

Siglec-15 结合蛋白的制备及其用途

技术领域

本申请涉及生物医药领域，具体的涉及一种 Siglec-15 结合蛋白的制备及其用途。

背景技术

Siglec 是一类经典的免疫球蛋白样凝集素，可以在体内免疫平衡中具有调节作用。唾液酸结合免疫球蛋白 (Siglec) 凝集素家族有多达 30 多种家族成员，存在于细胞表面。这个家族成员中的多个分子的异常与很多疾病相关，Siglec-15 是成员之一。Siglec-15 胞内区不含免疫受体酪氨酸抑制基序 (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs, ITIMs) 或 ITIM 样序列，实验数据表明，胞内 Siglec-15 和 DAP12 或 DAP10 联系，DAP12 和 DAP10 含有免疫受体酪氨酸活化基序 (immunoreceptor tyrosine-based activating motifs, ITAMs) 信号。然而大多数 Siglec 胞内段含有免疫受体酪氨酸抑制基序，从而发挥免疫抑制功能。已有数据表明，Siglec-15 可以结合 sialyl-Tn 和 Neu5Aca2-6GalNAca，表明其可以是 Siglec-15 的配体。正常人体内 Siglec-15 主要在髓系细胞表达。Siglec-15 在多种实体肿瘤中呈现异常高表达，临床前体外实验和动物肿瘤模型表明，Siglec-15 抗体可以具有激活 T 细胞和抑制肿瘤的作用。然而，目前缺少合适的用于肿瘤治疗的 Siglec-15 抗体，本领域急需开发更多的具有治疗效果的 Siglec-15 结合蛋白。

发明内容

本申请提供了一种 Siglec-15 结合蛋白。本申请的 Siglec-15 结合蛋白可以具有选自以下组的一种或多种效果：(1) 具有以约 1.56×10^{-10} M 或更低的 K_D 值结合 Siglec-15 或其功能片段的能力；(2) 具有以约 3.25 nM 或更低的 EC_{50} 值结合 Siglec-15 或其功能片段的能力；(3) 具有良好的理化性质，例如热稳定性；(4) 具有影响免疫细胞增殖的能力，例如可以逆转 Siglec-15 导致的免疫细胞增殖抑制；(5) 具有肿瘤抑制能力，例如可以以约 23% 或更高肿瘤体积抑制率抑制肿瘤；(6) 具有影响细胞因子的分泌的能力。

在一方面，本申请提供一种分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR3，所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR2，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR2，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5 或 SEQ ID NO: 6 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR1，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR1，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 或 SEQ ID NO: 8 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 LCDR3，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 LCDR2，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 LCDR2，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11 或 SEQ ID NO: 12 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 LCDR1，所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 LCDR1，所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 H-FR1，所述 H-FR1 的 C 末端与所述 HCDR1 的 N 末端直接或间接相连，且所述 H-FR1 包含 SEQ ID NO: 15 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 H-FR2，所述 H-FR2 位于所述 HCDR1 与所述 HCDR2 之间，且所述 H-FR2 包含 SEQ ID NO: 16 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 H-FR3，所述 H-FR3 位于所述 HCDR2 与所述 HCDR3 之间，且所述 H-FR3 包含 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 H-FR4，所述 H-FR4 的 N 末端与所述 HCDR3 的 C 末端直接或间接相连，且所述 H-FR4 包含 SEQ ID NO: 18 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 L-FR1，所述 L-FR1 的 C 末端与所述 LCDR1 的 N 末端直接或间接相连，且所述 L-FR1 包含 SEQ ID NO: 19 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 L-FR2，所述 L-FR2 位于所述 LCDR1 与所述 LCDR2 之间，且所述 L-FR2 包含 SEQ ID NO: 20 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 L-FR3，所述 L-FR3 位于所述 LCDR2 与所述 LCDR3 之间，且所述 L-FR3 包含 SEQ ID NO: 21 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 L-FR4，所述 L-FR4 的 N 末端与所述 LCDR3 的 C 末端直接或间接相连，且所述 L-FR4 包含 SEQ ID NO: 22 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列，且所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5 或 SEQ ID NO: 6 所示的氨基酸序列，且所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 或 SEQ ID NO: 8 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11 或 SEQ ID NO: 12 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5 或 SEQ ID NO: 6 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 或 SEQ ID NO: 8 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11 或 SEQ ID NO: 12 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。

列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 8 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 3 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 4 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 6 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。

列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 3 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 11 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 3 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 12 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含重链可变区 (VH)，所述 VH 包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH，所述 VH 包含 SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27 或 SEQ ID NO: 28 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含轻链可变区 (VL)，所述 VL 包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 VL，所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31 或 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27 或 SEQ ID NO: 28 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31 或 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 26 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 27 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 28 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 30 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 31 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含抗体重链恒定区。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述抗体重链恒定区包含源自人抗体的重链恒定区。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述抗体重链恒定区包含源自 IgG 的重链恒定区。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述抗体重链恒定区包含源自 IgG1 的重链恒定区。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含抗体轻链恒定区。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述抗体轻链恒定区包含源自人抗体的轻链恒定区。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述抗体轻链恒定区包含源自人 Igk 的恒定区。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其包含抗体或其抗原结合片段。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述抗体包含单克隆抗体。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述抗体选自以下组中的一种或多种：鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人源抗体。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其中所述抗原结合片段选自以下组中的一种或多种：Fab，Fab'，Fv 片段，F(ab')₂，F(ab)₂，scFv，di-scFv，VHH 和 dAb。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其能够特异性结合唾液酸结合免疫球蛋白凝集素（Siglec）或其功能活性片段。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，所述 Siglec 包含 Siglec-15。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，所述 Siglec 包含人 Siglec、猴 Siglec 和/或鼠 Siglec。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其具有以约 1.56E-10 M 或更低的 K_D 值结合 Siglec-15 或其功能片段的能力。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其具有以约 3.25 nM 或更低的 EC₅₀ 值结合 Siglec-15 或其功能片段的能力。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，所述 Siglec-15 或其功能片段包含表达于细胞上的 Siglec-15 或其功能片段。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其具有影响免疫细胞增殖的能力。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，所述影响免疫细胞增殖包含降低 Siglec-15 相关的免疫细胞增殖抑制。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，所述免疫细胞包含源自人的免疫细胞。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，所述免疫细胞包含淋巴细胞。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，所述免疫细胞包含外周血淋巴细胞。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，所述免疫细胞包含 T 细胞。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，所述免疫细胞包含 CD4⁺细胞和/或 CD8⁺细胞。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其具有肿瘤抑制能力。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，所述肿瘤抑制能力包含影响所述肿瘤的体积。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，具有以约 23%或更高肿瘤体积抑制率抑制肿瘤的能力。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，其具有影响细胞因子的分泌的能力。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，所述分泌包含体内、离体和/或体外的分泌。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，所述细胞因子的分泌包含脂多糖诱导的细胞因子的分泌。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，所述细胞因子包含炎症因子。

在某些实施方式中的分离的抗原结合蛋白，所述细胞因子包含 TNF- α 和/或 IL-6。

在另一方面，本申请还提供多肽，其包含本申请的分离的抗原结合蛋白。

在某些实施方式中的多肽，其包含融合蛋白。

在另一方面，本申请还提供核酸分子，其编码本申请的分离的抗原结合蛋白和/或本申请的多肽。

在另一方面，本申请还提供载体，其包含本申请的核酸分子。

在另一方面，本申请还提供免疫缀合物，其包含本申请的分离的抗原结合蛋白和/或本申请的多肽。

在另一方面，本申请还提供细胞，其包含和/或表达本申请的分离的抗原结合蛋白、包含和/或表达本申请的多肽、包含本申请的核酸分子、包含本申请的载体和/或包含本申请的免疫缀合物。

在另一方面，本申请还提供药物组合物，其包含本申请的分离的抗原结合蛋白、本申请的多肽、本申请的核酸分子、本申请的载体、本申请的免疫缀合物和/或本申请的细胞，以及任选地药学上可接受的载剂。

在另一方面，本申请还提供药物组合，其包含本申请的分离的抗原结合蛋白、本申请的多肽、本申请的核酸分子、本申请的载体、本申请的免疫缀合物、本申请的细胞和/或本申请的药物组合物。

在另一方面，本申请还提供试剂盒，其包含本申请的分离的抗原结合蛋白、本申请的多肽、本申请的核酸分子、本申请的载体、本申请的免疫缀合物、本申请的细胞、本申请的药物组合物和/或本申请的药物组合。

在某些实施方式中的试剂盒，其用于检测样品中 Siglec 的存在和/或含量。

在某些实施方式中的试剂盒，所述 Siglec 包含 Siglec-15。

在另一方面，本申请还提供一种制备本申请抗原结合蛋白和/或本申请多肽的方法，包含在使得所述抗原结合蛋白和/或所述多肽表达的条件下，培养本申请的细胞。

在某些实施方式中的方法，包含在使得所述抗原结合蛋白表达的条件下，培养所述细胞。

在某些实施方式中的方法，包含在使得所述多肽表达的条件下，培养所述细胞。

在另一方面，本申请还提供一种检测样品中 Siglec 的方法，包含施用本申请的分离的抗原结合蛋白、施用本申请的多肽、施用本申请的核酸分子、施用本申请的载体、施用本申请的免疫缀合物、施用本申请的细胞、施用本申请的药物组合物、施用本申请的药物组合、和/或使用本申请的试剂盒。

在某些实施方式中的方法，所述 Siglec 包含 Siglec-15。

在另一方面，本申请还提供一种影响 Siglec 或其功能活性片段与其配体结合的方法，包含施用本申请的分离的抗原结合蛋白、施用本申请的多肽、施用本申请的核酸分子、施用本申请的载体、施用本申请的免疫缀合物、施用本申请的细胞、施用本申请的药物组合物、施用本申请的药物组合、和/或使用本申请的试剂盒。

在某些实施方式中的方法，所述方法包含体内、离体和/或体外方法。

在某些实施方式中的方法，所述 Siglec 或其功能活性片段包含 Siglec-15 或其功能活性片段。

在某些实施方式中的方法，所述 Siglec 的配体包含富含亮氨酸序列重复的蛋白 4C (Leucine-rich repeat-containing protein 4C) 和/或唾液酸化 Tn (sialyl-Tn)。

在另一方面，本申请还提供一种影响免疫细胞增殖的方法，包含施用本申请的分离的抗原结合蛋白、施用本申请的多肽、施用本申请的核酸分子、施用本申请的载体、施用本申请的免疫缀合物、施用本申请的细胞、施用本申请的药物组合物、施用本申请的药物组合、和/或使用本申请的试剂盒。

在某些实施方式中的方法，所述方法包含体内、离体和/或体外方法。

在某些实施方式中的方法，所述影响免疫细胞增殖包含降低 Siglec-15 相关的免疫细胞增殖抑制。

在某些实施方式中的方法，所述免疫细胞包含源自人的免疫细胞。

在某些实施方式中的方法，所述免疫细胞包含淋巴细胞。

在某些实施方式中的方法，所述免疫细胞包含外周血淋巴细胞。

在某些实施方式中的方法，所述免疫细胞包含 T 细胞。

在某些实施方式中的方法，所述免疫细胞包含 CD4⁺和/或 CD8⁺细胞。

在另一方面，本申请还提供一种影响细胞因子的分泌的方法，包含施用本申请的分离的抗原结合蛋白、施用本申请的多肽、施用本申请的核酸分子、施用本申请的载体、施用本申请的免疫缀合物、施用本申请的细胞、施用本申请的药物组合物、施用本申请的药物组合、和/或使用本申请的试剂盒。

在某些实施方式中的方法，所述分泌包含体内、离体和/或体外的分泌。

在某些实施方式中的方法，所述细胞因子的分泌包含脂多糖相关的细胞因子的分泌。

在某些实施方式中的方法，所述细胞因子包含炎症因子。

在某些实施方式中的方法，所述细胞因子包含 TNF- α 和/或 IL-6。

在另一方面，本申请还提供本申请的分离的抗原结合蛋白、本申请的多肽、本申请的核酸分子、本申请的载体、本申请的免疫缀合物、本申请的细胞、本申请的药物组合物和/或本申请的药物组合在制备试剂盒中的用途。

在某些实施方式中的用途，其中所述试剂盒用于检测样品中 Siglec 的存在和/或含量。

在某些实施方式中的用途，所述 Siglec 包含 Siglec-15。

在另一方面，本申请还提供本申请的分离的抗原结合蛋白、本申请的多肽、本申请的核酸分子、本申请的载体、本申请的免疫缀合物、本申请的细胞、本申请的药物组合物、本申请的药物组合和/或本申请的试剂盒在制备药物中的用途，所述药物用于预防和/或治疗疾病和/或病症。

在某些实施方式中的用途，其中所述疾病和/或病症包含肿瘤。

在某些实施方式中的用途，其中所述肿瘤包含 Siglec 相关的肿瘤。

在某些实施方式中的用途，所述 Siglec 包含 Siglec-15。

在某些实施方式中的用途，其中所述疾病和/或病症包含实体瘤。

在某些实施方式中的用途，其中所述疾病和/或病症包含结肠癌。

在另一方面，本申请还提供本申请的分离的抗原结合蛋白、本申请的多肽、本申请的核酸分子、本申请的载体、本申请的免疫缀合物、本申请的细胞、本申请的药物组合物、本申请的药物组合和/或本申请的试剂盒，其用于预防和/或治疗疾病和/或病症。

在某些实施方式中，所述疾病和/或病症包含肿瘤。

在某些实施方式中，所述肿瘤包含 Siglec 相关的肿瘤。

在某些实施方式中，所述 Siglec 包含 Siglec-15。

在某些实施方式中，所述疾病和/或病症包含实体瘤。

在某些实施方式中，所述疾病和/或病症包含结肠癌。

在另一方面，本申请还提供一种预防和/或治疗疾病和/或病症的方法，所述方法包括向有需要的受试者施用本申请的分离的抗原结合蛋白、本申请的多肽、本申请的核酸分子、本申请的载体、本申请的免疫缀合物、本申请的细胞、本申请的药物组合物、本申请的药物组合和/或本申请的试剂盒。

在某些实施方式中，所述疾病和/或病症包含肿瘤。

在某些实施方式中，所述肿瘤包含 Siglec 相关的肿瘤。

在某些实施方式中，所述 Siglec 包含 Siglec-15。

在某些实施方式中，所述疾病和/或病症包含实体瘤。

在某些实施方式中，所述疾病和/或病症包含结肠癌。

本领域技术人员能够从下文的详细描述中容易地洞察到本申请的其它方面和优势。下文的详细描述中仅显示和描述了本申请的示例性实施方式。如本领域技术人员将认识到的，本申请的内容使得本领域技术人员能够对所公开的具体实施方式进行修改而不脱离本申请所涉及发明的精神和范围。相应地，本申请的附图和说明书中的描述仅仅是示例性的，而非为限制性的。

附图说明

本申请所涉及的发明的具体特征如所附权利要求书所显示。通过参考下文中详细描述示例性实施方式和附图能够更好地理解本申请所涉及发明的特点和优势。对附图简要说明如下：

图 1 显示的是本申请中酵母展示的构建方法示意图。

图 2 显示的是本申请 Siglec-15 结合蛋白与细胞表面的人 Siglec-15 结合的检测结果。

图 3 显示的是本申请 Siglec-15 结合蛋白与细胞表面的猴 Siglec-15 结合的检测结果。

图 4 显示的是本申请 Siglec-15 结合蛋白与细胞表面的鼠 Siglec-15 结合的检测结果。

图 5 显示的是本申请 Siglec-15 结合蛋白逆转 Siglec-15 蛋白对 CD4⁺T 细胞的增殖抑制作用的检测结果。

图 6 显示的是本申请 Siglec-15 结合蛋白逆转 Siglec-15 蛋白对 CD8⁺T 细胞的增殖抑制作用的检测结果。

图 7 显示的是本申请 Siglec-15 结合蛋白对于肿瘤生长的抑制作用的检测结果。

图 8 显示的是在 LPS 注射 2 小时后，本申请 Siglec-15 结合蛋白影响 TNF- α (TNF-alpha) 的分泌水平的检测结果。

图 9 显示的是在 LPS 注射 6 小时后，本申请 Siglec-15 结合蛋白影响 TNF- α (TNF-alpha) 的分泌水平的检测结果。

图 10 显示的是在 LPS 注射 2 小时后，本申请 Siglec-15 结合蛋白影响 IL-6 的分泌水平的检测结果。

图 11 显示的是在 LPS 注射 6 小时后，本申请 Siglec-15 结合蛋白影响 IL-6 的分泌水平的检测结果。

具体实施方式

以下由特定的具体实施例说明本申请发明的实施方式，熟悉此技术的人士可由本说明书

所公开的内容容易地了解本申请发明的其他优点及效果。

术语定义

在本申请中，术语“唾液酸结合免疫球蛋白凝集素”，“Sialic acid-binding Ig-like lectin”或“Siglec”通常是指一种免疫球蛋白样凝集素，其可以具有识别含有唾液酸的糖结构的能力。在体外，Siglec-15 重组蛋白可以抑制人和小鼠 T 细胞的增殖以及 IFN- γ 的分泌，可以对鸡卵白蛋白（OVA）抗原激活的 OT-1 T 细胞同样具有抑制作用。Siglec-15 可以在巨噬细胞低表达，在经巨噬细胞集落刺激因子 M-CSF 刺激后可以表现出表达显著上调。与正常巨噬细胞相比，Siglec-15 基因敲除巨噬细胞可以进一步诱导 T 细胞增殖，表明 Siglec-15 可以直接抑制 T 细胞活性。临床前体外实验和动物肿瘤模型表明，Siglec-15 抗体或 Siglec-15 结合蛋白可以具有激活 T 细胞和抑制肿瘤的作用。例如，Siglec 可以是 Siglec-15，Siglec-15 在 Uniprot 的登录号可以是 Q6ZMC9。本申请的 Siglec 蛋白还可以涵盖其功能活性片段，不限于在细胞中发生的加工和/或修饰后产生的包含 Siglec 蛋白功能活性片段的蛋白。

在本申请中，术语“富含亮氨酸序列重复的蛋白 4C”、“Leucine-rich repeat-containing protein 4C”或“LRRC4C”可以任意互换，通常是指一种富含重复的亮氨酸序列的蛋白。LRRC4C 可以作为 Siglec-15 的配体，结合并可以激活 Siglec-15。LRRC4C 的 Uniprot 登录号可以是 Q9HCJ2。本申请的 LRRC4C 蛋白还可以涵盖其功能活性片段，不限于在细胞中发生的加工和/或修饰后产生的包含 LRRC4C 蛋白功能活性片段的蛋白。

在本申请中，术语“唾液酸化 Tn”或“sialyl-Tn”通常是指含有唾液酸基的 Tn 抗原。Tn 抗原可以为通过糖苷键连接于丝氨酸或苏氨酸的 N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)寡糖。Sialyl-Tn 表达由异常糖基化途径的活化所引起，一般可以发生在肿瘤细胞中。本申请的唾液酸化 Tn 蛋白还可以涵盖其功能活性片段。

