酸序列的VH;和/或

[0609] 包含与SEQ ID NO:9中所示的LC的VL具有至少85%一致性的氨基酸序列的VL;或

[0610] (b)包含与SEQ ID NO:17中所示的HC的VH具有至少85%一致性的氨基酸序列的VH;和/或

[0611] 包含与SEQ ID NO:18中所示的LC的VL具有至少85%一致性的氨基酸序列的VL;或

[0612] (c)包含与SEQ ID NO:19、22、24、26和28中任一个所示的HC的VH具有至少85%一致性的氨基酸序列的VH;和/或

[0613] 包含与SEQ ID NO:30、35和37中任一个所示的LC的VL具有至少85%一致性的氨基酸序列的VL。

[0614] 实施方案20.实施方案6、8-9和16-19中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0615] (a)包含SEQ ID NO:1中所示的HC的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3并且与SEQ ID NO:1具有至少85%氨基酸序列一致性的HC;和/或

[0616] 包含SEQ ID NO:9中所示的LC的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3并且与SEQ ID NO:9具有至少85%氨基酸序列一致性的LC;或

[0617] (b)包含SEQ ID NO:17中所示的HC的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3并且与SEQ ID NO:17具有至少85%氨基酸序列一致性的HC;和/或

[0618] 包含SEQ ID NO:18中所示的LC的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3并且与SEQ ID NO:18具有至少85%氨基酸序列一致性的LC;或

[0619] (c)包含SEQ ID NO:19、22、24、26和28中任一个所示的HC的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3并且与其具有至少85%氨基酸序列一致性的HC;和/或

[0620] 包含SEQ ID NO:30、35和37中任一个所示的LC的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3并且与其具有至少85%氨基酸序列一致性的LC。

[0621] 实施方案21.实施方案19或20的抗原结合位点,其中序列一致性为至少90%、95%、96%、97%、98%或99%。

[0622] 实施方案22.实施方案6、8-9和16-21中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0623] (a)SEQ ID NO:1中所示的HC的VH;和/或SEQ ID NO:9中所示的LC的VL;或

[0624] (b)SEQ ID NO:17中所示的HC的VH;和/或SEQ ID NO:18中所示的LC的VL;或

[0625] (c)SEQ ID NO:19、22、24、26和28中任一个所示的HC的VH;和/或SEQ ID NO:30、35和37中任一个所示的LC的VL。

[0626] 实施方案23.实施方案6-9中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0627] (a)SEQ ID NO:121中所示的VH的CDR1、CDR2和/或CDR3;和/或

[0628] (b)SEQ ID NO:126中所示的LC的CDR1、CDR2和/或CDR3。

[0629] 实施方案24.实施方案6-9和23中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0630] (a)VH,其包含以下互补决定区:

[0631] CDR-H1,包含氨基酸序列:DYGMH(SEQ ID NO:122),

[0632] CDR-H2,包含氨基酸序列:GISWNSGSIGYADSVKG(SEQ ID NO:123),以及

[0633] CDR-H3,包含氨基酸序列:GGQTIDI(SEQ ID NO:124);和/或

[0634] (b)VL,其包含以下互补决定区:

[0635] CDR-L1,包含氨基酸序列:RASQSISSYLN(SEQ ID NO:127);

[0636] CDR-L2,包含氨基酸序列:AASSLQS(SEQ ID NO:128);以及

[0637] CDR-L3,包含氨基酸序列:QQSYSTPFT(SEQ ID NO:129)。

[0638] 实施方案25.实施方案6-9和23-24中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0639] 包含与SEQ ID NO:121具有至少85％一致性的氨基酸序列的VH;和/或

[0640] 包含与SEQ ID NO:126具有至少85％一致性的氨基酸序列的VL。

[0641] 实施方案26.实施方案6-9和23-25中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含

[0642] 包含SEQ ID NO:120中所示的HC的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3并且与SEQ ID NO:120具有至少85％氨基酸序列一致性的HC;和/或

[0643] 包含SEQ ID NO:125中所示的LC的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3并且与SEQ ID NO:125具有至少85％氨基酸序列一致性的LC。

[0644] 实施方案27.实施方案25或26的抗原结合位点,其中序列一致性为至少90％、95％、96％、97％、98％或99％。

[0645] 实施方案28.实施方案6-9和23-27中任一项的抗原结合位点,其中所述抗原结合位点包含含有SEQ ID NO:121中所示的氨基酸序列的VH;和/或含有SEQ ID NO:126中所示的氨基酸序列的VL。

[0646] 实施方案29.一种抗体或其抗原结合片段,其包含实施方案1-4中任一项的抗原结合位点。

[0647] 实施方案30.一种抗体或其抗原结合片段,其包含实施方案5和10-15中任一项的抗原结合位点。

[0648] 实施方案31.实施方案30的抗体或其抗原结合片段,其能够阻断c-kit信号传导。

[0649] 实施方案32.一种抗体或其抗原结合片段,其包含实施方案6和16-22中任一项的抗原结合位点。

[0650] 实施方案33.实施方案32的抗体或其抗原结合片段,其能够激动siglec-6。

[0651] 实施方案34.一种抗体或其抗原结合片段,其包含实施方案7的抗原结合位点。

[0652] 实施方案35.一种抗体或其抗原结合片段,其包含实施方案23-28中任一项的抗原结合位点。

[0653] 实施方案36.实施方案29-35中任一项的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是人源化抗体。

[0654] 实施方案37.实施方案29-35中任一项的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是人抗体。

[0655] 实施方案38.实施方案29-35中任一项的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是多特异性抗体。

[0656] 实施方案39.实施方案29-35中任一项的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是双特异性抗体。

[0657] 实施方案40.实施方案29-35中任一项的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗原结合片段是Fab、F(ab')2、Fab'、scFv、Fv片段、Fd片段或双抗体。

[0658] 实施方案41.实施方案29-35中任一项的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含抗体重链恒定区。

[0659] 实施方案42.实施方案41的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体重链恒定区是人IgG重链恒定区。

[0660] 实施方案43.实施方案29-42中任一项的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或

其抗原结合片段具有降低的或无效的效应功能。

[0661] 实施方案44.实施方案29-43中任一项的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段是无岩藻糖基化的。

[0662] 实施方案45.实施方案44的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段是至少约75%无岩藻糖基化的。

[0663] 实施方案46.实施方案44或45的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段能够消耗肥大细胞。

[0664] 实施方案47.一种蛋白质,其包含实施方案1-4中任一项的抗原结合位点。

[0665] 实施方案48.一种蛋白质,其包含实施方案5和10-15中任一项的抗原结合位点。

[0666] 实施方案49.一种蛋白质,其包含实施方案6和16-22中任一项的抗原结合位点。

[0667] 实施方案50.一种蛋白质,其包含实施方案7的抗原结合位点。

[0668] 实施方案51.一种蛋白质,其包含实施方案23-28中任一项的抗原结合位点。

[0669] 实施方案52.一种蛋白质,其包含两个或更多个选自以下的抗原结合位点:(i)实施方案1-4中任一项的抗原结合位点;(ii)实施方案5和10-15中任一项的抗原结合位点;(iii)实施方案6和16-22中任一项的抗原结合位点;(iv)实施方案7的抗原结合位点;和(v)实施方案23-28中任一项的抗原结合位点。

[0670] 实施方案53.一种蛋白质,其包含两个选自以下的抗原结合位点:(i)实施方案1-4中任一项的抗原结合位点;(ii)实施方案5和10-15中任一项的抗原结合位点;(iii)实施方案6和16-22中任一项的抗原结合位点;(iv)实施方案7的抗原结合位点;和(v)实施方案23-28中任一项的抗原结合位点。

[0671] 实施方案54.一种蛋白质,其包含

[0672] (i)实施方案5和10-15中任一项的抗原结合位点;以及

[0673] (ii)选自以下的抗原结合位点:(a)实施方案2的抗原结合位点,(b)实施方案3的抗原结合位点,或(c)实施方案6和16-22之一的抗原结合位点。

[0674] 实施方案55.实施方案47-54中任一项的蛋白质,其还包含抗体重链恒定区。

[0675] 实施方案56.实施方案55的蛋白质,其中所述抗体重链恒定区是人IgG重链恒定区。

[0676] 实施方案57.实施方案47-56中任一项的蛋白质,其中所述蛋白质具有降低的或无效的效应功能。

[0677] 实施方案58.实施方案47-57中任一项的蛋白质,其中所述蛋白质是无岩藻糖基化的。

[0678] 实施方案59.实施方案58的蛋白质,其中所述蛋白质是至少约75%无岩藻糖基化的。

[0679] 实施方案60.实施方案58或59的蛋白质,其中所述蛋白质能够消耗肥大细胞。

[0680] 实施方案61.一种分离的核酸,其编码实施方案1-28中任一项的抗原结合位点、实施方案29-46中任一项的抗体或其抗原结合片段、或实施方案47-60中任一项的蛋白质。

