

截短的 TACI 多肽及其融合蛋白和用途

本申请要求申请日为 2021 年 03 月 31 日的中国专利申请 202110348497.6 的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文。

5

技术领域

本披露属于生物技术领域，更具体地，本披露涉及一种新型 TACI 多肽及其融合蛋白及其应用。

10 背景技术

这里的陈述仅是提供与本披露有关的背景信息，而不必然地构成现有技术。

系统性红斑狼疮（systemic lupus erythematosus, SLE）是一种影响多种器官的自身免疫性疾病。SLE 的发生和发展过程中有多种细胞参与其中（Tsokos, G.C., et al., Nat Rev Rheumatol, 2016. 12: p. 716-730; Larosa, M., et al., Expert Rev Clin Immunol, 2016. 12: p. 1309-1320）。中性粒细胞释放网状的胞外陷阱，捕获抗菌蛋白，在干扰素的共同作用下刺激树突细胞分泌大量的 I 型干扰素。干扰素进一步激活骨髓树突细胞产生多种细胞因子，分别激活 T 细胞和 B 细胞。IL-12 和 IL-23 是已知的两种可以激活 T 细胞分化的细胞因子。IL-12/IL-23 可以刺激 T 细胞分泌 IL-17 和 IL-21。IL-17 与巨噬细胞分泌的 TNF、IL-6 等细胞因子共同作用，募集炎症细胞并导致组织损伤。而 IL-21 可以共刺激 B 细胞参与调节 B 细胞的增殖。BAFF 是 B 细胞的激活因子，BAFF 通过与 B 细胞表面的受体作用刺激 B 细胞成熟和存活，在多种细胞因子的共同作用下 B 细胞最终分化为浆细胞并分泌自身抗体。自身抗体在各种组织和器官周围聚集，导致组织器官的损伤（Murphy, G. and D.A. Isenberg, Nat Rev Rheumatol, 2019. 15: p. 403-412; Lam, N.C., M.V. Ghetu, and M.L. Bieniek, Am Fam Physician, 2016. 94: p. 284-294）。

IL-12 和 IL-23 是属于同一个家族的两种细胞因子。IL-12 和 IL-23 都是由两个亚基组成的异源二聚体蛋白（Moschen, A.R., H. Tilg, and T. Raine, Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019. 16: p. 185-196; Frieder, J., et al., Clin Pharmacol Ther, 2018. 103: p. 88-101）。IL-12 是由 p35 和 p40 两个亚基组成，而 IL-23 是由 p19 和 p40 两个亚基组成。p40 是它们所共有的一个亚基，因此靶向 p40 的抗体能同时抑制 IL-12 和 IL-23 两条信号通路。IL-12 与受体作用主要激活 Th1 细胞的分化，同时参与刺激多种免疫细胞分泌干扰素 γ 和 TNF。IL-23 与受体作用主要激活 Th17 细胞的分化，并刺激多种细胞分泌 IL-17、IL-22 和 TNF 等细胞因子（Lee, E.B., et al., Cutis, 2018. 101: p. 5-9; Floss, D.M., et al., Cytokine Growth Factor Rev, 2015. 26: p. 569-578）。IL-12/IL-23 信号通路激活所产生的这些细胞因子进一步通过各自的途径参与 SLE 疾病的发展。

TACI 是一种膜结合受体，它具有包含二个富含半胱氨酸的假性重复片断（cysteine-rich pseudo-repeats）的胞外区、一个跨膜区和与 CAML（钙调节剂和亲环蛋白配体）相互作用的胞质区。TACI 与 B 细胞和 T 细胞的一种亚型相关。TACI 受体与肿瘤坏死因子配体家族的 BAFF 相结合。BAFF 是属于 TNF 家族的一种 B 细胞激活因子。BAFF 主要在骨髓细胞膜表面表达，以三聚体的形式存在。在细胞膜表面的 BAFF 会被蛋白酶水解形成可溶性的 BAFF 进入血液循环系统。可溶性的 BAFF 具有多聚化的特征，最多可以形成 60 聚体。另外 BAFF 也可以跟同家族的另外一个蛋白 APRIL 作用形成异源的三聚体。目前已知在 B 细胞表面有三个 BAFF 的受体，分别为 BAFF-R、BCMA 和 TACI。BAFF 与这三个受体作用，参与 B 细胞的分化成熟、存活和调节。APRIL 与 BAFF 有两个共同的受体，分别为 BCMA 和 TACI，APRIL 与这两个受体作用参与 B 细胞的存活和调节（Samy, E., et al., Int Rev Immunol, 2017. 36: p. 3-19; Kamal, A. and M. Khamashta, Autoimmun Rev, 2014. 13: p. 1094-1101）。BAFF 对维持 B 细胞的体内平衡非常重要，BAFF 信号通路的过度激活会导致自反应 B 细胞的存活并产生自身抗体促进自身免疫反应（Cancro, M.P., D.P. D'Cruz, and M.A. Khamashta, J Clin Invest, 2009. 119: p. 1066-73）。

发明内容

由于 TACI 的序列上存在多个蛋白酶切位点，导致全长的 TACI 表达后非常容易发生断裂。为了解决 TACI 断裂的问题，本披露设计了一种新的 TACI 序列片段，并对部分位点氨基酸残基进行替换，构建新的 TACI 多肽及其融合蛋白。

本披露提供一种 TACI 多肽，其序列如 SEQ ID NO: 8 所示或是 SEQ ID NO: 8 的截短片段或其变体；其中，所述截短片段包含 SEQ ID NO: 8 的第 51 位至第 85 位氨基酸残基，所述变体为在 SEQ ID NO: 8 或其截短片段上具有选自第 52、53、57、65、82 和 83 位中的一个或多个氨基酸替换，所述氨基酸替换的位点为相对于序列 SEQ ID NO: 8 的自然顺序编号的氨基酸残基位点。

一方面，本披露提供一种 TACI 多肽，其序列如 SEQ ID NO: 8 所示或是 SEQ ID NO: 8 的截短片段或其变体；其中所述截短片段包含 SEQ ID NO: 8 的第 48 位至第 85 位氨基酸残基，所述变体为在 SEQ ID NO: 8 或其截短片段上具有选自第 49、52、53、57、65、82 和 83 位中的一个或多个氨基酸替换，其中所述氨基酸替换的位点为相对于序列 SEQ ID NO: 8 的自然顺序编号的氨基酸残基位点。

在一些实施方案中，其中前述的 TACI 多肽，其中所述 TACI 多肽的截短片段包含：SEQ ID NO: 8 的第 48 位至第 86 位氨基酸残基；SEQ ID NO: 8 的第 48 位至第 87 位氨基酸残基；或 SEQ ID NO: 8 的第 48 位至第 88 位氨基酸残基。

在一些实施方案中，所述 TACI 多肽的截短片段包含：SEQ ID NO: 8 的第 50 位至第 85 位氨基酸残基；或 SEQ ID NO: 8 的第 49 位至第 85 位氨基酸残基。

在一些实施方案中，前述 TACI 多肽序列如 SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14 或 SEQ ID NO: 15 所示。

5 在一些实施方案中，所述 TACI 多肽，其序列为 SEQ ID NO: 8 或者 SEQ ID NO: 8 的截短片段（例如 SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14 或 SEQ ID NO: 15）的变体，所述变体为在 SEQ ID NO: 8 或其截短片段序列上具有选自第 49、52、53、57、65、82 和 83 位中的任意 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个或 7 个氨基酸的替换，所述氨基酸替换的位点为相对于序列 SEQ ID NO: 8 的自然顺序编号的氨基酸残基位点。

10 在一些实施方案中，前述的 TACI 多肽，其中所述 TACI 多肽变体为在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14 或 SEQ ID NO: 15 序列上具有选自由 49T 或 49R、52S、53E 或 53Q、57E、65T 或 65A、82A 或 82R、和 83Y 组成的组中的一个或多个氨基酸替换（例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个或 7 个氨基酸的替换），其中所述氨基酸替换的位点为相对于序列 SEQ ID NO: 8 的自然顺序编号的氨基酸残基位点。

15 在一些实施方案中，所述 TACI 多肽变体为在 SEQ ID NO: 68 序列上具有选自由 49T 或 49R、52S、53E 或 53Q、57E、65T 或 65A、82A 或 82R、和 83Y 组成的组中的一个或多个氨基酸替换（例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个或 7 个氨基酸的替换），其中所述氨基酸替换的位点为相对于序列 SEQ ID NO: 8 的自然顺序编号的氨基酸残基位点。

20 在一些实施方案中，所述 TACI 多肽变体为在 SEQ ID NO: 69 或 SEQ ID NO: 70 序列上具有选自由 52S、53E 或 53Q、57E、65T 或 65A、82A 或 82R、和 83Y 组成的组中的一个或多个氨基酸替换（例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个或 6 个氨基酸的替换），其中所述氨基酸替换的位点为相对于序列 SEQ ID NO: 8 的自然顺序编号的氨基酸残基位点。在一些实施方案中，前述 TACI 多肽变体选自：

25 在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14 或 SEQ ID NO: 15 序列上具有选自 49T、52S、53E、53Q、57E 和 82A 中的任一个氨基酸替换；

在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14 或 SEQ ID NO: 15 序列上具有 49R 和 65T 氨基酸替换；

30 在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14 或 SEQ ID NO: 15 序列上具有 49R 和 65A 氨基酸替换；

在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14 或 SEQ ID NO: 15 序列上具有 49R、65T 和 82R 氨基酸替换；

35 在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14 或 SEQ ID NO: 15 序列上具有 53E 和 57E 氨基酸替换；

在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14 或 SEQ

- ID NO: 15 序列上具有 52S、53E 和 57E 氨基酸替换；
在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14 或 SEQ ID NO: 15 序列上具有 49T 和 82A 氨基酸替换；
在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14 或 SEQ ID NO: 15 序列上具有 49T 和 83Y 氨基酸替换；
在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14 或 SEQ ID NO: 15 序列上具有 49T、82A 和 83Y 氨基酸替换；或者
在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14 或 SEQ ID NO: 15 序列上具有 49T、53E、57E 和 82A 氨基酸替换；
其中，前述氨基酸替换的位点为相对于序列 SEQ ID NO: 8 的自然顺序编号的氨基酸残基位点。
在一些实施方案中，前述 TACI 多肽变体选自：
在 SEQ ID NO: 68 序列上具有选自 49T、52S、53E、53Q、57E 和 82A 中的任一个氨基酸替换；
在 SEQ ID NO: 69 或 SEQ ID NO: 70 序列上具有选自 52S、53E、53Q、57E 和 82A 中的任一个氨基酸替换；
在 SEQ ID NO: 68 序列上具有 49R 和 65T 氨基酸替换；
在 SEQ ID NO: 68 序列上具有 49R 和 65A 氨基酸替换；
在 SEQ ID NO: 68 序列上具有 49R、65T 和 82R 氨基酸替换；
在 SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 69 或 SEQ ID NO: 70 序列上具有 53E 和 57E 氨基酸替换；
在 SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 69 或 SEQ ID NO: 70 序列上具有 52S、53E 和 57E 氨基酸替换；
在 SEQ ID NO: 68 序列上具有 49T 和 82A 氨基酸替换；
在 SEQ ID NO: 68 序列上具有 49T 和 83Y 氨基酸替换；
在 SEQ ID NO: 68 序列上具有 49T、82A 和 83Y 氨基酸替换；或者
在 SEQ ID NO: 68 序列上具有 49T、53E、57E 和 82A 氨基酸替换，
其中前述氨基酸替换的位点为相对于序列 SEQ ID NO: 8 的自然顺序编号的氨基酸残基位点。
在一些实施方案中，前述的 TACI 多肽，其中所述多肽的序列如 SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13-15、SEQ ID NO: 18-35 中的任一所示。在一些实施方案中，前述的 TACI 多肽，其中所述多肽的序列如 SEQ ID NO: 68-70 中的任一所示。
在一些实施方案中，前述 TACI 多肽序列如 SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 34 或 SEQ ID NO: 35 所示。
在一些实施方案中，本披露提供一种 TACI 融合蛋白，其包含前面任一项所述的 TACI 多肽。

在一些实施方案中，本披露提供一种 TACI 融合蛋白，其包含前面任一项所述的 TACI 多肽（例如 SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 34 或 SEQ ID NO: 35），还包括免疫球蛋白恒定区。

在一些实施方案中，前述 TACI 融合蛋白，其包含：任一项前述的 TACI 多肽；
5 和 Fc 区。在一些实施方案中，Fc 区包含第一亚基与第二亚基，Fc 区的第一亚基与第二亚基可以相同也可以不同。

在一些实施方案中，前述的 TACI 融合蛋白，所述 Fc 区包含能够缔合的两个亚基。在一些实施方案中，所述两个亚基是相同或不同的第一亚基和第二亚基。在一些实施方案中，所述 Fc 区为 IgG 的 Fc 区；在一些实施方案中，所述 Fc 区为
10 人 IgG1 的 Fc 区。

在一些实施方案中，前述的 TACI 融合蛋白，前述 Fc 区相比野生型 Fc 区包含一个或多个氨基酸取代，所述的氨基酸取代能够减少其与 Fc 受体的结合；在一些实施方案中，前述的氨基酸取代能够减少其与 Fc γ 受体的结合；在一些实施方案中，所述 Fc 区具有 YTE 突变（M252Y、S254T 和 T256E）、L234A、L235A 和/
15 或 S228P 突变，所述突变位点编号依据为 EU 索引。

在一些实施方案中，前述的 TACI 融合蛋白，前述 Fc 区包含能够彼此缔合的第一亚基与第二亚基，所述第一亚基和第二亚基具有一个或多个减少同源二聚化的氨基酸取代。在一些实施方案中，所述第一亚基具有根据杵臼技术的凸起结构，所述第二亚基具有根据杵臼技术的孔结构，或者所述第一亚基具有根据杵臼技术的孔结构，所述第二亚基具有根据杵臼技术的凸起结构。在一些实施方案中，所述第一亚基的氨基酸残基取代包括选自 354、356、358、366、394、405 和 407 的位点中的一个或多个氨基酸取代，所述第二亚基的氨基酸残基包括选自 349、356、358、366、368、407、394 和 405 的位点中的一个或多个氨基酸取代。在一些实施方案中，所述第一亚基的氨基酸残基取代包括选自 354、356、358 和 366 的位点
20 中的一个或多个氨基酸取代，所述第二亚基的氨基酸残基包括选自 349、356、358、366、368 和 407 的位点中的一个或多个氨基酸取代。在一些实施方案中，所述第一亚基包括选自 354C、356E、358M 和 366W 中的一个或多个氨基酸取代，所述第二亚基包括选自 349C、356E、358M、366S、368A 和 407V 中的一个或多个氨基酸取代。在一些实施方案中，所述第一亚基包括 354C、356E、358M 和 366W 的氨基酸取代，所述第二亚基包括 349C、356E、358M、366S、368A 和 407V 的
30 氨基酸取代。

在一些实施方案中，前述的 TACI 融合蛋白，前述 Fc 区的序列如 SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62 或 SEQ ID NO: 63 所示，或与 SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62 或 SEQ ID NO: 63 具有至少 90%、95%、
35 96%、97%、98%或 99%序列同一性。在一些实施方案中，前述的 TACI 融合蛋白，前述 Fc 区的第一亚基和第二亚基相同，序列如 SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 61、

SEQ ID NO: 62 或 SEQ ID NO: 63 所示。

在一些实施方案中，如前一项所述的 TACI 融合蛋白，其中每个 TACI 融合蛋白分子包含 1、2、3 或 4 个 BAFF 结合域，以及 Fc 区。在一些实施方案中，所述的 TACI 融合蛋白，其中每个 TACI 融合蛋白分子包含 2 个 TACI 多肽和一个 Fc 区。在一些实施方案中，每个 TACI 融合蛋白分子包含 4 个 TACI 多肽和一个 Fc 区。

在一些实施方案中，如前一项所述的 TACI 融合蛋白，所述 TACI 多肽和 Fc 区的一个亚基是以任意的顺序连接的。在一些实施方案中，所述 TACI 多肽与 Fc 区的第一亚基或第二亚基通过连接子连接，或与 Fc 区的第一亚基或第二亚基直接连接。在一些实施方案中，所述 TACI 多肽的 C 端与 Fc 区的第一亚基或第二亚基的 N 端通过连接子或直接连接；或者所述 TACI 多肽的 N 端与 Fc 区的第一亚基或第二亚基的 C 端通过连接子或直接连接。

在一些实施方案中，前述的 TACI 融合蛋白，其为二聚体蛋白，所述 TACI 融合蛋白包含选自下列 a、b 或 c 所示多肽链：

- a. 多肽链从 N 端到 C 端依次为：[TACI 多肽]-[连接子]-[Fc 区的亚基]；
- b. 多肽链从 N 端到 C 端依次为：[Fc 区的亚基]-[连接子]-[TACI 多肽]；
- c. 多肽链从 N 端到 C 端依次为：[TACI 多肽 1]-[连接子 1]-[Fc 区的亚基]-[连接子 2]-[TACI 多肽 2]，其中连接子 1 和连接子 2 可以相同，也可以不相同，TACI 多肽 1 和 TACI 多肽 2 可以相同，也可以不同；所述 Fc 区的亚基是 Fc 区第一亚基或第二亚基。

在一些实施方案中，前述的 TACI 融合蛋白，所述连接子为 SEQ ID NO: 64 所示连接子，或所述连接子选自 $(G_xS)_y$ 连接子，其中，X 选自 1 至 5 的整数，Y 选自 0 至 6 的整数。当 Y 为 0 时，表示连接子为键，TACI 多肽和 Fc 区亚基通过键直接连接。在一些实施方案中，所述 $(G_xS)_y$ 连接子，其中，X 为 1 至 5 的整数（例如 X 为 4），Y 为选自 1 至 6 的整数（例如 1、2、3、4、5 或 6）。在一些实施方案中，所述连接子为如 SEQ ID NO: 65 或 SEQ ID NO: 66 所示连接子。

在一些实施方案中，前述 TACI 融合蛋白，其包含 2 条相同多肽链。在一些实施方案中，前述 TACI 融合蛋白包含 2 条相同的如 SEQ ID NO: 36-44 中任一条所示的多肽链，或包含与 SEQ ID NO: 36-44 中任一条序列具有至少 90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的序列同一性的氨基酸序列的多肽链。

在一些实施方案中，前述的 TACI 融合蛋白，其为 TACI 和抗体的融合蛋白（以下也作 TACI 抗体融合蛋白），其包括 TACI 多肽和抗体；其中，所述 TACI 多肽为前面任一项所述的 TACI 多肽，所述抗体为抗 IL23 抗体、抗 IL12 抗体或抗 IL23/IL12 的 P40 亚基抗体。

在一些实施方案中，前述的 TACI 抗体融合蛋白，其包括 TACI 多肽，和抗 IL23/IL12 的 P40 亚基抗体（p40 亚基 IL23 和 IL12 共有的亚基）。

在一些实施方案中，前述的 TACI 抗体融合蛋白，其包括前面任一项所述的 TACI 多肽，和抗体。在一些实施方案中，所述抗体为抗 IL23 抗体、抗 IL12 抗体或抗 IL23/IL12 的 P40 亚基抗体。

5 在一些实施方案中，前述的 TACI 抗体融合蛋白，所述抗体包含重链可变区和轻链可变区，其中所述重链可变区包含分别如 SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53 和 SEQ ID NO: 54 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，和所述轻链可变区包含分别如 SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50 和 SEQ ID NO: 51 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。所述 CDR 是根据 Kabat 编号规则定义的。

10 在一些实施方案中，前述的 TACI 抗体融合蛋白，其中所述抗体包含如 SEQ ID NO: 45 所示重链可变区，和如 SEQ ID NO: 46 所示轻链可变区。

