(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118475605 A
(43)申请公布日 2024.08.09

(21)申请号 202280070260.9
(22)申请日 2022.08.31
(30)优先权数据
17/462,795 2021.08.31 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.04.18
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2022/075723 2022.08.31
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/034842 EN 2023.03.09
(71)申请人 诺沃姆德治疗公司
地址 美国俄亥俄州
(72)发明人 雷卡·班萨尔
(74)专利代理机构 北京高沃律师事务所 11569
专利代理师 王立普
(51)Int.Cl.
C07K 16/18(2006.01)
C07K 16/22(2006.01)
C07K 16/24(2006.01)

权利要求书13页 说明书96页
序列表（电子公布） 附图45页

(54)发明名称

单特异性和双特异性抗体及其抗原结合片段

(57)摘要

分离的单特异性和双特异性抗备解素抗体或其抗原结合片段,其用于治疗补体介导的病症。

CN 118475605 A

1.一种分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其包含:

以下中的至少一种:

a)

CDR-H1,其包含GYIFTX$_1$YPIH(SEQ ID NO:201)的氨基酸序列,其中X$_1$是N、Q、S、A或D,

CDR-H2,其包含FIX$_1$PGGGX$_2$DEX$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$(SEQ ID NO:202)的氨基酸序列,其中X$_1$是D、E、S或A;X$_2$是H或Y;X$_3$是P、S或Y;X$_4$是A或D;X$_5$是D、R或Q;X$_6$是K、R或S;X$_7$是F或V;X$_8$是E、K、Q或R;并且X$_9$是D或G;和

CDR-H3,其包含RGGGYYLDY(SEQ ID NO:203)的氨基酸序列;

b)

CDR-L1,其包含RASQDISFFLN(SEQ ID NO:206)的氨基酸序列,

CDR-L2,其包含X$_1$X$_2$SX$_3$YHS(SEQ ID NO:207)的氨基酸序列,其中X$_1$是G或Y;X$_2$是A或T;并且X$_3$是R或S;和

CDR-L3,其包含QHGX$_1$TLPX$_2$T(SEQ ID NO:208)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、N、Q或S;并且X$_2$是F、H、R、W或Y;

c)

CDR-H1,其包含GFSLSTSGX$_1$GVG(SEQ ID NO:211)的氨基酸序列,其中X$_1$是I、K、M或V,

CDR-H2,其包含HIX$_1$X$_1$DDVKSYX$_2$PALKS(SEQ ID NO:212)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y;并且X$_2$是A、N、Q或S;和

CDR-H3,其包含IGX$_1$GYYSFDY(SEQ ID NO:213)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、E或S;

d)

CDR-L1,其包含X$_1$ASQDVSDAVA(SEQ ID NO:216)的氨基酸序列,其中X$_1$是K或R;

CDR-L2,其包含SPSYRYT(SEQ ID NO:217)的氨基酸序列;和

CDR-L3,其包含QQHYSTPX$_1$TF(SEQ ID NO:218)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y;

e)

CDR-H1,其包含GFSFSSGYX$_1$IF(SEQ ID NO:221)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y;

CDR-H2,其包含GIYSGSSGTTY(SEQ ID NO:222)的氨基酸序列;和

CDR-H3,其包含SVX$_1$GIX$_1$SYX$_1$AAFX$_2$L(SEQ ID NO:223)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、E或S;并且X$_2$是A、N、Q或S;

f)

CDR-L1,其包含X$_1$ASDX$_2$IYSLLA(SEQ ID NO:229)的氨基酸序列,其中X$_1$是Q或R;X$_2$是A、N、Q或S;

CDR-L2,其包含RASTLAS(SEQ ID NO:230)的氨基酸序列;和

CDR-L3,其包含QQHYDYX$_1$YLDVA(SEQ ID NO:231)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、N、Q或S;

g)

CDR-H1,其包含GFSFSSSYX$_1$IF(SEQ ID NO:225)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y,

CDR-H2,其包含GIYSSSGRX$_1$Y(SEQ ID NO:226)的氨基酸序列,其中X$_1$是I、K、L或M;和

CDR-H3,其包含SAX$_1$GSX$_1$SYX$_1$AYFTL(SEQ ID NO:227)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、E或S;

h)

CDR-L1,其包含X$_1$ASDX$_2$IYSX$_2$LA(SEQ ID NO:233)的氨基酸序列,其中X$_1$是Q或R;X$_2$是A、

N、Q或S;

CDR-L2,其包含RASTLAS(SEQ ID NO:234)的氨基酸序列;和

CDR-L3,其包含QQHX$_1$DYDYIDVA(SEQ ID NO:235)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y;

i)

CDR-H1,其包含GRISSIIHMA的氨基酸序列(SEQ ID NO:237),其中X$_1$是F、H、W或Y,

CDR-H2,其包含RX$_1$GTTX$_1$YAX$_2$SX$_1$X$_3$G(SEQ ID NO:238)的氨基酸序列,其中X$_1$是I或V;X$_2$是A、D、E或S;并且X$_3$是A或K;和

CDR-H3,其包含LQYEX$_1$HGGAX$_2$Y(SEQ ID NO:239)的氨基酸序列,其中X$_1$是A或K;并且X$_2$是A、D、E或S;

j)

CDR-H1,其包含GRIFEX$_1$X$_2$MMA(SEQ ID NO:241)的氨基酸序列,其中X$_1$是I或V;并且X$_2$是A、D、N、Q或S,

CDR-H2,其包含RX$_1$GTTTYAX$_2$SX$_1$X$_3$G(SEQ ID NO:242)的氨基酸序列,其中X$_1$是I或V;X$_2$是A、D、E或S;并且X$_3$是A或K;和

CDR-H3,其包含LQYX$_1$RYGGAEY(SEQ ID NO:243)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、E或S;或

k)

或对分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段与单体备解素结合进行竞争性抑制的重链可变区和/或轻链可变区,所述抗体或其抗体结合片段包含a)、b)、c)、d)、e)、f)、g)、h)、i)或j)中的至少一种。

2.根据权利要求1所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其包含:

CDR-H1,其包含GYIFTX$_1$YPIH(SEQ ID NO:201)的氨基酸序列,其中X$_1$是N、Q、S、A或D,

CDR-H2,其包含FIX$_1$PGGGX$_2$DEX$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$(SEQ ID NO:202)的氨基酸序列,其中X$_1$是D、E、S或A;X$_2$是H或Y;X$_3$是P、S或Y;X$_4$是A或D;X$_5$是D、R或Q;X$_6$是K、R或S;X$_7$是F或V;X$_8$是E、K、Q或R;并且X$_9$是D或G;和

CDR-H3,其包含RGGGYYLDY(SEQ ID NO:203)的氨基酸序列;

CDR-L1,其包含RASQDISFFLN(SEQ ID NO:206)的氨基酸序列,

CDR-L2,其包含X$_1$X$_2$SX$_3$YHS(SEQ ID NO:207)的氨基酸序列,其中X$_1$是G或Y;X$_2$是A或T;并且X$_3$是R或S;和

CDR-L3,其包含QHGX$_1$TLPX$_2$T(SEQ ID NO:208)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、N、Q或S;并且X$_2$是F、H、R、W或Y。

3.根据权利要求1所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,包括:

CDR-H1,其包含GFSLSTSGX$_1$GVG(SEQ ID NO:211)的氨基酸序列,其中X$_1$是I、K、M或V,

CDR-H2,其包含HIX$_1$X$_1$DDVKSYX$_2$PALKS(SEQ ID NO:212)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y;并且X$_2$是A、N、Q或S;

CDR-H3,其包含IGX$_1$GYYSFDY(SEQ ID NO:213)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、E或S;

CDR-L1,其包含X$_1$ASQDVSDAVA(SEQ ID NO:216)的氨基酸序列,其中X$_1$是K或R;

CDR-L2,其包含SPSYRYT(SEQ ID NO:217)的氨基酸序列;和

CDR-L3,其包含QQHYSTPX$_1$TF(SEQ ID NO:218)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y。

4.根据权利要求1所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其包含:

CDR-H1,其包含GFSFSSGYX$_1$IF(SEQ ID NO:221)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y;

CDR-H2,其包含GIYSGSSGTTY(SEQ ID NO:222)的氨基酸序列;

CDR-H3,其包含SVX$_1$GIX$_1$SYX$_1$AAFX$_2$L(SEQ ID NO:223)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、E或S;并且X$_2$是A、N、Q或S;

CDR-L1,其包含X$_1$ASDX$_2$IYSLLA(SEQ ID NO:229)的氨基酸序列,其中X$_1$是Q或R;X$_2$是A、N、Q或S;

CDR-L2,其包含RASTLAS(SEQ ID NO:230)的氨基酸序列;和

CDR-L3,其包含QQHYDYX$_1$YLDVA(SEQ ID NO:231)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、N、Q或S。

5.根据权利要求1所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其包含:

CDR-H1,CDR-H1包含GFSFSSSYX$_1$IF(SEQ ID NO:225)的氨基酸序列,其中X$_1$为F、H、W或Y,

CDR-H2,其包含GIYSSSGRX$_1$Y(SEQ ID NO:226)的氨基酸序列,其中X$_1$是I、K、L或M;

CDR-H3,其包含SAX$_1$GSX$_1$SYX$_1$AYFTL(SEQ ID NO:227)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、E或S;

CDR-L1,其包含X$_1$ASDX$_2$IYSX$_2$LA(SEQ ID NO:233)的氨基酸序列,其中X$_1$是Q或R;X$_2$是A、N、Q或S;

CDR-L2,其包含RASTLAS(SEQ ID NO:234)的氨基酸序列;和

CDR-L3,其包含QQHX$_1$DYDYIDVA(SEQ ID NO:235)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y。

6.根据权利要求1所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,包括:

重链可变区,其包括以下任一条序列中的3个CDR,所述序列为以下之一:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:107;或

对分离的抗体或抗原结合片段结合进行竞争性抑制的重链可变区,所述分离的抗体和抗原结合片段包含至少一个重链可变区,所述重链可变区包括以下任一条序列中的3个CDR,所述序列为以下之一:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID

NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:107。

7.根据权利要求6所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其包含重链可变区,所述重链可变区包含与以下氨基酸序列之一至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:107。

8.根据权利要求1所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,包括:

包括轻链可变区,所述轻链可变区包括以下任一序列中的3个CDR,所述序列为以下之一:SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:72;或

对分离的抗体或抗原结合片段结合进行竞争性抑制的轻链可变区,所述分离的抗体或抗原结合片段包含至少一个轻链可变区,所述轻链可变区包括以下任一条序列中的3个CDR的,所述序列为以下之一:SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:72。

9.根据权利要求8所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其包含

轻链可变区,所述轻链可变区包含与以下之一的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:72。

10.根据权利要求1所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其包含以下中的至少一种:

a)包含SEQ ID NO:1的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:24的3个CDR的轻链可变区;

b)包含SEQ ID NO:2的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:25的3个CDR的轻链可变区;

c)包含SEQ ID NO:3的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:26的3个CDR的轻链可变区;

d)包含SEQ ID NO:4的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:27的3个CDR的轻链可变区;

e)包含SEQ ID NO:5的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:28的3个CDR的轻链可变区;

f)包含SEQ ID NO:6的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:29的3个CDR的轻链可变区;

g)包含SEQ ID NO:7的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:30的3个CDR的轻链可变区;

h)包含SEQ ID NO:8的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:31的3个CDR的轻链可变区;

i)包含SEQ ID NO:9的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:32的3个CDR的轻链可变区;

j)包含SEQ ID NO:10的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:33的3个CDR的轻链可变区;

k)包含SEQ ID NO:11的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:34的3个CDR的轻链可变区;

l)包含SEQ ID NO:12的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:35的3个CDR的轻链可变区;

m)包含SEQ ID NO:13的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:36的3个CDR的轻链可变区;

n)包含SEQ ID NO:14的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:37的3个CDR的轻链可变区;

o)包含SEQ ID NO:15的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区;

p)包含SEQ ID NO:16的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区;

q)包含SEQ ID NO:17的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区;

r)包含SEQ ID NO:18的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区;

s)包含SEQ ID NO:19的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区;

t)包含SEQ ID NO:20的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区;

u)包含SEQ ID NO:21的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区;

v)包含SEQ ID NO:22的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区;

w)包含SEQ ID NO:23的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区;

x)包含SEQ ID NO:40的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:45的3个CDR的轻链可变区;

y)包含SEQ ID NO:41的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:46的3个CDR的轻链可变区;

z)包含SEQ ID NO:42的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:47的3个CDR的轻链可变区;

aa)包含SEQ ID NO:43的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或SEQ ID NO:50的3个CDR的轻链可变区;

bb)包含SEQ ID NO:44的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或SEQ ID NO:50的3个CDR的轻链可变区;

cc)包含SEQ ID NO:51的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

dd)包含SEQ ID NO:52的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

ee)包含SEQ ID NO:53的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

ff)包含SEQ ID NO:54的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

gg)包含SEQ ID NO:55的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

hh)包含SEQ ID NO:56的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区;

ii)包含SEQ ID NO:57的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、

SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区；

jj)包含SEQ ID NO:58的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区；

kk)包含SEQ ID NO:59的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区；或

ll)包含SEQ ID NO:60的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区。

11.根据权利要求10所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其包含以下中的至少一种：

a)包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:24的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％同一的氨基酸序列的轻链；

b)包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:25的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链；

c)包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链可变体,和包含与SEQ ID NO:26的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链；

d)包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:27的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链；

e)包含与SEQ ID NO:5的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:28的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同地氨基酸序列的轻链；

f)包含与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:29的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同地氨基酸序列的轻链；

g)包含与SEQ ID NO:7的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:30的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同地氨基酸序列的轻链；

h)包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:31的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链；

i)包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:32的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链；

j)包含与SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:33的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链；

k)包含与SEQ ID NO:11的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:34的氨基酸序列至少约70、至少约80或至少约90相同的氨基酸序列;

l)包含与SEQ ID NO:12的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:35的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

m)包含与SEQ ID NO:13的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:36的氨基酸序列至少约70、至少约80或至少约90相同的氨基酸序列;

n)包含与SEQ ID NO:14的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:37的氨基酸序列至少约70、至少约80或至少约90相同的氨基酸序列;

o)包含与SEQ ID NO:15的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

p)包含与SEQ ID NO:16的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

q)包含与SEQ ID NO:17的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

r)包含与SEQ ID NO:18的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

s)包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

t)包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

u)包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

v)包含与SEQ ID NO:22的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

w)包含与SEQ ID NO:23的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％同一的氨基酸序列的轻链;

x)包含与SEQ ID NO:40的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:45的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

y)包含与SEQ ID NO:41的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:46的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

z)包含与SEQ ID NO:42的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:47的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

aa)包含与SEQ ID NO:43的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或SEQ ID NO:50的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

bb)包含与SEQ ID NO:44的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或SEQ ID NO:50的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

cc)包含与SEQ ID NO:51的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

dd)包含与SEQ ID NO:52的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

ee)包含与SEQ ID NO:53的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

ff)包含与SEQ ID NO:54的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

gg)包含与SEQ ID NO:55的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

hh)包含与SEQ ID NO:56的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

ii)包含与SEQ ID NO:57的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

jj)包含与SEQ ID NO:58的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

kk)包含与SEQ ID NO:59的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;或

ll)包含与SEQ ID NO:60的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链。

12.根据权利要求1所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其进一步包含恒定链区,并且其中与不含恒定链区的抗体或其抗体结合片段相比,所述包含恒定链区的抗体或抗原结合片段具有增强的体内半衰期和/或降低的免疫原性。

13.分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其中恒定链区包含与以下氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138或SEQ ID NO:139。

14.根据权利要求1所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其包含以下中的至少一种:

包含与SEQ ID NO:156的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:157的氨基酸序列至少约70、至少约80或至少约90相同的氨基酸序列的轻链;

包含与SEQ ID NO:166的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:167的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

包含与SEQ ID NO:170的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:171的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同地氨基酸序列的轻链;

包含与SEQ ID NO:178的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:179的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

包含与SEQ ID NO:182的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链;

包含与SEQ ID NO:184的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:185的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

包含与SEQ ID NO:187的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:188的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

包含与SEQ ID NO:191的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链;

包含与SEQ ID NO:193的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:194的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;或

包含与SEQ ID NO:197的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:198的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链。

15.根据权利要求1所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其进一步包含肽接头。

16.根据权利要求15所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述肽接头包含以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:144、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:147、SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:149、SEQ ID NO:245或SEQ ID NO:246。

17.根据权利要求1中任一项的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗体结合片段是人源化的。

18.根据权利要求1所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗体结合片段结合人备解素。

19.根据权利要求1所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗体结合片段抑制哺乳动物中的旁路补体途径激活,而不抑制经典补体途径激活。

20.根据权利要求1所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其包含第一重链可变区和第二重链可变区,所述第一重链可变区结合备解素的,所述第二重链可变区结合不同于所述第一重链变区的表位。

21.根据权利要求20所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述第二重链可变区将所述抗体或其抗体结合片段的体内半衰期增加到约3周至约8周。

22.根据权利要求21所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述第二重链可变区与白蛋白、TNF或VEGF之一结合。

23.根据权利要求22所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗体或其抗体结合片段包含与以下氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122、

SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:150或SEQ ID NO:152。

24.根据权利要求1所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其在体内抑制C3b和Mac复合物(C5b-9)的形成。

25.一种分离的单特异性或双特异性抗备解素抗体或抗原结合片段,其包含:

包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的抗备解素重链可变区,和包含至少约70%,至少约80%,或与SEQ ID NO:25的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区,并且

其中所述重链可变区包括:

CDR-H1,其包含GYIFTX$_1$YPIH(SEQ ID NO:201)的氨基酸序列,其中X$_1$是N、Q、S、A或D(例如,X$_1$是Q、S,A或D)

CDR-H2,其包含FIX$_1$PGGGX$_2$DEX$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$(SEQ ID NO:202)的氨基酸序列,其中X$_1$是D、E、S(例如E或S)或A;X$_2$是H或Y;X$_3$是P、S或Y;X$_4$是A或D;X$_5$是D、R或Q;X$_6$是K、R或S;X$_7$是F或V;X$_8$是E、K、Q或R;并且X$_9$是D或G;和

CDR-H3,其包含RGGGYYLDY(SEQ ID NO:203)的氨基酸序列;和

轻链可变区包括:

CDR-L1,其包含RASQDISFFLN(SEQ ID NO:206)的氨基酸序列,

CDR-L2,其包含X$_1$X$_2$SX$_3$YHS(SEQ ID NO:207)的氨基酸序列,其中X$_1$是G或Y;X$_2$是A或T;并且X$_3$是R或S;和

CDR-L3,其包含QHGX$_1$TLPX$_2$T(SEQ ID NO:208)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、Q或S;并且X$_2$是F、H、R或Y。

26.根据权利要求25所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,进一步包含恒定链区或第二重链可变区的至少一种,所述第二重链可变区与不同于所述抗备解素重链区的表位结合,并且其中包含恒定链区或者第二重链可变区的抗体或抗原结合片段与不具有恒定链区或第二重链可变区的抗体或其抗原结合片段相比,体内半衰期增强和/或免疫原性降低。

27.根据权利要求26所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述恒定链区包含与以下氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138或SEQ ID NO:139;并且所述第二重链可变区包含与以下氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:150或SEQ ID NO:152。

28.根据权利要求25所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段,其包括具有与SEQ ID NO:247至少90%相同的氨基酸序列的重链和具有与SEQ ID NO:248至少90%相同氨基酸序列的轻链。

29.一种在有需要的受试者中治疗补体介导的疾病或病症的方法,包括将有效治疗量的权利要求1的抗体或其抗原结合片段施用于有需要的受试者。

30.根据权利要求29所述的方法,其中所述受试者患有其中所述旁路补体途径的激活起作用的疾病或病症,并且其中施用所述抗体或其抗原结合片段的步骤治疗所述疾病或病症。

单特异性和双特异性抗体及其抗原结合片段

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2021年8月31日提交的第17/462795号美国申请的优先权,该申请的主题通过引用整体并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含序列表,该序列表以XML格式以电子方式提交,并通过引用整体并入本文。所述XML副本创建于2022年8月29日,名称为NMT-028649WO-ORD st.26,大小为400995字节。

技术领域

[0005] 本公开涉及单特异性和双特异性抗体及其抗原结合片段,所述抗体和抗原结合片段可结合备解素并在旁路途径有助于疾病病理的疾病状态下选择性地抑制旁路补体途径。

背景技术

[0006] 补体系统对于清除病原体和宿主防御病原体非常重要。补体系统通过三种不同的补体途径激活:经典途径、凝集素途径和旁路途径。经典途径是通过抗原-抗体复合物激活的。凝集素途径是经典途径的变体。旁路途径(AP)被异物、人造表面、死组织、细菌和死酵母细胞激活。在疾病状态下,AP激活产生C3a、C5a和C5b-9(也称为MAC复合物)。C3a、C5a和C5b-9水平升高已被发现与多种急性和慢性疾病有关。这些炎症分子激活白细胞、中性粒细胞、单核细胞、血小板、肥大细胞和内皮细胞,并诱导血管通透性、细胞溶解和组织损伤。活化的细胞释放炎症介质,如TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-8、VEGF、中性粒细胞弹性蛋白酶和过氧化物。因此,在补体激活在疾病病理中发挥作用的疾病中,抑制疾病诱导的AP激活对于临床益处是重要的。

[0007] 旁路补体途径的启动需要备解素与C3b的结合,其以高亲和力发生。与备解素结合的C3b(PC3b)与因子B结合形成PC3bB复合物,然后被因子D切割成PC3bBb和Ba,其中Ba被释放。备解素耗竭的血清完全缺乏AP激活活性,这表明备解素是发生这一启动过程所必需的。备解素在血液中的浓度接近5μg/ml,因此,它是唯一一种浓度远低于其他非蛋白酶分子的非蛋白酶分子。

[0008] 抑制AP激活是缓解症状、减缓或预防疾病进展的重要治疗策略。消耗、中和备解素或使备解素失活可以阻断AP的激活,而不会抑制经典补体途径,因此,这是一种可行且有前景的治疗策略。保留经典途径不变的好处是增加了对感染的保护。

发明内容

[0009] 本文所述的实施方案涉及分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段。分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段特异性结合备解素,并可选择性阻断旁路补体途径。本文所述的分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可以中和备解素的功能活性,并防止AP诱导的C3a、C5a、C3b和Mac复合物(C5b-9)的产生。因此,还可以防止

细胞活化、炎症和炎症介质的释放。由于AP活化与各种急性和慢性人类疾病有关,用分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段抑制AP活化也可以抑制炎症,为用分离的单特异性或双特异性抗体及其抗原结合片段治疗的人提供临床益处。

[0010] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或抗原结合片段可以包括以下中的至少一种:

[0011] a)

[0012] CDR-H1,其包含GYIFTX$_1$YPIH(SEQ ID NO:201)的氨基酸序列,其中X$_1$是N、Q、S、A或D,

[0013] CDR-H2,其包含FIX$_1$PGGGX$_2$DEX$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$(SEQ ID NO:202)的氨基酸序列,其中X$_1$是D、E、S或A;X$_2$是H或Y;X$_3$是P、S或Y;X$_4$是A或D;X$_5$是D、R或Q;X$_6$是K、R或S;X$_7$是F或V;X$_8$是E、K、Q或R;并且X$_9$是D或G;和

[0014] CDR-H3,其包含RGGGYYLDY(SEQ ID NO:203)的氨基酸序列;

[0015] b)

[0016] CDR-L1,其包含RASQDISFFLN(SEQ ID NO:206)的氨基酸序列,

[0017] CDR-L2,其包含X$_1$X$_2$SX$_3$YHS(SEQ ID NO:207)的氨基酸序列,其中X$_1$是G或Y;X$_2$是A或T;并且X$_3$是R或S;和

[0018] CDR-L3,其包含QHGX$_1$TLPX$_2$T(SEQ ID NO:208)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、N、Q或S;并且X$_2$是F、H、R、W或Y;

[0019] c)

[0020] CDR-H1,其包含GFSLSTSGX$_1$GVG(SEQ ID NO:211)的氨基酸序列,其中X$_1$是I、K、M或V,

[0021] CDR-H2,其包含HIX$_1$X$_1$DDVKSYX$_2$PALKS(SEQ ID NO:212)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y;并且X$_2$是A、N、Q或S;和

[0022] CDR-H3,其包含IGX$_1$GYYSFDY(SEQ ID NO:213)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、E或S;

[0023] d)

[0024] CDR-L1,其包含X$_1$ASQDVSDAVA(SEQ ID NO:216)的氨基酸序列,其中X$_1$是K或R;

[0025] CDR-L2,其包含SPSYRYT(SEQ ID NO:217)的氨基酸序列;和

[0026] CDR-L3,其包含QQHYSTPX$_1$TF(SEQ ID NO:218)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y;

[0027] e)

[0028] CDR-H1,其包含GFSFSSGYX$_1$IF(SEQ ID NO:221)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y;

[0029] CDR-H2,其包含GIYSGSSGTTY(SEQ ID NO:222)的氨基酸序列;和

[0030] CDR-H3,其包含SVX$_1$GIX$_1$SYX$_1$AAFX$_2$L(SEQ ID NO:223)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、E或S;并且X$_2$是A、N、Q或S;

[0031] f)

[0032] CDR-L1,其包含X$_1$ASDX$_2$IYSLLA(SEQ ID NO:229)的氨基酸序列,其中X$_1$是Q或R;X$_2$是A、N、Q或S;

[0033] CDR-L2,其包含RASTLAS(SEQ ID NO:230)的氨基酸序列;和

[0034] CDR-L3,其包含QQHYDYX$_1$YLDVA(SEQ ID NO:231)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、N、Q或S;

[0035] g)

[0036] CDR-H1,其包含GFSFSSSYX$_1$IF(SEQ ID NO:225)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y,

[0037] CDR-H2,其包含GIYSSSGRX$_1$Y(SEQ ID NO:226)的氨基酸序列,其中X$_1$是I、K、L或M;和

[0038] CDR-H3,其包含SAX$_1$GSX$_1$SYX$_1$AYFTL(SEQ ID NO:227)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、E或S;

[0039] h)

[0040] CDR-L1,其包含X$_1$ASDX$_2$IYSX$_2$LA(SEQ ID NO:233)的氨基酸序列,其中X$_1$是Q或R;X$_2$是A、N、Q或S;

[0041] CDR-L2,其包含RASTLAS(SEQ ID NO:234)的氨基酸序列;和

[0042] CDR-L3,其包含QQHX$_1$DYDYIDVA(SEQ ID NO:235)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y;

[0043] i)

[0044] CDR-H1,其包含GRISSIIHMA的氨基酸序列(SEQ ID NO:237),其中X$_1$是F、H、W或Y,

[0045] CDR-H2,其包含RX$_1$GTTX$_1$YAX$_2$SX$_1$X$_3$G(SEQ ID NO:238)的氨基酸序列,其中X$_1$是I或V;X$_2$是A、D、E或S;并且X$_3$是A或K;和

[0046] CDR-H3,其包含LQYEX$_1$HGGAX$_2$Y(SEQ ID NO:239)的氨基酸序列,其中X$_1$是A或K;并且X$_2$是A、D、E或S;

[0047] j)

[0048] CDR-H1,其包含GRIFEX$_1$X$_2$MMA(SEQ ID NO:241)的氨基酸序列,其中X$_1$是I或V;并且X$_2$是A、D、N、Q或S,

[0049] CDR-H2,其包含RX$_1$GTTTYAX$_2$SX$_1$X$_3$G(SEQ ID NO:242)的氨基酸序列,其中X$_1$是I或V;X$_2$是A、D、E或S;并且X$_3$是A或K;和

[0050] CDR-H3,其包含LQYX$_1$RYGGAEY(SEQ ID NO:243)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、E或S;或

[0051] k)

[0052] 或对分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段与单体备解素结合进行竞争性抑制的重链可变区和/或轻链可变区,所述抗体或其抗体结合片段包含a)、b)、c)、d)、e)、f)、g)、h)、i)或j)中的至少一种。

[0053] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或抗原结合片段可以包括:

[0054] CDR-H1,其包含GYIFTX$_1$YPIH(SEQ ID NO:201)的氨基酸序列,其中X$_1$是N、Q、S、A或D,

[0055] CDR-H2,其包含FIX$_1$PGGGX$_2$DEX$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$(SEQ ID NO:202)的氨基酸序列,其中X$_1$是D、E、S或A;X$_2$是H或Y;X$_3$是P、S或Y;X$_4$是A或D;X$_5$是D、R或Q;X$_6$是K、R或S;X$_7$是F或V;X$_8$是E、K、Q或R;并且X$_9$是D或G;和

[0056] CDR-H3,其包含RGGGYYLDY(SEQ ID NO:203)的氨基酸序列;

[0057] CDR-L1,其包含RASQDISFFLN(SEQ ID NO:206)的氨基酸序列,

[0058] CDR-L2,其包含X$_1$X$_2$SX$_3$YHS(SEQ ID NO:207)的氨基酸序列,其中X$_1$是G或Y;X$_2$是A或T;并且X$_3$是R或S;和

[0059] CDR-L3,其包含QHGX$_1$TLPX$_2$T(SEQ ID NO:208)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、N、Q或S;并且X$_2$是F、H、R、W或Y。

[0060] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或抗原结合片段可以包括:

[0061] CDR-H1,其包含GFSLSTSGX$_1$GVG(SEQ ID NO:211)的氨基酸序列,其中X$_1$是I、K、M或V,

[0062] CDR-H2,其包含HIX$_1$X$_1$DDVKSYX$_2$PALKS(SEQ ID NO:212)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y;并且X$_2$是A、N、Q或S;

[0063] CDR-H3,其包含IGX$_1$GYYSFDY(SEQ ID NO:213)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、E或S;

[0064] CDR-L1,其包含X$_1$ASQDVSDAVA(SEQ ID NO:216)的氨基酸序列,其中X$_1$是K或R;

[0065] CDR-L2,其包含SPSYRYT(SEQ ID NO:217)的氨基酸序列;和

[0066] CDR-L3,其包含QQHYSTPX$_1$TF(SEQ ID NO:218)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y。

[0067] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可以包括:

[0068] CDR-H1,其包含GFSFSSGYX$_1$IF(SEQ ID NO:221)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y;

[0069] CDR-H2,其包含GIYSGSSGTTY(SEQ ID NO:222)的氨基酸序列;

[0070] CDR-H3,其包含SVX$_1$GIX$_1$SYX$_1$AAFX$_2$L(SEQ ID NO:223)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、E或S;并且X$_2$是A、N、Q或S;

[0071] CDR-L1,其包含X$_1$ASDX$_2$IYSLLA(SEQ ID NO:229)的氨基酸序列,其中X$_1$是Q或R;X$_2$是A、N、Q或S;

[0072] CDR-L2,其包含RASTLAS(SEQ ID NO:230)的氨基酸序列;和

[0073] CDR-L3,其包含QQHYDYX$_1$YLDVA(SEQ ID NO:231)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、N、Q或S。

[0074] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可包括CDR-H1,CDR-H1包含GFSFSSSYX$_1$IF(SEQ ID NO:225)的氨基酸序列,其中X$_1$为F、H、W或Y,

[0075] CDR-H2,其包含GIYSSSGRX$_1$Y(SEQ ID NO:226)的氨基酸序列,其中X$_1$是I、K、L或M;

[0076] CDR-H3,其包含SAX$_1$GSX$_1$SYX$_1$AYFTL(SEQ ID NO:227)的氨基酸序列,其中X$_1$是A、D、E或S;

[0077] CDR-L1,其包含X$_1$ASDX$_2$IYSX$_2$LA(SEQ ID NO:233)的氨基酸序列,其中X$_1$是Q或R;X$_2$是A、N、Q或S;

[0078] CDR-L2,其包含RASTLAS(SEQ ID NO:234)的氨基酸序列;和

[0079] CDR-L3,其包含QQHX$_1$DYDYIDVA(SEQ ID NO:235)的氨基酸序列,其中X$_1$是F、H、W或Y。

[0080] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可以包括重链可变区,其包括以下任一条序列中的3个CDR,所述序列为以下中的一个:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ

ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:107;或对分离的抗体或抗原结合片段结合进行竞争性抑制的重链可变区,所述分离的抗体和抗原结合片段包含至少一个重链可变区,所述重链可变区包括以下任一条序列中的3个CDR,所述序列为以下之一:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:107。

[0081] 在其他实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可包括重链可变区,所述重链可变区包含与以下氨基酸序列之一至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:107。

[0082] 在另一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可以包括轻链可变区,所述轻链可变区包括以下任一条序列中的3个CDR,所述序列为以下之一:

SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:72;或对分离的抗体或抗原结合片段结合进行竞争性抑制的轻链可变区,所述分离的抗体或抗原结合片段包含至少一个轻链可变区,所述轻链可变区包括以下任一条序列中的3个CDR,所述序列为以下之一:SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:72。

[0083] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可包括轻链可变区,所述轻链可变区包含与以下之一的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:72。

[0084] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可以包括以下中的至少一种:

[0085] a)包含SEQ ID NO:1的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:24的3个CDR的轻链可变区;

[0086] b)包含SEQ ID NO:2的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:25的3个CDR的轻链可变区;

[0087] c)包含SEQ ID NO:3的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:26的3个CDR的轻链可变区;

[0088] d)包含SEQ ID NO:4的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:27的3个CDR的轻链可变区;

[0089] e)包含SEQ ID NO:5的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:28的3个CDR的轻链可变区;

[0090] f)包含SEQ ID NO:6的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:29的3个CDR的轻链可变区;

[0091] g)包含SEQ ID NO:7的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:30的3个CDR的轻链可变区;

[0092] h)包含SEQ ID NO:8的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:31的3个CDR的轻链

可变区；

[0093] i)包含SEQ ID NO:9的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:32的3个CDR的轻链可变区；

[0094] j)包含SEQ ID NO:10的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:33的3个CDR的轻链可变区；

[0095] k)包含SEQ ID NO:11的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:34的3个CDR的轻链可变区；

[0096] l)包含SEQ ID NO:12的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:35的3个CDR的轻链可变区；

[0097] m)包含SEQ ID NO:13的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:36的3个CDR的轻链可变区；

[0098] n)包含SEQ ID NO:14的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:37的3个CDR的轻链可变区；

[0099] o)包含SEQ ID NO:15的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0100] p)包含SEQ ID NO:16的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0101] q)包含SEQ ID NO:17的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0102] r)包含SEQ ID NO:18的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0103] s)包含SEQ ID NO:19的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0104] t)包含SEQ ID NO:20的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0105] u)包含SEQ ID NO:21的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0106] v)包含SEQ ID NO:22的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0107] w)包含SEQ ID NO:23的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0108] x)包含SEQ ID NO:40的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:45的3个CDR的轻链可变区；

[0109] y)包含SEQ ID NO:41的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:46的3个CDR的轻链可变区；

[0110] z)包含SEQ ID NO:42的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:47的3个CDR的轻链可变区；

[0111] aa)包含SEQ ID NO:43的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或SEQ ID NO:50的3个CDR的轻链可变区；

[0112] bb)包含SEQ ID NO:44的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或SEQ ID NO:50的3个CDR的轻链可变区;

[0113] cc)包含SEQ ID NO:51的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

[0114] dd)包含SEQ ID NO:52的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

[0115] ee)包含SEQ ID NO:53的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

[0116] ff)包含SEQ ID NO:54的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

[0117] gg)包含SEQ ID NO:55的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

[0118] hh)包含SEQ ID NO:56的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区;

[0119] ii)包含SEQ ID NO:57的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区;

[0120] jj)包含SEQ ID NO:58的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区;

[0121] kk)包含SEQ ID NO:59的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区;或

[0122] ll)包含SEQ ID NO:60的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区。

[0123] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可以包括以下中的至少一种:

[0124] a)包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:24的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%同一的氨基酸序列的轻链;

[0125] b)包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:25的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0126] c)包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链可变体,和包含与SEQ ID NO:26的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0127] d)包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:27的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0128] e)包含与SEQ ID NO:5的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:28的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同地氨基酸序列的轻链;

[0129] f)包含与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:29的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同地氨基酸序列的轻链;

[0130] g)包含与SEQ ID NO:7的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:30的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同地氨基酸序列的轻链;

[0131] h)包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:31的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0132] i)包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:32的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0133] j)包含与SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:33的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0134] k)包含与SEQ ID NO:11的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:34的氨基酸序列至少约70、至少约80或至少约90相同的氨基酸序列;

[0135] l)包含与SEQ ID NO:12的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:35的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0136] m)包含与SEQ ID NO:13的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:36的氨基酸序列至少约70、至少约80或至少约90相同的氨基酸序列;

[0137] n)包含与SEQ ID NO:14的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:37的氨基酸序列至少约70、至少约80或至少约90相同的氨基酸序列;

[0138] o)包含与SEQ ID NO:15的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0139] p)包含与SEQ ID NO:16的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0140] q)包含与SEQ ID NO:17的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0141] r)包含与SEQ ID NO:18的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0142] s)包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0143] t)包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0144] u)包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0145] v)包含与SEQ ID NO:22的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0146] w)包含与SEQ ID NO:23的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％同一的氨基酸序列的轻链;

[0147] x)包含与SEQ ID NO:40的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:45的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0148] y)包含与SEQ ID NO:41的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:46的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0149] z)包含与SEQ ID NO:42的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:47的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0150] aa)包含与SEQ ID NO:43的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或SEQ ID NO:50的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0151] bb)包含与SEQ ID NO:44的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或SEQ ID NO:50的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0152] cc)包含与SEQ ID NO:51的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0153] dd)包含与SEQ ID NO:52的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0154] ee)包含与SEQ ID NO:53的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相

同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0155] ff)包含与SEQ ID NO:54的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0156] gg)包含与SEQ ID NO:55的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0157] hh)包含与SEQ ID NO:56的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0158] ii)包含与SEQ ID NO:57的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0159] jj)包含与SEQ ID NO:58的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0160] kk)包含与SEQ ID NO:59的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;或

[0161] ll)包含与SEQ ID NO:60的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链。

[0162] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可以包括恒定链区,并且其中与没有恒定链区的抗体或其抗体结合片段相比,包括恒定链区的抗体或抗原结合片段具有增强的体内半衰期和/或降低的免疫原性。

[0163] 在一些实施方案中,恒定链区包含与以下氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138或SEQ ID NO:139。

[0164] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可以包括

以下中的至少一种：

[0165] 包含与SEQ ID NO:156的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:157的氨基酸序列至少约70、至少约80或至少约90相同的氨基酸序列的轻链；

[0166] 包含与SEQ ID NO:166的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:167的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链；

[0167] 包含与SEQ ID NO:170的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:171的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同地氨基酸序列的轻链；

[0168] 包含与SEQ ID NO:178的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:179的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链；

[0169] 包含与SEQ ID NO:182的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链；

[0170] 包含与SEQ ID NO:184的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:185的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链；

[0171] 包含与SEQ ID NO:187的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:188的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链；

[0172] 包含与SEQ ID NO:191的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链；

[0173] 包含与SEQ ID NO:193的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:194的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;或

[0174] 包含与SEQ ID NO:197的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:198的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链。

[0175] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可以包括肽接头。所述肽接头可以包括SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:144、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:147、SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:149、SEQ ID NO:245或SEQ ID NO:246的氨基酸序列。

[0176] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段是人源化的。

[0177] 在其他实施方案中,抗体或其抗原结合片段结合人备解素。

[0178] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段抑制哺乳动物中的旁路补体途径激活,而不抑制经典补体途径激活。

[0179] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可包括结合备解素的第一重链可变区和结合与第一重链变区不同表位的第二重链可变区。

[0180] 在一些实施方案中,第二重链可变区将抗体或其抗原结合片段的体内半衰期增加至约3周至约8周。

[0181] 在其他实施方案中,第二重链可变区与白蛋白、TNF或VEGF之一结合。

[0182] 在一些实施方案中,第二抗体或其抗原结合片段包含与以下氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:150或SEQ ID NO:152。

[0183] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可在体内抑制C3b和Mac复合物(C5b-9)的形成。

[0184] 本文所述的其他实施方案涉及分离的单特异性或双特异性抗备解素抗体或抗原结合片段,其包括:

[0185] 包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的抗备解素重链可变区,和包含至少约70%,至少约80%,或与SEQ ID NO:25的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区,并且

[0186] 其中所述重链可变区包括:

[0187] CDR-H1,其包含GYIFTX$_1$YPIH(SEQ ID NO:201)的氨基酸序列,其中X$_1$是N、Q、S、A或D(例如,X$_1$是Q、S,A或D);

[0188] CDR-H2,其包含FIX$_1$PGGGX$_2$DEX$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$(SEQ ID NO:202)的氨基酸序列,其中X$_1$是D、E、S(例如E或S)或A;X$_2$是H或Y;X$_3$是P、S或Y;X$_4$是A或D;X$_5$是D、R或Q;X$_6$是K、R或S;X$_7$是F或V;X$_8$是E、K、Q或R;并且X$_9$是D或G;和

[0189] CDR-H3,其包含RGGGYYLDY(SEQ ID NO:203)的氨基酸序列;和

[0190] 轻链可变区包括:

[0191] CDR-L1,其包含RASQDISFFLN(SEQ ID NO:206)的氨基酸序列,

[0192] CDR-L2,其包含X$_1$X$_2$SX$_3$YHS(SEQ ID NO:207)的氨基酸序列,其中X$_1$是G或Y;X$_2$是A或T;并且X$_3$是R或S;和

[0193] CDR-L3,其包含QHGX$_1$TLPX$_2$T(SEQ ID NO:208)的氨基酸序列,其中X$_1$是N、A、D、Q或S(例如,A、D、Q或S);并且X$_2$是F、H、R、W或Y(例如,F、H,R或Y)。

[0194] 在一些实施方案中,所述分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可包含恒定链区或第二重链可变区的至少一种,所述第二重链可变区与不同于所述抗备解素重链区的表位结合,并且其中包含恒定链区或者第二重链可变区的抗体或抗原结合片段与不具有恒定链区或第二重链可变区的抗体或其抗原结合片段相比,体内半衰期增强和/或免疫原性降低。

[0195] 在一些实施方案中,恒定链区包含与以下氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138或SEQ ID NO:139;并且所述第二重链可变区包含与以下氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:109、SEQ

ID NO:110、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:150或SEQ ID NO:152。

[0196] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可包括具有与SEQ ID NO:247至少90％相同的氨基酸序列的重链和具有与SEQ ID NO:248至少90％相同氨基酸序列的轻链。

[0197] 本文所述的其他实施方案涉及在需要的受试者中治疗补体介导的疾病或病症的方法。所述方法包括将有效治疗量的如本文所述的抗体或其抗原结合片段施用于有需要的受试者。

[0198] 在一些实施方案中,受试者患有旁路补体途径的激活起作用的疾病或病症,并且其中施用于抗体或其抗原结合片段的步骤治疗该疾病或病症。

[0199] 在另一个方面,所述方法包括治疗旁路补体途径的激活起作用的疾病或病症的步骤,包括将本文所述的抗体或其抗原结合片段施用于患有或有患所述疾病或病症风险的个体。

[0200] 在另一方面,所述方法包括治疗选自炎症性疾病和炎症性病症的疾病或病症的步骤。

[0201] 在另一个方面,所述方法包括治疗选自自身免疫性疾病和自身免疫性病症的疾病或病症的步骤。

[0202] 在另一方面,所述方法包括治疗自身免疫性疾病或自身免疫性病症的步骤,所述自身免疫性疾选自系统性红斑狼疮、重症肌无力、关节炎、阿尔茨海默病和多发性硬化症。

[0203] 在另一个方面,所述方法包括治疗关节炎的步骤。关节炎疾病可选自类风湿性关节炎、骨关节炎和幼年关节炎。

[0204] 在另一个方面,所述方法包括治疗补体相关疾病或选自眼部疾病和眼部病症的病症的步骤。眼部疾病或眼部病症可选自糖尿病视网膜病变、眼组织胞浆菌病、年龄相关性黄斑变性、糖尿病视网膜病变、脉络膜新生血管形成(CNV)、葡萄膜炎、糖尿病黄斑水肿、病理性近视、希佩尔-林道(von Hippel-Lindau)病、眼组织胞浆菌病、视网膜中央静脉阻塞(CRVO)、角膜新生血管形成和视网膜新生血管形成。年龄相关性黄斑变性可选自中度干性AMD和地区性萎缩。

[0205] 在另一个方面,治疗补体相关疾病的步骤选自哮喘疾病和气道炎症疾病。气道炎症障碍可选自:哮喘、慢性阻塞性肺病(“COPD”)、过敏性支气管肺曲霉菌病、超敏性肺炎、嗜酸性肺炎、肺气肿、支气管炎、过敏性支气管炎、支气管痉挛、循环性纤维化、肺结核、超敏性肺炎、职业性哮喘、结节病、反应性气道疾病综合征、间质性肺病、高嗜酸性综合征、鼻炎、鼻窦炎、运动性哮喘、污染性哮喘、咳嗽变异性哮喘、寄生性肺病、呼吸道合胞病毒(“RSV”)感染、副流感病毒(“PIV”)感染,鼻病毒(“RV”)感染和腺病毒感染。

[0206] 在另一个方面,治疗补体相关疾病的步骤选自中枢和外周神经系统/神经系统疾病和病症,包括多发性硬化症(MS)、重症肌无力(MG)、重症肌无力、多发性硬化症、吉兰-巴雷综合征、米勒-费舍尔综合征、中风、中风后再灌注、阿尔茨海默病、多灶性运动神经病(MMN)、脱髓鞘、亨廷顿舞蹈症、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、帕金森病、退行性椎间盘病

(DDD)、脑膜炎、脑膜炎引起的脑神经损伤、变异型克雅氏病(vCJD)、特发性多发性神经病、脑(brain)/脑(cerebral)创伤(包括但不限于出血炎症和水肿)、视神经脊髓炎(NMO),包括水通道蛋白-4(AQP4)-IgG自身抗体血清学阳性的患者,以及神经性疼痛。

附图说明

[0207] 图1示出了根据一个实施方案显示单特异性抗备解素抗体结构示意图和列出单特异性抗体的V_H区(SEQ ID NO:204和205)和V_L区(SEQ ID NO:209和210)的氨基酸序列的表。

[0208] 图2示出了根据另一个实施方案显示单特异性抗备解素抗体结构示意图和列出单特异性反备解素抗体V_H区(SEQ ID NO:214和215)和V_L区(SEQ ID NO:219和220)的氨基酸序列的表。

[0209] 图3示出了根据另一个实施方案显示单特异性抗备解素抗体结构示意图和列出单特异性反备解素抗体V_H区(SEQ ID NO:224和228)和V_L区(SEQ ID NO:232和236)的氨基酸序列的表。

[0210] 图4示出了显示可变和恒定链接头的表(SEQ ID NO:140-149)。

[0211] 图5示出了根据另一个实施方案显示双特异性抗备解素/抗白蛋白抗体结构示意图和列出双特异性抗备解素抗体的骆驼抗备解素部分(SEQ ID NO:240和244)和抗白蛋白部分(SEQ ID NO:108和119)的氨基酸序列的表。

