



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117715940 A

(43) 申请公布日 2024.03.15

(21) 申请号 202280052916.4

K·卡拉斯科

(22) 申请日 2022.06.02

(74) 专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司

(30) 优先权数据

72003

21305743.3 2021.06.02 EP

专利代理师 付文川

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(51) Int.Cl.

2024.01.29

C07K 16/28 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2022/065140 2022.06.02

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/253991 EN 2022.12.08

(71) 申请人 伊诺特伦公司

地址 法国南锡

(72) 发明人 马尔克·德里夫 J-J·加罗

A·布芬泽 M·麦拉菲尔

J·沃艾森-克里斯托夫

权利要求书2页 说明书61页

序列表30页 附图28页

(54) 发明名称

抗TREM-1抗体

(57) 摘要

本发明涉及新型抗TREM-1(髓样细胞上表达的触发受体-1)抗体及其抗原结合片段、包含所述抗体及其抗原结合片段的融合蛋白及其治疗用途。

1. 一种分离的抗TREM-1 (髓样细胞上表达的触发受体-1) 抗体或其抗原结合片段, 其中:

a) 所述分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段的重链可变区 (V_H) 包含以下三个互补决定区 (CDR):

-V_H-CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);

-V_H-CDR2:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKVX₄G (SEQ ID NO:2), 其中X₁是Asn (N) 或Gly (G), X₂是Asn (N) 或Arg (R), X₃是Ala (A)、Asp (D) 或Ser (S), X₄是Gln (Q) 或Lys (K); 和

-V_H-CDR3:HX₅GX₆TMDY (SEQ ID NO:3), 其中X₅是Tyr (Y) 或Arg (R), X₆是Ser (S) 或Gly (G);

b) 所述分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段的轻链可变区 (V_L) 包含以下三个CDR:

-V_L-CDR1:RASX₇SVX₈NYGISFX₉N (SEQ ID NO:4), 其中X₇是Glu (E) 或Gln (Q), X₈是Asp (D) 或Ser (S), X₉是Met (M) 或Leu (L); 和

-V_L-CDR2:AAAX₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄ (SEQ ID NO:5), 其中X₁₀是Ser (S) 或Glu (E), X₁₁是Asn (N) 或Tyr (Y), X₁₂是Gln (Q) 或Arg (R), X₁₃是Gly (G)、Ala (A) 或Lys (K), X₁₄是Ser (S) 或Arg (R); 和

-V_L-CDR3:QQSX₁₅X₁₆X₁₇PX₁₈T (SEQ ID NO:6), 其中X₁₅是Lys (K)、Arg (R) 或Ser (S), X₁₆是Glu (E)、His (H) 或Asn (N), X₁₇是Val (V) 或Phe (F), X₁₈是Trp (W) 或Tyr (Y)。

2. 根据权利要求1所述的分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段, 其中所述分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段包含以下CDR:

-V_H-CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H-CDR2:RIDPAGGRTKYDPKVKG (SEQ ID NO:7), V_H-CDR3:HYGGTMDY (SEQ ID NO:8), V_L-CDR1:RASESVDNYGISFLN (SEQ ID NO:9), V_L-CDR2:AAEYRGR (SEQ ID NO:10) 和V_L-CDR3:QQSRHVPYT (SEQ ID NO:11); 或

-V_H-CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H-CDR2:RIDPAGGRTKYSPKVQG (SEQ ID NO:12), V_H-CDR3:HRGGTMDY (SEQ ID NO:13), V_L-CDR1:RASQSVSNYGISFLN (SEQ ID NO:14), V_L-CDR2:AASYQKR (SEQ ID NO:15) 和V_L-CDR3:QQSSNFPWT (SEQ ID NO:16); 或

-V_H-CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H-CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVKG (SEQ ID NO:17), V_H-CDR3:HRGGTMDY (SEQ ID NO:13), V_L-CDR1:RASQSVSNYGISFLN (SEQ ID NO:14), V_L-CDR2:AAEYRGR (SEQ ID NO:10) 和V_L-CDR3:QQSSNVPYT (SEQ ID NO:18); 或

-V_H-CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H-CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVQG (SEQ ID NO:19), V_H-CDR3:HYGGTMDY (SEQ ID NO:8), V_L-CDR1:RASQSVSNYGISFLN (SEQ ID NO:14), V_L-CDR2:AAEYQGR (SEQ ID NO:20) 和V_L-CDR3:QQSSNVPYT (SEQ ID NO:18); 或

-V_H-CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H-CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVKG (SEQ ID NO:17), V_H-CDR3:HRGGTMDY (SEQ ID NO:13), V_L-CDR1:RASQSVSNYGISFLN (SEQ ID NO:14), V_L-CDR2:AAEYRAR (SEQ ID NO:21) 和V_L-CDR3:QQSSNVPYT (SEQ ID NO:18); 或

-V_H-CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H-CDR2:RIDPANGNTKYAPKVQG (SEQ ID NO:22), V_H-CDR3:HYGSTMDY (SEQ ID NO:23), V_L-CDR1:RASESVDNYGISFMN (SEQ ID NO:24), V_L-CDR2:AASNQGS (SEQ ID NO:25) 和V_L-CDR3:QQSKEVPWT (SEQ ID NO:26)。

3. 根据权利要求1或2所述的分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段, 其中所述分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 (V_H), 所述V_H具有SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32中任一项所示的序列, 或与SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和SEQ ID

NO:32中任一项具有至少80%同一性的序列。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段,其中所述分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区(VL),所述VL具有SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38中任一项所示的序列,或与SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38中任一项具有至少80%同一性的序列。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段,其中所述分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(VH),所述VH具有如SEQ ID NO:27所示的序列或与SEQ ID NO:27具有至少80%同一性的序列;和轻链可变区(VL),所述VL具有SEQ ID NO:33所示的序列,或与SEQ ID NO:33具有至少80%同一性的序列。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是单克隆抗体。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是人源化抗体或人抗体。

8. 根据权利要求1至7中任一项所述的分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段是单价的,优选地,所述抗原结合片段是Fab、Fv或scFv。

9. 融合蛋白,其包含权利要求1至8中任一项所述的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段。

10. 核酸,其编码权利要求1至8中任一项所述的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段或权利要求9所述的融合蛋白。

11. 药物组合物,其包含权利要求1至8中任一项所述的分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段或权利要求9所述的融合蛋白,以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

12. 权利要求1至8中任一项所述的分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段、权利要求9所述的融合蛋白或权利要求11所述的药物组合物,用作药物。

13. 权利要求1至8中任一项所述的分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段、权利要求9所述的融合蛋白或权利要求11所述的药物组合物,用于治疗选自以下的疾病:炎性或自身免疫性疾病;心血管疾病;癌症,特别是实体癌;以及感染性疾病,特别是细菌感染或病毒感染。

14. 根据权利要求13所述用途的分离的抗TREM1-抗体或其抗原结合片段、融合蛋白或药物组合物,其中所述炎性或自身免疫性疾病选自炎性肠病(IBD)、克罗恩病、溃疡性结肠炎、肠易激综合征、纤维化、肺纤维化、肝纤维化、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、酒精性肝炎、类风湿性关节炎、银屑病、银屑病性关节炎、系统性红斑狼疮、狼疮性肾炎、血管炎、全身炎症性反应综合征(SIRS)、脓毒症、脓毒性休克、I型糖尿病、格雷夫氏病、多发性硬化症、自身免疫性心肌炎、川崎病、冠状动脉疾病、慢性阻塞性肺病、间质性肺病、自身免疫性甲状腺炎、硬皮病、系统性硬化、骨关节炎、特应性皮炎、白癜风、移植物抗宿主病、干燥综合征、自身免疫性肾炎、古德帕斯彻综合征、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、过敏和哮喘。

抗TREM-1抗体

发明领域

[0001] 本发明涉及炎症领域,公开了一种新型抗人TREM-1(髓样细胞上表达的触发受体-1)抗体及其抗原结合片段。

[0002] 发明背景

[0003] TREM-1(髓样细胞上表达的触发受体-1),有时也称为CD354,是一种由大多数先天免疫细胞(如单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、血小板和树突细胞)以及内皮细胞表达的免疫受体。人类TREM基因簇位于染色体6p21.1上,编码六种不同的蛋白:TREM 1-5和TLT-1(TREM-样转录体-1(TREM-Like Transcript-1))。TREM-1是一种膜结合糖蛋白受体,属于Ig超家族,包含三个不同的结构域:Ig样结构(主要负责配体结合)、跨膜部分和与称为DNAX-激活蛋白12或DAP12的适体蛋白结合的短的胞质尾。在与其配体结合后,TREM-1在DAP12的帮助下激活下游信号传导通路。

[0004] 如Tamaro et al. (Pharmacol Ther. 2017年9月;177:81-95)所述,TREM-1的参与触发了涉及ZAP70(Zeta-链相关蛋白激酶70)和SYK(脾酪氨酸激酶)的信号通路,后者促进诸如Cbl(Casitas B-谱系淋巴瘤)、SOS(Son of Sevenless)和GRB2(生长因子受体结合蛋白-2)的适体分子的确保募集和酪氨酸磷酸化,从而通过PI3K、PLC- γ (磷脂酶-C-Gamma)、ERK-1、ERK-2和p38 MAPK导致下游信号转导。这些通路的激活诱导Ca²⁺动员、肌动蛋白细胞骨架重排以及诸如NF- κ B的转录因子的激活。最终,TREM-1激活显著导致促炎细胞因子和趋化因子的表达和分泌以及中性粒细胞快速脱粒和氧化爆发。

[0005] TREM-1的功能是通过与病原体识别受体(PRR)协同作用来放大而不是引发炎症,目的是触发充沛的免疫应答。包括Nod样受体(NLR)和Toll样受体(TLR)在内的PRR参与从而诱导TREM-1表达上调和/或其在细胞膜上的动员和聚集,从而导致其二聚化和多聚化。所述NLR和TLR可以被DAMP(危险相关分子模式)或PAMP(病原体相关分子模式)激活。具体地,所述NLR和TLR激活可以在无菌炎性条件下通过与DAMP和/或警报素(alarmin)相互作用而发生,或者在感染条件下通过与PAMP相互作用而发生。因此,TREM-1在放大炎症方面发挥作用,无论炎症是由感染引起(感染性炎症)还是不由感染引起(无菌性炎症)。因此,TREM-1及其信号传导通路在感染引发的炎症或超炎症(例如脓毒症和脓毒性休克)中发挥作用,还促进几种非感染性急性和慢性炎性疾病的病理学,包括动脉粥样硬化、缺血再灌注引起的组织损伤、结肠炎、纤维化和癌症。

[0006] 值得注意的是,由于对放大炎症而不是引发炎症的重要性,预期抑制TREM-1会阻断先天免疫应答的TREM-1依赖性放大环,并抑制炎症而不是完全消除炎性应答。鉴定能够特异性结合和抑制TREM-1的分子可能对于感染性炎性疾病的治疗以及非感染性急性和慢性炎性疾病的治疗特别相关。已描述了一些目前正在临床研究中的TREM-1抑制剂,例如抑制性肽,包括TLT-1肽LR12(WO2011/124685)。然而,到目前为止,还没有TREM-1抑制剂被批准用于治疗用途。

[0007] 因此,仍然需要可用于减轻炎症(无论是感染性炎症还是无菌性炎症)的新型TREM-1抑制剂。

[0008] 本发明涉及新型抗人TREM-1抗体及其抗原结合片段。如实施例部分所示,本文所述的新型抗人TREM-1抗体及其抗原结合片段能够结合并抑制人TREM-1。特别是,它们能够减弱内毒素血症动物模型中诱导的炎性应答。值得注意的是,本文所述的新型抗人TREM-1抗体及其抗原结合片段能够抑制TREM-1信号传导通路,而无论激活该通路的刺激信号如何。因此,它们能够抑制用TREM-1配体复合物直接激活的TREM-1信号传导通路,或例如通过刺激各种Toll样受体(TLR),例如用PGN刺激TLR2或用LPS刺激TLR4而间接激活的TREM-1信号传导通路。

发明内容

[0009] 本发明涉及一种分离的抗TREM-1(髓样细胞上表达的触发受体-1)抗体或其抗原结合片段,其中:

[0010] a) 所述分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段的重链可变区(VH)包含以下三个互补决定区(CDR):

[0011] $-V_H$ -CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1);

[0012] $-V_H$ -CDR2:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKVX₄G(SEQ ID NO:2),其中X₁是Asn(N)或Gly(G),X₂是Asn(N)或Arg(R),X₃是Ala(A)、Asp(D)或Ser(S),X₄是Gln(Q)或Lys(K);和

[0013] $-V_H$ -CDR3:HX₅GX₆TMDY(SEQ ID NO:3),其中X₅是Tyr(Y)或Arg(R),X₆是Ser(S)或Gly(G);

[0014] b) 所述分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段的轻链可变区(VL)包含以下三个CDR:

[0015] $-V_L$ -CDR1:RASX₇SVX₈NYGISFX₉N(SEQ ID NO:4),其中X₇是Glu(E)或Gln(Q),X₈是Asp(D)或Ser(S),X₉是Met(M)或Leu(L);和

[0016] $-V_L$ -CDR2:AAX₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(SEQ ID NO:5),其中X₁₀是Ser(S)或Glu(E),X₁₁是Asn(N)或Tyr(Y),X₁₂是Gln(Q)或Arg(R),X₁₃是Gly(G)、Ala(A)或Lys(K),X₁₄是Ser(S)或Arg(R);和

[0017] $-V_L$ -CDR3:QQSX₁₅X₁₆X₁₇PX₁₈T(SEQ ID NO:6),其中X₁₅是Lys(K)、Arg(R)或Ser(S),X₁₆是Glu(E)、His(H)或Asn(N),X₁₇是Val(V)或Phe(F),X₁₈是Trp(W)或Tyr(Y)。

[0018] 在一个实施方案中,所述分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段包含以下CDR:

[0019] $-V_H$ -CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYDPKVKG(SEQ ID NO:7), V_H -CDR3:HYGGTMDY(SEQ ID NO:8), V_L -CDR1:RASESVDNYGISFLN(SEQ ID NO:9), V_L -CDR2:AAEYRGR(SEQ ID NO:10),和 V_L -CDR3:QQSRHVPYT(SEQ ID NO:11);或者

[0020] $-V_H$ -CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYSPKVQG(SEQ ID NO:12), V_H -CDR3:HRGGTMDY(SEQ ID NO:13), V_L -CDR1:RASQSVSNYGISFLN(SEQ ID NO:14), V_L -CDR2:AASYQKR(SEQ ID NO:15),和 V_L -CDR3:QQSSNFPWT(SEQ ID NO:16);或者

[0021] $-V_H$ -CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVKG(SEQ ID NO:17), V_H -CDR3:HRGGTMDY(SEQ ID NO:13), V_L -CDR1:RASQSVSNYGISFLN(SEQ ID NO:14), V_L -CDR2:AAEYRGR(SEQ ID NO:10),和 V_L -CDR3:QQSSNVPYT(SEQ ID NO:18);或者

[0022] $-V_H$ -CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVQG(SEQ ID NO:19), V_H -CDR3:HYGGTMDY(SEQ ID NO:8), V_L -CDR1:RASQSVSNYGISFLN(SEQ ID NO:14), V_L -CDR2:

AAEYQGR (SEQ ID NO:20), 和 V_L -CDR3:QQSSNVPYT (SEQ ID NO:18); 或者

[0023] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVKG (SEQ ID NO:17), V_H -CDR3:HRGGTMDY (SEQ ID NO:13), V_L -CDR1:RASQSVSNYGISFLN (SEQ ID NO:14), V_L -CDR2:AAEYRAR (SEQ ID NO:21), 和 V_L -CDR3:QQSSNVPYT (SEQ ID NO:18); 或者

[0024] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPANGNTKYAPKVQG (SEQ ID NO:22), V_H -CDR3:HYGSTMDY (SEQ ID NO:23), V_L -CDR1:RASEVDNYGISFMN (SEQ ID NO:24), V_L -CDR2:AASNQGS (SEQ ID NO:25), 和 V_L -CDR3:QQSKEVPWT (SEQ ID NO:26)。

[0025] 在一个实施方案中, 分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(VH), 其具有SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32中任一项所示的序列, 或与SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32中任一项具有至少80%同一性的序列。

[0026] 在一个实施方案中, 分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区(VL), 其具有SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38中任一项所示的序列, 或与SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38中任一项具有至少80%同一性的序列。

[0027] 在一个实施方案中, 分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(VH), 其具有SEQ ID NO:27中所示的序列或与SEQ ID NO:27具有至少80%同一性的序列; 以及轻链可变区(VL), 其具有SEQ ID NO:33中所示的序列或与SEQ ID NO:33具有至少80%同一性的序列。

[0028] 在一个实施方案中, 分离的抗TREM1抗体是单克隆抗体。在一个实施方案中, 分离的抗TREM-1抗体是人源化抗体或人抗体。在一个实施方案中, 分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段是单价的, 优选地, 抗原结合片段是Fab、Fv或scFv。

[0029] 本发明的另一个目的是包含所述抗TREM-1抗体或其抗原结合片段的融合蛋白。

[0030] 本发明的另一个目的是编码所述抗TREM-1抗体或抗原结合片段或所述融合蛋白的核酸。

[0031] 本发明的另一个目的是药物组合物, 其包含所述分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段或所述融合蛋白以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0032] 本发明的另一个目的是所述分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段、所述融合蛋白或所述药物组合物用作药物。

[0033] 本发明的另一个目的是所述分离的抗TREM-1抗体或其抗原结合片段、所述融合蛋白或所述药物组合物用于治疗选自以下的疾病: 炎性或自身免疫性疾病; 心血管疾病; 癌症, 特别是实体癌; 以及感染性疾病, 特别是细菌感染或病毒感染。在一个实施方案中, 所述炎性或自身免疫性疾病选自炎性肠病 (IBD)、克罗恩病、溃疡性结肠炎、肠易激综合征、纤维化、肺纤维化、肝纤维化、非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)、酒精性肝炎、类风湿性关节炎、银屑病、银屑病关节炎、系统性红斑狼疮、狼疮性肾炎、血管炎、全身炎症性反应综合征 (SIRS)、脓毒症、脓毒性休克、I型糖尿病、格雷夫氏病、多发性硬化症、自身免疫性心肌炎、川崎病、冠状动脉疾病、慢性阻塞性肺病、间质性肺病、自身免疫性甲状腺炎、硬皮病、系统性硬化、骨关节炎、特应性皮炎、白癜风、移植物抗宿主病、干燥综合征、自身免疫性肾炎、古德帕斯彻综合征 (Goodpasture's syndrome)、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、过敏和哮喘。

[0034] 定义

[0035] 在本发明中,下列术语具有如下含义:

[0036] “Ab”是指一个抗体(或多个抗体),“mAb”是指一个单克隆抗体(或多个单克隆抗体)。

[0037] “约”在数字前时涵盖所述数字的值的正负10%或更少。应当理解,术语“约”所指的值本身也被具体且优选地公开。

[0038] “亲和力(affinity)”用于定义抗体-抗原复合物的强度。亲和力测量表位和抗体上抗原结合位点之间相互作用的强度。它可以通过亲和常数 K_A 或解离常数 K_D 来表示。

[0039] 如本文所用,“抗体”和“免疫球蛋白或Ig”可以互换使用,并且是指具有两条重链(H链)和两条轻链(L链)的组的蛋白,而无论其是否具有任何相关的特异性免疫反应性。“抗体”是指对目标抗原(例如,人TREM-1)具有显著的已知特异性免疫反应活性的此类组合物。术语“抗hTREM-1抗体”在本文用于指对人TREM-1蛋白表现出免疫学特异性的抗体。如本文别处所解释,对人TREM-1(hTREM-1)的“特异性”不排除与hTREM-1的直系同源物(例如与猿猴TREM-1)的交叉反应性。如上所述,抗体和免疫球蛋白包含轻链和重链,它们之间可具有或不具有链间共价连接。对脊椎动物系统中的基本免疫球蛋白结构的理解相对完备。概括性术语“免疫球蛋白”包括可通过生化方法区分的五种不同类别的免疫球蛋白:IgG、IgM、IgA、IgD和IgE。尽管本文的公开通常将针对IgG类免疫球蛋白,但是所有五种类别都在本发明的范围内。IgG免疫球蛋白包含两条相同的分子量约23kDa的轻链和两条相同的分子量约53-70kDa的重链。这四个链通过二硫键以“Y”构型连接,其中轻链从“Y”的口部开始并继续穿过可变区而将重链括在一起。免疫球蛋白的轻链分为 κ (kappa)或 λ (lambda)。每个重链类别可以与 κ 或 λ 轻链键合。一般来说,当免疫球蛋白由杂交瘤、B细胞或基因工程化宿主细胞产生时,轻链和重链彼此共价键合,并且两条重链的“尾部”区域通过共价二硫键或非共价键彼此键合。在重链中,氨基酸序列从Y构型分叉末端的N末端延伸到每条链底部的C末端。本领域技术人员将理解,重链被分类为 γ (gamma)、 μ (mu)、 α (alpha)、 δ (delta)或 ϵ (epsilon),它们中还可能存在一些亚类(例如, $\gamma 1$ - $\gamma 4$)。该链的性质决定了抗体的“类别”分别为IgG、IgM、IgA、IgD或IgE。免疫球蛋白亚类或“同种型”(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1等)已被充分表征并且已知赋予功能特化。基于本公开内容,这些类别和同种型中的每一个的修饰形式对于本领域技术人员而言是容易辨别的,并且因此在本发明的范围内。如本文所示,抗体的可变区允许抗体选择性识别并特异性结合抗原上的表位。即,抗体的轻链可变区或结构域(VL)和重链可变区或结构域(VH)组合以形成限定三维抗原结合位点的可变区。这种四元抗体结构形成了存在于“Y”的每个臂末端的抗原结合位点。更具体地,抗原结合位点由VH和VL中每一个上的三个互补决定区(CDR)限定。

[0040] 如本文所用,术语“抗体片段”,包括术语“(抗体的)抗原结合片段”,是指完整抗体的至少一部分,优选指完整抗体的抗原结合区或可变区,其保留与抗原表位特异性相互作用(例如,通过结合、空间位阻、稳定/去稳定、空间分布)的能力。抗体片段的实例包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段、scFv片段、二硫键连接的Fv(sdFv)、由VH和CH1结构域组成的Fd片段、线性抗体、单域抗体例如sdAb(VL或VH)、骆驼VHH域、由抗体片段形成的多特异性抗体例如包含通过铰链区的二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段,以及分离的CDR或抗体的其他表位结合片段。抗原结合片段还可并入单结构域抗体、大抗体(maxibody)、微型抗体

(minibody)、纳米抗体 (nanobody)、胞内抗体 (intrabody)、双抗体 (diabody)、三抗体 (triabody)、四抗体 (tetrabody)、v-NAR和双-scFv中。抗原结合片段也可以被移植到基于多肽 (例如III型纤连蛋白) 的支架中。木瓜蛋白酶消化抗体会产生两个相同的抗原结合片段 (称为“Fab”片段) 和一个残留的“Fc”片段 (这一名称反映了易于结晶的能力)。Fab片段由整个L链以及H链可变区 (VH) 和H链的第一个恒定域 (CH1) 组成。每个Fab片段对于抗原结合而言是单价的, 即, 它具有单个抗原结合位点。抗体的胃蛋白酶处理会产生单个大的F(ab')₂片段, 其大致对应于具有二价抗原结合活性的两个二硫键连接的Fab片段, 并且仍然能够交联抗原。Fab'片段与Fab片段的不同之处在于在CH1结构域的羧基末端具有额外的少量残基, 包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸。Fab'-SH在本文中是Fab'的名称, 其中恒定结构域的半胱氨酸残基带有游离硫醇基团。F(ab')₂抗体片段最初是作为成对的Fab'片段产生的, 其间具有铰链半胱氨酸。抗体片段的其他化学偶联也是已知的。

[0041] “抗原”或“Ag”是指激发免疫应答的分子。这种免疫应答可涉及抗体产生和/或特定免疫潜能细胞的激活, 或两者兼而有之。

[0042] 如本文所用, 术语“结合片段”, 特别是术语“抗原结合片段”, 是指本发明抗体的一个部分或区域, 其包含的氨基酸残基比完整抗体少。“结合片段”结合抗原和/或与衍生其的完整抗体竞争结合抗原。抗体结合片段涵盖但不限于单链抗体、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fd、去岩藻糖基化抗体、双抗体、三抗体和四抗体。

[0043] “CDR”或“互补决定区”是指在重链和轻链多肽的可变区内发现的非连续抗原结合位点。给定CDR的精确氨基酸序列边界可以使用许多公知的方案中的任何一种来确定, 包括Kabat et al. (1991), “Sequences of Proteins of Immunological Interest” 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (“Kabat”编号方案)、Al-Lazikani et al., (1997) JMB273, 927-948 (“Chothia”编号方案) 或其组合中描述的那些。最近, 已开发并广泛采用了一种通用编号系统, 即ImMunoGeneTics (IMGT) Information System[®] (Lefranc et al., Nucleic Acids Res. 27:209-212 1999)。IMGT是一种专用于人类和其他脊椎动物的免疫球蛋白 (IG)、T细胞受体 (TR) 和主要组织相容性复合体 (MHC) 的综合信息系统。本文中, CDR是指轻链或重链内的氨基酸序列和位置 (例如, _{VH}-CDR1、_{VH}-CDR2、_{VH}-CDR3、_{VL}-CDR1、_{VL}-CDR2、_{VL}-CDR3)。由于CDR在免疫球蛋白可变区 (或可变结构域) 结构内的“位置”在物种之间是保守的, 并且存在于称为环的结构中, 因此通过使用根据结构特征比对可变区序列的编号系统, 可以很容易地识别CDR和框架残基。该信息可用于将一个物种的免疫球蛋白的CDR残基移植和替换到通常来自人抗体的受体框架中。Kabat编号和IMGT独特编号系统之间的对应关系也是本领域技术人员公知的 (例如, Lefranc et al., 同上)。

[0044] “表位”是指位于一种或多种蛋白上的由抗体或其抗原结合片段所结合的氨基酸的特定排列。表位通常由氨基酸或糖侧链等分子的化学活性表面基团组成, 并具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。表位可以是线性的 (或连续的) 或构象的 (即涉及抗原的不同区域中的两个或更多个不一定连续的氨基酸序列)。

[0045] “框架区”或“FR区”或“非CDR区”包括作为可变区的一部分但不是CDR的一部分的氨基酸残基 (例如, 使用CDR的Kabat定义或CDR的IMGT[®]编号定义)。因此, 可变区框架的长度在约100-120个氨基酸之间, 但仅包括CDR之外的那些氨基酸。

[0046] 关于重链可变区 (VH) 的具体示例和Kabat或Chothia定义的CDR:

[0047] -FR1可对应于可变区的包含氨基酸1-25的结构域(根据Chothia/AbM的定义),或往后5个残基根据Kabat的定义);

[0048] -FR2可对应于可变区的包含氨基酸36-49的结构域;

[0049] -FR3可以对应于可变区的包含氨基酸67-98的结构域;和

[0050] -FR4可以对应于可变区的从氨基酸104-110到可变区末端的结构域。

[0051] 轻链的框架区类似地被轻链可变区 (VL) 的每个CDR分开。在天然存在的抗体中,每个单体抗体上存在的六个CDR都是短的、非连续的氨基酸序列,当抗体在水性环境中呈现其三维构型时,这些氨基酸序列被特异性定位以形成抗原结合位点。如上所述,重链和轻链可变区(或结构域)的其余部分在氨基酸序列方面表现出较小的分子间变异性并且对应于框架区。框架区主要采用 β -折叠构象,并且CDR形成连接 β -折叠结构的环,并且在某些情况下形成 β -折叠结构的一部分。因此,这些框架区起到形成支架的作用,通过链间非共价相互作用将六个CDR定位在正确的方向。由定位的CDR形成的抗原结合位点定义了与免疫反应性抗原上的表位互补的表面。该互补表面促进了抗体与免疫反应性抗原表位的非共价结合。如上所述,CDR的位置可由本领域普通技术人员容易地鉴定。

[0052] “Fc结构域”、“Fc部分”和“Fc区”可以互换使用,并且是指抗体重链的C末端片段,例如人 γ 重链的约氨基酸(aa)230至约aa450,或在其他类型抗体重链(例如,对于人抗体而言为 α 、 δ 、 ϵ 和 μ)中的其对应序列或其天然存在的同种异型(allotype)。

[0053] 如本文所用,“Fv”是指含有完整抗原识别和结合位点的最小抗体片段。该片段由紧密非共价结合的一个VH和一个VL形成的二聚体组成。这两个结构域的折叠产生了六个高变环(重链和轻链各三个环),它们促进抗原结合并赋予对抗体的抗原结合特异性。然而,即使是单个可变结构域(或仅包含对抗原具有特异性的三个CDR的半个Fv)也具有识别和结合抗原的能力,尽管其亲和力低于完整结合位点。

[0054] “重链区”包括衍生自免疫球蛋白重链恒定结构域的氨基酸序列。包含重链区的蛋白包含CH1结构域、铰链区(例如上铰链结构域、中铰链结构域和/或下铰链结构域)、CH2结构域、CH3结构域或其变体或片段中的至少一个。在某些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段可以包含免疫球蛋白重链的Fc区(例如,铰链部分、CH2结构域和CH3结构域)。在某些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段缺乏恒定结构域的至少一个区域(例如,CH2结构域的全部或部分)。在某些实施方案中,至少一个且优选所有的恒定结构域衍生自人免疫球蛋白重链。例如,在一个实施方案中,重链区包含完全人的铰链结构域。在某些实施方案中,重链区包含完全人的Fc区(例如,来自人免疫球蛋白的铰链、CH2和CH3结构域序列)。在某些实施方案中,重链区的组成性恒定结构域来自不同的免疫球蛋白分子。例如,蛋白的重链区可包含源自IgG1分子的CH2结构域和源自IgG3或IgG4分子的铰链区。在某些实施方案中,恒定结构域是包含不同免疫球蛋白分子的区域嵌合结构域。例如,铰链可以包含来自IgG1分子的第一区域和来自IgG3或IgG4分子的第二区域。在某些实施方案中,重链区的恒定结构域可以被修饰,使得它们的氨基酸序列与天然存在的(野生型)免疫球蛋白分子不同。即,本发明的抗体或其抗原结合片段可以包含对一个或多个重链恒定结构域(CH1、铰链、CH2或CH3)和/或对轻链恒定结构域(CL)的改变或修饰。示例性的修饰包括一个或多个结构域中的一个或多个氨基酸的添加、缺失或取代。

[0055] “铰链区”包括重链分子的连接CH1结构域与CH2结构域的区域。该铰链区包含大约25个残基并且具有柔性,因此允许两个N端抗原结合区独立移动。铰链区可细分为三个不同的结构域:上铰链结构域、中铰链结构域和下铰链结构域(Roux et al.,1998.J Immunol.161(8):4083-90)。

[0056] “同一性”或“同一”在用于本发明中两个或更多个多肽序列之间的关系时,是指通过两个或更多个氨基酸残基的序列段(string)之间的匹配数所确定的多肽之间的序列相关性程度。“同一性”测量两个或更多个序列中较小者之间的同一匹配的百分比,其中通过特定数学模型或计算机程序(即“算法”)来解决空位比对(如果有的话。相关多肽的同一性可以通过已知方法容易地计算。此类方法包括但不限于描述于以下文献中的那些:Computational Molecular Biology,Lesk,A.M.,ed.,Oxford University Press,New York,1988;Biocomputing:Informatics and Genome Projects,Smith,D.W.,ed.,Academic Press,New York,1993;Computer Analysis of Sequence Data,Part 1,Griffin,A.M.,and Griffin,H.G.,eds.,Humana Press,New Jersey,1994;Sequence Analysis in Molecular Biology,von Heinje,G.,Academic Press,1987;Sequence Analysis Primer,Gribskov,M.and Devereux,J.,eds.,M.Stockton Press,New York,1991;和Carillo et al.,SIAM J.Applied Math.48,1073(1988)。用于确定同一性的优选方法经设计以给出所测试序列之间的最大匹配。确定同一性的方法在公开可用的计算机程序中描述。用于确定两个序列之间同一性的优选计算机程序方法包括GCG程序包,包括GAP(Devereux et al.,Nucl.Acids Res.\2,387(1984);Genetics Computer Group,University of Wisconsin,Madison,Wis.)、BLASTP、BLASTN和FASTA(Altschul et al.,J.Mol.Biol.215,403-410(1990))。BLASTX程序可从国家生物技术信息中心(NCBI)和其他来源(BLAST Manual,Altschul et al.NCB/NLM/NIH Bethesda,Md.20894;Altschul et al.,J.Mol.Biol.215,403-410(1990))公开获取。公知的Smith Waterman算法也可用于确定同一性。

[0057] “单克隆抗体”是指从基本上均质的抗体群体获得的抗体,即群体中包含的各个抗体是相同的,除了可能有少量存在的天然存在的突变之外。单克隆抗体具有高度特异性,针对单一抗原位点。此外,与包含针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制备物相比,每个单克隆抗体针对抗原上的单个决定簇。除了它们的特异性之外,单克隆抗体的优点还在于它们可以在不被其他抗体污染的情况下合成。修饰语“单克隆”不应被解释为需要通过任何特定方法产生抗体。例如,本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段可以通过Kohler et al.,1975.Nature.256(5517):495-7首次描述的杂交瘤方法来制备,或者可以使用重组DNA方法在细菌、真核动物或植物细胞中制备(专利US4,816,567)。“单克隆抗体”还可以使用例如Clackson et al.,1991.Nature.352(6336):624-8和Marks et al.,1991.J Mol Biol.222(3):581-97中描述的技术从噬菌体抗体文库中分离。

[0058] 如本文所用,“单链抗体”是指任何是具有包含连续氨基酸残基的一个不间断序列或由连续氨基酸残基的一个不间断序列组成的一级结构的蛋白的抗体或其片段,包括但不限于:(1)单链Fv分子(scFv);(2)仅含有一个轻链可变区而没有相关的重链部分的单链蛋白,或含有轻链可变区(VL)的三个CDR的其片段;和(3)仅含有一个重链可变区(VH)而不具有相关的轻链部分的单链蛋白,或含有重链可变区的三个CDR的其片段。

[0059] “单链Fv”,也缩写为“sFv”或“scFv”,是指包含连接成单个氨基酸链的VH和VL的抗体片段。优选地,scFv氨基酸序列还包含在VH和VL之间的肽接头,其使得scFv能够形成用于抗原结合的所需结构。

[0060] “受试者”是指哺乳动物,优选人类。根据本发明,受试者是哺乳动物,优选人类。

[0061] “治疗有效量”或“治疗有效剂量”是指本文所述的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段的量或剂量或浓度,其旨在在需要治疗、预防、减少、缓解或减缓(减轻)疾病的一种或多种症状或表现的受试者中不引起显著的负面或不利副作用。

[0062] “治疗”是指治疗性治疗、预防性(或防止性)治疗、或治疗性治疗和预防性(或防止性)治疗两者,其中目的是预防、减少、缓解和/或减缓(减轻)疾病的一种或多种症状或表现。

[0063] “TREM-1”是指“髓样细胞上表达的触发受体-1”,有时也称为CD354。如上所述,TREM-1是一种膜结合免疫受体,其包含三个不同的结构域:Ig-样结构(主要负责配体结合)、跨膜部分和短的胞质尾。除非另有说明,否则人TREM-1蛋白具有如SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列,对应于UniProtKB/Swiss-Prot登录号Q9NP99-1,最后修改于2000年10月1日,和UniProtKB登录号Q38L15-1,最后修改于2005年11月22日。人类TREM-1的几种转录物是已知的。通常称为TREM1-201(转录物ID ensembl ENST00000244709.8)的转录物编码SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列。通常称为TREM1-202的转录物,也称为TREM-1同工型2(ensembl转录物ID ENST00000334475.10),编码SEQ ID NO:44所示的氨基酸序列(对应于UniProtKB/Swiss-Prot登录号Q9NP99-2)。通常称为TREM1-207的转录物,也称为TREM1同工型3(ensembl转录物ID ENST00000591620.1),编码SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列(对应于UniProtKB/Swiss-Prot登录号Q9NP99-3)。通常称为TREM1-204(ensembl ID ENST00000589614.5)的转录物编码SEQ ID NO:46所示的氨基酸序列(对应于UniProtKB/Swiss-Prot登录号K7EKM5-1,最后修改于2013年1月9日)。

[0064] “hTREM-1”是指人TREM-1。

[0065] “可变”是指VH和VL的某些区域的序列在不同抗体之间存在很大差异,并且用于每个特定抗体对其靶抗原的结合和特异性。然而,可变性并不均匀分布在抗体的整个可变域。它集中在每个VL和VH中称为“高变环”的三个片段中,其形成抗原结合位点的一部分。6个高变环可以各自包含如上文所定义的“互补决定区”或“CDR”的一部分。

[0066] “VH”是指抗体重链的可变区(或结构域)。

[0067] “VL”是指抗体轻链的可变区(或结构域)。

[0068] 发明详述

[0069] 本发明涉及与人的髓样细胞上表达的触发受体-1(人TREM-1或hTREM-1)结合的分离的抗体或其抗原结合片段。本发明因此涉及分离的抗人TREM-1(或抗hTREM-1)抗体或其抗原结合片段。

[0070] 根据一个实施方案,所述分离的抗体或其抗原结合片段特异性结合hTREM-1。换句话说,根据一个实施方案,所述分离的抗体或其抗原结合片段对hTREM-1具有特异性。

