



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112752768 B

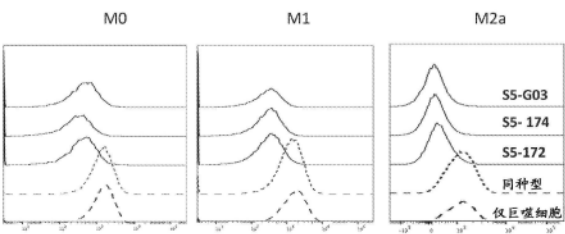
(45) 授权公告日 2024. 12. 03

(21) 申请号 201980062880.6	(73) 专利权人 艾利妥
(22) 申请日 2019.07.26	地址 美国加利福尼亚州
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 112752768 A	(72) 发明人 P·卡普 R·班科蒂 H·林 A·罗森塔尔
(43) 申请公布日 2021.05.04	(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494 专利代理师 岑晓东
(30) 优先权数据 62/711,405 2018.07.27 US	(51) Int.Cl. C07K 16/28 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2021.03.24	(56) 对比文件 CN 107922480 A,2018.04.17 CN 103396489 A,2013.11.20
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/US2019/043758 2019.07.26	审查员 戎晓媛
(87) PCT国际申请的公布数据 W02020/023920 EN 2020.01.30	

权利要求书4页 说明书139页  
序列表77页 附图17页

(54) 发明名称  
抗SIGLEC-5抗体及其使用方法

(57) 摘要  
本公开通常涉及包括特异性结合Siglec-5蛋白例如人Siglec-5的抗体例如单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、抗体片段等的组合物以及这类组合物在对有需要的个体的预防、降低风险或治疗中的用途。



1. 一种分离的单克隆抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中所述轻链可变结构域包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,且所述重链可变结构域包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中:

所述HVR-L1如SEQ ID NO:103的氨基酸序列所示,所述HVR-L2如SEQ ID NO:127的氨基酸序列所示,所述HVR-L3如SEQ ID NO:153的氨基酸序列所示,所述HVR-H1如SEQ ID NO:20的氨基酸序列所示,所述HVR-H2如SEQ ID NO:39的氨基酸序列所示,且所述HVR-H3如SEQ ID NO:70的氨基酸序列所示。

2. 如权利要求1所述的抗Siglec-5抗体,其中

所述轻链可变结构域包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列,且所述重链可变结构域包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列。

3. 如权利要求1或2所述的抗Siglec-5抗体,其中所述抗体属于IgG类、IgM类或IgA类。

4. 如权利要求3所述的抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。

5. 如权利要求4所述的抗Siglec-5抗体,其中所述抗体结合抑制性Fc受体。

6. 如权利要求5所述的抗Siglec-5抗体,其中所述抑制性Fc受体是抑制性Fc- $\gamma$ 受体IIB(Fc $\gamma$  IIB)。

7. 如权利要求6所述的抗Siglec-5抗体,其中:

(a) 所述抗Siglec-5抗体具有人或小鼠IgG1同种型,并且在Fc区中选自由以下组成的组的残基位置处包含一个或多个氨基酸取代:N297A、D265A、D270A、L234A、L235A、G237A、P238D、L328E、E233D、G237D、H268D、P271G、A330R、C226S、C229S、E233P、L234V、L234F、L235E、P331S、S267E、L328F、A330L、M252Y、S254T、T256E、N297Q、P238S、P238A、A327Q、A327G、P329A、K322A、T394D、E430G、V263L、V266L、V273C、V273E、V273F、V273L、V273M、V273S、V273Y、V305K、V305W及其任意组合,其中所述残基的编号是根据EU编号方式,或者在Fc区中对应于甘氨酸236的位置处包含氨基酸缺失;

(b) 所述抗Siglec-5抗体具有IgG1同种型,并包含IgG2同种型重链恒定结构域1(CH1)和铰链区,任选其中所述IgG2同种型CH1和铰链区包含ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPE PVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQ T YTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCP(SEQ ID NO:218)的氨基酸序列,且任选其中所述抗体Fc区包含S267E氨基酸取代、L328F氨基酸取代或两者和/或N297A或N297Q氨基酸取代,其中所述残基的编号是根据EU编号方式;

(c) 所述抗Siglec-5抗体具有IgG2同种型,并在所述Fc区中选自由以下组成的组的残基位置处包含一个或多个氨基酸取代:P238S、V234A、G237A、H268A、H268Q、V309L、A330S、P331S、C214S、C232S、C233S、S267E、L328F、M252Y、S254T、T256E、H268E、N297A、N297Q、A330L、C127S、E430G及其任意组合,其中所述残基的编号是根据EU编号方式;

(d) 所述抗Siglec-5抗体具有人或小鼠IgG4同种型,并在所述Fc区中选自由以下组成的组的残基位置处包含一个或多个氨基酸取代:L235A、G237A、S228P、L236E、S267E、E318A、L328F、M252Y、S254T、T256E、E233P、F234V、L234A/F234A、S228P、S241P、L248E、T394D、N297A、N297Q、L235E及其任意组合,其中所述残基的编号是根据EU编号方式;或者

(e) 所述抗Siglec-5抗体具有杂合IgG2/4同种型,且任选其中所述抗体包含氨基酸序

列,所述氨基酸序列包含人IgG2的氨基酸118至260和人IgG4的氨基酸261至447,其中所述残基的编号是根据EU编号方式。

8.如权利要求7所述的抗Siglec-5抗体,其中:

(a)所述抗Siglec-5抗体具有人或小鼠IgG1同种型,并在所述Fc区中选自由以下组成的组的残基位置处包含一个或多个氨基酸取代:N297A、N297Q、D270A、D265A、L234A、L235A、C226S、C229S、P238S、E233P、L234V、P238A、A327Q、A327G、P329A、K322A、L234F、L235E、P331S、T394D、A330L、M252Y、S254T、T256E及其任意组合,其中所述残基的编号是根据EU编号方式;

(b)所述抗Siglec-5抗体具有IgG2同种型,并在所述Fc区中选自由以下组成的组的残基位置处包含一个或多个氨基酸取代:P238S、V234A、G237A、H268A、H268Q、H268E、V309L、N297A、N297Q、A330S、P331S、C232S、C233S、M252Y、S254T、T256E、C127S、E430G及其任意组合,其中所述残基的编号是根据EU编号方式;或者

(c)所述抗Siglec-5抗体具有IgG4同种型,并在所述Fc区中选自由以下组成的组的残基位置处包含一个或多个氨基酸取代:E233P、F234V、L234A/F234A、L235A、G237A、E318A、S228P、L236E、S241P、L248E、T394D、M252Y、S254T、T256E、N297A、N297Q及其任意组合,其中所述残基的编号是根据EU编号方式。

9.如权利要求8所述的抗Siglec-5抗体,其中:

(a)所述Fc区在选自由A330L、L234F;L235E、P331S及其任意组合组成的组的位置处进一步包含一个或多个另外的氨基酸取代,其中所述残基的编号是根据EU编号方式;

(b)所述Fc区在选自由M252Y、S254T、T256E及其任意组合组成的组的位置处进一步包含一个或多个另外的氨基酸取代,其中所述残基的编号是根据EU编号方式;或者

(c)所述Fc区进一步包含根据EU编号方式的S228P氨基酸取代。

10.如权利要求1-4中任一项所述的抗Siglec-5抗体,其中所述抗体具有IgG4同种型。

11.如权利要求10所述的抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体包含残基位置228处的S228P氨基酸取代、残基位置234处的F234A氨基酸取代和残基位置235处的L235A氨基酸取代,其中所述残基位置的编号是根据EU编号方式。

12.如权利要求1或2所述的抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体是与包含人Siglec-5蛋白上的氨基酸残基的表位结合的抗体片段。

13.如权利要求12所述的抗Siglec-5抗体,其中所述抗体片段与第二抗体片段交联,所述第二抗体片段与选自由人Siglec-5、人Siglec-5的天然存在的变体和人Siglec-5的疾病变体组成的组的一种或多种人蛋白结合。

14.如权利要求12或13所述的抗Siglec-5抗体,其中所述片段是Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>、Fv或scFv片段。

15.如权利要求1-14中任一项所述的抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体是鼠抗体。

16.如权利要求1-14中任一项所述的抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体是人源化抗体、双特异性抗体、多价抗体、缀合抗体或嵌合抗体。

17.如权利要求1-14中任一项所述的抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体是识别第一抗原和第二抗原的双特异性抗体。

18. 如权利要求17所述的抗Siglec-5抗体,其中所述第一抗原是Siglec-5,且所述第二抗原是:

(a) 促进跨越血脑屏障的转运的抗原;

(b) 选自由转铁蛋白受体 (TR)、胰岛素受体 (HIR)、胰岛素样生长因子受体 (IGFR)、低密度脂蛋白受体相关蛋白1和2 (LPR-1和2)、白喉毒素受体、CRM197、美洲驼单结构域抗体、TMEM 30(A)、蛋白转导结构域、TAT、Syn-B、穿透蛋白、聚精氨酸肽、血管肽及ANG1005组成的组的促进跨越血脑屏障的转运的抗原;

(c) 选自由致病肽或蛋白或致病核酸组成的组的致病因子,其中所述致病核酸是反义GGCCCC(G2C4) (SEQ ID NO:225) 重复扩增RNA,且其中所述致病肽或蛋白选自由淀粉样蛋白 $\beta$ 、低聚淀粉样蛋白 $\beta$ 、淀粉样蛋白 $\beta$ 斑、淀粉样蛋白前体蛋白或其片段、Tau、IAPP、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、FUS蛋白、C9orf72(9号染色体开放阅读框72)、c9RAN蛋白、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷顿蛋白、降钙素、超氧化物歧化酶、共济失调蛋白、路易体、心房利钠因子、胰岛淀粉样蛋白多肽、胰岛素、载脂蛋白AI、血清淀粉样蛋白A、medin、催乳素、甲状腺素运载蛋白、溶菌酶、 $\beta$ 2微球蛋白、凝溶胶蛋白、角膜上皮蛋白、胱抑素、免疫球蛋白轻链AL、S-IBM蛋白、重复相关非ATG(RAN) 翻译产物、二肽重复 (DPR) 肽、甘氨酸-丙氨酸 (GA) 重复肽、甘氨酸-脯氨酸 (GP) 重复肽、甘氨酸-精氨酸 (GR) 重复肽、脯氨酸-丙氨酸 (PA) 重复肽、泛素和脯氨酸-精氨酸 (PR) 重复肽组成的组;或

(d) 在免疫细胞上表达的配体和/或蛋白,其中所述配体和/或蛋白选自由PD-1/PD-L1、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD30、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR-5、CD2、CD5、CD39、CD73和磷脂酰丝氨酸组成的组。

19. 如权利要求18所述的抗Siglec-5抗体,其中所述共济失调蛋白选自由共济失调蛋白1、共济失调蛋白2、共济失调蛋白3、共济失调蛋白7、共济失调蛋白8和共济失调蛋白10组成的组。

20. 如权利要求1-19中任一项所述的抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体是缀合抗体。

21. 如权利要求20所述的抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体与可检测标记、毒素或治疗剂缀合。

22. 如权利要求21所述的抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体与选自由蓖麻毒素、蓖麻毒素A链、多柔比星、道诺霉素、类美登素、紫杉醇、溴化乙锭、丝裂霉素、依托泊苷、替尼泊苷、长春新碱、长春花碱、秋水仙碱、二羟基炭疽菌素二酮、放线菌素、白喉毒素、假单胞菌外毒素 (PE) A、PE40、相思豆毒素、相思豆毒素A链、莫迪素A链、 $\alpha$ -八叠球菌素、白树毒素、米托洁林、局限曲菌素、酚霉素、依诺霉素、麻疯树毒素、巴豆毒素、卡奇霉素、石碱花抑制剂、糖皮质激素、奥瑞他汀、金霉素、钇、铋、康普瑞汀、倍癌霉素、尾海兔素、cc1065和顺铂组成的组的毒素缀合。

23. 一种分离的核酸,其包含编码前述权利要求中任一项的抗Siglec-5抗体的核酸序列。

24. 一种载体,其包含权利要求23的核酸。

25. 一种分离的宿主细胞,其包含权利要求24的载体。



26.一种产生抗Siglec-5抗体的方法,包括培养权利要求25的宿主细胞,以便产生所述抗Siglec-5抗体。

27.如权利要求26所述的方法,进一步包括回收由所述宿主细胞产生的所述抗Siglec-5抗体。

28.一种分离的抗Siglec-5抗体,其通过权利要求26或27的方法产生。

29.一种药物组合物,其包含权利要求1-22中任一项的抗Siglec-5抗体和药学上可接受的载体。

## 抗SIGLEC-5抗体及其使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2018年7月27日提交的美国临时申请第62/711,405号的权益,该临时申请特此通过引用以其整体并入。

[0003] 以ASCII文本文件提交序列列表

[0004] 以下以ASCII文本文件提交的内容通过引用以其整体并入本文:序列列表的计算机可读形式(CRF)(文件名:735022002740SEQLIST.TXT,记录日期:2019年7月25日,大小:106KB)。

### 技术领域

[0005] 本公开涉及抗Siglec-5抗体和这类抗体的治疗用途。

### 背景技术

[0006] 唾液酸结合Ig样凝集素-5(Siglec-5)是在包括成熟髓样细胞如单核细胞、巨噬细胞、树突细胞、嗜中性粒细胞和小神经胶质细胞在内的免疫和造血细胞以及淋巴样细胞上表达的I型免疫球蛋白样跨膜蛋白(Crocker等人(2007) *Nat Rev Immunol* 7:255-266; Macauley等人(2014) *Nat. Rev. Imm.* 14:653-666; Cornish等人(1998) *Blood* 92(6):2123-2132; Yamanaka等人(2009) *Glycobiology* 19:841-846)。Siglec-5是结合糖蛋白和糖脂的唾液酸残基的凝集素的Siglec家族的成员。Siglec蛋白的一个潜在结合靶标是神经节苷脂;即,由与唾液酸化聚糖连接的神经酰胺组成的糖脂。大多数神经节苷脂共有共同的乳糖-神经酰胺核心和一个或多个唾液酸残基。Siglec配体的多样性是通过在支链或末端的不同连键中添加其它中性糖和唾液酸以及修饰唾液酸本身而产生的。

[0007] 已经在人类中鉴定出十四种Siglec蛋白,在小鼠中鉴定出九种,它们由2-17个细胞外Ig结构域组成,包括含有唾液酸结合位点的氨基末端V-set结构域。唾液酸结合区位于V-set Ig样结构域上,该结构域含有在所有Siglec中都高度保守的两个芳族残基和一个精氨酸基序(Crocker等人(2007) *Nat Rev Immunol* 7:255-266; McMillan和Crocker(2008) *Carbohydr Res.* 343:2050-2056; Von Gunten和Bochner(2008) *Ann NY Acad Sci.* 1143:61-82; May等人(1998) *Mol. Cell* 1:719-728; Crocker等人(1999) *Biochem J.* 341:355-361; 及Crocker和Varki(2001) *Trends Immunol.* 2:337-342)。与唾液酸化配体的结合位点已经通过有和没有结合的配体的晶体结构进行了定位(Attrill等人,(2006) *J. Biol. Chem.* 281 32774-32783; Alpey等人(2003) *J. Biol. Chem.* 278:5 3372-3377; Varki等人, *Glycobiology*, 第16页1R-27R, May等人(1998) *Mol. Cell* 1:5:719-728, Zhuravleva等人(2008) *J. Mol. Biol.* 375:437-447)。由于细胞膜富含唾液酸,因此通过Siglec的配体结合可按顺式和反式发生,两者都影响它们的功能特性。每种Siglec对结合见于哺乳动物细胞表面上的不同类型的唾液酸化聚糖有不同的优先性(Crocker等人(2007) *Nat Rev Immunol* 7:255-266;)。大多数Siglec在它们的细胞质尾区中含有一个或多个基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(ITIM)序列,这使得它们能够通过募集酪氨酸磷酸酶SHP1和SHP2而作

为免疫功能的抑制性受体和负调节物发挥作用 (Crocker等人 (2007) *Nat Rev Immunol*.7: 255-266; McMillan和Crocker (2008) *Carbohydr Res*.343:2050-2056; 及Von Gunten和Bochner (2008) *Ann NY Acad Sci*.1143:61-82)。某些Siglec在它们的细胞质尾区中含有基于免疫受体酪氨酸的激活基序 (ITAM) 序列,这使得它们能够通过预测的脾酪氨酸激酶 (Syk) 募集而充当免疫功能的激活受体和正调节物 (Macauley SM.等人, (2014) *Nature Reviews Immunology* 14,653-666)。Siglec蛋白家族与多种人类疾病相关,包括自身免疫、易感染性、多种类型的癌症,包括淋巴瘤、白血病和急性髓性白血病、全身性红斑狼疮、类风湿性关节炎、神经退行性病症、哮喘、过敏、脓毒症、慢性阻塞性肺病、移植物抗宿主病、嗜酸性粒细胞增多症和骨质疏松症 (Macauley SM.等人, (2014) *Nature Reviews Immunology* 14,653-666)。

[0008] Siglec-5在其细胞质结构域中含有细胞外N末端Ig样(免疫球蛋白样)V型结构域、Ig样C2-set结构域以及共有ITIM基序。Siglec-5在COS细胞中的表达显示了红细胞的唾液酸依赖性结合,其是通过末端 $\alpha 2-3$ 或 $\alpha 2-6$ 唾液酸连键介导的 (Cornish等人 (1998) *Blood* 92 (6):2123-2132)。Siglec-5的N末端V-set Ig样结构域内的配体结合已被定位到高度可变的GG'接头和CC'环区域。利用有和没有结合的唾液酸配体的Ig-V和第一Ig-C set结构域的晶体结构研究了配体相互作用 (Zhuravleva等人 (2008) *J.Mol.Biol*.375;437-447)。已显示B组链球菌通过细胞壁锚定 $\beta$ 蛋白介导以Sia非依赖性方式结合人嗜中性粒细胞上的Siglec-5 (Carlin等人 (2009) *J.Exp.Med*.206 (8) 1691-1699)。与Siglec-5结合的GBS $\beta$ 蛋白导致SHP磷酸酶的募集,并抑制诸如吞噬作用、氧化暴发和细胞外陷阱产生的功能 (Carlin等人 (2009) *J.Exp.Med*.206 (8) 1691-1699)。

[0009] Siglec-5通过酪氨酸激酶进行Tyr-520和Tyr-544的磷酸化,从而募集酪氨酸磷酸酶SHP-1和SHP-2,从而介导作为抑制性受体的功能 (Avril等人 (2005) *J.Biol.Chem*.280: 19843-19851)。在ITIM结构域中的近端Tyr-520上的磷酸化之后,Siglec-5结合SHP-2/PTPN11和SHP-1/PTPN6。Siglec-5显示在先前已被用于表征称为KIR的抑制性受体类(杀伤细胞Ig样受体)的大鼠嗜碱性粒细胞白血病细胞中抑制Fc $\epsilon$ RI介导的活性 (Avril等人, (2005) *J.Biol.Chem*.280:19843-19851)。磷酸酶活性与细胞内钙动员减少和多种蛋白上的酪氨酸磷酸化减少相关 (Ulyanova,T.等人, (1999) *Eur J Immunol* 29,3440-3449; Paul, S.P.等人, (2000) *Blood* 96,483-490),以及与部分地通过邻近激活受体(包括含有ITAM基序的那些)、模式识别受体、Toll样受体和损伤相关分子模式 (DAMP) 受体上的信号传导分子的去磷酸化阻断信号转导和免疫反应相关。已显示Siglec-5的一些抑制功能在没有酪氨酸磷酸化的情况下发生。Siglec-5可按磷酸酪氨酸非依赖性方式激活SHP-1或SHP-2,这对于抑制性信号传导可能是足够的 (Avril等人, (2005) *J.Biol.Chem*.280:19843-19851)。

[0010] Siglec配体或抗体介导的受体连接诱导许多Siglec家族成员的内吞作用,表明其是这组受体的一般生物学特征 (Tateno等人, (2007) *Mol.Cell.Bio*.27 (16):5699-5710, Macauley SM.等人, (2014) *Nature Reviews Immunology* 14,653-666)。对于酪氨酸激酶受体 (Monsonogo-Oran等人, (2002) *Febs letters* 528,83-89;和Fasen等人, (2008) *Cell& Molecular Biology* 9.251-266) 以及类固醇受体 (Callige等人, (2005) *Mol.Cell.Biol*.25.4349-4358;和Pollenz等人, (2006) *Chemico-Biological Interactions*.164.49-59),已经报道了配体诱导的受体内吞作用和随后降解的类似机制。

[0011] 在例如W02007120815、US20070244038、W02002008257、Erickson-Miller等人(2003)Exp.Hemat.31:382-388和Cornish等人(1998)Blood 92(6):2123-2132中已经描述了针对Siglec-5的抗体。

[0012] 因此,需要开发特异性结合Siglec-5并降低细胞表面上的Siglec-5表达和/或降低一种或多种Siglec-5活性的治疗性抗体,以便治疗一种或多种与不期望的Siglec-5活性相关的疾病、病症和疾患。

[0013] 本文引用的所有参考文献(包括专利、专利申请和公布)特此通过引用以其整体并入。

## 发明内容

[0014] 本公开通常涉及抗Siglec-5抗体和这类抗Siglec-5抗体的使用方法。本文提供的方法可用于对患有以下疾病的个体的预防、降低风险或治疗:痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease)、血管性痴呆、混合型痴呆、克雅氏病(Creutzfeldt-Jakob disease)、常压性脑积水、肌萎缩性侧索硬化症、亨廷顿氏病、tau蛋白病、Nasu-Hakola病、中风、急性创伤、慢性创伤、狼疮、急性和慢性结肠炎、类风湿性关节炎、伤口愈合、克罗恩氏病(Crohn's disease)、炎症性肠病、溃疡性结肠炎、肥胖症、疟疾、特发性震颤、中枢神经系统狼疮、白塞氏病(Behcet's disease)、帕金森病(Parkinson's disease)、路易体痴呆(dementia with Lewy body)、多系统萎缩症、Shy-Drager综合征、进行性核上性麻痹、皮质基底神经节变性、急性播散性脑脊髓炎、肉芽肿性病症、结节病、衰老性疾病、癫痫发作、脊髓损伤、创伤性脑损伤、年龄相关性黄斑变性、青光眼、视网膜色素变性、视网膜变性、呼吸道感染、脓毒症、眼部感染、全身性感染、狼疮、关节炎、多发性硬化症、低骨密度、骨质疏松症、骨生成、骨硬化性疾病、骨佩吉特氏病(Paget's disease of bone)、实体癌和血癌、膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤、真性红细胞增多症、特发性血小板增多症、原发性或特发性骨髓纤维化、原发性或特发性骨髓硬化症、髓源性肿瘤、表达Siglec-5和/或Siglec-5配体的肿瘤、甲状腺癌、感染、CNS疱疹、寄生虫感染、锥体虫感染、Cruzi感染、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)感染、杜氏利什曼虫(*Leishmania donovani*)感染、B组链球菌感染、空肠弯曲杆菌(*Campylobacter jejuni*)感染、脑膜炎奈瑟菌(*Neisseria meningitidis*)感染、I型HIV和嗜血杆菌流感。本文提供的方法还可用于在有需要的个体中诱导或促进一种或多种免疫细胞的存活、成熟、功能性、迁移或增殖。本文提供的方法可进一步用于在有需要的个体中降低调节性T细胞、包埋肿瘤的免疫抑制树突细胞、包埋肿瘤的免疫抑制巨噬细胞、嗜中性粒细胞、自然杀伤(NK)细胞、髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、急性髓性白血病(AML)细胞、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)细胞或慢性髓性白血病(CML)细胞的活性、功能性或存活。本文提供的方法还可用于降低Siglec-5的细胞水平。

[0015] 本公开的某些方面至少部分地基于确认能够降低细胞如人原代免疫细胞和Siglec-5表达细胞系上的Siglec-5的细胞表面水平、不抑制或阻断Siglec-5配体与Siglec-5的结合、不与Siglec-14交叉反应、能够诱导反应性氧物质(ROS)产生、能够诱导嗜

中性粒细胞细胞外陷阱 (NET) 形成和/或增加巨噬细胞的吞噬活性的抗Siglec-5抗体。

[0016] 因此,本公开的某些方面涉及分离的单克隆抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体降低Siglec-5的细胞水平。本公开的其它方面涉及分离的单克隆抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体降低Siglec-5的细胞水平,并且不抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用。本公开的其它方面涉及分离的单克隆抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体降低Siglec-5的细胞水平,并且不结合Siglec-14。

[0017] 在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体降低Siglec-5的细胞表面水平、降低Siglec-5的细胞内水平、降低Siglec-5的总水平或这些的任意组合。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5降解、Siglec-5切割、Siglec-5内化、Siglec-5脱落、Siglec-5表达的下调或这些的任意组合。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述抗体在体外降低Siglec-5的细胞水平。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述抗体在体内降低Siglec-5的细胞水平。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体诱导嗜中性粒细胞中的反应性氧物质 (ROS) 产生。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体诱导嗜中性粒细胞中的嗜中性粒细胞细胞外陷阱 (NET) 形成。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体诱导嗜中性粒细胞中的嗜中性粒细胞激活。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体增加巨噬细胞的吞噬活性。

[0018] 在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体增加CD86在髓源性抑制细胞中的表达。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体增加髓源性抑制细胞中的CD86的细胞表面水平。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体增加CCL4在髓源性抑制细胞中的表达。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体增加髓源性抑制细胞中的CCL4的细胞表面水平。

[0019] 在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体结合线性Siglec-5表位。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体结合不连续或构象Siglec-5表位。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9及其任意组合组成的组的一种或多种抗体竞争与Siglec5的结合。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9及其任意组合组成的组的一种或多种抗体与Siglec-5结合的相同或重叠的表位结合。

[0020] 在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与SEQ ID NO:

1的氨基酸残基268-278内的一个或多个氨基酸残基或Siglec-5蛋白上对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基268-278的氨基酸残基结合。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与氨基酸序列LSWFQGSPALN(SEQ ID NO:221)内的一个或多个氨基酸残基结合。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与SEQ ID NO:1的氨基酸残基226-244内的一个或多个氨基酸残基或Siglec-5蛋白上对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基226-244的氨基酸残基结合。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与氨基酸序列QTITIFRNGIALEILQNTS(SEQ ID NO:220)内的一个或多个氨基酸残基结合。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与SEQ ID NO:1的氨基酸残基228-238内的一个或多个氨基酸残基或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基228-238的氨基酸残基结合。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与氨基酸序列ITIFRNGIALE(SEQ ID NO:219)结合。

[0021] 在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中所述轻链可变结构域、所述重链可变结构域或两者包含选自单克隆抗体的HVR-L1、HVR-L2、HVR-L3、HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3中的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个HVR,所述单克隆抗体选自由以下组成的组:S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中:(a)HVR-L1包含选自由SEQ ID NO:103-115组成的组的氨基酸序列;(b)HVR-L2包含选自由SEQ ID NO:127-135组成的组的氨基酸序列;(c)HVR-L3包含选自由SEQ ID NO:153-163组成的组的氨基酸序列;(d)HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:20-28组成的组的氨基酸序列;(e)HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:39-51组成的组的氨基酸序列;或者(f)HVR-H3包含选自由SEQ ID NO:70-79组成的组的氨基酸序列。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中:(a)HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列;(b)HVR-H1包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列;(c)HVR-H1包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列;(d)HVR-H1包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列;(e)HVR-H1包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列;(f)HVR-H1包含

SEQ ID NO:25的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列;(g)HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列;(h)HVR-H1包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列;(i)HVR-H1包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列;(j)HVR-H1包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列;(k)HVR-H1包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列;(l)HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列;(m)HVR-H1包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列;以及(n)HVR-H1包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列。

[0022] 在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体包含:包含选自SEQ ID NO:194-211组成的组的氨基酸序列的轻链可变结构域;和/或包含选自SEQ ID NO:174-193组成的组的氨基酸序列的重链可变结构域。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体包含选自以下组成的组的单克隆抗体的轻链可变结构域:S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9;和/或选自以下组成的组的单克隆抗体的重链可变结构域:S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和

S5-G-03-H9。

[0023] 本公开的其它方面涉及分离的单克隆抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中所述轻链可变结构域、所述重链可变结构域或两者包含选自单克隆抗体的HVR-L1、HVR-L2、HVR-L3、HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个HVR,所述单克隆抗体选自由以下组成的组:S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9。在一些实施方案中:(a)HVR-L1包含选自由SEQ ID NO:103-115组成的组的氨基酸序列;(b)HVR-L2包含选自由SEQ ID NO:127-135组成的组的氨基酸序列;(c)HVR-L3包含选自由SEQ ID NO:153-163组成的组的氨基酸序列;(d)HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:20-28组成的组的氨基酸序列;(e)HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:39-51组成的组的氨基酸序列;或者(f)HVR-H3包含选自由SEQ ID NO:70-79组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中:其中(a)HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列;(b)HVR-H1包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列;(c)HVR-H1包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列;(d)HVR-H1包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列;(e)HVR-H1包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列;(f)HVR-H1包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列;(g)HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列;(h)HVR-H1包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列;(i)HVR-H1包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列,HVR-L2包含



SEQ ID NO:133的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列;(j)HVR-H1包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列;(k)HVR-H1包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列;(l)HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列;(m)HVR-H1包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列;以及(n)HVR-H1包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列。

[0024] 本公开的其它方面涉及分离的单克隆抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体包含:包含选自由SEQ ID NO:194-211组成的组的氨基酸序列的轻链可变结构域和/或包含选自由SEQ ID NO:174-193组成的组的氨基酸序列的重链可变结构域。本公开的其它方面涉及分离的单克隆抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体包含选自由以下组成的组的单克隆抗体的轻链可变结构域:S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9;和/或选自由以下组成的组的单克隆抗体的重链可变结构域:S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9。本公开的其它方面涉及分离的单克隆抗Siglec-5抗体,其中所述抗Siglec-5抗体与选自由S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9及其任意组合组成的组的一种或多种抗体竞争与Siglec-5的结合。本公开的其它方面涉及分离的单克隆抗Siglec-5抗体,其与选自由以下组成的组的单克隆抗体结合基本上相同的Siglec-5表位:S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-

174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9。

[0025] 本公开的其它方面涉及分离的单克隆抗Siglec-5抗体,其结合选自由以下组成的组的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸残基:SEQ ID NO:1的氨基酸残基268-278或Siglec-5蛋白上对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基268-278的氨基酸残基、SEQ ID NO:1的氨基酸残基226-244或Siglec-5蛋白上对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基226-244的氨基酸残基以及SEQ ID NO:1的氨基酸残基228-238或Siglec-5蛋白上对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基228-238的氨基酸残基。本公开的其它方面涉及分离的单克隆抗Siglec-5抗体,其与选自由以下组成的组的氨基酸序列内的一个或多个氨基酸残基结合:氨基酸序列LSWFQGSALN(SEQ ID NO:221)、氨基酸序列QTITI FRNGIALEILQNTS(SEQ ID NO:220)和氨基酸序列ITIFRNGIALE(SEQ ID NO:219)。

[0026] 在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述抗体属于IgG类、IgM类或IgA类。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述抗Siglec-5抗体具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述抗体结合抑制性Fc受体。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,抑制性Fc受体是抑制性Fc- $\gamma$ 受体IIB(Fc $\gamma$ IIB)。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中:(a)所述抗Siglec-5抗体具有人或小鼠IgG1同种型,并在Fc区中选自由以下组成的组的残基位置处包含一个或多个氨基酸取代:N297A、D265A、D270A、L234A、L235A、G237A、P238D、L328E、E233D、G237D、H268D、P271G、A330R、C226S、C229S、E233P、L234V、L234F、L235E、P331S、S267E、L328F、A330L、M252Y、S254T、T256E、N297Q、P238S、P238A、A327Q、A327G、P329A、K322A、T394D、E430G、V263L、V266L、V273C、V273E、V273F、V273L、V273M、V273S、V273Y、V305K、V305W及其任意组合,其中残基的编号是根据EU编号方式,或者在Fc区中对应于甘氨酸236的位置处包含氨基酸缺失;(b)所述抗Siglec-5抗体具有IgG1同种型,并包含IgG2同种型重链恒定结构域1(CH1)和铰链区,任选其中IgG2同种型CH1和铰链区包含ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDPKPS NTKVDKTVRKCCVECP (SEQ ID NO:218)的氨基酸序列,且任选其中抗体Fc区包含S267E氨基酸取代、L328F氨基酸取代或两者和/或N297A或N297Q氨基酸取代,其中残基的编号是根据EU编号方式;(c)所述抗Siglec-5抗体具有IgG2同种型,并在Fc区中选自由以下组成的组的残基位置处包含一个或多个氨基酸取代:P238S、V234A、G237A、H268A、H268Q、V309L、A330S、P331S、C214S、C232S、C233S、S267E、L328F、M252Y、S254T、T256E、H268E、N297A、N297Q、A330L、C127S、E430G及其任意组合,其中残基的编号是根据EU编号方式;(d)所述抗Siglec-5抗体具有人或小鼠IgG4同种型,并在Fc区中选自由以下组成的组的残基位置处包含一个或多个氨基酸取代:L235A、G237A、S228P、L236E、S267E、E318A、L328F、M252Y、S254T、T256E、E233P、F234V、L234A/F234A、S228P、S241P、L248E、T394D、N297A、N297Q、L235E及其任意组合,其中残基的编号是根据EU编号方式;或者(e)所述抗Siglec-5抗体具有杂合IgG2/4同种型,且任选其中所述抗体包含氨基酸序列,所述氨基酸序列包含人IgG2的氨基酸118至260和人IgG4的氨基酸261至447,其中残基的编号是根据EU或Kabat编号方式。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中:(a)所述抗Siglec-5抗体具有人或小鼠IgG1同种型,

并且在Fc区中选自由以下组成的组的残基位置处包含一个或多个氨基酸取代：N297A、N297Q、D270A、D265A、L234A、L235A、C226S、C229S、P238S、E233P、L234V、P238A、A327Q、A327G、P329A、K322A、L234F、L235E、P331S、T394D、A330L、M252Y、S254T、T256E及其任意组合，其中残基的编号是根据EU编号方式；(b)所述抗Siglec-5抗体具有IgG2同种型，并且在Fc区中选自由以下组成的组的残基位置处包含一个或多个氨基酸取代：P238S、V234A、G237A、H268A、H268Q、H268E、V309L、N297A、N297Q、A330S、P331S、C232S、C233S、M252Y、S254T、T256E、C127S、E430G及其任意组合，其中残基的编号是根据EU编号方式；或者(c)所述抗Siglec-5抗体具有IgG4同种型，并且在Fc区中选自由以下组成的组的残基位置处包含一个或多个氨基酸取代：E233P、F234V、L234A/F234A、L235A、G237A、E318A、S228P、L236E、S241P、L248E、T394D、M252Y、S254T、T256E、N297A、N297Q及其任意组合，其中残基的编号是根据EU编号方式。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中：(a) Fc区在选自由A330L、L234F；L235E、P331S及其任意组合组成的组的位置处进一步包含一个或多个另外的氨基酸取代，其中残基的编号是根据EU编号方式；(b) Fc区在选自由M252Y、S254T、T256E及其任意组合组成的组的位置处进一步包含一个或多个另外的氨基酸取代，其中残基的编号是根据EU编号方式；或者(c) Fc区进一步包含根据EU编号方式的S228P氨基酸取代。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述抗体具有IgG4同种型。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述抗Siglec-5抗体包含残基位置228处的S228P氨基酸取代、残基位置234处的F234A氨基酸取代和残基位置235处的L235A氨基酸取代，其中残基位置的编号是根据EU编号方式。

[0027] 在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述Siglec-5蛋白是哺乳动物蛋白或人蛋白。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述Siglec-5蛋白是野生型蛋白。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述Siglec-5蛋白是天然存在的变体。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述Siglec-5蛋白在选自由人树突细胞、人巨噬细胞、人嗜中性粒细胞、人NK细胞、人单核细胞、人破骨细胞、人B细胞、人T细胞、人T辅助细胞、人细胞毒性T细胞、人粒细胞和人小神经胶质细胞组成的组的一种或多种细胞上表达。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述抗Siglec-5抗体与人Siglec-5蛋白特异性结合。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述抗Siglec-5抗体是与包含人Siglec-5上的氨基酸残基的表位结合的抗体片段。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述抗Siglec-5抗体是与选自由人Siglec-5、人Siglec-5的天然存在变体和人Siglec-5的疾病变体组成的组的一种或多种人蛋白结合的抗体片段。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述抗体片段与第二抗体片段交联，所述第二抗体片段与选自由人Siglec-5、人Siglec-5的天然存在变体和人Siglec-5的疾病变体组成的组的一种或多种人蛋白结合。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述片段是Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>、Fv或scFv片段。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述抗Siglec-5抗体是鼠抗体。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述抗Siglec-5抗体是人源化抗体、双特异性抗体、多价抗体、缀合抗体或嵌合抗体。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述抗Siglec-5抗体是识别第一抗原和第二抗原的双特异性抗体。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述第一抗原是Siglec-5，且所述第二抗原是：(a) 促进跨越血脑屏障的转运的抗原；

(b) 选自由转铁蛋白受体 (TR)、胰岛素受体 (HIR)、胰岛素样生长因子受体 (IGFR)、低密度脂蛋白受体相关蛋白1和2 (LPR-1和2)、白喉毒素受体、CRM197、美洲驼单结构域抗体、TMEM 30 (A)、蛋白转导结构域、TAT、Syn-B、穿透蛋白 (penetratin)、聚精氨酸肽、血管肽 (angiopeptide) 和ANG1005组成的组的促进跨越血脑屏障的转运的抗原；(c) 选自由致病肽或蛋白或致病核酸组成的组的致病因子，其中所述致病核酸是反义GGCCCC (G2C4) (SEQ ID NO: 225) 重复扩增RNA，所述致病蛋白选自由淀粉样蛋白 $\beta$ 、低聚淀粉样蛋白 $\beta$ 、淀粉样蛋白 $\beta$ 斑、淀粉样蛋白前体蛋白或其片段、Tau、IAPP、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、FUS蛋白、C9orf72 (9号染色体开放阅读框72)、c9RAN蛋白、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷顿蛋白、降钙素、超氧化物歧化酶、共济失调蛋白、共济失调蛋白1、共济失调蛋白2、共济失调蛋白3、共济失调蛋白7、共济失调蛋白8、共济失调蛋白10、路易体、心房利钠因子、胰岛淀粉样蛋白多肽、胰岛素、载脂蛋白AI、血清淀粉样蛋白A、medin、催乳素、甲状腺素运载蛋白、溶菌酶、 $\beta$ 2微球蛋白、凝溶胶蛋白、角膜上皮蛋白、胱抑素、免疫球蛋白轻链AL、S-IBM蛋白、重复相关非ATG (RAN) 翻译产物、二肽重复 (DPR) 肽、甘氨酸-丙氨酸 (GA) 重复肽、甘氨酸-脯氨酸 (GP) 重复肽、甘氨酸-精氨酸 (GR) 重复肽、脯氨酸-丙氨酸 (PA) 重复肽、泛素和脯氨酸-精氨酸 (PR) 重复肽组成的组；(d) 在免疫细胞上表达的配体和/或蛋白，其中所述配体和/或蛋白选自由PD1/PDL1、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD30、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR-5、CD2、CD5、CD39、CD73和磷脂酰丝氨酸组成的组；以及(e) 在一种或多种肿瘤细胞上表达的蛋白、脂质、多糖或糖脂。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述抗Siglec-5抗体是缀合抗体。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述抗Siglec-5抗体与可检测标记、毒素或治疗剂缀合。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述抗Siglec-5抗体与选自由蓖麻毒素、蓖麻毒素A链、多柔比星、道诺霉素、类美登素、紫杉醇、溴化乙锭、丝裂霉素、依托泊苷、替尼泊苷 (teniposide)、长春新碱、长春花碱、秋水仙碱、二羟基蒽醌二酮 (dihydroxy anthracin dione)、放线菌素、白喉毒素、假单胞菌外毒素 (PE) A、PE40、相思豆毒素、相思豆毒素A链、莫迪素A链、 $\alpha$ -八叠球菌素、白树毒素、米托蒽醌 (mitogellin)、局限曲菌素 (retstrictocin)、酚霉素、依诺霉素、麻疯树毒素 (curicin)、巴豆毒素 (crotonin)、卡奇霉素 (calicheamicin)、石碱花 (Saponaria officinalis) 抑制剂、糖皮质激素、奥瑞他汀、金霉素、钆、钆、康普瑞汀 (combrestatin)、倍癌霉素 (duocarmycin)、尾海兔素 (dolastatin)、cc1065和顺铂组成的组的毒素缀合。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中，所述抗Siglec-5抗体与一种或多种特异性结合致病蛋白的抗体组合使用，所述致病蛋白选自由淀粉样蛋白 $\beta$ 、低聚淀粉样蛋白 $\beta$ 、淀粉样蛋白 $\beta$ 斑、淀粉样蛋白前体蛋白或其片段、Tau、IAPP、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、FUS蛋白、C9orf72 (9号染色体开放阅读框72)、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷顿蛋白、降钙素、超氧化物歧化酶、共济失调蛋白、共济失调蛋白1、共济失调蛋白2、共济失调蛋白3、共济失调蛋白7、共济失调蛋白8、共济失调蛋白10、路易体、心房利钠因子、胰岛淀粉样蛋白多肽、胰岛素、载脂蛋白AI、血清淀粉样蛋白A、medin、催乳素、甲状腺素运载蛋白、溶菌酶、 $\beta$ 2微球蛋白、凝溶胶蛋白、角膜上皮蛋白、胱抑素、免疫球蛋白轻链AL、S-IBM蛋白、重复相关非ATG (RAN) 翻译产物、二肽重复 (DPR) 肽、甘氨酸-丙氨酸 (GA) 重复肽、甘氨酸-脯氨酸 (GP) 重复肽、甘氨酸-精氨酸 (GR) 重复肽、脯氨酸-丙氨酸 (PA) 重复肽、泛素和脯氨酸-精氨酸 (PR) 重复肽及其任意组合组成的组；或者与一种或

多种结合免疫调节蛋白的抗体组合使用,所述免疫调节蛋白选自由以下组成的组:PD1/PDL1、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD30、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR-5、CD2、CD5、CD39、CD73、TREM1、TREM2、CD33、Siglec-6、Siglec-7、Siglec-9、Siglec-10、Siglec-11、磷脂酰丝氨酸、致病核酸、反义GGCCCC(G2C4)(SEQ ID NO:225)重复扩增RNA及其任意组合。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述抗Siglec-5抗体对于人Siglec-5的解离常数( $K_D$ )在约0.42nM至约79nM、约79nM至约61nM、约15nM至约5.3nM或约1.7nM至约0.42nM的范围内,其中所述 $K_D$ 是在大约25℃的温度下测定的。

[0028] 本公开的其它方面涉及分离的核酸,其包含编码任何前述实施方案的抗Siglec-5抗体的核酸序列。本公开的其它方面涉及包含任何前述实施方案的核酸的载体。本公开的其它方面涉及包含任何前述实施方案的载体的分离的宿主细胞。本公开的其它方面涉及产生抗Siglec-5抗体的方法,包括培养任何前述实施方案的宿主细胞,以便产生所述抗Siglec-5抗体。在一些实施方案中,所述方法进一步包括回收由所述宿主细胞产生的所述抗Siglec-5抗体。本公开的其它方面涉及通过任何前述实施方案的方法产生的分离的抗Siglec-5抗体。本公开的其它方面涉及药物组合物,其包含任何前述实施方案的抗Siglec-5抗体和药学上可接受的载体。

[0029] 本公开的其它方面涉及对疾病、病症或损伤进行预防、降低风险或治疗的方法,所述疾病、病症或损伤选自由痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、克雅氏病、常压性脑积水、肌萎缩性侧索硬化症、亨廷顿氏病、tau蛋白病、Nasu-Hakola病、中风、急性创伤、慢性创伤、狼疮、急性和慢性结肠炎、类风湿性关节炎、伤口愈合、克罗恩氏病、炎症性肠病、溃疡性结肠炎、肥胖症、疟疾、特发性震颤、中枢神经系统狼疮、白塞氏病、帕金森病、路易体痴呆、多系统萎缩症、Shy-Drager综合征、进行性核上性麻痹、皮质基底神经节变性、急性播散性脑脊髓炎、肉芽肿性疾病、结节病、衰老性疾病、癫痫发作、脊髓损伤、创伤性脑损伤、年龄相关性黄斑变性、青光眼、视网膜色素变性、视网膜变性、呼吸道感染、脓毒症、眼部感染、全身性感染、狼疮、关节炎、多发性硬化症、低骨密度、骨质疏松症、骨生成、骨硬化性疾病、骨佩吉特氏病和癌症、膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤、真性红细胞增多症、特发性血小板增多症、原发性或特发性骨髓纤维化、原发性或特发性骨髓硬化症、髓源性肿瘤、表达Siglec-5的肿瘤、表达一种或多种Siglec-5配体的肿瘤、甲状腺癌、感染、CNS疱疹、寄生虫感染、锥体虫感染、Cruzi感染、铜绿假单胞菌感染、杜氏利什曼虫感染、B组链球菌感染、空肠弯曲杆菌感染、脑膜炎奈瑟菌感染、I型HIV和嗜血杆菌流感组成的组,所述方法包括对有需要的个体施用治疗有效量的降低Siglec-5的细胞水平的抗Siglec-5抗体。本公开的其它方面涉及降低Siglec-5的细胞水平的抗Siglec-5抗体,其用于疾病、病症或损伤的预防、降低风险或治疗,所述疾病、病症或损伤选自由以下组成的组:痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、克雅氏病、常压性脑积水、肌萎缩性侧索硬化症、亨廷顿氏病、tau蛋白病、Nasu-Hakola病、中风、急性创伤、慢性创伤、狼疮、急性和慢性结肠炎、类风湿性关节炎、伤口愈合、克罗恩氏病、炎症性肠病、溃疡性结肠炎、肥胖症、疟疾、特发性震

颤、中枢神经系统狼疮、白塞氏病、帕金森病、路易体痴呆、多系统萎缩症、Shy-Drager综合征、进行性核上性麻痹、皮质基底神经节变性、急性播散性脑脊髓炎、肉芽肿性病症、结节病、衰老性疾病、癫痫发作、脊髓损伤、创伤性脑损伤、年龄相关性黄斑变性、青光眼、视网膜色素变性、视网膜变性、呼吸道感染、脓毒症、眼部感染、全身性感染、狼疮、关节炎、多发性硬化症、低骨密度、骨质疏松症、骨生成、骨硬化性疾病、骨佩吉特氏病和癌症、膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤、真性红细胞增多症、特发性血小板增多症、原发性或特发性骨髓纤维化、原发性或特发性骨髓硬化症、髓源性肿瘤、表达Siglec-5的肿瘤、表达一种或多种Siglec-5配体的肿瘤、甲状腺癌、感染、CNS疱疹、寄生虫感染、锥体虫感染、Cruzi感染、铜绿假单胞菌感染、杜氏利什曼虫感染、B组链球菌感染、空肠弯曲杆菌感染、脑膜炎奈瑟菌感染、I型HIV和嗜血杆菌流感。本公开的其它方面涉及降低Siglec-5的细胞水平的抗Siglec-5抗体在制备用于疾病、病症或损伤的预防、降低风险或治疗的药物中的用途,所述疾病、病症或损伤选自以下组成的组:痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、克雅氏病、常压性脑积水、肌萎缩性侧索硬化症、亨廷顿氏病、tau蛋白病、Nasu-Hakola病、中风、急性创伤、慢性创伤、狼疮、急性和慢性结肠炎、类风湿性关节炎、伤口愈合、克罗恩氏病、炎症性肠病、溃疡性结肠炎、肥胖症、疟疾、特发性震颤、中枢神经系统狼疮、白塞氏病、帕金森病、路易体痴呆、多系统萎缩症、Shy-Drager综合征、进行性核上性麻痹、皮质基底神经节变性、急性播散性脑脊髓炎、肉芽肿性病症、结节病、衰老性疾病、癫痫发作、脊髓损伤、创伤性脑损伤、年龄相关性黄斑变性、青光眼、视网膜色素变性、视网膜变性、呼吸道感染、脓毒症、眼部感染、全身性感染、狼疮、关节炎、多发性硬化症、低骨密度、骨质疏松症、骨生成、骨硬化性疾病、骨佩吉特氏病和癌症、膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤、真性红细胞增多症、特发性血小板增多症、原发性或特发性骨髓纤维化、原发性或特发性骨髓硬化症、髓源性肿瘤、表达Siglec-5的肿瘤、表达一种或多种Siglec-5配体的肿瘤、甲状腺癌、感染、CNS疱疹、寄生虫感染、锥体虫感染、Cruzi感染、铜绿假单胞菌感染、杜氏利什曼虫感染、B组链球菌感染、空肠弯曲杆菌感染、脑膜炎奈瑟菌感染、I型HIV和嗜血杆菌流感。本公开的其它方面涉及对疾病、病症或损伤进行预防、降低风险或治疗的方法,所述疾病、病症或损伤选自痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症组成的组,所述方法包括对有需要的个体施用治疗有效量的降低Siglec-5的细胞水平的剂。本公开的其它方面涉及降低Siglec-5的细胞水平的抗Siglec-5抗体,其用于疾病、病症或损伤的预防、降低风险或治疗,所述疾病、病症或损伤选自痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症组成的组。本公开的其它方面涉及降低Siglec-5的细胞水平的抗Siglec-5抗体在制备用于疾病、病症或损伤的预防、降低风险或治疗的药物中的用途,所述疾病、病症或损伤选自痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症组成的组。在一些实施方案中,所述抗Siglec-5抗体是任何前述实施方案的抗Siglec-5

抗体。

[0030] 本公开的其它方面涉及降低有需要的个体中的一种或多种细胞上的Siglec-5的细胞水平的方法,包括对所述个体施用治疗有效量的分离的抗Siglec-5抗体。本公开的其它方面涉及分离的抗Siglec-5抗体,其用于降低有需要的个体中的一种或多种细胞上的Siglec-5的细胞水平。本公开的其它方面涉及分离的抗Siglec-5抗体在制备药物中的用途,所述药物用于降低有需要的个体中的一种或多种细胞上的Siglec-5的细胞水平。在一些实施方案中,所述抗Siglec-5抗体是任何前述实施方案的抗Siglec-5抗体。

[0031] 本公开的其它方面涉及在有需要的个体中诱导一种或多种嗜中性粒细胞中的反应性氧物质 (ROS) 产生的方法,包括对所述个体施用治疗有效量的分离的抗Siglec-5抗体。本公开的其它方面涉及分离的抗Siglec-5抗体,其用于在有需要的个体中诱导一种或多种嗜中性粒细胞中的反应性氧物质 (ROS) 产生。本公开的其它方面涉及分离的抗Siglec-5抗体在制备药物中的用途,所述药物用于在有需要的个体中诱导一种或多种嗜中性粒细胞中的反应性氧物质 (ROS) 产生。在一些实施方案中,所述抗Siglec-5抗体是任何前述实施方案的抗Siglec-5抗体。

[0032] 本公开的其它方面涉及在有需要的个体中诱导一种或多种嗜中性粒细胞中的嗜中性粒细胞细胞外陷阱 (NET) 形成的方法,包括对所述个体施用治疗有效量的分离的抗Siglec-5抗体。本公开的其它方面涉及分离的抗Siglec-5抗体,其用于在有需要的个体中诱导一种或多种嗜中性粒细胞中的嗜中性粒细胞细胞外陷阱 (NET) 形成。本公开的其它方面涉及分离的抗Siglec-5抗体在制备药物中的用途,所述药物用于在有需要的个体中诱导一种或多种嗜中性粒细胞中的嗜中性粒细胞细胞外陷阱 (NET) 形成。在一些实施方案中,所述抗Siglec-5抗体是任何前述实施方案的抗Siglec-5抗体。

[0033] 本公开的其它方面涉及在有需要的个体中诱导一种或多种嗜中性粒细胞中的嗜中性粒细胞激活的方法,包括对所述个体施用治疗有效量的分离的抗Siglec-5抗体。本公开的其它方面涉及分离的抗Siglec-5抗体,其用于在有需要的个体中诱导一种或多种嗜中性粒细胞中的嗜中性粒细胞激活。本公开的其它方面涉及分离的抗Siglec-5抗体在制备药物中的用途,所述药物用于在有需要的个体中诱导一种或多种嗜中性粒细胞中的嗜中性粒细胞激活。在一些实施方案中,所述抗Siglec-5抗体是任何前述实施方案的抗Siglec-5抗体。

[0034] 本公开的其它方面涉及在有需要的个体中缓和一种或多种免疫受抑制的嗜中性粒细胞的方法,包括对所述个体施用治疗有效量的分离的抗Siglec-5抗体。本公开的其它方面涉及分离的抗Siglec-5抗体,其用于在有需要的个体中缓和一种或多种免疫受抑制的嗜中性粒细胞。本公开的其它方面涉及分离的抗Siglec-5抗体在制备药物中的用途,所述药物用于在有需要的个体中缓和一种或多种免疫受抑制的嗜中性粒细胞。在一些实施方案中,所述抗Siglec-5抗体是任何前述实施方案的抗Siglec-5抗体。

[0035] 本公开的其它方面涉及在有需要的个体中提高巨噬细胞的吞噬活性的方法,包括对所述个体施用治疗有效量的分离的抗Siglec-5抗体。

[0036] 在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述方法进一步包括对所述个体施用至少一种与抑制性检查点分子特异性结合的抗体和/或一种或多种标准或研究性抗癌疗法。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述至少一种与抑制性检查点

分子特异性结合的抗体与所述抗Siglec-5抗体组合施用。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述至少一种与抑制性检查点分子特异性结合的抗体选自抗PD-L1抗体、抗CTLA4抗体、抗PD-L2抗体、抗PD-1抗体、抗B7-H3抗体、抗B7-H4抗体和抗HVEM抗体、抗B和T淋巴细胞减毒剂(BTLA)抗体、抗杀伤细胞抑制性受体(KIR)抗体、抗GAL9抗体、抗TIM-1抗体、抗TIM3抗体、抗TIM-4抗体、抗A2AR抗体、抗CD39抗体、抗CD73抗体、抗LAG-3抗体、抗磷脂酰丝氨酸抗体、抗CD27抗体、抗CD30抗体、抗TNF $\alpha$ 抗体、抗CD33抗体、抗Siglec-6抗体、抗Siglec-7抗体、抗Siglec-9抗体、抗Siglec-10抗体、抗Siglec-11抗体、拮抗性抗TREM1抗体、拮抗性抗TREM2抗体及其任意组合组成的组。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述一种或多种标准或研究性抗癌疗法选自放射疗法、细胞毒性化学疗法、靶向疗法、伊马替尼疗法、曲妥珠单抗疗法、依那西普疗法、过继细胞转移(ACT)疗法、嵌合抗原受体T细胞转移(CAR-T)疗法、疫苗疗法和细胞因子疗法组成的组。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述方法进一步包括对所述个体施用至少一种与抑制性细胞因子特异性结合的抗体。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述至少一种与抑制性细胞因子特异性结合的抗体与所述抗Siglec-5抗体组合施用。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述至少一种与抑制性细胞因子特异性结合的抗体选自抗CCL2抗体、抗CSF-1抗体、抗IL-2抗体及其任意组合组成的组。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述方法进一步包括对所述个体施用至少一种与刺激性检查点蛋白特异性结合的激动性抗体。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述至少一种与刺激性检查点蛋白特异性结合的激动性抗体与所述抗Siglec-5抗体组合施用。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述至少一种与刺激性检查点蛋白特异性结合的激动性抗体选自激动剂抗CD40抗体、激动剂抗OX40抗体、激动剂抗ICOS抗体、激动剂抗CD28抗体、激动性抗TREM1抗体、激动性抗TREM2抗体、激动剂抗CD137/4-1BB抗体、激动剂抗CD27抗体、激动剂抗糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白GITR抗体、激动剂抗BTLA抗体、激动剂HVEM抗体、激动剂抗CD30抗体、激动剂抗CD2抗体、激动剂抗CD5抗体及其任意组合组成的组。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述方法进一步包括对所述个体施用至少一种刺激性细胞因子。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述至少一种刺激性细胞因子与所述抗Siglec-5抗体组合施用。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述至少一种刺激性细胞因子选自IFN- $\gamma$ 、IFN- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、CRP、IL-20家族成员、LIF、IFN- $\gamma$ 、OSM、CNTF、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18、IL-23、CXCL10、IL-33、MCP-1、MIP-1- $\beta$ 及其任意组合组成的组。

## 附图说明

[0037] 图1A显示人Siglec-5(SEQ ID NO:1)与食蟹猴Siglec-5(SEQ ID NO:2)之间的氨基酸序列比对。星号(“\*”)表示具有单个完全保守残基的位置;冒号(“:”)表示强相似特性的基团之间的保守性-在Gonnet PAM 250矩阵中得分>0.5;且句点(“.”)表示弱相似特性的基团之间的保守性-在Gonnet PAM 250矩阵中得分 $\leq$ 0.5。图1B显示人Siglec-5(SEQ ID NO:1)与人Siglec-14(SEQ ID NO:3)之间的氨基酸比对。星号(“\*”)表示具有单个完全保守残基的位置;冒号(“:”)表示强相似特性的基团之间的保守性-在Gonnet PAM 250矩阵中得分>0.5;且句点(“.”)表示弱相似特性的基团之间的保守性-在Gonnet PAM 250矩阵中得分



$\leq 0.5$ 。

[0038] 图2A显示与表达重组人Siglec-5或重组人Siglec-14的CHO细胞结合的抗Siglec-5抗体的FACS分析的结果。图2B显示与同种型对照相比,与原代人嗜中性粒细胞结合的抗Siglec-5-特异性抗体的FACS分析的结果。在图2A和在图2B中,抗体1A5识别人Siglec-5和人Siglec-14两者。

[0039] 图3显示的结果表明,本公开的抗Siglec-5抗体不阻断红细胞上的固定Siglec-5-Fc蛋白与Siglec-5配体之间的相互作用。

[0040] 图4A显示CHO-S5转染子细胞上的细胞表面Siglec-5受体的抗Siglec-5抗体依赖性下调。图4B显示来自Siglec-14无效供体的人原代B细胞上的细胞表面Siglec-5受体的Siglec-5抗体依赖性下调。图4C显示在抗Siglec-5特异性抗体存在下Siglec-5在分化的人巨噬细胞M0、M1和M2a中的下调。

[0041] 图5显示在抗Siglec-5抗体存在下在人原代嗜中性粒细胞中诱导反应性氧物质(ROS)产生。

[0042] 图6显示与抗Siglec-5抗体一起温育的人原代嗜中性粒细胞形成嗜中性粒细胞细胞外陷阱(NET)。

[0043] 图7显示在抗Siglec-5特异性抗体存在下体外分化的人巨噬细胞对靶细胞的吞噬作用。

[0044] 图8显示Siglec-5在血液和分离自人Siglec-5转基因的小鼠的肿瘤中的免疫细胞上的表达。

[0045] 图9显示本公开的抗Siglec-5抗体结合表达重组人Siglec-5的CHO细胞(CHO-S hSiglec-5),但不结合不表达Siglec-5的亲代CHO细胞(CHO-S亲代)或表达重组人Siglec-14的CHO细胞(CHO-ShSiglec-14)。如各图的x轴所示,将CHO细胞与浓度增加的抗Siglec-5抗体一起温育。然后通过FACS测量抗Siglec-5抗体与CHO细胞的表面的结合。相对于hIgG1同种型对照抗体,y轴提供每种所示抗Siglec-5抗体与CHO细胞的表面的结合。S5-174-H2L1是指抗体S5-174-H3;S5-174-H3L1是指抗体S5-174-H5;S5-174-H3L2是指抗体S5-174-H6;S5-174-H4L1是指抗体S5-174-H7;S5-174-H4L2是指抗体S5-174-H8;S5-G03-H2L1是指抗体S5-G-03-H4;S5-G03-H2L2是指抗体S5-G-03-H5;S5-G03-H3L1是指抗体S5-G-03-H7;S5-G03-H3L2是指抗体S5-G-03-H8;且S5-G03-H3L3是指抗体S5-G-03-H9。

[0046] 图10显示本公开的抗Siglec-5抗体在体外下调Siglec-5的细胞表面水平。如各图的x轴所示,将表达Siglec-5的CHO细胞(CHO-S5)与浓度增加的抗Siglec-5抗体一起温育16-24小时。然后通过FACS分析测量Siglec-5在细胞的表面上的表达。剩余Siglec-5的细胞表面表达百分比提供在图的y轴上(%对照的hSiglec-5),并根据下式进行计算:(在测试抗体存在下1A5-PE的MFI)/(在不存在测试抗体情况下1A5-PE的MFI)\*100%,其中MFI是平均荧光强度,1A5-PE是指抗Siglec-5-PE克隆1A5(Biolegend),且测试抗体是指所测试的本公开的抗Siglec-5抗体。hIgG1是指同种型对照抗体;S5-174-H2L1是指抗体S5-174-H3;S5-174-H3L1是指抗体S5-174-H5;S5-174-H3L2是指抗体S5-174-H6;S5-174-H4L1是指抗体S5-174-H7;S5-174-H4L2是指抗体S5-174-H8;S5-G03-H2L1是指抗体S5-G-03-H4;S5-G03-H2L2是指抗体S5-G-03-H5;S5-G03-H3L1是指抗体S5-G-03-H7;S5-G03-H3L2是指抗体S5-G-03-H8;且而S5-G03-H3L3是指抗体S5-G-03-H9。

[0047] 图11显示本公开的抗Siglec-5抗体增加原代人髓源性抑制细胞中的CD86表达。如图的x轴所示(最高10 $\mu$ g/mL),将得自两个人血液供体(供体849和供体851)的人髓源性抑制细胞(MDSC)用浓度增加的抗Siglec-5抗体处理48小时。然后使用抗CD86(IT2.2)抗体,通过FACS定量CD86在MDSC上的表达。图的y轴提供中值CD86平均荧光强度(MFI)。mIgG1和hIgG1是指同种型对照抗体;S5-174-H3L2是指抗体S5-174-H6;S5-G03-H3L1是指抗体S5-G-03-H7;S5-7A5.3和S5-8A1.3分别指抗体7A5和8A1。

[0048] 图12显示本公开的抗Siglec-5抗体增加原代人髓源性抑制细胞中的CCL4表达。如图的x轴所示(最高10 $\mu$ g/mL),将得自两个人血液供体(供体849和供体851)的人髓源性抑制细胞(MDSC)用浓度增加的抗Siglec-5抗体处理。评估了48小时抗体处理后条件培养基的CCL4表达的变化。根据制造商的方案使用Quantikine ELISA试剂盒(R&D Systems)或通过Human Chemokine Legendplex(Biolegend)测量CCL4的表达水平,并提供在y轴上(pg/ml)。mIgG1和hIgG1是指同种型对照抗体;S5-174-H3L2是指抗体S5-174-H6;S5-G03-H3L1是指抗体S5-G-03-H7;S5-7A5.3和S5-8A1.3分别指抗体7A5和8A1。

[0049] 图13显示本公开的抗Siglec-5抗体增加原代人髓源性抑制细胞中的CD86表达。x轴指示将得自两个人血液供体(供体910和供体911)的人髓源性抑制细胞(MDSC)用抗Siglec-5抗体(10 $\mu$ g/mL)处理48小时。也用来自供体910的MDSC进行无抗体处理的对照处理(“无处理”)。然后使用抗CD86(IT2.2)抗体,通过FACS定量CD86在MDSC上的表达。图的y轴提供中值CD86平均荧光强度(MFI)。mIgG1、mIgG2a和hIgG1是指同种型对照抗体;S5-7A5.3和S5-8A1.3分别指抗体7A5和8A1;S5-1A5是结合Siglec-5和Siglec-14两者(BioLegend)的抗体。

[0050] 图14显示本公开的抗Siglec-5抗体增加原代人髓源性抑制细胞中的CCL4表达。x轴指示将得自两个人血液供体(供体910和供体911)的人髓源性抑制细胞(MDSC)用抗Siglec-5抗体(10 $\mu$ g/mL)处理48小时。也进行无抗体处理的对照处理(“无处理”)。评估了48小时抗体处理后条件培养基的CCL4表达的变化。根据制造商的方案使用Quantikine ELISA试剂盒(R&D Systems)或通过Human Chemokine Legendplex(Biolegend)测量CCL4的表达水平,并提供在y轴上(pg/ml)。mIgG1、mIgG2a和hIgG1是指同种型对照抗体;S5-7A5.3和S5-8A1.3分别指抗体7A5和8A1;S5-1A5是结合Siglec-5和Siglec-14两者(BioLegend)的抗体。

## 具体实施方式

[0051] 一般技术

[0052] 本文描述或引用的技术和程序通常是本领域技术人员采用常规方法很好理解和通常采用的,比如以下文献中描述的广泛采用的方法: Sambrook等人, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*第3版(2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel等人编, (2003)); *Methods in Enzymology*系列 (Academic Press, Inc.): PCR 2: A Practical Approach (M.J. MacPherson, B.D. Hames和G.R. Taylor编 (1995))、Harlow和Lane编 (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, and *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney编 (1987)); *Oligonucleotide Synthesis* (M.J. Gait编, 1984); *Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Cell Biology: A Laboratory Notebook* (J.E. Cellis编, 1998) Academic

Press;Animal Cell Culture (R.I.Freshney) 编,1987);Introduction to Cell and Tissue Culture (J.P.Mather和P.E.Roberts,1998)Plenum Press;Cell and Tissue Culture:Laboratory Procedures (A.Doyle、J.B.Griffiths和D.G.Newell编,1993-8) J.Wiley and Sons;Handbook of Experimental Immunology (D.M.Weir和C.C.Blackwell 编);Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M.Miller和M.P.Calos编,1987); PCR:The Polymerase Chain Reaction, (Mullis等人编,1994);Current Protocols in Immunology (J.E.Coligan等人编,1991);Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons,1999);Immunobiology (C.A.Janeway和P.Travers,1997);Antibodies (P.Finch, 1997);Antibodies:A Practical Approach (D.Catty. 编, IRL Press,1988-1989); Monoclonal Antibodies:A Practical Approach (P.Shepherd和C.Dean编,Oxford University Press,2000);Using Antibodies:A Laboratory Manual (E.Harlow和D.Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press,1999);The Antibodies (M.Zanetti和 J.D.Capra编,Harwood Academic Publishers,1995);以及Cancer:Principles and Practice of Oncology (V.T.DeVita等人编,J.B.Lippincott Company,1993)。

[0053] 定义

[0054] 如本文所用,术语“预防”包括针对个体中特定疾病、病症或疾患的发生或复发提供预防。个体可能倾向于易患特定的疾病、病症或疾患,或者有发展成这种疾病、病症或疾患的风险,但尚未被诊断患有所述疾病、病症或疾患。

[0055] 如本文所用,有发展成特定疾病、病症或疾患“风险”的个体可具有或不具有可检测的疾病或疾病症状,并且在本文所述的治疗方法之前可显示出或不显示出可检测的疾病或疾病症状。“有风险”表示个体具有一种或多种风险因素,即与本领域中已知的发展成特定疾病、病症或疾患相关的可测量参数。具有这些风险因素中的一种或多种的个体比没有这些风险因素中的一种或多种的个体更有可能发展成特定的疾病、病症或疾患。

[0056] 如本文所用,术语“治疗”是指设计成在临床病理过程期间改变所治疗的个体的自然病程的临床干预。治疗的理想效果包括使特定疾病、病症或疾患的进展速度降低、病理状态减轻或缓和以及预后缓解或改善。如果例如与特定疾病、病症或疾患相关的一种或多种症状减轻或消除,则个体被成功地“治疗”。

[0057] “有效量”是指至少在剂量和持续时间段上有效达到所需治疗或预防结果所必需的量。可在一次或多次施用中提供有效量。本文的有效量可根据多种因素而变化,如个体的疾病状态、年龄、性别和体重,以及治疗在个体中引起所需反应的能力。有效量也是治疗有益效果超过治疗的任何毒性或不利效果的量。对于预防用途,有益或期望的结果包括多种结果,如消除或降低疾病的风险,减轻疾病的严重程度或延迟疾病的发作,包括疾病的生物化学、组织学和/或行为症状、其并发症和在疾病发展期间呈现的中间病理表型。对于治疗用途,有益或期望的结果包括多种临床结果,如减轻由疾病引起的一种或多种症状、提高罹患疾病的患者的生活质量、减少治疗疾病所需的其它药物的剂量、诸如经由靶向增强另一种药物的效果、延迟疾病的进展和/或延长生存期。药物、化合物或药物组合物的有效量是足以直接或间接实现预防性或治疗性处理的量。照临床背景下的理解来看,药物、化合物或药物组合物的有效量可以与或不与另一种药物、化合物或药物组合物联合实现。因此,可以在施用一种或多种治疗剂的背景下考虑“有效量”,并且可以考虑以有效量给予单一剂,如

果与一种或多种其它剂联合可以获得或获得期望的结果的话。

[0058] “治疗有效量”是至少实现特定疾病、病症或疾患的可测量的改善所需的最小浓度。本文的治疗有效量可根据多种因素而变化,如患者的疾病状态、年龄、性别和体重,以及Siglec-5蛋白拮抗剂在个体中引起所需反应的能力。治疗有效量也是治疗有益效果超过Siglec-5蛋白拮抗剂的任何毒性或不利效果的量。

[0059] 如本文所用,与另一种化合物或组合物“联合”施用包括同时施用和/或在不同时间施用。联合施用还涵盖作为共制剂施用或作为单独的组合物施用,包括以不同的给药频率或间隔,以及采用相同的施用途径或不同的施用途径。

[0060] 出于治疗、预防或降低风险的目的,“个体”是指被归类为哺乳动物的任何动物,包括人、家畜和耕畜,以及动物园动物、竞技动物或宠物动物,如狗、马、兔、牛、猪、仓鼠、沙鼠、小鼠、雪貂、大鼠、猫等。优选地,个体是人。

[0061] 术语“免疫球蛋白”(Ig)在本文中可与“抗体”互换使用。术语“抗体”在本文中以最广泛的含义使用,具体涵盖单克隆抗体、多克隆抗体、由至少两种完整抗体形成的多特异性抗体(例如双特异性抗体),以及抗体片段,只要它们表现出所需的生物活性即可。

[0062] 基本的4链抗体单位是由两条相同的轻(L)链和两条相同的重(H)链组成的异四聚体糖蛋白。 $V_H$ 和 $V_L$ 在一起配对形成单个抗原结合位点。关于不同类抗体的结构和特性,参见例如Basic and Clinical Immunology,第8版,Daniel P.Stites、Abba I.Terr和Tristram G.Parslow(编),Appleton&Lange,Norwalk,CT,1994,第71页和第6章。

[0063] 来自任何脊椎动物物种的L链可基于它们的恒定结构域的氨基酸序列归属于被称为卡帕(“ $\kappa$ ”)和兰布达(“ $\lambda$ ”)的两种明显不同的类型之一。免疫球蛋白可根据它们的重链(CH)的恒定结构域的氨基酸序列归属于不同的类别或同种型。有五类免疫球蛋白:分别具有命名为阿尔法(“ $\alpha$ ”)、德耳塔(“ $\delta$ ”)、伊普西龙(“ $\epsilon$ ”)、伽马(“ $\gamma$ ”)和缪(“ $\mu$ ”)的重链的IgA、IgD、IgE、IgG和IgM。基于CH序列和功能的相对微小差异, $\gamma$ 和 $\alpha$ 类进一步分为亚类(同种型),例如人表达以下亚类:IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。不同类免疫球蛋白的亚单位结构和三维构型是熟知的,并且在例如Abbas等人,Cellular and Molecular Immunology,第4版(W.B.Saunders Co.,2000)中有一般描述。

[0064] “天然抗体”通常是由两条相同的轻(L)链和两条相同的重(H)链组成的约150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白。每条轻链通过一个共价二硫键与重链连接,而二硫键的数目在不同免疫球蛋白同种型的重链间不同。每条重链和轻链还具有规则间隔的链内二硫桥。每条重链在一端具有可变结构域( $V_H$ ),接着是若干恒定结构域。每条轻链在一端具有可变结构域( $V_L$ ),在其另一端具有恒定结构域;轻链的恒定结构域与重链的第一恒定结构域对齐,且轻链可变结构域与重链的可变结构域对齐。据信特定的氨基酸残基在轻链可变结构域与重链可变结构域之间形成界面。

[0065] “分离的”抗体如本公开的抗Siglec-5抗体是已确认、分离和/或回收自其产生环境(例如,天然或重组)的组分的抗体。优选地,分离的多肽不与来自其产生环境的所有其它污染物组分缔合。来自其产生环境的污染物组分如来源于重组转染细胞的组分是通常会干扰抗体的研究、诊断或治疗用途的物质,并且可包括酶、激素及其它蛋白类或非蛋白类溶质。在优选的实施方案中,多肽将被纯化:(1)纯化至通过例如Lowry法测定大于95重量%的抗体,并且在一些实施方案中纯化至大于99重量%;(2)通过使用旋转杯测序仪,达到足以

获得至少15个残基的N末端或内部氨基酸序列的程度,或(3)在非还原或还原条件下采用考马斯蓝染色或优选银染色,通过SDS-PAGE测定达到均一。分离的抗体包括重组T细胞内的原位抗体,因为抗体的自然环境的至少一种组分将不存在。然而,通常将通过至少一个纯化步骤制备分离的多肽或抗体。

[0066] 抗体如本公开的抗Siglec-5抗体的“可变区”或“可变结构域”是指抗体的重链或轻链的氨基末端结构域。重链和轻链的可变结构域分别可以被称为“V<sub>H</sub>”和“V<sub>L</sub>”。这些结构域通常是抗体的最为可变的部位(相对于同类的其它抗体),并且含有抗原结合位点。

[0067] 术语“可变”是指这样的事实,即可变结构域的某些区段在抗体如本公开的抗Siglec-5抗体间序列差异很大。V结构域介导抗原结合,并限定特定抗体对其特定抗原的特异性。然而,可变性在可变结构域的整体跨度上并不是均匀分布的。而是,其集中在轻链和重链可变结构域中被称为高变区(HVR)的三个区段中。可变结构域的更高度保守的部分被称为构架区(FR)。天然重链和轻链的可变结构域各自包含四个FR区,主要采用 $\beta$ -折叠构型,由形成环的三个HVR连接,所述环连接 $\beta$ -折叠结构,且在一些情况下形成 $\beta$ -折叠结构的一部分。每条链中的HVR通过FR区紧密地保持在一起,并且与来自另一条链的HVR一起促成抗体的抗原结合位点的形成(参见Kabat等人,Sequences of Immunological Interest,第五版,National Institute of Health,Bethesda,MD(1991))。恒定结构域不直接参与抗体与抗原的结合,但表现出各种效应子功能,如抗体参与抗体依赖性细胞毒性。

[0068] 如本文所用的术语“单克隆抗体”是指得自基本上均一的抗体群体的抗体,如本公开的抗Siglec-5抗体,即除了可能少量存在的可能自然发生的突变和/或翻译后修饰(例如,异构化、酰胺化)之外,构成所述群体的个别抗体是相同的。针对一个或多个抗原位点,单克隆抗体具有高度特异性。在一些实施方案中,本公开的单克隆抗体可以是双特异性抗体。与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相反,每种单克隆抗体针对一个或多个抗原位点上的单一决定簇。修饰词“单克隆”表示抗体的特征得自基本上均一的抗体群体,并且不应被解释为需要通过任何特定的方法产生抗体。例如,可通过多种技术制备要根据本公开使用的单克隆抗体,包括例如噬菌体展示技术(参见例如,Clackson等人,Nature,352:624-628(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.222:581-597(1992);Sidhu等人,J.Mol.Biol.338(2):299-310(2004);Lee等人,J.Mol.Biol.340(5):1073-1093(2004);Fellouse,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 101(34):12467-472(2004);和Lee等人,J.Immunol.Methods 284(1-2):119-132(2004)、杂交瘤方法(例如,Kohler和Milstein.,Nature,256:495-97(1975);Hongo等人,Hybridoma,14(3):253-260(1995)、Harlow等人,Antibodies:A Laboratory Manual,(Cold Spring Harbor Laboratory Press,第2版,1988);Hammerling等人:Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681(Elsevier,N.Y.,1981))、重组DNA方法(参见例如,美国专利第4,816,567号)以及在具有部分或全部人免疫球蛋白基因座或编码人免疫球蛋白序列的基因的动物中产生人或人样抗体的技术(参见例如,WO 1998/24893;WO 1996/34096;WO 1996/33735;WO 1991/10741;Jakobovits等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 90:2551(1993);Jakobovits等人,Nature 362:255-258(1993);Bruggemann等人,Year in Immunol.7:33(1993);美国专利第5,545,807号;第5,545,806号;第5,569,825号;第5,625,126号;第5,633,425号;和第5,661,016号;Marks等人,Bio/Technology 10:779-783(1992);Lonberg等人,Nature 368:856-859

