(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 117946268 A
(43)申请公布日 2024.04.30

(21)申请号 202311558425.X
(22)申请日 2017.09.20
(30)优先权数据
62/397,752 2016.09.21 US
62/515,480 2017.06.05 US
(62)分案原申请数据
201780064513.0 2017.09.20
(71)申请人 ALX肿瘤生物技术公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 J·庞斯 B·J·希姆 万虹
T·C-C·郭 S·E·考德
W·D·哈里曼 S·伊斯奎尔多
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴
(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
C07K 16/46(2006.01)

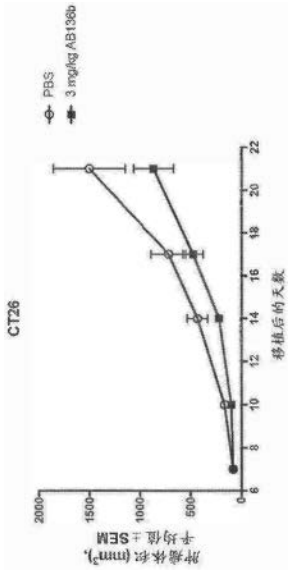
权利要求书1页 说明书191页
序列表（电子公布） 附图92页

(54)发明名称

针对信号调控蛋白α的抗体和使用方法

(57)摘要

本发明涉及针对信号调控蛋白α的抗体和使用方法。本文尤其提供了分离的抗体,其结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者。在一些实施方案中,所述抗体还结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域、小鼠SIRP-α多肽的胞外结构域、人SIRP-β多肽的胞外结构域和/或人SIRP-γ多肽的胞外结构域。在一些实施方案中,所述抗体阻断或不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合,而在一些实施方案中,所述抗体降低了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。本文进一步提供了与所述抗体相关的方法、多核苷酸、载体和宿主细胞。



CN 117946268 A

1.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者。

2.如权利要求1所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQ KEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVE FKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域。

3.如权利要求1所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQ KEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFK SGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域。

4.如权利要求1-3中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELI YNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSP DDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域并且结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIP VGPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPA DAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域。

5.如权利要求1-4中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域。

6.如权利要求5所述的抗体,其中所述猴SIRP-α多肽为食蟹猴SIRP-α多肽。

7.如权利要求5或6所述的抗体,其中所述抗体结合至少两种不同的猴SIRP-α变体多肽的胞外结构域。

8.如权利要求6或7所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域、包含氨基酸序列SEQ ID NO:12的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域或两者。

9.如权利要求1-8中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域。

10.如权利要求9所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的鼠类SIRP-α变体多肽的胞外结构域。

针对信号调控蛋白α的抗体和使用方法

[0001] 本发明申请是基于申请日为2017年09月20日,申请号为201780064513.0(国际申请号为PCT/US2017/052592)、名称为“针对信号调控蛋白α的抗体和使用方法”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2016年9月21日提交的美国临时申请序列号62/397,752和2017年6月5日提交的美国临时申请序列号62/515,480的优先权权益,所述美国临时申请各自据此以引用的方式整体并入。

[0004] ASCII文本文件序列表的提交

[0005] 以下提交的ASCII文本文件形式的内容以引用的方式整体并入本文:序列表的计算机可读形式(CRF)(文件名:757972000140SEQLIST.txt,记录日期:2017年9月20日;大小:411KB)。

技术领域

[0006] 本公开涉及结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者的分离的抗体,以及与所述抗体相关的多核苷酸、载体、宿主细胞和方法。

背景技术

[0007] 信号调控蛋白α(SIRP-α)是细胞表面受体家族的一部分,在免疫系统调控中起关键作用(参见例如,Barclay,A.N.和Brown,M.H.(2006)Nat.Rev.Immunol.6:457-64)。SIRP-α在各种细胞的表面上表达,所述细胞包括白细胞诸如树突状细胞、嗜酸性粒细胞、嗜中性粒细胞和巨噬细胞。SIRP-α包括与外部刺激(诸如配体)相互作用的胞外结构域和介导多种细胞内信号的胞内结构域。

[0008] SIRP-α的主要作用之一是其通过与CD47的相互作用调控免疫应答。CD47在多种细胞类型的表面上表达。当CD47的IgSF结构域结合免疫细胞(例如巨噬细胞)上表达的SIRP-α的胞外结构域(例如,D1结构域)时,这在免疫细胞中转导了SIRP-α介导的信号,所述信号阻止CD47表达细胞的吞噬。因此,CD47用于向免疫系统传达所谓的“不要吃我”信号,以防止对健康细胞的吞噬(参见例如,WO2015/138600和Weiskopf,K.等人(2013)Science 341:88-91)。然而,CD47也显示出被多种癌症高度表达,在这种背景下它与SIRP-α的相互作用被认为可以让肿瘤模拟健康的“不要吃我”信号,以便逃避免疫监视和巨噬细胞的吞噬作用(参见例如,Majeti,R.等人(2009)Cell 138:286-99;Zhao,X.W.等人(2011)Proc.Natl.Acad.Sci.108:18342-7)。因此,阻断这种相互作用的抗体是高度期望的。

[0009] 已知SIRP-α是人、猴和小鼠中的高度多态性蛋白。例如,已经在NOD和C57BL/6小鼠品系中的SIRP-α蛋白之间鉴定了20种氨基酸差异,并且这些多态性导致与这些小鼠品系中的人造血干细胞的CD47结合和植入相关的功能性后果。在人类中,已鉴定出SIRPA基因的至少10种不同的等位基因(Takenaka,K.等人(2007)Nat.Immunol.8:1313-23;Zhao,X.等人

(2011),PNAS.108:18342-47;van der Heijden,J.(2014).Genetic variation in human Fc gamma receptors:Functional consequences of polymorphisms and copy number variation(博士论文))。

[0010] 由于SIRP-α-CD47相互作用在正常免疫功能和肿瘤发生中的重要性,以及SIRP-α的多态性和其他SIRP家族受体的存在,鉴定具有不同的结合特异性以及种内和/或种间交叉反应性的抗体对于开发对人类群体有效的临床候选物以及在各种动物模型中表征这些候选物具有重要意义。因此,需要调节SIRP-α功能,例如其与CD47的结合相互作用的研究工具和潜在的临床候选物。还需要分离具有多种SIRP-α结合特异性和对CD47-SIRP-α结合具有影响的抗体的方法,以便理解并有效地靶向该关键相互作用。

[0011] 本文引用的所有参考文献,包括专利申请、专利公开、非专利文献和UniProtKB/Swiss-Prot登录号均以引用的方式整体并入本文,如同指明每个单独的参考文献具体且单独地以引用的方式并入。

发明内容

[0012] 为了满足这些和其他需要,本文尤其提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者。在一些实施方案中,所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域并且结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合三种、四种、五种、六种、七种、八种、九种或十种不同的人SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,三种、四种、五种、六种、七种、八种、九种或十种不同的人SIRP-α变体多肽中的每一种包含含有选自由SEQ ID NO:5、6和76-83组成的组的氨基酸序列的胞外结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,猴SIRP-α多肽为食蟹猴SIRP-α多肽。在一些实施方案中,所述抗体结合至少两种不同的猴SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域、包含氨基酸序列SEQ ID NO:12的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域或两者。在一些实施方案中,所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合两种或更多种不同的鼠类SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合一种或多种鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域,并且其中一种或多种鼠类SIRP-α多肽各自包

含选自由SE Q ID NO:7-10组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体不结合人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体不结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:13的人SIRP-β多肽的胞外结构域、包含氨基酸序列SEQ ID NO:14的人SIRP-β多肽的胞外结构域或两者。在一些实施方案中,所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:15的人SIRP-γ多肽的胞外结构域。在一些实施方案中,所述抗体调节表达人SIRP-α多肽的细胞中的SIRP-α信号传导。在一些实施方案中,所述细胞为选自由以下组成的组的白细胞:巨噬细胞、树突状细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和髓源性抑制细胞(MDS C)。在一些实施方案中,所述抗体抑制表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞中的SIRP-α信号传导。在一些实施方案中,所述抗体增强表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞的吞噬作用。在一些实施方案中,所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体阻断表达在第一细胞的表面上的人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与表达在第二细胞的表面上的人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体不结合包含与CD47的IgSF结构域结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。在一些实施方案中,所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体不阻断表达在第一细胞的表面上的人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与表达在第二细胞的表面上的人CD 47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体结合包含与CD47的IgSF结构域结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。在一些实施方案中,所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合降低了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。在一些实施方案中,所述抗体与表达在第一细胞的表面上的人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合降低了人SIRP-α多肽结合表达在第二细胞的表面上的人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。在一些实施方案中,所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合增加了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的k_{off}。在一些实施方案中,所述抗体与表达在第一细胞的表面上的人SI RP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合增加了人SIRP-α多肽结合表达在第二细胞的表面上的人CD47多肽的IgSF结构域的k_{off}。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIR P-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结

构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合降低了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合降低了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合降低了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。在一些实施方案中,所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、鼠类SI RP-α多肽和猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);其中所述抗体不结合人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)和人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)中的至少一个;并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体包含来自抗体S130的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变结构域序列;和/或轻链可变结构域序列。在一些实施方案中,所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、鼠类SIRP-α多肽、猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),以及人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)和人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)中的至少一个;并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体包含来自选自由S8、S13、S14和S121组成的

组的抗体的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变结构域序列;和/或轻链可变结构域序列。在一些实施方案中,所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、鼠类SIRP-α多肽和猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);其中所述抗体不结合,或以降低的亲和力结合人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)和人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)中的至少一个;并且其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体包含来自抗体S137的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变结构域序列;和/或轻链可变结构域序列。在一些实施方案中,所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽和猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);其中所述抗体不结合鼠类SIRP-α多肽;其中所述抗体不结合人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)和人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)中的至少一个;并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体包含来自选自由S128组成的组的抗体的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变结构域序列;和/或轻链可变结构域序列。在一些实施方案中,所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),以及人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)和人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)中的至少一个;其中所述抗体不结合鼠类SIRP-α多肽;并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体包含来自选自由S9、S11、S119、S120、S122和S135组成的组的抗体的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变结构域序列;和/或轻链可变结构域序列。在一些实施方案中,所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)和两种或更多种不同的猴SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),并且其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合降低了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。在一些实施方案中,所述抗体包含来自选自由S115、S116、S117和S118组成的组的抗体的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变结构域序列;和/或轻链可变结构域序列。在一些实施方案中,所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:120的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:97的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:127的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:104的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:133的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:134的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:135的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:136的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:137的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:138的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:139的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:140的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:141的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:142的VL结构域。

[0013] 在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体115(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体115(例如,如表2中所

列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体116(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体116(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体117(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体117(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体118(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体118(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体119(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体119(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体120(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体120(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体121(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体121(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体122(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体122(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体123(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体123(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗

体126(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体126(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体128(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体128(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体130(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体130(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体135(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体135(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体137(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体137(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体138(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体138(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体1(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体1(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体2(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体2(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体8(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体8

(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体9(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体9(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体11(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体11(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体12(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体12(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体13(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体13(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体14(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体14(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与抗体21、25、27或66(例如,如表2中所列出的)的VH结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与抗体21、25、27或66(例如,如表2中所列出的)的VL结构域具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:116具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:93具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:117具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:94具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:118具有85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、

95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:95具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:119具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:96具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:335具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:97具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:121具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:98具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:122具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:99具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:123具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:100具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:124具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:101具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:125具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:102具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:126具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:103具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:127具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:104具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:128具有85％、86％、87％、88％、89％、

90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:105具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:129具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:106具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:130具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:107具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:108具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:85具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:109具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:86具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:110具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:87具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:111具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:88具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:112具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:89具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:113具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:90具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:114具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:91具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:115具有

85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:92具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有与SEQ ID NO:135、137、139或141具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VH结构域和/或含有与SEQ ID NO:136、138、140、142具有85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列的VL结构域。

[0014] 在一些实施方案中,所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:227或230的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:228或231的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:229的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:232的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:233的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:234的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:219或235的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:236或238的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:237的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:239的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:240的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:241的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含(a)含有氨基酸序列GFSFSX$_1$X$_2$AMX$_3$的HVR-H1序列,其中X$_1$为N或I;X$_2$为F或Y;并且X$_3$为T或S(SEQ ID NO:185);(b)含有氨基酸序列TIGX$_4$X$_5$DTYYADSVKG的HVR-H2序列,其中X$_4$为S或A并且X$_5$为G或D(SEQ ID NO:186);(c)含有氨基酸序列DSTVX$_6$WSGDFFDY的HVR-H3序列,其中X$_6$为S或G(SEQ ID NO:187);(d)含有氨基酸序列RASQNVX$_7$X$_8$DX$_9$A的HVR-L1序列,其中X$_7$为K或R;X$_8$为N或S;并且X$_9$为L或I(SEQ ID NO:188);(e)含有氨基酸序列AAX$_{10}$X$_{11}$RX$_{12}$T的HVR-L2序列,其中X$_{10}$为R或S;X$_{11}$为I或S;并且X$_{12}$为E或D(SEQ ID NO:189);以及(f)含有氨基酸序列QQYYDWPPFT(SEQ ID NO:148)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,所述抗体包含来自抗体119(例如,如表2中所列出的)的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列。在一些实施方案中,所述抗体包含来自SEQ ID NO:335和97的可变结构域序列的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,来自SEQ ID NO:335的重链可变结构域序列的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自SEQ ID NO:97的轻链可变结构域序列的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,所述抗体包含来自抗体135(例如,如表2中所列出的)的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列。在一些实施方案中,所述抗体包含来自SEQ ID NO:127和104的可变结构域序列的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,来自SEQ ID NO:127的重链可变结构域序列的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自SEQ ID NO:104的轻链可变结构域序列的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,所述抗体包含来自SEQ ID NO:97、104、120、335和127的可变结构域序列的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,来自SEQ ID NO:335和127的重链可变结构域序列的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自SEQ ID NO:97和104的轻链可变结构域序列的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,所述抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:143-148的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:143-145的一种、两种或三种重链HVR序列和/或选自SEQ ID NO:146-148的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,所述抗体包含具有选自氨基酸

序列SEQ ID NO:148-153的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:149-151的一种、两种或三种重链HVR序列和/或选自SEQ ID NO:152、153和148的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,所述抗体包含来自抗体136(例如,如表2中所列出的)的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列。在一些实施方案中,所述抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:155-160的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:155-157的一种、两种或三种重链HVR序列和/或选自SEQ ID NO:158-160的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,所述抗体包含来自抗体21(例如,如表2中所列出的)的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列。在一些实施方案中,所述抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:161-166的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:161-163的一种、两种或三种重链HVR序列和/或选自SEQ ID NO:164-166的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,所述抗体包含来自抗体25(例如,如表2中所列出的)的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列。在一些实施方案中,所述抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:161、163、168和170-172的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:161、168和163的一种、两种或三种重链HVR序列和/或选自SEQ ID NO:170-172的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,所述抗体包含来自抗体27(例如,如表2中所列出的)的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列。在一些实施方案中,所述抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:163、173、174和176-178的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:163、173和174的一种、两种或三种重链HVR序列和/或选自SEQ IDNO:176-178的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,所述抗体包含来自抗体66(例如,如表2中所列出的)的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列。在一些实施方案中,所述抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:162、163、179和182-184的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:162、163和179的一种、两种或三种重链HVR序列和/或选自SEQ ID NO:182-184的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:143、202、204或205的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:144、203或206的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:145或207的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:146或208的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:147或209的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:148或210的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:149、211、213或214的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:150、212或215的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:151或216的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:152或217的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:153或218的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:148的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:155、219、221或222的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:156、220或223的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:157或224的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:158或225的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:159或226的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:160的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:161、191或194的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:162、192或195的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163或193的HVR-H3;和/或(b)

VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:161、191或194的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:168、196或197的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163或193的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:170的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:171的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:172的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:173、198或200的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:174、199或201的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163或193的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:176的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:177的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:178的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:179的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:182的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:183的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:184的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:135,和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:137;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:170的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:171的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:172的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:139;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:176的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:177的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:178的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:141;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:182的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:183的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:184的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含来自抗体3(例如,如表2中所列出的)的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列。在一些实施方案中,所述抗体包含(a)VH结构域,其包含来自SEQ ID NO:242的一种、两种或三种HVR序列;和/或(b)VL结构域,其包含来自SEQ ID NO:243的一种、两种或三种HVR序列。在一些实施方案中,所述抗体包含来自抗体45(例如,如表2中所列出的)的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列。在一些实施方案中,所述抗体包含(a)VH结构域,其包含来自SEQ ID NO:244的一种、两种或三种HVR序列;和/或(b)VL结构域,其包含来自SEQ ID NO:245的一种、两种或三种HVR序列。在一些实施方案中,所述抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:135;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164、170、176或182的HVR-L1;含有氨基酸序列SEQ ID NO:165、171、177或183的HVR-L2;和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166、172、178或184的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:137;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164、170、176或182的HVR-L1;含有氨基酸序列SEQ ID NO:165、171、177或183的HVR-L2;和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166、172、178或184的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:139;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164、170、176或182的HVR-L1;含有氨基酸序列SEQ ID NO:165、171、177

或183的HVR-L2;和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166、172、178或184的HVR-L3。在一些实施方案中,所述抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:141;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164、170、176或182的HVR-L1;含有氨基酸序列SEQ ID NO:165、171、177或183的HVR-L2;和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166、172、178或184的HVR-L3。在一些实施方案中,HVR序列中的一种、两种、三种、四种、五种或六种用Kabat定义。在一些实施方案中,HVR序列中的一种、两种、三种、四种、五种或六种用Chothia定义。在一些实施方案中,HVR序列中的一种、两种、三种、四种、五种或六种用IMGT定义。在一些实施方案中,所述抗体包含如用Kabat、Chothia和IMGT中的两种或更多种定义的HVR序列(例如,所述抗体包含如用一种描绘定义的一种或多种HVR序列和用不同描绘定义的一种或多种HVR序列)。

[0015] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体包含:(a)重链可变(VH)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列NFAMT(SEQ ID NO:175)、NFAVT(SEQ ID NO:204)或NFALT(SEQ ID NO:305)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列TIGSGDTYYADSVKG(SEQ ID NO:144)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列DSTVSWSGDFFDY(SEQ ID NO:145)的HVR-H3序列;和/或(b)轻链可变(VL)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列RASQNVKNDLA(SEQ ID NO:146)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列AARIRET(SEQ ID NO:147)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列QQYYDWPPFT(SEQ ID NO:148)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:120、335、246、258或327具有至少90%同一性的氨基酸序列;并且/或者VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:97或312具有至少90%一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:246,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:97;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:258,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:97;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:335,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:97;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:327,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:97;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:246,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:312;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:258,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:312;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:335,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:312;或者VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:327,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:312。

[0016] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体包含:(a)重链可变(VH)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列IYAMS(SEQ ID NO:269)、IYAVS(SEQ ID NO:213)或IYALS(SEQ ID NO:306)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列TIGADDTYYADSVKG(SEQ ID NO:150)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列DSTVGWSGDFFDY(SEQ ID NO:151)的HVR-H3序列;和/或(b)轻链可变(VL)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列RASQNVRSDIA(SEQ ID NO:152)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列AASSRDT(SEQ ID NO:153)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列QQYYDWPPFT(SEQ ID NO:148)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:341、247、259或328具有至少90%同一性的氨基酸序列;并且/或者VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:104或248具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:127,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:104;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:247,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:104;VH结构域包含氨

基酸序列SEQ ID NO:259,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:104;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:328,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:104;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:127,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:248;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:247,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:248;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:259,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:248;或者VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:328,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:248。

[0017] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体包含:(a)重链可变(VH)结构域,其包含:(i)含有氨基酸序列$X_1X_2DX_3N$的HVR-H1序列,其中X_1为S或T;X_2为Y或S;并且X_3为M、L或V(SEQ ID NO:307);(ii)含有氨基酸序列LISGSGEIX_1YYADSVKG的HVR-H2序列,其中X_1为I或T(SEQ ID NO:308);以及(iii)含有氨基酸序列E$X_1X_2X_3$YRFFDX_4的HVR-H3序列,其中X_1为N或D;X_2为N或D;X_3为R或M;并且X_4为D或Y(SEQ ID NO:309);并且/或者(b)轻链可变(VL)结构域,其包含:(i)含有氨基酸序列RAX_1QSVYX_2YLA的HVR-L1序列,其中X_1为S或D并且;X_2为T或S(SEQ ID NO:310);(ii)含有氨基酸序列$X_1AX_2X_3RAX_4$的HVR-L2序列,其中X_1为G、A或D;X_2为S或R;X_3为S、N或T;并且X_4为T或A(SEQ ID NO:311);并且(iii)含有氨基酸序列QQYYDRPPLT(SEQ ID NO:160)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,所述抗体包含(a)重链可变(VH)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列SYDMN(SEQ ID NO:270)、SYDVN(SEQ ID NO:221)或SYDLN(SEQ ID NO:313)的HVR-H1序列,(ii)含有LISGSGEIIYYADSVKG(SEQ ID NO:156)的氨基酸序列的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列ENNRYRFFDD(SEQ ID NO:157)的HVR-H3序列;和/或(b)轻链可变(VL)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列RASQSVYTYLA(SEQ ID NO:158)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列GASSRAT(SEQ ID NO:159)的HVR-L2序列,和(iii)含氨基酸序列有QQYYDRPPLT(SEQ ID NO:160)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:249、133、260或329具有至少90%同一性的氨基酸序列;并且/或者VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:134、250或251具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;或者VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251。

[0018] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体包含:重链可变(VH)结构域,其包含:含有氨基酸序列$X_1X_2AX_3S$的HVR-H1序列,其中X_1为S或T;X_2为N、Y、H或D;并且X_3为M、L或V(SEQ ID NO:297);含有氨基酸

序列GISX$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$X$_6$YYX$_7$X$_8$SX$_9$KG的HVR-H2序列,其中,X$_1$为A或S;X$_2$为G、S或不存在;X$_3$为S、D或G;X$_4$为G或S;X$_5$为D、S或G;X$_6$为T或A;X$_7$为P、G、V、I、A或S;X$_8$为A、D或G;并且X$_9$为V或M(SEQ ID NO:298);和含有氨基酸序列ETWNHLFDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列;和/或轻链可变(VL)结构域,其包含:含有氨基酸序列SGGX$_1$X$_2$ X$_3$SX$_4$YYX$_5$的HVR-L1序列,其中X$_1$为D、G、S、I或不存在;X$_2$为S、W、G、Y、D或不存在;X$_3$为S、Y、T或D;X$_4$为H、T、S或Y;并且X$_5$为G或A(SEQ ID NO:299);含有氨基酸序列SDX$_1$X$_2$RP X$_3$的HVR-L2序列,其中X$_1$为D或N;X$_2$为E、K、或Q;并且X$_3$为S或P(SEQ ID NO:300);和含有氨基酸序列X$_1$X$_2$YDX$_3$X$_4$X$_5$YX$_6$NX$_7$的HVR-L3序列,其中X$_1$为G或A;X$_2$为G或A;X$_3$为G、Y、Q、S或A;X$_4$为S、R或T;X$_5$为T或S;X$_6$为A、I、V、L或T;并且X$_7$为T、A、D或P(SEQ ID NO:301)。在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体包含:重链可变(VH)结构域,其包含:重链可变(VH)结构域,其包含:含有氨基酸序列SX$_1$AX$_2$S的HVR-H1序列,其中X$_1$为N或Y;并且其中X$_2$为M、L、或V(SEQ ID NO:302);含有氨基酸序列GISX$_1$GX$_2$X$_3$DTYYX$_4$X$_5$SVKG的HVR-H2序列,其中X$_1$为A或S;X$_2$为G或不存在;X$_3$为S或G;X$_4$为P、G或V;并且X$_5$为A或D(SEQ ID NO:303);和含有氨基酸序列ETWN HLFDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列;和/或轻链可变(VL)结构域,其包含:含有氨基酸序列SGGX$_1$YSSYYYA的HVR-L1序列,其中X$_1$为S或A(SEQ ID NO:304);含有氨基酸序列SDDKRPS(SEQ ID NO:336)的HVR-L2序列;和含有氨基酸序列GGYDQSSYTNP(SEQ ID NO:172)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,VH结构域包含(i)含有氨基酸序列SNAMS(SEQ ID NO:194)、SNAVS(SEQ ID NO:271)或SNALS(SEQ ID NO:318)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列GISAGGSDTYYPASV KG(SEQ ID NO:195)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列ETWNH LFDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列。在一些实施方案中,VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:135、263、264或330具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH结构域包含(i)含有氨基酸序列SNAMS(SEQ ID NO:194)、SNAVS(SEQ ID NO:271)或SNALS(SEQ ID NO:318)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列GISSGSDTYYGDSVK G(SEQ ID NO:197)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列ETWNHL FDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列。在一些实施方案中,VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:137、265、266或331具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH结构域包含(i)含有氨基酸序列SYAMS(SEQ ID NO:200)、SYAVS(SEQ ID NO:272)或SYALS(SEQ ID NO:319)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列GISSGGDTYYVDSVK G(SEQ ID NO:201)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列ETWNHL FDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列。在一些实施方案中,VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:139、267、268或332具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL结构域包含序列FW1—HVR-L1—FW2—HVR-L2—FW3—HVR-L3—FW4(N末端至C末端),其中FW1包含氨基酸序列SYELTQPPSVSVSPGQTARITC(SEQ ID NO:314),FW2包含氨基酸序列WYQQKPGQAPVTLIY(SEQ ID NO:315),FW3包含氨基酸序列NIPERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEA DYYC(SEQ ID NO:316),并且FW4包含氨基酸序列FGGGTKLTVL(SEQ ID NO:317)。在一些实施方案中,VL结构域包含(i)含有氨基酸序列SGGSYSSYYYA(SEQ ID NO:170)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列SDDKRPS(SEQ ID NO:336)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列GGYDQSSYTNP(SEQ ID NO:172)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:252具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL结构域包含(i)含有氨基酸序列SGGAYSSYYYA(SEQ ID NO:261)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列

SDDKRPS(SEQ ID NO:336)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列GGYDQSSYTNP(SEQ ID NO:172)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO 262具有至少90％同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:263,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:264,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:330,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:135,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:137,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:139,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:265,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:266,并且VL结构域包含氨基酸序列SE Q ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:331,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:267,并且VL结构域包氨基酸序列含SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:268,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:332,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:263,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:264,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:330,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:265,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:266,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:331,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:267,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:268,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:332,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:135,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:137,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;或者VH结构域包含氨基酸序列SE Q ID NO:139,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262。

[0019] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的I31、V33、Q52、K53、T67、R69、N70和K96组成的组的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体在根据SEQ ID NO:296的I31、V33、Q52、K53、T67、R69、N70和K96处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体进一步在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的L30、P32、E54、T62、N71、M72、F74和R95组成的组的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体进一步在根据SEQ ID NO:296的L30、P32、E54、T62、N71、M72、F74和R95处与人SIRP-αv1多肽结合。

[0020] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的I7、P9、D10、K11、S12、A42、A108和E111组成的组的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体在根据SEQ ID NO:296的K11、A42、A108和E111处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实

施方案中,所述抗体在根据SEQ ID NO:296的I7、P9、D10、K11、S12、A108和E111处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体进一步在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的L14、T26、T28、T88、Y90、S106、S113和A116组成的组的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体进一步在根据SEQ ID NO:296的人SIRP-αv1多肽的L14、T88、Y90、S106、S113和A116处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体进一步在根据SEQ ID NO:296的L14、T26和T28处与人SIRP-αv1多肽结合。

[0021] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的E47、L48、P58、R59、T82和A84组成的组的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体在根据SEQ ID NO:296的E47、L48、P58、R59、T82和A84处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体进一步在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的A17、P44、G45、I49、E54、G55、H56、F57和P83组成的组的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体进一步在根据SEQ ID NO:296的人SIRP-αv1的A17、P44、G45、I49、E54、G55、H56、F57和P83处与人SIRP-αv1多肽结合。

[0022] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体以小于100nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域,并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体以小于100nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv2多肽的胞外结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的D1结构域和人SIRP-αv2多肽的D1结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-β多肽的胞外结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域。

[0023] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-α多肽的D1结构域,并且其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体以小于100nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-α的D1结构域。在一些实施方案中,所述抗体以小于100nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv1多肽的D1结构域并且/或者以小于100nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv2多肽的D1结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的D1结构域和人SIRP-αv2多肽的D1结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-β多肽的胞外结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域。

[0024] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由抗体119、120、121、122、21、25、27、66和135组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:120的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:97的轻链可变(VL)结构域;

(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:98的轻链可变(VL)结构域;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:130的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:107的轻链可变(VL)结构域;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:122的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:99的轻链可变(VL)结构域;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:135的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:136的轻链可变(VL)结构域;(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:137的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:138的轻链可变(VL)结构域;(g)包含氨基酸序列SEQ ID NO:139的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:140的轻链可变(VL)结构域;(h)包含氨基酸序列SEQ ID NO:141的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:142的轻链可变(VL)结构域;或(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:127的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:104的轻链可变(VL)结构域。

[0025] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由抗体136和137组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:133的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:134的轻链可变(VL)结构域;或(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:128的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:105的轻链可变(VL)结构域。

[0026] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由抗体3、213、173和209组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:242的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:243的轻链可变(VL)结构域;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:275的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:276的轻链可变(VL)结构域;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:278的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:279的轻链可变(VL)结构域;或(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:280的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:281的轻链可变(VL)结构域。

[0027] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由抗体115、116、117、118和132组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:116的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:93的轻链可变(VL)结构域;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:117的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:94的轻链可变

(VL)结构域;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:118的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:95的轻链可变(VL)结构域;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:119的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:96的轻链可变(VL)结构域;或(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:282的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:283的轻链可变(VL)结构域。

[0028] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由抗体218、123、149、161、162和194组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:284的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:285的轻链可变(VL)结构域;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:123的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:100的轻链可变(VL)结构域;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:286的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:287的轻链可变(VL)结构域;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:288的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:289的轻链可变(VL)结构域;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:290的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:291的轻链可变(VL)结构域;或(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:292的重链可变(VH)结构域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:293的轻链可变(VL)结构域。

[0029] 在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含抗体45的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。在其他方面,本文提供了结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:244的重链可变(VH)结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:245的轻链可变(VL)结构域。

[0030] 在任何上述实施方案的一些实施方案中,所述抗体增强表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞的吞噬作用。在一些实施方案中,所述抗体增强表达人SIRP-α多肽的树突状细胞的激活。在一些实施方案中,所述抗体抑制表达CD47的肿瘤的体内生长。在一些实施方案中,所述抗体不阻止CD47表达细胞与T细胞之间的相互作用。

[0031] 在任何上述实施方案的一些实施方案中,所述抗体为单克隆抗体。在一些实施方案中,所述抗体为scFv-Fc、单结构域抗体、单重链抗体或单轻链抗体。在一些实施方案中,所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:325、326或426的轻链恒定区。在一些实施方案中,所述抗体包含选自由SEQ ID NO:320-324组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗体包含Fc区。在一些实施方案中,Fc区为选自由IgG1 Fc区、IgG2 Fc区和IgG4 Fc区组成的组的人Fc区。在一些实施方案中,Fc区包括人IgG1 Fc区,所述人IgG1 Fc区包含一个或多个选自由根据EU编号的L234A、L235A、L235E、G237A和N297A组成的组的突变。在一些实施方案中,Fc区包括人IgG2 Fc区,所述人IgG2 Fc区包含一个或多个选自由根据EU编号的A330S、P331S和N297A组成的组的突变。在一些实施方案中,Fc区包括人IgG4 Fc区,所述人

IgG4 Fc区包含一个或多个选自由根据EU编号的S228P、E233P、F234V、L235A、L235E、delG236和N297A组成的组的突变。在一些实施方案中,所述抗体为选自由Fab、F(ab')2、Fab'-SH、Fv和scFv片段组成的组的抗体片段。在一些实施方案中,所述抗体被缀合至细胞毒性剂或标记。

[0032] 在一些实施方案中,所述抗体为双特异性抗体。在一些实施方案中,所述抗体包含结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的第一抗原结合结构域和结合由癌细胞表达的抗原的第二抗原结合结构域。在一些实施方案中,由癌细胞表达的抗原选自由以下组成的组:CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD38、CD52、CD56、CD70、CD74、CD79b、CD123、CD138、CS1/SLAMF7、Trop-2、5T4、EphA4、BCMA、粘蛋白1、粘蛋白16、PD-L1、PTK7、STEAP1、内皮素B受体、间皮素、EGFRvIII、ENPP3、SLC44A4、GNMB、粘连蛋白4、NaPi2b、LIV-1A、鸟苷酸环化酶C、DLL3、EGFR、HER2、VEGF、VEGFR、整联蛋白αVβ3、整联蛋白α5β1、MET、IGF1R、TRAILR1、TRAILR2、RANKL、FAP、腱生蛋白、Le^y、EpCAM、CEA、gpA33、PSMA、TAG72、粘蛋白、CAIX、EPHA3、叶酸受体α、GD2、GD3和包含来自以下的肽的MHC/肽复合物:NY-ESO-1/LAGE、SSX-2、MAGE家族蛋白、MAGE-A3、gp100/pmel17、Melan-A/MART-1、gp75/TRP1、酪氨酸酶、TRP2、CEA、PSA、TAG-72、未成熟层粘连蛋白受体、MOK/RAGE-1、WT-1、SAP-1、BING-4、EpCAM、MUC1、PRAME、存活素、BRCA1、BRCA2、CDK4、CML66、MART-2、p53、Ras、β-连环蛋白、TGF-βRII、HPV E6或HPV E7。在一些实施方案中,所述抗体为鸡、人源化、嵌合或人抗体。在一些实施方案中,所述抗体由鸡产生或来源于鸡。

[0033] 本文进一步提供了构成根据任一上述实施方案的抗体的多核苷酸。本文进一步提供了包含根据任一上述实施方案的多核苷酸的载体。本文进一步提供了包含根据任一上述实施方案的多核苷酸或载体的宿主细胞。本文进一步提供了产生抗体的方法,所述方法包括培养根据任一上述实施方案的宿主细胞,以使得抗体产生。在一些实施方案中,所述方法进一步包括从宿主细胞中回收抗体。

[0034] 本文进一步提供了治疗个体的癌症或延迟个体的癌症的进展的方法,所述方法包括向个体施用有效量的根据任一上述实施方案的抗体。在一些实施方案中,所述方法进一步包括向个体施用有效量的第二抗体。在一些实施方案中,第二抗体结合由癌细胞表达的抗原。在一些实施方案中,由癌细胞表达的抗原选自由以下组成的组:CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD38、CD52、CD56、CD70、CD74、CD79b、CD123、CD138、CS1/SLAMF7、Trop-2、5T4、EphA4、BCMA、粘蛋白1、粘蛋白16、PTK7、STEAP1、内皮素B受体、间皮素、EGFRvIII、ENPP3、SLC44A4、GNMB、粘连蛋白4、NaPi2b、LIV-1A、鸟苷酸环化酶C、DLL3、EGFR、HER2、VEGF、VEGFR、整联蛋白αVβ3、整联蛋白α5β1、MET、IGF1R、TRAILR1、TRAILR2、RANKL、FAP、腱生蛋白、Le^y、EpCAM、CEA、gpA33、PSMA、TAG72、粘蛋白、CAIX、EPHA3、叶酸受体α、GD2、GD3和包含来自以下的肽的MHC/肽复合物:NY-ESO-1/LAGE、SSX-2、MAGE家族蛋白、MAGE-A3、gp100/pmel17、Melan-A/MART-1、gp75/TRP1、酪氨酸酶、TRP2、CEA、PSA、TAG-72、未成熟层粘连蛋白受体、MOK/RAGE-1、WT-1、SAP-1、BING-4、EpCAM、MUC1、PRAME、存活素、BRCA1、BRCA2、CDK4、CML66、MART-2、p53、Ras、β-连环蛋白、TGF-βRII、HPV E6或HPV E7。在一些实施方案中,所述方法进一步包括向个体施用有效量的免疫治疗剂。在一些实施方案中,免疫治疗剂包括第二抗体。在一些实施方案中,第二抗体结合选自由以下组成的组的抗原:PD-1、PD-L1、OX40、CTLA-4、CD137/4-1BB、TNFR2、B7-H3、FZD7、CD27、CCR4、CSF1R、CSF、TIM-3、LAG-3、VISTA、ICOS、CCR2、

IDO、A2R、CD39、CD73、TIGIT、CD80、CD47、精氨酸酶、TDO和PVRIG。在一些实施方案中,第一抗体以小于100nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或人SIRP-αv1多肽和人SIRP-αv2多肽两者的胞外结构域,其中第一抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合,并且其中第二抗体与PD-1结合。在一些实施方案中,第一抗体结合人SIRP-α多肽的D1结构域,其中第一抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合,并且其中第二抗体与PD-1结合。在一些实施方案中,第一抗体以小于100nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域,其中第一抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合,并且其中第二抗体与PD-L1结合。在一些实施方案中,第一抗体结合人SIRP-α多肽的D1结构域,其中第一抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合,并且其中第二抗体与PD-L1结合。在一些实施方案中,该个体是人。

[0035] 本文进一步提供了治疗个体的自身免疫疾病或炎性疾病或延迟个体的自身免疫疾病或炎性疾病的进展的方法,所述方法包括向个体施用有效量的根据任一上述实施方案的抗体。在一些实施方案中,自身免疫疾病或炎性疾病选自由以下组成的组:多发性硬化症、类风湿性关节炎、脊柱关节病、系统性红斑狼疮、抗体介导的炎性或自身免疫疾病、移植物抗宿主病、败血症、糖尿病、牛皮癣、银屑病性关节炎、动脉粥样硬化、斯耶格伦氏综合征(Sjogren's syndrome)、进行性系统性硬化症、硬皮病、急性冠状动脉综合征、缺血再灌注、克罗恩氏病、溃疡性结肠炎、子宫内膜异位症、肾小球肾炎、IgA肾病、多囊性肾病、重症肌无力、特发性肺纤维化、哮喘、特应性皮炎、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、血管炎和炎性自身免疫性肌炎。在一些实施方案中,该个体是人。

[0036] 本文进一步提供了鉴定结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)并且不阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合的抗原结合结构域的方法,所述方法包括(a)提供结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的抗原结合结构域;(b)组装包含与包含CD47的IgSF结构域的多肽结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中SIRP-αD1变体为非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍;(c)使抗原结合结构域与组装的复合物接触;以及(d)检测抗原结合结构域与复合物的结合,其中抗原结合结构域与复合物的结合表明抗原结合结构域不阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合。本文进一步提供了鉴定结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)并且不阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合的抗体或抗原结合结构域的方法,所述方法包括使结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的抗体或抗原结合结构域与包含与包含CD47的IgSF结构域的多肽结合的SIRP-αD1变体的复合物接触,其中SIRP-αD1变体为非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍;以及检测抗原结合结构域与复合物的结合,其中抗原结合结构域与复合物的结合表明抗原结合结构域不阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合。本文进一步提供了鉴定结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)并且阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合的抗原结合结构域的方法,所述方法包括(a)提供结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的抗原结合结构域;(b)组装包含与包含CD47的IgSF结构域的多肽结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中SIRP-αD1变体为非天然存在的高亲和力

SIRP-αD1结构域,并且其中SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍;(c)使抗原结合结构域与组装的复合物接触;以及(d)检测抗原结合结构域与复合物的结合,其中抗原结合结构域与复合物的结合缺乏表明抗原结合结构域阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合。本文进一步提供了鉴定结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)并且阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合的抗体或抗原结合结构域的方法,所述方法包括使结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的抗体或抗原结合结构域与包含与包含CD47的IgSF结构域的多肽结合的SIRP-αD1变体的复合物接触,其中SIRP-αD1变体为非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍;以及(d)检测抗原结合结构域与复合物的结合,其中抗原结合结构域与复合物的结合缺乏表明抗原结合结构域阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合。在一些实施方案中,SIRP-αD1变体包含选自由SEQ ID NO:17-52组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,CD47的IgSF结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:16。在一些实施方案中,包含CD47的IgSF结构域的多肽包含人CD47胞外结构域。在一些实施方案中,包含CD47的IgSF结构域的多肽进一步包含抗体Fc区。

[0037] 本文进一步提供了产生结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的抗SIRP-α抗体的方法,所述方法包括:(a)用包含人SIRP-α胞外结构域(例如,D1结构域)的至少一部分的肽免疫鸡;(b)从来自免疫鸡的抗体产生细胞获得抗体;以及(c)检测从细胞获得的抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)之间的结合,其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)之间的结合表明所述抗体为结合人SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的抗SIRP-α抗体。在一些实施方案中,所述抗体为鸡、人源化、嵌合或人抗体。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者。在一些实施方案中,所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLR CTATSLIPVGPIQWFRGAGP GRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFS IRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAIL HCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYN QKEGHFPRVTTVSESTKRENMDF SISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLR CTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPR VTTVSDLTKRNNMDFS IRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)并且结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSV SVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGA GPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGT YYCVKF RKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合三种、四种、五种、六种、七种、八种、九种或十种不同的人SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,三种、四种、五种、六种、七种、八种、九种或十种不同的人SIRP-α变体多肽中的每一种包含含有选自由SEQ ID NO:5、6和76-83组成的组的氨基酸序列的胞外结构域(例如,D1胞外结构域)。在一些实施方案中,所述方法进一步包括检测从细胞获得的抗体与一种或多种选自由

以下组成的组的SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)之间的结合:猴SIRP-α多肽、鼠类SI RP-α多肽、人SIRP-β多肽和人SIRP-γ多肽。在一些实施方案中,所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,猴SIRP-α多肽为食蟹猴SIRP-α多肽。在一些实施方案中,所述抗体结合至少两种不同的猴SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的食蟹猴SIR P-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、包含氨基酸序列SEQ ID NO:12的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者。在一些实施方案中,所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合两种或更多种不同的鼠类SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合一种或多种鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),并且其中一种或多种鼠类SIRP-α多肽各自包含选自由SEQ ID NO:7-10组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体不结合人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体不结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合包氨基酸序列含SEQ ID NO:13的人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、包氨基酸序列含SEQ ID NO:14的人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者。在一些实施方案中,所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:15的人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述方法进一步包括检测从细胞获得的抗体与包含与CD47的IgSF结构域结合的SIRP-αD1变体的复合物之间的结合或结合缺乏,其中SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。在一些实施方案中,所述抗体结合包含与CD47的IgSF结构域结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。在一些实施方案中,所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体不阻断表达在第一细胞的表面上的人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与表达在第二细胞的表面上的人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体不结合包含与CD47的IgSF结构域结合的SI RP-αD1变体的复合物,其中SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIR P-αD1结构域,并且其中SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。在一些实施方案中,所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体阻断表达在第一细胞的表面上的人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与表达在第二细胞的表面上的人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合降低了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。在一些实施方案中,所述抗体与表达在第一细胞的表面上的人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合降低了人SIRP-α多肽结合表达在第二细胞的表面上的人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。在一些实施方案中,所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例

如,D1结构域)的结合增加了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的k_{off}。在一些实施方案中,所述抗体与表达在第一细胞的表面上的人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合增加了人SIRP-α多肽结合表达在第二细胞的表面上的人CD47多肽的IgSF结构域的k_{off}。在一些实施方案中,所述抗体调节表达人SIRP-α多肽的细胞中的SIRP-α信号传导。在一些实施方案中,所述细胞为选自由以下组成的组的白细胞:巨噬细胞、树突状细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和髓源性抑制细胞(MDSC)。在一些实施方案中,所述抗体抑制表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞中的SIRP-α信号传导。在一些实施方案中,所述抗体增强表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞的吞噬作用。

[0038] 应理解,本文所述的各个实施方案的一种、一些或所有特性可组合以形成本发明的其他实施方案。本发明的这些和其他方面对于本领域技术人员将变得显而易见。通过下文的详细描述对本发明的这些和其他实施方案进一步描述。

[0039] 综上所述,本发明包括但不限于以下项:

[0040] 1.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者。

[0041] 2.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域。

[0042] 3.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域。

[0043] 4.如项1-3中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域并且结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域。

[0044] 5.如项1-4中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域。

[0045] 6.如项5所述的抗体,其中所述猴SIRP-α多肽为食蟹猴SIRP-α多肽。

[0046] 7.如项5或项6所述的抗体,其中所述抗体结合至少两种不同的猴SIRP-α变体多肽的胞外结构域。

[0047] 8.如项6或项7所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域、包含氨基酸序列SEQ ID NO:12的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域或两者。

[0048] 9.如项1-8中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域。

[0049] 10.如项9所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的鼠类SIRP-α变体多肽的胞外结构域。

[0050] 11.如项9或项10所述的抗体,其中所述抗体结合一种或多种鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域,并且其中所述一种或多种鼠类SIRP-α多肽各自包含选自由SEQ ID NO:7-10组成

的组的氨基酸序列。

[0051] 12.如项1-11中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-β多肽的胞外结构域。

[0052] 13.如项1-12中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域。

[0053] 14.如项1-11和13中任一项所述的抗体,其中所述抗体不结合人SIRP-β多肽的胞外结构域。

[0054] 15.如项1-12和14中任一项所述的抗体,其中所述抗体不结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域。

[0055] 16.如项12-15中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:13的人SIRP-β多肽的胞外结构域。

[0056] 17.如项12-16中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:15的人SIRP-γ多肽的胞外结构域。

[0057] 18.如项1-17中任一项所述的抗体,其中所述抗体调节表达人SIRP-α多肽的细胞中的SIRP-α信号传导。

[0058] 19.如项18所述的抗体,其中所述细胞为选自由以下组成的组的白细胞:巨噬细胞、树突状细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和髓源性抑制细胞(MDSC)。

[0059] 20.如项19所述的抗体,其中所述抗体抑制表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞中的SIRP-α信号传导。

[0060] 21.如项18-20中任一项所述的抗体,其中所述抗体增强表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞的吞噬作用。

[0061] 22.如项1-21中任一项所述的抗体,其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0062] 23.如项22所述的抗体,其中所述抗体不结合包含与CD47的IgSF结构域结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中所述SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中所述SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。

[0063] 24.如项1-21中任一项所述的抗体,其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0064] 25.如项24所述的抗体,其中所述抗体结合包含与CD47的IgSF结构域结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中所述SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中所述SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。

[0065] 26.如项1-21中任一项所述的抗体,其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合降低了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[0066] 27.如项26所述的抗体,其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合增加了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的k_{off}。

[0067] 28.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所

述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0068] 29.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0069] 30.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合降低了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[0070] 31.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0071] 32.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0072] 33.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合降低了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[0073] 34.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0074] 35.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0075] 36.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合降低了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[0076] 37.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、鼠类SIRP-α多肽和猴SIRP-α多肽的胞外结构域;其中所述抗体不结合人SIRP-β多肽的胞外结构域和人SIRP-γ多肽的胞外结构域中的至少一个;并且其中所述抗体阻断所述人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0077] 38.如项37所述的抗体,其中所述抗体包含来自抗体S130的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变(VH)结构域序列;和/或轻链可变(VL)结构域序列。

[0078] 39.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、鼠类SIRP-α多肽、猴SIRP-α多肽的胞外结构域,以及人SIRP-β多肽的胞外结构域和人SIRP-γ多肽的胞外结构域中的至少一个;并且其中所述抗体阻断所述人SIRP-α多肽的胞

外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0079] 40.如项39所述的抗体,其中所述抗体包含来自选自由S8、S13、S14和S121组成的组的抗体的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变(VH)结构域序列;和/或轻链可变(VL)结构域序列。

[0080] 41.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、鼠类SIRP-α多肽和猴SIRP-α多肽的胞外结构域;其中所述抗体不结合,或以降低的亲和力结合人SIRP-β多肽的胞外结构域和人SIRP-γ多肽的胞外结构域中的至少一个;并且其中所述抗体不阻断所述人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0081] 42.如项41所述的抗体,其中所述抗体包含来自抗体S137的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变结构域序列;和/或轻链可变结构域序列。

[0082] 43.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽和猴SIRP-α多肽的胞外结构域;其中所述抗体不结合鼠类SIRP-α多肽;其中所述抗体不结合,或以降低的亲和力结合人SIRP-β多肽的胞外结构域和人SIRP-γ多肽的胞外结构域中的至少一个;并且其中所述抗体阻断所述人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0083] 44.如项43所述的抗体,其中所述抗体包含来自选自由S128组成的组的抗体的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变结构域序列;和/或轻链可变结构域序列。

[0084] 45.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、猴SIRP-α多肽的胞外结构域,以及人SIRP-β多肽的胞外结构域和人SIRP-γ多肽的胞外结构域中的至少一个;其中所述抗体不结合鼠类SIRP-α多肽;并且其中所述抗体阻断所述人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0085] 46.如项45所述的抗体,其中所述抗体包含来自选自由S9、S11、S119、S120、S122和S135组成的组的抗体的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变结构域序列;和/或轻链可变结构域序列。

[0086] 47.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽的胞外结构域和两种或更多种不同的猴SIRP-α变体多肽的胞外结构域,并且其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合降低了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[0087] 48.如项47所述的抗体,其中所述抗体包含来自选自由S115、S116、S117和S118组成的组的抗体的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变结构域序列;和/或轻链可变结构域序列。

[0088] 49.如项1所述的抗体,其中所述抗体包含:

[0089] (a)含有氨基酸序列GFSFSX$_1$X$_2$AMX$_3$的HVR-H1序列,其中X$_1$为N或I;X$_2$为F或Y;并且X$_3$为T或S(SEQ ID NO:185);

[0090] (b)含有氨基酸序列TIGX$_4$X$_5$DTYYADSVKG的HVR-H2序列,其中X$_4$为S或A并且X$_5$为G或D(SEQ ID NO:186);

[0091] (c)含有氨基酸序列DSTVX$_6$WSGDFFDY的HVR-H3序列,其中X$_6$为S或G(SEQ ID NO:

187)；

[0092] (d)含有氨基酸序列RASQNVX$_7$X$_8$DX$_9$A的HVR-L1序列，其中X$_7$为K或R；X$_8$为N或S；并且X$_9$为L或I(SEQ ID NO:188)；

[0093] (e)含有氨基酸序列AAX$_{10}$X$_{11}$RX$_{12}$T的HVR-L2序列，其中X$_{10}$为R或S；X$_{11}$为I或S；并且X$_{12}$为E或D(SEQ ID NO:189)；以及

[0094] (f)含有氨基酸序列QQYYDWPPFT(SEQ ID NO:148)的HVR-L3序列。

[0095] 50.如项1所述的抗体，其中所述抗体包含(a)VH结构域，其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:143、202、204或205的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:144、203或206的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:145或207的HVR-H3；和/或(b)VL结构域，其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:146或208的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:147或209的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:148或210的HVR-L3。

[0096] 51.如项1所述的抗体，其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:120的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:97的VL结构域。

[0097] 52.如项1所述的抗体，其中所述抗体包含(a)VH结构域，其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:149、211、213或214的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:150、212或215的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:151或216的HVR-H3；和/或(b)VL结构域，其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:152或217的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:153或218的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:148的HVR-L3。

[0098] 53.如项1所述的抗体，其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:127的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:104的VL结构域。

[0099] 54.如项1所述的抗体，其中所述抗体包含(a)VH结构域，其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:155、219、221或222的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:156、220或223的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:157或224的HVR-H3；和/或(b)VL结构域，其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:158或225的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:159或226的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:160的HVR-L3。

[0100] 55.如项1所述的抗体，其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:133的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:134的VL结构域。

[0101] 56.如项1所述的抗体，其中所述抗体包含(a)VH结构域，其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:161、191或194的HVR-H1、含有氨基酸序列

[0102] SEQ ID NO:162、192或195的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163或193的HVR-H3；和/或(b)VL结构域，其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的HVR-L3。

[0103] 57.如项1所述的抗体，其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:135的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:136的VL结构域。

[0104] 58.如项1所述的抗体，其中所述抗体包含(a)VH结构域，其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:161、191或194的HVR-H1、含有氨基酸序列

[0105] SEQ ID NO:168、196或197的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163或193的HVR-H3；和/或(b)VL结构域，其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:170的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:171的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:172的HVR-L3。

[0106] 59.如项1所述的抗体,其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:137的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:138的VL结构域。

[0107] 60.如项1所述的抗体,其中所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:173、198或200的HVR-H1、含有氨基酸序列

[0108] SEQ ID NO:174、199或201的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163或193的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:176的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:177的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:178的HVR-L3。

[0109] 61.如项1所述的抗体,其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:139的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:140的VL结构域。

[0110] 62.如项1所述的抗体,其中所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:179的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:182的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:183的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:184的HVR-L3。

[0111] 63.如项1所述的抗体,其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:141的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:142的VL结构域。

[0112] 64.如项1所述的抗体,其中所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:227或230的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ IDNO:228或231的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:229的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:232的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:233的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:234的HVR-L3。

[0113] 65.如项1所述的抗体,其中所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:219或235的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:236或238的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:237的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:239的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:240的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:241的HVR-L3。

[0114] 66.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体包含:

[0115] (a)重链可变(VH)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列NFAMT(SEQ ID NO:175)、NFAVT(SEQ ID NO:204)或NFALT(SEQ ID NO:305)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列TIGSGDTYYADSVKG(SEQ ID NO:144)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列DSTVSWSGDFFDY(SEQ ID NO:145)的HVR-H3序列;和/或

[0116] (b)轻链可变(VL)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列RASQNVKNDLA(SEQ ID NO:146)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列AARIRET(SEQ ID NO:147)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列QQYYDWPPFT(SEQ ID NO:148)的HVR-L3序列。

[0117] 67.如项66所述的抗体,其中所述VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:120、335、246、258或327具有至少90%同一性的氨基酸序列;并且/或者所述VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:97或312具有至少90%同一性的氨基酸序列。

[0118] 68.如项67所述的抗体,其中

[0119] (a)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:246并且所述VL包含氨基酸序列SEQ ID NO:97;

[0120] (b)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:258并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:97;

[0121] (c)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:335并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:97;

[0122] (d)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:327并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:97;

[0123] (e)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:246并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:312;

[0124] (f)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:258并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:312;

[0125] (g)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:335并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:312;或者

[0126] (h)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:327并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:312。

[0127] 69.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体包含:

[0128] (a)重链可变(VH)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列IYAMS(SEQ ID NO:269)、IYAVS(SEQ ID NO:213)或IYALS(SEQ ID NO:306)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列TIGADDTYYADSVKG(SEQ ID NO:150)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列DSTVGWSGDFFDY(SEQ ID NO:151)的HVR-H3序列;和/或

[0129] (b)轻链可变(VL)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列

[0130] RASQNVRSDIA(SEQ ID NO:152)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列AASSRDT(SEQ ID NO:153)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列QQYYDWPPFT(SEQ ID NO:148)的HVR-L3序列。

[0131] 70.如项69所述的抗体,其中所述VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:341、247、259或328具有至少90%同一性的氨基酸序列;并且/或者所述VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:104或248具有至少90%同一性的氨基酸序列。

[0132] 71.如项70所述的抗体,其中

[0133] (a)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:341并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:104;

[0134] (b)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:247并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:104;

[0135] (c)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:259并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:104;

[0136] (d)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:328并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:104;

[0137] (e)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:341并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:248;

[0138] (f)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:247并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:248;

[0139] (g)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:259并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:248;或者

[0140] (g)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:328并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:248。

[0141] 72.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体包含:

[0142] (a)重链可变(VH)结构域,其包含:

[0143] (i)含有氨基酸序列$X_1X_2DX_3N$的HVR-H1序列,其中X_1为S或T;X_2为Y或S;并且X_3为M、L或V(SEQ ID NO:307);

[0144] (ii)含有氨基酸序列LISGSGEIX_1YYADSVKG的HVR-H2序列,其中X_1为I或T(SEQ ID NO:308);以及

[0145] (iii)含有氨基酸序列E$X_1X_2X_3$YRFFDX_4的HVR-H3序列,其中X_1为N或D;X_2为N或D;X_3为R或M,并且X_4为D或Y(SEQ ID NO:309);和/或

[0146] (b)轻链可变(VL)结构域,其包含:

[0147] (i)含有氨基酸序列RAX_1QSVYX_2YLA的HVR-L1序列,其中X_1为S或D;并且X_2为T或S(SEQ ID NO:310);

[0148] (ii)含有氨基酸序列$X_1AX_2X_3RAX_4$的HVR-L2序列,其中X_1为G、A或D;X_2为S或R;X_3为S、N或T,并且X_4为T或A(SEQ ID NO:311);以及

[0149] (iii)含有氨基酸序列QQYYDRPPLT(SEQ ID NO:160)的HVR-L3序列。

[0150] 73.如项72所述的抗体,其中所述抗体包含:

[0151] (a)重链可变(VH)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列SYDMN(SEQ ID NO:270)、SYDVN(SEQ ID NO:221)或SYDLN(SEQ ID NO:313)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列LISGSGEIIYYADSVKG(SEQ ID NO:156)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列ENNRYRFFDD(SEQ ID NO:157)的HVR-H3序列;和/或

[0152] (b)轻链可变(VL)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列

[0153] RASQSVYTYLA(SEQ ID NO:158)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列GASSRAT(SEQ ID NO:159)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列QQYYDRPPLT(SEQ ID NO:160)的HVR-L3序列。

[0154] 74.如项72或项73所述的抗体,其中所述VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:249、133、260或329具有至少90%同一性的氨基酸序列;并且/或者所述VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:134、250或251具有至少90%同一性的氨基酸序列。

[0155] 75.如项72所述的抗体,其中

[0156] (a)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;

[0157] (b)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;

[0158] (c)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;

[0159] (d)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;

[0160] (e)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;

[0161] (f)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;

[0162] (g)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251;

[0163] (h)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251;

[0164] (i)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251;

[0165] (j)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;

[0166] (k)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;或者

[0167] (l)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251。

[0168] 76.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体包含:

[0169] (a)重链可变(VH)结构域,其包含:

[0170] (i)含有氨基酸序列$X_1X_2AX_3S$的HVR-H1序列,其中X_1为S或T;X_2为N、Y、H或D;并且X_3为M、L或V(SEQ ID NO:297);

[0171] (ii)含有氨基酸序列$GISX_1X_2X_3X_4X_5X_6YYX_7X_8SX_9KG$的HVR-H2序列,其中$X_1$为A或S;$X_2$为G、S或不存在;$X_3$为S、D或G;$X_4$为G或S;$X_5$为D、S或G;$X_6$为T或A;$X_7$为P、G、V、I、A或S;$X_8$为A、D或G;并且$X_9$为V或M(SEQ ID NO:298);以及

[0172] (iii)含有氨基酸序列ETWNHLFDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列;和/或

[0173] (b)轻链可变(VL)结构域,其包含:

[0174] (i)含有氨基酸序列$SGGX_1X_2X_3SX_4YYX_5$的HVR-L1序列,其中X_1为D、G、S、I或不存在;X_2为S、W、G、Y、D或不存在;X_3为S、Y、T或D;X_4为H、T、S或Y;并且X_5为G或A(SEQ ID NO:299);

[0175] (ii)含有氨基酸序列$SDX_1X_2RPX_3$的HVR-L2序列,其中X_1为D或N;X_2为E、K或Q;并且X_3为S或P(SEQ ID NO:300);以及

[0176] (iii)含有氨基酸序列$X_1X_2YDX_3X_4X_5YX_6NX_7$的HVR-L3序列,其中$X_1$为G或A;$X_2$为G或A;$X_3$为G、Y、Q、S或A;$X_4$为S、R或T;$X_5$为T或S;$X_6$为A、I、V、L或T;并且$X_7$为T、A、D或P(SEQ ID NO:301)。

[0177] 77.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体包含:

[0178] (a)重链可变(VH)结构域,其包含:

[0179] (i)含有氨基酸序列SX_1AX_2S的HVR-H1序列,其中X_1为N或Y;并且其中X_2为M、L或V(SEQ ID NO:302);

[0180] (ii)含有氨基酸序列$GISX_1GX_2X_3DTYYX_4X_5SVKG$的HVR-H2序列,其中$X_1$为A或S;$X_2$为G或不存在;$X_3$为S或G;$X_4$为P、G或V;并且$X_5$为A或D(SEQ ID NO:303);以及

[0181] (iii)含有氨基酸序列ETWNHLFDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列;和/或

[0182] (b)轻链可变(VL)结构域,其包含:

[0183] (i)含有氨基酸序列SGGX$_1$YSSYYYA的HVR-L1序列,其中X$_1$为S或A(SEQ ID NO:304);

[0184] (ii)含有氨基酸序列SDDKRPS(SEQ ID NO:336)的HVR-L2序列;以及

[0185] (iii)含有氨基酸序列GGYDQSSYTNP(SEQ ID NO:172)的HVR-L3序列。

[0186] 78.如项76或项77所述的抗体,其中所述VH结构域包含(i)含有氨基酸序列SNAMS(SEQ ID NO:194)、SNAVS(SEQ ID NO:271)或SNALS(SEQ ID NO:318)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列

[0187] GISAGGSDTYYPASVKG(SEQ ID NO:195)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列ETWNHLFDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列。

[0188] 79.如项78所述的抗体,其中所述VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:135、263、264或330具有至少90%同一性的氨基酸序列。

[0189] 80.如项76所述的抗体,其中所述VH结构域包含(i)含有氨基酸序列SNAMS(SEQ ID NO:194)、SNAVS(SEQ ID NO:271)或SNALS(SEQ ID NO:318)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列GISSGSDTYYGDSVKG(SEQ ID NO:197)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列ETWNHLFDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列。

[0190] 81.如项80所述的抗体,其中所述VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:137、265、266或331具有至少90%同一性的氨基酸序列。

[0191] 82.如项76所述的抗体,其中所述VH结构域包含(i)含有氨基酸序列SYAMS(SEQ ID NO:200)、SYAVS(SEQ ID NO:272)或SYALS(SEQ ID NO:319)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列GISSGGDTYYVDSVKG(SEQ ID NO:201)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列ETWNHLFDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列。

[0192] 83.如项82所述的抗体,其中所述VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:139、267、268或332具有至少90%同一性的氨基酸序列。

[0193] 84.如项76-83中任一项所述的抗体,其中所述VL结构域包含序列FW 1—HVR-L1—FW2—HVR-L2—FW3—HVR-L3—FW4(N末端至C末端),其中FW1包含氨基酸序列SYELTQPPSVSVSPGQTARITC(SEQ ID NO:314),FW2包含氨基酸序列WYQQKPGQAPVTLIY(SEQ ID NO:315),FW3包含氨基酸序列NIPERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYC(SEQ ID NO:316),并且FW4包含氨基酸序列FGGGTKLTVL(SEQ ID NO:317)。

[0194] 85.如项76-84中任一项所述的抗体,其中所述VL结构域包含(i)含有氨基酸序列SGGSYSSYYYA(SEQ ID NO:170)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列SDDKRPS(SEQ ID NO:336)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列GGYDQSSYTNP(SEQ ID NO:172)的HVR-L3序列。

[0195] 86.如项85所述的抗体,其中所述VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:252具有至少90%同一性的氨基酸序列。

[0196] 87.如项76-84中任一项所述的抗体,其中所述VL结构域包含(i)含有氨基酸序列SGGAYSSYYYA(SEQ ID NO:261)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列SDDKRPS(SEQ ID NO:336)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列GGYDQSSYTNP(SEQ ID NO:172)的HVR-L3序列。

[0197] 88.如项87所述的抗体,其中所述VL结构域包含与氨基酸序列SEQ IDNO:262具有至少90%同一性的氨基酸序列。

[0198] 89.如项76所述的抗体,其中

[0199] (a)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:263并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;

[0200] (b)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:264并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;

[0201] (c)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:330并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;

[0202] (d)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:135并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;

[0203] (e)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:137并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;

[0204] (f)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:139并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;

[0205] (g)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:265并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;

[0206] (h)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:266并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;

[0207] (i)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:331并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;

[0208] (j)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:267并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;

[0209] (k)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:268并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;

[0210] (l)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:332并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;

[0211] (j)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:263并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;

[0212] (m)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:264并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;

[0213] (n)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:330并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;

[0214] (o)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:265并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;

[0215] (p)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:266并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;

[0216] (q)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:331并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;

[0217] (r)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:267并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;

[0218] (s)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:268并且所述VL结构域包含氨基酸

序列SEQ ID NO:262;

[0219] (t)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:332并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;

[0220] (u)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:135并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;

[0221] (v)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:137并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;或者

[0222] (w)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:139并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262。

[0223] 90.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的I31、V33、Q52、K53、T67、R69、N70和K96组成的组的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。

[0224] 91.如项90所述的抗体,其中所述抗体在根据SEQ ID NO:296的I31、V33、Q52、K53、T67、R69、N70和K96处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[0225] 92.如项90或项91所述的抗体,其中所述抗体进一步在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的L30、P32、E54、T62、N71、M72、F74和R95组成的组的氨基酸位置处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[0226] 93.如项92所述的抗体,其中所述抗体进一步在根据SEQ ID NO:296的L30、P32、E54、T62、N71、M72、F74和R95处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[0227] 94.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的I7、P9、D10、K11、S12、A42、A108和E111组成的组的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。

[0228] 95.如项94所述的抗体,其中所述抗体在根据SEQ ID NO:296的K11、A42、A108和E111处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[0229] 96.如项94所述的抗体,其中所述抗体在根据SEQ ID NO:296的I7、P9、D10、K11、S12、A108和E111处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[0230] 97.如项94-96中任一项所述的抗体,其中所述抗体进一步在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的L14、T26、T28、T88、Y90、S106、S113和A116组成的组的氨基酸位置处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[0231] 98.如项97所述的抗体,其中所述抗体进一步在根据SEQ ID NO:296的人SIRP-αv1的L14、T88、Y90、S106、S113和A116处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[0232] 99.如项97所述的抗体,其中所述抗体进一步在根据SEQ ID NO:296的L14、T26和T28处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[0233] 100.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的E47、L48、P58、R59、T82和A84组成的组的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。

[0234] 101.如项100所述的抗体,其中所述抗体在根据SEQ ID NO:296的E47、L48、P58、R59、T82和A84处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[0235] 102.如项100或项101所述的抗体,其中所述抗体进一步在一个或多个选自由根据

SEQ ID NO:296的A17、P44、G45、I49、E54、G55、H56、F57和P83组成的组的氨基酸位置处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[0236] 103.如项102所述的抗体,其中所述抗体进一步在根据SEQ ID NO:296的人SIRP-αv1的A17、P44、G45、I49、E54、G55、H56、F57和P83处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[0237] 104.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体以小于100nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域,并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0238] 105.如项104所述的抗体,其中所述抗体以小于100nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv2多肽的胞外结构域。

[0239] 106.如项104所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的D1结构域和人SIRP-αv2多肽的D1结构域。

[0240] 107.如项104-106中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域。

[0241] 108.如项104-107中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-β多肽的胞外结构域。

[0242] 109.如项104-108中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域。

[0243] 110.如项104-109中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域。

[0244] 111.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-α多肽的D1结构域,并且其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0245] 112.如项111所述的抗体,其中所述抗体以小于100nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-α的D1结构域。

[0246] 113.如项111或项112所述的抗体,其中所述抗体以小于100nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv1多肽的D1结构域并且/或者以小于100nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv2多肽的D1结构域。

[0247] 114.如项111所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的D1结构域和人SIRP-αv2多肽的D1结构域。

[0248] 115.如项111-114中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域。

[0249] 116.如项111-115中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-β多肽的胞外结构域。

[0250] 117.如项111-116中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域。

[0251] 118.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合所述人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由抗体119、120、121、122、21、25、27、66和135组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。

[0252] 119.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合所述人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由抗体136和137组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。

[0253] 120.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合所述人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由抗体3、213、173和209组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。

[0254] 121.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合所述人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由抗体115、116、117、118和132组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。

[0255] 122.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合所述人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由抗体218、123、149、161、162和194组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。

[0256] 123.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合所述人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含抗体45的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。

[0257] 124.如项104-123中任一项所述的抗体,其中所述抗体增强表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞的吞噬作用。

[0258] 125.如项104-124中任一项所述的抗体,其中所述抗体增强表达人SIRP-α多肽的树突状细胞的激活。

[0259] 126.如项104-125中任一项所述的抗体,其中所述抗体抑制表达CD47的肿瘤的体内生长。

[0260] 127.如项104-126中任一项所述的抗体,其中所述抗体不阻止CD47表达细胞与T细胞之间的相互作用。

[0261] 128.如项1-127中任一项所述的抗体,其中所述抗体为单克隆抗体。

[0262] 129.如项1-127中任一项所述的抗体,其中所述抗体为scFv-Fc、单结构域抗体、单重链抗体或单轻链抗体。

[0263] 130.如项1-127中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:325、326或426的轻链恒定区。

[0264] 131.如项1-127和129中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含Fc区。

[0265] 132.如项131所述的抗体,其中所述抗体包含选自由SEQ ID NO:320-324组成的组的氨基酸序列。

[0266] 133.如项131所述的抗体,其中所述Fc区为选自由IgG1 Fc区、IgG2Fc区和IgG4 Fc区组成的组的人Fc区。

[0267] 134.如项131所述的抗体,其中所述Fc区包括人IgG1 Fc区,所述人IgG1 Fc区包含一个或多个选自由根据EU编号的L234A、L235A、G237A和N297A组成的组的突变。

[0268] 135.如项131所述的抗体,其中所述Fc区包括人IgG2 Fc区,所述人IgG2 Fc区包含一个或多个选自由根据EU编号的A330S、P331S和N297A组成的组的突变。

[0269] 136.如项131所述的抗体,其中所述Fc区包括人IgG4 Fc区,所述人IgG4 Fc区包含一个或多个选自由根据EU编号的S228P、E233P、F234V、L235A、L235E、delG236和N297A组成的组的突变。

[0270] 137.如项1-23、25-27、29、30、32、33、35-71、76-93、100-110和118中任一项所述的抗体,其中所述抗体为选自由Fab、F(ab')2、Fab'-SH、Fv和scFv片段组成的组的抗体片段。

[0271] 138.如项1-137中任一项所述的抗体,其中所述抗体缀合至细胞毒性剂或标记。

[0272] 139.如项1-137中任一项所述的抗体,其中所述抗体为双特异性抗体。

[0273] 140.如项138所述的抗体,其中所述抗体包含结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的第一抗原结合结构域和结合由癌细胞表达的抗原的第二抗原结合结构域。

[0274] 141.如项139所述的抗体,其中所述由癌细胞表达的所述抗原选自由以下组成的组:CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD38、CD52、CD56、CD70、CD74、CD79b、CD123、CD138、CS1/SLAMF7、Trop-2、5T4、EphA4、BCMA、粘蛋白1、粘蛋白16、PD-L1、PTK7、STEAP1、内皮素B受体、间皮素、EGFRvIII、ENPP3、SLC44A4、GNMB、粘连蛋白4、NaPi2b、LIV-1A、鸟苷酸环化酶C、DLL3、EGFR、HER2、VEGF、VEGFR、整联蛋白αVβ3、整联蛋白α5β1、MET、IGF1R、TRAILR1、TRAILR2、RANKL、FAP、腱生蛋白、Le^y、EpCAM、CEA、gpA33、PSMA、TAG72、粘蛋白、CAIX、EPHA3、叶酸受体α、GD2、GD3和包含来自以下的肽的MHC/肽复合物:NY-ESO-1/LAGE、SSX-2、MAGE家族蛋白、MAGE-A3、gp100/pmel17、Melan-A/MART-1、gp75/TRP1、酪氨酸酶、TRP2、CEA、PSA、TAG-72、未成熟层粘连蛋白受体、MOK/RAGE-1、WT-1、SAP-1、BING-4、EpCAM、MUC1、PRAME、存活素、BRCA1、BRCA2、CDK4、CML66、MART-2、p53、Ras、β-连环蛋白、TGF-βRII、HPV E6或HPV E7。

[0275] 142.如项1-141中任一项所述的抗体,其中所述抗体为鸡、人源化、嵌合或人抗体。

[0276] 143.如项1-142中任一项所述的抗体,其中所述抗体由鸡产生或来源于鸡。

[0277] 144.一种多核苷酸,其编码如项1-143中任一项所述的抗体。

[0278] 145.一种载体,其包含如项144所述的多核苷酸。

[0279] 146.一种宿主细胞,其包含如项144所述的多核苷酸或如项145所述的载体。

[0280] 147.一种产生抗体的方法,所述方法包括培养如项146所述的宿主细胞以产生所述抗体。

[0281] 148.如项147所述的方法,其进一步包括从所述宿主细胞中回收所述抗体。

[0282] 149.一种治疗个体的癌症或延迟个体的癌症的进展的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的如项1-143中任一项所述的抗体。

[0283] 150.如项149所述的方法,其进一步包括向所述个体施用有效量的第二抗体,所述第二抗体结合由所述癌症表达的抗原。

[0284] 151.如项150所述的方法,其中所述由癌症表达的所述抗原选自由以下组成的组:CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD38、CD52、CD56、CD70、CD74、CD79b、CD123、CD138、CS1/SLAMF7、Trop-2、5T4、EphA4、BCMA、粘蛋白1、粘蛋白16、PTK7、STEAP1、内皮素B受体、间皮素、EGFRvIII、ENPP3、SLC44A4、GNMB、粘连蛋白4、NaPi2b、LIV-1A、鸟苷酸环化酶C、DLL3、EGFR、HER2、VEGF、VEGFR、整联蛋白αVβ3、整联蛋白α5β1、MET、IGF1R、TRAILR1、TRAILR2、RANKL、FAP、腱生蛋白、Le^y、EpCAM、CEA、gpA33、PSMA、TAG72、粘蛋白、CAIX、EPHA3、叶酸受体α、GD2、GD3和包含来自以下的肽的MHC/肽复合物:NY-ESO-1/LAGE、SSX-2、MAGE家族蛋白、MAGE-A3、

gp100/pmel17、Melan-A/MART-1、gp75/TRP1、酪氨酸酶、TRP2、CEA、PSA、TAG-72、未成熟层粘连蛋白受体、MOK/RAGE-1、WT-1、SAP-1、BING-4、EpCAM、MUC1、PRAME、存活素、BRCA1、BRCA2、CDK4、CML66、MART-2、p53、Ras、β-连环蛋白、TGF-βRII、HPV E6或HPV E7。

[0285] 152.如项149所述的方法,其进一步包括向所述个体施用有效量的免疫治疗剂。

[0286] 153.如项152所述的方法,其中所述免疫治疗剂包括第二抗体。

[0287] 154.如项153所述的方法,其中所述第二抗体结合选自由以下组成的组的抗原:PD-1、PD-L1、OX40、CTLA-4、CD137/4-1BB、TNFR2、B7-H3、FZD7、CD27、CCR4、CSF1R、CSF、TIM-3、LAG-3、VISTA、ICOS、CCR2、IDO、A2R、CD39、CD73、TIGIT、CD80、CD47、精氨酸酶、TDO和PVRIG。

[0288] 155.如项153所述的方法,其中所述第一抗体以小于100nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或人SIRP-αv1多肽和人SIRP-αv2多肽两者的胞外结构域,其中所述第一抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合,并且其中所述第二抗体与PD-1结合。

[0289] 156.如项153所述的方法,其中所述第一抗体结合人SIRP-α多肽的D1结构域,其中所述第一抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合,并且其中所述第二抗体与PD-1结合。

[0290] 157.如项153所述的方法,其中所述第一抗体以小于100nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域,其中所述第一抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合,并且其中所述第二抗体与PD-L1结合。

[0291] 158.如项153所述的方法,其中所述第一抗体结合人SIRP-α多肽的D1结构域,其中所述第一抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合,并且其中所述第二抗体与PD-L1结合。

[0292] 159.一种治疗个体的自身免疫疾病或炎性疾病或延迟个体的自身免疫疾病或炎性疾病的进展的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的如项1-143中任一项所述的抗体。

[0293] 160.如项159所述的方法,其中所述自身免疫疾病或炎性疾病选自由以下组成的组:多发性硬化症、类风湿性关节炎、脊柱关节病、系统性红斑狼疮、抗体介导的炎性或自身免疫疾病、移植物抗宿主病、败血症、糖尿病、牛皮癣、银屑病性关节炎、动脉粥样硬化、斯耶格伦氏综合征、进行性系统性硬化症、硬皮病、急性冠状动脉综合征、缺血再灌注、克罗恩氏病、溃疡性结肠炎、子宫内膜异位症、肾小球肾炎、IgA肾病、多囊性肾病、重症肌无力、特发性肺纤维化、哮喘、特应性皮炎、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、血管炎和炎性自身免疫性肌炎。

[0294] 161.一种鉴定结合人SIRP-α多肽的胞外结构域并且不阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合的抗原结合结构域的方法,所述方法包括:

[0295] (a)提供结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的抗原结合结构域;

[0296] (b)组装包含与包含CD47的IgSF结构域的多肽结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中所述SIRP-αD1变体为非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中所述SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍;

[0297] (c)使所述抗原结合结构域与所述组装的复合物接触;以及

[0298] (d)检测所述抗原结合结构域与所述复合物的结合,其中所述抗原结合结构域与所述复合物的结合表明所述抗原结合结构域不阻断人CD47与所述人SIRP-α多肽之间的结合。

[0299] 162.一种鉴定结合人SIRP-α多肽的胞外结构域并且阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合的抗原结合结构域的方法,所述方法包括:

[0300] (a)提供结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的抗原结合结构域;

[0301] (b)组装包含与包含CD47的IgSF结构域的多肽结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中所述SIRP-αD1变体为非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中所述SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍;

[0302] (c)使所述抗原结合结构域与所述组装的复合物接触;以及

[0303] (d)检测所述抗原结合结构域与所述复合物的结合,其中所述抗原结合结构域与所述复合物的结合缺乏表明所述抗原结合结构域阻断人CD47与所述人SIRP-α多肽之间的结合。

[0304] 163.如项161或项162所述的方法,其中所述SIRP-αD1变体包含选自由SEQ ID NO:17-52组成的组的氨基酸序列。

[0305] 164.如项161-163中任一项所述的方法,其中所述CD47的IgSF结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:16。

[0306] 165.如项161-164中任一项所述的方法,其中所述的包含所述CD47的IgSF结构域的多肽包含人CD47胞外结构域。

[0307] 166.如项161-165中任一项所述的方法,其中所述的包含所述CD47的IgSF结构域的多肽进一步包含抗体Fc区。

[0308] 167.一种产生结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的抗SIRP-α抗体的方法,所述方法包括:

[0309] (a)用包含人SIRP-α胞外结构域的至少一部分的肽免疫鸡;

[0310] (b)从来自所述免疫鸡的抗体产生细胞获得抗体;以及

[0311] (c)检测从所述细胞获得的所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域之间的结合,其中所述抗体与所述人SIRP-α多肽的胞外结构域之间的结合表明所述抗体为结合人SIRP-α变体多肽的胞外结构域的抗SIRP-α抗体。

[0312] 168.如项167所述的方法,其中所述抗体为鸡、人源化、嵌合或人抗体。

[0313] 169.如项167或项168所述的方法,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者。

[0314] 170.如项169所述的方法,其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域。

[0315] 171.如项168所述的方法,其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域。

[0316] 172.如项168-171中任一项所述的方法,其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域并且结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域。

[0317] 173.如项168-171中任一项所述的方法,其中所述抗体结合三种、四种、五种、六种、七种、八种、九种或十种不同的人SIRP-α变体多肽的胞外结构域。

[0318] 174.如项172所述的方法,其中所述三种、四种、五种、六种、七种、八种、九种或十种不同的人SIRP-α变体多肽中的每一种均包含含有选自由SEQ ID NO:5、6和76-83组成的组的氨基酸序列的胞外结构域。

[0319] 175.如项166-174中任一项所述的方法,所述方法进一步包括检测从所述细胞获得的所述抗体与一种或多种选自由以下组成的组的SIRP-α多肽的胞外结构域之间的结合:猴SIRP-α多肽、鼠类SIRP-α多肽、人SIRP-β多肽和人SIRP-γ多肽。

[0320] 176.如项175所述的方法,其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域。

[0321] 177.如项176所述的方法,其中所述猴SIRP-α多肽为食蟹猴SIRP-α多肽。

[0322] 178.如项176或项177所述的方法,其中所述抗体结合至少两种不同的猴SIRP-α变体多肽的胞外结构域。

[0323] 179.如项177或项178所述的方法,其中所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域、包含氨基酸序列SEQ ID NO:12的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域或两者。

[0324] 180.如项175-179中任一项所述的方法,其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域。

[0325] 181.如项180所述的方法,其中所述抗体结合两种或更多种不同的鼠类SIRP-α变体多肽的胞外结构域。

[0326] 182.如项180或项181所述的方法,其中所述抗体结合一种或多种鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域,并且其中所述一种或多种鼠类SIRP-α多肽各自包含选自由SEQ ID NO:7-10组成的组的氨基酸序列。

[0327] 183.如项175-182中任一项所述的方法,其中所述抗体结合人SIRP-β多肽的胞外结构域。

[0328] 184.如项175-183中任一项所述的方法,其中所述抗体结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域。

[0329] 185.如项175-181和184中任一项所述的方法,其中所述抗体不结合人SIRP-β多肽的胞外结构域。

[0330] 186.如项175-183和185中任一项所述的方法,其中所述抗体不结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域。

[0331] 187.如项183-186中任一项所述的方法,其中所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:13的人SIRP-β多肽的胞外结构域。

[0332] 188.如项183-187中任一项所述的方法,其中所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ

ID NO:15的人SIRP-γ多肽的胞外结构域。

[0333] 189.如项166-188中任一项所述的方法,其进一步包括检测从所述细胞获得的所述抗体与包含与CD47的IgSF结构域结合的SIRP-αD1变体的复合物之间的结合或结合缺乏,其中所述SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中所述SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。

[0334] 190.如项189所述的方法,其中所述抗体结合包含与CD47的IgSF结构域结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中所述SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中所述SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。

[0335] 191.如项190所述的方法,其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0336] 192.如项189所述的方法,其中所述抗体不结合包含与CD47的IgSF结构域结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中所述SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中所述SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。

[0337] 193.如项192所述的方法,其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0338] 194.如项188所述的方法,其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合降低了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[0339] 195.如项194所述的方法,其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合增加了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的k_{off}。

[0340] 196.如项167-195中任一项所述的方法,其中所述抗体调节表达人SIRP-α多肽的细胞中的SIRP-α信号传导。

[0341] 197.如项196所述的方法,其中所述细胞为选自由以下组成的组的白细胞:巨噬细胞、树突状细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和髓源性抑制细胞(MDSC)。

[0342] 198.如项197所述的方法,其中所述抗体抑制表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞中的SIRP-α信号传导。

[0343] 199.如项196-197中任一项所述的方法,其中所述抗体增强表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞的吞噬作用。

附图说明

[0344] 图1A示出了10种不同的人SIRP-α变体多肽的D1结构域之间的比对。所示序列对应于SEQ ID NO:5、6和76-83(从上至下)。氨基酸差异用星号指示。

[0345] 图1B示出了人v1、人v2、食蟹猴和129小鼠SIRP-αD1结构域之间的比对。所示序列对应于SEQ ID NO:5、6、11和7(从上至下)。氨基酸差异用星号指示。

[0346] 图1C示出了各种人和小鼠SIRP-αD1结构域之间的比对,其中指示了R1、R2和R3环。示出了人v1、人v2、129小鼠、NOD小鼠、C57BL/6小鼠和BALB/c小鼠SIRP-αD1结构域之间的比对。所示序列对应于SEQ ID NO:5-10(从上至下)。氨基酸差异用星号指示。

[0347] 图2示出了人v1、人v2、食蟹猴、129小鼠和鸡SIRP-αD1结构域之间的比对。所示序列对应于SEQ ID NO:5、6、11、7和84(从上至下)。氨基酸差异用星号指示。

[0348] 图3A和3B示出了抗体克隆S130对多种SIRP肽的结合特异性。图3A示出了所述抗体对人v1、人v2、鼠类和食蟹猴SIRPαD1结构域,以及人SIRPγ(SEQ ID NO:15)和高亲和力SIRP-α变体与CD47的IgSF结构域(SEQ ID NO:16)结合的预形成复合物的ELISA结合曲线。通过将两种高亲和力人SIRP-αv1和v2多肽(SEQ ID NO:17和19)以1:1比率混合并且将所述混合物与CD47合并以产生SIRP-α:CD47复合物来产生预形成复合物。也类似地制备针对图4A-9B的预形成复合物SIRP-α:CD47复合物。图3B汇总了克隆对这些靶标中的每一种的结合特异性(“+”指示结合;“-”指示非结合)。

[0349] 图4A和4B示出了抗体克隆S121对多种SIRP肽的结合特异性。图4A示出了所述抗体对人v1、人v2、鼠类和食蟹猴SIRPαD1结构域,以及人SIRPγ(SEQ ID NO:15)和高亲和力SIRP-α变体(SEQ ID NO:17和19)与CD47的IgSF结构域(SEQ ID NO:16)结合的预形成复合物的ELISA结合曲线。图4B汇总了克隆对这些靶标中的每一种的结合特异性(“+”指示结合;“-”指示非结合)。

[0350] 图5A和5B示出了抗体克隆S137对多种SIRP肽的结合特异性。图5A示出了所述抗体对人v1、人v2、鼠类和食蟹猴SIRPαD1结构域,以及人SIRPγ(SEQ ID NO:15)和高亲和力SIRP-α变体(SEQ ID NO:17和19)与CD47的IgSF结构域(SEQ ID NO:16)结合的预形成复合物的ELISA结合曲线。图5B汇总了克隆对这些靶标中的每一种的结合特异性(“+”指示结合;“-”指示非结合)。

[0351] 图6A和6B示出了抗体克隆S128对多种SIRP肽的结合特异性。图6A示出了所述抗体对人v1、人v2、鼠类和食蟹猴SIRPαD1结构域,以及人SIRPγ(SEQ ID NO:15)和高亲和力SIRP-α变体(SEQ ID NO:17和19)与CD47的IgSF结构域(SEQ ID NO:16)结合的预形成复合物的ELISA结合曲线。图6B汇总了克隆对这些靶标中的每一种的结合特异性(“+”指示结合;“-”指示非结合)。

[0352] 图7A和7B示出了抗体克隆S135对多种SIRP肽的结合特异性。图7A示出了所述抗体对人v1、人v2、鼠类和食蟹猴SIRPαD1结构域,以及人SIRPγ(SEQ ID NO:15)和高亲和力SIRP-α变体(SEQ ID NO:17和19)与CD47的IgSF结构域(SEQ ID NO:16)结合的预形成复合物的ELISA结合曲线。图7B汇总了克隆对这些靶标中的每一种的结合特异性(“+”指示结合;“-”指示非结合)。

[0353] 图8A和8B示出了抗体克隆S126对多种SIRP肽的结合特异性。图8A示出了所述抗体对人v1、人v2、鼠类和食蟹猴SIRPαD1结构域,以及人SIRPγ(SEQ ID NO:15)和高亲和力SIRP-α变体(SEQ ID NO:17和19)与CD47的IgSF结构域(SEQ ID NO:16)结合的预形成复合物的ELISA结合曲线。图8B汇总了克隆对这些靶标中的每一种的结合特异性(“+”指示结合;“-”指示非结合)。

[0354] 图9A和9B示出了抗体克隆S138对多种SIRP肽的结合特异性。图9A示出了所述抗体对人v1、人v2、鼠类和食蟹猴SIRPαD1结构域,以及人SIRPγ(SEQ ID NO:15)和高亲和力SIRP-α变体(SEQ ID NO:17和19)与CD47的IgSF结构域(SEQ ID NO:16)结合的预形成复合物的ELISA结合曲线。图9B汇总了克隆对这些靶标中的每一种的结合特异性(“+”指示结合;“-”指示非结合)。

[0355] 图10A示出了对从野生型鸡获得的scFv-Fc克隆的VH和VL结构域的比对。示出了SEQ ID NO:53-60(在比对中按从上至下的顺序)。CDR和接头序列用线指示。氨基酸差异用星号指示。

[0356] 图10B示出了对从产生人抗体的鸡获得的scFv-Fc克隆的VH和VL结构域的比对。示出了SEQ ID NO:61-74(在比对中按从上至下的顺序)。CDR和接头序列用线指示。氨基酸差异用星号指示。

[0357] 图11A示出了对家族2克隆的VH和VL结构域的比对。VH结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:294、139、358、362、354、380、384、350、137、374、356、352、135、348、376、346、342、344、141、360、370、382、364、366、368、372和378(在比对中按从上至下的顺序)。VL结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:295、363、140、359、355、351、136、349、377、138、375、357、353、381、385、345、365、367、369、347、142、343、371、379、383、361和373(在比对中按从上至下的顺序)。HVR序列用线指示。HVR是根据Kabat的。氨基酸差异用星号指示。

[0358] 图11B示出了对家族3克隆的VH和VL结构域的比对。VH结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:133、128、396、386、398、402、392、388、390、394和400(在比对中按从上至下的顺序)。VL结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:134、105、387、389、395、397、399、403、391、393和401(在比对中按从上至下的顺序)。HVR序列用线指示。HVR是根据Kabat的。氨基酸差异用星号指示。

[0359] 图11C示出了对家族4克隆的VH和VL结构域的比对。VH结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:116、117、118、119、282、404和406(在比对中按从上至下的顺序)。VL结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:93、94、95、96、283、405和407(在比对中按从上至下的顺序)。HVR序列用线指示。HVR是根据Kabat的。氨基酸差异用星号指示。

[0360] 图11D示出了对家族5,Bin 4克隆的VH和VL结构域的比对。VH结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:278和412(在比对中按从上至下的顺序)。VL结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO 279和413(在比对中按从上至下的顺序)。HVR序列用线指示。HVR是根据Kabat的。氨基酸差异用星号指示。

[0361] 图11E示出了对另外的家族5,Bin 4克隆的VH和VL结构域的比对。VH结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:275和414(在比对中按从上至下的顺序)。VL结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:276和415(在比对中按从上至下的顺序)。HVR和接头序列用线指示。HVR是根据Kabat的。氨基酸差异用星号指示。

[0362] 图11F示出了家族5,Bin 4克隆S209的VH和VL结构域(分别地SEQ ID NO 280和281的序列。以下划线示出HVR序列。

[0363] 图11G示出了对家族5,Bin 5克隆的VH和VL结构域的比对。VH结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:123和292(在比对中按从上至下的顺序)。VL结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO 100和293(在比对中按从上至下的顺序)。HVR序列用线指示。HVR是根据Kabat的。氨基酸差异用星号指示。

[0364] 图11H示出了对另外的家族5,Bin 5克隆的VH和VL结构域的比对。VH结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:288、290、408和410(在比对中按从上至下的顺序)。VL结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:289、291、409和411(在比对中按从上至下的顺序)。HVR序列用线指示。HVR是根据Kabat的。氨基酸差异用星号指示。

[0365] 图11I示出了克隆149(分别地SEQ ID NO 286和287)和克隆218(分别地SEQ ID NO 284和285的VH和VL结构域的序列。以下划线示出HVR序列。

[0366] 图11J示出了对家族1克隆的VH和VL结构域的比对。VH结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:120、121、130和122(在比对中按从上至下的顺序)。VL结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:97、98、107和99(在比对中按从上至下的顺序)。HVR序列用线指示。HVR是根据Kabat的。氨基酸差异用星号指示。

[0367] 图12A-12C示出了代表性抗体克隆结合高亲和力SIRP-α变体(SEQ ID NO:18)与增加浓度的CD47的IgSF结构域(SEQ ID NO:16)混合的预形成复合物的表面等离子体共振(SPR)结合特征(profile)。图12A示出了不阻断CD47与SIRP-α结合的抗体克隆(S123)(例如,非阻断性抗体)的结合曲线。图12B示出了阻断CD47与SIRP-α结合的抗体克隆(S119)(例如,阻断性抗体)的结合曲线。图12C示出了结合SIRP-α并降低其结合CD47的亲和力的抗体克隆(S118)的结合曲线(例如,“踢脱性(kick off)”抗体)。

[0368] 图13A-13G示出了使用用所指示的抗SIRP-α抗体(在指定的一系列浓度下)、西妥昔单抗或曲妥珠单抗、抗SIRP-α抗体加西妥昔单抗或曲妥珠单抗,或对照抗体(IgG1,κ)处理的巨噬细胞的体外肿瘤细胞吞噬作用测定的结果。通过流式细胞术将已吞噬肿瘤细胞的巨噬细胞鉴定为对CD33、CD206和CFSE呈阳性的细胞。测定的肿瘤细胞为DLD-1(图13A-13D和13G)或OE19细胞(图13E和13F)。测试的抗SIRP-α抗体为AB3a(图13A和13B)、AB45a(图13C和13D)、AB119a(图13E)、AB135a(图13F)和AB136c(图13G)。

[0369] 图14示出了对从用如所指示的抗SIRP-α抗体AB136b、对照大鼠抗小鼠抗SIRP-α拮抗性抗体(克隆p84)、大鼠IgG对照或小鼠IgG对照处理的Balb/c小鼠的脾分离的树突状细胞进行的体内树突状细胞激活测定的结果。给小鼠静脉内注射10mg/kg的所指示抗体,并且在注射后5小时收获脾。通过流式细胞术测量树突状细胞上的激活标志物CD86。

[0370] 图15示出了用于评估单一剂活性的体内同系小鼠结肠癌模型的结果。将MC38细胞皮下植入C57BL/6小鼠中并随机分组(8只小鼠/组)。将小鼠用媒介物(PBS)、CD47阻断性抗SIRP-α抗体AB25b、CD47阻断性抗SIRP-α抗体AB25c、CD47阻断性抗SIRP-α抗体AB27b、CD47非阻断抗SIRP-α抗体AB3b或CD47非阻断性抗SIRP-α抗体136b处理。植入后第7天肿瘤平均为60mm^{3}时开始处理。以10mg/kg每周两次向小鼠腹膜内(IP)给予抗SIRPα抗体,持续三周。当肿瘤达到约2000mm^{3}的体积时,处死动物。

[0371] 图16示出了用于评估单一剂活性的体内同系小鼠结肠癌模型的结果。将CT26细胞皮下植入BALB/c小鼠(每组使用8-9只小鼠),如所指示的将其用AB136b或媒介物(PBS)处理。植入后第7天肿瘤平均为80mm^{3}时开始处理。以3mg/kg或10mg/kg每周两次向小鼠腹膜内(IP)给予抗SIRPα抗体,持续三周。当肿瘤达到约2000mm^{3}的体积时,处死动物。

[0372] 图17A示出了如通过X射线晶体学测定的CD47和抗SIRP-α抗体克隆119Fab与SIRP-α结合的比较。

[0373] 图17B示出了如通过包埋表面积分析确定的抗SIRP-α抗体克隆119Fab与SIRP-α之间的相互作用位点。将包含在抗体119Fab结合表位中的SIRP-α残基根据包埋表面积变化加阴影。指示出SIRP-α互补位中的关键抗体残基:(H)=重链残基;(L)=轻链残基。

[0374] 图18A示出了如通过X射线晶体学测定的CD47和抗SIRP-α抗体克隆136Fab与SIRP-α结合的比较。

[0375] 图18B示出了如通过包埋表面积分析确定的抗SIRP-α抗体克隆136Fab与SIRP-α之间的相互作用位点。将包含在抗体136Fab结合表位中的SIRP-α残基根据包埋表面积变化加阴影。指示出SIRP-α互补位中的关键抗体残基:(H)=重链残基;(L)=轻链残基。

[0376] 图19A示出了如通过X射线晶体学测定的CD47和抗SIRP-α抗体克隆3Fab与SIRP-α结合的比较。

[0377] 图19B示出了如通过包埋表面积分析确定的抗SIRP-α抗体克隆3Fab与SIRP-α之间的相互作用位点。将包含在抗体3Fab结合表位中的SIRP-α残基根据包埋表面积变化加阴影。指示出SIRP-α互补位中的关键抗体残基:(H)=重链残基;(L)=轻链残基。

[0378] 图19C示出了如通过X射线晶体学测定的CD47和抗SIRP-α抗体克隆115Fab与SIRP-α结合的比较。

[0379] 图19D示出了如通过包埋表面积分析确定的抗SIRP-α抗体克隆115Fab与SIRP-α之间的相互作用位点。将包含在抗体115Fab结合表位中的SIRP-α残基根据包埋表面积变化加阴影。指示出SIRP-α互补位中的关键抗体残基:(H)=重链残基;(L)=轻链残基。

[0380] 图20A示出了如通过X射线晶体学测定的CD47、抗SIRP-α抗体克隆119Fab、抗SIRP-α抗体克隆136Fab、抗SIRP-α抗体克隆3Fab、抗SIRP-α抗体克隆115Fab与SIRP-α结合的比较。

[0381] 图20B示出了如通过X射线晶体学测定的CD47、抗SIRP-α抗体克隆119Fab、抗SIRP-α抗体克隆136Fab、抗SIRP-α抗体克隆3Fab和抗SIRP-α抗体克隆115Fab与SIRP-α结合的表位。值指示当单独分析时相对于当处于与SIRP-α复合中分析时Fab/CD47中每个残基原子的表面可及区域之间的差异,表示为包埋表面积(Å^2)。残基编号根据SEQ ID NO:296。

[0382] 图21A示出了抗SIRP-α抗体的表位鉴定(epitope binning)的流程图。

[0383] 图21B示出了对于抗SIRP-α抗体A、B、C、D、E和F的表位鉴定的示例性测定的结果。

[0384] 图22A和22B示出了所指示的抗SIRP-α抗体的表位鉴定的结果。与芯片结合的配体(抗SIRPα)的克隆号如行所指示,并且注射经过芯片的分析物(抗SIRPα)的克隆号如列所指示。白色框指示形成夹层(sandwich)的抗体(并且被认为结合不同的表位)。灰色框指示未形成夹层的抗体(并且被认为结合相同的表位)。“X”指示来自一个取向的数据与另一个取向的不一致的情形。

[0385] 图23提供了用于抗SIRP-α抗体和CD47与SIRP-αD1结构域基于表位鉴定的结合的模型。提供了针对每个bin的代表性抗体(并且将其用编号标记)。

[0386] 图24A示出了亲本119重链(“119_VH_Wt”)、具有4个突变的119变体重链(3个在框架中的至种系序列的回复突变和1个在CDR-H1中的去除潜在氧化热点区的突变;“VH_MutALL”)、具有3个突变的119变体重链(仅3个在框架中的至种系序列的回复突变,“VH_MutAll_V34M”)与具有3个突变和M34L突变的119变体重链(3个在框架中的至种系序列的回复突变,“VH_MutAll_V34L”)之间的比对。绘示的序列为:针对119_VH_Wt的SEQ ID NO:335、针对VH_MutALL的SEQ ID NO:246、针对VH_MutAll_V34M的SEQ ID NO:258和针对VH_MutAll_V34L的SEQ ID NO:327。CDR序列用线指示;氨基酸差异用星号指示。