[0681] 实施方案62.一种表达载体,其包含实施方案61的分离的核酸。

[0682] 实施方案63.一种宿主细胞,其包含实施方案61的分离的核酸分子或实施方案62的表达载体。

[0683] 实施方案64.一种药物组合物,所述药物组合物包含实施方案1-28中任一项的抗原结合位点、实施方案29-46中任一项的抗体或其抗原结合片段、或实施方案47-60中任一项的蛋白质,以及药学上可接受的载剂。

[0684] 实施方案65.一种治疗有需要的受试者的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的实施方案1-28中任一项的抗原结合位点、实施方案29-46中任一项的抗体或其抗原结合片段、实施方案47-60中任一项的蛋白质、或实施方案64的药物组合物。

[0685] 实施方案66.实施方案65的方法,其中所述疾病或病症是肥大细胞相关疾病或病症。

[0686] 实施方案67.实施方案65的方法,其中所述疾病或病症是自身免疫性疾病。

[0687] 实施方案68.实施方案65的方法,其中所述疾病或病症是过敏。

[0688] 实施方案69.实施方案65的方法,其中所述疾病或病症是炎症。

[0689] 实施方案70.实施方案65的方法,其中所述疾病或病症是瘙痒。

[0690] 实施方案71.实施方案65的方法,其中所述疾病或病症是癌症。

[0691] 实施方案72.实施方案12或13的抗体或其抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NO:1、9、17-19、22、24、26、28、30、35、37、120、121、125和126中的任一个的氨基酸序列或其片段。

[0692] 实施方案73.实施方案12或13的抗体或其抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NO:1、9、17-19、22、24、26、28、30、35、37、120、121、125和126中的任一个的至少一个氨基酸序列或其片段。

[0693] 实施方案74.实施方案12或13的抗体或其抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NO:1、9、17-19、22、24、26、28、30、35、37、120、121、125和126中的任一个的序列中发现的至少一个CDR序列。

[0694] 实施方案75.实施方案12或13的抗体或其抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NO:1、9、17-19、22、24、26、28、30、35、37、120、121、125和126中的任一个的序列中发现的至少两个CDR序列。

[0695] 实施方案76.实施方案12或13的抗体或其抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NO:1、9、17-19、22、24、26、28、30、35、37、120、121、125和126中的任一个的序列中发现的至少三个CDR序列。

[0696] 实施方案77.实施方案11的抗体或其抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NO:39、44、49-51、54、56、58、86和88中的任一个的氨基酸序列或其片段。

[0697] 实施方案78.实施方案11的抗体或其抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NO:39、44、49-51、54、56、58、86和88中的任一个的至少一个氨基酸序列或其片段。

[0698] 实施方案79.实施方案11的抗体或其抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NO:39、44、49-51、54、56、58、86和88中的任一个的至少两个氨基酸序列或其片段。

[0699] 实施方案80.实施方案11的抗体或其抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NO:39、44、49-51、54、56、58、86和88中的任一个的序列中发现的至少一个CDR或其片段。

[0700] 实施方案81.实施方案11的抗体或其抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NO:39、44、49-51、54、56、58、86和88中的任一个的序列中发现的至少两个CDR或其片段。

[0701] 实施方案82.实施方案11的抗体或其抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NO:39、44、49-51、54、56、58、86和88中的任一个的序列中发现的至少三个CDR或其片段。

[0702] 实施方案83.一种抗体或抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NO:1、9、17-19、22、24、26、28、30、35、37、39、44、49-51、54、56、58、86、88、120、121、125和126中的任一个的氨基酸序列或其片段。

[0703] 实施例

[0704] 实施例1.抗体产生

[0705] 通过本领域已知的方法产生靶向FCER1、c-Kit和siglec(例如siglec-6和siglec 8)的人抗体。

[0706] 在一些实施方案中,使用不能表达功能性内源免疫球蛋白但表达人免疫球蛋白基因的转基因小鼠。具体而言,将人重链和轻链免疫球蛋白基因复合物随机或通过同源重组引入小鼠胚胎干细胞中。可选地,除了人重链和轻链基因之外,还将人可变区、恒定区和多样性区引入小鼠胚胎干细胞中。通过同源重组引入人免疫球蛋白基因座与使小鼠重链和轻链免疫球蛋白基因无功能单独或同时发生。具体而言,JH区的纯合缺失阻止内源性抗体产生。将修饰的胚胎干细胞扩增并显微注射到胚泡中以产生嵌合小鼠。然后培育嵌合小鼠以产生表达人抗体的纯合后代。用选定的抗原,例如抗原的全部或部分(例如,FCER1、c-Kit或siglec),以正常方式对转基因小鼠进行免疫。可以使用常规杂交瘤技术从免疫的转基因小鼠获得针对抗原的单克隆抗体。转基因小鼠携带的人免疫球蛋白转基因在B细胞分化期间重排,随后经历类别转换和体细胞突变。

[0707] 在一些其它实施方案中,通过筛选酵母展示文库产生靶向FCER1、c-Kit和siglec(例如siglec-6和siglec 8)的抗体。

[0708] 此外,c-Kit/siglec-6双特异性抗体通过本领域已知的方法产生。在一些实施方案中,c-Kit/siglec-6双特异性抗体呈CrossMab形式。

[0709] 实施例2.抗体对c-Kit的结合

[0710] 通过流式细胞术评估c-Kit抗体与表达c-Kit的细胞的靶向结合。将培养的M-07e细胞重悬于FACS封闭缓冲液(PBS+10%正常人血清)中30分钟。洗涤后,将细胞与c-Kit抗体在FACS缓冲液(PBS+0.5%牛血清白蛋白+0.09%叠氮化钠)中一起孵育,并在4℃下孵育30分钟,洗涤并与PE标记的抗人二抗一起孵育。将细胞在黑暗中在4℃下孵育30分钟。洗涤后,使用BD FACS Symphony A3(BD Biosciences)进行细胞荧光分析。通过散射性质分选细胞,并使用侧向散射宽度对侧向散射面积分离细胞用于单细胞分析。通过使用586/15nm滤光片测量561nm激发波长的荧光发射来定量抗体与细胞的结合。使用FlowJo软件进行数据分析并总结在表2中。所有测试的c-Kit抗体都能够与表达c-Kit的细胞结合。

[0711] 表2.c-Kit抗体与M-07e细胞上细胞表面表达的c-Kit的结合

[0712]

抗体	SEQ ID NO	M-07e 细胞上 c-Kit 阳性百分比	测量荧光强度 (MFI)
hSR1-1	51 和 86	99.5	5021
hSR1-2	54 和 86	99.7	5199
hSR1-3	56 和 86	99.8	5187
hSR1-4	58 和 86	99.8	4962
hSR1-5	51 和 88	99.5	4029
hSR1-6	54 和 88	99.4	3591
chSR1	49 和 50	99.7	5344

[0713]

hIgG1 对照		2.3	85

[0714] 此外,c-Kit抗体对人c-Kit和食蟹猴c-Kit的结合亲和力通过使用Octect仪器的生物层干涉法(BLA)来测量。简言之,用3倍稀释的测试抗体加载捕获传感器。测定缔合速率和解离速率,并用于计算平衡解离常数K_D(表3)。对于测试的人源化c-Kit抗体(hSR-1-1至hSR1-6),观察到通过K_D值测量的对c-Kit的亲和力在亚纳摩尔范围内,并且对于测试的嵌合c-Kit抗体(chSR1),亲和力在个位数纳摩尔范围内。

[0715] 表3.通过BLI测定的对人和食蟹猴c-Kit的结合亲和力

[0716]

抗体	亲和力(KD)	
	人 c-Kit	食蟹猴 c-Kit
hSR1-1	1.99E-10	2.320E-10
hSR1-2	2.45E-10	3.885E-10
hSR1-3	2.56E-10	3.323E-10
hSR1-4	3.86E-10	5.633E-10
hSR1-5	2.56E-10	4.045E-10
hSR1-6	2.47E-10	2.959E-10
chSR1	1.89E-09	3.338E-09

