(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 111886256 B
(45)授权公告日 2025.01.10

(21)申请号 201980021217.1
(22)申请日 2019.03.22
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111886256 A
(43)申请公布日 2020.11.03
(30)优先权数据
62/647,556 2018.03.23 US
62/667,170 2018.05.04 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.09.22
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/023693 2019.03.22
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/183551 EN 2019.09.26
(73)专利权人 百时美施贵宝公司
地址 美国新泽西州

(72)发明人 M·R·库恩 A·J·科曼 黄海春 尹意铭 R·F·格拉齐亚诺 N·A·贝兹曼 P·斯特洛普 R·Y·黄 陈国栋 M·斯里尼瓦桑 P·S·K·李 G·O·卡姆德雷

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
专利代理师 胡志君 黄革生
(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

(56)对比文件
CN 101636498 A,2010.01.27
CN 107207594 A,2017.09.26

审查员 戎晓媛

权利要求书6页 说明书110页
序列表40页 附图91页

(54)发明名称

抗MICA和/或MICB抗体及其用途

(57)摘要

本发明提供了特异性结合人类MICA/B的抗体及其使用方法。在一些方面中,本发明涉及在受试者中治疗癌症的方法,其包括向该受试者施与抗MICA/B抗体。

CN 111886256 B

1.一种特异性结合于人类MHC I类多肽相关序列A(MICA)和/或人类MHC I类多肽相关序列B(MICB)的抗体,其包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL);其中该VH包含VH互补决定区(CDR)1、VH-CDR2和VH-CDR3,且该VL包含VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3;其中VH-CDR1的氨基酸序列如SEQ ID NO:5所示;VH-CDR2的氨基酸序列如SEQ ID NO:6所示;VH-CDR3的氨基酸序列如SEQ ID NO:7所示;VL-CDR1的氨基酸序列如SEQ ID NO:8所示;VL-CDR2的氨基酸序列如SEQ ID NO:9所示;和VL-CDR3的氨基酸序列如SEQ ID NO:10所示。

2.根据权利要求1所述的抗体,其中该抗体具有选自以下的一个或多个特性:

(a)该抗体抑制MICA被肿瘤细胞脱落;

(b)该抗体增加肿瘤细胞上的膜结合型MICA;

(c)该抗体降低患者血清中的可溶性MICA水平;

(d)该抗体介导ADCC和/或ADCP增强;

(e)该抗体介导细胞增强的抗原加工和/或交叉呈递;

(f)该抗体抑制肿瘤生长和/或癌转移;

(g)该抗体减小肿瘤体积;

(h)该抗体增加无恶化存活期;

(i)该抗体增加总存活期;和

(j)它们的任何组合。

3.根据权利要求1所述的抗体,其中该VH包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的氨基酸序列。

4.根据权利要求1所述的抗体,其中该VH包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列。

5.根据权利要求1所述的抗体,其中该VL包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的氨基酸序列。

6.根据权利要求1所述的抗体,其中该VL包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。

7.根据权利要求1所述的抗体,其中该VH包含SEQ ID NO:2中所述的氨基酸序列,且该VL包含SEQ ID NO:4中所述的氨基酸序列。

8.根据权利要求1所述的抗体,其中

(a)该抗体包含有包含SEQ ID NO:58中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链;或

(b)该抗体包含有包含SEQ ID NO:130中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链。

9.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中如藉由酵母表面展示所确定,该抗体结合人类MICA上的表位,其包含人类MICA中选自以下的一个或多个氨基酸残基:对应于SEQ ID NO:51的G254、D255、L257、Y264、W267及其任何组合。

10.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中如藉由酵母表面展示所确定,该抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的G254、D255、L257、Y264及W267。

11.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中如藉由氢/氘交换质谱所确定,该抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的氨基酸残基W150-M163。

12.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中如藉由氢/氘交换质谱所确定,该抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的氨基酸残基Y231-T238。

13.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中如藉由氢/氘交换质谱所确定,该抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的氨基酸残基D255-Q265。

14.根据权利要求13所述的抗体,其中如藉由氢/氘交换质谱所确定,该表位包含对应于SEQ ID NO:51的氨基酸残基W253-W267。

15.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中如藉由氢/氘交换质谱所确定,该抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的L201-N220。

16.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中如藉由氢/氘交换质谱所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的T238-Q252。

17.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中如藉由氢/氘交换质谱所确定,该抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的L201-N220及T238-Q252。

18.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中如藉由酵母表面展示所确定,该抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的R240、Q241、D242、V244及R279。

19.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中如藉由酵母表面展示所确定,该抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的P258、G260、G262及Y264。

20.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中如藉由X射线共晶体学所确定,该抗体结合人类MICA上的表位,其包含选自T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269的至少一个残基。

21.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中如藉由X射线共晶体学所确定,该抗体结合人类MICA上的表位,其包含选自T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269的至少两个残基。

22.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中如藉由X射线共晶体学所确定,该抗体结合人类MICA上的表位,其包含选自T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269的至少三个残基。

23.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中如藉由X射线共晶体学所确定,该抗体结合人类MICA上的表位,其包含T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269。

24.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中该抗体以1×10^{-4}M M或更小的K_D特异性结合人类MICA,其中藉由表面等离子体共振分析来测量K_D。

25.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中该抗体以1×10^{-4}M 1/Ms或更大的结合速率特异性结合人类MICA,其中藉由表面等离子体共振分析来测量结合速率。

26.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中该抗体以1×10^{-4}M 1/s或更小的解离速率特异性结合人类MICA,其中藉由表面等离子体共振分析来测量解离速率。

27.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中该抗体选自以下:IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或其变体。

28.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中该抗体为IgG1抗体。

29.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中该抗体为非岩藻糖基化。

30.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中该抗体在该重链中包含恒定区,且其中该恒定区在对应于SEQ ID NO:58中的残基234的位置处包含G变为A的突变。

31.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其中该抗体为人类抗体、人源化抗体或嵌合抗体。

32.一种特异性结合于人类MHC I类多肽相关序列A(MICA)和/或人类MHC I类多肽相关序列B(MICB)的抗体,其包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL);其中该VH包含VH互补决定区(CDR)1、VH-CDR2和VH-CDR3,且该VL包含VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3;其中VH-CDR1的氨基酸序列如SEQ ID NO:5所示;VH-CDR2的氨基酸序列如SEQ ID NO:6所示;VH-CDR3的氨基酸序列如SEQ ID NO:7所示;VL-CDR1的氨基酸序列如SEQ ID NO:8所示;VL-CDR2的氨基酸序列如SEQ ID NO:9所示;和VL-CDR3的氨基酸序列如SEQ ID NO:10所示;和

其中该抗体为非岩藻糖基化。

33.根据权利要求32所述的抗体,其中该VH包含SEQ ID NO:2中所述的氨基酸序列,且该VL包含SEQ ID NO:4中所述的氨基酸序列。

34.根据权利要求33所述的抗体,其中该抗体在该重链中包含恒定区,该恒定区在对应于SEQ ID NO:58中的残基234的位置处包含G变为A的突变。

35.根据权利要求32至34中任一项所述的抗体,其中该抗体包含有包含SEQ ID NO:58中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链。

36.根据权利要求32或33所述的抗体,其中该抗体包含有包含SEQ ID NO:130中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链。

37.一种特异性结合于人类MHC I类多肽相关序列A(MICA)和/或人类MHC I类多肽相关序列B(MICB)所述的抗体,其包含重链和轻链,所述重链的氨基酸序列如SEQ ID NO:58所示,所述轻链的氨基酸序列如SEQ ID NO:60所示,其中该抗体为非岩藻糖基化。

38.根据权利要求37所述的抗体,其是由已降低或消除岩藻糖基转移酶表达的细胞系产生。

39.根据权利要求37所述的抗体,其是由缺乏FUT8基因或具有功能性破坏的FUT8基因的细胞系产生。

40.一种多核苷酸或多核苷酸组,其编码权利要求1至39中任一项所述的抗体。

41.一种载体或载体组,其包含权利要求40的多核苷酸或多核苷酸组。

42.一种宿主细胞,其包含权利要求1至39中任一项所述的抗体、权利要求40的多核苷酸或多核苷酸组、或权利要求41的载体或载体组。

43.一种免疫缀合物,其包含权利要求1至39中任一项所述的抗体及治疗剂。

44.根据权利要求43所述的免疫缀合物,其中该治疗剂选自以下:细胞毒素、非细胞毒性药物、放射活性剂、第二抗体、酶、抗赘生剂及其任何组合。

45.根据权利要求44所述的免疫缀合物,其中该细胞毒素选自以下:海兔毒素、单甲基奥瑞他汀E(MMAE)、美登素、倍癌霉素、卡奇霉素、吡咯并苯二氮卓、倍癌霉素、森坦霉素、SN38、多柔比星、其衍生物、其合成类似物和其任何组合。

46.根据权利要求45所述的免疫缀合物,其中该细胞毒素包含细胞毒素A。

47.一种药物组合物,其包含权利要求1至39中任一项所述的抗体、权利要求40的多核苷酸或多核苷酸组、权利要求41的载体或载体组、或权利要求43至46中任一项的免疫缀合物,及药学上可接受的赋形剂。

48.一种药物组合物,其包含权利要求1至39中任一项所述的抗体,及第二抗体。

49.根据权利要求48所述的药物组合物,其中该第二抗体特异性结合选自以下的蛋白质:PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG3、TIGIT、TIM3、NKG2a、OX40、ICOS、CD137、KIR、TGFβ、IL-10、IL-8、B7-H4、Fas配体、CXCR4、间皮素、CD27、GITR和其任何组合。

50.根据权利要求48所述的药物组合物,其中该第二抗体包含抗PD-1抗体。

51.根据权利要求48所述的药物组合物,其中该第二抗体包含纳武单抗或帕博利珠单抗。

52.根据权利要求48所述的药物组合物,其中该第二抗体包含抗PD-L1抗体。

53.根据权利要求48所述的药物组合物,其中该第二抗体包含抗CTLA-4抗体。

54.根据权利要求53所述的药物组合物,其中该抗CTLA-4抗体包含曲美单抗或伊匹单抗。

55.根据权利要求48所述的药物组合物,其中该第二抗体包含抗LAG3抗体。

56.根据权利要求55所述的药物组合物,其中该抗LAG3抗体包含25F7。

57.根据权利要求48所述的药物组合物,其中该第二抗体包含抗CD137抗体。

58.根据权利要求57所述的药物组合物,其中该抗CD137抗体包含乌瑞鲁单抗。

59.根据权利要求48所述的药物组合物,其中该第二抗体包含抗KIR抗体。

60.根据权利要求59所述的药物组合物,其中该抗KIR抗体包含利瑞路单抗。

61.根据权利要求48所述的药物组合物,其中该第二抗体包含抗GITR抗体。

62.根据权利要求61所述的药物组合物,其中该抗GITR抗体包含MK4166或TRX518。

63.根据权利要求48所述的药物组合物,其制剂为用于静脉内、腹膜内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眶内、心内、皮内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊椎内、硬膜外、胸骨内、局部、经表皮或经黏膜施用。

64.权利要求1至39中任一项所述的抗体、权利要求40的多核苷酸或多核苷酸组、权利要求41的载体或载体组、权利要求42的宿主细胞、权利要求43至46中任一项的免疫缀合物、或权利要求47至63中任一项的药物组合物的用途,用于制备在有需要的受试者中治疗肺癌的药物。

65.根据权利要求64所述的用途,其中该肺癌选自以下:小细胞肺癌、非小细胞肺癌、和所述小细胞肺癌和非小细胞肺癌的组合。

66.根据权利要求65所述的用途,其中所述非小细胞肺癌是鳞状非小细胞肺癌或非鳞状非小细胞肺癌。

67.根据权利要求64所述的用途,其中该抗体、该多核苷酸或该多核苷酸组、该载体或该载体组、该宿主细胞、该免疫缀合物或该药物组合物是经静脉内、腹膜内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眶内、心内、皮内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊椎内、硬膜外、胸骨内、局部、经表皮或经黏膜进行施与。

68.根据权利要求64所述的用途,其中该受试者为人类。

69.根据权利要求64所述的用途,其进一步包括向该受试者施与第二疗法。

70.根据权利要求69所述的用途,其中该第二疗法包含第二治疗剂,且其中该第二治疗剂包含有效量的抗体,其特异性结合选自以下的蛋白质:诱导性T细胞共刺激物(ICOS)、CD137(4-1BB)、CD134(OX40)、NKG2A、CD27、CD96、糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白(GITR)及疱疹病毒进入介导子(HVEM)、程序性死亡-1(PD-1)、程序性死亡配体-1(PD-L1)、CTLA-4、B及T淋巴细胞衰减子(BTLA)、T细胞免疫球蛋白及黏蛋白结构域-3(TIM-3)、淋巴细胞活化基因-3(LAG-3)、腺苷A2a受体(A2aR)、杀伤细胞凝集素样受体G1(KLRG-1)、自然杀伤细胞受体2B4(CD244)、CD160、具有Ig及ITIM结构域的T细胞免疫受体(TIGIT)及用于T细胞活化的V结构域Ig抑制子(VISTA)的受体、KIR、TGFβ、IL-10、IL-8、B7-H4、Fas配体、CXCR4、间皮素、CEACAM-1、CD52、HER2和其任何组合。

71.根据权利要求70所述的用途,其中该第二治疗剂包含抗PD-1抗体。

72.根据权利要求70所述的用途,其中该第二治疗剂包含纳武单抗或帕博利珠单抗。

73.根据权利要求70所述的用途,其中该第二治疗剂包含抗PD-L1抗体。

74.根据权利要求70所述的用途,其中该第二治疗剂包含选自阿特珠单抗、德瓦鲁单抗和艾维路单抗的抗PD-L1抗体。

75.根据权利要求70所述的用途,其中该第二治疗剂包含抗CTLA-4抗体。

76.根据权利要求70所述的用途,其中该第二治疗剂包含曲美单抗或伊匹单抗。

77.根据权利要求70所述的用途,其中该第二治疗剂包含抗LAG3抗体。

78.根据权利要求77所述的用途,其中该抗LAG3抗体包含25F7。

79.根据权利要求70所述的用途,其中该第二治疗剂包含抗CD137抗体。

80.根据权利要求79所述的用途,其中该抗CD137抗体包含乌瑞鲁单抗。

81.根据权利要求70所述的用途,其中该第二治疗剂包含抗KIR抗体。

82.根据权利要求81所述的用途,其中该抗KIR抗体包含利瑞路单抗。

83.根据权利要求70所述的用途,其中该第二治疗剂包含抗GITR抗体。

84.根据权利要求83所述的用途,其中该抗GITR抗体包含MK4166或TRX518。

85.根据权利要求69所述的用途,其中该第二疗法包含用于癌症的化学治疗剂、放射线、使先天性免疫细胞活化的药剂和/或增强NK和/或CD8+T细胞的存活的药剂。

86.根据权利要求85所述的用途,其中该第二疗法包含诱导肿瘤细胞上的MICA/B表达的化学治疗剂。

87.根据权利要求85所述的用途,其中该第二疗法包含选自蛋白酶体抑制剂、IMiD和Bet抑制剂的化学治疗剂。

88.根据权利要求87所述的用途,其中该蛋白酶体抑制剂为硼替佐米。

89.根据权利要求85所述的用途,其中该第二疗法包含聚乙二醇化IL-10和IL-10-Fc融合物。

90.根据权利要求85所述的用途,其中该第二疗法包含增强NK和/或CD8+T细胞的存活的药剂,该药剂选自聚乙二醇化IL-2。

91.根据权利要求69所述的用途,其中该第二疗法包含选自以下的药剂:多柔比星、顺铂、卡铂、硫酸博莱霉素、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、来那度胺、硼替佐米、地塞米松、米托蒽醌、依托泊苷、阿糖胞苷、苯达莫司汀、利妥昔单抗、异环磷酰胺、长春新碱、氟达拉滨、沙立度胺、阿仑单抗、奥伐木单抗、依维莫司和卡非佐米。

92.根据权利要求69所述的用途,其中该第二疗法包含IDO拮抗剂。

93.一种制备抗体的方法,其包括在宿主细胞中在适合的条件下表达根据权利要求40的多核苷酸或多核苷酸组、或权利要求41的载体或载体组。

94.根据权利要求93所述的方法,其进一步包含收集该抗体。

抗MICA和/或MICB抗体及其用途

[0001] 通过EFS-WEB电子提交的序列表的引用

[0002] 与本申请案一起提申的在ASCII文本文件(名称:3338_101PC02_Seqlisting_ST25.txt;大小:154,660个字节;及创建日期:2019年3月18日)中以电子方式提交的序列表的内容以全文引用的方式并入本文中作为参考。

[0003] 发明背景

[0004] 主要组织相容性复合体I类链相关A及B(MICA/B)为与MHC I类糖蛋白相关的高度多态性细胞表面蛋白质。其含有三个细胞外结构域(α1、α2及α3)、一个跨膜区及一个细胞质尾区,且充当刺激在NK、γδT、CD8+αβT及NKT细胞上表达的活化性受体NKG2D的配体。通常,MICA/B在上皮细胞、内皮细胞、纤维母细胞及髓样细胞上以低水平进行组成型表达。然而,其在应激条件下(诸如在癌发生、感染、DNA损伤反应期间)及在自身免疫病中上调或从头表达。因而,MICA/B表达充当细胞应激的信号,且MICA/B接合NKG2D触发NK细胞且共刺激T细胞,从而导致免疫效应功能,诸如细胞毒性及细胞因子产生。Bauer,Science 1999;285:727-9。Diefenbach等人,Nat Immunol.2000;1:119-26。Groh等人,Nat Immunol.2001;2:255-60。然而,肿瘤细胞具有藉由以下来阻止由NKG2D介导的反应的机制:使MICA/B自细胞表面裂解,从而导致MICA/B表面密度降低且可溶性MICA/B(sMICA/B)产生,其下调细胞毒性效应细胞上的NKG2D。Groh等人,Nature 2002;419:734-8。Salih,J.Immunol.2002;169:4098-4102。在肿瘤细胞上,MICA/B的α3结构域与一种二硫化物异构酶/分子伴侣,也即内质网蛋白质5(ERp5)相互作用,以诱导能够藉由蛋白酶(包括解整合素及金属蛋白酶ADAM10及ADAM17)使MICA/B切割的构象变化。Kaiser,Nature 2007;447:482-6。

[0005] 目前,已鉴别出大约有100种编码79种蛋白质变体的MICA等位基因及40种编码26种蛋白质变体的MICB等位基因(欧洲生物信息学研究所(EMBL-EBI)免疫多态性数据库:https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/stats.html(于2017年12月08日访问))。已在广泛范围的肿瘤类型中报导MICA/B的表达,其中高表达与不良预后相关联。Spear,Cancer Immunity 2013;13。Ghadially等人,Br.J.Cancer 2017;116:1208-17。因为已展示长期暴露于高浓度的sMICA中会降低CD8 T及NK细胞上的NKG2D活性,故已将sMICA/B产生视为肿瘤免疫逃逸的机制。Groh等人,Nat.Immunol.2001;2:255-60。Salih,J.Immunol.2002;169:4098-4102。已在许多人类肿瘤类型中鉴别出sMICA/B蛋白质,所述肿瘤类型包括黑素瘤、肺、结肠、卵巢、乳房、前列腺肿瘤及骨髓瘤。Zhang等人,Sci.Adv.2017;3:e1602133。sMICA的含量与用抗CTLA-4抗体伊匹单抗(ipilimumab)治疗的患有转移性黑素瘤的患者的较差存活率相关。Koguchi,Cancer Res.2015;75:5084-92。此外,展示对伊匹单抗有反应的黑素瘤患者产生疗法诱导的抗MICA/B抗体;这些患者中的一些经历sMICA含量降低且展现抗肿瘤活性的临床证据。Zhang等人,Sci.Adv.2017;3:e1602133。Jinushi,PNAS.2006;103:9190-9195。

[0006] 病毒及肿瘤设计出逃避NKG2D监测的机制的程度指示,恢复或增强NK及T细胞的NKG2D依赖性活化的治疗策略可为有益的。因此,需要产生及选择以下抗MICA/B抗体,其结合于MICA/B上接近ERp5结合位点的区域和/或将MICA/B保留在细胞表面处以使得该MICA/B

可高效地接合NKG2D,从而引起患者中的抗肿瘤活性增强。

[0007] 发明概述

[0008] 本发明的一个方面涉及一种特异性结合于人类MHC I类多肽相关序列A(MICA)和/或人类MHC I类多肽相关序列B(MICB)的抗体,其包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL);其中该VH包含VH互补决定区(CDR)1、VH-CDR2和VH-CDR3,且该VL包含VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3;其中该VH-CDR3包含选自SEQ ID NO:7、17、27、37和47的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH-CDR2包含选自SEQ ID NO:6、16、26、36和46的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH-CDR1包含选自SEQ ID NO:5、15、25、35和45的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL-CDR1包含选自SEQ ID NO:8、18、28、38和48的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL-CDR2包含选自SEQ ID NO:9、19、29、39和49的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL-CDR3包含选自SEQ ID NO:10、20、30、40和50的氨基酸序列。

[0009] 在一些实施方案中,(a)VH-CDR1包含SEQ ID NO:5中所述的氨基酸序列,VH-CDR2包含SEQ ID NO:6中所述的氨基酸序列,VH-CDR3包含SEQ ID NO:7中所述的氨基酸序列,VL-CDR1包含SEQ ID NO:8中所述的氨基酸序列,VL-CDR2包含SEQ ID NO:9中所述的氨基酸序列,且VL-CDR3包含SEQ ID NO:10中所述的氨基酸序列;(b)VH-CDR1包含SEQ ID NO:15中所述的氨基酸序列,VH-CDR2包含SEQ ID NO:16中所述的氨基酸序列,VH-CDR3包含SEQ ID NO:17中所述的氨基酸序列,VL-CDR1包含SEQ ID NO:18中所述的氨基酸序列,VL-CDR2包含SEQ ID NO:19中所述的氨基酸序列,且VL-CDR3包含SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列;(c)VH-CDR1包含SEQ ID NO:25中所述的氨基酸序列,VH-CDR2包含SEQ ID NO:26中所述的氨基酸序列,VH-CDR3包含SEQ ID NO:27中所述的氨基酸序列,VL-CDR1包含SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列,VL-CDR2包含SEQ ID NO:29中所述的氨基酸序列,且VL-CDR3包含SEQ ID NO:30中所述的氨基酸序列;(d)VH-CDR1包含SEQ ID NO:35中所述的氨基酸序列,VH-CDR2包含SEQ ID NO:36中所述的氨基酸序列,VH-CDR3包含SEQ ID NO:37中所述的氨基酸序列,VL-CDR1包含SEQ ID NO:38中所述的氨基酸序列,VL-CDR2包含SEQ ID NO:39中所述的氨基酸序列,且VL-CDR3包含SEQ ID NO:40中所述的氨基酸序列;或(e)VH-CDR1包含SEQ ID NO:45中所述的氨基酸序列,VH-CDR2包含SEQ ID NO:46中所述的氨基酸序列,VH-CDR3包含SEQ ID NO:47中所述的氨基酸序列,VL-CDR1包含SEQ ID NO:48中所述的氨基酸序列,VL-CDR2包含SEQ ID NO:49中所述的氨基酸序列,且VL-CDR3包含SEQ ID NO:50中所述的氨基酸序列。

[0010] 在一些实施方案中,抗体具有选自以下的一个或多个特性:(a)该抗体抑制MICA被肿瘤细胞脱落;(b)该抗体增加肿瘤细胞上的膜结合型MICA;(c)该抗体降低患者血清中的可溶性MICA水平;(d)该抗体介导ADCC和/或ADCP增强;(e)该抗体介导细胞的抗原加工和/或交叉呈递增强;(f)该抗体抑制肿瘤生长和/或癌转移;(g)该抗体减小肿瘤体积;(h)该抗体增加无恶化存活期;(i)该抗体增加总存活期;和(j)其任何组合。

[0011] 在一些实施方案中,VH包含与选自SEQ ID NO:2、12、22、32及42的氨基酸序列具有至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VH包含选自SEQ ID NO:2、12、22、32及42的氨基酸序列。

[0012] 在一些实施方案中,VL包含与选自SEQ ID NO:4、14、24、34及44的氨基酸序列具有

至少约70％、至少约80％、至少约90％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％或至少约99％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL包含选自SEQ ID NO:4、14、24、34及44的氨基酸序列。

[0013] 在一些实施方案中,(a)VH包含SEQ ID NO:2中所述的氨基酸序列,且VL包含SEQ ID NO:4中所述的氨基酸序列;(b)VH包含SEQ ID NO:12中所述的氨基酸序列,且VL包含SEQ ID NO:14中所述的氨基酸序列;(c)VH包含SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列,且VL包含SEQ ID NO:24中所述的氨基酸序列;(d)VH包含SEQ ID NO:32中所述的氨基酸序列,且VL包含SEQ ID NO:34中所述的氨基酸序列;或(e)VH包含SEQ ID NO:42中所述的氨基酸序列,且VL包含SEQ ID NO:44中所述的氨基酸序列。

[0014] 在一些实施方案中,(a)抗体包含有包含SEQ ID NO:58中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链;(b)抗体包含有包含SEQ ID NO:130中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链;(c)抗体包含有包含SEQ ID NO:62中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:64中所述的氨基酸序列的轻链;(d)抗体包含有包含SEQ ID NO:66中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:68中所述的氨基酸序列的轻链;或(e)抗体包含有包含SEQ ID NO:70中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:72中所述的氨基酸序列的轻链。

[0015] 在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含人类MICA中选自以下的一个或多个氨基酸残基:对应于SEQ ID NO:51的G254、D255、L257、Y264、W267和其任何组合。在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的G254、D255、L257、Y264及W267。在一些实施方案中,如藉由氢/氘交换质谱(HDX-MS)所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的氨基酸残基W150-M163。在一些实施方案中,如藉由氢/氘交换质谱(HDX-MS)所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的氨基酸残基Y231-T238。在一些实施方案中,如藉由氢/氘交换质谱(HDX-MS)所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的氨基酸残基D255-Q265。在一些实施方案中,如藉由氢/氘交换质谱(HDX-MS)所确定,表位包含对应于SEQ ID NO:51的氨基酸残基W253-W267。在一些实施方案中,如藉由氢/氘交换质谱(HDX-MS)所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的L201-N220。在一些实施方案中,如藉由氢/氘交换质谱(HDX-MS)所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的T238-Q252。在一些实施方案中,如藉由氢/氘交换质谱(HDX-MS)所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的L201-N220及T238-Q252。在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的R240、Q241、D242、V244及R279。在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的P258、G260、G262及Y264。在一些实施方案中,如藉由X射线共晶体学所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含选自T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269的至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个或至少10个残基。在一些实施方案中,如藉由X射线共晶体学所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含选自T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、

G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269的至少两个残基。在一些实施方案中,如藉由X射线共晶体学所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含选自T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269的至少四个残基。在一些实施方案中,如藉由X射线共晶体学所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含选自T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269的至少六个残基。在一些实施方案中,如藉由X射线共晶体学所确定,抗体结合人类MICA上的表位,其包含T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269。

[0016] 在一些实施方案中,抗体选自以下:IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或其变体。在一些实施方案中,抗体为非岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体在重链中包含恒定区,且其中该恒定区在对应于SEQ ID NO:58中的残基234的位置处包含G变为A的突变。

[0017] 本发明的另一方面涉及一种特异性结合于人类MHC I类多肽相关序列A(MICA)和/或人类MHC I类多肽相关序列B(MICB)的抗体,其包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL);其中该VH包含VH互补决定区(CDR)1、VH-CDR2和VH-CDR3,且该VL包含VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3;其中该VH-CDR1包含SEQ ID NO:5中所述的氨基酸序列,该VH-CDR2包含SEQ ID NO:6中所述的氨基酸序列,该VH-CDR3包含SEQ ID NO:7中所述的氨基酸序列,该VL-CDR1包含SEQ ID NO:8中所述的氨基酸序列,该VL-CDR2包含SEQ ID NO:9中所述的氨基酸序列,且该VL-CDR3包含SEQ ID NO:10中所述的氨基酸序列;且其中该抗体为非岩藻糖基化。在一些实施方案中,VH包含SEQ ID NO:2中所述的氨基酸序列,且VL包含SEQ ID NO:4中所述的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体在重链中包含恒定区,该恒定区在对应于SEQ ID NO:58中的残基234的位置处包含G变为A的突变。在一些实施方案中,抗体包含有包含SEQ ID NO:58中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗体包含有包含SEQ ID NO:130中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗体为非岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体为低岩藻糖基化。

[0018] 本发明的一些方面涉及一种特异性结合于人类MHC I类多肽相关序列A(MICA)和/或人类MHC I类多肽相关序列B(MICB)的抗体,其包含有包含SEQ ID NO:58中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链,其中该抗体为非岩藻糖基化。

[0019] 在一些实施方案中,抗体由岩藻糖基转移酶的表达降低或消除的细胞系产生。

[0020] 本发明的一些方面涉及一种编码本文所描述的抗体的多核苷酸或多核苷酸组。本发明的其他方面涉及一种包含该多核苷酸或多核苷酸组的载体或载体组。本发明的其他方面涉及一种包含该抗体、多核苷酸或多核苷酸组或载体的宿主细胞。

[0021] 本发明的一些方面涉及一种免疫缀合物,其包含该抗体及治疗剂。在一些实施方案中,治疗剂选自以下:细胞毒素、非细胞毒性药物、放射活性剂、第二抗体、酶、抗赘生剂和其任何组合。在一些实施方案中,细胞毒素选自以下:海兔毒素(dolastatin)、单甲基奥瑞他汀E(MMAE)、美登素(maytansine)、倍癌霉素(duocarmycin)、卡奇霉素(calicheamicin)、吡咯并苯二氮卓、倍癌霉素、森坦霉素(centanamycin)、SN38、多柔比星(doxorubicin)、其

衍生物、其合成类似物和其任何组合。在一些实施方案中,细胞毒素包含细胞毒素A。

[0022] 本发明的一些方面涉及药物组合物,其包含该抗体、多核苷酸或多核苷酸组、载体或载体组或免疫缀合物,及药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,药物组合物包含第二抗体。在一些实施方案中,第二抗体特异性结合选自以下蛋白质:PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG3、TIGIT、TIM3、NKG2a、OX40、ICOS、CD137、KIR、TGFβ、IL-10、IL-8、IL-2、CD96、VISTA、B7-H4、Fas配体、CXCR4、间皮素、CD27、GITR和其任何组合。

[0023] 本发明的一些方面涉及在有需要的个体中治疗癌症的方法,其包括向该受试者施与抗体、多核苷酸或多核苷酸组、载体或载体组、宿主细胞、免疫缀合物或药物组合物。在一些实施方案中,癌症包含肿瘤。在一些实施方案中,该方法包括向受试者施与第二疗法。在一些实施方案中,第二疗法包含有效量的特异性结合选自以下的蛋白质的抗体:诱导性T细胞共刺激物(ICOS)、CD137(4-1BB)、CD134(OX40)、NKG2A、CD27、CD96、糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白(GITR)及疱疹病毒进入介导子(HVEM)、程序性死亡-1(PD-1)、程序性死亡配体-1(PD-L1)、CTLA-4、B及T淋巴细胞衰减子(BTLA)、T细胞免疫球蛋白及黏蛋白结构域-3(TIM-3)、淋巴细胞活化基因-3(LAG-3)、腺苷A2a受体(A2aR)、杀伤细胞凝集素样受体G1(KLRG-1)、自然杀伤细胞受体2B4(CD244)、CD160、具有Ig及ITIM结构域的T细胞免疫受体(TIGIT)及用于T细胞活化的V结构域Ig抑制子(VISTA)的受体、KIR、TGFβ、IL-10、IL-8、IL-2、B7-H4、Fas配体、CXCR4、间皮素、CEACAM-1、CD52、HER2和其任何组合。在一些实施方案中,第二疗法包含有效量的聚乙二醇化IL-10、IL-10-Fc或聚乙二醇化IL-2。在一些实施方案中,第二疗法包含用于癌症的化学治疗剂、放射线、使先天性免疫细胞活化的药剂和/或增强NK和/或CD8+T细胞的存活的药剂。

[0024] 本发明的其他特征及优点将自以下详细描述及实施例而显而易见,所述详细描述及实施例不应视为限制性。所引用的所有参考文献(包括在本申请案通篇中所引用的科学文章、报纸报导、GenBank项、专利及专利申请案)的内容均明确地以引用的方式并入本文中作为参考。

[0025] 附图简述

[0026] 图1A-图1D为抗MICA/B抗体MICA.36(19G6)重链可变区(图1A-图1B;核苷酸:SEQ ID NO:1;氨基酸:SEQ ID NO:2)及轻链可变区(图1C-图1D;核苷酸SEQ ID NO:3;氨基酸:SEQ ID NO:4)的序列比对。图1A及图1C展示MICA.36(19G6)重链可变区(图1A)及轻链可变区(图1C)的核苷酸序列及对应的氨基酸序列。图1B及图1D展示重链可变区(图1B)及轻链可变区(图1D)相对于MICA.36(19G6)(“输入”)序列的种系序列。由Kabat编号确定的互补决定区(CDR)由水平线标记,且相应地加以标注(图1A-图1D)。

[0027] 图2A-图2F为抗MICA/B抗体MICA.52(16A5)重链可变区(图2A-图2B;核苷酸:SEQ ID NO:11;氨基酸:SEQ ID NO:12)、轻链可变区1(图2C-图2D;核苷酸SEQ ID NO:13;氨基酸:SEQ ID NO:14)及轻链可变区2(图2E-图2F;核苷酸:SEQ ID NO:127;氨基酸:SEQ ID NO:128)的序列比对。图2A、图2C及图2E展示抗MICA/B抗体16A5重链可变区(图2A)及轻链可变区1(MICA.52)及2(MICA.53)(分别为图2C及图2E)的核苷酸序列及对应的氨基酸序列。图2B、图2D及图2F展示重链可变区(图2B)及轻链可变区1及2(图2D及图2F)相对于MICA.52或MICA.53(16A5)(“输入”)序列的种系序列。由Kabat编号确定的互补决定区(CDR)由水平线标记,且相应地加以标注(图2A-图2F)。

[0028] 图3A-图3D为抗MICA/B抗体MICA.54(24G11)重链可变区(图3A-图3B;核苷酸:SEQ ID NO:21;氨基酸:SEQ ID NO:22)及轻链可变区(图3C-图3D;核苷酸SEQ ID NO:23;氨基酸:SEQ ID NO:24)的序列比对。图3A及图3C展示抗MICA/B抗体MICA.54(24G11)重链可变区(图3A)及轻链可变区(图3C)的核苷酸序列及对应的氨基酸序列。图3B及图3D展示重链可变区(图3B)及轻链可变区(图3D)相对于MICA.54(24G11)(“输入”)序列的种系序列。由Kabat编号确定的互补决定区(CDR)由水平线标记,且相应地加以标注(图3A-图3D)。

[0029] 图4A-图4D为抗MICA/B抗体MICA.2(3F5)重链可变区(图4A-图4B;核苷酸:SEQ ID NO:31;氨基酸:SEQ ID NO:32)及轻链可变区(图4C-图4D;核苷酸SEQ ID NO:33;氨基酸:SEQ ID NO:34)的序列比对。图4A及图4C展示抗MICA/B抗体MICA.2(3F5)重链可变区(图4A)及轻链可变区(图4C)的核苷酸序列及对应的氨基酸序列。图4B及图4D展示重链可变区(图4B)及轻链可变区(图4D)相对于MICA.2(3F5)(“输入”)序列的种系序列。由Kabat编号确定的互补决定区(CDR)由水平线标记,且相应地加以标注(图4A-图4D)。

[0030] 图5A-图5D为抗MICA/B抗体71C2重链可变区(图5A-图5B;核苷酸:SEQ ID NO:41;氨基酸:SEQ ID NO:42)及轻链可变区(图5C-图5D;核苷酸SEQ ID NO:43;氨基酸:SEQ ID NO:44)的序列比对。图5A及图5C展示抗MICA/B抗体71C2重链可变区(图5A)及轻链可变区(图5C)的核苷酸序列及对应的氨基酸序列。图5B及图5D展示重链可变区(图5B)及轻链可变区(图5D)相对于71C2(“输入”)序列的种系序列。由Kabat编号确定的互补决定区(CDR)由水平线标记,且相应地加以标注(图5A-图5D)。

[0031] 图6A-图6H为如藉由表面等离子体共振(SPR)所测量,抗MICA/B抗体MICA.36(图6A-图6D)及MICA.38(图6E-图6H)对MICA等位基因MICA*002(图6A及图6E)、MICA*004(图6B及图6F)、MICA*008(图6C及图6G)及MICA*009(图6D及图6H)的结合亲和力动力学的图形表示。

[0032] 图6I-图6L为如藉由SPR使用Biacore 3000仪器所测量,抗MICA/B抗体MICA.2(图6I)、16A5(图6J)、19G6(图6K)及71C2(图6L)对MICA等位基因MICA*002、MICA*004、MICA*008及MICA*009的结合亲和力动力学的图形表示。

[0033] 图7A-图7G为用史卡查曲线图(Scatchard plot)所分析的,MICA.36与由细胞表达的MICA/B抗原活体外特异性结合的活性的图形表示。图7A为所滴定的抗体浓度(x轴;nM抗体)针对每分钟缔合计数(y轴;CPM)绘制的标准曲线。图7B-图7F展示MICA.36与在中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中过度表达的人类MICA*008(图7B)、人类MICB*005(图7C)及食蟹猴MICA/B(克隆#4及#6)(图7D-图7E);及在786-O细胞(图7F)及SW480细胞(图7G)上内源性表达的人类MICA/B的特异性结合、总结合及非特异性结合(NSB)。

[0034] 图8A-图8N展示使用荧光活化细胞分选(FACS)所得到的,MICA/B抗体与在各种细胞系上表达的MICA或MICB常见等位基因的结合亲和力。图8A、图8D、图8F、图8H、图8J及图8L展示在递增的抗体浓度下,19G6(8A)、24G11(图8D)、71C2(图8F)、16A5(图8H及图8J,两种亚克隆)及MICA.2(图8L)与在CHO细胞表面上表达的MICA/B抗原MICA*002(三角形)、MICA*004(倒三角形)、MICA*008(空心菱形)、MICA*009(实心方形)、MICA*010(实心圆形)及MICB(空心方形)的结合。图8B、图8E、图8G、图8I、图8K及图8M展示19G6(8B)、24G11(图8E)、71C2(图8G)、16A5(图8I及图8K)及MICA.2(图8M)与表达MICA的786-O(方形)、A2058(三角形)、HeLa(倒三角形)及RPMI-8226(圆形)细胞系的结合。图8C及图8N展示与阴性对照物(CHO)相比,

19G6(图8C)及MICA.2(图8N)与在CHO细胞克隆#4及#6表面上表达的食蟹猴MICA/B的交叉反应性。

[0035] 图9A-图9F展示使用氢/氘交换(HDX)质谱(MS)对各种抗MICA/B抗体进行表位定位的结果。图9A-图9E为如使用质谱所测量,MICA在与mAb MICA.2(图9A)、MICA.39(图9B)、MICA.40(图9C)、具有含G236A的Fc的非岩藻糖基化MICA.36(图9D)及MICA.36(图9E)相互作用后的差异性HDX的图形表示。图9F为人类MICA结合于自然杀伤细胞受体(NKG2D)的晶体结构的带状图,其中突出显示所定位的MICA.36表位。

[0036] 图10A-图10F展示使用酵母展示对各种抗MICA/B抗体进行表位定位的结果。图10A-图10C展示MICA.36(图10A)、MICA.2(图10B)及24G11(图10C)的各个表位。图10D-图10F展示对于MICA.2(图10D)、MICA.36(图10E)及24G11(图10F),在MICA结合于NKG2D的晶体结构的带状图上迭置的相同表位。

[0037] 图11A-图11D为如藉由FACS所测量,与暴露于同种型对照(圆形)中相比,在暴露于递增浓度的抗MICA/B抗体MICA.36(非岩藻糖基化,G236A变体;倒三角形)中后,如藉由最大荧光强度在异位表达MICA(图11A-图11C)或MICB(图11D)的LLC细胞(图11A)、E.G7-Ova细胞(图11B)及B16细胞(图11C及图11D)上所测量的表面MICA或MICB含量的图形表示。

[0038] 图12A-图12D为与暴露于同种型对照(圆形)中相比,在暴露于递增浓度的抗MICA/B抗体MICA.36(非岩藻糖基化,G236A变体;倒三角形)中后,对于异位表达MICA/B(图12A-图12C)或重组MICA*008抗原(图12D)的LLC细胞(图12A)、E.G7-Ova细胞(图12B)及B16细胞(图12C)及CHO细胞(图12D),如藉由ELISA所测量,存在于细胞培养物的上清液中的可溶性MICA/B的浓度的图形表示。

[0039] 图13A-图13E为在内源性表达MICA/B的人类细胞系的表面上的表面MICA/B含量的图形表示。与暴露于同种型对照(圆形)中相比,在暴露于递增浓度的抗MICA/B抗体MICA.36(非岩藻糖基化,G236A变体;倒三角形)中后,在SW480细胞(图13A)、HeLa细胞(图13B)、HCT-116细胞(图13C)、786-O细胞(图13D)及A2058细胞(图13E)的表面上使用FACS藉由最大荧光强度来测量MICA/B的表面定位。

[0040] 图14A-图14C为与暴露于同种型对照(圆形)中相比,在暴露于递增浓度的抗MICA/B抗体MICA.36(非岩藻糖基化,G236A变体;倒三角形)中后,如藉由ELISA在经培养的HeLa细胞(图14A;表达MICA*008)、HCT-116细胞(图14B)及786-O细胞(图14C)的培养基中所测量,内源性表达MICA/B的人类细胞系的培养基中的可溶性MICA/B浓度的图形表示。

[0041] 图15A为在与递增浓度的MICA.36 IgG1(圆形)、MICA.36 IgG1 G236A(实心方形)、非岩藻糖基化MICA.36 IgG1(NF;倒三角形)及MICA.36-IgG1-NF-G236A(三角形)或同种型对照(hIgG1,空心方形)一起培养后,抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)的水平的图形表示。图15B为在与递增浓度的MICA.36 IgG1(倒三角形)、MICA.36 IgG1 NF(圆形)、MICA.36 IgG1 G236A(实心方形)、MICA.36-IgG1-NF-G236A(三角形)或同种型对照(空心方形)一起培养后,如藉由增殖性CD8 T细胞的百分比所测量的抗原交叉呈递的图形表示。

[0042] 图16A及16B为在暴露于递增浓度的MICA.36 NF G236A(三角形)、MICA.36 IgG1(倒三角形)、MICA.36 IgG1 NF(圆形)、MICA.36 IgG1 G236A(实心方形)或同种型对照(空心方形)中后,表达MICA/B的Raji细胞(图16A)及A375细胞(图16B)的比溶解百分比的图形说明。

[0043] 图17A及图17B展示所施与的抗MICA/B抗体MICA.36 NF G236A对诱发产生肺部肿瘤的小鼠中的总肿瘤面积(图17A)及可溶性MICA/B血清含量(图17B)的活体内作用。

[0044] 图18A及图18B展示在诱发产生肺部肿瘤的小鼠中的两个剂量递增研究的结果,其在施与不同剂量(10mg/kg(mpk)、3mpk、1mpk或0.3mpk)的抗MICA/B抗体MICA.36 NF G236A或同种型对照后测量总肿瘤大小。

[0045] 图19A-图19E展示向表现出EG7-MICA肿瘤的MICA转基因小鼠施与单独或与抗PD-1抗体组合的抗MICA/B抗体的结果。图19A及图19B为在施与以下的小鼠中的平均肿瘤体积(图19A)及中位肿瘤体积(图19B)的图形表示:同种型对照(实心圆形)、MICA.36 mIgG2a及同种型对照mIgG1(方形)、MICA.36 mIgG1 D265A及同种型mIgG2a(三角形)、抗PD-1 mIgG1 D265A及同种型mIgG2a(倒三角形)、MICA.36 mIgG2a及抗PD-1 mIgG1 D265A(菱形)、或MICA.36 mIgG1 D265A及抗PD-1 mIgG1 D265A(空心圆形)。图19C为对于以下各处理组所计算的肿瘤生长抑制百分比(TGI%)的图形表示:10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg同种型mIgG1(圆形)、10mg/kg MICA.36 mIgG1 D265A及10mg/kg同种型mIgG2a(方形)、10mg/kg抗PD-1 mIgG1 D265A及10mg/kg同种型mIgG2a(三角形)、10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg抗PD-1 mIgG1 D265A(倒三角形)、及10mg/kg MICA.36 mIgG1 D265A及10mg/kg抗PD-1 mIgG1 D265A(菱形)。图19D展示在用以下处理后,表现出EG7-MICA肿瘤的转基因小鼠的无恶化存活率(PFS%):同种型10mg/kg mIgG1及10mg/kg同种型mIgG2a双重对照物(圆形)、10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg同种型mIgG1(方形)、10mg/kg抗PD-1 mIgG1 D265A及10mg/kg同种型mIgG2a(倒三角形)、或10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg抗PD-1 mIgG1 D265A(菱形)。图19E展示在用以下处理后,患有EG7-MICA肿瘤的转基因小鼠的血清中的可溶性MICA的浓度:同种型对照、MICA.36 mIgG2a、MICA.36 mIgG1 D265A、抗PD-1 mIgG1 D265A、MICA.36 mIgG2a及抗PD-1 mIgG1 D265A、或MICA.36 mIgG1 D265A及抗PD-1 mIgG1 D265A。

[0046] 图20A-图20D展示抗MICA/B抗体在患有EG7-MICA/B肿瘤的B6-MICA转基因小鼠中的活体内作用的结果。图20A及图20B为在用以下处理的小鼠中的平均肿瘤体积(图20A)及中位肿瘤体积(图20B)的图形表示:20mg/kg同种型mIgG2a(圆形)、10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg同种型对照mIgG2a(方形)、10mg/kg抗CTLA-4 mIgG2a及10mg/kg同种型mIgG2a(三角形)、或10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg抗CTLA-4 mIgG2a(倒三角形)。图20C展示对于以下各处理组所计算的肿瘤生长抑制百分比(TGI%):10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg同种型mIgG2a(圆形)、10mg/kg抗CTLA-4 mIgG2a及10mg/kg同种型mIgG2a(方形)、及10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg抗CTLA-4 mIgG2a(三角形)。图20D展示在用以下处理后,患有EG7-MICA/B肿瘤的转基因小鼠的无恶化存活率(PFS%):20mg/kg同种型mIgG2a(圆形)、10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg同种型对照mIgG2a(方形)、10mg/kg抗CTLA-4 mIgG2a及10mg/kg同种型mIgG2a(三角形)、或10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg抗CTLA-4 mIgG2a(倒三角形)。