[0387] 图24B示出了亲本119轻链(“119_VL_Wt”)与具有4个突变的119变体轻链(4个在框架中的至种系序列的回复突变;“VL_mutAll”)之间的比对。绘示的序列为:针对119_VL_Wt的SEQ ID NO:97和针对VL_mutAll的SEQ ID NO:312。CDR序列用线指示;氨基酸差异用星号

指示。

[0388] 图25A示出了亲本135轻链(“VL_wt”)与具有2个突变的135变体轻链(2个在框架中的至种系序列的回复突变;“VL_mutALL”)之间的比对。绘示的序列为:针对135VL_wt的SEQ ID NO:104和针对135VL_MutALL的SEQ ID NO:248。HVR序列用线指示;氨基酸差异用星号指示。

[0389] 图25B示出了亲本135重链(“VH_wt”)、具有6个突变的135变体重链(5个在框架中的至种系序列的回复突变和1个在CDR-H1中的去除潜在氧化热点区的突变;“VH_MutAll”)、具有5个在框架中的至种系序列的回复突变的135变体重链(“VH_MutAll_V34M”)与具有5个在框架中的至种系序列的回复突变和M34L突变的135变体重链(“VH_MutAll_V34L”)之间的比对。绘示的序列为:针对VH_wt的SEQ ID NO:341、针对VH_MutAll的SEQ ID NO:247,和针对VH_MutAll_V34M的SEQ ID NO:259和针对VH_MutAll_V34L的SEQ ID NO:328。HVR序列用线指示;氨基酸差异用星号指示。

[0390] 图26A示出了亲本136轻链(VL_wt)、具有4个突变的136变体轻链(4个在框架中的至种系序列的回复突变,“VL_mutaLL”)、在其他“所有mut”背景中具有单个回复至野生型序列的I2T回复突变的136变体轻链(VL_Mutall_I2T)之间的比对。绘示的序列为:针对VL_wt的SEQ ID NO:134、针对VL_mutaLL的SEQ ID NO:250和针对VL_Mutall_I2T的SEQ ID NO:251。HVR序列用线指示;氨基酸差异用星号指示。

[0391] 图26B示出了亲本136重链(“VH_wt”)、具有6个突变的136变体重链(5个在框架中的至种系序列的回复突变和1个在CDR-H1中的去除潜在氧化热点区的突变;“VH_mutall”)、具有5个在框架中的至种系序列的回复突变的136变体重链(“VH_Mutall_V34M”)与具有5个在框架中的至种系序列的回复突变和M34L突变的136变体重链(“VH_Mutall_V34L”)之间的比对。绘示的序列为:针对VH_wt的SEQ ID NO:133、针对VH_mutall的SEQ ID NO:249,和针对VH_Mutall_V34M的SEQ ID NO:260和针对VH_Mutall_V34L的SEQ ID NO:329。HVR序列用线指示;氨基酸差异用星号指示。

[0392] 图27A示出了抗体136变体与以下六种SIRP-α蛋白的结合亲和力:人SIRP-αv1(SEQ ID NO:5)、人SIRP-αv2(SEQ ID NO:6)、食蟹猴SIRP-α(SEQ ID NO:11)、NOD小鼠SIRP-α(SEQ ID NO:8)、BL/6小鼠SIRP-α(SEQ ID NO:9)和BALB/c小鼠SIRP-α(SEQ ID NO:10)。抗体变体具有突变型(“mut”)或亲本(“wt”)轻链和突变型或亲本重链,如按轻链/重链的顺序所指示的。在图上,y轴指示K_D mut/K_D wt的比率。比率1意指抗体具有与wt/wt抗体等同的K_D(用虚线指示);比率>1指示亲和力低于wt/wt;并且比率<1指示亲和力高于wt/wt。

[0393] 图27B示出了抗体136变体与以下七种SIRP-α蛋白的结合亲和力:BL/6小鼠SIRP-α(SEQ ID NO:9)、NOD小鼠SIRP-α(SEQ ID NO:8)、BALB/c小鼠SIRP-α(SEQ ID NO:10)、人SIRP-αv1(SEQ ID NO:5)、人SIRP-αv2(SEQ ID NO:6)、食蟹猴SIRP-α(SEQ ID NO:11)和人SIRP-γv1(SEQ ID NO:15)。除了测试wt 136和所有突变体136之外,构建变体以消除所有突变体轻链背景中的每个单独突变。在图上,y轴指示K_D mut/K_D wt的比率。比率1意指抗体具有与wt/wt抗体等同的K_D(用虚线指示);比率>1指示亲和力低于wt/wt;并且比率<1指示亲和力高于wt/wt。

[0394] 图28比较了在FreeStyle™ 293-FS细胞(Thermo Fisher)中具有所指示的人重链和人源化轻链的抗体的表达产率和结合亲和力。

[0395] 图29示出了Hum1、Hum8和Hum9 VL结构域之间的比对。Hum8基于Hum1产生,但在HVR-L1和-L2附近或在HVR-L1和-L2中具有增加了人性(humanness)的5个氨基酸取代。Hum9基于Hum1产生,但在HVR-L1和-L2附近或在HVR-L1和-L2中具有增加了人性的4个氨基酸取代。绘示了SEQ ID NO:252(Hum1)、416(Hum 8)和262(Hum9)。HVR序列用线指示;氨基酸差异用星号指示。

[0396] 图30示出了具有种系回复突变的抗体21变体(“HC_MutAll”)、具有种系回复突变和在CDR-H1中的去除潜在氧化热点区M34V的突变的抗体21变体(“HC_MutAll_M34V”)、具有种系回复突变和M34L突变的抗体21变体(“HC_MutAll_M34L”)、具有种系回复突变的抗体25变体(“HC_MutAll”)、具有种系回复突变和在CDR-H1中的去除潜在氧化热点区M34V的突变的抗体25变体(“HC_MutAll_M34V”)、具有种系回复突变和M34L突变的抗体25变体(“HC_MutAll_M34L”)、具有种系回复突变的抗体27变体(“HC_MutAll”)、具有种系回复突变和在CDR-H1中的去除潜在氧化热点区M34V的突变的抗体27变体(“HC_MutAll_M34V”)与具有种系回复突变和M34L突变(“HC_MutAll_M34L”)的抗体27变体之间的比对。绘示的序列为SEQ ID NO:263、264、330、267、268、332、265、266和331(从上至下)。HVR序列用线指示;氨基酸差异用星号指示。

[0397] 图31示出了使用HER2(+)OE19细胞作为靶标并且使用M2巨噬细胞作为吞噬细胞的体外吞噬作用测定的结果。以所指示浓度将“踢脱性”抗SIRP-α抗体与抗HER2抗体曲妥珠单抗组合测试。通过CFSE+细胞的百分比测量吞噬作用。

[0398] 图32示出了使用EGFR(+)DLD-1细胞作为靶标并且使用M2巨噬细胞作为吞噬细胞的体外吞噬作用测定的结果。以所指示浓度将非阻断性抗SIRP-α抗体与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合测试。通过CFSE+细胞的百分比测量吞噬作用。

[0399] 图33A-33C示出了使用EGFR(+)DLD-1细胞作为靶标并且使用M2巨噬细胞作为吞噬细胞的体外吞噬作用测定的结果。以所指示浓度将抗SIRP-α抗体与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合测试。通过CFSE+细胞的百分比测量吞噬作用。

[0400] 图34示出了使用EGFR(+)DLD-1细胞作为靶标并且使用M2巨噬细胞作为吞噬细胞的体外吞噬作用测定的结果。以所指示浓度将非阻断性抗SIRP-α抗体27和136各自作为全长抗体(具有Fc区)或$F(ab)_2$片段与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合测试。通过CFSE+细胞的百分比测量吞噬作用。

[0401] 图35示出了使用EGFR(+)DLD-1细胞作为靶标并且使用M2巨噬细胞作为吞噬细胞的体外吞噬作用测定的结果。以所指示浓度将阻断性抗SIRP-α抗体119变体与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合测试。通过CFSE+细胞的百分比测量吞噬作用。

[0402] 图36示出了使用EGFR(+)DLD-1细胞作为靶标并且使用M2巨噬细胞作为吞噬细胞的体外吞噬作用测定的结果。以所指示浓度将阻断性抗SIRP-α抗体135变体与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合测试。通过CFSE+细胞的百分比测量吞噬作用。

[0403] 图37示出了使用EGFR(+)DLD-1细胞作为靶标并且使用M2巨噬细胞作为吞噬细胞的体外吞噬作用测定的结果。以所指示浓度将非阻断性抗SIRP-α抗体与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合测试。通过CFSE+细胞的百分比测量吞噬作用。

[0404] 图38A-38B示出了用所指示抗SIRP-α抗体的体内树突状细胞激活测定的结果。给小鼠静脉内注射10mg/kg的所指示抗体,并且在注射后5小时收获脾。通过流式细胞术测量

CD4+树突状细胞上的激活标志物CD86、MHCII和CCR7。

[0405] 图39A示出了使用EGFR(+)DLD-1细胞作为靶标并且使用M2巨噬细胞作为吞噬细胞的体外吞噬作用测定的结果。以所指示浓度将218a和218变体抗SIRP-α抗体与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合测试。通过CFSE+细胞的百分比测量吞噬作用。

[0406] 图39B示出了使用EGFR(+)DLD-1细胞作为靶标并且使用M2巨噬细胞作为吞噬细胞的体外吞噬作用测定的结果。以所指定浓度测试示例性阻断性抗SIRP-α抗体119a、120a和122a。通过CFSE+细胞的百分比测量吞噬作用。

[0407] 图39C示出了使用EGFR(+)DLD-1细胞作为靶标并且使用M2巨噬细胞作为吞噬细胞的体外吞噬作用测定的结果。以所指定浓度测试示例性非阻断性抗SIRP-α抗体136a和137a。通过CFSE+细胞的百分比测量吞噬作用。

[0408] 图39D示出了使用EGFR(+)DLD-1细胞作为靶标并且使用M2巨噬细胞作为吞噬细胞的体外吞噬作用测定的结果。以所指定浓度测试示例性踢脱性抗SIRP-α抗体115a、116a、117a、118a和132a。通过CFSE+细胞的百分比测量吞噬作用。

[0409] 图40示出了体内同系小鼠结肠癌模型评估抗SIRP-α治疗与PD-L1/PD-1途径抑制的组合的活性的结果。将CT26细胞皮下植入C57BL/6小鼠中并随机分组(8只小鼠/组)。将小鼠用媒介物(PBS)、抗PD-L1抗体、CD47阻断性抗SIRP-α抗体AB25b、或AB25b和PD-L1治疗。植入后第7天肿瘤平均为60mm^{3}时开始治疗。以10mg/kg每周两次对小鼠腹膜内(IP)给药,持续三周,并且当肿瘤达到约2000mm^{3}的体积时将所述小鼠处死。

[0410] 图41示出了体内同系小鼠结肠癌模型评估抗SIRP-α治疗与PD-L1/PD-1途径抑制的组合的活性的结果。将MC38细胞皮下植入C57BL/6小鼠中并随机分组(8只小鼠/组)。将小鼠用媒介物(PBS)、抗PD-1抗体、CD47阻断性抗SIRP-α抗体AB25b、AB25b和抗PD-1、CD47非阻断性抗SIRP-α抗体AB136b或AB136b和抗PD-1治疗。植入后第7天肿瘤平均为60mm^{3}时开始治疗。以10mg/kg每周两次对小鼠腹膜内(IP)给药,持续三周,并且当肿瘤达到约2000mm^{3}的体积时将所述小鼠处死。

具体实施方式

[0411] 本公开描述了抗体,其结合一种或多种人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)并且具有潜在关注的多种SIRP-α结合特征。这些独特的SIRP-α结合特征包括以下结合能力中的一种或多种,它们以多因素方式组合以产生多种独特的特异性。例如,所述抗体可以结合人SIRP-αv1、人SIRP-αv2或两者的胞外结构域(例如,D1结构域);所述抗体可以结合一种或多种猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),或者它可以缺乏与其的结合;所述抗体可以结合一种或多种鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),或者它可以缺乏与其的结合;所述抗体可以结合人SIRPβ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),或者它可以缺乏与其的结合;并且/或者所述抗体可以结合人SIRPγ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),或者它可以缺乏与其的结合。另外,本公开描述了阻断CD47与SIRP-α结合的抗体、不阻断CD47与SIRP-α结合的抗体和不阻断CD47与SIRP-α结合但降低SIRP-α对CD47的亲和力,从而导致CD47/SIRP-α复合物更快速解离的抗体。此外,本公开描述了具有一种或多种关注的体外和/或体内生物学特性的抗SIRP-α抗体,所述关注的体外和/或体内生物学特性诸如增强巨噬细胞吞噬作用、增强树突状细胞激活、抑制表达CD47的肿瘤的体内生长的能

力和/或完成这些活性中的一种或多种而不阻止表达CD47的细胞与T细胞之间的相互作用的能力。

[0412] 本文描述的方法可以用于鉴定具有上述结合特异性的独特组合的抗体。不希望受理论的束缚,据认为鉴定具有如上所述的不同结合特征的独特抗SIRP-α抗体的能力允许鉴定具有所需临床特性和临床前研究优势的抗体(例如,本文所述的那些)。

[0413] 在一个方面,本文提供了分离的抗体,其结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者。本文进一步提供了编码本公开的抗体的多核苷酸和载体,以及与其相关的抗体产生方法。

[0414] 在一个方面,本文提供了用于治疗或延迟个体中癌症的进展的方法,所述方法包括向个体施用有效量的本公开的抗体。

[0415] 在一个方面,本文提供了用于治疗或延迟个体中自身免疫疾病或炎性疾病的进展的方法,所述方法包括向个体施用有效量的本公开的抗体。

[0416] 在另一方面,本文提供了用于鉴定结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)并且不阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合的抗原结合结构域的方法。在一些实施方案中,所述方法包括(a)提供结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的抗原结合结构域;(b)组装包含SIRP-αD1变体的复合物,所述SIRP-αD1变体与包含CD47的IgSF结构域的多肽结合,其中SIRP-αD1变体为非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍;(c)使抗原结合结构域与组装的复合物接触;以及(d)检测抗原结合结构域与复合物的结合,其中抗原结合结构域与复合物的结合表明抗原结合结构域不阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合。在另一方面,本文提供了用于鉴定结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)并且不阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合的抗原结合结构域的方法。在一些实施方案中,所述方法包括使结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的抗原结合结构域或抗体与包含SIRP-αD1变体的复合物接触,所述SIRP-αD1变体与包含CD47的IgSF结构域的多肽结合,其中SIRP-αD1变体为非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍;以及检测抗原结合结构域与复合物的结合,其中抗原结合结构域与复合物的结合表明抗原结合结构域不阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合。

[0417] 在另一方面,本文提供了用于鉴定结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)并且阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合的抗原结合结构域的方法。在一些实施方案中,所述方法包括(a)提供结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的抗原结合结构域;(b)组装包含SIRP-αD1变体的复合物,所述SIRP-αD1变体与包含CD47的IgSF结构域的多肽结合,其中SIRP-αD1变体为非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍;(c)使抗原结合结构域与组装的复合物接触;以及(d)检测抗原结合结构域与复合物的结合,其中抗原结合结构域与复合物的结合缺乏表明抗原结合结构域阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合。在另一方面,本文提供了用于鉴定结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)并且阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合的抗原结合结构域的方法。在一些实施方案中,所述方法包括使结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)

的抗原结合结构域或抗体与包含SIRP-αD1变体的复合物接触,所述SIRP-αD1变体与包含CD47的IgSF结构域的多肽结合,其中SIRP-αD1变体为非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍;以及检测抗原结合结构域与复合物的结合,其中抗原结合结构域与复合物的结合缺乏表明抗原结合结构域阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合。

[0418] 在另一方面,本文提供了用于产生结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的抗SIRP-α抗体的方法。在一些实施方案中,所述方法包括(a)用包含人SIRP-α胞外结构域(例如,D1结构域)的至少一部分的肽免疫鸡;(b)从来自免疫鸡的抗体产生细胞获得抗体;以及(c)检测从细胞获得的抗体与两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)之间的结合,其中所述抗体与两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)之间的结合表明所述抗体为结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的抗SIRP-α抗体。

[0419] 定义

[0420] 在详细描述所公开的实施方案之前,应理解本公开不限于特定的组合物或生物系统,其当然可以变化。还将理解,本文所使用的术语仅是用于描述特定实施方案的目的,并且不意图具限制性。

[0421] 如在说明书和所附权利要求中所用,除非内容另外明确规定,否则单数形式“一个/种(a/an)”和“所述(the)”包括复数指示物。因此,例如,对“一个分子”的提及任选地包括两个或更多个此类分子的组合等。

[0422] 如本文所用,术语“约”是指本技术领域的技术人员容易知道的相应值的通常误差范围。本文中包括对“约”某一个值或参数的提及包括(并且描述)针对该值或参数本身的实施方案。

[0423] 应理解,本公开的方面和实施方案包括了“包括方面和实施方案”、“由方面和实施方案组成”和“基本上由方面和实施方案组成”。

[0424] 如本文所用,“SIRP-α多肽”可以是指由来自任何脊椎动物的基因组编码的任何内源性或天然存在的SIRP-α多肽,所述脊椎动物包括哺乳动物,诸如人、猴、啮齿动物(例如小鼠或大鼠);和鸟类,诸如鸡。所述术语还包括天然存在的变体,例如,可变剪接变体、等位基因变体或多态性变体(例如,本文所述的那些)。所述术语可以进一步指全长未加工的SIRP-α多肽以及由细胞加工(例如去除信号序列等)产生的SIRP-α多肽。本文描述了示例性SIRP-α多肽序列。在一些实施方案中,人SIRP-α多肽为由人SIRPA基因编码的多肽,所述人SIRPA基因例如,如由NCBI Gene ID号140885所述。如本文所述,SIRP-α多肽在物种内和物种之间是高度多态性的。例如,已经鉴定了至少10种在胞外结构域中具有氨基酸多态性的人变体。

[0425] SIRP-α多肽包括结合配体/配偶体例如CD47的胞外结构域。SIRP-α多肽包含3个高度同源的免疫球蛋白(Ig)样胞外结构域-D1、D2和D3。SIRP-αD1结构域(“D1结构域”)是指SIRP-α的膜远端胞外结构域,并且介导SIRP-α与CD47的结合(参见,例如Hatherley,D.等人(2008)Mol.Cell31:266-77;Hatherley,D.等人(2007)J.Biol.Chem.282:14567-75;Hatherley,D.等人(2009)J.Biol.Chem.284:26613-9;以及Lee,W.Y.等人(2010)J.Biol.Chem.285:37953-63)。胞外结构域通常是指SIRP-α的整个细胞外部分,例如,如在

细胞表面上表达的,并且可以包含不同的SIRP-α结构域,诸如D1结构域。D1结构域含有显示对介导CD47结合至关重要的残基(参见例如,Lee,W.Y.等人(2007)J.Immunol.179:7741-50)。在一些实施方案中,结合SIRP-α多肽的胞外结构域的抗体结合D1结构域的一个或多个残基。在整个本公开中描述了示例性人SIRP-αD1结构域序列,并且其包括但不限于SEQ ID NO:5、6和76-83。人SIRP-αD2和D3结构域序列也是已知的并且包括但不限于针对D2结构域的APVVSGPAARATPQHTVSFTCESHGFSPRDITLKWFKNGNELSDFQTNVDPVGESVSYSIHSTAKVVLTREDVHSQVICEVAHVTLQGDPLRGTANLSETIR(SEQ ID NO:131)和针对D3结构域的VPPTLEVTQQPVRAENQVNVTCQVRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETASTVTENKDGTYNWMSWLLVNVSAHRDDVKLTCQVEHDGQPAVSKSHDLKVS(SEQ ID NO:132)。

[0426] 如本文所用,“CD47”(也称为整联蛋白相关蛋白(IAP)、MER6和OA3)是指除其他作用之外还充当SIRP-α多肽的结合配偶体的多肽。在一些实施方案中,CD47指人CD47多肽,例如由人CD47基因编码的多肽,例如由NCBI参考序列ID号961所述的多肽。示例性人CD47氨基酸序列是已知的(参见例如,NCBI参考序列登录号NP_001768)。特别地,CD47的IgSF结构域是指已知对SIRP-α结合关键的CD47的N末端胞外结构域(参见例如,Barclay,A.N.和Brown,M.H.(2006)Nat.Rev.Immunol.6:457-64和Hatherley,D.等人(2009)J.Biol.Chem.284:26613-9)。在一些实施方案中,CD47的IgSF结构域包含QLLFNKTKSVEFTFSNDTVVIPCFVTNMEAQNTTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTREGETIIELKYRVVS(SEQ ID NO:16)的氨基酸序列。术语“CD47”还可以包括能够结合SIRP-α的修饰的CD47多肽,例如包含缀合至另一多肽或其他部分例如Ig Fc区的CD47的IgSF结构域的多肽。

[0427] 如本文所用,“SIRP-α表位”可以是指形成本公开的抗SIRP-α抗体和/或SIRP-α结合配偶体(包括但不限于CD47)的结合位点的SIRP-α多肽的氨基酸。可以使用本领域已知的多种测定表征和/或定位抗体或其他多肽与表位的结合,所述测定包括但不限于交叉阻断测定(参见Antibodies,A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,Harlow和David Lane编辑(1988))、表位定位(参见Champe等人,J.Biol.Chem.270:1388-1394(1995))、X射线共晶体学、表位鉴定、定点诱变、寡肽扫描、高通量诱变定位、氢/氘交换、有限的蛋白水解等等。

[0428] 如本文所用,“调节SIRP-α信号传导”可以是指在表达SIRP-α多肽的细胞中拮抗、激动或以其他方式干扰SIRP-α信号传导的一个或多个方面。SIRP-α信号传导可以是指由SIRP-α多肽的激活介导的一种或多种细胞内信号传导事件,包括但不限于SIRP-α的胞内区的酪氨酸磷酸化、磷酸酶(例如,SHP1)结合、衔接蛋白结合(例如,SCAP2、FYB和/或GRB2)、细胞因子产生(例如IL-10、IL-1β、IFN或TNF)和一氧化氮产生;和/或一种或多种细胞间表型,包括但不限于巨噬细胞吞噬作用和巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、嗜中性粒细胞、树突状细胞和髓源性抑制细胞(MDSC)的其他激活或抑制表型。

[0429] 如本文所用,术语“抗体”可以是指完整抗体;抗体片段(包括但不限于Fab、F(ab')2、Fab'-SH、Fv、双体抗体、scFv、scFv-Fc、单结构域抗体、单重链抗体和单轻链抗体),前提条件是它们表现出期望的生物活性(例如表位结合);单克隆抗体;多克隆抗体;单特异性抗体;多特异性抗体(例如,双特异性抗体);和抗体样蛋白质。

[0430] 如本文所用,术语“双特异性”当用于提及抗体或抗体片段时包括具有两种不同结

合特异性的抗体或抗体片段。例如,每种结合特异性可以识别不同的抗原,或者每种结合特异性可以识别具有不同亲和力和/或精确表位的相同抗原。在一些实施方案中,每种不同的结合特异性包含一种或多种不同的抗体抗原结合结构域(例如,可变结构域),使得双特异性抗体或抗体片段至少包含具有第一结合特异性的第一抗原结合结构域和具有第二结合特异性的第二抗原结合结构域。本文描述了多种示例性双特异性抗体形式,并且其是本领域已知的。

[0431] "分离的"抗体可以是指已经从其天然环境(例如宿主细胞或生物体)的组分分离和/或回收的抗体。在一些实施方案中,将抗体纯化至按重量计的所需纯度(例如,至少95%);和/或通过例如利用银、考马斯等染色的SDS-PAGE测达到的均质性。在一些实施方案中,在一个或多个纯化步骤后获得分离的抗体。

[0432] 如本领域所知,"天然"抗体通常是指包括两条相同的轻(L)链和两条相同的重(H)链的异四聚体复合物。除了链内二硫键之外,可变数目的二硫键连接两条重链,并且一条链将每条轻链连接至重链。重链包含可变结构域(VH),随后是(N末端至C末端)三个或四个恒定结构域。轻链包含可变结构域(VL),随后是恒定结构域(CL)。通常,哺乳动物轻链基于氨基酸序列属于以下两个类别之一:κ和λ。

[0433] "恒定结构域"可以是指抗体或片段的例如在可变结构域之外的更保守部分。所述术语可以包括CL结构域以及重链恒定结构域CH1、CH2、CH3和任选的CH4。

[0434] 重链的恒定结构域可以指派为以下5种主要类型之一:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM。对于许多这些主要类型存在若干种亚型。不同类别的免疫球蛋白的亚基结构和三维构型是熟知的并且通常例如描述于Abbas等人Cellular and Mol.Immunology,第4版(W.B.Saunders,Co.,2000)中。

[0435] 如本文所用,术语"抗体可变结构域"是指抗体的轻链和重链的包含互补决定区(CDR,例如CDR L1、CDR L2、CDR L3、CDR H1、CDR H2和CDR H3)和框架区(FR)的部分。

[0436] 术语"可变"是指这样的事实,可变结构域的亚序列在抗体间的序列上基本上不同并且对于特定抗体对其抗原的结合特异性是关键的。可变性集中在VH和VL结构域两者中的三个高变区(HVR)中。可变结构域的更保守部分称为框架区(FR),HVR散布在其中。天然重链和轻链的可变结构域各自包含由形成环的三个HVR连接的四个FR区(参见Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,National Institute of Health,Bethesda,Md.(1991))。

[0437] 术语"高变区(HVR)"可以是指VH和VL结构域的特征在于增强的序列可变性和/或限定环的形成的亚区。这些高变区包括VH结构域中的三个HVR(H1、H2和H3)和VL结构域中的三个HVR(L1、L2和L3)。据信H3在赋予精细结合特异性方面是关键的,其中L3和H3显示出最高水平的多样性。参见Johnson和Wu,在Methods in Molecular Biology 248:1-25(Lo编辑,Human Press,Totowa,N.J.,2003)中。

[0438] 多种HVR描绘是已知的。Kabat互补决定区(CDR)是基于序列可变性并且是最常用的(Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1991))。而Chothia是指结构环的位置(Chothia和Lesk J.Mol.Biol.196:901-917(1987))。AbM HVR表示Kabat HVR和Chothia结构环之间的折衷,并由Oxford Molecular的AbM抗体建模软件使用。"接触

(contact)”HVR是基于对可用的复合物晶体结构的分析。来自这些HVR中的每一个的残基如下所述。“框架”或“FR”残基是除HVR残基之外的那些可变结构域残基。

[0439]

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

[0440] 还已知“延伸的”HVR:VL中的24-36或24-34(L1)、46-56或50-56(L2)和89-97或89-96(L3)以及VH中的26-35(H1)、50-65或49-65(H2)和93-102、94-102或95-102(H3)(Kabat编号)。

[0441] “根据Kabat的编号”可以是指Kabat等人,同上中的用于抗体编译的重链可变结构域或轻链可变结构域的编号系统。实际线性氨基酸序列可以含有对应于可变结构域的FR或HVR的缩短或向其中的插入的几个或另外氨基酸。通过在抗体序列同源性区域与“标准”Kabat编号序列比对,可以确定给定抗体的残基的Kabat编号。通常,当提及可变结构域中的残基(轻链的大约残基1-107和重链的残基1-113)时使用Kabat编号,而EU编号系统或指数(例如,如Kabat中的EU指数,根据EU IgG1编号)通常在提及重链恒定区中的残基时使用。

[0442] “全长”或“完整”抗体通常包括具有Fc区的重链,例如与抗体片段相对。具有单个抗原结合位点的抗原结合“Fab”片段可以通过木瓜蛋白酶消化从残余的Fc片段中释放。F(ab')2片段包括通过胃蛋白酶处理抗体产生的两个抗原结合位点。然而,抗体片段将包括一个或多个抗体可变区。

[0443] “Fv”片段含有完整的抗原结合位点。单链Fv(scFv)可以包含通过肽接头连接的VH和VL结构域,使得VH和VL结构域例如在抗体或Fab片段中缔合,由此使得HVR形成抗原结合位点。参见Pluckthün,在The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷,Rosenburg和Moore编辑,(Springer-Verlag,New York,1994),第269-315页中。在一些实施方案中,scFv与抗体Fc结构域(例如scFv-Fc)融合。虽然六个HVR通常包含抗原结合位点,但具有三个HVR的单个可变结构域仍然能够结合抗原,但是亲和力较低。参见Hamers-Casterman等人,Nature 363:446-448(1993);Sheriff等人,Nature Struct.Biol.3:733-736(1996)。单结构域抗体(例如,骆驼科动物抗体)通常包含用于抗原结合的单个单体可变结构域。单重链(VHH)和单轻链抗体也是已知的。Fab'片段通常在C末端包含比Fab片段稍微更多的残基。Fab'-SH包括具有游离巯基的半胱氨酸残基。抗体片段的各种化学偶联在本领

域中是已知的。

[0444] “双体抗体”包括具有两个抗原结合位点的抗体片段。这些包括通过接头连接的VH和VL结构域,所述接头通常太短而不有利于结构域在同一链中的配对。双体抗体可以是二价的或双特异性的。三体抗体和四体抗体或其他数量的VH/VL结构域是已知的。参见Hudson等人,Nat.Med.9:129-134(2003)。

[0445] 如本文所用,“单克隆”抗体是指从基本上同质的抗体(例如,其基本上相同但允许较低水平的背景突变和/或修饰)的群体获得的抗体。“单克隆”指示抗体的基本上同质的特征,且无需通过任何特定方法来生产抗体。在一些实施方案中,单克隆抗体通过其HVR、VH和/或VL序列和/或结合特性进行选择,例如选自克隆(例如,重组、杂交瘤或噬菌体衍生的)的库。单克隆抗体可以被工程改造以包含一个或多个突变,例如,以影响抗体的结合亲和力或其他特性、产生人源化或嵌合抗体、改善抗体产生和/或同质性、工程改造多特异性抗体,此举的所得抗体仍被认为本质上是单克隆的。单克隆抗体群体可以与多克隆抗体区分开,因为群体的单个单克隆抗体识别相同的抗原位点。多种用于产生单克隆抗体的技术是已知的;参见例如,杂交瘤方法(例如Kohler和Milstein,Nature,256:495-97(1975);Hongo等人,Hybridoma,14(3):253-260(1995);Harlow等人,Antibodies:A Laboratory Manual(Cold Spring Harbor Laboratory Press,第2版,1988);Hammerling等人,在Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681(Elsevier,N.Y.,1981)中)、重组DNA方法(参见例如,美国专利号4,816,567)、噬菌体展示技术(参见例如,Clackson等人,Nature,352:624-628(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.222:581-597(1992);Sidhu等人,J.Mol.Biol.338(2):299-310(2004);Lee等人,J.Mol.Biol.340(5):1073-1093(2004);Fellouse,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101(34):12467-12472(2004);和Lee等人,J.Immunol.Methods 284(1-2):119-132(2004),以及用于在具有部分或全部人免疫球蛋白基因座或编码人免疫球蛋白序列的基因的动物中产生人或人样抗体的技术(参见例如,WO 1998/24893;WO 1996/34096;WO 1996/33735;WO 1991/10741;Jakobovits等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:2551(1993);Jakobovits等人,Nature 362:255-258(1993);Bruggemann等人,Year in Immunol.7:33(1993);美国专利号5,545,807;5,545,806;5,569,825;5,625,126;5,633,425;和5,661,016;Marks等人,Bio/Technology 10:779-783(1992);Lonberg等人,Nature 368:856-859(1994);Morrison,Nature 368:812-813(1994);Fishwild等人,Nature Biotechnol.14:845-851(1996);Neuberger,Nature Biotechnol.14:826(1996);以及Lonberg和Huszar,Intern.Rev.Immunol.13:65-93(1995)。

[0446] “嵌合”抗体可以指具有来自特定同种型、类别或生物体的重链和/或轻链的一部分和来自另一同种型、类别或生物体的另一部分的抗体。在一些实施方案中,可变区来自一个来源或生物体,而恒定区来自另一来源或生物体。

[0447] “人源化抗体”可以是指具有主要的人序列和最小量的非人(例如小鼠或鸡)序列的抗体。在一些实施方案中,人源化抗体具有来自来源于非人(例如小鼠或鸡)生物体的抗体的一种或多种HVR序列(具有关注的结合特异性),所述一种或多种HVR序列移植到人受体抗体框架(FR)上。在一些实施方案中,将非人残基进一步移植到人框架上(不存在于来源或受体抗体中),例如以改善抗体特性。通常,人源化抗体将包含至少一个且通常两个可变结

构域的基本全部,其中全部或基本全部的高变环对应于非人免疫球蛋白的那些高变环且全部或基本全部的FR为人免疫球蛋白序列的那些FR。人源化抗体任选地也将包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常是人免疫球蛋白恒定区的至少一部分。参见Jones等人,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature 332:323-329(1988);和Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。

[0448] “人”抗体可以是指具有对应于由人产生的抗体的氨基酸序列的氨基酸序列的抗体和/或使用用于制备本文所公开的人抗体的任何技术制备。人抗体可以使用本领域已知的各种技术(包括噬菌体展示文库)产生。Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.,227:381(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.,222:581(1991);人单克隆抗体的制备如描述于Cole等人,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,第77页(1985);Boerner等人,J.Immunol.,147(1):86-95(1991);并且通过将抗原施用至转基因动物,所述转基因动物被修饰以相应于抗原激发产生此类抗体,但是其内源性基因座被失能,例如免疫的异种小鼠(xenomice)(关于XENOMOUSE™技术参见例如美国专利号6,075,181和6,150,584)或具有人免疫球蛋白序列的鸡(参见例如,WO2012162422、WO2011019844和WO2013059159)。

[0449] 如本文所用,术语“接头”是指两个元件(例如蛋白质结构域)之间的连接。在一些实施方案中,接头可以是共价键或间隔区。术语“间隔区”是指在两个多肽或多肽结构域之间出现的部分(例如,聚乙二醇(PEG)聚合物)或氨基酸序列(例如,1-200个氨基酸序列)以提供两个多肽或多肽结构域之间的空间或灵活性(或空间和灵活性两者)。在一些实施方案中,氨基酸间隔区是多肽的一级序列的一部分(例如,通过多肽主链与间隔的多肽或多肽结构域连接)。

[0450] 如本文所用,术语“细胞毒性剂”可以是指抑制细胞增殖或诱导细胞死亡的任何剂。细胞毒性剂包括但不限于化学治疗剂;放射性同位素;生长抑制剂;和毒素,诸如小分子毒素或酶活性毒素,包括其片段和/或变体。示例性细胞毒性剂包括但不限于代谢抑制剂、抗微管剂、含铂化合物、烷化剂、蛋白酶体抑制剂、拓扑异构酶II抑制剂、抗代谢物、拓扑异构酶I抑制剂、信号转导途径抑制剂、非受体酪氨酸激酶血管生成抑制剂、激素和激素类似物、促凋亡剂、LDH-A抑制剂、细胞周期抑制剂、HDAC抑制剂和抗生素剂。

[0451] 如本文所用,“标记”可以包括充当例如本公开的标记抗体与大分子或细胞之间的结合的检测剂的任何部分。示例性标记包括但不限于荧光(例如化合物或蛋白质)、放射性或酶促部分,以及亲和纯化标签。

[0452] 如本文所用,可以说抗体以足以使抗体可用于在体外和/或体内操纵抗原的亲和力“结合”抗原。在一些实施方案中,“结合”抗原的抗体具有在25℃下小于或等于1μM的对抗原的解离常数(K_D)。

[0453] 如本文所用,术语“亲和力”或“结合亲和力”是指两个分子之间的结合相互作用的强度。通常,结合亲和力是指分子与其结合配偶体(诸如高亲和力SIRP-αD1变体与CD47)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另外指明,否则结合亲和力是指反映结合对的成员之间的1:1相互作用的固有结合亲和力。两个分子之间的结合亲和力通常通过解离常数(K_D)或缔合常数(K_A)来描述。两个彼此具有低结合亲和力的分子通常缓慢结合,往往易于解离,并且表现出大的K_D。两个彼此具有高亲和力的分子通常容易结合,往往保持更长的结合,并且表现出小的K_D。在一些实施方案中,使用已知的方法和技术(例如表面等离子体共

振(SPR))确定两个相互作用分子的K_D。K_D可以计算为k_{off}/k_{on}的比率。

[0454] 如本文所用,术语“小于.....的K_D”是指数值上较小的K_D值和相对于所述K_D值的增加的结合亲和力。如本文所用,术语“大于.....的K_D”是指数值上较大的K_D值和相对于所述K_D值的降低的结合亲和力。

[0455] 如本文所用,“治疗”可以是指治疗性施用分子、化合物、制剂、组合物等,以改变所治疗的个体或细胞中的一种或多种病理症状。治疗的期望效果可以包括但不限于减缓疾病进展、改善或缓和病理症状或疾病状态、改善预后和/或实现疾病缓解。例如,如果减轻或消除与癌症相关的一种或多种症状,诸如但不限于减少癌细胞的增殖、消除癌细胞或肿瘤负担、减少由癌症引起的症状、提高个体的生活质量、减少其他药物的剂量和/或延长个体的生存期,则成功“治疗”个体的癌症。作为另一个实例,如果减轻或消除与自身免疫疾病或炎性疾病相关的一种或多种症状,诸如但不限于减少自身反应性免疫细胞和/或炎性免疫细胞或细胞因子、减少免疫激活和/或炎症、减缓或减轻由疾病引起的器官损伤、减少由疾病引起的症状、提高个体的生活质量、减少其他药物的剂量和/或延长个人的生存期,则可以成功地“治疗”自身免疫疾病或炎性疾病。

[0456] 如本文所用,“延迟疾病的进展”可以是指减缓、阻滞、推迟、延缓疾病的发展,稳定或以其他方式阻碍疾病的病理过程。在一些实施方案中,所述术语可以是指足以有效地包括预防,例如,预防个体发展疾病的延迟。在一些实施方案中,例如晚期癌症、延迟进展可以包括延迟转移。本领域技术人员将理解,延迟的精确长度可以取决于例如具体疾病、个体状况等。

[0457] 术语“癌症”和“癌性”可以描述哺乳动物中一个或多个细胞的失调或不受调控的细胞生长/增殖。可以包括本领域已知的任何癌症类型,诸如但不限于癌、肉瘤、淋巴瘤、白血病、淋巴瘤和胚细胞瘤。此类癌症的更具体的实例包括但不限于肺癌、鳞状细胞癌、脑肿瘤、成胶质细胞瘤、头颈癌、肝细胞癌、结肠直肠癌(例如结肠癌或直肠癌)、肝癌、膀胱癌、胃癌、胰腺癌、宫颈癌、卵巢癌、泌尿道癌、乳腺癌、腹膜癌、子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肛门癌、阴茎癌、黑色素瘤、多发性骨髓瘤和B细胞淋巴瘤(包括非霍奇金氏淋巴瘤(NHL));急性成淋巴细胞性白血病(ALL);慢性淋巴细胞性白血病(CLL);急性髓性白血病(AML);梅克尔(Merkel)细胞癌;毛细胞白血病;慢性成髓细胞性白血病(CML);和相关的转移。

[0458] 如本文所用,术语“有效量”可以是指本公开的抗体或含有本公开的抗体的药物组合物的量,所述量足以并有效地在治疗患有疾病诸如癌症(例如实体瘤或血液癌症)的患者或延迟所述疾病的进展方面实现期望的治疗效果。在一些实施方案中,治疗有效量将避免不良副作用,并且/或者有益效果将超过此类副作用。有效量可以取决于所治疗的个体,例如年龄、体重、性别、疾病状态,以及所述剂产生所需应答的能力。有效量可以在一次或多次施用中施用。如在临床背景中,药物、化合物或药物组合物的有效量可以与或可以不与另一种药物、化合物或药物组合物(诸如另一种治疗剂)联合实现。因此,在施用一种或多种另外的治疗剂的情况下也可以考虑“有效量”,并且如果与一种或多种其他剂联合,可以实现或实现了期望的结果,则可以认为单一剂以有效量施用。

[0459] 如本文所用,术语“药物组合物”可以是指包含活性成分以及赋形剂或稀释剂(或赋形剂和稀释剂两者)的药用或药物制剂,并且能够通过合适的施用方法施用活性成分。在

一些实施方案中,本文公开的药物组合物包含与本公开的一种或多种抗体相容的药学上可接受的组分。在一些实施方案中,药物组合物呈用于口服施用的片剂或胶囊形式或呈例如通过注射用于静脉内或皮下施用的水性形式。

[0460] 如本文所用,术语“受试者”、“个体”和“患者”可互换地用于指脊椎动物,例如哺乳动物。哺乳动物包括但不限于鼠类、猿、人、农场动物、运动动物和宠物。

[0461] 如本文所用,“与.....结合”或“与.....组合”可以是指除另一种治疗剂之外(例如,在其之前、期间和/或之后)施用一种治疗剂。

[0462] 抗体

[0463] 本公开的某些方面涉及抗体,其结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者。如本文所证明的,已经表征出特异性结合v1或v2的抗体,以及结合两种蛋白质的抗体。在人类中,已鉴定出至少10个不同的SIRPA等位基因(参见图1A;还参见Takenaka,K.等人(2007)Nat.Immunol.8:1313-23)。结合一种或多种人SIRP-α多肽并具有本文所述的一种或多种其他结合特异性的抗体是本公开的有利发现。此外,本公开展示了用于产生和鉴定代表新型SIRP-α结合特异性特征的惊人多样性的抗体的方法。

[0464] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,本公开的抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,本公开的抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)并且结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。

[0465] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合1、2、3、4、5、6、7、8、9或10种不同的人SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。如本文所用,“人SIRP-α变体多肽”可以是指发现表达于人中的天然存在的人SIRP-α变体多肽或多态性多肽,例如与携带一种或多种工程改造的突变的变体相对。例如,在一些实施方案中,本公开的抗体结合包含表1中所示的序列的一种或多种人SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,本公开的抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)和/或人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),并且结合选自v3、v4、v5、v6、v7、v8、v9和v10的一种或多种人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。

[0466] 表1.对应于D1结构域的人SIRP-α变体多肽序列。

[0467]

变体	SEQ ID NO	序列
v1	5	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRG AGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNIT PADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
v2	6	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRG AGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITP ADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS
v3	76	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILLCTVTSLIPVGPIQWFRGAG PARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADA GTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS
v4	77	EEGLQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTATSLIPVGPIQWFRG AGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNIT PADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
v5	78	EEELQVIQPDKFVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRG AGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNIT PADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
v6	79	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRG AGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFPIRIGNIT PADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
v7	80	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRG AGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITP ADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRGKPS
v8	81	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRG AGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITP ADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS
v9	82	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRG AGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISNIT PADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
v10	83	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRG AGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITP ADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS

[0468] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)(例如,猴SIRP-α多肽的D1结构域)。在一些实施方案中,本公开的抗体结合食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)(例如,发现于生物体长尾猕猴(Macaca fascicularis)中)。在一些实施方案中,所述抗体结合至少两种不同的猴SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合至少两种不同的食蟹猴SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。例如,在一些实施方案中,所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPEKSVSVAAGESATLNCTATSLIPVGPIQWFRGVGPGRELIYHQKEGHFPRVTP VSDPTKRNNMDFSIRISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDVELKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:11)的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、包含氨基酸序列EEELQVIQPEKSVSVAAGDSAT LNCTVSSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNLKEGHFPRVTAVSDPTKRNNMDFSIRISNITPADAGTYYCVKFRKGS PDVELKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:12)的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者。

[0469] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合鼠类或小鼠SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,发现于生物体小家鼠(Mus musculus)中;例如,鼠类或小鼠SIRP-α多肽的D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合两种或更多种不同的鼠类SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。来自不同的小鼠品系的多种鼠类SIRP-α变体多肽是已知的。在一些实施方案中,鼠类SIRP-α变体多肽包含选自以下的氨基酸序列:KELKVTQPEKSVSVAAGDSTVLNCTL TSLLPVGPIKWYRGVGQSRLLIYSFTGEHFPRVTNVSDATKRNNMDFSIRISNVTPEDAGTYYCVKFQKGPSEPDT EIQSGGGTEVYVLAKPS(SEQ ID NO:7;来自129小鼠品系)、TEVKVIQPEKSVSVAAGDSTVLNCTLTSL LPVGPIRWYRGVGQSRQLIYSFTTEHFPRVTNVSDATKRSNLDFSIRISNVTPEDAGTYYCVKFQRGSPDTEIQSG

GGTEVYVLAK(SEQ ID NO:8;来自NOD小鼠品系)、KELKVTQPEKSVSVAAGDSTVLNCTLTSLLPVGPIR WYRGVGPSRLLIYSFAGEYVPRIRNVSDTTKRNNMDFSIRISNVTPADAGIYYCVKFQKGSSEPDTEIQSGGGTEV YVLAK(SEQ ID NO:9;来自C57BL/6小鼠品系)和TEVKVTQPEKSVSVAAGDSTILNCTVTSLLPVGPIR WYRGVGQSRLLIYSFTGEHFPRIRNVSDTTKRNNMDFSIRISNVTPEDAGTYYCVKFQRGSSEPDTEIQSGGGTEV YVLAK(SEQ ID NO:10;来自BALB/c小鼠品系)。

[0470] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合人SIRP家族蛋白的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,本公开的抗体结合人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,人SIRP-β多肽是指由人SIRPB1基因编码的多肽,所述SIRPB1基因例如,如由NCBI参考序列ID号10326所述。在一些实施方案中,人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)包含氨基酸序列EDELQVIQPEKSVSVAAGESATLRCAMTSLIPVGPIMWFRGAGAGRE LIYNQKEGHFPRVTTVSELTKRNNLDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:13)或EEELQVIQPDKSISVAAGESATLHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSD LTKRNNMDFSIRISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDHVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:14)。

[0471] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,人SIRP-γ多肽是指由人SIRPG基因编码的多肽,所述人SIRPG基因例如,如由NCBI参考序列ID号55423所述。在一些实施方案中,人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)包含氨基酸序列EEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLPVGPVLWFRGVGPG RELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISSITPADVGTYYCVKFRKGSPENVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO:15)。

[0472] 除了结合一种或多种上述多肽的抗体之外,本公开设想不结合一种或多种上述多肽的抗体。换句话说,本公开内容的抗体的结合特征可以通过肯定地或否定地叙述本文所述的结合特异性和/或特性中的任一种来表征。

[0473] 在一些实施方案中,本公开的抗体调节表达人SIRP-α多肽的细胞中的SIRP-α信号传导。在一些实施方案中,本公开的抗体拮抗表达人SIRP-α多肽的细胞中的SIRP-α信号传导。在一些实施方案中,本公开的抗体干扰表达人SIRP-α多肽的细胞中的SIRP-α信号传导。在一些实施方案中,本公开的抗体激动表达人SIRP-α多肽的细胞中的SIRP-α信号传导。在一些实施方案中,SIRP-α信号传导包括由SIRP-α多肽的激活介导的一种或多种细胞内信号传导事件,包括但不限于SIRP-α的胞内区的酪氨酸磷酸化、磷酸酶(例如,SHP1)结合、衔接蛋白结合(例如,SCAP2、FYB和/或GRB2)和一氧化氮产生。用于测量细胞中SIRP-α信号传导的各种测定包括但不限于SIRP-α磷酸化、SHP1和SHP2共免疫沉淀、PI3-激酶信号传导、细胞因子产生(炎性IL-12、IL-23、TNFα、IFN和抑制性细胞因子IL-10、IL-4、IL-13、M1和M2巨噬细胞标志物的细胞表面标志物水平)或树突细胞激活和功能;Kharitonenkov,A.等人(1997)Nature 386:181-6;Ochi,F.等人(1997)Biochem.Biophys.Res.Commun.239:483-7;Kim,E.J.等人(2013)Inflammation Research 62:377-86;Yi,T.等人(2015)Immunity 43:764-75。

[0474] 在一些实施方案中,表达人SIRP-α多肽的细胞为白细胞。在一些实施方案中,所述细胞为巨噬细胞、树突状细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞或髓源性抑制细胞(MDSC)。在一些实施方案中,例如使用本文所述的或本领域已知的SIRP-α信号传导测定中的一种或多种,本公开的抗体将表达人SIRP-α多肽的细胞中的SIRP-α信号传导减少或拮抗至少20%、

至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％或至少90％。在一些实施方案中,例如使用本文所述的或本领域已知的SIRP-α信号传导测定中的一种或多种,本公开的抗体将表达人SIRP-α多肽的细胞中的SIRP-α信号传导增加或激动至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％或至少90％。

[0475] 在一些实施方案中,本公开的抗体调节由SIRP-α介导的细胞内表型。在一些实施方案中,本公开的抗体增强表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞的吞噬作用。例如,可以将用本公开的抗体处理或与本公开的抗体接触的巨噬细胞的吞噬活性与未用所述抗体处理或与所述抗体接触的巨噬细胞的吞噬活性进行比较,或者可以将表达人SIRP-α多肽并且用本公开的抗体处理或与本公开的抗体接触的巨噬细胞的吞噬活性与不表达人SIRP-α多肽并且用所述抗体处理或与所述抗体接触的巨噬细胞的吞噬活性进行比较。示例性吞噬作用测定可以见于例如Wieskopf,K.等人(2013)Science 341:88和Willingham,S.B.等人(2012)Proc.Natl.Acad.Sci.109:6662-7中。在一些实施方案中,例如使用本文所述的或本领域已知的巨噬作用测定中的一种或多种,本公开的抗体将表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞的巨噬作用增加至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％或至少90％。

[0476] 在一些实施方案中,本公开的抗体增强表达人SIRP-α多肽的树突状细胞的激活(例如,单独的树突状细胞的激活水平增加,或者在样品群体内激活的树突状细胞的比例增加)。例如,可以将用本公开的抗体处理或与本公开的抗体接触的树突状细胞的激活与未用所述抗体处理或与所述抗体接触的树突状细胞的激活进行比较,或者可以将表达人SIRP-α多肽并且用本公开的抗体处理或与本公开的抗体接触的树突状细胞的激活与不表达人SIRP-α多肽并且用所述抗体处理或与所述抗体接触的树突状细胞的激活进行比较。本文描述了示例性树突状细胞激活测定。在一些实施方案中,例如使用本文所述的或本领域已知的树突状细胞激活测定中的一种或多种,本公开的抗体将树突状细胞(例如表达人SIRP-α多肽)激活增加至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％或至少90％。

[0477] 在一些实施方案中,本公开的抗体抑制表达CD47的肿瘤的体内生长。例如,可以将表达CD47并且用本公开的抗体处理的肿瘤的体内生长与表达CD47并且未用本公开的抗体处理的肿瘤的体内生长进行比较。本文描述了示例性体内肿瘤生长测定。在一些实施方案中,例如使用本文所述的或本领域已知的体内肿瘤生长测定中的一种或多种,本公开的抗体将表达CD47的肿瘤的体内生长抑制至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％或至少90％。

[0478] 在一些实施方案中,本公开的抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合(例如,“阻断性”抗体)。例如,所述抗体和CD47多肽可以“竞争”相同的SIRP-α表位,并且/或者抗体与SIRP-α的结合可以与CD47与SIRP-α的结合互相排斥。SIRP-α与CD47之间的结合界面,以及参与结合的两种蛋白质的残基是已知的;参见Hatherley,D.等人(2007)J.Biol.Chem.282:14567-75和Nakaishi,A.等人(2008)J.Mol.Biol.375:650-60。本文描述了用于确定抗体是否阻断CD47与SIRP-α结合的示例性测定。在一些实施方案中,在例如使用纯化的SIRP-α和/或CD47多肽的体外测定中,本公开的抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构

域之间的结合。例如,本文描述了体外ELISA和SPR测定,但这并不意味着限制,因为也可以使用其他体外结合测定。在一些实施方案中,使用抗体与包含SIRP-αD1变体(例如,以高于本文所述的一种或多种天然存在的对应物的亲和力结合CD47的非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域)的复合物(所述SIRP-αD1变体与CD47的IgSF结构域结合)的结合来筛选阻断性、非阻断性和/或踢脱性抗体。在一些实施方案中,可以通过表面等离振子共振(SPR;例如,如实施例1中所述)测试"阻断性"和/或"非阻断性"抗体。例如,可以在CD47的IgSF结构域与SIRP-αD1变体(例如,以高于本文所述的一种或多种天然存在的对应物的亲和力结合CD47的非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域)之间形成复合物,然后可以测量测试抗体与复合物的结合。对于阻断SIRP-α与CD47结合的抗体,在CD47浓度增加时,将预期较少的SIRP-α分子可用于与所述抗体结合,因为所述抗体竞争与CD47相同的结合位点并且大多数/所有SIRP-α与CD47复合。因此,可以预期共振(RU)随着混合物中CD47浓度的增加而降低。在一些实施方案中,本公开的"阻断性"抗SIRP-α抗体在CD47与SIRP-α之间的结合界面的一个或多个残基处结合SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),即阻断性抗体和CD47共享部分或完全重叠的表位。在一些实施方案中,本公开的"阻断性"抗SIRP-α抗体在也由CD47:SIRP-α复合物中的CD47结合的一个或多个氨基酸位置处结合SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。SIRP-α与示例性抗SIRP-α抗体或CD47之间的结合界面描述于实施例4中。在一些实施方案中,例如,在表达在细胞表面上的多肽之间的体内结合测定中,本公开的抗体阻断表达在第一细胞的表面上的人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与表达在第二细胞的表面上的人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,通过以下方式体内测定可以评估表达在第一细胞的表面上的人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与表达在第二细胞的表面上的人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合:测定SIRP-α信号传导的一个或多个方面,例如,由SIRP-α多肽激活介导的一种或多种细胞内信号传导事件,包括但不限于SIRP-α的胞内区的酪氨酸磷酸化、磷酸酶(例如,SHP1)结合、衔接蛋白结合(例如,SCAP2、FYB和/或GRB2)、细胞因子产生(例如IL-10、IL-1β、IFN或TNF)和一氧化氮产生;和/或一种或多种细胞间表型,包括但不限于巨噬细胞吞噬作用和巨噬细胞、嗜中性粒细胞、树突状细胞、嗜酸性粒细胞和髓源性抑制细胞(MDSC)的其他激活或抑制表型。

[0479] 在一些实施方案中,本公开的抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合(例如,"非阻断性"抗体)。例如,所述抗体与CD47多肽可以结合不同的和/或不重叠的SIRP-α表位。在一些实施方案中,在例如使用纯化的SIRP-α和/或CD47多肽的体外测定中,本公开的抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。例如,本文描述了体外ELISA和SPR测定,但这并不意味着限制,因为也可以使用其他体外结合测定。在一些实施方案中,使用抗体与包含SIRP-αD1变体(例如,以高于本文所述的一种或多种天然存在的对应物的亲和力结合CD47的非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域)的复合物(所述SIRP-αD1变体与CD47的IgSF结构域结合)的结合来筛选阻断性、非阻断性和/或踢脱性抗体。在一些实施方案中,可以通过表面等离振子共振(SPR;例如,如实施例1中所述)测试"阻断性"和/或"非阻断性"抗体。例如,可以在CD47的IgSF结构域与SIRP-αD1变体(例如,以高于本文所述的一种或多种天然存在的对应物的亲和力结合CD47的非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域)之

间形成复合物,然后可以测量测试抗体与复合物的结合。对于不阻断SIRP-α与CD47结合的抗体,预期所述抗体与SIRP-α/CD47复合物结合并形成夹层。因此,在CD47浓度增加时,由于夹层形成增加,共振会相应增加。在一些实施方案中,本公开的"非阻断性"抗SIRP-α抗体在与CD47与SIRP-α之间的结合界面不同的一个或多个残基处结合SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),即非阻断性抗体和CD47共享完全不重叠的表位。SIRP-α与示例性抗SIRP-α抗体或CD47之间的结合界面描述于实施例4中。在一些实施方案中,例如,在表达在细胞表面上的多肽之间的体内结合测定中,本公开的抗体不阻断表达在第一细胞的表面上的人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与表达在第二细胞的表面上的人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,通过以下方式体内测定可以评估表达在第一细胞的表面上的人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与表达在第二细胞的表面上的人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合:测定SIRP-α信号传导的一个或多个方面,例如,由SIRP-α多肽激活介导的一种或多种细胞内信号传导事件,包括但不限于SIRP-α的胞内区的酪氨酸磷酸化、磷酸酶(例如,SHP1)结合、衔接蛋白结合(例如,SCAP2、FYB和/或GRB2)、细胞因子产生(例如IL-10、IL-1β、IFN或TNF)和一氧化氮产生;和/或一种或多种细胞间表型,包括但不限于巨噬细胞吞噬作用和巨噬细胞、嗜中性粒细胞、树突状细胞、嗜酸性粒细胞和髓源性抑制细胞(MDSC)的其他激活或抑制表型。本公开的令人惊讶的发现是,不阻断SIRP-α与CD47相互作用的抗体能够增加吞噬作用并阻断体内肿瘤生长。不希望受理论的束缚,据认为非阻断性抗SIRP-α抗体可以独立于CD47结合调节SIRP-α的一种或多种功能。

[0480] 在一些实施方案中,本公开的抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合降低了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力(例如,"踢脱性"抗体)。在一些实施方案中,所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合增加了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的k_{off}。在一些实施方案中,所述抗体与人高亲和力SIRP-α多肽(例如,如本文所述)的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合将人高亲和力SIRP-α多肽(例如,如本文所述)结合人CD47多肽的IgSF结构域的k_{off}增加至大于约$1x10^{-3}$ 1/s。例如,所述抗体和CD47多肽可以具有相邻或部分重叠的SIRP-α表位,使得当所述抗体与CD47结合时其能够结合SIRP-α,但抗体:SIRP-α促进SIRP-α:CD47复合物的解离。在一些实施方案中,在例如使用纯化的SIRP-α和/或CD47多肽的体外测定中,本公开的抗体降低了人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。在一些实施方案中,在例如使用纯化的SIRP-α和/或CD47多肽的体外测定中,所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合增加了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的k_{off}。例如,本文描述了体外ELISA和SPR测定,但这并不意味着限制,因为也可以使用其他体外结合测定。在一些实施方案中,使用抗体与包含SIRP-αD1变体(例如,以高于本文所述的一种或多种天然存在的对应物的亲和力结合CD47的非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域)的复合物(所述SIRP-αD1变体与CD47的IgSF结构域结合)的结合来筛选阻断性、非阻断性和/或踢脱性抗体。在一些实施方案中,例如,在表达在细胞表面上的多肽之间的体内结合测定中,本公开的抗体降低了表达在第一细胞的表面上的人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)结合表达在第二细胞的表面上的人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。在一些实施方案中,本公开的"踢脱性"抗SIRP-α抗体在CD47与SIRP-α之间的结合界面的一个或多个残基处结合SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),即踢脱性抗

体和CD47共享部分重叠的表位。在一些实施方案中,本公开的“踢脱性”抗SIRP-α抗体在也由CD47:SIRP-α复合物中的CD47结合的1个或多个残基处结合SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。例如,“踢脱性”抗SIRP-α抗体可以在也由CD47:SIRP-α复合物中的CD47结合并且在SIRP-α的CD47结合表位的周边的2个或更多个残基处结合SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。SIRP-α与示例性抗SIRP-α抗体或CD47之间的结合界面描述于实施例4中。在一些实施方案中,例如,在表达在细胞表面上的多肽之间的体内结合测定中,本公开的抗体与表达在第一细胞的表面上的人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合增加了人SIRP-α多肽结合表达在第二细胞的表面上的人CD47多肽的IgSF结构域的k_{off}。在一些实施方案中,通过以下方式体内测定可以评估表达在第一细胞的表面上的人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与表达在第二细胞的表面上的人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合:测定SIRP-α信号传导的一个或多个方面,例如,由SIRP-α多肽激活介导的一种或多种细胞内信号传导事件,包括但不限于SIRP-α的胞内区的酪氨酸磷酸化、磷酸酶(例如,SHP1)结合、衔接蛋白结合(例如,SCAP2、FYB和/或GRB2)、细胞因子产生(例如IL-10、IL-1β、IFN或TNF)和一氧化氮产生;和/或一种或多种细胞间表型,包括但不限于巨噬细胞吞噬作用和巨噬细胞、嗜中性粒细胞、树突状细胞、嗜酸性粒细胞和髓源性抑制细胞(MDSC)的其他激活或抑制表型。

[0481] 在一些实施方案中,本公开的抗体通过结合SIRP-α、SIRPβ和SIRPγ中的两种或更多种(或全部三种)来调节一种或多种免疫细胞功能。

[0482] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0483] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0484] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合降低了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[0485] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0486] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0487] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结

构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合降低了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[0488] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;结合猴(例如食蟹猴)SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0489] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;结合猴(例如食蟹猴)SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0490] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)或两者;结合猴(例如食蟹猴)SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);并且所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的结合降低了人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[0491] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、鼠类SIRP-α多肽和猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);所述抗体不结合人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)和人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)中的至少一个;并且所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合(参见例如,图3A和3B)。

[0492] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、鼠类SIRP-α多肽、猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),和人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)和人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)中的至少一个;并且所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合(参见例如,图4A和4B)。

[0493] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、鼠类SIRP-α多肽和猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域);所述抗体不结合人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)和人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)中的至少一个;并且所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合(参见例如,图5A和5B)。

[0494] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽和猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),所述抗体不结合鼠类SIRP-α多肽;所述抗体不结合人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)和人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)中的至少一个;并且所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合(参见例如,图6A和6B)。

[0495] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、

猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域),和人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)和人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)中的至少一个;所述抗体不结合鼠类SIRP-α多肽;并且所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合(参见例如,图7A和7B)。

[0496] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自VH结构域的三个CDR和/或来自VL结构域的三个CDR,所述VH结构域含有表2所示的序列,所述VL结构域含有表2所示的序列(其中CDR突出显示的VH和VL序列提供于图10A-10B和11A-11J中)。例如,在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自VH结构域的三个CDR和/或来自VL结构域的三个CDR,所述VH结构域含有选自SEQ ID NO:294、139、358、362、354、380、384、350、137、374、356、352、135、348、376、346、342、344、141、360、370、382、364、366、368、372、378、133、128、396、386、398、402、392、388、390、394、400、116、117、118、119、282、404、406、278、412、275、414、280、123、292、288、290、408、410、286、284、120、121、130和122的序列,所述VL结构域含有选自SEQ ID NO:295、363、140、359、355、351、136、349、377、138、375、357、353、381、385、345、365、367、369、347、142、343、371、379、383、361、373、134、105、387、389、395、397、399、403、391、393、401、93、94、95、96、283、405、407、279、413、276、415、281、100、293、289、291、409、411、287、285、97、98、107和99的序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有表2所示的序列的VH结构域和/或含有表2所示的序列的VL结构域(参见图10A-10B和11A-11J)。例如,在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有选自氨基酸序列SEQ ID NO:294、139、358、362、354、380、384、350、137、374、356、352、135、348、376、346、342、344、141、360、370、382、364、366、368、372、378、133、128、396、386、398、402、392、388、390、394、400、116、117、118、119、282、404、406、278、412、275、414、280、123、292、288、290、408、410、286、284、120、121、130和122的VH结构域和/或含有选自氨基酸序列SEQ ID NO:295、363、140、359、355、351、136、349、377、138、375、357、353、381、385、345、365、367、369、347、142、343、371、379、383、361、373、134、105、387、389、395、397、399、403、391、393、401、93、94、95、96、283、405、407、279、413、276、415、281、100、293、289、291、409、411、287、285、97、98、107和99的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自表2中描述的抗体的六种CDR序列(参见图10A-10B和11A-11J)。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VL结构域,其包含如本文所述的VL结构域Hum1-Hum9的VL结构域序列。在一些实施方案中,所述抗体为人源化抗体。在一些实施方案中,所述抗体为人抗体。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自表2中描述的抗体的VH结构域和/或VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含D或E残基,随后是(例如,在N末端至C末端的方向)选自SEQ ID NO:116-130的VH结构域序列。

[0497] 表2.本文所述的抗体克隆的氨基酸序列。

[0498]

克隆/抗体	框架	结构域	SEQ ID NO	序列
S1	鸡	VL	85	ALTQPASVSANPGETVEITCSGGGSNNA YGWFQQKSPGSAPLTVIYDNGKRPSDIPS RFSGSKSDSTGTLTITRVQAEDEAVYYC GSADNSGAGVFGAGTTLTVL
S2	鸡	VL	86	AVTQPASVSANPGETVRITCSGDSSSYYS WHQQKSPGSAPVSVIYSNTDRPSDIPSRF SGSASGSTATLTITGVQAEDEAVYFCGA YDSSSDSDIFGAGTTLTVL
S8	鸡	VL	87	AVTQPSSVSANPGETVEITCSGSSTYYGW YQQKSPGSAPVTVIYDNDKRPSDIPSRFS GSKSGSTHTLIITGVQVEDEAVYFCGNED NNYVAIFGAGTTLTVL
S9	鸡	VL	88	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGDNSAHY YYGWYQQKSPGSAPVTVIYYNDKRPSGI PSRFSGSASGSTATLIITGVQVEDEAVYF CGSADSSNPAIFGAGTTLTVL
S11	鸡	VL	89	AVTQPASVSANPGETVKITCSGSSSGSYG WYQQKSPGSAPVTLIYETNKRPSNIPSRF SGSKSGSTATLTITGVQADDEAVYYCGS EDSSTYLSIFGAGTTLTVL
S12	鸡	VL	90	AVTQPASVSANPGETVKITCSGDSSYYG WYQQKSPGSAPVTVIYDDNKRPSNIPSRF SGSKSGSTGTLTITGVQADDEAVYFCGN

[0499]

				EDNSYVAIFGAGTTLTVL
S13	鸡	VL	91	AVTQPASVSANPGETVKITCSGSSSYYG WYRQKSPGSAPVTLIYDNDKRPSGIPSRF SGSKSGSTNTLTITGVQADDEAVYYCGN EDNSYVGIFGAGTTLTVL
S14	鸡	VL	92	AVTQPASVSANLGETVKITCSGDSSYYG WYQQKAPGSAPVTLIYDNDKRPSNIPSRF SGSKSGSTATLTITGVQADDEAVYYCGN EDMNYVGIFGAGTTLTVL
S115	人	VL	93	ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTV GSKLAWHQQKPGQAPRLLIYDATNRAT GISDRFSGSGSGTDFTLTISSLQTEDSAVY YCQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK
S116	人	VL	94	ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTV GSKLAWHQQKPGQAPRLLIYDATNRAT GISDRFSGSRSGTDFTLTISSLQTEDSAVY YCQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK
S117	人	VL	95	ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTV GSKLAWHQQKPGQAPRLLIYDATNRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQTEDSAVY YCQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK
S118	人	VL	96	ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTV GSKLAWHQQKPGQAPRLLIYDASRRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQTEDSAVY YCQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK
S119	人	VL	97	EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNV KNDLAWYQQRPGQAPRLLIYAARIRETG IPERFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYY CQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
S120	人	VL	98	EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNV KNDLAWYQQRPGQAPRLLIYAARIRETG IPERFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYY CQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
S122	人	VL	99	EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNV KNDLAWYQQRPGQAPRLLIYAARIRETG IPERFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYY CQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
S123	人	VL	100	EIVLTQSPGTLSVSPGERVTLTCRASQGIA GKIAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIP GRFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYYC QQHYDWSPLTFGGGTKVEIK
S126	人	VL	101	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQSIG SSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDATNRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQTEDSAVYY CQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK
S128	人	VL	102	ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTV GSKLAWHQQKPGQAPRLLIYDASNRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQTEDSAVY YCQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK
S130	人	VL	103	EIVLTQSPGTLSVSPGERATLSCRASQNV RSDLAWYQQKLGQAPRLLIYDANTRAT DIPDRFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVY YCQHYYDWPPVTFGGGTKVEIK
S135	人	VL	104	EIVLTQSPATLSVSPGERVTFSCRASQNV

[0500]

				RSDIAWYQQKPGQAPRLLIYAASSRDTGI PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDFGVYY CQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
S137	人	VL	105	ETVLTQSPGTLTLSPGERATLTCRASQSV YTYLAWYQEKPGQAPRLLIYGASSRATG IPDRFSGSGSGTVFTLTISSLQSEDFAVYY CQQYYDRPPLTFGGGTKVEIK
S138	人	VL	106	EIVLTQSPGTLSVSPGERVILTCRASQSVD TYNLAWYQQKPGQAPRLLIYDLSTRATG IPDRFSGSGSGTEFTLTINSLEPEDFAVYY CHQYYDWPPYTFGGGTKVEIK
S121	人	VL	107	EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNV KNDLAWYQQRPGQAPRLLIYAARIRETG IPERFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYY CQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
S1	鸡	VH	108	AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKGSGFT FSSHAMNWVRQAPGKGLEWVAGISSDG RFTYYGAAVQGRATISRDNGQSTVRLQL NNLRAEDTATYYCTKNGGCGSGGDLDC IDAWGHGTEVIVSS
S2	鸡	VH	109	AVTLDESGGGLQTPGGGLSLVCKASGFD FSNFNMAWVRQGPGKGLEYVAEISDTGS TPYYGSAVQGRATISRDNGQSTVRLQLN NLRAEDTGTYFCTRNFGSSVSSIDAWGH GTEVIVSS
S8	鸡	VH	110	AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFT FSSYNMGWVRQAPGKGLEFVAGIYASG SSTDTDTTYGPAVAGRATISRDNGQSTV RLQLNNLRAEDTGTYYCAKAAGGCSTH TCTAYIADSIDAWGHGTEVIVSS
S9	鸡	VH	111	AVTLDESGGGLQTPGRALSLVCRGSGFSI SSYNMGWVRQAPGKGLEFIASIGSDGSS THYAPAVKGRATITRDVGQSTVRLQLNN LRAEDTGTYFCAKDAYQCSYATCNDYL DTIDAWGHGTEVIVSS
S11	鸡	VH	112	AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFT FSSFNMGWVRQAPGKGLEFVAAIYSGNS AEYGAAVQGRATISRDNGQSTVRLQLN NLRAEDTGIYFCAKDAGSGCYSGVCAGT SSIDAWGHGTEVIVSS
S12	鸡	VH	113	AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFT FSSYNMGWVRQAPGKGLEFVAGIYIASG DLGTTYGAAVQGRATISRDDGQSTVRLQ LNNLRAEDTGTYFCAKSAGGCSAHSCDT YIADSIDAWGHGTEVIVSS
S13	鸡	VH	114	AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFT FSSYNMGWVRQAPDKGLEFVAGIYTGS DAGLSTTYGAAVQGRATISRDNGQSTVR LQLNNLGAEDTGIYFCTKSAGGCSDYNC DAYIADSIDAWGHGTEVIVSS
S14	鸡	VH	115	AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFT FNSYNMGWVRQAPGKGLEFVAGIYSAG GDTSTTYGAAVNGRATISRDNGQSTVRL QLNNLRAEDTGIYFCAKAAGGCTAHNC

[0501]

				DAYIADSIDAWGHGTEVIVSS
S115	人	VH	116	VQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFS SYAMNWVRQAPGEGLEWVSRINSGGGG TDYAESVKGRFTISRDNSENTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKQYDWNSFFDYWGL GALVTVSS
S116	人	VH	117	VQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFS SYAMNWVRQAPGEGLEWVSRINSGGGG TDYAESVKGRFTISRDNSENTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKQYDWNSFFDYWGL GALVTVSS
S117	人	VH	118	VQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFS SYAMNWVRQAPGEGLEWVSRINSGGGG TDYAESVKGRFTISRDNSENTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKQYDWNGFFDYWGL GALVTVSS
S118	人	VH	119	VQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFS SYAMNWVRQAPGEGLEWVSRINSGGGG TDYAESVKGRFTISRDNSENTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKQYDWNGFFDYWGL GALVTVSS
S119	人	VH	120	VQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSF SNFAMTWVRQAPGEGLEWVSTIGSGDT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWG LGTLVTVSS
S120	人	VH	121	VQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSF SNFAMTWVRQAPGEGLEWVSTIGSGDT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWG LGTRVTVSS
S122	人	VH	122	VQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFRF SNFAMTWVRQAPGEGLEWVSTIGSGDT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWG LGTLVTVSS
S123	人	VH	123	VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTF RNYGMSWVRQAPGEGLEWVSASSGSGS TYYTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCAKVTWNNFFDYWGLGT LVTVSS
S126	人	VH	124	VQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTF SNYDMTWVRQAPGEGLEWVSGISGNGG STYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAMNRWWFDYWGLGT LVTVSS
S128	人	VH	125	VQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSF RSYAMNWVRQAPGEGLEWVSRIDSGGG GTDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKQYDWNSFFDYWGL GAPVTVSS
S130	人	VH	126	VQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTF SNYAMSWVRQAPGEGLEWVSLITTNGD GAYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM

[0502]

				NSLRAEDTAIYYCAKDGAAHYYDIFFDY WGLGTPVTVSS
S135	人	VH	127	VQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFS IYAMSWVRQAPGEGLEWVSTIGADDTY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKDSTVGWSGDFFDYWG LGTLVTVSS
S137	人	VH	128	VQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTF SSYDMNWVRQAPGEGLEWVSLISGSGEI IYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKENNRYRFFDDWGLG TLVTVSS
S138	人	VH	129	VQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTF SNYAMNWVRQAPGEGLEWVSGISGRGG DTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAIYYCAKGTWNYGSFDYWGL GTLVTVSS
S121	人	VH	130	VQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSF SNFAMTWVRQAPGEGLEWVSTIGSGDT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWG LGTLVTVSS
AB136	人	VH	133	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFT FSSYDMNWVRQAPGEGLEWVSLISGSGE IIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKENNRYRFFDDWGLG TLVTVSS
AB136	人	VL	134	ETVLTQSPGTLTLSPGERATLTCRASQSV YTYLAWYQEKPGQAPRLLIYGASSRATG IPDRFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYY CQQYYDRPPLTFGGGTKVEIK
AB21	人	VH	135	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFT FSSNAMSWVRQAPGKGLEWLAGISAGG SDTYYPASVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NTLTAEDTAVYYCARETWNHLFDYWGL GTLVTVSS
AB21	鸡	VL	136	ALTQPASVSANPGETVKIACSGGDYYSY YYGWYQQKAPGSALVTVIYSDDKRPSDI PSRFSGSASGSTATLTITGVRAEDEAVYY CGGYDYSTYANAFGAGTTLTVL
AB25	人	VH	137	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCEASGFT FSSNAMSWVRQAPGKGLEWVAGISSGS DTYYGDSVKGRLTISRDNSKNILYLQMN SLTAEDTAVYYCARETWNHLFDYWGLG TLVTVSS
AB25	鸡	VL	138	ALTQPASVSANPGETVEITCSGGSYSSYY YAWYQQKSPGSAPVTLIYSDDKRPSNIPS RFSGSASGSTATLTITGVRAEDEAVYFCG GYDQSSYTNPFGAGTTLTVL
AB27	人	VH	139	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAVSGFR FSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGISSGG DTYYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQVN SLTAEDTAIYYCARETWNHLFDYWGLG TLVTVSS

[0503]

AB27	鸡	VL	140	ALTQPASVSADLGETVKITCSGGDSSSHY YGWYQQKSPGSAPVTVIYSDDERPSDIPS RFSGSASGSTATLTITGVRVEDEAIYYCG AYDGSTYANTFGAGTTLTVL
AB66	人	VH	141	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPGKGLEWLAGISAGG SDTYYIDSVKGRFTISRDNPKNSLYLQMS SLTAEDTAVYYCARETWNHLFDYWGLG TLVTVSS
AB66	鸡	VL	142	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGDYYST YYAWYQQKSPGSAPVTVIHSDDKRPSDI PSRFSGSASGSAATLIITGVRVEDEAVYY CGGYDGRTYINTFGAGTTLTVL
AB119	人	HVR-H1	143	GFSFSNFAMT
AB119	人	HVR-H2	144	TIGSGDTYYADSVKG
AB119	人	HVR-H3	145	DSTVSWSGDFFDY
AB119	人	HVR-L1	146	RASQNVKNDLA
AB119	人	HVR-L2	147	AARIRET
AB119	人	HVR-L3	148	QQYYDWPPFT
AB135	人	HVR-H1	149	GFSFSIYAMS
AB135	人	HVR-H2	150	TIGADDTYYADSVKG
AB135	人	HVR-H3	151	DSTVGWSGDFFDY
AB135	人	HVR-L1	152	RASQNVRSDIA
AB135	人	HVR-L2	153	AASSRDT
AB135	人	HVR-L3	148	QQYYDWPPFT
AB136	人	HVR-H1	155	GFTFSSYDMN
AB136	人	HVR-H2	156	LISGSGEIIYYADSVKG
AB136	人	HVR-H3	157	ENNRYRFFDD
AB136	人	HVR-L1	158	RASQSVYTYLA
AB136	人	HVR-L2	159	GASSRAT
AB136	人	HVR-L3	160	QQYYDRPPLT
AB21	人	HVR-H1	161	GFTFSSNA
AB21	人	HVR-H2	162	ISAGGSDT
AB21	人	HVR-H3	163	ARETWNHLFDY
AB21	鸡	HVR-L1	164	SGGDYYSYYYG
AB21	鸡	HVR-L2	165	TVIYSDDKRPSD
AB21	鸡	HVR-L3	166	GGYDYSTYANA
AB25	人	HVR-H1	161	GFTFSSNA
AB25	人	HVR-H2	168	ISSGSDT
AB25	人	HVR-H3	163	ARETWNHLFDY
AB25	鸡	HVR-L1	170	SGGSYSSYYYA
AB25	鸡	HVR-L2	171	TLIYSDDKRPSN
AB25	鸡	HVR-L3	172	GGYDQSSYTNP
AB27	人	HVR-H1	173	GFRFSSYA
AB27	人	HVR-H2	174	ISSGGDT
AB27	人	HVR-H3	163	ARETWNHLFDY
AB27	鸡	HVR-L1	176	SGGDSSSHYYG
AB27	鸡	HVR-L2	177	TVIYSDDERPSD
AB27	鸡	HVR-L3	178	GAYDGSTYANT
AB66	人	HVR-H1	179	GFTFSSYA
AB66	人	HVR-H2	162	ISAGGSDT
AB66	人	HVR-H3	163	ARETWNHLFDY
AB66	鸡	HVR-L1	182	SGGDYYSTYYA

[0504]

AB66	鸡	HVR-L2	183	TVIHSDDKRPSD
AB66	鸡	HVR-L3	184	GGYDGRTYINT
AB3	鸡	VH	242	AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFIFS DYGMNWVRQAPGKGLEFVAQITSGSRTY YGAAVKGRATISRDNRQSTVKLQLNNLRA EDTGIYFCARDFGSGVGSIDAWGNGTEVIV SS
AB3	鸡	VL	243	ALTQPASVSANLGGTVKITCSGSRGRYGW YQQRSPGSAPVTVIYRDNQRPSNIPSRFSSS TSGSTSTLTITGVQADDESVYFCGSYDGSI DIFGAGTTLTVL
AB45	鸡	VH	244	AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFTF SSYAMGWVRQAPGKGLEWVAGIDDDGST ANYGPAVKGRATISRDNGQSTVRLQLNNP RAEDSGTYFCAKASVTGWSAHISGRLDTW GHGTEVIVSS
AB45	鸡	VL	245	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGGIYYYG WYQQKSPGSAPVTLIYENDKRPSDIPSRFS GSTSGSTNTFTITGVQAEDEAVYYCGGYD SNTTSGIFGAGTTLTVL
AB119 mut	具有 D1E、E43K、L112Q 和 M34V 突变的人	VH	246	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFS NFAVTWVRQAPGKGLEWVSTIGSGDTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWGQGTL VTVSS
AB135 mut	具有 D1E、R13Q、E16G、E43K、L112Q 和 M34V 突变的人	VH	247	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFS IYAVSWVRQAPGKGLEWVSTIGADDTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKDSTVGWSGDFFDYWGQGTL VTVSS
AB136 mut all	具有 D1E、R13Q、E16R、E43K、L111Q 和 M34V 突变的人	VH	249	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS SYDVNWVRQAPGKGLEWVSLISGSGEIIY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAKENNRYRFFDDWGQGTLVT VSS
AB136 mut all	具有 T2I 、T12S 、T22S 和 E38Q 突变的人	VL	250	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVYT YLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPD RFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQ YYDRPPLTFGGGTKVEIK
AB136 mut all_I2T	具有 T12S、T22S 和 E38Q 突变的人	VL	251	ETVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVY TYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIP DRFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQ QYYDRPPLTFGGGTKVEIK
Hum1	人源化的	VL	252	SYELTQPPSVSVSPGQTARITC**SGGSYSSY YYA**WYQQKPGQAPVTLIY**SDDKRPS**NIPE RFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYC**GG YDQSSYTNP**FGGGTKLTVL
Hum2	人源化的	VL	253	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC**SGGSYSSY YYA**WYQQLPGTAPKTLIY**SDDKRPS**NIPD RFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC**G GYDQSSYTNP**FGTGTKVTVL

[0505]

Hum3	人源化的	VL	254	SYELTQPPSVSVSPGQTARITC**SGGDYYST YYA**WYQQKPGQAPVTVIH**SDDKRPS**DIPE RFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYC**GG YDGRTYINT**FGGGTKLTVL
Hum4	人源化的	VL	255	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC**SGGDYYST YYA**WYQQLPGTAPKTVIH**SDDKRPS**DIPD RFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC**G GYDGRTYINT**FGTGTKVTVL
Hum5	人源化的	VL	256	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV**GS YSSYYYA**WYQQHPGKAPKTLIY**SDDKRPS** NVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADY YC**GGYDQSSYTNP**FGGGTKLTVL
Hum6	人源化的	VL	257	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC**SGGDYYSY YYG**WYQQLPGTAPKTVIY**SDDKRPS**DIPD RFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC**G GYDYSTYANA**FGTGTKVTVL
119 VH MutAll_ V34M	具有D1E、E43K和L112Q突变的人	VH	258	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFS NFAMTWVRQAPGKGLEWVSTIGSGDTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWGQGTL VTVSS
135 VH MutAll_ V34M	具有D1E、R13Q、E16G E43K和L112Q突变的人	VH	259	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFS IYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIGADDTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKDSTVGWSGDFFDYWGQGTL VTVSS
136 VH MutAll_ V34M	具有D1E、R13Q、E16R、E43K和L111Q突变的人	VH	260	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS SYDMNWVRQAPGKGLEWVSLISGSGEIIY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAKENNRYRFFDDWGQGTLVT VSS
Hum 8	人源化的	VL	416	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGGAYSSY YYAWYQQKPGQAPVLVIYSDSKRPSGIPE RFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYCGG YDQSSYTNPFGGGTKLTVL
Hum9	人源化的	HVR-L1	261	SGGAYSSYYYA
Hum9	人源化的	VL	262	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGGAYSSY YYAWYQQKPGQAPVLVIYSDDKRPSGIPE RFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYCGG YDQSSYTNPFGGGTKLTVL
AB21 Mut All	具有种系回复突变的人	VH	263	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTF SSNAMSWVRQAPGKGLEWVAGISAGGSD TYYPASVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARETWNHLFDYWGQGTL VTVSS
AB21 Mut All M34V	具有种系回复突变和易患性突变的人	VH	264	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTF SSNAVSWVRQAPGKGLEWVAGISAGGSD TYYPASVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARETWNHLFDYWGQGTL VTVSS
AB25 Mut All	具有种系回复突变的人	VH	265	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTF SSNAMSWVRQAPGKGLEWVAGISSGSDT YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLT

[0506]

				AEDTAVYYCARETWNHLFDYWGQGTLVT VSS
AB25 Mut All M34V	具有种系回复突变和易患性突变的人	VH	266	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTF SSNAVSWVRQAPGKGLEWVAGISSGSDTY YGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLTA EDTAVYYCARETWNHLFDYWGQGTLVTV SS
AB27 Mut All	具有种系回复突变的人	VH	267	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFRF SSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGISSGGDT YYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARETWNHLFDYWGQGTLVT VSS
AB27 Mut All M34V	具有种系回复突变和易患性突变的人	VH	268	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFRF SSYAVSWVRQAPGKGLEWVSGISSGGDTY YVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARETWNHLFDYWGQGTLVTV SS
135 V34M	具有易患性突变的人	HVR-H1	269	IYAMS
136 V34M	具有易患性突变的人	HVR-H1	270	SYDMN
21/25 M34V	人	HVR-H1	271	SNAVS
27 M34V	人	HVR-H1	272	SYAVS
115	人	VH	273	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFS SYAMNWVRQAPGEGLEWVSRINSGGGGT DYAESVKGRFTISRDNSENTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKQYDWNSFFDYWGLGAL VTVSS
115	人	VL	274	ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVG SKLAWHQQKPGQAPRLLIYDATNRATGIS DRFSGSGSGTDFTLTISSLQTEDSAVYYCQ QYYYWPPYRFGGGTKVEIK
213	人	VH	275	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCEASGFTF RNYYMTWVRQAPGEGLEWVSTISDTGDT AYYADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQMNSL RADDTAIYYCAKSWIWWTFFDYWGLGTL VTVSS
213	鸡	VL	276	ALTQPASVSANLGGTVEITCSGGNSNHYG WYQQKSPGSAPVTLIYADTNRPSNIPSRFS GSTSGSTTTLTITGVQAEDEAVYYCGGSST GDGIFGAGTTLTVL
173	人	VH	278	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFAF SDHDMSWVRQGPGEGLEWVAGISLRGGV TWYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLRLFSL RTEDTAIYYCARESWNTFFDYWGLGTLVT VSS
173	人	VL	279	EIVLTQSPGTLSLSPGETATLSCRASQNVRS

[0507]

				NLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDFAVYYCQQ YGNGPPLTFGGGTKVEIK
209	人	VH	280	DVQLVESGGAVVRPGESLRLSCKASGFTF TNFAMSWVRQAPGEGLEWVSGISGSDDTT YYADSVKGRFTISRDNSESTLYLQMNSLR AEDTAVYYCVKDSTVSWNTFFDYWGLGT LVTVSS
209	鸡	VL	281	ALTQPASVSANLGGTVKITCSGGYGSDDG SSSYYGWYQQKSPGSAPVILIYWDDKRPS DIPSRFSGSTSGSTTTLTITGVQAEDEAVYF CGTYDTSSGAIFGAGTTLTVL
132	人	VH	282	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSF RSYAMNWVRQAPGEGLEWVSRINSGGGG TDYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCAKQYDWNSFFDYWGLGALVTVSS
132	人	VL	283	ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVG SKLAWHQQKPGQAPRLLIYDA SNRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSPQTED SAVYYCQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK
218	人	VH	284	DVQLVESGGGVVRPGESLTLSCTASGFTFT SSTMNWVRQAPGEGLDWVSSISTSGVITY YADSVKGRATISRDNSKNTLYLRLFSLRA DDTAIYYCATDTFDHWGPGTLVTVSS
218	鸡	VL	285	ALTQPASVSANPGETVKITCFGSSGNYGW FQQKSPGSAPVTVIHYNNKRPSDIPSRFSGS KSGSTGTLTITGVRAEDEAVYFCGAWETG SATFGAGTTLTVL
149	人	VH	286	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTF SNFAMNWVRQAPGEGLEWVSLISVTATT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKVTWNNLFDYWGLGTLV TVSS
149	人	VL	287	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQPIDS YLAWYQQKPGQAPRLLIYNTVTRATGIPD RFSGSGSGTDFTLTINRLEPEDFAVYYCQH QYDWPPYIFGGGTKVEIK
161	人	VH	288	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTF SNFAMTWVRQAPGKGPEWVSLVSVTATT YYADSVKGRFTISRDNSKSTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKITWNNLFDYWGLGTLVT VSS
161	人	VL	289	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQTVGS KLAWYQQKPGQAPRLLIYDSSSRASGIPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQSEDSAVYYCQQH NDWPPYTFGGGTKVEIK
162	人	VH	290	DVQLVESGGGLVRPGESLRLSCAASGFTFT NYAVTWVRQAPGEGLEWVSLISVTGTTY YADSVKGRFTISRDNSKSTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAKVTWKNVFDYWGLGTLVT VSS
162	人	VL	291	EIVLTQSPGTLSVSPGERATFSCRASQTVGS KLAWYQQKPGQAPRLLIYDANTRATGIPA

[0508]

				RFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQ HTDWPPYTFGGGTKVEIK
194	人	VH	292	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTF RNYGMSWVRQAPGEGLEWVSASSGSGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAIYYCAKVTWNNFFDYWGLGTLVT VSS
194	人	VL	293	EIVLAQSPDTLSVSPGERATLTCRASQDVA GKLAWYQQKPGQAPRLLIHATSSRADGIP ARFSGSGSGTEFTLTITGLQSEDFAVYYCQ QHYDWSPLTFGGGTKVEIK
119 M34L	具有易患性突变的人	HVR-H1	305	NFALT
135 M34L	具有易患性突变的人	HVR-H1	306	IYALS
119 mut all	具有F21L、R39K、E60A和T76S突变的人	VL	312	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQNVK NDLAWYQQKPGQAPRLLIYAA RIRETGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDF AVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
136 M34L	具有易患性突变的人	HVR-H1	313	SYDLN
21/25 M34L	具有易患性突变的人	HVR-H1	318	SNALS
27 M34L	具有易患性突变的人	HVR-H1	319	SYALS
119_VH _MutAll _V34L	具有种系回复突变和易患性突变的人	VH	327	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFS NFALTWVRQAPGKGLEWVSTI GSGDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFD YWGQGTLVTVSS
135_VH _MutAll _V34L	具有种系回复突变和易患性突变的人	VH	328	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSF SIYALSWVRQAPGKGLEWVSTI GADDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKDSTVGWSGDFFD YWGQGTLVTVSS
136_VH _MutAll _V34L	具有种系回复突变和易患性突变的人	VH	329	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTF SSYDLNWVRQAPGKGLEWVSLI SGSGEIIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKENNRYRFFDDW GQGTLVTVSS
AB21_ HC_Mut All_M3 4L	具有种系回复突变和易患性突变的人	VH	330	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTF SSNALSWVRQAPGKGLEWVAGISAGGSD TYYPASVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARETWNHLFDYWGQGTL VTVSS
AB25_ HC_Mut	具有种系回复	VH	331	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTF SSNALSWVRQAPGKGLEWVAGISSGSDTY

[0509]

All_M34L	突变和易患性突变的人			YGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLTAEDTAVYYCARETWNHLFDYWGQGTLVTVSS
AB27_HC_MutAll_M34L	具有种系回复突变和易患性突变的人	VH	332	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFRFSSYALSWVRQAPGKGLEWVSGISSGGDTYYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARETWNHLFDYWGQGTLVTVSS
218_Hum13 (218 VL具有人IGLV2)	人源化的	VL	333	QSALTQPASVSGSPGQSITISCFGSSGNYGLVSWYQQHPGKAPKLMIYYNNKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGAWETGSATFGGGTKLTVL
218_Hum14 (218 VL具有人IGLV3)	人源化的	VL	334	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCFGSSGNYGWYQQKPGQSPVLVIYYNNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCGAWETGSATFGGGTKLTVL
119	人	VH	335	DVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSNFAMTWVRQAPGEGLEWVSTIGSGDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWGLGTLVTVSS
135	人	VH	341	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFSIYAMSWVRQAPGEGLEWVSTIGADDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTVGWSGDFFDYWGLGTLVTVSS
16	人	VH	294	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAVSGFRFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGISSGGDTYYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQVNSLTAEDTAIYYCARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
16	鸡	VL	295	ALTQPASVSANLGETVKITCSGGDSSSHYYGWYQQKSPGSAPVTVIYSDDERPSDIPSRFSGSASGSTATLTITGVRVEDEAIYYCGAYDGSTYANTFGAGTTLTVL
17	人	VH	342	DVQLVESGGAVVRPGESLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWLAGISAGGSDTYYIDSVKGRFTISRDNSENSLYLQMNSLTAEDTAVYYCARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
17	鸡	VL	343	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGDWYSTYYGWYQQKSPGSAPVTVIHSDDKRPSDIPSRFSGSASGSAATLTITGVRVEDEAVYYCAGYDGRTYINTFGAGTTLTVL
22	人	VH	344	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWLAGISAGGSDTYYIDSVKGRFTISRRQFQEQSLSPNEPALTAEDTAVYYCARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
22	鸡	VL	345	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGDYYSTYYGWYQQKSPGSAPVTVIHSDDKRPSDIPSRFSGSASGSAATLTIAGVRVEDEAVYFCGAYDGRTYINTFGAGTTLTVL
23	人	VH	346	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSHAMSWVRQAPGKGLEWLAGISAGGSDTYYIDS

[0510]

				VKGRFTISRDNSKSSLYLRMNSLTAEDTAVYY CARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
23	鸡	VL	347	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGDYYSTYYAW YQQKSPGSAPVTVIHSDDERPSDIPSRFSGSASG SAATLIITGVRVEDEAVYFCGGYDGRTYINTFG AGTTLTVL
24	人	VH	348	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSN AMSWVRQAPGKGLEWLAGISAGGSDTYYPAS VKGRFTISRDNPKNTLYLQMNTLTAEDTAVYY CARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
24	鸡	VL	349	ALTQPASVSANPGETVKIACSGGSYYSYYYGW YQQKSPGSALVTVIYSDDKRPSGIPSRFSGSAS GSTATLTITGVRAEDEAVYYCGGYDYSSYTND FGAGTTLTVL
26	人	VH	350	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSTY AMSWVRQAPGKGLEWVSGISASGSGTYYGDS VKGRFTMSRDNSKNTLYLQMNSLTAEDTAVY YCARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
26	鸡	VL	351	ALTQPASVSANLGGTVEITCSGGSSSYYGWYQ QKSPGSAPVTVIYSDNQRPSDIPSRFSGSASDST ATLTITGVQVEDEAIYYCGGYDSSTYANTFGA GTTLTVL
28	人	VH	352	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFSSN AMSWVRQAPGKGLEWVAGISASGDTYYSGSM KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLTAEDTAVYYC ARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
28	鸡	VL	353	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGSDSYYYGWH QQKSPGSAPVTVIYSDDQRPPDIPSRFSGSASGS TTTLTITGVRAEDEAVYYCGGYDYSTYTNTFG AGTTLTVL
29	人	VH	354	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAVSGFRFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSGISSDSDAYYVDSV KGRFTISRDNSKNTLYLQVNSLTAEDTAVYYC ARETWNHLFDYWGLGTMVTVSS
29	鸡	VL	355	ALTQPASVSANLGETVKITCSGGDSSSHYYGW FQQKSPGSAPVTLIYSDDERPSDIPSRFSGSASG STATLTITGVRVEDEAIYFCGAYDGSTYTNTFG AGTTLTVL
30	人	VH	356	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCEASGFTFSSDA MSWVRQAPGKGLEWVSGISSGSSTYYGGSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLTAEDTAVYYCA RETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
30	鸡	VL	357	ALTQPASVSASPGETVEITCSGGSDSSYYYGW YQQKSPGSAPVTVIYSDNKRPSNIPSRFSGSASG STATLTITGVRVEDEAVYYCGGYDYSTYTNPF GAGTTLTVL
55	人	VH	358	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAVSGFRFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSGISSGGDTYYVDSV KGRFTISRDNSKNTLYLQVNSLTAEDTAIYYCA RETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
55	鸡	VL	359	ALTQPASVSANLGETVEITCSGGDSSSHYYGW YQQKSPGSAPVTVIYSDDERPSDIPSRFSGSASG STATLTITGVRVEDEAIYYCGAYDGSTYANTF GAGTTLTVL
56	人	VH	360	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWLAGISAGGSDTYYIDS VKGRFTISRDNSKNSLYLQVNSLTAEDTAVYY CARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
56	鸡	VL	361	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGGYYSTYYGW

[0511]

				YQQKSPGSAPVTVIHSDDKRPSDIPSRFSGSASG SAATLTITGVRVEDEAVYYCAGYDGRTYINTF GAGTTLTVL
59	人	VH	362	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAVSGFRFSSH AMSWVRQAPGKGLEWVSGISSGGDTYYVDSV KGRFTISRDNSKNTLYLQVNSLTAEDTAIYYCA RETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
59	鸡	VL	363	ALTQPASVSANLGETVKITCSGGDSSSHYYGW YQQKSPGSAPVTVIYSDDERPSDIPSRFSGSASG STATLTITGVRVEDEAIYYCGAYDGSTYANTF GAGTTLTVL
60	人	VH	364	DVQLVDSGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWLAGISAGGSDTYYIDS VKGRFTISRDNSKNSLYLQMNSLTAEDTAVYY CARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
60	鸡	VL	365	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGDYYSTYYGW YQQKSPGSAPVTVIHSDDKRPSDIPSRFSGSASG SAATLTITGVRVEDEAVYFCGAYDGRTYINTF GAGTTLTVL
65	人	VH	366	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWLAGISAGGSDTYYIDS VKGRFTISRDNSKNSLYLQMNSLTAEDTAVYY CARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
65	鸡	VL	367	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGDYYSTYYGW YQQKSPGSAPVTVIHSDDKRPSDIPSRFSGSASG SAATLTITGVRVEDEAVYFCGAYDGRTYINTF GAGTTLTVL
69	人	VH	368	DLQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWLAGISAGGSDTYYIDSV KGRFTISRDNSKNSLYLQMNSLTAEDTAVYYC ARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
69	鸡	VL	369	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGDYYSTYYGW YQQKSPGSAPVTVIHSDDKRPSDIPSRFSGSASG SAATLTITGVRVEDEAVYFCGAYDGRTYINTF GAGTTLTVL
70	人	VH	370	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWLAGISAGGSDAYYIDS VKGRFTISRDNSKNSLYLQMNSLTAEDTAVYY CARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
70	鸡	VL	371	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGDWYSTYYG WYQQKSPGSAPVTVIHSDDKRPSDIPSRFSGSA SGSAATLTITGVRVEDEAVYYCAGYDGRTYIN TFGAGTTLTVL
71	人	VH	372	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWLAGISAGGSDTYYIDS VKGRFTISRDNSKNSLYLQMNSLTAEDTAVYY CARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
71	鸡	VL	373	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGGYYSTYYGW YQQKSPGSAPVTVIHSDDKRPSDIPSRFSGSASG SAATLTITGVRVEDEAVYYCAGYDARTYINTF GAGTTLTVL
73	人	VH	374	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCEASGFTFSSNA MSWARQAPGKGLEWVAGISSGSDTYYGDSVK GRLTISRDNSKNILYLQMNSLTAEDTAVYYCA RETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
73	鸡	VL	375	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGIYSSYYYAW YQQKSPGSAPVTLIYSDDKRPSNIPSRFSGSASG STATLTITGVRAEDEAVYFCGGYDQSSYTNPF