在本申请中，术语“脂多糖”，“Lipopolysaccharide”或“LPS”通常是指由脂质和多糖构成的物质。脂多糖通常为革兰氏阴性细菌细胞壁外壁的组成成分。当脂多糖作用于人体时，可以促进人体细胞合成和/或分泌多种细胞因子，可以引起免疫反应。

在本申请中，术语“功能活性片段”通常是指具有全长蛋白质或核酸的部分区域，但保留或部分保留全长蛋白质或核酸的生物活性或功能的片段。例如，功能活性片段可以保留或部分保留全长蛋白质结合另一种分子的能力。例如，Siglec 的功能活性片段，可以保留或部分保留全长 Siglec 的识别含有唾液酸的糖结构的功能和/或抑制免疫系统的功能。

在本申请中，术语“分泌”通常是指细胞将表达的多肽或蛋白转移到细胞外环境。例如，在本申请中，可以是指免疫细胞将表达的细胞因子转移到胞外环境中。

在本申请中，术语“细胞因子”通常是指由一个细胞群释放的对另一个细胞起细胞间调节剂作用的蛋白。本申请的细胞因子可以是白细胞介素(ILs)，如 IL-6，肿瘤坏死因子如 TNF- α 和其它多肽因子。在本申请中，本申请的细胞因子可以涵盖其功能活性片段，还可以包括来自天然来源或来自重组细胞培养物的蛋白，以及天然序列细胞因子的生物活性等价物。

在本申请中，术语“炎症因子”通常是指促进炎症的细胞因子。本申请的炎症因子可以包含白细胞介素 IL-6，和/或肿瘤坏死因子 TNF- α 。在本申请中，本申请的炎症因子可以涵盖其功能活性片段，还可以包括来自天然来源或来自重组细胞培养物的蛋白，以及天然序列细胞因子的生物活性等价物。

在本申请中，术语“IL-6”通常是指一种白细胞介素。本申请的 IL-6 可以促进炎症。IL-6 的 Uniprot 登录号可以是 P05231。本申请的 IL-6 蛋白还可以涵盖其功能活性片段，不限于在细胞中发生的加工和/或修饰后产生的包含 IL-6 蛋白功能活性片段的蛋白。

在本申请中，术语“TNF α ”或“TNF- α ”通常是指肿瘤坏死因子 α 。TNF- α 可以是炎症性、免疫学和病理生理反应的主要介质。TNF- α 可以包括来自各种物种(例如人、小鼠和猴)的野生型 TNF- α 、TNF- α 的多态性变体和 TNF- α 的功能等效物。TNF- α 的 Uniprot 登录号可以是 P01375。本申请的 TNF- α 蛋白还可以涵盖其功能活性片段，不限于在细胞中发生的加工和/或修饰后产生的包含 TNF- α 蛋白功能活性片段的蛋白。

在本申请中，术语“淋巴细胞”通常是指在血液、淋巴和淋巴组织中发现的白细胞。例如，淋巴细胞可以包含任何单核细胞和/或非吞噬白细胞。

在本申请中，术语“免疫细胞”通常是指参与免疫应答细胞。免疫细胞可以包括 T 细胞、B 细胞、自然杀伤(NK)细胞、肥大细胞、和/或来源于骨髓的吞噬细胞。

在本申请中，术语“外周血淋巴细胞”通常是指在血液中循环，而非定位于器官(诸如脾或淋巴结)的成熟淋巴细胞。外周血淋巴细胞可以含有 T 细胞、NK 细胞和/或 B 细胞。

在本申请中，术语“T 细胞”通常是指胸腺衍生的细胞。T 细胞可以参与各种细胞介导的免疫反应。包括胸腺细胞、初始 T 淋巴细胞、不成熟的 T 淋巴细胞、成熟的 T 淋巴细胞、静息 T 淋巴细胞或活化的 T 淋巴细胞。T 细胞群可以包括但不限于辅助性 T 细胞(Th; CD4⁺T 细胞)、细胞毒性 T 细胞(CTL; CD8⁺T 细胞)、CD4⁺CD8⁺T 细胞、CD4⁺CD8⁻T 细胞或者 T 细胞的任何其它亚群。

在本申请中，术语“CD4”通常是指一种细胞表达的分化簇 4 蛋白。CD4 可以是 T 细胞识别抗原的共受体，可以与 MHC II 类分子的非多肽区结合。表达 CD4 的 T 细胞(CD4⁺T 细胞或 CD4 阳性 T 细胞)可以在活化后分化为辅助性 T 细胞(Th)，可以调节免疫反应。CD4 在

Uniprot 中的登录号可以是 P01730。本申请的 CD4 蛋白还可以涵盖其功能活性片段，不限于在细胞中发生的加工和/或修饰后产生的包含 CD4 蛋白功能活性片段的蛋白。

在本申请中，术语“CD8”通常是指一种细胞表达的分化簇 8 蛋白。CD8 可以是 T 细胞识别抗原的共受体，可以与 MHC II 类分子的非多肽区结合。表达 CD8 的 T 细胞(CD8⁺T 细胞或 CD8 阳性 T 细胞)可以在活化后分化为细胞毒性 T 细胞(CTL)，可以特异性地杀伤靶细胞。CD8 在 Uniprot 中的登录号可以是 P10966。本申请的 CD8 蛋白还可以涵盖其功能活性片段，不限于在细胞中发生的加工和/或修饰后产生的包含 CD8 蛋白功能活性片段的蛋白。

在本申请中，术语“体内”通常是指发生在受试者体内的事件。

在本申请中，术语“体外”通常是指在受试者体外发生的事件。

在本申请中，术语“离体”通常是指涉及对已从受试者体内移除的细胞、组织和/或器官进行治疗或进行手术的事件。在一种实施方式中，该细胞、组织和/或器官可以通过手术或治疗方法返回到受试者的身体。

在本申请中，术语“EC₅₀ 值”或“EC50 值”通常是指结合物质(例如抗体)在体外或体内分析背景下诱导的应答在基线值和最大值之间的 50% 的反应的半最大有效浓度。减小的 EC₅₀ 值可以表示较高的药物亲和力和功效。

在本申请中，术语“K_D 值”或“KD 值”通常是指解离常数，其可通过表面等离子体共振进行测定。通常，表面等离子体共振分析使用 BIAcore 系统(Pharmacia Biosensor, Piscataway, NJ)，通过表面等离子体共振(SPR)，测量配体(固定化于生物传感器基质上的物质)和分析物(溶液中的物质)之间的实时结合相互作用。也可以通过固定化分析物(生物传感器基质上的物质)和呈递配体，进行表面等离子体分析。

在本申请中，术语“肿瘤抑制能力”通常是指对于体外肿瘤细胞增殖或体内肿瘤生长的任何可测量的抑制能力，例如体外肿瘤细胞增殖或体内肿瘤生长减少至少 5%，可以是至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 35%、至少 40%、至少 45%、至少 50%、至少 55%、至少 60%、至少 65%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95% 或更多，诸如至少 100%。

在本申请中，术语“分离的”通常是指从天然状态下经人工手段获得的。例如，某一活体动物体内天然存在某种未被分离的多聚核苷酸或多肽，而从这种天然状态下分离出来的高纯度的相同的多聚核苷酸或多肽可以称之为分离的。术语“分离的”可以不排除混有人工或合成的物质，也可以不排除存在不影响物质活性的其它不纯物质。

在本申请中，术语“分离的抗原结合蛋白”通常是指脱离了其天然存在状态的具有抗原结合能力的蛋白。本申请“分离的抗原结合蛋白”可以包含结合抗原的部分和任选地，允许抗原结合部分采用促进所述抗原结合部分结合抗原的构象的框架或构架部分。抗原结合蛋白可以包含例如抗体来源的蛋白框架区（FR）或具有移植的 CDR 或 CDR 衍生物的备选蛋白框架区或人工框架区。此类框架可以包括，但不限于包含被引入例如以稳定抗原结合蛋白的三维结构的突变的抗体来源的框架区以及包含例如生物相容性聚合物的完全合成的框架区。抗原结合蛋白的实例可以包括但不限于：人抗体、人源化抗体；嵌合抗体；重组抗体；单链抗体；双功能抗体；三功能抗体；四功能抗体；Fab，Fab'，Fv 片段，F(ab')₂，F(ab)₂，scFv，di-scFv，dAb，VHH，IgD 抗体；IgE 抗体；IgM 抗体；IgG1 抗体；IgG2 抗体；IgG3 抗体；和/或 IgG4 抗体以及其片段。

在本申请中，术语“CDR”也称“互补决定区”，通常是指抗体可变结构域中的区域，其序列可以是高度可变的和/或形成结构定义环。例如，抗体可以包括六个 CDR；在 VH 中三个（HCDR1、HCDR2、HCDR3），和在 VL 中三个（LCDR1、LCDR2、LCDR3）。在某些实施方案中，仅由重链组成的天然存在的骆驼抗体在缺乏轻链的情况下，其功能也能够正常且稳定。抗体 CDR 可以通过多种编码系统来确定，如 CCG、Kabat、Chothia、IMGT、综合考虑 Kabat/Chothia 等。这些编码系统为本领域内已知，具体可参见，例如，www.bioinf.org.uk/abs/index.html#kabatnum。例如，所述抗原结合蛋白的氨基酸序列编号可以按照 IMGT 编号方案（IMGT, the international ImMunoGeneTics information system@imgt.cines.fr; imgt.cines.fr; Lefranc 等, 1999, Nucleic Acids Res. 27: 209-212; Ruiz 等, 2000 Nucleic Acids Res. 28: 219-221; Lefranc 等, 2001, Nucleic Acids Res. 29: 207-209; Lefranc 等, 2003, Nucleic Acids Res. 31: 307-310; Lefranc 等, 2005, DevComp Immunol 29: 185-203）。例如，所述抗原结合蛋白的 CDR 可以根据 Kabat 编号系统确定（参见例如 Kabat EA & Wu TT (1971) Ann NY Acad Sci 190: 382-391 和 Kabat EA et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242）。

在本申请中，术语“FR”通常是指抗体可变结构域的更高度保守的部分，其被称为框架区。例如，天然重链和轻链的可变结构域各自可以包含四个 FR 区，即在 VH 中四个（H-FR1，H-FR2，H-FR3 和 H-FR4），和在 VL 中四个（L-FR1，L-FR2，L-FR3 和 L-FR4）。

在本申请中，术语“可变结构域”与“可变区”可以互换使用，通常是指抗体重链和/或轻链的一部分。重链和轻链的可变结构域可以分别称为“VH”和“VL”（或者分别称为“V_H”和“V_L”）。

“V_L”)。这些结构域通常可以是抗体的变化最大的部分(相对于相同类型的其它抗体),且可以包含抗原结合位点。在本申请中,术语“可变”通常是指在抗体之间可变结构域的某些区段在序列上可能存在较大差异。可变结构域介导抗原可以结合并决定特定抗体对其特定抗原的特异性。然而,可变性可以并非在整个可变结构域范围内均匀分布。它可以通常集中在轻链和重链可变结构域中称为高变区(CDR 或 HVR)的三个区段中。可变结构域的更高度保守的部分可以称为框架区(FR)。天然重链和轻链的可变结构域各自可以包含四个 FR 区,大多数采用 β -折叠构型,通过三个 CDR 连接,其形成环形连接,并且在一些情况下形成 β -折叠结构的一部分。每条链中的 CDR 可以通过 FR 区紧密靠近地保持在一起,并且来自另一条链的 CDR 一同促进抗体的抗原结合位点的形成。

在本申请中,术语“抗体”通常是指免疫球蛋白或其片段或其衍生物,涵盖包括抗原结合位点的任何多肽,无论其是在体外还是体内产生的。该术语可以包括但不限于多克隆的、单克隆的、单特异性的、多特异性的、非特异性的、人源化的、单链的、嵌合的、合成的、重组的、杂化的、突变的和移植的抗体。除非另外被术语“完整的”修饰,如在“完整的抗体”中,为了本发明的目的,术语“抗体”也可以包括抗体片段,比如 Fab、F(ab')₂、Fv、scFv、Fd、VHH、dAb 和保持抗原结合功能(例如,特异性结合人 Siglec)的其它抗体片段。通常,这样的片段可以包括抗原结合结构域。基本的 4 链抗体单元可以是由两个相同的轻(L)链和两个相同的重(H)链组成的异四聚体糖蛋白。IgM 抗体可以由 5 个基本的异四聚体单元与另外一个称为 J 链的多肽组成,且含有 10 个抗原结合位点,而 IgA 抗体可以包括 2-5 个可以与 J 链相结合聚合形成多价组合的基本 4 链单元。就 IgG 而言,4 链单元一般可以为约 150,000 道尔顿。每个 L 链可以通过一个共价二硫键与 H 链连接,而两个 H 链可以通过一个或多个取决于 H 链同种型的二硫键相互连接。每个 H 和 L 链还可以具有规则间隔的链内二硫化桥键。每个 H 链在 N 末端可以具有重链可变区(VH),对于 α 和 γ 链各自继之以三个恒定结构域(CH)、对于 μ 和 ϵ 同种型继之以四个 CH 结构域。每个 L 链在 N 末端可以具有轻链可变区(VL),在其另一端可以具有恒定结构域。VL 与 VH 可以对应,且轻链恒定区(CL)与重链的第一恒定结构域(CH1)可以相对应。特定的氨基酸残基可以被认为在轻链和重链可变结构域之间形成界面。VH 和 VL 可以配对一起形成单个抗原结合位点。来自任何脊椎动物物种的 L 链可以基于其恒定结构域的氨基酸序列被分为两种明显不同的类型中的一种,称为 κ 和 λ 。根据重链恒定区(CH)恒定结构域的氨基酸序列,可以将免疫球蛋白分为不同的类别或同种型。目前存在五类免疫球蛋白: IgA、IgD、IgE、IgG 例如 IgG1、IgG2、IgG3 和/或 IgG4, 和 IgM, 具有分别被命名为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 的重链。

在本申请中，术语“抗原结合片段”通常是指具有特异结合抗原（例如，Siglec）能力的一个或多个片段。在本申请中，所述抗原结合片段可以包括 Fab，Fab'，F(ab)2、Fv 片段、F(ab')2，scFv，di-scFv，VHH 和/或 dAb。

在本申请中，术语“Fab”通常是指抗体的抗原结合片段。如上所述，可以使用木瓜蛋白酶消化完整的抗体。抗体经木瓜蛋白酶消化后产生两个相同的抗原结合片段，即“Fab”片段，和残余的“Fc”片段(即 Fc 区)。Fab 片段可以由一条完整的 L 链与一条重链的可变区和该 H 链(VH)的第一恒定区(CH1)组成。

在本申请中，术语“F(ab)2”通常是指抗体的抗原结合片段。例如，F(ab)2 可以是由两个 Fab 片段连接的。

在本申请中，术语“Fab”通常是指人单克隆抗体的单价抗原结合片段，该片段比 Fab 片段稍大。例如，Fab'片段可以包括所有轻链，所有重链可变区以及重链的所有或部分第一和第二恒定区。例如，Fab'片段还可包括重链的部分或所有的 220-330 个氨基酸残基。

在本申请中，术语“F(ab')2”通常是指通过胃蛋白酶消化完整抗体所产生的抗体片段。F(ab')2 片段含有由二硫键维持在一起的两个 Fab 片段和部分铰链区。F(ab')2 片段具有二价抗原结合活性并且能够交联抗原。

在本申请中，术语“Fv 片段”通常是指人单克隆抗体的单价抗原结合片段，包括所有或部分重链可变区和轻链可变区，并且缺乏重链恒定区和轻链恒定区。重链可变区和轻链可变区包括例如 CDR。例如，Fv 片段包括重链和轻链的约 110 个氨基酸的所有或部分氨基端可变区。

在本申请中，术语“scFv”通常是指包含至少一个包括轻链的可变区抗体片段和至少一个包括重链的可变区的抗体片段的融合蛋白，其中所述轻链和重链可变区是邻接的(例如经由合成接头例如短的柔性多肽接头)，并且能够以单链多肽形式表达，且其中所述 scFv 保留其所来源的完整抗体的特异性。除非特别说明，否则如本申请中使用的那样，scFv 可以以任何顺序(例如相对于多肽的 N 末端和 C 末端)具有所述的 VL 和 VH 可变区，scFv 可以包括 VL-接头-VH 或可以包括 VH-接头-VL。

在本申请中，术语“di-scFv”通常是指二价 scFv，例如可以是两个 scFv 分子通过短接头缀合的分子。

在本申请中，术语“dAb”通常是指具有 VH 域或 VL 域组成的抗原结合片段，参考例如 Ward 等人(Nature,1989Oct 12; 341(6242): 544-6)，参考 Holt 等人,Trends Biotechnol.,2003,21(11): 484-490。

在本申请中，术语“VHH”通常是指包含重链抗体的可变抗原结合结构域的抗体(参见 Vanlandschoot P.等人，2011，Antiviral Research 92，389-407)。VHH 也可称为纳米抗体 (Nanobody)(Nb)。

在本申请中，术语“单克隆抗体”通常是指单分子组成的抗体分子制备物。单克隆抗体通常针对单个抗原位点具有高度特异性。而且，与常规多克隆抗体制剂（通常具有针对不同决定簇的不同抗体）不同，各单克隆抗体可以是对抗原上的单个决定簇。除了它们的特异性之外，单克隆抗体的优点在于它们可以通过杂交瘤培养合成，不受其他免疫球蛋白污染。修饰语“单克隆”可以表示从基本上同质的抗体群体获得的抗体的特征，并且不被解释为需要通过任何特定方法产生抗体。例如，本申请使用的单克隆抗体可以在杂交瘤细胞中制备，或者可以通过重组 DNA 方法制备。

在本申请中，术语“嵌合抗体”通常是指其中可变区源自一个物种，而恒定区源自另一个物种的抗体。通常，可变区源自实验动物诸如啮齿动物的抗体（“亲本抗体”），且恒定区源自人类抗体，使得所得嵌合抗体与亲本（例如小鼠来源）抗体相比，在人类个体中引发不良免疫反应的可能性降低。

在本申请中，术语“人源化抗体”通常是指非人抗体（例如小鼠抗体）的 CDR 区以外的部分或全部有的氨基酸被源自人免疫球蛋白的相应的氨基酸置换的抗体。在 CDR 区中，氨基酸的小的添加、缺失、插入、置换或修饰也可以是允许的，只要它们仍保留抗体结合特定抗原的能力。人源化抗体可任选地包含人类免疫球蛋白恒定区的至少一部分。“人源化抗体”可以保留类似于原始抗体的抗原特异性。非人（例如鼠）抗体的“人源化”形式可以最低限度地包含衍生自非人免疫球蛋白的序列的嵌合抗体。在某些情形中，可以将人免疫球蛋白（受体抗体）中的 CDR 区残基用具有有所期望性质、亲和力和/或能力的非人物种（供体抗体）

（诸如小鼠，大鼠，家兔或非人灵长类动物）的 CDR 区残基替换。在某些情形中，可以将人免疫球蛋白的 FR 区残基用相应的非人残基替换。此外，人源化抗体可以包含在受体抗体中或在供体抗体中没有的氨基酸修饰。进行这些修饰可以是为了进一步改进抗体的性能，诸如结合亲和力。