[0047] 图21A-图21D展示抗MICA/B抗体在用EG7-MICA/B肿瘤细胞皮下注射的B6-MICA转基因小鼠中的活体内作用的结果。图21A及图21B为在用以下处理的小鼠中的平均肿瘤体积(图21A)及中位肿瘤体积(图21B)的图形表示:10mg/kg同种型mIgG1及10mg/kg同种型mIgG2a(圆形)、10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg同种型mIgG1(方形)、10mg/kg抗PD-1

mIgG1 D265A及10mg/kg同种型mIgG2a(三角形)、或10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg同种型mIgG2a抗PD-1 mIgG1(倒三角形)。图21C为对于以下各处理组所计算的肿瘤生长抑制百分比(TGI%)的图形表示:10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg同种型mIgG1(圆形)、10mg/kg抗PD-1 mIgG1 D265A及10mg/kg同种型mIgG2a(方形)、及10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg抗PD-1 mIgG1 D265A(三角形)。图21D展示在用以下处理后,用EG7-MICA肿瘤细胞皮下注射的转基因小鼠的无恶化存活率(PFS%):10mg/kg同种型mIgG1及10mg/kg同种型mIgG2a(圆形)、10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg同种型mIgG1(方形)、10mg/kg抗PD-1 mIgG1 D265A及10mg/kg同种型mIgG2a(三角形)、或10mg/kg MICA.36 mIgG2a及10mg/kg抗PD-1 mIgG1 D265A(倒三角形)。

[0048] 图22A-图22C展示使用X射线共晶体学进行表位定位的结果。图22A为MICA的α3结构域的表面表示,其中表位残基以黑色展示,而剩余表面残基以灰色展示。图22B及图22C展示MICA.36Fab(带状表示)与MICA的α3结构域(表面表示,如图22A中所示)复合的两种定向。MICA的α3结构域上的MICA.36表位以黑色展示,而MICA的α3结构域的剩余残基以灰色展示。

[0049] 图23A-图23B展示使用FACS得到的抗MICA/B抗体与在CHO细胞上表达的MICA常见等位基因的结合亲和力。图23B展示与图23A中相同,但重组抗体MICA.5、MICA.6及MICA.7及同种型对照的Y轴不同的数据。

[0050] 图24A-图24B展示使用FACS得到的抗MICA/B抗体与在RPMI-8226细胞上内源性表达的MICA的结合亲和力。图24B展示与图24A中相同,但Ab2、Ab28、Ab29、同种型对照及来自表达重组抗体MICA.5、MICA.6及MICA.7的CHO细胞系的上清液("supe")的Y轴不同的数据。

[0051] 图25展示在以1mg/kg或10mg/kg给予抗体MICA.36-mIgG2a或给予同种型对照之后72小时及168小时时,B6-MICA转基因小鼠中可溶性MICA/B的血清含量。

[0052] 图26展示在给予sMICA及抗体MICA.36-mIgG2a或同种型对照之后,对B6-MICA转基因小鼠中sMICA进行的PK分析的结果。

[0053] 发明详述

[0054] 本发明涉及特异性结合MHC I类多肽相关序列A(MICA)和/或MHC I类多肽相关序列B(MICB)的抗体及其抗原结合片段("抗MICA/B抗体")。在一些实施方案中,MICA为人类MICA。在一些实施方案中,MICB为人类MICB。本发明的其他方面涉及治疗有需要的个体的方法,其包括向该受试者施与特异性结合MICA和/或MICB的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,个体患有癌症,且抗MICA/B抗体在该个体中治疗癌症。

[0055] I.术语

[0056] 为了使本发明的描述可更易于理解,首先定义某些术语。额外定义阐述于实施方式通篇中。

[0057] 应注意,术语"一(a或an)"实体是指一个或多个彼实体;例如,"一个核苷酸序列"应理解为表示一个或多个核苷酸序列。因此,术语"一个(a/an)"、"一个或多个"及"至少一个"在本文中可互换使用。

[0058] 此外,本文所用的"和/或"应视为特定揭示两种指定特征或组分中的每一者具有或不具有另一者。因此,诸如本文中"A和/或B"的词组中所用的术语"和/或"意欲包括"A及B"、"A或B"、"A"(单独)及"B"(单独)。同样,诸如"A、B和/或C"的词组中所用的术语"和/或"意欲涵盖以下方面中的每一者:A、B及C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A及C;A及B;B及C;A(单

独);B(单独);及C(单独)。

[0059] 应理解,每当本文中用语言“包含”描述方面时,则还提供了用术语“由……组成”和/或“基本上由……组成”中所描述的类似方面。

[0060] 除非另外定义,否则本文所用的所有技术及科学术语均具有与本发明所属领域的一般技术者通常所理解相同的含义。举例而言,the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology,Juo,Pei-Show,第2版,2002,CRC Press;The Dictionary of Cell and Molecular Biology,第3版,1999,Academic Press;及the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology,修正版,2000,Oxford University Press,向此项技术者提供本发明中所用的许多术语的通用辞典。

[0061] 单位、前缀及符号以其国际单位体系(Système International de Unites(SI))接受的形式表示。数值范围包括界定该范围的数字。除非另外指示,否则核苷酸序列沿5’至3’方向从左向右书写。氨基酸序列沿氨基至羧基方向从左向右书写。本文所提供的标题并非本发明的各种方面的限制,其可作为整体由说明书提及。因此,下文紧接着定义的术语通过参考整个说明书来更充分地定义。

[0062] 术语“约”在本文中用于指大约、大致、在……左右或在……区域中。当术语“约”与数值范围结合使用时,其藉由相对于所述的数值向上或向下扩展边界来调整其范围。一般而言,术语“约”可相对于所陈述的值向上或向下调整数值达到上调或下调相差例如10%(更高或更低)。

[0063] 如本文所用的术语“MHC I类多肽相关序列A”或“MICA”是指非经典主要组织相容性复合体(MHC)I类分子。如本文所用的术语“MHC I类多肽相关序列B”或“MICB”是指非经典主要组织相容性复合体(MHC)I类分子。如本文所用的术语“MICA/B”是指MICA和/或MICB。

[0064] MICA为一般锚定于细胞膜上的天然表达的经糖基化且多态的蛋白质。藉由基质金属蛋白酶及ADAM蛋白酶使膜结合型MICA裂解将可溶形式的MICA释放至细胞外基质中。MICA为NKG2D的配体,该NKG2D为在自然杀伤(NK)细胞、CD8 T细胞及γδT细胞的表面上表达的受体。MICA表达在应激期间在健康细胞中得到诱导,且MICA充当诱导对表达MICA的细胞进行的NK及T细胞介导的细胞溶解的信号。有效地,MICA在应激期间充当用于细胞的“杀我”信号。MICA由多种肿瘤细胞表达。

[0065] 术语“MICA”包括MICA的任何变体或同工型,其由包括(但不限于)肿瘤细胞的细胞天然表达。因此,本文所描述的抗体可与来自除人类以外的物种的MICA(例如食蟹猴MICA)交叉反应。或者,抗体可对人类MICA具有特异性,而不展现与其他物种的任何交叉反应性。MICA或其任何变体及同工型可自天然表达其的细胞或组织分离或使用此项技术中熟知的技术和/或本文所描述的那些技术来以重组方式产生。

[0066] 人类MICA(SEQ ID NO:51)由332个氨基酸组成。已鉴别出人类MICA的至少两种额外同工型。同工型1称为MICA1(UniProt ID No.Q29983-1;SEQ ID NO:109),其由383个氨基酸组成。同工型2称为MICA2(UniProt ID No.Q29983-2;SEQ ID NO:88),其由287个氨基酸组成。相对于MICA1的氨基酸序列,MICA2缺少氨基酸残基109-204。

[0067] 下文为三种已知人类MICA同工型的氨基酸序列。

[0068] (A)人类MICA(SEQ ID NO:51):

[0069] MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQGQ WAEDVLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFL SQNLETEEWTVPQSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESGVVLRRTVPPMVN VTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQTWVATRICRGEEQRFT CYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHVSAVAAGCCYFCYYYFLCPLL

[0070] (B)人类MICA同工型1(UniProt ID No.Q29983-1;SEQ ID NO:109):

[0071] MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAKPQGQWAEDVLG NKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETKEWTMPQSS RAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLKSGVVLRRTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWN ITLSWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHV SAVAAAAIFVIIIFYVRCCKKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSDLGSTGSTEGA

[0072] (C)人类MICA同工型2(UniProt ID No.Q29983-2;SEQ ID NO:88):

[0073] MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAKPQGQWAEDVLG NKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWNITLSWRQDGVSLSHDTQQ WGDVLPDGNGTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHVSAVAAAAIFVIIIFYVRC CKKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSDLGSTGSTEGA

[0074] MICA的信号序列对应于氨基酸1-23(加下划线)。因此,MICA、MICA1及MICA2成熟同工型分别由氨基酸24至332、383或287组成。成熟人类MICA的细胞外结构域由SEQ ID NO:51的氨基酸24-307组成,且具有氨基酸序列:

[0075] EPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAKPQGQWAEDVLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLA HIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETKEWTMPQSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTH YHAMHADCLQELRRYLKSGVVLRRTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWNITLSWRQDGVSLSHDTQQWGDVL PDGNGTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHW (SEQ ID NO: 89)。

[0076] 存在多种已知MICA(MICA)等位基因。在一些实施方案中,MICA为MICA*002(在本文中亦称为MICA*002等位基因),其具有氨基酸序列:

[0077] MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSGDGSVQSGFLAEVHLDGQPFLRCDRQKCRAKPQGQWAEDVLG NKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETEEWTMPQSS RAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLKSGVVLRRTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWN ITLSWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHV SAVAAAAIFVIIIFYVRCCKKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSDLGSTGSTEGT (SEQ ID NO: 110)。

[0078] 在一些实施方案中,MICA为MICA*004(在本文中亦称为MICA*004抗原),其具有氨基酸序列:

MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQGQWAEDVLG NKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNVETEEWTVPQSS RAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESSVVLRRRVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRN ITLSTRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHV SAVAAAAAAIFVIIIFYVRCCKKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSALGSTGSTEGA (SEQ ID NO: 111)。

[0079] 在一些实施方案中,MICA为MICA*008(在本文中亦称为MICA*008抗原),其具有氨基酸序列:

MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQGQWAEDVLG
NKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETEEWTVPQSS
RAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESGVVLRRTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRN
IILTWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQTWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHV
SAVAAAAIFVIIIFYVRCC (SEQ ID NO: 112)。

[0080] 在一些实施方案中,MICA为MICA*009(在本文中亦称为MICA*009抗原),其具有氨基酸序列:

MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQGQWAEDVLG
NKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETEEWTVPQSS
RAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESSVVLRRTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRN
ITLTWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHV
SAVAAAAIFVIIIFYVRCCKKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSALGSTGSTEGT (SEQ ID NO: 113)。

[0081] 在一些实施方案中,MICA为MICA*009(在本文中亦称为MICA*009抗原),其具有氨基酸序列:

MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLPYNLTVLSWDGSVQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQGQWAEDVLG
NKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETEEWTVPQSS
RAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESSVVLRRTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRN
IILTWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQTWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHV
SAVAAAAAIFVIIIFYVRCCKKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSALGSTGSTEGA (SEQ ID NO: 114)。

[0082] 存在此项技术中已知的人类MICA的许多不同等位基因,包括七十三种或超过七十三种MICA等位基因。参见Frigoul及Lefranc,Recent Res.Devel.Human Genet.3:95-145(2005)。本说明书中所公开的抗体可结合于MICA的一种或多种等位基因。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体特异性结合于单一MICA等位基因。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体以高亲和力结合于一种或多种MICA等位基因,且以低亲和力结合于其他MICA等位基因。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合于选自以下的一种或多种MICA等位基因:MICA*002、MICA*004、MICA*008及MICA*009。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体以高亲和力结合于MICA*004、MICA*008及MICA*009,且视情况以低亲和力结合于MICA*002。

[0083] 食蟹猴MICA蛋白质包含以下氨基酸序列(包括信号序列):

ELHSLRYNVTVLSRDGSVQSGFLAEGHLDGQLFLLYDRQKCRARPQGEWSEDVLGAKTWDTETGDLTEN
GKDLRMTLAHIKGQKGGLHSLQEIKVCEIHEDNSTGGLRHFYYDGELFLSQNLETQEWTELQSSRAQTLAL

[0084] NIRNFWKEDTMKTKTHYRAVQADCLKKLQQYLESGVAVRRTAPPMVNVTHSEASEGNITVTCRASGFYPR
NIALTWRQDGVSLNHNAQQWGGILPDQNGTYQTWVATRIRQGEEQRFACYMEHSGNHSTHPVPS (SEQ ID NO: 90; UniProt ID No. Q2MGE0)。

[0085] MICB为一般锚定于细胞膜上的天然表达的经糖基化且多态性的蛋白质。使膜结合型MICB裂解将可溶形式的MICB释放至细胞外基质中。MICB为NKG2D的配体,且充当诱导对表达MICB的细胞进行的NK及T细胞介导的细胞溶解的信号。MICB在应激期间充当用于细胞的“杀我”信号,且由多种肿瘤细胞表达。术语“MICB”包括MICB的任何变体或同工型,其由包括(但不限于)肿瘤细胞的细胞天然表达。

[0086] 本文所描述的抗体可与来自除人类以外的物种的MICB(例如食蟹猴MICB)交叉反应。或者,抗体可对人类MICB具有特异性,而不展现与其他物种的任何交叉反应性。MICB或其任何变体及同工型可自天然表达其的细胞或组织分离或使用此项技术中熟知的技术和/

或本文所描述的那些技术来以重组方式产生。

[0087] 人类MICB(SEQ ID NO:132)由383个氨基酸组成(UniProt ID No.Q29980),其具有以下氨基酸序列:

MGLGRVLLFLAVAFPFAPPAAAAEPHSLRYNLMVLSQDESVQSGFLAEGHLDGQPFLRYD
RQKRRAKPQGQWAEDVLGAKTWDTETEDLTENGQDLRRTLTHIKDQKGGLHSLQEIRVCE
IHEDSSTRGSRHFYYDGELFLSQNLETQESTVPQSSRAQTLAMNVTNFWKEDAMKTKTHY
RAMQADCLQKLQRYLKSGVAIRRTVPPMVNVTCSEVSEGNITVTCRASSFYPRNITLTWR
QDGVSLSHNTQQWGDVLPDGNGTYQTWVATRIRQGEEQRFTCYMEHSGNHGTHPVPSGKV
LVLQSQRTDFPYVSAAMPCFVIIIILCVPCCKKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTGDHR
DAAQLGFQPLMSATGSTGSTEGA

[0088] 已鉴别出人类MICB的额外同工型。MICB的同工型2(UniProt ID No.Q29980-2)具有以下氨基酸序列:

[0089]
MGLGRVLLFLAVAFPFAPPAAAAEPHSLRYNLMVLSQDESVQSGFLAEGHLDGQPFLRYD
RQKRRAKPQGQWAEDVLGAKTWDTETEDLTENGQDLRRTLTHIKDQKGVPQSSRAQTLAM
NVTNFWKEDAMKTKTHYRAMQADCLQKLQRYLKSGVAIRRTVPPMVNVTCSEVSEGNITV
TCRASSFYPRNITLTWRQDGVSLSHNTQQWGDVLPDGNGTYQTWVATRIRQGEEQRFTCY
MEHSGNHGTHPVPSGKVLVLQSQRTDFPYVSAAMPCFVIIIILCVPCCKKKTSAAEGPEL
VSLQVLDQHPVGTGDHRDAAQLGFQPLMSATGSTGSTEGA (SEQ ID NO:133)。

[0090] 在一些实施方案中,术语“抗体”是指包含藉由二硫键互连的至少两个重(H)链及两个轻(L)链的蛋白质。各重链包含重链可变区(本文中缩写为VH)及重链恒定区(本文中缩写为CH)。在一些抗体(例如天然产生的IgG抗体)中,重链恒定区包含一个铰链及三个结构域CH1、CH2及CH3。在一些抗体(例如天然产生的IgG抗体)中,各轻链包含轻链可变区(本文中缩写为VL)及轻链恒定区。轻链恒定区包含一个结构域(本文中缩写为CL)。VH及VL区可进一步细分成高变区(称为互补决定区(CDR)),其间穿插有更保守的区(称为构架区(FR))。各VH及VL由三个CDR及四个FR构成,其自氨基端至羧基端按以下次序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。重链及轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,包括与免疫系统的各种细胞(例如效应细胞)及经典补体系统的第一组分(C1q)的结合。重链可具有或不具有C端赖氨酸。除非本文另外指定,否则可变区中的氨基酸使用Kabat编号系统来加以编号,而恒定区中的那些氨基酸使用EU系统来加以编号。

[0091] 在一些实施方案中,如本文所用的“IgG抗体”,例如人类IgG1、IgG2、IgG3及IgG4抗体具有天然产生的IgG抗体的结构,也即,其具有与相同亚类的天然产生的IgG抗体相同数目的重链及轻链及二硫键。举例而言,抗MICA/B IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗体由两个重链(HC)及两个轻链(LC)组成,其中该两个HC及LC由数目及位置分别与出现在天然产生的IgG1、IgG2、IgG3及IgG4抗体中相同的二硫桥键连接(除非该抗体已经突变以修饰所述二硫桥键)。

[0092] 抗体通常以高亲和力特异性地结合于其相应抗原,该高亲和力由解离常数(K_D)为10^{-5}至10^{-11}M或更小反映。大于约10^{-4}M的任何K_D一般视为指示非特异性结合。如本文所用,“特异性结合”于抗原的抗体是指以高亲和力结合于该抗原及基本上相同的抗原但不以高亲和力结合于不相关抗原的抗体,该高亲和力意谓K_D为10^{-7}M或更小、10^{-8}M或更小、5×10^{-9}M

或更小或介于10^{-8}M与10^{-10}M之间或更小。若抗原与既定抗原展现高度序列同一性,举例而言,若抗原与既定抗原的序列展现至少80%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%序列同一性,则该抗原与该既定抗原“基本上同一”。举例而言,在一些实施方案中,特异性结合于人类MICA/B的抗体亦可具有与来自某些灵长类物种的MICA/B抗原(例如食蟹猴MICA/B)的交叉反应性,但不能与来自其他物种的MICA/B抗原或与除MICA/B以外的抗原交叉反应。

[0093] 免疫球蛋白可来自任一通常已知的同种型,包括(但不限于)IgA、分泌性IgA、IgG及IgM。IgG同种型在某些物种中划分成亚类:在人类中,IgG1、IgG2、IgG3及IgG4,及在小鼠中,IgG1、IgG2a、IgG2b及IgG3。在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体具有IgG1亚型。免疫球蛋白(例如IgG1)以若干同种异型存在,所述同种异型彼此相差至多几个氨基酸。举例而言,“抗体”包括天然产生及非天然产生的抗体两者;单克隆及多克隆抗体;嵌合及人源化抗体;人类及非人类抗体及全合成抗体。

[0094] 如本文所用的术语抗体的“抗原结合部分”是指抗体中保留特异性结合于抗原(例如人类MICA/B)的能力的一个或多个片段。已展示抗体的抗原结合功能可由全长抗体的片段执行。涵盖于术语抗体(例如,本文所描述的抗MICA/B抗体)的“抗原结合部分”内的结合片段的实例包括(i)由V_L、V_H、LC及CH1结构域组成的Fab片段(来自木瓜蛋白酶裂解的片段)或类似单价片段;(ii)包含在铰链区处藉由二硫桥键连接的两个Fab片段的F(ab')2片段(来自胃蛋白酶裂解的片段)或类似二价片段;(iii)由V_H及CH1结构域组成的Fd片段;(iv)由抗体单个臂的V_L及V_H结构域组成的Fv片段,(v)由V_H结构域组成的dAb片段(Ward等人,(1989)Nature 341:544-546);(vi)经分离的互补决定区(CDR);及(vii)可视情况藉由合成的接头接合的两个或超过两个经分离CDR的组合。此外,尽管Fv片段的两个结构域V_L及V_H由单独基因编码,但其可使用重组方法藉由合成的接头接合,该合成的接头使得所述结构域能够以单个蛋白质链形式制得,其中V_L及V_H区配对以形成单价分子(称为单链Fv(scFv);参见例如Bird等人(1988)Science 242:423-426;及Huston等人(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883)。此类单链抗体亦意欲涵盖于术语抗体的“抗原结合部分”内。这些抗体片段系使用熟习此项技术者已知的习知技术来获得,且以与完整抗体相同的方式来筛选供使用的片段。抗原结合部分可藉由重组DNA技术,或藉由完整免疫球蛋白的酶促或化学裂解来产生。

[0095] “双特异性”或“双功能抗体”为具有两对不同重链/轻链及两个不同结合位点的人工杂合抗体。双特异性抗体可藉由包括杂交瘤融合或Fab'片段连接的多种方法来产生。参见例如Songsivilai及Lachmann,Clin.Exp.Immunol.79:315-321(1990);Kostelny等人,J.Immunol.148,1547-1553(1992)。

[0096] 如本文所用,术语“单克隆抗体”是指来自基本上同质的抗体的群体的抗体,也即,除可能在单克隆抗体生产期间产生的可能变体(此类变体一般以少量存在)以外,该群体中所包含的个别抗体基本上类似且结合相同表位(例如,所述抗体展示单一结合特异性及亲和力)。修饰语“单克隆”指示抗体的特征为自基本上同质的抗体群体获得,且不应解释为需要藉由任何特定方法产生该抗体。术语“人类单克隆抗体”是指来自展示单一结合特异性的基本上同质的抗体的群体且具有来源于人类种系免疫球蛋白序列的可变区及视情况存在的恒定区的抗体。在一些实施方案中,人类单克隆抗体系由杂交瘤产生,该杂交瘤包括与永

生化细胞融合的自转基因非人类动物(例如转基因小鼠)获得的B细胞,其具有包含人类重链转基因及轻链转基因的基因组。

[0097] 如本文所用,术语“重组人类抗体”包括藉由重组手段制备、表达、产生或分离的所有人类抗体,诸如(a)自人类免疫球蛋白基因的转基因或转染色体动物(例如小鼠)或由其制备的杂交瘤分离的抗体;(b)自经转化以表达抗体的宿主细胞,例如自转染瘤分离的抗体;(c)自重组、组合人类抗体文库分离的抗体;及(d)藉由涉及将人类免疫球蛋白基因序列剪接至其他DNA序列的任何其他手段制备、表达、产生或分离的抗体。此类重组人类抗体包含利用由种系基因编码的特定人类种系免疫球蛋白序列,但包括随后例如在抗体成熟期间发生的重排及突变的可变区及恒定区。如此项技术中已知(参见例如Lonberg(2005)Nature Biotech.23(9):1117-1125),可变区含有由重排以形成对外来抗原具有特异性的抗体的各种基因编码的抗原结合结构域。除重排之外,可变区亦可藉由多个单氨基酸变化(称为体细胞突变或高突变)进一步修饰以增加抗体对外来抗原的亲和力。恒定区将进一步响应于抗原而发生变化(亦即同种型转换)。因此,响应于抗原而编码轻链及重链免疫球蛋白多肽的经重排且经体细胞突变的核酸分子不能具有与原始核酸分子的序列同一性,但替代地将基本上相同或类似(亦即,具有至少80%同一性)。

[0098] “人类”抗体(HuMAb)是指具有其中构架区及CDR区均来源于人类种系免疫球蛋白序列的可变区的抗体。另外,若该抗体含有恒定区,则该恒定区亦来源于人类种系免疫球蛋白序列。本文所描述的抗MICA/B抗体可包括不由人类种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,藉由活体外随机或位点特异性突变诱发或藉由活体内体细胞突变而引入的突变)。然而,如本文所用,术语“人类抗体”不意欲包括其中来源于另一哺乳动物物种(诸如小鼠)种系CDR序列已移植至人类构架序列上的抗体。术语“人类”抗体与“完全人类”抗体同义使用。

[0099] “人源化”抗体是指其中非人类抗体的CDR结构域外的一些、大部分或所有氨基酸经来源于人类免疫球蛋白的对应氨基酸置换的抗体。在人源化形式的抗体的一些实施方案中,CDR结构域外的一些、大部分或所有氨基酸已经来自人类免疫球蛋白的氨基酸置换,而一个或多个CDR区内的一些、大部分或所有氨基酸不变。氨基酸的小添加、缺失、插入、取代或修饰为容许的,只要其不消除抗体结合于特定抗原的能力即可。“人源化”抗体保留类似于原始抗体的抗原特异性。

[0100] “嵌合抗体”是指其中可变区来源于一个物种而恒定区来源于另一物种的抗体,诸如其中可变区来源于小鼠抗体而恒定区来源于人类抗体的抗体。

[0101] 如本文所用,“同种型”是指由重链恒定区基因编码的抗体类别(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD及IgE抗体)。

[0102] “同种异型”是指特定同种型群内的天然产生的变体,所述变体相差几个氨基酸(参见例如Jefferis等人(2009)mAbs 1:1)。本文所描述的抗MICA/B抗体可具有任何同种异型。如本文所用,称为“IgG1f”、“IgG1.1f”或“IgG1.3f”同种型的抗体分别为同种异型“f”的IgG1、无效应IgG1.1及无效应IgG1.3抗体,也即,根据Kabat中的EU索引,具有214R、356E及358M。

[0103] 词组“识别抗原的抗体”及“对抗原具有特异性的抗体”在本文中可与术语“特异性结合于抗原的抗体”互换使用。

[0104] 如本文所用,“经分离的抗体”意欲指基本上不含其他蛋白质及细胞材料的抗体。

[0105] 如本文所用,“结合MICA/B”的抗体意欲指例如在使用经人类MICA/B转染的CHO细胞或MICA/B表达性肿瘤细胞的结合分析中,与MICA/B相互作用的抗体,在此项技术中公认的方法中,例如在本文所描述的基于FACS的结合分析中,其EC_{50}为约25μg/mL或更小、约23μg/mL或更小、约20μg/mL或更小、约15μg/mL或更小、约10μg/mL或更小、约5μg/mL或更小、约3μg/mL或更小、约2μg/mL或更小、约1μg/mL或更小、约0.5μg/mL或更小、约0.45μg/mL或更小、约0.4μg/mL或更小、约0.35μg/mL或更小或约0.3μg/mL或更小。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合在例如CHO细胞上表达的人类MICA/B,其EC_{50}为约200nM或更小、约175nM或更小、约160nM或更小、约150nM或更小、约125nM或更小、约110nM或更小、约100nM或更小约80nM或更小、约75nM或更小、约60nM或更小、约50nM或更小、约40nM或更小、约35nM或更小、约30nM或更小、约25nM或更小、约20nM或更小、约15nM或更小、约10nM或更小、约9nM或更小、约8nM或更小、约7nM或更小、约6nM或更小、约5nM或更小、约4nM或更小、约3nM或更小、约2nM或更小、约1.9nM或更小、约1.8nM或更小、约1.7nM或更小、约1.6nM或更小、约1.5nM或更小、约1.4nM或更小、约1.3nM或更小、约1.2nM或更小、约1.1nM或更小、约1.0nM或更小、约0.9nM或更小、约0.8nM或更小、约0.7nM或更小、约0.6nM或更小、约0.5nM或更小、约0.4nM或更小、约0.3nM或更小、约0.2nM或更小或约0.1nM或更小。在某些实施方案中,抗MICA/B抗体结合在例如CHO细胞上表达的人类MICA/B,其EC_{50}小于约10nM。在某些实施方案中,抗MICA/B抗体结合在例如CHO细胞上表达的人类MICA/B,其EC_{50}小于约5nM。在某些实施方案中,抗MICA/B抗体结合在例如CHO细胞上表达的人类MICA/B,其EC_{50}小于约1.5nM。在某些实施方案中,抗MICA/B抗体结合在例如CHO细胞上表达的人类MICA/B,其EC_{50}为约1nM或更小。在某些实施方案中,抗MICA/B抗体结合在例如CHO细胞上表达的人类MICA/B,其EC_{50}为约0.5nM或更小。在某些实施方案中,抗MICA/B抗体结合在例如CHO细胞上表达的人类MICA/B,其EC_{50}为约0.3nM或更小。在某些实施方案中,抗MICA/B抗体结合在例如CHO细胞上表达的人类MICA/B,其EC_{50}为约0.2nM或更小。

[0106] 如本文所用,“抑制、阻止或减少”细胞(例如肿瘤细胞)对“MICA/B进行的脱落”的抗体意欲指抑制、阻止或减少可溶性MICA/B自细胞表面释放的抗体。在不受机制束缚的情况下,本文所公开的抗MICA/B抗体减少例如藉由裂解以可溶性MICA/B形式释放至血浆中的MICA/B的量。在一些实施方案中,抗体增加细胞表面上的膜结合型MICA/B。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体增加表面MICA/B在经人类MICA/B转染的细胞上的保留,其MICA/B保留EC_{50}为约10nM或更小、约5nM或更小、约1nM或更小、约0.85nM或更小、约0.8nM或更小、约0.75nM或更小、约0.7nM或更小、约0.65nM或更小、约0.6nM或更小、约0.55nM或更小、约0.5nM或更小、约0.45nM或更小、约0.4nM或更小、约0.35nM或更小、约0.3nM或更小、约0.25nM或更小、约0.2nM或更小、约0.15nM或更小或约0.1nM或更小。在某些实施方案中,抗MICA/B抗体使表面MICA/B在经人类MICA/B转染的细胞上的保留增加至少约1.2倍、至少约1.3倍、至少约1.4倍、至少约1.5倍、至少约1.6倍、至少约1.7倍、至少约1.8倍、至少约1.9倍、至少约2倍、至少约2.1倍、至少约2.2倍、至少约2.3倍、至少约2.4倍、至少约2.5倍、至少约2.75倍、至少约3倍、至少约3.5倍、至少约4倍、至少约4.5倍、至少约5倍、至少约7.5倍、至少约10倍或至少约20倍。

[0107] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体降低患者血清中的可溶性MICA/B(sMICA/B)含

量。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体减少自经人类MICA/B转染的细胞脱落的可溶性MICA/B,其IC_{50}为约10nM或更小、约5nM或更小、约1nM或更小、约0.7nM或更小、约0.6nM或更小、约0.5nM或更小、约0.45nM或更小、约0.4nM或更小、约0.35nM或更小、约0.3nM或更小、约0.25nM或更小、约0.2nM或更小、约0.19nM或更小、约0.18nM或更小、约0.17nM或更小、约0.16nM或更小、约0.15nM或更小、约0.14nM或更小、约0.13nM或更小、约0.12nM或更小、约0.11nM或更小、约0.1nM或更小、约0.09nM或更小、约0.08nM或更小、约0.07nM或更小、约0.06nM或更小、约0.05nM或更小、约0.04nM或更小、约0.03nM或更小、约0.02nM或更小或约0.01nM或更小。在某些实施方案中,抗MICA/B抗体使自经人类MICA转染的细胞进行的MICA/B的脱落减少约0.9倍或更小、约0.85倍或更小、约0.8倍或更小、约0.75倍或更小、约0.7倍或更小、约0.65倍或更小、约0.6倍或更小、约0.55倍或更小、约0.5倍或更小、约0.45倍或更小、约0.4倍或更小、约0.35倍或更小、约0.3倍或更小、约0.25倍或更小、约0.2倍或更小、约0.15倍或更小、约0.1倍或更小或约0.05或更小。在某些实施方案中,抗MICA/B抗体可使个体血清的可溶性MICA/B减少例如至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%或至少约90%。

[0108] 如本文所用,术语“脱落(shed/shedding)”是指可溶性MICA/B自MICA/B表达性细胞的表面的释放。MICA/B表达为定位于细胞表面的跨膜蛋白。在细胞外结构域内裂解将MICA/B的一部分释放至血浆中,该一部分其在本文中称为“可溶性MICA/B”或“sMICA/B”。

[0109] “效应功能”是指抗体Fc区与Fc受体或配体的相互作用,或自其引起的生物化学事件。例示性“效应功能”包括C1q结合、补体依赖性细胞毒性(CDC)、Fc受体结合、FcγR介导的效应功能(诸如ADCC)及抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP),及细胞表面受体(例如B细胞受体;BCR)的下调。此类效应功能一般需要Fc区与结合结构域(例如抗体可变结构域)组合。

[0110] “Fc受体”或“FcR”为结合于免疫球蛋白的Fc区的受体。结合于IgG抗体的FcR包含FcγR家族的受体,包括这些受体的等位基因变体及备选的剪接形式。FcγR家族由三种活化性受体(在小鼠中,FcγRI、FcγRIII及FcγRIV;在人类中,FcγRIA、FcγRIIA及FcγRIIIA)及一种抑制性受体(FcγRIIB)组成。人类FcγR的各种特性为此项技术中已知。大部分先天性效应细胞类型共同表达一种或多种活化性FcγR及抑制性FcγRIIB,而自然杀伤(NK)细胞选择性地表达一种活化性Fc受体(在小鼠中,FcγRIII,而在人类中,FcγRIIIA)但不在小鼠及人类中表达抑制性FcγRIIB。人类IgG1结合于大部分人类Fc受体,且认为其在所结合的活化性Fc受体的类型方面等同于鼠类IgG2a。

[0111] “Fc区”(可结晶区的片段)或“Fc结构域”或“Fc”是指介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,包括结合于位于免疫系统的各种细胞(例如效应细胞)上的Fc受体及经典补体系统的第一组分(C1q)的结合的抗体的重链的C端区。因此,Fc区包含除第一恒定区免疫球蛋白结构域(例如CH1或CL)外的抗体的恒定区。在IgG、IgA及IgD抗体同种型中,Fc区包含来源于抗体的两个重链的第二(CH2)及第三(CH3)恒定结构域的两个相同蛋白质片段;IgM及IgE Fc区在各多肽链中包含三个重链恒定结构域(CH结构域2-4)。对于IgG,Fc区包含免疫球蛋白结构域CH2及CH3及处于CH1与CH2结构域之间的铰链。尽管对免疫球蛋白重链的Fc区的边界的定义可不同,但如本文所定义,人类IgG重链Fc区定义为对于IgG1自氨基酸残基D221,对于IgG2自V222,对于IgG3自L221而对于IgG4自P224延伸至重链的羧基端,其中该编

号是根据Kabat中的EU索引。人类IgG Fc区的CH2结构域自氨基酸237延伸至氨基酸340,而CH3结构域定位于Fc区中CH2结构域的C端侧,也即,其自IgG的氨基酸341延伸至氨基酸447或446(若不存在C端赖氨酸残基)或氨基酸445(若不存在C端甘氨酸及赖氨酸残基)。如本文所用,Fc区可为天然序列Fc,包括任何同种异型变体或变异型Fc(例如非天然产生的Fc)。

[0112] “天然序列Fc区”或“天然序列Fc”包含与在自然界中发现的Fc区的氨基酸序列相同的氨基酸序列。天然序列人类Fc区包括天然序列人类IgG1 Fc区;天然序列人类IgG2 Fc区;天然序列人类IgG3 Fc区;及天然序列人类IgG4 Fc区以及其天然产生的变体。天然序列Fc包括Fc的各种同种异型(参见例如Jefferis等人(2009)mAbs 1:1)。

[0113] 术语“表位”或“抗原决定子”是指免疫球蛋白或抗体特异性结合的抗原(例如MICA)上的位点,例如,如由用于鉴别其的特定方法所定义。表位可由藉由蛋白质的三级折叠而相邻的邻接氨基酸(通常为线性表位)或非邻接氨基酸形成(通常为构象表位)。由邻接氨基酸形成的表位在暴露于变性溶剂中后通常但未必总是保留,而藉由三级折叠形成的表位在用变性溶剂处理通常消失。表位通常以独特空间构象包括至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个氨基酸。用于确定何种表位与既定抗体结合的方法(亦即表位定位)为此项技术中所熟知的,且包括例如免疫印迹法及免疫沉淀分析,其中测试重叠或邻接肽(例如来自MICA)与既定抗体(例如抗MICA/B抗体)的反应性。确定表位的空间构象的方法包括在此项技术中的技术及本文所描述的那些技术,例如x射线晶体学、x射线共晶体学、抗原突变分析、2维核磁共振及HDX-MS(参见例如Epitope Mapping Protocols,Methods in Molecular Biology,第66卷,G.E.Morris编,(1996))。

[0114] 术语“表位定位”是指鉴别用于抗体-抗原识别的分子决定子的方法。

[0115] 提及两种或超过两种抗体的术语“结合于相同表位”意谓如藉由既定方法所确定,抗体结合于氨基酸残基的相同区段。用于确定抗体是否与本文所描述的抗体结合于“MICA上的相同表位”的技术包括例如表位定位方法,诸如提供表位的原子解析的对抗原:抗体复合物的晶体的x射线分析及氢/氘交换质谱(HDX-MS)。其他方法监测抗体与抗原片段或抗原的突变变体的结合,其中因对抗原序列内的氨基酸残基进行修饰所致的结合损失通常视为表位组分的指示。此外,也可使用表位定位的计算组合方法。这些方法依赖于所关注的抗体亲和分离来自组合噬菌体呈现肽文库的特定短肽的能力。预期具有相同VH及VL或相同CDR1、2及3序列的抗体结合于相同表位。

[0116] “与另一抗体竞争结合于标靶”的抗体是指抑制(部分或完全)另一抗体与标靶的结合的抗体。两种抗体是否彼此竞争结合于标靶,也即一种抗体是否抑制另一抗体与标靶的结合及其抑制程度可使用已知竞争实验,例如BIACORE®表面等离子体共振(SPR)分析来加以确定。在一些实施方案中,抗体与另一抗体竞争且使该另一抗体与标靶的结合抑制至少50%、60%、70%、80%、90%或100%。视何种抗体为“阻断抗体”(亦即,首先与标靶一起培育的冷性抗体)而定,抑制或竞争的水平可不同。竞争分析可如以下中所描述来进行:例如Ed Harlow及David Lane,Cold Spring Harb Protoc;2006;doi:10.1101/pdb.prot4277或Ed Harlow及David Lane的“Using Antibodies”第11章,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY,USA 1999。若两种抗体彼此双向阻断至少50%,也即,不论是一种抗体还是另一抗体首先与在竞争实验中的抗原接触,则所述抗体“交叉竞争”,

[0117] 用于确定两种抗体是否竞争结合或交叉竞争结合的竞争性结合分析包括:结合于表达MICA/B的细胞的竞争,例如藉由流式细胞测量术,诸如描述于实施例中。其他方法包括:SPR(例如BIACORE®)、固相直接或间接放射免疫分析(RIA)、固相直接或间接酶免疫分析(EIA)、夹心竞争分析(参见Stahli等人,Methods in Enzymology 9:242(1983));固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA(参见Kirkland等人,J.Immunol.137:3614(1986));固相直接标记分析、固相直接标记夹心分析(参见Harlow及Lane,Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Press(1988));使用1-125标记的固相直接标记RIA(参见Morel等人,Mol.Immunol.25(1):7(1988));固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA(Cheung等人,Virology 176:546(1990));及直接标记RIA.(Moldenhauer等人,Scand.J.Immunol.32:77(1990))。

[0118] 如本文所用,术语"特异性结合"、"选择性结合"、"选择性地结合"及"特异性地结合"是指抗体结合于预定抗原上的表位。通常,抗体(i)当藉由例如表面等离子体共振(SPR)技术在BIACORE®2000仪器中使用预定抗原(例如重组人类MICA或MICB)作为分析物且使用抗体作为配体来测定或藉由对抗体与抗原阳性细胞的结合进行的史卡查分析来测定时,结合的平衡解离常数(K_D)为大约小于10^{-7}M,诸如大约小于10^{-8}M、10^{-9}M或10^{-10}M或甚至更低,及(ii)结合于预定抗原的亲和力为其结合于除预定抗原或紧密相关抗原以外的非特异性抗原(例如BSA、酪蛋白)的亲和力的至少两倍。因此,"特异性结合于人类MICA/B"的抗体是指以10^{-7}M或更小、诸如大约小于10^{-8}M、10^{-9}M或10^{-10}M或甚至更低的K_D结合于可溶性或细胞结合的人类MICA/B的抗体。"与食蟹猴MICA/B交叉反应"的抗体是指以10^{-7}M或更小、诸如大约小于10^{-8}M、10^{-9}M或10^{-10}M或甚至更低的K_D结合于食蟹猴MICA/B的抗体。在一些实施方案中,不与来自非人类物种的MICA/B交叉反应的此类抗体在标准结合分析中展现基本上不可检测的针对这些蛋白质的结合。

[0119] 如本文所用的术语"k_{assoc}"或"k_a"意欲指特定抗体-抗原相互作用的缔合速率,而如本文所用的术语"k_{dis}"或"k_d"意欲指特定抗体-抗原相互作用的解离速率。如本文所用,术语"K_D"意欲指解离常数,其系自k_d与k_a的比率(亦即k_d/k_a)获得且以摩尔浓度(M)表示。抗体的K_D值可使用此项技术中充分确立的方法测定。可供用于测定抗体的K_D的方法包括表面等离子体共振;生物传感器系统,诸如BIACORE®系统;或流式细胞测量术及史卡查分析。

[0120] 如本文所用,术语IgG抗体的"高亲和力"是指抗体对靶抗原的K_D为10^{-8}M或更小、10^{-9}M或更小、或10^{-10}M或更小。然而,"高亲和力"结合对于其他抗体同种型可变化。举例而言,对于IgM同种型的"高亲和力"结合是指抗体的K_D为10^{-10}M或更小、或10^{-8}M或更小。

[0121] 在使用抗体或其抗原结合片段进行的活体外或活体内分析的情形下,术语"EC_{50}"是指抗体或其抗原结合部分诱导最大反应的50%,也即介于最大反应与基线之间一半的反应的浓度。

[0122] 如本文所用,术语"天然产生"在应用于一个对象时是指一个对象可在自然界中发现的事实。举例而言,存在于可自自然界中的来源分离的生物体(包括病毒)中且尚未由人类在实验室中有意修饰的多肽或多核苷酸序列为天然产生。

[0123] "多肽"是指包含至少两个连续连接的氨基酸残基的链,链长无上限。蛋白质中的一个或多个氨基酸残基可含有修饰,诸如(但不限于)糖基化、磷酸化或二硫键形成。"蛋白质"可包含一个或多个多肽。

[0124] 如本文所用,术语“核酸分子”意欲包括DNA分子及RNA分子。核酸分子可为单链或双链,且可为cDNA。

[0125] “保守性氨基酸取代”是指氨基酸残基经具有类似侧链的氨基酸残基取代。此项技术中已定义具有类似侧链的氨基酸残基家族。这些家族包括具有碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷的极性侧链(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分支侧链(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)及芳族侧链(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)的氨基酸。在一些实施方案中,在抗MICA/B抗体中所预测的非必需氨基酸残基经来自相同侧链家族的另一氨基酸残基置换。鉴别不消除抗原结合的核苷酸及氨基酸保守性取代的方法为此项技术中熟知的(参见例如Brummell等人,Biochem.32:1180-1187(1993);Kobayashi等人Protein Eng.12(10):879-884(1999);及Burks等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94:412-417(1997))。

[0126] 对于核酸,术语“显著同源性”指示当在具有适当核苷酸插入或缺失的情况下进行最佳比对及比较时,两个核酸或其指定序列的至少约80%核苷酸、至少约90%至95%、或至少约98%至99.5%核苷酸一致。或者,当区段在选择性杂交条件下将与该股的互补序列杂交时,存在显著同源性。

[0127] 对于多肽,术语“显著同源性”指示当在具有适当核苷酸插入或缺失的情况下进行最佳比对及比较时,两个多肽或其指定序列的至少约80%氨基酸、至少约90%至95%、或至少约98%至99.5%氨基酸一致。

[0128] 在考虑到需要引入以用于两个序列的最佳比对的缺口的数目及各缺口的长度的情况下,两个序列之间的同一性百分比为由所述序列共有的相同位置的数目的函数(亦即,同源性%=相同位置数/位置总数×100)。如下文非限制性实施例中所描述,对序列的比较及对两个序列之间同一性百分比的测定可使用数学算法来实现。

[0129] 两个核苷酸序列之间的同一性百分比可使用GCG软件包(可在worldwideweb.gcg.com获得)中的GAP程序,使用NWSgapdna.CMP矩阵以及缺口权数40、50、60、70或80及长度权数1、2、3、4、5或6来测定。两个核苷酸或氨基酸序列之间的同一性百分比也可使用已并入ALIGN程序(2.0版)中的E.Meyers及W.Miller(CABIOS,4:11-17(1989))的算法,使用PAM120权数残基表、缺口长度罚分12分及缺口罚分4分来测定。另外,两个氨基酸序列之间的同一性百分比可使用已并入GCG软件包(可在http://www.gcg.com获得)中的GAP程序中的Needleman及Wunsch(J.Mol.Biol.(48):444-453(1970))算法,使用Blossum62矩阵或PAM250矩阵以及缺口权数16、14、12、10、8、6或4及长度权数1、2、3、4、5或6来测定。

[0130] 本文所描述的核酸及蛋白质序列可进一步用作“查询序列”以针对公共数据库执行检索,以例如鉴别相关序列。此类检索可使用Altschul等人(1990)J.Mol.Biol.215:403-10的NBLAST及XBLAST程序(2.0版)来执行。BLAST核苷酸检索可用NBLAST程序,得分=100,字长=12来执行,以获得与本文所描述的核酸分子同源的核苷酸序列。BLAST蛋白质检索可用XBLAST程序,得分=50,字长=3来执行,以获得与本文所描述的蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的缺口比对,可如Altschul等人,(1997)Nucleic Acids Res.25(17):3389-3402中所描述利用缺口式BLAST。当利用BLAST及缺口式BLAST程序时,可使用各别程序(例如XBLAST及NBLAST)的预设参数。参见worldwideweb.ncbi.nlm.nih.gov。

[0131] 核酸可存在于全细胞、细胞溶解物或经部分纯化或基本上纯的形式中。当核酸与其他细胞组分或其他污染物,例如其他细胞核酸(例如,染色体的其他部分)或蛋白质纯化分开时,该核酸为“经分离”或“呈现基本上纯的”,该纯化藉由标准技术,包括碱性/SDS处理、CsCl显带、柱层析、琼脂糖凝胶电泳及此项技术中熟知的其他技术来进行。参见F.Ausubel等人编,Current Protocols in Molecular Biology,Greene Publishing and Wiley Interscience,New York(1987)。

[0132] 核酸(例如cDNA)可根据标准技术进行突变以提供基因序列。对于编码序列,这些突变可视需要影响氨基酸序列。具体地,考虑与天然V、D、J、恒定、转换及本文所描述的其他此类序列基本上同源或来源于所述序列的DNA序列(其中,“来源于”表示序列与另一序列同一或自另一序列修饰得到)。

[0133] 如本文所用,术语“载体”意欲指能够转运其已连接的另一核酸的核酸分子。一种类型的载体为“质粒”,其是指其中可接合额外DNA区段的环形双股DNA环。另一类型的载体为病毒载体,其中额外DNA区段可接合至病毒基因组。某些载体能够在引入有其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及游离型哺乳动物载体)。其他载体(例如,非游离型哺乳动物载体)在引入至宿主细胞中时可整合至宿主细胞的基因组中,且藉此与宿主基因组一起复制。此外,某些载体能够导引与其可操作地连接的基因的表达。此类载体在本文中称为“重组表达载体”(或简言之,“表达载体”)。一般而言,用于重组DNA技术中的表达载体常常呈质粒形式。在本说明书中,由于质粒为载体的最常用形式,故“质粒”与“载体”可互换使用。然而,也包括提供同等功能的其他形式的表达载体,诸如病毒载体(例如复制缺陷反转录病毒、腺病毒及腺相关病毒)。

[0134] 如本文所用,术语“重组宿主细胞”(或简言之,“宿主细胞”)意欲指包含并非天然存在于该细胞中的核酸的细胞,且可为其中已引入有重组表达载体的细胞。应理解,此类术语意欲不仅指特定个体细胞,而且指此类细胞的后代。因为某些修饰可能由于突变或环境影响而出现在随后几代中,所以此类后代实际上无法与亲本细胞相同,但仍包括在如本文所用的术语“宿主细胞”的范畴内。