在一些实施方案中，前述的 TACI 抗体融合蛋白，其中所述的抗体包含抗体重链恒定区和轻链恒定区。在一些实施方案中，所述重链恒定区选自人 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 恒定区，所述轻链恒定区选自人抗体 κ 或 λ 链恒定区。在一些实施方案中，所述的 TACI 抗体融合蛋白，所述抗体重链恒定区包含一个或多个氨基酸取代，所述的氨基酸取代能够减少其与 Fc 受体的结合。在一些实施方案中，前述的氨基酸取代能够减少其与 Fc γ 受体的结合。在一些实施方案中，所述 Fc 区具有 YTE 突变 (M252Y、S254T 和 T256E)、L234A、L235A 突变和/或 S228P 突变，所述突变编号依据为 EU 索引。在一些实施方案中，前述抗体重链恒定区包含能够彼此缔合的第一亚基与第二亚基，所述第一亚基和第二亚基具有一个或多个减少同源二聚化的氨基酸取代。在一些实施方案中，所述第一亚基具有根据杆臼技术的凸起结构，所述第二亚基具有根据杆臼技术的孔结构，或者所述第一亚基具有根据杆臼技术的孔结构，所述第二亚基具有根据杆臼技术的凸起结构。在一些实施方案中，所述第一亚基的氨基酸残基取代包括选自 354、356、358 和 366 的位点的一个或多个氨基酸取代，所述第二亚基的氨基酸残基包括选自 349、356、358、366、368 和 407 的位点的一个或多个氨基酸取代。在一些实施方案中，所述第一亚基包括选自 354C、356E、358M 和 366W 的一个或多个氨基酸取代，所述第二亚基包括选自 349C、356E、358M、366S、368A 和 407V 的一个或多个氨基酸取代。在一些实施方案中，所述第一亚基包括 354C、356E、358M 和 366W 的氨基酸取代，所述第二亚基包括 349C、356E、358M、366S、368A 和 407V 的氨基酸取代。

30 在一些实施方案中，前述的 TACI 抗体融合蛋白，所述抗体包含与 SEQ ID NO: 47 具有至少 85%序列同一性的重链，和与 SEQ ID NO: 48 具有至少 85%序列同一性的轻链；在一些实施方案中，所述抗体包含如 SEQ ID NO: 47 所示重链，和如 SEQ ID NO: 48 所示轻链。

35 在一些实施方案中，前述 TACI 抗体融合蛋白，所述 TACI 多肽直接或通过连接子与抗体重链或轻链连接。在一些实施方案中，所述 TACI 多肽 C 端通过连接子与抗体重链或轻链的 N 端连接；在一些实施方案中，所述 TACI 多肽 N 端通过连

接子与抗体重链或轻链的 C 端连接；在一些实施方案中，所述 TACI 多肽 C 端直接与抗体重链或轻链的 N 端连接；在一些实施方案中，所述 TACI 多肽 N 端直接与抗体重链或轻链的 C 端连接。

在一些实施方案中，前述 TACI 抗体融合蛋白，其中每个 TACI 抗体融合蛋白分子包含 1、2、3、4 或更多条 TACI 多肽。在一些实施方案中，所述的 TACI 抗体融合蛋白，其中每个 TACI 抗体融合蛋白分子包含 1 条 TACI 多肽。在一些实施方案中，所述的 TACI 抗体融合蛋白，其中每个 TACI 抗体融合蛋白分子包含 2 条 TACI 多肽。在一些实施方案中，所述的 TACI 抗体融合蛋白，其中每个 TACI 抗体融合蛋白分子包含 3 条 TACI 多肽。在一些实施方案中，所述的 TACI 抗体融合蛋白，其中每个 TACI 抗体融合蛋白分子包含 4 条 TACI 多肽。

在一些实施方案中，所述的 TACI 抗体融合蛋白，其中所述的 TACI 多肽，其中至少 1 条 TACI 多肽的 N 端与抗体重链的 C 端连接。在一些实施方案中，所述的 TACI 抗体融合蛋白，至少 1 条 TACI 多肽 N 端与抗体轻链的 C 端连接。在一些实施方案中，所述的 TACI 抗体融合蛋白，至少 1 条 TACI 多肽的 C 端与抗体重链的 N 端连接。在一些实施方案中，所述的 TACI 抗体融合蛋白，至少 1 条 TACI 多肽 C 端与抗体轻链的 N 端连接。

在一些实施方案中，前述的 TACI 抗体融合蛋白，其包括如下 d 或 e 所述的多肽链：

d. 第一多肽链，其从 N 端到 C 端依次为：[抗体重链]-[连接子]-[TACI 多肽]，
和

第二多肽链，其为抗体轻链；所述抗体重链和轻链形成抗原结合位点；

e. 第一多肽链，其从 N 端到 C 端依次为：[抗体重链]-[连接子]-[TACI 多肽]，
和

第二多肽链，其从 N 端到 C 端依次为：[TACI 多肽]-[连接子]-[抗体轻链]，其中连接子可存在或不存在；所述抗体重链和轻链形成抗原结合位点。

在一些实施方案中，前述 TACI 抗体融合蛋白，所述连接子可选自 (GxS)_y 连接子，其中，X 选自 1 至 5 的整数，Y 选自 0 至 6 的整数。当 Y 为 0 时，表示连接子为键，TACI 多肽和 Fc 区亚基通过键直接连接。在一些实施方案中，X 为 1 至 5 的整数（例如 X 为 4），Y 为选自 1 至 6 的整数（例如 1、2、3、4、5 或 6）。在一些实施方案中，所述连接子为如 SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66 或 SEQ ID NO: 67 所示连接子。在一些实施方案中，所述抗体为鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体或全人源抗体。

在一些实施方案中，前述的 TACI 抗体融合蛋白，其包含两条相同的如 SEQ ID NO: 55 所示的第一多肽链，和两条相同的如 SEQ ID NO: 56 所示的第二多肽链。在一些实施方案中，前述的 TACI 抗体融合蛋白，其包含两条相同的如 SEQ ID NO: 57 所示第一多肽链，和两条相同的如 SEQ ID NO: 58 所示第二多肽链。

在一些实施方案中，本披露提供一种药物组合物，其含有：前述的 TACI 多肽或 TACI 融合蛋白，以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

在一些实施方案中，本披露提供一种分离的核酸分子（多核苷酸），其编码前面任一项所述的 TACI 多肽或 TACI 融合蛋白。

- 5 在一些实施方案中，本披露提供一种表达载体，其包含前述的核酸分子（DNA 或 RNA）。

在一些实施方案中，本披露提供一种宿主细胞，其含前述的核酸分子。

在一些实施方案中，本披露提供一种宿主细胞，其含前述的表达载体。

本披露提供的宿主细胞，不能发育成动物或植物个体。

- 10 在一些实施方案中，本披露提供一种治疗或改善 B 细胞障碍或自身免疫性疾病的方法，所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的前面任一项所述的 TACI 多肽、TACI 融合蛋白或药物组合物的步骤。在一些实施方案中，所述 B 细胞障碍或自身免疫性疾病是与 TACI 表达相关的疾病或病症。在一些实施方案中，所述自身免疫性疾病选自：系统性红斑狼疮、重症肌无力、多发性硬化、胰岛素
15 依赖性糖尿病、克罗恩氏病、类风湿关节炎、多关节型青少年类风湿关节炎和银屑病性关节炎；所述 B 细胞障碍选自：肿瘤、慢性白细胞性白血病、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、移植后淋巴组织增生以及轻链丙球蛋白病。在一些实施方案中，所述自身免疫性疾病为系统性红斑狼疮。

- 在一些实施方案中，本披露提供前述任一项所述的 TACI 多肽、TACI 融合蛋白、核酸分子或药物组合物在制备治疗或预防疾病的药物中的用途。本披露还提供了前述任一项所述 TACI 多肽、TACI 融合蛋白、核酸分子、或药物组合物，其用于治疗或预防疾病。在一些实施方案中，所述疾病为 B 细胞障碍或自身免疫性疾病。在一些实施方案中，所述 B 细胞障碍或自身免疫性疾病是与 TACI 表达相关的疾病或病症。在一些实施方案中，所述自身免疫性疾病选自：系统性红斑狼疮、
20 重症肌无力、多发性硬化、胰岛素依赖性糖尿病、克罗恩氏病、类风湿关节炎、多关节型青少年类风湿关节炎和银屑病性关节炎；所述 B 细胞障碍选自：肿瘤、慢性白细胞性白血病、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、移植后淋巴组织增生以及轻链丙球蛋白病。在一些实施方案中，所述自身免疫性疾病为系统性红斑狼疮。

- 30 在另一个方面，本披露还提供用作药物的前述任一项所述的 TACI 多肽、TACI 融合蛋白、核酸分子或组合物。在一些实施方案中，药物用于治疗 B 细胞障碍或自身免疫性疾病。在一些实施方案中，所述 B 细胞障碍或自身免疫性疾病是与 TACI 表达相关的疾病或病症。在一些实施方案中，所述自身免疫性疾病选自：系统性红斑狼疮、重症肌无力、多发性硬化、胰岛素依赖性糖尿病、克罗恩氏病、类风湿关节炎、多关节型青少年类风湿关节炎和银屑病性关节炎；所述 B 细胞障碍选自：肿瘤、慢性白细胞性白血病、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、移植后淋巴
35

组织增生病以及轻链丙球蛋白病。在一些实施方案中，所述自身免疫性疾病为系统性红斑狼疮。

附图说明

- 5 图 1: TACI 融合蛋白结构示意图 (Fc 的 N 端二阶 TACI 融合蛋白，也即一种包含两条 TACI 多肽的融合蛋白，其中在 Fc 区第一亚基和第二亚基的 N 端分别连接一条 TACI 多肽)。
- 图 2: TACI 融合蛋白结构示意图 (Fc 四阶 TACI 融合蛋白，也即一种包含 4 条 TACI 多肽的融合蛋白，其中在 Fc 区第一亚基和第二亚基的 N 端和 C 端分别连接一条 TACI 多肽)。
- 10 图 3: TACI 融合蛋白结构示意图 (Fc 的 C 端二阶 TACI 融合蛋白，也即一种包含两条 TACI 多肽的融合蛋白，其中在 Fc 区第一亚基和第二亚基的 C 端分别连接一条 TACI 多肽)。
- 图 4: TACI 抗体融合蛋白结构示意图 (抗体重链 C 端二阶 TACI 融合蛋白，也即一种包含两条 TACI 多肽的融合蛋白，其中在两条重链的 C 端分别连接一条 TACI 多肽)。
- 15 图 5: TACI 抗体融合蛋白结构示意图 (抗体轻链 N 端、重链 C 端四阶 TACI 融合蛋白，也即一种包含 4 条 TACI 多肽的融合蛋白，其中在两条重链的 C 端分别连接一条 TACI 多肽，以及在两条轻链的 N 端分别连接一条 TACI 多肽)。
- 20 图 6: TACI 抗体融合蛋白阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合的实验结果。
- 图 7: TACI 抗体融合蛋白抑制 IFN γ 的分泌实验结果。
- 图 8: TACI 抗体融合蛋白抑制 IgA 的分泌实验结果。
- 图 9: TACI 抗体融合蛋白抑制 IL-22 的分泌实验结果。
- 图 10: TACI 抗体融合蛋白抑制 TNF α 的分泌实验结果。
- 25 图 11: TACI 抗体融合蛋白在 SLE 模型药效实验中的肾脏病理评分结果。
- 图 12: TACI 抗体融合蛋白在 SLE 模型药效实验中的尿蛋白检测结果。
- 图 13: TACI 抗体融合蛋白在 SLE 模型药效实验中的 dsDNA IgG 检测结果。

具体实施方式

30 术语

为了更容易理解本披露，以下对某些技术和科学术语进行了描述。除非在本文中另有明确定义，本文使用的全部技术和科学术语具有与本领域的普通技术人员通常所理解的相同含义。

说明书和权利要求书中所用的单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数指代，除非上下文清楚表明并非如此。

35 除非上下文另外清楚要求，否则在专利说明书和权利要求书中，应将词语“包

含”、“具有”、“包括”等理解为“包括但不限于”的意义，而不是排他性或穷举性意义。

术语“细胞因子”是由一个细胞群体释放的、作为细胞间介质作用于其它细胞的蛋白质的一般术语。这样的细胞因子的例子包括淋巴因子、单核因子、趋化因子和传统的多肽激素。示例性的细胞因子包括：IL-2、IFN- γ 、IL-6、TNF α 、IL-17和 IL-5。

本披露所述的 TACI 是一种膜结合受体，野生型人 TACI 包含两个富含半胱氨酸的假性重复片断(cysteine-rich pseudo-repeats)的胞外区、一个跨膜区和与 CAML（钙调节剂和亲环蛋白配体）相互作用的胞质区。野生型人 TACI 胞外区（第 1 至 165 位）参见本披露的 SEQ ID NO: 1。

本披露中的“TACI 胞外结构域”与“TACI 胞外区”可相互替换。

术语“和/或”，意指包含“和”与“或”两种含义。例如短语“A、B 和/或 C”旨在涵盖以下方面中的每一个：A、B 和 C；A、B 或 C；A 或 C；A 或 B；B 或 C；A 和 C；A 和 B；B 和 C；A（单独）；B（单独）；和 C（单独）。

本披露所用氨基酸三字母代码和单字母代码如 J.biol.chem, 243, p3558 (1968) 中所述。

术语“氨基酸”是指天然存在的和合成的氨基酸，以及以与天然存在的氨基酸类似的方式起作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的那些氨基酸，以及后来修饰的那些氨基酸，例如羟脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸和 O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物是指与天然存在的氨基酸具有相同基本化学结构（即与氢、羧基、氨基和 R 基团结合的 α 碳）的化合物，例如高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基硫。此类类似物具有修饰的 R 基团（例如，正亮氨酸）或修饰的肽骨架，但保留与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物是指具有与氨基酸的一般化学结构不同的结构，但是以与天然存在的氨基酸类似的方式起作用的化学化合物。

术语“氨基酸突变”包括氨基酸取代（也称氨基酸替换）、缺失、插入和修饰。可以进行取代、缺失、插入和修饰的任意组合来实现最终构建体，只要最终构建体拥有期望的特性，例如降低或对 Fc 受体的结合。氨基酸序列缺失和插入包括在多肽链的氨基端和/或羧基端的缺失和插入。具体的氨基酸突变可以是氨基酸取代。在一个实施方式中，氨基酸突变是非保守性的氨基酸取代，即将一个氨基酸用具有不同结构和/或化学特性的另一种氨基酸替换。氨基酸取代包括由非天然存在的氨基酸或由 20 种天然氨基酸的衍生物（例如 4-羟脯氨酸、3-甲基组氨酸、鸟氨酸、高丝氨酸、5-羟赖氨酸）替换。可以使用本领域中公知的遗传或化学方法生成氨基酸突变。遗传方法可以包括定点诱变、PCR，基因合成等。预期基因工程以外的改变氨基酸侧链基团的方法，如化学修饰也可能是可用的。本文中可使用各种表述来指示同一氨基酸突变。本文中，可采用位置+氨基酸残基的方式表示特定位点的

氨基酸残基，例如 366W，表示在 366 位点上的氨基酸残基为 W。T366W 则表示第 366 位点上的氨基酸残基由原来的 T 突变为 W。

术语“抗体”以最广义使用，并且涵盖各种抗体结构，包括但不限于单克隆抗体，多克隆抗体；单特异性抗体，多特异性抗体（例如双特异性抗体）；全长抗体和抗体片段（或抗原结合片段，或抗原结合部分），只要它们展现出期望的抗原结合活性。“天然抗体”指天然存在的免疫球蛋白分子。例如，天然 IgG 抗体是约 150,000 道尔顿的异四聚糖蛋白，由二硫键结合的两条相同轻链和两条相同重链构成。从 N 至 C 端，每条重链具有一个可变区（VH），又称作可变重域、重链可变区，接着是重链恒定区，天然 IgG 重链恒定区通常含三个恒定域（CH1、CH2 和 CH3）。类似地，从 N 至 C 端，每条轻链具有一个可变区（VL），又称作可变轻域，或轻链可变域，接着是一个恒定轻域（轻链恒定区、CL）。术语“全长抗体”、“完整抗体”和“全抗体”在本文可互换使用，指具有与天然抗体结构基本类似的结构或具有如本文所限定的 Fc 区的重链的抗体。天然完整抗体轻链包括轻链可变区 VL 及恒定区 CL，VL 处于轻链的氨基末端，轻链恒定区包括 κ 链及 λ 链；重链包括可变区 VH 及恒定区（CH1、CH2 及 CH3），VH 处于重链的氨基末端，恒定区处于羧基末端，其中 CH3 最接近多肽的羧基末端，重链可属于任何同种型，包括 IgG（包括 IgG1、IgG2、IgG3 及 IgG4 亚型）、IgA（包括 IgA1 及 IgA2 亚型）、IgM 及 IgE。

术语抗体“可变区”或“可变域”指抗体重链或轻链中参与抗体结合抗原的域。本文中，抗体重链可变区（VH）和轻链可变区（VL）各包含四个保守的框架区（FR）和三个互补决定区（CDR）。其中，术语“互补决定区”或“CDR”指可变结构域内主要促成与抗原结合的区域；“框架”或“FR”是指除 CDR 残基之外的可变结构域残基。VH 包含 3 个 CDR 区：HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；VL 包含 3 个 CDR 区：LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。每个 VH 和 VL 由从氨基末端（也称 N 末端）排到羧基末端（也称 C 末端）按以下顺序排列的三个 CDR 和四个 FR 构成：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

可以通过各种公知方案来确定 CDR 的氨基酸序列边界，例如：“Kabat”编号规则（参见 Kabat 等（1991），“Sequences of Proteins of Immunological Interest”，第 5 版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD）、“Chothia”编号规则、“ABM”编号规则、“contact”编号规则（参见 Martin, ACR. Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains[J]. 2001）和 ImMunoGenTics（IMGT）编号规则（Lefranc, M.P.等, Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77（2003）；Front Immunol. 2018 Oct 16;9:2278）等；各种编号系统之间的对应关系是本领域技术人员熟知的，示例性的，如下表 1 中所示。

35

表 1. CDR 编号系统之间的关系

CDR	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact
HCDR1	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
HCDR2	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58
HCDR3	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101
LCDR1	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36
LCDR2	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55
LCDR3	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96

除非另有说明，本披露中的可变区和 CDR 序列均适用“Kabat”编号规则。

术语“抗体片段”指不同于完整抗体的分子，其包含完整抗体的部分，所述部分
 5 与完整抗体所结合的抗原相结合。抗体片段的实例包括但不限于 Fv、Fab、Fab’、
 Fab’-SH、F(ab’)₂、单域抗体、单链 Fab (scFab)、双抗体、线性抗体、单链抗
 体分子（例如 scFv）；以及由抗体片段形成的多特异性抗体。

术语“Fc 区”或“片段可结晶区”用于定义抗体重链的 C 末端区域，包括天然 Fc
 区和改造的 Fc 区。在一些实施方式中，Fc 区包含了相同或不同的两个亚基。在一
 10 些实施方式中，人 IgG 重链的 Fc 区定义为从 Cys226 位置处的氨基酸残基或从
 Pro230 延伸至其羧基末端。用于本文所述抗体的合适 Fc 区包括人 IgG1、IgG2
 (IgG2A、IgG2B)、IgG3 和 IgG4 的 Fc 区。在一些实施方式中，Fc 区的边界还
 可以变化，例如缺失 Fc 区的 C 末端赖氨酸（根据 EU 编号系统的残基 447）或缺
 失 Fc 区的 C 末端甘氨酸和赖氨酸（根据 EU 编号系统的残基 446 和 447）。除非
 15 另有说明，Fc 区的编号规则为 EU 编号系统，又称作 EU 索引。

术语“嵌合抗体”指抗体中的重和/或轻链的一部分自特定的来源或物种衍生，
 而重和/或轻链的剩余部分自另外的不同来源或物种衍生的抗体。

术语“人源化抗体”是保留非人抗体的反应性同时在人中具有较低免疫原性的
 抗体。例如，可以通过保留非人 CDR 区并用其对应物（即，恒定区以及可变区
 20 的框架区部分）替换抗体的其余部分来实现。