在本申请中，术语“全人源抗体”通常是指仅包含人类免疫球蛋白蛋白质序列的抗体。如果其是在小鼠中、在小鼠细胞中或在衍生自小鼠细胞的杂交瘤中生产，那么全人源抗体可能含有鼠糖链。类似地，“鼠源抗体”、“小鼠抗体”或“大鼠抗体”分别指仅包含小鼠或大鼠免疫球蛋白序列的抗体。可通过噬菌体展示或其它分子生物学方法，在人体内、在具有人类免疫

球蛋白种系序列的转基因动物体内生成全人源抗体。可用于制造抗体的示例性技术是本领域已知的。

在本申请中，术语“抗原结合蛋白”通常是指包含结合抗原的部分的蛋白质，以及任选地允许结合抗原的部分采用促进抗原结合蛋白与抗原结合的构象的支架或骨架部分。抗原结合蛋白的实例包括但不限于抗体、抗原结合片段（Fab，Fab’，F(ab)2，Fv 片段，F(ab’)2，scFv，di-scFv，VHH 和/或 dAb）、免疫缀合物、抗体片段、抗体衍生物、抗体类似物或融合蛋白等，只要它们显示出所需的抗原结合活性即可。本申请的“分离的抗原结合蛋白”可以包含结合抗原的部分和任选地，允许抗原结合部分采用促进所述抗原结合部分结合抗原的构象的支架或骨架部分。

在本申请中，术语“多肽分子”和“多肽”、“肽”可以互换使用，通常是指氨基酸残基的聚合物。术语“融合蛋白”通常是指具有至少两个共价连接在一起的部分的多肽。其中每个部分可以是具有不同特性的多肽。该特性可以是生物学性质，例如体外或体内活性。该性质也可以是简单的化学或物理性质，例如与靶分子的结合，反应的催化等。这两个部分可以通过单个肽键或通过肽接头直接连接。

在本申请中，术语“核酸分子”通常是指任何长度的分离形式的核苷酸，脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸，或从其天然环境分离的或人工合成的类似物。

在本申请中，术语“载体”通常是指可将编码某蛋白的多聚核苷酸插入其中并使蛋白获得表达的一种核酸运载工具。载体可以通过转化、转导或转染宿主细胞，使其携带的遗传物质元件在宿主细胞内表达得以表达。一种载体可能含有多种控制表达的元件。另外，载体还可含有复制起始位点。载体还有可能包括有协助其进入细胞的成分。

在本申请中，术语“细胞”通常是指可以是或已经是受试者质粒或载体的接受者的单个细胞、细胞系或细胞培养物，其包括本申请所述的核酸分子或本申请所述的载体。细胞可以包括单个细胞的后代。由于天然、偶然或有意的突变，后代可以不一定与原始母细胞完全相同（在总 DNA 互补体的形态上或在基因组上）。细胞可包括用本申请所述的载体在体外转染的细胞。

在本申请中，术语“免疫缀合物”通常是指所述其他试剂（例如，化疗剂、放射性元素、细胞生长抑制剂和细胞毒性剂）与所述抗体或其抗原结合片段缀合（例如，通过连接分子共价相连）而形成的缀合物，该缀合物可以通过所述抗体或其抗原结合片段与靶细胞上的抗原特异性结合，将所述其他试剂递送至靶细胞（例如，肿瘤细胞）。

在本申请中，术语“药物组合物”通常是指用于预防/治疗疾病或病症的组合物。所述药物组合物可以包含本申请所述的分离的抗原结合蛋白、本申请所述的核酸分子、本申请所述的载体和/或本申请所述的细胞，以及任选地药学上可接受的佐剂。此外，所述药物组合物还可以包含一种或多种(药学上有效的)载剂等合适的制剂。组合物的可接受成分在所用剂量和浓度下可以对接受者无毒。本发明的药物组合物包括但不限于液体、冷冻和冻干组合物。

在本申请中，术语“药学上可接受的载剂”通常是指药剂学可接受的载体、赋形剂或稳定剂，它们在所采用的剂量和浓度对暴露于其的细胞或哺乳动物是无毒的。生理学可接受的载体可包括合适的物质。指药剂学可接受的载体(carrier)与基因工程中用于插入核酸的载体(vector)通常并不是同一类物质。

在本申请中，术语“实体瘤”通常是指可以通过临床检查(例如X线照射、CT扫描、B超或触诊等)手段检测到的有形的肿瘤。所述肿瘤可以包括异常细胞生长形成的赘生物或实体病变。

在本申请中，术语“结肠癌”通常是指发生于或源自结肠部位的消化道的肿瘤。例如，所述结肠癌可以发生于或源自直肠与乙状结肠交界处。例如，所述结肠癌可以是发生于或源自结肠部位的消化道的癌症。

在本申请中，术语“直接相连”可以与术语“间接相连”相对，术语“直接相连”通常是指直接连接。例如，所述直接相连可以为物质间没有间隔子而直接相连的情况。所述间隔子可以是连接子。例如，所述连接子可以为肽连接子。术语“间接相连”通常是指物质间不直接相连的情况。例如，所述间接相连可以为通过间隔子而连接的情况。例如，在本申请所述的分离的抗原结合蛋白中，所述L-FR1的C末端与所述LCDR1的N末端可以直接或间接相连。

在本申请中，术语“特异性结合”或“特异性的”通常是指可测量的和可再现的相互作用，例如靶标和抗体之间的结合，可在分子(包括生物分子)的异质群体存在的情况决定靶标的存在。例如，特异性结合靶标(其可以为表位)的抗体可以是以比它结合其它靶标更大的亲和性、亲合力、更容易、和/或以更大的持续时间结合该靶标的抗体。在某些实施方案中，抗体特异性结合蛋白质上的表位，所述表位在不同种属的蛋白质中是保守的。在某些实施方案中，特异性结合可以包括但不要求排他性地结合。

在本申请中，术语“受试者”通常是指人类或非人类动物，包括但不限于猫、狗、马、猪、奶牛、羊、兔、小鼠、大鼠或猴。

在本申请中，术语“肿瘤”通常是指任何新的病理性的组织增生。肿瘤细胞可以局部地或通过血流和淋巴系统扩散到身体其他部分。在本申请中，所述肿瘤可以包括良性肿瘤和恶性

肿瘤。在本申请中，所述肿瘤可以包括实体瘤和/或血液瘤。在本申请中，所述肿瘤可以包括癌症。在本申请中，所述肿瘤的实例包括但不限于结肠癌。

在本申请中，涉及的蛋白质、多肽和/或氨基酸序列，还应理解为至少包含以下的范围：与该所述蛋白质或多肽具备相同或类似功能的变体或同源物。

在本申请中，所述变体可以为，例如在所述蛋白质和/或所述多肽（例如，特异性结合 Siglec 的抗体或其片段）的氨基酸序列中经过取代、缺失或添加一个或多个氨基酸的蛋白质或多肽。例如，所述功能性变体可包含已经通过至少 1 个，例如 1-30 个、1-20 个或 1-10 个，又例如 1 个、2 个、3 个、4 个或 5 个氨基酸取代、缺失和/或插入而具有氨基酸改变的蛋白质或多肽。所述功能性变体可基本上保持改变（例如取代、缺失或添加）之前的所述蛋白质或所述多肽的生物学特性。例如，所述功能性变体可保持改变之前的所述蛋白质或所述多肽的至少 60%，70%，80%，90%，或 100% 的生物学活性（例如抗原结合能力）。例如，所述取代可以为保守取代。例如，所述变体也可以为涵盖其功能活性片段的多肽，不限于在细胞中发生的加工和/或修饰后产生的包含所述蛋白功能活性片段的多肽。

在本申请中，所述同源物可以为与所述蛋白质和/或所述多肽（例如，特异性结合 Siglec 的抗体或其片段）的氨基酸序列具有至少约 85%（例如，具有至少约 85%、约 90%、约 91%、约 92%、约 93%、约 94%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 或更高的）序列同源性的蛋白质或多肽。

在本申请中，所述同源性通常是指两个或多个序列之间的相似性、类似或关联。可以通过以下方式计算“序列同源性百分比”：将两条待比对的序列在比较窗中进行比较，确定两条序列中存在相同核苷酸碱基（例如，A、T、C、G、I）或相同氨基酸残基（例如，Ala、Pro、Ser、Thr、Gly、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Lys、Arg、His、Asp、Glu、Asn、Gln、Cys 和 Met）的位置的数目以得到匹配位置的数目，将匹配位置的数目除以比较窗中的总位置数（即，窗大小），并且将结果乘以 100，以产生序列同源性百分比。为了确定序列同源性百分数而进行的比对，可以按本领域已知的多种方式实现，例如，使用可公开获得的计算机软件如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign（DNASTAR）软件。本领域技术人员可以确定用于比对序列的适宜参数，包括为实现正在比较的全长序列范围内或目标序列区域内最大比对所需要的任何算法。所述同源性也可以通过以下的方法测定：FASTA 和 BLAST。对 FASTA 算法的描述可以参见 W. R. Pearson 和 D. J. Lipman 的“用于生物学序列比较的改进的工具”，美国国家科学院院刊（Proc. Natl. Acad. Sci. ），85: 2444-2448, 1988；和 D. J. Lipman 和 W. R. Pearson 的“快速灵敏的蛋白质相似性搜索”，

Science, 227: 1435-1441, 1989。对 BLAST 算法的描述可参见 S. Altschul、W. Gish、W. Miller、E. W. Myers 和 D. Lipman 的“一种基本的局部对比 (alignment) 搜索工具”，分子生物学杂志，215: 403-410, 1990。

在本申请中，术语“包含”通常是指包括、总括、含有或包涵的含义。在某些情况下，也表示“为”、“由……组成”的含义。

在本申请中，术语“约”通常是指在指定数值以上或以下 0.5%-10% 的范围内变动，例如在指定数值以上或以下 0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%、3%、3.5%、4%、4.5%、5%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5%、9%、9.5%、或 10% 的范围内变动。

发明详述

一方面，本申请提供一种分离的抗原结合蛋白。

抗体的 CDR 又称互补决定区，是可变区的一部分。该区域的氨基酸残基可以与抗原或抗原表位接触。抗体 CDR 可以通过多种编码系统来确定这些编码系统为本领域内已知，具体可参见，例如，www.bioinf.org.uk/abs/index.html#kabatnum。本领域技术人员可以根据抗体的序列和结构，用不同的编码系统确定出 CDR 区。使用不同的编码系统，CDR 区可能存在差别。在本申请中，所述 CDR 涵盖根据任何 CDR 划分方式划分得到的 CDR 序列；也涵盖其变体，所述变体包括所述 CDR 的氨基酸序列经过取代、缺失和/或添加一个或多个氨基酸。例如 1-30 个、1-20 个或 1-10 个，又例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或 9 个氨基酸取代、缺失和/或插入；也涵盖其同源物，所述同源物可以为与所述 CDR 的氨基酸序列具有至少约 85%（例如，具有至少约 85%、约 90%、约 91%、约 92%、约 93%、约 94%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 或更高的）序列同源性的氨基酸序列。在某些实施方式中，所述 CDR 由 Kabat 编号方案来确定。在某些实施方式中，所述 CDR 由 Chothia 编号方案来确定。

一方面，本申请提供了一种分离的抗原结合蛋白，其可以包含 HCDR3，所述 HCDR3 可以包含如 AIGSSWYSDAFDL (SEQ ID NO: 1) 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab7、Ab9、Ab13 或 Ab15 中的 HCDR3。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab7、Ab9、Ab13 或 Ab15 的重链可变区中的 HCDR3。例如，所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白还可以包含 HCDR2。例如，所述 HCDR2 可以包含 $X_1GGGX_2X_3$ 所示的序列，其中， X_1 ， X_2 ，和 X_3 可以各自独立地选自任何一种氨基酸，例

如天然氨基酸。例如，所述 HCDR2 可以包含 $X_1GGGX_2X_3$ 所示的序列（如 SEQ ID NO: 33 所示），其中， X_1 可以为 S、T、W 或 Y， X_2 可以为 E、G 或 V，和 X_3 可以为 S 或 Y。在某些情形中，与 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列相比，所述 HCDR2 可以至少包含在选自下组位置处的氨基酸取代：在 X_1 、 X_2 和 X_3 处的氨基酸取代。例如，所述 HCDR2 可以包含如 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。

例如，所述 HCDR2 可以包含如 SGGGGS（SEQ ID NO: 2）、TGGGES（SEQ ID NO: 3）、YGGGGS（SEQ ID NO: 4）、WGGGGS（SEQ ID NO: 5）、或 SGGGVY（SEQ ID NO: 6）所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab7、Ab9、Ab13 或 Ab15 中的 HCDR2。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab7、Ab9、Ab13 或 Ab15 的重链可变区中的 HCDR2。例如，所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白还可以包含 HCDR1。例如，所述 HCDR1 可以包含 GFTX₄SSY 所示的序列，其中， X_4 可以选自任何一种氨基酸，例如天然氨基酸。例如，所述 HCDR1 可以包含 GFTX₄SSY 所示的序列（如 SEQ ID NO: 34 所示），其中， X_4 可以为 F 或 S。在某些情形中，与 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列相比，所述 HCDR1 可以至少包含在 X_4 处的氨基酸取代。例如，所述 HCDR1 可以包含如 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。

例如，所述 HCDR1 可以包含如 GFTFSSY（SEQ ID NO: 7）或 GFTSSSY（SEQ ID NO: 8）所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab7、Ab9、Ab13 或 Ab15 中的 HCDR1。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab7、Ab9、Ab13 或 Ab15 的重链可变区中的 HCDR1。例如，所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含 HCDR3，HCDR2 和 HCDR1。例如，HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的序列，HCDR2 可以包含 $X_1GGGX_2X_3$ 所示的序列，其中， X_1 ， X_2 ，和 X_3 可以各自独立地选自任何一种氨基酸，例如天然氨基酸，且 HCDR1 可以包含 GFTX₄SSY 所示的序列，其中， X_4 可以选自任何一种氨基酸，例如天然氨基酸。例如，所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，HCDR2 可

以包含 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列, 且 HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。

例如, 所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列, HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列, 且 HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0 或 Ab9 中的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0 或 Ab9 的重链可变区中的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。例如, 所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如, 所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列, HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列, 且 HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 8 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab2 中的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab2 的重链可变区中的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。例如, 所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如, 所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列, HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 3 所示的氨基酸序列, 且 HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab3、Ab13 或 Ab15 中的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab3、Ab13 或 Ab15 的重链可变区中的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。例如, 所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如, 所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列, HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 4 所示的氨基酸序列, 且 HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab5 中的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab5 的重链可变区中的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。例如, 所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如, 所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列, HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列, 且 HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab6 中的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。例如, 所述

分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab6 的重链可变区中的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。例如，所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如，所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 6 所示的氨基酸序列，且 HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab7 中的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab7 的重链可变区中的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。例如，所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含 LCDR3，所述 LCDR3 可以包含如 QQSYIPYT (SEQ ID NO: 9) 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab7、Ab9、Ab13 或 Ab15 中的 LCDR3。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab7、Ab9、Ab13 或 Ab15 的轻链可变区中的 LCDR3。例如，所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白还可以包含 LCDR2。例如，所述 LCDR2 可以包含 VASX₅X₆X₇X₈ 所示的序列，其中，X₅、X₆、X₇ 和 X₈ 可以各自独立地选自任何一种氨基酸，例如天然氨基酸。例如，所述 LCDR2 可以包含 VASX₅X₆X₇X₈ 所示的序列（如 SEQ ID NO: 35 所示），其中，X₅ 可以为 F、S 或 Y，X₆ 可以为 E、I 或 L，X₇ 可以为 H 或 Q，和 X₈ 可以为 R 或 S。在某些情形中，与 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列相比，所述 LCDR2 可以至少包含在选自下组位置处的氨基酸取代：在 X₅、X₆、X₇ 和 X₈ 处的氨基酸取代。例如，所述 LCDR2 可以包含如 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。

例如，所述 LCDR2 可以包含如 VASSLQS (SEQ ID NO: 10)、VASFEHR (SEQ ID NO: 11) 或 VASYIHS (SEQ ID NO: 12) 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab7、Ab9、Ab13 或 Ab15 中的 LCDR2。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab7、Ab9、Ab13 或 Ab15 的轻链可变区中的 LCDR2。例如，所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白还可以包含 LCDR1。例如，所述 LCDR1 可以包含 RASQDISX₉WLA 所示的序列，其中，X₉ 可以选自任何一种氨基酸，例如天然氨基酸。例

如, 所述 LCDR1 可以包含 RASQDISX₉WLA 所示的序列 (如 SEQ ID NO: 36 所示), 其中, X₉ 可以为 D 或 S。在某些情形中, 与 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列相比, 所述 LCDR1 可以至少包含在 X₉ 处的氨基酸取代。例如, 所述 LCDR1 可以包含如 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。

例如, 所述 LCDR1 可以包含如 RASQDISSWLA (SEQ ID NO: 13) 或 RASQDISDWLA (SEQ ID NO: 14) 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab7、Ab9、Ab13 或 Ab15 中的 LCDR1。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab7、Ab9、Ab13 或 Ab15 的轻链可变区中的 LCDR1。例如, 所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

在本申请中, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含 LCDR3, LCDR2 和 LCDR1。例如, LCDR3 可以包含如 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列, LCDR2 可以包含 VASX₅X₆X₇X₈ 所示的序列, 其中, X₅, X₆, X₇ 和 X₈ 可以各自独立地选自任何一种氨基酸, 例如天然氨基酸, 且 LCDR1 可以包含 RASQDISX₉WLA 所示的序列, 其中, X₉ 可以选自任何一种氨基酸, 例如天然氨基酸。例如, 所述分离的抗原结合蛋白的 LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列, LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列, 且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。

例如, 所述分离的抗原结合蛋白的 LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列, LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列, 且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5 或 Ab7 中的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5 或 Ab7 的轻链可变区中的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。例如, 所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如, 所述分离的抗原结合蛋白的 LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列, LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列, 且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab9 中的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab9 的轻链可变区中的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。例如, 所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如, 所述分离的抗原结合蛋白的 LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列, LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 11 所示的氨基酸序列, 且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab13 中的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab13 的轻链可变区中的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。例如, 所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如, 所述分离的抗原结合蛋白的 LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列, LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 12 所示的氨基酸序列, 且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab15 中的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab15 的轻链可变区中的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。例如, 所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