[0135] “免疫反应”如在此项技术中所理解,且一般是指脊椎动物内针对外来药剂或异常(例如癌细胞)的生物反应,该反应保护生物体免受这些药剂及由其造成的疾病的影响。免疫反应由免疫系统的一种或多种细胞(例如T淋巴细胞、B淋巴细胞、自然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、树突状细胞或中性粒细胞)及由这些细胞中的任一者或肝脏产生的可溶性大分子(包括抗体、细胞因子及补体)的作用介导,该作用引起对侵入性病原体、感染有病原体的细胞或组织、癌细胞或其他异常细胞或在自体免疫或病理性炎症的情况下的正常人类细胞或组织的选择性靶向、与其结合、使其受损、受到破坏和/或自脊椎动物中消除。免疫反应包括例如对T细胞(例如效应T细胞、Th细胞、$CD4^+$细胞、$CD8^+$T细胞或Treg细胞)的活化或抑制,或对免疫系统的任何其他细胞(例如NK细胞)的活化或抑制。

[0136] “免疫调节剂”或“免疫调控剂”是指可涉及调节、调控或改变免疫反应的药剂,例如靶向信号传导途径的组分的药剂。“调节”、“调控”或“改变”免疫反应是指在免疫系统的细胞中或在此类细胞(例如效应T细胞,诸如Th1细胞)的活性中的任何改变。此类调节包括刺激或抑制免疫系统,其可显现为各种细胞类型的数目的增加或减少、这些细胞的活性的增加或降低、或可在免疫系统内发生的任何其他变化。已鉴别出抑制性与刺激性免疫调节

剂,其中一些可在肿瘤微环境中具有增强功能。在一些实施方案中,免疫调节剂靶向T细胞的表面上的分子。“免疫调节性标靶”或“免疫调控性标靶”为受到物质、药剂、部分、化合物或分子结合所靶向且其活性藉由物质、药剂、部分、化合物或分子的结合而进行改变的分子,例如细胞表面分子。免疫调节标靶包括例如细胞表面上的受体(“免疫调节性受体”)及受体配体(“免疫调节性配体”)。

[0137] “免疫疗法”是指藉由包含诱导、增强、抑制或以其他方式改变免疫系统或免疫反应的方法治疗罹患疾病或具有感染疾病或遭受疾病复发的风险的个体。

[0138] “免疫刺激疗法”或“免疫刺激性疗法”是指引起增加(诱导或增强)个体的免疫反应以用于例如治疗癌症的疗法。

[0139] “增强内源性免疫反应”意谓增加个体中现存的免疫反应的有效性或效力。此有效性及效力增加可例如藉由克服抑制内源性宿主免疫反应的机制或藉由刺激增强内源性宿主免疫反应的机制来达成。

[0140] “T效应细胞”(“T_{eff}”细胞)是指具有溶胞活性的T细胞(例如,$CD4^+$及$CD8^+$T细胞)以及T辅助(Th)细胞(例如Th1细胞),所述细胞分泌细胞因子且活化及导引其他免疫细胞,但不包括调控性T细胞(Treg细胞)。本文所描述的某些抗MICA/B抗体使T_{eff}细胞活化,例如使$CD4^+$及$CD8^+T_{eff}$细胞及Th1细胞活化。

[0141] 刺激免疫反应或免疫系统的能力增加可由T细胞共刺激性受体的激动活性增强和/或抑制性受体的拮抗活性增强引起。刺激免疫反应或免疫系统的能力增加可由测量免疫反应的分析中的EC_{50}或最大活性水平的增加倍数反映,该分析例如测量细胞因子或趋化因子释放的变化、溶胞活性(直接在靶细胞上测定或间接经由检测CD107a或颗粒酶来测定)及增殖的分析。刺激免疫反应或免疫系统活性的能力可增强至少10%、30%、50%、75%、2倍、3倍、5倍或更多倍。

[0142] 如本文所用,术语“连接的”是指两个或超过两个分子的结合。连接可为共价或非共价。连接亦可为基因连接(亦即以重组方式融合)。此类连接可使用此项技术公认的各种技术来达成,诸如化学结合及重组蛋白质产生。

[0143] 如本文所用,“施用”是指使用熟习此项技术者已知的各种方法及递送系统中的任一者来向个体物理引入包含治疗剂的组合物。本文所描述的抗MICA/B抗体的不同施用途径包括静脉内、腹膜内、肌内、皮下、脊椎或其他肠胃外施用途径,例如藉由注射或输注。如本文所用,词组“肠胃外施用”意谓除经肠胃及局部施用以外的施用模式,通常为注射,且包括(不限于)静脉内、腹膜内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眶内、心内、皮内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊椎内、硬膜外及胸骨内注射及输注,以及活体内电穿孔。或者,本文所描述的抗体可经由非肠胃外途径进行施与,诸如局部、经表皮或经黏膜施用途径,例如鼻内、经口、经阴道、经直肠、舌下或局部。施与亦可执行例如一次、复数次和/或经一个或多个延长的时段。

[0144] 如本文所用,术语“T细胞介导的反应”是指由T细胞,包括效应T细胞(例如$CD8^+$细胞)及辅助T细胞(例如$CD4^+$细胞)介导的反应。T细胞介导的反应包括例如T细胞细胞毒性及增殖。

[0145] 如本文所用,术语“细胞毒性T淋巴细胞(CTL)反应”是指由细胞毒性T细胞诱导的免疫反应。CTL反应主要由$CD8^+$T细胞介导。

[0146] 如本文所用,词组“抑制肿瘤生长”包括肿瘤生长中的任何可测量的减小,例如,使肿瘤生长抑制至少约10%,例如至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约99%或100%。在一些实施方案中,对肿瘤生长的抑制测量为肿瘤生长抑制百分比(TGI%)。TGI%可藉由根据下式计算由所处理的所有动物计算的日期“t”时的TGI来确定:$[1-((T_t/T_0)/(C_t/C_0))]/[(C_t-C_0)/C_t]\times 100$[式1],其中$T_t$=所处理的动物在时间“t”时的个别肿瘤大小,$T_0$=所处理的动物在第一次测量时的个别肿瘤大小,$C_t$=对照动物在时间“t”时的中位肿瘤大小,$C_0$=对照动物在第一次测量时的中位肿瘤大小。

[0147] 如本文所用,“癌症”是指特征为异常细胞在体内不受控生长的一组广泛疾病。不受调控的细胞分裂可引起恶性肿瘤或细胞形成,所述肿瘤或细胞侵入邻近组织且可经由淋巴系统或血流转移至身体远程部分。

[0148] 如本文所用,术语“治疗(treat/treating/treatment)”是指以反转、缓解、改善、抑制或减缓或预防与疾病相关联的症状、并发症、病状或生物化学标志的恶化、发展、严重程度或复发或增强总存活期为目标来对个体执行的任何类型的干预或方法或向受试者施与活性剂。治疗可为治疗患有疾病的个体或未患有疾病的个体(例如用于预防)。

[0149] 术语“有效剂量(effective dose/effective dosage)”定义为足以达成或至少部分地达成所需作用的量。药物或治疗剂“治疗有效量”或“治疗有效剂量”为当单独或与另一治疗剂组合使用时,促进疾病消退的药物的任何量,该疾病消退由以下证明:疾病症状的严重程度降低、疾病无症状时段的频率及持续时间增加、总存活期增加(自诊断出疾病(诸如癌症)的日期或对疾病起始治疗开始,诊断患有该疾病的患者仍存活的时间长度)或预防因患病所致的损伤或失能。药物的治疗有效量或剂量包括“预防有效量”或“预防有效剂量”,其为当单独或与另一治疗剂组合向具有患上疾病或罹患疾病复发的风险的受试者施与时,抑制该疾病的发展或复发的药物的任何量。治疗剂促进疾病消退或抑制疾病发展或复发的能力可使用熟习此项技术者已知的多种方法,诸如在人类个体中在临床试验期间,在预测人类中的功效的动物模型系统中,或藉由在活体外分析中分析药剂活性来加以评估。

[0150] 举例而言,抗癌剂为在个体中促进癌症消退的药物。在一些实施方案中,治疗有效量的药物促进癌症消退至消除癌症的点。“促进癌症消退”意谓单独或与抗赘生剂组合施与有效量的药物在患者中引起肿瘤生长减缓或大小减小、肿瘤坏死、至少一种疾病症状的严重程度降低、疾病无症状时段的频率及持续时间增加、预防因患病所致的损伤或失能或以其他方式改善疾病症状。另外,关于治疗的术语“有效”及“有效性”包括药理学有效性及生理学安全性两者。药理学有效性是指药物在患者中促进癌症消退的能力。生理学安全性是指由施与药物引起的毒性水平,或细胞、器官和/或生物体水平的其他不良生理学作用(不良作用)。

[0151] 对于治疗肿瘤,举例而言,治疗有效量或剂量的药物使细胞生长或肿瘤生长相对于未经治疗的个体抑制至少约20%、至少约40%、至少约60%或至少约80%。在一些实施方案中,治疗有效量或剂量的药物完全抑制细胞生长或肿瘤生长,也即,抑制100%细胞生长或肿瘤生长。化合物抑制肿瘤生长的能力可使用下文所描述的分析来加以评估。或者,组合物的此特性可藉由检查化合物抑制细胞生长的能力来加以评估,此类抑制可藉由熟练从业者已知的分析来进行活体外测量。在本文所描述的一些实施方案中,可观测到肿瘤消退且

其继续至少约20天、至少约40天或至少约60天的时段。

[0152] 术语“患者”包括接受预防性或治疗性治疗的人类及其他哺乳动物个体。

[0153] 如本文所用,术语“个体”包括任何人类或非人类动物。举例而言,本文所描述的方法及组合物可用于治疗患有癌症的个体。术语“非人类动物”包括所有脊椎动物,例如哺乳动物及非哺乳动物,诸如非人类灵长类动物、绵羊、狗、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。

[0154] 如本文所提及,术语“基于重量”的剂量或给药意谓向患者施与的剂量系基于该患者的重量来计算。举例而言,当具有60kg体重的患者需要3mg/kg的抗MICA/B抗体时,人们可计算及使用用于施与的抗MICA/B抗体的适当量(亦即180mg)。

[0155] 关于本文所描述的组合使用术语“固定剂量”意谓两种或超过两种不同抗体(例如,抗MICA/B抗体及第二抗体,例如PD-1或PD-L1抗体)以特定(固定)量或彼此比率存在于组合物中或分别单独进行施与。在一些实施方案中,固定剂量系基于抗体的重量(例如mg)。在一些实施方案中,固定剂量系基于抗体的浓度(例如mg/ml)。在一些实施方案中,两种抗体(例如,抗MICA/B及抗PD1或抗PD-L1)的比率为至少约1:1、约1:2、约1:3、约1:4、约1:5、约1:6、约1:7、约1:8、约1:9、约1:10、约1:15、约1:20、约1:30、约1:40、约1:50、约1:60、约1:70、约1:80、约1:90、约1:100、约1:120、约1:140、约1:160、约1:180、约1:200、约200:1、约180:1、约160:1、约140:1、约120:1、约100:1、约90:1、约80:1、约70:1、约60:1、约50:1、约40:1、约30:1、约20:1、约15:1、约10:1、约9:1、约8:1、约7:1、约6:1、约5:1、约4:1、约3:1或约2:1的第一抗体(例如抗MICA/B抗体)毫克数比第二抗体毫克数。举例而言,2:1的抗MICA/B抗体与抗PD-1抗体(诸如纳武单抗(nivolumab))的比率可意谓小瓶或注射剂可含有约480mg抗MICA/B抗体及240mg抗PD-1抗体,或约2mg/ml的抗MICA/B抗体及1mg/ml的抗PD-1抗体。

[0156] 关于本文所描述的方法及剂量使用术语“平剂量(flat dose)”意谓在不考虑患者的重量或体表面积(BSA)的情况下向该患者施与的剂量。因此,平剂量不以mg/kg剂量形式提供,而实际上以药剂(例如抗MICA/B抗体)的绝对量形式提供。举例而言,60kg个人及100kg个人将接受相同剂量的抗体(例如,480mg抗MICA/B抗体)。

[0157] 如本文所用,术语“ug”及“uM”可分别与“μg”及“μM”互换使用。

[0158] 在以下子部分中进一步详细描述本文所描述的各种方面。

[0159] II.抗人类MICA/B抗体

[0160] 本文描述抗体,例如完全人类抗体,其能够特异性结合于MHC I类多肽相关序列A/B(MICA/B),且抑制、阻止或减少MICA/B被肿瘤细胞脱落,藉此增加MICA/B在肿瘤细胞表面处的保留。举例而言,抗体特异性结合人类MICA/B,且更具体地,人类MICA的细胞外结构域内的特定结构域(例如α3结构域)。在一些实施方案中,抗体特异性结合于MICA/B,藉此降低血清中的MICA/B含量,而抗体增加膜结合型MICA/B的含量。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体与来自一种或多种非人类灵长类动物的MICA/B(诸如食蟹猴MICA/B)交叉反应。在一些实施方案中,抗体特异性结合于人类MICA/B的α3结构域及食蟹猴MICA/B的α3结构域。在一些实施方案中,抗体以高亲和力结合于人类MICA/B。

[0161] 本文所描述的抗MICA/B抗体展现以下功能特性中的一或多者:

[0162] (a)结合于膜结合型人类MICA/B;

[0163] (b)结合于膜结合型食蟹猴MICA/B;

[0164] (c)降低个体血清中的可溶性MICA/B含量;

[0165] (d)增加肿瘤细胞上的膜结合型MICA/B;

[0166] (e)抑制、阻止或减少MICA/B被肿瘤细胞脱落;

[0167] (f)介导细胞的抗原加工和/或交叉呈递增强;

[0168] (g)介导ADCC和/或ADCP增强

[0169] (h)抑制肿瘤生长和/或癌转移;

[0170] (i)减小肿瘤体积;

[0171] (j)增加无恶化存活期;

[0172] (k)增加总存活期;和

[0173] (l)其任何组合。

[0174] 在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体以高亲和力结合于人类MICA/B,举例而言,以10^{-6}M或更小、10^{-7}M或更小、10^{-8}M或更小、10^{-9}M或更小、10^{-10}M或更小、10^{-11}M或更小、10^{-12}M或更小、10^{-12}M至10^{-7}M、10^{-11}M至10^{-7}M、10^{-10}M至10^{-7}M、或10^{-9}M至10^{-7}M的K_D结合。在一些实施方案中,例如如藉由表面等离子体共振,例如使用BIACORE™(例如,如实施例中所描述)所测定,抗MICA/B抗体以10^{-6}M或更小、10^{-7}M或更小、10^{-8}M或更小、10^{-9}M(1nM)或更小、10^{-10}M或更小、10^{-12}M至10^{-7}M、10^{-11}M至10^{-7}M、10^{-10}M至10^{-7}M、10^{-9}M至10^{-7}M、或10^{-8}M至10^{-7}M的K_D结合于人类MICA/B。在一些实施方案中,例如如藉由ELISA(例如MICA/B ELISA试剂盒,例如ABCAM ab100592)所测定,抗MICA/B抗体以EC_{50}为100nM或更小、10nM或更小、1nM或更小、100nM至0.01nM、100nM至0.1nM、100nM至1nM、或10nM至1nM、或10ug/mL或更小、5ug/mL或更小、1ug/mL或更小、0.9ug/mL或更小、0.8ug/mL或更小、0.7ug/mL或更小、0.6ug/mL或更小、0.5ug/mL或更小、0.4ug/mL或更小、0.3ug/mL或更小、0.2ug/mL或更小、0.1ug/mL或更小、0.05ug/mL或更小、或0.01ug/mL或更小的EC_{50}结合于人类sMICA/B。在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体例如以10^{-6}M或更小、10^{-7}M或更小、10^{-8}M或更小、10^{-9}M或更小、10^{-10}M或更小、10^{-11}M或更小、10^{-12}M或更小、10^{-12}M至10^{-7}M、10^{-11}M至10^{-7}M、10^{-10}M至10^{-7}M、或10^{-9}M至10^{-7}M的K_D结合于食蟹猴MICA/B。在一些实施方案中,例如如藉由BIACORE™(例如,如实施例中所描述)所测定,抗MICA/B抗体以10^{-6}M或更小、10^{-7}M或更小、10^{-8}M或更小、10^{-9}M(1nM)或更小、10^{-10}M或更小、10^{-12}M至10^{-7}M、10^{-11}M至10^{-7}M、10^{-10}M至10^{-7}M、10^{-9}M至10^{-7}M、或10^{-8}M至10^{-7}M的K_D结合于可溶性食蟹猴MICA/B。例如如藉由ELISA(例如,如实施例中所描述)所测量,抗MICA/B抗体可例如以100nM或更小、10nM或更小、100nM至0.01nM、100nM至0.1nM、100nM至1nM、或10nM至1nM的EC_{50}结合于食蟹猴sMICA/B。

[0175] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体以约5×10^{-4}M或更小、约1×10^{-4}M或更小、5×10^{-5}M或更小、约1×10^{-5}M或更小、约1×10^{-6}M或更小、约1×10^{-7}M或更小或约1×10^{-8}M或更小的K_D特异性结合于人类MICA/B,其中K_D藉由表面等离子体共振(Biacore)分析来进行测量。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体以约1×10^{-4}M或更小、约1×10^{-5}M或更小、1×10^{-6}M或更小、约1×10^{-7}M或更小或约1×10^{-8}M或更小的K_D特异性结合于人类MICA等位基因MICA*002,其中K_D藉由表面等离子体共振(Biacore)分析来进行测量。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体以约1×10^{-4}M或更小、约1×10^{-5}M或更小、1×10^{-6}M或更小、约1×10^{-7}M或更小或约1×10^{-8}M或更小的K_D特异性结合于人类MICA等位基因MICA*004,其中K_D藉由表面等离子体共振(Biacore)分析来进行测量。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体以约1×10^{-4}M或更小、约1×

10^{-5}M或更小、1×10^{-6}M或更小、约1×10^{-7}M或更小或约1×10^{-8}M或更小的K_D特异性结合于人类MICA等位基因MICA*008,其中K_D藉由表面等离子体共振(Biacore)分析来进行测量。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体以约1×10^{-4}M或更小、约1×10^{-5}M或更小、1×10^{-6}M或更小、约1×10^{-7}M或更小或约1×10^{-8}M或更小的K_D特异性结合于人类MICA等位基因MICA*009,其中K_D藉由表面等离子体共振(Biacore)分析来进行测量。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体以约1×10^{-4}M或更小、约1×10^{-5}M或更小、1×10^{-6}M或更小、约1×10^{-7}M或更小或约1×10^{-8}M或更小的K_D特异性结合于人类MICB等位基因MICB*005,其中K_D藉由表面等离子体共振(Biacore)分析来进行测量。

[0176] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体以至少约$1\times10^{3}ms^{-1}$、至少约$5\times10^{3}ms^{-1}$、至少约$1\times10^{4}ms^{-1}$、至少约$5\times10^{4}ms^{-1}$、至少约$1\times10^{5}ms^{-1}$、至少约$5\times10^{5}ms^{-1}$或至少约$1\times10^{6}ms^{-1}$的缔合常数(k_a)速率特异性结合人类MICA/B,其中k_a藉由表面等离子体共振(Biacore)分析来进行测量。

[0177] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体以约$0.1s^{-1}$或更小、$0.05s^{-1}$或更小、$0.01s^{-1}$或更小、$5\times10^{-3}s^{-1}$或更小、$1\times10^{-3}s^{-1}$或更小、$5\times10^{-4}s^{-1}$或更小、$1\times10^{-4}s^{-1}$或更小、$5\times10^{-5}s^{-1}$或更小或$1\times10^{-5}s^{-1}$或更小的解离常数(k_d)速率特异性结合人类MICA/B,其中k_d藉由表面等离子体共振(Biacore)分析来进行测量。

[0178] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体特异性结合于MICA/B。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合MICA及MICB。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体特异性结合MICA*002等位基因。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体特异性结合MICA*004等位基因。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体特异性结合MICA*008等位基因。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体特异性结合MICA*009等位基因。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体特异性结合MICA*002等位基因、MICA*004等位基因、MICA*008等位基因及MICA*009等位基因。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合MICA*002等位基因的亲和力比结合MICA*004等位基因、MICA*008等位基因或MICA*009等位基因更高。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合MICA*004的亲和力比结合MICA*002等位基因、MICA*008等位基因或MICA*008等位基因更高。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合MICA*008等位基因的亲和力比结合MICA*002等位基因、MICA*004等位基因或MICA*009等位基因更高。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合MICA*009等位基因的亲和力比结合MICA*002等位基因、MICA*004等位基因或MICA*008等位基因更高。

[0179] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL);其中该VH包含VH互补决定区(CDR)1(VH-CDR1)、VH-CDR2及VH-CDR3,且该VL包含VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3;其中该VH-CDR3包含与选自SEQ ID NO:7、17、27、37和47的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VH-CDR3,该VH-CDR3包含选自SEQ ID NO:7、17、27、37和47的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含如SEQ ID NO:7中所述的氨基酸序列的VH-CDR3。

[0180] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VH-CDR2,该VH-CDR2包含与选自SEQ ID NO:6、16、26、36和46的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VH-CDR2,该VH-CDR2包含选自SEQ ID NO:6、16、26、36和46的氨基酸序列。在一个实施方

案中,抗MICA/B抗体包含有包含如SEQ ID NO:6中所述的氨基酸序列的VH-CDR2。

[0181] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VH-CDR1,该VH-CDR1包含与选自SEQ ID NO:5、15、25、35和45的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VH-CDR1,该VH-CDR1包含选自SEQ ID NO:5、15、25、35和45的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含如SEQ ID NO:5中所述的氨基酸序列的VH-CDR1。

[0182] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VL-CDR1,该VL-CDR1包含与选自SEQ ID NO:8、18、28、38和48的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VL-CDR1,该VL-CDR1包含选自SEQ ID NO:8、18、28、38和48的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含如SEQ ID NO:8中所述的氨基酸序列的VL-CDR1。

[0183] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VL-CDR2,该VL-CDR2包含与选自SEQ ID NO:9、19、29、39和49的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VL-CDR2,该VL-CDR2包含选自SEQ ID NO:9、19、29、39和49的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含如SEQ ID NO:9中所述的氨基酸序列的VL-CDR2。

[0184] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VL-CDR3,该VL-CDR3包含与选自SEQ ID NO:10、20、30、40和50的氨基酸序列具有至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VL-CDR3,该VL-CDR3包含选自SEQ ID NO:10、20、30、40和50的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含如SEQ ID NO:10中所述的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0185] 在某些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:5中所述的氨基酸序列的VH-CDR1、包含SEQ ID NO:6中所述的氨基酸序列的VH-CDR2、包含SEQ ID NO:7中所述的氨基酸序列的VH-CDR3、包含SEQ ID NO:8中所述的氨基酸序列的VL-CDR1、包含SEQ ID NO:9中所述的氨基酸序列的VL-CDR2及包含SEQ ID NO:10中所述的氨基酸序列的VL-CDR3。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体为非岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体为低岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体与参考抗体交叉竞争结合于人类MICA/B,该参考抗体包含有包含SEQ ID NO:5中所述的氨基酸序列的VH-CDR1、包含SEQ ID NO:6中所述的氨基酸序列的VH-CDR2、包含SEQ ID NO:7中所述的氨基酸序列的VH-CDR3、包含SEQ ID NO:8中所述的氨基酸序列的VL-CDR1、包含SEQ ID NO:9中所述的氨基酸序列的VL-CDR2及包含SEQ ID NO:10中所述的氨基酸序列的VL-CDR3。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体与参考抗体结合于相同表位,该参考抗体包含有包含SEQ ID NO:5中所述的氨基酸序列的VH-CDR1、包含SEQ ID NO:6中所述的氨基酸序列的VH-CDR2、包含SEQ ID NO:7中所述的氨基酸序列的VH-CDR3、包含SEQ ID NO:8中所述的氨基酸序列的VL-CDR1、包含SEQ ID NO:9中所述的氨基酸序列的VL-CDR2及包含SEQ ID NO:10中所述的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0186] 在某些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:15中所述的氨基酸序列的VH-CDR1、包含SEQ ID NO:16中所述的氨基酸序列的VH-CDR2、包含SEQ ID NO:17中所述的氨基酸序列的VH-CDR3、包含SEQ ID NO:18中所述的氨基酸序列的VL-CDR1、包含SEQ ID NO:19中所述的氨基酸序列的VL-CDR2及包含SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列的VL-

CDR3。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体为非岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体为低岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体与参考抗体交叉竞争结合于人类MICA,该参考抗体包含有包含SEQ ID NO:15中所述的氨基酸序列的VH-CDR1、包含SEQ ID NO:16中所述的氨基酸序列的VH-CDR2、包含SEQ ID NO:17中所述的氨基酸序列的VH-CDR3、包含SEQ ID NO:18中所述的氨基酸序列的VL-CDR1、包含SEQ ID NO:19中所述的氨基酸序列的VL-CDR2及包含SEQ ID NO:20中所述的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0187] 在某些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:25中所述的氨基酸序列的VH-CDR1、包含SEQ ID NO:26中所述的氨基酸序列的VH-CDR2、包含SEQ ID NO:27中所述的氨基酸序列的VH-CDR3、包含SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列的VL-CDR1、包含SEQ ID NO:29中所述的氨基酸序列的VL-CDR2及包含SEQ ID NO:30中所述的氨基酸序列的VL-CDR3。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体为非岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体为低岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体与参考抗体交叉竞争结合于人类MICA,该参考抗体包含有包含SEQ ID NO:25中所述的氨基酸序列的VH-CDR1、包含SEQ ID NO:26中所述的氨基酸序列的VH-CDR2、包含SEQ ID NO:27中所述的氨基酸序列的VH-CDR3、包含SEQ ID NO:28中所述的氨基酸序列的VL-CDR1、包含SEQ ID NO:29中所述的氨基酸序列的VL-CDR2及包含SEQ ID NO:30中所述的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0188] 在某些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:35中所述的氨基酸序列的VH-CDR1、包含SEQ ID NO:36中所述的氨基酸序列的VH-CDR2、包含SEQ ID NO:37中所述的氨基酸序列的VH-CDR3、包含SEQ ID NO:38中所述的氨基酸序列的VL-CDR1、包含SEQ ID NO:39中所述的氨基酸序列的VL-CDR2及包含SEQ ID NO:40中所述的氨基酸序列的VL-CDR3。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体为非岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体为低岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体与参考抗体交叉竞争结合于人类MICA,该参考抗体包含有包含SEQ ID NO:35中所述的氨基酸序列的VH-CDR1、包含SEQ ID NO:36中所述的氨基酸序列的VH-CDR2、包含SEQ ID NO:37中所述的氨基酸序列的VH-CDR3、包含SEQ ID NO:38中所述的氨基酸序列的VL-CDR1、包含SEQ ID NO:39中所述的氨基酸序列的VL-CDR2及包含SEQ ID NO:40中所述的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0189] 在某些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:45中所述的氨基酸序列的VH-CDR1、包含SEQ ID NO:46中所述的氨基酸序列的VH-CDR2、包含SEQ ID NO:47中所述的氨基酸序列的VH-CDR3、包含SEQ ID NO:48中所述的氨基酸序列的VL-CDR1、包含SEQ ID NO:49中所述的氨基酸序列的VL-CDR2及包含SEQ ID NO:50中所述的氨基酸序列的VL-CDR3。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体为非岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体为低岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体与参考抗体交叉竞争结合于人类MICA,该参考抗体包含有包含SEQ ID NO:45中所述的氨基酸序列的VH-CDR1、包含SEQ ID NO:46中所述的氨基酸序列的VH-CDR2、包含SEQ ID NO:47中所述的氨基酸序列的VH-CDR3、包含SEQ ID NO:48中所述的氨基酸序列的VL-CDR1、包含SEQ ID NO:49中所述的氨基酸序列的VL-CDR2及包含SEQ ID NO:50中所述的氨基酸序列的VL-CDR3。

[0190] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VH,该VH包含与选自SEQ ID NO:2、12、22、32及42的氨基酸序列具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%

序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,VH包含选自SEQ ID NO:2、12、22、32及42的氨基酸序列。

[0191] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VL,该VL包含与选自SEQ ID NO:4、14、24、34及44的氨基酸序列具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含选自SEQ ID NO:4、14、24、34及44的氨基酸序列。

[0192] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VH,该VH包含与SEQ ID NO:2具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,VH包含SEQ ID NO:2中所述的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VL,该VL包含与SEQ ID NO:4具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含SEQ ID NO:4中所述的氨基酸序列。在一个实施方案中,VH包含SEQ ID NO:2中所述的氨基酸序列,且VL包含SEQ ID NO:4中所述的氨基酸序列。在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体与以下抗体交叉竞争结合于人类MICA/B,该抗体包含有包含SEQ ID NO:2中所述的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:4中所述的氨基酸序列的VL。在另一个实施方案中,VH包含SEQ ID NO:2中所述的氨基酸序列,且VL包含SEQ ID NO:4中所述的氨基酸序列,其中抗体为非岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链恒定区,该重链恒定区在对应于SEQ ID NO:58中的残基234的位置处包含G变为A的突变(根据EU编号,也称为“G236A”)。

[0193] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VH,该VH包含与SEQ ID NO:12具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,VH包含SEQ ID NO:12中所述的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VL,该VL包含与SEQ ID NO:14具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。.在某些实施方案中,VL包含SEQ ID NO:14中所述的氨基酸序列。在另一个实施方案中,VH包含SEQ ID NO:12中所述的氨基酸序列,且VL包含SEQ ID NO:14中所述的氨基酸序列。在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体与以下抗体交叉竞争结合于人类MICA/B,该抗体包含有包含SEQ ID NO:12中所述的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:14中所述的氨基酸序列的VL在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链恒定区,该重链恒定区在对应于SEQ ID NO:58中的残基234的位置处包含G变为A的突变。

[0194] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VH,该VH包含与SEQ ID NO:22具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,VH包含SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VL,该VL包含与SEQ ID NO:24具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约

98％或至少约99％序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含SEQ ID NO:24中所述的氨基酸序列。在另一个实施方案中,VH包含SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列,且VL包含SEQ ID NO:24中所述的氨基酸序列。在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体与以下抗体交叉竞争结合于人类MICA/B,该抗体包含有包含SEQ ID NO:22中所述的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:24中所述的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链恒定区,该重链恒定区在对应于SEQ ID NO:58中的残基234的位置处包含G变为A的突变。

[0195] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VH,该VH包含与SEQ ID NO:32具有至少约60％、至少约65％、至少约70％、至少约75％、至少约80％、至少约85％、至少约90％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％或至少约99％序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,VH包含SEQ ID NO:32中所述的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VL,该VL包含与SEQ ID NO:34具有至少约60％、至少约65％、至少约70％、至少约75％、至少约80％、至少约85％、至少约90％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％或至少约99％序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含SEQ ID NO:34中所述的氨基酸序列。在另一个实施方案中,VH包含SEQ ID NO:32中所述的氨基酸序列,且VL包含SEQ ID NO:34中所述的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL包含在SEQ ID NO:34的位置95与96之间具有Ser残基插入的SEQ ID NO:34中所述的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL包含在SEQ ID NO:34的位置95与96之间具有Ala残基插入的SEQ ID NO:34中所述的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL包含在SEQ ID NO:34的位置95与96之间具有Gly残基插入的SEQ ID NO:34中所述的氨基酸序列。在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体与以下抗体交叉竞争结合于人类MICA/B,该抗体包含有包含SEQ ID NO:32中所述的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:34中所述的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链恒定区,该重链恒定区在对应于SEQ ID NO:58中的残基234的位置处包含G变为A的突变。

[0196] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VH,该VH包含与SEQ ID NO:42具有至少约60％、至少约65％、至少约70％、至少约75％、至少约80％、至少约85％、至少约90％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％或至少约99％序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,VH包含SEQ ID NO:42所述的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含VL,该VL包含与SEQ ID NO:44具有至少约60％、至少约65％、至少约70％、至少约75％、至少约80％、至少约85％、至少约90％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％或至少约99％序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含SEQ ID NO:44中所述的氨基酸序列。在另一个实施方案中,VH包含SEQ ID NO:42中所述的氨基酸序列,且VL包含SEQ ID NO:44中所述的氨基酸序列。

[0197] 在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体与以下抗体交叉竞争结合于人类MICA/B,该抗体包含有包含SEQ ID NO:42中所述的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:44中所述的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链恒定区,该重链恒定区在对应于SEQ ID NO:58中的残基234的位置处包含G变为A的突变。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链,该重链包含与选自SEQ ID NO:58、62、66、70及74的氨基酸序列具有至少约60％、至少约65％、至少约70％、至少约75％、至少约80％、至少约85％、至少约90％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％或至少约99％序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链,该重链包含选自SEQ ID NO:58、130、62、66、70及74的氨基

酸序列。在某些实施方案中,重链氨基酸序列在免疫球蛋白恒定区内,例如在CH1结构域、CH2结构域、CH3结构域或铰链区内包含一个或多个缺失、取代或突变。

[0198] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含轻链,该轻链包含与选自SEQ ID NO:60、64、68、72及76的氨基酸序列具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗MICA/B抗体包含轻链,该轻链包含选自SEQ ID NO:60、64、68、72及76的氨基酸序列。

[0199] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:58中所述的氨基酸序列具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:58中所述的氨基酸序列的重链。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:130中所述的氨基酸序列的重链。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链。在一个实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:58中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链。在一个实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:130中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链。在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:58中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链,其中该抗体为非岩藻糖基化。在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:130中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链,其中该抗体为非岩藻糖基化。在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体与以下抗体交叉竞争结合于人类MICA/B,该抗体包含有包含SEQ ID NO:58中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:60中所述的氨基酸序列的轻链。

[0200] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:62中所述的氨基酸序列具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:62中所述的氨基酸序列的重链。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:64中所述的氨基酸序列具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链恒定区,该重链恒定区在对应于SEQ ID NO:58中的残基234的位置处包含G变为A的突变。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:64中所述的氨基酸序列的轻链。在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:62中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:64中所述的氨基酸序列的轻链。在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体与以下抗体交叉竞争结合于人类MICA/B,该抗体包含有包含SEQ ID NO:62中所述的氨基酸序列的重链及包含

SEQ ID NO:64中所述的氨基酸序列的轻链。

[0201] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:66中所述的氨基酸序列具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:66中所述的氨基酸序列的重链。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:68中所述的氨基酸序列具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链恒定区,该重链恒定区在对应于SEQ ID NO:58中的残基234的位置处包含G变为A的突变。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:68中所述的氨基酸序列的轻链。在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:66中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:68中所述的氨基酸序列的轻链。在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体与以下抗体交叉竞争结合于人类MICA/B,该抗体包含有包含SEQ ID NO:66中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:68中所述的氨基酸序列的轻链。

[0202] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:70中所述的氨基酸序列具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链恒定区,该重链恒定区在对应于SEQ ID NO:58中的残基234的位置处包含G变为A的突变。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:70中所述的氨基酸序列的重链。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:72中所述的氨基酸序列具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:72中所述的氨基酸序列的轻链。在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:70中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:72中所述的氨基酸序列的轻链。在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体与以下抗体交叉竞争结合于人类MICA/B,该抗体包含有包含SEQ ID NO:70中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:72中所述的氨基酸序列的轻链。

[0203] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:74中所述的氨基酸序列具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:74中所述的氨基酸序列的重链。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:76中所述的氨基酸序列具有至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:76中所述的氨基酸序列的轻链。在另一个实施方案中,抗MICA/B抗体包含有包含SEQ ID NO:74中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:76中所述的氨基酸序列的轻链。在另

一个实施方案中,抗MICA/B抗体与以下抗体交叉竞争结合于人类MICA/B,该抗体包含有包含SEQ ID NO:74中所述的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:76中所述的氨基酸序列的轻链。

[0204] 在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体选自以下:IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或其变体。在某一实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体为IgG1抗体。在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体为非岩藻糖基化。在某些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体为低岩藻糖基化。

[0205] 在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体为人类抗体。在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体为人源化抗体。在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体为嵌合抗体。

[0206] 在某些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体包含重链恒定区,该重链恒定区在对应于SEQ ID NO:58中的残基234的位置处包含G变为A的突变。

[0207] A.人类MICA/B表位

[0208] 在某些实施方案中,抗MICA/B抗体结合人类MICA/B上的特定表位。如本文所用,术语“表位”包括能够与抗原结合蛋白(诸如抗体)结合的任何决定子。表位为抗原中与靶向该抗原的抗原结合蛋白结合的区,且当该抗原为蛋白质时,该表位包括直接接触抗原结合蛋白的特定氨基酸。表位决定子可包括分子的化学活性表面群组(诸如氨基酸、糖侧链、磷酰基或磺酰基),且可具有特定三维结构特征和/或特定电荷特征。一般而言,对特定靶抗原具有特异性的抗体在蛋白质和/或大分子的复杂混合物中将优先识别该靶抗原上的表位。

[0209] 在一些实施方案中,表位包含至少一个氨基酸、至少两个氨基酸、至少三个氨基酸、至少四个氨基酸、至少五个氨基酸、至少六个氨基酸、至少七个氨基酸、至少八个氨基酸、至少九个氨基酸或至少十个氨基酸。在表位包含超过一个氨基酸的情况下,该超过一个氨基酸可为连续的,例如G254及D255;或由超过一个不与抗MICA/B抗体直接相互作用或并非抗MICA/B结合所需要的氨基酸分隔开,例如D255及L257。在一些实施方案中,表位包含两个连续氨基酸、三个连续氨基酸、四个连续氨基酸、五个连续氨基酸、六个连续氨基酸、七个连续氨基酸、八个连续氨基酸、九个连续氨基酸、十个连续氨基酸或超过十个连续氨基酸。在一些实施方案中,表位包含至少两个氨基酸,所述氨基酸并非连续位置,但当存在人类MICA/B时在其三维构象中的位置接近。

[0210] 抗原上的表位,例如人类MICA/B上与抗MICA/B抗体结合的表位可为使用此项技术中已知的任何方法来加以鉴别。在一些实施方案中,表位使用酵母表面展示来加以确定。在一些实施方案中,表位藉由氢/氘交换质谱(HDX-MS)来加以确定。

[0211] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合人类MICA的表面上的表位。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合人类MICA的α3结构域内的表位。

[0212] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸190与230之间。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸195与225之间。在一些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸200与221之间。在某些实施方案中,如藉由氢/氘交换质谱(HDX-MS)所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的L201-N220。在一些实施方案中,如藉由HDX-

MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含SEQ ID NO:56。

[0213] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸230与260之间。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸235与255之间。在一些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸237与253之间。在某些实施方案中,如藉由氢/氘交换质谱(HDX-MS)所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的T238-Q252。在一些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含SEQ ID NO:57。

[0214] 在某些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的L201-N220及T238-Q252。在一些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含SEQ ID NO:56及57。

[0215] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸140与170之间。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸145与165之间。在一些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸149与164之间。在一些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含SEQ ID NO:52。

[0216] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸220与250之间。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸225与245之间。在一些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸230与239之间。在一些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含SEQ ID NO:53。在某些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的N234和/或L237。

[0217] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸245与275之间。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸250与270之间。在一些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸252与268之间。在一些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含SEQ ID NO:55。在某些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸254与266之间。在一些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含SEQ ID NO:54。在某些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含对应于SEQ ID NO:51的氨基酸D255-Q265及W267。

[0218] 在某些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含SEQ ID NO:52-54。在一些实施方案中,如藉由HDX-MS所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含SEQ ID NO:52、53及55。

[0219] 在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸230与290之间。在一些实施方案中,如藉由酵母

表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸235与285之间。在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸239与280之间。在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸230与250之间。在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸235与250之间。在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸239与245之间。

[0220] 在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸245与275之间。在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸250与270之间。在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸253与268之间。在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,该表位位于SEQ ID NO:51的氨基酸257与265之间。

[0221] 在某些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合以下表位,该表位包含选自以下的一个或多个氨基酸:对应于SEQ ID NO:51的R240、Q241、D242、V244、G254、D255、L257、P258、G260、G262、Y264、W267及R279。在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合以下表位,该表位包含选自以下的一个或多个氨基酸:对应于SEQ ID NO:51的G254、D255、L257、Y264及W267。在某些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合以下表位,该表位包含对应于SEQ ID NO:51的氨基酸G254、D255、L257、Y264及W267。

[0222] 在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合以下表位,该表位包含选自以下的一个或多个氨基酸:对应于SEQ ID NO:51的R240、Q241、D242、V244及R279。在某些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合以下表位,该表位包含对应于SEQ ID NO:51的氨基酸R240、Q241、D242、V244及R279。

[0223] 在一些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗MICA/B抗体结合以下表位,该表位包含选自以下的一个或多个氨基酸:对应于SEQ ID NO:51的P258、G260、G262及Y264。在某些实施方案中,如藉由酵母表面展示所确定,抗体结合以下表位,该表位包含对应于SEQ ID NO:51的P258、G260、G262及Y264。

[0224] 在某些实施方案中,当抗MICA/B抗体结合于人类MICA时,如藉由晶体学,例如使用本文所描述的条件所确定,该抗体定位于距离人类MICA的以下残基中的至少一者约30埃或更小、25埃或更小、30埃或更小、约15埃或更小、约10埃或更小、约9埃或更小、约8埃或更小、约7埃或更小、约6埃或更小、约5埃或更小、约4埃或更小、约3埃或更小或约2埃或更小:对应于SEQ ID NO:51的R240、Q241、D242、V244、G254、D255、L257、P258、G260、G262、Y264、W267及R279。在一些实施方案中,当抗MICA/B抗体结合于人类MICA时,如藉由晶体学,例如使用本文所描述的条件所确定,该抗体定位于距离人类MICA的以下残基中的至少一者约10埃或更小:对应于SEQ ID NO:51的R240、Q241、D242、V244、G254、D255、L257、P258、G260、G262、Y264、W267及R279。在一些实施方案中,当抗MICA/B抗体结合于人类MICA时,如藉由晶体学,

例如使用本文所描述的条件所确定,该抗体定位于距离人类MICA的以下残基中的至少一者约10埃或更小:对应于SEQ ID NO:51的G254、D255、L257、Y264及W267。在一些实施方案中,当抗MICA/B抗体结合于人类MICA时,如藉由晶体学,例如使用本文所描述的条件所确定,该抗体定位于距离人类MICA的以下残基中的至少一者约10埃或更小:对应于SEQ ID NO:51的R240、Q241、D242、V244及R279。在一些实施方案中,当抗MICA/B抗体结合于人类MICA时,如藉由晶体学,例如使用本文所描述的条件所确定,该抗体定位于距离人类MICA的以下残基中的至少一者约10埃或更小:对应于SEQ ID NO:51的P258、G260、G262及Y264。在一些实施方案中,当抗MICA/B抗体结合于人类MICA时,如藉由X射线共晶体学,例如使用本文所描述的条件所确定,该抗体定位于距离人类MICA的以下残基中的至少一者约30埃或更小、25埃或更小、20埃或更小、约15埃或更小、约10埃或更小、约9埃或更小、约8埃或更小、约7埃或更小、约6埃或更小、约5埃或更小、约4埃或更小、约3埃或更小或约2埃或更小:对应于SEQ ID NO:51的R240、Q241、D242、V244、G254、D255、L257、P258、G260、G262、Y264、W267及R279。

[0225] 在一些实施方案中,如藉由X射线共晶体学所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含选自T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269的至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个或至少10个残基。在一些实施方案中,如藉由X射线共晶体学所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含选自T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269的至少两个残基。在一些实施方案中,如藉由X射线共晶体学所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含选自T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269的至少四个残基。在一些实施方案中,如藉由X射线共晶体学所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含选自T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269的至少六个残基。在一些实施方案中,如藉由X射线共晶体学所确定,抗MICA/B抗体结合人类MICA上的表位,其包含T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269。

[0226] 本文所描述的VH结构域或其一个或多个CDR可连接于恒定结构域以用于形成重链,例如全长重链。类似地,本文所描述的VL结构域或其一个或多个CDR可连接于恒定结构域以用于形成轻链,例如全长轻链。全长重链(视情况,除C端赖氨酸(K)之外或除C端甘氨酸及赖氨酸(GK)之外,所述氨基酸可不存在)及全长轻链可组合以形成全长抗体。

[0227] 本文所描述的VH结构域可与天然产生或经修饰的人类IgG(例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)的恒定结构域融合,例如,如本文进一步描述。举例而言,VH结构域可包含本文所描述的任何VH结构域的氨基酸序列与人类IgG(例如IgG1)恒定区融合,该恒定区诸如以下野生型人类IgG1恒定结构域氨基酸序列:

[0228] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 91)

[0229] 或与SEQ ID NO:91的同种异型变体的氨基酸序列融合,且具有以下氨基酸序列:

[0230] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:92;同种异型特异性氨基酸残基为粗体且加有下划线)。

[0231] 抗MICA/B抗体的VH结构域可包含本文所描述的任何VH结构域的氨基酸序列与无效应恒定区融合,该无效应恒定区例如以下无效应人类IgG1恒定结构域氨基酸序列:

[0232] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:93;“IgG1.1f”,包含取代L234A、L235E、G237A A330S及P331S,所述取代加有下划线)

[0233] 或

[0234] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:94;“IgG1.3f”,包含取代L234A、L235E及G237A,所述取代加有下划线)。

[0235] 举例而言,IgG1的同种异型变体包含如在SEQ ID NO:91中所编号的K97R、D239E和/或L241M(上文加有下划线且加粗)。在全长重链恒定区(例如MICA36(SEQ ID NO:58))内且根据EU编号,这些氨基酸取代编号为K214R、D356E及L358M。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体的恒定区可进一步包含处于如在SEQ ID NO:92、93及94中所编号的氨基酸L117、A118、G120、A213及P214(上文加有下划线)或按照EU编号的L234、A235、G237、A330及P331处的一个或多个突变或取代。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体的恒定区包含处于SEQ ID NO:91的氨基酸L117A、A118E、G120A、A213S及P214S或按照EU编号的L234A、L235E、G237A、A330S及P331S处的一个或多个突变或取代。抗MICA/B抗体的恒定区亦可包含以下一个或多个突变或取代:SEQ ID NO:91的L117A、A118E及G120A或按照EU编号的L234A、L235E及G237A

[0236] 或者,抗MICA/B抗体的VH结构域可包含本文所描述的任何VH结构域的氨基酸序列与人类IgG4恒定区融合,该恒定区例如以下人类IgG4氨基酸序列或其变体:

[0237] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSLGK(SEQ ID NO:95,包含S228P)。

[0238] 本文所描述的VL结构域可与人类κ或λ轻链的恒定结构域融合。举例而言,抗MICA/B抗体的VL结构域可包含本文所描述的任何VL结构域的氨基酸序列与以下人类IgG1κ轻链氨基酸序列融合:

[0239] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 96)

[0240] 在一些实施方案中,重链恒定区在C端包含赖氨酸或另一个氨基酸,例如,其在重链中包含以下最后氨基酸:LSPGK(SEQ ID NO:97)。在一些实施方案中,重链恒定区在C端缺少一个或多个氨基酸,且具有例如C端序列LSPG(SEQ ID NO:98)或LSP(SEQ ID NO:99)。

