



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I851860 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 08 月 11 日

(21)申請案號：109143734

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 12 月 10 日

(51)Int. Cl. : C07K16/24 (2006.01)

C12N15/13 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P37/00 (2006.01)

(30)優先權：2019/12/13

中國大陸

201911278628.7

(71)申請人：大陸商四川科倫博泰生物醫藥股份有限公司 (中國大陸) SICHUAN KELUN-BIOTECH BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD. (CN)

中國大陸

大陸商諾納生物 (蘇州) 有限公司 (中國大陸) NONA BIOSCIENCES (SUZHOU) CO., LTD (CN)

中國大陸

(72)發明人：肖亮 XIAO, LIANG (CN) ; 何進秋 HE, JINQIU (CN) ; 薛彤彤 XUE, TONGTONG (CN) ; 劉紅水 LIU, HONGSHUI (CN) ; 王晶翼 WANG, JINGYI (CN) ; 顧紅專 GU, HONGZHUAN (CN) ; 羅順濤 LUO, SHUNTAO (CN) ; 戎一平 RONG, YIPING (CN) ; 劉登念 LIU, DENGNIAN (CN) ; 何雲 HE, YUN (CN)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

WO 2018191479A1

審查人員：吳卓翰

申請專利範圍項數：63 項 圖式數：9 共 163 頁

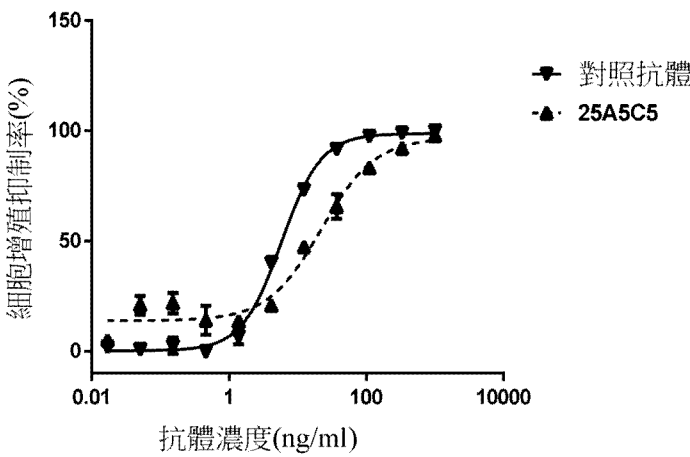
(54)名稱

抗 TSLP 抗體及其用途

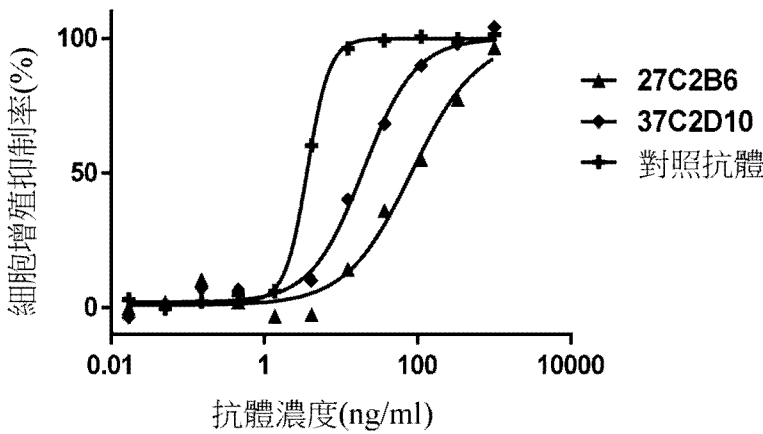
(57)摘要

本發明涉及疾病治療領域，具體而言涉及抗 TSLP 的抗體或其抗原結合片段，編碼它們的核酸分子，製備它們的方法。抗 TSLP 抗體或其抗原結合片段對 TSLP 具有高親和力，能夠有效結合 TSLP 並阻斷 TSLP 對 Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 細胞的增殖效應，以及阻斷 TSLP 對 PBMC 的啟動、分泌細胞素的能力。同時進一步涉及包含所述抗體或其抗原結合片段的藥物組合物，以及其在製備用於預防和/或治療氣喘、過敏性發炎、過敏反應或自身免疫性疾病藥物中的用途。

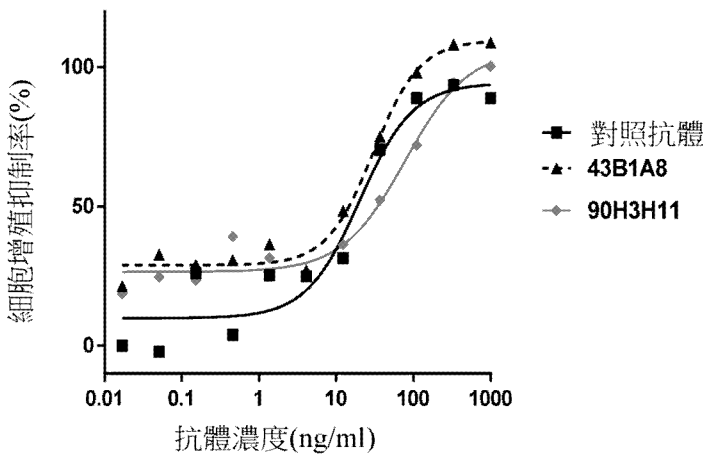
指定代表圖：



【圖 2A】



【圖 2B】



【圖 2C】



I851860

【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗TSLP抗體及其用途

【中文】

本發明涉及疾病治療領域，具體而言涉及抗TSLP的抗體或其抗原結合片段，編碼它們的核酸分子，製備它們的方法。抗TSLP抗體或其抗原結合片段對TSLP具有高親和力，能夠有效結合TSLP並阻斷TSLP對Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 細胞的增殖效應，以及阻斷TSLP對PBMC的啟動、分泌細胞素的能力。同時進一步涉及包含所述抗體或其抗原結合片段的藥物組合物，以及其在製備用於預防和/或治療氣喘、過敏性發炎、過敏反應或自身免疫性疾病藥物中的用途。

【指定代表圖】

圖2A至2C

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗TSLP抗體及其用途

【技術領域】

【0001】 本發明屬於治療性單株抗體領域，更具體地，本發明涉及一種針對TSLP的抗體，還涉及所述抗體治療疾病中的用途。

【先前技術】

【0002】 胸腺基質淋巴細胞生成素（Thymic stromal lymphopoietin，TSLP）是一種與IL7類似的炎症細胞素。TSLP對微生物、物理損傷或炎症細胞素（如IL-1 β 和TNF）等反應，主要由皮膚、肺、胸腺與胃腸道等上皮細胞分泌，在炎症等病理狀況下，基質細胞、角質細胞、樹突狀細胞（DC）和肥大細胞等也能分泌TSLP。TSLP在過敏性和適應性氣道炎症的初始觸發中有重要作用。與健康對照組相比，TSLP在氣喘患者氣道高表現，其水準與TH2細胞素和趨化素的表現，以及疾病的嚴重程度直接相關。TSLP可誘導樹突狀細胞（DC）成熟，上調OX40L的表現，OX40-OX40L的相互作用參與初始T細胞誘導的TH2細胞極化，其分化後釋放IL-4、IL-5、IL-13等細胞素，引起肥大細胞、嗜酸性粒細胞浸潤及系列過敏炎性反應，使氣道發生病理改變，從而導致氣喘發作。TSLP可有效地啟動肥大細胞、自然殺傷T（NKT）細胞，產生IL-13等TH2型細胞素，加重氣道炎症的發生發展。

【0003】 TSLP的受體是由IL-7R α 和獨特TSLPR鏈(CRFL2)所組成的異源二聚體受體複合物。TSLP異源二聚受體的結合引起STAT5的

活化及細胞增殖。DC細胞具有高表現的TSLPR和IL-7R α 。

【0004】 因此，發展具有高度的特異性和親和力、低的毒副作用、優良的臨床藥效的抗TSLP抗體是迫切而必要的，這將給氣喘患者提供更多的用藥選擇。

【發明內容】

【0005】 在本發明中，發明人首先開發了具有優良性質的嵌合抗體，其能夠結合人TSLP。在此基礎上，發明人又對該嵌合抗體進行了研究和改造，開發了該嵌合抗體的全人源抗體。本發明的全人源抗體具有與嵌合抗體基本上相同的（或甚至更優良的）生物學功能。不僅對於TSLP有強的親和力，而且能夠有效地阻斷TSLP對Ba/F3細胞的增殖效應，以及阻斷TSLP對PBMC的啟動、分泌細胞素的能力。本發明進一步涉及包含所述抗體或其抗原結合片段的藥物組合物，以及其在製備藥物中的用途，所述藥物用於預防和/或治療氣喘、過敏性發炎、過敏反應或自身免疫疾病。

【0006】 本發明的抗體具有極高的人源化程度，甚至是全人源抗體，從而可安全地施用給人個體，而不引發免疫原性反應。所以本發明的抗體具有重大的臨床價值。

【0007】 本發明的抗體

【0008】 在一個方面，本發明提供了一種結合TSLP的抗體或其抗原結合片段，所述抗體或其抗原結合片段包含如下的互補決定區（CDR）：

（a） SEQ ID NO: 1、17、30、40、53或68所示的重鏈可變區（VH）中含有的CDR-H1或其序列的變體、CDR-H2或其序列的變體

以及CDR-H3或其序列的變體；和/或SEQ ID NO: 2、18、31、41、54或69所示的輕鏈可變區（VL）中含有的CDR-L1或其序列的變體、CDR-L2或其序列的變體以及CDR-L3或其序列的變體；或

（b） SEQ ID NO: 1所示的VH中含有的CDR-H1或其序列的變體、CDR-H2或其序列的變體以及CDR-H3或其序列的變體；和/或SEQ ID NO: 2所示的VL中含有的CDR-L1或其序列的變體、CDR-L2或其序列的變體以及CDR-L3或其序列的變體。

【0009】 在某些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO: 17所示的VH中含有的CDR-H1或其序列的變體、CDR-H2或其序列的變體以及CDR-H3或其序列的變體；和/或SEQ ID NO: 18所示的VL中含有的CDR-L1或其序列的變體、CDR-L2或其序列的變體以及CDR-L3或其序列的變體。

【0010】 在某些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO: 30所示的VH中含有的CDR-H1或其序列的變體、CDR-H2或其序列的變體以及CDR-H3或其序列的變體；和/或SEQ ID NO: 31所示的VL中含有的CDR-L1或其序列的變體、CDR-L2或其序列的變體以及CDR-L3或其序列的變體。

【0011】 在某些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO: 40所示的VH中含有的CDR-H1或其序列的變體、CDR-H2或其序列的變體以及CDR-H3或其序列的變體；和/或SEQ ID NO: 41所示的VL中含有的CDR-L1或其序列的變體、CDR-L2或其序列的變體以及CDR-L3或其序列的變體。

【0012】 在某些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含

SEQ ID NO: 53所示的VH中含有的CDR-H1或其序列的變體、CDR-H2或其序列的變體以及CDR-H3或其序列的變體;和/或SEQ ID NO: 54所示的VL中含有的CDR-L1或其序列的變體、CDR-L2或其序列的變體以及CDR-L3或其序列的變體。

【0013】 在某些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO: 68所示的VH中含有的CDR-H1或其序列的變體、CDR-H2或其序列的變體以及CDR-H3或其序列的變體;和/或SEQ ID NO: 69所示的VL中含有的CDR-L1或其序列的變體、CDR-L2或其序列的變體以及CDR-L3或其序列的變體。

在某些優選實施方案中，所述序列的變體為與其來源CDR相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的CDR。

【0014】 在某些優選實施方案中，所述的置換為保守置換。

【0015】 優選地，所述CDR根據AbM、Chothia、Kabat或IMGT編號系統定義。

【0016】 在某些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段的VH和/或VL中包括來自人的免疫球蛋白的構架區(FR)。

【0017】 在某些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段結合人TSLP和/或猴TSLP。

【0018】 在一個方面，本發明提供了一種能夠結合TSLP的抗體或其抗原結合片段，所述抗體或其抗原結合片段包含：重鏈可變區（VH）和/或輕鏈可變區（VL）。

【0019】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段

包含下述重鏈可變區（VH）和/或輕鏈可變區（VL），其中CDR按IMGT編號系統定義：

(a) 包含如下3個CDR的重鏈可變區（VH）：序列為SEQ ID NO：3或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：4或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H2，序列為SEQ ID NO：5或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：6或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：7或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：8或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L3；

(b) 包含如下3個CDR的重鏈可變區（VH）：序列為SEQ ID NO：19或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：20或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的

CDR-H2，序列為SEQ ID NO：21或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：22或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：23或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：24或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L3；

(c) 包含如下3個CDR的重鏈可變區（VH）：序列為SEQ ID NO：32或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：33或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H2，序列為SEQ ID NO：34或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：35或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：23或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例

如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：24或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L3；

(d) 包含如下3個CDR的重鏈可變區（VH）：序列為SEQ ID NO：42或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：43或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H2，序列為SEQ ID NO：44或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：45或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：46的CDR-L2或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列，序列為SEQ ID NO：47或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L3；

或

(e) 包含如下3個CDR的重鏈可變區（VH）：序列為SEQ ID NO：55或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1

個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：56的CDR-H2或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列，序列為SEQ ID NO：57或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：58或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：59或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：60或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L3。

【0020】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含下述重鏈可變區（VH）和/或輕鏈可變區（VL），其中CDR按IMGT編號系統定義：

(a) 包含如下3個CDR的重鏈可變區（VH）：序列為SEQ ID NO：3的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：4的CDR-H2，序列為SEQ ID NO：5的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：6的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：7的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：8的CDR-L3；

(b) 包含如下3個CDR的重鏈可變區 (VH)：序列為SEQ ID NO：19的 CDR-H1，序列為SEQ ID NO：20的 CDR-H2，序列為SEQ ID NO：21的 CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區 (VL)：序列為SEQ ID NO：22的 CDR-L1，序列為SEQ ID NO：23的 CDR-L2，序列為SEQ ID NO：24的 CDR-L3；

(c) 包含如下3個CDR的重鏈可變區 (VH)：序列為SEQ ID NO：32的 CDR-H1，序列為SEQ ID NO：33的 CDR-H2，序列為SEQ ID NO：34的 CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區 (VL)：序列為SEQ ID NO：35的 CDR-L1，序列為SEQ ID NO：23的 CDR-L2，序列為SEQ ID NO：24的 CDR-L3；

(d) 包含如下3個CDR的重鏈可變區 (VH)：序列為SEQ ID NO：42的 CDR-H1，序列為SEQ ID NO：43的 CDR-H2，序列為SEQ ID NO：44的 CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區 (VL)：序列為SEQ ID NO：45的 CDR-L1，序列為SEQ ID NO：46的 CDR-L2，序列為SEQ ID NO：47的 CDR-L3；

或

(e) 包含如下3個CDR的重鏈可變區 (VH)：序列為SEQ ID NO：55的 CDR-H1，序列為SEQ ID NO：56的 CDR-H2，序列為SEQ ID NO：57的 CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區 (VL)：序列為SEQ ID NO：58的

CDR-L1，序列為SEQ ID NO：59的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：60的CDR-L3。

【0021】在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含下述重鏈可變區（VH）和/或輕鏈可變區（VL），其中CDR按AbM編號系統定義：

(a) 包含如下3個CDR的重鏈可變區（VH）：序列為SEQ ID NO：9或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：10或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H2，序列為SEQ ID NO：11或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：12或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：13或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：8或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L3；

(b) 包含如下3個CDR的重鏈可變區（VH）：序列為SEQ ID NO：25或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1

個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：26或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H2，序列為SEQ ID NO：27或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：28或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：29或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：24或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L3；

(c) 包含如下3個CDR的重鏈可變區（VH）：序列為SEQ ID NO：36或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：37或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H2，序列為SEQ ID NO：38或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：39或

與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：29或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：24或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L3；

(d) 包含如下3個CDR的重鏈可變區（VH）：序列為SEQ ID NO：48或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：49或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H2，序列為SEQ ID NO：50或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：51或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：52或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：47或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L3；

或

(e) 包含如下3個CDR的重鏈可變區 (VH)：序列為SEQ ID NO：61或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：62或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H2，序列為SEQ ID NO：63或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區 (VL)：序列為SEQ ID NO：64或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：65或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：60或與其相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加）的序列的CDR-L3。

【0022】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含下述重鏈可變區 (VH) 和/或輕鏈可變區 (VL)，其中CDR按AbM編號系統定義：

(a) 包含如下3個CDR的重鏈可變區 (VH)：序列為SEQ ID NO：9的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：10的CDR-H2，序列為SEQ ID NO：11的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：12的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：13的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：8的CDR-L3；

(b) 包含如下3個CDR的重鏈可變區（VH）：序列為SEQ ID NO：25的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：26的CDR-H2，序列為SEQ ID NO：27的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：28的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：29的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：24的CDR-L3；

(c) 包含如下3個CDR的重鏈可變區（VH）：序列為SEQ ID NO：36的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：37的CDR-H2，序列為SEQ ID NO：38的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：39的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：29的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：24的CDR-L3；

(d) 包含如下3個CDR的重鏈可變區（VH）：序列為SEQ ID NO：48的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：49的CDR-H2，序列為SEQ ID NO：50的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：51的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：52的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：47的CDR-L3；

或

(e) 包含如下3個CDR的重鏈可變區（VH）：序列為SEQ ID NO：

61的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：62的CDR-H2，序列為SEQ ID NO：63的CDR-H3；和/或，

包含如下3個CDR的輕鏈可變區（VL）：序列為SEQ ID NO：64的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：65的CDR-L2，序列為SEQ ID NO：60的CDR-L3。

【0023】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含下述重鏈可變區（VH）和/或輕鏈可變區（VL），其中，與前述IMGT或AbM定義的CDR相比，所述重鏈可變區（VH）和/或輕鏈可變區（VL）中至少一個CDR含有突變，所述突變為一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如1個，2個或3個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）。

【0024】 優選地，本發明所述的置換為保守置換。

【0025】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段的VH包含來源於人免疫球蛋白的重鏈可變區（VH）的構架區（FR），和/或所述抗體或其抗原結合片段的VL包含來源於人免疫球蛋白的輕鏈可變區（VL）的構架區（FR）。因此，在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段是人源化的。在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段是全人源的。

【0026】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含：

(a) 人免疫球蛋白的重鏈構架區或其變體，所述變體與其所源自的胚系抗體基因編碼的胺基酸序列相比具有至多20個胺基酸的保守置換（例如至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的保守置換）

換；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的保守置換)；和/或

(b) 人免疫球蛋白的輕鏈構架區或其變體，所述變體與其所源自的胚系抗體基因編碼的胺基酸序列相比具有至多20個胺基酸的保守置換（例如至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的保守置換；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的保守置換）。

【0027】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段的人源化程度為至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%。

【0028】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含：

(a) 重鏈可變區（VH），其包含選自下列的胺基酸序列：

(i) SEQ ID NO：1、17、30、40、53或68所示的序列；

(ii) 與SEQ ID NO：1、17、30、40、53或68所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(iii) 與SEQ ID NO：1、17、30、40、53或68所示的序列相比具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列；

和/或

(b) 輕鏈可變區 (VL)，其包含選自下列的胺基酸序列：

(iv) SEQ ID NO：2、18、31、41、54或69所示的序列；

(v) 與SEQ ID NO：2、18、31、41、54或69所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(vi) 與SEQ ID NO：2、18、31、41、54或69所示的序列相比具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列。

【0029】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO：1所示的VH，和/或SEQ ID NO：2所示的VL。

【0030】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO：17所示的VH，和/或SEQ ID NO：18所示的VL。

【0031】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO：30所示的VH，和/或SEQ ID NO：31所示的VL。

【0032】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO：40所示的VH，和/或SEQ ID NO：41所示的VL。

【0033】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO：53所示的VH，和/或SEQ ID NO：54所示的VL。

【0034】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO：68所示的VH，和/或SEQ ID NO：69所示的VL。

【0035】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含：

(a) SEQ ID NO：1所示序列的VH和SEQ ID NO：2所示序列的VL；

(b) SEQ ID NO：17所示序列的VH和SEQ ID NO：18所示序列的VL；

(c) SEQ ID NO：30所示序列的VH和SEQ ID NO：31所示序列的VL；

(d) SEQ ID NO：40所示序列的VH和SEQ ID NO：41所示序列的VL；

(e) SEQ ID NO：53所示序列的VH和SEQ ID NO：54所示序列的VL；

(f) SEQ ID NO：68所示序列的VH和SEQ ID NO：69所示序列的VL；

(g) 重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL），其中所述重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL）獨立地與(a)至(f)任一組中所述的VH和VL相比分別具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性；或

(h) 重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL），其中所述重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL）與(a)至(f)任一組中所述的VH和VL分別相比，獨立地具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個

胺氨酸的置換、缺失或添加或其任意組合)。優選地，所述的置換是保守置換。

【0036】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段的重鏈包含人免疫球蛋白的重鏈恆定區（CH）或其變體，所述變體與其所源自的野生型序列相比具有至多50個胺氨酸的保守置換（例如至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺氨酸的保守置換；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺氨酸的保守置換）。在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段的輕鏈包含人免疫球蛋白的輕鏈恆定區（CL）或其變體，所述變體與其所源自的野生型序列相比具有至多50個胺氨酸的保守置換（例如至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺氨酸的保守置換；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺氨酸的保守置換）。

【0037】 在一些實施方案中，恆定區被改變，例如被突變，以修飾抗TSLP抗體分子的性質（例如改變下列中的一個或多個特性：Fc受體結合、抗體糖基化、半胱胺胺酸殘基的數目、效應細胞功能或補體功能）。可以透過將抗體恆定區中的至少一個胺氨酸殘基替換為不同殘基，產生功能改變，例如，改變抗體對效應子配體（如FcR或補體C1q）的親和力，從而改變效應子功能（例如降低）。抗體的Fc區介導幾種重要的效應子功能，例如ADCC、吞噬作用(ADCP)、CDC等。

【0038】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段

具有重鏈恆定區（Fc），其選自例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE的重鏈恆定區；特別地選自例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的重鏈恆定區，更特別地選自IgG1（例如是人IgG1）的重鏈恆定區。在一些實施方案中，人IgG1重鏈恆定區如SEQ ID NO：14所示。在一些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段具有輕鏈恆定區，其選自例如κ或λ輕鏈恆定區，優選κ輕鏈恆定區（例如人κ輕鏈恆定區）。

【0039】 在一些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含人IgG1重鏈恆定區。在一些優選地實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含uniprot ID P01857所示的人IgG1恆定區（SEQ ID NO：74）。

【0040】 在一些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含人IgG1重鏈恆定區（例如SEQ ID NO：74）或其變體，按照EU編號系統，所述變體在位點234、235、237、265、297、331、329、434至少一個位點發生突變。在一些實施方案中，所述變體含有下列突變中至少一個：L234A、L235A、D265A、N297A、L234F、L235E、P331S、P329G、N434A、N434Y、N434F、N434W、N434S、N434G、N434H、N434Q。在一些實施方案中，所述變體含有下列突變中至少一個：L234A、L235A、G237A、N434A。在一些實施方案中，所述IgG1重鏈恆定區變體包含L234A、L235A和G237A。在一些實施方案中，所述IgG1重鏈恆定區變體包含突變L234A、L235A、G237A和N434A。