在本申请中, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含 HCDR3, HCDR2, HCDR1, LCDR3, LCDR2 和 LCDR1。例如, HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的序列, HCDR2 可以包含 $X_1GGGX_2X_3$ 所示的序列, 其中, X_1 , X_2 , 和 X_3 可以各自独立地选自任何一种氨基酸, 例如天然氨基酸, 且 HCDR1 可以包含 GFTX₄SSY 所示的序列, 其中, X_4 可以选自任何一种氨基酸, 例如天然氨基酸, LCDR3 可以包含如 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列, LCDR2 可以包含 VASX₅X₆X₇X₈ 所示的序列, 其中, X_5 , X_6 , X_7 和 X_8 可以各自独立地选自任何一种氨基酸, 例如天然氨基酸, 且 LCDR1 可以包含 RASQDISX₉WLA 所示的序列, 其中, X_9 可以选自任何一种氨基酸, 例如天然氨基酸。例如, HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的序列, 所述 HCDR2 可以包含 $X_1GGGX_2X_3$ 所示的序列 (如 SEQ ID NO: 33 所示), 其中, X_1 可以为 S、T、W 或 Y, X_2 可以为 E、G 或 V, 和 X_3 可以为 S 或 Y, 所述 HCDR1 可以包含 GFTX₄SSY 所示的序列 (如 SEQ ID NO: 34 所示), 其中, X_4 可以为 F 或 S, LCDR3 可以包含如 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列, 所述 LCDR2 可以包含 VASX₅X₆X₇X₈ 所示的序列 (如 SEQ ID NO: 35 所示), 其中, X_5 可以为 F、S 或 Y, X_6 可以为 E、I 或 L, X_7 可以为 H 或 Q, 和 X_8 可以为 R 或 S, 且所述 LCDR1 可以包含 RASQDISX₉WLA 所示的序列 (如 SEQ ID NO: 36 所示), 其中, X_9 可以为 D 或 S。在某些情形中, 与 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列相比, 所述 HCDR2 可以至少包含在选自下组位置处的氨基酸取代: 在 X_1 、 X_2 和 X_3 处的氨基酸取代, 与 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列相比, 所述 HCDR1 可以至少包含在 X_4 处的氨基酸取代, 与 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列相比, 所述 LCDR2 可以至少包含在选自下组位置处的氨基酸取代:

在 X₅、X₆、X₇ 和 X₈ 处的氨基酸取代，且与 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列相比，所述 LCDR1 可以至少包含在 X₉ 处的氨基酸取代。例如，所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列，HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列，LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列，且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。

例如，所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列，HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0 中的 HCDR3，HCDR2，HCDR1，LCDR3，LCDR2 和 LCDR1。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0 的重链可变区中的 HCDR3，HCDR2，HCDR1，以及其轻链可变区中的 LCDR3，LCDR2 和 LCDR1。例如，所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如，所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列，HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 8 所示的氨基酸序列，LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab2 中的 HCDR3，HCDR2，HCDR1，LCDR3，LCDR2 和 LCDR1。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab2 的重链可变区中的 HCDR3，HCDR2，HCDR1，以及其轻链可变区中的 LCDR3，LCDR2 和 LCDR1。例如，所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如，所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 3 所示的氨基酸序列，HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白

可以包含本申请 Ab3 中的 HCDR3, HCDR2, HCDR1, LCDR3, LCDR2 和 LCDR1。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab3 的重链可变区中的 HCDR3, HCDR2, HCDR1, 轻链可变区中的 LCDR3, LCDR2 和 LCDR1。例如, 所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如, 所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列, HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 4 所示的氨基酸序列, HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列, LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列, LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列, 且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab5 中的 HCDR3, HCDR2, HCDR1, LCDR3, LCDR2 和 LCDR1。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab5 的重链可变区中的 HCDR3, HCDR2, HCDR1, 以及其轻链可变区中的 LCDR3, LCDR2 和 LCDR1。例如, 所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如, 所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列, HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列, HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列, LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列, LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列, 且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab6 中的 HCDR3, HCDR2, HCDR1, LCDR3, LCDR2 和 LCDR1。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab6 的重链可变区中的 HCDR3, HCDR2, HCDR1, 以及其轻链可变区中的 LCDR3, LCDR2 和 LCDR1。例如, 所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如, 所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列, HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 6 所示的氨基酸序列, HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列, LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列, LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列, 且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。例如, 本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab7 中的 HCDR3, HCDR2, HCDR1, LCDR3, LCDR2 和 LCDR1。例如, 所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab7 的重链可变区中的 HCDR3, HCDR2, HCDR1, 以及其轻链可变区中的 LCDR3, LCDR2 和 LCDR1。例如, 所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如，所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列，HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab9 中的 HCDR3，HCDR2，HCDR1，LCDR3，LCDR2 和 LCDR1。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab9 的重链可变区中的 HCDR3，HCDR2，HCDR1，以及其轻链可变区中的 LCDR3，LCDR2 和 LCDR1。例如，所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如，所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 3 所示的氨基酸序列，HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 11 所示的氨基酸序列，且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab13 中的 HCDR3，HCDR2，HCDR1，LCDR3，LCDR2 和 LCDR1。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab13 的重链可变区中的 HCDR3，HCDR2，HCDR1，以及其轻链可变区中的 LCDR3，LCDR2 和 LCDR1。例如，所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

例如，所述分离的抗原结合蛋白的 HCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，HCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 3 所示的氨基酸序列，HCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，LCDR3 可以包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，LCDR2 可以包含 SEQ ID NO: 12 所示的氨基酸序列，且 LCDR1 可以包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab15 中的 HCDR3，HCDR2，HCDR1，LCDR3，LCDR2 和 LCDR1。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab15 的重链可变区中的 HCDR3，HCDR2，HCDR1，以及其轻链可变区中的 LCDR3，LCDR2 和 LCDR1。例如，所述 CDR 可以根据 Chothia 规则划分。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含 H-FR1，所述 H-FR1 的 C 末端可以与所述 HCDR1 的 N 末端直接或间接相连，所述 H-FR1 可以包含如 SEQ ID NO: 15 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含 H-FR2，所述 H-FR2 可以位于所述 HCDR1 与所述 HCDR2 之间，所述 H-FR2 可以包含如 SEQ ID NO: 16 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含 H-FR3，所述 H-FR3 可以位于所述 HCDR2 与所述 HCDR3 之间，所述 H-FR3 可以包含如 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含 H-FR4，所述 H-FR4 的 N 末端可以与所述 HCDR3 的 C 末端相连，所述 H-FR4 可以包含如 SEQ ID NO: 18 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可以包含 H-FR1，H-FR2，H-FR3 和 H-FR4。例如，所述分离的抗原结合蛋白的 H-FR1，H-FR2，H-FR3 和 H-FR4 可分别依次包含 SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 17 和 SEQ ID NO: 18 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含 L-FR1，所述 L-FR1 的 C 末端可以与所述 LCDR1 的 N 末端直接或间接相连，所述 L-FR1 可以包含如 SEQ ID NO: 19 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含 L-FR2，所述 L-FR2 可以位于所述 LCDR1 与所述 LCDR2 之间，所述 L-FR2 可以包含如 SEQ ID NO: 20 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含 L-FR3，所述 L-FR3 可以位于所述 LCDR2 与所述 LCDR3 之间，所述 L-FR3 可以包含如 SEQ ID NO: 21 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含 L-FR4，所述 L-FR4 的 N 末端可以与所述 LCDR3 的 C 末端直接或间接相连，所述 L-FR4 可以包含如 SEQ ID NO: 22 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含 L-FR1，L-FR2，L-FR3 和 L-FR4。例如，所述分离的抗原结合蛋白的 L-FR1，L-FR2，L-FR3 和 L-FR4 可分别依次包含 SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 21 和 SEQ ID NO: 22 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可包含 VH，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列。例如，所述 VH 可以包含：

EVQLLES G GGLVQP G GSLRLS CAASGFTX₄SSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIX₁GGGX₂X₃TY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKAIGSSWYSDAFDLWGQG TMVTVSS 所示的序列（如 SEQ ID NO: 37 所示），其中，X₁可以为 S、T、W 或 Y，X₂可以为 E、G 或 V，X₃可以为 S 或 Y，且 X₄可以为 F 或 S。在某些情形中，与 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列相比，所述 VH 可以至少包含在选自下组位置处的氨基酸取代：在 X₁、X₂、X₃ 和 X₄ 处的氨基酸取代。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可包含 VH，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、或 SEQ ID NO: 28 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab7、Ab9、Ab13 或 Ab15 中的重链可变区。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可包含 VL，所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列。例如，所述 VH 可以包含：

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQDISX₅WLAWYQQKPGKAPKLLIYVASX₅X₆X₇X₈GVPSRFGSGSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQSYSHIPYTFGQGGTKLEIK 所示的序列（如 SEQ ID NO: 38 所示），其中，X₅ 可以为 F、S 或 Y，X₆ 可以为 E、I 或 L，X₇ 可以为 H 或 Q，和 X₈ 可以为 R 或 S，且 X₉ 可以为 D 或 S。在某些情形中，与 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列相比，所述 VH 可以至少包含在选自下组位置处的氨基酸取代：在 X₅、X₆、X₇、X₈ 和 X₉ 处的氨基酸取代。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可包含 VL，所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31、或 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0、Ab2、Ab3、Ab5、Ab6、Ab7、Ab9、Ab13 或 Ab15 中的轻链可变区。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可包含所述 VH 和 VL。例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。

例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab0 中的 VH 和 VL。

例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab2 中的 VH 和 VL。

例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab3 中的 VH 和 VL。

例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 26 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ

ID NO: 29 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab5 中的 VH 和 VL。

例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 27 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab6 中的 VH 和 VL。

例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 28 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab7 中的 VH 和 VL。

例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 30 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab9 中的 VH 和 VL。

例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 31 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab13 中的 VH 和 VL。

例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请 Ab15 中的 VH 和 VL。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请任一种 VH 中的至少一个 CDR。在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请任一种 VL 中的至少一个 CDR。所述 CDR 可以根据任何划分方式划分得到，如 CCG、Kabat、Chothia、IMGT、综合考虑 Kabat/Chothia 等。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请所述 VH 中的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请所述 VH 中的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、或 SEQ ID NO: 28 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请所述 VL 中的 LCDR1，LCDR2 和 LCDR3，所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原

结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含本申请所述 VL 中的 LCDR1，LCDR2 和 LCDR3，所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31、或 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以具有 Siglec-15 结合能力。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包括抗体重链恒定区。所述抗体重链恒定区可以源自人 IgG、IgA、IgD、IgE 和/或 IgM 重链恒定区。所述抗体重链恒定区可以源自人 IgG 重链恒定区。在某些实施方式中，所述分离的抗原结合蛋白可以包括抗体重链恒定区，且所述抗体重链恒定区可以源自人 IgG1、IgG2、IgG3 和/或 IgG4 重链恒定区。在某些实施方式中，所述分离的抗原结合蛋白可以包括抗体重链恒定区，且所述抗体重链恒定区可以源自人 IgG1 重链恒定区。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包括抗体轻链恒定区。所述抗体轻链恒定区可以源自人 Igκ 恒定区。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可以包含抗体或其抗原结合片段。

在某些实施方式中，所述抗原结合片段可以包括 Fab，Fab'，Fv 片段，F(ab')₂，F(ab)₂，scFv，di-scFv，VHH 和/或 dAb。

在某些实施方式中，所述抗体可以包括单克隆抗体。在某些实施方式中，所述抗体可以包括鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和/或全人源抗体。

例如，所述嵌合抗体的 VH 可以包含 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列，且所述嵌合抗体的 VL 可以包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述人源化抗体的 VH 可以包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列，且所述人源化抗体的 VL 可以包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列。例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 26 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 27 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 28 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。例如，所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列，且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 30 所示的氨基酸序列。例如，所述 VH 可以包

含 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列, 且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 31 所示的氨基酸序列。例如, 所述 VH 可以包含 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列, 且所述 VL 可以包含 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中, 所述抗体包含轻链恒定区。例如, 轻链恒定区可以是源自人抗体的轻链恒定区; 例如, 轻链恒定区可以包含 SEQ ID NO: 40 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中, 所述抗体包含重链恒定区。例如, 重链恒定区可以是源自人抗体的重链恒定区; 例如, 重链恒定区可以包含 SEQ ID NO: 39 所示的氨基酸序列。

此外, 需要说明的是, 本申请所述分离的抗原结合蛋白可以包含与其存在一个或多个保守序列修饰的重链和/或轻链序列。所谓“保守序列修饰”是指不会显著影响或改变抗体结合特性的氨基酸修饰。这样的保守修饰包括氨基酸替换、添加和删除。可以通过领域内已知的标准技术, 例如点突变和 PCR 介导的突变, 将修饰引入本申请所述分离的抗原结合蛋白中。保守氨基酸替换是氨基酸残基用具有相似侧链的氨基酸残基进行替换。具有相似侧链的氨基酸残基组在领域内已知。这些氨基酸残基组包括具有碱性侧链(例如, 赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如, 天冬氨酸、谷氨酸)、不带电极性侧链(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)、非极性侧链(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)、 β -支链侧链(例如, 苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳香族侧链(例如, 酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)的氨基酸。在某些实施方式中, 本申请所述分离的抗原结合蛋白的 CDR 区中的一个或多个氨基酸残基可以用同侧链组的其他氨基酸残基替换。本领域内的技术人员知道, 一些保守序列修改不会使抗原结合性消失, 具体可以参见, 例如, Brummell et al., (1993) Biochem 32:1180-8; de Wildt et al., (1997) Prot. Eng. 10:835-41; Komissarov et al., (1997) J. Biol. Chem. 272:26864-26870; Hall et al., (1992) J. Immunol. 149:1605-12; Kelley and O'Connell (1993) Biochem. 32:6862-35; Adib-Conquy et al., (1998) Int. Immunol. 10:341-6 and Beers et al., (2000) Clin. Can. Res. 6:2835-43。

可以通过本领域已知的各种测定鉴别、筛选或表征本申请所述的 Siglec-15 抗原结合蛋白。

例如, 可以通过已知方法诸如酶联免疫吸附测定(ELISA)、免疫印迹(例如, 蛋白质印迹)、流式细胞术(例如, FACS)、免疫组织化学、免疫荧光等来测试本申请抗原结合蛋白或融合蛋白的抗原结合活性。

在本申请中, 所述分离的抗原结合蛋白能够特异性结合 Siglec 或其功能活性片段, 例如 Siglec-15 或其功能活性片段。

在某些实施方式中，Siglec-15 或其功能活性片段可以是全长的 Siglec-15 或其功能活性片段，或是发挥 Siglec-15 功能活性的片段，例如，Siglec-15 功能活性可以是激活 Siglec-15 下游通路的能力。在某些实施方式中，Siglec-15 或其功能活性片段可以是分离的 Siglec-15 或其功能活性片段，或是各种形式 Siglec-15 或其功能活性片段的混合物。例如，Siglec-15 或其功能活性片段可以是人 Siglec-15 或其功能活性片段、鼠 Siglec-15 或其功能活性片段或猴 Siglec-15 或其功能活性片段；例如，Siglec-15 或其功能活性片段可以是表达在细胞表面的 Siglec-15 或其功能活性片段；例如，Siglec-15 或其功能活性片段可以是结合在固相介质上的 Siglec-15 或其功能活性片段。

在某些实施方式中，所述分离的抗原结合蛋白可以通过分子相互作用分析仪进行亲和力测定。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以以 $1.56\text{E}-10\text{ M}$ 或更低的 K_D 值与 Siglec-15 蛋白相结合。例如，所述分离的抗原结合蛋白可以以 $1.56\text{E}-10\text{ M}$ 或更低、 $1.5\text{E}-10\text{ M}$ 或更低、 $1.3\text{E}-10\text{ M}$ 或更低、 $1.1\text{E}-10\text{ M}$ 或更低、 $1.0\text{E}-10\text{ M}$ 或更低、 $9.0\text{E}-11\text{ M}$ 或更低、 $8.0\text{E}-11\text{ M}$ 或更低、 $7.0\text{E}-11\text{ M}$ 或更低、 $6.0\text{E}-11\text{ M}$ 或更低、 $5.0\text{E}-11\text{ M}$ 或更低、 $4.0\text{E}-11\text{ M}$ 或更低、 $3.0\text{E}-11\text{ M}$ 或更低、 $2.0\text{E}-11\text{ M}$ 或更低、 $1.0\text{E}-11\text{ M}$ 或更低、 $9.0\text{E}-12\text{ M}$ 或更低、 $8.0\text{E}-12\text{ M}$ 或更低、 $7.0\text{E}-12\text{ M}$ 或更低、 $6.0\text{E}-12\text{ M}$ 或更低、或 $5.0\text{E}-12\text{ M}$ 或更低的 K_D 值与 Siglec-15 蛋白相结合。

在某些实施方式中，本申请分离的抗原结合蛋白可以较高的表达量。例如，本申请分离的抗原结合蛋白的表达量可以为 50mg/L 以上。例如，本申请分离的抗原结合蛋白的表达量可以为 50mg/L 以上、 53 mg/L 以上、 55 mg/L 以上、 60mg/L 以上、 70mg/L 以上、 80mg/L 以上、 90mg/L 以上、 100mg/L 以上、 130mg/L 以上、 140mg/L 以上、 150mg/L 以上、 160mg/L 以上、 200mg/L 以上、 210mg/L 以上、 220mg/L 以上或 230mg/L 以上。

在某些实施方式中，本申请分离的抗原结合蛋白可以通过 FACS 方法测定抗原结合蛋白与细胞表面 Siglec-15 蛋白的结合活性。例如，可以是细胞表面人 Siglec-15 蛋白、细胞表面猴 Siglec-15 蛋白和/或细胞表面鼠 Siglec-15 蛋白。例如，本申请分离的抗原结合蛋白可以以约 3.25 nM 或更低的 EC_{50} 值结合 Siglec-15 或其功能片段。例如，本申请分离的抗原结合蛋白可以以约 3.25 nM 或更低、以约 3.0 nM 或更低、以约 2.0 nM 或更低、以约 1.9 nM 或更低、以约 1.8 nM 或更低、以约 1.7 nM 或更低、以约 1.6 nM 或更低、以约 1.5 nM 或更低、以约 1.4 nM 或更低、以约 1.3 nM 或更低、以约 1.2 nM 或更低、以约 1.1 nM 或更低、以约 1.0 nM 或更低、以约 0.9 nM 或更低、以约 0.8 nM 或更低、以约 0.7 nM 或更低、以约 0.6 nM 或更低、以约 0.5 nM 或更低、以约 0.4 nM 或更低、以约 0.3 nM 或更低、以约 0.2 nM 或更低、或以约 0.1 nM 或更低的 EC_{50} 值结合 Siglec-15 或其功能片段。

在某些实施方式中，本申请分离的抗原结合蛋白可以影响免疫细胞增殖的能力。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以影响免疫系统的功能；例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以影响免疫细胞亚群的比例和/或免疫细胞的数量。例如，免疫细胞可以包含淋巴细胞、外周血淋巴细胞、外周血单个核细胞、外周血单核细胞、T 细胞、B 细胞和/或 NK 细胞。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以提高免疫细胞亚群的比例；例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以提高 CD8⁺T 细胞的比例；例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以提高 CD4⁺T 细胞的比例。例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以提高外周血淋巴细胞中的 CD8⁺T 细胞的比例；例如，本申请的分离的抗原结合蛋白可以提高外周血淋巴细胞中的 CD4⁺T 细胞的比例。例如，相对于仅施用空白对照，本申请的分离的抗原结合蛋白可以提高 CD8⁺T 细胞的数量约 1% 以上、约 2% 以上、约 3% 以上、约 4% 以上、约 5% 以上、约 7% 以上、约 10% 以上、约 15% 以上、约 20% 以上、约 25% 以上、约 30% 以上、约 35% 以上、约 40% 以上、约 45% 以上、约 50% 以上、约 60% 以上、约 70% 以上、约 80% 以上、或约 90% 以上。例如，相对于仅施用空白对照，本申请的分离的抗原结合蛋白可以提高 CD4⁺T 细胞的数量约 1% 以上、约 2% 以上、约 3% 以上、约 4% 以上、约 5% 以上、约 7% 以上、约 10% 以上、约 15% 以上、约 20% 以上、约 25% 以上、约 30% 以上、约 35% 以上、约 40% 以上、约 45% 以上、约 50% 以上、约 60% 以上、约 70% 以上、约 80% 以上、或约 90% 以上。