[0212] 图6示出了显示单链骆驼抗备解素/抗白蛋白抗体(NMT1001和NMT1002)的结构示意图,以及列出NMT1001的骆驼抗备解素V_{HH}区(SEQ ID NO:108)、接头(SEQ ID NO:143)和抗白蛋白区(SEQ ID NO:75)以及NMT 1002的骆驼抗备解素V_{HH}区(SEQ ID NO:110)、接头(SEQ ID NO:143)和抗白蛋白区(SEQ ID NO:75)的氨基酸序列的表。

[0213] 图7示出了显示单特异性抗备解素(Fab)2(NMT1003)的结构示意图和列出NMT1003的V_H和V_L区(SEQ ID NO:1和24)、Fc-CH1(SEQ ID NO:138)、Fc-LC(SEQ ID NO:139)的氨基酸序列的表。

[0214] 图8示出了显示双特异性抗白蛋白/抗备解素Fab(NMT1004和NMT1005)的示意图和列出NMT1005抗备解素VH(SEQ ID NO:1)、Fc-CH1(SEQ ID NO:138)、VL(SEQ ID NO:24)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)、接头(SEQ ID NO:143)以及抗白蛋白区(SEQ ID NO:108)的氨基酸序列的表。

[0215] 图9示出了根据另一个实施方案显示单特异性骆驼抗备解素抗体的结构示意图和列出单特异性骆驼抗备解素抗体(SEQ ID NO:162)骆驼抗备解素V_{HH}(SEQ ID NO:74)、接头(SEQ ID NO:143)和具有铰链区的IgG4-Fc(SEQ ID NO:137)的氨基酸序列的表。

[0216] 图10示出了根据另一个实施方案显示双特异性抗备解素/抗白蛋白抗体的结构示意图和列出的双特异性抗备解素/抗白蛋白抗体抗备解素V_H(SEQ ID NO:2)、IG1-Fc(SEQ ID NO:129)、V_L(SEQ ID NO:25)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)以及抗白蛋白V_H(SEQ ID NO:71)、IG1-Fc(SEQ ID NO:129),VL(SEQ ID NO:72)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)的氨基酸序列的表。

[0217] 图11示出了根据另一个实施方案显示双特异性抗备解素/抗白蛋白抗体的结构示意图和列出双特异性抗备解素/抗白蛋白抗体抗备解素V_H(SEQ ID NO:52)、IG1-Fc(SEQ ID NO:131)、VL(SEQ ID NO:62)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)以及抗白蛋白V_H(SEQ ID NO:71)、IG1Fc(SEQ ID NO:131)、VL(SEQ ID NO:72)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)的氨基酸序列的表。

[0218] 图12示出了根据另一个实施方案显示双特异性抗备解素/抗TNF抗体的结构示意图,以及列出双特异性抗备解素/抗TNF抗体抗备解素V_H(SEQ ID NO:2)、IG1-Fc(SEQ ID NO:129)、VL(SEQ ID NO:25)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)以及抗TNF V_H(SEQ ID NO:150)、IG1-Fc(SEQ ID NO:129)、VL(SEQ ID NO:151)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)。

[0219] 图13示出了根据另一个实施方案显示双特异性抗备解素/抗VEGF抗体的结构示意图和列出双特异性抗备解素/抗VEGF抗体抗备解素V_H(SEQ ID NO:2)、IG1-Fc(SEQ ID NO:130)、VL(SEQ ID NO:25)、和Fc-LC(SEQ ID NO:139)和抗VEGF V_H(SEQ ID NO:152)、IG1 Fc(SEQ ID NO:130)、VL(SEQ ID NO:153)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)氨基酸序列的表。

[0220] 图14示出了根据另一个实施方案显示双特异性骆驼抗备解素/抗白蛋白抗体的结构示意图,以及列出双特异性骆驼抗备解素/抗白蛋白抗体骆驼抗备解素V_{HH}(SEQ ID NO:74)、接头(SEQ ID NO:143)和具有铰链区的IgG1-Fc(SEQ ID NO:130)和抗白蛋白V_H(SEQ ID NO:108)、接头(SEQ ID NO:143)和IgG1-Fc(SEQ ID NO:143)氨基酸序列的表。

[0221] 图15示出了根据另一个实施方案显示双特异性抗备解素/抗白蛋白抗体的结构示意图,以及列出双特异性抗备解素/抗白蛋白抗体抗备解素V_H(SEQ ID NO:2)、IG1-Fc(SEQ ID NO:131)、VL(SEQ ID NO:25)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)以及抗白蛋白V_H(SEQ ID NO:110)、接头(SEQ ID NO:143)和IgG1-Fc(SEQ ID NO:131)的氨基酸序列的表。

[0222] 图16示出了根据另一个实施方案显示双特异性抗备解素/抗白蛋白抗体的结构示意图和列出双特异性抗备解素/抗白蛋白抗体抗备解素V_H(SEQ ID NO:2)、IG1-Fc(SEQ ID NO:130)、V_L(SEQ ID NO:25)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)以及抗白蛋白V_H(SEQ ID NO:71)、IG1-Fc(SEQ ID NO:130)、VL(SEQ ID NO:72)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)的氨基酸序列的表。

[0223] 图17示出了根据另一个实施方案显示双特异性骆驼抗备解素/抗白蛋白抗体的结构示意图和列出双特异性骆驼抗备解素/抗白蛋白抗体骆驼抗备解素V_{HH}(SEQ ID NO:75)、接头(SEQ ID NO:143)和具有铰链区的IgG4-Fc(SEQ ID NO:137)和抗白蛋白V_H(SEQ ID NO:108)、接头和IgG4-Fc(SEQ ID NO:137)的氨基酸序列的表。

[0224] 图18示出了根据另一个实施方案显示双特异性抗备解素/抗TNF抗体的结构示意图和列出双特异性抗备解素/抗TNF抗体抗备解素V_H(SEQ ID NO:2)、IG1-Fc(SEQ ID NO:131)、VL(SEQ ID NO:25)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)以及抗TNF VH(SEQ ID NO:150)、IG1-Fc(SEQ ID NO:131)、VL(SEQ ID NO:151)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)的氨基酸序列的表。

[0225] 图19示出了根据另一个实施方案显示双特异性抗备解素/抗VEGF抗体的结构示意图,以及列出双特异性抗备解素/抗VEGF抗体抗备解素V_H(SEQ ID NO:2)、IG1-Fc(SEQ ID NO:131)、V_L(SEQ ID NO:25)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)以及抗VEGFV_H(SEQ ID NO:152)、IG1-Fc(SEQ ID NO:131)、VL(SEQ ID NO:153)和Fc-LC(SEQ ID NO:139)的氨基酸序列的表。

[0226] 图20示出了显示NMT15、NMT16、NMT17和NMT18与备解素结合亲和力的图。

[0227] 图21示出了显示NMT19、NMT20、NMT21和NMT22与备解素结合亲和力的图。

[0228] 图22示出了显示NMT15、NMT16、NMT17和NMT18对AP溶血抑制作用的图。

[0229] 图23示出了显示NMT19、NMT20、NMT21和NMT22对AP溶血抑制作用的图。

[0230] 图24示出了显示NMT15、NMT16、NMT17和NMT18对MAC形成抑制作用的图。

[0231] 图25示出了显示NMT19、NMT20、NMT21和NMT22对MAC形成的抑制作用的图。

[0232] 图26示出了显示NMT15、NMT16、NMT17和NMT18对备解素-C3b结合抑制作用的图。

[0233] 图27示出了显示NMT19、NMT20、NMT21和NMT22对备解素-C3b结合抑制作用的图。

[0234] 图28示出了显示NMT15、NMT17、NMT18、NMT20和NMT21对AP介导的C3b形成和沉积抑制作用的图。

[0235] 图29示出了显示NMT15、NMT17、NMT18、NMT20和NMT21对CP介导的MAC形成和沉积的作用的图。

[0236] 图30示出了显示NMT15、NMT17、NMT18、NMT20和NMT21对CP介导的C3b形成和沉积的作用的图。

[0237] 图31示出了显示NMT23、NMT24、NMT25、NMT26、NMT27和NMT28与备解素结合亲和力的图。

[0238] 图32示出了显示NMT23、NMT24、NMT25、NMT26、NMT27和NMT28对MAC形成和沉积抑制作用的图。

[0239] 图33示出了显示NMT23、NMT24、NMT26和NMT27对AP溶血抑制作用的图。

[0240] 图34示了显示NMT28对AP介导的C3转化酶形成和沉积抑制作用的图。

[0241] 图35示出了显示NMT28对CP介导的C3b形成和沉积的作用的图。

[0242] 图36示出了显示NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101对备解素的结合亲和力的图。

[0243] 图37示出了显示NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101对AP溶血抑制作用的图。

[0244] 图38示出了显示NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101对MAC形成的抑制作用的图。

[0245] 图39示出了显示NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101对AP介导的C3b形成和沉积的抑制作用的图。

[0246] 图40示出了显示对备解素结合亲和力的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT17、NMT18、NMT28、NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101。

[0247] 图41示出了显示对备解素结合亲和力的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT17、NMT18、NMT28、NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101。

[0248] 图42示出了显示对AP溶血抑制作用的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT17、NMT18、NMT28、NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101。

[0249] 图43示出了显示对C3b形成和沉积抑制作用的图—N297和Xtend Fc区的比较-NMT17、NMT18、NMT28、NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101。

[0250] 图44示出了显示对备解素的结合效力的图N297和Xtend Fc区的比较—NMT29、NMT30和NMT31。

[0251] 图45示出了显示AP介导的MAC形成的图N297和Xtend Fc区的比较—NMT29、NMT30和NMT31。

[0252] 图46示出了显示AP介导的溶血抑制用的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT29、NMT30和NMT31。

[0253] 图47示出了显示对AP介导的C3b形成和沉积抑制作用的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT29、NMT30和NMT31。

[0254] 图48示出了显示对备解素的结合效力的图—N297和Xtend Fc区的比较——NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101。

[0255] 图49示出了显示对AP溶血抑制作用的图N297和Xtend Fc区的比较—NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101。

[0256] 图50示出了显示对AP介导的MAC形成抑制作用的图-N297和Xtend Fc区的比较-NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101。

[0257] 图51示出了显示对AP介导的C3b形成和沉积的抑制作用的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101。

[0258] 图52示出了显示对备解素结合效力的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT30、NMT31、NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101。

[0259] 图53示出了显示N297和Xtend Fc区—NMT30、NMT31、NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101对AP溶血抑制作用比较的图。

[0260] 图54示出了显示N297和Xtend Fc区—NMT30、NMT31、NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101对MAC形成抑制作用比较的图。

[0261] 图55示出了显示N297和Xtend Fc区-NMT30、NMT31、NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101对C3b形成和沉积抑制作用比较的图。

具体实施方式

[0262] 如本文所用,术语“受体人类框架(acceptor human framework)”是指包含源自人免疫球蛋白框架或人类共有框架的VL或VH框架的氨基酸序列的框架。

[0263] 如本文所用,术语“抗体”涵盖全长单克隆抗体、多克隆抗体、纳米体和多特异性抗体。生物抗体通常是约150000道尔顿的异源四聚糖蛋白,由两条相同的轻(L)链和两条完全相同的重(H)链组成。两条重链通过二硫键连接在一起,每条重链通过一个二硫键与一条轻链连接。每个全长IgG分子包含至少两个针对特定靶标或抗原的结合位点。轻链是κ或λ。这两条轻链都包含一个可变氨基酸序列的结构域,称为可变区(不同地称为“V_L”、“V_κ”或“V_λ区”)和一个相对保守的氨基酸序列的区,称为恒定区(“CL区”)。类似地,每条重链包含一个可变区(“V_H区”)、三个恒定区(“C_{H1}-”、“C_{H2}-”和“C_{H3}-区”)和一个铰链区。

[0264] 如本文所用,术语“抗体片段”是指全长抗体的片段,通常称为靶标结合区或可变区。其他抗体包括双链抗体、线性抗体、单链抗体分子和由抗体片段形成的多特异性抗体。实例包括Fab、Fab’、F(ab’)2、Fv或scFv片段。“Fv”片段是包含完整靶标识别和结合位点的最小抗体片段。

[0265] 如本文所用,术语“抗原结合片段”是指包含负责抗原结合的抗体可变区的抗体分子的一个或多个片段。

[0266] 抗原结合片段可以通过蛋白酶消化从全长抗体制备。抗原结合片段可由本领域技术人员使用标准重组DNA方法制备。抗原结合片段的实例:

[0267] “Fab”片段(具有VH和VL的单链可变区)

[0268] “单价片段”(由VL、VH、CL和CH1结构域组成的抗体片段)

[0269] “F(ab’)2”片段(二价片段,包括通过铰链区的二硫键连接的两个Fab片段);

[0270] “Fd”片段(由抗体的VH和CH1结构域组成);

[0271] “Fv”片段(由抗体单臂的VL和VH结构域组成);

[0272] 单结构域抗体(“dAb”),其由VH结构域或VL结构域组成;和

[0273] 分离的互补性决定区(“CDR”)。

[0274] 如本文所用,互补决定区(“CDR”)是抗体的关键结合区。CDR是指重链和轻链可变区内的特定区。通常,可变区由四个框架区(FR1、FR2、FR3、FR4)和三个以以下方式排列的CDR组成:NH2-FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4-COOH。术语“框架区”是指除了本文定义的CDR残基之外的那些可变结构域残基。

[0275] CDR作为抗原结合片段,也可掺入单结构域抗体、大抗体(maxi body)、迷你抗体(mini body)、内联抗体(intrabody)、双链抗体、三链抗体、四链抗体、v-NAR和双scFv中。抗体的抗原结合片段可以移植到基于多肽的支架中。抗原结合片段可结合到包含一对串联Fv片段(VH-CH1-VH-CH1)的单链分子中,所述串联Fv段与互补的轻链多肽一起形成一对抗原结合区。

[0276] 如本文所用,“单链Fv”或“scFv”抗体片段包含抗体的VH和VL结构域,其中这些结构域存在于单个多肽链中。

[0277] 如本文所用,“效应器功能”是指可归因于抗体的天然Fc区的那些生物活性,并随抗体同种型而变化。抗体效应器功能的实例包括:C1q结合和补体依赖性细胞毒性;Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;下调细胞表面受体(例如B细胞受体);缺乏表达Fc受体的血小板的活化;和B细胞活化。为了最小化或消除治疗性抗体的副作用,最小化或消除效应器功能可能是优选的。

[0278] 在本申请上下文中,“不期望的效应器功能”包括ADCC、CDC、经典途径激活、细胞激活和抗体介导的炎症。

[0279] “工程抗体”是指非天然产生的抗体,其经过改变或创造以达到特定目的或具有特定特征。例如,对其野生型形式进行了有意修饰以降低效应器功能的抗体是工程抗体。

[0280] 如本文所用,术语“Fc区”是指抗体的对给定抗原提供防御的区域。

[0281] 如本文所用,术语“抗体的第一部分”是指整个抗体的一部分,比整个抗体小的部分,其包含抗体的抗原结合区。“抗体的第二部分”是指整个抗体的一部分,比整个抗体小的部分,由第一部分中不包括的抗体部分组成。

[0282] 术语“Fc受体”或“Fcγ R”描述了与IgG的Fc区结合的受体。FcγRI、FcγRII和FcγRIII是FcγRs的亚类。

[0283] 如本文所用,术语“减少的Fc效应器功能”是指抗体的功能,其中抗体不作用于识别抗体Fc区的抗原。Fc效应器功能减少的实例可包括但不限于,Fc与抗原的结合减少、缺乏针对抗原的Fc活化、含有阻止正常Fc效应物功能的突变的Fc区或阻止血小板和具有Fc受体的其他细胞的活化。

[0284] 抗体、抗体片段和/或抗体Fc区的“修饰”是指蛋白质野生型多肽序列中一个或多个氨基酸的取代、插入或缺失。修饰的抗体、抗体片段和/或Fc区是其中人工进行了修饰的抗体。

[0285] 如本文所用,“竞争性抑制”是指通过任何其他分子竞争性抑制分离的抗体或其抗原结合部分与备解素的结合。

[0286] 如本文所用,术语“表位”是指备解素上的一个位点,抗体及其片段与该位点结合

并进行功能活性。术语表位与“抗原位点”和“抗体结合位点”相同。本领域技术人员可以将人的备解素序列与另一种动物的备解素的序列比对,并确定表位的位置。

[0287] 如本文所用,“Fab片段”是指轻链的恒定结构域和重链的第一恒定结构域。Fab’片段与Fab片段的不同之处在于重链CH1结构域羧基末端的几个额外残基,包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸。F(ab’)片段是通过切割F(ab’)2胃蛋白酶消化产物的铰链半胱氨酸处的二硫键而产生的。

[0288] 如本文所用,抗体的术语“其抗原结合片段”是指具有与全长抗体相同的定性生物活性的抗体片段。例如,抗体的其抗原结合片段是能够以特定方式与备解素结合以防止或显著减少旁路补体激活的片段。

[0289] 如本文所用,术语“人类共有框架”是指代表在选择的人类免疫球蛋白VL或VH框架序列中最常见的氨基酸残基的框架。通常,人免疫球蛋白VL或VH序列的选择来自可变结构域序列的亚组。

[0290] 如本文所用,“人源化抗体”是指除CDR1、CDR2和CDR3外,主要由人类序列组成的抗体。所有框架区也都是人源化的。嵌合抗体包括鼠CDR、鼠框架区和人恒定区。总的来说,嵌合抗体包含小鼠可变区和人类恒定区。

[0291] 如本文所用,术语“单价抗体或其抗原结合片段”是指包含抗原(如单个备解素分子)的单个结合结构域(如V_H或V_{HH})的抗体或抗原结合片段。在一个实施方案中,结合的抗原分子是多聚体的一部分,例如备解素单体的三聚体或更高阶多聚体。抗体,包括单价抗体或其抗体片段,通常以高度特异性结合特定抗原。

[0292] 如本文所用,术语“单结构域抗体”定义抗原结合位点存在于单个免疫球蛋白结构域上并由其形成的分子。通常,免疫球蛋白单个可变结构域的抗原结合位点由不超过三个CDR形成。单个可变结构域可以例如包括轻链可变结构域序列(V_L序列)或其合适的片段;或重链可变结构域序列(例如V_H序列或V_{HH}序列)或其合适的片段;只要其能够形成单个抗原结合单元(即,基本上是单个可变结构域的功能性抗原结合单元,使得单个抗原结合结构域不需要与另一个可变结构域相互作用来形成功能性抗原结合单元)。

[0293] 如本文所用,术语“骆驼抗体”是指衍生自骆驼物种的抗体,例如骆驼、单峰骆驼、大羊驼、羊驼或原驼。骆驼抗体与大多数其他哺乳动物的抗体不同之处在于,它们缺乏轻链,因此仅包括具有完整和不同抗原结合能力的重链(Hamers-Casterman,C.等人,Nature,363:446-8,1993)。

[0294] 如本文所用,术语“V_{HH}”是指缺乏轻链的单链可变结构域抗体。例如,V_{HH}链可以是在骆驼科或软骨鱼类中发现的类型,其天然缺乏轻链,或者是可以相应构建的合成和未免疫的V_{HH}。每个重链包括一个由V、D和J外显子编码的可变区。V_{HH}可以是天然V_{HH}抗体,例如骆驼抗体,或包括重链可变结构域的重组蛋白。

[0295] 如本文所用,术语“分离的抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体(例如,与备解素结合的分离的抗体基本上不含有污染物,例如,不与备解素相结合的抗体)。此外,“分离的”抗体是指已从其自然环境的成分中鉴定、分离和/或回收的抗体。其自然环境的污染物成分是可能干扰抗体的诊断或治疗用途的材料,并且可能包括酶、激素和其他蛋白质或非蛋白质溶质。

[0296] 如本文所用,抗体或其片段、多肽或拟肽的术语“特异性结合”是指与靶分子的结

合,该靶分子与非靶分子的分子的结合可测量地不同。如本文所用,特异性结合是指与背景(“非特异性”)结合相比,结合特定抗原的偏好大于95%。“基本上特异性的”结合是指与背景相比,结合特定抗原的偏好大于约80%。结合可以使用多种方法进行测量,包括但不限于蛋白质印迹、免疫印迹、酶联免疫吸附剂测定(“ELISA”)、放射免疫测定(“RIA”)、免疫沉淀、表面等离子体共振、生物层干涉术、化学发光、荧光偏振、磷光、免疫组织化学分析、基质辅助激光解吸/电离飞行时间(“MALDI-TOF”)质谱法、微细胞测定法、微阵列、显微镜、荧光活化细胞分选(“FACS”)和流式细胞术。

[0297] 如本文所用,术语“人备解素”是指在血浆中发现的469个氨基酸的可溶性糖蛋白,其具有7个I型血小板反应蛋白重复序列(TSR),其中N端结构域TSR0是截短的结构域。人备解素是一种53kDa的蛋白质,包括一个信号肽(氨基酸1-28)和六个不相同的TSR重复序列,每个重复序列约60个氨基酸,如下所示:氨基酸80-134(TSR1)、氨基酸139-191(TSR2)、氨基酸196-255(TSR3)、氨基酸260-313(TSR4)、氨基酸318-377(TSR5)和氨基酸382-462(TSR6)。备解素是由棒状单体低聚成环状二聚体、三聚体和四聚体而形成的。人类备解素的氨基酸序列在GenBank数据库中以以下登录号找到:关于人类备解素,参见例如GenBank登录号AAA36489、NP_002612、AAH15756、AAP43692、S29126和CAA40914。备解素是旁路补体激活级联的正调节因子。备解素的已知结合配体包括C3b、C3bB和C3bBb(Blatt,A.等人,Immunol.Rev.,274:172-90,2016)。

[0298] 如本文所用,术语“小鼠备解素”是指在血浆中发现的457个氨基酸的可溶性糖蛋白,其具有7个TSR,其中N端结构域TSR0被截短。小鼠备解素是一种50kDa的蛋白质,包括信号肽(氨基酸1-24)和六个不相同的TSR,每个TSR约60个氨基酸,如下:氨基酸73-130(TSR1)、氨基酸132-187(TSR2)、氨基酸189-251(TSR3)、氨基酸253-309(TSR4)、氨基酸311-372(TSR5)和氨基酸374-457(TSR6)。小鼠备解素是通过杆状单体低聚成环状二聚体、三聚体和四聚体而形成的。小鼠备解素的氨基酸序列可在例如GenBank数据库(GenBank登录号P11680和S05478)中找到。

[0299] 如本文所用,术语“TSR0结构域”是指在备解素的TSR1结构域之前的备解素的截短结构域。例如,人备解素的TSR0结构域包括氨基酸28-76。

[0300] 如本文所用,术语“TSR1结构域”是指与备解素的TSR0结构域相邻的备解素的结构域。例如,人备解素的TSR0结构域包括氨基酸77-134。

[0301] 如本文所用,术语“备解素的活性”是指备解素的生物活性,包括但不限于导致C3/C5转化酶稳定性的结合相互作用。备解素最强烈地结合C3b,Bb—C3/C5转化酶的旁路途径,但也结合C3b;C3b,B和C3b,Bb。一种功能是稳定C3b,Bb复合物,允许增加的旁路途径活化(Pangburn,M.,Methods Enzymol.,162:639-53,1988;Nolan,K.&Reid,K.,Methods Enzymol.,223:35-46,1993)。备解素通过增加因子B与P,C3b复合物的结合来增强旁路途径C3转化酶的形成。因此,备解素是补体激活的加速器(正调节器)。备解素还通过与靶表面结合和启动C3/C5转化酶的形成参与启动旁路途径的激活(Kemper C.&Hourcade,D.,Mol.Immunol.,45:4048-56,2008)。

[0302] 如本文所用,术语“旁路补体途径”是指补体激活的三种途径之一(其他途径是经典途径和凝集素途径)。旁路补体途径通常被细菌、寄生虫、病毒或真菌激活,尽管IgA-Ab和某些IgL链也被报道可以激活该途径。

[0303] 如本文所用,术语“旁路补体途径失调”是指旁路补体途径提供宿主防御病原体、清除免疫复合物和受损细胞以及免疫调节能力的任何失常。旁路补体途径失调可发生在液相和细胞表面,并可导致补体过度激活或调节不足,两者都会导致组织损伤。

[0304] 如本文所用,术语“由旁路补体途径失调介导的疾病”是指由旁路补体途径失调引起的身体功能、系统或器官的中断、停止或紊乱。这类疾病将受益于用本文所述的组合物或制剂的治疗。在一些实施方案中,所述疾病是由旁路补体途径提供宿主防御病原体、清除免疫复合物和受损细胞以及免疫调节能力的任何失常引起的。本文还包括由旁路补体途径的一个或多个组分或由旁路补体途径产生的产物的失调直接或间接介导的疾病。

[0305] 如本文所用,术语“旁路补体途径依赖性膜攻击复合物组分”是指作为旁路补体途径激活的结果形成的末端复合物,包括补体成分C5、C6、C7、C8和C9。膜攻击复合物(MAC)的组装导致细胞裂解。

[0306] 如本文所用,术语“旁路补体途径依赖性溶血”是指通过增加的旁路补体途径依赖性MAC组装和/或沉积在红细胞上介导的红细胞裂解。

[0307] 如本文所用,术语“接头”是指两个元件之间的连接,例如蛋白质结构域。接头可以是共价键或间隔区。术语“键”是指化学键,例如酰胺键或二硫键,或由化学反应产生的任何类型的键,例如化学共轭。接头可以指出现在两个多肽或多肽结构域之间的部分(例如,聚乙二醇(PEG)聚合物)或氨基酸序列(例如,3-200个氨基酸、3-150个氨基酸或3-100个氨基酸序列),以在两个肽或多肽结构体之间提供空间和/或柔性。氨基酸间隔区可以是多肽的一级序列的一部分(例如,通过多肽框架连接到间隔区的多肽或多肽结构域)。接头可以包含一个或多个甘氨酸和丝氨酸残基。

[0308] 如本文所用,术语“相同”或“基本相同”对于抗体链、多肽序列可解释为与抗原结合片段可变区中的参考多肽序列具有至少65%、70%、80%、90%或95%序列同一性的抗体链。对于核酸序列,所示术语可解释为与参考核酸序列具有至少约65%、75%、85%、90%、95%或97%序列同一性的核苷酸序列。

[0309] 如本文所用,术语“个体”是指脊椎动物,优选哺乳动物,更优选人类。可接受治疗的个体包括那些目前无症状的人,但有患症状性疾病的风险,在这种疾病中,旁路补体途径发挥作用,或旁路补体途径的激活发挥作用。

[0310] 如本文所用,术语“哺乳动物”是指被归类为哺乳动物的任何动物,包括人类、高等灵长类动物、家畜和农场动物、马、猪、牛、狗、猫和雪貂等。在本发明的一个实施方案中,哺乳动物是人。

[0311] 如本文所用,“单克隆抗体”是指同质的抗体群体。这种抗体具有高度特异性,针对单一靶抗原。这些单克隆抗体由杂交瘤培养物同质地产生,不受其他免疫球蛋白的污染。单克隆抗体也可以通过其他程序产生,如通过众所周知的方法进行相位显示。

[0312] 如本文所用,术语“选择性抑制旁路补体途径”是指优先且排他性地抑制旁路补体途径,但不抑制补体激活的其他途径,包括经典补体途径。例如,人源化和嵌合抗体及其抗原结合片段选择性地抑制旁路补体途径。该定义适用于本文所述的其他方法,其中选择性地抑制旁路补体途径。

[0313] 如本文所用,术语“有效治疗量”是指在靶疾病或病症(例如补体相关的眼部病症)的状态(例如病理学)中实现可测量的改善所需的“备解素拮抗剂”的量。

[0314] 如本文所用,术语“治疗”是指治疗性治疗和保护性或预防性措施。

[0315] 本文描述了新的抗备解素抗体及其抗原结合片段,其可用于预防和治疗补体介导和/或相关疾病。这些抗备解素抗体和抗原结合片段可以包括但不限于抗备解素抗体及其抗体变体、其抗原结合片段、其他结合多肽和/或肽。这些抗备解素抗体和抗原结合片段可以与备解素结合,并且能够中和、阻断、部分或完全抑制、消除、减少或干扰备解素的功能活性,例如备解素参与任何补体相关炎症性疾病或病症的病理学的能力。

[0316] 抗备解素抗体及其抗原结合片段所述抗备解素抗体及其抗体结合片段可通过选择性结合备解素来阻止备解素与C3b结合以形成PC3b复合物。因此,不会形成PC3b复合物和PC3bBb复合物。由于PC3bB复合物将C5切割成C5a和C5b,也不会形成MAC复合物(C5b-9)。因此,通过抑制备解素与C3b的结合,抗备解素抗体及其抗原结合片段将抑制MAC复合物的形成。MAC复合物水平的升高已被发现与多种急性和慢性疾病有关。因此,在补体激活在疾病病理学中起作用的疾病中,通过抗备解素抗体及其抗原结合片段抑制MAC复合物对于临床益处是重要的。

[0317] PC3b复合物、PC3b复合物和PC3bBb复合物都可以聚合。本文所述的抗备解素抗体及其抗原结合片段可以抑制这些复合物中每一种的聚合,其中备解素与C3b、因子B或因子Bb中每一个的摩尔比可以是1:1。抗备解素抗体及其抗原结合片段可以抑制这些复合物中每一种的聚合,其中这些复合物的每一种分别比每个复合物中的C3b、因子B和因子Bb多包含至少一摩尔备解素。在一个例子中,对于PC3b复合物,备解素和C3b之间的摩尔比可以表示为$(P)_X(C3b)_y$,其中X=Y+1。在另一个实例中,对于PC3bB复合物,备解素、C、C3b和因子B之间的摩尔比可以表示为$(P)_X(C3b)_Y(B)_Z$,其中X=Y+Z。该实例还可以表示PC3bBb复合物中备解素与C3b和因数Bb的摩尔比。

[0318] 抗备解素抗体及其抗原结合片段可以具有抑制备解素的任何生物活性的能力。这种活性可以使备解素相关疾病或病症,例如补体相关炎症性疾病或病症的病理状态得到可测量的改善。所述活性可以在体外或体内测试中进行评估,包括但不限于结合测定、使用相关动物模型的旁路途径溶血测定或人类临床试验。

[0319] 在另一个实施方案中,抗备解素抗体及其抗原结合片段可以与位于备解素上的特定表位结合,以抑制AP活化。在一个实例中,抗备解素试剂可与备解素的N端结构域结合以抑制备解素与C3b的结合。

[0320] 本文所述的抗备解素抗体或其抗原结合片段可通过使用全长备解素、备解素多肽和/或使用携带抗原备解素表位的肽(例如备解素多肽的片段)来制备。备解素肽和多肽可以作为天然多肽、重组多肽或合成重组多肽分离并用于产生抗体。所有可用于产生抗备解素抗体的抗原都可用于产生单特异性和双特异性抗体。

[0321] 抗备解素抗体可以是单克隆抗体或衍生自单克隆抗体。可通过已知技术制备针对所选抗原的合适单克隆抗体(“Monoclonal Antibodiesl:Techniques and Applications”,Zola(CRC Press,1988);“Monoclonal Hybridoma Antibodies:Techniques and Applications”,Hurrell(CRC Press,1982),其全部内容通过引用并入本文)。

[0322] 抗备解素抗体及其抗原结合片段可包括人源化单克隆抗备解素抗体或其抗原结合片段,其选择性地结合到备解素并选择性地抑制旁路补体途径的激活。抗备解素抗体及

其抗原结合片段可用于治疗人类或其他哺乳动物中任何旁路途径相关的炎症性疾病或病症。

[0323] 制备人源化非人抗体的方法在本领域是众所周知的。人源化主要通过用啮齿动物CDR或CDR序列代替人抗体的相应序列来进行。在某些情况下,选择用于制备人源化抗体的人类可变结构域(轻结构域和重结构域)对于降低抗原性和/或人类抗小鼠抗体(HAMA)反应是重要的。在一些实施方案中,抗备解素抗体及其抗原结合片段是人源化的,使得HAMA反应减少或消除。

[0324] 通常,备解素可以具有一定范围的氨基酸序列同一性百分比,与成熟的人类氨基酸序列具有至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%的氨基酸序列同一性。

[0325] 抗体的可变结构域是指可变结构域的某些部分,这些部分在抗体之间的序列不同。抗备解素抗体及其抗原结合片段的变异性可以集中在位于轻链和重链可变结构域中的三个CDR片段中。可变结构域的高度保守部分被称为框架区(FR)。在本文所述的抗备解素抗体中,有四个FR区,由三个CDR连接,其可以包含可变链。轻链和重链中的每个链中的CDR通过FR区紧密相邻地保持在一起,并且与来自另一个链的CDR一起,可以有助于抗体的靶结合位点的形成。

[0326] 抗体人源化是一种可以产生具有可变区("V区")序列的工程化人类抗体的过程,该可变区序列与实际的人类生殖系序列基本相似,同时保留参考抗体的结合特异性和亲和力。所述方法可以将例如重链序列和轻链序列的CDR1、CDR2和CDR3区移植到人源化人类框架中,所述人源化人体框架在移植过程开始之前被优化并预先鉴定。含有可变区的人源化框架可产生Fab、Fab'、Fab2或其单链抗原结合片段。所得到的工程化人源化抗体片段可以保留亲本鼠抗体对抗原原蛋白的结合特异性,并且可以对特定抗原具有与亲本抗体相同或更高的结合亲和力。与最接近的人类种系抗体基因相比,工程化抗原结合片段可以具有具有高度氨基酸序列同一性的重链和轻链V区。例如,在构建过程中,可以在每条链的CDR3区中引入额外的成熟变化,以鉴定具有最佳结合动力学的抗体。

[0327] 在一些实施方案中,抗体可以是单结构域抗体,例如V_{HH}。这种抗体天然存在于骆驼和鲨鱼中(Saerens,D.等人,Curr.Opin.Pharmacol.,8:600-8,2008)。例如,骆驼抗体在。美国专利No.5,759,808;5,800,988;5,840,526;5,874,541;6,005,079;以及6,015,695中有描述,其中每一个的全部内容通过引用结合于此。克隆和分离的V_{HH}结构域是一种稳定的多肽,具有原始重链抗体的完全抗原结合能力。V_{HH}结构域以其独特的结构和功能特性,将传统抗体的优势(高靶点特异性、高靶点亲和力和低固有毒性)与小分子药物的重要特征(抑制酶和进入受体裂解的能力)相结合。此外,它们是稳定的,有可能通过注射以外的方式给药,更容易制造。

[0328] 在一些实施方案中,抗备解素抗体及其抗原结合片段可以与本申请中所述的抗体结合到备解素上的相同表位。这种抗体可以基于它们在标准的备解素结合测定中与抗备解素抗体及其抗原结合片段交叉竞争或竞争性抑制的能力来鉴定。因此,竞争性抑制抗备解素抗体及其抗原结合片段的结合的所有抗备解素抗体及其抗原-结合片段都包含在本公开中。

[0329] 抗体的抗原结合片段可以在蛋白酶消化后鉴定。例如,这些包括"Fab片段"、"Fab'

片段”(具有重链铰链区的Fab)和“$F(ab')_2$片段”(通过重链铰链区连接的Fab'碎片的二聚体)。重组方法已被用于产生这样的片段和产生更小的抗体片段,例如,那些被称为“单链Fv”(可变片段)或“scFv”的抗体片段由通过合成肽接头(V_L-接头-V_H)连接的V_L和V_H组成。Fab片段、Fab'片段和scFv片段对于抗原结合是单价的或单特异性的,因为它们各自仅包括一个抗原结合结构域,所述结构域包括一个VH/VL二聚体。甚至更小的单价抗体片段是dAb,其仅包括单独特异性结合抗原的单个免疫球蛋白可变结构域,例如V_H或V_L,即分别不需要互补的V_L或V_H结构域。dAb独立于其他V结构域结合抗原;然而,dAb可以存在于具有其他V_H或V_L结构域的同源或异源多聚体中,其中其他结构域不是dAb结合抗原所必需的,即,其中dAb独立于额外的V_H或V_L结构域,与抗原进行结合。

[0330] 在一些实施方案中,所述抗备解素抗体或其抗原结合片段可以是单特异性抗体或其抗体结合片段,其包括以下中的至少一种:

[0331] a)

[0332] CDR-H1,其包含$GYIFTX_1YPIH$(SEQ ID NO:201)的氨基酸序列,其中X_1是N、Q、S、A或D,

[0333] CDR-H2,其包含$FIX_1PGGGX_2DEX_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$(SEQ ID NO:202)的氨基酸序列,其中$X_1$是D、E、S或A;$X_2$是H或Y;$X_3$是P、S或Y;$X_4$是A或D;$X_5$是D、R或Q;$X_6$是K、R或S;$X_7$是F或V;$X_8$是E、K、Q或R;并且$X_9$是D或G;和

[0334] CDR-H3,其包含RGGGYYLDY(SEQ ID NO:203)的氨基酸序列;

[0335] b)

[0336] CDR-L1,其包含RASQDISFFLN(SEQ ID NO:206)的氨基酸序列,

[0337] CDR-L2,其包含$X_1X_2SX_3YHS$(SEQ ID NO:207)的氨基酸序列,其中X_1是G或Y;X_2是A或T;并且X_3是R或S;和

[0338] CDR-L3,其包含$QHGX_1TLPX_2T$(SEQ ID NO:208)的氨基酸序列,其中X_1是A、D、N、Q或S;并且X_2是F、H、R、W或Y;

[0339] c)

[0340] CDR-H1,其包含$GFSLSTSGX_1GVG$(SEQ ID NO:211)的氨基酸序列,其中X_1是I、K、M或V,

[0341] CDR-H2,其包含$HIX_1X_1DDVKSYX_2PALKS$(SEQ ID NO:212)的氨基酸序列,其中X_1是F、H、W或Y;并且X_2是A、N、Q或S;和

[0342] CDR-H3,其包含$IGX_1GYYSFDY$(SEQ ID NO:213)的氨基酸序列,其中X_1是A、D、E或S;

[0343] d)

[0344] CDR-L1,其包含$X_1ASQDVSDAVA$(SEQ ID NO:216)的氨基酸序列,其中X_1是K或R;

[0345] CDR-L2,其包含SPSYRYT(SEQ ID NO:217)的氨基酸序列;和

[0346] CDR-L3,其包含$QQHYSTPX_1TF$(SEQ ID NO:218)的氨基酸序列,其中X_1是F、H、W或Y;

[0347] e)

[0348] CDR-H1,其包含$GFSFSSGYX_1IF$(SEQ ID NO:221)的氨基酸序列,其中X_1是F、H、W或Y;

[0349] CDR-H2,其包含GIYSGSSGTTY(SEQ ID NO:222)的氨基酸序列;和

[0350] CDR-H3,其包含$SVX_1GIX_1SYX_1AAFX_2L$(SEQ ID NO:223)的氨基酸序列,其中X_1是A、D、E或S;并且X_2是A、N、Q或S;

[0351] f)

[0352] CDR-L1,其包含X_1ASDX$_2$IYSLLA(SEQ ID NO:229)的氨基酸序列,其中X_1是Q或R;X_2是A、N、Q或S;

[0353] CDR-L2,其包含RASTLAS(SEQ ID NO:230)的氨基酸序列;和

[0354] CDR-L3,其包含QQHYDYX$_1$YLDVA(SEQ ID NO:231)的氨基酸序列,其中X_1是A、N、Q或S;

[0355] g)

[0356] CDR-H1,其包含GFSFSSSYX$_1$IF(SEQ ID NO:225)的氨基酸序列,其中X_1是F、H、W或Y,

[0357] CDR-H2,其包含GIYSSSGRX$_1$Y(SEQ ID NO:226)的氨基酸序列,其中X_1是I、K、L或M;和

[0358] CDR-H3,其包含SAX$_1$GSX$_1$SYX$_1$AYFTL(SEQ ID NO:227)的氨基酸序列,其中X_1是A、D、E或S;

[0359] h)

[0360] CDR-L1,其包含X_1ASDX$_2$IYSX$_2$LA(SEQ ID NO:233)的氨基酸序列,其中X_1是Q或R;X_2是A、N、Q或S;

[0361] CDR-L2,其包含RASTLAS(SEQ ID NO:234)的氨基酸序列;和

[0362] CDR-L3,其包含QQHX$_1$DYDYIDVA(SEQ ID NO:235)的氨基酸序列,其中X_1是F、H、W或Y;

[0363] i)

[0364] CDR-H1,其包含GRISSIIHMA的氨基酸序列(SEQ ID NO:237),其中X_1是F、H、W或Y,

[0365] CDR-H2,其包含RX$_1$GTTX$_1$YAX$_2$SX$_1$X$_3$G(SEQ ID NO:238)的氨基酸序列,其中X_1是I或V;X_2是A、D、E或S;并且X_3是A或K;和

[0366] CDR-H3,其包含LQYEX$_1$HGGAX$_2$Y(SEQ ID NO:239)的氨基酸序列,其中X_1是A或K;并且X_2是A、D、E或S;

[0367] j)

[0368] CDR-H1,其包含GRIFEX$_1$X$_2$MMA(SEQ ID NO:241)的氨基酸序列,其中X_1是I或V;并且X_2是A、D、N、Q或S,

[0369] CDR-H2,其包含RX$_1$GTTTYAX$_2$SX$_1$X$_3$G(SEQ ID NO:242)的氨基酸序列,其中X_1是I或V;X_2是A、D、E或S;并且X_3是A或K;和

[0370] CDR-H3,其包含LQYX$_1$RYGGAEY(SEQ ID NO:243)的氨基酸序列,其中X_1是A、D、E或S;或

[0371] k)

[0372] 或对分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段与单体备解素结合进行竞争性抑制的重链可变区和/或轻链可变区,所述抗体或其抗体结合片段包含a)、b)、c)、d)、e)、f)、g)、h)、i)或j)中的至少一种。在其他实施方案中,所述抗备解素抗体或其抗原结合片段可包括:

[0373] CDR-H1,其包含GYIFTX$_1$YPIH(SEQ ID NO:201)的氨基酸序列,其中X_1是N、Q、S、A或D,

[0374] CDR-H2,其包含FIX$_1$PGGGX$_2$DEX$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$(SEQ ID NO:202)的氨基酸序列,其中

X_1是D、E、S或A;X_2是H或Y;X_3是P、S或Y;X_4是A或D;X_5是D、R或Q;X_6是K、R或S;X_7是F或V;X 8是E、K、Q或R;并且X_9是D或G;和

[0375] CDR-H3,其包含RGGGYYLDY(SEQ ID NO:203)的氨基酸序列;

[0376] CDR-L1,其包含RASQDISFFLN的氨基酸序列(SEQ ID NO:206),包含$X_1X_2SX_3$YHS的氨基酸序列(SEQ ID NO:207)的CDR-L2,其中X_1是G或Y;X_2是A或T;并且X_3是R或S;和包含QHGX_1TLPX_2T(SEQ ID NO:208)的氨基酸序列的CDR-L3,其中X_1是A、D、N、Q或S;并且X_2是F、H、R、W或Y。

[0377] 在一些实施方案中,所述抗备解素抗体或其抗原结合片段可以包括:

[0378] CDR-H1,其包含GFSLSTSGX_1GVG(SEQ ID NO:211)的氨基酸序列,其中X_1为I、K、M或V,CDR-H2,其包含HIX_1X_1DDVKSYX_2PALKS(SEQ ID NO:212)的氨基酸序列,其中X_1是F、H、W或Y;并且X_2是A、N、Q或S;

[0379] CDR-H3,其包含IGX_1GYYSFDY的氨基酸序列(SEQ ID NO:213),其中X_1是A、D、E或S;

[0380] CDR-L1,其包含X_1ASQDVSDAVA的氨基酸序列(SEQ ID NO:216),其中X_1是K或R;

[0381] CDR-L2,其包含SPSYRYT的氨基酸序列(SEQ ID NO:217);和包含QQHYSTPX_1TF(SEQ ID NO:218)的氨基酸序列的CDR-L3,其中X_1是F、H、W或Y。

[0382] 在一些实施方案中,所述抗备解素抗体或其抗原结合片段可以包括:

[0383] CDR-H1,其包含GFSFSSGYX_1IF(SEQ ID NO:221)的氨基酸序列,其中X_1是F、H、W或Y;

[0384] CDR-H2,其包含GIYSGSSGTTY的氨基酸序列(SEQ ID NO:222);

[0385] CDR-H3,其包含SVX_1GIX_1SYX_1AAFX_2L(SEQ ID NO:223)的氨基酸序列,其中X_1是A、D、E或S;并且X_2是A、N、Q或S;

[0386] CDR-L1,其包含X_1ASDX_2IYSLLA的氨基酸序列(SEQ ID NO:229),其中X_1是Q或R;X_2是A、N、Q或S;

[0387] CDR-L2,其包含RASTLAS的氨基酸序列(SEQ ID NO:230);和包含QQHYDYX_1YLDVA(SEQ ID NO:231)的氨基酸序列的CDR-L3,其中X_1是A、N、Q或S。

[0388] 在一些实施方案中,所述抗备解素抗体或其抗原结合片段可以包括:

[0389] CDR-H1,其包含GFSFSSSYX_1IF(SEQ ID NO:225)的氨基酸序列,其中X_1为F、H、W或Y,

[0390] CDR-H2,其包含GIYSSSGRX$_1$Y(SEQ ID NO:226)的氨基酸序列,其中X_1是I、K、L或M;

[0391] CDR-H3,其包含SAX_1GSX_1SYX_1AYFTL(SEQ ID NO:227)的氨基酸序列,其中X_1是A、D、E或S;

[0392] CDR-L1,其包含X_1ASDX_2IYSX_2LA的氨基酸序列(SEQ ID NO:233),其中X_1是Q或R;X_2是A、N、Q或S;

[0393] CDR-L2,其包含RASTLAS的氨基酸序列(SEQ ID NO:234);和

[0394] CDR-L3,其包含QQHX$_1$DYDYIDVA的氨基酸序列(SEQ ID NO:235),其中X_1是F、H、W或Y。

[0395] 在一些实施方案中,所述抗备解素抗体或其抗原结合片段可包含重链可变区,所述重链可变区包含以下任一条序列中的3个CDR,所述序列为以下之一:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID

NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:107;;或对分离的抗体或抗原结合片段结合进行竞争性抑制的重链可变区,所述分离的抗体和抗原结合片段包含至少一个重链可变区,所述重链可变区包括以下任一条序列中的3个CDR,所述序列为以下之一:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:107。

[0396] 在其他实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可包括重链可变区,所述重链可变区包含与以下氨基酸序列之一至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:107。

[0397] 在另一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可以包括轻链可变区,所述轻链可变区包括以下任一条序列中的3个CDR,所述序列为以下之一:SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:72;或对分离的抗体或抗原结合片段结合进行竞争性抑制的轻链可变区,所述分离的抗体或抗原结合片段包含至少一个轻链可变区,所述轻链可变区包括以下任一条序列中的3个CDR,所述序列为以下之一:SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:72。