[0512]

				GAGTTLTVL
74	人	VH	376	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSN AMSWVRQAPGKGLEWLAGISAGDSDTYYPAS VKGRFTISRDNPKNTLYLQMNTLTAEDTAVYY CARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
74	鸡	VL	377	ALTQPASVSANPGETVKIACSGGSYYSYYYGW YQQKSPGSALVTVIYSDDKRPSGIPSRFSGSAS GSTATLTITGVRAEDEAVYYCGGYDYSSYTND FGAGTTLTVL
76	人	VH	378	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWLAGISAGGSDTYYIDS VKGRFTISRDNSKNSLYLQMNSLTAEDTAVYY CARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
76	鸡	VL	379	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGDWYSTYYG WYQQKSPGSAPVTVIHSDDKRPSDIPSRFSGSA SGSAATLTITGVRVEDEAVYYCAGYDGRTYIN TFGAGTTLTVL
201	人	VH	380	DVQLVESGGAVVRPGETLRLSCTASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSGISASGSDTYYADS VKGRSTISRDNSKNTLYLRMSSLTAEDTAVYY CARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
201	鸡	VL	381	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGGTSSYYGWY QQKSPGSAPVTLIHSDDKRPSDIPSRFSGSASGS TATLTITGVQVEDEAVYYCGGYDYTTYVNTFG AGTTLTVL
202	人	VH	382	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWLAGISAGGSDTYYIDS VKGRFTISRDNSKNSLYLQMNSLTAEDTAVYY CARETWNHLFDYWGLGTLVTVSS
202	鸡	VL	383	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGGYYSTYYGW YQQRSPGSAPVTVIHSDDKRPSDIPSRFSGSASG SAATLTITGVRVEDEAVYYCAGYDGRTYLNTF GAGTTLTVL
206	人	VH	384	DVQLVESGGAVVRPGETLRLSCTASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSGISASGSDTYYADS VKGRSTISRDNSKNTLYLRMSSLTAEDTAVYY CARETWNHLFDYWGLGTLVTLSS
206	鸡	VL	385	ALTQPASVSANPGETVKITCSGGGTSSYYGWY QQKSPGSAPVTLIHSDDKRPSDIPSRFSGSASGS TATLTITGVQAEDEAVYYCGGYDYTTYVNTFG AGTTLTVL
175	人	VH	386	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSTSD MNWVRQAPGEGLEWVSLISGSGEITYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA KENDRYRFFDYWGLGTLVTVSS
175	人	VL	387	ETVLTQSPGILSLSPGERATLTCRASQSVYTYL AWYQEKPGQAPRLLIYGASSRAAGIPDRFSGS GSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYDRPPLT FGGGTKVEIK
177	人	VH	388	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY DMNWVRQAPGEGLEWVSLISGSGEIIYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKENNRYRFFDYWGLGTLVTVSS
177	人	VL	389	KTVLTQSPGTLSLSPGERATLTCRADQSVYTYL AWYQERPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSG SGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYDRPPLTF GGGTKVEIK
178	人	VH	390	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY

[0513]

				DMNWVRQAPGEGLEWVSLISGSGEIIYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKENNRYRFFDYWGLGTLVTVSS
178	人	VL	391	ETVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQSVYTYL AWYQEKPGQAPRLLIYGASSRATGVPDRFSGS GSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYDRPPLT FGGGTKVEIK
180	人	VH	392	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY DMNWVRQAPGEGLEWVSLISGSGEIIYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKENDRYRFFDYWGLGTLVTVSS
180	人	VL	393	ETVLTQSPGTLTLSPGERATLTCRASQSVYTYL AWYQEKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSG SGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYDRPPLTF GGGTKVEIK
184	人	VH	394	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY DMNWVRQAPGEGLEWVSLISGSGEIIYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKENNRYRFFDYWGLGTLVTVSS
184	人	VL	395	ETVLTQSPGTLSLSPGERATLNCRASQSVYTYL AWYQEKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSG SGTEFTLTISSLESEDFAVYYCQQYYDRPPLTF GGGTKVEIK
185	人	VH	396	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY DMNWVRQAPGEGLEWVSLISGSGEIIYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKENNRYRFFDDWGLGTLVTVSS
185	人	VL	397	ETVLTQSPGTLSLSPGERATLNCRASQSVYSYL AWYQERPGQAPRLLIYGASTRATGIPDRFSGSG SGTEFTLTISSLESDDFAVYYCQQYYDRPPLTF GGGTKVEIK
189	人	VH	398	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSSD MNWVRQAPGEGLEWVSLISGSGEITYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCA KENNMYRFFDYWGLGTLVTVSS
189	人	VL	399	ETVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVYTYL AWYQQKPGQPPRLLIHAARNRAAGIPDRFSGS GSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYDRPPLT FGGGTKVEIK
190	人	VH	400	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY DMNWVRQAPGEGLEWVSLISGSGEIIYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKEDNRYRFFDYWGLGALVTVSS
190	人	VL	401	ETVLTQSPGTLTLSPGERTTLTCRASQSVYTYL AWYQEKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSG SGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYDRPPLTF GGGTKVEIK
193	人	VH	402	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY DMNWVRQAPGEGLEWVSLISGSGEITYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKENNRYRFFDYWGLGTLVTVSS
193	人	VL	403	ETVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVYTYL AWYQEKPGQAPRLLIYAASTRATGIPDRFSGSG SGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYDRPPLTF GGGTKVEIK
191	人	VH	404	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFSSY AMNWVRQAPGEGLEWVSRINSGGGGTDYAES VKGRFTISRDNSENTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKQYDWNGFFDYWGLGALVTVSS

[0514]

191	人	VL	405	ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVGSKL AWHQQKPGQAPRLLIYD ATNRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISGLQTEDSA VYYCQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK
198	人	VH	406	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFSSH AMNWVRQAPGEGLEWVSRINSGGGGTDYAES VKGRFTISRDNSENTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKQYDWNGFFDYWGLGALVTVSS
198	人	VL	407	ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVGSKL AWHQQKPGQAPRLLIYD ATNRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQTEDSA VYYCQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK
163	人	VH	408	DVQLVESGGGLVRPGESLRLSCAASGFTFTNY AVTWVRQAPGEGLEWVSLISVTGTTYYADSV KGRFTISRDNSKSTLYLQMNGLRAEDTAVYYC AKVTWKNVFDYWGLGTLVTVSS
163	人	VL	409	EIVLTQSPGTLSVSPGERATFSCRASQTVGSKL AWYQQKPGQAPRLLIYDANTRATGIPARFSGS GSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQHTDWPPYT FGGGTKVEIK
164	人	VH	410	DVQLVESGGGLVRPGESLRLSCAASGFTFTNY AVTWVRQAPGEGLEWVSLISVTGTTYYADSV KGRFTISRDNSKSTLYLQMNGLRAEDTAVYYC AKVTWKNVFDYWGLGTLVTVSS
164	人	VL	411	EIVLTQSPGTLSVSPGERATFSCRASQTVGSKL AWYQQKPGQAPRLLIYDANTRATGIPARFSGS RSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQHTDWPPYT FGGGTKVEIK
174	人	VH	412	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSDH DMSWVRQGPGEGLEWVAGISLRGGVTWYAD SVKGRFTISRDNSKNTLYLRLFSLRTEDTAIYY CARESWNTFFDYWGLGTLVTVSS
174	人	VL	413	EIVLTQSPGTLSLSPGETATLSCRASQNVRSNL AWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYGNGPPLT FGGGTKVEIK
214	人	VH	414	DVQLVESEGGVVRPGESLRLSCEASGFTFRNSY MTWVRQAPGEGLEWVSTISDTGDTAYYADSV KGRFTISRDNSKNSLYLQMNSLRAEDTAIYYC AKSWIWWTFFDYWGLGTLVTVSS
214	鸡	VL	415	ALTQPASVSANLGGTVEITCSGGNSNIYGWYQ QKSPGSAPVTLIYADTNRPSNIPSRFSGSTSGST STLTITGVQAEDEAVYYCGGSSTGDGIFGAGTT LTVL
Hum8	人源化的	VL	416	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGGAYSSYYYA WYQQKPGQAPVLVIYSDSKRPSGIPERFSGSSS GTTVTLTISGVQAEDEADYYCGGYDQSSYTNP FGGGTKLTVL
136_MutAll(轻链)_S12T	具有 D1E、R13Q、E16R、E43K 和 L111Q 突变的人	VL	417	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQSVYTYL AWYQQKPGQAPRLLIYGA SSRATGIPDRFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAV YYCQQYYDRPPLTFGGGTKVEIK
136_MutAll(轻链)_S22T	具有种系回复突变的人	VL	418	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLTCRASQSVYTYL AWYQQKPGQAPRLLIYGA SSRATGIPDRFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAV YYCQQYYDRPPLTFGGGTKVEIK

[0515]

136_MutAll(轻链)_Q38E	具有种系回复突变的人	VL	419	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVYTYL AWYQEKPGQAPRLLIYGA SSRATGIPDRFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAV YYCQQYYDRPPLTFGGGTKVEIK
119_wt_M34L	具有易患性突变的人	VH	420	DVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSNF ALTWVRQAPGEGLEWVSTIGSGDTYYADSVK GRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTVS WSGDFFDYWGLGTLVTVSS
119_wt_M34V	具有易患性突变的人	VH	421	DVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSNF AVTWVRQAPGEGLEWVSTIGSGDTYYADSVK GRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTVS WSGDFFDYWGLGTLVTVSS
135_wt_M34L	具有易患性突变的人	VH	422	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFSIYA LSWVRQAPGEGLEWVSTIGADDTYYADSVKG RFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTVG WSGDFFDYWGLGTLVTVSS
135_wt_M34V	具有易患性突变的人	VH	423	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFSIYA VSWVRQAPGEGLEWVSTIGADDTYYADSVKG RFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTVG WSGDFFDYWGLGTLVTVSS
136_wt_M34L	具有易患性突变的人	VH	424	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY DLNWVRQAPGEGLEWVSLISGSGEHYYADSV KGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKENN RYRFFDDWGLGTLVTVSS
136_wt_M34V	具有易患性突变的人	VH	425	DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSSY DVNWVRQAPGEGLEWVSLISGSGEHYYADSV KGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKENN RYRFFDDWGLGTLVTVSS
119 HVR-H1	人	HVR-H1	175	NFAMT

[0516] 在一些实施方案中,本公开的抗体在一个或多个残基处结合人SIRP-α多肽。应理解,可以相对于参考SIRP-α多肽描述由本公开的抗体结合的SIRP-α多肽的残基,但是该描述不限于单个SIRP-α多肽(即参考SIRP-α多肽)。相反,描述参考SIRP-α多肽的特定氨基酸残基以鉴定出可在各种SIRP-α多肽上鉴定的对应氨基酸位置。例如,可以对于各种人SIRP-α多肽,诸如v1和/或v2鉴定出对应于SEQ ID NO:296的一个或多个氨基酸位置的特定残基。因为氨基酸序列SEQ ID NO:296和SEQ ID NO:5仅在N80位置(除了可用于蛋白质生产和纯化的SEQ ID NO:296的少量C末端残基)不同,所以本领域技术人员将理解,本文提及的关于氨基酸序列SEQ ID NO:296的氨基酸位置将对应于氨基酸序列SEQ ID NO:5中的相同位置。用于确定抗体结合的SIRP-α多肽的残基的技术是本领域已知的;示例性和非限制性描述提供于实施例4中。

[0517] SEQ ID NO:296

[0518] EEELQVIQPD KSVLVAAGET ATLRCTATSL IPVGPIQWFR GAGPGRELIY NQKEGHFPRV TTVSDLTKRN NMDFSIRIGA ITPADAGTYY CVKFRKGSPD DVEFKSGAGT ELSVRAKPST RHHHHHH

[0519] 在一些实施方案中,本公开的抗体在一个或多个选自根据SEQ ID NO:296的I31、V33、Q52、K53、T67、R69、N70和K96的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体进一步在一个或多个选自根据SEQ ID NO:296的L30、P32、E54、T62、N71、M72、F74和R95的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。

[0520] 在一些实施方案中,本公开的抗体在一个或多个选自根据SEQ ID NO:296的I7、P9、D10、K11、S12、A42、A108和E111的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方

案中,所述抗体在根据SEQ ID NO:296的K11、A42、A108和E111处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体在根据SEQ ID NO:296的I7、P9、D10、K11、S12、A108和E111处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体进一步在一个或多个选自根据SEQ ID NO:296的L14、T26、T28、T88、Y90、S106、S113和A116的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体进一步在根据SEQ ID NO:296的人SIRP-αv1多肽的L14、T88、Y90、S106、S113和A116处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体进一步在根据SEQ ID NO:296的L14、T26和T28处与人SIRP-αv1多肽结合。

[0521] 在一些实施方案中,本公开的抗体在一个或多个选自根据SEQ ID NO:296的E47、L48、P58、R59、T82和A84的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。在一些实施方案中,所述抗体进一步在一个或多个选自根据SEQ ID NO:296的A17、P44、G45、I49、E54、G55、H56、F57和P83的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。

[0522] 在一些实施方案中,本公开的抗体以小于100nM、小于50nM或小于30nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合,并且所述抗体以小于100nM、小于50nM或小于30nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的D1结构域和人SIRP-αv2多肽的D1结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。

[0523] 在一些实施方案中,本公开的抗体结合人SIRP-α多肽的D1结构域并且不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。在一些实施方案中,所述抗体以小于100nM、小于50nM或小于30nM的解离常数(K_D)结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的D1结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的D1结构域和人SIRP-αv2多肽的D1结构域。在一些实施方案中,所述抗体结合食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合人SIRP-β多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。

[0524] 在一些实施方案中,本公开的抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。用于确定抗体是否与参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的技术是本领域已知的;示例性和非限制性描述提供于实施例5中。

[0525] 在一些实施方案中,本公开的抗体与一种或多种选自119、120、121、122、21、25、27、66和135的参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,本公开的抗体与以下参考抗SIRP-α抗体中的一种或多种竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域):(a)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:120的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:97的VL结构域的抗体,(b)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:121的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:98的VL结构域的抗体,(c)包含含有氨

基酸序列SEQ ID NO:130的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:107的VL结构域的抗体,(d)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:122的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:99的VL结构域的抗体,(e)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:135的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:136的VL结构域的抗体,(f)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:137的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:138的VL结构域的抗体,(g)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:139的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:140的VL结构域的抗体,(h)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:141的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:142的VL结构域的抗体,以及(i)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:127的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:104的VL结构域的抗体。

[0526] 在一些实施方案中,本公开的抗体与一种或多种选自136和137的参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,本公开的抗体与以下参考抗SIRP-α抗体中的一种或多种竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域):(a)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:133的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:134的VL结构域的抗体,和(b)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:128的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:105的VL结构域的抗体。

[0527] 在一些实施方案中,本公开的抗体与一种或多种选自3、213、173和209的参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,本公开的抗体与以下参考抗SIRP-α抗体中的一种或多种竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域):(a)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:242的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:243的VL结构域的抗体,(b)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:275的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:276的VL结构域的抗体,(c)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:278的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:279的VL结构域的抗体,和(d)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:280的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:281的VL结构域的抗体。

[0528] 在一些实施方案中,本公开的抗体与一种或多种选自115、116、117、118和132的参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,本公开的抗体与以下参考抗SIRP-α抗体中的一种或多种竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域):(a)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:116的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:93的VL结构域的抗体,(b)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:117的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:94的VL结构域的抗体,(c)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:118的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:95的VL结构域的抗体,(d)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:119的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:96的VL结构域的抗体,和(e)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:282的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:283的VL结构域的抗体。

[0529] 在一些实施方案中,本公开的抗体与一种或多种选自218、123、149、161、162和194的参考抗SIRP-α抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,本公开的抗体与以下参考抗SIRP-α抗体中的一种或多种竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域):(a)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:284的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:285的VL结构域的抗体,(b)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:123的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:100的VL结构域的抗体,(c)包含含有氨基酸序列

SEQ ID NO:286的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:287的VL结构域的抗体,(d)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:288的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:289的VL结构域的抗体,(e)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:290的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:291的VL结构域的抗体,和(f)包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:292的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:293的VL结构域的抗体。

[0530] 在一些实施方案中,本公开的抗体与参考抗SIRP-α抗体45竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。在一些实施方案中,本公开的抗体与包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:244的VH结构域和含有氨基酸序列SEQ ID NO:245的VL结构域的抗体竞争结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)。

[0531] 本公开提供了多个抗SIRP-α抗体家族,每个家族包括多种抗体。如本文所证明的,给定家族内的抗体可以共享某些结构特性(例如,相似或相同的HVR或CDR序列)以及一种或多种功能特性,包括但不限于对人、猴和/或小鼠SIRP-α多肽的结合亲和力、对SIRP-β多肽的结合亲和力、对SIRP-γ多肽的结合亲和力、与SIRP-α结合的模式(例如,CD47阻断性、CD47非阻断性或"踢脱性"结合)、吞噬作用的诱导(例如,在体外测定中)、树突状细胞的激活、抗肿瘤功效、SIRP-α结合表位残基或"bin"(例如,通过表位鉴定测定确定的)等(参见例如,表P-T)。由于这些共享特性,所以设想属于同一家族的抗体的HVR和/或VH或VL序列可以互换或掺杂,使得抗SIRP-α抗体可以包含来源于多于一种的特异性的本文所述的抗SIRP-α抗体的HVR和/或VH或VL。如本文更详细讨论的,用于确定抗体可变结构域的HVR或CDR序列的各种方法是本领域已知的并且可在本文中互换使用,包括但不限于Kabat、Chothia和IMGT定义,以及其组合。

[0532] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:120、246、258、327、121、130、122、127、247、259、335和328的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:120、246、258、327、121、130、122、127、247、259、335和328的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:120、246、258、327、121、130、122、127、247、259、335和328的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:97、98、107、99、104和312的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:97、98、107、99、104和312的VL结构域序列;和/或HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:97、98、107、99、104和312的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:120、246、258、327、121、130、122、127、247、259、335和328的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:120、246、258、327、121、130、122、127、247、259、335和328的VH结构域序列;和HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:120、246、258、327、121、130、122、127、247、259、335和328的VH结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:97、98、107、99、104和312的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:97、98、107、99、104和312的VL结构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:97、98、107、99、104和312的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:120、246、258、327、121、130、122、127、247、259、335和328的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:120、246、258、327、121、130、122、127、247、259、335和328的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:120、246、258、327、

121、130、122、127、247、259、335和328的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:97、98、107、99、104和312的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:97、98、107、99、104和312的VL结构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:97、98、107、99、104和312的VL结构域序列。

[0533] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:135、137、265、266、331、139、267、332、141、263、264、268、330、294、342、344、346、348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382和384的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:135、137、265、266、331、139、267、332、141、263、264、268、330、294、342、344、346、348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382和384的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:135、137、265、266、331、139、267、332、141、263、264、268、330、294、342、344、346、348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382和384的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:136、138、140、142、252、254、262、416、295、343、345、347、349、351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、379、381、383和385的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:136、138、140、142、252、254、262、416、295、343、345、347、349、351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、379、381、383和385的VL结构域序列;和/或HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:136、138、140、142、252、254、262、416、295、343、345、347、349、351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、379、381、383和385的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:135、137、265、266、331、139、267、332、141、263、264、268、330、294、342、344、346、348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382和384的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:135、137、265、266、331、139、267、332、141、263、264、268、330、294、342、344、346、348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382和384的VH结构域序列;和HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:135、137、265、266、331、139、267、332、141、263、264、268、330、294、342、344、346、348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382和384的VH结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:136、138、140、142、252、254、262、416、295、343、345、347、349、351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、379、381、383和385的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:136、138、140、142、252、254、262、416、295、343、345、347、349、351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、379、381、383和385的VL结构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:136、138、140、142、252、254、262、416、295、343、345、347、349、351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、379、381、383和385的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:135、137、265、266、331、139、267、332、141、263、264、268、330、294、342、344、346、348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382和384的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:135、137、265、266、331、139、267、332、141、263、264、

268、330、294、342、344、346、348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382和384的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:135、137、265、266、331、139、267、332、141、263、264、268、330、294、342、344、346、348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382和384的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:136、138、140、142、252、254、262、416、295、343、345、347、349、351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、379、381、383和385的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:136、138、140、142、252、254、262、416、295、343、345、347、349、351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、379、381、383和385的VL结构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:136、138、140、142、252、254、262、416、295、343、345、347、349、351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、379、381、383和385的VL结构域序列。

[0534] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:133、249、260、329、128、386、388、390、392、394、396、398、400和402的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:133、249、260、329、128、386、388、390、392、394、396、398、400和402的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:133、249、260、329、128、386、388、390、392、394、396、398、400和402的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:134、251、105、250、417、418、419、387、389、391、393、395、397、399、401和403的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:134、251、105、250、417、418、419、387、389、391、393、395、397、399、401和403的VL结构域序列;和/或HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:134、251、105、250、417、418、419、387、389、391、393、395、397、399、401和403的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:133、249、260、329、128、386、388、390、392、394、396、398、400和402的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:133、249、260、329、128、386、388、390、392、394、396、398、400和402的VH结构域序列;和HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:133、249、260、329、128、386、388、390、392、394、396、398、400和402的VH结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:134、251、105、250、417、418、419、387、389、391、393、395、397、399、401和403的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:134、251、105、250、417、418、419、387、389、391、393、395、397、399、401和403的VL结构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:134、251、105、250、417、418、419、387、389、391、393、395、397、399、401和403的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:133、249、260、329、128、386、388、390、392、394、396、398、400和402的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:133、249、260、329、128、386、388、390、392、394、396、398、400和402的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:133、249、260、329、128、386、388、390、392、394、396、398、400和402的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:134、251、105、250、417、418、419、387、389、391、393、395、397、399、401和403的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:134、251、105、250、417、418、419、387、389、391、393、395、397、399、401和403的VL结构域序列;和

HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:134、251、105、250、417、418、419、387、389、391、393、395、397、399、401和403的VL结构域序列。

[0535] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:116、117、118、119、282、404和406的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:116、117、118、119、282、404和406的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ IDNO:116、117、118、119、282、404和406的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:93、94、95、96、283、405和407的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:93、94、95、96、283、405和407的VL结构域序列;和/或HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:93、94、95、96、283、405和407的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:116、117、118、119、282、404和406的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:116、117、118、119、282、404和406的VH结构域序列;和HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:116、117、118、119、282、404和406的VH结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:93、94、95、96、283、405和407的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:93、94、95、96、283、405和407的VL结构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:93、94、95、96、283、405和407的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:116、117、118、119、282、404和406的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:116、117、118、119、282、404和406的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:116、117、118、119、282、404和406的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:93、94、95、96、283、405和407的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:93、94、95、96、283、405和407的VL结构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:93、94、95、96、283、405和407的VL结构域序列。

[0536] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:242所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:242所示的VH结构域序列的HVR-H2;来自SEQ ID NO:242所示的VH结构域序列的HVR-H3;来自SEQ ID NO:243所示的VL结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:243所示的VL结构域序列的HVR-L2;和/或来自SEQ ID NO:243所示的VL结构域序列的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:242所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:242所示的VH结构域序列的HVR-H2;和来自SEQ ID NO:242所示的VH结构域序列的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:243所示的VL结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:243所示的VL结构域序列的HVR-L2;和来自SEQ ID NO:243所示的VL结构域序列的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:242所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:242所示的VH结构域序列的HVR-H2;来自SEQ ID NO:242所示的VH结构域序列的HVR-H3;来自SEQ ID NO:243所示的VL结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:243所示的VL结构域序列的HVR-L2;和来自SEQ ID NO:243所示的VL结构域序列的HVR-L3。

[0537] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:278和412的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:278和412的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:278和412的VH结构域序列;HVR-L1,

其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:279和413的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:279和413的VL结构域序列;和/或HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:279和413的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:278和412的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:278和412的VH结构域序列;和HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:278和412的VH结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:279和413的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:279和413的VL结构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:279和413的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:278和412的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:278和412的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:278和412的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:279和413的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:279和413的VL结构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:279和413的VL结构域序列。

[0538] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:275和414的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:275和414的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:275和414的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:276和415的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:276和415的VL结构域序列;和/或HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:276和415的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:275和414的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:275和414的VH结构域序列;和HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:275和414的VH结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:276和415的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:276和415的VL结构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:276和415的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:275和414的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:275和414的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:275和414的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:276和415的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:276和415的VL结构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:276和415的VL结构域序列。

[0539] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:280所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:280所示的VH结构域序列的HVR-H2;来自SEQ ID NO:280所示的VH结构域序列的HVR-H3;来自SEQ ID NO:281所示的VL结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:281所示的VL结构域序列的HVR-L2;和/或来自SEQ ID NO:281所示的VL结构域序列的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:280所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:280所示的VH结构域序列的HVR-H2;和来自SEQ ID NO:280所示的VH结构域序列的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:281所示的VL结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:281所示的VL结构域序列的HVR-L2;和来自SEQ ID

NO:281所示的VL结构域序列的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:280所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:280所示的VH结构域序列的HVR-H2;来自SEQ ID NO:280所示的VH结构域序列的HVR-H3;来自SEQ ID NO:281所示的VL结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:281所示的VL结构域序列的HVR-L2;和来自SEQ ID NO:281所示的VL结构域序列的HVR-L3。

[0540] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:123和292的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:123和292的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:123和292的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:100和293的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:100和293的VL结构域序列;和/或HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:100和293的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:123和292的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:123和292的VH结构域序列;和HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:123和292的VH结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:100和293的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:100和293的VL结构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:100和293的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:123和292的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:123和292的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:123和292的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:100和293的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:100和293的VL结构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:100和293的VL结构域序列。

[0541] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:288、290、408和410的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:288、290、408和410的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:288、290、408和410的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:289、291、409和411的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:289、291、409和411的VL结构域序列;和/或HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:289、291、409和411的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:288、290、408和410的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:288、290、408和410的VH结构域序列;和HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:288、290、408和410的VH结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:289、291、409和411的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:289、291、409和411的VL结构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:289、291、409和411的VL结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含HVR-H1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:288、290、408和410的VH结构域序列;HVR-H2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:288、290、408和410的VH结构域序列;HVR-H3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:288、290、408和410的VH结构域序列;HVR-L1,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:289、291、409和411的VL结构域序列;HVR-L2,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:289、291、409和411的VL结

构域序列;和HVR-L3,其来自选自氨基酸序列SEQ ID NO:289、291、409和411的VL结构域序列。

[0542] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:286所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:286所示的VH结构域序列的HVR-H2;来自SEQ ID NO:286所示的VH结构域序列的HVR-H3;来自SEQ ID NO:287所示的VL结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:287所示的VL结构域序列的HVR-L2;和/或来自SEQ ID NO:287所示的VL结构域序列的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:286所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:286所示的VH结构域序列的HVR-H2;和来自SEQ ID NO:286所示的VH结构域序列的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:287所示的VL结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:287所示的VL结构域序列的HVR-L2;和来自SEQ ID NO:287所示的VL结构域序列的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:286所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:286所示的VH结构域序列的HVR-H2;来自SEQ ID NO:286所示的VH结构域序列的HVR-H3;来自SEQ ID NO:287所示的VL结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:287所示的VL结构域序列的HVR-L2;和来自SEQ ID NO:287所示的VL结构域序列的HVR-L3。

[0543] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:284所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:284所示的VH结构域序列的HVR-H2;来自SEQ ID NO:284所示的VH结构域序列的HVR-H3;来自SEQ ID NO:285所示的VL结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:285所示的VL结构域序列的HVR-L2;和/或来自SEQ ID NO:285所示的VL结构域序列的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:284所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:284所示的VH结构域序列的HVR-H2;和来自SEQ ID NO:284所示的VH结构域序列的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:285所示的VL结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:285所示的VL结构域序列的HVR-L2;和来自SEQ ID NO:285所示的VL结构域序列的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:284所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:284所示的VH结构域序列的HVR-H2;来自SEQ ID NO:284所示的VH结构域序列的HVR-H3;来自SEQ ID NO:285所示的VL结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:285所示的VL结构域序列的HVR-L2;和来自SEQ ID NO:285所示的VL结构域序列的HVR-L3。

[0544] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:244所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:244所示的VH结构域序列的HVR-H2;来自SEQ ID NO:244所示的VH结构域序列的HVR-H3;来自SEQ ID NO:245所示的VL结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:245所示的VL结构域序列的HVR-L2;和/或来自SEQ ID NO:245所示的VL结构域序列的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:244所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:244所示的VH结构域序列的HVR-H2;和来自SEQ ID NO:244所示的VH结构域序列的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:245所示的VL结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:245所示的VL结构域序列的HVR-L2;和来自SEQ ID NO:245所示的选择的VL结构域序列的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:244所示的VH结构域序列的HVR-H1;来自SEQ ID NO:244所示的VH结构域序列的HVR-H2;来自SEQ ID NO:244所示的VH结构域序列的HVR-H3;来自SEQ ID NO:245所示的VL

结构域序列的HVR-L1;来自SEQ ID NO:245所示的VL结构域序列的HVR-L2;和来自SEQ ID NO:245所示的VL结构域序列的HVR-L3。

[0545] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:242的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:243的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:242的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:243的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:244的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:245的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:244的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:245的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:275的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:276的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:275的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:276的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:278的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:279的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含氨基酸序列有SEQ ID NO:278的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:279的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ IDNO:280的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:281的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:280的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:281的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:282的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:283的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:282的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:283的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:284的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:285的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:284的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:285的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:286的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:287的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:286的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:287的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:288的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:289的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:288的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:289的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:290的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:291的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含

有氨基酸序列SEQ ID NO:290的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:291的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:292的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:293的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:292的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:293的VL结构域。

[0546] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:278的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:279的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:278的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:279的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:280的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:281的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:280的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:281的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:275的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:276的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:275的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:276的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:414的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含氨基酸序列有SEQ ID NO:415的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:414的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:415的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:123的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:100的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:123的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:100的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:292的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:293的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:292的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:293的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:288的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:289的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:288的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:289的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:290的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:291的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:290的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:291的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:286的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:287的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:286的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ

ID NO:287的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:284的VH结构域的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自含有氨基酸序列SEQ ID NO:285、333或334的VL结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:284的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:285、333或334的VL结构域。

[0547] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)重链可变(VH)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列NFAMT(SEQ ID NO:175)、NFAVT(SEQ ID NO:204)或NFALT(SEQ ID NO:305)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列TIGSGDTYYADSVKG(SEQ ID NO:144)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列DSTVSWSGDFFDY(SEQ ID NO:145)的HVR-H3序列;和/或(b)轻链可变(VL)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列RASQNVKNDLA(SEQ ID NO:146)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列AARIRET(SEQ ID NO:147)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列QQYYDWPPFT(SEQ ID NO:148)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:120、246、258或327具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;并且/或者VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:97或312具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:246,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:97;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:258,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:97;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:120,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:97;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:327,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:97;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:246,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:312;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:258,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:312;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:120,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:312;或者VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:327,并且VL结构域包含氨基酸序SEQ ID NO:312的。

[0548] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)重链可变(VH)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列IYAMS(SEQ ID NO:269)、IYAVS(SEQ ID NO:213)或IYALS(SEQ ID NO:306)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列TIGADDTYYADSVKG(SEQ ID NO:150)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列DSTVGWSGDFFDY(SEQ ID NO:151)的HVR-H3序列;和/或(b)轻链可变(VL)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列RASQNVRSDIA(SEQ ID NO:152)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列AASSRDT(SEQ ID NO:153)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列QQYYDWPPFT(SEQ ID NO:148)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:341、127、247、259或328具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;并且/或者VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:104或248具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:127,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:104;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:341,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:104;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:247,并且VL

结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:104;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:259,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:104;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:328,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:104;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:127,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:248;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:341,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:248;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:247,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:248;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:259,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:248;或者VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:328,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:248。

[0549] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)重链可变(VH)结构域,其包含:(i)含有氨基酸序列$X_1X_2DX_3N$的HVR-H1序列,其中X_1为S或T;X_2为Y或S;并且X_3为M、L或V(SEQ ID NO:307);(ii)含有氨基酸序列LISGSGEIX_1YYADSVKG的HVR-H2序列,其中X_1为I或T(SEQ ID NO:308);以及(iii)含有氨基酸序列E$X_1X_2X_3$YRFFDX_4的HVR-H3序列,其中X_1为N或D;X_2为N或D;X_3为R或M;并且X_4为D或Y(SEQ ID NO:309);并且/或者(b)轻链可变(VL)结构域,其包含:(i)含有氨基酸序列RAX_1QSVYX_2YLA的HVR-L1序列,其中X_1为S或D并且;X_2为T或S(SEQ ID NO:310);(ii)含有氨基酸序列$X_1AX_2X_3RAX_4$的HVR-L2序列,其中X_1为G、A或D;X_2为S或R;X_3为S、N或T;并且X_4为T或A(SEQ ID NO:311);并且(iii)含有氨基酸序列QQYYDRPPLT(SEQ ID NO:160)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)重链可变(VH)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列SYDMN(SEQ ID NO:270)、SYDVN(SEQ ID NO:221)或SYDLN(SEQ ID NO:313)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列LISGSGEIIYYADSVKG(SEQ ID NO:156)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列ENNRYRFFDD(SEQ ID NO:157)的HVR-H3序列;和/或(b)轻链可变(VL)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列RASQSVYTYLA(SEQ ID NO:158)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列GASSRAT(SEQ ID NO:159)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列QQYYDRPPLT(SEQ ID NO:160)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:133、260、329或249具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列;并且/或者VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:134、250、251、417、418或419具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:417;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:417;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:417;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:417;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:418;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:418;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329,并且VL结构域包氨基酸序列含SEQ ID NO:418;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:

249,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:418;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:419;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:419;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:419;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ IDNO:419;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;或者VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251。

[0550] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)重链可变(VH)结构域,其包含:(i)含有氨基酸序列$X_1X_2AX_3S$的HVR-H1序列,其中X_1为S或T;X_2为N、Y、H或D;并且X_3为M、L或V(SEQ ID NO:297);(ii)含有氨基酸序列$GISX_1X_2X_3X_4X_5X_6YYX_7X_8SX_9KG$的HVR-H2序列,其中$X_1$为A或S;$X_2$为G、S或不存在;$X_3$为S、D或G;$X_4$为G或S;$X_5$为D、S或G;$X_6$为T或A;$X_7$为P、G、V、I、A或S;$X_8$为A、D或G;并且$X_9$为V或M(SEQ ID NO:298);和(iii)含有氨基酸序列ETWNHLFDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列;和/或(b)轻链可变(VL)结构域,其包含:(i)含有氨基酸序列$SGGX_1X_2X_3SX_4YYX_5$的HVR-L1序列,其中X_1为D、G、S、I或不存在;X_2为S、W、G、Y、D或不存在;X_3为S、Y、T或D;X_4为H、T、S或Y;并且X_5为G或A(SEQ ID NO:299);(ii)含有氨基酸序列$SDX_1X_2RPX_3$的HVR-L2序列,其中X_1为D或N;X_2为E、K或Q;并且X_3为S或P(SEQ ID NO:300);和(iii)含有氨基酸序列$X_1X_2YDX_3X_4X_5YX_6NX_7$的HVR-L3序列,其中$X_1$为G或A;$X_2$为G或A;$X_3$为G、Y、Q、S或A;$X_4$为S、R或T;$X_5$为T或S;$X_6$为A、I、V、L或T;并且$X_7$为T、A、D或P(SEQ ID NO:301)。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)重链可变(VH)结构域,其包含:(i)含有氨基酸序列SX_1AX_2S的HVR-H1序列,其中X_1为N或Y;并且其中X_2为M、L或V(SEQ ID NO:302);(ii)含有氨基酸序列$GISX_1GX_2X_3DTYYX_4X_5SVKG$的HVR-H2序列,其中$X_1$为A或S;$X_2$为G或不存在;$X_3$为S或G;$X_4$为P、G或V;并且$X_5$为A或D(SEQ ID NO:303);和(iii)含有氨基酸序列ETWNHLFDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列;和/或(b)轻链可变(VL)结构域,其包含:(i)含有氨基酸序列$SGGX_1YSSYYYA$的HVR-L1序列,其中X_1为S或A(SEQ ID NO:304);(ii)含有氨基酸序列SDDKRPS(SEQ ID NO:336)的HVR-L2序列;和(iii)含有氨基酸序列GGYDQSSYTNP(SEQ ID NO:172)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,VH结构域包含(i)含有氨基酸序列SNAMS(SEQ ID NO:194)、SNAVS(SEQ ID NO:271)或SNALS(SEQ ID NO:318)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列GISAGGSDTYYPASVKG(SEQ ID NO:195)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列ETWNHLFDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列。在一些实施方案中,VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:135、263、264或330具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH结构域包含(i)含有氨基酸序列SNAMS(SEQ ID NO:194)、SNAVS(SEQ ID NO:271)或

SNALS(SEQ ID NO:318)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列GISSGSDTYYGDSVKG(SEQ ID NO:197)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列ETWNHLFDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列。在一些实施方案中,VH结构域包含氨基酸序列与SEQ ID NO:137、265、266或331具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH结构域包含(i)含有氨基酸序列SYAMS(SEQ ID NO:200)、SYAVS(SEQ ID NO:272)或SYALS(SEQ ID NO:319)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列GISSGGDTYYVDSVKG(SEQ ID NO:201)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列ETWNHLFDY(SEQ ID NO:193)的HVR-H3序列。在一些实施方案中,VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:139、267、268或332具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL结构域包含一种或多种人IGLV3框架序列。在一些实施方案中,VL结构域包含四种人IGLV3框架序列。在一些实施方案中,VL结构域包含序列FW1—HVR-L1—FW2—HVR-L2—FW3—HVR-L3—FW4(N末端至C末端),其中FW1包含氨基酸序列SYELTQPPSVSVSPGQTARITC(SEQ ID NO:314),FW2包含氨基酸序列WYQQKPGQAPVTLIY(SEQ ID NO:315),FW3包含氨基酸序列NIPERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYC(SEQ ID NO:316),并且FW4包含氨基酸序列FGGGTKLTVL(SEQ ID NO:317)。在一些实施方案中,VL结构域包含(i)含有氨基酸序列SGGSYSSYYYA(SEQ ID NO:170)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列SDDKRPS(SEQ ID NO:336)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列GGYDQSSYTNP(SEQ ID NO:172)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:252具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:254具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:416具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL结构域包含(i)含有氨基酸序列SGGAYSSYYYA(SEQ ID NO:261)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列SDDKRPS(SEQ ID NO:336)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列GGYDQSSYTNP(SEQ ID NO:172)的HVR-L3序列。在一些实施方案中,VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:262具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:263,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:264,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:330,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:135,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:137,并且VL结构域包氨基酸序列含SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:139,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:265,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:266,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:331,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID

NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:267,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:268,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:332,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:252;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:263,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包氨基酸序列含SEQ ID NO:264,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:330,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:265,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:266,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:331,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包氨基酸序列含SEQ ID NO:267,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:268,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:332,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:263,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:254;VH结构域包氨基酸序列含SEQ ID NO:264,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:254;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:330,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:254;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:265,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:254;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:266,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:254;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:331,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:254;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:267,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:254;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:268,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:254;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:332,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:254;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:263,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:416;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:264,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:416;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:330,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:416;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:265,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:416;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:266,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:416;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:331,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:416;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:267,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:416;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:268,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:416;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:332,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:416;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:135,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:137,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:262;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:135,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:254;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:135,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:416;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:137,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:254;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:137,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:416;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:139,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:254;VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:139,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:416;或者,VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:139,并且VL结构域包含氨基酸序列SEQ

ID NO:262。

[0551] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:120的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:97的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:127的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:104的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:133的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:134的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:135的VH结构域和/或含氨基酸序列有SEQ ID NO:136的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:137的VH结构域和/或含氨基酸序列有SEQ ID NO:138的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:139的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:140的VL结构域。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:141的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:142的VL结构域。

[0552] 在一些实施方案中,所述抗体包含(a)含有氨基酸序列GFSFSSX_1X_2AMX_3的HVR-H1序列,其中X_1为N或I;X_2为F或Y;并且X_3为T或S(SEQ ID NO:185);(b)含有氨基酸序列TIGX_4X_5DTYYADSVKG的HVR-H2序列,其中X_4为S或A并且X_5为G或D(SEQ ID NO:186);(c)含有氨基酸序列DSTVX_6WSGDFFDY的HVR-H3序列,其中X_6为S或G(SEQ ID NO:187);(d)含有氨基酸序列RASQNVX_7X_8DX_9A的HVR-L1序列,其中X_7为K或R;X_8为N或S;并且X_9为L或I(SEQ ID NO:188);(e)含有氨基酸序列AA$X_{10}X_{11}$RX_{12}T的HVR-L2序列,其中X_{10}为R或S;X_{11}为I或S;并且X_{12}为E或D(SEQ ID NO:189);以及(f)含有氨基酸序列QQYYDWPPFT(SEQ ID NO:148)的HVR-L3序列。

[0553] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:143-148的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:143-145的一种、两种或三种重链HVR序列和/或选自SEQ ID NO:146-148的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,本公开的抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:148-153的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:149-151的一种、两种或三种重链HVR序列和/或选自SEQ ID NO:152、153和148的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,本公开的抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:155-160的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:155-157的一种、两种或三种重链HVR序列和/或选自SEQ ID NO:158-160的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,本公开的抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:161-166的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:161-163的一种、两种或三种重链HVR序列和/或选自SEQ ID NO:164-166的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,本公开的抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:161-166的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:161-163的一种、两种或三种重链HVR序列和/或表2中所示的可变结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,本公开的抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:161、163、168和170-172的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:161、168和163的一种、两种或三种重链HVR序列和/或选自SEQ ID NO:170-172的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,本公开的抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:161、163、168和170-172的一种、两种、三种、四种、五种或六种

HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:161、168和163的一种、两种或三种重链HVR序列和/或表2中所示的可变结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,本公开的抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:163、173、174和176-178的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:163、173和174的一种、两种或三种重链HVR序列和/或选自SEQ ID NO:176-178的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,本公开的抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:162、163、179和182-184的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:162、163和179的一种、两种或三种重链HVR序列和/或选自SEQ ID NO:182-184的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,本公开的抗体包含具有选自氨基酸序列SEQ ID NO:162、163、179和182-184的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,选自SEQ ID NO:162、163和179的一种、两种或三种重链HVR序列和/或表2中所示的可变结构域的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:120和97的可变结构域序列的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,来自SEQ ID NO:120的重链可变结构域序列的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自SEQ ID NO:97的轻链可变结构域序列的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:127和104的可变结构域序列的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,来自SEQ ID NO:127的重链可变结构域序列的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自SEQ ID NO:104的轻链可变结构域序列的一种、两种或三种轻链HVR序列)。在一些实施方案中,本公开的抗体包含来自SEQ ID NO:97、104、120和127的可变结构域序列的一种、两种、三种、四种、五种或六种HVR序列(例如,来自SEQ ID NO:120和127的重链可变结构域序列的一种、两种或三种重链HVR序列和/或来自SEQ ID NO:97和104的轻链可变结构域序列的一种、两种或三种轻链HVR序列)。

[0554] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:143的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:144的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:145的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:146的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:147的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:148的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:149的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:150的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:151的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:152的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:153的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:148的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:143或149的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:144或150的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:145或151的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:146或152的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:147或153的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:148的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:155的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:156的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:157的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:159的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:160的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:161的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2和含氨基酸序列有SEQ ID NO:163的HVR-H3;和/或(b)VL

结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:161的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:170的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:171的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:172的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:173的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:174的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:176的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:177的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:178的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:179的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:182的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:183的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:184的HVR-L3。

[0555] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:135;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:137;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:170的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:171的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:172的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:139;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:176的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:177的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:178的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:141;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:182的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:183的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:184的HVR-L3。

[0556] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:161的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164、170、176或182的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:165、171、177或183的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166、172、178或184的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:161的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164、170、176或182的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:165、171、177或183的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166、172、178或184的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:173的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:174的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含氨基酸序列有SEQ ID NO:164、170、176或182的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:165、171、177或183的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166、172、178或184的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列

SEQ ID NO:179的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164、170、176或182的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:165、171、177或183的HVR-L2和含氨基酸序列有SEQ ID NO:166、172、178或184的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:135;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164、170、176或182的HVR-L1;含有氨基酸序列SEQ ID NO:165、171、177或183的HVR-L2;和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166、172、178或184的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:137;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164、170、176或182的HVR-L1;含有氨基酸序列SEQ ID NO:165、171、177或183的HVR-L2;和有含氨基酸序列SEQ ID NO:166、172、178或184的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:139;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164、170、176或182的HVR-L1;含有氨基酸序列SEQ ID NO:165、171、177或183的HVR-L2;和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166、172、178或184的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:141;和/或VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164、170、176或182的HVR-L1;含有氨基酸序列SEQ ID NO:165、171、177或183的HVR-L2;和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166、172、178或184的HVR-L3。

[0557] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含来自SEQ ID NO:242的一种、两种或三种HVR序列;和/或(b)VL结构域,其包含来自SEQ ID NO:243的一种、两种或三种HVR序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含来自SEQ ID NO:244的一种、两种或三种HVR序列;和/或(b)VL结构域,其包含来自SEQ ID NO:245的一种、两种或三种HVR序列。

[0558] 如上所述,用于描绘高变区(HVR)或互补决定区(CDR)的各种技术是本领域已知的,并且可以应用于本文所述的可变结构域序列。在一些实施方案中,本公开的抗体包含如用Chothia、Kabat、IMGT或其组合定义的HVR(例如,用一种描绘定义的一个或多个HVR和由不同描绘定义的一个或多个HVR)。表5中提供了使用三种已知描绘(Chothia、Kabat和IMGT)描绘的本公开的抗体的HVR序列。如本文所用,除非另外指明,否则HVR残基的编号用Kabat编号定义。

[0559] 表5.HVR描绘。

[0560]

Hum 1 (Chothia)	HVR-L1	170	SGGSYSSYYYA
	HVR-L2	336	SDDKRPS
	HVR-L3	172	GGYDQSSYTNP
Hum 1 (Kabat)	HVR-L1	170	SGGSYSSYYYA
	HVR-L2	336	SDDKRPS
	HVR-L3	172	GGYDQSSYTNP
Hum 1 (IMGT)	HVR-L1	337	GSYSS
	HVR-L2	338	IYS
	HVR-L3	339	GGYDQSSYT
Hum 7 (Chothia)	HVR-L1	164	SGGDYYSYYYG
	HVR-L2	336	SDDKRPS
	HVR-L3	166	GGYDYSTYANA
Hum 7 (Kabat)	HVR-L1	164	SGGDYYSYYYG
	HVR-L2	336	SDDKRPS
	HVR-L3	166	GGYDYSTYANA
Hum 7 (IMGT)	HVR-L1	340	GDYYS
	HVR-L2	338	IYS
	HVR-L3	190	GGYDYSTYA
AB21 (Chothia)	HVR-H1	191	GFTFSSN
	HVR-H2	192	SAGGSD
	HVR-H3	193	ETWNHLFDY
AB21 (Kabat)	HVR-H1	194	SNAMS
	HVR-H2	195	GISAGGSDTYYPASVKG
	HVR-H3	193	ETWNHLFDY
AB21 (IMGT)	HVR-H1	161	GFTFSSNA
	HVR-H2	162	ISAGGSDT

[0561]

	HVR-H3	163	ARETWNHLFDY
AB25 (Chothia)	HVR-H1	191	GFTFSSN
	HVR-H2	196	SSGSD
	HVR-H3	193	ETWNHLFDY
AB25 (Kabat)	HVR-H1	194	SNAMS
	HVR-H2	197	GISSGSDTYYGDSVKG
	HVR-H3	193	ETWNHLFDY
AB25 (IMGT)	HVR-H1	161	GFTFSSNA
	HVR-H2	168	ISSGSDT
	HVR-H3	163	ARETWNHLFDY
AB27 (Chothia)	HVR-H1	198	GFRFSSY
	HVR-H2	199	SSGGD
	HVR-H3	193	ETWNHLFDY
AB27 (Kabat)	HVR-H1	200	SYAMS
	HVR-H2	201	GISSGGDTYYVDSVKG
	HVR-H3	193	ETWNHLFDY
AB27 (IMGT)	HVR-H1	173	GFRFSSYA
	HVR-H2	174	ISSGGDT
	HVR-H3	163	ARETWNHLFDY
AB119 (Chothia)	HVR-H1	202	GFSFSNF
	HVR-H2	203	GSGD
	HVR-H3	145	DSTVSWSGDFFDY
AB119 (Kabat)	HVR-H1	204	NFAVT
	HVR-H2	144	TIGSGDTYYADSVKG
	HVR-H3	145	DSTVSWSGDFFDY
AB119 (IMGT)	HVR-H1	205	GFSFSNFA
	HVR-H2	206	IGSGDT
	HVR-H3	207	AKDSTVSWSGDFFDY
AB119 (Chothia)	HVR-L1	146	RASQNVKNDLA
	HVR-L2	147	AARIRET
	HVR-L3	148	QQYYDWPPFT
AB119 (Kabat)	HVR-L1	146	RASQNVKNDLA
	HVR-L2	147	AARIRET
	HVR-L3	148	QQYYDWPPFT
AB119 (IMGT)	HVR-L1	208	QNVKND
	HVR-L2	209	AAR
	HVR-L3	210	QQYYDWP
AB135 (Chothia)	HVR-H1	211	GFSFSIY
	HVR-H2	212	GADD
	HVR-H3	151	DSTVGWSGDFFDY
AB135 (Kabat)	HVR-H1	213	IYAVS
	HVR-H2	150	TIGADDTYYADSVKG
	HVR-H3	151	DSTVGWSGDFFDY
AB135 (IMGT)	HVR-H1	214	GFSFSIYA
	HVR-H2	215	IGADDT
	HVR-H3	216	AKDSTVGWSGDFFDY
AB135 (Chothia)	HVR-L1	152	RASQNVRSDIA
	HVR-L2	153	AASSRDT
	HVR-L3	148	QQYYDWPPFT
AB135 (Kabat)	HVR-L1	152	RASQNVRSDIA
	HVR-L2	153	AASSRDT
	HVR-L3	148	QQYYDWPPFT

[0562]

AB135 (IMGT)	HVR-L1	217	QNVRSD
	HVR-L2	218	AAS
	HVR-L3	148	QQYYDWPPFT
AB136 (Chothia)	HVR-H1	219	GFTFSSY
	HVR-H2	220	SGSGEI
	HVR-H3	157	ENNRYRFFDD
AB136 (Kabat)	HVR-H1	221	SYDVN
	HVR-H2	156	LISGSGEIIYYADSVKG
	HVR-H3	157	ENNRYRFFDD
AB136 (IMGT)	HVR-H1	222	GFTFSSYD
	HVR-H2	223	ISGSGEII
	HVR-H3	224	AKENNRYRFFDD
AB136 (Chothia)	HVR-L1	158	RASQSVYTYLA
	HVR-L2	159	GASSRAT
	HVR-L3	160	QQYYDRPPLT
AB136 (Kabat)	HVR-L1	158	RASQSVYTYLA
	HVR-L2	159	GASSRAT
	HVR-L3	160	QQYYDRPPLT
AB136 (IMGT)	HVR-L1	225	QSVYTY
	HVR-L2	226	GAS
	HVR-L3	160	QQYYDRPPLT
AB3 (Kabat)	HVR-H1	227	DYGMN
	HVR-H2	228	QITSGSRTYYGAAVKG
	HVR-H3	229	DFGSGVGSIDA
AB3 (CHOTHIA)	HVR-H1	230	GFIFSDY
	HVR-H2	231	TSGSR
	HVR-H3	229	DFGSGVGSIDA
AB3 (Chothia)	HVR-L1	232	SGSRGRYG
	HVR-L2	233	RDNQRPS
	HVR-L3	234	GSYDGSIDI
AB3 (Kabat)	HVR-L1	232	SGSRGRYG
	HVR-L2	233	RDNQRPS
	HVR-L3	234	GSYDGSIDI
AB45 (Kabat)	HVR-H1	235	SYAMG
	HVR-H2	236	GIDDDGSTANYGPAVKG
	HVR-H3	237	ASVTGWSAHISGRLDT
AB45 (CHOTHIA)	HVR-H1	219	GFTFSSY
	HVR-H2	238	DDGST
	HVR-H3	237	ASVTGWSAHISGRLDT
AB45 (Chothia)	HVR-L1	239	SGGGIYYYG
	HVR-L2	240	ENDKRPS
	HVR-L3	241	GGYDSNTTSGI
AB45 (Kabat)	HVR-L1	239	SGGGIYYYG
	HVR-L2	240	ENDKRPS
	HVR-L3	241	GGYDSNTTSGI

[0563] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含表5中所列出的1、2、3、4、5或6个HVR(例如,包含表5中所列出的1、2或3个轻链HVR的VL结构域和/或包含表5中所列出的1、2或3个重链HVR的VH结构域)。

[0564] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:191的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:192的HVR-H2,和含有氨基酸序列SEQ ID NO:193的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:191的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:196的HVR-H2,和含有氨基酸序列SEQ ID NO:193的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含含有氨基酸序列

SEQ ID NO:198的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:199的HVR-H2,和含有氨基酸序列SEQ ID NO:193的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的HVR-L3;和/或VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:191或198的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:192、196或199的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:193的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:232的HVR-L1、含氨基酸序列有SEQ ID NO:233的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:234的HVR-L3;和/或VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:230的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:231的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:232的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:239的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:240的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:241的HVR-L3;和/或VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:219的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:238的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:237的HVR-H3。

[0565] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:194的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:195的HVR-H2,和含有氨基酸序列SEQ ID NO:193的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:194的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:197的HVR-H2,和含有氨基酸序列SEQ ID NO:193的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:200的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:201的HVR-H2,和含有氨基酸序列SEQ ID NO:193的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:164的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的HVR-L3;和/或VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:194、198或200的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:195、197或201的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:193的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:232的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:233的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:234的HVR-L3;和/或VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:227的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:228的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:230的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:239的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:240的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:241的HVR-L3;和/或VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:235的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:236的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:237的HVR-H3。

[0566] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:161的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2,和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:161的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的HVR-H2,和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:173的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:174的HVR-H2,和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H3。

[0567] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ

ID NO:202的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:203的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:145的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:146的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:147的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:148的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:211的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:212的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:151的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:152的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:153的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:148的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:219的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:220的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:157的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:159的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:160的HVR-L3。

[0568] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:204的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:144的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:145的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:146的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:147的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:148的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:213的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:150的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:151的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:152的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:153的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:148的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:221的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:156的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:157的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:159的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:160的HVR-L3。

[0569] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:205的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:206的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:207的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:208的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:209的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:210的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:214的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:215的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:216的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:217的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:218的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:148的HVR-L3。在一些实施方案中,本公开的抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:222的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:223的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:224的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含氨基酸序列有SEQ ID NO:225的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:226的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:160的HVR-L3。

[0570] 在任何上述实施方案的一些实施方案中,所述抗体增强表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞的吞噬作用、增强表达人SIRP-α多肽的树突状细胞的激活、抑制表达CD47的肿瘤或肿瘤细胞的体内生长并且/或者不阻止CD47表达细胞与T细胞之间的相互作用。用于测量吞噬作用、树突状细胞激活、肿瘤生长抑制和CD47表达细胞与T细胞之间的相互作用的示例性测

定(例如,粘附测定)在本文中描述并且是本领域已知的。

[0571] 抗体产生和其他抗体特性

[0572] 可通过本领域已知的任何手段产生本公开的抗体。用于抗体产生的示例性技术在下文描述;然而,提供这些示例性技术仅用于说明目的并不旨在是限制性的。此外,进一步描述了设想用于本文所述的抗体的示例性抗体特性。

[0573] 在一些实施方案中,“结合”抗原的抗体具有在25℃下小于或等于1μM的对抗原的解离常数(K_D)。在一些实施方案中,本公开的抗体具有在25℃下小于或等于1μM、在25℃下小于或等于500nM、在25℃下小于或等于400nM、在25℃下小于或等于300nM、在25℃下小于或等于250nM、在25℃下小于或等于200nM、在25℃下小于或等于200nM、在25℃下小于或等于100nM,或在25℃下小于或等于50nM的对人v1和/或v2 SIRP-α多肽的解离常数(K_D)。在一些实施方案中,结合人SIRP-α多肽和一种或多种非人SIRP-α多肽的抗体以比非人SIRP-α多肽更高的亲和力(例如,高10倍或100倍)结合人SIRP-α多肽,但是它仍然被认为是“结合”两种多肽。在一些实施方案中,结合非人SIRP-α多肽和一种或多种人SIRP-α多肽的抗体以比人SIRP-α多肽更高的亲和力(例如,高10倍或100倍)结合非人SIRP-α多肽,但是它仍然被认为是“结合”两种多肽。用于确定结合亲和力的测定是本领域已知的并且包括但不限于例如如本文所述的表面等离子体共振(SPR);放射性标记的抗原结合测定(RIA),例如,使用抗体的Fab形式及其抗原;等等。本文描述了其他示例性结合测定。

[0574] 为了制备抗原,可以从天然来源纯化或以其他方式获得抗原,或者可以使用重组技术表达抗原。在一些实施方案中,抗原可以用作可溶性蛋白质。在一些实施方案中,可以将抗原缀合至另一多肽或其他部分,例如以增加其免疫原性。例如,本文所述的抗原可以与Fc区偶联。在一些实施方案中,在其细胞表面上表达抗原的细胞可以用作抗原。

[0575] 可以通过多次皮下(sc)或腹膜内(ip)注射抗原和佐剂而在动物中产生多克隆抗体。例如,本文描述了对鸡免疫的说明。在一些实施方案中,使用双功能剂或衍生剂将抗原与免疫原性蛋白质,例如匙孔血蓝蛋白、血清白蛋白、牛甲状腺球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制剂缀合。本文提供了用于免疫鸡的示例性方法。适用于多种其他生物体(诸如哺乳动物)的相关方法是本领域熟知的。

[0576] 如上所述,单克隆抗体可以通过多种方法产生。在一些实施方案中,使用杂交瘤方法制备本公开的单克隆抗体,所述杂交瘤方法首先由Kohler等人,Nature,256:495(1975)描述并且进一步描述于Hongo等人,Hybridoma,14(3):253-260(1995);Harlow等人,Antibodies:A Laboratory Manual,(Cold Spring Harbor Laboratory Press,第2版1988);和Hammerling等人,在Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681(Elsevier,N.Y.,1981)中。人杂交瘤技术(三源杂交瘤技术)描述于Vollmers和Brandlein,Histology and Histopathology,20(3):927-937(2005)和Vollmers和Brandlein,Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology,27(3):185-91(2005)中。可以筛选培养杂交瘤细胞的培养基中是否存在所关注抗体,例如通过体外结合测定、免疫沉淀、ELISA,RIA等;并且可以例如通过Scatchard分析确定结合亲和力。产生具有所需结合特性的抗体的杂交瘤可以使用已知的培养技术进行亚克隆和培养,使其在动物中作为腹水肿瘤体内生长等。

[0577] 在一些实施方案中,使用文库方法制备单克隆抗体,诸如噬菌体展示文库。参见例

如,Hoogenboom等人在Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien等人编辑,Human Press,Totowa,NJ,2001)中。在一些实施方案中,通过聚合酶链式反应(PCR)克隆VH和VL基因的全部组成成分(repertoire)并且随机重组于噬菌体文库中,然后筛选所述文库中的抗原结合噬菌体,例如,如Winter等人,Ann.Rev.Immunol.,12:433-455(1994)中所述。噬菌体通常呈现呈单链Fv(scFv)片段形式或呈Fab片段形式的抗体片段。可替代地,可以克隆(例如从人克隆)天然全部组成成分以提供单一来源的针对广泛范围的非自体抗原以及自体抗原的抗体而不进行任何免疫,如由Griffiths等人,EMBO J,12:725-734(1993)所述。最后,天然文库也可通过以下方式合成制备:从干细胞克隆未重排的V基因区段,以及使用含有随机序列的PCR引物以编码高度可变的CDR3区并在体外实现重排,如由Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.,227:381-388(1992).所述。

[0578] 在一些实施方案中,本公开的抗体为鸡抗体。可以使用本领域已知的各种技术产生鸡抗体;参见例如,美国专利号6,143,559;8,592,644;和9,380,769。

[0579] 在一些实施方案中,本公开的抗体为嵌合抗体。参见例如,美国专利号4,816,567和Morrison等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984)。在一些实施方案中,嵌合抗体包含非人可变区(例如来源于鸡、小鼠、大鼠、仓鼠、兔或非人灵长类动物(诸如猴)的可变区)和人恒定区。在一些实施方案中,嵌合抗体为"类别转换"抗体,其中类别或亚类已从亲本抗体的类别或亚类发生改变。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0580] 在一些实施方案中,嵌合抗体为人源化抗体。非人抗体可以被人源化以降低对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。一般来讲,人源化抗体包含一个或多个可变结构域,其中HVR,例如CDR(或其部分)来源于非人抗体(例如,鸡抗体),并且FR(或其部分)来源于人抗体序列。人源化抗体任选地还将包含人恒定区的至少一部分。在一些实施方案中,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如HVR残基所来源的抗体)的对应残基取代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。人源化抗体和制备它们的方法综述于例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008)中。人源化鸡抗体的方法也例如描述于WO2005014653中。

[0581] 用于人源化的人框架区包括但不限于:使用"最佳拟合"方法选择的框架区;来源于轻链或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列的框架区;人体细胞突变的框架区或人种系框架区;和来源于FR文库筛选的框架区。参见例如,Sims等人J.Immunol.151:2296(1993);Carter等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);Presta等人J.Immunol.,151:2623(1993);Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008);和Baca等人,J.Biol.Chem.272:10678-10684(1997)。

[0582] 在一些实施方案中,本公开的抗体为人抗体。人抗体可以使用本领域中已知的各种技术来产生。在一些实施方案中,人抗体由非人动物,诸如遗传工程改造的鸡(参见例如,美国专利号8,592,644;和9,380,769)和/或本文所述小鼠来产生。人抗体大体描述于Lonberg,Curr.Opin.Immunol.20:450-459(2008)中。

[0583] 在一些实施方案中,本公开的抗体例如使用本文所述的方法由鸡产生或来源于鸡。

[0584] 在一些实施方案中,本公开的抗体是抗体片段,包括但不限于Fab、F(ab')2、Fab'-SH、Fv或scFv片段,或单结构域、单重链或单轻链抗体。可以例如通过酶消化或通过重组技

术产生抗体片段。在一些实施方案中,完整抗体的蛋白水解消化用于产生抗体片段,例如,如Morimoto等人,Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117(1992)和Brennan等人,Science,229:81(1985)中所述。在一些实施方案中,抗体片段由重组宿主细胞产生。例如,Fab、Fv和ScFv抗体片段由大肠杆菌表达并且自大肠杆菌分泌。可替代地,抗体片段可以从抗体噬菌体文库中分离。

[0585] Fab'-SH片段可以直接从大肠杆菌中回收并且化学偶联以形成$F(ab')_2$片段。参见Carter等人,Bio/Technology 10:163-167(1992)。$F(ab')_2$片段还可以直接从重组宿主细胞培养物中分离。包含拯救受体结合表位残基、具有增加的体内半衰期的Fab和$F(ab')_2$片段描述于美国专利号5,869,046中。

[0586] 在一些实施方案中,抗体为单链Fv片段(scFv)。参见WO 93/16185和美国专利号5,571,894和5,587,458。可以构建scFv融合蛋白以产生效应蛋白在scFv的氨基或羧基末端的融合物。抗体片段还可以是"线性抗体",例如,如美国专利号5,641,870中所述。此类线性抗体可以是单特异性的或双特异性的。

[0587] 在一些实施方案中,本公开的抗体为多特异性抗体。多特异性抗体具有针对多于一种抗原的结合特异性(例如,具有两种、三种或更多种结合特异性)。在一些实施方案中,所述抗体为双特异性抗体。在一些实施方案中,双特异性抗体包含针对相同抗原的两种不同结合特异性(例如,具有相同抗原的不同结合亲和力和/或特异性表位)。在一些实施方案中,双特异性抗体包含对于两种不同抗原的结合特异性。在一些实施方案中,双特异性抗体为全长或完整抗体。在一些实施方案中,双特异性抗体为本公开的抗体片段。

[0588] 本文设想了具有结合特异性的多种组合的双特异性或多特异性抗体。在一些实施方案中,双特异性抗体对如本文所述的一种或多种SIRP-α多肽具有第一结合特异性。在一些实施方案中,双特异性抗体对由癌细胞例如表达在细胞表面上的抗原具有第二结合特异性。示例性此类抗原包括但不限于CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD38、CD52、CD56、CD70、CD74、CD79b、CD123、CD138、CS1/SLAMF7、Trop-2、5T4、EphA4、BCMA、粘蛋白1、粘蛋白16、PTK7、PD-L1、STEAP1、内皮素B受体、间皮素、EGFRvIII、ENPP3、SLC44A4、GNMB、粘连蛋白4、NaPi2b、LIV-1A、鸟苷酸环化酶C、DLL3、EGFR、HER2、VEGF、VEGFR、整联蛋白αVβ3、整联蛋白α5β1、MET、IGF1R、TRAILR1、TRAILR2、RANKL、FAP、腱生蛋白、Le^y、EpCAM、CEA、gpA33、PSMA、TAG72、粘蛋白、CAIX、EPHA3、叶酸受体α、GD2、GD3和包含来自以下的肽的MHC/肽复合物:NY-ESO-1/LAGE、SSX-2、MAGE家族蛋白、MAGE-A3、gp100/pmel17、Melan-A/MART-1、gp75/TRP1、酪氨酸酶、TRP2、CEA、PSA、TAG-72、未成熟层粘连蛋白受体、MOK/RAGE-1、WT-1、SAP-1、BING-4、EpCAM、MUC1、PRAME、存活素、BRCA1、BRCA2、CDK4、CML66、MART-2、p53、Ras、β-连环蛋白、TGF-βRII、HPV E6或HPV E7。不希望受理论的束缚,据认为将这种结合特异性与针对SIRP-α的结合特异性组合例如对于用第二结合特异性指导表达FcR的白细胞靶向肿瘤细胞,同时也用第一结合特异性抑制由白细胞表达的SIRP-α对由肿瘤细胞表达的任何CD47的应答性是特别有利的。

[0589] 本领域已知用于产生和纯化双特异性抗体的各种方法。已经描述了许多方法。一种方法是"钮-入-孔(knobs-into-holes)"或"突起-入-腔(protuberance-into-cavity)"方法(参见例如,美国专利号5,731,168)。在一些实施方案中,通过在两个Fc结构域单体中引入不同但相容的取代(诸如"钮-入-孔"残基对和电荷残基对)来促进Fc结构域单体的异

二聚化。钮与孔相互作用有利于异二聚体的形成,而钮-钮和孔-孔相互作用由于空间碰撞和有利相互作用的缺失而阻碍同型二聚体形成。孔是指当蛋白质中的原始氨基酸被具有较小侧链体积的不同氨基酸置换时产生的空隙。钮是指当蛋白质中的原始氨基酸被具有较大侧链体积的不同氨基酸替换代时产生的隆起。例如,在一些实施方案中,被置换的氨基酸位于Fc结构域单体的CH3抗体恒定结构域中并参与两个Fc结构域单体的二聚化。在一些实施方案中,在一个CH3抗体恒定结构域中产生孔以容纳另一个CH3抗体恒定结构域中的钮,使得钮和孔氨基酸起促进或有利于两个Fc结构域单体的异二聚化的作用。在一些实施方案中,在一个CH3抗体恒定结构域中产生孔以更好地容纳另一个CH3抗体恒定结构域中的原始氨基酸。在一些实施方案中,在一个CH3抗体恒定结构域中产生钮以与另一个CH3抗体恒定结构域中的原始氨基酸形成另外的相互作用。

[0590] 在一些实施方案中,通过用具有较小侧链的氨基酸(诸如丙氨酸、缬氨酸或苏氨酸)替代具有较大侧链的氨基酸(诸如酪氨酸或色氨酸)来构建孔,例如CH3抗体恒定结构域中的Y407V突变。类似地,在一些实施方案中,通过用具有较大侧链的氨基酸替代具有较小侧链的氨基酸来构建钮,例如CH3抗体恒定结构域中的T366W突变。在一些实施方案中,一个Fc结构域单体包含钮突变T366W,并且另一个Fc结构域单体包含孔突变T366S、L358A和Y407V。在一些实施方案中,将包括高亲和力SIRP-αD1变体的本公开的多肽与包含钮突变T366W的Fc结构域单体融合,以限制不需要的钮-钮同源二聚体形成。表3中包括但不限于钮-入-孔氨基酸对的实例。

[0591] 表3.钮-入-孔氨基酸对。

[0592]

Fc结构域单体1	Y407T	Y407A	F405A	T394S	T366S L358A Y407V	T394W Y407T	T394S Y407A	T366W T394S

[0593]

Fc结构域单体2	T366Y	T366W	T394W	F405W	T366W	T366Y F405A	T366W F405W	F405W Y407A

[0594] 另一种方法使用具有所需结合特异性(抗体-抗原结合位点)的抗体可变结构域与免疫球蛋白恒定结构域序列融合,例如与包含铰链、CH2和CH3区的至少一部分的免疫球蛋白重链恒定结构域融合。在一些实施方案中,双特异性抗体具有在一个臂中具有第一结合特异性的杂合免疫球蛋白重链和在另一个臂中的杂合免疫球蛋白重链-轻链对(提供第二结合特异性)。参见WO 94/04690。另一种方法使用交联(参见例如,美国专利号4,676,980)来产生异源缀合抗体。在一些实施方案中,可以通过以下方式制备双特异性抗体:使用化学连接(参见例如,Brennan等人,Science,229:81(1985))将完整抗体蛋白水解裂解成$F(ab')_2$片段,所述片段在二硫醇络合剂存在下还原并转化为硫代硝基苯甲酸酯(TNB)衍生物,其中一种通过还原被重新转化为Fab'-硫醇并且与另一种Fab'-TNB衍生物混合以形成双特异性抗体。在一些实施方案中,Fab'-SH片段是化学偶联的。在一些实施方案中,使用亮氨酸拉链在细胞培养物中产生双特异性抗体片段,如在Kostelny等人,J.Immunol.,148(5):1547-1553(1992)中。对于其他双特异性抗体形式,参见例如,Spiess,C.等人(2015)Mol.Immunol.67:95-106。

[0595] 在一些实施方案中,本公开的抗体为双体抗体。参见例如,Hollinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90:6444-6448(1993)。在双体抗体中,一个片段的V_H和V_L结构域与另一个片段的互补V_L和V_H结构域配对,从而形成两个抗原结合位点。也已报道通过使用单链Fv(sFv)二聚体制备双特异性抗体片段的另一策略。参见Gruber等人,J.Immunol,152:5368(1994)。

[0596] 在一些实施方案中,本公开的抗体为单结构域抗体。单结构域抗体是指包含抗体的重链可变结构域的全部或一部分或轻链可变结构域的全部或一部分的单条多肽链。在某些实施方案中,单结构域抗体为人单结构域抗体(参见例如,美国专利号6,248,516 B1)。在一个实施方案中,单结构域抗体包含抗体的重链可变结构域的全部或一部分。骆驼科动物抗体也是已知的。

[0597] 可以使用重组方法产生抗体。对于重组产生抗抗原抗体,分离编码抗体的核酸并且将其插入可复制载体中以进一步克隆(扩增DNA)或用于表达。编码抗体的DNA可以容易地分离并且使用常规程序(例如,通过使用能够特异性结合编码抗体的重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)来测序。可使用很多载体。载体组分通常包括但不限于以下中的一者或多者:信号序列、复制起点、一种或多种标志基因、增强子元件、启动子和转录终止序列。

[0598] 本公开的抗体可以重组方式产生为与异源多肽的融合多肽,所述异源多肽例如为信号序列或在成熟蛋白质或多肽的N端具有特定裂解位点的其他多肽。选择的异源信号序列可以为由宿主细胞识别且加工(例如,被信号肽酶裂解)的信号序列。对于不能识别和加工天然抗体信号序列的原核宿主细胞,信号序列被选自例如碱性磷酸酶、青霉素酶、lpp或热稳定肠毒素II前导序列的原核生物信号序列取代。对于酵母分泌,可以将天然信号序列取代为例如酵母转化酶前导序列、α因子前导序列(包括酵母属(Saccharomyces)和克鲁维酵母属(Kluyveromyces)α因子前导序列)或酸性磷酸酶前导序列、白色念珠菌(C.albicans)葡萄糖淀粉酶前导序列等。在哺乳动物细胞表达中,可使用哺乳动物信号序列以及病毒的分泌前导序列,例如单纯疱疹病毒gD信号。

[0599] 表达载体和克隆载体两者均含有能使载体在一种或多种选择的宿主细胞中复制的核酸序列,例如以能使载体独立于宿主染色体DNA而复制。该序列可以包括复制起点或自主复制序列。用于多种细菌、酵母和病毒的此类序列是熟知的。一般来讲,复制起点组分不为哺乳动物表达载体所需(可以使用SV40起点,因为它含有早期启动子)。

[0600] 表达载体和克隆载体可以含有选择基因或选择性标志物。典型的选择基因编码以下蛋白质:(a)赋予对抗生素或其他毒素(例如,氨苄青霉素、新霉素、氨甲蝶呤或四环素)的抗性,(b)弥补营养缺陷型不足,或(c)供应不可自复合培养基获得的关键营养物。显性选择的实例使用药物新霉素、霉酚酸和潮霉素。适合于哺乳动物细胞的选择性标志物的另一实例为能够鉴定能摄取抗体编码核酸的细胞的那些,诸如DHFR、谷氨酰氨合成酶(GS)、胸苷激酶、金属硫蛋白-I型和-II型,优选灵长类金属硫蛋白基因、腺苷脱氨酶、鸟氨酸脱羧酶等。例如,用DHFR基因转化的内源性DHFR活性有缺陷的中国仓鼠卵巢(CHO)细胞系通过将转化体培养在含有DHFR的竞争性拮抗剂的氨甲蝶呤(Mtx)的培养基中来鉴定。

[0601] 可替代地,用编码所关注抗体的DNA序列、野生型DHFR基因,以及另一种选择性标志物诸如氨基糖苷3'-磷酸转移酶(APH)转化或共转化的宿主细胞(尤其是含有内源性DHFR的野生型宿主)可以通过在含有针对选择性标志物的选择剂诸如氨基糖苷类抗生素(例如

卡那霉素、新霉素或G418)的培养基中进行细胞生长来进行选择。

[0602] 表达载体和克隆载体通常含有由宿主生物体识别,并且可操作地连接至编码抗体的核酸的启动子。适用于原核宿主的启动子包括phoA启动子、β-内酰胺酶和乳糖启动子系统、碱性磷酸酶启动子、色氨酸(trp)启动子系统,和杂合启动子诸如tac启动子。然而,其他已知的细菌启动子是合适的。用于真核生物的启动子序列是已知的。酵母启动子是本领域中已知的并且可以包括通过生长条件调控的可诱导启动子/增强子。事实上所有的真核基因均具有富含AT的区,所述区位于转录起始位点的上游大约25至30个碱基处。实例包括但不限于针对3-磷酸甘油酸激酶或其他糖酵解酶的启动子,所述其他糖酵解酶诸如烯醇化酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶、己糖激酶、丙酮酸脱羧酶、磷酸果糖激酶、葡萄糖-6磷酸异构酶、3-磷酸甘油变位酶、丙酮酸激酶、磷酸丙糖异构酶、磷酸葡萄糖异构酶和葡萄糖激酶。自哺乳动物宿主细胞中的载体的抗体转录可以例如通过从病毒基因组获得的启动子控制。SV40病毒的早期和晚期启动子可以作为还含有SV40病毒复制起点的SV40限制性片段而方便地获得。人巨细胞病毒的立即早期启动子可以作为HindIII E限制性片段方便地获得。可替代地,劳斯肉瘤病毒长末端重复序列可以用作启动子。

[0603] 高等真核生物对编码本发明的抗体的DNA的转录常常通过将增强子序列插入载体中来增加。目前已知来自哺乳动物基因(球蛋白、弹性蛋白酶、白蛋白、甲胎蛋白和胰岛素)的许多增强子序列。然而,通常使用来自真核细胞病毒的增强子。

[0604] 用于真核宿主细胞(酵母、真菌、昆虫、植物、动物、人或来自其他多细胞生物体的有核细胞)中的表达载体也将含有终止转录和稳定mRNA所必需的序列。

[0605] 用于在本文的载体中克隆或表达DNA的适当宿主细胞是上述原核生物、酵母或高等真核细胞。适于此目的的原核生物包括真细菌,诸如革兰氏阴性或革兰氏阳性生物体,例如肠杆菌科(Enterobacteriaceae),诸如埃希氏菌属(Escherichia),例如,大肠杆菌、肠杆菌属(Enterobacter)、欧文氏菌属(Erwinia)、克雷伯氏菌属(Klebsiella)、变形杆菌属(Proteus)、沙门氏菌属(Salmonella)(例如,鼠伤寒沙门氏菌(Salmonella typhimurium))、沙雷氏菌属(Serratia)(例如粘质沙雷氏菌(Serratia marcescans))和志贺氏菌属(Shigella)等。除原核生物以外,真核微生物(诸如丝状真菌或酵母是用于抗体编码载体的合适的克隆或表达宿主。酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)或普通面包酵母为低等真核宿主微生物中最常用的。可以选择某些真菌和酵母菌株,其中糖基化途径已经被“人源化”,导致产生具有部分或完全人糖基化模式的抗体。参见例如,Li等人,Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[0606] 棉花、玉米、土豆、大豆、矮牵牛、西红柿、浮萍(Leninaceae)、苜蓿(蒺藜苜蓿(M.truncatula))和烟草的植物细胞培养物也可以用作宿主。

[0607] 适于表达糖基化抗体的宿主细胞还来源于多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括植物和昆虫细胞。已鉴定了许多来自以下宿主的杆状病毒菌株和变体以及对应的容许昆虫宿主细胞:诸如草地夜蛾(Spodoptera frugiperda)(毛虫)、埃及伊蚊(Aedes aegypti)(蚊子)、白纹伊蚊(Aedes albopictus)(蚊子)、黑腹果蝇(Drosophila melanogaster)(果蝇)以及家蚕(Bombyx mori)。

[0608] 脊椎动物细胞可以用作宿主,并且在培养物(组织培养物)中繁殖脊椎动物细胞已经成为常规程序。可用的哺乳动物宿主细胞系的实例是由SV40转化的猴肾CV1系(COS-7,

ATCC CRL 1651);人胚肾系(293细胞或被亚克隆来在悬浮培养物中生长的293细胞,Graham等人,J.Gen Virol.36:59(1977));幼小仓鼠肾细胞(BHK,ATCC CCL 10);小鼠塞尔托利细胞(TM4,Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980));猴肾细胞(CV1 ATCC CCL 70);非洲绿猴肾细胞(VERO-76,ATCC CRL-1587);人宫颈癌细胞(HELA,ATCC CCL 2);犬肾细胞(MDCK,ATCC CCL 34);水牛大鼠肝细胞(BRL3A,ATCC CRL 1442);人肺细胞(W138,ATCC CCL 75);人肝细胞(Hep G2,HB 8065);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562,ATCC CCL51);TRI细胞(Mather等人,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982));MRC 5细胞;FS4细胞;和人肝细胞瘤系(Hep G2)。其他可用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR-CHO细胞(Urlaub等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980));和骨髓瘤细胞系,诸如NS0和Sp2/0。对于适于抗体产生的某些哺乳动物宿主细胞系的评述,参见例如,Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo编辑,Humana Press,Totowa,N.J.,2003),第255-268页。

[0609] 本公开的宿主细胞可以在多种培养基中培养。可商购获得的培养基诸如Ham's F10(Sigma)、最低必需培养基((MEM),(Sigma)、RPMI-1640(Sigma)和杜尔贝科氏改良伊格尔培养基(Dulbecco's Modified Eagle'sMedium)((DMEM),Sigma)适于培养宿主细胞。此外,Ham等人,Meth.Enz.58:44(1979);Barnes等人,Anal.Biochem.102:255(1980);美国专利号4,767,704;4,657,866;4,927,762;4,560,655;或5,122,469;WO 90/03430;WO 87/00195;或美国再审专利30,985中所述的培养基中的任一种均可用作宿主细胞的培养基。必要时这些培养基中的任一种均可补充有激素和/或其他生长因子(诸如胰岛素、转铁蛋白或表皮生长因子)、盐(诸如氯化钠、钙、镁和磷酸盐)、缓冲剂(诸如HEPES)、核苷酸(诸如腺苷和胸苷)、抗生素(诸如GENTAMYCIN™药物)、痕量元素(定义为通常以在微摩尔浓度范围内的最终浓度存在的无机化合物),以及葡萄糖或等效能量来源。还可包含本领域技术人员所已知的适当浓度的任何其他必需补充剂。培养条件诸如温度、pH等是先前与选择用于表达的宿主细胞一起使用的那些条件,并且对于本领域技术人员是显而易见的。

[0610] 当使用重组技术时,抗体可以在细胞内、在周质空间中产生,或直接分泌到培养基中。如果抗体在细胞内产生,则作为第一步骤,例如通过离心或超滤去除微粒状碎片(宿主细胞或裂解的片段)。Carter等人,Bio/Technology10:163-167(1992)描述了用于分离分泌到大肠杆菌周质空间的抗体的程序。

[0611] 从细胞制备的抗体组合物可以利用例如羟基磷灰石色谱法、疏水性相互作用色谱法、凝胶电泳、透析和亲和色谱法纯化,其中亲和色谱法是典型优选的纯化步骤之一。

[0612] 在一些实施方案中,本公开的抗体包含k或λ轻链恒定区。在一些实施方案中,本公开的抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:325、326或426的轻链恒定区。示例性且非限制性的轻链恒定区序列提供在表6中。在一些实施方案中,本公开的抗体包含IGLC3λ轻链恒定区或IGLC7恒定区。

[0613] 在一些实施方案中,本公开的抗体包括Fc区。例如,在一些实施方案中,Fc区为人Fc区,例如IgG1、IgG2或IgG4及其亚型。在表6中所示的氨基酸序列SEQ ID NO:320-324内提供了示例性且非限制性的Fc区。在一些实施方案中,氨基酸序列SEQ ID NO:320-324中的一种或多种内的Fc区包含一个或多个例如下文所述的突变。

[0614] 表6.示例性恒定区序列

[0615]

名称	SEQ ID NO	序列
IgG1 野生型	320	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
IgG1_AAA_N297A	321	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
		RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
IgG2	322	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCC VECPPCPAPPVAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTFRV VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
IgG2Da	323	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVD HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
IgG4_S228P	324	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
人κ	325	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
人λ IGLC1	326	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
人λ IGLC2	426	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

[0616]

[0617] 在一些实施方案中,Fc区包含影响一种或多种抗体特性,诸如稳定性、糖基化或其他修饰模式、效应细胞功能、药代动力学等的一个或多个突变。在一些实施方案中,本公开的抗体具有降低的或最小的糖基化。在一些实施方案中,本公开的抗体具有消除的或降低的效应功能。示例性Fc突变包括但不限于(i)人IgG1 Fc区突变L234A、L235A、G237A和N297A;(ii)人IgG2 Fc区突变A330S、P331S和N297A;和(iii)人IgG4 Fc区突变S228P、

E233P、F234V、L235A、delG236和N297A(EU编号)。在一些实施方案中,人IgG2 Fc区包含A330S和P331S突变。在一些实施方案中,人IgG4 Fc区包含S288P突变。在一些实施方案中,人IgG4 Fc区包含S288P和L235E突变。

[0618] 靶向细胞表面抗原的抗体可以触发与免疫细胞上的Fc受体(FcR)结合相关的免疫刺激和效应功能。存在多种对于特定种类的抗体具有特异性的Fc受体,包括IgG(γ受体)、IgE(η受体)、IgA(α受体)和IgM(μ受体)。Fc区与细胞表面上的Fc受体的结合可以触发多种生物应答,包括对抗体包被的颗粒的吞噬作用(抗体依赖性细胞介导的吞噬作用或ADCP)、对免疫复合物的清除、杀伤细胞对抗体包被的细胞的裂解(抗体依赖性细胞介导的细胞毒性或ADCC)、炎性介质的释放、胎盘转移以及对免疫球蛋白产生的控制。另外,补体的C1组分与抗体的结合可以激活补体系统。补体的激活可能对于细胞病原体的裂解是重要的。然而,补体的激活还可以刺激炎性应答并且还可以涉及自身免疫性超敏反应或其他免疫学病症。具有降低或消除的结合某些Fc受体的能力的变体Fc区可用于开发治疗性抗体和Fc融合多肽构建体,其通过靶向、激活或中和配体功能而不损害或破坏局部细胞或组织而起作用。

[0619] 在一些实施方案中,Fc结构域单体是指包含第二和第三抗体恒定结构域(例如,CH2和CH3)的多肽链。在一些实施方案中,Fc结构域单体还包括铰链结构域。在一些实施方案中,Fc结构域单体具有任何免疫球蛋白抗体同种型,包括IgG、IgE、IgM、IgA和IgD。另外,在一些实施方案中,Fc结构域单体具有任何IgG亚型(例如,IgG1、IgG2、IgG2a、IgG2b、IgG2c、IgG3和IgG4)。在一些实施方案中,Fc结构域单体包含改变Fc结构域与Fc受体之间的相互作用的自野生型Fc结构域单体序列的多达十种变化(例如,1-10、1-8、1-6、1-4个氨基酸取代、添加或插入、缺失或其组合)。

[0620] 在一些实施方案中,免疫球蛋白的Fc结构域单体或Fc结构域单体的片段能够与另一种Fc结构域单体形成Fc结构域。在一些实施方案中,免疫球蛋白的Fc结构域单体或Fc结构域单体的片段不能够与另一种Fc结构域单体形成Fc结构域。在一些实施方案中,Fc结构域单体或Fc结构域的片段与本公开的多肽融合以增加多肽的血清半衰期。在一些实施方案中,与本公开的多肽融合的Fc结构域单体或Fc结构域单体的片段与第二Fc结构域单体二聚化以形成结合Fc受体的Fc结构域,或者,Fc结构域单体结合Fc受体。在一些实施方案中,与多肽融合以增加多肽的血清半衰期的Fc结构域或Fc结构域的片段不会诱导任何免疫系统相关应答。Fc结构域包含两个Fc结构域单体,所述单体通过CH3抗体恒定结构域之间的相互作用而二聚化。

[0621] 野生型Fc结构域形成结合Fc受体的最小结构,例如FcγRI、FcγRIIa、FcγRIIb、FcγRIIIa、FcγRIIIb和FcγRIV。在一些实施方案中,本公开的抗体中的Fc结构域包含一个或多个氨基酸取代、添加或插入、缺失或其任何组合,它们导致降低的效应功能,诸如降低的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、减少的补体依赖性细胞裂解(CDC)、减少的抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP),或其任何组合。例如,本公开的抗体可以表现出减少的与人Fc受体的结合(例如,结合最小或不存在结合)和减少的与补体蛋白C1q的结合(例如,结合最小或不存在结合);减少的与人FcγRI、FcγRIIA、FcγRIIB、FcγRIIIB、FcγRIIIB或其任何组合,以及与C1q的结合(例如,结合最小或不存在结合);改变或降低的抗体依赖性效应功能,诸如ADCC、CDC、ADCP或其任何组合;等等。示例性突变包括但不限于在E233、L234、L235、G236、G237、D265、D270、N297、E318、K320、K322、A327、A330、P331或P329

(根据Kabat的EU指数编号)处的一个或多个氨基酸取代(Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD.(1991))。

[0622] 在一些实施方案中,本公开的抗体具有降低或消除的与CD16a、CD32a、CD32b、CD32c和CD64 Fcγ受体的结合。在一些实施方案中,与包含野生型Fc区的抗体相比,具有本文所述的非天然Fc区的抗体表现出C1q结合的至少5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更大的降低。在一些实施方案中,与包含野生型Fc区的抗体相比,具有如本文所述的非天然Fc区的抗体表现出CDC的至少5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更大的降低。

[0623] 在一些实施方案中,本文的Fc变体相对于野生型序列具有最小的糖基化或具有降低的糖基化。在一些实施方案中,通过突变N297A或通过将N297突变为任何非N的氨基酸来完成去糖基化。

[0624] 在一些实施方案中,抗体IgG恒定区的变体(例如Fc变体)具有降低的特异性结合Fcγ受体的能力或具有降低的诱导吞噬作用的能力。在一些实施方案中,抗体IgG恒定区的变体(例如Fc变体)具有降低的特异性结合Fcγ受体的能力并且具有降低的诱导吞噬作用的能力。例如,在一些实施方案中,Fc结构域被突变以缺乏效应功能,典型地为“死亡的”Fc结构域。例如,在一些实施方案中,Fc结构域包含已知使Fc结构域与Fcγ受体之间的相互作用最小化的特定氨基酸取代。在一些实施方案中,Fc结构域单体来自IgG1抗体,并且包含氨基酸取代L234A、L235A、G237A和N297A(如依据Kabat等人,1991根据EU编号系统命名的)中的一种或多种。在一些实施方案中,一个或多个另外的突变包含在这种IgG1 Fc变体中。人IgG1 Fc变体的此类另外突变的非限制性实例包括E318A和K322A。在一些情况下,与野生型人IgG1序列相比,人IgG1 Fc变体总共具有多达12、11、10、9、8、7、6、5或4个或更少的突变。在一些实施方案中,一个或多个另外的缺失包含在这种IgG1 Fc变体中。例如,在一些实施方案中,Fc IgG1重链恒定区的C末端赖氨酸缺失,例如以当在细菌或哺乳动物细胞中产生多肽时增加多肽的同质性。在一些情况下,与野生型人IgG1序列相比,人IgG1 Fc变体总共具有多达12、11、10、9、8、7、6、5或4个或更少的缺失。

[0625] 在一些实施方案中,Fc结构域单体来自IgG2抗体并且包含氨基酸取代A330S、P331S或A330S和P331S两者。上述氨基酸位置根据Kabat等人(1991)定义。可以通过将抗体序列的同源性区与“标准”Kabat编号序列比对来确定给定抗体中氨基酸残基的Kabat编号。在一些实施方案中,Fc变体包含人IgG2 Fc序列,其包含A330S、P331S和N297A氨基酸取代(如依据Kabat等人(1991)根据EU编号系统命名的中的一种或多种。在一些实施方案中,一个或多个另外的突变包含在此类IgG2 Fc变体中。对于人IgG2 Fc变体的此类另外突变的非限制性实例包括V234A、G237A、P238S、V309L和H268A(如依据Kabat等人(1991)根据EU编号系统命名的)。在一些情况下,与野生型人IgG2序列相比,人IgG2 Fc变体总共具有多达12、11、10、9、8、7、6、5、4、3个或更少的突变。在一些实施方案中,一个或多个另外的缺失包含在这种IgG2 Fc变体中。

[0626] 当Fc变体为IgG4 Fc变体时,在一些实施方案中,这种Fc变体包含S228P、E233P、F234V、L235A、L235E或delG236突变(如根据Kabat等人(1991)命名的)。在一些情况下,与野生型人IgG4序列相比,人IgG4 Fc变体总共具有多达12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个突

变。

[0627] 在一些实施方案中,与野生型人IgG Fc区相比,Fc变体表现出降低的与受试者的Fc受体的结合。在一些实施方案中,与野生型人IgG Fc区相比,Fc变体表现出消除的与受试者的Fc受体的结合。在一些实施方案中,与野生型人IgG Fc区相比,Fc变体表现出降低的吞噬作用。在一些实施方案中,与野生型人IgG Fc区相比,Fc变体表现出消除的吞噬作用。

[0628] 抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(在本文中也称为ADCC)是指一种形式的细胞毒性,其中结合于存在于某些细胞毒性细胞(例如天然杀伤(NK)细胞和嗜中性粒细胞)上的Fc受体(FcR)上的分泌型Ig使得这些细胞毒性效应细胞能够特异性结合携带抗原的靶细胞并且随后杀死靶细胞。抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(在本文中也称为ADCP)是指一种形式的细胞毒性,其中结合于存在于某些吞噬细胞(例如巨噬细胞)上的Fc受体(FcR)上的分泌型Ig使得这些吞噬效应细胞能够特异性结合携带抗原的靶细胞并且随后吞没并消化靶细胞。针对靶细胞表面的配体特异性高亲和力IgG抗体可以刺激细胞毒性或吞噬细胞并且可用于这种杀伤。在一些实施方案中,与包含野生型Fc区的多肽构建体相比,包含如本文所述的Fc变体的多肽构建体表现出降低的ADCC或ADCP。在一些实施方案中,与包含野生型Fc区的多肽构建体相比,包含如本文所述的Fc变体的多肽构建体表现出至少5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更大的ADCC或ADCP降低。在一些实施方案中,与包含野生型Fc区的多肽构建体相比,包含如本文所述的Fc变体的抗体表现出消除的ADCC或ADCP。

[0629] 补体导向性细胞毒性(在本文中也称为CDC)是指一种形式的细胞毒性,其中补体级联通过补体组分C1q与抗体Fc的结合而激活。在一些实施方案中,与包含野生型Fc区的多肽构建体相比,包含如本文所述的Fc变体的多肽构建体表现出至少5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更大的C1q结合降低。在一些情况下,与包含野生型Fc区的多肽构建体相比,包含如本文所述的Fc变体的多肽构建体表现出降低的CDC。在一些实施方案中,与包含野生型Fc区的多肽构建体相比,包含如本文所述的Fc变体的多肽构建体表现出至少5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更大的CDC降低。在一些情况下,与包含野生型Fc区的多肽构建体相比,包含如本文所述的Fc变体的抗体表现出可忽略的CDC。

[0630] 与野生型人IgG Fc区相比,本文的Fc变体包括表现出降低的与Fcγ的结合的那些。例如,在一些实施方案中,Fc变体表现出的与Fcγ受体的结合小于由野生型人IgG Fc区表现出的与Fcγ受体的结合。在一些情况下,Fc变体与Fcγ受体的结合降低10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%(完全消除的效应功能)的系数。在一些实施方案中,降低的结合是针对任何一种或多种Fcγ受体,例如CD16a、CD32a、CD32b、CD32c或CD64。

[0631] 在一些情况下,与其野生型人IgG Fc区相比,本文所公开的Fc变体表现出降低的吞噬作用。与其野生型人IgG Fc区相比,此类Fc变体表现出吞噬作用的降低,其中吞噬作用活性的降低例如为10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的系数。在一些情况下,与其野生型人IgG Fc区相比,Fc变体表现出消除的吞噬作用。

[0632] 在一些实施方案中,本文所公开的Fc变体与一个或多个融合配偶体偶联。在一些

情况下,融合配偶体是治疗性部分,诸如本公开的细胞毒性剂。在一些情况下,选择融合配偶体以使得能够靶向表达的蛋白质、纯化、筛选、展示等。在一些实施方案中,融合配偶体还影响与Fc受体的结合程度或吞噬作用降低的程度。

[0633] 在一些实施方案中,融合配偶体通过接头序列与Fc变体序列连接。在一些实施方案中,接头序列通常包含少量氨基酸,诸如小于10个氨基酸,但也使用更长的接头。在一些情况下,接头的长度小于10、9、8、7、6或5个氨基酸或更短。在一些情况下,接头的长度为至少10、11、12、13、14、15、20、25、30或35个氨基酸或更长。任选地,在一些实施方案中,采用可裂解的接头。

[0634] 在一些实施方案中,融合配偶体是将Fc变体蛋白和任何相关融合配偶体引导至期望的细胞位置或细胞外介质的靶向或信号序列。在一些实施方案中,某些信号传导序列靶向泌到生长培养基中,或分泌到位于细胞内膜和外膜之间的周质空间中的蛋白质。在一些实施方案中,融合配偶体是编码能够纯化或筛选的肽或蛋白质的序列。此类融合配偶体包括但不限于多组氨酸标签(His标签)(例如His6和His10)或用于固定化金属亲和色谱(IMAC)系统(例如,Ni+2亲和柱)的其他标签、GST融合物、MBP融合物、Strep标签、细菌酶BirA的BSP生物素化靶序列,以及抗体靶向的表位标签(例如c-myc标签、flag标签等)。

[0635] 在一些实施方案中,此类标签可用于纯化、筛选或两者。例如,在一些实施方案中,使用His标签通过将其固定至Ni+2亲和柱来纯化Fc变体,并且然后在纯化后使用相同的His标签将抗体固定至Ni+2包被的板以进行ELISA或其他结合测定。

[0636] 可以获得能够实现多种选择方法的各种融合配偶体。例如,通过将Fc变体文库的成员与基因III蛋白融合,可以采用噬菌体展示。在一些实施方案中,融合配偶体使得Fc变体能够被标记。可替代地,在一些实施方案中,融合配偶体结合表达载体上的特定序列,使得融合配偶体和相关Fc变体能够与编码它们的核酸共价或非共价连接。