[0071] 如果抗体或其抗原结合片段以可检测的水平与抗原(例如,TREM-1,特别是hTREM-1)反应,优选地亲和常数(k_a)大于或等于约 10^3M^{-1} ,优选大于或等于约 $5 \times 10^3\text{M}^{-1}$ 、 10^4M^{-1} 、 $5 \times 10^4\text{M}^{-1}$ 或 10^5M^{-1} ,则抗体或其抗原结合片段被认为是对所述抗原“具有特异性”、“具有免疫特

异性”或“特异性结合”所述抗原。抗体或其抗原结合片段对其同源抗原的亲合力通常也表示为平衡解离常数(K_D)。因此,如果抗体或其抗原结合片段以可检测的水平与抗原(例如,TREM-1,特别是hTREM)反应,优选 K_D 小于或等于 10^{-6} M,优选小于或等于 10^{-7} M、 5×10^{-8} M、 10^{-8} M、 5×10^{-9} M、 10^{-9} M或 5×10^{-10} M或更小,则抗体或其抗原结合片段被认为是对所述抗原“具有免疫特异性”、“具有特异性”或“特异性结合”所述抗原。

[0072] 抗体或其抗原结合片段的亲合力因此可以使用常规技术容易地确定,例如由Scatchard,1949. Ann NY Acad Sci. 51:660-672描述的那些。抗体或其抗原结合片段与抗原、细胞或组织的结合特性通常可以使用免疫检测方法来确定和评估,所述免疫检测方法包括例如ELISA,基于免疫荧光的测定例如免疫组织化学(IHC)和/或荧光活化细胞分选(FACS)或通过表面等离子共振(SPR,例如,使用BIAcore[®])。

[0073] 在一个实施方案中,分离的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段呈现与hTREM-1结合的 K_D 低于或等于约 10×10^{-9} M、优选低于或等于约 9×10^{-9} M、 8×10^{-9} M、 7×10^{-9} M、 6×10^{-9} M、 5×10^{-9} M、 4×10^{-9} M、 3×10^{-9} M、 2×10^{-9} M或 10^{-9} M。在一个实施方案中,分离的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段呈现与hTREM-1结合的 K_D 低于或等于约 10^{-9} M,优选低于或等于约 9×10^{-10} M、 8×10^{-10} M、 7×10^{-10} M、 6×10^{-10} M或 5×10^{-10} M。在一个实施方案中,分离的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段与hTREM-1结合的 K_D 范围为约 $1 \cdot 10^{-10}$ M至约 $10 \cdot 10^{-9}$ M,优选约 $3 \cdot 10^{-10}$ M至约 $8 \cdot 10^{-9}$ M。

[0074] 根据一个实施方案,所述分离的抗体或其抗原结合片段结合具有以下至少之一中所示的氨基酸序列的人TREM-1:

[0075] -SEQ ID NO:43,对应于UniProtKB/Swiss-Prot登录号Q9NP99-1,最后修改于2000年10月1日,并且对应于UniProtKB登录号Q38L15-1,最后修改于2005年11月22日;并且还对应于由通常称为TREM1-201的转录物(转录物ID ensembl ENST00000244709.8)编码的氨基酸序列;

[0076] -SEQ ID NO:44,对应于UniProtKB/Swiss-Prot登录号Q9NP99-2;并且还对应于由通常称为TREM1-202也称为TREM-1同工型2的转录物(ensembl转录物ID ENST00000334475.10)编码的氨基酸序列;

[0077] -SEQ ID NO:45,对应于UniProtKB/Swiss-Prot登录号Q9NP99-3;并且还对应于由通常称为TREM1-207也称为TREM-1同工型3的转录物(ensembl转录物ID ENST00000591620.1)编码的氨基酸序列;或者

[0078] -SEQ ID NO:46,对应于UniProtKB/Swiss-Prot登录号K7EKM5-1,最后修改于2013年1月9日;并且还对应于通常称为TREM1-204的转录物(ensembl转录物ID ENST00000589614.5)。

[0079] 在一个实施方案中,所述分离的抗体或其抗原结合片段结合具有SEQ ID NO:43所示氨基酸序列的hTREM-1、具有SEQ ID NO:44所示氨基酸序列的hTREM-1、具有SEQ ID NO:45所示氨基酸序列的hTREM-1和/或具有SEQ ID NO:46所示氨基酸序列的hTREM-1。在一个实施方案中,所述分离的抗体或其抗原结合片段结合具有SEQ ID NO:43所示氨基酸序列的hTREM-1。

[0080] 根据一个实施方案,所述分离的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段能够抑制hTREM-1。

[0081] 如本文所用,“能够抑制hTREM-1”是指所述分离的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段能够抑制TREM-1、特别是hTREM-1的功能和/或活性。因此,在一个实施方案中,所述分离的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段能够抑制TREM-1信号传导通路的激活。在一个实施方案中,所述分离的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段能够抑制TREM-1的聚集(clustering)。在一个实施方案中,所述分离的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段能够抑制TREM-1的二聚化。在一个实施方案中,所述分离的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段能够抑制TREM-1上的配体结合。

[0082] 在一个实施方案中,所述分离的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段能够抑制TREM-1、特别是hTREM-1的功能和/或活性,而无论激活TREM-1所用的刺激信号如何。在一个实施方案中,所述分离的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段能够抑制已以配体依赖性方式(例如,使用PGLYRP1)和/或以不依赖于配体的方式(例如,通过TLR)被激活的TREM-1、特别是hTREM-1的功能和/或活性。用于激活TREM-1、特别是hTREM-1的刺激方法是本领域公知的,并且包括例如通过将表达TREM-1的细胞(例如中性粒细胞)与TREM-1配体复合物(例如,与肽聚糖复合的PGLYRP1(肽聚糖识别蛋白1))一起孵育来直接激活;以及通过将表达TREM-1的细胞(例如中性粒细胞)与肽聚糖(PGN)、脂多糖(LPS)或热灭活或热失活的细菌(例如热灭活的大肠杆菌或热灭活的枯草芽孢杆菌)一起孵育而通过Toll-样受体(TLR)(例如TLR2和/或TLR4)的激活来间接激活。因此,在一个实施方案中,所述分离的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段能够在用TREM-1配体复合物(例如,与PGN复合的PGLYRP1)、用PGN刺激、用LPS刺激或用热灭活或热失活的细菌(例如热灭活的大肠杆菌或热灭活的枯草芽孢杆菌)激活TREM-1后抑制TREM-1、特别是hTREM-1的功能和/或活性。

[0083] 用于评估TREM-1抑制的方法是本领域公知的并且包括例如下文实施例部分中描述的测定法。

[0084] 用于评估TREM-1抑制的测定包括体外评估由经刺激从而激活TREM-1信号传导通路的中性粒细胞产生的活性氧物质(ROS),所述刺激通过例如在脂多糖(LPS)存在下或在单独的肽聚糖(PGN)存在下或在与肽聚糖复合的PGLYRP1(肽聚糖识别蛋白1)(所谓的PPx或PP复合物)存在下或在热灭活或热失活的细菌(例如大肠杆菌或枯草芽孢杆菌)存在下进行孵育而进行。在一个实施方案中,能够结合TREM-1并抑制经LPS刺激的中性粒细胞、经PGN刺激的中性粒细胞、经PP刺激的中性粒细胞或经热灭活或热失活的细菌刺激的中性粒细胞产生ROS的化合物因此能够抑制TREM-1。

[0085] 用于评估TREM-1抑制的测定还包括体外评估经刺激从而激活TREM-1信号传导通路的灵长类动物或人类或hTREM-1敲入小鼠原代细胞(例如,人或食蟹猴(cynomolgus)或hTREM-1敲入小鼠中性粒细胞、单核细胞或全血样品)对促炎细胞因子/趋化因子(例如细胞因子趋化因子配体2(CCL2)(也称为单核细胞趋化蛋白1(MCP1))、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素8(IL-8)、干扰素 γ -诱导蛋白10(IP-10)(也称为C-X-C基序趋化因子配体10(CXCL10))和肿瘤坏死因子 α (TNF- α 或TNF α)的表达和/或分泌,所述刺激通过例如在LPS存在下或在单独PGN存在下或在PP复合物存在下或在热灭活或热失活细菌(如大肠杆菌或枯草芽孢杆菌)存在下进行孵育而进行。在一个实施方案中,能够结合TREM-1并抑制经LPS刺激的、经PGN刺激的、经PP刺激的或经热灭活或热失活细菌刺激的中性粒细胞或全血对促炎细胞因子/趋化因子的表达和/或分泌的化合物因此能够抑制TREM-

1。

[0086] 用于评估TREM-1抑制的测定还包括体外评估经刺激从而激活TREM-1信号传导通路的人单核细胞系(例如,THP-1细胞系)或人骨髓单核细胞系(例如,U937细胞系)对促炎细胞因子/趋化因子(例如CCL2也称为MCP1、IL-1 β 、IL-6、IL-8、IP-10也称为CXCL10和TNF- α 或TNFa)的表达和/或分泌,所述刺激通过例如在LPS存在下或在单独PGN存在下或在PP复合物存在下或在热灭活或热失活细菌(例如大肠杆菌或枯草芽孢杆菌)存在下孵育而进行。在一个实施方案中,能够结合TREM-1并抑制经LPS刺激的、经PGN刺激的、经PP刺激的或经热灭活的或热失活的细菌刺激的人单核细胞系或人骨髓单核细胞系对促炎细胞因子/趋化因子的表达和/或分泌的化合物因此能够抑制TREM-1。

[0087] 用于评估TREM-1抑制的测定还包括在小鼠模型中体内评估促炎细胞因子/趋化因子(例如CCL2也称为MCP1、IL-1 β 、IL-6、IL-8、IP-10也称为CXCL10和TNF- α 或TNFa)的表达和/或分泌。相关小鼠模型的实例包括由LPS诱导内毒素血症的转基因BRGSF小鼠、由LPS诱导内毒素血症的hTREM-1敲入小鼠、由PGN诱导全身炎症反应的hTREM-1敲入小鼠和用例如LPS或PGN处理以诱导局部炎症反应的hTREM-1敲入小鼠。在一个实施方案中,在如上所述的小鼠模型中能够结合TREM-1并抑制促炎细胞因子/趋化因子表达和/或分泌的化合物因此能够抑制TREM-1。

[0088] 在一个实施方案中,本文所述的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段是分离的抗体或其抗原结合片段。

[0089] 如本文所用,“分离的”,如在“分离的抗体或其抗原结合片段”中,意指基本上不含具有不同抗原特异性的其他蛋白或抗体的抗体或其抗原结合片段(例如,特异性结合hTREM-1并且基本上不含特异性结合除hTREM-1之外的抗原的蛋白或抗体的分离的抗体或其抗原结合片段)。然而,特异性结合hTREM-1的分离的抗体或其抗原结合片段可与其他相关抗原(例如来自其他属或种的TREM-1分子)具有交叉反应性。此外,分离的抗体或其抗原结合片段可以基本上不含其他细胞物质和/或化学物质,特别是那些会干扰所述抗体或其抗原结合片段的治疗用途的细胞物质和/或化学物质,包括但不限于酶、激素和其他蛋白性组分或非蛋白性组分。

[0090] 在一个实施方案中,所述分离的抗体或其抗原结合片段是纯化的。

[0091] 在一个实施方案中,所述分离的抗体或其抗原结合片段经纯化以获得大于80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、98%或99%抗体或抗原结合片段重量,优选大于90%、96%、97%、98%或99%重量的纯度。在一个实施方案中,纯度通过分析尺寸排阻色谱法(SEC)测定。

[0092] 在一个实施方案中,所述分离的抗体或其抗原结合片段经纯化以获得低于0.5、0.4、0.3、0.2或0.1EU/mg蛋白,优选低于0.1EU/mg蛋白的内毒素水平。

[0093] 在一个实施方案中,如上所述,所述分离的抗体或其抗原结合片段结合hTREM-1和hTREM-1的至少一种直系同源物。因此,在一个实施方案中,所述分离的抗体或其抗原结合片段结合hTREM-1和至少一种来自另一属或种的TREM-1。换句话说,在一个实施方案中,所述分离的抗体或其抗原结合片段表现出与其他相关抗原的交叉反应性(与其他相关抗原交叉反应)。在一个实施方案中,所述分离的抗体或其抗原结合片段结合hTREM-1和猴TREM-1(特别是食蟹猴的猴TREM-1或简称食蟹猴TREM-1)。

[0094] 在一个实施方案中,所述分离的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段是选自包含以下或由以下组成的组的分子:完整抗体、人源化抗体、单链抗体、二聚体单链抗体、Fv、scFv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab)'₂、Fc沉默抗体或抗原结合片段(即,包含Fc沉默的抗体或抗原结合片段)、具有工程化Fc(例如去岩藻糖基化Fc(去岩藻糖基化抗体))的抗体或抗原结合片段、双特异性抗体、双抗体、三抗体和四抗体。

[0095] 抗体的抗原结合片段可以使用标准方法获得。例如,Fab或F(ab')₂片段可以根据常规技术通过分离的抗体的蛋白酶消化来产生。或者,抗体的抗原结合片段(例如Fab片段)可以表达为重组蛋白。

[0096] 在一个实施方案中,所述分离的抗体或其抗原结合片段是单克隆的。在另一个实施方案中,所述分离的抗体或其抗原结合片段是多克隆的。

[0097] 在一个实施方案中,所述分离的抗体或其抗原结合片段是单价的。在另一个实施方案中,所述分离的抗体或其抗原结合片段是二价的。

[0098] 单价抗原结合抗体片段的实例包括Fab片段、scFv片段、Fv片段。在一个实施方案中,所述抗原结合抗体片段因此是选自包含以下或由以下组成的组的分子:Fab、Fv和scFv。在一个实施方案中,所述分离的抗体或其抗原结合片段是Fab。

[0099] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含完全人的或基本上人的重链恒定区(本文缩写为C_H)和/或轻链恒定区(本文缩写为C_L)。在一个实施方案中,恒定区是人源的。

[0100] 术语“基本上人的”,在人源化或嵌合抗体或其抗原结合片段的恒定区的上下文中,是指具有与人恒定区的氨基酸序列具有至少70%同一性、优选至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列的恒定区。

[0101] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含完全鼠的或基本上完全鼠的C_H和/或C_L。在一个实施方案中,恒定区是鼠源的。

[0102] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段是鼠抗体或其抗原结合片段。

[0103] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段是嵌合抗体或其抗原结合片段。

[0104] 如本文所用,“嵌合抗体”是指包含连接在自然界中不与其天然连接的第二氨基酸序列的第一氨基酸序列的抗体或其抗原结合片段。所述氨基酸序列通常可以存在于不同蛋白中而在嵌合(或融合)蛋白中集合在一起,或者通常可以存在于相同蛋白中但以新的排列放置在嵌合(或融合)蛋白中。嵌合蛋白可以例如通过化学合成或通过产生和翻译其中肽区域以所需关系编码的多核苷酸来产生。术语“嵌合抗体”在本文中涵盖了以下抗体及其抗原结合片段,其中:

[0105] (a) 恒定区或其部分被改变、替换或交换,使得可变区连接至不同或改变的类别、效应子功能和/或种类的恒定区,或赋予嵌合抗体新特性的完全不同的分子,例如酶、蛋白、毒素、激素、生长因子、药物等;或者

[0106] (b) 可变区或其部分被改变、替代或交换为具有不同或改变的抗原特异性的可变区或其部分;或被改变、替代或交换为来自另一物种或来自另一抗体类别或亚类的相应序列。

[0107] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段是去免疫的(deimmunized)抗体或其抗原结合片段。

[0108] 去免疫(deimmunization)旨在降低抗体或其抗原结合片段的免疫原性,而不妨碍本文所述的它们结合和抑制hTREM-1的能力。用于使抗体或其抗原结合片段去免疫的方法是本领域公知的。此类方法特别包括将所述抗体或其抗原结合片段的氨基酸序列中存在的人T细胞表位序列内的关键氨基酸进行取代,从而防止所述抗体或其抗原结合片段结合HLA(人白细胞抗原)和随后触发T细胞应答。

[0109] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段是人源化抗体或其抗原结合片段。

[0110] 如本文所用,“人源化抗体”是指含有源自非人免疫球蛋白的最少序列的嵌合抗体或其抗原结合片段。它包括由非人细胞产生的具有可变区和恒定区的抗体,所述可变区和恒定区已被改变为更近似于由人细胞产生的抗体,例如,通过改变非人抗体氨基酸序列以掺入在人种系免疫球蛋白序列中发现的氨基酸。本发明的人源化抗体或其抗原结合片段可以包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变),例如在CDR中。术语“人源化抗体”还包括其中源自另一哺乳动物物种例如小鼠的种系的CDR序列已被移植到人框架序列上的抗体及其抗原结合片段。换句话说,术语“人源化抗体”可以指其中受体人抗体的CDR被替换为来自供体非人抗体的CDR的抗体或其抗原结合片段。人源化抗体或其抗原结合片段还可以在框架序列中包含供体来源的残基。人源化抗体或其抗原结合片段还可以包含人免疫球蛋白恒定区的至少一部分。人源化抗体或其抗原结合片段还可以包含既不在受体抗体中也不在导入的CDR或框架序列中发现的残基。

[0111] “人源化抗体”可以保留与原始抗体或供体抗体(例如供体非人抗体)类似的抗原特异性。然而,使用某些人源化方法,可以增加抗体结合的亲和力和/或特异性。

[0112] 用于人源化本发明的抗体或其抗原结合片段的方法是本领域公知的。例如,人源化抗体及其抗原结合片段可以根据各种技术来产生,例如通过使用已经被工程化以表达人抗体库的转基因动物进行免疫(Jakobovitz et al.,1993.Nature.362(6417):255-8),或通过使用噬菌体展示方法选择抗体库。此类技术是技术人员已知的并且可以从如本申请中公开的单克隆抗体或其抗原结合片段开始实施。

[0113] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段来自IgG类。

[0114] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段来自人IgG1亚类。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段因此是IgG1抗体,优选人IgG1抗体或嵌合人IgG1抗体。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段来自人IgG4亚类。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段因此是IgG4抗体,优选人IgG4抗体或嵌合人IgG4抗体。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段来自人IgG2亚类。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段因此是IgG2抗体,优选人IgG2抗体或嵌合人IgG2抗体。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段来自人IgG3亚类。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段因此是IgG3抗体,优选人IgG3抗体或嵌合人IgG3抗体。

[0115] 如本文所用,关于给定序列的短语“特征在于具有被不同氨基酸取代的[···]氨基

酸”是指在所述序列中保守氨基酸修饰的出现。

[0116] 如本文所用,表述“保守氨基酸修饰”是指不显著影响或改变含有所述氨基酸序列的抗体或其抗原结合片段的结合特征的修饰。此类保守修饰包括氨基酸取代、添加和缺失。可以通过本领域已知的标准技术,例如位点特异性诱变和PCR介导的诱变,将修饰引入抗体或其抗原结合片段中。

[0117] 保守氨基酸取代通常是其中氨基酸残基被具有相似物理化学性质的侧链的氨基酸残基替换的那些。特定的可变区和CDR序列可以包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35个或更多个氨基酸插入、缺失和/或取代。当进行取代时,优选的取代是保守修饰。具有相似侧链的氨基酸残基的家族在本领域中已有定义。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸),具有酸性侧链的氨基酸(例如天冬氨酸、谷氨酸),具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸),具有非极性侧链的氨基酸(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸),具有 β -支化侧链的氨基酸(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和具有芳香族侧链的氨基酸(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。因此,本发明的抗体或其抗原结合片段的CDR和/或可变区内的一个或多个氨基酸残基可以用来自相同侧链家族的其他氨基酸残基替换,并且经改变的抗体可以使用本文描述的测定法测试所保留的功能(即,本文描述的特性,例如与hTREM-1的结合)。在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段的CDR和/或可变区内的氨基酸序列段可以被替换为侧链家庭成员的顺序和/或组成不同的结构相似的序列段。

[0118] 在本发明中,除非另有说明,否则互补决定区(CDR)的位置使用Kabat命名法确定。

[0119] 根据一个实施方案,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含重链的可变区(也称为重链可变区或VH),所述重链可变区包含至少一个、优选至少两个、更优选三个以下互补决定区(CDR):

[0120] $-V_H$ -CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1);

[0121] $-V_H$ -CDR2:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKVX₄G(SEQ ID NO:2),其中X₁是N或G,X₂是N或R,X₃是A、D或S,X₄是Q或K;或者RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKFX₄G(SEQ ID NO:39),其中X₁是N或G,X₂是N或R,X₃是A、D或S,X₄是Q或K;和/或

[0122] $-V_H$ -CDR3:HX₅GX₆TMDY(SEQ ID NO:3),其中X₅是Y或R,X₆是S或G。

[0123] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含至少1个、优选至少2个、更优选3个以下CDR:

[0124] $-V_H$ -CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1);

[0125] $-V_H$ -CDR2:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKVX₄G(SEQ ID NO:2),其中X₁是N或G,X₂是N或R,X₃是A、D或S,X₄是Q或K;和/或

[0126] $-V_H$ -CDR3:HX₅GX₆TMDY(SEQ ID NO:3),其中X₅是Y或R,X₆是S或G。

[0127] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含至少1个、优选至少2个、更优选3个以下CDR:

[0128] $-V_H$ -CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1);

[0129] $-V_H$ -CDR2:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKFX₄G(SEQ ID NO:39),其中X₁是N或G,X₂是N或R,X₃是

A、D或S, X₄是Q或K; 和/或

[0130] -V_H-CDR3:HX₅GX₆TMDY (SEQ ID NO:3), 其中X₅是Y或R, X₆是S或G。

[0131] 根据一个实施方案, 所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含V_H, 所述V_H包含三个以下CDR:

[0132] -V_H-CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);

[0133] -V_H-CDR2:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKVX₄G (SEQ ID NO:2), 其中X₁是N或G, X₂是N或R, X₃是A、D或S, X₄是Q或K; 或者RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKFX₄G (SEQ ID NO:39), 其中X₁是N或G, X₂是N或R, X₃是A、D或S, X₄是Q或K; 和

[0134] -V_H-CDR3:HX₅GX₆TMDY (SEQ ID NO:3), 其中X₅是Y或R, X₆是S或G。

[0135] 在一个实施方案中, 所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含V_H, 所述V_H包含三个以下CDR:

[0136] -V_H-CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);

[0137] -V_H-CDR2:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKVX₄G (SEQ ID NO:2), 其中X₁是N或G, X₂是N或R, X₃是A、D或S, X₄是Q或K; 和

[0138] -V_H-CDR3:HX₅GX₆TMDY (SEQ ID NO:3), 其中X₅是Y或R, X₆是S或G。

[0139] 在一个实施方案中, 所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含V_H, 所述V_H包含三个以下CDR:

[0140] -V_H-CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);

[0141] -RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKFX₄G (SEQ ID NO:39), 其中X₁是N或G, X₂是N或R, X₃是A、D或S, X₄是Q或K; 和

[0142] -V_H-CDR3:HX₅GX₆TMDY (SEQ ID NO:3), 其中X₅是Y或R, X₆是S或G。

[0143] 上文所述的具有SEQ ID NO:2所示序列的V_H-CDR2的实例包括但不限于RIDPAGGRTKYDPKVKG (SEQ ID NO:7)、RIDPAGGRTKYSPKVQG (SEQ ID NO:12)、RIDPAGGRTKYAPKVKG (SEQ ID NO:17)、RIDPAGGRTKYAPKVQG (SEQ ID NO:19)和RIDPANGNTKYAPKVQG (SEQ ID NO:22)。因此, 在一个实施方案中, 上文所述的具有SEQ ID NO:2所示序列的V_H-CDR2选自包含以下或由以下组成的组: RIDPAGGRTKYDPKVKG (SEQ ID NO:7)、RIDPAGGRTKYSPKVQG (SEQ ID NO:12)、RIDPAGGRTKYAPKVKG (SEQ ID NO:17)、RIDPAGGRTKYAPKVQG (SEQ ID NO:19)和RIDPANGNTKYAPKVQG (SEQ ID NO:22)。

[0144] 上文所述的具有SEQ ID NO:39所示序列的V_H-CDR2的实例包括但不限于RIDPANGNTKYAPKFQG (SEQ ID NO:40)。因此, 在一个实施方案中, 上文所述的具有SEQ ID NO:39所示序列的V_H-CDR2是RIDPANGNTKYAPKFQG (SEQ ID NO:40)。

[0145] 上文所述的具有SEQ ID NO:3所示序列的V_H-CDR3的实例包括但不限于HYGGTMDY (SEQ ID NO:8)、HRGGTMDY (SEQ ID NO:13)和HYGSTMDY (SEQ ID NO:23)。因此, 在一个实施方案中, 上文所述的具有SEQ ID NO:3所示序列的V_H-CDR3选自包含以下或由以下组成的组: HYGGTMDY (SEQ ID NO:8)、HRGGTMDY (SEQ ID NO:13)和HYGSTMDY (SEQ ID NO:23)。

[0146] 在一个实施方案中, 所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含V_H, 所述V_H包含至少1个(例如1、2或3个)以下CDR, 并且优选包含3个以下CDR:

[0147] -V_H-CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);

[0148] -V_H-CDR2:RIDPAGGRTKYDPKVKG (SEQ ID NO:7); 和/或

- [0149] $-V_H$ -CDR3:HYGGTMDY (SEQ ID NO:8)。
- [0150] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含至少1个(例如1、2或3个)以下CDR,并且优选包含3个以下CDR:
- [0151] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);
- [0152] V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYSPKVQG (SEQ ID NO:12);和/或
- [0153] V_H -CDR3:HRGGTMDY (SEQ ID NO:13)。
- [0154] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含至少1个(例如1、2或3个)以下CDR,并且优选包含3个以下CDR:
- [0155] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);
- [0156] V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVKG (SEQ ID NO:17);和/或
- [0157] V_H -CDR3:HRGGTMDY (SEQ ID NO:13)。
- [0158] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含至少1个(例如1、2或3个)以下CDR,并且优选包含3个以下CDR:
- [0159] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);
- [0160] V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVQG (SEQ ID NO:19);和/或
- [0161] V_H -CDR3:HYGGTMDY (SEQ ID NO:8)。
- [0162] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含至少1个(例如1、2或3个)以下CDR,并且优选包含3个以下CDR:
- [0163] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);
- [0164] V_H -CDR2:RIDPANGNTKYAPKVQG (SEQ ID NO:22);和/或
- [0165] V_H -CDR3:HYGSTMDY (SEQ ID NO:23)。
- [0166] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含至少1个(例如1、2或3个)以下CDR,并且优选包含3个以下CDR:
- [0167] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);
- [0168] V_H -CDR2:RIDPANGNTKYAPKFQG (SEQ ID NO:40);和/或
- [0169] V_H -CDR3:HYGSTMDY (SEQ ID NO:23)。
- [0170] 在一个实施方案中,上文所述的具有SEQ ID NO:1-3、7、8、12、13、17、19、22、23、39和40中任一个所示的氨基酸序列的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和/或 V_H -CDR3中的任一个可以表征为,具有1、2、3或更多个氨基酸被不同氨基酸取代。在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1-3、7、8、12、13、17、19、22、23、39和40的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和/或 V_H -CDR3中的任一个可以表征为,具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。换句话说,在一个实施方案中,如上所述的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和/或 V_H -CDR3具有与SEQ ID NO:1-3、7、8、12、13、17、19、22、23、39和40中任一个所示的相应氨基酸序列共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。
- [0171] 根据一个实施方案,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含轻链的可变区(也称为轻链可变区或VL),所述轻链可变区包含至少一个、优选至少两个,更优选三个以下互补决定区(CDR):
- [0172] $-V_L$ -CDR1:RASX₇SVX₈NYGISFX₉N (SEQ ID NO:4),其中X₇是E或Q,X₈是D或S,X₉是M或

L;

[0173] $-V_L$ -CDR2:AAX₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(SEQ ID NO:5),其中X₁₀是S或E,X₁₁是N或Y,X₁₂是Q或R,X₁₃是G、A或K,X₁₄是S或R;和/或

[0174] $-V_L$ -CDR3:QQSX₁₅X₁₆X₁₇PX₁₈T(SEQ ID NO:6),其中X₁₅是K、R或S,X₁₆是E、H或N,X₁₇是V或F,X₁₈是W或Y。

[0175] 根据一个实施方案,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含三个以下CDR:

[0176] $-V_L$ -CDR1:RASX₇SVX₈NYGISFX₉N(SEQ ID NO:4),其中X₇是E或Q,X₈是D或S,X₉是M或

L;

[0177] $-V_L$ -CDR2:AAX₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(SEQ ID NO:5),其中X₁₀是S或E,X₁₁是N或Y,X₁₂是Q或R,X₁₃是G、A或K,X₁₄是S或R;和

[0178] $-V_L$ -CDR3:QQSX₁₅X₁₆X₁₇PX₁₈T(SEQ ID NO:6),其中X₁₅是K、R或S,X₁₆是E、H或N,X₁₇是V或F,X₁₈是W或Y。

[0179] 上文所述的具有SEQ ID NO:4所示序列的 V_L -CDR1的实例包括但不限于RASESVDNYGISFLN(SEQ ID NO:9)、RASQSVSNYGISFLN(SEQ ID NO:14)和RASESVDNYGISFMN(SEQ ID NO:24)。因此,在一个实施方案中,上文所述的具有SEQ ID NO:4所示序列的 V_L -CDR1选自包含以下或由以下组成的组:RASESVDNYGISFLN(SEQ ID NO:9)、RASQSVSNYGISFLN(SEQ ID NO:14)和RASESVDNYGISFMN(SEQ ID NO:24)。

[0180] 上文所述的具有SEQ ID NO:5所示序列的 V_L -CDR2的实例包括但不限于AAEYRGR(SEQ ID NO:10)、AASYQKR(SEQ ID NO:15)、AAEYQGR(SEQ ID NO:20)、AAEYRAR(SEQ ID NO:21)和AASNQGS(SEQ ID NO:25)。因此,在一个实施方案中,上文所述的具有SEQ ID NO:5所示序列的 V_L -CDR2选自包含以下或由以下组成的组:AAEYRGR(SEQ ID NO:10)、AASYQKR(SEQ ID NO:15)、AAEYQGR(SEQ ID NO:20)、AAEYRAR(SEQ ID NO:21)和AASNQGS(SEQ ID NO:25)。

[0181] 上文所述的具有SEQ ID NO:6所示序列的 V_L -CDR3的实例包括但不限于QQSRHVPYT(SEQ ID NO:11)、QQSSNFPWT(SEQ ID NO:16)、QQSSNVPYT(SEQ ID NO:18)和QQSKEVPWT(SEQ ID NO:26)。因此,在一个实施方案中,上文所述的具有SEQ ID NO:6所示序列的 V_L -CDR3选自包含以下或由以下组成的组:QQSRHVPYT(SEQ ID NO:11)、QQSSNFPWT(SEQ ID NO:16)、QQSSNVPYT(SEQ ID NO:18)和QQSKEVPWT(SEQ ID NO:26)。

[0182] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1、2或3个)以下CDR,并且优选包含三个以下CDR:

[0183] $-V_L$ -CDR1:RASESVDNYGISFLN(SEQ ID NO:9);

[0184] $-V_L$ -CDR2:AAEYRGR(SEQ ID NO:10);和/或

[0185] $-V_L$ -CDR3:QQSRHVPYT(SEQ ID NO:11)。

[0186] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1、2或3个)以下CDR,并且优选包含三个以下CDR:

[0187] $-V_L$ -CDR1:RASQSVSNYGISFLN(SEQ ID NO:14);

[0188] $-V_L$ -CDR2:AASYQKR(SEQ ID NO:15);和/或

[0189] $-V_L$ -CDR3:QQSSNFPWT(SEQ ID NO:16)。

[0190] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一

个(例如,1、2或3个)以下CDR,并且优选包含三个以下CDR:

[0191] $-V_L$ -CDR1:RASQSVSNYGISFLN(SEQ ID NO:14);

[0192] $-V_L$ -CDR2:AAEYRGR(SEQ ID NO:10);和/或

[0193] $-V_L$ -CDR3:QQSSNPY(T(SEQ ID NO:18)。

[0194] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1、2或3个)以下CDR,并且优选包含三个以下CDR:

[0195] $-V_L$ -CDR1:RASQSVSNYGISFLN(SEQ ID NO:14);

[0196] $-V_L$ -CDR2:AAEYQGR(SEQ ID NO:20);和/或

[0197] $-V_L$ -CDR3:QQSSNPY(T(SEQ ID NO:18)。

[0198] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1、2或3个)以下CDR,并且优选包含三个以下CDR:

[0199] $-V_L$ -CDR1:RASQSVSNYGISFLN(SEQ ID NO:14);

[0200] $-V_L$ -CDR2:AAEYRAR(SEQ ID NO:21);和/或

[0201] $-V_L$ -CDR3:QQSSNPY(T(SEQ ID NO:18)。

[0202] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1、2或3个)以下CDR,并且优选包含三个以下CDR:

[0203] $-V_L$ -CDR1:RASESVDNYGISFMN(SEQ ID NO:24);

[0204] $-V_L$ -CDR2:AASNQGS(SEQ ID NO:25);和/或

[0205] $-V_L$ -CDR3:QQSKEVPWT(SEQ ID NO:26)。

[0206] 在一个实施方案中,上文所述的具有SEQ ID NO:4-6、9-11、14-16、18、20、21和24-25中任一个所示的氨基酸序列的 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和/或 V_L -CDR3中的任一个可以表征为,具有1、2、3或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代。在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:4-6、9-11、14-16、18、20、21和24-25的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和/或 V_H -CDR3中的任一个可以表征为,具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。换句话说,在一个实施方案中,如上所述的 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和/或 V_L -CDR3具有与SEQ ID NO:4-6、9-11、14-16、18、20、21和24-25中任一个所示的相应氨基酸序列共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0207] 根据一个实施方案,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0208] 重链的可变区(VH),所述VH包含至少1个、优选至少2个、更优选3个以下CDR:

[0209] $-V_H$ -CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1);

[0210] $-V_H$ -CDR2:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKVX₄G(SEQ ID NO:2),其中X₁是N或G,X₂是N或R,X₃是A、D或S,X₄是Q或K;或者RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKFX₄G(SEQ ID NO:39),其中X₁是N或G,X₂是N或R,X₃是A、D或S,X₄是Q或K;和/或

[0211] $-V_H$ -CDR3:HX₅GX₆TMDY(SEQ ID NO:3),其中X₅是Y或R,X₆是S或G;和

[0212] 轻链的可变区(VL),所述VL包含至少1个、优选至少2个、更优选3个以下CDR:

[0213] $-V_L$ -CDR1:RASX₇SVX₈NYGISFX₉N(SEQ ID NO:4),其中X₇是E或Q,X₈是D或S,X₉是M或L;

[0214] $-V_L$ -CDR2:AAX₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄(SEQ ID NO:5),其中X₁₀是S或E,X₁₁是N或Y,X₁₂是Q或R,

X_{13} 是G、A或K, X_{14} 是S或R;和/或

[0215] $-V_L$ -CDR3:QQSX₁₅X₁₆X₁₇PX₁₈T (SEQ ID NO:6), 其中 X_{15} 是K、R或S, X_{16} 是E、H或N, X_{17} 是V或F, X_{18} 是W或Y。

[0216] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0217] VH,所述VH包含至少1个、优选至少2个、更优选3个以下CDR:

[0218] $-V_H$ -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);

[0219] $-V_H$ -CDR2:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKVX₄G (SEQ ID NO:2), 其中 X_1 是N或G, X_2 是N或R, X_3 是A、D或S, X_4 是Q或K;和/或

[0220] $-V_H$ -CDR3:HX₅GX₆TMDY (SEQ ID NO:3), 其中 X_5 是Y或R, X_6 是S或G;和

[0221] VL,所述VL包含至少1个、优选至少2个、更优选3个以下CDR:

[0222] $-V_L$ -CDR1:RASX₇SVX₈NYGISFX₉N (SEQ ID NO:4), 其中 X_7 是E或Q, X_8 是D或S, X_9 是M或L;

[0223] $-V_L$ -CDR2:AAX₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄ (SEQ ID NO:5), 其中 X_{10} 是S或E, X_{11} 是N或Y, X_{12} 是Q或R, X_{13} 是G、A或K, X_{14} 是S或R;和/或

[0224] $-V_L$ -CDR3:QQSX₁₅X₁₆X₁₇PX₁₈T (SEQ ID NO:6), 其中 X_{15} 是K、R或S, X_{16} 是E、H或N, X_{17} 是V或F, X_{18} 是W或Y。

[0225] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0226] VH,所述VH包含至少1个、优选至少2个、更优选3个以下CDR:

[0227] $-V_H$ -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);

[0228] $-V_H$ -CDR2:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKFX₄G (SEQ ID NO:39), 其中 X_1 是N或G, X_2 是N或R, X_3 是A、D或S, X_4 是Q或K;和/或

[0229] $-V_H$ -CDR3:HX₅GX₆TMDY (SEQ ID NO:3), 其中 X_5 是Y或R, X_6 是S或G;和

[0230] VL,所述VL包含至少1个、优选至少2个、更优选3个以下CDR:

[0231] $-V_L$ -CDR1:RASX₇SVX₈NYGISFX₉N (SEQ ID NO:4), 其中 X_7 是E或Q, X_8 是D或S, X_9 是M或L;