术语“人抗体”、“人源抗体”、“全人抗体”、“完全人抗体”可以互换使用，意指
 可变区及恒定区是人序列的抗体。该术语涵盖源自人基因但具有，例如，降低可
 能的免疫原性、增加亲和力、消除可能会引起不期望的折叠的半胱氨酸、或糖基
 化位点等序列已发生改变的抗体。该术语涵盖在非人细胞（其可能会赋予不具人
 25 细胞特征的糖基化）中重组产生的抗体。该术语亦涵盖已在含有一些或所有人免
 疫球蛋白重链及轻链基因座的转基因小鼠中培养的抗体。人抗体的含义明确排除
 包含非人抗原结合残基的人源化抗体。

术语“亲和力”是指分子（例如，抗体）的单个结合部位与其结合配体（例如，
 抗原）之间非共价相互作用的总体的强度。除非另外指明，如本文所用，结合“亲
 30 和力”是指内部结合亲和力，其反映出结合对（例如，抗体与抗原）的成员之间 1:1

相互作用。分子 X 对其配体 Y 的亲合力通常可以由解离常数 (KD) 表示。亲合力可以通过本领域已知的常规方法 (包括本文所述的那些方法) 测量。

如本文所使用的, 术语“kassoc”或 “ka”指特定抗体-抗原相互作用的缔合速率, 术语“kdis”或“kd”指特定抗体-抗原相互作用的解离速率。术语“KD”指解离常数, 其获得自 kd 与 ka 的比率 (即 kd/ka) 并且表示为摩尔浓度 (M)。可以使用本领域公知的方法测定抗体的 KD 值。例如, 使用生物传感系统例如系统测量表面等离子体共振, 或通过溶液平衡滴定法 (SET) 测量溶液中的亲合力。

术语“效应子功能”指那些可归于抗体 Fc 区 (天然序列 Fc 区或氨基酸序列突变的 Fc 区) 且随抗体同种型而变化的生物学活性。抗体效应子功能的例子包括但不限于: C1q 结合和补体依赖性细胞毒性、Fc 受体结合、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC)、吞噬作用、细胞表面受体 (例如 B 细胞受体) 下调; 和 B 细胞活化。

术语“单克隆抗体”指基本上均质的抗体的群, 即在该群中包含的抗体分子的氨基酸序列是相同的, 除了可能少量存在的天然突变以外。相比之下, 多克隆抗体制剂通常包含在其可变结构域具有不同氨基酸序列的多种不同抗体, 其通常特异性针对不同表位。“单克隆”表示从基本上均质的抗体群体获得的抗体的特征, 并且不应解释为要求通过任何特定方法来生产抗体。在一些实施方式中, 本披露提供的抗体是单克隆抗体。

术语“抗原”是指能够由抗原结合蛋白 (包括例如抗体) 所选择性识别或结合的分子或分子部分。抗原可具有一个或多个能够与不同的抗原结合蛋白 (例如抗体) 相互作用的表位。

术语“表位”指能够与抗体或其抗原结合片段特异性结合的抗原上的区域 (area 或 region)。表位可以由连续氨基酸串 (线性表位) 形成; 或包含非连续氨基酸 (构象表位), 例如因抗原的折叠 (即通过抗原的三级折叠) 而使得非连续氨基酸在空间上互相接近。构象表位和线性表位的差别在于: 在变性溶剂的存在下, 抗体对构象表位的结合丧失。表位包含处于独特空间构象的至少 3, 至少 4, 至少 5, 至少 6, 至少 7, 或 8-10 个氨基酸。筛选结合特定表位的抗体 (即那些结合相同表位的) 可以使用本领域例行方法来进行, 例如但不限于丙氨酸扫描, 肽印迹, 肽切割分析, 表位切除, 表位提取, 抗原的化学修饰 (见 *Prot. Sci.* 9 (2000) 487-496), 和交叉阻断。

术语“能够特异性结合”、“特异性结合”或“结合”是指相比其他抗原或表位, 抗体能够以更高的亲合力结合至某个抗原或其表位。通常地, 抗体以约 $1 \times 10^{-7} \text{M}$ 或更小 (例如约 $1 \times 10^{-8} \text{M}$ 或更小) 的平衡解离常数 (KD) 结合抗原或其表位。在一些实施方式中, 抗体与抗原结合的 KD 为该抗体结合至非特异性抗原 (例如 BSA、酪蛋白) 的 KD 的 10% 或更低 (例如 1%)。可使用已知的方法来测量 KD, 例如通过 BIACORE® 表面等离子体共振测定法所测量的。然而, 特异性结合至抗原或

其表位的抗体可能对其它相关的抗原具有交叉反应性，例如，对来自其它物种（同源）（诸如人或猴，例如食蟹猕猴（*Macaca fascicularis*）（*cynomolgus*, cyno）、黑猩猩（*Pan troglodytes*）（*chimpanzee*, chimp））或狨猴（*Callithrix jacchus*）（*commonmarmoset*, *marmoset*）的相应抗原具有交叉反应性。

5 术语“抗 IL23/IL12 的 p40 亚基抗体”是指能够以足够的亲和力结合 IL23 和 IL12 的 p40 亚基的抗体。在一个实施例中，与无关的、非 IL23 和 IL12 蛋白的抗体的结合程度小于该抗体与 IL23 和 IL12 结合的约 10%，所述结合通过 BIACORE® 表面等离子体共振测定法测量。在某些实施例中，与 IL23 和 IL12 结合的抗体具有以下解离常数（KD）<约 1 μ M、<约 100 nM、<约 10 nM、<约 1 nM、<约 0.1 nM、<约 0.01 nM 或 <约 0.001 nM（例如 10^{-8} M 或更小、例如 10^{-8} M 至 10^{-12} M、例如 10^{-9} M 至 10^{-10} M）。在某些实施例中，抗 IL23/IL12 抗体结合来自不同物种的 IL23/IL12 中保守的抗原表位。

术语“连接子”、“Linker”或“接头”指连接两个多肽片段的连接单元，通常具有一定的柔性，接头的使用不会使蛋白质结构域原有的功能丧失。在本文中，同一结构中出现的连接子可以是相同或不同的。连接子可以是肽连接子，其包含一个或多个氨基酸，典型的约 1 至 30 个、2 至 24 个或 3 至 15 个氨基酸。应用于本文的连接子可以是相同或不同的。

术语“抗体依赖性细胞的细胞毒性”、“抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是诱导细胞死亡的机制，该机制依赖于抗体包被靶细胞与具有裂解活性的效应细胞（诸如自然杀伤细胞（NK）、单核细胞、巨噬细胞和中性粒细胞）经由效应细胞上表达的 Fc γ 受体（Fc γ R）发生的相互作用。例如，NK 细胞表达 Fc γ RIIIa，而单核细胞表达 Fc γ RI、Fc γ RII 和 Fc γ RIIIa。本文提供的抗体的 ADCC 活性可使用体外测定，使用表达抗原的细胞作为靶细胞和 NK 细胞作为效应细胞进行评定。根据从裂解的细胞中释放的标记物（例如放射性底物、荧光染料或天然胞内蛋白）来检测细胞裂解。

术语“抗体依赖性细胞吞噬作用”（“ADCP”）是指通过吞噬细胞（诸如巨噬细胞或树突状细胞）的内化作用消除抗体包被的靶细胞的机制。

术语“补体依赖性细胞毒性”或“CDC”是指诱导细胞死亡的机制，其中靶结合抗体的 Fc 效应域结合并激活补体成分 C1q，C1q 继而激活补体级联，从而导致靶细胞死亡。补体的激活也可导致补体成分沉积在靶细胞表面上，这些补体成分通过结合白细胞上的补体受体（例如，CR3）来促进 CDC。

术语“核酸”在本文中可与术语“多核苷酸”互换使用，并且是指呈单链或双链形式的脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸及其聚合物。所述术语涵盖含有已知核苷酸类似物或修饰的骨架残基或连接的核酸，所述核酸是合成的、天然存在的和非天然存在的，具有与参考核酸相似的结合特性，并且以类似于参考核苷酸的方式代谢。此类类似物的实例包括但不限于硫代磷酸酯、氨基磷酸酯、甲基膦酸酯、手性-甲

基磷酸酯、2-O-甲基核糖核苷酸、肽-核酸（PNA）。

“分离的”核酸指已经与其天然环境的组分分开的核酸分子。分离的核酸包括在下述细胞中含有的核酸分子，所述细胞通常含有该核酸分子，但该核酸分子存在于染色体外或存在于不同于其天然染色体位置的染色体位置处。编码多肽或融合蛋白的分离的核酸指编码多肽或融合蛋白的一个或更多个核酸分子，包括在单一载体或分开的载体中的这样的一个或更多个核酸分子，和存在于宿主细胞中一个或更多个位置的这样的一个或更多个核酸分子。除非另有说明，否则特定的核酸序列还隐含地涵盖其保守修饰的变体（例如，简并密码子取代）和互补序列以及明确指明的序列。具体地，如下详述，简并密码子取代可以通过产生如下序列而获得，在这些序列中，一个或多个所选的（或全部）密码子的第三位被混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代。

术语“多肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用，指氨基酸残基的聚合物。该术语适用于氨基酸聚合物，其中一个或多个氨基酸残基是相应天然存在的氨基酸或其人工化学模拟物，以及适用于天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。除非另外说明，否则特定的多肽序列还隐含地涵盖其保守修饰的变体。

术语序列“同一性”指，当对两条序列进行最佳比对时，必要时引入间隙，以获得最大序列同一性百分比，且不将任何保守性取代视为序列同一性的一部分，两条序列的氨基酸/核酸在等价位置相同的程度（百分比）。为测定序列同一性百分比，比对可以通过本领域技术已知的技术来实现，例如使用公开可得到的计算机软件，诸如 BLAST、BLAST-2、ALIGN、ALIGN-2 或 Megalign（DNASTAR）软件。本领域技术人员可确定适用于测量比对的参数，包括在所比较的序列全长上达成最大比对所需的任何算法。

本披露中，例如“相对于序列 SEQ ID NO: XX 的自然顺序编号的氨基酸残基位点”，意指对象序列与 XX 序列进行最佳比对，获得最高百分比同一性，此时对象序列与 XX 序列对应位置的位点，即为两条序列的相对位点。例如 TACI 的胞外区序列 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 10 上“相对于 SEQ ID NO: 8 的自然顺序编号的氨基酸残基位点”的示例性例子如下表 2 所示：

表 2. SEQ ID NO: 8 位点在其他序列上的相应位点
(以 SEQ ID NO: 1 和 10 为例)

SEQ ID NO: 8 自然顺序位点	相应位点	
	SEQ ID NO: 1 相应位点	SEQ ID NO: 10 相应位点
第 48-88 位	第 68-108 位 (SEQ ID NO: 1 自然顺序)	第 1-41 位 (SEQ ID NO: 10 自然顺序)
第 48-87 位	第 68-107 位 (SEQ ID NO: 1 自然顺序)	第 1-40 位 (SEQ ID NO: 10 自然顺序)
第 48-86 位	第 68-106 位 (SEQ ID NO: 1 自然顺序)	第 1-39 位 (SEQ ID NO: 10 自然顺序)

第 48-85 位	第 68-105 位 (SEQ ID NO: 1 自然顺序)	第 1-38 位 (SEQ ID NO: 10 自然顺序)
第 49 位	第 69 位 (SEQ ID NO: 1 自然顺序)	第 2 位 (SEQ ID NO: 10 自然顺序)
第 52 位	第 72 位 (SEQ ID NO: 1 自然顺序)	第 5 位 (SEQ ID NO: 10 自然顺序)
第 53 位	第 73 位 (SEQ ID NO: 1 自然顺序)	第 6 位 (SEQ ID NO: 10 自然顺序)
第 57 位	第 77 位 (SEQ ID NO: 1 自然顺序)	第 10 位 (SEQ ID NO: 10 自然顺序)
第 65 位	第 85 位 (SEQ ID NO: 1 自然顺序)	第 18 位 (SEQ ID NO: 10 自然顺序)
第 82 位	第 102 位 (SEQ ID NO: 1 自然顺序)	第 35 位 (SEQ ID NO: 10 自然顺序)
第 83 位	第 103 位 (SEQ ID NO: 1 自然顺序)	第 36 位 (SEQ ID NO: 10 自然顺序)

备注：例如 SEQ ID NO: 10 上相对于序列 SEQ ID NO: 8 的自然顺序第 49 位残基位点的相应位点为 SEQ ID NO: 10 的第 2 位（自然顺序）残基位点，SEQ ID NO: 1 上相对于序列 SEQ ID NO: 8 的自然顺序第 49 位残基位点的相应位点为 SEQ ID NO: 1 的第 69 位（自然顺序）残基位点。

5

术语“融合”或“连接”是指部件（例如 TACI 多肽和 Fc 结构域）直接地或经由一个或多个连接子而通过共价键连接。当连接子是肽连接子时，所述共价键是肽键。

术语“载体”意指能够转运与其连接的另一多核苷酸的多核苷酸分子。一种类型的载体是“质粒”，其是指环状双链 DNA 环，其中可以连接附加的 DNA 区段。另一种类型的载体是病毒载体，例如腺相关病毒载体（AAV 或 AAV2），其中另外的 DNA 区段可以连接到病毒基因组中。某些载体能够在引入它们的宿主细胞中自主复制（例如，具有细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体）。其他载体（例如，非附加型哺乳动物载体）可以在引入宿主细胞中后整合到宿主细胞的基因组中，从而与宿主基因组一起复制。术语“表达载体”或“表达构建体”是指可对宿主细胞进行转化，且含有指导和/或控制（连同宿主细胞一起）与其可操作地连接的一个或多个异源编码区的表达的核酸序列的载体。表达构建体可以包括但不限于影响或控制转录、翻译且在存在内含子时影响与其可操作地连接的编码区的 RNA 剪接的序列。

20

术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换使用，并且指已经导入外源核酸的细胞，包括此类细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“经转化的细胞”，其包括原代的经转化的细胞及自其衍生的后代，而不考虑传代的次数。后代在核酸内容物上可以与亲本细胞不完全相同，而是可以含有突变。本文中包括

与在初始转化细胞中筛选或选择的细胞具有相同功能或生物学活性的突变体后代。宿主细胞包括原核和真核宿主细胞，其中真核宿主细胞包括但不限于哺乳动物细胞、昆虫细胞系植物细胞和真菌细胞。哺乳动物宿主细胞包括人、小鼠、大鼠、犬、猴、猪、山羊、牛、马和仓鼠细胞，包括但不限于中国仓鼠卵巢（CHO）细胞、NSO、SP2 细胞、HeLa 细胞、幼仓鼠肾（BHK）细胞、猴肾细胞（COS）、人肝细胞癌细胞（例如，Hep G2）、A549 细胞、3T3 细胞和 HEK-293 细胞。真菌细胞包括酵母和丝状真菌细胞，包括例如巴氏毕赤酵母（*Pichiapastoris*）、芬兰毕赤酵母（*Pichia finlandica*）、海藻毕赤酵母（*Pichia trehalophila*）、科克拉马毕赤酵母（*Pichia koclamae*）、膜状毕赤酵母（*Pichia membranaefaciens*）、小毕赤酵母（*Pichia minuta*）（*Ogataea minuta*、*Pichia lindneri*）、仙人掌毕赤酵母（*Pichiaopuntiae*）、耐热毕赤酵母（*Pichia thermotolerans*）、柳毕赤酵母（*Pichia salictaria*）、*Pichia guercuum*、皮杰普毕赤酵母（*Pichia pipperi*）、具柄毕赤酵母（*Pichia stiptis*）、甲醇毕赤酵母（*Pichia methanolica*）、毕赤酵母属、酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）、酿酒酵母属、多形汉逊酵母（*Hansenula polymorpha*）、克鲁维酵母属、乳酸克鲁维酵母（*Kluyveromyces lactis*）、白色念珠菌（*Candida albicans*）、构巢曲霉（*Aspergillus nidulans*）、黑曲霉（*Aspergillus niger*）、米曲霉（*Aspergillus oryzae*）、里氏木霉（*Trichoderma reesei*）、勒克氏菌（*Chrysosporium lucknowense*）、镰刀菌属（*Fusarium sp.*）、禾谷镰刀菌（*Fusarium gramineum*）、菜镰刀菌（*Fusarium venenatum*）、小立碗藓（*Physcomitrella patens*）、粗糙脉孢菌（*Neurospora crassa*）、曲霉属、解脂耶氏酵母（*Yarrowia lipolytica*）。

“任选”或“任选地”意味着随后所描述地事件或环境可以但不必发生，该说明包括该事件或环境发生或不发生的场合。

术语“药物组合物”表示含有一种或多种本文所述的多肽或TACI融合蛋白与其他化学组分的混合物，所述其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。

术语“药学上可接受的载体”指药学配制剂中与活性成分不同的、且对受试者无毒的成分。药学可接受载体包括但不限于缓冲剂、赋形剂、稳定剂或防腐剂。

术语“受试者”或“个体”包括人类和非人类动物。非人类动物包括所有脊椎动物（例如哺乳动物和非哺乳动物）例如非人灵长类（例如，食蟹猴）、绵羊、狗、牛、鸡、两栖动物和爬行动物。除非指出时，否则所述术语“患者”或“受试者”在本文中可互换地使用。如本文所使用的，术语“食蟹猴（cyno）”或“食蟹猴（cynomolgus）”是指食蟹猴（*Macaca fascicularis*）。在某些实施方案中，个体或受试者是人。

“施用”或“给予”，当其应用于动物、人、实验受试者、细胞、组织、器官或生物流体时，是指外源性药物、治疗剂、诊断剂或组合物与动物、人、受试者、细胞、组织、器官或生物流体的接触。

术语“样本”是指从受试者分离的流体、细胞、或组织的采集物，以及存在于受

试者体内的流体、细胞或组织。示例性样本为生物流体，诸如血液、血清、浆膜液、血浆、淋巴液、尿液、唾液、囊液、泪液、排泄物、痰、分泌组织和器官的粘膜分泌物、阴道分泌物、腹水、胸膜、心包、腹膜、腹腔和其它体腔的流体、由支气管灌洗液收集的流体、滑液、与受试者或生物来源接触的液体溶液，例如

5 细胞和器官培养基（包括细胞或器官条件培养基）、灌洗液等，组织活检样本、细针穿刺、手术切除的组织、器官培养物或细胞培养物。

“治疗（treatment 或 treat）”和“处理”（及其语法变型）指试图改变所治疗个体的天然过程的临床干预，并且可以为了预防或者在临床病理学的过程期间实施。治疗的期望效果包括但不限于预防疾病的发生或再发生，减轻症状，减轻/减少疾病的任何直接或间接病理后果，预防转移，降低疾病进展速率，改善或减轻疾病状态，和消退或改善的预后。在一些实施方案中，使用本披露的多肽或融合蛋白

10 来延迟疾病的形成或减缓疾病的进展。

“有效量”一般是足以降低症状的严重程度及/或频率、消除这些症状及/或潜在病因、预防症状及/或其潜在病因出现及/或改良或改善由疾病状态引起或与其相关的损伤的量。在一些实施例，有效量是治疗有效量或预防有效量。“治疗有效量”是足以治疗疾病状态或症状、尤其与该疾病状态相关的状态或症状，或者以其他方式预防、阻碍、延迟或逆转该疾病状态或以任何方式与该疾病相关的任何其他不理想症状的进展的量。“预防有效量”是当给予受试者时将具有预定预防效应，例如预防或延迟该疾病状态的发作（或复发），或者降低该疾病状态或相关症状的

15 发作（或复发）可能性的量。完全治疗或预防效未必在给予一个剂量之后便发生，可能在给予一系列剂量之后发生。因而，治疗或预防有效量可以一次或多次给予的方式给予。“治疗有效量”和“预防有效量”可取决于多种因素变化：诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重，以及治疗剂或治疗剂组合在个体中引发期望的应答的能力。有效治疗剂或治疗剂组合的示例性指标包括例如患者改善的健康状况。