[0637] 在一些实施方案中,当融合配偶体为治疗性部分时,治疗性部分为例如细胞毒性剂、肽、蛋白质、抗体、siRNA或小分子。

[0638] 在一些实施方案中,本公开的抗体与各种载剂或标记结合并用于检测特异性抗原表达细胞的存在。载剂的实例包括玻璃、聚苯乙烯、聚丙烯、聚乙烯、葡聚糖、尼龙、淀粉酶、天然和改性纤维素、聚丙烯酰胺、琼脂糖和磁铁矿。载剂的性质可以是可溶的或不可溶的。各种不同的标签和标记方法是已知的。标记的实例包括酶、放射性同位素、荧光化合物、胶体金属、化学发光化合物和生物发光化合物。可以获得用于将标记结合至本文所公开的抗体的各种技术。在一些实施方案中,抗体与低分子量半抗原偶联。然后通过第二反应特异性地检测这些半抗原。例如,在一些实施方案中,将半抗原生物素与抗生物素蛋白一起使用或者将半抗原二硝基苯酚、吡哆醛或荧光素用特异性抗半抗原抗体(例如,分别地抗二硝基酚抗体、抗吡哆醛抗体和抗荧光素抗体)检测。在一些实施方案中,本文所述的抗体在体外用于结合测定,例如免疫测定。例如,在一些实施方案中,抗体以液相使用或与固相载剂结合。在一些实施方案中,用于免疫测定的抗体以各种方式可检测地标记。

[0639] 鉴定和/或产生抗体的方法

[0640] 本公开的某些方面涉及鉴定结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的抗原结合结构域的方法。有利地,本文所述的方法可用于鉴定阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合、不阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合,或降低人SIRP-α多肽对人CD47的

亲和力的抗原结合结构域。

[0641] 在一些实施方案中,所述方法包括提供结合人SIRP-α多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的抗原结合结构域。本文描述了结合人SIRP-α多肽和/或其他SIRP多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的示例性抗原结合结构域和抗体,以及用于鉴定此类抗原结合结构域/抗体的示例性方法。在下文的实施例中更详细地描述了示例性方法。

[0642] 在一些实施方案中,所述方法包括组装包含SIRP-αD1变体与包含CD47的IgSF结构域的多肽结合的复合物。在一些实施方案中,"组装"复合物包括提供含有SIRP-αD1变体和包含CD47的IgSF结构域的多肽的溶液。在一些实施方案中,SIRP-αD1变体是非天然存在的变体,例如,其与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍、至少100倍或至少100倍。有利地,这有利于抗体筛选,因为天然SIRP-α:CD47相互作用可能太弱而不能用于结合和筛选测定。下文更详细地描述示例性变体。

[0643] 在一些实施方案中,所述方法包括使抗原结合结构域与组装的复合物接触。在一些实施方案中,检测抗原结合结构域与复合物的结合或其缺乏或不足。本文描述了各种检测技术。在一些实施方案中,使用SPR或ELISA。抗原结合结构域与复合物的可检测的结合表明抗原结合结构域不阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合。抗原结合结构域与复合物的结合缺乏表明抗原结合结构域阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合。此外,SPR用于区分阻断性、非阻断性和踢脱性抗体。例如,在一些实施方案中,当在预形成的SIRPα:CD47复合物上注射时,非阻断性抗体增加RU,踢脱性抗体增加预形成的SIRPα:CD47复合物的K_{off},并且阻断性抗体不改变预形成的SIRPα:CD47复合物的RU或K_{off}。

[0644] 在一些实施方案中,CD47的IgSF结构域为人IgSF结构域。在一些实施方案中,包含CD47的IgSF结构域的多肽包含人CD47胞外结构域。在一些实施方案中,CD47的IgSF结构域包含氨基酸序列QLLFNKTKSVEFTFSNDTVVIPCFVTNMEAQNTTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTREGETIIELKYRVVS(SEQ ID NO:16)。在一些实施方案中,包含CD47的IgSF结构域的多肽缀合至另一多肽或其他部分,例如Ig Fc区。

[0645] 高亲和力SIRP-αD1结构域变体

[0646] 设想将多种高亲和力SIRP-αD1变体用于本文中。例如,在某些实施方案中,SIRP-αD1变体包含选自由SEQ ID NO:17-52(参见表4)组成的组的氨基酸序列。随后为对SIRP-αD1变体的进一步描述。

[0647] 表4.示例性SIRP-αD1变体氨基酸序列。

[0648]

SEQ ID NO	序列
17	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPS
18	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQG PFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAGTE LSVRAKPS
19	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARELIYNQRQ GPFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGT ELSVRAKPS
20	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQG PFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAGTE LSVRAKPS
21	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQG PFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAGTE LSVRAKPS
22	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLIPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQGP FPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAGTEL SVRAKPS
23	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARELIYNQRQG PFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAGTE LSVRAKPS
24	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQKQG PFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAGTE LSVRAKPS
25	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQREG PFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAGTE LSVRAKPS
26	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQG HFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAGTE LSVRAKPS
27	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQG PFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAGTEL SVRAKPS
28	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQG PFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTE LSVRAKPS
29	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQREG PFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTE LSVRAKPS
30	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARELIYNQRE GPFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGT

[0649]

	ELSVRAKPS
31	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARELIYNQREG PFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTE LSVRAKPS
32	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARELIYNQREG PFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTE LSVRAKPS
33	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARELIYNQREGP FPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTEL SVRAKPS
34	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQREG PFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTE LSVRAKPS
35	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARELIYNQREGP FPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTEL SVRAKPS
36	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRQ GPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPS
37	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPS
38	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPS
39	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPS
40	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPS
41	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPS
42	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCIKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPS
43	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCIKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPS
44	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRQ GPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPS
45	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCIKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPS
46	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPS
47	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPS
48	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG

[0650]

	PFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPS
49	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPS
50	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKE GHIFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPS
51	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPS
52	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQR QGPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITVADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFK SGAGTELSVRAKPS

[0651] 在一些实施方案中,SIRP-αD1变体多肽或其片段以小于1x 10^{-8}M、小于5x 10^{-9}M、小于1x 10^{-9}M、小于5x 10^{-10}M、小于1x 10^{-10}M或小于1x 10^{-11}M的K_D结合CD47。在一些实施方案中,SIRP-αD1变体多肽或其片段以约500nM与100nM之间、约100nM与50nM之间、约50nM与10nM之间、约10nM与5nM之间、约5nM与1nM之间、约1nM与500pM之间、约500pM与100pM之间、约100pM与50pM之间或约50pM与10pM之间的K_D结合CD47。

[0652] 在一些实施方案中,片段包括小于长度为10个氨基酸、长度为约10个氨基酸、长度为约20个氨基酸、长度为约30个氨基酸、长度为约40个氨基酸、长度为约50个氨基酸、长度为约60个氨基酸、长度为约70个氨基酸、长度为约80个氨基酸、长度为约90个氨基酸、长度为约100个氨基酸或长度为超过约100个氨基酸的多肽。片段保留了结合CD47的能力。优选地,SIRP-αD1变体多肽及其片段以比SIRP-α多肽结合CD47更高的亲和力结合CD47。

[0653] 在一些实施方案中,上述SIRP-αD1变体多肽与第二多肽连接或融合。在一些实施方案中,第二多肽包括但不限于Fc多肽、Fc变体、HSA多肽、白蛋白肽、PEG聚合物或前述片段。

[0654] 在一些实施方案中,多肽包含与表4中提供的任何变体具有至少85%序列同一性的高亲和力SIRP-αD1结构域(例如,至少86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性)。

[0655] 在鸡中的抗体产生

[0656] 本公开的某些方面涉及产生结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)的抗SIRP-α抗体的方法。不希望受理论的束缚,据认为鸡的使用是特别有利的,因为鸡SIRP-α与哺乳动物(例如人、猴、小鼠等)SIRP-α之间的差异更大。此外,鸡与哺乳动物之间的系统发育距离允许鉴定与例如人和小鼠SIRP-α多肽交叉反应的抗体,由于自身耐受性,所述鉴定可能难以通过在小鼠中产生抗体来实现。

[0657] 在一些实施方案中,所述方法包括用包含人SIRP-α胞外结构域(例如,D1结构域)的至少一部分的肽免疫鸡。下文描述了示例性免疫方案。用于鸡免疫的方法描述于例如Mettler Izquierdo,S.等人(2016)Microscopy(Oxf)1-16中。在一些实施方案中,所述方法包括从来自免疫鸡的抗体产生细胞获得抗体。

[0658] 在一些实施方案中,所述方法包括检测从细胞获得的抗体与两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽的胞外结构域(例如,D1结构域)之间的结合。例如,在一些实施方案中,使用例如如本文所述的人SIRP-αv1和v2。本文描述了示例性检测技术并且包括但不限于GEM测定(参见例如,WO2009111014和Mettler Izquierdo,S.等人(2016)Microscopy(Oxf)

1-16)、SPR和ELISA。

[0659] 治疗方法

[0660] 本公开的某些方面涉及使用本文所述的抗体治疗疾病或病症。在一些实施方案中,所述疾病为癌症。在一些实施方案中,所述疾病为自身免疫疾病或炎性疾病。

[0661] 例如,本文提供了通过施用有效量的本公开的抗体治疗或延迟个体中癌症的进展的方法。不希望受理论的束缚,据认为本文所述的抗体可用于治疗癌症,例如通过消除癌症的通过CD47:SIRP-α信号轴抑制吞噬作用和免疫监视的能力,或通过其他方式增强免疫系统的激活(诸如通过激活树突状细胞)。

[0662] 在一些实施方案中,将本公开的抗体与化学治疗剂组合施用。

[0663] 在一些实施方案中,将本公开的抗体与第二抗体,例如结合由癌症表达的抗原的抗体组合施用。示例性的由癌症表达的抗原在本领域是已知的并且包括但不限于CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD38、CD52、CD56、CD70、CD74、CD79b、CD123、CD138、CS1/SLAMF7、Trop-2、5T4、EphA4、BCMA、粘蛋白1、粘蛋白16、PTK7、PD-L1、STEAP1、内皮素B受体、间皮素、EGFRvIII、ENPP3、SLC44A4、GNMB、粘连蛋白4、NaPi2b、LIV-1A、鸟苷酸环化酶C、DLL3、EGFR、HER2、VEGF、VEGFR、整联蛋白αVβ3、整联蛋白α5β1、MET、IGF1R、TRAILR1、TRAILR2、RANKL、FAP、腱生蛋白、Le^y、EpCAM、CEA、gpA33、PSMA、TAG72、粘蛋白、CAIX、EPHA3、叶酸受体α、GD2、GD3和包含来自以下的肽的MHC/肽复合物:NY-ESO-1/LAGE、SSX-2、MAGE家族蛋白、MAGE-A3、gp100/pmel17、Melan-A/MART-1、gp75/TRP1、酪氨酸酶、TRP2、CEA、PSA、TAG-72、未成熟层粘连蛋白受体、MOK/RAGE-1、WT-1、SAP-1、BING-4、EpCAM、MUC1、PRAME、存活素、BRCA1、BRCA2、CDK4、CML66、MART-2、p53、Ras、β-连环蛋白、TGF-βRII、HPV E6或HPV E7。例如,在一些实施方案中,将本公开的抗体与结合CD123(也称为IL-3受体α)的单克隆抗体,诸如talacotuzumab(也称为CSL362和JNJ-56022473)组合施用。在一些实施方案中,将本公开的抗体与结合EGFR的单克隆抗体(诸如西妥昔单抗)组合施用。在一些实施方案中,第二抗体包括一种或多种效应功能,例如与免疫细胞上的Fc受体(FcR)结合相关的效应功能,包括但不限于ADCC或ADCP和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)。不希望受理论的束缚,据认为将这种抗体与本公开的抗体组合是特别有利的,例如对于指导表达FcR的白细胞靶向与第二抗体结合的肿瘤细胞,同时也通过SIRP-α抗体抑制由白细胞表达的SIRP-α对由肿瘤细胞表达的任何CD47的应答性是特别有利的。

[0664] 在一些实施方案中,将本公开的抗体与免疫治疗剂组合施用。免疫治疗剂可以是指任何靶向免疫系统并促进免疫系统的治疗性重定向的治疗剂,诸如共刺激途径的调节剂、癌症疫苗、重组修饰的免疫细胞等。在一些实施方案中,免疫治疗剂包括抗体。免疫治疗剂抗体的示例性抗原是本领域中已知的并且包括但不限于PD-1、PD-L1、OX40、CTLA-4、CD137/4-1BB、B7-H3、FZD7、CD27、TNFR2、CCR4、CSF1R、CSF、TIM-3、LAG-3、VISTA、ICOS、CCR2、IDO、A2R、CD39、CD73、TIGIT、CD80、CD47、精氨酸酶、TDO和PVRIG。经批准或在晚期临床试验中的免疫治疗剂包括但不限于伊匹单抗(ipilimumab)、派姆单抗(pembrolizumab)、尼沃鲁单抗(nivolumab)、阿特珠单抗(atezolizumab)、阿维单抗(avelumab)、德瓦鲁单抗(durvalumab)等。不希望受理论的束缚,据认为本公开的抗体由于互补作用机制而适于例如在激活巨噬细胞和$T_{效应}$细胞以靶向肿瘤细胞方面与免疫治疗剂一起使用。在某些实施方案中,将本公开的抗体与PD-L1/PD-1途径的抑制剂,例如抗PD-L1或抗PD-1抗体组合施用。

如本文所证明的,将本公开的抗SIRP-α抗体和PD-L1/PD-1途径的抑制剂的组合施用可以产生协同的抗肿瘤活性。例如,在一些实施方案中,将本公开的阻断性抗SIRP-α抗体与抗PD-1抗体组合施用。在一些实施方案中,将本公开的非阻断性抗SIRP-α抗体与抗PD-1抗体组合施用。在一些实施方案中,将本公开的阻断性抗SIRP-α抗体与抗PD-L1抗体组合施用。在一些实施方案中,将本公开的非阻断性抗SIRP-α抗体与抗PD-L1抗体组合施用。

[0665] 可以包括本领域已知的任何癌症类型,诸如但不限于癌、肉瘤、淋巴瘤、白血病、淋巴瘤和胚细胞瘤。此类癌症的更具体的实例包括但不限于肺癌、鳞状细胞癌、脑肿瘤、成胶质细胞瘤、头颈癌、肝细胞癌、结肠直肠癌(例如结肠癌或直肠癌)、肝癌、膀胱癌、胃癌、胰腺癌、宫颈癌、卵巢癌、泌尿道癌、乳腺癌、腹膜癌、子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肛门癌、阴茎癌、黑色素瘤、多发性骨髓瘤和B细胞淋巴瘤(包括非霍奇金氏淋巴瘤(NHL));急性成淋巴细胞性白血病(ALL);慢性淋巴细胞性白血病(CLL);急性髓性白血病(AML);梅克尔(Merkel)细胞癌;毛细胞白血病;慢性成髓细胞性白血病(CML);和相关的转移。

[0666] 除了癌症疗法之外,本文提供的抗体可用于其中施用单克隆抗体以耗尽细胞的疗法中,例如可用于通过耗尽免疫细胞治疗炎性疾病。为此目的,将本文提供的抗体与第二治疗性抗体,例如与用于耗尽炎性疾病和自身免疫疾病中的B细胞的利妥昔单抗(rituximab);用于多发性硬化症的阿仑珠单抗(alemtuzumab);用于免疫抑制的OKT3;用于骨髓移植调理的其他抗体等组合使用。

[0667] 本文进一步提供了通过施用有效量的本公开的抗体治疗或延迟个体中自身免疫疾病或炎性疾病的进展的方法。适于根据本公开治疗的自身免疫疾病或炎性疾病包括但不限于多发性硬化症、类风湿性关节炎、脊柱关节病、系统性红斑狼疮、抗体介导的炎性或自身免疫疾病、移植物抗宿主病、败血症、糖尿病、牛皮癣、动脉粥样硬化、斯耶格伦氏综合征、进行性系统性硬化症、硬皮病、急性冠状动脉综合征、缺血再灌注、克罗恩氏病、子宫内膜异位症、肾小球肾炎、重症肌无力、特发性肺纤维化、哮喘、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、血管炎和炎性自身免疫性肌炎。在一些实施方案中,本公开的抗体与治疗剂,诸如免疫抑制剂、抗炎剂或免疫调节剂组合施用。在一些实施方案中,本文提供的抗体用于治疗自身免疫疾病或炎性疾病,例如多发性硬化症、类风湿性关节炎、脊柱关节病、系统性红斑狼疮、抗体介导的炎性或自身免疫疾病、移植物抗宿主病、败血症、糖尿病、牛皮癣、银屑病性关节炎、动脉粥样硬化、斯耶格伦氏综合征、进行性系统性硬化症、硬皮病、急性冠状动脉综合征、缺血再灌注、克罗恩氏病、溃疡性结肠炎、子宫内膜异位症、肾小球肾炎、IgA肾病、多囊性肾病、重症肌无力、特发性肺纤维化、哮喘、特应性皮炎、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、血管炎或炎性自身免疫性肌炎。

[0668] 在一些实施方案中,本公开的抗体是药物制剂的一部分,例如所述药物制剂包含抗体和一种或多种药学上可接受的载剂。如本文所述的药物组合物和制剂可以通过将具有所需纯度的活性成分(诸如抗体或多肽)与一种或多种任选的药学上可接受的载剂(Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol,A.编辑(1980))混合以冻干制剂或水溶液形式来制备。药学上可接受的载剂通常在所用剂量和浓度下对接受者无毒,并且包括但不限于:缓冲剂,诸如磷酸盐、柠檬酸盐及其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂;低分子量(小于约10个残基)多肽;蛋白质,诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋

白;亲水性聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸;单糖、二糖及其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,诸如EDTA;糖,诸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇;成盐抗衡离子,诸如钠;金属复合物(例如Zn-蛋白质复合物);和/或非离子表面活性剂,诸如聚乙二醇(PEG)。在一些实施方案中,本公开的抗体是冻干的。

[0669] 实施例

[0670] 通过参考以下实施例将更完全地理解本公开。然而,所述实施例不应视为限制本发明的范围。应理解本文所描述的实施例和实施方案仅出于说明目的,并且将建议本领域技术人员根据它们进行各种修改或变化,并且它们被包括在本申请的精神和范围以及随附权利要求书的范围之内。

[0671] 实施例1:对具有针对SIRP-α蛋白的新型结合特异性的抗体的鉴定

[0672] 方法

[0673] 抗体产生

[0674] 将以下蛋白质用于免疫。每种蛋白质包含与修饰的Fc区(S228P人Ig G4 Fc或命名为IgG1_AAA_N297A的L234A/L235A/G237A/N297A人IgG1 Fc)融合以用于增强免疫原性的人或小鼠SIRP-α肽。

[0675] 表A.免疫原序列。

[0676]

描述	SEQ ID NO	序列
人 sirpa v1 (具有 IgG4_S228P 的Fc 的融合物)	1	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPV GPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSD LTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKG SPDDVEFKSGAGTELSVRAKPSESKYGPPCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
人 sirpa v2 (具有 IgG4_S228P 的Fc 的融合物)	2	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPV GPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSE STKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGS PDTEFKSGAGTELSVRAKPSESKYGPPCPPCPA PEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
小鼠129 sirpa (具有 IgG1_AAA_N297A 的Fc 的融合物)	3	KELKVTQPEKSVSVAAGDSTVLNCTLTSLLPV GPIKWYRGVGQSRLLIYSFTGEHFPRVTNVSD ATKRNNMDFSIRISNVTPEDAGTYYCVKFQKG PSEPDTEIQSGGGTEVYVLAKPSDKTHTCPPCP APEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
小鼠 NOD sirpa (具有 IgG1_AAA_N297A 的Fc 的融合物)	4	TEVKVIQPEKSVSVAAGDSTVLNCTLTSLLPV GPIRWYRGVGQSRQLIYSFTTEHFPRVTNVSD ATKRSNLDFSIRISNVTPEDAGTYYCVKFQRG SPDTEIQSGGGTEVYVLAKDKTHTCPPCPAPE AAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0677] 将上述蛋白质用于免疫野生型鸡、为含有来自人的VH和来自鸡的VL的转基因鸡的SynVH鸡,或具有完全人“HuMAB”免疫球蛋白基因座的鸡(Crystal Bioscience;参见,例如,WO2012162422、WO2011019844和WO2013059159)。用具有交替剂量的抗原的不同方案免疫鸡。示例性免疫方案如下:在第1周用100μg剂量的具有SEQ ID NO:1序列的抗原进行初始免疫,在第3周用100μg具有SEQ ID NO:2序列的抗原加强免疫,在第4周抽取(draw),在第5周用50μg剂量的具有SEQ ID NO:1序列的抗原加强免疫,在第6周抽取,在第7周用50μg具有SEQ ID NO:2序列的抗原加强免疫,并且在第8周抽取。鸡免疫的另外描述可以见于例如Mettler Izquierdo,S.等人(2016)Microscopy(Oxf)1-16中。

[0678] 对抗体克隆的筛选和表达

[0679] 产生克隆并根据GEM测定进行筛选(Mettler Izquierdo,S.等人(2016)Microscopy(Oxf)1-16)。以其中轻链通过接头与重链融合的scFv-Fc形式测试克隆。将scFv与人Fc-IgG1的N末端融合。使克隆在FreeStyle™ 293-FS细胞(Thermo Fisher)中表达,并

且将分泌的培养基用于ELISA和SPR结合表征。

[0680] SPR

[0681] 使用补充有0.01％吐温20(PBST)的磷酸盐缓冲盐水(PBS,pH 7.4)作为运行缓冲液,在ProteOn XPR36仪器(Bio-Rad,Hercules,CA)上使用表面等离振子共振(SPR)检测来测定抗体克隆与各种SIRP蛋白的结合。将含有分泌的抗体的预过滤的培养基直接用于测定。首先,将抗人IgG Fc(BR-1008-39,GE Healthcare)胺偶联到GLC传感器芯片上以产生用于抗体的捕获表面。实现固定化抗人IgG Fc的约4000RU/液体池(flow cell)。使用与以下相同的方法筛选每个克隆。表C中列出了用于筛选的SIRP分析物。

[0682] (1)将约5-10uL的在10mM乙酸钠缓冲液(pH4.5)中的预过滤培养基以30ul/min注射2分钟;

[0683] (2)使缓冲液以100uL/min流动1分钟;

[0684] (3)将SIRP分析物(100nM)以100uL/min注射1分钟,然后进行10分钟的解离循环;

[0685] (4)通过在两个方向上以25uL/min使3M氯化镁流动1分钟来再生芯片表面;以及

[0686] (5)使缓冲液以100uL/min流动1分钟。

[0687] 通过从反应点数据(固定的抗人IgG Fc)中减去点间数据(不含固定的抗人IgG Fc),并且然后从分析物注射的响应中减去缓冲液“空白”分析物注射的响应来双重参考生物传感器数据。使用计算的1:1 Langmuir和K_{off}(1/S)值拟合结合。所有SPR测定均在25℃下进行。

[0688] ELISA

[0689] 进行ELISA测定以筛选抗体克隆与SIRP分析物和SIRP-α:CD47复合物的结合。简而言之,将96孔平底高结合板(Greiner Bio-One#655061)在单独的ELISA实验中用以下蛋白质包被:抗生物素蛋白(Sigma A9275)(2ug/ml)然后是生物素化的人SIRPαV1(0.5ug/ml)、抗生物素蛋白(2ug/ml)然后是人SIRPαV2生物素(0.5ug/ml)、小鼠NOD SIRPα(2ug/ml)、人SIRPγ(2ug/ml)、CD47(2ug/ml)然后是高亲和力人SIRPαV1和V2(各自2ug/ml)或抗hFc(2ug/ml Rockland 609-4103)。用PBSTM(磷酸盐缓冲盐水pH 7.4,0.05％吐温20,3％牛奶)封闭板,在室温下添加50ul含有分泌的scFv-Fc的上清液,持续1小时。用PBST洗涤板。在室温下添加50ul抗hFc-HRP(1:5000Rockland 609-4303),持续1小时。用PBST洗涤板。将TMB显影5分钟并用1N HCl终止。使用BioTek Synergy H1 Hybrid读取器读取ELISA结果。用于测定并在此描述的对应蛋白质为:人SIRPαV1(SEQ ID NO:5);人SIRPαV2(SEQ ID NO:6);食蟹猴SIRPa(SEQ ID NO:11);小鼠NOD SIRPα(SEQ ID NO:8);人SIRPγ(SEQ ID NO:15);CD47(SEQ ID NO:16);高亲和力SIRPαV1(SEQ ID NO:42);高亲和力SIRPαV2(SEQ ID NO:17)。

[0690] 结果

[0691] SIRP-α是人、猴和小鼠中的高度多态性蛋白。例如,已经在NOD和C57BL/6小鼠品系中的SIRP-α蛋白之间鉴定了20种氨基酸差异,并且这些多态性导致与这些小鼠品系中的人造血干细胞的CD47结合和植入相关的功能性后果。在人中,已鉴定出至少10个不同的SIRPA等位基因,并且在预测的CD47结合残基中发现了区分等位基因的氨基酸变异(Takenaka,K.等人(2007)Nat.Immunol.8:1313-23)。图1A中提供了10种人变体SIRP-α蛋白序列的比对。鉴定具有不同结合特异性以及种内和/或种间交叉反应性的抗体对于开发对人类群体有效的临床候选物以及在各种动物模型中表征这些候选物具有重要意义。

[0692] 将来自人(v1和v2变体)、食蟹猴和小鼠129的SIRP-α蛋白的D1结构域比对以鉴定保守氨基酸(图1B)。虽然如图1A所示食蟹猴和小鼠129序列与人v1和v2比人变体v3-v10更加趋异,但这些比对证明了所有四种蛋白质中的一定程度的保守性,这表明可能鉴定交叉反应性抗体。然而,每种蛋白质也显示出独特的多态性,这表明特异性抗体也是可能的。

[0693] 如图1C所示,还比对了代表多种人变体和小鼠品系(例如129、NOD、C57BL/6和BALB/c)的SIRP-α蛋白序列。R1、R2、R3描绘了位于SIRPα与CD47的结合位点周围的残基。这些比对证明,R2和R3在人和小鼠序列中和人与小鼠序列之间比R1显著更加趋异。不希望受理论的束缚,据认为结合特异性鼠类SIRP-α蛋白的抗SIRP-α抗体可用于例如药代动力学研究(诸如使用CD-1小鼠的那些研究)、转基因小鼠的开发(例如C57BL/6背景中的那些研究),和/或SCID(例如,在NOD背景中)或同系(例如,在BALB/c或C57BL/6背景中)小鼠模型中的表征。

[0694] 也将上述哺乳动物SIRP-αD1结构域与鸡SIRP-α的D1结构域比对,所述鸡SIRP-α的D1结构域包含序列DFKLQQPQSSVVVIKGDTLTLNCTASGSGPIGAVKWVKGWGSDNQTVYEHKGSFPRVMRAVPDPTNDFTIRISNVSLEDAGTYYCVKLRKGIVDDVVFTR GGGTEVSVHA(SEQ ID NO:84)(图2)。与哺乳动物SIRP-α序列相比,发现鸡SIPRα的序列明显更加趋异。表B中示出了各种SIRP-α蛋白之间序列同一性百分比的成对比较。

[0695] 表B.SIRP-α蛋白之间的成对序列同一性(%)。

[0696]

	人v1 (SEQ ID NO:5)	人v2 (SEQ ID NO:6)	小鼠 (SEQ ID NO:7)	食蟹猴 (SEQ ID NO:11)	鸡 (SEQ ID NO:84)
人v1 (SEQ ID NO:5)	--	89	66	91	46
人v2 (SEQ ID NO:6)	89	--	68	88	41
小鼠 (SEQ ID NO:7)	66	68	--	72	47
食蟹猴	91	88	72	--	47

[0697]

(SEQ ID NO:11)					
鸡 SEQ ID NO:84)	46	41	47	47	--

[0698] 不希望受理论的束缚,据认为这种趋异性将提供产生跨多种哺乳动物SIRP-α蛋白交叉反应的抗体的独特机会。例如,由于免疫耐受性,可能难以产生与来自小鼠宿主的鼠类序列交叉反应的抗SIRP-α抗体。此外,鸡与哺乳动物免疫系统之间的较大趋异性可能导致抗体产生的更大多样性。

[0699] 为了鉴定具有对SIRP-α蛋白的新结合特异性的抗体,如上所述以scFv-Fc形式表

征抗体克隆。使用ELISA测试每种抗体克隆在0.008与1.0μg/mL之间的浓度下对以下靶标的结合:人SIRP-αv1的D1结构域(根据SEQ ID NO:5的序列)、人SIRP-αv2的D1结构域(根据SEQ ID NO:6的序列)、食蟹猴SIRP-α变体的D1结构域(根据SEQ ID NO:11的序列),小鼠129SIRP-α的D1结构域(根据SEQ ID NO:7的序列)和人SIRPγ同种型(根据SEQ ID NO:15的序列)。如下文所用,抗体克隆由克隆ID号表示。此外,记号"S[克隆号]"是指sc-Fv-Fc形式;记号"AB[克隆号]"是指完整的IgG抗体形式;记号"AB[克隆号]a"是指具有L234A、L235A、G237A和N297A突变的人IgG1;"AB[克隆号]b"是指小鼠IgG1 N297A形式;"AB[克隆号]c"是指小鼠IgG2a形式;"[克隆号]Fab"是指Fab片段形式。

[0700] 此外,表征了每种抗体克隆与使用与CD47的IgSF结构域(根据SEQ ID NO:16的序列)结合的两种高亲和力SIRP-α变体(SEQ ID NO:42和SEQ ID NO:18)的1:1混合物制备的预复合物的结合。有利地,因为野生型SIRP-αD1结构域与CD47的IgSF结构域之间的亲和力相对较低,所以使用包含高亲和力SIRP-α变体的复合物允许鉴定与同时与CD47复合的SIRP-α结合的抗体(例如,非阻断性抗体)。它还允许鉴定不能结合同时与CD47复合的SIRP-α的抗体,这表明所述抗体和CD47竞争SIRP-α上的相同结合界面(例如,阻断性抗体)。使用的两个SIRPα变体(SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:19)分别对应于使用人SIRPα多肽变体1和变体2工程改造的高亲和力SIRPαD1结构域。

[0701] 图3A示出了克隆S130(SEQ ID NO:71)的ELISA结合曲线。该克隆展示出跨哺乳动物SIRP-α蛋白的交叉反应性,其中与多种人变体以及食蟹猴和鼠类蛋白结合(图3B)。然而,其结合也是同种型特异性的,因为未观察到人SIRPγ的结合。该克隆也被鉴定为SIRP-α与CD47之间相互作用的阻断剂,因为未检测到与含有与高亲和力SIRP-α变体结合的CD47的预形成复合物的结合。

[0702] 图4A示出了克隆S121(SEQ ID NO:75)的ELISA结合曲线。该克隆也展示出跨哺乳动物SIRP-α蛋白的交叉反应性,但它也与人SIRPγ结合,这表明了泛同种型结合(图4B)。该克隆也被鉴定为SIRP-α与CD47之间相互作用的阻断剂。

[0703] 图5A示出了克隆S137(SEQ ID NO:73)的ELISA结合曲线。类似于图3A和3B中所示的克隆,该克隆展示出跨哺乳动物SIRP-α蛋白的交叉反应性以及同种型特异性结合,因为它不与人SIRPγ结合(图5B)。然而,该克隆被鉴定为SIRP-α与CD47之间相互作用的非阻断剂,因为它与预形成复合物结合。

[0704] 图6A示出了克隆S128(SEQ ID NO:70)的ELISA结合曲线。该克隆展示出跨灵长类动物SIRP-α蛋白的同种型特异性交叉反应性,但它不与鼠类蛋白结合(图6B)。该克隆也被鉴定为SIRP-α与CD47之间相互作用的阻断剂。

[0705] 图7A示出了克隆S135(SEQ ID NO:72)的ELISA结合曲线。与图6A和6B中所示的克隆类似,该阻断性克隆展示出跨灵长类SIRP-α蛋白的交叉反应性,但它不与鼠类蛋白结合(图7B)。与克隆S128不同,发现该克隆与人SIRPγ交叉反应。

[0706] 图8A示出了克隆S126(SEQ ID NO:69)的ELISA结合曲线。发现该克隆是人特异性的,与两种人SIRP-α变体结合但不与其他肽结合(图8B)。该克隆被鉴定为SIRP-α与CD47之间相互作用的阻断剂。

[0707] 图9A示出了克隆S138(SEQ ID NO:74)的ELISA结合曲线。该克隆仅结合人SIRP-α变体1,这证明了高度的种内和种间结合特异性(图9B)。该克隆被鉴定为SIRP-α与CD47之间

相互作用的阻断剂。

[0708] 总之,表征了对SIRP-α蛋白具有多种独特结合特异性的新型抗体。图10A提供了示出从产生鸡抗体的鸡获得的scFv-Fc可变结构域序列的比对(指示出了CDR)。图10B提供了示出从产生人抗体的鸡获得的scFv-Fc可变结构域序列的比对(指示出了CDR)。这些研究强调了鸡作为用于鉴定抗SIRP-α抗体的抗体多样性来源的实用性。

[0709] 为了评估抗体是否可以阻断SIRPα与CD47的结合,除了通过ELISA筛选之外,还进行SPR筛选。使用如上所述制备的抗人IgG-Fc固定的GLC表面进行抗体捕获。将工程改造为以高nM亲和力结合CD47(SEQ ID NO:16)的SIRPα变体(SEQ ID NO:17)而不是野生型SIRP-α用于筛选。这是因为野生型SIRP-α变体对CD47具有低的uM结合亲和力,这不允许稳定的复合物相互作用以评估夹层形成。将补充有0.01%吐温20(PBST)的磷酸盐缓冲盐水(PBS,pH7.4)作为运行缓冲液。

[0710] 首先,将大约5-10uL的在10mM乙酸钠缓冲液(pH4.5)中含有抗体的预过滤培养基以30ul/min注射2分钟,并且在抗人IgG-Fc固定的GLC表面上捕获,随后以100uL/min进行1分钟的短暂缓冲液流动。接下来,将100nM的在0、20、55、500或1500nM的不同浓度下与CD47(SEQ ID NO:16)预混合的高亲和力SIRP-α变体(SEQ ID NO:17)分别以100uL/min注射1分钟,解离时间为10分钟。对于下文描述,SIRP-α是指SEQ ID NO:17。

[0711] 对于不阻断SIRP-α与CD47结合的抗体,预期其与SIRP-α/CD47复合物结合并形成夹层。因此,在CD47浓度增加时,由于夹层形成增加,共振相应增加。发现抗体克隆S123与该特征相匹配。图12A中示出了针对S123的特征的实例。

[0712] 对于阻断SIRP-α与CD47的结合的抗体,所述特征不同于非阻断性抗体。在CD47浓度增加时,将预期较少的SIRP-α分子可用于与所述抗体结合,因为所述抗体竞争与CD47相同的结合位点并且大多数/所有SIRP-α与CD47复合。因此,可以预期共振(RU)随着混合物中CD47浓度的增加而降低。发现抗体克隆S119与该特征相匹配。图12B中示出了针对S119的特征的实例。

[0713] 除了阻断剂和非阻断剂外,还分离出具有“踢脱性”特征的第三类抗体。发现抗体克隆S118与该特征相匹配。图12C中示出了针对S118的特征的实例。在较高浓度的CD47(例如500nM和1500nM CD47)下,在抗体、SIRP-α和CD47之间形成瞬时夹层,如通过随后随时间衰减的300RU的较高共振所指示的。这种共振单位的衰减表明所述抗体能够与复合物中的SIRP-α结合,并且“将SIRP-α从与CD47的结合踢脱”。

[0714] 使用SPR测定每个克隆与每种SIRP分析物的结合的k_{off}速率(表C)。本文已经描述了SPR筛选条件,并且使用Langmuir动力学拟合确定Koff值。CD47阻断特性(阻断性、非阻断性、踢脱性)描述于表C的最后一列中。根据其对应的SEQ ID NO鉴定每种抗体。SIRP分析物序列如下:CV1-3,SEQ ID NO:18;v1,SEQ ID NO:5;v2,SEQ ID NO:6;cyno1,SEQ ID NO:11;cyno2,SEQ ID NO:12;m129,SEQ ID NO:7;NOD,SEQ ID NO:8;BL6,SEQ ID NO:9;sirpb1,SEQ ID NO:13;sirpg,SEQ ID NO:15。

[0715] 表C.Langmuir动力学拟合(k_{off} 1/s)

[0716]

克隆	SEQ ID NO	CV1-3	v1	v2	cyno1	cyno2	m129	NOD	BL6	sirpb1	sirpg	cd47阻断性
S1	53	2.19E-03	2.33E-03	NB	3.48E-02	4.06E-03	2.12E-03	7.89E-03	1.70E-03	NB	2.19E-03	阻断
S2	54	1.49E-01	2.52E-03	NB	LB	5.59E-03	1.42E-02	NB	8.85E-03	-	-	阻断
S8	55	LB	1.14E-04	1.42E-04	4.15E-03	6.12E-04	1.29E-02	1.79E-03	6.96E-03	9.30E-05	3.23E-04	阻断
S9	56	1.68E-04	1.29E-04	1.40E-04	3.38E-04	2.70E-04	NB	1.81E-02	NB	1.03E-04	7.10E-03	阻断
S11	57	2.69E-03	3.35E-05	1.86E-04	1.11E-03	3.92E-03	NB	LB	LB	1.59E-04	3.86E-04	阻断

[0717]

S12	58	5.15E-02	1.01E-04	1.68E-04	1.17E-03	5.24E-04	NB	2.60E-02	1.98E-03	1.73E-04	3.07E-04	阻断
S13	59	LB	2.07E-04	2.91E-04	1.84E-03	5.01E-04	4.93E-02	3.83E-03	1.03E-02	1.35E-04	4.02E-04	阻断
S14	60	3.33E-03	5.42E-05	7.64E-05	6.49E-04	4.52E-04	3.73E-02	4.98E-03	1.81E-02	6.01E-05	1.26E-04	阻断
S115	61	4.84E-04	7.86E-06	1.95E-05	2.22E-05	6.91E-05	NB	NB	NB	-	3.34E-05	踢脱
S116	62	4.80E-04	2.84E-05	5.07E-05	7.01E-05	1.20E-04	NB	NB	NB	-	8.25E-05	踢脱
S117	63	2.75E-04	1.20E-05	3.40E-05	1.83E-05	5.92E-05	NB	NB	NB	-	4.30E-06	踢脱
S118	64	2.47E-04	9.17E-06	4.12E-05	6.97E-05	8.06E-05	NB	NB	NB	1.31E-05	1.13E-05	踢脱
S119	65	5.65E-04	4.15E-04	1.48E-04	2.34E-04	3.10E-04	NB	LB	NB	4.28E-04	3.95E-04	阻断
S120	66	6.26E-04	4.04E-04	1.49E-04	2.36E-04	3.14E-04	NB	LB	NB	4.25E-04	3.93E-04	阻断
S122	67	6.63E-04	4.98E-04	2.26E-04	2.66E-04	3.27E-04	NB	LB	NB	3.52E-04	3.61E-04	阻断
S123	68	1.31E-03	1.55E-03	NB	1.57E-03	1.54E-03	NB	NB	NB	NB/LB	1.43E-03	非阻断
S126	69	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	-
S128	70	NB	4.59E-03	2.11E-03	1.52E-02	1.47E-02	NB	NB	NB	4.21E-03	NB	-
S130	71	3.73E-03	2.82E-03	2.08E-02	LB	LB	LB	NB	NB	LB	5.06E-03	阻断
S135	72	3.63E-03	6.58E-04	8.78E-05	4.73E-04	3.88E-04	NB	NB	NB	5.21E-04	1.46E-03	阻断
S137	73	1.37E-03	1.65E-03	1.88E-03	2.04E-03	1.79E-03	5.15E-04	4.43E-04	4.63E-03	3.76E-03	1.48E-02	非阻断
S138	74	LB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	-

[0718] NB＝无结合

[0719] LB＝非常低的结合(K_{off}无法通过Langmuir拟合计算)

[0720] -＝未筛选的

[0721] 这些数据表明,鉴定了跨不同物种和种内变体对SIRP-α蛋白具有多种结合特异性的抗体克隆。通过产生针对人v1(SEQ ID NO:5)、人v2(SEQ ID NO:6)、NOD小鼠(SEQ ID NO:8)和食蟹猴SIRP-αD1结构域(SEQ ID NO:11),以及人SIRPγ(SEQ ID NO:15)和与CD47的IgSF结构域(SEQ ID NO:16)结合的两种高亲和力SIRP-α变体(SEQ ID NO:17和19)的1:1混合物的预形成复合物的结合曲线,使用如上所述的ELISA进一步表征所选抗体的结合特异性。

[0722] 表D中提供了测试的scFv-Fc克隆的序列。

[0723] 表D.scFv-Fc序列。

[0724]

克隆	框架/CDR	SEQ ID NO	序列
S1	鸡	53	ALTQPASVSANPGETVEITCSGGGSNNAYGWFQQ KSPGSAPLTVIYDNGKRPSDIPSRFSGSKSDSTGTLT

[0725]

			ITRVQAEDEAVYYCGSADNSGAGVFGAGTTLTVL GQSSRSSGGGGSSGGGGSMAAVTLDESGGGLQTP GGALSLVCKGSGFTFSSHAMNWVRQAPGKGLEW VAGISSDGRFTYYGAAVQGRATISRDNGQSTVRLQ LNNLRAEDTATYYCTKNGGCGSGGDLDCIDAWG HGTEVIVSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK V
	S2	鸡	54	AVTQPASVSANPGETVRITCSGDSSSYYSWHQQKS PGSAPVSVIYSNTDRPSDIPSRFSGSASGSTATLTIT GVQAEDEAVYFCGAYDSSSDSDIFGAGTTLTVLGQ SSRSSGGGGSSGGGGSMAAVTLDESGGGLQTPGG GLSLVCKASGFDFSNFNMAWVRQGPGKGLEYVA EISDTGSTPYYGSAVQGRATISRDNGQSTVRLQLN NLRAEDTGTYFCTRNFGSSVSSIDAWGHGTEVIVS SSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV
	S8	鸡	55	AVTQPSSVSANPGETVEITCSGSSTYYGWYQQKSP GSAPVTVIYDNDKRPSDIPSRFSGSKSGSTHTLIITG VQVEDEAVYFCGNEDNNYVAIFGAGTTLTVLGQS SRSSGGGGSSGGGGSMAAVTLDESGGGLQTPGGA LSLVCKASGFTFSSYNMGWVRQAPGKGLEFVAGI YASGSSTDTDTTYGPAVAGRATISRDNGQSTVRLQ LNNLRAEDTGTYYCAKAAGGCSTHTCTAYIADSID AWGHGTEVIVSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGKV
	S9	鸡	56	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGDNSAHYYYGWYQ QKSPGSAPVTVIYYNDKRPSGIPSRFSGSASGSTAT LIITGVQVEDEAVYFCGSADSSNPAIFGAGTTLTVL GQSSRSSGGGGSSGGGGSMAAVTLDESGGGLQTP GRALSLVCRGSGFSISSYNMGWVRQAPGKGLEFIA SIGSDGSSTHYAPAVKGRATITRDVGQSTVRLQLN NLRAEDTGTYFCAKDAYQCSYATCNDYLDTIDAW GHGTEVIVSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI

[0726]

			AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG KV
S11	鸡	57	AVTQPASVSANPGETVKITCSGSSSGSYGWYQQKS PGSAPVTLIYETNKRPSNIPSRFSGSKSGSTATLTIT GVQADDEAVYYCGSEDSSTYLSIFGAGTTLTVLGQ SSRSSGGGGSSGGGGSMAAVTLDESGGGLQTPGG ALSLVCKASGFTFSSFNMGWVRQAPGKGLEFVAA IYSGNSAEYGAAVQGRATISRDNGQSTVRLQLNNL RAEDTGIYFCAKDAGSGCYSGVCAGTSSIDAWGH GTEVIVSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGEEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV
S12	鸡	58	AVTQPASVSANPGETVKITCSGDSSYYGWYQQKS PGSAPVTVIYDDNKRPSNIPSRFSGSKSGSTGTLTIT GVQADDEAVYFCGNEDNSYVAIFGAGTTLTVLGQ SSRSSGGGGSSGGGGSMAAVTLDESGGGLQTPGG ALSLVCKASGFTFSSYNMGWVRQAPGKGLEFVAG IYIASGDLGTTYGAAVQGRATISRDDGQSTVRLQL NNLRAEDTGTYFCAKSAGGCSAHSCDTYIADSIDA WGHGTEVIVSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGKV
S13	鸡	59	AVTQPASVSANPGETVKITCSGSSSYYGWYRQKSP GSAPVTLIYDNDKRPSGIPSRFSGSKSGSTNTLTITG VQADDEAVYYCGNEDNSYVGIFGAGTTLTVLGQS SRSSGGGGSSGGGGSMAAVTLDESGGGLQTPGGA LSLVCKASGFTFSSYNMGWVRQAPDKGLEFVAGI YTGSDAGLSTTYGAAVQGRATISRDNGQSTVRLQ LNNLGAEDTGIYFCTKSAGGCSDYNCDAYIADSID AWGHGTEVIVSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGKV
S14	鸡	60	AVTQPASVSANLGETVKITCSGDSSYYGWYQQKA PGSAPVTLIYDNDKRPSNIPSRFSGSKSGSTATLTIT GVQADDEAVYYCGNEDMNYVGIFGAGTTLTVLG QSSRSSGGGGSSGGGGSMAAVTLDESGGGLQTPG GALSLVCKASGFTFNSYNMGWVRQAPGKGLEFV AGIYSAGGDTSTTYGAAVNGRATISRDNGQSTVRL QLNNLRAEDTGIYFCAKAAGGCTAHNCDAYIADSI

[0727]

			DAWGHGTEVIVSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGKV
S115	人	61	ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVGSKLAW HQQKPGQAPRLLIYDATNRATGISDRFSGSGSGTD FTLTISSLQTEDSAVYYCQQYYYWPPYRFGGGTKV EIKGQSSRSSGGGGSSGGGGSDVQLVESGGGVVRP GESLRLSCAASGFSFSSYAMNWVRQAPGEGLEWV SRINSGGGGTDYAESVKGRFTISRDNSENTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKQYDWNSFFDYWGLGALVT VSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV
S116	人	62	ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVGSKLAW HQQKPGQAPRLLIYDATNRATGISDRFSGSRSGTD FTLTISSLQTEDSAVYYCQQYYYWPPYRFGGGTKV EIKGQSSRSSGGGGSSGGGGSDVQLVESGGGVVRP GESLRLSCAASGFSFSSYAMNWVRQAPGEGLEWV SRINSGGGGTDYAESVKGRFTISRDNSENTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKQYDWNSFFDYWGLGALVT VSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV
S117	人	63	ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVGSKLAW HQQKPGQAPRLLIYDATNRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQTEDSAVYYCQQYYYWPPYRFGGGTKV EIKGQSSRSSGGGGSSRGGGSDVQLVESGGGVVRP GESLRLSCAASGFSFSSYAMNWVRQAPGEGLEWV SRINSGGGGTDYAESVKGRFTISRDNSENTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKQYDWNGFFDYWGLGALVT VSSSLDPKSSDKTHTCPPCPVPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV
S118	人	64	ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVGSKLAW HQQKPGQAPRLLIYDASRRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQTEDSAVYYCQQYYYWPPYRFGGGTKV EIKGQSSRSSGGGGSSGGGGSDVQLVESGGGVVRP

[0728]

			GESLRLSCAASGFSFSSYAMNWVRQAPGEGLEWV SRINSGGGGTDYAESVKGRFTISRDNSENTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKQYDWNGFFDYWGLGALVT VSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV
S119	人	65	EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNVKNDLAW YQQRPGQAPRLLIYAARIRETGIPERFSGSGSGTEFT LTITSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEI KGQSSRSSGGGGSSGGGGSDVQLLESGGGVVQPG GSLRLSCAASGFSFSNFAMTWVRQAPGEGLEWVS TIGSGDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWGLGTLVT VSSSLDPKSSDKPHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV
S120	人	66	EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNVKNDLAW YQQRPGQAPRLLIYAARIRETGIPERFSGSGSGTEFT LTITSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEI KGQSSRSSGGGGSSGGGGSDVQLVESGGGVVQPG GSLRLSCAASGFSFSNFAMTWVRQAPGEGLEWVS TIGSGDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWGLGTRVT VSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV
S122	人	67	EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNVKNDLAW YQQRPGQAPRLLIYAARIRETGIPERFSGSGSGTEFT LTITSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEI KGQSSRSSGGGGSSGGGGSDVQLVESGGGVVRPG ESLRLSCAASGFRFSNFAMTWVRQAPGEGLEWVS TIGSGDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWGLGTLVT VSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV
S123	人	68	EIVLTQSPGTLSVSPGERVTLTCRASQGIAGKIAWY QQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPGRFSGSGSGTEFT

[0729]

			LTITSLQSEDFAVYYCQQHYDWSPLTFGGGTKVEI KGQSSRSSGGGGSSGGGGSDVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCTASGFTFRNYGMSWVRQAPGEGLEWVS ASSGSGSTYYTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCAKVTWNNFFDYWGLGTLVTVSSS LDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV
	S126	人	69	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQSIGSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDATNRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQTEDSAVYYCQQYYYWPPYRFGGGTKV EIKGQSSRSSGGGSSSGGGGSDVQLVESGGGVVRP GESLRLSCAASGFTFSNYDMTWVRQAPGEGLEWV SGISGNGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAMNRWWFDYWGLGTLVTVSS SLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV
	S128	人	70	ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVGSKLAW HQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQTEDSAVYYCQQYYYWPPYRFGGGTKV EIKGQSSRSSGGGGSSGGGGSDVQLVESGGGVVRP GESLRLSCAASGFSFRSYAMNWVRQAPGEGLEWV SRIDSGGGGTDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKQYDWNSFFDYWGLGAPVT VSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV
	S130	人	71	EIVLTQSPGTLSVSPGERATLSCRASQNVRSDLAW YQQKLGQAPRLLIYDANTRATDIPDRFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQHYYDWPPVTFGGGTKV EIKGQSSRSSGGGGSSGGGGSDVQLVESGGGVVRP GESLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGEGLEWV SLITTNGDGAYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAIYYCAKDGAAHYYDIFFDYWGLGTP VTVSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV

[0730]

S135	人	72	EIVLTQSPATLSVSPGERVTFSCRASQNVRSDIAWY QQKPGQAPRLLIYAASSRDTGIPDRFSGSGSGTDFT LTISSLQSEDFGVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEI KGQSSRSSGGGGSSGGGGSDVQLVESGGGVVRPG ESLRLSCAASGFSFSIYAMSWVRQAPGEGLEWVST IGADDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKDSTVGWSGDFFDYWGLGTLVTV SSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV
S137	人	73	ETVLTQSPGTLTLSPGERATLTCRASQSVYTYLAW YQEKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTVF TLTISSLQSEDFAVYYCQQYYDRPPLTFGGGTKVEI KGQSSRSSGGGGSSGGGGSDVQLVESGGGVVRPG ESLRLSCAASGFTFSSYDMNWVRQAPGEGLEWVS LISGSGEHYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKENNRYRFFDDWGLGTLVTVSS SLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV
S138	人	74	EIVLTQSPGTLSVSPGERVILTCRASQSVDTYNLAW YQQKPGQAPRLLIYDLSTRATGIPDRFSGSGSGTEF TLTINSLEPEDFAVYYCHQYYDWPPYTFGGGTKVE IKGQSSRSSGGGGSSGGGGSDVQLVESGGGVVRPG ESLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAPGEGLEWVS GISGRGGDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAIYYCAKGTWNYGSFDYWGLGTLVT VSSSLDPKSSDKTDTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG V
S121	人	75	EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNVKNDLAW YQQRPGQAPRLLIYAARIRETGIPERFSGSGSGTEFT LTITSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEI KGQSSRSSGGGGSSGGGGSDVQLVESGGGVVQPG GSLRLSCAASGFSFSNFAMTWVRQAPGEGLEWVS TIGSGDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWGLGTLVT VSSSLDPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKV

[0731] 不希望受理论的束缚,据认为在人、食蟹猴和/或鼠类蛋白中具有交叉反应性结合的抗体可以允许在动物模型和临床测试中表征抗体。具有同种型和/或变体特异性结合的抗体可用于针对特定人类群体的个性化医学方法和/或对特定目标变体的研究。除了分析种内和种间结合特异性之外,本文所述的方法还允许鉴定阻断或不阻断SIRP-α与CD47之间的结合的抗体,以及“将SIRPα从与CD47的结合踢脱”的抗体。

[0732] 实施例2:对具有针对SIRP-α蛋白的新结合特异性的另外的抗体的鉴定

[0733] 方法

[0734] K_D的测定

[0735] 根据以下方案使用两种方法,即抗体的直接固定(通过GLC芯片)或通过生物素化的蛋白A捕获(通过NLC芯片)分析抗SIRPα抗体与来自多种物种(人v1、人v2、食蟹猴、小鼠129、BL6、BALBc、NOD)的SIPRα、SIRPβ和SIRPγ的相互作用。所有实验均在25℃下使用配备有GLC或NLC传感器芯片的基于SPR的ProteOn XPR36生物传感器(BioRad,Inc,Hercules,CA)进行。如实施例1中所述,使用FreeStyle™ 293-FS细胞(Thermo Fisher)表达抗体。通过标准蛋白A亲和柱色谱法进行纯化,并且将洗脱的抗体储存在PBS缓冲液中。

[0736] 运行缓冲液为具有0.01%吐温20(PBST+)的PBS(pH 7.4)。将所有分析物均以其标称浓度使用,所述标称浓度如通过A280吸光度和使用其摩尔计算的消光系数所确定。如在别处所述,以“一步法(one-shot)”动力学模式注入分析物(参见例如,Bravman,T.等人(2006)Anal.Biochem.358:281-288)。

[0737] 对于使用GLC芯片的方法,将分析物注入并使其流过使用Proteon胺偶联试剂盒固定(约1000RU)在GLC芯片上的抗SIRPα抗体。对于固定步骤,用1/100稀释的EDAC/Sulpho-NHS1:1(Biorad)以25μL/min激活GLC芯片300s。将抗SIRPα抗体在pH 4.5的10mM乙酸钠缓冲液中稀释至80nM浓度,并且以30μL/min固定至芯片,持续50s。用乙醇胺以25μL/min灭活芯片300s。将分析物(例如,来自不同物种的SIRP-α、SIRP-β、SIRP-γ)以标称浓度100、33、11、3.7、1.2和0nM在“一步法”动力学模式中注入。以100μL/min监测缔合时间持续90s,并监测解离时间持续1200s。用Pierce IgG洗脱缓冲液/4M NaCl的2:1v/v共混物再生表面。

[0738] 可替代地,使用通过NLC芯片的抗体捕获进行K_D测定。在这种情况下,将15ug/mL生物素化的蛋白A(Thermofisher)以30uL/min在NLC芯片上注入120s,以获得约1000-1200RU的固定化响应。接下来,将抗SIRPα抗体(约160nM)以30uL/min注入80s。随后将分析物(来自不同物种的SIRPα、SIRP-β和SIPR-γ)以标称浓度100、33、11、3.7、1.2和0nM在“一步法”动力学模式注入。以25μL/min监测缔合时间持续60s,并监测解离时间持续120s。用Pierce IgG洗脱缓冲液/4M NaCl的2:1v/v共混物再生表面。

[0739] 通过从反应点数据(固定的蛋白)中减去点间数据(不含固定的蛋白),并且然后从分析物注射的响应中减去缓冲液“空白”分析物注射的响应来双重参考生物传感器数据。将双参考数据全局拟合至简单的Langmuir模型,并且K_D值由表观动力学速率常数的比率计算($K_D = k_d/k_a$)。

[0740] 结果

[0741] 如上所述,进一步表征三种代表性抗体(阻断性、非阻断性和“踢脱性”抗体)与各种SIRP-α、-β、-γ蛋白的结合。这三种抗体含有人序列并且来源于HuMab鸡免疫实验。将这些抗体作为具有L234A、L235A、G237A和N297A突变的全长人IgG1抗体进行测试。在这些实验中检查的SIRP-α蛋白对应于人SIRP-αv1(SEQ ID NO:5)、人SIRP-αv2(SEQ ID NO:6)、食蟹猴SIRP-α(SEQ ID NO:11)、人SIRPβ同种型1(SEQ ID NO:13)、人SIRPβ同种型2(SEQ ID NO:14)和人SIRPγ同种型1(SEQ ID NO:15)。人SIRPβ同种型1(SEQ ID NO:13)在本领域中也称为SIRPβ1同种型1。

[0742] 下表E中示出了针对三种抗体获得的K_D值。

[0743] 表E.K_D值(M)的汇总

[0744]

		v1	v2	食蟹猴	β同种型1	β同种型2	γ同种型1
耗脱剂	AB132a	$4.26x10^{-10}$	$1.86x10^{-9}$	$2.41x10^{-9}$	$1.31x10^{-10}$	$1.64x10^{-10}$	$5.19x10^{-10}$
阻断剂	AB119a	$1.98x10^{-10}$	$7.99x10^{-11}$	$1.45x10^{-10}$	$3.42x10^{-10}$	$3.76x10^{-10}$	$8.86x10^{-10}$
非阻断剂	AB136a	$6.88x10^{-10}$	$3.22x10^{-9}$	$2.65x10^{-9}$	$4.35x10^{-9}$	$2.27x10^{-9}$	$1.20x10^{-7}$

[0745] 接下来,如上所述测定各种抗体克隆与选择的小鼠SIRP-α蛋白的结合动力学。测试的小鼠蛋白包括BALBc(SEQ ID NO:10)、BL6(SEQ ID NO:9)、NOD(SEQ ID NO:8)和m129(SEQ ID NO:7)SIRP-α蛋白。结果汇总在下表F-I中。标记为“c”的抗体克隆作为全长小鼠IgG2a抗体进行测试;标记为“a”的抗体克隆作为具有L234A、L235A、G237A和N297A突变的全长人IgG1抗体进行测试。

[0746] 表F.选择的抗体与BALBc小鼠SIRP-α蛋白(SEQ ID NO:10)结合的动力学汇总

[0747]

抗体	K_{on}(1/Ms)	K_{off}(1/s)	K_D(M)
AB136a	$8.27x10^{5}$	$2.73x10^{-4}$	$3.31x10^{-10}$
AB3c	$7.76x10^{5}$	$4.12x10^{-3}$	$5.31x10^{-9}$
AB21c	$4.62x10^{5}$	$6.18x10^{-4}$	$1.34x10^{-9}$
AB25c	$3.03x10^{5}$	$2.92x10^{-3}$	$9.64x10^{-9}$
AB27c	$1.50x10^{5}$	$2.26x10^{-3}$	$1.50x10^{-8}$
AB66c	$2.24x10^{5}$	$7.62x10^{-4}$	$3.41x10^{-9}$

[0748] 表G.选择的抗体与BL6小鼠SIRP-α蛋白(SEQ ID NO:9)结合的动力学汇总

[0749]

抗体	K_{on}(1/Ms)	K_{off}(1/s)	K_D(M)
AB136a	$6.24x10^{5}$	$5.85x10^{-3}$	$9.37x10^{-9}$
AB3c	$4.12x10^{5}$	$6.19x10^{-3}$	$1.50x10^{-8}$
AB21c	$2.76x10^{5}$	$2.41x10^{-4}$	$8.76x10^{-10}$
AB25c	$1.42x10^{5}$	$3.99x10^{-4}$	$2.81x10^{-9}$
AB27c	$1.47x10^{5}$	$1.40x10^{-3}$	$9.49x10^{-9}$
AB66c	$1.07x10^{5}$	$6.19x10^{-4}$	$5.80x10^{-9}$

[0750] 表H.选择的抗体与NOD小鼠SIRP-α蛋白(SEQ ID NO:8)结合的动力学汇总

[0751]

抗体	K_{on}(1/Ms)	K_{off}(1/s)	K_D(M)
AB136a	$8.41x10^{5}$	$4.48x10^{-4}$	$5.33x10^{-10}$
AB3c	$9.99x10^{5}$	$1.43x10^{-3}$	$1.43x10^{-9}$
AB21c	$7.49x10^{5}$	$4.79x10^{-4}$	$6.40x10^{-10}$
AB25c	$3.66x10^{5}$	$1.43x10^{-3}$	$3.90x10^{-9}$
AB17c	$2.96x10^{5}$	$1.01x10^{-3}$	$3.42x10^{-9}$
AB66c	$4.12x10^{5}$	$2.32x10^{-4}$	$5.64x10^{-10}$

[0752] 表I.选择的抗体与m129小鼠SIRP-α蛋白(SEQ ID NO:7)结合的动力学汇总

[0753]

抗体	K_{on}(1/Ms)	K_{off}(1/s)	K_D(M)
AB136a	$6.88x10^{5}$	$5.97x10^{-4}$	$8.67x10^{-10}$
AB3c	$5.34x10^{5}$	$1.18x10^{-2}$	$2.20x10^{-8}$

AB21c	$5.63x10^{5}$	$3.31x10^{-5}$	$5.88x10^{-11}$
AB25c	$3.52x10^{5}$	$2.07x10^{-5}$	$5.87x10^{-1}$
AB27c	$2.07x10^{5}$	$1.01x10^{-4}$	$4.87x10^{-10}$
AB66c	$2.07x10^{5}$	$1.98x10^{-5}$	$9.55x10^{-11}$

[0754] 对于上述抗体,VH和VL结构域序列(分别)如下:AB136a:SEQ ID NO:133和134;AB3c:SEQ ID NO:242和243;AB21c:SEQ ID NO:135和136;AB25c:SEQ ID NO:137和138;AB27c:SEQ ID NO:139和140;AB66c:SEQ ID NO:141和142。

[0755] 这些结果证明多个抗体克隆与所有四种小鼠SIRP-α蛋白结合,使得这些抗体适于在体内小鼠模型中表征。

[0756] 实施例3:抗SIRP-α抗体的功能特性

[0757] 先前的实施例描述了对具有一系列不同特性的抗SIRP-α抗体的鉴定和表征,所述特性诸如对各种人、食蟹猴和/或鼠类SIRP-α、SIRP-β和SIRP-γ蛋白的结合特异性,以及抗体是否阻断SIRP-α与CD47之间的结合。接下来在多种体外和体内功能测定中检查代表特定关注类别的抗体,旨在表征它们对SIRP-α的生物学功能的影响。特别地,在各种体外和体内测定中表征了"阻断性"(即,阻断SIRP-α与CD47之间的结合的抗体)和"非阻断性"(即,不阻断SIRP-α与CD47之间的结合的抗体)的活性。

[0758] 如上所述,标记为"a"的抗体克隆作为具有L234A、L235A、G237A和N297A突变的全长人IgG1抗体进行测试。标记为"b"的抗体克隆作为具有N297A突变的全长小鼠IgG1抗体进行测试。标记为"c"的抗体克隆作为全长小鼠IgG2a抗体进行测试。

[0759] 方法

[0760] 肿瘤细胞系培养

[0761] 将DLD-1(人结肠直肠腺癌)和OE19(人食道癌)细胞维持在由补充有10%热灭活的胎牛血清(Gibco)、1%青霉素/链霉素(Gibco)和1% Glutamax(Gibco)的RPMI(Gibco)组成的生长培养基中。

[0762] 人单核细胞衍生的巨噬细胞的衍生和培养

[0763] 从太平洋血液中心(Blood Centers of the Pacific)接收Trima残留物并且将其用磷酸盐缓冲盐水(PBS,Gibco)以1:4稀释。将稀释的血液分离到四个管中并且置于20ml Ficoll-Paque Plus(GE Healthcare)上。将管以400x g离心30分钟。从界面收集PBMC并重悬于FACS缓冲液(具有0.5%牛血清白蛋白(Gibco)的PBS)中。根据制造商的方案,使用单核细胞分离试剂盒II(Miltenyi Biotec)和LS柱(Miltenyi Biotec)通过阴性选择纯化$CD14^{+}$单核细胞。

[0764] 对于非极化巨噬细胞,将$CD14^{+}$单核细胞接种到在25ml IMDM(Gibco)中的15cm组织培养板(Corning)中,每个培养皿1000万个细胞,所述IMDM补充有10%人AB血清(Corning)、1%青霉素/链霉素和1% Glutamax。将细胞培养7至10天。

[0765] 对于M2极化巨噬细胞,将$CD14^{+}$单核细胞接种到在25ml RPMI(Gibco)中的15cm组织培养板(Corning)中,每个培养皿600万个细胞,所述RPMI补充有10胎牛血清(Thermo Fisher)、1%青霉素/链霉素和1% Glutamax以及50ng/ml M-CSF(Miltenyi)。将细胞培养7至10天。

[0766] 体外吞噬作用测定

[0767] 通过用20ml PBS洗涤两次并在10ml TrypLE Select(Gibco)中于37℃温育10分钟,将DLD-1和OE19细胞从培养板上分离。将细胞离心,在PBS中洗涤,并重悬于培养基中。将细胞用Celltrace CFSE细胞增殖试剂盒(Thermo Fisher)根据制造商的说明书标记并且重悬于IMDM中。通过用20ml PBS洗涤两次并且在10ml TrypLE Select中于37℃温育20分钟,将巨噬细胞从培养板上分离。将细胞用细胞刮刀(Corning)移除,在PBS中洗涤,并重悬于IMDM中。

[0768] 将吞噬作用测定在超低附着U形底96孔板(Corning)中组装,所述板含有100,000个DLD-1或OE19细胞、50,000个巨噬细胞、抗SIRP-α抗体的100nM至6.4pM的5倍系列稀释液和1或0.01ug/ml的西妥昔单抗(Absolute Antibody)、0.01ug/ml的曲妥珠单抗,或相同同种型的对照抗体(Southern Biotech)。除了具有小鼠IgG2a的AB136c,所有测试的抗SIRP-α抗体均具有人IgG1,所述人IgG1具有L234A、L235A、G237A和N297A突变。将板在37℃下在含有5%二氧化碳的潮湿培养箱中温育2小时。将细胞通过以400x g离心5分钟沉淀,并且在250μl FACS缓冲液中洗涤。将巨噬细胞在冰上于含有10μl人FcR阻断试剂(Miltenyi Biotec)、0.5μl抗CD33 BV421(Biolegend)和0.5μl抗CD206 APC-Cy7(Biolegend)的50μl FACS缓冲液中染色15分钟。将细胞在200μl FACS缓冲液中洗涤,在250μl PBS中洗涤,并且在冰上于在PBS中1:1000稀释的50μl可固定活力染料eFluor 506(ebioscience)中染色30分钟。将细胞在250μl FACS缓冲液中洗涤两次,并且在冰上于75μl Cytofix(BD Biosciences)中固定30分钟。将细胞在175μl FACS缓冲液中洗涤,并重悬于75μl FACS缓冲液中。在FACS Canto II(BD Biosciences)上分析细胞,随后通过Flowjo 10.7(Treestar)进行数据分析。通过针对e506阴性群设门排除死细胞。将已吞噬肿瘤细胞的巨噬细胞鉴定为对CD33、CD206和CFSE呈阳性的细胞。

[0769] 体内树突状细胞激活

[0770] 以10mg/kg向Balb/c小鼠(n=3/组)静脉内注射对照大鼠抗小鼠抗SIRP-α拮抗性抗体(克隆p84)、大鼠IgG对照、AB136b(具有携带N297A突变的小鼠IgG1 Fc区的AB136)、小鼠IgG对照或媒介物(PBS)。注射后5小时,收获脾脏并且通过经由70μM细胞滤网进行机械解离而加工成单细胞悬浮液。将细胞用PBS洗涤两次并且进行红细胞裂解。随后,用PBS/10%FBS将细胞再洗涤两次并且制备用于细胞染色。在4度下将细胞用荧光染料缀合的MHC-II、CD8、33D1、CD4、CD11c、CD86、CCR7和活力染料染色1小时。将细胞洗涤两次并使用BD Canto II流式细胞仪分析,并且使用Flowjo处理数据。

[0771] 体内抗癌活性

[0772] 对于CT26同系小鼠结肠癌模型,将CT26细胞皮下植入BALB/c小鼠中并且随机分组(8-9只小鼠/组)。治疗组包括媒介物(PBS)和AB136b。AB136抗SIRP-α具有携带N297A突变的小鼠IgG1 Fc区。植入后第7或8天肿瘤平均为75-80mm^3时开始治疗。以3mg/kg每周两次向小鼠腹膜内(IP)给予AB136b,持续三周。当肿瘤达到约2000mm^3的体积时,处死动物。

[0773] 对于MC38同系小鼠结肠癌模型,将MC38细胞皮下植入C57BL/6小鼠中并且随机分组(8-10只小鼠/组)。治疗组包括媒介物(PBS)、AB25b、AB25c、AB27b、AB3b和AB136b。除了具有小鼠IgG2a的AB25c,所有抗SIRPα抗体均具有携带N297A突变的小鼠IgG1 Fc区。植入后第7天肿瘤平均为60-65mm^3时开始治疗。以10mg/kg每周两次向小鼠腹膜内(IP)给予抗SIRPα,持续三周。当肿瘤达到约2000mm^3的体积时,处死动物。

[0774] 结果

[0775] 在使用极化和非极化巨噬细胞的体外吞噬作用测定中检查各种抗SIRP-α抗体对吞噬作用的诱导。

[0776] 在下述实验中测试了另外的抗SIRP-α抗体AB3和AB45。两者均是非阻断性抗体。使用SPR测定每个克隆(呈scFv-Fc形式)与每种SIRP分析物的结合的k_{off}速率(表J1)。本文已经描述了SPR筛选条件,并且使用Langmuir动力学拟合确定Koff值。SIRP分析物序列如下:CV1-3,SEQ ID NO:18;v1,SEQ ID NO:5;v2,SEQ ID NO:6;cyno1,SEQ ID NO:11;cyno2,SEQ ID NO:12;m129,SEQ ID NO:7;NOD,SEQ ID NO:8;BL6,SEQ ID NO:9;sirpb1,SEQ ID NO:13;sirpg,SEQ ID NO:15。

[0777] 表J1.对于AB3和AB45的Langmuir动力学拟合K_D(M)

[0778]

SEQ ID NO:	5	6	11	12	8	9	10	15	13	14
	V1	v2	cyno1	Cyno2	NOD	BL6	BALBc	sirp-g	Sirpb1	Sirpb2
AB3*	1.62E-10	7.67E-11	2.29E-09	2.85E-09	1.63E-09	3.65E-09	1.16E-09	8.36E-08	1.63E-09	6.78E-11
AB45**	6.63E-11	1.34E-10	NB	NB	NB	NB	NB	2.71E-08	1.06E-08	2.53E-11

[0779] NB-无结合。

[0780] *对于VH和VL结构域,分别参见SEQ ID NO:242和243。

[0781] **对于VH和VL结构域,分别参见SEQ ID NO:244和245。

[0782] 如图13A和13B所示,发现非阻断性抗SIRP-α抗体AB3a诱导M2极化巨噬细胞中对DLD-1肿瘤细胞的吞噬作用。特别地,用西妥昔单抗(抗EGFR抗体)和AB3a处理巨噬细胞导致对肿瘤细胞吞噬作用的稳健诱导。类似地,发现非阻断性抗SIRP-α抗体AB45a诱导M2极化巨噬细胞中对DLD-1肿瘤细胞的吞噬作用,并且用西妥昔单抗(抗EGFR抗体)和AB45a处理巨噬细胞导致对肿瘤细胞吞噬作用的稳健诱导(图13C和13D)。还发现当与曲妥珠单抗(抗HER2抗体)共同施用时,阻断性抗SIRP-α抗体AB119a(图13E)和AB135a(图13F)诱导对OE19肿瘤细胞的吞噬作用。还发现非阻断性抗SIRP-α抗体AB136c诱导对DLD-1肿瘤细胞的吞噬作用(图13G)。

[0783] 使用树突状细胞激活测定来表征非阻断性抗SIRP-α抗体AB136b(对于VH和VL结构域序列分别为SEQ ID NO:133和134)的体内作用。未能通过CD47结合使脾树突状细胞上的小鼠SIRP-α受体参与导致脾树突状细胞激活。当静脉内注射到小鼠中时,对照抗SIRP-α拮抗剂抗体p84激活脾树突状细胞(图14)。在体内测试非阻断性抗SIRP-α抗体AB136b以确定其是否导致树突状细胞激活。有趣的是,AB136b处理以与p84相似的水平导致脾树突状细胞的激活(图14)。

[0784] 接下来,在两个同系小鼠结肠癌模型中测定各种抗SIRP-α抗体的体内抗肿瘤作用。在MC38同系小鼠结肠癌模型中检查阻断性抗SIRP-α抗体AB25b、AB25c和AB27b以及非阻断性抗SIRP-α抗体AB3b和AB136b的抗肿瘤活性,以评估它们的单一剂活性。在MC38同系小鼠模型中,与单独的媒介物相比,阻断性(AB25b、AB25c和AB27b)和非阻断性(AB3b和AB136b)抗SIRP-α抗体在10mg/kg下均延迟肿瘤形成(图15)。在第25天,用抗SIRPα抗体治疗的组对于AB25b和AB27b具有三只低于600mm^3的小鼠,对于AB25c和AB3b具有四只低于600mm^3的小鼠并且对于AB136b具有五只低于600mm^3的小鼠,而媒介物治疗组仅具有两只低于600mm^3的小鼠。

[0785] 接下来在CT26同系小鼠结肠癌模型中评价非阻断性AB136b的抗肿瘤活性,以评估单一剂活性。这些结果证实,在CT26同系小鼠模型中,与单独的媒介物相比,AB136b治疗在3mg/kg下延迟肿瘤形成(图16)。

[0786] 合在一起,这些结果证明了抗SIRP-α抗体治疗在诱导巨噬细胞的肿瘤细胞吞噬作用、激活树突状细胞和抑制体内肿瘤生长方面的功效。发现多种阻断性抗SIRP-α抗体促进肿瘤细胞吞噬作用、激活树突状细胞并阻断体内肿瘤生长。然而,令人惊讶的是,还发现用非阻断性抗SIRP-α抗体治疗在两种不同的同系小鼠肿瘤模型中激活脾树突状细胞并抑制体内肿瘤生长。非阻断性抗SIRP-α抗体能够增加吞噬作用并阻断体内肿瘤生长的发现既令人惊讶又出乎意料。先前的工作表明仅阻断性抗SIRP-α抗体将能够抑制体内肿瘤生长(参见Yanagita,T.等人(2017)JCI Insight 2:e89140)。

[0787] 实施例4:对SIRP-α上的抗SIRP-α抗体表位的结构分析

[0788] 如上文实施例1-3中所述,已经产生具有多种SIRP-α结合特异性和结合模式的抗SIRP-α抗体,例如阻断CD47与SIRP-α结合的抗体、不阻断CD47与SIRP-α结合的抗体,以及与SIRP-α结合并降低其结合CD47的亲和力的抗体(“踢脱性”抗体)。进行结构分析以便了解这些类型的抗体与CD47相比如何结合SIRP-α的D1结构域,并且表征选择的抗SIRP-α抗体的表位。

[0789] 方法

[0790] 晶体学和结构分析

[0791] Fab和SIRPα的表达与先前确立的方案类似,并且涉及用于蛋白质纯化的亲和色谱和尺寸排阻的传统方法。使用与SEQ ID NO:5相比携带N80A突变的人SIRP-αv1突变体,以方便在Expi293(SEQ ID NO:296)中容易地产生蛋白质。使用N80A SIRPα的目的是产生最适于结晶的同质、非糖基化形式的SIRPα。最终纯化缓冲液是极小的,仅具有10mM Tris pH 7.5和50mM NaCl。纯化的复合物样品在4℃下是稳定的,并将其浓缩至10-12mg/mL,以为结晶实验和最终的结构测定作准备。

[0792] 用于Fab:SIRPα复合物计划的方法遵循充分确立的原理或结晶学,从稀疏矩阵技术开始,这产生自定义优化条件,从而确立常规方案。利用沉滴蒸气扩散技术进行结晶。对于最初的稀疏矩阵筛选,使用可通过Qiagen®商购获得的调节试剂盒(表J2)。这些结晶实验设定在具有不同比率的蛋白质与结晶剂调节液(crystallant condition)的液滴中。在96孔(8x 12)盘的子孔中的1μL总体积中,蛋白质与调节液的比率被设定在1:1、2:1和3:1范围内。在孔储器中放置100uL结晶调节液。通过利用Mosquito液滴沉落机器人来沉落这些液滴,并且将完成的板密封并储存在12℃培养箱中。通过在显微镜下观察板/液滴来监测实验,以观察包括液滴沉淀、聚集、相分离、无定形形成以及初始蛋白质晶体的发展。

[0793] 表J2.用于初始稀疏矩阵筛选的试剂盒。

[0794]

试剂盒	目录号/ID
经典Suite	130901
经典II Suite	130923
经典L Suite	130902
PEG Suite	130904
PEG II Suite	130916

PACT Suite	130918
ProComplex Suite	130915
$AmSO_4$ Suite	130905

[0795] 结晶概述和晶体收获

[0796] 用表J3)中所示的两种主要调节液的衍生物实现4种复合物的结晶。晶体收获在最佳晶型上进行,以便在X射线衍射筛选和可能的数据收集之前液氮中的操作和低温冷冻不会危害晶体的完整性。为了防止结冰,在冷冻期间实施了低温保护剂。典型的低温保护剂包括向形成晶体的结晶调节液中添加20%甘油。当在具有30%或更高的PEG 4000的调节液中形成晶体时,不需要添加甘油。高百分比的PEG 4000起到可行的低温保护剂的作用。用低温环(cryo loop)(为尼龙或Mitigen®样式)操纵复合物的晶体。将单晶体分离并且从形成它们的液滴中切出并转移到低温保护剂中一小段时间,然后插入液氮中进行快速冷冻。

[0797] 表J3.用于形成Fab:SIRP-α复合物晶体的结晶调节液。

[0798]

	Fab抗体	缓冲液	盐	沉淀剂
	119	0.1M Tris-HCl pH 8.5	0.2M MgCl2	15%(w/v)PEG 4000
	136	0.1M Tris-HCl pH 8.5	0.2M MgCl2	30%(w/v)PEG 4000
	3	0.1M乙酸钠pH 4.6	0.45M硫酸铵	35%(w/v)PEG 4000
	115	0.1M Tris pH 7.2	0.2M MgCl2	18%(w/v)PEG 4000

[0799] 数据收集和处理

[0800] 如上所述,在于液氮中快速冷冻的晶体上收集数据。当在后续的数据集收集之前通过振荡方法进行筛选以供蛋白质晶格衍射时,将这些样品保留在低温流中。收集在Advanced Photon Source或Diamond Light Source处发生。使用xia2套件简化数据集。xia2是一个包装脚本,其允许自动简化大分子晶体学数据。所述程序能够利用多个数据简化程序,诸如XDS、DIALS、Mosflm和Aimless。这些程序允许将衍射数据索引到适当的空间群和晶胞中,对强度进行积分并进行缩放以产生每个独特反射的强度估计值。对于初始的复合物1数据集,通过分子置换(MR)使用CCP4套件的Phaser MR利用SIRPα和Fab的同源模型(分别参见PDB CODE:2UV3和PDB CODE:4NM4)计算相。对于复合物2、3和4的后续数据集,将复合物1的完整结构模型坐标用作相位计算和初始模型建立的搜索模型。

[0801] 结构建立和精修

[0802] 模型建立使用Coot程序。例如,计算出复合物1在ASU中具有4个分子,因此,将构建4对与SIRPα复合的AB119f以完成结构模型。结构建立的策略是将氨基酸残基按照已知的靶蛋白的序列建立成电子密度。数据质量直接关系到结构模型与所观察到的晶体数据集的匹配。因此,遵循已确立的方案建立复合物的三级结构。最初,构建了残基的肽骨(peptide bone)。接下来,如果电子密度图允许,则放置恰当的残基侧链。在所述情况下,没有对蛋白质序列中的原始氨基酸建模,这是由于缺乏各个侧链的密度,因此只能对氨基酸的肽骨架进行建模,并且在适当的位置构建丙氨酸残基侧链。序列的延伸区可能是无序区并且也由于缺乏密度而不能构建,甚至对于氨基酸骨架的放置也是如此。在建立之后,通过Refmac程序(CCP4套件的一部分)进行后续轮次的精修。利用该精修程序,通过最大似然残差使坐标参数最小化。对于包括以下的参数而言,当模型参数达到有利的参数统计公差时,就完成了精修:R值、键长和键角,以及Ramachandran匹配度(fit)。此外,为了检验模型的物理公差,

还利用Molprobity来确保完整且正确的结构确定。

[0803] 表位定位和叠加分析

[0804] 针对表位的抗原的包埋表面积被计算为单独抗原和抗原与抗体Fab片段的复合物的溶剂可及表面积之间的差异。相反地,针对互补位的抗体重链和轻链的包埋表面积被计算为单独fab片段和与其抗原的复合物的溶剂可及表面积之间的差异。通过滚球法计算表面可及面积,探针半径为1.4Å。将包埋表面积报告为Å^2。所有抗体:通过从每个结构中选择SIRPα并叠加其碳原子来叠加SIRPα复合物。CD47:用于分析的SIRPα复合物(V1变体)结构是PDB:4CMM。使用PYMOL进行叠加和RMSD计算。

[0805] 结果

[0806] 首先,测定与SIRP-α结合的阻断性抗体119Fab的结构,并且将其与结合SIRP-α的CD47进行比较。如图17A所示,抗体119和CD47与SIRP-αD1结构域的相似表位结合。抗体119表位中的SIRP-α残基的56%也在CD47表位中发现,而CD47表位中的SIRP-α残基的75%也在抗体119表位中发现。在图17B中将参与与抗体119相互作用的SIRP-α残基(如通过上文所述的包埋表面积变化确定的)加阴影并示出为空间填充模型。还示出了来自抗体119Fab互补位的关键残基(黑色条),包括重链残基N31、S53、D55、Y57、T99、S101和W102(N31在图17B中所示的结构取向中不可见)和轻链残基Y92和W94(分别基于根据SEQ ID NO:335和97的重链和轻链可变结构域序列)。

[0807] 图18A示出了CD47与SIRP-αD1结构域的结合与非阻断性抗体136Fab与SIRP-αD1结构域的结合之间的比较。发现抗体136和CD47的SIRP-α结合表位完全不重叠。在图18B中将参与与抗体136相互作用的SIRP-α残基加阴影并示出为空间填充模型。还示出了来自抗体136Fab互补位的关键残基(黑色条),包括重链残基E56、Y59和R102和轻链残基Y92和R94(分别基于根据SEQ ID NO:133和134的重链和轻链可变结构域序列)。

[0808] 图19A示出了CD47与SIRP-αD1结构域的结合与非阻断性抗体3Fab与SIRP-αD1结构域的结合之间的比较。也发现抗体3和CD47的SIRP-α结合表位完全不重叠。在图19B中将参与与抗体3相互作用的SIRP-α残基加阴影并示出为空间填充模型。还示出了来自抗体3Fab互补位的关键残基(黑色条),包括重链残基R56和G100和轻链残基R24、R26、Y86和G88(分别基于根据SEQ ID NO:242和243的重链和轻链可变结构域序列)。

[0809] 图19C示出了CD47与SIRP-αD1结构域的结合与“踢脱性”抗体115Fab与SIRP-αD1结构域的结合之间的比较。发现抗体115的SIRP-α结合表位与CD47的表位相邻。虽然发现mAb 115结合SIRP-αD1结构域的与CD47的表位相邻的表位,但115表位的一部分可能与CD47本身重叠。比较两个表位,有2个相同的残基,这表明来自每个表位的非重叠部分的相互作用允许115Fab和CD47同时结合SIRP-α。本文所述的动力学分析证明抗体115与SIRP-α和CD47形成瞬时复合物,但降低了CD47对SIRP-αD1结构域的亲和力。在图19D中将参与与抗体115相互作用的SIRP-α残基加阴影。还示出了来自抗体115Fab互补位的关键残基,包括重链残基S31、Y32、N52、Y100和W102和轻链残基K32和Y92(分别基于根据SEQ ID NO:273和274的重链和轻链可变结构域序列)。

[0810] 图20A示出了与CD47与SIRP-α的结合相比,抗体119、136、3和115与SIRP-α的结合。与两种非阻断性抗体136和3的SIRP-α表位相比,发现阻断性抗体119结合完全非重叠的SIRP-α表位。参与这些相互作用的SIRP-α和抗体残基汇总在表K1中。确定与CD47相互作用

的SIRP-α残基测定如下:29、30、31、33、34、35、36、37、50、51、52、53、54、66、67、68、69、74、93、96、97、98、99和101(根据SEQ ID NO:5)。图20B汇总了与SIRP-α结合的CD47和抗SIRP-α Fab 119、136、3和115的表位(根据SEQ ID NO:296的残基),并且列出了包埋表面积变化。如本文所述,用于指示互补位的抗体的氨基酸残基的编号是基于根据重链或轻链的氨基酸序列的编号,而不是例如抗体残基的Kabat或Chothia编号。

[0811] 表K1.选择的抗SIRP-α抗体的SIRP-α表位和抗体互补位。

[0812]

抗体克隆	SIRP-α 表位残基	重链抗体互补位残基	轻链抗体互补位残基
119	3,28,29,30,31,32,33,35,36,38,50,52,53,54,62,64,65,66,67,68,69,70,71,72,73,74,75,76,95,96,97,和98 (SEQ ID NO:296)	30,31,32,33,50,52,53,54,55,56,57,96,98,99,100,101,102,103,104,105,106,和108 (SEQ ID NO:335)	27,29,30,32,49,53,55,56,91,92,94,和95 (SEQ ID NO:97)
136	6,8,9,10,11,12,14,42,43,44,46,87,88,90,103,104,105,106,107,108,109,111,112,113,115,和116 (SEQ ID NO:296)	33,52,54,56,57,59,99,100,101,102,103,和104 (SEQ ID NO:133)	27,30,32,92,93,94,和95 (SEQ ID NO:134)
3	5,6,7,8,9,10,11,12,14,24,26,28,72,88,90,108,109,111,113,和115 (SEQ ID NO:296)	31, 50, 52, 53, 54, 56, 58, 99, 100, 101,和102 (SEQ ID NO:242)	24, 25, 26, 45, 86, 87, 88,和89 (SEQ ID NO:243)
115	17,39,40,44,45,46,47,48,49,51,54,55,56,57,58,59,80,82,83,84,85,89,100 (SEQ ID NO:296)	28, 30, 31, 32, 33, 50, 52, 53, 54, 56, 57, 75, 100, 101, 102 (SEQ ID NO:273)	32, 91, 92, 93,和94 (SEQ ID NO:274)

[0813] 表K2.抗SIRP-α抗体和包埋表面积计算。

[0814]

残基名称	残基号	包埋面积 ($Å^2$) 的变化
119重链		
TRP	102	-228
SER	101	-97.2
THR	99	-70.4
SER	53	-60.9
ASP	55	-59.2
ASN	31	-58.2
TYR	57	-53.5
PHE	32	-43.1
SER	103	-30.7
SER	98	-24.7
SER	30	-19.3
GLY	52	-18.4
VAL	100	-18.4
ASP	105	-17.2
ALA	33	-16.3
GLY	54	-7.8
ASP	108	-6.2
PHE	106	-5.7
GLY	104	-5.6
LYS	96	-5.3
THR	56	-2.9
THR	50	-1.7
119轻链		
TYR	92	-78
TRP	94	-57.5
ILE	53	-31.5
TYR	49	-30.2
PRO	95	-20.4

[0815]

GLU	55	-16.6
VAL	29	-12.3
ALA	30	-8.8
ASP	32	-8
TYR	91	-3.5
THR	56	-1.5
GLN	27	-3.4
136 重链		
ARG	102	-114.9
GLU	56	-67.6
TYR	59	-57.3
ARG	104	-46.7
ILE	57	-30.8
ASN	101	-12.6
ASP	33	-12
TYR	103	-10.9
SER	52	-5.1
SER	54	-4
GLU	99	-3.3
ASN	100	-1.1
136 轻链		
ARG	94	-97.6
TYR	92	-95.2
TYR	30	-89
GLN	27	-46.6
TYR	32	-46.5
ASP	93	-19.1
PRO	95	-7.3
3 重链		
ARG	56	-107.9
GLY	100	-62
ASP	31	-34.9
SER	53	-27.1
THR	52	-25.2
SER	101	-22.7
GLY	54	-15.1
TYR	58	-12.2
GLN	50	-7.3
GLY	102	-5.1

[0816]

PHE	99	-4.5
3轻链		
ARG	24	-123.6
TYR	86	-62.5
ARG	26	-56.4
GLY	88	-49.1
ASP	87	-22.1
GLY	25	-13.1
ARG	45	-4.8
SER	89	-1.7
115轻链		
LYS	32	-70.2
TYR	91	-2.9
TYR	92	-85
TYR	93	-22.3
TRP	94	-21.4
115重链		
SER	28	-35.3
SER	30	-17.2
SER	31	-70.6
TYR	32	-50.2
ALA	33	-1.3
ARG	50	-9.5
ASN	52	-54.4
SER	53	-39.8
GLY	54	-1.4
GLY	56	-34
GLY	57	-11.2
SER	75	-13.3
TYR	100	-53.6
ASP	101	-45.8
TRP	102	-136.4

[0817] 这些结果阐明了SIRP-αD1结构域和各种抗SIRP-α抗体之间的结合界面,以及CD47与SIRP-α之间的结合界面。它们还为以下观察结果提供了结构基础:抗体119阻断CD47与SIRP-α之间的结合(因为它们共享重叠的SIRP-α表位),抗体136和3不阻断结合(因为它们的表位不与CD47的表位重叠),并且抗体115“将CD47从与SIRP-α的结合踢脱”(因为它们仅共享略微重叠的SIRP-α表位)。这些研究进一步突出了参与每种相互作用的特异性抗体和SIRP-α残基。

[0818] 在通过结晶学定义的非阻断剂(3、136)、阻断剂(119)和踢脱剂(115)抗体的SIRPα结合表位的情况下,可以通过进行实施例5中所述的表位鉴定来表征另外的抗SIRPα抗体的

结合位置。例如,对于与非阻断剂136竞争结合SIRPα的任何抗SIRPα抗体,我们可以预测这些抗体将共享与如通过结晶学定义的136相似的结合表位。

[0819] 实施例5:抗SIRP-α抗体的表位鉴定

[0820] 接下来,在使用SIRP-α的表位鉴定实验中测定上述抗SIRP-α抗体,以便对具有共享和不同表位的抗体进行分类。

[0821] 方法

[0822] 表位鉴定

[0823] 简而言之,如图21A所示进行表位鉴定。将第一抗SIRP-α抗体固定在芯片上,然后注射人SIRP-αv1(SEQ ID NO:5)。然后注射第二抗SIRP-α抗体。如果第二抗体能够结合第一抗SIRP-α抗体与SIRP-α之间形成的复合物,则确定第一抗体和第二抗体结合不同的表位。如果第二抗体不能结合,则确定第一抗体和第二抗体共享表位。

[0824] 使用固定至芯片的抗SIRP-α抗体(A)并注射抗SIRP-α抗体(B-F)的表位鉴定测定的示例性结果示于图21B中。抗SIRPα抗体(B)、(E)和(F)与复合物形成夹层,并且这通过在时间60s时(在注射相应的抗SIRPα抗体后)增加的RU指示。因此,确定它们结合与抗SIRPα(A)不同的表位,并且将它们在表位鉴定图中用白框指示(图22A和22B)。对于抗SIRPα抗体(C)和(D),它们未形成夹层,并且这通过注射相应的抗SIRPα抗体后的稳定RU指示。因此,确定它们结合与抗SIRPα(A)相同的表位,并且将它们在表位鉴定图中加灰色阴影(图22A和22B)。在图22A和22B中,与芯片结合的配体(抗SIRPα)的克隆号如行所指示,并且注射过芯片的分析物(抗SIRPα)的克隆号如列所指示。"X"指示来自一个取向的数据与另一个取向的不一致的情形。

[0825] 首先,如前所述,使用Proteon胺偶联试剂盒将抗SIRPα抗体固定在GLC芯片上。简而言之,对于固定步骤,用1/80稀释的EDAC/Sulpho-NHS1:1(Biorad)以25μL/min激活GLC芯片300s。将抗SIRPα抗体在pH 4.5的10mM乙酸钠缓冲液中稀释至80nM浓度,并且以30μL/min固定至芯片,持续50s。用乙醇胺以25μL/min灭活芯片300s。之后,首先将SIRP-αv1(SEQ ID NO:5)(100nM)以100uL/min注射60s,然后将测试中的抗SIRPa抗体(100-150nM)以100uL/min中注射60s。用Pierce IgG洗脱缓冲液/4MNaCl的2:1v/v共混物再生表面。将所得的传感图用于根据其结合特征对抗体进行评分并将其分组到不同的bin中。

[0826] 结果

[0827] 对以下抗SIRP-α抗体克隆进行表位鉴定:3、21、25、27、45、66、115、116、117、118、119、120、121、122、123、132、135、136、137、149、161、162、173、194、209、213和218。如图22A和22B所示,结果证明了抗SIRP-α抗体与分别表位鉴定的人SIRP-αv1结合的每种模式(B:阻断性,NB:非阻断性,和KO:"踢脱性")。对于非阻断剂,抗SIRPα抗体可以基于其结合特征进一步分成4个Bin。例如,将抗SIRPα抗体123、149、161、162、194和218分组为Bin 5。将抗SIRPα抗体3、173、209和213分组为Bin 4。将抗SIRPα抗体136和137分组为Bin 2。抗SIRPα抗体45具有独特的结合特征并且分组为Bin 6。

[0828] 结合实施例4中所述的结构分析,这些结果产生图23中所示的抗体和CD47与SIRP-αD1结构域结合的模型。例如,推定Bin1、2、3和4中的各种抗SIRPα抗体与分类在相应的Bin中的抗SIRPα119、136、115和3共享相似的结合表位。抗SIRPα119、136、115和3的结合表位如实施例4所述那样从晶体溶液获得。

[0829] 此外,推定Bin 5中的抗SIRPα抗体分别与抗SIRPα136(Bin 2)和115(Bin 3)相邻结合并共享重叠表位。这是基于显示出Bin 5中的抗SIRPα抗体与Bin 2和3中的抗体竞争结合SIRPαV1,并且它们不与Bin 1、4和6中的抗体竞争的表位鉴定数据(图22B)。

[0830] 推定抗SIRPα抗体45(Bin 6)分别与抗SIRPα3(Bin 4)和136(Bin2)相邻结合并共享重叠表位。这是基于显示出抗SIRPα45与Bin 2和4中的抗体竞争结合SIRPαV1,并且抗SIRPα45不与Bin 1、3和5中的抗体竞争的表位鉴定数据(图22B)。

[0831] 图23中的模型示出了基于结构和表位鉴定分析的每个抗体Bin的表位,并且使用示例性抗体克隆证明了各种抗体Bin之间的重叠。基于其表位定位特征、其VH/VL结构域序列中的同源性、对SIRP蛋白的结合特异性和抗体来源,将本文分离的另外的抗SIRP-α抗体分组到家族和Bin中。例如,家族1/Bin 1中的抗SIRP-α抗体是在其VH和VL结构域中具有高序列同源性的CD47阻断剂(表P和图11J)。VH和VL是完全人序列。家族2/Bin 1中的抗SIRP-α抗体也是CD47阻断剂。它们的VH和VL共享高度同源性并且分别来自人和鸡来源(表P,图11A)。家族3/Bin 2中的抗SIRP-α抗体包括CD47非阻断剂,并且它们的高度同源的VH/VL是完全人序列(表P,图11B)。家族4/Bin 3中的抗SIRP-α抗体包括踢脱性抗体,并且它们的高度同源的VH/VL是完全人序列(表P,图11C)。家族5包括分别定位到Bin 4、5和6中的CD47非阻断剂。这些抗体的序列比对和它们的结合特征分别示出于图11D-11I和表P中。家族1-5中对应的抗SIRPa抗体的与各种SIRP-α、SIRP-β和SIRP-γ多肽的K_{off}结合值呈现于表T中。

[0832] 实施例6:抗SIRP-α抗体的种系和易患性(Liability)突变变体

[0833] 上述的一些抗SIRP-α抗体为在鸡中产生的完全人抗体(例如,抗体119、135和136)。因此,通过在鸡B细胞中产生这些抗体,这些抗体中的一些可以与野生型人种系序列相比在可变结构域框架序列中含有突变。因此,当在人中作为潜在治疗剂测试这些抗SIRPα抗体时,期望将这些相应的残基“回复突变”以匹配人种系序列的残基,其目标是限制免疫原性。除了种系回复突变外,还分析了抗体119、135和136的CDR和框架区的易患性热点。这些分析鉴定了由于在抗SIRPα抗体的制造、储存和/或药物开发期间可能发生的修饰而可能需要工程改造来限制风险的位点。

[0834] 方法

[0835] 种系/易患性突变

[0836] 如上所述,使用GLC芯片直接固定来测定相应的种系和易患性突变体结合SIRP的K_D。

[0837] 如前所述将野生型和突变型抗体在Expi293中表达并且通过蛋白A亲和柱色谱法纯化。所有抗体均表达为人L234A/L235A/G237A/N297A IgG1 Fc抗体。使用QuikChange Lightning定点诱变试剂盒根据制造商的说明书(Agilent目录号210518)进行诱变。

[0838] 结果

[0839] 检查抗体119、135和136。使用IgBlast(NCBI)将选择的抗体序列与可用的人种系序列比对。例如,在119的重链和轻链上共鉴定出7个位点。如图24A所示,对119VH的人种系序列中不常见的残基(例如,D1、E43和L112)进行回复突变以匹配人种系序列(例如,D1E、E43K和L112Q),同时保持CDR序列完整。对于119VL(图24B),对119VL的人种系序列中不常见的残基(例如,F21、R39、E60和T76)进行回复突变以匹配人种系序列(例如,F21L、R39K、E60A和T76S),同时保持CDR序列完整。如本文所用,术语“all mut”和“mut”是指含有本文对于特

定抗体可变结构域描述的所有种系突变的可变结构域。用于描述种系和易患性突变的氨基酸编号是基于根据相应的SEQ ID的顺序编号。

[0840] 此外,还分析了抗体序列的“易患性”热点,包括可能易受氧化、脱酰胺化、异构化、水解和N-连接糖基化的残基。表L中示出了潜在的热点。特别地,针对多种抗体的VH结构域产生了HVR-H1的M34V和M34L变体。

[0841] 表L.潜在的和已知的热点

[0842]

氧化	M
脱酰胺化	NG
	NS

[0843]