在某些实施方式中，本申请分离的抗原结合蛋白可以逆转 Siglec-15 蛋白对免疫系统功能的抑制作用。例如，在体内或体外施用 Siglec-15 蛋白和/或在体内或体外 Siglec-15 蛋白高表达时，Siglec-15 蛋白可以对免疫系统功能产生抑制，例如，Siglec-15 蛋白可以影响免疫细胞亚群的比例、抑制免疫细胞的增殖和/或减少免疫细胞的数量。例如，在免疫系统功能被 Siglec-15 蛋白抑制时，本申请的分离的抗原结合蛋白可以提高、逆转、恢复和/或激活免疫系统的功能。例如，Siglec-15 蛋白对免疫系统功能和/或免疫细胞数量产生抑制后，相对于仅施用空白对照，本申请的分离的抗原结合蛋白可以提高 CD8⁺T 细胞的数量约 1% 以上、约 2% 以上、约 3% 以上、约 4% 以上、约 5% 以上、约 7% 以上、约 10% 以上、约 15% 以上、约 20% 以上、约 25% 以上、约 30% 以上、约 35% 以上、约 40% 以上、约 45% 以上、约 50% 以上、约 60% 以上、约 70% 以上、约 80% 以上、或约 90% 以上。例如，Siglec-15 蛋白对免疫系统功能和/或免疫细胞数量产生抑制后，本申请的分离的抗原结合蛋白可以提高 CD4⁺T 细胞的数量约 1% 以上、约 2% 以上、约 3% 以上、约 4% 以上、约 5% 以上、约 7% 以上、约 10% 以上、约 15% 以上、约 20% 以上、约 25% 以上、约 30% 以上、约 35% 以上、约 40% 以上、约 45% 以上、约 50% 以上、约 60% 以上、约 70% 以上、约 80% 以上、或约 90% 以上。

在某些实施方式中，本申请分离的抗原结合蛋白可以抑制肿瘤生长。例如，所述分离的抗原结合蛋白能够以约 23%或更高肿瘤体积抑制率抑制肿瘤生长，例如结肠癌。例如，相对于仅施用空白对照，所述分离的抗原结合蛋白能够以约 20%或更高、约 21%或更高、约 22%或更高、约 23%或更高、约 24%或更高、约 25%或更高、约 26%或更高、约 27%或更高、约 28%或更高、约 29%或更高、约 30%或更高、约 40%或更高、或约 50%或更高肿瘤体积抑制率抑制肿瘤生长。

在某些实施方式中，本申请分离的抗原结合蛋白可以影响细胞因子的分泌的能力。例如，本申请的细胞因子的分泌可以包含体内、离体和/或体外的分泌。例如，本申请的细胞因子的分泌可以包含脂多糖诱导的细胞因子分泌。例如，脂多糖诱导的细胞因子分泌可以是指在体内和/或体外施用脂多糖后，体内和/或体外分泌细胞因子的数量提高、培养液中细胞因子的浓度提高和/或外周血中细胞因子的浓度提高。例如，在受试者体内先施用本申请的抗原结合蛋白，再施用脂多糖，相对于仅施用脂多糖或者先施用空白对照再施用脂多糖，受试者体内细胞因子数量增加。例如，相对于仅施用脂多糖或者先施用空白对照再施用脂多糖，本申请的抗原结合蛋白可以提高细胞因子的分泌约 1%以上、约 2%以上、约 3%以上、约 4%以上、约 5%以上、约 7%以上、约 10%以上、约 15%以上、约 20%以上、约 25%以上、约 30%以上、约 35%以上、约 40%以上、约 45%以上、约 50%以上、约 60%以上、约 70%以上、约 80%以上、约 90%以上、约 100%以上、约 150%以上、约 200%以上、约 250%以上、约 300%以上、约 350%以上、约 400%以上。例如，本申请的细胞因子可以包含炎症因子，例如炎症反应相关的因子或促炎因子 TNF- α 和/或 IL-6。例如，相对于仅施用脂多糖或者先施用空白对照再施用脂多糖，本申请的抗原结合蛋白可以提高 TNF- α 的分泌约 1%以上、约 2%以上、约 3%以上、约 4%以上、约 5%以上、约 7%以上、约 10%以上、约 15%以上、约 20%以上、约 25%以上、约 30%以上、约 35%以上、约 40%以上、约 45%以上、约 50%以上、约 60%以上、约 70%以上、约 80%以上、约 90%以上、约 100%以上、约 150%以上、约 200%以上、约 250%以上、约 300%以上、约 350%以上、约 400%以上。例如，相对于仅施用脂多糖或者先施用空白对照再施用脂多糖，本申请的抗原结合蛋白可以提高 IL-6 的分泌约 1%以上、约 2%以上、约 3%以上、约 4%以上、约 5%以上、约 7%以上、约 10%以上、约 15%以上、约 20%以上、约 25%以上、约 30%以上、约 35%以上、约 40%以上、约 45%以上、约 50%以上、约 60%以上、约 70%以上、约 80%以上、约 90%以上、约 100%以上、约 150%以上、约 200%以上、约 250%以上、约 300%以上、约 350%以上、约 400%以上。

一方面，本申请提供一种多肽分子、核酸分子、载体、免疫缀合物、细胞和药物组合物。

另一方面，本申请提供了多肽分子，其可以包含本申请的分离的抗原结合蛋白。

在某些实施方式中，所述多肽分子可以包含融合蛋白。在某些实施方式中，所述多肽分子可以为融合蛋白。在某些实施方式中，本申请的多肽分子可以包含氨基酸以外的结构，例如，本申请的多肽分子可以包含核酸、多糖、脂质、小分子，以及前述的任意组合。

另一方面，本申请提供了分离的核酸分子，其可以编码本申请的分离的抗原结合蛋白和/或本申请的多肽。例如，其可以通过以下方法产生或合成的：(i) 在体外扩增的，例如通过聚合酶链式反应 (PCR) 扩增产生的；(ii) 通过克隆重组产生的；(iii) 纯化的，例如通过酶切和凝胶电泳分级分离；或者 (iv) 合成的，例如通过化学合成。

另一方面，本申请提供了一种载体，其可以包含本申请的核酸分子。此外，所述载体中还可以包含其他基因，例如允许在适当的宿主细胞中和在适当的条件下选择该载体的标记基因。此外，所述载体还可以包含允许编码区在适当宿主中正确表达的表达控制元件。这样的控制元件为本领域技术人员所熟知的，例如，可以包括启动子、核糖体结合位点、增强子和调节基因转录或 mRNA 翻译的其他控制元件等。所述载体可以通过转化、转导或转染宿主细胞，使其携带的遗传物质元件在宿主细胞内表达得以表达。所述载体可以包括，例如质粒、粘粒、病毒、噬菌体或者在例如遗传工程中通常使用的其他载体。例如，所述载体可以为表达载体。此外，所述载体还可以包括有协助其进入细胞的成分，如病毒颗粒、脂质体或蛋白外壳，但不仅仅只有这些物质。

另一方面，本申请还提供了免疫缀合物，其可以包含本申请所述的分离的抗原结合蛋白和/或本申请的多肽。在某些实施方式中，可以将本申请的分离的抗原结合蛋白或其片段与另一试剂，如化学治疗剂、毒素、免疫治疗剂、成像探针、分光镜探针等的连接。该连接可以通过一个或多个共价键，或非共价相互作用，并且可以包括螯合作用。可以使用多种接头（所述接头可以为本领域所知）以形成免疫缀合物。此外，可以以融合蛋白质的形式提供免疫缀合物，其可以由编码免疫缀合物的多核苷酸表达。所述免疫缀合物还可以包含例如抗体-药物缀合物 (ADC)。在 ADC 中，抗体和治疗剂可以通过接头交联，该接头可以是可切割的接头，例如可以是体内和/或体外可酶切的接头，例如可以是肽类接头、二硫类接头或脲类接头。

另一方面，本申请提供了一种细胞，其可以包含本申请的分离的抗原结合蛋白、本申请的多肽分子、本申请的免疫缀合物、本申请的核酸分子或本申请的载体。在某些实施方式中，每种或每个宿主细胞可包含一个或一种本申请所述的核酸分子或载体。在某些实施方式中，每种或每个宿主细胞可以包含多个（例如，2 个或以上）或多种（例如，2 种或以上）本申请所述的核酸分子或载体。例如，可以将本申请所述的载体引入所述宿主细胞中，例如真核细

胞，如来自植物的细胞、真菌或酵母细胞等。在某些实施方式中，所述细胞可以是细菌细胞（例如，大肠杆菌）、酵母细胞或其它真核细胞，例如 COS 细胞、中国仓鼠卵巢（CHO）细胞、CHO-K1 细胞、LNCAP 细胞、HeLa 细胞、293T 细胞、COS-1 细胞、SP2/0 细胞、NS0 细胞或骨髓瘤细胞。可以通过本领域已知的方法将本申请所述的载体引入所述宿主细胞中，例如电穿孔、lipofectine 转染、lipofectamin 转染等。

另一方面，本申请还提供了药物组合物，其可以包含本申请分离的抗原结合蛋白、本申请的多肽分子、本申请的免疫缀合物、本申请的核酸分子、本申请的载体和/或本申请的细胞，以及任选地药学上可接受的载剂。在某些实施方案中，所述药物组合物还可以包含一种或多种(药学上有效的)佐剂、稳定剂、赋形剂、稀释剂、增溶剂、表面活性剂、乳化剂和/或防腐剂的合适的制剂。组合物的可接受成分在所用剂量和浓度下可以对接受者无毒。本发明的药物组合物可以包括但不限于液体、冷冻和冻干组合物。

在某些实施方案中，所述药物组合物还可含有多于一种活性化合物，通常可以为不会不利地影响彼此的具有互补活性的那些活性化合物。此类药物的类型和有效量可以取决于例如制剂中存在的拮抗剂的量和类型，以及受试者的临床参数。

在某些实施方案中，所述药学上可接受的载剂可以包括与药物给药相容的任何和所有的溶剂、分散介质、包衣、等渗剂和吸收延迟剂，通常安全、无毒。

在某些实施方案中，所述药物组合物可以包含肠胃外、经皮、腔内、动脉内、鞘内和/或鼻内施用或直接注射到组织中。例如，所述药物组合物可以通过输注或注射施用于患者或者受试者。在某些实施方案中，所述药物组合物的施用可以通过不同的方式进行，例如静脉内、腹膜内、皮下、肌肉内、局部或真皮内施用。在某些实施方案中，所述药物组合物可以不间断施用。所述不间断（或连续）施用可以通过患者佩戴的小泵系统来实现，以测量流入患者体内的治疗剂。

在某些实施方案中，本申请提供一种药物组合。在某些实施方案中，本申请的药物组合可以包含本申请的分离的 Siglec-15 结合蛋白、包含 Siglec-15 结合蛋白的多肽、本申请的免疫缀合物、本申请的核酸分子、本申请的载体、本申请的细胞和/或本申请的药物组合物，以及可以包含合适的具有预防和/或治疗效果的活性物质。

在某些实施方式中，其中所述药物组合可以包含第一制剂和第二制剂，所述第一制剂包含所述本申请的分离的 Siglec-15 结合蛋白和/或包含 Siglec-15 结合蛋白的多肽和药学上可接受的第一载体，且所述第二制剂可以包含合适的治疗活性物质和药学上可接受的第二载体。

一方面，本申请提供一种试剂盒。例如，其中试剂盒可以包含本申请的分离的 Siglec 结

合蛋白、包含 Siglec 结合蛋白的多肽、编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子、包含编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子的载体、包含本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的免疫缀合物、包含上述物质的细胞、本申请的物组合物和/或本申请的药物组合。例如，本申请中的 Siglec 可以为 Siglec-15。在某些实施方式中，其中试剂盒可以用于检测样品中 Siglec-15 的存在和/或含量。

一方面，本申请提供一种制备方法。

另一方面，本申请提供了制备本申请的分离的 Siglec-15 结合蛋白和/或包含 Siglec-15 结合蛋白的多肽的方法。所述方法可以包括，在使得本申请的分离的 Siglec-15 结合蛋白和/或包含 Siglec-15 结合蛋白的多肽表达的条件下，培养所述本申请所述的宿主细胞。例如，可以通过使用适当的培养基、适当的温度和培养时间等，这些方法是本领域普通技术人员所了解的。

任何适于产生单克隆抗体的方法都可以用于产生本申请的抗原结合蛋白。例如，可以用连接或天然存在的 Siglec-15 或其片段免疫动物。可以使用合适的免疫接种方法，包括佐剂、免疫刺激剂、重复加强免疫接种，可以使用一种或多种途径。例如，可以使用杂交瘤制备方法，获取已经过免疫的小鼠的脾细胞与 SP2/0 骨髓瘤细胞进行融合，经过 HAT 筛选出杂交瘤细胞株。

任何合适形式的 Siglec-15 都可以作为免疫原（抗原），用于产生对 Siglec-15 特异的非人抗体，筛选所述抗体的生物学活性。例如，激发免疫原可以是全长的成熟人 Siglec-15，可以包括天然的同源二聚体，或含单个/多个表位的肽。免疫原可以单独使用，或与本领域已知的一种或多种免疫原性增强剂组合使用。

嵌合人源抗体可以选自任何种类的免疫球蛋白，可以包括 IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE。在本申请中，抗体可以是 IgG 抗体，可以使用 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 亚型。可以通过用本领域的生物学测定筛选抗体实现必需恒定结构域序列的优化，以产生所需生物学活性。同样，任一类轻链都可以在本申请的化合物和方法中使用。例如，本申请的化合物和方法中可以使用 κ 链或其变体。

一方面，本申请提供一种方法和用途。

例如，本申请提供一种检测样品中 Siglec 的方法，可以包含施用本申请的分离的 Siglec 结合蛋白、施用包含 Siglec 结合蛋白的多肽、施用编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子、施用包含编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子的载体、施用包含本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的免疫缀合物、施用包含上述物质的细胞、施用本申请的药物组合、施用本申请的药物组合和/或使用本申请的试剂盒。在某些情形中，所述检测样品中 Siglec

的方法可以是体外方法。在某些情形中，所述检测样品中 Siglec 的方法可以为非治疗目的的方法。在某些情形中，所述检测样品中 Siglec 的方法可以不是诊断方法。例如，本申请中的 Siglec 可以为 Siglec-15。

例如，本申请提供一种影响 Siglec 或其功能活性片段与其配体结合的方法，可以包含施用本申请的分离的 Siglec 结合蛋白、施用包含 Siglec 结合蛋白的多肽、施用编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子、施用包含编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子的载体、施用包含本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的免疫缀合物、施用包含上述物质的细胞、施用本申请的药物组合物、施用本申请的药物组合和/或使用本申请的试剂盒。在某些情形中，所述影响 Siglec 或其功能活性片段与其配体结合的方法可以是体外方法。在某些情形中，所述影响 Siglec 或其功能活性片段与其配体结合的方法可以为非治疗目的的方法。在某些情形中，所述影响 Siglec 或其功能活性片段与其配体结合的方法可以不是诊断方法。例如，本申请中的 Siglec 可以为 Siglec-15。例如，本申请 Siglec 的配体可以包含富含亮氨酸序列重复的蛋白 4C (Leucine-rich repeat-containing protein 4C) 和唾液酸化 Tn (sialyl-Tn)。例如，影响 Siglec 或其功能活性片段与其配体结合可以表现为，相对于空白对照，使得 Siglec 对于免疫系统功能的抑制减少约 1%以上、约 2%以上、约 3%以上、约 4%以上、约 5%以上、约 7%以上、约 10%以上、约 15%以上、约 20%以上、约 25%以上、约 30%以上、约 35%以上、约 40%以上、约 45%以上、约 50%以上、约 60%以上、约 70%以上、约 80%以上、约 90%以上、约 100%以上、约 150%以上、约 200%以上、约 250%以上、约 300%以上、约 350%以上、或约 400%以上。

例如，本申请提供一种影响免疫细胞增殖的方法，可以包含施用本申请的分离的 Siglec 结合蛋白、施用包含 Siglec 结合蛋白的多肽、施用编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子、施用包含编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子的载体、施用包含本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的免疫缀合物、施用包含上述物质的细胞、施用本申请的药物组合物、施用本申请的药物组合和/或使用本申请的试剂盒。例如，本申请中的 Siglec 可以为 Siglec-15。在某些情形中，所述影响免疫细胞增殖的方法可以是体外方法。在某些情形中，所述影响免疫细胞增殖的方法可以为非治疗目的的方法。在某些情形中，所述影响免疫细胞增殖的方法可以不是诊断方法。例如，本申请的影响免疫细胞增殖可以表现为，降低 Siglec-15 引起的免疫细胞增殖抑制。例如，可以影响免疫细胞亚群的比例和/或免疫细胞的数量。例如，免疫细胞可以包含淋巴细胞、外周血淋巴细胞、外周血单个核细胞和/或外周血单核细胞。例如，可以提高免疫细胞亚群的比例；例如，可以提高 CD8⁺T 细胞的比例；例如，可以提高 CD4⁺T

细胞的比例。例如，可以提高外周血淋巴细胞中的 CD8⁺T 细胞的比例；例如，可以提高外周血淋巴细胞中的 CD4⁺T 细胞的比例。例如，相对于空白对照，可以提高 CD8⁺T 细胞的数量约 1%以上、约 2%以上、约 3%以上、约 4%以上、约 5%以上、约 7%以上、约 10%以上、约 15%以上、约 20%以上、约 25%以上、约 30%以上、约 35%以上、约 40%以上、约 45%以上、约 50%以上、约 60%以上、约 70%以上、约 80%以上、或约 90%以上。例如，相对于空白对照，可以提高 CD4⁺T 细胞的数量约 1%以上、约 2%以上、约 3%以上、约 4%以上、约 5%以上、约 7%以上、约 10%以上、约 15%以上、约 20%以上、约 25%以上、约 30%以上、约 35%以上、约 40%以上、约 45%以上、约 50%以上、约 60%以上、约 70%以上、约 80%以上、或约 90%以上。