【0041】 在一些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含

SEQ ID NO：14所示的CH或其變體，所述變體與SEQ ID NO：14相比具有至多20個胺基酸的保守置換（例如至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的保守置換；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的保守置換），或者與SEQ ID NO：14相比具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。按照EU編號系統，所述變體含有N297A和/或N434A。在一些實施方案中，所述變體含有N434A。

【0042】 在一些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO：15所示的CH或其變體，所述變體與SEQ ID NO：15相比具有至多20個胺基酸的保守置換（例如至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的保守置換；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的保守置換），或者與SEQ ID NO：15相比具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

【0043】 在一些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含人IgG4重鏈恆定區（例如SEQ ID NO：75）或其變體，按照EU編號系統，所述變體在位點228和/或434至少一個位點發生突變。

【0044】 在一些實施方案中，所述突變體包含S228P和/或N434A。在一些實施方案中，所述人IgG4重鏈恆定區變體包含S228P和N434A。

【0045】 在一些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含

SEQ ID NO：70所示的CH或其變體，所述變體與SEQ ID NO：70相比具有至多20個胺基酸的保守置換（例如至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的保守置換；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的保守置換），或者與SEQ ID NO：70相比具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

【0046】 在一些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含輕鏈恆定區或其變體。在一些實施方案中，所述輕鏈恆定區包含κ輕鏈恆定區。在一些實施方案中，所述輕鏈恆定區包含SEQ ID NO：16所示的輕鏈恆定區（CL）或其變體，所述變體與SEQ ID NO：16相比具有至多20個胺基酸的保守置換（例如至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的保守置換；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的保守置換），或者與SEQ ID NO：16相比具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

【0047】 在一些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO：14所示的重鏈恆定區（CH）和SEQ ID NO：16所示的輕鏈恆定區（CL）。

【0048】 在一些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO：15所示的重鏈恆定區（CH）和SEQ ID NO：16所示的輕鏈恆定區（CL）。

【0049】 在一些實施方案中，所述抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO：70所示的重鏈恆定區（CH）和SEQ ID NO：16所示的輕鏈恆定區（CL）。

【0050】 在一些實施方案中，上述位點突變使抗體或抗原結合片段與含有人IgG4或IgG4重鏈恆定區的相應抗體或抗原結合片段相比，沒有或具有降低的ADCP、ADCC和/或CDC活性。

【0051】 在一些實施方案中，上述位點突變使抗體或抗原結合片段與不具有所述突變或置換的相應抗體或抗原結合片段相比，沒有或具有降低的ADCP、ADCC和/或CDC活性。

【0052】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含：

(a) 重鏈，其包含選自下列的胺基酸序列：

(i) 包含SEQ ID NO：1所示的VH序列和SEQ ID NO：14、15或70所示的CH序列的序列；

(ii) 與(i)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(iii) 與(i)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列；

以及

(b) 輕鏈，其包含選自下列的胺基酸序列：

(iv) 包含SEQ ID NO：2所示的VL序列和 SEQ ID NO：16所示的CL序列的序列；

(v) 與(iv)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(vi) 與(iv)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列。

【0053】 在某些實施方案中，(ii)或(v)中所述的置換是保守置換。

【0054】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含：

(a) 重鏈，其包含選自下列的胺基酸序列：

(i) 包含SEQ ID NO：17所示的VH序列和SEQ ID NO：14、15或70所示的CH序列的序列；

(ii) 與(i)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、

至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；
例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺
基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(iii) 與(i)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少
90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至
少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列；
以及

(b) 輕鏈，其包含選自下列的胺基酸序列：

(iv) 包含SEQ ID NO：18所示的VL序列和 SEQ ID NO：16所
示的CL序列的序列；

(v) 與(iv)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺
失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40
個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、
至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；
例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺
基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(vi) 與(iv)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少
90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至
少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列。

【0055】 在某些實施方案中，(ii)或(v)中所述的置換是保守置
換。

【0056】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段
包含：

(a) 重鏈，其包含選自下列的胺基酸序列：

(i) 包含SEQ ID NO：30所示的VH序列和SEQ ID NO：14、15或70所示的CH序列的序列；

(ii) 與(i)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(iii) 與(i)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列；以及

(b) 輕鏈，其包含選自下列的胺基酸序列：

(iv) 包含SEQ ID NO：31所示的VL序列和 SEQ ID NO：16所示的CL序列的序列；

(v) 與(iv)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(vi) 與(iv)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少

90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列。

在某些實施方案中，(ii)或(v)中所述的置換是保守置換。

在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含：

(a) 重鏈，其包含選自下列的胺基酸序列：

(i) 包含SEQ ID NO：40所示的VH序列和SEQ ID NO：14、15或70所示的CH序列的序列；

(ii) 與(i)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(iii) 與(i)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列；以及

(b) 輕鏈，其包含選自下列的胺基酸序列：

(iv) 包含SEQ ID NO：41所示的VL序列和 SEQ ID NO：16所示的CL序列的序列；

(v) 與(iv)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；例如1個，2個，3個，4

個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(vi) 與(iv)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列。

【0057】 在某些實施方案中，(ii)或(v)中所述的置換是保守置換。

【0058】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含：

(a) 重鏈，其包含選自下列的胺基酸序列：

(i) 包含SEQ ID NO：53所示的VH序列和SEQ ID NO：14、15或70所示的CH序列的序列；

(ii) 與(i)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(iii) 與(i)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列；以及

(b) 輕鏈，其包含選自下列的胺基酸序列：

(iv) 包含SEQ ID NO：54所示的VL序列和 SEQ ID NO：16所示的CL序列的序列；

(v) 與(iv)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(vi) 與(iv)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列。

【0059】 在某些實施方案中，(ii)或(v)中所述的置換是保守置換。

【0060】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含：

(a) 重鏈，其包含選自下列的胺基酸序列：

(i) 包含SEQ ID NO：68所示的VH序列和SEQ ID NO：14、15或70所示的CH序列的序列；

(ii) 與(i)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺

基酸的置換、缺失或添加或其任意組合)的序列；或

(iii) 與(i)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列；以及

(b) 輕鏈，其包含選自下列的胺基酸序列：

(iv) 包含SEQ ID NO：69所示的VL序列和SEQ ID NO：16所示的CL序列的序列；

(v) 與(iv)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合(例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合)的序列；或

(vi) 與(iv)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列。

【0061】 在某些實施方案中，(ii)或(v)中所述的置換是保守置換。

【0062】 在某些實施方案中，本發明的抗體包含：包括SEQ ID NO：1所示的VH和SEQ ID NO：14、15或70所示的重鏈恆定區(CH)的重鏈，和，包括SEQ ID NO：2所示的VL和SEQ ID NO：16所示的輕鏈恆定區(CL)的輕鏈。

【0063】 在某些實施方案中，本發明的抗體包含：包括SEQ ID NO：17所示的VH和SEQ ID NO：14、15或70所示的重鏈恆定區（CH）的重鏈，和，包括SEQ ID NO：18所示的VL和SEQ ID NO：16所示的輕鏈恆定區（CL）的輕鏈。

【0064】 在某些實施方案中，本發明的抗體包含：包括SEQ ID NO：30所示的VH和SEQ ID NO：14、15或70所示的重鏈恆定區（CH）的重鏈，和，包括SEQ ID NO：31所示的VL和SEQ ID NO：16所示的輕鏈恆定區（CL）的輕鏈。

【0065】 在某些實施方案中，本發明的抗體包含：包括SEQ ID NO：40所示的VH和SEQ ID NO：14、15或70所示的重鏈恆定區（CH）的重鏈，和，包括SEQ ID NO：41所示的VL和SEQ ID NO：16所示的輕鏈恆定區（CL）的輕鏈。

【0066】 在某些實施方案中，本發明的抗體包含：包括SEQ ID NO：53所示的VH和SEQ ID NO：14、15或70所示的重鏈恆定區（CH）的重鏈，和，包括SEQ ID NO：54所示的VL和SEQ ID NO：16所示的輕鏈恆定區（CL）的輕鏈。

【0067】 在某些實施方案中，本發明的抗體包含：包括SEQ ID NO：68所示的VH和SEQ ID NO：14、15或70所示的重鏈恆定區（CH）的重鏈，和，包括SEQ ID NO：69所示的VL和SEQ ID NO：16所示的輕鏈恆定區（CL）的輕鏈。

【0068】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段包含重鏈和輕鏈，

所述重鏈包含：

(i) SEQ ID NO：66或73所示的序列；

(ii) 與(i)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(iii) 與(i)所示的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列；和

所述輕鏈包含：

(iv) SEQ ID NO：67所示的序列；

(v) 與(iv)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(vi) 與(iv)所示的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列；

【0069】 優選地，(ii)或(v)中所述的置換是保守置換。

【0070】 在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段

包含重鏈和輕鏈，

所述重鏈包含：

(i) SEQ ID NO：71所示的序列；

(ii) 與(i)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(iii) 與(i)所示的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列；和

所述輕鏈包含：

(iv) SEQ ID NO：72所示的序列；

(v) 與(iv)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合（例如至多50個、至多45個、至多40個、至多35個、至多30個、至多25個、至多20個、至多15個、至多10個或至多5個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；例如1個，2個，3個，4個，5個，6個，7個，8個，9個或10個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合）的序列；或

(vi) 與(iv)所示的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列；

【0071】 優選地，(ii)或(v)中所述的置換是保守置換。

【0072】 在某些實施方案中，本發明的抗體是嵌合抗體，人源化抗體或全人源抗體。在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段選自 scFv、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv 片段、二硫鍵連接的 Fv(dsFv)、雙抗體(diabody)。

【0073】 在某些實施方案中，本發明的抗體分子或其抗原結合片段可以顯示出以下性質中的至少一種：

(a) 以小於約 50 nM，例如小於約 40 nM、30 nM、20 nM、10 nM、1 nM、0.1 nM、1 pM、0.1 pM 或更低的 KD 結合 TSLP（例如，人 TSLP）；所述 KD 可以透過本領域公知的技術測得，例如透過 Fortebio 或 ELISA 測得；

(b) 以小於約 50 nM，例如小於約 40 nM、30 nM、20 nM、10 nM、1 nM、0.9 nM、0.8 nM、0.7 nM、0.6 nM、0.5 nM、0.4 nM、0.3 nM、0.2 nM、0.1 nM、0.01 nM、1 pM、0.1 pM 或更小的 EC₅₀ 結合 TSLP（例如，人 TSLP）；所述 EC₅₀ 可以透過本領域公知的技術測得，例如透過流式細胞技術、ELISA 如親和力 ELISA 技術或細胞競爭 ELISA 技術測得；

(c) 以小於約 50 nM，例如約 50 nM、20 nM、10 nM、1 nM、0.9 nM、0.8 nM、0.7 nM、0.6 nM、0.5 nM、0.4 nM、0.3 nM、0.2 nM、0.1 nM、0.01 nM、1 pM、0.1 pM 或更小的 IC₅₀ 抑制 TSLP 與 IL7R α /TSLPR 的結合；所述 IC₅₀ 透過 ELISA 技術測得；

(d) 抑制或阻斷 TSLP 誘導的 OX40L 表現；

(e) 抑制或阻斷 TSLP 誘導的肥大細胞、DC、NKT 細胞的啟動和/

或增殖；

(f) 抑制或阻斷TSLP誘導的骨保護素（OPG）的分泌；

(g) 抑制或阻斷Th2細胞素如TARC、CCL22、IL-4、IL-13或IL-5的分泌；

(h) 良好的與FcRn結合的親和力；

(i) 等電點（PI）為約6.5到約8.5，如約6.5、約7.0、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4、約7.5、約7.7、約7.9、約8.0、約8.2或約8.5。

【0074】此外，本發明的抗體具有良好的與FcRn的親和力。在某些實施方案中，與FcRn親和力的KD(M)值在 10^{-9} 級別。本發明的抗體具有更長的體內半衰期。本發明的抗體亦具有良好的親水性。在某些實施方案中，透過層析管柱檢測，本發明的抗體的疏水時間在8分鐘到14分鐘之間。

【0075】 抗體衍生物

【0076】本發明的抗體或其抗原結合片段可進行衍生化，例如被連接至另一個分子（例如另一個多肽或蛋白）。通常，抗體或其抗原結合片段的衍生化（例如，標記）不會對其與TSLP（特別是人TSLP）的結合產生不利影響。因此，本發明的抗體或其抗原結合片段還意欲包括此類衍生化的形式。例如，可以將本發明的抗體或其抗原結合片段連接（透過化學偶合、基因融合、非共價連接或其它方式）於一個或多個其它分子基團，例如另一個抗體（例如，形成雙特异性抗體），檢測試劑，藥用試劑，和/或能夠介導抗體或抗原結合片段與另一個分子結合的蛋白或多肽（例如，抗生物素蛋白或多組胺酸標籤）。

【0077】 一種類型的衍生化抗體（例如，雙特異性抗體）是透過交叉連接2個或更多個抗體（屬於同一類型或不同類型）而產生的。獲得雙特異性抗體的方法是本領域公知的，其實例包括但不限於，化學交聯法、細胞工程法（融合瘤法）或基因工程法。

【0078】 另一種類型的衍生化抗體是標記的抗體。例如，可以將本發明的抗體或其抗原結合片段連接至可檢測的標記。本發明所述的可檢測的標記可以是可透過螢光、光譜、光化學、生物化學、免疫學、電學、光學或化學手段檢測的任何物質。這類標記是本領域熟知的，其實例包括但不限於，酶（例如，辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、脲酶、葡萄糖氧化酶，等）、放射性核素（例如， ^3H 、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 或 ^{32}P ）、螢光染料（例如，異硫氰酸螢光素（FITC）、螢光素、異硫氰酸四甲基羅丹明（TRITC）、藻紅蛋白（PE）、德克薩斯紅、羅丹明、量子點或花菁染料衍生物（例如Cy7、Alexa 750）、吡啶酯類化合物、磁珠（例如，Dynabeads®）、測熱標記物例如膠體金或有色玻璃或塑膠（例如，聚苯乙烯、聚丙烯、乳膠，等）珠、以及用於結合上述標記物修飾的親和素（例如，鏈黴親和素）的生物素。教導該標記物的使用的專利包括，但不限於，美國專利 3,817,837；3,850,752；3,939,350；3,996,345；4,277,437；4,275,149；及4,366,241（全部透過引用併入本文）。如上所述的可檢測的標記可透過本領域已知的方法檢測。例如，放射性標記可使用攝影膠片或閃爍計算器檢測，螢光標記物可使用光檢測器檢測，以檢測發射的光。酶標記物一般透過給酶提供受質及檢測透過酶對受質的作用產生的反應產物來檢測，及測熱標記物透過簡單視覺化

著色標記物來檢測。在某些實施方案中，此類標記能夠適用於免疫學檢測（例如，酶聯免疫測定法、放射免疫測定法、螢光免疫測定法、化學發光免疫測定法等）。在某些實施方案中，可透過不同長度的接頭（linker）將如上所述的可檢測的標記連接至本發明的抗體或其抗原結合片段，以降低潛在的位阻。

【0079】此外，本發明的抗體或其抗原結合片段還可以用化學基團進行衍生，例如聚乙二醇（PEG），甲基或乙基，或者糖基。這些基團可用於改善抗體的生物學特性，例如增加血清半衰期。

【0080】因此，本發明的一個方面提供了一種結合物，其包括本發明的單株抗體或其抗原結合片段以及偶聯部分，所述偶聯部分可為前述的可檢測的標記，如放射性同位素、螢光物質、發光物質、有色物質或酶。所述偶聯部分也可為治療劑。

【0081】作為抗體的衍生物之一，本發明提供一種多特異性抗體，所述多特異性抗體包含第一抗體或其片段，和另外的抗體或其片段，或抗體類似物，其中第一抗體或其片段，另外的抗體或其片段，或抗體類似物保留其原始結合特異性。所述第一抗體或其片段是本發明的任一結合TSLP的（單株）抗體或其抗原結合片段。如本文中所使用的，“抗體類似物（antibody mimetic）”，指與抗體一樣特異性結合抗原，但卻沒有抗體結構。它們通常是人工肽或蛋白質，莫耳質量約為3至20kDa，例如錨蛋白重複蛋白(DARPin)和fynomer。經設計的錨蛋白重複蛋白(DARPin)可以與IgG抗體、scFv-Fc抗體片段或其組合相連，如CN104341529A所述。抗IL-17a的fynomer與抗IL-6R抗體融合產生雙特異性融合多肽，如WO2015141862A1所述。

【0082】 在某些實施方案中，所述多特異性抗體由第一抗體或其抗原結合片段與其他抗體或其抗原結合片段或抗體類似物透過偶聯形成，並且其中各抗體或其抗原結合片段或抗體類似物保持其原結合特異性，所述第一抗體或其抗原結合片段為本發明所述的抗體或其抗原結合片段。某些實施方案中，所述多特異性抗體為雙特異性抗體或三特異性抗體或四特異性抗體。

【0083】 抗體的製備

【0084】 本發明的抗體可以本領域已知的各種方法來製備，例如透過基因工程重組技術來獲得。例如，透過化學合成或PCR擴增獲得編碼本發明抗體的重鏈和輕鏈基因的DNA分子。將所得DNA分子插入表現載體內，然後轉染宿主細胞。然後，在特定條件下培養轉染後的宿主細胞，並表現本發明的抗體。

【0085】 本發明的抗原結合片段可以透過水解完整的抗體分子獲得（參見Morimoto et al., J. Biochem. Biophys. Methods 24:107-117 (1992) and Brennan et al., Science 229:81 (1985)）。另外，這些抗原結合片段也可以直接由重組宿主細胞產生（reviewed in Hudson, Curr. Opin. Immunol. 11: 548-557 (1999); Little et al., Immunol. Today, 21: 364-370 (2000)）。比如，Fab'片段可以直接從宿主細胞中獲得；可以將Fab'片段化學偶聯形成F(ab')₂片段(Carter et al., Bio/Technology, 10: 163-167 (1992)）。另外，Fv、Fab或F(ab')₂片段也可以直接從重組宿主細胞培養液中直接分離得到。本領域的普通技術人員完全知曉製備這些抗原結合片段的其它技術。

【0086】 因此，在另一個方面，本發明提供了一種分離的核酸

分子，包含編碼本發明的抗體或其抗原結合片段、或其重鏈可變區和/或輕鏈可變區、或其一個或多個CDR的核苷酸序列。根據本領域已知的密碼子簡併性，在某些實施方案中，所述核苷酸序列是可以根據密碼子簡併性進行替換的。在某些實施方案中，所述核苷酸序列是密碼子最優化的。

【0087】 在某些實施方案中，本發明所述分離的核酸分子包含：(i) 分別編碼本發明的抗體或其抗原結合片段的重鏈可變區和輕鏈可變區的第一核酸和第二核酸，或(ii) 分別編碼本發明的抗體或其抗原結合片段的重鏈可變區和重鏈恆定區的第一核酸，和輕鏈可變區和輕鏈恆定區的第二核酸，或(iii) 分別編碼本發明的抗體或其抗原結合片段的重鏈和輕鏈的第一核酸和第二核酸。在某些實施方案中，所述第一核酸和第二核酸包含與上述(i) - (iii)中任一第一核酸和第二核酸的簡併序列或基本上相同序列的核酸。在某些實施方案中，所述簡併序列或基本上相同序列指與(i) - (iii)中所述核酸分子相比具有至少大約85%、90%、95%、99%或更高序列同一性的序列或具有一個或更多個核苷酸取代的序列，或相差不超過3、6、15、30或45個核苷酸的序列。

【0088】 另一方面，提供了一種載體（例如克隆載體或表現載體），其包含本發明的分離的核酸分子。在某些實施方案中，本發明的載體是例如質體，黏質體，噬菌體，慢病毒等。在某些實施方案中，所述載體能夠在個體（例如哺乳動物，例如人）體內表現本發明的抗體或其抗原結合片段。

【0089】 另一方面，提供了一種宿主細胞，其包含本發明的分

離的核酸分子或本發明的載體。宿主細胞可以是真核細胞（例如哺乳動物細胞、昆蟲細胞、酵母細胞）或原核細胞（例如大腸桿菌）。合適的真核細胞包括但不限於NS0細胞、Vero細胞、Hela細胞、COS細胞、CHO細胞、HEK293細胞、BHK細胞、和MDCKII細胞。適宜的昆蟲細胞包括但不限於Sf9細胞。在某些實施方案中，本發明的宿主細胞是哺乳動物細胞，例如CHO（例如CHO-K1、CHO-S、CHO DXB11、CHO DG44）。

【0090】 另一方面，提供了製備本發明的抗體或其抗原結合片段的方法，其包括，在允許所述抗體或其抗原結合片段表現的條件下，培養本發明的宿主細胞，和從培養的宿主細胞培養物中回收所述抗體或其抗原結合片段。

【0091】 用途、治療方法和藥物組合物

【0092】 本發明另一方面，提供了藥物組合物，其包含本發明的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體、和/或結合物以及藥學上可接受的載體和/或賦形劑。

【0093】 在某些實施方案中，本發明的藥物組合物包含本發明的抗體或其抗原結合片段，以及藥學上可接受的載體和/或賦形劑。

【0094】 在某些實施方案中，本發明的藥物組合物包含本發明的宿主細胞，以及藥學上可接受的載體和/或賦形劑，其中所述宿主細胞包含如前所述的分離的核酸分子或載體。

【0095】 在某些實施方案中，本發明的藥物組合物包含本發明的多特異性抗體，以及藥學上可接受的載體和/或賦形劑。

【0096】 在某些實施方案中，本發明的藥物組合物包含本發明

的結合物以及藥學上可接受的載體和/或賦形劑。

【0097】 另一方面，本發明的藥物組合物中的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體或者結合物用於在個體中產生至少一項以下生物學活性：

- (1) 抑制或阻斷TSLP與TSLPR/IL7R α 結合；
- (2) 下調或消除TSLP的活性；
- (3) 下調或阻斷OX40L的表現；
- (4) 抑制或阻斷TSLP誘導的骨保護素（OPG）的分泌；
- (5) 抑制或阻斷Th2類細胞素如TARC、CCL22、IL-4、IL-13或IL-5的分泌；
- (6) 抑制或阻斷TSLP誘導的肥大細胞、DC、NKT細胞的啟動和/或增殖。

【0098】 本發明的藥物組合物中的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體或者結合物能夠抑制或阻斷TSLP與TSLPR/IL7R α 結合。TSLP與TSLPR/IL7R α 結合能夠引起很多過敏性發炎疾病，包括過敏性疾病和非過敏性疾病。這些疾病包括但不限於氣喘(包括嚴重氣喘)、特發性肺纖維化、特應性皮炎(AD)、過敏性結膜炎、過敏性鼻炎(AR)、Netherton症候群(NS)、嗜酸性食管炎(EoE)、食物過敏、過敏性腹瀉、嗜酸性胃腸炎、過敏性支氣管肺曲黴菌病(ABPA)、過敏性真菌性鼻竇炎、類風濕性關節炎、COPD、全身性全身性硬化症、癬痕疙瘩、潰瘍性結腸炎、慢性鼻竇炎(CRS)和鼻息肉、慢性嗜酸性肺炎、嗜酸性支氣管炎；腹腔疾病，如嗜酸性胃腸炎、Churg-Strauss症候群；嗜酸性粒細胞相關的胃腸道疾病，如嗜

酸性粒細胞增多症/嗜酸性肉芽腫伴多血管炎、嗜酸性食管炎和炎症性腸病；蕁麻疹、全身性肥大細胞增多症、皮膚肥大細胞增多症、反復發作的特發性血管性水腫。因此本發明的物組合物中的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體或者結合物能夠預防或治療前述疾病。