	NT
异构化	DG
	DS
	DT
水解	DP
N 连接的糖基化位点	NXS/T

[0844] 使用携带种系和易患性回复突变的重链和/或轻链可变结构域产生抗体119的变体。产生具有种系回复突变D1E、E43K和L112Q,以及CDR-H1中的M34V突变的119突变型(“mut”)VH结构域,所述M34V突变去除可能潜在地被氧化的甲硫氨酸残基(对于VH序列,参见SEQ ID NOs:246)。产生具有种系回复突变D1E、E43K和L112Q的另一种变体(对于VH序列,参见SEQ ID NO:258)。亲本序列与变体序列之间的比对示出在图24A中。也产生具有种系回复突变F21L、R39K、E60A和T76S的119突变型(“mut”)轻链;亲本序列与变体序列之间的比对示出在图24B中。

[0845] 针对与人SIRP-αv1(SEQ ID NO:5)、人SIRP-αv2(SEQ ID NO:6)和食蟹猴SIRP-α(SEQ ID NO:11)的结合亲和力,将具有突变型重链和/或轻链的抗体119变体与具有携带L234A、L235A、G237A和N297A突变(EU编号)的IgG1 Fc区的亲本119抗体和具有携带S228P突变(EU编号)的IgG4 Fc区的亲本119抗体进行比较。发现119突变型重链和轻链均导致对所有三种SIRP-α蛋白的结合亲和力的轻微降低。然而,具有突变型重链和轻链的119抗体变体仍显示出与两种人SIRP-α蛋白的强结合,其中K_D为大约30nM(表M)。与亲本抗体相比,具有突变型重链和轻链的119抗体变体的产率也降低了大约4.5倍(表M)。

[0846] 为了研究HVR-H1中甲硫氨酸对119SIRPα结合的影响,在119VH野生型背景中产生M34V和M34L单突变并将其与119野生型轻链组合。与119wt/wt相比,119wt/wt_M34V和119wt/wt_M34L具有相当的与人SIRPαv1和v2的亲和力(K_D,M)。这表明残基M34对SIRP-α结

合不是关键的,并且可以被M34L或M34V突变取代。在119VH野生型背景中产生M34V和M34L单突变的对应VH序列分别为SEQ ID NO:421和420。

[0847] 表M.119变体抗体与人和食蟹猴SIRP-α蛋白的结合亲和力(K_D,M)

[0848]

抗体	VL/VH	对于人 v1 的 KD	对于人 v2 的 KD	对于食蟹猴的 KD	产率 (mg/mL)
119	Mut/mut	3.17E-10	8.75E-11	1.95E-10	1.575
119	wt/mut	2.54E-10	6.94E-11	1.55E-10	5.377
119	mut/wt	2.14E-10	8.64E-11	1.38E-10	3.527
119	wt/wt	1.83E-10	6.82E-11	1.12E-10	7.192
119	Mut/mut_V34M	2.15E-10	6.88E-11	1.18E-10	NT
AB119	具有 hIgG4 的 Wt/wt	1.74E-10	5.98E-11	1.16E-10	0.659

[0849] NT=未测试

[0850] 接下来,产生类似的抗体135变体。产生具有种系回复突变D1E、R13Q、E16G、E43K和L112Q,以及CDR-H1中的M34V突变的135突变型(mut)重链,所述M34V突变去除可能潜在地被氧化的甲硫氨酸残基(对于VH序列,参见SEQ ID NO:247)。构建了在CDR-H1中不含M34V突变的类似变体(对于VH序列,参见SEQ ID NO:259)。产生具有种系回复突变F21L和D60A的135突变型(mut)轻链(对于VL序列,参见SEQ ID NO:248)。亲本序列与变体序列之间的比对示出在图25A和25B中。

[0851] 针对与人SIRP-αv1(SEQ ID NO:5)、人SIRP-αv2(SEQ ID NO:6)、食蟹猴SIRP-α(SEQ ID NO:11)和人SIRP-γv1(SEQ ID NO:15)的结合亲和力,将具有突变型重链和/或轻链的抗体135变体与亲本135抗体进行比较。135突变型重链和轻链具有相当的与所有四种SIRP-α蛋白的结合亲和力,以及相当的产率(表N1)。

[0852] 为了研究135的HVR-H1中甲硫氨酸对SIRP-α结合的影响,在135VH野生型背景中产生M34V和M34L单突变并将其与135野生型轻链组合。与135wt/wt相比,135wt/wt_M34V和135wt/wt_M34L具有相当的与人SIRPαv1和v2的亲和力(K_D,M)。这表明残基M34对SIRP-α结合不是关键的,并且可以被M34L或M34V突变取代。在135VH野生型背景中产生M34V和M34L单突变的对应VH序列分别为SEQ ID NO:423和422。

[0853] 表N1.135变体抗体与人和食蟹猴SIRP-α蛋白和人SIRP-γ蛋白的结合亲和力(K_D,M)

[0854]

抗体	VL/VH	对于人α v1 的 K_D	对于人α v2 的 KD	对于食蟹猴的 K_D	对于人γ v1 的 K_D	产率（mg/mL）
135	mut/mut	1.92E-10	1.75E-11	1.27E-10	7.33E-10	3.189
135	wt/mut	1.84E-10	1.97E-11	1.25E-10	7.79E-10	2.885
135	mut/wt	1.49E-10	2.66E-11	1.02E-10	5.22E-10	2.689
135	wt/wt	1.51E-10	2.90E-11	9.69E-11	5.39E-10	3.264
135	wt/mut_V34M	1.50E-10	1.61E-11	7.94E-11	NT	NT

[0855] NT＝未测试

[0856] 产生类似的抗体136的变体。产生具有种系回复突变D1E、R13Q、E16R、E43K和L111Q,以及CDR-H1中的M34V突变的136突变型(mut)重链,所述M34V突变去除可能潜在地被氧化的甲硫氨酸残基(对于VH序列,参见SEQ ID NO:249)。构建了在CDR-H1中不含M34V突变的类似变体(对于VH序列,参见SEQ ID NO:260)。产生具有种系回复突变T2I、T12S、T22S和E38Q的136突变型(mut)轻链(对于VL,参见SEQ ID NO:250)。亲本序列与变体序列之间的比对示出在图26A和26B中。

[0857] 如图27A所示,针对与人SIRP-αv1(SEQ ID NO:5)、人SIRP-αv2(SEQ ID NO:6)、食蟹猴SIRP-α(SEQ ID NO:11)、NOD小鼠SIRP-α(SEQ ID NO:8)、BL/6小鼠SIRP-α(SEQ ID NO:9)和BALB/c小鼠SIRP-α(SEQ ID NO:10)的结合亲和力,将具有突变型重链和/或轻链的抗体136变体与作为IgG1_AAA_N297A的亲本(“wt”)136抗体进行比较。在图27A中,Y轴示出与各种SIRP结合的K_D mut/K_D wt的比率。如果比率＝1,则表明与亲本抗体结合相比,K_D没有变化。比率＝>1且<1表明与亲本抗体相比与SIRPα结合的亲和力降低和增加。虽然136wt(VL)/mut(VH)抗体表现得类似于wt(VL)/wt(VH),但具有突变型轻链的两种变体具有较差的结合亲和力,这表明一些VL突变不被耐受。

[0858] 为了分析每个轻链回复突变对结合亲和力的影响,构建了另外的抗体136变体,并且针对与BL/6小鼠SIRP-α(SEQ ID NO:9)、NOD小鼠SIRP-α(SEQ ID NO:8)、BALB/c小鼠SIRP-α(SEQ ID NO:10)、人SIRP-αv1(SEQ ID NO:5)、人SIRP-αv2(SEQ ID NO:6)、食蟹猴SIRP-α(SEQ ID NO:11)和人SIRP-γv1(SEQ ID NO:15)的结合亲和力进行表征。从“所有突变体”背景开始,每个单独突变都被反转。在原本的“所有突变体”轻链中单独测试I2T、S12T、S22T和Q38E突变,如图27B所示。与亲本wt/wt抗体相比,原本的all mut背景中的I2T突变显示出始终相似的结合亲和力(对于all mut背景中的I2T,参见SEQ ID NO:251并且对于与亲本和突变体136抗体的比对,参见图27A)。然而,其他三个反向突变(S12T、S22T和Q38E)始终显示出与136mut/mut更相似的结合亲和力,这表明T2I突变导致对各种SIRP蛋白的结合亲和力的降低。下表Q中提供了来自这些实验的另外数据。

[0859] 表N2.136变体抗体与人、小鼠和食蟹猴SIRP-α蛋白和人SIRP-γ蛋白的结合亲和力(K_D,M)

[0860]

		V1	V2	NOD	BL6	BALBc	食蟹猴	Sirpg
	轻链/重链	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:15
136	MutRv_I2T/ mut	7.17E-10	1.86E-09	6.80E-10	1.53E-08	4.22E-10	2.33E-09	4.00E-08
136	MutRv_S12T / mt	4.88E-09	1.05E-08	2.85E-09	1.63E-08	2.09E-09	7.99E-09	6.67E-08
136	MutRv_S22T / mut	4.99E-09	8.28E-09	2.44E-09	1.33E-08	1.64E-09	6.84E-09	6.17E-08
136	MutRv_Q38E / mut	6.18E-09	1.25E-08	5.98E-09	3.31E-08	2.98E-09	1.04E-08	1.93E-08
136	MutRv_I2T/mut_V34M	5.51E-10	1.74E-09	5.96E-10	1.38E-08	3.61E-10	2.11E-09	3.35E-08
136	Mut /mut	7.32E-09	1.27E-08	5.42E-09	2.16E-08	2.67E-09	9.48E-09	2.88E-08
136	Wt / wt	9.72E-10	2.54E-09	8.21E-10	1.64E-08	4.58E-10	2.83E-09	3.36E-08

[0861] 实施例7:抗SIRP-α抗体的人源化

[0862] 上述实施例描述了具有完全人重链和鸡轻链的抗SIRP-α抗体的产生。为了使来源于鸡的轻链人源化,将这些抗体的鸡HVR移植到各种人λ轻链框架上。

[0863] 方法

[0864] 人源化

[0865] 使用标准技术将抗体人源化。为了测量产率,通过蛋白A亲和色谱法纯化等体积的表达抗SIRPα抗体的Expi293培养物。在缓冲液更换为PBS后,通过A280测定蛋白质浓度并且以mg/mL表示。

[0866] 结果

[0867] 为了设计人源化轻链,通过IgBLAST(NCBI)将每个鸡轻链序列与最接近的人种系框架比对。使用该分析,与鸡λ轻链框架最接近的匹配为人IGLV3(参见SEQ ID NO:314-317)。

[0868] 在另一种方法中,进行文献检索以确定用于与人VH3序列(用于这些抗体的人重链)配对的最佳人λ轻链框架序列。基于这些分析,认为人VH3与人IGLV1和IGLV2良好配对。参见Glanville,J.等人(2009)Proc.Natl.Acad.Sci.106:20216-20221;Lloyd,C.等人(2009)Protein Eng.Des.Sel.22:159-168;和Jayaram,N.等人(2012)Protein Eng.Des.Sel.25:523-529。

[0869] 因此,创建了六条人源化轻链:Hum1(AB25 HVRs+人IGLV3框架)、Hum2(AB25 HVRs+人IGLV1框架)、Hum3(AB66 HVRs+人IGLV3框架)、Hum4(AB66 HVRs+人IGLV1框架)、Hum5(AB25 HVRs+人IGLV2框架),和Hum6(AB21 HVRs+人IGLV1框架)。表01中提供了所得轻链可变结构域的序列。

[0870] 表01.测试了人源化可变轻链结构域的序列。将HVR序列加粗并加下划线。

[0871]

名称	LC HVR	人LC框架	序列
Hum1	AB25	IGLV3	SYELTQPPSVSVSPGQTARITC**SGGSYSSYYYA**WYQ QKPGQAPVTLIY**SDDKRPS**NIPERFSGSSSGTTVTLTI SGVQAEDEADYYC**GGYDQSSYTNP**FGGGTKLTVL (SEQ ID NO:252)
Hum2	AB25	IGLV1	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC**SGGSYSSYYYA**WYQ QLPGTAPKTLIY**SDDKRPS**NIPDRFSGSKSGTSATLGI TGLQTGDEADYYC**GGYDQSSYTNP**FGTGTKVTVL (SEQ ID NO:253)
Hum3	AB66	IGLV3	SYELTQPPSVSVSPGQTARITC**SGGDYYSTYYA**WYQ QKPGQAPVTVIH**SDDKRPS**DIPERFSGSSSGTTVTLTI SGVQAEDEADYYC**GGYDGRTYINT**FGGGTKLTVL (SEQ ID NO:254)
Hum4	AB66	IGLV1	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC**SGGDYYSTYYA**WY QQLPGTAPKTVIH**SDDKRPS**DIPDRFSGSKSGTSATL GITGLQTGDEADYYC**GGYDGRTYINT**FGTGTKVTV L (SEQ ID NO:255)
Hum5	AB25	IGLV2	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV**GSYSSYYY A**WYQQHPGKAPKTLIY**SDDKRPS**NVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYC**GGYDQSSYTNP**FGGG TKLTVL (SEQ ID NO:256)
Hum6	AB21	IGLV1	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC**SGGDYYSYYYG**WY QQLPGTAPKTVIY**SDDKRPS**DIPDRFSGSKSGTSATL GITGLQTGDEADYYC**GGYDYSTYANA**FGTGTKVTV L (SEQ ID NO:257)

[0872] 将6条人源化轻链中的每一条与四条重链(来源于AB21、AB25、AB27和AB66)中的每一条配对,产生24种独特抗体。如上所述那样表达抗体。令人惊讶的是,人IGLV1框架序列导致抗体表达降低,而与重链无关。这是指具有Hum2、Hum4和Hum6的所有重链配对(除了用来自AB66的重链进行配对的情况)。将结果作为"蛋白质产率"(第1行)汇总在图28中。相比之下,具有包含人IGLV2和IGLV3框架的轻链(Hum1、Hum3、Hum5)的抗体显示出更高水平的表达,而与重链无关。

[0873] 接下来,针对与多种SIRP蛋白(例如,与人SIRP-αv1、人SIRP-αv2、食蟹猴SIRP-α、小鼠BALB/c SIRP-α和人SIRP-γ)的结合表征选择的抗体。这些数据也汇总在图28中。选择的人源化轻链导致与一种或多种抗原的结合降低。例如,发现人IGLV3框架(由Hum1和Hum3代表)允许更高水平的抗体产生而不扰乱结合亲和力。例如,具有IGLV3框架的轻链可变结构域和抗体25或抗体66HVR序列(分别由Hum1和Hum3表示)与多种重链(例如来自抗体21、25、27和66的重可变结构域)良好组合并且显示出与不同SIRP-α和SIRP-γ蛋白的类似结合。相比之下,当与来自抗体21、25以及27和66的重链配对时,发现IGLV1和IGLV2框架(由Hum2、Hum4、Hum5和Hum6表示)降低表达和/或减少与SIRP的结合。下表R中提供了来自这些实验的另外结合数据。选择人IGLV3框架用于进一步测试。

[0874] 对这些抗体的人源化的另一个目标是与人种系轻链/重链序列具有大于或等于85%同一性的抗体序列。基于Hum1 VL结构域产生另外的VL结构域Hum9和Hum8。与Hum1相比,Hum9在HVR-L1和-L2附近或其中含有4个氨基酸取代,所述取代使轻链的人性增加至与人轻链序列大于或等于85%的同一性(图29)。与Hum1相比,Hum8在HVR-L1和-L2附近或其中分别含有5个氨基酸取代,所述取代使轻链的人性增加至与人轻链序列大于或等于85%的同一性(图29)。Hum1、Hum8和Hum9 VL在与重链all_mut_AB21(携带种系突变)配对时产生以等于或优于10pM的亲和力结合人v1的抗SIRPα抗体(表S)。类似地,当Hum1、Hum8和Hum9 VL

与重链all_mut_AB25(携带种系突变)配对时,抗SIRPα抗体以等于或优于10pM的亲和力结合人v1。下表S中提供了来自这些实验的另外结合数据。这些轻链可以与抗体VH结构域21、25和27(以及可以如上文针对抗体119、135和136所述进行修饰的其变体;图30)互换地组合。不希望受理论的束缚,据认为上述人源化过程可应用于家族2(Bin1)的任何抗体的轻链。

[0875] 实施例8:抗SIRP-α抗体对吞噬作用和树突状细胞激活的诱导

[0876] 接下来,在吞噬作用测定中检查代表与SIRP-α结合的不同模式的各种抗SIRP-α抗体(例如,阻断性、非阻断性和"踢脱性"抗体)。

[0877] CD47-Fc结合测定

[0878] 使用Alexa Fluor 647微量蛋白标记试剂盒(Thermo Fisher Scientific)将CD47-Fc与Alexa Fluor 647(AF647)缀合。在96孔聚丙烯板(Corning)中,将100,000个PBMC悬浮于在FACS缓冲液中的100μl 0.25μM AF647标记的CD47-Fc和1μl抗CD14 PE抗体(Biolegend)中。将细胞在冰上温育30分钟,在FACS缓冲液中洗涤,并且在抗SIRP-α抗体的1.25μM至25pM的10倍系列稀释液中温育。将细胞在冰上温育30分钟,在FACS缓冲液中洗涤,并且在75μl的0.5%甲醛中固定。在FACS Canto II(BD Biosciences)上分析细胞,随后通过Flowjo 10.7(Treestar)进行数据分析。在CD14阳性单核细胞群中测定CD47-Fc信号的几何平均荧光强度。

[0879] 树突状细胞激活测定

[0880] 如本文别处所述那样进行树突状细胞激活测定。简而言之,以10mg/kg向Balb/c小鼠(n=3/组)静脉内注射对照大鼠抗小鼠抗SIRP-α拮抗性抗体(克隆p84)、人IgG1对照、各种抗SIRP-α抗体、小鼠IgG对照或媒介物(PBS)。注射后5小时,收获脾脏并且通过机械解离而加工成单细胞悬浮液。通过流式细胞术测量CD4+脾树突状细胞上的激活标志物CD86、MHCII和CCR7水平。

[0881] 细胞粘附测定

[0882] 使用缺乏或表达人CD47的同基因细胞进行粘附测定。使用CRISPR技术产生仓鼠CD47敲除CHO细胞($CHO^{CD47\ KO}$)。通过将人CD47瞬时转染到$CHO^{CD47\ KO}$中来产生表达人CD47的同基因细胞。转染后24小时,将人CD47转染的$CHO^{CD47\ KO}$细胞($4x10^5$)重新铺板到24孔组织培养物处理的板上,并且使其重新附着并在37℃下过夜达到汇合。

[0883] 通过Ficoll梯度离心从健康供体的外周血中分离人外周血单核细胞(PBMC)。使用磁珠通过阴性选择从PBMC分离CD3+和CD14+细胞。在37℃下将分离的CD3+和CD14+细胞($5x10^6$个)与含有突变型人IgG1(L234A L235A G237A和N297A)的Hum1/AB21mutall、Hum9/AB21mutall或136wt/mut抗体(20ug/mL)一起预温育20分钟,然后接种到$CHO^{CD47\ KO}$和CHO^{hCD47+}细胞上,并且使其在37℃下粘附1小时。通过用PBS温和洗涤5次除去非粘附细胞。用胰蛋白酶分离粘附细胞,并且用10%FBS中和。将细胞转移到96孔板并且用PBS+0.5% BSA洗涤2次,然后用荧光染料缀合的人CD3、CD4、CD8和CD14抗体进行细胞表面标记。添加计数珠并且使用BD Canto II流式细胞仪定量细胞粘附。使用Flowjo进行对流式细胞术数据的分析。

[0884] 结果

[0885] 将CD47从结合SIRP-α"踢脱"的五种抗体与抗HER2抗体曲妥珠单抗组合检查了其对M2巨噬细胞对HER2(+)OE19细胞的吞噬作用的影响(图31)。发现所有5种"踢脱性"抗体均

增强曲妥珠单抗诱导的吞噬作用。

[0886] 接下来,将不阻断CD47结合SIRP-α的五种抗体与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合检查了其对M2巨噬细胞对EGFR(+)DLD-1细胞的吞噬作用的影响(图32)。发现所有非阻断性抗体均增强西妥昔单抗诱导的吞噬作用。

[0887] 接下来,将上述的人源化抗体与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合测试了其对M2巨噬细胞对EGFR(+)DLD-1细胞的吞噬作用的影响(图33A)。发现所有人源化抗体均增强西妥昔单抗诱导的吞噬作用。将抗体136的另外变体(上文所述的)与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合测试了其对M2巨噬细胞对EGFR(+)DLD-1细胞的吞噬作用的影响(图33B)。抗体136的所有变体均增强西妥昔单抗诱导的吞噬作用,但程度不同。将上述的另外的人源化抗体(抗体25和27重链变体与Hum1或Hum9轻链的组合)与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合测试了其对M2巨噬细胞对EGFR(+)DLD-1细胞的吞噬作用的影响(图33C)。发现所有人源化抗体均增强西妥昔单抗诱导的吞噬作用。

[0888] 为了研究抗SIRP-α抗体Fc区对吞噬作用的影响,将两种非阻断性抗体作为全长抗体或$F(ab)_2$片段与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合测试了其对M2巨噬细胞对EGFR(+)DLD-1细胞的吞噬作用的影响(图34)。这些结果表明,非阻断性抗体作为$F(ab)_2$片段丧失了诱导吞噬作用的能力,这表明这类抗体的Fc区是诱导吞噬作用所必需的。

[0889] 将阻断性抗体119的三种变体(上文所述的)与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合测试了其对M2巨噬细胞对EGFR(+)DLD-1细胞的吞噬作用的影响(图35)。结果表明,所有三种变体均增强西妥昔单抗诱导的吞噬作用。

[0890] 将阻断性抗体135的两种变体(上文所述的)与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合测试了其对M2巨噬细胞对EGFR(+)DLD-1细胞的吞噬作用的影响(图36)。结果表明,两种变体均增强西妥昔单抗诱导的吞噬作用。

[0891] 将另外的非阻断性抗体(上文所述的)与抗EGFR抗体西妥昔单抗组合测试了其对M2巨噬细胞对EGFR(+)DLD-1细胞的吞噬作用的影响(图37)。发现所有非阻断性抗体均增强西妥昔单抗诱导的吞噬作用。

[0892] 接下来,检查各种抗SIRP-α抗体对体内树突状细胞激活的影响(图38A-38B),包括已知的抗SIRP-α抗体p84(参见例如,Tangsheng,Y.等人(2015)Immunity 433:1-12)。未能通过CD47结合使脾树突状细胞上的小鼠SIRP-α受体参加导致脾树突状细胞激活。当静脉内注射到小鼠中时,对照抗SIRP-α拮抗剂抗体p84激活脾树突状细胞。在体内测试非阻断性抗SIRP-α抗体(AB136b、AB3b和AB136wt/mut)和阻断性抗SIRP-α抗体(Hum1/AB21mutall、Hum8/AB21mutall和Hum9/AB21mutall)以确定其是否导致树突状细胞激活。如通过CD86和MHCII表达所确定的,SIRP-α阻断剂和非阻断剂均诱导树突状细胞的激活。这些结果表明,阻断性和非阻断性抗SIRP-α抗体均诱导树突状细胞的激活。

[0893] 通过表达人源化轻链(分别为Hum13和Hum14)及抗体218的野生型重链,产生抗体218的两种变体,即218-Hum13/VH_wt和218-Hum14/VH_wt。Hum13使用人IGLV2框架,而Hum14使用人IGLV3框架(对于Hum13和Hum14的VL序列,分别参见SEQ ID NO:333和334)。两个克隆显示出与v1和v2的较低亲和力结合(K_D为约29.3至53.1nM),如表02所示。

[0894] 表02.抗体218和218变体对人SIRP-α v1和v2的结合亲和力(K_D,M)。

[0895]

K_D(M)	v1	v2

	ALX135	ALX269
AB218a	1.60E-10	3.23E-10
218-Hum13/VH_wt	2.93E-08	3.38E-08
218-Hum14/VH_wt	3.45E-08	5.31E-08

[0896] 将两种抗体与西妥昔单抗组合在吞噬作用测定中在DLD-1细胞中测试。有趣的是,与亲本AB218a抗体相比,人源化变体均未能增强吞噬作用(图39A)。不希望受理论的束缚,这些结果表明,K_D等于或低于大约30-50nM范围的抗体在诱导吞噬作用方面可能比以较弱亲和力结合的抗体更有效。

[0897] 接下来,将示例性的阻断性、非阻断性和踢脱性抗SIRP-α抗体以单一剂形式测试对吞噬作用的诱导。首先,将阻断CD47与SIRP-α结合的三种抗体AB119a、AB120a和AB122a以单一剂形式检查了其对M2巨噬细胞对EGFR(+)DLD-1细胞的吞噬作用的影响(如上所述)。发现所有阻断性抗体以单一剂形式诱导吞噬作用(图39B)。接下来,将不阻断CD47与SIRP-α结合的两种抗体AB136a和AB137a以单一剂形式检查了其对M2巨噬细胞对EGFR(+)DLD-1细胞的吞噬作用的影响。发现所有非阻断性抗体以单一剂形式诱导吞噬作用(图39C)。最后,将5种"踢脱性"抗SIRP-α抗体AB115a、AB116a、AB117a、AB118a和AB132a以单一剂形式检查了其对M2巨噬细胞对EGFR(+)DLD-1细胞的吞噬作用的影响。发现所有"踢脱性"抗体以单一剂形式诱导吞噬作用(图39D)。

[0898] 实施例9:阻断性或非阻断性抗SIRP-α抗体与对PD-L1/PD-1途径的抑制的组合的协同抗肿瘤作用

[0899] 方法

[0900] 体内抗肿瘤活性

[0901] 对于CT26同系小鼠结肠癌模型,将CT26细胞皮下植入BALB/c小鼠中并且随机分组(8-9只小鼠/组)。治疗组包括媒介物(PBS)、AB25b、抗PD-L1和AB25b/抗PD-L1。通过将阿特珠单抗的VH和VL结构域与携带N297A突变的小鼠IgG1 Fc区融合来产生抗PD-L1。所有抗SIRP-α抗体还具有携带N297A突变的小鼠IgG1 Fc区。植入后第7或8天肿瘤平均为75-80mm^3时开始治疗。对于抗SIRPα抗体,以3mg/kg或10mg/kg每周两次向小鼠腹膜内(IP)给药,持续三周,并且对于抗PD-L1,以3mg/kg给予3个剂量,间隔5天。当肿瘤达到约2000mm^3的体积时,处死动物。

[0902] 对于MC38同系小鼠结肠癌模型,将MC38细胞皮下植入C57BL/6小鼠中并且随机分组(8-10只小鼠/组)。治疗组包括媒介物(PBS)、AB25b、AB136b、抗PD1(克隆RMP1-14,BioXCell)、AB136b/抗PD1和AB25b/抗PD1。除了AB25c,所有抗SIRPα抗体均具有携带N297A突变的鼠类IgG1Fc区。植入后第7天肿瘤平均为60-65mm^3时开始治疗。对于抗SIRPα,以10mg/kg每周两次向小鼠腹膜内(IP)给药,持续三周,并且对于抗PD1,以2mg/kg给予3个剂量。当肿瘤达到约2000mm^3的体积时,处死动物。

[0903] 结果

[0904] 在CT26同系小鼠结肠癌模型中单独和与抗PD-L1抗体组合测试了阻断性AB25b抗SIRP-α抗体的抗肿瘤活性。如图40所示,当与用每种单一剂或媒介物对照的治疗相比时,施用10mg/kg的AB25b与3mg/kg的抗PD-L1的组合延迟了肿瘤形成。在研究的第27天,组合治疗组有六只肿瘤尺寸低于600mm^3的小鼠,而在媒介物、抗PD-L1单一剂和抗SIRP-α单一剂治疗

组中分别有两只、两只和两只肿瘤尺寸低于600mm^{3}的小鼠。

[0905] 接下来,在MC38同系小鼠结肠癌模型中单独和与抗PD-1抗体组合测试了阻断性AB25b抗SIRP-α抗体和非阻断性AB136b抗SIRP-α抗体的抗肿瘤活性。如图41所示,当与用每种单一剂或媒介物对照的治疗相比时,将AB25b或AB136b(在10mg/kg下)与5mg/kg的抗PD-1组合延迟了肿瘤形成。在研究的第27天,AB25b/PD-1组合治疗组有七只肿瘤尺寸低于600mm^{3}的小鼠,并且AB136b/PD-1组合治疗组有六只肿瘤尺寸低于600mm^{3}的小鼠,而在媒介物、抗PD-1单一剂、AB25b单一剂和AB136b单一剂治疗组中分别有一只、五只、两只和一只肿瘤尺寸低于600mm^{3}的小鼠。

[0906] 表P中提供了本文所述的抗体及其特性的汇总。表T中提供了另外的结合数据。

[0907] 尽管上述本公开已出于清楚理解的目的通过说明及实施例方式详细描述,但描述及实施例不应视为限制本公开的范围。本文引用的所有专利及科学文献的公开内容均整体以引用的方式明确并入本文中。

[0908]

表 P. 抗 SIRP-α 抗体汇总。

抗体	结合的类型 (NB/B/KO)	Bin号	体外吞噬 (+/-)	体内小鼠 (+/-)	物种结合 (+/-) (Koff) 人 n v1 (SEQ ID NO:5)	食蟹猴 (SEQ ID NO:11)	小鼠 129 (SEQ ID NO:7)	人同种型 (+/-) (Koff) β (SEQ ID NO:13)	γ (SEQ ID NO:15)	K_D 人 n V1 (SEQ ID NO:5)	K_D 人 n V2 (SEQ ID NO:6)	重链 (人/鸡)	轻链 (人/鸡)
												人	人
家族 1												人	人
119	B	1	+	N.A.	+	+	-	+	+	1.83E-10	7.99E-11	人	人
120	B	1	+	N.A.	+	+	-	+	+	2.14E-10	8.56E-11	人	人
121	B	1	+	N.A.	+	+	-	+	+	1.57E-10	5.01E-11	人	人
122	B	1		N.A.	+	+	-	+	+	2.14E-10	7.78E-11	人	人
135	B	1	+	N.A.	+	+	-	+	+	1.51E-10	2.90E-11	人	人
												人	人
家族 2												人	人
16	B	1	+		+	+	+	+	+	<1.0E-12	<1.0E-12	人	鸡
17	B	1	+		+	+	+	+	+			人	鸡
21	B	1	+	+	+	+	+	+	+	<1.0E-12	<1.0E-12	人	鸡
22	B	1			+	+	+	+	+			人	鸡
23	B	1			+	+	+	+	+			人	鸡
24	B	1			+	+	+	+	+			人	鸡

[0909]

25	B	1	+	+	+	+	+	<1.0E-12	人	鸡		
26	B	1	+	NT	+	+	+		人	鸡		
27	B	1	+	+	+	+	+	2.15E-11	人	鸡		
28	B	1	NT	NT	+	+	+		人	鸡		
29	B	1	NT	NT	+	+	+		人	鸡		
30	B	1	+	NT	+	+	+		人	鸡		
55	B	1	NT	NT	+	+	+		人	鸡		
56	B	1	NT	NT	+	+	+		人	鸡		
59	B	1	NT	NT	+	+	+		人	鸡		
60	B	1	NT	NT	+	+	+		人	鸡		
65	B	1	NT	NT	+	+	+		人	鸡		
66	B	1	NT	+	+	+	+	<1.0E-12	人	鸡		
69	B	1	NT	NT	+	+	+		人	鸡		
70	B	1	NT	NT	+	+	+		人	鸡		
71	B	1	NT	NT	+	+	+		人	鸡		
73	B	1	NT	NT	+	+	+	<1.0E-12	人	鸡		
74	B	1	NT	NT	+	+	+		人	鸡		
76	B	1	NT	NT	+	+	+		人	鸡		
201	B	1	+	NT	+	+	+	<1.0E-12	人	鸡		
202	B	1	+	NT	+	+	+	<1.0E-12	人	鸡		
206	B	1	NT	NT	+	+	+		人	鸡		
家族 3												
136	NB	2	+	+	+	+	-	4.58E-	人			

[0910]

137	NB	2	+	NT	+	+	+	-	7.74E-10	3.14E-09	人	人				
175	NB	2	+	NT	+	+	+	NT	1.37E-10	6.62E-10	人	人				
177	NB	2	NT	NT	+	+	+	NT			人	人				
178	NB	2	NT	NT	+	+	+	NT			人	人				
180	NB	2	NT	NT	+	+	+	NT			人	人				
184	NB	2	NT	NT	+	+	+	NT			人	人				
185	NB	2	NT	NT	+	+	+	NT			人	人				
189	NB	2	+	NT	+	+	+	NT	3.10E-10	1.90E-09	人	人				
190	NB	2	NT	NT	+	+	+	NT			人	人				
193	NB	2	+	NT	+	+	+	NT	7.79E-10	5.23E-09	人	人				
家族 4																
115	KO	3	+	N.A.	+	+	-	+	1.77E-11	1.50E-11	人	人				
116	KO	3	+	N.A.	+	+	-	+	1.10E-10	2.99E-10	人	人				
117	KO	3	+	N.A.	+	+	-	+	3.12E-11		人	人				
118	KO	3	+	N.A.	+	+	-	+	4.03E-11		人	人				
132	KO	3	+	N.A.	+	+	-	+	4.26E-10	1.86E-09	人	人				
191	KO	3	NT	N.A.	+	+	-	+			人	人				
198	KO	3	NT	N.A.	+	+	-	+			人	人				

[0911]

家族5(另外的非阻断剂)														
3	NB	4	+	+	+	+	+	+	+	1.62E-10	7.67E-11	鸡	鸡
173	NB	4	+	NT	+	-	-	-	-	9.37E-10	9.28E-09	人	人
174	NB	4	NT	NT	+	-	-	-	-			人	人
209	NB	4	+	NT	+	-	-	+	-	1.71E-10	5.01E-09	人	鸡
213	NB	4	+	NT	-	+	-	-	NT	6.05E-09	1.69E-09	人	鸡
214	NB	4	NT	NT	-	+	-	-	NT			人	鸡
123	NB	5	+	NT	+	+	-	-	+	6.05E-10	NLB	人	人
149	NB	5	+	NT	+	+	-	+	-	8.73E-10	2.38E-10	人	人
161	NB	5	+	NT	+	+	-	+	-	1.03E-09	1.27E-10	人	人
162	NB	5	+	NT	+	+	-	+	+	4.50E-10	1.57E-08	人	人
163	NB	5	NT	NT	+	+	-	+	+			人	人
164	NB	5	NT	NT	+	+	-	+	+			人	人
194	NB	5	+	NT	+	+	-	-	NT	4.97E-10	NLB	人	人
218	NB	5	+	NT	+	+	-	NT	+	1.23E-10	2.76E-10	鸡	人
S45	NB	6	+	NT	+	-	-	-	-	6.63E-11	1.34E-10	鸡	鸡

B = 阻断剂; NB = 非阻断剂; KO = 踢脱剂。
NT 或空白 = 未测试; NA = 不适用(抗体不交叉反应)。
NLB = 无结合

[0912]

表 Q. 抗 SIRP-α 抗体种系/易患性突变汇总。

抗体	人轻链	人重链	结合的类型 (NB/B/KO)	Bin号	K_D (M) SEQ ID NO:5 人v1	SEQ ID NO:6 人v2	SEQ ID NO:11 食蟹猴	SEQ ID NO:8 NOD	SEQ ID NO:9 BL6	SEQ ID NO:10 BALBc	SEQ ID NO: 13 人SIRPb	SEQ ID NO:15 人SIRPg	体外吞噬 (+/-)	体内小鼠 (+/-)
119	wt	wt	B	1	1.83E-10	6.82E-11	1.12E-10	NLB	NLB	NLB	3.42E-10	2.67E-10	+	N.A.
119	Mut	wt	B	1	2.14E-10	8.64E-11	1.38E-10	NLB	NLB	NLB	NT	2.33E-10	NT	N.A.
119	wt	Mut	B	1	2.54E-10	6.94E-11	1.55E-10	NLB	NLB	NLB	NT	NT	+	N.A.
119	Mut	Mut	B	1	3.17E-10	8.75E-11	1.95E-10	NLB	NLB	NLB	4.60E-10	3.36E-10	+	N.A.
119	Mut	Mut_V34M	B	1	2.15E-10	6.88E-11	1.18E-10	NLB	NLB	NLB	3.37E-10	2.63E-10	NT	N.A.
135	wt	wt	B	1	1.51E-10	2.90E-11	9.69E-11	NLB	NLB	NLB		5.39E-10	+	N.A.
135	Mut	wt	B	1	1.49E-10	2.66E-11	1.02E-10	NLB	NLB	NLB		5.22E-10	NT	N.A.
135	wt	Mut	B	1	1.84E-10	1.97E-11	1.25E-10	NLB	NLB	NLB		7.79E-10	NT	N.A.
135	Mut	Mut	B	1	1.92E-10	1.75E-11	1.27E-10	NLB	NLB	NLB	1.88E-10	7.33E-10	+	N.A.
135	wt	Mut_V34M	B	1	1.50E-10	1.61E-11	7.94E-11	NLB	NLB	NLB	1.60E-10	5.33E-10	NT	N.A.

[0913]

136	wt	wt	NB	2	4.58E-10	1.63E-09	2.15E-09	5.54E-10	1.27E-08	3.50E-10	4.35E-9	2.39E-08	+	+
136	Mut	wt	NB	2	7.28E-09	1.74E-08	1.13E-08	4.12E-09	3.26E-08	2.80E-09		1.96E-08	-	
136	wt	Mut	NB	2	5.58E-10	1.74E-09	2.26E-09	6.78E-10	2.31E-08	4.16E-10	3.54E-09	1.65E-08	NT	
136	Mut	Mut	NB	2	7.29E-09	1.95E-08	1.30E-08	5.21E-09	3.17E-08	3.14E-09		1.68E-09	-	
136	Mut_I 2T	Mut	NB	2	7.17E-10	1.86E-09	2.33E-09	6.80E-10	1.53E-08	4.22E-10	3.16E-09	4.00E-08	+	
136	Mut_S 12T	Mut	NB	2	4.88E-09	1.05E-08	7.99E-09	2.85E-09	1.63E-08	2.09E-09		6.67E-08	NT	
136	Mut_S 22T	Mut	NB	2	4.99E-09	8.28E-09	6.84E-09	2.44E-09	1.33E-08	1.64E-09		6.17E-08	NT	
136	Mut_ Q38E	Mut	NB	2	6.18E-09	1.25E-08	1.04E-08	5.98E-09	3.31E-08	2.98E-09		1.93E-08	NT	
136	Mut_I 2T	Mut_V 34M	NB	2	5.51E-10	1.74E-09	2.11E-09	5.96E-10	1.38E-08	3.61E-10	2.22E-09	3.35E-08	NT	

B = 阻断剂；NB = 非阻断剂。

NT 或空白 = 未测试；NA = 不适用（抗体不交叉反应）；NLB = 无结合

119 重链突变 = D1E, E43K, L112Q, M34V

119 轻链突变 = F21L, R39K, E60A, T76S

135 重链突变 = D1E, R13Q, E16G, M34V, E43K, L112Q

135 轻链突变 = F21L, D60A

136 重链突变 = D1E, R13Q, E16R, M34V, E43K, L111Q

136 轻链突变 = T2I, T12S, T22S, E38Q

[0914]

表 R. 抗 SIRP-α 抗体人源化汇总（第 1 轮）。

抗体名称	VL	VH	Koff (1/s)					体外吞噬	体内小鼠
			SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:15	(+/-)	(+/-)
			人 V1	人 V2	食蟹猴	BALB/c	SIRPg		
亲本抗体									
AB21	鸡 (AB21_LC_wt)SEQ ID NO:136	人 (AB21_HC_wt) SEQ ID NO:135	7.07E-04	1.92E-03	2.29E-03	2.41E-03	9.02E-04	NT	+
AB25	鸡 (AB25_LC_wt) SEQ ID NO:138	人 (AB25_HC_wt) SEQ ID NO:137	1.65E-04	3.53E-04	3.94E-04	1.78E-03	2.03E-04	+	+
AB27	鸡 (AB27_LC_wt) SEQ ID NO:140	人 (AB27_HC_wt) SEQ ID NO:139	3.15E-04	5.79E-04	6.83E-04	5.00E-03	4.07E-04	+	+
AB66	鸡 (AB66_LC_wt) SEQ ID NO:142	人 (AB66_HC_wt) SEQ ID NO:141	9.49E-04	2.81E-03	2.69E-03	3.46E-03	9.97E-04	NT	+
对 AB25、AB66 的鸡轻链的人源化-用人 IGLV3 框架置换									
Huml / AB21_HC_wt	Huml___人源化的 ed (AB25_IGLV3) SEQ ID NO:252	人 (AB21_HC_wt) SEQ ID NO:135	1.93E-04	3.03E-04	3.95E-04	2.91E-03	1.88E-04	+	
Huml / AB25_HC_wt	Huml___人源化的 ed (AB25_IGLV3) SEQ ID NO:252	人 (AB25_HC_wt) SEQ ID NO:137	1.33E-04	2.67E-04	3.30E-04	3.74E-03	2.03E-04	+	

[0915]

Hum1 / AB27_HC_wt	Hum1___人源化的ed (AB25_IGLV3) SEQ ID NO:252	人 (AB27_HC_wt) SEQ ID NO:139	1.92E-04	2.92E-04	3.79E-04	3.70E-03	1.78E-04	+
Hum1 / AB66_HC_wt	Hum1___人源化的ed (AB25_IGLV3) SEQ ID NO:252	人 (AB66_HC_wt) SEQ ID NO:141	1.24E-04	2.39E-04	3.03E-04	2.46E-03	1.36E-04	NT
Hum3 / AB21_HC_wt	Hum3___人源化的ed (AB66_IGLV3) SEQ ID NO:254	人 (AB21_HC_wt) SEQ ID NO:135	1.37E-04	4.38E-04	4.32E-04	2.31E-03	2.10E-04	NT
Hum3 / AB25_HC_wt	Hum3___人源化的ed (AB66_IGLV3) SEQ ID NO:254	人 (AB25_HC_wt) SEQ ID NO:137	5.94E-05	3.53E-04	3.75E-04	2.27E-04	1.69E-04	NT
Hum3 / AB27_HC_wt	Hum3___人源化的ed (AB66_IGLV3) SEQ ID NO:254	人 (AB27_HC_wt) SEQ ID NO:139	2.16E-04	3.96E-04	4.64E-04	2.02E-04	2.07E-04	NT
Hum3 / AB66_HC_wt	Hum3___人源化的ed (AB66_IGLV3) SEQ ID NO:254	人 (AB66_HC_wt) SEQ ID NO:141	1.24E-04	2.87E-04	3.06E-04	2.05E-03	1.35E-04	NT

NT或空白=未测试。

[0916]

表 S. 抗 SIRP-α 抗体人源化汇总（第 2 轮）。

抗体名称	VL	VH	KD (M)								体外吞噬
			SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 15	(+/-)
			人 V1	人 V2	食蟹猴	NOD	B1.6	BALBc	SIRPb	SIRPg	
人源化轻链与重链的配对（种系突变）											
Hum1 / AB21_HC_Mutall	Hum1_____人源化的 (AB25_IGLV3) SEQ ID NO:252	人 (AB21_HC_Mutall) SEQ ID NO:263	5.32E-12	4.60E-12	2.91E-11	3.70E-09	9.50E-09	7.91E-09	6.7E-12	>1.0E-12	+
Hum1 / AB25_HC_Mutall	Hum1_____人源化的 (AB25_IGLV3) SEQ ID NO:252	人 (AB25_HC_Mutall) SEQ ID NO:265	5.19E-12			4.83E-09	1.03E-08	7.25E-09			+
Hum1 / AB27_HC_Mutall	Hum1_____人源化的 (AB25_IGLV3) SEQ ID NO:252	人 (AB27_HC_MutAll) SEQ ID NO:267	4.37E-12			2.92E-09	9.03E-09	5.77E-09			+
用于增加人性%的人源化轻链的突变											

[0917]

Hum8 / AB21_HC_Mutall	Hum8_____人源化的(AB25_IGL V3)+CDR中的5aa SEQ ID NO:416	人(AB21_HC_Mutall) SEQ ID NO:263	2.01E-11			2.78E-08	4.15E-04	7.12E-08		+
Hum8 / AB25_HC_Mutall	Hum8_____人源化的(AB25_IGL V3)+CDR中的5aa SEQ ID NO:416	人(AB25_HC_Mutall) SEQ ID NO:265	2.62E-11			2.05E-08	4.97E-04	5.99E-08		NT
Hum9 / AB21_HC_Mutall	Hum9_____人源化的(AB25_IGL V3)+CDR中的4aa SEQ ID NO:262	人(AB21_HC_Mutall) SEQ ID NO:263	1.19E-11	1.19E-10	2.22E-10	2.41E-08	5.33E-04	1.36E-07	5.69E-11	3.45E-11	+
Hum9 / AB25_HC_Mutall	Hum9_____人源化的(AB25_IGL V3)+CDR中的4aa SEQ ID NO:262	人(AB25_HC_Mutall) SEQ ID NO:265	1.29E-11			6.12E-08	1.15E-08	3.83E-08			+

NT或空白=未测试。

[0918]

表 T. 抗 SIRP-α 抗体结合数据汇总。指出的值是通过 SPR 测试的 (K_{off}, 1/s)。

抗体	CV1-3	v1	v2	cyno1	cyno2	m129	NOD	BL6	SIRPb	SIRPg	CD47 阻断性
	SEQ ID NO:18	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:15	
家族 1											阻断
S119	5.65E-04	4.15E-04	1.48E-04	2.34E-04	3.10E-04	NLB	NLB	NLB	4.28E-04	3.95E-04	阻断
S120	6.26E-04	4.04E-04	1.49E-04	2.36E-04	3.14E-04	NLB	NLB	NLB	4.25E-04	3.93E-04	阻断
S121	NT	4.79E-04	1.12E-04	3.02E-04	3.19E-04	NLB	NLB	NLB	5.64E-04	4.82E-04	阻断
S122	6.63E-04	4.98E-04	2.26E-04	2.66E-04	3.27E-04	NLB	NLB	NLB	3.52E-04	3.61E-04	阻断
S135	3.63E-03	6.58E-04	8.78E-05	4.73E-04	3.88E-04	NLB	NLB	NLB	5.21E-04	1.46E-03	阻断
											阻断
家族 2											
S16	1.00E-04	6.22E-05	1.11E-04	1.32E-04	1.38E-04	1.76E-04	1.28E-03	2.35E-03	1.13E-04	8.17E-05	阻断
S17	1.54E-04	1.24E-04	1.97E-04	1.93E-04	2.07E-04	2.34E-04	6.12E-04	1.13E-03	1.25E-04	1.02E-04	阻断
S21	1.95E-04	1.80E-04	2.07E-04	2.33E-04	2.52E-04	2.81E-04	2.64E-03	8.06E-04	1.90E-04	1.84E-04	阻断
S22	1.35E-04	1.21E-04	1.46E-04	1.77E-04	1.77E-04	1.53E-04	5.83E-04	7.36E-04	1.38E-04	1.08E-04	阻断
S23	1.06E-04	8.35E-05	1.35E-04	1.60E-04	1.83E-04	1.34E-04	8.23E-04	1.32E-03	1.14E-04	1.04E-04	阻断
S24	2.16E-04	2.57E-04	3.17E-04	3.82E-04	3.34E-04	4.02E-04	3.86E-03	1.26E-03	1.94E-04	1.97E-04	阻断
S25	1.40E-04	1.12E-04	2.09E-04	2.19E-04	2.12E-04	1.33E-04	7.79E-04	2.90E-04	1.71E-04	1.41E-04	阻断
S26	4.74E-05	5.81E-04	1.11E-04	9.67E-04	7.43E-04	1.08E-04	7.64E-04	NLB	1.29E-04	8.35E-04	阻断

[0919]

		05	04	04	04	03	04		04	05	
S27	8.94E-05	5.81E-05	9.97E-05	1.38E-04	1.61E-04	1.36E-04	1.30E-03	1.84E-03	8.97E-05	9.46E-05	阻断
S28	6.59E-05	2.11E-05	1.47E-05	1.15E-04	1.32E-04	3.06E-04	6.16E-04	1.86E-03	6.29E-05	3.27E-05	阻断
S29	3.43E-04	9.61E-05	1.78E-04	3.87E-04	3.69E-04	1.14E-03	NLB	1.86E-03	2.79E-04	2.16E-04	阻断
S30	1.42E-04	1.32E-04	1.88E-04	3.35E-04	3.66E-04	4.76E-04	NLB	2.44E-03	2.37E-04	1.93E-04	阻断
S55	6.00E-05	4.18E-05	7.16E-05	9.63E-05	1.16E-04	1.43E-04	1.19E-03	1.97E-03	6.48E-05	4.69E-05	阻断
S56	2.03E-04	2.28E-04	2.86E-04	2.95E-04	2.80E-04	4.06E-04	1.06E-03	4.29E-03	3.62E-04	2.15E-04	阻断
S59	8.19E-05	4.98E-05	8.63E-05	1.06E-04	1.13E-04	2.09E-04	1.35E-03	2.39E-03	1.07E-04	4.28E-05	阻断
S60	1.45E-04	1.40E-04	1.86E-04	1.92E-04	1.75E-04	2.21E-04	7.26E-04	1.50E-03	1.53E-04	1.00E-04	阻断
S65	1.47E-04	1.45E-04	1.72E-04	1.88E-04	1.90E-04	1.59E-04	6.07E-04	7.86E-04	1.54E-04	1.34E-04	阻断
S66	1.10E-04	1.18E-04	2.06E-04	2.50E-04	2.55E-04	1.27E-04	4.90E-04	1.02E-03	1.38E-04	1.26E-04	阻断
S69	2.33E-04	2.05E-04	2.67E-04	2.55E-04	2.16E-04	2.46E-04	7.09E-04	7.65E-04	2.29E-04	1.99E-04	阻断
S70	2.60E-04	2.25E-04	2.90E-04	2.96E-04	2.45E-04	2.70E-04	6.72E-04	9.87E-04	2.25E-04	2.22E-04	阻断
S71	3.79E-04	3.35E-04	4.03E-04	3.64E-04	3.13E-04	4.17E-04	1.12E-03	3.41E-03	3.88E-04	3.16E-04	阻断
S73	5.28E-05	1.90E-05	7.49E-05	1.27E-04	1.19E-04	1.64E-04	1.48E-03	3.73E-04	1.08E-04	7.30E-05	阻断
S74	1.66E-04	1.61E-04	2.78E-04	3.37E-04	3.20E-04	4.12E-04	NLB	1.37E-03	2.66E-04	2.25E-04	阻断
S76	1.55E-04	1.40E-04	2.09E-04	2.77E-04	2.69E-04	1.79E-04	5.76E-04	9.98E-04	1.87E-04	1.77E-04	阻断
S201	8.32E-05	3.46E-04	4.27E-04	6.36E-04	5.22E-04	8.18E-04	2.15E-03	1.11E-03	4.10E-04	1.85E-04	阻断

[0920]

		05	05	04	04	04	03	03	03	04	
S202	6.86E-05	3.75E-05	5.40E-05	1.13E-04	1.20E-04	4.58E-05	5.09E-04	6.30E-04	2.05E-03	4.44E-05	阻断
S206	8.22E-05	3.50E-05	3.60E-05	6.24E-04	5.18E-04	9.01E-04	2.23E-03	1.57E-03	4.37E-03	1.92E-04	阻断
家族 3											
S136	1.59E-03	8.45E-04	1.61E-03	1.79E-03	1.32E-03	4.59E-04	3.86E-04	4.78E-03	3.60E-03	NLB	非阻断
S137	1.37E-03	1.65E-03	1.88E-03	2.04E-03	1.79E-03	5.15E-04	4.43E-04	4.63E-03	3.76E-03	NLB	非阻断
S175	1.65E-03	8.39E-04	1.83E-03	1.77E-03	1.07E-03	6.05E-04	4.17E-04	3.20E-03	2.99E-03	NT	非阻断
S177	NLB	3.32E-03	5.37E-03	4.47E-03	2.69E-03	1.04E-03	7.36E-04	NLB	NLB	NT	非阻断
S178	4.26E-03	2.23E-03	3.17E-03	3.44E-03	1.77E-03	1.12E-03	7.62E-04	NLB	4.73E-03	NT	非阻断
S180	3.07E-03	1.60E-03	2.27E-03	2.50E-03	1.38E-03	8.06E-04	5.76E-04	4.66E-03	3.75E-03	NT	非阻断
S184	5.14E-03	2.53E-03	3.91E-03	3.90E-03	2.21E-03	8.21E-04	6.38E-04	4.22E-03	NLB	NT	非阻断
S185	2.39E-03	1.22E-03	2.05E-03	1.78E-03	1.03E-03	7.17E-04	5.73E-04	5.14E-03	3.85E-03	NT	非阻断
S189	2.28E-03	1.06E-03	2.81E-03	3.31E-03	1.87E-03	8.37E-04	5.04E-04	3.90E-03	2.78E-03	NT	非阻断
S190	3.08E-03	1.56E-03	1.99E-03	2.17E-03	1.24E-03	7.73E-04	5.63E-04	NLB	2.56E-03	NT	非阻断
S193	NLB	3.08E-03	5.17E-03	NLB	4.28E-03	2.09E-03	1.57E-03	3.89E-03	NLB	NT	非阻断

[0921]

家族 4												
S115	4.84E-04	7.86E-06	1.95E-05	2.22E-05	6.91E-05	NLB	NLB	NLB	3.69E-05	3.34E-05	踢脱
S116	4.80E-04	2.84E-05	5.07E-05	7.01E-05	1.20E-04	NLB	NLB	NLB	3.09E-05	8.25E-05	踢脱
S117	2.75E-04	1.20E-05	3.40E-05	1.83E-05	5.92E-05	NLB	NLB	NLB	3.54E-05	4.30E-06	踢脱
S118	2.47E-04	9.17E-06	4.12E-05	6.97E-05	8.06E-05	NLB	NLB	NLB	1.31E-05	1.13E-05	踢脱
S132	7.95E-05	3.34E-05	2.06E-05	4.28E-05	7.12E-05	NLB	NLB	NLB	1.01E-05	1.05E-05	踢脱
S191	2.95E-04	6.67E-05	3.53E-05	5.54E-05	1.38E-05	NLB	NLB	NLB	1.01E-05	NT	踢脱
S198	7.87E-04	3.67E-05	4.95E-05	8.34E-05	7.73E-05	NLB	NLB	NLB	4.72E-05	NT	踢脱
家族 5											
S3	3.94E-04	4.10E-04	2.76E-04	2.18E-03	1.74E-03	6.55E-04	1.19E-03	1.97E-03	1.92E-03	1.62E-04	非阻断
S45	4.76E-05	7.24E-05	1.44E-05	NLB	NLB	NLB	NLB	NLB	NLB	NLB	非阻断
S123	1.31E-03	1.55E-03	NLB	1.57E-03	1.54E-03	NLB	NLB	NLB	NLB	1.43E-03	非阻断
S149	NLB	4.15E-03	5.44E-04	NLB	2.58E-03	NLB	NLB	NLB	3.31E-04	NLB	非阻断
S161	NLB	3.37E-03	3.48E-04	NLB	2.15E-03	NLB	NLB	NLB	3.21E-03	NLB	非阻断
S162	1.52E-03	6.84E-04	NLB	NLB	3.18E-04	NLB	NLB	NLB	1.98E-03	4.66E-03	非阻断
S163	1.74E-03	5.35E-04	6.64E-03	NLB	2.42E-04	NLB	NLB	NLB	1.70E-03	3.15E-03	非阻断
S164	1.34E-03	5.95E-03	9.89E-	NLB	4.08E-	NLB	NLB	NLB	1.67E-	4.26E-	非阻断

[0922]

		04	03		04				03	03			
S173	1.37E-03	1.12E-03	5.04E-03	NLB	NLB	NLB	NLB	NLB	NLB	NLB	NLB	NLB	非阻断
S174	1.89E-03	1.43E-03	3.99E-03	NLB	NLB	NLB	NLB	NLB	NLB	NLB	NLB	NLB	非阻断
S194	1.11E-03	1.17E-03	NLB	1.31E-03	1.11E-03	NT	NLB	NLB	NLB	NLB	NT	NT	非阻断
S209	2.45E-03	6.59E-04	4.01E-03	NLB	NLB	NT	NLB	NLB	6.54E-05	NLB	NLB	NLB	非阻断
S213	4.82E-03	NLB	6.85E-04	2.60E-03	3.13E-03	NT	NLB	NLB	NLB	NLB	NT	NT	非阻断
S214	4.53E-03	NLB	6.77E-04	3.51E-03	2.71E-03	NT	NLB	NLB	NLB	NLB	NT	NT	非阻断
S218	NT	7.06E-05	5.47E-05	2.49E-05	NT	NT	NLB	NLB	NT	NT	NT	2.12E-05	非阻断

NLB = $K_{off} > 5x10^{-3}$ 并且无结合; NT = 未测试。

[0923] 本申请进一步涉及如下各项:

[0924] 1.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者。

[0925] 2.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRK

GSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域。

[0926] 3.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域。

[0927] 4.如项1-3中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域并且结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域。

[0928] 5.如项1-4中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域。

[0929] 6.如项5所述的抗体,其中所述猴SIRP-α多肽为食蟹猴SIRP-α多肽。

[0930] 7.如项5或6所述的抗体,其中所述抗体结合至少两种不同的猴SIRP-α变体多肽的胞外结构域。

[0931] 8.如项6或7所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域、包含氨基酸序列SEQ ID NO:12的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域或两者。

[0932] 9.如项1-8中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域。

[0933] 10.如项9所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的鼠类SIRP-α变体多肽的胞外结构域。

[0934] 11.如项9或10所述的抗体,其中所述抗体结合一种或多种鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域,并且其中所述一种或多种鼠类SIRP-α多肽各自包含选自由SEQ ID NO:7-10组成的组的氨基酸序列。

[0935] 12.如项1-11中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-β多肽的胞外结构域。

[0936] 13.如项1-12中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域。

[0937] 14.如项1-11和13中任一项所述的抗体,其中所述抗体不结合人SIRP-β多肽的胞外结构域。

[0938] 15.如项1-12和14中任一项所述的抗体,其中所述抗体不结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域。

[0939] 16.如项12-15中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:13的人SIRP-β多肽的胞外结构域。

[0940] 17.如项12-16中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:15的人SIRP-γ多肽的胞外结构域。

[0941] 18.如项1-17中任一项所述的抗体,其中所述抗体调节表达人SIRP-α多肽的细胞中的SIRP-α信号传导。

[0942] 19.如项18所述的抗体,其中所述细胞为选自由以下组成的组的白细胞:巨噬细

胞、树突状细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和髓源性抑制细胞(MDSC)。

[0943] 20.如项19所述的抗体,其中所述抗体抑制表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞中的SIRP-α信号传导。

[0944] 21.如项18-20中任一项所述的抗体,其中所述抗体增强表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞的吞噬作用。

[0945] 22.如项1-21中任一项所述的抗体,其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0946] 23.如项22所述的抗体,其中所述抗体不结合包含与CD47的IgSF结构域结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中所述SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中所述SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。

[0947] 24.如项1-21中任一项所述的抗体,其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0948] 25.如项24所述的抗体,其中所述抗体结合包含与CD47的IgSF结构域结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中所述SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中所述SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。

[0949] 26.如项1-21中任一项所述的抗体,其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合降低了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[0950] 27.如项26所述的抗体,其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合增加了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的koff。

[0951] 28.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0952] 29.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0953] 30.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合降低了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[0954] 31.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0955] 32.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0956] 33.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合降低了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[0957] 34.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0958] 35.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0959] 36.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者;其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域;并且其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合降低了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[0960] 37.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、鼠类SIRP-α多肽和猴SIRP-α多肽的胞外结构域;其中所述抗体不结合人SIRP-β多肽的胞外结构域和人SIRP-γ多肽的胞外结构域中的至少一个;并且其中所述抗体阻断所述人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0961] 38.如项37所述的抗体,其中所述抗体包含来自抗体S130的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变(VH)结构域序列;和/或轻链可变(VL)结构域序列。

[0962] 39.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、鼠类SIRP-α多肽、猴SIRP-α多肽的胞外结构域,以及人SIRP-β多肽的胞外结构域和人SIRP-γ多肽的胞外结构域中的至少一个;并且其中所述抗体阻断所述人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0963] 40.如项39所述的抗体,其中所述抗体包含来自选自由S8、S13、S14和S121组成的组的抗体的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变(VH)结构域序列;和/或轻链可变(VL)结构域序列。

[0964] 41.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、鼠类SIRP-α多肽和猴SIRP-α多肽的胞外结构域;其中所述抗体不结合,或以降低的亲和力结合人SIRP-β多肽的胞外结构域和人SIRP-γ多肽的胞外结构域中的至少一个;并且其中所述抗体不阻断所述人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0965] 42.如项41所述的抗体,其中所述抗体包含来自抗体S137的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变结构域序列;和/或轻链可变结构域序列。

[0966] 43.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽和猴SIRP-α多肽的胞外结构域;其中所述抗体不结合鼠类SIRP-α多肽;其中所述抗体不结合,或以降低的亲和力结合人SIRP-β多肽的胞外结构域和人SIRP-γ多肽的胞外结构域中的至少一个;并且其中所述抗体阻断所述人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0967] 44.如项43所述的抗体,其中所述抗体包含来自选自由S128组成的组的抗体的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变结构域序列;和/或轻链可变结构域序列。

[0968] 45.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽、猴SIRP-α多肽的胞外结构域,以及人SIRP-β多肽的胞外结构域和人SIRP-γ多肽的胞外结构域中的至少一个;其中所述抗体不结合鼠类SIRP-α多肽;并且其中所述抗体阻断所述人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[0969] 46.如项45所述的抗体,其中所述抗体包含来自选自由S9、S11、S119、S120、S122和S135组成的组的抗体的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变结构域序列;和/或轻链可变结构域序列。

[0970] 47.如项1所述的抗体,其中所述抗体结合两种或更多种不同的人SIRP-α变体多肽的胞外结构域和两种或更多种不同的猴SIRP-α变体多肽的胞外结构域,并且其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合降低了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[0971] 48.如项47所述的抗体,其中所述抗体包含来自选自由S115、S116、S117和S118组成的组的抗体的一种、两种、三种、四种、五种或六种CDR序列;重链可变结构域序列;和/或轻链可变结构域序列。

[0972] 49.如项1所述的抗体,其中所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:155、219、221或222的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:156、220或223的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:157或224的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:158或225的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:159或226的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:160的HVR-L3。

[0973] 50.如项1所述的抗体,其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:133的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:134的VL结构域。

[0974] 51.如项1所述的抗体,其中所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:179的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:182的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:183的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:184的HVR-L3。

[0975] 52.如项1所述的抗体,其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:141的VH结构域和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:142的VL结构域。

[0976] 53.如项1所述的抗体,其中所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:227或230的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:228或231的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:229的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:232的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:233的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:234的HVR-L3。

[0977] 54.如项1所述的抗体,其中所述抗体包含(a)VH结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:219或235的HVR-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:236或238的HVR-H2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:237的HVR-H3;和/或(b)VL结构域,其包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:239的HVR-L1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:240的HVR-L2和含有氨基酸序列SEQ ID NO:241

的HVR-L3。

[0978] 55.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体包含:

[0979] (a)重链可变(VH)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列NFAMT(SEQ ID NO:175)、NFAVT(SEQ ID NO:204)或NFALT(SEQ ID NO:305)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列TIGSGDTYYADSVKG(SEQ ID NO:144)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列DSTVSWSGDFFDY(SEQ ID NO:145)的HVR-H3序列;和/或

[0980] (b)轻链可变(VL)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列RASQNVKNDLA(SEQ ID NO:146)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列AARIRET(SEQ ID NO:147)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列QQYYDWPPFT(SEQ ID NO:148)的HVR-L3序列。

[0981] 56.如项55所述的抗体,其中所述抗体包含:

[0982] (a)重链可变(VH)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列SYDMN(SEQ ID NO:270)、SYDVN(SEQ ID NO:221)或SYDLN(SEQ ID NO:313)的HVR-H1序列,(ii)含有氨基酸序列LISGSGEIIYYADSVKG(SEQ ID NO:156)的HVR-H2序列,和(iii)含有氨基酸序列ENNRYRFFDD(SEQ ID NO:157)的HVR-H3序列;和/或

[0983] (b)轻链可变(VL)结构域,其包含(i)含有氨基酸序列RASQSVYTYLA(SEQ ID NO:158)的HVR-L1序列,(ii)含有氨基酸序列GASSRAT(SEQ ID NO:159)的HVR-L2序列,和(iii)含有氨基酸序列QQYYDRPPLT(SEQ ID NO:160)的HVR-L3序列。

[0984] 57.如项55或56所述的抗体,其中所述VH结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:249、133、260或329具有至少90%同一性的氨基酸序列;并且/或者所述VL结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:134、250或251具有至少90%同一性的氨基酸序列。

[0985] 58.如项55所述的抗体,其中

[0986] (a)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;

[0987] (b)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;

[0988] (c)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;

[0989] (d)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;

[0990] (e)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;

[0991] (f)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;

[0992] (g)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:133并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251;

[0993] (h)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:260并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251;

[0994] (i)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:329并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251;

[0995] (j)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:134;

[0996] (k)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:250;或者

[0997] (l)所述VH结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:249并且所述VL结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:251。

[0998] 59.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的I7、P9、D10、K11、S12、A42、A108和E111组成的组的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。

[0999] 60.如项59所述的抗体,其中所述抗体在根据SEQ ID NO:296的K11、A42、A108和E111处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[1000] 61.如项60所述的抗体,其中所述抗体在根据SEQ ID NO:296的I7、P9、D10、K11、S12、A108和E111处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[1001] 62.如项59-61中任一项所述的抗体,其中所述抗体进一步在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的L14、T26、T28、T88、Y90、S106、S113和A116组成的组的氨基酸位置处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[1002] 63.如项62所述的抗体,其中所述抗体进一步在根据SEQ ID NO:296的人SIRP-αv1的L14、T88、Y90、S106、S113和A116处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[1003] 64.如项62所述的抗体,其中所述抗体进一步在根据SEQ ID NO:296的L14、T26和T28处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[1004] 65.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的E47、L48、P58、R59、T82和A84组成的组的氨基酸位置处与人SIRP-αv1多肽结合。

[1005] 66.如项65所述的抗体,其中所述抗体在根据SEQ ID NO:296的E47、L48、P58、R59、T82和A84处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[1006] 67.如项65或66所述的抗体,其中所述抗体进一步在一个或多个选自由根据SEQ ID NO:296的A17、P44、G45、I49、E54、G55、H56、F57和P83组成的组的氨基酸位置处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[1007] 68.如项67所述的抗体,其中所述抗体进一步在根据SEQ ID NO:296的人SIRP-αv1的A17、P44、G45、I49、E54、G55、H56、F57和P83处与所述人SIRP-αv1多肽结合。

[1008] 69.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合所述人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由抗体119、120、121、122、21、25、27、66和135组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。

[1009] 70.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合所述人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由抗体136和137组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。

[1010] 71.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合所述人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由

抗体3、213、173和209组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。

[1011] 72.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合所述人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由抗体115、116、117、118和132组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。

[1012] 73.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合所述人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含选自由抗体218、123、149、161、162和194组成的组的抗体的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。

[1013] 74.一种结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的分离的抗体,其中所述抗体与参考抗SIRP-α抗体竞争结合所述人SIRP-α多肽的胞外结构域,所述参考抗SIRP-α抗体包含抗体45的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。

[1014] 75.如项1-74中任一项所述的抗体,其中所述抗体为单克隆抗体。

[1015] 76.如项1-75中任一项所述的抗体,其中所述抗体为scFv-Fc、单结构域抗体、单重链抗体或单轻链抗体。

[1016] 77.如项1-74中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:325、326或426的轻链恒定区。

[1017] 78.如项1-74和76中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含Fc区。

[1018] 79.如项78所述的抗体,其中所述抗体包含选自由SEQ ID NO:320-324组成的组的氨基酸序列。

[1019] 80.如项78所述的抗体,其中所述Fc区为选自由IgG1 Fc区、IgG2 Fc区和IgG4 Fc区组成的组的人Fc区。

[1020] 81.如项78所述的抗体,其中所述Fc区包括人IgG1 Fc区,所述人IgG1Fc区包含一个或多个选自由根据EU编号的L234A、L235A、G237A和N297A组成的组的突变。

[1021] 82.如项78所述的抗体,其中所述Fc区包括人IgG2 Fc区,所述人IgG2Fc区包含一个或多个选自由根据EU编号的A330S、P331S和N297A组成的组的突变。

[1022] 83.如项78所述的抗体,其中所述Fc区包括人IgG4 Fc区,所述人IgG4Fc区包含一个或多个选自由根据EU编号的S228P、E233P、F234V、L235A、L235E、delG236和N297A组成的组的突变。

[1023] 84.如项1-74和76中任一项所述的抗体,其中所述抗体为选自由Fab、F(ab')2、Fab'-SH、Fv和scFv片段组成的组的抗体片段。

[1024] 85.如项1-84中任一项所述的抗体,其中所述抗体缀合至细胞毒性剂或标记。

[1025] 86.如项1-84中任一项所述的抗体,其中所述抗体为双特异性抗体。

[1026] 87.如项138所述的抗体,其中所述抗体包含结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的第一抗原结合结构域和结合由癌细胞表达的抗原的第二抗原结合结构域。

[1027] 88.如项87所述的抗体,其中所述由癌细胞表达的所述抗原选自由以下组成的组:CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD38、CD52、CD56、CD70、CD74、CD79b、CD123、CD138、CS1/SLAMF7、Trop-2、5T4、EphA4、BCMA、粘蛋白1、粘蛋白16、PD-L1、PTK7、STEAP1、内皮素B受体、间皮素、EGFRvIII、ENPP3、SLC44A4、GNMB、粘连蛋白4、NaPi2b、LIV-1A、鸟苷酸环化酶C、

DLL3、EGFR、HER2、VEGF、VEGFR、整联蛋白αVβ3、整联蛋白α5β1、MET、IGF1R、TRAILR1、TRAILR2、RANKL、FAP、腱生蛋白、Ley、EpCAM、CEA、gpA33、PSMA、TAG72、粘蛋白、CAIX、EPHA3、叶酸受体α、GD2、GD3和包含来自以下的肽的MHC/肽复合物:NY-ESO-1/LAGE、SSX-2、MAGE家族蛋白、MAGE-A3、gp100/pmel17、Melan-A/MART-1、gp75/TRP1、酪氨酸酶、TRP2、CEA、PSA、TAG-72、未成熟层粘连蛋白受体、MOK/RAGE-1、WT-1、SAP-1、BING-4、EpCAM、MUC1、PRAME、存活素、BRCA1、BRCA2、CDK4、CML66、MART-2、p53、Ras、β-连环蛋白、TGF-βRII、HPV E6或HPV E7。

[1028] 89.如项1-88中任一项所述的抗体,其中所述抗体为鸡、人源化、嵌合或人抗体。

[1029] 90.如项1-89中任一项所述的抗体,其中所述抗体由鸡产生或来源于鸡。

[1030] 91.一种多核苷酸,其编码如项1-90中任一项所述的抗体。

[1031] 92.一种载体,其包含如项91所述的多核苷酸。

[1032] 93.一种宿主细胞,其包含如项91所述的多核苷酸或如项92所述的载体。

[1033] 94.一种产生抗体的方法,所述方法包括培养如项93所述的宿主细胞以产生所述抗体。

[1034] 95.如项94所述的方法,其进一步包括从所述宿主细胞中回收所述抗体。

[1035] 96.如项1-90中任一项所述的抗体在制备用于治疗或延迟个体的癌症的进展的药物中的用途。

[1036] 97.如项96所述的用途,其中该治疗或延迟进一步包括向所述个体施用有效量的第二抗体,所述第二抗体结合由所述癌症表达的抗原。

[1037] 98.如项97所述的用途,其中所述由癌症表达的所述抗原选自由以下组成的组:CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD38、CD52、CD56、CD70、CD74、CD79b、CD123、CD138、CS1/SLAMF7、Trop-2、5T4、EphA4、BCMA、粘蛋白1、粘蛋白16、PTK7、STEAP1、内皮素B受体、间皮素、EGFRvIII、ENPP3、SLC44A4、GNMB、粘连蛋白4、NaPi2b、LIV-1A、鸟苷酸环化酶C、DLL3、EGFR、HER2、VEGF、VEGFR、整联蛋白αVβ3、整联蛋白α5β1、MET、IGF1R、TRAILR1、TRAILR2、RANKL、FAP、腱生蛋白、Ley、EpCAM、CEA、gpA33、PSMA、TAG72、粘蛋白、CAIX、EPHA3、叶酸受体α、GD2、GD3和包含来自以下的肽的MHC/肽复合物:NY-ESO-1/LAGE、SSX-2、MAGE家族蛋白、MAGE-A3、gp100/pmel17、Melan-A/MART-1、gp75/TRP1、酪氨酸酶、TRP2、CEA、PSA、TAG-72、未成熟层粘连蛋白受体、MOK/RAGE-1、WT-1、SAP-1、BING-4、EpCAM、MUC1、PRAME、存活素、BRCA1、BRCA2、CDK4、CML66、MART-2、p53、Ras、β-连环蛋白、TGF-βRII、HPV E6或HPV E7。

[1038] 99.如项149所述的方法,其进一步包括向所述个体施用有效量的免疫治疗剂。

[1039] 100.如项152所述的方法,其中所述免疫治疗剂包括第二抗体。

[1040] 101.如项153所述的方法,其中所述第二抗体结合选自由以下组成的组的抗原:PD-1、PD-L1、OX40、CTLA-4、CD137/4-1BB、TNFR2、B7-H3、FZD7、CD27、CCR4、CSF1R、CSF、TIM-3、LAG-3、VISTA、ICOS、CCR2、IDO、A2R、CD39、CD73、TIGIT、CD80、CD47、精氨酸酶、TDO和PVRIG。

[1041] 102.根据项1-101中任一项所述的抗体在制备用于治疗或延迟个体的自身免疫疾病或炎性疾病的进展的药物中的用途。

[1042] 103.如项102所述的方法,其中所述自身免疫疾病或炎性疾病选自由以下组成的组:多发性硬化症、类风湿性关节炎、脊柱关节病、系统性红斑狼疮、抗体介导的炎性或自身

免疫疾病、移植物抗宿主病、败血症、糖尿病、牛皮癣、银屑病性关节炎、动脉粥样硬化、斯耶格伦氏综合征、进行性系统性硬化症、硬皮病、急性冠状动脉综合征、缺血再灌注、克罗恩氏病、溃疡性结肠炎、子宫内膜异位症、肾小球肾炎、IgA肾病、多囊性肾病、重症肌无力、特发性肺纤维化、哮喘、特应性皮炎、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、血管炎和炎性自身免疫性肌炎。

[1043] 104.一种鉴定结合人SIRP-α多肽的胞外结构域并且不阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合的抗原结合结构域的方法,所述方法包括:

[1044] (a)提供结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的抗原结合结构域;

[1045] (b)组装包含与包含CD47的IgSF结构域的多肽结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中所述SIRP-αD1变体为非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中所述SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍;

[1046] (c)使所述抗原结合结构域与所述组装的复合物接触;以及

[1047] (d)检测所述抗原结合结构域与所述复合物的结合,其中所述抗原结合结构域与所述复合物的结合表明所述抗原结合结构域不阻断人CD47与所述人SIRP-α多肽之间的结合。

[1048] 105.一种鉴定结合人SIRP-α多肽的胞外结构域并且阻断人CD47与人SIRP-α多肽之间的结合的抗原结合结构域的方法,所述方法包括:

[1049] (a)提供结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的抗原结合结构域;

[1050] (b)组装包含与包含CD47的IgSF结构域的多肽结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中所述SIRP-αD1变体为非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中所述SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍;

[1051] (c)使所述抗原结合结构域与所述组装的复合物接触;以及

[1052] (d)检测所述抗原结合结构域与所述复合物的结合,其中所述抗原结合结构域与所述复合物的结合缺乏表明所述抗原结合结构域阻断人CD47与所述人SIRP-α多肽之间的结合。

[1053] 106.如项104或项105所述的方法,其中所述SIRP-αD1变体包含选自由SEQ ID NO:17-52组成的组的氨基酸序列。

[1054] 107.如项104-106中任一项所述的方法,其中所述CD47的IgSF结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:16。

[1055] 108.如项104-107中任一项所述的方法,其中所述的包含所述CD47的IgSF结构域的多肽包含人CD47胞外结构域。

[1056] 109.如项104-108中任一项所述的方法,其中所述的包含所述CD47的IgSF结构域的多肽进一步包含抗体Fc区。

[1057] 110.一种产生结合人SIRP-α多肽的胞外结构域的抗SIRP-α抗体的方法,所述方法包括:

[1058] (a)用包含人SIRP-α胞外结构域的至少一部分的肽免疫鸡;

[1059] (b)从来自所述免疫鸡的抗体产生细胞获得抗体;以及

[1060] (c)检测从所述细胞获得的所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域之间的结合，其中所述抗体与所述人SIRP-α多肽的胞外结构域之间的结合表明所述抗体为结合人SIRP-α变体多肽的胞外结构域的抗SIRP-α抗体。

[1061] 111.如项110所述的方法，其中所述抗体为鸡、人源化、嵌合或人抗体。

[1062] 112.如项110或项111所述的方法，其中所述抗体结合人SIRP-αv1多肽的胞外结构域、人SIRP-αv2多肽的胞外结构域或两者。

[1063] 113.如项112所述的方法，其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域。

[1064] 114.如项112所述的方法，其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域。

[1065] 115.如项111-114中任一项所述的方法，其中所述抗体结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:5)的人SIRP-αv1多肽的胞外结构域并且结合包含氨基酸序列EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS(SEQ ID NO:6)的人SIRP-αv2多肽的胞外结构域。

[1066] 116.如项111-114中任一项所述的方法，其中所述抗体结合三种、四种、五种、六种、七种、八种、九种或十种不同的人SIRP-α变体多肽的胞外结构域。

[1067] 117.如项116所述的方法，其中所述三种、四种、五种、六种、七种、八种、九种或十种不同的人SIRP-α变体多肽中的每一种均包含含有选自由SEQ ID NO:5、6和76-83组成的组的氨基酸序列的胞外结构域。

[1068] 118.如项105-117中任一项所述的方法，所述方法进一步包括检测从所述细胞获得的所述抗体与一种或多种选自由以下组成的组的SIRP-α多肽的胞外结构域之间的结合：猴SIRP-α多肽、鼠类SIRP-α多肽、人SIRP-β多肽和人SIRP-γ多肽。

[1069] 119.如项118所述的方法，其中所述抗体结合猴SIRP-α多肽的胞外结构域。

[1070] 120.如项119所述的方法，其中所述猴SIRP-α多肽为食蟹猴SIRP-α多肽。

[1071] 121.如项119或项120所述的方法，其中所述抗体结合至少两种不同的猴SIRP-α变体多肽的胞外结构域。

[1072] 122.如项119或项120所述的方法，其中所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域、包含氨基酸序列SEQ ID NO:12的食蟹猴SIRP-α多肽的胞外结构域或两者。

[1073] 123.如项118-122中任一项所述的方法，其中所述抗体结合鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域。

[1074] 124.如项123所述的方法，其中所述抗体结合两种或更多种不同的鼠类SIRP-α变体多肽的胞外结构域。

[1075] 125.如项123或项124所述的方法，其中所述抗体结合一种或多种鼠类SIRP-α多肽的胞外结构域，并且其中所述一种或多种鼠类SIRP-α多肽各自包含选自由SEQ ID NO:7-10

组成的组的氨基酸序列。

[1076] 126.如项118-125中任一项所述的方法,其中所述抗体结合人SIRP-β多肽的胞外结构域。

[1077] 127.如项118-126中任一项所述的方法,其中所述抗体结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域。

[1078] 128.如项118-125和127中任一项所述的方法,其中所述抗体不结合人SIRP-β多肽的胞外结构域。

[1079] 129.如项118-126和128中任一项所述的方法,其中所述抗体不结合人SIRP-γ多肽的胞外结构域。

[1080] 130.如项126所述的方法,其中所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:13的人SIRP-β多肽的胞外结构域。

[1081] 131.如项127所述的方法,其中所述抗体结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:15的人SIRP-γ多肽的胞外结构域。

[1082] 132.如项118-131中任一项所述的方法,其进一步包括检测从所述细胞获得的所述抗体与包含与CD47的IgSF结构域结合的SIRP-αD1变体的复合物之间的结合或结合缺乏,其中所述SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中所述SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。

[1083] 133.如项132所述的方法,其中所述抗体结合包含与CD47的IgSF结构域结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中所述SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中所述SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。

[1084] 134.如项133所述的方法,其中所述抗体不阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[1085] 135.如项132所述的方法,其中所述抗体不结合包含与CD47的IgSF结构域结合的SIRP-αD1变体的复合物,其中所述SIRP-αD1变体是非天然存在的高亲和力SIRP-αD1结构域,并且其中所述SIRP-αD1变体与人CD47结合的亲和力比天然存在的SIRP-αD1结构域与人CD47结合的亲和力大至少10倍。

[1086] 136.如项135所述的方法,其中所述抗体阻断人SIRP-α多肽的胞外结构域与人CD47多肽的IgSF结构域之间的结合。

[1087] 137.如项132所述的方法,其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合降低了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的亲和力。

[1088] 138.如项137所述的方法,其中所述抗体与人SIRP-α多肽的胞外结构域的结合增加了所述人SIRP-α多肽结合人CD47多肽的IgSF结构域的koff。

[1089] 139.如项118-138中任一项所述的方法,其中所述抗体调节表达人SIRP-α多肽的细胞中的SIRP-α信号传导。

[1090] 140.如项139所述的方法,其中所述细胞为选自由以下组成的组的白细胞:巨噬细胞、树突状细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和髓源性抑制细胞(MDSC)。

[1091] 141.如项140所述的方法,其中所述抗体抑制表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞中的

SIRP-α信号传导。

[1092] 142.如项140-141中任一项所述的方法,其中所述抗体增强表达人SIRP-α多肽的巨噬细胞的吞噬作用。

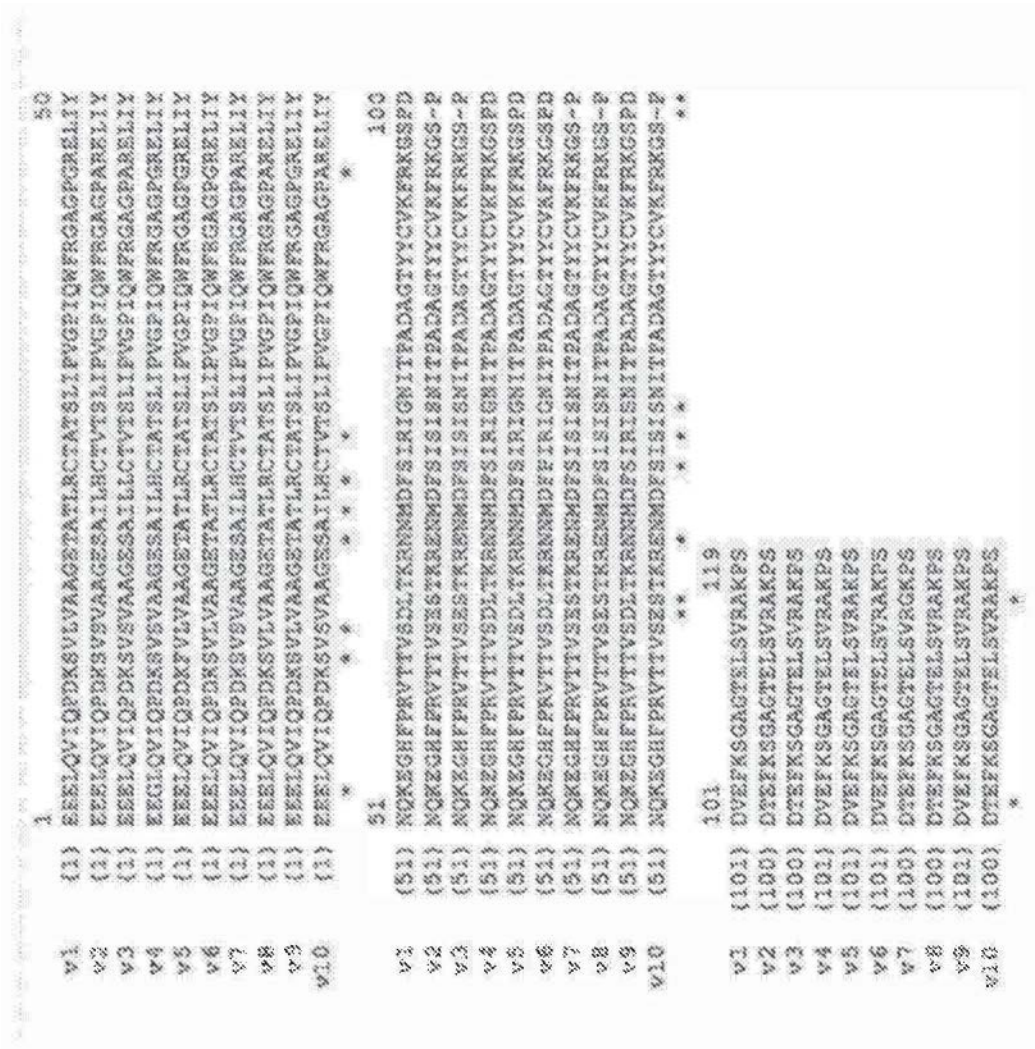


图1A

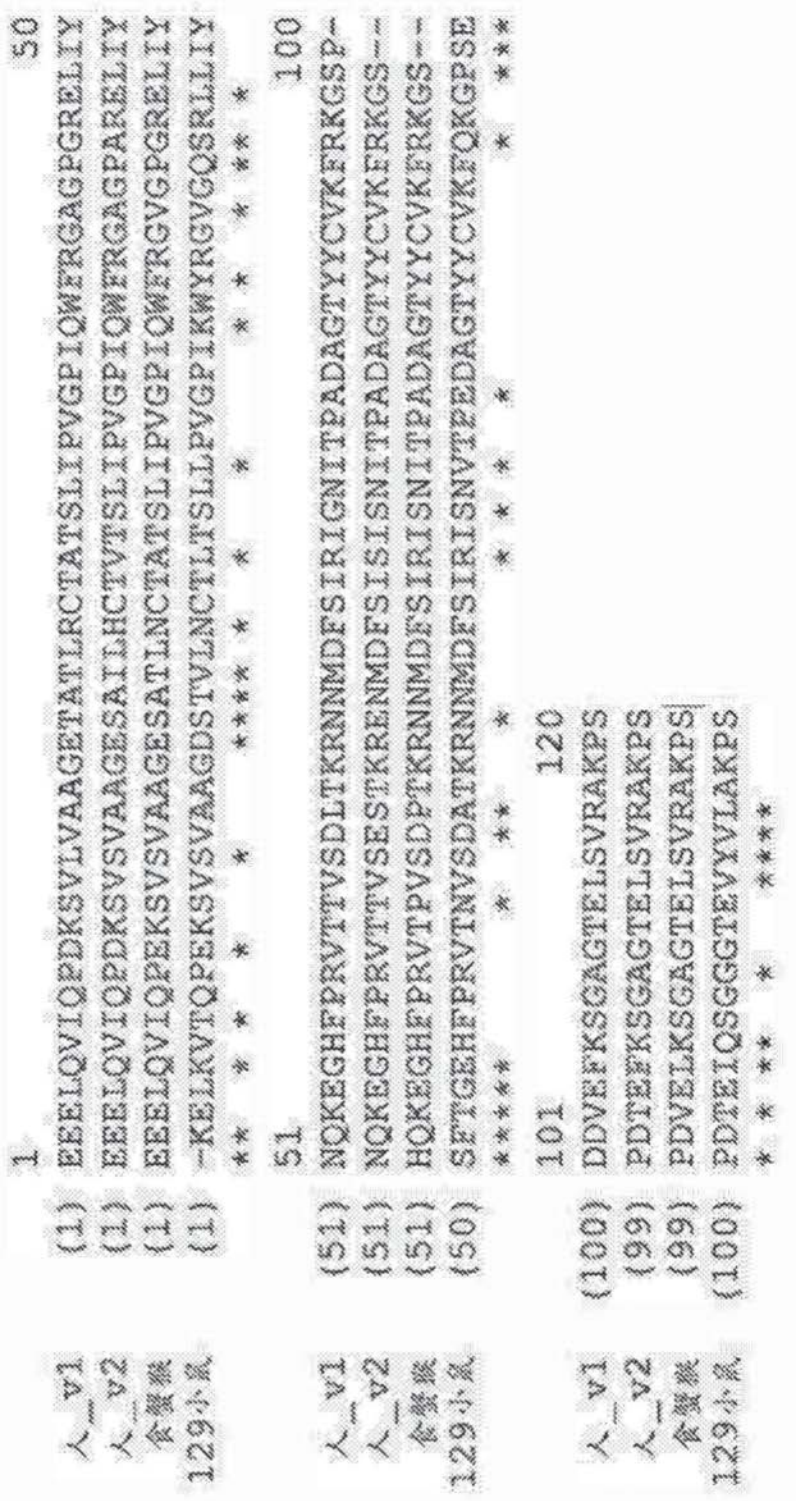

1 50
人_v1 (1) EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIY
人_v2 (1) EEELQVIQPDKSVSVAAGESATLHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIY
食蟹猴 (1) EEELQVIQPEKSVSVAAGESATLNCTATSLIPVGPIQWFRGVGPGRELIY
129小鼠 (1) -KELKVTQPEKSVSVAAGDSTVLNCTLTSLLPVGPIKWYRGVGQSRLLIY
51 100
人_v1 (51) NQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSP-
人_v2 (51) NQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGS--
食蟹猴 (51) HQKEGHFPRVTPVSDPTKRNNMDFSIRISNITPADAGTYYCVKFRKGS--
129小鼠 (50) SETGEHFPRVTNVSDATKRNNMDFSIRISNVTPEDAGTYYCVKFQKGPSE
101 120
人_v1 (100) DDVEFKSGAGTELSVRAKPS
人_v2 (99) PDTEFKSGAGTELSVRAKPS
食蟹猴 (99) PDVELKSGAGTELSVRAKPS|
129小鼠 (100) PDTEIQSGGGTEVYVLAKPS

图1B

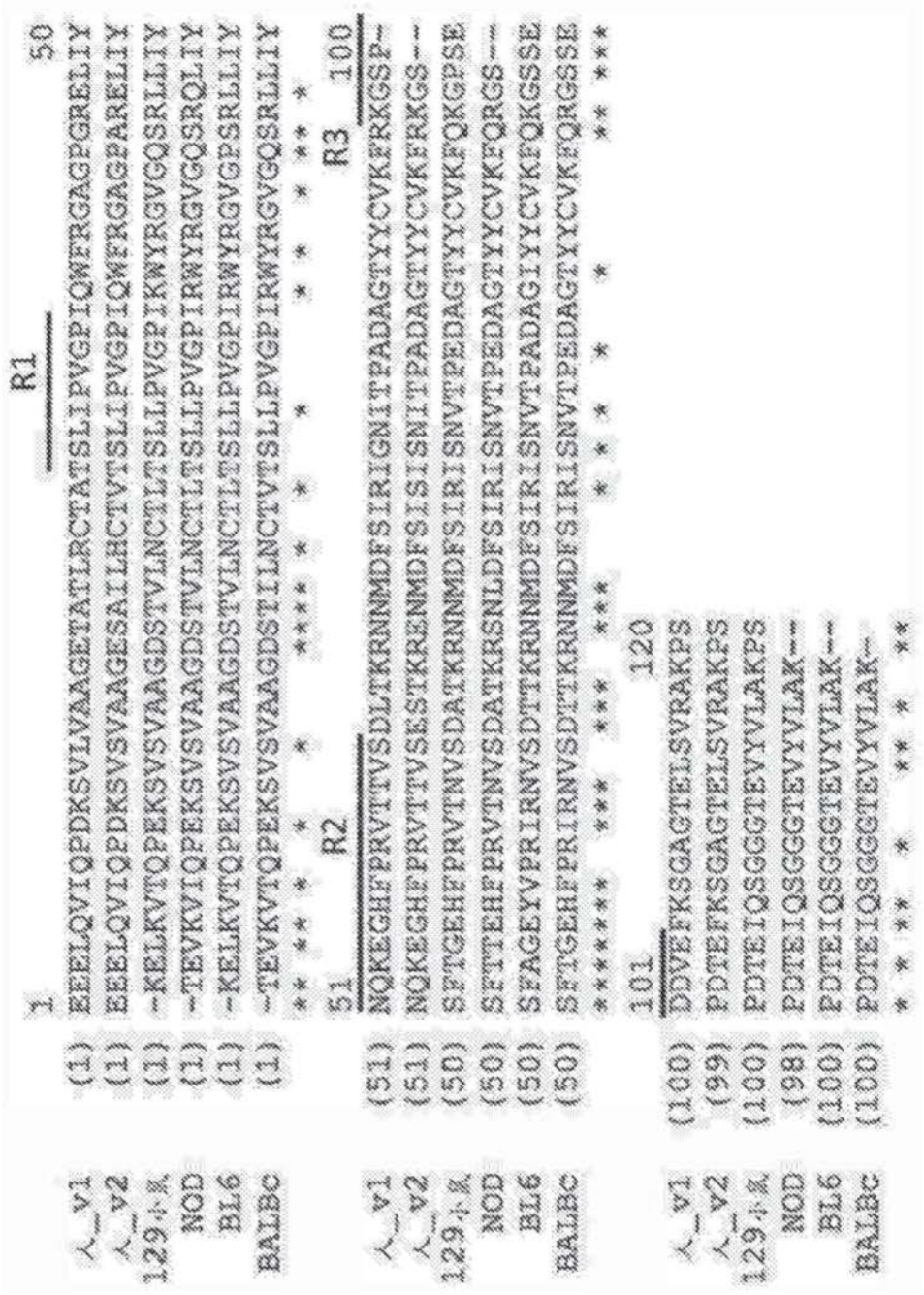


图1C

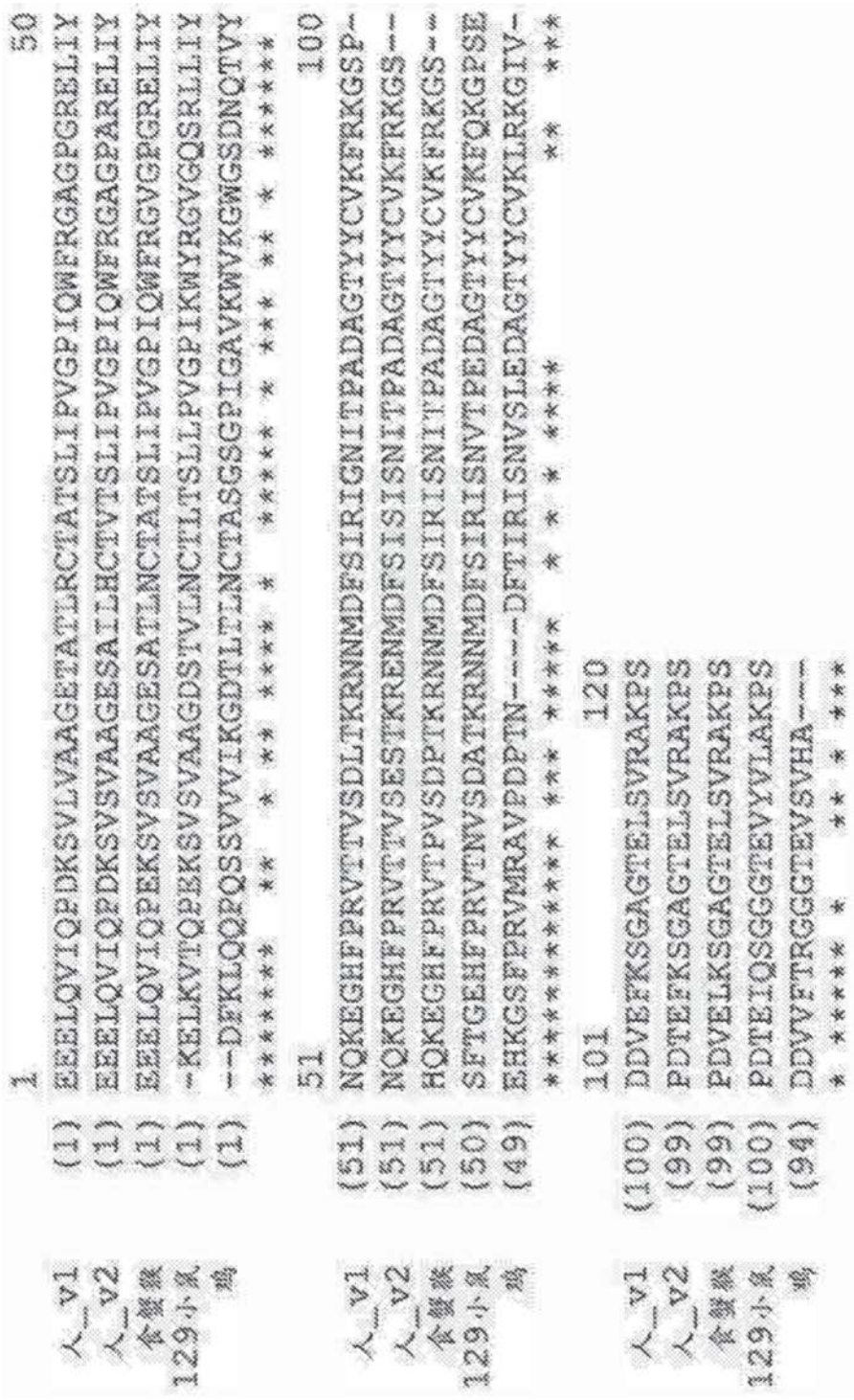


图2

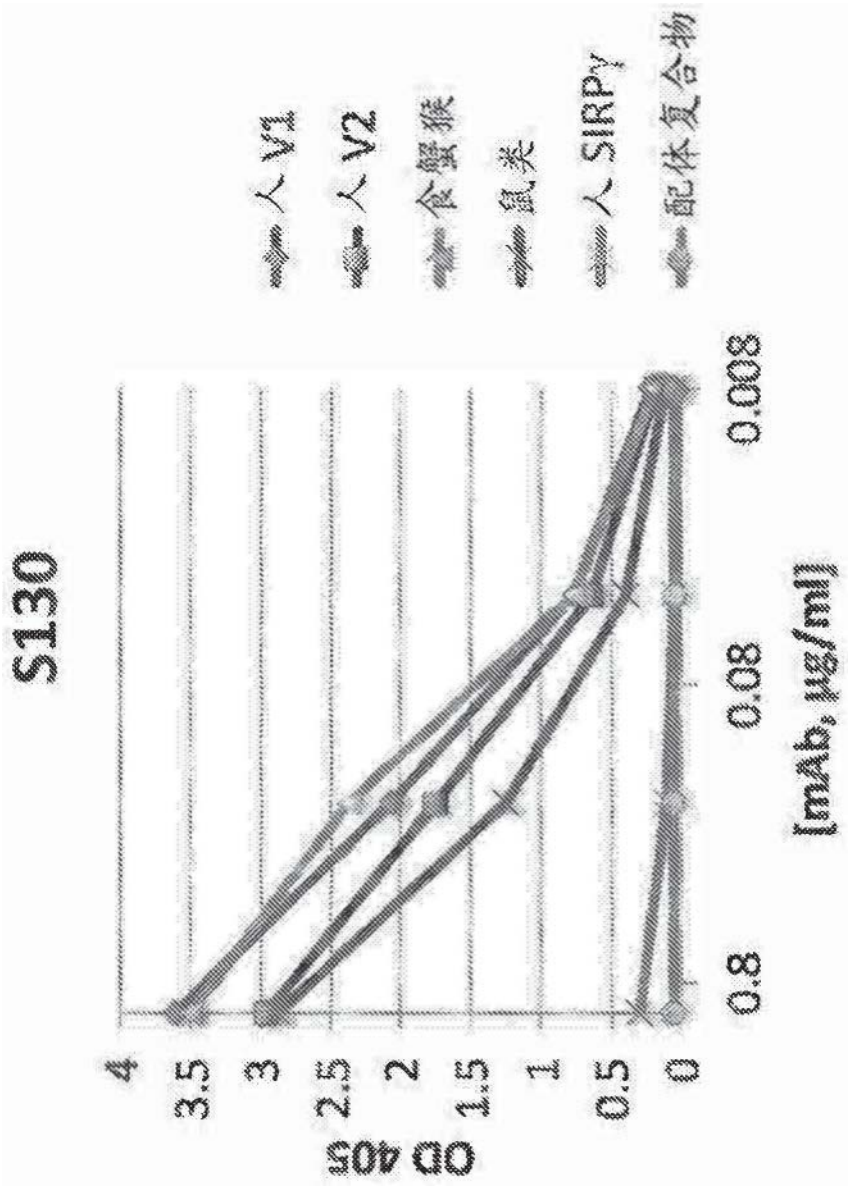

S130
人 V1
人 V2
食蟹猴
鼠类
人 SIRPγ
配体复合物
OD 405
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0.8
0.08
0.008
[mAb, μg/ml]