(1994);Morrison,Nature 368:812-813(1994);Fishwild等人,Nature Biotechnol.14:845-851(1996);Neuberger,Nature Biotechnol.14:826(1996);及Lonberg和Huszar,Intern.Rev.Immunol.13:65-93(1995)。

[0069] 术语“全长抗体”、“完整抗体”或“全抗体”可互换使用,是指呈其与抗体片段相反的基本上完整形式的抗体,如本公开的抗Siglec-5抗体。具体地,全抗体包括具有包括Fc区的重链和轻链的抗体。恒定结构域可以是天然序列恒定结构域(例如,人天然序列恒定结构域)或其氨基酸序列变体。在一些情况下,完整抗体可具有一种或多种效应子功能。

[0070] “抗体片段”包含完整抗体的一部分,优选完整抗体的抗原结合和/或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>和Fv片段;双抗体;线性抗体(参见美国专利5,641,870,实施例2;Zapata等人,Protein Eng.8(10):1057-1062(1995));单链抗体分子和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0071] 抗体如本公开的抗Siglec-5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”片段和残留“Fc”片段,名称反映了易于结晶的能力。Fab片段由整个L链连同H链的可变区结构域(V<sub>H</sub>)和一条重链的第一恒定结构域(C<sub>H1</sub>)组成。每个Fab片段对于抗原结合是单价的,即其具有单个抗原结合位点。抗体的胃蛋白酶处理产生单个大F(ab')<sub>2</sub>片段,其大致对应于具有不同抗原结合活性的两个二硫键连接的Fab片段,并且仍然能够交联抗原。Fab'片段与Fab片段的区别在于在C<sub>H1</sub>结构域的羧基末端具有几个另外的残基,包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸。本文将其中恒定结构域的半胱氨酸残基带有游离巯基的Fab'称为Fab'-SH。F(ab')<sub>2</sub>抗体片段最初作为Fab'片段对产生,它们之间具有铰链半胱氨酸。抗体片段的其它化学偶联也是已知的。

[0072] Fc片段包含通过二硫键保持在一起的两条H链的羧基末端部分。抗体的效应子功能由Fc区中的序列决定,该区也由见于某些类型的细胞上的Fc受体(FcR)识别。

[0073] “Fv”是含有完整的抗原识别和结合位点的最小抗体片段。此片段由紧密非共价缔合的一个重链可变区结构域和一个轻链可变区结构域的二聚体组成。由这两个结构域折叠产生六个高变环(来自H和L链各3个环),它们为抗原结合贡献氨基酸残基,并对抗体赋予抗原结合特异性。然而,即使单个可变结构域(或仅包含三个对抗原具有特异性的HVR的Fv的一半)也具有识别和结合抗原的能力,尽管亲和力比完整结合位点低。

[0074] “单链Fv”也简称为“sFv”或“scFv”,是包含连接到单一多肽链中的V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>抗体结构域的抗体片段。优选地,sFv多肽在V<sub>H</sub>与V<sub>L</sub>结构域之间进一步包含多肽接头,其使得sFv能够形成抗原结合所需的结构。关于sFv的综述,参见Pluckthun的The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷,Rosenburg和Moore编,Springer-Verlag,New York,第269-315页(1994)。

[0075] 抗体如本公开的抗Siglec-5抗体的“功能片段”包含完整抗体的一部分,通常包括完整抗体的抗原结合区或可变区或抗体的保留或具有修饰的FcR结合能力的F区。抗体片段的实例包括线性抗体、单链抗体分子和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0076] 术语“双抗体”是通过如下方式制备的小抗体片段,构建在V<sub>H</sub>与V<sub>L</sub>结构域之间具有短接头(约5-10个)残基的sFv片段(参见前段),如此实现V结构域的链间而非链内配对,从而产生二价片段,即具有两个抗原结合位点的片段。双特异性双抗体是两个“交叉”sFv片段的异二聚体,其中两个抗体的V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>结构域存在于不同的多肽链上。在例如EP 404,097;WO

93/11161;Hollinger人等,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 90:6444-48(1993)中更详细地描述了双抗体。

[0077] 如本文所用,“嵌合抗体”是指这样的抗体(免疫球蛋白),如本公开的抗Siglec-5抗体,其中重链和/或轻链的一部分与来源于特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而链的其余部分与来源于另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,以及这类抗体的片段,只要它们表现出所需的生物活性(美国专利第4,816,567号;Morrison等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA,81:6851-55(1984))。本文所关注的嵌合抗体包括**PRIMATIZED**<sup>®</sup>抗体,其中抗体的抗原结合区来源于通过例如用所关注的抗原使猕猴免疫产生的抗体。如本文所用,所用的“人源化抗体”是“嵌合抗体”的子集。

[0078] 非人(例如,鼠)抗体如本公开的抗Siglec-5抗体的“人源化”形式是含有来源于非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合抗体。在一个实施方案中,人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体的HVR的残基被来自具有所需特异性、亲和力和/或能力的非人物种(供体抗体)如小鼠、大鼠、兔或非人灵长类动物的HVR的残基替换。在一些情况下,人免疫球蛋白的FR残基被相应的非人残基替换。此外,人源化抗体可包含不见于受体抗体或供体抗体的残基。可进行这些修饰以进一步改善抗体性能,如结合亲和力。一般来说,人源化抗体将包含基本上所有的至少一个且通常两个可变结构域,其中所有或基本上所有的高变环对应于非人免疫球蛋白序列的高变环,并且所有或基本上所有的FR区是人免疫球蛋白序列的FR区,尽管FR区可包括一个或多个提高抗体性能(如结合亲和力、异构化、免疫原性等)的个别FR残基取代。FR中的这些氨基酸取代的数目在H链中通常不超过6个,且在L链中不超过3个。人源化抗体任选将还包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常是人免疫球蛋白的恒定区。关于进一步的细节,参见例如Jones等人,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature 332:323-329(1988);和Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。另外参见例如,Vaswani和Hamilton,Ann.Allergy,Asthma&Immunol.1:105-115(1998);Harris,Biochem.Soc.Transactions 23:1035-1038(1995);Hurle和Gross,Curr.Op.Biotech.5:428-433(1994);以及美国专利第6,982,321号和第7,087,409号。

[0079] “人抗体”是具有对应于由人产生和/或采用如本文公开的制备人抗体的任何技术制备的抗体如本公开的抗Siglec-5抗体的氨基酸序列的抗体。这种人抗体的定义特别排除了包含非人抗原结合残基的人源化抗体。可采用本领域中已知的各种技术产生人抗体,包括噬菌体展示文库。Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.,227:381(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.,222:581(1991)。Cole等人,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,第77页(1985);Boerner等人,J.Immunol.,147(1):86-95(1991)中描述的方法也可用于制备人单克隆抗体。另外参见van Dijk and van de Winkel,Curr.Opin.Pharmacol.5:368-74(2001)。可通过将抗原施用于转基因动物来制备人抗体,所述转基因动物已经被修饰以响应于抗原攻击而产生这类抗体,但是其内源性基因座已经被禁用,例如经免疫的异种小鼠(关于XENOMOUSE<sup>™</sup>技术参见例如美国专利第6,075,181号和第6,150,584号)。关于经由人B细胞杂交瘤技术产生的人抗体,另外参见例如Li等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA,103:3557-3562(2006)。

[0080] 术语“高变区”、“HVR”或“HV”当在本文中使用是指抗体可变结构域的区域,如本

公开的抗Siglec-5抗体的抗体可变结构域的区域,该区域在序列上是高变的,和/或形成结构上限定的环。通常,抗体包含六个HVR;三个在VH中(H1、H2、H3),且三个在VL中(L1、L2、L3)。在天然抗体中,H3和L3显示出六个HVR中最大的多样性,且H3特别被认为在对抗体赋予良好特异性方面发挥独特作用。参见例如,Xu等人,Immunity 13:37-45(2000);Johnson和Wu,Methods in Molecular Biology 248:1-25(Lo编,Human Press,Totowa,NJ,2003)。实际上,仅由重链组成的天然存在的骆驼抗体在没有轻链的情况下是功能性的和稳定的。参见例如,Hamers-Casterman等人,Nature 363:446-448(1993)和Sheriff等人,Nature Struct.Biol.3:733-736(1996)。

[0081] 许多HVR描述都在使用中,并且涵盖在本文中。EU或Kabat互补决定区(CDR)的HVR是基于序列变异性,并且是最常用的(Kabat等人,同上)。而Chothia是指结构环的位置(Chothia和Lesk J.Mol.Biol.196:901-917(1987))。AbM HVR代表EU或Kabat CDR与Chothia结构环之间的折衷,并被Oxford Molecular's AbM抗体建模软件使用。“接触”HVR是基于对可得到的复杂晶体结构的分析。下面示出了来自这些HVR中的每一者的残基。

	环	Kabat	AbM	Chothia	接触
[0082]	L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
	L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
	L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
	H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (Kabat 编号方式)
	H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (Chothia 编号方式)
	H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
	H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0083] HVR可包含如下的“延伸HVR”:VL中的24-36或24-34(L1)、46-56或50-56(L2)和89-97或89-96(L3);以及VH中的26-35(H1)、50-65或49-65(优选实施方案)(H2)和93-102、94-102或95-102(H3)。对于这些延伸HVR定义中的每一者,可变结构域残基根据Kabat等人,同上编号。

[0084] “框架”或“FR”残基是除了如本文所定义的HVR残基以外的那些可变结构域残基。

[0085] 如本文所用的“受体人框架”是包含来源于人免疫球蛋白框架或人共有框架的VL或VH框架的氨基酸序列的框架。“来源于”人免疫球蛋白框架或人共有框架的受体人框架可包含其相同的氨基酸序列,或者其可含有预先存在的氨基酸序列变化。在一些实施方案中,预先存在的氨基酸变化的数目为10个或更少、9个或更少、8个或更少、7个或更少、6个或更少、5个或更少、4个或更少、3个或更少或者2个或更少。在VH中存在着预先存在的氨基酸变化的情况下,优选这些变化仅出现在71H、73H和78H中的三个、两个或一个位置处;例如这些位置处的氨基酸残基可以是71A、73T和/或78A。在一个实施方案中,VL受体人框架在序列上与VL人免疫球蛋白框架序列或人共有框架序列相同。

[0086] “人共有框架”是在人免疫球蛋白VL或VH框架序列的选择中代表最常见的氨基酸残基的框架。一般地,人免疫球蛋白VL或VH序列的选择来自可变结构域序列的亚组。一般地,序列的亚组是如Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991)中的亚组。对于VL,实例包括,亚组可以是亚组κI、κII、κIII或κIV,如Kabat等人,同上中所述。另



外,对于VH,亚组可以是亚组I、亚组II或亚组III,如Kabat等人,同上中所述。

[0087] 在例如本公开的抗Siglec-5抗体的指定位置处的“氨基酸修饰”是指指定残基的取代或缺失,或邻近指定残基插入至少一个氨基酸残基。与指定残基“相邻”的插入意指插入其一至两个残基之内。插入可以在指定残基的N末端或C末端。本文优选的氨基酸修饰是取代。

[0088] “亲和力成熟”抗体如本公开的抗Siglec-5抗体是在其一个或多个HVR中具有一个或多个改变的抗体,与不具有这些改变的亲本抗体相比,所述改变导致抗体对抗原的亲和力提高。在一个实施方案中,亲和力成熟抗体对靶抗原具有纳摩尔或甚至皮摩尔的亲和力。通过本领域中已知的方法产生亲和力成熟抗体。例如,Marks等人,Bio/Technology 10:779-783 (1992) 描述了通过VH和VL结构域改组进行的亲和力成熟。HVR和/或框架残基的随机诱变描述于例如以下文献中:Barbas等人,Proc Nat.Acad.Sci.USA 91:3809-3813 (1994);Schier等人,Gene 169:147-155 (1995);Yelton等人,J.Immunol.155:1994-2004 (1995);Jackson等人,J.Immunol.154(7):3310-9 (1995);和Hawkins等人,J.Mol.Biol.226:889-896(1992)。

[0089] 如本文所用,术语“特异性识别”或“特异性结合”是指可测量且可再现的相互作用,如靶标与抗体如本公开的抗Siglec-5抗体之间的吸引或结合,其在包括生物分子在内的非均一分子群体存在下决定靶标的存在。例如,特异性地或优先地与靶标或表位结合的抗体如本公开的抗Siglec-5抗体是这样的抗体,其结合此靶标或表位比其与其它靶标或靶标的其它表位结合亲和力更大、亲合力更大、更容易和/或持续时间更长。通过阅读此定义还要理解的是,特异性地或优先地与第一靶标结合的抗体(或部分)可以或可以不特异性地或优先地与第二靶标结合。如此,“特异性结合”或“优先结合”不一定要求(虽然其可以包括)排他性结合。与靶标特异性结合的抗体的结合常数可以为至少约 $10^3\text{M}^{-1}$ 或 $10^4\text{M}^{-1}$ ,有时为约 $10^5\text{M}^{-1}$ 或 $10^6\text{M}^{-1}$ ,在其它情况下为约 $10^6\text{M}^{-1}$ 或 $10^7\text{M}^{-1}$ 、约 $10^8\text{M}^{-1}$ 至 $10^9\text{M}^{-1}$ 或约 $10^{10}\text{M}^{-1}$ 至 $10^{11}\text{M}^{-1}$ 或更高。多种免疫测定形式可用于选择可与特定蛋白质发生特异性免疫反应的抗体。例如,固相ELISA免疫测定常规地用于选择可与蛋白质发生特异性免疫反应的单克隆抗体。关于可用于测定特异性免疫反应性的免疫测定形式和条件的描述,参见例如Harlow和Lane(1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Publications, New York。

[0090] 如本文所用,Siglec-5蛋白与第二种蛋白之间的“相互作用”包括但不限于蛋白-蛋白相互作用、物理相互作用、化学相互作用、结合、共价结合及离子结合。如本文所用,当抗体破坏、减少或完全消除两种蛋白质之间的相互作用时,抗体“抑制两种蛋白质之间的相互作用”。当本公开的抗体或其片段与两种蛋白质之一结合时,抗体或其片段“抑制两种蛋白质之间的相互作用”。

[0091] “激动剂”抗体或“激活”抗体是在抗体结合抗原后诱导(例如,增加)抗原的一种或多种活性或功能的抗体,如本公开的激动剂抗Siglec-5抗体。

[0092] “阻断”抗体、“拮抗剂”抗体或“抑制性”抗体是在抗体结合抗原后抑制或降低(例如,减少)抗原与一种或多种配体结合和/或在抗体结合抗原后抑制或降低(例如,减少)抗原的一种或多种活性或功能的抗体,如本公开的抗Siglec-5抗体。在一些实施方案中,阻断抗体、拮抗剂抗体或抑制性抗体基本上或完全抑制抗原与一种或多种配体的结合和/或抗原的一种或多种活性或功能。

[0093] 抗体“效应子功能”是指可归因于抗体的Fc区(天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)的那些生物活性,并且随抗体同种型而变化。

[0094] 本文的术语“Fc区”用于定义免疫球蛋白重链的C末端区域,包括天然序列Fc区和变体Fc区。虽然免疫球蛋白重链的Fc区的边界可能有所不同,但人IgG重链Fc区通常被限定为从Cys226位置处的氨基酸残基或者从Pro230延伸到其羧基末端。可例如在抗体的产生或纯化期间或通过对编码抗体的重链的核酸进行重组工程改造移除Fc区的C末端赖氨酸(根据EU编号系统的残基447)。因此,完整抗体的组成可包含移除了所有K447残基的抗体群体、没有移除K447残基的抗体群体以及具有移除和没移除K447残基的抗体的混合物的抗体群体。用于本公开的抗体的合适的天然序列Fc区包括人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。

[0095] “天然序列Fc区”包含与见于自然界的Fc区的氨基酸序列相同的氨基酸序列。天然序列人Fc区包括天然序列人IgG1 Fc区(非A和A同种异型);天然序列人IgG2 Fc区;天然序列人IgG3 Fc区;和天然序列人IgG4 Fc区,以及其天然存在的变体。

[0096] “变体Fc区”包含由于至少一个氨基酸修饰(优选一个或多个氨基酸取代)而与天然序列Fc区不同的氨基酸序列。优选地,变体Fc区与天然序列Fc区或与亲本多肽的Fc区相比具有至少一个氨基酸取代,例如在天然序列Fc区中或者在亲本多肽的Fc区中具有约一至约十个氨基酸取代,优选约一至约五个氨基酸取代。本文的变体Fc区将优选与天然序列Fc区和/或与亲本多肽的Fc区具有至少约80%的同源性,最优选与其具有至少约90%的同源性,更优选与其具有至少约95%的同源性。

[0097] “Fc受体”或“FcR”描述与抗体的Fc区结合的受体。优选的FcR是天然序列人FcR。此外,优选的FcR是结合IgG抗体( $\gamma$ 受体)的FcR,并且包括Fc $\gamma$ RI、Fc $\gamma$ RII和Fc $\gamma$ RIII亚类的受体,包括这些受体的等位基因变体和选择性剪接形式,Fc $\gamma$ RII受体包括Fc $\gamma$ RIIA(“激活受体”)和Fc $\gamma$ RIIB(“抑制受体”),它们具有类似的氨基酸序列,区别主要在于它们的胞质结构域。激活受体Fc $\gamma$ RIIA在其胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的激活基序(“ITAM”)。抑制受体Fc $\gamma$ RIIB在其胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(“ITIM”) (参见例如,M. Daëron,Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997))。FcR综述于Ravetch和Kinet,Annu. Rev. Immunol. 9:457-92 (1991);Capel等人,Immunomethods 4:25-34 (1994);和de Haas等人,J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995)。本文的术语“FcR”涵盖其它FcR,包括将来要确认的那些FcR。FcR也可增加抗体的血清半衰期。

[0098] 可例如在表达人FcRn的转基因小鼠或转染的人细胞系中或在施用了具有变体Fc区的多肽的灵长类动物中测定人FcRn高亲和力结合多肽与FcRn的体内结合和血清半衰期。WO 2004/42072 (Presta) 描述了与FcR结合提高或削弱的抗体变体。还参见例如Shields等人,J. Biol. Chem. 9 (2):6591-6604 (2001)。

[0099] 如本文所用,关于肽、多肽或抗体序列的“氨基酸序列同一性百分比(%)”和“同源性”是指在比对序列并在必要时引入空位以实现最大序列同一性百分比后,且在不考虑任何保守性取代作为序列同一性的一部分的情况下,在候选序列中与特定肽或多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。可按本领域技术范围内的各种方式来实现以确定氨基酸序列同一性百分比为目的的比对,例如使用公众可获得的计算机软件,如BLAST、BLAST-2、ALIGN或MEGALIGN<sup>TM</sup> (DNASTAR) 软件。本领域技术人员可确定用于测量比对的适当参数,包括本领域中已知在所比较的序列全长上实现最大比对所需的任何算法。

[0100] “分离的”细胞是从至少一种污染细胞中确认并分离的分子或细胞,其通常在其产生的环境中与所述污染细胞缔合。在一些实施方案中,分离的细胞不与所有与产生环境关联的组分缔合。分离的细胞的形式不同于其见于自然界中的形式或环境。分离的细胞不同于组织、器官或个体中天然存在的细胞。在一些实施方案中,分离的细胞是本公开的宿主细胞。

[0101] 编码抗体如本公开的抗Siglec-5抗体的“分离的”核酸分子是从至少一种污染核酸分子中确认并分离的核酸分子,其通常在其产生的环境中与所述污染核酸分子缔合。优选地,分离的核酸不与所有与产生环境关联的组分缔合。编码本文的多肽和抗体的分离的核酸分子的形式不同于其见于自然界中的形式或环境。因此分离的核酸分子不同于细胞中天然存在的编码本文的多肽和抗体的核酸。

[0102] 如本文所用的术语“载体”意指能够转运已与其连接的另一种核酸的核酸分子。一种类型的载体是“质粒”,其是指环状双链DNA,另外的DNA区段可连接到其中。另一种类型的载体是噬菌体载体。另一种类型的载体是病毒载体,其中另外的DNA区段可连接到病毒基因组中。某些载体能够在引入它们的宿主细胞中自主复制(例如,具有细菌复制起点的细菌载体和游离型哺乳动物载体)。其它载体(例如,非游离型哺乳动物载体)在引入宿主细胞后可以被整合到宿主细胞的基因组中,从而与宿主基因组一起被复制。此外,某些载体能够指导与它们可操作连接的基因的表达。这类载体在本文中被称为“重组表达载体”或简称为“表达载体”。一般来说,在重组DNA技术中有用的表达载体通常呈质粒形式。在本说明书中,“质粒”和“载体”可互换使用,因为质粒是最常用的载体形式。

[0103] 在本文中可互换使用的“多核苷酸”或“核酸”是指任何长度的核苷酸的聚合物,并且包括DNA和RNA。核苷酸可以是脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、修饰的核苷酸或碱基和/或它们的类似物,或者可以通过DNA或RNA聚合酶或通过合成反应掺入到聚合物中的任何底物。多核苷酸可包含修饰的核苷酸,如甲基化核苷酸和它们的类似物。如果存在核苷酸结构的修饰,则可以在聚合物的组装之前或之后对核苷酸结构进行修饰。核苷酸的序列可以被非核苷酸组分中断。多核苷酸可包含在合成后进行的修饰,如与标记缀合。其它类型的修饰包括例如一个或多个天然存在的核苷酸被类似物“帽”取代;核苷酸间修饰,比如具有不带电荷的键(例如,甲基磷酸酯、磷酸三酯、氨基磷酸酯、氨基甲酸酯等)和带电荷的键(例如,硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯等)的修饰、含有侧链部分比如蛋白质(例如,核酸酶、毒素、抗体、信号肽、聚-L-赖氨酸等)的修饰、具有嵌入剂(例如,吡啶、补骨脂素等)的修饰、含有螯合剂(例如,金属、放射性金属、硼、氧化性金属等)的修饰、含有烷化剂的修饰、具有修饰键(例如, $\alpha$ 异头核酸等)的修饰,以及多核苷酸的未修饰形式。进一步地,通常存在于糖中的任何羟基可例如被磷酸酯基团、磷酸酯基团置换,被标准保护基团保护,或者被活化以制备与另外的核苷酸的另外的键,或者可以与固体或半固体支持物缀合。5'和3'末端OH可以被磷酸化,或者被1至20个碳原子的胺或有机封端基团部分取代。其它羟基也可以被衍生为标准保护基团。多核苷酸还可以含有本领域中通常已知的核糖或脱氧核糖的类似形式,包括例如2'-O-甲基-、2'-O-烯丙基-、2'-氟-或2'-叠氮基-核糖、碳环糖类似物、 $\alpha$ -异头糖、差向异构糖如阿拉伯糖、木糖或来苏糖、吡喃糖、呋喃糖、景天庚酮糖、无环类似物和碱性核苷类似物如甲基核糖苷。一个或多个磷酸二酯键可以被替代的连接基团置换。这些替代的连接基团包括但不限于这样的实施方案,其中磷酸酯被P(O)S(“硫代酸酯”)、P(S)S(“二硫代酸

酯”)、(O)NR<sub>2</sub>(“酰胺化物”)、P(O)R、P(O)OR’、CO或CH<sub>2</sub>(“甲缩醛”)置换,其中每个R或R’独立地为H或任选含有醚(-O-)键、芳基、烯基、环烷基、环烯基或芳烷基(araldyl)的取代或未取代的烷基(1-20C)。并非多核苷酸中的所有键都需要是相同的。先前的描述适用于本文提到的所有多核苷酸,包括RNA和DNA。

[0104] “宿主细胞”包括可以是或已经是用于掺入多核苷酸插入物的载体的受体的个别细胞或细胞培养物。宿主细胞包括单个宿主细胞的后代,并且由于自然、偶然或故意突变的原因,后代可以不一定与原始亲本细胞(在形态学或基因组DNA互补方面)完全相同。宿主细胞包括用本公开的多核苷酸体内转染的细胞。

[0105] 如本文所用的“载体”包括药学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂,其在所使用的剂量和浓度下对暴露于其中的细胞或哺乳动物无毒。生理上可接受的载体通常是pH缓冲水溶液。生理上可接受的载体的实例包括缓冲剂,如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸;低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖及其它碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或葡聚糖;螯合剂,如EDTA;糖醇,如甘露糖醇或山梨糖醇;成盐抗衡离子,如钠;和/或非离子表面活性剂,如TWEEN<sup>TM</sup>、聚乙二醇(PEG)和PLURONICS<sup>TM</sup>。

[0106] 如本文所用,术语“凋亡”是指基因指导的细胞内细胞破坏过程。凋亡不同于坏死;其包括细胞骨架破坏、细胞质收缩和凝聚、磷脂酰丝氨酸在细胞膜外表面上的表达和起泡,导致形成与细胞膜结合的小泡或凋亡小体。该过程也被称为“程序性细胞死亡”。在凋亡期间,观察到特征性现象,如弯曲的细胞表面、核染色质的凝聚、染色体DNA的断裂和线粒体功能的丧失。各种已知的技术可用于检测凋亡,如用膜联蛋白V、碘化丙锭染色细胞、DNA片段化测定和YO-PRO-1(Invitrogen)。在一些实施方案中,可以采取用膜联蛋白V和碘化丙锭染色,并且膜联蛋白V+/PI+、膜联蛋白V+/PI-和膜联蛋白V-/PI+群体的组合百分比被认为是死亡细胞。

[0107] 如本文所用,术语“降低Siglec-5的细胞水平、抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用或这两者的剂”是指在体外、原位和/或体内降低(包括显著地)、减少、阻断、抑制或干扰Siglec-5(哺乳动物如人Siglec-5)生物活性的分子。术语“剂”并没有暗示任何特定的生物作用机制,并且明确地包括和涵盖与Siglec-5的所有可能的药理学、生理学和生物化学相互作用,无论是直接的还是间接的,且无论是与Siglec-5、其一种或多种配体相互作用还是通过另一种机制,及其可通过多种不同且化学上相异的组合物实现的结果。示例性剂包括但不限于与Siglec-5特异性结合的抗Siglec-5抗体、可溶性Siglec-5受体蛋白、可溶性Siglec-5-Fc融合蛋白(例如,Siglec-5免疫粘附素)、与Siglec-5配体结合的可溶性Siglec受体、与Siglec-5配体结合的Siglec-Fc融合蛋白(例如,Siglec免疫粘附素)、针对编码Siglec-5的核酸的反义分子、针对编码Siglec-5的核酸的短干扰RNA(“siRNA”)分子、Siglec-5抑制性化合物、与Siglec-5结合的RNA或DNA适体以及Siglec-5结构类似物。在一些实施方案中,Siglec-5抑制剂(例如,抗体)结合降低Siglec-5的细胞水平的剂(与其物理相互作用)、抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用或者既与Siglec-5配体结合又/或抑制(减少)Siglec-5合成或产生。在其它实施方案中,本公开的剂抑制剂结合Siglec-5,并且防止其与其配体中的一者或多者结合。还在其它实施

方案中,本公开的剂降低或消除Siglec-5的表达(即,转录或翻译)。本文提供了降低Siglec-5的细胞水平、抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用或两者的剂类型的实例。

[0108] 如本文所用,术语“结合Siglec-5或与Siglec-5相互作用的剂”是指直接或间接与Siglec-5蛋白相互作用的分子。术语“剂”并没有暗示任何特定的生物作用机制,并且明确地包括和涵盖与Siglec-5的所有可能的药理学、生理学和生物化学相互作用,无论是直接的还是间接的,且无论是与Siglec-5相互作用还是通过另一种机制,及其可通过多种不同且化学上相异的组合物实现的结果。示例性剂包括但不限于与Siglec-5特异性结合的抗Siglec-5抗体。

[0109] 如本文所用,术语“RNA干扰”或“RNAi”通常是指这样的过程,其中双链RNA分子或短发夹RNA分子减少或抑制与双链或短发夹RNA分子共有基本或完全同源性的核酸序列的表达。术语“短干扰RNA”或“siRNA”或“RNAi剂”是指引起RNA干扰的RNA序列。参见Kreutzer等人,WO 00/44895;Zernicka-Goetz等人,WO 01/36646;Fire,WO 99/32619;Mello和Fire,WO 01/29058。如本文所用,siRNA分子包括涵盖化学修饰的核苷酸和非核苷酸的RNA分子。术语“ddRNAi剂”是指由外源载体转录的DNA指导的RNAi剂。术语“短发夹RNA”或“shRNA”是指具有双链体区和环区的RNA结构。在某些实施方案中,ddRNAi剂初始表达为shRNA。

[0110] 如本文所用,术语“适体”是指能够紧密且特异性地与所需分子靶标结合的异源低聚核苷酸,所述分子靶标比如是常见的代谢辅因子(例如,辅酶A、S-腺苷甲硫氨酸等)、蛋白质(例如,补体蛋白C5、抗体等)或核酸分子中的保守结构元件(例如,对转录因子的结合很重要的结构等)。适体通常包含长度在约10至约100个核苷酸、长度在约10至约75个核苷酸、长度在约10至约50个核苷酸、长度在约10至约35个核苷酸以及长度在约10至约25个核苷酸范围内的DNA或RNA核苷酸序列。可采用标准固相亚磷酰胺方法和设备来制备合成的DNA或RNA低聚核苷酸,如通过使用可购自Applied Biosystems(Foster City,CA)的3900高通量DNA合成仪<sup>TM</sup>。适体经常掺入常见于DNA和RNA中的核苷酸(例如,A、G、C和T/U)的衍生物或类似物,包括主链或键修饰(例如,肽核酸(PNA)或硫代磷酸酯键),以增加对核酸酶的抗性、结合亲和力或以其它方式改变它们的药代动力学特性。美国专利第6,455,308号;第4,469,863号;第5,536,821号;第5,541,306号;第5,637,683号;第5,637,684号;第5,700,922号;第5,717,083号;第5,719,262号;第5,739,308号;第5,773,601号;第5,886,165号;第5,929,226号;第5,977,296号;第6,140,482号;以及WIPO公布WO 00/56746和WO 01/14398中列举了示例性修饰。合成包含这类类似物或衍生物的低聚核苷酸的方法公开在例如以上引用的专利公布以及美国专利第6,455,308号;第5,614,622号;第5,739,314号;第5,955,599号;第5,962,674号;第6,117,992号;和WO 00/75372中。

[0111] 如本文所用的术语“约”是指本技术领域的技术人员容易知道的各值的通常误差范围。本文中提到的“约”某一值或参数包括(并描述)涉及该值或参数本身的实施方案。

[0112] 如本文和所附权利要求中所用,除上下文明确另有所指外,单数形式“一个/种(a、an)”和“该(所述)”包括复数指代项。例如,提到“抗体”即是提到一种至许多种抗体,如摩尔量,并且包括本领域技术人员已知的其相当的量,等等。

[0113] 要理解的是,本文所述的本公开的方面和实施方案包括“包含各方面和实施方案”、“由各方面和实施方案组成”以及“基本上由各方面和实施方案组成”。

**[0114] 概述**

[0115] 本公开涉及抗Siglec-5抗体,其降低Siglec-5的细胞水平,诱导或增加嗜中性粒细胞中的反应性氧物质 (ROS) 产生,诱导或增加嗜中性粒细胞中的嗜中性粒细胞细胞外陷阱 (NET) 形成,和/或增加巨噬细胞的吞噬活性;制备和使用这类抗Siglec-5抗体的方法;含有这类抗Siglec-5抗体的药物组合物;编码这类抗Siglec-5抗体的核酸);以及含有编码这类抗Siglec-5抗体的核酸的宿主细胞。

[0116] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可具有一种或多种拮抗活性,这至少部分地归因于抗体通过诱导Siglec-5的降解、下调、切割、受体脱敏和/或溶酶体靶向来降低Siglec-5的细胞表达 (例如,细胞表面表达) 的能力。

[0117] 在一些实施方案中,可通过本文公开的任何技术在体外测定或测试抗体诱导的Siglec-5活性,这些技术包括但不限于测试全长抗Siglec-5抗体的板结合以增加暴露于Siglec-5的抗体的密度、使抗Siglec-5抗体与第二抗体交联、使抗Siglec-5抗体与表达一种或多种Fcγ受体 (例如,FcγRIIB) 的细胞交联、使用在溶液中的Siglec-5抗体和使用Siglec-5抗体的Fab片段。

[0118] 本公开的某些方面至少部分地基于抗Siglec-5抗体的确认,所述抗Siglec-5抗体表现出降低细胞上Siglec-5的细胞表面水平的能力,导致降低、抵销、阻止或遏制一种或多种Siglec-5活性。示例性Siglec-5活性包括但不限于通过Src家族酪氨酸激酶如Syk、LCK、FYM和/或ZAP70磷酸化Tyr-520和Tyr-544;募集酪氨酸特异性蛋白磷酸酶SHP1和SHP2并与其结合;募集充当Dynamini-1的鸟嘌呤核苷酸交换因子的PLC-γ1并与其结合;募集含有SH2结构域的蛋白质 (例如,Crk1) 并与其结合;募集脾酪氨酸激酶Syk并与其结合;募集SH3-SH2-SH3生长因子受体结合蛋白2 (Grb2) 并与其结合;募集多种含SH2的蛋白质并与其结合;调节表达一种或多种促炎性细胞因子,如IFN-α4、IFN-β、IL-1β、IL-1α、TNF-α、IL-6、IL-8、CRP、IL-20家族成员、LIF、IFN-γ、OSM、CNTF、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18、CRP、MCP-1和MIP-1-β;在选自以下的一种或多种细胞中调节表达一种或多种促炎性细胞因子:巨噬细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、NK细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞和小神经胶质细胞;增加表达一种或多种抗炎性细胞因子,如IL-4、IL-10、IL-13、IL-35、IL-16、TGF-β、IL-1Ra、G-CSF,以及TNF、IFN-β1a、IFN-β1b或IL-6的可溶性受体;在选自以下的一种或多种细胞中调节表达一种或多种抗炎性细胞因子:巨噬细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、NK细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞和小神经胶质细胞;调节表达一种或多种选自以下的蛋白质:C1qa、C1qb、C1qc、C1s、C1R、C4、C2、C3、ITGB2、HMOX1、LAT2、CASP1、CSTA、VSIG4、MS4A4A、C3AR1、GPX1、TyroBP、ALOX5AP、ITGAM、SLC7A7、CD4、ITGAX和PYCARD;抑制细胞外信号调节激酶 (ERK) 磷酸化;降低一种或多种细胞蛋白上的酪氨酸磷酸化,任选其中一种或多种细胞蛋白包含ZAP-70,且酪氨酸磷酸化发生在ZAP-70的Tyr-319上;调节表达C-C趋化因子受体7 (CCR7);抑制小神经胶质细胞对CCL19表达细胞和CCL21表达细胞的趋化性;减少由选自以下的一种或多种细胞诱导的T细胞增殖:树突细胞、骨髓源性树突细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、单核细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞、M2小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK

细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞和M2 NK细胞；抑制破骨细胞产生、降低破骨细胞生成速率或两者兼有；降低选自以下的一种或多种细胞的存活率：树突细胞、骨髓源性树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞、M2 NK细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞、嗜中性粒细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞；减少选自以下的一种或多种细胞的增殖：树突细胞、骨髓源性树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞、M2 NK细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞、嗜中性粒细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞；抑制选自以下的一种或多种细胞的迁移：树突细胞、骨髓源性树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞、M2 NK细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞、嗜中性粒细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞；抑制选自以下的一种或多种细胞的一种或多种功能：树突细胞、骨髓源性树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞、M2 NK细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞、嗜中性粒细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞；抑制选自以下的一种或多种类型的清除：凋亡神经元清除、神经组织碎片清除、功能失调性突触清除、非神经组织碎片清除、细菌清除、其它异物清除、致病蛋白清除、致病肽清除和肿瘤细胞清除；任选其中致病蛋白选自淀粉样蛋白 $\beta$ 、低聚淀粉样蛋白 $\beta$ 、淀粉样蛋白 $\beta$ 斑、淀粉样蛋白前体蛋白或其片段、Tau、IAPP、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、FUS蛋白、C9orf72 (9号染色体开放阅读框72)、c9RAN蛋白、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷顿蛋白、降钙素、超氧化物歧化酶、共济失调蛋白、共济失调蛋白1、共济失调蛋白2、共济失调蛋白3、共济失调蛋白7、共济失调蛋白8、共济失调蛋白10、路易体、心房利钠因子、胰岛淀粉样蛋白多肽、胰岛素、载脂蛋白AI、血清淀粉样蛋白A、medin、催乳素、甲状腺素运载蛋白、溶菌酶、 $\beta$ 2微球蛋白、凝溶胶蛋白、角膜上皮蛋白、胱抑素、免疫球蛋白轻链AL、S-IBM蛋白、重复相关非ATG (RAN) 翻译产物、二肽重复 (DPR) 肽、甘氨酸-丙氨酸 (GA) 重复肽、甘氨酸-脯氨酸 (GP) 重复肽、甘氨酸-精氨酸 (GR) 重复肽、脯氨酸-丙氨酸 (PA) 重复肽、泛素和脯氨酸-精氨酸 (PR) 重复肽，且肿瘤细胞来自选自以下的癌症：膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺

癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤和甲状腺癌；抑制凋亡神经元、神经组织碎片、功能失调性突触、非神经组织碎片、细菌、其它异物、致病蛋白、致病肽、致病核酸或肿瘤细胞中的一者或多者的吞噬作用；任选其中致病核酸是反义GGCCCC (G2C4) (SEQ ID NO:225) 重复扩增RNA,致病蛋白选自淀粉样蛋白 $\beta$ 、低聚淀粉样蛋白 $\beta$ 、淀粉样蛋白 $\beta$ 斑、淀粉样蛋白前体蛋白或其片段、Tau、IAPP、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、FUS蛋白、C9orf72 (9号染色体开放阅读框72)、c9RAN蛋白、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷顿蛋白、降钙素、超氧化物歧化酶、共济失调蛋白、共济失调蛋白1、共济失调蛋白2、共济失调蛋白3、共济失调蛋白7、共济失调蛋白8、共济失调蛋白10、路易体、心房利钠因子、胰岛淀粉样蛋白多肽、胰岛素、载脂蛋白AI、血清淀粉样蛋白A、medin、催乳素、甲状腺素运载蛋白、溶菌酶、 $\beta$ 2微球蛋白、凝溶胶蛋白、角膜上皮蛋白、胱抑素、免疫球蛋白轻链AL、S-IBM蛋白、重复相关非ATG (RAN) 翻译产物、二肽重复 (DPR) 肽、甘氨酸-丙氨酸 (GA) 重复肽、甘氨酸-脯氨酸 (GP) 重复肽、甘氨酸-精氨酸 (GR) 重复肽、脯氨酸-丙氨酸 (PA) 重复肽、泛素和脯氨酸-精氨酸 (PR) 重复肽,且肿瘤细胞来自选自以下的癌症：膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤或甲状腺癌；与肿瘤细胞上的Siglec-5配体结合；与选自以下的细胞上的Siglec-5配体结合：嗜中性粒细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、单核细胞、小神经胶质细胞、巨噬细胞和NK细胞；抑制小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、T细胞、T辅助细胞或细胞毒性T细胞中的一者或多者对肿瘤细胞的杀伤；抑制小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、嗜中性粒细胞、T细胞、T辅助细胞或细胞毒性T细胞中的一者或多者的抗肿瘤细胞增殖活性；抑制小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、T细胞、T辅助细胞或细胞毒性T细胞中的一者或多者的抗肿瘤细胞转移活性；抑制一种或多种含有ITAM基序的受体,任选其中一种或多种含有ITAM基序的受体选自TREM1、TREM2、SIRPB1、Fc $\gamma$ R、DAP10和DAP12；抑制通过一种或多种模式识别受体 (PRR) 的信号传导,任选其中一种或多种PRR选自识别病原体相关分子模式 (PAMP) 的受体、识别损伤相关分子模式 (DAMP) 的受体及其任何组合；抑制一种或多种包含基序D/Ex<sub>0-2</sub>YxxL/IX<sub>6-8</sub>YxxL/I (SEQ ID NO:4) 的受体；抑制通过一种或多种Toll样受体的信号传导；抑制JAK-STAT信号传导途径；抑制激活B细胞的核因子 $\kappa$ -轻链增强子 (NF $\kappa$ B)；含有ITAM基序的受体的去磷酸化；调节表达一种或多种炎性受、补体级联的蛋白和/或在免疫细胞上表达的受体,任选其中一种或多种炎性受、补体级联的蛋白和/或在免疫细胞上表达的受体包含CD86、C1qa、C1qb、C1qc、C1s、C1r、C4、C2、C3、ITGB2、HMOX1、LAT2、CASP1、CSTA、VSIG4、MS4A4A、C3AR1、GPX1、TyroBP、ALOX5AP、ITGAM、SLC7A7、CD4、ITGAX和/或PYCARD,且一种或多种炎性受、补体级联的蛋白和/或在免疫细胞上表达的受体在小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、T细胞、T辅助细胞或细胞毒性T细胞中的一者或多者上表达；增加表达一种或多种Siglec-5依赖性基因；被破坏的Siglec-5依赖性基因表达的正常化；降低表达一种或多种ITAM依赖性基因,任选其中一种或多种ITAM依赖性基因被激活T细胞 (NFAT) 转录因子的核因子激活；促进或拯救免疫抑制树突细胞、免疫抑制巨噬细胞、免疫抑制嗜中性粒细胞、免疫抑制NK细胞、髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、肿瘤相关嗜中性粒细胞、肿瘤相



关NK细胞、调节性B细胞和调节性T细胞中的一者或多者的功能性;增加免疫抑制树突细胞、免疫抑制巨噬细胞、免疫抑制嗜中性粒细胞、免疫抑制NK细胞、髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、肿瘤相关嗜中性粒细胞、肿瘤相关NK细胞、调节性B细胞和调节性T细胞中的一者或多者向肿瘤中的浸润;增加肿瘤、外周血或其它淋巴样器官中的肿瘤促进性髓样/粒细胞免疫抑制细胞的数量;增强髓源性抑制细胞的肿瘤促进活性;增加肿瘤或外周血中的肿瘤促进细胞因子的表达,任选其中肿瘤促进细胞因子是VEGF、TGF- $\beta$ 或IL-10;增加肿瘤促进FoxP3<sup>+</sup>调节性T淋巴细胞的肿瘤浸润;增强髓源性抑制细胞(MDSC)的肿瘤促进活性;增强调节性B细胞的肿瘤促进活性;增强免疫抑制嗜中性粒细胞的肿瘤促进活性;降低具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性T淋巴细胞的激活;减少具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性NK细胞的浸润;降低NK细胞的肿瘤杀伤潜力;减少具有增强免疫反应的潜力的肿瘤特异性B淋巴细胞的浸润;减少具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性T淋巴细胞的浸润;增加肿瘤体积;增加肿瘤生长速率;增加转移;增加肿瘤复发率;降低调节抗肿瘤T细胞反应的一种或多种免疫疗法或一种或多种癌症疫苗的功效,任选其中一种或多种免疫疗法是靶向选自以下的一种或多种靶蛋白的免疫疗法:PD1/PDL1、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD30、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR-5、CD2、CD5、TREM1、TREM2、CD39、CD73、CSF-1受体及其任意组合;抑制PLC  $\gamma$  /PKC/钙动员;和抑制PI3K/Akt、Ras/MAPK信号传导。

[0119] 在一些实施方案中,用抗Siglec-5抗体治疗癌症:(i)直接或间接降低在癌症患者的肿瘤、外周血和淋巴样器官中积累的肿瘤促进性髓样/粒细胞免疫抑制细胞的存活率、增殖、成熟、分化和/或功能性;(ii)减少癌症患者的肿瘤、外周血和其它淋巴样器官中的肿瘤促进性髓样/粒细胞免疫抑制细胞的数量;(iii)阻断髓源性抑制细胞(MDSC)的肿瘤促进活性;(iv)减少癌症患者的肿瘤、外周血和其它淋巴样器官中的肿瘤促进调节性B细胞的数量;(v)降低癌症患者的肿瘤和外周血中的肿瘤促进细胞因子如TGF- $\beta$ 和IL-10的表达;(vi)减少肿瘤中的肿瘤促进FoxP3<sup>+</sup>调节性T淋巴细胞浸润;(vii)增加具有肿瘤杀伤潜力的T淋巴细胞的浸润和激活;(viii)增加具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性NK细胞的浸润;(ix)增加NK细胞的肿瘤杀伤潜力;(x)增加具有增强免疫反应的潜力的肿瘤特异性B淋巴细胞的浸润;(xi)减少肿瘤体积;(xii)降低肿瘤生长速率;(xiii)减少和/或抑制转移;(xiv)降低肿瘤复发率;(xv)增加调节抗肿瘤T细胞反应的免疫疗法如PD1/PDL1、CTLA4、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、KIR、GAL9、CD2、CD5、CD39、CD73、CD30、TIGIT、VISTA、TIM1、TIM3、TIM4以及癌症疫苗的功效,(xvi)诱导、激活或以其它方式增加PLC  $\gamma$  /PKC/钙动员;和(xvii)诱导、激活或以其它方式增加PI3K/Akt、Ras/MAPK信号传导。

[0120] 免疫抑制细胞有时也被称为髓源性抑制细胞(MDSC)。在人类中,MDSC可由以下标志物组合之一来定义:(1) CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>低/-</sup>, (2) CD14<sup>+</sup>IL4R $\alpha$ <sup>+</sup>, (3) CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>IL4R $\alpha$ <sup>+</sup>, (4) CD34<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>Siglec-5<sup>+</sup>, (5) CD11b<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup>Siglec-5<sup>+</sup>, (6) Siglec-5<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>, (7) Lin<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-</sup>, (8) Lin<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-</sup>Siglec-5<sup>+</sup>, (9) Lin<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-</sup>Siglec-5<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, (10) Lin<sup>-</sup>Siglec-5<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>CD15<sup>+</sup>, (11) Lin<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-</sup>Siglec-5<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>CD14<sup>-</sup>CD15<sup>+</sup>, (12) CD11b<sup>+</sup>CD14<sup>-</sup>Siglec-5<sup>+</sup>, (13) CD11b<sup>+</sup>CD14<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-</sup>Siglec-5<sup>+</sup>CD15<sup>+</sup>, (14) Siglec-5<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD15<sup>+</sup>, (15) CD15<sup>+</sup>IL4R $\alpha$ <sup>+</sup>, (16) CD11b<sup>+</sup>CD15<sup>+</sup>CD66b<sup>+</sup>, (17) CD15<sup>+</sup>FSC<sup>低</sup>SSC<sup>高</sup>, (18) CD15<sup>高</sup>Siglec-5<sup>+</sup>, (19) CD11b<sup>+</sup>CD14<sup>-</sup>CD15<sup>+</sup>,

(20)CD66b<sup>+</sup>SSC<sup>高</sup>,和(21)CD11b<sup>+</sup>CD15<sup>+</sup>(还参见Solito S等人Annals of the NY Academy of Sciences,2014)。在鼠中,MDSC可由表面标志物CD45<sup>+</sup>、CD11b<sup>+</sup>、Gr1<sup>+</sup>和/或IL4Ra<sup>+</sup>的表达来定义。另外的示例性免疫抑制单核细胞谱系有CD45<sup>+</sup>、CD11b<sup>+</sup>、Gr1<sup>低</sup>;和CD45<sup>+</sup>、CD11c<sup>+</sup>。

[0121] 本公开进一步涉及与Siglec-5结合或相互作用的抗Siglec-5抗体。在某些实施方案中,抗Siglec-5抗体降低Siglec-5的细胞表面水平,和/或不抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用。在某些实施方案中,抗Siglec-5抗体结合人Siglec-5,不结合人Siglec-14。在某些实施方案中,抗Siglec-5抗体结合人Siglec-5,但不结合食蟹猴Siglec-5。

[0122] Siglec-5蛋白

[0123] 一方面,本公开提供与本公开的Siglec-5蛋白内的区域如表位相互作用或者以其它方式与其结合的抗体,如分离的(例如,单克隆)抗体。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体与Siglec-5蛋白结合,并在与Siglec-5蛋白结合后调节一种或多种Siglec-5活性,例如与细胞中的Siglec-5表达相关的活性。本公开的Siglec-5蛋白包括但不限于哺乳动物Siglec-5蛋白、人Siglec-5蛋白、小鼠Siglec-5蛋白和大鼠Siglec-5蛋白。

[0124] Siglec-5不同地被称为Siglec-5分子、唾液酸结合Ig样凝集素5、CD170抗原、CD170、OBP2、CD33L2和OB-BP2。

[0125] Siglec-5是主要在免疫细胞上表达的免疫球蛋白样受体,所述免疫细胞包括但不限于巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、树突细胞、破骨细胞、单核细胞和小神经胶质细胞。在一些实施方案中,Siglec-5与CD64形成受体-信号传导复合物。在一些实施方案中,Siglec-5信号传导导致PI3K或其它细胞内信号的下游抑制。在髓样细胞上,例如在感染反应的背景下,Toll样受体(TLR)信号对于抑制Siglec-5活性是重要的。TLR在病理性炎症反应中也起关键作用,例如在巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞和树突细胞中表达的TLR。

[0126] 各种Siglec-5同源物是已知的,包括但不限于人Siglec-5、食蟹猴Siglec-5和小鼠Siglec-5。人Siglec-5的氨基酸序列在下面示为SEQ ID NO:1:

	10	20	30	40	50
	MLPLLLLPLL	WGGSLQEKPV	YELQVQKSVT	VQEGLCVLVP	CSFSYPWRSW
	60	70	80	90	100
	YSSPPLYVYV	FRDGEIPYYA	EVVATNNPDR	RVKPETQGRF	RLLGVDVQKKN
	110	120	130	140	150
	CSLSIGDARM	EDTGSYFFRV	ERGRDVKYSY	QQNKLNLEVT	ALIEKPDIDF
	160	170	180	190	200
	LEPLESGRPT	RLSCSLPGSC	EAGPPLTFSW	TGNALSPLDP	ETTRSELTL
	210	220	230	240	250
	TPRPEDHGTN	LTCQMKRQGA	QVTTERTVQL	NVSYAPQTIT	IFRNGIALEI
	260	270	280	290	300
[0127]	LQNTSYLPVL	EGQALRLLCD	APSNPPAHL	WFQGSFALNA	TPISNTGILE
	310	320	330	340	350
	LRRVRSAAEG	GFTCRAQHPL	GFLQIFLNLS	VYSLPQLLGP	SCSWEAEGH
	360	370	380	390	400
	CRCSFRARPA	PSLCWRLEEK	PLEGNSSQGS	FKVNSSSAGP	WANSSLILHG
	410	420	430	440	450
	GLSSDLKVSC	KAWNIYGSQS	GSVLLQGRS	NLGTGVVPAA	LGGAGVMALL
	460	470	480	490	500
	CICLCLIFFL	IVKARRKQAA	GRPEKMDDED	PIMGTITSGS	RKKPWPDSFG
	510	520	530	540	550
	DQASPPGDAP	PLEEQKELHY	ASLSFSEMKS	REPKDQEAPS	TTEYSEIKTS

K

[0128] 在一些实施方案中,Siglec-5是包括信号序列的前蛋白。在一些实施方案中,Siglec-5是成熟蛋白。在一些实施方案中,成熟Siglec-5蛋白不包括信号序列。在一些实施方案中,成熟Siglec-5蛋白在细胞上表达。在一些实施方案中,成熟Siglec-5蛋白在细胞如细胞的表面上表达,所述细胞包括但不限于人树突细胞、人巨噬细胞、人单核细胞、人破骨细胞、人嗜中性粒细胞、人B细胞、人T细胞、人辅助T细胞、人细胞毒性T细胞、人粒细胞和人小神经胶质细胞。本公开的剂如本公开的抗Siglec-5抗体可结合在本文公开的任何细胞上表达的本公开的任何Siglec-5蛋白。

[0129] 本公开的Siglec-5蛋白如人Siglec-5含有若干结构域,包括但不限于位于SEQ ID NO:1的氨基酸残基1-16处的信号序列、位于SEQ ID NO:1的氨基酸残基19-136处的细胞外免疫球蛋白样可变型(IgV)结构域、位于SEQ ID NO:1的氨基酸残基146-229和236-330处的两个Ig样C2型结构域、位于SEQ ID NO:1的氨基酸残基442-462处的跨膜结构域、位于SEQ ID NO:1的氨基酸残基518-523处的ITIM基序1和位于SEQ ID NO:1的氨基酸残基542-547处的SLAM样基序。如本领域技术人员将理解的那样,本公开的结构域的开始和结束残基可根据使用的计算机建模程序或用于确定结构域的方法而有所不同。

[0130] 本公开的某些方面提供与人Siglec-5结合的抗Siglec-5抗体。本公开的某些方面提供与人Siglec-5结合但不结合食蟹猴Siglec-5的抗Siglec-5抗体。

[0131] 因此,如本文所用,本公开的“Siglec-5”蛋白包括但不限于哺乳动物Siglec-5蛋白、人Siglec-5蛋白和灵长类动物Siglec-5蛋白。另外,本公开的抗Siglec-5抗体可结合哺乳动物Siglec-5蛋白、人Siglec-5蛋白和灵长类动物Siglec-5中的一者或多者内的表位。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可与人Siglec-5蛋白特异性结合。

[0132] 在一些实施方案中,降低Siglec-5的细胞水平的本公开的抗Siglec-5抗体可以pH依赖性方式结合Siglec-5。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可在中性pH下与

Siglec-5结合,并且被内化而不从Siglec-5蛋白中解离。或者,在酸性pH下,本公开的抗Siglec-5抗体一旦被内化,它们就可以从Siglec-5中解离,然后通过内体/溶酶体途径降解。在某些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体在5.5至8.0、5.5至7.5、5.5至7.0、5.5至6.5、5.5至6.0、6.0至8.0、6.5至8.0、7.0至8.0、7.5至8.0、6.0至7.5、6.0至7.0、6.5至7.5范围内的pH下结合Siglec-5。在某些实施方案中,抗Siglec-5抗体在小于6.0、小于5.5、小于5.0、小于4.5、小于4.0、小于3.5、小于3.0、小于2.5或小于2.0的pH下从Siglec-5中解离。

[0133] 在一些实施方案中,降低Siglec-5的细胞水平或降低Siglec-5的细胞水平和/或不抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用或者与Siglec-5结合或相互作用的本公开的抗Siglec-5抗体(如本公开的抗Siglec-5抗体)与本公开的野生型Siglec-5蛋白、其天然存在的变体和/或其疾病变体结合。

[0134] 在一些实施方案中,降低Siglec-5的细胞水平和/或不抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用的本公开的抗Siglec-5抗体结合人Siglec-5的变体。在一些实施方案中,降低Siglec-5的细胞水平和/或不抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用的本公开的抗Siglec-5抗体不结合人Siglec-14。在一些实施方案中,降低Siglec-5的细胞水平和/或不抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用的本公开的抗Siglec-5抗体不结合食蟹猴Siglec-5。

[0135] 在一些实施方案中,降低Siglec-5的细胞水平的本公开的抗Siglec-5抗体与在细胞的表面上表达的Siglec-5蛋白结合,所述细胞包括但不限于人树突细胞、人巨噬细胞、人NK细胞、人单核细胞、人破骨细胞、人嗜中性粒细胞、人B细胞、人T细胞、人T辅助细胞、人细胞毒性T细胞、人粒细胞和人小神经胶质细胞。在一些实施方案中,降低Siglec-5的细胞水平的本公开的抗Siglec-5抗体与在细胞的表面上表达的Siglec-5蛋白结合,并在与表面表达的Siglec-5蛋白结合后调节(例如,诱导或抑制)至少一种本公开的Siglec-5活性。在本公开的一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与Siglec-5蛋白特异性结合。

[0136] Siglec-5配体

[0137] 示例性Siglec-5配体包括但不限于唾液酸、含唾液酸的糖脂、含唾液酸的糖蛋白、含 $\alpha$ -2,8-二唾液酸基的糖脂、含支链 $\alpha$ -2,6-连接唾液酸的糖蛋白、含末端 $\alpha$ -2,6-连接唾液酸的糖脂、含末端 $\alpha$ -2,3-连接唾液酸的糖蛋白、二唾液酸神经节苷脂(例如,神经节苷脂或含与唾液酸化聚糖连接的神经酰胺的糖脂)、分泌的粘蛋白、在红细胞上表达的Siglec-5配体、在细菌细胞上表达的Siglec-5配体、在凋亡细胞上表达的Siglec-5配体、在神经细胞上表达的Siglec-5配体、在神经胶质细胞上表达的Siglec-5配体、在小神经胶质细胞上表达的Siglec-5配体、在星形胶质细胞上表达的Siglec-5配体、在肿瘤细胞上表达的Siglec-5配体、在病毒上表达的Siglec-5配体、在树突细胞上表达的Siglec-5配体、与 $\beta$ 淀粉样蛋白斑结合的Siglec-5配体、与Tau缠结物结合的Siglec-5配体、致病蛋白上的Siglec-5配体、致病肽上的Siglec-5配体、在巨噬细胞上表达的Siglec-5配体、在嗜中性粒细胞上表达的Siglec-5配体、在自然杀伤细胞上表达的Siglec-5配体、在单核细胞上表达的Siglec-5配体、在T细胞上表达的Siglec-5配体、在T辅助细胞上表达的Siglec-5配体、在细胞毒性T细胞上表达的Siglec-5配体、在B细胞上表达的Siglec-5配体、在包埋肿瘤的免疫抑制树突细胞上表达的Siglec-5配体、在包埋肿瘤的免疫抑制巨噬细胞上表达的Siglec-5配体、在髓源性抑制细胞上表达的Siglec-5配体、在调节性T细胞上表达的Siglec-5配体。在一些实施

方案中,本公开的Siglec-5配体是神经节苷脂(例如,二唾液酸神经节苷脂)。二唾液酸神经节苷脂通常共有共同的乳-神经酰胺核心和一个或多个唾液酸残基。

[0138] 表A中列出了合适的神经节苷脂(例如,二唾液酸神经节苷脂)配体的进一步实例。一般地,神经节苷脂(例如,二唾液酸神经节苷脂)是由糖鞘脂与一个或多个唾液酸(例如,n-乙酰基-神经氨酸,NANA)在糖链上连接组成的分子。

[0139] 表A:示例性神经节苷脂Siglec-5配体的结构

GM2-1 = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-?)bDGalNAc(1-?)bDGalNAc(1-?)bDGlc(1-1)Cer  
 GM3 = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GM2,GM2a(?) = bDGalpNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GM2b(?) = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GM1,GM1a = bDGalp(1-3)bDGalNAc[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 无唾液酸-GM1,GA1 = bDGalp(1-3)bDGalpNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 无唾液酸-GM2,GA2 = bDGalpNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GM1b = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GD3 = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GD2 = bDGalpNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GD1a =  
 aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GD1 $\alpha$  =  
 aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-6)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GD1b =  
 bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GT1a =  
 aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GT1,GT1b =  
 aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 OAc-GT1b =  
 aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)aXNeu5Ac9Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GT1c =  
 bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GT3 = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GT1b = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer  
 GGal = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-1)Cer  
 其中:  
 aNeu5Ac = 5-乙酰基- $\alpha$ -神经氨酸  
 aNeu5Ac9Ac = 5,9-二乙酰基- $\alpha$ -神经氨酸  
 bDGalp =  $\beta$ -D-吡喃半乳糖  
 bDGalpNAc = N-乙酰基- $\beta$ -D-吡喃半乳糖  
 bDGlc =  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖  
 Cer = 神经酰胺(泛N-酰化鞘氨醇)

[0140] 抗Siglec-5抗体

[0141] 本公开的某些方面涉及降低Siglec-5的细胞水平的抗Siglec-5抗体。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体降低Siglec-5的细胞水平。在一些实施方案中,本公开的

抗Siglec-5抗体可具有一种或多种活性,这些活性至少部分地归因于抗Siglec-5抗体通过诱导Siglec-5的降解、下调、切割、受体脱敏和/或溶酶体靶向来降低Siglec-5的细胞表达(例如,细胞表面表达)的能力。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体在体外降低或减少Siglec-5的细胞表面水平。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体在体内降低或减少Siglec-5的细胞表面水平。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体降低或减少表达重组人Siglec-5的细胞(例如,CHO细胞)中的Siglec-5的细胞表面水平。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体降低或减少免疫细胞中的Siglec-5的细胞表面水平,所述免疫细胞包括例如原代免疫细胞(例如,B细胞)。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体降低或减少巨噬细胞(例如,人巨噬细胞)中的Siglec-5的细胞表面水平。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体降低或减少极化巨噬细胞(例如,极化人巨噬细胞)中的Siglec-5的细胞表面水平。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体降低或减少M0巨噬细胞、M1巨噬细胞和/或M2a巨噬细胞中的Siglec-5的细胞表面水平。

[0142] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体不抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用(例如,结合)。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体降低Siglec-5的细胞水平,并且不抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用(例如,结合)。本公开的其它方面涉及在嗜中性粒细胞中诱导反应性氧物质(ROS)产生和/或在嗜中性粒细胞中诱导嗜中性粒细胞细胞外陷阱(NET)形成的抗Siglec-5抗体。本公开的其它方面涉及在嗜中性粒细胞中降低或减少反应性氧物质(ROS)产生和/或在嗜中性粒细胞中降低或减少嗜中性粒细胞细胞外陷阱(NET)形成的抗Siglec-5抗体。

[0143] 如本文所公开,Siglec-5可在细胞上组成型再循环,并且因此可将结合细胞表面上的Siglec-5的任何剂(例如,抗体)再循环到细胞中(例如,内吞)。然而,这种内吞作用可能不会导致Siglec-5的细胞水平(例如,细胞表面水平)降低。尽管已经表明急性髓性白血病(AML)细胞可介导与表面表达的Siglec-5结合的抗Siglec-5抗体的内吞作用,但未显示Siglec-5的细胞水平降低。因此,本公开的某些方面涉及不仅与细胞表面表达的Siglec-5结合而且还降低Siglec-5的细胞水平的抗Siglec-5抗体。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体结合细胞表面表达的Siglec-5,并且被进一步内吞到细胞中。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体结合细胞表面表达的Siglec-5而不被内吞到细胞中。

[0144] Siglec-5的细胞水平可以指但不限于Siglec-5的细胞表面水平、Siglec-5的细胞内水平和Siglec-5的总水平。在一些实施方案中,Siglec-5的细胞水平的降低包括Siglec-5的细胞表面水平的降低。如本文所用,通过本文所述或本领域中已知的任何基于细胞的体外测定或合适的体内模型测量,例如利用流式细胞术如荧光激活细胞分选术(FACS)来测量Siglec-5的细胞表面水平,如果抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的细胞表面水平降低20%或更多,则其降低Siglec-5的细胞表面水平。在一些实施方案中,Siglec-5的细胞水平的降低包括Siglec-5的细胞内水平的降低。如本文所用,通过本文所述或本领域中已知的任何基于细胞的体外测定或合适的体内模型测量,例如免疫染色、Western印迹分析、共免疫沉淀和细胞计量术,如果抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的细胞内水平降低20%或更多,则其降低Siglec-5的细胞内水平。在一些实施方案中,Siglec-5的细胞水平的降低包括Siglec-5的总水平的降低。如本文所用,通过本文所述或本领域中已知的任何基于细胞的体外测定或合适的体内模型测量,例如免疫染色、Western印迹分析、共免疫沉淀和细胞计量术,如果

抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的总水平降低20%或更多,则其降低Siglec-5的总水平。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5降解、Siglec-5切割、Siglec-5内化、Siglec-5脱落和/或Siglec-5表达的下调。在一些实施方案中,利用体外细胞测定在原代细胞(例如,树突细胞、骨髓源性树突细胞、单核细胞、小神经胶质细胞和巨噬细胞)或细胞系上测量Siglec-5的细胞水平。

[0145] 在一些实施方案中,与不存在抗Siglec-5抗体情况下的Siglec-5的细胞水平相比,本公开的抗Siglec-5抗体使Siglec-5的细胞水平降低至少20%、至少21%、至少22%、至少23%、至少24%、至少25%、至少26%、至少27%、至少28%、至少29%、至少30%、至少31%、至少32%、至少33%、至少34%、至少35%、至少36%、至少37%、至少38%、至少39%、至少40%、至少41%、至少42%、至少43%、至少44%、至少45%、至少46%、至少47%、至少48%、至少49%、至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更多。

[0146] 本文所述或本领域中已知的任何基于细胞的体外测定或合适的体内模型均可用于测量Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用(例如,结合)的抑制。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体结合Siglec-5,并且不抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用(例如,结合)。

[0147] 如本文所用,利用本文所述或本领域中已知的任何体外测定或基于细胞的培养物测定,如果抗Siglec-5抗体在饱和抗体浓度下将与Siglec-5的配体结合降低不到20%,则其不抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用(例如,结合)。在一些实施方案中,利用本文所述或本领域中已知的任何体外测定或基于细胞的培养物测定,本公开的抗Siglec-5抗体在饱和抗体浓度下将Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用(例如,结合)抑制不到20%、不到19%、不到18%、不到17%、不到16%、不到15%、不到14%、不到13%、不到12%、不到11%、不到10%、不到9%、不到8%、不到7%、不到6%、不到5%、不到4%、不到3%、不到2%或不到1%。

[0148] 如本文所用,Siglec-5的水平可以指编码Siglec-5的基因的表达水平;编码Siglec-5的一种或多种转录物的表达水平;Siglec-5蛋白的表达水平;和/或细胞内和/或细胞表面上存在的Siglec-5蛋白的量。本领域中已知用于测量基因表达、转录、翻译和/或蛋白质丰度或定位的水平的任何方法均可用于测定Siglec-5的水平。

[0149] 另外,本公开的抗Siglec-5抗体可用于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和/或癌症的预防、降低风险或治疗。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可用于在有需要的个体中诱导或促进一种或多种免疫细胞的存活、成熟、功能性、迁移或增殖;或者用于在有需要的个体中降低调节性B细胞、调节性T细胞、包埋肿瘤的免疫抑制树突细胞、包埋肿瘤的免疫抑制巨噬细胞、免疫抑制嗜中性粒细胞、髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、急性髓性白血病(AML)细胞、慢性淋巴细胞性白血

病 (CLL) 细胞和/或慢性髓性白血病 (CML) 细胞的活性、功能性或存活率。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体是单克隆抗体。

[0150] 在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体降低Siglec-5的细胞水平(例如,细胞表面水平、细胞内水平和/或总水平)。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的下调。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的切割。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的内化。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的脱落。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的降解。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的脱敏。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体充当瞬时激活Siglec-5的配体模拟物。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体充当配体模拟物,并在诱导Siglec-5的细胞水平降低之前瞬时激活Siglec-5。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体充当配体模拟物,并在诱导Siglec-5的降解之前瞬时激活Siglec-5。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体充当配体模拟物,并在诱导Siglec-5的切割之前瞬时激活Siglec-5。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体充当配体模拟物,并在诱导Siglec-5的内化之前瞬时激活Siglec-5。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体充当配体模拟物,并在诱导Siglec-5的脱落之前瞬时激活Siglec-5。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体充当配体模拟物,并在诱导Siglec-5表达的下调之前瞬时激活Siglec-5。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体充当配体模拟物,并在诱导Siglec-5的脱敏之前瞬时激活Siglec-5。

[0151] 在某些实施方案中,降低Siglec-5的细胞水平和/或不抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用的抗Siglec-5抗体是与Siglec-5结合或物理相互作用的抗Siglec-5抗体。抗Siglec-5抗体可对靶抗原(例如,Siglec-5)具有纳摩尔或甚至皮摩尔的亲和力。在某些实施方案中,抗体的Kd为约10pM至约100nM。抗体的Kd为约100nM、约50nM、约10nM、约1nM、约900pM、约800pM、约790pM、约780pM、约770pM、约760pM、约750pM、约740pM、约730pM、约720pM、约710pM、约700pM、约650pM、约600pM、约590pM、约580pM、约570pM、约560pM、约550pM、约540pM、约530pM、约520pM、约510pM、约500pM、约450pM、约400pM、约350pM、约300pM、约290pM、约280pM、约270pM、约260pM、约250pM、约240pM、约230pM、约220pM、约210pM、约200pM、约150pM、约100pM、约50pM、约40pM、约30pM、或约20pM、或约15pM中的任一者至约1pM、约2pM、约3pM、约4pM、约5pM、约6pM、约7pM、约8pM、约9pM、约10pM、约11pM、约12pM、约13pM或约14pM中的任一者。本文描述了制备和选择与Siglec-5特异性相互作用和/或结合的抗体的方法。

[0152] 在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体是鼠抗体。在一些实施方案中,分离的本公开的抗Siglec-5抗体是人抗体、人源化抗体、双特异性抗体、单克隆抗体、多价抗体或嵌合抗体。这类抗体的示例性描述见于本公开的通篇。

[0153] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体与人Siglec-5结合。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体与人Siglec-5特异性结合。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体与Siglec-5结合,但不与Siglec-14结合。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体结合人Siglec-5,但不结合人Siglec-14。在一些实施方案中,本公开的抗



Siglec-5抗体结合人Siglec-5,但不结合食蟹猴Siglec-5。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体不阻断与Siglec-5的配体结合。

[0154] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体诱导或增加细胞中反应性氧物质(ROS)的产生。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体在体外诱导或增加细胞中反应性氧物质(ROS)的产生。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体在体内诱导或增加细胞中反应性氧物质(ROS)的产生。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体诱导或增加嗜中性粒细胞、原代嗜中性粒细胞、人嗜中性粒细胞和/或原代人嗜中性粒细胞中反应性氧物质(ROS)的产生。

[0155] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体减少细胞中反应性氧物质(ROS)的产生。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体在体外减少细胞中反应性氧物质(ROS)的产生。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体在体内减少细胞中反应性氧物质(ROS)的产生。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体减少嗜中性粒细胞、原代嗜中性粒细胞、人嗜中性粒细胞和/或原代人嗜中性粒细胞中反应性氧物质(ROS)的产生。

[0156] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体诱导或增加细胞中嗜中性粒细胞细胞外陷阱(NET)的产生或形成。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体在体外诱导或增加细胞中嗜中性粒细胞细胞外陷阱(NET)的产生或形成。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体在体内诱导或增加细胞中嗜中性粒细胞细胞外陷阱(NET)的产生或形成。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体诱导或增加嗜中性粒细胞、原代嗜中性粒细胞、人嗜中性粒细胞和/或原代人嗜中性粒细胞中的嗜中性粒细胞细胞外陷阱(NET)的产生或形成。

[0157] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体减少细胞中嗜中性粒细胞细胞外陷阱(NET)的产生或形成。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体在体外减少细胞中嗜中性粒细胞细胞外陷阱(NET)的产生或形成。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体在体内减少细胞中嗜中性粒细胞细胞外陷阱(NET)的产生或形成。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体减少嗜中性粒细胞、原代嗜中性粒细胞、人嗜中性粒细胞和/或原代人嗜中性粒细胞中的嗜中性粒细胞细胞外陷阱(NET)的产生或形成。

[0158] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体增加CD86在髓源性抑制细胞中的表达。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体增加CCL4在髓源性抑制细胞中的表达。

[0159] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体诱导或增强巨噬细胞的吞噬活性。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体诱导或增强人巨噬细胞的吞噬活性。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体诱导或增强原代人巨噬细胞的吞噬活性。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体诱导或增强M0巨噬细胞、M1巨噬细胞和/或M2a巨噬细胞的吞噬活性。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体在体外诱导或增强巨噬细胞的吞噬活性。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体在体内诱导或增强巨噬细胞的吞噬活性。

[0160] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体是与在细胞的表面上表达的本公开的Siglec-5蛋白结合并在与表面表达的Siglec-5蛋白结合后调节(例如,诱导或抑制)本公开的一种或多种Siglec-5活性的激动剂抗体或拮抗剂抗体。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体是惰性抗体。

[0161] 测定

[0162] 可采用本领域中熟知的方法来确认和/或表征降低Siglec-5的细胞水平的抗Siglec-5抗体,比如放射性标记的抑制剂测定、光学测定、蛋白质结合测定、生物化学筛选测定、免疫测定、质量位移测量测定、荧光测定和/或荧光(fluorogenic)肽切割测定。

[0163] 结合测定及其它测定

[0164] 在某些实施方案中,可通过本领域中熟知的用于检测候选抗Siglec-5抗体与Siglec-5的相互作用的存在和/或对Siglec-5的结合亲和力的技术来确认结合Siglec-5并降低Siglec-5的细胞水平的抗Siglec-5抗体。

[0165] 在某些实施方案中,可采用放射性标记的抑制剂测定来确认与Siglec-5相互作用的抗Siglec-5抗体。例如,可将已知量放射性标记的候选剂与已知量的固定化Siglec-5和缓冲液一起温育。随后,可用缓冲液洗涤固定化Siglec-5,并且可采用本领域中已知的技术比如 $\gamma$ 计数器来测量固定化Siglec-5中放射性标记的候选抗Siglec-5抗体的剩余存在。指示放射性标记物质的存在的测量结果可指示放射性标记的候选抗体能够与Siglec-5相互作用和/或结合。

[0166] 在某些实施方案中,可采用光学技术来确认与Siglec-5相互作用的抗体。检测Siglec-5抗体的示例性光学技术可包括例如将Siglec-5附着于比色共振接枝表面,从而由于光必须经过的光路的变化而使反射光的波长偏移,并随后当允许候选剂与Siglec-5相互作用时测量反射光的波长的另外的变化。例如,当将剂与Siglec-5一起温育时,反射光的测量波长没有变化可指示候选剂不能与Siglec-5相互作用。当将候选剂与Siglec-5一起温育时,反射光的测量波长变化可指示候选抗体能够与Siglec-5结合和/或相互作用。

[0167] 在某些实施方案中,可采用蛋白质结合测定来确认与Siglec-5相互作用的抗体。检测Siglec-5抗体的示例性蛋白质结合测定可包括例如在候选抗体存在下的Siglec-5的共免疫沉淀。例如,可将Siglec-5与候选抗体一起在缓冲液中温育,随后在本领域中已知的洗涤程序期间,在候选抗体的存在下,可以使用对捕获Siglec-5具有特异性的固定化分子比如抗Siglec-5抗体来捕获Siglec-5,并潜在地与相互作用的候选抗体一起结合Siglec-5。随后,可潜在地与相互作用的候选抗体一起释放Siglec-5,并且可基于候选抗体特性,通过比如质谱法和/或Western印迹的技术来检测候选抗体的存在。

[0168] 在某些实施方案中,可采用本领域中熟知的生物化学和/或免疫测定来确认与Siglec-5相互作用的抗体。示例性技术可包括例如采用比如Western印迹、免疫染色和共免疫沉淀的技术定量测量Siglec-5浓度和/或蛋白质半衰期的变化的测定。例如,可将候选抗体与含有Siglec-5的样品如表达Siglec-5的细胞一起温育,随后可在时间进程研究期间的时间点上测量Siglec-5蛋白量和/或细胞水平。蛋白量、细胞水平和/或蛋白质半衰期与对照处理相比的变化可指示候选Siglec-5抗体能够改变Siglec-5半衰期和/或活性。

[0169] 在某些实施方案中,质量位移测量测定法可用于确认与Siglec-5相互作用的抗体。示例性质量位移测量测定法可包括例如当候选抗体与Siglec-5相互作用时,通过使用诸如但不限于质谱仪的仪器测量Siglec-5质量的变化来检测强和/或共价结合的Siglec-5抗体的存在。例如,根据候选抗体相互作用的性质,可以对全蛋白和/或基于肽的分析进行质量位移测定。检测与向Siglec-5中添加所述候选抗体关联的质量位移可指示候选抗体能够与Siglec-5相互作用,或者以其它方式抑制Siglec-5。另外,示例性质量位移测量测定法

可包括例如当候选抗体与Siglec-5相互作用时,采用比如表面等离子体共振的技术检测与相应候选抗体质量关联的向Siglec-5中的质量添加。例如,可以测量光的折射率的变化,并将其与附着于传感器表面的Siglec-5的质量变化相关联。

[0170] 在某些实施方案中,化学交联测定可用于确认与Siglec-5相互作用的Siglec-5抗体。例如,可将候选抗体在体内或体外与Siglec-5一起温育,其中分子交联剂能够将与Siglec-5相互作用的候选抗体与所述Siglec-5分子共价连接。随后,可采用诸如但不限于质谱法和/或Western印迹的技术来确认能够与Siglec-5相互作用或以其它方式抑制Siglec-5的候选抗体。例如,检测到与候选抗体共价交联的Siglec-5可指示候选剂能够与Siglec-5相互作用或以其它方式抑制Siglec-5。

[0171] 在某些实施方案中,可采用荧光测定来确认与Siglec-5相互作用的抗体。例如,可将已知量的候选荧光抗体与已知量的固定化Siglec-5和缓冲液一起温育。随后,可用缓冲液洗涤固定化Siglec-5,并且可采用本领域中已知的技术如但不限于荧光检测来测量固定化Siglec-5中候选荧光Siglec-5抗体的剩余存在。指示荧光物质的存在的测量结果可指示候选荧光抗体能够与Siglec-5相互作用和/或结合。