[0398] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可包括轻链可变区,所述轻链可变区包含与以下之一的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:72。

[0399] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可以包括以下中的至少一种:

[0400] a)包含SEQ ID NO:1的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:24的3个CDR的轻链可变区;

[0401] b)包含SEQ ID NO:2的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:25的3个CDR的轻链可变区;

[0402] c)包含SEQ ID NO:3的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:26的3个CDR的轻链可变区;

[0403] d)包含SEQ ID NO:4的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:27的3个CDR的轻链可变区;

[0404] e)包含SEQ ID NO:5的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:28的3个CDR的轻链可变区;

[0405] f)包含SEQ ID NO:6的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:29的3个CDR的轻链可变区;

[0406] g)包含SEQ ID NO:7的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:30的3个CDR的轻链

可变区；

[0407] h)包含SEQ ID NO:8的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:31的3个CDR的轻链可变区；

[0408] i)包含SEQ ID NO:9的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:32的3个CDR的轻链可变区；

[0409] j)包含SEQ ID NO:10的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:33的3个CDR的轻链可变区；

[0410] k)包含SEQ ID NO:11的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:34的3个CDR的轻链可变区；

[0411] l)包含SEQ ID NO:12的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:35的3个CDR的轻链可变区；

[0412] m)包含SEQ ID NO:13的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:36的3个CDR的轻链可变区；

[0413] n)包含SEQ ID NO:14的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:37的3个CDR的轻链可变区；

[0414] o)包含SEQ ID NO:15的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0415] p)包含SEQ ID NO:16的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0416] q)包含SEQ ID NO:17的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0417] r)包含SEQ ID NO:18的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0418] s)包含SEQ ID NO:19的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0419] t)包含SEQ ID NO:20的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0420] u)包含SEQ ID NO:21的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0421] v)包含SEQ ID NO:22的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0422] w)包含SEQ ID NO:23的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的3个CDR的轻链可变区；

[0423] x)包含SEQ ID NO:40的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:45的3个CDR的轻链可变区；

[0424] y)包含SEQ ID NO:41的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:46的3个CDR的轻链可变区；

[0425] z)包含SEQ ID NO:42的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:47的3个CDR的轻链可变区；

[0426] aa)包含SEQ ID NO:43的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或SEQ ID NO:50的3个CDR的轻链可变区;

[0427] bb)包含SEQ ID NO:44的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或SEQ ID NO:50的3个CDR的轻链可变区;

[0428] cc)包含SEQ ID NO:51的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

[0429] dd)包含SEQ ID NO:52的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

[0430] ee)包含SEQ ID NO:53的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

[0431] ff)包含SEQ ID NO:54的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

[0432] gg)包含SEQ ID NO:55的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的3个CDR的轻链可变区;

[0433] hh)包含SEQ ID NO:56的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区;

[0434] ii)包含SEQ ID NO:57的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区;

[0435] jj)包含SEQ ID NO:58的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区;

[0436] kk)包含SEQ ID NO:59的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区;或

[0437] ll)包含SEQ ID NO:60的3个CDR的重链可变区和包含SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的3个CDR的轻链可变区。

[0438] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可以包括以下中的至少一种:

[0439] a)包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:24的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%同一的氨基酸序列的轻链;

[0440] b)包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:25的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0441] c)包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链可变体,和包含与SEQ ID NO:26的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0442] d)包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:27的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0443] e)包含与SEQ ID NO:5的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同

的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:28的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同地氨基酸序列的轻链;

[0444] f)包含与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:29的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同地氨基酸序列的轻链;

[0445] g)包含与SEQ ID NO:7的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:30的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同地氨基酸序列的轻链;

[0446] h)包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:31的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0447] i)包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:32的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0448] j)包含与SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:33的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0449] k)包含与SEQ ID NO:11的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:34的氨基酸序列至少约70、至少约80或至少约90相同的氨基酸序列;

[0450] l)包含与SEQ ID NO:12的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:35的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0451] m)包含与SEQ ID NO:13的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:36的氨基酸序列至少约70、至少约80或至少约90相同的氨基酸序列;

[0452] n)包含与SEQ ID NO:14的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:37的氨基酸序列至少约70、至少约80或至少约90相同的氨基酸序列;

[0453] o)包含与SEQ ID NO:15的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0454] p)包含与SEQ ID NO:16的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0455] q)包含与SEQ ID NO:17的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的轻链;

[0456] r)包含与SEQ ID NO:18的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同

的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0457] s)包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ IDNO:39的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0458] t)包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0459] u)包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0460] v)包含与SEQ ID NO:22的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0461] w)包含与SEQ ID NO:23的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%同一的氨基酸序列的轻链;

[0462] x)包含与SEQ ID NO:40的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:45的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0463] y)包含与SEQ ID NO:41的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:46的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0464] z)包含与SEQ ID NO:42的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:47的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0465] aa)包含与SEQ ID NO:43的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或SEQ ID NO:50的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0466] bb)包含与SEQ ID NO:44的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或SEQ ID NO:50的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0467] cc)包含与SEQ ID NO:51的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0468] dd)包含与SEQ ID NO:52的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨

基酸序列的轻链;

[0469] ee)包含与SEQ ID NO:53的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0470] ff)包含与SEQ ID NO:54的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0471] gg)包含与SEQ ID NO:55的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0472] hh)包含与SEQ ID NO:56的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0473] ii)包含与SEQ ID NO:57的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0474] jj)包含与SEQ ID NO:58的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0475] kk)包含与SEQ ID NO:59的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;或

[0476] ll)包含与SEQ ID NO:60的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链。

[0477] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可以包括恒定链区,并且其中与没有恒定链区的抗体或其抗体结合片段相比,包括恒定链区的抗体或抗原结合片段具有增强的体内半活和/或降低的免疫原性。

[0478] 在一些实施方案中,恒定链区包含与以下氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:137、

SEQ ID NO:138或SEQ ID NO:139。

[0479] 在一些实施方案中,抗备解素抗体或其抗原结合片段可以包括以下中的至少一种:

[0480] 包含与SEQ ID NO:156的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:157的氨基酸序列至少约70、至少约80或至少约90相同的氨基酸序列的轻链;

[0481] 包含与SEQ ID NO:166的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:167的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0482] 包含与SEQ ID NO:170的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:171的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同地氨基酸序列的轻链;

[0483] 包含与SEQ ID NO:178的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:179的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0484] 包含与SEQ ID NO:182的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链;

[0485] 包含与SEQ ID NO:184的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:185的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0486] 包含与SEQ ID NO:187的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:188的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;

[0487] 包含与SEQ ID NO:191的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链;

[0488] 包含与SEQ ID NO:193的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:194的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链;或

[0489] 包含与SEQ ID NO:197的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的重链,和包含与SEQ ID NO:198的氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列的轻链。

[0490] 接头

[0491] 在一些实施方案中,抗备解素抗体或其抗原结合片段可以包括接头。接头可用作多肽或蛋白质结构域和/或抗备解素抗体或其抗原结合片段的相关非蛋白质部分之间的连接或联系。在一些实施方案中,接头是至少两种多肽构建体之间的连接或联系,例如,使得两种多肽构造体以串联串联的方式彼此连接(例如,连接到第二多肽或抗体的抗体或其抗原结合片段)。接头可以将一种抗体构建体的N端或C端连接到第二多肽构建体的N端或C端。

[0492] 接头可以是简单的共价键,例如肽键,合成聚合物,例如聚乙二醇(PEG)聚合物,或由化学反应产生的任何类型的键,例如化学偶联。在接头是肽键的情况下,一个蛋白质结构

域的C端的羧酸基团可以在缩合反应中与另一个蛋白结构域的N端的氨基反应以形成肽键。具体而言,肽键可以通过本领域已知的常规有机化学反应由合成方式形成,或通过宿主细胞的天然生产形成,其中编码两种蛋白质的DNA序列的多核苷酸序列,例如两种抗体构建体,串联序列可以通过宿主细胞中必要的分子机制,例如DNA聚合酶和核糖体,直接转录并翻译成编码这两种蛋白质的连续多肽。

[0493] 在接头是合成聚合物,例如PEG聚合物的情况下,该聚合物可以在每一端用反应性化学官能团官能化,以与两种蛋白质连接端的末端氨基酸反应。

[0494] 在接头(上述肽键除外)由化学反应制成的情况下,化学官能团,例如胺、羧酸、酯、叠氮化物或本领域常用的其他官能团,可以分别合成连接到一种蛋白质的C端和另一种蛋白的N端。然后,这两个官能团可以通过合成化学手段反应,形成化学键,从而将两种蛋白质连接在一起。这样的化学缀合程序对于本领域技术人员来说是常规的。

[0495] 两种肽构建体之间的接头可以是氨基酸接头,包括1-200(例如,1-4、1-10、1-20、1-30、1-40、2-10、2-12、2-16、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200)个氨基酸。合适的肽接头是本领域已知的,并且包括例如含有柔性氨基酸残基如甘氨酸和丝氨酸的肽接头。在某些实施方案中,肽接头可以包括SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:144、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:147、SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:149、SEQ ID NO:245或SEQ ID NO:246。

[0496] 双特异性、稳定性增强的和修饰的抗体或其抗原结合片段

[0497] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可包括结合备解素的第一重链可变区和第二多肽,如具有第二重链可变区的第二抗体或其抗原结合片段,所述第二重链可变区与不同于第一重链可变区的表位结合以形成双特异性抗体或其抗体结合片段。

[0498] 在一些实施方案中,第二重链可变区将抗体或其抗原结合片段的体内半衰期增加至约3周至约8周。

[0499] 在其他实施方案中,第二重链可变区与白蛋白、TNF或VEGF之一结合。

[0500] 在一些实施方案中,第二多肽是白蛋白结合分子、白蛋白结合肽或抗白蛋白抗体(例如单价抗体)或其修饰形式。白蛋白结合肽是本领域已知的,并且例如在WO 2007/106120(参见表1-9)和Dennis等人,2002,J Biol.Chem.277:35035-35043描述,其公开内容通过引用结合于此。

[0501] 在一些实施方案中,第二多肽是增强构建体体内稳定性的Fc结构域。

[0502] 在一些实施方案中,第二抗体或其抗原结合片段包含与以下氨基酸序列至少约70%、至少约80%或至少约90%相同的氨基酸序列:SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:150或SEQ ID NO:152。

[0503] 在一些实施方案中,分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可在体内抑制C3b和Mac复合物(C5b-9)的形成。

[0504] 本文所述的其他实施方案涉及分离的单特异性或双特异性抗体或抗原结合片段,

包括：

[0505] 包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的抗备解素重链可变区，和包含与SEQ ID NO:25的氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列的抗备解素轻链可变区，并且

[0506] 其中所述重链可变区包括：

[0507] CDR-H1，其包含GYIFTX$_1$YPIH(SEQ ID NO:201)的氨基酸序列，其中X$_1$是N、Q、S、A或D(例如，X$_1$是Q、S，A或D)，

[0508] CDR-H2，其包含FIX$_1$PGGGX$_2$DEX$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$(SEQ ID NO:202)的氨基酸序列，其中X$_1$是D、E、S(例如，E或S)或A；X$_2$是H或Y；X$_3$是P、S或Y；X$_4$是A或D；X$_5$是D、R或Q；X$_6$是K、R或S；X$_7$是F或V；X 8是E、K、Q或R；并且X$_9$是D或G；和

[0509] CDR-H3，其包含RGGGYYLDY(SEQ ID NO:203)的氨基酸序列；并且所述轻链可变区包括：

[0510] CDR-L1，其包含RASQDISFFLN(SEQ ID NO:206)的氨基酸序列，

[0511] CDR-L2，其包含X$_1$X$_2$SX$_3$YHS(SEQ ID NO:207)的氨基酸序列，其中X$_1$是G或Y；X$_2$是A或T；并且X$_3$是R或S；和

[0512] CDR-L3，其包含QHGX$_1$TLPX$_2$T(SEQ ID NO:208)的氨基酸序列，其中X$_1$是N、A、D、Q或S(例如，A、D、Q或S)；并且X$_2$是F、H、R、W或Y(例如，F、H、R或Y)。

[0513] 在一些实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段可包含恒定链区或第二重链可变区结合中的至少一种，所述恒定链区与不同于所述抗备解素重链区的表位结合，并且其中包括所述恒定链区和第二重链可变区的抗体或抗原结合片段与没有恒定链区或第二重链可变区的抗体或其抗原结合片段相比在体内半活增强和/或免疫原性减少。

[0514] 在一些实施方案中，恒定链区包含与以下氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列：SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138或SEQ ID NO:139；并且所述第二重链可变区包含与以下氨基酸序列至少约70％、至少约80％或至少约90％相同的氨基酸序列：SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:150或SEQ ID NO:152。

[0515] 在一些实施方案中，分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段可包括具有与SEQ ID NO:247至少90％相同的氨基酸序列的重链和具有与SEQ ID NO:248至少90％相同氨基酸序列的轻链。

[0516] 单结构域抗体的产生

[0517] 在一些实施方案中，分离的单特异性或双特异性抗体或其抗原结合片段使用单结构域的抗体，该抗体是重链可变结构域(V$_H$，例如V$_{HH}$)或轻链结构域(V$_L$)。因此，产生对备解素特异性的单结构域抗体的一种方法是扩增和表达从例如表达抗备解素单克隆抗体的杂交瘤(例如，小鼠杂交瘤)分离的重链和轻链基因序列的V$_H$和V$_L$区。V$_H$和V$_L$结构域的边界由例如Kabat等人(Sequences of Proteins of Immunological Interest(National

Institutes of Health,Bethesda,Md,1991))提出。关于重链和轻链基因的V_H和V_L结构域的边界的信息用于设计PCR引物,所述PCR引物对编码抗体重链或轻链编码序列的V结构域进行扩增,所述抗体已知对备解素进行结合。将扩增的V结构域插入合适的表达载体,例如pHEN-1(Hoogenboom,H.等,Nucleic Acids Res.,19:4133-7,1991)中,并以scFv或其他合适的单价形式表达为诸如V.sub.H和V.sub.L的融合体。然后可以对得到的多肽进行与备解素的高亲和力单价结合筛选。结合的筛选可通过本领域已知的方法进行。单结构域抗体可使用本领域已知方法产生(WO2005118642;Ward,E.等人,Nature,341:544-6,1989;Holt,L.等人,Trends Biotechnol.,21:484-90,2003)。每个轻链结构域可以是κ亚组或λ亚组中的任一个。用于分离V_H和V_L结构域的方法已经在现有技术(EP0368684)中进行了描述。

[0518] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段可包括从人、人源化啮齿动物、骆驼或鲨鱼获得的单结构域抗体。任何此类单结构域的抗体可任选地进行人源化。骆驼单结构域抗体的人源化需要在单个多肽链中引入和诱变有限数量的氨基酸。这与scFv、Fab、(Fab')2和IgG的人源化形成对比,后者需要在轻链和重链这两条链中引入氨基酸变化,并保存两条链的组装。在一些实施方案中,单结构域抗体包括V_{HH}结构域。在一些实施方案中,V_{HH}结构域对应于针对备解素的天然存在的重链抗体的V_{HH}结构域。这样的V_{HH}序列可以例如通过用备解素适当地免疫一种骆驼(即,从而提高针对备解素的免疫应答和/或重链抗体),通过从所述骆驼获得合适的生物样品(例如血液样品、血清样品或B细胞样品),以及通过从所述样品开始,产生针对备解素,使用本领域已知的任何合适的技术(例如,编码单结构域抗体的基因可以通过单细胞PCR克隆,或者编码单结构区抗体的B细胞可以通过EBV转化或融合到永生细胞系而永生化)。

[0519] 或者,可以从骆驼V_{HH}序列的原始文库中获得这种天然存在的针对备解素的V_{HH}结构域,例如通过使用备解素或其至少一个部分、片段、抗原决定簇或表位使用本领域已知的一种或多种筛选技术(WO 99/37681、WO 01/90190、WO 03/025020和WO 03/035694)筛选这样的文库。或者,可以使用衍生自初始V_{HH}文库的改进的合成或半合成文库,例如通过诸如随机诱变和/或CDR混洗的技术从初始V_{HH}库获得的V_{HH}文库(WO 00/43507)。在某个实施方案中,在用辅助噬菌体感染后,构建V_{HH}文库并在噬菌体上表达。经过几轮生物筛选,可以分离并有效表达针对人备解素的单结构域抗体。

[0520] 包括V_{HH}或V_{HH}片段的融合蛋白文库可以在噬菌体、噬菌体、核糖体或合适的微生物(如酵母)上展示,以便于筛选。用于显示和筛选包括V_{HH}或V_{HH}片段的融合蛋白(组、集合或文库)的合适方法、技术和宿主生物是本领域已知的(WO 03/054016;Hoogenboom,H.,Nat.Biotechnol.,23:1105-16,2005)。

[0521] 在另一个实施方案中,一种产生包括V_{HH}或V_{HH}片段序列的融合蛋白的方法至少包括以下步骤:a)提供来源于表达免疫球蛋白序列的骆驼属物种的细胞的集合或样品;b)筛选所述细胞的集合或样品以寻找(i)表达免疫球蛋白序列的细胞,所述免疫球蛋白能够结合和/或具有对备解素的亲和力;和(ii)表达重链抗体的细胞,其中子步骤(i)和(ii)可以必要地作为单独的筛选步骤或者以合适的顺序作为两个分开的筛选步骤,以提供至少一个表达可以结合备解素和/或对备解素亲和的重链抗体;和c)(i)从细胞中分离重链抗体中存在的V_{HH}序列;或(ii)从细胞中分离编码重链抗体中存在的V_{HH}序列的核酸序列,随后表达V_{HH}结构域。

[0522] 产生针对备解素的氨基酸序列的方法可以至少包括以下步骤:a)提供编码重链抗体或V_{HH}序列的核酸序列的组、集合或文库;b)为编码重链抗体或融合蛋白的核酸序列筛选核酸序列的组、集合或文库,所述重链抗体包括能够结合和/或对备解素具有亲和力的V_{HH}序列;和c)分离核酸序列,然后分别表达重链抗体中存在的V_{HH}序列或表达包括V_{HH}序列的融合蛋白。

[0523] 从天然存在的V_H序列或V_{HH}序列开始,获得单结构域抗体和/或编码其的核酸的其他合适的方法和技术可包括,例如,以合适的方式组合一个或多个天然存在的VHH序列(如一个或多个框架区(FR)序列和/或CDR序列)的一个或多个部分、一个或多个天然存在的V_{HH}序列(如两个或多个框架区序列或CDR序列),和/或一个或多个合成或半合成序列,以提供单价抗备解素单结构域抗抗体或编码该抗体的核苷酸序列或核酸。编码V_{HH}或单结构域抗体的框架序列的核苷酸序列在本领域中是已知的,并且可以从使用本文所述方法获得的核苷酸序列开始获得聚合酶链式反应(PCR)。这样的组合物可以适当地与编码所需CDR的核苷酸序列组合(例如,通过使用重叠引物的PCR组装),以提供单结构域抗体,或与旁路补体途径的调节因子或其片段融合的抗体片段。

[0524] 识别与亲本抗体相同表位的抗体-抗原结合片段可以通过已知技术产生。例如,抗体-抗原结合片段可以通过抗体的蛋白水解或通过编码该片段的DNA在大肠杆菌中的表达来制备。抗体-抗原结合片段是抗体的抗原结合部分,例如Fab、F(ab')2和scFV可以通过常规方法或基因工程技术通过胃蛋白酶或木瓜蛋白酶消化整个抗体来获得。

[0525] 抗体-抗原结合片段可以通过用胃蛋白酶酶切抗体来产生,以提供表示为F(ab')2的100kDa片段。该片段可以使用硫醇还原剂和任选的二硫键切割产生的巯基的封闭基团进一步切割,以产生50kDa Fab'单价片段。或者,使用木瓜蛋白酶的酶切直接产生两个单价Fab片段和Fc片段(美国专利No.4,036,945和4,331,647;Nisonoff,A.等人,Arch.Biochem.Biophys.,89:230-44,1960;Porter,R.,Biochem.J.,73:119-26,1959;Edelman等人,Methods in Enzymology Vol.1,page 422(Academic Press 1967),和Coligan等人,Current Protocols in Immunology,Vol.1,pages 2.8.1-2.8.10and 2.10-2.10.4(John Wiley&Sons 1991)。

[0526] 也可以使用其他切割抗体的方法,如分离重链以形成单价轻-重链片段、片段的进一步切割、或其他酶促、化学或遗传技术,只要片段与完整抗体识别的抗原结合即可。

[0527] 抗体-抗原结合片段的另一种形式是编码单个互补决定区(CDR)的肽。CDR肽可以通过构建编码感兴趣抗体的CDR的基因来获得。例如,通过使用聚合酶链式反应从抗体产生细胞的RNA合成可变区来制备这样的基因(Larrick,J&Fry,K.METHODS-a comparative to METHODS in Enzymology Volume:New Techniques in antibody Generation,2:106-1101991);Courtenay Luck,“Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies”,Monoclonal Antibodies:Production,Engineering and Clinical Application,Ritter等人(eds.),page166-179(Cambridge University Press 1995);和Ward等人,“Genetic Manipulation and Expression of Antibodies”,Monoclonal Antibodies:Principles And Applications,Birch等人,(eds.),page 137-185(Wiley-Liss,Inc.1995)。

[0528] 其他抗体-抗原结合片段,例如单结构域抗体片段,是本领域已知的,并且可以用于要求保护的构建体(Muyldermans,S.等人,Trends Biochem.Sci.,26:230-5,2001;Yau,

K.等人,J.Immunol.Methods,281:161-75,2003;Maas,D.等人,J.Immunol.Methods,324:13-25,2007)。V_{HH}可以具有强大的抗原结合能力,并且可以与传统V_H-V_L对无法获得的新表位相互作用。骆驼科可以用已知的抗原(如备解素)免疫,并且可以分离与靶抗原结合并中和靶抗原的V_{HH}。

[0529] 用于备解素结合的抗体或其抗原结合片段的筛选

[0530] 文库筛选方法可用于鉴定备解素特异性结合抗体或其抗体结合片段。噬菌体展示技术提供了一种从大量不同的抗体库中选择结合所需靶标(例如,人备解素)的抗体的方法(Smith,G.,Science,228:1315-7,1985;Scott,J.&Smith,G.;Science,249:386-90,1990;McCafferty,J.等人,Nature,348:552-4,1990)。这些噬菌体抗体文库可分为两类:使用从人B细胞收获的重排V基因的天然文库(Marks,J.等人,J.Mol.Biol.,222:581-97,1991;Vaughan,T.等人,Nat.Biotechnol.,14:309-14,1996)或合成文库,其中种系V基因片段或其他抗体多肽编码序列在体外被"重排"(Hoogenboom,H.和Winter,G.,J.Mol.Biol.,227:381-8,1992;Nissim,A.等人,EMBO J.,13:692-8,1994;Griffiths,A.等人,EMBO J.,13:3245-60,1994;de Kruif,J.等人,J.Mol.Biol.,248:97-105,1995)或者其中合成的CDR结合到单个重排的V基因中(Barbas,C.等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4457-6,1992)。涉及基因展示包(例如噬菌体展示、多聚体展示)的方法适合于选择备解素特异性抗体构建体,因为它们通常在展示包上仅表达片段而不是完整的抗体。制备显示各种抗体片段的噬菌体展示文库的方法描述于前面的参考文献美国专利No.6,696,245中,其全部内容通过引用并入本文。

[0531] 抗体库在噬菌体表面表达后,通过将噬菌体库与固定的靶抗原(如备解素)接触、洗涤以去除未结合的噬菌体和繁殖结合的噬菌体进行选择,整个过程通常被称为"筛选"。该过程适用于筛选可在展示库(如scFv、Fab、(Fab')2和V_{HH})上表达的抗体及其抗原结合片段;Harrison,J.等人,Meth.Enzymol.,267:83-109,1996)。或者,通过对仅由折叠个体结合的固定化的一般配体(例如,蛋白A或蛋白L)进行筛选,预先选择噬菌体以表达适当折叠的成员变体(WO 99/20749)。这具有减少非功能性个体的比例,从而增加可能结合靶抗原的个体的比例的优点。噬菌体抗体文库的筛选通常由例如描述。

[0532] 通常使用固定在固体支持物(例如塑料管或孔)或色谱基质(例如Sepharose.TM.(Pharmacia))上的纯化抗原进行筛选。。筛选或选择也可以在复合抗原上进行,例如细胞表面(Marks,J.等人,Biotechnology(NY),11:1145-9,1993;de Kruif,J.等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 92:3938-42,1995)。另一种选择是通过结合溶液中的生物素化抗原进行选择,然后在链霉亲和素包被的珠子上捕获。

[0533] 药物组合物

[0534] 其他实施方案涉及包含旁路补体途径抑制剂和选择性抑制剂的制剂或组合物,所述选择性抑制剂包括但不限于在哺乳动物中阻止旁路途径激活的鼠抗体、嵌合抗体或人抗体。所述制剂包括:(a)本文所述的旁路补体途径的抑制剂;和(b)药学上可接受的载体。在一个实施方案中,所述制剂或组合物可以包括一种或多种额外的试剂,例如适合于减少患有炎症性疾病或有发展炎症性疾病风险的哺乳动物的炎症的抗炎剂。在另一个实施方案中,所述制剂或组合物可以包括一种或多种额外的试剂,例如适用于预防或减少哺乳动物的缺血再灌注损伤的额外试剂。在另一个实施方案中,制剂或组合物可以包括一种或多种

额外试剂,例如适用于治疗与旁路补体途径的激活相关的另一种疾病或病症的额外试剂。

[0535] 本文所述的单特异性或双特异性抗备解素抗体或其抗原结合片段可包含在药学上可接受的载体中,所述载体包括但不限于药学上可可接受的赋形剂和/或药学上可接收的递送载体,其适用于将制剂或组合物施用到合适的体内部位。

[0536] 一种类型的药学上可接受的载体可以包括能够将本发明的组合物缓慢释放到哺乳动物中的控释制剂。如本文所用,控释制剂在控释载体中包含本发明的制剂。合适的控释载体可以包括但不限于生物相容性聚合物、其他聚合物基质、胶囊、微胶囊、微粒、丸剂制剂、渗透泵、扩散装置、脂质体、脂质球和透皮递送系统。其它合适的载体可包括可与本文所述的单特异性或双特异性抗备解素抗体或其抗原结合片段结合或掺入的任何载体,所述载体延长了本文所述单特异性或双特性抗备解素抗体或其原抗原结合片段待递送的半衰期。这样的载体可以包括任何合适的蛋白质载体或在体内递送时延长蛋白质半衰期的融合片段。合适的递送载体可以包括但不限于脂质体、病毒载体或其他递送载体,包括核酶,以及含有天然脂质的递送载体,例如细胞和细胞膜。

[0537] 静脉内、腹膜内、肌内和肌内给药可使用本领域标准的方法进行。气雾剂递送可使用本行业标准的方法。用于递送气雾制剂的装置可包括但不限于加压计量吸入器(“MDI”)、干粉吸入器,以及计量溶液装置(“MSI”),包括喷雾器和吸入器。

[0538] 本文所述的另一种类型剂量的单特异性或双特异性抗备解素抗体或其抗原结合片段,或特别是当抗体制剂通过雾化递送时,包括哺乳动物的约200ng/kg至约600/ng/kg体重、约200ng/kg至约500ng/kg,哺乳动物的约200ng/kg至约400μg/kg、约200ng/kg至约300μg/kg、约200ng/kg及约200μg/kg、约200ng/kg至约100μg/kg,优选约200ng/kg至约50μg/kg体重。

[0539] 本文所述的单特异性或双特异性抗备解素抗体或其抗原结合片段可以在-SH基团或不干扰结合的任何其他位置与合成或生物实体缀合。这样的缀合物也可以包含在本发明中。

[0540] 抗备解素抗体或抗原结合片段的用途

[0541] 在一些实施方案中,抗备解素抗体或抗原结合片段可用于在患有急性或慢性病理损伤的受试者(包括人类)体内通过旁路途径抑制补体激活。例如,抗备解素抗体或抗原结合片段可用于治疗以下补体介导的或相关的疾病、病症或状况,包括但不限于:

[0542] 体外循环疾病和病症:体外循环后炎症、术后肺功能不全、体外循环、血液透析、去白细胞、血浆置换、血小板置换、肝素诱导的体外低密度脂蛋白沉淀(HELP)、灌注后综合征、体外膜肺氧合(ECMO)、体外循环(CPB)、灌注后综合征、全身炎症反应和多器官衰竭。

[0543] 心血管疾病和病症:急性冠状动脉综合征、川崎病(动脉炎)、多发性大动脉炎(Takayasu arteritis)、过敏性紫癜肾炎、血管渗漏综合征、经皮冠状动脉介入治疗(PCI)、心肌梗死、急性心肌梗死后的再灌注损伤、动脉粥样硬化、血管炎、免疫复合血管炎、与类风湿性关节炎相关的血管炎(也称为恶性类风湿关节炎)、系统性红斑狼疮相关的血管炎症、败血症、动脉炎、动脉瘤、心肌病、扩张型心肌病、心脏手术、外周血管状况、肾血管状况、心血管状况、脑血管状况、肠系膜/肠道血管状况、糖尿病性血管病、静脉气体栓塞(VGE)、韦格纳肉芽肿、肝素诱导的体外膜肺氧合和白塞综合征。

[0544] 骨骼/肌肉骨骼疾病和病症:关节炎、炎症性关节炎、非炎症性关节病、类风湿性关

节炎、幼年类风湿性关节病、系统性幼年类风湿性炎、骨关节炎、骨质疏松症、系统性红斑狼疮(SLE)、白塞综合征和干燥综合征(Sjogren'ssyndrome)。

[0545] 移植疾病和病症:移植排斥反应、异种移植物排斥反应、移植物抗宿主疾病、器官或移植物的异种移植、器官或移植植物的同种异体移植和超急性排斥反应。

[0546] 眼睛/眼部疾病和病症:湿性和干性年龄相关性黄斑变性(AMD)、脉络膜神经血管化(CNV)、视网膜损伤、糖尿病视网膜病变、糖尿病视网膜微血管病、眼组织胞浆菌病、葡萄膜炎、糖尿病黄斑水肿、糖尿病视网膜病、糖尿病视网膜显微血管病、病理性近视、视网膜中央静脉阻塞(CRVO)、角膜新生血管、视网膜新生血管、色素上皮(RPE)、眼组织胞浆菌病和普氏视网膜病变。

[0547] 溶血/血液疾病和病症:败血症、全身炎症反应综合征(SIRS)、失血性休克、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、灾难性抗磷脂综合征(CAPS)、冷凝集素病(CAD)、自身免疫性血栓性血小板减少性紫癜(TTP)、内毒素血症、溶血性尿毒症综合征(HUS)、非典型溶血性尿毒症综合症(aHUS)、阵发性夜间血红蛋白尿(PNH)、败血症、感染性休克、镰状细胞性贫血、溶血性贫血、嗜酸性粒细胞增多综合征和抗磷脂综合征(APLS)。

[0548] 呼吸系统/肺部疾病和病症:哮喘、韦格纳肉芽肿、输血相关急性肺损伤(TRALI)、抗肾小球基底膜疾病(Goodpaste病)、嗜酸性肺炎、超敏性肺炎、过敏性支气管炎、支气管痉挛、反应性气道疾病综合征、呼吸道合胞病毒(RSV)感染、副流感病毒感染、鼻病毒感染、腺病毒感染、过敏性支气管肺曲霉菌病(ABPA)、肺结核、寄生性肺病、成人呼吸窘迫综合征、慢性阻塞性肺病(COPD)、结节病、肺气肿、支气管炎、囊性纤维化、间质性肺病、急性呼吸窘迫综合症(ARDS)、输血相关急性肺损伤、缺血/再灌注急性肺损伤、脓毒症、肝素诱导的体外膜肺氧合、过敏性休克和石棉诱导的炎症。

[0549] 中枢和外周神经系统/神经系统疾病和病症:多发性硬化症(MS)、重症肌无力(MG)、重症监护症、多发性痴呆症、吉兰巴雷综合征、米勒-费舍尔综合征、中风、中风后再灌注、阿尔茨海默病、多灶性运动神经病(MMN)、脱髓鞘、亨廷顿舞蹈症、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、帕金森病、退行性椎间盘疾病(DDD)、脑膜炎、脑膜炎引起的脑神经损伤、变异型克雅氏病(vCJD)、特发性多发性神经病、脑/脑创伤(包括但不限于出血、炎症和水肿)、视神经脊髓炎(NMO),包括水通道蛋白-4(AQP4)-IgG自身抗体血清学阳性的患者,以及神经性疼痛。

[0550] 创伤引起的损伤和病症:失血性休克、低血容量性休克、脊髓损伤、神经元损伤、脑创伤、脑缺血再灌注、挤压伤、伤口愈合、严重烧伤和冻伤。

[0551] 肾脏疾病和病症:肾再灌注损伤、环周后肾小球肾炎(PSGN)、Goodpaste病、膜性肾炎、Berger病/IgA肾病、系膜增生性肾小球肾炎、膜性肾小球肾炎、膜增殖性肾小球肾炎(系膜毛细血管性肾小球肾炎)、急性感染后肾小球肾炎、冷球蛋白血症性肾小球肾炎、狼疮性肾炎、过敏性紫癜性肾炎和肾皮质坏死(RCN)。

[0552] 再灌注损伤和器官病症:包括但不限于心、脑、肾和肝。

[0553] 生殖和泌尿生殖系统疾病和病症:疼痛性膀胱疾病和病症、感觉性膀胱疾病和病症、自然流产、不育引起的男性和女性疾病、妊娠引起的疾病、胎儿耐受性、先兆子痫、泌尿生殖系统炎性疾病、胎盘功能障碍引起的疾病和病症、慢性细菌性膀胱炎和间质性膀胱病。

[0554] 皮肤/皮肤科疾病和病症:烧伤、银屑病、特应性皮炎(AD)、嗜酸性海绵状细胞病、荨麻疹、热损伤、类天疱疮、获得性大疱性表皮松解症、自身免疫性大疱皮肤病、大疱性类天

疱疮、硬皮病、血管性水肿、遗传性血管神经性水肿(HAE)、多形性红斑、妊娠疱疹、干燥综合征、皮肌炎和疱疹样皮炎。

[0555] 胃肠道疾病和病症:克罗恩病、腹腔疾病/谷蛋白敏感性肠病、惠普尔病、肠缺血、炎症性肠病和溃疡性结肠炎。

[0556] 内分泌疾病和病症:桥本甲状腺炎、青少年淋巴细胞性甲状腺炎、应激性焦虑和其他影响泌乳素、生长或胰岛素样生长因子、促肾上腺皮质激素释放、胰腺炎、艾迪生病、糖尿病,包括但不限于1型和2型糖尿病、I型糖尿病、结节病,糖尿病视网膜微血管病、非肥胖型糖尿病(IDDM)、血管病、IDDM或2型糖尿病的神经病变或视网膜病变并发症以及胰岛素抵抗。

[0557] 恶性肿瘤的治疗:由化疗和放射治疗引起的疾病和病症。

[0558] 实施例

[0559] 备解素是补体系统的激活剂。它是旁路途径(AP)的唯一内源性激活剂。此外,备解素对经典途径(CP)没有影响;因此,阻断备解素的形成仍然保留了CP的许多基本机制。

[0560] 使用可变链、恒定链和接头构建以下抗备解素抗体及其抗原结合片段。在这些序列和接头中的每一个中进行取代,以产生抗备解素抗体的多种变体和实施方案。

[0561] 实施例1

[0562] 实施例1描述了抗备解素抗体NMT16-NMT28的结构和氨基酸序列。NMT16-NMT28的可变轻链和重链序列的CDR区(SEQ ID NO:2-14和24-37)如图1和表1所示。框架区来自NMT16的重链(SEQ ID NO:2)和轻链(SEQ ID NO:24)序列。V_H区(SEQ ID NO:204)和V_L区(SEQ ID NO:209)的CDR区包含涵盖抗备解素抗体NM5072的变体的多个取代,其中可在CDR区中被取代的氨基酸标记为X。

[0563] Presta人源化小鼠可变序列抗备解素抗体9401(SEQ ID NO:15-23和38-39)以相同方式呈现。CDR区包含涵盖所有人源化9401序列的多个取代,并且所使用的框架区来自Presta h9401-H1重链(SEQ ID NO:15)和h9401-L1轻链(SEQ ID NO:38)。V_H区(SEQ ID NO:205)和V_L区(SEQ ID NO:210)的CDR区包含多个取代,其中可以在CDR区中被取代的氨基酸标记为X。NM5072和Presta 9401的氨基酸取代的完整列表可以在下表中找到。

[0564]

NM5072 实施例 1 (NMT16-NMT28) 和 Presta 小鼠 9401			
SEQ ID NO: 204 和 209 的 CDR 区			
	CDR1	CDR2	CDR3

[0565]

重链	GYIFTX$_1$YPIH (SEQ ID NO: 201) 其中 X$_1$ 是 N、Q、S、A、D	FIX$_1$PGGGX$_2$DEX$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$ (SEQ ID NO: 202) 其中 X$_1$ 是 D、E、S 或 A；X$_2$ 是 H 或 Y；X$_3$ 是 P、S 或 Y；X$_4$ 是 A 或 D；X$_5$ 是 D、R 或 Q；X$_6$ 是 K、R 或 S；X$_7$ 是 F 或 V；X$_8$ 是 E、K、Q 或 R；X$_9$ 是 D 或 G	RGGGYYLDY (SEQ ID NO: 203) 无取代
轻链	RASQDISFFLN (SEQ ID NO: 206) 无取代	X$_1$X$_2$SX$_3$YHS (SEQ ID NO: 207) 其中 X$_1$ 是 G 或 Y；X$_2$ 是 A 或 T；X$_3$ 是 R 或 S	QHGX$_1$TLPX$_2$T (SEQ ID NO: 208) 其中 X$_1$ 是 A、D、N、Q 或 S；X$_2$ 是 F、H、R、W 或 Y

[0566] 图1的Ab结构是一种单特异性抗体,其包含来自NM5072或Presta人源化小鼠9401的V_H和V_L的fAb区。可变链序列的不同组合可以与不同的氨基酸CDR取代和框架变体一起使用。当将V_H连接到Fc区时,可以实现进一步的组合。重链可以使用表7中的任何接头连接到表6中存在的任何Fc,最常见的是ASTK接头(SEQ ID NO:245),而V_L将使用RTVAAP接头(SEQ ID NO 247)连接到CL(SEQ ID NO:246)。重链和轻链序列通过二硫键连接在一起,二硫键出现在胱氨酸残基处的CH1和CL链之间。类似地,在两个fAb的铰链区之间形成二硫键,从而形成完整的单克隆抗体。抗体可以通过用抗Alb序列或结合不同靶标的fAb取代NM5072或Presta fAb之一而制备为双特异性。

[0567] 对于NM5072,最重要的因素是识别序列CDR区的取代。CDR区允许抗体识别其特定的结合位点,在这种情况下是备解素,以阻断旁路途径的激活。进行了四次主要的重链取代。一个取代是用I取代氨基酸V;另一个取代是用A取代氨基酸K;第三个取代是用E、S或A取代氨基酸D,也称为Asn/Pro片段取代;最后的取代是用Q、S、A或D取代氨基酸N,也称为脱酰胺取代。

[0568] 轻链有三个主要取代。一个取代是用T取代氨基酸A;另一个取代有脱酰胺取代;最后的取代是用H、Y或F取代氨基酸W,也称为色氨酸氧化取代。

[0569] 当将所有NM5072序列(NMT16-NMT28)相互比较时,所有其他取代都基于CDR区的轻微变化。框架区的差异被列为单独的序列。

[0570] 额外的CDR变体和框架区中的差异在表1中作为单独的序列列出。

[0571]

表1 – 重链	
NMT15 - HC	QVQLVQSAPEVAKPGTSVKMSCKASGYIFTNYPIHWVKQAPGQG LEWIGFIDPGGGYDEPDERFRDRATLTADKSTSTAYMELSSLRSED TAIYYCARRGGGYYLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 1)
NMT16 - HC	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEPDERFRDRVTM TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO: 2)
NMT17 - HC	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRVTM TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO: 3)
NMT18 - HC	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRVTM TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO: 4)
NMT19 - HC	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGHIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGHDEP DERFRDRVTM TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO: 5)

[0572]

NMT20 - HC	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRVTM TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO: 6)
NMT21 - HC	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEY AQKFQGRVTL TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTLTVSS (SEQ ID NO: 7)
NMT22 - HC	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDES AQKFRGRVTL TADTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTLTVSS (SEQ ID NO: 8)
NMT23 - HC	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGKGLEWMGF IDPGGGHDEY ADSVKGRVTM TRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO: 9)
NMT24 - HC	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGKGLEWMGF IDPGGGHDEY ADSVKGRVTM TRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO: 10)
NMT25 - HC	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYIFT NYPIHWVRQA PGKGLEWVSF IDPGGGYDEY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKRG GGYYLDYWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO: 11)
NMT26 - HC	EVQLVESGGG LVQPGRSLRL SCAASGYIFT NYPIHWVRQA PGKGLEWVSF IDPGGGHIDY ADSVEGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAKRG GGYYLDYWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO: 12)

[0573]

NMT27 - HC	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGKGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRVTM TRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO: 13)
NMT28 - HC	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRVTM TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO: 14)
h9401-H1_HC	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRVTM TRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO: 15)
h9401-H2_HC	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRVTM TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO: 16)
h9401-H3_HC	QVQLVQSGAE VKKPGASVKM SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRATL TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTLTVSS (SEQ ID NO: 17)
h9401-H2b_HC	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRVTM TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO: 18)
h9401-H3b_HC	QVQLVQSGAE VKKPGASVKM SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRATL TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTLTVSS (SEQ ID NO: 19)

[0574]

h9401-H2c_HC	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEY AQKFQGRVTM TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO: 20)
h9401-H3c_HC	QVQLVQSGAE VKKPGASVKM SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEY AQKFQGRATL TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTLTVSS (SEQ ID NO: 21)
h9401-H2d_HC	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEY AQKFQGRVTM TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO: 22)
h9401-H3d_HC	QVQLVQSGAE VKKPGASVKM SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEY AQKFQGRATL TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTLTVSS (SEQ ID NO: 23)
轻链	
NMT15 - LC	DIQMTQSPSS LSASLGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP DGTVKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYFCQH GNTLPWTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO: 24)
NMT16 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GNTLPWTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO: 25)
NMT17 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GSTLPWTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO: 26)
NMT18 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP

[0575]

	GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GQTLPWTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO: 27)
NMT19 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GQTLPWTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO: 28)
NMT20 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GSTLPYTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO: 29)
NMT21 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GQTLPWTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO: 30)
NMT22 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GSTLPYTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO: 31)
NMT23 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GSTLPWTFGQ GTKVEIK (SEQ ID NO: 32)
NMT24 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYG ASSYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GQTLPRTFGQ GTKVEIK (SEQ ID NO: 33)
NMT25 - LC	EIVLTQSPGT LSLSPGERAT LSCRASQDIS FFLNWYQQKP GQAPRLLIYY TSRYHSGIPD RFSGSGSGTD FTLTISRLEP EDFAVFYCQH GSTLPRTFGQ GTKVEIK (SEQ ID NO: 34)
NMT26 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCQH GSTLPYTFGQ GTKVEIK (SEQ ID NO: 35)
NMT27 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP

[0576]

	EDFATYYCQH GSTLPRTFGQ GTKVEIK (SEQ ID NO: 36)
NMT28 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GQTLPWTFGQ GTKVEIK (SEQ ID NO: 37)
h9401-L1_LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GNTLPWTFGQ GTKLEIKR (SEQ ID NO: 38)
h9401-L2_LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAVKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GNTLPWTFGQ GTKLEIKR (SEQ ID NO: 39)

[0577] 实施例2

[0578] 实施例2描述了抗备解素抗体NMT-29-NMT31的结构和氨基酸序列。NMT29-NMT31 (SEQ ID NO:40-42&45-47)的可变轻链和重链区的CDR取代如图2所示。框架区来自NMT29的重链(SEQ ID NO:40)和轻链(SEQ ID NO:45)序列。V_H区(SEQ ID NO:214)和V_L区(SEQ ID NO:219)的CDR区包含抗备解素抗体变体的多个取代,其中X表示CDR中易于取代的位置。

[0579] Presta人源化小鼠3196个可变轻链和重链序列CDR以相同的方式呈现。框架区是Presta h3196-H2重链(SEQ ID NO:43)和h3196-L3轻链(SEQ ID NO:48)。V_H区(SEQ ID NO:215)和V_L区(SEQ ID NO:220)的CDR区包含抗备解素抗体变体的多个取代,其中X表示CDR中易于取代的位置。NM3196和Presta 3196的完整取代列表如下。

[0580]

NM3196 (NMT29-NMT31)和 Presta 小鼠 3196			
SEQ ID NO: 214 和 219 的 CDR 区			
	CDR1	CDR2	CDR3
重链	GFSLSTSGX$_1$GVG (SEQ ID NO: 211) 其中 X$_1$ 是 I、K、M 或 V	HIX$_1$X$_1$DDVKSYX$_2$PALKS (SEQ ID NO: 212) 其中 X$_1$ 是 F、H、W 或 Y; X$_2$ 是 A、N、Q 或 S	IGX$_1$GYYSFDY (SEQ ID NO: 213) 其中 X$_1$ 是 A、D、E 或 S
轻链	X$_1$ASQDVSDAVA (SEQ ID NO: 216) 其中 X$_1$ 是 K 或 R	SPSYRYT (SEQ ID NO: 217) 无取代	QQHYSTPX$_1$TF (SEQ ID NO: 218) 其中 X$_1$ 是 F、H、W 或 Y

[0581]

[0582] Ab结构与图1中所示的结构相同。在这种情况下,fAb区由来自NM3196和Presta

3196的可变链制成。该抗体的多种组合可以通过使用上面列出的CDR取代来形成。V_H可以使用表7中发现的任何接头连接到表6中发现的任意恒定重链Fc区,最常见的是ASTK接头(SEQ ID NO:245)。V_L通常用RTVAAP(SEQ ID NO:247)接头连接到CL(SEQ ID NO:246)。双特异性抗体可以通过用抗Alb或与不同靶标结合的fAb取代3196fAb来产生。

[0583] 对于NM3196,CDR取代基于Presta的人源化小鼠3196。在重链序列中,出现了5个主要的取代。一个取代是用L取代氨基酸V;另一种取代是用V、I或K取代氨基酸M,也称为甲硫氨酸取代;另一个取代具有NM5072中存在的相同色氨酸取代;第四个取代是用Q、S或A取代N,也称为NM3196的Asn/Pro片段化取代;最后的取代是用E、S或A取代D,也称为NM3196的异天冬氨酸取代。

[0584] 对于轻链序列,提出了四个主要的取代。一个取代是用M或V取代氨基酸L;另一种取代是用S或T取代氨基酸A;第三个取代是用K取代氨基酸R;最后的取代是色氨酸取代。

[0585] 额外的CDR变体和框架区中的差异在表2中作为单独的序列列出。

[0586]