图3A

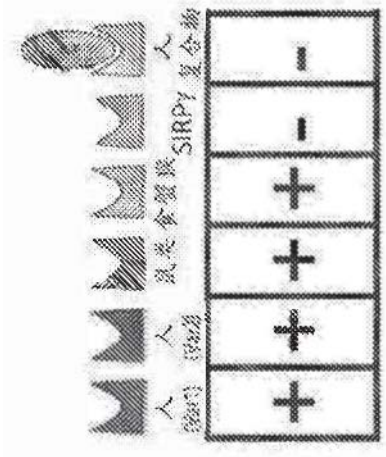

人
鼠类 食蟹猴 SIRPγ
人
人
+
+
+
+
-
-

图3B

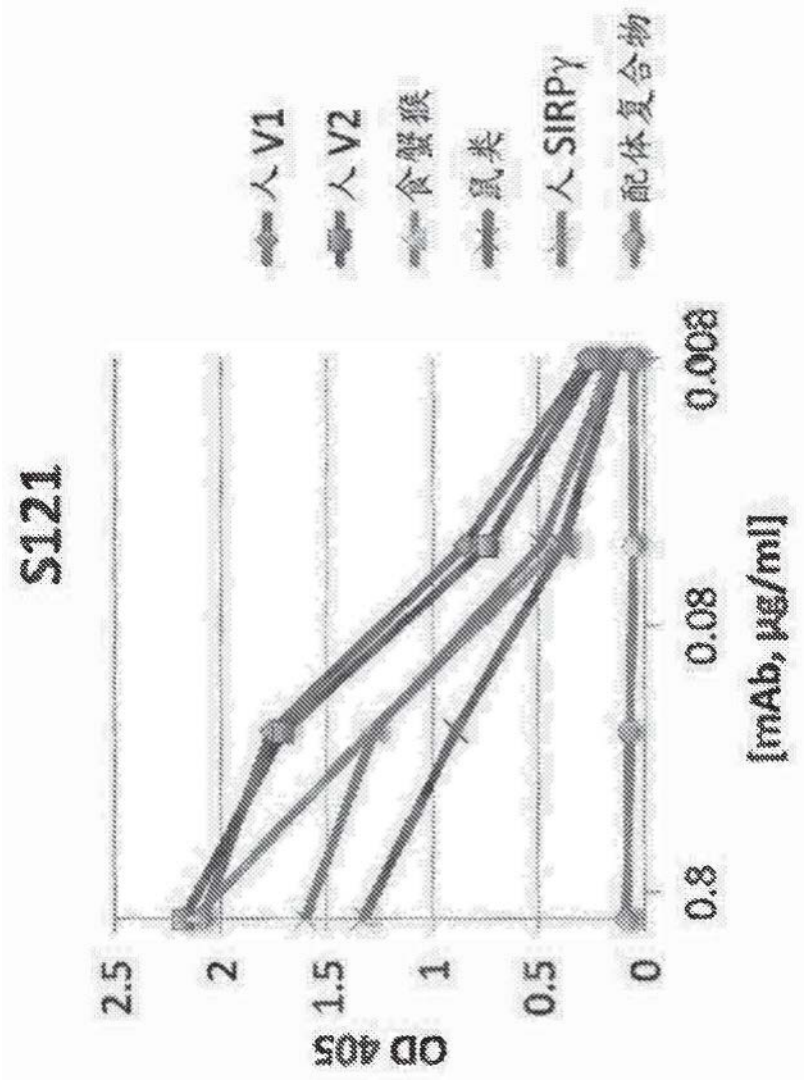

S121
人V1
人V2
食蟹猴
鼠类
人SIRPγ
配体复合物
OD 405
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0.8
0.08
0.003
[mAb, μg/ml]

图4A

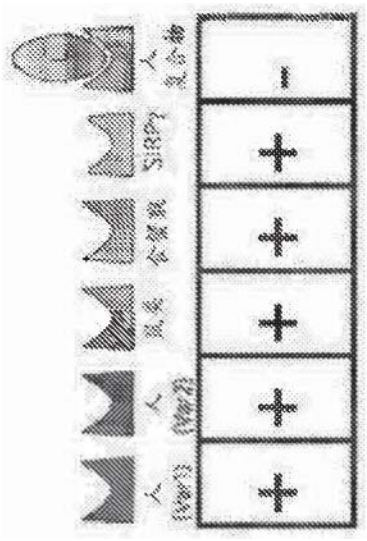


图4B

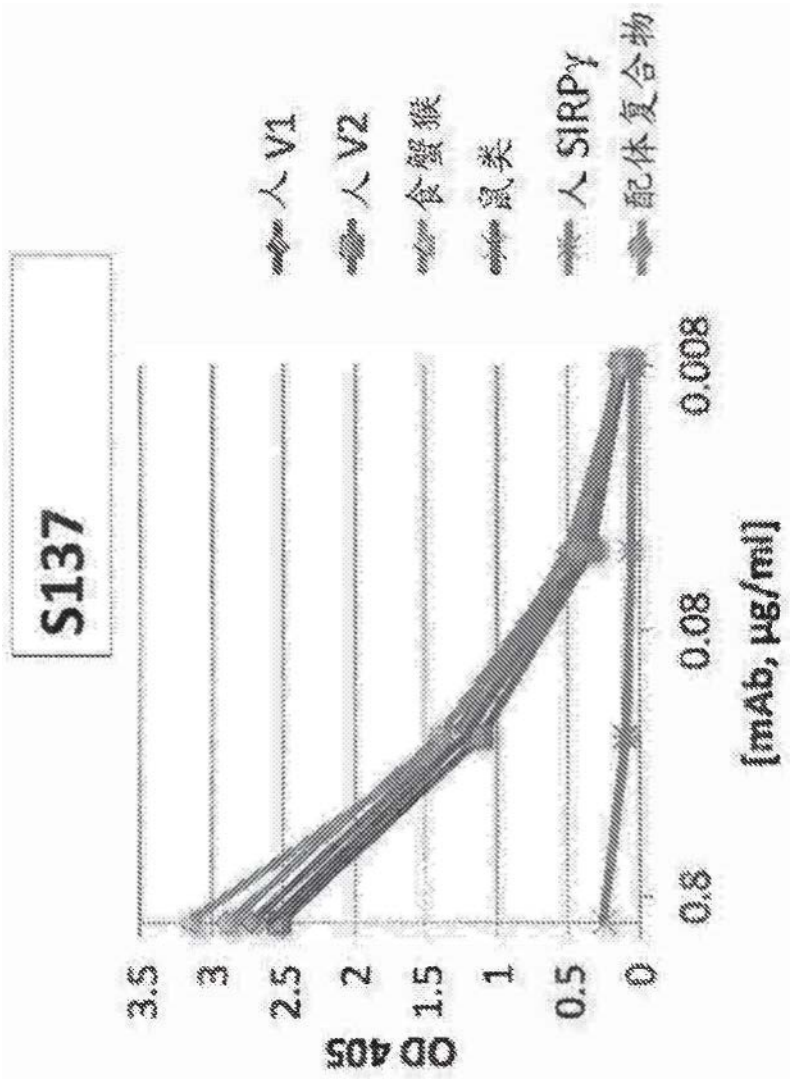

S137
人 V1
人 V2
食蟹猴
鼠类
人 SIRPγ
配体复合物
OD 405
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0.8
0.08
0.008
[mAb, μg/ml]

图5A

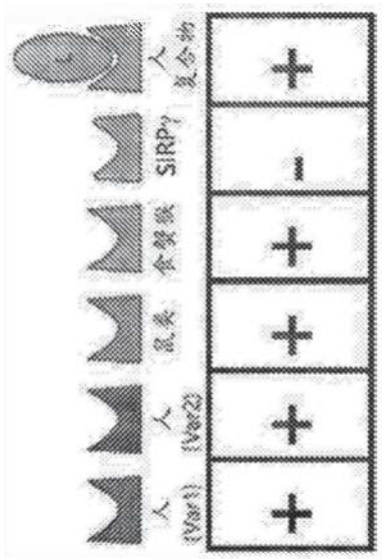


图5B

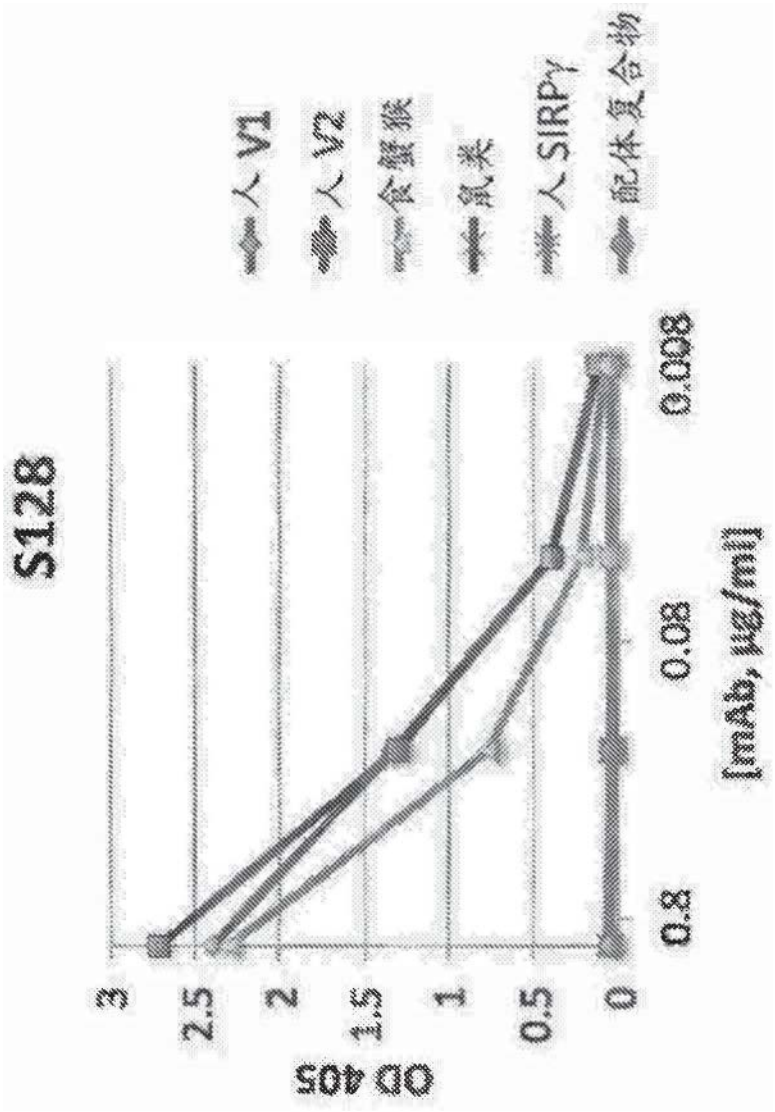

S128
人 V1
人 V2
食蟹猴
鼠类
人 SIRPγ
配体复合物
OD 405
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0.8
0.08
0.008
[mAb, μg/ml]

图6A

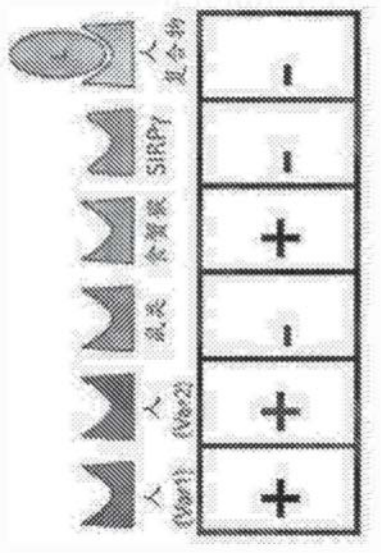


图6B

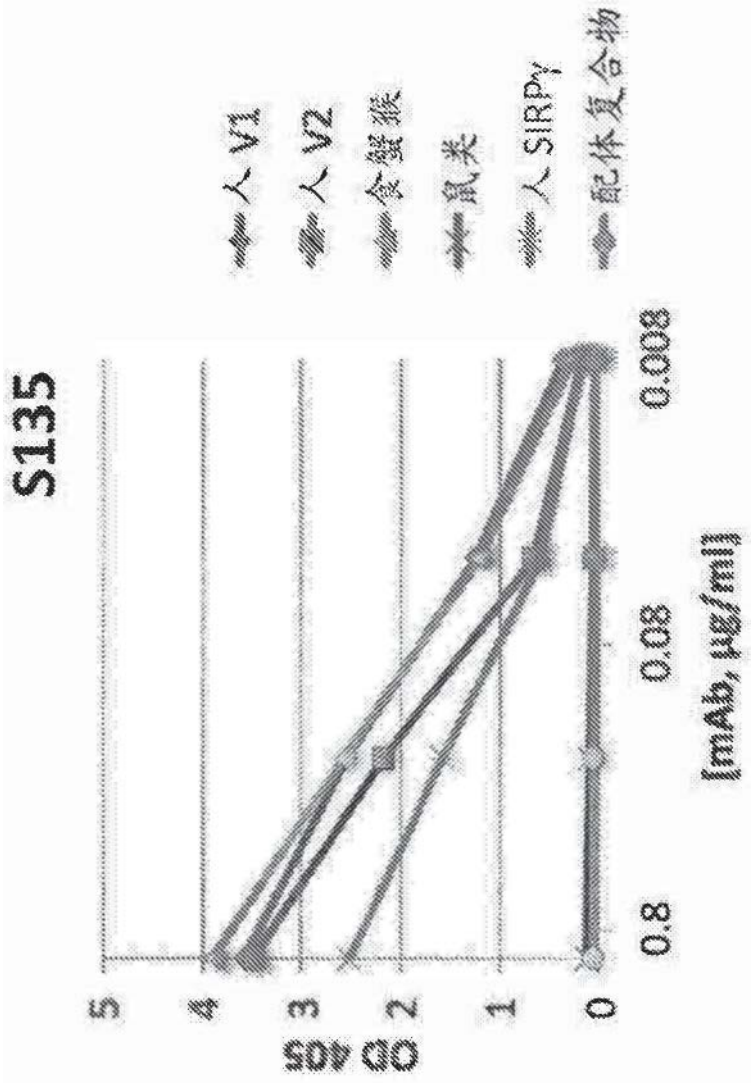

S135
人 V1
人 V2
食蟹猴
鼠类
人 SIRPγ
配体复合物
OD 405
5
4
3
2
1
0
0.8
0.08
0.008
[mAb, μg/ml]

图7A

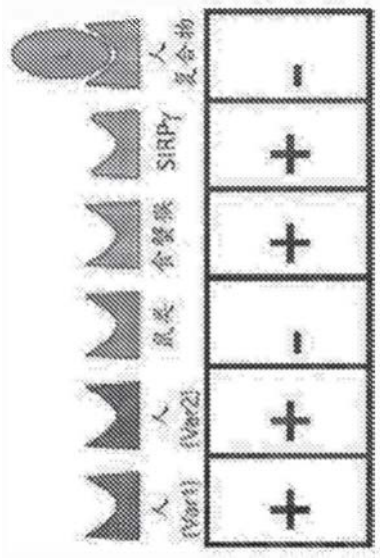


图7B

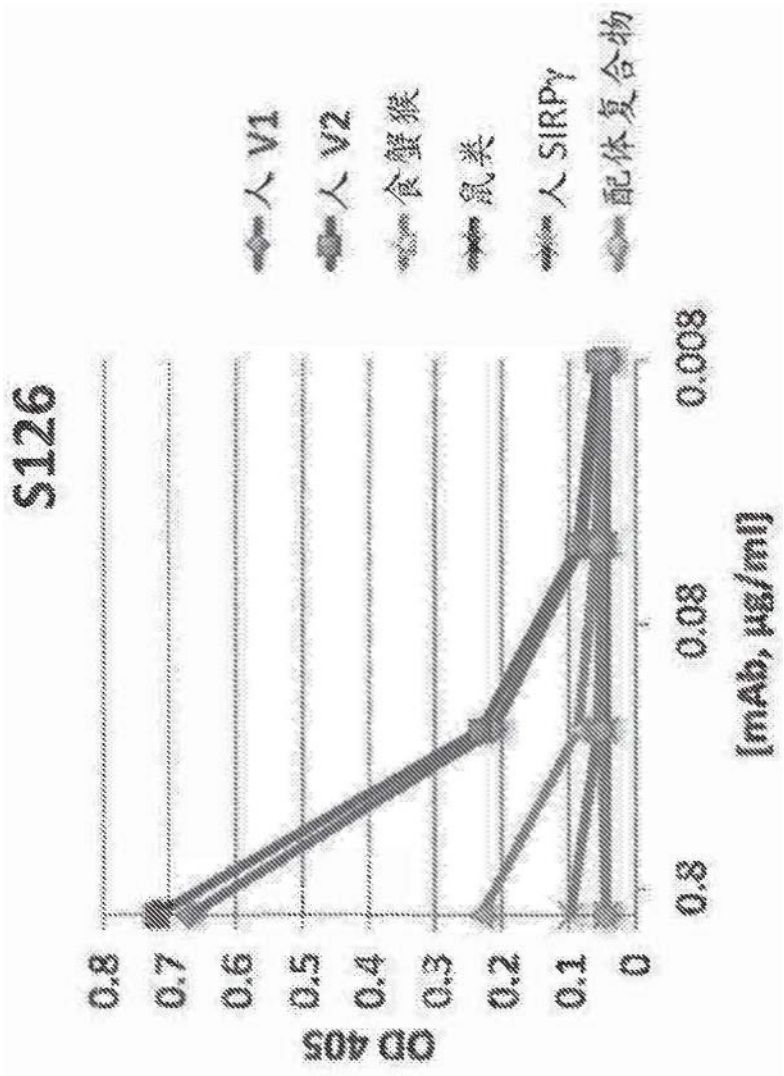

S126
人 V1
人 V2
食蟹猴
鼠类
人 SIRPγ
配体复合物
OD 405
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0.8
0.08
0.008
[mAb, μg/ml]

图8A

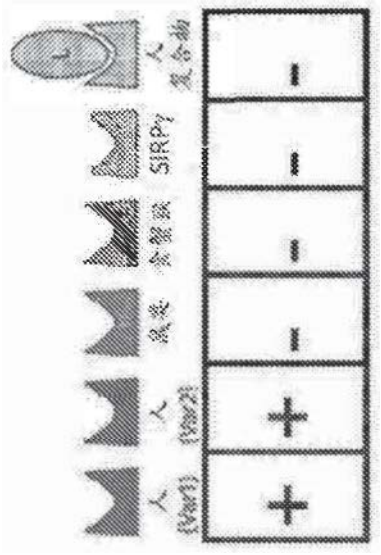


图8B

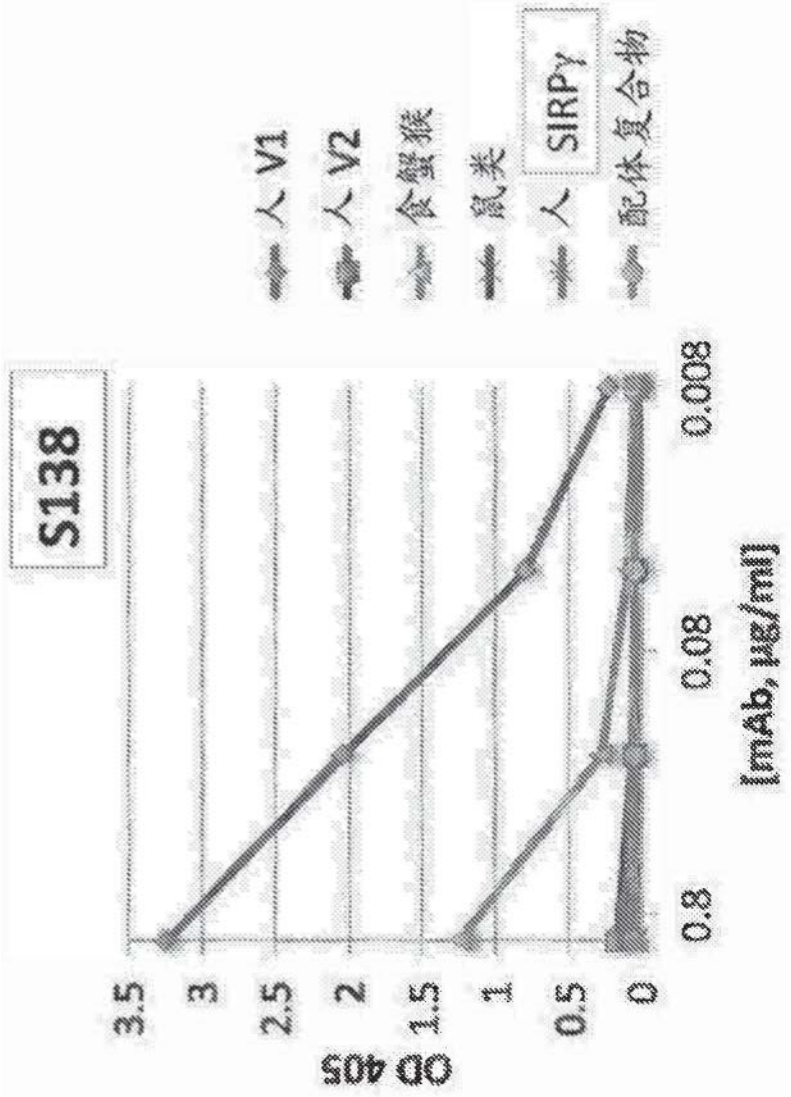

S138
人 V1
人 V2
食蟹猴
鼠类
人 SIRPγ
配体复合物
OD 405
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0.8
0.08
0.008
[mAb, μg/ml]

图9A

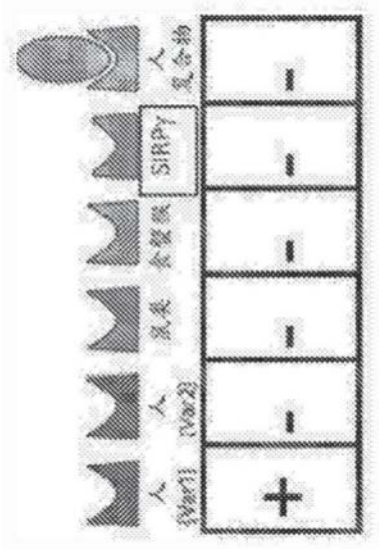


图9B

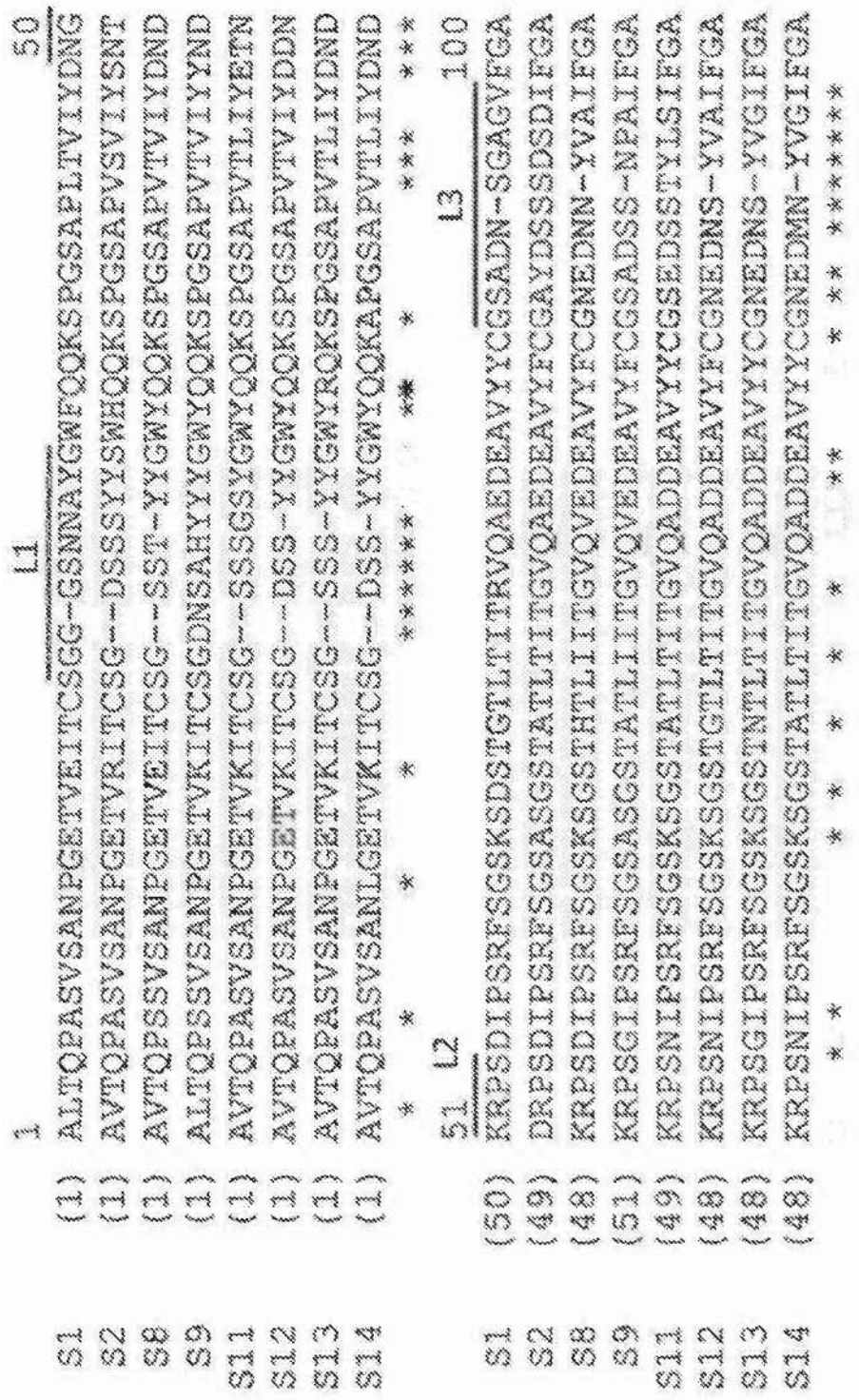

1 L1 50
S1 (1) ALTQPASVSANPGETVEITCSGG-GSNNAYGWFQQKSPGSAPLTVIYDNG
S2 (1) AVTQPASVSANPGETVRITCSG--DSSSYYSWHQQKSPGSAPVSVIYSNT
S8 (1) AVTQPSSVSANPGETVEITCSG--SST-YYGWYQQKSPGSAPVTVIYDND
S9 (1) ALTQPSSVSANPGETVKITCSGDNSAHYYYGWYQQKSPGSAPVLVIYKND
S11 (1) AVTQPASVSANPGETVKITCSG--SSSGSYGWYQQKSPGSAPVTLIYETN
S12 (1) AVTQPASVSANPGETVKITCSG--DSS-YYGWYQQKSPGSAPVTVIYDDN
S13 (1) AVTQPASVSANPGETVKITCSG--SSS-YYGWYRQKSPGSAPVTLIYDND
S14 (1) AVTQPASVSANLGETVKITCSG--DSS-YYGWYQQKAPGSAPVTLIYDND
51 L2 L3 100
S1 (50) KRPSDIPSRFSGSKSDSTGTLTITRVQAEDEAVYYCGSADN-SGAGVFGA
S2 (49) DRPSDIPSRFSGSASGSTATLTITGVQAEDEAVYFCGAYDSSSDSDIFGA
S8 (48) KRPSDIPSRFSGSKSGSTHTLIITGVQVEDEAVYFCGMEDMN-YVAIFGA
S9 (51) KRPSGIPSRFSGSASGSTATLIITGVQVEDEAVYFCGSADSS-NPAIFGA
S11 (49) KRPSNIPSRFSGSKSGSTATLTITGVQADDEAVYYCGSEDSSTYLSIFGA
S12 (48) KRPSNIPSRFSGSKSGSTGTLTITGVQADDEAVYFCGNEDMS-YVAIFGA
S13 (48) KRPSGIPSRFSGSKSGSTNTLTITGVQADDEAVYYCGNEDNS-YVGIFGA
S14 (48) KRPSNIPSRFSGSKSGSTATLTITGVQADDEAVYYCGNEDMN-YVGIFGA

图10A

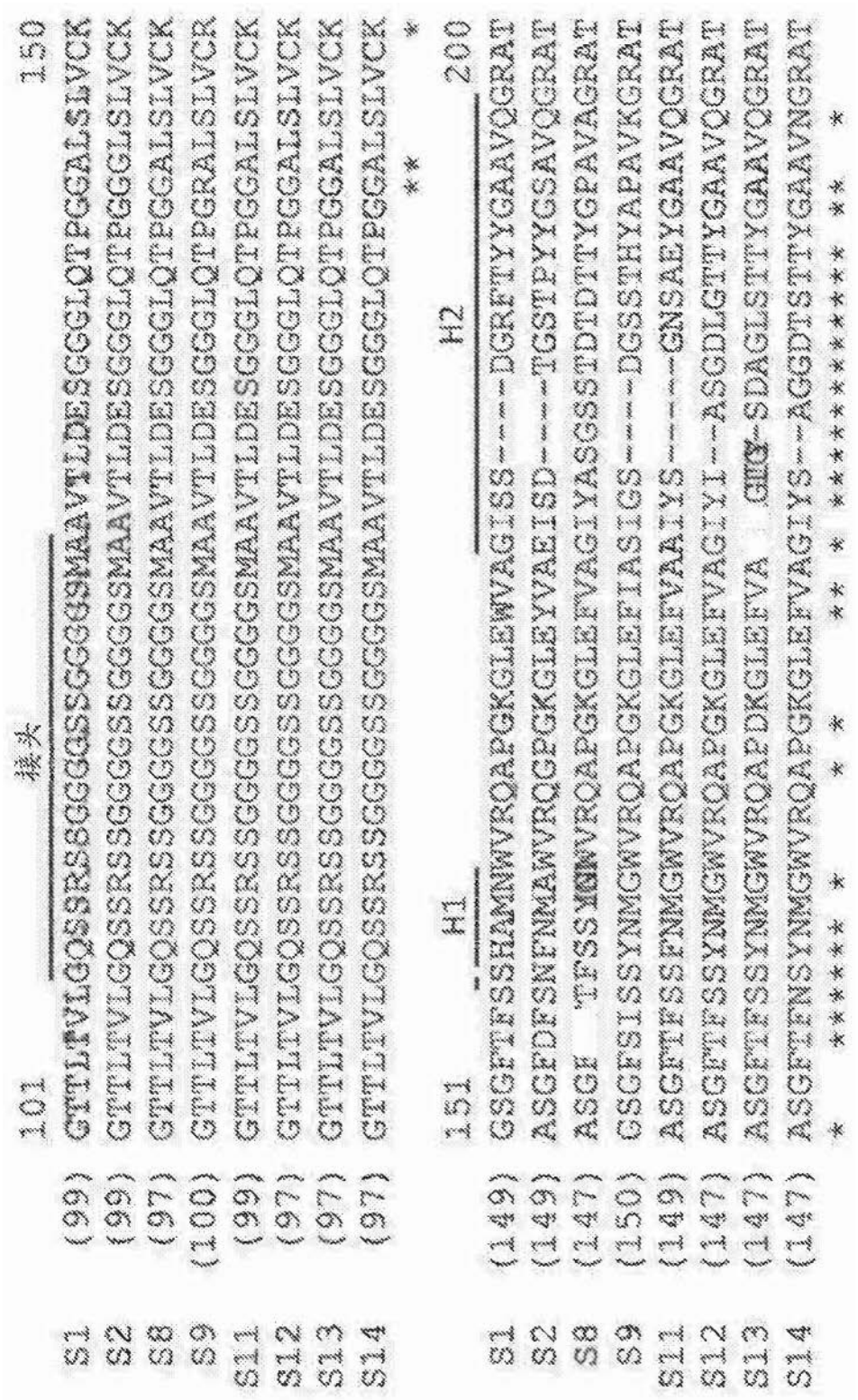


图10A(续)

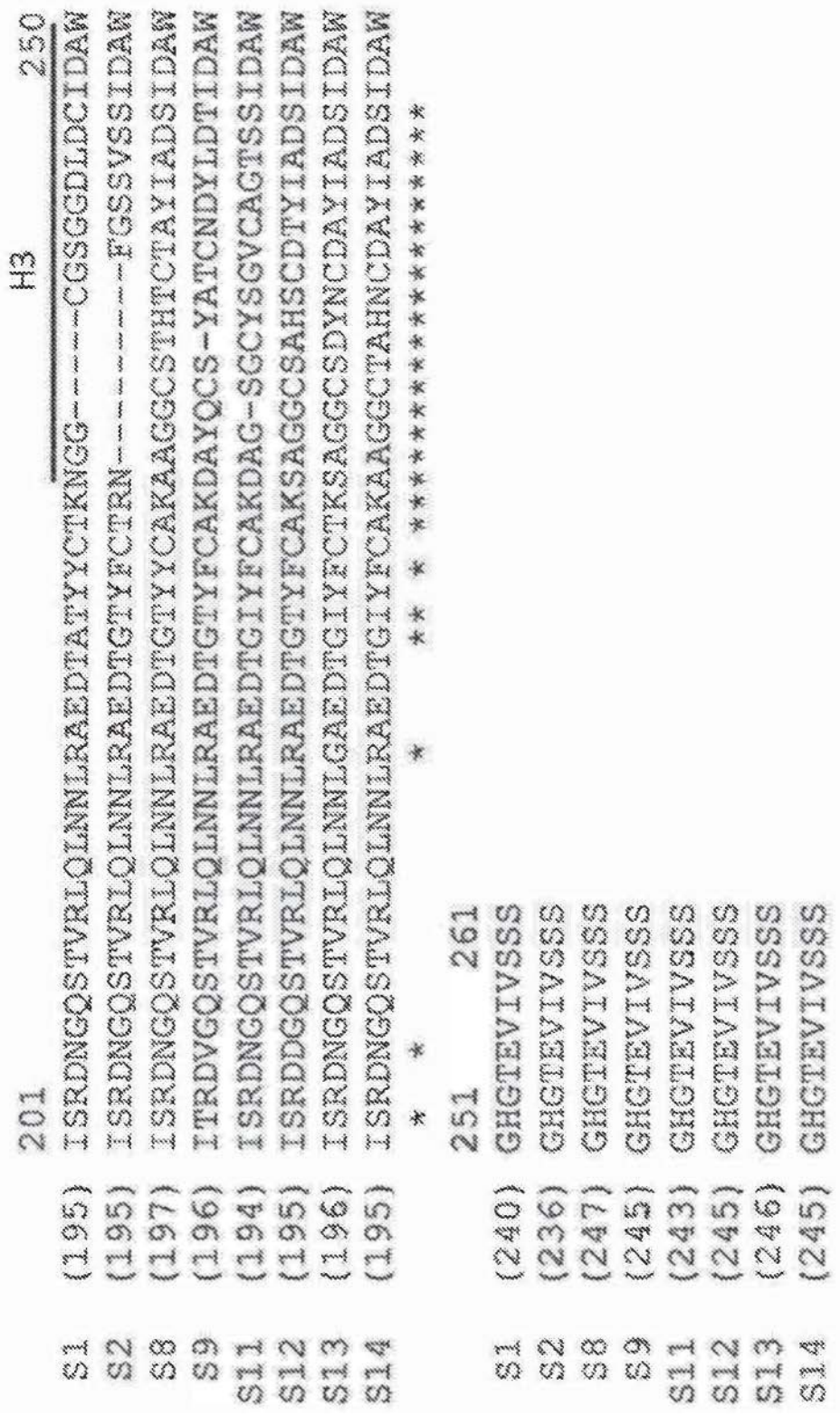

201 H3 250
S1 (195) ISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTATYYCTKNGG-----CGSGGDLDCIDAW
S2 (195) ISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYFCTRN-----FGSSVSSIDAW
S8 (197) ISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYYCAKAAGGCSTHTCTAYIADSIDAW
S9 (196) ITRDVGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYFCAKDAYQCS-YATCNDYLDTIDAW
S11 (194) ISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTGIYFCAKDAG-SGCYSYGVCAGTSSIDAW
S12 (195) ISRDDGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYFCAKSAGGCSAHSCDTYIADSIDAW
S13 (196) ISRDNGQSTVRLQLNNLGAEDTGIYFCTKSAGGCSDYNCDAYIADSIDAW
S14 (195) ISRDNGQSTVRLQLNNLRAEDTGIYFCAKAAGGCTAHNCDAYIADSIDAW
* * * * ** * ** ** ********** **********
251 261
S1 (240) GHGTEVIVSSS
S2 (236) GHGTEVIVSSS
S8 (247) GHGTEVIVSSS
S9 (245) GHGTEVIVSSS
S11 (243) GHGTEVIVSSS
S12 (245) GHGTEVIVSSS
S13 (246) GHGTEVIVSSS
S14 (245) GHGTEVIVSSS

图10A(续)

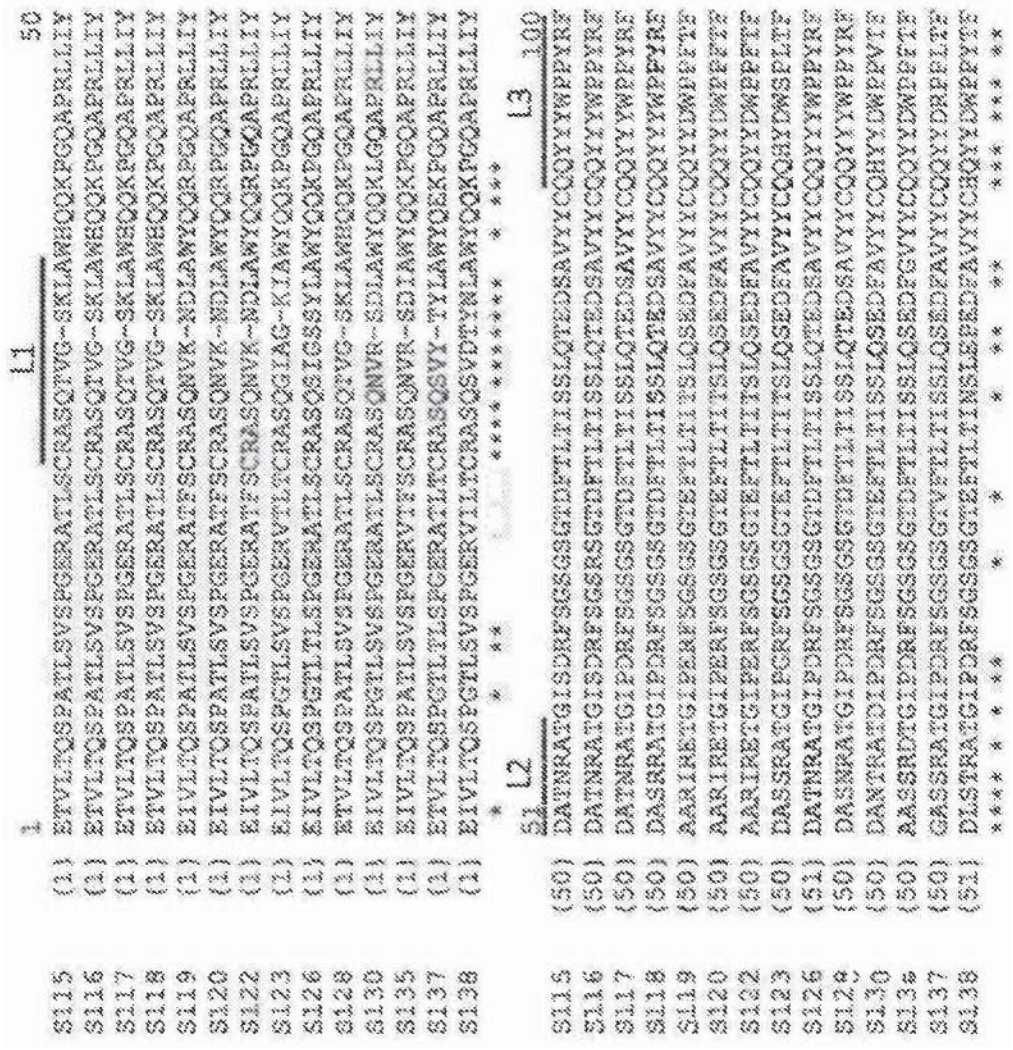


图10B

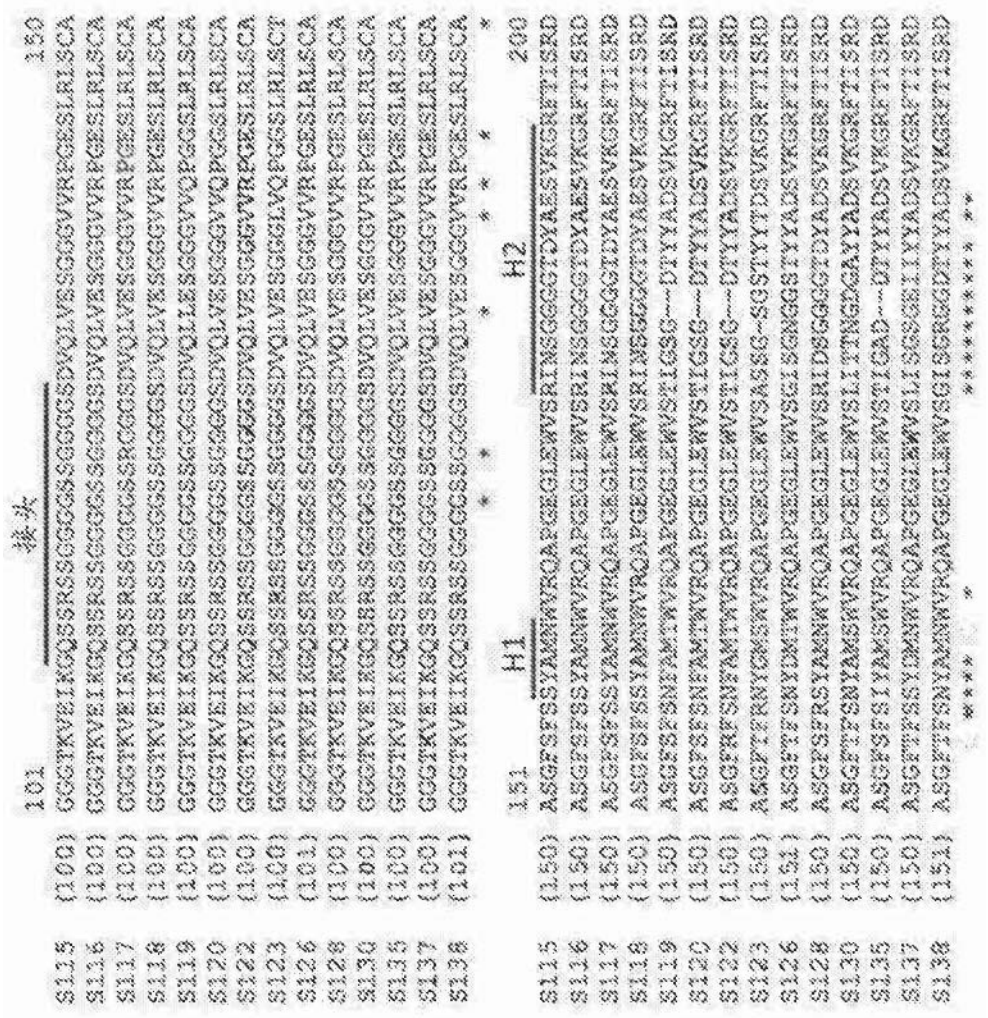


图10B(续)

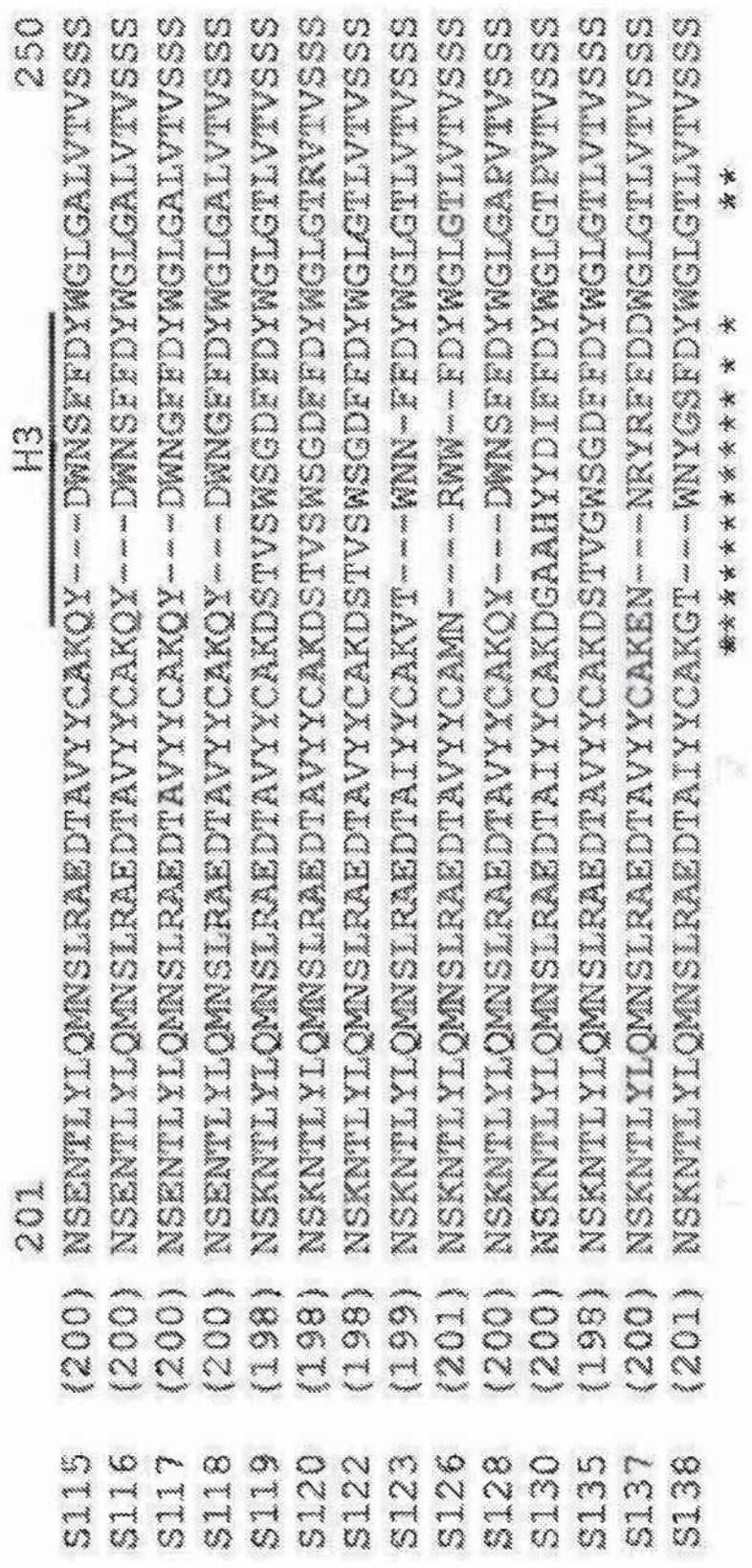

201 H3 250
S115 (200) NSENTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKQY---DWNSFFDYWGLGALVTVSSS
S116 (200) NSENTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKQY---DWNSFFDYWGLGALVTVSSS
S117 (200) NSENTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKQY---DWNGFFDYWGLGALVTVSSS
S118 (200) NSENTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKQY---DWNGFFDYWGLGALVTVSSS
S119 (198) NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWGLGTLVTVSSS
S120 (198) NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWGLGTRVTVSSS
S122 (198) NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWGLGTLVTVSSS
S123 (199) NSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCAKVT---WNN-FFDYWGLGTLVTVSSS
S126 (201) NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAMN---RWW---FDYWGLGTLVTVSSS
S128 (200) NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKQY---DWNSFFDYWGLGAPVTVSSS
S130 (200) NSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCAKDGAAHYYDIFFDYWGLGTPVTVSSS
S135 (198) NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTVGWSGDFFDYWGLGTLVTVSSS
S137 (200) NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEN---NRYREFDDWGLGTLVTVSSS
S138 (201) NSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCAKGT---WNYGSFFDYWGLGTLVTVSSS
********** * * * ** **

图10B(续)

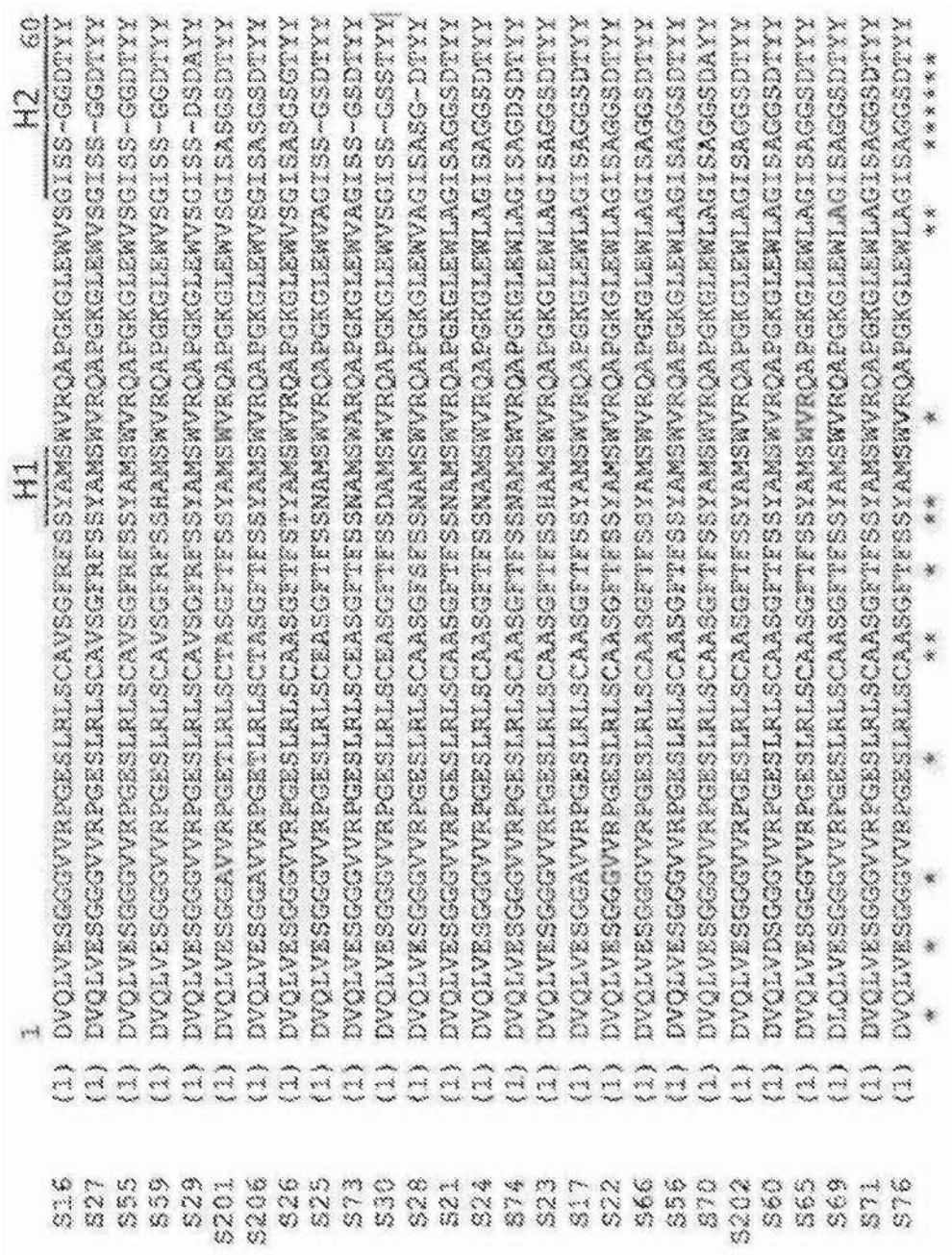


图11A

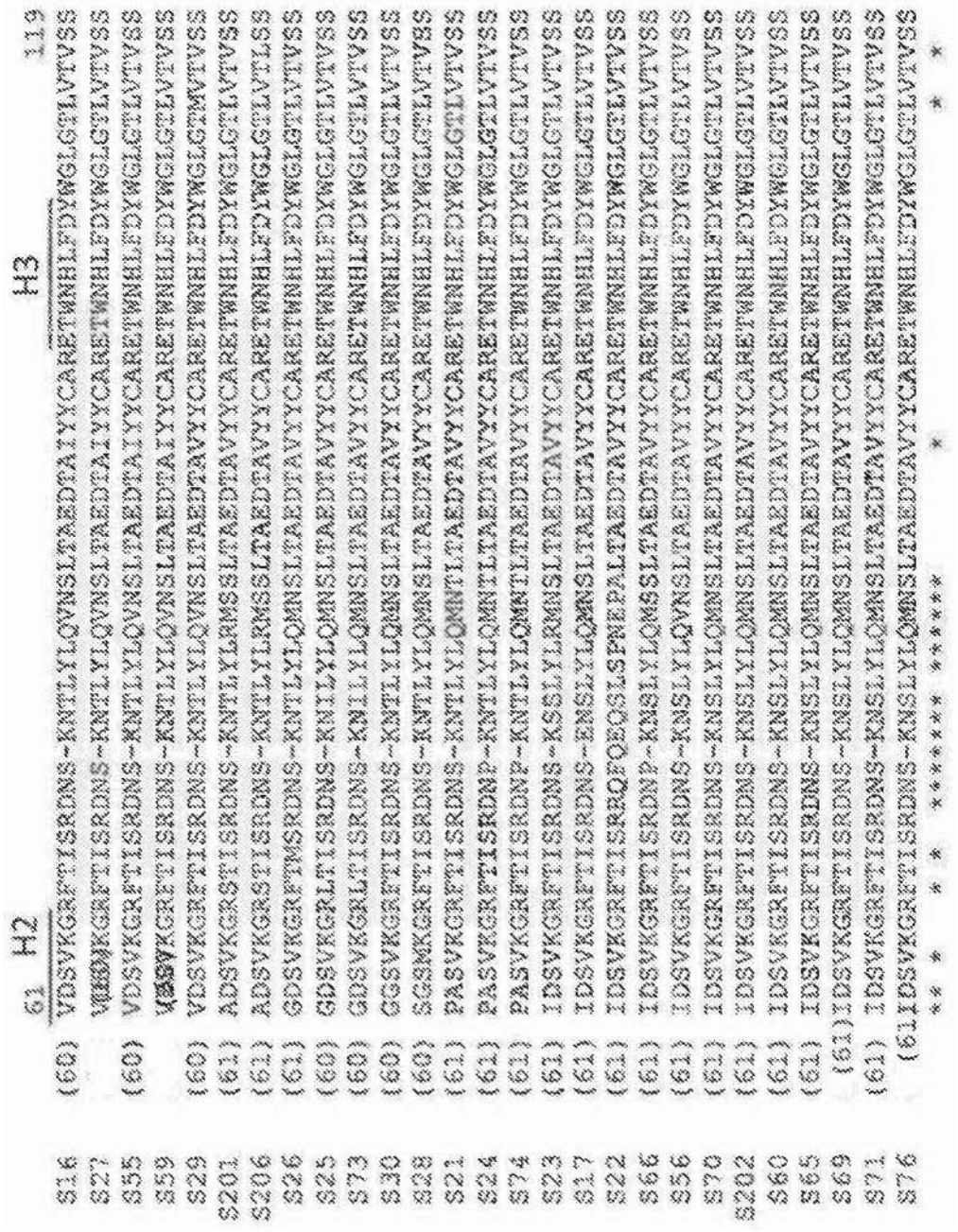


图11A(续)

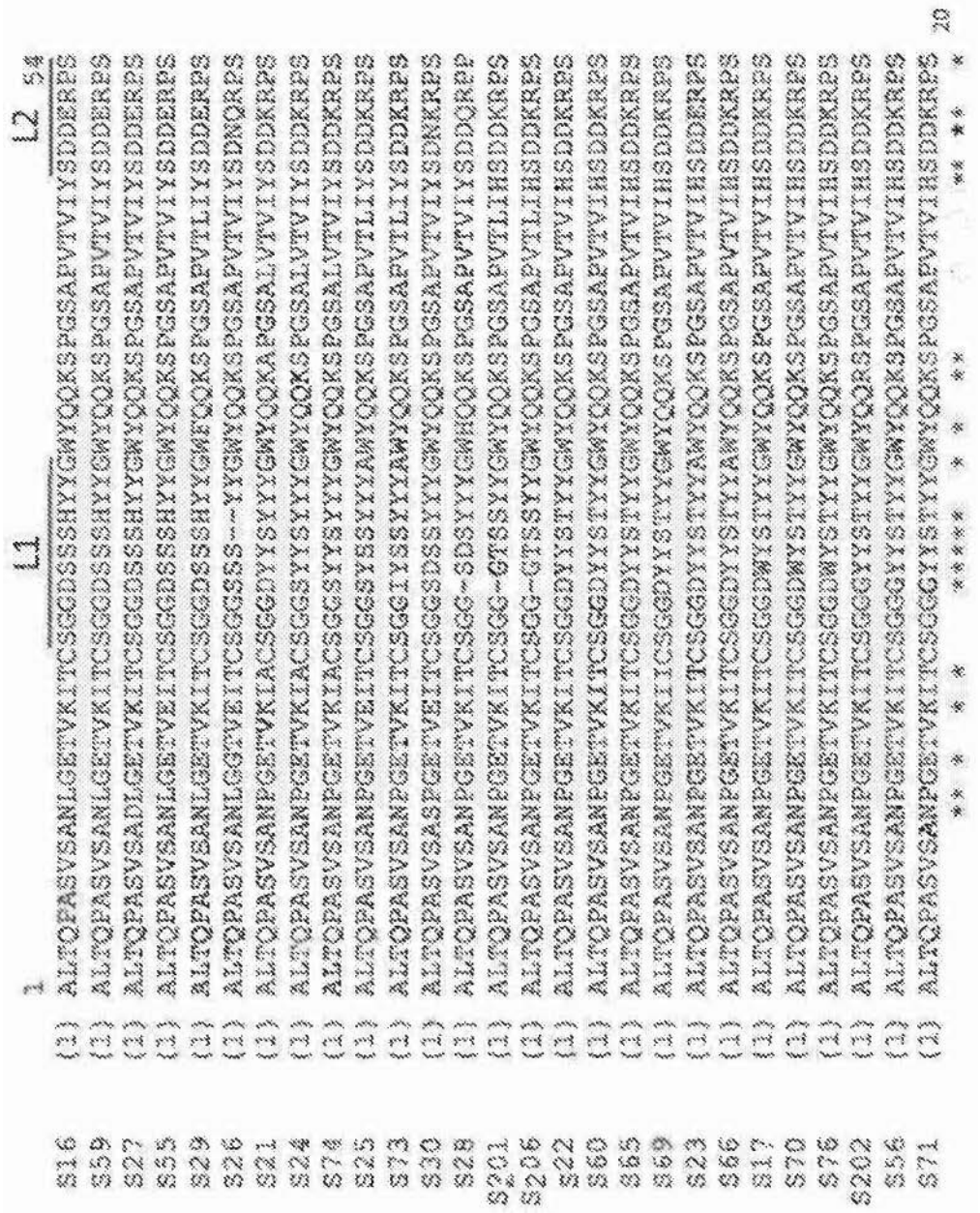


图11A(续)

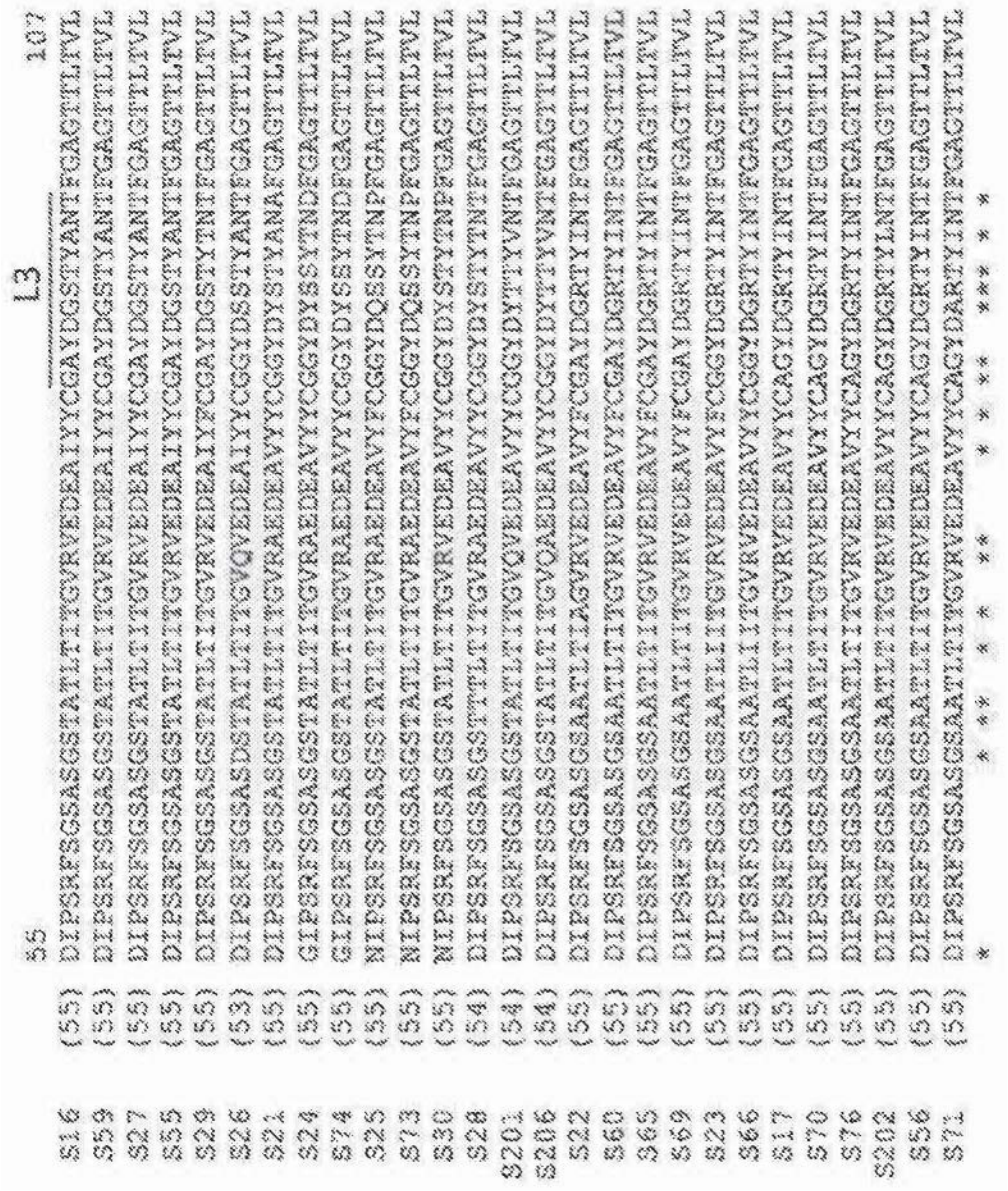


图11A(续)

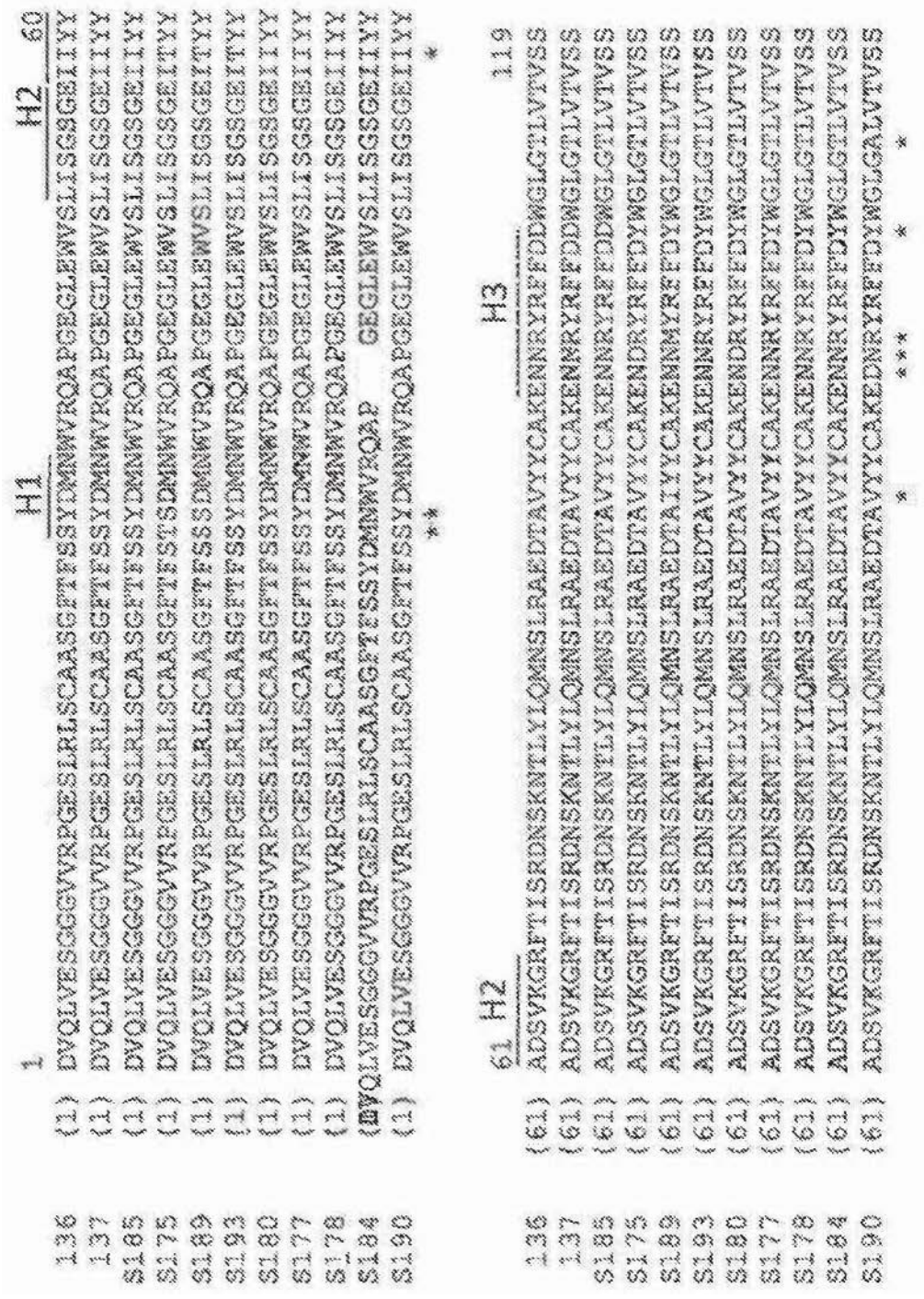


图11B

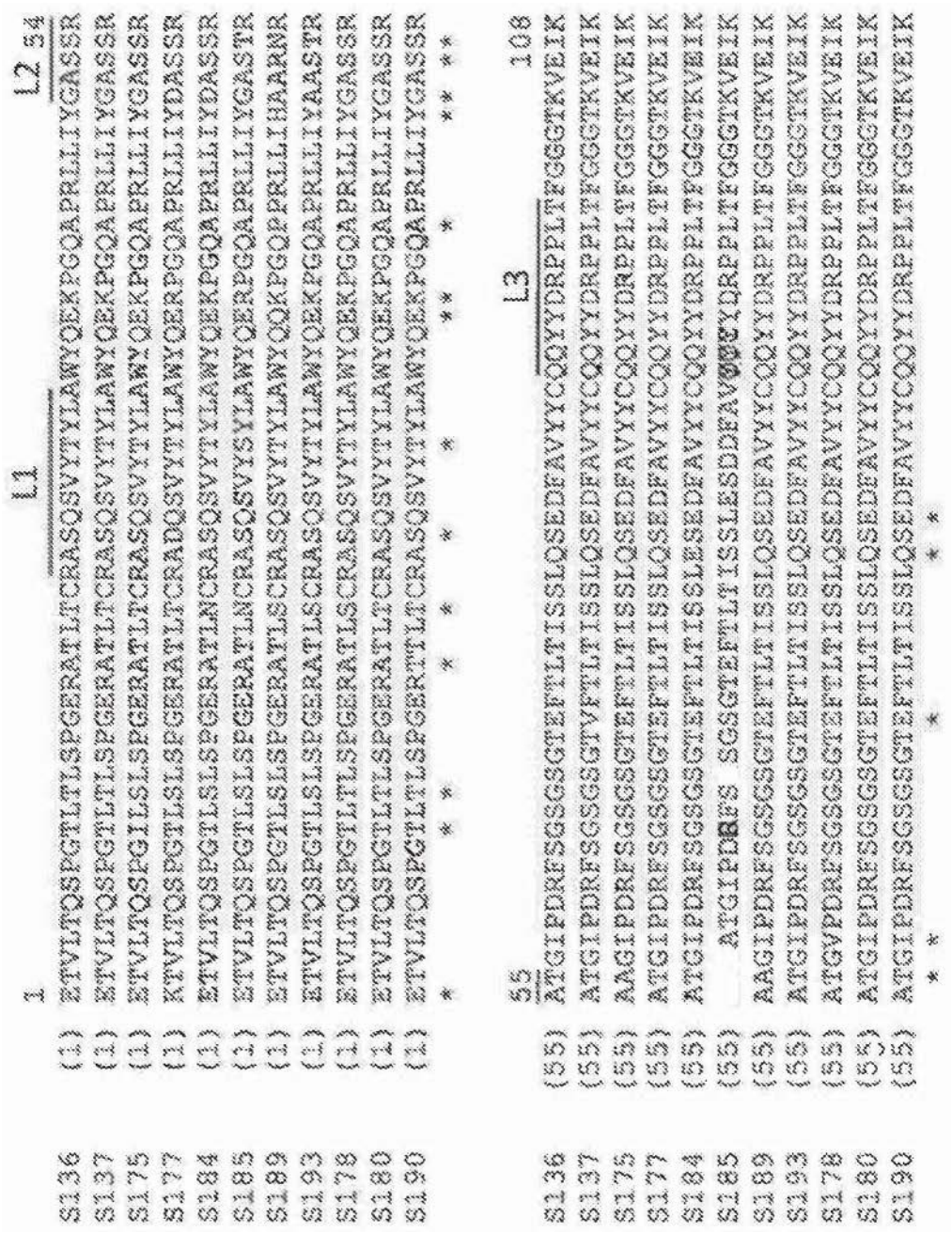


图11B(续)

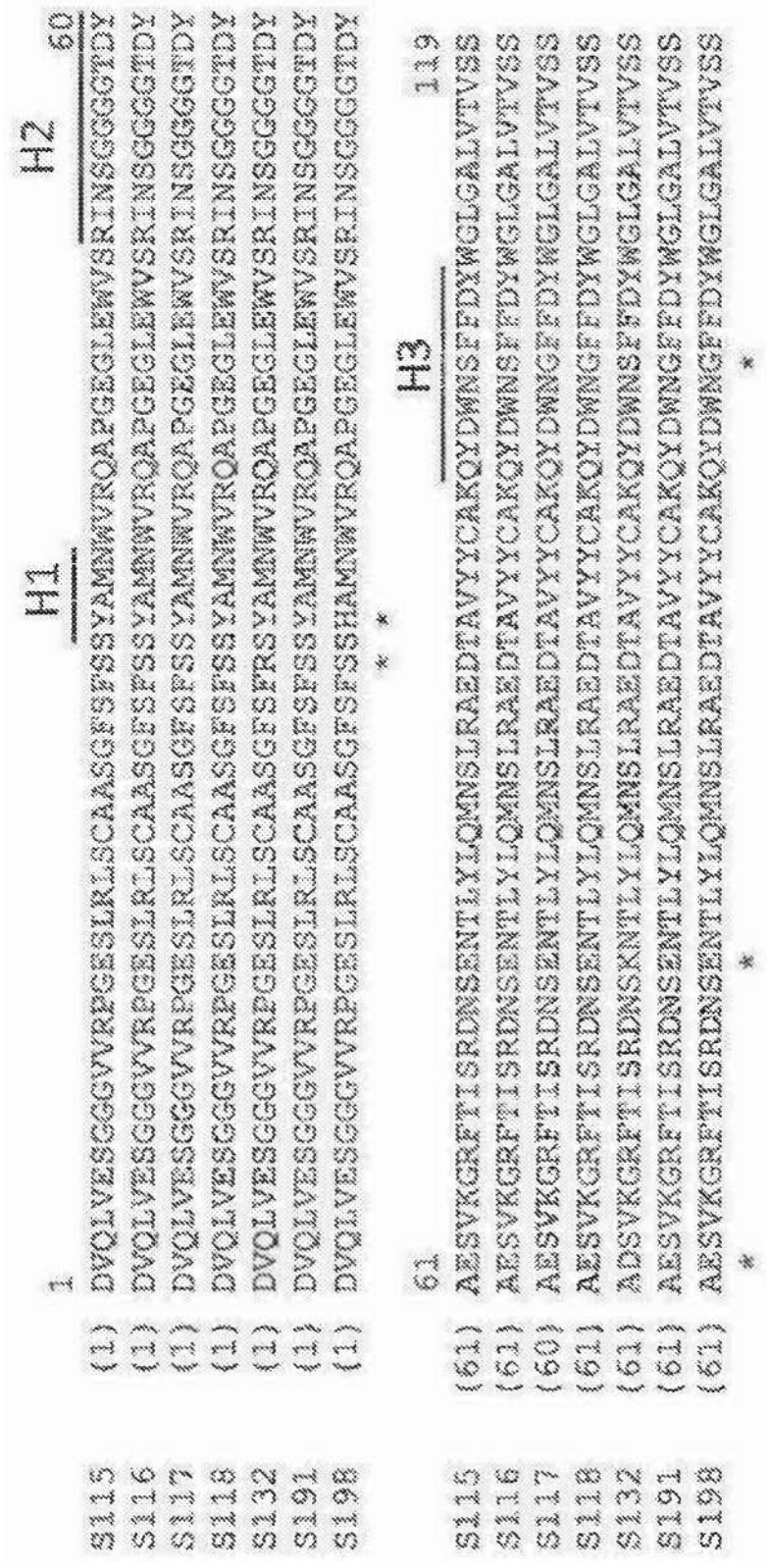

H1
H2
H3
1 60
S115 (1) DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFSSYAMNWVRQAPGEGLEWVSRINSGGGTDY
S116 (1) DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFSSYAMNWVRQAPGEGLEWVSRINSGGGTDY
S117 (1) DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFSSYAMNWVRQAPGEGLEWVSRINSGGGTDY
S118 (1) DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFSSYAMNWVRQAPGEGLEWVSRINSGGGTDY
S132 (1) DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFRSYAMNWVRQAPGEGLEWVSRINSGGGTDY
S191 (1) DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFSSYAMNWVRQAPGEGLEWVSRINSGGGTDY
S198 (1) DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFSSHAMNWYRQAPGEGLEWVSRINSGGGTDY
61 119
S115 (61) AESVKGRFTISRDNSENTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKQYDWNSFFDYWGLGALVTVSS
S116 (61) AESVKGRFTISRDNSENTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKQYDWNSFFDYWGLGALVTVSS
S117 (60) AESVKGRFTISRDNSZNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKQYDWNGFFDYWGLGALVTVSS
S118 (61) AESVKGRFTISRDNSENTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKQYDWMGFFDYWGLGALVTVSS
S132 (61) ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKQYDWNSFFDYWGLGALVTVSS
S191 (61) AESVKGRFTISRDNSZNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKQYDWNGFFDYWGLGALVTVSS
S198 (61) AESVKGRFTISRDNSENTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKQYDWNGFFDYWGLGALVTVSS

图11C

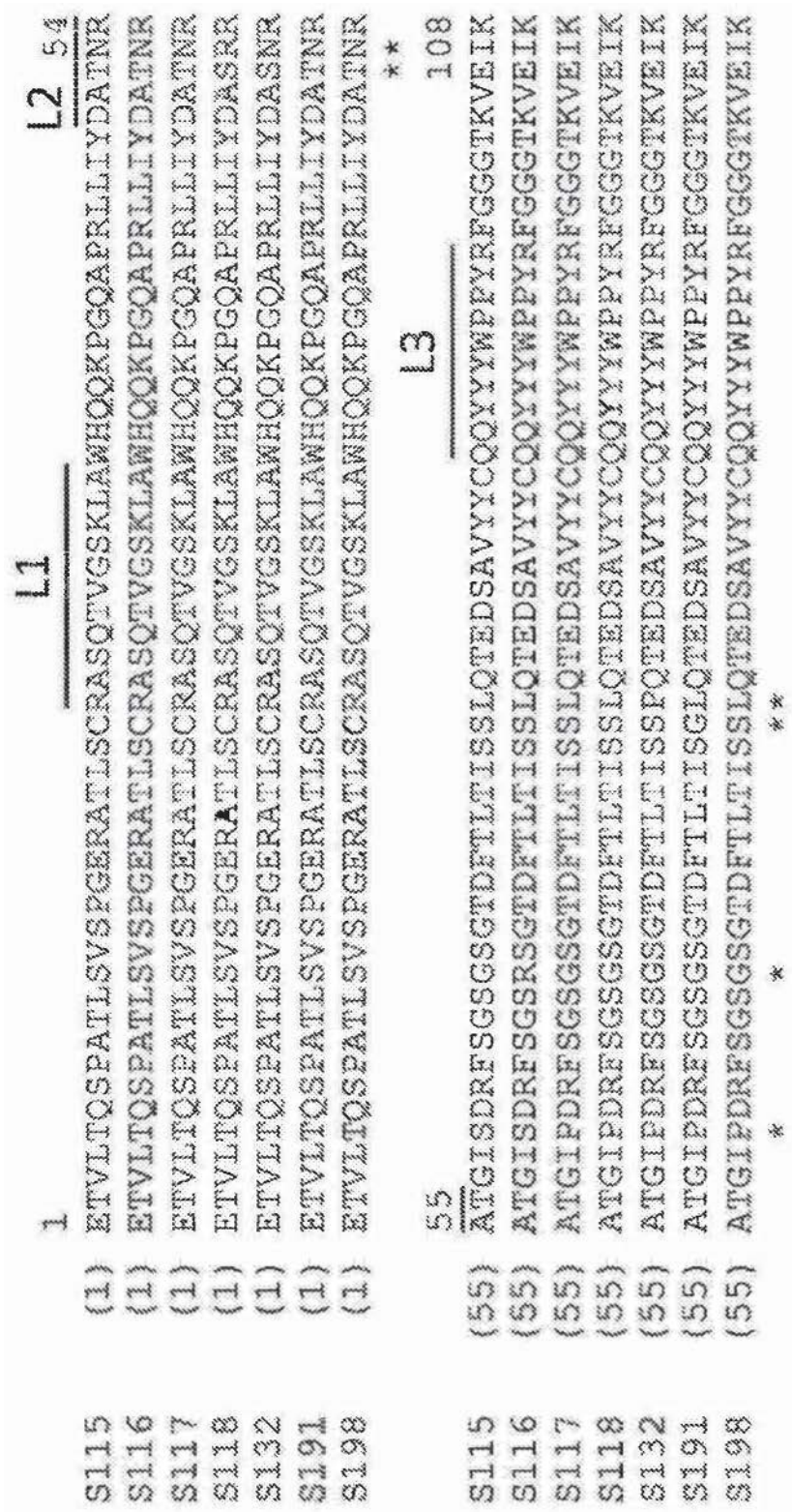

L1
L2
L3
1
54
55
108
S115 (1) ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVGSKLAWHQQKPGQAPRLLIYDATNR
S116 (1) ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVGSKLAWHQQKPGQAPRLLIYDATNR
S117 (1) ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVGSKLAWHQQKPGQAPRLLIYDATNR
S118 (1) ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVGSKLAWHQQKPGQAPRLLIYDASER
S132 (1) ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVGSKLAWHQQKPGQAPRLLIYDASNR
S191 (1) ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVGSKLAWHQQKPGQAPRLLIYDATNR
S198 (1) ETVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTVGSKLAWHQQKPGQAPRLLIYDATNR
S115 (55) ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQTEDSAVYYCQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK
S116 (55) ATGIPDRFSGSRSGTDFTLTISSLQTEDSAVYYCQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK
S117 (55) ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQTEDSAVYYCQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK
S118 (55) ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQTEDSAVYYCQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK
S132 (55) ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSPQTEDSAVYYCQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK
S191 (55) ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISGLQTEDSAVYYCQQYYYWPPYRFGGSTKVEIK
S198 (55) ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQTEDSAVYYCQQYYYWPPYRFGGGTKVEIK

图11C(续)

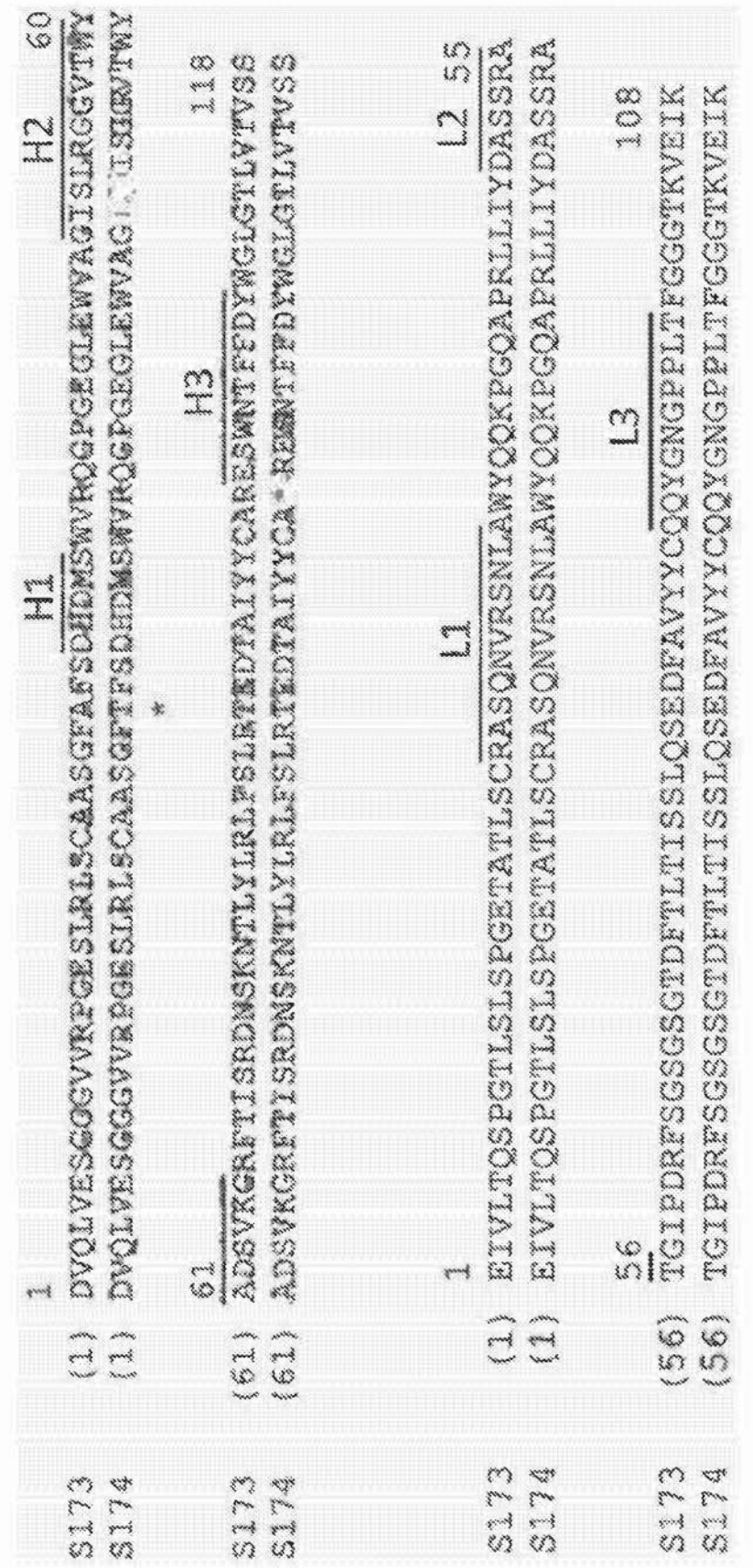

1 H1 H2 60
S173 (1) DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFAFSDHDMSWVRQGPGEGLEWVAGISLRGGVTWY
S174 (1) DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSDHDMSWVRQGPGEGLEWVAG[illegible]
61 H3 118
S173 (61) ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLRLESLRTEDTAIYYCARESWNTFEDYWGLGTLVTVSS
S174 (61) ADSVKGRFTYSRDNSKNTLYLRLESLRTEDTAIYYCA[illegible]
1 L1 L2 55
S173 (1) EIVLTQSPGTLSLSPGETATLSCRASQNVRSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRA
S174 (1) EIVLTQSPGTLSLSPGETATLSCRASQNVRSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRA
56 L3 108
S173 (56) TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYGNGPPLTFGGGTKVEIK
S174 (56) TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYGNGPPLTFGGGTKVEIK

图11D

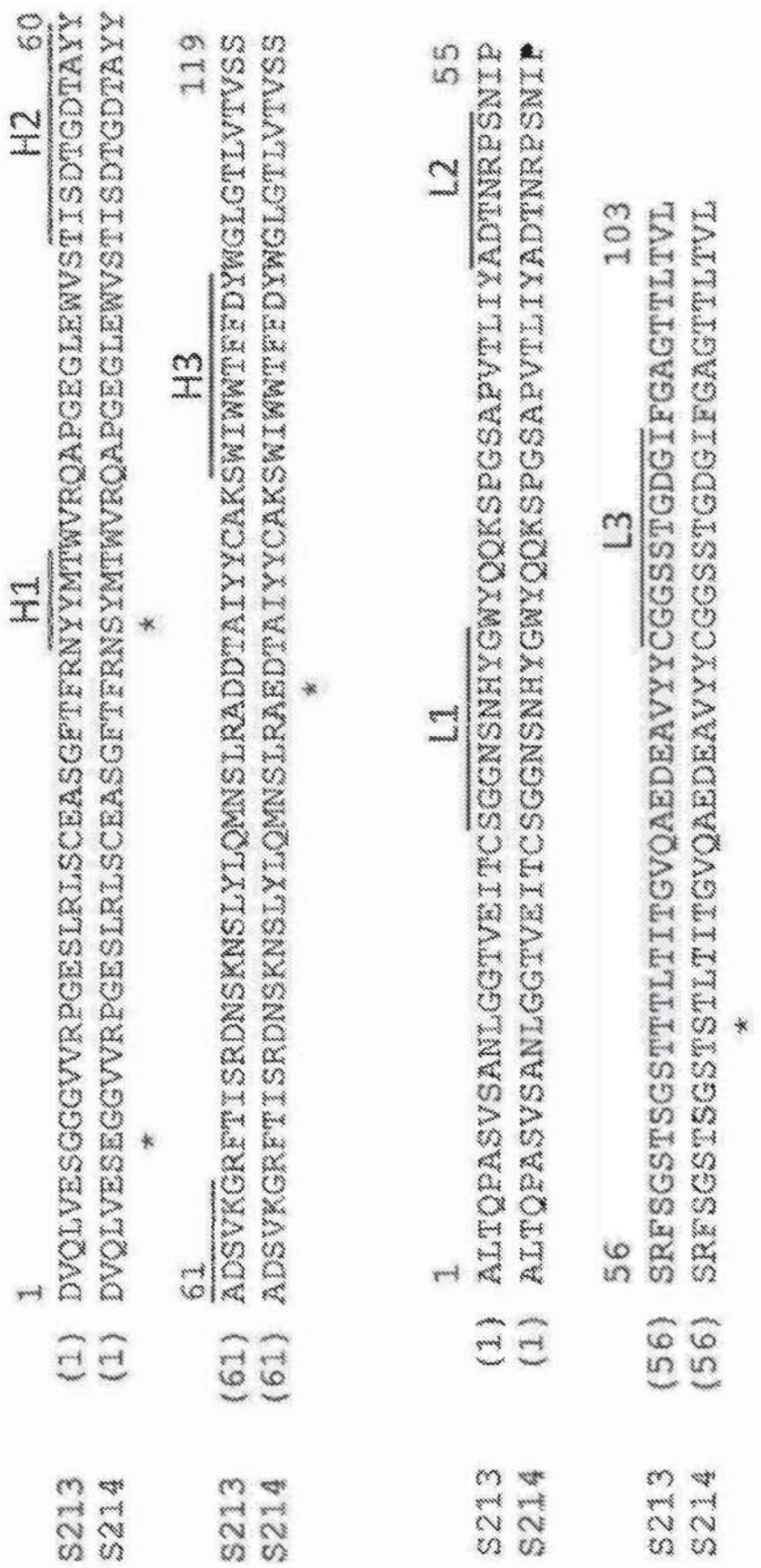


图11E

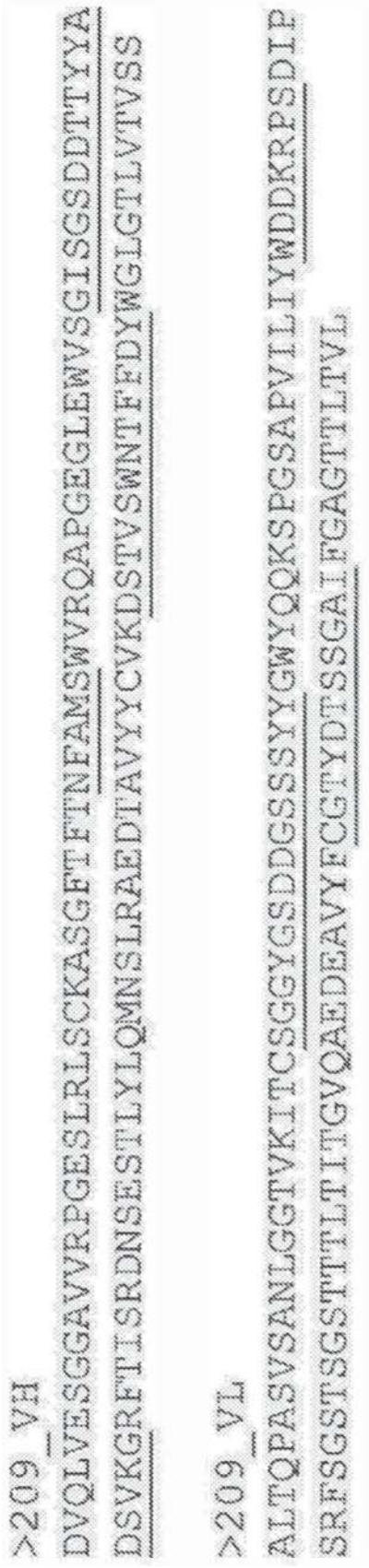

>209_VH
DVQLVESGGAVVRPGESLRLSCKASGFTFTNFAMSWVRQAPGEGLEWVSGISGSDDTYYA
DSVKGRFTISRDNSESTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKDSTVSWNTFFDYWGLGTLVTVSS
>209_VL
ALTQPASVSANLGGTVKITCSGGYGSDDGSSYYGWYQQKSPGSAPVILIYWDDKRPSDIP
SRFSGSTSGSTTTLTITGVQAEDEAVYFCGTYDTSSGAIFGAGTTLTVL

图11F

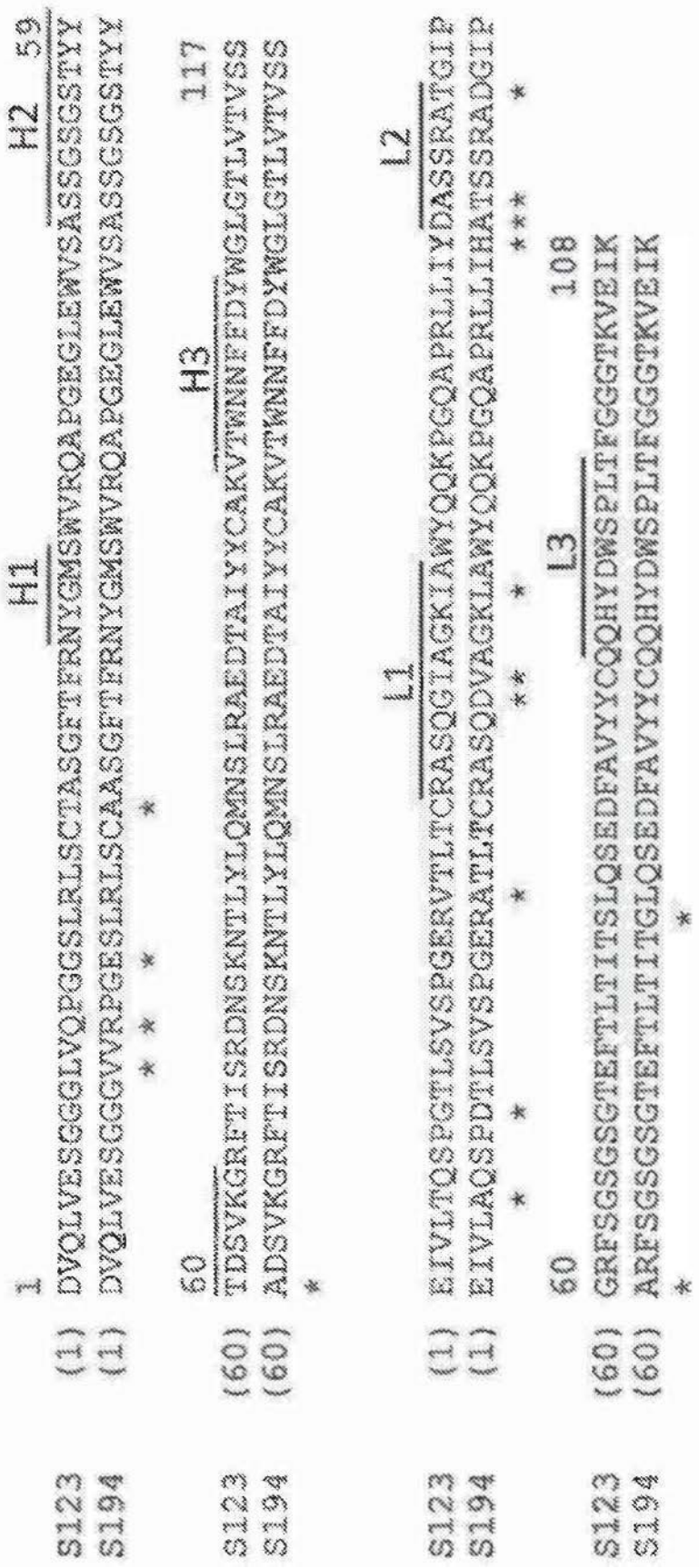


图11G

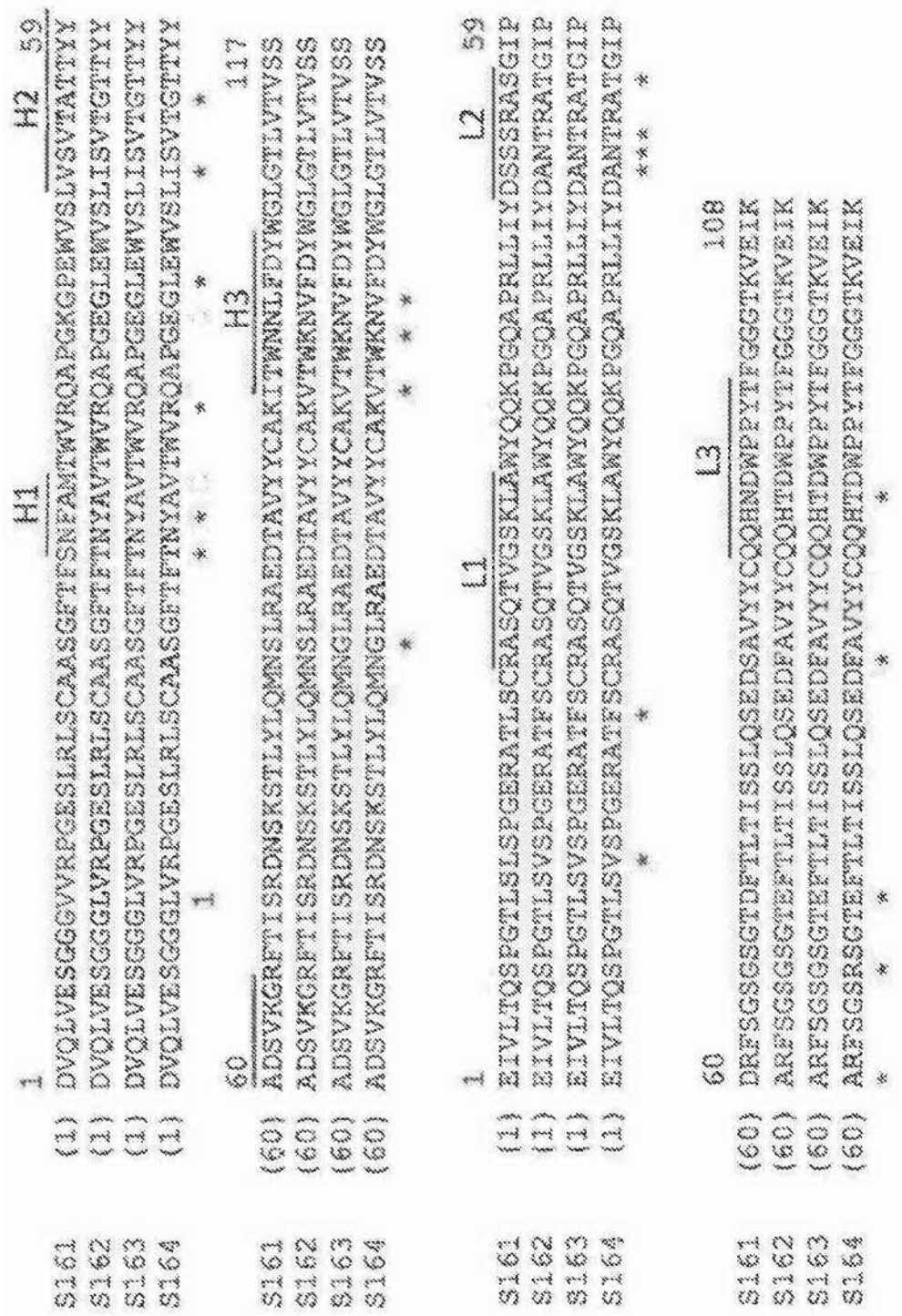


图11H


>S149_VH
DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFTFSNFAMNWVRQAPGEGLEWVSLISVTATTYYA
DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVTWNNLFDYWGLGTLVTVSS
>S149_VL
EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQPIDSYLAWYQQKPGQAPRLLIYNTVTRATGIPD
RFSGSGSGTDFTLTINRLEPEDFAVYYCQHQYDWPPYIFGGGTKVEIK
>S218_VH
DVQLVESGGGVVRPGESLTLSCTASGFTFTSSTMNWVRQAPGEGLDWVSSISTSGVITYY
ADSVKGRATISRDNSKNTLYLRLFSLRADDTAIYYCATDTFDHWGPGTLVTVSS
>S218_VL
ALTQPASVSANPGETVKITCFGSSGNYGWFQQKSPGSAPVTVIHYNNKRPSDIPSRFSGS
KSGSTGTLTITGVRAEDEAVYFCGAWETGSATFGAGTTLTVL