[0172] 上述用于确认与Siglec-5相互作用或结合的本公开的抗体的测定法也可用于确认不与Siglec-14相互作用或结合的抗Siglec-5抗体。

[0173] 活性测定

[0174] 本领域中已知和/或本文所述的测定法可用于确认和测试本公开的Siglec-5抗体的生物活性。在一些实施方案中,提供了用于测试Siglec-5抗体调节一种或多种Siglec-5活性的能力的测定法。

[0175] 抗Siglec-5抗体结合区

[0176] 本公开的某些方面提供抗Siglec-5抗体,其与人Siglec-5(SEQ ID NO:1)的氨基酸残基17-441、19-360、19-330、19-229、19-136、146-229或236-330内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基17-441、19-360、19-330、19-229、19-136、146-229或236-330的同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5(SEQ ID NO:1)的氨基酸残基63-71内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基63-71的Siglec-5同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5(SEQ ID NO:1)的氨基酸残基63-71、83-92和125-132内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基63-71、83-92和125-132的Siglec-5同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5(SEQ ID NO:1)的氨基酸残基65-71内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基65-71的Siglec-5同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5(SEQ ID NO:1)的氨基酸残基65-71和81-87内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基65-71和81-87的Siglec-5同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5(SEQ ID NO:1)的氨基酸残基65-71、77-84和119-127内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基65-71、77-84和119-127的Siglec-5同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5(SEQ ID NO:1)的氨基酸残基65-73内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基65-73的Siglec-5同源物或直向

同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸残基77-84内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基77-84的Siglec-5同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸残基81-87内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基81-87的Siglec-5同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸残基83-92内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基83-92的Siglec-5同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸残基119-127内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基119-127的Siglec-5同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸残基125-132内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基125-132的Siglec-5同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸残基352-358内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基352-358的Siglec-5同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。

[0177] 本公开的某些方面提供抗Siglec-5抗体,其与人Siglec-5 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸残基268-278、226-244或228-238内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基268-278、226-244或228-238的Siglec-5蛋白、同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸残基268-278内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基268-278的Siglec-5蛋白、同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与氨基酸序列氨基酸序列LSWFQGSPALN (SEQ ID NO:221) 内的一个或多个残基结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸残基226-244内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基226-244的Siglec-5蛋白、同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与氨基酸序列QTITIFRNGIALEILQNTS (SEQ ID NO:220) 内的一个或多个氨基酸残基结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与人Siglec-5 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸残基228-238内或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基228-238的Siglec-5蛋白、同源物或直向同源物上的氨基酸残基内的一个或多个氨基酸结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体与氨基酸序列ITIFRNGIALE (SEQ ID NO:219) 内的一个或多个氨基酸残基结合。

[0178] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可结合构象表位。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可结合不连续的Siglec-5表位。在一些实施方案中,不连续的Siglec-5表位可具有两个或更多个肽、三个或更多个肽、四个或更多个肽、五个或更多个肽、六个或更多个肽、七个或更多个肽、八个或更多个肽、九个或更多个肽或10个或更多个肽。如本文所公开,Siglec-5表位可包含一种或多种肽,所述肽包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的五个或更多个、六个或更多个、七个或更多个、八个或更多个、九个或更多个、10个或更多个、11个或更多个、12个或更多个、13个或更多个、14个或更多个、15个或更多个、16个或更多个、17个或更多个、18个或更多个、19个或更多个或20个或更多个氨基酸残基,或对应于SEQ ID NO:1的氨基酸序列的哺乳动物Siglec-5蛋白上的五个或更多个、六个或更多

个、七个或更多个、八个或更多个、九个或更多个、10个或更多个、11个或更多个、12个或更多个、13个或更多个、14个或更多个、15个或更多个、16个或更多个、17个或更多个、18个或更多个、19个或更多个或20个或更多个氨基酸残基。

[0179] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体竞争性地抑制至少一种选自表2、表3、表6和表7中列出的任何抗体的抗体的结合。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体竞争性地抑制选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的至少一种抗体的结合。

[0180] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体与人Siglec-5的与选自表2、表3、表6和表7中列出的任何抗体至少一种抗体结合的Siglec-5表位相同或重叠的表位结合。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体与人Siglec-5的与选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的至少一种抗体结合的Siglec-5表位相同或重叠的表位结合。

[0181] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体结合与选自表2、表3、表6和表7中列出的任何抗体的至少一种抗体结合的基本上相同的Siglec-5表位。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体结合与选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的至少一种抗体结合的基本上相同的Siglec-5表位。Morris (1996) “Epitope Mapping Protocols”在Methods in Molecular Biology,第66卷 (Humana Press, Totowa, NJ) 中提供了对与抗体结合的表位进行定位的详细示例性方法。

[0182] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体当与不存在抗Siglec-5抗体情况下与Siglec-5结合相比,抗Siglec-5抗体降低选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9及其任意组合的一种或多种抗体与Siglec-5结合的量在约50%至100%范围内时,所述抗Siglec-5抗体是与选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和

S5-G-03-H9及其任意组合的一种或多种抗体竞争与Siglec-5的结合。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体当与不存在抗Siglec-5抗体情况下与Siglec-5结合相比,抗Siglec-5抗体将选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9及其任意组合的一种或多种抗体与Siglec-5的结合降低至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%时,所述抗Siglec-5抗体是与选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9及其任意组合的一种或多种抗体竞争与Siglec-5的结合。在一些实施方案中,将选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9及其任意组合的一种或多种抗体与Siglec-5的结合降低100%的本公开的抗Siglec-5抗体指示抗Siglec-5抗体基本上完全阻断选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9及其任意组合的一种或多种抗体与Siglec-5的结合。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体和选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9及其任意组合的一种或多种抗体以一定的量存在,所述量对应于10:1比率、9:1比率、8:1比率、7:1比率、6:1比率、5:1比率、4:1比率、3:1比率、2:1比率、1:1比率、0.75:1比率、0.5:1比率、0.25:1比率、0.1:1比率、0.075:1比率、0.050:1比率、0.025:1比率、0.01:1比率、0.0075:1比率、0.0050:1比率、0.0025:1比率、0.001:1比率、0.00075:1比率、0.00050:1比率、0.00025:1比率、0.0001:1比率、1:10比率、1:9比率、1:8比率、1:7比率、1:6比率、1:5比率、1:4比率、1:3比率、1:2比率、1:0.75比率、1:0.5比率、1:0.25比率、1:0.1比率、1:0.075比率、1:0.050比率、1:0.025比率、1:0.01比率、1:0.0075比率、1:0.0050比率、1:0.0025比率、1:0.001比率、1:0.00075比率、1:0.00050比率、1:0.00025比率或1:0.0001比率的抗Siglec-5抗体与选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-

174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9及其任意组合的一种或多种抗体。在一些实施方案中,与选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9及其任意组合的一种或多种抗体的量相比,抗Siglec-5抗体过量存在,过量范围是约1.5倍至100倍或大于100倍。在一些实施方案中,与选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9及其任意组合的一种或多种抗体的量相比,抗Siglec-5抗体以约2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、55倍、60倍、65倍、70倍、75倍、80倍、85倍、90倍、95倍或100倍过量存在。

[0183] 可利用本领域中已知的任意合适的竞争测定法或Siglec-5结合测定法如BIAcore分析、ELISA测定或流式细胞术来确定抗Siglec-5抗体是否与选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9及其任意组合的一种或多种抗体竞争与Siglec-5的结合。在示例性竞争测定中,将固定化Siglec-5或在细胞表面上表达Siglec-5的细胞在包含第一标记抗体和第二非标记抗体的溶液中温育,所述第一标记抗体与Siglec-5(例如,人或非人灵长类动物)结合,所述第二非标记抗体是被测试其与第一抗体竞争与Siglec-5结合的能力的。第二抗体可存在于杂交瘤上清液中。作为对照,将固定化Siglec-5或表达Siglec-5的细胞在包含第一标记抗体但不包含第二非标记抗体的溶液中温育。在允许第一抗体与Siglec-5结合的条件下温育后,移除过量未结合的抗体,并测量与固定化Siglec-5或表达Siglec-5的细胞缔合的标记的量。如果在测试样品中与固定化Siglec-5或表达Siglec-5的细胞缔合的标记的量相对于对照样品显著减少,则其指示第二抗体与第一抗体竞争与Siglec-5的结合。参见Harlow和Lane(1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, 第14章(Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

[0184] 抗Siglec-5抗体轻链和重链可变区

[0185] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体包含(a)轻链可变区,其包含从选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-

H8、S5-G-03-H9及其任意组合的抗体中的任一者的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3中选择的至少一个、两个或三个HVR；和/或(b)重链可变区,其包含从选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8、S5-G-03-H9及其任意组合的抗体中的任一者的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3中选择的至少一个、两个或三个HVR。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体包含至少一个、两个、三个、四个、五个或六个选自以下的HVR: (i) 包含来自选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的抗体的氨基酸序列的HVR-L1; (ii) 包含来自选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的抗体的氨基酸序列的HVR-L2; (iii) 包含来自选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的抗体的氨基酸序列的HVR-L3; (iv) 包含来自选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的抗体的氨基酸序列的HVR-H1; (v) 包含来自选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的抗体的氨基酸序列的HVR-H2; 和(vi) 包含来自选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的抗体的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,HVR-L1、HVR-L2、HVR-L3、HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3包含来自选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-



172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9及其任意组合的抗体的EU或Kabat CDR、Chothia CDR或接触CDR序列。

[0186] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中轻链可变结构域包含以下中的一者或多者:(a)包含选自SEQ ID NO:103-115的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含选自SEQ ID NO:127-135的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含选自SEQ ID NO:153-163的氨基酸序列的HVR-L3;和/或其中重链可变结构域包含以下中的一者或多者:(a)包含选自SEQ ID NO:20-28的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含选自SEQ ID NO:39-51的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含选自SEQ ID NO:70-79的氨基酸序列的HVR-H3。

[0187] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中(a)HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列;(b)HVR-H1包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列;(c)HVR-H1包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列;(d)HVR-H1包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列;(e)HVR-H1包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列;(f)HVR-H1包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列;(g)HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列;(h)HVR-H1包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列;(i)HVR-H1包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列;(j)HVR-H1包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID

NO:78的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列;(k)HVR-H1包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列;(l)HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列;(m)HVR-H1包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列;以及(n)HVR-H1包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列。

[0188] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体包含选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的抗体中的任一者的轻链可变区;和/或选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的抗体中的任一者的重链可变区。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体包含表2、表3、表6和表7中列出或选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的抗体中的任一者的轻链可变区;和/或表2、表3、表6和表7中列出或选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的抗体中的任一者的重链可变区。

[0189] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体包含轻链可变区,其包含选自SEQ ID NO:194-211中的任一者的氨基酸序列;和/或重链可变结构域,其包含选自SEQ ID NO:174-193中的任一者的氨基酸序列。在一些实施方案中,轻链可变结构域包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列;且重链可变结构域包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列。在一些实施方案

[illegible]

些实施方案中,轻链可变结构域包含SEQ ID NO:210的氨基酸序列;且重链可变结构域包含SEQ ID NO:192的氨基酸序列。在一些实施方案中,轻链可变结构域包含SEQ ID NO:211的氨基酸序列;且重链可变结构域包含SEQ ID NO:192的氨基酸序列。在一些实施方案中,轻链可变结构域包含SEQ ID NO:209的氨基酸序列;且重链可变结构域包含SEQ ID NO:193的氨基酸序列。在一些实施方案中,轻链可变结构域包含SEQ ID NO:210的氨基酸序列;且重链可变结构域包含SEQ ID NO:193的氨基酸序列。在一些实施方案中,轻链可变结构域包含SEQ ID NO:211的氨基酸序列;且重链可变结构域包含SEQ ID NO:193的氨基酸序列。

[0190] 在一些实施方案中提供了抗Siglec-5抗体,其中所述抗体包含如上文提供的任何实施方案中的 $V_H$ 和如上文提供的任何实施方案中的 $V_L$ 。在一个实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体包含选自SEQ ID NO:174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192和193的 $V_H$ 序列;和选自SEQ ID NO:194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、209、210和211的 $V_L$ 序列,包括这些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体包含选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的抗体的 $V_H$ 序列和 $V_L$ 序列。

[0191] 另一方面,本公开的抗Siglec-5抗体包含与SEQ ID NO:174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192或193的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域( $V_H$ )序列。在某些实施方案中,与SEQ ID NO:174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192或193的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的 $V_H$ 序列相对于参考序列含有取代(例如,保守性取代)、插入或缺失,但包含该序列的抗Siglec-5抗体保留与Siglec-5结合的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192或193中总共有1至10个氨基酸被取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192或193中总共有1至5个氨基酸被取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区域中(即,在FR中)。任选地,抗Siglec-5抗体包含SEQ ID NO:174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192或193的 $V_H$ 序列,包括该序列的翻译后修饰。在特定的实施方案中, $V_H$ 包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)包含表2和/或表6中所示的HVR-H1的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含表2和/或表6中所示的HVR-H1的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含表2和/或表6中所示的HVR-H1的氨基酸序列的HVR-H3。

[0192] 另一方面,本公开的抗Siglec-5抗体包含与SEQ ID NO:194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、209、210或211的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )。在某些实施方案中,与SEQ ID NO:194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、

204、205、206、207、208、209、210或211的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的 $V_L$ 序列相对于参考序列含有取代(例如,保守性取代)、插入或缺失,但包含该序列的抗Siglec-5抗体保留与Siglec-5结合的能力。在一些实施方案中,在SEQ ID NO:194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、209、210或211中总共有1至10个氨基酸被取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、209、210或211中总共有1至5个氨基酸被取代、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区域中(即,在FR中)。任选地,抗Siglec-5抗体包含SEQ ID NO:194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、209、210或211的 $V_L$ 序列,包括该序列的翻译后修饰。在特定的实施方案中, $V_L$ 包含一个、两个或三个选自以下的HVR:(a)包含表3和/或表7中所示的HVR-H1的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含表3和/或表7中所示的HVR-H1的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含表3和/或表7中所示的HVR-H1的氨基酸序列的HVR-L3。

[0193] 在一些实施方案中,本文提供抗Siglec-5抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-172。

[0194] 在一些实施方案中,本文提供抗Siglec-5抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-174。

[0195] 在一些实施方案中,本文提供抗Siglec-5抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-175。

[0196] 在一些实施方案中,本文提供抗Siglec-5抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-176。

[0197] 在一些实施方案中,本文提供抗Siglec-5抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-182。

[0198] 在一些实施方案中,本文提供抗Siglec-5抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:25的氨

氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-183。

[0199] 在一些实施方案中, 本文提供抗Siglec-5抗体, 其包含(a) 包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-190。

[0200] 在一些实施方案中, 本文提供抗Siglec-5抗体, 其包含(a) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-202。

[0201] 在一些实施方案中, 本文提供抗Siglec-5抗体, 其包含(a) 包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-G-03。

[0202] 在一些实施方案中, 本文提供抗Siglec-5抗体, 其包含(a) 包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-G-07。

[0203] 在一些实施方案中, 本文提供抗Siglec-5抗体, 其包含(a) 包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-G-10。

[0204] 在一些实施方案中, 本文提供抗Siglec-5抗体, 其包含(a) 包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-172-H1。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-172-H2。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-172-H3。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-172-H4。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-172-H5。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-172-H6。

[0205] 在一些实施方案中, 本文提供抗Siglec-5抗体, 其包含(a) 包含SEQ ID NO:21的氨

氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-174-H1。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-174-H2。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-174-H3。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-174-H4。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-174-H5。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-174-H6。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-174-H7。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-174-H8。

[0206] 在一些实施方案中, 本文提供抗Siglec-5抗体, 其包含(a) 包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-G-03-H1。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-G-03-H2。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-G-03-H3。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-G-03-H4。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-G-03-H5。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-G-03-H6。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-G-03-H7。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-G-03-H8。在一些实施方案中, 抗Siglec-5抗体是抗Siglec-5单克隆抗体S5-G-03-H9。

[0207] 在一些实施方案中, 本公开的抗Siglec-5抗体与包含选自SEQ ID NO:174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192和193的 $V_H$ 序列和选自SEQ ID NO:194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、209、210和211的 $V_L$ 序列的抗体竞争与人Siglec-5的结合。在一些实施方案中, 本公开的抗Siglec-5抗体与选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的抗体竞争结合。

[0208] 在一些实施方案中, 本公开的抗Siglec-5抗体与包含重链可变结构域和轻链可变结构域的抗Siglec-5抗体竞争与人Siglec-5的结合, 所述重链可变结构域包含HVR-H1、HVR-H2和/或HVR-H3, 所述轻链可变结构域包含HVR-L1和HVR-L2和/或HVR-L3, 其中(a) HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列, HVR-H2包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列, HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列, HVR-L1包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列, HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列, 且HVR-L3包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列; (b) HVR-H1包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列, HVR-H2包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列, HVR-H3包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列, HVR-L1包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列, HVR-L2包含SEQ ID NO:128的氨基

酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列;(c)HVR-H1包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列;(d)HVR-H1包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列;(e)HVR-H1包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列;(f)HVR-H1包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列;(g)HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列;(h)HVR-H1包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列;(i)HVR-H1包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列;(j)HVR-H1包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列;(k)HVR-H1包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列;(l)HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列;(m)HVR-H1包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列;以及(n)HVR-H1包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列。

[0209] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体与包含以下的抗体竞争与人Siglec-5的结合:包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:195的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列



[illegible]

[0210] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体与人Siglec-5的表位结合,所述表位与包含选自SEQ ID NO:174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192和193的V<sub>H</sub>序列和选自SEQ ID NO:194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、209、210和211的V<sub>L</sub>序列的抗Siglec-5抗体结合的表位相同或重叠。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体与人Siglec-5的与选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的抗Siglec-5抗体结合的表位相同或重叠的表位结合。

[0211] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体与人Siglec-5的与包含可变重链结构域和可变轻链结构域的抗Siglec-5抗体结合的表位相同或重叠的表位结合,所述可变重链结构域包含HVR-H1、HVR-H2和/或HVR-H2,所述可变轻链结构域包含HVR-L1、HVR-L2和/或HVR-L3,其中(a)HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列;(b)HVR-H1包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列;(c)HVR-H1包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列;(d)HVR-H1包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列;(e)HVR-H1包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列;(f)HVR-H1包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列;(g)HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列;(h)HVR-H1包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列;(i)HVR-H1包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列;(j)HVR-H1包含

SEQ ID NO:27的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列;(k)HVR-H1包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列;(l)HVR-H1包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列;(m)HVR-H1包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列;以及(n)HVR-H1包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列,HVR-H2包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列,HVR-H3包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,HVR-L1包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列,HVR-L2包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列,且HVR-L3包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列。

[0212] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体与人Siglec-5的与包含以下的抗Siglec-5抗体结合的表位相同或重叠的表位结合:包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:195的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:197的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:199的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:179的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:201的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:180的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:204的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:205的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:206的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:205的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:206的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:205的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:206的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:207的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:187的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:208的氨基酸序列的轻链可变

结构域和包含SEQ ID NO:187的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:207的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:208的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:207的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:189的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:208的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:189的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:207的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:208的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:209的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:191的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:210的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:191的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:211的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:191的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:209的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:192的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:210的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:192的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:211的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:192的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:209的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:193的氨基酸序列的重链可变结构域;包含SEQ ID NO:210的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:193的氨基酸序列的重链可变结构域;和/或包含SEQ ID NO:211的氨基酸序列的轻链可变结构域和包含SEQ ID NO:193的氨基酸序列的重链可变结构域。

[0213] 可由细胞系产生本公开的任何抗Siglec-5抗体。在一些实施方案中,细胞系可以是哺乳动物细胞系。在某些实施方案中,细胞系可以是杂交瘤细胞系。在其它实施方案中,细胞系可以是酵母细胞系。本领域中已知适用于抗体产生的任何细胞系均可用于产生本公开的抗体。在整个本公开的内容中描述了用于抗体产生的示例性细胞系。

[0214] 在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体是选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的抗Siglec-5单克隆抗体。在某些实施方案中,抗Siglec-5抗体是拮抗剂抗体。在某些实施方案中,抗Siglec-5抗体是激动剂抗体或惰性抗体。

[0215] 抗Siglec-5抗体结合亲和力

[0216] 人Siglec-5、哺乳动物Siglec-5或两者的抗Siglec-5抗体的解离常数( $K_D$ )可小于100nM、小于75nM、小于50nM、小于25nM、小于20nM、小于15nM、小于10nM、小于9nM、小于8nM、小于7nM、小于6nM、小于5nM、小于4nM、小于3nM、小于2nM、小于1nM、小于0.95nM、小于0.9nM、小于0.85nM、小于0.8nM、小于0.75nM、小于0.70nM、小于0.69nM、小于0.68nM、小于0.67nM、小于0.66nM、小于0.65nM、小于0.64nM、小于0.63nM、小于0.62nM、小于0.61nM、小于0.6nM、小于0.59nM、小于0.58nM、小于0.57nM、小于0.56nM、小于0.55nM、小于0.54nM、小于0.53nM、小于0.52nM、小于0.51nM、小于0.50nM、小于0.49nM、小于0.48nM、小于0.47nM、小于0.46nM、小于0.45nM、小于0.44nM、小于0.43nM、小于0.42nM、小于0.41nM、小于0.4nM、小

于0.39nM、小于0.38nM、小于0.37nM、小于0.36nM、小于0.35nM、小于0.34nM、小于0.33nM、小于0.32nM、小于0.31nM、小于0.3nM、小于0.29nM、小于0.28nM、小于0.27nM、小于0.26nM、小于0.25nM、小于0.24nM、小于0.23nM、小于0.22nM、小于0.21nM、小于0.2nM、小于0.19nM、小于0.18nM、小于0.17nM、小于0.16nM、小于0.15nM、小于0.14nM、小于0.13nM、小于0.12nM、小于0.11nM、小于0.1nM、小于0.09nM、小于0.08nM、小于0.07nM、小于0.06nM、小于0.05nM、小于0.04nM、小于0.03nM、小于0.02nM、或小于0.01nM(即,10pM)。在一些实施方案中,人Siglec-5、哺乳动物Siglec-5或两者的抗体的解离常数( $K_D$ )在小于80nM至小于0.4nM的范围内。在一些实施方案中,人Siglec-5的抗体的解离常数( $K_D$ )在约400pm至约80nM的范围内。在一些实施方案中,人Siglec-5的抗体的解离常数( $K_D$ )为约0.42nM、约0.85nM、约1.1nM、约1.5nM、约1.7nM、约5.3nM、约7.1nM、约15nM、约31nM、约61nM或约79nM。

[0217] 在本文提供的任何抗体的一些实施方案中,抗体的解离常数( $K_D$ ) $<1\mu\text{M}$ 、 $<100\text{nM}$ 、 $<10\text{nM}$ 、 $<1\text{nM}$ 、 $<0.1\text{nM}$ 、 $<0.01\text{nM}$ 或 $<0.001\text{nM}$ (例如, $10^{-8}\text{M}$ 或更小,例如 $10^{-8}\text{M}$ 至 $10^{-13}\text{M}$ ,例如 $10^{-9}\text{M}$ 至 $10^{-13}\text{M}$ )。可通过任何分析技术来测定解离常数,包括任何生物化学或生物物理技术,如ELISA、表面等离子体共振(SPR)、生物层干涉测量法(参见例如ForteBio的Octet系统)、等温滴定量热法(ITC)、差示扫描量热法(DSC)、圆二色谱法(CD)、停流分析和比色或荧光蛋白熔融分析。在一个实施方案中,通过放射性标记的抗原结合测定(RIA)来测量 $K_D$ 。在一些实施方案中,例如如Chen等人,J.Mol.Biol.293:865-881(1999))中所述,用所关注的抗体的Fab形式及其抗原进行RIA。在一些实施方案中,采用BIAcore表面等离子体共振测定法测量 $K_D$ ,例如使用BIAcore-2000或BIAcore-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)的测定在25°C下用固定化抗原CM5芯片以~10个响应单位(RU)进行。在一些实施方案中,例如如本文的实施例中讨论,使用ForteBio Octet® Red384系统(ForteBio, Menlo Park, CA)测量 $K_D$ 。在一些实施方案中,在大约25°C的温度下测定 $K_D$ 。

[0218] 可通过本领域中已知的各种测定法来确认、筛选和/或表征另外的抗Siglec-5抗体(例如,与本公开的Siglec-5蛋白特异性结合的抗体)的物理/化学特性和/或生物活性。

[0219] 能够结合Fc  $\gamma$  受体的抗Siglec-5抗体

[0220] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体保留结合Fc  $\gamma$  受体的能力。在一些实施方案中,这类抗体在其具有与受体激活相容的正确表位特异性时可具有使其能够聚集并瞬时刺激例如Siglec-5受体的特征。在一些实施方案中,这类抗体可随后通过诱导Siglec-5降解、Siglec-5脱敏、Siglec-5切割、Siglec-5内化、Siglec-5脱落、Siglec-5表达的下调和/或Siglec-5的溶酶体降解而充当Siglec-5表达和/或Siglec-5蛋白的一种或多种活性的长期抑制剂。

[0221] 在体内,本公开的抗Siglec-5抗体可通过多种潜在机制中的任何一种或多种来聚集受体并瞬时激活Siglec-5。人抗体的一些同种型如IgG2由于其独特的结构而具有聚集受体或以聚集构型保留受体的内在能力,从而瞬时激活受体如Siglec-5而不与Fc受体结合(例如,White等人,(2015)Cancer Cell 27,138-148)。

[0222] 在一些实施方案中,其它抗体可通过与邻近细胞上的Fc $\gamma$ 受体结合来聚集受体(例如,Siglec-5)。在一些实施方案中,抗体的恒定IgG Fc区与Fc $\gamma$ 受体的结合可导致抗体的聚集,而抗体又可聚集通过它们的可变区与它们结合的受体(Chu等人(2008)Mol Immunol, 45:3926-3933;和Wilson等人,(2011)Cancer Cell 19,101-113)。在一些实施方案中,与不

引起细胞因子分泌、氧化暴发、吞噬作用增加和抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 增强的抑制性Fcγ受体FcγR (FcγRIIB) 的结合是在体内聚集抗体的优选方式, 因为与FcγRIIB的结合与不利的免疫反应效应无关。

[0223] 本公开的抗Siglec-5抗体可通过其它机制聚集受体。例如, 如上所述, 交联在一起的抗体片段 (例如, Fab片段) 可用于以类似于具有结合Fcγ受体的Fc区的抗体的方式聚集受体 (例如, Siglec-5)。在一些实施方案中, 如果交联的抗体片段 (例如, Fab片段) 诱导细胞表面上的受体聚集并结合靶标 (例如, Siglec-5) 上的适当表位, 则它们可瞬时充当激动剂抗体。

[0224] 因此, 在一些实施方案中, 结合Siglec-5蛋白的本公开的抗体可包括激动剂抗体, 所述激动剂抗体由于其表位特异性而结合Siglec-5, 并且在它们例如降低Siglec-5的细胞水平之前瞬时激活一种或多种Siglec-5活性, 抑制一种或多种Siglec-5活性 (例如, 由于Siglec-5的细胞水平降低), 和/或抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用 (例如, 结合) (例如, 由于Siglec-5的细胞水平降低)。在一些实施方案中, 这类抗体可与Siglec-5上的配体结合位点结合, 并瞬时模拟天然配体的作用。或者, 这类抗体可通过与不是配体结合位点的一个或多个结构域结合来刺激靶抗原转导信号。在一些实施方案中, 这类抗体不会干扰配体结合。在一些实施方案中, 无论抗体与Siglec-5上的配体结合位点结合还是不结合, 抗体随后都可以通过诱导Siglec-5降解、Siglec-5脱敏、Siglec-5切割、Siglec-5内化、Siglec-5脱落、Siglec-5表达的下调和/或Siglec-5的溶酶体降解而充当Siglec-5表达和/或Siglec-5蛋白的一种或多种活性的长期抑制剂。

[0225] 下表B中提供了示例性抗体Fc同种型和修饰。在一些实施方案中, 能够结合Fcγ受体的本公开的抗Siglec-5抗体具有下表B中列出的Fc同种型。

[0226] 表B: 能够结合Fcγ受体的示例性抗Siglec-5抗体Fc同种型

[0227]	Fc 同种型	突变(EU 编号方案)
	IgG1	N297A
	IgG1	D265A 和 N297A
	IgG1	D270A

[0228]

<b>Fc 同种型</b>	<b>突变(EU 编号方案)</b>
IgG1	L234A 和 L235A L234A 和 G237A L234A 和 L235A 和 G237A L235A 和 G237A E233P 和 L234A 和 L235A
IgG1	D270A 和/或 P238D 和/或 L328E 和/或 E233D 和/或 G237D 和/或 H268D 和/或 P271G 和/或 A330R
IgG1	P238D 和 L328E 和 E233D 和 G237D 和 H268D 和 P271G 和 A330R
IgG1	P238D 和 L328E 和 G237D 和 H268D 和 P271G 和 A330R
IgG1	P238D 和 S267E 和 L328F 和 E233D 和 G237D 和 H268D 和 P271G 和 A330R
IgG1	P238D 和 S267E 和 L328F 和 G237D 和 H268D 和 P271G 和 A330R
IgG1	V263L
IgG1	V266L
IgG1	V273C 或 V273E 或 V273F 或 V273L 或 V273M 或 V273S 或 V273Y
IgG1	V305K 或 V305W
IgG2	V234A 和 G237A
IgG4	L235A 和 G237A 和 E318A
IgG4	S228P 和 L236E
IgG2/4 杂合	IgG2 aa 118 至 260 和 IgG4 aa 261 至 447 H268Q 和 V309L; 以及 A330S 和 P331S
IgG1	C226S 和 C229S 和 E233P 和 L234V 和 L235A
IgG1	L234F 和 L235E 和 P331S
IgG2	C232S 或 C233S
IgG2	A330S 和 P331S
IgG2	A330S 和 P331S 和 E430G
IgG1	S267E 和 L328F 仅 S267E
IgG2	S267E 和 L328F
IgG4	S267E 和 L328F

[0229]

<b>Fc 同种型</b>	<b>突变(EU 编号方案)</b>
IgG1	E430G
IgG1	P331S 和 E430G
IgG1	L234A 和 L235A 和 P331S 和 E430G
IgG1	S267E 和 L328F 和 E430G
IgG1	K322A 和 E430G
IgG1	K322A 和 P331S 和 E430G
IgG2	C127S
IgG2	E430G
IgG2	具有 $\kappa$ (轻链) LC 的 WT HC 具有 $\kappa$ LC 的 HC C127S $\kappa$ LC C214S $\kappa$ LC C214S 和 HC C233S $\kappa$ LC C214S 和 HC C232S 任何上面列出的突变以及 P330S 和 P331S 突变 WT IgG1 的 F(ab') <sub>2</sub> 片段和任何上面列出的突变
IgG1	IgG1 的恒定重链 1 (CH1)和铰链区用 IgG2 的 CH1 和铰链区取代 ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDPKPS NTKVDKTVR KCCVECPCP (SEQ ID NO: 218)  具有 $\kappa$ LC
IgG1	任何上面列出的突变以及 A330L 和/或 L234F 和/或 L235E 和/或 P331S
IgG1、IgG2 或 IgG4	任何上面列出的突变以及 M252Y 和/或 S254T 和/或 T256E
小鼠 IgG1	对于小鼠疾病模型
IgG4	WT

[0230] 除了表B中描述的同种型之外,并且不希望受理论的束缚,认为结合人中的Fc $\gamma$ 受体I、IIA、IIC、IIIA、IIIB和/或小鼠中的Fc $\gamma$ 受体I、III和IV的具有人IgG1或IgG3同种型的抗体及其突变体(例如Strohl(2009)Current Opinion in Biotechnology 2009,20:685-691)也可充当瞬时激动剂抗体。

[0231] 在一些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体属于IgG类、IgM类或IgA类。在一些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。



[0232] 在某些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体具有IgG2同种型。在一些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体含有人IgG2恒定区。在一些实施方案中,人IgG2恒定区包括Fc区。在一些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体结合抑制性Fc受体。在某些实施方案中,抑制性Fc受体是抑制性Fc-  $\gamma$  受体IIB(Fc  $\gamma$  IIB)。在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个修饰。例如,在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个氨基酸取代(例如,相对于相同同种型的野生型Fc区)。在一些实施方案中,一个或多个氨基酸取代选自V234A(Alegre等人,(1994)Transplantation 57:1537-1543.31;Xu等人,(2000)Cell Immunol,200:16-26)、G237A(Cole等人,(1999)Transplantation,68:563-571)、H268Q、V309L、A330S、P331S(US 2007/0148167;Armour等人,(1999)Eur J Immunol 29:2613-2624;Armour等人,(2000)The Haematology Journal 1(增刊1):27;Armour等人,(2000)The Haematology Journal 1(增刊1):27)、C232S和/或C233S(White等人,(2015)Cancer Cell 27,138-148)、S267E、L328F(Chu等人,(2008)Mol Immunol,45:3926-3933)、M252Y、S254T和/或T256E,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。

[0233] 在一些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体具有IgG2同种型,其具有含C127S氨基酸取代的重链恒定结构域,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例(White等人,(2015)Cancer Cell 27,138-148;Lightle等人,(2010)PROTEIN SCIENCE 19:753-762;和WO2008079246)。

[0234] 在一些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体具有IgG2同种型,其具有含C214S氨基酸取代的 $\kappa$ 轻链恒定结构域,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例(White等人,(2015)Cancer Cell 27,138-148;Lightle等人,(2010)PROTEIN SCIENCE 19:753-762;和WO2008079246)。

[0235] 在某些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体具有IgG1同种型。在一些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体含有小鼠IgG1恒定区。在一些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体含有人IgG1恒定区。在一些实施方案中,人IgG1恒定区包括Fc区。在一些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体结合抑制性Fc受体。在某些实施方案中,抑制性Fc受体是抑制性Fc-  $\gamma$  受体IIB(Fc  $\gamma$  IIB)。在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个修饰。例如,在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个氨基酸取代(例如,相对于相同同种型的野生型Fc区)。在一些实施方案中,一个或多个氨基酸取代选自N297A(Bolt S等人,(1993)Eur J Immunol 23:403-411)、D265A(Shields等人,(2001)R.J.Biol.Chem.276,6591-6604)、D270A、L234A、L235A(Hutchins等人,(1995)Proc Natl Acad Sci USA,92:11980-11984;Alegre等人,(1994)Transplantation 57:1537-1543.31;Xu等人,(2000)Cell Immunol,200:16-26)、G237A(Alegre等人,(1994)Transplantation 57:1537-1543.31;Xu等人,(2000)Cell Immunol,200:16-26)、P238D、L328E、E233D、G237D、H268D、P271G、A330R、C226S、C229S、E233P、L234V、L234F、L235E(McEarchern等人,(2007)Blood,109:1185-1192)、P331S(Sazinsky等人,(2008)Proc Natl Acad Sci USA 2008,105:20167-20172)、C127S、V263L、V266L、S267E、V273C、V273E、V273F、V273L、V273M、V273S、V273Y、L328F、A330L、M252Y、S254T、T256E、N297Q、P238S、P238A、V305K、V305W、A327Q、A327G、P329A、K322A、T394D和/或E430G,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。

[0236] 在一些实施方案中,抗体包括IgG2同种型重链恒定结构域1(CH1)和铰链区(White等人,(2015)Cancer Cell 27,138-148)。在某些实施方案中,IgG2同种型CH1和铰链区含有ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTTPSSNF GTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVRKCCVECPPEP(SEQ ID NO:218)的氨基酸序列。在一些实施方案

中,抗体Fc区含有S267E氨基酸取代、L328F氨基酸取代或这两者和/或N297A或N297Q氨基酸取代,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。

[0237] 在某些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体具有IgG4同种型。在一些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体含有人IgG4恒定区。在一些实施方案中,人IgG4恒定区包括Fc区。在一些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体结合抑制性Fc受体。在某些实施方案中,抑制性Fc受体是抑制性Fc-  $\gamma$  受体IIB(Fc  $\gamma$  IIB)。在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个修饰。例如,在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个氨基酸取代(例如,相对于相同同种型的野生型Fc区)。在一些实施方案中,一个或多个氨基酸取代选自L235A、G237A、S228P、L236E(Reddy等人,(2000) J Immunol, 164:1925-1933)、S267E、E318A、L328F、M252Y、S254T和/或T256E,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。在一些实施方案中,一个或多个氨基酸取代选自S228P、F234A和L235A,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。在一些实施方案中,一个或多个氨基酸取代选自Fc残基位置228处的S228P、Fc残基位置234处的F234A和Fc残基位置235处的L235A,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。

[0238] 在某些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体具有杂合IgG2/4同种型。在一些实施方案中,Fc  $\gamma$  受体结合抗体包括含有根据人IgG2的EU或Kabat编号方式的氨基酸118至260和根据人IgG4的EU或Kabat编号方式的氨基酸261-447的氨基酸序列(WO 1997/11971;WO 2007/106585)。

[0239] 在某些实施方案中,抗体含有小鼠IgG4恒定区(Bartholomaeus等人,(2014) .J. Immunol. 192, 2091-2098)。

[0240] 在一些实施方案中,Fc区进一步含有选自根据EU或Kabat编号方式的A330L、L234F、L235E或P331S;及其任意组合的一个或多个另外的氨基酸取代。

[0241] 拮抗剂抗Siglec-5抗体

[0242] 本公开的第三类抗Siglec-5抗体包括拮抗剂抗体。在一些实施方案中,结合Siglec-5蛋白的抗体可包括降低Siglec-5的细胞水平和/或抑制Siglec-5蛋白的一种或多种活性的拮抗剂抗体。这类抗体通过阻止Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体之间的相互作用(例如,结合)(例如,间接地,如通过降低Siglec-5细胞水平)或通过一种或多种Siglec-5配体存在下阻止从Siglec-5的细胞外结构域向细胞质中的信号转导来抑制Siglec-5蛋白的一种或多种活性。拮抗剂抗体还可以通过诱导Siglec-5降解、Siglec-5脱敏、Siglec-5切割、Siglec-5内化、Siglec-5脱落、Siglec-5表达的下调和/或Siglec-5的溶酶体降解来降低Siglec-5的细胞表面水平,从而抑制Siglec-5蛋白的一种或多种活性。在一些实施方案中,这类拮抗剂抗Siglec-5抗体可以不瞬时激活Siglec-5。

[0243] 在一些实施方案中,本公开的拮抗剂抗Siglec-5抗体可具有本公开的瞬时激动剂抗Siglec-5抗体的表位特异性,但具有不能够结合Fc $\gamma$ 受体且因此不能例如瞬时聚集和激活Siglec-5的Fc结构域。

[0244] 在一些实施方案中,本公开的拮抗剂抗Siglec-5抗体具有(但不限于)以下活性中的一者或多者:降低细胞因子信号传导(SOCS)蛋白(例如,SOCS3蛋白)的抑制剂与Siglec-5蛋白的结合的能力;增加Siglec-5蛋白的蛋白酶体降解的能力;降低Siglec-5在循环树突细胞、巨噬细胞、单核细胞、T细胞和/或小神经胶质细胞的表面上的功能性表达的能力;降低或抑制Src家族酪氨酸激酶如Syk、LCK、FYM和/或ZAP70对Tyr-520和Tyr-544的磷酸化的

能力;抑制募集酪氨酸特异性蛋白磷酸酶SHP1和SHP2并为之结合的能力;抑制募集充当Dynamin-1的鸟嘌呤核苷酸交换因子的PLC- $\gamma$ 1并为之结合的能力;抑制募集含SH2的结构域的蛋白质(例如,Crk1)并为之结合的能力;抑制募集脾酪氨酸激酶Syk并为之结合的能力;抑制募集SH3-SH2-SH3生长因子受体结合蛋白2(Grb2)并为之结合的能力;抑制募集多种含SH2的蛋白质并为之结合的能力;调节一种或多种促炎性细胞因子的表达的能力,任选其中一种或多种抗炎性细胞因子选自IFN- $\alpha$ 4、IFN- $\beta$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-1 $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、CRP、IL-20家族成员、LIF、IFN- $\gamma$ 、OSM、CNTF、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18、IL-33、MCP-1和MIP-1- $\beta$ ;调节选自巨噬细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、NK细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞和小神经胶质细胞的一种或多种细胞中的一种或多种促炎性细胞因子的表达的能力;调节一种或多种抗炎性细胞因子的表达的能力,任选其中一种或多种抗炎性细胞因子选自IL-4、IL-10、IL-13、IL-35、IL-16、TGF- $\beta$ 、IL-1Ra、G-CSF,以及TNF、IFN- $\beta$ 1a、IFN- $\beta$ 1b或IL-6的可溶性受体;调节选自巨噬细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、NK细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞和小神经胶质细胞的一种或多种细胞中的一种或多种抗炎性细胞因子的表达的能力;调节选自C1qa、C1qb、C1qc、C1s、C1r、C4、C2、C3、ITGB2、HMOX1、LAT2、CASP1、CSTA、VSIG4、MS4A4A、C3AR1、GPX1、TyroBP、ALOX5AP、ITGAM、SLC7A7、CD4、ITGAX和PYCARD的一种或多种蛋白质的表达的能力;抵消抑制细胞外信号调控激酶(ERK)磷酸化的能力;阻止一种或多种细胞蛋白上的酪氨酸磷酸化降低的能力,任选其中一种或多种细胞蛋白包含ZAP-70,且酪氨酸磷酸化发生在ZAP-70的Tyr-319上;调节C-C趋化因子受体7(CCR7)的表达的能力;阻止抑制小神经胶质细胞向表达CCL19和表达CCL21的细胞的趋化性的能力;阻止减少由选自以下的一种或多种细胞诱导的T细胞增殖的能力:树突细胞、骨髓源性树突细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、单核细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞、M2小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞和M2 NK细胞;阻止抑制破骨细胞产生的能力,阻止破骨细胞生成速率降低的能力,或这两者;阻止选自以下的一种或多种细胞存活减少的能力:树突细胞、骨髓源性树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞、M2 NK细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞、嗜中性粒细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞;增强选自以下的一种或多种细胞迁移的能力:树突细胞、骨髓源性树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞、M2 NK细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞、嗜中性粒细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞;

细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞、嗜中性粒细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞；阻止选自以下的一种或多种细胞的一种或多种功能降低的能力：树突细胞、骨髓源性树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞、M2 NK细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞、嗜中性粒细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞；增强选自以下的一种或多种细胞成熟的能力：树突细胞、骨髓源性树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞、M2 NK细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞、嗜中性粒细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞；增强选自凋亡神经元清除、神经组织碎片清除、功能失调性突触清除、非神经组织碎片清除、细菌清除、其它异物清除、致病蛋白清除、致病肽清除和肿瘤细胞清除的一种或多种类型的清除的能力；任选其中致病蛋白选自淀粉样蛋白 $\beta$ 、低聚淀粉样蛋白 $\beta$ 、淀粉样蛋白 $\beta$ 斑、淀粉样蛋白前体蛋白或其片段、Tau、IAPP、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、FUS蛋白、C9orf72 (9号染色体开放阅读框72)、c9RAN蛋白、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷顿蛋白、降钙素、超氧化物歧化酶、共济失调蛋白、共济失调蛋白1、共济失调蛋白2、共济失调蛋白3、共济失调蛋白7、共济失调蛋白8、共济失调蛋白10、路易体、心房利钠因子、胰岛淀粉样蛋白多肽、胰岛素、载脂蛋白AI、血清淀粉样蛋白A、medin、催乳素、甲状腺素运载蛋白、溶菌酶、 $\beta$ 2微球蛋白、凝溶胶蛋白、角膜上皮蛋白、胱抑素、免疫球蛋白轻链AL、S-IBM蛋白、重复相关非ATG (RAN) 翻译产物、二肽重复 (DPR) 肽、甘氨酸-丙氨酸 (GA) 重复肽、甘氨酸-脯氨酸 (GP) 重复肽、甘氨酸-精氨酸 (GR) 重复肽、脯氨酸-丙氨酸 (PA) 重复肽、泛素和脯氨酸-精氨酸 (PR) 重复肽，且肿瘤细胞来自选自膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤和甲状腺癌的癌症；抑制凋亡神经元、神经组织碎片、功能失调性突触、非神经组织碎片、细菌、其它异物、致病蛋白、致病肽、致病核酸或肿瘤细胞中的一者或多者的吞噬作用；任选其中致病核酸是反义GGCCCC (G2C4) (SEQ ID NO: 225) 重复扩增RNA，致病蛋白选自淀粉样蛋白 $\beta$ 、低聚淀粉样蛋白 $\beta$ 、淀粉样蛋白 $\beta$ 斑、淀粉样蛋白前体蛋白或其片段、Tau、IAPP、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、FUS蛋白、C9orf72 (9号染色体开放阅读框72)、c9RAN蛋白、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷顿蛋白、降钙素、超氧化物歧化酶、共济失调蛋白、共济失调蛋白1、共济失调蛋白2、共济失调蛋白3、共济失调蛋白7、共济失调蛋白8、共济失调蛋白10、路易体、心房利钠因子、胰岛淀粉样蛋白多肽、胰岛素、载脂蛋白AI、血清淀粉样蛋白A、medin、催乳素、甲状腺素运载蛋白、溶菌酶、 $\beta$ 2微球蛋白、凝溶胶蛋白、角膜上皮蛋白、胱抑素、免疫球蛋白轻链AL、S-IBM蛋白、重复相关非ATG (RAN) 翻译产物、二肽重复 (DPR) 肽、甘氨酸-丙氨酸 (GA) 重复肽、甘氨酸-脯氨酸 (GP) 重复肽、甘氨酸-精氨酸 (GR) 重复肽、脯氨酸-丙氨酸 (PA) 重复肽、泛素和脯氨酸-精氨酸 (PR) 重复肽，且肿瘤细胞来自选自膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤或甲状腺癌的癌症；与肿瘤细胞上的Siglec-5配体结合；与

选自嗜中性粒细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、单核细胞、小神经胶质细胞、巨噬细胞和NK细胞的细胞上的Siglec-5配体结合;抑制小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、嗜中性粒细胞、T细胞、T辅助细胞或细胞毒性T细胞中的一者或多者对肿瘤细胞的杀伤;激活小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、嗜中性粒细胞、T细胞、T辅助细胞或细胞毒性T细胞中的一者或多者的抗肿瘤细胞增殖活性;增强小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、嗜中性粒细胞、T细胞、T辅助细胞或细胞毒性T细胞中的一者或多者的抗肿瘤细胞转移活性的能力;增强一种或多种含有ITAM基序的受体的活性的能力,任选其中一种或多种含有ITAM基序的受体选自TREM1、TREM2、SIRPB1、Fc  $\gamma$  受体 (Fc $\gamma$ R)、DAP10和DAP12;通过一种或多种模式识别受体 (PRR) 增强信号传导的能力,任选其中一种或多种PRR选自识别病原体相关分子模式 (PAMP) 的受体、识别损伤相关分子模式 (DAMP) 的受体及其任意组合;增强包含基序D/Ex<sub>0-2</sub>YxxL/IX<sub>6-8</sub>YxxL/I (SEQ ID NO:4) 的一种或多种受体的活性的能力;通过一种或多种Toll样受体增强信号传导的能力;增强JAK-STAT信号传导途径的能力;增强激活B细胞的核因子 $\kappa$ -轻链增强子 (NF $\kappa$ B) 的活性的能力;增加含有ITAM基序的受体的磷酸化的能力;增加一种或多种炎性受体、补体级联的蛋白和/或在免疫细胞上表达的受体的表达的能力,任选其中一种或多种炎性受体、补体级联的蛋白和/或在免疫细胞上表达的受体包含CD86、C1qa、C1qb、C1qc、C1s、C1R、C4、C2、C3、ITGB2、HMOX1、LAT2、CASP1、CSTA、VSIG4、MS4A4A、C3AR1、GPX1、TyroBP、ALOX5AP、ITGAM、SLC7A7、CD4、ITGAX和/或PYCARD,且一种或多种炎性受体、补体级联的蛋白和/或在免疫细胞上表达的受体在小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、嗜中性粒细胞、T细胞、T辅助细胞或细胞毒性T细胞中的一者或多者上表达;降低一种或多种Siglec-5依赖性基因的表达能力;增强一种或多种ITAM依赖性基因的表达能力,任选其中一种或多种ITAM依赖性基因由激活T细胞的核因子 (NFAT) 转录因子激活;减少或以其它方式抑制免疫抑制树突细胞、免疫抑制巨噬细胞、免疫抑制嗜中性粒细胞、免疫抑制NK细胞、髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、肿瘤相关嗜中性粒细胞、肿瘤相关NK细胞、调节性B细胞和调节性T细胞中的一者或多者分化的能力;降低或以其它方式抑制免疫抑制树突细胞、免疫抑制巨噬细胞、免疫抑制嗜中性粒细胞、免疫抑制NK细胞、髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、肿瘤相关嗜中性粒细胞、肿瘤相关NK细胞、调节性B细胞和调节性T细胞中的一者或多者的功能性的能力;减少或以其它方式抑制免疫抑制树突细胞、免疫抑制巨噬细胞、免疫抑制嗜中性粒细胞、免疫抑制NK细胞、髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、肿瘤相关嗜中性粒细胞、肿瘤相关NK细胞、调节性B细胞和调节性T细胞中的一者或多者向肿瘤中浸润的能力;减少或以其它方式抑制肿瘤、外周血或其它淋巴样器官中的促肿瘤髓样/粒细胞免疫抑制细胞的数量;降低或以其它方式抑制调节性B细胞的肿瘤促进活性的能力;降低或以其它方式抑制肿瘤或外周血中的促肿瘤细胞因子如TGF- $\beta$ 或IL-10的表达能力;减少或以其它方式抑制促肿瘤FoxP3+调节性T淋巴细胞的肿瘤浸润的能力;降低或以其它方式抑制髓源性抑制细胞 (MDSC) 的促肿瘤活性的能力;增加或以其它方式增强具有肿瘤杀伤潜力的巨噬细胞的活性的能力;增加或以其它方式增强具有肿瘤杀伤潜力的抗肿瘤巨噬细胞的肿瘤浸润的能力;增加或以其它方式增强具有肿瘤杀伤潜力的嗜中性粒细胞的活性的能力;增加或以其它方式增强具有肿瘤杀伤潜力的抗肿瘤嗜中性粒细胞的肿瘤浸润的能

力;增加或以其它方式增强具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性T淋巴细胞的能力;增加或以其它方式增强具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性NK细胞的浸润的能力;增加或以其它方式增强NK细胞的肿瘤杀伤潜力的能力;增加或以其它方式增强具有增强免疫反应潜力的肿瘤特异性B淋巴细胞的活性的能力;增加或以其它方式增强具有增强免疫反应潜力的肿瘤特异性B淋巴细胞的浸润的能力;增加或以其它方式增强具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性T淋巴细胞的浸润的能力;减小肿瘤体积的能力;降低肿瘤生长速率的能力;减少或以其它方式抑制转移的能力;降低肿瘤复发率的能力;增加或以其它方式增强调节抗肿瘤T细胞反应的一种或多种免疫疗法的功效的能力,任选其中一种或多种免疫疗法是靶向选自PD1/PDL1、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD30、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR-5、CD2、CD5、TREM1、TREM2、CD39、CD73、CSF-1受体及其任意组合的一种或多种靶蛋白或一种或多种癌症疫苗的免疫疗法;增加或以其它方式增强PLC  $\gamma$  /PKC/钙动员的能力;以及增加或以其它方式增强PI3K/Akt、Ras/MAPK信号传导的能力。

[0245] 在一些实施方案中,本公开的拮抗剂抗Siglec-5抗体具有显示与一种或多种Fc  $\gamma$  受体的结合减少的Fc区。下表C中提供了这类Fc区和修饰的实例。在一些实施方案中,抗体具有下表C中列出的Fc同种型。

[0246] 与Fc  $\gamma$  受体结合减少的抗体Fc同种型

[0247] 在一些实施方案中,与Fc  $\gamma$  受体结合减少的抗Siglec-5抗体具有下表C中列出的Fc同种型。

[0248] 表C:与Fc  $\gamma$  受体结合减少的示例性抗Siglec-5抗体Fc同种型

[0249]

<b>Fc 同种型</b>	<b>突变(EU 编号方案)</b>
IgG1	N297A 或 N297Q
IgG1	D265A、D270A 和 N297A
IgG1	L234A 和 L235A
IgG1	L234A 和 G237A
IgG1	L235A 和 G237A
IgG1	E233P 和 L234A 和 L235A
IgG2	V234A 和 G237A
IgG4	F235A 和 G237A 和 E318A E233P 和/或 F234V N297A 或 N297Q
IgG4	S228P 和 L236E S241P S241P 和 L248E S228P 和 F234A 和 L235A
IgG2	H268Q 和 V309L 和 A330S 和 P331S
IgG1	C220S 和 C226S 和 C229S 和 P238S
IgG1	C226S 和 C229S 和 E233P 和 L234V 和 L235A
IgG1	E233P 和 L234V 和 L235A 和 G236-缺失 P238A D265A N297A A327Q 或 A327G P329A
IgG1	K322A 和 L234A 和 L235A

[0250]	<b>Fc 同种型</b>	<b>突变(EU 编号方案)</b>
	IgG1	L234F 和 L235E 和 P331S
	IgG1	S267E 和 L328F
	IgG1	V263L
	IgG1	V273C 或 V273E 或 V273F 或 V273L 或 V273M 或 V273S 或 V273Y
	IgG1	V305K
	IgG1 或 IgG4	T394D
	IgG2	C232S 或 C233S N297A 或 N297Q
	IgG2	V234A 和 G237A 和 P238S 和 H268A 和 V309L 和 A330S 和 P331S
	IgG1、IgG2 或 IgG4	δa、b、c、ab、ac、g 修饰
[0251]	IgG1	任何上面列出的突变以及 A330L 或 L234F 和/或 L235E 和/或 P331S 和/或 A330S
	IgG1、IgG2 或 IgG4	任何上面列出的突变以及 M252Y 和/或 S254T 和/或 T256E

[0251] 在某些实施方案中,抗Siglec-5抗体具有IgG1同种型。在一些实施方案中,抗体含有小鼠IgG1恒定区。在一些实施方案中,抗体含有人IgG1恒定区。在一些实施方案中,人IgG1恒定区包括Fc区。在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个修饰。例如,在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个氨基酸取代(例如,相对于相同同种型的野生型Fc区)。

[0252] 在一些实施方案中,一个或多个氨基酸取代选自N297A、N297Q(Bolt S等人,(1993)Eur J Immunol 23:403-411)、D270A、D265A、L234A、L235A(McEarchern等人,(2007)Blood,109:1185-1192)、C226S、C229S(McEarchern等人,(2007)Blood,109:1185-1192)、P238S(Davis等人,(2007)J Rheumatol,34:2204-2210)、E233P、L234V(McEarchern等人,(2007)Blood,109:1185-1192)、P238A、A327Q、A327G、P329A(Shields RL.等人,(2001)J Biol Chem.276(9):6591-604)、K322A、L234F、L235E(Hezareh等人,(2001)J Virol 75,12161-12168;Oganesyan等人,(2008).Acta Crystallographica 64,700-704)、P331S(Oganesyan等人,(2008)Acta Crystallographica 64,700-704)、T394D(Wilkinson等人,(2013)MAbs 5(3):406-417)、A330L、M252Y、S254T和/或T256E,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。在某些实施方案中,Fc区进一步包括在对应于根据EU编号惯例的甘氨酸236的位置处的氨基酸缺失。

[0253] 在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体具有IgG1同种型,其具有含根据EU编号惯例的C220S氨基酸取代的重链恒定区。在一些实施方案中,Fc区进一步含有一个或多个选自根据EU编号惯例的A330L、L234F、L235E和/或P331S的另外的氨基酸取代。在某些实施方案中,抗Siglec-5抗体具有IgG2同种型。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体含有人IgG2恒定区。



在一些实施方案中,人IgG2恒定区包括Fc区。在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个修饰。例如,在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个氨基酸取代(例如,相对于相同同种型的野生型Fc区)。在一些实施方案中,一个或多个氨基酸取代选自P238S、V234A、G237A、H268A、H268Q、H268E、V309L、N297A、N297Q、V309L、A330S、P331S、C232S、C233S、M252Y、S254T和/或T256E,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例(Vafa O.等人,(2014)Methods 65:114-126)。

[0254] 在某些实施方案中,抗Siglec-5抗体具有IgG4同种型。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体含有人IgG4恒定区。在一些实施方案中,人IgG4恒定区包括Fc区。在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个修饰。例如,在一些实施方案中,Fc区含有一个或多个氨基酸取代(例如,相对于相同同种型的野生型Fc区)。在一些实施方案中,一个或多个氨基酸取代选自E233P、F234V、L235A、G237A、E318A(Hutchins等人,(1995)Proc Natl Acad Sci USA, 92:11980-11984)、S228P、L234A/F234A、L236E、S241P、L248E(Reddy等人,(2000)J Immunol,164:1925-1933;Angal等人,(1993)Mol Immunol.30(1):105-8;US 8614299 B2;Vafa O.等人,(2014)Methods 65:114-126)、T394D、M252Y、S254T、T256E、N297A和/或N297Q,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。

[0255] 在一些实施方案中,Fc区进一步含有一个或多个选自M252Y、S254T和/或T256E的另外的氨基酸取代,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。

[0256] 进一步的IgG突变

[0257] 在一些实施方案中,本文所述的IgG1变体中的一者或多者可与A330L突变(Lazar等人,(2006)Proc Natl Acad Sci USA,103:4005-4010)或L234F、L235E和/或P331S突变中的一者或多者(Sazinsky等人,(2008)Proc Natl Acad Sci USA,105:20167-20172)结合,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例,以消除补体激活。在一些实施方案中,本文所述的IgG变体可与一个或多个突变结合,以提高抗Siglec-5抗体在人血清中的半衰期(例如根据EU编号惯例的M252Y、S254T、T256E突变)(Dall'Acqua等人,(2006)J Biol Chem,281:23514-23524;和Strohl等人,(2009)Current Opinion in Biotechnology,20:685-691)。

[0258] 在一些实施方案中,本公开的IgG4变体可与根据EU编号惯例的S228P突变(Angal等人,(1993)Mol Immunol,30:105-108)和/或与Peters等人,(2012)J Biol Chem.13;287(29):24525-33)中所述的一个或多个突变结合,以增强抗体稳定性。

[0259] 双特异性抗体

[0260] 本公开的某些方面涉及与本公开的Siglec-5蛋白和第二抗原上的一个或多个结构域结合的双特异性抗体。产生双特异性抗体的方法是本领域中熟知的,并且在本文中进行了描述。在一些实施方案中,本公开的双特异性抗体与本公开的Siglec-5蛋白的一个或多个氨基酸残基结合,如人Siglec-5(SEQ ID NO:1)的一个或多个氨基酸残基或Siglec-5蛋白上对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基的氨基酸残基。在一些实施方案中,本公开的双特异性抗体识别第一抗原和第二抗原。在一些实施方案中,第一抗原是Siglec-5蛋白或其天然存在的变体。在一些实施方案中,第二抗原也是Siglec-5蛋白或其天然存在的变体。在一些实施方案中,第二抗原是促进跨血脑屏障转运的抗原(参见例如,Gabathuler R., Neurobiol.Dis.37(2010)48-57)。这类第二抗原包括但不限于转铁蛋白受体(TR)、胰岛素受体(HIR)、胰岛素样生长因子受体(IGFR)、低密度脂蛋白受体相关蛋白1和2(LPR-1和2)、白喉毒素受体、CRM197、美洲驼单结构域抗体、TMEM 30(A)、蛋白转导结构域、TAT、Syn-B、穿

透蛋白、聚精氨酸肽、血管肽如ANG1005 (参见例如, Gabathuler, 2010) 和在血脑屏障内皮细胞上富集的其它细胞表面蛋白 (参见例如, Daneman等人, PLoS One. 2010 Oct 29; 5 (10) : e13741)。在一些实施方案中, 第二抗原是致病蛋白, 包括但不限于淀粉样蛋白 $\beta$ 、低聚淀粉样蛋白 $\beta$ 、淀粉样蛋白 $\beta$ 斑、淀粉样蛋白前体蛋白或其片段、Tau、IAPP、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、FUS蛋白、C9orf72 (9号染色体开放阅读框72)、c9RAN蛋白、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷顿蛋白、降钙素、超氧化物歧化酶、共济失调蛋白、共济失调蛋白1、共济失调蛋白2、共济失调蛋白3、共济失调蛋白7、共济失调蛋白8、共济失调蛋白10、路易体、心房利钠因子、胰岛淀粉样蛋白多肽、胰岛素、载脂蛋白AI、血清淀粉样蛋白A、medin、催乳素、甲状腺素运载蛋白、溶菌酶、 $\beta$ 2微球蛋白、凝溶胶蛋白、角膜上皮蛋白、胱抑素、免疫球蛋白轻链AL、S-IBM蛋白、重复相关非ATG (RAN) 翻译产物、二肽重复 (DPR) 肽、甘氨酸-丙氨酸 (GA) 重复肽、甘氨酸-脯氨酸 (GP) 重复肽、甘氨酸-精氨酸 (GR) 重复肽、脯氨酸-丙氨酸 (PA) 重复肽、泛素和脯氨酸-精氨酸 (PR) 重复肽。在一些实施方案中, 第二抗原是在免疫细胞上表达的一种或多种配体和/或蛋白质, 包括但不限于PD1/PDL1、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD30、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR-5、CD2、CD5、CD39、CD73和磷脂酰丝氨酸。在一些实施方案中, 第二抗原是在一种或多种肿瘤细胞上表达的蛋白质、脂质、多糖或糖脂。

#### [0261] 抗体片段

[0262] 本公开的某些方面涉及与本公开的Siglec-5蛋白、Siglec-5蛋白的天然存在的变体和Siglec-5蛋白的疾病变体中的一者或多者结合的抗体片段。在一些实施方案中, 抗体片段是Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>、Fv或scFv片段。

[0263] 在一些实施方案中, 抗体片段与第二Siglec-5抗体和/或与一种或多种特异性结合选自以下的致病蛋白的抗体组合使用: 淀粉样蛋白 $\beta$ 、低聚淀粉样蛋白 $\beta$ 、淀粉样蛋白 $\beta$ 斑、淀粉样蛋白前体蛋白或其片段、Tau、IAPP、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、FUS蛋白、C9orf72 (9号染色体开放阅读框72)、c9RAN蛋白、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷顿蛋白、降钙素、超氧化物歧化酶、共济失调蛋白、共济失调蛋白1、共济失调蛋白2、共济失调蛋白3、共济失调蛋白7、共济失调蛋白8、共济失调蛋白10、路易体、心房利钠因子、胰岛淀粉样蛋白多肽、胰岛素、载脂蛋白AI、血清淀粉样蛋白A、medin、催乳素、甲状腺素运载蛋白、溶菌酶、 $\beta$ 2微球蛋白、凝溶胶蛋白、角膜上皮蛋白、胱抑素、免疫球蛋白轻链AL、S-IBM蛋白、重复相关非ATG (RAN) 翻译产物、二肽重复 (DPR) 肽、甘氨酸-丙氨酸 (GA) 重复肽、甘氨酸-脯氨酸 (GP) 重复肽、甘氨酸-精氨酸 (GR) 重复肽、脯氨酸-丙氨酸 (PA) 重复肽、泛素和脯氨酸-精氨酸 (PR) 重复肽及其任意组合; 或者与一种或多种结合选自以下的免疫调节蛋白的抗体组合使用: PD1/PDL1、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD30、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR-5、CD2、CD5、CD39、CD73、磷脂酰丝氨酸及其任意组合。

[0264] 在一些实施方案中, 本公开的抗体片段可以是与本公开的任何抗Siglec-5抗体结合相同表位的功能片段。在一些实施方案中, 抗体片段是本公开的抗Siglec-5抗体或抗体片段的小型化形式, 其具有与相应的全长抗体相同的表位, 但分子量小得多。这类小型化抗Siglec-5抗体片段可具有较好的脑穿透能力和较短的半衰期, 这对于成像和诊断用途是有利的 (参见例如, Lütje S等人, Bioconjug Chem. 2014年2月19日; 25 (2) : 335-41; TavaréR等

人, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014年1月21日; 111(3): 1108-13; 和Wiehr S等人, *Prostate*. 2014年5月; 74(7): 743-55)。因此, 在一些实施方案中, 本公开的抗Siglec-5抗体片段与其相应的全长抗体相比具有更好的脑穿透, 和/或与其相应的全长抗体相比具有更短的半衰期。

#### [0265] 抗体框架

[0266] 本文所述的任何抗体进一步包括框架。在一些实施方案中, 框架是人免疫球蛋白框架。例如, 在一些实施方案中, 抗体(例如, 抗Siglec-5抗体)包含如任何上述实施方案中的HVR, 且进一步包含受体人框架, 例如人免疫球蛋白框架或人共有框架。人免疫球蛋白框架可以是人抗体的一部分, 或者非人抗体可以通过用人框架区置换一个或多个内源框架而被人源化。可用于人源化的人构架区包括但不限于: 采用“最佳拟合”方法选择的框架区(参见例如, Sims等人, *J. Immunol.* 151: 2296 (1993)); 来源于轻链或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列的框架区(参见例如Carter等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 4285 (1992); 和Presta等人, *J. Immunol.*, 151: 2623 (1993)); 人成熟(体细胞突变)框架区或人种系框架区(参见例如Almagro和Fransson, *Front. Biosci.* 13: 1619-1633 (2008)); 和来源于筛选FR文库的框架区(参见例如, Baca等人, *J. Biol. Chem.* 272: 10678-10684 (1997) 和Rosok等人, *J. Biol. Chem.* 271: 22611-22618 (1996))。

[0267] 在一些实施方案中, 抗体包含: 包含本公开的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的轻链可变区和如表5中所示的轻链框架区中的一者、两者、三者或四者。在一些实施方案中, 抗体包含: 包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区和如表4中所示的重链框架区中的一者、两者、三者或四者。在一些实施方案中, 抗体包含: 包含本公开的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的轻链可变区和如表5中所示的轻链框架区中的一者、两者、三者或四者, 并且进一步包含: 包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区和如表4中所示的重链框架区中的一者、两者、三者或四者。

#### [0268] 抗体制备

[0269] 本公开的抗Siglec-5抗体可涵盖多克隆抗体、单克隆抗体、人源化和嵌合抗体、人抗体、抗体片段(例如, Fab、Fab'-SH、Fv、scFv和F(ab')<sub>2</sub>)、双特异性和多特异性抗体、多价抗体、异源缀合物抗体、缀合抗体、文库来源的抗体、具有修饰的效应子功能的抗体、含有抗体部分的融合蛋白及免疫球蛋白分子的包括抗原识别位点如具有本公开的Siglec-5蛋白的氨基酸残基的表位的任何其它修饰构型, 包括抗体的糖基化变体、抗体的氨基酸序列变体和共价修饰的抗体。抗Siglec-5抗体可以是人、鼠、大鼠或任何其它来源的(包括嵌合或人源化抗体)。

#### [0270] (1) 多克隆抗体

[0271] 通常通过多次皮下(sc)或腹膜内(ip)注射相关抗原和佐剂在动物中产生多克隆抗体, 如多克隆抗Siglec-5抗体。使用双功能或衍生化试剂, 例如马来酰亚胺苯甲酰基磺基琥珀酰亚胺酯(通过半胱氨酸残基的缀合)、N-羟基琥珀酰亚胺(通过赖氨酸残基)、戊二醛、琥珀酸酐、SOCl<sub>2</sub>或R<sup>1</sup>N=C=NR, 使相关抗原(例如, 本公开的纯化或重组Siglec-5蛋白)与在待免疫的物种中具有免疫原性的蛋白(例如, 钥孔戚血蓝蛋白(KLH)、血清白蛋白、牛甲状腺球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制剂)缀合可能是有用的, 其中R和R<sup>1</sup>独立地为低碳数烷基。可以使用的佐剂的实例包括弗氏完全佐剂和MPL-TDM佐剂(单磷酸脂质A、合成海藻糖二霉菌酸

酯)。本领域技术人员无需过度实验便可选择免疫方案。

[0272] 通过将例如100 $\mu$ g (对于兔) 或5 $\mu$ g (对于小鼠) 蛋白质或缀合物与3体积的弗氏完全佐剂组合并在多个部位皮内注射溶液使动物针对所需抗原、免疫原性缀合物或衍生物免疫。一个月后, 通过在多个部位皮下注射, 用在弗氏完全佐剂中1/5至1/10原始量的肽或缀合物加强动物免疫。7至14天后, 给动物放血, 并测定血清的抗体滴度。加强动物免疫, 直到滴度达到平稳期。缀合物也可作为蛋白质融合物在重组细胞培养物中制备。另外, 聚集剂如明矾适合于增强免疫反应。

[0273] (2) 单克隆抗体

[0274] 单克隆抗体如单克隆抗Siglec-5抗体获自基本上均一的抗体群体, 即构成所述群体的个别抗体除了可能少量存在的可能是天然存在的突变和/或翻译后修饰 (例如, 异构化、酰胺化) 之外是相同的。因此, 修饰语“单克隆”指示抗体的特征不是离散抗体的混合物。

[0275] 例如, 单克隆抗Siglec-5抗体可采用Kohler等人, Nature, 256:495 (1975) 首先描述的杂交瘤方法制备, 或者可通过重组DNA方法 (美国专利第4,816,567号) 制备。

[0276] 在杂交瘤方法中, 如上文所述使小鼠或其它适当的宿主动物如仓鼠免疫, 以得到产生或能够产生将与用于免疫的蛋白质 (例如, 本公开的纯化或重组Siglec-5蛋白) 特异性结合的抗体的淋巴细胞。或者, 可以在体外使淋巴细胞免疫。然后使用合适的融合剂如聚乙二醇使淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合, 以形成杂交瘤细胞 (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 第59-103页 (Academic Press, 1986))。

[0277] 免疫剂通常将包括抗原性蛋白 (例如, 本公开的纯化或重组Siglec-5蛋白) 或其融合变体。一般来说, 如果所需的是人源细胞, 则使用外周血淋巴细胞 (“PBL”), 而如果所需的是非人哺乳动物来源的, 则使用脾或淋巴结细胞。然后使用合适的融合剂如聚乙二醇使淋巴细胞与永生化细胞系融合, 以形成杂交瘤细胞。Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press (1986), 第59-103页。

[0278] 永生化细胞系通常是转化的哺乳动物细胞, 特别是啮齿动物、牛或人来源的骨髓瘤细胞。通常, 使用大鼠或小鼠骨髓瘤细胞系。将如此制备的杂交瘤细胞接种, 并在合适的培养基中生长, 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生长或存活物质。例如, 如果亲本骨髓瘤细胞缺少次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶 (HGPRT或HPRT), 则用于杂交瘤的培养基通常将包括次黄嘌呤、氨基嘌呤和胸苷 (HAT培养基), 它们是阻止缺乏HGPRT的细胞生长的物质。

[0279] 优选的永生化骨髓瘤细胞是有效融合、支持所选择产生抗体的细胞稳定高水平地产生抗体并对培养基如HAT培养基敏感的那些永生化骨髓瘤细胞。这些永生化骨髓瘤细胞当中, 优选的是鼠骨髓瘤系, 如来源于MOPC-21和MPC-11小鼠肿瘤的那些骨髓瘤系 (可得自Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California USA) 以及SP-2细胞及其衍生物 (例如, X63-Ag8-653) (可得自American Type Culture Collection, Manassas, Virginia USA)。也已经描述了人骨髓瘤和小鼠-人异源骨髓瘤细胞系用于人单克隆抗体的产生 (Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur等人, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, 第51-63页 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987))。

[0280] 测定杂交瘤细胞在其中生长的培养基中针对抗原 (例如, 本公开的Siglec-5蛋白)

的单克隆抗体的产生。优选地,通过免疫沉淀或通过体外结合测定如放射免疫测定(RIA)或酶联免疫吸附测定(ELISA)测定来确定由杂交瘤细胞产生的单克隆抗体的结合特异性。

[0281] 可测定在其中培养杂交瘤细胞的培养基中针对所需抗原(例如,本公开的Siglec-5蛋白)的单克隆抗体的存在。优选地,可通过免疫沉淀或通过体外结合测定如放射免疫测定(RIA)或酶联测定(ELISA)来确定单克隆抗体的结合亲和力和特异性。这类技术和测定是本领域中已知的。例如,可通过Munson等人,Anal.Biochem.,107:220(1980)的斯卡查德分析来确定结合亲和力。

[0282] 在确认出产生所需特异性、亲和力和/或活性的抗体的杂交瘤细胞后,可通过有限稀释程序对克隆进行亚克隆并通过标准方法(Goding,同上)培养。用于此目的合适培养基包括例如D-MEM或RPMI-1640培养基。此外,杂交瘤细胞可作为哺乳动物体内的肿瘤在体内生长。

[0283] 通过常规免疫球蛋白纯化程序比如蛋白质A-琼脂糖色谱法、羟基磷灰石色谱法、凝胶电泳、透析、亲和色谱法以及如上所述的其它方法从培养基、腹水或血清中适当地分离由亚克隆分泌的单克隆抗体。

[0284] 也可通过重组DNA方法来制备抗Siglec-5单克隆抗体,如美国专利第4,816,567号中公开和如上所述的那些方法。采用常规的程序(例如,通过使用与编码鼠抗体的重链和轻链的基因特异性结合的低聚核苷酸探针)很容易将编码单克隆抗体的DNA分离并测序。杂交瘤细胞用作这种DNA的优选来源。一旦分离,可将DNA置于表达载体中,然后将其转染到宿主细胞中,如大肠杆菌细胞、猿COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或不以其它方式产生免疫球蛋白的骨髓瘤细胞,以便在这类重组宿主细胞中合成单克隆抗体。有关在细菌中重组表达编码抗体的DNA的综述文章包括Skerra等人,Curr.Opin.Immunol.,5:256-262(1993)和Plückthun,Immunol.Rev.130:151-188(1992)。

[0285] 在某些实施方案中,可以从采用McCafferty等人,Nature,348:552-554(1990)中描述的技术产生的抗体噬菌体文库中分离抗Siglec-5抗体。Clackson等人,Nature,352:624-628(1991)和Marks等人,J.Mol.Biol.,222:581-597(1991)分别描述了从噬菌体文库中分离鼠和人抗体。后续的公布描述了通过链改组(Marks等人,Bio/Technology,10:779-783(1992))以及组合感染和体内重组作为构建非常大的噬菌体文库的策略(Waterhouse等人,Nucl.Acids Res.,21:2265-2266(1993))来产生高亲和力(纳摩尔(“nM”)范围)的人抗体。因此,这些技术是用于分离具有所需特异性的单克隆抗体(例如,结合本公开的Siglec-5蛋白的那些)的传统单克隆抗体杂交瘤技术的可行替代方案。

[0286] 也可以例如通过用人重链和轻链恒定结构域的编码序列取代同源鼠序列(美国专利第4,816,567号;Morrison等人,Proc.Natl Acad.Sci.USA,81:6851(1984))或者通过将非免疫球蛋白多肽的全部或一部分编码序列与免疫球蛋白编码序列共价连接来修饰DNA编码抗体或其片段。通常这类非免疫球蛋白多肽被取代的是抗体的恒定结构域,或者它们被取代的是抗体的一个抗原结合位点的可变结构域,以产生嵌合二价抗体,其包含对抗原具有特异性的一个抗原结合位点和对不同的抗原具有特异性的另一抗原结合位点。

[0287] 本文所述的单克隆抗体(例如,本公开的抗Siglec-5抗体或其片段)可以是单价的,其制备是本领域中熟知的。例如,一种方法涉及免疫球蛋白轻链和修饰重链的重组表达。重链通常在Fc区中的任何点处被截短,以便防止重链交联。或者,相关的半胱氨酸残基

可以被另一氨基酸残基取代或者缺失以便防止交联。体外方法也适用于制备单价抗体。可采用本领域中已知的常规技术来消化抗体以产生其片段,特别是Fab片段。

[0288] 也可采用合成蛋白质化学中已知的方法(包括涉及交联剂的那些方法)在体外制备嵌合或杂合抗Siglec-5抗体。例如,可采用二硫键交换反应或通过形成硫醚键来构建免疫毒素。用于此目的合适试剂的实例包括亚氨基硫醇酯和甲基-4-巯基丁酰亚氨酸酯。

[0289] (3) 人源化抗体

[0290] 本公开的抗Siglec-5抗体或其抗体片段可进一步包括人源化或人抗体。非人(例如,鼠)抗体的人源化形式有嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(如Fab、Fab'-SH、Fv、scFv、F(ab')<sub>2</sub>或抗体的其它抗原结合子序列),其含有来源于非人免疫球蛋白的最小序列。人源化抗体包括人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体的互补决定区(CDR)的残基被来自诸如小鼠、大鼠或兔的非人物种(供体抗体)的CDR的具有所需特异性、亲和力和能力的残基置换。在一些情况下,人免疫球蛋白的Fv框架残基被相应的非人残基置换。人源化抗体还可包含既不见于受体抗体也不见于导入CDR或框架序列的残基。通常,人源化抗体将包含至少一个且通常两个可变结构域中的基本上全部,其中所有或基本上所有的CDR区对应于非人免疫球蛋白的CDR区,且所有或基本上所有的FR区是人免疫球蛋白共有序列的FR区。最佳地,人源化抗体还将包含免疫球蛋白(通常是人免疫球蛋白)恒定区(Fc)的至少一部分。Jones等人,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature 332:323-329(1988)和Presta,Curr.Opin.Struct.Biol.2:593-596(1992)。