[0241] 例示性重链及轻链的氨基酸序列描述于本文中。

[0242] 本文提供经分离的抗人类MICA/B抗体或其抗原结合部分,其包含:

[0243] (a1)分别包含SEQ ID NO:58及60的重链及轻链序列;

[0244] (a2)分别包含SEQ ID NO:130及60的重链及轻链序列;

[0245] (a3)分别包含SEQ ID NO:62及64的重链及轻链序列;

[0246] (a4)分别包含SEQ ID NO:66及68的重链及轻链序列;

[0247] (a5)分别包含SEQ ID NO:70及72的重链及轻链序列;

[0248] (a6)分别包含SEQ ID NO:74及76的重链及轻链序列;

[0249] 其中该抗体特异性结合于人类MICA/B。

[0250] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含本文例如在前述段落中所述的重链及轻链序列的组合,其中该抗体包含两个重链及两个轻链,且可进一步包含将两个重链连接在一起的至少一个二硫键。抗体亦可包含将每一个轻链连接于每一个重链的二硫键。

[0251] 包含与本文所述的任一重链或轻链至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、80%、75%或70%同一的氨基酸序列的重链及轻链(或其可变区),例如SEQ ID NO:58及60可用于形成具有所期望的特征的抗人类MICA/B抗体,例如本文进一步描述的那些抗体。例示性变体为包含同种异型变异(例如在恒定结构域中)和/或可变或恒定区中的突变(诸如本文所公开的突变)的那些变体。包含与本文所述的任一重链或轻链相差至多1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、1-5、1-4、1-3、1-2或1个氨基酸(藉由取代、添加或缺失)的氨基酸序列的重链及轻链(或其可变区)可用于形成具有所期望的特征的抗人类MICA抗体,例如本文进一步描述的那些抗体。

[0252] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含来自特定种系重链免疫球蛋白基因的重链可变区和/或来自特定种系轻链免疫球蛋白基因的轻链可变区。

[0253] 如本文所表明,已制备对MICA/B具有特异性的人类抗体,其包含本身为人类种系产物或来源于人类种系重链可变区。因此,本文提供经分离的单克隆抗体或其抗原结合部分,其包含本身为人类VH种系基因的产物或来源于人类VH种系基因的重链可变区和其任何组合,该人类VH种系基因选自以下:3-09、3-10、3-33、3-48、5-51、6-13、JH3b、JH4b、JH6b和其任何组合。

[0254] 已制备对MICA/B具有特异性的人类抗体,其包含本身为人类种系产物或来源于人类种系轻链可变区。因此,本文提供经分离的单克隆抗体或其抗原结合部分,其包含本身为人类VK种系基因的产物或来源于人类VK种系基因的轻链可变区及其任何组合,该人类VK种系基因选自以下:A27、L6、L18、JK1、JK2、JK3、JK5及其任何组合。

[0255] 如图中所示,本文所描述的抗MICA/B抗体包括有包含重链可变区且亦包含轻链可变区的那些抗体,该重链可变区本身为上文所列人类种系VH基因的一的产物或来源于上文所列人类种系VH基因之一,该轻链可变区本身为上文所列人类种系VK基因之一的产物或来源于上文所列人类种系VK基因之一。

[0256] 如本文所用,若人类抗体的重链及轻链可变区自使用人类种系免疫球蛋白基因的

系统获得,则该抗体包含本身为“特定种系序列的产物”或“来源于特定种系序列”的所述可变区。此类系统包括用所关注的抗原对携带人类免疫球蛋白基因的转基因小鼠进行免疫接种或用所关注的抗原筛选呈现在噬菌体上的人类免疫球蛋白基因文库。本身为“人类种系免疫球蛋白序列的产物”或“来源于人类种系免疫球蛋白序列”的人类抗体可藉由将该人类抗体的氨基酸序列与人类种系免疫球蛋白的氨基酸序列进行比较且选择按序列最接近人类抗体的序列(亦即最大同一性%)的人类种系免疫球蛋白序列来如此识别。本身为“特定人类种系免疫球蛋白序列的产物”或“来源于特定人类种系免疫球蛋白序列”的人类抗体与该种系序列相比可含有氨基酸差异,此归因于例如天然产生的体细胞突变或有意引入定点突变。然而,所选人类抗体通常在氨基酸序列中与由人类种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列至少90%同一,且含有当与其他物种的种系免疫球蛋白氨基酸序列(例如鼠类种系序列)相比时将该人类抗体鉴别为人类的氨基酸残基。在一些情况下,人类抗体在氨基酸序列中可与由种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列至少95%或甚至至少96%、97%、98%或99%同一。通常,来源于特定人类种系序列的人类抗体与由人类种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列相比将呈现不超过10个氨基酸差异。在某些情况下,人类抗体与由种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列相比可呈现不超过5个或甚至不超过4、3、2或1个氨基酸差异。

[0257] 抗MICA/B抗体可包含有包含CDR1、CDR2及CDR3序列的重链可变区及包含CDR1、CDR2及CDR3序列的轻链可变区,其中这些CDR序列中的一或多者包含基于本文所描述的抗MICA/B抗体的指定氨基酸序列或其保守性修饰,且其中所述抗体保留本文所描述的抗MICA/B抗体所期望的功能特性。

[0258] 除不在CDR中以外,保守性氨基酸取代可在抗体的部分中进行,或除在CDR中之外,保守性氨基酸取代可亦在抗体的部分中进行。举例而言,保守性氨基酸修饰可在构架区中或在Fc区中进行。可变区或重链或轻链相对于本文所提供的抗MICA/B抗体序列可包含1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4、1-5、1-10、1-15、1-20、1-25或1-50个保守性氨基酸取代。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体包含保守性及非保守性氨基酸修饰的组合。

[0259] 还提供了经工程改造且经修饰的抗体,其可使用具有本文所公开的VH和/或VL序列中的一或多者的抗体作为起始材料对经修饰的抗体进行工程改造来加以制备,该经修饰的抗体可具有与起始抗体相比改变的特性。抗体可藉由修饰一个或两个可变区(亦即,VH和/或VL)内,例如一个或多个CDR区内和/或一个或多个构架区内的一个或多个残基来进行工程改造。额外地或备选地,抗体可藉由修饰恒定区内的残基,例如以改变该抗体的效应功能来进行工程改造。

[0260] 可执行的一种类型的可变区工程改造为CDR移植。抗体主要经由位于六个重链及轻链互补决定区(CDR)中的氨基酸残基而与靶抗原相互作用。出于此原因,与CDR外的序列相比,CDR内的氨基酸序列在个别抗体之间更多样化。因为CDR序列负责大部分抗体-抗原相互作用,所以有可能藉由构筑包括来自天然产生的特定抗体的CDR序列接枝至来自具有不同特性的不同抗体的构架序列上的表达载体来表达模拟天然产生的特定抗体的特性的重组抗体(参见例如Riechmann,L.等人(1998)Nature 332:323-327;Jones,P.等人(1986)Nature 321:522-525;Queen,C.等人(1989)Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.86:10029-10033;Winter的美国专利第5,225,539号;及Queen等人的美国专利第5,530,101号、第5,585,089

号、第5,693,762号及第6,180,370号)。

[0261] 因此,本文所描述的一些实施方案涉及一种经分离的单克隆抗体或其抗原结合部分,其包含有包含本文所描述的CDR1、CDR2及CDR3序列的重链可变区及包含本文所描述的CDR1、CDR2及CDR3序列的轻链可变区。因此,此类抗体含有本文所描述的单克隆抗体的VH及VL CDR序列,也可含有来自这些抗体的不同构架序列。

[0262] 此类构架序列可自包括种系抗体基因序列的公共DNA数据库或公开的参考文献获得。举例而言,用于人类重链及轻链可变区基因的种系DNA序列可见于"VBase"人类种系序列数据库(可在因特网上在www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase获得)中,以及Kabat,E.A.等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH出版物第91-3242号;Tomlinson,I.M.等人(1992)"The Repertoire of Human Germline V_H Sequences Reveals about Fifty Groups of V_H Segments with Different Hypervariable Loops"J.Mol.Biol.227:776-798;及Cox,J.P.L.等人(1994)"A Directory of Human Germ-line V_H Segments Reveals a Strong Bias in their Usage"Eur.J.Immunol.24:827-836中;其中的每一者的内容均明确地以引用的方式并入本文中作为参考。

[0263] 在一些实施方案中,用于本文所描述的抗MICA/B抗体中的构架序列为在结构上类似于由本文所描述的抗MICA/B抗体使用的构架序列的那些构架序列。VH CDR1、CDR2及CDR3序列以及VL CDR1、CDR2及CDR3序列可移植至具有与得到构架序列的种系免疫球蛋白基因中所见序列相同的序列的构架区上,或所述CDR序列可移植至与种系序列相比含有一个或多个突变的构架区上。举例而言,已发现在某些情况下,有益的是使构架区内的残基突变以维持或增强抗体的抗原结合能力(参见例如Queen等人的美国专利第5,530,101号;第5,585,089号;第5,693,762号;及第6,180,370号)。

[0264] 本文所描述的经工程改造的抗MICA/B抗体包括其中已对VH和/或VL内的构架残基进行修饰以例如改良抗体的特性的那些抗体。通常,进行此类构架修饰以降低抗体的免疫原性。举例而言,一种方法为使一个或多个构架残基"回复突变(backmutate)"成对应的种系序列。更具体地,已进行体细胞突变的抗体可含有与得到该抗体的种系序列不同的构架残基。此类残基可藉由比较抗体构架序列与得到抗体的种系序列来加以鉴别。为了使构架区序列恢复成其种系组态,体细胞突变可藉由例如定点突变诱发或PCR介导的突变诱发而"回复突变"成种系序列。亦意欲涵盖此类"回复突变"的抗体。另一类型的构架修饰涉及使构架区内或甚至一个或多个CDR区内的一个或多个残基突变,以移除T细胞表位,藉此降低抗体的潜在免疫原性。此方法亦称为"脱免疫",且进一步详细描述于Carr等人的美国专利公开案第20030153043号中。

[0265] 另一类型的可变区修饰为使VH和/或VL CDR1、CDR2和/或CDR3区内的氨基酸残基突变,藉此改良所关注的抗体的一种或多种结合特性(例如亲和力)。可执行定点突变诱发或PCR介导的突变诱发以引入突变,且对抗体结合或所关注的其他功能的影响可在如本文所描述及实施例中所提供的活体外或活体内分析中加以评估。在一些实施方案中,引入保守性修饰(如上文所论述)。突变可为氨基酸取代、添加或缺失。此外,通常,CDR区内的不超过一个、两个、三个、四个或五个残基进行改变。

[0266] 抗体的CDR中的甲硫氨酸残基可经氧化,引起潜在化学降解且因此降低抗体的效

能。因此,还提供了重链和/或轻链CDR中的一个或多个甲硫氨酸残基经不进行氧化降解的氨基酸残基置换的抗MICA/B抗体。在一些实施方案中,抗体MICA.36、MICA.52、MICA.54、MICA.2及71C2的CDR中的甲硫氨酸残基经不进行氧化降解的氨基酸残基置换。

[0267] 类似地,脱酰胺化位点可自抗MICA/B抗体,尤其在CDR中移除。

[0268] 本文所描述的抗MICA/B可变区可连接(例如,共价连接或融合)于Fc,例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4Fc,其可具有任何同种异型或同型同种异型(isoallotype),例如,对于IgG1:G1m、G1ml(a)、G1m2(x)、G1m3(f)、G1m17(z);对于IgG2:G2m、G2m23(n);对于IgG3:G3m、G3m21(g1)、G3m28(g5)、G3m11(b0)、G3m5(b1)、G3m13(b3)、G3m14(b4)、G3m10(b5)、G3m15(s)、G3m16(t)、G3m6(c3)、G3m24(c5)、G3m26(u)、G3m27(v);及对于K:Km、Km1、Km2、Km3(参见例如Jefferies等人(2009)mAbs 1:1)。

[0269] 一般而言,本文所描述的可变区可连接于包含一个或多个修饰的Fc,以通常改变抗体的一种或多种功能特性,诸如血清半衰期、补体固定(complement fixation)、Fc受体结合、抗原依赖性细胞毒性和/或抗体依赖性细胞吞噬作用。此外,本文所描述的抗体可经化学修饰(例如,一个或多个化学部分可附接至抗体)或经修饰以改变其糖基化,以改变抗体的一种或多种功能特性。这些实施方案中的每一者进一步详细描述于下文中。Fc区中的残基的编号为Kabat EU索引的编号。

[0270] Fc区涵盖来源于免疫球蛋白的恒定区的结构域,包括该恒定区的片段、类似物、变体、突变体或衍生物。适合的免疫球蛋白包括IgG1、IgG2、IgG3、IgG4及其他类别,诸如IgA、IgD、IgE及IgM,免疫球蛋白的恒定区定义为与免疫球蛋白C端区同源的天然产生或以合成方式产生的多肽,且可分别单独或组合地包含CH1结构域、铰链、CH2结构域、CH3结构域或CH4结构域。

[0271] Ig分子与多种类别的细胞受体相互作用。举例而言,IgG分子与对抗体的IgG类别具有特异性的三类Fcγ受体(FcγR),即FcγRI、FcγRII及FcγRIII相互作用。已报导,对IgG与FcγR受体结合而言重要的序列位于CH2及CH3结构域中。抗体的血清半衰期受抗体结合于Fc受体(FcR)的能力影响。

[0272] 在一些实施方案中,Fc区为变异型Fc区,例如已相对于亲本Fc序列(例如,随后经修饰以产生变体的未经修饰的Fc多肽)进行修饰(例如藉由氨基酸取代、缺失和/或插入)的Fc序列,以提供所需结构特征和/或生物活性,

[0273] 一般而言,恒定区或其部分(例如CH1、CL、铰链、CH2或CH3结构域)的变体可包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个突变和/或至多10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个突变或1-10或1-5个突变,或包含与对应的野生型区或结构域(分别为CH1、CL、铰链、CH2或CH3结构域)至少约75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一的氨基酸序列,其限制条件为包含特定变体的重链恒定区保留必要生物活性。

[0274] 举例而言,人们可在Fc区中进行修饰以便产生Fc变体,相对于亲本Fc,该Fc变体(a)介导抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和/或抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)增加或减小,(b)介导补体介导的细胞毒性(CDC)增加或减小,(c)对C1q的亲和力增加或减小和/或(d)对Fc受体的亲和力增加或减小。此类Fc区变体将一般在Fc区中包含至少一个氨基酸修饰。认为组合氨基酸修饰为尤其合乎需要。举例而言,变异型Fc区可在其中包括例如对本文所鉴别的特定Fc区位置的两个、三个、四个、五个等取代。

[0275] 变异型Fc区亦可包含其中涉及二硫键形成的氨基酸经移除或经其他氨基酸置换的序列改变。此类移除可避免与存在于用于产生本文所描述的抗MICA/B抗体的宿主细胞中的其他含半胱氨酸的蛋白质反应。即使当移除半胱氨酸残基时,单链Fc结构域仍可形成非共价地保持在一起的二聚Fc结构域。在一些实施方案中,Fc区可经修饰以使其与所选宿主细胞更相容。举例而言,人们可移除典型天然Fc区的N端附近的PA序列,该序列可由大肠杆菌中的消化酶,诸如脯氨酸亚氨基肽酶识别。在一些实施方案中,可移除Fc结构域内的一个或多个糖基化位点。通常经糖基化的残基(例如天冬酰胺)可赋予溶胞反应。此类残基可缺失或经未糖基化的残基(例如丙氨酸)取代。在一些实施方案中,可自Fc区移除涉及与补体的相互作用的位点,诸如C1q结合位点。举例而言,人们可使人类IgG1的EKK序列缺失或取代。在一些实施方案中,可移除影响与Fc受体的结合的位点,优选为除救助受体结合位点以外的位点。在一些实施方案中,Fc区可经修饰以移除ADCC位点。ADCC位点为此项技术中已知的;关于IgG1中的ADCC位点,参见例如Molec.Immunol.29(5):633-9(1992)。变异型Fc结构域的具体实例公开于例如WO 97/34631、WO 96/32478及WO07/041635中。

[0276] 在一些实施方案中,Fc的铰链区经修饰以使得铰链区中的半胱氨酸残基的数目改变,例如增加或减少。此方法进一步描述于Bodmer等人的美国专利第5,677,425号中。Fc的铰链区中的半胱氨酸残基的数目进行改变以例如促进轻链及重链的组装,或提高或降低抗体的稳定性。在一些实施方案中,抗体的Fc铰链区经突变以减少抗体的生物半衰期。更具体地,将一个或多个氨基酸突变引入至Fc-铰链片段的CH2-CH3结构域介接区中,以使得抗体对葡萄球菌蛋白A(SpA)的结合相对于天然Fc-铰链结构域SpA结合减弱。此方法进一步详细描述于Ward等人的美国专利第6,165,745号中。

[0277] 在一些实施方案中,Fc区藉由用不同氨基酸残基置换至少一个氨基酸残基来进行改变,以改变抗体的效应功能。举例而言,选自氨基酸残基234、235、236、237、297、318、320、322、330和/或331的一个或多个氨基酸可经不同氨基酸残基置换,以使得抗体对效应配体的亲和力改变,但保留亲本抗体的抗原结合能力。亲和力改变的效应配体可为例如Fc受体或补体的C1组分。此方法进一步详细描述于Winter等人的美国专利第5,624,821号及第5,648,260号中。

[0278] 在另一实例中,选自氨基酸残基329、331及322的一个或多个氨基酸可经不同氨基酸残基置换,以使得抗体具有改变的C1q结合和/或降低或消除的补体依赖性细胞毒性(CDC)。此方法进一步详细描述于Idusogie等人的美国专利第6,194,551号中。

[0279] 在另一实例中,氨基酸位置231及239内的一个或多个氨基酸残基进行改变,藉此改变抗体固定补体的能力。此方法进一步描述于Bodmer等人的PCT公开案WO 94/29351中。

[0280] 在另一实例中,Fc区可经修饰以增强对Fcγ的亲和力且增加巨噬细胞介导的吞噬作用。参见例如Richard等人,Mo.Cancer.Ther.7(8):2517-27(2008),其以全文引用的方式并入本文中作为参考。在某些实施方案中,Fc区可经修饰以使对FcγRIIa的亲和力相对于抑制性FcγRIIb增加。一个特定点突变G236A(其编号是根据EU索引)已识别为对FcγRIIa的亲和力相对于抑制性FcγRIIb增加。此对FcRIIa的亲和力增加与巨噬细胞介导的吞噬作用相对于天然IgG1增加相关。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体的Fc区包含选自以下的一个或多个突变或突变的组合:G236A、I332E、S239/I332E、I332E/G236A及S239D/I332E/G236A。对Fc区的其他修饰可增加抗体依赖性细胞毒性(ADCC),例如藉由增加对活化性受体

(诸如Fc γ RI和/或Fc γ RIIIa)的亲和力来进行增加。举例而言,G236A取代及G236A取代与改良对活化性受体(例如Fc γ RI和/或Fc γ RIIIa)的亲和力的修饰(例如包括(但不限于)332及239处的取代)的组合提供相对于亲本WT抗体显著改良的ADCC。参见美国专利第9,040,041号,其以全文引用的方式并入本文中作为参考。

[0281] 在另一实例中,Fc区可经修饰以减小抗体依赖性细胞毒性(ADCC)和/或减小对Fc γ 受体的亲和力,其藉由对以下位置处的一个或多个氨基酸进行修饰来进行:234、235、236、238、239、240、241、243、244、245、247、248、249、252、254、255、256、258、262、263、264、265、267、268、269、270、272、276、278、280、283、285、286、289、290、292、293、294、295、296、298、299、301、303、305、307、309、312、313、315、320、322、324、325、326、327、329、330、331、332、333、334、335、337、338、340、360、373、376、378、382、388、389、398、414、416、419、430、433、434、435、436、437、438或439。例示性取代包括236A、239D、239E、268D、267E、268E、268F、324T、332D及332E。例示性变体包括239D/332E、236A/332E、236A/239D/332E、268F/324T、267E/268F、267E/324T及267E/268F7324T。用于增强Fc γ R及补体相互作用的其他修饰包括(但不限于)取代298A、333A、334A、326A、2471、339D、339Q、280H、290S、298D、298V、243L、292P、300L、396L、3051及396L。这些及其他修饰综述于Strohl,2009,Current Opinion in Biotechnology 20:685-691中。

[0282] 增加与Fc γ 受体的结合的Fc修饰包括以下任何一个或多个氨基酸位置处的氨基酸修饰:Fc区的238、239、248、249、252、254、255、256、258、265、267、268、269、270、272、279、280、283、285、298、289、290、292、293、294、295、296、298、301、303、305、307、312、315、324、327、329、330、335、337、338、340、360、373、376、379、382、388、389、398、414、416、419、430、434、435、437、438或439,其中该Fc区中残基的编号为Kabat中的EU索引的编号(WOOO/42072)。

[0283] 视情况,Fc区可在熟习此项技术者已知的额外和/或替代性位置处包含非天然产生的氨基酸残基(参见例如美国专利第5,624,821号;第6,277,375号;第6,737,056号;第6,194,551号;第7,317,091号;第8,101,720号;第9,040,041号;PCX专利公开案WO 00/42072;WO 01/58957;WO 02/06919;WO 04/016750;WO 04/029207;WO 04/035752;WO 04/074455;WO 04/099249;WO 04/063351;WO 05/070963;WO 05/040217;WO 05/092925;及WO 06/020114)。

[0284] Fc区对其配体的亲和力及结合特性可藉由此项技术中已知的多种活体外分析方法(基于生物化学或免疫的分析)来确定,所述方法包括(但不限于)平衡方法(例如酶联免疫吸附分析(ELISA)或放射免疫分析(RIA))或动力学(例如BIACORE分析)及其他方法,诸如间接结合分析、竞争性抑制分析、荧光共振能量转移(FRET)、凝胶电泳及层析(例如凝胶过滤)。这些及其他方法可利用所检验的一种或多种组分上的标记和/或采用多种检测方法,包括(但不限于)发色、荧光、发光或同位素标记。结合亲和力及动力学的详细描述可见于Paul,W.E.编,Fundamental immunology,第4版,Lippincott-Raven,Philadelphia(1999),其聚焦于抗体-免疫原相互作用。

[0285] 在一些实施方案中,抗体经修饰以增加其生物半衰期。各种方法为可能的。举例而言,此可藉由增加Fc区对FcRn的结合亲和力来进行,举例而言,如美国专利第6,277,375号中所描述,以下残基中的一或多者可经突变:252、254、256、433、435、436。具体例示性取代

包括以下中的一或多者:T252L、T254S和/或T256F。或者,如Presta等人的美国专利第5,869,046号及第6,121,022号中所描述,为了增加生物半衰期,抗体可在CH1或CL区内进行改变,以含有自IgG的Fc区的CH2结构域的两个环取得的救助受体结合性表位。增加与FcRn的结合和/或改良药物动力学特性的其他例示性变体包括位置259、308、428及434处的取代,包括例如2591、308F、428L、428M、434S、4341 1.434F、434Y及434X1。增加Fc与FcRn的结合的其他变体包括:250E、250Q、428L、428F、250Q/428L(Hinton等人2004,J.Biol.Chem.279(8):6213-6216,Hinton等人2006Journal of Immunology 176:346-356)、256A、272A、286A、305A、307A、307Q、311A、312A、376A、378Q、380A、382A、434A(Shields等人,Journal of Biological Chemistry,2001,276(9):6591-6604)、252F、252T、252Y、252W、254T、256S、256R、256Q、256E、256D、256T、309P、311S、433R、433S、4331、433P、433Q、434H、434F、434Y、252Y/254T/256E、433K/434F/436H、308T/309P/311S(Dall Acqua等人Journal of Immunology,2002,169:5171-5180,Dall'Acqua等人,2006,Journal of Biological Chemistry 281:23514-23524)。用于调节FcRn结合的其他修饰描述于Yeung等人,2010,J Immunol,182:7663-7671中。

[0286] 在一些实施方案中,可使用具有特定生物特性的杂交IgG同种型。举例而言,IgG1/IgG3杂交变体可藉由用来自IgG3的氨基酸在两种同种型不同的位置处取代CH2和/或CH3区中的IgG1位置来构筑。因此,可构筑杂交变异型IgG抗体,其包含一个或多个取代,例如274Q、276K、300F、339T、356E、358M、384S、392N、397M、4221、435R及436F。在本文所描述的一些实施方案中,IgG1/IgG2杂交变体可藉由用来自IgG1的氨基酸在两种同种型不同的位置处取代CH2和/或CH3区中的IgG2位置来构筑。因此,可构筑杂交变异型IgG抗体,其包含一个或多个取代,例如以下氨基酸取代中的一或多者:233E、234L、235L、-236G(是指在位置236处插入甘氨酸)及327A。

[0287] 此外,人类IgG1上对Fcγ RI、Fcγ RII、Fcγ RIII及FcRn的结合位点已经定位,且具有改良的结合的变体已有描述(参见Shields,R.L.等人(2001)J.Biol.Chem.276:6591-6604)。展示位置256、290、298、333、334及339处的特定突变改良与Fcγ RIII的结合。另外,展示以下组合突变体改良Fcγ RIII结合:T256A/S298A、S298A/E333A、S298A/K224A及S298A/E333A/K334A,已展示其展现Fcγ RIIIa结合及ADCC活性增强(Shields等人,2001)。已鉴别与Fcγ RIIIa的结合强烈增强的其他IgG1变体,包括具有S239D/I332E及S239D/I332E/A330L突变的变体,其展示对Fcγ RIIIa的亲和力的最大增加、Fcγ RIIb结合的减小及在食蟹猴中的强烈细胞毒活性(Lazar等人,2006)。将三重突变引入至诸如阿仑单抗(alemtuzumab)(CD52特异性)、曲妥珠单抗(trastuzumab)(HER2/neu特异性)、利妥昔单抗(rituximab)(CD20特异性)及西妥昔单抗(cetuximab)(EGFR特异性)的抗体中转换成活体外ADCC活性极大地增强,且S239D/I332E变体展示在猴中耗乏B细胞的能力增强(Lazar等人,2006)。另外,在B细胞恶性病及乳癌的模型中已鉴别含有L235V、F243L、R292P、Y300L及P396L突变的IgG1突变体,其在表达人类Fcγ RIIIa的转基因小鼠中展现与Fcγ RIIIa的结合增强且同时ADCC活性增强(Stavenhagen等人,2007;Nordstrom等人,2011)。可使用的其他Fc突变体包括:S298A/E333A/L334A、S239D/I332E、S239D/I332E/A330L、L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L及M428L/N434S。

[0288] 展示位置234、235、236、239、267、268、293、295、324、327、328、330及332处的特定

突变改良与FcγRIIa的结合和/或减小与FcγRIIb的结合于,引起ADCC和/或ADCP活性增强(Richards等人,Mol.Cancer Ther.7(8):2517-2527;美国专利第9,040,041号)。具体地,选择性地使与一种或多种人类活化性受体的结合相对于FcγRIIb改良或选择性地使与FcγRIIb的结合相对于一种或多种活化性受体改良的Fc变体可包含选自以下的取代:234G、234I、235D、235E、235I、235Y、236A、236S、239D、267D、267E、267Q、268D、268E、293R、295E、324G、324I、327H、328A、328F、328I、330I、330L、330Y、332D及332E。亦可组合的额外取代包括调节FcγR亲和力及补体活性的其他取代,包括(但不限于)298A、298T、326A、326D、326E、326W、326Y、333A、333S、334L及334A(美国专利第6,737,056号;Shields等人,Journal of Biological Chemistry,2001,276(9):6591-6604;美国专利第6,528,624号;Idusogie等人,2001,J.Immunology 166:2571-2572)。可尤其适用于与其他Fc变体组合的优选变体包括有包含取代298A、326A、333A及334A的那些变体。可与FcγR选择性变体组合的额外取代包括247L、255L、270E、392T、396L及421K(美国第10/754,922号;美国第10/902,588号);及280H、280Q及280Y(美国第10/370,749号)。

[0289] 当使用IgG4恒定结构域时,其可包括取代S228P,其模拟IgG1中的铰链序列且藉此使IgG4分子稳定。

[0290] III.非岩藻糖基化、低岩藻糖基化及降低的岩藻糖基化

[0291] 在一些实施方案中,抗体的糖基化可经.修饰。举例而言,可制得无糖基化抗体(亦即,缺乏糖基化的抗体)。糖基化可经改变以例如增加抗体对抗原的亲和力。此类碳水化合物修饰可藉由例如改变抗体序列内的一个或多个糖基化位点来实现。举例而言,可进行一个或多个氨基酸取代,其消除一个或多个可变区构架糖基化位点,藉此消除该位点处的糖基化。此类无糖基化可增加抗体对抗原的亲和力。此类方法进一步详细描述于Co等人的美国专利第5,714,350号及第6,350,861号中。

[0292] N297上恒定区的糖基化可藉由使N297残基突变为例如N297A的另一残基来阻止,和/或藉由使例如298的相邻氨基酸突变,藉此降低N297上的糖基化来阻止。

[0293] 抗体与FcγR的相互作用亦可藉由修饰附接至N297残基处的各Fc片段的聚糖部分来增强。具体地,核心岩藻糖残基的缺少经由在不改变抗原结合或CDC的情况下使IgG与活化性FcγRIIIA的结合改良来增强ADCC。Natsume等人(2009)Drug Des.Devel.Ther.3:7。存在有说服力的证据证明无岩藻糖基化的肿瘤特异性抗体在活体内小鼠模型中转换成治疗活性增强。Nimmerjahn及Ravetch(2005)Science 310:1510;Mossner等人(2010)Blood 115:4393。抗体糖基化的修饰可藉由例如在具有经改变的糖基化机构的宿主细胞中表达抗体来实现。具有经改变的糖基化机构的细胞已描述于此项技术中,且可用作表达本发明的重组抗体以藉此产生具有经改变的糖基化的抗体的宿主细胞。举例而言,细胞系Ms704、Ms705及Ms709缺乏岩藻糖基转移酶基因FUT8(α-(1,6)岩藻糖基转移酶)(参见美国专利申请公开案第20040110704号;Yamane-Ohnuki等人(2004)Biotechnol.Bioeng.87:614),以使得在这些细胞系中表达的抗体在其碳水化合物上缺乏岩藻糖。作为另一实例,EP 1176195亦描述具有功能性破坏的FUT8基因的细胞系以及具有极少或没有用于将岩藻糖添加至N-乙酰基葡糖胺(其与抗体的Fc区结合)的活性的细胞系,例如大鼠骨髓瘤细胞系YB2/0(ATCC CRL 1662)。PCT公开案WO 03/035835描述一种变异型CHO细胞系Lec13,其将岩藻糖附接至Asn(297)连接的碳水化合物的能力降低,也使得在彼宿主细胞中表达的抗体低岩藻糖基

化。亦参见Shields等人(2002)J.Biol.Chem.277:26733。如PCT公开案第WO 2006/089231号中所描述,具有经修饰的糖基化分布的抗体亦可产生于鸡蛋中。或者,具有经修饰的糖基化分布的抗体可产生于诸如浮萍(Lemna)的植物细胞中。参见例如美国公开案第2012/0276086号。PCT公开案第WO 99/54342号描述经工程改造以表达经糖蛋白修饰的糖基转移酶(例如β(1,4)-N-乙酰基葡糖氨基转移酶III(GnTIII))的细胞系,使得在经工程改造的细胞系中表达的抗体展现二等分GlcNac结构增加,引起抗体的ADCC活性增加。亦参见Umaña等人(1999)Nat.Biotech.17:176。或者,抗体的岩藻糖残基可使用岩藻糖苷酶裂解开。举例而言,酶α-L-岩藻糖苷酶将岩藻糖基残基自抗体移除。Tarentino等人(1975)Biochem.14:5516。如在美国专利第8,642,292号所描述,岩藻糖基化降低的抗体亦可在具有编码使用GDP-6-脱氧-D-来苏糖-4-己酮糖作为底物的酶,诸如GDP-6-脱氧-D-来苏糖-4-己酮糖还原酶(RMD)的重组基因的细胞中产生。或者,细胞可在含有岩藻糖类似物的培养基中生长,该岩藻糖类似物阻断将岩藻糖残基添加至N连接的聚糖或糖蛋白,诸如抗体,该N连接的聚糖或糖蛋白由在该培养基中生长的细胞产生。美国专利第8,163,551号;WO 09/135181。

[0294] 因为非岩藻糖基化抗体展现ADCC和/或ADCP与岩藻糖基化抗体相比极大地增强,所以抗体制剂不必完全不含岩藻糖基化重链即可适用于本发明中。残余含量的岩藻糖基化重链将不会明显干扰基本上具有非岩藻糖基化重链的制剂的ADCC和/或ADCP活性。在完全胜任将核心岩藻糖添加至N-聚醣的习知CHO细胞中产生的抗体仍可包含百分的几至15%的非岩藻糖基化抗体。非岩藻糖基化抗体可展现对CD16的亲和力高十倍且ADCC和/或ADCP活性增强高达30至100倍,因此即使非岩藻糖基化抗体比例较小增加,仍可大幅度增加制剂的ADCC和/或ADCP活性。在培养物中所包含的非岩藻糖基化抗体比在正常CHO细胞中产生的更多的任何制剂均可展现一定水平的ADCC和/或ADCP增强。此类抗体制剂在本文中称为岩藻糖基化降低的制剂。视自正常CHO细胞获得的非岩藻糖基化的原始水平而定,岩藻糖基化降低的制剂可包含80%、70%、60%、50%、30%、20%、10%及甚至5%的非岩藻糖基化抗体。岩藻糖基化降低在功能上可定义为制剂展现ADCC和/或ADCP与在正常CHO细胞中制备的抗体相比增强30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、两倍、三倍或更大,而非提及任何固定百分比的非岩藻糖基化物种。

[0295] 非岩藻糖基化的水平可在结构上加以界定。如本文所用,“非岩藻糖基化”或“无岩藻糖基化”(术语同义地使用)是指在抗体制剂中,超过95%,诸如超过96%、超过97%、超过98%、超过99%或100%的重链缺乏岩藻糖。术语“低岩藻糖基化”是指在抗体制剂中,超过80%且少于或等于95%的重链缺乏岩藻糖;例如在抗体制剂中,介于85%与95%之间、介于80%与85%之间、介于80%与90%之间、介于85%与90%之间或介于90%与95%之间的重链缺乏岩藻糖。术语“低岩藻糖基化或非岩藻糖基化”是指在抗体制剂中,80%或更多的重链缺乏岩藻糖。术语“岩藻糖基化降低”是指在抗体制剂中,介于10%与80%之间,诸如20%-80%、30%-80%、40%-80%、50%-80%、60%-80%、70%-80%、20%-70%、30%-70%、40%-70%、50%-70%、60%-70%、20%-60%、30%-60%、40%-60%、50%-60%、20%-50%、30%-50%、40%-50%、20%-40%、30%-40%、10%-20%、10%-30%或20%-30%的重链缺乏岩藻糖。

[0296] 在一些实施方案中,低岩藻糖基化或非岩藻糖基化抗MICA/B抗体可在缺乏岩藻糖基化必需的酶(诸如FUT8)的细胞中产生(例如美国专利第7,214,775号),或在其中外源性

酶部分地耗乏用于岩藻糖基化的代谢前驱体池的细胞中产生(例如美国专利第8,642,292号),或在于存在涉及岩藻糖基化的酶的小分子抑制剂的情况下培养的细胞中产生(例如WO 09/135181)。

[0297] 抗体制剂中岩藻糖基化的水平可藉由此项技术中已知的任何方法来加以确定,包括(但不限于)凝胶电泳、毛细电泳、液相层析及质谱。在一些实施方案中,抗体制剂中岩藻糖基化的水平可藉由亲水相互作用层析(或亲水相互作用液相层析,HILIC)来加以确定。在一些实施方案中,为了确定抗体制剂的岩藻糖基化水平,使样品变性,且用PNG酶F来处理以使N连接的聚糖裂解,随后分析岩藻糖含量。对全长抗体链的LC/MS为检测抗体制剂的岩藻糖基化水平的替代性方法,但质谱的定量性固有地较小。

[0298] 在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体可岩藻糖基化降低,或为低岩藻糖基化或非岩藻糖基化。在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体可岩藻糖基化降低。在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体可为低岩藻糖基化。在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体可为非岩藻糖基化。

[0299] 在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体可包含i)对Fc区进行的一个或多个氨基酸突变以改变Fcγ R结合,及视情况ii)岩藻糖基化降低消除。在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体可包含对Fc区进行的一个或多个氨基酸突变以改变Fcγ R结合,且可为低岩藻糖基化或非岩藻糖基化。在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体可包含对Fc区进行的一个或多个氨基酸突变以改变Fcγ R结合,且可为非岩藻糖基化。

[0300] 对本文所描述的抗MICA/B抗体的另一种修饰为聚乙二醇化。抗体可经聚乙二醇化以例如增加抗体的生物(例如血清)半衰期。为使抗体发生聚乙二醇化,通常使抗体或其片段与聚乙二醇(PEG)(诸如PEG的反应性酯或醛衍生物)在其中使一个或多个PEG基团附接至抗体或抗体片段的条件下反应。在一些实施方案中,聚乙二醇化经由与反应性PEG分子(或类似反应性水溶性聚合物)的酰化反应或烷基化反应进行。如本文所用,术语"聚乙二醇"意欲涵盖已用于衍生得到其他蛋白质的任一种PEG形式,诸如单(C1-C10)烷氧基-或芳基氧基-聚乙二醇或聚乙二醇-顺丁烯二酰亚胺。在某些实施方案中,待聚乙二醇化的抗体为无糖基化抗体。用于使蛋白质发生聚乙二醇化的方法为此项技术中已知的,且可应用于本文所描述的抗MICA/B抗体。参见例如Nishimura等人的EP 0 154 316及Ishikawa等人的EP 0 401 384。

[0301] IV.抗体物理特性

[0302] 抗MICA/B抗体,例如本文所描述的那些抗体具有本文所描述的特定抗MICA/B抗体的一些或所有物理特征,诸如实施例中所描述的特征。

[0303] 本文所描述的抗MICA/B抗体可在轻链或重链可变区中含有一个或多个糖基化位点。此类糖基化位点可由于抗原结合改变而引起抗体的免疫原性增加或抗体的pK改变(Marshall等人,(1972)Annu Rev Biochem 41:673-702;Gala及Morrison(2004)J.Immunol 172:5489-94;Wallick等人,(1988)J Exp Med 168:1099-109;Spiro(2002)Glycobiology 12:43R-56R;Parekh等人,(1985)Nature 316:452-7;Mimura等人,(2000)Mol Immunol 37:697-706)。已知糖基化在含有N-X-S/T序列的基序处进行。在一些情况下,抗MICA/B抗体不含有可变区糖基化。此可藉由选择在可变区中不含糖基化基序的抗体或藉由使糖基化区内的残基突变来达成。

[0304] 在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体不含有天冬酰胺异构位点。天冬酰胺的脱酰胺化可在N-G或D-G序列上发生且引起产生异天冬氨酸残基,其将扭接(kink)引入至多肽链中且降低其稳定性(异天冬氨酸作用)。

[0305] 各抗体将具有独特等电点(pi),其一般在介于6与9.5之间的pH值范围内。IgG1抗体的pi通常在7至9.5的pH值范围内,且IgG4抗体的pi通常在6至8的pH值范围内。由此推测pi在正常范围外的抗体在活体内条件下可能具有一定的解折叠及不稳定性。因此,抗MICA/B抗体可含有处于正常范围内的pi值。此可藉由选择pi在正常范围内的抗体或藉由使带电表面残基突变来达成。

[0306] 各抗体将具有特征性熔融温度,其中较高熔融温度指示较大活体内总体稳定性(Krishnamurthy R及Manning M C(2002)Curr Pharm Biotechnol 3:361-71)。一般而言,T_Mi(初始展开的温度)可大于60℃,大于65℃,或大于70℃。抗体的熔点可使用差示扫描量热法测定(Chen等人,(2003)Pharm Res 20:1952-60;Ghirlando等人,(1999)Immunol Lett 68:47-52)或圆二色性(Murray等人,(2002)J.Chromatogr Sci 40:343-9)来进行测量。

[0307] 在一些实施方案中,选择不快速降解的抗体。抗体的降解可使用毛细电泳(CE)及MALDI-MS(Alexander AJ及Hughes D E(1995)Anal Chem 67:3626-32)来进行测量。

[0308] 在一些实施方案中,选择具有最低聚集作用的抗体,所述聚集作用可导致触发不必要的免疫反应和/或改变或不利的药物动力学特性。一般而言,可接受抗体的聚集为25%或更小、20%或更小、15%或更小、10%或更小或5%或更小。聚集可藉由若干技术来进行测量,包括尺寸排阻柱(SEC)、高效液相层析(HPLC)及光散射。在一些实施方案中,抗体呈现所需溶解度,例如允许商业制造的溶解度。在一些实施方案中,本文所描述的抗体在中性或弱酸性pH值下的溶解度为至少10mg/ml、至少15mg/ml、至少20mg/ml、至少25mg/ml、至少30mg/ml、至少40mg/ml、至少50mg/ml、至少60mg/ml或至少70mg/ml。

[0309] 在一些实施方案中,本文所描述的抗体的稳定性比参考抗体高。在一些实施方案中,本文所描述的抗体的熔融温度比参考抗体高。在一些实施方案中,本文所描述的抗体的聚集倾向比参考抗体低。在一些实施方案中,本文所描述的抗体的溶解度比参考抗体高。在一些实施方案中,与参考抗体相比,本文所描述的抗体的吸收速率较高,毒性较低,生物活性和/或标靶选择性较高,可制造性较好,和/或免疫原性较低。参考抗体可为结合于MICA/B的另一抗体或其片段或其结合物。

[0310] V.对抗体进行工程改造的方法

[0311] 如上文所论述,具有本文所公开的VH及VL序列的抗MICA/B抗体可用于藉由对VH和/或VL序列或与其附接的恒定区进行修饰来产生新抗MICA/B抗体。因此,在本文所描述的另一方面中,本文所描述的抗MICA/B抗体的结构特征用于产生结构上相关的抗MICA/B抗体,所述抗体保留本文所描述的抗MICA/B抗体的至少一种功能特性,诸如结合于人类MICA/B及食蟹猴MICA/B。举例而言,如上文所论述,MICA.36、MICA.52、MICA.54、MICA.2及71C2的一个或多个CDR区可以重组方式与已知构架区和/或其他CDR组合以产生额外的以重组方式工程改造的本文所描述的抗MICA/B抗体。其他类型的修饰包括先前部分中所描述的那些修饰。用于工程改造方法的起始材料为本文所提供的VH和/或VL序列中的一或多者或其一个或多个CDR区。为了产生经工程改造的抗体,不必实际上制备(亦即,以蛋白质形式表达)具有本文所提供的VH和/或VL序列中的一或多者或其一个或多个CDR区的抗体。相反地,序列

中所含有的信息用作起始材料以产生来源于初始序列的“第二代”序列,且随后制备“第二代”序列且将其表达为蛋白质。

[0312] 因此,本文提供用于制备本文所描述的抗MICA/B抗体的方法。

[0313] 改变的抗体可展现本文所设定的至少一种功能特性。改变的抗体的功能特性可使用此项技术中可获得和/或本文所描述的标准分析,诸如实施例中所述的那些分析(例如,ELISA、FACS)来加以评定。

[0314] 在对本文所描述的抗MICA/B抗体进行工程改造的方法的一些实施方案中,可沿着抗MICA/B抗体编码序列的全部或部分随机或选择性地引入突变,且所得经修饰的抗MICA/B抗体可针对结合活性和/或如本文所描述的其他功能特性加以筛选。突变方法已描述于此项技术中。举例而言,Short的PCT公开案WO 02/092780描述使用饱和突变诱发、合成接合组装或其组合来产生及筛选抗体突变的方法。或者,Lazar等人的PCT公开案WO 03/074679描述使用计算筛选方法使抗体的生理化学特性优化的方法。

[0315] VI.核酸分子

[0316] 本文所描述的另一方面涉及编码本文所描述的抗MICA/B抗体的核酸分子。核酸可存在于全细胞、细胞溶解物或经部分纯化或基本上纯的形式中。当核酸与其他细胞组分或其他污染物,例如其他细胞核酸(例如其他染色体DNA,例如在自然中连接于经分离的DNA的染色体DNA)或蛋白质纯化分开时,该核酸为“经分离”或“呈现基本上纯的”,该纯化藉由标准技术,包括碱性/SDS处理、CsCl显带、柱层析、限制酶、琼脂糖凝胶电泳及此项技术中熟知的其他技术来进行。参见F.Ausubel等人编,(1987)Current Protocols in Molecular Biology,Greene Publishing and Wiley Interscience,New York。本文所描述的核酸可为例如DNA或RNA,且可含有或可不含有内含子序列。在一些实施方案中,核酸为cDNA分子。

[0317] 本文所描述的核酸可使用标准分子生物学技术来获得。对于由杂交瘤(例如,如下文进一步描述,由携带人类免疫球蛋白基因的转基因小鼠制备的杂交瘤)表达的抗体,编码由该杂交瘤制得的抗体的轻链及重链的cDNA可藉由标准PCR扩增或cDNA克隆技术来获得。对于自免疫球蛋白基因文库(例如使用噬菌体呈现技术)获得的抗体,可自文库回收编码抗体的核酸。

[0318] 本文所描述的一些核酸分子为编码MICA.36、MICA.52、MICA.54、MICA.2及71C2抗体的VH及VL序列的那些分子。编码MICA.36、MICA.52、MICA.54、MICA.2及71C2的VH序列的例示性DNA序列分别阐述于SEQ ID NO:1、11、21、31及41中。编码MICA.36、MICA.52、MICA.54、MICA.2及71C2的VL序列的例示性DNA序列分别阐述于SEQ ID NO:3、13、23、33及43中。编码MICA.36、MICA.52、MICA.54、MICA.2及71C2的重链序列的例示性DNA序列分别阐述于SEQ ID NO:59、63、67、71及75中。编码MICA.36、MICA.52、MICA.54、MICA.2及71C2的轻链序列的例示性DNA序列阐述于SEQ ID NO:61、65、69、73及77中。

[0319] 编码MICA.36抗体的成熟VH及VL结构域的例示性核酸分别阐述为SEQ ID NO:1及3。编码MICA.36抗体的成熟重链的例示性核酸阐述为SEQ ID NO:59及131,且编码MICA.36抗体的成熟轻链的例示性核酸阐述为SEQ ID NO:61。

[0320] 编码MICA.52抗体的成熟VH及VL结构域的例示性核酸分别阐述为SEQ ID NO:11及13。编码MICA.52抗体的成熟重链的例示性核酸阐述为SEQ ID NO:63,且编码MICA.52抗体的成熟轻链的例示性核酸阐述为SEQ ID NO:65。

[0321] 编码MICA.54抗体的成熟VH及VL结构域的例示性核酸分别阐述为SEQ ID NO:21及23。编码MICA.54抗体的成熟重链的例示性核酸阐述为SEQ ID NO:67,且编码MICA.54抗体的成熟轻链的例示性核酸阐述为SEQ ID NO:69。

[0322] 编码MICA.2抗体的成熟VH及VL结构域的例示性核酸分别阐述为SEQ ID NO:31及33。编码MICA.2抗体的成熟重链的例示性核酸阐述为SEQ ID NO:71,且编码MICA.2抗体的成熟轻链的例示性核酸阐述为SEQ ID NO:73。