[0232] $-V_L$ -CDR2:AAX₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄ (SEQ ID NO:5), 其中 X_{10} 是S或E, X_{11} 是N或Y, X_{12} 是Q或R, X_{13} 是G、A或K, X_{14} 是S或R;和/或

[0233] $-V_L$ -CDR3:QQSX₁₅X₁₆X₁₇PX₁₈T (SEQ ID NO:6), 其中 X_{15} 是K、R或S, X_{16} 是E、H或N, X_{17} 是V或F, X_{18} 是W或Y。

[0234] 根据一个实施方案,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0235] VH,所述VH包含三个以下CDR:

[0236] $-V_H$ -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);

[0237] $-V_H$ -CDR2:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKVX₄G (SEQ ID NO:2), 其中 X_1 是N或G, X_2 是N或R, X_3 是A、D或S, X_4 是Q或K;或者RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKFX₄G (SEQ ID NO:39), 其中 X_1 是N或G, X_2 是N或R, X_3 是A、D或S, X_4 是Q或K;和

[0238] $-V_H$ -CDR3:HX₅GX₆TMDY (SEQ ID NO:3), 其中 X_5 是Y或R, X_6 是S或G;和

[0239] VL,所述VL包含三个以下CDR:

[0240] $-V_L$ -CDR1:RASX₇SVX₈NYGISFX₉N (SEQ ID NO:4), 其中 X_7 是E或Q, X_8 是D或S, X_9 是M或L;

- [0241] $-V_L$ -CDR2:AAX₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄ (SEQ ID NO:5), 其中X₁₀是S或E, X₁₁是N或Y, X₁₂是Q或R, X₁₃是G、A或K, X₁₄是S或R; 和
- [0242] $-V_L$ -CDR3:QQSX₁₅X₁₆X₁₇PX₁₈T (SEQ ID NO:6), 其中X₁₅是K、R或S, X₁₆是E、H或N, X₁₇是V或F, X₁₈是W或Y。
- [0243] 在一个实施方案中, 所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:
- [0244] VH, 所述VH包含三个以下CDR:
- [0245] $-V_H$ -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);
- [0246] $-V_H$ -CDR2:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKVX₄G (SEQ ID NO:2), 其中X₁是N或G, X₂是N或R, X₃是A、D或S, X₄是Q或K; 和
- [0247] $-V_H$ -CDR3:HX₅GX₆TMDY (SEQ ID NO:3), 其中X₅是Y或R, X₆是S或G; 和
- [0248] VL, 所述VL包含三个以下CDR:
- [0249] $-V_L$ -CDR1:RASX₇SVX₈NYGISFX₉N (SEQ ID NO:4), 其中X₇是E或Q, X₈是D或S, X₉是M或L;
- [0250] $-V_L$ -CDR2:AAX₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄ (SEQ ID NO:5), 其中X₁₀是S或E, X₁₁是N或Y, X₁₂是Q或R, X₁₃是G、A或K, X₁₄是S或R; 和
- [0251] $-V_L$ -CDR3:QQSX₁₅X₁₆X₁₇PX₁₈T (SEQ ID NO:6), 其中X₁₅是K、R或S, X₁₆是E、H或N, X₁₇是V或F, X₁₈是W或Y。
- [0252] 在一个实施方案中, 所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:
- [0253] VH, 所述VH包含三个以下CDR:
- [0254] $-V_H$ -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);
- [0255] $-V_H$ -CDR2:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKFX₄G (SEQ ID NO:39), 其中X₁是N或G, X₂是N或R, X₃是A、D或S, X₄是Q或K; 和
- [0256] $-V_H$ -CDR3:HX₅GX₆TMDY (SEQ ID NO:3), 其中X₅是Y或R, X₆是S或G; 和
- [0257] VL, 所述VL包含三个以下CDR:
- [0258] $-V_L$ -CDR1:RASX₇SVX₈NYGISFX₉N (SEQ ID NO:4), 其中X₇是E或Q, X₈是D或S, X₉是M或L;
- [0259] $-V_L$ -CDR2:AAX₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄ (SEQ ID NO:5), 其中X₁₀是S或E, X₁₁是N或Y, X₁₂是Q或R, X₁₃是G、A或K, X₁₄是S或R; 和
- [0260] $-V_L$ -CDR3:QQSX₁₅X₁₆X₁₇PX₁₈T (SEQ ID NO:6), 其中X₁₅是K、R或S, X₁₆是E、H或N, X₁₇是V或F, X₁₈是W或Y。
- [0261] 在一个实施方案中, 所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含以下CDR:
- [0262] $-V_H$ -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYDPKVKG (SEQ ID NO:7), V_H -CDR3:HYGGTMDY (SEQ ID NO:8), V_L -CDR1:RASESVDNYGISFLN (SEQ ID NO:9), V_L -CDR2:AAEYRGR (SEQ ID NO:10), 和 V_L -CDR3:QQSRHVPYT (SEQ ID NO:11); 或者
- [0263] $-V_H$ -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYSPKVQG (SEQ ID NO:12), V_H -CDR3:HRGGTMDY (SEQ ID NO:13), V_L -CDR1:RASQSVSNYGISFLN (SEQ ID NO:14), V_L -CDR2:AASYQKR (SEQ ID NO:15) 和 V_L -CDR3:QQSSNFPWT (SEQ ID NO:16); 或者
- [0264] $-V_H$ -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVKG (SEQ ID NO:17), V_H -CDR3:HRGGTMDY (SEQ ID NO:13), V_L -CDR1:RASQSVSNYGISFLN (SEQ ID NO:14), V_L -CDR2:

AAEYRGR (SEQ ID NO:10), 和 V_L -CDR3:QQSSNVPYT (SEQ ID NO:18); 或者

[0265] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVQG (SEQ ID NO:19), V_H -CDR3:HYGGTMDY (SEQ ID NO:8), V_L -CDR1:RASQSVSNYGISFLN (SEQ ID NO:14), V_L -CDR2:AAEYQGR (SEQ ID NO:20), 和 V_L -CDR3:QQSSNVPYT (SEQ ID NO:18); 或者

[0266] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVKG (SEQ ID NO:17), V_H -CDR3:HRGGTMDY (SEQ ID NO:13), V_L -CDR1:RASQSVSNYGISFLN (SEQ ID NO:14), V_L -CDR2:AAEYRAR (SEQ ID NO:21), 和 V_L -CDR3:QQSSNVPYT (SEQ ID NO:18); 或者

[0267] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPANGNTKYAPKVQG (SEQ ID NO:22), V_H -CDR3:HYGSTMDY (SEQ ID NO:23), V_L -CDR1:RASESDNYGISFMN (SEQ ID NO:24), V_L -CDR2:AASNQGS (SEQ ID NO:25), 和 V_L -CDR3:QQSKEVPWT (SEQ ID NO:26); 或者

[0268] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPANGNTKYAPKFQG (SEQ ID NO:40), V_H -CDR3:HYGSTMDY (SEQ ID NO:23), V_L -CDR1:RASESDNYGISFMN (SEQ ID NO:24), V_L -CDR2:AASNQGS (SEQ ID NO:25), 和 V_L -CDR3:QQSKEVPWT (SEQ ID NO:26)。

[0269] 在一个实施方案中, 所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含以下CDR:

[0270] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYDPKVKG (SEQ ID NO:7), V_H -CDR3:HYGGTMDY (SEQ ID NO:8), V_L -CDR1:RASESDNYGISFLN (SEQ ID NO:9), V_L -CDR2:AAEYRGR (SEQ ID NO:10), 和 V_L -CDR3:QQSRHVPYT (SEQ ID NO:11); 或者

[0271] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYSPKVQG (SEQ ID NO:12), V_H -CDR3:HRGGTMDY (SEQ ID NO:13), V_L -CDR1:RASQSVSNYGISFLN (SEQ ID NO:14), V_L -CDR2:AASYQKR (SEQ ID NO:15), 和 V_L -CDR3:QQSSNFPWT (SEQ ID NO:16); 或者

[0272] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVKG (SEQ ID NO:17), V_H -CDR3:HRGGTMDY (SEQ ID NO:13), V_L -CDR1:RASQSVSNYGISFLN (SEQ ID NO:14), V_L -CDR2:AAEYRGR (SEQ ID NO:10), 和 V_L -CDR3:QQSSNVPYT (SEQ ID NO:18); 或者

[0273] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVQG (SEQ ID NO:19), V_H -CDR3:HYGGTMDY (SEQ ID NO:8), V_L -CDR1:RASQSVSNYGISFLN (SEQ ID NO:14), V_L -CDR2:AAEYQGR (SEQ ID NO:20), 和 V_L -CDR3:QQSSNVPYT (SEQ ID NO:18); 或者

[0274] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVKG (SEQ ID NO:17), V_H -CDR3:HRGGTMDY (SEQ ID NO:13), V_L -CDR1:RASQSVSNYGISFLN (SEQ ID NO:14), V_L -CDR2:AAEYRAR (SEQ ID NO:21), 和 V_L -CDR3:QQSSNVPYT (SEQ ID NO:18); 或者

[0275] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1), V_H -CDR2:RIDPANGNTKYAPKVQG (SEQ ID NO:22), V_H -CDR3:HYGSTMDY (SEQ ID NO:23), V_L -CDR1:RASESDNYGISFMN (SEQ ID NO:24), V_L -CDR2:AASNQGS (SEQ ID NO:25), 和 V_L -CDR3:QQSKEVPWT (SEQ ID NO:26)。

[0276] 在一个实施方案中, 所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0277] V_H , 所述 V_H 包含三个以下CDR:

[0278] V_H -CDR1:NTYIH (SEQ ID NO:1);

[0279] V_H -CDR2:RIDPAGGRTKYDPKVKG (SEQ ID NO:7); 和

[0280] V_H -CDR3:HYGGTMDY (SEQ ID NO:8); 和

[0281] V_L , 所述 V_L 包含三个以下CDR:

[0282] V_L -CDR1:RASESDNYGISFLN (SEQ ID NO:9);

[0283] $-V_L$ -CDR2:AAEYRGR(SEQ ID NO:10);和

[0284] $-V_L$ -CDR3:QQSRHVPYT(SEQ ID NO:11)。

[0285] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、7、8的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和/或 V_H -CDR3中的任一个和/或具有SEQ ID NO:9-11的 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和/或 V_L -CDR3中的任一个可以表征为,具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。换句话说,在一个实施方案中,如上所述的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2、 V_H -CDR3、 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和/或 V_L -CDR3具有与SEQ ID NO:1、7、8和9-11所示的相应氨基酸序列共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0286] 包含含有具有SEQ ID NO:1、7、8的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和 V_H -CDR3的VH以及含有具有SEQ ID NO:9-11的 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和 V_L -CDR3的VL的抗体的实例是INO-10-3。包含含有具有SEQ ID NO:1、7、8的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和 V_H -CDR3的VH以及含有具有SEQ ID NO:9-11的 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和 V_L -CDR3的VL的抗原结合抗体片段的实例是Fab片段INO-10-F3(或F3)。

[0287] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0288] VH,所述VH包含三个以下CDR:

[0289] $-V_H$ -CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1),

[0290] $-V_H$ -CDR2:RIDPAGGRTKYSPKVQG(SEQ ID NO:12),和

[0291] $-V_H$ -CDR3:HRGGTMDY(SEQ ID NO:13);和

[0292] VL,所述VL包含三个以下CDR:

[0293] $-V_L$ -CDR1:RASQSVSNYGISFLN(SEQ ID NO:14),

[0294] $-V_L$ -CDR2:AASYQKR(SEQ ID NO:15),和

[0295] $-V_L$ -CDR3:QQSSNFPWT(SEQ ID NO:16)。

[0296] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、12、13的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和/或 V_H -CDR3中的任一个和/或具有SEQ ID NO:14-16的 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和/或 V_L -CDR3中的任一个可以表征为,具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。换句话说,在一个实施方案中,上文所述的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2、 V_H -CDR3、 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和/或 V_L -CDR3具有与SEQ ID NO:1、12、13和14-16所示的相应氨基酸序列共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0297] 包含含有具有SEQ ID NO:1、12、13的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和 V_H -CDR3的VH以及含有具有SEQ ID NO:14-16的 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和 V_L -CDR3的VL的抗体的实例是INO-10-2。包含含有具有SEQ ID NO:1、12、13的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和 V_H -CDR3的VH以及含有具有SEQ ID NO:14-16的 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和 V_L -CDR3的VL的抗原结合抗体片段的实例是Fab片段INO-10-F2(或F2)。

[0298] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0299] VH,所述VH包含三个以下CDR:

[0300] $-V_H$ -CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1),

[0301] $-V_H$ -CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVKG(SEQ ID NO:17),和

[0302] $-V_H$ -CDR3:HRGGTMDY(SEQ ID NO:13);和

[0303] VL,所述VL包含三个以下CDR:

[0304] -V_L-CDR1:RASQSVSNYGISFLN(SEQ ID NO:14),

[0305] -V_L-CDR2:AAEYRGR(SEQ ID NO:10),和

[0306] -V_L-CDR3:QQSSNPY(T)T(SEQ ID NO:18)。

[0307] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、17、13的V_H-CDR1、V_H-CDR2和/或V_H-CDR3中的任一个和/或具有SEQ ID NO:14、10、18的V_L-CDR1、V_L-CDR2和/或V_L-CDR3中的任一个可以表征为,具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。换句话说,在一个实施方案中,上文所述的V_H-CDR1、V_H-CDR2、V_H-CDR3、V_L-CDR1、V_L-CDR2和/或V_L-CDR3具有与SEQ ID NO:1、17、13、14、10和18所示的相应氨基酸序列共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0308] 包含含有具有SEQ ID NO:1、17、13的V_H-CDR1、V_H-CDR2和V_H-CDR3的VH以及含有具有SEQ ID NO:14、10、18的V_L-CDR1、V_L-CDR2和V_L-CDR3的VL的抗体的实例是INO-10-4。包含含有具有SEQ ID NO:1、17、13的V_H-CDR1、V_H-CDR2和V_H-CDR3的VH以及含有具有SEQ ID NO:14、10、18的V_L-CDR1、V_L-CDR2和V_L-CDR3的VL的抗原结合抗体片段的实例是Fab片段INO-10-F4(或F4)。

[0309] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0310] VH,所述VH包含三个以下CDR:

[0311] V_H-CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1),

[0312] V_H-CDR2:RIDPAGGRKYAPKVQG(SEQ ID NO:19),和

[0313] V_H-CDR3:HYGGTMDY(SEQ ID NO:8);和

[0314] VL,所述VL包含三个以下CDR:

[0315] V_L-CDR1:RASQSVSNYGISFLN(SEQ ID NO:14),

[0316] V_L-CDR2:AAEYQGR(SEQ ID NO:20),和

[0317] V_L-CDR3:QQSSNPY(T)T(SEQ ID NO:18)。

[0318] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、19、8的V_H-CDR1、V_H-CDR2和/或V_H-CDR3中的任一个和/或具有SEQ ID NO:14、20、18的V_L-CDR1、V_L-CDR2和/或V_L-CDR3中的任一个可以表征为,具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。换句话说,在一个实施方案中,上文所述的V_H-CDR1、V_H-CDR2、V_H-CDR3、V_L-CDR1、V_L-CDR2和/或V_L-CDR3具有与SEQ ID NO:1、19、8、14、20和18所示的相应氨基酸序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0319] 包含含有具有SEQ ID NO:1、19、8的V_H-CDR1、V_H-CDR2和V_H-CDR3的VH以及含有具有SEQ ID NO:14、20、18的V_L-CDR1、V_L-CDR2和V_L-CDR3的VL的抗体的实例是INO-10-5。包含含有具有SEQ ID NO:1、19、8的V_H-CDR1、V_H-CDR2和V_H-CDR3的VH以及含有具有SEQ ID NO:14、20、18的V_L-CDR1、V_L-CDR2和V_L-CDR3的VL的抗原结合抗体片段的实例是Fab片段INO-10-F5(或F5)。

[0320] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0321] VH,所述VH包含三个以下CDR:

[0322] $-V_H$ -CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1),

[0323] $-V_H$ -CDR2:RIDPAGGRTKYAPKVKG(SEQ ID NO:17),和

[0324] $-V_H$ -CDR3:HRGGTMDY(SEQ ID NO:13);和

[0325] VL,所述VL包含三个以下CDR:

[0326] $-V_L$ -CDR1:RASQSVSNYGISFLN(SEQ ID NO:14),

[0327] $-V_L$ -CDR2:AAEYRAR(SEQ ID NO:21),和

[0328] $-V_L$ -CDR3:QQSSNPYPT(SEQ ID NO:18)。

[0329] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、17、13的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和/或 V_H -CDR3中的任一个和/或具有SEQ ID NO:14、21、18的 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和/或 V_L -CDR3中的任一个可以表征为,具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。换句话说,在一个实施方案中,上文所述的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2、 V_H -CDR3、 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和/或 V_L -CDR3具有与SEQ ID NO:1、17、13、14、21和18所示的相应氨基酸序列共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0330] 包含含有具有SEQ ID NO:1、17、13的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和 V_H -CDR3的VH以及含有具有SEQ ID NO:14、21、18的 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和 V_L -CDR3的VL的抗体的实例是INO-10-6。包含含有具有SEQ ID NO:1、17、13的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和 V_H -CDR3的VH以及含有具有SEQ ID NO:14、21、18的 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和 V_L -CDR3的VL的抗原结合抗体片段的实例是Fab片段INO-10-F6(或F6)。

[0331] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0332] VH,所述VH包含三个以下CDR:

[0333] $-V_H$ -CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1),

[0334] $-V_H$ -CDR2:RIDPANGNTKYAPKVQG(SEQ ID NO:22),和

[0335] $-V_H$ -CDR3:HYGSTMDY(SEQ ID NO:23);和

[0336] VL,所述VL包含三个以下CDR:

[0337] $-V_L$ -CDR1:RASESVDNYGISFMN(SEQ ID NO:24),

[0338] $-V_L$ -CDR2:AASNQGS(SEQ ID NO:25),和

[0339] $-V_L$ -CDR3:QQSKEVPWT(SEQ ID NO:26)。

[0340] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、22、23的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和/或 V_H -CDR3中的任一个和/或具有SEQ ID NO:24-26的 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和/或 V_L -CDR3中的任一个可以表征为,具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。换句话说,在一个实施方案中,上文所述的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2、 V_H -CDR3、 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和/或 V_L -CDR3具有与SEQ ID NO:1、22、23和24-26所示的相应氨基酸序列共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0341] 包含含有具有SEQ ID NO:1、22、23的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和 V_H -CDR3的VH以及含有具有SEQ ID NO:24-26的 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和 V_L -CDR3的VL的抗体的实例是INO-10-1。包含含有具有SEQ ID NO:1、22、23的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2和 V_H -CDR3的VH以及含有具有SEQ ID NO:24-26的 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和 V_L -CDR3的VL的抗原结合抗体片段的实例是Fab片段INO-10-F1(或

F1)。

[0342] 在一个实施方案中,所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0343] VH,所述VH包含三个以下CDR:

[0344] -V_H-CDR1:NTYIH(SEQ ID NO:1),

[0345] -V_H-CDR2:RIDPANGNTKYAPKFQG(SEQ ID NO:40),和

[0346] -V_H-CDR3:HYGSTMDY(SEQ ID NO:23);和

[0347] VL,所述VL包含三个以下CDR:

[0348] -V_L-CDR1:RASESVDNYGISFMN(SEQ ID NO:24),

[0349] -V_L-CDR2:AASNQGS(SEQ ID NO:25),和

[0350] -V_L-CDR3:QQSKEVPWT(SEQ ID NO:26)。

[0351] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、40、23的V_H-CDR1、V_H-CDR2和/或V_H-CDR3中的任一个和/或具有SEQ ID NO:24-26的V_L-CDR1、V_L-CDR2和/或V_L-CDR3中的任一个可以表征为,具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。换句话说,在一个实施方案中,上文所述的V_H-CDR1、V_H-CDR2、V_H-CDR3、V_L-CDR1、V_L-CDR2和/或V_L-CDR3具有与SEQ ID NO:1、40、23和24-26所示的相应氨基酸序列共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0352] 包含含有具有SEQ ID NO:1、40、23的V_H-CDR1、V_H-CDR2和V_H-CDR3的VH以及含有具有SEQ ID NO:24-26的V_L-CDR1、V_L-CDR2和V_L-CDR3的VL的抗体的实例是INO-10。包含含有具有SEQ ID NO:1、40、23的V_H-CDR1、V_H-CDR2和V_H-CDR3的VH以及含有具有SEQ ID NO:24-26的V_L-CDR1、V_L-CDR2和V_L-CDR3的VL的抗原结合抗体片段的实例是Fab片段INO-10-F。

[0353] 根据一个实施方案,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含重链的可变区(VH),所述VH包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32和SEQ ID NO:41。

[0354] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:41和与SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32或SEQ ID NO:41具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0355] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32和SEQ ID NO:41,其中有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32和SEQ ID NO:41,其中有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代,其中所述氨基酸取代不发生在三个CDR的任一个中。

[0356] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH具有与SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32和/或SEQ ID NO:41共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH具有与SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32和/或SEQ ID NO:41的框架区(即非CDR区)的氨基酸序列共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的氨基酸序列。

[0357] 根据一个实施方案,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32。

[0358] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32和与SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31或SEQ ID NO:32具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0359] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32,其中有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32,其中有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代,其中所述氨基酸取代不发生在三个CDR的任一个中。

[0360] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH具有与SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和/或SEQ ID NO:32共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH具有与SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和/或SEQ ID NO:32的框架区(即非CDR区)的氨基酸序列共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的氨基酸序列。

[0361] 根据一个实施方案,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含轻链的可变区(VL),所述VL包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38和SEQ ID NO:42。

[0362] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:42和与SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:42具

有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0363] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38和SEQ ID NO:42,其中有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38和SEQ ID NO:42,其中有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代,其中所述氨基酸取代不发生在三个CDR的任一个中。

[0364] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL具有与SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38和/或SEQ ID NO:42共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL具有与SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38和/或SEQ ID NO:42的框架区(即非CDR区)的氨基酸序列共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的氨基酸序列。

[0365] 根据一个实施方案,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38。

[0366] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38和与SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:38具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0367] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38,其中有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38,其中有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代,其中所述氨基酸取代不发生在三个CDR的任一个中。

[0368] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL具有与SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37和/或SEQ ID NO:38共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸

序列。在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL具有与SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37和/或SEQ ID NO:38的框架区(即非CDR区)的氨基酸序列共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的氨基酸序列。

[0369] 根据一个实施方案,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0370] -重链的可变区(VH),所述VH包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:41和与SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32或SEQ ID NO:41具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和

[0371] -轻链的可变区(VL),所述VL包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:42和与SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:42具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0372] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0373] -VH,所述VH包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32和SEQ ID NO:41;或者VH,所述VH具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32或SEQ ID NO:41的框架区(即非CDR区)共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和

[0374] -VL,所述VL包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38和SEQ ID NO:42;或者VL,所述VL具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:42的框架区(即非CDR区)共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列。

[0375] 根据一个实施方案,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0376] -VH,所述VH包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32和与SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31或SEQ ID NO:32具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和

[0377] -VL,所述VL包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38和与SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:38具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0378] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0379] -VH,所述VH包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32;或者VH,所述VH具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31或SEQ ID NO:32的框架区(即非CDR区)共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和

[0380] -VL,所述VL包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、和SEQ ID NO:38;或者VL,所述VL具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:38的框架区(即非CDR区)共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列。

[0381] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0382] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:27或与SEQ ID NO:27具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:27的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和

[0383] -VL,所述VL包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:42和与SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:42具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:42的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列。

[0384] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0385] -VH,所述VH包含选自包含以下或由以下组成的组的序列或由这些序列组成:SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:41和与SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32或SEQ ID NO:41具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32或SEQ ID NO:41的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和

[0386] -VL,所述VL包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:33或与SEQ ID NO:33具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:33的框架区共

有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列。

[0387] 根据一个实施方案,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0388] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:27或与SEQ ID NO:27具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:27的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和VL,所述VL包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:33或与SEQ ID NO:33具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有与SEQ ID NO:33的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;或者

[0389] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:28或与SEQ ID NO:28具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有与SEQ ID NO:28的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和VL,所述VL包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:34或与SEQ ID NO:34具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有与SEQ ID NO:34的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;或者

[0390] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:29或与SEQ ID NO:29具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有与SEQ ID NO:29的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和VL,所述VL包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:35或与SEQ ID NO:35具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有与SEQ ID NO:35的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;或者

[0391] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:30或与SEQ ID NO:30具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有与SEQ ID NO:30的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和VL,所述VL包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:36或与SEQ ID NO:36具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有与SEQ ID NO:36的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;或者

[0392] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:31或与SEQ ID NO:31具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有与SEQ ID NO:31的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和VL,所述VL包含以下序列或由以下

序列组成:SEQ ID NO:37或与SEQ ID NO:37具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有与SEQ ID NO:37的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;或者

[0393] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:32或与SEQ ID NO:32具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有与SEQ ID NO:32的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和VL,所述VL包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:38或与SEQ ID NO:38具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有与SEQ ID NO:38的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;或者

[0394] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:41或与SEQ ID NO:41具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有与SEQ ID NO:41的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和VL,所述VL包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:42或与SEQ ID NO:42具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有与SEQ ID NO:42的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列。

[0395] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0396] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:27或与SEQ ID NO:27具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:27的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和

[0397] -VL,所述VL包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:33或与SEQ ID NO:33具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:33的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列。

[0398] 此类抗体的一个实例是IN0-10-3(或MAB3)。此类抗原结合抗体片段的实例是Fab片段IN0-10-F3(或F3)。

[0399] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0400] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:28或与SEQ ID NO:28具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:28的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和

[0401] -VL,所述VL包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:34或与SEQ ID NO:34具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:34的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列。

[0402] 此类抗体的一个实例是INO-10-2(或MAB2)。此类抗原结合抗体片段的实例是Fab片段INO-10-F2(或F2)。

[0403] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0404] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:29或与SEQ ID NO:29具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:29的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和

[0405] -VL,所述VL包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:35或与SEQ ID NO:35具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:35的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列。

[0406] 此类抗体的一个实例是INO-10-4(或MAB4)。此类抗原结合抗体片段的实例是Fab片段INO-10-F4(或F4)。

[0407] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0408] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:30或与SEQ ID NO:30具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:30的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和

[0409] -VL,所述VL包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:36或与SEQ ID NO:36具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:36的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列。

[0410] 此类抗体的一个实例是INO-10-5(或MAB5)。此类抗原结合抗体片段的实例是Fab片段INO-10-F5(或F5)。

[0411] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0412] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:31或与SEQ ID NO:31具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:31的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和

[0413] -VL,所述VL包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:37或与SEQ ID NO:37具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:37的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列。

[0414] 此类抗体的一个实例是INO-10-6(或MAB6)。此类抗原结合抗体片段的实例是Fab片段INO-10-F6(或F6)。

[0415] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0416] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:32或与SEQ ID NO:32具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:32的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和

[0417] -VL,所述VL包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:38或与SEQ ID NO:38具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:38的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列。

[0418] 此类抗体的一个实例是INO-10-1(或MAB1)。此类抗原结合抗体片段的实例是Fab片段INO-10-F1(或F1)。

[0419] 在一个实施方案中,抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段包含:

[0420] -VH,所述VH包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:41或与SEQ ID NO:41具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VH,所述VH具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:41的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列;和

[0421] -VL,所述VL包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:42或与SEQ ID NO:42具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;或者VL,所述VL具有以下序列、包含以下序列或由以下序列组成:与SEQ ID NO:42的框架区共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的框架区的序列。

[0422] 此类抗体的一个实例是INO-10。此类抗原结合抗体片段的实例是Fab片段INO-10-F。

[0423] 本发明还涉及包含本文所述的抗体或其抗原结合片段的融合蛋白。例如,所述融合蛋白可包含天然长半衰期的蛋白或蛋白结构域(例如,人血清白蛋白)。

[0424] 在一个实施方案中,所述融合蛋白包含本文所述的抗体或其抗原结合片段和HSA(人血清白蛋白)。在一个实施方案中,HSA包含序列SEQ ID NO:59或由序列SEQ ID NO:59组成。在一个实施方案中,HSA包含序列SEQ ID NO:60或由序列SEQ ID NO:60组成。在一个实施方案中,HSA因此与本文所述的抗体或其抗原结合片段融合(或偶联),任选地通过接头。

[0425] 在一个实施方案中,HSA通过短接头,例如由5个或更少个氨基酸组成的接头(例如,由3、4或5个氨基酸组成的接头)与本文所述的抗体或其抗原结合片段融合(或偶联)。在一个实施方案中,HSA通过长接头,例如由10个或更多个氨基酸组成的接头(例如,由12、13、14、15或16个氨基酸组成的接头)与本文所述的抗体或其抗原结合片段融合(或偶联)。

[0426] 在一个实施方案中,HSA与抗体或其抗原结合片段的重链融合(或偶联)。在一个实施方案中,HSA与抗体或其抗原结合片段的截短的重链的CH1结构域融合(或偶联)。在一个实施方案中,HSA与抗体或其抗原结合片段的重链(或截短的重链)的C末端融合(或偶联)。在一个实施方案中,HSA与抗体或其抗原结合片段的轻链融合(或偶联)。在一个实施方案中,HAS与抗体或其抗原结合片段的轻链的N末端融合(或偶联)。

[0427] 在一个实施方案中,本文所述的抗体或其抗原结合片段被修饰,例如用于增加体内半衰期,例如在血清中的半衰期。修饰抗体的方法是本领域公知的,包括但不限于与重复的化学部分(例如聚乙二醇(PEG))结合、与人血清白蛋白结合等。

[0428] 本发明的另一个目的是编码本发明的抗体或其抗原结合片段的分离的核酸。本发明的另一个目的是编码本文所述的融合蛋白的分离的核酸。

[0429] 如本文所用,“分离的核酸”意指与天然地伴随其的其他核酸序列(特别是其他基因组DNA序列)和蛋白或复合物(例如核糖体和聚合酶)基本上分离的核酸。该术语涵盖已从其天然存在的环境中移出的核酸序列,并且包括重组或克隆的DNA或RNA分离物和化学合成的类似物或通过异源系统生物合成的类似物。基本上纯的核酸包括核酸的分离形式。

[0430] 当然,这指的是最初分离的核酸,并且不排除后来人为添加到分离的核酸中的基因或序列。

[0431] 在一个实施方案中,分离的核酸是纯化的。

[0432] 在一个实施方案中,将分离的核酸纯化至:(i)以核酸重量计大于80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%或更高,并且最优选以重量计大于96%、97%、98%或99%,通过吸光度方法或荧光方法(例如,通过测量260nm和280nm处的吸光度比率(A260/280))测定;或(ii)均质性,通过琼脂糖凝胶电泳和使用嵌入剂如溴化乙锭、SYBR Green、GelGreen等显示。

[0433] 在一个实施方案中,核酸编码本发明的抗体或其抗原结合片段的至少重链可变区(VH)和/或轻链可变区(VL)。在一个实施方案中,核酸可以编码本发明的抗体或其抗原结合片段的可变区和恒定区。在一个实施方案中,核酸可以在单独的核酸上或在相同的核酸分子上编码本发明的抗体或其抗原结合片段的重链和轻链。

[0434] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VH的序列或由该序列组成。

[0435] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VH的序列或由该序列组成,其中所述序列选自包含以下或由以下组成的组:SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52和与SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51或SEQ ID NO:52共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0436] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VL的序列或由该序列组成。

[0437] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VL的序列或由该序列组成,其中所述序列选自包含以下或由以下组成的组:SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58和与SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57或SEQ ID NO:58共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0438] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0439] -编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VH的序列;和

[0440] -编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VL的序列。

[0441] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0442] -选自包含以下或由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52和与SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51或SEQ ID NO:52共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和

[0443] -选自包含以下或由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58和与SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57或SEQ ID NO:58共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0444] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0445] -编码VH的序列,其包含SEQ ID NO:47所示的核酸序列或与SEQ ID NO:47共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的核酸序列,或由所述序列组成;和

[0446] -编码VL的序列,其包含SEQ ID NO:53所示的核酸序列或与SEQ ID NO:53共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的核酸序列,或由所述序列组成。

[0447] 在一个实施方案中,所述核酸编码INO-10-3抗体或INO-10-F3(或F3)Fab片段的VH和VL。

[0448] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0449] -编码VH的序列,其包含SEQ ID NO:48所示的核酸序列或与SEQ ID NO:48共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的核酸序列,或由所述序列组成;和

[0450] -编码VL的序列,其包含SEQ ID NO:54所示的核酸序列或与SEQ ID NO:54共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的核酸序列,或由所述序列组成。

[0451] 在一个实施方案中,所述核酸编码INO-10-2抗体或INO-10-F2(或F2)Fab片段的VH和VL。

[0452] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0453] -编码VH的序列,其包含SEQ ID NO:49所示的核酸序列或与SEQ ID NO:49共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的核酸序列,或由所述序列组成;和

[0454] -编码VL的序列,其包含SEQ ID NO:55所示的核酸序列或与SEQ ID NO:55共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的核酸序列,或由所述序列组成。

[0455] 在一个实施方案中,所述核酸编码IN0-10-4抗体或IN0-10-F4(或F4)Fab片段的VH和VL。

[0456] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0457] -编码VH的序列,其包含SEQ ID NO:50所示的核酸序列或与SEQ ID NO:50共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的核酸序列,或由所述序列组成;和

[0458] -编码VL的序列,其包含SEQ ID NO:56所示的核酸序列或与SEQ ID NO:56共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的核酸序列,或由所述序列组成。

[0459] 在一个实施方案中,所述核酸编码IN0-10-5抗体或IN0-10-F5(或F5)Fab片段的VH和VL。

[0460] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0461] -编码VH的序列,其包含SEQ ID NO:51所示的核酸序列或与SEQ ID NO:51共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的核酸序列,或由所述序列组成;和

[0462] -编码VL的序列,其包含SEQ ID NO:57所示的核酸序列或与SEQ ID NO:57共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的核酸序列,或由所述序列组成。

[0463] 在一个实施方案中,所述核酸编码IN0-10-6抗体或IN0-10-F6(或F6)Fab片段的VH和VL。

[0464] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0465] -编码VH的序列,其包含SEQ ID NO:52所示的核酸序列或与SEQ ID NO:52共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的核酸序列,或由所述序列组成;和

[0466] -编码VL的序列,其包含SEQ ID NO:58所示的核酸序列或与SEQ ID NO:58共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的核酸序列,或由所述序列组成。

[0467] 在一个实施方案中,所述核酸编码IN0-10-1抗体或IN0-10-F1(或F1)Fab片段的VH和VL。

[0468] 通常,本发明的核酸是DNA或RNA分子,其可以包含在任何合适的载体中,例如质粒、粘粒、附加体(episome)、人工染色体、噬菌体或病毒载体。

[0469] 因此,本发明的另一个目的是载体,例如表达载体,其包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的核酸。本发明的另一个目的是载体,例如表达载体,其包含编码本发明的融合蛋白的核酸。

[0470] 术语“载体”、“克隆载体”和“表达载体”是指可以将DNA或RNA序列(例如外源基因)引入宿主细胞中,从而转化宿主细胞并促进所引入的编码抗体或其抗原结合片段的序列的

表达(例如,转录和翻译)的媒介物(vehicle)。此类载体可包含调节元件,例如启动子、增强子、终止子等,以在施用于受试者后引起或指导所述抗体或其抗原结合片段的表达。在动物细胞的表达载体中使用的启动子和增强子的实例包括但不限于SV40的早期启动子和增强子、莫洛尼小鼠白血病病毒的LTR启动子和增强子、免疫球蛋白H链的启动子和增强子等。可以使用用于动物细胞的任何表达载体,只要插入并表达了编码本文所述的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段的基因即可。合适的载体的实例包括pAGE107、pAGE103、pHSG274、pKCR、pSG1 β d2-4等。质粒的其他实例包括包含复制起点的复制质粒或整合质粒,例如pUC、pcDNA、pBR等。病毒载体的其他实例包括腺病毒、逆转录病毒、疱疹病毒和AAV载体。此类重组病毒可通过本领域已知的技术产生,例如通过转染包装细胞或通过用辅助质粒或病毒瞬时转染。病毒包装细胞的典型实例包括PA317细胞、PsiCRIP细胞、GPenv+细胞、293细胞。

[0471] 在一个实施方案中,本发明的载体或表达载体包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的重链可变结构域的序列,其有效连接至调节元件。在一个实施方案中,本发明的载体或表达载体包含有效连接至调节元件的编码本发明的抗体或其抗原结合片段的轻链可变结构域的序列。

[0472] 在一个实施方案中,本发明的表达载体是单顺反子的。“单顺反子”是指单个核酸在单个表达载体中表达。在一个实施方案中,本发明的表达载体是多顺反子的。“多顺反子”是指至少两个或更多个核酸在单个表达载体中表达。

[0473] 本发明的另一个目的是包含所述载体的分离的宿主细胞。所述宿主细胞可以用于重组生产本文所述的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段。

[0474] 在一个实施方案中,宿主细胞可以是原核细胞或真核细胞,例如酵母或哺乳动物细胞。哺乳动物细胞的实例包括但不限于SV40转化的猴肾CV1系(COS-7, ATCC CRL 1651);人胚胎肾系(293或293T细胞亚型);幼仓鼠肾细胞(BHK, ATCC CCL 10);中国仓鼠卵巢细胞/-DHFR(CHO);小鼠支持细胞(TM4);小鼠骨髓瘤细胞SP2/0-AG14(ATCC CRL 1581; ATCC CRL 8287)或NS0(HPA培养物保藏号85110503);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(BRL 3A, 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;MRC 5细胞;FS4细胞;以及DSM的PERC-6细胞系。适用于这些宿主细胞中每一种的表达载体也是本领域公知的。