[0291] 将非人抗Siglec-5抗体人源化的方法是本领域中熟知的。一般地,人源化抗体具有一个或多个由非人来源向其中引入的氨基酸残基。这些非人氨基酸残基通常被称为“导入”残基,它们通常取自“导入”可变结构域。可基本上遵循Winter及其同事的方法Jones等人,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature 332:323-327(1988);Verhoeyen等人,Science 239:1534-1536(1988)或者通过将啮齿动物CDR或CDR序列用人抗体的相应序列取代来进行人源化。因此,这类“人源化”抗体是嵌合抗体(美国专利第4,816,567号),其中基本上少于完整的人可变结构域已经被来自非人物种的相应序列取代。实际上,人源化抗体通常是人抗体,其中一些CDR残基且可能一些FR残基被来自啮齿动物抗体中的类似位点的残基取代。

[0292] 选择要用于制备人源化抗体的人可变结构域(轻链和重链)对于降低抗原性非常重要。根据所谓的“最佳拟合”方法,针对已知的人可变结构域序列的整个文库筛选啮齿动物抗体的可变结构域的序列。然后将最接近啮齿动物的人序列接受作为人源化抗体的人框架(FR)。Sims等人,J.Immunol.,151:2296(1993);Chothia等人,J.Mol.Biol.,196:901(1987)。另一种方法使用来源于轻链或重链的特定亚组的所有人抗体的共有序列的特定框架。同一框架可用于若干不同的人源化抗体。Carter等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 89:4285(1992);Presta等人,J.Immunol.151:2623(1993)。

[0293] 此外,重要的是将抗体人源化成保留对抗原的高亲和力以及其它有利的生物学特性。为了实现此目标,根据优选的方法,通过利用亲本序列和人源化序列的三维模型分析亲本序列和各种概念性人源化产物的方法制备人源化抗体。三维免疫球蛋白模型是通常可获得的,并且是本领域技术人员熟悉的。可获得说明并展示选定的候选免疫球蛋白序列的可能的三维构象结构的计算机程序。对这些展示进行检查允许分析残基在候选免疫球蛋白序

列的功能中可能发挥的作用,即分析影响候选免疫球蛋白结合其抗原的能力的残基。以这种方式,可以从受体和导入序列中选择FR残基并进行组合,从而实现所需的抗体特性,如对(多种)靶抗原(例如,本公开的Siglec-5蛋白)增加的亲和力。一般来说,CDR残基直接和最基本地参与影响抗原结合。

[0294] 涵盖人源化抗Siglec-5抗体的各种形式。例如,人源化抗Siglec-5抗体可以是抗体片段,如Fab,其任选与一种或多种细胞毒性剂缀合,以便产生免疫缀合物。或者,人源化抗Siglec-5抗体可以是完整抗体,如完整IgG1抗体。

[0295] (4) 人抗体

[0296] 或者,可以产生人抗Siglec-5抗体。例如,现在有可能产生能够在免疫后在没有内源性免疫球蛋白产生的情况下产生人抗体的全谱系的转基因动物(例如,小鼠)。嵌合及种系突变小鼠中抗体重链连接区( $J_H$ )基因的纯合缺失导致内源性抗体产生的完全抑制。人种系免疫球蛋白基因阵列在这种种系突变小鼠中的转移将导致在抗原攻击后产生人抗体。参见例如Jakobovits等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA,90:2551(1993);Jakobovits等人,Nature,362:255-258(1993);Bruggermann等人,Year in Immunol.,7:33(1993);美国专利第5,591,669号和第W0 97/17852号。

[0297] 或者,噬菌体展示技术可用于由来自未免疫供体的免疫球蛋白可变(V)结构域基因谱系在体外产生人抗Siglec-5抗体和抗体片段。McCafferty等人,Nature 348:552-553(1990);Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.227:381(1991)。根据此技术,将抗体V结构域基因框内克隆到丝状噬菌体如M13或fd的主要或次要外壳蛋白基因中,并作为功能性抗体片段在噬菌体颗粒的表面上展示。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特性的选择也导致编码显示这些特性的抗体的基因的选择。因此,噬菌体模拟B细胞的一些特性。可以按例如Johnson、Kevin S.和Chiswell,David J.,Curr.Opin Struct.Biol.3:564-571(1993)中综述的多种形式进行噬菌体展示。V基因区段的若干来源可用于噬菌体展示。Clackson等人,Nature 352:624-628(1991)从来源于免疫小鼠的脾脏的V基因的小随机组合文库中分离了各种各样的抗噁唑酮抗体。基本上按照Marks等人,J.Mol.Biol.222:581-597(1991)或Griffith等人,EMBO J.12:725-734(1993)描述的技术,可以构建来自未免疫的人供体的V基因的谱系,并且可以分离各种各样抗原(包括自身抗原)的抗体。还参见美国专利第5,565,332号和第5,573,905号。另外,酵母展示技术可用于在体外产生人抗Siglec-5抗体和抗体片段(例如,W0 2009/036379;W0 2010/105256;W0 2012/009568;US 2009/0181855;US 2010/0056386;以及Feldhaus和Siegel(2004)J.Immunological Methods 290:69-80)。在其它实施方案中,核糖体展示技术可用于在体外产生人抗Siglec-5抗体和抗体片段(例如,Roberts和Szostak(1997)Proc Natl Acad Sci 94:12297-12302;Schaffitzel等人,(1999)J.Immunological Methods 231:119-135;Lipovsek和Plückthun(2004)J.Immunological Methods 290:51-67)。

[0298] Cole等人和Boerner等人的技术也可用于制备人抗Siglec-5单克隆抗体(Cole等人,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,第77页(1985)和Boerner等人,J.Immunol.147(1):86-95(1991)。类似地,可通过向其中内源性免疫球蛋白基因已经部分或完全失活的转基因动物例如小鼠中引入人免疫球蛋白基因座来制备人抗Siglec-5抗体。在攻击后,观察到人抗体产生,其在所有方面都与在人中观察到的非常相似,包括基

因重排、组装和抗体谱系。这种方法描述于例如美国专利第5,545,807号、第5,545,806号、第5,569,825号、第5,625,126号、第5,633,425号、第5,661,016号以及以下科学出版物中: Marks等人, *Bio/Technology* 10:779-783 (1992); Lonberg等人, *Nature* 368:856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368:812-13 (1994); Fishwild等人, *Nature Biotechnology* 14:845-51 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnology* 14:826 (1996) 以及 Lonberg 和 Huszar, *Intern.Rev.Immunol.* 13:65-93 (1995)。

[0299] 最后,也可由激活B细胞在体外产生人抗Siglec-5抗体(参见美国专利第5,567,610号和第5,229,275号)。

#### [0300] (5) 抗体片段

[0301] 在某些实施方案中,使用抗Siglec-5抗体片段而不是完整的抗Siglec-5抗体是有利的。较小的片段尺寸可实现快速清除和较好的脑渗透。

[0302] 已经开发了用于产生抗体片段的各种技术。传统上,经由完整抗体的蛋白水解消化获得这些片段(参见例如, Morimoto等人, *J.Biochem.Biophys.Method.* 24:107-117 (1992); 和 Brennan等人, *Science* 229:81 (1985))。然而,现在可通过重组宿主细胞直接产生这些片段,例如使用编码本公开的抗Siglec-5抗体的核酸。Fab、Fv和scFv抗体片段均可在大肠杆菌中表达和由其分泌,因此允许直接产生大量的这些片段。如上面所讨论,也可以从抗体噬菌体文库中分离抗Siglec-5抗体片段。或者, Fab'-SH片段可直接回收自大肠杆菌,并化学偶联以形成F(ab')<sub>2</sub>片段(Carter等人, *Bio/Technology* 10:163-167 (1992))。根据另一种方法, F(ab')<sub>2</sub>片段可直接分离自重组宿主细胞培养物。美国专利第5,869,046号中描述了具有增加的体内半衰期的Fab和F(ab')<sub>2</sub>抗体片段的产生。在其它实施方案中,选择的抗体是单链Fv片段(scFv)。参见W0 93/16185;美国专利第5,571,894号和美国专利第5,587,458号。抗Siglec-5抗体片段也可以是“线性抗体”,例如,如美国专利5,641,870中所述。这类线性抗体片段可以是单特异性或双特异性的。

#### [0303] (6) 双特异性和多特异性抗体

[0304] 双特异性抗体(BsAb)是对至少两种不同表位具有结合特异性的抗体,所述至少两种不同表位包括相同或另一种蛋白质(例如,本公开的一种或多种Siglec-5蛋白)上的表位。或者, BsAb的一个部分可以被装备成与靶Siglec-5抗原结合,且另一部分可与同第二蛋白结合的臂结合。这类抗体可来源于全长抗体或抗体片段(例如, F(ab')<sub>2</sub>双特异性抗体)。

[0305] 制备双特异性抗体的方法是本领域中已知的。传统上产生全长双特异性抗体是基于两条免疫球蛋白重链/轻链对的共表达,其中两条链具有不同的特异性。Millstein等人, *Nature*, 305:537-539 (1983)。由于免疫球蛋白重链和轻链随机搭配,这些杂交瘤(四体瘤)产生10种不同抗体分子的潜在混合物,其中仅一者具有恰当的双特异性结构。通常通过亲和色谱法步骤进行的恰当分子的纯化相当繁琐,并且产物产率低。W0 93/08829和 Traunecker等人, *EMBO J.*, 10:3655-3659 (1991) 中公开了类似的程序。

[0306] 根据不同的方法,具有所需结合特异性(抗体-抗原结合位点)的抗体可变结构域与免疫球蛋白恒定结构域序列融合。融合体优选具有免疫球蛋白重链恒定结构域,包含铰链、C<sub>H</sub>2和C<sub>H</sub>3区的至少一部分。优选具有存在于融合体中的至少一者中的含有轻链结合所必需的位点的第一重链恒定区(C<sub>H</sub>1)。将编码免疫球蛋白重链融合体和(如果需要的话)免疫球蛋白轻链的DNA插入到单独的表达载体中,并且共转染到合适的宿主生物体中。当用于构



建的三条多肽链的不等比率提供最佳产率时,这提供了调节实施方案中的三种多肽片段的相互比例的极大灵活性。然而,当至少两条多肽链以相等比率表达导致高产率或者当比率没有特别意义时,有可能在一种表达载体中插入两条或所有三条多肽链的编码序列。

[0307] 在这种方法的优选实施方案中,双特异性抗体由在一条臂中具有第一结合特异性的杂合免疫球蛋白重链和另一条臂中的杂合免疫球蛋白重链-轻链对(提供第二结合特异性)组成。据发现这种不对称结构有助于将所需的双特异性化合物与不需要的免疫球蛋白链组合分离,因为在仅一半的双特异性分子中存在免疫球蛋白轻链就提供了简便的分离方式。WO 94/04690中公开了这种方法。关于产生双特异性抗体的进一步细节,参见例如 Suresh等人,Methods in Enzymology 121:210(1986)。

[0308] 根据WO 96/27011或美国专利第5,731,168号中描述的另一种方法,一对抗体分子之间的界面可以被工程改造,以使回收自重组细胞培养物的异二聚体的百分比最大化。优选的界面包含抗体恒定结构域的C<sub>H</sub>3区的至少一部分。在这种方法中,来自第一抗体分子的界面的一条或多条小氨基酸侧链被更大的侧链(例如,酪氨酸或色氨酸)置换。通过将大氨基酸侧链用较小的侧链(例如,丙氨酸或苏氨酸)置换在第二抗体分子的界面上产生与大侧链尺寸相同或类似的补偿“腔”。这提供了提高异二聚体相对于其它不需要的终产物如同源二聚体的产率的机制。

[0309] 文献中已经描述了由抗体片段产生双特异性抗体的技术。例如,可采用化学连键来制备双特异性抗体。Brennan等人,Science 229:81(1985)描述了其中完整抗体被蛋白水解切割以产生F(ab')<sub>2</sub>片段的程序。在二硫醇络合剂亚砷酸钠存在下还原这些片段,以稳定邻位二硫醇,并阻止分子间二硫键形成。然后产生的Fab'片段被转化为硫代硝基苯甲酸酯(TNB)衍生物。然后Fab'-TNB衍生物之一被重新转化为Fab'-TNB衍生物,以形成双特异性抗体。产生的双特异性抗体可用作选择性固定酶的剂。

[0310] Fab'片段可直接回收自大肠杆菌并化学偶联,以形成双特异性抗体。Shalaby等人,J.Exp.Med.175:217-225(1992)描述了完全人源化的双特异性抗体F(ab')<sub>2</sub>分子的产生。每个Fab'片段由大肠杆菌单独分泌并在体外进行定向化学偶联,以形成双特异性抗体。由此形成的双特异性抗体能够与过表达ErbB2受体的细胞和正常人T细胞结合,而且触发人细胞毒性淋巴细胞针对人乳腺癌肿瘤靶标的裂解活性。

[0311] 还已经描述了直接由重组细胞培养物制备和分离二价抗体片段的各种技术。例如,已经使用亮氨酸拉链产生了二价异二聚体。Kostelny等人,J.Immunol.,148(5):1547-1553(1992)。来自Fos和Jun蛋白的亮氨酸拉链肽通过基因融合与两种不同抗体的Fab'部分连接。抗体同源二聚体在铰链区被还原以形成单体,然后再氧化形成抗体异二聚体。Hollinger等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA,90:6444-6448(1993)描述的“双抗体”技术提供了制备双特异性/二价抗体片段的替代机制。片段包含通过接头与轻链可变结构域(V<sub>L</sub>)连接的重链可变结构域(V<sub>H</sub>),所述接头太短而不允许同一条链上的两个结构域之间配对。因此,一个片段的V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>结构域被迫与另一片段的互补V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>结构域配对,从而形成两个抗原结合位点。还已经报道了通过使用单链Fv(sFv)二聚体制备双特异性/二价抗体片段的另一种策略。参见Gruber等人,J.Immunol.,152:5368(1994)。

[0312] 还涵盖具有两个以上价态的抗体。例如,可以制备三特异性抗体。Tutt等人,J.Immunol.147:60(1991)。

[0313] 示例性双特异性抗体可与给定分子(例如,本公开的Siglec-5蛋白)上的两个不同的表位结合。或者,靶向Siglec-5信号传导组分的臂可与同白细胞上的触发分子如T细胞受体分子(例如,CD2、CD3、CD28或B7)或IgG的Fc受体(Fc  $\gamma$  R)如Fc  $\gamma$  RI (CD64)、Fc  $\gamma$  RII (CD32)和Fc  $\gamma$  RIII (CD16)结合的臂结合,以便将细胞防御机制集中于表达特定蛋白质的细胞。双特异性抗体也可用于将细胞毒性剂定位至表达特定蛋白质的细胞。这类抗体具有蛋白质结合臂和结合细胞毒性剂或放射性核素螯合剂如EOTUBE、DPTA、DOTA或TETA的臂。另一种受关注的双特异性抗体结合受关注的蛋白质,并进一步结合组织因子(TF)。

#### [0314] (7) 多价抗体

[0315] 多价抗体可以比二价抗体更快地被表达抗体结合的抗原的细胞内化(和/或分解代谢)。本公开的抗Siglec-5抗体或其抗体片段可以是具有三个或更多个抗原结合位点的多价抗体(其是IgM类以外的)(例如,四价抗体),其可以很容易地通过编码抗体的多肽链的核酸的重组表达产生。多价抗体可包含二聚化结构域和三个或更多个抗原结合位点。优选的二聚化结构域包含Fc区或铰链区。在这种情形下,抗体将包含Fc区和Fc区的氨基末端的三个或更多个抗原结合位点。本文优选的多价抗体含有三个至约八个、但优选四个抗原结合位点。多价抗体含有至少一条多肽链(且优选两条多肽链),其中多肽链包含两个或更多个可变结构域。举例来说,多肽链可包含VD1-(X1)<sub>n</sub>-VD2-(X2)<sub>n</sub>-Fc,其中VD1是第一可变结构域,VD2是第二可变结构域,Fc是Fc区的一条多肽链,X1和X2表示氨基酸或多肽,且n是0或1。类似地,多肽链可包含V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1-柔性接头-V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1-Fc区链;或V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1-V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1-Fc区链。本文的多价抗体优选进一步包含至少两个(且优选四个)轻链可变结构域多肽。举例来说,本文的多价抗体可包含约两个至约八个轻链可变结构域多肽。这里考虑的轻链可变结构域多肽包含轻链可变结构域,且任选进一步包含CL结构域。多价抗体可识别Siglec-5抗原以及但不限于另外的抗原A $\beta$ 肽、抗原或 $\alpha$ 突触核蛋白抗原或Tau蛋白抗原或TDP-43蛋白抗原或朊病毒蛋白抗原或亨廷顿蛋白抗原或RAN、翻译产物抗原,包括由甘氨酸-丙氨酸(GA)、甘氨酸-脯氨酸(GP)、甘氨酸-精氨酸(GR)、脯氨酸-丙氨酸(PA)或脯氨酸-精氨酸(PR)组成的二肽重复序列(DPR肽);胰岛素受体、胰岛素样生长因子受体、转铁蛋白受体或促进抗体跨血脑屏障转移的任何其它抗原。

#### [0316] (8) 异源缀合物抗体

[0317] 异源缀合物抗体也在本公开的范围内。异源缀合物抗体由两个共价连接的抗体(例如,本公开的抗Siglec-5抗体或其抗体片段)组成。例如,异源缀合物中的抗体之一可与抗生物素蛋白偶联,另一者与生物素偶联。例如美国专利第4,676,980号已经提出这类抗体使免疫系统细胞靶向至不需要的细胞,并且已经用于治疗HIV感染。国际公布第W0 91/00360号、第W0 92/200373号和EP 0308936。预期可采用合成蛋白质化学中的已知方法(包括涉及交联剂的方法)在体外制备抗体。例如,可采用二硫键交换反应或通过形成硫醚键来构建免疫毒素。用于此目的合适试剂的实例包括亚氨基硫醇酯和甲基-4-巯基丁酰亚胺酯以及例如美国专利第4,676,980号中公开的那些试剂。可采用任何方便的交联方法来制备异源缀合物抗体。合适的交联剂是本领域中熟知的,并且连同许多交联技术一起公开在美国专利第4,676,980号中。

#### [0318] (9) 效应子功能工程改造

[0319] 还可取的是修饰本公开的抗Siglec-5抗体,以修饰效应子功能和/或增加抗体的

血清半衰期。例如,恒定区上的Fc受体结合位点可以被修饰或突变以移除或降低对某些Fc受体如Fc  $\gamma$  RI、Fc  $\gamma$  RII和/或Fc  $\gamma$  RIII的结合亲和力。在一些实施方案中,通过移除抗体的Fc区(例如,在IgG的CH 2结构域中)的N-糖基化来削弱效应子功能。在一些实施方案中,通过如PCT WO 99/58572和Armour等人,Molecular Immunology 40:585-593(2003);Reddy等人,J.Immunology 164:1925-1933(2000)中所述修饰人IgG的诸如233-236、297和/或327-331的区域来削弱效应子功能。

[0320] 为了增加抗体的血清半衰期,例如可将补救受体结合表位掺入到抗体(特别是抗体片段)中,如美国专利5,739,277中所述。如本文所用,术语“补救受体结合表位”是指IgG分子(例如,IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>或IgG<sub>4</sub>)的Fc区的负责增加IgG分子的体内血清半衰期的表位。

[0321] (10) 其它氨基酸序列修饰

[0322] 还涵盖本公开的抗Siglec-5抗体或其抗体片段的氨基酸序列修饰。例如,可取的是提高抗体或抗体片段的结合亲和力和/或其它生物学特性。通过向编码抗体或抗体片段的核酸中引入适当的核苷酸变化或通过肽合来制备抗体或抗体片段的氨基酸序列变体。这类修饰包括例如抗体的氨基酸序列内的残基的缺失和/或插入和/或取代。进行缺失、插入和取代的任意组合以获得最终构建体,条件是最终构建体具有所需特征(即,与本公开的Siglec-5蛋白结合或物理相互作用的能力)。氨基酸变化也可改变抗体的翻译后过程,如改变糖基化位点的数目或位置。

[0323] 一种可用于确认作为诱变的优选位置的抗Siglec-5抗体的某些残基或区域的方法被称为“丙氨酸扫描诱变”,如Cunningham和Wells在Science,244:1081-1085(1989)中所述。在此,确认残基或靶残基组(例如,带电荷的残基,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)置换以影响氨基酸与靶抗原的相互作用。然后通过取代位点处或针对取代位点引入进一步或其它的变体来修饰对取代表现出功能敏感性的那些氨基酸位置。因此,尽管用于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是预先确定的。例如,为了分析在给定位点的突变表现,在靶密码子或区域进行丙氨酸扫描或随机诱变,并筛选表达的抗体变体的所需活性。

[0324] 氨基酸序列插入包括长度在一个残基至含有一百或更多个残基的多肽范围内的氨基(“N”)和/或羧基(“C”)末端融合,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实例包括具有N末端甲硫氨酰基残基的抗体或与细胞毒性多肽融合的抗体。抗体分子的其它插入变体包括抗体的N或C末端与增加抗体的血清半衰期的酶或多肽的融合体。

[0325] 另一种类型的变体是氨基酸取代变体。这些变体在抗体分子中具有至少一个氨基酸残基被不同的残基置换。取代诱变最受关注的位点包括高变区,但也涵盖FR改变。保守性取代示于下表D中“优选取代”的标题下。如果这类取代导致生物活性的改变,则可以引入更多在表D中被称作“示例性取代”或如以下参考氨基酸类别进一步描述的实质性改变,并筛选产物。

[0326] 表D:氨基酸取代

[0327]

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

[0328]

原始残基	示例性取代	优选取代
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

[0329] 通过选择在对维持 (a) 取代区域中的多肽主链的结构, 例如折叠或螺旋构象, (b) 分子在靶位点处的电荷或疏水性; 或 (c) 侧链体积的影响方面显著不同的取代来实现对抗体的生物学特性的实质性修饰。基于常见的侧链特性将天然存在的残基分组:

[0330] (1) 疏水性的: 正亮氨酸、met、ala、val、leu、ile;

[0331] (2) 中性亲水性的: cys、ser、thr;

[0332] (3) 酸性的: asp、glu;

[0333] (4) 碱性的: asn、gln、his、lys、arg;

[0334] (5) 影响链取向的残基: gly、pro; 和

[0335] (6) 芳族的: trp、tyr、phe。

[0336] 非保守性取代需要将这些类别之一的成员换成另一类别。

[0337] 不参与维持抗体的适当构象的任何半胱氨酸残基也可以被取代, 通常用丝氨酸取代, 以提高分子的氧化稳定性并阻止异常交联。相反, 可以向抗体中增加半胱氨酸键以提高其稳定性 (特别在抗体是抗体片段如 Fv 片段的情况下)。

[0338] 特别优选类型的取代变体涉及取代亲本抗体(例如,人源化或人抗Siglec-5抗体)的一个或多个高变区残基。一般地,选择用于进一步开发的所得变体相对于产生它们的亲本抗体将具有改进的生物学特性。产生这类取代变体的方便方法涉及利用噬菌体展示的亲和力和成熟。简言之,使若干高变区位点(例如,6-7个位点)突变,以在每个位点产生所有可能的氨基酸取代。如此产生的抗体变体以单价方式从丝状噬菌体颗粒中展示为与包装在每个颗粒内的M13的基因III产物的融合物。然后如本文公开的那样筛选噬菌体展示的变体的生物学活性(例如,结合亲和力)。为了确认用于修饰的候选高变区位点,可以进行丙氨酸扫描诱变以确认对抗原结合有显著贡献的高变区残基。或者或另外,可能有益的是分析抗原-抗体复合物的晶体结构,以确认抗体与抗原(例如,本公开的Siglec-5蛋白)之间的接触点。这类接触残基和相邻残基是用于根据本文详述的技术进行取代的候选者。一旦产生了这类变体,则如本文所述对变体组进行筛选,并且可以选择在一种或多种相关测定中具有优异特性的抗体用于进一步开发。

[0339] 抗体的另一种类型的氨基酸变体改变了抗体的原始糖基化模式。所谓改变意指缺失见于抗体中的一个或多个碳水化合物部分,和/或增加抗体中不存在的一个或多个糖基化位点。

[0340] 抗体的糖基化通常是N连接或O连接的。N连接是指碳水化合物部分与天冬酰胺残基的侧链的连接。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸(其中X是除脯氨酸以外的任何氨基酸)是碳水化合物部分与天冬酰胺侧链的酶促连接的识别序列。因此,这些三肽序列中的任一者在多肽中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、半乳糖或木糖之一与羟基氨基酸(最通常为丝氨酸或苏氨酸)的连接,尽管也可以使用5-羟基脯氨酸或5-羟基赖氨酸。

[0341] 通过改变氨基酸序列以使其含有上述三肽序列中的一者或多者而方便地实现向抗体中增加糖基化位点(对于N连接的糖基化位点)。也可以通过向原始抗体的序列中增加一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基或者原始抗体的序列被一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基取代来进行改变(对于O连接的糖基化位点)。

[0342] 通过本领域中已知的多种方法来制备编码抗IgE抗体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)或者通过抗体(例如,本公开的抗Siglec-5抗体)或抗体片段的早期制备的变体或非变体形式的低聚核苷酸介导(或位点定向)的诱变、PCR诱变和盒式诱变制备。

[0343] (11) 抗体缀合物

[0344] 本公开的抗Siglec-5抗体或其抗体片段可与可检测标志物、毒素或治疗剂缀合。可采用本领域中已知用于将分子如可检测标志物、毒素或治疗剂与抗体缀合的任意合适的方法。

[0345] 例如,药物缀合涉及将生物活性细胞毒性(抗癌)有效载荷或药物与特异性靶向某种肿瘤标志物(例如,理想地仅见于肿瘤细胞中或肿瘤细胞上的蛋白质)的抗体偶联。抗体在体内追踪这些蛋白质,并将其自身附着于癌细胞的表面上。抗体与靶蛋白(抗原)之间的生物化学反应在肿瘤细胞中触发信号,然后肿瘤细胞将抗体与细胞毒素一起吸收或内化。在ADC被内化后,细胞毒性药物被释放并杀灭癌症。由于这种靶向作用,与其它化疗剂相比,理想情况下药物具有较低的副作用,并且给出更宽的治疗窗口。公开的缀合抗体的技术是

本领域中已知的(参见例如,Jane de Lartigue,OncLive 2012年7月5日;ADC Review on antibody-drug conjugates;和Ducry等人,(2010).Bioconjugate Chemistry 21(1):5-13)。

[0346] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可与选自蓖麻毒素、蓖麻毒素A链、多柔比星、道诺霉素、类美登素、紫杉醇、溴化乙锭、丝裂霉素、依托泊苷、替尼泊苷、长春新碱、长春花碱、秋水仙碱、二羟基炭疽菌素二酮、放线菌素、白喉毒素、假单胞菌外毒素(PE) A、PE40、相思豆毒素、相思豆毒素A链、莫迪素A链、 $\alpha$ -八叠球菌素、白树毒素、米托洁林、局限曲菌素、酚霉素、依诺霉素、麻疯树毒素、巴豆毒素、卡奇霉素、石碱花抑制剂、糖皮质激素、奥瑞他汀、金霉素、钇、铋、康普瑞汀、倍癌霉素、尾海兔素、cc1065和顺铂的毒素缀合。

[0347] (12) 其它抗体修饰

[0348] 本公开的抗Siglec-5抗体或其抗体片段可以被进一步修饰,以含有本领域中已知并容易获得的另外的非蛋白质部分。优选地,适合抗体衍生化的部分为水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性实例包括但不限于聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇的共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧杂环戊烷、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或无规共聚物)和葡聚糖或聚(n-乙烯基吡咯烷酮)聚乙二醇、聚丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化多元醇(例如,甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛由于其在水中稳定而可具有制备优势。聚合物可具有任意分子量,并且可以是支链或非支链的。与抗体连接的聚合物的数量可以是变化的,并且如果连接多于一种聚合物,则它们可以是相同或不同的分子。一般来说,可基于包括但不限于要改进的特定抗体特性或功能、抗体衍生物是否将在限定条件下用于治疗等考虑因素来确定用于衍生化的聚合物的数量和/或类型。Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第20版,Alfonso Gennaro编,Philadelphia College of Pharmacy and Science(2000)中公开了这类技术及其它合适的制剂。

[0349] 结合测定及其它测定

[0350] 可例如通过已知的方法如ELISA、表面等离子体共振(SPR)、Western印迹等来测试本公开的抗Siglec-5抗体的抗原结合活性。

[0351] 在一些实施方案中,竞争测定可用于确认与表2、表3、表6和表7中列出或选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的任何抗体竞争的抗体。在某些实施方案中,这种竞争抗体与由表2、表3、表6和表7中列出或选自S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07、S5-G-10、S5-172-H1、S5-172-H2、S5-172-H3、S5-172-H4、S5-172-H5、S5-172-H6、S5-174-H1、S5-174-H2、S5-174-H3、S5-174-H4、S5-174-H5、S5-174-H6、S5-174-H7、S5-174-H8、S5-G-03-H1、S5-G-03-H2、S5-G-03-H3、S5-G-03-H4、S5-G-03-H5、S5-G-03-H6、S5-G-03-H7、S5-G-03-H8和S5-G-03-H9的任何抗体结合的表位相同的表位(例如,线性或构象表位)结合。Morris(1996)“Epitope Mapping Protocols”在Methods in Molecular Biology,第66卷(Humana Press,Totowa,NJ)中提供了对与抗体结合的表位进行定位的详

细示例性方法。

[0352] 在示例性竞争测定中,将固定化Siglec-5或在细胞表面上表达Siglec-5的细胞在包含第一标记抗体和第二非标记抗体的溶液中温育,所述第一标记抗体与Siglec-5(例如,人或非人灵长类动物)结合,所述第二非标记抗体是被测试其与第一抗体竞争与Siglec-5结合的能力的。第二抗体可存在于杂交瘤上清液中。作为对照,将固定化Siglec-5或表达Siglec-5的细胞在包含第一标记抗体但不包含第二非标记抗体的溶液中温育。在允许第一抗体与Siglec-5结合的条件下温育后,移除过量未结合的抗体,并测量与固定化Siglec-5或表达Siglec-5的细胞缔合的标记的量。如果在测试样品中与固定化Siglec-5或表达Siglec-5的细胞缔合的标记的量相对于对照样品显著减少,则这指示第二抗体与第一抗体竞争与Siglec-5的结合。参见Harlow和Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, 第14章 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

[0353] 核酸、载体和宿主细胞

[0354] 可例如采用如美国专利第4,816,567号中所述的重组方法和组合物来产生本公开的抗Siglec-5抗体。在一些实施方案中,提供了具有编码本公开的任何抗Siglec-5抗体的核苷酸序列的分离的核酸。这类核酸可编码含有抗Siglec-5抗体的VL的氨基酸序列和/或含有抗Siglec-5抗体的VH的氨基酸序列(例如,抗体的轻链和/或重链)。在一些实施方案中,提供了含有这类核酸的一种或多种载体(例如,表达载体)。在一些实施方案中,还提供了含有这种核酸的宿主细胞。在一些实施方案中,宿主细胞含有以下(例如,已经用以下转导): (1) 含有核酸的载体,所述核酸编码含有抗体的VL的氨基酸序列和含有抗体的VH的氨基酸序列,或(2) 第一载体和第二载体,所述第一载体含有编码含有抗体的VL的氨基酸序列的核酸,所述第二载体含有编码含有抗体的VH的氨基酸序列的核酸。在一些实施方案中,宿主细胞是真核的,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴样细胞(例如,Y0、NS0、Sp20细胞)。

[0355] 提供了制备本公开的抗Siglec-5抗体的方法。在一些实施方案中,所述方法包括在适合表达抗体的条件下培养含有编码抗Siglec-5抗体的核酸的本公开的宿主细胞。在一些实施方案中,随后从宿主细胞(或宿主细胞培养基)中回收抗体。

[0356] 为了重组产生本公开的抗Siglec-5抗体,将编码抗Siglec-5抗体的核酸分离并插入到一种或多种载体中,用于在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。采用常规程序(例如,通过使用能够与编码抗体的重链和轻链的基因特异性结合的低聚核苷酸探针)可以很容易地分离这种核酸并进行测序。

[0357] 含有编码本公开的任何抗Siglec-5抗体或其片段本文所述多肽(包括抗体)的核酸序列的合适载体包括但不限于克隆载体和表达载体。合适的克隆载体可根据标准技术构建,或者可选自本领域中可用的大量克隆载体。尽管所选择的克隆载体可根据预期使用的宿主细胞而有所不同,但有用的克隆载体通常具有自我复制的能力,可具有针对特定限制性内切核酸酶的单一靶标,和/或可携带可用于选择含有载体的克隆的标志物的基因。合适的实例包括质粒和细菌病毒,例如pUC18、pUC19、Bluescript(例如,pBS SK+)及其衍生物、mp18、mp19、pBR322、pMB9、ColE1、pCR1、RP4、噬菌体DNA以及穿梭载体如pSA3和pAT28。这些及许多其它克隆载体可得自商业供应商如BioRad、Stratagene和Invitrogen。

[0358] 表达载体通常是含有本公开的核酸的可复制多核苷酸构建体。表达载体可作为附加体或作为染色体DNA的组成部分在宿主细胞中复制。合适的表达载体包括但不限于质粒、

病毒载体,包括腺病毒、腺相关病毒、逆转录病毒、粘粒和WO 87/04462号PCT公布中公开的表达载体。载体组分通常可包括但不限于以下中的一者或多者:信号序列;复制起点;一种或多种标志物基因;合适的转录控制元件(如启动子、增强子和终止子)。为了表达(即,翻译),通常还需要一种或多种翻译控制元件,如核糖体结合位点、翻译起始位点和终止密码子。

[0359] 可通过多种适当方式中的任一种将含有所关注的核酸的载体引入到宿主细胞中,所述方式包括电穿孔;使用氯化钙、氯化铷、磷酸钙、DEAE-葡聚糖或其它物质转染;微粒轰击;脂质体转染;和感染(例如,其中载体是感染剂,如牛痘病毒)。引入载体或多核苷酸的选择通常将取决于宿主细胞的特征。在一些实施方案中,载体含有核酸,所述核酸含有编码本公开的抗Siglec-5抗体的一个或多个氨基酸序列。

[0360] 用于克隆或表达抗体编码载体的合适宿主细胞包括原核或真核细胞。例如,可以在细菌中产生本公开的抗Siglec-5抗体,特别是当不需要糖基化和Fc效应子功能时。关于在细菌中表达抗体片段和多肽(例如,美国专利第5,648,237号、第5,789,199号和第5,840,523号;以及Charlton, *Methods in Molecular Biology*, 第248卷(B.K.C.Lo编, Humana Press, Totowa, NJ, 2003), 第245-254页,描述在大肠杆菌中表达抗体片段)。表达后,可以将抗体以可溶性级分从细菌细胞糊中分离,并且可以进一步纯化。

[0361] 除了原核生物外,真核微生物如丝状真菌或酵母也是抗体编码载体的合适克隆或表达宿主,包括糖基化途径已被“人源化”导致产生具有部分或完全人糖基化模式的抗体的真菌和酵母菌株(例如, Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004); 和Li等人, *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006))。

[0362] 用于表达糖基化抗体的合适宿主细胞也可来源于多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括植物和昆虫细胞。已经确认了许多杆状病毒株,它们可以与昆虫细胞结合使用,特别是用于草地贪夜蛾细胞的转染。也可以利用植物细胞培养物作为宿主(例如,美国专利第5,959,177号、第6,040,498号、第6,420,548号、第7,125,978号和第6,417,429号,描述在转基因植物中产生抗体的PLANTIBODIES™技术)。

[0363] 也可以使用脊椎动物细胞作为宿主。例如,适于在悬浮液中生长的哺乳动物细胞系可能是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其它实例有由SV40(COS-7)转化的猴肾CV1细胞系;人胚胎肾细胞系(例如Graham等人, *J. Gen. Virol.* 36:59 (1977) 中所述的293或293细胞);幼仓鼠肾细胞(BHK);小鼠塞尔托利细胞(例如Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980) 中所述的TM4细胞);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);水牛大鼠肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);例如Mather等人, *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982) 中所述的TRI细胞;MRC 5细胞;和FS4细胞。其它有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR-CHO细胞(Urlaub等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980));以及骨髓瘤细胞系,如Y0、NS0和Sp2/0。关于适合抗体产生的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,参见例如Yazaki和Wu, *Methods in Molecular Biology*, 第248卷(B.K.C.Lo编, Humana Press, Totowa, NJ), 第255-268页 (2003)。

[0364] Siglec-5活性

[0365] PI3K激活



[0366] 在一些实施方案中,本公开的Siglec-5剂如本公开的抗Siglec-5抗体可在与细胞中表达的Siglec-5蛋白结合后诱导PI3K激活。

[0367] PI3K是能够使磷脂酰肌醇(PtdIns)的肌醇环的3位羟基磷酸化的相关细胞内信号转导激酶家族。PI3K家族基于一级结构、调控和体外脂质底物特异性被分成三种不同的类别(I类、II类和III类)。

[0368] 激活的PI3K产生各种3-磷酸化的磷酸肌醇,包括但不限于PtdIns3P、PtdIns(3,4)P<sub>2</sub>、PtdIns(3,5)P<sub>2</sub>和PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub>。这些3-磷酸化的磷酸肌醇以将信号传导蛋白募集至各种细胞膜的机制起作用。这些信号传导蛋白含有磷酸肌醇结合结构域,包括但不限于PX结构域、普列克底物蛋白同源结构域(PH结构域)和FYVE结构域。可采用本领域中已知用于确定PI3K激活的任何方法。

[0369] 在一些实施方案中,本公开的Siglec-5剂如本公开的抗Siglec-5抗体有益于包括但不限于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症的与PI3K活性水平降低相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗。

[0370] 细胞因子的调节表达

[0371] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可在与在细胞表面上表达的Siglec-5蛋白结合后调节(例如,增加或减少)脑中的促炎性介体。在某些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体在与在细胞中表达的Siglec-5蛋白结合后调节细胞因子(例如,促炎性介体)的表达和/或降低抗炎性介体的表达。

[0372] 炎症是血管组织对有害的刺激如病原体、受损细胞和刺激物的复杂生物反应的一部分。急性炎症的典型征象是疼痛、发热、发红和肿胀。炎症是通过限制损伤部位或通过募集并激活免疫系统的细胞清除感染来保护生物体的免疫反应。炎症反应在其持续时间和严重程度方面受到严格调控和限制,以避免对生物体造成损害。炎症可分为急性或慢性。急性炎症由先天免疫反应驱动,先天免疫反应最初识别有害刺激,并将来自血液的白细胞募集到损伤组织中。包括细胞因子和趋化因子释放在内的生化事件级联传播炎症反应,涉及局部血管系统、免疫系统和损伤组织内的各种细胞。慢性炎症是长期和持久性的,这导致参与炎症反应的免疫细胞类型的进行性转变。作为炎症过程的结果,慢性炎症的特征在于组织的进行性破坏和纤维化。

[0373] 如本文所用,抗炎性介体是直接或间接(例如,经过抗炎性信号传导途径)参与降低、抑制或灭活炎症反应的机制的蛋白质。可采用本领域中已知用于确认和表征抗炎性介体的任何方法。抗炎性介体的实例包括但不限于细胞因子,如IL-4、IL-10、IL-13、IL-35、IL-16、IFN- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、IL-1Ra、G-CSF,以及TNF- $\alpha$ 或IL-6的可溶性受体。促炎性介体的实例包括但不限于细胞因子,如IFN- $\alpha$ 4、IFN- $\beta$ 、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、CRP、IL-20家族成员、LIF、IFN- $\gamma$ 、OSM、CNTF、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18、IL-23、CXCL10、IL-33、CRP、IL-33、MCP-1和MIP-1 $\beta$ 。

[0374] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可调节(例如,增加或减少)细胞因子如IL-1b、IL-8和TNF-a的表达。在某些实施方案中,细胞因子的调节表达发生在巨噬细胞、嗜中性粒细胞、自然杀伤(NK)细胞、树突细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤的朗格汉斯细胞、枯氏细胞、T细胞和/或小神经胶质细胞中。调节表达可包括但不限于基因表达的增加、转录表达的增加或蛋白质表达的增加。可采用本领域中已知用于确定基因、转录物(例如,

mRNA) 和/或蛋白质表达的任何方法。例如, Northern印迹分析可用于测定细胞因子基因表达水平, RT-PCR可用于测定细胞因子转录的水平, 且Western印迹分析可用于测定细胞因子蛋白水平。

[0375] 如本文所用, 如果细胞因子在用本公开的抗Siglec-5抗体治疗的受试者的一种或多种细胞中的表达与在未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者的一种或多种细胞中表达的不同细胞因子的表达相比得到调节, 则细胞因子可具有调节表达。在一些实施方案中, 本公开的抗Siglec-5抗体可调节受试者的一种或多种细胞中的细胞因子表达, 例如与未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者的一种或多种细胞中的细胞因子表达相比, 调节至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少100%、至少110%、至少115%、至少120%、至少125%、至少130%、至少135%、至少140%、至少145%、至少150%、至少160%、至少170%、至少180%、至少190%或至少200%。在其它实施方案中, 本公开的抗Siglec-5抗体调节受试者的一种或多种细胞中的细胞因子表达, 例如与未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者的一种或多种细胞中的细胞因子表达相比, 调节至少1.5倍、至少1.6倍、至少1.7倍、至少1.8倍、至少1.9倍、至少2.0倍、至少2.1倍、至少2.15倍、至少2.2倍、至少2.25倍、至少2.3倍、至少2.35倍、至少2.4倍、至少2.45倍、至少2.5倍、至少2.55倍、至少3.0倍、至少3.5倍、至少4.0倍、至少4.5倍、至少5.0倍、至少5.5倍、至少6.0倍、至少6.5倍、至少7.0倍、至少7.5倍、至少8.0倍、至少8.5倍、至少9.0倍、至少9.5倍或至少10倍。

[0376] 在一些实施方案中, 本公开的抗Siglec-5抗体可用于包括但不限于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症的与一种或多种促炎性介体水平异常相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗。

[0377] 促炎性介体的调节表达

[0378] 在一些实施方案中, 本公开的抗Siglec-5抗体可在与在细胞中表达的Siglec-5蛋白结合后调节(例如, 增加或减少)促炎性介体的表达。

[0379] 如本文所用, 促炎性介体是直接或间接(例如, 经过促炎性信号传导途径)参与诱导、激活、促进或以其它方式增加炎症反应的机制的蛋白质。可采用本领域中已知用于确认和表征促炎性介体的任何方法。

[0380] 促炎性介体的实例包括但不限于细胞因子, 如I和II型干扰素、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、IL-20家族成员、IL-33、LIF、OSM、CNTF、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18和CRP。

[0381] 在一些实施方案中, 本公开的抗Siglec-5抗体可调节促炎性介体如I和II型干扰素、IFN- $\alpha$ 4、IFN- $\beta$ 、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、CRP、IL-20家族成员、LIF、IFN- $\gamma$ 、OSM、CNTF、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18、IL-23、CXCL10、IL-33、CRP、IL-33、MCP-1和MIP-1- $\beta$ 的功能性表达和/或分泌。在某些实施方案中, 促炎性介体的调节表达发生在巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、树突细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤的朗格汉斯细胞、枯氏细胞、T细胞和/或小神经胶质细胞中。调节表达可包括但不限于调节基因表达、调节转录表达或调节蛋白质表达。可采用本领域中已知用于确定基因、转录物(例如, mRNA)和/或蛋白质表达的任何方法。例如, Northern印迹分析可用于测定促炎性介体基因表达水平, RT-PCR可用于测定促炎性介体转录的水平, 且Western印迹分析可用于测定促炎性介体蛋白水平。

[0382] 在某些实施方案中,促炎性介体包括炎性细胞因子。因此,在某些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可调节一种或多种炎性细胞因子的分泌。可通过本公开的抗Siglec-5抗体调节分泌的炎性细胞因子的实例包括但不限于如I和II型干扰素、IFN- $\alpha$ 4、IFN- $\beta$ 、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、CRP、IL-20家族成员、LIF、IFN- $\gamma$ 、OSM、CNTF、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18、IL-23、CXCL10、IL-33、CRP、IL-33、MCP-1和MIP-1- $\beta$ 。

[0383] 在某些实施方案中,促炎性介体包括炎性受体、补体级联的蛋白和/或在免疫细胞上表达的受体。因此,在某些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可调节一种或多种炎性受体、补体级联的蛋白和/或在免疫细胞上表达的受体的表达。可通过本公开的抗Siglec-5抗体调节表达的炎性受体、补体级联的蛋白和/或在免疫细胞上表达的受体的实例包括但不限于CD86、CD80、CD83、C1qa、C1qb、C1qc、C1s、C1R、C4、C2、C3、ITGB2、HMOX1、LAT2、CASP1、CSTA、VSIG4、MS4A4A、C3AR1、GPX1、TyroBP、ALOX5AP、ITGAM、SLC7A7、CD4、ITGAX和PYCARD。

[0384] 如本文所用,如果促炎性介体在用Siglec-5剂如本公开的激动剂抗Siglec-5抗体治疗的受试者的一种或多种细胞中的表达与在未用激动剂抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者的一种或多种细胞中表达的相同促炎性介体的表达相比得到调节(例如,增加或减少),则促炎性介体可具有调节表达。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可调节受试者的一种或多种细胞中的促炎性介体表达,例如与未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者的一种或多种细胞中的促炎性介体表达相比,调节至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少100%、至少110%、至少115%、至少120%、至少125%、至少130%、至少135%、至少140%、至少145%、至少150%、至少160%、至少170%、至少180%、至少190%或至少200%。在其它实施方案中,抗Siglec-5抗体可调节受试者的一种或多种细胞中的促炎性介体表达,例如与未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者的一种或多种细胞中的促炎性介体表达相比,调节至少至少1.5倍、至少1.6倍、至少1.7倍、至少1.8倍、至少1.9倍、至少2.0倍、至少2.1倍、至少2.15倍、至少2.2倍、至少2.25倍、至少2.3倍、至少2.35倍、至少2.4倍、至少2.45倍、至少2.5倍、至少2.55倍、至少3.0倍、至少3.5倍、至少4.0倍、至少4.5倍、至少5.0倍、至少5.5倍、至少6.0倍、至少6.5倍、至少7.0倍、至少7.5倍、至少8.0倍、至少8.5倍、至少9.0倍、至少9.5倍或至少10倍。

[0385] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体增加CD86在髓源性抑制细胞中的表达。在一些实施方案中,例如与CD86在未用本公开的抗Siglec-5抗体处理的髓样细胞中的表达相比,本公开的抗Siglec-5抗体将CD86在髓源性抑制细胞中的表达增加至少5%、至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少100%、至少110%、至少120%、至少130%、至少140%、至少150%、至少160%、至少170%、至少180%、至少190%、至少200%、至少210%、至少220%、至少230%、至少240%、至少250%、至少260%、至少270%、至少280%、至少290%、至少300%或至少310%。

[0386] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体增加CD86在髓源性抑制细胞中的表达。在一些实施方案中,例如与CD86在未用本公开的抗Siglec-5抗体处理的髓样细胞中的表达相比,本公开的抗Siglec-5抗体将CD86在髓源性抑制细胞中的表达增加至少1.1倍、至少1.2倍、至少1.4倍、至少1.6倍、至少1.8倍、至少2倍、至少2.2倍、至少2.4倍、至少2.6倍、

至少2.8倍、至少3倍、至少3.2倍、至少3.4倍、至少3.6倍、至少3.8倍、至少4倍或至少4.2倍。

[0387] 在一些实施方案中,在用本公开的抗Siglec-5抗体处理后约24小时、约36小时、约48小时、约60小时或约72小时测定CD86在髓源性抑制细胞中的表达。在一些实施方案中,在用本公开的抗Siglec-5抗体处理后约48小时测定CD86在髓源性抑制细胞中的表达。

[0388] 在一些实施方案中,采用本领域中已知测量蛋白质表达水平的任何方法来测定CD86在髓源性抑制细胞中的表达。测量蛋白质表达水平的方法实例包括但不限于流式细胞术或荧光激活细胞分选(FACS)、Western印迹和显微镜方法(例如,荧光显微镜法)。在某些实施方案中,通过FACS测定CD86在髓源性抑制细胞中的表达。

[0389] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体增加CCL4在髓源性抑制细胞中的表达。在一些实施方案中,例如与CCL4在未用本公开的抗Siglec-5抗体处理的髓样细胞中的表达相比,本公开的抗Siglec-5抗体将CCL4在髓源性抑制细胞中的表达增加至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少100%、至少110%、至少120%、至少130%、至少140%、至少150%、至少160%、至少170%、至少180%、至少190%、至少200%、至少210%、至少220%、至少230%、至少240%、至少250%、至少260%、至少270%、至少280%、至少290%、至少300%、至少310%或更多。

[0390] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体增加CCL4在髓源性抑制细胞中的表达。在一些实施方案中,例如与CCL4在未用本公开的抗Siglec-5抗体处理的髓样细胞中的表达相比,本公开的抗Siglec-5抗体将CCL4在髓源性抑制细胞中的表达增加至少1.1倍、至少1.2倍、至少1.4倍、至少1.6倍、至少1.8倍、至少2倍、至少2.2倍、至少2.4倍、至少2.6倍、至少2.8倍、至少3倍、至少3.2倍、至少3.4倍、至少3.6倍、至少3.8倍、至少4倍、至少4.2倍或更多。

[0391] 在一些实施方案中,在用本公开的抗Siglec-5抗体处理后约24小时、约36小时、约48小时、约60小时或约72小时测定CCL4在髓源性抑制细胞中的表达。在一些实施方案中,在用本公开的抗Siglec-5抗体处理后约48小时测定CCL4在髓源性抑制细胞中的表达。

[0392] 在一些实施方案中,通过在用本公开的抗Siglec-5抗体处理后约24小时、约36小时、约48小时、约60小时或约72小时测量CCL4在细胞生长培养基中的表达来测定CCL4在髓源性抑制细胞中的表达。在一些实施方案中,通过在用本公开的抗Siglec-5抗体处理后约48小时测量CCL4在细胞生长培养基中的表达来测定CCL4在髓源性抑制细胞中的表达。

[0393] 在一些实施方案中,采用本领域中已知测量蛋白质表达水平的任何方法来测定CCL4在髓源性抑制细胞中的表达。测量蛋白质表达水平的方法实例包括但不限于流式细胞术或荧光激活细胞分选(FACS)、ELISA、Western印迹、商业试剂盒如Quantikine ELISA试剂盒(R&D Systems)或Human Chemokine Legendplex(Biolegend)和显微镜方法(例如,荧光显微镜法)。在一些实施方案中,使用Quantikine ELISA试剂盒(R&D Systems)或通过Human Chemokine Legendplex(Biolegend)测定CCL4在髓源性抑制细胞中的表达。在某些实施方案中,采用ELISA如使用Quantikine ELISA试剂盒(R&D Systems)测定CCL4在髓源性抑制细胞中的表达。在一些实施方案中,通过流式细胞术如使用Human Chemokine Legendplex(Biolegend)测定CCL4在髓源性抑制细胞中的表达。

[0394] 在一些实施方案中,本公开的一些抗Siglec-5抗体可用于包括但不限于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症的与一种或

多种促炎性介体水平异常相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗。

[0395] ERK磷酸化

[0396] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可在与在细胞中表达的Siglec-5蛋白结合后诱导细胞外信号调控激酶(ERK)磷酸化。

[0397] 细胞外信号调控激酶(ERK)是广泛表达的蛋白激酶细胞内信号传导激酶,其参与例如调控分化细胞中的减数分裂、有丝分裂和有丝分裂期后功能。各种刺激如生长因子、细胞因子、病毒感染、异三聚体G蛋白偶联受体的配体、转化剂和致癌物激活ERK途径。ERK的磷酸化导致其激酶活性的激活。

[0398] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体有益于包括但不限于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症的与ERK磷酸化水平降低相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗。

[0399] Syk磷酸化

[0400] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体在结合至细胞中表达的Siglec-5蛋白之后可诱导脾酪氨酸激酶(Syk)磷酸化。

[0401] 脾酪氨酸激酶(Syk)是细胞内信号传导分子,其通过使若干底物磷酸化而在Siglec-5的下游起作用,从而促进导致细胞激活和炎症过程的信号传导复合物的形成。

[0402] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体有益于包括但不限于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症的与Syk磷酸化水平降低相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗。

[0403] Siglec-5磷酸化

[0404] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可在与在细胞中表达的Siglec-5蛋白结合后通过Src家族酪氨酸激酶如Src、Syk、Fyn、Fgr、Lck、Hck、Blk、Lyn和Frk瞬时诱导Tyr-520和Tyr-544的Siglec-5磷酸化。

[0405] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体有益于包括但不限于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症的与Siglec-5磷酸化水平降低相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗。

[0406] 含ITAM基序的受体的磷酸化

[0407] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可在与在细胞中表达的Siglec-5蛋白结合后诱导磷酸化含ITAM基序的受体,如TREM1、TREM2、SIRPB1、FcγR、DAP10和DAP12。

[0408] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体有益于包括但不限于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症的与含ITAM基序的受体的磷酸化水平降低相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗。

[0409] C-C趋化因子受体7的调节表达

[0410] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可在与在细胞中表达的Siglec-5蛋白结合后调节C-C趋化因子受体7(CCR7)的表达。调节(例如,增加或减少的)表达可包括但不限于基因表达的调节、转录表达的调节或蛋白质表达的调节。可采用本领域中已知用于确定基因、转录物(例如,mRNA)和/或蛋白质表达的任何方法。例如,Northern印迹分析可用于测定抗炎性介体基因表达水平,RT-PCR可用于测定抗炎性介体转录的水平,且Western印迹分析可用于测定抗炎性介体蛋白水平。

[0411] C-C趋化因子受体7 (CCR7) 是G蛋白偶联受体家族的成员。CCR7在各种淋巴样组织中表达,并且可激活B细胞和T细胞。在一些实施方案中,CCR7可调节记忆T细胞向次级淋巴样器官如淋巴结的迁移。在其它实施方案中,CCR7可刺激树突细胞成熟。CCR7是可结合趋化因子(C-C基序)配体CCL19/ELC和CCL21的受体蛋白。

[0412] 如本文所用,如果CCR7在用本公开的抗Siglec-5抗体治疗的受试者的一种或多种细胞中的表达与在未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者的一种或多种细胞中表达的CCR7的表达相比得到调节(例如,增加或减少),则CCR7可具有调节表达。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可调节受试者的一种或多种细胞中的CCR7表达,例如与未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者的一种或多种细胞中的CCR7表达相比,调节至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少100%、至少110%、至少115%、至少120%、至少125%、至少130%、至少135%、至少140%、至少145%、至少150%、至少160%、至少170%、至少180%、至少190%或至少200%。在其它实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体调节受试者的一种或多种细胞中的CCR7表达,例如与未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者的一种或多种细胞中的CCR7表达相比,调节至少1.5倍、至少1.6倍、至少1.7倍、至少1.8倍、至少1.9倍、至少2.0倍、至少2.1倍、至少2.15倍、至少2.2倍、至少2.25倍、至少2.3倍、至少2.35倍、至少2.4倍、至少2.45倍、至少2.5倍、至少2.55倍、至少3.0倍、至少3.5倍、至少4.0倍、至少4.5倍、至少5.0倍、至少5.5倍、至少6.0倍、至少6.5倍、至少7.0倍、至少7.5倍、至少8.0倍、至少8.5倍、至少9.0倍、至少9.5倍或至少10倍。

[0413] 在一些实施方案中,CCR7的表达增加发生在巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、树突细胞和/或小神经胶质细胞中。CCR7的表达增加可诱导小神经胶质细胞向表达趋化因子CCL19和CCL21的细胞趋化。因此,在某些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可诱导小神经胶质细胞向表达CCL19和CCL21的细胞趋化。

[0414] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可用于包括但不限于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症的与CCR7的水平异常相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗。

[0415] 骨髓源性树突细胞诱导抗原特异性T细胞增殖的能力的增强或正常化

[0416] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可在与在细胞中表达的Siglec-5蛋白结合后使骨髓源性树突细胞诱导抗原特异性T细胞增殖的能力增强和/或正常化。

[0417] 在一些实施方案中,本公开的拮抗剂抗Siglec-5抗体可在受试者的一种或多种骨髓源性树突细胞中使骨髓源性树突细胞诱导抗原特异性T细胞增殖的能力增强和/或正常化,例如与在未用抗体治疗的相应受试者的一种或多种骨髓源性树突细胞中骨髓源性树突细胞诱导抗原特异性T细胞增殖的能力相比,增强至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少100%、至少110%、至少115%、至少120%、至少125%、至少130%、至少135%、至少140%、至少145%、至少150%、至少160%、至少170%、至少180%、至少190%或至少200%。在其它实施方案中,拮抗剂抗Siglec-5抗体可在受试者的一种或多种骨髓源性树突细胞中使骨髓源性树突细胞

诱导抗原特异性T细胞增殖的能力增强和/或正常化,例如与在未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者的一种或多种骨髓源性树突细胞中骨髓源性树突细胞诱导抗原特异性T细胞增殖的能力相比,增强至少至少1.5倍、至少1.6倍、至少1.7倍、至少1.8倍、至少1.9倍、至少2.0倍、至少2.1倍、至少2.15倍、至少2.2倍、至少2.25倍、至少2.3倍、至少2.35倍、至少2.4倍、至少2.45倍、至少2.5倍、至少2.55倍、至少3.0倍、至少3.5倍、至少4.0倍、至少4.5倍、至少5.0倍、至少5.5倍、至少6.0倍、至少6.5倍、至少7.0倍、至少7.5倍、至少8.0倍、至少8.5倍、至少9.0倍、至少9.5倍或至少10倍。

[0418] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体有益于包括但不限于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症的与骨髓源性树突细胞诱导抗原特异性T细胞增殖的能力降低或失调相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗。

[0419] 破骨细胞产生

[0420] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可在与在细胞中表达的Siglec-5蛋白结合后诱导破骨细胞产生和/或提高破骨细胞生成的速率。

[0421] 如本文所用,破骨细胞是一种类型的骨细胞,其可通过移除骨组织的矿化基质并分解有机骨(例如,骨再吸收)来移除骨组织。破骨细胞可通过髓系的细胞的融合形成。在一些实施方案中,破骨细胞的特征在于抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)和组织蛋白酶K的高表达。

[0422] 如本文所用,如果用拮抗剂抗Siglec-5抗体治疗的受试者中破骨细胞生成的速率大于未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者中破骨细胞生成的速率,则破骨细胞生成速率可提高。在一些实施方案中,本公开的拮抗剂抗Siglec-5抗体可提高受试者中破骨细胞生成的速率,例如与未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者中破骨细胞生成的速率相比,提高至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少100%、至少110%、至少115%、至少120%、至少125%、至少130%、至少135%、至少140%、至少145%、至少150%、至少160%、至少170%、至少180%、至少190%或至少200%。在其它实施方案中,本公开的拮抗剂抗Siglec-5抗体可提高受试者中破骨细胞生成的速率,例如与未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者中破骨细胞生成的速率相比,提高至少1.5倍、至少1.6倍、至少1.7倍、至少1.8倍、至少1.9倍、至少2.0倍、至少2.1倍、至少2.15倍、至少2.2倍、至少2.25倍、至少2.3倍、至少2.35倍、至少2.4倍、至少2.45倍、至少2.5倍、至少2.55倍、至少3.0倍、至少3.5倍、至少4.0倍、至少4.5倍、至少5.0倍、至少5.5倍、至少6.0倍、至少6.5倍、至少7.0倍、至少7.5倍、至少8.0倍、至少8.5倍、至少9.0倍、至少9.5倍或至少10倍。

[0423] 如本文所用,如果用本公开的激动剂抗Siglec-5抗体治疗的受试者中破骨细胞生成的速率小于未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者中破骨细胞生成的速率,则破骨细胞生成的速率可降低。在一些实施方案中,本公开的激动剂抗Siglec-5抗体可降低受试者中破骨细胞生成的速率,例如与未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者中破骨细胞生成的速率相比,降低至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少100%、至少110%、至少115%、至少120%、至少125%、至少

130%、至少135%、至少140%、至少145%、至少150%、至少160%、至少170%、至少180%、至少190%或至少200%。在其它实施方案中,本公开的激动剂抗Siglec-5抗体可降低受试者中破骨细胞生成的速率,例如与未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者中破骨细胞生成的速率相比,降低至少1.5倍、至少1.6倍、至少1.7倍、至少1.8倍、至少1.9倍、至少2.0倍、至少2.1倍、至少2.15倍、至少2.2倍、至少2.25倍、至少2.3倍、至少2.35倍、至少2.4倍、至少2.45倍、至少2.5倍、至少2.55倍、至少3.0倍、至少3.5倍、至少4.0倍、至少4.5倍、至少5.0倍、至少5.5倍、至少6.0倍、至少6.5倍、至少7.0倍、至少7.5倍、至少8.0倍、至少8.5倍、至少9.0倍、至少9.5倍或至少10倍。

[0424] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体有益于与异常骨形成和维持相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗,所述疾患和/或疾病包括与骨密度的病理性降低相关的骨质疏松症和与骨密度的病理性增加相关的骨质疏松性疾病。

[0425] Siglec-5表达细胞的增殖和存活

[0426] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可在与在细胞上表达的Siglec-5蛋白结合后增加树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、NK细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞、破骨细胞、皮肤的朗格汉斯细胞、枯氏细胞、T细胞和小神经胶质细胞的增殖、存活和/或功能。

[0427] 如本文所用,本公开的巨噬细胞包括但不限于M1巨噬细胞、激活的M1巨噬细胞和M2巨噬细胞(例如,M2a巨噬细胞)。如本文所用,本公开的嗜中性粒细胞包括但不限于M1嗜中性粒细胞、激活的M1嗜中性粒细胞和M2嗜中性粒细胞。如本文所用,本公开的自然杀伤(NK)细胞包括但不限于M1 NK细胞、激活的M1 NK细胞和M2 NK细胞。如本文所用,本公开的小神经胶质细胞包括但不限于M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞。

[0428] 小神经胶质细胞是一种类型的神经胶质细胞,其是脑和脊髓的常驻巨噬细胞,因此作为中枢神经系统(CNS)中的主动免疫防御的第一种且主要的形式。小神经胶质细胞占脑内总神经胶质细胞群体的20%。小神经胶质细胞不断地清除CNS中的斑块、受损神经元和感染因子。脑和脊髓被认为是“免疫特权”器官,因为它们通过一系列被称为血脑屏障的内皮细胞与身体的其余部分分开,血脑屏障阻止大多数病原体到达脆弱的神经组织。在感染因子被直接引入脑或跨越血脑屏障的情况下,小神经胶质细胞必须快速反应以限制炎症,并在感染因子损伤敏感的神经组织之前将它们摧毁。由于无法从身体的其余部分获得抗体(很少有抗体小到足以跨越血脑屏障),因此小神经胶质细胞必须能够识别异物,将它们吞下,并充当激活T细胞的抗原呈递细胞。由于必须快速完成此过程以防止潜在的致命损伤,因此小神经胶质细胞对CNS中即使是微小的病理变化也极其敏感。它们获得这种敏感性部分是因为具有对细胞外钾的甚至微小的变化也会产生反应的独特钾通道。

[0429] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可增加CD80、CD83和/或CD86在树突细胞、单核细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞和/或小神经胶质细胞上的表达。

[0430] 如本文所用,如果用本公开的抗Siglec-5抗体治疗的受试者中的树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、NK细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤的朗格汉斯细胞、枯氏细胞和/或小神经胶质细胞的增殖的速率、存活和/或功能大于未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者中的树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、NK细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤



的朗格汉斯细胞、枯氏细胞、T细胞和/或小神经胶质细胞的增殖的速率、存活和/或功能,则巨噬细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、NK细胞、树突细胞、单核细胞、T细胞和/或小神经胶质细胞的增殖的速率、存活和/或功能可包括增加的表达。在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可增加受试者中的树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、NK细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤的朗格汉斯细胞、枯氏细胞、T细胞和/或小神经胶质细胞的增殖的速率、存活和/或功能,例如与未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者中的树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、NK细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤的朗格汉斯细胞、枯氏细胞、T细胞和/或小神经胶质细胞的增殖的速率、存活和/或功能相比,增加至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少100%、至少110%、至少115%、至少120%、至少125%、至少130%、至少135%、至少140%、至少145%、至少150%、至少160%、至少170%、至少180%、至少190%或至少200%。在其它实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可增加受试者中的树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、NK细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤的朗格汉斯细胞、枯氏细胞、T细胞和/或小神经胶质细胞的增殖的速率、存活和/或功能,例如与未用抗Siglec-5抗体治疗的相应受试者中的树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、NK细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤的朗格汉斯细胞、枯氏细胞、T细胞和/或小神经胶质细胞的增殖的速率、存活和/或功能相比,增加至少1.5倍、至少1.6倍、至少1.7倍、至少1.8倍、至少1.9倍、至少2.0倍、至少2.1倍、至少2.15倍、至少2.2倍、至少2.25倍、至少2.3倍、至少2.35倍、至少2.4倍、至少2.45倍、至少2.5倍、至少2.55倍、至少3.0倍、至少3.5倍、至少4.0倍、至少4.5倍、至少5.0倍、至少5.5倍、至少6.0倍、至少6.5倍、至少7.0倍、至少7.5倍、至少8.0倍、至少8.5倍、至少9.0倍、至少9.5倍或至少10倍。

[0431] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体有益于包括但不限于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症的与树突细胞、嗜中性粒细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、NK细胞、单核细胞、破骨细胞、皮肤的朗格汉斯细胞、枯氏细胞、T细胞和/或小神经胶质细胞的增殖减少、存活、凋亡增加和/或功能相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗。

[0432] 清除和吞噬作用

[0433] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可在与在细胞中表达的Siglec-5蛋白结合后诱导凋亡神经元、神经系统的神经组织碎片、神经系统的非神经组织碎片、功能失调性突触、细菌、其它异物、致病蛋白、致病肽、致病核酸或肿瘤细胞中的一者或多者的清除和/或吞噬作用。在某些实施方案中,致病蛋白包括但不限于淀粉样蛋白 $\beta$ 、低聚淀粉样蛋白 $\beta$ 、淀粉样蛋白 $\beta$ 斑、淀粉样蛋白前体蛋白或其片段、Tau、IAPP、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、FUS蛋白、C9orf72(9号染色体开放阅读框72)、c9RAN蛋白、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷顿蛋白、降钙素、超氧化物歧化酶、共济失调蛋白、共济失调蛋白1、共济失调蛋白2、共济失调蛋白3、共济失调蛋白7、共济失调蛋白8、共济失调蛋白10、路易体、心房利钠因子、胰岛淀粉样蛋白多肽、胰岛素、载脂蛋白AI、血清淀粉样蛋白A、medin、催乳素、甲状腺素运载蛋白、溶菌酶、 $\beta$ 2微球蛋白、凝溶胶蛋白、角膜上皮蛋白、胱抑素、免疫球蛋白轻链AL、S-IBM蛋白、重复相关非ATG(RAN)翻译产物、二肽重复(DPR)肽、甘氨酸-丙氨酸(GA)重复肽、甘氨酸-脯氨酸(GP)重

复肽、甘氨酸-精氨酸 (GR) 重复肽、脯氨酸-丙氨酸 (PA) 重复肽、泛素和脯氨酸-精氨酸 (PR) 重复肽。在某些实施方案中,致病核酸包括但不限于反义GGCCCC (G2C4) (SEQ ID NO:225) 重复扩增RNA。

[0434] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可诱导一种或多种类型的清除,包括但不限于凋亡神经元清除、神经组织碎片清除、功能失调性突触清除、非神经组织碎片清除、细菌或其它异物清除、致病蛋白清除、致病肽清除、致病核酸清除和肿瘤细胞清除。

[0435] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可诱导凋亡神经元、神经组织碎片、功能失调性突触、非神经组织碎片、细菌、其它异物、致病蛋白、致病肽、致病核酸和/或肿瘤细胞中的一者或多者的吞噬作用。

[0436] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可在巨噬细胞集落刺激因子 (M-CSF) 水平降低的条件下增加嗜中性粒细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、树突细胞、单核细胞和/或小神经胶质细胞的吞噬作用。

[0437] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体有益于与凋亡神经元、神经系统的神经组织碎片、神经系统的非神经组织碎片、细菌、其它异物、致病蛋白相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗,所述疾患和/或疾病包括但不限于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、克雅氏病、常压性脑积水、肌萎缩性侧索硬化症、亨廷顿氏病、tau蛋白病、Nasu-Hakola病、中风、急性创伤、慢性创伤、狼疮、急性和慢性结肠炎、类风湿性关节炎、伤口愈合、克罗恩氏病、炎症性肠病、溃疡性结肠炎、肥胖症、疟疾、特发性震颤、中枢神经系统狼疮、白塞氏病、帕金森病、路易体痴呆、多系统萎缩症、Shy-Drager综合征、进行性核上性麻痹、皮质基底神经节变性、急性播散性脑脊髓炎、肉芽肿性病症、结节病、衰老性疾病、癫痫发作、脊髓损伤、创伤性脑损伤、年龄相关性黄斑变性、青光眼、视网膜色素变性、视网膜变性、呼吸道感染、脓毒症、眼部感染、全身性感染、狼疮、关节炎、多发性硬化症、低骨密度、骨质疏松症、骨生成、骨硬化性疾病、骨佩吉特氏病和癌症,包括膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤、急性成淋巴细胞性白血病 (ALL)、急性髓性白血病 (AML)、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、慢性髓性白血病 (CML)、多发性骨髓瘤、真性红细胞增多症、特发性血小板增多症、原发性或特发性骨髓纤维化、原发性或特发性骨髓硬化症、髓源性肿瘤、表达Siglec-5的肿瘤、甲状腺癌、感染、CNS疱疹、寄生虫感染、锥体虫感染、Cruzi感染、铜绿假单胞菌感染、杜氏利什曼虫感染、B组链球菌感染、空肠弯曲杆菌感染、脑膜炎奈瑟菌感染、I型HIV和嗜血杆菌流感。在一些实施方案中,本公开的Siglec-5剂如本公开的抗Siglec-5抗体有益于包括但不限于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症的与凋亡神经元、神经系统的神经组织碎片、神经系统的非神经组织碎片、细菌、其它异物、致病蛋白相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗。

[0438] Siglec-5依赖性基因表达

[0439] 在一些实施方案中,本公开的拮抗剂抗Siglec-5抗体可降低Siglec-5依赖性基因的活性和/或表达,且由此增加与激活免疫系统的信号传导级联相关的基因表达,如与含有ITAM的受体、模式识别受体、Toll样受体、损伤相关分子模式 (DAMP) 受体如激活T细胞核因子 (NFAT) 家族的转录因子中的一种或多种转录因子相关的基因表达。

[0440] 在一些实施方案中,本公开的拮抗剂抗Siglec-5抗体有益于包括但不限于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症的与高水平Siglec-5依赖性基因相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗。

[0441] T细胞的Siglec-5依赖性激活

[0442] 在一些实施方案中,本公开的拮抗剂抗Siglec-5抗体可增加细胞毒性T细胞、辅助T细胞或这两者的活性。在一些实施方案中,本公开的Siglec-5剂如本公开的拮抗剂抗Siglec-5抗体有益于与细胞毒性T细胞、辅助T细胞或这两者的活性降低相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗,所述疾患和/或疾病包括但不限于肿瘤,包括实体肿瘤,如膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤和甲状腺癌。

[0443] 嗜中性粒细胞的Siglec-5依赖性抑制

[0444] 在一些实施方案中,本公开的激动剂抗Siglec-5抗体可降低嗜中性粒细胞的活性。在一些实施方案中,本公开的激动剂抗Siglec-5抗体有益于与自然杀伤细胞、嗜中性粒细胞或这两者的活性降低相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗,所述疾患和/或疾病包括但不限于肿瘤,包括实体肿瘤,如膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤和甲状腺癌。

[0445] 自然杀伤(NK)细胞的Siglec-5依赖性增强的细胞杀伤

[0446] 在一些实施方案中,本公开的拮抗剂抗Siglec-5抗体可增加NK细胞的杀伤活性。在一些实施方案中,本公开的拮抗性抗Siglec-5抗体有益于与自然杀伤细胞、嗜中性粒细胞或这两者的活性降低相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗,所述疾患和/或疾病包括但不限于肿瘤,包括实体肿瘤,如膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤和甲状腺癌。

[0447] 肿瘤相关免疫细胞的Siglec-5依赖性抑制

[0448] 在一些实施方案中,本公开的激动剂抗Siglec-5抗体可使T调控细胞或抑制性包埋肿瘤的免疫抑制树突细胞或肿瘤相关巨噬细胞、肿瘤相关嗜中性粒细胞、肿瘤相关NK细胞、肿瘤相关调节性B细胞或髓源性抑制细胞降低活性、减少增殖、降低存活率、降低功能性、减少对肿瘤或淋巴样器官(例如,脾和淋巴结)的浸润和/或促进凋亡。在一些实施方案中,本公开的激动剂抗Siglec-5抗体有益于与一种或多种类型的免疫抑制细胞的活性相关的疾患和/或疾病的预防、降低风险或治疗,所述疾患和/或疾病包括但不限于肿瘤,包括不表达Siglec-5的实体肿瘤,如膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤、甲状腺癌和表达Siglec-5的血液肿瘤,如白血病细胞。

[0449] 药物组合物

[0450] 本公开的抗Siglec-5抗体可通过将剂与适当的药学上可接受的载体或稀释剂组合而掺入到用于治疗性施用的多种制剂中,并且可以被配制成固体、半固体、液体或气体形式的制剂。这类制剂的实例包括但不限于片剂、胶囊、粉末、颗粒、软膏、溶液、栓剂、注射剂、吸入剂、凝胶、微球体和气雾剂。取决于所需的制剂,药物组合物可包括药学上可接受的无

毒稀释剂载体,其是常用于配制供动物或人施用的药物组合物的媒介物。选择稀释剂以便不影响组合的生物活性。这类稀释剂的实例包括但不限于蒸馏水、缓冲水、生理盐水、PBS、林格氏溶液、右旋糖溶液和汉克氏溶液。本公开的药物组合物或制剂可进一步包括其它载体、佐剂或无毒非治疗非免疫原性稳定剂、赋形剂等。组合物还可包括接近生理条件的另外的物质,如pH调节和缓冲剂、毒性调节剂、润湿剂和清洁剂。

[0451] 本公开的药物组合物还可包括多种稳定剂中的任何一种,例如抗氧化剂。当药物组合物包括多肽时,多肽可与增强多肽的体内稳定性或以其它方式增强其药理学特性(例如,增加多肽的半衰期,降低其毒性,并提高溶解度或吸收)的各种熟知的化合物复合。这类修饰或络合剂的实例包括但不限于硫酸盐、葡萄糖酸盐、柠檬酸盐和磷酸盐。组合物的多肽也可与增强其体内属性的分子复合。这类分子包括但不限于碳水化合物、多胺、氨基酸、其它肽、离子(例如,钠、钾、钙、镁、锰)和脂质。

[0452] 适合各种类型施用的制剂的进一步实例可见于Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Philadelphia, PA, 第17版(1985)。关于药物递送方法的简要综述,参见Langer, Science 249:1527-1533(1990)。

[0453] 对于口服施用,活性成分可以固体剂型如胶囊、片剂和粉末施用,或以液体剂型如酏剂、糖浆和悬浮液施用。活性组分可与无活性成分和粉状载体如葡萄糖、乳糖、蔗糖、甘露糖醇、淀粉、纤维素或纤维素衍生物、硬脂酸镁、硬脂酸、糖精钠、滑石、碳酸镁一起包封在明胶胶囊中。可添加以提供可取的颜色、味道、稳定性、缓冲能力、分散或其它已知可取的特征的另外的无活性成分的实例有氧化铁红、硅胶、月桂基硫酸钠、二氧化钛和食用白墨。类似的稀释剂可用于制备压缩片剂。片剂和胶囊均可制成持续释放产品,以经数小时的时段提供药物的连续释放。压缩片剂可以是糖包衣或薄膜包衣的,以掩盖任何令人不愉快的味道,并保护片剂不受大气的影响,或者是肠溶包衣的,用于在胃肠道中选择性崩解。用于口服施用的液体剂型可含有着色剂和调味剂以增加患者接受度。

[0454] 适合肠胃外施用的制剂包括水性和非水性等渗无菌注射溶液,其可含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和使制剂与预期接受者的血液等渗的溶质,以及水性和非水性无菌悬浮液,其可包括悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂。

[0455] 用于配制药组合物的组分优选为高纯度的,并且基本上不含潜在有害的污染物(例如,至少为国家食品(NF)级,通常至少为分析级,且更通常至少为药物级)。此外,旨在体内使用的组合物通常是无菌的。为了达到在使用之前必须合成给定化合物的程度,所得产物通常基本上不含任何潜在的毒性剂,特别是在合成或纯化过程期间可能存在的任何内毒素。用于肠胃外施用的组合物也是无菌的,基本上等渗,并且在GMP条件下制成。