【0099】 TSLP與TSLPR/IL7R α 結合也與自身免疫性疾病相關。因此本發明的物組合物中的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體或者結合物能夠預防或治療自身免疫性疾病如糖尿病、重症肌無力、胃炎、天皰瘡、原發性膽汁性肝硬化、多發性硬化症、狼瘡、結腸炎、類風濕、牛皮癬和甲狀腺疾病等。

【0100】 在某些實施方案中，在所述藥物組合物中，本發明的抗體或其抗原結合片段與所述另外的藥學活性劑作為分離的組分或作為同一組合物的組分提供。因此，本發明的抗體或其抗原結合片段與所述另外的藥學活性劑可以聯合或分開、同時或相繼施用。

【0101】 在某些實施方案中，所述藥物組合物還可以包含另外的藥學活性劑。

【0102】 本發明的抗TSLP的抗體或其抗原結合片段可單獨或與其它活性劑組合給藥。抗TSLP的抗體或其抗原結合片段和一種或多種其它活性劑可分開、同時或相繼給藥。

【0103】 本發明的抗TSLP的抗體或其抗原結合片段可與採用任何合適的免疫抑制劑，包括但不限於抗炎症藥物組合給藥，尤其是吸入、鼻內或腸胃外皮質類固醇，如布地縮松、貝克每松 (beclamethasone dipropionate)、丙酸氟地松、環索奈德，糠酸毛他

松，糠酸氟替卡松、丙酸氟替卡松、布地奈德、環索奈德、二丙酸倍氯米松、糠酸莫米松、曲安奈德和潑尼松龍。在一個實施方案中，本發明的抗TSLP的抗體或其抗原結合片段可以與吸入皮質類固醇的固定劑量組合進行給藥。如與糠酸氟替卡松或丙酸氟替卡松的固定劑量組合。在一個實施方案中，本發明的抗TSLP的抗體或其抗原結合片段可以與非類固醇類糖皮質激素受體激動劑；LTD4拮抗劑或LTB4拮抗劑，包括孟魯司特、普侖司特、紮魯司特、安可來等；A2A激動劑；A2B拮抗劑；多巴胺受體激動劑；或，PDE4抑制劑組合進行給藥。在一個實施方案中，本發明的抗TSLP的抗體或其抗原結合片段可與吡非尼酮或尼達尼布或avB6拮抗劑組合給藥。

【0104】 本發明的抗TSLP的抗體或其抗原結合片段可與支氣管舒張藥物組合給藥。如 β -2腎上腺素受體激動劑和/或毒蕈鹼拮抗劑組合給藥。合適的 β -2腎上腺素受體激動劑包括維蘭特羅、沙美特羅、沙丁胺醇、福莫特羅、沙甲胺醇、非諾特羅、卡莫特羅、依坦特羅、那明特羅、克侖特羅、吡布特羅、氟丁特羅、瑞普特羅、班布特羅、茚達特羅、特布他林、以及它們的鹽。合適的毒蕈鹼拮抗劑包括蕪地溴銨、噻托溴銨、格隆溴銨、異丙托銨、以及它們的鹽如蕪地溴銨的氫溴酸鹽。在一個實施方案中，本發明的抗TSLP的抗體或其抗原結合片段可以與 β -2腎上腺素受體激動劑和/或毒蕈鹼拮抗劑的固定劑量組合進行給藥，如與維蘭特羅三苯乙酸鹽、蕪地溴銨的固定劑量組合，或與維蘭特羅三苯乙酸鹽和蕪地溴銨的雙重組合。

【0105】 本發明的抗TSLP的抗體或其抗原結合片段可與一種或多種支氣管擴張劑和吸入的類固醇的組合一起給藥。這種組合可包括

雙重組合如糠酸氟替卡松和維蘭特羅三苯乙酸鹽、糠酸氟替卡松和蕪地溴銨、丙酸氟替卡松和沙美特羅、布地奈德和福莫特羅、莫米松和福莫特羅，和三重治療如糠酸氟替卡松、維蘭特羅三苯乙酸鹽和蕪地溴銨。在一個實施方案中，本發明的抗TSLP的抗體或其抗原結合片段可以與吸入的皮質類固醇和一種或多種支氣管擴張劑的固定劑量組合進行給藥，如與糠酸氟替卡松和維蘭特羅三苯乙酸鹽，或丙酸氟替卡松和沙美特羅，或糠酸氟替卡松和蕪地溴銨，或糠酸氟替卡松、維蘭特羅三苯乙酸鹽和蕪地溴銨的固定劑量組合。

【0106】 在一個實施方案中，本發明的抗TSLP的抗體或其抗原結合片段可以與細胞素受體的拮抗劑組合給藥，例如CCR-1、CCR-3、CCR-4、CCR-5、CCR-6、CCR-7、CCR-8、CCR-9和CCR10、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、CXCR5的拮抗劑。在一個實施方案中，本發明的抗TSLP的抗體或其抗原結合片段可以與其他細胞素或細胞素受體的抗體組合給藥，例如抗IgE抗體，抗IL31抗體、抗IL31R抗體、抗IL13抗體，抗內皮糖蛋白抗體、抗IL1b抗體、另一抗TSLP抗體或抗hTSLPR抗體或其組合。

【0107】 本發明的抗TSLP的抗體或其抗原結合片段可與以下組合給藥：抗白三烯拮抗劑如孟魯司特、紮魯司特和普侖司特；PDE4抑制劑如羅氟司特；咕噸；抗IgE抗體,；IL-13拮抗劑；IL-6拮抗劑以及IL-1、IL-33、IL-25或TNF- α 的拮抗劑。

【0108】 本發明的抗TSLP的抗體或其抗原結合片段可與抗組織胺或止咳藥物，如鹽酸西替利嗪、醋氨酚、富馬酸氯馬斯丁、異丙嗪、氯雷他定、地氯雷他定、可他敏和鹽酸非索那丁、阿伐斯汀

(activastine)、阿司咪唑、氮卓斯汀、依巴斯汀、依匹那丁、咪唑斯汀和替非那定 (tefenadine) 組合給藥。

【0109】 上文所述的TSLP結合抗體或其抗原結合片段與另外的一種或多種其他活性劑的組合給藥，其他活性劑可選自但不限於：免疫抑制劑（例如皮質類固醇、非類固醇類糖皮質激素受體激動劑、白三烯D4拮抗劑、白三烯B4拮抗劑、A2A激動劑、A2B拮抗劑、多巴胺受體激動劑、吡非尼酮尼達尼布、或avB6拮抗劑）、支氣管擴張劑（例如 β -2腎上腺素受體激動劑、毒蕈鹼拮抗劑、短效 β 2受體激動劑、長效 β 2受體激動劑、短效抗膽鹼能藥物、甲基黃嘌呤類藥物、長效抗膽鹼能藥物）、其他細胞素或細胞素受體的拮抗劑或抗體（例如IL-13拮抗劑、IL-6拮抗劑、IL-1、IL-33、IL-25或TNF- α 的拮抗劑、抗IgE抗體、抗IL31抗體、抗IL31R抗體、抗IL13抗體、抗內皮糖蛋白抗體、抗IL1b抗體、另一抗TSLP抗體或抗hTSLPR抗體）、抗生素、放射治療、白三烯拮抗劑（如孟魯司特、紮魯司特或普侖司特），PDE4抑制劑（如羅氟司特，咕噸）、抗組織胺或止咳藥物。

【0110】 在某些實施方案中，所述藥物組合物與其他治療同時、分開或相繼施用，如在另外的藥學活性劑之前、同時或之後施用。

【0111】 本發明另一方面，提供本發明的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、結合物或者多特异性抗體用於（1）抑制或阻斷TSLP與TSLPR/IL7R α 結合，（2）下調或消除TSLP的活性；（3）下調或阻斷OX40L的表現；（4）抑制或阻斷TSLP誘導的肥大細胞、DC、NKT細胞的啟動和/或增殖，（5）抑制或阻斷TSLP誘導的骨

保護素（OPG）的分泌，（6）抑制或阻斷TSLP誘導的Th2細胞素如TARC、CCL22、IL-4、IL-13或IL-5的分泌；和/或（7）預防或治療過敏反應性疾病、過敏反應性或自身免疫病。

【0112】 本發明另一方面，提供本發明的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、結合物或者多特異性抗體在製備藥物中的用途，所述藥物用於：

- （1）抑制或阻斷TSLP與TSLPR/IL7R α 結合，
- （2）下調或消除TSLP的活性；
- （3）下調或阻斷OX40L的表現；
- （4）抑制或阻斷TSLP誘導的肥大細胞、DC、NKT細胞的啟動和/或增殖，
- （5）抑制或阻斷TSLP誘導的骨保護素（OPG）的分泌，
- （6）抑制或阻斷TSLP誘導的Th2細胞素如TARC、CCL22、IL-4、IL-13或IL-5的分泌；和/或
- （7）預防或治療過敏反應性疾病、過敏反應性或自身免疫病。

【0113】 在某些實施方案中，當本發明宿主細胞用於製備藥物時，所述宿主細胞包含如前所述的分離的核酸分子或載體。

【0114】 在某些實施方案中，當本發明的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體或者結合物用於製備藥物時，所述藥物用於在個體（例如人）中預防和/或治療氣喘、過敏性發炎、過敏反應或自身免疫性疾病。

【0115】 在某些實施方案中，所述個體是哺乳動物，包括非人哺乳動物和人。在某些實施方案中，所述個體是人。

【0116】 在某些實施方案中，本發明所述的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體、結合物、或者藥物用於預防和/或治療過敏性發炎疾病，包括過敏性疾病和非過敏性疾病。這些疾病包括但不限於氣喘(包括嚴重氣喘)、特發性肺纖維化、特應性皮炎(AD)、過敏性結膜炎、過敏性鼻炎(AR)、Netherton症候群(NS)、嗜酸性食管炎(EOE)、食物過敏、過敏性腹瀉、嗜酸性胃腸炎、過敏性支氣管肺曲黴菌病(ABPA)、過敏性真菌性鼻竇炎、類風濕性關節炎、慢性阻塞性肺病(COPD)、全身性全身性硬化症、癍痕疙瘩、潰瘍性結腸炎、慢性鼻竇炎(CRS)和鼻息肉、慢性嗜酸性肺炎、嗜酸性支氣管炎；腹腔疾病，如嗜酸性胃腸炎、Churg-Strauss症候群；嗜酸性粒細胞相關的胃腸道疾病，如嗜酸性粒細胞增多症/嗜酸性肉芽腫伴多血管炎、嗜酸性食管炎和炎症性腸病；蕁麻疹、全身性肥大細胞增多症、皮膚肥大細胞增多症、反復發作的特發性血管性水腫。

【0117】 在某些實施方案中，本發明所述的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體或者結合物用於預防和/或治療與自身免疫相關的疾病。在某些實施方案中，所述疾病包括但不限於：甲狀腺功能亢進、糖尿病、重症肌無力、潰瘍性結腸炎、胃炎、天皰瘡、原發性膽汁性肝硬化、多發性硬化症、紅斑狼瘡、類風濕關節炎等。

【0118】 在另一個方面，本發明提供了一種在體內或體外（1）抑制或阻斷TSLP與TSLPR/IL7R α 結合，（2）下調或消除TSLP的活性；（3）下調或阻斷OX40L的表現；（4）抑制或阻斷TSLP誘導的骨

保護素（OPG）的分泌；（5）抑制或阻斷分泌Th2類細胞素的分泌；（6）抑制或阻斷TSLP誘導的肥大細胞、DC、NKT細胞的啟動和/或增殖中至少一項的方法，包括：施加給細胞或個體任一項本發明所述的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體、結合物、或者藥物組合物。

【0119】 視情況，在施加所述抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體、結合物或藥物組合物的同時、之前或之後，施加另外的藥學活性劑。

【0120】 在某些實施方案中，所述個體是哺乳動物，包括非人哺乳動物和人；優選地，所述個體是人。

【0121】 因此，在另一個方面，本發明提供了一種在個體中預防和/或治療氣喘、過敏反應、過敏性發炎或自身免疫性疾病的方法，所述方法包括向有此需要的個體施用有效量的本發明所述的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體、結合物或者藥物組合物。

【0122】 本發明的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體、結合物和藥物組合物可以配製成醫學領域已知的任何劑型，例如，片劑、丸劑、混懸劑、乳劑、溶液、凝膠劑、膠囊劑、粉劑、顆粒劑、酏劑、錠劑、栓劑、注射劑（包括注射液、注射用無菌粉末與注射用濃溶液）、吸入劑、噴霧劑等。優選劑型取決於預期的給藥方式和治療用途。本發明的藥物組合物應當是無菌的並在生產和儲存條件下穩定，可製備成注射劑。

【0123】 此外，本發明的抗體或其抗原結合片段可以以單位劑

量形式存在於藥物組合物中，以便於施用。

【0124】 本發明的藥物組合物可以包括“治療有效量”或“預防有效量”的本發明的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體或者結合物。“預防有效量”是指，足以預防、阻止或延遲疾病的發生的量。“治療有效量”是指，足以治癒或至少部分阻止已患有疾病的患者的疾病和其併發症的量，例如 0.1mg/ml 到 5000 mg/ml。

【0125】 在本發明中，所述個體可以為哺乳動物(包括非人哺乳動物和人)，例如人。

【0126】 檢測方法和試劑盒

【0127】 本發明的抗體或其抗原結合片段能夠結合 TSLP，從而可用於檢測 TSLP 在樣品中的存在或其水準。

【0128】 因此，在另一個方面，本發明提供了一種試劑盒，其包括本發明的抗體或其抗原結合片段。在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段帶有可檢測的標記。在一個優選的實施方案中，所述試劑盒還包括第二抗體，其特異性識別本發明的抗體或其抗原結合片段。優選地，所述第二抗體還包括可檢測的標記。

【0129】 在本發明中，所述可檢測的標記可以是可透過螢光、光譜、光化學、生物化學、免疫學、電學、光學或化學手段檢測的任何物質。特別優選的是，此類標記能夠適用於免疫學檢測（例如，酶聯免疫測定法、放射免疫測定法、螢光免疫測定法、化學發光免疫測定法等）。這類標記是本領域熟知的，包括但不限於，酶（例如，辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、脲酶、葡萄糖氧化酶，

等)、放射性核素(例如, 3H 、 125I 、 35S 、 14C 或 32P)、螢光染料(例如, 異硫氰酸螢光素(FITC)、螢光素、異硫氰酸四甲基羅丹明(TRITC)、藻紅蛋白(PE)、德克薩斯紅、羅丹明、量子點或花菁染料衍生物(例如Cy7、Alexa 750))、吡啶酯類化合物、磁珠(例如, Dynabeads®)、測熱標記物例如膠體金或有色玻璃或塑膠(例如, 聚苯乙烯、聚丙烯、乳膠, 等)珠、以及用於結合上述標記物修飾的親和素(例如, 鏈黴親和素)的生物素。教導該標記物的使用的專利包括, 但不限於, 美國專利 3,817,837 ; 3,850,752 ; 3,939,350 ; 3,996,345 ; 4,277,437 ; 4,275,149 ; 及4,366,241 (全部透過引用併入本文)。本發明中涵蓋的標記物可透過本領域已知的方法檢測。例如, 放射性標記可使用攝影膠片或閃爍計算器檢測, 螢光標記物可使用光檢測器檢測, 以檢測發射的光。酶標記物一般透過給酶提供受質及檢測透過酶對受質的作用產生的反應產物來檢測, 及測熱標記物透過簡單視覺化著色標記物來檢測。在某些實施方案中, 可透過不同長度的接頭將如上所述的可檢測的標記連接至本發明的重組蛋白, 以降低潛在的位阻。

【0130】 在另一個方面, 本發明提供了檢測TSLP在樣品中的存在或其水準的方法, 其包括使用本發明的抗體或其抗原結合片段的步驟。

【0131】 在一個優選的實施方案中, 本發明的抗體或其抗原結合片段還帶有可檢測的標記。

【0132】 在另一個優選的實施方案中, 所述方法還包括, 使用帶有可檢測的標記的試劑來檢測本發明的抗體或其抗原結合片段。

【0133】 所述方法可以用於診斷目的，或者非診斷目的（例如，用於TSLP-TSLP/IL-7Ra途徑研究、藥物篩選、組化分析等）。在某些實施方案中，用於非診斷目的的樣品是細胞樣品，例如細胞株或離體細胞培養物。

【0134】 在一個實施方案中，本發明提供了一種檢測樣品中TSLP的存在或其水準的方法，所述方法包括在允許本發明所述抗體或其抗原結合片段與TSLP之間形成複合物的條件下，使所述樣品與所述抗體或其抗原結合片段接觸，並且檢測所述複合物的形成。

【0135】 在另一個方面，本發明提供了一種診斷個體中氣喘、過敏性發炎、過敏反應或自身免疫性疾病的方法，包括

- 將本發明所述的抗體或其抗原結合片段、多特異性抗體、或結合物與來自個體的樣品在允許抗體或其抗原結合片段與TSLP之間形成複合物的條件下接觸，
- 檢測所述複合物的形成，

其中與健康對照相比，TSLP水準升高指示存在氣喘、過敏性發炎、過敏反應或自身免疫性疾病。

【0136】 視情況，所述個體是哺乳動物，包括非人哺乳動物和人。優選地，所述個體是人。

【0137】 優選地，所述過敏性發炎、過敏反應或自身免疫性疾病如上所述。

【0138】 在另一個方面，本發明提供了本發明所述的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體、結合物或者藥物組合物在製備用於診斷氣喘、過敏性發炎、過敏反應或自身免疫

性疾病的藥物或試劑盒中的用途。

【0139】 在另一個方面，提供了本發明的抗體或其抗原結合片段在製備試劑盒中的用途，所述試劑盒用於檢測TSLP在樣品中的存在或其水準。在另一個方面，本發明提供了診斷性或治療性試劑盒，其包括一個或多個以下物質：本發明所述的抗體或其抗原結合片段、核酸、載體、宿主細胞、多特異性抗體、結合物或者藥物組合物。視情況，所述診斷性或治療性試劑盒還包括使用說明書。

【0140】 本發明的抗體或抗原結合片段與TSLP的結合親和力高，且具有好的特異性。因此，本發明的抗體或抗原結合片段適用於預防和/或治療氣喘、過敏性發炎、過敏反應或自身免疫性疾病。本發明的全人源抗體保留具有很高的人源程度，從而可安全地施用給人個體，而不引發免疫原性反應。因此，本發明的抗體或抗原結合片段具有重大的臨床價值。

【0141】 術語定義

【0142】 在本文中，除非另有說明，否則本文中使用的科學和技術名詞具有本領域技術人員所通常理解的含義。並且，本文中所用的細胞培養、生物化學、核酸化學、免疫學實驗室等操作步驟均為相應領域內廣泛使用的常規步驟。同時，为了更好地理解本發明，下面提供相關術語的定義和解釋。

【0143】 如本發明所用的並在所附申請專利範圍中的單數形式“一個”和“所述”等包括複數涵義，除非上下文中清楚地另有指明。因此，單數詞語“一個”的涵義包括了“一個或多個”。

【0144】 如本文中所使用的，術語“抗體”是指，通常由兩對多

肽鏈（每對具有一條輕鏈(LC)和一條重鏈(HC)）組成的免疫球蛋白分子。抗體輕鏈可分類為 κ （kappa）和 λ （lambda）輕鏈。重鏈可分類為 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ ，並且分別將抗體的同種型定義為IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。在輕鏈和重鏈內，可變區和恆定區透過大約12或更多個胺基酸的“J”區連接，重鏈還包含大約3個或更多個胺基酸的“D”區。各重鏈由重鏈可變區(VH)和重鏈恆定區(CH)組成。重鏈恆定區由3個結構域(CH1、CH2和CH3)組成。各輕鏈由輕鏈可變區(VL)和輕鏈恆定區(CL)組成。輕鏈恆定區由一個結構域CL組成。恆定結構域不直接參與抗體與抗原的結合，但展現出多種效應子功能，如可介導免疫球蛋白與宿主組織或因數，包括免疫系統的各種細胞(例如，效應細胞)和經典補體系統的第一組分(C1q)的結合。VH和VL區還可被細分為具有高變性的區域(稱為互補決定區(CDR))，其間散佈有較保守的稱為構架區(FR)的區域。各VH和VL由按下列順序：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4從胺基末端至羧基末端排列的3個CDR和4個FR組成。各重鏈/輕鏈對的可變區(VH和VL)分別形成抗原結合部位。

【0145】 在本文中，本發明的抗體或其抗原結合片段含有的CDR可根據本領域已知的各種編號系統確定。在某些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段含有的CDR優選地透過Kabat、Chothia或，AbM或IMGT編號系統確定。

【0146】 如本文中所使用的，術語“構架區”或“FR”殘基是指，抗體可變區中除了如上定義的CDR殘基以外的那些胺基酸殘基。

【0147】 如本文中所使用的，術語“胚系抗體基因”是非淋巴細

胞表現的免疫球蛋白的編碼基因，它沒有經歷導致表現特異免疫球蛋白的遺傳學重排及成熟的成熟過程。本發明的各種實施方案所提供的一個優點來源於一種認識，那就是胚系抗體基因編碼的胺基酸序列比成熟抗體基因編碼的胺基酸序列更多地保留了動物物種個體的特徵性的重要胺基酸序列結構。因此當被治療性應用於該物種時，更少地被該物種識別為外源物質。

【0148】 術語“抗體”不受任何特定的產生抗體的方法限制。例如，其包括，重組抗體、單株抗體和多克隆抗體。抗體可以是不同同種型的抗體，例如，IgG（例如，IgG1，IgG2，IgG3或IgG4亞型），IgA1，IgA2，IgD，IgE或IgM抗體。

【0149】 如本文中所使用的，術語抗體的“抗原結合片段”是指抗體的多肽片段，例如全長抗體的多肽片段，其保持特異性結合全長抗體所結合的相同抗原的能力，和/或與全長抗體競爭對抗原的特異性結合，其也被稱為“抗原結合部分”。通常參見，Fundamental Immunology, Ch. 7 (Paul, W., ed., 第2版，Raven Press, N.Y. (1989)，其以其全文透過引用併入本文，用於所有目的。可透過重組DNA技術或透過完整抗體的酶促或化學斷裂產生抗體的抗原結合片段。抗原結合片段的非限制性實例包括Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv、dAb和互補決定區(CDR)片段、單鏈抗體（例如，scFv）、嵌合抗體、雙抗體（diabody）、線性抗體（linear antibody）、奈米抗體（如技術來自Ablynx）、結構域抗體（如技術來自Domantis）、和這樣的多肽，其包含足以賦予多肽特異性抗原結合能力的抗體的至少一部分。工程改造的抗體變體綜述於Holliger等，2005; Nat Biotechnol, 23: 1126-1136

中。

【0150】如本文中所使用的，術語“全長抗體”意指，由兩條“全長重鏈”和兩條“全長輕鏈”組成的抗體。其中，“全長重鏈”是指這樣的多肽鏈，其在N端到C端的方向上由重鏈可變區（VH）、重鏈恆定區CH1結構域、鉸鏈區（HR）、重鏈恆定區CH2結構域、重鏈恆定區CH3結構域組成；並且，當所述全長抗體為IgE同種型時，任選地還包括重鏈恆定區CH4結構域。優選地，“全長重鏈”是在N端到C端方向上由VH、CH1、HR、CH2和CH3組成的多肽鏈。“全長輕鏈”是在N端到C端方向上由輕鏈可變區（VL）和輕鏈恆定區（CL）組成的多肽鏈。兩對全長抗體鏈透過在CL和CH1之間的二硫鍵和兩條全長重鏈的HR之間的二硫鍵連接在一起。本發明的全長抗體可以來自單一物種，例如人；也可以是嵌合抗體或人源化抗體。本發明的全長抗體包含分別由VH和VL對形成的兩個抗原結合部位，這兩個抗原結合部位特異性識別/結合相同的抗原。