[0717] 实施例3.通过ELISA分析c-Kit抗体的交叉反应性非特异性结合

[0718] 采用基于ELISA的测定来评估c-Kit抗体对人c-Kit、食蟹猴c-Kit和c-Kit家族成员的交叉反应性和非特异性结合。

[0719] 将His标记的人c-Kit、His标记的食蟹猴c-Kit和His标记的PDGFRa、PDGFRb、CSF1R和FLT3细胞外结构域固定在96孔ELISA板上。用PBST(磷酸盐缓冲盐水+0.05% Tween 20)洗涤板,并用PBS中的1% BSA封闭1小时。用PBST洗涤后,将mAb添加到包被的板中,并在室温下孵育2小时。洗涤板并与HRP缀合的山羊抗人IgG二抗在室温下孵育1小时。洗涤后,通过添加3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)比色检测抗体结合,并在室温下孵育10-20分钟,然后添加2.5N硫酸终止溶液。在读板器(PerkinElmer)上测量450nm处的吸光度。使用GraphPad Prism分析数据。

[0720] 表4中描绘了示例性c-Kit抗体的结果。c-Kit抗体能够与人和食蟹猴c-Kit结合,但不与c-Kit家族成员PDGFRa、PDGFRb、CSF1R或FLT3交叉反应。

[0721] 表4.人源化和嵌合c-Kit抗体的交叉反应性

[0722]

抗体	交叉反应性		
	人 c-Kit	食蟹猴 c-Kit	c-Kit 家族成员
hSR1-1	+	+	-
hSR1-2	+	+	-
hSR1-3	+	+	-
hSR1-4	+	+	-
hSR1-5	+	+	-
hSR1-6	+	+	-
chSR1	+	+	-

[0723] 实施例4.抗体对siglec-6的结合

[0724] 通过流式细胞术评估siglec-6抗体与表达siglec-6的细胞的靶向结合。将培养的HMC1.2细胞重悬于FACS封闭缓冲液(PBS+10％正常人血清)中30分钟。洗涤后,将细胞与siglec-6抗体在FACS缓冲液(PBS+0.5％牛血清白蛋白+0.09％叠氮化钠)中一起孵育,并在4℃下孵育30分钟,洗涤并与PE标记的抗人或抗小鼠二抗一起孵育。将细胞在黑暗中在4℃下孵育30分钟。洗涤后,使用BD FACS Symphony A3(BD Biosciences)进行细胞荧光分析。通过散射性质分选细胞,并使用侧向散射宽度对侧向散射面积分离细胞用于单细胞分析。通过使用586/15nm滤光片测量561nm激发波长的荧光发射来定量抗体与细胞的结合。使用FlowJo软件进行数据分析并总结在表5中。所有测试的siglec-6抗体都能够与表达siglec-6的细胞结合。

[0725] 表5.人源化和嵌合siglec-6抗体与HMC1.2细胞上细胞表面表达的siglec-6的结合

[0726]

抗体	SEQ ID NO	HMC1.2 细胞上 Siglec-6 阳性百分比	MFI
hRND-2	22 和 37	99.9	3134
hRND-3	24 和 37	99.9	3695
hRND-4	26 和 37	100.0	3203
hRND-5	28 和 37	99.9	1942
chRND	17 和 37	100.0	3608
mRND	1 和 9	99.9	1974
hIgG1 对照		0.1	212

[0727] 此外,使用Octect仪器通过BLA测量siglec-6抗体对人siglec-6的结合亲和力。简言之,用3倍稀释的测试抗体加载捕获传感器。测定缔合速率和解离速率,并用于计算平衡解离常数K_D(表6)。对于测试的人源化和嵌合siglec-6抗体,观察到通过K_D值测量的对siglec-6的亲和力在亚纳摩尔范围内。

[0728] 表6.通过BLI测定的对人siglect-6的结合亲和力

[0729]

抗体	亲和力(KD)
	人 siglec-6
hRND-2	1.70E-10
hRND-3	1.37E-10
hRND-4	3.15E-10
hRND-5	1.66E-10
chRND	1.01E-10

[0730] 实施例5.通过ELISA分析siglec-6抗体的交叉反应性非特异性结合

[0731] 采用基于ELISA的测定来评估siglec-6抗体对人siglec-6、食蟹猴siglec-6和siglec-6家族成员siglec 1-5、7-12、14和15的交叉反应性和非特异性结合。

[0732] 将培养的表达人siglec-6、食蟹猴siglec-6或siglec-6家族成员的HEK293细胞重悬于FACS封闭缓冲液(PBS+10％正常人血清)中30分钟。洗涤后,将细胞与siglec-6抗体在FACS缓冲液(PBS+0.5％牛血清白蛋白+0.09％叠氮化钠)中一起孵育,并在4℃下孵育30分钟,洗涤并与PE标记的抗人二抗一起孵育。将细胞在黑暗中在4℃下孵育30分钟。洗涤后,使用BD FACS Symphony A3(BD Biosciences)进行细胞荧光分析。通过散射性质分选细胞,并使用侧向散射宽度对侧向散射面积分离细胞用于单细胞分析。通过使用586/15nm滤光片测量561nm激发波长的荧光发射来定量抗体与细胞的结合。使用FlowJo软件进行数据分析。

[0733] 表7中描绘了示例性siglec-6抗体的结果。siglec-6抗体能够与人和食蟹猴siglec-6结合,但不与siglec-6家族成员siglec 1-5、7-12、14或15交叉反应。

[0734] 表7.人源化和嵌合siglec-6抗体的交叉反应性

[0735]

抗体	交叉反应性		
	人 siglec-6	食蟹猴 siglec-6	Siglec-6 家族成员
hRND-2	+	+	-
hRND-3	+	+	-
hRND-4	+	+	-
hRND-5	+	+	-
hRND-6	+	+	-
chRND	+	+	-

[0736] 实施例6.c-Kit抗体对细胞增殖的抑制

[0737] 评估了c-Kit抗体抑制干细胞因子(SCF)依赖性细胞增殖的能力。

[0738] 按照经销商的建议培养M-07e细胞。使细胞SCF饥饿过夜(16小时)。将SCF饥饿的细胞以15,000个细胞/孔的密度接种在96孔板中不含SCF的培养基中。将c-Kit抗体(SR1抗体或CDX-0159)或对照滴定到细胞上,并将板在37℃、5％ CO_2下孵育2小时。孵育2小时后,将SCF添加至最终浓度为50ng/mL,并将板在37℃、5％ CO_2下孵育72小时。使用Cell Titer Glo(Promega)测量细胞活力。将Cell Titer Glo添加至每个孔中,并将板在台式振荡器上避光孵育2分钟。在读板器(PerkinElmer)上测量发光。使用GraphPad Prism分析数据。

[0739] 图1中描绘了示例性结果,其中将抗体浓度作为相对发光的函数作图,并使用四参数非线性回归算法进行曲线拟合。确定了IC_{50}值并总结在表8中。测试的SR1抗体抑制了M-

07e细胞中的SCF依赖性增殖。

[0740] 表8.对M-07e细胞SCF依赖性增殖的抑制

[0741]

抗体	IC_{50}(nM)
muSR1	0.2828
hSR1-1	0.1415
hSR1-2	0.1417
hSR1-3	0.1129
hSR1-4	0.1385
hSR1-5	0.1415
hSR1-6	0.1517
chSR1	0.2769
CDX-0159	0.4082

[0742] 实施例7.c-Kit/siglec 6双特异性抗体对细胞增殖的抑制

[0743] 评估了c-Kit/siglec 6抗体抑制SCF依赖性细胞增殖的能力。

[0744] 使M-07e细胞SCF饥饿过夜(16小时)。将SCF饥饿的细胞以15,000个细胞/孔的密度接种在96孔板中不含SCF的培养基中。将抗siglec-6JML-1和hRND-3、抗c-Kit chSR1和CDX-0159、以及抗siglec/抗c-Kit双特异性JML-1/hSR1-1和hRND-3/hSR1-1滴定到细胞上,并在37℃、5% CO_2下孵育2小时。孵育2小时后,将SCF添加至最终浓度为50ng/mL,并将板在37℃、5% CO_2下孵育72小时。使用Cell Titer Glo(Promega)测量细胞活力。将Cell Titer Glo添加至每个孔中,并将板在台式振荡器上避光孵育2分钟。在读板器(PerkinElmer)上测量发光。使用GraphPad Prism分析数据,并使用四参数非线性回归算法进行曲线拟合。通过比较来自每个样品(细胞+抗体+SCF)的平均相对荧光单位(RFU)与单独用SCF孵育的细胞的平均RFU来计算相对增殖。