[0456] 可优化制剂以在脑或中枢神经系统中保留和稳定。当剂被施用到颅腔中时,期望剂保留在腔中,并且不扩散或以其它方式跨越血脑屏障。稳定技术包括交联、多聚化或与基团如聚乙二醇、聚丙烯酰胺、中性蛋白质载体等连接,以便实现分子量增加。

[0457] 增加保留的其它策略包括在可生物降解或可生物蚀解的植入物中包埋本公开的剂,如本公开的抗Siglec-5抗体。治疗活性剂的释放速率由通过聚合物基质的转运速率和植入物的生物降解控制。通过聚合物屏障的药物转运也将受化合物溶解度、聚合物亲水性、聚合物交联的程度、聚合物吸水后膨胀使得药物更易透过聚合物屏障、植入物的几何形状等的影响。植入物的尺寸与选择作为植入部位的区域的尺寸和形状相当。植入物可以是颗

粒、薄片、贴片、板片、纤维、微胶囊等,并且可具有与选定插入部位相容的任何尺寸或形状。

[0458] 植入物可以是整体的,即具有在整个聚合物基质中均匀分布或包封的活性剂,其中活性剂的贮库被聚合物基质包封。要使用的聚合物组合物的选择将随施用部位、所需的治疗时段、患者耐受性、要治疗的疾病的性质等而变化。聚合物的特性将包括在植入部位的可生物降解性、与所关注的剂的相容性、包封的容易程度、在生理环境中的半衰期。

[0459] 可以使用的可生物降解的聚合物组合物可以是有机酯或醚,其在降解时产生生理上可接受的降解产物,包括单体。可以使用酸酐、酰胺、原酸酯等本身,或者将它们与其它单体组合使用。所述聚合物将是缩聚物。聚合物可以是交联的或非交联的。特别受关注的是羧基脂族羧酸的聚合物(均聚物或共聚物)和多糖。受关注的聚酯当中包括D-乳酸、L-乳酸、外消旋乳酸、乙醇酸、聚己内酯及其组合的聚合物。通过使用L-乳酸酯或D-乳酸酯获得缓慢生物降解的聚合物,而用外消旋体时显著增强了降解。乙醇酸和乳酸的共聚物特别受关注,其中生物降解的速率由乙醇酸与乳酸的比率控制。降解最快的共聚物具有大致等量的乙醇酸和乳酸,其中任一种均聚物都更耐降解。乙醇酸与乳酸的比例也将影响植入物的脆性,其中更柔性的植入物对于较大的几何形状是可取的。受关注的多糖当中有海藻酸钙和官能化纤维素,特别是羧甲基纤维素酯,其特征是不溶于水,分子量为约5kD至500kD等。本公开的植入物中也可使用可生物降解的水凝胶。水凝胶通常是共聚物材料,其特征在于能够吸收液体。Heller在Hydrogels in Medicine and Pharmacy, N.A. Peppas编,第III卷, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1987, 第137-149页中描述了可以使用的示例性可生物降解的水凝胶。

#### [0460] 药物剂量

[0461] 可以根据已知的方法向需要用Siglec-5剂治疗的个体(优选人)施用含有本公开的Siglec-5剂如本公开的抗Siglec-5抗体的本公开的药物组合物,所述已知的方法如作为推注的静脉内施用或通过经一段时间连续输注,通过肌内、腹膜内、脑脊髓内、颅内、脊柱内、皮下、关节内、滑膜内、鞘内、口服、局部或吸入途径施用。

[0462] 本公开的药物组合物的剂量和所需药物浓度可根据特定的预期用途而变化。确定适当的剂量或施用途径完全在普通技术人员掌握的技能范围内。动物实验为确定人治疗的有效剂量提供了可靠的指导。可以按照Mordenti, J. 和Chappell, W. "The Use of Interspecies Scaling in Toxicokinetics" 在Toxicokinetics and New Drug Development, Yacobi等人编, Pergamon Press, New York 1989, 第42-46页中描述的原则进行有效剂量的种间缩放。

[0463] 对于本公开的任何Siglec-5剂如本公开的任何抗Siglec-5抗体的体内施用,正常剂量的量可从每天约10ng/kg至多到约100mg/kg个体的体重或更多变化,优选约1mg/kg/天至10mg/kg/天,这取决于施用途。对于经数天或更长时间反复施用,根据要治疗的疾病、病症或疾患的严重程度,持续进行治疗,直到实现所需的症状抑制。

[0464] 示例性给药方案可包括施用约2mg/kg的本公开的Siglec-5剂如抗Siglec-5抗体的初始剂量,接着每隔一周施用约1mg/kg的每周维持剂量。其它剂量方案可适用,这取决于医师希望实现的药代动力学衰减的模式。例如,本文涵盖一周对个体给药一至二十一次。在某些实施方案中,可采用的剂量范围从约3 $\mu$ g/kg至约2mg/kg(如约3 $\mu$ g/kg、约10 $\mu$ g/kg、约30 $\mu$ g/kg、约100 $\mu$ g/kg、约300 $\mu$ g/kg、约1mg/kg和约2mg/kg)。在某些实施方案中,给药频率是每天三次、每天两次、每天一次、每隔一天一次、每周一次、每两周一次、每四周一次、每五周一

次、每六周一次、每七周一次、每八周一次、每九周一次、每十周一次或每月一次、每两个月一次、每三个月一次或更长时间一次。通过常规的技术和测定容易监测治疗的进展。可独立于所使用的剂量随时间的推移改变给药方案,包括施用的Siglec-5剂,如抗Siglec-5抗体。

[0465] 可在已给予一次或多次施用Siglec-5剂如抗Siglec-5抗体的个体中凭经验确定特定Siglec-5剂如特定抗Siglec-5抗体的剂量。给予个体递增剂量的Siglec-5剂,如抗Siglec-5抗体。为了评估Siglec-5剂如抗Siglec-5抗体的功效,可监测本公开的任何疾病、病症或疾患(例如,额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、创伤性脑损伤、脊髓损伤、长期抑郁、动脉粥样硬化性血管疾病和正常衰老的不良症状)的临床症状。

[0466] 本公开的Siglec-5剂如抗Siglec-5抗体的施用可以是连续的或间歇的,这取决于例如接受者的生理状况、施用的目的是治疗还是预防以及有经验的从业人员已知的其它因素。Siglec-5剂如抗Siglec-5抗体的施用可在预先选择的时间段上是基本上连续的,或者可以是一系列间隔的剂量。

[0467] 文献中提供了关于特定剂量和递送方法的指导;参见例如美国专利第4,657,760号;第5,206,344号;或第5,225,212号。在本公开的范围,不同的制剂将对不同的治疗和不同的病症有效,并且旨在治疗特定器官或组织的施用可能需要以不同于向另一器官或组织递送的方式递送。此外,可通过一次或多次分开的施用或通过连续输注来施用各剂量。对于经数天或更长时间反复施用,根据疾患,持续进行治疗,直到出现疾病症状的所需抑制。然而,其它剂量方案可适用。通过常规的技术和测定容易监测这种治疗的进展。

[0468] 治疗用途

[0469] 本公开进一步的方面提供在有需要的个体中调节(例如,激活或抑制)一种或多种Siglec-5活性的方法,包括且限于调节(例如,激活或抑制)本公开的Siglec-5蛋白,抵消Src家族酪氨酸激酶如Syk、LCK、FYB和/或ZAP70对Tyr-520和Tyr-544的一种或多种磷酸化;募集酪氨酸特异性蛋白磷酸酶SHP1和SHP2并与之结合;募集充当Dynamini-1的鸟嘌呤核苷酸交换因子的PLC- $\gamma$  1并与之结合;募集含SH2结构域的蛋白(例如,Crk1)并与之结合;募集脾酪氨酸激酶Syk并与之结合;募集SH3-SH2-SH3生长因子受体结合蛋白2(Grb2)并与之结合;募集多种含SH2的蛋白并与之结合;调节(例如,激活或抑制)一种或多种促炎性细胞因子的表达,任选其中一种或多种抗炎性细胞因子选自IFN- $\alpha$ 4、IFN- $\beta$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-1 $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、CRP、IL-20家族成员、LIF、IFN- $\gamma$ 、OSM、CNTF、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18、IL-33、MCP-1和MIP-1- $\beta$ ;调节(例如,激活或抑制)一种或多种促炎性细胞因子在选自巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞和小神经胶质细胞的一种或多种细胞中的表达;调节(例如,激活或抑制)一种或多种抗炎性细胞因子的表达,任选其中一种或多种抗炎性细胞因子选自IL-4、IL-10、IL-13、IL-35、IL-16、TGF- $\beta$ 、IL-1Ra、G-CSF,以及TNF、IFN- $\beta$ 1a、IFN- $\beta$ 1b或IL-6的可溶性受体;调节(例如,激活或抑制)一种或多种抗炎性细胞因子在选自巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞和小神经胶质细胞的一种或多种细胞中的表达;调节(例如,激活或抑制)选自C1qa、C1qb、C1qc、C1s、C1r、C4、C2、C3、ITGB2、HMOX1、LAT2、CASP1、CSTA、VSIG4、MS4A4A、C3AR1、GPX1、TyroBP、ALOX5AP、ITGAM、SLC7A7、CD4、ITGAX和

PYCARD的一种或多种蛋白的表达;激活细胞外信号调控激酶(ERK)磷酸化;调节(例如,激活或抑制)一种或多种细胞蛋白上的酪氨酸磷酸化,任选其中一种或多种细胞蛋白包含ZAP-70,并且酪氨酸磷酸化发生在ZAP-70的Tyr-319上;调节(例如,激活或抑制)C-C趋化因子受体7(CCR7)的表达;激活小神经胶质细胞向CCL19表达和CCL21表达细胞的趋化;调节(例如,激活或抑制)选自树突细胞、骨髓源性树突细胞、单核细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞、M2小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞和M2 NK细胞的一种或多种细胞诱导的T细胞增殖;调节(例如,激活或抑制)破骨细胞产生、调节(例如,激活或抑制)破骨细胞生成的速率或这两者;调节(例如,激活或抑制)选自以下的一种或多种细胞的存活:树突细胞、骨髓源性树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞、M2 NK细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞、嗜中性粒细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞;调节(例如,激活或抑制)选自以下的一种或多种细胞的增殖:树突细胞、骨髓源性树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞、M2 NK细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞、嗜中性粒细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞;调节(例如,激活或抑制)选自以下的一种或多种细胞的迁移:树突细胞、骨髓源性树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞、M2 NK细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞、嗜中性粒细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞;调节(例如,激活或抑制)选自以下的一种或多种细胞的一种或多种功能:树突细胞、骨髓源性树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞、M2 NK细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞、嗜中性粒细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞;调节(例如,激活或抑制)选自以下的一种或多种细胞的成熟:树突细胞、骨髓源性树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、调节性B细胞、浆细胞、M1巨噬细胞、M1嗜中性粒细胞、M1 NK细胞、激活的M1巨噬细胞、激活的M1嗜中性粒细胞、激活的M1 NK细胞、M2巨噬细胞、M2嗜中性粒细胞、M2 NK细胞、单核细胞、破骨细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、粒细胞、嗜中性粒细胞、小神经胶质细胞、M1小神经胶质细胞、激活的M1小神经胶质细胞和M2小神经胶质细胞;激活选自凋亡神经元清除、神经组织碎片清除、功能失调性突触清除、非神经组织碎片清除、细菌清除、其它异物清除、致病蛋白清除、致病肽清除和肿瘤细胞清除的一种或多种类型的清除;任选其中致病蛋白选自淀粉样蛋白 $\beta$ 、低聚淀粉样蛋白 $\beta$ 、淀粉样蛋白 $\beta$ 斑、淀粉样蛋白前体蛋白或其片段、Tau、IAPP、 $\alpha$ -

突触核蛋白、TDP-43、FUS蛋白、C9orf72 (9号染色体开放阅读框72)、c9RAN蛋白、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷顿蛋白、降钙素、超氧化物歧化酶、共济失调蛋白、共济失调蛋白1、共济失调蛋白2、共济失调蛋白3、共济失调蛋白7、共济失调蛋白8、共济失调蛋白10、路易体、心房利钠因子、胰岛淀粉样蛋白多肽、胰岛素、载脂蛋白AI、血清淀粉样蛋白A、medin、催乳素、甲状腺素运载蛋白、溶菌酶、 $\beta$ 2微球蛋白、凝溶胶蛋白、角膜上皮蛋白、胱抑素、免疫球蛋白轻链AL、S-IBM蛋白、重复相关非ATG (RAN) 翻译产物、二肽重复 (DPR) 肽、甘氨酸-丙氨酸 (GA) 重复肽、甘氨酸-脯氨酸 (GP) 重复肽、甘氨酸-精氨酸 (GR) 重复肽、脯氨酸-丙氨酸 (PA) 重复肽、泛素和脯氨酸-精氨酸 (PR) 重复肽,且肿瘤细胞来自选自膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤和甲状腺癌的癌症;激活凋亡神经元、神经组织碎片、功能失调性突触非神经组织碎片、细菌、其它异物、致病蛋白、致病肽、致病核酸或肿瘤细胞中的一者或多者的吞噬作用;任选其中致病核酸是反义GGCCCC (G2C4) (SEQ ID NO:225) 重复扩增RNA,致病蛋白选自淀粉样蛋白 $\beta$ 、低聚淀粉样蛋白 $\beta$ 、淀粉样蛋白 $\beta$ 斑、淀粉样蛋白前体蛋白或其片段、Tau、IAPP、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、FUS蛋白、C9orf72 (9号染色体开放阅读框72)、c9RAN蛋白、朊病毒蛋白、PrPSc、亨廷顿蛋白、降钙素、超氧化物歧化酶、共济失调蛋白、共济失调蛋白1、共济失调蛋白2、共济失调蛋白3、共济失调蛋白7、共济失调蛋白8、共济失调蛋白10、路易体、心房利钠因子、胰岛淀粉样蛋白多肽、胰岛素、载脂蛋白AI、血清淀粉样蛋白A、medin、催乳素、甲状腺素运载蛋白、溶菌酶、 $\beta$ 2微球蛋白、凝溶胶蛋白、角膜上皮蛋白、胱抑素、免疫球蛋白轻链AL、S-IBM蛋白、重复相关非ATG (RAN) 翻译产物、二肽重复 (DPR) 肽、甘氨酸-丙氨酸 (GA) 重复肽、甘氨酸-脯氨酸 (GP) 重复肽、甘氨酸-精氨酸 (GR) 重复肽、脯氨酸-丙氨酸 (PA) 重复肽、泛素和脯氨酸-精氨酸 (PR) 重复肽,且肿瘤细胞来自选自膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤或甲状腺癌的癌症;抑制与肿瘤细胞上的Siglec-5配体的结合;调节(例如,激活或抑制)与选自嗜中性粒细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、单核细胞、小神经胶质细胞、巨噬细胞和NK细胞的细胞上的Siglec-5配体的结合;激活小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、T细胞、T辅助细胞或细胞毒性T细胞中的一者或多者的肿瘤细胞杀伤;激活小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、嗜中性粒细胞、T细胞、T辅助细胞或细胞毒性T细胞中的一者或多者的抗肿瘤细胞增殖活性;激活小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、嗜中性粒细胞、T细胞、T辅助细胞或细胞毒性T细胞中的一者或多者的抗肿瘤细胞转移活性;调节(例如,激活或抑制)一种或多种含ITAM基序的受体,任选其中一种或多种含ITAM基序的受体选自TREM1、TREM2、SIRPB1、Fc $\gamma$ R、DAP10和DAP12;调节(例如,激活或抑制)通过一种或多种模式识别受体 (PRR) 的信号传导,任选其中一种或多种PRR选自识别病原体相关分子模式 (PAMP) 的受体、识别损伤相关分子模式 (DAMP) 的受体及其任意组合;调节(例如,激活或抑制)一种或多种包含基序D/Ex<sub>0-2</sub>YxxL/IX<sub>6-8</sub>YxxL/I (SEQ ID NO:4) 的受体;调节(例如,激活或抑制)通过一种或多种Toll样受体的信号传导;调节(例如,激活或抑制) JAK-STAT信号传导途径;调节(例如,激活或抑制) 激活B细胞的核因子 $\kappa$ 轻链增强子 (NF $\kappa$ B);磷酸化含ITAM基序的受体;调节(例如,激活或抑制)一种或多种炎性受体、补体



级联的蛋白和/或受体的表达,任选其中一种或多种炎性受体、补体级联的蛋白和/或受体包含CD86、C1qa、C1qB、C1qC、C1s、C1R、C4、C2、C3、ITGB2、HMOX1、LAT2、CASP1、CSTA、VSIG4、MS4A4A、C3AR1、GPX1、TyroBP、ALOX5AP、ITGAM、SLC7A7、CD4、ITGAX和/或PYCARD,且一种或多种炎性受体、补体级联的蛋白和/或受体在小神经胶质细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、B细胞、树突细胞、骨髓源性树突细胞、嗜中性粒细胞、T细胞、T辅助细胞或细胞毒性T细胞中的一者或多者上表达;调节(例如,激活或抑制)一种或多种Siglec-5依赖性基因的表达;使被破坏的Siglec-5依赖性基因表达正常化;调节(例如,激活或抑制)一种或多种ITAM依赖性基因的表达,任选其中一种或多种ITAM依赖性基因被激活T细胞的核因子(NFAT)转录因子激活;拯救免疫抑制树突细胞、免疫抑制巨噬细胞、免疫抑制嗜中性粒细胞、免疫抑制NK细胞、髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、肿瘤相关嗜中性粒细胞、肿瘤相关NK细胞、调节性B细胞和调节性T细胞中的一者或多者的功能性;减少免疫抑制树突细胞、免疫抑制巨噬细胞、免疫抑制嗜中性粒细胞、免疫抑制NK细胞、髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、肿瘤相关嗜中性粒细胞、肿瘤相关NK细胞、调节性B细胞和调节性T细胞中的一者或多者向肿瘤中的浸润;增加肿瘤、外周血或其它淋巴样器官中的促肿瘤髓样/粒细胞免疫抑制细胞的数量;增加肿瘤或外周血中促肿瘤细胞因子的表达,任选其中促肿瘤细胞因子是TGF- $\beta$ 或IL-10;增加促肿瘤FoxP3+调节性T淋巴细胞的肿瘤浸润;增强髓源性抑制细胞(MDSC)的促肿瘤活性;降低具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性T淋巴细胞的激活;减少具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性NK细胞的浸润;降低NK细胞的肿瘤杀伤潜力;增强调节性B细胞的促肿瘤活性;增加调节性B细胞的肿瘤浸润;减少具有增强免疫反应的潜力的肿瘤特异性B淋巴细胞的肿瘤浸润;减少具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性T淋巴细胞的肿瘤浸润;增大肿瘤体积;增加肿瘤生长速率;增加转移;增加肿瘤复发率;降低调节抗肿瘤T细胞反应的一种或多种免疫疗法的功效,任选其中一种或多种免疫疗法是靶向选自PD1/PDL1、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD30、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR-5、CD2、CD5、TREM1、TREM2、CD39、CD73、CSF-1受体及其任意组合的一种或多种靶蛋白或一种或多种癌症疫苗的免疫疗法;抑制PLC  $\gamma$  /PKC/钙动员;和/或抑制PI3K/Akt、Ras/MAPK信号传导,方式是通过所述个体施用治疗有效量的本公开的Siglec-5剂,如本公开的抗Siglec-5抗体,以调节(例如,激活或抑制)所述个体中的一种或多种Siglec-5活性。

[0470] 如本文所公开,结合Siglec-5并降低Siglec-5的细胞水平的本公开的抗Siglec-5抗体可用于痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和/或癌症的预防、降低风险或治疗。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体选自抗体、可溶性Siglec-5受体、Siglec-5-Fc融合蛋白、Siglec-5免疫粘附素、结合一种或多种Siglec-5配体的可溶性Siglec受体、Siglec-Fc融合蛋白、Siglec免疫粘附素、反义分子、siRNA、小分子抑制剂、蛋白质和肽。在一些实施方案中,Siglec-5抗体是激动剂抗体。在一些实施方案中,Siglec-5抗体是惰性抗体。在一些实施方案中,Siglec-5抗体是拮抗剂抗体。

[0471] 在一些实施方案中,本公开提供了通过对有需要的个体施用治疗有效量的本公开的降低Siglec-5的细胞水平的剂来进行痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和/或癌症的预防、降低风险或治疗的方法。在一些实施方案中,所述剂选自抗体、可溶性Siglec-5受体、Siglec-5-Fc融合蛋白、Siglec-5免疫粘附素、

结合一种或多种Siglec-5配体的可溶性Siglec受体、Siglec-Fc融合蛋白、Siglec免疫粘附素、反义分子、siRNA、小分子抑制剂、蛋白质和肽。在一些实施方案中,所述剂是本公开的抗Siglec-5抗体。

[0472] 在一些实施方案中,本公开提供了通过对有需要的个体施用治疗有效量的本公开的降低Siglec-5的细胞水平的剂来进行癌症的预防、降低风险或治疗的方法。在一些实施方案中,所述剂选自抗体、可溶性Siglec-5受体、Siglec-5-Fc融合蛋白、Siglec-5免疫粘附素、结合一种或多种Siglec-5配体的可溶性Siglec受体、Siglec-Fc融合蛋白、Siglec免疫粘附素、反义分子、siRNA、小分子抑制剂、蛋白质和肽。在某些实施方案中,所述剂是本公开的抗Siglec-5抗体。在一些实施方案中,所述剂抑制选自以下的一种或多种Siglec-5活性:

(a) 促进免疫抑制树突细胞、免疫抑制巨噬细胞、免疫抑制嗜中性粒细胞、免疫抑制NK细胞、B细胞、髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、肿瘤相关抑制嗜中性粒细胞、肿瘤相关抑制NK细胞和调节性T细胞中的一者或多者的增殖、成熟、迁移、分化和/或功能性;(b) 增强免疫抑制树突细胞、免疫抑制巨噬细胞、免疫抑制嗜中性粒细胞、免疫抑制NK细胞、髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、肿瘤相关抑制嗜中性粒细胞、肿瘤相关抑制NK细胞、调节性B细胞和调节性T细胞中的一者或多者向肿瘤中的浸润;(c) 增加肿瘤、外周血或其它淋巴样器官中的促肿瘤髓样/粒细胞免疫抑制细胞的数量;(d) 增强髓源性抑制细胞(MDSC)的促肿瘤活性;(e) 增加肿瘤或外周血中促肿瘤细胞因子的表达,任选其中促肿瘤细胞因子是TGF- $\beta$ 或IL-10;(f) 增加促肿瘤FoxP3<sup>+</sup>调节性T淋巴细胞的肿瘤浸润;(g) 降低具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性T淋巴细胞的激活;(h) 减少具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性T淋巴细胞的浸润;(i) 减少具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性NK细胞的浸润;(j) 降低NK细胞的肿瘤杀伤潜力;(k) 减少具有增强免疫反应潜力的肿瘤特异性B淋巴细胞的浸润;(l) 降低具有增强免疫反应潜力的肿瘤特异性B淋巴细胞的激活;(m) 增大肿瘤体积;(n) 增加肿瘤生长速率;(o) 增加转移;(p) 增加肿瘤复发率;(q) 降低调节抗肿瘤T细胞反应的一种或多种免疫疗法的功效,任选其中一种或多种免疫疗法是靶向选自PD1/PDL1、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD30、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR-5、CD2、CD5、TREM1、TREM2、CD39、CD73、CSF-1受体及其任意组合的一种或多种靶蛋白或癌症疫苗的免疫疗法;(r) 抑制PLC  $\gamma$  /PKC/钙动员;和(s) 抑制PI3K/Akt、Ras/MAPK信号传导。在一些实施方案中,所述剂抑制选自以下的一种或多种Siglec-5活性:(a) 促进免疫抑制树突细胞、免疫抑制巨噬细胞、免疫抑制嗜中性粒细胞、非致瘤髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、非致瘤性CD14<sup>+</sup>髓样细胞、调节性B细胞和调节性T细胞中的一者或多者的增殖、成熟、迁移、分化和/或功能性;(b) 增强免疫抑制树突细胞、免疫抑制巨噬细胞、免疫抑制嗜中性粒细胞、非致瘤髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、调节性B细胞和调节性T细胞中的一者或多者向肿瘤中的浸润;(c) 增加肿瘤、外周血或其它淋巴样器官中的促肿瘤髓样/粒细胞免疫抑制细胞和/或非致瘤性CD14<sup>+</sup>髓样细胞的数量;(d) 增强非致瘤髓源性抑制细胞和/或非致瘤性CD14<sup>+</sup>髓样细胞的促肿瘤活性;(e) 增加肿瘤或外周血中促肿瘤细胞因子的表达,任选其中促肿瘤细胞因子是TGF- $\beta$ 或IL-10;(f) 增加促肿瘤FoxP3<sup>+</sup>调节性T淋巴细胞的肿瘤浸润;(g) 降低具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性T淋巴细胞的激活;(h) 减少具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性T淋巴细胞的浸润;(i) 减少具有肿瘤杀伤潜力的肿瘤特异性NK细胞的浸润;(j) 降低NK细胞的肿瘤杀伤潜

力; (k) 减少具有增强免疫反应潜力的肿瘤特异性B淋巴细胞的浸润; (l) 降低具有增强免疫反应潜力的肿瘤特异性B淋巴细胞的激活; (m) 增大肿瘤体积; (n) 增加肿瘤生长速率; (o) 增加转移; (p) 增加肿瘤复发率; (q) 增加一种或多种PD-1配体的表达; (r) 降低调节抗肿瘤T细胞反应的一种或多种免疫疗法的功效, 任选其中一种或多种免疫疗法是靶向选自CPD1/PDL1、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD30、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR-5、CD2、CD5、CD39、CD73、TREM1、TREM2、CSF-1受体及其任意组合的一种或多种蛋白质或一种或多种癌症疫苗的免疫疗法; (s) 抑制PLC  $\gamma$  /PKC/钙动员; (t) 抑制PI3K/Akt、Ras/MAPK信号传导; 和 (u) 降低一种或多种化疗剂的功效, 任选其中一种或多种化疗剂是吉西他滨、卡培他滨、蒽环类药物、多柔比星(Adriamycin<sup>®</sup>)、表柔比星(Ellence<sup>®</sup>)、紫杉烷、紫杉醇(Taxol<sup>®</sup>)、多西他赛(Taxotere<sup>®</sup>)、5-氟尿嘧啶(5-FU)、环磷酰胺(Cytosan<sup>®</sup>)、卡铂(Paraplatin<sup>®</sup>)及其任意组合。在一些实施方案中, 所述剂显示出选自以下的一种或多种活性: (a) 增加肿瘤浸润性CD3+T细胞的数量; (b) 抑制Siglec-5与一种或多种Siglec-5配体的结合; (c) 降低外周免疫细胞中的Siglec-5的细胞水平 (d) 减少非致瘤性CD14+髓样细胞的数量, 任选其中非致瘤性CD14+髓样细胞是肿瘤浸润细胞, 或任选其中非致瘤性CD14+髓样细胞存在于血液中; (e) 减少非致瘤性CD14+髓样细胞的数量, 任选其中非致瘤性CD14+髓样细胞是肿瘤浸润细胞, 或任选其中非致瘤性CD14+髓样细胞存在于肿瘤中; (f) 降低一种或多种细胞中的PD-L1水平, 任选其中一种或多种细胞是非致瘤髓源性抑制细胞(MDSC); (g) 降低一种或多种细胞中的PD-L2水平, 任选其中一种或多种细胞是非致瘤髓源性抑制细胞(MDSC); (h) 降低一种或多种细胞中的CD11b水平, 任选其中一种或多种细胞是非致瘤髓源性抑制细胞(MDSC); (i) 降低一种或多种细胞中的B7-H3水平, 任选其中一种或多种细胞是非致瘤髓源性抑制细胞(MDSC); (j) 降低一种或多种细胞中的CD200R水平, 任选其中一种或多种细胞是非致瘤髓源性抑制细胞(MDSC); (k) 降低一种或多种细胞中的CD163水平, 任选其中一种或多种细胞是非致瘤髓源性抑制细胞(MDSC); (l) 降低一种或多种细胞中的CD206水平, 任选其中一种或多种细胞是非致瘤髓源性抑制细胞(MDSC); (m) 降低实体肿瘤的肿瘤生长速率; (n) 减小肿瘤体积; (o) 增加一种或多种PD-1抑制剂的功效; (p) 增加一种或多种检查点抑制剂疗法和/或免疫调节疗法的功效, 任选其中一种或多种检查点抑制剂疗法和/或免疫调节疗法靶向CTL4、腺苷途径、PD-L1、PD-L2、OX40、TIM3、LAG3中的一者或多者或其任意组合; (q) 抑制非致瘤髓源性抑制细胞(MDSC)的分化、存活和/或一种或多种功能; (r) 诱导一种或多种髓源性抑制细胞(MDSC)的细胞死亡; 和 (s) 在非致瘤髓源性抑制细胞(MDSC)存在下增加T细胞的增殖。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中, 所述疾病、病症或损伤是癌症。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中, 所述疾病、病症或损伤是癌症, 且所述癌症表达Siglec-5或一种或多种Siglec-5配体。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中, 所述剂有益于膀胱癌、脑癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)和/或多发性骨髓瘤的预防、降低风险或治疗。

[0473] 如本文所公开, 本公开的抗Siglec-5抗体也可用于诱导和/或促进一种或多种免

疫细胞(例如,先天免疫细胞或适应性免疫细胞)的存活成熟、功能性、迁移或增殖。在一些实施方案中,本公开提供了在有需要的个体中诱导或促进一种或多种免疫细胞的存活、成熟、功能性、迁移或增殖的方法,方式是通过对所述个体施用治疗有效量的降低Siglec-5的细胞水平的本公开的剂。在一些实施方案中,所述剂选自抗体、可溶性Siglec-5受体、Siglec-5-Fc融合蛋白、Siglec-5免疫粘附素、结合一种或多种Siglec-5配体的可溶性Siglec受体、Siglec-Fc融合蛋白、Siglec免疫粘附素、反义分子、siRNA、小分子抑制剂、蛋白质和肽。在一些实施方案中,所述剂是本公开的分离的抗Siglec-5抗体。在一些实施方案中,一种或多种免疫细胞选自树突细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞、小神经胶质细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞及其任意组合。

[0474] 本公开的其它方面涉及评估有需要的受试者对与Siglec-5结合或相互作用的剂的反应性的方法,所述方法包括:a.在对受试者施用抗Siglec-5抗体之前测量CD45<sup>+</sup>和CD14<sup>+</sup>在得自受试者的血液样品中的非致瘤性髓样细胞上的表达水平;b.对受试者施用治疗有效量的剂;和c.在施用抗Siglec-5抗体后测量CD45<sup>+</sup>和CD14<sup>+</sup>在得自受试者的血液样品中的非致瘤性髓样细胞上的表达水平,其中在施用抗Siglec-5抗体后非致瘤性髓样细胞上的CD45<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup>水平降低指示受试者对剂有反应。在一些实施方案中,评估反应性的方法进一步包括施用一种或多种另外的治疗有效量的剂。在可与任何前述实施方案组合的一些实施方案中,所述剂选自抗体、可溶性Siglec-5受体、Siglec-5-Fc融合蛋白、Siglec-5免疫粘附素、可溶性Siglec受体、Siglec-Fc融合蛋白、Siglec免疫粘附素、反义分子、siRNA、小分子抑制剂、蛋白质和肽。可采用任意合适的方法获得样品,如血液样品。在一些实施方案中,评估反应性的方法进一步包括施用一种或多种另外的治疗有效量的剂。在一些实施方案中,所述剂选自抗体、可溶性Siglec-5受体、Siglec-5-Fc融合蛋白、Siglec-5免疫粘附素、可溶性Siglec受体、Siglec-Fc融合蛋白、Siglec免疫粘附素、反义分子、siRNA、小分子抑制剂、蛋白质和肽。在一些实施方案中,所述剂是分离的抗Siglec-5抗体或抗Siglec-5抗体缀合物。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体是本公开的抗Siglec-5抗体。在一些实施方案中,受试者是人。

[0475] 在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体降低Siglec-5的细胞(例如,细胞表面、细胞内或总)水平。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的降解。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的切割。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的内化。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的脱落。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5表达的下调。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体瞬时激活并然后诱导Siglec-5的降解。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体瞬时激活并然后诱导Siglec-5的切割。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体瞬时激活并然后诱导Siglec-5的内化。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体瞬时激活并然后诱导Siglec-5的脱落。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体瞬时激活并然后诱导Siglec-5表达的下调。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体瞬时激活并然后诱导Siglec-5的表达降低。在某些实施方案中,个体具有Siglec-5变体等位基因。

[0476] 如本文所公开,本公开的抗Siglec-5抗体可进一步用于降低调节性T细胞、调节性B细胞、包埋肿瘤的免疫抑制树突细胞、包埋肿瘤的免疫抑制巨噬细胞、包埋肿瘤的免疫抑制嗜中性粒细胞、包埋肿瘤的免疫抑制NK细胞、髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、肿瘤

相关嗜中性粒细胞、肿瘤相关NK细胞、急性髓性白血病 (AML) 细胞、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL) 细胞和/或慢性髓性白血病 (CML) 细胞的活性、功能性或存活。在一些实施方案中,本公开提供了在有需要的个体中降低调节性T细胞、调节性B细胞、包埋肿瘤的免疫抑制树突细胞、包埋肿瘤的免疫抑制巨噬细胞、包埋肿瘤的免疫抑制嗜中性粒细胞、包埋肿瘤的免疫抑制NK细胞、髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞、肿瘤相关嗜中性粒细胞、肿瘤相关NK细胞、急性髓性白血病 (AML) 细胞、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL) 细胞或慢性髓性白血病 (CML) 细胞的活性、功能性或存活的方法,方式是通过所述个体施用治疗有效量的抗Siglec-5抗体。在一些实施方案中,所述抗体选自拮抗剂抗体、惰性抗体和激动剂抗体。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体是本公开的分离的抗Siglec-5抗体或抗Siglec-5抗体缀合物。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体缀合物包含与可检测标志物、毒素或治疗剂缀合的抗Siglec-5抗体。

[0477] 如本文所公开,本公开的抗Siglec-5抗体可用于在体外或体内降低一种或多种细胞上的Siglec-5的细胞水平,所述细胞包括但不限于红细胞、细菌细胞、凋亡细胞、神经细胞、神经胶质细胞、小神经胶质细胞、星形胶质细胞、肿瘤细胞、病毒、树突细胞、与 $\beta$ 淀粉样斑块结合的Siglec-5配体、与Tau缠结物结合的Siglec-5配体、致病蛋白上的Siglec-5配体、致病肽上的Siglec-5配体、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、自然杀伤细胞、单核细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、B细胞、包埋肿瘤的免疫抑制树突细胞、包埋肿瘤的免疫抑制巨噬细胞、髓源性抑制细胞和/或调节性T细胞。在一些实施方案中,本公开提供了在有需要的个体中降低一种或多种细胞上的Siglec-5的细胞水平的方法,方式是通过所述个体施用治疗有效量的与Siglec-5结合或相互作用的剂。在一些实施方案中,所述剂选自抗体、拮抗剂抗体、惰性抗体、激动剂抗体、Siglec-5配体、Siglec-5配体激动剂片段、Siglec-5免疫粘附素、Siglec-5配体模拟物、可溶性Siglec-5受体、Siglec-5-Fc融合蛋白、结合一种或多种Siglec-5配体的可溶性Siglec受体、结合一种或多种Siglec-5配体的Siglec-Fc融合蛋白和小分子化合物。在一些实施方案中,所述剂是本公开的分离的抗Siglec-5抗体或抗Siglec-5抗体缀合物。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体缀合物包含与可检测标志物、毒素或治疗剂缀合的抗Siglec-5抗体。在一些实施方案中,一种或多种细胞选自红细胞、细菌细胞、凋亡细胞、神经细胞、神经胶质细胞、小神经胶质细胞、星形胶质细胞、肿瘤细胞、病毒、树突细胞、与 $\beta$ 淀粉样斑块结合的Siglec-5配体、与Tau缠结物结合的Siglec-5配体、致病蛋白上的Siglec-5配体、致病肽上的Siglec-5配体、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、自然杀伤细胞、单核细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、B细胞、包埋肿瘤的免疫抑制树突细胞、包埋肿瘤的免疫抑制巨噬细胞、髓源性抑制细胞、调节性T细胞及其任意组合。

[0478] Siglec-5的细胞水平可以指但不限于Siglec-5的细胞表面水平、Siglec-5的细胞内水平和Siglec-5的总水平。在一些实施方案中,Siglec-5的细胞水平的降低包括Siglec-5的细胞表面水平的降低。如本文所用,如果通过本文所述或本领域中已知的任何基于细胞的体外测定或合适的体内模型测量,抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的细胞表面水平降低21%或更多,则其降低Siglec-5的细胞表面水平。在一些实施方案中,Siglec-5的细胞水平降低包括Siglec-5的细胞内水平降低。如本文所用,如果通过本文所述或本领域中已知的任何基于细胞的体外测定或合适的体内模型测量,抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的细胞内水平降低21%或更多,则其降低Siglec-5的细胞内水平。在一些实施方案中,Siglec-5的细

胞水平降低包括Siglec-5的总水平降低。如本文所用,如果通过本文所述或本领域中已知的任何基于细胞的体外测定或合适的体内模型测量,抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5的总水平降低20%或更多,则其降低Siglec-5的总水平。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体诱导Siglec-5降解、Siglec-5切割、Siglec-5内化、Siglec-5脱落和/或Siglec-5表达的下调。在一些实施方案中,利用体外细胞测定法在原代细胞(例如,树突细胞、骨髓源性树突细胞、B细胞、单核细胞、小神经胶质细胞和巨噬细胞)或者在细胞系上测量Siglec-5的细胞水平。

[0479] 如本文所公开,本公开的抗Siglec-5抗体可用于通过例如在体外或体内诱导一种或多种嗜中性粒细胞中的(ROS)产生和/或细胞外陷阱(NET)形成来诱导嗜中性粒细胞激活和/或缓和免疫受抑制的嗜中性粒细胞。在一些实施方案中,本公开提供了在有需要的个体中诱导一种或多种嗜中性粒细胞中的反应性氧物质(ROS)产生的方法,方式是通过对所述个体施用治疗有效量的与Siglec-5结合或相互作用的剂。在一些实施方案中,本公开提供了在有需要的个体中诱导一种或多种嗜中性粒细胞中的细胞外陷阱(NET)形成的方法,方式是通过对所述个体施用治疗有效量的与Siglec-5结合或相互作用的剂。在一些实施方案中,本公开提供了在有需要的个体中诱导一种或多种嗜中性粒细胞中的嗜中性粒细胞激活的方法,方式是通过对所述个体施用治疗有效量的与Siglec-5结合或相互作用的剂。在一些实施方案中,本公开提供了在有需要的个体中缓和一种或多种免疫受抑制的嗜中性粒细胞的方法,方式是通过对所述个体施用治疗有效量的与Siglec-5结合或相互作用的剂。在一些实施方案中,所述剂选自抗体、拮抗剂抗体、惰性抗体、激动剂抗体、Siglec-5配体、Siglec-5配体激动剂片段、Siglec-5免疫粘附素、Siglec-5配体模拟物、可溶性Siglec-5受体、Siglec-5-Fc融合蛋白、结合一种或多种Siglec-5配体的可溶性Siglec受体、结合一种或多种Siglec-5配体的Siglec-Fc融合蛋白和小分子化合物。在一些实施方案中,所述剂是本公开的分离的抗Siglec-5抗体或抗Siglec-5抗体缀合物。在一些实施方案中,抗Siglec-5抗体缀合物包含与可检测标志物、毒素或治疗剂缀合的抗Siglec-5抗体。在一些实施方案中,一种或多种细胞选自红细胞、细菌细胞、凋亡细胞、神经细胞、神经胶质细胞、小神经胶质细胞、星形胶质细胞、肿瘤细胞、病毒、树突细胞、与 $\beta$ 淀粉样斑块结合的Siglec-5配体、与Tau缠结物结合的Siglec-5配体、致病蛋白上的Siglec-5配体、致病肽上的Siglec-5配体、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、自然杀伤细胞、单核细胞、T细胞、T辅助细胞、细胞毒性T细胞、B细胞、包埋肿瘤的免疫抑制树突细胞、包埋肿瘤的免疫抑制巨噬细胞、髓源性抑制细胞、调节性T细胞及其任意组合。

[0480] 在一些实施方案中,个体具有Siglec-5的杂合变体。

[0481] 在一些实施方案中,本公开的方法可进一步涉及抗Siglec-5抗体或双特异性抗Siglec-5抗体与同模式识别受体结合的抗体、同Toll样受体结合的抗体、同损伤相关分子模式(DAMP)受体结合的抗体和/或同细胞因子结合的抗体或同白介素结合的抗体共同施用。

[0482] 在一些实施方案中,本公开的方法可进一步包括对所述个体施用至少一种与抑制性检查点分子特异性结合的抗体和/或一种或多种标准或研究性抗癌疗法。在一些实施方案中,至少一种与抑制性检查点分子特异性结合的抗体与抗Siglec-5抗体组合施用。在一些实施方案中,至少一种与抑制性检查点分子特异性结合的抗体选自抗PD-L1抗体、抗CTLA4抗体、抗PD-L2抗体、抗PD-1抗体、抗B7-H3抗体、抗B7-H4抗体、和抗HVEM抗体、抗B和T

淋巴细胞减毒剂 (BTLA) 抗体、抗杀伤细胞抑制性受体 (KIR) 抗体、抗GAL9抗体、抗TIM-1抗体、抗TIM3抗体、抗TIM-4抗体、抗A2AR抗体、抗CD39抗体、抗CD73抗体、抗LAG-3抗体、抗磷脂酰丝氨酸抗体、抗CD27抗体、抗CD30抗体、抗TNF $\alpha$ 抗体、抗CD33抗体、抗Siglec-6抗体、抗Siglec-7抗体、抗Siglec-9抗体、抗Siglec-10抗体、抗Siglec-11抗体、拮抗性抗TREM1抗体、拮抗性抗TREM2抗体、抗TIGIT抗体、抗VISTA抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体及其任意组合。在一些实施方案中,一种或多种标准或研究性抗癌疗法选自放射疗法、细胞毒性化学疗法、靶向疗法、伊马替尼疗法、曲妥珠单抗疗法、依那西普疗法、过继细胞转移 (ACT) 疗法、嵌合抗原受体T细胞转移 (CAR-T) 疗法、疫苗疗法和细胞因子疗法。

[0483] 在一些实施方案中,本公开的方法可进一步包括对所述个体施用至少一种与抑制性细胞因子特异性结合的抗体。在一些实施方案中,至少一种与抑制性细胞因子特异性结合的抗体与Siglec-5剂如抗Siglec-5抗体组合施用。在一些实施方案中,至少一种与抑制性细胞因子特异性结合的抗体选自抗CCL2抗体、抗CSF-1抗体、抗IL-2抗体及其任意组合。

[0484] 在一些实施方案中,本公开的方法可进一步包括对所述个体施用至少一种与刺激性检查点蛋白特异性结合的激动性抗体。在一些实施方案中,至少一种与刺激性检查点蛋白特异性结合的激动性抗体与Siglec-5剂如抗Siglec-5抗体组合施用。在一些实施方案中,至少一种与刺激性检查点蛋白特异性结合的激动性抗体选自激动剂抗CD40抗体、激动剂抗OX40抗体、激动剂抗ICOS抗体、激动剂抗CD28抗体、激动性抗TREM1抗体、激动性抗TREM2抗体、激动剂抗CD137/4-1BB抗体、激动剂抗CD27抗体、激动剂抗糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白GITR抗体、激动剂抗BTLA抗体、激动剂HVEM抗体、激动剂抗CD30抗体、激动剂抗CD2抗体、激动剂抗CD5抗体及其任意组合。

[0485] 在一些实施方案中,本公开的方法可进一步包括对所述个体施用至少一种刺激性细胞因子。在一些实施方案中,至少一种刺激性细胞因子与Siglec-5剂如抗Siglec-5抗体组合施用。在一些实施方案中,至少一种刺激性细胞因子选自IFN- $\alpha$ 4、IFN- $\beta$ 、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、CRP、IL-20家族成员、LIF、IFN- $\gamma$ 、OSM、CNTF、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18、IL-23、CXCL10、IL-33、MCP-1、MIP-1- $\beta$ 及其任意组合。

[0486] 痴呆

[0487] 痴呆是一种非特异性综合征(即,一组体征和症状),其表现为先前未受损伤的人整体认知能力严重丧失,超出正常衰老可能预期的范围。由于整体脑损伤的独特性,痴呆可能是固定性的。或者,痴呆可能是进行性的,由于身体损伤或疾病导致长期衰退。虽然痴呆在老年群体中更为常见,但也可能发生在65岁以前。受痴呆影响的认知领域包括但不限于记忆、注意力范围、语言和解决问题的能力。一般地,在个体被诊断为痴呆之前,症状必须存在至少六个月。

[0488] 痴呆的示例性形式包括但不限于额颞叶痴呆、阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、语义性痴呆和路易体痴呆。

[0489] 在一些实施方案中,施用本公开的抗Siglec-5抗体可进行痴呆的预防、降低风险和/或治疗。在一些实施方案中,施用抗Siglec-5抗体可调节患有痴呆的个体中的一种或多种Siglec-5活性。

[0490] 额颞叶痴呆

[0491] 额颞叶痴呆 (FTD) 是由脑额叶的进行性恶化引起的疾患。随着时间的推移,退化可

进展到颞叶。FTD的患病率仅次于阿尔茨海默氏病(AD),占早老性痴呆病例的20%。FTD的临床特征包括记忆缺陷、行为异常、人格改变和语言障碍(Cruts, M. & Van Broeckhoven, C., Trends Genet. 24:186-194 (2008); Neary, D. 等人, Neurology 51:1546-1554 (1998); Ratnavalli, E., Brayne, C., Dawson, K. & Hodges, J. R., Neurology 58:1615-1621 (2002))。

[0492] 相当大部分的FTD病例以常染色体显性方式遗传,但即使在一个家族中,症状也可能跨越一系列范围,从具有行为障碍的FTD到原发性进行性失语症到皮质-基底神经节变性。像大多数神经变性疾病一样,FTD的特征可在于患病脑中特定蛋白质聚集体的病理存在。历史上,FTD的最初描述就认识到在神经原纤维缠结或皮克体中存在过度磷酸化Tau蛋白的神经细胞内积累。在若干家族中编码Tau蛋白的基因的突变的确认支持微管相关蛋白Tau的因果作用(Hutton, M. 等人, Nature 393:702-705 (1998))。然而,大多数FTD脑显示没有过度磷酸化Tau的积累,但确实显示对泛素(Ub)和TAR DNA结合蛋白(TDP43)的免疫反应性(Neumann, M. 等人, Arch. Neurol. 64:1388-1394 (2007))。大多数具有Ub包涵物的FTD病例(FTD-U)显示在颗粒蛋白前体基因中携带突变。

[0493] 在一些实施方案中,施用本公开的抗Siglec-5抗体可进行FTD的预防、降低风险和/或治疗。在一些实施方案中,施用抗Siglec-5抗体可调节患有FTD的个体中的一种或多种Siglec-5活性。

[0494] 阿尔茨海默氏病

[0495] 阿尔茨海默氏病(AD)是痴呆的最常见形式。这种疾病没有治愈方法,随着疾病的发展而恶化,最终导致死亡。最常见的是,在65岁以上的人中诊断出AD。然而,较不流行的早发性阿尔茨海默氏病可能发生要早得多。

[0496] 阿尔茨海默氏病的常见症状包括行为症状,如难以记住最近的事件;认知症状、混乱、易怒和攻击性、情绪波动、语言障碍和长期记忆丧失。随着疾病的发展,身体功能丧失,最终导致死亡。阿尔茨海默氏病在变得完全明显之前发展的时间量未知且可变,并且可能进展数年而不被确诊。

[0497] 在一些实施方案中,施用本公开的抗Siglec-5抗体可进行阿尔茨海默氏病的预防、降低风险和/或治疗。在一些实施方案中,施用抗Siglec-5抗体可调节患有阿尔茨海默氏病的个体中的一种或多种Siglec-5活性。

[0498] 帕金森氏病

[0499] 帕金森氏病可以被称为特发性或原发性帕金森症、运动机能减退强直综合征(HRS)或震颤性麻痹,是影响运动系统控制的神经变性脑病症。脑中产生多巴胺的细胞的进行性死亡导致帕金森氏病的主要症状。最常见的是,在50岁以上的人中诊断出帕金森氏病。帕金森氏病在大多数人中是特发性的(原因不明)。然而,遗传因素也在该疾病中起作用。

[0500] 帕金森氏病的症状包括但不限于手、臂、腿、颌和脸的震颤、四肢和躯干的肌肉僵硬、运动缓慢(运动徐缓)、姿势不稳定、行走困难、神经精神问题、言语或行为改变、抑郁、焦虑、疼痛、精神病、痴呆、幻觉和睡眠问题。

[0501] 在一些实施方案中,施用本公开的抗Siglec-5抗体可进行帕金森氏病的预防、降低风险和/或治疗。在一些实施方案中,施用抗Siglec-5抗体可调节患有帕金森氏病的个体中的一种或多种Siglec-5活性。

[0502] 肌萎缩性侧索硬化症(ALS)



[0503] 如本文所用,肌萎缩性侧索硬化症(ALS)或运动神经元疾病或卢伽雷氏病可互换使用,并且是指具有各种病因的衰弱性疾病,其特征在于快速进行性虚弱、肌肉萎缩和肌束震颤、肌肉痉挛、说话困难(构音障碍)、吞咽困难(噎膈)和呼吸困难(喘证)。

[0504] 已经显示颗粒蛋白前体在ALS中起作用(Schymick, JC等人, (2007) J Neurol Neurosurg Psychiatry.; 78:754-6), 并且再次防止由引起ALS的蛋白质如TDP-43引起的损伤(Laird, AS等人, (2010) . PLoS ONE 5:e13368)。还表明在脊髓损伤后,促NGF诱导p75介导的少突胶质细胞和皮质脊髓神经元的死亡(Beatty等人, Neuron (2002), 36, pp. 375-386; Giehl等人, Proc. Natl. Acad. Sci USA (2004), 101, 第6226-30页)。

[0505] 在一些实施方案中,施用本公开的抗Siglec-5抗体可进行ALS的预防、降低风险和/或治疗。在一些实施方案中,施用抗Siglec-5抗体可调节患肌萎缩性侧索硬化症的个体中的一种或多种Siglec-5活性。

[0506] 亨廷顿氏病

[0507] 亨廷顿氏病(HD)是由亨廷顿蛋白基因(HTT)中的常染色体显性突变引起的遗传性神经变性疾病。亨廷顿蛋白基因内细胞因子-腺嘌呤-鸟嘌呤(CAG)三联体重复序列的扩增导致产生由该基因编码的亨廷顿蛋白(Htt)的突变形式。这种突变的亨廷顿蛋白(mHtt)是毒性的,并且促成神经元死亡。亨廷顿氏病的症状最常出现在35与44岁之间,尽管它们可以在任何年龄出现。

[0508] 亨廷顿氏病的症状包括但不限于运动控制问题、急动、随机运动(舞蹈病)、异常眼运动、平衡受损、癫痫发作、咀嚼困难、吞咽困难、认知问题、言语改变、记忆缺陷、思维困难、失眠、疲劳、痴呆、人格改变、抑郁、焦虑和强迫行为。

[0509] 在一些实施方案中,施用本公开的抗Siglec-5抗体可进行亨廷顿氏病(HD)的预防、降低风险和/或治疗。在一些实施方案中,施用抗Siglec-5抗体可调节患有亨廷顿氏病的个体中的一种或多种Siglec-5活性。

[0510] Tau蛋白病

[0511] Tau蛋白病或Tau蛋白病是由脑内微管相关蛋白tau的聚集引起的神经变性疾病。阿尔茨海默氏病(AD)是最熟知的tau蛋白病,并且涉及tau蛋白在神经元内以不溶性神经原纤维缠结(NFT)的形式积累。其它tau蛋白病和病症包括进行性核上性麻痹、拳击员痴呆(慢性创伤性脑病变)、额颞叶痴呆和与17号染色体关联的帕金森症、Lytico-Bodig病(关岛帕金森-痴呆综合症)、缠结主导性痴呆、神经节神经胶质瘤和神经节细胞瘤、脑膜血管瘤病、亚急性硬化性全脑炎、铅脑病变、结节性硬化症、Hallervorden-Spatz病、脂褐质沉积症、皮克病、皮质基底节变性、嗜银颗粒病(AGD)、亨廷顿氏病和额颞叶变性。

[0512] 在一些实施方案中,施用本公开的抗Siglec-5抗体可进行tau蛋白病的预防、降低风险和/或治疗。在一些实施方案中,施用抗Siglec-5抗体可调节患有tau蛋白病的个体中的一种或多种Siglec-5活性。

[0513] 多发性硬化症

[0514] 多发性硬化症(MS)也可以被称为弥散性硬化症或播散性脑脊髓炎。MS是一种炎性疾病,其中脑和脊髓的轴突周围的脂肪髓鞘受损,导致脱髓鞘和瘢痕以及广谱的体征和症状。MS影响脑和脊髓中的神经细胞彼此有效沟通的能力。神经细胞通过沿着被称为轴突的长纤维向下发送被称为动作电位的电信号沟通,轴突包含在被称为髓磷脂的隔离物质中。

在MS中,身体自身的免疫系统攻击并损伤髓磷脂。当髓磷脂丢失时,轴突不再能有效地传导信号。MS发作通常发生在年轻的成年人中,更常见于女性。

[0515] MS的症状包括但不限于感觉的变化,如敏感性丧失或麻刺;刺痛或麻木,如感觉减退和感觉异常;肌肉无力;阵挛;肌肉痉挛;移动困难;协调和平衡困难,如共济失调;言语问题,如构音障碍,或吞咽问题,如噎膈;视觉问题,如眼球震颤、视神经炎(包括光幻视)和复视;疲劳;急性或慢性疼痛;以及膀胱和肠道困难;不同程度的认知障碍;抑郁或情绪不稳定的情绪症状;Uhthoff现象,其是由于暴露于高于通常的环境温度所致的现存症状恶化;以及Lhermitte体征,其是当颈部弯曲时沿背部向下延伸的触电感。

[0516] 在一些实施方案中,施用本公开的抗Siglec-5抗体可进行多发性硬化症的预防、降低风险和/或治疗。在一些实施方案中,施用抗Siglec-5抗体可调节患有多发性硬化症的个体中的一种或多种Siglec-5活性。

[0517] 癌症

[0518] 本公开进一步的方面提供癌症的预防、降低风险或治疗的方法,方式是通过对有需要的个体施用治疗有效量的本公开的分离的抗Siglec-5抗体。本公开的任何分离的抗体均可用在这些方法中。在一些实施方案中,分离的抗体是本公开的激动剂抗体。在其它实施方案中,分离的抗体是本公开的拮抗剂抗体。在其它实施方案中,分离的抗体是本公开的惰性抗体。在其它实施方案中,分离的抗体是本公开的抗体缀合物。

[0519] 如本文所公开,已知肿瘤微环境含有异质性免疫浸润物,其包括T淋巴细胞、B淋巴细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、NK细胞和髓样/粒细胞谱系的细胞。肿瘤中T调节性细胞、调节性B细胞、包埋肿瘤的免疫抑制髓样细胞和/或M2-巨噬细胞、M2-嗜中性粒细胞和/或M2-NK细胞的存在和活性与不良预后相关。相比之下,细胞毒性T细胞的存在和活性有益于癌症治疗。预期直接或间接增强细胞毒性T细胞的活性并降低各种免疫抑制细胞的数量和活性的疗法可提供显著的治疗益处。一项开创性的临床前研究显示了靶向免疫抑制细胞的药物(例如,CSF1/CSF1R阻断抗体)与激活细胞毒性T细胞的免疫检查点阻断抗体之间的协同作用,表明操纵两种细胞类型在个别疗法有效性差的肿瘤模型中显示出功效(ZhuY;Cancer Res.2014年9月15日;74(18):5057-69)。因此,在一些实施方案中,阻断在髓样细胞、嗜中性粒细胞、B细胞、T细胞亚群和肿瘤相关免疫细胞上表达的Siglec-5可刺激有益的抗肿瘤免疫反应,产生治疗性抗肿瘤免疫反应。

[0520] 在一些实施方案中,患有癌症的个体的预防、降低风险或治疗的方法进一步包括对所述个体施用至少一种与抑制性检查点分子特异性结合的抗体。与抑制性检查点分子特异性结合的抗体的实例包括但不限于抗PD-L1抗体、抗CTLA4抗体、抗PD-L2抗体、抗PD-1抗体、抗B7-H3抗体、抗B7-H4抗体、和抗HVEM抗体、抗B和T淋巴细胞减毒剂(BTLA)抗体、抗杀伤细胞抑制性受体(KIR)抗体、抗GAL9抗体、抗TIM-1抗体、抗TIM3抗体、抗TIM-4抗体、抗A2AR抗体、抗CD39抗体、抗CD73抗体、抗LAG-3抗体、抗磷脂酰丝氨酸抗体、抗CD27抗体、抗CD30抗体、抗TNF $\alpha$ 抗体、抗CD33抗体、抗Siglec-6抗体、抗Siglec-7抗体、抗Siglec-9抗体、抗Siglec-10抗体、抗Siglec-11抗体、拮抗性抗TREM1抗体、拮抗性抗TREM2抗体、抗TIGIT抗体、抗VISTA抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体及其任意组合。在一些实施方案中,至少一种与抑制性检查点分子特异性结合的抗体与本公开的Siglec-5剂如本公开的拮抗剂抗Siglec-5抗体组合施用。

[0521] 在一些实施方案中,要通过本公开的方法预防或治疗的癌症包括但不限于鳞状细胞癌(例如,上皮鳞状细胞癌)、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌(包括胃肠癌和胃肠间质癌)、胰腺癌、成胶质细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、泌尿道癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、肛门癌、阴茎癌、黑素瘤、浅表扩散性黑素瘤、恶性雀斑样痣黑素瘤、肢端雀斑样黑素瘤、结节性黑素瘤、多发性骨髓瘤和B细胞淋巴瘤;慢性淋巴细胞性白血病(CLL);急性成淋巴细胞性白血病(ALL);毛细胞白血病;慢性成髓细胞白血病;和移植后淋巴增生性疾病(PTLD),以及与癌症病相关的异常血管增生、水肿(如与脑肿瘤相关的水肿)、麦格氏综合征(Meigs'syndrome)、脑癌以及头颈癌和相关转移。在一些实施方案中,所述癌症是结肠直肠癌。在一些实施方案中,所述癌症选自非小细胞肺癌、成胶质细胞瘤、成神经细胞瘤、肾细胞癌、膀胱癌、卵巢癌、黑素瘤、乳腺癌、胃癌和肝细胞癌。在一些实施方案中,所述癌症是三阴性乳腺癌。在一些实施方案中,所述癌症可以是早期癌症或晚期癌症。在一些实施方案中,所述癌症可以是原发性肿瘤。在一些实施方案中,所述癌症可以是来源于任何上述类型的癌症的第二部位的转移性肿瘤。

[0522] 在一些实施方案中,本公开的抗Siglec-5抗体可用于癌症的预防、降低风险或治疗,包括但不限于膀胱癌、乳腺癌、结肠癌和直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾细胞癌、肾盂癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、前列腺癌、卵巢癌、纤维肉瘤和甲状腺癌。

[0523] 在一些实施方案中,本公开提供了患有癌症的个体的预防、降低风险或治疗的方法,方式是通过对所述个体施用治疗有效量的本公开的抗Siglec-5抗体。

[0524] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括对所述个体施用至少一种与抑制性免疫检查点分子特异性结合的抗体和/或另一种标准或研究性抗癌疗法。在一些实施方案中,至少一种与抑制性检查点分子特异性结合的抗体与本公开的抗Siglec-5抗体组合施用。在一些实施方案中,至少一种与抑制性检查点分子特异性结合的抗体选自抗PD-L1抗体、抗CTLA4抗体、抗PD-L2抗体、抗PD-1抗体、抗B7-H3抗体、抗B7-H4抗体、和抗HVEM抗体、抗B和T淋巴细胞减毒剂(BTLA)抗体、抗杀伤细胞抑制性受体(KIR)抗体、抗GAL9抗体、抗TIM-1抗体、抗TIM3抗体、抗TIM-4抗体、抗A2AR抗体、抗CD39抗体、抗CD73抗体、抗LAG-3抗体、抗磷脂酰丝氨酸抗体、抗CD27抗体、抗CD30抗体、抗TNF $\alpha$ 抗体、抗CD33抗体、抗Siglec-6抗体、抗Siglec-7抗体、抗Siglec-9抗体、抗Siglec-10抗体、抗Siglec-11抗体、拮抗性抗TREM1抗体、拮抗性抗TREM2抗体、抗TIGIT抗体、抗VISTA抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体及其任意组合。在一些实施方案中,标准或研究性抗癌疗法是选自放射疗法、细胞毒性化学疗法、靶向疗法、伊马替尼(Gleevec®)、曲妥珠单抗(Herceptin®)、过继细胞转移(ACT)、嵌合抗原受体T细胞转移(CAR-T)、疫苗疗法和细胞因子疗法的一种或多种疗法。

[0525] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括对所述个体施用至少一种与抑制性细胞因子特异性结合的抗体。在一些实施方案中,至少一种与抑制性细胞因子特异性结合的抗体与本公开的抗Siglec-5抗体组合施用。在一些实施方案中,至少一种与抑制性细胞因子特异性结合的抗体选自抗CCL2抗体、抗CSF-1抗体、抗IL-2抗体及其任意组合。

[0526] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括对所述个体施用至少一种与刺激性免疫检查点蛋白特异性结合的激动性抗体。在一些实施方案中,至少一种与刺激性检查点蛋白

特异性结合的激动性抗体与本公开的抗Siglec-5抗体组合施用。在一些实施方案中,至少一种与刺激性检查点蛋白特异性结合的激动性抗体选自激动剂抗CD40抗体、激动剂抗OX40抗体、激动剂抗ICOS抗体、激动剂抗CD28抗体、激动性抗TREM1抗体、激动性抗TREM2抗体、激动剂抗CD137/4-1BB抗体、激动剂抗CD27抗体、激动剂抗糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白GITR抗体、激动剂抗BTLA抗体、激动剂HVEM抗体、激动剂抗CD30抗体、激动剂抗CD2抗体、激动剂抗CD5抗体及其任意组合。

[0527] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括对所述个体施用至少一种刺激性细胞因子。在一些实施方案中,至少一种刺激性细胞因子与本公开的抗Siglec-5抗体组合施用。在一些实施方案中,至少一种刺激性细胞因子选自IFN- $\alpha$ 4、IFN- $\beta$ 、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、CRP、IL-20家族成员、LIF、IFN- $\gamma$ 、OSM、CNTF、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18、IL-23、CXCL10、IL-33、MCP-1、MIP-1- $\beta$ 及其任意组合。

[0528] 试剂盒/制品

[0529] 本公开还提供含有本公开的Siglec-5剂(例如,本文所述的抗Siglec-5抗体)或其功能片段的试剂盒和/或制品。本公开的试剂盒和/或制品可包括一个或多个包含本公开的纯化抗体的容器。在一些实施方案中,试剂盒和/或制品进一步包括用于根据本公开的方法使用的说明书。在一些实施方案中,这些说明书包括根据本公开的任何方法施用本公开的Siglec-5剂(例如,本文所述的抗Siglec-5抗体)以对患有选自痴呆、额颞叶痴呆、阿尔茨海默病、血管性痴呆、混合型痴呆、tau蛋白病、感染和癌症的疾病、病症或损伤的个体进行预防、降低风险或治疗的描述。

[0530] 在一些实施方案中,说明书包括如何检测例如个体、组织样品或细胞中的Siglec-5蛋白的描述。试剂盒和/或制品可进一步包括基于确认个体是否患有疾病和疾病的阶段来选择适合治疗的个体的描述。

[0531] 在一些实施方案中,试剂盒和/或制品可进一步包括本公开的另一种抗体(例如,至少一种与抑制性检查点分子特异性结合的抗体、至少一种与抑制性细胞因子特异性结合的抗体和/或至少一种与刺激性检查点蛋白特异性结合的激动性抗体)和/或至少一种刺激性细胞因子。在一些实施方案中,试剂盒和/或制品可进一步包括与本公开的Siglec-5剂(例如,本文所述的抗Siglec-5抗体)组合使用抗体和/或刺激性细胞因子的说明书、与抗体和/或刺激性细胞因子组合使用本公开的Siglec-5剂(例如,本文所述的抗Siglec-5抗体)的说明书或根据本公开的任何方法使用本公开的Siglec-5剂(例如,本文所述的抗Siglec-5抗体)和抗体和/或刺激性细胞因子的说明书。

[0532] 说明书通常包括关于预期治疗的剂量、给药方案和施用途径的信息。容器可以是单位剂量、散装(例如,多剂量包装)或亚单位剂量。在本公开的试剂盒和/或制品中提供的说明书通常是标签或包装插页(例如,试剂盒中包括的纸片)上的书面说明书,但机器可读说明书(例如,存储磁盘或存储光盘上携带的说明书)也是可以接受的。

[0533] 标签或包装插页指示组合物用于治疗例如本公开的疾病。可提供用于实施本文所述的任何方法的说明书。

[0534] 本公开的试剂盒和/或制品处于合适的包装中。合适的包装包括但不限于小瓶、瓶、广口瓶、软包装(例如,密封密拉或塑料袋)等。还涵盖用于与特定装置如吸入器、鼻施用装置(例如,雾化器)或输注装置如微型泵组合使用的包装。试剂盒和/或制品可具有无菌入

口(例如容器可以是静脉内溶液袋或具有可被皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。容器也可具有无菌入口(例如,容器可以是静脉内溶液袋或具有可被皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。组合物中的至少一种活性剂是本公开的Siglec-5剂(例如,本文所述的抗Siglec-5抗体)。容器可进一步包含第二药物活性剂。

[0535] 试剂盒和/或制品可任选提供另外的组分,如缓冲剂和解释信息。通常,试剂盒包括容器和在容器上或与容器关联的标签或包装插页。

[0536] 诊断用途

[0537] 本公开的Siglec-5剂如本公开的分离的抗体(例如,本文所述的抗Siglec-5抗体)也具有诊断用途。本公开因此提供了使用本公开的抗体或其功能片段用于诊断目的的方法,例如检测个体或来源于个体的组织样品中的Siglec-5蛋白。

[0538] 在一些实施方案中,个体是人。在一些实施方案中,个体是罹患本公开的疾病、病症或损伤或有发展成本公开的疾病、病症或损伤的风险的人患者。在一些实施方案中,诊断方法涉及检测生物样品如活组织检查样本、组织或细胞中的Siglec-5蛋白。使本公开的Siglec-5剂(例如,本文所述的抗Siglec-5抗体)与生物样品接触,并检测抗原结合抗体。例如,活组织检查样本可用本文所述的抗Siglec-5抗体染色,以便检测和/或定量疾病相关细胞。检测方法可涉及抗原结合抗体的定量。生物样品中的抗体检测可采用本领域中已知的任何方法进行,包括免疫荧光显微镜法、免疫细胞化学法、免疫组织化学法、ELISA、FACS分析、免疫沉淀或微正电子发射断层扫描法。在某些实施方案中,抗体被放射性标记,例如用<sup>18</sup>F标记,随后利用微正电子发射断层扫描分析进行检测。还可通过非侵入性技术如正电子发射断层扫描(PET)、X射线计算机断层扫描、单光子发射计算机断层扫描(SPECT)、计算机断层扫描(CT)和计算机轴向断层扫描(CAT)定量患者中的抗体结合。

[0539] 在其它实施方案中,本公开的分离的抗体(例如,本文所述的抗Siglec-5抗体)可用于检测和/或定量例如取自临床前疾病模型(例如,非人疾病模型)的脑样本中的小神经胶质细胞。如此,与对照相比,本公开的分离的抗体(例如,本文所述的抗Siglec-5抗体)可用于评估在神经系统疾病或损伤如额颞叶痴呆、阿尔茨海默病、血管性痴呆、癫痫发作、视网膜营养不良、动脉粥样硬化性血管疾病、Nasu-Hakola病或多发性硬化症的模型中治疗后的治疗反应。

[0540] 通过参考以下实施例将会更全面地理解本公开。然而它们不应被解释为限制本公开的范围。本公开通篇中的所有引文特此通过引用明确并入。

[0541] 实施例

[0542] 实施例1:产生对Siglec-5具有特异性的抗体

[0543] 本公开提供结合Siglec-5的抗体。在一些方面,本公开提供结合Siglec-5但不结合Siglec-14(与Siglec-5高度同源的蛋白质)的抗体。

[0544] 人Siglec-5的氨基酸序列如下所示(SEQ ID NO:1)。人Siglec-5含有位于SEQ ID NO:1的氨基酸残基1-16处的信号序列、位于氨基酸残基17-441处的细胞外结构域、位于SEQ ID NO:1的氨基酸残基19-136处的细胞外免疫球蛋白样可变型(IgV)结构域、位于SEQ ID NO:1的氨基酸残基146-229和236-330处的两个Ig样C2型结构域、位于SEQ ID NO:1的氨基酸残基442-462处的跨膜结构域、位于SEQ ID NO:1的氨基酸残基518-523处的ITIM基序1和位于SEQ ID NO:1的氨基酸残基542-547处的SLAM基序。图1A中显示人Siglec-5的氨基酸

序列 (SEQ ID NO:1) 与猕猴Siglec-5同源物 (SEQ ID NO:2) 的比对。图1B中显示人Siglec-5 (SEQ ID NO:1) 和人Siglec-14 (SEQ ID NO:4) 的氨基酸序列的比对。

[0545] Siglec-5氨基酸序列 (SEQ ID NO:1) :

10	20	30	40	50
MLPLLLPLL	WGGSLQEKPV	YELQVQKSVT	VQEGLCVLVP	CSFSYPWRSW
60	70	80	90	100
YSSPPLYVYW	FRDGEIPYYA	EVVATNNPDR	RVKPETQGRF	RLLGDVQKKN
110	120	130	140	150
CSLSIGDARM	EDTGSYFFRV	ERGRDVKYSY	QQNKLNLEVT	ALIEKPDHIF
160	170	180	190	200
LEPLESGRPT	RLSCSLPGSC	EAGPPLTFSW	TGNALSPLDP	ETTRSELTL
210	220	230	240	250
TPRPEDHGTN	LTCQMKRQGA	QVTTERTVQL	NVSYAPQTIT	IFRNGIALEI
260	270	280	290	300
LQNTSYLPVL	EGQALRLLCD	APSNPPAHL	WFQGSALNA	TPISNTGILE
310	320	330	340	350
LRRVRSAAEG	GFTCRAQHPL	GFLQIFLNL	VYSLPQLLGP	SCSWEAEGH
360	370	380	390	400
CRCFSFRARPA	PSLCWRLEEK	PLEGNSSQGS	FKVNSSSAGP	WANSSLILHG
410	420	430	440	450
GLSSDLKVSC	KAWNIYGSQS	GSVLLQGRS	NLGTGVVPAA	LGGAGVMALL
460	470	480	490	500
CICLCILIFFL	IVKARRKQAA	GRPEKMDDED	PIMGTITSGS	RKKPWPDPSPG
510	520	530	540	550
DQASPPGDAP	PLEEQKELHY	ASLSFSEMKS	REPKDQEAPS	TTEYSEIKTS

K

[0547] 如图1B中所示,人Siglec-5和人Siglec-14在它们的细胞外结构域中是高度同源的,在它们的整个细胞外结构域上共有80%同一性,但在它们的细胞外结构域的前237个氨基酸中>99%同一性。

[0548] 如Adler等人,mAbs.2017“Rare,high-affinity mouse anti-PD-lantibodies that function in checkpoint blockade,discovered using microfluidics and molecular genomics”中所述,采用分子基因组学方法产生对Siglec-5特异性的抗体。采用三周的多位点重复免疫 (RIMMS) 方案,用包含人Siglec-5的细胞外结构域的His标记的Siglec-5蛋白使十只小鼠 (五只SJ/L小鼠和五只Balb/c小鼠) 免疫。十只动物中有九只针对免疫原产生强滴度。从这些小鼠中收集淋巴结和脾,并通过阴性选择从其中分离B细胞。

[0549] 汇集来自每只动物的淋巴结和脾B细胞,并将来自每只动物的 $10^6$ 个B细胞重新悬浮在含有10%Optiprep (Sigma) 的PBS中,以产生单细胞乳液液滴,之后如Adler等人所述,在玻璃微流体芯片上通过RT-PCR扩增重链和轻链。简言之,使用定制设计的共流乳液液滴玻璃微流体芯片来产生~45 $\mu$ m直径液滴的乳液,其在细胞裂解缓冲液中含有单细胞悬浮液和低聚-dT珠粒以捕获聚(A)<sup>+</sup>mRNA。然后将mRNA结合珠粒重新悬浮在重叠延伸RT-PCR混合物中,该混合物含有2x一步RT-PCR缓冲液、Superscript III逆转录酶、Platinum Taq (ThermoFisher) 和针对IgK C区、IgG C区和所有V区的引物混合物。重叠区是编码Gly-Ser富集scFv序列的DNA序列。将珠粒混合物与基于矿物油的表面活性剂混合物一起注入玻璃Telos液滴乳液微流体芯片中以产生27 $\mu$ m液滴。此过程扩增并连接单细胞的重链和轻链可

变结构域序列以形成连接的scFv。

[0550] 在RT-PCR反应之后,在琼脂糖凝胶上纯化RT-PCR产物,并进行巢式PCR反应以添加用于深度测序或酵母展示的衔接子。在酵母中进行测序或克隆之前将巢式PCR产物凝胶纯化。酵母克隆载体(pYD)含有GAL1/10启动子、Aga2细胞壁连接物和C末端c-Myc标签。用凝胶纯化的PCR产物和线性化pYD载体对酿酒酵母进行电穿孔,用于同源重组。

[0551] 使用基于酵母的抗体平台来选择结合Siglec-5但不结合Siglec-14的抗体。为了确认与Siglec-5结合的scFv表达细胞,将酵母细胞用生物素化His标记的Siglec-5-Fc蛋白(70nM)染色,然后用PE-链霉抗生物素蛋白染色。为了确认与Siglec-14结合的scFv细胞,将酵母细胞用Siglec-14-Fc(70nM,R&D)染色,然后用APC缀合抗人IgG染色。将酵母用抗c-Myc染色,接着用AF-488-缀合二级抗体染色,以确认细胞表面scFv表达。通过在AF488<sup>+</sup>/PE<sup>+</sup>/APC<sup>-</sup>群体上分选来选择表达结合Siglec-5但不结合Siglec-14的scFv的酵母细胞。

[0552] 由自FACS分选回收的酵母制备质粒小量制备物。采用尾端PCR将Illumina衔接子添加到质粒文库中,用于深度抗体测序。使用定量PCR Illumina文库定量试剂盒(KAPA)对测序文库进行定量。根据制造商的说明书,使用500周期的MiSeq试剂盒v2在MiSeq(Illumina)上对文库进行测序。从每个文库中获得大约100,000-150,000个序列读数。比较文库内scFv的分选前和分选后频率,产生分选后该特定抗体的富集倍数。具有至少4倍富集的十一种抗体在哺乳动物细胞中表达为全抗体,并进行体外表征(表1)。

[0553] 表1:通过分子基因组学产生的抗Siglec-5抗体的富集倍数

抗体	分选前频率(%)	分选后频率(%)	富集倍数
S5-172	0.07	1.7	24.3
S5-174	0.06	1.6	26.2
S5-175	0.03	1.5	49.7
S5-176	0.04	1.3	31.5
S5-182	0.05	1.1	21.8
S5-183	0.02	1.0	51.0
S5-190	0.09	2.7	29.8
S5-202	0.06	2.4	40.2
S5-G-03	0.03	0.56	18.7
S5-G-07	0.07	0.76	10.9
S5-G-10	0.08	0.32	4.0

[0555] 实施例2:抗Siglec-5抗体的人源化

[0556] 以下研究的目的是产生小鼠抗人Siglec-5抗体的人源化变体:S5-172、S5-174和S5-G-03。

[0557] 通过将每种亲本小鼠抗体的CDR移植到在序列上最接近小鼠抗体的人种系框架上来使鼠抗Siglec-5抗体人源化。还产生具有一个或多个框架回复突变的抗体。总共产生了6种S5-172的人源化抗Siglec-5抗体(S5-172-H1至S5-172-H6);产生了8种S5-174的人源化抗Siglec-5抗体(S5-174-H1至S5-174-H8);并产生了9种S5-G-03的人源化抗Siglec-5抗体(S5-G-03-H1至S5-G-03-H9)。