【0151】如本文中所使用的，術語“Fd片段”意指由VH和CH1結構域組成的抗體片段；術語“dAb片段”意指由VH結構域組成的抗體片段（Ward 等人, Nature 341:544 546 (1989)）；術語“Fab片段”意指由VL、VH、CL和CH1結構域組成的抗體片段；術語“F(ab')₂片段”意指包含透過鉸鏈區上的二硫橋連接的兩個Fab片段的抗體片段；術語“Fab'片段”意指還原連接F(ab')₂片段中兩個重鏈片段的二硫鍵後所獲片段，由一條完整的輕鏈和重鏈的Fd片段（由VH和CH1結構域組成）組成。

【0152】如本文中所使用的，術語“Fv片段”意指由抗體的單臂

的VL和VH結構域組成的抗體片段。Fv片段通常被認為是，能形成完整的抗原結合位點的最小抗體片段。一般認為，六個CDR賦予抗體的抗原結合特異性。然而，即便是一個可變區（例如Fd片段，其僅僅含有三個對抗原特異的CDR）也能夠識別並結合抗原，儘管其親和力可能低於完整的結合位點。

【0153】 如本文中所使用的，術語“Fc片段”意指，由抗體的第一重鏈的第二、第三恆定區與第二重鏈的第二、第三恆定區經二硫鍵結合而形成的抗體片段。抗體的Fc片段具有多種不同的功能，但不參與抗原的結合。

【0154】 如本文中所使用的，術語“scFv”是指，包含VL和VH結構域的單個多肽鏈，其中所述VL和VH透過接頭（linker）相連（參見，例如，Bird等人，*Science* 242:423-426 (1988)；Huston等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883 (1988)；和 Pluckthun，*The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*，第113卷，Roseburg 和 Moore 編，Springer-Verlag，紐約，第269-315頁(1994)）。此類scFv分子可具有一般結構：NH₂-VL-接頭-VH-COOH或NH₂-VH-接頭-VL-COOH。合適的現有技術接頭由重複的GGGGS胺基酸序列或其變體組成。例如，可使用具有胺基酸序列(GGGGS)₄的接頭，但也可使用其變體（Holliger等人(1993)，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448）。可用於本發明的其他接頭由Alfthan等人(1995)，*Protein Eng.* 8:725-731，Choi等人(2001)，*Eur. J. Immunol.* 31: 94-106，Hu等人(1996)，*Cancer Res.* 56:3055-3061，Kipriyanov等人(1999)，*J. Mol. Biol.* 293: 41-56和Roovers等人(2001)，*Cancer Immunol.*描述。在一些

情況下，scFv的VH與VL之間還可以存在二硫鍵。如本文中所使用的，術語“di-scFv”是指，由兩個scFv連接形成的抗體片段。

【0155】如本文中所使用的，術語“雙抗體”意指，其VH和VL結構域在單個多肽鏈上表現，但使用太短的連接體以致不允許在相同鏈的兩個結構域之間配對，從而迫使結構域與另一條鏈的互補結構域配對並且產生兩個抗原結合部位（參見，例如，Holliger P.等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)，和 Poljak R. J. 等人，Structure 2:1121-1123 (1994)）。

【0156】如本文中所使用的，“抗體類似物（antibody mimetic）”，指與抗體一樣特異性結合抗原，但卻沒有抗體結構。它們通常是人工肽或蛋白質，莫耳質量約為3至20kDa。例如，錨蛋白重複蛋白(DARPin)和fynomer。經設計的錨蛋白重複蛋白(DARPin)可以與IgG抗體、scFv-Fc抗體片段或其組合相連，如CN104341529A。抗IL-17a的fynomer與抗IL-6R抗體結合，如WO2015141862A1。

【0157】上述各個抗體片段均保持了特異性結合全長抗體所結合的相同抗原的能力，和/或與全長抗體競爭對抗原的特異性結合。

【0158】可使用本領域技術人員已知的常規技術（例如，重組DNA技術或酶促或化學斷裂法）從給定的抗體（例如本發明提供的抗體）獲得抗體的抗原結合片段（例如，上述抗體片段），並且以與用於完整抗體的方式相同的方式就特異性篩選抗體的抗原結合片段。

【0159】在本文中，除非上下文明確指出，否則當提及術語“抗體”時，其不僅包括完整抗體，而且包括抗體的抗原結合片段。

【0160】如本文中所使用的，術語“單株抗體”、“單抗”、“mAb”

具有相同的含義且可互換使用，是指來自一群高度同源的抗體分子（也即，除可能自發出現的自然突變外，一群完全相同的抗體分子）中的一個抗體。單抗對抗原上的單一表位具有高特異性。多克隆抗體是相對於單株抗體而言的，其通常包含至少2種或更多種的不同抗體，這些不同的抗體通常識別抗原上的不同表位。此外，修飾語“單株”僅表明該抗體的特徵為從高度同源的抗體群中獲得，不能理解為需要透過任何特定方法來製備所述抗體。

【0161】如本文中所使用的，術語“嵌合抗體（Chimeric antibody）”是指這樣的抗體，其輕鏈或/和重鏈的一部分源自一個抗體（其可以源自某一特定物種或屬於某一特定抗體類或亞類），且輕鏈或/和重鏈的另一部分源自另一個抗體（其可以源自相同或不同的物種或屬於相同或不同的抗體類或亞類），但無論如何，其仍保留對目標抗原的結合活性（Cabilly et al.的美國專利4,816,567; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851 6855 (1984)）。

【0162】在本發明中，本發明抗體的預期性質包括：（1）抑制或阻斷TSLP與TSLPR/IL7R α 結合；（2）下調或消除TSLP的活性；（3）下調或阻斷OX40L的表現；（4）抑制Th2類細胞素的分泌；（5）預防或治療過敏性發炎。本發明的人源化抗體保留了親本抗體（人源抗體或鼠-人嵌合抗體）的上述預期性質中的一項或多項。

【0163】為製備人源化抗體，可以使用本領域已知的方法將鼠CDR區插入人源框架序列（參見Winter的美國專利No.5,225,539；Queen等人的美國專利Nos.5,530,101；5,585,089；5,693,762和6,180,370；以及Lo, Benny, K.C., editor, in Antibody Engineering:

Methods and Protocols, volume 248, Humana Press, New Jersey, 2004)。

或者，還可以利用轉基因動物，其能夠在免疫後不產生內源性免疫球蛋白、並且能夠產生完整人抗體庫（參見例如，Jakobovits等，1993，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90：2551；Jakobovits等，1993，Nature 362：255-258；Bruggermann等，1993，Year in Immunology 7：33；和Duchosal等，1992，Nature 355：258；Lonberg等人(1994) Nature 368(6474):856-859；WO02/43478)。其他抗體人源化改造的方法還包括噬菌體表現技術（Hoogenboom 等，1991，J.Mol.Biol.227：381；Marks等，J.Mol.Biol.1991，222：581-597；Vaughan等，1996，Nature Biotech 14：309）。

【0164】 如本文中所使用的，術語“人源化程度”是用於評價人源化抗體中非人源胺基酸殘基的數量的指標。人源化抗體的人源化程度例如可透過IMGT網站DomainGapAlign來預測可變區序列與人V結構域的同源性。

【0165】 如本文中所使用的，術語“特異性結合”是指，兩分子間的非隨機的結合反應，如抗體和其所針對的抗原之間的反應。特異性結合相互作用的強度或親和力可以用相互作用的解離平衡常數(KD)表示。在本文中，術語“KD”是指特定抗體-抗原相互作用的解離平衡常數，其用於描述抗體與抗原之間的結合親和力。解離平衡常數越小，抗體-抗原結合越緊密，抗體與抗原之間的親和力越高。在某些實施方式中，特異性結合某抗原的抗體（或對某抗原具有特異性的抗體）是指，抗體以小於約 10^{-8} M，例如小於約 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M或 10^{-11} M或更小的KD結合該抗原。在某些實施方案中，當

$KD \leq 10 \times 10^{-8} M$ 時，本發明的抗體或其抗原結合片段被認為特異性地結合TSLP。

【0166】 兩分子間的特異性結合性質可使用本領域公知的方法進行測定。一種方法涉及測量抗原結合位點/抗原複合物形成和解離的速度。“結合速率常數”(ka或kon)和“解離速率常數”(kdis或koff)兩者都可透過濃度及締合和解離的實際速率而計算得出(參見Malmqvist M, Nature, 1993, 361:186-187)。kdis/kon的比率等於解離常數KD(參見Davies等人, Annual Rev Biochem, 1990; 59:439-473)。可用任何有效的方法測量KD、kon和kdis值。在某些實施方案中，可以使用生物發光干涉測量法(例如，ForteBio Octet法)來測量解離常數。除此以外還可用表面等離子共振技術(例如Biacore)或Kinexa來測量解離常數。

【0167】 如本文中所使用的，術語“載體(vector)”是指，可將多聚核苷酸插入其中的一種核酸運載工具。當載體能使插入的多核苷酸編碼的蛋白獲得表現時，載體稱為表現載體。載體可以透過轉化，轉導或者轉染導入宿主細胞，使其攜帶的遺傳物質元件在宿主細胞中獲得表現。載體是本領域技術人員公知的，包括但不限於：質體；噬菌體；柯斯質體；人工染色體，例如酵母人工染色體(YAC)、細菌人工染色體(BAC)或P1來源的人工染色體(PAC)；噬菌體如 λ 噬菌體或M13噬菌體及動物病毒等。可用作載體的動物病毒包括但不限於，反轉錄酶病毒(包括慢病毒)、腺病毒、腺相關病毒、疱疹病毒(如單純疱疹病毒)、痘病毒、桿狀病毒、乳突病毒、乳多瘤空泡病毒(如SV40)。一種載體可以含有多種控制表現的元件，包括但不限於，啟動子序列、

轉錄起始序列、增強子序列、選擇元件及報告基因。另外，載體還可含有複製起始位點。

【0168】如本文中所使用的，術語“宿主細胞”是指，可用於導入載體的細胞，其包括但不限於，如大腸桿菌或枯草菌等的原核細胞，如酵母細胞或曲黴菌等的真菌細胞，如S2果蠅細胞或Sf9等的昆蟲細胞，或者如纖維原細胞，CHO細胞，COS細胞，NSO細胞，HeLa細胞，BHK細胞，HEK 293細胞或人細胞等的動物細胞。

【0169】如本文中所使用的，術語“同一性”用於指兩個多肽之間或兩個核酸之間序列的匹配情況。當兩個進行比較的序列中的某個位置都被相同的鹼基或胺基酸單體亞單元佔據時(例如，兩個DNA分子的每一個中的某個位置都被腺嘌呤佔據，或兩個多肽的每一個中的某個位置都被賴氨酸佔據)，那麼各分子在該位置上是同一的。兩個序列之間的“百分數同一性”是由這兩個序列共有的匹配位置數目除以進行比較的位置數目 $\times 100$ 的函數。例如，如果兩個序列的10個位置中有6個匹配，那麼這兩個序列具有60%的同一性。例如，DNA序列CTGACT和CAGGTT共有50%的同一性(總共6個位置中有3個位置匹配)。通常，在將兩個序列比對以產生最大同一性時進行比較。這樣的比對可透過使用，例如，可透過電腦程式例如Align程式(DNAstar, Inc.)方便地進行的Needleman等人(1970)J. Mol. Biol. 48: 443-453的方法來實現。此外，可使用已整合入GCG套裝軟體(可在www.gcg.com上獲得)的GAP程式中的Needleman和Wunsch (J Mol Biol. 48:444-453 (1970))演算法，使用Blossum 62矩陣或PAM250矩陣以及16、14、12、10、8、6或4的缺口權重(gap weight)和1、2、3、4、5或6的長度

權重來測定兩個胺基酸序列之間的百分數同一性。兩個胺基酸序列之間的%同一性也可用E.Meyers和W.Miller (Comput. Appl. Biosci., 4: 11-17(1988)) 的演算法來確定。

【0170】 如本文中所使用的，具有“%同一性”的序列保留與其比較或來源的序列的重要生物活性，如抗體結合特異性。具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合的序列保留與其比較或來源的序列的重要生物活性，如抗體結合特異性。具有“%同一性”的核苷酸序列或相差不超過3、6、15、30或45個核苷酸的核苷酸序列能夠實現與其比較或來源的核苷酸序列近似的功能，如所表現的蛋白都能特異地結合同一抗原或分子。

【0171】 如本文中所使用的，術語“保守置換”意指不會不利地影響或改變包含胺基酸序列的蛋白/多肽的預期性質的胺基酸置換。例如，可透過本領域內已知的標準技術例如定點誘變和PCR介導的誘變引入保守置換。保守胺基酸置換包括用具有相似側鏈的胺基酸殘基替代胺基酸殘基的置換，例如用在物理學上或功能上與相應的胺基酸殘基相似(例如具有相似大小、形狀、電荷、化學性質，包括形成共價鍵或氫鍵的能力等)的殘基進行的置換。已在本領域內定義了具有相似側鏈的胺基酸殘基的家族。這些家族包括具有鹼性側鏈(例如，賴胺酸、精胺酸和組胺酸)、酸性側鏈(例如天冬胺酸、麩胺酸)、不帶電荷的極性側鏈(例如甘胺酸、天冬醯胺、穀氨醯胺、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸、色胺酸)、非極性側鏈(例如丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸)、 β 分支側鏈(例如，蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸)和芳香族側鏈(例如，酪胺酸、苯

丙胺酸、色胺酸、組胺酸)的胺基酸。因此，優選用來自相同側鏈家族的另一個胺基酸殘基替代相應的胺基酸殘基。鑒定胺基酸保守置換的方法在本領域內是熟知的(參見，例如，Brummell等人，*Biochem.* 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi 等人 *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999); 和Burks等人 *Proc. Natl Acad. Set USA* 94:412-417 (1997)，其透過引用併入本文)。

【0172】 本文涉及的二十個常規胺基酸的編寫遵循常規用法。參見例如，*Immunology-A Synthesis* (2nd Edition, E. S. Golub and D. R. Gren, Eds., Sinauer Associates , Sunderland, Mass. (1991))，其以引用的方式併入本文中。在本文中，術語“多肽”和“蛋白質”具有相同的含義且可互換使用。並且在本發明中，胺基酸通常用本領域公知的單字母和三字母縮寫來表示。例如，丙胺酸可用A或Ala表示；精胺酸可用R或Arg表示；甘胺酸可用G或Gly表示；穀氨醯胺可用Q或Gln表示。

【0173】 如本文中所使用的，術語“藥學上可接受的載體和/或賦形劑”是指在藥理學和/或生理學上與個體和活性成分相容的載體和/或賦形劑，其是本領域公知的(參見例如Remington's *Pharmaceutical Sciences*. Edited by Gennaro AR, 19th ed. Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1995)，並且包括但不限於：pH調節劑，表面活性劑，佐劑，離子強度增強劑，稀釋劑，維持滲透壓的試劑，延遲吸收的試劑，防腐劑。例如，pH調節劑包括但不限於磷酸鹽緩衝液。表面活性劑包括但不限於陽離子，陰離子或者非離子型表面活性劑，例如Tween-80。離子強度增強劑包括但不限於氯化鈉。防腐劑包括但

不限於各種抗細菌試劑和抗真菌試劑，例如對羥苯甲酸酯，三氯叔丁醇，苯酚，山梨酸等。維持滲透壓的試劑包括但不限於糖、NaCl及其類似物。延遲吸收的試劑包括但不限於單硬脂酸鹽和明膠。稀釋劑包括但不限於水，水性緩衝液(如緩衝鹽水)，醇和多元醇(如甘油)等。防腐劑包括但不限於各種抗細菌試劑和抗真菌試劑，例如硫柳汞，2-苯氧乙醇，對羥苯甲酸酯，三氯叔丁醇，苯酚，山梨酸等。穩定劑具有本領域技術人員通常理解的含義，其能夠穩定藥物中的活性成分的期望活性，包括但不限於麩胺酸鈉，明膠，SPGA，糖類（如山梨醇，甘露醇，澱粉，蔗糖，乳糖，葡聚糖，或葡萄糖），胺基酸（如麩胺酸，甘胺酸），蛋白質（如乾燥乳清，白蛋白或酪蛋白）或其降解產物（如乳白蛋白水解物）等。

【0174】 如本文中所使用的，術語“預防”是指，為了阻止或延遲疾病或病症或症狀（例如，氣喘、過敏性發炎、過敏反應或自身免疫性疾病）在個體體內的發生而實施的方法。如本文中所使用的，術語“治療”是指，為了獲得有益或所需臨床結果而實施的方法。為了本發明的目的，有益或所需的臨床結果包括但不限於，減輕症狀、縮小疾病的範圍、穩定（即，不再惡化）疾病的狀態，延遲或減緩疾病的發展、改善或減輕疾病的狀態、和緩解症狀（無論部分或全部），無論是可檢測或是不可檢測的。此外，“治療”還可以指，與期望的存活期相比（如果未接受治療），延長存活期。

【0175】 如本文中使用的，術語“個體”是指哺乳動物，例如靈長類哺乳動物，例如非人靈長類哺乳動物或人。在某些實施方式中，所述個體（例如人）患有氣喘、過敏性發炎、過敏反應或自身免疫性

疾病，或者，具有患有上述疾病的風險。

【0176】 如本文中所使用的，術語“有效量”是指足以獲得或至少部分獲得期望的效果的量。例如，預防疾病（例如，氣喘、過敏性發炎、過敏反應或自身免疫性疾病）有效量是指，足以預防，阻止，或延遲疾病（例如，氣喘、過敏性發炎、過敏反應或自身免疫性疾病）的發生的量；治療疾病有效量是指，足以治癒或至少部分阻止已患有疾病的患者的疾病和其併發症的量。測定這樣的有效量完全在本領域技術人員的能力範圍之內。例如，對於治療用途有效的量將取決於待治療的疾病的嚴重度、患者自己的免疫系統的總體狀態、患者的一般情況例如年齡，體重和性別，藥物的施用方式，以及同時施用的其他治療等等。

【0177】 如本文中所使用的，術語“免疫細胞”包括具有造血的起源並在免疫反應中起作用的細胞，例如淋巴細胞，例如B細胞和T細胞；天然殺傷細胞；髓樣細胞，例如單核細胞、巨噬細胞、性嗜酸性細胞、肥大細胞、嗜鹼細胞和顆粒性細胞。

【0178】 如本文中所使用的，術語“免疫反應”是指，免疫細胞（例如淋巴細胞、抗原呈現細胞、吞噬細胞或顆粒性細胞）以及由免疫細胞或肝臟所產生的可溶性大分子（包括抗體、細胞素、以及補體）的作用，該作用導致對侵入性病原體、被病原體感染的細胞或組織、癌細胞、或者在自身免疫或病理炎症情況下的正常人類細胞或組織的選擇性損害、破壞或將它們從人體中清除。在本文中，術語“抗原特異性T細胞反應”指由T細胞產生的免疫反應，該反應產生於當該T細胞特異的抗原對該T細胞的刺激之時。由T細胞在抗原特異性刺激

時產生的反應的非限制性實例包括T細胞的增殖以及細胞素（例如IL-2）的產生。

【0179】 如本文中所使用的，術語“效應子功能（effector function）”是指，那些可歸因於抗體Fc區（天然序列Fc區或胺基酸序列變體Fc區）的生物學活性，且其隨抗體同種型而變化。

【0180】 術語“藥學上可接受的”指當分子本體、分子片段或組合物適當地給予動物或人時，它們不會產生不利的、過敏的或其他不良反應。可作為藥學上可接受的載體或其組分的一些物質的具體示例包括糖類（如乳糖）、澱粉、纖維素及其衍生物、植物油、明膠、多元醇（如丙二醇）、海藻酸等。

【0181】 發明的有益效果

【0182】 與現有技術相比，本發明的技術方案具有以下有益效果：

(1) 本發明的抗體能夠特異性高親和性地識別/結合TSLP，抑制或阻斷TSLP與TSLPR/IL7RR的結合，並且能夠在體外/體內抑制或阻斷TSLP對Ba/F3細胞的增殖效應，阻斷TSLP對PBMC的啟動、分泌細胞素的能力。因此，本發明的抗體能夠抑制或阻斷TSLP誘導的肥大細胞、DC、NKT細胞的啟動和/或增殖，抑制或阻斷TSLP誘導的OX40L表現、骨保護素（OPG）的分泌或TSLP誘導的Th2細胞素如TARC、CCL22、IL-4、IL-13或IL-5的分泌，因此，本發明的抗體具有用於預防和/或治療氣喘、其他過敏性反應或自身免疫性疾病的潛力。

(2) 具有良好的熱穩定性、親水性、等電點、及與FcRn親和力。

(3) 本發明的一些抗體是全人源抗體，可安全地施用給個體而不引發免疫原性反應。因此，本發明的抗體具有重大的臨床價值。

【0183】 縮略詞

CDR	免疫球蛋白可變區中的互補決定區
FR	抗體構架區：抗體可變區中除CDR殘基以外的胺基酸殘基
VH	抗體重鏈可變區
VL	抗體輕鏈可變區
IgG	免疫球蛋白G
AbM	AbM CDR定義方式來源於Martin的相關研究（Martin ACR, Cheetham JC, Rees AR (1989) Modelling antibody hypervariable loops: A combined algorithm. Proc Natl Acad Sci USA 86: 9268–9272），此定義方法整合了Kabat及Chothia兩者的部分定義。
Kabat	由Elvin A. Kabat提出的免疫球蛋白比對及編號系統（參見，例如 Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991）。
Chothia	由Chothia等人提出的免疫球蛋白編號系統，其是基於結構環區的位置鑒定CDR區邊界的經典規則(參見，例如Chothia & Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia 等人 (1989) Nature 342:878-883)。
IMGT	基於由Lefranc等人發起的國際免疫遺傳學資訊系統（The international ImMunoGeneTics information system ® (IMGT))的編號系統，可參閱Lefranc et al., Dev. Comparat. Immunol. 27:55-77, 2003。
mAb	單株抗體
EC50	產生50%功效或結合的濃度
IC50	產生50%抑制的濃度
ELISA	酶聯免疫吸附測定
PCR	聚合酶鏈式反應

HRP	辣根過氧化物酶
TSLP	胸腺基質淋巴細胞生成素
TSLPR	胸腺基質淋巴細胞生成素受體
IL7R α	介白素7受體alpha亞基
TARC	胸腺啟動調節趨化素
hFc	人IgG抗體Fc段
KD	解離平衡常數
CDR-H1	免疫球蛋白重鏈可變區中的互補決定區1
CDR-H2	免疫球蛋白重鏈可變區中的互補決定區2
CDR-H3	免疫球蛋白重鏈可變區中的互補決定區3
CDR-L1	免疫球蛋白輕鏈可變區中的互補決定區1
CDR-L2	免疫球蛋白輕鏈可變區中的互補決定區2
CDR-L3	免疫球蛋白輕鏈可變區中的互補決定區3

【圖式簡單說明】

【 0184】

圖 1：人 TSLPR/IL7R α 雙基因過表現 Ba/F3 細胞株檢測

圖 2A：嵌合抗體 25A5C5 抑制 Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 細胞增殖的
活性檢測