表 2 - 重链

NMT29 - HC	EVTLKESGPT LVKPTQTLTL TCTFSGFSLS TSGMGVGWIR QPPGKALEWL AHIWWDDVKS YNPALKSRLT ITKDTSKNQV VLTMTNMDPV DTATYYCARI GDGYYSFDYW GQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 40)
NMT30 - HC	EVTLKESGPT LVKPTQTLTL TCTFSGFSLS TSGMGVGWIR QPPGKALEWL AHIWWDDVKS YNPALKSRLT ITKDTSKNQV VLTITNVDPV DTATYYCARI GDGYYSFDYW GQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 41)
NMT31 - HC	EVTLKESGPT LVKPTQTLTL TCTFSGFSLS TSGMGVGWIR QPPGKALEWL AHIWWDDVKS YNPALKSRLT ITKDTSKNQV VLTMTNMDPV DTATYYCARI GDGYYSFDYW GQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 42)
Prest_h3196-H1_HC	QVTLKESGPT LVKPTQTLTL TCTFSGFSLS TSGMGVGWIR QPPGKALEWL AHIWWDDVKS YNPALKSRLT

[0587]

	ITKDTSKNQV VLTMTNMDPV DTATYYCARI GDGYYSFDYW GQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 43)
Prest_h3196-H2_HC	QVTLKESGPT LVKPTQTLTL TCTFSGFSLS TSGMGVGWIR QPPGKALEWL AHIWWDDVKS YNPALKSRLT ITKDTSKNQV VLTITNVDPV DTATYYCARI GDGYYSFDYW GQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 44)
轻链	
NMT29 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS DAVAWYQQKP GKAPKLLIYS PSYRYTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYSTPWTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO: 45)
NMT30 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS DAVAWFQQKP GKAPKLLIYS PSYRYTGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDFATYYCQQ HYSTPWTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO: 46)
NMT31 - LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS DAVAWFQQKP GKAPKLLIYS PSYRYTGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDLATYYCQQ HYSTPWTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO: 47)
Prest_h3196-L1_LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS DAVAWYQQKP GKAPKLLIYS PSYRYTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYSTPWTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO: 48)
Prest_h3196-L2_LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS DAVAWFQQKP GKAPKLLIYS PSYRYTGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDFATYYCQQ HYSTPWTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO: 49)
Prest_h3196-L3_LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS DAVAWFQQKP GKAPKLLIYS PSYRYTGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDLATYYCQQ HYSTPWTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO: 50)

[0588] 实施例3

[0589] 实施例3描述了抗备解素抗体的结构和氨基酸序列,其包括两种不同的人源化兔可变轻链和重链序列的CDR。人源化兔可变轻链和重链序列如图3所示(兔27-03和兔86-06)。对于兔27-03,框架区来自Presta报告的h2703-H1重链(SEQ ID NO:51)和h2703-L1轻链(SEQ ID NO:61)。对于兔86-06,框架区来自Presta报告的h8606-H2重链(SEQ ID NO:56)和h8606-L3轻链(SEQ ID NO:66)。V_H区(SEQ ID NO:224和232)和V_L区(SEQ ID NO:228和236)的CDR区包含抗备解素抗体变体的多个取代,其中X表示CDR中易于被取代的位置。27-03和86-06的CDR取代的完整列表可以在下表中找到。

[0590]

Presta 人源化兔抗 P 序列

27-03CDR 区 SEQ ID NO: 221-223 (V_H) & SEQ ID NO: 229-231 (V_L)			
	CDR1	CDR2	CDR3
重链	GFSFSSGYX$_1$IF (SEQ ID NO: 221) 其中 X$_1$ 是 F、H、W 或 Y	GIYSGSSGTTY (SEQ ID NO: 222) 无取代	SVX$_1$GIX$_1$SYX$_1$AAFX$_2$L (SEQ ID NO: 223) 其中 X$_1$ 是 A、D、E 或 S; X$_2$ 是 A、N、Q 或 S
轻链	X$_1$ASDX$_2$IYSLLA (SEQ ID NO: 229) 其中 X$_1$ 是 Q 或 R; X$_2$ 是 A、N、Q 或 S	RASTLAS (SEQ ID NO: 230) 无取代	QQHYDYX$_1$YLDVA (SEQ ID NO: 231) 其中 X$_1$ 是 A、N、Q 或 S

[0591]

86-06CDR 区 SEQ ID NO: 225-227 (V_H) & SEQ ID NO: 233-235 (V_L)			
	CDR1	CDR2	CDR3
重链	GFSFSSSYX$_1$IF (SEQ ID NO: 225) 其中 X$_1$ 是 F、H、W 或 Y	GIYSSSGRX$_1$Y (SEQ ID NO: 226) 其中 X$_1$ 是 I、K、L 或 M	SAX$_1$GSX$_1$SYX$_1$AYFTL (SEQ ID NO: 227) 其中 X$_1$ 是 A、D、E 或 S
轻链	X$_1$ASDX$_2$IYSX$_2$LA (SEQ ID NO: 233) 其中 X$_1$ 是 Q 或 R; X$_2$ 是 A、N、Q 或 S	RASTLAS (SEQ ID NO: 234) 无取代	QQHX$_1$DYDYIDVA (SEQ ID NO: 235) 其中 X$_1$ 是 F、H、W 或 Y

[0592] Ab结构是一种单特异性抗体,与NM5072和NM3196非常相似。可以使用CDR取代来制备不同的抗体序列组合。V_H可以与表6中发现的不同IgG Fc的变体相连。可用于连接这两个区的接头在表7中,最常见的是ASTK(SEQ ID NO:245)接头。VL通常使用RTVAAP(SEQ ID NO:247)接头连接到CL(SEQ ID NO:246)。抗体可以通过用抗白蛋白代替fAb中的一个或用不同靶标取代fAb来制备为双特异性。

[0593] 对于兔27-03,重链CDR有6个主要取代。一个取代是用T取代氨基酸D;另一个取代是用T取代N;另一个取代是用T取代V;一个取代是色氨酸取代;一种取代是NM3196中存在的异天冬氨酸形成取代;最后的取代是用Q、S或A取代N,也称为兔27-03的脱酰胺取代。

[0594] 人源化兔27-03轻链CDR有6个主要取代。一个取代是用V取代氨基酸L;一个取代是用Q取代R;另一种取代是用P代替A;其中一个取代是脱酰胺取代;一个取代是用K取代S;最后的取代是用V取代I。

[0595] 对于兔子86-06,重链CDR也有6个主要取代。一种取代是用A或T取代氨基酸V;另一个是色氨酸取代;一种是用L、I或K取代M,也称为兔86-06的甲硫氨酸取代;另一个取代是用T取代D;另一个取代具有用S或T取代N;最终的取代是NM3196中存在的异天冬氨酸取代。

[0596] 人源化兔86-06轻链CDR也包含6个主要取代。L可以用V代替;R可以用Q代替;其中一个取代是脱酰胺取代;A可以用R代替;一个取代是色氨酸取代;最后的取代是用V取代I。

[0597] 额外的CDR变体和框架区中的差异在表3中作为单独的序列列出。

[0598]

表3 人源化RabMab – HC	
h2703 - H1	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS SGYWIFWVRQ APGKGLEWVS GIYSGSSGTT YYADSVKGRF TISRDNSKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCAK SVDGIDSYDA AFNLWGQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 51)
h2703 - H2	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS SGYWIFWVRQ APGKGLELVG GIYSGSSGTT YYADSVKGRF TISKDNSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCAR SVDGIDSYDA AFNLWGQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 52)
h2703 - H3	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS SGYWIFWVRQ APGKGLELVG GIYSGSSGTT YYADWAKGRF TISKDNSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCAR SVDGIDSYDA AFNLWGQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 53)
h2703- H2a	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS SGYWIFWVRQ APGKGLELVG GIYSGSSGTT YYADSVKGRF TISKDSSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCAR SVDGIDSYDA AFNLWGQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 54)
h2703 - H3a	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS SGYWIFWVRQ APGKGLELVG GIYSGSSGTT YYADWAKGRF TISKDSSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCAR SVDGIDSYDA

[0599]

	AFNLWGQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 55)
h8606 - H1	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYWIFWVRQ APGKGLEWVS GIYSSSGRMY YADSVKGRFT ISRDNSKNTL YLQMNSLRAE DTAVYYCAKS ADGSDSYDAY FTLWGQGTLV TVSSS (SEQ ID NO: 56)
h8606 - H2	EVQLLESGGG LVQPGGSLRI SCAASGFSFS SSYWIFWVRQ APGKGLELIG GIYSSSGRMY YADSVKGRFT ISKDNSKNTM YLQMNSLRAE DTAVYYCARS ADGSDSYDAY FTLWGQGTLV TVSSS (SEQ ID NO: 57)
h8606 - H3	EVQLLESGGG LVQPGGSLRI SCAASGFSFS SSYWIFWVRQ APGKGLELIG GIYSSSGRMY YADWAKGRFT ISKDNSKNTM YLQMNSLRAE DTAVYYCARS ADGSDSYDAY FTLWGQGTLV TVSSS (SEQ ID NO: 58)
h8606- H2a	EVQLLESGGG LVQPGGSLRI SCAASGFSFS SSYWIFWVRQ APGKGLELIG GIYSSSGRMY YADSVKGRFT ISKDSSKNTM YLQMNSLRAE DTAVYYCARS ADGSDSYDAY FTLWGQGTLV TVSSS (SEQ ID NO: 59)
h8606 - H3a	EVQLLESGGG LVQPGGSLRI SCAASGFSFS SSYWIFWVRQ APGKGLELIG GIYSSSGRMY YADWAKGRFT ISKDSSKNTM YLQMNSLRAE DTAVYYCARS ADGSDSYDAY FTLWGQGTLV TVSSS (SEQ ID NO: 60)
兔mAb - LC	
h2703 - L1	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASDNIY SLLAWYQQKP GKAPKLLIYR ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYDYNYLDVA FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 61)
h2703 - L2	DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASDNIY SLLAWYQQKP GKAPKLLIYR ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSVQP EDFATYYCQQ HYDYNYLDVA FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 62)
h2703 - L3	DYQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASDNIY SLLAWYQQKP GKAPKLLIYR ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSVQP EDFATYYCQQ HYDYNYLDVA FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 63)
h2703- L2a	DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASDNIY SLLAWYQQKP GKAPKLLIYR ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSVQP EDAATYYCQQ HYDYNYLDVA FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 64)

[0600]

h2703 - L3a	DYQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASDNIY SLLAWYQQKP GKAPKLLIYR ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSVQP EDAATYYCQQ HYDYNYLDVA FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 65)
h8606 - L1	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQNIY SNLAWYQQKP GKAPKLLIYR ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HWDYDYIDVA FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 66)
h8606 - L2	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQNIY SNLAWYQQKP GKAPKLLIYR ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSVQP EDFATYYCQQ HWDYDYIDVA FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 67)
h8606 - L3	DYQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQNIY SNLAWYQQKP GKAPKLLIYR ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSVQP EDFATYYCQQ HWDYDYIDVA FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 68)
h8606- L2a	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQNIY SNLAWYQQKP GKAPKLLIYR ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSVQP EDAATYYCQQ HWDYDYIDVA FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 69)
h8606 - L3a	DYQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQNIY SNLAWYQQKP GKAPKLLIYR ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSVQP EDAATYYCQQ HWDYDYIDVA FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 70)
Fv - (VH HumRab 抗 ALB)	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGIDLS NYAINWVRQA PGKGLEWIGI IWASGTTFYA TWAKGRFTIS RDNSKNTVYL QMNSLRAEDT AVYYCARTVP GYSTAPYFDL WGQGTLVTVS SASTK (SEQ ID NO: 71)
Fv - (VL HumRab 抗 ALB)	DIQMTQSPSS VSASVGDRVT ITCQSSPSVW SNFLSWYQQK PGKAPKLLIY EASKLTSGVP SRFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDFATYYCG GGYSSISDTT FGGGTKVEIK RTVAAP (SEQ ID NO: 72)

[0601] IgGFc恒定链变异

[0602] 图1、图2和图3中的可变链可以组合成完整的fAb区并连接到完整的IgG恒定链区。全长恒定链区(Fc's)列于表6中。CH区包含存在于其序列中的变体。如名称中所述,IgG N298A-Fc在298位具有点突变,其用A取代氨基酸N。该突变并不总是发生在序列中的298位。它取决于V_H和接头的长度。

[0603] YTE Fc包含三个点突变:M253Y、S255T和T257E。与N298A-Fc一样,突变并不总是保证发生在所列位置。V_H和接头的长度将影响位置。

[0604] IgG2是一种常用的Fc序列,用于单特异性和双特异性补体靶向抗体。

[0605] IgG恒定轻链没有变化。每种抗体的CL几乎总是相同的。

[0606] 表7中列出了用于将可变链区连接到恒定链区的常见接头。最常用的可变重链接头是ASTK接头(SEQ ID NO:245),最常用的可变轻链接头是RTVAAP接头(SEQ ID NO:247)。所有其他接头通常用于将可变重链连接到恒定重链。在一些实施方案中,接头可用于将两个可变重链直接连接在一起,CH1区将它们分开。

[0607] 实施例4

[0608] 实施例4描述了单特异性和双特异性骆驼抗备解素抗体的结构和氨基酸序列。骆驼序列(LVP058和V_{HH})的CDR取代以及所选的框架区如图4所示。序列的框架区来自美国专利申请公开No.US20190352381A1的SEQ ID NO:45-51、59和61,该申请通过引用整体并入本文。V_{HH}区的CDR区(SEQ ID NO:240和244)包含骆驼抗备解素抗体变体的多个取代,其中X表示CDR中易于被取代的位置。还列出了人源化抗ALB序列。骆驼抗备解素序列的CDR取代的完整列表可以在下表中找到。

[0609]

人源化骆驼重链 Fv			
SEQ ID NO: 237-239			
	CDR1	CDR2	CDR3
重链	GRISSIIHMA (SEQ ID NO: 237) 无取代	$RX_1GTTX_1YAX_2SX_1X_3G$ (SEQ ID NO: 238) 其中 X_1 是 I 或 V; X_2 是 A、D、E 或 S; X_3 是 A 或 K	$LQYEX_1HGGAX_2Y$ (SEQ ID NO: 239) 其中 X_1 是 A 或 K; X_2 是 A、D、E 或 S
SEQ ID NO: 241-243			
	CDR1	CDR2	CDR3
重链	$GRIFEX_1X_2MMA$ (SEQ ID NO: 241) 其中 X_1 是 I 或 V; X_2 是 A、D、N、Q 或 S	$RX_1GTTTYAX_2SX_1X_3G$ (SEQ ID NO: 242) 其中 X_1 是 I 或 V; X_2 是 A、D、E 或 S; X_3 是 A 或 K	$LQYX_1RYGGAEY$ (SEQ ID NO: 243) X_1 是 A、D、E 或 S

[0610]

[0611] 图5中的结构是一种双特异性抗体,可结合备解素和白蛋白。该实施方案具有直接连接到Fc的CH2区的fAb区。由于骆驼属物种不需要V_L,因此不存在CH1区。添加Alb将有助于增加半衰期并降低这种抗体在体内的清除率。使用Presta取代,骆驼重链序列的不同组合可以连接到Fc区。

[0612] 此外,这些重链区可以与表6中所示的任何重链Fc连接,同时去除CH1区。对于这些

实施方案,可以使用表7中的任何接头,最常见的是$(G_4S)_3$接头。

[0613] 对于骆驼抗备解素序列,不存在轻链区。骆驼类物种仅包含重链结构域(V_{HH})。CDR区有四个主要的取代。这些取代基于在人源化小鼠9401和3196中发现的Presta取代。一个取代是用I取代氨基酸V;另一个取代是用A取代氨基酸K;一种取代是来自Presta报告9401的脱酰胺取代的存在;最后的取代是来自Presta报告3196的异天冬氨酸形成取代。

[0614] 这些取代并不涵盖骆驼盖重链序列CDR的所有变化。另外的CDR变体和框架区中的差异在下面的表4中作为单独的序列列出。

[0615]

表 4 骆驼抗 P

抗 P (来自 LPV058) (SEQ ID NO: 73)	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRISS IIHMAWYRQA PGKQRELVAE ISRVGTTVYA DSVKGRFTIS RDDAKNTVTL QMNSLKPEDT AVYYCNALQY EKHGGADYWG QGTQVTVSS
抗 P (来自 LPV058)	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGRISS IIHMAWFRQA PGKERELVSE ISRVGTTVYA DSVKGRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLKPEDT AVYYCNALQY EKHGGADYWG QGTLVTVSS

[0616]

	(SEQ ID NO: 74)
抗 P (来自 LPV058)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGRISS IIHMAWVRQA PGKQRELVSE ISRVGTTVYA DSVKGRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLRAEDT AVYYCNALQY EKHGGADYWG QGTLVTVSS (SEQ ID NO: 75)
沉默的人 Fc 上的 V_{HH}	EVQLLESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRISS IIHMAWYRQA PGKQRELVSE ISRVGTTVYA DSVKGRFTIS RDDAKNTVTL QMNSLKPEDT AVYYCNALQY EAHGGASYWG QGTQVTVSS (SEQ ID NO: 76)
抗备解素 - V_{HH}	QVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRISS IIHMAWYRQA PGKQRELVAE ISRIGTTVYA ESVAGRFTIS RDDAKNTVTL QMNSLKPEDT AVYYCNALQY EKHGGASYWG QGTQVTVSG (SEQ ID NO: 77)
抗备解素 - V_{HH}	QVQVVESGGG LRQTGGSLRL SCTASGRIFE VNMMAWYRQA PGKQRELVAE ISRVGTTVYA DSVKGRFTIS RDSAKNTVTL QMNSLKSEDT AVYYCNALQY DRYGGAEYWG QGTQVTVSS (SEQ ID NO: 78)
抗备解素 - V_{HH}	QVQLVESGGG LRQTGESLRL SCTASGRIFE VNMMAWYRQA PGKQRELVAE ISRVGTTTYA DSVKGRFTIS RDSAKNTVTL QMNSLKSEDT AVYYCNALQY DRYGGAEYWG QGTQVTVSG (SEQ ID NO: 79)
抗备解素 - V_{HH}	QVQLAESGGG LVQAGDSLKL SCTASGRIFE VNMMAWYRQA PGKDRELVAE ISRVGTTTYA

[0617]

	DSVKGRFTIS RDSAKNTVTL QMNSLKSEDT AVYYCNALQY SRYGGAEYWG QGTQVTVSG (SEQ ID NO: 80)
Fab - Vhh 结构域	QVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGGTFS SYSMGWFRQA PGKEREFVAA ITWNGVSTYY ADSVKGRFTI SRDNAKNTVY LQMNSLKPTD TAVYYCAAEI TTRYSGFYYY EDNKSYDYWG QGTQVTVSS (SEQ ID NO: 81)
Fab - Vhh 结构域	QVQLIESGGG LVQAGDSLRL SCATSEGTFS RFAMGWFRQA PGKEREFVAA INWSGGITYY ADSIAGRFTI SRDNAKNTVY LQMNSLKPED TADYYCAAET TTRYSGYYYY EDNKSYDYWG QGTLVTVSG (SEQ ID NO: 82)
Fab - Vhh 结构域	QVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFS TLGMGWFRQA PGKERQFVAA INWSGSSTYY ANSVKGRFTI SRDNAQSTMY LQMNSLKPED TAVYYCAADL DSRYSAYYYY SDESQYDYWG QGTLVTVSG (SEQ ID NO: 83)
Fab - Vhh 结构域	QVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFS SYAMGWFRQP PGKEREFVAA ITWRGASTYY ADPIKGRFTI SRDNAKNTVY LQMSSLKPED TAVYYCAAEE PSYYSGSYYY MMGESYAYWG QGTLVTVSG (SEQ ID NO: 84)
Fab - Vhh 结构域	QVHLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFS SYAMGWFRQP PGKERQFVAA ITWSGSSIYY ADSIKGRFTI SRDNAKNTVY LQMNSLKPED TAVYYCAAEE TSAYSGSYYY MMGDSYSYWG QGTQVTVSG (SEQ ID NO: 85)

[0618]

Fab - Vhh 结构域	QVQLVESGGG LVQPGGSLSL SCAASGRTFS SYAMGWFRQA PGKEREWVAA ITWSGANIYY ADSIKGRFTL SRDNAENTVW LQLNSLKPED TAVYYCAAAE SGRYSGRAYY SAPGVYLYWG QGTLVTVSG (SEQ ID NO: 86)
Fab - Vhh 结构域	QVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFS NYAMAWFRQA PGKEREFVAS ISGSGDSRYY ADSVKGRFTI SRDNAKNTVY LQTNSPKPED TAVYYCAAVL PTRYSGFYYY SDGTQYHYWG QGTQVTVSS (SEQ ID NO: 87)
Fab - Vhh 结构域	QVRLVESGGG LVQAGDSLRL SCATSGRTLS SYAMGWFRQA PGKEREFVAA TTWRDTSTYY ADSVKGRFTI SRDNAKNTVY LQTNSLKPED TAAYYCAAEE PSKYSGRSYY MMGASYDYWG QGTQVTVSS (SEQ ID NO: 88)
Fab - Vhh 结构域	QVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCATSGGTFS SYAMGWFRQA PGKEREFVAA TTWQGSNRYY AESVAGRFTI SRDNAKSTVW LQMNSLKPED TAVYYCAAEH STRYSGFYYY TRGETYHYWG QGTQVTVSG (SEQ ID NO: 89)
Fab - Vhh 结构域	QVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCATSGGTFS SYAMGWFRQA PGKEREFVAA TTWQGSNRYY AESVAGRFTI SRDNAKSTVW LQMNSLKPED TAVYYCAAEH STRYSGFYYY TRGETYHYWG QGTQVTVSG (SEQ ID NO: 90)
Fab - Vhh 结构域	QVQLVESGGG LVQAGDSLRF SCAASGFTFS SYAMGWFRQA PGKEREFVAA ITWSGVSTYY ADSIAGRFTI SRDNAKNRVY LQMNSLKPED

[0619]

	TADYSCAADG SGRYSGMEYY NRDWVYDYWG QGTQVTVSS (SEQ ID NO: 91)
Fab - Vhh 结构域	QVQLVESGGG LVQAGDSLRF SCAASGFTFS SYAMGWFRQA PGKEREFVAA ITWSGVSTYY ADSIAGRFTI SRDNAKNRVY LQMNSLKPED TADYSCAADG SGRYSGMEYY NRDWVYDYWG QGTQVTVSS (SEQ ID NO: 92)
Fab - Vhh 结构域	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFG SADMSWVRQA PGKGPEWVSA INSNGGSTYY AASVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLKPED TAVYYCAQGN WYTEEYHYWG QGTQVTVSG (SEQ ID NO: 93)
Fab - Vhh 结构域	QVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFS SYAMGWFRQA PGKEREFVAA IGWNGEGIYY ADSVKGRFTI SRDNAKNTGY LQMNSLKPED TAVYYCAADS EGVVPGFPIA YWGQGTQVTV SG (SEQ ID NO: 94)
Fab - Vhh 结构域	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCATSGRPFS SYAMGWFRQA PGKEREIVAG LSWSGGQIYY ADSVKGRFTI SRDNAKNTGD LQMNSLKPED TAVYYCAIGP ALTTGPTAYR YWGQGTQVTV SS (SEQ ID NO: 95)
Fab - Vhh 结构域	QVHLVESGGG LVQAGGSLRL SCTASGGTVG DYAVGWFRQA PGKERELIGV VSRLGARTGY ADSVLGRFTI SRDDVKNTVF LQMDSVKPED TAVYYCAARR DYSFEVVPYD YWGQGTQVTV SG (SEQ ID NO: 96)
Fab - Vhh 结构域	QVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGRTFS

[0620]

	SYSMGWFRQR HGNEREFVAA ISWSGRSTYY AESVKGRFAI SRDNANTTVY LQMNSLKPED SAVYYCAAST RGWYGTQESD YNFWGQGTQV TVSG (SEQ ID NO: 97)
Fab - Vhh 结构域	QVQLIESGGG LVQAGGSLRL SCTASGRTFS NYAMGWFRQA PGKEREFLAA ISRSGESTQY ATFVKGRFAI ARDNAKNTVS LQMNSLKPED TAVYFCAAKI AVLVSTTYNS QYEYWGQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 98)
Fab - Vhh 结构域	QVQLIESGGG LVQEGASLRL SCAGSGPMFS RLAVGWFRQA PGKEREFVAV INWSGSADFY TNSVKGRFTI SRDNAKNTVY LEMNTLKPED SAVYYCAADQ NPLTLRTGVR DVGRQWGQGT EVTVSS (SEQ ID NO: 99)
Fab - Vhh 结构域	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTLD YYAIGWFRQA PGKEREGVSC ISRTDGSTYY ADSVKGRFTI SRDNAKNTVY LQMNSLKPED TAVYYCAVDD SYPTGGISCL FGHFGSWGQG TQVTVSS (SEQ ID NO: 100)
Fab - Vhh 结构域	QVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFS SYAMGWFRQA PGKEREFVAA VPWTYGSKYY ADSVKGRFTI SRDDAKNTVY LQMNNLKPED TAVYYCAADS SAGYYSGFDY YSAATPYDLW GQGTQVTVSG (SEQ ID NO: 101)
Fab - Vhh 结构域	QVQMVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGLTNR IRIMGWYRQA PGKLRELVAT ITNDGSTHYA DSVKGRFTIS TDNAKNTVFL QMNSLKPEDT AVYICNVGEN WGPAYWGQGT QVTVSG (SEQ ID

[0621]

	NO: 102
Fab - Vhh 结构域	QVQLVESGGG LVQAGGSLXL SCAASGSDRR INGMGWYRHP PGKQRELVAA ITSGGSTNYA DSVKGRFTIS TNNANNMMYL QMNSLKPEDT AVYYCAIDEF GTGWLDYCGQ GTQVTVSG (SEQ ID NO: 103)
Fab - Vhh 结构域	QVLLEESGGG LERTGGSLRL SCAASGSIFS VNSMTWYRQA PGKRREFLGT ITEEGRTNYA DSVKGRFTIS RDNAKNTMYL QMNSLKPEDT AVYYCYANLI SSEDRTFGVW GQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 104)
Fab - Vhh 结构域	QVHMVESGGG LVQAGGSLRF SCAASGNIFT ISTLDWYRQA PGEQRELVAT LTPDGITDYA GSVKGRFTIS RDNAKNTVYL QMNSLKPEDT AVYYCNAWRY SDDYRGRVDY WGQGTQVTVS G (SEQ ID NO: 105)
Fab - Vhh 结构域	QVQLMESGGG EVQAGGSLRL SCAASGSIFD ISAMGWYRQA PGKQRELVAD ITSSGSTQYA DSVKGRFTIS RDNAKNTVYL QMNSLKPEDT AVYTCAAESI RESQNRHQLG YMGPLYDYWG QGTQVTVSG (SEQ ID NO: 106)
Fab - Vhh 结构域	QVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGSDYY AIGWFRQAPG KEREGVSCMS RTDGSTYYAD SVKDRFTISR DYAKNTVYLQ MNSLKPEDTA VYYCGLDRSY PTGGISCLFG DFGSWGQGTQ VTVSG (SEQ ID NO: 107)
人抗 Alb	EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGRPVS NYAAAWFRQA PGKEREFVSA INWQKTATYA

[0622]

	DSVKGRFTIS RDNAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCAAVFR VVAPKTQYDY DYWGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 108)

[0623] 实施例5

[0624] 实施例5描述了另外的双特异性抗备解素抗体的结构和氨基酸序列。该序列包含抗白蛋白链、骆驼抗备解素重链和NovelMed的NMT15轻链和重链的变体。

[0625] 抗备解素抗体

[0626]

序列号	mAb	序列分布
1	单链	具有骆驼抗备解素的人抗白蛋白
2	单链	具有骆驼抗备解素的人源化抗白蛋白
3	(Fab)2接头	两个NMT15轻链和重链Fab区
4	Alb-Fab接头	具有NMT15 Fab的人抗白蛋白
5	Alb-Fab接头	具有NMT15 Fab区的人源化抗白蛋白

[0627] 根据美国专利申请公开No.20190352381A1以及第一和第四构建体中的人抗白蛋白序列,对这些抗体的骆驼抗备解素重链序列进行了修饰。构建体2和5中的人源化抗白蛋白序列由美国专利申请公开No.2007/0269422A1修改,该申请通过引用整体并入本文。NMT15轻链和重链是通过人源化上述原始Presta序列的小鼠抗备解素Fab区产生的。抗白蛋白用于合成这些新的构建体,以帮助延长药物的半衰期和生物利用度。抗白蛋白氨基酸序列的实例列于表5中。每个构建体的完整序列可以在图6-8中找到。

[0628] 对于上表中的所有序列,使用(G4S)3接头(GGGSGGGSGGGS)(SEQ ID NO:143)连接序列。在图6中,抗白蛋白与骆驼抗备解素连接。类似地,在图7中,两个相同的Fab区(NMT15 HC/LC)连接在一起以产生完整的mAb。在图8中,图6中的抗白蛋白序列与图7中的Fab区连接,形成完整的mAb。特别是对于序列NMT1003-NMT1005,重链区连接到仅包含CH1区的Fc(SEQ ID NO 138),轻链区连接至CL(SEQ ID NO139)。

[0629]

表 5 -抗 ALB

[0630]

ALB1 (PMP6A6)	AVQLVESGGG LVQPGNSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKEPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNAKTTLY LQMNSLKPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTQ VTVSS (SEQ ID NO: 109
ALB3 (ALB1、HUM1)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKEPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNAKTTLY LQMNSLKPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTQ VTVSS (SEQ ID NO: 110)
ALB4 (ALB1、HUM2)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMSWVRQA PGKEPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNAKTTLY LQMNSLKPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTQ VTVSS (SEQ ID NO: 111)
ALB5 (ALB1、HUM3)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNAKTTLY LQMNSLKPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTQ VTVSS (SEQ ID NO: 112)
ALB6 (ALB1、HUM1)	EVQLVESGGG LVQPGNSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNAKTTLY LQMNSLKPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 113)
ALB7 (ALB1、HUM2)	EVQLVESGGG LVQPGNSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNAKTTLY LQMNSLRPED

[0631]

	TAVYYCTIGG SLSRSSQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 114)
ALB8 (ALB1、HUM3)	EVQLVESGGG LVQPGNSLRL SCAASGFTFS SFGMSWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRETI SRDNAKTTLY LQMNSLRPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 115)
ALB9 (ALB1、HUM4)	EVQLVESGGG LVQPGNSLRL SCAASGFTFS SFGMSWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRETI SRDNAKNTLY LQMNSLRPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 116)
ALB10 (ALB1、HUM5)	EVQLVESGGG LVQPGNSLRL SCAASGFTFS SFGMSWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRPED TAVYYCTIGG SLSRSGQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 117)
ALB11	EVQLVESGGG LVQPGNSLRL SCAASGFTFS SFGMSWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNAKTTLY LQMNSLRPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 118)
ALB23	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKGPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 119)
ALB23A	AWQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR

[0632]

	SFGMSWVRQA PGKGPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 120)
ALB23B	AWQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKGPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTQ WTVSS (SEQ ID NO: 121)
ALB23C	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKGPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTQ VTVSS (SEQ ID NO: 122)
ALB23D	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKGPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 123)
ALB23E	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKGPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTL WTVSS (SEQ ID NO: 124)
ALB23F	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKGPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTL WTVSS (SEQ ID

[0633]

	NO: 125)
ALB23G	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKGPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 126)
ALB23H	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKGPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 127)
ALB23I	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKGPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTL WTVSS (SEQ ID NO: 128)

[0634] 实施例6

[0635] 实施例6描述了双特异性抗备解素抗体的结构和氨基酸序列。本实施例和下表中描述的双特异性抗备解素抗体被设计为在循环中更稳定和更持久。将抗白蛋白序列连接到抗备解素抗体或其抗原结合片段允许抗体与血清白蛋白结合,从而使其具有更长的半衰期和循环时间。此外,Fc区的加入也可以帮助增加抗体的半衰期,并提高整体结构的稳定性。使用表6中列出的不同Fc、表7中列出的接头和表8中列出的fAB结合区构建的双特异性抗P抗体的多个实施方案一般在下面的表和实施方案中描述。

[0636]

单特异性 LVP058 w/ IgG4 Fc
双特异性 LVP058 – 抗 ALB w/ IgG 4 Fc
双特异性 LVP058 – ALXN 抗 ALB w/ (US20190002568A1) IgG1 Fc
双特异性 NMT16 抗 P Fab – HumRab 抗 ALB w/ (US20190002568A1) IgG1

[0637]

Fc
双特异性 Presta HumRab 抗 P – HumRab 抗 ALB w/(US20190002568A1) IgG2 Fc
双特异性 NMT16 抗 P Fab –抗 TNF Fab w/IgG Fc
双特异性 NMT16 抗 P Fab –抗 VEGF Fab w/ N298A IgG Fc

[0638] NM9625是一种与备解素结合的单特异性抗体。使用骆驼抗P序列,使用(G4S)3接头将其连接到IgG4-Fc的变体上。在IgG4-Fc的该实施方案中,不存在CH1区,并且骆驼可变重链结构域直接连接到Fc的铰链区。完整序列列表和抗体结构如图9所示。

[0639] NM9626和NM9627是双特异性抗体,与抗备解素和血清白蛋白结合。这些抗体的序列和结构如图4所示。骆驼抗P序列的变体与人源化骆驼抗白蛋白序列一起使用。这些可变重链序列用$(G_4S)_3$接头连接到IgG Fc的变体上。在IgG-Fc的这些实施方案中,不存在CH1区,并且骆驼抗P和抗Alb都直接连接到IgG-Fb的铰链区。这两种抗体之间的主要区别在于NM9626是使用与NM9625相同的IgG4-Fc形成的(SEQ ID NO:163&164),并且NM9627是使用IgG1-Fc形成(SEQ ID NO:165&166)。

[0640] NM9628是一种双特异性抗体,可与抗备解素和血清白蛋白结合。完整序列列表和抗体结构如图10所示。NovelMed的NMT16抗P抗体区与人源化兔血清白蛋白抗体结合。NMT16和抗Alb的重链区连接到完整的IgG1-Fc。NMT16和抗ALB的轻链区连接到CL。

[0641] NM9629是一种双特异性抗体,可结合备解素和血清白蛋白。完整序列列表和抗体结构如图11所示。将Presta的人源化兔27-03抗P序列与人源化的兔抗白蛋白序列组合。Presta人源化兔和抗白蛋白的重链区与具有YTE突变的IgG1全长Fc连接(SEQ ID NO:131)。Presta人源化兔和抗Alb的轻链区连接到CL。

[0642] NM9630是一种双特异性抗体,可结合备解素和TNF。完整序列列表和抗体序列如图12所示。NovelMed的NMT16-fAb与抗TNF fAb结合。重链连接到从抗TNF抗体Humira(SEQ ID NO:129)拉取的IgG1 Fc,轻链连接到CL。

[0643] NM9631是一种双特异性抗体,可结合备解素和VEGF-A。完整序列列表和抗体结构见图13。

[0644]

表 6 –半衰期 Fc_NM5072	
重链	
Fc - CH	GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 129)
Fc - CH	GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYASTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 130)
Fc - CH	GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL YITREPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYASTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 131)

[0645]

Fc - CH	GPSVFPLAPC SRSTSESTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS NFGTQTYTCN VDHKPSNTKV DKTVERKCCV ECPPCPAPPV AGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSQEDPEVQF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ FNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KGLPSSIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSQ EEMTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTP PVLDSDGSFF LYSRLTVDKS RWQEGNVFSC SVLHEALHSH YTQKSLSLSL GK (SEQ ID NO: 132)
Fc - CH	GPSVFPLAPC SRSTSESTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS NFGTQTYTCN VDHKPSNTKV DKTVERKCCV ECPPCPAPPV AGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSQEDPEVQF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ FNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KGLPSSIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSQ EEMTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTP PVLDSDGSFF LYSRLTVDKS RWQEGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSL GK (SEQ ID NO: 133)
IgG1 Fc - CH	EPKSCDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTP PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK (SEQ ID NO: 134)
IgG2 Fc - CH	ERKCCVECPP CPAPPVAGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVQFNWYV DGMEVHNAKT KPREEQFNST FRVVSVLTVV HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP APIEKTISKT KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK (SEQ ID NO: 135)
IgG4 Fc - CH	ESKYGPPCPS CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK

	TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK (SEQ ID NO: 136)
Fc (IgG4)	AESKYGPPCP PCPAPEAAGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS QEDPEVQFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQFN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKG LPSSIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSQEE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SRLTVDKSRW QEGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSLG (SEQ ID NO: 137)
Fc - CH1	GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD (SEQ ID NO: 138)
[0646] 轻链	
Fc - LC	SVFIFPPSDE QLKSGTASVV CLLNNFYPRE AKVQWKVDNA LQSGNSQESV TEQDSKDSTY SLSSTLTLSK ADYEKHKVYA CEVTHQGLSS PVTKSFNRGE C (SEQ ID NO: 139

表 7 - 接头 S

G4S	GGGGS (SEQ ID NO: 140)
G3SG	GGGSG (SEQ ID NO: 141)
SG4	SGGG (SEQ ID NO: 142)
(G4S)3	GGGGSGGGGS GGGGS (SEQ ID NO: 143)
(G4D)3	GGGGDGGGGD GGGG (SEQ ID NO: 144)
G4E	GGGGEGGGGE GGGG (SEQ ID NO: 145)

[0647]

G3D	GGGE (SEQ ID NO: 146)
G3E	GGGD (SEQ ID NO: 147)
G4A	GGGGA (SEQ ID NO: 148)
G4A/S	GGGGAGGGGA GGGGS (SEQ ID NO: 149)
表 8 –抗 TNF_抗 VEGF fAb	
Fv - (VH 抗 TNF)	EVQLVESGGG LVQPGRSLRL SCAASGFTFD DYAMHWVRQA PGKGLEWVSA ITWNSGHIDY ADSVEGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAKVS YLSTASSLDY WGQGTLVTVS SASTK (SEQ ID NO: 150)
Fv - (VL 抗 TNF)	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NYLAWYQQKP GKAPKLLIYA ASTLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCQR YNRAPYTFGQ GTKVEIKRTV AAP (SEQ ID NO: 151)
Fv - (VH 抗 VEGF)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP HYYGSSHWYF DVWGQGTLVT VSSASTK (SEQ ID NO: 152
Fv - (VL 抗 VEGF)	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIYF TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIKRTV AAP (SEQ ID NO: 153)

[0648] 实施例7

[0649] 实施例7描述了由实施例5和实施例6修饰和重建的抗体的结构和氨基酸序列。具体地,NMT1003,来自实施例5的(fAb)2单特异性抗体与来自实施例6的两个双特异性fAb区(抗P/Alb、抗P/抗TNF、抗P/抗VEGF)一起列出。主要的区别是用于连接到这些重链区的Fc的变化。通过改变Fc,可以产生获得具有更好结合、半衰期和循环时间的单特异性和双特异性抗体的能力。下表显示了已经针对实施例7开发的抗体的列表。

[0650]

1	单特异性 NMT15 仅具有 CH1 Fc 的抗 P $(fAb)_2$

[0651]

2	双特异性骆驼抗 P–抗 Alb w/ IgG1 N297A Fc
3	双特异性 NMT16 抗 P–抗 Alb w/ IgG1 YTE Fc
4	双特异性 NMT16 抗 P – HumRab 抗 Alb w/ IgG1 N297A Fc
5	双特异性骆驼抗 P – ALXN 抗 Alb w/ IgG4 (仅 CH2/CH3)
6	双特异性 NMT16 抗 P–抗 TNF w/ IgG1 YTE Fc
7	双特异性 NMT16 抗 P–抗 VEGF w/ IgG1 YTE Fc

[0652] 图7示出了仅与备解素结合的单特异性抗体。该抗体的可变重链和轻链(fAb)含有NMT15。可变重链仅连接到Fc CH1区。轻链连接到Fc-CL。两个相同的NMT15-fAb区将用(G4S)3接头连接在一起。抗体的结构也与代表NMT15fAb区以及CH1和CL区的两个椭圆一起呈现。两者之间的绿线表示将它们连接在一起的接头。

[0653] 图14示出了与抗备解素和血清白蛋白结合的双特异性抗体的序列和结构。抗备解素和抗白蛋白可变重链序列均来源于骆驼科动物。此外,两者都连接有具有N297A突变的IgG1全长Fc(天冬酰胺到丙氨酸的297位突变)。然而,这个位置会根据其连接的可变重链而变化。(G4S)3接头用于将可变链连接到恒定链。

[0654] 图15示出了与抗备解素和血清白蛋白结合的双特异性抗体的序列和结构。NMT16可变重链和轻链与骆驼抗Alb单可变重链结合。NMT16的可变重链区连接在具有YTE突变的IgG1-Fc上,有助于诱导更长的半衰期。使用(G4S)3接头将Ablynx的骆驼抗白蛋白连接到相同的Fc上。NMT16的轻链连接在CL Fc上。

[0655] 图16示出了与备解素和血清白蛋白结合的双特异性抗体的序列和结构。NMT16抗P-fAb区与人源化兔血清白蛋白结合。这类似于来自实施例6的NM9628构建体。不同之处在于,NMT16和抗ALB的重链区与IgG1 N297A-Fc连接(突变可能并不总是发生在297位,这取决于其连接的VH)。NMT16和抗ALB的轻链区连接到CL。

[0656] 图17示出了结合备解素和血清白蛋白的双特异性抗体的序列和结构。将骆驼抗备解素单可变重链与骆驼抗白蛋白单重链相结合。这两个可变重链区用(G4S)3接头连接到杜拉鲁肽(Dulaglutide)的IgG4-Fc(仅CH2/CH3区)。

[0657] 图18示出了结合备解素和TNF的双特异性抗体的序列和结构。这与实施例6的NM9630类似。NMT16-fAb与抗TNF的fAb组合。不同之处在于可变重链序列连接到IgG1 YTE Fc。轻链连接到CL。

[0658] 图19示出了结合备解素和VEGF-a的双特异性抗体的序列和结构。这与实施例6的NM9631构建体相似。NMT16-fAb与抗VEGF-AfAb组合。不同之处在于,重链与IgG1 YTE Fc相连,就像上面的双特异性构建体一样。轻链连接到CL。

[0659] 使用Presta取代,可以产生多种不同的可变链序列组合。这些序列可用于配制和测试不同的取代如何影响不同抗体结构的亲和力、溶血性和效力。此外,使用抗Alb、抗TNF、抗VEGF和IgG Fc突变产生双特异性分子的能力有助于增加这些抗体在体内的半衰期和循环时间。

[0660] 表9、表10和表11中列出了这些抗备解素抗体和其他单特异性和双特异性抗备解

素的氨基酸序列。

[0661]

表9 – 全长链SEQ ID NO

NMT 1001 - 单链 mAb 抗 Alb/骆驼抗 P (LPV058)	EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGRPVS NYAAAWFRQA PGKEREFVSA INWQKTATYA DSVKGRFTIS RDNAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCAAVFR VVAPKTQYDY DYWGQGTLVT VSSGGGSGGG SGGGSEVQLV ESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GRISSIIHMA WVRQAPGKQR ELVSEISRVG TTVYADSVKG RFTISRDNSK NTLYLQMNSL RAEDTAVYYC NALQYEKHGG ADYWGQGTLV TVSS (SEQ ID NO: 154)
NMT 1002 - 单链 mAb 抗 Alb/骆驼抗 P (LPV058)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKEPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNAKTTLY LQMNSLKPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTQ VTVSSGGGSG GGSGGGSEVQ LVESGGGLVQ PGGSLRLSCA ASGRISSIIH MAWVRQAPGK QRELVSEISR VGTTVYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVY YCNALQYEKH GGADYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 155)

[0662]

NMT 1003 - (Fab)2 Fv (VH NMT15) Fc - CH1	QVQLVQSAPE VAKPGTSVKM SCKASGYIFT NYPIHWVKQA PGQGLEWIGF IDPGGGYDEP DERFRDRATL TADKSTSTAY MELSSLRSED TAIYYCARRG GGYYLDYWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CD (SEQ ID NO: 156)
NMT-1003 - (Fab)2 Fv (VL NMT15) Fc - CL	DIQMTQSPSS LSASLGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP DGTVKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYFCQH GNTLPWTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 157)
NMT1004 - NMT15 fAb-骆驼抗 Alb Fv (VH NMT15) Fc - CH1 (G4S)3 接头 人抗 Alb	QVQLVQSAPE VAKPGTSVKM SCKASGYIFT NYPIHWVKQA PGQGLEWIGF IDPGGGYDEP DERFRDRATL TADKSTSTAY MELSSLRSED TAIYYCARRG GGYYLDYWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDGGGGSGGG GSGGGGSEVQ LVESGGGLVK PGGSLRLSCA ASGRPVSNYA AAWFRQAPGK EREFVSAINW QKTATYADSV KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTAVY YCAAVFRVVA PKTQYDYDYW GQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 158)
Fv (VL NMT15) Fc-CL	DIQMTQSPSS LSASLGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP DGTVKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYFCQH GNTLPWTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 159)

[0663]

NMT1005 - NMT15 fAb-骆驼抗 Alb Fv (VH NMT15) Fc - CH1 (G4S)3 接头 人抗 Alb	QVQLVQSAPE VAKPGTSVKM SCKASGYIFT NYPIHWVKQA PGQGLEWIGF IDPGGGYDEP DERFRDRATL TADKSTSTAY MELSSLRSED TAIYYCARRG GGYYLDYWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDGGGGSGGG GSGGGGSEVQ LVESGGGLVQ PGGSLRLSCA ASGFTFRSFG MSWVRQAPGK EPEWVSSISG SGSDTLYADS VKGRFTISRD NAKTTLYLQM NSLKPEDTAV YYCTIGGSLS RSSQGTQVTV SS (SEQ ID NO: 160)
Fv (VL NMT15)	DIQMTQSPSS LSASLGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP DGTVKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYFCQH GNTLPWTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 161)

表 10 - 全长链 SEQ ID NOs

NM9625 - 骆驼抗 P w/ IgG4 (fAb)2 骆驼 (抗 P) 接头 Fc (IgG4)	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGRISS IIHMAWFRQA PGKERELVSE ISRVGTTVYA DSVKGRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLKPEDT AVYYCNALQY EKHGGADYWG QGTLVTVSSG GGGSGGGGSG GGGSAESKYG PPCPPCPAPE AAGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLG (SEQ ID NO: 162)

[0664]