[0558] 下表2中显示抗体的重链可变区HVR序列。下表3中显示抗体的轻链可变区HVR序

列。下表4中显示抗体的重链框架区的序列。下表5中显示抗体的轻链框架区的序列。下表6中显示抗体的重链可变区序列 (HVR序列加下划线)。下表7中显示抗体的轻链可变区序列 (HVR序列加下划线)。

[0559] 表2:抗Siglec-5抗体的重链HVR序列

Ab	HVR H1	HVR H2	HVR H3
S5-172	DYNMY (SEQ ID NO: 20)	YIDSYNGGTRYNQK FKG (SEQ ID NO: 39)	EGFGYDDREWFAY (SEQ ID NO: 70)
S5-174	NYWMH (SEQ ID NO: 21)	EIDPSDGYVTYNQN FKG (SEQ ID NO: 40)	VYYGNSIYYAMDY (SEQ ID NO: 71)
S5-175	SYMH (SEQ ID NO: 22)	AIYPGNSDTSYNQK FKG (SEQ ID NO: 41)	LVRPRPYGMDY (SEQ ID NO: 72)
S5-176	DYNIY (SEQ ID NO: 23)	YFDPYNGGTNYNQ RFKD (SEQ ID NO: 42)	EGYGYDDREWFAY (SEQ ID NO: 73)
S5-182	SYWLH (SEQ ID NO: 24)	MIHPNSGSTDYNER FKS (SEQ ID NO: 43)	TFYYFDY (SEQ ID NO: 74)
S5-183	SYGVS (SEQ ID NO: 25)	VIWGDGSTNYHSDL IS (SEQ ID NO: 44)	PRAFYYGSRGYWYF DV (SEQ ID NO: 75)
S5-190	DYNMY (SEQ ID NO: 20)	YIDSYNGGTRYNQK FKG (SEQ ID NO: 39)	EGFGYDDREWFAY (SEQ ID NO: 70)
S5-202	SYGVS (SEQ ID NO: 25)	VIWGDGSTNYHSAL IS (SEQ ID NO: 45)	PGAFYYGSRYYWY FDV (SEQ ID NO: 76)
S5-G-03	TYGMS (SEQ ID NO: 26)	TINSNGDNTYYPDS VKG (SEQ ID NO: 46)	AWPSITTVFAPYTL D Y (SEQ ID NO: 77)
S5-G-07	SYTMY (SEQ ID NO: 27)	YINPSSGYTEYNQK FKD (SEQ ID NO: 47)	SDSKGDY (SEQ ID NO: 78)
S5-G-10	EYTIH (SEQ ID NO: 28)	WFYPGSGSIKYNEK FKD (SEQ ID NO: 48)	HERAAQAAWSAY (SEQ ID NO: 79)
S5-172-H1; S5-172-H2	DYNMY (SEQ ID NO: 20)	YIDSYNGGTRYAQK FQG (SEQ ID NO: 49)	EGFGYDDREWFAY (SEQ ID NO: 70)
S5-172-H3; S5-172-H4	DYNMY (SEQ ID NO: 20)	YIDSYNGGTRYAQK FQG (SEQ ID NO: 49)	EGFGYDDREWFAY (SEQ ID NO: 70)
S5-172-H5; S5-172-H6	DYNMY (SEQ ID NO: 20)	YIDSYNGGTRYAQK FQG (SEQ ID NO: 49)	EGFGYDDREWFAY (SEQ ID NO: 70)
S5-174-H1; S5-174-H2	NYWMH (SEQ ID NO: 21)	EIDPSDGYVTYAQK FQG (SEQ ID NO: 50)	VYYGNSIYYAMDY (SEQ ID NO: 71)
S5-174-H3; S5-174-H4	NYWMH (SEQ ID NO: 21)	EIDPSDGYVTYAQK FQG (SEQ ID NO: 50)	VYYGNSIYYAMDY (SEQ ID NO: 71)
S5-174-H5; S5-174-H6	NYWMH (SEQ ID NO: 21)	EIDPSDGYVTYAQK FQG (SEQ ID NO: 50)	VYYGNSIYYAMDY (SEQ ID NO: 71)
S5-174-H7; S5-174-H8	NYWMH (SEQ ID NO: 21)	EIDPSDGYVTYAQK FQG (SEQ ID NO: 50)	VYYGNSIYYAMDY (SEQ ID NO: 71)
S5-G-03-H1;	TYGMS (SEQ	TINSNGDNTYYADS	AWPSITTVFAPYTL D

[0560]



[0561]

Ab	HVR H1	HVR H2	HVR H3
S5-G-03-H2; S5-G-03-H3	ID NO: 26)	VKG (SEQ ID NO: 51)	Y (SEQ ID NO: 77)
S5-G-03-H4; S5-G-03-H5; S5-G-03-H6	TYGMS (SEQ ID NO: 26)	TINSNGDNTYYADS VKG (SEQ ID NO: 51)	AWPSITTVFAPYTLD Y (SEQ ID NO: 77)
S5-G-03-H7; S5-G-03-H8; S5-G-03-H9	TYGMS (SEQ ID NO: 26)	TINSNGDNTYYADS VKG (SEQ ID NO: 51)	AWPSITTVFAPYTLD Y (SEQ ID NO: 77)

[0562] 表3:抗Siglec-5抗体的轻链HVR序列

[0563]

Ab	HVR L1	HVR L2	HVR L3
S5-172	KSSQSLLYSTNQ MTFLA (SEQ ID NO: 103)	WASTRES (SEQ ID NO: 127)	QQFYTYPFT (SEQ ID NO: 153)
S5-174	KATQDVGTAVA (SEQ ID NO: 104)	WTSTRHT (SEQ ID NO: 128)	QQYRSYPFT (SEQ ID NO: 154)
S5-175	RASQDISNYLN (SEQ ID NO: 105)	YTSRLHS (SEQ ID NO: 129)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO: 155)
S5-176	KSSQSLLYSTNQ MTYLA (SEQ ID NO: 106)	WASTRES (SEQ ID NO: 127)	HQFYSPFT (SEQ ID NO: 156)
S5-182	KASQDINSYLS (SEQ ID NO: 107)	RANRLVD (SEQ ID NO: 130)	LQYDELYT (SEQ ID NO: 157)
S5-183	RASENIYSYLA (SEQ ID NO: 108)	NTKTLVE (SEQ ID NO: 131)	QHHYGPPT (SEQ ID NO: 158)
S5-190	KSSQSLLYSTNQ MNFLA (SEQ ID NO: 109)	WASTRES (SEQ ID NO: 127)	QQFYSPFT (SEQ ID NO: 159)
S5-202	KASQDVSTAVA (SEQ ID NO: 110)	SASYRYT (SEQ ID NO: 132)	QQHYSPPT (SEQ ID NO: 160)
S5-G-03	RASSSVSSFLH (SEQ ID NO: 111)	STSNLAS (SEQ ID NO: 133)	QQYSGYPLT (SEQ ID NO: 161)
S5-G-07	RASQDIGNSLN (SEQ ID NO: 112)	ATSSLDS (SEQ ID NO: 134)	LQYASSPLT (SEQ ID NO: 162)
S5-G-10	RASGNIHNYLA (SEQ ID NO: 113)	NAKTLTD (SEQ ID NO: 135)	QHFWSTPYT (SEQ ID NO: 163)
S5-172-H1; S5-172-H3; S5-172-H5	KSSQSVLYSSNN KNYLA (SEQ ID NO: 114)	WASTRES (SEQ ID NO: 127)	QQFYTYPFT (SEQ ID NO: 153)
S5-172-H2; S5-172-H4; S5-172-H6	KSSQSVLYSSNN KNYLA (SEQ ID NO: 114)	WASTRES (SEQ ID NO: 127)	QQFYTYPFT (SEQ ID NO: 153)
S5-174-H1;	RASQDVGTAVA	WTSTRHT (SEQ	QQYRSYPFT (SEQ

[0564]

Ab	HVR L1	HVR L2	HVR L3
S5-174-H3; S5-174-H5; S5-174-H7	(SEQ ID NO: 115)	ID NO: 128)	ID NO: 154)
S5-174-H2; S5-174-H4; S5-174-H6; S5-174-H8	RASQDVGTAVA (SEQ ID NO: 115)	WTSTRHT (SEQ ID NO: 128)	QQYRSYPFT (SEQ ID NO: 154)
S5-G-03-H1; S5-G-03-H4; S5-G-03-H7	RASSSVSSSFLH (SEQ ID NO: 111)	STSNLAS (SEQ ID NO: 133)	QQYSGYPLT (SEQ ID NO: 161)
S5-G-03-H2; S5-G-03-H5; S5-G-03-H8	RASSSVSSSFLH (SEQ ID NO: 111)	STSNLAS (SEQ ID NO: 133)	QQYSGYPLT (SEQ ID NO: 161)
S5-G-03-H3; S5-G-03-H6; S5-G-03-H9	RASSSVSSSFLH (SEQ ID NO: 111)	STSNLAS (SEQ ID NO: 133)	QQYSGYPLT (SEQ ID NO: 161)

[0565] 表4:抗Siglec-5抗体的重链框架序列

[0566]

Ab	VH FR1	VH FR2	VH FR3	VH FR4
S5-172	QAYLQQSGPE LVKPGASVKV SCKASGYSLT (SEQ ID NO: 5)	WVKQSHGK SLEWIG (SEQ ID NO: 29)	KATLTVDKSSS TAFMHLNSLTS EDSAVYYCAR (SEQ ID NO: 52)	WGQGTLLV TVSA (SEQ ID NO: 80)
S5-174	QAYLQQSGAE LVKPGTSVKLS CKASGYTFT (SEQ ID NO: 6)	WVKQRPGQ GLEWVG (SEQ ID NO: 30)	KATLTVDRSSS TAYMQLSSLTS EDSAVYYCAG (SEQ ID NO: 53)	WGQGTSV TVSS (SEQ ID NO: 81)
S5-175	QAYLQQSGAV LARPGASVRM SCKASGYSFT (SEQ ID NO: 7)	WVKQRPGQ GLEWIG (SEQ ID NO: 31)	KAKLTAVTSA STAYMEVSSLT NEDSAVYYCT P (SEQ ID NO: 54)	WGQGTSV TVSS (SEQ ID NO: 81)
S5-176	QAYLQQSGPE LVKPGASVKV SCKASGYSFT (SEQ ID NO: 8)	WVKQSHGK SLEWIG (SEQ ID NO: 29)	KATLTVDKSSS TAFMQLNSLTS EDSAVYYCAR (SEQ ID NO: 55)	WGQGTLLV TVSA (SEQ ID NO: 80)
S5-182	QAYLQQSGAE LVKPGASVKLS CKASGYTFT (SEQ ID NO: 9)	WVKQRPGQ GLEWIG (SEQ ID NO: 31)	KATLIVDKSSS TAYMQLSSLTS EDSAVYYCAK (SEQ ID NO: 56)	WGQGTAL TVSS (SEQ ID NO: 82)
S5-183	QAYLQQSGPG LVAPSQSLSITC TVSGFSVT (SEQ ID NO: 10)	WVRQPPGK GLEWLG (SEQ ID NO: 32)	RLSISKDNSKS QVFLKLNSLQI ADTATYYCAR (SEQ ID NO: 57)	WGTGTTV AVSS (SEQ ID NO: 83)

[0567]

Ab	VH FR1	VH FR2	VH FR3	VH FR4
S5-190	QAYLQQSGPE LVKPGASVKV SCKASGYSLT (SEQ ID NO: 5)	WVKQSHGK SLEWIG (SEQ ID NO: 29)	KATLTVDKSSS TAFMHLNSLTS EDSAVYYCAR (SEQ ID NO: 52)	WGQGTLLV TVSA (SEQ ID NO: 80)
S5-202	QAYLQQSGPG LVAPSQSLSTC TVSGLSLT (SEQ ID NO: 11)	WVRQPPGK GLEWLG (SEQ ID NO: 32)	RLSISKDNSKS QVFLKLNSLQT DDTATYYCAK (SEQ ID NO: 58)	WGTGTTV TVSS (SEQ ID NO: 84)
S5-G-03	QAYLQQSGGG LVQPGQSLKLS CAASGFTFS (SEQ ID NO: 12)	WVRQTPDK RLELVA (SEQ ID NO: 33)	RFTISRDNANN TLYLQMSSLKS EDTAMYFCAR (SEQ ID NO: 59)	WGQGTSV TVSS (SEQ ID NO: 81)
S5-G-07	QAYLQQSGAE LARPGASVKM SCKASGYTFS (SEQ ID NO: 13)	WVKQRPGQ GLEWIG (SEQ ID NO: 31)	KATLTADKSSS TAYMQLISLTS EDSAVYYCAR (SEQ ID NO: 60)	WGQGTTL TVSS (SEQ ID NO: 85)
S5-G-10	QAYLQQSGAE LVKPGASVKLS CKASGYIFT (SEQ ID NO: 14)	WVKQRSGQ GLEWIG (SEQ ID NO: 34)	KATLTADKSSS TVYMELSLTS EDSAVYFCAT (SEQ ID NO: 61)	WGQGTLLV TVSA (SEQ ID NO: 80)
S5-172-H1; S5-172-H2	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYSLT (SEQ ID NO: 15)	WVRQAPGQ GLEWMG (SEQ ID NO: 35)	RVTITADKSTS TAYMELSSLRS EDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 62)	WGQGTLLV TVSS (SEQ ID NO: 86)
S5-172-H3; S5-172-H4	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYSLT (SEQ ID NO: 15)	WVRQAPGQ GLEWMG (SEQ ID NO: 35)	RVTITVDKSTS TAYMELSSLRS EDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 63)	WGQGTLLV TVSS (SEQ ID NO: 86)
S5-172-H5; S5-172-H6	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYSLT (SEQ ID NO: 15)	WVRQAPGQ GLEWMG (SEQ ID NO: 35)	RATLTVDKSTS TAYMELSSLRS EDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 64)	WGQGTLLV TVSS (SEQ ID NO: 86)
S5-174-H1; S5-174-H2	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT (SEQ ID NO: 16)	WVRQAPGQ GLEWMG (SEQ ID NO: 35)	RVTITADKSTS TAYMELSSLRS EDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 62)	WGQGTLLV TVSS (SEQ ID NO: 86)
S5-174-H3; S5-174-H4	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT (SEQ ID NO: 16)	WVRQAPGQ GLEWMG (SEQ ID NO: 35)	RVTITVDKSTS TAYMELSSLRS EDTAVYYCAG (SEQ ID NO: 65)	WGQGTLLV TVSS (SEQ ID NO: 86)
S5-174-H5; S5-174-H6	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKLS CKASGYTFT (SEQ ID NO: 17)	WVRQAPGQ GLEWVG (SEQ ID NO: 36)	RATLTVDKSTS TAYMELSSLRS EDTAVYYCAG (SEQ ID NO: 66)	WGQGTLLV TVSS (SEQ ID NO: 86)
S5-174-H7; S5-174-H8	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKLS CKASGYTFT	WVRQAPGQ GLEWVG (SEQ ID NO: 36)	RATLTVDRSTS TAYMELSSLRS EDTAVYYCAG	WGQGTLLV TVSS (SEQ ID NO: 86)

Ab	VH FR1	VH FR2	VH FR3	VH FR4
	(SEQ ID NO: 17)	36)	(SEQ ID NO: 67)	
S5-G-03-H 1; S5-G-03-H 2; S5-G-03-H 3	EVQLLES GGG L VQPGGSLRLSC AASGFTFS (SEQ ID NO: 18)	WVRQAPGK GLEWVS (SEQ ID NO: 37)	RFTISRDN SKN TLYLQMNSLR AEDTAVYYCA K (SEQ ID NO: 68)	WGQGTLV TVSS (SEQ ID NO: 86)
S5-G-03-H 4; S5-G-03-H 5; S5-G-03-H 6	EVQLLES GGG L VQPGGSLRLSC AASGFTFS (SEQ ID NO: 18)	WVRQAPGK GLELVA (SEQ ID NO: 38)	RFTISRDN SKN TLYLQMNSLR AEDTAVYYCA R (SEQ ID NO: 69)	WGQGTLV TVSS (SEQ ID NO: 86)
S5-G-03-H 7; S5-G-03-H 8; S5-G-03-H 9	EVQLLQSGGG LVQPGGSLRLS CAASGFTFS (SEQ ID NO: 19)	WVRQAPGK GLELVA (SEQ ID NO: 38)	RFTISRDN SKN TLYLQMNSLR AEDTAVYYCA R (SEQ ID NO: 69)	WGQGTLV TVSS (SEQ ID NO: 86)

[0568] 表5: 抗Siglec-5抗体的轻链框架序列

Ab	VL FR1	VL FR2	VL FR3	VL FR4
S5-172	DIVLTQTPLS LAVSVGEKV TMNC (SEQ ID NO: 87)	WYQQKPG QSPKLLIY (SEQ ID NO: 116)	GVPDRFTGSGSGT DFTLTISSVKAED LAIYYC (SEQ ID NO: 136)	FGSGTKLE IR (SEQ ID NO: 164)
S5-174	DIQMTQTRN FMSTSVGDR VNITC (SEQ ID NO: 88)	WYQVKPG QSPKLLIY (SEQ ID NO: 117)	GVPDRFTGSGSGT DFTLTIKNVQSED LADYFC (SEQ ID NO: 137)	FGSGTKLE IK (SEQ ID NO: 165)
S5-175	DVVLTQSTS SLSASLGDR VTISC (SEQ ID NO: 89)	WYQQKPD GTVKLLIY (SEQ ID NO: 118)	GVPSRFSGSGSGT DYSLTISNLEQEDI ATYFC (SEQ ID NO: 138)	FGGGTKL EIK (SEQ ID NO: 166)
S5-176	DIVMTQSPS SLAASVGEK VTMSC (SEQ ID NO: 90)	WYQQKPG QSPKLLIF (SEQ ID NO: 119)	GVPDRFTGSGSGT DFTLTISSVKAED LAVYYC (SEQ ID NO: 139)	FGSGTRW EIK (SEQ ID NO: 167)
S5-182	DVVMQSPS SMYASLGER VTITC (SEQ ID NO: 91)	WFQQKPG KSPKTLIY (SEQ ID NO: 120)	GVPSRFSGSGSGQ DYSLTISSELYED MGIYYC (SEQ ID NO: 140)	FGGGTKL EIK (SEQ ID NO: 166)
S5-183	DIVMTQSPA SLSASVGET VTITC (SEQ	WYQQKQ GKSPQLLV Y (SEQ ID	GVPSRFSGSGSDT QFSLKINS LQPEDF GTYYC (SEQ ID	FGTGKLE LK (SEQ ID NO: 168)

[0571]

Ab	VL FR1	VL FR2	VL FR3	VL FR4
	ID NO: 92)	NO: 121)	NO: 141)	
S5-190	DIQMTQTPS SLAVSVGEK VTLS (SEQ ID NO: 93)	WYQQKPG QSPKLLIY (SEQ ID NO: 116)	GVPDRFAGSGSGT DFTLTISVKAED LAVYYC (SEQ ID NO: 142)	FGSGTELE IK (SEQ ID NO: 169)
S5-202	DIQMTQAHK VMSTSVGDR VSITC (SEQ ID NO: 94)	WYQQKPG QSPKLLIY (SEQ ID NO: 116)	GVPDRFTGSGSGT DFTFTISSVQAED LAVYYC (SEQ ID NO: 143)	FGGGTRR EIK (SEQ ID NO: 170)
S5-G-03	DIVLTQSPAI MSASPGKV TMTC (SEQ ID NO: 95)	WYQQKSG ASPKLWIY (SEQ ID NO: 122)	GVPTRFSGSGSGT SYSLSISSVEAEDT ATYFC (SEQ ID NO: 144)	FGGGTKL EIK (SEQ ID NO: 166)
S5-G-07	DVVMNQSPS SLSASLGER VSLTC (SEQ ID NO: 96)	WLQQEPD GTIKRLIS (SEQ ID NO: 123)	GVPKRFSGSRSGS DYSLTISSESEDF VDYYC (SEQ ID NO: 145)	FGAGTKL ELK (SEQ ID NO: 171)
S5-G-10	DVQMNQSP ASLSASVGE TVTITC (SEQ ID NO: 97)	WYQQKQ GKSPQLLV Y (SEQ ID NO: 121)	GVPSRFSGSGSGT QYSLKINTLQPED FGSYYC (SEQ ID NO: 146)	FGGGTKL EMK (SEQ ID NO: 172)
S5-172-H1; S5-172-H3; S5-172-H5	DIVMTQSPD SLAVSLGER ATINC (SEQ ID NO: 98)	WYQQKPG QPPKLLIY (SEQ ID NO: 124)	GVPDRFSGSGSGT DFTLTISLQAED VAVYYC (SEQ ID NO: 147)	FGQGTKL EIK (SEQ ID NO: 173)
S5-172-H2; S5-172-H4; S5-172-H6	DIVLTQSPDS LAVSLGERV TMNC (SEQ ID NO: 99)	WYQQKPG QPPKLLIY (SEQ ID NO: 124)	GVPDRFSGSGSGT DFTLTISVQAED VAVYYC (SEQ ID NO: 148)	FGQGTKL EIK (SEQ ID NO: 173)
S5-174-H1; S5-174-H3; S5-174-H5; S5-174-H7	DIQMTQSPS SLSASVGDR VTITC (SEQ ID NO: 100)	WYQQKPG KAPKLLIY (SEQ ID NO: 125)	GVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDF ATYYC (SEQ ID NO: 149)	FGQGTKL EIK (SEQ ID NO: 173)
S5-174-H2; S5-174-H4; S5-174-H6; S5-174-H8	DIQMTQSPS SLSTSVGDR VTITC (SEQ ID NO: 101)	WYQQKPG KAPKLLIY (SEQ ID NO: 125)	GVPSRFSGSGSGT DFTLTISVQPEDL ATYYC (SEQ ID NO: 150)	FGQGTKL EIK (SEQ ID NO: 173)
S5-G-03-H1; S5-G-03-H4; S5-G-03-H7	DIQMTQSPS SLSASVGDR VTITC (SEQ ID NO: 100)	WYQQKPG KAPKLLIY (SEQ ID NO: 125)	GVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDF ATYYC (SEQ ID NO: 149)	FGQGTKL EIK (SEQ ID NO: 173)
S5-G-03-H2; S5-G-03-H5; S5-G-03-H8	DIQMTQSPS SLSASVGDR VTITC (SEQ ID NO: 100)	WYQQKPG KAPKLWI Y (SEQ ID NO: 126)	GVPSRFSGSGSGT DYTLTISLQPEDF ATYYC (SEQ ID NO: 151)	FGQGTKL EIK (SEQ ID NO: 173)
S5-G-03-H3;	DIQLTQSPSS	WYQQKPG	GVPSRFSGSGSGT	FGQGTKL

	Ab	VL FR1	VL FR2	VL FR3	VL FR4
[0572]	S5-G-03-H6; S5-G-03-H9	LSASVGDRV TMTTC (SEQ ID NO: 102)	KAPKLWI Y (SEQ ID NO: 126)	DYTLTISSVQPED FATYYC (SEQ ID NO: 152)	EIK (SEQ ID NO: 173)

[0573] 表6:抗Siglec-5抗体的重链可变区序列

	Ab	HCVR	SEQ ID NO:
	S5-172	QAYLQQSGPELVKPGASVKVSCKASGYSLTDYNYM YWVKQSHGKSLEWIGYIDSYNGGTRYNQKFKGKA TLTVDKSSSTAFMHLNSLTSEDSAVYYCAREGFGY DDREWFAYWGQGTLLTVSA	174
	S5-174	QAYLQQSGAELVKPGTSVKLSCKASGYTFTNYWM HWVKQRPGQGLEWVGEIDPSDGYVTYNQNFKGKA TLTVDRSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAGVYYGN SIYYAMDYWGQGTSTVTVSS	175
	S5-175	QAYLQQSGAVLARPGASVRMSCKASGYSFTSYYM HWVKQRPGQGLEWIGAIYPGNSDTSYNQKFKGKA KLTAVTSASTAYMEVSSLTNEEDSAVYYCTPLVRPR PYGMDYWGQGTSTVTVSS	176
	S5-176	QAYLQQSGPELVKPGASVKVSCKASGYSLTDYNYM WVKQSHGKSLEWIGYFDPYNGGTNYNQRFKDKAT LTVDKSSSTAFMQLNSLTSEDSAVYYCAREGYGYD DREWFAYWGQGTLLTVSA	177
[0574]	S5-182	QAYLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWLH WVKQRPGQGLEWIGMIHPNSGSTDYNERFKSKATL IVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAKTFYYFDY WGQGTALTIVSS	178
	S5-183	QAYLQQSGPGLVAPSQSLITCTVSGFSVTSYGVSW VRQPPGKGLEWLGVIWGDGSTNYHSDLSRLSISKD NSKSQVFLKLNSLQIADTATYYCARPRAFYYGSRG YWYFDVWGTGTTVAVSS	179
	S5-190	QAYLQQSGPELVKPGASVKVSCKASGYSLTDYNYM YWVKQSHGKSLEWIGYIDSYNGGTRYNQKFKGKA TLTVDKSSSTAFMHLNSLTSEDSAVYYCAREGFGY DDREWFAYWGQGTLLTVSA	174
	S5-202	QAYLQQSGPGLVAPSQSLITCTVSGLSLTSYGVSW VRQPPGKGLEWLGVIWGDGSTNYHSALISRLSISKD NSKSQVFLKLNSLQTDATATYYCAKPGAFYYGSRY YWYFDVWGTGTTVTVSS	180
	S5-G-03	QAYLQQSGGGLVQPGQSLKLSCAASGFTFSTYGM WVRQTPDKRLELVATINSNGDNTYYPDSVKGRFTIS RDNANNTLYLQMSSLKSEDTAMYFCARAWPSITTV FAPYTLDYWGQGTSTVTVSS	181
	S5-G-07	QAYLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFSSYTM	182

[0575]

Ab	HCVR	SEQ ID NO:
	<u>YWVKQRPQG</u> GLEWIGYINPSSGYTEYNQKF <del>KDKAT</del> LTADKSSSTAYMQLISLTSEDSAVYYCARSD <del>SKGD</del> <u>YWGQGTT</u> LTVSS	
S5-G-10	QAYLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYIFTEYTIH WVKQRSGQGLEWIGWFYPGSGSIKYNEKF <del>KDKAT</del> LTADKSSSTVYMELSR <del>LTSEDS</del> AVYFCAT <del>HERAAQ</del> AAWSAYWGQGT <del>LT</del> VSA	183
S5-172-H1; S5-172-H2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC <del>KASGYSLTD</del> YNM <u>YWVRQAPGQGLEWMGYIDS</u> YNGGTRYAQKFQGR VTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGFGY DDREWFAYWGQGT <del>LT</del> VSS	184
S5-172-H3; S5-172-H4	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC <del>KASGYSLTD</del> YNM <u>YWVRQAPGQGLEWMGYIDS</u> YNGGTRYAQKFQGR VTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGFGY DDREWFAYWGQGT <del>LT</del> VSS	185
S5-172-H5; S5-172-H6	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC <del>KASGYSLTD</del> YNM <u>YWVRQAPGQGLEWMGYIDS</u> YNGGTRYAQKFQGR ATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGFG YDDREWFAYWGQGT <del>LT</del> VSS	186
S5-174-H1; S5-174-H2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC <del>KASGYTFT</del> NYWM <u>HWVRQAPGQGLEWMGEIDPSDGYVTYAQKFQGR</u> VTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVYYG NSIYYAMDYWGQGT <del>LT</del> VSS	187
S5-174-H3; S5-174-H4	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC <del>KASGYTFT</del> NYWM <u>HWVRQAPGQGLEWMGEIDPSDGYVTYAQKFQGR</u> VTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAGVYYG NSIYYAMDYWGQGT <del>LT</del> VSS	188
S5-174-H5; S5-174-H6	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKLSCKASGYTFTNYWM <u>HWVRQAPGQGLEWVGEIDPSDGYVTYAQKFQGRA</u> TLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAGVYYGN SIYYAMDYWGQGT <del>LT</del> VSS	189
S5-174-H7; S5-174-H8	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKLSCKASGYTFTNYWM <u>HWVRQAPGQGLEWVGEIDPSDGYVTYAQKFQGRA</u> TLTVDRSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAGVYYGN SIYYAMDYWGQGT <del>LT</del> VSS	190
S5-G-03-H1 ; S5-G-03-H2 ; S5-G-03-H3	EVQLLES <del>GGGLVQPGGSLRL</del> SCAASGFTFSTYGMS WVRQAPGKGLEWVSTINSNGDNTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKAWPSITT <u>VFAPYTL</u> DYWGQGT <del>LT</del> VSS	191
S5-G-03-H4 ; S5-G-03-H5 ;	EVQLLES <del>GGGLVQPGGSLRL</del> SCAASGFTFSTYGMS WVRQAPGKGLELVATINSNGDNTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAWPSITT <u>VFAPYTL</u> DYWGQGT <del>LT</del> VSS	192



Ab	HCVR	SEQ ID NO:
S5-G-03-H6		
[0576] S5-G-03-H7 ; S5-G-03-H8 ; S5-G-03-H9	EVQLQLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYGMSS WVRQAPGKGLVATINSNGDNTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAWPSITT VFAPYTLDYWGQGTLLTVSS	193

[0577] 表7:抗Siglec-5抗体的轻链可变区序列

Ab	LCVR	SEQ ID NO:
S5-172	DIVLTQTPLSLAVSVGEKVTMNC <u>KSSQSLLYSTN</u> <u>QMTFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDR</u> <u>FTGSGSGTDFTLT</u> TISSVKAEDLAIYYC <u>QQFYTYPE</u> <u>TFGSGTKLEIR</u>	194
S5-174	DIQMTQTRNFMSTSVGDRVNITCKATQDVGTA <u>AWYQVKPGQSPKLLIYWTSTRHTGVPDRFTGSG</u> <u>SGTDFTLT</u> TIKNVQSEDLADYFC <u>QQYRSYPFTFGS</u> <u>GTKLEIK</u>	195
S5-175	DVVLTQSTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNW YQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGT DYSLTISNLEQEDIATYFC <u>QQGNTLPWTFGGG</u> TK LEIK	196
S5-176	DIVMTQSPSSLAASVGEKVTMSCKSSQSLLYSTN <u>QMTYLAWYQQKPGQSPKLLIFWASTRESGVPDR</u> <u>FTGSGSGTDFTLT</u> TISSVKAEDLAVYYCH <u>QFYSPF</u> <u>TFGSGTRWEIK</u>	197
S5-182	DVVMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINSYLS WFQQKPGKSPKTLIYRANRLVDGVPSPRFSGSGSG QDYSLTISSEYEDMGIYYC <u>LQYDELYTFGGG</u> TK LEIK	198
S5-183	DIVMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLAW YQQKQKSPQLLVYNTKTLVEGVPSRFSGSGSDT QFSLKINSLQPEDFGTYYC <u>QHGYGPPPTFGTG</u> TKL ELK	199
S5-190	DIQMTQTPSSLAVSVGEKVTLSC <u>KSSQSLLYSTN</u> <u>QMNFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDR</u> <u>FAGSGSGTDFTLT</u> TISSVKAEDLAVYYC <u>QQFYSP</u> <u>FTFGSGTELEIK</u>	200
S5-202	DIQMTQAHKVMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAV <u>AWYQQKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSGS</u> <u>GTDFTF</u> TISSVQAEDLAVYYC <u>QQHYSPPTFGG</u> <u>TRREIK</u>	201
S5-G-03	DIVLTQSPAISASPGEKVTMTCRASSSVSSSFLH	202



[0579]

Ab	LCVR	SEQ ID NO:
	WYQQKSGASPKLWIYSTSNLASGVPTRFSGSGSGT TSYSLSISSVEAEDTATYFCQQYSGYPLTFGGGTK LEIK	
S5-G-07	DVVMQTQSPSSLSASLGERVSLTCRASQDIGNSLN WLQQEPDGTIKRLISATSSLD SGV PKRFSGSRSGS DYSLTISSESEDFVDYYCLQYASSPLTFGAGTKL ELK	203
S5-G-10	DVQMNQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLA WYQQKQKGKSPQLLVYNAKTLTDGVPSRFSGSGS GTQYSLKINTLQPEDFGSYYCQHFWSPTPYTFGGG TKLEMK	204
S5-172-H1; S5-172-H3; S5-172-H5	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNN KNYLA WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRF SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQFYTPFT FGQGTKLEIK	205
S5-172-H2; S5-172-H4; S5-172-H6	DIVLTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSVLYSSN NKNYLA WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSVQAEDVAVYYCQQFYTP FTFGQGTKLEIK	206
S5-174-H1; S5-174-H3; S5-174-H5; S5-174-H7	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVGTA VA WYQQKPGKAPKLLIYW TSTRHTGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYRSYPFTFGQGTK LEIK	207
S5-174-H2; S5-174-H4; S5-174-H6; S5-174-H8	DIQMTQSPSSLSSTSVGDRVTITCRASQDVGTA VA WYQQKPGKAPKLLIYW TSTRHTGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSVQPEDLATYYCQQYRSYPFTFGQGTK LEIK	208
S5-G-03-H1; S5-G-03-H4; S5-G-03-H7	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSSSFLH WYQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSGYPLTFGQGTK LEIK	209
S5-G-03-H2; S5-G-03-H5; S5-G-03-H8	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSSSFLH WYQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYSGYPLTFGQGT KLEIK	210
S5-G-03-H3; S5-G-03-H6; S5-G-03-H9	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMTCRASSSVSSSFLH WYQQKPGKAPKLWIYSTSNLASGVPSRFSGSGSG TDYTLTISSVQPEDFATYYCQQYSGYPLTFGQGT KLEIK	211

[0580] 实施例3:抗Siglec-5抗体结合的表征

[0581] 以下研究的目的是测量如上所述产生的抗Siglec-5抗体的结合亲和力,并评估它们在Siglec-5表达细胞上的结合。

[0582] 根据标准技术 (Abdiche等人, (2016) MAbs 8:264-277), 通过阵列表面等离子体共

振 (SPR) 测量抗Siglec-5抗体的表观结合亲和力。简言之,将抗Siglec-5抗体以四种不同的密度固定在HC 30M芯片上,抗体浓度为10 $\mu$ g/mL、2.5 $\mu$ g/mL、0.63 $\mu$ g/mL和0.16 $\mu$ g/mL。然后将不同浓度 (0-500nM) 的组氨酸标记人Siglec-5或猕猴Siglec-5 (NovoProtein) 与在HBS-EP<sup>+</sup>/1mg/mL BSA运行缓冲液中捕获的抗Siglec-5表面结合 (5分钟注射时间,15分钟解离时间)。使用Carterra软件进行动力学分析以提取每种抗体的缔合和解离速率常数 (分别为 $k_a$ 和 $k_d$ )。由比率 $k_d/k_a$ 计算表观亲和常数 ( $K_D$ )。下表8中显示抗Siglec-5抗体与人Siglec-5结合的亲和力结果。抗Siglec-5抗体均不与猕猴Siglec-5蛋白结合。

[0583] 表8:Siglec-5抗体与人Siglec-5的亲和力参数

抗体	$k_a$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_d$ ( $s^{-1}$ )	$K_D$
S5-172	3.5E+05	5.3E-04	1.5nM
S5-174	2.5E+05	4.3E-04	1.7nM
S5-175	2.9E+04	4.5E-04	15nM
S5-176	4.7E+05	5.1E-04	1.1nM
S5-182	1.6E+05	8.5E-04	5.3nM
S5-183	2.1E+04	1.3E-03	61nM
S5-190	5.4E+05	4.6E-04	0.85nM
S5-202	3.6E+04	1.1E-03	31nM
S5-G-03	1.4E+04	1.0E-04	7.1nM
S5-G-07	2.4E+04	1.0E-05	0.42nM
S5-G-10	8.6E+03	6.8E-04	79nM

[0585] 评估抗Siglec-5抗体与用人Siglec-5 (CH0-S5) 或人Siglec-14 (CH0-S14) 稳定转染的CH0细胞结合的能力。还评估了抗Siglec-5抗体与原代人嗜中性粒细胞结合的能力。将细胞与各种稀释度的抗Siglec-5抗体一起在黑暗中的冰上温育30分钟,接着与荧光缀合的抗人IgG二级抗体一起温育30分钟。将细胞在FACS缓冲液 (PBS+2%FBS,2mM EDTA) 中洗涤两次,并在BD FACS Canto上进行流式细胞术。使用FlowJo软件 (Ashland,OR) 分析数据。结果示于图2A和图2B中。在图中,“hIgG1”和“mIgG1”是指同种型对照抗体,且“S5/14 1A5”是指结合Siglec-5和Siglec-14两者的市售抗体 (BioLegend,克隆1A5)。

[0586] 所有抗Siglec-5抗体与CH0-S5细胞和嗜中性粒细胞结合;然而,只有市售抗体1A5显示与CH0-S14的实质性结合。抗Siglec-5抗体S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07和S5-G-10不显示与CH0-S14的实质性结合。这些结果表明,本公开的抗Siglec-5抗体与Siglec-5结合,但不结合Siglec-14。总之,这些结果表明本公开的抗Siglec-5抗体对Siglec-5具有特异性,并且不识别Siglec-14。

[0587] 实施例4:抗Siglec-5抗体的表位分箱

[0588] 以下研究的目的是对抗Siglec-5特异性抗体和结合Siglec-5及Siglec-14两者的抗体进行表位分箱。

[0589] 根据标准技术 (Abdiche等人, (2014) PLoS One 9:e92451),通过阵列SPR确定抗Siglec-5抗体的表位箱。简言之,将抗Siglec-5抗体以先前确定的密度固定在HC 30M芯片上,以产生与抗原的稳健结合。将His标记的人Siglec-5 (50nM) 与竞争抗体 (200nM) 预混合,之后将它们注射到在HBS-EP<sup>+</sup>/1mg/mL BSA运行缓冲液中的阵列上持续5分钟。抗原:竞争抗

体与固定化抗体的结合表明固定化抗体和竞争抗体归属于两个不同的表位箱。抗原:竞争抗体的结合的缺乏表明固定化抗体和竞争抗体归属于同一表位箱。

[0590] 下表9中显示抗Siglec-5抗体表位分箱的结果。在表9中,“7A5”和“8A1”是指与Siglec-5和Siglec-14两者结合的抗体。抗体7A5具有包含SEQ ID NO:214的氨基酸序列的轻链可变区和包含SEQ ID NO:215的氨基酸序列的重链可变区。抗体8A1具有包含SEQ ID NO:216的氨基酸序列的轻链可变区和包含SEQ ID NO:217的氨基酸序列的重链可变区。“1A5”、“194128”、“REA393”、“C2”和“E1”是指结合Siglec-5和Siglec-14两者的市售抗体(BioLegend,克隆1A5;R&D Systems,克隆194128;Miltenyi,克隆REA393;Santa Cruz,克隆C-2和E-1)。本文所述的抗Siglec-5特异性抗体归属于表位箱3、4和5。结合Siglec-5和Siglec-14两者的抗体归属于不同的表位箱1和2。

[0591] 表9:抗Siglec-5抗体的表位分箱结果

克隆	箱
S5-172	5
S5-174	5
S5-175	3
S5-176	5
S5-182	4
S5-183	3
S5-190	5
S5-202	3
S5-G03	3
S5-G07	4
S5-G10	4
7A5	1
8A1	1
1A5	1
194128	1
REA393	1
C2	2
E1	2

[0593] 进一步评估抗Siglec-5抗体与配体竞争同Siglec-5受体结合的能力。Siglec-5的配体结合结构域包含在其前2个Ig样结构域内,该区域中Siglec-5和Siglec-14的氨基酸序列几乎相同(Angata等人,FASEB Journal,2006)。为了测量抗Siglec-5抗体与配体竞争同Siglec-5的结合,根据标准方案(Kelm等人,Current Biology,1994)进行红细胞(RBC)固体粘附测定。红细胞(RBC)被含有唾液酸的糖蛋白高度修饰;因此,抗Siglec-5抗体阻断RBC与固定化Siglec-5结合的能力可用于确定配体干扰。简言之,在96孔Immunolon板中将5 $\mu$ g/ml Siglec-5-Fc在室温下涂布过夜,用PBS洗涤,然后用结合缓冲液(含有0.25% BSA 1mM CaCl<sub>2</sub>的PBS)封闭1小时。将抗Siglec-5抗体(0.5 $\mu$ g/ml或1.0 $\mu$ g/ml)在室温下轻轻摇动结合一小时。移除未结合的抗体后,将红细胞以3.0x 10<sup>6</sup>个细胞/ml的浓度添加到每个孔中,并

在室温下温育一小时。然后用PBS小心地洗去3X未结合的RBC,并向每个孔中添加水,用于结合的RBC的低渗裂解。将板转移至-80℃持续10分钟,接着至37℃持续15分钟。通过过氧化物酶活性检测结合的RBC,然后通过2N硫酸终止反应。检测450nm处的信号。数据计算为在不存在抗体的情况下与板所结合的Siglec-5-Fc结合的RBC的百分比。

[0594] 图3中显示配体竞争测定的结果。在图3中,“仅RBC”是指未与抗体一起温育的红细胞;“mIgG1”和“hIgG1”是指同种型对照抗体;S5/14 1A5是指结合Siglec-5和Siglec-14两者的市售抗体(BioLegend,克隆1A5)。抗体2G5是指结合Siglec-5和Siglec-14两者的抗体。抗体2G5具有包含SEQ ID NO:212的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:213的氨基酸序列的轻链可变区。

[0595] 本公开的抗Siglec-5特异性抗体(S5-172、S5-174、S5-175、S5-176、S5-182、S5-183、S5-190、S5-202、S5-G-03、S5-G-07和S5-G-10)在测试的任一抗体浓度下都不阻断配体与Siglec-5的结合。相比之下,在测试的两种抗体浓度下,结合Siglec-5和Siglec-14的两种抗体都阻断配体结合。这些结果表明,本公开的抗Siglec-5抗体不阻断配体与Siglec-5的结合。

[0596] 实施例5:抗Siglec-5抗体诱导的体外Siglec-5的细胞表面水平降低

[0597] 以下研究的目的是测试本公开的抗Siglec-5抗体是否在体外降低细胞上的Siglec-5的细胞表面水平。

[0598] 测试本公开的抗Siglec-5抗体降低用Siglec-5稳定转染的CHO细胞(CHO-S5)的表面的Siglec-5水平的能力。将CHO-S5细胞与抗Siglec-5抗体(0.25μg/mL)一起在37℃和5%CO<sub>2</sub>下温育16-24小时,之后通过FACS分析检测Siglec-5的细胞表面表达。将细胞与检测抗体抗Siglec-5-PE,克隆1A5(Biolegend)一起在黑暗中的冰上温育30分钟。将细胞在FACS缓冲液(PBS+2%FBS,2mM EDTA)中洗涤2X,并在BD FACS Canto上进行流式细胞术。使用FlowJo软件分析数据。使用下式计算剩余Siglec-5的细胞表面表达百分比:(在测试抗体存在下1A5-PE的MFI)/(不存在测试抗体情况下1A5-PE的MFI)\*100%。图4A中显示这些研究的结果。如图4A中所示,本公开的抗Siglec-5抗体降低了用重组Siglec-5稳定转染的CHO细胞的表面上的Siglec-5水平。

[0599] 进一步评估抗Siglec-5抗体降低原代人免疫细胞的表面上的Siglec-5的能力。如Yamanaka等人,(2009)Glycobiology 19:841-6中所述,从已经确认对Siglec-14无效多态性为纯合的健康人供体中分离B细胞。如上所述,将细胞与抗Siglec-5抗体(0.016μg/mL)一起温育16-24小时,之后通过流式细胞术定量细胞表面上剩余的Siglec-5的量。图4B中显示这些研究的结果。如图4B中所示,本公开的抗Siglec-5抗体在体外降低人B细胞的表面上的Siglec-5水平。

[0600] 进一步评估本公开的抗Siglec-5抗体降低已经被极化为M0样、M1样或M2a样的原代人巨噬细胞的表面上的Siglec-5水平的能力。简言之,从获自健康人供体的新鲜血液中分离单核细胞,并用0.1μg/mL rHuM-CSF分化成巨噬细胞持续7天。在第7天,将巨噬细胞在0.1μg/mL rHuM-CSF中培养或者极化至M1(在10ng/mL LPS+20ng/mL IFN γ 存在下)或M2a(在50ng/mL IL-4存在下)持续两天。如上所述,将极化巨噬细胞用抗Siglec-5抗体(10μg/mL)处理18小时,之后通过流式细胞术定量细胞表面上剩余的Siglec-5的量。图4C中显示这些研究的结果。如图4C中所示,本公开的抗Siglec-5抗体在体外降低人巨噬细胞的表面上

的Siglec-5水平。另外,结果显示本公开的抗Siglec-5抗体降低了M0巨噬细胞、M1巨噬细胞和M2a巨噬细胞的表面上的Siglec-5水平。

[0601] 本公开的抗Siglec-5抗体显示出降低细胞的表面上的Siglec-5的水平的能力。抗Siglec-5抗体S5-172、S5-174、S5-176、S5-190和S5-G-03降低了CHO-S5转染子上和原代免疫B细胞上的Siglec-5的水平;与用测试的其它抗Siglec-5抗体观察到的相比,抗Siglec-5抗体S5-G-03显示出B细胞上的Siglec-5的最大减少。其它抗Siglec-5抗体如S5-175和S5-202在较低程度上降低了Siglec-5的细胞表面水平。若干抗Siglec-5抗体如S5-182和S5-183仅显示Siglec-5细胞表面水平的适度降低。抗Siglec-5抗体S5-172、S5-174和S5-G-03在所有三种巨噬细胞亚群:M0、M1和M2a显示出类似的降低siglec5细胞表面水平的能力。综上所述,这些结果显示本公开的抗Siglec-5抗体降低或减少Siglec-5的细胞水平,但不阻断配体与Siglec-5的结合,这不同于识别Siglec-5和Siglec-14两者的抗体,它们降低或减少Siglec-5的细胞水平,并且阻断配体与Siglec-5的结合。

[0602] 实施例6:在体外抗Siglec-5抗体存在下表征ROS产生

[0603] 以下研究的目的是评估本公开的抗Siglec-5抗体对人原代嗜中性粒细胞产生反应性氧物质(ROS)的影响。

[0604] 为了评估ROS产生,从在用EasySep™直接人嗜中性粒细胞试剂盒(STEMCELL Technologies)分离之前2-4小时之间收集的人血液样品中分离嗜中性粒细胞。将嗜中性粒细胞在具有补充有0.5%Hyclone胎牛血清(GE Healthcare Life Sciences)的RPMI 1640(Mediatech)的96孔板(Thermo Scientific)中以100,000个细胞/孔铺板。以1μg/mL添加抗Siglec-5抗体,并在37℃和5%CO<sub>2</sub>下温育10分钟。将CM-H2DCFDA(Life Technologies)用DMSO以1mM重构,并在PBS中稀释至10μM。将检测溶液以2μM CM-H2DCFDA的最终浓度添加到培养基中的嗜中性粒细胞中。在37℃下温育1小时后,使用Synergy H1微孔板读取器(BioTek)或SpectraMax i3x微孔板读取器(Molecular Devices)测量激发波长:495nm和发射波长:530nm下的荧光强度。对所有重复样品的荧光强度值取平均值。从所有样品中减去未添加抗体的样品的荧光强度值。

[0605] 图5中显示ROS产生测定的结果。在图5中,“hIgG1”是指同种型对照抗体。

[0606] 图5中的结果显示,本公开的某些抗Siglec-5抗体如S5-172、S5-174和S5-176增加嗜中性粒细胞产生的ROS的水平。与用同种型对照抗体观察到的相比,其它抗Siglec-5抗体如S5-175、S5-182、S5-183、S5-190和S5-202显示嗜中性粒细胞产生的ROS水平降低。

[0607] 实施例7:在体外抗Siglec-5抗体存在下表征NET形成

[0608] 以下研究的目的是评估在抗Siglec-5抗体存在下通过人原代嗜中性粒细胞的嗜中性粒细胞细胞外陷阱(NET)形成。

[0609] 为了评估NET形成,从在用EasySep™直接人嗜中性粒细胞试剂盒(STEMCELL Technologies)分离之前2-4小时之间收集的人血液样品中分离嗜中性粒细胞。将嗜中性粒细胞在具有补充有0.5%Hyclone胎牛血清(GE Healthcare Life Sciences)的RPMI 1640(Mediatech)的96孔板(Thermo Scientific)中以100,000个细胞/孔铺板。以1μg/mL添加Siglec-5抗体,并在37℃和5%CO<sub>2</sub>下温育过夜。将SYTOX Green核酸染色剂(Life Technologies)在PBS中稀释至25μM。将检测溶液以5μM SYTOX®Green核酸染色剂的最终浓度添加到培养基中的嗜中性粒细胞中。在37℃下温育5分钟后,使用Synergy H1微孔板读

取器 (BioTek) 或 SpectraMax i3x 微孔板读取器 (Molecular Devices) 测量激发波长: 495nm 和发射波长: 530nm 下的荧光强度。对所有重复样品的荧光强度值取平均值。从所有样品中减去未添加抗体的样品的荧光强度值。

[0610] 图6中显示NET形成测定的结果。在图6中, “hIgG1”是指同种型对照抗体。

[0611] 图6中的结果显示, 本公开的某些抗Siglec-5抗体 (包括S5-172、S5-174、S5-175、S5-182和S5-183) 同用同种型对照抗体观察到的相比增加了嗜中性粒细胞细胞外陷阱的形成。本公开的其它抗Siglec-5抗体如S5-176、S5-190和S5-202导致嗜中性粒细胞细胞外陷阱的形成减少。

[0612] 实施例8: 通过抗Siglec-5抗体在体外刺激吞噬作用

[0613] 以下研究的目的是评估抗Siglec-5抗体在体外刺激或诱导原代人巨噬细胞中的吞噬作用的能力。

[0614] 将如上所述得到的原代人巨噬细胞与抗Siglec-5抗体一起温育过夜, 接着以3:1的巨噬细胞:Raji比率添加抗CD20调理的CFSE标记Raji细胞。24小时后, 通过流式细胞术对代表已经吞噬了Raji细胞的巨噬细胞的CD14<sup>+</sup>FITC<sup>+</sup>细胞进行定量。

[0615] 图7中显示吞噬测定的结果。用抗Siglec-5抗体S5-G-03处理的M0巨噬细胞、M1巨噬细胞和M2a巨噬细胞显示出显著高于用同种型对照抗体处理时的吞噬作用。抗Siglec-5抗体S5-174在M0巨噬细胞和M1巨噬细胞中显示出增强的吞噬作用。抗Siglec-5抗体S5-172导致M0巨噬细胞和M2a巨噬细胞中的吞噬作用适度增强。这些结果表明, 本公开的抗Siglec-5特异性抗体可增强巨噬细胞对靶细胞的吞噬作用。

[0616] 实施例9: 人Siglec-5转基因的小鼠中的Siglec-5表达的表征

[0617] 以下研究的目的是评估人Siglec-5转基因的小鼠中的免疫细胞上的Siglec-5的表达, 并比较循环免疫细胞和肿瘤浸润免疫细胞上的Siglec-5的表达。

[0618] 在以下研究中, 使用编码Siglec-5的人基因组基因座转基因的小鼠。将Siglec-5转基因小鼠和对照野生型小鼠在右后侧腹用MC38同基因肿瘤系接种。当肿瘤达到大约200-250mm<sup>3</sup>时, 收获血液和肿瘤并分析Siglec-5的表达。简言之, 使用Miltenyi肿瘤解离试剂盒解离肿瘤, 之后使细胞通过70μm细胞过滤器, 并用PBS+2%FBS洗涤。将血细胞和解离肿瘤细胞在黑暗中在冰上用小鼠CD11b、小鼠Gr1、小鼠CD11c、小鼠NK1.1、小鼠CD3、小鼠CD8、小鼠CD19和Siglec-5特异性抗体 (S5-190) 染色30分钟。将细胞在FACS缓冲液 (PBS+2%FBS, 2mM EDTA) 中洗涤2X, 并在BD Fortessa上进行流式细胞术。使用FlowJo软件分析数据。

[0619] 图8中显示这些研究的结果。将来自转基因小鼠 (TG) 的细胞上的抗Siglec-5抗体的平均荧光强度 (MFI) 与由来自野生型小鼠 (WT) 的细胞上的MFI定义的背景进行比较。

[0620] 在循环血细胞内, CD11b<sup>hi</sup>Gr1<sup>hi</sup> (嗜中性粒细胞和粒细胞) 细胞群体表达显著水平的Siglec-5。在循环CD11b<sup>hi</sup>Gr1<sup>mid</sup> (单核细胞)、CD11c<sup>+</sup>树突细胞或NK1.1<sup>+</sup>NK细胞上观察到很少的Siglec-5表达。相比之下, 肿瘤浸润免疫细胞显示出显著较多的Siglec-5表达。肿瘤浸润CD11b<sup>hi</sup>Gr1<sup>hi</sup> (MDSC)、CD11b<sup>hi</sup>Gr1<sup>mid</sup> (单核细胞、巨噬细胞) CD11b<sup>mid</sup>Gr1<sup>hi</sup>和CD11c<sup>+</sup>树突细胞也显示出比背景显著的Siglec-5表达; 相比之下, 肿瘤浸润NK细胞不表达显著水平的Siglec-5。这些结果表明, Siglec-5在肿瘤微环境中被上调, 并且有可能促成癌症病理。

[0621] 实施例10: Siglec-5抗体的表位定位

[0622] 测试抗Siglec-5抗体结合跨越整个人Siglec-5氨基酸序列的15聚体或25聚体肽

的能力。也将抗Siglec-5抗体与参考Siglec-5抗体进行比较,方式是通过确定它们的Siglec-5结合区来进行。

[0623] 例如在BiaCore T200仪器上进行抗Siglec-5抗体的表位分箱。使用2.0版BiaCore T200评估软件进行数据分析。HBS-EP+ (10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA、0.05% v/v表面活性剂P20, pH 7.4) 用作运行缓冲液并用于制备试剂。在用抗人Fc IgG固定的CM5传感器芯片(GE Healthcare)上捕获人Siglec-5, Fc嵌合体(10nM; R&D Systems) (60s接触时间, 30μL/min流速, 0s稳定化时间)。然后使样品小鼠抗Siglec-5抗体(100nM)流过捕获的Siglec-5表面(60s接触时间, 30μL/min流速, 0s解离时间), 接着流过参考小鼠抗Siglec-5抗体(100nM, 60s接触时间, 30μL/min流速, 30s解离时间)。使用10mM甘氨酸-HCl, pH 1.7 (60s接触时间, 30μL/min流速, 60s稳定化时间)在循环之间使芯片表面再生。得到产生的SPR信号, 为在空白流动池上进行测量的响应差。零配体对照(0nM抗原+100nM IgG)显示抗体与传感器芯片表面没有显著的非特异性结合。

[0624] 基于人Siglec-5 (SEQ ID NO:1)的序列合成线性15聚体肽, 其中14-残基重叠。此外, 基于人Siglec-5 (SEQ ID NO:1)的序列合成线性25聚体肽, 其中单个残基位移。采用基于ELISA的方法测试抗Siglec-5抗体与合成肽中的每一者的结合。在此测定中, 将肽阵列与一级抗体溶液一起温育(在4℃过夜)。洗涤后, 将肽阵列与1/1000稀释度的抗体过氧化物酶缀合物(SBA, 目录号2010-05)在25℃下一起温育一小时。洗涤后, 添加过氧化物酶底物2, 2'-次偶氮基-二-3-乙基苯并噻唑啉磺酸盐(ABTS)和2μl/ml的3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。一小时后, 测量显色。用电荷耦合器件(CCD)相机和图像处理系统对显色进行定量。

[0625] 或者, 为了重建靶分子的表位, 合成环状和组合肽的文库。通过如下方式获得氨基官能化聚丙烯支持物: 用专有亲水性聚合物制剂接枝, 接着使用二环己基碳二亚胺(DCC)与N-羟基苯并三唑(HOBT)与叔丁氧羰基-六亚甲基二胺(BocHMDA)反应, 随后使用三氟乙酸(TFA)切割Boc基团。标准的Fmoc-肽合成用于通过定制改进的JANUS液体处理站(Perkin Elmer)在氨基官能化固体支持物上合成肽。

[0626] 采用Pepscan专有的支架上化学连接肽(CLIPS)技术进行结构模拟物的合成。CLIPS技术允许将肽结构化成单环和双环。CLIPS模板与半胱氨酸残基偶联。肽中多个半胱氨酸的侧链与一个或两个CLIPS模板偶联。例如, mP2 CLIPS (2,6-双(溴甲基)吡啶)的0.5mM溶液溶解在碳酸氢铵(20mM, pH 7.8)/乙腈(1:3(v/v))中。将此溶液添加到肽阵列上。CLIPS模板将与肽阵列(具有3μl孔的455孔板)的固相结合肽中存在的两个半胱氨酸的侧链结合。将肽阵列在溶液中轻轻摇动30至60分钟, 同时完全覆盖在溶液中。最后, 将肽阵列用过量的H<sub>2</sub>O充分洗涤, 并在70℃下在含有在PBS(pH 7.2)中的1% SDS/0.1% β-巯基乙醇的断裂缓冲液(disrupt-buffer)中声处理30分钟, 接着在H<sub>2</sub>O中再声处理45分钟。带有肽的T3 CLIPS (2,4,6-三(溴甲基)吡啶)以与上述类似的方式制备, 但有三个半胱氨酸。

[0627] 环状肽: 17个氨基酸长度的限制肽。位置2-16是来源于靶序列的15聚体。天然Cys残基被乙酰胺基甲基(ACM)保护。位置1和17是通过mP2 CLIPS部分连接的Cys。组合肽(不连续模拟物): 长度33的限制肽。位置2-16和18-32是来源于具有被ACM保护的天然Cys残基的靶序列的15聚体肽。位置1、17和33是通过T3 CLIPS部分连接的Cys。

[0628] 在基于PEPSCAN的ELISA中测试抗体与合成肽中的每一者的结合。将肽阵列与由实验优化浓度的测试抗体和封闭溶液(例如在PBS/1% Tween80中4% 马血清、5% 卵清蛋白(w/

v))组成的测试抗体溶液一起温育。将肽阵列与测试抗体溶液一起在4℃下温育过夜。用洗涤缓冲液(1×PBS, 0.05% Tween80)充分洗涤后,将肽阵列与1/1000稀释度的适当抗体过氧化物酶缀合物在25℃下一起温育一小时。在用洗涤缓冲液洗涤后,添加过氧化物酶底物2, 2'-次偶氮基-二-3-乙基苯并噻唑啉磺酸盐(ABTS)和2μl/ml的3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。一小时后,测量显色。用电荷耦合器件(CCD)-相机和图像处理系统对显色进行定量。

[0629] 或者,采用质谱方法确认构象表位。为了以高分辨率确定Siglec-5蛋白上与抗Siglec-5抗体结合的构象表位的关键残基,将抗体/抗原复合物与氘化交联剂一起温育,并进行多酶促蛋白水解切割。在富集交联肽后,通过高分辨率质谱法(nLC-Orbitrap MS)分析样品,并使用XQuest软件分析生成的数据。具体地,通过将Siglec-5抗原和抗体的等摩尔溶液(在5μl中各4μM)混合来产生Siglec-5 ECD/抗体复合物。将1μl得到的混合物与1μl由在乙腈/水(1:1, v/v)、TFA 0.1%中的重结晶芥子酸基质(10mg/ml)组成的基质(K200 MALDI Kit)混合。混合后,将1μl各样品在MALDI板(SCOUT 384)上点样。在室温下结晶后,将板引入到aMALDI质谱仪中,并立即进行分析。一式三份地重复分析。在预测的分子量下检测到代表单体抗体、抗原以及抗体和抗原/抗体复合物的峰。

[0630] 然后确定构象结合中的表位是否与通过蛋白水解产生的非结构化C1q肽竞争。具体地,为了确定抗Siglec-5细胞外结构域(ECD)/抗体复合物是否可以与线性肽竞争,用固定化胃蛋白酶消化Siglec-5ECD抗原。将25μl浓度为10μM的抗原与固定化胃蛋白酶5μM混合,并在室温下温育30分钟。温育时间过后,将样品离心,并吸取上清液。通过线性模式的高质量MALDI质谱法控制蛋白水解的完成。优化胃蛋白酶蛋白水解,以便获得1000-3500Da范围内的大量肽。接下来,将5μl通过蛋白水解产生的抗原肽与5μl抗体(8μM)混合,并在37℃下温育6小时。在将抗体与Siglec-5抗原肽一起温育后,将5μl混合物与5μl完整Siglec-5抗原(4μM)混合,使得最终混合物含有2μM/2μM/2.5μM的Siglec-5/抗体/Siglec-5抗原肽。使用CovalX的具有标准氮激光器的HM3相互作用模块并关注于0至2000kDa的不同质量范围进行MALDI ToF MS分析。

[0631] 关于分析,以下参数适用于质谱仪:线性和正模式;离子源1:20kV;离子源2:17kV;脉冲离子提取:400ns;对于HM3:增益电压:3.14kV;增益电压:3.14kV;加速电压:20kV。为了校准仪器,应用胰岛素、BSA和IgG簇进行外部校准。对于每个样品,分析3个点(每个点300次激光照射)。呈现的光谱对应于300次激光照射的总和。使用2.0版Complex Tracker分析软件(CovalX Inc)分析MS数据。为了确认Siglec-5与抗Siglec-5抗体结合的构象表位(使用化学交联),高质量MALDI质谱法和nLCOrbitrap质谱法分析抗原与抗体之间的相互作用界面按照以下程序。将5μl样品抗原(浓度4μM)与5μl样品抗体(浓度4μM)混合以得到最终浓度为2μM/2μM的抗体/抗原混合物。将混合物在37℃下温育180分钟。在第一步中,将1mg辛二酸二琥珀酰亚胺酯H12(DSS-H12)交联剂与1mg辛二酸二琥珀酰亚胺酯D12(DSS-D12)交联剂混合。将制备的2mg与1ml的DMF混合,得到DSS H12/D12的2mg/ml溶液。将10μl先前制备的抗体/抗原混合物与1μl制备的交联剂d0/d12溶液(2mg/ml)混合。为了实现交联反应,将溶液在室温下温育180分钟。

[0632] 为了促进蛋白水解,可能有必要还原蛋白质中存在的二硫键。将交联的样品与20μl的碳酸氢铵(25mM, pH 8.3)混合。混合后,将2.5μl的DTT(500mM)添加到溶液中。然后将混合物在55℃下温育1小时。温育后,室温下在暗室中进行1小时温育之前添加2.5μl碘乙酰胺



(1M)。温育后,通过添加120 $\mu$ l用于蛋白水解的缓冲液将溶液1/5稀释。将145 $\mu$ l还原/烷基化的交联样品与2 $\mu$ l胰蛋白酶(Sigma, T6567)混合。将蛋白水解混合物在37 $^{\circ}$ C下温育过夜。对于 $\alpha$ -胰凝乳蛋白酶蛋白水解,蛋白水解的缓冲液是Tris-HCL 100mM、CaCl<sub>2</sub> 10mM, pH7.8。将145 $\mu$ l还原/烷基化的交联复合物与2 $\mu$ l的 $\alpha$ -胰凝乳蛋白酶200 $\mu$ M混合,并在30 $^{\circ}$ C下温育过夜。对于此分析,采用nLC与Orbitrap质谱法组合。使用2.0版Xquest和stavax软件分析交联肽。然后确认肽和交联的氨基酸。

[0633] 实施例11:人源化抗Siglec-5抗体结合表达重组Siglec-5的CHO细胞

[0634] 以下研究检查表达重组Siglec-5或重组Siglec-14的CHO细胞上的本公开的人源化抗Siglec-5抗体的结合动力学。

[0635] 评价了本公开的各种抗Siglec-5抗体与用人Siglec-5 (CHO-S5) 或人Siglec-14 (CHO-S14) 稳定转染的CHO细胞结合的能力。将细胞与各种稀释度的抗Siglec-5抗体一起在黑暗中在冰上温育30分钟,接着与荧光缀合的抗人IgG二级抗体一起温育30分钟。然后将细胞在FACS缓冲液(PBS+2%FBS, 2mM EDTA)中洗涤两次,并在BD FACS Canto上进行流式细胞术。使用FlowJo软件(Ashland, OR)分析数据。图9中显示这些研究的结果。在图9中, hIgG1是指同种型对照抗体; S5-174-H2L1是指抗体S5-174-H3; S5-174-H3L1是指抗体S5-174-H5; S5-174-H3L2是指抗体S5-174-H6; S5-174-H4L1是指抗体S5-174-H7; S5-174-H4L2是指抗体S5-174-H8; S5-G03-H2L1是指抗体S5-G-03-H4; S5-G03-H2L2是指抗体S5-G-03-H5; S5-G03-H3L1是指抗体S5-G-03-H7; S5-G03-H3L2是指抗体S5-G-03-H8; 且S5-G03-H3L3是指抗体S5-G-03-H9。

[0636] 如图9中所示,所有测试的人源化抗Siglec-5抗体均与CHO-S5细胞结合;所测试的人源化抗Siglec-5抗体均不与CHO-S14或对照CHO细胞结合。人源化抗Siglec-5抗体以与使用亲本(非人源化)抗Siglec-5抗体观察到的类似的程度结合CHO-S5细胞。这些结果显示,本公开的人源化抗Siglec-5抗体与人Siglec-5结合,但不结合人Siglec-14。总之,这些结果表明,本公开的人源化抗Siglec-5抗体保持对Siglec-5的结合特异性。

[0637] 实施例12:人源化抗Siglec-5抗体下调Siglec-5细胞表面水平

[0638] 以下研究检查本公开的人源化抗Siglec-5抗体是否在体外降低细胞上的Siglec-5的细胞表面水平。

[0639] 测试本公开的抗Siglec-5抗体降低用Siglec-5稳定转染的CHO细胞(CHO-S5)的表面的Siglec-5水平的能力。将CHO-S5细胞与抗Siglec-5抗体一起在37 $^{\circ}$ C和5%CO<sub>2</sub>下温育16-24小时,之后通过FACS分析检测Siglec-5的细胞表面表达。将细胞与来自不同箱的检测抗体抗Siglec-5-PE,克隆1A5(Biolegend)一起在黑暗中在冰上温育30分钟。将细胞在FACS缓冲液(PBS+2%FBS, 2mM EDTA)中洗涤2X,并在BD FACS Canto上进行流式细胞术。使用FlowJo软件分析数据。使用下式计算剩余Siglec-5的细胞表面表达百分比:(在测试抗体存在下1A5-PE的MFI)/(不存在测试抗体情况下1A5-PE的MFI)\*100%。

[0640] 图10中显示这些研究的结果。在图10中, hIgG1是指同种型对照抗体; S5-174-H2L1是指抗体S5-174-H3; S5-174-H3L1是指抗体S5-174-H5; S5-174-H3L2是指抗体S5-174-H6; S5-174-H4L1是指抗体S5-174-H7; S5-174-H4L2是指抗体S5-174-H8; S5-G03-H2L1是指抗体S5-G-03-H4; S5-G03-H2L2是指抗体S5-G-03-H5; S5-G03-H3L1是指抗体S5-G-03-H7; S5-G03-H3L2是指抗体S5-G-03-H8; 且S5-G03-H3L3是指抗体S5-G-03-H9。如图10中所示,本公

开的人源化抗Siglec-5抗体将CHO Siglec-5细胞的表面上的Siglec-5水平降低到相对于原始的亲本抗Siglec-5抗体相当的程度。

[0641] 实施例13:抗Siglec-5抗体诱导CD86和CCL4表达。

[0642] 进一步评估本公开的抗Siglec-5抗体增加原代人髓源性抑制细胞 (MDSC) 的表面上的CD86水平的能力。简言之,从获自健康人供体的新鲜血液中分离单核细胞,并用0.1 $\mu$ g/mL rHuGM-CSF和rHuIL-6分化成巨噬细胞持续7天。在第7天,将MDSC用抗Siglec-5抗体(直到10 $\mu$ g/mL的各种浓度)处理48小时,之后使用抗CD86 (IT2.2) 抗体定量促炎性标志物CD86在MDSC上的表达。

[0643] 图11 (CD86) 和图12 (CCL4) 中显示这些研究的结果。在图11和图12中,S5-174-H3L2是指抗体S5-174-H6;S5-G03-H3L1是指抗体S5-G-03-H7;S5-7A5.3和S5-8A1.3分别指结合Siglec-5和Siglec-14两者的抗体7A5和8A1。

[0644] 如图11中所示,抗Siglec-5抗体S5-G-03-H7诱导CD86在MDSC中的表达。此外,评估抗体处理48小时后的条件培养基中CCL4表达的变化,CCL4是NK细胞、单核细胞及其它免疫细胞的化学引诱物。根据制造商的方案,使用Quantikine ELISA试剂盒 (R&D Systems) 或通过Human Chemokine Legendplex (Biolegend) 测量CCL4表达。图12中显示这些研究的结果。如图12中所示,抗Siglec-5抗体S5-G-03-H7也在这些细胞中诱导CCL4表达。

[0645] 在一系列单独的实验中,采用与上述类似的方案测试另外的抗Siglec-5抗体在MDSC上的活性。图13和图14中显示这些研究的结果。在图13和图14中,S5-7A5.3和S5-8A1.3分别指结合Siglec-5和Siglec-14两者的抗体7A5和8A1;S5-1A5是结合Siglec-5和Siglec-14两者的抗体 (BioLegend)。

[0646] 如图13和图14中所示,抗Siglec-5抗体S5-G10分别诱导CD86和CCL4的表达。而其它抗Siglec 5或其它抗Siglec 5/14抗体没有效果。S5-G10对CD86和CCL4表达的影响可能是由于S5-G10的表位箱相关的独特特性所致。

[0647] 实施例14:抗Siglec-5抗体表位

[0648] 测试本公开的Siglec-5抗体与跨越整个人Siglec-5细胞外结构域的15或25聚体肽结合的能力。也将Siglec-5抗体与参考Siglec-5抗体进行比较,方式是通过确定它们的Siglec-5结合区来进行。

[0649] 在BiaCore T200仪器上进行抗体的表位分箱。使用2.0版BiaCore T200评估软件进行数据分析。HBS-EP+ (10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA、0.05% v/v表面活性剂P20, pH 7.4) 用作运行缓冲液并用于制备试剂。在用抗人Fc IgG固定的CM5传感器芯片 (GE Healthcare) 上捕获人Siglec-5, Fc嵌合体 (10nM; R&D Systems) (60s接触时间, 30 $\mu$ L/min流速, 0s稳定化时间)。然后使样品小鼠抗Siglec 5抗体 (100nM) 流过捕获的Siglec 5表面 (60s接触时间, 30 $\mu$ L/min流速, 0s解离时间), 接着流过参考小鼠抗Siglec 5抗体 (100nM, 60s接触时间, 30 $\mu$ L/min流速, 30s解离时间)。使用10mM甘氨酸-HCl, pH 1.7 (60s接触时间, 30 $\mu$ L/min流速, 60s稳定化时间) 在循环之间使芯片表面再生。得到产生的SPR信号, 为在空白流动池上进行测量的响应差。零配体对照 (0nM抗原+100nM IgG) 显示抗体与传感器芯片表面没有显著的非特异性结合。

[0650] 基于人Siglec-5 (SEQ ID NO:1) 的序列合成线性15聚体肽, 其中14-残基重叠。此外, 基于人Siglec-5 (SEQ ID NO:1) 的序列合成线性25聚体肽, 其中单个残基位移。在基于

ELISA的方法中测试Siglec-5抗体与合成肽中的每一者的结合。在此测定中,将肽阵列与一级抗体溶液一起温育(在4℃过夜)。洗涤后,将肽阵列与1/1000稀释度的抗体过氧化物酶缀合物(SBA,目录号2010-05)在25℃下一起温育一小时。洗涤后,添加过氧化物酶底物2,2'-次偶氮基-二-3-乙基苯并噻唑啉磺酸盐(ABTS)和2μl/ml的3% $H_2O_2$ 。一小时后,测量显色。用电荷耦合器件(CCD)相机和图像处理系统对显色进行定量。

[0651] 或者,为了重建靶分子的表位,合成环状和组合肽的文库。通过如下方式获得氨基官能化聚丙烯支持物:用专有亲水性聚合物制剂接枝,接着使用二环己基碳二亚胺(DCC)与N-羟基苯并三唑(HOBt)与叔丁氧羰基-六亚甲基二胺(BocHMDA)反应,随后使用三氟乙酸(TFA)切割Boc基团。标准的Fmoc-肽合成用于通过定制改进的JANUS液体处理站(Perkin Elmer)在氨基官能化固体支持物上合成肽。

[0652] 采用Pepscan专有的支架上化学连接肽(CLIPS)技术进行结构模拟物的合成。CLIPS技术允许将肽结构化单环和双环。CLIPS模板与半胱氨酸残基偶联。肽中多个半胱氨酸的侧链与一个或两个CLIPS模板偶联。例如,mP2 CLIPS(2,6-双(溴甲基)吡啶)的0.5mM溶液溶解在碳酸氢铵(20mM,pH 7.8)/乙腈(1:3(v/v))中。将此溶液添加到肽阵列上。CLIPS模板将与肽阵列(具有3μl孔的455孔板)的固相结合肽中存在的两个半胱氨酸的侧链结合。将肽阵列在溶液中轻轻摇动30至60分钟,同时在溶液中完全覆盖。最后,将肽阵列用过量的 $H_2O$ 充分洗涤,并在70℃下在含有在PBS(pH 7.2)中的1%SDS/0.1%β-巯基乙醇的断裂缓冲液(disrupt-buffer)中声处理30分钟,接着在 $H_2O$ 中再声处理45分钟。带有肽的T3 CLIPS(2,4,6-三(溴甲基)吡啶)以类似的方式制备,但现在有三个半胱氨酸。

[0653] 环状肽:长度17的限制肽。位置2-16是来源于靶序列的15聚体。天然Cys残基被乙酰胺基甲基(ACM)保护。位置1和17是通过mP2 CLIPS部分连接的Cys。组合肽(不连续模拟物):长度33的限制肽。位置2-16和18-32是来源于具有被ACM保护的天然Cys残基的靶序列的15聚体肽。位置1、17和33是通过T3 CLIPS部分连接的Cys。

[0654] 在基于PEPSCAN的ELISA中测试抗体与合成肽中的每一者的结合。将肽阵列与由实验优化浓度的测试抗体和封闭溶液(例如在PBS/1%Tween80中4%马血清、5%卵清蛋白(w/v))组成的测试抗体溶液一起温育。将肽阵列与测试抗体溶液一起在4℃下温育过夜。用洗涤缓冲液(1×PBS,0.05%Tween80)充分洗涤后,将肽阵列与1/1000稀释度的适当抗体过氧化物酶缀合物在25℃下一起温育一小时。在用洗涤缓冲液洗涤后,添加过氧化物酶底物2,2'-次偶氮基-二-3-乙基苯并噻唑啉磺酸盐(ABTS)和2μl/ml的3% $H_2O_2$ 。一小时后,测量显色。用电荷耦合器件(CCD)-相机和图像处理系统对显色进行定量。

[0655] 如下表10中所示,抗体S5-G-10、S5-G-07、S5-PN202、S5/14C2、S5/14-8A1.3、S5/14-REA383显示对Siglec-5的细胞外结构域(包括IgV结构域和第二Ig样C2型结构域的近端)内的线性肽的稳健结合。如表10中所示,抗体S5/14-REA383识别的肽对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基73-88,并具有以下氨基酸序列:PETQGRF(SEQ ID NO:224)。抗体S5/14-8A1.3识别的肽对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基28-42,并具有氨基酸序列PCSFSYPWRSWYSS(SEQ ID NO:223)。抗体S5/14-C2识别的肽对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基136-142,并具有氨基酸序列DIHFLEP(SEQ ID NO:222)。

[0656] 抗Siglec-5抗体S5-PN 202识别的肽对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基268-278,并具有氨基酸序列LSWFQGSPALN(SEQ ID NO:221)。抗Siglec-5抗体S5-G-07识别的肽对应

于SEQ ID NO:1的氨基酸残基226-244,并具有氨基酸序列QTITIFRNGIALEILQNTS (SEQ ID NO:220)。抗Siglec-5抗体S5-G-10识别的肽对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基228-238,并具有氨基酸序列ITIFRNGIALE (SEQ ID NO:219)。综上所述,这些结果显示本公开的Siglec-5特异性抗Siglec-5抗体与Siglec-5中不同于与Siglec-5和Siglec-14两者结合的抗体的Siglec-5内的区域的区域结合。

[0657] 表10

抗体	箱	氨基酸数	序列
S5-G-10	4	228-238	ITIFRNGIALE (SEQ ID NO:219)
S5-G-07	4	226-244	QTITIFRNGIALEILQNTS (SEQ ID NO:220)
S5-PN 202	3	268-278	LSWFQGSPALN (SEQ ID NO:221)
S5/14-C2	2	136-142	DIHFLEP (SEQ ID NO:222)
S5/14-8A1.3	1	28-42	PCSFSYPWRSWYSS (SEQ ID NO:223)
S5/14-REA393	1	73-88	PETQGRF (SEQ ID NO:224)