25 本披露的 TACI 多肽及其融合蛋白

在一个方面中，本披露设计了不同长度的 TACI 序列片段，最终获得了一种新的 TACI 序列片段 SEQ ID NO: 8（其不包含会引起 TACI 断裂的胞外区第 13、14 位氨基酸残基（SEQ ID NO: 1 的自然顺序第 13、14 位）），其具有更好的耐受 TACI 断裂功能，并具备良好 TACI 多肽功能活性。另外，通过对 SEQ ID NO: 8 的 N 端

30 和 C 端进一步截短，获得包含 SEQ ID NO: 8 的第 48 位至第 85 位氨基酸残基，但不包含 SEQ ID NO: 1 的第 34 至第 66 位氨基酸残基（自然顺序），获得具有更好功能活性的 TACI 多肽片段，另外还对 TACI 多肽片段部分位点氨基酸残基进行替换，获得具有更好结合活性、更好阻断功能、更好稳定性、更好成药性能的 TACI 多肽。

35 A. 示例性的 TACI 多肽及其融合蛋白

在一个方面，本披露提供了一种 TACI 多肽，其为 SEQ ID NO: 8 或其变体，

或是包含 SEQ ID NO: 8 的第 48 位至第 85 位氨基酸残基的截短片段或其变体,或是包含 SEQ ID NO: 8 的第 51 位至第 85 位氨基酸残基的截短片段或其变体。特别的,包含本披露的 TACI 多肽的融合蛋白(例如 TACI-Fc)具有以下一个或更多个功能活性:

- 5 a. 不容易发生 TACI 断裂片段;在一些实施方式中,所述断裂可通过质谱分析检测;
- b. 阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合的能力;在一些实施方式中,TACI-Fc 阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合的 IC50 值小于 23 nM、小于 10nM、小于 6nM、小于 5nM、小于 4nM、小于 3nM、小于 2nM、小于 1nM 或更小。所述 IC50 值通过 Elisa 方法
10 检测;在一些实施方式中,所述 IC50 值测试方法见测试例 2;
- c. 与 BAFF 结合的能力;在一些实施方式中,所述 TACI-Fc 结合 BAFF 的 EC50 值小于 1 nM、0.5 nM、0.4 nM、0.3 nM、0.2 nM、0.1nM 或更小,所述 EC50 值通过 Elisa 方法检测;在一些实施方式中,所述 EC50 值测试方法见测试例 1 的 Elisa 结合实验(包被抗原蛋白);在一些实施方式中,所述 TACI-Fc 结合 BAFF
15 的 EC50 值小于 30 nM、20 nM、10 nM、9 nM、8 nM、7 nM、6nM 或更小,所述 EC50 值通过 Elisa 方法检测(包被待测样品);在一些实施方式中,所述 EC50 值测试方法见测试例 1 的 Elisa 结合实验(包被待测样品);
- d. 抑制 BAFF 诱导 B 细胞增殖;在一些实施方式中,TACI-Fc 抑制 BAFF 诱导 B 细胞增殖的 IC50 值小于 0.3nM、小于 0.2nM、小于 0.1nM、0.06nM、小于 0.05nM、
20 小于 0.01 nM 或更小。所述 IC50 值通过 Elisa 方法检测;在一些实施方式中,所述 IC50 值测试方法见测试例 3;
- e. 抑制 APRIL 诱导 B 细胞增殖;在一些实施方式中,TACI-Fc 抑制 APRIL 诱导 B 细胞增殖的 IC50 值小于 3 nM、小于 2nM、小于 1 nM、小于 0.5nM、小于 0.4nM、小于 0.3nM、0.2nM、小于 0.1nM、小于 0.05 或更小。所述 IC50 值通过
25 Elisa 方法检测;在一些实施方式中,所述 IC50 值测试方法见测试例 3;
- f. 以高亲和力与人 BAFF 和/或人 APRIL 结合;在一些实施方式中,所述亲和力通过 Biacore 方法检测;在一些实施方式中,所述亲和力通过测试例 5 方法检测。在一些实施方式中,所述 TACI-Fc 融合蛋白与人 BAFF 结合的 KD 值小于 1E-10 M、小于 9E-11 M、8E-11 M 或更小;在一些实施方式中,所述 TACI-Fc 融合蛋白
30 与人 APRIL 结合的 KD 值小于 2.3E-11 M、小于 2.0E-11 M、1.9E-11 M、1.3E-11 M 或更小;
- g. 良好的体内药代动力;在一些实施方式中,TACI-Fc 大鼠体内半衰期大于 4 天;在一些实施方式中,所述半衰期测试方法见测试例 7;和/或
- h. 更好稳定性;在一些实施方式中,所述 TACI-Fc 在 40℃ 恒温条件下存放四周,TACI-Fc 融合蛋白纯度依然能保持在 94%以上(SEC%);在一些实施方式中,
35 所述 TACI-Fc 的 pI 值小于 9、小于 8、小于 7、小于 6 或更小,所述 pI 值通过

“18cProt/TrEMBL”系统分析测定。

示例性地，本披露 TACI 多肽，其序列如 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13-15、SEQ ID NO: 18-35、SEQ ID NO: 68-70 中的任一条序列所示，或与 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13-15、SEQ ID NO: 18-35、
5 SEQ ID NO: 68-70 中的任一条序列具有至少 85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的序列同一性的氨基酸序列。

B. 示例性的 TACI 抗体融合蛋白

在一个方面，本披露的 TACI 融合蛋白，其为抗体融合蛋白，其包含本披露的 TACI 多肽，还包含抗体。在一些实施方案中，所述抗体为治疗或改善 B 细胞障碍
10 或自身免疫性疾病的抗体。在一些实施方案中，本披露 TACI 抗体融合蛋白，其中所述抗体为抗 IL23 抗体、抗 IL12 抗体或抗 IL23/IL12 的 P40 亚基抗体。在一些实施方案中，本披露的 TACI 抗体融合蛋白具有阻断 IL23/IL12 与其受体结合能力，也具有阻断 TACI 与其受体结合能力。特别的，包含本披露的 TACI 多肽的融合蛋白（例如 TACI 抗体融合蛋白）具有以下一个或更多个功能活性：

15 a. 不容易发生 TACI 断裂片段；在一些实施方式中，所述断裂可通过质谱分析检测；

b. 阻断 BAFF 与 BCMA 结合的能力；在一些实施方式中，TACI 抗体融合蛋白阻断 BAFF 与 BCMA 结合的 IC50 值小于 0.4 nM、小于 0.3nM、小于 0.2nM、
20 小于 0.1nM 或更小。所述 IC50 值通过 Elisa 方法检测；在一些实施方式中，所述 IC50 值测试方法见测试例 2；

c. 阻断 BAFF 与 TACI 结合的能力；在一些实施方式中，TACI 抗体融合蛋白阻断 BAFF 与 TACI 结合的 IC50 值小于 0.5 nM、小于 0.4 nM、小于 0.3nM、小于
0.2nM、小于 0.1nM 或更小。所述 IC50 值通过 Elisa 方法检测；在一些实施方式中，所述 IC50 值测试方法见测试例 2；

25 d. 阻断 APRIL 与 BCMA 结合的能力；在一些实施方式中，TACI 抗体融合蛋白阻断 APRIL 与 BCMA 结合的 IC50 值小于 25nM、小于 20 nM、小于 15nM、小于 10nM、小于 5nM、小于 4nM、小于 3nM、小于 2nM、小于 1nM 或更小。所述 IC50 值通过 Elisa 方法检测；在一些实施方式中，所述 IC50 值测试方法见测试例 2；

30 e. 阻断 APRIL 与 TACI 结合的能力；在一些实施方式中，TACI 抗体融合蛋白阻断 APRIL 与 TACI 结合的 IC50 值小于 3nM、小于 2 nM、小于 1nM、小于 0.9nM、小于 0.5nM 或更小。所述 IC50 值通过 Elisa 方法检测；在一些实施方式中，所述 IC50 值测试方法见测试例 2；

f. 阻断 p40 与 IL-12Rβ1 结合的能力；在一些实施方式中，TACI 抗体融合蛋白
35 阻断 p40 与 IL-12Rβ1 结合的 IC50 值小于 3nM、小于 2 nM、小于 1nM、小于 0.9nM、小于 0.5nM 或更小。所述 IC50 值通过 Elisa 方法检测；在一些实施方式中，

所述 IC50 值测试方法见测试例 2;

g. 阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合的能力; 在一些实施方式中, 所述阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合的 IC50 值通过 Elisa 方法检测; 在一些实施方式中, 所述 IC50 值测试方法见测试例 2;

5 h. 与 BAFF 结合的能力; 在一些实施方式中, 所述 TACI 抗体融合蛋白结合 BAFF 的 EC50 值小于 6nM、5 nM、4 nM、3 nM 或更小, 所述 EC50 值通过 Elisa 方法检测; 在一些实施方式中, 所述 EC50 值测试方法见测试例 1 的 Elisa 结合实验 (包被抗原蛋白);

10 i. 与 APRIL 结合的能力; 在一些实施方式中, 所述 TACI 抗体融合蛋白结合 APRIL 的 EC50 值小于 5 nM、4 nM、3 nM、2nM、1 nM 或更小, 所述 EC50 值通过 Elisa 方法检测; 在一些实施方式中, 所述 EC50 值测试方法见测试例 1 的 Elisa 结合实验 (包被抗原蛋白);

j. 与 IL-12/23 p40 结合的能力; 在一些实施方式中, 所述 TACI 抗体融合蛋白结合与 IL-12/23 p40 的 EC50 值小于 5 nM、4 nM、3 nM、2nM、1 nM、0.7 nM、
15 0.6nM 或更小, 所述 EC50 值通过 Elisa 方法检测; 在一些实施方式中, 所述 EC50 值测试方法见测试例 1 的 Elisa 结合实验 (包被抗原蛋白);

k. 抑制 BAFF 诱导 B 细胞增殖; 在一些实施方式中, TACI 抗体融合蛋白抑制 BAFF 诱导 B 细胞增殖的 IC50 值小于 0.3nM、小于 0.2nM、小于 0.1nM、0.06nM、
20 小于 0.05nM、小于 0.01 nM 或更小。所述 IC50 值通过 Elisa 方法检测; 在一些实施方式中, 所述 IC50 值测试方法见测试例 3;

l. 抑制 APRIL 诱导 B 细胞增殖; 在一些实施方式中, TACI 抗体融合蛋白抑制 APRIL 诱导 B 细胞增殖的 IC50 值小于小于 1 nM、小于 0.5nM、小于 0.4nM、
小于 0.3nM、0.2nM、小于 0.1nM、小于 0.09 nM 或更小。所述 IC50 值通过 Elisa 方法检测; 在一些实施方式中, 所述 IC50 值测试方法见测试例 3;

25 m. 抑制 IL-23 诱导 IL-17 分泌; 在一些实施方式中, TACI 抗体融合蛋白抑制 IL-23 诱导 IL-17 分泌的 IC50 值小于 3 nM、小于 2nM、小于 2.4nM、小于 2.0nM、小于 1.7nM、小于 1 nM 或更小。在一些实施方式中, 所述 IC50 值测试方法见测试例 4;

30 n. 抑制 IL-12 诱导 IFN γ 分泌; 在一些实施方式中, TACI 抗体融合蛋白抑制 IL-12 诱导 IFN γ 分泌的 IC50 值小于 10nM、小于 5nM、小于 4nM、小于 3nM、小于 1nM 或更小。在一些实施方式中, 所述 IC50 值测试方法见测试例 4;

o. 以高亲和力与人 IL-23、人 IL-12、人 BAFF、人 APRIL、食蟹猴 P40、食蟹猴 BAFF、食蟹猴 APRIL、鼠 BAFF 和/或鼠 APRIL 结合; 在一些实施方式中, 所述亲和力通过 Biacore 方法检测; 在一些实施方式中, 所述亲和力测试方法见测试例 5。在一些实施方式中, 所述 TACI 抗体融合蛋白与人 BAFF 结合的 KD 值小于
35 1E-10 M、小于 9E-11 M、3E-11 M 或更小; 在一些实施方式中, 所述 TACI 抗

体融合蛋白与鼠 BAFF 结合的 KD 值小于 1E-10 M、小于 8E-11 M、4E-11 M 或更小；在一些实施方式中，所述 TACI 抗体融合蛋白与食蟹猴 BAFF 结合的 KD 值小于 4E-10 M、小于 3E-10 M、1E-11 M 或更小；在一些实施方式中，所述 TACI 抗体融合蛋白与人 APRIL 结合的 KD 值小于 2.8E-11 M、小于 2.2E-11 M、1.5E-11 M 或更小；在一些实施方式中，所述 TACI 抗体融合蛋白与食蟹猴 APRIL 结合的 KD 值小于 4.3E-11 M、小于 3.5E-11 M、3.3E-11 M 或更小；在一些实施方式中，所述 TACI 抗体融合蛋白与鼠 APRIL 结合的 KD 值小于 1E-11 M、小于 9E-12 M、8E-11 M 或更小；在一些实施方式中，所述 TACI 抗体融合蛋白与人 IL-23 结合的 KD 值小于 1E-12 M、小于 9E-11 M、8E-11 M 或更小；在一些实施方式中，所述 TACI 抗体融合蛋白与食蟹猴 p40 结合的 KD 值小于 3E-10 M、小于 2.7E-10 M、2.6E-10 M 或更小；所述 TACI 抗体融合蛋白与人 IL-12 结合的 KD 值小于 5E-11 M、小于 4E-11 M、3E-11 M 或更小；

p. 良好的体内药代动力；在一些实施方式中，TACI 抗体融合蛋白大鼠体内半衰期大于 9 天；在一些实施方式中，所述半衰期测试方法见测试例 7；和/或

q. 良好血浆稳定性；在一些实施方式中，所述 TACI 抗体融合蛋白在人血浆中，终浓度为 0.1 mg/mL，37°C 孵育 14 天没有可检测的 TACI 断裂。

示例性地，其中所述 TACI 抗体融合蛋白包含与 SEQ ID NO: 55 具有至少 85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的序列同一性的第一多肽链，和与 SEQ ID NO: 56 具有至少 85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的序列同一性的第二多肽链。在一些实施方式中，其中所述 TACI 抗体融合蛋白包含与 SEQ ID NO: 57 具有至少 85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的序列同一性的第一多肽链，和与 SEQ ID NO: 58 具有至少 85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的序列同一性的第二多肽链。

Fc 区的修饰

在一个方面，本披露的 TACI 融合蛋白（例如 TACI-Fc，或 TACI 抗体融合蛋白）的 Fc 区包含一个或多个氨基酸取代，所述一个或多个氨基酸取代减少其与 Fc 受体的结合，例如其与 Fc γ 受体的结合，并且降低或消除效应子功能。天然 IgG Fc 区，具体地是 IgG₁ Fc 区或 IgG₄ Fc 区，可能导致本披露的融合蛋白靶向表达 Fc 受体的细胞，而不是表达抗原的细胞。在一些实施方案中，本披露改造的 Fc 区表现出降低的对 Fc 受体的结合亲和力和/或降低的效应子功能。在一些实施方案中，改造的 Fc 区与天然 Fc 区相比，对 Fc 受体的结合亲和力下降 50%、80%、90% 或 95% 以上。在一些实施方案中，所述的 Fc 受体是 Fc γ 受体。在一些实施方案中，所述 Fc 受体是人 Fc γ 受体，例如 Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIB、Fc γ RIIIa。在一些实施方案中，改造的 Fc 区与天然 Fc 区相比，对补体（如 C1q）的结合亲和力也降低。在一些实施方案中，改造的 Fc 区与天然 Fc 区相比，对新生儿 Fc 受体（FcRn）的结合亲和力不降低。在一些实施例中，改造的 Fc 区具有降低的效应子功能，所述降

低的效应子功能可以包括但不限于以下中的一个或多个：降低的补体依赖性细胞毒性（CDC）、降低的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性（ADCC）、降低的抗体依赖性细胞吞噬（ADCP）、减少的细胞因子分泌、减少的免疫复合物介导的抗原呈递细胞的抗原摄取、减少的与 NK 细胞的结合、减少的与巨噬细胞的结合、减少的与单核细胞的结合、减少的与多形核细胞的结合、减少的直接信号传导诱导性细胞凋亡、降低的树突细胞成熟或减少的 T 细胞引发。对于 IgG₁ Fc 区，在 238、265、269、270、297、327 和 329 等位置的氨基酸残基取代可降低的效应子功能。在一些实施方案中，所述 Fc 区是人 IgG₁ Fc 区，并且在 234 和 235 位置的氨基酸残基为 A，编号依据为 EU 索引。对于 IgG₄ Fc 区，在 228 等位置的氨基酸残基取代可降低的效应子功能。

融合蛋白可包含与 Fc 区的两个亚基融合的不同抗原结合域，因此可能导致不期望的同源二聚化。为了提高产率和纯度，可以在本披露的融合蛋白的 Fc 区中引入促进异源二聚化的修饰将是有利的。在一些实施方式中，本披露的 Fc 区包含根据杵臼（knob-into-hole, KIH）技术的改造，该方法涉及在第一亚基的界面处引入凸起结构（knob）以及在第二亚基的界面处引入孔结构（hole），反之亦然。使得所述凸起结构可以定位在孔结构中，促进异源二聚体的形成并抑制同源二聚体的产生。凸起结构是通过用较大侧链（例如酪氨酸或色氨酸）取代来自第一亚基的界面的小氨基酸侧链而构建的。而孔结构是通过用较小的氨基酸侧链（例如丙氨酸或苏氨酸）取代大氨基酸侧链而在第二亚基的界面中创建的。凸起结构和孔结构通过改变编码多肽的核酸来制备，可选的氨基酸取代如下表 3 所示：

表 3. KIH 突变组合

第一亚基	T366Y	T366W	T394W	F405W	T366W	T366Y F405A	T366W F405W	F405W Y407A	354C 356E 358M 366W
第二亚基	Y407T	Y407A	F405A	T394S	T366S L368A Y407V	T394W Y407T	T394W Y407A	T366W T394S	349C 356E 358M 366S 368A 407V

除了杵臼技术外，用于修饰多特异性抗体的重链的 CH3 结构域以实现异源二聚化的其他技术也是本领域中已知的，例如 WO96/27011、WO98/050431、EP1870459、WO2007/110205、WO 007/147901、WO2009/089004、WO2010/129304、WO2011/90754、WO2011/143545、WO2012/058768、WO2013/157954 和 WO 013/096291。

Fc 区的 C 末端可以是以氨基酸残基 PGK 结束的完整 C 末端；也可以是缩短的 C 末端，例如在所述缩短的 C 末端中已经去除了一个或两个 C 末端氨基酸残基。

在一个优选的方面中，重链的 C 末端是以 PG 结束的缩短的 C 末端。因此，在一些实施方式中，完整抗体的组合物可以包括去除了所有 K447 残基和/或 G446+K447 残基的抗体群体。在一些实施方式中，完整抗体的组合物可以包括没有去除 K447 残基和/或 G446+K447 残基的抗体群体。在一些实施方式中，完整抗体的组合物具有带有和不带有 K447 残基和/或 G446+K447 残基的抗体混合物的抗体群体。

重组方法

TACI 多肽或融合蛋白（例如 TACI 抗体融合蛋白）可以使用重组方法来产生。对于这些方法，提供编码多肽或融合蛋白的一个或更多个分离的核酸。

在一个实施方案中，本披露提供了编码如前所述的多肽或融合蛋白的分离的核酸。此类核酸可以给自独立的编码前述的任一多肽链。在另一方面中，本披露提供了包含此类核酸的一种或多种载体（例如表达载体）。在另一方面中，本披露提供了包含此类核酸的宿主细胞。在一个实施方案中，提供制备多肽或融合蛋白的方法，其中所述方法包括，在适合表达的条件下，培养包含编码所述多肽或融合蛋白的核酸的宿主细胞，如上文所提供的，和任选地从宿主细胞（或宿主细胞培养基）回收所述抗体。

为了重组产生多肽或融合蛋白，将编码蛋白的核酸分离并插入一个或更多个载体中，用于在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。此类核酸可以使用常规程序容易地分离和测序，或者通过重组方法产生或通过化学合成获得。