圖 2B：嵌合抗體 27C2B6、37C2D10 抑制 Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α
細胞增殖的活性檢測

圖 2C：嵌合抗體 43B1A8 和 90H3H11 抑制 Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α
細胞增殖的活性檢測

圖 3A：重組全人源抗體 25A5C5-hIgG、27C2B6-hIgG、37C2D10-
hIgG 結合人 TSLP 蛋白的親和力檢測

圖 3B：重組全人源抗體 43B1A8-hIgG 和 90H3H11-hIgG 結合人
TSLP 蛋白的親和力檢測

圖4A：重組全人源抗體25A5C5-hIgG、27C2B6-hIgG和37C2D10-hIgG抑制Ba/F3-hTSLPR-hIL7Rα細胞增殖的活性檢測

圖4B：重組全人源抗體43B1A8-hIgG抑制Ba/F3-hTSLPR-hIL7Rα細胞增殖的活性檢測

圖4C：重組全人源抗體90H3H11-hIgG抑制Ba/F3-hTSLPR-hIL7Rα細胞增殖的活性檢測

圖5：重組全人源抗體43B1A8-hIgG和90H3H11-hIgG抑制PBMC分泌TARC的活性檢測

圖6：重組全人源抗體43B1A8-hIgG和90H3H11-hIgG熱穩定性檢測（Tm）

圖7A：重組全人源抗體43B1-H2L2抑制Ba/F3-hTSLPR-hIL7Rα細胞增殖的活性檢測

圖7B：重組全人源抗體43B1-H6L1抑制Ba/F3-hTSLPR-hIL7Rα細胞增殖的活性檢測

圖8：重組全人源抗體43B1-H2L2抑制PBMC細胞分泌MDC細胞素的活性檢測

圖9：重組全人源抗體43B1-H2L2分子在食蟹猴體內的藥物動力學分析

【0185】 序列資訊

本發明涉及的序列的資訊描述於下面的表中。

SEQ ID NO.	描述	SEQ ID NO.	描述
1	抗體25A5C5重鏈可變區	39	AbM 37C2D10 CDR-L1
2	抗體25A5C5輕鏈可變區	40	抗體43B1A8/43B1A8-hIgG/ 43B1-H6L1重鏈可變區

3	IMGT 25A5C5 CDR-H1	41	抗體43B1A8/43B1A8-hIgG/ 43B1-H6L1輕鏈可變區
4	IMGT 25A5C5 CDR-H2	42	IMGT 43B1A8/43B1A8-hIgG/43B1-H6L1/43B1-H2L2 CDR-H1
5	IMGT 25A5C5 CDR-H3	43	IMGT 43B1A8/43B1A8-hIgG/43B1-H6L1/43B1-H2L2 CDR-H2
6	IMGT 25A5C5 CDR-L1	44	IMGT 43B1A8/43B1A8-hIgG/43B1-H6L1/43B1-H2L2 CDR-H3
7	IMGT 25A5C5 CDR-L2	45	IMGT 43B1A8/43B1A8-hIgG/43B1-H6L1/43B1-H2L2 CDR-L1
8	IMGT/ AbM 25A5C5 CDR-L3	46	IMGT 43B1A8/43B1A8-hIgG/43B1-H6L1/43B1-H2L2 CDR-L2
9	AbM 25A5C5 CDR-H1	47	IMGT/ AbM 43B1A8/43B1A8-hIgG/43B1-H6L1/43B1-H2L2 CDR-L3
10	AbM 25A5C5 CDR-H2	48	AbM 43B1A8/43B1A8-hIgG/43B1-H6L1/43B1-H2L2 CDR-H1
11	AbM 25A5C5 CDR-H3	49	AbM 43B1A8/43B1A8-hIgG/43B1-H6L1/43B1-H2L2 CDR-H2
12	AbM 25A5C5 CDR-L1	50	AbM 43B1A8/43B1A8-hIgG/43B1-H6L1/43B1-H2L2 CDR-H3
13	AbM 25A5C5 CDR-L2	51	AbM 43B1A8/43B1A8-hIgG/43B1-H6L1/43B1-H2L2 CDR-L1
14	改造的人IgG1重鏈恆定區	52	AbM 43B1A8/43B1A8-hIgG/43B1-H6L1/43B1-H2L2 CDR-L2
15	改造的人IgG1重鏈恆定區	53	抗體90H3H11重鏈可變區
16	人κ輕鏈恆定區	54	抗體90H3H11輕鏈可變區
17	抗體27C2B6重鏈可變區	55	IMGT 90H3H11 CDR-H1
18	抗體27C2B6輕鏈可變區	56	IMGT 90H3H11 CDR-H2
19	IMGT	57	IMGT

	27C2B6 CDR-H1		90H3H11 CDR-H3
20	IMGT 27C2B6 CDR-H2	58	IMGT 90H3H11 CDR-L1
21	IMGT 27C2B6 CDR-H3	59	IMGT 90H3H11 CDR-L2
22	IMGT 27C2B6 CDR-L1	60	IMGT/ AbM 90H3H11 CDR-L3
23	IMGT 27C2B6 CDR-L2/ 37C2D10 CDR-L2	61	AbM 90H3H11 CDR-H1
24	IMGT/AbM 27C2B6 CDR-L3/ IMGT/AbM 37C2D10 CDR-L3	62	AbM 90H3H11 CDR-H2
25	AbM 27C2B6 CDR-H1	63	AbM 90H3H11 CDR-H3
26	AbM 27C2B6 CDR-H2	64	AbM 90H3H11 CDR-L1
27	AbM 27C2B6 CDR-H3	65	AbM 90H3H11 CDR-L2
28	AbM 27C2B6 CDR-L1	66	43B1A8-hIgG重鏈序列
29	AbM 27C2B6 CDR-L2/ 37C2D10 CDR-L2	67	43B1A8-hIgG/43B1-H6L1 輕鏈序列
30	抗體37C2D10重鏈可變區	68	抗體43B1-H2L2重鏈可變區
31	抗體37C2D10輕鏈可變區	69	抗體43B1-H2L2輕鏈可變區
32	IMGT 37C2D10 CDR-H1	70	改造的人IgG4重鏈恆定區
33	IMGT 37C2D10 CDR-H2	71	抗體43B1-H2L2重鏈胺基酸 序列
34	IMGT 37C2D10 CDR-H3	72	抗體43B1-H2L2輕鏈胺基酸 序列
35	IMGT 37C2D10 CDR-L1	73	抗體43B1-H6L1重鏈胺基酸 序列
36	AbM 37C2D10 CDR-H1	74	人IgG1恆定區
37	AbM 37C2D10 CDR-H2	75	人IgG4重鏈恆定區
38	AbM 37C2D10 CDR-H3		

【實施方式】

【0186】 現參照下列意在舉例說明本發明(而非限定本發明)的實施例來描述本發明。

【0187】 除非特別指明，本發明中所使用的分子生物學實驗方法和免疫檢測法，基本上參照J. Sambrook等人，分子克隆：實驗室手冊，第2版，冷泉港實驗室出版社，1989，以及F. M. Ausubel等人，

精編分子生物學實驗指南，第3版，John Wiley & Sons, Inc.，1995中所述的方法進行。本領域技術人員知曉，實施例以舉例方式描述本發明，且不意欲限制本發明所要求保護的範圍。

【0188】 實施例1：抗原的製備

【0189】 在大腸桿菌或者哺乳動物細胞中表現人TSLP或者猴TSLP。人TSLP的胺基酸序列參考NCBI的蛋白資料庫中的NP_149024.1。食蟹猴（*Macaca fascicularis*）TSLP的胺基酸序列參考NCBI的蛋白資料庫中的XP_005557555.1。本申請中使用的抗原包括以經修飾形式表現的TSLP，例如在TSLP序列的C末端融合表現6個連續的組胺酸作為標籤(TSLP-His)。上述人或猴TSLP的序列經由金斯瑞公司進行密碼子優化，合成於表現載體上(即含人TSLP完整編碼序列的質體)，並在大腸桿菌中，或者哺乳動物細胞HEK293F細胞中表現和純化。

【0190】 TSLP的天然受體是異源二聚體，由人TSLPR與人IL7R alpha (IL7R α) 亞基組成。人TSLPR的序列參考(Uniprot: Q9HC73.1)；人IL7R alpha 亞基的序列參考(GenBank: AAR08908.1)。人hIL7R α -hTSLPR-hFc融合蛋白是將人IL7R α 胞外區(E21-D239)、人TSLPR受體的胞外區(Q23-K231)和人IgG1 Fc區域的部分編碼序列(Hinge-CH2-CH3)串聯在一起組成。透過密碼子優化，構建在pLVX表現載體上。並利用pLVX載體建立HEK293F的表現穩定細胞株，最終純化獲得hIL7R α -hTSLPR-hFc的融合蛋白。

【0191】 實施例2：人TSLPR/IL7R α 雙基因過表現細胞株的構建與鑒定

【0192】 2.1人TSLPR/IL7R α 雙基因過表現細胞株的構建

【0193】 為驗證人TSLP抗體阻斷人TSLP結合受體人TSLPR/IL7R α 的功能，將人TSLPR完整編碼的胺基酸序列（基因編號：UniProtKB/Swiss-Prot:Q9HC73.1，由南京金斯瑞生物科技有限公司合成）和人IL7R α 亞基的完整胺基酸編碼序列（基因編號：GenBank: AAR08908.1，由南京金斯瑞生物科技有限公司合成）交由金斯瑞公司進行密碼子優化，並分別選殖到慢病毒載體pLVX-IRES-puro和pLVX-IRES-zeocin上，並透過文獻所述（Mohammadi Z etl., Mol Biotechnol. 2015 Sep;57(9):793-800）慢病毒包裝系統製備病毒的方法，獲得的病毒感染小鼠原B細胞株Ba/F3細胞（購買自南京科佰），透過嘌呤黴素+博萊黴素篩選及單克隆挑選，獲得單克隆的Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 穩定細胞株。

【0194】 2.2人TSLPR/IL7R α 雙基因過表現Ba/F3細胞株檢測

【0195】 細胞株採用流式細胞儀（流式細胞儀：Beckman，CytoFlex；檢測抗體APC-anti-human TSLPR（Biolegend），APC-anti-human IL7R α （Biolegend））進行鑒定，確定單克隆細胞正確表現人TSLPR和人IL7R α 。如圖1所示，流式結果顯示Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 是表現這2種基因（接近100%）、均一性較好的單克隆細胞株，可用於後續實驗。

【0196】 實施例3：小鼠免疫與融合瘤融合**【0197】 3.1 小鼠免疫**

【0198】 採用全人源轉基因小鼠H2L2（和鉑醫藥）進行免疫，分別採用大腸桿菌表現的人TSLP（NP_149024.1）、哺乳動物細胞表

現的人 TSLP (NP_149024.1)、哺乳動物表現的猴 TSLP (XP_005557555.1)，以及含人 TSLP 完整編碼序列的質體進行多次免疫。每兩周進行一次加強免疫，共 5-6 次。免疫期間，每兩周透過 ELISA 方法檢測抗人 TSLP 抗體的血清效價 (參見實施例 4.1)，經過多輪免疫並根據效價情況選擇最佳效價的小鼠使用以下方案融合以生成融合瘤。

【0199】 3.2 融合方法

【0200】 將小鼠脾臟和淋巴結單細胞懸液混合後，加入相同數量的 SP2/0 骨髓瘤細胞並混勻。細胞混合液經電融合緩衝液洗滌重懸，用 BTX-ECM2001 電融合儀融合後，立即將細胞懸液從融合艙室中轉移至完全融合培養基中，37°C 培育 1 小時。按 2×10^4 個細胞每孔的密度進行 96 孔板鋪板。培養 5 天后使用完全融合培養基換液，7-10 天時取上清進行融合瘤篩選。

【0201】 實施例 4：融合瘤篩選

【0202】 4.1 人 TSLP 結合 ELISA 篩選

【0203】 將可溶性的人 TSLP-His 蛋白在 1xCBS 包被液中稀釋至 1 µg/ml，並加入到 96 孔板，並在 4°C 下培育過夜。用 PBST 洗滌 96 孔板，並在 37°C 下用封閉液 (PBS+2% BSA) 將板封閉 2 小時。向板中加入融合瘤上清液，或加入同等體積封閉液，在 37°C 培養箱中將板培育 2 小時。96 孔板中加入山羊抗大鼠 IgG-HRP，在 37°C 培養箱中將板培育 1 小時，洗滌並在 450nm 下讀取 OD。

【0204】 4.2 猴 TSLP 結合 ELISA 篩選

【0205】 將猴 TSLP-His 蛋白在 CBS 包被液中稀釋至 1 µg/ml，並

加入到96孔板，並在4°C下培育過夜。用PBST洗滌96孔板，並在37°C下用封閉液PBS+2% BSA將板封閉2小時。將板中加入融合瘤上清液，或加入同等體積封閉液，在37°C培養箱中將板培育2小時。96孔板中加入山羊抗大鼠IgG-HRP，在37°C培養箱中將板培育1小時，洗滌並在450nm下讀取OD。

【0206】 4.3 阻斷人TSLP-His與嵌合受體IL7R α - TSLPR-hFc結合ELISA篩選

【0207】 根據以下方案測定融合瘤上清液或純化抗體阻斷人TSLP-His與嵌合受體IL7R α -TSLPR-hFc的結合。

【0208】 將可溶性的hIL7R α - hTSLPR- hFc蛋白在1xCBS包被液中稀釋，並加入到96孔板，並在4°C下培育過夜。用PBST洗滌96孔板，並在37°C下，用封閉液PBS+2% BSA將板封閉2小時。向板中加入哺乳動物細胞重組表現的hTSLP-His蛋白（+/-），並加入融合瘤上清液或加入同等體積封閉液，在37°C培養箱中將板培育2小時。96孔板中加入小鼠抗His-HRP，在37°C培養箱中將板培育1小時，洗滌並在450nm下讀取OD。選擇抑制率強的融合瘤作為候選克隆。

【0209】 根據以上親和ELISA和競爭ELISA的活性，選擇陽性克隆採用有限稀釋法進行亞克隆分選以獲得亞克隆。最終獲得能夠與人TSLP-His、猴TSLP-His結合，同時能夠阻斷人TSLP-His與嵌合受體hIL7R α -hTSLPR-hFc結合的融合瘤亞克隆。如表1所示，5個單克隆均與人TSLP（hTSLP）和猴TSLP（cTSLP）有較強的結合能力，也均能阻斷人TSLP與其受體hIL7R α -hTSLPR-hFc的結合能力，抑制率超過60 %。

【0210】 表1：抗TSLP融合瘤亞克隆篩選

克隆	hTSLP 結合 (OD450)	cTSLP 結合 (OD450)	hTSLP/hIL7Rα-hTSLPR-hFc 抑制率(%)
25A5C5	2.4	0.12	95.9
27C2B6	1.4	1.11	69.8
37C2D10	1.1	1.12	81.0
43B1A8	1.92	1.11	80.7
90H3H11	0.7	1.02	87.0

【0211】 實施例5：抗TSLP嵌合抗體製備

【0212】 對照抗體表現：對照抗體序列參考chEMBL資料庫（ID：CHEMBL3707229）。對照抗體的重鏈和輕鏈鹼基序列合成在pTT5表現載體，並透過CHO-S細胞（購買自Thermo公司）暫態轉染與表現，然後透過Protein A (MabSelect SuRe, GE)進行親和純化，獲得對照抗體。

【0213】 將融合瘤單克隆進行無血清培養，獲得50mL上清，然後透過Protein A (MabSelect SuRe, GE)進行純化獲得融合瘤嵌合抗體。因H2L2小鼠抗體恆定區透過基因改造為大鼠恆定區，所以純化獲得的抗體為全人源可變區攜帶大鼠Fc的嵌合抗體。純化的抗體採用分光光度法定量，獲得嵌合抗體25A5C5，27C2B6，37C2D10，43B1A8和90H3H11。

【0214】 實施例6：抗TSLP嵌合抗體與TSLP親和力ELISA檢測

【0215】 採用ELISA方法檢測嵌合抗體25A5C5，27C2B6，37C2D10，43B1A8和90H3H11與人或猴TSLP親和力。具體方法簡述如下：包被人TSLP-His或猴TSLP-His抗原至96孔板中，4℃過夜後，

分別加入不同濃度梯度稀釋後的抗體，培育2小時後，加入山羊抗大鼠Fc-HRP二抗，培育1小時後，酶標儀檢測A450nm波長的吸光值。

【0216】 檢測結果如表2所示，人TSLP的親和力：25A5C5和27C2B6嵌合抗體和對照抗體基本相當，43B1A8和90H3H11抗體高於對照抗體。25A5C5和90H3H11抗體與猴TSLP幾乎無結合；37C2D10、27C2B6以及43B1A8均與與猴TSLP較強結合。

【0217】 表2：抗TSLP嵌合抗體與TSLP親和力

抗體	hTSLP 結合 EC50 (nM)	cTSLP結合 EC50 (nM)
25A5C5	0.208	不結合
27C2B6	0.221	0.216
37C2D10	0.300	0.495
43B1A8	0.115	0.568
90H3H11	0.139	>100
對照抗體	0.233	0.336

【0218】 實施例7：抗TSLP嵌合抗體阻斷TSLP/hIL7R α -hTSLPR-hFc結合活性的競爭ELISA檢測

【0219】 人TSLP透過與人hIL7R α -hTSLPR-hFc異源二聚體受體結合，啟動下游信號通路。採用競爭ELISA方式檢測嵌合抗體阻斷嵌合受體hIL7R α -hTSLPR-hFc與抗原結合的活性。具體步驟參見實施例4.3，孔板中加入梯度稀釋的嵌合抗體。結果如表3所示，5個嵌合抗體均能有效阻斷人TSLP與人hIL7R α -hTSLPR-hFc異源二聚體受體結合。

【0220】 表3：抗TSLP嵌合抗體競爭ELISA活性

抗體	25A5C5	27C2B6	37C2D10	43B1A8	90H3H11	對照抗體
IC50 (nM)	0.89	0.77	0.51	1.33	1.65	0.93

【0221】 實施例8：抗TSLP嵌合抗體的Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 細

胞增殖抑制檢測

【0222】 透過 Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 細胞增殖抑制方法，檢測抗 TSLP 嵌合抗體的活性。Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 細胞表面表現 hTSLPR和hIL7R α 受體蛋白，這兩個受體蛋白的胞外段二聚體可以和人 TSLP結合，胞內段可以進一步信號傳導，啟動細胞內的STAT5的磷酸化，並促進Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 的細胞增殖。

【0223】 具體如下：取適量 Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 穩定細胞株離心，並採用 1640+10%FBS培養基洗滌2次，以移除培養基中所用重組鼠IL3。在室溫下於各孔中將hTSLP-His(+/-)與純化的抗 TSLP嵌合抗體/或對照抗 TSLP抗體(對照抗體)一起培育30分鐘。添加 1.5×10^4 個 Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 細胞/孔並培育3天。每孔加入 CCK8（RHINO BIO，QDY-003-D），並在 450nm 下讀取 OD，資料匯出並採用 Prism Graphpad軟體分析嵌合抗體對細胞增殖的抑制反應。

【0224】 如圖2A-2C及表4所示，5個嵌合抗體均能夠明顯的抑制 Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 細胞的增殖。

【0225】 表 4：嵌合抗體阻斷人 TSLP 誘導的 Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 細胞增殖的活性檢測

抗體	25A5C5	27C2B6	37C2D10	43B1A8	90H3H11	對照抗體
EC50 (nM)	0.11	1.22	0.28	0.10	0.25	0.05

【0226】 實施例9：抗TSLP嵌合抗體的可變區擴增

【0227】 融合瘤細胞培養到 2×10^6 個左右，利用 TRIzol 試劑 (Thermo Fisher Sci. Cat# 15596026)裂解融合瘤細胞提取RNA並採用 cDNA反轉錄試劑盒(Thermo Fisher Sci. Cat# 18080-200) 合成第一鏈 cDNA。參考IMGT和AbM的方法，以及所有鼠源抗體序列分析，選擇

同源性高的區域設計多對可變區上游引子，下游引子使用CH1同源序列，採用引子pool的方式PCR擴增得到抗體的輕、重鏈可變區，PCR產物透過DNA純化試劑盒(Qiagen, Cat#28104)純化，並選殖到pTT-5載體上，每一個連接反應大概挑取10個克隆進行測序，獲得可變區序列，並進一步透過IMGT和AbM資料庫進行分析。

【0228】 表5：抗人TSLP嵌合抗體可變區及CDR胺基酸序列及其編號

克隆	25A5C5		27C2B6		37C2D10		43B1A8		90H3H11	
重鏈可變區	1		17		30		40		53	
輕鏈可變區	2		18		31		41		54	
編號系統	IMG T	Ab M	IMG T	Ab M	IMG T	Ab M	IMG T	Ab M	IMG T	Ab M
重鏈CDR1	3	9	19	25	32	36	42	48	55	61
重鏈CDR2	4	10	20	26	33	37	43	49	56	62
重鏈CDR3	5	11	21	27	34	38	44	50	57	63
輕鏈CDR1	6	12	22	28	35	39	45	51	58	64
輕鏈CDR2	7	13	23	29	23	29	46	52	59	65
輕鏈CDR3	8	8	24	24	24	24	47	47	60	60

【0229】 實施例10：重組抗體的表現、純化及親和結合活性檢測

【0230】 將25A5C5，27C2B6，37C2D10，43B1A8和90H3H11的輕鏈可變區胺基酸序列分別與輕鏈κ恆定區胺基酸序列（SEQ ID NO：16）連接，重鏈可變區胺基酸序列分別與IgG1重鏈恆定區胺基酸序列（SEQ ID NO：14）連接，將序列對應的核苷酸序列構建至pTT5載體。將每一重組全人源抗體重鏈和輕鏈對應的pTT5載體，同時轉染到CHO-S(購買自Thermo公司)，透過利用Protein A (MabSelect

SuRe, GE)進行純化上清，純化後的重組全人源抗體分別命名為 25A5C5-hIgG，27C2B6-hIgG，37C2D10-hIgG，43B1A8-hIgG 和 90H3H11-hIgG，並採用分光光度法定量蛋白含量。

【0231】 檢測抗TSLP的重組全人源抗體與哺乳動物表現的重組人或猴TSLP-His親和力。具體實驗步驟簡述如下：包被人TSLP-His或猴TSLP-His抗原至96孔板中，4℃過夜後，分別加入不同濃度梯度稀釋後的抗體，培育2小時後，加入HRP標記的山羊抗人Fc二抗，培育1小時後，A450nm波長讀數檢測。

【0232】 結果如圖3A-3B所示，5個候選抗體均能夠結合人TSLP。同時，如表6所示，37C2D10-hIgG，43B1A8-hIgG，90H3H11-hIgG的hTSLP親和力強於對照抗體。25A5C5-hIgG，27C2B6-hIgG的hTSLP親和力與對照抗體相當。27C2B6-hIgG，37C2D10-hIgG，43B1A8-hIgG與猴TSLP親和力基本相當。

【0233】 表6：重組全人源抗體的人、猴TSLP的結合力

抗體	25A5C5-hIgG	27C2B6-hIgG	37C2D10-hIgG	43B1A8-hIgG	90H3H11-hIgG	對照抗體
hTSLP 結合EC50 (nM)	1.45	1.62	0.90	0.80	1.36	1.40
cTSLP 結合EC50 (nM)	不結合	0.18	0.17	0.23	>100	0.19