图11I

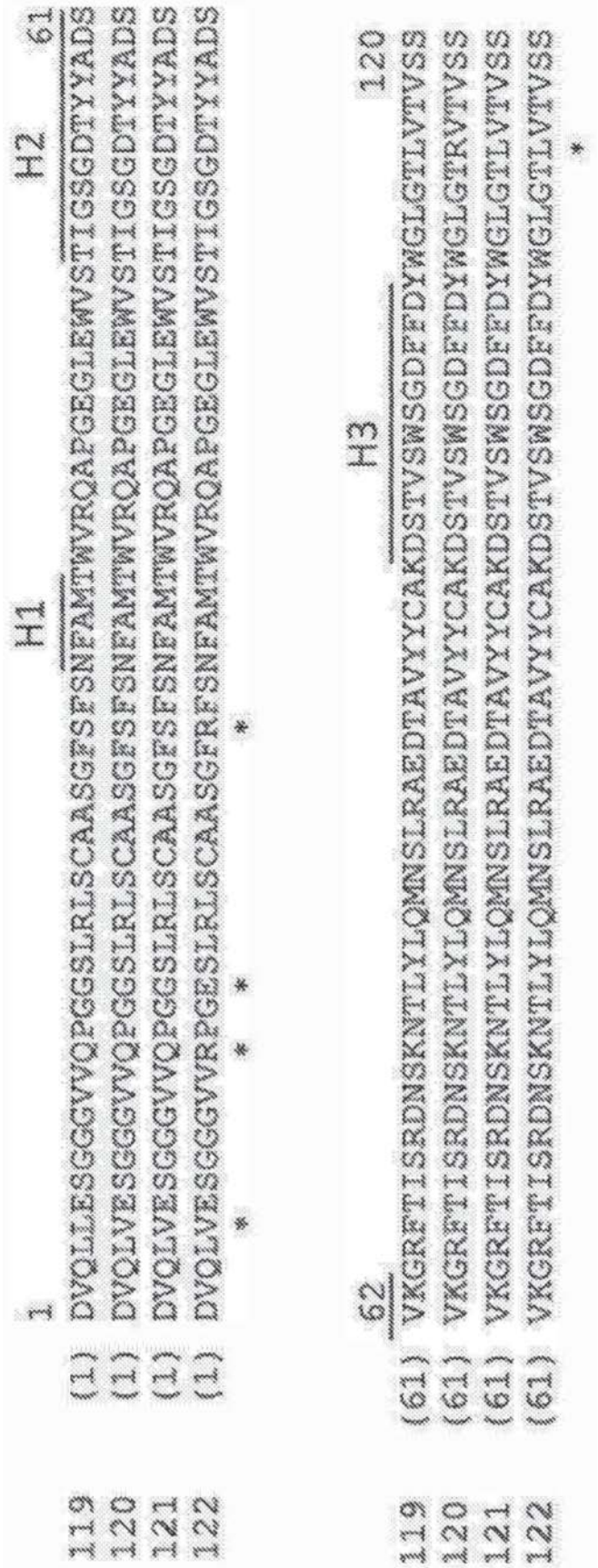

1 H1 H2 61
119 (1) DVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSNFAMTWVRQAPGEGLEWVSTIGSGDTYYADS
120 (1) DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSNFAMTWVRQAPGEGLEWVSTIGSGDTYYADS
121 (1) DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSNFAMTWVRQAPGEGLEWVSTIGSGDTYYADS
122 (1) DVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFRFSNFAMTWVRQAPGEGLEWVSTIGSGDTYYADS
62 H3 120
119 (61) VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWGLGTLVTVSS
120 (61) VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWGLGTRVTVSS
121 (61) VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWGLGTLVTVSS
122 (61) VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTVSWSGDFFDYWGLGTLVTVSS

图11J

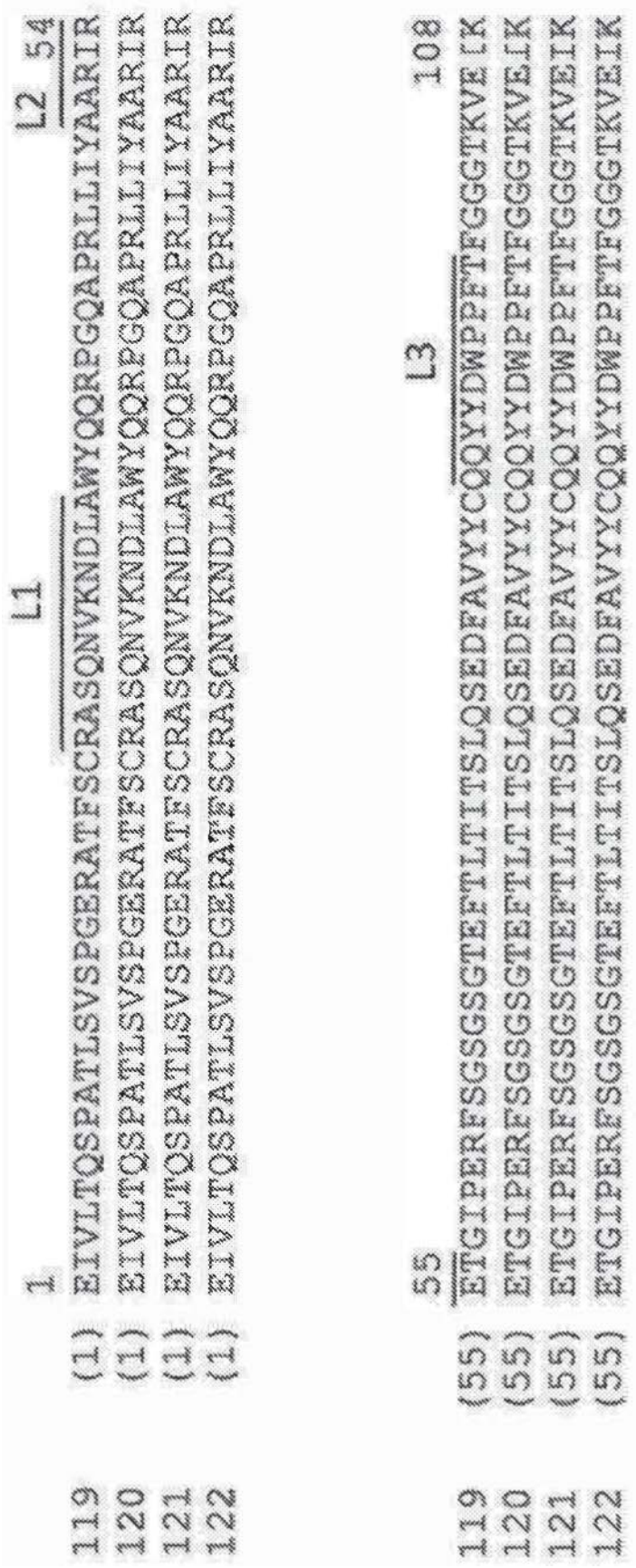
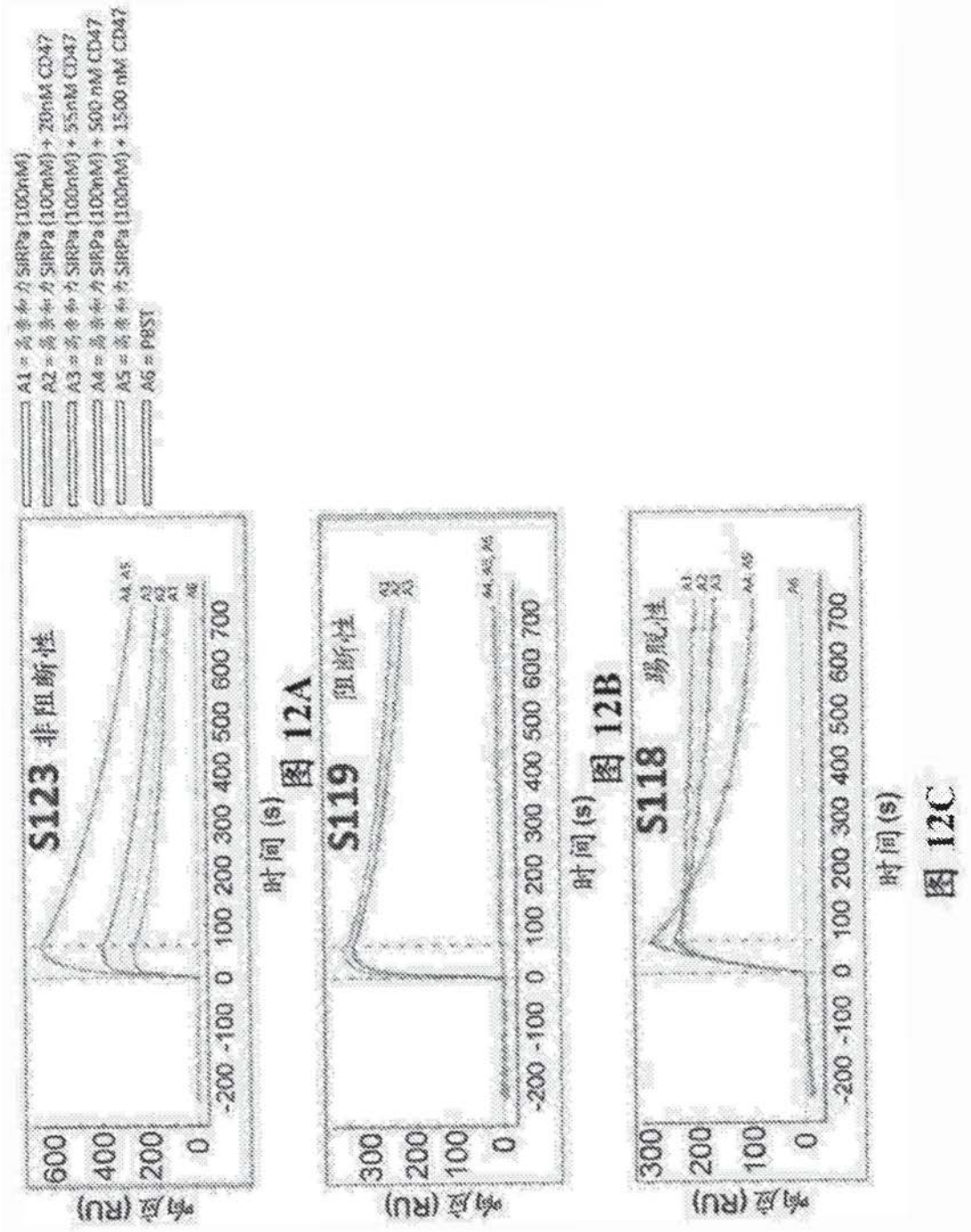

L1
L2
L3
1 54
55 108
119 EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNVKNDLAWYQQRPGQAPRLLIYAARIR
(1) EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNVKNDLAWYQQRPGQAPRLLIYAARIR
120 EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNVKNDLAWYQQRPGQAPRLLIYAARIR
(1) EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNVKNDLAWYQQRPGQAPRLLIYAARIR
121 EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNVKNDLAWYQQRPGQAPRLLIYAARIR
(1) EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNVKNDLAWYQQRPGQAPRLLIYAARIR
122 EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNVKNDLAWYQQRPGQAPRLLIYAARIR
(1) EIVLTQSPATLSVSPGERATFSCRASQNVKNDLAWYQQRPGQAPRLLIYAARIR
55 ETGIPERFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
(55) ETGIPERFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
119 ETGIPERFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
(55) ETGIPERFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
120 ETGIPERFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
(55) ETGIPERFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
121 ETGIPERFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
(55) ETGIPERFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
122 ETGIPERFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
(55) ETGIPERFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK

图11J(续)


A1 = 无非小力 SIRPα (100nM)
A2 = 施加小力 SIRPα (100nM) + 20nM CD47
A3 = 无非小力 SIRPα (100nM) + 55nM CD47
A4 = 施加小力 SIRPα (100nM) + 500 nM CD47
A5 = 无非小力 SIRPα (100nM) + 1500 nM CD47
A6 = POST
S123 非阻断性
S119 阻断性
S118 肠脏性
响应 (RU)
时间 (s)
-200 -100 0 100 200 300 400 500 600 700
0 200 400 600
0 100 200 300
图 12A
图 12B
图 12C

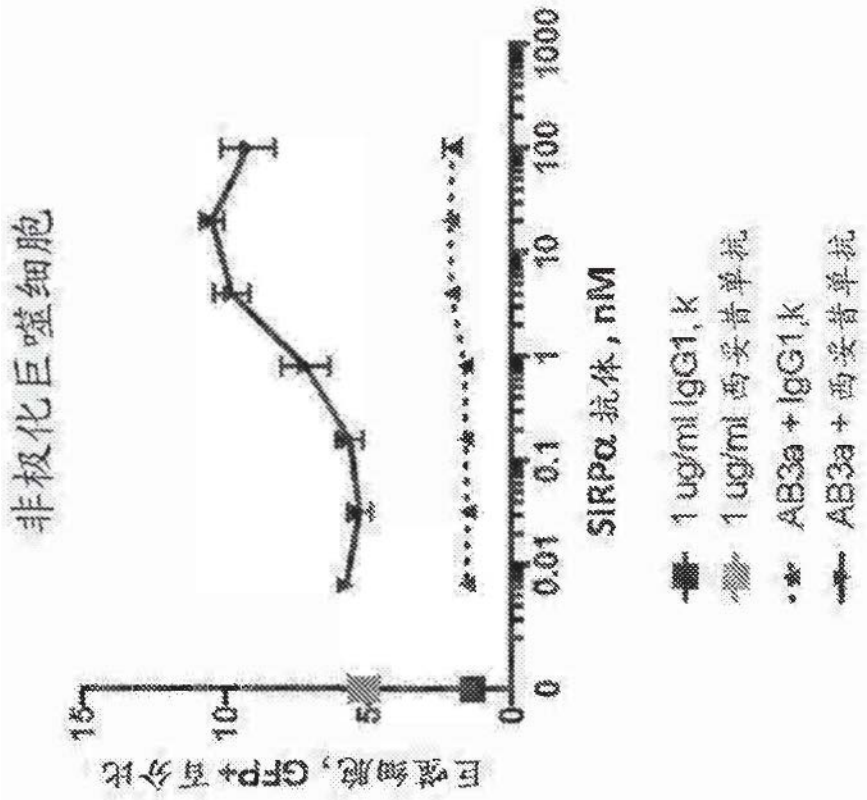

非极化巨噬细胞
巨噬细胞，GFP+百分比
15
10
5
0
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
SIRPα 抗体，nM
1 ug/ml IgG1,k
1 ug/ml 西妥昔单抗
AB3a + IgG1,k
AB3a + 西妥昔单抗

图13A

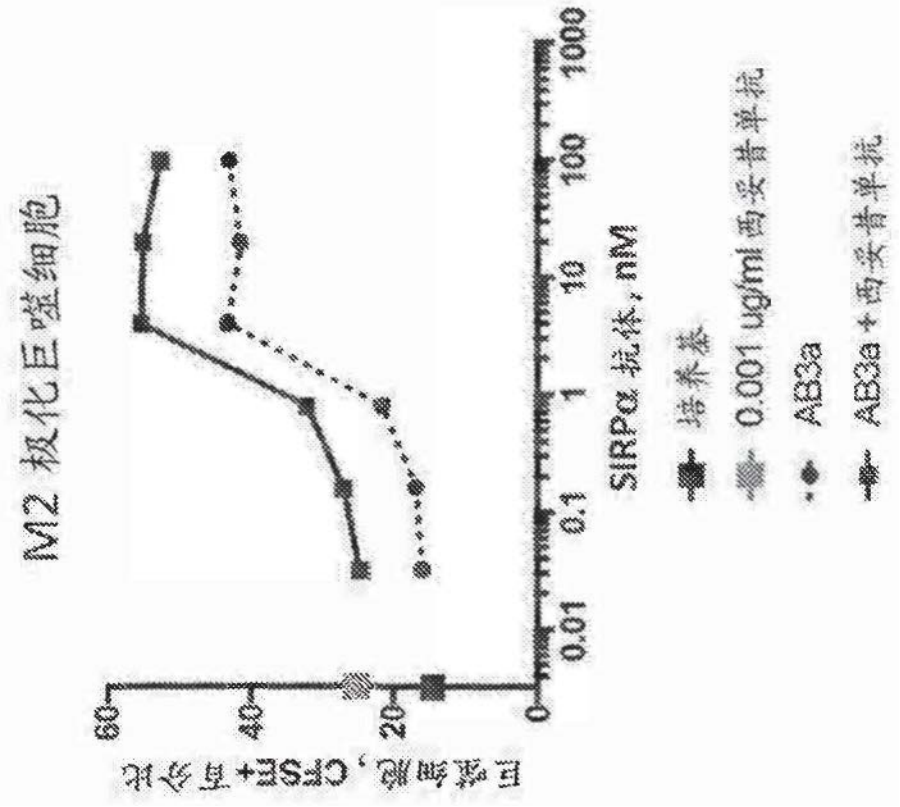

M2 极化巨噬细胞
巨噬细胞，CFSE+ 百分比
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
SIRPα 抗体，nM
培养基
0.001 ug/ml 西妥昔单抗
AB3a
AB3a + 西妥昔单抗

图13B

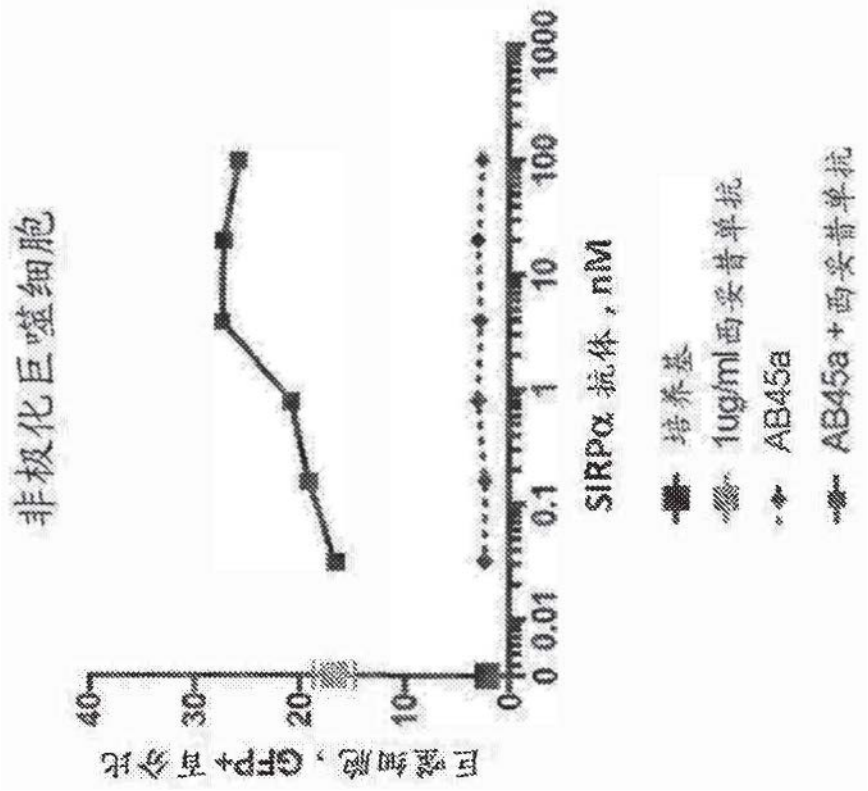

非极化巨噬细胞
巨噬细胞，GFP+ 百分比
40
30
20
10
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
SIRPα 抗体，nM
培养基
1ug/ml 西妥昔单抗
AB45a
AB45a + 西妥昔单抗

图13C

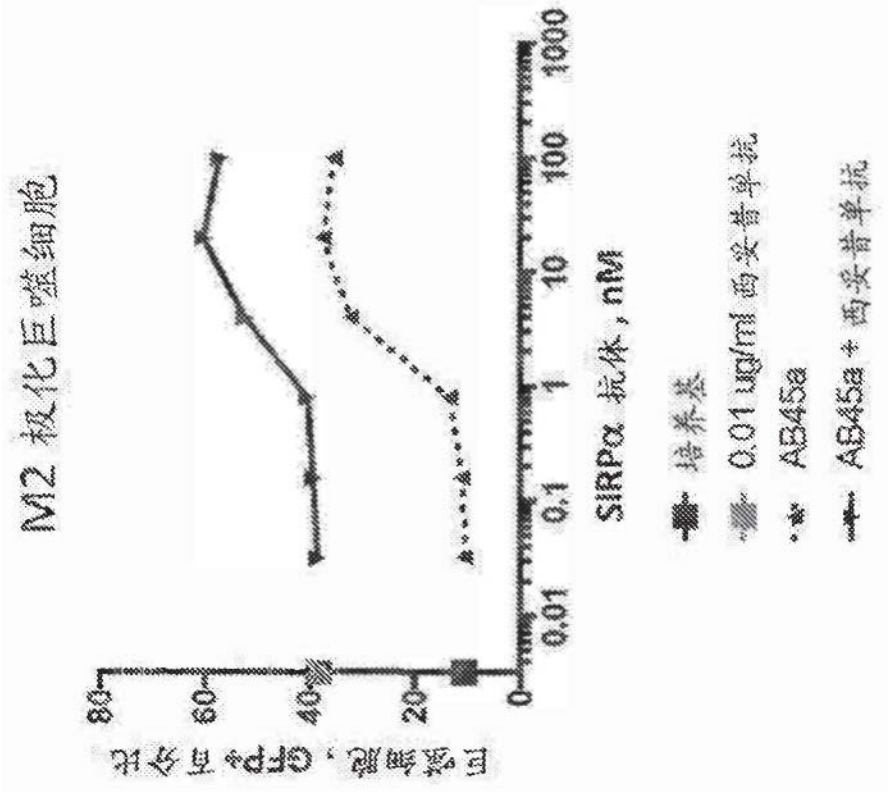

M2 极化巨噬细胞
巨噬细胞，GFP+ 百分比
0
20
40
60
80
0.01
0.1
1
10
100
1000
SIRPα 抗体，nM
培养基
0.01 ug/ml 西妥昔单抗
AB45a
AB45a + 西妥昔单抗

图13D

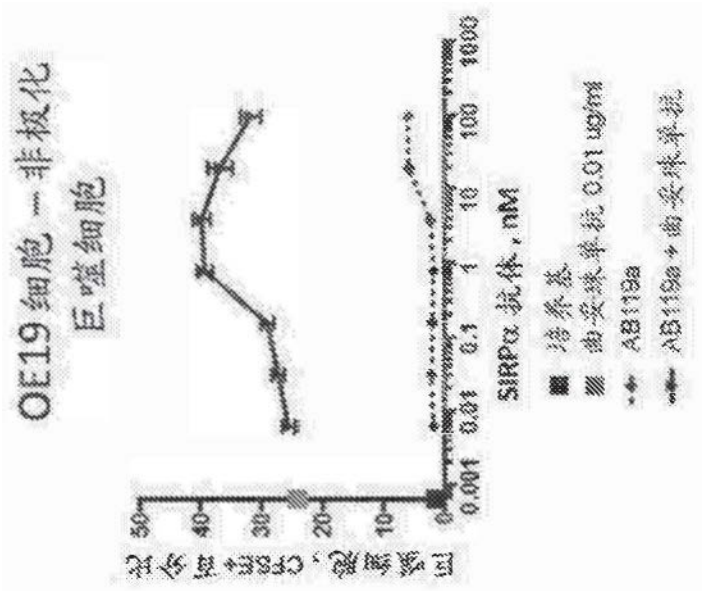

OE19 细胞 — 非极化
巨噬细胞
巨噬细胞，CFSE+ 百分比
0
10
20
30
40
50
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
SIRPα 抗体，nM
培养基
曲妥珠单抗 0.01 ug/ml
AB119a
AB119a + 曲妥珠单抗

图13E

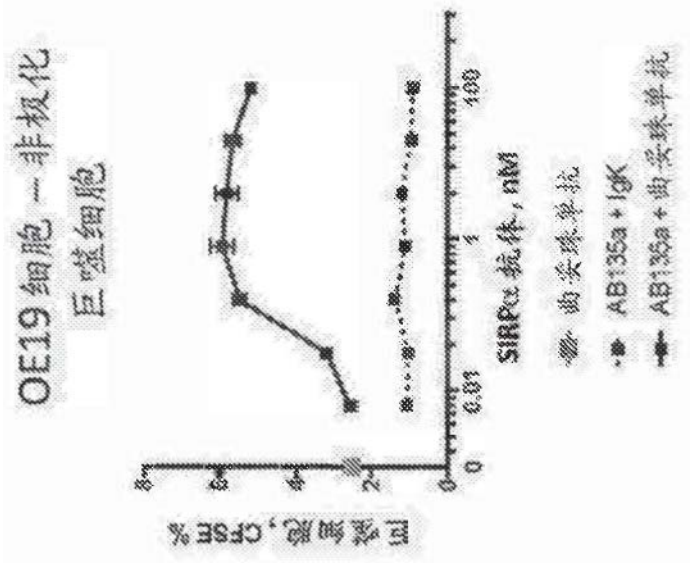

OE19 细胞 – 非极化
巨噬细胞
巨噬细胞，CFSE %
SIRPα 抗体，nM
曲妥珠单抗
AB135a + IgK
AB135a + 曲妥珠单抗

图13F

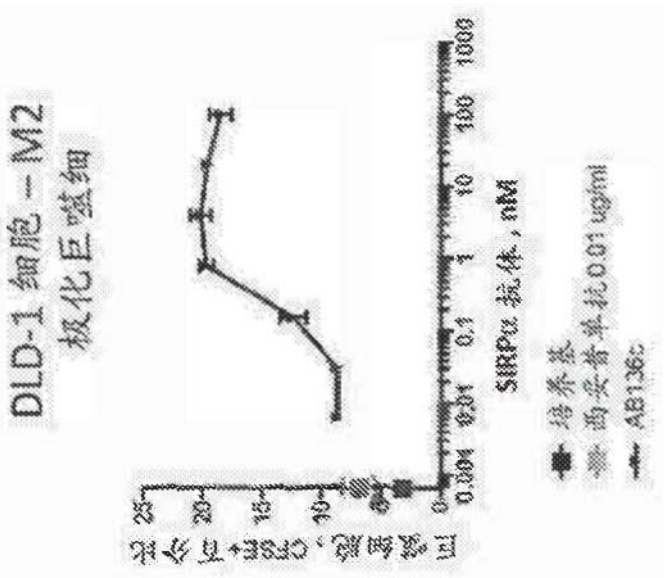

DLD-1 细胞 – M2
极化巨噬细
巨噬细胞，CFSE+ 百分比
SIRPα 抗体，nM
AB136c

图13G

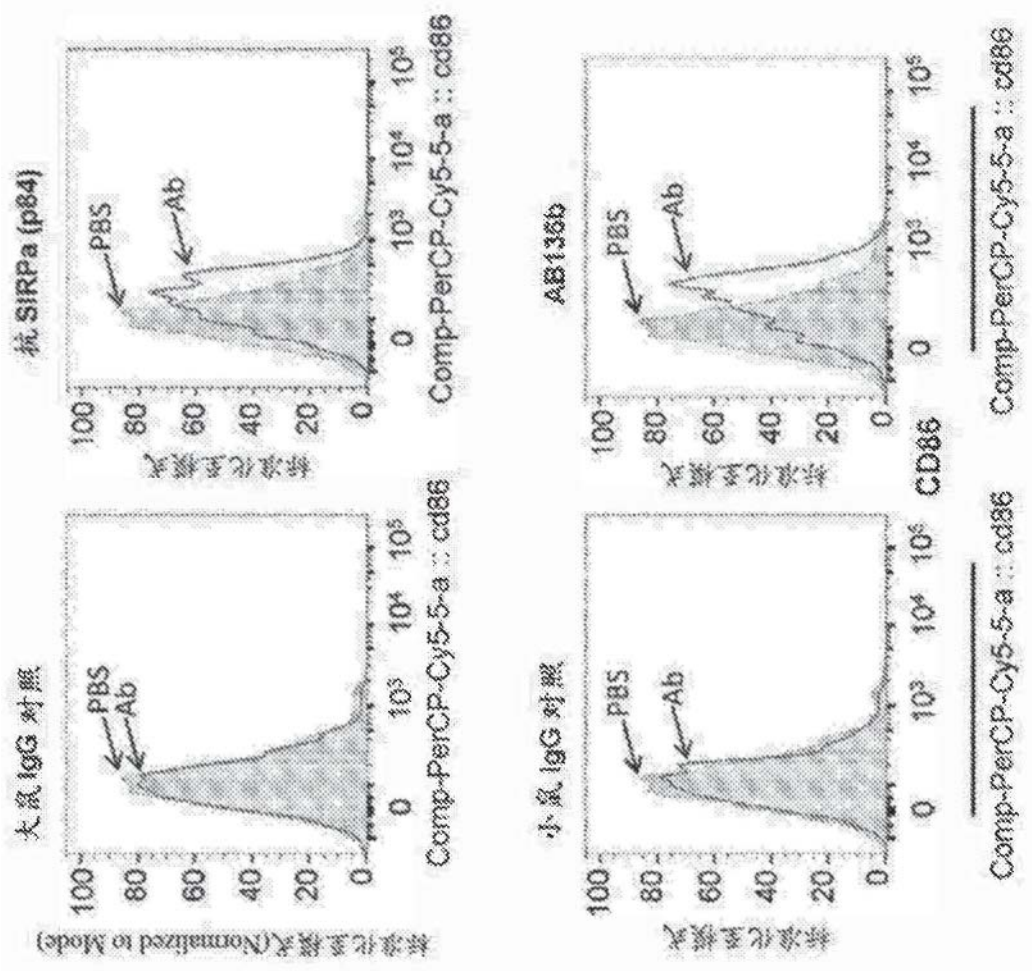
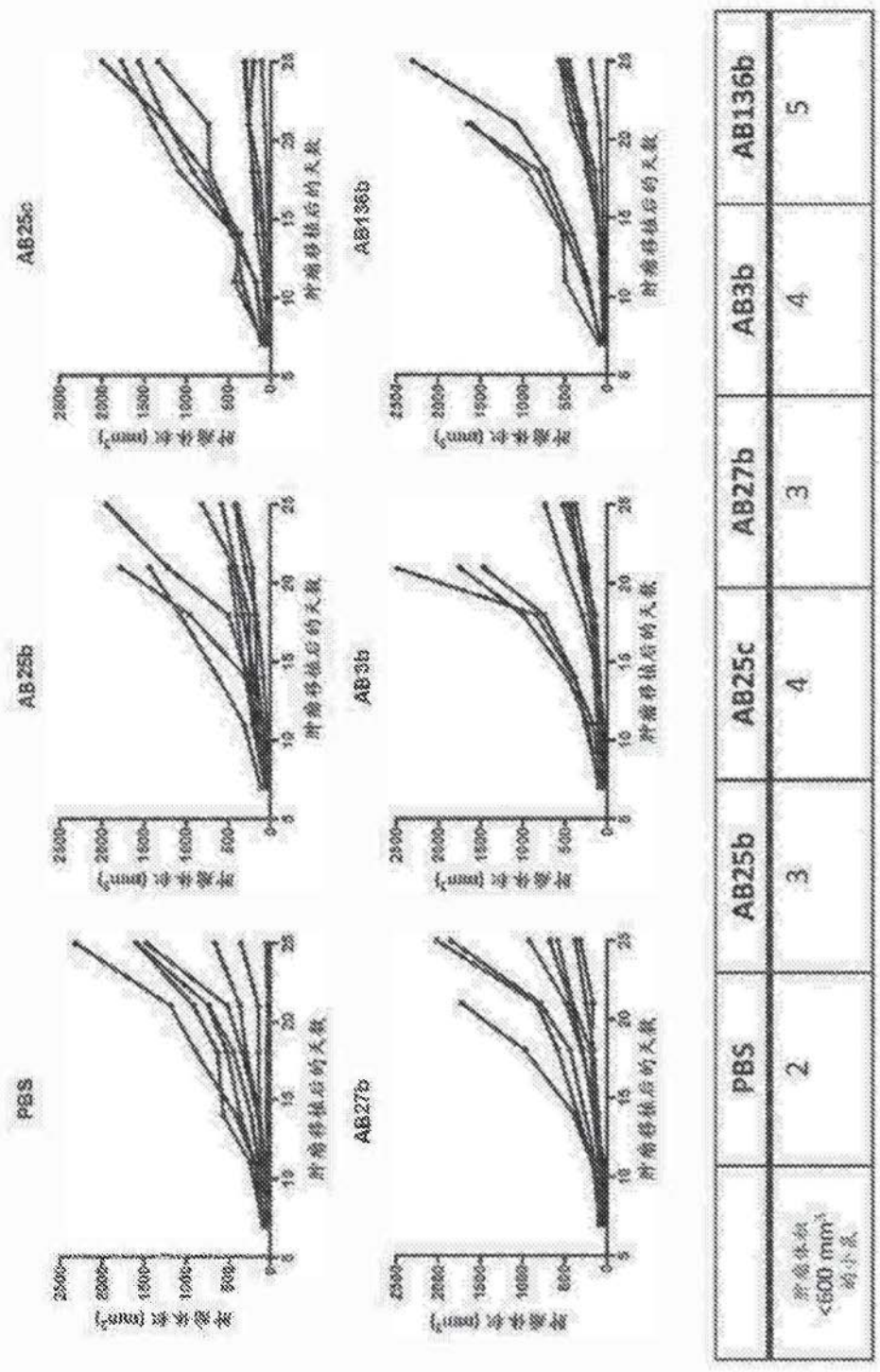

抗 SIRPa (p84)
大鼠 IgG 对照
AB136b
小鼠 IgG 对照
PBS
Ab
Comp-PerCP-Cy5-5-a :: cd86
CD86
标准化至模式(Normalized to Mode)
标准化至模式

图14



	PBS	AB25b	AB25c	AB27b	AB3b	AB136b
肿瘤体积 <600 mm³ 的小鼠	2	3	4	3	4	5

图15

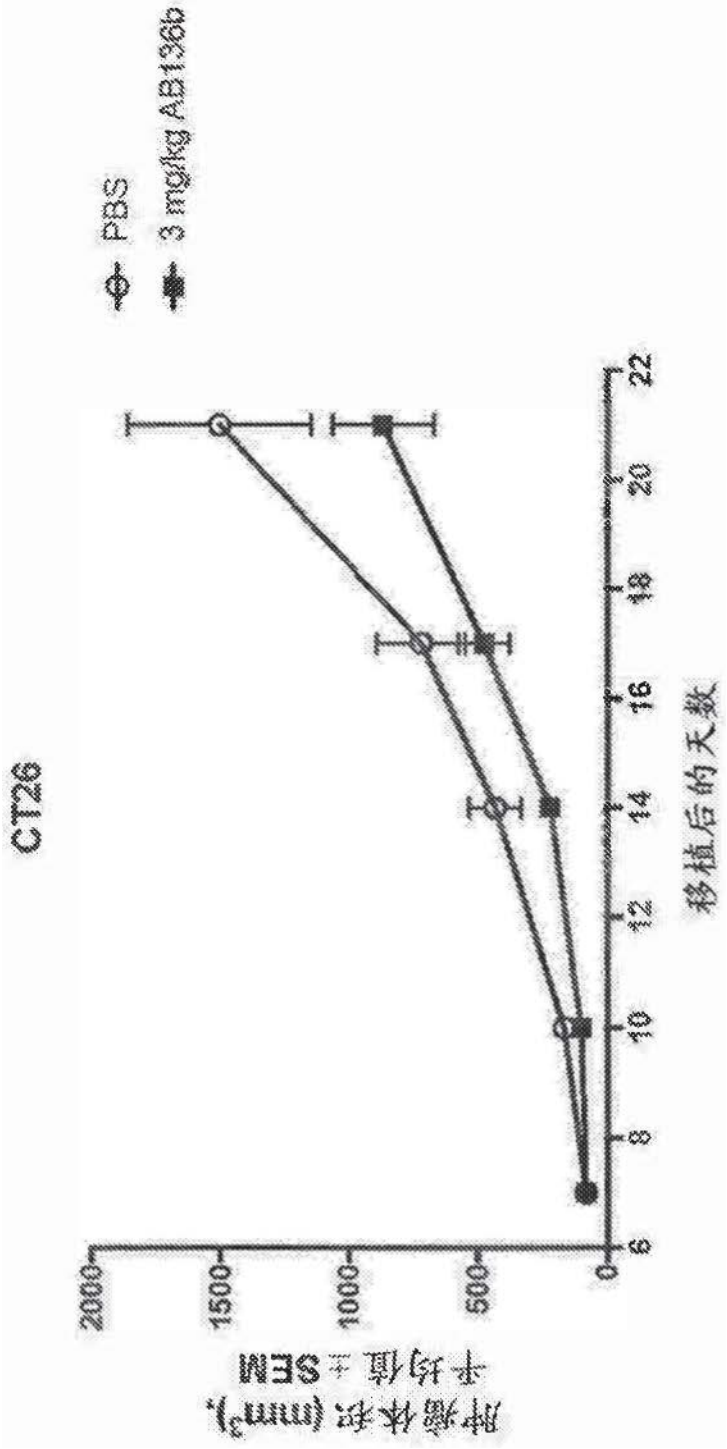

PBS
3 mg/kg AB136b
CT26
肿瘤体积 (mm^3)，
平均值 ± SEM
移植后的天数
0
500
1000
1500
2000
6
8
10
12
14
16
18
20
22

图16

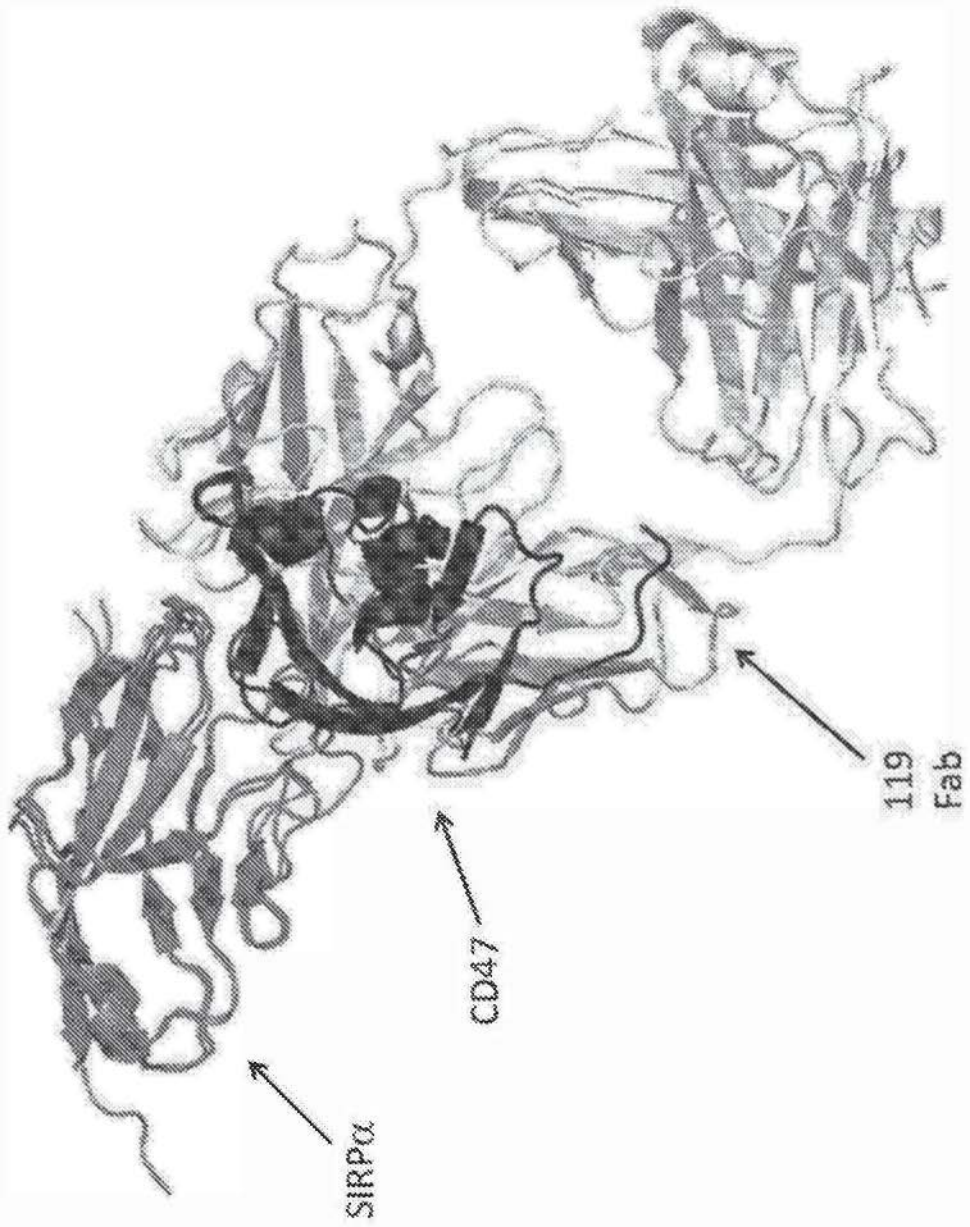


图17A

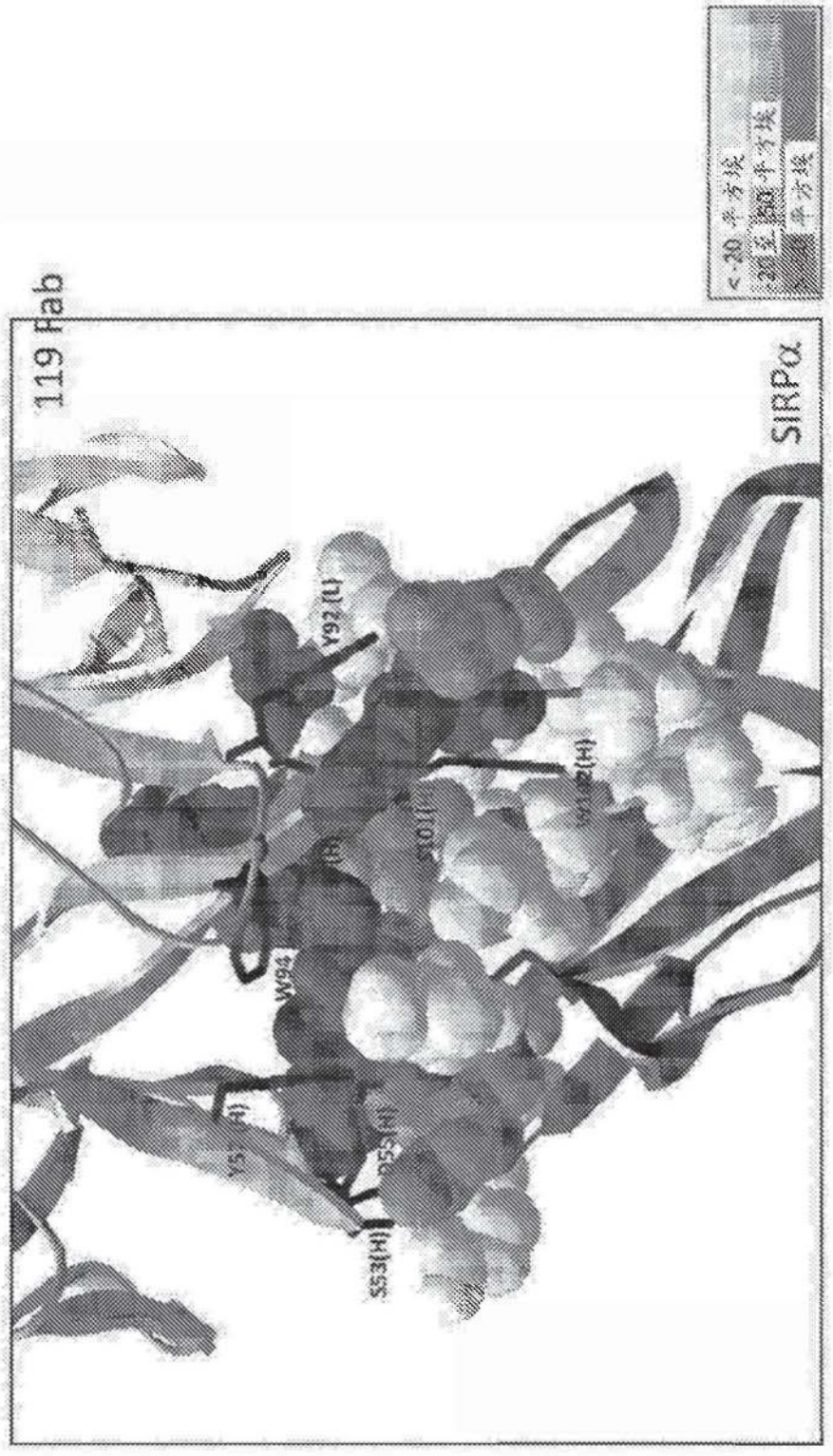


图17B

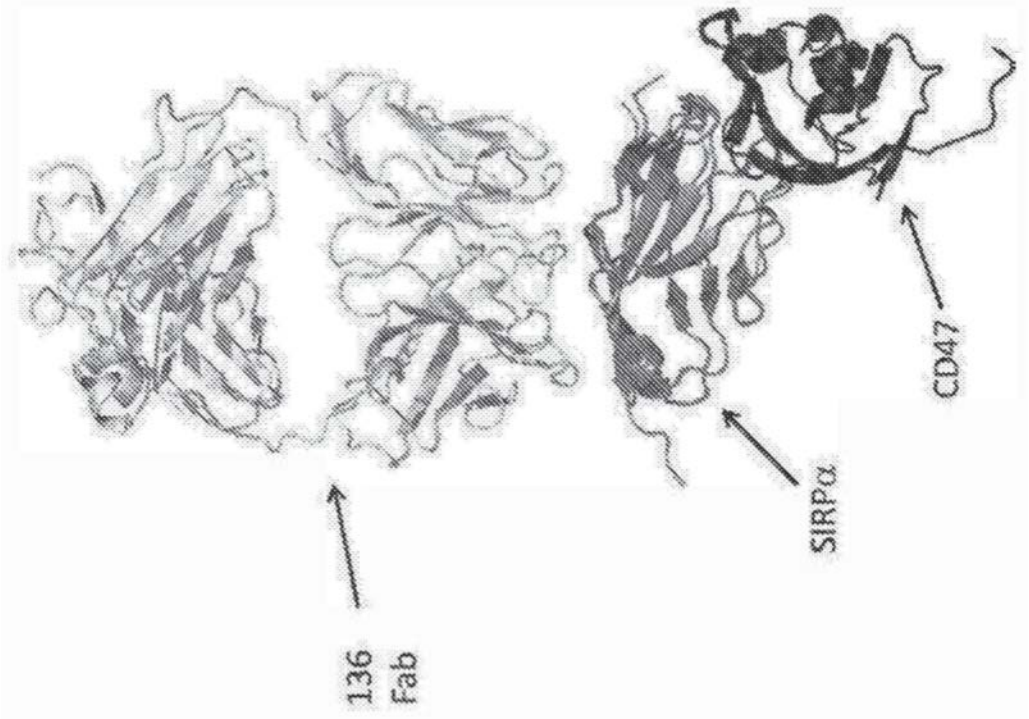


图18A

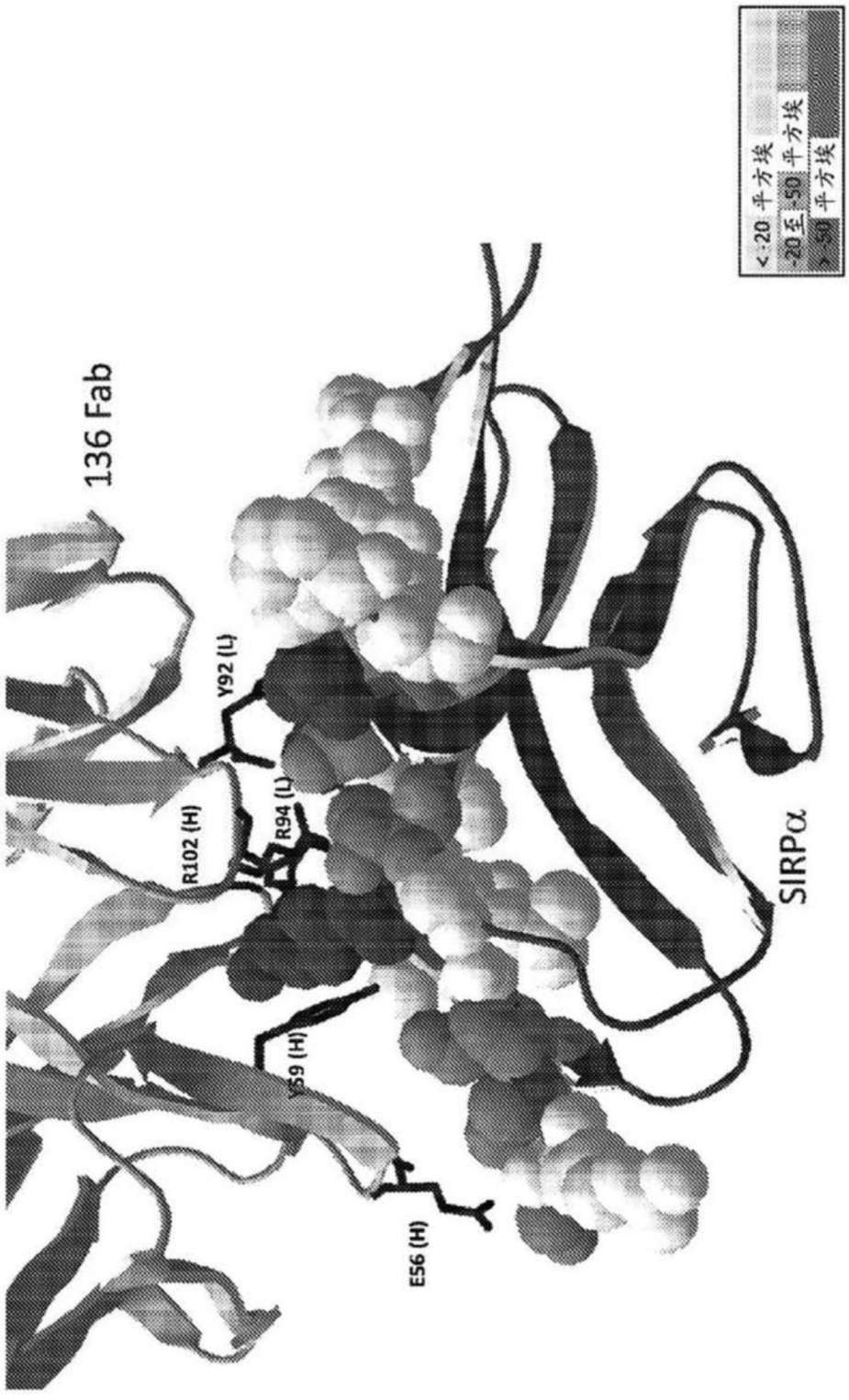

136 Fab
Y92 (L)
R102 (H)
R94 (L)
Y59 (H)
E56 (H)
SIRPα
<20 平方埃
20至50 平方埃
>50 平方埃

图18B

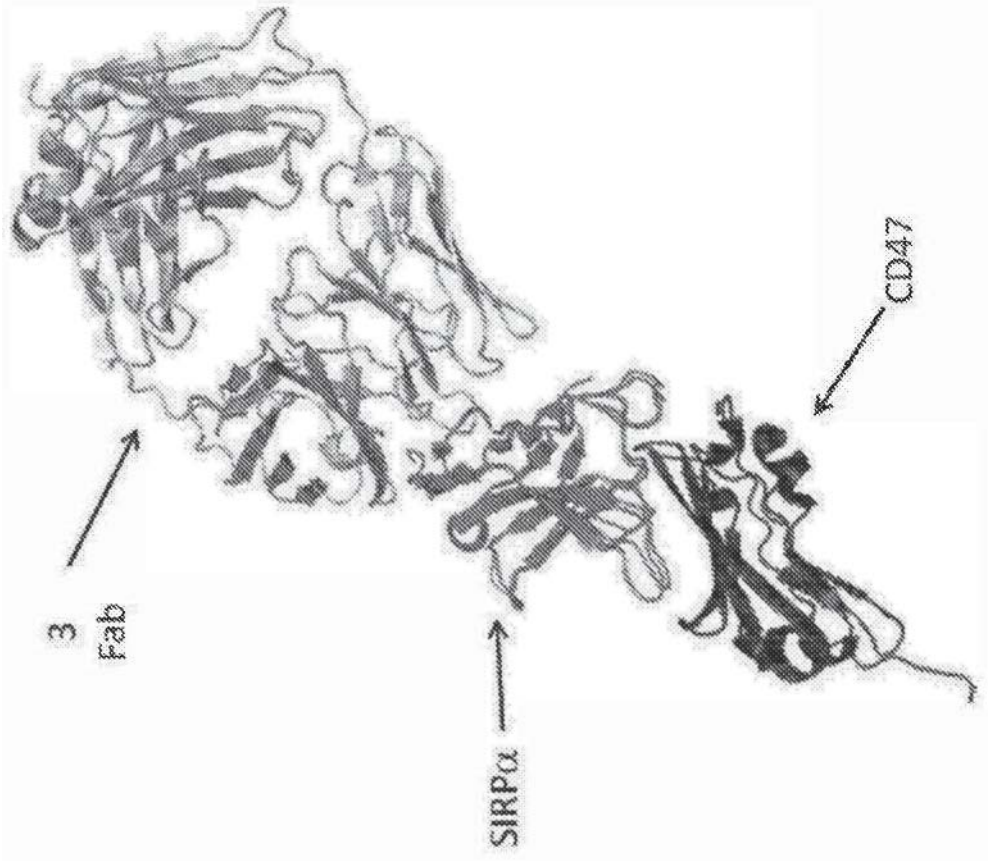


图19A

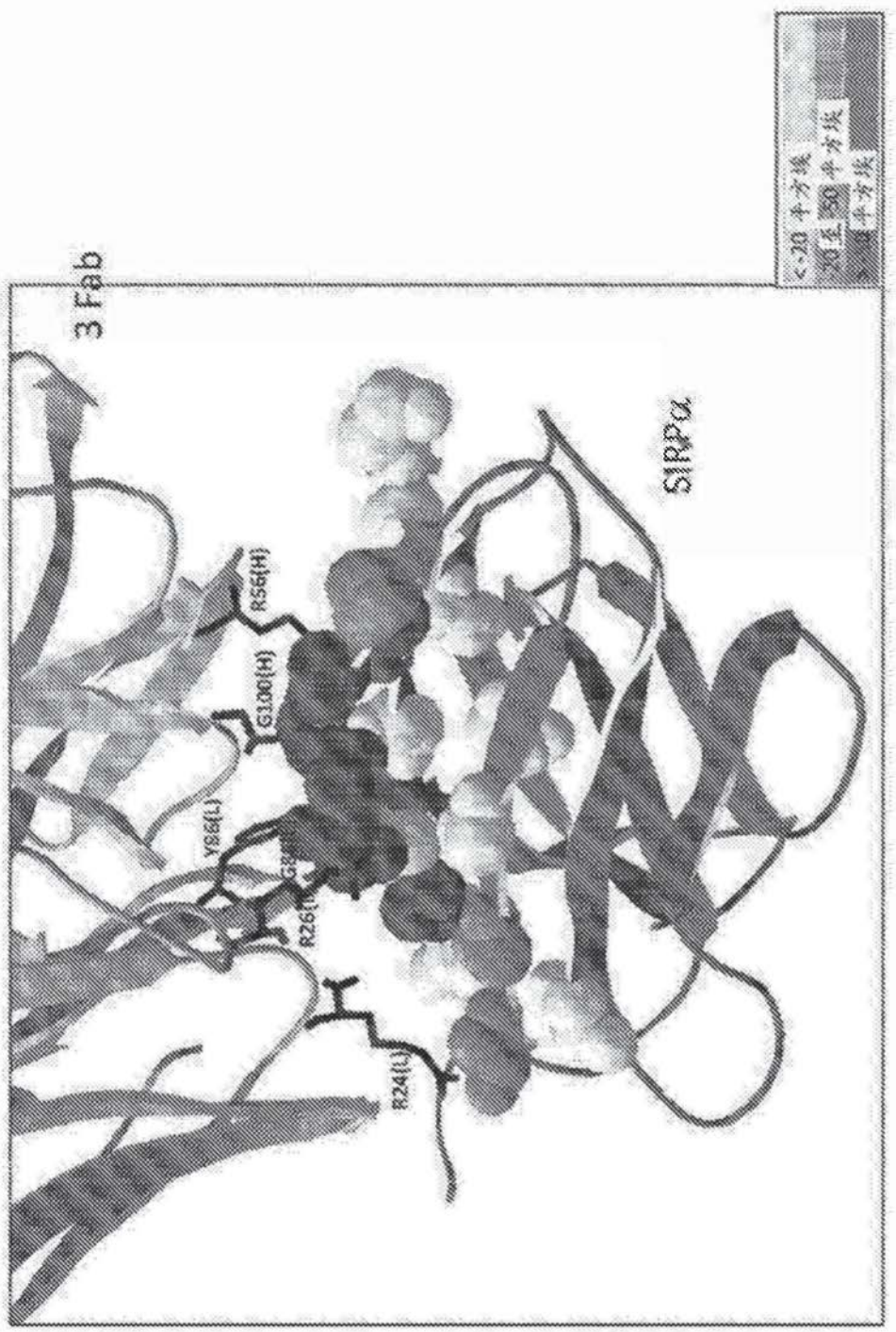


图19B

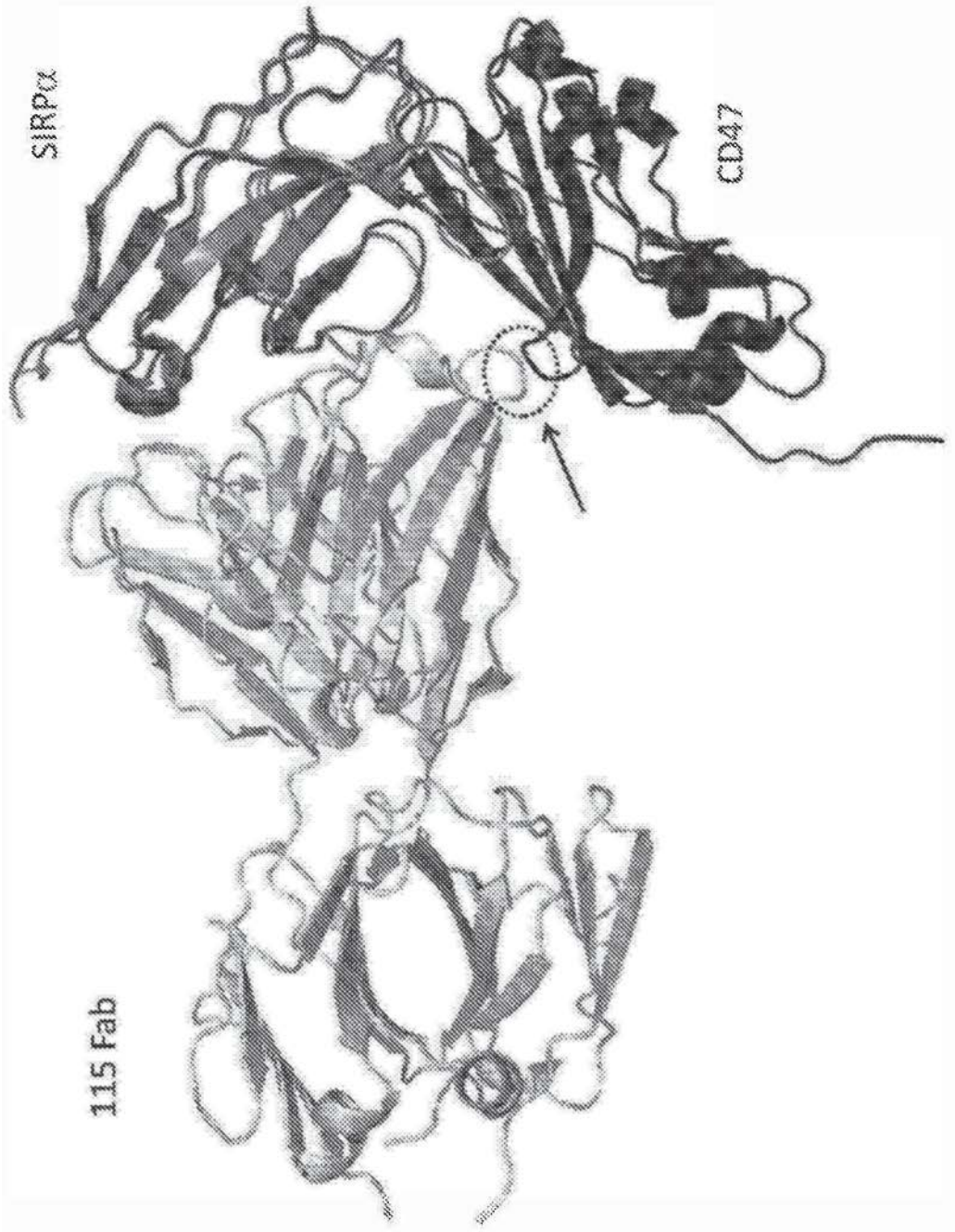


图19C

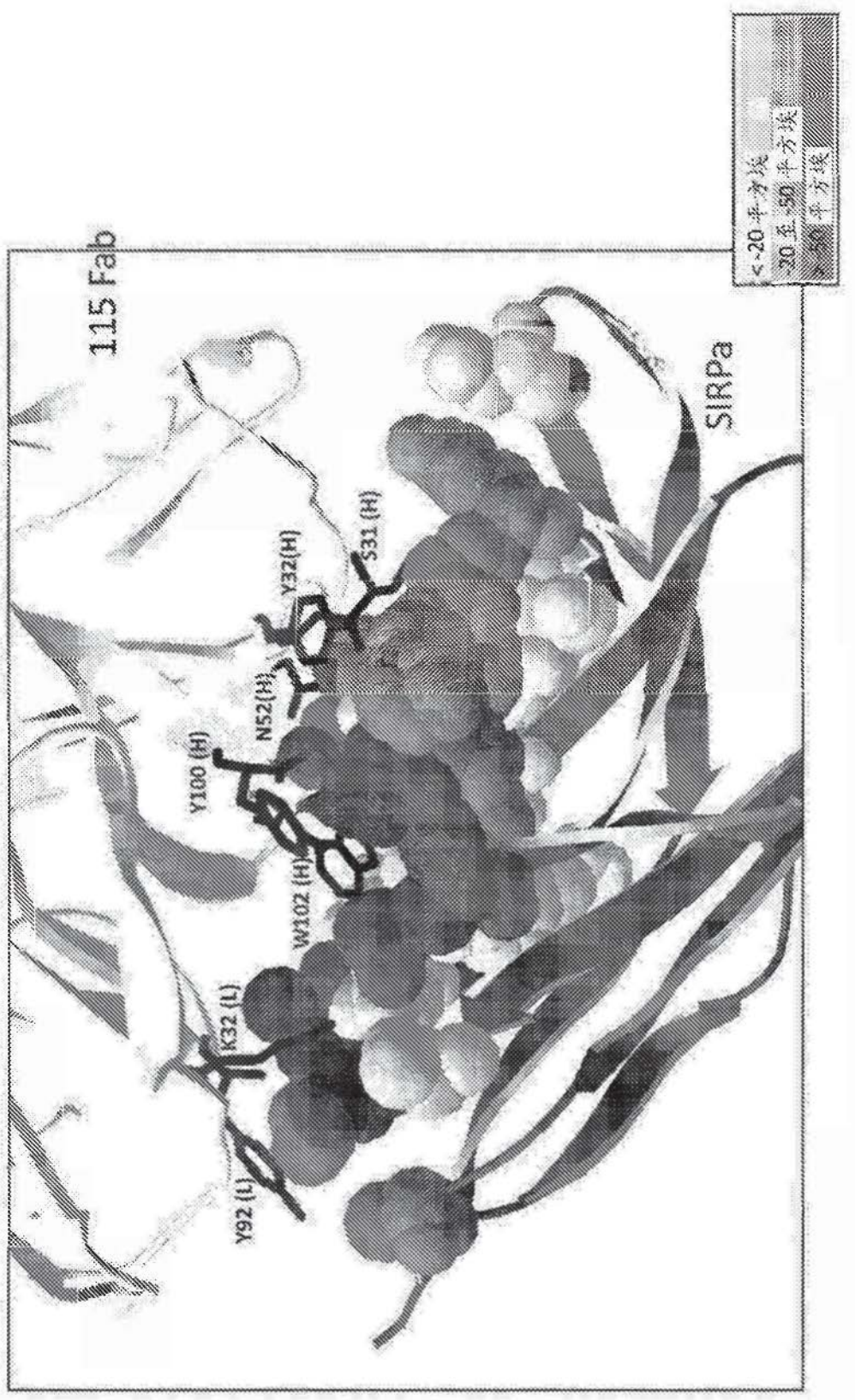

115 Fab
SIRPa
Y92 (L)
K32 (L)
W102 (H)
Y100 (H)
N52(H)
Y32(H)
S31 (H)
<-20 平方埃
20 至 50 平方埃
>50 平方埃

图19D

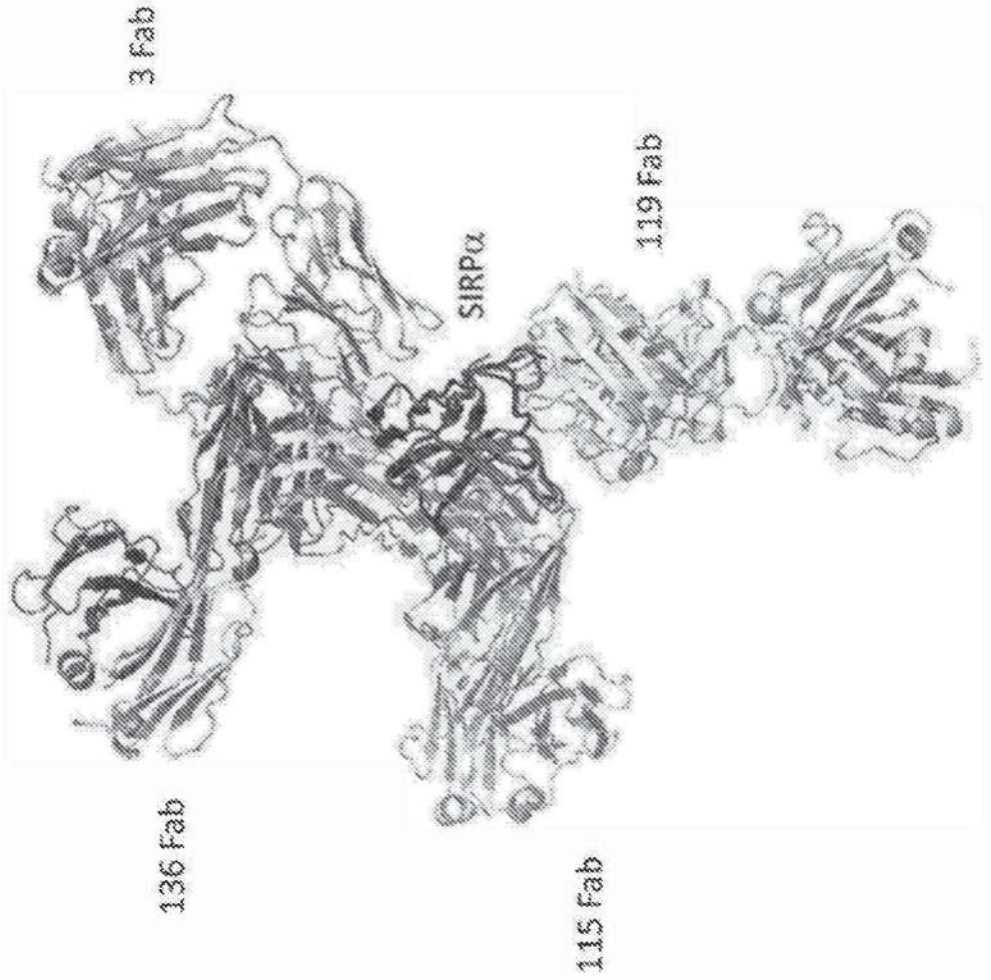


图20A

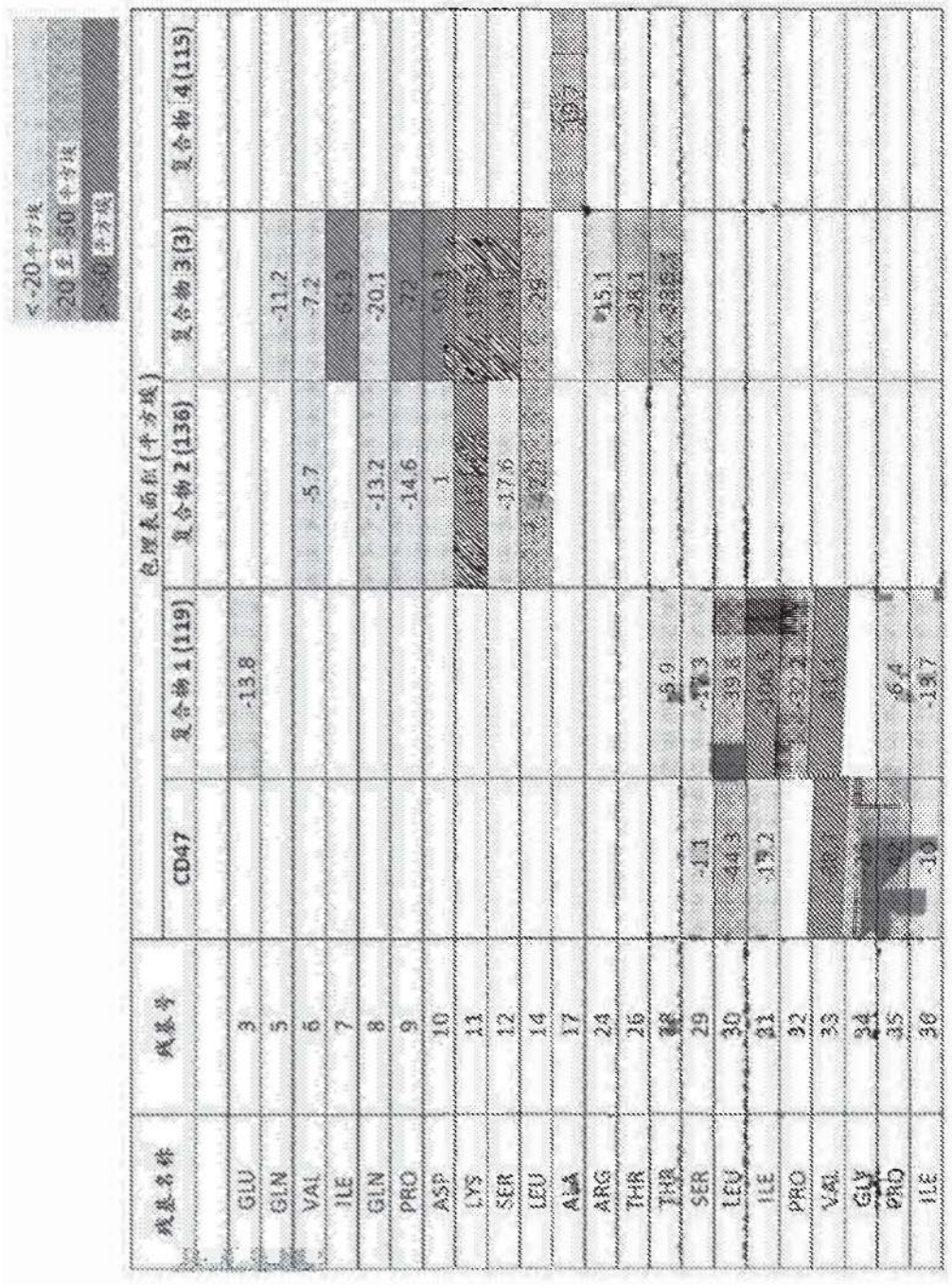

< -20 个方块
-20 至 -50 个方块
> -50 个方块
残基名称
残基号
色度表面积（平方埃）
CD47
复合物 1 (119)
复合物 2 (136)
复合物 3 (3)
复合物 4 (115)
GLU 3
GLN 5
VAL 6
ILE 7
GLN 8
PRO 9
ASP 10
LYS 11
SER 12
LEU 14
ALA 17
ARG 24
THR 26
THR 28
SER 29
LEU 30
ILE 31
PRO 32
VAL 33
GLY 34
PRO 35
ILE 36

图20B

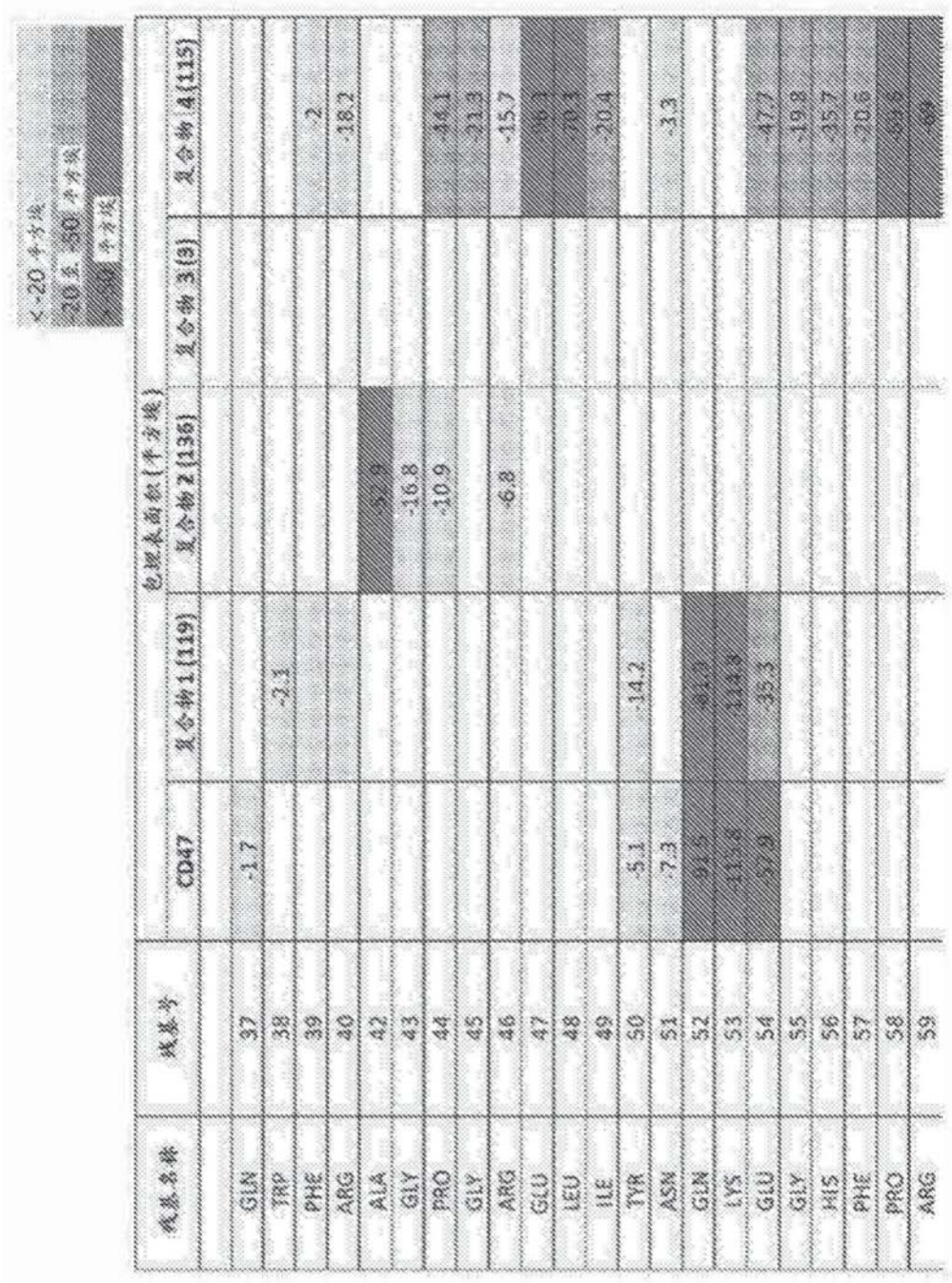

残基名称
残基号
CD47
复合物1(119)
复合物2(136)
复合物3(0)
复合物4(115)
GLN 37 -1.7
TRP 38 -2.1
PHE 39 -2
ARG 40 -18.2
ALA 42 -52.9
GLY 43 -16.8
PRO 44 -10.9 -44.1
GLY 45 -21.3
ARG 46 -6.8 -15.7
GLU 47 -30.1
LEU 48 -20.1
ILE 49 -20.4
TYR 50 -14.2
ASN 51 -3.3
GLN 52 -91.3
LYS 53 -111.8 -114.9
GLU 54 -35.3 -47.7
GLY 55 -19.8
HIS 56 -25.7
PHE 57 -20.6
PRO 58 -51.6
ARG 59 -69

图20B(续)

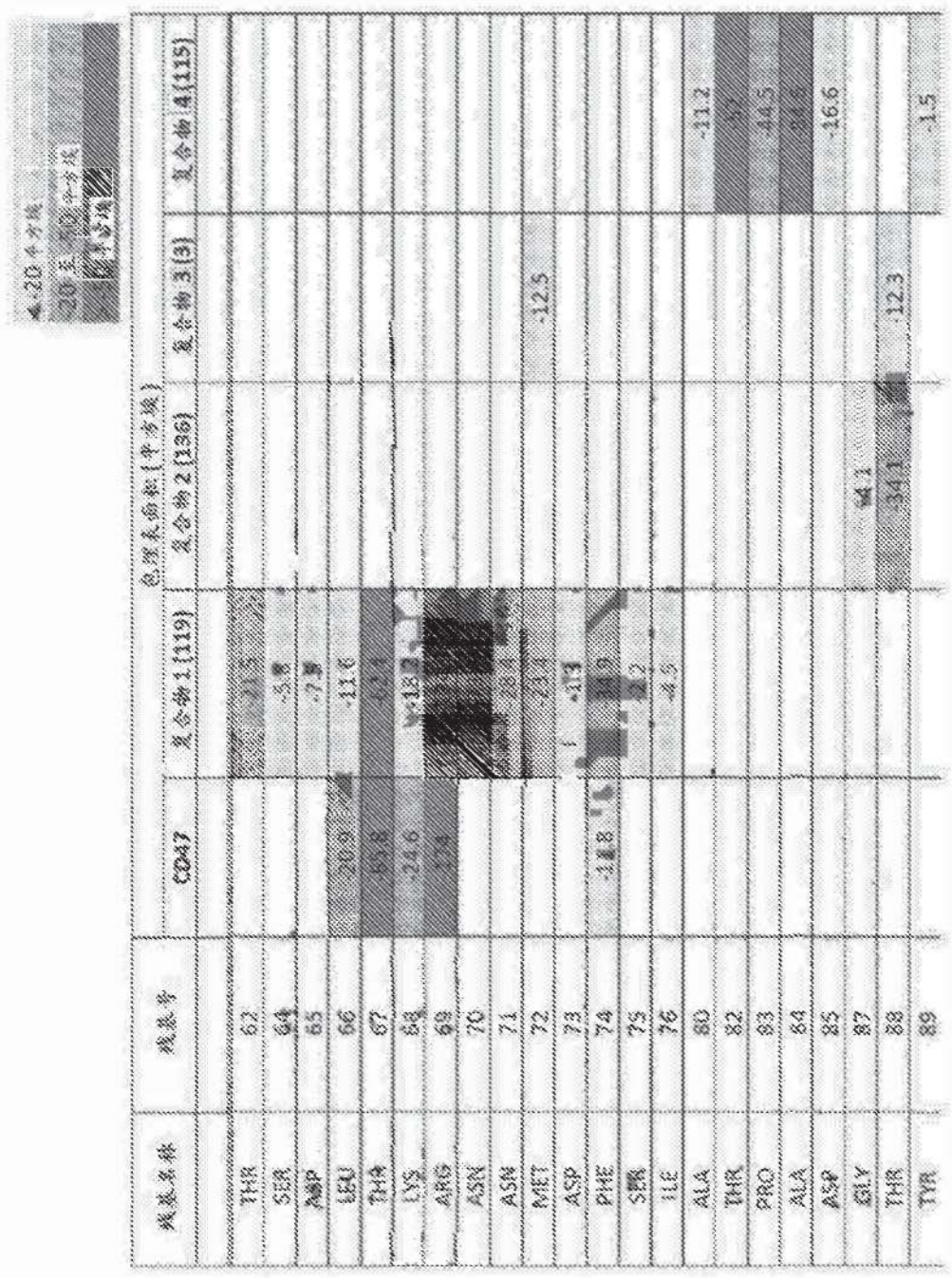

-20 个分辨
20 氨基酸分辨
CD47
色原氨基酸(单步骤)
复合物1(119)
复合物2(136)
复合物3(3)
复合物4(115)
残基名称
残基号
THR 62
SER 64
ASP 65
LEU 66
THR 67
LYS 68
ARG 69
ASN 70
ASN 71
MET 72
ASP 73
PHE 74
SER 75
ILE 76
ALA 80
THR 82
PRO 83
ALA 84
ASP 85
GLY 87
THR 88
TYR 89
-31.5
-5.8
-7.8
-11.6
20.9
-55.8
-24.6
-17.4
-23.4
-13
-118
-12.5
-4.5
-11.2
-57
-44.5
-84.8
-16.6
-34.1
-12.3
-1.5

图20B(续)

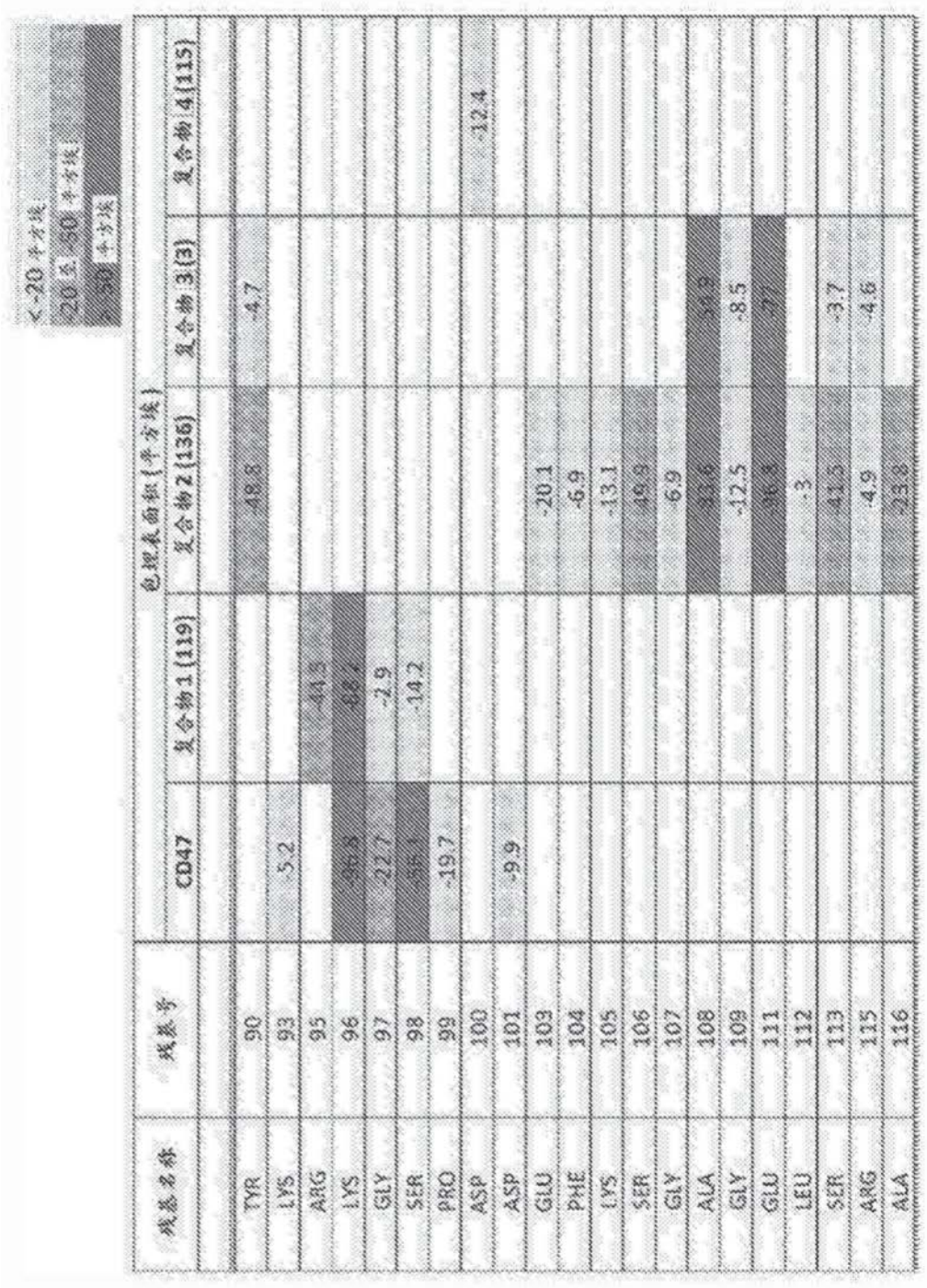

<-20 平方埃
-20至-50 平方埃
>-50 平方埃
色度表面积(平方埃)
残基名称
残基号
CD47
复合物1(119)
复合物2(136)
复合物3(3)
复合物4(115)
TYR 90
LYS 93
ARG 95
LYS 96
GLY 97
SER 98
PRO 99
ASP 100
ASP 101
GLU 103
PHE 104
LYS 105
SER 106
GLY 107
ALA 108
GLY 109
GLU 111
LEU 112
SER 113
ARG 115
ALA 116
-5.2
-36.8
-22.7
-36.1
-19.7
-9.9
-44.5
-58.4
-2.9
-14.2
-48.8
-20.1
-6.9
-13.1
-49.9
-6.9
-33.6
-12.5
-36.4
-3
-41.5
-4.9
-23.8
-4.7
-56.9
-8.5
-77
-3.7
-4.6
-12.4

图20B(续)

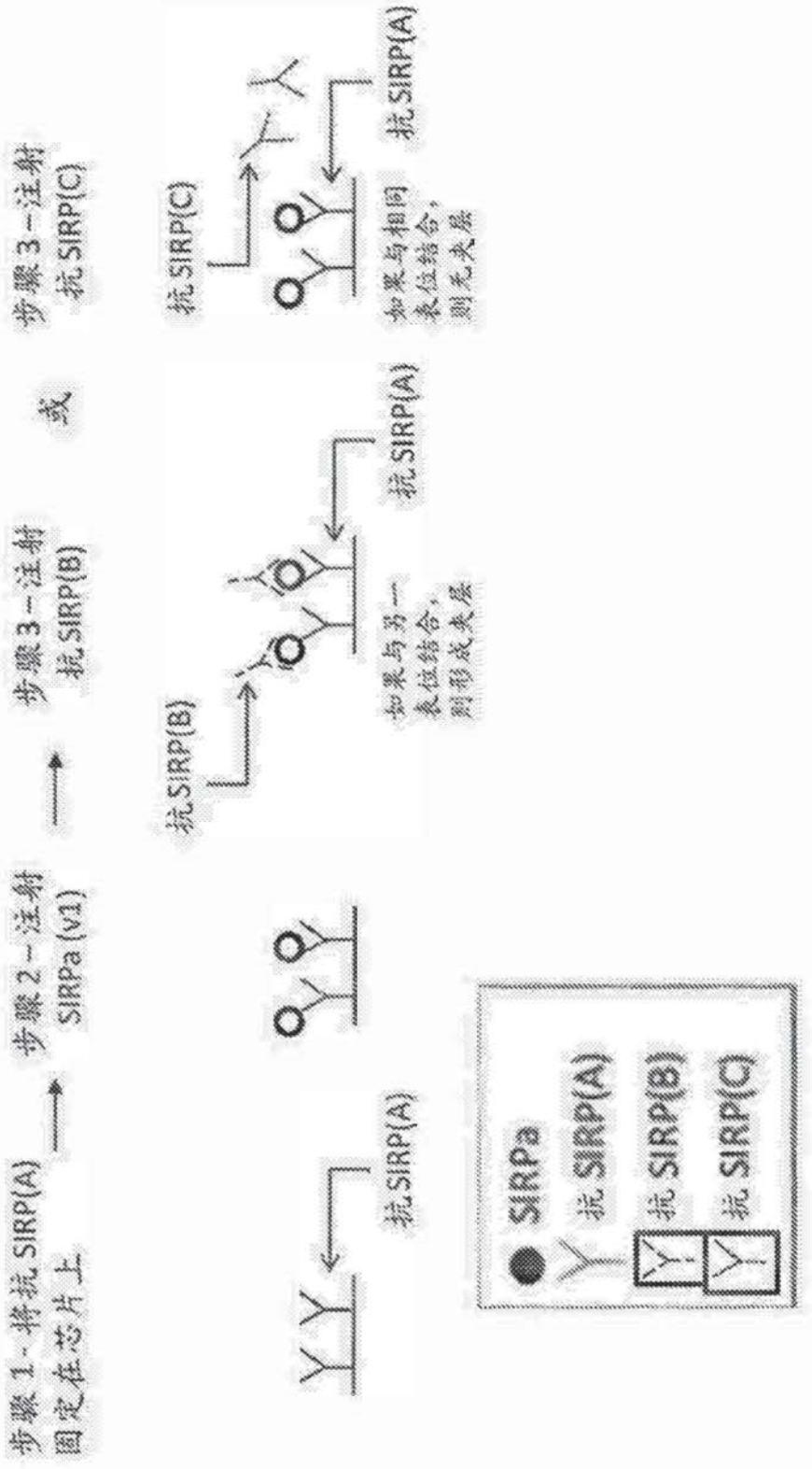

步骤 1-将抗 SIRP(A)
固定在芯片上
步骤 2-注射
SIRPa (V1)
抗SIRP(A)
步骤 3-注射
抗SIRP(B)
或
步骤 3-注射
抗SIRP(C)
抗SIRP(B)
抗SIRP(A)
如果与另一
表位结合，
则形成夹层
抗SIRP(C)
抗SIRP(A)
如果与相同
表位结合，
则无夹层
SIRPa
抗 SIRP(A)
抗 SIRP(B)
抗 SIRP(C)

图21A

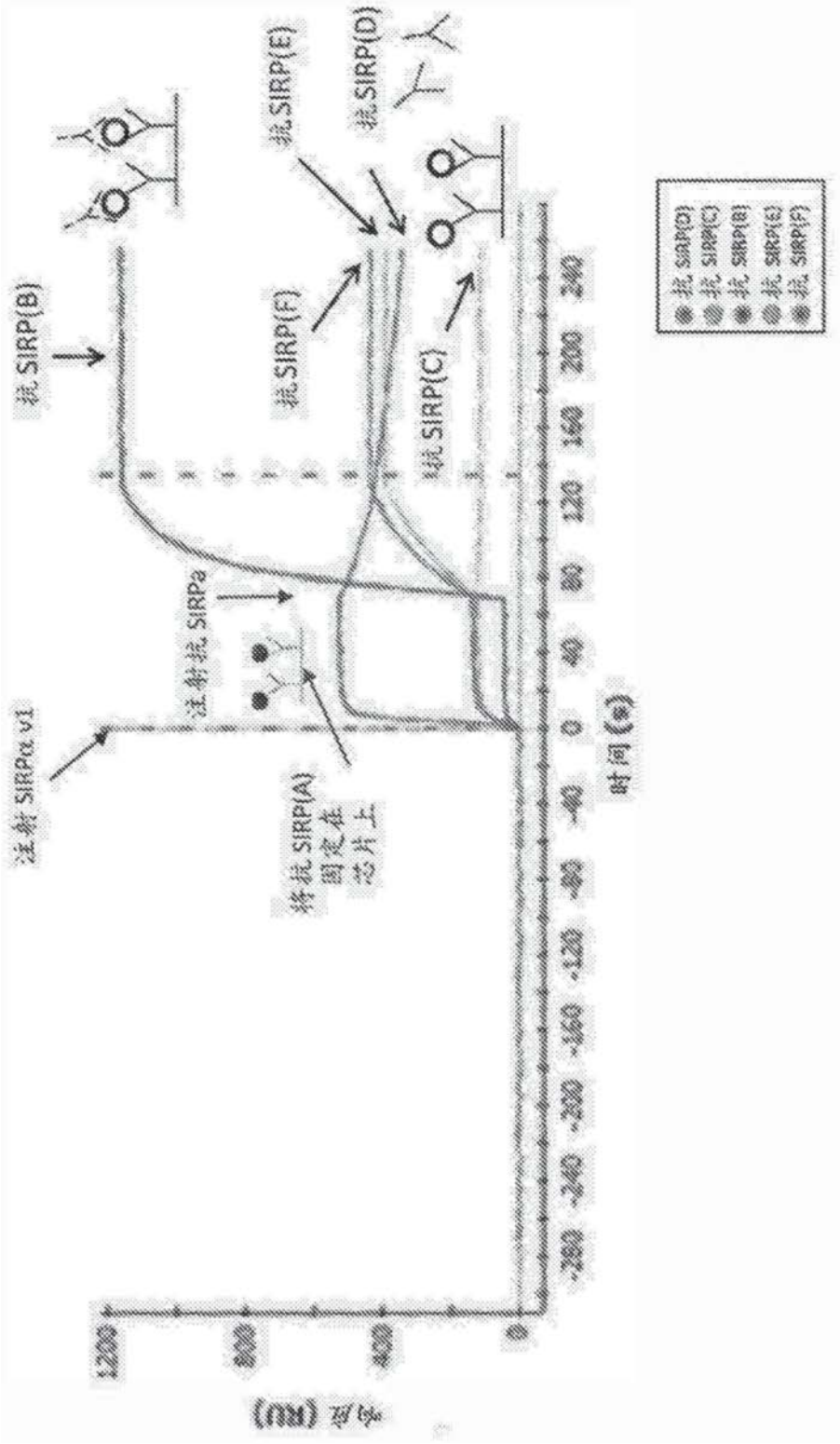

抗SIRP(B)
抗SIRP(E)
抗SIRP(D)
抗SIRP(F)
抗SIRP(C)
注射抗 SIRPα
注射 SIRPα v1
将抗 SIRP(A) 固定在芯片上
抗SIRP(D)
抗SIRP(C)
抗SIRP(B)
抗SIRP(E)
抗SIRP(F)
时间(s)
240
200
160
120
80
40
0
-40
-80
-120
-160
-200
-240
-280
-320
-360
1200
800
400
0
响应 (RU)