NM9626 -骆驼抗 P -抗 Alb w/ IgG4 骆驼 (抗 P) (G4S)3 接头 Fc (IgG4)	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGRISS IIHMAWFRQA PGKERELVSE ISRVGTTVYA DSVKGRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLKPEDT AVYYCNALQY EKHGGADYWG QGTLVTVSSG GGGSGGGGSG GGGSAESKYG PPCPPCPAPE AAGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLG (SEQ ID NO: 162)
抗 ALB (G4S)3 接头 Fc (IgG4)	EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGRPVS NYAAAWFRQA PGKEREFVSA INWQKTATYA DSVKGRFTIS RDNAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCAAVFR VVAPKTQYDY DYWGQGTLVT VSSGGGGSGG GGSGGGGSAE SKYGPPCPPC PAPEAAGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLG (SEQ ID NO: 163)
NM9627 - 骆驼抗 P - 抗 Alb w/ IgG1 骆驼 (抗 P) (G4S)3 接头 IgG1 - Fc	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGRISS IIHMAWFRQA PGKERELVSE ISRVGTTVYA DSVKGRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLKPEDT AVYYCNALQY EKHGGADYWG QGTLVTVSSG GGGSGGGGSG GGGSEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 164)

[0665]

抗 ALB (G4S)3 接头 IgG1 - Fc	EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGRPVS NYAAAWFRQA PGKEREFVSA INWQKTATYA DSVKGRFTIS RDNAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCAAVFR VVAPKTQYDY DYWGQGTLVT VSSGGGGSGG GGSGGGGSEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 165)
NM9628 - NMT16 fAb - LIT HumRab 抗 ALB fAb w/ IgG1 Fv - (VH NMT16) Fc - IgG1	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRVTM TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSSAS TKGPSVFPLA PCSRSTSEST AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSNFGTQTYT CNVDHKPSNT KVDKTVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK (SEQ ID NO: 166)
Fv - (VL NMT16) Fc - CL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GNTLPWTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 167)
Fv - (VH HumRab 抗 ALB)	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGIDLS NYAINWVRQA PGKGLEWIGI IWASGTTFYA TWAKGRFTIS RDNSKNTVYL QMNSLRAEDT

[0666]

Fc - IgG1	AVYYCARTVP GYSTAPYFDL WGQGTLVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSNFGTQ TYTCNVDHKP SNTKVDKTVE PKSCDKTHTC PPCPAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTPP VLDSDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K (SEQ ID NO: 168)
Fv - (VL HumRab 抗 ALB) Fc - CL	DIQMTQSPSS VSASVGDRVT ITCQSSPSVW SNFLSWYQQK PGKAPKLLIY EASKLTSGVP SRFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDFATYYCG GGYSSISDTT FGGGTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC (SEQ ID NO: 169)
NM9629 - NMT HumRab 抗 P - LIT HumRab 抗 ALB fAb w/ IgG1 YTE Fv - (VH HumRab 2703 H2) Fc - IgG1 YTE 突变	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS SGYWIFWVRQ APGKGLELVG GIYSGSSGTT YYADSVKGRF TISKDNSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCAR SVDGIDSYDA AFNLWGQGTL VTVSSASTKG PSVFPLAPSS KSTSGGTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSS LGTQTYICNV NHKPSNTKVD KKVEPKSCDK THTCPPCPAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLY ITREPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK (SEQ ID NO: 170)

[0667]

Fv - (VL HumRab 2703 L2) Fc - CL	DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASDNIY SLLAWYQQKP GKAPKLLIYR ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSVQP EDFATYYCQQ HYDYNYLDVA FGGGTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC (SEQ ID NO: 171)
Fv - (VH HumRab 抗 ALB) Fc - IgG1 YTE 突变	DIQMTQSPSS VSASVGDRVT ITCQSSPSVW SNFLSWYQQK PGKAPKLLIY EASKLTSGVP SRFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDFATYYCG GGYSSISDTT FGGGTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC (SEQ ID NO: 172)
Fv - (VL HumRab 抗 ALB) Fc - CL	DIQMTQSPSS VSASVGDRVT ITCQSSPSVW SNFLSWYQQK PGKAPKLLIY EASKLTSGVP SRFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDFATYYCG GGYSSISDTT FGGGTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC (SEQ ID NO: 173)
NM9630 - NMT16 fAb -抗 TNF w/ IgG1 Fv - (VH NMT16) Fc - IgG1	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRVTM TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK (SEQ ID NO: 174)

[0668]

Fv - (VL NMT16) Fc - CL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GNTLPWTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 175)
Fv - (VH 抗 TNF) Fc - IgG1	EVQLVESGGG LVQPGRSLRL SCAASGFTFD DYAMHWVRQA PGKGLEWVSA ITWNSGHIDY ADSVEGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAKVS YLSTASSLDY WGQGTLVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTC PPCPAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTPP VLDSDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K (SEQ ID NO: 176)
Fv - (VL 抗 TNF) Fc - CL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NYLAWYQQKP GKAPKLLIYA ASTLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCQR YNRAPYTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 177)
NM9631 - NMT16 fAb -抗 VEGF w/ IgG1 N298A Fv - (VH NMT16) Fc - IgG1 N298A	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRVTM TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS

[0669]

	VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYAST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK (SEQ ID NO: 178)
Fv - (VL NMT16) Fc - CL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GNTLPWTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 179)
Fv - (VH 抗 VEGF) Fc - IgG1 N298A	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP HYYGSSHWYF DVWGQGTLVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH KPSNTKVDKK VEPKSCDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYASTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS RDELTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK (SEQ ID NO: 180)
Fv - (VL 抗 VEGF) Fc - CL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIYF TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 181)

[0670]

表 11 – 全长链 SEQ ID NO

抗 P -抗 Alb w/ N297A Fc 骆驼抗 P - V_{HH} 接头 IgG1 N297A Fc -全长 CH	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGRISS
	IIHMAWVRQA	PGKQRELVSE	ISRVGTTVYA
	DSVKGRFTIS	RDNSKNTLYL	QMNSLRAEDT
	AVYYCNALQY	EKHGGADYWG	QGTLVTVSSG
	GGGSGGGGSG	GGGSGPSVFP	LAPSSKSTSG
	GTAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV
	HTFPAVLQSS	GLYSLSSVVT	VPSSSLGTQT
	YICNVNHKPS	NTKVDKKVEP	KSCDKTHTCP
	PCPAPELLGG	PSVFLFPPKP	KDTLMISRTP
	EVTCVVVDVS	HEDPEVKFNW	YVDGVEVHNA
	KTKPREEQYA	STYRVVSVLT	VLHQDWLNGK
	EYKCKVSNKA	LPAPIEKTIS	KAKGQPREPQ
	VYTLPPSRDE	LTKNQVSLTC	LVKGFYPSDI
	AVEWESNGQP	ENNYKTTPPV	LDSDGSFFLY
	SKLTVDKSRW	QQGNVFSCSV	MHEALHNHYT
	QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 182)		
抗 Alb 接头 IgG1 N297A Fc - 全长 CH	EVQLVESGGG	LVKPGGSLRL	SCAASGRPVS
	NYAAAWFRQA	PGKEREFVSA	INWQKTATYA
	DSVKGRFTIS	RDNAKNSLYL	QMNSLRAEDT
	AVYYCAAVFR	VVAPKTQYDY	DYWGQGTLVT
	VSSGGGGSGG	GGSGGGGSGP	SVFPLAPSSK
	STSGGTAALG	CLVKDYFPEP	VTVSWNSGAL
	TSGVHTFPAV	LQSSGLYSLS	SVVTVPSSSL
	GTQTYICNVN	HKPSNTKVDK	KVEPKSCDKT
	HTCPPCPAPE	LLGGPSVFLF	PPKPKDTLMI
	SRTPEVTCVV	VDVSHEDPEV	KFNWYVDGVE
	VHNAKTKPRE	EQYASTYRVV	SVLTVLHQDW
	LNGKEYKCKV	SNKALPAPIE	KTISKAKGQP
	REPQVYTLPP	SRDELTKNQV	SLTCLVKGFY
	PSDIAVEWES	NGQPENNYKT	TPPVLDSDGS
	FFLYSKLTVD	KSRWQQGNVF	SCSVMHEALH
	NHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO: 183)		
NMT16 fAb - Alb w/ YTE Fc NMT16 Fv - VH IgG1 YTE Fc - 全长 CH	EVQLVQSGAE	VKKPGASVKV	SCKASGYIFT
	NYPIHWVRQA	PGQGLEWMGF	IDPGGGYDEP
	DERFRDRVTM	TADTSTSTAY	MELSSLRSED
	TAVYYCARRG	GGYYLDYWGQ	GTTVTVSSAS
	TKEVQLVQSG	AEVKKPGASV	KVSCKASGYI
	FTNYPIHWVR	QAPGQGLEWM	GFIDPGGGYD
	EPDERFRDRV	TMTADTSTST	AYMELSSLRS

[0671]

	EDTAVYYCAR RGGGYYLDYW GQGTTVTVSS ASTK (SEQ ID NO: 184)
NMT16 Fv - VL Fc - CL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GNTLPWTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 185)
抗 Alb Fv - VH 接头 IgG1 YTE Fc - 全长 CH	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SFGMSWVRQA PGKEPEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNAKTTLY LQMNSLKPED TAVYYCTIGG SLSRSSQGTQ VTVSSGGGGS GGGGSGGGGS GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL YITREPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 186)
NMT16 fAb - HumRab 抗 Alb w/ N297A NMT16 Fv - VH IgG1 N297A Fc - 全长 CH	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRVTM TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYAST

[0672]

	YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK (SEQ ID NO: 187)
NMT16 Fv - VL Fc - CL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GNTLPWTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 188)
HumRab 抗 Alb Fv - VH IgG1 N297A Fc - 全长 CH	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGIDLS NYAINWVRQA PGKGLEWIGI IWASGTTFYA TWAKGRFTIS RDNSKNTVYL QMNSLRAEDT AVYYCARTVP GYSTAPYFDL WGQGTLVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTC PPCPAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY ASTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTPP VLDSDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K (SEQ ID NO: 189)
HumRab 抗 Alb Fv - VL Fc - CL	DIQMTQSPSS VSASVGDRVT ITCQSSPSVW SNFLSWYQQK PGKAPKLLIY EASKLTSGVP SRFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDFATYYCG GGYSSISDTT FGGGTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC (SEQ ID NO: 190)

[0673]

ALXN 抗 P -抗 Alb w/ IgG4 骆驼抗 P V_{HH} 接头 IgG4 Fc –仅 CH2/CH3	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGRISS IIHMAWVRQA PGKQRELVSE ISRVGTTVYA DSVKGRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLRAEDT AVYYCNALQY EKHGGADYWG QGTLVTVSSG GGGSGGGGSG GGGSAESKYG PPCPPCPAPE AAGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLG (SEQ ID NO: 191)
抗 Alb 接头 IgG4 Fc – 仅 CH2/CH3	EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGRPVS NYAAAWFRQA PGKEREFVSA INWQKTATYA DSVKGRFTIS RDNAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCAAVFR VVAPKTQYDY DYWGQGTLVT VSSGGGGSGG GGSGGGGSAE SKYGPPCPPC PAPEAAGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLG (SEQ ID NO: 192)
抗 TNF - NMT16 fAb w/ YTE Fc NMT16 Fv - VH IgG1Fc - 全长 CH	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRVTM TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSSAS TKEVQLVQSG AEVKKPGASV KVSCKASGYI FTNYPIHWVR QAPGQGLEWM GFIDPGGGYD EPDERFRDRV TMTADTSTST AYMELSSLRS EDTAVYYCAR RGGGYYLDYW GQGTTVTVSS ASTK (SEQ ID NO: 193)
NMT16 Fv - VL Fc - CL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH GNTLPWTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV

[0674]

	DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 194)
抗 TNF Fv - VH IgG1 Fc - 全长 CH	EVQLVESGGG LVQPGRSLRL SCAASGFTFD DYAMHWVRQA PGKGLEWVSA ITWNSGHIDY ADSVEGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAKVS YLSTASSLDY WGQGTLVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTC PPCPAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLYITRE PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTPP VLDSDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K (SEQ ID NO: 195)
抗 TNF Fv - VL Fc - CL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NYLAWYQQKP GKAPKLLIYA ASTLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCQR YNRAPYTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 196)
抗 VEGF - NMT16 fAb w/ Fc NMT16 Fv - VH IgG1 YTE Fc - 全长 CH	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT NYPIHWVRQA PGQGLEWMGF IDPGGGYDEP DERFRDRVTM TADTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG GGYYLDYWGQ GTTVTVSSAS TKEVQLVQSG AEVKKPGASV KVSCKASGYI FTNYPIHWVR QAPGQGLEWM GFIDPGGGYD EPDERFRDRV TMTADTSTST AYMELSSLRS EDTAVYYCAR RGGGYYLDYW GQGTTVTVSS ASTK (SEQ ID NO: 197)
NMT16 Fv - VL Fc - CL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS FFLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH

[0675]

	GNTLPWTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 198)
抗 VEGF Fv - VH IgG1 Fc - 全长 CH	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP HYYGSSHWYF DVWGQGTLVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH KPSNTKVDKK VEPKSCDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLYIT REPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS RDELTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK (SEQ ID NO: 199)
抗 VEGF Fv - VL Fc - CL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIYF TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 200)

[0676] 实施例8

[0677] NMT15-NMT22结合能力和功能测定

[0678] 与备解素的结合亲和力

[0679] 在4℃下,用人(2.0μg/50μl/孔)备解素在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中过夜包被聚苯乙烯微量滴定板。在抽吸备解素溶液后,用含有1%牛血清白蛋白(BSA)(Sigma-Aldrich,St.Louis,Mo)的PBS在室温下封闭孔2小时。没有肽或备解素包被的孔用作背景对照。将封闭溶液中的测试抗体的等分试样加入到备解素包被的孔中,并使其温育1小时以使结合发生。在室温下孵育1小时后,用PBS冲洗平板5次,并用1:2000稀释的抗备解素多克隆抗体孵育。

[0680] 如图20所示,NMT15、NMT16、NMT17和NMT18以高亲和力与备解素结合。NMT15、NMT16、NMT17和NMT18的亲和力值与NMT5072相似。

[0681] 如图21所示,NMT19、NMT20、NMT21和NMT22以高亲和力与备解素结合。NMT19、NMT20、NMT21和NMT22的亲和力值与NMT5072相似。

[0682] AP溶血的抑制

[0683] 这种细胞测定是基于rBC表面末端补体复合物的形成。结果,rRBC被裂解。裂解细胞的证据反映在700nm处光散射的逐渐减少中。rRBC在AP缓冲液中的正常人血清中孵育。rRBC的表面触发正常人血清中AP的激活。AP级联开始并导致在rBC表面形成C5b-9复合物。预期抑制激活的试剂会抑制细胞裂解。

[0684] 为了评估测试抗体对AP活化的影响,将AP缓冲液中不同浓度的测试抗体与正常人血清(10％NHS)在37℃下与固定数量的兔红细胞(Covance)在能够在700nm下读取的温控ELISA酶标仪中孵育。在700nm处测量光散射(由于完整细胞的裂解)随时间的逐渐减少。用SpectraMax 190酶标仪和SoftMax Pro软件记录和分析数据。为了计算,在每种浓度的抗体下计算总抑制作用,并将结果表示为未裂解对照的百分比。使用MicroCal Origin软件将每个浓度的数据绘制在S曲线图中。

[0685] 图22证明了NMT15、NMT16、NMT17和NMT18在抑制红细胞裂解方面的有效活性。NMT15、NMT16、NMT17和NMT18能够在与NM5072相似的浓度下抑制裂解。

[0686] 图23证明了NMT19、NMT20、NMT21和NMT22在抑制红细胞裂解方面的有效活性。NMT21能够以与NM5072相似的浓度抑制裂解。

[0687] MAC形成的抑制

[0688] C5b-9形成测定:在4℃下用PBS中的LPS(2μg/50上部孔)包被微滴度孔过夜。未包被的孔作为背景对照。抽吸LPS溶液后,用1％BSA在pH 7.4的磷酸盐缓冲盐水(PBS)中处理孔2小时。孵育2小时后,用PBS冲洗孔,并在含有10％正常人血清(NHS)的AP缓冲液中与不同浓度的抗体一起孵育。在37℃下孵育2小时以使AP活化发生后,用1:2000稀释的小鼠抗人可溶性neo-05b-9单克隆抗体检测沉积的MAC(C5b-9)。在封闭溶液中制备抗体的所有稀释液,并在室温下进行所有抗体孵育1小时。用山羊抗小鼠单克隆抗体检测一级抗体。每次孵育后,用PBS冲洗平板五次。用TMB显影平板,用1M磷酸淬灭蓝色反应。

[0689] 图24示出了显示NMT15、NMT16、NMT17和NMT18对MAC形成抑制作用的图。NMT15、NMT16、NMT17和NMT18能够以与NM5072相似的浓度抑制MAC的形成和沉积。

[0690] 图25示出了显示NMT19、NMT20、NMT21和NMT22对MAC形成抑制作用的图。NMT20和NMT21能够以与NM5072相似的浓度进行MAC形成和沉积。

[0691] 备解素-C3b结合的抑制

[0692] AP激活产生C3a和C3b,这是旁路补体途径的C3转化酶切割C3的结果。在允许旁路补体途径激活的条件下,伤寒沙门氏菌(Salmonnella Typhosa)的脂多糖在正常人血清中激活旁路补体途径。我们已经利用该测定来证明本发明的抗备解素抗体是否会抑制C3b的形成和沉积。C3b的沉积启动了旁路补体途径的启动。作为一种机制,活化和沉积的C3b提供与备解素的高亲和力结合。备解素-C3b复合物与因子B结合,该复合物被因子D切割以产生PC3bBb,这是一种旁路途径C3转化酶。随着旁路途径的进行,C5b-9复合物形成并沉积。

[0693] C3b的形成和沉积受到抑制。由于C3b的形成和沉积受到抑制,其他组分(如备解素)的沉积也受到抑制。

[0694] 在一种典型的测定中,聚苯乙烯微量滴定板孔在PBS中以2μg/50μl的LPS(伤寒沙

门氏菌的唇多糖)包被过夜。将孔与PBS中的BSA一起孵育以阻断孔中未被占据的位点。在室温下封闭2小时并用PBS冲洗后,将AP缓冲液中的正常人血清(10%)与不同浓度的抗备解素抗体和衍生片段混合。将混合物孵育到LPS包被的孔上。将板在37℃下孵育2小时。以允许补体AP激活发生。孵育后,用PBS充分洗涤平板,并用适当的抗体检测C3转化酶的成分。我们用兔抗人C3c在封闭溶液中以1:2000检测C3b,用山羊抗人P检测备解素,用羊抗人因子Bb在封闭溶液的1:500检测Bb,用HRPO偶联的neo-抗人C5b-9在封闭溶液在1:2000检测C5b-9。将平板与其各自的抗体在室温下孵育1小时。孵育后,用PBS冲洗平板,并用封闭溶液中1:2000的过氧化物酶标记的山羊抗兔C3b和1:2000的过氧化氢酶标记的兔抗山羊检测结合抗体,用于P检测。在用PBS大量洗涤后,用TMB显影所有板。用1M正磷酸淬灭蓝色。C3b、P和Bb以及MAC的存在一起指示AP C3转化酶的形成。本发明的抗体显示出抑制C3b的形成并因此抑制沉积。该数据提供了直接证据,证明抗备解素单克隆抗体可阻止C3转化酶的形成,从而阻止AP的激活。

[0695] 图26示出了显示NMT15、NMT16、NMT17和NMT18对备解素沉积的抑制作用的图。NMT15、NMT16、NMT17和NMT18能够以与NM5072相似的浓度抑制备解素与C3b的结合和备解素的沉积。

[0696] 图27示出了显示NMT15、NMT19、NMT20、NMT21和NMT22对备解素沉积抑制作用的图。NMT20和NMT21能够以与NM5072相似的浓度抑制备解素与C3b的结合和备解素的沉积。

[0697] 图28示出了显示NMT15、NMT17、NMT18、NMT20和NMT21对AP介导的C3b形成和沉积抑制作用的图。NMT15、NMT17、NMT18、NMT20和NMT21能够以相似的浓度抑制备解素与C3b和C3b沉积的结合。

[0698] 经典途径激活的抑制作用

[0699] 为了测试抗体对CP抑制的活性,将抗体致敏的绵羊红细胞(sRBC)在CP缓冲液(Ca^{2+}/Mg^{2+})中的1%正常人血清中孵育。这些sRBC激活CP,从而诱导细胞膜的裂解。细胞膜的裂解导致细胞散射的光逐渐减少。当本发明的旁路途径特异性抗体与sRBC在37℃的1%NHS中与含有Ca^{2+}和Mg^{2+}的缓冲液("CP缓冲液")一起孵育时,在从溶血开始到最大溶血结束的时间段内未观察到对溶血的影响。这意味着抗体不会影响NHS中CP的溶血活性,也不会损害CP对宿主防御病原体的预期贡献。

[0700] 本文所述的抗体,无论其所针对的靶抗原如何,都不会抑制经典途径。在典型的测定中,抗体致敏的绵羊红细胞与正常人血清一起孵育,其中含有Ca^{2+}的CP缓冲液。这些条件允许经典途径的选择性激活。从机制上讲,绵羊细胞表面的抗原-抗体复合物激活了导致红细胞裂解的经典补体途径。

[0701] 图29示出了显示通过NMT15、NMT17、NMT18、NMT20和NMT21的CP介导的MAC形成和沉积的图。NMT15、NMT17、NMT18、NMT20和NMT21不抑制CP介导的MAC形成和沉积。

[0702] 图30示出了显示CP介导的C3b通过NMT15、NMT17、NMT18、NMT20和NMT21形成和沉积的图。NMT15、NMT17、NMT18、NMT20和NMT21不抑制CP介导的C3b形成和沉积。

[0703] 表12提供了NMT15-NMT22的结合效力和功能测定的总结。

[0704]

变体	结合亲和力(pM)	AP 溶血 (μg/mL)	MAC (μg/Ml)	备解素 (μg/mL)
NMT#15	270	5	1	2
NMT#16	315	13	3	4
NMT#17	283	10	5	4
NMT#18	289	20	9	3
NMT#19	486	----	----	----
NMT#20	297	65	25	30
NMT#21	353	50	8	8
NMT#22	335	----	----	----

[0705] 实施例9

[0706] NMT23-NMT28结合亲和力和功能测定

[0707] 对备解素的结合亲和力

[0708] 图31示出了显示NMT23、NMT24、NMT25、NMT26、NMT27和NMT28与备解素结合亲和力的图。NMT23和NMT28的备解素亲和力值与NMT1510相似。

[0709] MAC形成的抑制

[0710] 图32示出了显示NMT23、NMT24、NMT25、NMT26、NMT27和NMT28对MAC形成和沉积抑制作用的图。NMT28能够以与NMT1510相似的浓度抑制MAC的形成和沉积。

[0711] AP溶血的抑制

[0712] 图33示出了显示NMT23、NMT24、NMT26和NMT27抑制AP溶血的图。NMT15、NMT16、NMT17和NMT28在与NMT1510相似的浓度下不能抑制裂解。

[0713] 抑制备解素-C3b结合

[0714] 图34示出了显示NMT28对AP介导的C3转化酶形成和备解素和C3b沉积抑制作用的图。NMT28能够以与NMT1510相似的浓度抑制备解素与C3b的结合以及备解素和C3b的沉积。

[0715] 经典途径激活的抑制

[0716] 图35示出了显示NMT28介导的CP介导的MAC形成和沉积的图。NMT28不抑制CP介导的MAC形成和沉积。

[0717] 表13提供了NMT23-NMT28的结合效力和功能测定的总结。

[0718] 表13

[0719]

变体	结合亲和力	AP溶血(μg/mL)	MAC(μg/mL)
NMT#23	176	-------	-------
NMT#24	-------	-------	-------
NMT#25	-------	-------	-------
NMT#26	-------	-------	-------
NMT#27	-------	-------	-------
NMT#28	53	8	3

[0720] 具有修饰Fc区的NMT17、NMT18、NMT28结合亲和力和功能测定与备解素的结合能力

[0721] 图36示出了显示NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101与备解素结合亲和力的图。NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101的备解素结合亲合力值与NMT1510相似。

[0722] AP溶血的抑制

[0723] 图37示出了显示NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101抑制AP溶血的图。NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101能够在与NMT1510相似的浓度下抑制裂解。

[0724] MAC形成的抑制

[0725] 图38示出了显示NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101对MAC形成抑制作用的图。NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101能够以与NMT1510相似的浓度抑制MAC的形成和沉积。

[0726] 备解素-C3b结合的抑制

[0727] 图39示出了显示NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101对AP介导的C3b形成和沉积抑制作用的图。NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101能够以与NMT1510相似的浓度抑制备解素与C3b的结合和C3b的沉积。

[0728] 表14提供了NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101的结合效力和功能测定的总结。

[0729] 表14

[0730]

构建体	亲和力(pM)	AP 溶血 (μg/mL)	MAC (μg/mL)	C3b (μg/mL)
NMT17-100	263	5	1	1
NMT17-101	499	5	1	1
NMT18-100	322	4	1	1
NMT18-101	590	5	3	1
NMT28-100	318	5	3	1
NMT28-101	425	4	3	1

[0731] 实施例10

[0732] 具有N297和Xtend Fc区的NMT17、NMT18、NMT28结合效力和功能测定

[0733] 与备解素的结合亲和力

[0734] 图40示出了显示与备解素的结合亲和力的图-N297和Xtend Fc区的比较—NMT17、NMT18、NMT28、NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101。NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101的备解素结合亲和力值与NMT1510相似。

[0735] AP溶血的抑制作用

[0736] 图41示出了显示AP溶血抑制的图-N297和Xtend Fc区的比较—NMT17、NMT18、NMT28、NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101。NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101能够在与NMT1510相似的浓度下抑制裂解。

[0737] MAC形成的抑制

[0738] 图42示出了显示抑制MAC形成的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT17、NMT18、NMT28、NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101。NMT17-100、

NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101能够以与NMT1510相似的浓度抑制MAC的形成和沉积。

[0739] 备解素-C3b结合的抑制

[0740] 图43示出了显示抑制C3b形成和沉积的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT17、NMT18、NMT28、NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101。NMT17-100、NMT17-101、NMT18-100、NMT18-101、NMT28-100和NMT28-101能够以与NMT1510相似的浓度抑制备解素与C3b的结合和沉积C3b。

[0741] 实施例11

[0742] NMT29-NMT31结合能力和功能测定

[0743] 对备解素的结合亲和力

[0744] 图44示出了显示对备解素的结合能力的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT29、NMT30和NMT31。NMT29、NMT30和NMT31的备解素结合亲和力值与NMT1510相似。

[0745] MAC形成的抑制

[0746] 图45示出了显示AP介导的MAC形成的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT29、NMT30和NMT31的比较。NMT29、NMT30、NMT31能够以与NMT1510相似的浓度抑制MAC的形成和沉积。

[0747] AP溶血的抑制

[0748] 图46示出了显示AP介导的溶血的抑制的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT29、NMT30和NMT31。NMT29、NMT30、NMT31能够在与NMT1510相似的浓度下抑制裂解。

[0749] 备解素-C3b结合的抑制

[0750] 图47示出了显示抑制AP介导的C3b形成和沉积的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT29、NMT30和NMT31。NMT29、NMT30、NMT31能够以与NMT1510相似的浓度抑制备解素与C3b的结合和C3b的沉积。

[0751] 实施例12

[0752] 具有修饰Fc区的NMT30和NMT31结合能力和功能测定

[0753] 与备解素的结合亲和力

[0754] 图48示出了显示NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101对备解素的结合效力的图。NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101的备解素结合亲合力值与NMT1510相似。

[0755] AP溶血的抑制

[0756] 图49示出了显示NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101的AP溶血抑制的图。NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101能够在与NMT1510相似的浓度下抑制裂解。

[0757] MAC形成的抑制

[0758] 图50示出了显示NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101对AP介导的MAC形成的抑制剂的图。NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101能够以与NMT1510相似的浓度抑制MAC的形成和沉积。

[0759] 备解素-C3b结合的抑制

[0760] 图51示出了显示NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101对AP介导的C3b形

成和沉积抑制作用的图。NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101能够以与NMT1510相似的浓度抑制备解素与C3b的结合和C3b的沉积。

[0761] 实施例13

[0762] 具有N297和Xtend Fc区的NMT30和NMT31结合电位和功能测定

[0763] 与备解素的结合亲和力

[0764] 图52示出了显示与备解素结合效力的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT30、NMT31、NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101。NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101的备解素结合亲合力值与NMT1510相似。

[0765] AP溶血的抑制

[0766] 图53示出了显示AP溶血抑制的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT30、NMT31、NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101。NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101能够在与NMT1510相似的浓度下抑制裂解。

[0767] MAC形成的抑制

[0768] 图54示出了显示MAC形成抑制的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT30、NMT31、NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101。NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101能够以与NMT1510相似的浓度抑制MAC的形成和沉积。

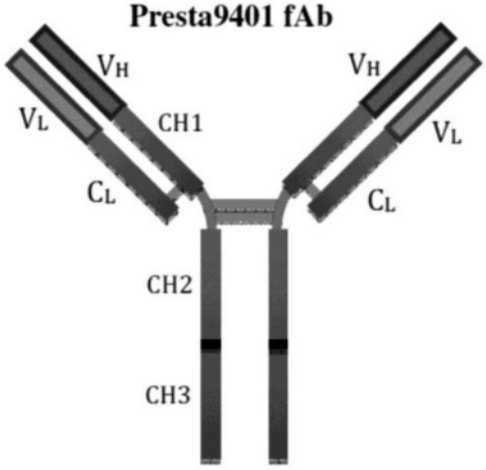
[0769] 抑制备解素-C3b结合

[0770] 图55示出了显示C3b形成和沉积抑制的图—N297和Xtend Fc区的比较—NMT30、NMT31、NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101。NMT30-100、NMT30-101、NMT31-100和NMT31-101能够以与NMT1510相似的浓度抑制备解素与C3b的结合和C3b的沉积。

[0771] 根据本发明的上述描述,本领域技术人员将感知到改进、变化和修改。本领域技术范围内的这种改进、改变和修改旨在被所附权利要求所覆盖。本申请中引用的所有参考文献、出版物和专利全部通过引用并入本文。

NM5072 & Presta 9401 可变序列和抗体结构

单特异性 **Ab**



铰链区

二硫键

NM5072 V_H 区

SEQ ID NO: 204

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYIFTX$_1$YPIH**W
VRQAPGQGLEWMG**FIX$_1$PGGGX$_2$DEX$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$**
RVTMTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**RGGGY**
YLDYWGQGTTVTVSS

Presta 人源化小鼠 9401 V_H 区

SEQ ID NO: 205

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYIFTX$_1$YPIH**W
VRQAPGQGLEWMG**FIX$_1$PGGGX$_2$DEX$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$**
RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR**RGGGY**
YLDYWGQGTTVTVSS

NM5072 V_L 区

SEQ ID NO: 209

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISFFLN**WYQ
QKPGKAPKLLIY**X$_1$X$_2$SX$_3$YHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYC**QHGX$_1$TLPX$_2$T**FGQGTKLEIK

Presta 人源化小鼠 9401 V_L 区

SEQ ID NO: 210

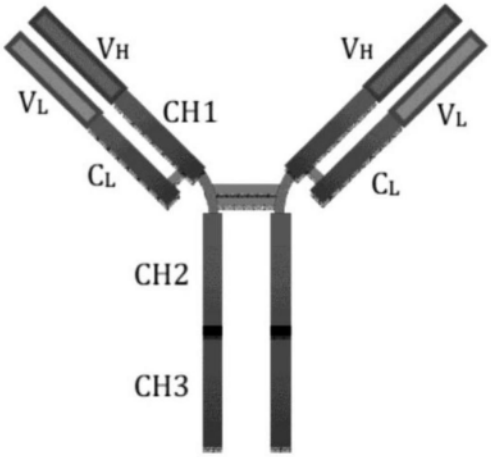
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISFFLN**WYQ
QKPGKAPKLLIY**X$_1$X$_2$SX$_3$YHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYC**QHGX$_1$TLPX$_2$T**FGQGTKLEIK

图1

NM3196 & Presta 3196 可变序列和抗体结构

单特异性 **Ab**

NM3196 fAb
Presta3196 fAb



铰链区
二硫键

NM3196 V_H 区

SEQ ID NO: 214

EVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFS**GFSLSTSGX$_1$GVG**
WIRQPPGKALEWLA**HIX$_1$X$_1$DDVKSYX$_3$PALKS**RLTIT
KDTSKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCAR**IGX$_1$GYYSF**
DYWGQGTTVTVSS

Presta 人源化小鼠 3196 V_H 区

SEQ ID NO: 215

QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFS**GFSLSTSGX$_1$GVG**
WIRQPPGKALEWLA**HIX$_1$X$_1$DDVKSYX$_3$PALKS**RLTIT
KDTSKNQVVLTITNVDPVDTATYYCAR**IGX$_1$GYYSF**
DYWGQGTTLTVSS

NM3196 V_L 区

SEQ ID NO: 219

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**X$_1$ASQDVSDAVA**WYQ
QKPGKAPKLLIY**SPSYRYT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYC**QQHYSTPX$_1$TF**GQGTKLEIK

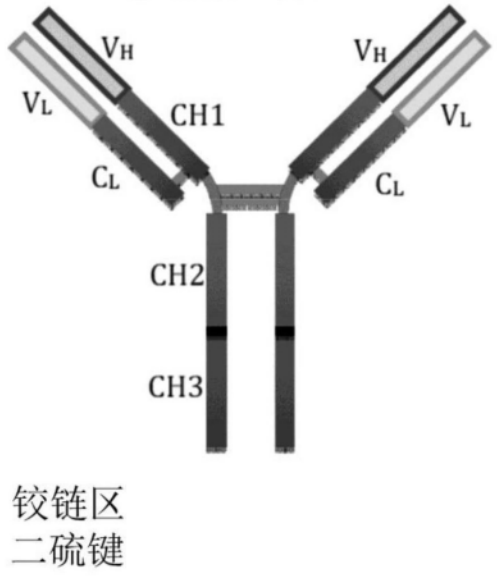
Presta 人源化小鼠 3196 V_L 区

SEQ ID NO: 220

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**X$_1$ASQDVSDAVA**WFQ
QKPGKAPKLLIY**SPSYRYT**GVPSRFSGSGSGTDFTFTIS
SLQPEDLATYYC**QQHYSTPX$_1$TF**GQGTKLEIK

图2

Presta HumRab 27-03 & 86-06 可变序列和抗体结构



HumRab 27-03 V_H 区

SEQ ID NO: 224

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFSFSSGYX$_1$IF**
WVRQAPGKGLEWVS**GIYSGSSGTTY**YADSVKGRF
TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKS**VX$_1$GIX$_1$**
SYX$_1$AAFX$_2$LWGQGTLVTVSS

HumRab 86-06 V_H 区

SEQ ID NO: 228

EVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAAS**GFSFSSSYX$_1$IF**
WVRQAPGKGLELIG**GIYSSSGRX$_1$Y**YADSVKGRFTI
SKDNSKNTMYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**SAX$_1$GSX$_1$**
SYX$_1$AYFTLWGQGTLVTVSS

HumRab 27-03 V_L 区

SEQ ID NO: 232

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**X$_1$ASDX$_2$IYSLLA**WY
QQKPGKAPKLLIY**RASTLAS**GVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSLQPEDFATYYC**QQHYDYX$_1$YLDVA**FGGGTKVEIK

HumRab 86-06 V_L 区

SEQ ID NO: 236

DYQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**X$_1$ASDX$_2$IYSX$_2$LA**WY
QQKPGKAPKLLIY**RASTLAS**GVPSRFSGSGSGTDFTL
TISSVQPEDFATYYC**QQHX$_1$DYDYIDVA**FGGGTKVEIK

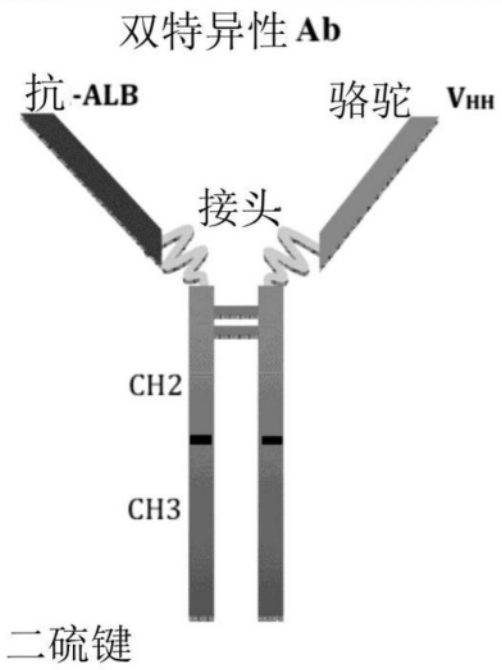
图3

可变链和恒定链接头

SEQ ID NO: 140	GGGGS
SEQ ID NO: 141	GGGSG
SEQ ID NO: 142	SGGG
SEQ ID NO: 143	GGGGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO: 144	GGGGDGGGGDGGGG
SEQ ID NO: 145	GGGGEGGGGEGGGG
SEQ ID NO: 146	GGGD
SEQ ID NO: 147	GGGE
SEQ ID NO: 148	GGGGA
SEQ ID NO: 149	GGGGAGGGGAGGGGS

图4

骆驼 抗-P & 抗-Alb 可变序列和抗体结构



骆驼 抗-P
SEQ ID NO: 240 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRISSIIHMA WFRQAPGKERELVSEISRX1GTTX1YAX2SX1X3GRF TISRDNSKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCNALQYE X1HGGAX2YWGQGTLVTVSS
骆驼 抗-P
SEQ ID NO: 244 QVQLAESGGGLVQAGDSLKLSCTASGRIFEX1X2MMA WYRQAPGKDRELVAEISRX1GTTTYAX2SX1X3GRFTIS RDSAKNTVTLQMNSLKSEDTAVYYCNALQYEX1HGG AX2YWGQGTQVTVSG
ALXN 抗-ALB
SEQ ID NO: 108 EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGRPVSNYAAAW FRQAPGKEREFVSAINWQKTATYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAVFRVVAPKTQY DYDYWGQGTLVTVSS
Ablynx 抗-ALB
SEQ ID NO: 119 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSW VRQAPGKGPEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTL VTVSS

图5

单链 mAb 序列

mAb	抗-白蛋白	骆驼 抗 -P
单链 (NMT1001)	SEQ ID NO: 108 EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGRPVS NYAAAWFRQAPGKEREFVSAINWQKTATYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCAAVFRVVAPKTQYDYDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGS (linker)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRISSIIHM AWVRQAPGKQRELVSEISRVGTTVYADSVKG RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNA LQYEKHGGADYWGQGTLVTVSS
单链 (NMT1002)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFG MSWVRQAPGKEPEWVSSISGSGSDTLYADSVK GRFTISRDNAKTTLYLQMNSLKPEDTAVYYCTI GGSLSRSSQGTQVTVSS GGGGSGGGGSGGGGS (linker)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRISSIIHM AWVRQAPGKQRELVSEISRVGTTVYADSVKG RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNA LQYEKHGGADYWGQGTLVTVSS
 接头		

图6

NMT15 (fAb)2 单特异性抗-备解素抗体

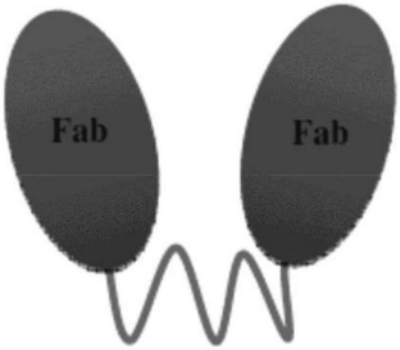
	NMT15 抗-备解素 V_H
	QVQLVQSAPEVAKPGTSVKMSCKASGYIFTNYPIH WVKQAPGQGLEWIGFIDPGGGYDEPDERFRDRAT LTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAIYYCARRGGGYY LDYWGQGTLVTVSSASTK
	Genscript Fc – 仅CH1
	GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
	NMT15 抗-备解素 V_L
	DIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQDISFFLNWY QQKPDGTVKLLIYYTSRYHSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYFCQHGNTLPWTFGQGTKLEIK RTVAAP
	Fc - CL
	SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	$(G_4S)_3$ 接头
	GGGGSGGGGSGGGGS

图7

抗 -Alb Fab mAb

mAb	抗-白蛋白	重链
Alb-Fab (NMT1004)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGRPVS NYAAAWFRQAPGKEREFVSAINWQKTATYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCAAVFRVVAPKTQYDYDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGS (接头)	QVQLVQSAPEVAKPGTSVKMSCKASGYIFTNY PIHWVKQAPGQGLEWIGFIDPGGGYDEPDERF RDRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAIYYC ARRGGGYYLDYWGQGTLVTVSSASTK 轻链 DIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQDISFFLN WYQQKPDGTVKLLIYYTSRYHSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQHGNTLPWTFG QGTKLEIKRTVAAP
Alb-Fab (NMT1005)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFG MSWVRQAPGKEPEWVSSISGSGSDTLYADSVK GRFTISRDNAKTTLYLQMNSLKPEDTAVYYCTI GGSLSRSSQGTQVTVSS GGGGSGGGGSGGGGS (接头)	重链 QVQLVQSAPEVAKPGTSVKMSCKASGYIFTNY PIHWVKQAPGQGLEWIGFIDPGGGYDEPDERF RDRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAIYYC ARRGGGYYLDYWGQGTLVTVSSASTK 轻链 DIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQDISFFLN WYQQKPDGTVKLLIYYTSRYHSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQHGNTLPWTFG QGTKLEIKRTVAAP
 接头		

图8

NM9625 单特异性骆驼抗-P 抗体

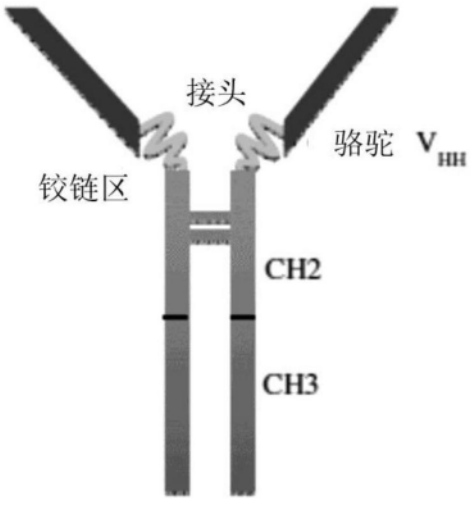
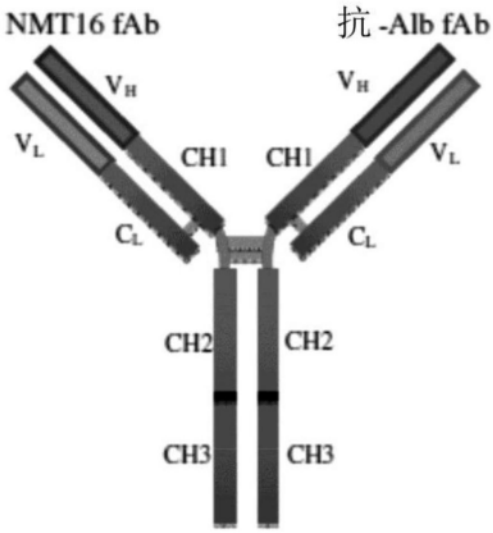
	骆驼 V_{HH}
	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRISSIHMA WFRQAPGKERELVSEISRVGTTVYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCNALQYEK HGGADYWGQGTLVTVSS 接头 GGGGSGGGGSGGGGS IgG4 (仅CH2/CH3) w/ 铰链 AESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

图9

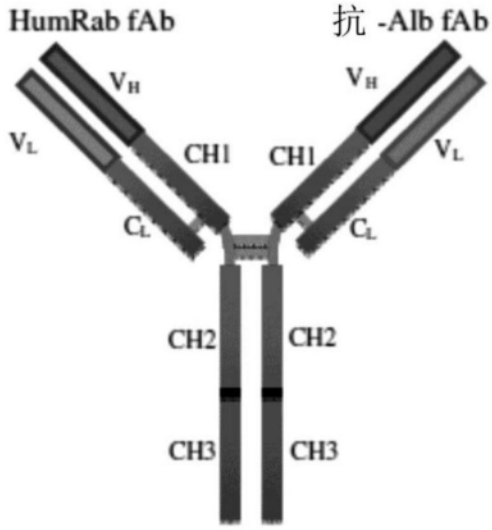
NM9628 双特异性抗-P **&** 抗 **-Alb** 抗体



NMT16 V_H
EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYIFTNY PIH**WVRQAPGQGLEWMG**FIDPGGGYDEPDER FRD**RVTMTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA R**RGGGYYLDY**WGQGTTVTVSSASTK
NMT16 V_L
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISFFLN**W YQQKPGKAPKLLIY**YTSRYHS**GVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYC**QHGNTLPWT**FGQGTK LEIKRTVAAP
抗-ALB V_H
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVS**GIDLSNYAIN** WVRQAPGKGLEWIG**IIWASGTTFYATWAKG**R FTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**TVP GYSTAPYFDL**WGQGTLVTVSSASTK
抗-ALB V_H
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC**QSSPSVWSNFLS**W YQQKPGKAPKLLIY**EASKLTS**GVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYC**GGGYSSISD**TTFGGGTKVEI KRTVAAP
IgG1 Fc
GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGT QTYTCNVDHKPSNTKVDKTVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
Fc - LC
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图10

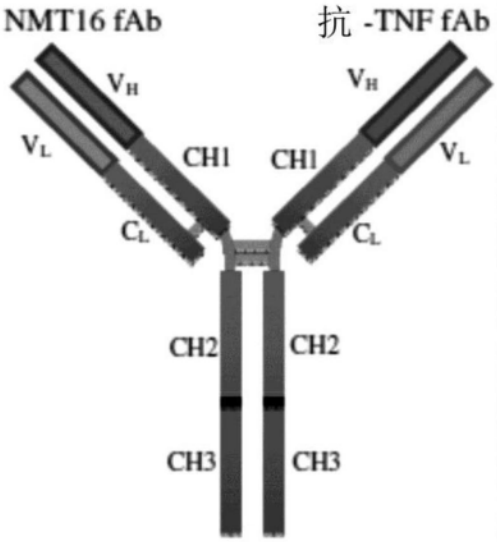
NM9629双特异性HumRab 抗 -P & HumRab 抗 -Alb 抗体



Presta 人源化兔 (2703 H2) V_H
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSGY WIFWVRQAPGKGLELVGGIYSGSSGTTYYA DSVKGRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTA VYYCARSVDGIDSYDAAFNLWGQGTLVTVSSASTK
Presta 人源化兔 (2703 L2) V_L
DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASDNIYSLLA WYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQQHYDYNYLD VAFGGGTKVEIKRTVAAP
抗 -ALB V_H
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYA INWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTTFYATWA KGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYY CARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTK
抗 -ALB V_H
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSNFLS WYQQKPGKAPKLLIYEASKLTSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGGG TKVEIKRTVAAP
IgG1 Fc (w/ YTE 突变)
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Fc - LC
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图11