[0323] 编码71C2抗体的成熟VH及VL结构域的例示性核酸分别阐述为SEQ ID NO:41及43。编码71C2抗体的成熟重链的例示性核酸阐述为SEQ ID NO:75,且编码71C2抗体的成熟轻链的例示性核酸阐述为SEQ ID NO:77。

[0324] 上文例示性核酸可进一步包括SEQ ID NO:100-105中所述的信号肽。编码信号肽的核苷酸序列阐述为SEQ ID NO:106-107。在一些实施方案中,信号肽包含MRAWIFFLLCLAGRALA(SEQ ID NO:105)。

[0325] 本文所描述的核酸分子可经修饰以使特定序列(例如限制酶识别序列)缺失,或使密码子优化。

[0326] 一种用于制得MICA.36、MICA.52、MICA.54、MICA.2及71C2的方法可包含在包含编码重链及轻链与信号肽的核苷酸序列(例如,对于MICA.36,分别为SEQ ID NO:59及61,或分别为SEQ ID NO:131及61)的细胞系中表达所述重链及轻链。一种用于制得MICA.36、MICA.52、MICA.54、MICA.2及71C2的方法可包含在包含编码重链及轻链与信号肽的核苷酸序列的细胞系中表达所述重链及轻链。包含这些核苷酸序列的宿主细胞涵盖于本文中。

[0327] 一旦获得编码VH及VL区段的DNA片段,则可藉由标准重组DNA技术进一步操纵这些DNA片段,以例如将可变区基因转化成全长抗体链基因、Fab片段基因或scFv基因。在这些操纵中,编码VL或VH的DNA片段可操作地连接于编码另一蛋白质(诸如抗体恒定区或柔性接头)的另一DNA片段。如此情形下所用,术语“可操作地连接”欲意谓两个DNA片段以使得由该两个DNA片段编码的氨基酸序列保持同读框的方式连接。

[0328] 编码VH区的经分离的DNA可藉由将编码VH的DNA可操作地连接于编码重链恒定区(铰链、CH1、CH2和/或CH3)的另一DNA分子而转化成全长重链基因。人类重链恒定区基因的序列为此项技术中已知的(参见例如Kabat,E.A.等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH出版物第91-3242号),且涵盖这些区域的DNA片段可藉由标准PCR扩增来获得。重链恒定区可为IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM或IgD恒定区,例如IgG1区。对于Fab片段重链基因,编码VH的DNA可操作地连接于仅编码重链CH1恒定区的另一DNA分子。

[0329] 编码VL区的经分离的DNA可藉由将编码VL的DNA可操作地连接于编码轻链恒定区CL的另一DNA分子而转化成全长轻链基因(以及Fab轻链基因)。人类轻链恒定区基因的序列为此项技术中已知的(参见例如Kabat,E.A.等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH出版物第91-3242号),且涵盖这些区域的DNA片段可藉由标准PCR扩增来获得。轻链恒定区可为κ或λ恒定区。

[0330] 为了产生scFv基因,将编码VH及VL的DNA片段可操作地连接于编码柔性接头,例如编码氨基酸序列$(Gly_4\text{-}Ser)_3$的另一片段,以使得所述VH及VL序列可表达为邻接单链蛋白

质,其中所述VL及VH区藉由该柔性接头连接(参见例如Bird等人,(1988)Science 242:423-426;Huston等人,(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883;McCafferty等人,(1990)Nature 348:552-554)。

[0331] 本文还提供了编码与MICA.36、MICA.52、MICA.54、MICA.2及71C2抗体的VH及VL序列同源的那些序列的核酸分子。例示性核酸分子编码VH及VL序列,其与编码MICA.36、MICA.52、MICA.54、MICA.2及71C2抗体的VH及VL序列的核酸分子至少70%同一,例如至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%同一。本文还提供了具有保守性取代(亦即,在核酸分子翻译时不改变所得氨基酸序列的取代)的核酸分子,例如用于密码子优化。

[0332] 还提供了编码抗MICA/B抗体,诸如本文所描述的抗MICA/B抗体的VH和/或VL区的核酸,所述核酸包含与编码本文所描述的抗MICA/B抗体的VH和/或VL区的任一核苷酸序列至少约75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一的核苷酸序列。

[0333] 还提供了编码抗MICA/B抗体,诸如本文所描述的抗MICA/B抗体的重链和/或轻链的核酸,所述核酸包含与编码本文所描述的抗MICA/B抗体的重链和/或轻链的任一核苷酸序列至少约75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一的核苷酸序列。

[0334] VII.抗体产生

[0335] 本文所描述的单克隆抗MICA/B抗体可使用多种已知技术来产生,诸如由Kohler及Milstein,Nature256:495(1975)所描述的标准体细胞杂交技术。尽管体细胞杂交程序在原则上优选,但亦可采用用于产生单克隆抗体的其他技术,例如,B淋巴细胞的病毒或致癌性转化、使用人类抗体基因文库的噬菌体呈现技术。

[0336] 用于制备杂交瘤的优选动物系统为鼠类系统。在小鼠中产生杂交瘤为极充分确立的程序。用于分离经免疫接种的脾细胞用于融合的免疫接种方案及技术为此项技术中已知。融合配偶体(例如鼠类骨髓瘤细胞)及融合程序亦为已知。

[0337] 本文所描述的嵌合或人源化抗MICA/B抗体可基于如上文所描述而制备的鼠类单克隆抗体的序列来加以制备。编码重链及轻链免疫球蛋白的DNA可使用标准分子生物学技术而自所关注的鼠类杂交瘤获得且经工程改造以含有非鼠类(例如人类)免疫球蛋白序列。举例而言,为了产生嵌合抗体,可使用此项技术中已知的方法将鼠类可变区连接于人类恒定区(参见例如Cabilly等人的美国专利第4,816,567号)。为了产生人源化抗体,可使用此项技术中已知的方法将鼠类CDR区插入至人类构架中(参见例如Winter的美国专利第5,225,539号;及Queen等人的美国专利第5,530,101号、第5,585,089号、第5,693,762号及第6,180,370号)。

[0338] 在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体为人类单克隆抗体。此类针对MICA/B的人类单克隆抗体可使用携带人类免疫系统的部分而非小鼠系统的转基因或转染色体小鼠来产生。这些转基因及转染色体小鼠包括在本文中分别称为HuMAb小鼠及KM小鼠的小鼠,且在本文中统称为“人类Ig小鼠”。

[0339] HUMAB-MOUSE® (Medarex,Inc.)含有编码未经重排的人类重链(μ及γ)及κ轻链免疫球蛋白序列的人类免疫球蛋白基因微型基因座;以及使内源性μ及κ链基因座失活的目标突变(参见例如Lonberg等人,(1994)Nature 368(6474):856-859)。因此,小鼠展现小鼠IgM或κ的表达减小,且响应于免疫接种,所引入的人类重链及轻链转基因进行类别转换及

体细胞突变以产生高亲和力人类IgGK单克隆(Lonberg,N.等人(1994),同前文献;综述于Lonberg,N.(1994)Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101中;Lonberg,N.及Huszar,D.(1995)Intern.Rev.Immunol.13:65-93,及Harding,F.及Lonberg,N.(1995)Ann.N.Y.Acad.Sci.764:536-546)。HuMab小鼠的制备及用途及由此类小鼠携带的基因组修饰进一步描述于Taylor,L.等人(1992)Nucleic Acids Research 20:6287-6295;Chen,J.等人,(1993)International Immunology 5:647-656;Tuaillon等人(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:3720-3724;Choi等人(1993)Nature Genetics 4:117-123;Chen,J.等人(1993)EMBO J.12:821-830;Tuaillon等人(1994)Immunol.152:2912-2920;Taylor,L.等人(1994)International Immunology 6:579-591;及Fishwild,D.等人(1996)Nature Biotechnology 14:845-851中。此外,参见全部颁予Lonberg及Kay的美国专利第5,545,806号、第5,569,825号、第5,625,126号、第5,633,425号、第5,789,650号、第5,877,397号、第5,661,016号、第5,814,318号、第5,874,299号及第5,770,429号;Surani等人的美国专利第5,545,807号;Lonberg及Kay的PCT公开案第WO 92/03918号、第WO 93/12227号、第WO 94/25585号、第WO 97/13852号、第WO 98/24884号及第WO 99/45962号;及Korman等人的PCT公开案第WO 01/14424号。

[0340] 在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体使用在转基因及转染色体上携带人类免疫球蛋白序列的小鼠,诸如携带人类重链转基因及人类轻链转染色体的小鼠来进行培育。此类小鼠(在本文中称为“KM小鼠”)详细描述于Ishida等人的PCT公开案WO 02/43478中。

[0341] 再此外,表达人类免疫球蛋白基因的替代性转基因动物系统可在此项技术中获得,且可用于培育本文所描述的抗MICA/B抗体。举例而言,可使用称为Xenomouse(Abgenix,Inc.)的替代性转基因系统;此类小鼠描述于例如Kucherlapati等人的美国专利第5,939,598号、第6,075,181号、第6,114,598号、第6,150,584号及第6,162,963号中。

[0342] 此外,表达人类免疫球蛋白基因的替代性转染色体动物系统可在此项技术中获得,且可用于培育本文所描述的抗MICA/B抗体。举例而言,可使用称为“TC小鼠”的携带人类重链转染色体及人类轻链转染色体两者的小鼠;此类小鼠描述于Tomizuka等人(2000)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 97:722-727中。此外,携带人类重链及轻链转染色体的牛已描述于此项技术中(Kuroiwa等人(2002)Nature Biotechnology 20:889-894),且可用于培育本文所描述的抗MICA/B抗体。

[0343] 此项技术中所描述的用于培育人类抗体,例如人类抗MICA/B抗体的额外小鼠系统包括(i)VELOCLMMUNE®小鼠(Regeneron Pharmaceuticals,Inc.),其中内源性小鼠重链及轻链可变区已经由同源重组经人类重链及轻链可变区置换,所述可变区可操作地连接于内源性小鼠恒定区,以使得嵌合抗体(人类V/小鼠C)在小鼠中进行培育,且随后使用标准重组DNA技术来转化成完全人类抗体;以及(ii)MEMO®小鼠(Merus Biopharmaceuticals,Inc.),其中小鼠含有未经重排的人类重链可变区,但含有单个经重排的人类常见轻链可变区。此类小鼠及其培育抗体的用途描述于例如WO 2009/15777、US2010/0069614、WO 2011/072204、WO 2011/097603、WO 2011/163311、WO 2011/163314、WO 2012/148873、US 2012/0070861及US 2012/0073004中。

[0344] 本文所描述的人类单克隆抗MICA/B抗体也可使用用于筛选人类免疫球蛋白基因

文库的噬菌体呈现方法来加以制备。此类用于分离人类抗体的噬菌体呈现方法在此项技术中确立。参见例如:Ladner等人的美国专利第5,223,409号、第5,403,484号及第5,571,698号;Dower等人的美国专利第5,427,908号及第5,580,717号;McCafferty等人的美国专利第5,969,108号及第6,172,197号;及Griffiths等人的美国专利第5,885,793号、第6,521,404号、第6,544,731号、第6,555,313号、第6,582,915号及第6,593,081号。

[0345] 本文所描述的人类单克隆抗MICA/B抗体也可使用人类免疫细胞已重建于其中以使得可在免疫接种时产生人类抗体反应的SCID小鼠来加以制备。此类小鼠描述于例如Wilson等人的美国专利第5,476,996号及第5,698,767号中。

[0346] VII.A.免疫

[0347] 为了产生针对MICA/B的完全人类抗体,可用人类MICA/B抗原(例如MICA*002、MICA*004、MICA*008、MICA*009、MICB*005或其任何组合)的纯化或富集制剂和/或表达MICA或其片段的细胞对含有人类免疫球蛋白基因的转基因或转染色体小鼠(例如HCo12、HCo7或KM小鼠)进行免疫接种,如例如由Lonberg等人,(1994)Nature 368(6474):856-859;Fishwild等人,(1996)Nature Biotechnology 14:845-851及WO 98/24884对其他抗原所描述。或者,可用编码人类MICA/B的DNA或其片段对小鼠进行免疫接种。在一些实施方案中,在第一次输注时,小鼠可为6-16周龄。举例而言,重组MICA/B抗原的纯化或富集制剂(5-50μg)可用于对HuMAb小鼠进行腹膜内免疫接种。在使用MICA/B抗原的纯化或富集制剂进行免疫接种不产生抗体的情况下,也可用表达的MICA/B细胞,例如细胞系对小鼠进行免疫接种以促进免疫反应。例示性细胞系包括过度表达MICA/B的稳定CHO及Raji细胞系。

[0348] 各种抗原的累积经历已展示,当最初用含抗原的Ribi佐剂进行腹膜内(IP)或皮下(SC)免疫接种,继而每隔一周用含抗原的Ribi佐剂进行IP/SC免疫接种(至多总共10次)时,HuMAb转基因小鼠反应最佳。免疫反应可在免疫接种方案的整个过程中受到监测,其中血浆样品藉由眶后采血来获得。血浆可藉由ELISA及FACS(如下文所描述)来筛选,且具有抗MICA/B人类免疫球蛋白的足够效价的小鼠可用于融合。小鼠可静脉内用抗原加强3天,之后处死且移除脾及淋巴结。预期对于各免疫接种,可需要执行2-3次融合。对于各抗原,通常对6至24只小鼠进行免疫接种。通常,使用HCo7、HCo12及KM品系。另外,HCo7及HCo12转基因两者可一起繁殖至具有两种不同人类重链转基因(HCo7/HCo12)的单一小鼠中。

[0349] VII.B.产生生产抗MICA/B的单克隆抗体的杂交瘤

[0350] 为产生制造本文所描述的人类单克隆抗MICA/B抗体的杂交瘤,可分离来自免疫接种小鼠的脾细胞和/或淋巴结细胞且将其与适当永生化细胞系,诸如小鼠骨髓瘤细胞系融合。可针对抗原特异性抗体的产生来筛选所得杂交瘤。举例而言,来自免疫接种小鼠的脾淋巴细胞的单细胞悬浮液可在PEG存在下与Sp2/0非分泌性小鼠骨髓瘤细胞(ATCC,CRL 1581)融合。可将细胞接种在平底微量滴定盘中,继而在选择培养基中进行培育。在若干周之后,细胞可在培养基中进行培养。随后可针对人类单克隆IgM及IgG抗体,藉由ELISA来筛选个别孔。一旦发生大量杂交瘤生长,则通常可在10-14天之后观测培养基。可再放置抗体分泌性杂交瘤,再次进行筛选,且若对人类IgG仍为阳性,则可藉由限制稀释法对单克隆抗体进行亚克隆至少两次。随后可活体外培养稳定亚克隆以在组织培养基中产生少量抗体,其用于表征。

[0351] 为了纯化人类单克隆抗体,所选杂交瘤可在两公升旋转瓶中生长以用于单克隆抗

体纯化。可过滤且浓缩上清液,之后用蛋白A-琼脂糖(Pharmacia,Piscataway,N.J.)进行亲和层析。经洗脱的IgG可藉由凝胶电泳及高效液相层析检查以确保纯度。可将缓冲溶液更换为PBS,且浓度可藉由OD280使用1.43消光系数测定。可将单克隆抗体等分及储存。

[0352] VII.C.产生生产抗MICA/B的单克隆抗体的转染瘤

[0353] 抗体可使用例如,如此项技术中熟知的重组DNA技术与基因转染方法的组合(Morrison,S.(1985)Science 229:1202)来在宿主细胞转染瘤中产生。

[0354] 举例而言,为了表达抗体或其抗体片段,编码部分或全长轻链及重链的DNA可藉由标准分子生物学技术(例如,使用表达所关注抗体的杂交瘤进行的PCR扩增或cDNA克隆)获得,且所述DNA可插入至表达载体中,以使得基因可操作地连接于转录及翻译控制序列。在此情形下,术语"可操作地连接"欲意谓抗体基因接合至载体,以使得该载体内的转录及翻译控制序列发挥其调控抗体基因的转录及翻译的预期功能。表达载体及表达控制序列经选择以与所用表现宿主细胞兼容。抗体轻链基因及抗体重链基因可插入至单独载体中,或两种基因插入至同一表达载体中。抗体基因藉由标准方法(例如对抗体基因片段及载体上的互补限制位点的接合,或在无限制位点存在的情况下的钝端连接)插入至表达载体中。本文所描述的抗MICA/B抗体的轻链及重链可变区可用于产生任何抗体同种型的全长抗体基因,其藉由将所述可变区插入至已编码所需同种型的重链恒定及轻链恒定区的表达载体中,以使得V_H区段可操作地连接于载体内的C_H区段且V_L区段可操作地连接于载体内的C_L区段来进行。

[0355] 额外地或备选地,重组表达载体可编码促进抗体链自宿主细胞分泌的信号肽。可将抗体链基因克隆至载体中,以使得信号肽同框连接于抗体链基因的氨基端。信号肽可为免疫球蛋白信号肽或异源信号肽(亦即,来自非免疫球蛋白蛋白质的信号肽)。

[0356] 在一些实施方案中,可使用来自人类抗体重链及轻链的以下信号肽:MDWTWRVFCLLAVAPGAHS(SEQ ID NO:100);METPAQLLFLLLLWLPDTTG(SEQ ID NO:101);MKHLWFFLLLVAAPRWVLS(SEQ ID NO:102);MEFGLSWVFLVAIIKGVQC(SEQ ID NO:103);MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC(SEQ ID NO:104)或MRAWIFFLLCLAGRALA(SEQ ID NO:105)。在一些实施方案中,用于表达本文所描述的任一抗MICA/B抗体的信号序列为SEQ ID NO:105。抗MICA/B抗体的重链及轻链可与各别信号序列一起表达,该信号序列在其中克隆得到所述重链及轻链的杂交瘤中连接于各链。下文为各种抗MICA/B抗体的信号序列,如在克隆得到所述抗体的杂交瘤中所存在,所述信号序列可用于表达相同抗体或另一抗体:

[0357] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体(例如MICA.36)的重链及轻链可经工程改造以具有与存在于克隆得到所述重链及轻链的杂交瘤中的那些序列不同的信号序列。此类序列的实例包括(但不限于)以下:

[0358] (i)用于重链的信号序列的核酸序列:

[0359] ATGAGGGCTTGGATCTTCTTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGAGAGCGCTCGCA (SEQ ID NO: 106)

[0360] (ii)用于轻链的信号序列的核酸序列:

[0361] ATGAGGGCTTGGATCTTCTTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGCGCGCCTTGGCC (SEQ ID NO: 107)

[0362] (iii)用于重链及轻链的信号序列的氨基酸序列:MRAWIFFLLCLAGRALA(SEQ ID NO:105)。

[0363] 除抗体链基因之外,重组表达载体亦可携带控制抗体链基因在宿主细胞中的表达

的调控序列。术语“调控序列”意欲包括启动子、增强子及控制抗体链基因的转录或翻译的其他表达控制组件(例如聚腺苷酸化信号)。此类调控序列描述于例如Goeddel(Gene Expression Technology.Methods in Enzymology 185,Academic Press,San Diego,CA(1990))中。熟习此项技术者应了解,表达载体的设计(包括调控序列的选择)可视诸如以下的因素而定:待转化的宿主细胞的选择、所需蛋白质的表达量等。用于哺乳动物宿主细胞表达的优选调控序列包括在哺乳动物细胞中引导高蛋白质表达量的病毒组件,诸如来源于巨细胞病毒(CMV)、猴病毒40(SV40)、腺病毒(例如腺病毒主要晚期启动子(AdMLP))及多瘤病毒的启动子和/或增强子。或者,可使用非病毒调控序列,诸如泛素启动子或β-血球蛋白启动子。再此外,调控组件由来自不同来源的序列构成,诸如SRa启动子系统,其含有来自SV40早期启动子的序列及人类T细胞白血病病毒1型的长末端重复序列(Takebe,Y.等人(1988)Mol.Cell.Biol.8:466-472)。

[0364] 除抗体链基因及调控序列之外,重组表达载体可携带额外序列,诸如调控载体在宿主细胞中的复制的序列(例如复制起点)及可选标记基因。可选标记基因促进对已引入有载体的宿主细胞的选择(参见例如,全部颁予Axel等人的美国专利第4,399,216号、第4,634,665号及第5,179,017号)。举例而言,在已引入有载体的宿主细胞上,可选标记基因通常赋予对诸如G418、潮霉素或氨甲蝶呤的药物的耐药性。优选可选标记基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR)基因(用于用氨甲蝶呤进行的dhfr-宿主细胞选择/扩增)及neo基因(用于G418选择)。

[0365] 对于轻链及重链的表达,将编码重链及轻链的表达载体藉由标准技术转染至宿主细胞中。术语“转染”的各种形式意欲涵盖常用于将外源性DNA引入至原核或真核宿主细胞中的多种技术,例如电穿孔、磷酸钙沉淀、DEAE-葡聚糖转染及其类似技术。

[0366] 有可能在原核或真核宿主细胞,诸如哺乳动物细胞中表达本文所描述的抗MICA/B抗体。

[0367] 用于表达本文所描述的重组抗MICA/B抗体的某些哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢细胞(CHO细胞)(包括Urlaub及Chasin,(1980)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216-4220中所描述的dhfr-CHO细胞,与DHFR可选标记物一起使用,例如如R.J.Kaufman and P.A.Sharp(1982)Mol.Biol.759:601-621中所描述)、NSO骨髓瘤细胞、COS细胞及SP2细胞。具体地,对于与NSO骨髓瘤细胞一起使用,另一表达系统为WO 87/04462、WO 89/01036及EP 338,841中所公开的GS基因表达系统。当将编码抗体基因的重组表达载体引入至哺乳动物宿主细胞中时,抗体藉由将所述宿主细胞培养足以允许在所述宿主细胞中表达该抗体或更佳地,将该抗体分泌至生长所述宿主细胞的培养基中的时间段来产生。抗体可使用标准蛋白质纯化方法而自培养基回收。

[0368] VIII.免疫缀合物、抗体衍生物及诊断

[0369] 本文所描述的抗MICA/B抗体可用于诊断目的,包括样品测试及活体内成像,且出于此目的,该抗体(或其结合片段)可与适当可检测药剂缀合以形成免疫缀合物。出于诊断目的,对于全身成像,适当药剂为包括放射性同位素的可检测标记,而对于样品测试,适当药剂为放射性同位素、酶、荧光标记及其他适合的抗体标签。

[0370] 可连接于本文所描述的任何抗MICA/B抗体的可检测标记可为目前用于活体外诊断领域中的各种类型中的任一者,包括微粒标记,包括金属溶胶,诸如胶态金;同位素,诸如

I^{125}或Tc^{99},其例如与N_2S_2、N_3S或N_4型的肽螯合剂一起呈现;发色团,包括荧光标记物、发光标记物、磷光标记物及其类似物;以及将既定底物转化成可检测标记物的酶标记,及在扩增(诸如藉由聚合酶链反应)后显露的多核苷酸标签。适合的酶标记包括辣根过氧化酶、碱性磷酸酶及其类似物。举例而言,标记可为碱性磷酸酶,其藉由在使1,2二氧杂环丁烷底物(诸如金刚烷基甲氧基磷酰基氧基苯基二氧杂环丁烷(AMPPD)、3-(4-(甲氧基螺{1,2-二氧杂环丁烷-3,2'-(5'-氯)三环{3.3.1.1 3,7}癸}-4-基)苯基磷酸二钠(CSPD))以及CDP及CDP-STAR®或熟习此项技术者熟知的其他发光底物(例如适合的镧系元素,诸如铽(III)及铕(III)的螯合物)转化后测量化学发光的存在或形成来加以检测。检测手段由所选标记决定。标记或其反应产物的出现可在其中标记为微粒且在适当含量下积聚的情况下使用裸眼得到,或使用诸如分光光度计、发光计、荧光计及其类似物的仪器得到,其均根据标准实践来进行。

[0371] 在一些实施方案中,缀合方法产生基本上(或接近)非免疫原性的键,例如,肽键(亦即酰胺键)、硫键(空间受阻)、二硫键、腙键及醚键。这些键接近非免疫原性,且在血清内展示合理稳定性(参见例如Senter,P.D.,Curr.Opin.Chem.Biol.13(2009)235-244;WO 2009/059278;WO 95/17886)。

[0372] 视部分及抗体的生物化学性质而定,可采用不同缀合策略。在部分为具有50至500个氨基酸的天然产生或重组的部分的情况下,在教科书中存在描述用于合成蛋白质缀合物的化学的标准程序,其可由熟练技术人员容易地遵循(参见例如Hackenberger,C.P.R.及Schwarzer,D.,Angew.Chem.Int.Ed.Engl.47(2008)10030-10074)。在一些实施方案中,使用顺丁烯二酰亚胺基部分与抗体或部分内的半胱氨酸残基反应。在使用例如抗体的Fab或Fab'片段的情况下,此为尤其适合的偶联化学。或者,在一些实施方案中,执行与抗体或部分的C端的偶联。对蛋白质(例如Fab片段)的C端修饰可如所描述执行(Sunbul,M.及Yin,J.,Org.Biomol.Chem.7(2009)3361-3371)。

[0373] 一般而言,位点特异性反应及共价偶联是基于将天然氨基酸转变成具有与所存在其他官能基的反应性正交的反应性的氨基酸。举例而言,罕见序列情形内的特定半胱氨酸可酶促转化成醛(参见Frese,M.A.及Dierks,T.,ChemBioChem.10(2009)425-427)。亦有可能藉由利用某些酶在既定序列情形下与天然氨基酸的特异性酶反应性来获得所需氨基酸修饰(参见例如Taki,M.等人,Prot.Eng.Des.Sel.17(2004)119-126;Gautier,A.等人Chem.Biol.15(2008)128-136;且C-N键的蛋白酶催化形成由Bordusa,F.,Highlights in Bioorganic Chemistry(2004)389-403使用)。位点特异性反应及共价偶联亦可藉由末端氨基酸与适当修饰试剂的选择性反应来达成。

[0374] N端半胱氨酸与苯甲腈的反应性(参见Ren,H.等人,Angew.Chem.Int.Ed.Engl.48(2009)9658-9662)可用于达成位点特异性共价偶联。

[0375] 天然的化学连接亦可依赖于C端半胱氨酸残基(Taylor,E.Vogel;Imperiali,B,Nucleic Acids and Molecular Biology(2009),22(Protein Engineering),65-96)。

[0376] US6437095B1描述一种缀合方法,其是基于带负电氨基酸链段内的半胱氨酸与位于带正电氨基酸链段中的半胱氨酸的反应更快。

[0377] 部分亦可为合成肽或肽模拟物。在多肽由化学合成的情况下,具有正交化学反应性的氨基酸可在此类合成期间并入(参见例如de Graaf,A.J.等人,Bioconjug.Chem.20

(2009)1281-1295)。因为多种正交官能基至关重要且可引入至合成肽中,故此类肽与接头的缀合为标准化学。

[0378] 为了获得单标记的多肽,化学计量为1:1的缀合物可藉由层析而与其他缀合副产物分离。此程序可藉由使用经染料标记的结合对成员及带电接头来促进。藉由使用此类经标记且高度带负电的结合对成员,单缀合的多肽容易地与未标记的多肽及携带超过一个接头的多肽分离,这是因为电荷及分子量的差异可用于分离。荧光染料可适用于将复合物与未结合的组分(如经标记的单价结合剂)纯化分开。

[0379] 在一些实施方案中,附接至抗MICA/B抗体的部分选自以下:结合部分、标记部分及生物活性部分。

[0380] 本文所描述的抗MICA/B抗体也可与治疗剂缀合以形成免疫缀合物,诸如抗体-药物缀合物(ADC)。适合的治疗剂包括抗代谢物、烷基化剂、DNA小沟结合剂、DNA嵌入剂、DNA交联剂、组蛋白脱乙酰基酶抑制剂、核输出抑制剂、蛋白酶体抑制剂、拓朴异构酶I或II抑制剂、热休克蛋白抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂、抗生素及抗有丝分裂剂。在ADC中,抗体及治疗剂优选地经由可裂解的接头,诸如肽基、二硫化物或腙接头结合。在一些实施方案中,接头为肽基接头,诸如Val-Cit、Ala-Val、Val-Ala-Val、Lys-Lys、Pro-Val-Gly-Val-Val(SEQ ID NO:108)、Ala-Asn-Val、Val-Leu-Lys、Ala-Ala-Asn、Cit-Cit、Val-Lys、Lys、Cit、Ser或Glu。ADC可如美国专利第7,087,600号、第6,989,452号及第7,129,261号;PCT公开案WO 02/096910、WO 07/038658、WO 07/051081、WO 07/059404、WO 08/083312及WO 08/103693;美国专利公开案20060024317、20060004081及20060247295中所描述来加以制备。

[0381] 在一些实施方案中,治疗剂选自以下:细胞毒素、非细胞毒性药物、放射活性剂、第二抗体、酶、抗赘生剂及其任何组合。

[0382] 在一些实施方案中,免疫缀合物包含抗MICA/B抗体及细胞毒素。细胞毒素可选自此项技术中已知的任何细胞毒素。在一些实施方案中,细胞毒素选自以下:海兔毒素、单甲基奥瑞他汀E(MMAE)、美登素、倍癌霉素、卡奇霉素、吡咯并苯二氮卓(pyrrolobenzodiazepine)、倍癌霉素、森坦霉素、SN38、多柔比星、其衍生物、其合成类似物及其任何组合。在某些实施方案中,免疫缀合物包含抗MICA/B抗体及细胞毒素A。在其他实施方案中,免疫缀合物包含抗MICA/B抗体及非细胞毒性药物。

[0383] 在一些实施方案中,免疫缀合物包含抗MICA/B抗体及放射活性剂。在一些实施方案中,放射活性剂为放射性核苷酸。在某些实施方案中,放射活性剂包含放射性碘。在特定实施方案中放射活性剂包含131-碘。在其他实施方案中,放射活性剂包含放射性同位素钇-90。

[0384] 在一些实施方案中,免疫缀合物包含抗MICA/B抗体及第二抗体。第二抗体可为本发明中所描述的任何抗体,包括(但不限于)特异性结合选自以下的蛋白质的抗体:PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG3、TIGIT、TIM3、NKG2a、OX40、ICOS、CD137、KIR、TGFβ、IL-10、IL-2、IL-8、B7-H4、Fas配体、CXCR4、间皮素、VISTA、CD96、CD27、GITR及其任何组合。在一个实施方案中,免疫缀合物包含抗MICA/B抗体及抗PD-1抗体。在另一个实施方案中,免疫缀合物包含抗MICA/B抗体及纳武单抗。

[0385] 在一个实施方案中,免疫缀合物包含抗MICA/B抗体及聚乙二醇化IL-2或聚乙二醇化IL-10。

[0386] 在某些实施方案中,免疫缀合物包含抗MICA/B抗体及酶。在一些实施方案中,酶包含葡萄糖氧化酶。在一些实施方案中,酶包含过氧化酶。在一些实施方案中,酶包含髓过氧化酶。在一些实施方案中,酶包含葡萄糖氧化酶。在一些实施方案中,酶包含辣根过氧化酶。

[0387] 在某些实施方案中,免疫缀合物包含抗MICA/B抗体及抗赘生剂。抗赘生剂可为此项技术中已知的任何此类药剂。在一些实施方案中,抗赘生剂为表柔比星(epirubicin)。在一些实施方案中,抗赘生剂为超抗原。在某些实施方案中,超抗原为葡萄球菌肠毒素A(SEA/E-120;estafenatox)。

[0388] 抗MICA/B抗体(例如本文所描述的那些抗体)也可用于检测MICA/B,诸如人类MICA/B,例如细胞表面上的人类MICA/B或血清中的可溶性MICA/B。抗体可用于例如分析或流式细胞测量术中。在一些实施方案中,使抗MICA/B抗体与细胞或血清接触持续适合于特异性结合发生的时间,且随后添加检测抗MICA/B抗体的试剂,例如抗体。例示性分析提供于实例中。用于检测MICA/B(例如,表面表达的MICA/B或样品(血清)中的可溶性MICA/B(sMICA/B))的例示性方法包括(i)使样品与抗MICA/B抗体接触持续足以允许抗MICA/B抗体特异性结合于样品中的MICA/B的时间,及(2)使样品与特异性结合于抗MICA/B抗体(诸如抗MICA/B抗体的Fc区)的检测试剂(例如抗体)接触,藉此检测与抗MICA/B抗体结合的MICA/B。洗涤步骤可包括在与抗体和/或检测试剂一起培育之后。由于可使用单独检测剂,故用于这些方法中的抗MICA/B抗体不必连接于标记或检测剂。

[0389] 抗MICA/B抗体的其他用途,例如作为单药疗法或组合疗法的用途提供于本文中其他地方,例如在关于组合治疗的部分中。

[0390] IX.双特异性分子

[0391] 本文所描述的抗MICA/B抗体可用于形成双特异性分子。抗MICA/B抗体或其抗原结合部分可衍生得到或连接于另一功能性分子,例如另一肽或蛋白质(例如,用于受体的另一抗体或配体),以产生结合于至少两个不同结合位点或靶分子的双特异性分子。举例而言,抗MICA/B抗体可连接于抗体或scFv,该抗体或scFv特异性结合于可用作组合治疗的潜在标靶的任何蛋白质,诸如本文所描述的蛋白质(例如,针对PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG3、TIGIT、TIM3、NKG2a、OX40、ICOS、CD137、KIR、TGFβ、IL-10、IL-2、IL-8、B7-H4、Fas配体、CXCR4、间皮素、CD27、CD96、VISTA或GITR或聚乙二醇化IL-2或聚乙二醇化IL-10的抗体)。本文所描述的抗体实际上可衍生得到或连接于超过一个其他功能性分子以产生结合于超过两个不同结合位点和/或靶分子的多特异性分子;此类多特异性分子亦意欲由如本文所用的术语“双特异性分子”涵盖。为了产生本文所描述的双特异性分子,本文所描述的抗体可在功能上连接(例如,藉由化学偶联、基因融合、非共价缔合或以其他方式连接)于一个或多个其他结合分子(诸如另一抗体、抗体片段、肽或结合模拟剂),以得到双特异性分子。

[0392] 因此,本文提供包含对MICA/B的至少一种第一结合特异物及对第二靶表位的第二结合特异物的双特异性分子。在本文所描述的其中双特异性分子具有多特异性的一些实施方案中,该分子可进一步包括第三结合特异物。

[0393] 在一些实施方案中,本文所描述的双特异性分子包含至少一种抗体或其抗体片段作为结合特异物,包括例如Fab、Fab'、F(ab')2、Fv或单链Fv(scFv)。如Ladner等人美国专利第4,946,778号中所描述,抗体亦可为轻链或重链二聚体或其任何最小片段,诸如Fv或单链构筑体。

[0394] 虽然人类单克隆抗体为优选的,但在本文所描述的双特异性分子中可采用的其他抗体为鼠类、嵌合及人源化单克隆抗体。

[0395] 本文所描述的双特异性分子可藉由使用此项技术中已知的方法使组成性结合特异物缀合来加以制备。举例而言,双特异性分子的各结合特异物可分别单独产生,且随后彼此缀合。当结合特异物为蛋白质或肽时,多种偶联剂或交联剂可用于共价缀合。交联剂的实例包括蛋白A、碳化二亚胺、S-乙酰基-硫代乙酸N-丁二酰亚胺酯(SATA)、5,5'-二硫基双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、邻伸苯基二顺丁烯二酰亚胺(oPDM)、3-(2-吡啶基二硫基)丙酸N-丁二酰亚胺酯(SPDP)及4-(N-顺丁烯二酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸磺基丁二酰亚胺酯(磺基-SMCC)(参见例如Karpovsky等人(1984)J.Exp.Med.160:1686;Liu,MA等人(1985)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 82:8648)。其他方法包括Paulus(1985)Behring Ins.Mitt.No.78,118-132;Brennan等人(1985)Science 229:81-83)及Glennie等人(1987)J.Immunol.139:2367-2375)中所描述的那些方法。一些缀合剂为SATA及磺基-SMCC,两者均可购自Pierce Chemical Co.(Rockford,IL)。

[0396] 当结合特异物为抗体时,其可经由两条重链的C端铰链区的硫氢基键结来缀合。在一些实施方案中,在结合之前,铰链区经修饰以含有奇数个,优选一个硫氢基残基。

[0397] 或者,两种结合特异物可在同一载体中编码,且在同一宿主细胞中表达及组装。此方法尤其适用于双特异性分子为mAb×mAb、mAb×Fab、mAb×$(scFv)_2$、Fab×$F(ab')_2$或配体×Fab融合蛋白质的情况。双特异性抗体可包含在各重链的C端处包含scFv的抗体。本文所描述的双特异性分子可为包含一个单链抗体及一个结合决定子的单链分子,或包含两个结合决定子的单链双特异性分子。双特异性分子可包含至少两个单链分子。用于制备双特异性分子的方法描述于例如美国专利第5,260,203号、美国专利第5,455,030号、美国专利第4,881,175号、美国专利第5,132,405号、美国专利第5,091,513号、美国专利第5,476,786号、美国专利第5,013,653号、美国专利第5,258,498号及美国专利第5,482,858号中。

[0398] 双特异性分子与其特异性标靶的结合可使用此项技术中公认的方法,诸如酶联免疫吸附分析(ELISA)、放射免疫分析(RIA)、FACS分析、生物分析(例如生长抑制)或蛋白质印迹法分析来确认。这些分析中的每一者一般藉由采用对尤其受关注的蛋白质-抗体复合物具有特异性的标记试剂(例如抗体)来检测该受关注的复合物的存在。

[0399] X.组合物

[0400] 进一步提供组合物,例如药物组合物,其含有本文所描述的一种抗MICA/B抗体或其组合,或其与针对其他标靶的抗体的组合,或其抗原结合部分,与药学上可接受的载剂一起进行制剂。此类组合物可包括本文所描述的一种抗体或免疫缀合物或双特异性分子,或(例如两种或超过两种不同的)本文所描述的抗体或免疫缀合物或双特异性分子的组合。举例而言,本文所描述的药物组合物可包含结合于靶抗原上不同表位或具有互补活性的抗体(或免疫缀合物或双特异性抗体)的组合。

[0401] 在一些实施方案中,组合物包含浓度为至少1mg/ml、5mg/ml、10mg/ml、50mg/ml、100mg/ml、150mg/ml、200mg/ml、1-300mg/ml或100-300mg/ml的抗MICA/B抗体。

[0402] 本文所描述的药物组合物亦可在组合疗法中进行施与,也即与其他药剂组合。举例而言,组合疗法可包括本文所描述的抗MICA/B抗体与至少一种其他抗癌剂和/或免疫调节剂,例如T细胞刺激剂(例如活化剂)组合。可用于组合疗法中的治疗剂的实例更详细地描

述于下文关于本文所描述的抗体的用途的部分中。

[0403] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与至少一种其他药剂组合,该药剂选自化学疗法药物、小分子药物及刺激对既定癌症的免疫反应的抗体。在一些情况下,抗MICA/B抗体可与例如以下中的一或多者组合:抗CTLA-4抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗OX40(亦称为CD134、TNFRSF4、ACT35和/或TXGP1L)抗体(例如BMS986178或MDX-1803)、抗CD137抗体、抗LAG-3抗体、抗GITR抗体、抗KIR抗体、抗TGFβ抗体、抗IL-10抗体、长效IL-10分子(例如IL-10-Fc融合物或聚乙二醇化IL-10,诸如ARMO BioSciences的AM0010)、长效IL-2(例如聚乙二醇化IL-2分子,诸如Nektar的NKTR-214;参见US8,252,275、WO12/065086及WO15/125159)、抗VISTA抗体、抗CD96抗体、抗IL-8抗体、抗B7-H4、抗Fas配体抗体、抗CXCR4抗体、抗间皮素抗体、抗CD27抗体或其任何组合。

[0404] 在其他实施方案中,抗MICA/B抗体可与第二抗体一起进行制剂。在一些实施方案中,第二抗体特异性结合选自以下的蛋白质:PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG3、TIGIT、TIM3、NKG2a、OX40、ICOS、CD137、KIR、TGFβ、IL-10、IL-2、VISTA、CD96、IL-8、B7-H4、Fas配体、CXCR4、间皮素、CD27、GITR及其任何组合。

[0405] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗PD-1抗体。抗PD-1抗体可为结合PD-1且抑制PD-1及PD-L1的相互作用的任何抗体。在一些实施方案中,抗PD-1抗体为本文所公开的任何抗PD-1抗体。在一些实施方案中,第二抗体可为纳武单抗。在一些实施方案中,第二抗体可为帕博利珠单抗(pembrolizumab)。

[0406] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗PD-L1抗体。抗PD-L1抗体可为结合PD-L1且抑制PD-1及PD-L1的相互作用的任何抗体。在一些实施方案中,抗PD-L1抗体为本文所公开的任何抗PD-L1抗体。在一些实施方案中,第二抗体可为阿特珠单抗(atezolizumab)。在一些实施方案中,第二抗体可为德瓦鲁单抗(durvalumab)。在一些实施方案中,第二抗体可为艾维路单抗(avelumab)。

[0407] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗CTLA-4抗体。抗CTLA-4抗体可为结合CTLA-4且抑制其活性的任何抗体。在一些实施方案中,抗CTLA-4抗体为本文所公开的任何抗CTLA-4抗体。在一些实施方案中,第二抗体可为曲美单抗(tremelimumab)。在一些实施方案中,第二抗体可为伊匹单抗。

[0408] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗LAG3抗体。抗LAG3抗体可为结合LAG-3且抑制其活性的任何抗体。在一些实施方案中,抗LAG3抗体为本文所公开的任何抗LAG3抗体。在一些实施方案中,第二抗体可为25F7。

[0409] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗CD137抗体。抗CD137抗体可为结合CD137且抑制其活性的任何抗体。在一些实施方案中,抗CD137抗体本文所公开的任何抗CD137抗体。在一些实施方案中,第二抗体可为乌瑞鲁单抗(urelumab)。

[0410] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗KIR抗体。抗KIR抗体可为结合KIR且抑制其活性的任何抗体。在一些实施方案中,抗KIR抗体为本文所公开的任何抗KIR抗体。在一些实施方案中,第二抗体可为利瑞路单抗(lirilumab)。

[0411] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗GITR抗体。抗GITR抗体可为结合GITR且抑制其活性的任何抗体。在一些实施方案中,抗GITR抗体为本文所公开的任何抗GITR抗体。在一些实施方案中,第二抗体可为MK4166。在一些实施方案中,第二抗体可为TRX518。

[0412] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗CD96抗体。

[0413] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗TIM3抗体。

[0414] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗VISTA抗体。

[0415] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗NKG2a抗体。

[0416] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗ICOS抗体。

[0417] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗OX40抗体。

[0418] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗IL8抗体,诸如HuMax®-IL8(BMS-986253)。

[0419] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与长效IL-10分子一起进行制剂。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与IL-10-Fc融合分子一起进行制剂。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与聚乙二醇化IL-10,诸如ARMO BioSciences的AM0010一起进行制剂。

[0420] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与长效IL-2一起进行制剂。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与聚乙二醇化IL-2分子,诸如Nektar的NKTR-214一起进行制剂;参见US 8,252,275、WO12/065086及WO15/125159。

[0421] 在一些实施方案中,本发明的组合物进一步包含填充剂。填充剂可选自以下:NaCl、甘露糖醇、甘氨酸、丙氨酸及其任何组合。在其他实施方案中,本发明的组合物包含稳定剂。稳定剂可选自以下:蔗糖、岩藻糖(trehalose)、棉子糖、精氨酸或其任何组合。在其他实施方案中,本发明的组合物包含表面活性剂。表面活性剂可选自以下:聚山梨醇酯80(PS80)、聚山梨醇酯20(PS20)及其任何组合。在某些实施方案中,组合物进一步包含螯合剂。螯合剂可选自以下:二亚乙基乙三胺五乙酸(DTPA)、乙二胺四乙酸、次氮基三乙酸及其任何组合

[0422] 在其他实施方案中,组合物包含第三抗体。在一些实施方案中,第三抗体为本文所公开的任何抗体。

[0423] 在一个实施方案中,组合物包含NaCl、甘露糖醇、喷替酸(pentetic acid,DTPA)、蔗糖、PS80及其任何组合。

[0424] 如本文所用,“药学上可接受的载剂”包括生理学上兼容的任何及所有溶剂、分散介质、包衣、抗细菌剂及抗真菌剂、等张剂及吸收延迟剂及类似物。在一些实施方案中,载剂适用于静脉内、肌内、皮下、肠胃外、经脊椎或经表皮施与(例如藉由注射或输注)。用于皮下注射的选项是基于Halozyme Therapeutics所述ENHANZE®药物递送技术,其涉及由于细胞外基质而可皮下递送的Ab与重组人类透明质酸酶(rHuPH20)的共制剂,该酶移除对生物制剂及药物的体积的传统限制(美国专利第7,767,429号)。视施用途径而定,活性化合物(亦即抗体、免疫缀合物或双特异性分子)可在材料中进行包覆以保护化合物免受酸及可能使化合物失活的其他天然条件的作用影响。

[0425] 本文所描述的医药化合物可包括一种或多种药学上可接受的盐。“药学上可接受的盐”是指保留母体化合物的所需生物活性且并不赋予任何非所需毒理学作用的盐(参见例如Berge,S.M.等人(1977)J.Pharm.Sci.66:1-19)。此类盐的实例包括酸加成盐及碱加成盐。酸加成盐包括衍生自无毒无机酸的那些盐,所述无机酸诸如盐酸、硝酸、磷酸、硫酸、氢溴酸、氢碘酸、亚磷酸及其类似物;以及衍生自无毒有机酸的那些盐,所述有机酸诸如脂族单羧酸及脂族二羧酸、经苯基取代的烷酸、羟基烷酸、芳族酸、脂族及芳族磺酸及其类似物。碱加成盐包括衍生自碱土金属的那些盐,所述碱土金属诸如钠、钾、镁、钙及其类似物;以及

衍生自无毒有机胺的那些盐,所述有机胺诸如N,N'-二苯甲基乙二胺、N-甲基葡糖胺、氯普鲁卡因(chloroprocaine)、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、普鲁卡因(procaine)及其类似物。

[0426] 本文所描述的药物组合物亦可包括药学上可接受的抗氧化剂。药学上可接受的抗氧化剂的实例包括:(1)水溶性抗氧化剂,诸如抗坏血酸、半胱氨酸盐酸盐、硫酸氢钠、偏亚硫酸氢钠、亚硫酸钠及其类似物;(2)油溶性抗氧化剂,诸如抗坏血酸棕榈酸酯、丁基化羟基大茴香醚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、α-生育酚及其类似物;及(3)金属螯合剂,诸如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸及其类似物。

[0427] 可在本文所描述的药物组合物中采用的适合的水性及非水性载剂的实例包括水、乙醇、多元醇(诸如甘油、丙二醇、聚乙二醇及其类似物)及其适合的混合物、植物油(诸如橄榄油)及可注射的有机酯(诸如油酸乙酯)。适当流动性可例如藉由使用诸如卵磷脂的包衣材料、在分散液的情况下藉由维持所需粒度及藉由使用表面活性剂来维持。

[0428] 这些组合物亦可含有佐剂,诸如防腐剂、湿润剂、乳化剂及分散剂。预防微生物的存在可藉由灭菌程序(同前文献)及藉由包括各种抗细菌及抗真菌剂(例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚山梨酸及其类似物)来确保。亦可需要在组合物中包括等张剂,诸如糖、氯化钠及其类似物。另外,可注射医药形式的吸收延长可藉由包括延迟吸收的药剂(诸如单硬脂酸铝及明胶)来实现。