图21B

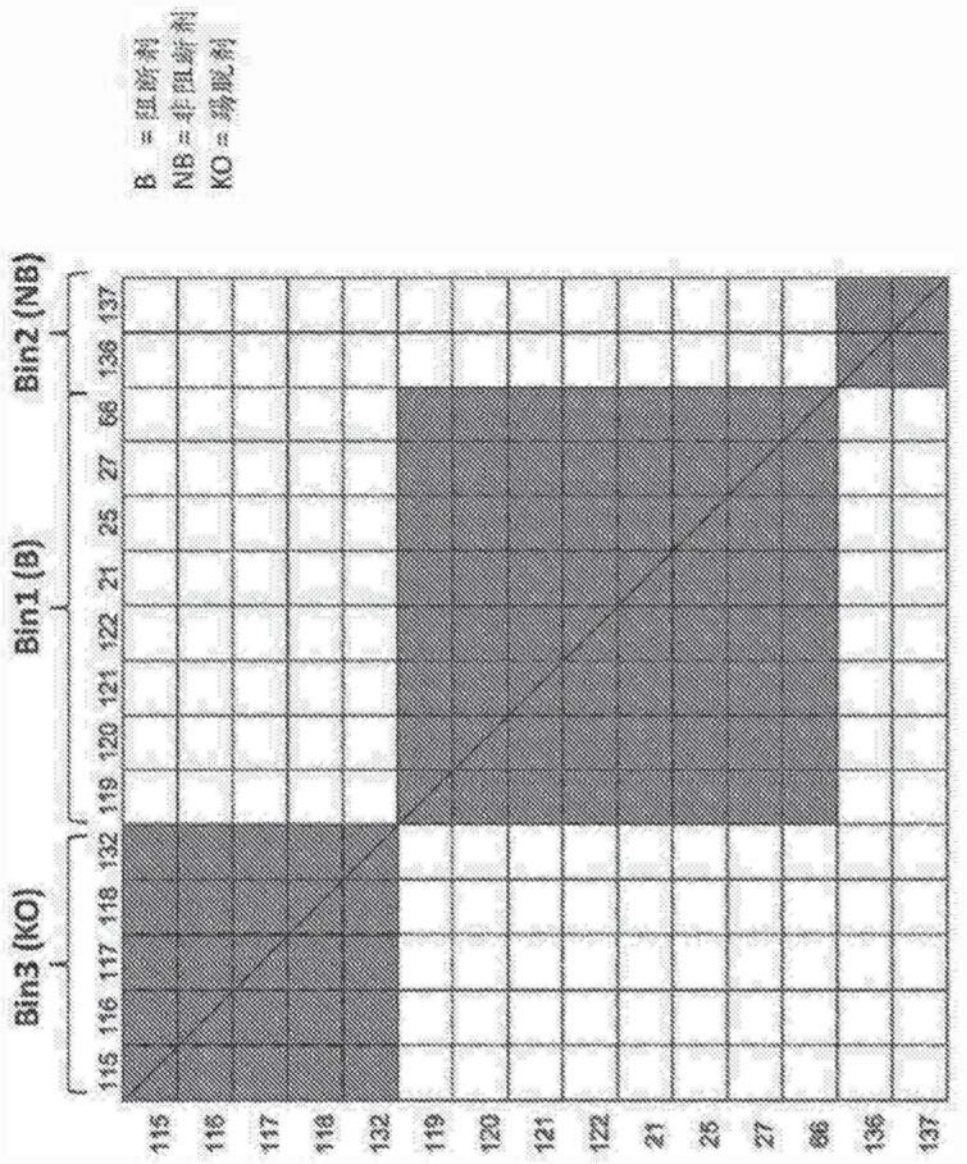

B = 阻断剂
NB = 非阻断剂
KO = 敲除剂
Bin2 (NB)
Bin1 (B)
Bin3 (KO)
137
136
66
27
25
21
122
121
120
119
132
118
117
116
115

图22A

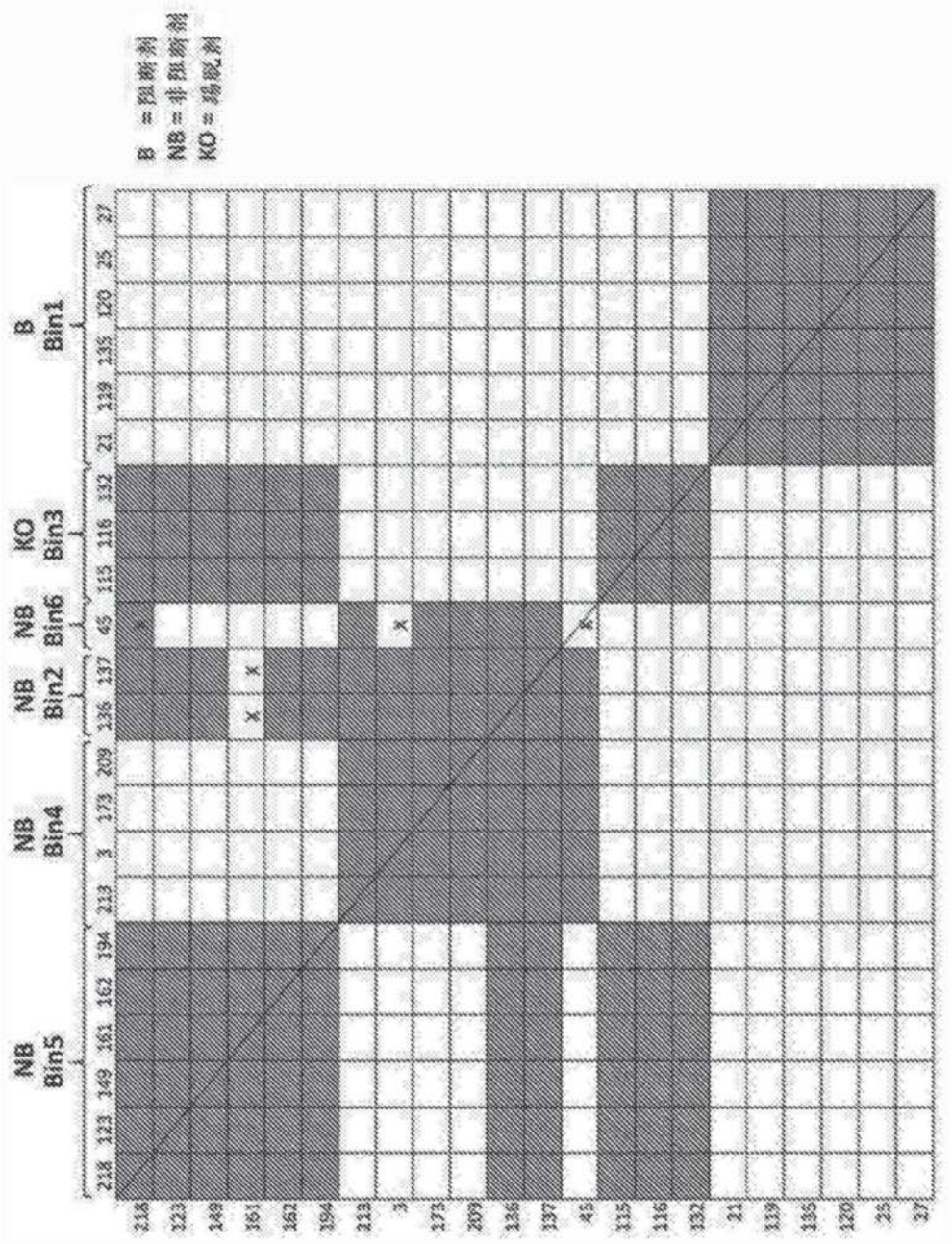

B = 阻断剂
NB = 非阻断剂
KO = 缺乏剂
B
Bin1
KO
Bin3
NB
Bin6
NB
Bin2
NB
Bin4
NB
Bin5
218 123 149 161 162 194 213 3 173 209 136 137 45 115 116 132 21 119 135 120 25 27

图22B

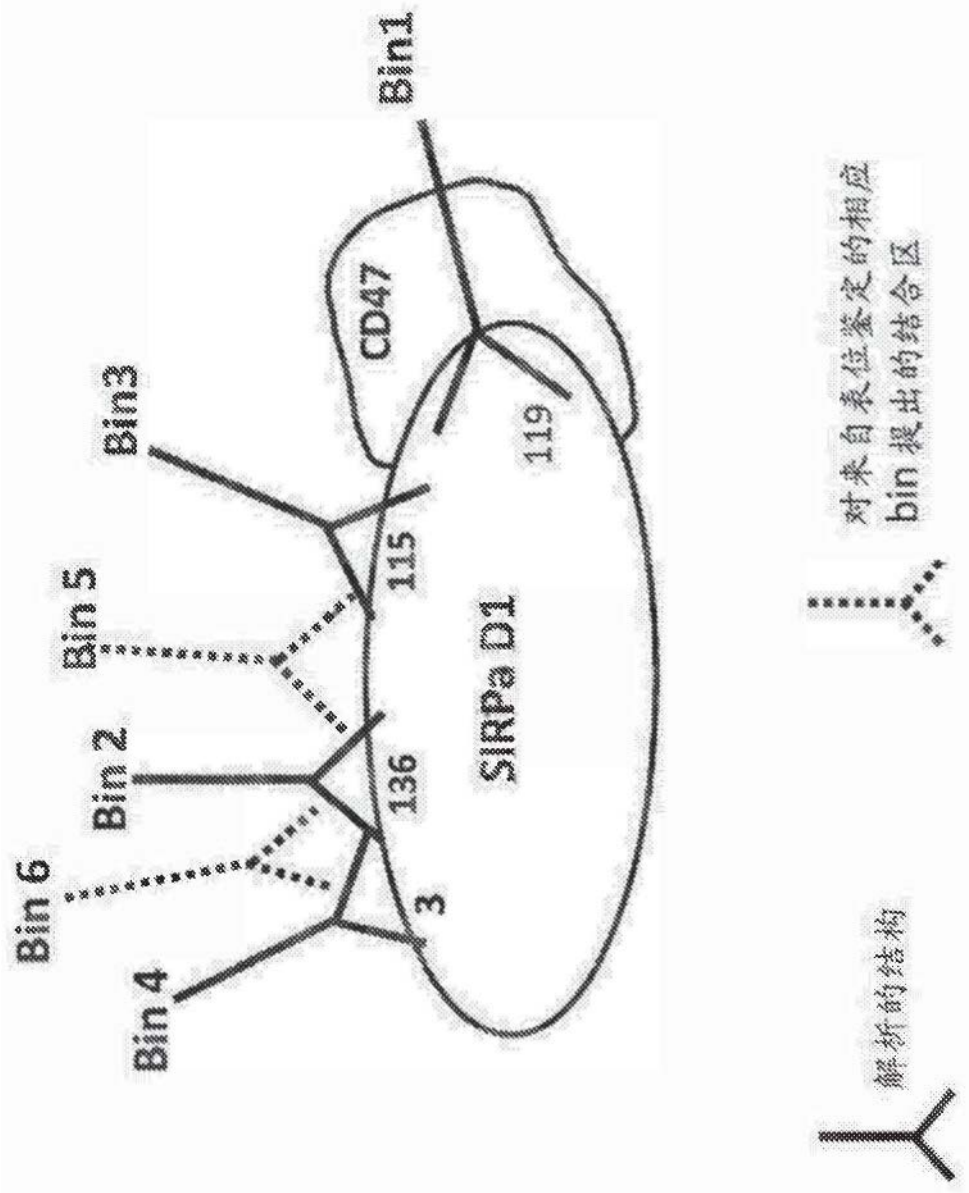

Bin1
CD47
119
Bin3
115
Bin 5
SIRPa D1
Bin 2
136
Bin 6
3
Bin 4
对来自表位鉴定的相应bin提出的结合区
解析的结构

图23

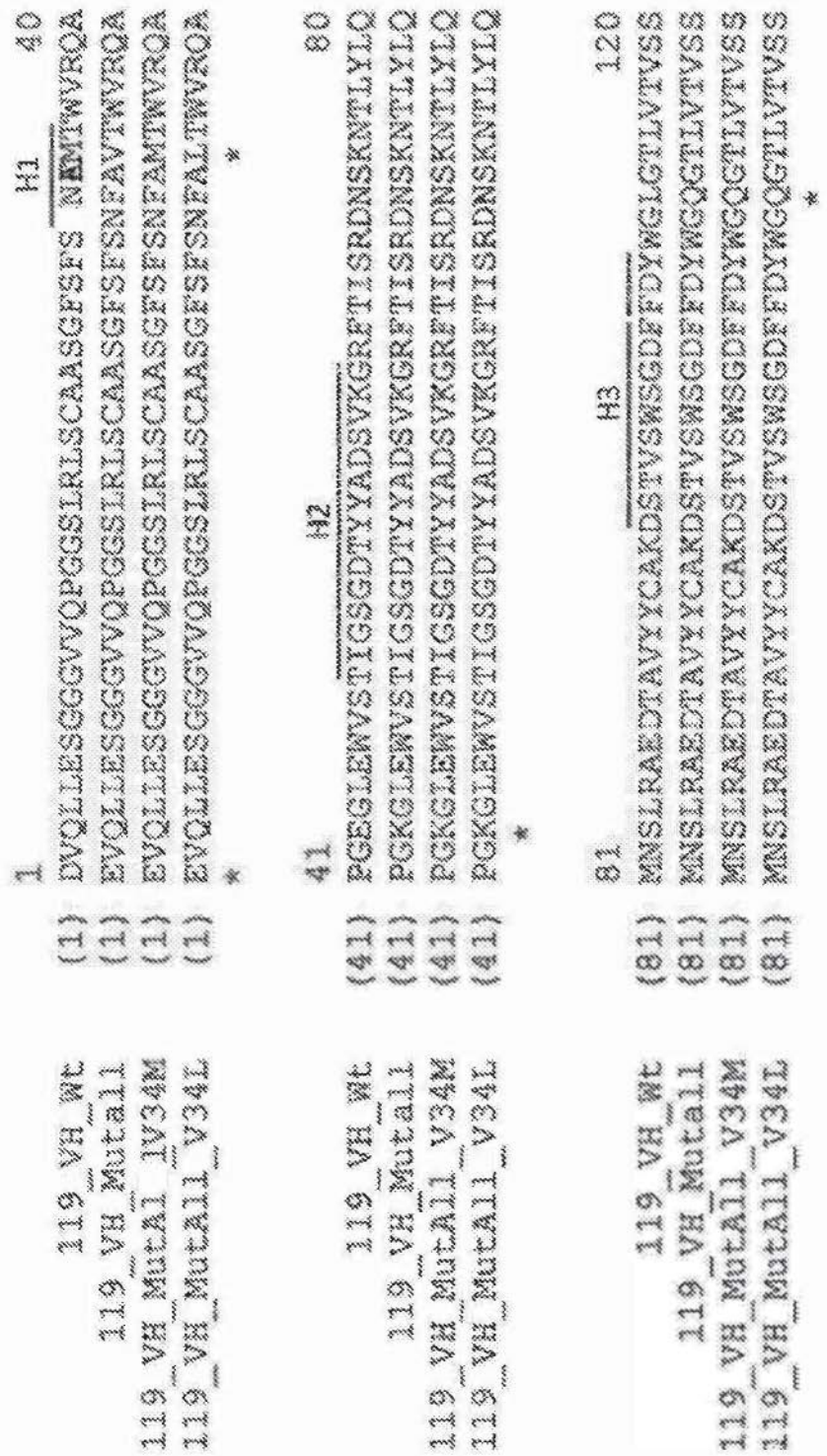

1 H1 40
(1) EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFS NFMTWVRQA
(1) EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSNFAMTWVRQA
(1) EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSNFAMMWVRQA
(1) EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSNFALMWVRQA
(1) EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSNFALTMWVRQA
41 H2 80
(41) PGEGLEWVSTIGSGDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
(41) PGKGLEWVSTIGSGDTYYADSVMGRFTISRDNSKNTLYLQ
(41) PGKGLEWVSTIGSGDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
(41) PGKGLEWVSTIGSGDTYYADSVMGRFTISRDNSKNTLYLQ
(41) PGKGLEWVSTIGSGDTYYADSVMGRFTISRDNSKNTLYLQ
81 H3 120
(81) MNSLRAEDTAVYYCAKDSTVSMSGDFFDYWGQGTLVTVSS
(81) MNSLRAEDTAVYYCAMDSTVSMSGDFFDYWGQGTLVTVSS
(81) MNSLRAEDTAVYYCAKDSTVSMSGDFFDYMGQGTLVTVSS
(81) MNSLRAEDTAVYYCAKDSTVSMSGDFFDYMGQGTLVTVSS
(81) MNSLRAEDTAVYYCAKDSTVSMSGDFFDYMGQGTLVTVSS
119_VH_WT
119_VH_Mutall
119_VH_MutAll_IV34M
119_VH_MutAll_V34T

图24A

L1
L2
L3
1
119_VL_wt (1) EIVLTQSPGTLSLSPGERATFSCRASQNVKNDLAWYQQRPGQAPRLLIYAARIRST
119_VL_mutAll (1) EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQNVKNDLAWYQQKPGQAPRLLIYAARIRET
57
119_VL_wt (57) GIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPTFGGGTKVEIK
119_VL_mutAll (57) GIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYDWPPTFGSGTKVEIK
108

图24B

L1
L2
L3
1
56
57
108
135_VL_wt (1) EIVLTQSPATLSVSPGERVTFSCRASQNVRSDIAWYQQKPGQAPRLLIYAASSRDT
135_VL_mutAll (1) EIVLTQSPATLSVSPGERVTLSCRASQNVRSDIAWYQQKPGQAPRLLIYAASSRDT
135_VL_wt (57) GIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDFGVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK
135_VL_mutAll (57) GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDFGVYYCQQYYDWPPFTFGGGTKVEIK

图25A

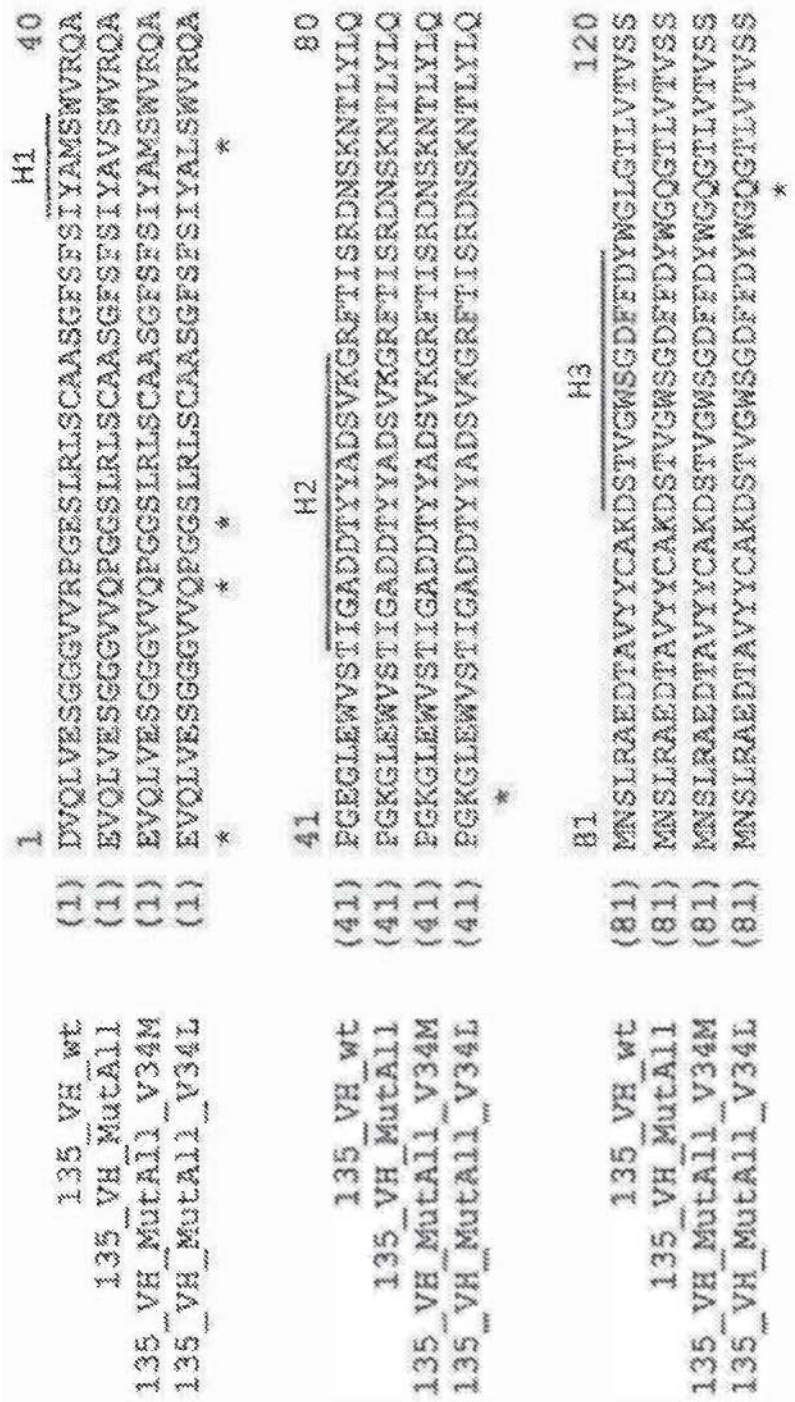

H1
1 EVQLVESGGGVVRPGESLRLSCAASGFSFSIYAMSWVRQA 40
(1) EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSIYAVSWVRQA
(1) EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSIYAMSWVRQA
(1) EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSIYALSWVRQA
H2
41 PGEGLEWVSTIGADDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ 80
(41) PGKGLEWVSTIGADDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
(41) PGKGLEWVSTIGADDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
(41) PGKGLEWVSTIGADDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
H3
81 MNSLRAEDTAVYYCAKDSTVGWSGDFEDYWGQGTLVTVSS 120
(81) MNSLRAEDTAVYYCAKDSTVGWSGDFEDYWGQGTLVTVSS
(81) MNSLRAEDTAVYYCAKDSTVGWSGDFEDYWGQGTLVTVSS
(81) MNSLRAEDTAVYYCAKDSTVGWSGDFEDYWGQGTLVTVSS
(81) MNSLRAEDTAVYYCAKDSTVGWSGDFEDYWGQGTLVTVSS
135_VH_wt
135_VH_MutAll
135_VH_MutAll_V34M
135_VH_MutAll_V34L

图25B

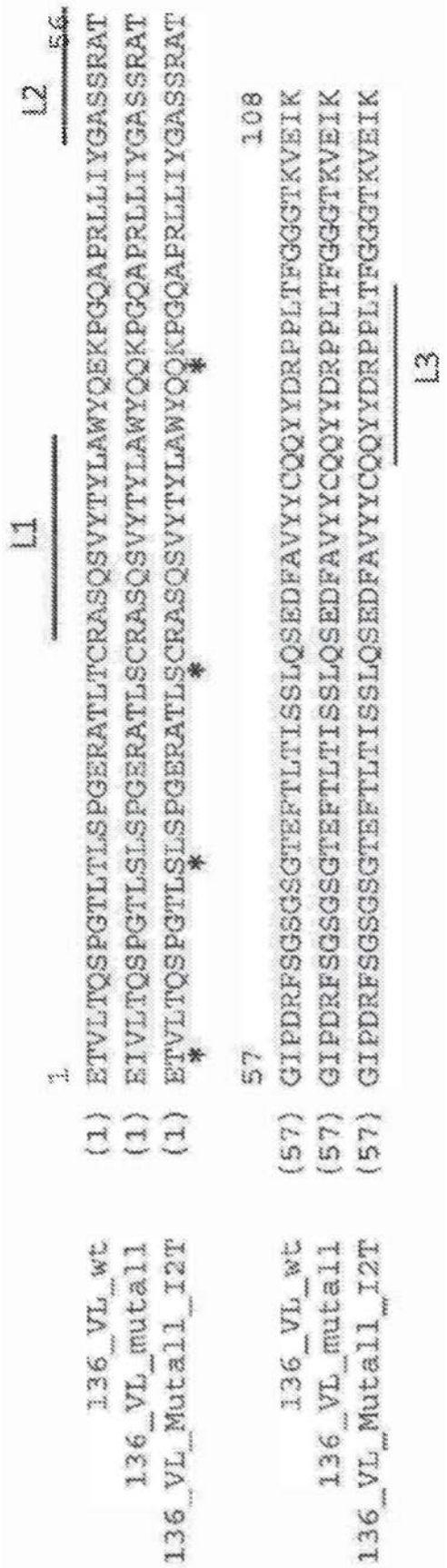

L1
L2
L3
136_VL_wt (1) ETVLTQSPGTLTLSPGERATLTCRASQSVYTYLAWYQEKPGQAPRLLIYGASSRAT
136_VL_mut1 (1) EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVYTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAT
136_VL_Mut1_I2T (1) ETVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVYTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAT
57
136_VL_wt (57) GIPDRFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYDRPPLTFGGGTKVEIK
136_VL_mut1 (57) GIPDRFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYDRPPLTFGGGTKVEIK
136_VL_Mut1_I2T (57) GIPDRFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYDRPPLTFGGGTKVEIK
108

图26A

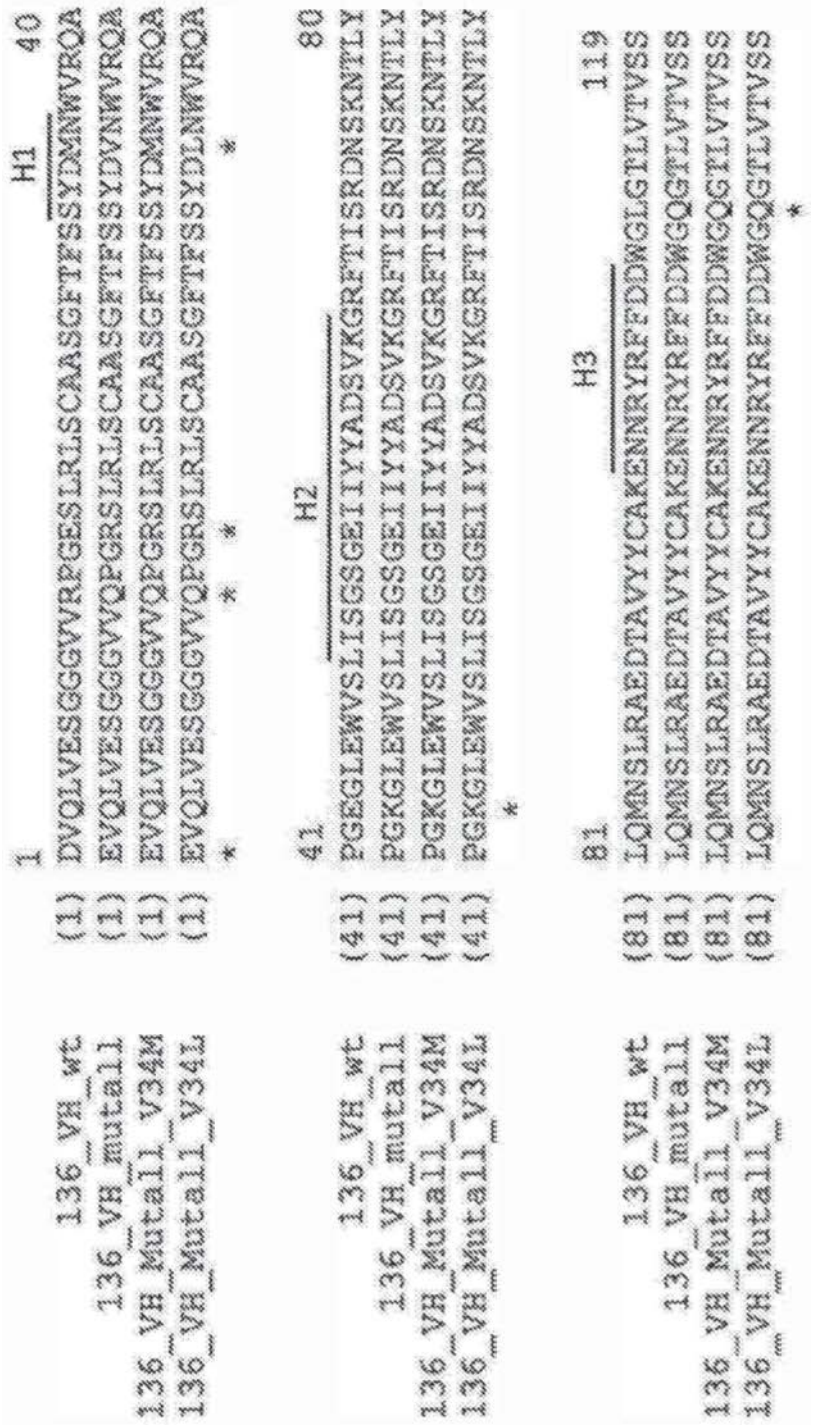

H1
H2
H3
136_VH_wt
136_VH_mutall
136_VH_Mutall_V34M
136_VH_Mutall_V34L

图26B

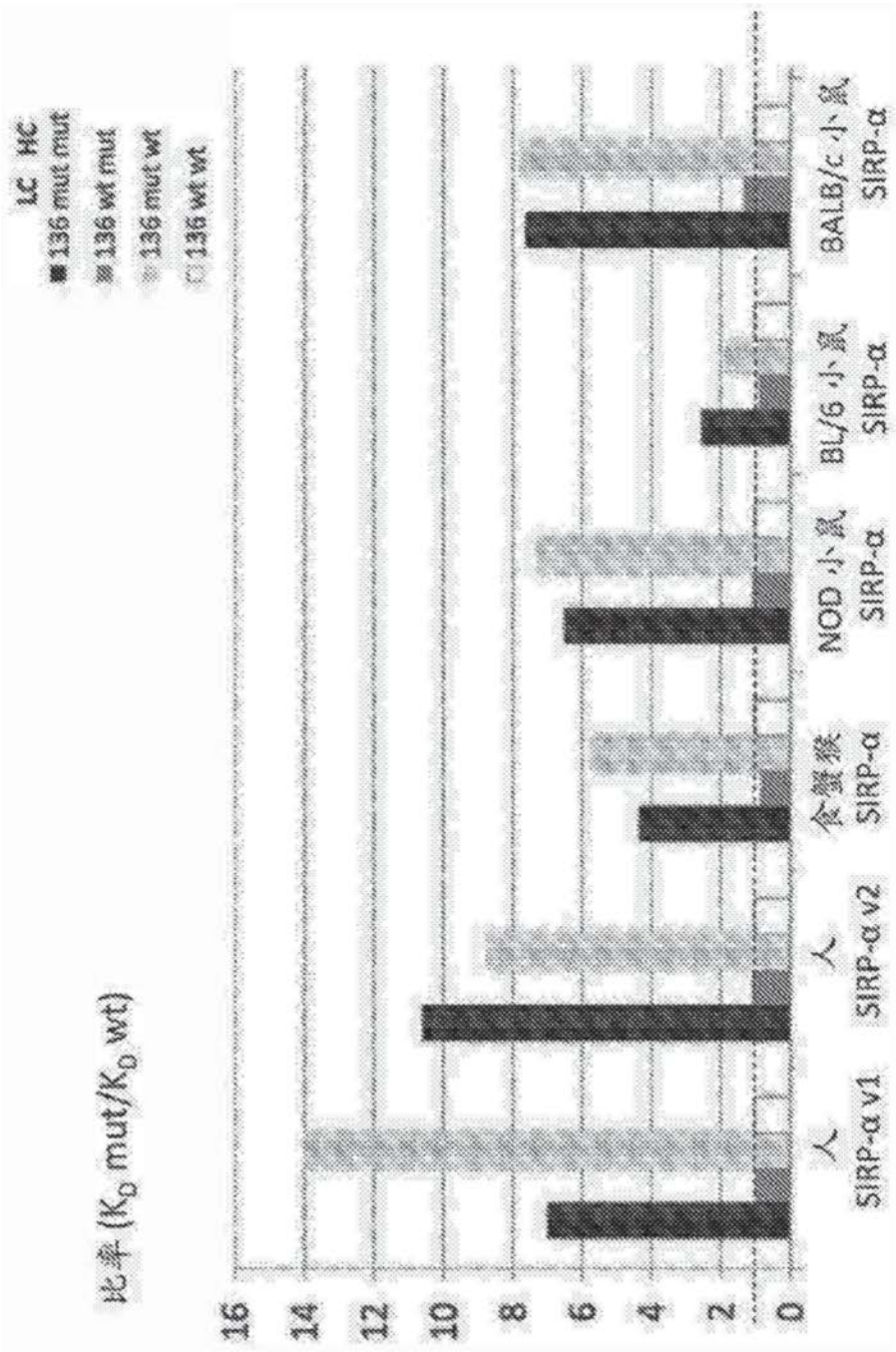

LC HC
136 mut mut
136 wt mut
136 mut wt
136 wt wt
比率 (K_D mut/K_D wt)
16
14
12
10
8
6
4
2
0
人 SIRP-α v1
人 SIRP-α v2
食蟹猴 SIRP-α
NOD 小鼠 SIRP-α
BL/6 小鼠 SIRP-α
BALB/c 小鼠 SIRP-α

图27A

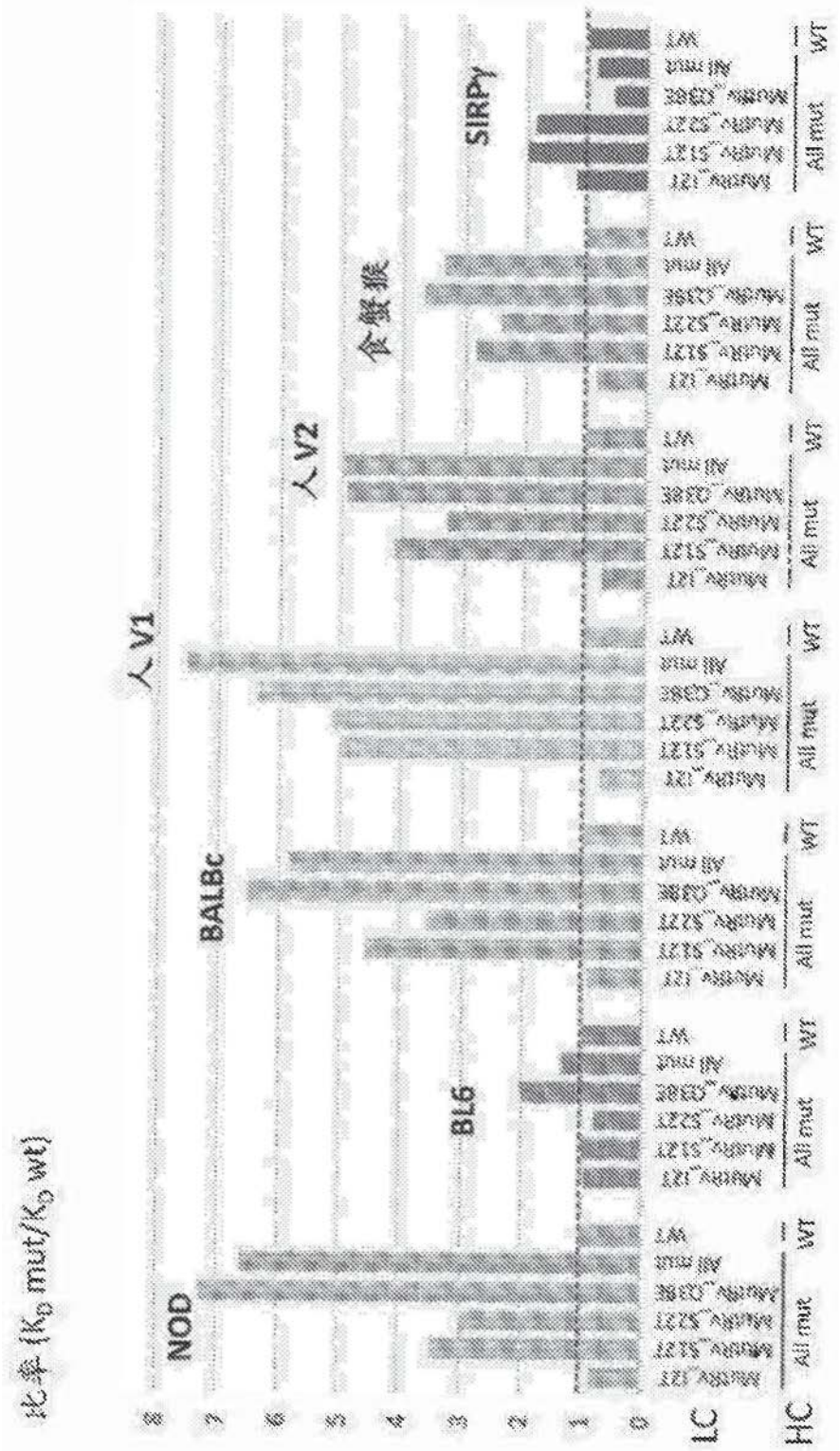


图27B

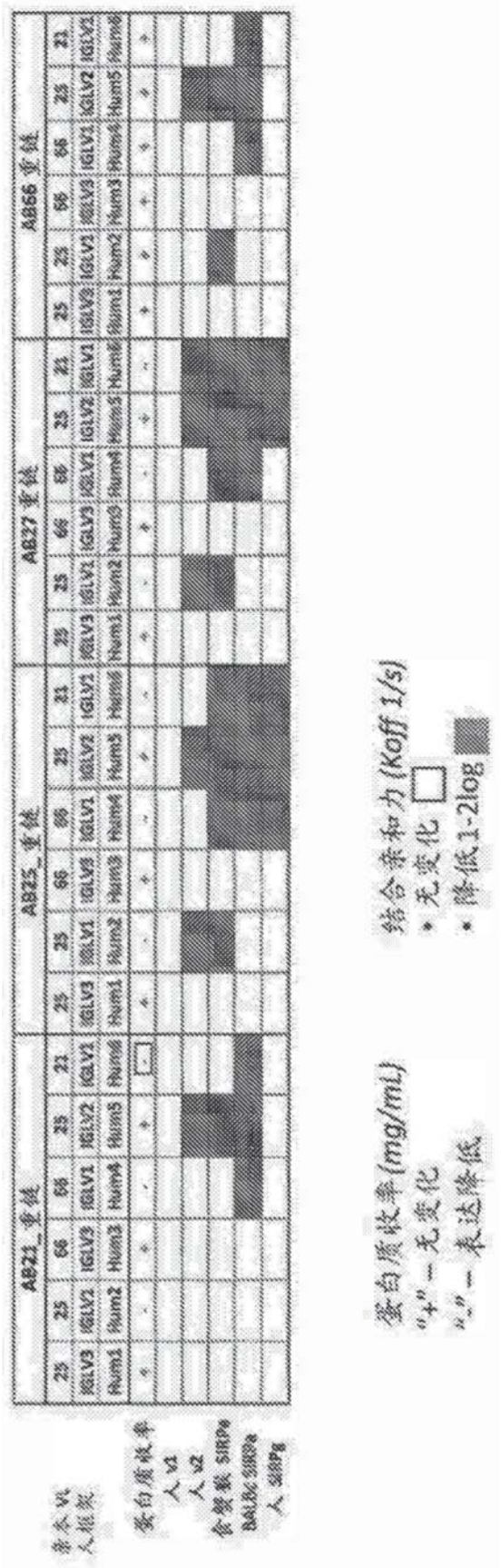

AB21_重链
AB25_重链
AB27_重链
AB66_重链
鼠本 VL
人框架
蛋白质收率
人 V1
人 V2
食蟹猴 SIRPα
BALB/c SIRPα
人 SIRPα
蛋白质收率(mg/mL)
"+"—无变化
"-"—表达降低
结合亲和力 (Koff 1/s)
• 无变化
• 降低1-2log

图28

1
L1
L2
94
Hum1 (1) SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGGSYSYYAWYQQKPGQAPVTLIYSDDKRP
Hum8 (1) SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGGAYSSYYAWYQQKPGQAPVLVIYSGSKRP
hum9 (1) SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGGAYSSYYAWYQQKPGQAPVLVIYSDDKRP
* ** *
55
L3
108
Hum1 (55) SNIPERFSGSSSGTVTLTISGVQAEDEADYYCGGYDQSSYTNPGGGTKLTVL
Hum8 (55) SGIPERFSGSSSGTMTLTISGVQAEDEADYYCGAYDQSSYTNPGGGTKLTVL
hum9 (55) SGIPERFSGSSSGTATLTISGVQAEDEADYYCGGYDQSSYTNPGGGTKLTVL
*

图29

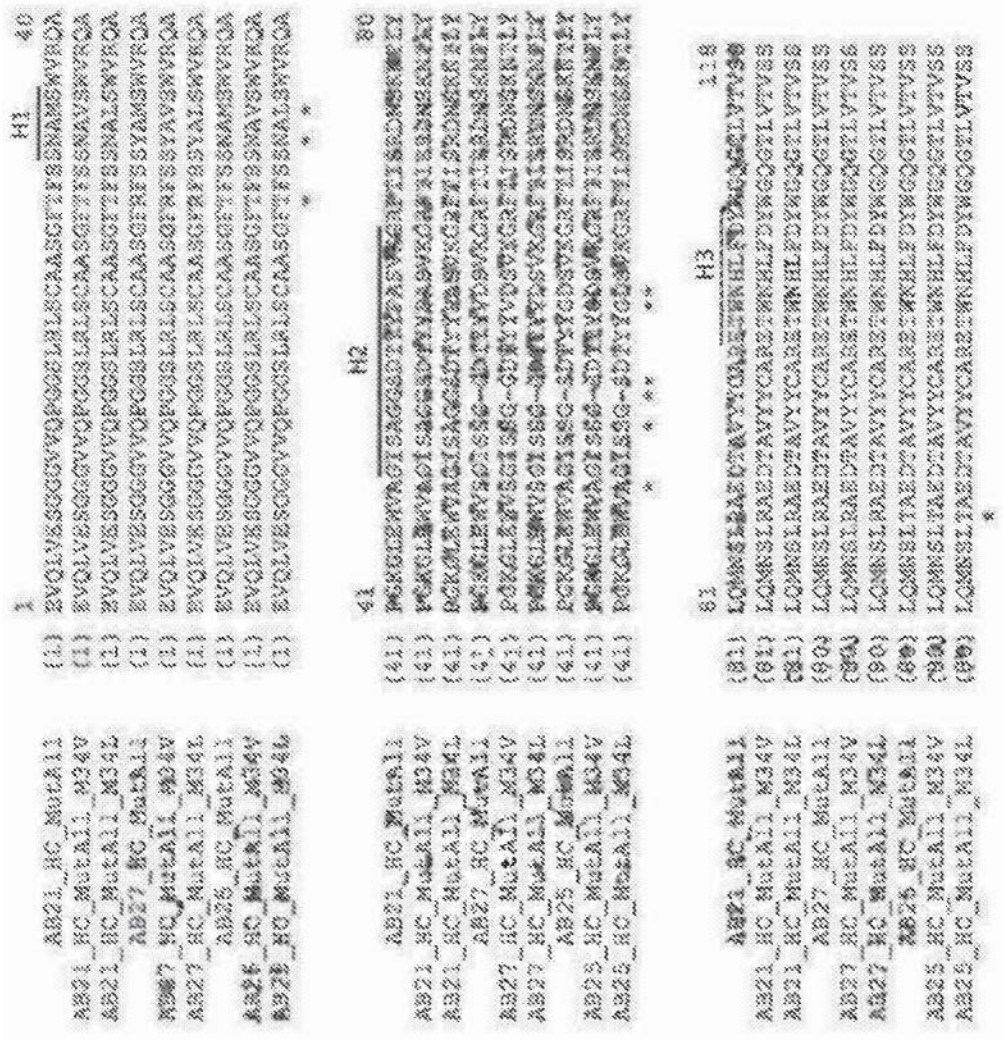


图30

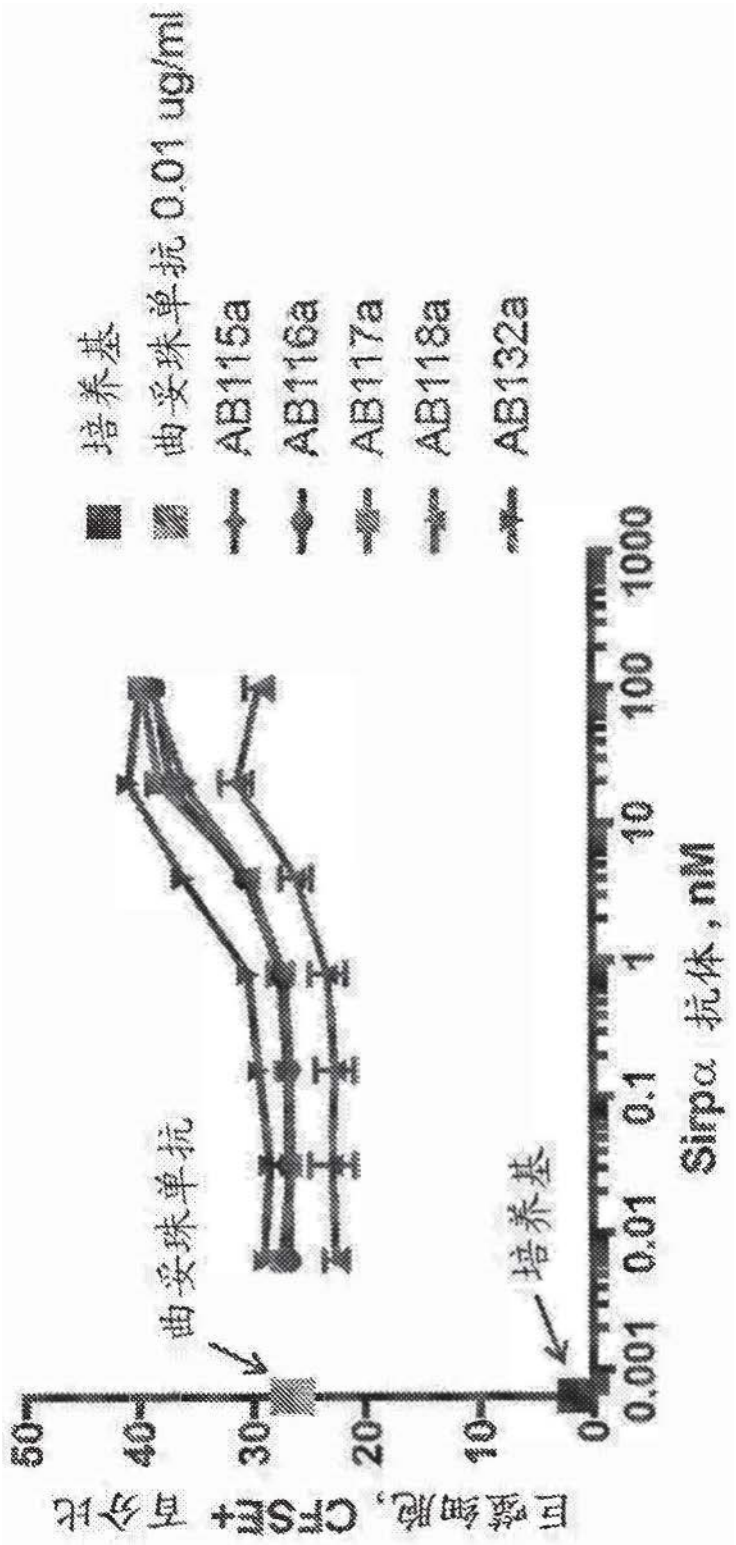

培养基
曲妥珠单抗 0.01 ug/ml
AB115a
AB116a
AB117a
AB118a
AB132a
巨噬细胞, CFSE+ 百分比
60
40
30
20
10
0
曲妥珠单抗
培养基
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
Simpα 抗体, nM

图31

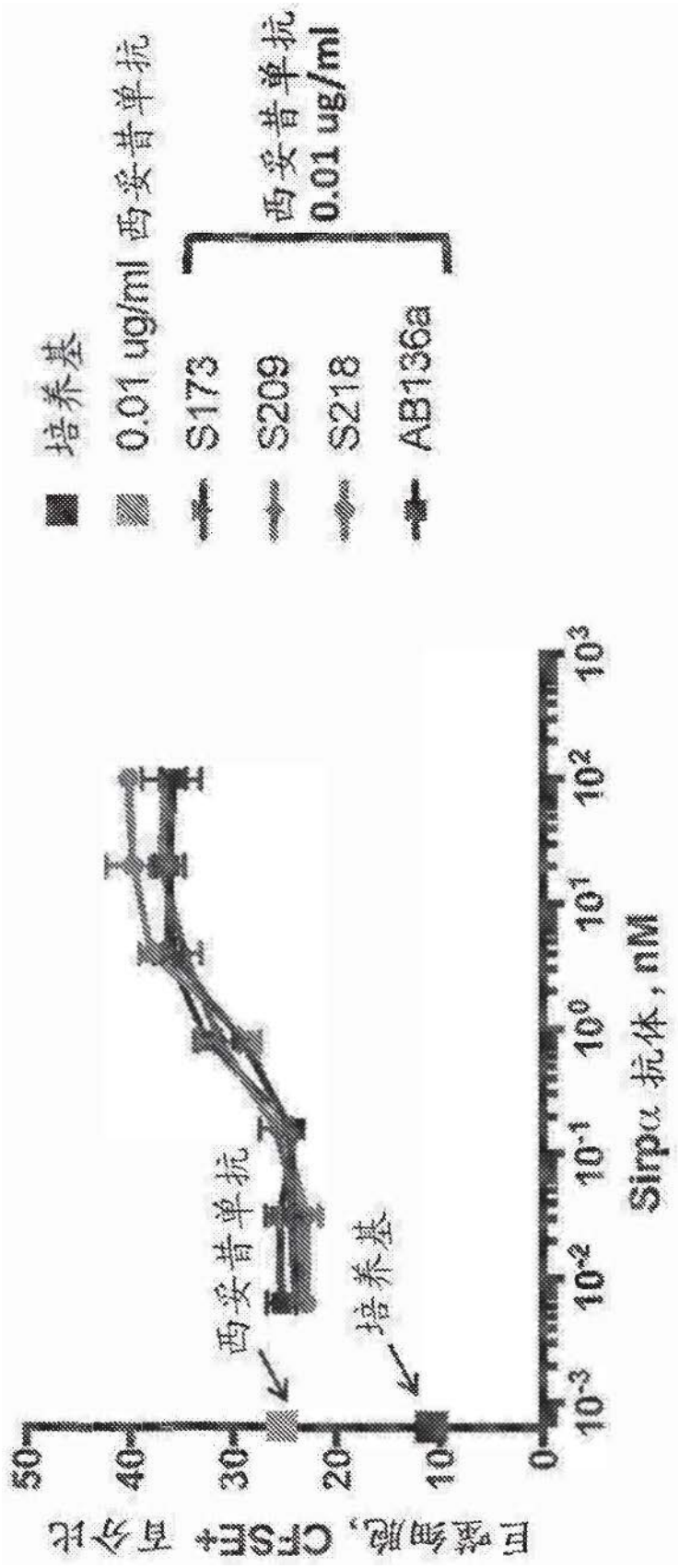

培养基
0.01 ug/ml 西妥昔单抗
S173
S209
S218
AB136a
西妥昔单抗 0.01 ug/ml
西妥昔单抗
培养基
50
40
30
20
10
0
10-3
10-2
10-1
100
101
102
103
Simα 抗体，nM
巨噬细胞，CFSE+ 百分比

图32

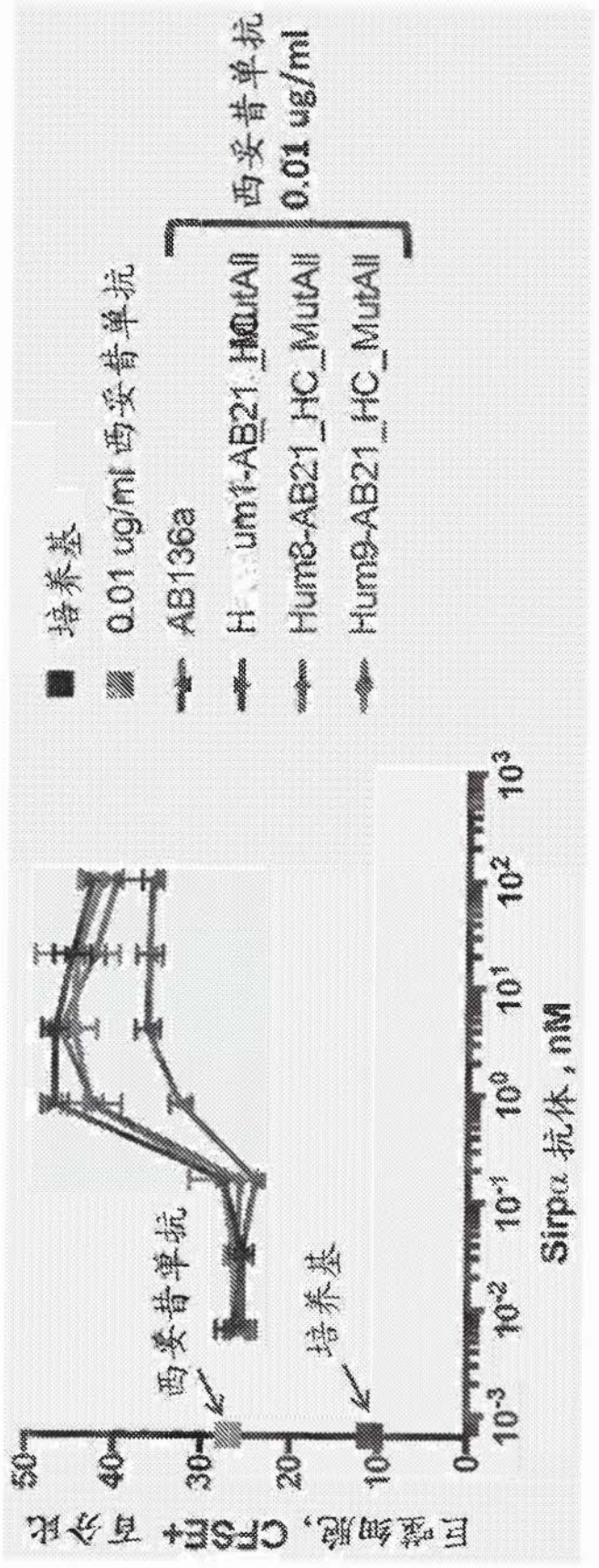

培养基
0.01 ug/ml 西妥昔单抗
AB136a
Hum1-AB21_HC_MutAll
Hum8-AB21_HC_MutAll
Hum9-AB21_HC_MutAll
西妥昔单抗
0.01 ug/ml
西妥昔单抗
培养基
Sirpα 抗体，nM
10^{-3}
10^{-2}
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
10^{3}
0
10
20
30
40
50
巨噬细胞，CFSE+ 百分比

图33A

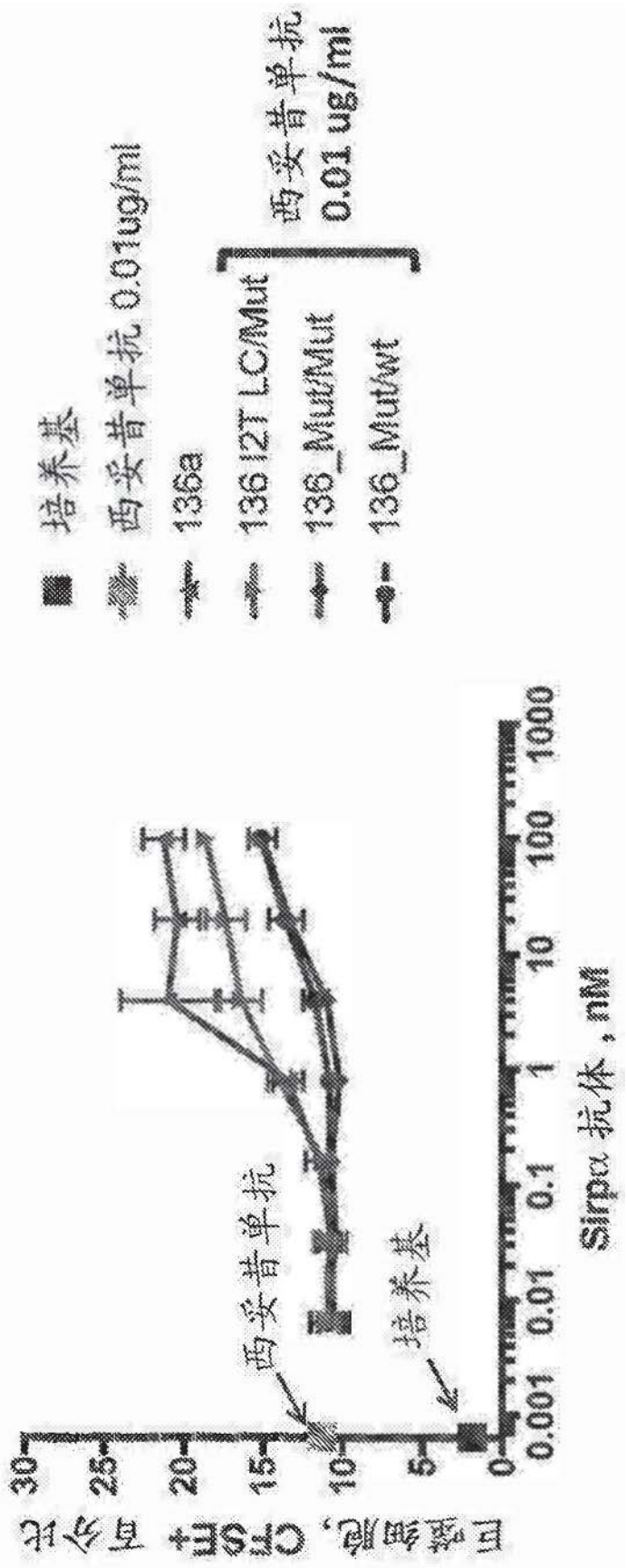

培养基
西妥昔单抗 0.01ug/ml
136a
136 I2T LC/Mut
136_Mut/Mut
136_Mut/wt
西妥昔单抗
0.01 ug/ml
百分比
CFSE+
巨噬细胞,
30
25
20
15
10
5
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
Simα 抗体，nM
西妥昔单抗
培养基

图33B

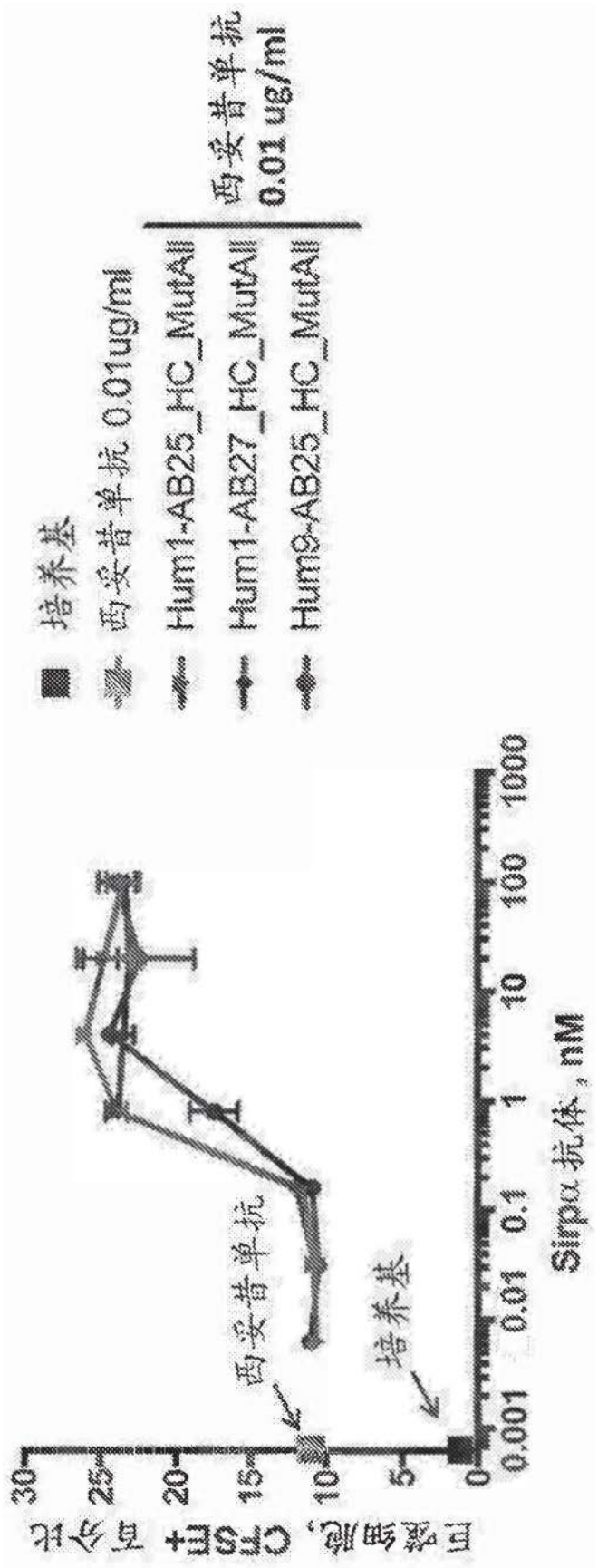

培养基
西妥昔单抗 0.01ug/ml
Hum1-AB25_HC_MutAll
Hum1-AB27_HC_MutAll
Hum9-AB25_HC_MutAll
西妥昔单抗
0.01 ug/ml
巨噬细胞, CFSE+ 百分比
30
25
20
15
10
5
0
西妥昔单抗
培养基
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
Sirpα抗体, nM

图33C

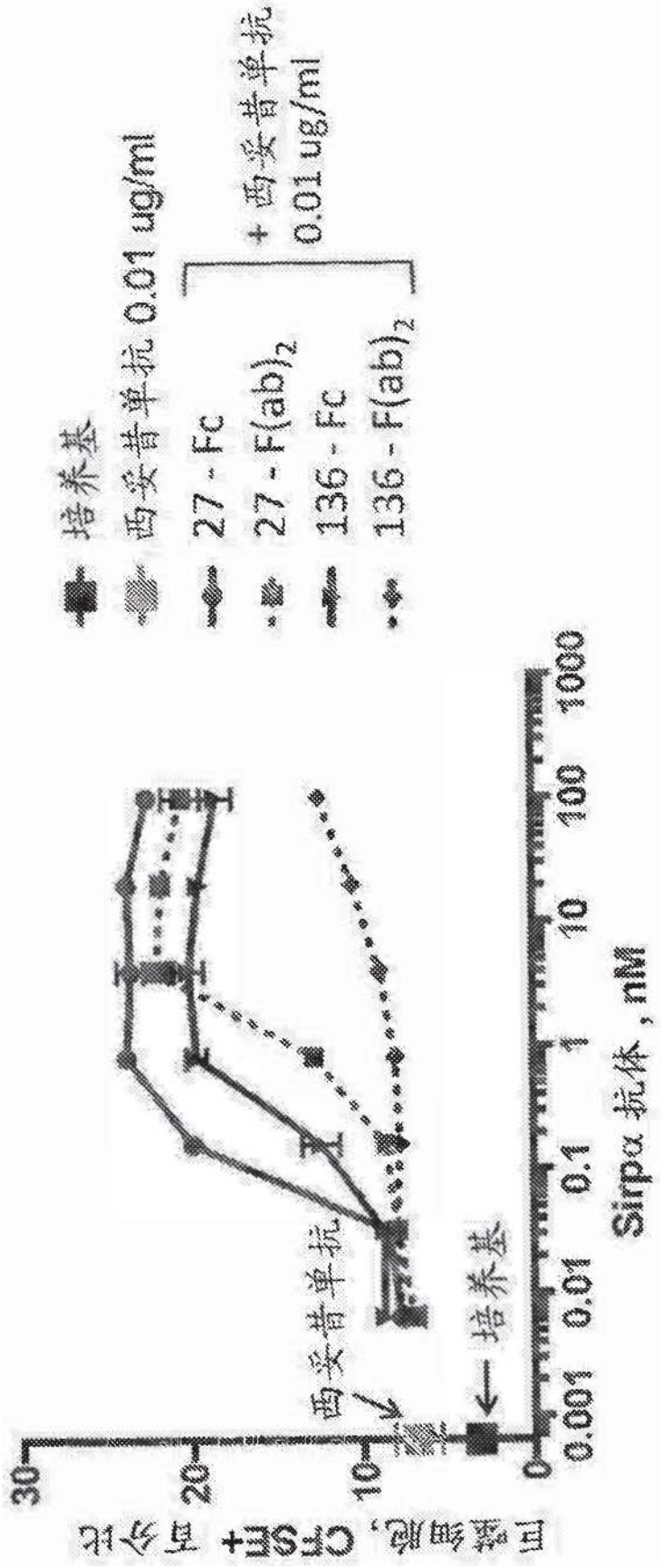

培养基
西妥昔单抗 0.01 ug/ml
27 - Fc
27 - F(ab)2
136 - Fc
136 - F(ab)2
+ 西妥昔单抗 0.01 ug/ml
巨噬细胞, CFSE+ 百分比
30
20
10
0
西妥昔单抗
培养基
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
Sirpα 抗体 , nM

图34

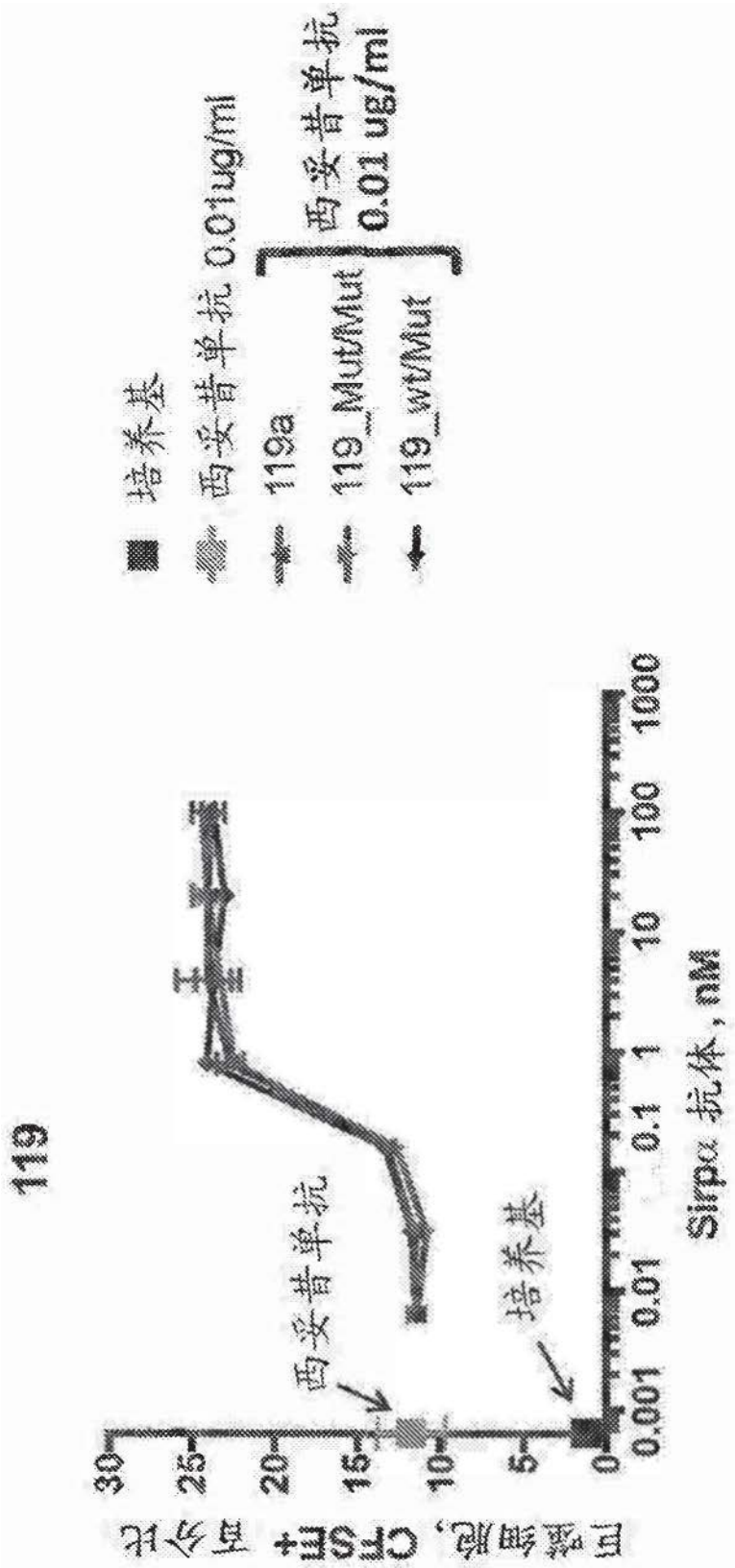

培养基
西妥昔单抗 0.01ug/ml
119a
119_MutMut
119_wtMut
西妥昔单抗
0.01 ug/ml
119
西妥昔单抗
培养基
百分比
巨噬细胞, CFSE+
Sirpα 抗体, nM
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
0
5
10
15
20
25
30

图35

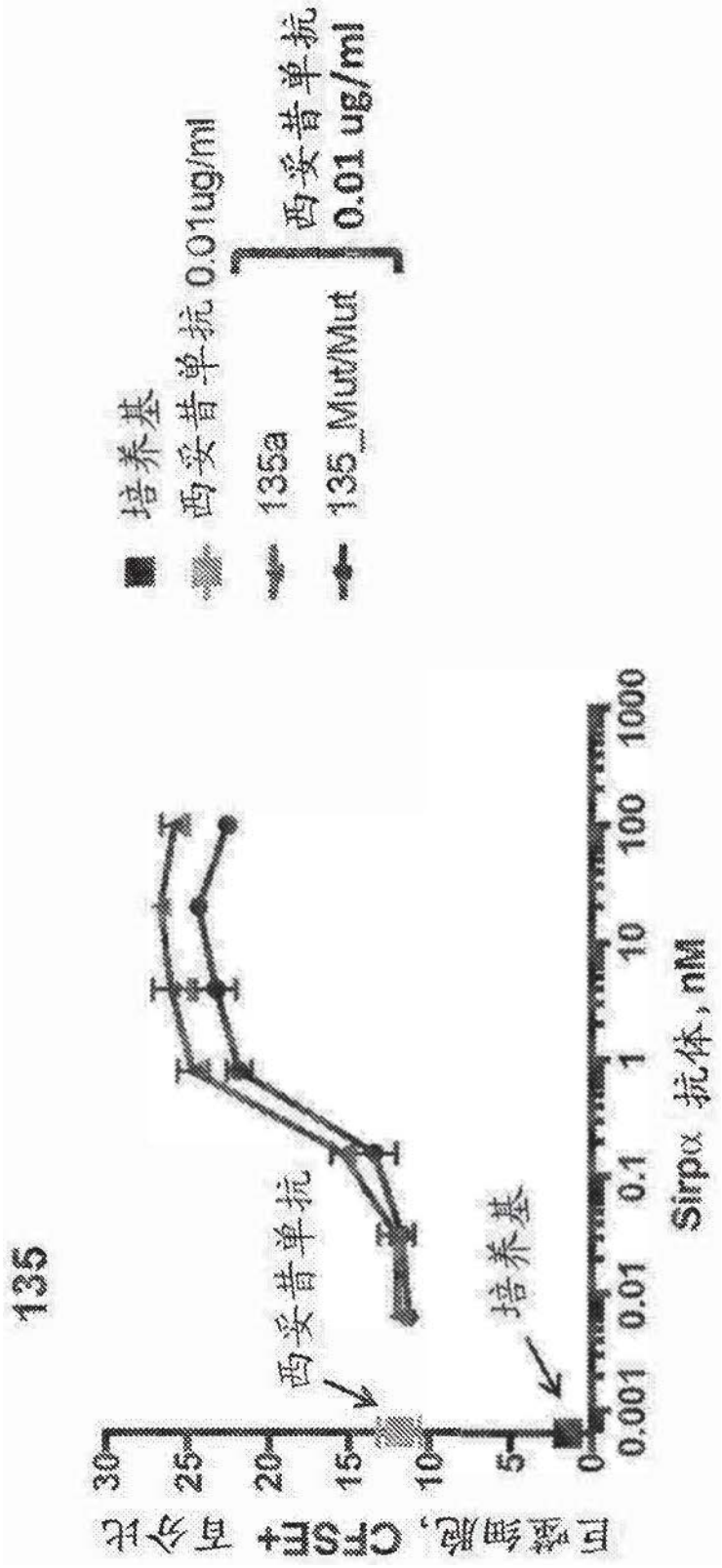

135
培养基
西妥昔单抗 0.01ug/ml
135a
135_Mut/Mut
西妥昔单抗 0.01 ug/ml
西妥昔单抗
培养基
百分比
30
25
20
15
10
5
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
Sirpα 抗体，nM

图36

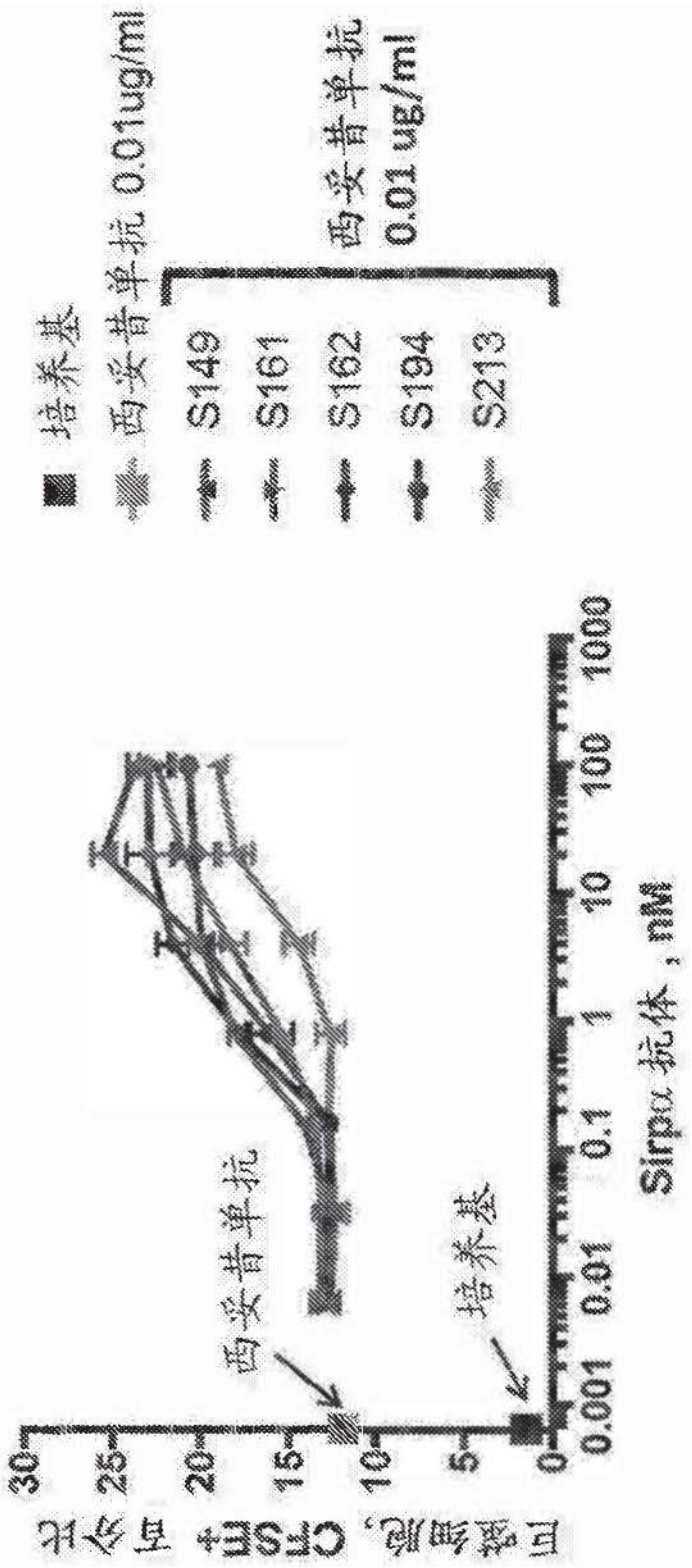

培养基
西罗昔单抗 0.01ug/ml
S149
S161
S162
S194
S213
西罗昔单抗
0.01 ug/ml
巨噬细胞, CFSE+ 百分比
30
25
20
15
10
5
0
西罗昔单抗
培养基
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
Sirpα抗体，nM

图37

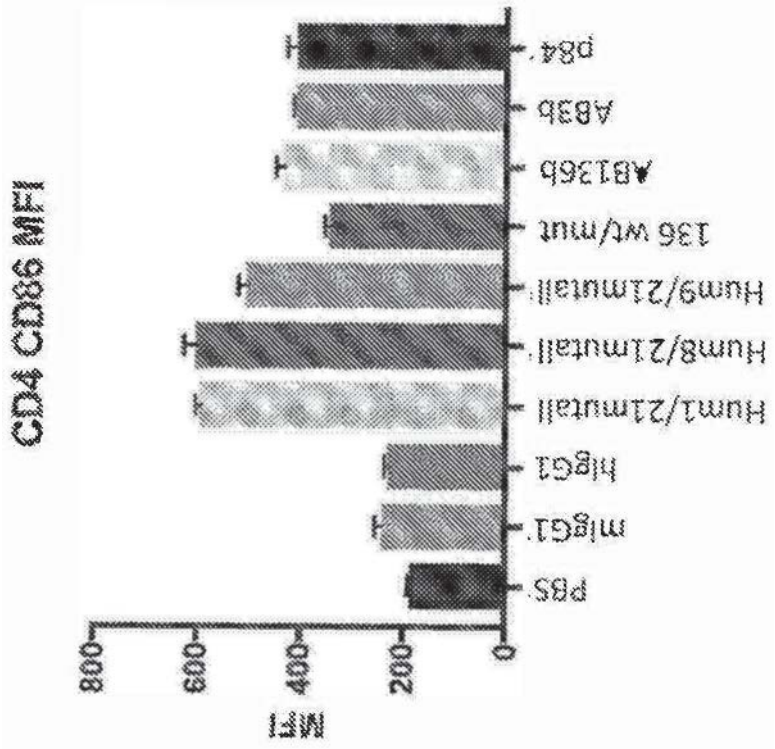

CD4 CD86 MFI
MFI
0
200
400
600
800
PBS
mIgG1
hIgG1
Hum1/21mutall
Hum8/21mutall
Hum9/21mutall
136 wt/mut
AB136b
AB3b
p84

图38A

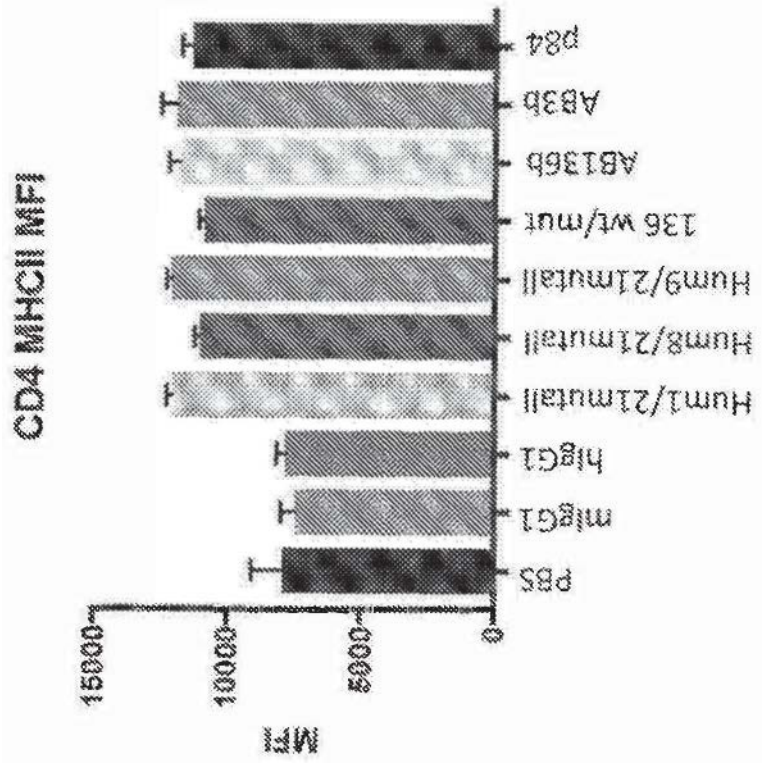

CD4 MHCII MFI
MFI
0
5000
10000
15000
PBS
mIgG1
hIgG1
Hum1/21mutall
Hum8/21mutall
Hum9/21mutall
136 wt/mut
AB136b
AB3b
p84

图38B

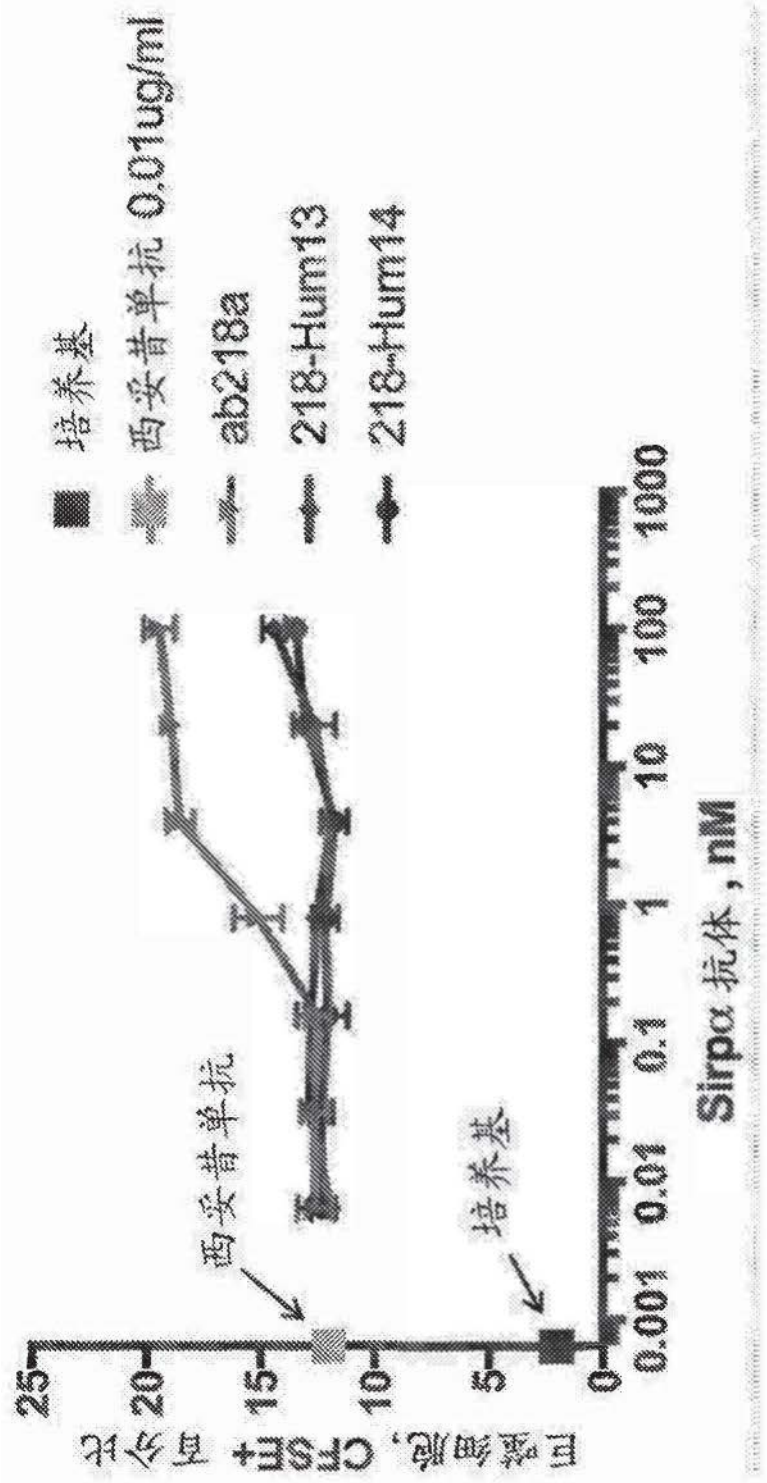

培养基
西妥昔单抗 0.01ug/ml
ab218a
218-Hum13
218-Hum14
巨噬细胞，CFSE+ 百分比
25
20
15
10
5
0
西妥昔单抗
培养基
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
Sirpα 抗体，nM

图39A

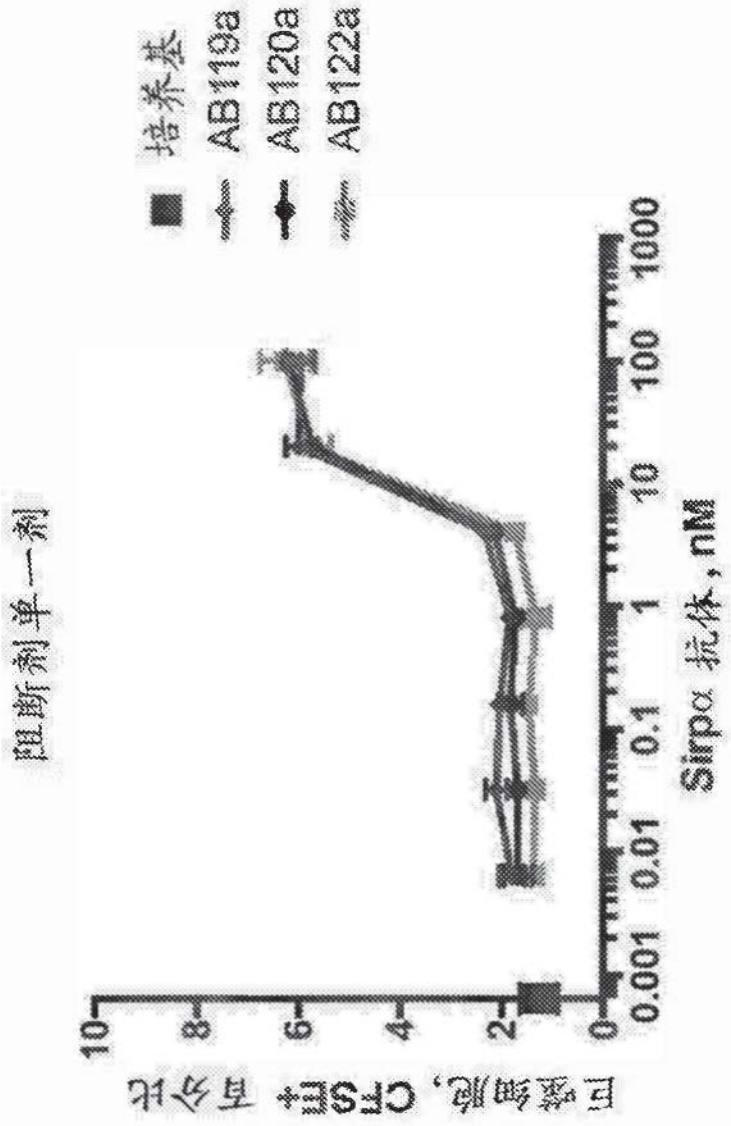

培养基
AB119a
AB120a
AB122a
阻断剂单一剂
巨噬细胞，CFSE+ 百分比
10
8
6
4
2
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
Sirpα 抗体，nM

图39B

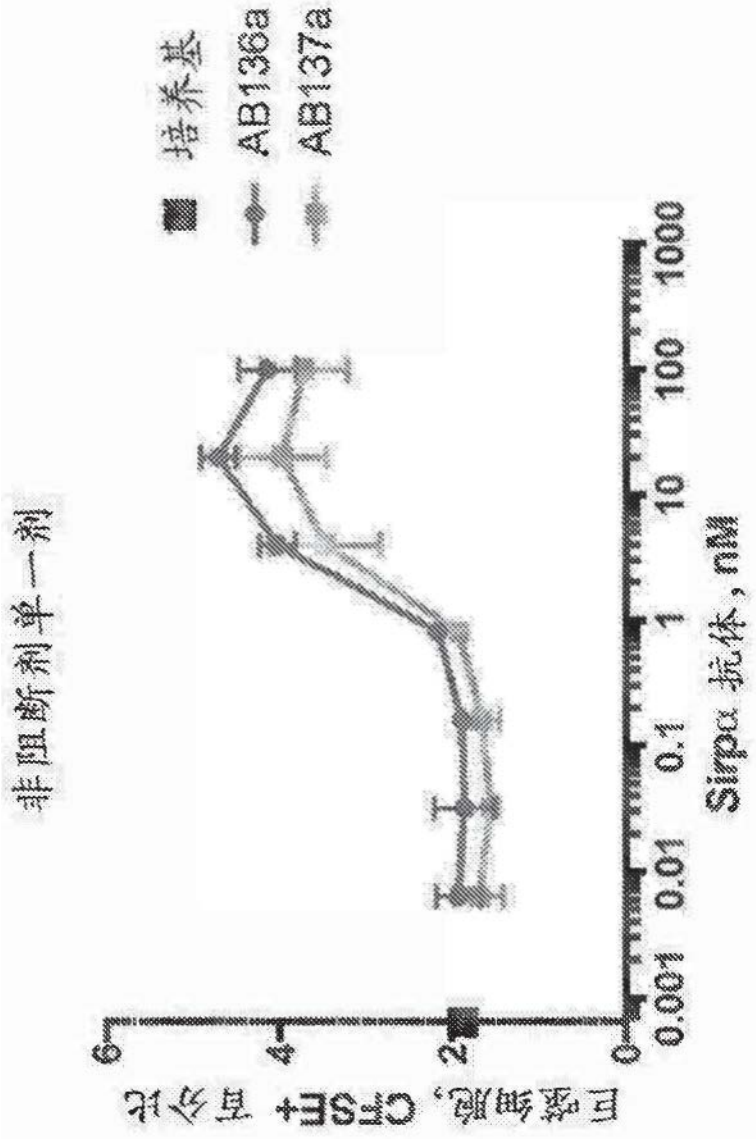

培养基
AB136a
AB137a
非阻断剂单一剂
Sirpα 抗体，nM
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
0
2
4
6
巨噬细胞，CFSE+ 百分比

图39C

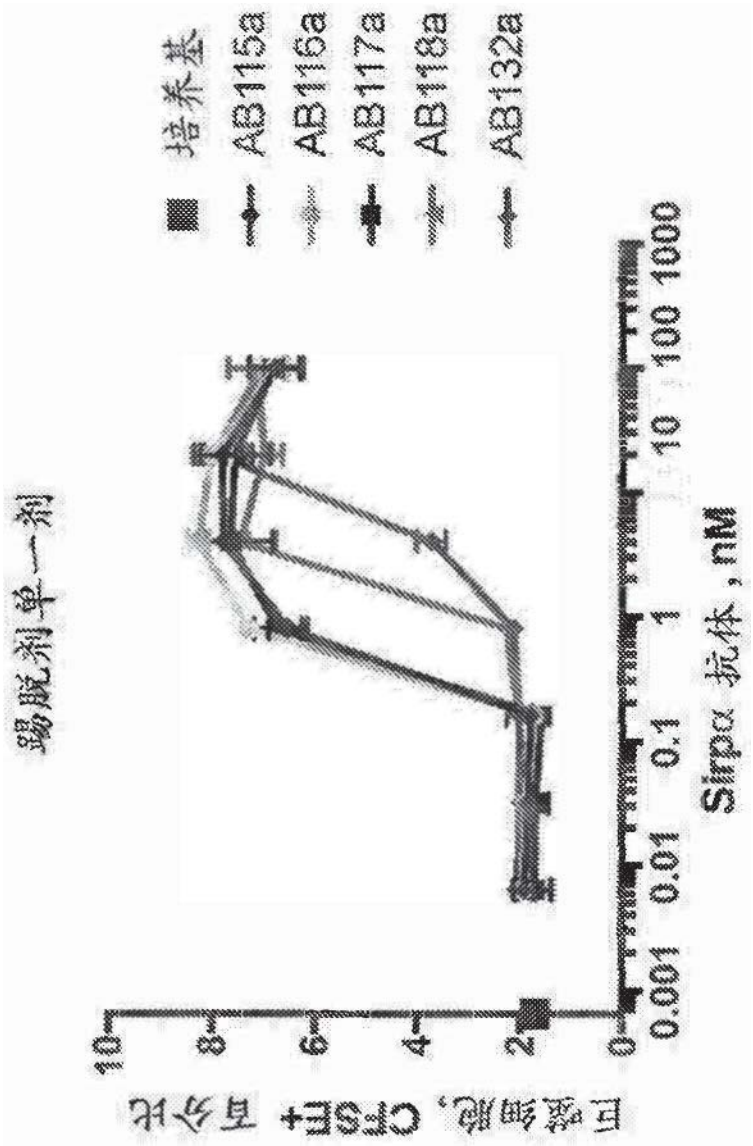
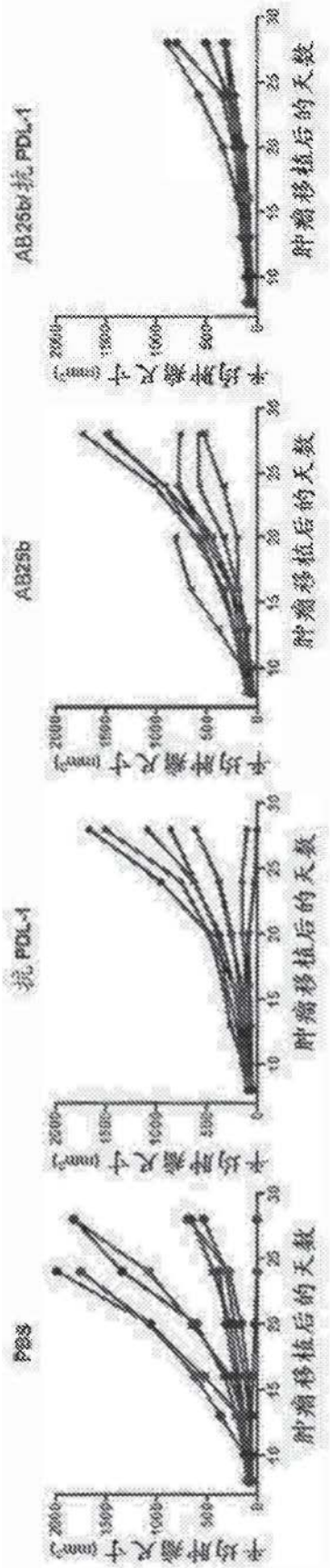
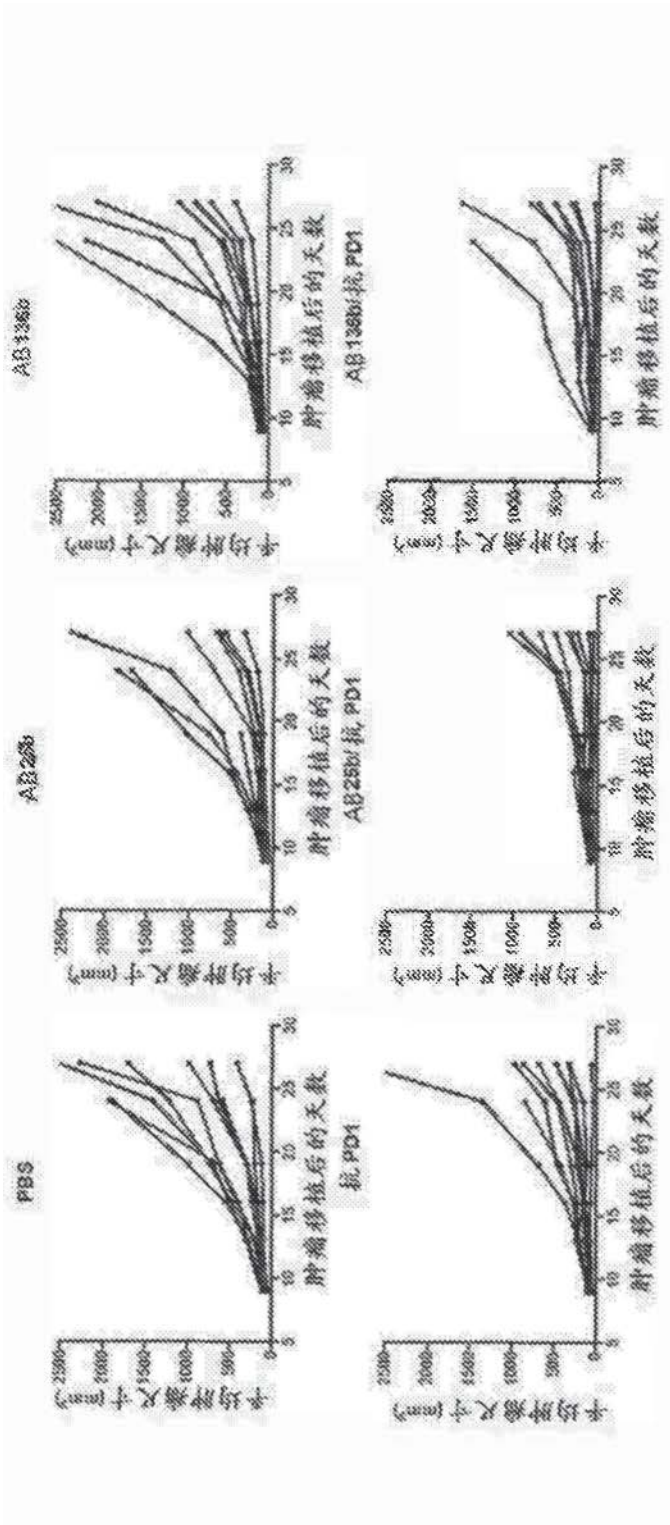

培养基
AB115a
AB116a
AB117a
AB118a
AB132a
踢脱剂单一剂
巨噬细胞，CFSE+ 百分比
0
2
4
6
8
10
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
Simpα 抗体，nM

图39D



	PBS	抗 PDL1	AB25b	AB25b/抗 PDL1
肿瘤体积<600 mm3的小鼠	2	2	2	6

图40



	PBS	抗 PD1	AB25b	AB25b/抗 PD1	AB136b	AB136b/抗 PD1
肿瘤体积 <600 mm3 的小鼠	1	5	2	7	1	6

图41