[0475] 需要说明的是,术语“宿主细胞”一般指培养的细胞系。已被引入编码本发明的抗hTREM1抗体或其抗原结合片段的载体或表达载体的完整人类被明确排除在“宿主细胞”的定义之外。

[0476] 本发明的另一个目的是生产和纯化本文所述的分离的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段的方法。

[0477] 在一个实施方案中,所述方法包括:

[0478] -将上文所述的重组核酸或载体在体外或离体引入感受态宿主细胞;

[0479] -在适合所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段表达的条件下,体外或离体培养用本发明的核酸或表达载体转化的宿主细胞;

[0480] -任选地,选择表达和/或分泌所述抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段的细胞;和

[0481] -回收所表达的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段。

[0482] 该重组方法是本领域公知的并且可以用于大规模生产抗体或其抗原结合片段,包括旨在用于体外、离体和/或体内治疗用途的单克隆抗体。

[0483] 在一个实施方案中,进一步纯化所表达的抗体或其抗原结合片段。纯化本发明的抗体或其抗原结合片段的方法是本领域公知的,并且包括但不限于使用抗CH1抗体、蛋白A-Sepharose、凝胶电泳、色谱、特别是亲和色谱法。

[0484] 本发明的另一个目的是包含至少一种本发明的抗体或其抗原结合片段、基本上由其组成或由其组成的组合物。

[0485] 本发明的另一个目的是包含至少一种本发明的融合蛋白、基本上由其组成或由其组成的组合物。

[0486] 本发明的另一个目的是一种组合物,其包含以下或基本上由以下组成或由以下组成:至少一种编码本发明的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的核酸,或至少一种包含该核酸的载体。

[0487] 本发明的另一个目的是药物组合物,其包含以下或基本上由以下组成或由以下组成:至少一种本发明的抗体或其抗原结合片段和至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0488] 本发明的另一个目的是药物组合物,其包含以下或基本上由以下组成或由以下组成:至少一种本发明的融合蛋白和至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0489] 本发明的另一个目的是药物组合物,其包含以下或基本上由以下组成或由以下组成:至少一种编码本发明的抗hTREM-1抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的核酸或至少一种包含该核酸的载体,和至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0490] 如本文所用,对于组合物或药物组合物,“基本上由.....组成”是指所述至少一种抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或载体是所述组合物或药物组合物内具有生物活性的唯一治疗剂或药剂。

[0491] 术语“药学上可接受的赋形剂”或“药学上可接受的载体”包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣剂、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。当施用于受试者、优选人时,所述赋形剂或载体不会产生有害反应、过敏反应或其他不良反应。药学上可接受的赋形剂或载体是指任何类型的无毒固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、封装材料或制剂助剂。对于人类施用,制剂应当满足监管机构例如FDA(美国食品和药物管理局)或EMA(欧洲药品管理局)所要求的无菌、热原性以及一般安全和纯度标准。

[0492] 可用于组合物或药物组合物中的药学上可接受的赋形剂或载体包括但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白如人血清白蛋白、缓冲物质如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物、水、盐或电解质例如硫酸鱼精蛋白(protamine sulfate)、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质(例如羧甲基纤维素钠)、聚乙二醇、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。

[0493] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含对于适合注射至受试者的制剂而言是药学上可接受的媒介物。这些媒介物特别可以是等渗的无菌的盐溶液(磷酸一钠或磷酸二钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙或氯化镁等或这些盐的混合物),或干燥的、尤其是冷冻干燥的组合物,其根据情况在添加无菌水或生理盐水后则可以配制可注射溶液。

[0494] 本发明的另一个目的是一种包含至少一种本发明的抗体或其抗原结合片段、基本上由其组成或由其组成的药物。

[0495] 本发明的另一个目的是一种包含至少一种本发明的融合蛋白、基本上由其组成或由其组成的药物。

[0496] 本发明的另一个目的是一种药物,其包含以下或基本上由以下组成或由以下组成:至少一种编码本发明的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的核酸,或至少一种包含该核酸的载体。

[0497] 本发明的另一个目的是包含至少一种本发明的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白且任选地包含使用说明书的试剂盒。

[0498] “试剂盒”意指包含至少一种本发明的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的任何制品(例如,包装或容器)。所述试剂盒可以作为用于执行本文所述的方法的单元来推广、分发或销售。

[0499] 本发明的另一个目的是本发明的抗体或其抗原结合片段用作药物。

[0500] 本发明的另一个目的是本发明的融合蛋白用作药物。

[0501] 本发明的另一个目的是编码本发明的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的核酸或包含该核酸的载体,用作药物。

[0502] 本发明的另一个目的是本文所述的组合物、药物组合物或药物,用作药物。

[0503] 为了在有需要的受试者中使用,所述组合物、药物组合物或药物将经配制用于向受试者施用。本发明的组合物、药物组合物或药物可以肠胃外、通过注射、通过输注、通过吸入喷雾、经口、经直肠、经鼻、局部或通过植入的储库施用。因此,本文使用的术语施用包括皮下、静脉内、肌内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、病灶内和颅内注射或输注技术。

[0504] 适合注射的形式的实例包括但不限于溶液,例如无菌水性溶液、凝胶、分散液、乳液、悬液、适合在使用前添加液体而制备溶液或悬液的固体形式(例如粉末)、脂质体形式等。

[0505] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物用于以治疗有效量或剂量施用于有需要的受试者。

[0506] 应当理解,本发明的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、表达载体、组合物、药物组合物或药物的每日总用量将由主治医师在合理的医学判断的范围内确定。针对任何特定受试者的具体治疗有效量或剂量将取决于多种因素,包括正在治疗的疾病和疾病的严重程度;所用抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物的活性;受试者的年龄、体重、整体健康状况、性别和饮食;所用的特定抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、表达载体、组合物、药物组合物或药物的施用时间、施用途径和排泄速率;治疗的持续时间;与所使用的特定抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物组合或同时使用的药物;以及医学领域公知的类似因素。例如,治疗剂的起始剂量的水平低于实现期望的治疗效果所需的水平并逐渐增加剂量直至实现期望的效果,这在本领域技术范围内。每次治疗所需的总剂量可以通过多剂量或单剂量施用。

[0507] 在一个实施方案中,用于施用抗体、其抗原结合片段或融合蛋白的方案或剂量可以根据各种参数,特别是根据所使用的施用模式、相关病理学或所需的治疗持续时间进行调整。例如,所述抗体、其抗原结合片段或融合蛋白的起始剂量的水平低于实现期望的治疗

效果所需的水平并逐渐增加剂量直至实现期望的效果,这在本领域技术范围内。所述抗体、抗原结合片段或融合蛋白的每日剂量可以在每个成人每天0.01至1000mg的宽范围内变化。组合物、药物组合物或药物可以含有0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、25.0、50.0、100、250和500mg的治疗剂,用于针对所治疗的受试者根据症状调整剂量。组合物、药物组合物或药物通常可包含例如约0.01mg至约500mg的治疗剂。治疗剂的治疗有效量可以例如以每天0.0002mg/kg至约20mg/kg体重的剂量水平提供。例如,如上所述的组合物、药物组合物或药物中存在的抗体、其抗原结合片段或融合蛋白可以以1mg/mL至约100mg/mL的浓度,例如1mg/mL、5mg/mL、10mg/mL、50mg/mL或100mg/mL的浓度提供。在一个实施方案中,所述抗体、其抗原结合片段或融合蛋白以约10mg/mL的浓度在100mg (10mL) 或500mg (50mL) 一次性小瓶中提供。应当理解,这些剂量是示例性的,并且可以考虑组合物、药物组合物或药物中特定抗体、其抗原结合片段或融合蛋白的亲合力和耐受性来调整最佳剂量,并且必须在临床试验中确定。

[0508] 本发明涉及本文所述的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白,用于在有需要的受试者中治疗选自以下的疾病:炎性或自身免疫性疾病;心血管疾病;癌症,特别是实体癌;以及感染性疾病,特别是细菌感染或病毒感染。

[0509] 本发明还涉及编码本文所述的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的核酸,或包含本文所述的所述核酸的载体,用于在有需要的受试者中治疗选自以下的疾病:炎性或自身免疫性疾病;心血管疾病;癌症,特别是实体癌;以及感染性疾病,特别是细菌感染或病毒感染。

[0510] 本发明进一步涉及本文所述的组合物、药物组合物或药物,用于在有需要的受试者中治疗选自以下的疾病:炎性或自身免疫性疾病;心血管疾病;癌症,特别是实体癌;以及感染性疾病,特别是细菌感染或病毒感染。

[0511] 本发明涉及一种在有需要的受试者中治疗选自以下的疾病的方法:炎性或自身免疫性疾病;心血管疾病;癌症,特别是实体癌;以及感染性疾病,特别是细菌感染或病毒感染,其中所述方法包括向受试者施用至少一种本文所述的分离的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白。

[0512] 本发明还涉及一种在有需要的受试者中治疗选自以下的疾病的方法:炎性或自身免疫性疾病;心血管疾病;癌症,特别是实体癌;以及感染性疾病,特别是细菌感染或病毒感染,其中所述方法包括向受试者施用至少一种编码本文所述的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的核酸,或至少一种包含本文所述的所述核酸的载体。

[0513] 本发明还涉及一种在有需要的受试者中治疗选自以下的疾病的方法:炎性或自身免疫性疾病;心血管疾病;癌症,特别是实体癌;以及感染性疾病,特别是细菌感染或病毒感染,其中所述方法包括向受试者施用本文所述的组合物、药物组合物或药物。

[0514] 本发明进一步涉及一种药物组合物,其用于在有需要的受试者中治疗选自以下的疾病:炎性或自身免疫性疾病;心血管疾病;癌症,特别是实体癌;以及感染性疾病,特别是细菌感染或病毒感染,其中所述药物组合物包含至少一种以下:

[0515] -本文所述的抗体或其抗原结合片段;

[0516] -本文所述的融合蛋白;

[0517] -编码本文所述的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的核酸;或者

[0518] -包含该核酸的载体；

[0519] 和任选的至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0520] 本发明还涉及本文所述的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白在制备用于在有需要的受试者中治疗选自以下的疾病的药物中的用途：炎性或自身免疫性疾病；心血管疾病；癌症，特别是实体癌；以及感染性疾病，特别是细菌感染或病毒感染。

[0521] 本发明进一步涉及编码本文所述的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的核酸或包含该核酸的载体在制备用于在有需要的受试者中治疗选自以下的疾病的药物中的用途：炎性或自身免疫性疾病；心血管疾病；癌症，特别是实体癌；以及感染性疾病，特别是细菌感染或病毒感染。

[0522] 在一个实施方案中，待治疗的疾病是炎性疾病。如本文所用，术语“炎性疾病”是指以存在炎症为特征的疾病和病症。炎症的症状可以包括慢性疼痛、肿胀、发红、关节和肌肉僵硬、受影响区域的功能和运动丧失。炎性疾病的实例包括炎性肠病 (IBD)、克罗恩病、类风湿性关节炎、银屑病、系统性红斑狼疮、血管炎、脓毒症、全身炎症性反应综合征 (SIRS)、多发性硬化症、冠状动脉疾病、慢性阻塞性肺病、间质性肺病、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病和哮喘。在一个实施方案中，炎性疾病是结缔组织疾病或病症。炎性结缔组织疾病或病症的实例包括类风湿性关节炎、硬皮病和狼疮。

[0523] 在一个实施方案中，待治疗的疾病是自身免疫性疾病。自身免疫性疾病的实例包括炎性肠病 (IBD)、类风湿性关节炎、银屑病、系统性红斑狼疮、血管炎、I型糖尿病、格雷夫氏病、多发性硬化症和自身免疫性心肌炎。

[0524] 在一个实施方案中，待治疗的疾病是炎性或自身免疫性疾病。

[0525] 在一个实施方案中，所述炎性或自身免疫性疾病选自炎性肠病 (IBD) (包括ALPI相关IBD, 单基因极早发IBD)、克罗恩病、溃疡性结肠炎、肠易激综合征、纤维化例如肺纤维化或肝纤维化、类风湿性关节炎、幼年特发性关节炎、银屑病、银屑病性关节炎、系统性红斑狼疮、狼疮性肾炎、血管炎、非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD)、非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)、酒精性肝炎、全身炎症性反应综合征 (SIRS)、脓毒症、脓毒性休克、I型糖尿病、格雷夫氏病、多发性硬化症、自身免疫性心肌炎、川崎病、冠状动脉疾病、慢性阻塞性肺病、间质性肺病、自身免疫性甲状腺炎、硬皮病、系统性硬化症、骨关节炎、脊柱炎、强直性脊柱炎、特应性皮炎、白癜风、黄斑变性、视网膜变性、葡萄膜炎、化脓性汗腺炎、牙龈炎症和疾病、移植物抗宿主病、干燥综合征、自身免疫性肾炎、古德帕斯彻综合征、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、过敏和哮喘。如本文所用，“炎性肠病 (IBD)” 包括单基因多基因IBD、单基因IBD、极早发IBD、早发IBD和难治性IBD。

[0526] 在一个实施方案中，所述炎性或自身免疫性疾病选自炎性肠病 (IBD)、克罗恩病、溃疡性结肠炎、肠易激综合征、纤维化、肺纤维化、肝纤维化、非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)、酒精性肝炎、类风湿性关节炎、银屑病、银屑病性关节炎、系统性红斑狼疮、狼疮性肾炎、血管炎、全身炎症性反应综合征 (SIRS)、脓毒症、脓毒性休克、I型糖尿病、格雷夫氏病、多发性硬化症、自身免疫性心肌炎、川崎病、冠状动脉疾病、慢性阻塞性肺病、间质性肺病、自身免疫性甲状腺炎、硬皮病、系统性硬化症、骨关节炎、特应性皮炎、白癜风、移植物抗宿主病、干燥综合征、自身免疫性肾炎、古德帕斯彻综合征、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、过敏和哮喘。

[0527] 在一个实施方案中,所述炎性或自身免疫性疾病选自炎性肠病(IBD)、克罗恩病、溃疡性结肠炎、肠易激综合征、类风湿性关节炎、银屑病、银屑病性关节炎、系统性红斑狼疮、狼疮性肾炎、血管炎、系统炎症性反应综合征(SIRS)、脓毒症、脓毒性休克、I型糖尿病、格雷夫氏病、多发性硬化症、自身免疫性心肌炎、川崎病、冠状动脉病、慢性阻塞性肺病、间质性肺病、自身免疫性甲状腺炎、硬皮病、系统性硬化症、骨关节炎、特应性皮炎、白癜风、移植物抗宿主病、干燥综合征、自身免疫性肾炎、古德帕斯彻综合征、慢性炎症脱髓鞘性多发性神经病、过敏和哮喘。

[0528] 在一个实施方案中,待治疗的疾病是心血管疾病。心血管疾病的实例包括心肌梗塞、急性心肌梗塞、脑梗塞、缺血、冠心病、急性冠状动脉综合征、卒中、动脉瘤(aneurysm)、稳定型心绞痛、劳累性心绞痛、心肌病、高血压性心脏病、慢性心力衰竭、急性心力衰竭、肺心病(cor pulmonale)、心律失常、炎症性心脏病(如心内膜炎和心肌炎)、血管炎、外周动脉疾病、SIRS相关的心肌和血管功能障碍、动脉粥样硬化。在一个实施方案中,待治疗的疾病是癌症。如本文所用,术语“癌症”通常是指由异常细胞不受控制的分裂引起的疾病。术语“癌症”特别是指与肿瘤发生相关的任何疾病。术语“癌症”涵盖实体瘤和血癌,并且涵盖原发性癌症和转移性癌症。癌症的实例包括癌(carcinoma)、腺癌(adenocarcinoma)、软组织癌、肉瘤(sarcoma)、畸胎瘤、黑色素瘤、白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤和脑癌。在一个实施方案中,癌症是免疫逃避的。在一个实施方案中,癌症是免疫反应性的。在一个实施方案中,癌症是黑色素瘤、肾脏癌或肾癌、肝胆癌、头颈鳞状细胞癌(HNSC)、胰腺癌、结肠癌、膀胱癌、尿路上皮癌、胶质母细胞瘤、前列腺癌、肺癌、乳(乳腺)癌、卵巢癌、胃癌、食道癌、子宫内膜癌、宫颈癌、睾丸癌、白血病、淋巴瘤或间皮瘤。在一个实施方案中,癌症是结肠癌、胰腺癌或乳腺癌。

[0529] 在一个实施方案中,待治疗的疾病是感染性疾病。本文所用,术语“感染性疾病(infectious disease)”是指由感染引起的病理状况或病症。感染性疾病的实例包括细菌性疾病(或细菌感染)、病毒性疾病(或病毒感染)、真菌性疾病(或真菌感染)和寄生虫病(或寄生虫感染),它们是分别由细菌、病毒、真菌和寄生虫引起的感染性疾病。细菌性疾病的实例包括大肠杆菌感染。

[0530] 在一个实施方案中,待治疗的疾病选自包含以下或由以下组成的组:动脉瘤、斯蒂尔病(Still's disease)(特别是成人发作性斯蒂尔病或AOSD)、烧伤、CAR-T细胞治疗后的细胞因子释放综合征(CRS)、CAR-T细胞治疗后的免疫效应细胞相关神经毒性综合征(ICANS)、囊性纤维化、子宫内膜炎、家族性地中海热、痛风、肌肉芽肿、特发性肉芽肿性乳腺炎、肾脏疾病(包括无菌性慢性肾损伤、肾病)、肝脏疾病(非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、酒精性肝炎)、肺部疾病(急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、结节病)、肥胖(及相关疾病)、胰腺炎、阿尔茨海默病、帕金森病、卒中、创伤和心血管疾病(CVD)。在一个实施方案中,待治疗的疾病是炎性肠病(IBD)、ALPI相关IBD、单基因极早发IBD、克罗恩病或溃疡性结肠炎。

[0531] 在一个实施方案中,本文所述的抗体、其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物将与至少一种另外的治疗活性剂或治疗一同待施用、用于施用或改造用于施用。本文所述的抗体、其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物可以与所述至少一种另外的治疗活性剂或治疗同时、单独或顺序施用。在一个实施方案中,如本文所述的抗体、其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、载体、药物与至少一种另

外的治疗活性剂或治疗组合待施用、用于施用或经改造用于施用,例如在组合制剂、组合物、药物组合物或药物中。

[0532] 可以与本文所述的抗体、其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物一起使用的治疗活性剂的实例包括抗-TNF α (例如阿达木单抗(adalimumab)、依那西普(etanercept)、英夫利昔单抗(infliximab)或赛妥珠单抗(certolizumab))、抗白细胞介素(IL)-12/23(如乌司奴单抗(ustekinumab))、抗整合素(如维多珠单抗(vedolizumab)或那他珠单抗(natalizumab))、JAK抑制剂(如托法替尼(tofacitinib)、巴瑞替尼(baricitinib)或菲戈替尼(filgotinib))、抗PD-1抗体(例如派姆单抗(pembrolizumab)、纳武单抗(nivolumab)或西米普利单抗(cemiplimab))、抗PD-L1抗体(例如度伐利尤单抗(durvalumab)、阿维单抗(avelumab)或阿替利珠单抗(atezolizumab))、抗PD-L2抗体和抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗(ipilimumab))。可与本文所述的抗体、其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物一起使用的治疗的实例包括PD-1/PD-L1/PD-L2阻断治疗、CTLA4阻断治疗、广义检查点阻断治疗(其中T细胞上的抑制性分子被阻断)、过继性T细胞治疗、CAR T细胞治疗、细胞治疗(例如树突细胞治疗)和化疗。

[0533] 在一个实施方案中,治疗的疾病是如上所述的炎性疾病,例如如上所述的炎性肠病(IBD)或类风湿性关节炎,并且本文所述的抗体、其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物与至少一种另外的治疗活性剂一起待施用、用于施用或经改造用于施用,所述至少一种另外的治疗活性剂选自包含以下或由以下组成的组:抗TNF α 、抗IL-12/23、抗-整合素和JAK抑制剂。

[0534] 在一个实施方案中,待治疗的疾病是如上所述的癌症,并且本文所述的抗体、其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物与至少一种另外的治疗活性剂或治疗一起待施用、用于施用或经改造用于施用,所述至少一种另外的治疗活性剂或治疗选自包含以下或由以下组成的组:PD-1/PD-L1/PD-L2阻断治疗、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗PD-L2抗体、CTLA4阻断治疗、抗CTLA-4抗体、阻断T细胞上的抑制性分子的广义检查点阻断治疗、过继性T细胞治疗、CAR T细胞治疗、细胞治疗如树突细胞治疗和化疗。

[0535] 在一个实施方案中,在测量生物样品中他/她的TREM-1、特别是可溶性TREM-1(sTREM-1)的水平后,鉴定或选择需要治疗的受试者。

[0536] 在一个实施方案中,通过测量生物样品中他/她的TREM-1、特别是sTREM-1的水平来监测需要治疗的受试者。所述监测可以包括监测受试者中疾病的进展、监测受试者对治疗的反应(即,对本文所述的抗体、其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物的反应)和/或监测受试者中治疗的功效(即,本文所述的抗体、其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物的功效)。

[0537] 如本文所用,“sTREM-1”表示“髓样细胞上表达的可溶性触发受体-1”,是指缺乏TREM-1的跨膜和胞内结构域的TREM-1的可溶形式。在一个实施方案中,sTREM-1因此对应于TREM-1的胞外结构域的可溶形式。在一个实施方案中,sTREM-1对应于从髓样细胞、特别是从活化的髓样细胞的膜脱落的截短的TREM-1。在一个实施方案中,sTREM-1具有对应于SEQ ID NO:43的氨基酸21至205的氨基酸序列。在一个实施方案中,sTREM-1具有对应于SEQ ID NO:43的氨基酸31至205的氨基酸序列。在一个实施方案中,sTREM-1包含对应于SEQ ID NO:43的氨基酸31至137的氨基酸序列,并且具有200个氨基酸或更少、优选185个氨基酸或更少

的长度。

[0538] 如本文所用,“生物样品”是指从受试者分离、收集或收获的生物样品,并且可以包括从受试者获得的体液、细胞样品和/或组织提取物例如匀浆或溶解的组织。在一个实施方案中,本发明不包括从受试者获得生物样品。因此,在一个实施方案中,来自受试者的生物样品是先前从受试者获得的生物样品。所述生物样品在如本文所述使用之前可以保存在适当的条件下。在一个实施方案中,来自受试者的生物样品是体液样品。体液的实例包括血液、血浆、血清、淋巴液、唾液、尿液、支气管肺泡灌洗液、脑脊液、汗液或任何其他身体分泌物或其衍生物。

[0539] 如本文所使用的,术语“测量”可与术语“测定”或“检测”互换,并且意指评估来自受试者的生物样品中给定物质(即,TREM-1或sTREM-1)的存在、不存在、数量或量(其可以是有效果)。本文使用的“测量”包括推导生物样品内和受试者内所述物质(即TREM-1或sTREM-1)的定性或定量浓度(例如,血液浓度或血浆浓度)。如本文所用,“TREM-1水平”且尤其是“sTREM-1水平”中的术语“水平”是指TREM-1,特别是sTREM-1的数量、量或浓度。

[0540] TREM-1、特别是sTREM-1的水平可以通过本领域中的任何已知方法测量。用于测量表达水平例如转录水平或翻译水平的方法是本领域技术人员公知的。

[0541] 如上所述的用于测量生物样品中TREM-1、特别是sTREM-1的转录水平(即,TREM-1mRNA或cDNA、特别是sTREM-1mRNA或cDNA的水平)的方法是本领域技术人员熟知的,包括但不限于PCR、qPCR、RT-PCR、RT-qPCR、northern印迹、杂交技术例如使用微阵列及其组合,包括但不限于通过RT-PCR获得的扩增子的杂交、测序例如下二代DNA测序(NGS)或RNA-seq(也称为“全转录组鸟枪测序”)。

[0542] 用于测量TREM-1、特别是sTREM-1的翻译水平(即,TREM-1蛋白或sTREM-1蛋白的水平)的方法是本领域技术人员公知的,并且包括但不限于免疫组织化学、多重方法(如Luminex®)、免疫测定、蛋白质印迹、酶联免疫吸附测定(ELISA)、夹心ELISA、多重ELISA、基于毛细管的ELISA(如ELLA®平台)、电化学发光(ECL)也称为电产生的化学发光或电化学发光免疫测定(ECLIA)、酶联荧光测定(ELFA)、荧光联免疫吸附测定(FLISA)、酶免疫测定(EIA)、放射免疫测定(RIA)、流式细胞术(FACS)、表面等离子共振(SPR)、生物层干涉测量(BLI)、免疫色谱分析(ICA)(例如NEXUS IB10,Sphingotech)和基于质谱的方法。

[0543] 本文中列出以下序列:

[0544] -SEQ ID NO:1:NTYIH;

[0545] -SEQ ID NO:2:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKVX₄G,其中X₁是N或G,X₂是N或R,X₃是A、D或S,X₄是Q或K;

[0546] -SEQ ID NO:3:HX₅GX₆TMDY,其中X₅是Y或R,X₆是S或G;

[0547] -SEQ ID NO:4:RASX₇SVX₈NYGISFX₉N,其中X₇是E或Q,X₈是D或S,X₉是M或L;

[0548] -SEQ ID NO:5:AAX₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄,其中X₁₀是S或E,X₁₁是N或Y,X₁₂是Q或R,X₁₃是G、A或K,X₁₄是S或R;

[0549] -SEQ ID NO:6:QQSX₁₅X₁₆X₁₇PX₁₈T,其中X₁₅是K、R或S,X₁₆是E、H或N,X₁₇是V或F,X₁₈是W或Y;

[0550] -SEQ ID NO:7:RIDPAGGRTKYDPKVKG;

[0551] -SEQ ID NO:8:HYGGTMDY;

- [0552] -SEQ ID NO:9:RASESVDNYGISFLN;
[0553] -SEQ ID NO:10:AAEYRGR;
[0554] -SEQ ID NO:11:QQSRHVPYT;
[0555] -SEQ ID NO:12:RIDPAGGRTKYSPKVQG;
[0556] -SEQ ID NO:13:HRGGTMDY;
[0557] -SEQ ID NO:14:RASQSVSNYGISFLN;
[0558] -SEQ ID NO:15:AASYQKR;
[0559] -SEQ ID NO:16:QQSSNFPWT;
[0560] -SEQ ID NO:17:RIDPAGGRTKYAPKVKG;
[0561] -SEQ ID NO:18:QQSSNVPYT;
[0562] -SEQ ID NO:19:RIDPAGGRTKYAPKVQG;
[0563] -SEQ ID NO:20:AAEYQGR;
[0564] -SEQ ID NO:21:AAEYRAR;
[0565] -SEQ ID NO:22:RIDPANGNTKYAPKVQG;
[0566] -SEQ ID NO:23:HYGSTMDY;
[0567] -SEQ ID NO:24:RASESVDNYGISFMN;
[0568] -SEQ ID NO:25:AASNQGS;
[0569] -SEQ ID NO:26:QQSKEVPWT;
[0570] -SEQ ID NO:27:
[0571] EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFNIDNTYIHWVRQAPGKGLEWI
[0572] GRIDPAGGRTKYDPKVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYY
[0573] CTGHYGGTMDYWGQGLTIVTSS;
[0574] -SEQ ID NO:28:
[0575] EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFNIGNITYIHWVRQAPGKGLEWI
[0576] GRIDPAGGRTKYSPKVQGRFTISAPTSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYC
[0577] TGHRRGGTMDYWGQGLTIVTSS;
[0578] -SEQ ID NO:29:
[0579] EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFNIGNITYIHWVRQAPGKGLEW
[0580] VGRIDPAGGRTKYAPKVQGRFTISADDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTGHRGGTMDYWGQGLTIVT
SS;
[0581] -SEQ ID NO:30:
[0582] EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFNIGNITYIHWVRQAPGKGLEWI
[0583] GRIDPAGGRTKYAPKVQGRFTISADTSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYY
[0584] CTGHYGGTMDYWGQGLTIVTSS;
[0585] -SEQ ID NO:31:
[0586] EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFNIGNITYIHWVRQAPGKGLEW
[0587] VGRIDPAGGRTKYAPKVQGRFTISADDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTGHRGGTMDYWGQGLTIVT
SS;
[0588] -SEQ ID NO:32:

- [0589] EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFNIKNTYIHVWRQAPGKGLEWI
- [0590] GRIDPANGNTKYAPKVQGRFTISADTSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYY
- [0591] CTGHYGSTMDYWGQGLVTVSS;
- [0592] -SEQ ID NO:33:
- [0593] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDNYGISFLNHWYQQKPGQAPR
- [0594] LLIYAAEYRGRGIPARFSGSGSDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSRHVPYTFGQGTKVEIK;
- [0595] -SEQ ID NO:34:
- [0596] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNYGISFLNHWYQQKPGQAPR
- [0597] LLIYAASYQKRGIPARFSGSGSDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNFPWTFGQGTKVEIK;
- [0598] -SEQ ID NO:35:
- [0599] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNYGISFLNHWYQQKPGQAPRLLIYAAEYRGRGIPARFSGSGSDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNVPYTFGQGTKVEIK;
- [0600] -SEQ ID NO:36:
- [0601] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNYGISFLNHWYQQKPGQAPRLLIYAAEYQGRGIPARFSGSGSDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNVPYTFGQGTKLEIK;
- [0602] -SEQ ID NO:37:
- [0603] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNYGISFLNHWYQQKPGQAPRLLIYAAEYRARGIPARFSGSGSDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNVPYTFGQGTKVEIK;
- [0604] -SEQ ID NO:38:
- [0605] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGQAPRLLIYAASNQSGIPARFSGSGSDFTLTISSLEPEDFAVYFCQQSKEVPWTFGQGTKVEIK;
- [0606] -SEQ ID NO:39:RIDPAX₁GX₂TKYX₃PKFX₄G, 其中X₁是N或G, X₂是N或R, X₃是A、D或S, X₄是Q或K;
- [0607] -SEQ ID NO:40:RIDPANGNTKYAPKFQG;
- [0608] -SEQ ID NO:41:
- [0609] AVQLQQSVAALVRPGASVKLSCTASGFNIKNTYIHVVKRPEQGLEWIGRIDPANGNTKYAPKFQGKA
TITADTSSDTAYLQLSSLTSDDTAIYYCTGHYGSTMDYWGQGTSVTVSS;
- [0610] -SEQ ID NO:42:
- [0611] EIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGQTPKLLIYAASNQSGVPARFSGSGSDTDFSLNIHPMEDDDTAMYFCQQSKEVPWTFGGGTKLEIK;
- [0612] -SEQ ID NO:43:
- [0613] MRKTRLWGLLWMLFVSELRAATKLTEEKYELKEGQTLQVCDYTLKFASSQKAWQIIRDGEMPKTLA
CTERPSKNSHPVQVGRILEDYHDHGLLRVMVNLQVEDSGLYQCVIYQPPKEPHMLFDRIRLVVTKGFSGTPGSN
ENSTQNVYKIPPTTKALCPLYTSRPTVTQAPPKSTADVSTPSEINLTNVTDIIRVPVFNIVILLAGGFLSKSLV
FSVLFVAVTLRSFVP;
- [0614] -SEQ ID NO:44:
- [0615] MRKTRLWGLLWMLFVSELRAATKLTEEKYELKEGQTLQVCDYTLKFASSQKAWQIIRDGEMPKTLA
CTERPSKNSHPVQVGRILEDYHDHGLLRVMVNLQVEDSGLYQCVIYQPPKEPHMLFDRIRLVVTKGFRCTLSF
SWLVDS;

[0616] -SEQ ID NO:45:

[0617] MRKTRLWGLLWMLFVSELRAATKLTEEKYELKEGQTLQVCDYTLKFASSQKAWQIIRDGEMPKTLA
CTERPSKNSHPVQVGRILEDYHDHGLLRVRMVLQVEDSGLYQCVIYQPPKEPHMLFDRIRLVVTKGFSGTPGSN
ENSTQNVYKIPPTTKALCPLYTSRVTQAPPKSTADVSTPDSEINLTVTDIIRYSFQVPGPLVWTLSPFLPPL
CAERM;

[0618] -SEQ ID NO:46:

[0619] MRKTRLWGLLWMLFVSELRAATKLTEEKYELKEGQTLQVCDYTLKFASSQKAWQIIRDGEMPKTLA
CTERPSKNSHPVQVGRILEDYHDHGLLRVRMVLQVEDSGLYQCVIYQPPKEPHMLFDRIRLVVTKGFSGTPGSN
ENSTQNVYKIPPTTKALCPLYTSRVTQAPPKSTADVSTPDSEINLTVTDIIREKSMFTGIRRLDVESHPLPP
LHTGHFRISQFFSQAGTQSLHSCYK GKPTP;

[0620] -SEQ ID NO:47:

[0621] GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGCGCTCTCGTGAAGCCTGGCGGCTCTCTCAGACTCTTTGCGC
TGCCTCCGGCTTCAACATCGACAACACCTACATCCACTGGGTGCGGCAGGCTCCTGAAAAGGACTCGAGTGGATC
GGAAGAATCGACCCTGCTGGAGGGAGAACCAAGTACGACCCCAAGGTCAAGGGGCGGTTACCATCTCTGCCGACA
CCTCCAAGAACACCGCTACCTGCAGATGAACAGCCTCAAGACCGAGGACACCGCTGTCTACTACTGCACCGGGCA
CTACGGAGGGACAATGGATTACTGGGGACAGGGGACACTCGTCACCGTCTCTAGC;

[0622] -SEQ ID NO:48:

[0623] GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGCGCTCTCGTGAAGCCTGGCGGCTCTCTCAGACTCTTTGCGC
TGCCTCCGGCTTCAACATCGGAAACACCTACATCCACTGGGTGCGGCAGGCTCCTGAAAAGGACTCGAGTGGATC
GGAAGAATCGACCCTGCTGGAGGGAGAACCAAGTACTCCCCAAAGGTCCAGGGGCGGTTACCATCTCTGCCCTA
CCTCCAAGAACACCGCTACCTGCAGATGAACAGCCTCAAGACCGAGGACACCGCTGTCTACTACTGTACCGGGCA
CAGGGGAGGGACAATGGATTACTGGGGACAGGGGACACTCGTCACCGTCTCTAGC;

[0624] -SEQ ID NO:49:

[0625] GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGCGCTCTGGTGAAGCCTGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGCGC
TGCCTCCGGCTTCAACATCGGCAACACCTACATCCACTGGGTGCGGCAGGCTCCTGAAAAGGACTGGAGTGGGTG
GGCAGAATCGATCCTGCTGGCGGAAGAACCAAGTACGCCCCAAAGGTGAAGGGACGGTTACCATCTCTGCCGACG
ACTCCAAGAACACCGCTACCTCCAGATGAACTCCCTCAAGACCGAGGACACCGCTGTGTACTACTGTACCGGACA
CCGGGGAGGGACAATGGATTACTGGGGACAGGGGACACTCGTGACCGTGTCTTCC;

[0626] -SEQ ID NO:50:

[0627] GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGCGCTCTGGTGAAGCCTGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGCGC
TGCCTCCGGCTTCAACATCGGCAACACCTACATCCACTGGGTGCGGCAGGCTCCTGAAAAGGACTGGAGTGGATC
GGCAGAATCGACCCTGCTGGCGGAAGAACCAAGTACGCCCCAAAGGTGCAGGGACGGTTACCATCTCTGCCGACA
CCTCCAAGAACACCGCTACCTCCAGATGAACTCCCTCAAGACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCGGACA
CTACGGAGGGACAATGGATTACTGGGGACAGGGGACACTCGTGACCGTGTCTTCC;

[0628] -SEQ ID NO:51:

[0629] GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGCGCTCTGGTGAAGCCTGGCGGCTCTCTCAGACTCTTTGCGC
TGCCTCCGGCTTCAACATCGGAAACACCTACATCCACTGGGTGCGGCAGGCTCCTGAAAAGGACTCGAGTGGGTC
GGAAGAATCGATCCTGCTGGAGGGAGAACCAAGTACGCCCCAAAGGTCAAGGGGCGGTTACCATCTCTGCCGACG
ACTCCAAGAACACCGTGTACCTCCAGATGAACAGCCTCAAGACCGAGGACACCGCTGTCTACTACTGTACCGGGCA

CAGGGGAGGGACAATGGATTACTGGGGACAGGGGACACTCGTCACCGTCTCTAGC;

[0630] -SEQ ID NO:52:

[0631] GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGCGCTCTGGTGAAGCCTGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGCGC
TGCCTCCGGCTTCAACATCAAGAACACCTACATCCACTGGGTGCGGCAGGCTCCTGGAAAGGGACTGGAGTGGATC
GGCCGGATCGACCCTGCTAACGGCAACACCAAGTACGCCCCAAAGGTGCAGGGACGGTTCACCATCTCTGCCGACA
CCTCCAAGAACACCGCTACCTCCAGATGAACTCCCTCAAGACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCGGACA
CTACGGATCCACCATGGACTACTGGGGACAGGGGACACTCGTGACCGTGTCTTCC;

[0632] -SEQ ID NO:53:

[0633] GAGATCGTCCTGACCCAGTCTCCTGCCACCCTGTCTCTCTCTCCCGGCGAAAGAGCCACCCTCTCTTG
AGAGCCTCCGAGTCCGTGGACAACACTACGGCATCTCCTTCCTCAACTGGTACCAACAGAAGCCTGGACAGGCCCTAG
GCTCCTCATCTACGCTGCTGAGTACAGGGGAAGGGGAATCCCCGCTAGGTTCTCTGGGAGTGGGTCTGGGACCGACT
TCACCCTCACCATCTCCTCCCTCGAGCCCAGGACTTCGCTGTGTACTACTGCCAGCAGTCCCGGCACGTGCCTTAC
ACCTTCGGGCAGGGGACCAAGGTGGAGATCAAG

[0634] -SEQ ID NO:54:

[0635] GAGATCGTCCTGACCCAGTCTCCTGCCACCCTGTCTCTGTCTCTCCCGGCGAGAGAGCCACCCTGTCTTG
CAGAGCCTCCCAGTCCGTGTCCAACACTACGGCATCTCCTTCCTGAACTGGTACCAACAGAAGCCTGGCCAGGCCCT
AGACTCCTCATCTACGCCCTCTTACCAGAAGCGGGGCATCCCCGCCAGATTCTCTGGATCTGGATCTGGAACCG
ACTTCACCCTCACCATCTCCTCCCTCGAGCCCAGGACTTCGCAGTGTACTACTGCCAGCAGTCCCTCAACTTCCC
CTGGACCTTCGGACAGGGGACCAAGGTGGAGATCAAG;

[0636] -SEQ ID NO:55:

[0637] GAGATCGTCCTGACCCAGTCTCCTGCCACCCTGTCTCTGTCTCTCCCGG

[0638] CGAGAGAGCCACCCTGTCTTGAGAGCCTCCCAGTCCGTGTCCAAC

[0639] TACGGCATCTCCTTCCTGAACTGGTACCAACAGAAGCCTGGCCAGG

[0640] CCCCTAGACTCCTCATCTACGCCCGGAGTACAGAGGCAGAGGCAT

[0641] CCCCAGCAGATTCTCTGGATCTGGATCTGGAACCGACTTCACCCTC

[0642] ACCATCTCCTCCCTCGAGCCCAGGACTTCGCAGTGTACTACTGCC

[0643] AGCAGTCCCAACGTGCCCTACACCTTCGGCCAGGGGACCAAGGTGGAGATCAAG;

[0644] -SEQ ID NO:56:

[0645] GAGATCGTCCTGACCCAGTCTCCTGCCACCCTGTCTCTGTCTCTCCCGG

[0646] CGAGAGAGCCACCCTGTCTTGAGAGCCTCCCAGTCCGTGTCCAAC

[0647] TACGGCATCTCCTTCCTGAACTGGTACCAACAGAAGCCTGGCCAGG

[0648] CCCCTAGACTGCTCATCTACGCCCGGAGTACCAGGGCAGAGGCAT

[0649] CCCTGCCAGATTCTCTGGATCTGGATCTGGAACCGACTTCACCCTCA

[0650] CCATCTCCTCCCTCGAGCCCAGGACTTCGCAGTGTACTACTGCCA

[0651] GCAGTCCCAACGTGCCCTACACCTTCGGCCAGGGGACCAAGCTCGAGATCAAG;

[0652] -SEQ ID NO:57:

[0653] GAGATCGTCCTGACCCAGTCTCCTGCCACCCTGTCTCTCTCTCCCGG

[0654] CGAAAGAGCCACCCTCTCTTGAGAGCCTCCCAGTCCGTGTCCAAC

[0655] TACGGAATCTCCTTCCTCAACTGGTACCAACAGAAGCCTGGACAGG

[0656] CCCCTAGGCTCCTCATCTACGCAGCTGAGTACAGGGCTAGGGGAAT
[0657] CCCCCTAGGTTCTCTGGATCTGGGAGTGGGACCGACTTCACCCCTC
[0658] ACCATCTCCTCCCTGGAGCCCCGAGGACTTCGCTGTGTACTACTGCC
[0659] AGCAGTCCTCCAACGTGCCTTACACCTTCGGGCAGGGGACCAAGGTGGAGATCAAG;
[0660] -SEQ ID NO:58:
[0661] GAGATCGTCCTGACCCAGTCTCCTGCCACCCTGTCTCTGTCTCCCGG
[0662] CGAGAGAGCCACCCTGTCTTGAGAGCCTCCGAGTCCGTGGACAAC
[0663] TACGGCATCTCCTTCATGAACTGGTTCCAACAGAAGCCTGGCCAGG
[0664] CCCCTAGACTGCTCATCTACGCCGCTCTAACCAGGGCTCTGGCAT
[0665] CCCCCTAGATTCTCTGGATCTGGATCTGGAACCGACTTCACCCCTC
[0666] ACCATCTCCTCCCTCGAGCCCCGAGGACTTCGCAGTGTACTTCTGCCA
[0667] GCAGTCCAAGGAGTCCCTTGGACCTTTGGGCAGGGGACCAAGGTGGAGATCAAG;
[0668] -SEQ ID NO:59:
[0669] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQPFEDHVKLVNEVT
[0670] EFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAQ
[0671] EPERNECFLQHKDDPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKYLYE I
[0672] ARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEG
[0673] KASSAKQRLK CASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVT
[0674] DLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLL
[0675] EKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFL
[0676] YEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFK
[0677] PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEV
[0678] SRNLGKVGSKCKHPEAKRMPAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRV
[0679] TKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQI
[0680] KKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL;
[0681] -SEQ ID NO:60:
[0682] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVT
[0683] EFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAQ
[0684] EPERNECFLQHKDDPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKYLYE I
[0685] ARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEG
[0686] KASSAKQRLK CASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVT
[0687] DLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLL
[0688] EKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFL
[0689] YEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFK
[0690] PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEV
[0691] SRNLGKVGSKCKHPEAKRMPAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRV
[0692] TKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKE
QLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
[0693] -SEQ ID NO:61:LQEEDAGEYGCM.

[0694] 附图简要说明

[0695] 图1是显示抗TREM-1抗体(INO-10hIgG1)或Fab(INO-10Fab)对中性粒细胞胞内活性氧物质(ROS)产生的影响的直方图。在存在或不存在所示浓度的INO-10IgG1或INO-10Fab的情况下,将人原代中性粒细胞在静息条件(NS)或用LPS(100ng/mL)刺激下孵育2小时。通过参数t检验确定,与单独LPS相比的 $*p<0.05$, $**p<0.01$, $***p<0.001$ 。

[0696] 图2是显示U937细胞和用维生素D3预处理以诱导TREM-1上调的U937细胞(U937-vitD3)上TREM-1的表达(通过流式细胞术评价)的图。

[0697] 图3是显示抗TREM-1Fab INO-10F和阴性对照INO-10F-0(0.01-10 μ g/mL)在用维生素D3预处理以诱导TREM-1上调的U937细胞上的结合(通过流式细胞术评价)的图。

[0698] 图4A-C是一组图,显示抗TREM-1Fab INO-10F对用维生素D3预处理的U937细胞(U937-vitD3)的细胞因子(IL-6、IL-10和IL-1 β)产生的影响。在存在所示浓度的INO-10F或对照(INO-10F-0-Ctrl)的情况下,在静息条件或PP-刺激条件(用对应于与肽聚糖复合的PGLYRP1的PP复合物刺激)下刺激U937-vitD3细胞24小时后,测定上清液中IL-6(图4A)、IL-10(图4B)和IL-1 β (图4C)的浓度。通过参数t检验确定,与单独PP相比的 $*p<0.05$, $**p<0.01$, $***p<0.001$ 。

[0699] 图5A-C是一组图,显示THP-1细胞和用维生素D3预处理以诱导TREM-1上调的THP-1细胞上的TREM-1表达(图5A)、CD14表达(图5B)和TLR4表达(图5C)。通过流式细胞术评估TREM-1、CD14和TLR4的表达,并与同种型对照进行比较。

[0700] 图6是显示抗TREM-1Fab INO-10F(0.01-10 μ g/mL)在THP-1细胞和用维生素D3预处理的THP-1细胞(THP-1-vitD3)上的结合(通过流式细胞术评价)的图。

[0701] 图7A-B显示了抗TREM-1Fab INO-10F对THP-1Blue细胞和THP-1-vitD3Blue细胞(即,用维生素D3预处理以诱导TREM-1上调的THP-1Blue细胞)中NF- κ B活化的影响。图7A是显示THP-1Blue和THP-1-vitD3 Blue细胞中NF- κ B活化的直方图,其通过在静息条件下在所示浓度(0.1-10 μ g/mL)的INO-10F存在下(静息+INO-10F)6小时或在所示浓度(0.1-10 μ g/mL)的INO-10F和LPS存在下(LPS+INO-10F)6小时测定SEAP的活性(在650nm处测量)来评估。通过参数t检验确定,与单独LPS相比的 $*p<0.05$, $**p<0.01$ 。图7B是显示在所示浓度(0.1-10 μ g/mL)的INO-10F存在下LPS引发(100ng/mL)后的NF- κ B活化动力学的图。通过双向ANOVA检验确定,与单独LPS相比的 $*p<0.05$, $**p<0.01$ 。

[0702] 图8是显示抗TREM-1Fab INO-10F对用维生素D3预处理以诱导TREM-1上调的THP-1细胞(THP-1-vitD3)的IL-8产生的影响的直方图。在所示浓度(0、0.1或10 μ g/mL)的INO-10F存在下,用LPS刺激THP-1-vitD3细胞24小时后或无刺激(NS),评估上清液中IL-8的浓度。通过参数t检验确定,与单独LPS相比的 $*p<0.05$, $**p<0.01$, $***p<0.001$ 。

[0703] 图9是显示在所示时间在中性粒细胞上的TREM-1表达(通过流式细胞术评估)的图。将人原代中性粒细胞在静息条件下培养、用LPS刺激3小时、或用LPS刺激24小时。将TREM-1的表达与同工型对照进行比较。

[0704] 图10是显示不同浓度(从0.000001至10 μ g/mL)的INO-10F在新鲜分离的人原代中性粒细胞上的结合(通过流式细胞术评估)的图。

[0705] 图11是显示在使用LPS(黑色方块)或静息条件下(灰色圆圈),在所示浓度(从 10^{-11} 至 10^1 μ g/mL)的INO-10F存在下孵育2小时后,人原代中性粒细胞释放的活性氧物质(ROS)的

图。

[0706] 图12A-B显示了抗TREM-1Fab INO-10F对中性粒细胞释放活性氧物质 (ROS) 的影响。图12A是显示在静息条件下 (NS) 或用对应于与肽聚糖复合的PGLYRP1的PP复合物 (PP) 刺激下,人原代中性粒细胞在用所示浓度 (0-10 μ g/mL) 的INO-10F孵育2小时后释放的ROS的直方图。图12B是显示所示浓度 (0-10 μ g/mL) 的INO-10F在人原代中性粒细胞上的结合百分比 (黑色圆圈),以及在所示浓度 (0-10 μ g/mL) 的INO-10F存在下进行PP刺激后人原代中性粒细胞的ROS释放百分比 (灰色方块) 的图。

[0707] 图13是显示抗TREM-1Fab INO-10F对中性粒细胞的IL-6产生的影响的图。在使用LPS或在静息条件下,以所示浓度 (0、0.1或10 μ g/mL) 的INO-10F刺激6小时和24小时后,评估中性粒细胞上清液中IL-6的浓度。

[0708] 图14A-E是一组直方图,显示了24小时全血刺激测定后,抗TREM-1Fab INO-10F对细胞因子血浆浓度的影响。在静息条件 (NS) 或使用LPS的条件下,添加所示浓度 (0-10 μ g/mL) 的INO-10F。作为阳性对照,使用已知TREM-1抑制剂 (肽LR12) 的刺激与LPS一同进行。24小时后,评估以下细胞因子的表达:IL-1 β (图14A)、IL-10 (图14B)、TNF- α (图14C)、IL-6 (图14D) 和IL-8 (图14E)。通过参数t检验确定,与单独LPS相比的*p<0.05,**p<0.01,***p<0.001。

[0709] 图15是显示24小时全血刺激测定后的IL-8血浆浓度的箱线图。在静息条件 (NS) 或使用LPS的条件下,将INO-10F以所示浓度 (0-10 μ g/mL) 添加到来自14名健康志愿者的全血中。作为阳性对照,使用已知TREM-1抑制剂 (肽LR12) 的刺激与LPS一同进行。24小时后,评估IL-8的血浆浓度。通过配对非参数t检验确定,与单独LPS相比的*p<0.05,**p<0.01,***p<0.001。

[0710] 图16A-G是一组箱线图,显示抗TREM-1Fab INO-10F和HSA-INO-10F对患有由LPS诱导的内毒素血症的转基因BRGSF-his (人源化免疫系统) 小鼠中的人细胞因子血浆浓度的影响。通过腹膜内注射向BRGSF-his小鼠施用PBS (对照) 或LPS。接受LPS的BRGSF-his小鼠首先接受腹膜内注射 (施用LPS前30分钟) 的预处理,注射物为媒介物 (LPS)、INO-10F (LPS+10F-10 μ g/mL) 或HSA和INO10F形成的融合蛋白 (LPS+HSA-10F-10 μ g/mL)。在LPS注射后8小时收集血液样品并评估以下人细胞因子/趋化因子的血浆浓度:CCL2 (图16A)、IL-1 β (图16B)、IL-10 (图16C)、IL-6 (图16D)、和IL-8 (图16E)、IP-10 (图16F) 和TNF- α (图16G)。p值是根据所示条件相比于单独LPS的非参数t检验计算的。

[0711] 图17A-B是一组图,显示抗-TREM-1Fab INO-10F和抗-TREM-1Fab变体INO-10F-0 (F0)、INO-10F-1 (F1)、INO-10F-2 (F2)、INO-10F-3 (F3)、INO-10F-4 (F4)、INO-10F-5 (F5) 和INO-10F-6 (F6) 在U937细胞 (图17A) 以及在U937-vitD3细胞 (即用维生素D3预处理以诱导TREM-1上调的U937细胞) (图17B) 上的结合 (通过流式细胞术评估)。

[0712] 图18是显示抗TREM-1Fab变体INO-10F-0 (F0)、INO-10F-1 (F1)、INO-10F-2 (F2)、INO-10F-3 (F3)、INO-10F-4 (F4)、INO-10F-5 (F5) 和INO-10F-6 (F6) 对用维生素D3预处理的U937细胞的IL-6产生的影响的直方图。在所示浓度 (0-10 μ g/mL) 的抗TREM-1Fab变体的存在下,在静息条件 (NS) 或PP激活条件 (用对应于与肽聚糖复合的PGLYRP1的PP复合物刺激) 下,测定24小时刺激后U937-vitD3细胞上清液中IL-6的浓度。作为阳性对照,在PP激活条件下用已知的TREM-1抑制剂 (肽LR12) 进行刺激 (LR12)。与仅PP相比的*p<0.05,**p<0.01,***p<

0.001, ****p<0.001。

[0713] 图19是比较抗TREM-1Fab变体INO-10F-3 (F3) 和INO-10F-0 (F0) 在所示浓度(0.001至10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)下在新鲜分离的原代中性粒细胞上的结合(通过流式细胞术评估)的图。

[0714] 图20是直方图,显示了抗TREM-1Fab变体INO-10F-0 (F0)、INO-10F-1 (F1)、INO-10F-2 (F2)、INO-10F-3 (F3)、INO-10F-4 (F4)、INO-10F-5 (F5)和INO-10F-6 (F6)对人原代中性粒细胞的IL-8产生的影响。在所示浓度(0-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的抗TREM-1Fab变体的存在下,在静息条件(NS)或LPS激活条件下,测定24小时刺激后U937-vitD3细胞上清液中IL-6的浓度。作为阳性对照,在LPS激活条件下用已知的TREM-1抑制剂(肽LR12)进行刺激(LR12)。与仅LPS相比的*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.001。

[0715] 图21A-H是一组图,显示了抗TREM-1Fab INO-10F和抗TREM-1Fab变体对中性粒细胞胞内活性氧物质(ROS)产生的影响。在存在所示浓度(0.001-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的INO-10Fab(图21A)或抗TREM-1Fab变体INO-10F-0或F0(图21B)、INO-10F-1或F1(图21C)、INO-10F-2或F2(图21D)、INO-10F-3或F3(图21E)、INO-10F-4或F4(图21F)、INO-10F-5或F5(图21G)以及INO-10F-6或F6(图21H)的情况下,用LPS(100ng/mL)刺激人原代中性粒细胞2小时。

[0716] 图22A-C是显示抗TREM-1Fab变体(INO-10F-3与HSA或F3-HSA偶联)对中性粒细胞胞内活性氧物质(ROS)产生的影响的一组图。在所示浓度(0.02-20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的F3-HSA存在下,用LPS(100ng/mL)(图22A)或用PP复合物(对应于PGLYRP1(5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)与对应于PGN(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的肽聚糖进行复合)(PP)(图22B)或仅用肽聚糖(PGN-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)(图22C)刺激人原代中性粒细胞2小时。通过参数ANOVA检验测定,与单独的LPS(图22A)、单独的PP(图22B)或单独的PGN(图22C)相比的*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001。

[0717] 图23A-B是一组箱线图,显示在裂解来自5名健康供体的红细胞后,在24小时全血刺激测定后,抗TREM-1Fab变体(INO-10F-3与HSA或F3-HSA偶联)对细胞因子血浆浓度的影响。在静息条件下(NS)或使用PP复合物(对应于PGLYRP1(5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)与对应于PGN(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的肽聚糖进行复合)(PP)或仅使用肽聚糖(PGN-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的情况下,添加所示浓度(0-20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的F3-HSA或同工型对照(CTRL)。24小时后,评价以下细胞因子的表达:IL-8(图23A)和TNF- α (图23B)。通过非参数t检验确定,与单独PP或单独PGN相比的*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001。

[0718] 图24A-C是一组直方图,显示在裂解红细胞后在24小时食蟹猴全血刺激测定后,抗TREM-1Fab变体(INO-10F-3与HSA或F3-HSA偶联)对细胞因子血浆浓度的影响。在使用PP复合物(对应于PGLYRP1(5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)与对应于PGN(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的肽聚糖进行复合)(PP)或仅使用肽聚糖(PGN-20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的情况下,添加所示浓度(0-20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的F3-HSA或同工型对照(CTRL)。24小时后,评估以下细胞因子的表达:IL-8(图24A)、TNF- α (图24B)和IL-6(图24C)。通过非参数t检验确定,与单独PGN相比的*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001。

实施例

[0719] 本发明通过以下实施例进一步说明。

[0720] 实施例:

[0721] 材料和方法

[0722] 抗hTREM-1抗体/Fab片段的生产

[0723] 通过使用重组hTREM-1蛋白对小鼠进行免疫接种,获得了新型抗人TREM-1(抗hTREM1)鼠抗体。通过杂交瘤测序和序列分析(Diaclone,法国)获得抗hTREM-1鼠抗体和Fab片段的序列。然后产生重组嵌合抗hTREM-1抗体(人IgG1或hIgG1)和Fab片段。将来自可变区的序列亚克隆到pQMCF-1.2表达载体中,并通过测序验证编码区。然后使用R007转染试剂(Icosagen)在CHO TF培养基(Xe11 AG)中用pQMCF-1.2表达载体转染CHOEBNALT85 1E9细胞(Icosagen)96小时。通过PCR验证转染。通过考马斯染色检查表达,并通过终点考马斯染色检查分泌,以评估生产力。然后使用HiTrap MabSelect SuRe捕获hIgG1或使用HisTrap Excel捕获Fab片段(均来自GE Healthcare),进行纯化步骤。最后,使用Superdex 200Increase 10/300GL(GE Healthcare)进行凝胶过滤,并以0.22 μ m(Ultra Capsule GF, Merck Millipore)过滤回收的蛋白。在该过程结束时,嵌合hIgG1或Fab片段必须满足以下验收标准:浓度1mg/mL、纯度>90%以及内毒素水平低于0.1EU/mg蛋白。将纯化的hIgG1和Fab片段保存在以下缓冲液中:组氨酸-Tween缓冲液[20mM组氨酸,150mM NaCl,0.02% Tween-80,pH6.0]。

[0724] 细胞分离、培养和刺激

[0725] U937细胞:将人骨髓单核细胞系U937的细胞(Culture Collections,Public Health England N°85011440)在含有GlutaMAX并补充有10%胎牛血清或FCS(Thermo Fisher Scientific)、25mM HEPES、100U/mL青霉素和链霉素(均来自Thermo Fisher Scientific)的RPMI 1640培养基中培养。对于一些实验,当指明时,在相同条件下培养U937细胞,并补充100nM 1,25-二羟基维生素D3(也称为维生素D3或vitD3)(Sigma-Aldrich,美国)以诱导TREM-1上调。

[0726] THP-1blue细胞:人THP1-Blue细胞系源自人THP-1单核细胞系,通过稳定转染NF- κ B诱导型SEAP(分泌型胚胎碱性磷酸酶)报告构建体(InvivoGen,法国)而获得。事实上,这些细胞报告了NF- κ B转录因子的激活。THP1-Blue细胞在补充有10%热灭活FBS(胎牛血清)、2mM L-谷氨酰胺、25mM HEPES、100 μ g/mL normocin、100U/mL青霉素和链霉素的RPMI 1640培养基中培养。对于一些实验,当指明时,将THP1-Blue细胞在相同条件下培养,并补充100nM 1,25-二羟基维生素D3(vitD3)以诱导TREM-1上调。

[0727] 通过流式细胞术评估U937细胞、THP1细胞或人原代中性粒细胞上的TREM-1、TLR4和CD14表达。将细胞与抗TREM1-APC、抗CD14-PE或抗TLR4-FITC抗体或相应的同工型对照(Miltenyi-Biotec,德国)在黑暗中于4°C下孵育10分钟,然后洗涤并通过流式细胞术(C6 Accuri,BD,USA)收集数据。使用FlowJo软件(TreeStar,美国)分析流式细胞术数据。

[0728] 原代细胞:按照制造商的说明,使用EasySep™人单核细胞/中性粒细胞分离试剂盒(StemCell,加拿大)通过免疫磁性阴性细胞分选,从健康供体的外周血中分离出原代人中性粒细胞。通过流式细胞术评估纯度。在刺激前将细胞悬浮于含有GlutaMAX并补充有10% FCS、25mM HEPES、100U/ml青霉素和链霉素(均来自Thermo Fisher Scientific)的RPMI 1640培养基中。人原代中性粒细胞在以下条件下以所示时间和浓度进行孵育:静息条件(也称为非刺激条件或NS),或使用100ng/mL来自大肠杆菌血清型O127:B8的LPS(Sigma-Aldrich),或使用PP复合物(也称为PPx,对应于与10 μ g/mL肽聚糖复合的5 μ g/mL PGLYRP1(肽聚糖识别蛋白1),分别来自英国Biotechne和法国Invivogen),或使用单独的肽聚糖(PGN)(10 μ g/mL),有或没有抗TREM-1调节剂(hIgG1或Fab)。当指明时,将中性粒细胞与100 μ

g/mL的临床阶段TREM-1抑制肽LR12(具有如SEQ ID NO:61-LQEEDAGEYGCM所示的氨基酸的TLT-1肽)一起孵育。

[0729] 与人和食蟹猴TREM-1的结合

[0730] 细胞:U937细胞或原代中性粒细胞在300g下离心5分钟,并将沉淀物重悬至 1×10^6 个细胞/mL。将测试分子(hIgG1或Fab)在FACS缓冲液(1X PBS、0.5%BSA、2.5mM EDTA)中稀释为不同浓度(0.0001至20 μ g/mL)。将细胞在测试分子(hIgG1或Fab)存在下于4 $^{\circ}$ C孵育30分钟,然后以300g离心5分钟。去除上清液并进行1X PBS洗涤。再次洗涤细胞并在300g下离心5分钟,并将沉淀物回收在FACS缓冲液中。然后,将二抗(1:200,别藻蓝蛋白(APC)AffiniPure F(ab')₂片段山羊抗人IgG(H+L)(Jackson ImmunoResearch,美国)添加到细胞悬液中。在4 $^{\circ}$ C下孵育30分钟后,用1XPBS洗涤细胞,并在300g下离心5分钟。最后,将细胞重悬于FACS缓冲液中,并通过流式细胞术(C6 Accuri, BD, USA)进行分析,以定量测试分子(hIgG1或Fab)与细胞的结合。最后,使用FlowJo软件对流式细胞术数据进行分析。

[0731] 表面等离子共振(SPR):为了评估TREM-1抗体或Fab与hTREM-1(人TREM-1)和cTREM-1(食蟹猴TREM-1)的相互作用动力学,进行表面等离子共振(SPR)测定(BiacoreTM T200, GE Healthcare Biosciences)。将抗人Fc抗体(Cytiva)固定在CM5传感器芯片上以评估IgG1亲和力,并将Fab直接固定在芯片上。使用HBS-EP+1X运行缓冲液(10mM HEPES, 150mM NaCl, 3mM EDTA, 0.05%表面活性剂P20, pH 7.4)在25 $^{\circ}$ C下进行固定实验。在使用传感器芯片的葡聚糖基质上的胺偶联进行固定程序之前,将抗人Fc抗体或Fab稀释在酸性pH的10mM乙酸钠中。使用100mM 1-乙基-3-[3-二甲基氨基丙基]碳二亚胺盐酸盐或EDC和400mM N-羟基磺基琥珀酰亚胺或NHS(EDC/NHS)的溶液对表面进行活化(Liu Y, Wilson WD. Methods Mol Biol. 2010:613:1-23)。在这些注射之后,注射乙醇胺以使表面失活。使用固定向导(immobilization wizard)以获得数千的固定化RU(共振单元)。选择固定水平以正确覆盖传感器芯片表面。进行初步手动运行以优化捕获条件并获得所有人抗体的相似捕获水平。hTREM-1或cTREM-1蛋白的结合是通过将分析物注射过所有流动细胞来进行的。将人和食蟹猴TREM-1蛋白稀释到运行缓冲液(HBS-EP+1X)中,浓度分别为0.1nM、0.5nM、2.5nM、10nM和40nM,或0.5nM、2nM、10nM、40nM和200nM。使用单循环动力学方法(Single Cycle Kinetics method)评估浓度。该方法包括连续注射浓度不断增加的分析物,并在循环结束时使用氯化镁缓冲液(Cytiva)进行单一再生步骤。通过测定平衡解离常数(K_D)来定量TREM-1抗体或Fab与hTREM-1或cTREM-1的结合亲和力,所述平衡解离常数通过测量复合物形成和解离的动力学来确定。使用Biacore T200评估软件3.1版(GE Healthcare)将数据拟合至1:1Langmuir模型,以获得对应于单价复合物的结合和解离的速率常数,例如 k_a (结合速率)和 k_d (解离速率)。 K_D 通过方程 $K_D = k_d/k_a$ 与 k_a 和 k_d 相关联。

[0732] 活性氧物质(ROS)产生

[0733] 使用细胞渗透性DCFDA(2',7'-二氯荧光素二乙酸酯)评估细胞内ROS产生的定量,DCFDA是一种化学还原形式的荧光素,用作细胞中ROS存在的指示剂(Thermo Fisher Scientific)。在通过细胞内酯酶裂解乙酸酯基团和氧化作用后,非荧光DCFDA转化为高荧光2',7'-二氯荧光素(DCF)。例如,在测试分子(hIgG1或Fab)存在下并且在有或没有100ng/mL LPS或PP复合物(对应于5 μ g/mL PGLYRP1(肽聚糖识别蛋白1)与10 μ g/mL肽聚糖进行复合,两者分别来自英国Biotechne和法国Invivogen)或仅肽聚糖(PGN)(10 μ g/mL)的情况下,

将人原代中性粒细胞在37℃、5%CO₂下与5μM DCFDA一起孵育2小时。使用流式细胞术(C6 Accuri, BD, 美国)或荧光计(Varioskan Lux, ThermoScientific)获取数据。结果表示为平均荧光强度(MFI)或相对荧光单位(RFU)。

[0734] THP-1Quant-Blue测定:NF-κB细胞系报告子

[0735] QUANTI-Blue测定(InvivoGen)是一种用于测定SEAP活性的比色酶测试。该测试用于含有可被NF-κB诱导的SEAP报告基因的THP1-Blue细胞。使用该测试,可以通过测定SEAP的活性(在650nm处测量)来评估NF-κB的激活。将THP-1blue细胞与100nM 1,25-二羟基维生素D3(vitD3)一起培养48小时后,进行Quant-Blue测定。在96孔微孔板中,在存在或不存在所示浓度(0.1-1-10μg/mL)的测试分子(hIgG1或Fab)和LPS(0.1μg/mL)的情况下,在37℃、5%CO₂下孵育细胞(1x10⁵个细胞/孔)1至10小时。随后,将细胞以300g离心5分钟并收集上清液。在新的透明96孔微孔板中,将细胞上清液与Quant-Blue试剂(1:10)混合,并在37℃、5%CO₂下孵育30分钟。最后,用读板仪(Varioskan Lux, ThermoScientific)在650nm处测量光密度。

[0736] 全血测定

[0737] 使用从健康人类供体获得的全血进行刺激测定,以评估炎性细胞因子水平(IL-1β、TNF-α、IL-6、IL-8和IL-10)。首先将测试分子(hIgG1或Fab)稀释至不同浓度(0.1-1-10μg/mL或如所示),并在存在或不存在LPS(0.1μg/mL, InvivoGen, 法国)或存在PP复合物(对应于5μg/mL的PGLYRP1与10μg/mL肽聚糖复合,分别来自英国Biotechne和法国Invivogen)或仅肽聚糖(也称为PGN, 法国Invivogen)的情况下添加到12孔板的孔中。随后,将全血(用氯化铵(Stemcell, 法国)裂解红细胞后)添加到孔中并在37℃、5%CO₂下孵育24小时。然后,将样品在300g下离心10分钟,以回收血浆,其中根据制造商的说明使用Quantikine ELISA Human IL-8/CXCL8试剂盒(R&D Systems)或使用E11a技术(一种自动化免疫测定系统, Protein Simple, 英国)评估IL-8水平。将样品添加到Single Plex或MultiplexⅢ(Protein Simple, 英国)中,以便在单次测定中评估5种细胞因子(IL-1β、TNF-α、IL-6、IL-8和IL-10)的水平。

[0738] 或者,使用来自食蟹猴的全血。使用从健康食蟹猴供体(Macaca fascicularis)获得的全血进行刺激测定,以评估炎性细胞因子水平(IL-8、TNF-α、IL-6)。首先将测试分子(hIgG1或Fab)稀释至不同浓度(0.2-2-20μg/mL),并在PP复合物(或PPx, 对应于5μg/mL的PGLYRP1与10μg/mL肽聚糖复合,分别来自英国Biotechne和法国Invivogen)或仅肽聚糖(也称为PGN, 法国Invivogen)的存在下添加到24孔板的孔中。随后,将全血(用氯化铵(Stemcell, 法国)裂解红细胞后)添加到孔中并在37℃、5%CO₂下孵育24小时。然后,将样品以300g离心10分钟以回收血浆,其中使用E11a技术(一种自动化免疫测定系统, Protein Simple, UK)评估TNF-α、IL-6和IL-8水平。将样品添加到Single Plex或MultiplexⅢ(Protein Simple, UK)中,以便在单次测定中评估3种细胞因子(TNF-α、IL-6和IL-8)的水平。

[0739] U937-VitD3刺激

[0740] U937细胞在100nM 1,25-二羟基维生素D3(vitD3)存在下在补充有10%FCS、25mM HEPES、100U/ml青霉素和链霉素的RPMI 1640GlutaMAX培养基中培养48小时,以诱导TREM-1上调。然后,回收细胞,并且在存在或不存在所示浓度(0.1-1-10μg/mL)的测试分子(hIgG1

或Fab)和LPS(0.1 μ g/mL)的情况下在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂下将细胞铺板(1x10⁵个细胞/孔)24小时。随后,将细胞以300g离心5分钟并收集上清液。最后,使用Ella技术(Protein Simple,UK)评估上清液中炎性细胞因子水平(IL-1 β 、IL-6和IL-10)的浓度。

[0741] 中性粒细胞刺激

[0742] 如前所述从健康供体的血液中分离出原代人中性粒细胞,并以1x10⁶个细胞/mL进行铺板。然后,在存在或不存在所示浓度(0.1-10 μ g/mL)的测试分子(hIgG1或Fab)和LPS(0.1 μ g/mL)的情况下,在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂下孵育细胞24小时。随后,将细胞以300g离心5分钟并收集上清液。最后,根据制造商的说明使用Quantikine ELISA Human IL-6或IL-8试剂盒(R&D Systems,法国)或Ella技术(Protein Simple,UK)评估上清液中IL-6或IL-8的浓度。

[0743] 人源化免疫系统(his-)小鼠

[0744] 来自GenOway(法国)的BRGSF小鼠是显示Rag2^{-/-}Il2rg^{-/-}SirpaNODFlk2^{+/-}基因型的BALB/c小鼠。His(人源化免疫系统)小鼠如下产生:简而言之,对新生小鼠(\leq 5天龄)移植大约1x10⁵个人造血祖细胞(hHPC)CD34⁺,这些细胞是在亚致死辐射后通过肝内注射从脐带获得的。为了激发骨髓免疫系统,所有小鼠在实验前每两天接受4次腹膜内(i.p.)注射,每次10 μ g重组人hFLT3-L/Fc。

[0745] 人类实验性内毒素血症

[0746] 对His小鼠进行LPS攻击,以评估抗TREM-1INO-10Fab片段(INO-10F)的体内免疫调节作用。简而言之,在Flt3-配体(FLT3L)激发后一天,对his-小鼠腹膜内(i.p.)施用单剂量10mg/kg的PBS、INO-10F或半衰期延长的包含与人血清白蛋白(也称为HSA)偶联的INO-10F(INO-10F-HSA)的融合蛋白,随后在30分钟后i.p.注射8mg/kg LPS(脂多糖;大肠杆菌血清型0127:B8,批次L3129,Sigma Chemical,St Louis,法国)。调整浓度以在每组小鼠中注射相同体积。8小时后,通过心内穿刺收集血液样品并收获在EDTA管中。通过离心全血(300g,10分钟)获得血浆并储存在-80 $^{\circ}$ C。通过使用simple Plex皿在Ella技术(Protein Simple,UK)上运行来测定细胞因子(CCL-2、IL-1 β 、IL-10、IL-6、IL-8、IP-10和TNF- α)的血浆水平。

[0747] 结果

[0748] INO-10F有效阻断人原代中性粒细胞中TREM-1的激活。

[0749] 获得了总共51个抗hTREM-1独特序列,并将其作为人IgG1嵌合抗体(hIgG1)和相应的Fab片段(或简称Fab)而生产。筛选这些构建体结合人TREM-1的能力。在验证了它们与人TREM-1的相互作用后,筛选了所有构建体在用脂多糖(LPS)激活人原代中性粒细胞后减少所述中性粒细胞释放活性氧物质(ROS)的能力。事实上,通过与LPS孵育来激活中性粒细胞(该中性粒细胞在其表面表达TREM-1)上的TREM-1会显著导致所述中性粒细胞产生ROS。因此,测试的构建体减少由LPS激活的中性粒细胞的ROS产生的能力反映了它们抑制TREM-1的能力。鉴定出一种先导物,即所谓的INO-10F,一种抗hTREM-1Fab片段。如图1所示,1 μ g/mL和10 μ g/mL的INO-10F能够显著减少中性粒细胞的ROS释放。因此,INO-10F能够抑制TREM-1激活。根据从功能筛选获得的数据,将INO-10F确定为最佳先导化合物。

[0750] 通过流式细胞术测量INO-10F与人TREM-1的结合以及U937-vitD3细胞上TREM-1激活的抑制

[0751] 与未经处理的U937对照细胞膜上的TREM-1表达相比,用维生素D3(1,25-二羟基维生素D3)孵育U937细胞与膜上TREM-1表达增加相关联(图2)。使用流式细胞术,显示INO-10F

以剂量依赖性方式与U937-vitD3细胞(即,用维生素D3预处理的U937细胞)上的人TREM-1结合,在约0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时达到50%结合(图3)。正如预期的那样,阴性对照INO-10F-0没有显示出任何与U937-vitD3细胞上的人TREM-1的结合(图3)。有趣的是,还显示INO-10F能够以剂量依赖性方式抑制TREM-1激活。通过诱导炎性应答(例如使用PGLYRP-1:PGN复合物(或PP)诱导)来激活髓样细胞(该细胞在其表面表达TREM-1)上的TREM-1,显著导致了所述细胞的细胞因子/趋化因子表达和分泌。如图4所示,增加浓度的INO-10F与U937-vitD3细胞的孵育与通过用PGLYRP-1:PGN复合物(PP_x或PP)刺激U937-vitD3细胞24小时而诱导的白细胞介素-6(也称为IL-6)(图4A)、白细胞介素-10(也称为IL-10)(图4B)和白细胞介素-1 β (也称为IL-1 β)(图4C)释放的减少相关。在该测定中,INO-10F在1至10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间达到最大效果,并且在大约0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时达到50%的抑制。

[0752] 通过流式细胞术测量INO-10F与人TREM-1的结合和THP-1Blue-vitD3细胞上TREM-1激活的抑制

[0753] THP-1细胞与维生素D3的孵育与相比于未处理的THP-1细胞膜上的TREM-1表达的TREM-1表达增加(图5A)、人CD14或hCD14增加(图5B)以及人Toll样受体4或hTLR4减少(图5C)相关。使用流式细胞术,显示INO-10F以剂量依赖性方式结合THP-1-vitD3细胞(用维生素D3预处理的THP-1细胞)中表达的人TREM-1,在0.014 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时达到50%结合(图6)。正如预期的那样,INO-10F与未处理的THP-1对照细胞几乎没有结合(图6)。