用于克隆或表达编码多肽或融合蛋白的载体的适当宿主细胞包括本文描述的原核或真核细胞。例如，可在细菌中产生，特别是当不需要糖基化和 Fc 效应子功能时。在表达后，可以在可溶级分中从细菌细胞糊状物分离，并且可进一步纯化。

除了原核生物以外，真核微生物诸如丝状真菌或酵母也是用于编码融合蛋白的载体的合适的克隆或表达宿主，包括真菌和酵母菌株。适于表达融合蛋白的合适的宿主细胞也可源自多细胞生物体（无脊椎动物和脊椎动物）；无脊椎动物细胞的例子包括植物和昆虫细胞。已经鉴定了许多杆状病毒株，其可与昆虫细胞联合使用，特别是用于草地贪夜蛾（*Spodoptera frugiperda*）细胞的转染；还可利用植物细胞培养物作为宿主，例如 US5959177、US 6040498、US6420548、US 7125978 和 US6417429；也可将脊椎动物细胞用作宿主，例如适应于在悬浮液中生长的哺乳动物细胞系。适宜的哺乳动物宿主细胞系的其它例子是经 SV40 转化的猴肾 CV1 系（COS-7）；人胚肾系（293 或 293T 细胞）；幼仓鼠肾细胞（BHK）；小鼠塞托利（sertoli）细胞（TM4 细胞）；猴肾细胞（CV1）；非洲绿猴肾细胞（VERO-76）；人宫颈癌细胞（HELA）；犬肾细胞（MDCK）；水牛鼠（buffalo rat）肝细胞（BRL3A）；人肺细胞（W138）；人肝细胞（Hep G2）；小鼠乳房肿瘤（MMT 060562）；TRI 细胞；MRC 5 细胞；和 FS4 细胞。其它适宜的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢（CHO）细胞，包括 DHFR-CHO 细胞；以及骨髓瘤细胞系，如 Y0、NS0 和 Sp2/0。关于适合产生多肽或融合蛋白的某些哺乳动物宿主细胞系的综述参见例如

Yazaki, P.和 Wu, A.M., *Methods in Molecular Biology*, Vol.248, Lo, B.K.C. (编), Humana Press, Totowa, NJ (2004), 第 255-268 页。

测定

5 本文提供的多肽或融合蛋白可以通过本领域已知的多种测定法对其物理/化学特征和/或生物学活性进行鉴定、筛选或表征。在一个方面中，例如通过已知方法如 ELISA、蛋白印迹法等，测试本披露的多肽或融合蛋白活性。

治疗方法与施用途径

10 本文提供的任何 TACI 多肽或其融合蛋白（例如抗体融合蛋白）可用于治疗方法。在又一个方面，本披露提供 TACI 多肽或其融合蛋白在药物的制造或制备中的用途。在一些实施方案中，所述 B 细胞障碍或自身免疫性疾病是与 TACI 表达相关的疾病或病症。在一些实施方案中，所述自身免疫性疾病选自：系统性红斑狼疮、重症肌无力、多发性硬化、胰岛素依赖性糖尿病、克罗恩氏病、类风湿关节炎、多关节型青少年类风湿关节炎和银屑病性关节炎；所述 B 细胞障碍选自：肿瘤、慢性白细胞性白血病、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、移植后淋巴组织增生病
15 以及轻链丙球蛋白病。在一些实施方案中，所述自身免疫性疾病为系统性红斑狼疮。在一个此类实施方案中，所述用途进一步包括向受试者施用有效量的至少一种另外的治疗剂（例如一种、两种、三种、四种、五种或六种另外的治疗剂）。根据任意以上实施方案的“受试者”可以是人。

20 在又一个的方面，提供包含所述多肽或融合蛋白的药物组合物，例如，其用于以上任何制药用途或治疗方法。在一个实施方案中，药物组合物包含本文提供的任何多肽或融合蛋白和药学上可接受的载体。在另一个实施方案中，药物组合物还包含至少一种另外的治疗剂。

本披露的多肽或融合蛋白可单独使用或与其他试剂联合用于治疗。例如，本披露的抗体可与至少一种另外的治疗剂共同施用。

25 本披露的多肽或融合蛋白（和任何另外的治疗剂）可通过任何合适的手段施用，包括肠胃外、肺内和鼻内，并且如果需要局部治疗，则病灶内施用。肠胃外输注包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。给药可以通过任何适当的途径，例如，通过注射，诸如静脉内或皮下注射，这部分取决于施用是短期的还是长期的。本文考虑多种给药时间方案，包括但不限于，单次或在多个时间点
30 多次施用，推注施用和脉冲输注。

本披露的多肽或融合蛋白将以符合良好医疗实践（GMP）的方式配制、给药和施用。在此背景下考虑的因素包括所治疗的具体病症、所治疗的具体哺乳动物、个体患者的临床状况、病症的起因、试剂的递送部位、施用方法、施用时间安排以及医学从业者已知的其他因素。多肽或融合蛋白可以与或不与目前用于预防或
35 治疗所述病症的一种或更多种试剂一起配制。此类其它试剂的有效量取决于药物组合物中存在的量、病症或治疗的类型以及其它因素。这些通常与与本文所述相

同的剂量和施用路径使用，或以本文所述剂量的约 1 至 99% 使用，或以其它剂量使用，并通过经验/临床确定为合适的任何途径使用。

5 为了预防或治疗疾病，本披露的多肽或融合蛋白（当单独使用或与一种或更多种其他另外的治疗剂组合使用时）的适当的剂量将取决于待治疗的疾病的类型，治疗分子的类型，疾病的严重性和病程，是为预防还是治疗目的施用，之前的治疗，患者的临床病史和对治疗分子的响应，和主治医师的判断。治疗分子恰当地以一次或经过一系列治疗施用于患者。

制品

10 在本披露的另一方面中，提供一种制品，所述制品包含可用于治疗、预防和/或诊断上述病症的材料。该制品包含容器和在容器上或与容器联合的标签或包装插页（package insert）。合适的容器包括，例如，瓶子、管形瓶、注射器、IV 溶液袋等。容器可以自各种材料诸如玻璃或塑料形成。容器装有单独或与另一种组合物组合有效治疗，预防和/或诊断疾患的组合物，并且可具有无菌的存取口（例如，容器可以是具有由皮下注射针可刺穿的塞子的静脉内溶液袋或管形瓶）。组
15 合物中的至少一种活性试剂是本披露的 TACI 多肽或融合蛋白。标签或包装插页指示使用该组合物是来治疗选择的病况。此外，制品可以包含：（a）其中装有组合物的第一容器，其中所述组合物包含本披露的 TACI 多肽或融合蛋白；和（b）其中装有组合物的第二容器，其中所述组合物包含另外的细胞毒性剂或其他方面的治疗剂。本披露的该实施方案中的制品可进一步包含包装插页，所述包装插页指
20 示所述组合物可以用于治疗特定病况。备选地，或另外地，制品可进一步包含第二（或第三）容器，所述第二（或第三）容器包含药学上可接受的缓冲液。从商业和用户立场，它可进一步包括所需的材料，包括其他缓冲剂、稀释剂、过滤器、针头和注射器。

25 实施例与测试例

以下结合实施例和测试例进一步描述本披露，但这些实施例和测试例并非限制着本披露的范围。本披露实施例和测试例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，如冷泉港的抗体技术实验手册，分子克隆手册；或按照原料或商品制造厂商所建议的条件。未注明具体来源的试剂，为市场购买的常规试剂。

30

实施例 1：TACI 序列分析和改造

由于 TACI 的序列上存在多个蛋白酶切位点，导致全长的 TACI 表达后非常容易发生断裂。本实验设计不同长度的 TACI 序列片段，并且在 TACI 的易断裂位点引入氨基酸突变，使序列更稳定。示例性的 TACI 序列如下所示：

35 > TACI-0（野生型人 TACI 的第 1 至 165 位氨基酸残基）

MSGLGRSRRGGRSRVDQEERFPQGLWTGVAMRSCPEEQYWDPLLGTCS
CKTICNHQSQR TCAAFCRSLSCRKFOGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCA YF

CENKLRSPVNLPPELRRQRSGEVENNSDNSGRYQGLEHRGSEASPALPGLKLSA
DQVALVYS

SEQ ID NO: 1

>TACI-1

5 SGLGRSR**KGGK**SRVDQEERFPQGLWTGVAMRSCPEEQYWDPLLGTCTMSC
KTICNHQSQRRTCAAFCRSLSCRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCE
NKLRSPVNLPPELR**KQRS**GEVE**Q**NSDNSG**KY**QGLEHRGSEASPALPGLKLSAD
QVALVYS

SEQ ID NO: 2

>TACI-2

10 SGLGRSR**KGGK**SRVDQEERFPQGLWTGVAMRSCPEEQYWDPLLGTCTMSC
KTICNHQSQRRTCAAFCRSLSCRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCE
NKLRSPVNLPPELR**KQRS**GEVENNSDNSG

SEQ ID NO: 3

>TACI-3

15 SGLGRSR**KGGK**SRVDQEERFPQGLWTGVAMRSCPEEQYWDPLLGTCTMSC
KTICNHQSQRRTCAAFCRSLSCRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCE
NKLRSPVNLPPELR**KQRS**GEVE

SEQ ID NO: 4

>TACI-4

20 GGRSRVDQEERFPQGLWTGVAMRSCPEEQYWDPLLGTCTMSCKTICNHQSQ
RTCAAFCRSLSCRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCENKLRSPVN
LPPELR**KQRS**GEVENNSDNSG**KY**QGLEHRGSEASPALPGLKLSADQVALVYS

SEQ ID NO: 5

>TACI-5

25 GGRSRVDQEERFPQGLWTGVAMRSCPEEQYWDPLLGTCTMSCKTICNHQSQ
RTCAAFCRSLSCRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCENKLRSPVN
LPPELR**KQRS**GEVENNSDNSG

SEQ ID NO: 6

>TACI-6

30 GGRSRVDQEERFPQGLWTGVAMRSCPEEQYWDPLLGTCTMSCKTICNHQSQ
RTCAAFCRSLSCRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCENKLRSPVN
LPPELR**KQRS**GEVE

SEQ ID NO: 7

>TACI-7

35 FPQGLWTGVAMRSCPEEQYWDPLLGTCTMSCKTICNHQSQRRTCAAFCRSL
CRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCENKLRSPVNLPP

SEQ ID NO: 8

>TACI-8

40 SLSCRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCENKLRSPVNLPPELR

KQRSGEVENNSDNSGKYQGLEHRGSEASPALPGLKLSADQVALVYS

SEQ ID NO: 9

>TACI-9

SLSCRKEQGKFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAYFCENKL

5

SEQ ID NO: 10

>人 IgG 的 Fc 序列

DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

10

SEQ ID NO: 11。

将上述 TACI 多肽片段 C 端与人 IgG 的 Fc（SEQ ID NO: 11）的 N 端直接融合，构建 TACI-Fc 融合蛋白，在 293E（EBNA1 基因修饰的人胚肾细胞）中转染表达，纯化获得含两条相同多肽的 TACI-Fc 融合蛋白（结构参见图 1）。阳性对照 RCT-18（Telitacicept）是由两条相同序列构建的 TACI-Fc 融合蛋白：

15

>RCT-18 氨基酸序列

SRVDQEERFPQGLWTGVAMRSCPEEQYWDPLLGTSCMCKTICNHQSQRTC
AAFCRSLSCRKEQGKFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAYFCENKLRSPVNLPPE
LDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPVLDSGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK

20

25

SEQ ID NO: 12

备注：RCT-18 序列中，下划线部分为 TACI 序列（人 TACI 胞外区第 13 至 118 位），无下划线部分为 Fc 序列。

对获得的 TACI-Fc 融合蛋白进行质谱分析，实验结果见表 4。实验结果表明，TACI-7Fc 和 TACI-9Fc 均没有发现 TACI 的断裂碎片，但阳性对照 RCT-18 以及其它 TACI-Fc 融合蛋白均检测到 TACI 断裂片段，例如 TACI-2 Fc，即使其蛋白酶切位点（9,12,120）的不稳定氨基酸（精氨酸）已被更为稳定的氨基酸（赖氨酸）替换，但其仍检测到 TACI 断裂片段。进一步分析 RCT-18 的断裂（参见本申请测试例 8），发现在 RCT-18 的 N 端第 1 位和第 2 位处断裂的 TACI 断裂片段。

30

表 4.TACI-Fc 融合蛋白断裂分析

融合蛋白	TACI 部分			质谱断裂 分析结果
	TACI 起 始位点	TACI 末 尾位点	同时引入稳定性突变	
TACI-1 Fc	2	165	R9K,R12K,R120K,R135K,N128Q	有断裂

TACI-2 Fc	2	134	R9K,R12K,R120K	有断裂
TACI-3 Fc	2	127	R9K,R12K,R120K	有断裂
TACI-4 Fc	10	165	R120K,R135K	有断裂
TACI-5 Fc	10	134	R120K	有断裂
TACI-6 Fc	10	127	R120K	有断裂
TACI-7 Fc	21	116	无突变	无断裂
TACI-8 Fc	68	165	R120K,R135K	有断裂
TACI-9 Fc	68	108	无突变	无断裂
RCT-18	13	118	无突变	有断裂

备注：表中的位点为相对于 TACI-0（SEQ ID NO：1）的残基位点（自然顺序编号），例如，“R120K”是指 TACI-0 多肽的第 120 位（自然顺序编号）氨基酸残基由 R 突变为 K；“TACI-5 Fc”融合蛋白是由 TACI-5（由 TACI-0 进行 R120K 突变后的第 10 至第 134 位氨基酸残基组成）的 C 端与人 IgG 的 Fc（SEQ ID NO：11）的 N 端直接融合而成的 TACI-Fc 融合蛋白。

检测上述 TACI-Fc 融合蛋白阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合功能（检测方法见测试例 2），实验结果见表 5，实验结果显示，TACI-9 Fc 阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合的功能活性显著强于对照 RCT-18。

表 5. TACI-Fc 融合蛋白阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合的活性

TACI 融合蛋白	TACI-Fc 阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合的 IC50 值（nM）
TACI-1 Fc	44.72
TACI-2 Fc	42.85
TACI-3 Fc	826.00
TACI-4 Fc	33.48
TACI-5 Fc	25.40
TACI-6 Fc	18.50
TACI-7 Fc	27.86
TACI-8 Fc	22.51
TACI-9 Fc	5.02
RCT-18	27.48

实施例 2：TACI 截短分析

在 TACI-9 的基础上，进一步截短 TACI 的序列长度，检测截短的 TACI 片段的功能活性。截短的 TACI 片段的序列如下所示：

- > TACI-10（TACI-9 的 C 末端截短 1 个氨基酸“L”）
SLSCRKEQGKFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAYFCENK
SEQ ID NO：13
- > TACI-11（TACI-9 的 C 末端截短 2 个氨基酸“KL”）

SLSCRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCEN

SEQ ID NO: 14

> TACI-12 (TACI-9 的 C 末端截短 3 个氨基酸“NKL”)

SLSCRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCE

5

SEQ ID NO: 15

> TACI-13 (TACI-9 的 C 末端截短 4 个氨基酸“ENKL”)

SLSCRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFC

SEQ ID NO: 16

> TACI-14 (TACI-9 的 C 末端截短 5 个氨基酸“CENKL”)

10

SLSCRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYF

SEQ ID NO: 17。

将上述截短的 TACI 片段的 C 端与人 IgG 的 Fc (SEQ ID NO: 11) 的 N 端融合, 构建 TACI-Fc 融合蛋白, 在 293E (EBNA1 基因修饰的人胚肾细胞) 中转染表达, 纯化获得含两条相同多肽的 TACI-Fc 融合蛋白 (结构参见图 1)。

15 对上述构建的 TACI-Fc 融合蛋白进行质谱分析, 实验结果见表 6-1, 实验结果表明, TACI-9 截短片构建的 TACI-Fc 融合蛋白均没有可检测的 TACI 多肽断裂。

另外, 检测构建的 TACI-Fc 融合蛋白结合 BAFF 的活性 (实验方法见本披露测试例 1 的 Elisa 结合实验 (包被抗原蛋白)) 以及 TACI-Fc 融合蛋白阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合功能活性 (实验方法见本披露测试例 2)。实验结果见表 6-1, 实

20 验结果表明, TACI-9 的截短片 TACI-10、TACI-11、TACI-12 构建的 TACI-10 Fc、TACI-11 Fc、TACI-12 Fc 融合蛋白对 BAFF 的结合活性以及阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合功能活性与 TACI-9Fc 融合蛋白在相同的水平, 但 TACI-13 和 TACI-14 截短片构建的融合蛋白阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合功能明显弱于 TACI-9Fc。

表 6-1. TACI-Fc 融合蛋白功能活性及质谱断裂情况检测结果

融合蛋白	TACI 断裂分析	TACI-Fc与BAFF结合的 EC50（nM）	TACI-Fc 阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合的 IC50（nM）
TACI-9 Fc	无断裂	0.4903	2.09
TACI-10 Fc	无断裂	0.5606	2.7
TACI-11 Fc	无断裂	0.5841	2.621
TACI-12 Fc	无断裂	0.8944	3.862
TACI-13 Fc	无断裂	3.661	30.11
TACI-14 Fc	无断裂	64.2	780.1

更进一步截短的 TACI 片段的序列如下所示:

>TACI-16 (TACI-9 的 C 末端截短 3 个氨基酸“NKL”, N 末端截短 1 个氨基酸“S”) 的氨基酸序列 (SEQ ID NO: 68):

LSCRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCE

30

>TACI-17 (TACI-9 的 C 末端截短 3 个氨基酸“NKL”, N 末端截短 2 个氨基酸

“SL”) 的氨基酸序列 (SEQ ID NO: 69):

SCRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCE

>TACI-18 (TACI-9 的 C 末端截短 3 个氨基酸“NKL”, N 末端截短 3 个氨基酸

“SLS”) 的氨基酸序列 (SEQ ID NO: 70):

5 CRKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCE

>TACI-19 (TACI-9 的 C 末端截短 3 个氨基酸“NKL”, N 末端截短 4 个氨基酸

“SLSC”) 的氨基酸序列 (SEQ ID NO: 71):

RKEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCE

>TACI-20 (TACI-9 的 C 末端截短 3 个氨基酸“NKL”, N 末端截短 5 个氨基酸

10 “SLSCR”) 的氨基酸序列 (SEQ ID NO: 72):

KEQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCE

>TACI-21 (TACI-9 的 C 末端截短 3 个氨基酸“NKL”, N 末端截短 6 个氨基酸

“SLSCRK”) 的氨基酸序列 (SEQ ID NO: 73):

EQGKFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAYFCE

15 将上述截短的 TACI 片段的 C 端与人 IgG 的 Fc (SEQ ID NO: 11) 的 N 端融合, 构建 TACI-Fc 融合蛋白, 在 293E (EBNA1 基因修饰的人胚肾细胞) 中转染表达, 纯化获得含两条相同多肽的 TACI-Fc 融合蛋白 (结构参见图 1)。

对上述构建的 TACI-Fc 融合蛋白进行质谱分析, 实验结果见表 6-2, 实验结果表明, TACI-9 截短片段构建的 TACI-Fc 融合蛋白均没有可检测的 TACI 多肽断裂。

20 另外, 检测构建的 TACI-Fc 融合蛋白结合 BAFF 的活性 (实验方法见本披露测试例 1 的 Elisa 结合实验 (包被抗原蛋白)) 以及 TACI-Fc 融合蛋白阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合功能活性 (实验方法见本披露测试例 2)。实验结果见表 6-2, 实验结果表明, TACI-9 的截短片段 TACI-16、TACI-17、TACI-18 构建的 TACI-Fc 融合蛋白具有良好的 BAFF 的结合活性以及阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合的功能活性,