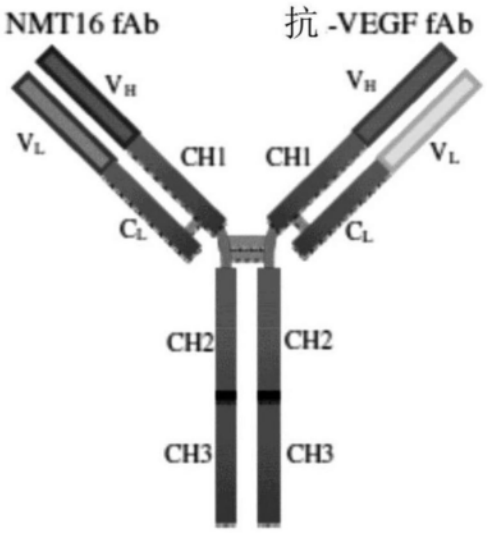
NM9630 双特异性抗 **-P &** 抗 **-TNF** 抗体



NMT16 抗 -P V_H
EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYIFTNY** **PIH**WVRQAPGQGLEWMG**FIDPGGGYDEPDER** **FRD**RVTMTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA R**RGGGYYLDY**WGQGTTVTVSSASTK
NMT16 抗 -P V_L
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISFFLN**W YQQKPGKAPKLLIY**YTSRYHS**GVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYC**QHGNTLPWT**FGQGT KLEIKRTVAAP
抗 -TNF V_H
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAAS**GFTFDDYAMH**W VRQAPGKGLEWVS**AITWNSGHIDYADSVEG**RFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK**VSYLSTASSLD** **Y**WGQGTLVTVSSASTK
抗 -TNF V_L
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQGIRNYLA**WYQQ KPGKAPKLLIY**AASTLQS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDVATYYC**QRYNRAPYT**FGQGTKVEIKRTVAAP
IgG1 Fc - HC
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
Fc - LC
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图12

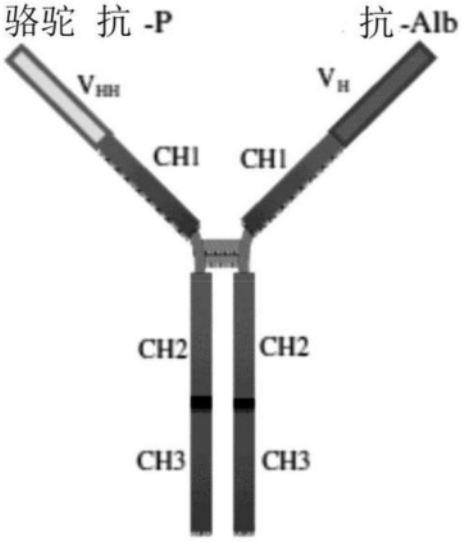
NM9631 双特异性抗 -P & 抗 -VEGF 抗体



NMT16 抗 -P VH
EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYIFTNY** **PIH**WVRQAPGQGLEWMG**FIDPGGGYDEPDER** **FRD**RVTMTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA R**RGGGGYYLDY**WGQGTTVTVSSASTK
NMT16 抗 -P VL
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISFFLN**W YQQKPGKAPKLLIY**YTSRYHS**GVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYC**QHGNTLPWT**FGQGT KLEIKRTVAAP
抗 -VEGF VH
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GYTFTNY** **GMN**WVRQAPGKGLEWVG**WINTYTGEPTYAA** **DFKR**RFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVY YCAK**YPHYYGSSHWYFDV**WGQGTLVTVSSASTK
抗 -VEGF VL
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**SASQDISNYLN** WYQQKPGKAPKVLIY**FTSSLHS**GVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQYSTVPWT**FGQGT KVEIKRTVAAP
IgG1 N298A Fc - HC
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Fc - LC
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图13

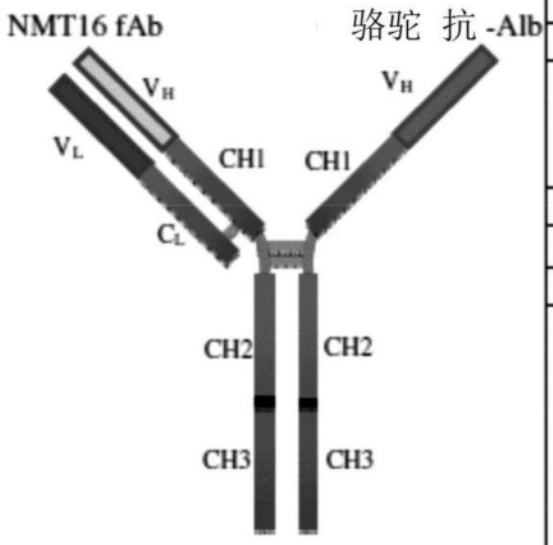
双特异性骆驼 抗 -P – 抗 -Alb 抗体



ALXN's 骆驼 抗 -P V_{HH}
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRISSIIHMAWF RQAPGKERELVSEISRVGTTVYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCNALQYEKHGGADYW GQGTLVTVSS
(G4S)3 接头
GGGGSGGGGSGGGGS
IgG1 N297A Fc - CH
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
ALXN's 抗 -Alb V_H
EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGRPVSNYAAAW FRQAPGKEREFVSAINWQKTATYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAVFRVVAPKT QYDYDYWGQGTLVTVSS
(G4S)3 接头
GGGGSGGGGSGGGGS
IgG1 N297A Fc - CH
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图14

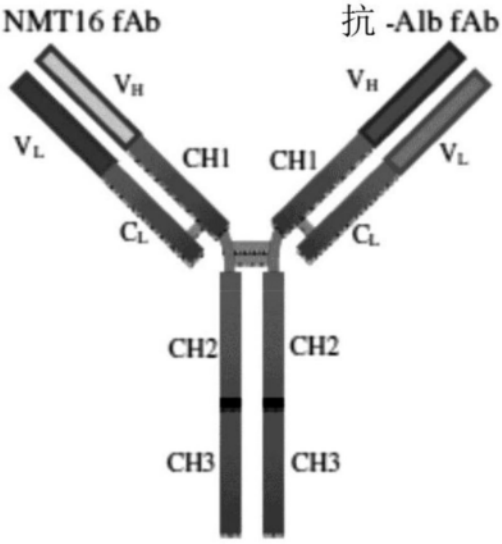
双特异性NMT16 抗-备解素 fAb – 骆驼 抗 -Alb 抗体



NMT16 抗-备解素 V_H
EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTNY PIHWVRQAPGQGLEWMGFIDPGGGYDEPDER FRDRVTMTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RRGGGGYYLDYWGQGTTVTVSSASTK
NM16 抗-备解素 V_L
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISFFLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRYHSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQHGNTLPWTFGQGT KLEIKRTVAAP
Ablynx 抗 -Alb V_H
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSW VRQAPGKEPEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRD NAKTTLYLQMNSLKPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT QVTVSS
(G4S)3 接头
GGGGSGGGGSGGGGS
IgG1 YTE Fc - CH
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
Fc - CL
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图14

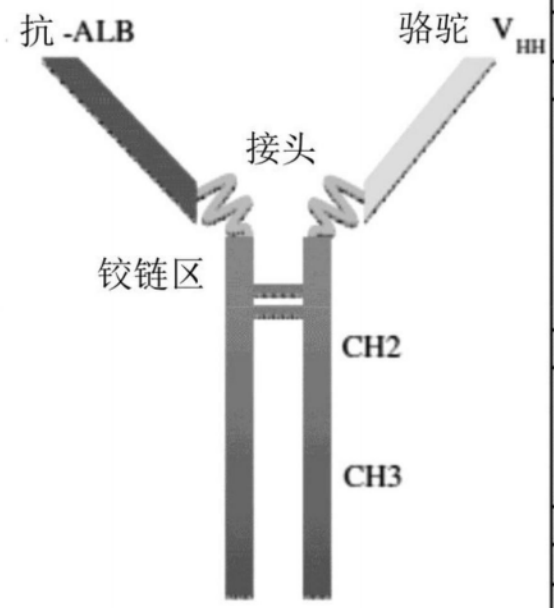
双特异性 NMT16 抗 -P fAb – HumRab 抗 -Alb fAb 抗体



NMT16 抗-备解素 V_H
EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYIFTNY** **PIH**WVRQAPGQGLEWMG**FIDPGGGYDEPDER** **FRD**RVTMTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA R**RGGGYYLDY**WGQGTTVTVSSASTK
NM16 抗-备解素 V_L
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISFFLN**W YQQKPGKAPKLLIY**YTSRYHS**GVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYC**QHGNTLPWT**FGQGT KLEIKRTVAAP
HumRab 抗 -ALB V_H
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVS**GIDLSNYA** **IN**WVRQAPGKGLEWIG**IIWASGTTFYATWA** **KG**RFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYY CAR**TVPGYSTAPYFDL**WGQGTLVTVSSASTK
HumRab 抗 -ALB V_H
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC**QSSPSVWSNFLS** WYQQKPGKAPKLLIY**EASKLTS**GVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYC**GGGYSSISD**TTFGGG TKVEIKRTVAAP
IgG1 N297A Fc - CH
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Fc - CL
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图16

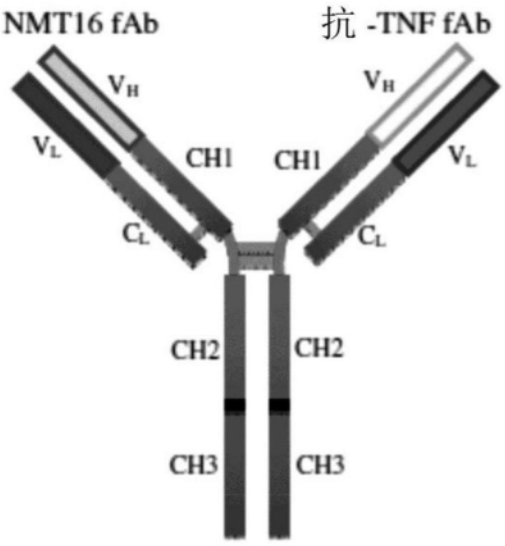
双特异性骆驼抗-P– 抗-Alb 抗体



ALXN的骆驼 抗 -P V_{HH}
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRISSIIHMA WFRQAPGKERELVSEISRVGTTVYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCNALQYEK HGGADYWGQGTLVTVSS
(G4S)3 接头
GGGGSGGGGSGGGGS
杜拉鲁肽的 IgG4 Fc (CH2/CH3 Only)
AESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSLG
ALXN的 抗-Alb V_H
EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGRPVSNYAAAW FRQAPGKEREFVSAINWQKTATYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAVFRVVAPKT QYDYDYWGQGTLVTVSS
(G4S)3 接头
GGGGSGGGGSGGGGS
杜拉鲁肽的 IgG4 Fc (CH2/CH3 Only)
AESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSLG

图17

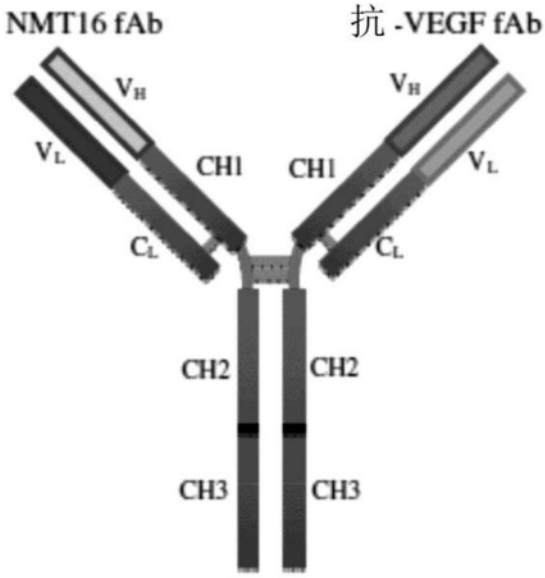
双特异性NMT16 抗-P fAb – 抗-TNF fAb 抗体



NMT16 抗-备解素 VH
EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTNY PIHWVRQAPGQGLEWMGFIDPGGGYDEPDER FRDRVTMTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RRGGGYYLDYWGQGTTVTVSSASTK
NM16 抗-备解素 VL
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISFFLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRYHSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQHGNTLPWTFGQGT KLEIKRTVAAP
Humira的抗-TNF VH
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSSASTK
Humira的抗-TNF VL
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWY QQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIK RTVAAP
IgG1 YTE Fc - CH
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
Fc - CL
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图18

双特异性NMT16 抗-P fAb – 抗-VEGF 抗体



NMT16 抗-备解素 V_H
EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYIFTNY PIH**WVRQAPGQGLEWMG**FIDPGGGYDEPDER FRD**RVTMTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA R**RGGGYYLDY**WGQGTTVTVSSASTK
NM16 抗-备解素 V_L
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISFFLN**W YQQKPGKAPKLLIY**YTSRYHS**GVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYC**QHGNTLPWT**FGQGT KLEIKRTVAAP
贝伐单抗的抗-VEGF V_H
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GYTFTNY GMN**WVRQAPGKGLEWVG**WINTYTGEPTYAA DFKR**RFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVY YCAK**YPHYYGSSHWYFDV**WGQGTLVTVSSASTK
贝伐单抗的抗-VEGF V_L
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**SASQDISNYLN** WYQQKPGKAPKVLIY**FTSSLHS**GVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQYSTVPWT**FGQGT KVEIKRTVAAP
IgG1 YTE Fc - CH
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
Fc - CL
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图19

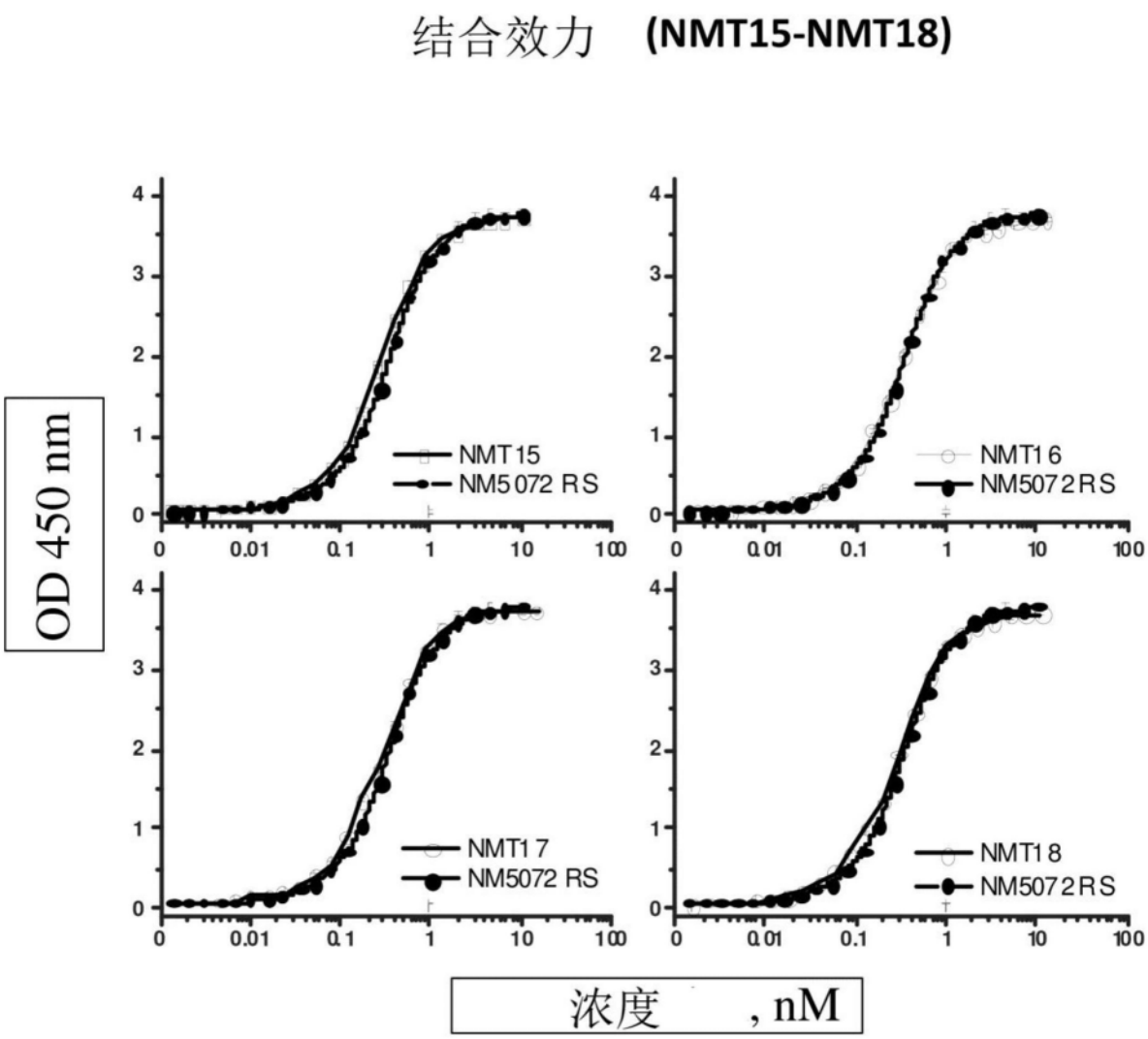

结合效力 (NMT15-NMT18)
OD 450 nm
NMT15
NM5072 RS
NMT16
NM5072RS
NMT17
NM5072 RS
NMT18
NM5072RS
浓度 , nM

图20

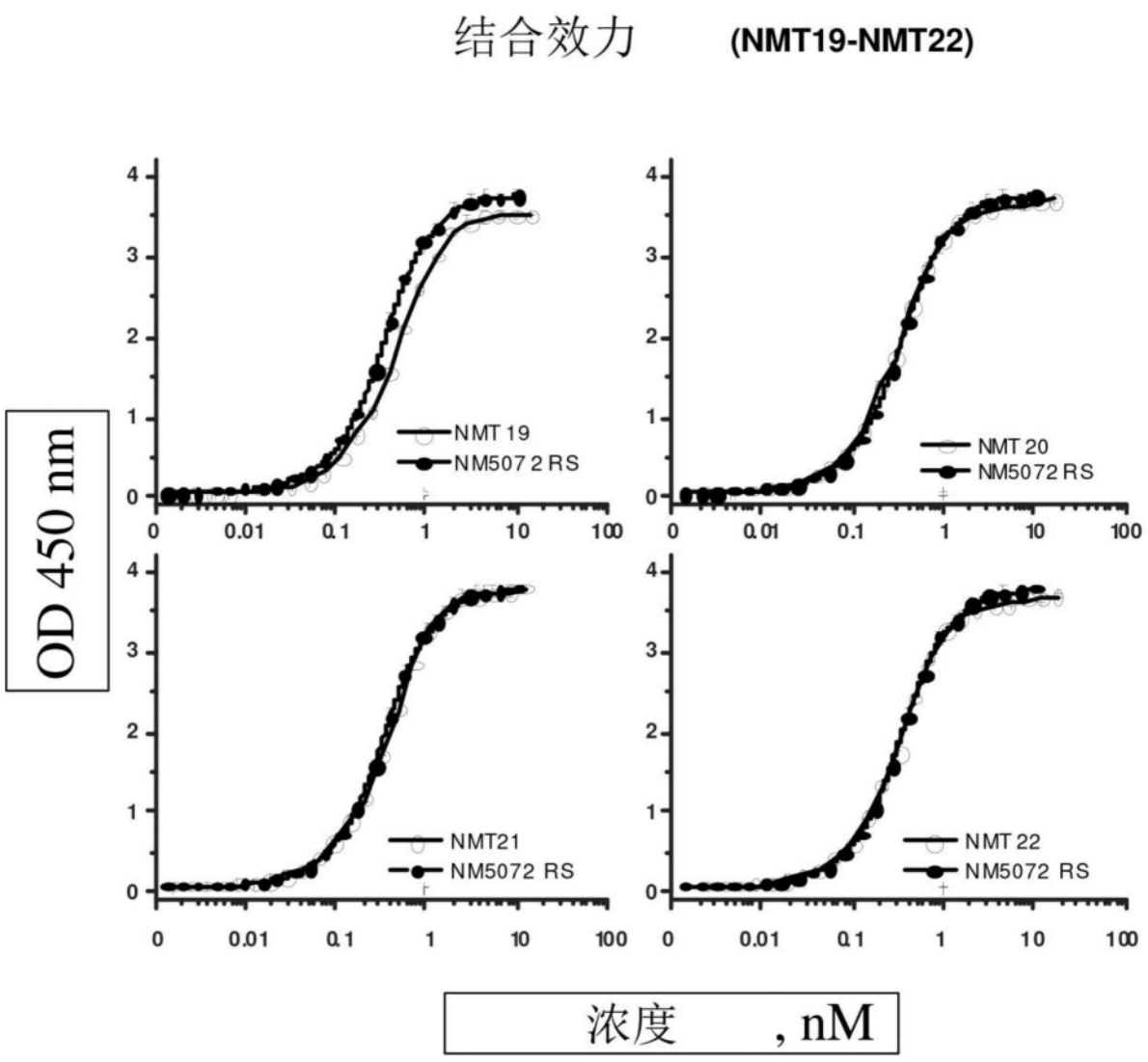

结合效力 (NMT19-NMT22)
OD 450 nm
NMT 19
NM5072 RS
NMT 20
NM5072 RS
NMT21
NM5072 RS
NMT 22
NM5072 RS
浓度 , nM

图21

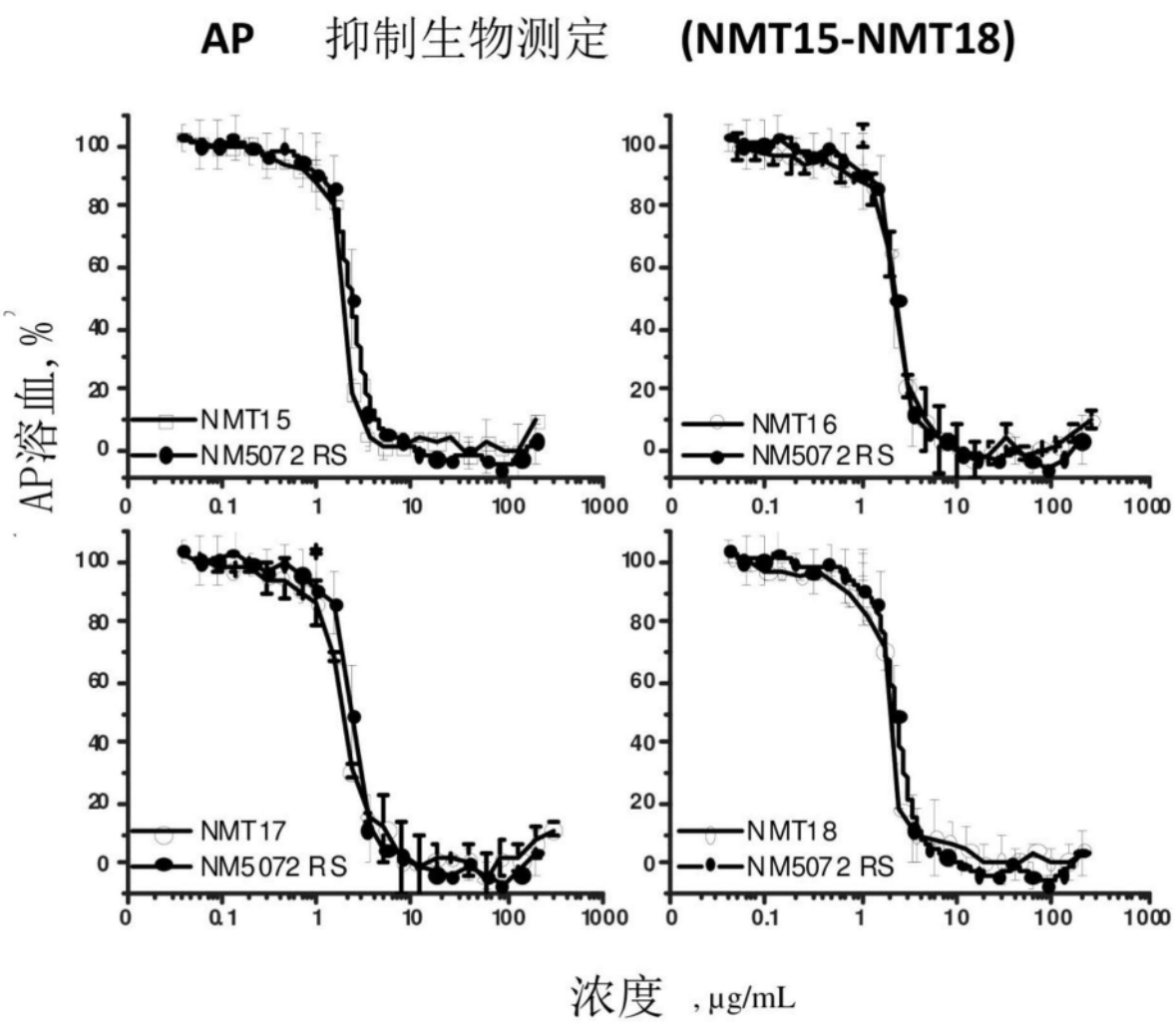

AP 抑制生物测定 (NMT15-NMT18)
AP溶血, %
NMT15
NM5072 RS
NMT16
NM5072 RS
NMT17
NM5072 RS
NMT18
NM5072 RS
浓度 , μg/mL

图22

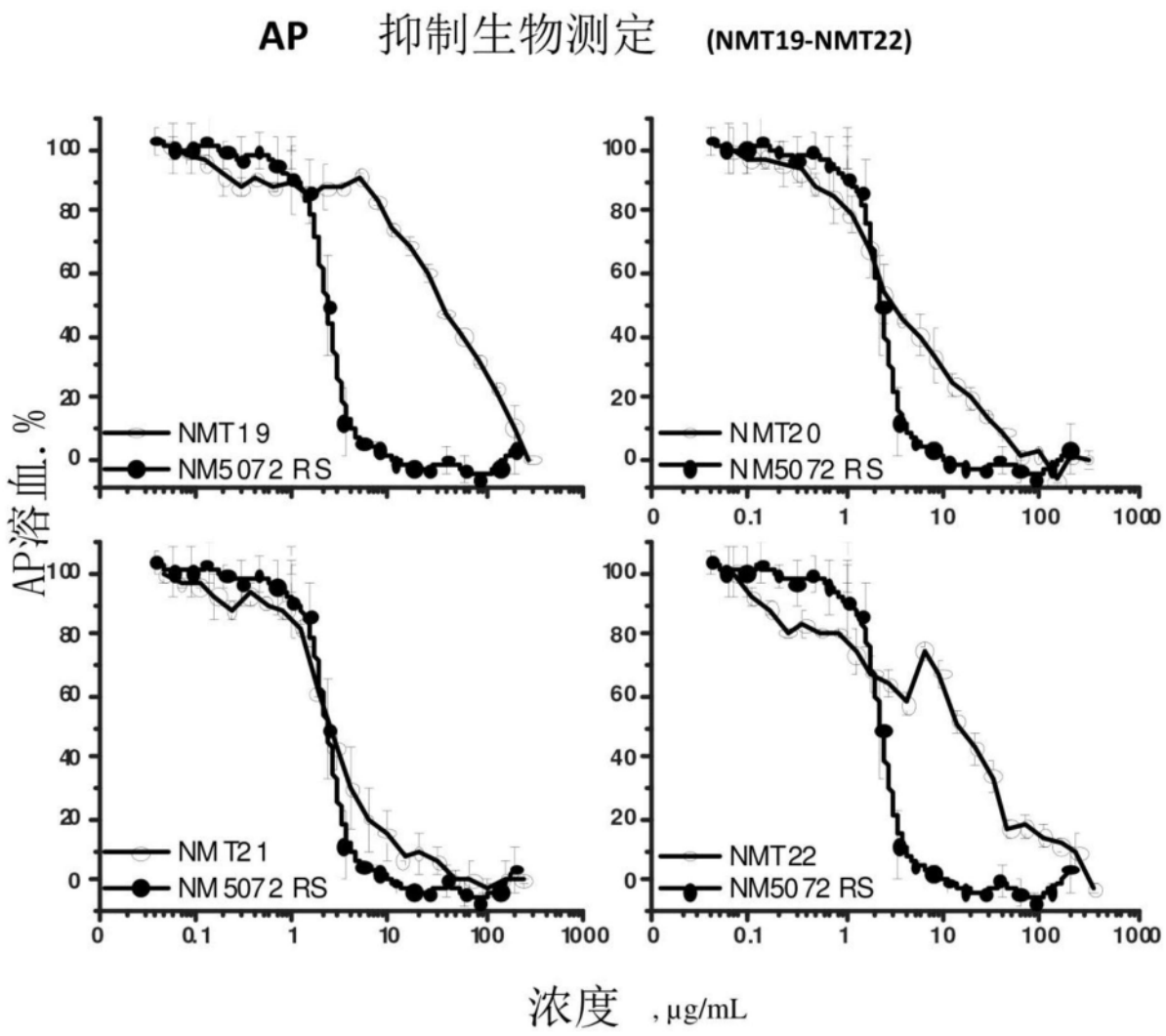

AP 抑制生物测定 (NMT19-NMT22)
AP溶血. %
NMT19
NM5072 RS
NMT20
NM5072 RS
NMT21
NM5072 RS
NMT22
NM5072 RS
浓度 , μg/mL

图23

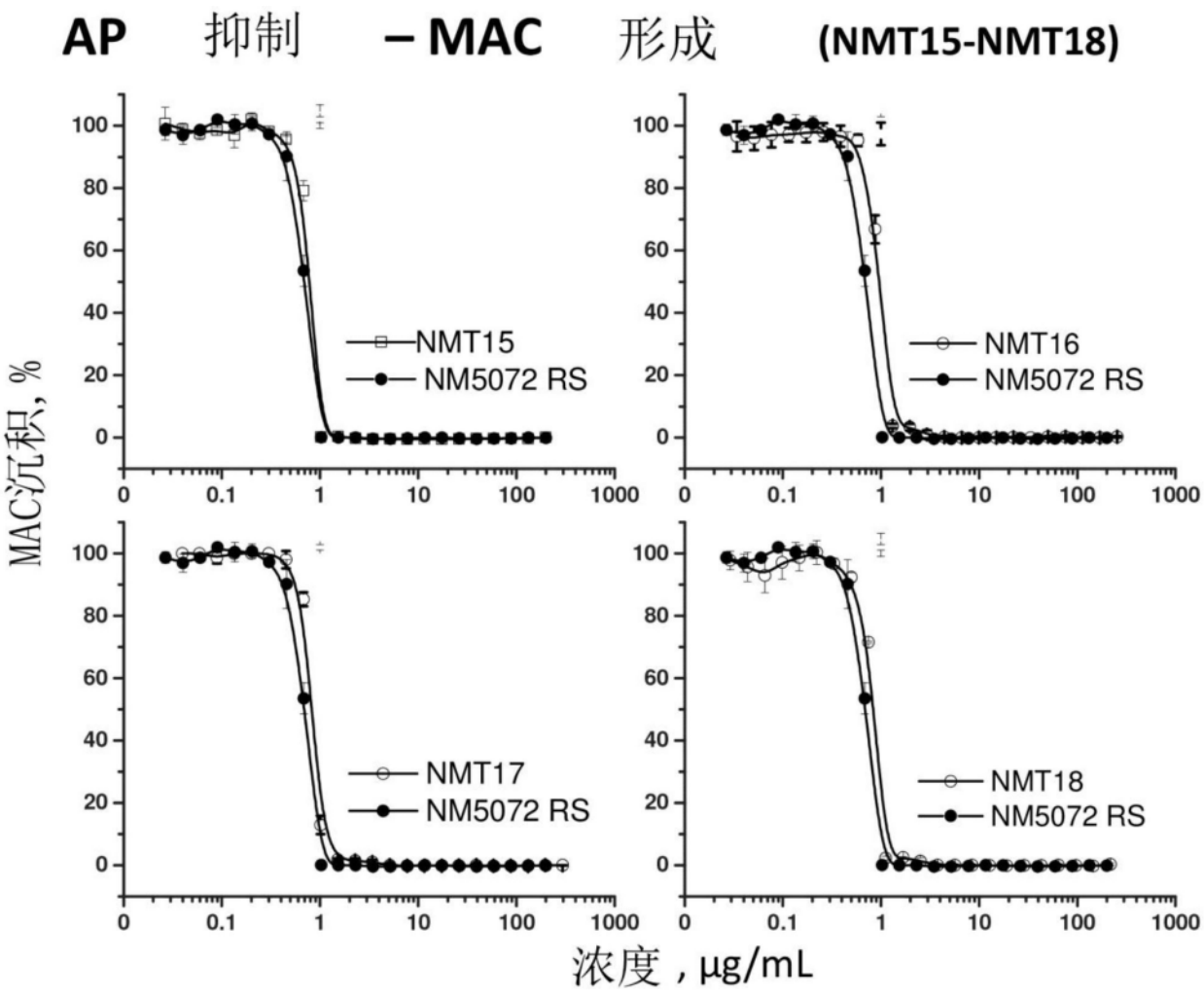

AP 抑制 – MAC 形成 (NMT15-NMT18)
MAC沉积，%
浓度，μg/mL
NMT15
NM5072 RS
NMT16
NM5072 RS
NMT17
NM5072 RS
NMT18
NM5072 RS

图24

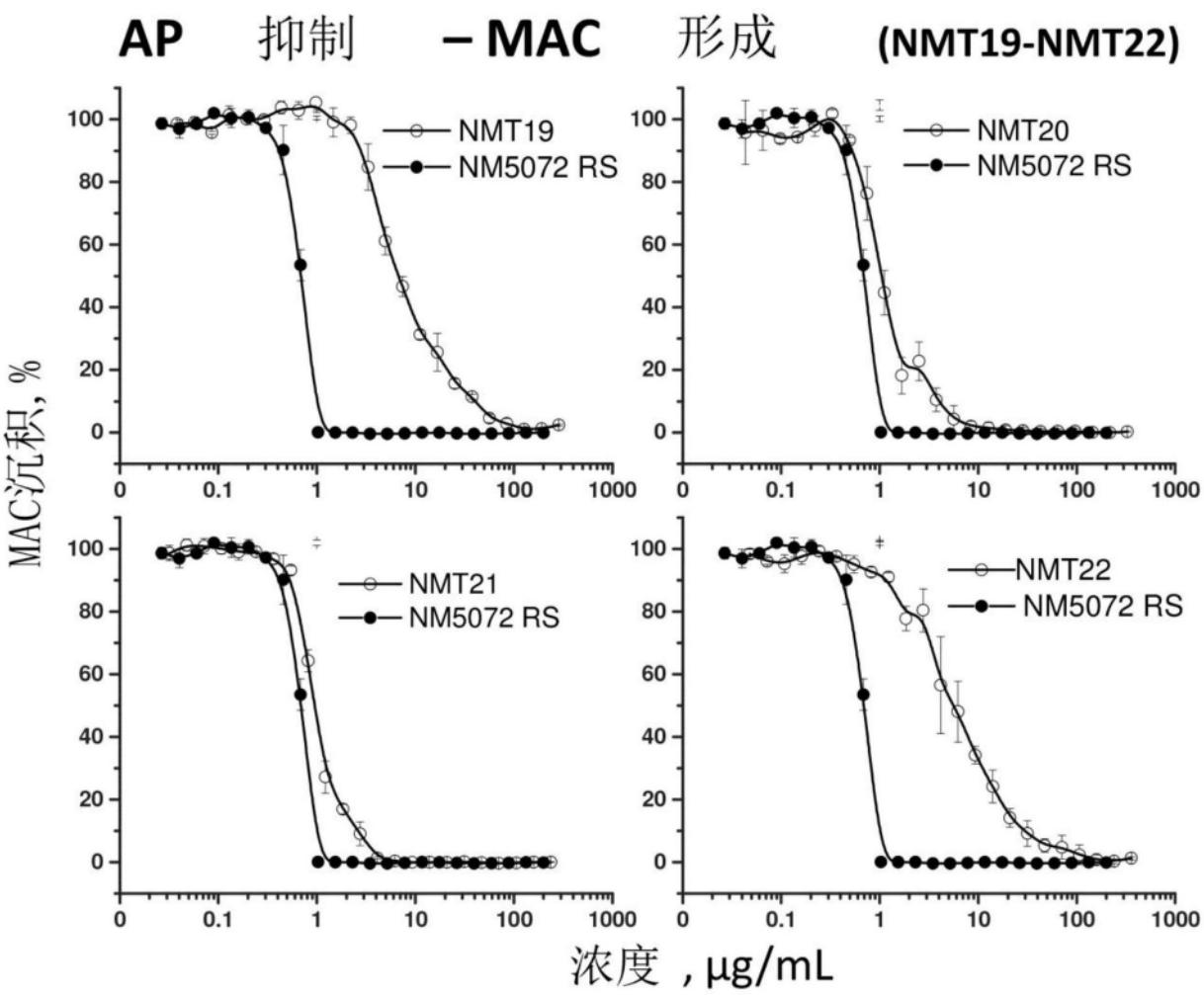

AP 抑制 – MAC 形成 (NMT19-NMT22)
NMT19
NM5072 RS
NMT20
NM5072 RS
NMT21
NM5072 RS
NMT22
NM5072 RS
MAC沉积，%
浓度，μg/mL

图25

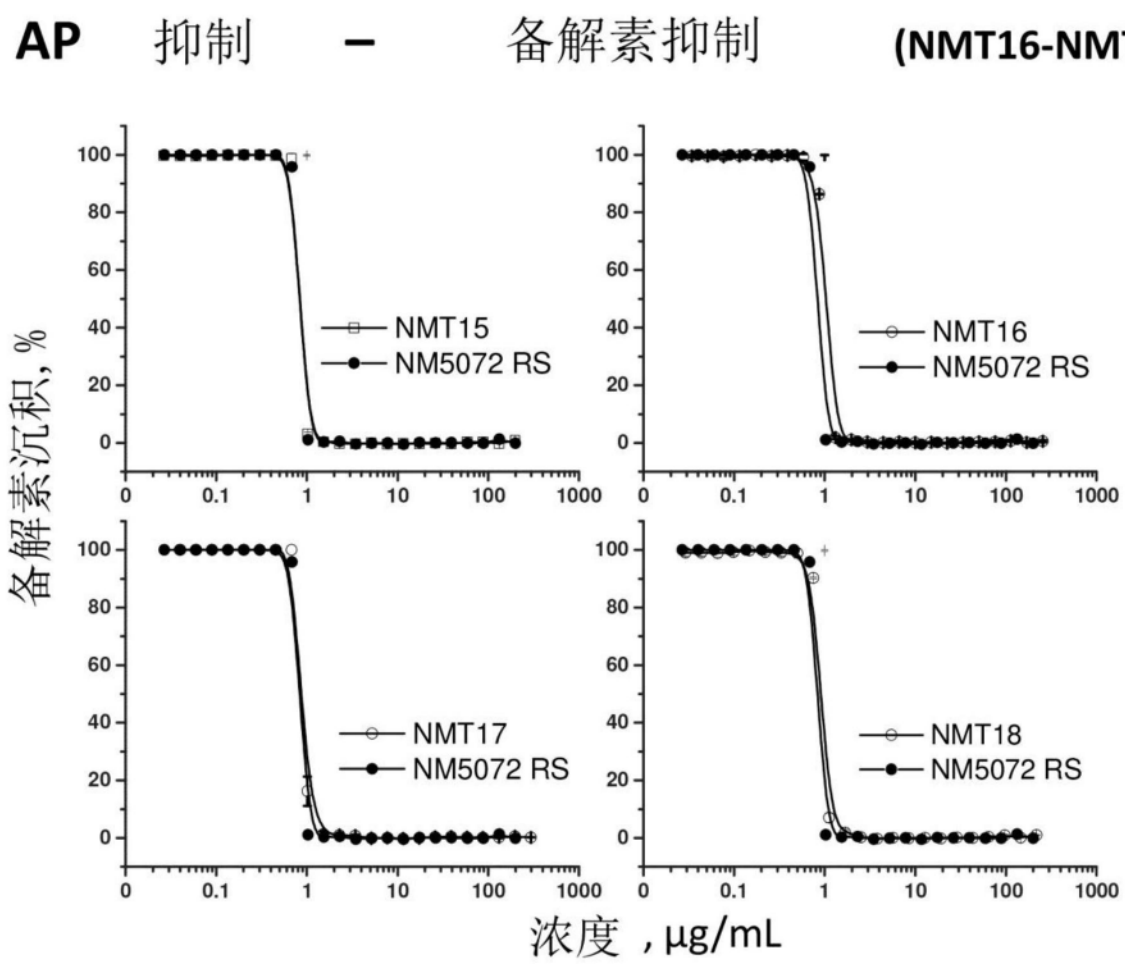

AP 抑制 – 备解素抑制 (NMT16-NMT18)
备解素沉积，%
浓度，μg/mL
NMT15
NM5072 RS
NMT16
NM5072 RS
NMT17
NM5072 RS
NMT18
NM5072 RS

图26

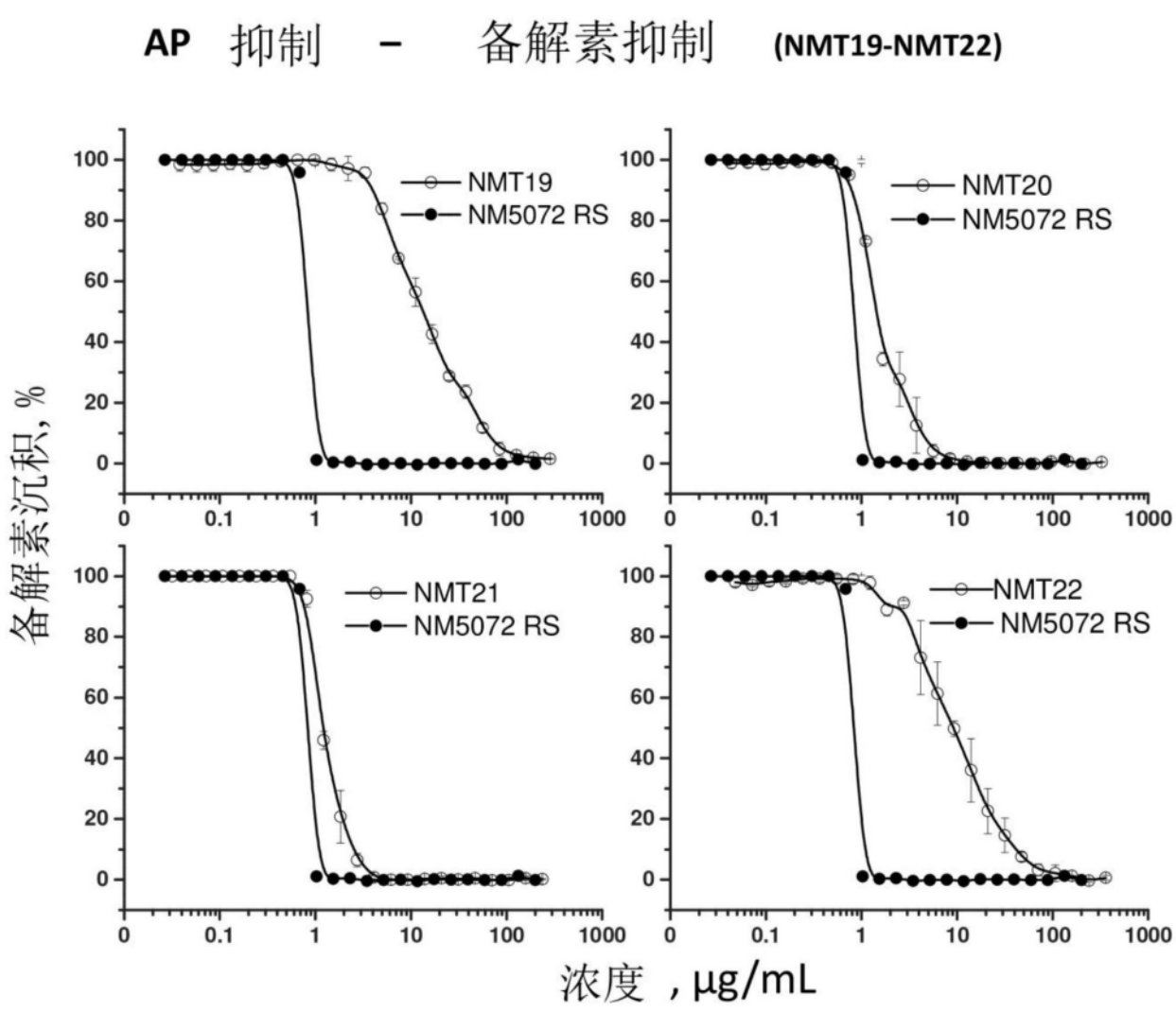

AP 抑制 – 备解素抑制 (NMT19-NMT22)
NMT19
NM5072 RS
NMT20
NM5072 RS
NMT21
NM5072 RS
NMT22
NM5072 RS
备解素沉积, %
浓度 , μg/mL

图27

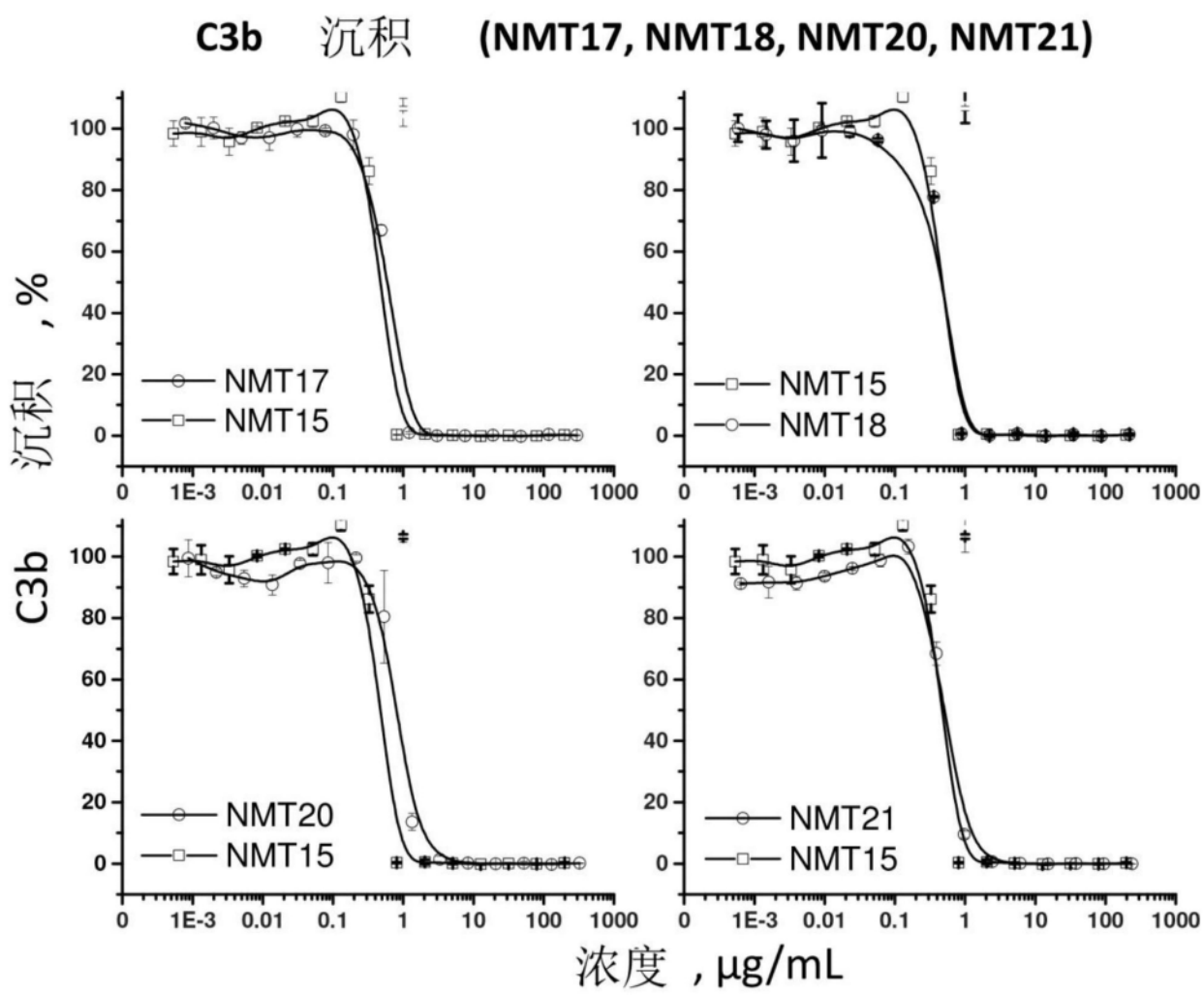

C3b 沉积 (NMT17, NMT18, NMT20, NMT21)
沉积 ，%
C3b
浓度 ，μg/mL
NMT17
NMT15
NMT15
NMT18
NMT20
NMT15
NMT21
NMT15
0
20
40
60
80
100
0
1E-3
0.01
0.1
1
10
100
1000