【0234】 實施例11：抗TSLP全人源抗體與TSLP動態親和力的檢測

【0235】 採用Fortebio是常用的動態親和力檢測設備，透過其檢測抗TSLP全人源抗體與TSLP的動態親和力。簡述方法如下：對人或猴TSLP抗原採用PBST進行系列稀釋，得到100 nM、50 nM、25 nM、12.5 μM、6.25 nM、3.125 nM、1.5625 nM和0 nM。ProA生物感測器

(Pall生命科學)在使用前用PBST緩衝液預濕。將重組全人源抗體用PBST稀釋到5 μg/mL並固化在ProA感測器上。然後將固化了抗體的感測器在PBST緩衝液中平衡60s以獲得基線，然後轉移到抗原稀釋液結合60s，再在PBST中解離180s。在一個分析迴圈後，感測器用10 mM Gly (pH 1.5) 再生。使用Date analysis 11.0版（Pall），用1：1模型分析，確定結合(Ka)和解離(Kd)速率常數並使用其來計算解離平衡常數(KD)。

【0236】 如表7所示，25A5C5-hIgG、43B1A8-hIgG和90H3H11-hIgG結合人TSLP的KD值小於對照抗體，顯示出更強的親和力，與親和ELISA結果一致。在猴TSLP結合方面，25A5C5-hIgG無親和力；而37C2D10-hIgG、90H3H11-hIgG和43B1A8-hIgG顯示有較好結合，親和力在10⁻⁸M到10⁻⁹M級別。

【0237】 表7：全人源抗體的動態親和力分析

抗體	hTSLP 親和力 KD (M)	cTSLP親和力 KD (M)
25A5C5-hIgG	5.58E-10	不結合
37C2D10-hIgG	1.76E-09	2.01E-08
43B1A8-hIgG	5.81E-10	1.02E-09
90H3H11-hIgG	6.04E-10	1.08E-08
對照抗體	8.00E-10	1.15E-09

【0238】 實施例12：重組全人源抗體的Ba/F3-hTSLPR-hIL7a細胞增殖抑制

【0239】 重組表現的全人源抗體，採用Ba/F3-hTSLPR-hIL7a細胞增殖抑制方法，檢測重組全人源抗體的活性。方法參照前述實施例8。

【0240】 結果如表8所示，27C2B6-hIgG和37C2D10-hIgG能抑制

人 TSLP 引起的 Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 細胞增殖。25A5C5-hIgG 和 90H3H11-hIgG 的抑制人 TSLP 引起的 Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 細胞增殖，與對照抗體基本相當。而 43B1A8-hIgG 的抑制活性則顯著強於對照抗體，大約 0.25 倍，如圖 4A-C 所示。

【0241】 表 8：重組全人源抗體的 Ba/F3-hTSLPR-hIL7R α 細胞增殖抑制活性

抗體	hTSLP EC50(nM)
25A5C5-hIgG	0.044
27C2B6-hIgG	0.064
37C2D10-hIgG	0.060
43B1A8-hIgG	0.031
90H3H11-hIgG	0.050
對照抗體	0.041

【0242】 實施例 13：重組全人源抗體抑制人 TSLP 誘導的 PBMC 分泌胸腺活化調節因數（TARC）的活性檢測

【0243】 透過抑制人 TSLP 誘導人 PBMC 細胞分泌 TARC（一種 Th2 類細胞素）評估全人源 TSLP 抗體在原代細胞上的功能活性。PBMC 中含有 CD11⁺ DC 細胞，有研究顯示 TSLP 可以與受體 TSLPR/IL7R α 結合，並啟動 CD11⁺ DC 細胞，上調 OX40L 並促進 CD11⁺ DC 細胞分泌 Th2 類細胞素（如：TARC 和 CCL22）。抗 TSLP 的抗體能夠阻斷 TSLP 與 DC 細胞表面的 TSLPR/IL7R α 結合，從而阻斷對 DC 細胞的啟動和 DC 細胞分泌 Th2 類細胞素。

【0244】 簡述方法如下：使用 Ficoll 分離液 (GE) 分離人外周血 PBMC，在室溫下將 hTSLP-His (+/-) 與重組全人源抗體或對照抗體一起培育 30 分鐘，並添加 2 $\times$ 10⁵ PBMC 細胞/孔，培育 48 小時。收穫上清

液並透過ELISA分析人類TARC產生，並且測定融合瘤上清液或純化抗體對TARC分泌的抑制。使用TARC的ELISA試劑盒(義翹神州)檢測上清中的TARC水準。

【0245】 結果如表9和圖5顯示，全人源抗體43B1A8-hIgG和90H3H11-hIgG的EC50均低於對照抗體，顯示其抑制TSLP誘導的PBMC細胞分泌TARC的活性均高於對照抗體分子。

【0246】 表9：重組全人源抗體抑制人TSLP誘導PBMC分泌TARC

抗體	43B1A8-hIgG	90H3H11-hIgG	對照抗體
EC50(nM)	0.44	0.42	0.51

【0247】 實施例14：重組全人源抗體的Tm值的測定。

【0248】 採用DSF（差示螢光掃描技術）方法測定抗TSLP抗體的Tm值。具體實驗步驟如下，將12.5μl 40 × SYPRO Orange dye（購自 Life technologies公司，貨號：56651）、5μl體積的1mg/ml全人源TSLP抗體（PBS稀釋）以及7.5μl無菌水混合於EP管中，將上述樣品混合物加入Q-PCR系統（AB Applied Biosystems ABI，7500）中反應，Q-PCR參數設置：Target（ROX），程式（25℃，3 min；1%速率，95℃；95℃，2 min）。結果導入Graph Prism軟體計算V50值。如圖6及表10，43B1A8-hIgG的Tm值（74.72℃）和90H3H11-hIgG的Tm值（72.58℃）高於對照抗體的Tm（66.47℃），可以明確本發明製備的全人源抗體具有更優的熱穩定性。

【0249】 表10：重組全人源TSLP抗體的Tm值

抗體	對照抗體	43B1A8-hIgG	90H3H11-hIgG
Tm(℃)	66.47	74.72	72.58

【0250】 實施例15：重組全人源抗體的疏水性的測定

【0251】 疏水性比較採用Agilent 1260 HPLC結合TOSOH Tskgel Buty-NPR(2.5)層析管柱進行分析。為比較3個抗體疏水性差異，將3個抗體直接進樣進行分析。流動相A：1.5M (NH₄)₂SO₄；流動相B：25mM Na₂HPO₄ (pH7.0)+25%IPA。三個抗體的保留時間見表11，時間越長顯示抗體的疏水性質越強，90H3H11-hIgG親水性與對照抗體相當；43B1A8-hIgG親水性優於對照抗體，顯示工藝開發以及抗體聚集會優於對照抗體。

【0252】 表11：重組全人源抗體的疏水性檢測

抗體	對照抗體	43B1A8-hIgG	90H3H11-hIgG
保留時間（分鐘）	13.93	12.2	13.61

【0253】 實施例16：重組改造的全人源抗體43B1-H6L1和43B1-H2L2的獲得

【0254】 抗體體內半衰期與抗體的等電點、與FcRn的親和力、糖基化修飾以及免疫原性等有密切的關係。為了延長43B1A8-hIgG抗體半衰期，透過重鏈及輕鏈抗體胺基酸序列改造增強FcRn的親和力。

【0255】 改造方案1：hIgG1 Fc（SEQ ID NO：14）替換為含有2個胺基酸突變的IgG4（SEQ ID NO：70），突變特徵為IgG4的434位元胺基酸(Eu編號系統)由N突變為A，第228位胺基酸由S突變為P(Eu編號系統)。

【0256】 改造方案2：hIgG1 Fc（SEQ ID NO：14）的434位元胺基酸(Eu編號系統)由N替換為A得到SEQ ID NO：15；並且43B1A8-hIgG的重鏈的FR1的第16位R突變為G（Chothia編號系統）；並且43B1A8-hIgG的輕鏈的FR3的第79位R突變為Q（Chothia編號系統）。

【0257】 將上述第1和第2種改造獲得的抗體命名為43B1-H6L1和43B1-H2L2。

【0258】 43B1-H2L2的重鏈可變區序列為SEQ ID NO：68；重鏈恆定區序列為SEQ ID NO：15；輕鏈可變區序列為SEQ ID NO：69；輕鏈恆定區序列為SEQ ID NO：16。

【0259】 43B1-H6L1的重鏈可變區序列為SEQ ID NO：40；重鏈恆定區序列為SEQ ID NO：70；輕鏈可變區序列為SEQ ID NO：41；輕鏈恆定區序列為SEQ ID NO：16。

【0260】 表12：抗體43B1-H6L1和43B1-H2L2胺基酸序列及其編號（SEQ ID NO）

抗體	重鏈	重鏈可變區	重鏈恆定區	輕鏈	輕鏈可變區	輕鏈恆定區
43B1A8-hIgG	66	40	14	67	41	16
43B1-H2L2	71	68	15	72	69	16
43B1-H6L1	73	40	70	67	41	16

【0261】 將上述43B1-H2L2和43B1-H6L1這兩種改造分子的重鏈和輕鏈分別構建pTT5表現載體，提取質體後，轉染到CHO-S細胞中（購買自Thermo公司），經過大約10天左右的培養後，細胞上清透過Protein A (MabSelect SuRe, GE)進行純化，純化後的重組全人源抗體採用分光光度法定量蛋白含量。

【0262】 實施例17：重組全人源抗體43B1-H6L1和43B1-H2L2與TSLP動態親和力的檢測

【0263】 採用Fortebio檢測抗TSLP全人源抗體與TSLP的動態親和力。方法參考上述實施例11。結果如表13所示，43B1-H6L1和43B1-H2L2人源抗體分子的hTSLP的動態親和力不弱於對照抗體。

【0264】 表13：改造全人源抗體分子的動態親和力分析

抗體	hTSLP 親和力 KD (M)
43B1-H2L2	2.33E-10
43B1-H6L1	4.19E-10
對照抗體	3.73E-10

【0265】 實施例18：重組全人源抗體43B1-H6L1和43B1-H2L2的等電點（PI）檢測

【0266】 採用等電聚焦的方法，對43B1-H6L1、43B1-H2L2和43B1A8-hIgG抗體的等電點進行檢測。簡述方法如下：採用ProteinSimple公司的Maurice等電聚焦系統，結合其毛細管卡盒進行分析。為比較3個抗體等電點差異，將3個抗體用水稀釋，檢測體系利用終濃度4%的兩性電解質3-10（GE公司）形成pH梯度。結果見表14所示，43B1-H6L1、43B1-H2L2分別比43B1A8-hIgG的等電點下降1.3和0.4，說明改造方案成功。

【0267】 表14：重組全人源抗體的等電點PI的比較

抗體	43B1-H2L2	43B1-H6L1	43B1A8-hIgG
等電點	8.2	7.3	8.6

【0268】 實施例19：重組全人源抗體43B1-H6L1和43B1-H2L2與FcRn的動態親和力的檢測

【0269】 採用Fortebio檢測改造的抗TSLP全人源抗體與FcRn的動態親和力。簡述方法如下：對抗TSLP抗體採用PBST（pH6.0）進行系列稀釋，得到200 nM、100 nM、50 nM、25 nM、12.5 μM、6.25 nM、3.125 nM、1.5625 nM和0 nM。SA生物感測器(Pall生命科學)在使用前用PBST（pH6.0）緩衝液預濕。將生物素標記的FcRn稀釋到2.3 μg/mL並固化在SA感測器上。然後將固化了FcRn的感測器在PBST

(pH6.0) 緩衝液中平衡60s以獲得基線，然後轉移到抗體稀釋液結合60s，再在PBST (pH6.0) 中解離60s。在一個分析迴圈後，感測器用PBST (pH7.4) 再生。使用Date analysis 11.0版 (Pall)，用1：1模型分析，確定結合(Ka)和解離(Kd)速率常數並使用其來計算解離平衡常數(KD)。

【0270】 如表15所示，43B1-H6L1和43B1-H2L2的FcRn的動態親和力KD小於對照抗體，顯示FcRn的親和力大約是對照抗體的2倍。

【0271】 表15：改造全人源抗體分子的FcRn親和力分析

抗體	FcRn 親和力 KD (M)
43B1-H2L2	5.25E-09
43B1-H6L1	4.23E-09
對照抗體	1.12E-08

【0272】 實施例20：重組全人源抗體43B1-H6L1和43B1-H2L2抑制 Ba/F3-hTSLPR-hIL7Rα細胞增殖的活性測定

【0273】 採用Ba/F3細胞增殖抑制方法，檢測重組全人源抗體43B1-H6L1和43B1-H2L2的活性。方法參照前述實施例8，根據資料分析抗體的活性EC50。結果如表16和圖7A、7B所示，43B1-H2L2和43B1-H6L1能抑制人TSLP引起的Ba/F3-hTSLPR-hIL7Rα細胞增殖，EC50均與對照抗體相當，顯示全人源抗體43B1-H2L2和43B1-H6L1抑制TSLP的細胞活性的能力相當。

【0274】 表16：重組改造全人源抗體分子的Ba/F3-hTSLPR-hIL7Rα細胞增殖抑制活性

	43B1-H2L2	43B1-H6L1	對照抗體
hTSLP EC50(nM)	0.64	0.46	0.57

【0275】 實施例21：重組全人源抗體抑制人TSLP誘導的PBMC分泌巨噬細胞來源趨化素（MDC）的活性檢測

【0276】 透過抑制人TSLP誘導人PBMC細胞分泌MDC評估全人源TSLP抗體在原代細胞上的功能活性。PBMC中含有DC細胞，有研究顯示TSLP可以與細胞表面受體TSLPR/IL7R α 結合，並啟動DC細胞，上調OX40L並促進DC細胞分泌Th2類細胞素（如：TARC和MDC）。抗TSLP的抗體能夠阻斷TSLP與DC細胞表面的TSLPR/IL7R α 結合，從而阻斷對DC細胞的啟動和DC細胞分泌Th2類細胞素。

【0277】 簡述方法如下：使用Ficoll分離液(GE)分離人外周血PBMC，在室溫下將hTSLP-His (+/-)與重組全人源抗體或對照抗體一起培育30分鐘，並添加2 $\times$ 10⁵ PBMC細胞/孔，培育120小時。收穫上清液並透過ELISA分析人類MDC產生，並且測定抗體對MDC分泌的抑制。使用MDC的ELISA試劑盒(Raybiotech)檢測上清中的TARC水準。

【0278】 結果如表17和圖8所示，43B1-H2L2和對照抗體均能夠明顯的抑制TSLP誘導的MDC因數的產生，其EC50分別為7.84 pM和5.63 pM。

【0279】 表17：重組全人源抗體抑制人TSLP誘導PBMC分泌MDC

抗體	43B1-H2L2	對照抗體
EC50(pM)	7.84	5.63

【0280】 實施例22：重組全人源抗體在食蟹猴體內的藥物動力學分析

【0281】 本申請中43B1-H2L2候選分子的序列攜帶N434A突變，目的是為了影響其與FcRn的親和力，從而延長其在體內的藥物代謝

半衰期，因此本實施例採用皮下注射藥物的方式，研究了43B1-H2L2分子在食蟹猴體內藥物動力學情況，並和對照抗體的藥物動力學情況進行比較。方法和結果如下：選取食蟹猴（*Macaca fascicularis*，來自海南金港生物技術股份有限公司）4只，分為2組，每組雌雄各一隻。皮下注射劑量為5mg/kg。分別在0點，給藥後5分鐘，30分鐘，2小時，4小時，8小時，1天，2天，3天，4天，7天，10天，14天，21天，28天，35天，42天，49天，56天採集血樣，室溫放置血樣1小時至凝血後，離心獲得血清樣本，血清樣本冷凍於-80℃待測。ELISA測定血清中的抗體含量，結果分析如下：單次皮下給藥的藥代參數和曲線見表18和圖9。這些結果顯示43B1-H2L2抗體有更長的半衰期，血藥總量AUC也更高，大約是對照抗體的兩倍。

【0282】 表18：重組全人源抗體的食蟹猴皮下給藥的藥物動力學研究

PK參數	t _{1/2} (h)	T _{max} (h)	C _{max} (ng/ml)	AUC _(0-t) (hr*ng/ml)
43B1-H2L2	549.3731	48	67373.4	47271741
對照抗體	267.3537	72	75870.56	25600470

【0283】 儘管本發明的具體實施方式已經得到詳細的描述，但本領域技術人員將理解：根據已經公佈的所有教導，可以對細節進行各種修改和變動，並且這些改變均在本發明的保護範圍之內。本發明的保護範圍由所附申請專利範圍及其任何等同物給出。

【序列表】

- <110> 大陸商四川科倫博泰生物醫藥股份有限公司(SICHUAN KELUN-BIOTECH BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.)
大陸商和鉑醫藥（蘇州）有限公司(HARBOUR BIOMED (SUZHOU) CO., LTD)
- <120> 抗TSLP抗體及其用途
- <140> TW109143734
- <141> 2020-12-10
- <150> CN201911278628.7
- <151> 2019-12-13
- <160> 75
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 121
- <212> PRT
- <213> 智人
- <400> 1

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

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

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Arg Val Val Gly Ala Pro Asp Thr Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 2
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asp Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 3
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 3

Arg Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Trp
1 5

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 4

Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys
1 5

<210> 5
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 5

Ala Arg Asp Arg Val Val Gly Ala Pro Asp Thr Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 6
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 6

Gln Asp Ile Ser Asp Tyr
1 5

<210> 7
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 7

Asp Ala Ser
1

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 8

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 9

Arg Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Trp Met Asn
1 5 10

<210> 10
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 10

Asn Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr
1 5 10

<210> 11
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 11

Asp Arg Val Val Gly Ala Pro Asp Thr Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 12

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asp Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 13
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 13

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

<210> 14
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類IgG1重鏈恆定區

<400> 14

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

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

[illegible]

$\langle 210 \rangle$	15
$\langle 211 \rangle$	330
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類IgG1重鏈恒定區

<400> 15

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
165				170				175							
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
180				185				190							
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
195				200				205							
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
210				215				220							
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu
225				230				235				240			
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
245				250				255							
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
260				265				270							
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
275				280				285							
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
290				295				300							
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Ala	His	Tyr	Thr
305				310				315				320			
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
325				330											

<210> 16
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 16

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 17
<211> 123
<212> PRT
<213> 智人

<400> 17

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

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

<210> 18
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人

<400> 18

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

Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	His	Ser
			20					25					30		

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

Pro Gln Leu Leu Ile Cys Leu Gly Ser Asp Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

<210> 19
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 19

Gly Asp Ser Ile Ser Asn Tyr Asn Trp
1 5

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 20

Ile Tyr His Ser Gly Arg Thr
1 5

<210> 21
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 21

Ala Arg Asp Ala Pro Ser Asp Tyr Gly Asp Tyr Gly Phe Phe Asp His
1 5 10 15

<210> 22
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 22

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 23
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 23

Leu Gly Ser
1

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 24

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 25
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 25

Gly Asp Ser Ile Ser Asn Tyr Asn Trp Trp Ser
1 5 10

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 26

Glu Ile Tyr His Ser Gly Arg Thr Asn
1 5

<210> 27
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 27

Asp Ala Pro Ser Asp Tyr Gly Asp Tyr Gly Phe Phe Asp His
1 5 10

<210> 28
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 28

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 29
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 29

Leu Gly Ser Asp Arg Ala Ser
1 5

<210> 30
<211> 123
<212> PRT
<213> 智人

<400> 30

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

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

Asn Trp Trp Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Gln Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Phe His Ser Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Ala Pro Asn Asp Tyr Gly Asp Tyr Gly Phe Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 31
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人

<400> 31

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Glu Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asp Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

<210> 32
<211> 9
<212> PRT

<213> 智人

<400> 32

Gly Asp Ser Ile Ser Ser Asp Asn Trp
1 5

<210> 33

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 33

Ile Phe His Ser Gly Arg Thr
1 5

<210> 34

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人

<400> 34

Ala Arg Asp Ala Pro Asn Asp Tyr Gly Asp Tyr Gly Phe Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 35

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Glu Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 36

Gly Asp Ser Ile Ser Ser Asp Asn Trp Trp Asn
1 5 10

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 37

Glu Ile Phe His Ser Gly Arg Thr Asn
1 5

<210> 38

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<400> 38

Asp Ala Pro Asn Asp Tyr Gly Asp Tyr Gly Phe Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 39

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人

<400> 39

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Glu Tyr Asn Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 40

<211> 123

<212> PRT

<213> 智人

<400> 40

Gln Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Pro Leu Trp Tyr Gly Glu Pro Asp Asp Ala Phe Asp Ile
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 41

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<400> 41

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

1 5 10 15

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

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

Ser Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Asn Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 42
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 42

Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Asp
1 5

<210> 43
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 43

Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu
1 5

<210> 44
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 44

Ala Arg Ser Pro Leu Trp Tyr Gly Glu Pro Asp Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 45
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 45

Gln Ser Val Ser Ser Asn
1 5

<210> 46
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 46

Gly Ala Ser
1

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 47

Gln His Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 48
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 48

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

<210> 49
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 49

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Asn
1 5 10

<210> 50
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 50

Ser Pro Leu Trp Tyr Gly Glu Pro Asp Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 51
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 51

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 52

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr
1 5

<210> 53
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人

<400> 53

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Asn His
20 25 30

Asp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Thr Leu Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

859095

Ala Arg Asp Asp Tyr Ala Asp Tyr Val Tyr Phe His His Trp Gly Gln

100105110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115120

<210> 54

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<400> 54

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

151015

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asn Ser Tyr

202530

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

354045

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

505560

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65707580

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr

859095

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Glu Leu Glu Ile Lys

100105

<210> 55
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 55

Gly Phe Thr Ile Ser Asn His Asp
1 5

<210> 56
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 56

Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Gln
1 5

<210> 57
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 57

Ala Arg Asp Asp Tyr Ala Asp Tyr Val Tyr Phe His His
1 5 10

<210> 58
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 58

Gln Asn Ile Asn Ser Tyr
1 5

<210> 59
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<400> 59

Ala Ala Ser
1

<210> 60
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 60

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 61
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 61

Gly Phe Thr Ile Ser Asn His Asp Ile His
1 5 10

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 62

Leu Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Gln Tyr
1 5 10

<210> 63
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 63

Asp Asp Tyr Ala Asp Tyr Val Tyr Phe His His
1 5 10

<210> 64
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 64

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asn Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 65
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 65

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 66
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 43B1A8-hIgG之重鏈

<400> 66

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

Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	
			180					185						190		
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	
			195					200					205			
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	
		210					215					220				
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	
225						230				235					240	
Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	
				245					250					255		
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	
			260					265						270		
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	
		275						280					285			
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	
		290					295					300				
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	
305					310					315					320	
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	
			325						330					335		
Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	
			340					345					350			

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

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

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

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

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

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
450

- <210> 67
- <211> 214
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 43B1A8-hIgG/43B1-H6L1之輕鏈