25 而 TACI-19、TACI-20 和 TACI-21 截短片段构建的 TACI-Fc 融合蛋白阻断活性明显变弱。

表 6-2. TACI-Fc 融合蛋白功能活性及质谱断裂情况检测结果

融合蛋白	TACI 断裂分析	TACI-Fc 与 BAFF 结合的 EC50 (nM)	TACI-Fc 阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合的 IC50 (nM)
TACI-16Fc	无断裂	0.5987	2.224
TACI-17Fc	无断裂	0.9958	2.824
TACI-18Fc	无断裂	0.9924	3.256
TACI-19Fc	无断裂	4.988	2219
TACI-20Fc	无断裂	7.188	2361
TACI-21Fc	无断裂	9.798	2524

实施例 3: TACI 序列改造

30 TACI 蛋白在中性溶液中容易发生聚集, 为了进一步提高 TACI 的稳定性, 使

用 MOE (Molecular Operating Environment) 软件, 基于 TACI 的晶体结构 (PDB ID: 1XU1), 分析 TACI 片段中的疏水基团和离子基团, 对 TACI-9 的第 2、5、6、10、18、35 和/或 36 位氨基酸残基进行氨基酸替换, 减少 TACI 蛋白暴露的疏水基团和离子基团的面积, 降低 TACI 的聚集性, 提高 TACI 的稳定性, 但仍基本保留 TACI 的功能活性。改造的 TACI 片段的氨基酸序列如下:

- 5 >TACI-9-1 (TACI-9 含 L2T 替换)
STSCRKEQGKFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAYFCENKL
 SEQ ID NO: 18
- 10 >TACI-9-2 (TACI-9 含 R5S 突变)
 SLSC**S**KEQGKFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAYFCENKL
 SEQ ID NO: 19
- >TACI-9-3 (TACI-9 含 K6E 突变)
 SLSC**EE**QKGKFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAYFCENKL
 SEQ ID NO: 20
- 15 >TACI-9-4 (TACI-9 含 K6Q 突变)
 SLSC**QE**QKGKFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAYFCENKL
 SEQ ID NO: 21
- >TACI-9-5 (TACI-9 含 K10E 突变)
 SLSCRKEQ**GE**FYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAYFCENKL
 20 SEQ ID NO: 22
- >TACI-9-6 (TACI-9 含 L2R,D18T 突变)
SRSCRKEQGKFYDHLRL**T**CISCASICGQHPKQCAYFCENKL
 SEQ ID NO: 23
- >TACI-9-7 (TACI-9 含 L2R,D18A 突变)
 25 **SR**SCRKEQGKFYDHLRL**A**CISCASICGQHPKQCAYFCENKL
 SEQ ID NO: 24
- >TACI-9-8 (TACI-9 含 Y35A 突变)
 SLSCRKEQGKFYDHLRLDCISCASICGQHPKQ**CA**AFENKL
 SEQ ID NO: 25
- 30 >TACI-9-9 (TACI-9 含 L2R,D18T,Y35R 突变)
SRSCRKEQGKFYDHLRL**T**CISCASICGQHPKQ**CA****R**FCENKL
 SEQ ID NO: 26
- >TACI-9-10 (TACI-9 含 K6E,K10E 突变)
 SLSC**EE**Q**GE**FYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAYFCENKL
 35 SEQ ID NO: 27
- >TACI-9-11 (TACI-9 含 R5S,K6E,K10E 突变)
 SLSC**SE**EQ**GE**FYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAYFCENKL

SEQ ID NO: 28

>TACI-9-12 (TACI-9 含 L2T,Y35A 突变)
STSCRKEQGKFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAAFCENKL

SEQ ID NO: 29

5 >TACI-9-13 (TACI-9 含 L2T,F36Y 突变)
STSCRKEQGKFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAYYCENKL

SEQ ID NO: 30

>TACI-9-14 (TACI-9 含 L2T,Y35A,F36Y 突变)
STSCRKEQGKFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAAYCENKL

10 >TACI-9-15 (TACI-9 含 L2T,K6E,K10E,Y35A 突变)
STSCREEQGEFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAAFCENKL

SEQ ID NO: 32

备注：上述序列中，下划线部分为突变后氨基酸残基。

15 将上述 TACI-9 改造的 TACI 片段的 C 端与人 IgG 的 Fc (SEQ ID NO: 11) 的 N 端融合,构建 TACI-Fc 融合蛋白(构建的融合蛋白结构参见图 1),在 293E(EBNA1 基因修饰的人胚肾细胞)中转染表达,然后通过 Protein A 亲和纯化,获得含两条相同多肽的 TACI-Fc 融合蛋白。

检测构建的 TACI-Fc 融合蛋白结合 BAFF 的活性(实验方法见本披露的测试
20 例 1 的 Elisa 结合实验(包被抗原蛋白)),实验结果见表 7:

表 7. TACI-Fc 融合蛋白与 BAFF 结合活性

TACI-Fc 融合蛋白	TACI 序列突变位点	TACI-Fc 融合蛋白与 BAFF 结合的 EC50 (nM)
TACI-9Fc	无	0.4181
TACI-9-1Fc	L2T	0.3820
TACI-9-2Fc	R5S	0.2785
TACI-9-3Fc	K6E	0.2654
TACI-9-4Fc	K6Q	0.4695
TACI-9-5Fc	K10E	0.1456
TACI-9-6Fc	L2R,D18T	0.3672
TACI-9-7Fc	L2R,D18A	0.7273
TACI-9-8Fc	Y35A	0.1999
TACI-9-9Fc	L2R,D18T,Y35R	0.9368
TACI-9-10Fc	K6E,K10E	0.1199
TACI-9-11Fc	R5S,K6E,K10E	0.1950
TACI-9-12Fc	L2T, Y35A	0.1223
TACI-9-13Fc	L2T, F36Y	0.4327
TACI-9-14Fc	L2T, Y35A,F36Y	0.2233
TACI-9-15Fc	L2T,K6E,K10E,Y35A	0.0869

备注：表中突变位点为相对于 TACI-9 的氨基酸残基位点(自然顺序编号),例如“L2T”表示序列 SEQ ID NO: 10 的第 2 位(自然顺序编号)氨基酸残基由原“L”

突变为“T”。

另外，将部分纯化获得的 TACI-Fc 融合蛋白用超滤管置换到 pH 7.4 的 PBS 溶液中，通过溶液外观观察 TACI-Fc 融合蛋白溶液中是否存在沉淀。实验结果见表 8，实验结果表明，改造的 TACI 片段构建的 TACI-Fc 融合蛋白的溶液中没有沉淀，而

5 RCT-18 的 PBS 溶液中有沉淀产生。

表 8. TACI-Fc 融合蛋白在 PBS 溶液中的沉淀情况

TACI-Fc 融合蛋白	是否有沉淀
TACI-9-2Fc	否
TACI-9-3Fc	否
TACI-9-4Fc	否
TACI-9-5Fc	否
TACI-9-8Fc	否
TACI-9-10Fc	否
TACI-9-11Fc	否
TACI-9-12Fc	否
TACI-9-13Fc	否
TACI-9-14Fc	否
TACI-9-15Fc	否
RCT-18	是

另外，通过“18cProt/TrEMBL”系统，对部分 TACI-Fc 融合蛋白的 pI 值进行分析，分析结果见表 9：

10

表 9. TACI-Fc 融合蛋白 pI 值

TACI-Fc 融合蛋白	pI 值
TACI-9 Fc	8.3
TACI-9-3 Fc	7.3
TACI-9-5 Fc	7.3
TACI-9-10 Fc	5.7
TACI-9-11 Fc	5.0
TACI-9-15 Fc	5.7

另外，将 TACI-Fc 融合蛋白置换到 pH 7.4 的 PBS 溶液中，TACI-Fc 融合蛋白浓度为 40 mg/mL，置于 40℃恒温箱中进行加速稳定性测试，每周取样进行 SEC

纯度分析，实验结果见表 10，实验结果表明，稳定性表现最好的为 TACI-9-15Fc，40℃恒温条件下存放至少四周，TACI-Fc 融合蛋白纯度依然能保持在 94%以上。

表 10. TACI-Fc 融合蛋白在 PBS 溶液中的 SEC 纯度变化

样品名称		TACI-9Fc	TACI-9-10Fc	TACI-9-15Fc
SEC 纯度	开始时	97.14%	85.38%	96.52%
	1 周	59.18%	83.27%	95.66%
	2 周	57.13%	83.11%	95.19%
	3 周	55.99%	82.73%	95.00%
	4 周	48.37%	80.23%	94.54%

5 **实施例 4：TACI-Fc 融合蛋白的构建**

将 TACI-9-15 或其截短形式（TACI-9-15a、TACI-9-15b、TACI-9-15c）与人 IgG 的 Fc 融合，构建双价或四价的 TACI-Fc 融合蛋白，构建的 TACI-Fc 融合蛋白的结构示意图见图 1、图 2 及图 3。

 > TACI-9-15a 序列

10 STSCREEQGEFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAAFCE

SEQ ID NO: 33

 > TACI-9-15b 序列

STSCREEQGEFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAAFCE

SEQ ID NO: 34

15 > TACI-9-15c 序列

STSCREEQGEFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAAFCE

SEQ ID NO: 35

构建的 TACI-Fc 融合蛋白的全长序列如下

 >TACI-9-15Fc1 融合蛋白序列

20 STSCREEQGEFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAAFCENLEPKSSDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVSVMHEALHNHYTQKSLS

25 SPGK

SEQ ID NO: 36

 >TACI-9-15Fc2 融合蛋白序列

STSCREEQGEFYDHLRLDCISCASICGQHPKQCAAFCENLEPKSSDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVSVMHEALHNHYTQKSLS
SPGK

SEQ ID NO: 37

>TACI-9-15Fc3 融合蛋白序列

STSCREEQGEFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAAFCE**EPKSSDK**THTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
5 NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL
PGK

SEQ ID NO: 38

10 >TACI-9-15Fc4 融合蛋白序列

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN
15 HYTQKSLSLSPG**GGGS**STSCREEQGEFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAAFCE
NK

SEQ ID NO: 39

>TACI-9-15Fc5 融合蛋白序列

STSCREEQGEFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAAFCE**DK**THTCPPCPAPEAEGA
20 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 40

25 >TACI-9-15Fc6 融合蛋白序列

STSCREEQGEFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAAFCE**EPKSSDK**THTCPPCPAP
EAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
30 TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
K

SEQ ID NO: 41

>TACI-9-15Fc7 融合蛋白序列

STSCREEQGEFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAAFCE**EPKSSDK**THTCPPCPAP
35 EAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
GGGSSTSCREEQGEFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAAFCE**QK**

SEQ ID NO: 42

>TACI-9-15Fc8 融合蛋白序列

STSCREEQGEFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAAFCE**EPKSSDK**THTCPPCPAP
EAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
5 NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
GGGSSTSCREEQGEFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAAFCE**SK**

SEQ ID NO: 43

10 >TACI-9-15Fc9 融合蛋白序列

STSCREEQGEFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAAFCE**EPKSSDK**THTCPPCPAP
EAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
15 TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
GGGSSTSCREEQGEFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAAFCE**SS**

SEQ ID NO: 44

备注：上述 TACI-Fc 融合蛋白全长序列中，其中单下划线部分为 TACI 序列，
波浪线部分为人 IgG 的 Fc 序列，粗体字部分为连接子序列，斜体字部分为保护氨
20 基酸。

示范性的 Fc 序列：

>人 IgG 的 Fc 序列 1

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNATKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
25 ALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 61

>人 IgG 的 Fc 序列 2

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNATKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
30 ALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPG

35 SEQ ID NO: 62

>人 IgG 的 Fc 序列 3

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNATKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

ESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO: 63。

示范性的连接子序列:

5 >连接子序列 1

EPKSS SEQ ID NO: 64

>连接子序列 2

GGGS SEQ ID NO: 65

>连接子序列 3

10 GGGGS SEQ ID NO: 66

>连接子序列 4

GGGSGGGSGGGGS SEQ ID NO: 67。

实施例 5: TACI 抗体融合蛋白的构建

15 将抗 IL-12/IL-23 的 p40 亚基的抗体优特克单抗 (Ustekinumab) 的轻链和/或重链与 TACI 多肽融合, 构建 TACI 抗体融合蛋白 TACI- Mab。

Ustekinumab 抗体序列如下所示:

>Ustekinumab 重链可变区

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWLGWVRQMPGKGLDWIGIMSP
20 VDSDIRYSPSFQGGQVTMSVDKSITTAYLQWNSLKASDTAMYCYCARRRPGQGYF
DFWGQGTTLVTVSS

SEQ ID NO: 45

>Ustekinumab 轻链可变区

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQ
25 SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNIYPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 46

>Ustekinumab 重链

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWLGWVRQMPGKGLDWIGIMSP
VDSDIRYSPSFQGGQVTMSVDKSITTAYLQWNSLKASDTAMYCYCARRRPGQGYF
30 DFWGQGTTLVTVSSSSTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP
35 SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 47

>Ustekinumab 轻链

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLO
SGVPSRFGSGSGTDFLTITSSLOPEDFATYYCQQYNIYPYTFGQGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

SEQ ID NO: 48

备注：上述 Ustekinumab 的重链和轻链序列中，其中双下划线部分为可变区序列，无下划线部分为恒定区序列。

Ustekinumab 的 CDR 序列见表 11：

表 11. Ustekinumab 抗体 CDR 序列

LCDR1	RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 49)	HCDR1	TYWLG (SEQ ID NO: 52)
LCDR2	AASSLQS (SEQ ID NO: 50)	HCDR2	IMSPVDSDIRYSPSFQG (SEQ ID NO: 53)
LCDR3	QQYNIYPYT (SEQ ID NO: 51)	HCDR3	RRPGQGYDFD (SEQ ID NO: 54)

10

备注：上述 CDR 是根据 Kabat 编号系统确认的。

将 TACI 与 Ustekinumab 重链和/或轻链融合，构建抗体融合蛋白 TACI-Mab1（结构示意图见图 4）和 TACI-Mab2（结构示意图见图 5），其序列如下：

> TACI-Mab1 重链

15 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWLGWVRQMPGKGLDWIGIMSP
VDSDIRYSPSFQGVQVMSVSKSITAYLQWNSLKASDTAMYYCARRRPGQGYF
DFWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
KVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH
20 EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSSTSCREEQGEFYDHLLRDCISCASICGQHPKQ
CAAFCENK

25

SEQ ID NO: 55

> TACI-Mab1 轻链

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLO
SGVPSRFGSGSGTDFLTITSSLOPEDFATYYCQQYNIYPYTFGQGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
30 QDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 56

> TACI-Mab2 重链

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWLGWVRQMPGKGLDWIGIMSP
VDSDIRYSPSFQGVQVMSVSKSITAYLQWNSLKASDTAMYYCARRRPGQGYF

DFWGQGT~~LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT~~SW
 NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV~~VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK~~VDK
 KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH
 EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
 5 KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
 HEALHNHYTQKSLSLSPG**GGGS**STSCREEQGEFYDHLLRDCISCASICGQHPKQ
CAAFCENK

SEQ ID NO: 57

10 > TACI-Mab2 轻链

STSCREEQGEFYDHLLRDCISCASICGQHPKQCAAFCENK**LGGGGSGGGGSGG**
GGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQOKPEKAPKSLIYAAS
 SLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQYNIYPYTFGQGTKLEIKR
 TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES
 15 VTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 58

备注：上述抗体融合蛋白的轻链和重链序列中，单下划线部分为 TACI 序列，
 双下划线部分为可变区序列，波浪线部分为恒定区序列，粗体字部分为连接子序
 列。

20 已上市的抗 BAFF 抗体贝利尤单抗（Belimumab）作为对照抗体，Belimumab
 抗体序列参见 WO2015173782A1，具体如下：

> Belimumab 重链

QVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFNNNAINWVRQAPGQGLEWMGGIIP
 MFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASMESSLRSEDTAVYYCARSRLDLLFPH
 25 HALSPWGRGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
 VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK
 VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVD
 VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
 KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG
 30 FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC
 SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 59

>Belimumab 轻链

SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQKPGQAPVLVIYGKNNRP
 35 SGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWVFGGGTELTVLG
 QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETT
 TPSKQSNKYYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SEQ ID NO: 60。

测试例 1: Elisa 结合实验

一、Elisa 结合实验（包被抗原蛋白）

通过 Elisa 的方法（包被抗原蛋白）检测抗体或融合蛋白对 BAFF、APRIL 和 IL-12/23 p40 结合活性。具体方法如下：

5 用 pH7.4 的 PBS (源培生物, B320) 缓冲液将 BAFF (Sino biological, 10056-HNCH)、APRIL (R&D Systems, 5860-AP-010/CF) 或 IL-12/23 p40 (Sino biological, 10052-H08H) 蛋白稀释至 1 $\mu\text{g/mL}$, 以 100 μL /孔的体积加入 96 孔酶标板 (Corning, 3590) 中, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育。弃去液体后, 每孔加入 300 μL 用 PBS 稀

10 释的 5% 脱脂牛奶 (BD, 232100) 进行封闭, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 小时。封闭结束后, 弃去封闭液, 并用 PBST 缓冲液 (pH7.4 PBS 含 0.1% tween-20) 洗板 3 次后, 每孔加入 100 μL 梯度稀释的待测抗体或融合蛋白溶液, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 小时。孵育结束后用 PBST 洗板 3 次, 每孔加入 100 μL 鼠抗人 IgG(H+L)(Jackson ImmunoResearch, 209-035-088, 1:8000 稀释), 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 小时。用 PBST 洗板 3 次后, 每孔加入 100

15 μL TMB 显色底物 (KPL, 5120-0077), 室温孵育 10 至 15 分钟, 每孔加入 50 μL 1 M H_2SO_4 终止反应, 用酶标仪读取在 450 nm 处的吸收值, 用软件拟合出抗体与抗原的结合曲线, 计算出 EC_{50} 值。实验结果见下表 12 至表 14, 实验结果表明, TACI-Mab1 和 TACI-Mab2 对 BAFF、APRIL 和 IL-12/23 p40 均具有良好的结合活性, 且与 BAFF 结合的 EC_{50} 值小于 RCT-18, 与 IL-12/23 p40 结合的 EC_{50} 值小于 Ustekinumab。

表 12. 抗体融合蛋白与 BAFF 结合实验结果

样品	与 BAFF 结合的 EC50 (nM)
TACI-Mab1	3.748
TACI-Mab2	4.788
RCT-18	6.713
Ustekinumab	不结合

表 13. 抗体融合蛋白与 APRIL 结合实验结果

样品	与 APRIL 结合的 EC50 (nM)
TACI-Mab1	1.844
TACI-Mab2	1.291
Belimumab	不结合
Ustekinumab	不结合

表 14. 抗体融合蛋白与 IL-12/23 p40 结合实验结果

样品	与 IL-12/23 p40 结合的 EC50 (nM)
TACI-Mab1	0.6187
TACI-Mab2	0.5421
RCT-18	不结合
Belimumab	不结合
Ustekinumab	0.7856

二、Elisa 结合实验（包被待测样品）

通过 Elisa 的方法（包被待测融合蛋白样品）检测 TACI 融合蛋白对 BAFF 和 APRIL 的结合活性。具体方法如下：

用 pH 7.4 的 PBS（源培生物，B320）缓冲液将待测样品稀释至 2μg/mL，以 100 μL/孔的体积加入 96 孔酶标板（Corning，3590）中，4℃过夜孵育。弃去液体后，每孔加入 300μL 用 PBS 稀释的 5%脱脂牛奶（BD，232100）进行封闭，37℃孵育 2 小时。封闭结束后，弃去封闭液，并用 PBST 缓冲液（pH7.4 PBS 含 0.1% tween-20）洗板 3 次后，每孔加入 100 μL 梯度稀释的 BAFF（ACROBiosystems，BAF-H5248）或 APRIL（R&D Systems，5860-AP-010/CF）溶液，于 37℃孵育 1 小时。孵育结束后用 PBST 洗板 3 次。检测与 BAFF 的结合时，每孔加入 100μL Anti-His-HRP（Sino biological，105327-MM02T-H，1:2000 稀释）；检测与 APRIL 的结合时，每孔加入 100μL 抗 HA-HRP（Abcam，ab1190，1:4000 稀释），37℃孵育 1 小时。用 PBST 洗板 3 次后，每孔加入 100 μL TMB 显色底物（KPL，5120-0077），室温孵育 10 至 15 分钟，每孔加入 50 μl 1 M H₂SO₄ 终止反应，用酶标仪读取在 450 nm 处的吸收值，用软件拟合出抗体与抗原的结合曲线，计算出 EC₅₀ 值。实验结果见下表 15，实验结果表明，本披露构建的 TACI-Fc 融合蛋白结合 BAFF 的活性明显强于对照 RCT-18。