图28

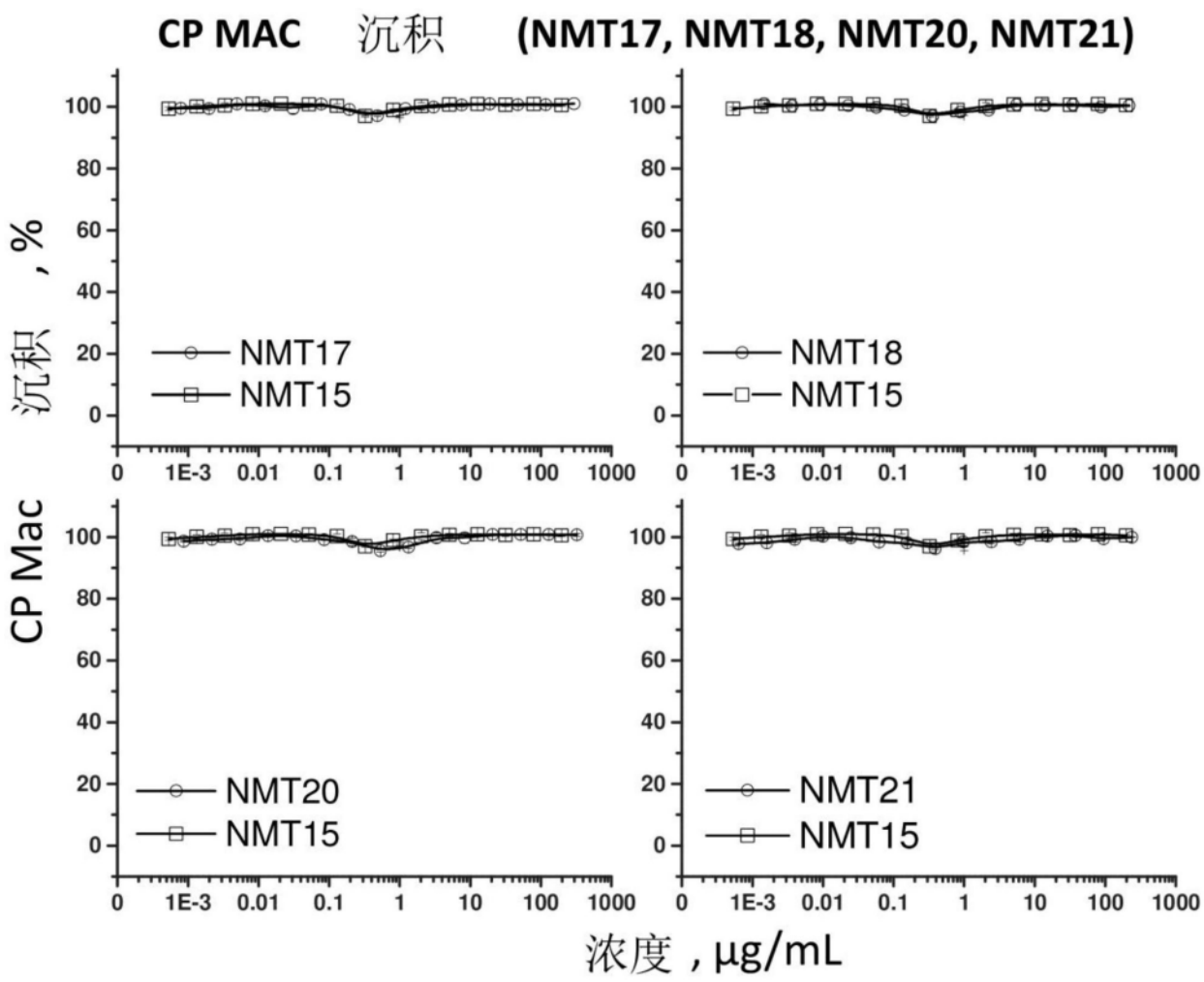

CP MAC 沉积 (NMT17, NMT18, NMT20, NMT21)
沉积 ，%
CP Mac
NMT17
NMT15
NMT18
NMT15
NMT20
NMT15
NMT21
NMT15
0
20
40
60
80
100
0
1E-3
0.01
0.1
1
10
100
1000
浓度，μg/mL

图29

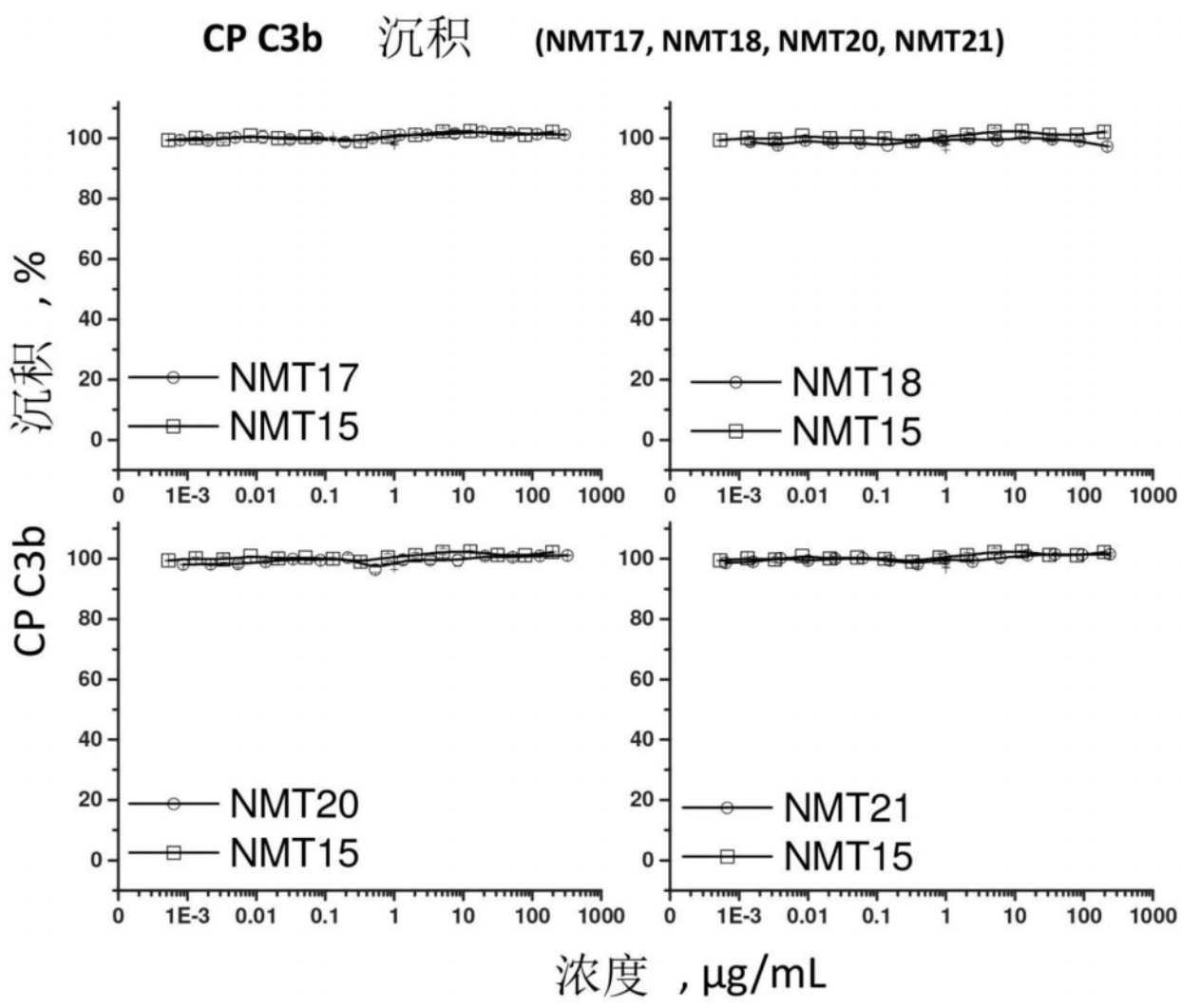

CP C3b 沉积 (NMT17, NMT18, NMT20, NMT21)
沉积 ，%
CP C3b
NMT17
NMT15
NMT18
NMT15
NMT20
NMT15
NMT21
NMT15
浓度 ，μg/mL

图30

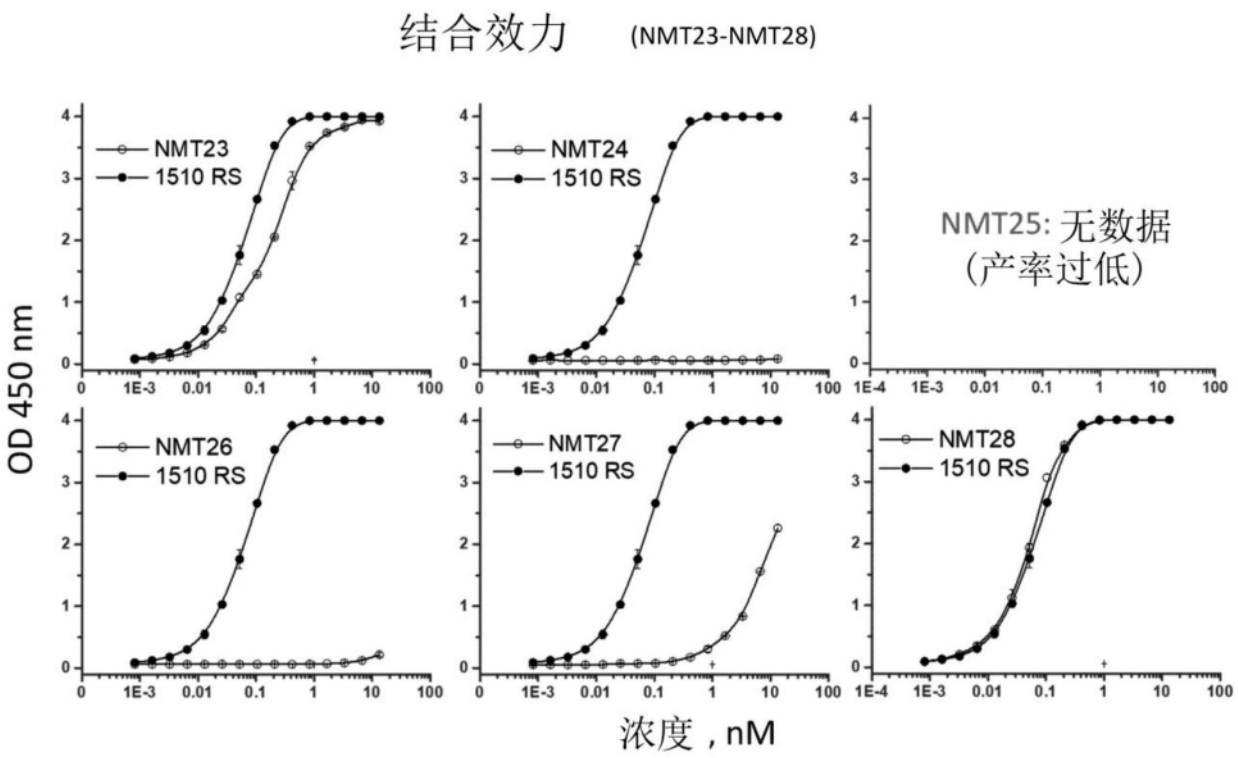

结合效力 (NMT23-NMT28)
NMT23
1510 RS
NMT24
1510 RS
NMT25: 无数据
(产率过低)
NMT26
1510 RS
NMT27
1510 RS
NMT28
1510 RS
OD 450 nm
浓度，nM

图31

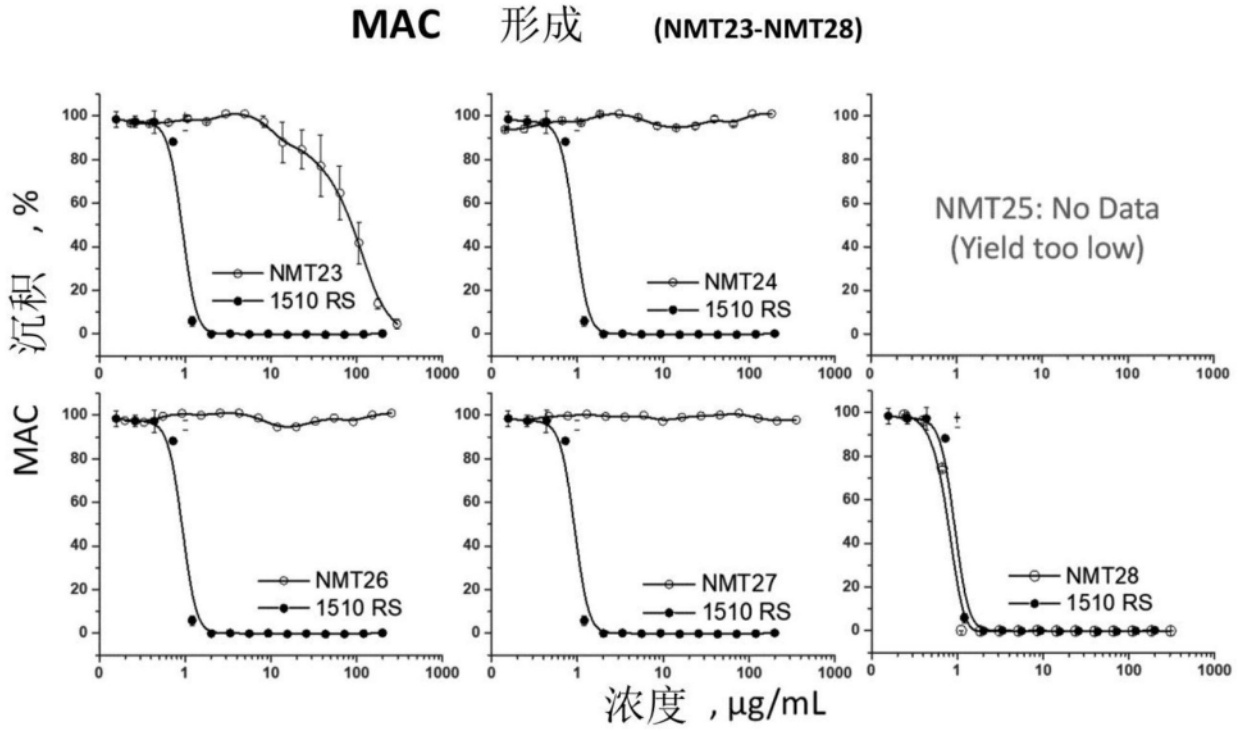

MAC 形成 (NMT23-NMT28)
NMT23
1510 RS
NMT24
1510 RS
NMT25: No Data
(Yield too low)
NMT26
1510 RS
NMT27
1510 RS
NMT28
1510 RS
沉积，%
MAC
浓度，μg/mL

图32

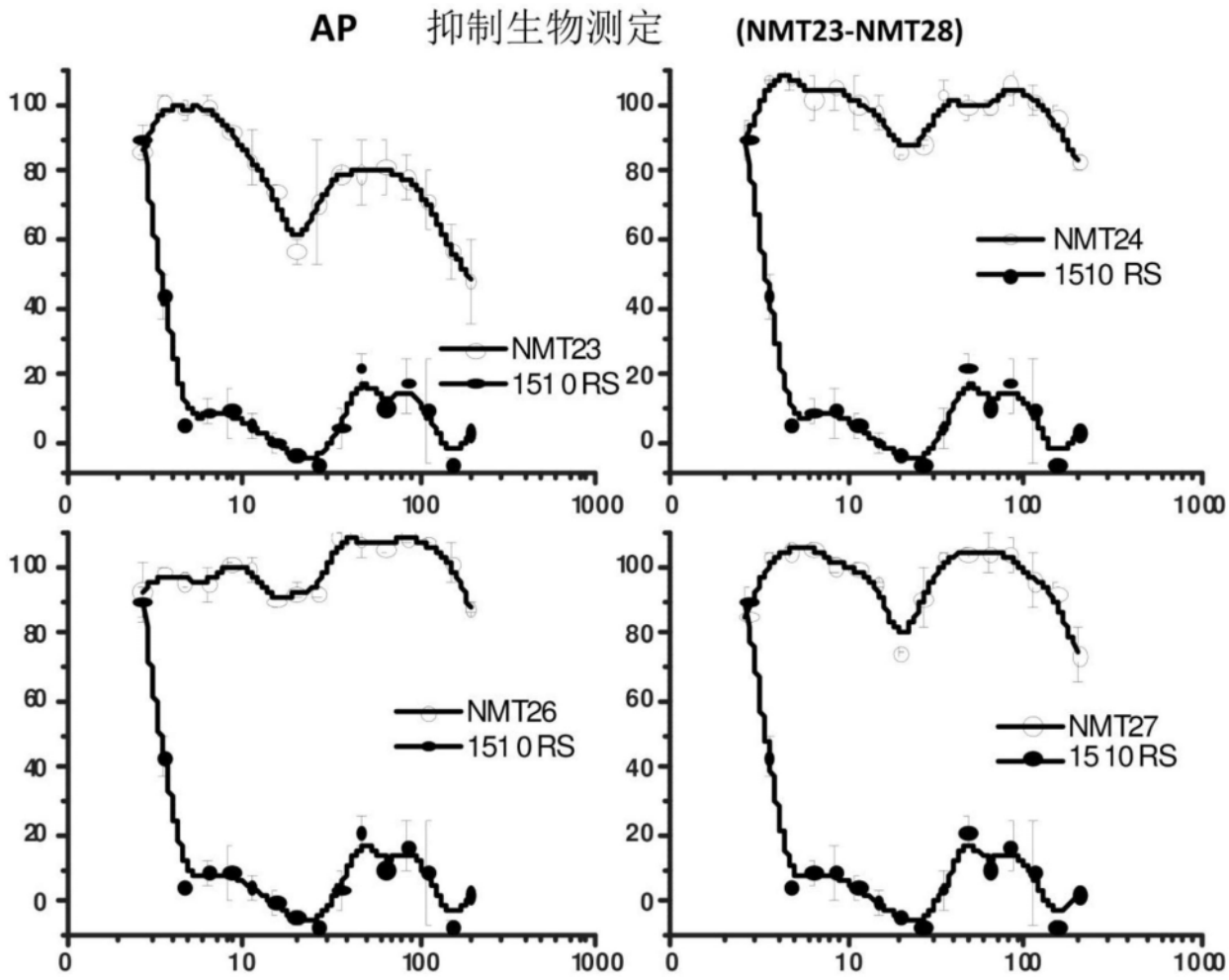

AP 抑制生物测定 (NMT23-NMT28)
NMT23
151 0RS
NMT24
1510 RS
NMT26
151 0RS
NMT27
15 10RS

图33

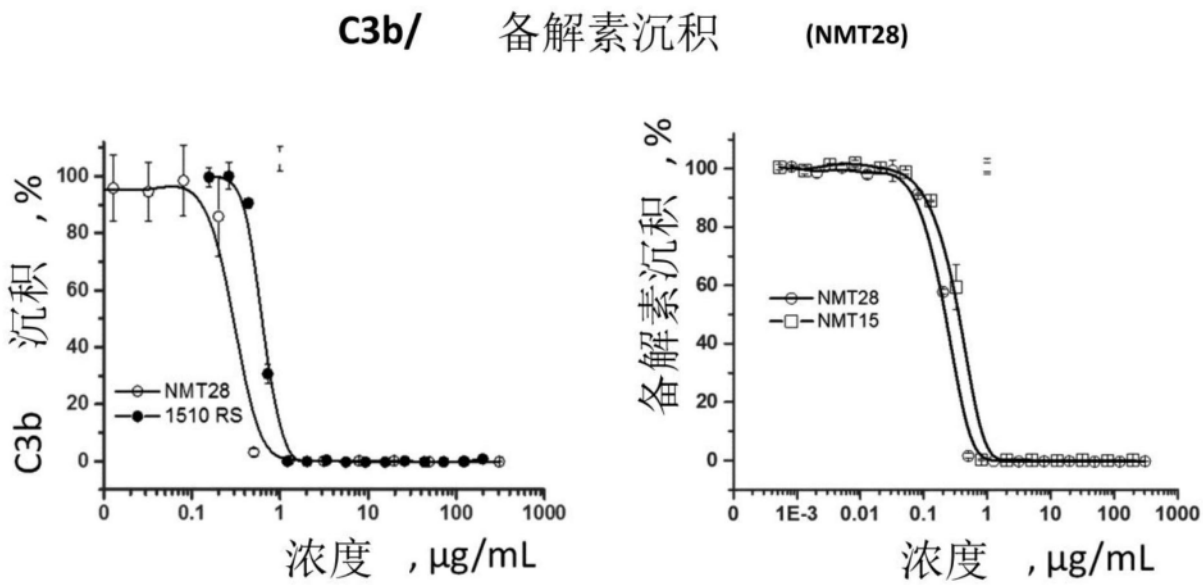

C3b/ 备解素沉积 (NMT28)
C3b 沉积 ，%
NMT28
1510 RS
浓度 ，μg/mL
备解素沉积 ，%
NMT28
NMT15
浓度 ，μg/mL

图34

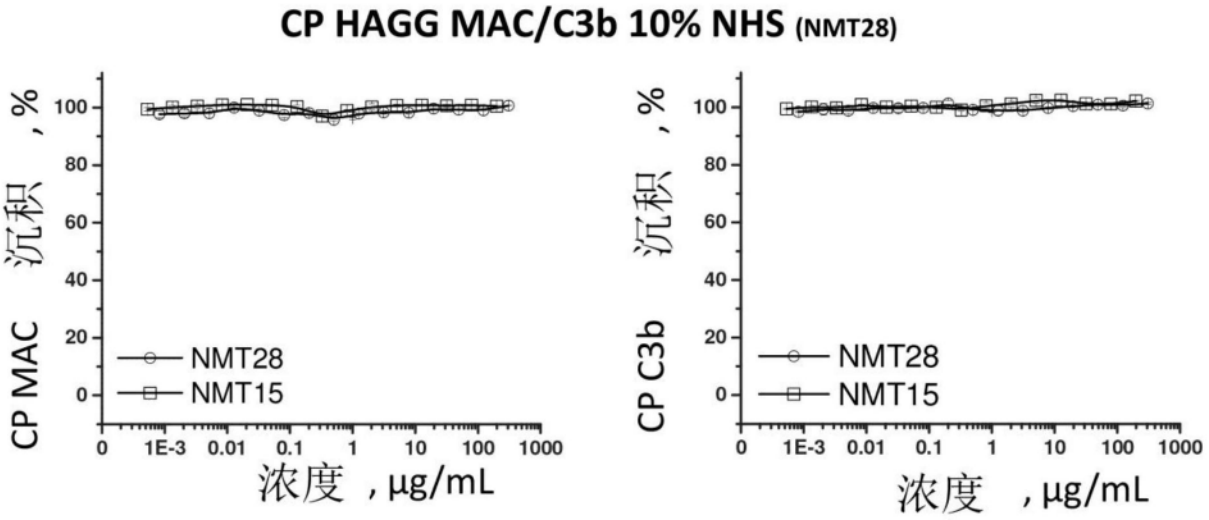

CP HAGG MAC/C3b 10% NHS (NMT28)
CP MAC 沉积 ，%
CP C3b 沉积 ，%
NMT28
NMT15
浓度 ，μg/mL

图35

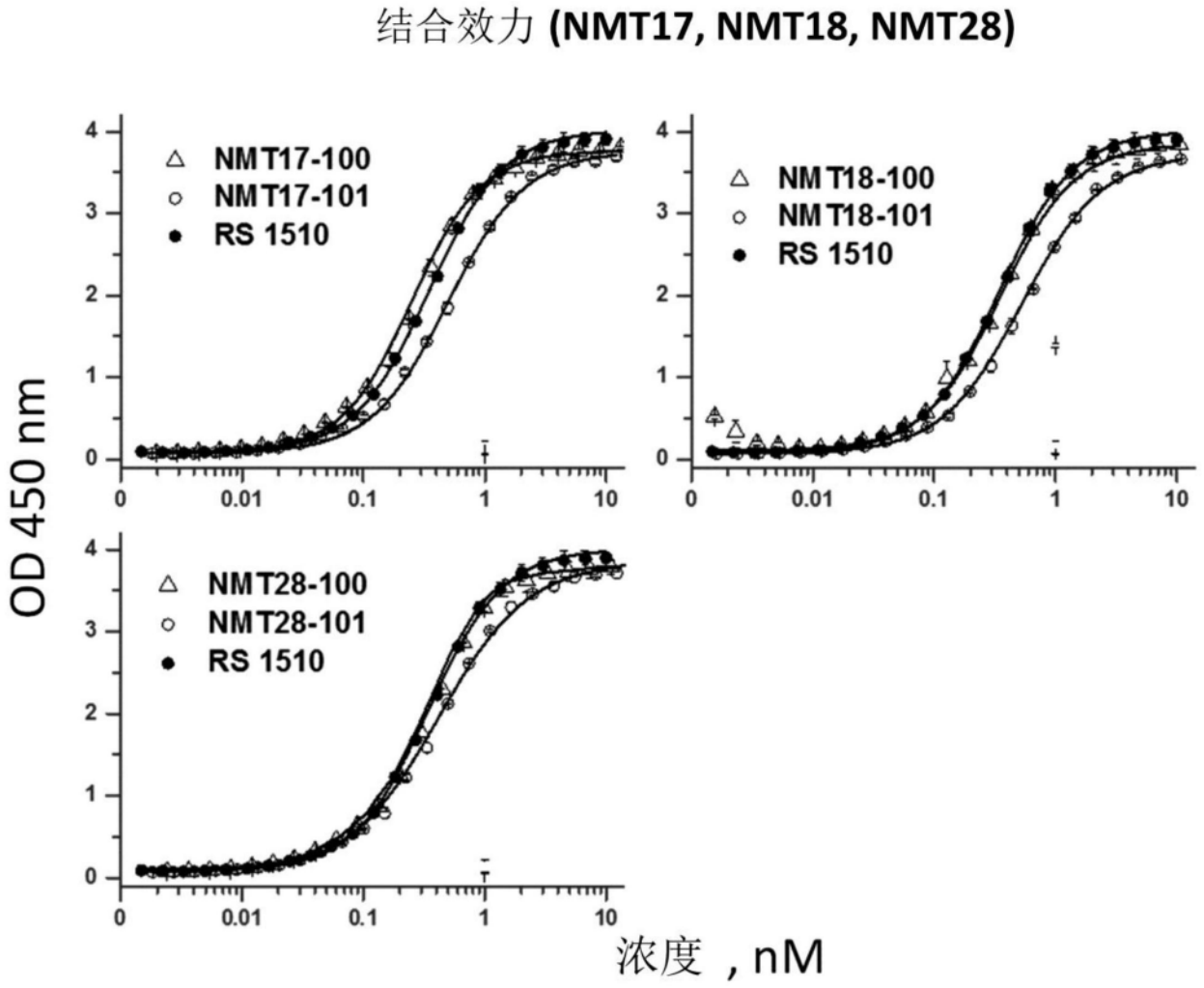

结合效力 (NMT17, NMT18, NMT28)
OD 450 nm
NMT17-100
NMT17-101
RS 1510
NMT18-100
NMT18-101
RS 1510
NMT28-100
NMT28-101
RS 1510
浓度 ，nM

图36

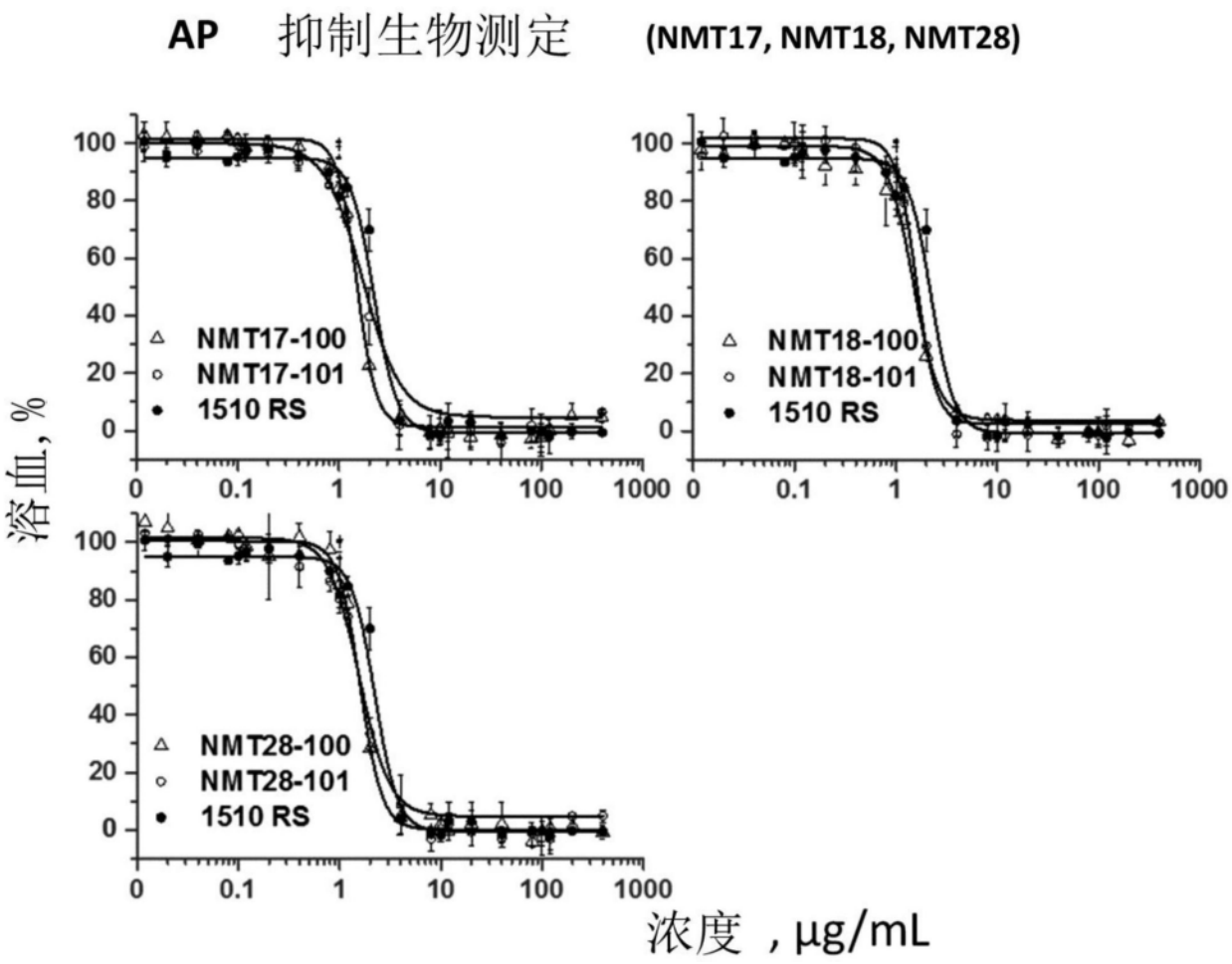

AP 抑制生物测定 (NMT17, NMT18, NMT28)
溶血，%
浓度，μg/mL
NMT17-100
NMT17-101
1510 RS
NMT18-100
NMT18-101
1510 RS
NMT28-100
NMT28-101
1510 RS

图37

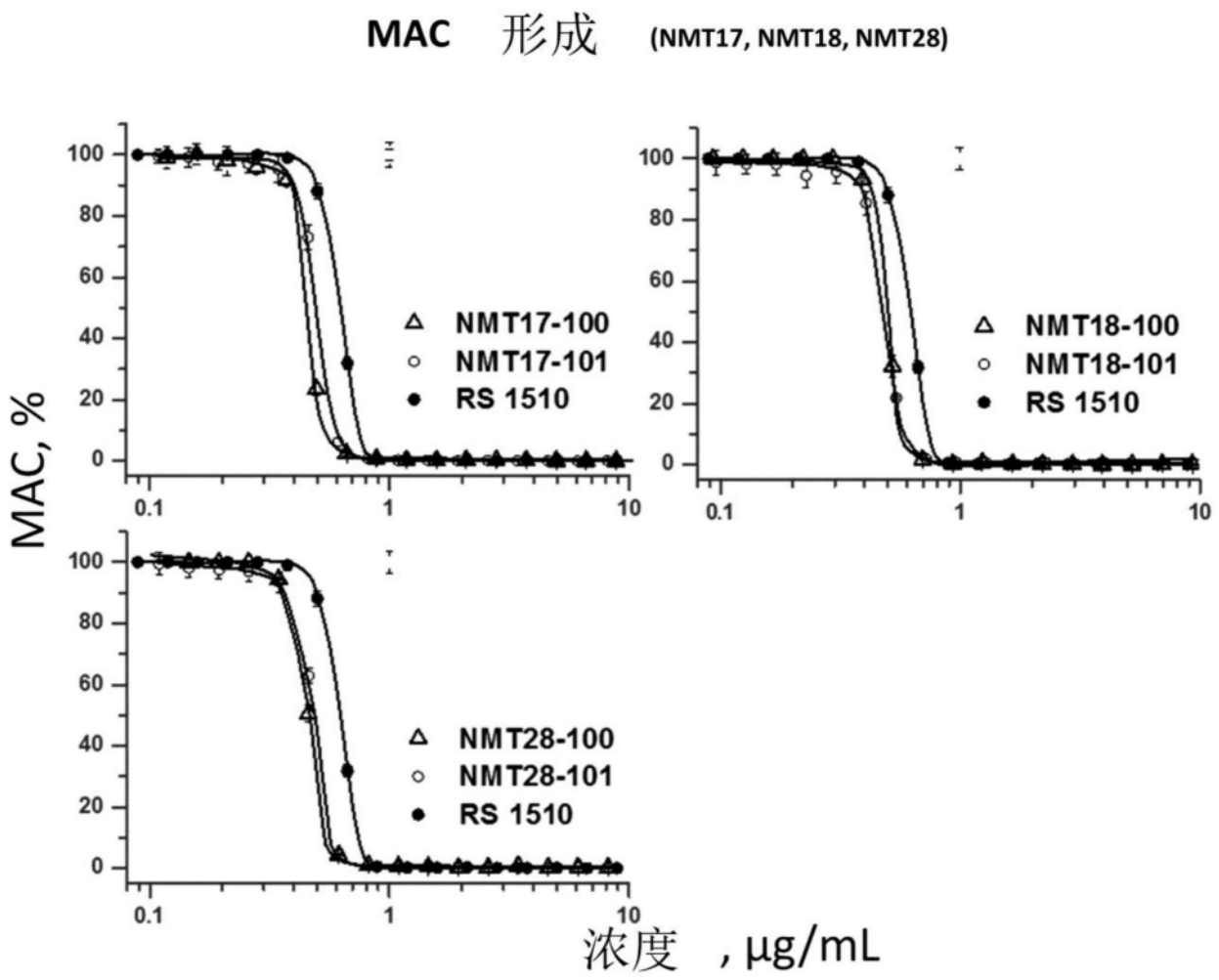

MAC 形成 (NMT17, NMT18, NMT28)
MAC, %
100
80
60
40
20
0
0.1
1
10
NMT17-100
NMT17-101
RS 1510
NMT18-100
NMT18-101
RS 1510
NMT28-100
NMT28-101
RS 1510
浓度 , μg/mL

图38

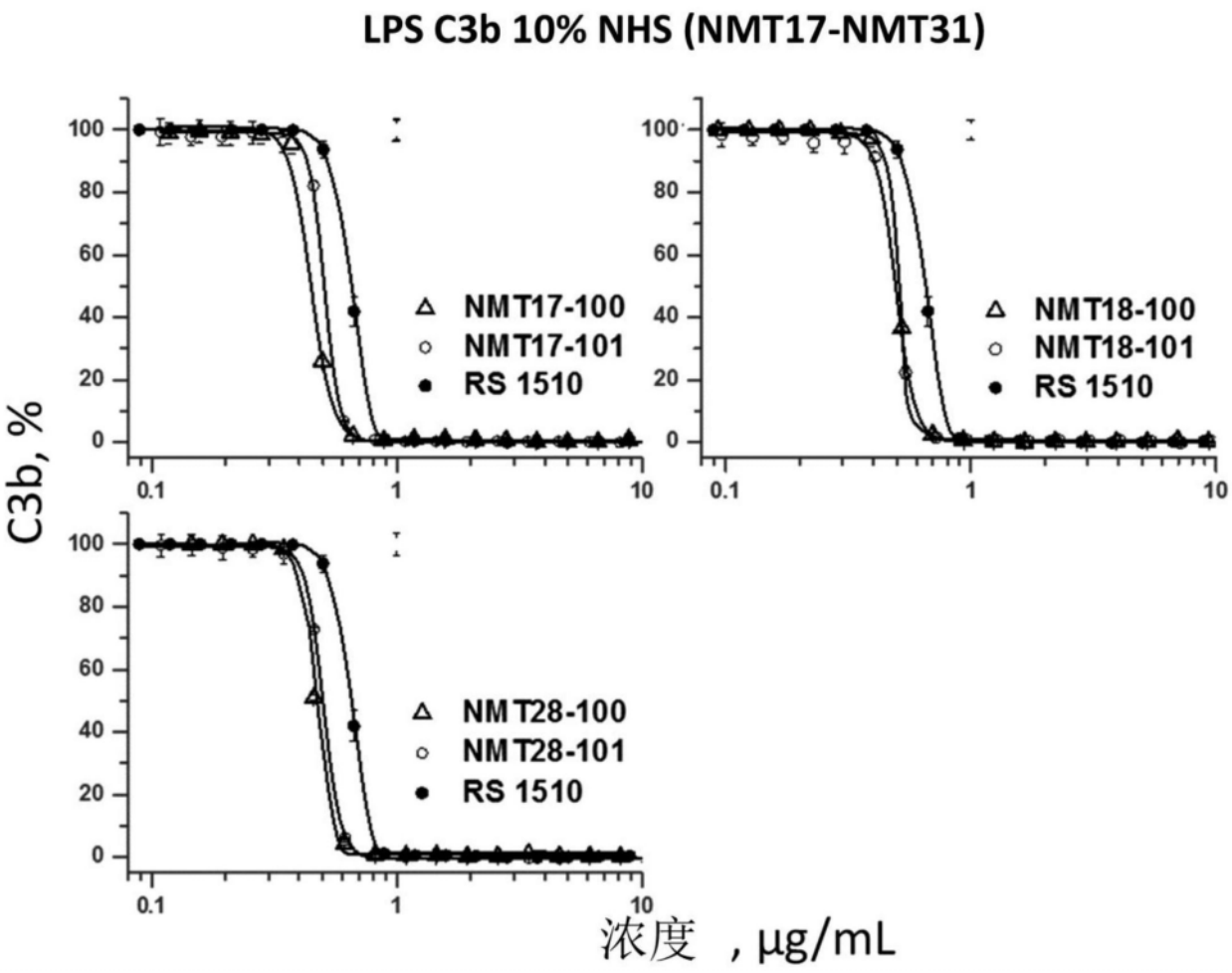

LPS C3b 10% NHS (NMT17-NMT31)
C3b, %
浓度 , μg/mL
NMT17-100
NMT17-101
RS 1510
NMT18-100
NMT18-101
RS 1510
NMT28-100
NMT28-101
RS 1510

图39

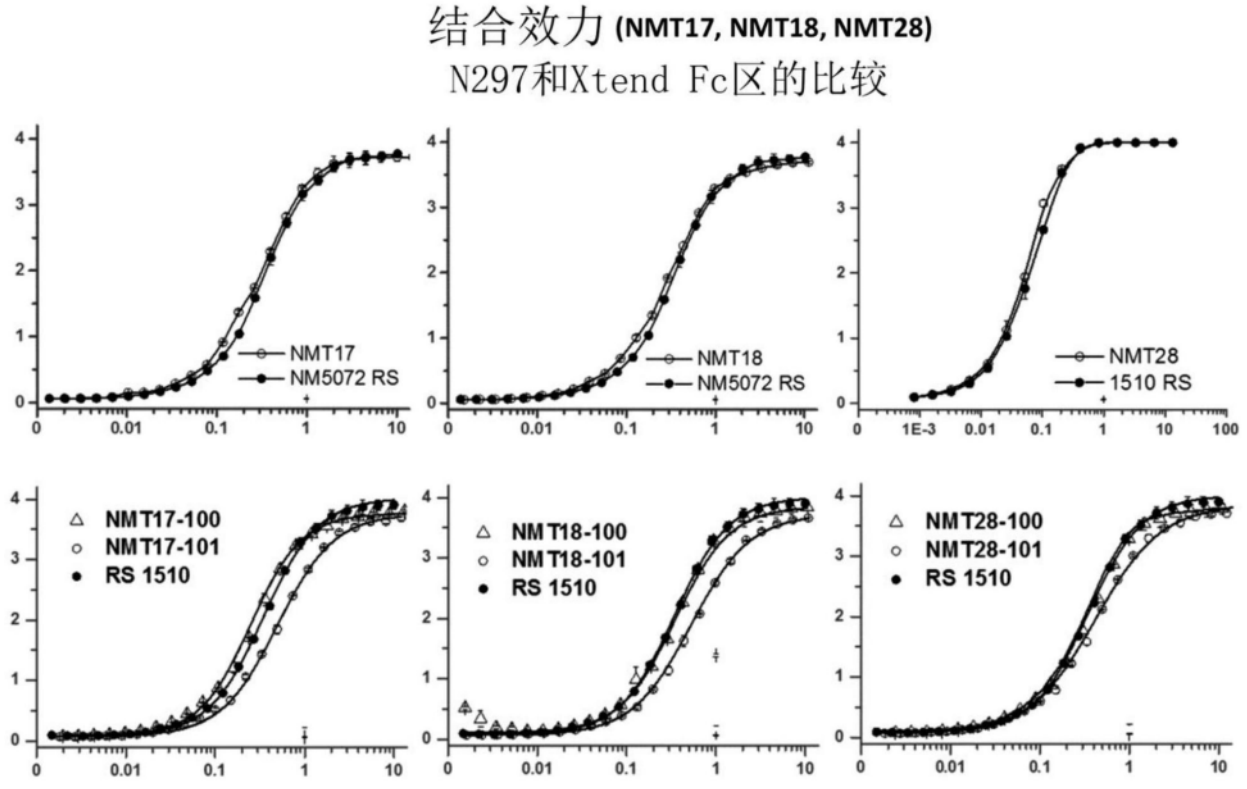

结合效力 (NMT17, NMT18, NMT28)
N297和Xtend Fc区的比较
NMT17
NM5072 RS
NMT18
NM5072 RS
NMT28
1510 RS
NMT17-100
NMT17-101
RS 1510
NMT18-100
NMT18-101
RS 1510
NMT28-100
NMT28-101
RS 1510

图40

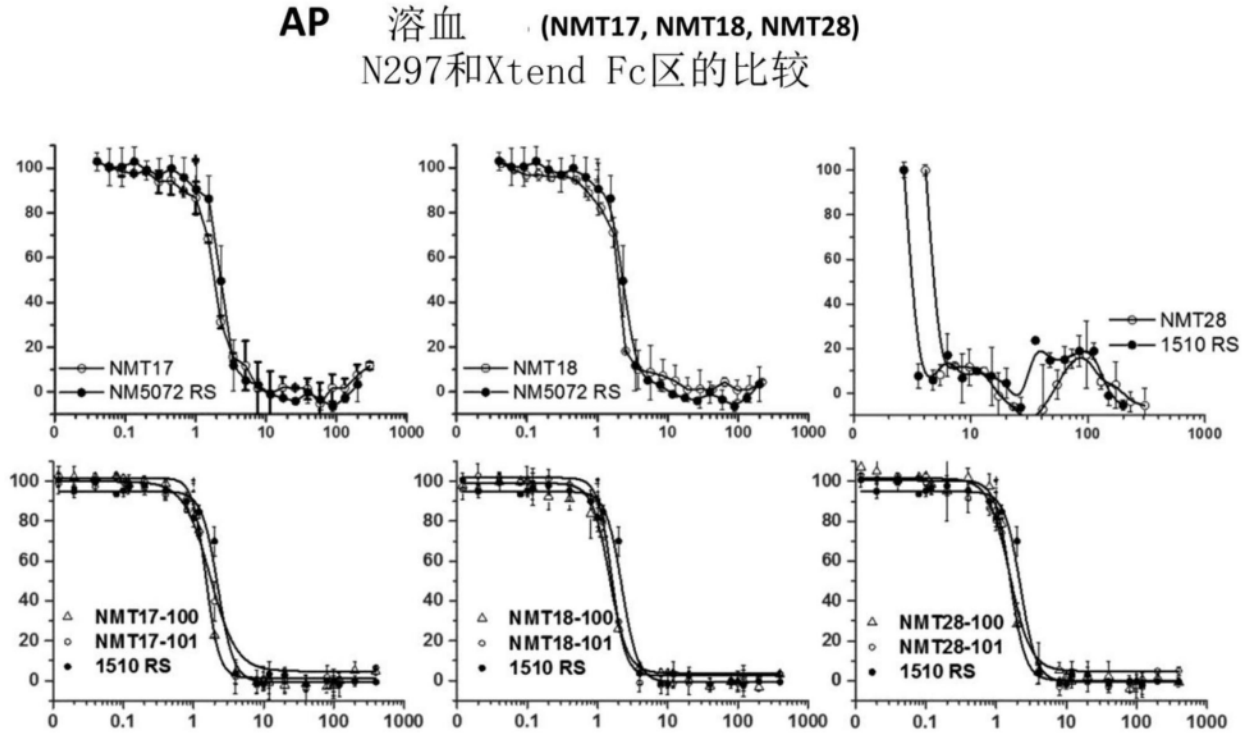

AP 溶血 (NMT17, NMT18, NMT28)
N297和Xtend Fc区的比较
NMT17
NM5072 RS
NMT18
NM5072 RS
NMT28
1510 RS
NMT17-100
NMT17-101
1510 RS
NMT18-100
NMT18-101
1510 RS
NMT28-100
NMT28-101
1510 RS