[0745] 结果在图2中示出。测试的c-Kit/siglec-6双特异性抗体抑制了M-07e细胞中的SCF依赖性增殖;siglect-6单特异性抗体未抑制增殖。

[0746] 实施例8.肥大细胞脱颗粒测定

[0747] 进行实验以评价所公开的siglect-6抗体是否诱导肥大细胞脱颗粒。

[0748] 在含有细胞因子和生长因子的肥大细胞培养基中培养来自全血的CD34+祖细胞。培养物在分化过程开始后6-8周内成熟为肥大细胞。

[0749] 为了在肥大细胞中诱导FcγRI表达,用100UI/mL IFN-γ处理细胞72小时。用和不用IFN-γ处理的肥大细胞进行细胞因子饥饿4小时。将细胞在Tyrode缓冲液中洗涤,并以每孔35,000个细胞接种于96孔板中。将板在37℃和5% CO_2下孵育30分钟。将具有正常人IgG1 Fc、效应子沉默IgG1 Fc(含有L234A/L235A/P329G突变)或效应子增强IgG1 Fc(无岩藻糖基化)和PMA/离子霉素的siglec 6抗体与SCF一起添加至适当的孔中,并将板在37℃下(在空气中)孵育30分钟。将来自经处理的肥大细胞培养物的培养基添加到含有PNAG溶液(0.35%对硝基苯基N-乙酰基-b-D-葡糖酰胺)的96孔板中,并在37℃下(在空气中)孵育90分钟。类似地,将其余肥大细胞在0.1%triton X-100中裂解,并添加到PNAG溶液中保持90分钟。将甘氨酸缓冲液(400mM,pH10.7)添加到所有孔中,并在读板器中读取405nm处的吸光度。通过计算从肥大细胞所含的β-己糖胺酶释放的β-己糖胺酶百分比来测量β-己糖胺酶。

[0750] 结果在图3中示出。在Fc结构域中具有修饰的所有三种Siglec-6hRND-3抗体都未诱导CD34衍生的肥大细胞的脱颗粒。

[0751] 序列附录

[0752] 在一些序列中,可变区以粗体显示,CDR以下划线显示。

[0753] 表9.能够结合silect-6的示例性抗原结合位点的序列

[0754]

SEQ ID NO	描述	序列
鼠抗 siglec-6 RND (mRND)		
1	重链	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKAS GYAFTSYWMHWVKLRPGQGFEWIGE IYPTNGGTTYNEKFKRKATLTVDKSSS TAYMQLSSLTSEDSAVYYCTIEDFYA MDYWGQGTSVTVSSAKTTAPSVYPL APVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPV TLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTL SSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASST KVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLL GGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVV VDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQ TQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDW MSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPK GSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLT CMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNY KNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKN WVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSF SRTPGK
2	重链可变区	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKAS GYAFTSYWMHWVKLRPGQGFEWIGE IYPTNGGTTYNEKFKRKATLTVDKSSS TAYMQLSSLTSEDSAVYYCTIEDFYA MDYWGQGTSVTVSS
3	HCDR1 (Kabat)	SYWMH
4	HCDR2 (Kabat)	EIYPTNGGTTYNEKFKR
5	HCDR3 (Kabat)	EDFYAMDY
6	HCDR1 (AbM)	GYAFTSYWMH
7	HCDR2 (AbM)	EIYPTNGGTT
8	HCDR3 (AbM)	EDFYAMDY
9	轻链	DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQ SLLDSDGKTCLNWLLQRPGQSPKRLI YLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKI SRVEAEDLGVYYCWQGTHFPYTFGG GTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSG GASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTL TLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC
10	轻链可变区	DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQ SLLDSDGKTCLNWLLQRPGQSPKRLI YLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKI SRVEAEDLGVYYCWQGTHFPYTFGG GTKLEIKR
11	LCDR1 (Kabat)	KSSQSLLDSDGKTCLN

[0755]

12	LCDR2 (Kabat)	LVSKLDS
13	LCDR3 (Kabat)	WQGTHFPYT
14	LCDR1 (AbM)	KSSQSLLDSDGKTCLN
15	LCDR2 (AbM)	LVSKLDS
16	LCDR3 (AbM)	WQGTHFPYT
嵌合抗 siglec-6 RND (chRND)		
17	重链 (*Fc 或恒定区可以是任一 IgG 同种型*)	**QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKA SGYAFTSYWMHWVKLRPGQGFEW IGEIYPTNGGTTYNEKFKRKATLTV DKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTI EDFYAMDYWGQGTSVTVSS**ASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
18	轻链	**DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSS QSLLDSDGKTCLNWLLQRPGQSPK RLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTD FTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHF PYTFGGGTKLEIKR**TVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
人源化抗 siglec-6 RND 重链 1 (hRND-H1)		
19	hRND-H1, IgG1 (*Fc 或恒定区可以是任一 IgG 同种型*)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYAFTSYWMHWVRQAPGQRLEW MGEIYPTNGGTTYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSRLRSDDTAVYYC AREDFYAMDYWGQGTTVTVSS**AST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

[0756]

		ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
20	重链可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYAFTSYWMHWVRQAPGQRLEWM GEIYPTNGGTTYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSRLRSDDTAVYYCARED FYAMDYWGQGTTVTVSS
3	HCDR1 (Kabat)	SYWMH
21	HCDR2 (Kabat)	EIYPTNGGTTY*AQ*KF*QG*
5	HCDR3 (Kabat)	EDFYAMDY
6	HCDR1 (AbM)	GYAFTSYWMH
7	HCDR2 (AbM)	EIYPTNGGTT
8	HCDR3 (AbM)	EDFYAMDY
人源化抗 siglec-6 RND 重链 2 (hRND-H2)		
22	hRND-H2, IgG1 (*Fc 或恒定区可以是任一IgG 同种型*)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYAFTSYWMHWVRQAPGQRLEW MGEIYPTNGGTTYAQKFQGRVTMT VDKSTSTAYMELSRLRSDDTAVYYC TIEDFYAMDYWGQGTTVTVSS**AST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
23	重链可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYAFTSYWMHWVRQAPGQRLEWM GEIYPTNGGTTYAQKFQGRVTMTVD KSTSTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIED FYAMDYWGQGTTVTVSS
3	HCDR1 (Kabat)	SYWMH
21	HCDR2 (Kabat)	EIYPTNGGTTY*AQ*KF*QG*
5	HCDR3 (Kabat)	EDFYAMDY
6	HCDR1 (AbM)	GYAFTSYWMH
7	HCDR2 (AbM)	EIYPTNGGTT
8	HCDR3 (AbM)	EDFYAMDY
人源化抗 siglec-6 RND 重链 3 (hRND-H3)		
24	huRND-H3, IgG1 (*Fc 或恒定区可以是任一IgG 同种型*)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKAS GYAFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIG EIYPTNGGTTYAQKFQGRATLTVDKS

[0757]

		TSTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIEDFY AMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
25	重链可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKAS GYAFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIG EIYPTNGGTTYAQKFQGRATLTVDKS TSTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIEDFY AMDYWGQGTTVTVSS
3	HCDR1 (Kabat)	SYWMH
21	HCDR2 (Kabat)	EIYPTNGGTTY*AQ*KF*QG*
5	HCDR3 (Kabat)	EDFYAMDY
6	HCDR1 (AbM)	GYAFTSYWMH
7	HCDR2 (AbM)	EIYPTNGGTT
8	HCDR3 (AbM)	EDFYAMDY
人源化抗 siglec-6 RND 重链 2b (hRND-H2b)		
26	hRND-H2b, IgG1 (*Fc 或恒定区可以是任一 IgG 同种型*)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYAFTSYWMHWVRQAPGQRLEWM GEIYPTNGGTTYNEKFKRRVTMTVD KSTSTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIED FYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
27	重链可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYAFTSYWMHWVRQAPGQRLEWM GEIYPTNGGTTYNEKFKRRVTMTVD KSTSTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIED

[0758]