[0754] 为了评估INO-10F的活性,将未处理的THP-1Blue细胞或用维生素D3预处理48小时的THP-1Blue细胞与增加剂量的INO-10F在存在或不存在LPS(100ng/mL)的情况下孵育。通过用例如LPS诱导炎性应答来激活髓样细胞例如单核细胞(这些细胞在其表面表达TREM-1)上的TREM-1显著导致了所述细胞中的NF- κ B激活。6小时后,使用Quant i-Blue试剂评估NF- κ B活化。如通过图7A所示的NF- κ B激活的抑制所反映的,INO-10F仅能够在过表达TREM-1的细胞上抑制TREM-1,0.1至10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间具有效果。INO-10F对LPS激活的幼稚THP-1Blue细胞(即,未用维生素D3预处理的THP-1Blue细胞)没有影响。第二组实验进一步证实,INO-10F能够在用维生素D3预处理的THP-1Blue细胞中以时间和剂量依赖性方式限制LPS诱导的NF- κ B激活。INO-10F在6至10小时之间抑制NF- κ B活化,取决于剂量,在10小时时效果最好(图7B)。

[0755] 然后,在将THP-1Blue细胞用维生素D3预处理并在浓度增加的INO-10F(0、0.1和10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的存在下用LPS(100ng/mL)刺激24小时后,评估该细胞的IL-8产生。INO-10F以浓度依赖性方式降低了由LPS刺激诱导的IL-8释放,在10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 达到最大效果(图8)。该结果证实了INO-10F能够抑制用维生素D3预处理的THP-1Blue细胞中的TREM-1。

[0756] 通过流式细胞术测量INO-10F与人TREM-1的结合以及原代中性粒细胞上和全血中TREM-1激活的抑制

[0757] 人原代中性粒细胞在生理条件下在膜上表达高水平的TREM-1,并且在LPS刺激下不会上调其表达。事实上,如图9所示,在静息条件和用LPS刺激3小时或24小时后,人原代中性粒细胞膜上TREM-1的表达是相似的。INO-10F能够以浓度依赖性方式结合新鲜分离的人中性粒细胞上的人TREM-1,在0.01和0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间、在约0.023 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 处达到50%结合(图10)。然后,通过评估经LPS刺激后的ROS释放来评估INO-10F抑制中性粒细胞上TREM-1激活的能力。正如所预期的,如通过在静息条件下没有ROS产生所观察到的,单独的INO-10F不诱导任何TREM-1激活(图11)。ROS由人原代中性粒细胞在LPS刺激后产生,并且INO-10F在约

4.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度下使所述ROS产生减少50%，证实了其抑制TREM-1的能力(图11)。进行了类似的实验，使用PGLYRP-1:PGN复合物(PPx或PP)通过直接激活TREM-1来诱导人原代中性粒细胞中的ROS产生。INO-10F还降低中性粒细胞的ROS产生，在1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时达到最大效果(图12A)，对应于人原代中性粒细胞上人TREM-1的最大结合浓度(图12B)。

[0758] 最后，在INO-10F(0.1或10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的存在下，使用LPS(100 ng/mL)或在静息条件下孵育中性粒细胞0、6和24小时后，评估人原代中性粒细胞的IL-6分泌。如图13所示，INO-10F以剂量和时间依赖性方式减少由LPS诱导的IL-6释放。

[0759] 为了进一步确认INO-10F通过抑制TREM-1的免疫调节特性，在人全血细胞因子测定刺激中评估了INO-10F的作用。如上所述，将从健康人类供体获得的全血在存在LPS(100 ng/mL)和INO-10F或阳性对照(即已知抑制TREM-1的肽LR12)的情况下在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 下孵育24小时。回收血浆并测量几种细胞因子的血浆水平。如图14所示，在该测定中，INO-10F以剂量依赖性方式减少了几种细胞因子的释放。事实上，INO-10F限制了LPS诱导的IL-1 β (图14A)、IL-10(图14B)、TNF- α (图14C)、IL-6(图14D)和IL-8(图14E)的释放。还在对从14名健康志愿者收集的全血样品进行LPS刺激后，在体外评估了INO-10F对IL-8血浆浓度的影响。如图15所示，INO-10F诱导IL-8血浆浓度呈剂量依赖性下降(从0.01至10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。对于肽LR12(阳性对照)也观察到LPS诱导的IL-8产生的减少。在全血测定中，在未刺激条件下(即，在不存在LPS的情况下)，INO-10F不诱导IL-8或任何其他所研究的细胞因子的任何显著产生。

[0760] 在BRGS-F小鼠内毒素血症模型中阻断人TREM-1降低了免疫炎性应答。

[0761] 在具有人源化免疫系统的转基因BRGSF小鼠中体内评估INO-10F的免疫调节作用，所述小鼠通过腹腔内(i.p.)施用LPS(8 mg/kg)诱导内毒素血症。将小鼠随机分为四个治疗组以接受i.p.施用的单独的PBS(对照)或LPS与媒介物、INO-10F或包含INO-10F的融合蛋白。事实上，在被施用LPS的小鼠中，“LPS”组接受媒介物作为治疗，“LPS+10F”组接受i.p.施用10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ INO-10F，且“LPS+HSA-10F”组接受i.p.施用10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的具有延长的半衰期的INO-10F形式，该形式由人血清白蛋白(HSA)和INO-10F(10F)形成的融合蛋白组成。小鼠用媒介物、INO-10F或HSA-INO-10F(HSA-10F)预处理30分钟，然后施用LPS以诱导内毒素血症。在注射LPS后8小时收集血液样品，并对血浆中的人细胞因子/趋化因子浓度进行定量(CCL-2、IL-1 β 、IL-10、IL-6、IL-8、IP-10和TNF- α)。与对照组(CTRL)相比，LPS显著增加了人炎性细胞因子/趋化因子的释放。有趣的是，如图16所示，INO-10F和INO-10F-HSA均能够调节循环人炎性细胞因子趋化因子配体2(CCL2，也称为单核细胞趋化蛋白1或MCP1)(图16A)、白细胞介素-1 β 或IL-1 β (图16B)、白细胞介素-10或IL-10(图16C)、白细胞介素-6或IL-6(图16D)、白细胞介素-8或IL-8(图16E)、干扰素 γ 诱导蛋白10(IP-10，也称为C-X-C基序趋化因子配体10或CXCL10)(图16F)以及肿瘤坏死因子 α 或TNF- α 或TNFa(图16G)的分泌，其中具有延长半衰期的HSA-INO-10F融合蛋白具有更显著的效果。这些结果证实了抗TREM-1INO-10F Fab片段在体内的免疫调节作用。

[0762] 优化的INO-10F变体与TREM-1的结合

[0763] 为了改善INO-10F结合特性和活性，产生了抗TREM-1INO-10抗体的人源化变体和抗TREM-1INO-10F Fab片段的相应人源化变体。将抗TREM-1INO-10抗体的人源化变体命名为INO-10-2、INO-10-3、INO-10-4、INO-10-5和INO-10-6，将抗TREM-1INO-10F Fab片段的人

源化变体命名为INO-10F-2 (F2)、INO-10F-3 (F3)、INO-10F-4 (F4)、INO-10F-5 (F5)和INO-10F-6 (F6)。另外两个人源化变体用作对照:INO-10F-0 (F0)和INO-10F-1 (F1),其是CDR与INO-10F最相似(除了V_H-CDR2中有一个氨基酸的差异之外,CDR相同)的人源化抗TREM-1Fab片段。首先,使用表面等离子共振 (SPR) 测定法测定结合亲和常数、结合速率和解离速率。将Fab片段固定在CM5传感器芯片的表面,然后注射浓度增加的重组人TREM-1或食蟹猴TREM-1。结果如下表1所示。未观察到Fab片段INO-10F-0 (F0) 与TREM-1 (hTREM-1或cTREM-1)的结合。Fab片段INO-10F-1 (F1) 仅能够结合hTREM-1,其亲和力与Fab片段INO-10F相似。Fab片段INO-10F-2至INO-10F-6 (F2至F6) 显示出比Fab片段INO-10F更高的亲和力。

[0764]

表1: 人和食蟹猴TREM-1与不同抗TREM-1单克隆抗体Fab片段相互作用的结合常数k_a或k_{on}(结合速率)、k_d或k_{off}(解离速率)和K_D(平衡解离常数)

样品	与人TREM-1的亲和力常数			与食蟹猴TREM-1的亲和力常数			
	重复	K _D	k _{on}	k _{off}	重复	K _D	k _{off}
INO-10F	1	7.71E-09	1.38E+05	1.06E-03	1	5.79E-8	2.07E-3
	2	7.89E-09	1.37E+05	1.08E-03	2	6.66E-8	1.47E-3
	平均	7.80E-09	1.38E+05	1.07E-03	平均	6.22E-8	1.77E-3
INO-10-F1	1	5.76E-09	1.89E+05	1.09E-03	没有观察到应答		
	2	7.81E-09	1.58E+05	1.24E-03			
	平均	6.79E-09	1.74E+05	1.17E-03			
INO-10-F2	1	1.29E-09	2.29E+05	2.97E-04	1	2.80E-08	8.69E-04
	2	1.75E-09	1.83E+05	3.21E-04	2	2.85E-08	9.00E-04
	平均	1.52E-09	2.06E+05	3.09E-04	平均	2.83E-08	8.85E-04
INO-10-F3	1	2.61E-10	2.03E+05	5.31E-05	1	7.60E-09	2.40E-04
	2	3.40E-10	2.00E+05	6.82E-05	2	7.68E-09	2.45E-04
	平均	3.01E-10	2.02E+05	6.07E-05	平均	7.64E-09	2.43E-04
INO-10-F4	1	9.61E-10	2.17E+05	2.09E-04	1	2.48E-08	7.68E-04
	2	1.07E-09	2.09E+05	2.24E-04	2	2.44E-08	7.74E-04
	平均	1.02E-09	2.13E+05	2.17E-04	平均	2.46E-08	7.71E-04
INO-10-F5	1	8.84E-10	2.04E+05	1.80E-04	1	1.58E-08	5.39E-04
	2	5.95E-10	2.00E+05	1.19E-04	2	1.57E-08	5.45E-04
	平均	7.40E-10	2.02E+05	1.50E-04	平均	1.58E-08	5.42E-04
INO-10-F6	1	3.89E-09	1.24E+05	4.81E-04	1	6.01E-08	1.21E-03
	2	4.03E-09	1.16E+05	4.67E-04	2	5.34E-08	1.33E-03
	平均	3.96E-09	1.20E+05	4.74E-04	平均	5.68E-08	1.27E-03

[0765] 优化的INO-10F变体能够抑制U937细胞和原代细胞上的TREM-1

[0766] 接下来评估优化的抗TREM-1Fab片段与用维生素D3预处理的U937 (U937-vitD3细胞) 和未处理的对照U937细胞上表达的人TREM-1的结合。正如预期的,在U937细胞上没有观察到结合(图17A)。如图17B所示,在U937-vitD3细胞上,INO-10F-F0在10 μ g/mL显示出弱结合,INO-10F显示出与先前获得的类似的结合概况(参见图3)。对于优化的变体INO-10F-1至INO-10F-6,观察到向更好亲和力的明显转变,这印证了SPR数据(图17B)。

[0767] 根据INO-10F获得的结果,INO-10F-1(其是与INO-10F最相似的人源化Fab片段,除了V_H-CDR2中有一个氨基酸的差异之外具有相同的CDR)能够减少PGLYRP-1:PGN复合物(PP复合物)刺激诱导的U937-vitD3细胞的IL-6释放,在0.5 μ g/mL时实现约50%的抑制(IC50)。与INO-10F相比对TREM-1的亲和力降低的INO-10F-0仅在10 μ g/mL时观察到IL-6释放的有限减少。INO-10F-2(F2)至INO-10F-6(F6)对TREM-1的亲和力提高转化为它们诱导IL-6释放的50%抑制(IC50)所需的剂量朝减少转变。特别是,INO-10F-3(F3)显示出约0.05 μ g/mL的IC50。肽LR12是一种已知的TREM-1抑制剂,用作阳性对照(图18)。INO-10F-3(F3)的结合在由新鲜分离的人中性粒细胞表达的TREM-1上得到证实,其中在约0.03 μ g/mL达到50%的结合(图19)。

[0768] 接下来,进行中性粒细胞LPS刺激测定,以评估优化的抗TREM-1Fab片段在减少用LPS刺激24小时后人原代中性粒细胞释放IL-8方面的能力。如图20所示,INO-10F-2(F2)和INO-10F-3(F3)在0.1至10 μ g/mL之间表现出良好的显著抑制特性。以1 μ g/mL或10 μ g/mL添加时,INO-10F-4(F4)和INO-10F-6(F6)也能够显著降低IL-8释放。INO-10F-1(F1)和INO-10F-5(F5)仅在以10 μ g/mL添加时才能显著降低IL-8释放。最后,还进行了中性粒细胞LPS刺激测定,以评估优化的抗TREM-1Fab片段在减少用LPS刺激人原代中性粒细胞24小时后诱导的ROS产生方面的能力。如图21A-H所示,INO-10F-2(F2)和INO-10F-3(F3)显示对LPS激活的中性粒细胞的ROS产生的最佳抑制特性。事实上,INO-10F-2(F2)抑制ROS产生是从0.01 μ g/mL时的28%到10 μ g/mL时的44%(图21D),并且INO-10F3(F3)能够抑制ROS释放是从0.01 μ g/mL时的21%到10 μ g/mL时的52%(图21E)。以1 μ g/mL或10 μ g/mL添加时,INO-10F-4(F4)和INO-10F-6(F6)也能够抑制LPS激活的中性粒细胞产生ROS。INO-10F-1(F1)和INO-10F-5(F5)只能在以10 μ g/mL添加时抑制LPS激活的中性粒细胞产生ROS。正如预期的那样,INO-10F-0(F0)不抑制LPS激活的中性粒细胞产生ROS。

[0769] 与HSA偶联的INO-10F变体能够抑制原代细胞上和全血测定中的TREM-1

[0770] 生成了由优化的Fab片段INO-10F-3(或F3)与人血清白蛋白(也称为HSA)偶联组成的融合蛋白。评估所述融合蛋白(称为F3-HSA)对人原代中性粒细胞的ROS产生的抑制作用(图22)。因此,在所示浓度(0-20 μ g/mL)的F3-HSA存在下,用LPS(100ng/mL)或用对应于PGLYRP1(5 μ g/mL)与肽聚糖(10 μ g/mL)复合的PP复合物(PP)或用仅肽聚糖(PGN-10 μ g/mL)刺激人原代中性粒细胞2小时。F3-HSA能够在刺激中性粒细胞后抑制ROS释放,用LPS刺激在约1 μ g/mL时减少约50%(参见图22A),用PP复合物在约1 μ g/mL时减少约85%(图22B),或单独使用PGN在约1 μ g/mL时减少约75%(图22C)。

[0771] 接下来,在红细胞裂解后进行24小时全血刺激测定,然后评估F3-HSA对细胞因子血浆浓度的影响。在静息条件下或在对应于PGLYRP1(5 μ g/mL)与PGN(10 μ g/mL)复合的PP复合物的存在下或在仅PGN(10 μ g/mL)的存在下,将F3-HSA或同工型对照(CTRL)以所示浓度

(0-20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)添加到全血中。24小时后,评估以下细胞因子的表达:IL-8和TNF- α 。如图23所示,在该测定中,与不减少细胞因子释放的对照相比,F3-HSA以剂量依赖性方式减少IL-8和TNF- α 的释放。事实上,F3-HSA减少了用PP或单独的PGN刺激后IL-8的释放(图23A),并且减少了用PP或单独的PGN刺激后TNF- α 的释放(图23B)。

[0772] 接下来用食蟹猴全血进行了类似的测定。因此,在静息条件下或在对应于PGLYRP1 (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)与PGN (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)复合的PP复合物的存在下或在仅PGN (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的存在下,将F3-HSA或同工型对照 (CTRL) 以所示浓度 (0-20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 添加到从健康食蟹猴供体 (*Macaca fascicularis*) 获得的全血中。24小时后,评估以下细胞因子的表达:IL-8、TNF- α 和IL-6。如图24所示,在该测定中,与不减少细胞因子的对照相比,F3-HSA以剂量依赖性方式减少了IL-8、TNF- α 和IL-6的释放。事实上,F3-HSA减少了用单独PGN或用PP刺激后IL-8的释放(图24A)、用单独PGN或用PP刺激后TNF- α 的释放(图24B)以及用单独PGN或用PP刺激后IL-6的释放(图24C)。

<221> SITE

<222> 12

<223> X是A, D或S

<220>

<221> SITE

<222> 16

<223> X是Q或K

<400> 2

Arg Ile Asp Pro Ala Xaa Gly Xaa Thr Lys Tyr Xaa Pro Lys Val Xaa

1

5

10

15

Gly

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR3 VH

<220>

<221> SITE

<222> 2

<223> X是Y或R

<220>

<221> SITE

<222> 4

<223> X是S或G

<400> 3

His Xaa Gly Xaa Thr Met Asp Tyr

1

5

<210> 4

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR1 VL

<220>

<221> SITE

<222> 4

<223> X是E或Q

<220>

Arg Ile Asp Pro Ala Gly Gly Arg Thr Lys Tyr Ser Pro Lys Val Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 13

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR3 VH

<400> 13

His Arg Gly Gly Thr Met Asp Tyr

1 5

<210> 14

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR1 VL

<400> 14

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Tyr Gly Ile Ser Phe Leu Asn

1 5 10 15

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR2 VL

<400> 15

Ala Ala Ser Tyr Gln Lys Arg

1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR3 VL

<400> 16

Gln Gln Ser Ser Asn Phe Pro Trp Thr

1 5

<210> 17

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR2 VH

<400> 17

Arg Ile Asp Pro Ala Gly Gly Arg Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Val Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR3 VL

<400> 18

Gln Gln Ser Ser Asn Val Pro Tyr Thr

1

5

<210> 19

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR2 VH

<400> 19

Arg Ile Asp Pro Ala Gly Gly Arg Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Val Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR2 VL

<400> 20

Ala Ala Glu Tyr Gln Gly Arg

1

5

<210> 21

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 28

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

<210> 29

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 29

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

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

<210> 32

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 32

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

<210> 33

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 33

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

<210> 34

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 34

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

<210> 35

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 35

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

<210> 36

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 36

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Ser Phe Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 35 40 45
 Arg Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Glu Tyr Gln Gly Arg Gly Ile Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser

				85					90					95			
Asn	Val	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys			
				100					105					110			
<210>	37																
<211>	111																
<212>	PRT																
<213>	人工序列																
<220>																	
<223>	VL																
<400>	37																
Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly		
1				5					10					15			
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Asn	Tyr		
				20					25					30			
Gly	Ile	Ser	Phe	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro		
				35				40						45			
Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ala	Ala	Glu	Tyr	Arg	Ala	Arg	Gly	Ile	Pro	Ala		
				50				55						60			
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser		
65					70					75					80		
Ser	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Ser		
					85					90					95		
Asn	Val	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys			
				100						105				110			
<210>	38																
<211>	111																
<212>	PRT																
<213>	人工序列																
<220>																	
<223>	VL																
<400>	38																
Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly		
1				5					10					15			
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Glu	Ser	Val	Asp	Asn	Tyr		
				20					25					30			
Gly	Ile	Ser	Phe	Met	Asn	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro		
				35				40						45			
Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ala	Ala	Ser	Asn	Gln	Gly	Ser	Gly	Ile	Pro	Ala		
				50				55						60			

Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 41

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 41

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

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

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

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Thr Gly His Tyr Gly Ser Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 42

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 42

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

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

Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Thr Pro
 35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Asn Ile His
 65 70 75 80
 Pro Met Glu Asp Asp Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys
 85 90 95
 Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 43
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <220>
 <223> TREM-1
 <400> 43
 Met Arg Lys Thr Arg Leu Trp Gly Leu Leu Trp Met Leu Phe Val Ser
 1 5 10 15
 Glu Leu Arg Ala Ala Thr Lys Leu Thr Glu Glu Lys Tyr Glu Leu Lys
 20 25 30
 Glu Gly Gln Thr Leu Asp Val Lys Cys Asp Tyr Thr Leu Glu Lys Phe
 35 40 45
 Ala Ser Ser Gln Lys Ala Trp Gln Ile Ile Arg Asp Gly Glu Met Pro
 50 55 60
 Lys Thr Leu Ala Cys Thr Glu Arg Pro Ser Lys Asn Ser His Pro Val
 65 70 75 80
 Gln Val Gly Arg Ile Ile Leu Glu Asp Tyr His Asp His Gly Leu Leu
 85 90 95
 Arg Val Arg Met Val Asn Leu Gln Val Glu Asp Ser Gly Leu Tyr Gln
 100 105 110
 Cys Val Ile Tyr Gln Pro Pro Lys Glu Pro His Met Leu Phe Asp Arg
 115 120 125
 Ile Arg Leu Val Val Thr Lys Gly Phe Ser Gly Thr Pro Gly Ser Asn
 130 135 140
 Glu Asn Ser Thr Gln Asn Val Tyr Lys Ile Pro Pro Thr Thr Thr Lys
 145 150 155 160
 Ala Leu Cys Pro Leu Tyr Thr Ser Pro Arg Thr Val Thr Gln Ala Pro
 165 170 175
 Pro Lys Ser Thr Ala Asp Val Ser Thr Pro Asp Ser Glu Ile Asn Leu
 180 185 190

Thr Asn Val Thr Asp Ile Ile Arg Val Pro Val Phe Asn Ile Val Ile
 195 200 205
 Leu Leu Ala Gly Gly Phe Leu Ser Lys Ser Leu Val Phe Ser Val Leu
 210 215 220
 Phe Ala Val Thr Leu Arg Ser Phe Val Pro
 225 230
 <210> 44
 <211> 150
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <220>
 <223> TREM-1
 <400> 44
 Met Arg Lys Thr Arg Leu Trp Gly Leu Leu Trp Met Leu Phe Val Ser
 1 5 10 15
 Glu Leu Arg Ala Ala Thr Lys Leu Thr Glu Glu Lys Tyr Glu Leu Lys
 20 25 30
 Glu Gly Gln Thr Leu Asp Val Lys Cys Asp Tyr Thr Leu Glu Lys Phe
 35 40 45
 Ala Ser Ser Gln Lys Ala Trp Gln Ile Ile Arg Asp Gly Glu Met Pro
 50 55 60
 Lys Thr Leu Ala Cys Thr Glu Arg Pro Ser Lys Asn Ser His Pro Val
 65 70 75 80
 Gln Val Gly Arg Ile Ile Leu Glu Asp Tyr His Asp His Gly Leu Leu
 85 90 95
 Arg Val Arg Met Val Asn Leu Gln Val Glu Asp Ser Gly Leu Tyr Gln
 100 105 110
 Cys Val Ile Tyr Gln Pro Pro Lys Glu Pro His Met Leu Phe Asp Arg
 115 120 125
 Ile Arg Leu Val Val Thr Lys Gly Phe Arg Cys Ser Thr Leu Ser Phe
 130 135 140
 Ser Trp Leu Val Asp Ser
 145 150
 <210> 45
 <211> 225
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <220>
 <223> TREM-1

<400> 45

Met Arg Lys Thr Arg Leu Trp Gly Leu Leu Trp Met Leu Phe Val Ser
 1 5 10 15
 Glu Leu Arg Ala Ala Thr Lys Leu Thr Glu Glu Lys Tyr Glu Leu Lys
 20 25 30
 Glu Gly Gln Thr Leu Asp Val Lys Cys Asp Tyr Thr Leu Glu Lys Phe
 35 40 45
 Ala Ser Ser Gln Lys Ala Trp Gln Ile Ile Arg Asp Gly Glu Met Pro
 50 55 60
 Lys Thr Leu Ala Cys Thr Glu Arg Pro Ser Lys Asn Ser His Pro Val
 65 70 75 80
 Gln Val Gly Arg Ile Ile Leu Glu Asp Tyr His Asp His Gly Leu Leu
 85 90 95
 Arg Val Arg Met Val Asn Leu Gln Val Glu Asp Ser Gly Leu Tyr Gln
 100 105 110
 Cys Val Ile Tyr Gln Pro Pro Lys Glu Pro His Met Leu Phe Asp Arg
 115 120 125
 Ile Arg Leu Val Val Thr Lys Gly Phe Ser Gly Thr Pro Gly Ser Asn
 130 135 140
 Glu Asn Ser Thr Gln Asn Val Tyr Lys Ile Pro Pro Thr Thr Thr Lys
 145 150 155 160
 Ala Leu Cys Pro Leu Tyr Thr Ser Pro Arg Thr Val Thr Gln Ala Pro
 165 170 175
 Pro Lys Ser Thr Ala Asp Val Ser Thr Pro Asp Ser Glu Ile Asn Leu
 180 185 190
 Thr Asn Val Thr Asp Ile Ile Arg Tyr Ser Phe Gln Val Pro Gly Pro
 195 200 205
 Leu Val Trp Thr Leu Ser Pro Leu Phe Pro Ser Leu Cys Ala Glu Arg
 210 215 220

Met

225

<210> 46

<211> 250

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<223> TREM-1

<400> 46

Met Arg Lys Thr Arg Leu Trp Gly Leu Leu Trp Met Leu Phe Val Ser

1	5	10	15
Glu Leu Arg Ala Ala Thr Lys Leu Thr Glu Glu Lys Tyr Glu Leu Lys			
	20	25	30
Glu Gly Gln Thr Leu Asp Val Lys Cys Asp Tyr Thr Leu Glu Lys Phe			
	35	40	45
Ala Ser Ser Gln Lys Ala Trp Gln Ile Ile Arg Asp Gly Glu Met Pro			
	50	55	60
Lys Thr Leu Ala Cys Thr Glu Arg Pro Ser Lys Asn Ser His Pro Val			
65	70	75	80
Gln Val Gly Arg Ile Ile Leu Glu Asp Tyr His Asp His Gly Leu Leu			
	85	90	95
Arg Val Arg Met Val Asn Leu Gln Val Glu Asp Ser Gly Leu Tyr Gln			
	100	105	110
Cys Val Ile Tyr Gln Pro Pro Lys Glu Pro His Met Leu Phe Asp Arg			
	115	120	125
Ile Arg Leu Val Val Thr Lys Gly Phe Ser Gly Thr Pro Gly Ser Asn			
	130	135	140
Glu Asn Ser Thr Gln Asn Val Tyr Lys Ile Pro Pro Thr Thr Thr Lys			
145	150	155	160
Ala Leu Cys Pro Leu Tyr Thr Ser Pro Arg Thr Val Thr Gln Ala Pro			
	165	170	175
Pro Lys Ser Thr Ala Asp Val Ser Thr Pro Asp Ser Glu Ile Asn Leu			
	180	185	190
Thr Asn Val Thr Asp Ile Ile Arg Glu Lys Ser Met Thr Phe Gly Ile			
	195	200	205
Arg Arg Leu Asp Val Glu Ser His Pro Leu Pro Pro Leu His Thr Gly			
	210	215	220
His Phe Arg Ile Ser Gln Phe Phe Ser Gln Ala Gly Thr Gln Ser Leu			
225	230	235	240
His Ser Cys Tyr Lys Gly Lys Pro Thr Pro			
	245	250	

<210> 47

<211> 351

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 47

gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggcgct ctcgtgaagc ctggcggctc tctcagactc

60

tcttgcgctg cctccggctt caacatcgac aacacctaca tccactgggt gcggcaggct	120
cctggaaagg gactcgagtg gatcggaaga atcgacctg ctggaggag aaccaagtac	180
gaccccaagg tcaagggcg gttcaccatc tctgccgaca cctccaagaa caccgcctac	240
ctgcagatga acagcctcaa gaccgaggac accgctgtct actactgcac cgggcactac	300
ggagggacaa tggattactg gggacagggg aactcgtca ccgtctctag c	351
<210> 48	
<211> 351	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VH	
<400> 48	
gaggtgcagc tggaggagtc tggaggcgct ctcgtgaagc ctggcggctc tctcagactc	60
tcttgcgctg cctccggctt caacatcgga aacacctaca tccactgggt gcggcaggct	120
cctggaaagg gactcgagtg gatcggaaga atcgacctg ctggaggag aaccaagtac	180
tcccaaaagg tccagggcg gttcaccatc tctgcccta cctccaagaa caccgcctac	240
ctgcagatga acagcctcaa gaccgaggac accgctgtct actactgtac cgggcacagg	300
ggagggacaa tggattactg gggacagggg aactcgtca ccgtctctag c	351
<210> 49	
<211> 351	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VH	
<400> 49	
gaggtgcagc tggaggagtc tggaggcgct ctggtgaagc ctggcggctc tctgagactg	60
tcttgcgctg cctccggctt caacatcggc aacacctaca tccactgggt gcggcaggct	120
cctggaaagg gactggagtg ggtgggcaga atcgatcctg ctggcggag aaccaagtac	180
gccccaaagg tgaaggacg gttcaccatc tctgccgac actccaagaa caccgcctac	240
ctccagatga actccctcaa gaccgaggac accgctgtgt actactgtac cggacaccgg	300
ggagggacaa tggattactg gggacagggg aactcgtga ccgtgtcttc c	351
<210> 50	
<211> 351	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VH	
<400> 50	
gaggtgcagc tggaggagtc tggaggcgct ctggtgaagc ctggcggctc tctgagactg	60

tcttgcgctg cctccggctt caacatcggc aacacctaca tccactgggt gcggcaggct	120
cctggaaagg gactggagtg gatcggcaga atcgacctg ctggcggaag aaccaagtac	180
gccccaaagg tgcagggacg gttcaccatc tctgccgaca cctccaagaa caccgcctac	240
ctccagatga actccctcaa gaccgaggac accgccgtgt actactgcac cggacactac	300
ggagggacaa tggattactg gggacagggg aactcgtga ccgtgtcttc c	351
<210> 51	
<211> 351	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VH	
<400> 51	
gaggtgcagc tggaggagtc tggaggcgct ctggtgaagc ctggcggtc tctcagactc	60
tcttgcgctg cctccggctt caacatcggc aacacctaca tccactgggt gcggcaggct	120
cctggaaagg gactcgagtg ggtcggaga atcgatctg ctggaggag aaccaagtac	180
gccccaaagg tcaagggcg gttcaccatc tctgccgac actccaagaa caccctgtac	240
ctccagatga acagcctcaa gaccgaggac accgctgtct actactgtac cgggcacagg	300
ggagggacaa tggattactg gggacagggg aactcgtca ccgtctctag c	351
<210> 52	
<211> 351	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VH	
<400> 52	
gaggtgcagc tggaggagtc tggaggcgct ctggtgaagc ctggcggtc tctgagactg	60
tcttgcgctg cctccggctt caacatcaag aacacctaca tccactgggt gcggcaggct	120
cctggaaagg gactggagtg gatcggccg atcgacctg ctaacggcaa caccaagtac	180
gccccaaagg tgcagggacg gttcaccatc tctgccgaca cctccaagaa caccgcctac	240
ctccagatga actccctcaa gaccgaggac accgccgtgt actactgcac cggacactac	300
ggatccacca tggactactg gggacagggg aactcgtga ccgtgtcttc c	351
<210> 53	
<211> 333	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VL	
<400> 53	
gagatcgtcc tgaccagtc tctgccacc ctgtctctct ctcccggcga aagagccacc	60

ctctcttgca ggcctccga gtccgtggac aactacggca tctccttct caactggtac	120
caacagaagc ctggacaggc ccctaggctc ctcatctacg ctgctgagta caggggaagg	180
ggaatccccg ctaggttctc tgggagtggg tctgggaccg acttcaccct caccatctcc	240
tccctcgagc ccgaggactt cgctgtgtac tactgccagc agtcccggca cgtgccttac	300
accttcgggc aggggaccaa ggtggagatc aag	333
<210> 54	
<211> 333	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VL	
<400> 54	
gagatcgctc tgaccagtc tctgccacc ctgtctctgt ctcccggcga gagagccacc	60
ctgtcttgca ggcctccca gtccgtgtcc aactacggca tctccttct gaactggtac	120
caacagaagc ctggccaggc ccctagactc ctcatctacg ccgctctta ccagaagcgg	180
ggcatccccg ccagattctc tggatctgga tctggaaccg acttcaccct caccatctcc	240
tccctcgagc ccgaggactt cgcagtgtac tactgccagc agtctccaa cttcccctgg	300
accttcggac aggggaccaa ggtggagatc aag	333
<210> 55	
<211> 333	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VL	
<400> 55	
gagatcgctc tgaccagtc tctgccacc ctgtctctgt ctcccggcga gagagccacc	60
ctgtcttgca ggcctccca gtccgtgtcc aactacggca tctccttct gaactggtac	120
caacagaagc ctggccaggc ccctagactc ctcatctacg ccgccagta cagaggcaga	180
ggcatccccg ccagattctc tggatctgga tctggaaccg acttcaccct caccatctcc	240
tccctcgagc ccgaggactt cgcagtgtac tactgccagc agtctccaa cgtgccttac	300
accttcggcc aggggaccaa ggtggagatc aag	333
<210> 56	
<211> 333	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VL	
<400> 56	
gagatcgctc tgaccagtc tctgccacc ctgtctctgt ctcccggcga gagagccacc	60

ctgtcttgca gagcctccca gtccgtgtcc aactacggca tctccttct gaactggtac 120
 caacagaagc ctggccaggc ccctagactg ctcatctacg cgcgagagta ccagggcaga 180
 ggcattccctg ccagattctc tggatctgga tctggaaccg acttcaccct caccatctcc 240
 tccctcgagc ccgaggactt cgcagtgtac tactgccagc agtctctcaa cgtgccttac 300
 accttcggcc aggggaccaa gctcgagatc aag 333

<210> 57

<211> 333

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 57

gagatcgtcc tgaccagtc tctgcccacc ctgtctctct ctcccggcga aagagccacc 60
 ctctcttgca gagcctccca gtccgtgtcc aactacggaa tctccttct caactggtac 120
 caacagaagc ctggacaggc ccctagctc ctcatctacg cagctgagta cagggctagg 180
 ggaatccccg ctaggttctc tggatctggg agtgggaccg acttcaccct caccatctcc 240
 tccctggagc ccgaggactt cgtctgttac tactgccagc agtctctcaa cgtgccttac 300
 accttcgggc aggggaccaa ggtggagatc aag 333

<210> 58

<211> 333

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 58

gagatcgtcc tgaccagtc tctgcccacc ctgtctctgt ctcccggcga gagagccacc 60
 ctgtcttgca gagcctccga gtccgtggac aactacggca tctccttcat gaactggttc 120
 caacagaagc ctggccaggc ccctagactg ctcatctacg cgcctctaa ccagggtctt 180
 ggcattccccg ccagattctc tggatctgga tctggaaccg acttcaccct caccatctcc 240
 tccctcgagc ccgaggactt cgcagtgtac ttctgccagc agtccaagga ggtcccttgg 300
 acctttgggc aggggaccaa ggtggagatc aag 333

<210> 59

<211> 585

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<223> HSA

<400> 59

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1	5	10	15
Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln			
	20	25	30
Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu			
	35	40	45
Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys			
	50	55	60
Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu			
65	70	75	80
Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro			
	85	90	95
Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu			
	100	105	110
Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His			
	115	120	125
Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg			
	130	135	140
Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg			
145	150	155	160
Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala			
	165	170	175
Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser			
	180	185	190
Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu			
	195	200	205
Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro			
	210	215	220
Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys			
225	230	235	240
Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp			
	245	250	255
Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser			
	260	265	270
Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His			
	275	280	285
Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser			
	290	295	300
Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala			
305	310	315	320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585

<210> 60

<211> 585

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<223> HSA
 <400> 60
 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30
 Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45
 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60
 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80
 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95
 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110
 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125
 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140
 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160
 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175
 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190
 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205
 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220
 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290	295	300
Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala		
305	310	315
Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg		
	325	330
Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr		
	340	345
Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu		
	355	360
Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro		
370	375	380
Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu		
385	390	395
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro		
	405	410
Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys		
	420	425
Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys		
435	440	445
Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His		
450	455	460
Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser		
465	470	475
Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr		
	485	490
Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp		
	500	505
Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala		
515	520	525
Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu		
530	535	540
Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys		
545	550	555
Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val		
	565	570
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu		
	580	585