[0659] 某些序列

[0660] mAb 2G5:轻链可变区

[0661] QAVVTQESALTTSPGETVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFTGLIGTTNNRAPGVPARFSGSL  
IGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHLVFGGGTKLTVLG (SEQ ID NO:212)

[0662] mAb 2G5:重链可变区

[0663] EIQLQQSGPELVKPGASVKVSKASGYSFTDYNMYWVKQSHGKSLEWIGYIDPYNGNTTYNQRFKGKA  
TLTVDKSSSTAFMHLNSLTSEDAVYYCATFYGFDFAYWGQGSLLVAVSA (SEQ ID NO:213)

[0664] mAb 7A5:轻链可变区

[0665] DIVMIQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVDTNVAWYQQKPGQSPKALIYSASYRYSYSGVPDRFTGSGSG  
TDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSFPLTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:214)

[0666] mAb 7A5:重链可变区

[0667] EIQLQQSGPELVKPGASVKVSKASGYSFTDYNMYWVKQSHGKSLEWIGYIDPYNGGTTYNQKFKGKA  
TLTVDKSSSTAFMHLNSLTSEDSAVFYCAFYYGYGVPYWGQGTLLVTVSA (SEQ ID NO:215)

[0668] mAb 8A1:轻链可变区

[0669] DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTYYVAWYQQKPGQSPKALIYSASYRYSYSGVPDRFTGSGSG  
TDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:216)

[0670] mAb 8A1:重链可变区

[0671] EIQLQQSGPELVKPGASVKVSKASDYAFTSYNIYWVKQSHGKSLEWIGYIDPYNGGTSYNQTFKGKA  
TLTVDKSSSTAYMHLNSLTSEDSAVYYCAMKVGYEAMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO:217)

[0001]	序列表
[0002]	<110> 艾利妥 (Alector LLC)
[0003]	<120> 抗SIGLEC-5抗体及其使用方法
[0004]	<130> 73502-20027.40
[0005]	<140> 尚未分配
[0006]	<141> 同时随同提交
[0007]	<150> US 62/711,405
[0008]	<151> 2018-07-27
[0009]	<160> 225
[0010]	<170> FastSEQ for Windows Version 4.0
[0011]	<210> 1
[0012]	<211> 551
[0013]	<212> PRT
[0014]	<213> 智人 (Homo sapiens)
[0015]	<400> 1
[0016]	Met Leu Pro Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Gly Gly Ser Leu Gln
[0017]	1 5 10 15
[0018]	Glu Lys Pro Val Tyr Glu Leu Gln Val Gln Lys Ser Val Thr Val Gln
[0019]	20 25 30
[0020]	Glu Gly Leu Cys Val Leu Val Pro Cys Ser Phe Ser Tyr Pro Trp Arg
[0021]	35 40 45
[0022]	Ser Trp Tyr Ser Ser Pro Pro Leu Tyr Val Tyr Trp Phe Arg Asp Gly
[0023]	50 55 60
[0024]	Glu Ile Pro Tyr Tyr Ala Glu Val Val Ala Thr Asn Asn Pro Asp Arg
[0025]	65 70 75 80
[0026]	Arg Val Lys Pro Glu Thr Gln Gly Arg Phe Arg Leu Leu Gly Asp Val
[0027]	85 90 95
[0028]	Gln Lys Lys Asn Cys Ser Leu Ser Ile Gly Asp Ala Arg Met Glu Asp
[0029]	100 105 110
[0030]	Thr Gly Ser Tyr Phe Phe Arg Val Glu Arg Gly Arg Asp Val Lys Tyr
[0031]	115 120 125
[0032]	Ser Tyr Gln Gln Asn Lys Leu Asn Leu Glu Val Thr Ala Leu Ile Glu
[0033]	130 135 140
[0034]	Lys Pro Asp Ile His Phe Leu Glu Pro Leu Glu Ser Gly Arg Pro Thr
[0035]	145 150 155 160
[0036]	Arg Leu Ser Cys Ser Leu Pro Gly Ser Cys Glu Ala Gly Pro Pro Leu
[0037]	165 170 175
[0038]	Thr Phe Ser Trp Thr Gly Asn Ala Leu Ser Pro Leu Asp Pro Glu Thr

[0039]		180		185		190											
[0040]	Thr	Arg	Ser	Ser	Glu	Leu	Thr	Leu	Thr	Pro	Arg	Pro	Glu	Asp	His	Gly	
[0041]			195						200				205				
[0042]	Thr	Asn	Leu	Thr	Cys	Gln	Met	Lys	Arg	Gln	Gly	Ala	Gln	Val	Thr	Thr	
[0043]			210					215				220					
[0044]	Glu	Arg	Thr	Val	Gln	Leu	Asn	Val	Ser	Tyr	Ala	Pro	Gln	Thr	Ile	Thr	
[0045]	225					230					235					240	
[0046]	Ile	Phe	Arg	Asn	Gly	Ile	Ala	Leu	Glu	Ile	Leu	Gln	Asn	Thr	Ser	Tyr	
[0047]				245					250					255			
[0048]	Leu	Pro	Val	Leu	Glu	Gly	Gln	Ala	Leu	Arg	Leu	Leu	Cys	Asp	Ala	Pro	
[0049]			260					265					270				
[0050]	Ser	Asn	Pro	Pro	Ala	His	Leu	Ser	Trp	Phe	Gln	Gly	Ser	Pro	Ala	Leu	
[0051]			275					280					285				
[0052]	Asn	Ala	Thr	Pro	Ile	Ser	Asn	Thr	Gly	Ile	Leu	Glu	Leu	Arg	Arg	Val	
[0053]			290					295				300					
[0054]	Arg	Ser	Ala	Glu	Glu	Gly	Gly	Phe	Thr	Cys	Arg	Ala	Gln	His	Pro	Leu	
[0055]	305					310					315					320	
[0056]	Gly	Phe	Leu	Gln	Ile	Phe	Leu	Asn	Leu	Ser	Val	Tyr	Ser	Leu	Pro	Gln	
[0057]				325					330					335			
[0058]	Leu	Leu	Gly	Pro	Ser	Cys	Ser	Trp	Glu	Ala	Glu	Gly	Leu	His	Cys	Arg	
[0059]			340					345					350				
[0060]	Cys	Ser	Phe	Arg	Ala	Arg	Pro	Ala	Pro	Ser	Leu	Cys	Trp	Arg	Leu	Glu	
[0061]			355					360					365				
[0062]	Glu	Lys	Pro	Leu	Glu	Gly	Asn	Ser	Ser	Gln	Gly	Ser	Phe	Lys	Val	Asn	
[0063]		370					375					380					
[0064]	Ser	Ser	Ser	Ala	Gly	Pro	Trp	Ala	Asn	Ser	Ser	Leu	Ile	Leu	His	Gly	
[0065]	385					390					395					400	
[0066]	Gly	Leu	Ser	Ser	Asp	Leu	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Trp	Asn	Ile	Tyr	
[0067]				405					410					415			
[0068]	Gly	Ser	Gln	Ser	Gly	Ser	Val	Leu	Leu	Leu	Gln	Gly	Arg	Ser	Asn	Leu	
[0069]			420					425					430				
[0070]	Gly	Thr	Gly	Val	Val	Pro	Ala	Ala	Leu	Gly	Gly	Ala	Gly	Val	Met	Ala	
[0071]			435					440					445				
[0072]	Leu	Leu	Cys	Ile	Cys	Leu	Cys	Leu	Ile	Phe	Phe	Leu	Ile	Val	Lys	Ala	
[0073]		450					455					460					
[0074]	Arg	Arg	Lys	Gln	Ala	Ala	Gly	Arg	Pro	Glu	Lys	Met	Asp	Asp	Glu	Asp	
[0075]	465					470					475					480	
[0076]	Pro	Ile	Met	Gly	Thr	Ile	Thr	Ser	Gly	Ser	Arg	Lys	Lys	Pro	Trp	Pro	
[0077]				485					490					495			

[0078]	Asp Ser Pro Gly Asp Gln Ala Ser Pro Pro Gly Asp Ala Pro Pro Leu
[0079]	500 505 510
[0080]	Glu Glu Gln Lys Glu Leu His Tyr Ala Ser Leu Ser Phe Ser Glu Met
[0081]	515 520 525
[0082]	Lys Ser Arg Glu Pro Lys Asp Gln Glu Ala Pro Ser Thr Thr Glu Tyr
[0083]	530 535 540
[0084]	Ser Glu Ile Lys Thr Ser Lys
[0085]	545 550
[0086]	<210> 2
[0087]	<211> 601
[0088]	<212> PRT
[0089]	<213> 长尾猕猴(Macaca fascicularis)
[0090]	<400> 2
[0091]	Met Pro Lys Phe Ser Phe Cys Leu Gln Pro Gln Phe Ser Leu Thr His
[0092]	1 5 10 15
[0093]	Arg Leu Pro Val Gly Ala Ser Ser Ala Pro Pro His Ile Trp Gly Ile
[0094]	20 25 30
[0095]	Ser Phe Pro Asp Arg Gly Thr Trp Asp Arg Ala Gly Ala Leu Ala Asp
[0096]	35 40 45
[0097]	Gly Asp Met Leu Ala Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Gly Gly Ser
[0098]	50 55 60
[0099]	Leu Gln Glu Lys Pro Gly Tyr Glu Leu Gln Val Gln Lys Ser Val Thr
[0100]	65 70 75 80
[0101]	Val Gln Glu Gly Leu Cys Val Leu Val Pro Cys Ser Phe Ser Tyr Pro
[0102]	85 90 95
[0103]	Gly Asn Ser Trp Tyr Ser Pro Ser Pro Leu Tyr Val Tyr Trp Phe Pro
[0104]	100 105 110
[0105]	Asn Gly Glu Ser Pro Tyr Phe Gly Glu Pro Val Ala Thr Asn Asn Pro
[0106]	115 120 125
[0107]	Asn Arg Lys Val Lys Ser Glu Thr Gln Gly Arg Phe Arg Leu Leu Gly
[0108]	130 135 140
[0109]	Asp Val Trp Lys Lys Asn Cys Ser Leu Ser Ile Gly Asp Ala Arg Met
[0110]	145 150 155 160
[0111]	Gly Asp Thr Gly Asn Tyr Tyr Phe Arg Val Glu Arg Gly Arg Asn Val
[0112]	165 170 175
[0113]	Lys Tyr Thr Tyr Leu Gln Asn Lys Leu Asn Leu Glu Val Thr Ala Leu
[0114]	180 185 190
[0115]	Thr Glu Lys Pro Asp Val His Phe Leu Glu Pro Leu Glu Ser Gly Arg
[0116]	195 200 205

[0117]	Pro	Thr	Arg	Leu	Ser	Cys	Ser	Leu	Pro	Gly	Ser	Cys	Glu	Ala	Gly	Arg
[0118]	210						215					220				
[0119]	Pro	Leu	Thr	Phe	Ser	Trp	Thr	Gly	Asp	Val	Leu	Ser	Pro	Leu	Asp	Pro
[0120]	225					230					235				240	
[0121]	Glu	Thr	Thr	Gly	Ser	Ser	Glu	Leu	Thr	Leu	Thr	Pro	Arg	Pro	Glu	Asp
[0122]					245					250					255	
[0123]	His	Gly	Thr	Asn	Leu	Thr	Cys	His	Val	Lys	Arg	Gln	Gly	Ala	Gln	Val
[0124]				260					265					270		
[0125]	Thr	Thr	Glu	Arg	Thr	Val	Gln	Leu	Asn	Val	Ser	Tyr	Ala	Pro	Gln	Asn
[0126]			275					280					285			
[0127]	Ile	Thr	Ile	Phe	Arg	Asn	Gly	Thr	Ala	Leu	Glu	Ile	Leu	His	Asn	Thr
[0128]	290					295					300					
[0129]	Ser	Thr	Leu	Leu	Val	Leu	Glu	Gly	Gln	Ala	Leu	Arg	Leu	Leu	Cys	Glu
[0130]	305					310					315				320	
[0131]	Ala	Pro	Ser	Asn	Pro	Pro	Ala	His	Leu	Ser	Trp	Phe	Gln	Ala	Ser	Ser
[0132]				325					330					335		
[0133]	Ala	Pro	Asn	Ala	Thr	Pro	Ile	Ala	Asp	Thr	Gly	Ile	Leu	Glu	Leu	Pro
[0134]				340					345					350		
[0135]	Arg	Val	Glu	Phe	Ala	Lys	Glu	Gly	Val	Phe	Thr	Cys	His	Ala	Gln	His
[0136]			355					360					365			
[0137]	Pro	Leu	Gly	Ser	Leu	His	Ile	Phe	Leu	Asn	Leu	Ser	Val	Tyr	Ser	Leu
[0138]	370					375					380					
[0139]	Pro	Gln	Leu	Leu	Gly	Pro	Ser	Cys	Ser	Trp	Glu	Ala	Glu	Ser	Leu	His
[0140]	385					390					395				400	
[0141]	Cys	Ser	Cys	Ser	Phe	Arg	Ala	Trp	Pro	Ala	Pro	Ser	Leu	Cys	Trp	Trp
[0142]				405					410					415		
[0143]	Leu	Gly	Glu	Lys	Pro	Leu	Glu	Gly	Asn	Ser	Ser	Gln	Gly	Ser	Phe	Lys
[0144]				420					425					430		
[0145]	Val	Asn	Ser	Ser	Ser	Ala	Gly	Leu	Trp	Ala	Asn	Ser	Ser	Leu	Ile	Leu
[0146]			435					440					445			
[0147]	His	Gly	Gly	Leu	Thr	Ser	Gly	Leu	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Gly	Trp	Asn
[0148]		450					455					460				
[0149]	Thr	Tyr	Gly	Ser	Gln	Ser	Asp	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Gln	Gly	Arg	Leu
[0150]	465					470					475				480	
[0151]	Asn	Leu	Arg	Thr	Gly	Val	Val	Pro	Ala	Ala	Leu	Gly	Gly	Ala	Gly	Val
[0152]				485					490					495		
[0153]	Met	Ala	Leu	Leu	Cys	Ile	Cys	Leu	Cys	Leu	Ile	Phe	Phe	Leu	Ile	Val
[0154]				500					505					510		
[0155]	Lys	Val	Arg	Arg	Lys	Gln	Ala	Ala	Gly	Arg	Pro	Glu	Lys	Met	Asp	Asp



[0156]	515	520	525
[0157]	Glu Asp Pro Ile Met Gly Thr Val Ser Trp Asp Ser Arg Lys Lys Pro		
[0158]	530	535	540
[0159]	Trp Pro Asp Ser Pro Gly Asp Gln Ala Ser Pro Ala Gly Asp Thr Pro		
[0160]	545	550	555
[0161]	Pro Leu Gly Glu Gln Gln Glu Leu His Tyr Ala Ser Leu Ser Phe Ser		
[0162]	565	570	575
[0163]	Glu Met Lys Ser Arg Glu Pro Lys Asp Gln Glu Ala Pro Ser Thr Thr		
[0164]	580	585	590
[0165]	Glu Tyr Ser Glu Val Lys Thr Asn Lys		
[0166]	595	600	
[0167]	<210> 3		
[0168]	<211> 395		
[0169]	<212> PRT		
[0170]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0171]	<400> 3		
[0172]	Met Leu Pro Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Gly Gly Ser Leu Gln		
[0173]	1	5	10
[0174]	Glu Lys Pro Val Tyr Glu Leu Gln Val Gln Lys Ser Val Thr Val Gln		
[0175]	20	25	30
[0176]	Glu Gly Leu Cys Val Leu Val Pro Cys Ser Phe Ser Tyr Pro Trp Arg		
[0177]	35	40	45
[0178]	Ser Trp Tyr Ser Ser Pro Pro Leu Tyr Val Tyr Trp Phe Arg Asp Gly		
[0179]	50	55	60
[0180]	Glu Ile Pro Tyr Tyr Ala Glu Val Val Ala Thr Asn Asn Pro Asp Arg		
[0181]	65	70	75
[0182]	Arg Val Lys Pro Glu Thr Gln Gly Arg Phe Arg Leu Leu Gly Asp Val		
[0183]	85	90	95
[0184]	Gln Lys Lys Asn Cys Ser Leu Ser Ile Gly Asp Ala Arg Met Glu Asp		
[0185]	100	105	110
[0186]	Thr Gly Ser Tyr Phe Phe Arg Val Glu Arg Gly Arg Asp Val Lys Tyr		
[0187]	115	120	125
[0188]	Ser Tyr Gln Gln Asn Lys Leu Asn Leu Glu Val Thr Ala Leu Ile Glu		
[0189]	130	135	140
[0190]	Lys Pro Asp Ile His Phe Leu Glu Pro Leu Glu Ser Gly Arg Pro Thr		
[0191]	145	150	155
[0192]	Arg Leu Ser Cys Ser Leu Pro Gly Ser Cys Glu Ala Gly Pro Pro Leu		
[0193]	165	170	175
[0194]	Thr Phe Ser Trp Thr Gly Asn Ala Leu Ser Pro Leu Asp Pro Glu Thr		

[0195]	180	185	190
[0196]	Thr Arg Ser Ser Glu Leu Thr Leu Thr Pro Arg Pro Glu Asp His Gly		
[0197]	195	200	205
[0198]	Thr Asn Leu Thr Cys Gln Val Lys Arg Gln Gly Ala Gln Val Thr Thr		
[0199]	210	215	220
[0200]	Glu Arg Thr Val Gln Leu Asn Val Ser Tyr Ala Pro Gln Asn Leu Ala		
[0201]	225	230	235
[0202]	Ile Ser Ile Phe Phe Arg Asn Gly Thr Gly Thr Ala Leu Arg Ile Leu		
[0203]	245	250	255
[0204]	Ser Asn Gly Met Ser Val Pro Ile Gln Glu Gly Gln Ser Leu Phe Leu		
[0205]	260	265	270
[0206]	Ala Cys Thr Val Asp Ser Asn Pro Pro Ala Ser Leu Ser Trp Phe Arg		
[0207]	275	280	285
[0208]	Glu Gly Lys Ala Leu Asn Pro Ser Gln Thr Ser Met Ser Gly Thr Leu		
[0209]	290	295	300
[0210]	Glu Leu Pro Asn Ile Gly Ala Arg Glu Gly Gly Glu Phe Thr Cys Arg		
[0211]	305	310	315
[0212]	Val Gln His Pro Leu Gly Ser Gln His Leu Ser Phe Ile Leu Ser Val		
[0213]	325	330	335
[0214]	Gln Arg Ser Ser Ser Ser Cys Ile Cys Val Thr Glu Lys Gln Gln Gly		
[0215]	340	345	350
[0216]	Ser Trp Pro Leu Leu Thr Leu Ile Arg Gly Ala Leu Met Gly Ala Gly		
[0217]	355	360	365
[0218]	Phe Leu Leu Thr Tyr Gly Leu Thr Trp Ile Tyr Tyr Thr Arg Cys Gly		
[0219]	370	375	380
[0220]	Gly Pro Gln Gln Ser Arg Ala Glu Arg Pro Gly		
[0221]	385	390	395
[0222]	<210> 4		
[0223]	<211> 19		
[0224]	<212> PRT		
[0225]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0226]	<220>		
[0227]	<223> 合成构建体		
[0228]	<220>		
[0229]	<221> 变体		
[0230]	<222> 1		
[0231]	<223> Xaa = Asp或Glu		
[0232]	<220>		
[0233]	<221> 变体		

- [0234] <222> 2, 3
- [0235] <223> Xaa = 任何氨基酸,且最多2个可以存在或不存在
- [0236] <220>
- [0237] <221> 变体
- [0238] <222> 5, 6
- [0239] <223> Xaa = 任何氨基酸
- [0240] <220>
- [0241] <221> 变体
- [0242] <222> 7
- [0243] <223> Xaa = Leu或Ile
- [0244] <220>
- [0245] <221> 变体
- [0246] <222> 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18
- [0247] <223> Xaa = 任何氨基酸,且最多2个可以存在或不存在
- [0248] <220>
- [0249] <221> 变体
- [0250] <222> 19
- [0251] <223> Xaa = Leu或Ile
- [0252] <400> 4
- [0253] Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr
- [0254] 1 5 10 15
- [0255] Xaa Xaa Xaa
- [0256] <210> 5
- [0257] <211> 30
- [0258] <212> PRT
- [0259] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0260] <220>
- [0261] <223> 合成构建体
- [0262] <400> 5
- [0263] Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
- [0264] 1 5 10 15
- [0265] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Leu Thr
- [0266] 20 25 30
- [0267] <210> 6
- [0268] <211> 30
- [0269] <212> PRT
- [0270] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0271] <220>
- [0272] <223> 合成构建体

[0273]	<400> 6
[0274]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr
[0275]	1 5 10 15
[0276]	Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
[0277]	20 25 30
[0278]	<210> 7
[0279]	<211> 30
[0280]	<212> PRT
[0281]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0282]	<220>
[0283]	<223> 合成构建体
[0284]	<400> 7
[0285]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Ala Val Leu Ala Arg Pro Gly Ala
[0286]	1 5 10 15
[0287]	Ser Val Arg Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
[0288]	20 25 30
[0289]	<210> 8
[0290]	<211> 30
[0291]	<212> PRT
[0292]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0293]	<220>
[0294]	<223> 合成构建体
[0295]	<400> 8
[0296]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
[0297]	1 5 10 15
[0298]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
[0299]	20 25 30
[0300]	<210> 9
[0301]	<211> 30
[0302]	<212> PRT
[0303]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0304]	<220>
[0305]	<223> 合成构建体
[0306]	<400> 9
[0307]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
[0308]	1 5 10 15
[0309]	Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
[0310]	20 25 30
[0311]	<210> 10

[0312]	<211>	30
[0313]	<212>	PRT
[0314]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0315]	<220>	
[0316]	<223>	合成构建体
[0317]	<400>	10
[0318]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln	
[0319]	1	5 10 15
[0320]	Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Val Thr	
[0321]	20	25 30
[0322]	<210>	11
[0323]	<211>	30
[0324]	<212>	PRT
[0325]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0326]	<220>	
[0327]	<223>	合成构建体
[0328]	<400>	11
[0329]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln	
[0330]	1	5 10 15
[0331]	Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Leu Ser Leu Thr	
[0332]	20	25 30
[0333]	<210>	12
[0334]	<211>	30
[0335]	<212>	PRT
[0336]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0337]	<220>	
[0338]	<223>	合成构建体
[0339]	<400>	12
[0340]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gln	
[0341]	1	5 10 15
[0342]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser	
[0343]	20	25 30
[0344]	<210>	13
[0345]	<211>	30
[0346]	<212>	PRT
[0347]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0348]	<220>	
[0349]	<223>	合成构建体
[0350]	<400>	13

[0351]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
[0352]	1 5 10 15
[0353]	Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser
[0354]	20 25 30
[0355]	<210> 14
[0356]	<211> 30
[0357]	<212> PRT
[0358]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0359]	<220>
[0360]	<223> 合成构建体
[0361]	<400> 14
[0362]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
[0363]	1 5 10 15
[0364]	Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr
[0365]	20 25 30
[0366]	<210> 15
[0367]	<211> 30
[0368]	<212> PRT
[0369]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0370]	<220>
[0371]	<223> 合成构建体
[0372]	<400> 15
[0373]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
[0374]	1 5 10 15
[0375]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Leu Thr
[0376]	20 25 30
[0377]	<210> 16
[0378]	<211> 30
[0379]	<212> PRT
[0380]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0381]	<220>
[0382]	<223> 合成构建体
[0383]	<400> 16
[0384]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
[0385]	1 5 10 15
[0386]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
[0387]	20 25 30
[0388]	<210> 17
[0389]	<211> 30

[0390]	<212>	PRT
[0391]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0392]	<220>	
[0393]	<223>	合成构建体
[0394]	<400>	17
[0395]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser	
[0396]	1	5 10 15
[0397]	Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr	
[0398]	20	25 30
[0399]	<210>	18
[0400]	<211>	30
[0401]	<212>	PRT
[0402]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0403]	<220>	
[0404]	<223>	合成构建体
[0405]	<400>	18
[0406]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[0407]	1	5 10 15
[0408]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser	
[0409]	20	25 30
[0410]	<210>	19
[0411]	<211>	30
[0412]	<212>	PRT
[0413]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0414]	<220>	
[0415]	<223>	合成构建体
[0416]	<400>	19
[0417]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[0418]	1	5 10 15
[0419]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser	
[0420]	20	25 30
[0421]	<210>	20
[0422]	<211>	5
[0423]	<212>	PRT
[0424]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0425]	<220>	
[0426]	<223>	合成构建体
[0427]	<400>	20
[0428]	Asp Tyr Asn Met Tyr	

[0429]	1	5
[0430]	<210>	21
[0431]	<211>	5
[0432]	<212>	PRT
[0433]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0434]	<220>	
[0435]	<223>	合成构建体
[0436]	<400>	21
[0437]	Asn Tyr Trp Met His	
[0438]	1	5
[0439]	<210>	22
[0440]	<211>	5
[0441]	<212>	PRT
[0442]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0443]	<220>	
[0444]	<223>	合成构建体
[0445]	<400>	22
[0446]	Ser Tyr Tyr Met His	
[0447]	1	5
[0448]	<210>	23
[0449]	<211>	5
[0450]	<212>	PRT
[0451]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0452]	<220>	
[0453]	<223>	合成构建体
[0454]	<400>	23
[0455]	Asp Tyr Asn Ile Tyr	
[0456]	1	5
[0457]	<210>	24
[0458]	<211>	5
[0459]	<212>	PRT
[0460]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0461]	<220>	
[0462]	<223>	合成构建体
[0463]	<400>	24
[0464]	Ser Tyr Trp Leu His	
[0465]	1	5
[0466]	<210>	25
[0467]	<211>	5



[0468] <212> PRT  
[0469] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
[0470] <220>  
[0471] <223> 合成构建体  
[0472] <400> 25  
[0473] Ser Tyr Gly Val Ser  
[0474] 1 5  
[0475] <210> 26  
[0476] <211> 5  
[0477] <212> PRT  
[0478] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
[0479] <220>  
[0480] <223> 合成构建体  
[0481] <400> 26  
[0482] Thr Tyr Gly Met Ser  
[0483] 1 5  
[0484] <210> 27  
[0485] <211> 5  
[0486] <212> PRT  
[0487] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
[0488] <220>  
[0489] <223> 合成构建体  
[0490] <400> 27  
[0491] Ser Tyr Thr Met Tyr  
[0492] 1 5  
[0493] <210> 28  
[0494] <211> 5  
[0495] <212> PRT  
[0496] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
[0497] <220>  
[0498] <223> 合成构建体  
[0499] <400> 28  
[0500] Glu Tyr Thr Ile His  
[0501] 1 5  
[0502] <210> 29  
[0503] <211> 14  
[0504] <212> PRT  
[0505] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
[0506] <220>

[0507]	<223>	合成构建体
[0508]	<400>	29
[0509]	Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly	
[0510]	1	5 10
[0511]	<210>	30
[0512]	<211>	14
[0513]	<212>	PRT
[0514]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0515]	<220>	
[0516]	<223>	合成构建体
[0517]	<400>	30
[0518]	Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val Gly	
[0519]	1	5 10
[0520]	<210>	31
[0521]	<211>	14
[0522]	<212>	PRT
[0523]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0524]	<220>	
[0525]	<223>	合成构建体
[0526]	<400>	31
[0527]	Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly	
[0528]	1	5 10
[0529]	<210>	32
[0530]	<211>	14
[0531]	<212>	PRT
[0532]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0533]	<220>	
[0534]	<223>	合成构建体
[0535]	<400>	32
[0536]	Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly	
[0537]	1	5 10
[0538]	<210>	33
[0539]	<211>	14
[0540]	<212>	PRT
[0541]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0542]	<220>	
[0543]	<223>	合成构建体
[0544]	<400>	33
[0545]	Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Leu Val Ala	

[0546]	1	5	10
[0547]	<210>	34	
[0548]	<211>	14	
[0549]	<212>	PRT	
[0550]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0551]	<220>		
[0552]	<223>	合成构建体	
[0553]	<400>	34	
[0554]	Trp Val Lys Gln Arg Ser Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly		
[0555]	1	5	10
[0556]	<210>	35	
[0557]	<211>	14	
[0558]	<212>	PRT	
[0559]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0560]	<220>		
[0561]	<223>	合成构建体	
[0562]	<400>	35	
[0563]	Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly		
[0564]	1	5	10
[0565]	<210>	36	
[0566]	<211>	14	
[0567]	<212>	PRT	
[0568]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0569]	<220>		
[0570]	<223>	合成构建体	
[0571]	<400>	36	
[0572]	Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val Gly		
[0573]	1	5	10
[0574]	<210>	37	
[0575]	<211>	14	
[0576]	<212>	PRT	
[0577]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0578]	<220>		
[0579]	<223>	合成构建体	
[0580]	<400>	37	
[0581]	Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser		
[0582]	1	5	10
[0583]	<210>	38	
[0584]	<211>	14	

[0585]	<212>	PRT
[0586]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0587]	<220>	
[0588]	<223>	合成构建体
[0589]	<400>	38
[0590]	Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val Ala	
[0591]	1	5 10
[0592]	<210>	39
[0593]	<211>	17
[0594]	<212>	PRT
[0595]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0596]	<220>	
[0597]	<223>	合成构建体
[0598]	<400>	39
[0599]	Tyr Ile Asp Ser Tyr Asn Gly Gly Thr Arg Tyr Asn Gln Lys Phe Lys	
[0600]	1	5 10 15
[0601]	Gly	
[0602]	<210>	40
[0603]	<211>	17
[0604]	<212>	PRT
[0605]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0606]	<220>	
[0607]	<223>	合成构建体
[0608]	<400>	40
[0609]	Glu Ile Asp Pro Ser Asp Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Gln Asn Phe Lys	
[0610]	1	5 10 15
[0611]	Gly	
[0612]	<210>	41
[0613]	<211>	17
[0614]	<212>	PRT
[0615]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0616]	<220>	
[0617]	<223>	合成构建体
[0618]	<400>	41
[0619]	Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys	
[0620]	1	5 10 15
[0621]	Gly	
[0622]	<210>	42
[0623]	<211>	17

[0624]	<212>	PRT
[0625]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0626]	<220>	
[0627]	<223>	合成构建体
[0628]	<400>	42
[0629]	Tyr Phe Asp Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Arg Phe Lys	
[0630]	1	5 10 15
[0631]	Asp	
[0632]	<210>	43
[0633]	<211>	17
[0634]	<212>	PRT
[0635]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0636]	<220>	
[0637]	<223>	合成构建体
[0638]	<400>	43
[0639]	Met Ile His Pro Asn Ser Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Glu Arg Phe Lys	
[0640]	1	5 10 15
[0641]	Ser	
[0642]	<210>	44
[0643]	<211>	16
[0644]	<212>	PRT
[0645]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0646]	<220>	
[0647]	<223>	合成构建体
[0648]	<400>	44
[0649]	Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Asp Leu Ile Ser	
[0650]	1	5 10 15
[0651]	<210>	45
[0652]	<211>	16
[0653]	<212>	PRT
[0654]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0655]	<220>	
[0656]	<223>	合成构建体
[0657]	<400>	45
[0658]	Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Ala Leu Ile Ser	
[0659]	1	5 10 15
[0660]	<210>	46
[0661]	<211>	17
[0662]	<212>	PRT

[0663]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																
[0664]	<220>																	
[0665]	<223>	合成构建体																
[0666]	<400>	46																
[0667]		Thr	Ile	Asn	Ser	Asn	Gly	Asp	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val	Lys	
[0668]		1				5					10					15		
[0669]		Gly																
[0670]	<210>	47																
[0671]	<211>	17																
[0672]	<212>	PRT																
[0673]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																
[0674]	<220>																	
[0675]	<223>	合成构建体																
[0676]	<400>	47																
[0677]		Tyr	Ile	Asn	Pro	Ser	Ser	Gly	Tyr	Thr	Glu	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Lys	
[0678]		1				5					10					15		
[0679]		Asp																
[0680]	<210>	48																
[0681]	<211>	17																
[0682]	<212>	PRT																
[0683]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																
[0684]	<220>																	
[0685]	<223>	合成构建体																
[0686]	<400>	48																
[0687]		Trp	Phe	Tyr	Pro	Gly	Ser	Gly	Ser	Ile	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys	
[0688]		1				5					10					15		
[0689]		Asp																
[0690]	<210>	49																
[0691]	<211>	17																
[0692]	<212>	PRT																
[0693]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																
[0694]	<220>																	
[0695]	<223>	合成构建体																
[0696]	<400>	49																
[0697]		Tyr	Ile	Asp	Ser	Tyr	Asn	Gly	Gly	Thr	Arg	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln	
[0698]		1				5					10					15		
[0699]		Gly																
[0700]	<210>	50																
[0701]	<211>	17																

[0702]	<212>	PRT
[0703]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0704]	<220>	
[0705]	<223>	合成构建体
[0706]	<400>	50
[0707]	Glu Ile Asp Pro Ser Asp Gly Tyr Val Thr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln	
[0708]	1	5 10 15
[0709]	Gly	
[0710]	<210>	51
[0711]	<211>	17
[0712]	<212>	PRT
[0713]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0714]	<220>	
[0715]	<223>	合成构建体
[0716]	<400>	51
[0717]	Thr Ile Asn Ser Asn Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys	
[0718]	1	5 10 15
[0719]	Gly	
[0720]	<210>	52
[0721]	<211>	32
[0722]	<212>	PRT
[0723]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0724]	<220>	
[0725]	<223>	合成构建体
[0726]	<400>	52
[0727]	Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Phe Met His	
[0728]	1	5 10 15
[0729]	Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg	
[0730]	20	25 30
[0731]	<210>	53
[0732]	<211>	32
[0733]	<212>	PRT
[0734]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0735]	<220>	
[0736]	<223>	合成构建体
[0737]	<400>	53
[0738]	Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln	
[0739]	1	5 10 15
[0740]	Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly	

[0741]	20	25	30
[0742]	<210> 54		
[0743]	<211> 32		
[0744]	<212> PRT		
[0745]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0746]	<220>		
[0747]	<223> 合成构建体		
[0748]	<400> 54		
[0749]	Lys Ala Lys Leu Thr Ala Val Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu		
[0750]	1	5	10
[0751]	Val Ser Ser Leu Thr Asn Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Pro		
[0752]	20	25	30
[0753]	<210> 55		
[0754]	<211> 32		
[0755]	<212> PRT		
[0756]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0757]	<220>		
[0758]	<223> 合成构建体		
[0759]	<400> 55		
[0760]	Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Phe Met Gln		
[0761]	1	5	10
[0762]	Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg		
[0763]	20	25	30
[0764]	<210> 56		
[0765]	<211> 32		
[0766]	<212> PRT		
[0767]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0768]	<220>		
[0769]	<223> 合成构建体		
[0770]	<400> 56		
[0771]	Lys Ala Thr Leu Ile Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln		
[0772]	1	5	10
[0773]	Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys		
[0774]	20	25	30
[0775]	<210> 57		
[0776]	<211> 32		
[0777]	<212> PRT		
[0778]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0779]	<220>		



[0780]	<223>	合成构建体
[0781]	<400>	57
[0782]	Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys	
[0783]	1	5 10 15
[0784]	Leu Asn Ser Leu Gln Ile Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg	
[0785]		20 25 30
[0786]	<210>	58
[0787]	<211>	32
[0788]	<212>	PRT
[0789]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0790]	<220>	
[0791]	<223>	合成构建体
[0792]	<400>	58
[0793]	Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys	
[0794]	1	5 10 15
[0795]	Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Lys	
[0796]		20 25 30
[0797]	<210>	59
[0798]	<211>	32
[0799]	<212>	PRT
[0800]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0801]	<220>	
[0802]	<223>	合成构建体
[0803]	<400>	59
[0804]	Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn Thr Leu Tyr Leu Gln	
[0805]	1	5 10 15
[0806]	Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys Ala Arg	
[0807]		20 25 30
[0808]	<210>	60
[0809]	<211>	32
[0810]	<212>	PRT
[0811]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0812]	<220>	
[0813]	<223>	合成构建体
[0814]	<400>	60
[0815]	Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln	
[0816]	1	5 10 15
[0817]	Leu Ile Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg	
[0818]		20 25 30

[0819]	<210>	61
[0820]	<211>	32
[0821]	<212>	PRT
[0822]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0823]	<220>	
[0824]	<223>	合成构建体
[0825]	<400>	61
[0826]	Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr Met Glu	
[0827]	1                    5                        10                        15	
[0828]	Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Thr	
[0829]	20                        25                        30	
[0830]	<210>	62
[0831]	<211>	32
[0832]	<212>	PRT
[0833]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0834]	<220>	
[0835]	<223>	合成构建体
[0836]	<400>	62
[0837]	Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu	
[0838]	1                    5                        10                        15	
[0839]	Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg	
[0840]	20                        25                        30	
[0841]	<210>	63
[0842]	<211>	32
[0843]	<212>	PRT
[0844]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0845]	<220>	
[0846]	<223>	合成构建体
[0847]	<400>	63
[0848]	Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu	
[0849]	1                    5                        10                        15	
[0850]	Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg	
[0851]	20                        25                        30	
[0852]	<210>	64
[0853]	<211>	32
[0854]	<212>	PRT
[0855]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0856]	<220>	
[0857]	<223>	合成构建体

[0858]	<400> 64
[0859]	Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
[0860]	1 5 10 15
[0861]	Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
[0862]	20 25 30
[0863]	<210> 65
[0864]	<211> 32
[0865]	<212> PRT
[0866]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0867]	<220>
[0868]	<223> 合成构建体
[0869]	<400> 65
[0870]	Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
[0871]	1 5 10 15
[0872]	Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly
[0873]	20 25 30
[0874]	<210> 66
[0875]	<211> 32
[0876]	<212> PRT
[0877]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0878]	<220>
[0879]	<223> 合成构建体
[0880]	<400> 66
[0881]	Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
[0882]	1 5 10 15
[0883]	Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly
[0884]	20 25 30
[0885]	<210> 67
[0886]	<211> 32
[0887]	<212> PRT
[0888]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0889]	<220>
[0890]	<223> 合成构建体
[0891]	<400> 67
[0892]	Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
[0893]	1 5 10 15
[0894]	Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly
[0895]	20 25 30
[0896]	<210> 68

[0897]	<211>	32
[0898]	<212>	PRT
[0899]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)
[0900]	<220>	
[0901]	<223>	合成构建体
[0902]	<400>	68
[0903]	Arg	Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
[0904]	1	5 10 15
[0905]	Met	Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
[0906]		20 25 30
[0907]	<210>	69
[0908]	<211>	32
[0909]	<212>	PRT
[0910]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)
[0911]	<220>	
[0912]	<223>	合成构建体
[0913]	<400>	69
[0914]	Arg	Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
[0915]	1	5 10 15
[0916]	Met	Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
[0917]		20 25 30
[0918]	<210>	70
[0919]	<211>	13
[0920]	<212>	PRT
[0921]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)
[0922]	<220>	
[0923]	<223>	合成构建体
[0924]	<400>	70
[0925]	Glu	Gly Phe Gly Tyr Asp Asp Arg Glu Trp Phe Ala Tyr
[0926]	1	5 10
[0927]	<210>	71
[0928]	<211>	13
[0929]	<212>	PRT
[0930]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)
[0931]	<220>	
[0932]	<223>	合成构建体
[0933]	<400>	71
[0934]	Val	Tyr Tyr Gly Asn Ser Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
[0935]	1	5 10



[0975]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0976]	<220>	
[0977]	<223>	合成构建体
[0978]	<400>	76
[0979]	Pro Gly Ala Phe Tyr Tyr Gly Ser Arg Tyr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val	
[0980]	1	5 10 15
[0981]	<210>	77
[0982]	<211>	16
[0983]	<212>	PRT
[0984]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0985]	<220>	
[0986]	<223>	合成构建体
[0987]	<400>	77
[0988]	Ala Trp Pro Ser Ile Thr Thr Val Phe Ala Pro Tyr Thr Leu Asp Tyr	
[0989]	1	5 10 15
[0990]	<210>	78
[0991]	<211>	7
[0992]	<212>	PRT
[0993]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0994]	<220>	
[0995]	<223>	合成构建体
[0996]	<400>	78
[0997]	Ser Asp Ser Lys Gly Asp Tyr	
[0998]	1	5
[0999]	<210>	79
[1000]	<211>	12
[1001]	<212>	PRT
[1002]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1003]	<220>	
[1004]	<223>	合成构建体
[1005]	<400>	79
[1006]	His Glu Arg Ala Ala Gln Ala Ala Trp Ser Ala Tyr	
[1007]	1	5 10
[1008]	<210>	80
[1009]	<211>	11
[1010]	<212>	PRT
[1011]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1012]	<220>	
[1013]	<223>	合成构建体

[1014]	<400> 80
[1015]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
[1016]	1 5 10
[1017]	<210> 81
[1018]	<211> 11
[1019]	<212> PRT
[1020]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1021]	<220>
[1022]	<223> 合成构建体
[1023]	<400> 81
[1024]	Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
[1025]	1 5 10
[1026]	<210> 82
[1027]	<211> 11
[1028]	<212> PRT
[1029]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1030]	<220>
[1031]	<223> 合成构建体
[1032]	<400> 82
[1033]	Trp Gly Gln Gly Thr Ala Leu Thr Val Ser Ser
[1034]	1 5 10
[1035]	<210> 83
[1036]	<211> 11
[1037]	<212> PRT
[1038]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1039]	<220>
[1040]	<223> 合成构建体
[1041]	<400> 83
[1042]	Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Ala Val Ser Ser
[1043]	1 5 10
[1044]	<210> 84
[1045]	<211> 11
[1046]	<212> PRT
[1047]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1048]	<220>
[1049]	<223> 合成构建体
[1050]	<400> 84
[1051]	Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
[1052]	1 5 10

[1053]	<210>	85
[1054]	<211>	11
[1055]	<212>	PRT
[1056]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1057]	<220>	
[1058]	<223>	合成构建体
[1059]	<400>	85
[1060]	Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser	
[1061]	1                    5                    10	
[1062]	<210>	86
[1063]	<211>	11
[1064]	<212>	PRT
[1065]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1066]	<220>	
[1067]	<223>	合成构建体
[1068]	<400>	86
[1069]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[1070]	1                    5                    10	
[1071]	<210>	87
[1072]	<211>	23
[1073]	<212>	PRT
[1074]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1075]	<220>	
[1076]	<223>	合成构建体
[1077]	<400>	87
[1078]	Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Val Gly	
[1079]	1                    5                    10                    15	
[1080]	Glu Lys Val Thr Met Asn Cys	
[1081]	20	
[1082]	<210>	88
[1083]	<211>	23
[1084]	<212>	PRT
[1085]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1086]	<220>	
[1087]	<223>	合成构建体
[1088]	<400>	88
[1089]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Arg Asn Phe Met Ser Thr Ser Val Gly	
[1090]	1                    5                    10                    15	
[1091]	Asp Arg Val Asn Ile Thr Cys	



[1092]	20
[1093]	<210> 89
[1094]	<211> 23
[1095]	<212> PRT
[1096]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1097]	<220>
[1098]	<223> 合成构建体
[1099]	<400> 89
[1100]	Asp Val Val Leu Thr Gln Ser Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
[1101]	1 5 10 15
[1102]	Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys
[1103]	20
[1104]	<210> 90
[1105]	<211> 23
[1106]	<212> PRT
[1107]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1108]	<220>
[1109]	<223> 合成构建体
[1110]	<400> 90
[1111]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Ala Ser Val Gly
[1112]	1 5 10 15
[1113]	Glu Lys Val Thr Met Ser Cys
[1114]	20
[1115]	<210> 91
[1116]	<211> 23
[1117]	<212> PRT
[1118]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1119]	<220>
[1120]	<223> 合成构建体
[1121]	<400> 91
[1122]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
[1123]	1 5 10 15
[1124]	Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys
[1125]	20
[1126]	<210> 92
[1127]	<211> 23
[1128]	<212> PRT
[1129]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1130]	<220>

[1131]	<223>	合成构建体
[1132]	<400>	92
[1133]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[1134]	1	5 10 15
[1135]	Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys	
[1136]	20	
[1137]	<210>	93
[1138]	<211>	23
[1139]	<212>	PRT
[1140]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1141]	<220>	
[1142]	<223>	合成构建体
[1143]	<400>	93
[1144]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly	
[1145]	1	5 10 15
[1146]	Glu Lys Val Thr Leu Ser Cys	
[1147]	20	
[1148]	<210>	94
[1149]	<211>	23
[1150]	<212>	PRT
[1151]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1152]	<220>	
[1153]	<223>	合成构建体
[1154]	<400>	94
[1155]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ala His Lys Val Met Ser Thr Ser Val Gly	
[1156]	1	5 10 15
[1157]	Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys	
[1158]	20	
[1159]	<210>	95
[1160]	<211>	23
[1161]	<212>	PRT
[1162]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1163]	<220>	
[1164]	<223>	合成构建体
[1165]	<400>	95
[1166]	Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly	
[1167]	1	5 10 15
[1168]	Glu Lys Val Thr Met Thr Cys	
[1169]	20	

[1170]	<210>	96
[1171]	<211>	23
[1172]	<212>	PRT
[1173]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1174]	<220>	
[1175]	<223>	合成构建体
[1176]	<400>	96
[1177]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly	
[1178]	1                    5                        10                        15	
[1179]	Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys	
[1180]	20	
[1181]	<210>	97
[1182]	<211>	23
[1183]	<212>	PRT
[1184]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1185]	<220>	
[1186]	<223>	合成构建体
[1187]	<400>	97
[1188]	Asp Val Gln Met Asn Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[1189]	1                    5                        10                        15	
[1190]	Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys	
[1191]	20	
[1192]	<210>	98
[1193]	<211>	23
[1194]	<212>	PRT
[1195]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1196]	<220>	
[1197]	<223>	合成构建体
[1198]	<400>	98
[1199]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly	
[1200]	1                    5                        10                        15	
[1201]	Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys	
[1202]	20	
[1203]	<210>	99
[1204]	<211>	23
[1205]	<212>	PRT
[1206]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1207]	<220>	
[1208]	<223>	合成构建体

[1209]	<400> 99
[1210]	Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
[1211]	1 5 10 15
[1212]	Glu Arg Val Thr Met Asn Cys
[1213]	20
[1214]	<210> 100
[1215]	<211> 23
[1216]	<212> PRT
[1217]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1218]	<220>
[1219]	<223> 合成构建体
[1220]	<400> 100
[1221]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[1222]	1 5 10 15
[1223]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
[1224]	20
[1225]	<210> 101
[1226]	<211> 23
[1227]	<212> PRT
[1228]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1229]	<220>
[1230]	<223> 合成构建体
[1231]	<400> 101
[1232]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
[1233]	1 5 10 15
[1234]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
[1235]	20
[1236]	<210> 102
[1237]	<211> 23
[1238]	<212> PRT
[1239]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1240]	<220>
[1241]	<223> 合成构建体
[1242]	<400> 102
[1243]	Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[1244]	1 5 10 15
[1245]	Asp Arg Val Thr Met Thr Cys
[1246]	20
[1247]	<210> 103

[1248]	<211>	17
[1249]	<212>	PRT
[1250]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1251]	<220>	
[1252]	<223>	合成构建体
[1253]	<400>	103
[1254]	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Thr Asn Gln Met Thr Phe Leu	
[1255]	1	5 10 15
[1256]	Ala	
[1257]	<210>	104
[1258]	<211>	11
[1259]	<212>	PRT
[1260]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1261]	<220>	
[1262]	<223>	合成构建体
[1263]	<400>	104
[1264]	Lys Ala Thr Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Ala	
[1265]	1	5 10
[1266]	<210>	105
[1267]	<211>	11
[1268]	<212>	PRT
[1269]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1270]	<220>	
[1271]	<223>	合成构建体
[1272]	<400>	105
[1273]	Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn	
[1274]	1	5 10
[1275]	<210>	106
[1276]	<211>	17
[1277]	<212>	PRT
[1278]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1279]	<220>	
[1280]	<223>	合成构建体
[1281]	<400>	106
[1282]	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Thr Asn Gln Met Thr Tyr Leu	
[1283]	1	5 10 15
[1284]	Ala	
[1285]	<210>	107
[1286]	<211>	11

[1287]	<212>	PRT
[1288]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1289]	<220>	
[1290]	<223>	合成构建体
[1291]	<400>	107
[1292]	Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr Leu Ser	
[1293]	1	5 10
[1294]	<210>	108
[1295]	<211>	11
[1296]	<212>	PRT
[1297]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1298]	<220>	
[1299]	<223>	合成构建体
[1300]	<400>	108
[1301]	Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala	
[1302]	1	5 10
[1303]	<210>	109
[1304]	<211>	17
[1305]	<212>	PRT
[1306]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1307]	<220>	
[1308]	<223>	合成构建体
[1309]	<400>	109
[1310]	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Thr Asn Gln Met Asn Phe Leu	
[1311]	1	5 10 15
[1312]	Ala	
[1313]	<210>	110
[1314]	<211>	11
[1315]	<212>	PRT
[1316]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1317]	<220>	
[1318]	<223>	合成构建体
[1319]	<400>	110
[1320]	Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala	
[1321]	1	5 10
[1322]	<210>	111
[1323]	<211>	12
[1324]	<212>	PRT
[1325]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)

[1326]	<220>		
[1327]	<223>	合成构建体	
[1328]	<400>	111	
[1329]	Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Phe Leu His		
[1330]	1	5	10
[1331]	<210>	112	
[1332]	<211>	11	
[1333]	<212>	PRT	
[1334]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[1335]	<220>		
[1336]	<223>	合成构建体	
[1337]	<400>	112	
[1338]	Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Ser Leu Asn		
[1339]	1	5	10
[1340]	<210>	113	
[1341]	<211>	11	
[1342]	<212>	PRT	
[1343]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[1344]	<220>		
[1345]	<223>	合成构建体	
[1346]	<400>	113	
[1347]	Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Asn Tyr Leu Ala		
[1348]	1	5	10
[1349]	<210>	114	
[1350]	<211>	17	
[1351]	<212>	PRT	
[1352]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[1353]	<220>		
[1354]	<223>	合成构建体	
[1355]	<400>	114	
[1356]	Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu		
[1357]	1	5	10 15
[1358]	Ala		
[1359]	<210>	115	
[1360]	<211>	11	
[1361]	<212>	PRT	
[1362]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[1363]	<220>		
[1364]	<223>	合成构建体	

[1365]	<400> 115
[1366]	Arg Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Ala
[1367]	1 5 10
[1368]	<210> 116
[1369]	<211> 15
[1370]	<212> PRT
[1371]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1372]	<220>
[1373]	<223> 合成构建体
[1374]	<400> 116
[1375]	Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
[1376]	1 5 10 15
[1377]	<210> 117
[1378]	<211> 15
[1379]	<212> PRT
[1380]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1381]	<220>
[1382]	<223> 合成构建体
[1383]	<400> 117
[1384]	Trp Tyr Gln Val Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
[1385]	1 5 10 15
[1386]	<210> 118
[1387]	<211> 15
[1388]	<212> PRT
[1389]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1390]	<220>
[1391]	<223> 合成构建体
[1392]	<400> 118
[1393]	Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
[1394]	1 5 10 15
[1395]	<210> 119
[1396]	<211> 15
[1397]	<212> PRT
[1398]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1399]	<220>
[1400]	<223> 合成构建体
[1401]	<400> 119
[1402]	Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Phe
[1403]	1 5 10 15



[1404]	<210>	120
[1405]	<211>	15
[1406]	<212>	PRT
[1407]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1408]	<220>	
[1409]	<223>	合成构建体
[1410]	<400>	120
[1411]		Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile Tyr
[1412]		1                    5                    10                    15
[1413]	<210>	121
[1414]	<211>	15
[1415]	<212>	PRT
[1416]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1417]	<220>	
[1418]	<223>	合成构建体
[1419]	<400>	121
[1420]		Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr
[1421]		1                    5                    10                    15
[1422]	<210>	122
[1423]	<211>	15
[1424]	<212>	PRT
[1425]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1426]	<220>	
[1427]	<223>	合成构建体
[1428]	<400>	122
[1429]		Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Ala Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
[1430]		1                    5                    10                    15
[1431]	<210>	123
[1432]	<211>	15
[1433]	<212>	PRT
[1434]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1435]	<220>	
[1436]	<223>	合成构建体
[1437]	<400>	123
[1438]		Trp Leu Gln Gln Glu Pro Asp Gly Thr Ile Lys Arg Leu Ile Ser
[1439]		1                    5                    10                    15
[1440]	<210>	124
[1441]	<211>	15
[1442]	<212>	PRT

[1443]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																								
[1444]	<220>																									
[1445]	<223>	合成构建体																								
[1446]	<400>	124																								
[1447]		Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr										
[1448]		1				5				10					15											
[1449]	<210>	125																								
[1450]	<211>	15																								
[1451]	<212>	PRT																								
[1452]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																								
[1453]	<220>																									
[1454]	<223>	合成构建体																								
[1455]	<400>	125																								
[1456]		Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr										
[1457]		1				5				10					15											
[1458]	<210>	126																								
[1459]	<211>	15																								
[1460]	<212>	PRT																								
[1461]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																								
[1462]	<220>																									
[1463]	<223>	合成构建体																								
[1464]	<400>	126																								
[1465]		Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Trp	Ile	Tyr										
[1466]		1				5				10					15											
[1467]	<210>	127																								
[1468]	<211>	7																								
[1469]	<212>	PRT																								
[1470]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																								
[1471]	<220>																									
[1472]	<223>	合成构建体																								
[1473]	<400>	127																								
[1474]		Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu	Ser																		
[1475]		1				5																				
[1476]	<210>	128																								
[1477]	<211>	7																								
[1478]	<212>	PRT																								
[1479]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																								
[1480]	<220>																									
[1481]	<223>	合成构建体																								

[1482]	<400> 128
[1483]	Trp Thr Ser Thr Arg His Thr
[1484]	1 5
[1485]	<210> 129
[1486]	<211> 7
[1487]	<212> PRT
[1488]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1489]	<220>
[1490]	<223> 合成构建体
[1491]	<400> 129
[1492]	Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
[1493]	1 5
[1494]	<210> 130
[1495]	<211> 7
[1496]	<212> PRT
[1497]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1498]	<220>
[1499]	<223> 合成构建体
[1500]	<400> 130
[1501]	Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp
[1502]	1 5
[1503]	<210> 131
[1504]	<211> 7
[1505]	<212> PRT
[1506]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1507]	<220>
[1508]	<223> 合成构建体
[1509]	<400> 131
[1510]	Asn Thr Lys Thr Leu Val Glu
[1511]	1 5
[1512]	<210> 132
[1513]	<211> 7
[1514]	<212> PRT
[1515]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1516]	<220>
[1517]	<223> 合成构建体
[1518]	<400> 132
[1519]	Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
[1520]	1 5

[1521]	<210>	133
[1522]	<211>	7
[1523]	<212>	PRT
[1524]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1525]	<220>	
[1526]	<223>	合成构建体
[1527]	<400>	133
[1528]	Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser	
[1529]	1	5
[1530]	<210>	134
[1531]	<211>	7
[1532]	<212>	PRT
[1533]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1534]	<220>	
[1535]	<223>	合成构建体
[1536]	<400>	134
[1537]	Ala Thr Ser Ser Leu Asp Ser	
[1538]	1	5
[1539]	<210>	135
[1540]	<211>	7
[1541]	<212>	PRT
[1542]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1543]	<220>	
[1544]	<223>	合成构建体
[1545]	<400>	135
[1546]	Asn Ala Lys Thr Leu Thr Asp	
[1547]	1	5
[1548]	<210>	136
[1549]	<211>	32
[1550]	<212>	PRT
[1551]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1552]	<220>	
[1553]	<223>	合成构建体
[1554]	<400>	136
[1555]	Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr	
[1556]	1	5 10 15
[1557]	Leu Thr Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys	
[1558]	20	25 30
[1559]	<210>	137

[1560]	<211>	32
[1561]	<212>	PRT
[1562]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1563]	<220>	
[1564]	<223>	合成构建体
[1565]	<400>	137
[1566]	Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr	
[1567]	1	5 10 15
[1568]	Leu Thr Ile Lys Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys	
[1569]	20	25 30
[1570]	<210>	138
[1571]	<211>	32
[1572]	<212>	PRT
[1573]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1574]	<220>	
[1575]	<223>	合成构建体
[1576]	<400>	138
[1577]	Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser	
[1578]	1	5 10 15
[1579]	Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys	
[1580]	20	25 30
[1581]	<210>	139
[1582]	<211>	32
[1583]	<212>	PRT
[1584]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1585]	<220>	
[1586]	<223>	合成构建体
[1587]	<400>	139
[1588]	Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr	
[1589]	1	5 10 15
[1590]	Leu Thr Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1591]	20	25 30
[1592]	<210>	140
[1593]	<211>	32
[1594]	<212>	PRT
[1595]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1596]	<220>	
[1597]	<223>	合成构建体
[1598]	<400>	140

[1599]	Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser
[1600]	1 5 10 15
[1601]	Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys
[1602]	20 25 30
[1603]	<210> 141
[1604]	<211> 32
[1605]	<212> PRT
[1606]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1607]	<220>
[1608]	<223> 合成构建体
[1609]	<400> 141
[1610]	Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Gln Phe Ser
[1611]	1 5 10 15
[1612]	Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys
[1613]	20 25 30
[1614]	<210> 142
[1615]	<211> 32
[1616]	<212> PRT
[1617]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1618]	<220>
[1619]	<223> 合成构建体
[1620]	<400> 142
[1621]	Gly Val Pro Asp Arg Phe Ala Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
[1622]	1 5 10 15
[1623]	Leu Thr Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
[1624]	20 25 30
[1625]	<210> 143
[1626]	<211> 32
[1627]	<212> PRT
[1628]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1629]	<220>
[1630]	<223> 合成构建体
[1631]	<400> 143
[1632]	Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
[1633]	1 5 10 15
[1634]	Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
[1635]	20 25 30
[1636]	<210> 144
[1637]	<211> 32

[1638]	<212>	PRT
[1639]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1640]	<220>	
[1641]	<223>	合成构建体
[1642]	<400>	144
[1643]	Gly Val Pro Thr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser	
[1644]	1 5 10 15	
[1645]	Leu Ser Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys	
[1646]	20 25 30	
[1647]	<210>	145
[1648]	<211>	32
[1649]	<212>	PRT
[1650]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1651]	<220>	
[1652]	<223>	合成构建体
[1653]	<400>	145
[1654]	Gly Val Pro Lys Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Ser	
[1655]	1 5 10 15	
[1656]	Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser Glu Asp Phe Val Asp Tyr Tyr Cys	
[1657]	20 25 30	
[1658]	<210>	146
[1659]	<211>	32
[1660]	<212>	PRT
[1661]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1662]	<220>	
[1663]	<223>	合成构建体
[1664]	<400>	146
[1665]	Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser	
[1666]	1 5 10 15	
[1667]	Leu Lys Ile Asn Thr Leu Gln Pro Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys	
[1668]	20 25 30	
[1669]	<210>	147
[1670]	<211>	32
[1671]	<212>	PRT
[1672]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1673]	<220>	
[1674]	<223>	合成构建体
[1675]	<400>	147
[1676]	Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr	

[1677]	1	5	10	15
[1678]	Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys			
[1679]	20	25	30	
[1680]	<210> 148			
[1681]	<211> 32			
[1682]	<212> PRT			
[1683]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[1684]	<220>			
[1685]	<223> 合成构建体			
[1686]	<400> 148			
[1687]	Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr			
[1688]	1	5	10	15
[1689]	Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys			
[1690]	20	25	30	
[1691]	<210> 149			
[1692]	<211> 32			
[1693]	<212> PRT			
[1694]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[1695]	<220>			
[1696]	<223> 合成构建体			
[1697]	<400> 149			
[1698]	Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr			
[1699]	1	5	10	15
[1700]	Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys			
[1701]	20	25	30	
[1702]	<210> 150			
[1703]	<211> 32			
[1704]	<212> PRT			
[1705]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[1706]	<220>			
[1707]	<223> 合成构建体			
[1708]	<400> 150			
[1709]	Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr			
[1710]	1	5	10	15
[1711]	Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Tyr Cys			
[1712]	20	25	30	
[1713]	<210> 151			
[1714]	<211> 32			
[1715]	<212> PRT			



[1716]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																						
[1717]	<220>																							
[1718]	<223>	合成构建体																						
[1719]	<400>	151																						
[1720]		Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr							
[1721]		1				5					10					15								
[1722]		Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys							
[1723]					20					25					30									
[1724]	<210>	152																						
[1725]	<211>	32																						
[1726]	<212>	PRT																						
[1727]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																						
[1728]	<220>																							
[1729]	<223>	合成构建体																						
[1730]	<400>	152																						
[1731]		Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr							
[1732]		1				5					10					15								
[1733]		Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys							
[1734]					20					25					30									
[1735]	<210>	153																						
[1736]	<211>	9																						
[1737]	<212>	PRT																						
[1738]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																						
[1739]	<220>																							
[1740]	<223>	合成构建体																						
[1741]	<400>	153																						
[1742]		Gln	Gln	Phe	Tyr	Thr	Tyr	Pro	Phe	Thr														
[1743]		1				5																		
[1744]	<210>	154																						
[1745]	<211>	9																						
[1746]	<212>	PRT																						
[1747]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																						
[1748]	<220>																							
[1749]	<223>	合成构建体																						
[1750]	<400>	154																						
[1751]		Gln	Gln	Tyr	Arg	Ser	Tyr	Pro	Phe	Thr														
[1752]		1				5																		
[1753]	<210>	155																						
[1754]	<211>	9																						

[1755] <212> PRT  
[1756] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
[1757] <220>  
[1758] <223> 合成构建体  
[1759] <400> 155  
[1760] Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr  
[1761] 1 5  
[1762] <210> 156  
[1763] <211> 9  
[1764] <212> PRT  
[1765] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
[1766] <220>  
[1767] <223> 合成构建体  
[1768] <400> 156  
[1769] His Gln Phe Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr  
[1770] 1 5  
[1771] <210> 157  
[1772] <211> 8  
[1773] <212> PRT  
[1774] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
[1775] <220>  
[1776] <223> 合成构建体  
[1777] <400> 157  
[1778] Leu Gln Tyr Asp Glu Leu Tyr Thr  
[1779] 1 5  
[1780] <210> 158  
[1781] <211> 9  
[1782] <212> PRT  
[1783] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
[1784] <220>  
[1785] <223> 合成构建体  
[1786] <400> 158  
[1787] Gln His His Tyr Gly Pro Pro Pro Thr  
[1788] 1 5  
[1789] <210> 159  
[1790] <211> 9  
[1791] <212> PRT  
[1792] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
[1793] <220>

[1794]	<223> 合成构建体
[1795]	<400> 159
[1796]	Gln Gln Phe Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr
[1797]	1 5
[1798]	<210> 160
[1799]	<211> 9
[1800]	<212> PRT
[1801]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1802]	<220>
[1803]	<223> 合成构建体
[1804]	<400> 160
[1805]	Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Pro Thr
[1806]	1 5
[1807]	<210> 161
[1808]	<211> 9
[1809]	<212> PRT
[1810]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1811]	<220>
[1812]	<223> 合成构建体
[1813]	<400> 161
[1814]	Gln Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro Leu Thr
[1815]	1 5
[1816]	<210> 162
[1817]	<211> 9
[1818]	<212> PRT
[1819]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1820]	<220>
[1821]	<223> 合成构建体
[1822]	<400> 162
[1823]	Leu Gln Tyr Ala Ser Ser Pro Leu Thr
[1824]	1 5
[1825]	<210> 163
[1826]	<211> 9
[1827]	<212> PRT
[1828]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1829]	<220>
[1830]	<223> 合成构建体
[1831]	<400> 163
[1832]	Gln His Phe Trp Ser Thr Pro Tyr Thr

[1833]	1	5
[1834]	<210> 164	
[1835]	<211> 10	
[1836]	<212> PRT	
[1837]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
[1838]	<220>	
[1839]	<223> 合成构建体	
[1840]	<400> 164	
[1841]	Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Arg	
[1842]	1	5 10
[1843]	<210> 165	
[1844]	<211> 10	
[1845]	<212> PRT	
[1846]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
[1847]	<220>	
[1848]	<223> 合成构建体	
[1849]	<400> 165	
[1850]	Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
[1851]	1	5 10
[1852]	<210> 166	
[1853]	<211> 10	
[1854]	<212> PRT	
[1855]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
[1856]	<220>	
[1857]	<223> 合成构建体	
[1858]	<400> 166	
[1859]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
[1860]	1	5 10
[1861]	<210> 167	
[1862]	<211> 10	
[1863]	<212> PRT	
[1864]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
[1865]	<220>	
[1866]	<223> 合成构建体	
[1867]	<400> 167	
[1868]	Phe Gly Ser Gly Thr Arg Trp Glu Ile Lys	
[1869]	1	5 10
[1870]	<210> 168	
[1871]	<211> 10	

[1872]	<212>	PRT
[1873]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1874]	<220>	
[1875]	<223>	合成构建体
[1876]	<400>	168
[1877]	Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys	
[1878]	1	5 10
[1879]	<210>	169
[1880]	<211>	10
[1881]	<212>	PRT
[1882]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1883]	<220>	
[1884]	<223>	合成构建体
[1885]	<400>	169
[1886]	Phe Gly Ser Gly Thr Glu Leu Glu Ile Lys	
[1887]	1	5 10
[1888]	<210>	170
[1889]	<211>	10
[1890]	<212>	PRT
[1891]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1892]	<220>	
[1893]	<223>	合成构建体
[1894]	<400>	170
[1895]	Phe Gly Gly Gly Thr Arg Arg Glu Ile Lys	
[1896]	1	5 10
[1897]	<210>	171
[1898]	<211>	10
[1899]	<212>	PRT
[1900]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1901]	<220>	
[1902]	<223>	合成构建体
[1903]	<400>	171
[1904]	Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys	
[1905]	1	5 10
[1906]	<210>	172
[1907]	<211>	10
[1908]	<212>	PRT
[1909]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1910]	<220>	

[1911]	<223>	合成构建体
[1912]	<400>	172
[1913]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys	
[1914]	1	5 10
[1915]	<210>	173
[1916]	<211>	10
[1917]	<212>	PRT
[1918]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1919]	<220>	
[1920]	<223>	合成构建体
[1921]	<400>	173
[1922]	Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
[1923]	1	5 10
[1924]	<210>	174
[1925]	<211>	122
[1926]	<212>	PRT
[1927]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1928]	<220>	
[1929]	<223>	合成构建体
[1930]	<400>	174
[1931]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala	
[1932]	1	5 10 15
[1933]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Leu Thr Asp Tyr	
[1934]	20	25 30
[1935]	Asn Met Tyr Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile	
[1936]	35	40 45
[1937]	Gly Tyr Ile Asp Ser Tyr Asn Gly Gly Thr Arg Tyr Asn Gln Lys Phe	
[1938]	50	55 60
[1939]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Phe	
[1940]	65	70 75 80
[1941]	Met His Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1942]	85	90 95
[1943]	Ala Arg Glu Gly Phe Gly Tyr Asp Asp Arg Glu Trp Phe Ala Tyr Trp	
[1944]	100	105 110
[1945]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala	
[1946]	115	120
[1947]	<210>	175
[1948]	<211>	122
[1949]	<212>	PRT

[1950]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[1951]	<220>															
[1952]	<223> 合成构建体															
[1953]	<400> 175															
[1954]	Gln	Ala	Tyr	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Thr
[1955]	1				5					10					15	
[1956]	Ser	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asn	Tyr
[1957]				20					25					30		
[1958]	Trp	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[1959]			35					40					45			
[1960]	Gly	Glu	Ile	Asp	Pro	Ser	Asp	Gly	Tyr	Val	Thr	Tyr	Asn	Gln	Asn	Phe
[1961]		50					55					60				
[1962]	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Arg	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr
[1963]	65					70				75					80	
[1964]	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[1965]				85					90					95		
[1966]	Ala	Gly	Val	Tyr	Tyr	Gly	Asn	Ser	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp
[1967]				100					105					110		
[1968]	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser						
[1969]			115					120								
[1970]	<210> 176															
[1971]	<211> 120															
[1972]	<212> PRT															
[1973]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[1974]	<220>															
[1975]	<223> 合成构建体															
[1976]	<400> 176															
[1977]	Gln	Ala	Tyr	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Val	Leu	Ala	Arg	Pro	Gly	Ala
[1978]	1				5					10					15	
[1979]	Ser	Val	Arg	Met	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Ser	Tyr
[1980]				20					25					30		
[1981]	Tyr	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
[1982]			35					40					45			
[1983]	Gly	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Ser	Asp	Thr	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
[1984]		50					55					60				
[1985]	Lys	Gly	Lys	Ala	Lys	Leu	Thr	Ala	Val	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr
[1986]	65					70				75					80	
[1987]	Met	Glu	Val	Ser	Ser	Leu	Thr	Asn	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[1988]				85					90					95		

[1989]	Thr Pro Leu Val Arg Pro Arg Pro Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[1990]	100 105 110
[1991]	Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
[1992]	115 120
[1993]	<210> 177
[1994]	<211> 122
[1995]	<212> PRT
[1996]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1997]	<220>
[1998]	<223> 合成构建体
[1999]	<400> 177
[2000]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
[2001]	1 5 10 15
[2002]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
[2003]	20 25 30
[2004]	Asn Ile Tyr Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
[2005]	35 40 45
[2006]	Gly Tyr Phe Asp Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Arg Phe
[2007]	50 55 60
[2008]	Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Phe
[2009]	65 70 75 80
[2010]	Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
[2011]	85 90 95
[2012]	Ala Arg Glu Gly Tyr Gly Tyr Asp Asp Arg Glu Trp Phe Ala Tyr Trp
[2013]	100 105 110
[2014]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
[2015]	115 120
[2016]	<210> 178
[2017]	<211> 116
[2018]	<212> PRT
[2019]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2020]	<220>
[2021]	<223> 合成构建体
[2022]	<400> 178
[2023]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
[2024]	1 5 10 15
[2025]	Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
[2026]	20 25 30
[2027]	Trp Leu His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile



[2028]	35	40	45
[2029]	Gly Met Ile His Pro Asn Ser Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Glu Arg Phe		
[2030]	50	55	60
[2031]	Lys Ser Lys Ala Thr Leu Ile Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr		
[2032]	65	70	75
[2033]	Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys		
[2034]	85	90	95
[2035]	Ala Lys Thr Phe Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ala Leu		
[2036]	100	105	110
[2037]	Thr Val Ser Ser		
[2038]	115		
[2039]	<210> 179		
[2040]	<211> 124		
[2041]	<212> PRT		
[2042]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2043]	<220>		
[2044]	<223> 合成构建体		
[2045]	<400> 179		
[2046]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln		
[2047]	1	5	10
[2048]	Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Val Thr Ser Tyr		
[2049]	20	25	30
[2050]	Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu		
[2051]	35	40	45
[2052]	Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Asp Leu Ile		
[2053]	50	55	60
[2054]	Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu		
[2055]	65	70	75
[2056]	Lys Leu Asn Ser Leu Gln Ile Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala		
[2057]	85	90	95
[2058]	Arg Pro Arg Ala Phe Tyr Tyr Gly Ser Arg Gly Tyr Trp Tyr Phe Asp		
[2059]	100	105	110
[2060]	Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Ala Val Ser Ser		
[2061]	115	120	
[2062]	<210> 180		
[2063]	<211> 124		
[2064]	<212> PRT		
[2065]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2066]	<220>		

[2067]	<223> 合成构建体															
[2068]	<400> 180															
[2069]	Gln	Ala	Tyr	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Gln
[2070]	1				5					10					15	
[2071]	Ser	Leu	Ser	Ile	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Leu	Ser	Leu	Thr	Ser	Tyr
[2072]					20					25					30	
[2073]	Gly	Val	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Leu
[2074]					35					40					45	
[2075]	Gly	Val	Ile	Trp	Gly	Asp	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	His	Ser	Ala	Leu	Ile
[2076]					50					55					60	
[2077]	Ser	Arg	Leu	Ser	Ile	Ser	Lys	Asp	Asn	Ser	Lys	Ser	Gln	Val	Phe	Leu
[2078]	65									70					75	80
[2079]	Lys	Leu	Asn	Ser	Leu	Gln	Thr	Asp	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Ala
[2080]																
[2081]	Lys	Pro	Gly	Ala	Phe	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Arg	Tyr	Tyr	Trp	Tyr	Phe	Asp
[2082]																
[2083]	Val	Trp	Gly	Thr	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser				
[2084]																
[2085]	<210> 181															
[2086]	<211> 125															
[2087]	<212> PRT															
[2088]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[2089]	<220>															
[2090]	<223> 合成构建体															
[2091]	<400> 181															
[2092]	Gln	Ala	Tyr	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gln
[2093]	1				5					10					15	
[2094]	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr
[2095]																
[2096]	Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Thr	Pro	Asp	Lys	Arg	Leu	Glu	Leu	Val
[2097]																
[2098]	Ala	Thr	Ile	Asn	Ser	Asn	Gly	Asp	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val
[2099]																
[2100]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Asn	Asn	Thr	Leu	Tyr
[2101]	65															
[2102]	Leu	Gln	Met	Ser	Ser	Leu	Lys	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Phe	Cys
[2103]																
[2104]	Ala	Arg	Ala	Trp	Pro	Ser	Ile	Thr	Thr	Val	Phe	Ala	Pro	Tyr	Thr	Leu
[2105]																

[2106]	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
[2107]	115 120 125
[2108]	<210> 182
[2109]	<211> 116
[2110]	<212> PRT
[2111]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2112]	<220>
[2113]	<223> 合成构建体
[2114]	<400> 182
[2115]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
[2116]	1 5 10 15
[2117]	Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
[2118]	20 25 30
[2119]	Thr Met Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[2120]	35 40 45
[2121]	Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Thr Glu Tyr Asn Gln Lys Phe
[2122]	50 55 60
[2123]	Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
[2124]	65 70 75 80
[2125]	Met Gln Leu Ile Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
[2126]	85 90 95
[2127]	Ala Arg Ser Asp Ser Lys Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
[2128]	100 105 110
[2129]	Thr Val Ser Ser
[2130]	115
[2131]	<210> 183
[2132]	<211> 121
[2133]	<212> PRT
[2134]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2135]	<220>
[2136]	<223> 合成构建体
[2137]	<400> 183
[2138]	Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
[2139]	1 5 10 15
[2140]	Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Glu Tyr
[2141]	20 25 30
[2142]	Thr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Ser Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[2143]	35 40 45
[2144]	Gly Trp Phe Tyr Pro Gly Ser Gly Ser Ile Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

[2145]	50	55	60
[2146]	Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr		
[2147]	65	70	75
[2148]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys		
[2149]	85	90	95
[2150]	Ala Thr His Glu Arg Ala Ala Gln Ala Ala Trp Ser Ala Tyr Trp Gly		
[2151]	100	105	110
[2152]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala		
[2153]	115	120	
[2154]	<210> 184		
[2155]	<211> 122		
[2156]	<212> PRT		
[2157]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2158]	<220>		
[2159]	<223> 合成构建体		
[2160]	<400> 184		
[2161]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser		
[2162]	1	5	10
[2163]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Leu Thr Asp Tyr		
[2164]	20	25	30
[2165]	Asn Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
[2166]	35	40	45
[2167]	Gly Tyr Ile Asp Ser Tyr Asn Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe		
[2168]	50	55	60
[2169]	Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
[2170]	65	70	75
[2171]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[2172]	85	90	95
[2173]	Ala Arg Glu Gly Phe Gly Tyr Asp Asp Arg Glu Trp Phe Ala Tyr Trp		
[2174]	100	105	110
[2175]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[2176]	115	120	
[2177]	<210> 185		
[2178]	<211> 122		
[2179]	<212> PRT		
[2180]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2181]	<220>		
[2182]	<223> 合成构建体		
[2183]	<400> 185		

[2184]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
[2185]	1 5 10 15
[2186]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Leu Thr Asp Tyr
[2187]	20 25 30
[2188]	Asn Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[2189]	35 40 45
[2190]	Gly Tyr Ile Asp Ser Tyr Asn Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe
[2191]	50 55 60
[2192]	Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[2193]	65 70 75 80
[2194]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2195]	85 90 95
[2196]	Ala Arg Glu Gly Phe Gly Tyr Asp Asp Arg Glu Trp Phe Ala Tyr Trp
[2197]	100 105 110
[2198]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2199]	115 120
[2200]	<210> 186
[2201]	<211> 122
[2202]	<212> PRT
[2203]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2204]	<220>
[2205]	<223> 合成构建体
[2206]	<400> 186
[2207]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
[2208]	1 5 10 15
[2209]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Leu Thr Asp Tyr
[2210]	20 25 30
[2211]	Asn Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[2212]	35 40 45
[2213]	Gly Tyr Ile Asp Ser Tyr Asn Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe
[2214]	50 55 60
[2215]	Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[2216]	65 70 75 80
[2217]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2218]	85 90 95
[2219]	Ala Arg Glu Gly Phe Gly Tyr Asp Asp Arg Glu Trp Phe Ala Tyr Trp
[2220]	100 105 110
[2221]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2222]	115 120