[0429] 药学上可接受的载剂包括无菌水溶液或分散液及用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。此类介质及药剂用于药学上活性的物质的用途为此项技术中已知。除非任何习知介质或药剂与活性化合物不兼容,否则考虑将其用于本文所描述的药物组合物中。药物组合物可包含防腐剂或可不含防腐剂。补充活性化合物可并入至组合物中。

[0430] 治疗性组合物通常必须在制造及储存条件下无菌且稳定。组合物可制剂为溶液、微乳液、脂质体或适合于高药物浓度的其他有序结构。载剂可为含有例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇及液体聚乙二醇及其类似物)及其适合的混合物的溶剂或分散介质。恰当流动性可例如藉由使用诸如卵磷脂的包衣、在分散液的情况下藉由维持所需粒度及藉由使用表面活性剂来维持。在许多情况下,组合物可在组合物中包括等张剂,例如糖、多元醇(诸如甘露糖醇、山梨糖醇)或氯化钠。可注射组合物的吸收延长可藉由在组合物中包括延迟吸收剂(例如单硬脂酸盐及明胶)来实现。

[0431] 无菌可注射溶液可藉由视需要将所需量的活性化合物与上文所列举的一种成分或成分组合一起并入适当的溶剂中,继而进行灭菌微过滤来加以制备。一般而言,分散液藉由将活性化合物并入含有碱性分散介质及来自上文所列举那些成分中的所需其他成分的无菌媒剂中来加以制备。在无菌粉末用于制备无菌可注射溶液的情况下,一些制备方法为真空干燥及冷冻干燥(冻干),其自其预先无菌过滤的溶液得到活性成分加任何额外所需成分的粉末。

[0432] 可与载剂材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将视所治疗的个体及特定施用模式而变化。可与载剂材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将一般为产生治疗作用的组合物的量。一般而言,按100%计,此量将在约0.01%至约99%的活性成分、约0.1%至约70%或约1%至约30%的活性成分的范围内,与药学上可接受的载剂组合。

[0433] 调整给药方案以提供最佳所需反应(例如治疗反应)。举例而言,可施与单个药团(bolus),可随时间施与若干分次剂量,或可如治疗情况的紧急性所指示按比例减少或增加

剂量。就施与的简便性及剂量的均匀性而言,尤其有利是将肠胃外组合物制剂成单位剂型。如本文所用的单位剂型是指适合作为单个剂量用于待治疗的个体的物理上离散的单位;各单位含有与所需医药载剂结合,经计算以产生所需治疗作用的预定量的活性化合物。本文所描述的单位剂型的规格是由以下指定且直接取决于:(a)活性化合物的独特特征及欲达成的特定治疗作用,及(b)在对用于治疗个体过敏性的此类活性化合物进行混配的技术中所固有的限制。

[0434] 对于施与例如本文所描述的抗MICA/B抗体,剂量在约0.0001至100mg/kg范围内。抗MICA/B抗体可以平剂量(flat dose)进行施与(平剂量方案)。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可以固定剂量与另一抗体一起进行施与。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体以按体重计的剂量进行施与。

[0435] 在一些方法中,具有不同结合特异性的两种或超过两种单克隆抗体同时进行施与,在此情况下,所施与的各抗体的剂量在所指示的范围内。抗体通常多次进行施与。单次给药之间的时间间隔可为例如每周、每月、每三个月或每年。间隔亦可为不规律的,如藉由测量患者中针对靶抗原的抗体的血液含量所指示。在一些方法中,调整剂量以达成约1-1000μg/ml的血浆抗体浓度,且在一些方法中达成约25-300μg/ml。

[0436] 抗MICA/B抗体可在另一抗体的给药方案中与该另一抗体一起进行施与。举例而言,抗MICA/B抗体可与抗PD-1抗体,诸如纳武单抗(OPDIVO®)一起每两周以经60分钟静脉内输注的形式进行施与,直至疾病恶化或发生不可接受的毒性为止。抗MICA/B抗体可与帕博利珠单抗(KEYTRUDA®)一起每3周以经30分钟静脉内输注的形式进行施与,直至疾病恶化或发生不可接受的毒性为止。抗MICA/B抗体可与阿特珠单抗(TECENTRIQ™)一起每3周以经60或30分钟静脉内输注的形式进行施与,直至疾病恶化或发生不可接受的毒性为止。

[0437] 抗体可以持续释放制剂的形式进行施与,在此情况下,所需要的施用频率较小。剂量及频率视抗体在患者中的半衰期而变化。一般而言,人类抗体展示最长半衰期,随后是人源化抗体、嵌合抗体及非人类抗体。施用的剂量及频率可视治疗是预防性还是治疗性而变化。在预防性应用中,在长时间段内,以相对不频繁的时间间隔施与相对低的剂量。一些患者在其余生中持续接受治疗。在治疗性应用中,有时需要以相对短时间间隔施与相对高剂量,直至疾病的恶化减小或终止,且直至患者展示疾病的症状的部分或完全改善。其后,可向患者施与预防性方案。

[0438] 本文所描述的药物组合物中的活性成分的实际剂量水平可变化,以便获得有效达成特定患者、组合物及施用模式的所需治疗反应而对患者无毒性的活性成分的量。所选剂量水平将视多种药物动力学因素而定,包括所采用的本文所描述的特定组合物或其酯、盐或酰胺的活性,施用途径、施用时间、所采用的特定化合物的排泄速率、治疗持续时间,与所采用的特定组合物组合使用的其他药物、化合物和/或材料,所治疗的患者的年龄、性别、体重、疾病、一般健康状况及先前病史,以及医学技术中熟知的类似因素。

[0439] “治疗有效剂量”的本文所描述的抗MICA/B抗体可引起疾病症状的严重程度降低、无疾病症状期的频率或持续时间增加、或对因患病所致的损伤或失能的预防。在癌症的情形下,治疗有效剂量可引起存活期(例如总存活期)延长,和/或对与癌症相关的身体症状进一步恶化的预防。癌症的症状为此项技术中熟知的,且包括例如异常痣特征;痣外观改变,包括不对称性、边界、颜色和/或直径;新的有色皮肤区域;异常痣;指甲下区域变暗;乳房结

块;乳头改变;乳房囊肿;乳房疼痛;死亡;体重减轻;无力;过度疲乏;难以进食;食欲不振;慢性咳嗽;呼吸困难加重;咳血、尿血、便血、恶心、呕吐、肝癌转移、肺癌转移、骨骼癌转移、腹痛下堕、腹胀、腹膜腔液、阴道出血、便秘、腹部膨胀、结肠穿孔、急性腹膜炎(感染、发热、疼痛)、疼痛、吐血、大量出汗、发热、高血压、贫血、腹泻、黄疸、眩晕、发冷、肌肉痉挛、结肠癌转移、肺癌转移、膀胱癌转移、肝癌转移、骨骼癌转移、肾癌转移及胰脏癌转移、吞咽困难及其类似症状。

[0440] 治疗有效剂量可预防或延迟癌症发作,诸如当存在疾病的早期或初始病征时可能需要。癌症诊断中所利用的实验室测试包括化学(包括测量MICA/B含量)、血液学、血清学及放射学。因此,监测前述任一者的任何临床或生物化学分析可用于确定特定治疗是否为治疗癌症的治疗有效剂量。一般技术者将能够基于诸如以下的因素来确定此类量:个体的体型、个体的症状的严重程度及所选特定组合物或施用途径。

[0441] 本文所描述的组合物可经由一种或多种施用途径,使用此项技术中已知的多种方法中的一或多者来进行施与。如熟练技术人员应了解,施用途径和/或模式将视所需结果而变化。本文所描述的抗MICA/B抗体的施用途径可包括静脉内、肌内、皮内、腹膜内、皮下、脊椎或其他肠胃外施用途径,例如藉由注射或输注。如本文所用,词组“肠胃外施用”意谓除经肠及局部施用以外的通常藉由注射进行的施用模式,且包括(但不限于)静脉内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊椎内、硬膜外及胸骨内注射及输注。

[0442] 或者,本文所描述的抗体可潜在地经由非肠胃外途径进行施与,诸如局部、经表皮或经黏膜施用途径,例如鼻内、经口、经阴道、经直肠、舌下或局部。

[0443] 活性化合物可与将保护化合物免于快速释放的载剂一起制备,所述载剂诸如受控释放制剂,包括植入物、经皮贴剂及微胶囊化递送系统。可使用生物可降解、生物兼容性聚合物,诸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。用于制备此类制剂的许多方法已获得专利或为熟习此项技术者大体所知。参见例如Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems,J.R.Robinson编,Marcel Dekker,Inc.,New York,1978。

[0444] 治疗性组合物可用此项技术中已知的医学装置来进行施与。举例而言,在一些实施方案中,本文所描述的治疗性组合物可用无针皮下注射装置来进行施与,诸如美国专利第5,399,163号、第5,383,851号、第5,312,335号、第5,064,413号、第4,941,880号、第4,790,824号或第4,596,556号中所公开的装置。与本文所描述的抗MICA/B抗体一起使用的熟知植入物及模块的实例包括:美国专利第4,487,603号,其公开了一种用于以受控速率施配药物的植入式微量输注泵;美国专利第4,486,194号,其公开了一种用于经由皮肤施与药剂的治疗装置;美国专利第4,447,233号,其公开了一种用于以精确输注速率递送药物的药物输注泵;美国专利第4,447,224号,其公开了一种用于连续药物递送的可变流量植入式输注设备;美国专利第4,439,196号,其公开了一种具有多腔室隔室的渗透性药物递送系统;以及美国专利第4,475,196号,其公开了一种渗透性药物递送系统。这些专利以引用的方式并入本文中作为参考。许多其他此类植入物、递送系统及模块为熟习此项技术者已知。

[0445] 在一些实施方案中,本文所描述的抗MICA/B抗体可经制剂以确保恰当活体内分布。举例而言,血脑屏障(BBB)排除多种高度亲水性化合物。为了确保本文所描述的治疗性

化合物穿过BBB(若需要,例如用于脑癌),其可例如在脂质体中进行制剂。关于制造脂质体的方法,参见例如美国专利4,522,811、5,374,548及5,399,331。脂质体可包含选择性地转运至特定细胞或器官中的一个或多个部分,由此增强目标药物递送(参见例如V.V.Ranade(1989)J.Clin.Pharmacol.29:685)。例示性靶向部分包括叶酸类或生物素(参见例如Low等人的美国专利5,416,016);甘露糖苷(Umezawa等人,(1988)Biochem.Biophys.Res.Commun.153:1038);抗体(P.G.Bloeman等人(1995)FEBS Lett.357:140;M.Owais等人(1995)Antimicrob.Agents Chemother.39:180);表面活性剂蛋白A受体(Briscoe等人(1995)Am.J.Physiol.1233:134);pl20(Schreier等人(1994)J.Biol.Chem.269:9090);亦参见K.Keinanen;M.L.Laukkanen(1994)FEBS Lett.346:123;J.J.Killion;I.J.Fidler(1994)Immunomethods 4:273。

[0446] XI.用途及方法

[0447] 本发明的某些方面涉及治疗个体的方法,其包括向该受试者施与本文所公开的抗MICA/B抗体、编码该抗MICA/B抗体的多核苷酸、包含该多核苷酸的载体、包含该多核苷酸的宿主细胞、包含抗MICA/B抗体的免疫缀合物或其任何组合。

[0448] 本发明的某些方面涉及一种在有需要的个体中治疗癌症的方法,其包括向该受试者施与有效剂量的本文所公开的组合物(例如,抗体、多核苷酸、载体、宿主细胞、免疫缀合物或药物组合物)。在其他方面中,本发明是有关一种在有需要的个体中抑制MICA被肿瘤细胞脱落的方法,其包括向该受试者施与有效剂量的本文所公开的组合物。在其他方面中,本发明是有关一种在有需要的个体中减少血清中脱落的MICA/B和/或将MICA/B保留在细胞表面上的方法,其包括向该受试者施与有效剂量的本文所公开的组合物。在其他方面中,本发明是有关一种在有需要的个体中杀伤肿瘤细胞的方法,其包括向该受试者施与有效剂量的本文所公开的组合物。在其他方面中,本发明是有关一种在有需要的个体中减小肿瘤大小的方法,其包括向该受试者施与有效剂量的本文所公开的组合物。在其他实施方案中,本发明是有关在有需要的个体中抑制肿瘤的癌转移,其包含向该受试者施与有效剂量的本文所公开的组合物。在一些实施方案中,个体为人类。

[0449] 本发明的组合物可使用任何药学上可接受的途径来进行施与。在一些实施方案中,组合物(例如,抗体、多核苷酸、载体、宿主细胞、免疫缀合物或药物组合物)静脉内、腹膜内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眶内、心内、皮内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊椎内、硬膜外、胸骨内、局部、经表皮、经黏膜或其任何组合进行施与。在一些实施方案中,组合物静脉内进行施与。在一些实施方案中,组合物皮下进行施与。

[0450] 在某些实施方案中,该方法在个体中减小癌症大小,例如肿瘤大小。在一些实施方案中,癌症大小减小至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%或至少约90%。

[0451] 在一些实施方案中,该方法增加个体的总存活期。在一些实施方案中,总存活期相对于患有相同癌症但用不同疗法治疗的个体的平均总存活期增加。在某些实施方案中,总存活期增加至少约10%、至少约20%、至少约25%、至少约50%、至少约2倍、至少约3倍、至少约5倍。在一些实施方案中,总存活期增加至少约一个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约

10个月、至少约1个月、至少约12个月、至少约15个月、至少约18个月、至少约21个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年、至少约5年或至少约10年。

[0452] 在一些实施方案中,该方法增加个体的无恶化存活期。在一些实施方案中,无恶化存活期相对于患有相同癌症但用不同疗法治疗的个体的平均无恶化存活期增加。在某些实施方案中,无恶化存活期增加至少约10%、至少约20%、至少约25%、至少约50%、至少约2倍、至少约3倍、至少约5倍。在一些实施方案中,无恶化存活期增加至少约一个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约10个月、至少约1个月、至少约12个月、至少约15个月、至少约18个月、至少约21个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年、至少约5年或至少约10年。

[0453] 在一些实施方案中,该方法增加个体的客观反应率。在某些实施方案中,该方法在个体中诱导完全反应。在一些实施方案中,该方法在个体中诱导部分反应。

[0454] 在一些实施方案中,该方法包括施与本文所公开的抗MICA/B抗体(或多核苷酸、载体、宿主细胞或免疫缀合物)及第二疗法。在一些实施方案中,第二疗法在抗MICA/B抗体之前进行施与。在一些实施方案中,第二疗法在抗MICA/B抗体之后进行施与。在一些实施方案中,第二疗法与抗MICA/B抗体同时进行施与。在某些实施方案中,抗MICA/B抗体及第二疗法分开地进行施与。在其他实施方案中,抗MICA/B抗体及第二疗法在单个制剂中进行施与。

[0455] 第二疗法可为此项技术中已知的任何其他疗法。在一些实施方案中,第二疗法包含免疫疗法。在一些实施方案中,第二疗法包含化学疗法。在一些实施方案中,第二疗法包含放射线疗法。在一些实施方案中,第二疗法包含手术。在一些实施方案中,第二疗法包含施与第二治疗剂。

[0456] 在某些实施方案中,第二治疗剂包含第二抗体。在一些实施方案中,第二治疗剂包含有效量的特异性结合选自以下的蛋白质的抗体:诱导性T细胞共刺激物(ICOS)、CD137(4-1BB)、CD134(OX40)、NKG2A、CD27、糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白(GITR)及疱疹病毒进入介导子(HVEM)、程序性死亡-1(PD-1)、程序性死亡配体-1(PD-L1)、CTLA-4、B及T淋巴细胞衰减子(BTLA)、T细胞免疫球蛋白及黏蛋白结构域-3(TIM-3)、淋巴细胞活化基因-3(LAG-3)、腺苷A2A受体(A2aR)、杀伤细胞凝集素样受体G1(KLRG-1)、自然杀伤细胞受体2B4(CD244)、CD160、具有Ig及ITIM结构域的T细胞免疫受体(TIGIT)及用于T细胞活化的V结构域Ig抑制子(VISTA)的受体、NKG2a、KIR、TGFβ、IL-10、IL-8、B7-H4、Fas配体、CXCR4、间皮素、CEACAM-1、CD96、CD52、HER2及其任何组合。

[0457] XI.A.抗PD-1抗体

[0458] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗PD-1抗体。此项技术中已知的抗PD-1抗体可用于本发明所描述的组合物及方法中。以高亲和力特异性地结合于PD-1的各种人类单克隆抗体已公开于美国专利第8,008,449号中。已表明美国专利第8,008,449号中所公开的抗PD-1人类抗体展现以下特征中的一或多者:(a)如藉由表面等离子体共振使用Biacore生物传感器系统所测定,以1×10^{-7}M或更小的K_D结合于人类PD-1;(b)不显著结合于人类CD28、CTLA-4或ICOS;(c)在混合淋巴细胞反应(MLR)分析中增加T细胞增殖;(d)在MLR分析中增加干扰素-γ产生;(e)在MLR分析中增加IL-2分泌;(f)结合于人类PD-1及食蟹猴PD-1;(g)抑制PD-L1和/或PD-L2与PD-1的结合;(h)刺激抗原特异性记忆反应;(i)刺激抗体反应;及(j)抑制活体内肿瘤细胞生长。可用于本发明中的抗PD-1抗体包括特异性地结合于人类PD-1且

展现至少一个,在一些实施方案中,至少五个前述特征的单克隆抗体。

[0459] 其他抗PD-1单克隆抗体已描述于例如美国专利第6,808,710号、第7,488,802号、第8,168,757号及第8,354,509号;美国公开案第2016/0272708号;及PCT公开案第WO 2012/145493号、第WO 2008/156712号、第WO 2015/112900号、第WO 2012/145493号、第WO 2015/112800号、第WO 2014/206107号、第WO 2015/35606号、第WO 2015/085847号、第WO 2014/179664号、第WO 2017/020291号、第WO 2017/020858号、第WO 2016/197367号、第WO 2017/024515号、第WO 2017/025051号、第WO 2017/123557号、第WO 2016/106159号、第WO 2014/194302号、第WO 2017/040790号、第WO 2017/133540号、第WO 2017/132827号、第WO 2017/024465号、第WO 2017/025016号、第WO 2017/106061号、第WO 2017/19846号、第WO 2017/024465号、第WO 2017/025016号、第WO 2017/132825号及第WO 2017/133540号中,其中的每一者均以全文引用的方式并入本文作为参考。

[0460] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体选自以下:纳武单抗(亦称为OPDIVO®、5C4、BMS-936558、MDX-1106及ONO-4538)、拉立珠单抗(Merck;亦称为KEYTRUDA®、lambrolizumab及MK-3475;参见WO2008/156712)、PDR001(Novartis;参见WO 2015/112900)、MEDI-0680(AstraZeneca;亦称为AMP-514;参见WO 2012/145493)、测米匹单抗(Regeneron;亦称为REGN-2810;参见WO 2015/112800)、JS001(TAIZHOU JUNSHI PHARMA;参见Si-Yang Liu等人,J.Hematol.Oncol.10:136(2017))、BGB-A317(Beigene;参见WO 2015/35606及US 2015/0079109)、INCSHR1210(Jiangsu Hengrui Medicine;亦称为SHR-1210;参见WO 2015/085847;Si-Yang Liu等人,J.Hematol.Oncol.10:136(2017))、TSR-042(Tesaro Biopharmaceutical;亦称为ANB011;参见WO2014/179664)、GLS-010(Wuxi/Harbin Gloria Pharmaceuticals;亦称为WBP3055;参见Si-Yang Liu等人,J.Hematol.Oncol.10:136(2017))、AM-0001(Armo)、STI-1110(Sorrento Therapeutics;参见WO 2014/194302)、AGEN2034(Agenus;参见WO 2017/040790)、MGA012(Macrogenics,参见WO 2017/19846)及IBI308(Innovent;参见WO 2017/024465、WO 2017/025016、WO 2017/132825及WO 2017/133540)。

[0461] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体为纳武单抗。纳武单抗为完全人类IgG4(S228P)PD-1免疫检查点抑制剂抗体,其选择性地阻止与PD-1配体(PD-L1及PD-L2)的相互作用,藉此阻断抗肿瘤T细胞功能的下调(美国专利第8,008,449号;Wang等人,2014Cancer Immunol Res.2(9):846-56)。

[0462] 在另一个实施方案中,抗PD-1抗体为帕博利珠单抗。帕博利珠单抗为针对人类细胞表面受体PD-1(程序性死亡-1或程序性细胞死亡-1)的人源化单克隆IgG4(S228P)抗体。帕博利珠单抗描述于例如美国专利第8,354,509号及第8,900,587号中。

[0463] 可用于所公开的组合物及方法中的抗PD-1抗体亦包括特异性地结合于人类PD-1且与本文所公开的任何抗PD-1抗体(例如纳武单抗)交叉竞争结合于人类PD-1的经分离的抗体(参见例如美国专利第8,008,449号及第8,779,105号;WO 2013/173223)。在一些实施方案中,抗PD-1抗体与本文所描述的任一抗PD-1抗体(例如纳武单抗)结合相同表位。抗体交叉竞争结合于抗原的能力指示这些单克隆抗体结合于抗原的相同表位区,且在空间上阻碍其他交叉竞争抗体与该特定表位区的结合。预期这些交叉竞争抗体的功能特性极类似参考抗体(例如纳武单抗)的那些功能特性,这是由于其结合于PD-1的相同表位区。交叉竞争

抗体可基于其在标准PD-1结合分析,诸如Biacore分析、ELISA分析或流式细胞测量术中与纳武单抗交叉竞争的能力来容易地加以鉴别(参见例如WO 2013/173223)。

[0464] 在某些实施方案中,与纳武单抗交叉竞争结合于人类PD-1,或与其结合于人类PD-1抗体的相同表位区的抗体为单克隆抗体。对于向人类受试者施与,这些交叉竞争抗体为嵌合抗体、经工程改造的抗体、或人源化或人类抗体。此类嵌合、经工程改造、人源化或人类单克隆抗体可藉由此项技术中熟知的方法来加以制备及分离。

[0465] 可用于所公开的本发明的组合物及方法中的抗PD-1抗体亦包括上文抗体的抗原结合部分。已充分表明抗体的抗原结合功能可由全长抗体的片段执行。

[0466] 适用于所公开的方法或组合物中的抗PD-1抗体为以高特异性及亲和力结合于PD-1、阻断PD-L1及或PD-L2的结合且抑制PD-1信号传导途径的免疫抑制作用的抗体。在本文所公开的任一组合物或方法中,抗PD-1"抗体"包括结合于PD-1受体且展现功能特性在抑制配体结合及上调免疫系统方面类似于全抗体的那些功能特性的抗原结合部分或片段。在某些实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合部分与纳武单抗交叉竞争结合于人类PD-1。

[0467] XI.B.抗PD-L1抗体

[0468] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗PD-L1抗体。此项技术中已知的抗PD-L1抗体可用于本发明的组合物及方法中。适用于本发明的组合物及方法中的抗PD-L1抗体的实例包括美国专利第9,580,507号中所公开的抗体。已表明美国专利第9,580,507号中所公开的抗PD-L1人类单克隆抗体展现以下特征中的一或多者:(a)如藉由表面等离子体共振使用Biacore生物传感器系统所测定,以1×10^{-7}M或更小的K_D结合于人类PD-L1;(b)在混合淋巴细胞反应(MLR)分析中增加T细胞增殖;(c)在MLR分析中增加干扰素-γ产生;(d)在MLR分析中增加IL-2分泌;(e)刺激抗体反应;及(f)逆转T调控细胞对T细胞效应细胞和/或树突状细胞的作用。可用于本发明中的抗PD-L1抗体包括特异性地结合于人类PD-L1且展现前述特征中的至少一个,在一些实施方案中,至少五个的单克隆抗体。

[0469] 在某些实施方案中,抗PD-L1抗体选自以下:BMS-936559(亦称为12A4、MDX-1105;参见例如美国专利第7,943,743号及WO 2013/173223)、阿特珠单抗(Roche;亦称为TECENTRIQ®;MPDL3280A、RG7446;参见US 8,217,149;亦参见Herbst等人(2013)J Clin Oncol 31(增刊):3000)、德瓦鲁单抗(AstraZeneca;亦称为IMFINZI™、MEDI-4736;参见WO 2011/066389)、艾维路单抗(Pfizer;亦称为BAVENCIO®、MSB-0010718C;参见WO 2013/079174)、STI-1014(Sorrento;参见WO2013/181634)、CX-072(Cytomx;参见WO2016/149201)、KN035(3D Med/Alphamab;参见Zhang等人,Cell Discov.7:3(2017年3月)、LY3300054(Eli Lilly Co.;参见例如WO 2017/034916)及CK-301(Checkpoint Therapeutics;参见Gorelik等人,AACR:Abstract 4606(2016年4月))。

[0470] 在某些实施方案中,PD-L1抗体为阿特珠单抗(TECENTRIQ®)。阿特珠单抗为完全人源化IgG1单克隆抗PD-L1抗体。

[0471] 在某些实施方案中,PD-L1抗体为德瓦鲁单抗(IMFINZI™)。德瓦鲁单抗为人类IgG1κ单克隆抗PD-L1抗体。

[0472] 在某些实施方案中,PD-L1抗体艾维路单抗(BAVENCIO®)。艾维路单抗为人类IgG1λ单克隆抗PD-L1抗体。

[0473] 在其他实施方案中,抗PD-L1单克隆抗体选自以下:28-8、28-1、28-12、29-8、5H1及

其任何组合。

[0474] 可用于所公开的组合物及方法中的抗PD-L1抗体亦包括特异性地结合于人类PD-L1且与本文所公开的任何抗PD-L1抗体(例如阿特珠单抗、德瓦鲁单抗和/或艾维路单抗)交叉竞争结合于人类PD-L1的经分离的抗体。在一些实施方案中,抗PD-L1抗体与本文所描述的任一抗PD-L1抗体(例如阿特珠单抗、德瓦鲁单抗和/或艾维路单抗)结合相同表位。抗体交叉竞争结合于抗原的能力指示这些抗体结合于抗原的相同表位区,且在空间上阻碍其他交叉竞争抗体与该特定表位区的结合。预期这些交叉竞争抗体的功能特性极类似参考抗体(例如阿特珠单抗和/或艾维路单抗)的那些功能特性,这是由于其结合于PD-L1的相同表位区。交叉竞争抗体很容易基于其在标准PD-L1结合分析(诸如Biacore分析、ELISA分析或流式细胞测量术)中与阿特珠单抗和/或艾维路单抗交叉竞争的能力来鉴别(参见例如WO 2013/173223)。

[0475] 在某些实施方案中,与阿特珠单抗、德瓦鲁单抗和/或艾维路单抗交叉竞争结合于人类PD-L1,或与其结合于人类PD-L1抗体的相同表位区的抗体为单克隆抗体。对于向人类受试者施与,这些交叉竞争抗体为嵌合抗体、经工程改造的抗体、或人源化或人类抗体。此类嵌合、经工程改造、人源化或人类单克隆抗体可藉由此项技术中熟知的方法来加以制备及分离。

[0476] 可用于所公开的本发明的组合物及方法中的抗PD-L1抗体亦包括上述抗体的抗原结合部分。已充分证实抗体的抗原结合功能可由全长抗体的片段执行。

[0477] 适用于所公开的方法或组合物中的抗PD-L1抗体为以高特异性及亲和力结合于PD-L1、阻断PD-1的结合且抑制PD-1信号传导途径的免疫抑制作用的抗体。在本文所公开的任一组合物或方法中,抗PD-L1“抗体”包括结合于PD-L1且在抑制受体结合及上调免疫系统方面的功能特性上展现类似全抗体的那些功能特性的抗原结合部分或片段。在某些实施方案中,抗PD-L1抗体或其抗原结合部分与阿特珠单抗、德瓦鲁单抗和/或艾维路单抗交叉竞争结合于人类PD-L1。

[0478] XI.C.抗CTLA-4抗体

[0479] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗CTLA-4抗体。此项技术中已知的抗CTLA-4抗体可用于本发明的组合物及方法中。本发明的抗CTLA-4抗体结合于人类CTLA-4,以便破坏CTLA-4与人类B7受体的相互作用。因为CTLA-4与B7的相互作用会转导引起携有CTLA-4受体的T细胞失活的信号,所以破坏该相互作用会有效地诱导、增强或延长此类T细胞的活化,藉此诱导、增强或延长免疫反应。

[0480] 以高亲和力特异性地结合于CTLA-4的人类单克隆抗体已公开于美国专利第6,984,720号中。其他抗CTLA-4单克隆抗体已描述于例如美国专利第5,977,318号、第6,051,227号、第6,682,736号及第7,034,121号以及国际公开案第WO 2012/122444号、第WO 2007/113648号、第WO 2016/196237号及第WO 2000/037504号中,其中的每一者均以全文引用的方式并入本文中作为参考。已表明美国专利第6,984,720号中所公开的抗CTLA-4人类单克隆抗体展现以下特征中的一或多者:(a)如藉由Biacore分析所测定,以由平衡缔合常数(K_a)为至少约10^7M^{-1}或约10^9M^{-1}或约$10^{10}M^{-1}$至$10^{11}M^{-1}$或更高所反映的结合亲和力特异性结合于人类CTLA-4;(b)动力学缔合常数(k_a)为至少约10^3、约10^4或约$10^5m^{-1}s^{-1}$;(c)动力学解离常数(k_d)为至少约10^3、约10^4或约$10^5m^{-1}s^{-1}$;及(d)抑制CTLA-4与B7-1(CD80)及B7-2(CD86)的结

合。适用于本发明的抗CTLA-4抗体包括特异性地结合于人类CTLA-4且展现前述特征中的至少一个、至少两个或至少三个的单克隆抗体。

[0481] 在某些实施方案中,CTLA-4抗体选自以下:伊匹单抗(亦称为YERVOY®、MDX-010、10D1;参见美国专利第6,984,720号)、MK-1308(Merck)、AGEN-1884(Agenus Inc.;参见WO 2016/196237)及曲美单抗(AstraZeneca;亦称为替西单抗(ticilimumab)、CP-675,206;参见WO 2000/037504及Ribas,Update Cancer Ther.2(3):133-39(2007))。在特定实施方案中,抗CTLA-4抗体为伊匹单抗。

[0482] 在特定实施方案中CTLA-4抗体为用于本文所公开的组合物及方法中的伊匹单抗。伊匹单抗为完全人类IgG1单克隆抗体,其阻断CTLA-4与其B7配体的结合,藉此刺激T细胞活化且改善患有晚期黑素瘤的患者中的总存活期(OS)。

[0483] 在特定实施方案中,CTLA-4抗体为曲美单抗。

[0484] 在特定实施方案中,CTLA-4抗体MK-1308。

[0485] 在特定实施方案中,CTLA-4抗体为AGEN-1884。

[0486] 在一些实施方案中,CTLA-4抗体为非岩藻糖基化或低岩藻糖基化。在一些实施方案中,CTLA-4抗体展现ADCC和/或ADCP活性增强。在一些实施方案中,CTLA-4抗体为如PCT/US18/19868中所描述的BMS-986218。

[0487] 可用于所公开的组合物及方法中的抗CTLA-4抗体亦包括特异性地结合于人类CTLA-4且与本文所公开的任何抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗和/或曲美单抗)交叉竞争结合于人类CTLA-4的经分离的抗体。在一些实施方案中,抗CTLA-4抗体与本文所描述的任一抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗和/或曲美单抗)结合相同表位。抗体交叉竞争结合于抗原的能力指示这些抗体结合于抗原的相同表位区,且在空间上阻碍其他交叉竞争抗体与该特定表位区的结合。预期这些交叉竞争抗体的功能特性极类似参考抗体(例如伊匹单抗和/或曲美单抗)的那些功能特性,这是由于其结合于CTLA-4的相同表位区。交叉竞争抗体可基于其在标准CTLA-4结合分析,诸如Biacore分析、ELISA分析或流式细胞测量术中与伊匹单抗和/或曲美单抗交叉竞争的能力来容易地加以鉴别(参见例如WO 2013/173223)。

[0488] 在某些实施方案中,与伊匹单抗和/或曲美单抗交叉竞争结合于人类CTLA-4,或与其结合于人类CTLA-4抗体的相同表位区的抗体为单克隆抗体。对于向人类受试者施与,这些交叉竞争抗体为嵌合抗体、经工程改造的抗体、或人源化或人类抗体。此类嵌合、经工程改造、人源化或人类单克隆抗体可藉由此项技术中熟知的方法来加以制备及分离。

[0489] 可用于所公开的本发明的组合物及方法中的抗CTLA-4抗体亦包括上文抗体的抗原结合部分。已充分表明抗体的抗原结合功能可由全长抗体的片段执行。

[0490] 适用于所公开的方法或组合物中的抗CTLA-4抗体为以高特异性及亲和力结合于CTLA-4、阻断CTLA-4的活性以及破坏CTLA-4与人类B7受体的相互作用的抗体。在本文所公开的任一组合物或方法中,抗CTLA-4“抗体”包括结合于CTLA-4且展现功能特性在抑制CTLA-4与人类B7受体的相互作用及上调免疫系统方面类似于全抗体的那些功能特性的抗原结合部分或片段。在某些实施方案中,抗CTLA-4抗体或其抗原结合部分与伊匹单抗和/或曲美单抗交叉竞争结合于人类CTLA-4。

[0491] XI.D.抗LAG-3抗体

[0492] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗LAG-3抗体。本发明的抗LAG-3抗体结合于人

类LAG-3。结合于LAG-3的抗体已公开于国际公开案第WO/2015/042246号及美国公开案第2014/0093511号及第2011/0150892号中。

[0493] 适用于本发明的例示性LAG-3抗体为25F7(描述于美国公开案第2011/0150892号中)。适用于本发明中的额外例示性LAG-3抗体为BMS-986016。在一个实施方案中,适用于组合物的抗LAG-3抗体与25F7或BMS-986016交叉竞争。在另一个实施方案中,适用于组合物的抗LAG-3抗体与25F7或BMS-986016结合于相同表位。在其他实施方案中,抗LAG-3抗体包含25F7或BMS-986016的六个CDR。

[0494] XI.E.抗CD137抗体

[0495] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗CD137抗体。抗CD137抗体特异性结合于CD137表达性免疫细胞且使其活化,刺激针对肿瘤细胞的免疫反应尤其细胞毒性T细胞反应。结合于CD137的抗体已公开于美国公开案第2005/0095244号及美国专利第7,288,638号、第6,887,673号、第7,214,493号、第6,303,121号、第6,569,997号、第6,905,685号、第6,355,476号、第6,362,325号、第6,974,863号及第6,210,669号中。

[0496] 在一些实施方案中,抗CD137抗体为美国专利第7,288,638号中所描述的乌瑞鲁单抗(BMS-663513)(20H4.9-IgG4[10C7或BMS-663513])。在一些实施方案中,抗CD137抗体为美国专利第7,288,638号中所描述的BMS-663031(20H4.9-IgG1)。在一些实施方案中,抗CD137抗体为美国专利第6,887,673号中所描述的4E9或BMS-554271。在一些实施方案中,抗CD137抗体为美国专利第7,214,493号、第6,303,121号、第6,569,997号、第6,905,685号或第6,355,476号中所公开的抗体。在一些实施方案中,抗CD137抗体为美国专利第6,362,325号中所描述的1D8或BMS-469492;3H3或BMS-469497;或3E1。在一些实施方案中,抗CD137抗体为颁予的美国专利第6,974,863号中所公开的抗体(诸如53A2)。在一些实施方案中,抗CD137抗体为颁予的美国专利第6,210,669号中所公开的抗体(诸如1D8、3B8或3E1)。在一些实施方案中,抗体为Pfizer的PF-05082566(PF-2566)。在其他实施方案中,适用于本发明的抗CD137抗体与本文所公开的抗CD137抗体交叉竞争。在一些实施方案中,抗CD137抗体与本文所公开的抗CD137抗体结合于相同表位。在其他实施方案中,适用于本发明的抗CD137抗体包含本文所公开的抗CD137抗体的六个CDR。

[0497] XI.F.抗KIR抗体

[0498] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗KIR3抗体。特异性结合于KIR的抗体阻断NK细胞上杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR)与其配体之间的相互作用。阻断这些受体促进NK细胞的活化,且可能促进后者对肿瘤细胞的破坏。抗KIR抗体的实例已公开于国际公开案第WO/2014/055648号、第WO 2005/003168号、第WO 2005/009465号、第WO 2006/072625号、第WO 2006/072626号、第WO 2007/042573号、第WO 2008/084106号、第WO 2010/065939号、第WO 2012/071411号及第WO/2012/160448号中。

[0499] 适用于本发明中的一种抗KIR抗体为利瑞路单抗(亦称为BMS-986015、IPH2102或1-7F9的S241P变体),其首次描述于国际公开案第WO 2008/084106号中。适用于本发明中的额外抗KIR抗体为国际公开案第WO 2006/003179号中所描述的1-7F9(亦称为IPH2101)。在一个实施方案中,用于本发明组合物的抗KIR抗体与利瑞路单抗或I-7F9交叉竞争结合于KIR。在另一个实施方案中,抗KIR抗体与利瑞路单抗或I-7F9结合于相同表位。在其他实施方案中,抗KIR抗体包含利瑞路单抗或I-7F9的六个CDR。

[0500] XI.G.抗GITR抗体

[0501] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗GITR抗体。抗GITR抗体可为特异性结合于人类GITR标靶且使糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(GITR)活化的任何抗GITR抗体。GITR为在包括调控性T细胞、效应T细胞、B细胞、自然杀伤(NK)细胞及活化树突状细胞的多种类型免疫细胞的表面上表达的TNF受体超家族的成员(“抗GITR激动型抗体”)。具体地,GITR活化增加效应T细胞的增殖及功能,以及消除由活化T调控细胞诱导的抑制。另外,GITR刺激藉由增加诸如NK细胞、抗原呈递细胞及B细胞的其他免疫细胞的活性来促进抗肿瘤免疫性。抗GITR抗体的实例已公开于国际公开案第WO/2015/031667号、第WO2015/184,099号、第WO2015/026,684号、第WO11/028683号及第WO/2006/105021号、美国专利第7,812,135号及第8,388,967号以及美国公开案第2009/0136494号、第2014/0220002号、第2013/0183321号及第2014/0348841号中。

[0502] 在一个实施方案中,适用于本发明中的抗GITR抗体为TRX518(描述于例如Schaer等人Curr Opin Immunol.(2012)4月;24(2):217-224及WO/2006/105021中)。在另一个实施方案中,抗GITR抗体选自MK4166、MK1248以及WO11/028683及U.S.8,709,424中所描述的抗体,且所述抗体包含例如包含SEQ ID NO:104的VH链及包含SEQ ID NO:105的VL链(其中所述SEQ ID NO来自WO11/028683或U.S.8,709,424)。在某些实施方案中,抗GITR抗体为WO2015/031667中所公开的抗GITR抗体,例如,包含分别包含WO2015/031667的SEQ ID NO:31、71及63的VH CDR 1-3及包含WO2015/031667的SEQ ID NO:5、14及30的VL CDR 1-3的抗体。在某些实施方案中,抗GITR抗体为WO2015/184099中所公开的抗GITR抗体,例如抗体Hum231#1或Hum231#2或其CDR或其衍生物(例如pab1967、pab1975或pab1979)。在某些实施方案中,抗GITR抗体为JP2008278814、WO09/009116、WO2013/039954、US20140072566、US20140072565、US20140065152或WO2015/026684中所公开的抗GITR抗体,或为INBRX-110(INHIBRx)、LKZ-145(Novartis)或MEDI-1873(MedImmune)。在某些实施方案中,抗GITR抗体为PCT/US2015/033991中所描述的抗GITR抗体(例如,包含28F3、18E10或19D3的可变区的抗体)。举例而言,抗GITR抗体可为包含以下VH及VL链或其CDR的抗体:

[0503] VH:

[0504] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVS (SEQ ID NO: 78),及

[0505] VL:

[0506] AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 79);或

[0507] VH:

[0508] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEWVAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGQLDYYYYYVMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 80),及

[0509] VL:

[0510] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 81);或

[0511] VH:

[0512] VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYAGSNKYYADSVKGRFTI

SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 82),及

[0513] VL:

[0514] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 83)。

[0515] 在某些实施方案中,包含一对上文VH及VL轻链或其CDR的抗体包含野生型或经突变的IgG1同种型的重链恒定区,例如待无效应的重链恒定区。在一个实施方案中,抗GITR抗体包含以下重链及轻链氨基酸序列:

[0516] 重链:

[0517] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVD HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 84),及

[0518] 轻链:

[0519] AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQFNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85),或

[0520] 重链:

[0521] qvqlvesgggvvqpgrslrlscaasgftfssygmhwvrqapgkglewvaviwyegsnkyyadsvkgrftisrdnsknt lylqmnslraedtavyycarggsmvr gdyyygmdvwgqgttvtvssastkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhk psntkvdkrvepkscdkthtcppcpapeaegapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvl hqdwlngkeykckvsnkalpssiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvdks rwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspg (SEQ ID NO: 86),及

[0522] 轻链:

[0523] AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQFNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 87)。

[0524] 在某些实施方案中,抗GITR抗体与本文所描述的抗GITR抗体(例如,TRX518、MK4166或包含本文所描述的VH结构域及VL结构域氨基酸序列的抗体)交叉竞争。在一些实施方案中,抗GITR抗体所结合的表位与本文所描述的抗GITR抗体(例如,TRX518、MK4166或包含本文所描述的VH结构域及VL结构域氨基酸序列的抗体)所结合的表位相同。在某些实施方案中,抗GITR抗体包含TRX518、MK4166的六个CDR或包含本文所描述的VH结构域及VL结构域氨基酸序列的抗体的那些六个CDR。

[0525] XI.H.抗TIM3抗体

[0526] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗TIM3抗体。在一些实施方案中,抗TIM3抗体可选自国际公开案第WO2018013818号、第WO/2015/117002号(例如MGB453,Novartis)、第WO/2016/161270号(例如TSR-022,Tesaro/AnaptysBio)、第WO2011155607号、第WO2016/144803

号(例如STI-600,Sorrento Therapeutics)、第WO2016/071448号、第WO17055399号;第WO17055404号、第WO17178493号、第WO18036561号、第WO18039020号(例如Ly-3221367,Eli Lilly)、第WO2017205721号、第WO17079112号、第WO17079115号、第WO17079116号、第WO11159877号、第WO13006490号、第WO2016068802WO2016068803号、第WO2016/111947号、第WO/2017/031242号中所公开的抗TIM3抗体。

[0527] XI.I.抗OX40抗体

[0528] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗OX40(亦称为CD134、TNFRSF4、ACT35和/或TXGP1L)抗体。在一些实施方案中,抗OX40抗体可为国际公开案第WO20160196228号中所描述的BMS-986178(Bristol-Myers Squibb Company)。在一些实施方案中,抗OX40抗体可选自国际公开案第WO95012673号、第WO199942585号、第WO14148895号、第WO15153513号、第WO15153514号、第WO13038191号、第WO16057667号、第WO03106498号、第WO12027328号、第WO13028231号、第WO16200836号、第WO 17063162号、第WO17134292号、第WO 17096179号、第WO 17096281号及第WO 17096182号中所描述的抗OX40抗体。

[0529] XI.J.抗NKG2A抗体

[0530] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗NKG2A抗体。NKG2A为在自然杀伤(NK)细胞及T淋巴细胞子组上表达的C类凝集素受体家族的成员。具体地,NKG2A主要在肿瘤浸润性先天性免疫效应NK细胞以及一些CD8+T细胞上表达。其天然配体人类白细胞抗原E(HLA-E)在实体及血液肿瘤上进行表达。NKG2A为与HLA-E结合的抑制性受体。

[0531] 在一些实施方案中,抗NKG2A抗体可为BMS-986315,一种阻断NKG2A与其配体HLA-E的相互作用,由此允许抗肿瘤免疫反应活化的人类单克隆抗体。在一些实施方案中,抗NKG2A抗体可为使T细胞、NK细胞和/或肿瘤浸润性免疫细胞活化的检查点抑制剂。在一些实施方案中,抗NKG2A抗体可选自在以下中所描述的抗NKG2A抗体,例如WO 2006/070286(Innate Pharma S.A.;University of Genova);美国专利第8,993,319号(Innate Pharma S.A.;University of Genova);WO 2007/042573(Innate Pharma S/A;Novo Nordisk A/S;University of Genova);美国专利第9,447,185号(Innate Pharma S/A;Novo Nordisk A/S;University of Genova);WO 2008/009545(Novo Nordisk A/S);美国专利第8,206,709号、第8,901,283号、第9,683,041号(Novo Nordisk A/S);WO 2009/092805(Novo Nordisk A/S);美国专利第8,796,427号及第9,422,368号(Novo Nordisk A/S);WO 2016/134371(Ohio State Innovation Foundation);WO 2016/032334(Janssen);WO 2016/041947(Innate);WO 2016/041945(Academisch Ziekenhuis Leiden H.O.D.N.LUMC);WO 2016/041947(Innate Pharma);及WO 2016/041945(Innate Pharma)。

[0532] XI.K.抗ICOS抗体

[0533] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗ICOS抗体。ICOS为本身为CD28超家族成员的免疫检查点蛋白质。ICOS为55-60kDa I型跨膜蛋白,其在T细胞活化之后在T细胞上表达且在结合其配体ICOS-L(B7H2)之后共刺激T细胞活化。ICOS亦称为诱导性T细胞共刺激子、CVID1、AILIM、诱导性共刺激子、CD278、活化诱导性淋巴细胞免疫介导性分子及CD278抗原。

[0534] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体可为BMS-986226,一种结合于且刺激人类ICOS的人源化IgG单克隆抗体。在一些实施方案中,抗ICOS抗体可选自以下中所描述的抗ICOS抗体,例如WO 2016/154177(Jounce Therapeutics、Inc.)、WO 2008/137915(MedImmune)、WO

2012/131004(INSERM,French National Institute of Health and Medical Research)、EP3147297(INSERM,French National Institute of Health and Medical Research)、WO 2011/041613(Memorial Sloan Kettering Cancer Center)、EP 2482849(Memorial Sloan Kettering Cancer Center)、WO 1999/15553(Robert Koch Institute)、美国专利第7,259,247号及第7,722,872号(Robert Kotch Institute);WO 1998/038216(Japan Tobacco Inc.)、美国专利第7,045,615号、第7,112,655号及第8,389,690号(Japan Tobacco Inc.)、美国专利第9,738,718号及第9,771,424号(GlaxoSmithKline)以及WO 2017/220988(Kymab Limited)。

[0535] XI.L.抗TIGIT抗体

[0536] 在一些实施方案中,第二抗体可为抗TIGIT抗体。在一些实施方案中,抗TIGIT抗体可为BMS-986207。在一些实施方案中,抗TIGIT抗体可为如WO 2016/106302中所描述的克隆22G2。在一些实施方案中,抗TIGIT抗体可为如WO 2017/053748中所描述的MTIG7192A/RG6058/RO7092284或克隆4.1D3。在一些实施方案中,抗TIGIT抗体可选自以下中所描述的抗TIGIT抗体,例如WO 2016/106302(Bristol-Myers Squibb Company)及WO 2017/053748(Genentech)。