例如，本申请提供一种影响细胞因子的分泌的方法，可以包含施用本申请的分离的 Siglec 结合蛋白、施用包含 Siglec 结合蛋白的多肽、施用编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子、施用包含编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子的载体、施用包含本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的免疫缀合物、施用包含上述物质的细胞、施用本申请的药物组合、施用本申请的药物组合和/或使用本申请的试剂盒。例如，本申请中的 Siglec 可以为 Siglec-15。在某些情形中，所述影响细胞因子的分泌的方法可以是体外方法。在某些情形中，所述影响细胞因子的分泌的方法可以为非治疗目的的方法。在某些情形中，所述影响细胞因子的分泌的方法可以不是诊断方法。例如，影响细胞因子的分泌可以表现为影响脂多糖诱导的细胞因子分泌，例如，TNF- α 和/或 IL-6 的分泌。例如，相对于空白对照，可以提高 TNF- α 的分泌约 1%以上、约 2%以上、约 3%以上、约 4%以上、约 5%以上、约 7%以上、约 10%以上、约 15%以上、约 20%以上、约 25%以上、约 30%以上、约 35%以上、约 40%以上、约 45%以上、约 50%以上、约 60%以上、约 70%以上、约 80%以上、约 90%以上、约 100%以上、约 150%以上、约 200%以上、约 250%以上、约 300%以上、约 350%以上、约 400%以上。例如，相对于空白对照，可以提高 IL-6 的分泌约 1%以上、约 2%以上、约 3%以上、约 4%以上、约 5%以上、约 7%以上、约 10%以上、约 15%以上、约 20%以上、约 25%以上、约 30%以上、约 35%以上、约 40%以上、约 45%以上、约 50%以上、约 60%以上、约 70%以上、约 80%以上、约 90%以上、约 100%以上、约 150%以上、约 200%以上、约 250%以上、约 300%以上、约 350%以上、约 400%以上。

另一方面，本申请提供一种本申请的分离的 Siglec 结合蛋白、包含 Siglec 结合蛋白的多肽、编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子、包含编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子的载体、包含本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的免疫缀合物、包含上述物质

的细胞、本申请的物组合物和/或本申请的药物组合在制备试剂盒中的用途。例如，试剂盒可以用于检测样品中 Siglec 的存在和/或含量。例如，本申请中的 Siglec 可以为 Siglec-15。

一方面，本申请提供一种预防和/或治疗用途。Siglec-15 可以作为一种新的靶点，靶向 Siglec-15 的抗体可以逆转 Siglec-15 对于免疫系统功能的抑制。现有的数据可以表明，靶向 Siglec-15 的抗体可以激活免疫反应，Siglec-15 的抗体可以被开发成为一种预防和/或治疗疾病和/或病症的药物，或者可以将 Siglec-15 的抗体用于一种预防和/或治疗疾病和/或病症的方法。

另一方面，本申请提供一种本申请的分离的 Siglec 结合蛋白、包含 Siglec 结合蛋白的多肽、编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子、包含编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子的载体、包含本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的免疫缀合物、包含上述物质的细胞、本申请的物组合物、本申请的药物组合和/或本申请的试剂盒在制备药物中的用途，所述药物可以用于预防和/或治疗疾病和/或病症。例如，本申请的疾病和/或病症可以是免疫相关的障碍和/或增生性相关的障碍。例如，本申请的疾病和/或病症可以是 Siglec 蛋白表达异常或功能异常相关的疾病。例如，本申请的疾病和/或病症可以是 Siglec 阳性肿瘤。例如，本申请的疾病和/或病症可以是 Siglec 高表达的肿瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以是 Siglec 相关的疾病和/或病症。例如，本申请中的 Siglec 可以为 Siglec-15。

在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括肿瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括细胞过度生长或增殖的病症。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括增生性疾病、赘生性疾病和/或免疫性疾病。例如，本申请的肿瘤可以是 Siglec 蛋白表达异常或功能异常相关的肿瘤和/或感染。例如，本申请的肿瘤可以是 Siglec 阳性肿瘤和/或可以是 Siglec 高表达的肿瘤。在本申请中，所述肿瘤可以包括实体瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括消化道肿瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括肠道肿瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括结肠癌。例如，本申请中的 Siglec 可以为 Siglec-15。

另一方面，本申请提供一种本申请的分离的 Siglec 结合蛋白、包含 Siglec 结合蛋白的多肽、编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子、包含编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子的载体、包含本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的免疫缀合物、包含上述物质的细胞、本申请的物组合物、本申请的药物组合和/或本申请的试剂盒，其可以用于预防和/或治疗疾病和/或病症。例如，本申请的疾病和/或病症可以是免疫相关的障碍和/或增生性相关的障碍。例如，本申请的疾病和/或病症可以是 Siglec 蛋白表达异常或功能异常相关的疾病。例如，本申请的疾病和/或病症可以是 Siglec 阳性肿瘤。例如，本申请的疾病和/或病症可以是 Siglec 高表达的肿瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以是 Siglec 相关的疾病和/或病症。

例如，本申请中的 Siglec 可以为 Siglec-15。

在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括肿瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括细胞过度生长或增殖的病症。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括增生性疾病、赘生性疾病和/或免疫性疾病。例如，本申请的肿瘤可以是 Siglec 蛋白表达异常或功能异常相关的肿瘤和/或感染。例如，本申请的肿瘤可以是 Siglec 阳性肿瘤和/或可以是 Siglec 高表达的肿瘤。在本申请中，所述肿瘤可以包括实体瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括消化道肿瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括肠道肿瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括结肠癌。例如，本申请中的 Siglec 可以为 Siglec-15。

另一方面，本申请提供一种预防和/或治疗疾病和/或病症的方法，可以包括向有需要的受试者施用本申请的分离的 Siglec 结合蛋白、包含 Siglec 结合蛋白的多肽、编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子、包含编码本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的核酸分子的载体、包含本申请的分离的 Siglec 结合蛋白的免疫缀合物、包含上述物质的细胞、本申请的物组合物、本申请的药物组合和/或本申请的试剂盒。例如，本申请的疾病和/或病症可以是免疫相关的障碍和/或增生性相关的障碍。例如，本申请的疾病和/或病症可以是 Siglec 蛋白表达异常或功能异常相关的疾病。例如，本申请的疾病和/或病症可以是 Siglec 阳性肿瘤。例如，本申请的疾病和/或病症可以是 Siglec 高表达的肿瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以是 Siglec 相关的疾病和/或病症。例如，本申请中的 Siglec 可以为 Siglec-15。

在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括肿瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括细胞过度生长或增殖的病症。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括增生性疾病、赘生性疾病和/或免疫性疾病。例如，本申请的肿瘤可以是 Siglec 蛋白表达异常或功能异常相关的肿瘤和/或感染。例如，本申请的肿瘤可以是 Siglec 阳性肿瘤和/或可以是 Siglec 高表达的肿瘤。在本申请中，所述肿瘤可以包括实体瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括消化道肿瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括肠道肿瘤。在本申请中，所述疾病和/或病症可以包括结肠癌。例如，本申请中的 Siglec 可以为 Siglec-15。

在本申请中，所述施用可以通过不同方式进行，例如静脉内、瘤内、腹膜内、皮下、肌肉内、局部或真皮内施用。

不欲被任何理论所限，下文中的实施例仅仅是为了阐释本申请的结合蛋白、制备方法和用途等，而不适用于限制本申请发明的范围。

实施例

实施例 1 重组细胞系制备

将人 Siglec-15 胞外区（氨基酸序列可以在 Uniprot, Q6ZMC9, 20-263 中记载）与血小板来源生长因子受体（PDGFR）的跨膜区（氨基酸序列可以在 P09619, 513-561 中记载）经密码子优化后构建表达质粒，包装慢病毒，感染 293T 细胞，经抗生素加压筛选，检测 Siglec-15 的表达，挑阳性单克隆进行扩大培养，得到过表达人 Siglec-15 胞外区氨基酸序列的重组细胞系 S15ECD-293T。可以参照以上类似方法用于猴 S15ECD-293T 的制备。

将鼠 Siglec-15 全长（氨基酸序列可以在 Uniprot, A7E1W8 中记载）与 DAP12 全长氨基酸序列（O54885）以 T2A（氨基酸序列可以如 SEQ ID NO: 41 的 GSGEGRGSLTCTGDVEENPGP 所示）连接，经密码子优化后按常规方法构建表达质粒，包装慢病毒，感染 CT26 细胞制备过表达鼠 Siglec-15 全长的重组细胞系鼠 S15-CT26。

实施例 2 Siglec-15 结合蛋白筛选与成熟

Siglec-15 结合蛋白的噬菌体筛选

利用抗体库针对人 Siglec-15 抗原进行两轮液相筛选。取 1×10^{13} cfu 的文库噬菌体与 50 ml 链亲和素磁珠（Streptavidin Magnetic Beads）预结合 30 分钟，使用磁力架特异性吸附去除非特异性结合的噬菌体。重复三次，将去除背景后的噬菌体同 10 微克生物素化的人 Siglec-15 蛋白（简称：HS-15 Biotin 或人 S-15 Biotin, Acrobiosystems, 货号：SG5-H82E9），150 微克链亲和素磁珠 37°C 孵育 15 分钟。PBST 反复洗涤 14 遍，洗去不结合的噬菌体。用浓度为 100 mM 的盐酸将特异性结合 Siglec-15 的噬菌体洗脱，用 pH11 的 Tris-HCl 中和并感染处于对数生长期的大肠杆菌 SS320，侵染 1 小时后加入终浓度 1.5×10^9 cfu 的辅助噬菌体 M13KO7，32°C 过夜培养。次日 15000 g 离心 10 分钟取上清，加入 1/5 体积的 20% PEG/NaCl 溶液 4°C 沉淀 1 小时，15000 g 离心 20 分钟取沉淀加入 1 ml 1×PBS 重悬，用于第二轮淘选，第二轮除抗原用量逐轮减半其余同第一轮相同。用噬菌体的酶联免疫方法（ELISA）确定两轮淘选的富集情况。取浓度为 2 ng/μl 的人 Siglec-15 蛋白，每孔加入 100 μl，4°C 包被过夜。加入第二轮淘选富集后的噬菌体 1×10^{11} cfu/孔，37°C 孵育 40 分钟。使用 PBST 洗去未结合的噬菌体，每孔加入 100 μl 1:5000 稀释的 HRP 偶联 FLAG 小鼠源单克隆抗体（HRP conjugated Mouse Anti-FLAG Monoclonal Antibody, Sigma, 8592），37°C 孵育 30 分钟，用 PBST 洗去未结合的噬菌体，加入碱性磷酸酶显色液，与 ELISA 仪上，在 450nm 波长读取吸收值。结果如表 1：

表 1：噬菌体与 Siglec-15 的 ELISA 结合数据

包被抗原	OD ₄₅₀ 吸收值
人 Siglec-15	0.4845
无关蛋白	0.0666

Siglec-15 结合蛋白的酵母展示筛选

如图 1 所示本申请酵母展示的构建方法，以噬菌体抗体库淘选后质粒为模板，设计引物进行聚合酶链式反应（PCR）扩增单链抗体基因（scFv），PCR 扩增的 scFv 基因片段回收后与酵母展示质粒共转入酿酒酵母菌株 EBY100（购自 ATCC），通过酿酒酵母的同源重组使 scFv 基因插入至酵母展示质粒中，进而在酵母细胞壁表面展示单链抗体。酵母展示单链抗体库命名为 JYYDL020。文库 JYYDL020 电转后在 100 mL 的 SD-Trp 培养基（Clontech，货号：630308），30 °C、 225 转 / 分钟培养过夜；取 1.0×10⁸ 菌量重悬于 20 mL YPGP 液体培养基（2%半乳糖，2% 蛋白胨，1% 酵母提取物，0.54% Na₂HPO₄，0.86% NaH₂PO₄·H₂O），20 °C、225 转 / 分钟培养 24 小时，置于 4 °C 冰箱待用。

文库诱导后菌液，测定菌液的 OD₆₀₀，按 1 OD 为 1.0×10⁷ 细胞数计算，取 4.0×10⁸ 细胞进行第一轮流式分选，富集与 HS-15 Biotin 结合的阳性细胞群。取 2.0×10⁷ 细胞进行第二轮无关抗原负筛选，去除非特异性结合的细胞群。分选后取适量细胞涂布于 SD-Trp 固体培养基，30 °C 静置培养 3 天。

Siglec-15 结合蛋白的酵母单克隆鉴定

JYYDL020 抗体库第一轮筛选产物，挑 1 块 48 孔板进行测序，编号为 Y11；JYYDL020 第二轮筛选产物，挑 2 块 48 孔板进行测序，编号为 Y14-Y15。序列分析后，获得单一序列的单链抗体，对相应的酵母单克隆按表 2 进行流式染色分析。

表 2：单克隆酵母菌落流式染色鉴定方案

方案	一抗	二抗
1	人 S-15 Biotin (30 nM) Mouse anti V5	Streptavidin-PE Goat Anti Mouse-647
2	鼠 S-15 Biotin (30 nM) Mouse anti V5	Streptavidin-PE Goat Anti Mouse-647
3	无关抗原(30 nM) Mouse anti V5	Streptavidin-PE Goat Anti Mouse-647
4	猴 S-15-Fc (10 nM)	M&H Fc-APC

		Anti V5 FITC
--	--	--------------

方案 1 与 HS-15 Biotin 结合细胞群的强弱由 PE 平均荧光信号强度（MFI）反映，同理方案 2、方案 3 和方案 4，可以评估鼠 S-15 Biotin (Acrobiosytems，货号：SG5-M52H7，可以进行生物素标记)和猴 S-15-Fc（Acrobiosytems，货号：SG5-C5253）以及非特异性的结合水平，结果如表 3 所示。

表 3：单克隆酵母菌落流式染色结果及编号

蛋白编号	克隆编号	人 S-15 结合信号	猴 S-15 结合信号	鼠 S-15 结合信号	无关抗原结合信号
Ab0	Y14C4	666	588	286	12.5

根据染色结果，排除与人、猴、鼠不结合的克隆，最终获得的单克隆序列构建质粒，进行 Siglec-15 结合蛋白的表达。

Siglec-15 结合蛋白的表达

将上述得到的结合蛋白全长轻、重链蛋白质序列的分别进行密码子优化，基因合成密码子优化后 DNA 片段（金唯智），克隆合成后基因片段以 IgG1 形式装入表达载体 pcDNA3.4（Life Technologies）。表达质粒扩增和质粒抽提后双质粒共转 ExpiCHO 细胞（ThermoFisher Scientific，A29133），根据供应商 ExpiCHO 表达系统方法进行抗体瞬转表达，过程如下：在培养总体积 25 mL 培养基中，36.5 °C，8%二氧化碳浓度下培养 Expi CHO 细胞到密度 6×10⁶/mL，使用 ExpiFecta 转染试剂化转各 10 μg 抗体轻重链表达质粒到细胞；转染一天后，各取 150 μL 和 4 mL ExpiCHO 增强剂和 ExpiCHO 辅料添加到培养细胞中，继续培养至 9 天，4 °C，3500 转离心取上清。混合磁珠（AmMagTM Protein A，Genscript，L00695）和本申请 Siglec-15 结合蛋白表达上清，室温孵育 2 小时，PBS 洗涤两次弃上清，加入适量洗脱缓冲液（Protein G 或 A SefinoseTM Elution buffer，Sangon，C600481），充分混匀后置于试管架上静止孵育 5 分钟，孵育期间重悬磁珠 2-3 次，重复洗脱 2 次，洗脱后，立即加入适量中和液 1M Tris-HCl，pH7.5（Sangon，B548124）中和备用，得到纯化的 Siglec-15 结合蛋白信息见表 4。

表 4：Siglec-15 全人源结合蛋白表达数据

蛋白编号	理论等电点	表达量 (mg/L)	浓度 (mg/mL)
Ab0	7.9	53	0.89

纯化后 Siglec-15 结合蛋白经亲和力测定，理化性质分析和细胞结合，和体外功能活性鉴定后进行亲和力成熟。

亲和力成熟突变文库构建

对获得的 Siglec-15 结合蛋白进行亲和力成熟,提高其对 人 Siglec-15 的亲和力。通过对本申请 Siglec-15 结合蛋白的抗原结合决定簇(CDR)位点的氨基酸进行随机突变,构建各 CDR 区的突变文库,利用酵母展示技术高通量筛选与抗原特异性结合力强的序列。可以将本申请 Siglec-15 结合蛋白的轻链、重链可变区氨基酸序列按 Chothia 编码规则进行编码,CDR 区可以按 Chothia 定义。对抗体分子轻链可变区 CDR1、CDR1、CDR3,重链可变区 CDR1、CDR2、CDR3,设计 NNK(N 代表任何一种核苷酸,K 代表是 G 或 T)突变引物进行聚合酶链式反应(PCR)扩增各 CDR 突变文库基因片段,将各 CDR 突变文库基因片段与酵母展示质粒分别转入酿酒酵母菌株 EBY100,使各 CDR 突变文库以 Fab 形式展示于酵母表面。同时将本申请 Siglec-15 结合蛋白的亲本序列以 Fab 形式展示于酵母表面,作为对照使用。

亲和力成熟突变文库筛选

文库经过培养、诱导后,各取 1×10⁹ 细胞,用磁珠分选系统进行第一轮富集。各文库细胞重悬于含 1 nM HS-15 Biotin 的 1×PBSA 中孵育 30 分钟,洗涤后加入抗生物素磁珠(Anti biotin beads)混匀孵育 10 分钟,过磁力柱收集阳性细胞。阳性细胞经过再次培养、诱导后,各取 3.0×10⁷ 细胞,用 1 nM HS-15 Biotin 进行第二轮流式分选,收集展示水平高且与抗原结合力强的细胞群;参考第二轮选用 0.1 nM HS-15 Biotin 抗原孵育后,用 10 mL 1×PBSA 室温洗 2 小时,进行第三轮流式分选;分选后细胞涂布于 SD-Trp,Leu 固体培养基,30 °C 静置培养 3 天。挑取单克隆测序分析,获得轻、重链各个 CDR 区突变的单一序列。

将获得的轻、重链各个 CDR 区突变质粒与亲本质粒混合,共同转入酵母菌株,构建轻、重链突变的组合文库,编号 JYYDL062。文库经过培养、诱导后,取 2.0×10⁷ 细胞,用 0.1 nM HS-15 Biotin 进行流式分选,收集展示水平高且与抗原结合力强的细胞群;分选后取细胞涂板生长,挑取单克隆测序分析。

单克隆的鉴定

经测序分析,对获得的序列单一的单克隆进行流式染色鉴定,分别与 1 nM 的 HS-15 Biotin 孵育 30 分钟,用 1 mL 1×PBSA 室温洗 2 小时;经过流式分析后,比较不同克隆与抗原结合的荧光信号强度。根据染色结果,挑选与 HS-15 Biotin 的结合强度显著提高的克隆进一步评估,评估结果和序列情况如表 5A、5B、5C 和 5D 所示。

表 5A: 本申请 Siglec-15 结合蛋白亲和力成熟克隆染色评估与表达编号

蛋白编号	克隆编号	展示 MFI	结合 MFI	结合力 (展示 MFI/结合 MFI) *10000
------	------	--------	--------	-------------------------------

Ab0	无	2381	52.2	219
Ab2	YC32A6	3016	133	441
Ab3	YC33B2	2855	188	658
Ab5	YC33D1	2815	135	480
Ab6	YC33G4	2291	94.2	411
Ab7	YC33D5	2483	113	455
Ab9	YC29B3	4534	131	289
Ab13	YC45H4	2346	109	465
Ab15	YC44F5	2565	105	409