[2223]	<210>	187
[2224]	<211>	122
[2225]	<212>	PRT
[2226]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2227]	<220>	
[2228]	<223>	合成构建体
[2229]	<400>	187
[2230]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser	
[2231]	1	5 10 15
[2232]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr	
[2233]	20 25 30	
[2234]	Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[2235]	35 40 45	
[2236]	Gly Glu Ile Asp Pro Ser Asp Gly Tyr Val Thr Tyr Ala Gln Lys Phe	
[2237]	50 55 60	
[2238]	Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr	
[2239]	65 70 75 80	
[2240]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[2241]	85 90 95	
[2242]	Ala Arg Val Tyr Tyr Gly Asn Ser Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp	
[2243]	100 105 110	
[2244]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[2245]	115 120	
[2246]	<210>	188
[2247]	<211>	122
[2248]	<212>	PRT
[2249]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2250]	<220>	
[2251]	<223>	合成构建体
[2252]	<400>	188
[2253]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser	
[2254]	1	5 10 15
[2255]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr	
[2256]	20 25 30	
[2257]	Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[2258]	35 40 45	
[2259]	Gly Glu Ile Asp Pro Ser Asp Gly Tyr Val Thr Tyr Ala Gln Lys Phe	
[2260]	50 55 60	
[2261]	Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr	

[2262]	65	70	75	80
[2263]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[2264]	85	90	95	
[2265]	Ala Gly Val Tyr Tyr Gly Asn Ser Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp			
[2266]	100	105	110	
[2267]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[2268]	115	120		
[2269]	<210> 189			
[2270]	<211> 122			
[2271]	<212> PRT			
[2272]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[2273]	<220>			
[2274]	<223> 合成构建体			
[2275]	<400> 189			
[2276]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser			
[2277]	1	5	10	15
[2278]	Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr			
[2279]	20	25	30	
[2280]	Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val			
[2281]	35	40	45	
[2282]	Gly Glu Ile Asp Pro Ser Asp Gly Tyr Val Thr Tyr Ala Gln Lys Phe			
[2283]	50	55	60	
[2284]	Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr			
[2285]	65	70	75	80
[2286]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[2287]	85	90	95	
[2288]	Ala Gly Val Tyr Tyr Gly Asn Ser Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp			
[2289]	100	105	110	
[2290]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[2291]	115	120		
[2292]	<210> 190			
[2293]	<211> 122			
[2294]	<212> PRT			
[2295]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[2296]	<220>			
[2297]	<223> 合成构建体			
[2298]	<400> 190			
[2299]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser			
[2300]	1	5	10	15

[2301]	Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
[2302]	20 25 30
[2303]	Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
[2304]	35 40 45
[2305]	Gly Glu Ile Asp Pro Ser Asp Gly Tyr Val Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
[2306]	50 55 60
[2307]	Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[2308]	65 70 75 80
[2309]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2310]	85 90 95
[2311]	Ala Gly Val Tyr Tyr Gly Asn Ser Ile Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
[2312]	100 105 110
[2313]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2314]	115 120
[2315]	<210> 191
[2316]	<211> 125
[2317]	<212> PRT
[2318]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2319]	<220>
[2320]	<223> 合成构建体
[2321]	<400> 191
[2322]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2323]	1 5 10 15
[2324]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
[2325]	20 25 30
[2326]	Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[2327]	35 40 45
[2328]	Ser Thr Ile Asn Ser Asn Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[2329]	50 55 60
[2330]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[2331]	65 70 75 80
[2332]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2333]	85 90 95
[2334]	Ala Lys Ala Trp Pro Ser Ile Thr Thr Val Phe Ala Pro Tyr Thr Leu
[2335]	100 105 110
[2336]	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2337]	115 120 125
[2338]	<210> 192
[2339]	<211> 125



[2340]	<212>	PRT
[2341]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2342]	<220>	
[2343]	<223>	合成构建体
[2344]	<400>	192
[2345]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[2346]	1 5 10 15	
[2347]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr	
[2348]	20 25 30	
[2349]	Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val	
[2350]	35 40 45	
[2351]	Ala Thr Ile Asn Ser Asn Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	
[2352]	50 55 60	
[2353]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	
[2354]	65 70 75 80	
[2355]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[2356]	85 90 95	
[2357]	Ala Arg Ala Trp Pro Ser Ile Thr Thr Val Phe Ala Pro Tyr Thr Leu	
[2358]	100 105 110	
[2359]	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[2360]	115 120 125	
[2361]	<210>	193
[2362]	<211>	125
[2363]	<212>	PRT
[2364]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2365]	<220>	
[2366]	<223>	合成构建体
[2367]	<400>	193
[2368]	Glu Val Gln Leu Leu Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[2369]	1 5 10 15	
[2370]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr	
[2371]	20 25 30	
[2372]	Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val	
[2373]	35 40 45	
[2374]	Ala Thr Ile Asn Ser Asn Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	
[2375]	50 55 60	
[2376]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	
[2377]	65 70 75 80	
[2378]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	

[2379]		85		90		95
[2380]	Ala Arg Ala Trp Pro Ser Ile Thr Thr Val Phe Ala Pro Tyr Thr Leu					
[2381]		100		105		110
[2382]	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser					
[2383]		115		120		125
[2384]	<210> 194					
[2385]	<211> 113					
[2386]	<212> PRT					
[2387]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
[2388]	<220>					
[2389]	<223> 合成构建体					
[2390]	<400> 194					
[2391]	Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Val Gly					
[2392]	1	5		10		15
[2393]	Glu Lys Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser					
[2394]		20		25		30
[2395]	Thr Asn Gln Met Thr Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln					
[2396]		35		40		45
[2397]	Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val					
[2398]		50		55		60
[2399]	Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr					
[2400]	65	70		75		80
[2401]	Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln					
[2402]		85		90		95
[2403]	Phe Tyr Thr Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile					
[2404]		100		105		110
[2405]	Arg					
[2406]	<210> 195					
[2407]	<211> 107					
[2408]	<212> PRT					
[2409]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
[2410]	<220>					
[2411]	<223> 合成构建体					
[2412]	<400> 195					
[2413]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Arg Asn Phe Met Ser Thr Ser Val Gly					
[2414]	1	5		10		15
[2415]	Asp Arg Val Asn Ile Thr Cys Lys Ala Thr Gln Asp Val Gly Thr Ala					
[2416]		20		25		30
[2417]	Val Ala Trp Tyr Gln Val Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile					

[2418]	35	40	45
[2419]	Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly		
[2420]	50	55	60
[2421]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Lys Asn Val Gln Ser		
[2422]	65	70	75
[2423]	Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Arg Ser Tyr Pro Phe		
[2424]	85	90	95
[2425]	Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
[2426]	100	105	
[2427]	<210> 196		
[2428]	<211> 107		
[2429]	<212> PRT		
[2430]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2431]	<220>		
[2432]	<223> 合成构建体		
[2433]	<400> 196		
[2434]	Asp Val Val Leu Thr Gln Ser Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly		
[2435]	1	5	10
[2436]	Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr		
[2437]	20	25	30
[2438]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile		
[2439]	35	40	45
[2440]	Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[2441]	50	55	60
[2442]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln		
[2443]	65	70	75
[2444]	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp		
[2445]	85	90	95
[2446]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
[2447]	100	105	
[2448]	<210> 197		
[2449]	<211> 113		
[2450]	<212> PRT		
[2451]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2452]	<220>		
[2453]	<223> 合成构建体		
[2454]	<400> 197		
[2455]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Ala Ser Val Gly		
[2456]	1	5	10

[2457]	Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
[2458]	20 25 30
[2459]	Thr Asn Gln Met Thr Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
[2460]	35 40 45
[2461]	Ser Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
[2462]	50 55 60
[2463]	Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
[2464]	65 70 75 80
[2465]	Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln
[2466]	85 90 95
[2467]	Phe Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Arg Trp Glu Ile
[2468]	100 105 110
[2469]	Lys
[2470]	<210> 198
[2471]	<211> 106
[2472]	<212> PRT
[2473]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2474]	<220>
[2475]	<223> 合成构建体
[2476]	<400> 198
[2477]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
[2478]	1 5 10 15
[2479]	Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
[2480]	20 25 30
[2481]	Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
[2482]	35 40 45
[2483]	Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2484]	50 55 60
[2485]	Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr
[2486]	65 70 75 80
[2487]	Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Leu Tyr Thr
[2488]	85 90 95
[2489]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[2490]	100 105
[2491]	<210> 199
[2492]	<211> 107
[2493]	<212> PRT
[2494]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2495]	<220>

[2496]	<223> 合成构建体															
[2497]	<400> 199															
[2498]	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
[2499]	1				5					10					15	
[2500]	Glu	Thr	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Glu	Asn	Ile	Tyr	Ser	Tyr
[2501]					20					25					30	
[2502]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Gln	Gly	Lys	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Val
[2503]					35					40					45	
[2504]	Tyr	Asn	Thr	Lys	Thr	Leu	Val	Glu	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
[2505]		50						55					60			
[2506]	Ser	Gly	Ser	Asp	Thr	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Ile	Asn	Ser	Leu	Gln	Pro
[2507]	65					70					75					80
[2508]	Glu	Asp	Phe	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	His	His	Tyr	Gly	Pro	Pro	Pro
[2509]						85					90					95
[2510]	Thr	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys					
[2511]					100						105					
[2512]	<210> 200															
[2513]	<211> 113															
[2514]	<212> PRT															
[2515]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[2516]	<220>															
[2517]	<223> 合成构建体															
[2518]	<400> 200															
[2519]	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Ser	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Val	Gly
[2520]	1				5					10					15	
[2521]	Glu	Lys	Val	Thr	Leu	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Tyr	Ser
[2522]					20					25					30	
[2523]	Thr	Asn	Gln	Met	Asn	Phe	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln
[2524]					35					40					45	
[2525]	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu	Ser	Gly	Val
[2526]		50						55					60			
[2527]	Pro	Asp	Arg	Phe	Ala	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr
[2528]	65					70					75					80
[2529]	Ile	Ser	Ser	Val	Lys	Ala	Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln
[2530]					85						90					95
[2531]	Phe	Tyr	Ser	Tyr	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Leu	Glu	Ile
[2532]					100						105				110	
[2533]	Lys															
[2534]	<210> 201															

[2535]	<211>	107
[2536]	<212>	PRT
[2537]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2538]	<220>	
[2539]	<223>	合成构建体
[2540]	<400>	201
[2541]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ala His Lys Val Met Ser Thr Ser Val Gly	
[2542]	1 5 10 15	
[2543]	Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala	
[2544]	20 25 30	
[2545]	Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile	
[2546]	35 40 45	
[2547]	Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly	
[2548]	50 55 60	
[2549]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala	
[2550]	65 70 75 80	
[2551]	Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Pro	
[2552]	85 90 95	
[2553]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Arg Glu Ile Lys	
[2554]	100 105	
[2555]	<210>	202
[2556]	<211>	108
[2557]	<212>	PRT
[2558]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2559]	<220>	
[2560]	<223>	合成构建体
[2561]	<400>	202
[2562]	Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly	
[2563]	1 5 10 15	
[2564]	Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser	
[2565]	20 25 30	
[2566]	Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Ala Ser Pro Lys Leu Trp	
[2567]	35 40 45	
[2568]	Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Thr Arg Phe Ser	
[2569]	50 55 60	
[2570]	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Ser Ile Ser Ser Val Glu	
[2571]	65 70 75 80	
[2572]	Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro	
[2573]	85 90 95	

[2574]	Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[2575]	100 105
[2576]	<210> 203
[2577]	<211> 107
[2578]	<212> PRT
[2579]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2580]	<220>
[2581]	<223> 合成构建体
[2582]	<400> 203
[2583]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
[2584]	1 5 10 15
[2585]	Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Ser
[2586]	20 25 30
[2587]	Leu Asn Trp Leu Gln Gln Glu Pro Asp Gly Thr Ile Lys Arg Leu Ile
[2588]	35 40 45
[2589]	Ser Ala Thr Ser Ser Leu Asp Ser Gly Val Pro Lys Arg Phe Ser Gly
[2590]	50 55 60
[2591]	Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser
[2592]	65 70 75 80
[2593]	Glu Asp Phe Val Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ala Ser Ser Pro Leu
[2594]	85 90 95
[2595]	Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
[2596]	100 105
[2597]	<210> 204
[2598]	<211> 107
[2599]	<212> PRT
[2600]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2601]	<220>
[2602]	<223> 合成构建体
[2603]	<400> 204
[2604]	Asp Val Gln Met Asn Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2605]	1 5 10 15
[2606]	Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Asn Tyr
[2607]	20 25 30
[2608]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
[2609]	35 40 45
[2610]	Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Thr Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2611]	50 55 60
[2612]	Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Thr Leu Gln Pro

[2613]	65	70	75	80
[2614]	Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Ser Thr Pro Tyr			
[2615]		85	90	95
[2616]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys			
[2617]		100	105	
[2618]	<210> 205			
[2619]	<211> 113			
[2620]	<212> PRT			
[2621]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[2622]	<220>			
[2623]	<223> 合成构建体			
[2624]	<400> 205			
[2625]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly			
[2626]	1	5	10	15
[2627]	Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser			
[2628]		20	25	30
[2629]	Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln			
[2630]		35	40	45
[2631]	Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val			
[2632]		50	55	60
[2633]	Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr			
[2634]	65	70	75	80
[2635]	Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln			
[2636]		85	90	95
[2637]	Phe Tyr Thr Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile			
[2638]		100	105	110
[2639]	Lys			
[2640]	<210> 206			
[2641]	<211> 113			
[2642]	<212> PRT			
[2643]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[2644]	<220>			
[2645]	<223> 合成构建体			
[2646]	<400> 206			
[2647]	Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly			
[2648]	1	5	10	15
[2649]	Glu Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser			
[2650]		20	25	30
[2651]	Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln			



[2652]	35	40	45
[2653]	Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val		
[2654]	50	55	60
[2655]	Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr		
[2656]	65	70	75
[2657]	Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln		80
[2658]	85	90	95
[2659]	Phe Tyr Thr Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile		
[2660]	100	105	110
[2661]	Lys		
[2662]	<210> 207		
[2663]	<211> 107		
[2664]	<212> PRT		
[2665]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2666]	<220>		
[2667]	<223> 合成构建体		
[2668]	<400> 207		
[2669]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[2670]	1	5	10
[2671]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala		15
[2672]	20	25	30
[2673]	Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[2674]	35	40	45
[2675]	Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[2676]	50	55	60
[2677]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[2678]	65	70	75
[2679]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Ser Tyr Pro Phe		80
[2680]	85	90	95
[2681]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
[2682]	100	105	
[2683]	<210> 208		
[2684]	<211> 107		
[2685]	<212> PRT		
[2686]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2687]	<220>		
[2688]	<223> 合成构建体		
[2689]	<400> 208		
[2690]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly		

[2691]	1	5	10	15
[2692]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala			
[2693]	20	25	30	
[2694]	Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
[2695]	35	40	45	
[2696]	Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
[2697]	50	55	60	
[2698]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Pro			
[2699]	65	70	75	80
[2700]	Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Ser Tyr Pro Phe			
[2701]	85	90	95	
[2702]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
[2703]	100	105		
[2704]	<210> 209			
[2705]	<211> 108			
[2706]	<212> PRT			
[2707]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[2708]	<220>			
[2709]	<223> 合成构建体			
[2710]	<400> 209			
[2711]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
[2712]	1	5	10	15
[2713]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser			
[2714]	20	25	30	
[2715]	Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu			
[2716]	35	40	45	
[2717]	Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser			
[2718]	50	55	60	
[2719]	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln			
[2720]	65	70	75	80
[2721]	Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro			
[2722]	85	90	95	
[2723]	Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
[2724]	100	105		
[2725]	<210> 210			
[2726]	<211> 108			
[2727]	<212> PRT			
[2728]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[2729]	<220>			

[2730]	<223> 合成构建体															
[2731]	<400> 210															
[2732]	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
[2733]	1				5					10					15	
[2734]	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	Ser
[2735]				20					25					30		
[2736]	Phe	Leu	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Trp
[2737]				35				40					45			
[2738]	Ile	Tyr	Ser	Thr	Ser	Asn	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser
[2739]		50					55					60				
[2740]	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln
[2741]	65					70				75					80	
[2742]	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Pro
[2743]				85					90					95		
[2744]	Leu	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys				
[2745]				100					105							
[2746]	<210> 211															
[2747]	<211> 108															
[2748]	<212> PRT															
[2749]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[2750]	<220>															
[2751]	<223> 合成构建体															
[2752]	<400> 211															
[2753]	Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
[2754]	1				5					10					15	
[2755]	Asp	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	Ser
[2756]				20					25					30		
[2757]	Phe	Leu	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Trp
[2758]				35				40					45			
[2759]	Ile	Tyr	Ser	Thr	Ser	Asn	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser
[2760]		50					55					60				
[2761]	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Val	Gln
[2762]	65					70				75					80	
[2763]	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Pro
[2764]				85					90					95		
[2765]	Leu	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys				
[2766]				100					105							
[2767]	<210> 212															
[2768]	<211> 110															

[2769]	<212>	PRT
[2770]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2771]	<220>	
[2772]	<223>	合成构建体
[2773]	<400>	212
[2774]	Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu	
[2775]	1 5 10 15	
[2776]	Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser	
[2777]	20 25 30	
[2778]	Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly	
[2779]	35 40 45	
[2780]	Leu Ile Gly Thr Thr Asn Asn Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe	
[2781]	50 55 60	
[2782]	Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala	
[2783]	65 70 75 80	
[2784]	Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn	
[2785]	85 90 95	
[2786]	His Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly	
[2787]	100 105 110	
[2788]	<210>	213
[2789]	<211>	118
[2790]	<212>	PRT
[2791]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2792]	<220>	
[2793]	<223>	合成构建体
[2794]	<400>	213
[2795]	Glu Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala	
[2796]	1 5 10 15	
[2797]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr	
[2798]	20 25 30	
[2799]	Asn Met Tyr Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile	
[2800]	35 40 45	
[2801]	Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Asn Thr Thr Tyr Asn Gln Arg Phe	
[2802]	50 55 60	
[2803]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Phe	
[2804]	65 70 75 80	
[2805]	Met His Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys	
[2806]	85 90 95	
[2807]	Ala Thr Phe Tyr Gly Phe Asp Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Ser	

[2808]	100	105	110
[2809]	Leu Val Ala Val Ser Ala		
[2810]	115		
[2811]	<210>	214	
[2812]	<211>	107	
[2813]	<212>	PRT	
[2814]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[2815]	<220>		
[2816]	<223>	合成构建体	
[2817]	<400>	214	
[2818]	Asp Ile Val Met Ile Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly		
[2819]	1	5	10 15
[2820]	Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn		
[2821]	20	25	30
[2822]	Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile		
[2823]	35	40	45
[2824]	Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly		
[2825]	50	55	60
[2826]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser		
[2827]	65	70	75 80
[2828]	Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Phe Pro Leu		
[2829]	85	90	95
[2830]	Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
[2831]	100	105	
[2832]	<210>	215	
[2833]	<211>	118	
[2834]	<212>	PRT	
[2835]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[2836]	<220>		
[2837]	<223>	合成构建体	
[2838]	<400>	215	
[2839]	Glu Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala		
[2840]	1	5	10 15
[2841]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr		
[2842]	20	25	30
[2843]	Asn Met Tyr Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile		
[2844]	35	40	45
[2845]	Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe		
[2846]	50	55	60

[2847]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Phe
[2848]	65 70 75 80
[2849]	Met His Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Phe Tyr Cys
[2850]	85 90 95
[2851]	Ala Phe Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Gly Val Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
[2852]	100 105 110
[2853]	Leu Val Thr Val Ser Ala
[2854]	115
[2855]	<210> 216
[2856]	<211> 107
[2857]	<212> PRT
[2858]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2859]	<220>
[2860]	<223> 合成构建体
[2861]	<400> 216
[2862]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
[2863]	1 5 10 15
[2864]	Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Tyr
[2865]	20 25 30
[2866]	Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
[2867]	35 40 45
[2868]	Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
[2869]	50 55 60
[2870]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile Ser Asn Val Gln Ser
[2871]	65 70 75 80
[2872]	Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr
[2873]	85 90 95
[2874]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[2875]	100 105
[2876]	<210> 217
[2877]	<211> 118
[2878]	<212> PRT
[2879]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2880]	<220>
[2881]	<223> 合成构建体
[2882]	<400> 217
[2883]	Glu Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
[2884]	1 5 10 15
[2885]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Asp Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr

[2886]	20	25	30
[2887]	Asn Ile Tyr Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile		
[2888]	35	40	45
[2889]	Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Thr Phe		
[2890]	50	55	60
[2891]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr		
[2892]	65	70	75
[2893]	Met His Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys		
[2894]	85	90	95
[2895]	Ala Met Lys Val Gly Tyr Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
[2896]	100	105	110
[2897]	Ser Val Thr Val Ser Ser		
[2898]	115		
[2899]	<210> 218		
[2900]	<211> 110		
[2901]	<212> PRT		
[2902]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2903]	<220>		
[2904]	<223> 合成构建体		
[2905]	<400> 218		
[2906]	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg		
[2907]	1	5	10
[2908]	Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
[2909]	20	25	30
[2910]	Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
[2911]	35	40	45
[2912]	Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
[2913]	50	55	60
[2914]	Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr		
[2915]	65	70	75
[2916]	Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
[2917]	85	90	95
[2918]	Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro		
[2919]	100	105	110
[2920]	<210> 219		
[2921]	<211> 11		
[2922]	<212> PRT		
[2923]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2924]	<220>		

[2925]	<223>	合成构建体
[2926]	<400>	219
[2927]	Ile Thr Ile Phe Arg Asn Gly Ile Ala Leu Glu	
[2928]	1	5 10
[2929]	<210>	220
[2930]	<211>	19
[2931]	<212>	PRT
[2932]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2933]	<220>	
[2934]	<223>	合成构建体
[2935]	<400>	220
[2936]	Gln Thr Ile Thr Ile Phe Arg Asn Gly Ile Ala Leu Glu Ile Leu Gln	
[2937]	1	5 10 15
[2938]	Asn Thr Ser	
[2939]	<210>	221
[2940]	<211>	11
[2941]	<212>	PRT
[2942]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2943]	<220>	
[2944]	<223>	合成构建体
[2945]	<400>	221
[2946]	Leu Ser Trp Phe Gln Gly Ser Pro Ala Leu Asn	
[2947]	1	5 10
[2948]	<210>	222
[2949]	<211>	7
[2950]	<212>	PRT
[2951]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2952]	<220>	
[2953]	<223>	合成构建体
[2954]	<400>	222
[2955]	Asp Ile His Phe Leu Glu Pro	
[2956]	1	5
[2957]	<210>	223
[2958]	<211>	14
[2959]	<212>	PRT
[2960]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2961]	<220>	
[2962]	<223>	合成构建体
[2963]	<400>	223



---

[2964]	Pro Cys Ser Phe Ser Tyr Pro Trp Arg Ser Trp Tyr Ser Ser
[2965]	1 5 10
[2966]	<210> 224
[2967]	<211> 7
[2968]	<212> PRT
[2969]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2970]	<220>
[2971]	<223> 合成构建体
[2972]	<400> 224
[2973]	Pro Glu Thr Gln Gly Arg Phe
[2974]	1 5
[2975]	<210> 225
[2976]	<211> 6
[2977]	<212> PRT
[2978]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2979]	<220>
[2980]	<223> 合成构建体
[2981]	<400> 225
[2982]	Gly Gly Cys Cys Cys Cys
[2983]	1 5

```

HU      -----MLPLLLLPLL
CY      MPKFSFCLQPQFSLTHRLPVGASSAPPHIWGISFPDRGTWDRAGALADGDMALLLPLL
          ** *****

HU      WGGSLQEKPVYELQVQKSVTVQEGLCVLVPCSFSPWRSWYSSPPLYVYWFDRDGEIPYYA
CY      WGGSLQEKPGYELQVQKSVTVQEGLCVLVPCSFSPGNSWYSPSPPLYVYWFNGESPFG
          ***** ***** .*** ***** :** **:

HU      EVVATNNPDRRVKPEQTQGRFRLLGDVQKKNCSLSIGDARMEDTGSYFFRVERGRDVKYSY
CY      EPVATNNPNRKVKSETQGRFRLLGDVWKKNCSSLSIGDARMGDTGNYYFRVERGRNVKYTY
          * *****:*. * ***** ***** ***** **.*:*****:***:*

HU      QQNKLNLEVTALIEKPDHIFLEPLESGRPTRLSCSLPGSCEAGPPLTFSWTGNALSPLDP
CY      LQNKLNLEVTALTEKPDVHFLEPLESGRPTRLSCSLPGSCEAGRPLTFSWTGDVLSPLDP
          ***** *****:***** ***** *****:*****

HU      ETTRSSSELTLTPRPEDHGTNLTCQMKRQGAQVTTERTVQLNVSYAFQTITIFRNGIALEI
CY      ETTGSSELTLTPRPEDHGTNLTCVVKRQGAQVTTERTVQLNVSYAFQNTITIFRNGTALEI
          *** *****:***** ***** ***** *****

HU      LQNTSYLPVLEGQALRLLCDAPSNPPAHLSPWFQGSFALNATPISNTGILELRVRSAEEG
CY      LHNTSTLLVLEGQALRLLCEAPSNPPAHLSPWFQASSAFNATPIADTGILELPRVEFAKEG
          *:*** * *****:*****.* * *****:***** **, *:**

HU      GFTCRAQHPLGLQIFLNLSVYSLPQLLGPSCSWEAEGHCRCSFRARPAPSLCWRLEEK
CY      VETCHAQHPLGLSLHIFLNLSVYSLPQLLGPSCSWEAESLHCSCSFRAWPAPSLCWWLGEK
          ***:***** *:***** ***** .*** ***** ***** * **

HU      PLEGNSSQGSFKVNSSSAGPWANSSLIHGGSLSSDLKVSCKAWNIYGSQSGSVLLLQGRS
CY      PLEGNSSQGSFKVNSSSAGLWANSSLIHGGSLTSGLVCKGWNTYGSQSDSVLLQGRS
          ***** *****:*****.* ***** .** ***** **:*****

HU      NLGTGVVPAALGGAGVMALLCICLCIFFLIVKARRKQAAGRPEKMDDEDPIMGITITSGS
CY      NLRTGVVPAALGGAGVMALLCICLCIFFLIVKVRKQAAGRPEKMDDEDPIMGITVSWDS
          ** *****:***** ***** *****:***** *

HU      RKKPWPDSAGDQASFPDAPPLEEQKELHYASLSFSEMKSREPKDQEAPSTTEYSEIKTSK
CY      RKKPWPDSPGDQASFPAGDTPPLGEQELHYASLSFSEMKSREPKDQEAPSTTEYSEVKTNK
          ***** ***** **:*** **:***** *****:***.*

```

HU = 人Siglec-5

CY = 猕猴Siglec-5

图1A

```

S5      MLPLLLLPLLWGGSLQEKPVYELQVQKSVTVQEGLCVLVPCSFSPWRSWYSSPPLYVYW
S14     MLPLLLLPLLWGGSLQEKPVYELQVQKSVTVQEGLCVLVPCSFSPWRSWYSSPPLYVYW
*****

S5      FRDGEIPYYAEVVATNNPDRRVKPETQGRFRL LGDVQKKNC SLSIGDARMEDTGSYFFRV
S14     FRDGEIPYYAEVVATNNPDRRVKPETQGRFRL LGDVQKKNC SLSIGDARMEDTGSYFFRV
*****

S5      ERGRDVKYSYQQNKL NLEV TALIEKPD IHFLEPLESGRPTRLSCSLPGSCEAGPPLTFSW
S14     ERGRDVKYSYQQNKL NLEV TALIEKPD IHFLEPLESGRPTRLSCSLPGSCEAGPPLTFSW
*****

S5      TGNALSPLDPETTRSELTLTPRPEDHGTNLTCQMKRQGAQVTTERTVQLNVSYPQTIT
S14     TGNALSPLDPETTRSELTLTPRPEDHGTNLTCQVKRQGAQVTTERTVQLNVSYPQNLA
*****:*****.:

S5      I---FR--NGIALEILQNTSYLPVLEGQALRLLCDAPSNPPAHL SWFQGS PALNATPISN
S14     ISIFFRNGTGTALRILSNGMSVPIQEGQSLFLACTVDSNPPASLSWFREGKALNPSQTSM
*   ** , * **, **, *   ;*: **: * * * , ***** **: , ** ; *

S5      TGILELRRVRSABEGGFTCRAQHPLGFLQIFLNLSVYSLPQLLGPSCSWAEGLHCRCSF
S14     SGTLELPNIGAREGGFTCRVQHPLGSQHLSFILSVQRSSSSCICVTEKQQGSWPLLTLI
:* *** .: : * * ****.***** : : ***

S5      RARPAPSLCWRLEEKPLEGNSSQGSFKVNSSSAGPWANSSILHGGGLSSDLKVSKAWNI
S14     RGALMGAGFLLTYGLTWIYYTRCGGPQQSRAERPG-----

S5      YGSQSGSVLLLQGRSNLGTGVVPAALGGAGVMALLCICLCIIFFLIVKARRKQAAGRPEK
S14     -----

S5      MDDEDPMGTITSGSRKKPWPDSAGDQASPPGDAPPLEEQKELHYASLSFSEMKSREPKD
S14     -----

S5      QEAPSTTEYSEIKTSK
S14     -----

```

S5 = 人 Siglec-5  
S14 = 人 Siglec-14

图1B

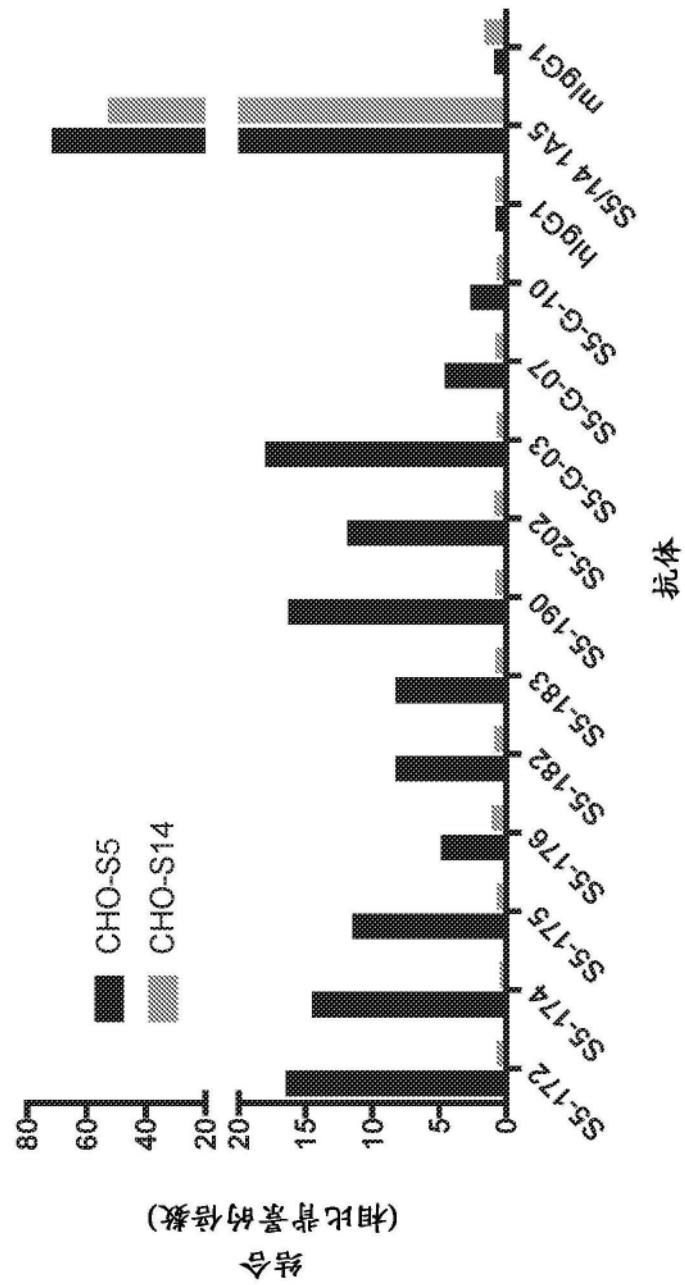


图2A

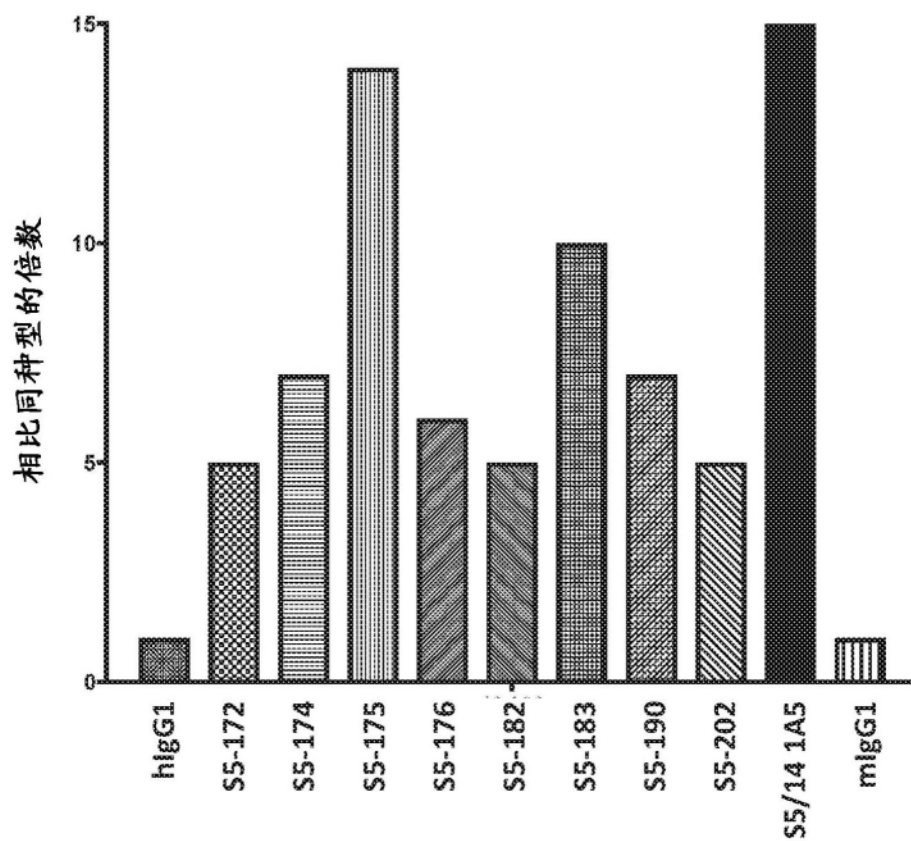


图2B

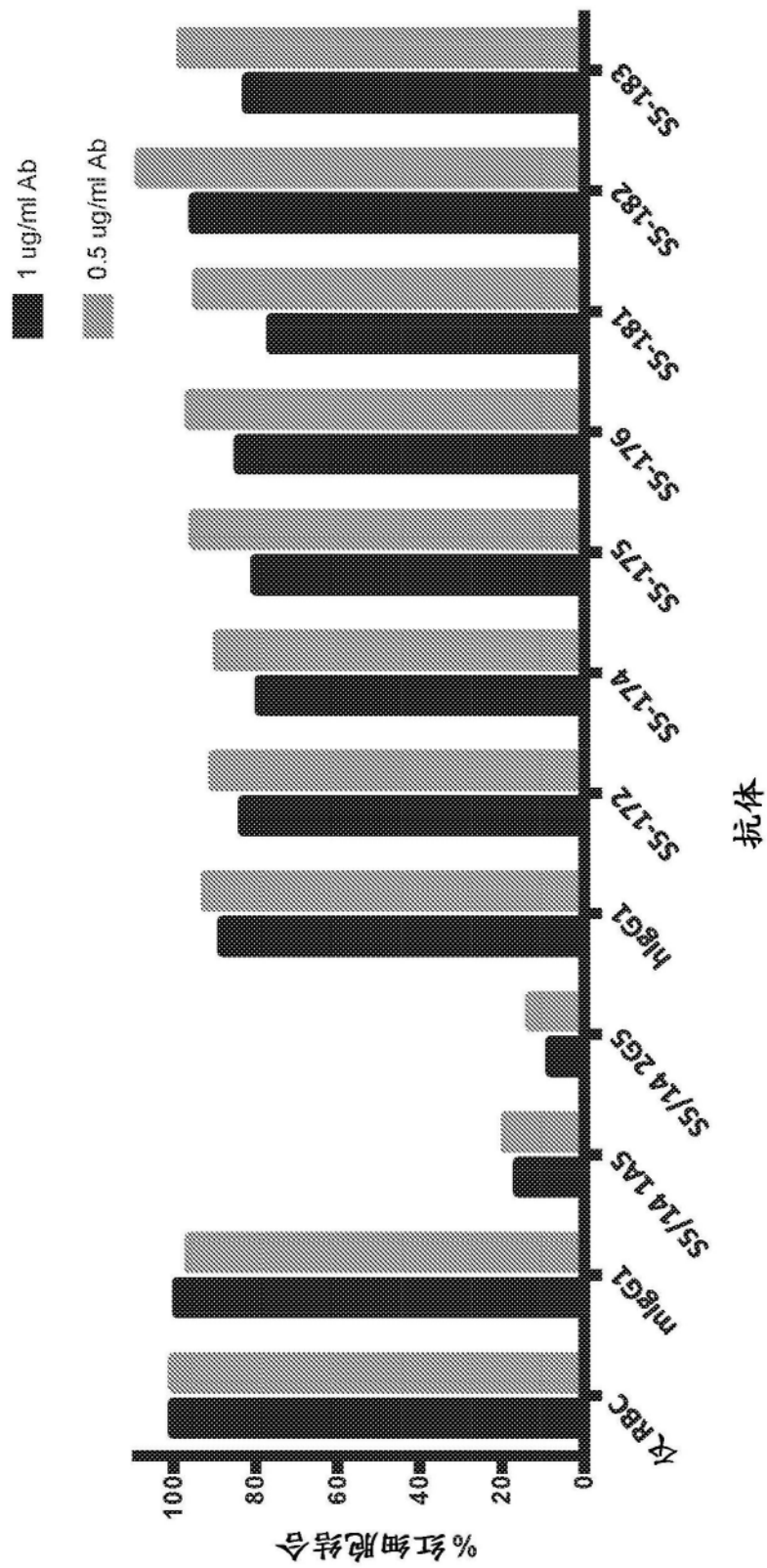


图3

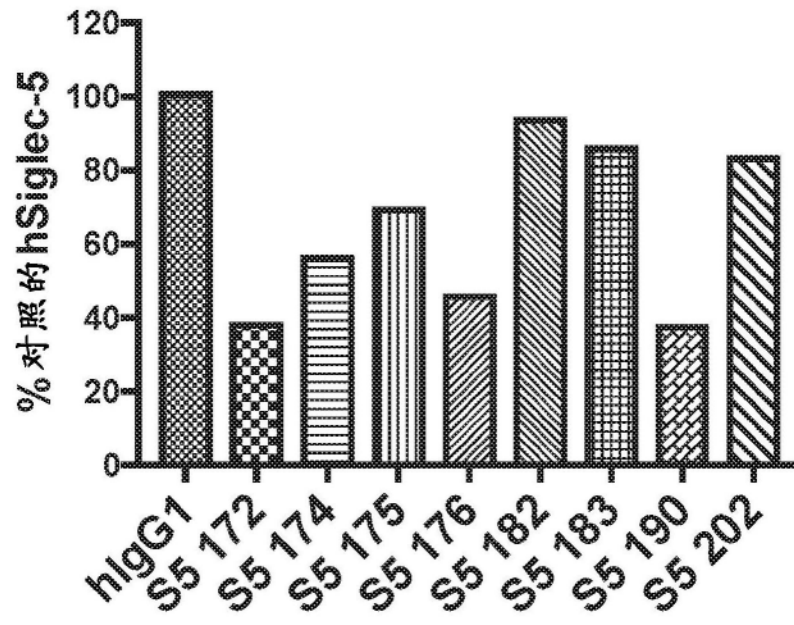


图4A

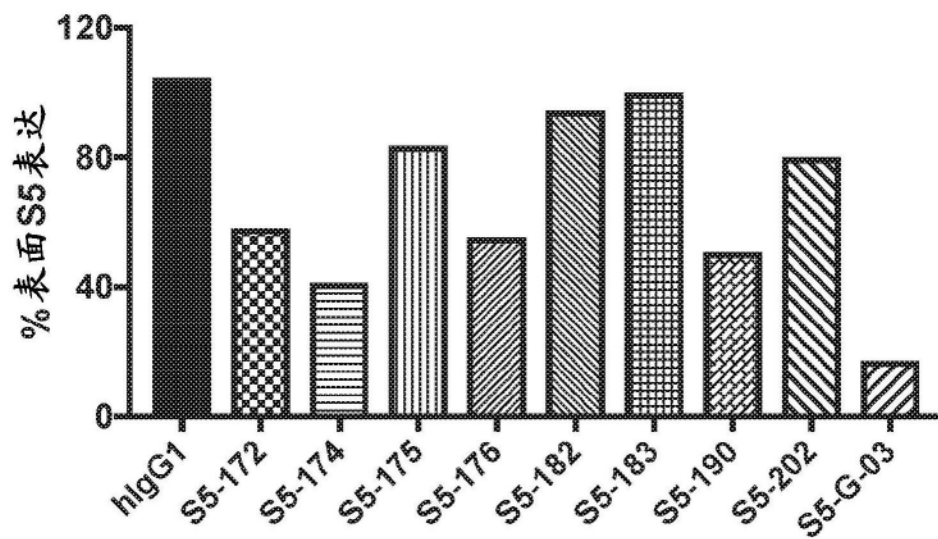


图4B

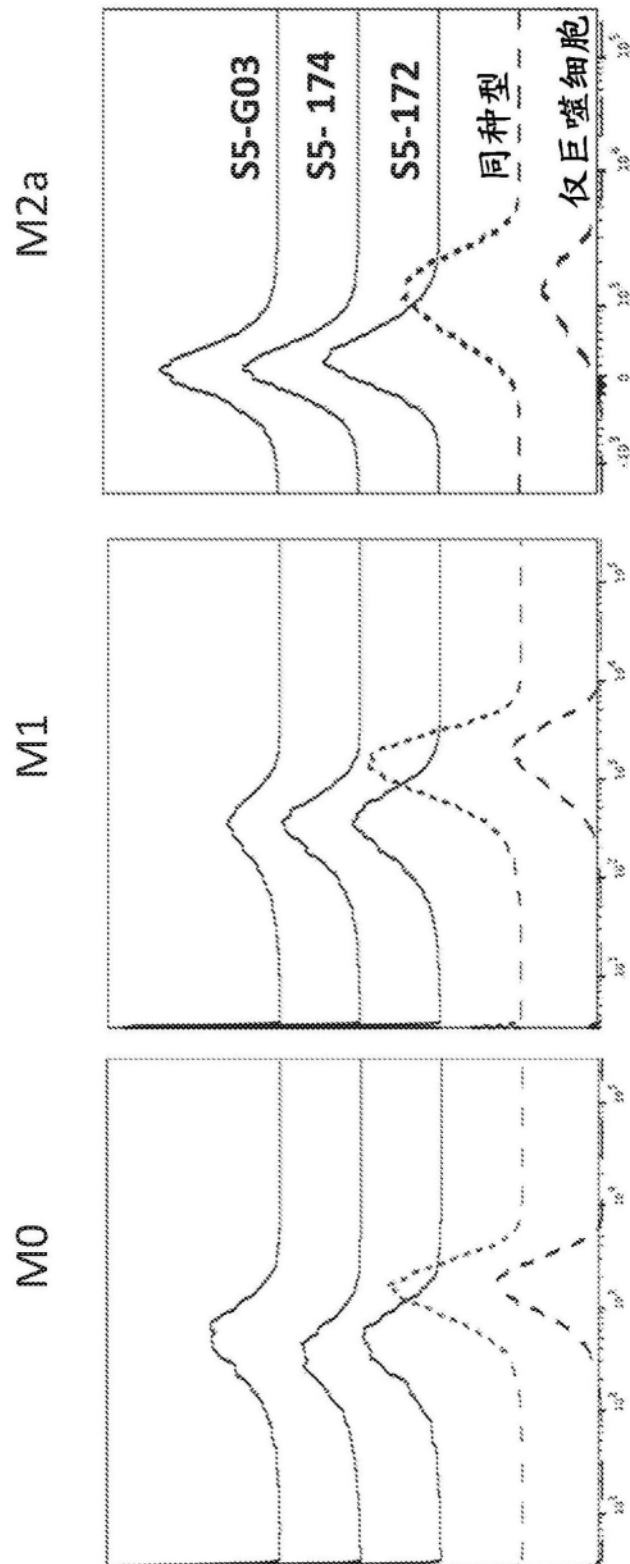


图4C



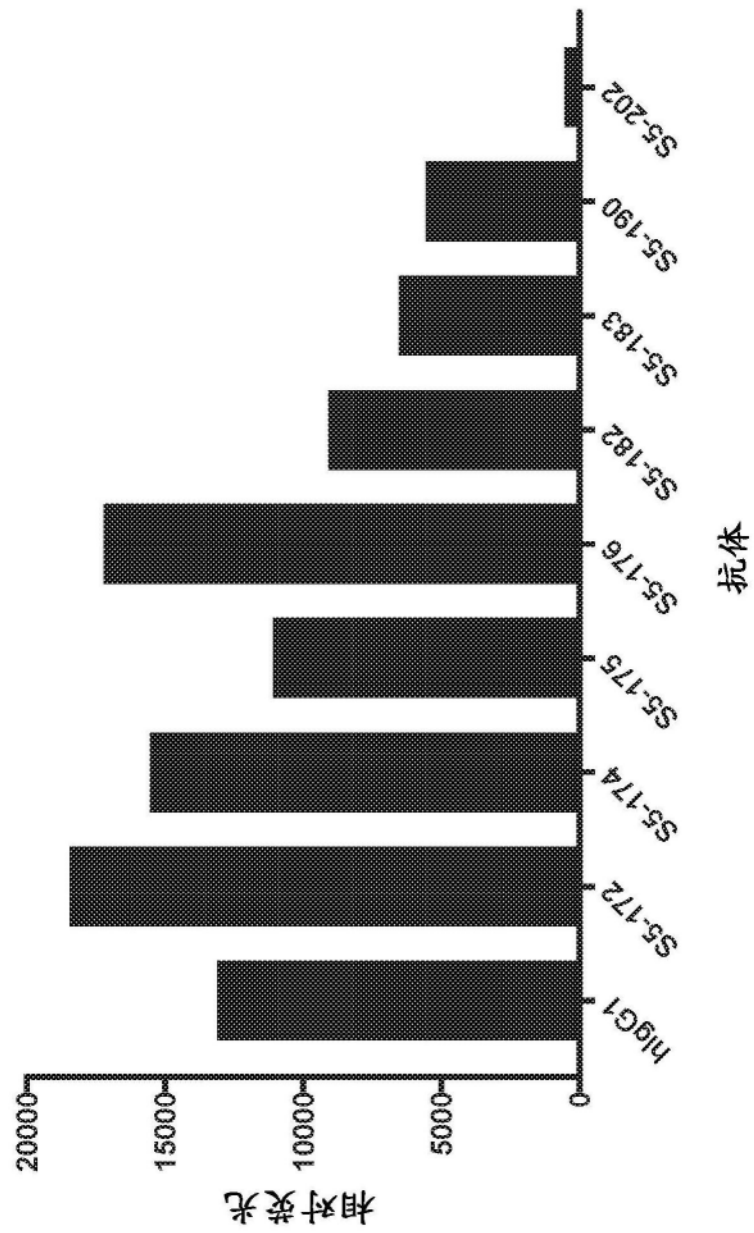


图5

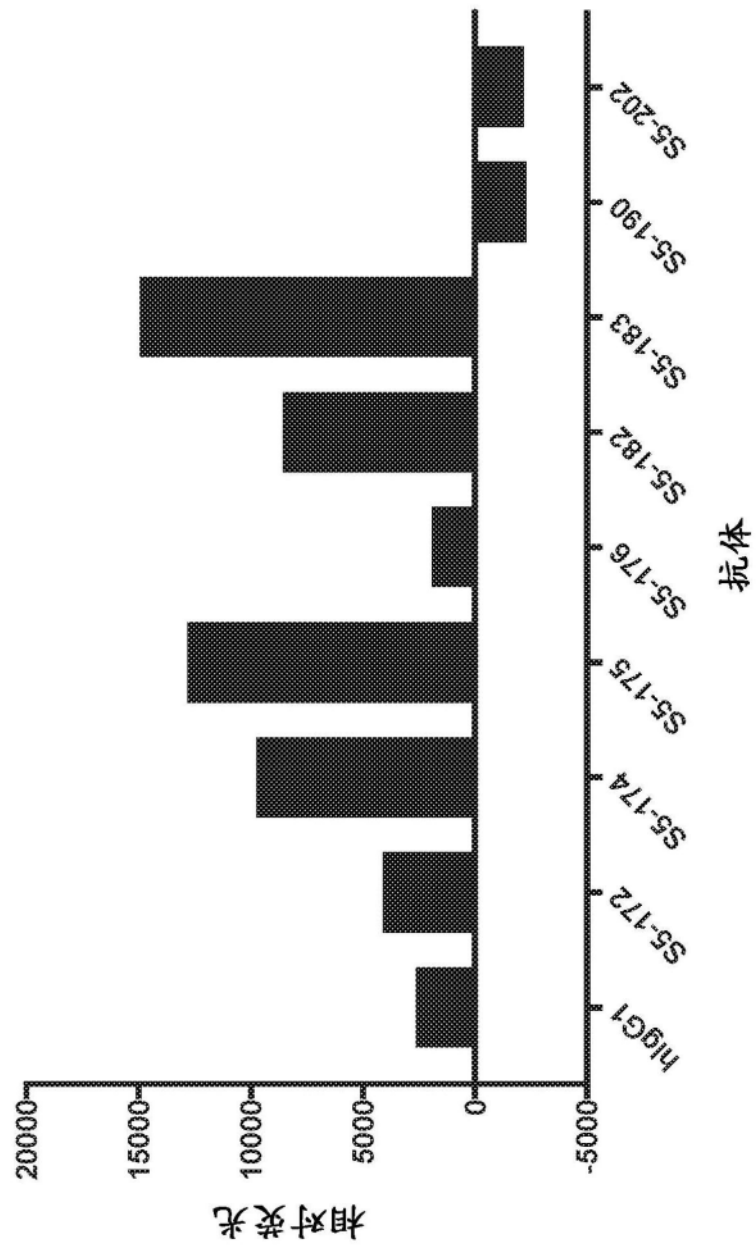


图6

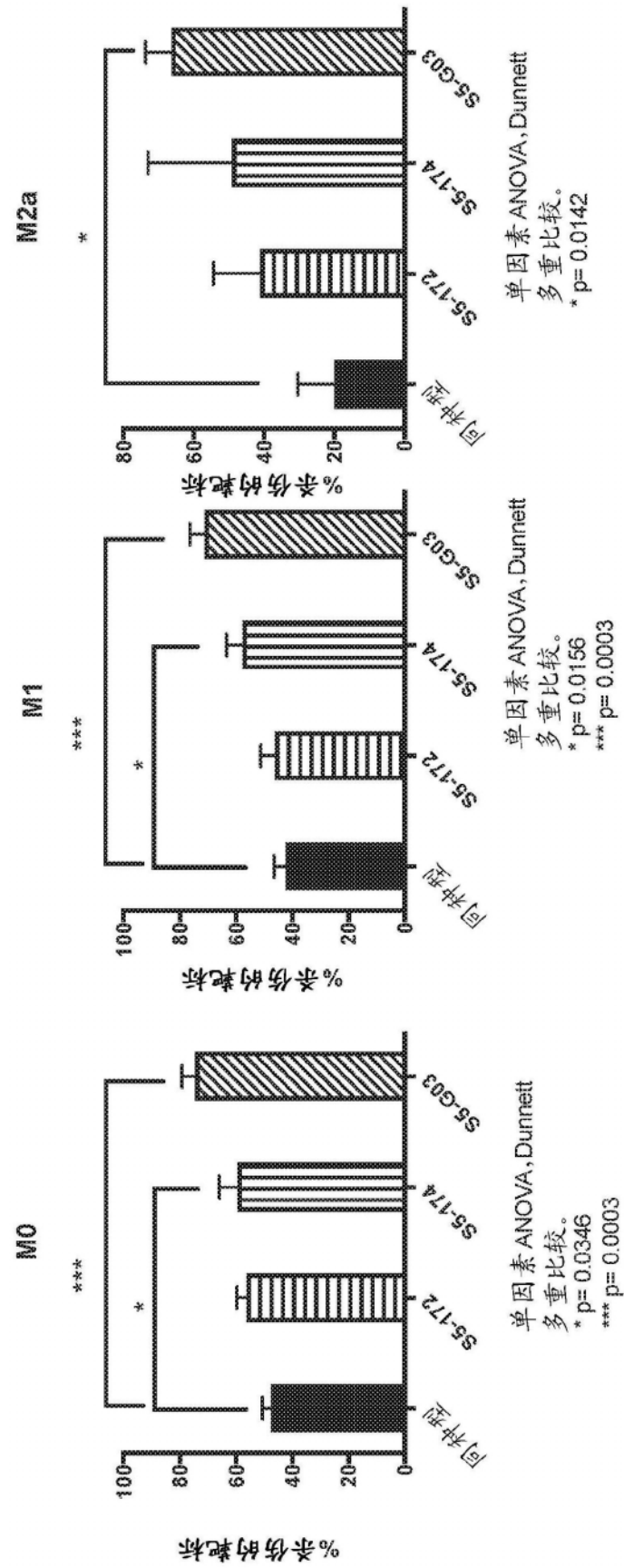


图7

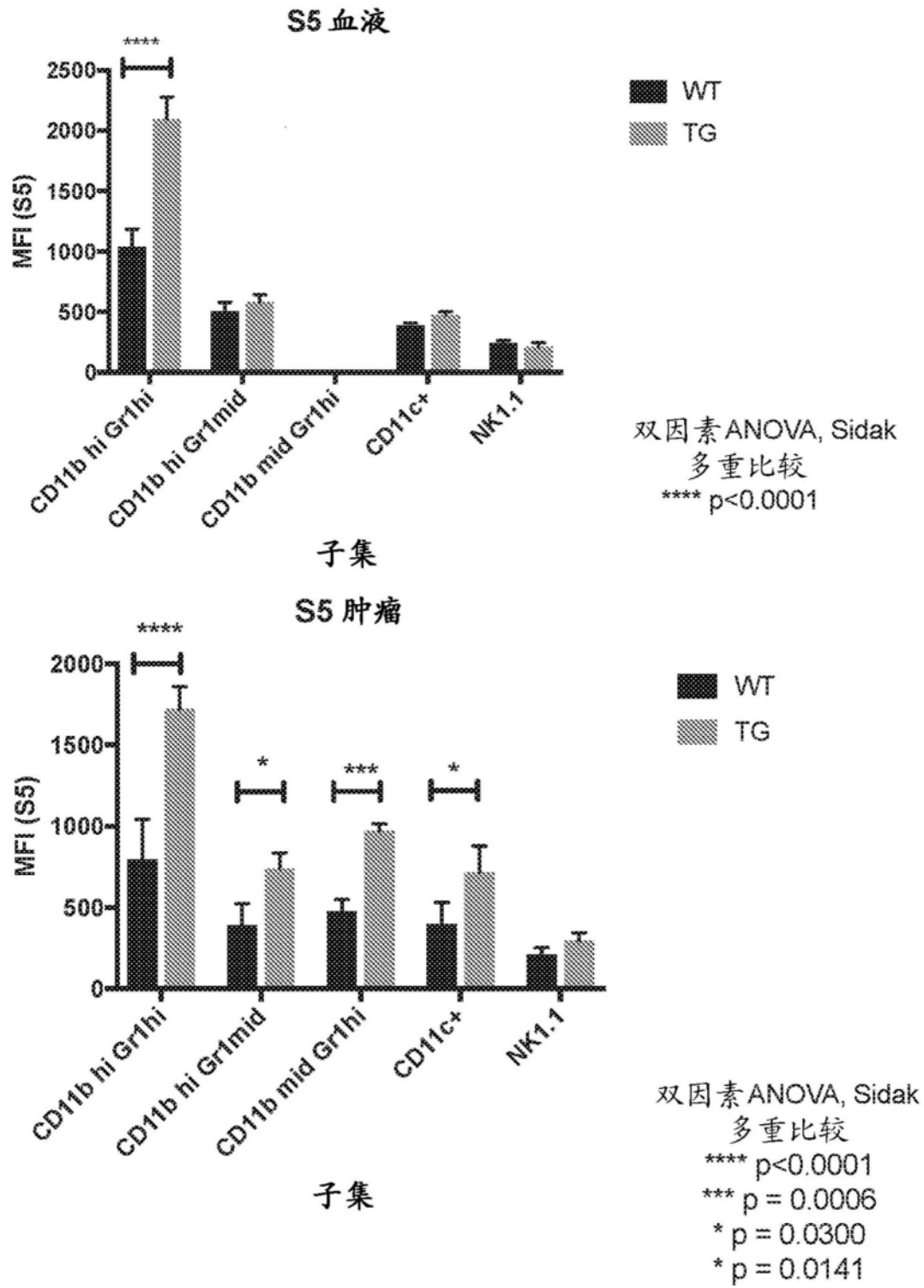


图8

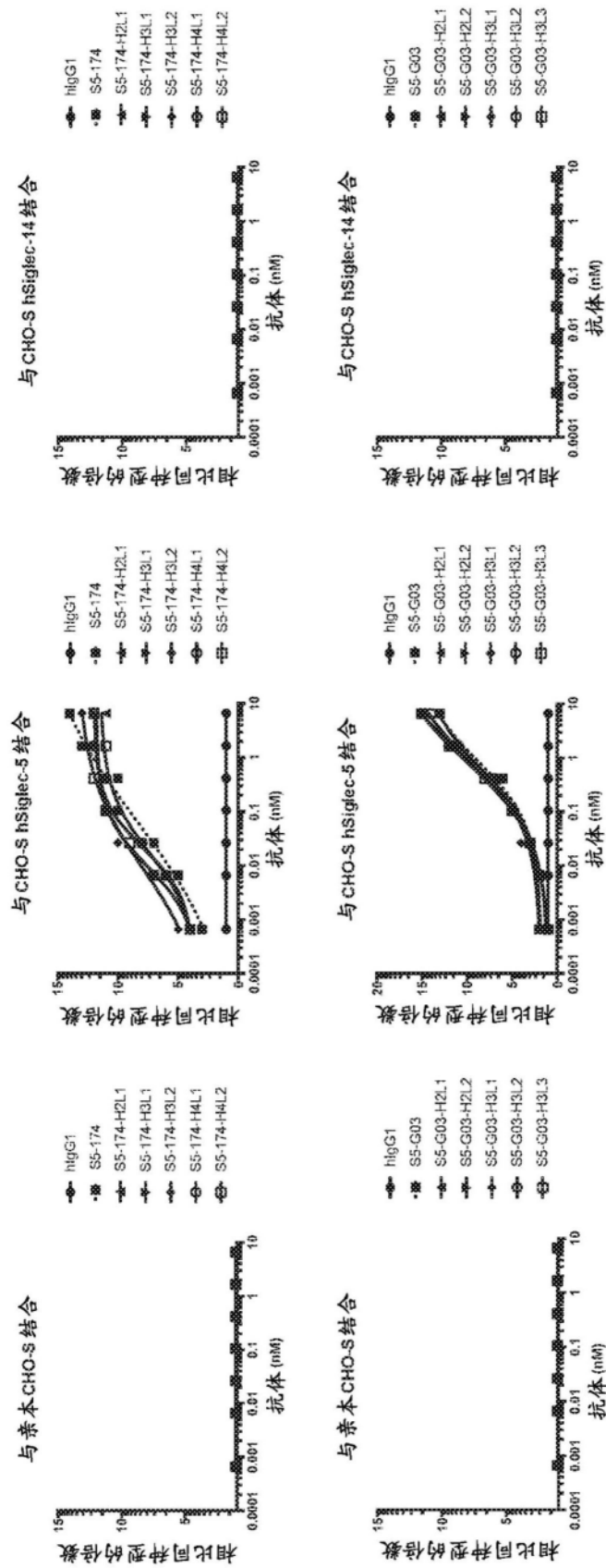


图9

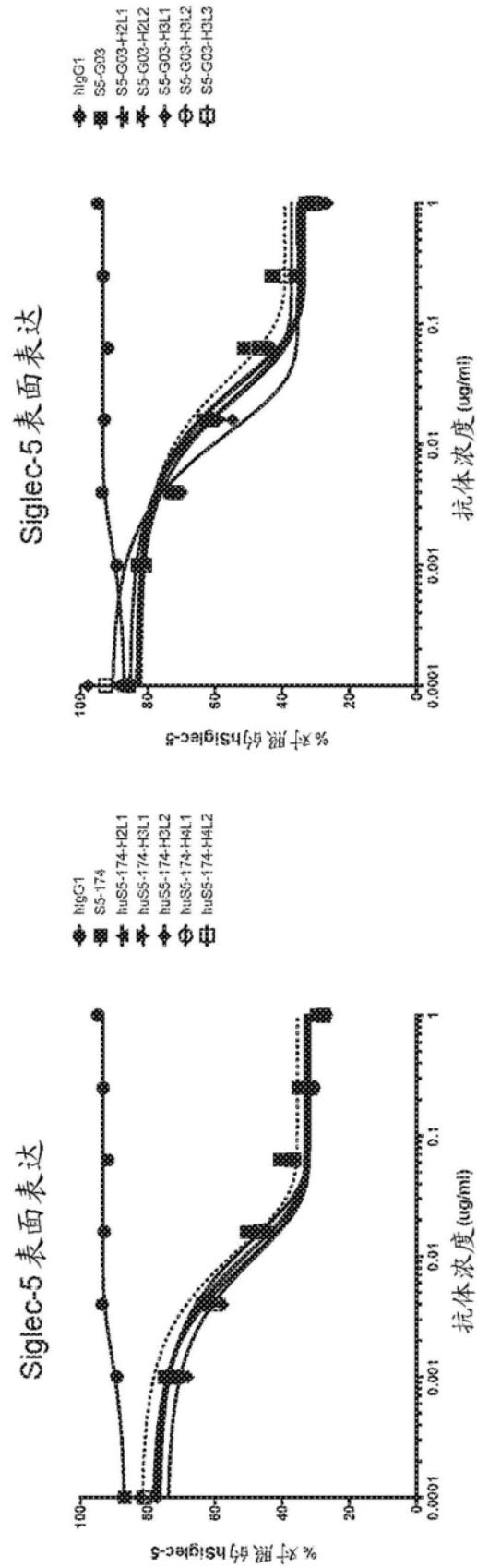


图10

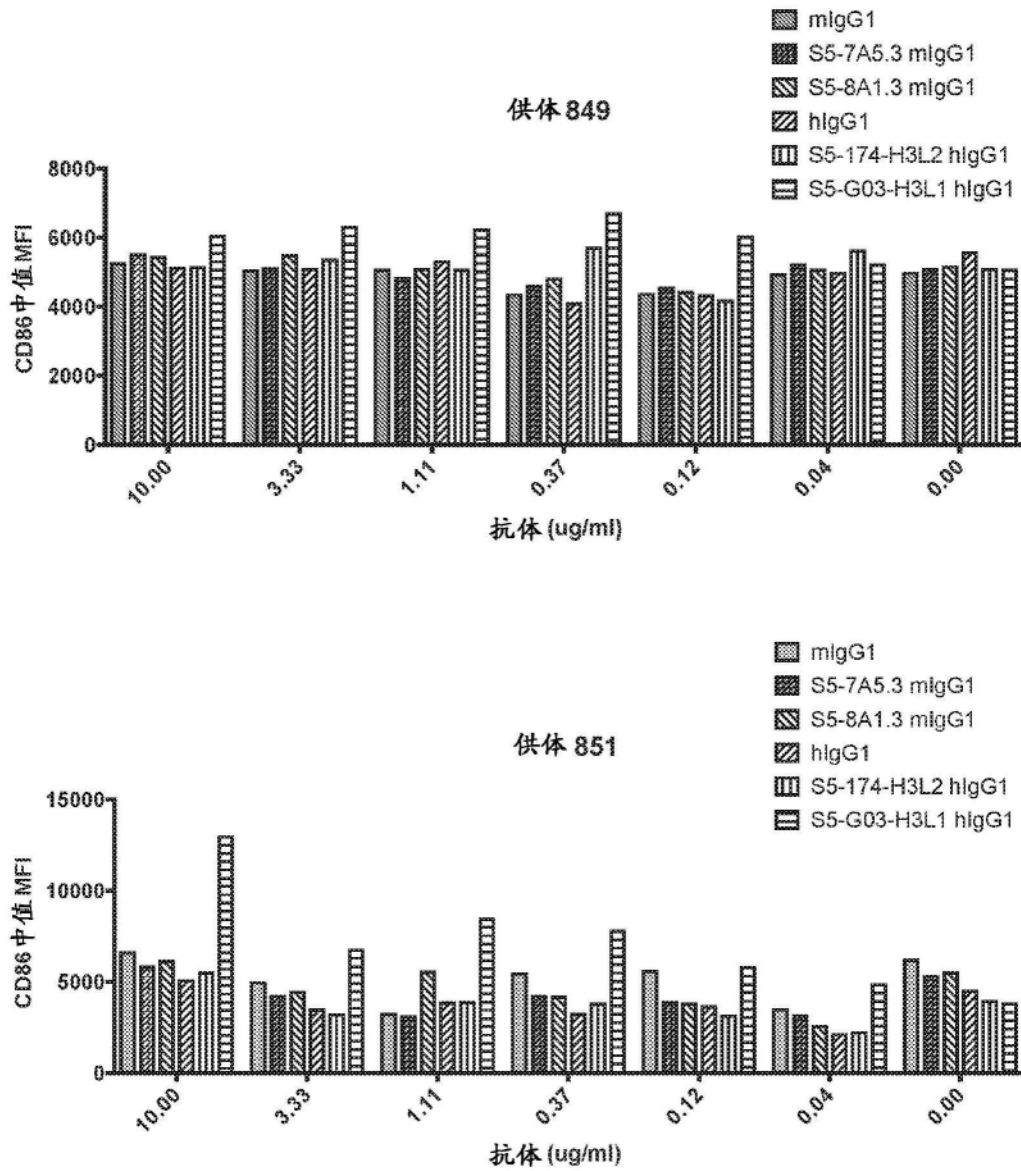


图11

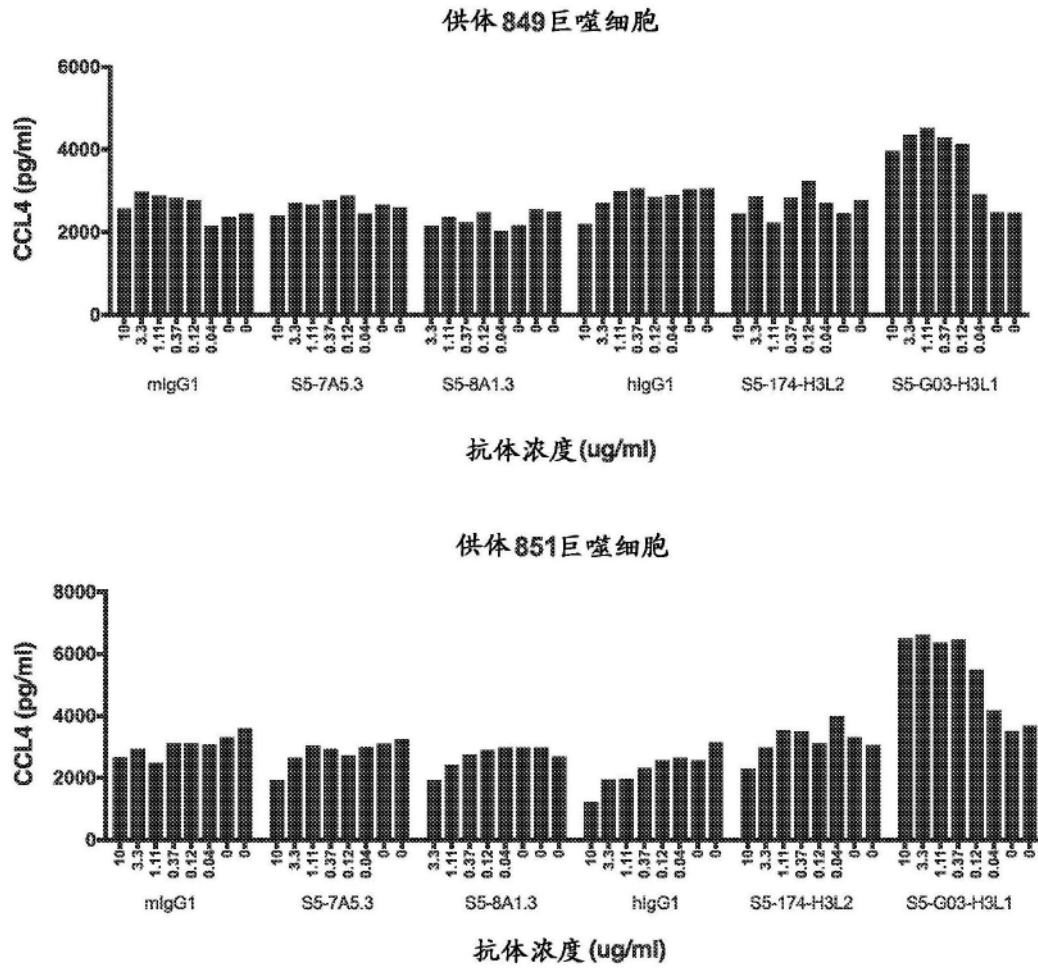


图12



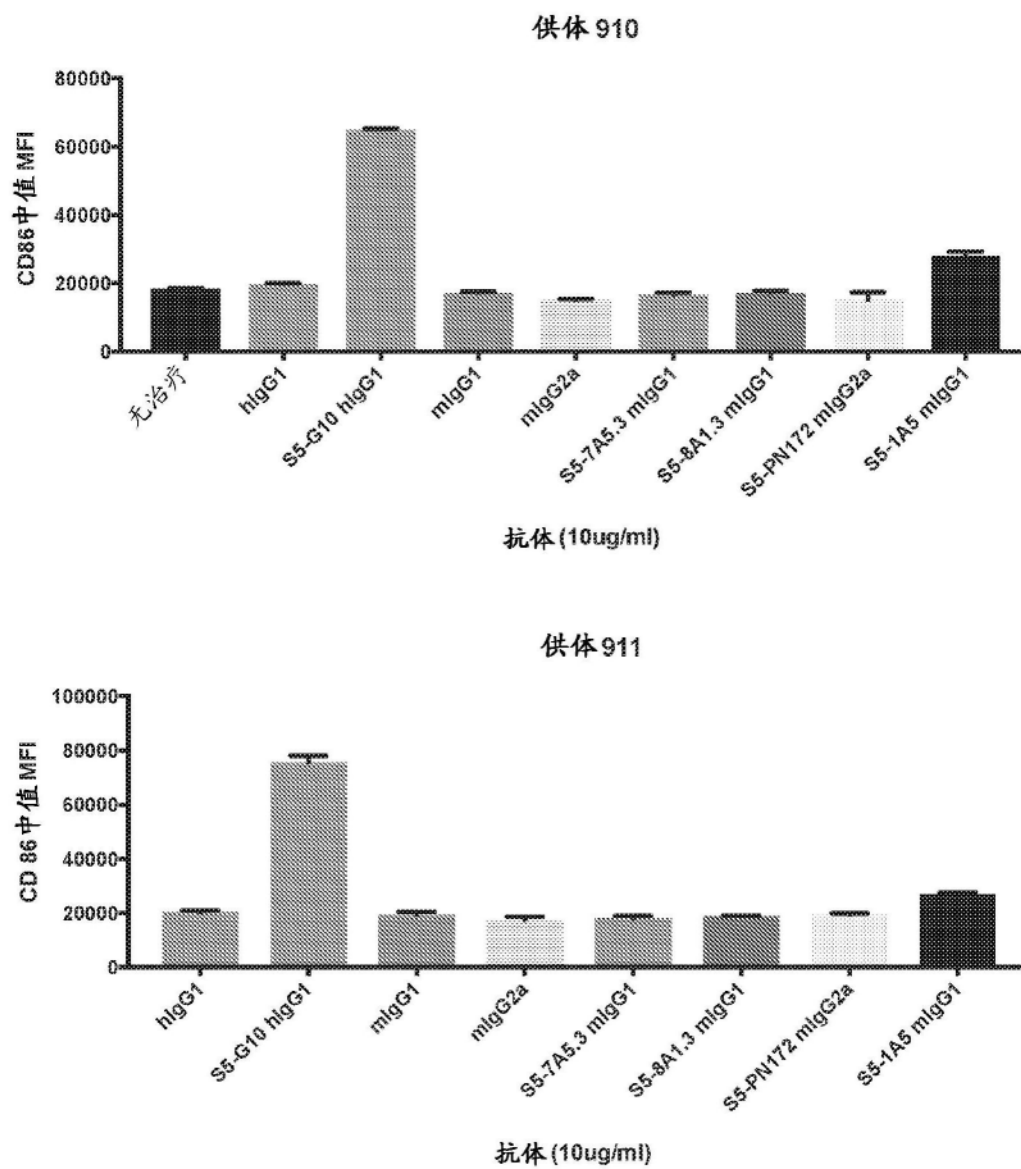


图13

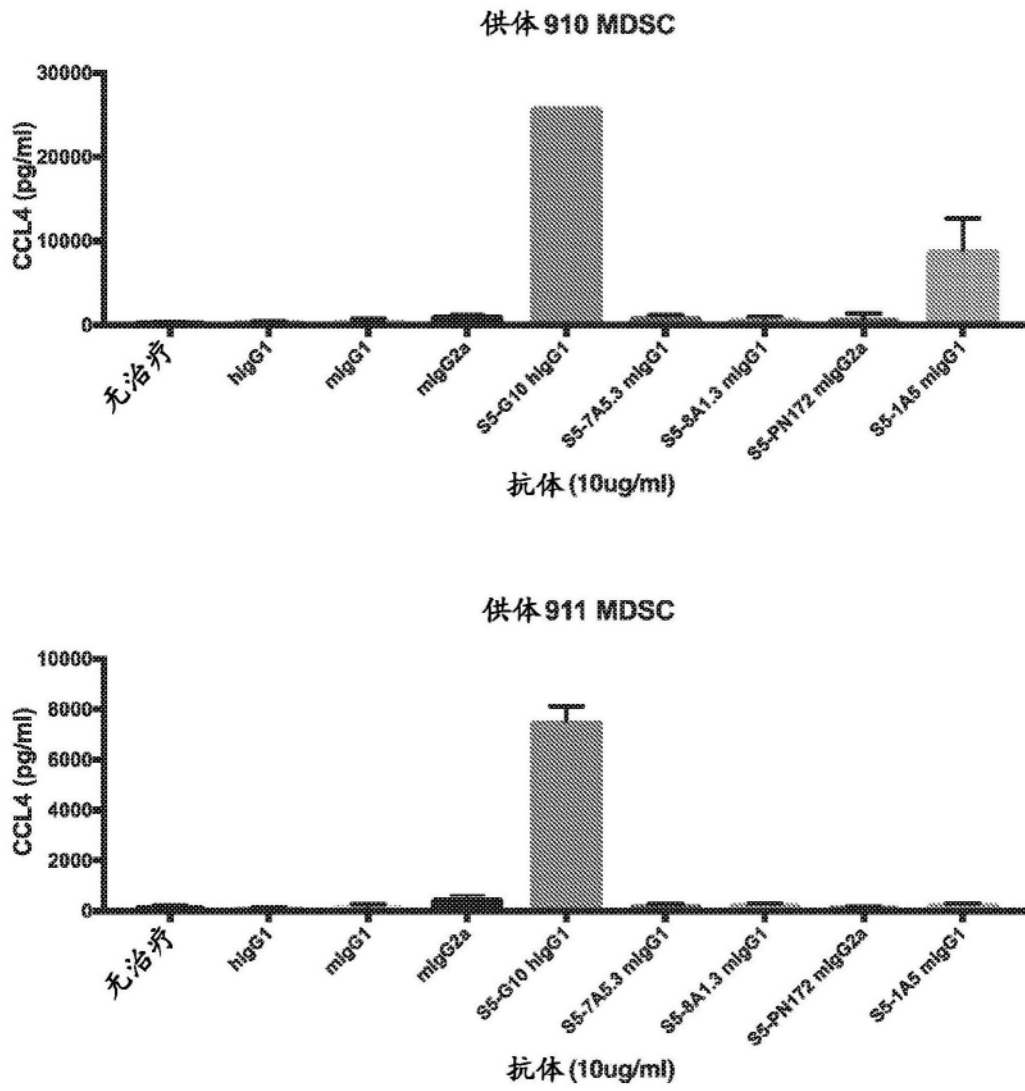


图14