图41

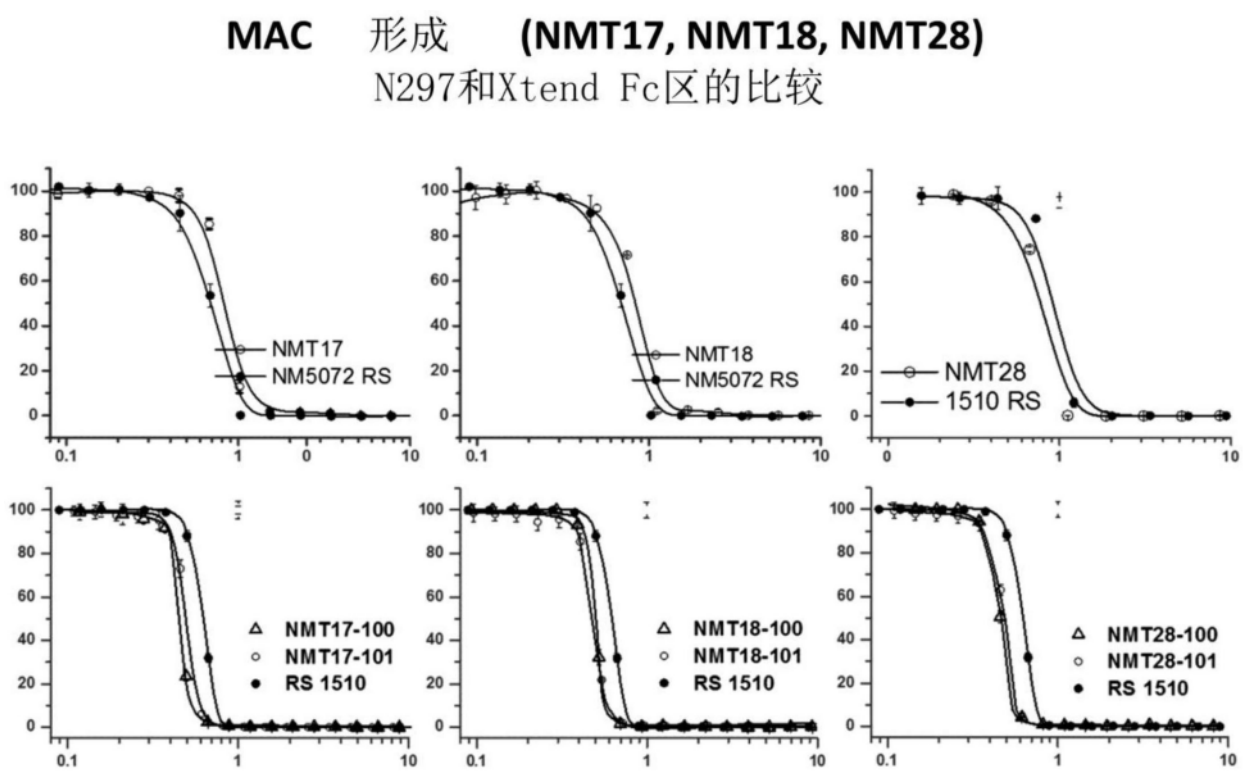

MAC 形成 (NMT17, NMT18, NMT28)
N297和Xtend Fc区的比较
NMT17
NM5072 RS
NMT18
NM5072 RS
NMT28
1510 RS
NMT17-100
NMT17-101
RS 1510
NMT18-100
NMT18-101
RS 1510
NMT28-100
NMT28-101
RS 1510

图42

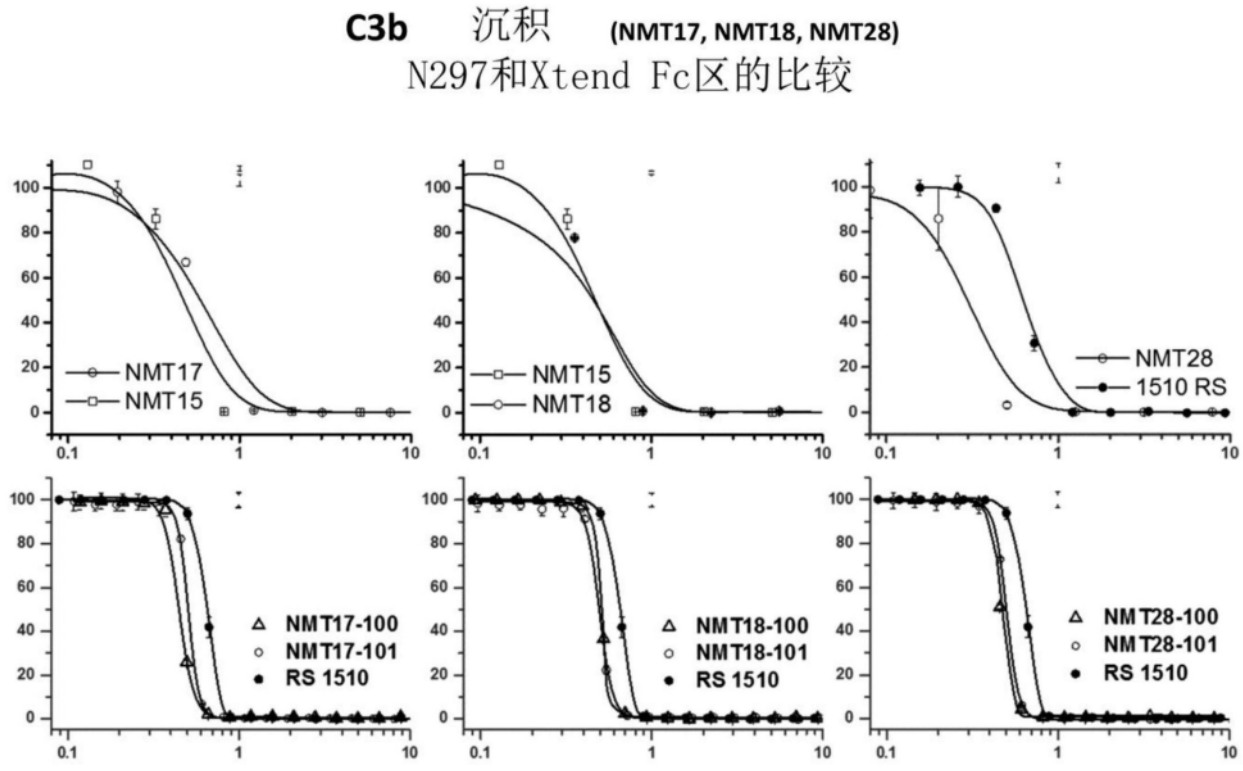

C3b 沉积 (NMT17, NMT18, NMT28)
N297和Xtend Fc区的比较
NMT17
NMT15
NMT15
NMT18
NMT28
1510 RS
NMT17-100
NMT17-101
RS 1510
NMT18-100
NMT18-101
RS 1510
NMT28-100
NMT28-101
RS 1510

图43

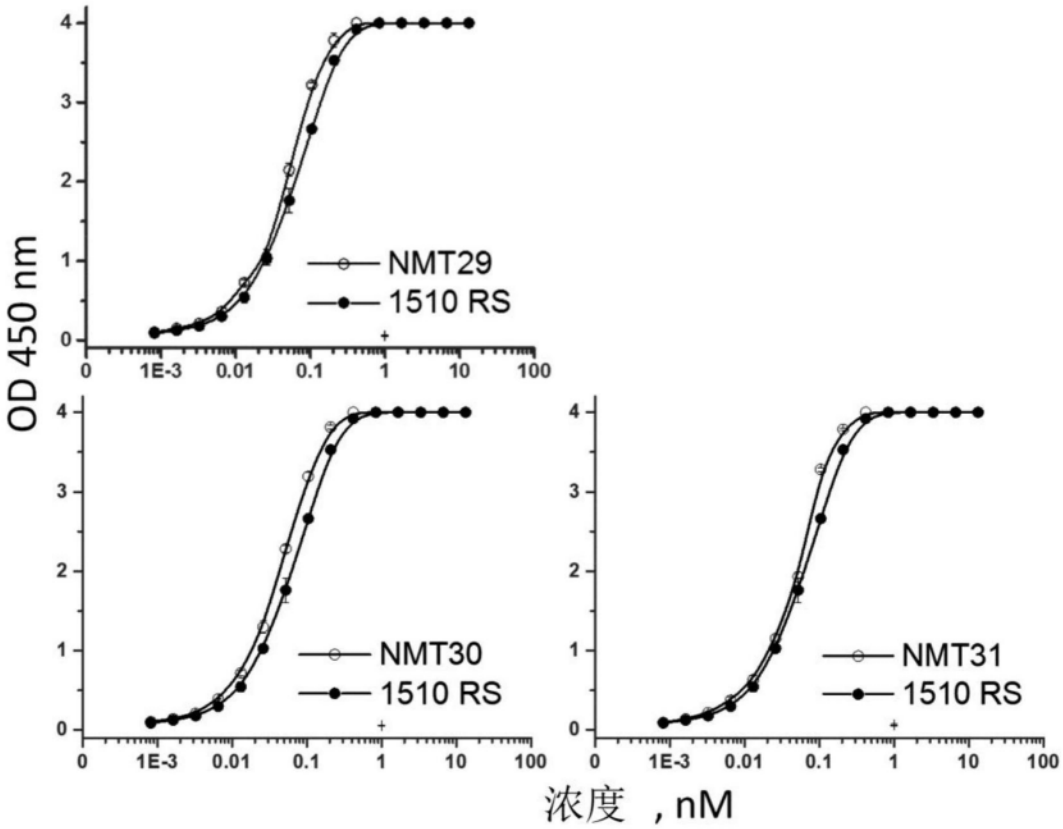


图44

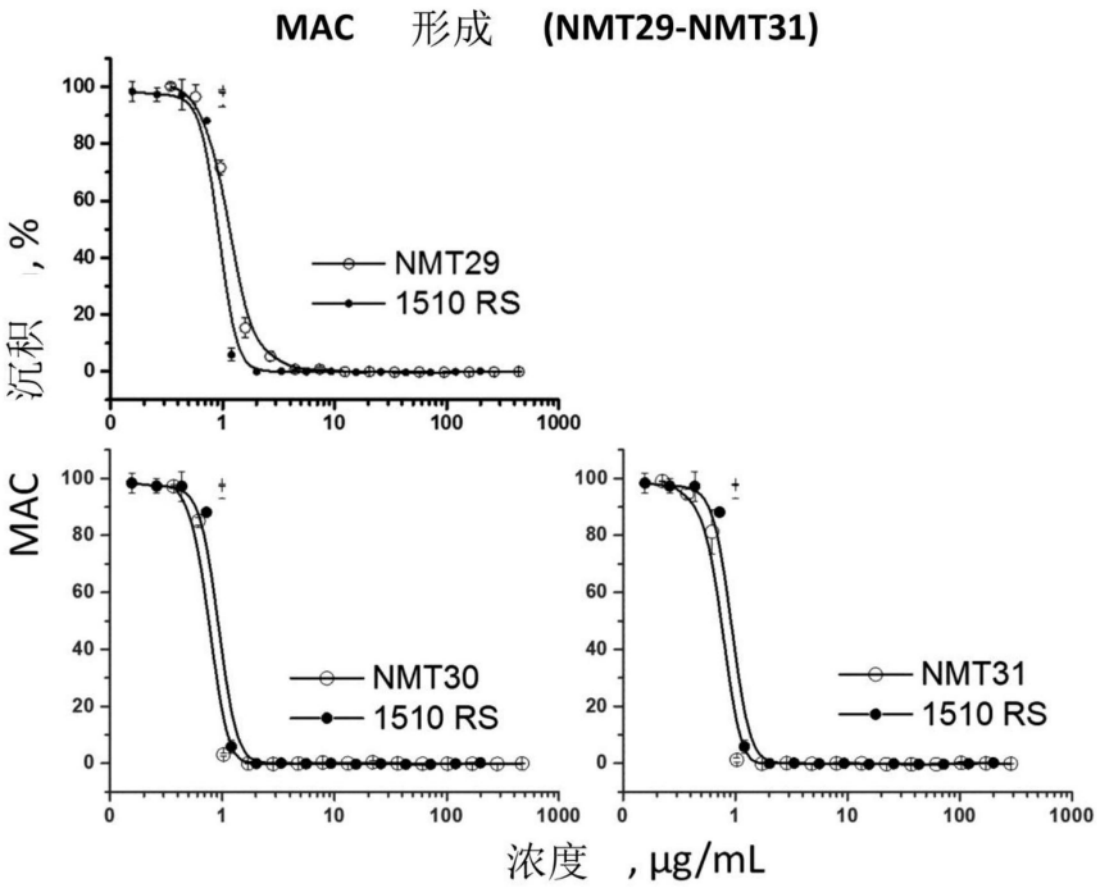

MAC 形成 (NMT29-NMT31)
MAC 沉积 ,%
NMT29
1510 RS
NMT30
1510 RS
NMT31
1510 RS
浓度 ,μg/mL

图45

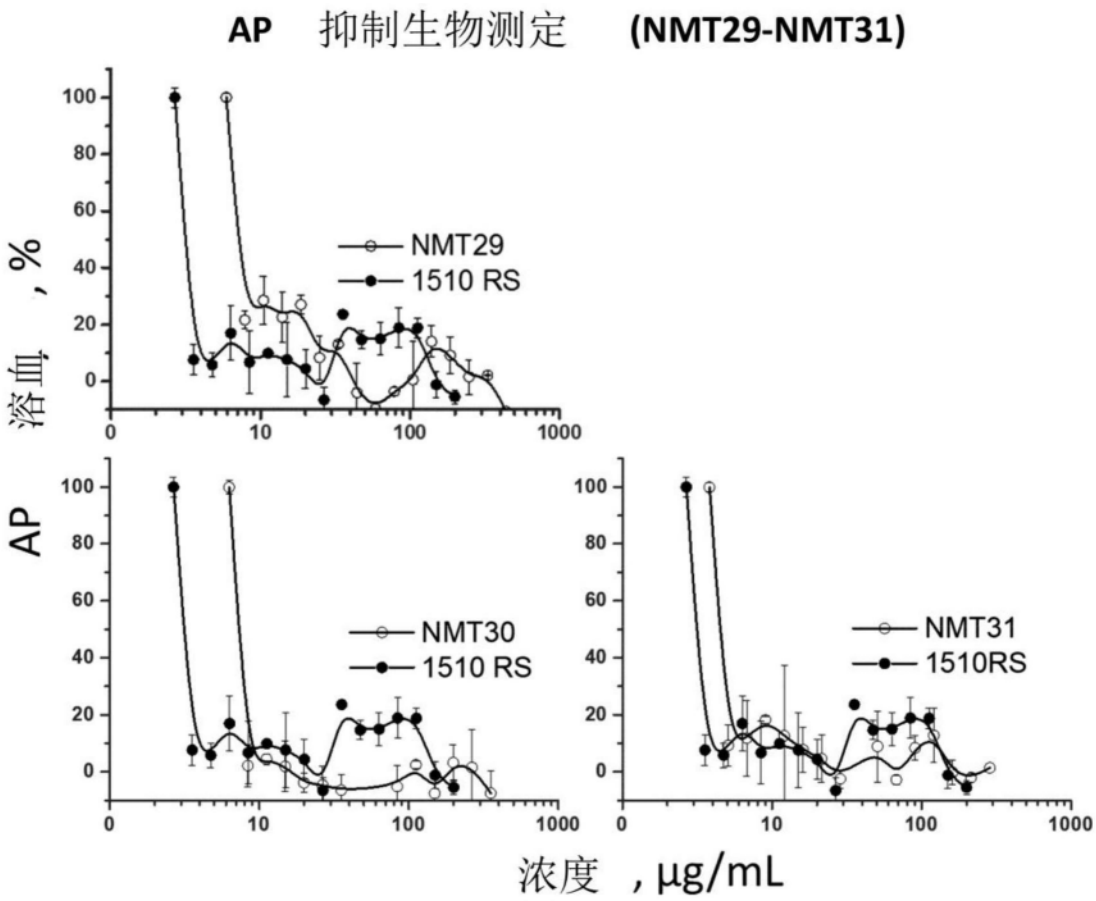

AP 抑制生物测定 (NMT29-NMT31)
溶血，%
AP
NMT29
1510 RS
NMT30
1510 RS
NMT31
1510RS
浓度，μg/mL

图46

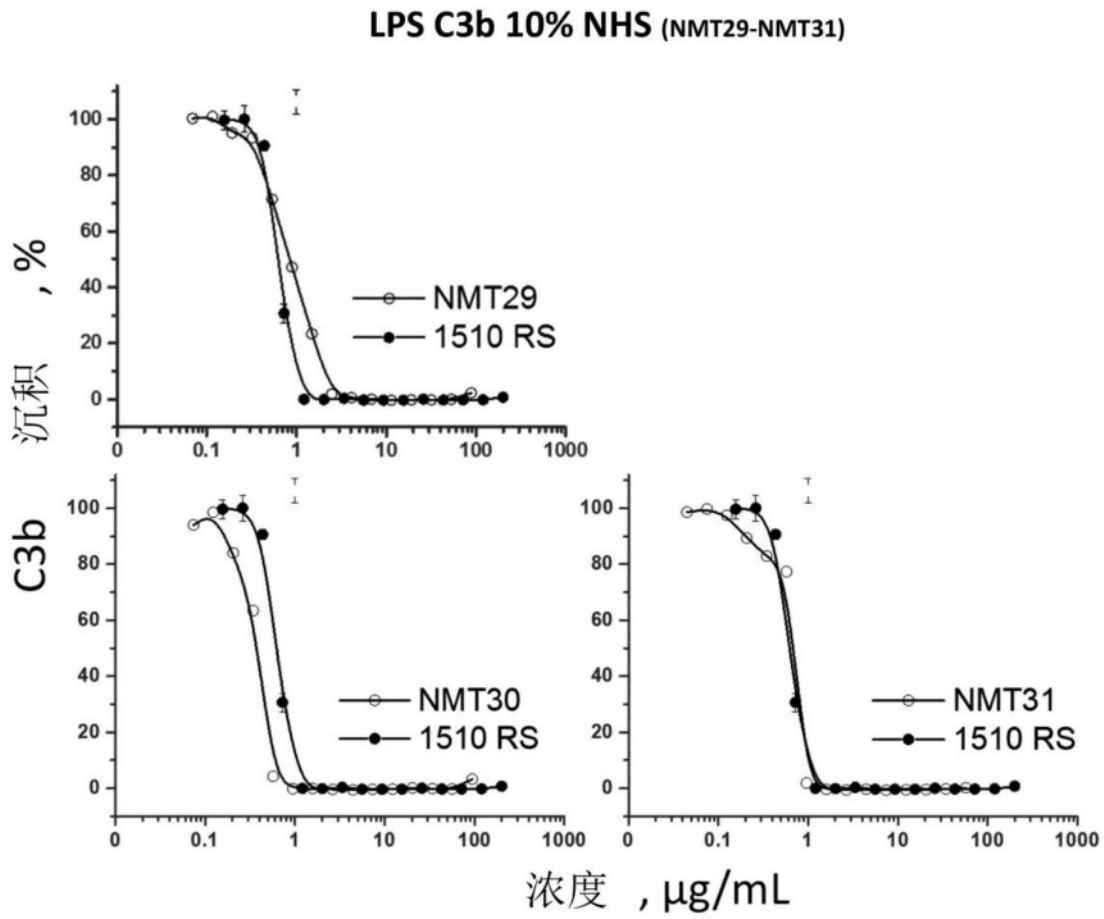

LPS C3b 10% NHS (NMT29-NMT31)
沉积 C3b ,%
NMT29
1510 RS
NMT30
1510 RS
NMT31
1510 RS
浓度 ,μg/mL

图47

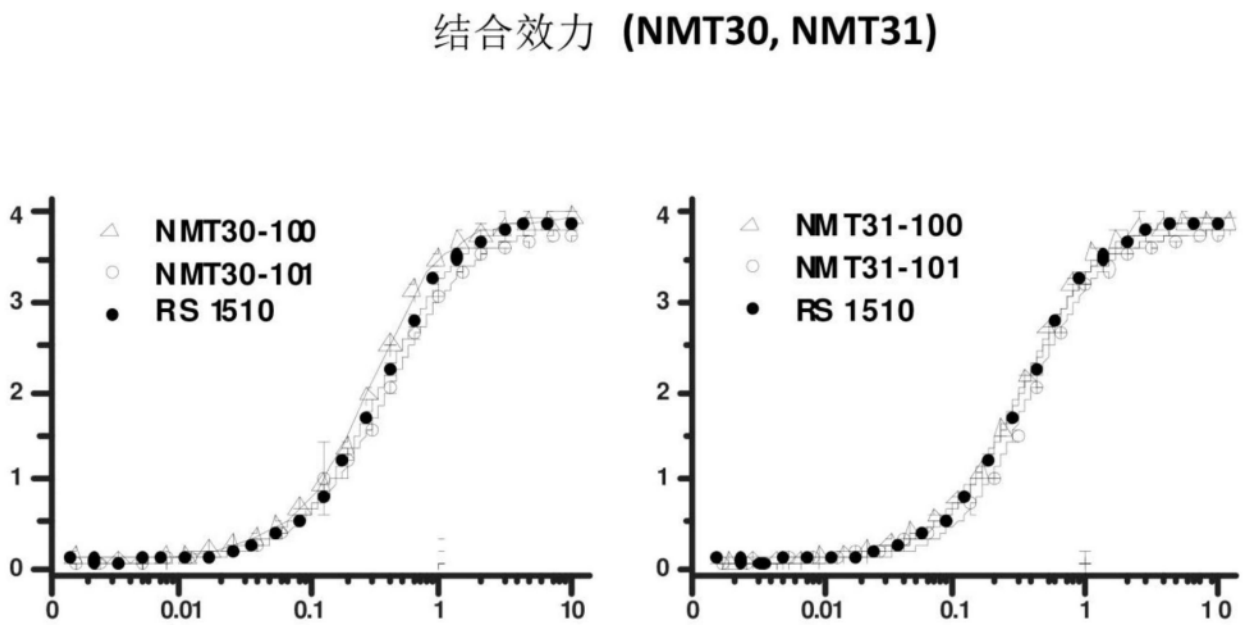

结合效力 (NMT30, NMT31)
NMT30-100
NMT30-101
RS 1510
NMT31-100
NMT31-101
RS 1510

图48

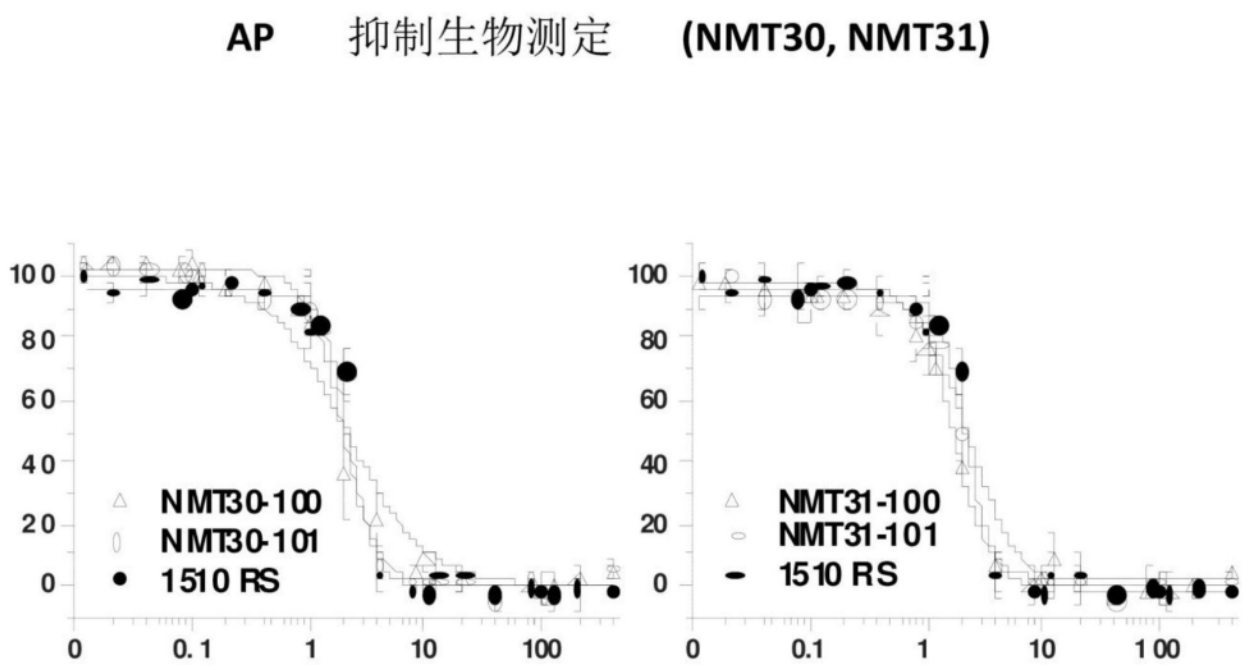

AP 抑制生物测定 (NMT30, NMT31)
NMT30-100
NMT30-101
1510 RS
NMT31-100
NMT31-101
1510 RS

图49

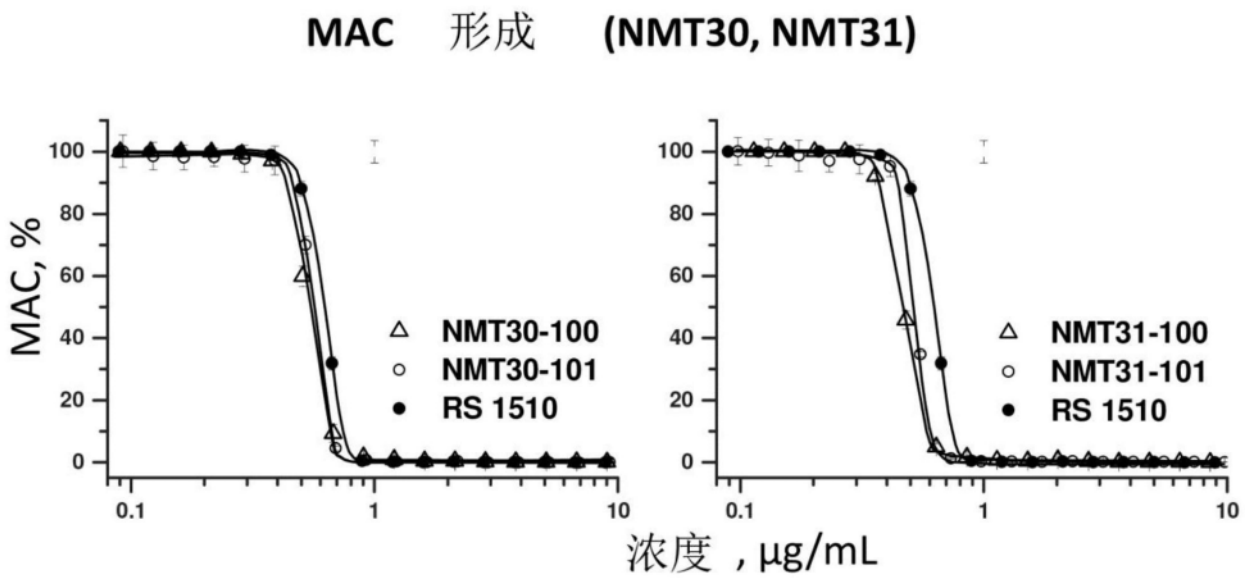

MAC 形成 (NMT30, NMT31)
MAC, %
NMT30-100
NMT30-101
RS 1510
NMT31-100
NMT31-101
RS 1510
浓度 , µg/mL

图50

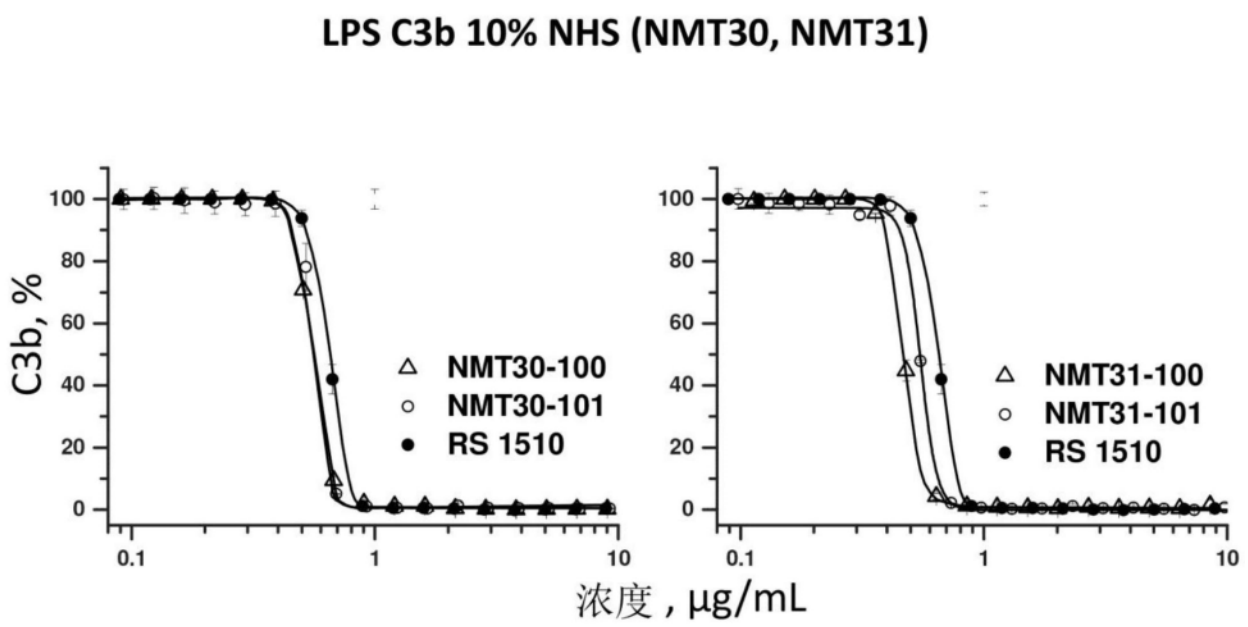

LPS C3b 10% NHS (NMT30, NMT31)
C3b, %
100
80
60
40
20
0
0.1
1
10
NMT30-100
NMT30-101
RS 1510
NMT31-100
NMT31-101
RS 1510
浓度，μg/mL

图51

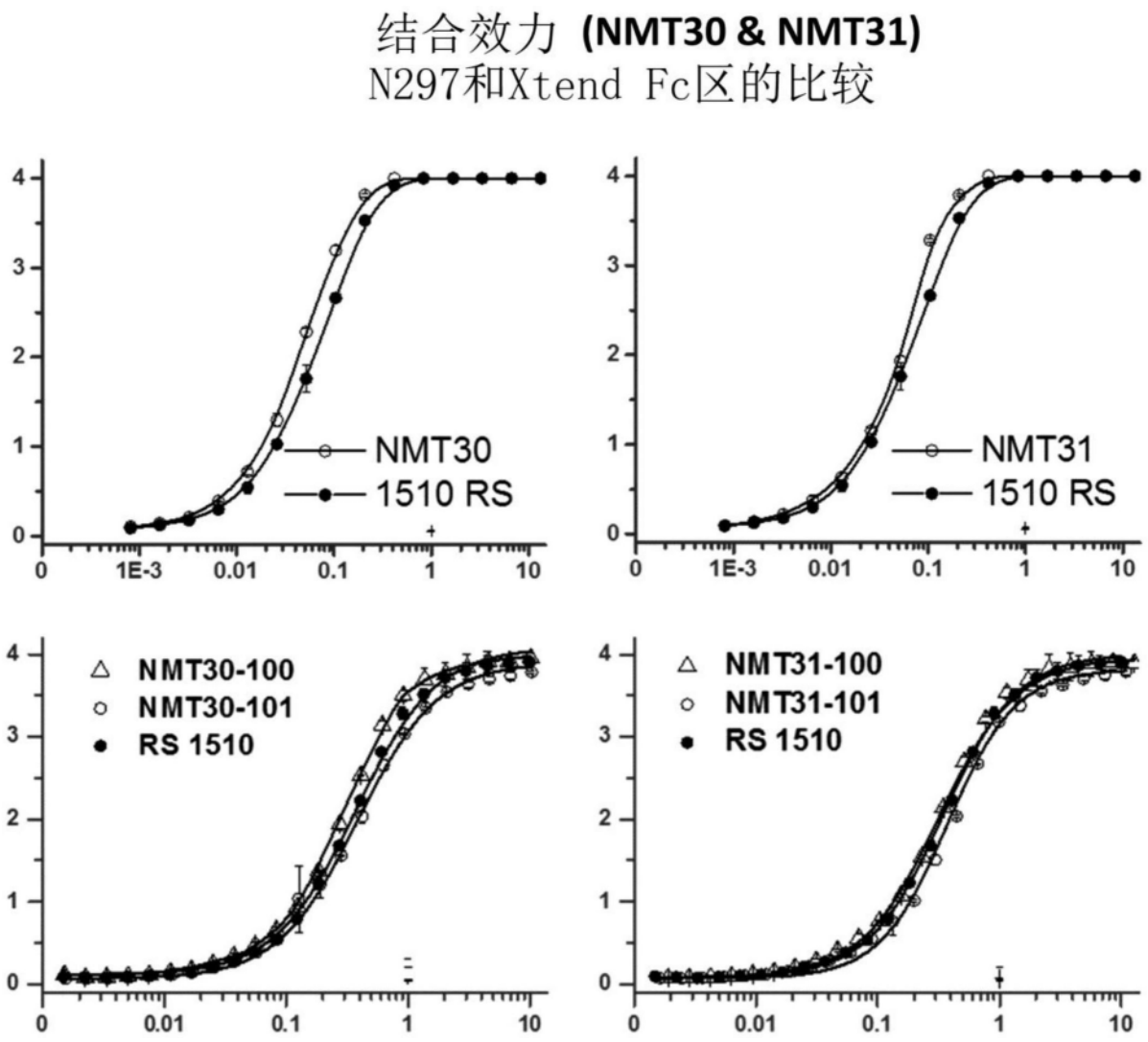

结合效力 (NMT30 & NMT31)
N297和Xtend Fc区的比较
NMT30
1510 RS
NMT31
1510 RS
NMT30-100
NMT30-101
RS 1510
NMT31-100
NMT31-101
RS 1510
0
1E-3
0.01
0.1
1
10

图52

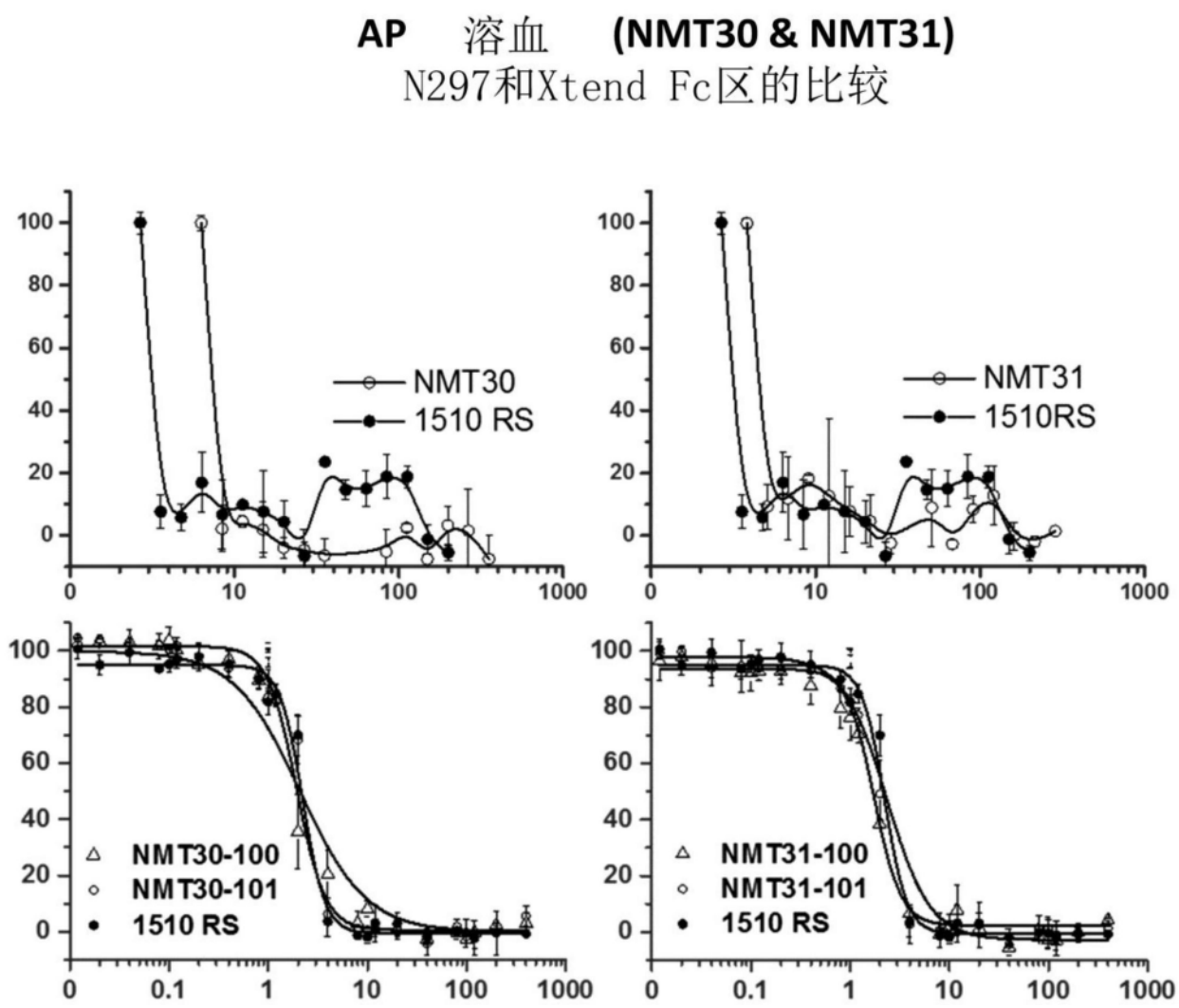

AP 溶血 (NMT30 & NMT31)
N297和Xtend Fc区的比较
NMT30
1510 RS
NMT31
1510RS
NMT30-100
NMT30-101
1510 RS
NMT31-100
NMT31-101
1510 RS

图53

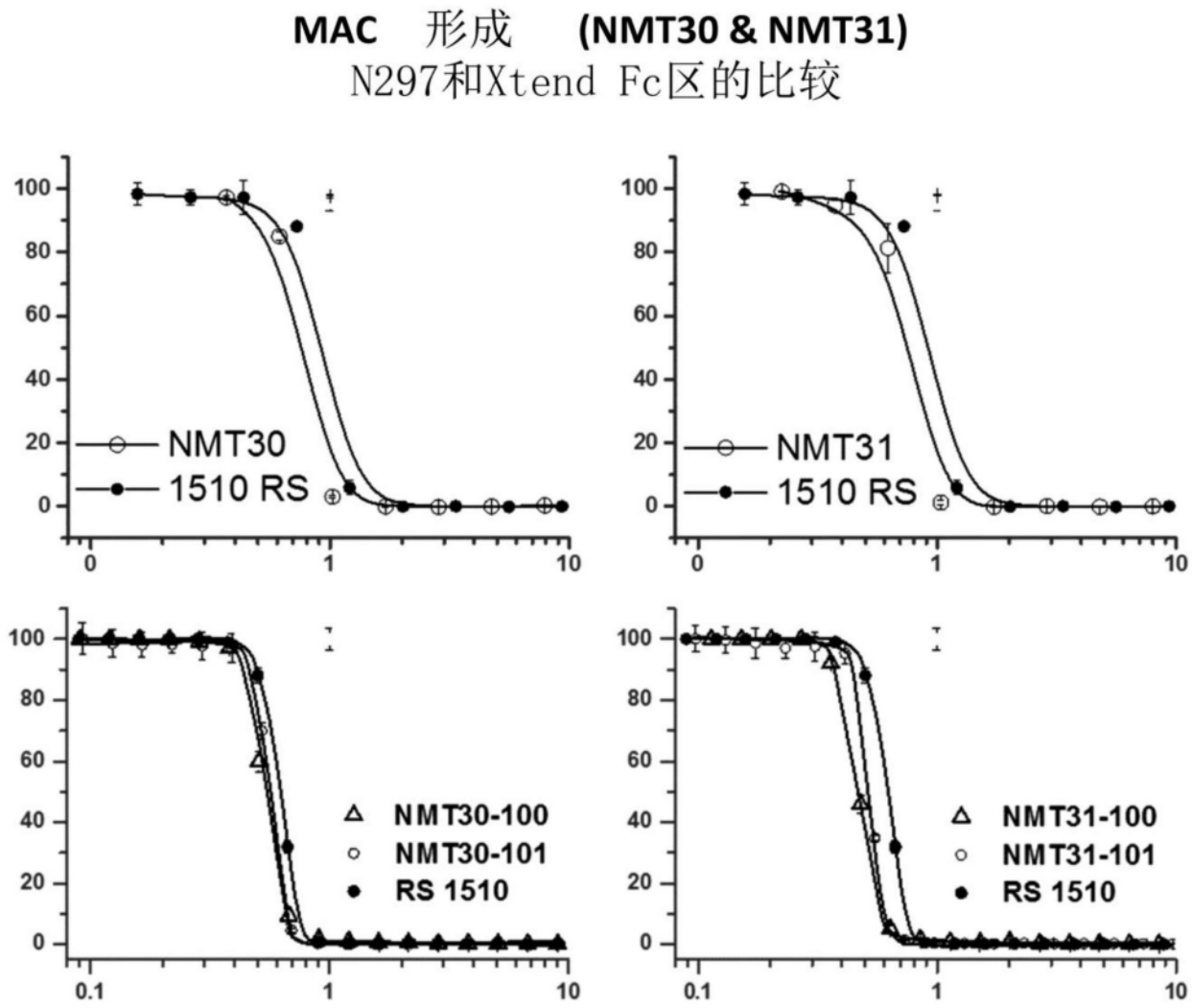

MAC 形成 (NMT30 & NMT31)
N297和Xtend Fc区的比较
NMT30
1510 RS
NMT31
1510 RS
NMT30-100
NMT30-101
RS 1510
NMT31-100
NMT31-101
RS 1510

图54

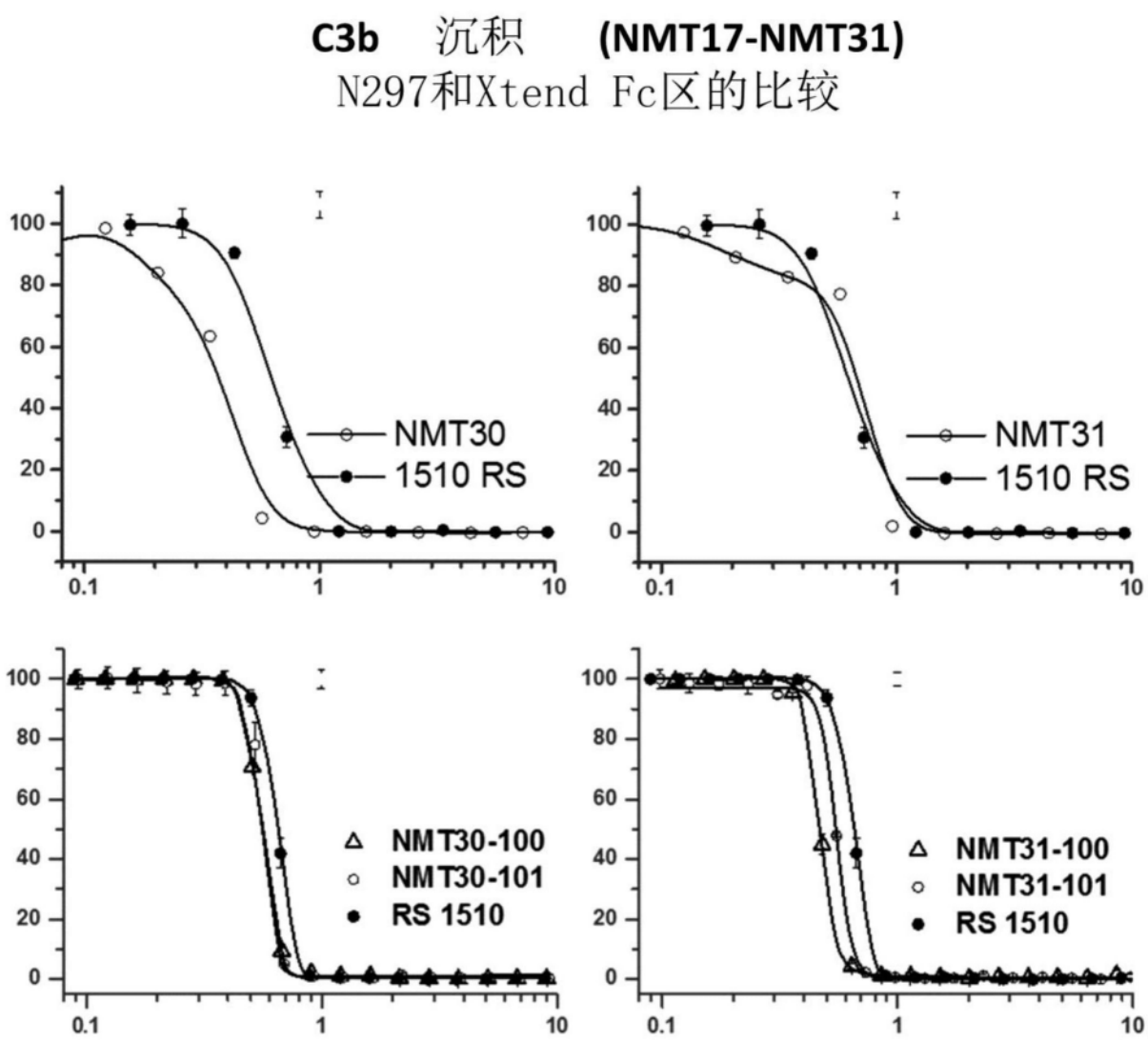

C3b 沉积 (NMT17-NMT31)
N297和Xtend Fc区的比较
NMT30
1510 RS
NMT31
1510 RS
NMT30-100
NMT30-101
RS 1510
NMT31-100
NMT31-101
RS 1510

图55