		FYAMDYWGQGTTVTVSS
3	HCDR1 (Kabat)	SYWMH
4	HCDR2 (Kabat)	EIYPTNGGTTYNEKFKR
5	HCDR3 (Kabat)	EDFYAMDY
6	HCDR1 (AbM)	GYAFTSYWMH
7	HCDR2 (AbM)	EIYPTNGGTT
8	HCDR3 (AbM)	EDFYAMDY
人源化抗 siglec-6 RND 重链 3b (hRND-H3b)		
28	hRND-H3b, IgG1 (*Fc 或恒定区可以是任一 IgG 同种型*)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKAS GYAFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIG EIYPTNGGTTYNEKFKRRATLTVDKS TSTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIEDFY AMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
29	重链可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKAS GYAFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIG EIYPTNGGTTYNEKFKRRATLTVDKS TSTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIEDFY AMDYWGQGTTVTVSS
3	HCDR1 (Kabat)	SYWMH
4	HCDR2 (Kabat)	EIYPTNGGTTYNEKFKR
5	HCDR3 (Kabat)	EDFYAMDY
6	HCDR1 (AbM)	GYAFTSYWMH
7	HCDR2 (AbM)	EIYPTNGGTT
8	HCDR3 (AbM)	EDFYAMDY
人源化抗 siglec-6 RND 轻链 1 (hRND-L1)		
30	hRND-L1	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQS LLDSDGKTSLNWYLQKPGQSPQLLIY LVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQG TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
31	轻链可变区	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQS

[0759]

		LLDSDGKTSLNWYLQKPGQSPQLLIY LVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQG TKLEIK
32	LCDR1 (Kabat)	KSSQSLLDSDGKTSLN
12	LCDR2 (Kabat)	LVSKLDS
13	LCDR3 (Kabat)	WQGTHFPYT
34	LCDR1 (AbM)	KSSQSLLDSDGKTSLN
15	LCDR2 (AbM)	LVSKLDS
16	LCDR3 (AbM)	WQGTHFPYT
人源化抗 siglec-6 RND 轻链 2 (hRND-L2)		
35	hRND-L2	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQS LLDSDGKTSLNWLLQKPGQSPQLLIY LVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQG TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
36	轻链可变区	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQS LLDSDGKTSLNWLLQKPGQSPQLLIY LVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQG TKLEIK
32	LCDR1 (Kabat)	KSSQSLLDSDGKTSLN
12	LCDR2 (Kabat)	LVSKLDS
13	LCDR3 (Kabat)	WQGTHFPYT
34	LCDR1 (AbM)	KSSQSLLDSDGKTSLN
15	LCDR2 (AbM)	LVSKLDS
16	LCDR3 (AbM)	WQGTHFPYT
人源化抗 siglec-6 RND 轻链 3 (hRND-L3)		
37	hRND-L3	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQS LLDSDGKTSLNWLLQKPGQSPQRLIY LVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQG TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
38	轻链可变区	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQS LLDSDGKTSLNWLLQKPGQSPQRLIY LVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQG TKLEIK
32	LCDR1 (Kabat)	KSSQSLLDSDGKTSLN
12	LCDR2 (Kabat)	LVSKLDS

[0760]

13	LCDR3 (Kabat)	WQGTHFPYT
34	LCDR1 (AbM)	KSSQSLLDSDGKTSLN
15	LCDR2 (AbM)	LVSKLDS
16	LCDR3 (AbM)	WQGTHFPYT
人抗 siglec JML-1		
120	重链，IgG1 (*Fc 或恒定区可以是任一 IgG 同种型*)	KVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCAASG FTFDDYGMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGQTI DIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG
121	重链可变区	KVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCAASG FTFDDYGMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGQTI DIWGQGTMVTVSS
122	HCDR1 (Kabat)	DYGMH
123	HCDR2 (Kabat)	GISWNSGSIGYADSVKG
124	HCDR3 (Kabat)	GGQTIDI
125	轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYSTPFTFGPGTKVDIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
126	轻链可变区	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYSTPFTFGPGTKVDIK
127	LCDR1 (Kabat)	RASQSISSYLN
128	LCDR2 (Kabat)	AASSLQS
129	LCDR3 (Kabat)	QQSYSTPFT

[0761]

鼠抗 siglec-6 M2 (mM2)		
132	重链可变区	EVQLQQSVAELVRPGASVKLSCTGSG FNIENTYTHWVKQRPEQGLEWIGRID PANTNTKYAPKFQGKATITADTSSNTA FLQLSSLTSEDTAIYYCALYDEDFWGP GTTLTVSS
133	HCDR1 (Kabat)	NTYTH
134	HCDR2 (Kabat)	RIDPANTNTKYAPKFQG
135	HCDR3 (Kabat)	YDEDF
136	轻链可变区	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASS SLTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSE LASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEA EDAATYYCQQWNSDPPTFGGGTKLEI K
137	LCDR1 (Kabat)	SASSSLTYMH
138	LCDR2 (Kabat)	DTSELAS
139	LCDR3 (Kabat)	QQWNSDPPT
鼠抗 siglec-6 M7 (mM7)		
140	重链可变区	EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASD YSFTDYNMNWVKQSNGKSLEWIGVI NPNYGTTSYNQKFKGKATLTVDQSSS TAYMQLNSLTSEDSAVYYCARSGGFS WGQGTLVTVSA
141	HCDR1 (Kabat)	DYNMN
142	HCDR2 (Kabat)	VINPNYGTTSYNQKFKG
143	HCDR3 (Kabat)	SGGFS
144	轻链可变区	DIVMTQSHTFMSTSVGDRVSITCKAS QDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIFSAS YRYTGVPDRFTGSGSGTDFTFTISSVQ AEDLAVYYCQQHYSTPTWTFGGGTK LEIK
145	LCDR1 (Kabat)	KASQDVSTAVA
146	LCDR2 (Kabat)	SASYRYT
147	LCDR3 (Kabat)	QQHYSTPTWT
鼠抗 siglec-6 M11 (mM11)		
148	重链可变区	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASG FTFKNYVMHWVRQTPGKGLEWVARI RSKNSNYATYYADSVKDRFTISRDDS QSMLYLQMNNLKTEDTAMYYCMRA LVAYWGQGTLVTVSA
149	HCDR1 (Kabat)	NYVMH
150	HCDR2 (Kabat)	RIRSKNSNYATYYADSVKD
151	HCDR3 (Kabat)	ALVAY
152	轻链可变区	QLVLTQSPAIMSTSPGEKVTMTCSASS SVSYIYWYQQKPGSSPRLLIYDTSNL ASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRMEAE DAATYYCQQWSSYPYTFGGGTKLEIK
153	LCDR1 (Kabat)	SASSSVSYIY

[0762]

154	LCDR2 (Kabat)	DTSNLAS
155	LCDR3 (Kabat)	QQWSSYPYT
嵌合抗 siglec-6 M11 (chM11)		
156	重链 (*Fc 或恒定区可以是任一 IgG 同种型*)	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASG FTFKNYVMHWVRQTPGKGLEWVARI RSKNSNYATYYADSVKDRFTISRDDS QSMLYLQMNNLKTEDTAMYYCMRA LVAYWGQGTLVTVSAASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
157	轻链	QLVLTQSPAIMSTSPGEKVTMTCSASS SVSYIYWYQQKPGSSPRLLIYDTSNL ASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRMEAE DAATYYCQQWSSYPYTFGGGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
人源化抗 siglec-6 M11 重链 1 (hM11-H1)		
158	hM11-H1, IgG1 (*Fc 或恒定区可以是任一 IgG 同种型*)	**EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFKNYVMHWVRQAPGKGLEW VSRIRSKNSNYATYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKALVAYWGQGTLVTVSS**ASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK

[0763]

159	重链可变区	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFKNYVMHWVRQAPGKGLEWVSRI RSKNSNYATYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKAL VAYWGQGTLVTVSS
149	HCDR1 (Kabat)	NYVMH
160	HCDR2 (Kabat)	RIRSKNSNYATYYADSVK*G*
151	HCDR3 (Kabat)	ALVAY
人源化抗 siglec-6 M11 重链 2 (hM11-H2)		
161	hM11-H2, IgG1 (*Fc 或恒定区可以是任一 IgG 同种型*)	**EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFKNYVMHWVRQAPGKGLEW VARIRSKNSNYATYYADSVKGRFTIS RDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CMRALVAYWGQGTLVTVSS**ASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
162	重链可变区	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFKNYVMHWVRQAPGKGLEWVARI RSKNSNYATYYADSVKGRFTISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCMRAL VAYWGQGTLVTVSS
149	HCDR1 (Kabat)	NYVMH
160	HCDR2 (Kabat)	RIRSKNSNYATYYADSVK*G*
151	HCDR3 (Kabat)	ALVAY
人源化抗 siglec-6 M11 轻链 1 (hM11-L1)		
163	hM11-L1	**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS SSVSYIYWYQQKPGKAPKLLIYDTS NLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQWSSYPYTFGQGT KLEIK**RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
164	轻链可变区	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASS SVSYIYWYQQKPGKAPKLLIYDTSNL ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQWSSYPYTFGQGTKLEIK

165	LCDR1 (Kabat)	*R*ASSSVSYIY
154	LCDR2 (Kabat)	DTSNLAS
155	LCDR3 (Kabat)	QQWSSYPYT
人源化抗 siglec-6 M11 轻链 2 (hM11-L2)		
166	hM11-L2	**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS SSVSYIYWYQQKPGKAPKLLIYDTS NLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQQWSSYPYTFGQGT KLEIK**RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
167	轻链可变区	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASS SVSYIYWYQQKPGKAPKLLIYDTSNL ASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPE DFATYYCQQWSSYPYTFGQGTKLEIK
165	LCDR1 (Kabat)	*R*ASSSVSYIY
154	LCDR2 (Kabat)	DTSNLAS
155	LCDR3 (Kabat)	QQWSSYPYT
人源化抗 siglec-6 M11 轻链 3 (hM11-L3)		
168	hM11-L3	**DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMTCRA SSSVSYIYWYQQKPGKAPKLLIYDT SNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISS MQPEDFATYYCQQWSSYPYTFGQG TKLEIK**RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
169	轻链可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMTCRASS SVSYIYWYQQKPGKAPKLLIYDTSNL ASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSMQPE DFATYYCQQWSSYPYTFGQGTKLEIK
165	LCDR1 (Kabat)	*R*ASSSVSYIY
154	LCDR2 (Kabat)	DTSNLAS
155	LCDR3 (Kabat)	QQWSSYPYT

[0764]

[0765] 表10.能够结合c-Kit的示例性抗原结合位点的序列

SEQ ID NO	**描述**	**序列**
鼠抗 c-Kit SR1 (mSR1)		
39	重链	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKA SGYTFTSYNMHWVKQTPGQGLEWI GVIYSGNGDTSYNQKFKGKATLTAD KSSSTAYMQINSLTSEDSAVYYCARE RDTRFGNWGQGTLVTVSAAKTTAP

[0766]

[0767]

		SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKG YFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVL QSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCN VAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPP CKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMI SLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV VSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP PPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSD GSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
40	重链可变区	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKA SGYTFTSYNMHWVKQTPGQGLEWI GVIYSGNGDTSYNQKFKGKATLTAD KSSSTAYMQINSLTSEDSAVYYCARE RDTRFGNWGQGTLVTVSA
41	HCDR1 (Kabat)	SYNMH
42	HCDR2 (Kabat)	VIYSGNGDTSYNQKFKG
43	HCDR3 (Kabat)	ERDTRFGN
44	轻链	NIVLTQSPASLAVSLGLRATISCRASE SVDIYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLI YLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTI DPVEADDAATYYCQQNNEDPYTFG GGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLT SGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKID GSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSM SSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTS TSPIVKSFNRNEC
45	轻链可变区	NIVLTQSPASLAVSLGLRATISCRASE SVDIYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLI YLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTI DPVEADDAATYYCQQNNEDPYTFG GGTKLEIK
46	LCDR1 (Kabat)	RASESVDIYGNSFMH
47	LCDR2 (Kabat)	LASNLES
48	LCDR3 (Kabat)	QQNNEDPYT
嵌合抗 c-Kit SR1 (chSR1)		
49	重链 (*Fc 或恒定区可以是任一 IgG 同种型*)	**QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCK ASGYTFTSYNMHWVKQTPGQGL EWIGVIYSGNGDTSYNQKFKGKA TLTADKSSSTAYMQINSLTSEDSAV YYCARERDTRFGNWGQGTLVTVS A**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF

[0768]

		PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
50	轻链	**NIVLTQSPASLAVSLGLRATISCRAS ESVDIYGNSFMHWYQQKPGQPPK LLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTD FTLTIDPVEADDAATYYCQQNNED PYTFGGGTKLEIK**RTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
人源化抗 c-Kit SR1 重链 2 (hSR1-H2)		
51	hSR1-H2, IgG1 (*Fc 或恒定区可以是任一 IgG 同种型*)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEW MGVIYSGNGDTSYAQKFQGRVTMT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARERDTRFGNWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
52	重链可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEW MGVIYSGNGDTSYAQKFQGRVTMT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARERDTRFGNWGQGTLVTVSS
41	HCDR1 (Kabat)	SYNMH
53	HCDR2 (Kabat)	VIYSGNGDTSY*A*QKF*Q*G
43	HCDR3 (Kabat)	ERDTRFGN
人源化抗 c-Kit SR1 重链 3 (hSR1-H3)		
54	hSR1-H3, IgG1 (*Fc 或恒定区可以是*	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWI

	任一IgG 同种型)	GVIYSGNGDTSYAQKFQGRATLTAD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARE RDTRFGNWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
55	重链可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWI GVIYSGNGDTSYAQKFQGRATLTAD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARE RDTRFGNWGQGTLVTVSS
41	HCDR1 (Kabat)	SYNMH
53	HCDR2 (Kabat)	VIYSGNGDTSY*A*QKF*Q*G
43	HCDR3 (Kabat)	ERDTRFGN
人源化抗 c-Kit SR1 重链 2b (hSR1-H2b)		
56	hSR1-H2b, IgG1 (*Fc 或恒定区可以是 任一IgG 同种型*)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEW MGVIYSGNGDTSYAQKFQGRVTMT ADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARERDTRFGNWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
57	重链可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEW MGVIYSGNGDTSYAQKFQGRVTMT ADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARERDTRFGNWGQGTLVTVSS

[0769]

[0770]

41	HCDR1 (Kabat)	SYNMH
53	HCDR2 (Kabat)	VIYSGNGDTSY*A*QKF*Q*G
43	HCDR3 (Kabat)	ERDTRFGN
人源化抗 c-Kit SR1 重链 3b (hSR1-H3b)		
58	hSR1-H3b, IgG1 (*Fc 或恒定区可以是任一 IgG 同种型*)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCK ASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGL EWIGVIYSGNGDTSYAQKFQGRAT LTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVY YCARERDTRFGNWGQGTLVTVSS** ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
59	重链可变区	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCK ASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGL EWIGVIYSGNGDTSYAQKFQGRAT LTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVY YCARERDTRFGNWGQGTLVTVSS**
41	HCDR1 (Kabat)	SYNMH
53	HCDR2 (Kabat)	VIYSGNGDTSY*A*QKF*Q*G
43	HCDR3 (Kabat)	ERDTRFGN
hSR1-H2 抗 c-Kit 变体		
60	HCDR1 (Kabat)变体 1	SY*T*MH
61	HCDR1 (Kabat)变体 2	SY*Q*MH
62	HCDR1 (Kabat)变体 3	*N*YNMH
63	HCDR2 (Kabat)变体 1	VIYSG*S*GDTSY*A*QKF*Q*G
64	HCDR2 (Kabat)变体 2	VIYSG*Q*GDTSY*A*QKF*Q*G
65	HCDR2 (Kabat)变体 3	VIYSGNG*S*TSY*A*QKF*Q*G
66	HCDR2 (Kabat)变体 4	VIYSGNG*E*TSY*A*QKF*Q*G
67	HCDR2 (Kabat)变体 5	VI*F*SGNGDTSY*A*QKF*Q*G
68	HCDR2 (Kabat)变体 6	VI*H*SGNGDTSY*A*QKF*Q*G
69	HCDR3 (Kabat)变体 1	ER*E*TRFGN
70	HCDR3 (Kabat)变体 2	ER*S*TRFGN
71	HCDR3 (Kabat)变体 3	E*K*DTRFGN
72	HCDR3 (Kabat)变体 4	ERDT*K*FGN
73	hSR1-H2 N33T 可变	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA

[0771]

	区	SGYTFTSY*T*MHWVRQAPGQGLEW MGVIYSGNGDTSYAQKFQGRVTMT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARERDTRFGNWGQGTLVTVSS
74	hSR1-H2 N33Q 可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSY*Q*MHWVRQAPGQGLEW MGVIYSGNGDTSYAQKFQGRVTMT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARERDTRFGNWGQGTLVTVSS
75	hSR1-H2 N31N 可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFT*N*YNMHWVRQAPGQGLEW MGVIYSGNGDTSYAQKFQGRVTMT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARERDTRFGNWGQGTLVTVSS
76	hSR1-H2 N54S 可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEW MGVIYSG*S*GDTSYAQKFQGRVTMTA DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RERDTRFGNWGQGTLVTVSS
77	hSR1-H2 N54Q 可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEW MGVIYSG*Q*GDTSYAQKFQGRVTMT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARERDTRFGNWGQGTLVTVSS
78	hSR1-H2 N56S 可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEW MGVIYSGNG*S*TSYAQKFQGRVTMTA DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RERDTRFGNWGQGTLVTVSS
79	hSR1-H2 N56E 可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEW MGVIYSGNG*E*TSYAQKFQGRVTMT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARERDTRFGNWGQGTLVTVSS
80	hSR1-H2 N52F 可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEW MGVI*F*SGNGDTSYAQKFQGRVTMT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARERDTRFGNWGQGTLVTVSS
81	hSR1-H2 N52H 可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEW MGVI*H*SGNGDTSYAQKFQGRVTMT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARERDTRFGNWGQGTLVTVSS
82	hSR1-H2 N97E 可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEW MGVIYSGNGDTSYAQKFQGRVTMT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARER*E*TRFGNWGQGTLVTVSS