表 5B: 本申请 Siglec-15 结合蛋白序列编号 (SEQ ID NO)

蛋白编号	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3	VH	VL
Ab0	7	2	1	13	10	9	23	29
Ab2	8	2	1	13	10	9	24	29
Ab3	7	3	1	13	10	9	25	29
Ab5	7	4	1	13	10	9	26	29
Ab6	7	5	1	13	10	9	27	29
Ab7	7	6	1	13	10	9	28	29
Ab9	7	2	1	14	10	9	23	30
Ab13	7	3	1	13	11	9	25	31
Ab15	7	3	1	13	12	9	25	32

表 5C: 本申请 Siglec-15 结合蛋白序列编号 (SEQ ID NO)

蛋白编号	HFR1	HFR2	HFR3	HFR4	LFR1	LFR2	LFR3	LFR4
Ab0	15	16	17	18	19	20	21	22
Ab2	15	16	17	18	19	20	21	22
Ab3	15	16	17	18	19	20	21	22
Ab5	15	16	17	18	19	20	21	22
Ab6	15	16	17	18	19	20	21	22
Ab7	15	16	17	18	19	20	21	22
Ab9	15	16	17	18	19	20	21	22

Ab13	15	16	17	18	19	20	21	22
Ab15	15	16	17	18	19	20	21	22

表 5D: 本申请 Siglec-15 结合蛋白序列编号 (SEQ ID NO)

重链恒定区序列	39
轻链恒定区序列	40

Siglec-15 结合蛋白亲和力成熟抗体表达, 亲和力测定

将本申请 Siglec-15 结合蛋白通过本申请的上述 ExpiCHO 表达系统方法进行表达、纯化, 得到纯化的 Siglec-15 结合蛋白信息可以见表 6。

表 6: 本申请 Siglec-15 结合蛋白表达数据

蛋白编号	理论等电点	产量 (mg)	表达量 (mg/L)	体积 (mL)	浓度 (mg/mL)
Ab0	7.9	3.45	138	1.7	2.03
Ab2	7.9	5.76	230	2.0	2.88
Ab3	7.8	2.58	103	1.5	1.72
Ab5	7.9	2.39	95	1.5	1.59
Ab6	7.9	2.33	93	1.5	1.55
Ab7	7.9	2.06	82	1.5	1.37
Ab9	7.8	3.56	142	1.7	2.09
Ab13	7.8	4.16	166	2.0	2.08
Ab15	7.8	3.86	154	1.5	2.57

实施例 3 Siglec-15 结合蛋白的亲和力测定

采用 Octet RED96e (Fortebio) 测定本申请 Siglec-15 结合蛋白与人 Siglec-15 (Acro, 货号: SG5-H52H3) 的亲和力, 抗原及本申请 Siglec-15 结合蛋白均用 1xPBST (1xPBS: 生工, B548117-0500; 0.02%吐温 20: sigma-aldrich, P1379) 稀释, 抗原使用浓度为 30 nM, 本申请 Siglec-15 结合蛋白使用浓度为 33.3 nM。

样品上机检测 (Octet Data Acquisition 11.1.0.11)

首先, 将样品加入 96 孔板 (Greiner bio-one, 655209), 体系为 200 μ L/孔。然后设置软件参数, 板温设定为 30 $^{\circ}$ C, 收集标准动力学信号的频率为 5.0 Hz。接着, 用 1xPBST 预湿 AHC 传感器 (Fortebio, 货号: 18-0015) 10 分钟, 然后上机检测。每个循环包含以下步骤: 1) 浸

入缓冲液 60 s；2) 检测抗原是否与传感器有非特异性结合；3) 10 mM 的 pH1.7 的甘氨酸溶液再生；4) 浸入缓冲液 60 秒；5) 本申请 Siglec-15 结合蛋白固化在传感器上，时间为 20 秒；6) 传感器浸入缓冲液 180 秒；7) 抗原与本申请 Siglec-15 结合蛋白结合，时间 180 秒；8) 抗原本申请 Siglec-15 结合蛋白的解离，时间 10 分钟；9) 传感器再生。

数据分析

采用 Fortebio 的 Data Analysis 12.0 软件，对抗原-本申请 Siglec-15 结合蛋白以 1:1 的结合方式，测定结合速率常数 (kon) 和解离速率常数 (kdis)，以此计算本申请 Siglec-15 结合蛋白的平衡解离常数 (KD)。结果如下表 7A，7B 和 7C：

表 7A: Siglec-15 结合蛋白亲和力第一次测定

蛋白编号	响应值	K_D (M)	kon(1/Ms)	kdis(1/s)
Ab0	0.2435	1.09E-10	2.98E+05	3.24E-05

表 7B: Siglec-15 结合蛋白亲和力第二次测定

蛋白编号	响应值	K_D (M)	kon(1/Ms)	kdis(1/s)
Ab2	0.2615	1.554E-10	4.48E+05	6.96E-05
Ab3	0.288	4.44E-11	4.40E+05	1.95E-05
Ab5	0.2768	7.60E-12	3.38E+05	2.57E-06
Ab6	0.2851	8.434E-12	3.40E+05	2.87E-06
Ab7	0.2839	5.084E-12	2.82E+05	1.44E-06
Ab9	0.2592	8.735E-11	4.45E+05	3.88E-05
Ab13	0.3054	6.807E-11	5.56E+05	3.79E-05
Ab15	0.3612	7.298E-11	5.38E+05	3.93E-05

表 7C: Siglec-15 结合蛋白亲和力第三次测定

蛋白编号	响应值	K_D (M)	kon(1/Ms)	kdis(1/s)
Ab15	0.3426	9.161E-11	4.75E+05	4.35E-05
Ab9	0.315	6.914E-11	5.19E+05	3.59E-05

实施例 4 Siglec-15 结合蛋白的细胞结合活性测定

用流式鉴定纯化的本申请 Siglec-15 结合蛋白结合本申请的人 S15ECD-293T 细胞的功能。可以将通过本申请的方法制备的人 S15ECD-293T 细胞在 15 厘米细胞培养皿中扩大培养至 90%汇合度，吸尽培养基，用 PBS 缓冲液 (Thermo Fisher, 10010049) 洗涤 1 次，然后用无

酶细胞解离液（Versene solution, Thermo Fisher, 15040066）处理和收集细胞。用 PBS 缓冲液洗涤细胞 2 次并计数，取出所需数量的细胞，离心后将细胞用 FACS 缓冲液（含有 2% FBS 的 PBS）重悬至每毫升 2×10^6 个细胞，室温孵育 15 分钟后将细胞悬液按 50 μ L/孔加入到 U 型 96 孔板（Corning, 3798）中。用 FACS 缓冲液将本申请 Siglec-15 结合蛋白进行梯度稀释，将稀释液加入上述 96 孔板中，50 μ L/孔，4 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。离心弃上清，用 FACS 缓冲液洗涤细胞 1 次，每孔加入 100 μ L 荧光（Alexa 488）标记的二抗（Thermo Fisher, A-11013），4 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。用 FACS 缓冲液洗涤细胞 1 次，每孔加入 100 μ L 固定液（4%（v/v）多聚甲醛）重悬细胞，10 分钟后用 FACS 缓冲液洗涤细胞 2 次。用 30 μ L/孔 FACS 缓冲液重悬细胞后用流式细胞仪 intellycite plus（Sartorius）检测和分析结果。类似方法用于鉴定纯化的抗人 Siglec-15 结合蛋白结合鼠 S15-CT26，猴 S15ECD-293T 细胞的功能。

如图 2，图 3 和图 4 所示，本申请的 Siglec-15 结合蛋白可以与细胞表面的 Siglec-15 结合。图 2 显示的是本申请 Siglec-15 结合蛋白与细胞表面的人 Siglec-15 结合的检测结果。图 3 显示的是本申请 Siglec-15 结合蛋白与细胞表面的猴 Siglec-15 结合的检测结果。图 4 显示的是本申请 Siglec-15 结合蛋白与细胞表面的鼠 Siglec-15 结合的检测结果。本申请 Ab9、Ab15 和同型对照结合人 S15ECD-293T 细胞的 EC_{50} 值（nM）分别为 1.516，0.4750 和 NA（无可用数据）；本申请 Ab9、Ab15 和同型对照结合猴 S15ECD-293T 细胞的 EC_{50} 值（nM）分别为 0.9224，0.4746 和 NA（无可用数据）；本申请 Ab9、Ab15 和同型对照结合鼠 S15-CT26 细胞的 EC_{50} 值（nM）分别为 3.247，1.827 和 NA（无可用数据）。

实施例 5 Siglec-15 结合蛋白的理化性质评估

可以参照以下方法对本申请的 Siglec-15 结合蛋白进行理化性质的检测。

EC-HPLC 纯度分析

（1）将样品稀释至 1mg/mL，混匀，12000rpm 离心 5min，取上清转至样品瓶，放入 HPLC 样品盘。设置色谱条件：色谱柱可以为 TSK G3000SWxl；检测波长可以为 280nm；柱温可以为 25 $^{\circ}$ C；样品室温度可以为 5 $^{\circ}$ C；流速可以为 0.5mL/min；

（2）色谱柱采用流动相（200mM 磷酸盐缓冲液，pH6.8）平衡后，进样分析，用色谱软件进行数据分析，峰面积归一化法计算各个峰的峰面积百分比。

HIC-HPLC 分析

（1）将样品稀释至 1mg/ml，离心取上清待测。设置色谱条件：色谱柱可以为 MAbPacTM HIC-10；检测波长可以为 214nm；柱温可以为 30 $^{\circ}$ C；样品室温度可以为 5 $^{\circ}$ C；流速可以为 0.8mL/min；

(3) 用流动相 A (50mM 磷酸盐缓冲液/1M 硫酸铵, pH 7.0) 和流动相 B(50mM 磷酸盐缓冲液, pH 7.0)进行梯度洗脱, 记录主峰保留时间。

熔解温度 (T_m) 值分析

将供试品用样品缓冲液稀释至 1mg/mL, 然后按照蛋白热转移启动试剂盒(Protein Thermal Shift Starter Kit, ThermoFisher)说明书, 取供试品溶液 13 μ L 加入至 PCR 管内, 加入 5 μ L 缓冲液 (Protein Thermal shift Buffer), 加入 2 μ L 的 10 $\times$ 染色液, 使反应体积为 20 μ L, 混匀后, 12000rpm 离心 5 分钟以去除气泡。将检测样品置于 PCR 仪内, 进行样品分析, 记录样品的 T_m 值。

iCIEF 分析

取样品溶液加入到已经充分混匀的以下体系中: 1%的甲基纤维素 (MC) 70 μ L, 尿素 5M 80 μ L, 两性电解质 Pharmalyte pH 3-10 8 μ L, pI 标记 (pI marker) 5.5 和 9.5 各 2 μ L。补加适当体积超纯水至 200 μ L, 混匀。离心取上清进样分析。分析结束后, 将结果文件导入 ChromPerfect 软件进行图谱积分处理并计算各峰的等电点以及各峰百分比。本申请的 Siglec-15 结合蛋白纯度可以大于等于 98%, 熔解温度 T_m 可以在 86 度到 92 度, 可以具有良好的热稳定性, 可以进行后续开发。

实施例 6 本申请 Siglec-15 结合蛋白对人 PBMC 的 T 细胞增殖抑制作用

用 PBS 将 CD3 Monoclonal Antibody (OKT3) (Thermo Fisher, 货号: 16-0037-85) 稀释到 0.03 μ g/ml 包被细胞培养板 (Corning, 货号 3599), 100 μ L/孔, 4 $^{\circ}$ C 包被过夜。第二天使用培养基 (RPMI1640 + 10%FBS) 稀释本申请 Siglec-15 结合蛋白: 最高终浓度为 12 μ g/mL (配制浓度为 48 μ g/mL), 4 倍梯度稀释 (3 个浓度点+1 个 0 浓度); 随后用培养基配制人 Siglec-15 Fc 蛋白 (Sino Biological Inc., 货号: 13976-H02H), 蛋白的终浓度为 5 μ g/mL (配制浓度为 20 μ g/mL)。吸弃包被板中的包被液, 用 PBS 洗板 2 次后, 先加入 50 μ L 配制好的本申请的 Siglec-15 结合蛋白, 再加入 50 μ L 配制好的人 Siglec-15 Fc 蛋白。继而标记新鲜的人外周血淋巴细胞 (澳塞尔斯, 货号: PB004-C), 400xg 离心 10 min, 细胞沉淀用 PBS 重悬, 调整细胞密度至 1×10^7 个细胞/mL, 随后加入等体积的 2 μ M CFSE (Thermo Fisher, 货号: C34554), 加入的瞬间立即混匀, 37 度水浴 5 min 后, 10 倍体积 PBS +10% FBS 终止。然后 400xg 离心 10 min, PBS +10% FBS 洗 2 遍, 用培养基将细胞重悬至 2×10^6 个细胞/mL。随后将 CFSE 标记好的细胞加入培养板中, 每孔 100 μ L, 即每孔细胞数为 2×10^5 个细胞/孔; 将细胞培养板置于 37 $^{\circ}$ C、5%二氧化碳细胞培养箱培养。3 天后, 300xg, 离心 5 min, 用预冷的 PBS+2%FBS 洗一遍, 细胞沉淀用 100 μ L 的 PBS+2%FBS 重悬, 每孔细胞加入 2 μ L Fc 阻断试剂后置于 4 度

冰箱封闭 30min; 随后充分混匀将每孔细胞均分 2 份, 一份每孔细胞加入 5 μ l 的 APC 标记的鼠抗人 CD4 抗体 (APC Mouse Anti-Human CD4 抗体, BD, 货号: 555349), 另一份每孔细胞加入 5 μ l 的 APC 标记的鼠抗人 CD8 抗体 (APC Mouse Anti-Human CD8 抗体, BD, 货号: 555369), 于 4 度冰箱孵育 1 小时后, 用预冷的 PBS+2%FBS 洗 2 遍, 随后用 30 μ l PBS+2%FBS 重悬, iQue 流式细胞仪上机检测 (intellicyte plus, Sartorius)。流式结果用 Flow jo V10 进行分析, 数据用 GraphPad Prism 软件来进行处理。

图 5 显示的是本申请 Siglec-15 结合蛋白逆转 Siglec-15 蛋白对 CD4⁺T 细胞的增殖抑制作用的检测结果。图 6 显示的是本申请 Siglec-15 结合蛋白逆转 Siglec-15 蛋白对 CD8⁺T 细胞的增殖抑制作用的检测结果。如图 5 和图 6 所示, 本申请的 Siglec-15 结合蛋白可逆转 Siglec-15 蛋白对 CD4⁺和/或 CD8⁺T 细胞的增殖抑制作用。

实施例 7 本申请 Siglec-15 结合蛋白在小鼠肿瘤模型中的抑瘤活性的评估

体外扩增培养 CT-26.WT (购自 ATCC) 小鼠结肠癌细胞, 同时培养 BMDM (骨髓来源的巨噬细胞), BMDM 取自 BALB/c 小鼠 (购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 7-8 周龄, 雌性) 的股骨和胫骨的骨髓, 用 RPMI-1640 培养液加入 10%胎牛血清和 20ng/ml 巨噬细胞集落刺激因子 (M-CSF) 培养 7 天后收集, 和 CT-26.WT 细胞混合一起接种于 BALB/c 小鼠的皮下, 每只小鼠 CT-26.WT 和 BMDM 的接种量均为 1×10^5 。接种后 12 天, 待小鼠平均肿瘤体积达到 100mm³, 根据小鼠肿瘤体积和体重进行随机分组, 每组 8 只小鼠, 当天进行给药, G1 给药同型对照 IgG, G2 给药本申请 Ab9, G3 给药 Ab15, 每组小鼠的给药剂量均为 10mg/kg, 腹腔注射, 一周两次给药。

如图 7 所示, 分组后第 11 天, G1 组的平均肿瘤体积为 $2170 \pm 269 \text{mm}^3$; G2 组的平均肿瘤体积为 $1677 \pm 191 \text{mm}^3$, 抑瘤率为 23%; G3 组的平均肿瘤体积为 $1540 \pm 437 \text{mm}^3$, 抑瘤率为 29%。表明本申请的 Siglec-15 结合蛋白具有抑制肿瘤生长的作用。

实施例 8 本申请 Siglec-15 结合蛋白对 LPS 诱导的细胞因子分泌的增强作用

BALB/c 小鼠 (购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 7-8 周龄, 雄性) 根据体重随机分组, 每组 6 只小鼠。G1 组给药同型对照 IgG, G2 给药本申请 Ab9, G3 给药 Ab15, 每组小鼠的给药剂量均为 10mg/kg, 腹腔注射, 记为 0 小时, 给药后两小时腹腔注射生理盐水溶解的脂多糖 LPS, 剂量为 200 μ g/kg。接受 LPS 造模后 2 小时, 所有组动物经 2 - 5%浓度的异氟烷吸入麻醉后, 通过眼眶收集 200 μ L 全血; LPS 造模后 6 小时, 所有组动物经 2 - 5%浓度的异氟烷吸入麻醉后, 通过眼眶收集大量的外周血, 室温放置 30 分钟-60 分钟后, 以

2000g, 10 分钟, 4°C 离心分离血清检测细胞因子 TNF- α 和 IL-6。所有实验动物使用过量二氧化碳安乐死。

图 8 显示的是在 LPS 注射 2 小时后, 本申请 Siglec-15 结合蛋白影响 TNF- α (TNF-alpha) 的分泌水平的检测结果。图 9 显示的是在 LPS 注射 6 小时后, 本申请 Siglec-15 结合蛋白影响 TNF- α (TNF-alpha) 的分泌水平的检测结果。图 10 显示的是在 LPS 注射 2 小时后, 本申请 Siglec-15 结合蛋白影响 IL-6 的分泌水平的检测结果。图 11 显示的是在 LPS 注射 6 小时后, 本申请 Siglec-15 结合蛋白影响 IL-6 的分泌水平的检测结果。如图 8, 图 9, 图 10 和图 11 所示, TNF- α (TNF-alpha) 在 LPS 注射两小时后, G2 组相对于同型对照组有明显增加, 在六小时后, 基本恢复到同一水平; IL-6 在 LPS 注射两小时后, 所有给药组相对于同型对照组均有显著性增加, 六小时后, 恢复到基线水平。表明本申请的 Siglec-15 结合蛋白在 LPS 诱导的急性炎症模型中能够促进炎症因子的释放。

前述详细说明是以解释和举例的方式提供的, 并非要限制所附权利要求的范围。目前本申请所列举的实施方式的多种变化对本领域普通技术人员来说是显而易见的, 且保留在所附的权利要求和其等同方案的范围内。