表 15. TACI-Fc 融合蛋白结合 BAFF 实验结果

TACI 融合蛋白	与结合 BAFF 的 EC ₅₀ (nM)
TACI-9-15Fc1	7.023
TACI-9-15Fc2	8.801
TACI-9-15Fc3	9.072
TACI-9-15Fc4	20.09
TACI-9-15Fc5	8.889
TACI-9-15Fc6	8.477
TACI-9-15Fc7	8.952
TACI-9-15Fc8	10.48
TACI-9-15Fc9	8.940
RCT-18	96.2

测试例 2：配体和受体的阻断实验

通过 Elisa 方法检测抗体和融合蛋白对 BAFF/BAFF-R、BAFF/BCMA、BAFF/TACI、APRIL/BCMA、APRIL/TACI、p40/IL-12Rβ1 等的受体与配体的阻断活性。具体方法如下：

用 pH7.4 的 PBS（源培生物，B320）缓冲液将受体蛋白稀释至 2 μg/mL，以 100 μL/孔的体积加入 96 孔酶标板（Corning，3590）中，4℃过夜孵育。弃去液体后，每孔加入 200 μL 1% Casein 封闭液（Thermo，37528）进行封闭，37℃孵育 2 小时。封闭结束后，弃去封闭液，并用 PBST 缓冲液（pH7.4 PBS 含 0.1% tween-20）洗板 3 次后备用。将固定浓度的生物素（Biotin）标记的配体蛋白与梯度稀释的抗

体或融合蛋白混合后 37℃预孵育 30 分钟后加入封闭好的酶标板中，37℃孵育 1.5 小时。孵育结束后用 PBST 洗板 3 次，每孔加入 100 μL streptavidin-HRP(Invitrogen, 434323, 1:4000 稀释)，37℃孵育 1 小时。去上清，用 PBST 洗板 3 次后每孔加入 100 μL TMB 显色底物 (KPL, 5120-0077)，室温孵育 10 至 15 分钟，每孔加入 50 μl 1 M H₂SO₄ 终止反应，用酶标仪读取在 450 nm 处的吸收值，用软件拟合出抑制配体和受体结合的曲线，计算出 IC₅₀ 值。

本测试例中所用配体和受体蛋白的来源信息如下：BAFF (Sino biological, 10056-HNCH)，APRIL (R&D Systems, 5860-AP-010/CF)，p40 (Sino biological, 10052-H08H)，BAFF-R (Sino biological, 16079-H02H)，BCMA (Sino biological, 10620-H02H)，TACI(ACROBiosystems, TAI-H5256)，IL-12Rβ1 (ACROBiosystems, ILB-H5255)。

本披露的融合蛋白阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合功能检测实验结果见下表 16，实验结果表明，本披露构建的 TACI 融合蛋白阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合的活性强于对照 RCT-18。

表 16. TACI 融合蛋白阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合实验结果

TACI 融合蛋白	阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合的 IC ₅₀ (nM)
TACI-9-15Fc1	2.621
TACI-9-15Fc2	1.355
TACI-9-15Fc3	1.066
TACI-9-15Fc4	1.232
TACI-9-15Fc5	1.439
TACI-9-15Fc6	1.872
TACI-9-15Fc7	1.379
TACI-9-15Fc8	1.559
TACI-9-15Fc9	1.185
RCT-18	19.24

本披露的抗体融合蛋白阻断 BAFF 与 BAFF-R 结合实验结果见图 6，阻断 BAFF 与 BCMA 结合实验结果见表 17，阻断 BAFF 与 TACI 结合实验结果见表 18，阻断 APRIL 与 BCMA 结合实验结果见表 19，阻断 APRIL 与 TACI 结合实验结果见表 20，阻断 p40 与 IL-12Rβ1 结合实验结果见表 21。实验结果表明，本披露构建的 TACI 抗体融合蛋白能有效阻断相关受体与其配体的结合，且阻断 BAFF 与 BAFF-R、BAFF 与 BCMA、BAFF 与 TACI、APRIL 与 BCMA、APRIL 与 TACI 的结合活性强于对照；且本披露构建的 TACI 抗体融合蛋白能有效阻断 p40 与 IL-12Rβ1 结合，而 RCT-18、Belimumab 无该阻断活性。

表 17. TACI 抗体融合蛋白阻断 BAFF 与 BCMA 结合实验结果

样品	阻断 BAFF 与 BCMA 结合 IC ₅₀ (nM)
TACI-Mab1	0.1429

TACI-Mab2	0.1947
RCT-18	0.9725
Belimumab	0.4584
Ustekinumab	无阻断活性

表 18. TACI 抗体融合蛋白阻断 BAFF 与 TACI 结合实验结果

样品	阻断 BAFF 与 TACI 结合 IC50 (nM)
TACI-Mab1	0.2525
TACI-Mab2	0.1841
RCT-18	0.7788
Belimumab	0.5666
Ustekinumab	无阻断活性

表 19. TACI 抗体融合蛋白阻断 APRIL 与 BCMA 结合实验结果

样品	阻断 APRIL 与 BCMA 结合 IC50 (nM)
TACI-Mab2	2.431
RCT-18	25.12
Belimumab	无阻断活性
Ustekinumab	无阻断活性

5

表 20. TACI 抗体融合蛋白阻断 APRIL 与 TACI 结合实验结果

样品	阻断 APRIL 与 TACI 结合 IC50 (nM)
TACI-Mab2	0.8334
RCT-18	3.297
Belimumab	无阻断活性
Ustekinumab	无阻断活性

表 21. TACI 抗体融合蛋白阻断 p40 与 IL-12Rβ1 结合实验结果

样品	阻断 p40 与 IL-12Rβ1 结合 IC50 (nM)
TACI-Mab1	2.063
TACI-Mab2	2.085
RCT-18	无阻断活性
Belimumab	无阻断活性
Ustekinumab	2.077

10 **测试例 3: B 细胞增殖实验**

通过 B 细胞增殖实验检测抗体和融合蛋白是否能抑制 BAFF 和 APRIL 诱导的 B 细胞增殖。实验方法如下:

15 取小鼠脾脏进行研磨, 4℃ 离心 5 分钟收集下层细胞, 用洗涤溶液 (PBS+2% FBS+2 mM EDTA) 清洗一次并离心, 去上清后加入 RBC 裂解缓冲液 (Invitrogen, 00-4333-57), 室温静置 5 分钟至红细胞完全裂解。再次离心并重悬细胞进行计数。细胞悬液用 B Cell Isolation Kit (Miltenyi Biotec, 130-090-862) 进行分选, 将分离

的 B 细胞用 RPMI 1640 Medium (Gibco, 11875119)+ 10% FBS (Gibco, 10099-141) + 50 μM 2-mercaptoethanol (Sigma-Aldrich, M6250) 重悬并计数, 细胞铺在 96 孔细胞板 (Costar, 3903) 中备用。将 BAFF (R&D Systems, 7537-BF) 或 APRIL (R&D Systems, 5860-AP) 蛋白稀释至固定浓度, 并加入梯度稀释的抗体或融合蛋白混匀, 37℃ 预孵育 30 分钟后加入 96 孔细胞板中, 37℃ 细胞培养箱中培养 48 小时。取出细胞培养板, 每孔加入 50 μL Celltiter Glo 检测液 (Promega, G7573), 室温孵育 10 分钟, 用酶标仪检测生物发光信号, 将检测结果用软件拟合出抑制曲线, 计算出 IC50 值。

本披露的 TACI 抗体融合蛋白抑制 BAFF 诱导 B 细胞增殖的活性实验结果见下表 22, 实验结果表明, 本披露的 TACI-Mab1 和 TACI-Mab2 抑制 BAFF 诱导 B 细胞增殖的活性最强, Belimumab 活性次之, RCT-18 较弱, Ustekinumab 无抑制 BAFF 诱导 B 细胞增殖活性。

表 22.TACI 抗体融合蛋白抑制 BAFF 诱导 B 细胞增殖实验结果

样品	抑制 BAFF 诱导 B 细胞增殖的 IC50 (nM)
TACI-Mab1	0.06715
TACI-Mab2	0.05711
RCT-18	0.386
Belimumab	0.1464
Ustekinumab	无抑制活性

本披露的 TACI 抗体融合蛋白抑制 APRIL 诱导 B 细胞增殖的活性实验结果见下表 23, 实验结果显示, 本披露的 TACI-Mab2 抑制 APRIL 诱导 B 细胞增殖的活性与 RCT-18 相比活性提升了 12.2 倍, 而 Belimumab、Ustekinumab 无抑制 APRIL 诱导 B 细胞增殖活性。

表 23. TACI 抗体融合蛋白抑制 APRIL 诱导 B 细胞增殖实验结果

样品	抑制 APRIL 诱导 B 细胞增殖的 IC50 (nM)
TACI-Mab2	0.08921
RCT-18	1.087
Belimumab	无抑制活性
Ustekinumab	无抑制活性

本披露的 TACI-Fc 融合蛋白抑制 BAFF 或 APRIL 诱导 B 细胞增殖活性实验结果见下表 24 和表 25, 实验结果表明, 本披露构建的 TACI 融合蛋白能有效抑制 BAFF 诱导的 B 细胞增殖活性, 也能有效抑制 APRIL 诱导的 B 细胞增殖活性。

表 24. TACI-Fc 融合蛋白抑制 BAFF 诱导 B 细胞增殖实验结果

TACI 融合蛋白	抑制 BAFF 诱导 B 细胞增殖的 IC50 (nM)
RCT-18	0.3815
TACI-9-15Fc2	0.054
TACI-9-15Fc6	0.04808
TACI-9-15Fc7	0.02436

TACI-9-15Fc8	0.02911
TACI-9-15Fc9	0.02623

表 25. TACI-Fc 融合蛋白抑制 APRIL 诱导 B 细胞增殖实验结果

TACI 融合蛋白	抑制 APRIL 诱导 B 细胞增殖的 IC50(nM)
TACI-9-15Fc2	0.2305
TACI-9-15Fc6	0.1400
TACI-9-15Fc7	0.004805
TACI-9-15Fc8	0.004767
TACI-9-15Fc9	0.009472

测试例 4: IFN γ 和 IL-17 分泌实验

- 5
- 通过 IFN γ 和 IL-17 分泌实验检测抗体和融合蛋白是否能抑制 IL-12 和 IL-23 诱导的 T 细胞分化情况。实验方法如下：
在 96 孔板（Corning, 3599）中每孔加入 100 μ L 2 μ g/ml 抗鼠 CD3 抗体（BioLegend, 100238）和 2 μ g/ml 抗鼠 CD28 抗体（BioLegend, 102116），37 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时，用 PBS 洗涤 2 次后备用。取小鼠脾脏进行研磨，4 $^{\circ}$ C 离心 5 分钟收集下层细胞，用洗涤溶液（PBS+2% FBS+2 mM EDTA）清洗一次并离心，去上清后加入 RBC 裂解缓冲液（Invitrogen, 00-4333-57），室温静置 5 分钟至红细胞完全裂解。再次离心并重悬细胞进行计数。细胞悬液用 Mouse CD4 Cells Kit（Invitrogen, 11415D）进行分选，将分离的 CD4+ T 细胞用培养基 RPMI 1640 Medium（Gibco, 11875119）+ 10% FBS（Gibco, 10099-141）重悬并计数备用。
10
15 检测 IL-12 诱导的 T 细胞分化时，在 T 细胞中加入 20 μ g/ml 抗鼠 IL-4（BioLegend, 504122）后将细胞悬液铺在包被好的 96 孔板中。将固定浓度的嵌合 IL-12（人 p40-鼠 p35）蛋白与梯度稀释的抗体或融合蛋白混匀，37 $^{\circ}$ C 预孵育 1 小时后加入 96 孔板中，37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱中培养 48 小时。取出 96 孔板，1000 rpm 离心 3 分钟，收集上清液，用 Mouse IFN-gamma DuoSet ELISA Kit（R&D Systems, DY485）检测上清中 IFN γ 的含量。
20
检测 IL-23 诱导的 T 细胞分化时，将细胞悬液铺在包被好的 96 孔板中，将固定浓度的 IL-23（R&D Systems, 1290-IL-010）与梯度稀释的抗体或融合蛋白混合预孵育 1 小时后加入 96 孔板中，37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱中培养 48 小时。取出 96 孔板，1000 rpm 离心 3 分钟，收集上清液，用 Mouse IL-17 DuoSet ELISA Kit（R&D Systems, DY421）检测上清中 IL-17 的含量。
25
本披露的 TACI 抗体融合蛋白抑制 IL-23 诱导 IL-17 分泌实验结果见下表 26，实验结果表明，RCT-18 和 Belimumab 无抑制 IL-23 诱导 IL-17 分泌功能，而本披露 TACI-Mab1 和 TACI-Mab2 能有效抑制 IL-23 诱导 IL-17 分泌，IC50 值小于 Ustekinumab。
30

表 26.TACI 抗体融合蛋白抑制 IL-23 诱导 IL-17 分泌实验结果

样品	抑制 IL-23 诱导 IL-17 分泌的 IC50 (nM)
TACI-Mab1	1.693
TACI-Mab2	2.339
RCT-18	无抑制活性
Belimumab	无抑制活性
Ustekinumab	2.487

本披露的 TACI 抗体融合蛋白抑制 IL-12 诱导 IFN γ 分泌实验结果见下表 27，实验结果表明，本披露 TACI-Mab1 和 TACI-Mab2 能有效抑制 IL-12 诱导 IFN γ 分泌，而 RCT-18 和 Belimumab 均没有抑制 IL-12 诱导 IFN γ 分泌活性。

表 27.TACI 抗体融合蛋白抑制 IL-12 诱导 IFN γ 分泌实验结果

样品	抑制 IL-12 诱导 IFN γ 分泌的 IC50 (nM)
TACI-Mab1	3.067
TACI-Mab2	9.306
RCT-18	无抑制活性
Belimumab	无抑制活性

测试例 5：亲和力测试

用生物传感芯片 Protein A (GE, 29127556) 亲和捕获一定量的待测样品，然后于芯片表面流经一系列浓度梯度的抗原，利用 Biacore (GE, 8K) 实时检测反应信号从而获得结合和解离曲线。在每个循环解离完成后，用 10 mM 甘氨酸-盐酸溶液 pH 1.5 (GE, BR-1003-54) 将生物芯片洗净再生。实验数据用 BIAevaluation version 4.1, GE 软件以 1:1 模型进行拟合，从而得出亲和力数值。本测试中用到的相关抗原蛋白如下：人 IL-23 (CT048-H08H, Sino biological)，人 IL-12 (CT050-H08H, Sino biological)，人 BAFF (10056-HNCH, Sino biological)，人 APRIL (5860-AP-010/CF, R&D Systems)，食蟹猴 P40 (10215-CL, R&D Systems)，食蟹猴 BAFF (BAF-CM412B, Kactus)，食蟹猴 APRIL (APR-CM410B, Kactus)，鼠 BAFF (BAF-M521y, Acro Biosystems)，鼠 APRIL (7907-AP/CF, R&D Systems)。

本披露构建的 TACI 抗体融合蛋白实验结果见下表 28 至表 36，实验结果表明，本披露构建的抗体融合蛋白能以高亲和力与人 IL-23、人 IL-12、人 BAFF、人 APRIL、食蟹猴 P40、食蟹猴 BAFF、食蟹猴 APRIL、鼠 BAFF 以及鼠 APRIL 结合。其中对人 BAFF 和鼠 BAFF 的亲和力要强于对照 RCT-18 和 belimumab，并且对食蟹猴 BAFF 和鼠 BAFF 有交叉结合活性。

表 28. TACI 抗体融合蛋白与人 BAFF 蛋白的 Biacore 检测实验结果

名称	人 BAFF		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
TACI-Mab1	1.01E+06	9.72E-05	9.66E-11

TACI-Mab2	2.24E+06	5.32E-05	2.38E-11
RCT-18	9.64E+05	1.80E-04	1.86E-10
Belimumab	1.64E+06	1.71E-04	1.05E-10

表 29. TACI 抗体融合蛋白与鼠 BAFF 蛋白的 Biacore 检测实验结果

名称	鼠 BAFF		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
TACI-Mab1	1.27E+06	9.53E-05	7.49E-11
TACI-Mab2	2.01E+06	6.56E-05	3.26E-11
RCT-18	7.40E+05	8.98E-05	1.21E-10
Belimumab	1.38E+06	1.44E-04	1.04E-10

表 30. TACI 抗体融合蛋白与食蟹猴 BAFF 蛋白的 Biacore 检测实验结果

名称	食蟹猴 BAFF		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
TACI-Mab1	3.03E+05	7.81E-05	2.58E-10
TACI-Mab2	6.33E+05	5.91E-05	9.33E-11
Belimumab	4.81E+05	2.21E-04	4.59E-10

5

表 31. TACI 抗体融合蛋白与人 APRIL 蛋白的 Biacore 检测实验结果

名称	人 APRIL		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
TACI-Mab1	2.14E+07	4.88E-04	2.29E-11
TACI-Mab2	1.16E+07	1.72E-04	1.48E-11
RCT-18	2.34E+07	6.58E-04	2.81E-11

表 32. TACI 抗体融合蛋白与食蟹猴 APRIL 蛋白的 Biacore 检测实验结果

名称	食蟹猴 APRIL		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
TACI-Mab1	7.27E+06	2.35E-04	3.23E-11
TACI-Mab2	3.95E+06	1.31E-04	3.31E-11
RCT-18	1.16E+07	5.07E-04	4.36E-11

10

表 33. TACI 抗体融合蛋白与鼠 APRIL 蛋白的 Biacore 检测实验结果

名称	鼠 APRIL		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
TACI-Mab1	3.75E+06	2.89E-05	7.70E-12
TACI-Mab2	3.19E+06	2.62E-05	8.21E-12
RCT-18	2.52E+06	1.69E-05	6.71E-12

表 34. TACI 抗体融合蛋白与人 IL-23 蛋白的 Biacore 检测实验结果

名称	人 IL-23		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
TACI-Mab1	1.24E+06	8.83E-05	7.10E-11
TACI-Mab2	1.14E+06	1.03E-04	9.00E-11
Ustekinumab	1.26E+06	1.07E-04	8.44E-11

表 35. TACI 抗体融合蛋白与食蟹猴 p40 蛋白的 Biacore 检测实验结果

名称	食蟹猴 p40		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
TACI-Mab1	8.91E+05	2.38E-04	2.67E-10
Ustekinumab	9.31E+05	2.36E-04	2.54E-10

5 表 36. TACI 抗体融合蛋白与人 IL-12 蛋白的 Biacore 检测实验结果

Abs	人 IL-12		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
TACI-Mab1	4.97E+06	2.11E-04	4.24E-11
Ustekinumab	4.66E+06	1.80E-04	3.87E-11

本披露代表性 TACI-Fc 融合蛋白与人 BAFF 和人 APRIL 的亲合力实验结果见表 37 和表 38, 实验结果表明本披露构建的 TACI-9Fc、TACI-9-10Fc、TACI-9-15Fc 均能与 人 BAFF 和人 APRIL 以高亲合力结合。

10

表 37. TACI-Fc 融合蛋白与人 BAFF 蛋白的 Biacore 检测实验结果

名称	人 BAFF		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
TACI-9Fc	2.17E+05	1.62E-05	7.48E-11
TACI-9-10Fc	2.34E+05	1.89E-05	8.10E-11
TACI-9-15Fc	2.74E+05	2.12E-05	7.73E-11