[0772]

83	hSR1-H2 N97S 可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEW MGVIYSGNGDTSYAQKFQGRVTMT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARERSTRFGNWGQGTLVTVSS
84	hSR1-H2 N96K 可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEW MGVIYSGNGDTSYAQKFQGRVTMT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARE*K*DTRFGNWGQGTLVTVSS
85	hSR1-H2 N99K 可变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEW MGVIYSGNGDTSYAQKFQGRVTMT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARERDT*K*FGNWGQGTLVTVSS
人源化抗 c-Kit SR1 轻链 2 (hSR1-L2)		
86	hSR1-L2	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVDIYGNSFMHWYQQKPGKAPKLLI YLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSVQPEDFATYYCQQNNEDPYTFG QGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
87	轻链可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVDIYGNSFMHWYQQKPGKAPKLLI YLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSVQPEDFATYYCQQNNEDPYTFG QGTKLEIK
46	LCDR1 (Kabat)	RASESVDIYGNSFMH
47	LCDR2 (Kabat)	LASNLES
48	LCDR3 (Kabat)	QQNNEDPYT
人源化抗 c-Kit SR1 轻链 2r (hSR1-L2r)		
88	hSR1-L2r	**DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRA SESVDIYGNSFMHWYQQKPGKAP KLLIYLASNLESGVPSRFSGSGSRT DFTLTISSVQPEDFATYYCQQNNE DPYTFGQGTKLEIK**RTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
89	轻链可变区	**DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRA SESVDIYGNSFMHWYQQKPGKAP KLLIYLASNLESGVPSRFSGSGSRT DFTLTISSVQPEDFATYYCQQNNE DPYTFGQGTKLEIK**
46	LCDR1 (Kabat)	RASESVDIYGNSFMH

[0773]

47	LCDR2 (Kabat)	LASNLES
48	LCDR3 (Kabat)	QQNNEDPYT
hSR1-L2 变体		
90	LCDR1 (Kabat)变体 1	RASESVD*S*YGNSFMH
91	LCDR1 (Kabat)变体 2	RASESVD*N*YGNSFMH
92	LCDR1 (Kabat)变体 3	RASESVDI*F*GNSFMH
93	LCDR1 (Kabat)变体 4	RASESVDI*H*GNSFMH
94	LCDR1 (Kabat)变体 5	RASESVDIYG*S*SFMH
95	LCDR1 (Kabat)变体 6	RASESVDIYG*Q*SFMH
96	LCDR2 (Kabat)变体 1	*A*ASNLES
97	LCDR2 (Kabat)变体 2	LAS*S*LES
98	LCDR3 (Kabat)变体 1	QQN*Q*EDPYT
99	LCDR3 (Kabat)变体 2	QQN*S*EDPYT
100	LCDR3 (Kabat)变体 3	QQNN*D*DPYT
101	LCDR3 (Kabat)变体 4	QQNN*S*DPYT
102	LCDR3 (Kabat)变体 5	QQNNE*E*PYT
103	LCDR3 (Kabat)变体 6	QQNNE*S*PYT
104	LCDR3 (Kabat)变体 7	QQNNEDP*F*T
105	hSR1-L2 I30aS 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRAS ESVD*S*YGNSFMHWYQQKPGKAPKL LIYLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSVQPEDFATYYCQQNNEDPYT FGQGTKLEIK
106	hSR1-L2 I30aN 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVD*N*YGNSFMHWYQQKPGKAPKLL IYLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSVQPEDFATYYCQQNNEDPYTFG QGTKLEIK
107	hSR1-L2 Y30bF 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVDI*F*GNSFMHWYQQKPGKAPKLLI YLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSVQPEDFATYYCQQNNEDPYTFG QGTKLEIK
108	hSR1-L2 Y30bH 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVDI*H*GNSFMHWYQQKPGKAPKLLI YLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSVQPEDFATYYCQQNNEDPYTFG QGTKLEIK
109	hSR1-L2 N30dS 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVDIYG*S*SFMHWYQQKPGKAPKLLI YLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSVQPEDFATYYCQQNNEDPYTFG QGTKLEIK
110	hSR1-L2 N30dQ 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVDIYG*Q*SFMHWYQQKPGKAPKLLI YLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT

[0774]

		ISSVQPEDFATYYCQQNNEDPYTFG QGTKLEIK
111	hSR1-L2 L50A 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRAS ESVDIYGNSFMHWYQQKPGKAPKL LIY*A*ASNLESGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSVQPEDFATYYCQQNNEDPYT FGQGTKLEIK
112	hSR1-L2 N53S 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVDIYGNSFMHWYQQKPGKAPKLLI YLAS*S*LESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSVQPEDFATYYCQQNNEDPYTFGQ GTKLEIK
113	hSR1-L2 N92Q 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVDIYGNSFMHWYQQKPGKAPKLLI YLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSVQPEDFATYYCQQN*Q*EDPYTFG QGTKLEIK
114	hSR1-L2 N92S 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVDIYGNSFMHWYQQKPGKAPKLLI YLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSVQPEDFATYYCQQN*S*EDPYTFGQ GTKLEIK
115	hSR1-L2 E93D 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVDIYGNSFMHWYQQKPGKAPKLLI YLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSVQPEDFATYYCQQNN*D*DPYTFG QGTKLEIK
116	hSR1-L2 E93S 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVDIYGNSFMHWYQQKPGKAPKLLI YLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSVQPEDFATYYCQQNN*S*DPYTFGQ GTKLEIK
117	hSR1-L2 D94E 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVDIYGNSFMHWYQQKPGKAPKLLI YLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSVQPEDFATYYCQQNNE*E*PYTFGQ GTKLEIK
118	hSR1-L2 D94S 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVDIYGNSFMHWYQQKPGKAPKLLI YLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSVQPEDFATYYCQQNNE*S*PYTFGQ GTKLEIK
119	hSR1-L2 Y96F 可变区	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASE SVDIYGNSFMHWYQQKPGKAPKLLI YLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSVQPEDFATYYCQQNNEDP*F*TFGQ GTKLEIK

[0775] 表11.其他序列

[0776]

SEQ ID NO	描述	序列
130	人免疫球蛋白 G1 (IgG1) 重链恒定区(CH)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
131	人免疫球蛋白 κ 恒定区	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0777] 以引用的方式并入