[0537] XI.M.额外的抗癌剂

[0538] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与抗IL-10抗体组合使用。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与长效IL-10分子组合使用。在一些实施方案中,长效IL-10分子可为IL-10-Fc融合分子。在一些实施方案中,长效IL-10分子可为聚乙二醇化IL-10,诸如AM0010(ARMO BioSciences)。

[0539] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与抗IL-2抗体组合使用。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与长效IL-2分子组合使用。在一些实施方案中,长效IL-2可为聚乙二醇化IL-2,诸如NKTR-214(Nektar;参见US 8,252,275、WO12/065086及WO15/125159)。

[0540] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与抗VISTA抗体组合使用。

[0541] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与抗CD96抗体组合使用。

[0542] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与抗IL-8抗体,例如与HuMax®-IL8组合使用。

[0543] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与抗TGFβ抗体组合使用。

[0544] 在一些其他实施方案中,抗MICA/B抗体可与抗B7-H4抗体组合使用。在某些实施方案中,抗B7-H4抗体为国际公开案第WO/2009/073533号中所公开的抗B7-H4。

[0545] 在某些实施方案中,抗MICA/B抗体可与抗Fas配体抗体组合使用。在某些实施方案中,抗Fas配体抗体为国际公开案第WO/2009/073533号中所公开的抗Fas配体。

[0546] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与抗CXCR4抗体组合使用。在某些实施方案中,抗CXCR4抗体为美国公开案第2014/0322208号中所公开的抗CXCR4(例如,尤洛库单抗(Ulocuplumab)(BMS-936564))。

[0547] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与抗间皮素抗体组合使用。在某些实施方案中,抗间皮素抗体为美国专利第8,399,623号中所公开的抗间皮素。

[0548] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与抗HER2抗体组合使用。在某些实施方案中,抗HER2抗体为贺癌平(Herceptin)(美国专利第5,821,337号)、曲妥珠单抗或曲妥珠单抗-

美坦新偶联物(ado-trastuzumab emtansine)(Kadcyla,例如WO/2001/000244)。

[0549] 在实施方案中,抗MICA/B抗体可与抗CD27抗体组合使用。在实施方案中,抗CD-27抗体为瓦里木单抗(Varlilumab)(亦称为“CDX-1127”及“1F5”),如例如美国专利第9,169,325号中所公开,其为本身为人类CD27的激动剂的人类IgG1抗体。

[0550] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与抗CD73抗体组合使用。在某些实施方案中,抗CD73抗体为CD73.4.IgG2C219S.IgG1.1f。

[0551] 在某些实施方案中,第二疗法包含施与化学治疗剂。在一些实施方案中,化学治疗剂诱导肿瘤细胞上的MICA/B表达。在一些实施方案中,化学治疗剂选自蛋白酶体抑制剂、免疫调节药物(IMiD)、Bet抑制剂及其任何组合。在一些实施方案中,蛋白酶体抑制剂选自硼替佐米(bortezomib)、依萨佐米(ixazomib)、卡非佐米(carfilzomib)、奥普洛佐米(oprozomib)及马瑞佐米(marizomib)。在某些实施方案中,蛋白酶体抑制剂包含硼替佐米。

[0552] 在一些实施方案中,第二疗法包含放射线疗法。此项技术中已知的任何放射线疗法可用作第二疗法。

[0553] 在一些实施方案中,第二疗法包含施与使先天性免疫细胞活化的药剂。在一些实施方案中,使先天性免疫细胞活化的药剂包含NLRP3激动剂。在一些实施方案中,NLRP3激动剂包含尿酸单钠单水合物(MSU)和/或疫苗佐剂明矾。在一些实施方案中,使先天性免疫细胞活化的药剂为toll样受体7(TLR7)激动剂。在一些实施方案中,TLR7激动剂包含咪喹莫特(imiquimod)(R837)、GS-9620(参见Tsai等人,J.Virology doi:10.1128/JVI.02166-16(2017年2月8日))、ORN R-2336(Miltenyl Biotec)或其任何组合。

[0554] 在一些实施方案中,第二疗法包含施与增强自然杀伤(NK)细胞、$CD8^+$T细胞或两者的存活期的药剂。在一些实施方案中,药剂包含IL-2。在某些实施方案中,药剂包含聚乙二醇化IL-2。

[0555] 在某些实施方案中,第二疗法包含施与选自以下的药剂:多柔比星(ADRIAMYCIN®)、顺铂(cisplatin)、卡铂(carboplatin)、硫酸博莱霉素(bleomycin sulfate)、卡莫司汀(carmustine)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)(瘤克宁® (LEUKERAN®))、环磷酰胺(cyclophosphamide)(CYTOXAN®; NEOSAR®)、来那度胺(lenalidomide)(瑞复美® (REVLIMID®))、硼替佐米(万科® (VELCADE®))、地塞米松(dexamethasone)、米托蒽醌(mitoxantrone)、依托泊苷(etoposide)、阿糖胞苷(cytarabine)、苯达莫司汀(bendamustine)(TREANDA®)、利妥昔单抗(RITUXAN®)、异环磷酰胺(ifosfamide)、长春新碱(vincristine)(ONCOVIN®)、氟达拉滨(fludarabine)(FLUDARA®)、沙立度胺(thalidomide)(THALOMID®)、阿仑单抗(CAMPATH®)、奥伐木单抗(ofatumumab)(ARZERRA®)、依维莫司(everolimus)(癌伏妥® (AFINITOR®)、ZORTRESS®)、卡非佐米(KYPROLISTM)及其任何组合。

[0556] XI.N.癌症

[0557] 抗MICA/B抗体可在癌症患者中增强对癌细胞的免疫反应。本文提供用于治疗患有癌症的个体的方法,其包括向该受试者施与本文所描述的抗MICA/B抗体,以使得该个体得到治疗,例如,以使得癌性肿瘤的生长得到抑制或减小,和/或肿瘤消退,和/或达成存活期延长。抗MICA/B抗体可以单独使用以抑制癌性肿瘤的生长。或者,抗MICA/B抗体可与如下文

所描述的另一药剂,例如另一免疫原性药剂、标准癌症治疗或另一抗体结合使用。

[0558] 因此,本文提供在受试者中治疗癌症,例如藉由抑制肿瘤细胞生长来治疗癌症的方法,其包括向该受试者施与治疗有效量的本文所描述的抗MICA/B抗体,例如具有野生型IgG恒定区或效应功能改变的恒定区变体的MICA.36、MICA.52、MICA.54、MICA.2及71C2,或其抗原结合部分。抗体可为人类抗MICA/B抗体(诸如本文所描述的任一人类抗人类MICA/B抗体)。生长可使用本发明的抗体来加以抑制的癌症包括通常对免疫疗法有反应的癌症及通常对免疫疗法无反应的那些癌症。可治疗的癌症亦包括MICA/B阳性癌症。癌症可为具有实体肿瘤或血液恶性病(液体肿瘤)的癌症。用于治疗的癌症的非限制性实例包括鳞状细胞癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)、非鳞状NSCLC、神经胶质瘤、胃肠癌、肾癌(renal cancer)(例如透明细胞癌)、卵巢癌、肝癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、肾脏癌(kidney cancer)(例如肾细胞癌(RCC))、前列腺癌(例如激素难治性前列腺腺癌)、甲状腺癌、神经母细胞瘤、胰脏癌、胶质母细胞瘤(多形性胶质母细胞瘤)、子宫颈癌、胃癌、膀胱癌、肝癌、乳腺癌、结肠癌及头颈癌(或癌瘤)、胃癌、生殖细胞肿瘤、儿科肉瘤、鼻腔鼻窦自然杀伤、黑素瘤(例如转移性恶性黑素瘤,诸如皮肤或眼内恶性黑素瘤)、骨癌、皮肤癌、子宫癌、肛门区癌、睾丸癌、输卵管癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌、副甲状腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、儿童实体肿瘤、输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS)赘瘤、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊椎轴肿瘤、脑癌、脑干神经胶质瘤、垂体腺瘤、卡波西肉瘤(Kaposi's sarcoma)、表皮样癌、鳞状细胞癌、环境诱发的癌症(包括由石棉诱发的癌症)、病毒相关癌症或病毒起源的癌症(例如人类乳头状瘤病毒(HPV相关或起源的肿瘤);及所述癌症的任何组合。

[0559] 用于处理的癌症的非限制性实例包括来源于两个主要血球谱系,也即髓样细胞系(其产生粒细胞、红细胞、血小板、巨噬细胞及肥大细胞)或淋巴细胞系(其产生B、T、NK及浆细胞)中的任一者的血液恶性病,诸如所有类型的白血病、淋巴瘤及骨髓瘤,例如急性、慢性、淋巴细胞性和/或骨髓性白血病,诸如急性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)和慢性骨髓性白血病(CML)、未分化AML(MO)、骨髓母细胞性白血病(M1)、骨髓母细胞性白血病(M2;伴随细胞成熟)、前髓细胞性白血病(M3或M3变异型[M3V])、骨髓单核细胞性白血病(M4或伴随嗜酸性粒细胞增多症的M4变异型[M4E])、单核细胞性白血病(M5)、红白血病(M6)、巨核母细胞性白血病(M7)、经分离的粒细胞性肉瘤及绿色瘤;淋巴瘤,诸如霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma,HL)、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL),B细胞血液恶性病,例如B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、淋巴浆细胞样淋巴瘤、单核细胞样B细胞淋巴瘤、黏膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤、退行性(例如Ki 1+)大细胞淋巴瘤、成人T细胞淋巴瘤/白血病、套细胞淋巴瘤、血管免疫母细胞T细胞淋巴瘤、血管中心性淋巴瘤、肠T细胞淋巴瘤、原发性纵隔B细胞淋巴瘤、前体T淋巴母细胞性淋巴瘤、T淋巴母细胞;及淋巴瘤/白血病(T-Lbly/T-ALL)、外周T细胞淋巴瘤、淋巴母细胞性淋巴瘤、移植后淋巴组织增生疾病、真组织细胞淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、淋巴母细胞性淋巴瘤(LBL)、淋巴谱系的造血肿瘤、急性淋巴母细胞性白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、滤泡性淋巴瘤、弥漫性组织细胞淋巴瘤(DHL)、免疫母细胞性大细胞淋巴瘤、前体B淋巴母细胞性淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤(CTLC)(亦称为蕈样霉菌病或塞扎莱症候群(Sezary syndrome))及伴随瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症

(Waldenstrom's macroglobulinemia)的淋巴浆细胞样淋巴瘤(LPL);骨髓瘤,诸如IgG骨髓瘤、轻链骨髓瘤、非分泌型骨髓瘤、冒烟型骨髓瘤(亦称为惰性骨髓瘤)、孤立性浆细胞瘤及多发性骨髓瘤,慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、毛状细胞淋巴瘤;骨髓谱系的造血肿瘤,间质来源的肿瘤,包括纤维肉瘤及横纹肌肉瘤;精原细胞瘤、畸胎上皮癌,中央及外周神经的肿瘤,包括星形细胞瘤、神经鞘瘤;间质来源的肿瘤,包括纤维肉瘤、横纹肌肉瘤及骨肉瘤;及其他肿瘤,包括黑素瘤、着色性干皮病、角化棘皮瘤、精原细胞瘤、甲状腺滤泡性癌症及畸胎上皮癌,淋巴谱系的造血肿瘤,例如T细胞及B细胞肿瘤,包括(但不限于)T细胞病症,诸如T前淋巴细胞性白血病(T-PLL),包括小细胞及脑状细胞类型的T-PLL;T细胞类型的大颗粒状淋巴细胞白血病(LGL);a/d T-NHL肝脾淋巴瘤;外周/胸腺后T细胞淋巴瘤(多形性及免疫母细胞性亚型);血管中心性(鼻)T细胞淋巴瘤;及所述癌症的任何组合。

[0560] 本文所描述的方法也可用于治疗转移性癌症、不可切除的难治性癌症(例如难以用先前免疫疗法,例如用阻断CTLA-4或PD-1抗体治疗的癌症)和/或复发性癌症。

[0561] 在一些实施方案中,个体患有选自以下的癌症:非小细胞肺癌(NSCLC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)、黑素瘤、膀胱癌、胰脏癌、胃癌、结肠癌、肾细胞癌(RCC)、小细胞肺癌(SCLC)、间皮瘤、肝细胞癌、前列腺癌、多发性骨髓瘤及所述癌症的组合。

[0562] 在一些实施方案中,个体患有选自以下的癌症:非小细胞肺癌(NSCLC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)、黑素瘤、膀胱癌、胰脏癌、胃癌、结肠癌及所述癌症的组合。

[0563] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体向患有展现对先前治疗(例如,使用免疫肿瘤学或免疫疗法药物进行的先前治疗)的反应不充分或出现恶化的癌症的患者进行施与,或向患有难治性或耐药性癌症,即固有地难治性或耐药性(例如,难以用PD-1途径拮抗剂治疗)或其中获取耐药性或难治性状态的癌症的患者进行施与。举例而言,对第一疗法无反应性或反应不充分的个体或在治疗(例如抗PD-1治疗)后发现疾病恶化的个体可藉由施与抗MICA/B抗体单独或与另一疗法(例如与抗PD-1疗法)的组合来进行治疗。

[0564] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体向先前未接受免疫肿瘤学药剂(例如PD-1途径拮抗剂)(亦即,未用其治疗)的患者进行施与。

[0565] 在一些实施方案中,一种在受试者中治疗癌症的方法包括,首先确定该个体是否为MICA/B阳性,例如是否具有表达MICA/B的肿瘤细胞,及若该个体患有MICA/B阳性癌症,则向该受试者施与抗MICA/B抗体,例如本文所描述的抗MICA/B抗体。一种用抗MICA/B抗体治疗患有癌症的个体的方法可包含向具有表达MICA/B的癌细胞的受试者施与治疗有效量的MICA/B抗体。本文还提供了用于预测个体是否将对用抗MICA/B抗体进行的治疗有反应的方法,其中所述方法包括测定患者的癌细胞中的MICA/B含量,及若个体的癌细胞为MICA/B阳性,则该个体很可能对用MICA/B抗体进行的治疗有反应。

[0566] 在一些实施方案中,一种在受试者中治疗癌症的方法包括,首先确定该个体是否为PD-L1或PD-1阳性,例如是否具有表达PD-L1或PD-1的肿瘤细胞或TIL,及若该个体具有PD-L1或PD-1阳性癌症或TIL细胞,则向该受试者施与抗MICA/B抗体(及视情况,PD-1或PD-L1拮抗剂),例如本文所描述的抗MICA/B抗体。一种用抗MICA/B抗体(及视情况,PD-1或PD-L1拮抗剂)治疗患有癌症的个体的方法可包含向具有表达PD-L1或PD-1的癌细胞或TIL细胞的受试者施与治疗有效量的MICA/B抗体(及视情况,PD-1或PD-L1拮抗剂)。本文还提供了用于预测个体是否将对用抗MICA/B抗体(及视情况,PD-1或PD-L1拮抗剂)进行的治疗有反应

的方法,其中所述方法包括测定患者的癌细胞或TIL细胞中的PD-L1或PD-1含量,及若个体的癌细胞或TIL细胞为PD-L1或PD-1阳性,则该个体很可能对用MICA抗体(及视情况,PD-1或PD-L1拮抗剂)进行的治疗有反应。

[0567] 抗MICA/B抗体可与标准照护治疗一起进行施与。抗MICA/B抗体可以维持疗法,例如意欲预防肿瘤出现或复发的疗法的形式进行施与。

[0568] 抗MICA/B抗体可为与另一治疗,例如放射线、手术或化学疗法一起进行施与。举例而言,可在具有可能存在微小转移灶的风险时和/或为了降低复发的风险而施与抗MICA/B抗体辅助疗法。

[0569] 抗MICA/B抗体可以单药疗法形式或以唯一免疫刺激疗法形式进行施与。针对MICA/B的抗体(例如抗MICA/B)也可与免疫原性药剂,诸如癌细胞、经纯化的肿瘤抗原(包括重组蛋白质、肽及碳水化合物分子)、细胞及经编码免疫刺激性细胞因子的基因转染的细胞组合(He等人,(2004)J.Immunol.173:4919-28)。可使用的肿瘤疫苗的非限制性实例包括黑素瘤抗原的肽,诸如gp100、MAGE抗原、Trp-2、MART1和/或酪氨酸酶的肽,或经转染以表达细胞因子GM-CSF的肿瘤细胞(下文进一步论述)。

[0570] 在人类中,已展示一些肿瘤具有免疫原性,诸如黑素瘤。藉由降低血浆中可溶性MICA/B的含量来降低T细胞活化的阈值,宿主中的肿瘤反应可得到,从而允许治疗非免疫原性肿瘤或免疫原性有限的那些肿瘤。

[0571] 抗MICA/B抗体(例如本文所描述的抗MICA/B抗体)可与疫苗接种方案组合。已设计许多用于针对肿瘤进行疫苗接种的实验策略(参见Rosenberg,S.,2000,Development of Cancer Vaccines,ASCO Educational Book Spring:60-62;Logothetis,C,2000,ASCO Educational Book Spring:300-302;Khayat,D.2000,ASCO Educational Book Spring:414-428;Foon,K.2000,ASCO Educational Book Spring:730-738;亦参见Restifo,N.及Sznol,M.,Cancer Vaccines,第61章,第3023-3043页,DeVita等人(编),1997,Cancer:Principles and Practice of Oncology,第五版))。在这些策略中的一者中,疫苗使用自体或同种异体肿瘤细胞来加以制备。已展示这些细胞疫苗在肿瘤细胞经转导以表达GM-CSF时最有效。已展示GM-CSF为用于肿瘤疫苗接种的抗原呈递的强效活化剂(Dranoff等人(1993)Proc.Natl.Acad.Sci U.S.A.90:3539-43)。

[0572] 对各种肿瘤中的基因表达及大规模基因表达模式的研究已引起对所谓的肿瘤特异性抗原进行定义(Rosenberg,S A(1999)Immunity 10:281-7)。在许多情况下,这些肿瘤特异性抗原为在肿瘤中及出现肿瘤的细胞中表达的分化抗原,例如黑素细胞抗原gp100、MAGE抗原及Trp-2。更重要的是,许多这些抗原可展示为在宿主中发现的肿瘤特异性T细胞的标靶。抗MICA/B抗体治疗可与在肿瘤中表达的一批重组蛋白质和/或肽结合使用,以便产生针对这些蛋白质的免疫反应。这些蛋白质通常被免疫系统视为自身抗原且因此对其具耐受性。肿瘤抗原可包括蛋白质端粒酶,其为染色体端粒的合成所需的且在超过85%的人类癌症中表达且仅在有限数目的体细胞组织中表达(Kim等人(1994)Science 266:2011-2013)。肿瘤抗原亦可为因体细胞突变而在癌细胞中表达的“新抗原”,所述突变改变蛋白质序列或在两个不相关序列之间产生融合蛋白质(亦即,费城染色体中的bcr-abl),或为来自B细胞肿瘤的个体基因型。

[0573] 其他肿瘤疫苗可包括来自人类癌症中所牵涉的病毒的蛋白质,所述病毒诸如人类

乳头状瘤病毒(HPV)、肝炎病毒(HBV及HCV)及卡波西疱疹肉瘤病毒(KHSV)。可与抗MICA/B抗体的施与结合使用的另一形式的肿瘤特异性抗原为自肿瘤组织本身分离的经纯化的热休克蛋白(HSP)。这些热休克蛋白质含有来自肿瘤细胞的蛋白质的片段,且这些HSP高效递送至抗原呈递细胞以引发肿瘤免疫性(Suot及Srivastava(1995)Science 269:1585-1588;Tamura等人(1997)Science 278:117-120。

[0574] 树突状细胞(DC)为可用于引发抗原特异性反应的强效抗原呈递细胞。DC可离体产生且负载有各种蛋白质及肽抗原以及肿瘤细胞提取物(Nestle等人(1998)Nature Medicine 4:328-332)。DC亦可藉由基因手段转导以亦表达这些肿瘤抗原。DC亦已出于免疫接种的目的而与肿瘤细胞直接融合(Kugler等人(2000)Nature Medicine 6:332-336)。作为一种疫苗接种方法,DC免疫接种可有效地与抗MICA/B抗体的施与组合以使更强效的抗肿瘤反应活化。

[0575] 抗MICA/B抗体的施与也可与标准癌症治疗(例如,手术、放射线及化学疗法)组合。抗MICA/B抗体的施与可有效地与化学治疗方案组合。在这些情况下,有可能减少所施与的化学治疗试剂的剂量(Mokyr等人(1998)Cancer Research 58:5301-5304)。此类组合的一个实例为抗MICA/B抗体与达喀尔巴嗪(decarbazine)组合用于治疗黑素瘤。此类组合的另一实例为抗MICA/B抗体与介白素-2(IL-2)(例如乙二醇化IL-2)组合用于治疗黑素瘤。支持抗MICA/B抗体与化学疗法组合使用的科学基本原理在于作为大部分化学治疗化合物的细胞毒性作用结果的细胞死亡应引起抗原呈递途径中的肿瘤抗原的含量增加。可在整个细胞死亡中引起与抗MICA/B抗体的施与的协同作用的其他组合疗法为放射线、手术及激素剥夺法。这些方案中的每一者在宿主中产生肿瘤抗原的来源。血管生成抑制剂也可与抗MICA/B抗体的施与组合。抑制血管生成引起肿瘤细胞死亡,其可将肿瘤抗原馈送至宿主抗原呈递途径中。

[0576] 本文所描述的抗MICA/B抗体也可与将Fcα或Fcγ受体表达性效应细胞靶向至肿瘤细胞的双特异性抗体组合使用(参见例如美国专利第5,922,845号及第5,837,243号)。双特异性抗体可用于靶向两个单独抗原。举例而言,抗Fc受体/抗肿瘤抗原(例如Her-2/neu)双特异性抗体已用于将巨噬细胞靶向至肿瘤位点。此靶向可更有效地使肿瘤特异性反应活化。这些反应的T细胞组将藉由抗MICA/B抗体的作用而扩充。或者,可藉由使用结合于肿瘤抗原及树突状细胞特异性细胞表面标记物的双特异性抗体将抗原直接递送至DC。

[0577] 肿瘤藉由多种机制逃避宿主免疫监视。许多这些机制可藉由使由肿瘤表达且具免疫抑制性的蛋白质失活来加以克服。这些蛋白质尤其包括TGF-β(Kehrl等人(1986)J.Exp.Med.163:1037-1050)、IL-10(Howard及O'Garra(1992)Immunology Today 13:198-200)及Fas配体(Hahne等人(1996)Science 274:1363-1365)。针对这些实体中的每一者的抗体可与抗MICA/B抗体组合使用,以抵消免疫抑制剂的作用且促进宿主的肿瘤免疫反应。

[0578] 使宿主免疫反应活化的其他抗体可与抗MICA/B抗体组合使用。这些抗体包括树突状细胞表面上的使DC功能及抗原呈递活化的分子。抗CD40抗体能够有效取代T细胞辅助活性(Ridge等人(1998)Nature 393:474-478)且可与抗MICA/B抗体结合使用。使针对T细胞共刺激性分子,诸如CTLA-4(例如美国专利第5,811,097号)、OX-40(Weinberg等人(2000)Immunol 164:2160-2169)、4-1BB(Melero等人(1997)Nature Medicine 3:682-685(1997)及ICOS(Hutloff等人(1999)Nature 397:262-266)的抗体活化也可使T细胞活化的水平增

加。PD1或PD-L1的抑制剂也可与抗MICA/B抗体结合使用。其他组合提供于本文中其他地方。

[0579] 骨髓移植目前用于治疗多种造血来源的肿瘤。虽然移植物抗宿主疾病为此治疗的后果,但可自移植物抗肿瘤反应获得治疗益处。MICA/B抑制可用于增加供体移植的肿瘤特异性T细胞的有效性。

[0580] 也存在涉及抗原特异性T细胞的离体活化及扩增以及将这些细胞授受性转移至接受者中以便刺激针对肿瘤的抗原特异性T细胞的若干实验性治疗方案(Greenberg及Riddell(1999)Science 285:546-51)。这些方法也可用于使针对诸如CMV的感染剂的T细胞反应活化。在抗MICA/B抗体存在下的离体活化可增加授受性转移的T细胞的出现率及活性。

[0581] XI.O.感染性疾病

[0582] 本文所描述的方法也可用于治疗已暴露于特定毒素或病原体中的患者。因此,本文所描述的另一方面提供一种在个体中治疗感染性疾病的方法,其包括向该受试者施与抗MICA/B抗体,以使得该个体的感染性疾病得到治疗。

[0583] 类似于如上文所论述的其对肿瘤的应用,抗MICA/B抗体可单独或以佐剂形式与疫苗组合进行施与,以刺激针对病原体、毒素及自身抗原的免疫反应。此治疗方法尤其适用于病原体的实例包括当前无有效疫苗的病原体,或习知疫苗不完全有效的病原体。这些病原体包括(但不限于)HIV、肝炎(A、B及C)、流感、疱疹、梨形鞭毛虫(Giardia)、疟疾、利什曼原虫(Leishmania)、金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)、绿脓假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)。抗MICA/B抗体可适用于针对由在感染过程中呈递改变的抗原的药剂(诸如HIV)确立的感染。这些新颖表位在抗人类MICA/B抗体施与时识别为外来物,因此引起强T细胞反应。

[0584] XI.P.组合疗法

[0585] 除上文所提供的组合疗法之外,如下文所描述,抗MICA/B抗体(例如本文所描述的那些抗体)也可用于组合疗法中,例如用于治疗癌症的组合疗法中。

[0586] 本文提供组合疗法的方法,其中抗MICA/B抗体与一种或多种有效刺激免疫反应的额外药剂(例如小分子药物、抗体或其抗原结合部分)一起进行共施与,以藉此在个体中进一步增强、刺激或上调免疫反应。

[0587] 一般而言,抗MICA/B抗体(例如本文所描述的抗体)可与以下组合:(i)免疫细胞(诸如T细胞)上的刺激性(例如共刺激性)分子(例如受体或配体)的激动剂和/或(ii)抑制性信号或分子(例如受体或配体)的拮抗剂,其两者均引起免疫反应,诸如抗原特异性T细胞反应扩大。在一些方面中,免疫肿瘤学药剂为(i)细胞上的刺激性(包括共刺激性)分子(例如受体或配体)的激动剂或(ii)抑制性(包括共抑制性)分子(例如受体或配体)的拮抗剂,所述细胞例如抑制T细胞活化的那些细胞或涉及先天性免疫性的那些细胞,例如NK细胞,且其中该免疫肿瘤学药剂增强先天性免疫性。此类免疫肿瘤学药剂通常称为免疫检查点调控子,例如免疫检查点抑制剂或免疫检查点刺激剂。

[0588] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体与靶向刺激性或抑制性分子的药剂一起进行施与,该分子为免疫球蛋白超家族(IgSF)的成员。举例而言,抗MICA/B抗体(例如本文所描述的抗体)可与靶向IgSF家族的成员的药剂一起向个体进行施与以增加免疫反应。举例而言,抗MICA/B抗体可与靶向(或特异性结合于)B7家族膜结合型配体的成员或特异性结合于B7家族成员的共刺激性或共抑制性受体或配体的药剂一起进行施与,该B7家族包括B7-1、B7-

2、B7-H1(PD-L1)、B7-DC(PD-L2)、B7-H2(ICOS-L)、B7-H3、B7-H4、B7-H5(VISTA)及B7-H6。

[0589] 抗MICA/B抗体也可与靶向TNF及TNFR家族分子(配体或受体)的成员的药剂一起进行施与,所述分子诸如CD40及CD40L、OX-40、OX-40L、CD70、CD27L、CD30、CD30L、4-1BBL、CD137、TRAIL/Apo2-L、TRAILR1/DR4、TRAILR2/DR5、TRAILR3、TRAILR4、OPG、RANK、RANKL、TWEAKR/Fn 14、TWEAK、BAFFR、EDAR、XEDAR、TACI、APRIL、BCMA、LTpR、LIGHT、DcR3、HVEM、VEGI/TL1A、TRAMP/DR3、EDA1、EDA2、TNFR1、淋巴毒素a/TNFp、TNFR2、TNFa、LTpR、淋巴毒素a1β2、FAS、FASL、RELT、DR6、TROY及NGFR(参见例如Tansey(2009)Drug Discovery Today 00:1)。

[0590] T细胞反应可由具有例如MICA.36、MICA.52、MICA.54、MICA.2及71C2的可变区的抗MICA/B抗体与以下药剂中的一或多者的组合来刺激:

[0591] (1)抑制T细胞活化的蛋白质的拮抗剂(抑制剂或阻断剂)(例如免疫检查点抑制剂),该蛋白质诸如CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、GITR及LAG-3、半乳糖凝集素9、CEACAM-1、BTLA、CD69、半乳糖凝集素-1、TIGIT、CD113、GPR56、VISTA、B7-H3、B7-H4、2B4、CD48、GARP、PD1H、LAIR1、TIM-1、TIM-3及TIM-4;和/或

[0592] (2)刺激T细胞活化的蛋白质的激动剂,该蛋白质诸如B7-1、B7-2、CD28、4-1BB(CD137)、4-1BBL、GITR、ICOS、ICOS-L、OX40、OX40L、CD70、CD27、CD40、DR3及CD28H。

[0593] 调节上文蛋白质的一且可与抗MICA/B抗体(例如本文所描述的那些抗体)组合用于治疗癌症的例示性药剂包括:YERVOY®(伊匹单抗)或曲美单抗(针对CTLA-4)、加利昔单抗(galiximab)(针对B7.1)、BMS-936558(针对PD-1)、MK-3475(针对PD-1)、阿特珠单抗(TECENTRIQ®)、AMP224(针对B7DC)、BMS-936559(针对B7-H1)、MPDL3280A(针对B7-H1)、MEDI-570(针对ICOS)、AMG557(针对B7H2)、MGA271(针对B7H3)、IMP321(针对LAG-3)、BMS-663513(针对CD137)、PF-05082566(针对CD137)、CDX-1127(针对CD27)、抗OX40(Providence Health Services)、huMAbOX40L(针对OX40L)、阿塞西普(Atacicept)(针对TACI)、CP-870893(针对CD40)、鲁卡木单抗(Lucatumumab)(针对CD40)、达西珠单抗(Dacetuzumab)(针对CD40)、莫罗单抗(Muromonab)-CD3(针对CD3);抗GITR抗体MK4166、TRX518、Medi1873、INBRX-110、LK2-145、GWN-323、GITRL-Fc或其任何组合。

[0594] 可与抗MICA/B抗体组合用于治疗癌症的其他分子包括NK细胞上的抑制性受体的拮抗剂或NK细胞上的活化性受体的激动剂。举例而言,抗MICA/B抗体可与KIR拮抗剂(例如利瑞路单抗)组合。

[0595] T细胞活化也由可溶性细胞因子调控,且抗MICA/B抗体可与抑制T细胞活化的细胞因子的拮抗剂或刺激T细胞活化的细胞因子的激动剂一起向例如患有癌症的个体进行施与。

[0596] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体可与以下组合使用:(i)抑制T细胞活化的IgSF家族或B7家族或TNF家族蛋白质的拮抗剂(或抑制剂或阻断剂)或抑制T细胞活化的细胞因子(例如IL-6、IL-10、TGF-β、VEGF;“免疫抑制性细胞因子”)的拮抗剂和/或(ii)IgSF家族、B7家族或TNF家族的刺激性受体或刺激T细胞活化的细胞因子的激动剂,以用于刺激免疫反应,例如用于治疗增生性疾病,诸如癌症。

[0597] 用于组合疗法的又其他药剂包括抑制或耗乏巨噬细胞或单核细胞的药剂,包括(但不限于)CSF-1R拮抗剂,诸如CSF-1R拮抗剂抗体,包括RG7155(WO11/70024、WO11/

107553、WO11/131407、WO13/87699、WO13/119716、WO13/132044)或FPA-008(WO11/140249、WO13169264、WO14/036357)。

[0598] 抗MICA/B抗体也可与抑制TGF-β信号传导的药剂一起进行施与。

[0599] 可与抗MICA/B抗体组合的额外药剂包括增强肿瘤抗原呈递的药剂,例如树突状细胞疫苗、GM-CSF分泌性细胞疫苗、CpG寡核苷酸及咪喹莫特;或增强肿瘤细胞的免疫原性的疗法(例如蒽环霉素)。

[0600] 可与抗MICA/B抗体组合的又其他疗法包括耗乏或阻断Treg细胞的疗法,例如特异性结合于CD25的药剂。

[0601] 可与抗MICA/B抗体组合的另一疗法为抑制代谢酶的疗法,该代谢酶诸如吲哚胺双加氧酶(IDO)、双加氧酶、精氨酸酶或氧化氮合成酶。适合的IDO拮抗剂包括例如INCB-024360(WO2006/122150、WO07/75598、WO08/36653、WO08/36642)、因多莫得(indoximod)、NLG-919(WO09/73620、WO09/1156652、WO11/56652、WO12/142237)或FO01287。

[0602] 可与抗MICA/B抗体一起使用的另一类药剂包括抑制腺苷形成(例如CD73抑制剂)或抑制腺苷A2A受体的药剂。

[0603] 可与抗MICA/B抗体组合用于治疗癌症的其他疗法包括逆转/防止T细胞无反应性(anergy)或耗竭(exhaustion)的疗法及在肿瘤位点处触发先天性免疫活化和/或发炎的疗法。

[0604] 抗MICA/B抗体可与超过一种免疫肿瘤学药剂组合,且可例如与靶向免疫途径的多个组件的组合方法组合,诸如以下中的一或多者:增强肿瘤抗原呈递的疗法(例如树突状细胞疫苗、GM-CSF分泌性细胞疫苗、CpG寡核苷酸、咪喹莫特);抑制负向免疫调控的药剂,例如藉由抑制CTLA-4途径和/或PD1/PD-L1/PD-L2途径和/或耗乏或阻断Treg或其他免疫抑制细胞来进行;刺激正向免疫调控的疗法,例如使用刺激CD-137、OX-40和/或CD40或GITR途径和/或刺激T细胞效应功能的激动剂来进行;全身性地增加抗肿瘤T细胞的出现率的疗法;耗乏或抑制Treg(诸如肿瘤中的Treg)的疗法,例如使用CD25拮抗剂(例如达利珠单抗(daclizumab))或藉由离体抗CD25珠粒耗乏来进行;影响肿瘤中的抑制性髓样细胞的功能的疗法;增强肿瘤细胞免疫原性的疗法(例如蒽环霉素);授受性T细胞或NK细胞转移,包括经基因修饰的细胞,例如经嵌合抗原受体修饰的细胞(CAR-T疗法);抑制代谢酶(诸如吲哚胺双加氧酶(IDO)、双加氧酶、精氨酸酶或氧化氮合成酶)的疗法;逆转/防止T细胞无反应性或耗竭的疗法;在肿瘤位点处触发先天性免疫活化和/或发炎的疗法;施与免疫刺激性细胞因子;或阻断免疫抑制性细胞因子。

[0605] 本文所描述的抗MICA/B抗体可与以下中的一或多者一起使用:接合正向共刺激性受体的激动剂、减弱经由抑制性受体的信号传导的阻断剂、拮抗剂及一种或多种全身性地增加抗肿瘤T细胞的出现率的药剂、克服肿瘤微环境内的不同免疫抑制途径(例如阻断抑制性受体接合(例如PD-L1/PD-1相互作用),耗乏或抑制Treg(例如使用抗CD25单克隆抗体(例如达利珠单抗)或藉由离体抗CD25珠粒耗乏),抑制代谢酶(诸如IDO),或逆转/防止T细胞无反应性或耗竭)的药剂及在肿瘤位点处触发先天性免疫活化和/或发炎的药剂。

[0606] 在一些实施方案中,若个体为BRAF V600突变阳性,则抗MICA/B抗体与BRAF抑制剂一起向该个体进行施与。

[0607] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体与特异性结合以下的抗体一起向个体进行施

与:PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG3、TIGIT、TIM3、NKG2a、OX40、ICOS、CD137、KIR、TGFβ、IL-10、IL-8、IL-2、B7-H4、Fas配体、CXCR4、间皮素、CD27、VISTA、CD96、GITR或其任何组合。

[0608] 本文所描述的抗MICA/B抗体及组合疗法也可与其他熟知的因针对所治疗适应症(例如癌症)的特定适用性而选择的疗法结合使用。本文所描述的抗MICA/B抗体的组合可与已知的药学上可接受的药剂依序使用。

[0609] 举例而言,本文所描述的抗MICA/B抗体及组合疗法可与以下额外治疗组合使用(例如同时或分开):诸如辐射和/或化学疗法(例如使用喜树碱(camptothecin)(CPT-11)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil,5-FU)、顺铂、多柔比星、伊立替康(irinotecan)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、吉西他滨(gemcitabine)、顺铂、太平洋紫杉醇、卡铂-太平洋紫杉醇(紫杉醇(Taxol))、多柔比星或喜树碱+apo2l/TRAIL(6X联合体))、一种或多种蛋白酶体抑制剂(例如硼替佐米或MG132)、一种或多种Bcl-2抑制剂(例如BH3I-2'(bcl-xl抑制剂)、吲哚胺双加氧酶-1抑制剂(例如INCB24360、因多莫得、NLG-919或F001287)、AT-101(R-(-)-棉籽醇衍生物)、ABT-263(小分子)、GX-15-070(奥巴拉西(obatoclax))或、MCL-1(骨髓白血病细胞分化蛋白质-1)拮抗剂),iAP(细胞凋亡蛋白质的抑制剂)拮抗剂(例如smac7、smac4、小分子smac模拟物、合成smac肽(参见Fulda等人,Nat Med 2002;8:808-15)、ISIS23722(LY2181308)或AEG-35156(GEM-640))、HDAC(组蛋白脱乙酰基酶)抑制剂、抗CD20抗体(例如利妥昔单抗)、血管生成抑制剂(例如贝伐单抗)、靶向VEGF及VEGFR的抗血管生成剂(例如癌思停(Avastin))、合成三萜化合物(参见Hyer等人,Cancer Research 2005;65:4799-808)、c-FLIP(细胞FLICE抑制性蛋白质)调节剂(例如PPARγ(过氧化物酶体增殖剂活化受体γ)的天然及合成配体、5809354或5569100)、激酶抑制剂(例如索拉非尼(Sorafenib))、曲妥珠单抗、西妥昔单抗、坦罗莫司(Temsirolimus)、mTOR抑制剂(诸如雷帕霉素(rapamycin)及坦罗莫司)、硼替佐米、JAK2抑制剂、HSP90抑制剂、PI3K-AKT抑制剂、来那度胺、GSK3P抑制剂、IAP抑制剂和/或遗传毒性药物。

[0610] 本文所描述的抗MICA/B抗体及组合疗法可进一步与一种或多种抗增殖性细胞毒性剂组合使用。可用作抗增殖性细胞毒性剂的化合物类别包括(但不限于)以下:

[0611] 烷基化剂(包括(但不限于)氮芥(nitrogen mustards)、伸乙基亚胺衍生物、烷基磺酸酯、亚硝基脲(nitrosourea)及三氮烯(triazene):尿嘧啶氮芥(Uracil mustard)、氮芥(Chlormethine)、环磷酰胺(CYTOXAN™)、异环磷酰胺、美法仑(Melphalan)、苯丁酸氮芥、哌泊溴烷(Pipobroman)、三伸乙基三聚氰胺(Triethylenemelamine)、三伸乙基硫代磷胺(Triethylenethiophosphoramine)、白消安(Busulfan)、卡莫司汀、洛莫司汀(Lomustine)、链脲菌素(Streptozocin)、达喀尔巴嗪及替莫唑胺(Temozolomide)。

[0612] 抗代谢物(包括(但不限于)叶酸拮抗剂、嘧啶类似物、嘌呤类似物及腺苷脱胺酶抑制剂):氨甲蝶呤(Methotrexate)、5-氟尿嘧啶、氟尿苷(Floxuridine)、阿糖胞苷、6-巯基嘌呤、6-硫代鸟嘌呤、磷酸氟达拉宾、喷司他丁及吉西他滨。

[0613] 用于与抗MICA/B抗体组合的适合的抗增殖剂(但不限于):紫杉烷(taxane)、太平洋紫杉醇(太平洋紫杉醇可以TAXOL™购得)、多烯紫杉醇(docetaxel)、迪斯德莫来(discodermolide,DDM)、迪克斯汀(dictyostatin,DCT)、派洛西德A(Peloruside A)、埃博霉素(epothilone)、埃博霉素A、埃博霉素B、埃博霉素C、埃博霉素D、埃博霉素E、埃博霉素F、呋喃并埃博霉素D(furanoepothilone D)、脱氧埃博霉素B1、[17]-脱氢脱氧埃博霉素B、

[18]脱氢脱氧埃博霉素B、C12,13-环丙基-埃博霉素A、C6-C8桥接埃博霉素A、反-9,10-脱氢埃博霉素D、顺-9,10-脱氢埃博霉素D、16-脱甲基埃博霉素B、埃博霉素BIO、迪斯德莫来(discoderomolide)、帕土匹龙(patupilone)(EPO-906)、KOS-862、KOS-1584、ZK-EPO、ABJ-789、XAA296A(迪斯德莫来)、TZT-1027(索利多汀(soblidotin))、ILX-651(塔斯汀盐酸盐(tasidotin hydrochloride))、软海绵素B、甲磺酸艾日布尔(Eribulin mesylate)(E-7389)、哈米特林(Hemiasterlin)(HTI-286)、E-7974、斯普新(Cyrptophycin)、LY-355703、类美登素免疫缀合物(DM-1)、MKC-1、ABT-751、T1-38067、T-900607、SB-715992(伊斯平斯(ispinesib))、SB-743921、MK-0731、STA-5312、艾榴塞洛素(eleutherobin)、17β-乙酰氧基-2-乙氧基-6-侧氧基-B-高-雌甾-1,3,5(10)-三烯-3-醇、环斯特里蛋白(cyclostreptin)、异莱利霉素(isolaulimalide)、莱利霉素(laulimalide)、4-表-7-脱羟基-14,16-二脱甲基-(+)-迪斯德莫来及克里普霉素(cryptothilone)1,以及此项技术中已知的微管蛋白稳定剂。

[0614] 在其中需要结合用本文所描述的抗MICA/B抗体进行治疗或在用本文所描述的抗MICA/B抗体治疗之前使异常增殖细胞休眠的情况下,也可向患者施与激素及类固醇(包括合成类似物),诸如17a-炔雌醇、二乙基己烯雌酚、睾酮、泼尼松(Prednisone)、氟甲睾酮(Fluoxymesterone)、丙酸屈他雄酮(Dromostanolone propionate)、睾内酯、乙酸甲地孕酮(Megestrolacetate)、甲基泼尼龙(Methylprednisolone)、甲基-睾酮(Methyl-testosterone)、泼尼龙(Prednisolone)、曲安西龙(Triamcinolone)、氯三芳乙烯(Chlorotrianisene)、羟基孕酮(Hydroxyprogesterone)、胺鲁米特(Aminoglutethimide)、雌莫司汀(Estramustine)、乙酸甲羟孕酮(Medroxyprogesteroneacetate)、亮丙立德(Leuprolide)、氟他胺(Flutamide)、托瑞米芬(Toremifene)、ZOLADEX®。当采用本文所描述的方法或组合物时,在临床环境中调节肿瘤生长或癌转移所用的其他药剂,诸如止吐剂亦可按需要进行施与。

[0615] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体与本文所论述的第二药剂的组合可以单一组合物形式在药学上可接受的载剂中同时进行施与,或以抗MICA/B抗体及第二药剂于药学上可接受的载剂中的单独组合物形式同时进行施与。在一些实施方案中,抗MICA/B抗体与第二药剂的组合可依序进行施与。两种药剂的施与可在相隔例如30分钟、60分钟、90分钟、120分钟、3小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、3天、5天、7天或一或多周的时间开始,或第二药剂的施与可在已施与第一药剂之后例如30分钟、60分钟、90分钟、120分钟、3小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、3天、5天、7天或一或多周时开始。

[0616] 在一些实施方案中,可与抗MICA/B抗体和/或第二药剂组合的抗赘生性抗体包括RITUXAN®(利妥昔单抗)、HERCEPTIN®(曲妥珠单抗)、BEXXAR®(托西莫单抗(tositumomab))、ZEVALIN®(异贝莫单抗(ibritumomab))、CAMPATH®(阿仑单抗)、LYMPHOCIDE®(依帕珠单抗(eprtuzumab))、AVASTIN®(贝伐单抗)及TARCEVA®(厄洛替尼(erlotinib))或其任何组合。在一些实施方案中,适用于与抗MICA/B抗体的组合疗法的第二抗体可为抗体药物结合物。

[0617] 在一些实施方案中,抗MICA/B抗体单独或与另一药剂的组合与骨髓移植同时或依序使用以治疗多种造血来源肿瘤。

[0618] 本文提供用于改变与用免疫刺激剂治疗过度增生性疾病(例如癌症)相关联的不

良事件的方法,其包括在存在或不存在第二药剂的情况下向受试者施与抗MICA/B抗体。举例而言,本文所描述的方法提供一种降低免疫刺激性治疗抗体诱发的结肠炎或腹泻的发病率的方法,其藉由向患者施与不可吸收性类固醇来进行。如本文所用,“不可吸收性类固醇”为展现极大首过代谢以使得在于肝中代谢后,类固醇的生物可用率较低,也即小于约20%的糖皮质激素。在本文所描述的一些实施方案中,不可吸收性类固醇类固醇为布地奈德(budesonide)。布地奈德为局部起效的糖皮类固醇,其在口服后主要藉由肝脏大量代谢。ENTOCORT EC® (Astra-Zeneca)为经研发以使递送至回肠且通过整个结肠的药物递送优化的布地奈德的pH及时间依赖性口服制剂。ENTOCORT EC®在美国被批准用于治疗涉及回肠和/或升结肠的轻度至中度克罗恩氏病(Crohn's disease)。在一些实施方案中,与不可吸收性类固醇结合的抗MICA/B抗体可进一步与水杨酸盐组合。水杨酸盐包括5-ASA药剂,诸如:柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)(AZULFIDINE®,Pharmacia&Up John);奥色拉嗪(olsalazine)(DJPENTUM®,Pharmacia&Up John);巴柳氮(balsalazide)(COLAZAL®,Salix Pharmaceuticals,Inc.);及美色拉嗪(mesalamine)(ASACOL®,Procter&Gamble Pharmaceuticals;PENTASA®,Shire US;CANASA®,Axcan Scandipharm,Inc.;ROWASA®,Solvay)。

[0619] 表1.序列

[0620]

SEQ ID	描述	序列
1	19G6-MICA.36 VH1	CAGGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGG TCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAACTATGCC ATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCGAGGGGCTGGAATGGGTGGCAC TTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATTCTATGGAGACTCCGTGAAGGGCC GCTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGAGCGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGG GAAGTGGGCACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
2	19G6-MICA.36 VH1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMHWVRQAPGEGLEWVAL IWYDGSNKFYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLSAEDTAVYYCAREGS GHYWGQGTLVTVSS
3	19G6-MICA.36 VK1	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGA CAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATCAGCAGTGCTTTA GCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGTCCCTGATCTATGA TGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGA TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTT TGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCGATCACCTTCGGCCA AGGGACACGACTGGAGATTAAA

[0621]