1. 一种分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR3，所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列。
2. 根据权利要求 1 所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR2，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列。
3. 根据权利要求 1-2 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR2，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5 或 SEQ ID NO: 6 所示的氨基酸序列。
4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR1，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列。
5. 根据权利要求 1-4 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR1，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 或 SEQ ID NO: 8 所示的氨基酸序列。
6. 根据权利要求 1-5 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 LCDR3，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列。
7. 根据权利要求 1-6 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 LCDR2，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列。
8. 根据权利要求 1-7 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 LCDR2，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11 或 SEQ ID NO: 12 所示的氨基酸序列。
9. 根据权利要求 1-8 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 LCDR1，所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列。
10. 根据权利要求 1-9 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 LCDR1，所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。
11. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 H-FR1，所述 H-FR1 的 C 末端与所述 HCDR1 的 N 末端直接或间接相连，且所述 H-FR1 包含 SEQ ID NO: 15 所示的氨基酸序列。
12. 根据权利要求 1-11 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 H-FR2，所述 H-FR2 位于所述 HCDR1 与所述 HCDR2 之间，且所述 H-FR2 包含 SEQ ID NO: 16 所示的氨基酸序列。
13. 根据权利要求 1-12 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 H-FR3，所述 H-FR3 位于所述 HCDR2 与所述 HCDR3 之间，且所述 H-FR3 包含 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列。

14. 根据权利要求 1-13 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 H-FR4，所述 H-FR4 的 N 末端与所述 HCDR3 的 C 末端直接或间接相连，且所述 H-FR4 包含 SEQ ID NO: 18 所示的氨基酸序列。
15. 根据权利要求 1-14 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 L-FR1，所述 L-FR1 的 C 末端与所述 LCDR1 的 N 末端直接或间接相连，且所述 L-FR1 包含 SEQ ID NO: 19 所示的氨基酸序列。
16. 根据权利要求 1-15 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 L-FR2，所述 L-FR2 位于所述 LCDR1 与所述 LCDR2 之间，且所述 L-FR2 包含 SEQ ID NO: 20 所示的氨基酸序列。
17. 根据权利要求 1-16 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 L-FR3，所述 L-FR3 位于所述 LCDR2 与所述 LCDR3 之间，且所述 L-FR3 包含 SEQ ID NO: 21 所示的氨基酸序列。
18. 根据权利要求 1-17 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 L-FR4，所述 L-FR4 的 N 末端与所述 LCDR3 的 C 末端直接或间接相连，且所述 L-FR4 包含 SEQ ID NO: 22 所示的氨基酸序列。
19. 根据权利要求 1-18 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR3、HCDR2 和 HCDR1，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列，且所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列。
20. 根据权利要求 1-19 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR3、HCDR2 和 HCDR1，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5 或 SEQ ID NO: 6 所示的氨基酸序列，且所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 或 SEQ ID NO: 8 所示的氨基酸序列。
21. 根据权利要求 1-20 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 LCDR3、LCDR2 和 LCDR1，其中所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列。
22. 根据权利要求 1-21 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 LCDR3、LCDR2 和 LCDR1，其中所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11 或 SEQ ID NO: 12 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。
23. 根据权利要求 1-22 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR3、HCDR2、HCDR1、

LCDR3、LCDR2 和 LCDR1，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列。

24. 根据权利要求 1-23 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR3、HCDR2、HCDR1、LCDR3、LCDR2 和 LCDR1，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5 或 SEQ ID NO: 6 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 或 SEQ ID NO: 8 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11 或 SEQ ID NO: 12 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。
25. 根据权利要求 1-24 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR3、HCDR2、HCDR1、LCDR3、LCDR2 和 LCDR1，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。
26. 根据权利要求 1-24 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR3、HCDR2、HCDR1、LCDR3、LCDR2 和 LCDR1，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 8 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。
27. 根据权利要求 1-24 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 HCDR3、HCDR2、HCDR1、LCDR3、LCDR2 和 LCDR1，其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 3 所示的氨基酸序列，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。

28. 根据权利要求1-24中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含HCDR3、HCDR2、HCDR1、LCDR3、LCDR2和LCDR1,其中所述HCDR3包含SEQ ID NO: 1所示的氨基酸序列,所述HCDR2包含SEQ ID NO: 4所示的氨基酸序列,所述HCDR1包含SEQ ID NO: 7所示的氨基酸序列,所述LCDR3包含SEQ ID NO: 9所示的氨基酸序列,所述LCDR2包含SEQ ID NO: 10所示的氨基酸序列,且所述LCDR1包含SEQ ID NO: 13所示的氨基酸序列。
29. 根据权利要求1-24中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含HCDR3、HCDR2、HCDR1、LCDR3、LCDR2和LCDR1,其中所述HCDR3包含SEQ ID NO: 1所示的氨基酸序列,所述HCDR2包含SEQ ID NO: 5所示的氨基酸序列,所述HCDR1包含SEQ ID NO: 7所示的氨基酸序列,所述LCDR3包含SEQ ID NO: 9所示的氨基酸序列,所述LCDR2包含SEQ ID NO: 10所示的氨基酸序列,且所述LCDR1包含SEQ ID NO: 13所示的氨基酸序列。
30. 根据权利要求1-24中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含HCDR3、HCDR2、HCDR1、LCDR3、LCDR2和LCDR1,其中所述HCDR3包含SEQ ID NO: 1所示的氨基酸序列,所述HCDR2包含SEQ ID NO: 6所示的氨基酸序列,所述HCDR1包含SEQ ID NO: 7所示的氨基酸序列,所述LCDR3包含SEQ ID NO: 9所示的氨基酸序列,所述LCDR2包含SEQ ID NO: 10所示的氨基酸序列,且所述LCDR1包含SEQ ID NO: 13所示的氨基酸序列。
31. 根据权利要求1-24中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含HCDR3、HCDR2、HCDR1、LCDR3、LCDR2和LCDR1,其中所述HCDR3包含SEQ ID NO: 1所示的氨基酸序列,所述HCDR2包含SEQ ID NO: 2所示的氨基酸序列,所述HCDR1包含SEQ ID NO: 7所示的氨基酸序列,所述LCDR3包含SEQ ID NO: 9所示的氨基酸序列,所述LCDR2包含SEQ ID NO: 10所示的氨基酸序列,且所述LCDR1包含SEQ ID NO: 14所示的氨基酸序列。
32. 根据权利要求1-24中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含HCDR3、HCDR2、HCDR1、LCDR3、LCDR2和LCDR1,其中所述HCDR3包含SEQ ID NO: 1所示的氨基酸序列,所述HCDR2包含SEQ ID NO: 3所示的氨基酸序列,所述HCDR1包含SEQ ID NO: 7所示的氨基酸序列,所述LCDR3包含SEQ ID NO: 9所示的氨基酸序列,所述LCDR2包含SEQ ID NO: 11所示的氨基酸序列,且所述LCDR1包含SEQ ID NO: 13所示的氨基酸序列。

33. 根据权利要求 1-24 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含 HCDR3、HCDR2、HCDR1、LCDR3、LCDR2 和 LCDR1,其中所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列,所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 3 所示的氨基酸序列,所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列,所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列,所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 12 所示的氨基酸序列,且所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 所示的氨基酸序列。
34. 根据权利要求 1-33 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含重链可变区 (VH),所述 VH 包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列。
35. 根据权利要求 1-34 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含 VH,所述 VH 包含 SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27 或 SEQ ID NO: 28 所示的氨基酸序列。
36. 根据权利要求 1-35 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含轻链可变区 (VL),所述 VL 包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列。
37. 根据权利要求 1-36 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含 VL,所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31 或 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。
38. 根据权利要求 1-37 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含 VH 和 VL,其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列,且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列。
39. 根据权利要求 1-38 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含 VH 和 VL,其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27 或 SEQ ID NO: 28 所示的氨基酸序列,且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31 或 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。
40. 根据权利要求 1-39 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含 VH 和 VL,其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列,且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。
41. 根据权利要求 1-39 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含 VH 和 VL,其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列,且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。
42. 根据权利要求 1-39 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含 VH 和 VL,其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列,且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。

酸序列。

43. 根据权利要求 1-39 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 26 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。
44. 根据权利要求 1-39 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 27 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。
45. 根据权利要求 1-39 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 28 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列。
46. 根据权利要求 1-39 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 30 所示的氨基酸序列。
47. 根据权利要求 1-39 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 31 所示的氨基酸序列。
48. 根据权利要求 1-39 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含 VH 和 VL，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列，且所述 VL 包含 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。
49. 根据权利要求 1-48 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含抗体重链恒定区。
50. 根据权利要求 49 所述的分离的抗原结合蛋白，其中所述抗体重链恒定区包含源自人抗体的重链恒定区。
51. 根据权利要求 49-50 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其中所述抗体重链恒定区包含源自 IgG 的重链恒定区。
52. 根据权利要求 49-51 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其中所述抗体重链恒定区包含源自 IgG1 的重链恒定区。
53. 根据权利要求 1-52 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包含抗体轻链恒定区。
54. 根据权利要求 53 所述的分离的抗原结合蛋白，其中所述抗体轻链恒定区包含源自人抗体的轻链恒定区。
55. 根据权利要求 53-54 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其中所述抗体轻链恒定区包含

源自人 Igk 的恒定区。

56. 根据权利要求 1-55 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其包含抗体或其抗原结合片段。
57. 根据权利要求 56 所述的分离的抗原结合蛋白,其中所述抗体包含单克隆抗体。
58. 根据权利要求 56-57 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其中所述抗体选自以下组中的一种或多种:鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人源抗体。
59. 根据权利要求 56-58 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其中所述抗原结合片段选自以下组中的一种或多种: Fab, Fab', Fv 片段, F(ab')₂, F(ab)₂, scFv, di-scFv, VHH 和 dAb。
60. 根据权利要求 1-59 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其能够特异性结合唾液酸结合免疫球蛋白凝集素 (Siglec) 或其功能活性片段。
61. 根据权利要求 60 所述的分离的抗原结合蛋白,所述 Siglec 包含 Siglec-15。
62. 根据权利要求 60-61 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,所述 Siglec 包含人 Siglec、猴 Siglec 和/或鼠 Siglec。
63. 根据权利要求 1-62 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其具有以约 1.56E-10 M 或更低的 K_D 值结合 Siglec-15 或其功能片段的能力。
64. 根据权利要求 1-63 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其具有以约 3.25 nM 或更低的 EC₅₀ 值结合 Siglec-15 或其功能片段的能力。
65. 根据权利要求 64 所述的分离的抗原结合蛋白,所述 Siglec-15 或其功能片段包含表达于细胞上的 Siglec-15 或其功能片段。
66. 根据权利要求 1-65 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,其具有影响免疫细胞增殖的能力。
67. 根据权利要求 66 所述的分离的抗原结合蛋白,所述影响免疫细胞增殖包含降低 Siglec-15 相关的免疫细胞增殖抑制。
68. 根据权利要求 66-67 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,所述免疫细胞包含源自人的免疫细胞。
69. 根据权利要求 66-68 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,所述免疫细胞包含淋巴细胞。
70. 根据权利要求 66-69 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,所述免疫细胞包含外周血淋巴细胞。
71. 根据权利要求 66-70 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,所述免疫细胞包含 T 细胞。
72. 根据权利要求 66-71 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白,所述免疫细胞包含 CD4⁺和/或 CD8⁺细胞。

73. 根据权利要求 1-72 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其具有肿瘤抑制能力。
74. 根据权利要求 73 所述的分离的抗原结合蛋白，所述肿瘤抑制能力包含影响所述肿瘤的体积。
75. 根据权利要求 73-74 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其具有以约 23%或更高肿瘤体积抑制率抑制肿瘤的能力。
76. 根据权利要求 1-75 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其具有影响细胞因子的分泌的能力。
77. 根据权利要求 76 所述的分离的抗原结合蛋白，所述分泌包含体内、离体和/或体外的分泌。
78. 根据权利要求 76-77 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，所述细胞因子的分泌包含脂多糖诱导的细胞因子的分泌。
79. 根据权利要求 76-78 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，所述细胞因子包含炎症因子。
80. 根据权利要求 76-79 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白，所述细胞因子包含 TNF- α 和/或 IL-6。
81. 多肽，其包含权利要求 1-80 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白。
82. 根据权利要求 81 所述的多肽，其包含融合蛋白。
83. 核酸分子，其编码权利要求 1-80 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白和/或权利要求 81-82 中任一项所述的多肽。
84. 载体，其包含权利要求 83 所述的核酸分子。
85. 免疫缀合物，其包含权利要求 1-80 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白和/或权利要求 81-82 中任一项所述的多肽。
86. 细胞，其包含和/或表达权利要求 1-80 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白、包含和/或表达权利要求 81-82 中任一项所述的多肽、包含权利要求 83 所述的核酸分子、包含权利要求 84 所述的载体和/或包含权利要求 85 所述的免疫缀合物。
87. 药物组合物，其包含权利要求 1-80 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白、权利要求 81-82 中任一项所述的多肽、权利要求 83 所述的核酸分子、权利要求 84 所述的载体、权利要求 85 所述的免疫缀合物和/或权利要求 86 所述的细胞，以及任选地药学上可接受的载剂。
88. 药物组合，其包含权利要求 1-80 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白、权利要求 81-82 中任一项所述的多肽、权利要求 83 所述的核酸分子、权利要求 84 所述的载体、权利要求 85 所述的免疫缀合物、权利要求 86 所述的细胞和/或权利要求 87 所述的药物组合物。
89. 试剂盒，其包含权利要求 1-80 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白、权利要求 81-82 中

任一项所述的多肽、权利要求 83 所述的核酸分子、权利要求 84 所述的载体、权利要求 85 所述的免疫缀合物、权利要求 86 所述的细胞、权利要求 87 所述的药物组合物和/或权利要求 88 所述的药物组合。

90. 根据权利要求 89 所述的试剂盒，其用于检测样品中 Siglec 的存在和/或含量。
91. 根据权利要求 90 所述的试剂盒，所述 Siglec 包含 Siglec-15。
92. 一种制备权利要求 1-80 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白和/或权利要求 81-82 中任一项所述的多肽的方法，包含在使得所述抗原结合蛋白和/或所述多肽表达的条件下，培养权利要求 86 所述的细胞。
93. 根据权利要求 92 所述的方法，包含在使得所述抗原结合蛋白表达的条件下，培养所述细胞。
94. 根据权利要求 92 所述的方法，包含在使得所述多肽表达的条件下，培养所述细胞。
95. 一种检测样品中 Siglec 的方法，包含施用权利要求 1-80 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白、施用权利要求 81-82 中任一项所述的多肽、施用权利要求 83 所述的核酸分子、施用权利要求 84 所述的载体、施用权利要求 85 所述的免疫缀合物、施用权利要求 86 所述的细胞、施用权利要求 87 所述的药物组合、施用权利要求 88 所述的药物组合、和/或使用权利要求 89-91 中任一项所述的试剂盒。
96. 根据权利要求 95 所述的方法，所述 Siglec 包含 Siglec-15。
97. 一种影响 Siglec 或其功能活性片段与其配体结合的方法，包含施用权利要求 1-80 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白、施用权利要求 81-82 中任一项所述的多肽、施用权利要求 83 所述的核酸分子、施用权利要求 84 所述的载体、施用权利要求 85 所述的免疫缀合物、施用权利要求 86 所述的细胞、施用权利要求 87 所述的药物组合、施用权利要求 88 所述的药物组合、和/或使用权利要求 89-91 中任一项所述的试剂盒。
98. 根据权利要求 97 所述的方法，所述方法包含体内、离体和/或体外方法。
99. 根据权利要求 97-98 中任一项所述的方法，所述 Siglec 或其功能活性片段包含 Siglec-15 或其功能活性片段。
100. 根据权利要求 97-99 中任一项所述的方法，所述 Siglec 的配体包含富含亮氨酸序列重复的蛋白 4C (Leucine-rich repeat-containing protein 4C) 和/或唾液酸化 Tn (sialyl-Tn)。
101. 一种影响免疫细胞增殖的方法，包含施用权利要求 1-80 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白、施用权利要求 81-82 中任一项所述的多肽、施用权利要求 83 所述的核酸分子、施用权利要求 84 所述的载体、施用权利要求 85 所述的免疫缀合物、施用权利要求 86 所述

的细胞、施用权利要求 87 所述的药物组合物、施用权利要求 88 所述的药物组合、和/或使用权利要求 89-91 中任一项所述的试剂盒。

102. 根据权利要求 101 所述的方法, 所述方法包含体内、离体和/或体外方法。
103. 根据权利要求 101-102 中任一项所述的方法, 所述影响免疫细胞增殖包含降低 Siglec-15 相关的免疫细胞增殖抑制。
104. 根据权利要求 101-103 中任一项所述的方法, 所述免疫细胞包含源自人的免疫细胞。
105. 根据权利要求 101-104 中任一项所述的方法, 所述免疫细胞包含淋巴细胞。
106. 根据权利要求 101-105 中任一项所述的方法, 所述免疫细胞包含外周血淋巴细胞。
107. 根据权利要求 101-106 中任一项所述的方法, 所述免疫细胞包含 T 细胞。
108. 根据权利要求 101-107 中任一项所述的方法, 所述免疫细胞包含 CD4⁺细胞和/或 CD8⁺细胞。
109. 一种影响细胞因子的分泌的方法, 包含施用权利要求 1-80 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白、施用权利要求 81-82 中任一项所述的多肽、施用权利要求 83 所述的核酸分子、施用权利要求 84 所述的载体、施用权利要求 85 所述的免疫缀合物、施用权利要求 86 所述的细胞、施用权利要求 87 所述的药物组合物、施用权利要求 88 所述的药物组合、和/或使用权利要求 89-91 中任一项所述的试剂盒。
110. 根据权利要求 109 中任一项所述的方法, 所述分泌包含体内、离体和/或体外的分泌。
111. 根据权利要求 109-110 中任一项所述的方法, 所述细胞因子的分泌包含脂多糖相关的细胞因子的分泌。
112. 根据权利要求 109-111 中任一项所述的方法, 所述细胞因子包含炎症因子。
113. 根据权利要求 109-112 中任一项所述的方法, 所述细胞因子包含 TNF- α 和/或 IL-6。
114. 权利要求 1-80 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白、权利要求 81-82 中任一项所述的多肽、权利要求 83 所述的核酸分子、权利要求 84 所述的载体、权利要求 85 所述的免疫缀合物、权利要求 86 所述的细胞、权利要求 87 所述的药物组合物和/或权利要求 88 所述的药物组合在制备试剂盒中的用途。
115. 根据权利要求 114 所述的用途, 其中所述试剂盒用于检测样品中 Siglec 的存在和/或含量。
116. 根据权利要求 115 所述的用途, 所述 Siglec 包含 Siglec-15。
117. 权利要求 1-80 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白、权利要求 81-82 中任一项所述的多肽、权利要求 83 所述的核酸分子、权利要求 84 所述的载体、权利要求 85 所述的免疫缀合物、权利要求 86 所述的细胞、权利要求 87 所述的药物组合物、权利要求 88 所述的药

物组合和/或权利要求 89-91 中任一项所述的试剂盒在制备药物中的用途，所述药物用于预防和/或治疗疾病和/或病症。

118. 根据权利要求 117 所述的用途，其中所述疾病和/或病症包含肿瘤。
119. 根据权利要求 117-118 中任一项所述的用途，其中所述肿瘤包含 Siglec 相关的肿瘤。
120. 根据权利要求 119 所述的用途，所述 Siglec 包含 Siglec-15。
121. 根据权利要求 117-120 中任一项所述的用途，其中所述疾病和/或病症包含实体瘤。
122. 根据权利要求 117-121 中任一项所述的用途，其中所述疾病和/或病症包含结肠癌。