表 38. TACI-Fc 融合蛋白与人 APRIL 蛋白的 Biacore 检测实验结果

名称	人 BAFF		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
TACI-9Fc	1.15E+07	2.07E-04	1.80E-11
TACI-9-10Fc	8.75E+06	1.12E-04	1.28E-11
TACI-9-15Fc	7.67E+06	9.60E-05	1.25E-11

15

测试例 6：体内活性评价

用嵌合 IL-12（人 p40-鼠 p35），人 IL-23 和人 BAFF 三种蛋白同时刺激小鼠，诱导小鼠体内产生 IFN γ 、TNF α 、IL-22 和 IgA 等细胞因子，通过检测这些细胞因子的水平来评价抗体或融合蛋白的体内活性。

5 SPF 级雌性 C57BL/6 小鼠（浙江维通利华实验动物技术有限公司，8 周龄），将小鼠进行随机分组，每组 5 只，通过腹腔混合注射嵌合 IL-12（2 μ g/小鼠）、人 IL-23（2 μ g/小鼠）和人 BAFF（1 mg/kg）三种蛋白，每天注射一次，持续四天。分别在第一天和第三天注射蛋白前一小时腹腔注射待测样品（Ustekinumab 8mpk，RCT-18 4mpk，RCT-18 8mpk，Belimumab 8mpk，Belimumab 16mpk，TACI-Mab1 10 4.15mpk，TACI-Mab1 8.3 mpk，TACI-Mab2 4.45mpk，TACI-Mab2 8.9mpk）。第五天收集各组小鼠血浆样本，分别检测 IFN γ 、TNF α 、IL-22 和 IgA 的水平。本测试例中所用的检测试剂盒来源信息如下：Mouse IFN-gamma Quantikine ELISA Kit（R&D Systems，MIF00），Mouse TNF-alpha Quantikine ELISA Kit（R&D Systems，MTA00B），Mouse/Rat IL-22 Quantikine ELISA Kit（R&D Systems，M2200），Mouse 15 IgA ELISA Kit（Abcam，ab157717）。RCT-18、belimumab 和 Ustekinumab 作为阳性对照，PBS 作为阴性对照。TACI-Mab1 8.3 mpk、TACI-Mab2 8.9mpk、Belimumab 8mpk 的药物摩尔浓度与 RCT-18 4mpk 相同；TACI-Mab1 8.3 mpk、TACI-Mab2 8.9mpk 的药物摩尔浓度与 Ustekinumab 8mpk 相同。

实验结果见图 7 至图 10，实验结果表明，本披露的 TACI-Mab1 和 TACI-Mab2 20 抗体融合蛋白能显著抑制 TNF α 、IFN γ 、IL-22 的分泌，而 RCT-18 和 Belimumab 无法抑制 TNF α 、IFN γ 、IL-22 的分泌。另外，TACI-Mab1 和 TACI-Mab2 抗体融合蛋白在两个剂量下都能显著的抑制 IgA 的分泌，并且抑制活性要强于 RCT-18 和 Belimumab，而 Ustekinumab 不能抑制 IgA 的分泌。

25 测试例 7. 大鼠体内药代动力学实验

用 SD 大鼠进行体内药代动力学测试。雄性 SD 大鼠（浙江维通利华实验动物 30 技术有限公司）随机分组，每组 4 只，静脉注射给药，给药组于给药前及给药后 5 分钟、8 小时、24 小时、48 小时、84 小时、9 天、10 天、14 天、21 天、28 天采集全血 0.2 mL，不加抗凝，取血后在 4℃放置 30 分钟，1000 g 离心 15 分钟，取上层血清置于 EP 管中，于 -80℃保存。用 ELISA 法检测血清中的血药浓度，用 Winnolin 软件计算受试药物的药代动力学参数和体内半衰期。

本披露的 TACI 融合蛋白大鼠体内药代动力学实验结果见表 39，实验结果表明，本披露的 TACI 融合蛋白具备较好的稳定性，体内半衰期超过 4 天。

表 39.TACI 融合蛋白大鼠体内药代动力学实验结果

样品名称	TACI-9-15Fc1	TACI-9-15Fc2	TACI-9-15Fc3
剂量 iv.	5 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg
半衰期	4.2 $\pm$ 0.3 天	4.4 $\pm$ 0.8 天	4.2 $\pm$ 0.3 天

本披露的 TACI 抗体融合蛋白大鼠体内药代动力学实验结果见表 40，实验结果表明，本披露的 TACI-Mab1 和 TACI-Mab2 抗体融合蛋白在大鼠中的半衰期很好，Ustekinumab 端、TACI 端和完整分子三个部分的半衰期都在 9 天左右，而 RCT-18 的半衰期比较短，只有 0.7 天左右。

表 40.TACI 抗体融合蛋白大鼠体内药代动力学实验结果

样品名称	TACI-Mab1	TACI-Mab2	RCT-18
剂量 iv.	12.5 mg/kg	13.5 mg/kg	6 mg/kg
Ustekinumab 端	9.8 ± 0.6 天	9.2 ± 2.6 天	/
TACI 端	9.0 ± 1.2 天	9.4 ± 1.4 天	0.7 ± 0.06 天
完整分子	9.3 ± 1.2 天	9.1 ± 1.8 天	/

测试例 8：血浆稳定性测试

将无菌过滤的待测样品加入人血浆中，终浓度为 0.1 mg/mL，37℃ 孵育 14 天，
10 分别在第 0 天、第 7 天和第 14 天将待测样品取出-80℃ 保存备用。取 100 μL Dynabeads M-280 Streptavidin (Invitrogen, 11206D) 用 1 mL PBST (PBS + 0.05% Tween-20) 洗三次后加入 1 mL 0.1% Blocker™ Casein (Thermo, 37528) (含 8 μg 生物素标记的 BAFF)，37℃，上下颠倒混匀孵育 60 分钟。将包被好的 Dynabeads M-280 磁珠用 1 mL PBST 洗 3 次，加入 50 μL 待测样品(样品用 1 mL 0.1% Blocker™
15 Casein 稀释)，37℃ 上下颠倒混匀 120 分钟捕获血浆中的样品。将磁珠用 PBST 洗三次，用 PBS 洗两次，用超纯水洗两次，加入 30 μL Pierce™ IgG 洗脱液 (Thermo Scientific, 21004)，室温上下颠倒混匀 6 分钟。取洗脱下来的溶液加入 1 M tris-HCl pH 8.0 进行中和并旋干水分，加入 8M 盐酸胍，70℃ 孵育 10 分钟后加入超纯水稀释，加入脱糖酶 PNGase F (Biolabs, P0704L)，37℃ 孵育 2 小时后加入 DTT，70℃
20 孵育 10 分钟，用质谱对样品进行断裂分析。

血浆稳定性测试结果见下表 41，实验结果表明，本披露的 TACI-Mab1、TACI-Mab2 抗体融合蛋白在人的血浆中没有检测到断裂，而 RCT-18 随着孵育时间延长，断裂的片段逐渐增多，到第 14 天时，断裂分子占比已超过 60%。

表 41. TACI 融合蛋白血浆稳定性检测

天数	TACI-Mab1	TACI-Mab2	RCT-18
第 0 天	未检测到断裂	未检测到断裂	TACI 断裂占比 17.51%
第 7 天	未检测到断裂	未检测到断裂	TACI 断裂占比 27.10%
第 14 天	未检测到断裂	未检测到断裂	TACI 断裂占比 62.59%

25

测试例 9：系统性红斑狼疮动物模型中的体内药效

MRL/lpr 小鼠随着周龄的增长，会自发的产生自身免疫疾病的症状，其症状与人类系统性红斑狼疮相似。

MRL/lpr 小鼠，雌性，购自卡文斯实验动物有限公司，5 只/笼饲养于 SPF 级

环境，温度 20-25 ℃；湿度 40-60 %。实验前小鼠在实验室环境至少适应一周。待小鼠周龄达到 10 至 12 周，尿蛋白和 dsDNA IgG 值显著高于正常对照小鼠时开始皮下注射给药（RCT-18 8mpk（也即每次给药剂量为 8mg/kg，以下同），TACI-Mab1 8.3mpk，TACI-Mab1 16.6 mpk，TACI-Mab2 8.9mpk，TACI-Mab2 17.8mpk，PBS 为阴性对照），每周给药 2 次（周一和周四分别给药 1 次），持续给药 8 周。定期观察小鼠毛发和皮肤状态，收集尿液和血浆，检测尿蛋白含量和血浆 dsDNA IgG 水平。实验结束后取小鼠的肾脏，固定后进行 H&E 染色，观察各组小鼠肾脏组织肾小球、肾小管病变、炎性细胞浸润，并对肾脏病变程度进行评分。本测试例中尿蛋白检测采用 Bradford 蛋白浓度测定，检测试剂盒（购自碧云天生物技术有限公司）；另外，Mouse anti-dsDNA IgG-specific ELISA Kit（购自 Alpha Diagnostic International 公司）。

实验结果见图 11 至图 13，实验结果显示，阴性对照组小鼠肾脏组织有较显著的炎性细胞浸润，本披露的 TACI-Mab1 和 TACI-Mab2 组肾脏病变程度随着剂量的升高而降低，具有一定的剂量效应。另外，本披露的 TACI-Mab1 8.3 mpk 和 TACI-Mab2 17.8 mpk 能显著降低小鼠的尿蛋白浓度；TACI-Mab1 8.3 mpk、TACI-Mab1 16.6 mpk 和 TACI-Mab2 8.9 mpk 组的 dsDNA IgG 浓度小于阴性对照组。

权利要求书

1. 一种 TACI 多肽，其序列如 SEQ ID NO: 8 所示或是 SEQ ID NO: 8 的截短片段或其变体；其中，
- 5 所述截短片段包含 SEQ ID NO: 8 的第 48 位至第 85 位氨基酸残基，
- 所述变体为在 SEQ ID NO: 8 或其截短片段上具有选自第 49、52、53、57、65、82 和 83 位中的一个或多个氨基酸替换，所述氨基酸替换的位点为相对于序列 SEQ ID NO: 8 的自然顺序编号的氨基酸残基位点。
- 10 2. 一种 TACI 多肽，其序列如 SEQ ID NO: 8 所示或是 SEQ ID NO: 8 的截短片段或其变体；其中所述截短片段包含 SEQ ID NO: 8 的第 51 位至第 85 位氨基酸残基，所述变体为在 SEQ ID NO: 8 或其截短片段上具有选自第 52、53、57、65、82 和 83 位中的一个或多个氨基酸替换，所述氨基酸替换的位点为相对于序列 SEQ ID NO: 8 的自然顺序编号的氨基酸残基位点。
- 15 3. 根据权利要求 1 或 2 所述的 TACI 多肽，其中所述 TACI 多肽的截短片段包含：
- SEQ ID NO: 8 的第 48 位至第 86 位氨基酸残基；
- SEQ ID NO: 8 的第 48 位至第 87 位氨基酸残基；
- 20 SEQ ID NO: 8 的第 48 位至第 88 位氨基酸残基；
- SEQ ID NO: 8 的第 50 位至第 85 位氨基酸残基；或
- SEQ ID NO: 8 的第 49 位至第 85 位氨基酸残基。
4. 根据权利要求 1 至 3 中任一项所述的 TACI 多肽，其中：
- 25 所述变体为在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15 或 SEQ ID NO: 68 序列上具有选自由 49T 或 49R、52S、53E 或 53Q、57E、65T 或 65A、82A 或 82R、和 83Y 组成的组中的一个或多个氨基酸替换，或者
- 所述变体为在 SEQ ID NO: 69 或 SEQ ID NO: 70 序列上具有选自由 52S、53E
- 30 或 53Q、57E、65T 或 65A、82A 或 82R、和 83Y 组成的组中的一个或多个氨基酸替换；
- 所述氨基酸替换的位点为相对于序列 SEQ ID NO: 8 的自然顺序编号的氨基酸残基位点；
- 优选地，所述变体为：
- 35 在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15 或 SEQ ID NO: 68 序列上具有选自 49T、52S、53E、53Q、57E 和 82A

中的任一个氨基酸替代，或者

在 SEQ ID NO: 69 或 SEQ ID NO: 70 序列上具有选自 52S、53E、53Q、57E 和 82A 中的任一个氨基酸替代；

5 在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15 或 SEQ ID NO: 68 序列上具有 49R 和 65T 氨基酸替换；

在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15 或 SEQ ID NO: 68 序列上具有 49R 和 65A 氨基酸替换；

在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15 或 SEQ ID NO: 68 序列上具有 49R、65T 和 82R 氨基酸替换；

10 在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 69 或 SEQ ID NO: 70 序列上具有 53E 和 57E 氨基酸替换；

在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 69 或 SEQ ID NO: 70 序列上具有 52S、53E 和 57E 氨基酸替换；

15 在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15 或 SEQ ID NO: 68 序列上具有 49T 和 82A 氨基酸替换；

在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15 或 SEQ ID NO: 68 序列上具有 49T 和 83Y 氨基酸替换；

20 在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15 或 SEQ ID NO: 68 序列上具有 49T、82A 和 83Y 氨基酸替换；或者

在 SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15 或 SEQ ID NO: 68 序列上具有 49T、53E、57E 和 82A 氨基酸替换；

25 其中所述氨基酸替换的位点为相对于序列 SEQ ID NO: 8 的自然顺序编号的氨基酸残基位点。

5. 根据权利要求 1 至 4 中任一项所述的 TACI 多肽，其中所述 TACI 多肽的序列如 SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 13-15、SEQ ID NO: 18-35、SEQ ID NO: 68-70 中的任一所示；优选地，所述 TACI 多肽的序列如 SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 34 或 SEQ ID NO: 35 所示。

6. 一种 TACI 融合蛋白，其包含如权利要求 1 至 5 中任一项所述的 TACI 多肽。

7. 根据权利要求 6 所述的 TACI 融合蛋白，其包含：

35 A) 权利要求 1 至 5 中任一项所述的 TACI 多肽；和
B) Fc 区。

8. 根据权利要求 7 所述的 TACI 融合蛋白，所述 Fc 区为人 IgG1 的 Fc 区；

优选地，所述 Fc 区包含能够彼此缔合的第一亚基与第二亚基，所述第一亚基和第二亚基具有一个或多个减少同源二聚化的氨基酸取代；或者

5 所述 Fc 区的第一亚基和/或第二亚基包含一个或多个氨基酸取代，所述的氨基酸取代能够减少其与 Fc 受体的结合，优选所述的氨基酸取代能够减少其与 Fc γ 受体的结合；

更优选地，所述 Fc 区的序列如 SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62 或 SEQ ID NO: 63 所示，或与 SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62 或 SEQ ID NO: 63 具有至少 90% 序列同一性。

9. 根据权利要求 6 至 8 中任一项所述的 TACI 融合蛋白，其为二聚体蛋白，所述 TACI 融合蛋白包含选自 a、b 或 c 所示的多肽链：

- 15 a. 多肽链从 N 端到 C 端依次为：[TACI 多肽]-[连接子]-[Fc 区的亚基]；
b. 多肽链从 N 端到 C 端依次为：[Fc 区的亚基]-[连接子]-[TACI 多肽]；
c. 多肽链从 N 端到 C 端依次为：[TACI 多肽 1]-[连接子 1]-[Fc 区的亚基]-[连接子 2]-[TACI 多肽 2]，其中连接子 1 和连接子 2 可以相同，也可以不相同，TACI 多肽 1 和 TACI 多肽 2 可以相同，也可以不同；

20 优选地，所述 a、b 或 c 多肽链中的连接子选自 SEQ ID NO: 64 所示连接子，或选自 (G_xS)_y 连接子，其中，X 选自 1 至 5 的整数，Y 选自 0 至 6 的整数，优选如 SEQ ID NO: 65 或 SEQ ID NO: 66 所示连接子；

更优选地，所述 TACI 融合蛋白，其包含 2 条相同多肽链，其序列如 SEQ ID NO: 36-44 中任一条所示。

25 10. 一种 TACI 融合蛋白，其为 TACI 和抗体的融合蛋白，其包含 TACI 多肽和抗体，其中：

A. 所述 TACI 多肽为权利要求 1 至 5 中任一项所述的 TACI 多肽 B. 所述抗体为抗 IL23 抗体、抗 IL12 抗体或抗 IL23/IL12 的 P40 亚基抗体。

30 11. 根据权利要求 10 所述的 TACI 融合蛋白，其中所述抗体为抗 IL23/IL12 的 P40 亚基抗体；

优选地，所述抗体包含重链可变区和轻链可变区，

其中所述重链可变区包含分别如 SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53 和 SEQ ID NO: 54 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，和

35 所述轻链可变区包含分别如 SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50 和 SEQ ID NO: 51 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

12. 根据权利要求 10 或 11 所述的 TACI 融合蛋白，其中所述抗体包含如 SEQ ID NO: 45 所示重链可变区，和如 SEQ ID NO: 46 所示轻链可变区。

13. 根据权利要求 10 至 12 中任一项所述的 TACI 融合蛋白，其中所述的抗体
5 包含抗体重链恒定区和轻链恒定区；

优选地，所述重链恒定区选自人 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 恒定区，所述轻链恒定区选自人抗体 κ 或 λ 链恒定区；

更优选地，所述抗体包含与 SEQ ID NO: 47 具有至少 85% 序列同一性的重链，和与 SEQ ID NO: 48 具有至少 85% 序列同一性的轻链；

10 最优选地，所述抗体包含如 SEQ ID NO: 47 所示重链，和如 SEQ ID NO: 48 所示轻链。

14. 根据权利要求 10 至 13 中任一项所述的 TACI 融合蛋白，其包括如 d 或 e 所述的多肽链：

15 d. 第一多肽链，其从 N 端到 C 端依次为：[抗体重链]-[连接子]-[TACI 多肽]，
和

第二多肽链，其为抗体轻链；

e. 第一多肽链，其从 N 端到 C 端依次为：[抗体重链]-[连接子]-[TACI 多肽]，
和

20 第二多肽链，其从 N 端到 C 端依次为：[TACI 多肽]-[连接子]-[抗体轻链]；

优选地，所述连接子可选自 $(G_xS)_y$ 连接子，其中，X 选自 1 至 5 的整数，Y 选自 0 至 6 的整数，优选如 SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66 或 SEQ ID NO: 67 所示连接子。

25 15. 根据权利要求 10 至 14 中任一项所述的 TACI 融合蛋白，其中

所述 TACI 融合蛋白包含两条相同的如 SEQ ID NO: 55 所示第一多肽链，和两条相同的如 SEQ ID NO: 56 所示第二多肽链；或

所述 TACI 融合蛋白包含两条相同的如 SEQ ID NO: 57 所示第一多肽链，和两条相同的如 SEQ ID NO: 58 所示第二多肽链。

30

16. 一种药物组合物，其含有：

如权利要求 1 至 5 中任一项所述的 TACI 多肽或权利要求 6 至 15 中任一项所述的 TACI 融合蛋白，以及

一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

35

17. 一种核酸分子，其编码权利要求 1 至 5 中任一项所述的 TACI 多肽或权利要求 6 至 15 中任一项所述的 TACI 融合蛋白。

18. 一种宿主细胞，其含有权利要求 17 所述的核酸分子。

19. 一种治疗或改善 B 细胞障碍或自身免疫性疾病的方法，所述方法包括步骤：向有需要的受试者施用治疗有效量的权利要求 1 至 5 中任一项所述的 TACI 多肽、或治疗有效量的权利要求 6 至 15 中任一项所述的 TACI 融合蛋白、或治疗有效量的权利要求 16 所述药物组合物；

优选地，所述 B 细胞障碍或自身免疫性疾病是与 TACI 表达相关的疾病或病症；

更优选地，所述自身免疫性疾病选自：系统性红斑狼疮、重症肌无力、多发性硬化、胰岛素依赖性糖尿病、克罗恩氏病、类风湿关节炎、多关节型青少年类风湿关节炎和银屑病性关节炎；

所述 B 细胞障碍选自：肿瘤、慢性白细胞性白血病、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、移植后淋巴组织增生病和轻链丙球蛋白病；

最优选地，所述自身免疫性疾病为系统性红斑狼疮。