<400> 67

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn

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

	195		200		205
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys
210					
<210>	68				
<211>	123				
<212>	PRT				
<213>	人工序列				
<220>					
<223>	43B1-H2L2之VH				
<400>	68				
Gln	Met	Gln	Leu	Val	Glu
1			5		Ser
					Gly
					Gly
					Ala
					Val
					Gln
					Pro
					Gly
					Gly
					15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys
					Ala
					Ala
					Ser
					Gly
					Phe
					Thr
					Phe
					Arg
					Ser
					Tyr
					30
Asp	Met	His	Trp	Val	Arg
					Gln
					Ala
					Pro
					Gly
					Lys
					Gly
					Leu
					Glu
					Trp
					Val
					45
Ala	Val	Ile	Trp	Tyr	Asp
					Gly
					Ser
					Asn
					Glu
					Asn
					Tyr
					Ala
					Asp
					Ser
					Val
					60
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Thr
					Ser
					Arg
					Asp
					Asn
					Ser
					Lys
					Asn
					Thr
					Leu
					Phe
					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu
					Arg
					Ala
					Glu
					Asp
					Thr
					Ala
					Val
					Tyr
					Tyr
					Cys
					95
Ala	Arg	Ser	Pro	Leu	Trp
					Tyr
					Gly
					Glu
					Pro
					Asp
					Asp
					Ala
					Phe
					Asp
					Ile
					110
					105
					100

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 69
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 43B1-H2L2之VL

<400> 69

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

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

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

Ser Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Asn Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 70

<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類IgG4重鏈恆定區

<400> 70

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

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
145					150					155					160
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe
				165					170					175	
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
			180						185					190	
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu
		195						200					205		
Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
	210						215					220			
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys
225						230				235					240
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
				245						250					255
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys
			260						265					270	
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser
			275						280				285		
Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser
			290				295					300			
Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Ala	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser
305					310					315					320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

- <210> 71
- <211> 453
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<223> 43B1-H2L2之重鏈

<400> 71

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

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

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Pro Leu Trp Tyr Gly Glu Pro Asp Asp Ala Phe Asp Ile
100 105 110

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

115				120				125							
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly
130				135				140							
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
145				150				155				160			
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
165				170				175							
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
180				185				190							
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val
195				200				205							
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys
210				215				220							
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala
225				230				235				240			
Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
245				250				255							
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
260				265				270							
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
275				280				285							
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser

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

<210> 72

<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 43B1-H2L2之輕鏈

<400> 72

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

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

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

Ser Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Asn Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

- <210> 73
- <211> 450
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 43B1-H6L1之重鏈

- <400> 73

Gln Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Asn Tyr Ala Asp Ser Val

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

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

					405						410					415
Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	
			420					425					430			
Glu	Ala	Leu	His	Ala	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	
			435					440					445			
Gly	Lys															
<210>	74															
<211>	330															
<212>	PRT															
<213>	智人															
<400>	74															
Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	
1				5					10						15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	
			20					25					30			
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	
			35					40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	
	50						55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	
65						70					75					80
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	
				85						90						95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 75
<211> 327
<212> PRT
<213> 智人

<400> 75

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

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
85				90				95							
Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Ser	Cys	Pro	Ala	Pro
100				105				110							
Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
115				120				125							
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
130				135				140							
Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
145				150				155				160			
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe
165				170				175							
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
180				185				190							
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu
195				200				205							
Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
210				215				220							
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys
225				230				235				240			
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
245				250				255							

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種結合胸腺基質淋巴細胞生成素（TSLP）的抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區(VH)和輕鏈可變區(VL)，其包含如下的互補決定區（CDR）：

(1) 其中按IMGT編號系統定義：

(1a) 該VH包含序列為SEQ ID NO：42的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：43的CDR-H2和序列為SEQ ID NO：44的CDR-H3；和

該VL包含序列為SEQ ID NO：45的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：46的CDR-L2和序列為SEQ ID NO：47的CDR-L3；

或者

(1b) 該VH包含序列為SEQ ID NO：55的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：56的CDR-H2和序列為SEQ ID NO：57的CDR-H3；和

該VL包含序列為SEQ ID NO：58的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：59的CDR-L2和序列為SEQ ID NO：60的CDR-L3；

或

(2) 其中按AbM編號系統定義：

(2a) 該VH包含序列為SEQ ID NO：48的CDR-H1，序列為SEQ ID NO：49的CDR-H2和序列為SEQ ID NO：50的CDR-H3；和

該VL包含序列為SEQ ID NO：51的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：52的CDR-L2和序列為SEQ ID NO：47的CDR-L3；

或者

(2b) 該VH包含序列為SEQ ID NO：61的CDR-H1，序列為SEQ

ID NO：62的CDR-H2和序列為SEQ ID NO：63的CDR-H3；和

該VL包含序列為SEQ ID NO：64的CDR-L1，序列為SEQ ID NO：65的CDR-L2和序列為SEQ ID NO：60的CDR-L3。

【請求項2】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合人TSLP和/或猴TSLP。

【請求項3】

如請求項1或2之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：

(a) SEQ ID NO：68、40或53所示的VH和SEQ ID NO：69、41或54所示的VL；

(b) 與(a)中的任一VH相比具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的VH；和與(a)中的任一VL相比具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的VL；或者

(c) 與(a)中的任一VH相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合的VH；和與(a)中的任一VL具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合的VL。

【請求項4】

如請求項3之抗體或其抗原結合片段，其中該置換是保守置換。

【請求項5】

如請求項1或2之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：

(a) SEQ ID NO：68所示序列的VH和SEQ ID NO：69所示序列的VL；

(b) SEQ ID NO：40所示序列的VH和SEQ ID NO：41所示序列的VL；

(c) SEQ ID NO：53所示序列的VH和SEQ ID NO：54所示序列的VL；

(d) VH和VL，與(a)至(c)任一組中的VH和VL相比，其VH具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性；和/或，其VL具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性；或者

(e) VH和VL，與(a)至(c)任一組中的VH和VL相比，其VH具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合；和/或，其VL具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合。

【請求項6】

如請求項5之抗體或其抗原結合片段，其中該置換是保守置換。

【請求項7】

如請求項1或2之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段是嵌合抗體、人源化抗體或全人源抗體。

【請求項8】

如請求項1或2之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段進一步包含：

(a) 人免疫球蛋白的重鏈恆定區（CH）或其變體；和/或

(b) 人免疫球蛋白的輕鏈恆定區（CL）或其變體，

其中該變體與其所源自的野生型序列相比具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性；或者，所述變體與其所源自的野生型序列相比具有一個或多個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合。

【請求項9】

如請求項8之抗體或其抗原結合片段，其中該置換是保守置換。

【請求項10】

如請求項8之抗體或其抗原結合片段，其中該重鏈恆定區是IgG重鏈恆定區。

【請求項11】

如請求項10之抗體或其抗原結合片段，其中該IgG重鏈恆定區是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4重鏈恆定區。

【請求項12】

如請求項8之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含人IgG1重鏈恆定區。

【請求項13】

如請求項8之抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈恆定區是 κ 或 λ 輕鏈恆定區。

【請求項14】

如請求項13之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含人 κ 輕鏈恆定區。

【請求項15】

如請求項8之抗體或其抗原結合片段，其中該重鏈恆定區或其變體包括：

(1) 人IgG1重鏈恆定區或其變體，按照EU編號系統，該變體在位點234、235、237、265、297、331、329、434至少一個位點發生突變；或

(2) SEQ ID NO：14所示的CH或其變體，該變體與SEQ ID NO：14相比具有至多20個胺基酸的保守置換，或者與SEQ ID NO：14相比具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性；按照EU編號系統，該變體含有N297A和/或N434A；

(3) SEQ ID NO：15所示的CH或其變體，該變體與SEQ ID NO：15相比具有至多20個胺基酸的保守置換，或者與SEQ ID NO：15相比具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性；或

(4) 人IgG4重鏈恆定區或其變體，按照EU編號系統，該變體在位點228和434至少一個位點發生突變；或

(5) SEQ ID NO：70所示的CH或其變體，該變體與SEQ ID NO：70相比具有至多20個胺基酸的保守置換，或者與SEQ ID NO：70相比具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性；

和/或

該輕鏈恆定區或其變體：

(6) 包含κ輕鏈恆定區；或

(7) 包含SEQ ID NO：16所示的輕鏈恆定區（CL）或其變體，該變體與SEQ ID NO：16相比具有至多20個胺基酸的保守置換，或者與SEQ ID NO：16相比具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

【請求項16】

如請求項15之抗體或其抗原結合片段，其中人IgG1重鏈恆定區或其變體，按照EU編號系統，該變體含有下列突變中至少一個：L234A、L235A、D265A、N297A、L234F、L235E、P331S、P329G、N434A、N434Y、N434F、N434W、N434S、N434G、N434H、N434Q。

【請求項17】

如請求項15之抗體或其抗原結合片段，其中人IgG1重鏈恆定區或其變體，按照EU編號系統，該變體含有下列突變中至少一個：L234A、L235A、G237A、N434A。

【請求項18】

如請求項15之抗體或其抗原結合片段，其中人IgG1重鏈恆定區或其變體，按照EU編號系統，該變體的突變為L234A、L235A和G237A。

【請求項19】

如請求項15之抗體或其抗原結合片段，其中人IgG1重鏈恆定區或其變體，按照EU編號系統，該變體的突變為L234A、L235A、G237A和N434A。

【請求項20】

如請求項15之抗體或其抗原結合片段，其中SEQ ID NO：14所示的變體，按照EU編號系統，含有N434A。

【請求項21】

如請求項15之抗體或其抗原結合片段，其中人IgG4重鏈恆定區或其變體，按照EU編號系統，該突變體包含S228P和/或N434A。

【請求項22】

如請求項15之抗體或其抗原結合片段，其中人IgG4重鏈恆定區或其變體，按照EU編號系統，該突變體包含S228P和N434A。

【請求項23】

如請求項15之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO：14所示的重鏈恆定區（CH）和SEQ ID NO：

16所示的輕鏈恆定區（CL）。

【請求項24】

如請求項15之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO：15所示的重鏈恆定區（CH）和SEQ ID NO：16所示的輕鏈恆定區（CL）。

【請求項25】

如請求項15之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO：70所示的重鏈恆定區（CH）和SEQ ID NO：16所示的輕鏈恆定區（CL）。

【請求項26】

如請求項15之抗體或其抗原結合片段，其中該突變或置換使抗體或其抗原結合片段與不具有該突變或置換的相應抗體或其抗原結合片段相比，沒有或具有降低的ADCP、ADCC和/或CDC活性。

【請求項27】

如請求項1或2之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：

(a) 包括SEQ ID NO：68所示的VH和SEQ ID NO：14、15或70所示的CH的重鏈，和，包括SEQ ID NO：69所示的VL和 SEQ ID NO：16所示的CL的輕鏈；

(b) 包括SEQ ID NO：40所示的VH和SEQ ID NO：14、15或70所示的CH的重鏈，和，包括SEQ ID NO：41所示的VL和 SEQ ID NO：16所示的CL的輕鏈；

(c) 包括SEQ ID NO：53所示的VH和SEQ ID NO：14、15或70所示的CH的重鏈，和，包括SEQ ID NO：54所示的VL和 SEQ ID

NO：16所示的CL的輕鏈；

或

(d) 重鏈和輕鏈，其中，與(a)-(c)任一組中的重鏈和輕鏈相比，所述重鏈具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性，和/或，所述輕鏈具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

【請求項28】

如請求項1或2之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：

(a) 重鏈和輕鏈，

該重鏈包含：

(i) SEQ ID NO：71所示的序列；

(ii) 與(i)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合的序列；或

(iii) 與(i)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列；和

該輕鏈包含：

(iv) SEQ ID NO：72所示的序列；

(v) 與(iv)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合的序列；或

(vi) 與(iv)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列；

或

(b) 重鏈和輕鏈，

該重鏈包含：

(i) SEQ ID NO：66或73所示的序列；

(ii) 與(i)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合的序列；或

(iii) 與(i)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列；和

該輕鏈包含：

(iv) SEQ ID NO：67所示的序列；

(v) 與(iv)所示的序列相比具有一個或幾個胺基酸的置換、缺失或添加或其任意組合的序列；或

(vi) 與(iv)所示的序列相比具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序

列。

【請求項29】

如請求項28之抗體或其抗原結合片段，其中(ii)或(v)中所述的置換是保守置換。

【請求項30】

如請求項1或2之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段選自scFv、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段、二硫鍵連接的Fv(dsFv)和雙抗體(diabody)。

【請求項31】

如請求項1或2之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段帶有標記。

【請求項32】

如請求項31之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段帶有可檢測的標記。

【請求項33】

如請求項32之抗體或其抗原結合片段，其中該可檢測的標記為酶、放射性核素、螢光染料、發光物質或生物素。

【請求項34】

如請求項33之抗體或其抗原結合片段，其中該酶為辣根過氧化物酶，或該發光物質為化學發光物質。

【請求項35】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段具有以下特性中的至少一項：

- (a) 以小於約 50 nM 的 K_D 結合 TSLP；該 K_D 透過 Fortebio 或 ELISA 測得；
- (b) 以小於約 50 nM 的 EC_{50} 結合 TSLP；該 EC_{50} 透過流式細胞技術或 ELISA 技術測得；
- (c) 以小於約 50 nM 的 IC_{50} 抑制 TSLP 與 IL7R α /TSLPR 的結合；該 IC_{50} 透過 ELISA 技術測得；
- (d) 抑制或阻斷 TSLP 誘導的肥大細胞、DC、NKT 細胞的啟動和/或增殖；
- (e) 抑制或阻斷 TSLP 誘導的 OX40L 表現；
- (f) 抑制或阻斷 TSLP 誘導的骨保護素（OPG）的分泌；
- (g) 抑制或阻斷 TSLP 誘導的 Th2 細胞素的分泌；
- (h) 良好的與 FcRn 結合的親和力；
- (i) 等電點（PI）為約 6.5 到約 8.5。

【請求項36】

如請求項35之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以小於約 20 nM、10 nM、1 nM、0.1 nM、0.01 nM、1 pM、0.1 pM 或更低的 K_D 結合 TSLP。

【請求項37】

如請求項35之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以小於約 20 nM、10 nM、1 nM、0.9 nM、0.8 nM、0.7 nM、0.6 nM、0.5 nM、0.4 nM、0.3 nM、0.2 nM、0.1 nM、0.01 nM、1 pM、0.1 pM 或更小的 EC_{50} 結合 TSLP。

【請求項38】

如請求項36或37之抗體或其抗原結合片段，其中該TSLP為人TSLP。

【請求項39】

如請求項35之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以小於約50 nM、20 nM、10 nM、1 nM、0.9 nM、0.8 nM、0.7 nM、0.6 nM、0.5 nM、0.4 nM、0.3 nM、0.2 nM、0.1 nM、0.01 nM、1 pM、0.1 pM或更小的IC₅₀抑制TSLP與IL7R α /TSLPR的結合。

【請求項40】

如請求項35之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段抑制或阻斷TSLP誘導的TARC、CCL22、IL-4、IL-13或IL-5的分泌。

【請求項41】

如請求項35之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段的等電點（PI）為約6.5、約7.0、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4、約7.5、約7.7、約7.9、約8.0、約8.2或約8.5。

【請求項42】

一種分離的核酸分子，其編碼如請求項1至41中任一項之抗體或其抗原結合片段。

【請求項43】

一種載體，其包含如請求項42之分離的核酸分子。

【請求項44】

如請求項43之載體，其中該載體為克隆載體或表現載體。

【請求項45】

一種宿主細胞，其包含如請求項42之分離的核酸分子或如請求項43或44之載體。

【請求項46】

一種製備如請求項1至41中任一項之抗體或其抗原結合片段的方法，其包括，在允許該抗體或其抗原結合片段表現的條件下，培養如請求項45之宿主細胞，和從培養的宿主細胞培養物中回收該抗體或其抗原結合片段。

【請求項47】

一種多特異性抗體，其包含如請求項1至41中任一項之結合TSLP的抗體或其抗原結合片段，和另外的抗體或其片段或抗體類似物。

【請求項48】

如請求項47之多特異性抗體，其中該多特異性抗體是雙特異性抗體或三特異性抗體或四特異性抗體。

【請求項49】

一種結合物，其包括如請求項1至41中任一項之抗體或其抗原結合片段以及偶聯部分，其中該偶聯部分為可檢測的標記，或者該偶聯部分為治療劑。

【請求項50】

如請求項49之結合物，其中該可檢測的標記為放射性同位素、螢光物質、發光物質、有色物質或酶。

【請求項51】

一種藥物組合物，其包含如請求項1至41中任一項之抗體或其抗原結合片段、如請求項42之分離的核酸分子、如請求項43或44之載

體、如請求項45之宿主細胞、如請求項47或48之多特異性抗體、和/或如請求項49或50之結合物，以及藥學上可接受的載劑和/或賦形劑。

【請求項52】

如請求項51之藥物組合物，其中該藥物組合物用於在個體中引起至少一項以下生物學活性：

- (a) 抑制或阻斷TSLP與IL7R α -TSLPR的結合，
- (b) 下調或消除TSLP的活性，
- (c) 下調或阻斷OX40L表現，
- (d) 抑制或阻斷TSLP誘導的肥大細胞、DC、NKT細胞的啟動和/或增殖，
- (e) 抑制或阻斷TSLP誘導的骨保護素（OPG）的分泌，
- (f) 抑制或阻斷TSLP誘導的Th2細胞素的分泌。

【請求項53】

如請求項52之藥物組合物，其中該藥物組合物用於在個體中抑制或阻斷TSLP誘導的TARC、CCL22、IL-4、IL-13或IL-5的分泌。

【請求項54】

一種試劑盒，其包括如請求項1至41中任一項之抗體或其抗原結合片段、和/或如請求項42之核酸、和/或如請求項43或44之載體、和/或如請求項45之宿主細胞、和/或如請求項47或48之多特異性抗體、和/或如請求項49或50之結合物、和/或如請求項51至53中任一項之藥物組合物，以及視情況包括使用說明書。

【請求項55】

一種如請求項1至41中任一項之抗體或其抗原結合片段、如請求項42之核酸、如請求項43或44之載體、如請求項45之宿主細胞、如請求項47或48之多特異性抗體、如請求項49或50之結合物或如請求項51至53中任一項之藥物組合物之用途，其係用於製備用於預防和/或治療過敏性發炎或自身免疫性疾病的藥物；

視情況，該過敏性發炎選自：氣喘、特發性肺纖維化、特應性皮炎(AD)、過敏性結膜炎、過敏性鼻炎(AR)、Netherton症候群、嗜酸性食管炎(EOE)、食物過敏、過敏性腹瀉、嗜酸性胃腸炎、過敏性支氣管肺曲黴菌病(ABPA)、過敏性真菌性鼻竇炎、類風濕性關節炎、慢性阻塞性肺病(COPD)、全身性全身性硬化症、癍痕疙瘩、潰瘍性結腸炎、慢性鼻竇炎(CRS)和鼻息肉、慢性嗜酸性肺炎、嗜酸性支氣管炎、Churg-Strauss症候群、嗜酸性粒細胞增多症、嗜酸性肉芽腫伴多血管炎、炎症性腸病、蕁麻疹、全身性肥大細胞增多症、皮膚肥大細胞增多症、反復發作的特發性血管性水腫中的至少一種；

視情況，該自身免疫性疾病選自：糖尿病、重症肌無力、胃炎、天皰瘡、原發性膽汁性肝硬化、多發性硬化症、狼瘡、結腸炎、類風濕、牛皮癬和甲狀腺疾病；

視情況，該用途包括該藥物與另外的一種或多種治療劑的聯合施用，該另外的治療劑選自：免疫抑制劑、支氣管擴張劑、其他細胞素或細胞素受體的拮抗劑或抗體、抗生素、放射治療、白三烯拮抗劑、PDE4抑制劑、抗組織胺或止咳藥物；

視情況，該抗體或抗原結合片段與另外的治療劑相繼或同時使用。

【請求項56】

如請求項55之用途，該另外的治療劑選自：皮質類固醇、非類固醇類糖皮質激素受體激動劑、白三烯D4拮抗劑、白三烯B4拮抗劑、A2A激動劑、A2B拮抗劑、多巴胺受體激動劑、吡非尼酮尼達尼布、avB6拮抗劑、 β -2腎上腺素受體激動劑、毒蕈鹼拮抗劑、短效 β 2受體激動劑、長效 β 2受體激動劑、短效抗膽鹼能藥物、甲基黃嘌呤類藥物、長效抗膽鹼能藥物、IL-13拮抗劑、IL-6拮抗劑、IL-1、IL-33、IL-25或TNF- α 的拮抗劑、抗IgE抗體、抗IL31抗體、抗IL31R抗體、抗IL13抗體、抗內皮糖蛋白抗體、抗IL1b抗體、另一抗TSLP抗體或抗hTSLPR抗體、孟魯司特、紮魯司特、普侖司特、羅氟司特或咕噸。

【請求項57】

一種如請求項1至41中任一項之抗體或其抗原結合片段、如請求項42之核酸、如請求項43或44之載體、如請求項45之宿主細胞、如請求項47或48之多特異性抗體、如請求項49或50之結合物或如請求項51至53中任一項之藥物組合物之用途，其係用於製備用於以下中至少一者的藥物：(a) 抑制或阻斷TSLP與IL7R α -TSLPR結合、(b) 下調或消除TSLP的活性、(c) 下調或阻斷OX40L表現、(d) 抑制或阻斷TSLP誘導的肥大細胞、DC、NKT細胞的啟動和/或增殖、(e) 抑制或阻斷TSLP誘導骨保護素(OPG)的分泌、(f) 抑制或阻斷TSLP誘導的Th2細胞素的分泌。

【請求項58】

如請求項57之用途，其中該藥物抑制或阻斷TSLP誘導的TARC、

CCL22、IL-4、IL-13或IL-5的分泌。

【請求項59】

一種如請求項51至53中任一項之藥物組合物之用途，其係用於製備用於在個體中預防和/或治療過敏性發炎或自身免疫性疾病的藥物，其中該個體是哺乳動物；

視情況，在施加所述藥物組合物的同時、之前或之後，施加另外的治療劑，

視情況，該過敏性發炎選自：氣喘、特發性肺纖維化、特應性皮炎(AD)、過敏性結膜炎、過敏性鼻炎(AR)、Netherton症候群、嗜酸性食管炎(EOE)、食物過敏、過敏性腹瀉、嗜酸性胃腸炎、過敏性支氣管肺曲黴菌病(ABPA)、過敏性真菌性鼻竇炎、類風濕性關節炎、COPD、全身性全身性硬化症、癍痕疙瘩、潰瘍性結腸炎、慢性鼻竇炎(CRS)和鼻息肉、慢性嗜酸性肺炎、嗜酸性支氣管炎、Churg-Strauss症候群、嗜酸性顆粒性細胞增多症、嗜酸性肉芽腫伴多血管炎、炎症性腸病、蕁麻疹、全身性肥大細胞增多症、皮膚肥大細胞增多症、反復發作的特發性血管性水腫中的至少一種；

視情況，該自身免疫性疾病選自：糖尿病、重症肌無力、胃炎、天皰瘡、原發性膽汁性肝硬化、多發性硬化症、狼瘡、結腸炎、類風濕、牛皮癬和甲狀腺疾病；

視情況，該另外的治療劑選自：免疫抑制劑、支氣管擴張劑、其他細胞素或細胞素受體的拮抗劑或抗體、抗生素、放射治療、白三烯拮抗劑、PDE4抑制劑、抗組織胺或止咳藥物。

【請求項60】

如請求項59之用途，其中該個體是人。

【請求項61】

如請求項59之用途，其中該另外的治療劑選自：皮質類固醇、非類固醇類糖皮質激素受體激動劑、白三烯D4拮抗劑、白三烯B4拮抗劑、A2A激動劑、A2B拮抗劑、多巴胺受體激動劑、吡非尼酮尼達尼布、avB6拮抗劑、 β -2腎上腺素受體激動劑、毒蕈鹼拮抗劑、短效 β 2受體激動劑、長效 β 2受體激動劑、短效抗膽鹼能藥物、甲基黃嘌呤類藥物、長效抗膽鹼能藥物、IL-13拮抗劑、IL-6拮抗劑、IL-1、IL-33、IL-25或TNF- α 的拮抗劑、抗IgE抗體、抗IL31抗體、抗IL31R抗體、抗IL13抗體、抗內皮糖蛋白抗體、抗IL1b抗體、另一抗TSLP抗體或抗hTSLPR抗體、孟魯司特、紮魯司特、普侖司特、羅氟司特或咕噸。