<210> 61

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LR12

<400> 61

Leu Gln Glu Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Gly Cys Met

1

5

10

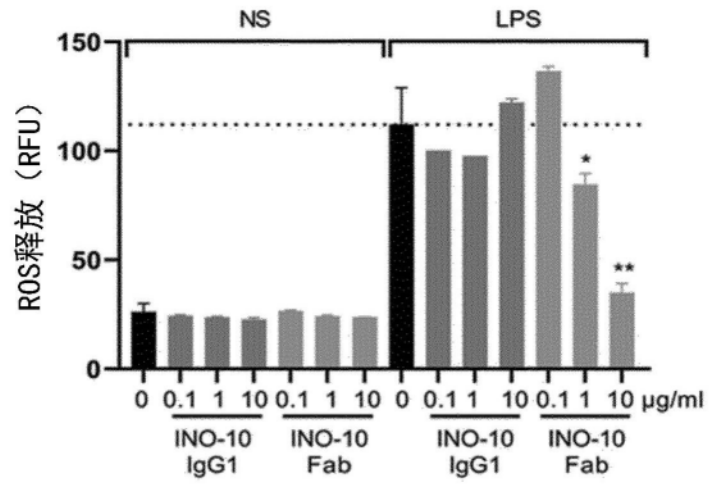


图1

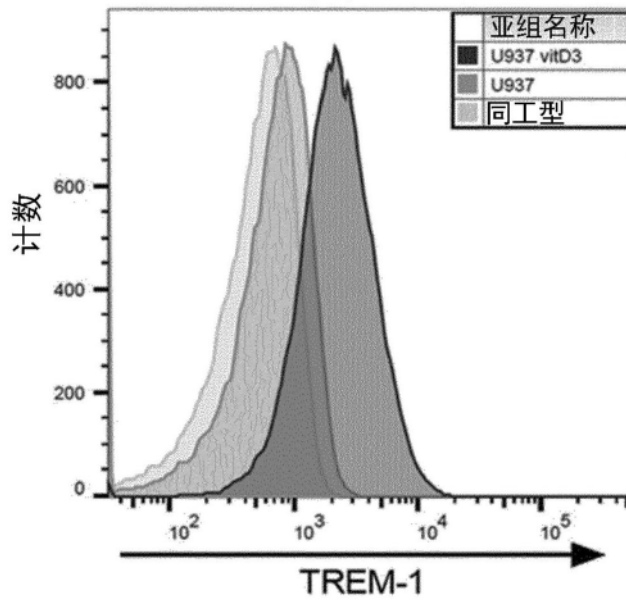


图2

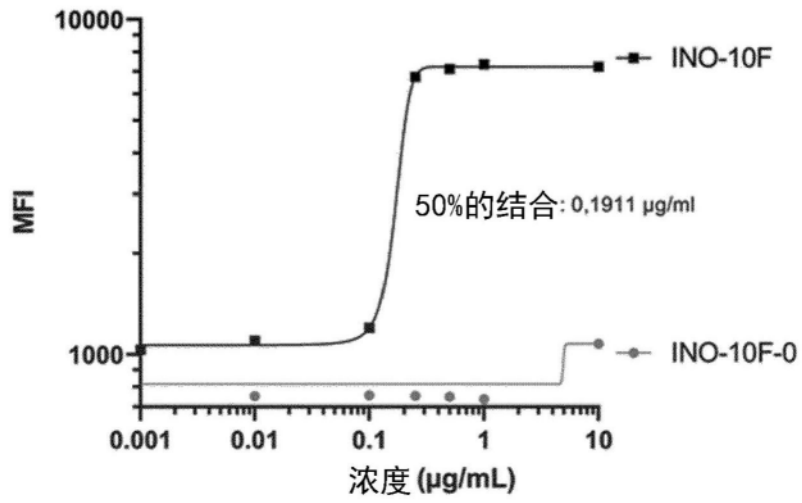


图3

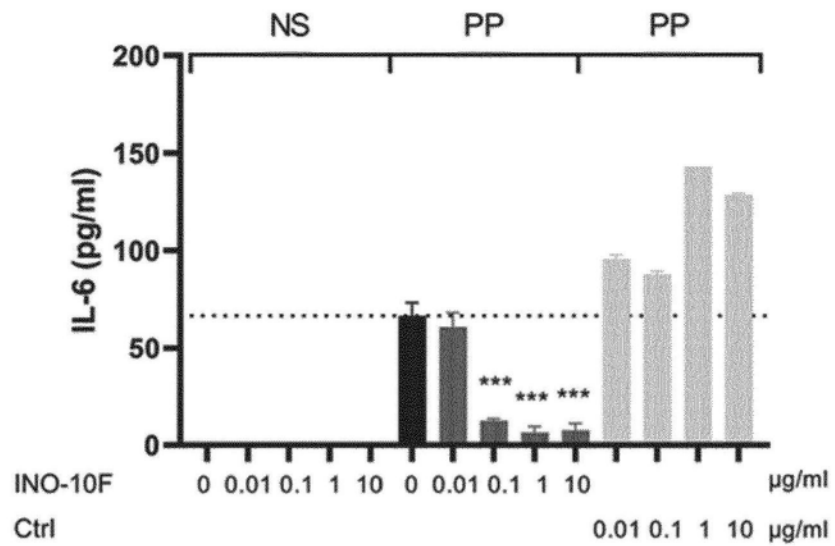


图4A

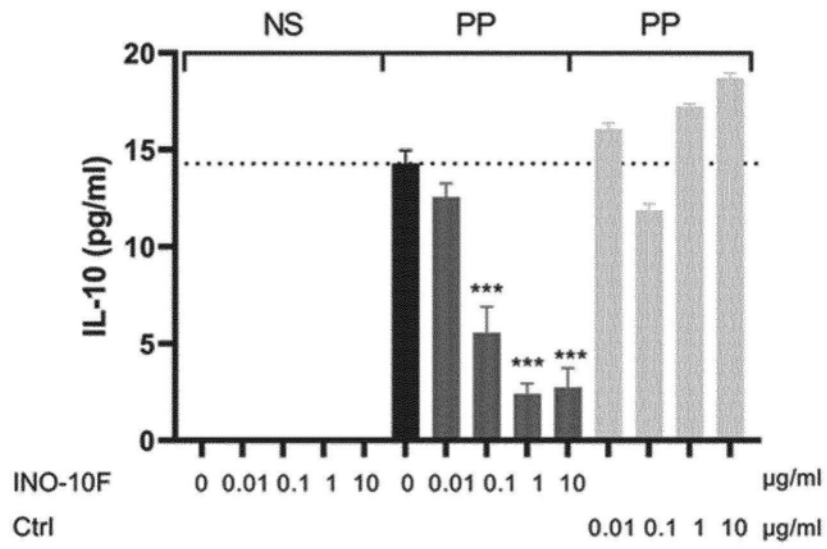


图4B

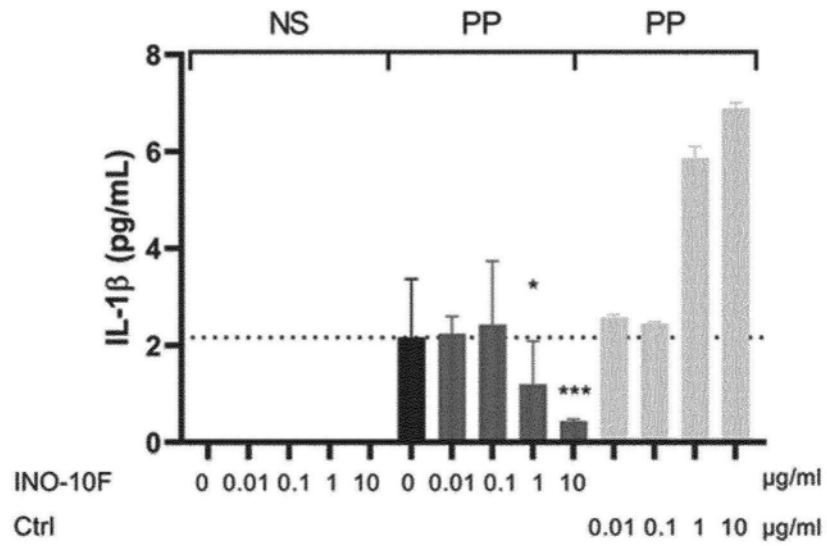
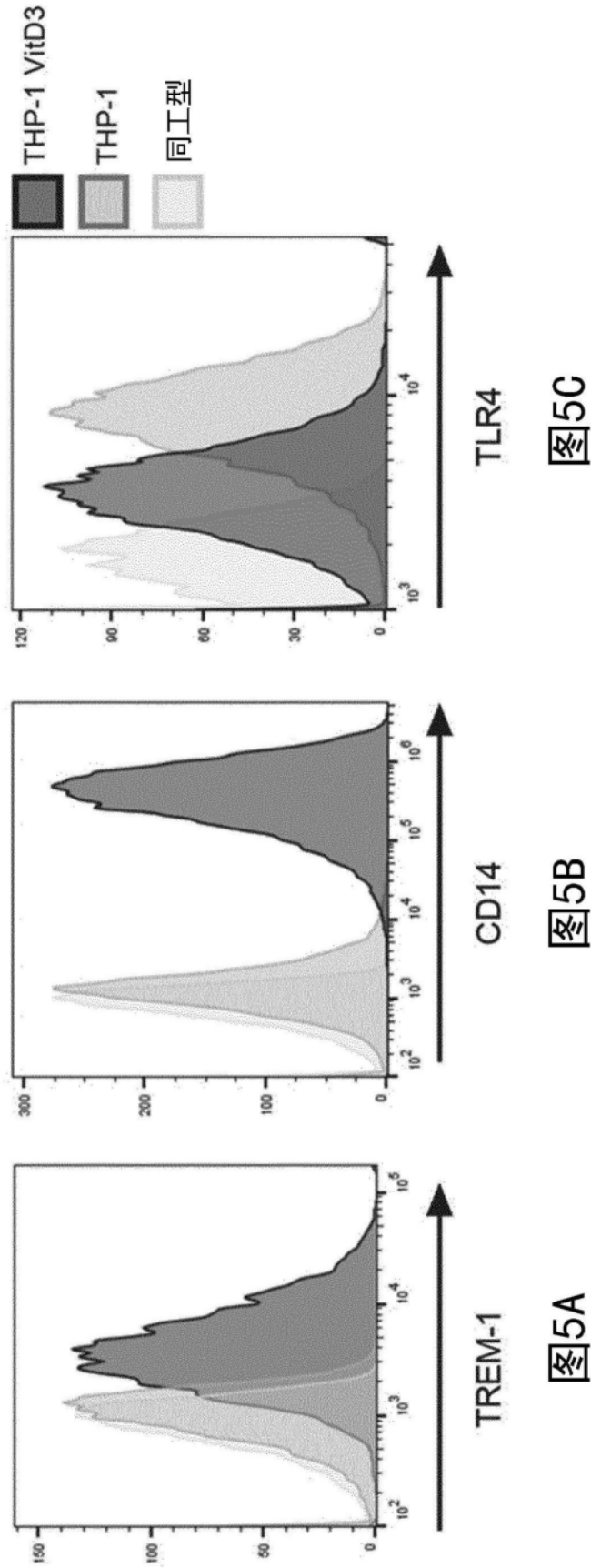