[0778] 除非另有相反说明,否则本文引用的每一个专利文献和科技文章的全部公开内容出于全部目的以引用的方式并入。

[0779] 等效方案/其它实施方案

[0780] 本领域技术人员将认识到或能够仅使用常规实验确定本文所述的具体实施方案的许多等效方案。此类等效方案意图由所附权利要求涵盖。

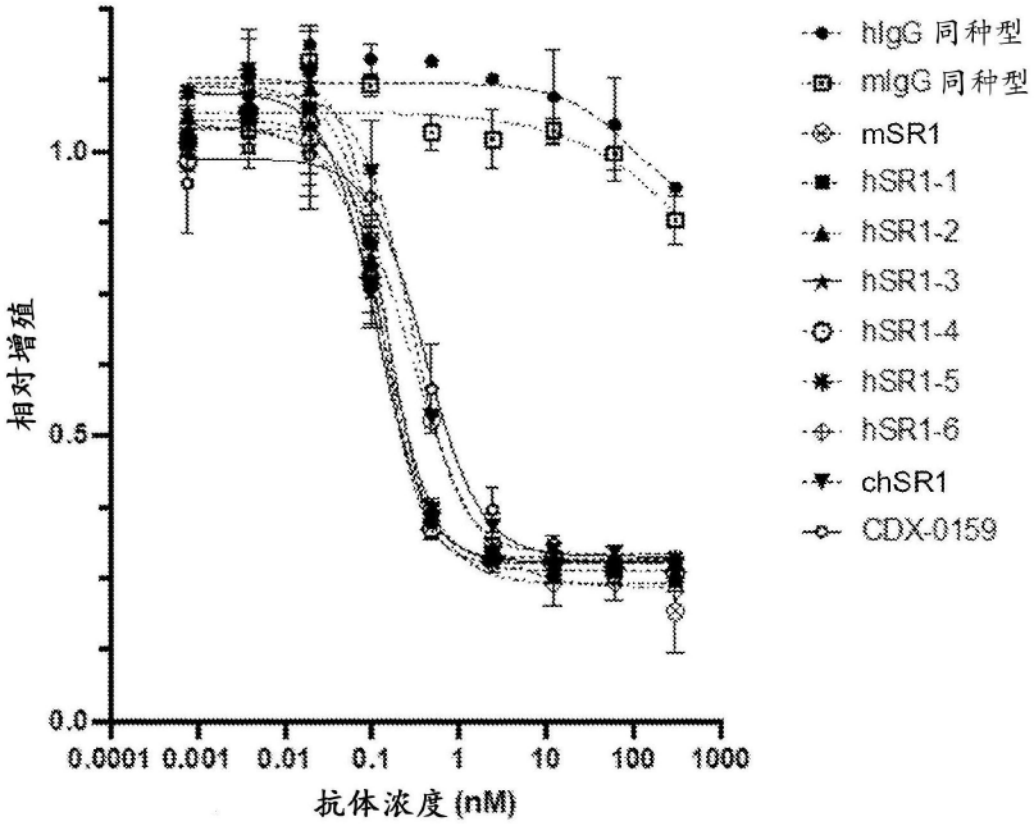

hIgG 同种型
mIgG 同种型
mSR1
hSR1-1
hSR1-2
hSR1-3
hSR1-4
hSR1-5
hSR1-6
chSR1
CDX-0159
相对增殖
1.0
0.5
0.0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000
抗体浓度(nM)

图1

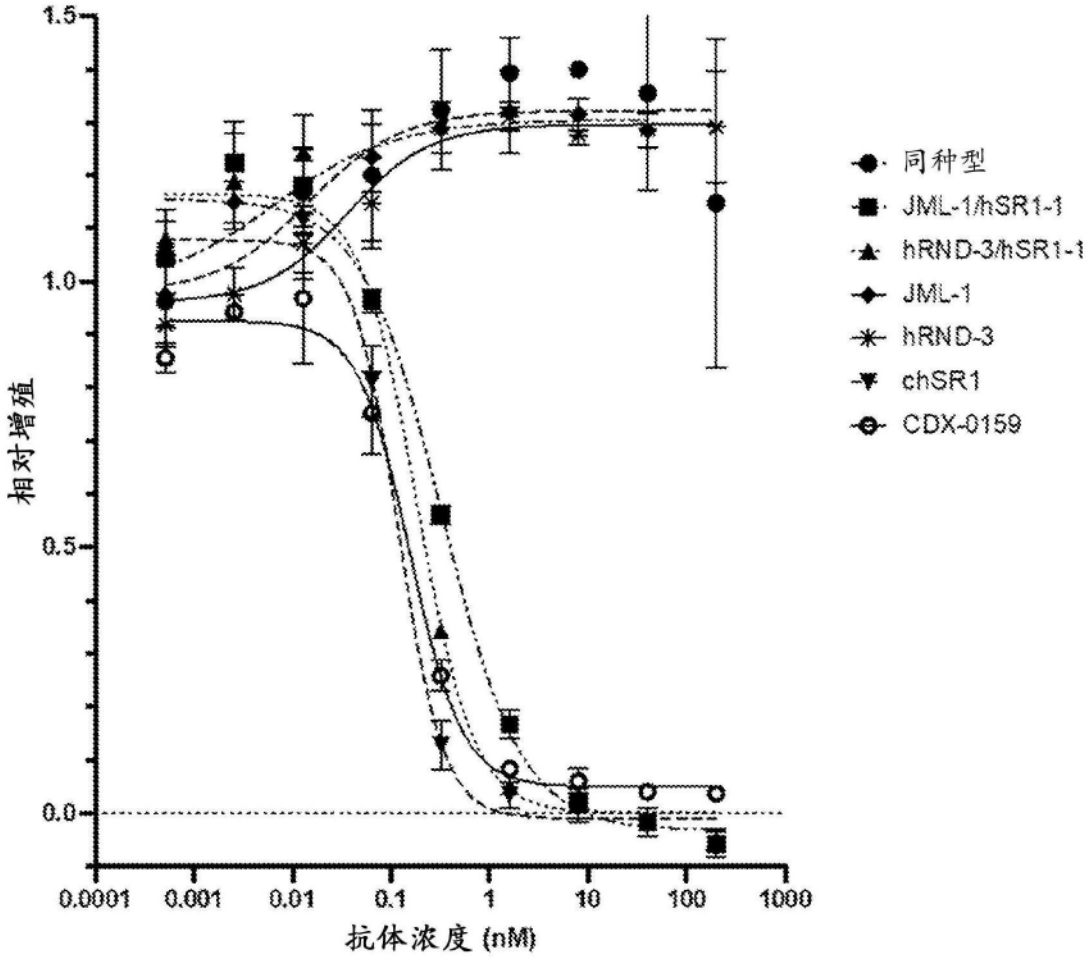

1.5
1.0
0.5
0.0
相对增殖
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
抗体浓度 (nM)
同种型
JML-1/hSR1-1
hRND-3/hSR1-1
JML-1
hRND-3
chSR1
CDX-0159

图2

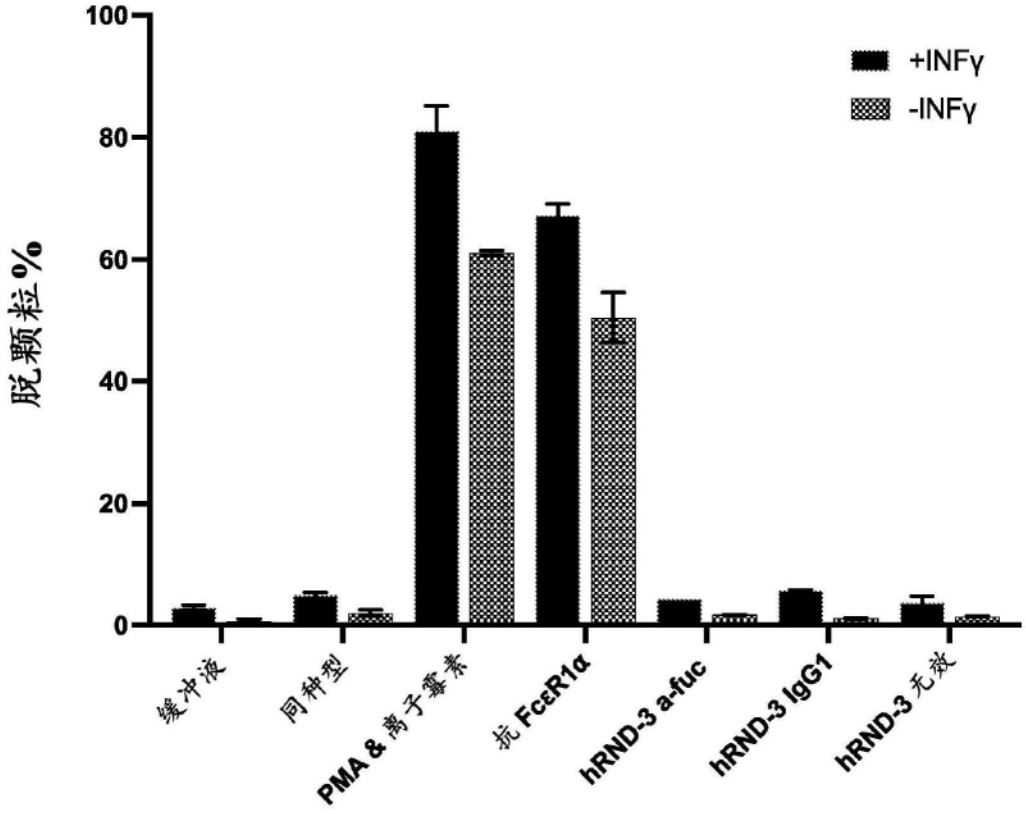

100
80
60
40
20
0
脱颗粒%
+INFγ
-INFγ
缓冲液
同种型
PMA & 离子霉素
抗 FcεR1α
hRND-3 a-fuc
hRND-3 IgG1
hRND-3 无效

图3