【請求項62】

一種檢測樣品中TSLP存在或其水準的方法，其包括使該樣品與如請求項1至41中任一項之抗體或其抗原結合片段在允許該抗體或其抗原結合片段與TSLP之間形成複合物的條件下接觸，和檢測該複合物的形成。

【請求項63】

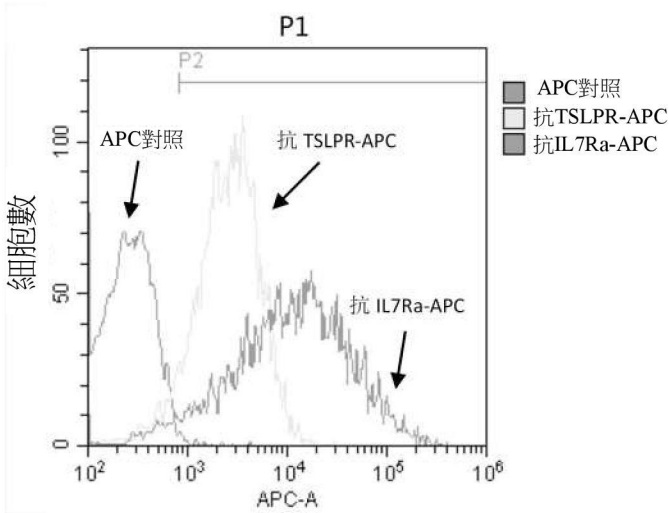
一種如請求項1至41中任一項之抗體或其抗原結合片段、如請求項42之核酸、如請求項43或44之載體、如請求項45之宿主細胞、如請求項47或48之多特異性抗體、如請求項49或40之結合物或如請求項51至53中任一項之藥物組合物在製備用於診斷過敏性發炎或自身免疫性疾病的藥物或試劑盒中的用途，

視情況，該過敏性發炎選自：氣喘、特發性肺纖維化、特應性

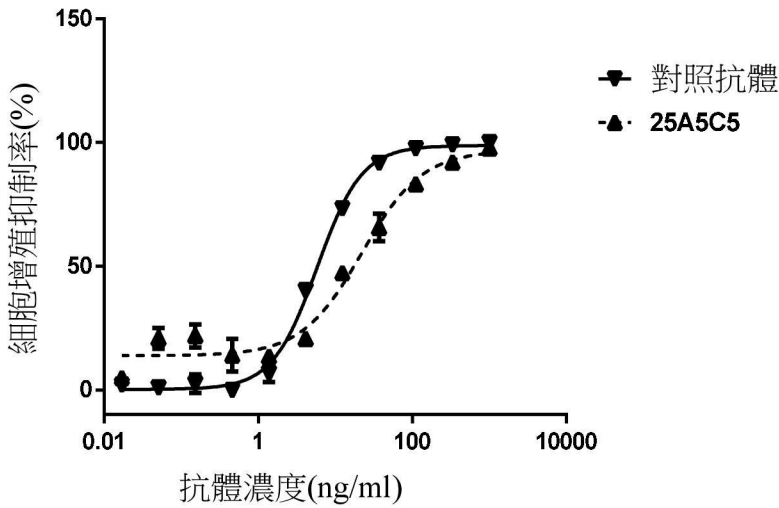
皮炎(AD)、過敏性結膜炎、過敏性鼻炎(AR)、Netherton症候群、嗜酸性食管炎(EOE)、食物過敏、過敏性腹瀉、嗜酸性胃腸炎、過敏性支氣管肺曲黴菌病(ABPA)、過敏性真菌性鼻竇炎、類風濕性關節炎、COPD、全身性全身性硬化症、癍痕疙瘩、潰瘍性結腸炎、慢性鼻竇炎(CRS)和鼻息肉、慢性嗜酸性肺炎、嗜酸性支氣管炎、Churg-Strauss症候群、嗜酸性顆粒性細胞增多症、嗜酸性肉芽腫伴多血管炎、炎症性腸病、蕁麻疹、全身性肥大細胞增多症、皮膚肥大細胞增多症、反復發作的特發性血管性水腫中的至少一種；

視情況，該自身免疫性疾病選自：糖尿病、重症肌無力、胃炎、天皰瘡、原發性膽汁性肝硬化、多發性硬化症、狼瘡、結腸炎、類風濕、牛皮癬和甲狀腺疾病。

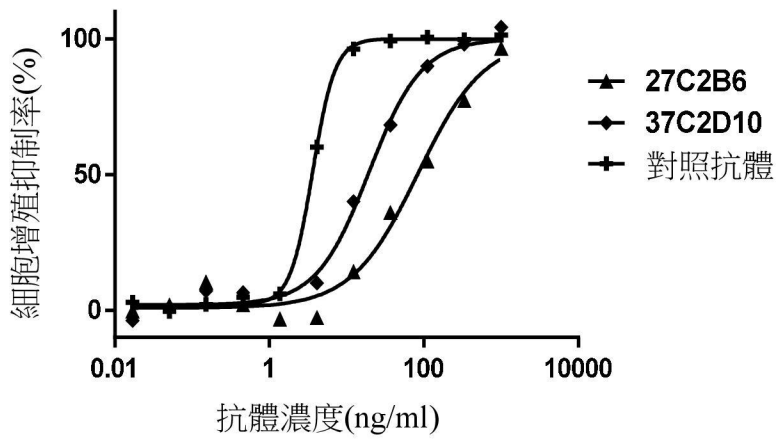
【發明圖式】



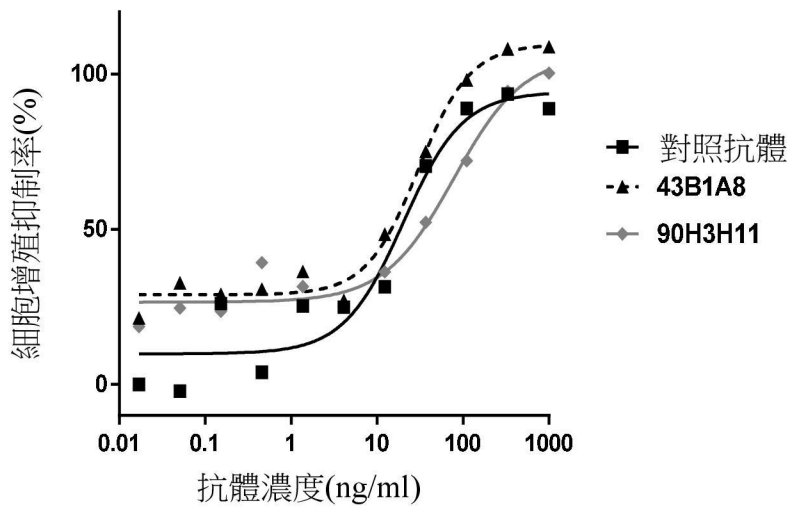
【圖 1】



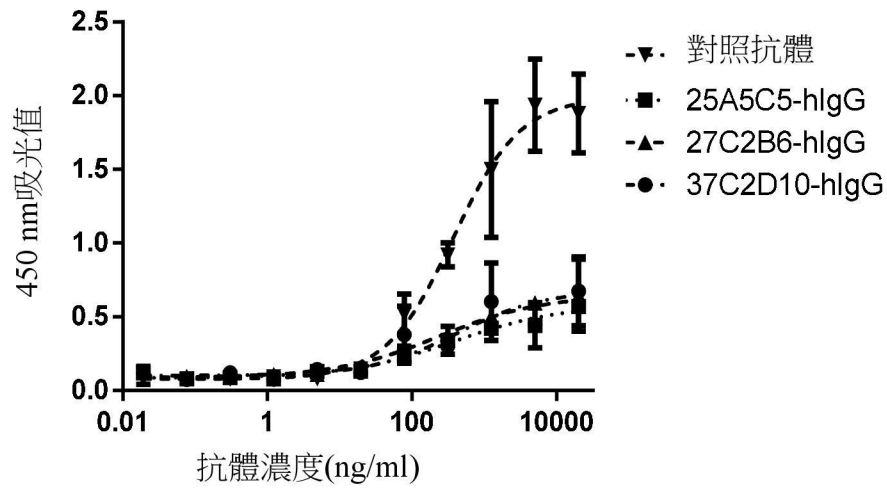
【圖 2A】



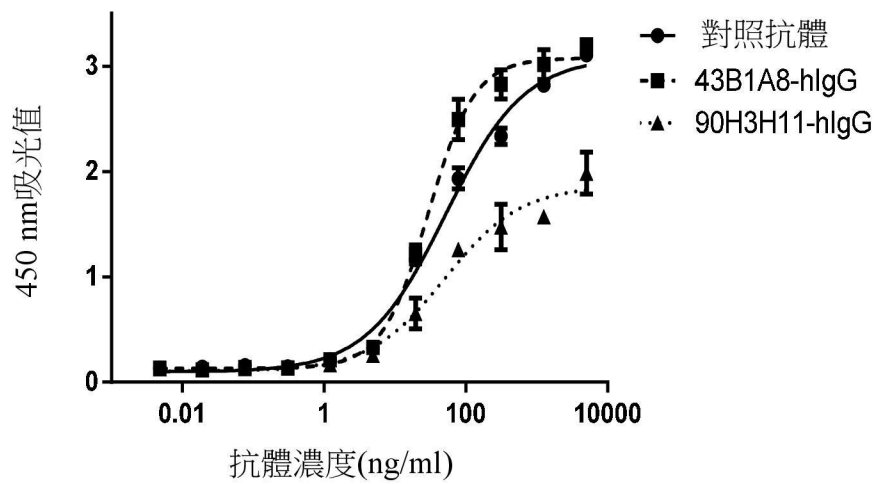
【圖 2B】



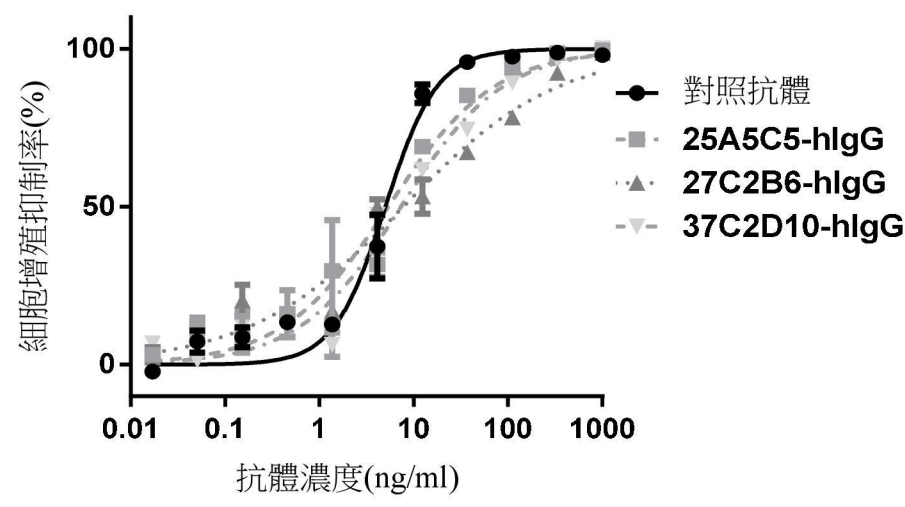
【圖 2C】



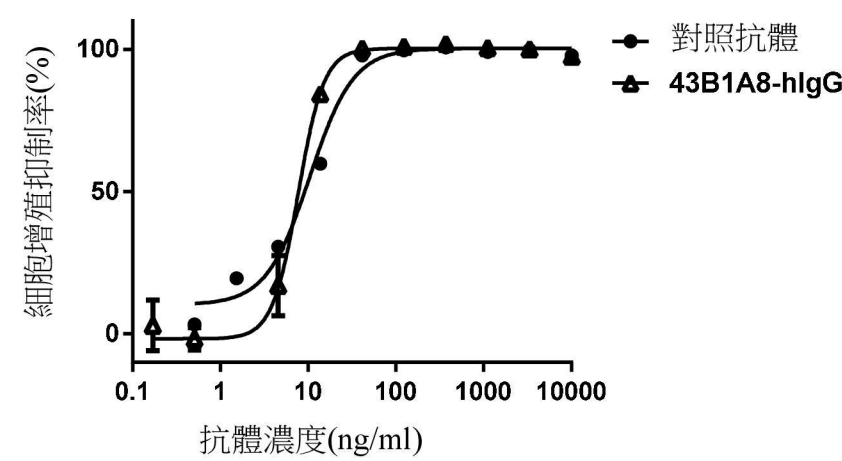
【圖 3A】



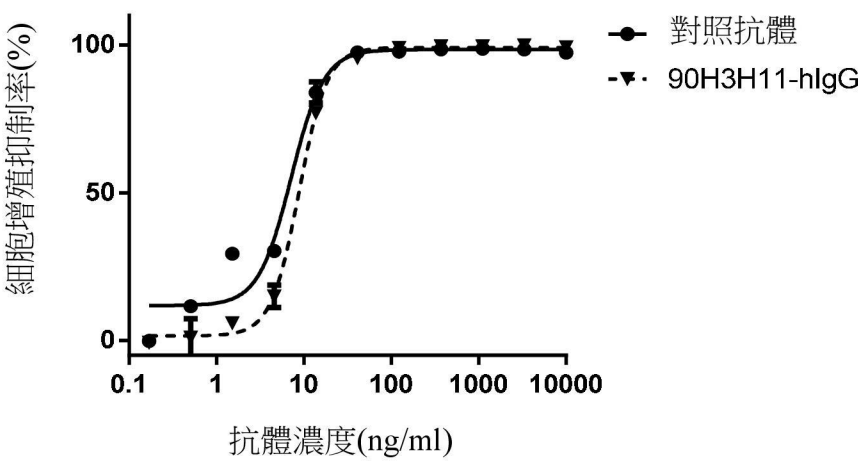
【圖 3B】



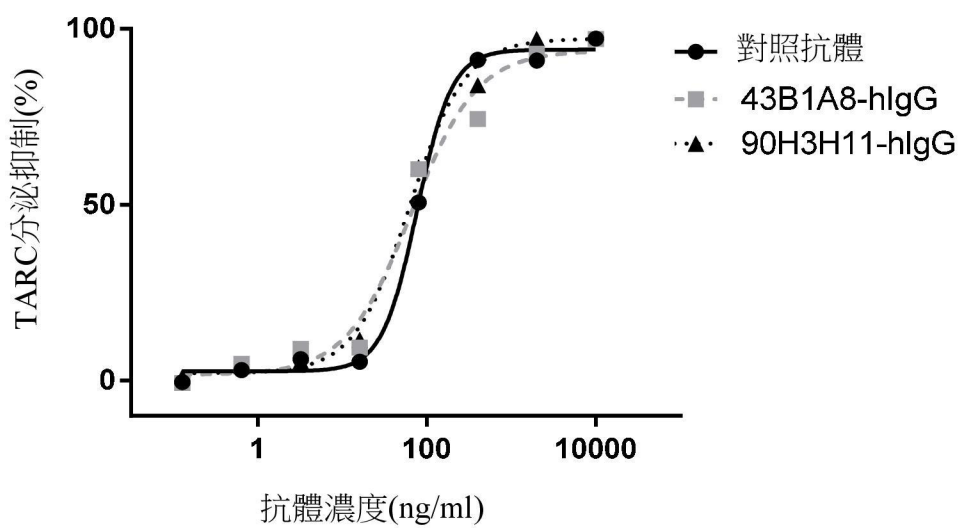
【圖 4A】



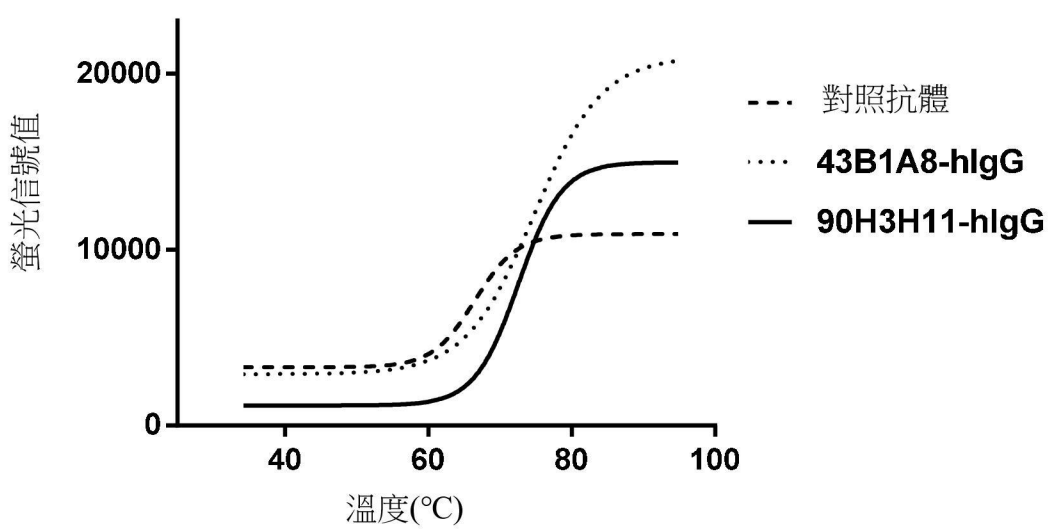
【圖 4B】



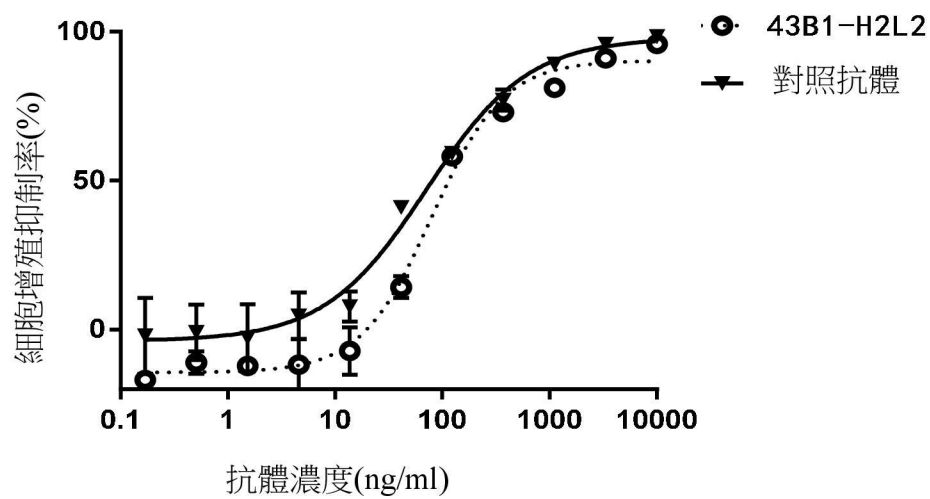
【圖 4C】



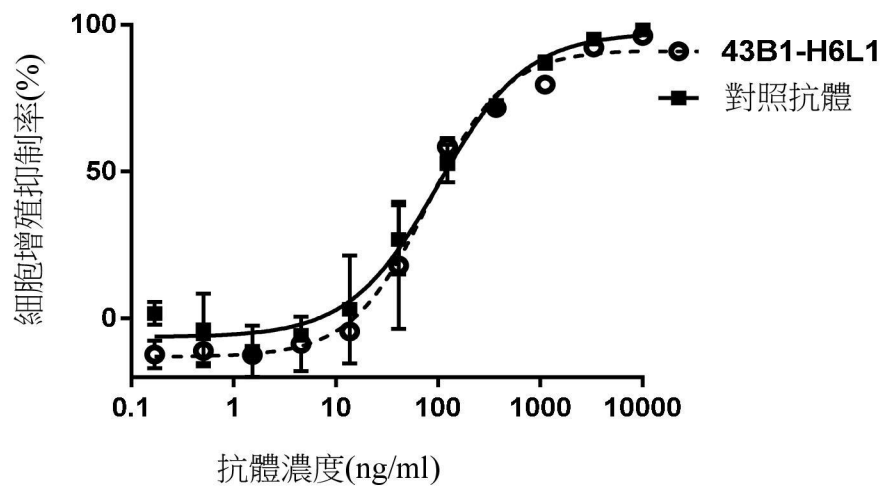
【圖 5】



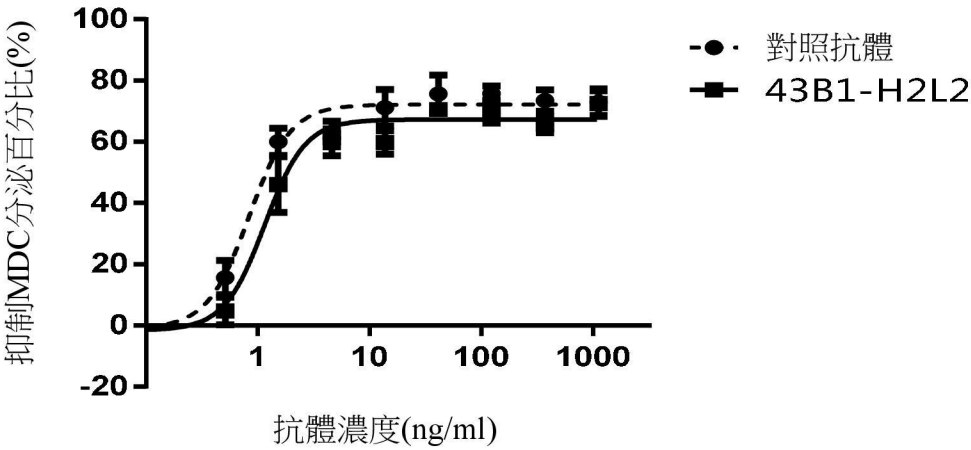
【圖 6】



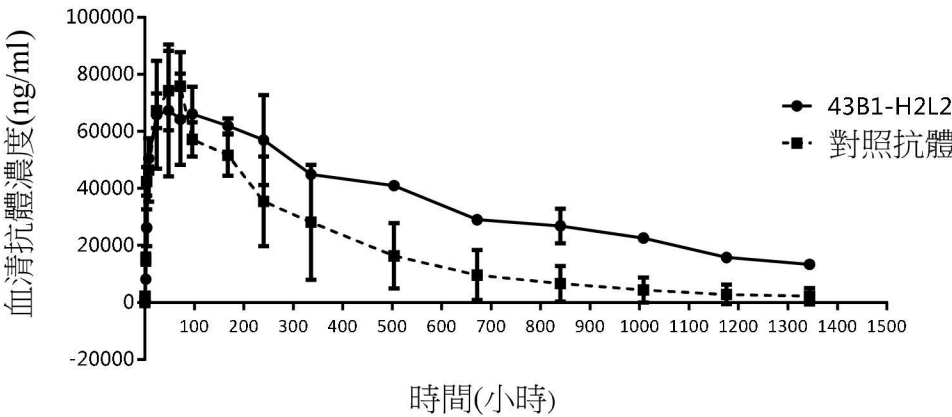
【圖 7A】



【圖 7B】



【圖 8】



【圖 9】