图4C



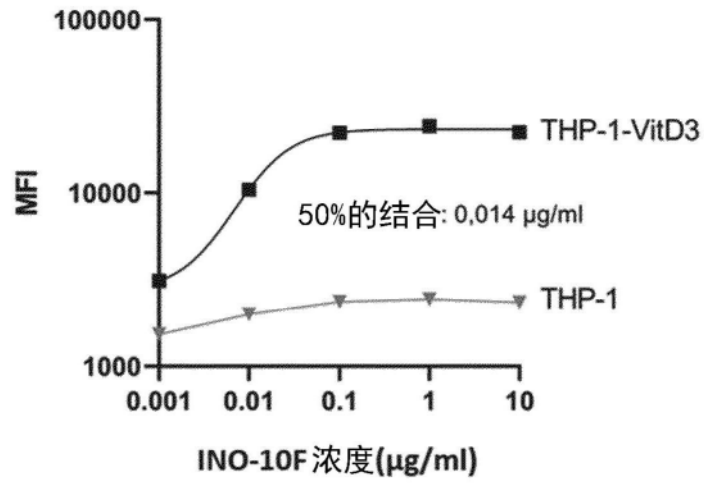


图6

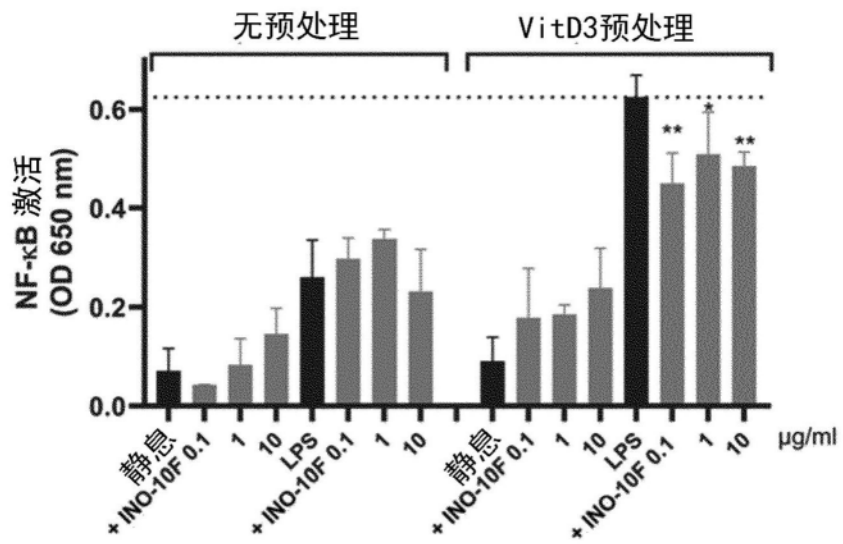


图7A

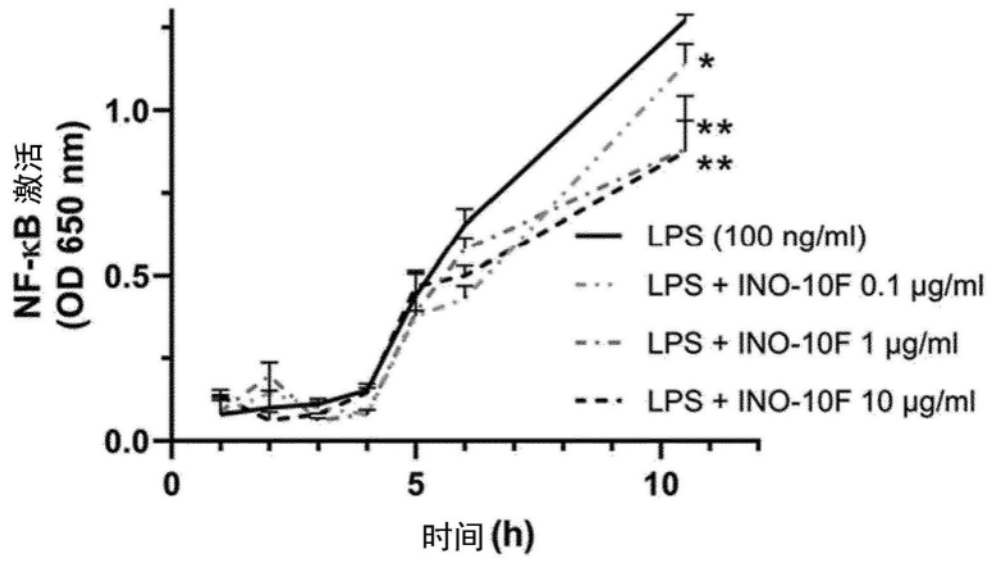


图7B

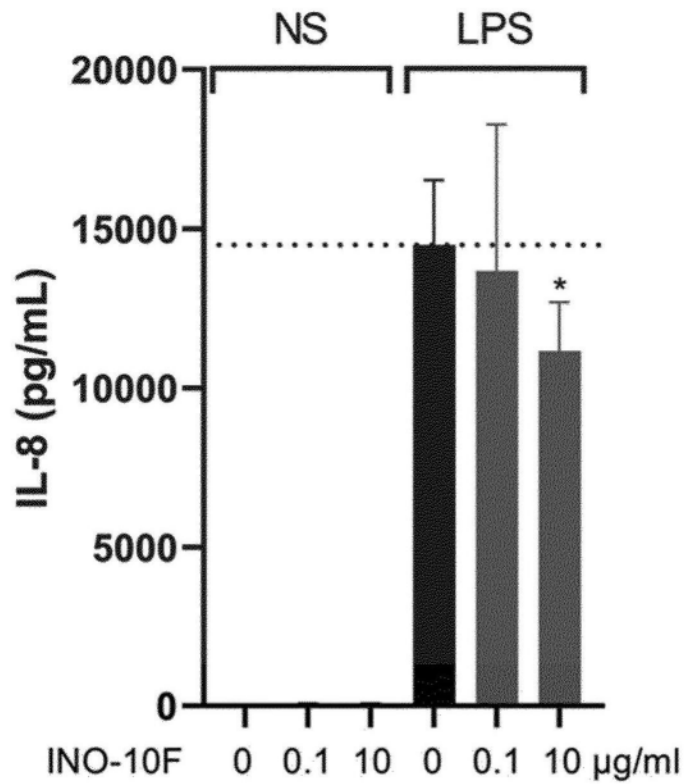


图8

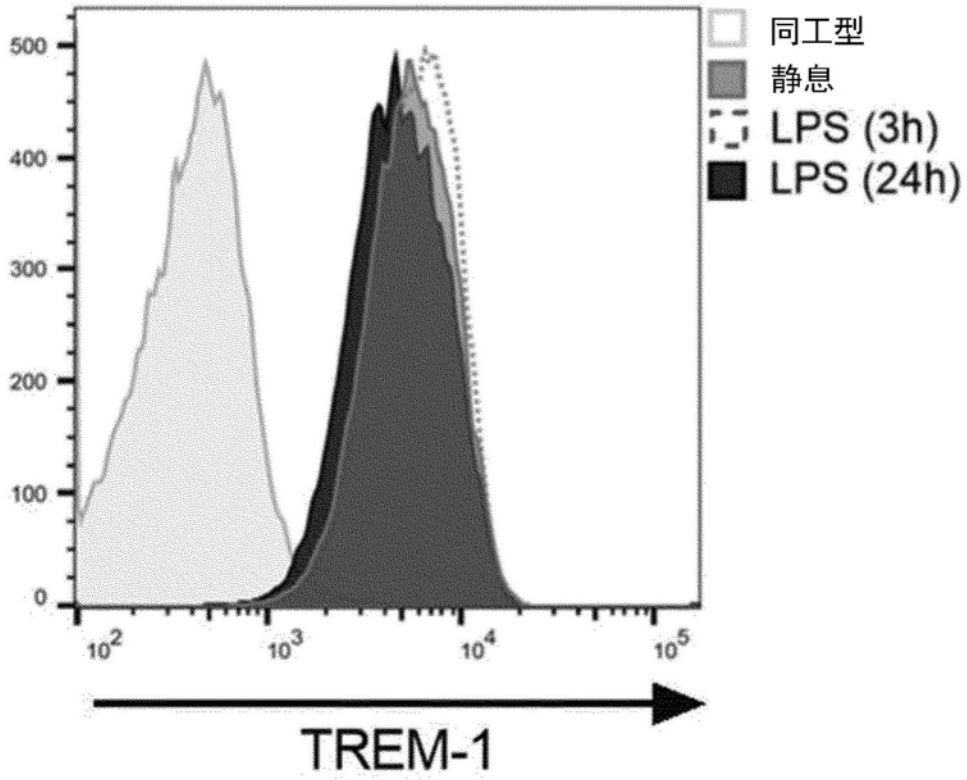


图9

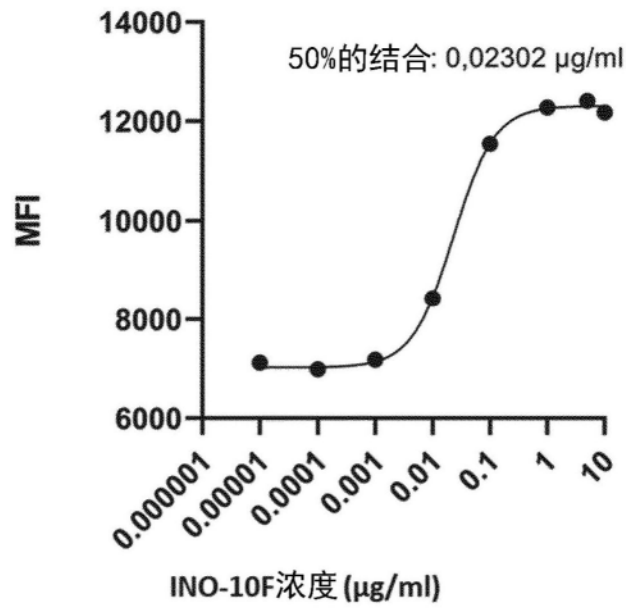


图10

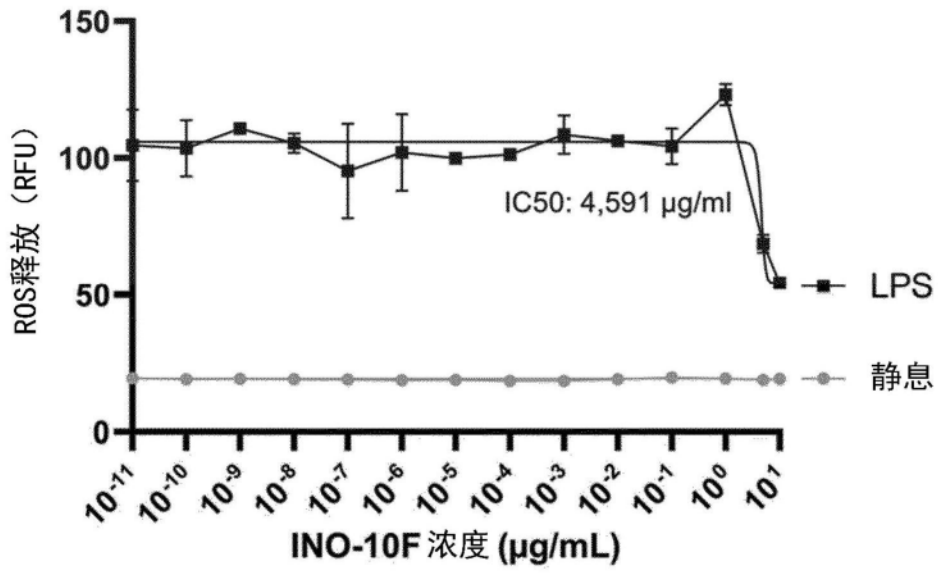


图11

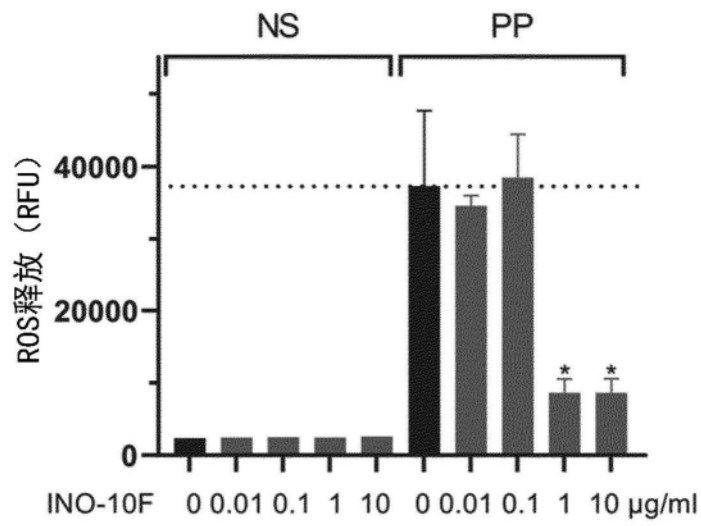


图12A

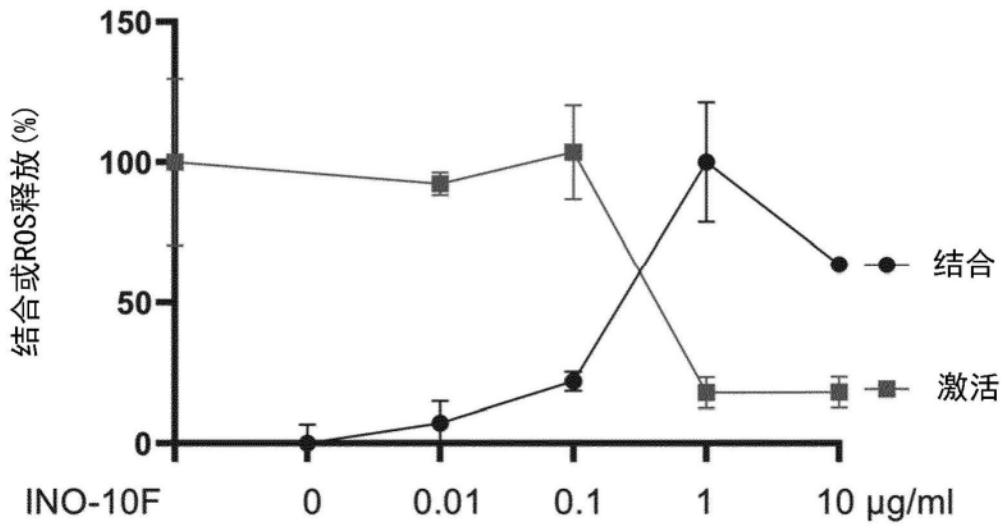


图12B

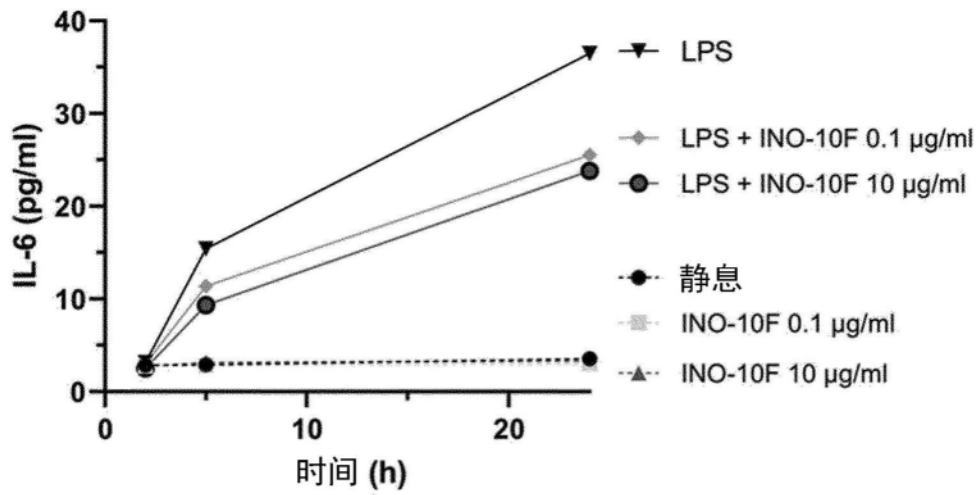


图13

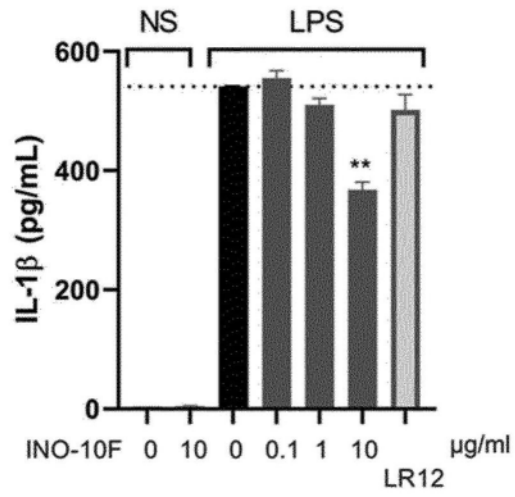


图14A

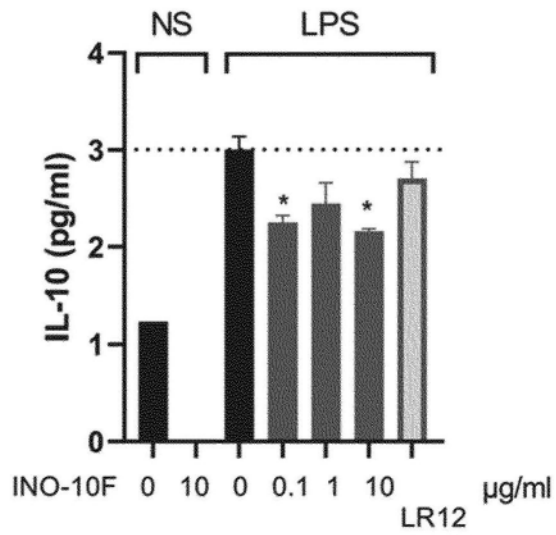


图14B

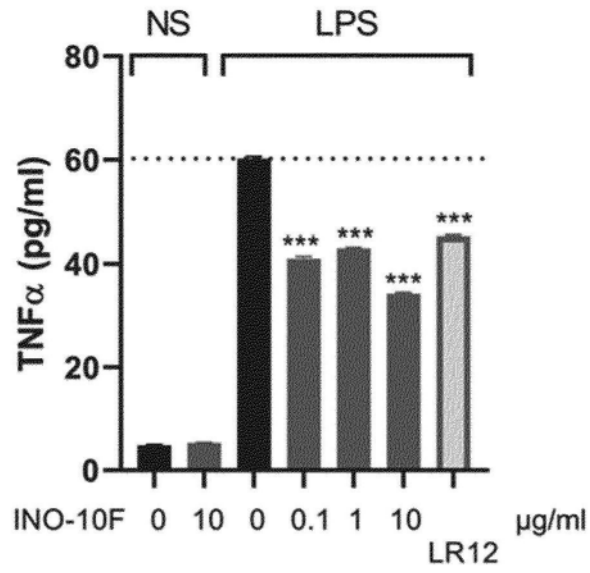


图14C

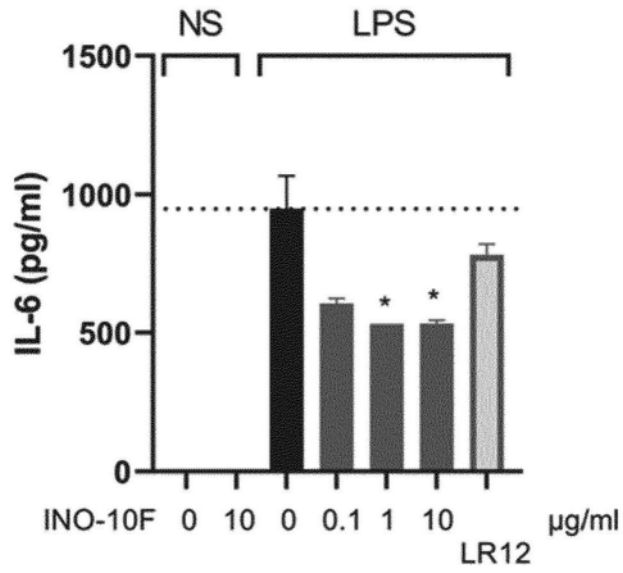


图14D

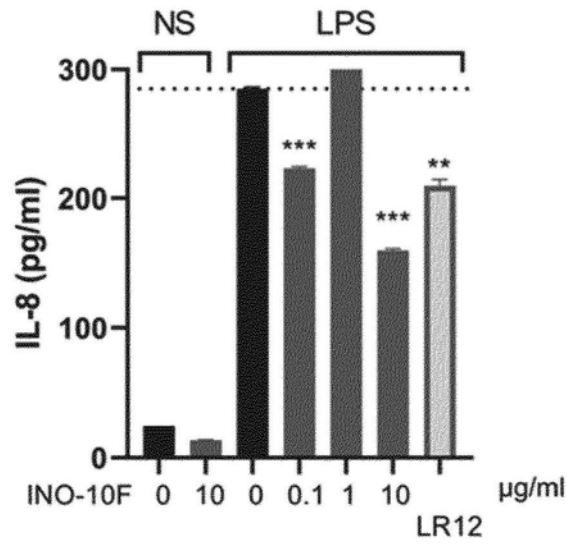


图14E

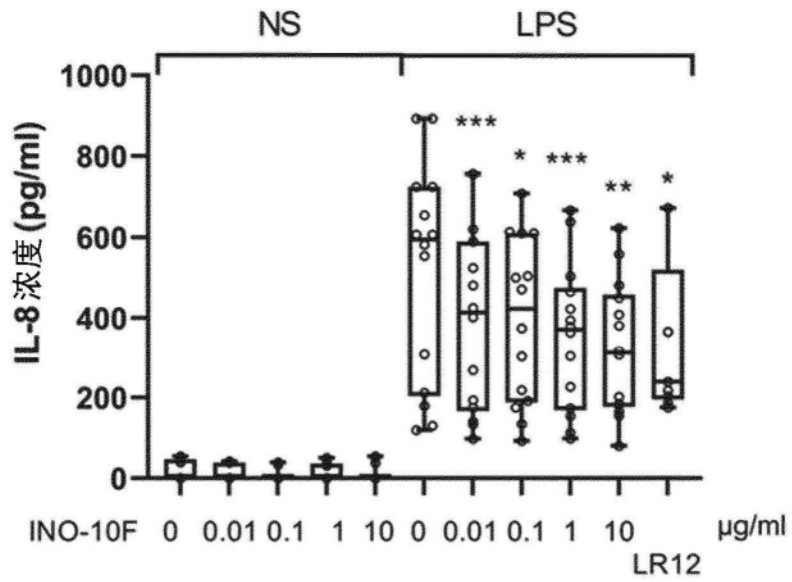


图15

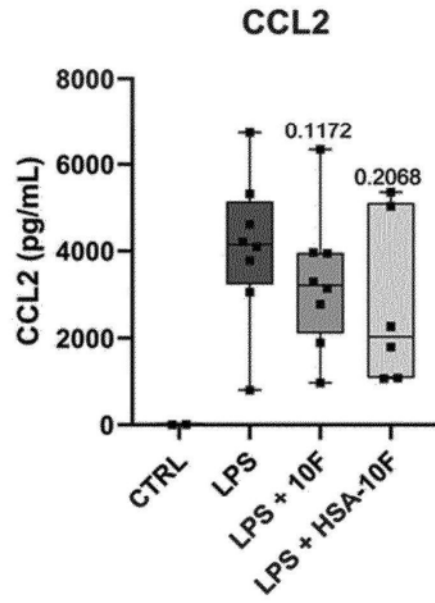


图16A

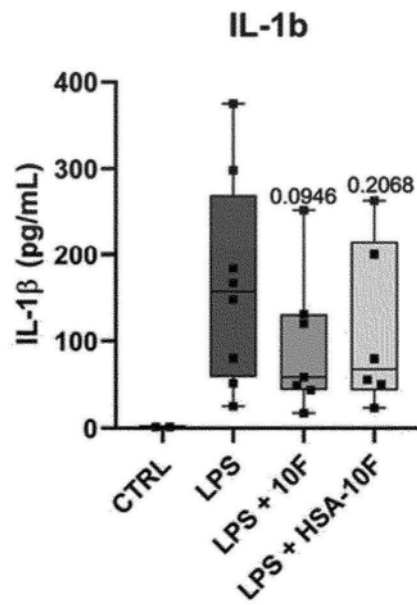


图16B

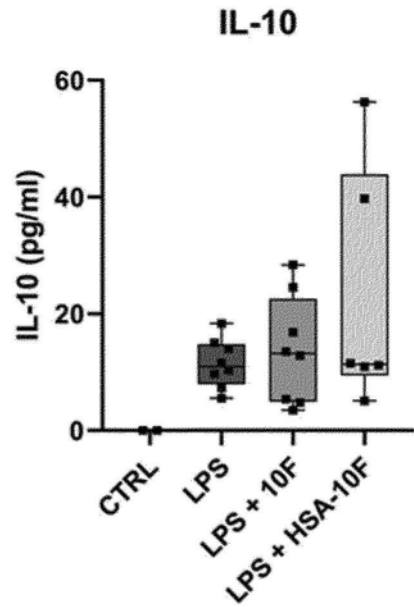


图16C

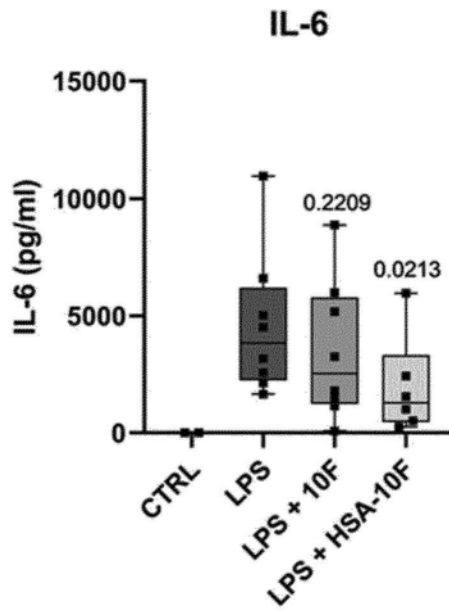


图16D

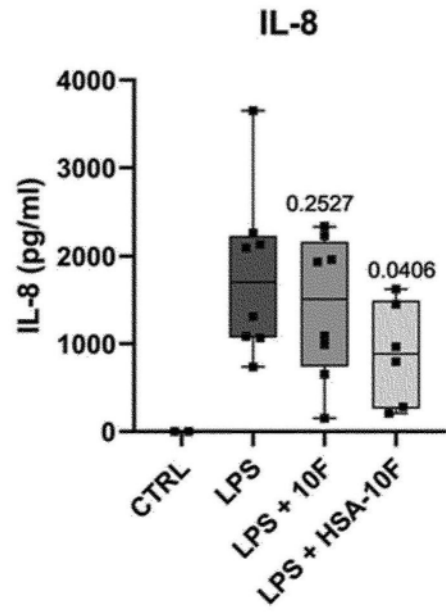


图16E

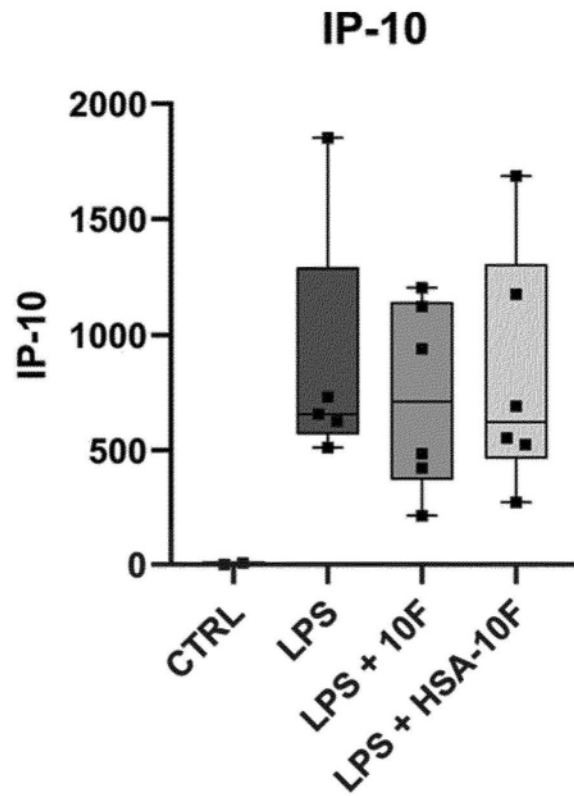


图16F

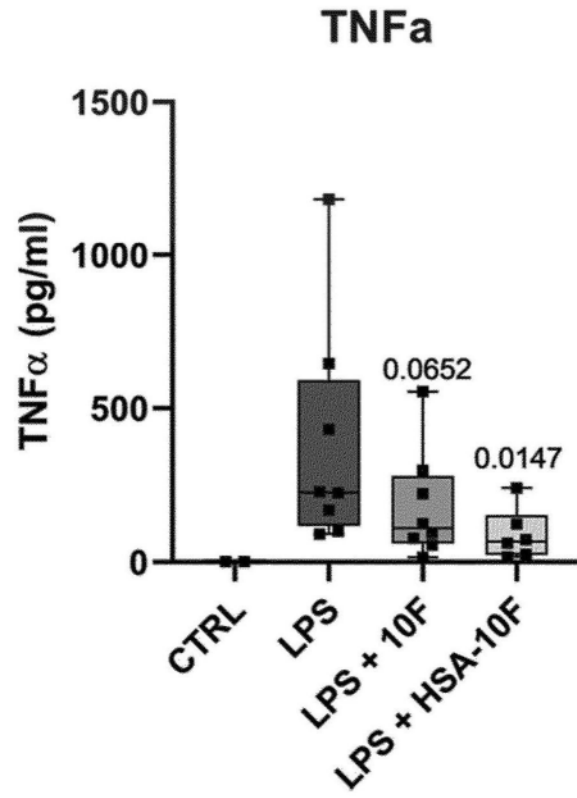


图16G

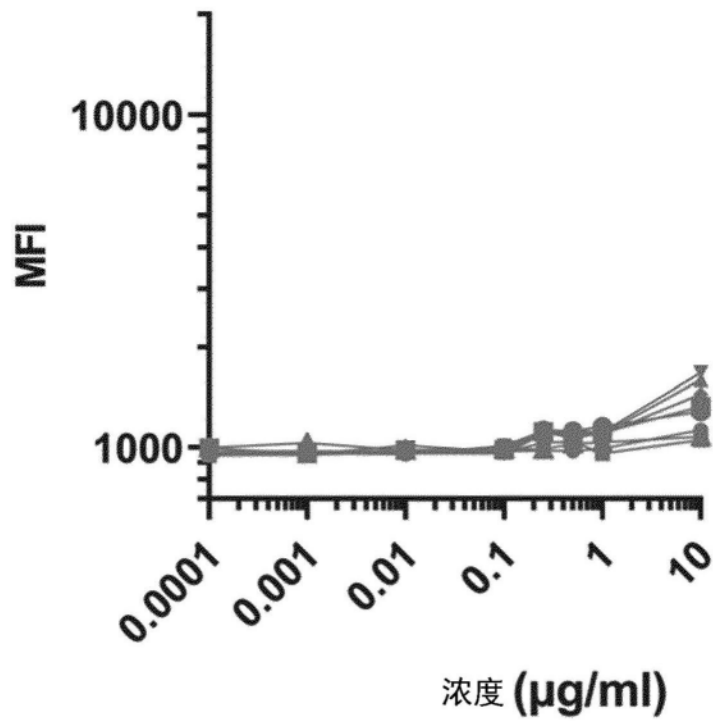


图17A

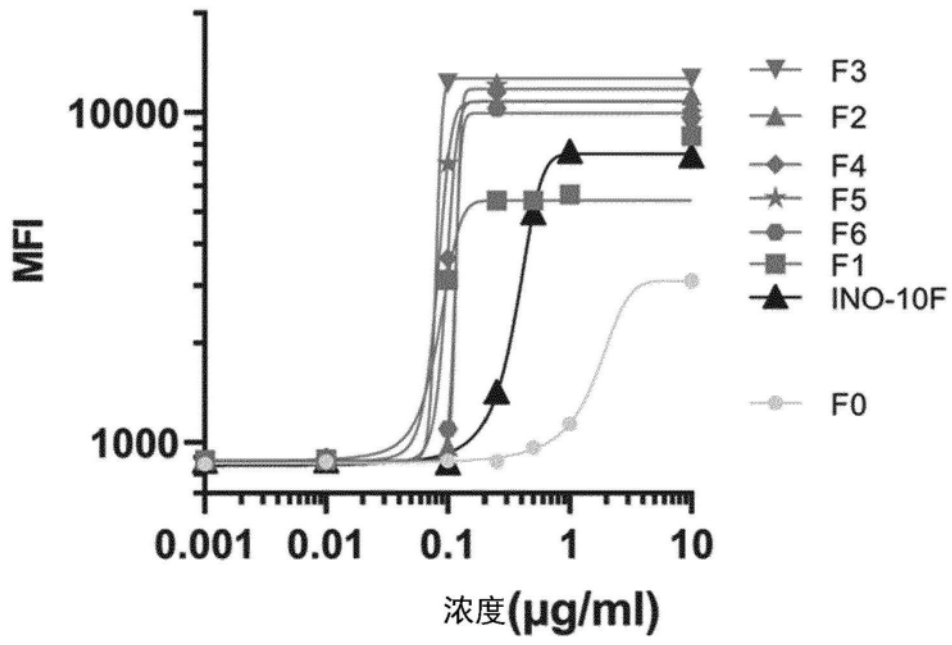


图17B

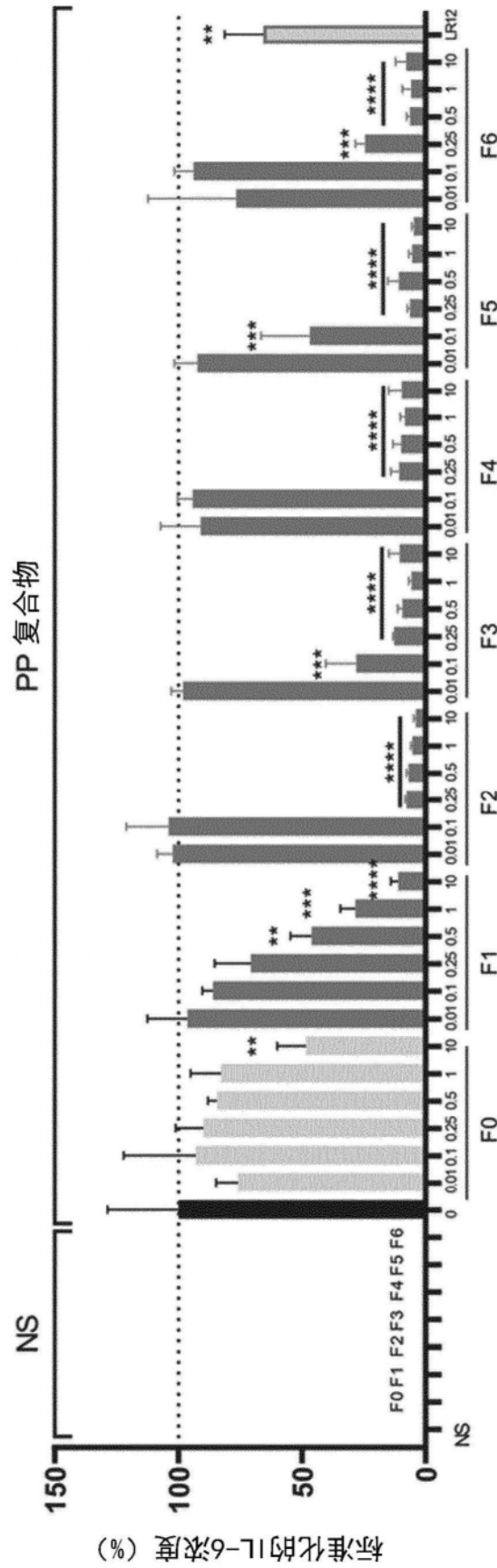


图18

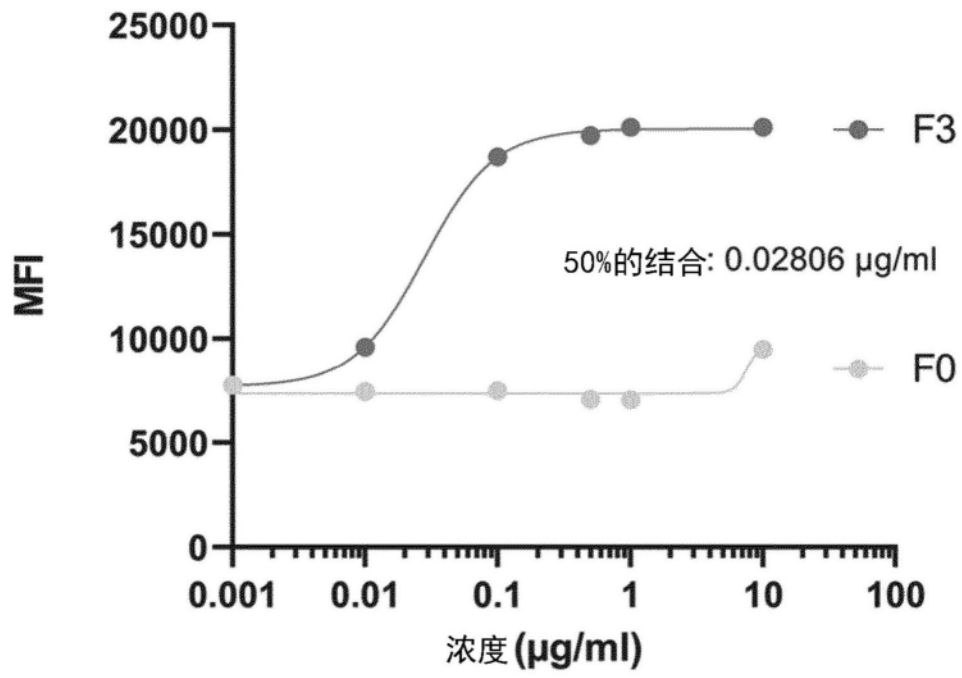


图19

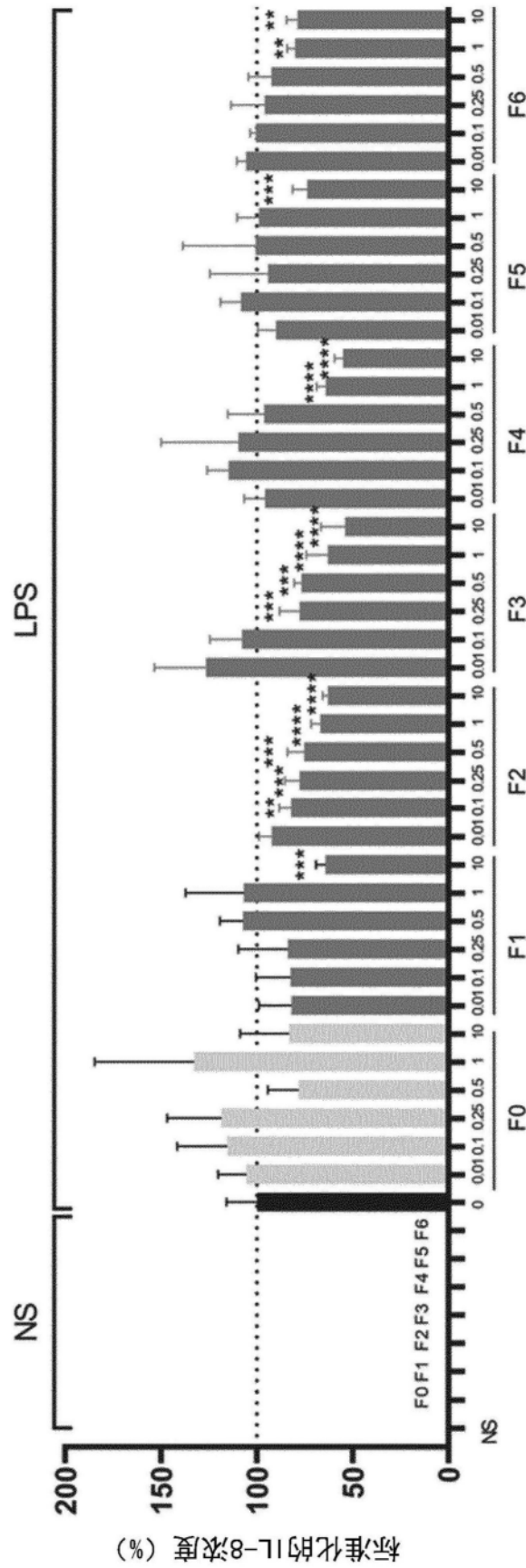


图20

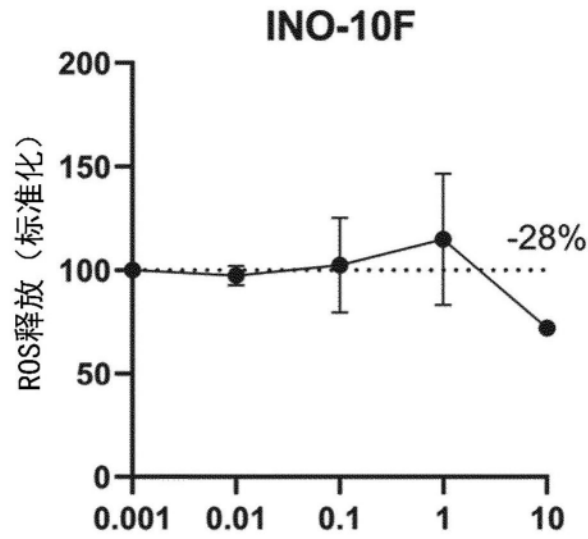


图21A

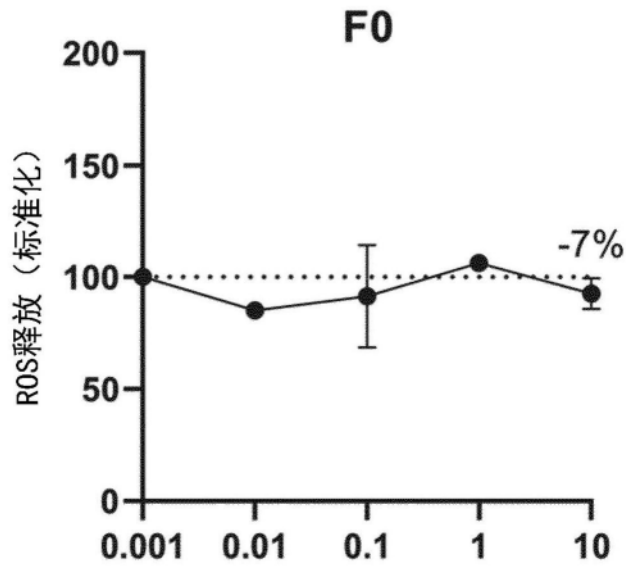


图21B

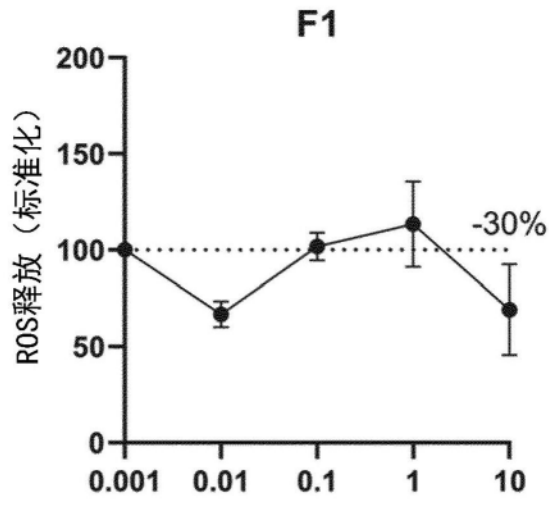


图21C

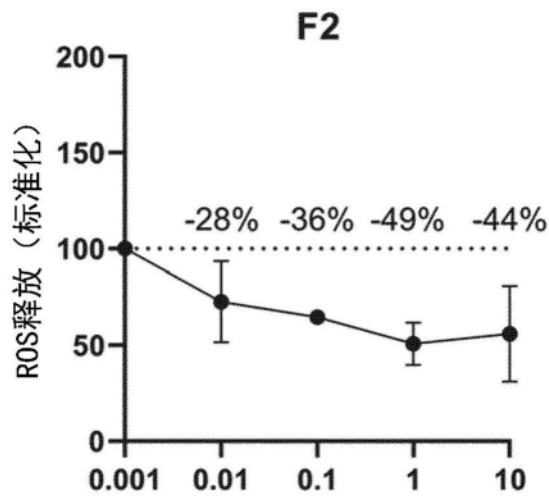


图21D

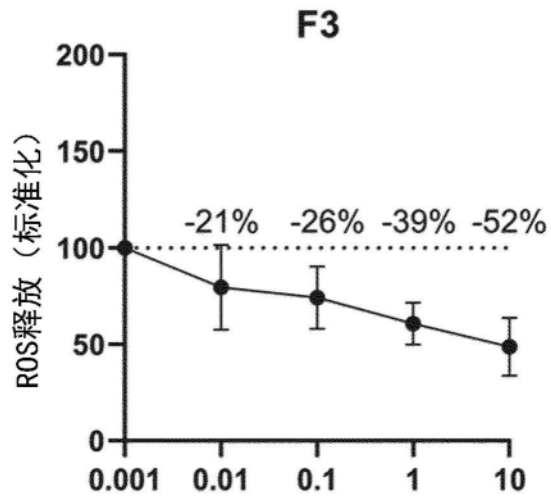


图21E

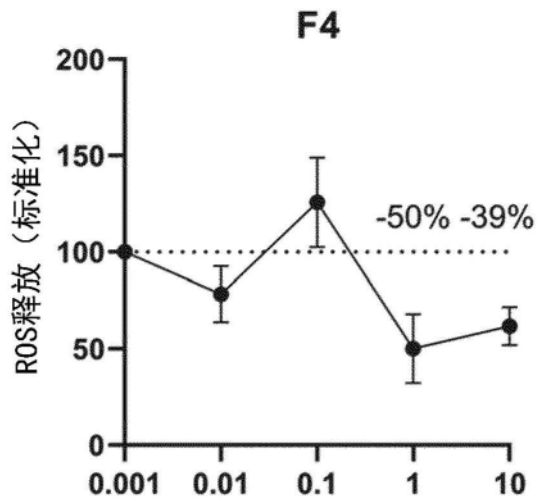


图21F

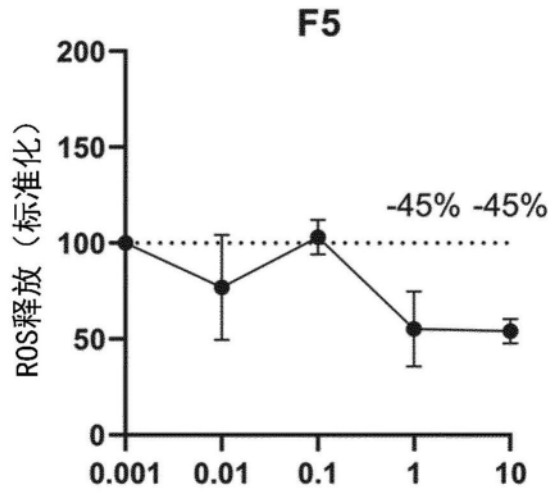


图21G

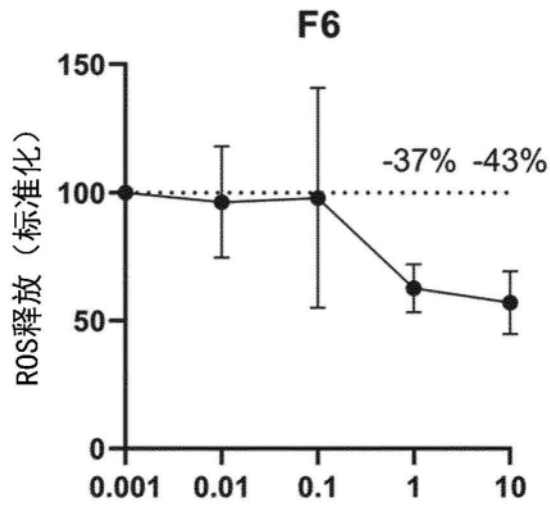


图21H

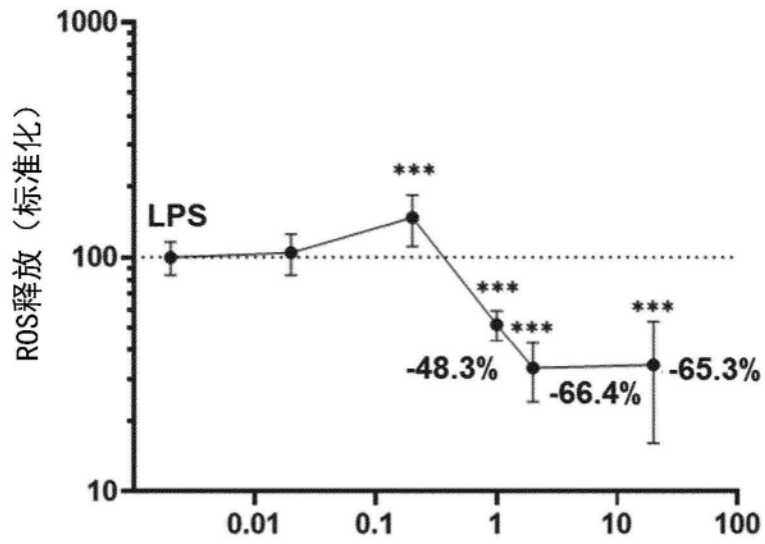


图22A

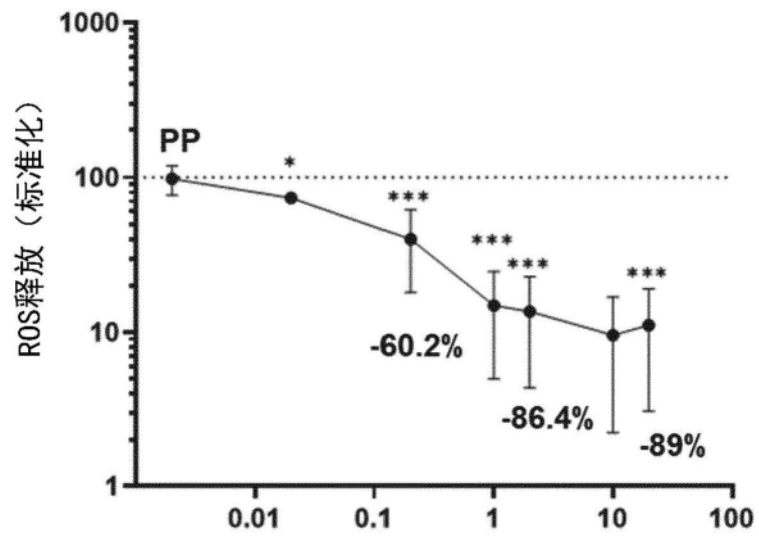


图22B

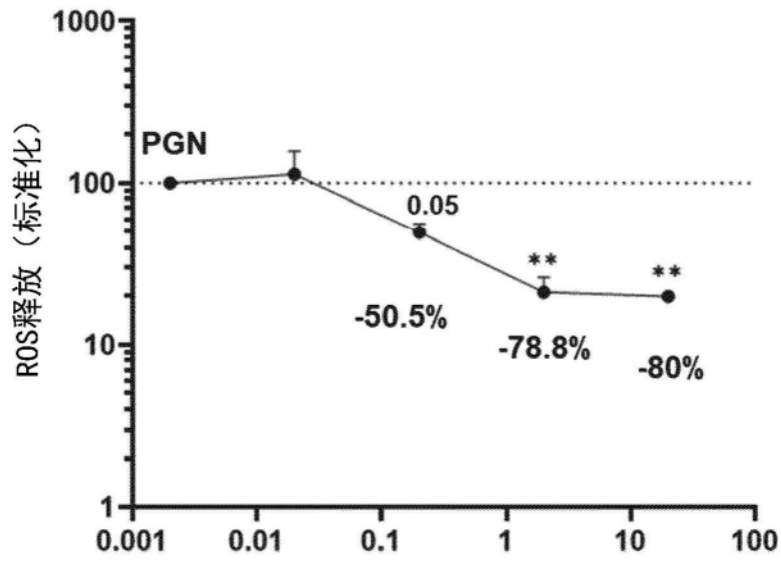


图22C

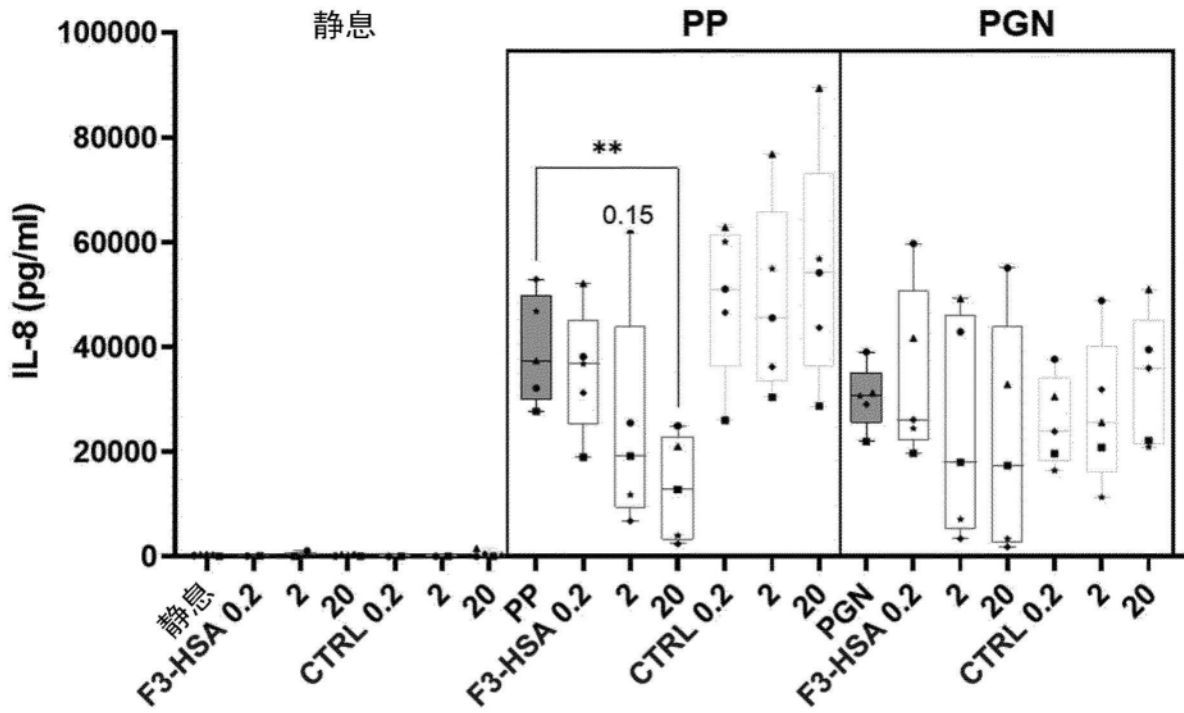


图23A

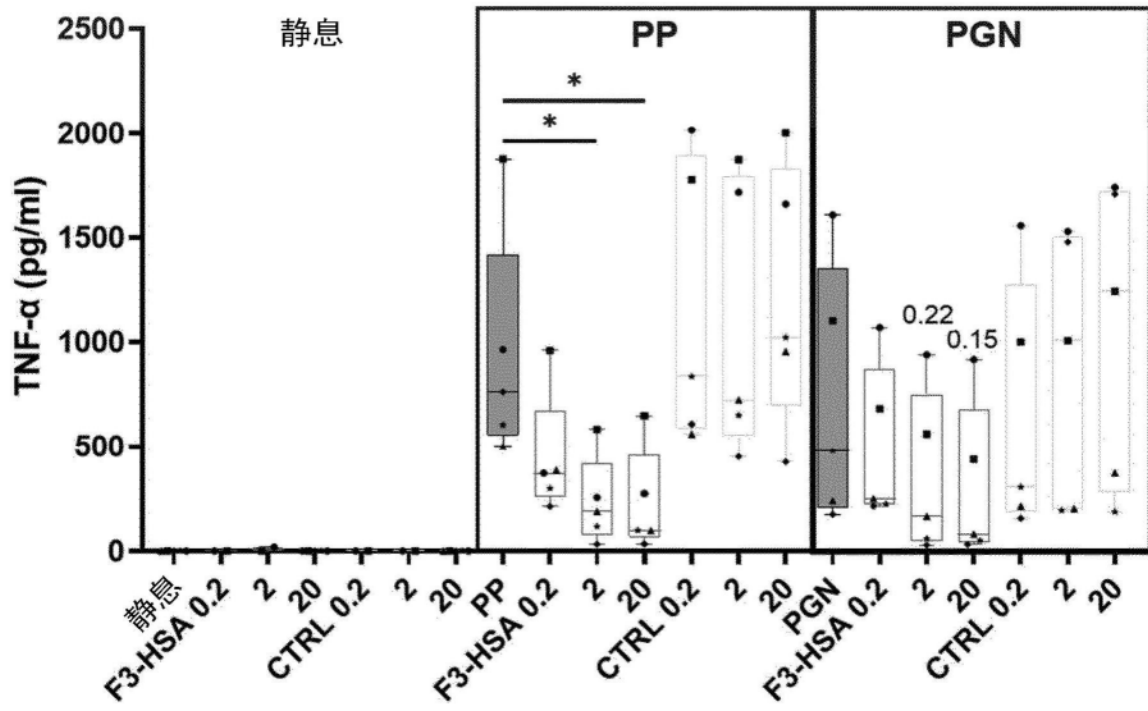


图23B

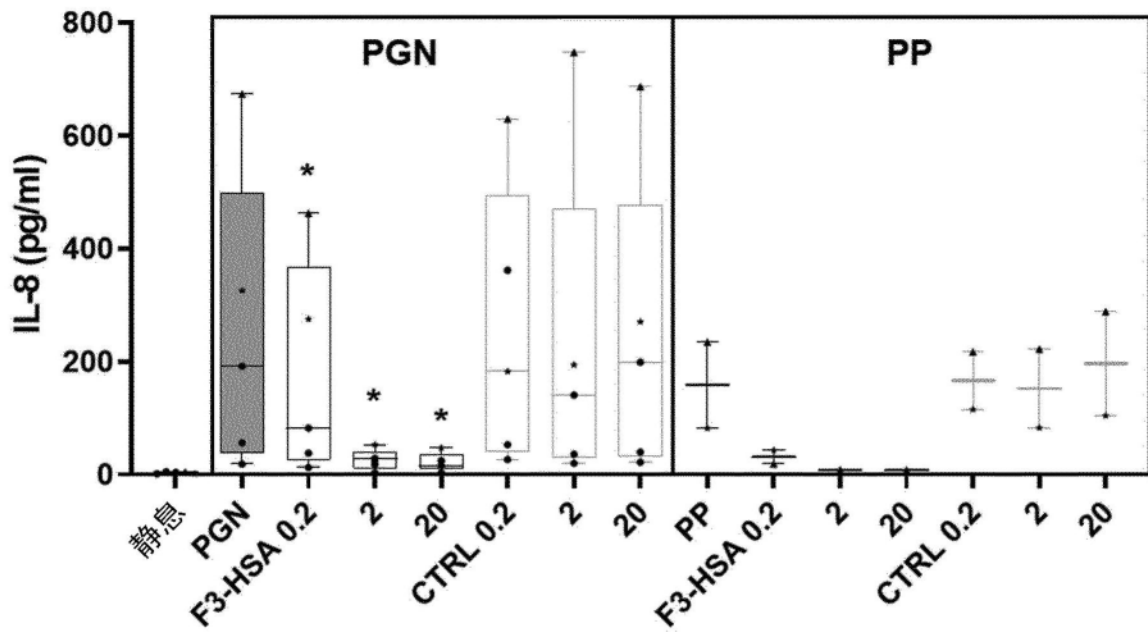


图24A

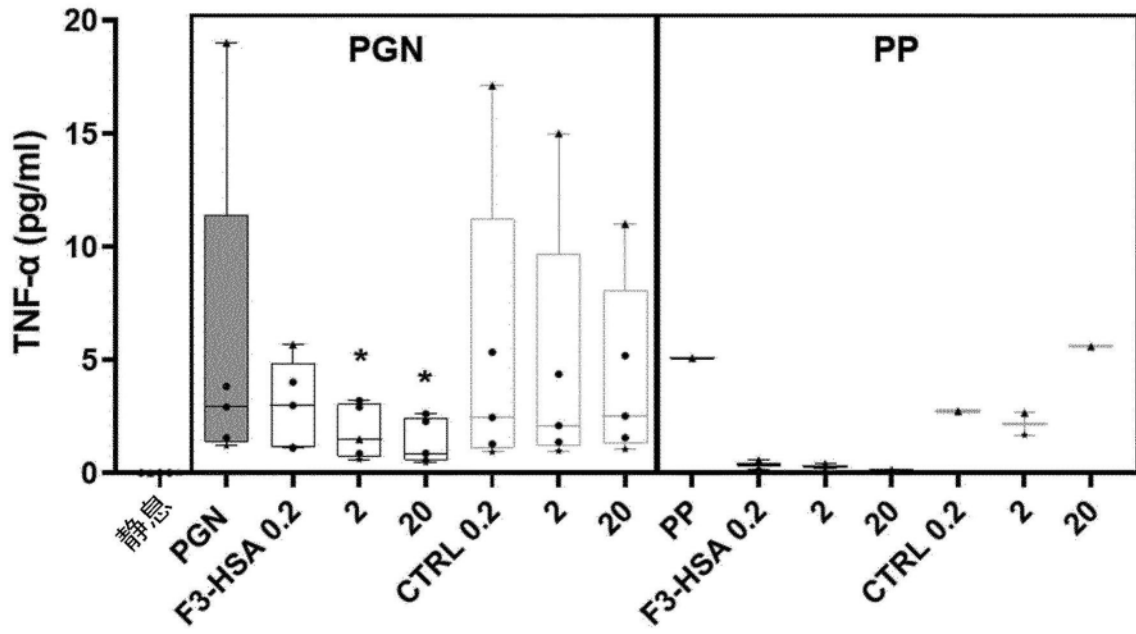


图24B

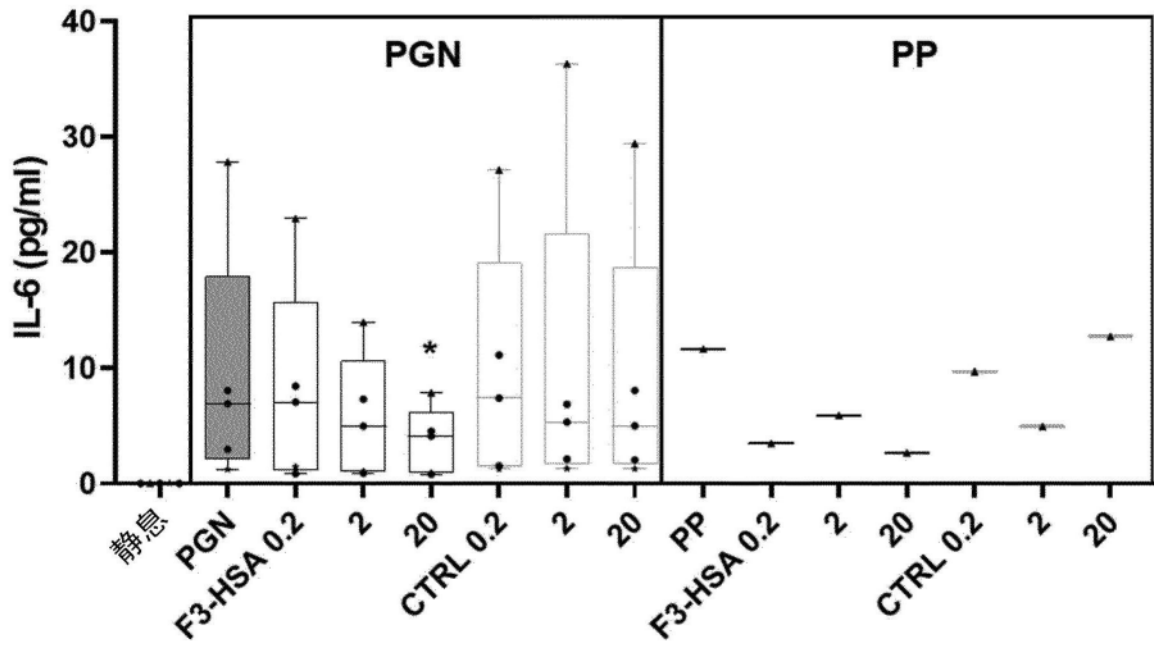


图24C