SEQ ID	描述	序列
4	19G6-MICA.36 VK1	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKVPKSLIYDASS LESGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPITFGQGTRLEIK
5	19G6-MICA.36 VH1_CDR1	NYAMH
6	19G6-MICA.36 VH1_CDR2	LIWYDGSNKFYGDSVKG
7	19G6-MICA.36 VH1_CDR3	EGSGHY
8	19G6-MICA.36 VK1_CDR1	RASQGISSALA
9	19G6-MICA.36 VK1_CDR2	DASSLES
10	19G6-MICA.36 VK1_CDR3	QQFNSYPIT
11	16A5-MICA.52 VH1	ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGCTCTTTTAAGAGGTGT CCAGTGTCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACGTGGTCCAGCCT GGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAA CTATAACATACACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGG GTGGCAGTTATAAGGTATGATGGAATTAATAAATACTATGCAGACTCCGTG AAGGGCCGATTCATCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCT GCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG AGCGGGCCCCCTGATGCTTTTAATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCAC CGTCTCTTCA
12	16A5-MICA.52 VH1	MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNY NIHWVRQAPGKGLEWVAVIRYDGINKYYADSVKGRFIISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCASGP PDAFNIWGQGTMVTVSS
13	16A5-MICA.52 VK1	ATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGG TGCCAGATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATC TGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATCAGC AGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGTCCCT GATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCG GCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCGATCACC TTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA
14	16A5-MICA.52 VK1	MRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSAL AWYQQKPGKVPKSLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQFNSYPITFGQGTRLEIK
127	16A5-MICA.52 VK2	ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCT CCCAGGTGCCAGATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGG CATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTA AGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGG TTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCT GCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCC ATTCACTTT CGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
128	16A5-MICA.52	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISS

[0622]

SEQ ID	描述	序列
	VK2	ALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQFNSYPFTFGPGTKVDIK
15	16A5-MICA.52 VH1_CDR1	NYNIH
16	16A5-MICA.52 VH1_CDR2	VIRYDGINKYYADSVKG
17	16A5-MICA.52 VH1_CDR3	GPPDAFNI
18	16A5-MICA.52 VK1_CDR1	RASQGISSALA
19	16A5-MICA.52 VK1_CDR2	DASSLES
20	16A5-MICA.52 VK1_CDR3	QQFNSYPIT
21	24G11-MICA.54 VH1	ATGGGGTCAACCGCCATCCTCGCCCTCCTCCTGGCTGTTCTCCAAGGAGT CTGTGCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCC CGGGGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGTTTTACCA ACTACTGGATCGGCTGGGTGCGCCAGATGCCCGGGAAAGGCCTGGAGTG GTTGGGGATCATCCATCCTGGTGACTCTTATACCAGATACAGCCCGTCCTT CCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCCATCAGCACCGCCTAC CTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATATATTACTGTGC GAGAGAGGGTATAGCAGCAACTCCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACC CTGGTCACCGTCTCCTCA
22	24G11-MICA.54 VH1	MGSTAILALLLAVLQGVCAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNY WIGWVRQMPGKGLEWLGIIHPGDSYTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWS SLKASDTAIYYCAREG IAATPFDYWGQGTLVTVSS
23	24G11-MICA.54 VK1	ATGGAAGCCCCAGCTCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGAT ACCACCGGAGAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTC TCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGC AGCTACTTAGCCTGGTTCCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCT CATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGTG GCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCC TGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCCGA CGTTCGGCCA AGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
24	24G11-MICA.54 VK1	MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WFQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYY CQQRSNWPPTFG QGTKVEIK
25	24G11-MICA.54 VH1_CDR1	NYWIG
26	24G11-MICA.54 VH1_CDR2	IIHPGDSYTRYSPSFQG
27	24G11-MICA.54 VH1_CDR3	EGIAATPFDY
28	24G11-MICA.54 VK1_CDR1	RASQSVSSYLA

[0623]

SEQ ID	描述	序列
29	24G11-MICA.54 VK1_CDR2	DASNRAT
30	24G11-MICA.54 VK1_CDR3	QQRSNWPPT
31	3F5-MICA.2 VH1	ATGGAGTTGGGGCTGTGCTGGATTTTCCTTGTTGCTATTTTAGAAGGTGTC CAGTGTGAGGTGCAACTGGTGGAATCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTG GGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTACC TATAGCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGG TTTCATACATTAGTTATCGTAGTCGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAA GGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAGGAACTCACTGTATCTGC AAATGAACAGCCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAG ATGGGGCTATGGTTCGGGGGGCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTG GTCACCGTCTCCTCA
32	3F5-MICA.2 VH1	MELGLCWIFLVAILEGVQCEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYS MNWVRQAPGKGLEWVSYISYRSRTIYYADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMN SLRDEDTAVYYCARWGYGSGGFDYWGQGTLVTVSS
33	3F5-MICA.2 VK1	ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGA TACCACCGGAGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAG CAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCATTC ACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
34	3F5-MICA.2 VK1	METPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYL AWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCQQYGSSFTFGPGTKVDIK
35	3F5-MICA.2 VH1_CDR1	TYSMN
36	3F5-MICA.2 VH1_CDR2	YISYRSRTIYYADSVKG
37	3F5-MICA.2 VH1_CDR3	WGYGSGGFDY
38	3F5-MICA.2 VK1_CDR1	RASQSVSSSYLA
39	3F5-MICA.2 VK1_CDR2	GASSRAT
40	3F5-MICA.2 VK1_CDR3	QQYGSSFT
41	71C2 VH1	ATGGAGTTGGGACTGAGCTGGATTTTCCTTTTGGCTATTTTAAAAGGTGTC CAGTGTGAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTG GCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAATAATT ATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTACTTGGAATAGTGATAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAA GGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGC AAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAA

[0624]

SEQ ID	描述	序列
		AGATTCCGTATTACTATGGTTCGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA CCACGGTCACCGTCTCCTC A
42	71C2 VH1	MELGLSWIFLLAILKGVQCEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNNYA MHWVRQAPGKGLEWVSGITWNSDSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTALYYCAKDS VLLWFGGMDVWGQGTTVTVSS
43	71C2 VK1	ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGA TACCACCGGAGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAG CAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCT CCGTACACTTT TGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
44	71C2 VK1	METPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYL AWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCQQYGSSPPYT FGQGTKLEIK
45	71C2 VH1_CDR1	NYAMH
46	71C2 VH1_CDR2	GITWNSDSIGYADSVKG
47	71C2 VH1_CDR3	DSVLLWFGGMDV
48	71C2 VK1_CDR1	RASQSVSSSYLA
49	71C2 VK1_CDR2	GASSRAT
50	71C2 VK1_CDR3	QQYGSSPPYT
58	19G6-MICA.36 G236A重链AA	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMHWVRQAPGEGLEWVAL IWYDGSNKFYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLSAEDTAVYYCAREGS GHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
59	19G6-MICA.36 G236A重链NT	caggtgcaactggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctgga ttcaccttcagtaactatgccatgcactgggtccgccaggctccaggcgaggggctggaatgggtggcacttatatggta tgatggaagtaataaattctatggagactccgtgaagggccgcttcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgt atctgcaaatgaacagcctgagcgccgaggacacggctgtgtattactgtgcgagagagggaagtgggcactactgg ggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagctagcaccaagggcccatcggtcttcccctggcaccctcctccaag agcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaa ctcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtg gtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtg gacaagagagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctggcggga

[0625]

SEQ ID	描述	序列
		ccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacatgcgtggtggt ggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaat ggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc tgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaa gaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcag caggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtccc cgggt
60	19G6-MICA.36 轻链AA	aiqltqspsslsasvgdrvtitcrasqgissalawyqqkpgkvpksliydasslesgvpsrfsgsgsgtdftltisslqpe dfatyycqqfnsypitfgqgtrleikrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalqsgns qesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec
61	19G6-MICA.36 轻链NT	gccatccagttgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagtca gggcatcagcagtgctttagcctggtatcagcagaaaccagggaaagttcctaagtccctgatctatgatgcctccagttt ggaaagtggggtcccatcaaggttcagcggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcct gaagattttgcaacttattactgtcaacagtttaatagttacccgatcaccttcggccaagggacacgactggagattaaac gtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctg ctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggag agtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacg agaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacagggga gagtgt
62	16A5-MICA.52 重链AA	QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYNIHWVRQAPGKGLEWVAVI RYDGINKYYADSVKGRFIISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASGPPDA FNIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
63	16A5-MICA.52 重链NT	caggtgcagctggtggagtctgggggagacgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctgga ttcaccttcagtaactataacatacactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggcagttataaggt atgatggaattaataaatactatgcagactccgtgaagggccgattcatcatctccagagacaattccaagaacacgctgt atctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgcgagcgggccccctgatgcttttaatatc tggggccaagggacaatggtcaccgtctcttcagctagcaccaagggcccatcggtcttcccctggcaccctcctcca agagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtgg aactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcg tggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaagg tggacaagagagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggggg gaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggtg gtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagac aaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctga atggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaa gggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctga cctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactac aagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggc

[0626]

SEQ ID	描述	序列
		agcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtc cccgggt
64	16A5-MICA.52 轻链AA	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKVPKSLIYDASS LESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPITFGQGTRLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
65	16A5-MICA.52 轻链NT	gccatccagttgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagtca gggcatcagcagtgctttagcctggtatcagcagaaaccagggaaagttcctaagtccctgatctatgatgcctccagttt ggaaagtggggtcccatcaaggttcagcggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcct gaagattttgcaacttattactgtcaacagtttaatagttacccgatcaccttcggccaagggacacgactggagattaaac gtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctg ctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggag agtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacg agaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacagggga gagtgt
66	24G11-MICA.54重链AA	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKGLEWLGII HPGDSYTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAIYYCAREGIAAT PFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
67	24G11-MICA.54重链NT	gaggtgcagctggtgcagtctggagcagaggtgaaaaagcccggggagtctctgaagatctcctgtaagggttctgga tacagttttaccaactactggatcggctgggtgcgccagatgcccgggaaaggcctggagtggttggggatcatccatc ctggtgactcttataccagatacagcccgtccttccaaggccaggtcaccatctcagccgacaagtccatcagcaccgcc tacctgcagtggagcagcctgaaggcctcggacaccgccatatattactgtgcgagagagggtatagcagcaactccct ttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagctagcaccaagggcccatcggtcttcccccctggcacc ctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggt gtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctc agcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaac accaaggtggacaagagagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactc ctgggggggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacat gcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataat gccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccagg actggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctcca aagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagg tcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggag aacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctatagcaagctcaccgtggacaaga gcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcc tctccctgtccccgggt
68	24G11-MICA.54轻链AA	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWFQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN

[0627]

SEQ ID	描述	序列
		SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
69	24G11-MICA.54轻链NT	gaaattgtgttgacacagtctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctcctgcagggccagtcagagtgttagcagctacttagcctggttccaacagaaacctggccaggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcccagccaggttcagtggcagtgggtctgggacagacttcactctcaccatcagcagcctagagcctgaagattttgcagtttattactgtcagcagcgtagcaactggcctccgacgttcggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt
70	3F5-MICA.2重链AA	evqlvesggglvqpggslrlscaasgftfstysmnwvrqapgkglewvsyisyrsrtiyyadsvkgrftisrdnarnslylqmnslrdedtavyycarwgygsggfdywgqgtlvtvssastkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkrvepkscdkthtcppcpapellggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspg
71	3F5-MICA.2重链NT	gaggtgcaactggtggaatctgggggaggcttggtacagcctgggggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccttcagtacctatagcatgaactgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtgggtttcatacattagttatcgtagtcgtaccatatactacgcagactctgtgaagggccgattcaccatctccagagacaatgccaggaactcactgtatctgcaaatgaacagcctgagagacgaggacacggctgtgtattactgtgcgagatggggctatggttcgggggctttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagctagcaccaagggcccatcggtcttcccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtccccgggt
72	3F5-MICA.2轻链AA	eivltqspgtlslspgeratlscrasqsvsssylawyqqkpgqaprlliygassratgipdrfsgsgsgtdftltisrlpedfavyycqqygssftfgpgtkvdikrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec
73	3F5-MICA.2轻链NT	Gaaattgtgttgacgcagtctccaggcaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctcctgcagggccagtcagagtgttagcagcagctacttagcctggtaccagcagaaacctggccaggctcccaggctcctcatctatggtgcatccagcagggccactggcatcccagacaggttcagtggcagtgggtctgggacagacttcactctcaccatcagcagactggagcctgaagattttgcagtgtattactgtcagcagtatggtagctcattcactttcggccctgggaccaaagtggatatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggg

[0628]

SEQ ID	描述	序列
		gagagtgt
51	人类MICA	MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLAEVHLD GQPFLRYDRQKCRAKPQGQWAEDVLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLA HIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETEEWTVP QSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESGVVLR RTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWRQDGVSLSHDTQQWG DVLPDGNGTYQTWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQS HWQTFHVSAVAAGCCYFCYYYFLCPLL
109	MICA1 (MICA变体)	MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLTEVHLD GQPFLRCDRQKCRAKPQGQWAEDVLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLA HIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETKEWTMP QSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLKSGVVLR RTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWNITLSWRQDGVSLSHDTQQW GDVLPDGNGTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVL QSHWQTFHVSAVAAAAIFVIIIFYVRCCKKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVG TSDHRDATQLGFQPLMSDLGSTGSTEGA
110	MICA*002	MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSGDGSVQSGFLAEVHLD GQPFLRCDRQKCRAKPQGQWAEDVLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLA HIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETEEWTMP QSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLKSGVVLR RTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWNITLSWRQDGVSLSHDTQQW GDVLPDGNGTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVL QSHWQTFHVSAVAAAAIFVIIIFYVRCCKKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVG TSDHRDATQLGFQPLMSDLGSTGSTEGT
111	MICA*004	MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLAEVHLD GQPFLRYDRQKCRAKPQGQWAEDVLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLA HIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNVETEEWTVP QSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESSVVLR RRVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNITLSTRQDGVSLSHDTQQWG DVLPDGNGTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQS HWQTFHVSAVAAAAAAIFVIIIFYVRCCKKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVG TSDHRDATQLGFQPLMSALGSTGSTEGA
112	MICA*008	MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLAEVHLD GQPFLRYDRQKCRAKPQGQWAEDVLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLA HIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETEEWTVP QSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESGVVLR RTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWRQDGVSLSHDTQQWG DVLPDGNGTYQTWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQS HWQTFHVSAVAAAAIFVIIIFYVRCC
113	MICA*009	MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLAEVHLD GQPFLRYDRQKCRAKPQGQWAEDVLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLA HIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETEEWTVP QSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESSVVLR RTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNITLTWRQDGVSLSHDTQQW GDVLPDGNGTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVL

[0629]

SEQ ID	描述	序列
		QSHWQTFHVSAVAAAAIFVIIIFYVRCCKKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVG TSDHRDATQLGFQPLMSALGSTGSTEGT
114	MICA*010	MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLPYNLTVLSWDGSVQSGFLAEVHLD GQPFLRYDRQKCRAKPQGQWAEDVLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLA HIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETEEWTVP QSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESSVVLR RTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWRQDGVSLSHDTQQWG DVLPDGNGTYQTWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQS HWQTFHVSAVAAAAAIFVIIIFYVRCCKKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGT SDHRDATQLGFQPLMSALGSTGSTEGA
115	MICA.20 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYSMNWVRQAPGKGLEWVSYI SYRSRTIYYADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARWGYG SGGFDYWGQGTLVTVSS
116	MICA.20 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAS SRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVE IK
117	MICA.21 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYSMNWVRQAPGKGLEWVSYI SYRSRTIYYADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARWGYG SGGFDYWGQGTLVTVSS
118	MICA.21 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAS SRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPYTFGQGTKLEI K
119	MICA.22 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYSMNWVRQAPGKGLEWVSYI SYRSRTIYYADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARWGYG SGGFDYWGQGTLVTVSS
120	MICA.22 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAS SRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI K
121	MICA.38 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYSMNWVRQAPGKGLEWVSYI SYRSRTIYYADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARWGYG SGGFDYWGQGTLVTVSS
122	MICA.38 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAS SRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSSFTFGPGTKVDI K
127	16A5-MICA.52 VK2 NT	atggacatgagggtccccgctcagctcctggggcttctgctgctctggctcccaggtgc cagatgtgccatccagttgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacag agtcaccatcacttgccgggcaagtcagggcattagcagtgctttagcctggtatcagca gaaaccagggaaagctcctaagctcctgatctatgatgcctccagtttggaaagtggggt cccatcaaggttcagcggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagcct gcagcctgaagattttgcaacttattactgtcaacagtttaatagttacccattcacttt cggccctgggaccaaagtggatatcaaa
128	16A5-MICA.52 VK2 AA	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISS ALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQFNSYPFT FGPGTKVDIK
130	19G6-MICA.36	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMHWVRQAPGEGLEWVAL

[0630]

SEQ ID	描述	序列
	重链AA (236G)	IWYDGSNKFYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLSAEDTAVYYCAREGS GHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
131	19G6-MICA.36 重链NT (236G)	caggtgcaactggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctgga ttcaccttcagtaactatgccatgcactgggtccgccaggctccaggcgaggggctggaatgggtggcacttatatggta tgatggaagtaataaattctatggagactccgtgaagggccgcttcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgt atctgcaaatgaacagcctgagcgccgaggacacggctgtgtattactgtgcgagagagggaagtgggcactactgg ggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagctagcaccaagggcccatcggtcttcccctggcaccctcctccaag agcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaa ctcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtg gtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtg gacaagagagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggggga ccgtcagtcttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggtggt ggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaat ggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagccccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc tgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaa gaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcag caggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtccc cgggt

[0631] 除非另外指示,否则本发明的实践将采用细胞生物学、细胞培养、分子生物学、转基因生物学、微生物学、重组DNA及免疫学的习知技术,这些习知技术属于此项技术的技能范围内。此类技术在文献中得到充分解释。参见例如Sambrook等人编(1989)Molecular Cloning A Laboratory Manual(第2版;Cold Spring Harbor Laboratory Press);Sambrook等人编(1992)Molecular Cloning:A Laboratory Manual,(Cold Springs Harbor Laboratory,NY);D.N.Glover编,(1985)DNA Cloning,第I及II卷;Gait编(1984)Oligonucleotide Synthesis;Mullis等人美国专利第4,683,195号;Hames及Higgins编(1984)Nucleic Acid Hybridization;Hames及Higgins编(1984)Transcription And Translation;Freshney(1987)Culture Of Animal Cells(Alan R.Liss,Inc.);Immobilized Cells And Enzymes(IRL Press)(1986);Perbal(1984)APractical Guide To Molecular Cloning;论丛Methods In Enzymology(Academic Press,Inc.,N.Y.);Miller及Calos编(1987)Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells,(Cold Spring Harbor Laboratory);Wu等人编,Methods In Enzymology,第154及155卷;Mayer及Walker编(1987)Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology(Academic Press,London);Weir及Blackwell编,(1986)Handbook Of Experimental Immunology,第I-IV卷;Manipulating the Mouse Embryo,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.,(1986);Crooks,Antisense drug Technology:Principles,strategies and applications,第2版CRC Press(2007),及Ausubel等人(1989)Current Protocols in Molecular Biology(John Wiley and Sons,Baltimore,Md.)。

[0632] 以下实施例是以说明而非限制的方式提供。

实施例

[0633] 实施例1.抗体产生及筛选

[0634] 用经全长人类MICA/B转染的CHO细胞对人类IgG转基因(Hco7:01[J/K](BALB/c))小鼠进行免疫接种。使来自经免疫接种的小鼠的脾细胞与SP2/0融合配偶体融合。首先使用HTRF分析针对人类IgG抗体的存在来筛选杂交瘤上清液。随后藉由在ELISA中与hMICA的结合,继而藉由使用表达人类MICA/B各种等位基因的CHO细胞进行的FACS分析来测定抗原特异性。对这些FACS阳性mAb进一步在功能分析中表征亲和力及效能。杂交瘤3F5、16A5、71C2、19G6及24G11为代表性抗体克隆。

[0635] 实施例2.MICA/B抗体的重组表达

[0636] 本文所描述的抗MICA/B抗体可使用此项技术中常可获得的克隆及重组表达技术来进行表达。举例而言,由杂交瘤克隆3F5制备总RNA,且制备VH及VK cDNA。对抗体的重链(VH)及轻链(VL)的可变区进行克隆及测序(分别为图4A及图4C)。将3F5 VH序列(SEQ ID NO:31)克隆至含有骨粘连蛋白(osteonectin)信号序列及人类IgG.1f恒定区的载体pICOFSCpurG中,从而产生质粒pICOFSCpurG(MICA.2)。将3F5 VL序列(SEQ ID NO:33)克隆至含有骨粘连蛋白信号序列及人类κ恒定区的载体pICOFSCneoK中,从而产生质粒pICOFSCneoK(MICA.2)。将质粒pICOFSCpurG(MICA.2)及pICOFSCneoK(MICA.2)共转染至CHO-S细胞中,且选择稳定克隆且针对重组表达对其进行筛选。3F5的重组抗体称为“MICA.2”。在MICA.2的VL(例如CDR3)中进行突变以改良抗体的溶解度。MICA.2的此类突变体包括MICA.20(VH:SEQ ID NO:115;VL:SEQ ID NO:116)、MICA.21(VH:SEQ ID NO:117;VL:SEQ ID NO:118)、MICA.22(VH:SEQ ID NO:119;VL:SEQ ID NO:120)、MICA.38(VH:SEQ ID NO:121;VL:SEQ ID NO:122)、MICA.39(VH:SEQ ID NO:123;VL:SEQ ID NO:124)及MICA 40(VH:SEQ ID NO:125;VL:SEQ ID NO:126)。这些突变体含有处于MICA.2的VL中的位置96处或附近的突变或插入。

[0637] 包含杂交瘤抗体19G6(MICA.36;VH及VL分别参见图1A及图1C)、16A5(MICA.52(VH及VL分别参见图2A及图2C)及MICA.53)及24G11(MICA.54;VH及VL分别参见图3A及图3C)的CDR和/或可变结构域的抗体亦以重组方式在宿主细胞中进行表达。重组抗体在本文中以诸如MICA.36(19G6)、MICA.52及MICA.53(16A5)以及MICA.54(24G11)的名称提及。当以其名称提及这些重组抗体中的任一者时,未提及特定恒定区,也即,抗体MICA.2、MICA.20、MICA.21、MICA.22、MICA.36、MICA.38、MICA.39及MICA.40、MICA.52、MICA.53及MICA.54可具有任何所需恒定区。在MICA.36的重链恒定区中进行G236A突变(根据EU编号)以产生抗体MICA.36-G236A。藉由将MICA.36-G236A序列克隆至可购自BioWa,Inc.(Princeton,NJ)的FUT8基因剔除CHO细胞(POTELLIGENT®细胞)中来表达非岩藻糖基化的抗MICA/B抗体MICA.36-IgG1-NF-G236A。

[0638] 实施例3.藉由表面等离子体共振测定的抗MICA/B抗体与人类MICA等位基因的结合亲和力

[0639] 抗MICA/B抗体对人类MICA等位基因的动力学及亲和力在Biacore T200仪器上于37℃下用pH 7.4操作缓冲液(0.01M HEPES pH 7.4、0.15M NaCl、0.05%v/v表面活性剂

P20、1mg/mL BSA)来测定。抗MICA/B抗体捕获至α-人类Fc表面上。以较高及较低纳摩尔浓度(除非另外指示,否则为500nM及50nM)注射MICA等位基因抗原。抗体MICA.36及MICA.38(在轻链中残基95与96之间插入有Ser的MICA.2)的结果展示于下表2中。MICA.36及MICA.38抗体的MICA等位基因动力学拟合结果展示于图6A-图6H中。

[0640] 表2.藉由SPR得到的抗体对MICA等位基因的亲和力

[0641]

抗体	MICA 等位基因(抗原)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
MICA.36hIgG1	MICA*002	2.86E+04	1.61E-02	> 250 (>½最高分析物浓度)
	MICA*004	4.62E+04*	6.37E-04*	6.2-13.8

[0642]

		9.52E+04	5.91E-04	
	MICA*008	1.20E+05*	6.06E-04*	4.0-5.1
		1.40E+05	5.65E-04	
	MICA*009	5.41E+04*	6.42E-04*	8.6-11.9
		7.01E+04	6.03E-04	
MICA.38_3F5_S95k	MICA*002	1.03E+06	1.27E-01	123
	MICA*004	4.10E+05	4.26E-02	104
	MICA*008	6.00E+05	7.80E-02	130
	MICA*009	3.97E+05	5.02E-02	126

[0643] *这些结果使用100nM及10nM抗原浓度来获得。

[0644] 抗MICA/B抗体MICA.2、19G6、16A5及71C2针对人类MICA等位基因(huMICA-his等位基因*002、*004、*008及*009)的动力学及亲和力亦在Biacore 3000仪器上使用以下条件来测定:

[0645] 操作缓冲液:HES-EP操作缓冲液

[0646] 芯片:CM5蛋白G芯片Fc1:空白。Fc2-4:约200Ru

[0647] Ab:5ug/mL,10uL,以10uL/min

[0648] Ag结合:以25uL/min,5分钟缔合,7分钟解离,

[0649] 再生:甘氨酸1.7,以100uL/min,10uL,然后用HES-EP洗涤60秒

[0650] Biacore分析的结果展示于下表3中。MICA.2、19G6、16A5及71C2的MICA等位基因的动力学拟合结果展示于图6I-图6L中。

[0651] 表3:藉由SPR得到的抗体对MICA等位基因的亲和力

[0652]

抗体	MICA等位基因(抗原)	KD (nM)	ka (1/Ms)	kd (1/s)
MICA.2	MICA*002	27.5	3.80	10.4
	MICA*004	54.6	5.21	28.4
	MICA*008	40.5	6.09	24.6
	MICA*009	61.5	3.77	23.2
19G6	MICA*002	219	0.37	8.14
	MICA*004	9.78	2.34	2.28
	MICA*008	5.23	3.58	1.87
	MICA*009	13.7	1.57	2.15
16A5	MICA*002	147	0.71	10.4
	MICA*004	6.89	2.50	1.72
	MICA*008	4.55	3.79	1.72
	MICA*009	12.9	1.66	2.15
71C2	MICA*002	3010	0.03	11.6
	MICA*004	262	1.15	30.3
	MICA*008	39.9	2.72	10.9
	MICA*009	1400	0.23	32.5

[0653] 实施例4.藉由史卡查分析测定的抗MICA/B抗体对人类及食蟹猴MICA/B的结合亲和力

[0654] 使用IODO-GEN®固相碘化试剂(1,3,4,6-四氯-3a-6a-二苯基甘脲;Pierce,目录28601)用^{125}I-Na(1mCi;PerkinElmer目录NEZ033H001 MC)对MICA.36抗体进行放射性碘标记。使用脱盐柱(Pierce,目录43243)移除过量碘化物。收集经标记的抗体的级分,且在Wizard 1470 γ计数器上分析其放射活性。用来自Invitrogen的Qubit荧光计计算各级分中的^{125}I-MICA.36抗体浓度。藉由对峰值蛋白质及放射性级分进行的薄层层析(Pinestar Technology,目录151-005)来确立放射纯度。

[0655] 经放射性碘标记的MICA.36抗体与在786-0及SW480细胞以及经人类MICA、人类MICB或食蟹猴MICA/B转导的CHO细胞上内源性表达的人类MICA/B的结合藉由将细胞与一定滴定浓度的^{125}I-MICA.36一起培育来表明。藉由在存在滴定为摩尔过量100倍的未标记抗体的情况下进行结合来测定非特异性结合,且自总计数/分钟(CPM)减去该非特异性结合来计算特异性结合。使用^{125}I-MICA.36浓度对比CPM的线性标准曲线来外推比活性,结合型^{125}I-MICA.36的最大nM值,且藉此计算每细胞的受体数目。

[0656] 经碘标记的MICA.36的比活性藉由在标准曲线中针对相关CPM绘制抗体滴定浓度来测定(图7A)。在1nM的^{125}I-MICA.36中,比活性计算为164,214CPM。每细胞受体的数目藉由以下等式来计算:(Bmax)×(阿伏伽德罗数)×(分析体积)/每孔细胞数。

[0657] 结果展示MICA.36抗体对在CHO细胞上过量表达的人类MICA*008(图7B)及MICB*005(图7C)的亲和力为约1-2nM,对过量表达的食蟹猴MICA/B(图7D及图7E)的亲和力为约5-11nM,且对在786-0(图7F)及SW480(图7G)细胞上内源性表达的人类MICA/B的亲和力为约0.4nM。

[0658] 实施例5.在流式细胞测量术中得到的抗MICA/B抗体与细胞表面人类MICA/B的结合及抗MICA/B抗体与食蟹猴MICA/B分子的交叉反应性

[0659] 将MICA.36-IgG1-NF-G236A mAb的连续稀释液与经人类MICA/B常见等位基因转导

的CHO细胞或内源性表达MICA/B的人类肿瘤细胞系一起培育。随后洗涤细胞两次,且使用与荧光团缀合的二级抗人类抗体来检测细胞结合型抗体。使用FACSCantoII或FACS Fortessa X-20流式细胞仪来执行流式细胞测量分析。使用FlowJo分析软件来测定结合于细胞的MICA.36-IgG1-NF-G236A mAb的几何平均荧光强度。使用Prism软件来产生剂量-反应曲线且计算EC50。

[0660] 为了测量与食蟹猴(“cyno”)MICA/B分子的交叉反应性,将MICA.36-IgG1-NF-G236A mAb的连续稀释液与经两种食蟹猴MICA/B克隆转染的CHO细胞一起培育。使用与荧光团缀合的二级抗人类抗体来检测细胞结合型抗体。使用Fortessa X-20来执行流式细胞测量分析。在对FSC-SSC-7AAD参数进行门控以排除碎片及死细胞之后,使用FlowJo分析软件来测定MICA.36-IgG1-NF-G236A mAb的平均荧光强度。

[0661] 在流式细胞测量术实验中,对异位表达人类MICA/B常见等位基因的CHO细胞上的19G6 mAb进行滴定展示,19G6充分结合于天然人类MICA/B分子。数据展示于图8A及图8B中。

[0662] 19G6与食蟹猴MICA/B的交叉反应性藉由19G6与转染至CHO细胞中的两种食蟹猴MICA/B克隆的结合来表明。在流式细胞测量术实验中,19G6充分结合于CHO-食蟹猴MICA克隆#4及CHO-食蟹猴MICA克隆#6。来自一个代表性实验的数据展示于图8C中。EC50对于食蟹猴克隆#4为1.08nM且对于食蟹猴克隆#6为22.02nM,指示19G6结合食蟹猴MICA/B的效力与其结合人类MICA/B类似。

[0663] MICA.36-IgG1-NF-G236A结合于在多种人类肿瘤细胞系上内源性表达的MICA/B(图8B)。结合于表达MICA等位基因(在括号中)的人类肿瘤细胞系786-0(*008)、HeLa(*008)、A2058(*008/*018)及RPMI-8226的EC50值分别为1.37nM、1.76nM、5.4nM及3.90nM。

[0664] 使用类似方法测试其他抗MICA/B抗体,例如24G11、71C2、16A5(#1及#2来源于来自相同克隆的两个杂交瘤株)(下表4及5)(图8D-图8H)

[0665] 表4:抗MICA/B抗体对常见人类MICA/B等位基因及食蟹猴MICA/B的EC50(nM)

[0666]

Ab	*002	*004	*008	*009	*010	MICB	cyno#4	cyno#6
MICA.2	5.367	2.938	2.138	1.56	6.912	5.996	1.967	4.011
24G11	1065	517.5	247.7	496.9	722.5	262.2	394.5	330.6
71C2	264.3	26.21	10.03	10.15	80.01	9.813	23.43	231.7
19G6	151.7	11.39	9.229	8.21	18.48	1.826	1.076	22.02
16A5(#1)	25.32	1.043	2.219	0.9019	15.15	8.159	0.856	9.256
16A5(#2)*	613.6	65.25	394.6	122.1	246.5	21.62	2.384	13.77

[0667] 表5:抗MICA/B抗体对在人类肿瘤细胞系上内源性表达的MICA/B的EC50(nM)

[0668]

	FACS EC50 (nM)			
Ab	**786-O**	**A2058**	**HeLa**	**RPMI-8226**
MICA.2	4.951	2.609	1.738	41.89
24G11	146.7	260.7	192.3	103.9
71C2	13.75	33.54	10.15	36.92
19G6	1.369	5.394	1.756	3.891
16A5 (#1)	2.484	7.685	3.761	7.998
16A5 (#2)	11.63	10.95	16.2	2.442

[0669] 实施例6.抗MICA/B抗体的分组(binning)

[0670] 分组实验在Octet HTX仪器上于25℃下在HEPES缓冲盐水(10mM HEPES pH 7.4、150mM NaCl、0.05％v/v表面活性剂P20及1mg/mL BSA)中执行。在抗Fc尖端上捕获抗MICA/B抗体及NKG2D-mFc,且用过量的阴性对照IgG阻断剩余捕获位点。重组可溶性MICA(等位基因8)结合,且测试抗MICA/B抗体的后续结合(“夹心法”)。

[0671] 所测试的抗体属于两种不重叠的表位框组。各框组的成员不能同时结合于MICA(指示重叠表位),但不同框组的成员可同时结合。

[0672] 分组实验的结果呈现于表6中。抗体MICA.2、MICA.38、MICA.39及MICA.40在同一表位框组中。抗体24G11(MICA.54)及MICA.36形成不重叠的第二框组。这些抗体不阻断NKD2D与MICA的结合。

[0673] 表6.抗MICA/B抗体的分组

[0674]

配体(Ab)	MICA.2	MICA.38	MICA.39	MICA.40	24G11	MICA.36
MICA.2	0	0	0	0	1	1
MICA.38	0	0	0	0		1
MICA.39	0	0	0	0		1
MICA.40	0	0	0	0		1
24G11	1	1	1	1	0	0
MICA.36	1	1	1	1	0	0

[0675] (“0”＝无同时结合;“1”＝同时结合)

[0676] 实施例7.藉由HDX进行的表位定位

[0677] 在正常及高分辨率模式下进行的氢/氘交换质谱(HDX-MS)用于探测MICA与mAb MICA.2、MICA.39、MICA.40、MICA.36 NF G236A及MICA.36结合的结合性表位。

[0678] HDX-MS在溶液中藉由监测主链酰胺氢原子的氘交换的速率及程度来探测蛋白质构象及构象动力学。HDX的水平视主链酰胺氢原子的溶剂可接近性及蛋白质氢键而定。可藉由MS精确测量蛋白质在HDX后的质量增加。当此技术与酶消化配对时,可以肽水平解析结构特征,使得能够将表面暴露的肽与内侧折叠的那些肽相区别。增加藉由MS对所选肽区进行的气相碎片化以氨基酸水平提供高分辨率HDX信息。通常,执行氘标记及后续淬灭实验,继而执行酶消化、肽分离及MS分析。

[0679] 在表位定位实验之前,进行非氘化实验以对机构内生产的人类MICA-His tag(等位基因08,15μM)的重组全长细胞外结构域(ECD)及MICA与mAb的蛋白质复合物(1:1摩尔比)产生常见肽的清单。在HDX-MS实验中,将5μL各样品(MICA或MICA与mAb)稀释至55μL D_2O缓冲液(10mM磷酸盐缓冲液,D_2O,pH 7.0)中以开始标记反应。反应进行不同时段:20秒、1分钟、10分钟及240分钟。在各标记反应时段结束时,藉由添加淬灭缓冲液(含1M TECP的8M脲,pH 2.5,1:1,v/v)来使反应淬灭,且将50μL经淬灭的样品注射至Waters HDX-MS系统中用于分析。在不存在/存在MICA/B mAb的情况下监测常见胃酶解肽的氘摄取量。对于高分辨率HDX实验,在MICA与具有MICA.36抗体Fab的MICA之间监测HDX差异,且藉由MS/MS对MICA中在MICA.36抗体的Fab结合后展示显著HDX减少的肽区进行进一步碎片化。在不存在/存在MICA.36的Fab的情况下监测氨基酸残基的氘摄取水平。

[0680] 对MICA中MICA.2(图9A)、MICA.39(图9B)及MICA.40(图9C)的HDX-MS数据分析指示,所有三种mAb均具有包含MICA的两个区的相同结合性表位:

[0681] 区1:^{201}LRRTVPPMVNVTRSEASEGN^{220}(SEQ ID NO:56)

[0682] 区2:^{238}TWRQDGVSLSHDTQQ^{252}(SEQ ID NO:57)

[0683] 基于相对氘摄取差异,区2在氘摄取中的变化最显著。

[0684] 对MICA中的MICA.36 NF G236A及MICA.36的HDX-MS数据分析指示,这两个分子具有相同表位,其包含MICA的三个区(图9D及图9E)。移除岩藻糖及G236A突变对结合性表位无影响。

[0685] 区1:^{150}WTVPQSSRAQTLAM^{163}(SEQ ID NO:52)

[0686] 区2:^{231}YPRNIILT^{238}(SEQ ID NO:53)

[0687] 区3:^{253}WGDVLPDGNGTYQTW^{267}(SEQ ID NO:55)

[0688] 基于相对氘摄取差异,三个肽区可定级为区3>2>1,其中区3在氘摄取中的变化最显著。

[0689] 此HDX研究指示,MICA.2的稳定化变体(MICA.39及MICA.40)保留与MICA.2相同的表位定位。MICA上的MICA.36的结合性表位表征为含有如下不连续结合区:^{150}WTVPQSSRAQTLAM^{163}(SEQ ID NO:52)、^{231}YPRNIILT^{238}(SEQ ID NO:53)及^{253}WGDVLPDGNGTYQTW^{267}(SEQ ID NO:55),且移除岩藻糖及G236A突变对结合性表位无影响。

[0690] 在使用MICA.36Fab的高分辨率HDX实验中,基于HDX降低的水平,选择MICA.36表位区2及3用于气相碎片化。高分辨率HDX结果允许将表位优化为:

[0691] 区1:^{150}WTVPQSSRAQTLAM^{163}(SEQ ID NO:52)

[0692] 区2:^{234}N、^{237}L

[0693] 区3:^{255}DVLPDGNGTYQ^{265}(SEQ ID NO:54)、^{267}W

[0694] 图9F展示,在MICA结合于NKG2D的晶体结构上,这些残基迭置。

[0695] 实施例8.藉由酵母展示进行的表位定位

[0696] 使用Genemorph II突变诱发试剂盒产生MICA-ECD克隆的文库。在半乳糖诱导性启动子作用下,使用C端myc-Aga1融合物将突变型MICA-ECD分子的此文库呈现于酿酒酵母(S.cerevisiae)的表面上。首先用100nM人类抗MICA/B抗体及100nM小鼠抗myc抗体9E10标记半乳糖诱导的酵母细胞。随后用PE缀合的山羊抗人类抗体及Alexa-633缀合的山羊抗小鼠抗体标记细胞。为了分离阻断抗体-抗原相互作用的文库群体,使用荧光活化细胞分选来分选展示与抗myc抗体的结合良好但与抗MICA/B抗体的结合减小的经标记的细胞。随后如上文所描述,使经分选的细胞群体生长,且藉由另一轮标记及分选来富集。自第二轮经分选的细胞及起始文库来分离DNA。使用Nextera XT文库制备试剂盒来制备用于NGS测序的DNA样品,且使用Miseq NGS测序来进行多任务化及测序。分析所得DNA序列读段以鉴别在经分选的群体中所发现的相对于起始文库尤其富集的序列。在MICA-NKG2D复合物(PDB ID:1HYR)的结构上对这些富集的突变进行定位,且在蛋白质表面上展示明确界定的区块(图10D-图10F)。MICA.36、MICA.2及24G11(MICA.54)抗体结合于MICA的α3结构域。表位如下:

[0697] MICA.36:G254、D255、L257、Y264、W267(图10A)

[0698] MICA.2:R240、Q241、D242、V244、R279(图10B)

[0699] 24G11:P258、G260、G262、Y264(图10C)

[0700] 实施例9.在活体外藉由抗MICA/B抗体使表面MICA保留且使可溶性MICA(sMICA)减少

[0701] 将异位表达MICA/B的非人类细胞系与MICA.36-IgG1-NF-G236A或同种型对照一起培养48小时。在培养之后,收集细胞,且藉由用抗MICA/B抗体克隆6D4染色来测量表面MICA/B含量。收集上清液,且使用MICA ELISA试剂盒(Abcam ab100592)来测量可溶性MICA(sMICA)含量。与同种型对照(IgG1 NF)相比,藉由流式细胞测量术来测量,MICA.36-IgG1-NF-G236A增加细胞上的表面MICA含量(图11A-图11D),且藉由ELISA来量化,MICA.36-IgG1-NF-G236A减少培养物上清液中sMICA的量(图12A-图12D)。

[0702] 另外,将内源性表达MICA的人类细胞系与MICA.36-IgG1-NF-G236A或同种型对照一起培养48小时。在培养之后,收集细胞,且藉由用抗MICA/B抗体克隆6D4染色来测量表面MICA/B含量。藉由流式细胞测量术来测量,MICA.36-IgG1-NF-G236A增加细胞上的表面MICA含量(图13A-图13E),且藉由ELISA来量化,MICA.36-IgG1-NF-G236A减少培养物上清液中sMICA的量(图14A-图14C)。因此,MICA.36-IgG1-NF-G236A将MICA/B保留在肿瘤细胞表面上,且引起sMICA/B减少。MICA保留EC50(nM)及sMICA减小IC50(nM)展示于表7中:

[0703] 表7:表面MICA保留及sMICA减少

[0704]

细胞系	MICA等位基因	结合EC50 (nM)	MICA保留EC50 (nM)	表面MICA的增加倍数	sMICA EC50减少(nM)	sMICA减少%
786-O	008	1.37	0.057	1.47	0.14	66
HELA	008	1.76	0.032	1.43	0.10	32
A2058	008/018	5.4	0.093	2.41		15
HCT116	001/009	0.37	0.043	1.98	0.075	62

[0705] 实施例10:MICA.36-IgG1-NF-G236A展示对CD16a及CD32a的亲和力增强

[0706] 在重链中含有经工程改造的突变G236A的非岩藻糖基化(NF)人类IgG1抗体MICA.36-IgG1-NF-G236A展示其对CD16a(Fc γ RIIIa)及CD32a(Fc γ RIIa)的亲和力比天然IgG1高。藉由表面等离子体共振(SPR)来研究人类Fc γ R与MICA.36-IgG1-NF-G236A的结合,且将其与具有野生型人类IgG1的MICA.36抗体、IgG1f-G236A及IgG1f-NF同种型以及非MICA结合性对照人类IgG1及NF抗体相比。对于这些研究,使用标准乙基(二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDC)/N-羟基丁二酰亚胺(NHS)化学,在用乙醇胺封闭的情况下,在10mM HEPES pH 7.4、150mM NaCl、3mM EDTA、0.05%表面活性剂p20的操作缓冲液中将蛋白A固定在CM5传感器芯片的流槽1-4上,达到密度为约3000RU。在蛋白A表面上捕获3μg/mL的抗体,达到密度为约200-400RU,且在由10mM NaPO4、130mM NaCl、0.05%p20、缓冲液(PBS-T)pH 7.1组成的操作缓冲液中,于25℃下,在30μL/min的流动速率下使用120秒缔合时间及180秒解离时间来测试Fc γ R分析物的结合。为了测定结合的动力学及亲和力,测试1μM降至0.15nM(CD64蛋白质)或10μM降至1.5nM(所有其他Fc γ R)的Fc γ R浓度系列(3:1稀释)。使用Biacore T200评估软件将动力学数据相对于1:1朗格缪尔模型或稳态模型拟合。

[0707] 表8展示如藉由SPR所测量,MICA.36-IgG1-NF-G236A与人类CD16a及CD32a等位基因的结合亲和力增强。

[0708] 表8:人类Fc γ R的表面等离子体共振亲和力值

[0709]

抗体	hCD16a-V158	hCD16a-F158	hCD32a-H131	hCD32a-R131
MICA.36-IgG1-NF-G236A	31	420	140	220
MICA.36 IgG1	360	>5000	780	1300
MICA.36 IgG1 NF	8	140	730	770

MICA.36 IgG1 G236A	850	>5000	130	260
对照IgG1	480	>5000	1000	1700
对照IgG1 NF	9.1	170	860	860

[0710] 实施例11:MICA.36-IgG1-NF-G236A介导抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)及抗原交叉呈递增强

[0711] 树突状细胞(DC)具有吞噬肿瘤细胞、加工及呈递肿瘤抗原以及激活肿瘤特异性T细胞反应的能力。已展示使用抗MICA/B抗体对MICA/B表达性肿瘤细胞系进行的调理可增强树突状细胞对肿瘤抗原的交叉呈递及后续对抗原特异性CD8+T细胞的激活(Groh,V.,PNAS 2005;102:6461-6)。评定抗体MICA.36-IgG1-NF-G236A的ADCP及抗原交叉呈递。来自人类Fc转基因小鼠(其中使所有小鼠Fcγ R缺失且插入以转基因形式编码的人类Fcγ R,从而引起人类Fcγ R表达重现的小鼠品系)的骨髓源性树突状细胞(BMDC)(Smith,P.等人,2013,Proc Natl Acad Sci U S A.;109:6181-6)用作效应子。为了制得BMDC,自人类Fc转基因小鼠分离骨髓,且将其与mGM-CSF(10ng/ml)及mIL-4(5ng/ml)一起活体外培养,且在第2天及第4天更换一半培养基。在第5天采集BMDC。通常,藉由流式细胞测量术染色得到,总细胞的超过80%为CD11c阳性,指示良好BMDC诱导。经MICB、GFP及Ova转导的B16.F10黑素瘤细胞称为B16.F10-MICB-GFP-ova细胞,其用作靶细胞。

[0712] 对于ADCP分析,在4℃下用MICA.36Ab对B16.F10-MICB-GFP-ova细胞进行调理持续30分钟。随后对细胞进行辐射以停止生长,且将其与BMDC一起培育24小时,其后用抗小鼠CD11c抗体对培养物进行染色,且藉由流式细胞测量术来评定吞噬作用。吞噬作用以CD11c+GFP+细胞在总CD11c+树突状细胞中的百分比进行计算。与MICA.36的IgG1或IgG1 NF变体相比,在使用抗体的G236A变体(MICA.36-IgG1-NF-G236A及MICA.36 IgG1 G236A)的情况下观测到ADCP增强(图15A)。当来自人类Fcγ R转基因小鼠的BMDC用作效应子且B16-MICB-GFP-Ova细胞用作靶细胞时,对MICA.36-IgG1-NF-G236A所测量的EC50为10.7nM。

[0713] 对于抗原交叉呈递分析,对ova抗原具特异性的OT-I CD8+T细胞的增殖为BMDC加工来自B16.F10-MICB-GFP-ova细胞的ova抗原且将其交叉呈递至CD8+T细胞的效率如何的指标。

[0714] 为了测量抗原交叉呈递,在4℃下用MICA.36抗体对B16.F10-MICB-GFP-ova细胞进行调理持续30分钟。随后对细胞进行辐射以停止生长,且将其与BMDC一起培育24小时。随后用Cell Trace Violet标记自OT-I小鼠(C57BL/6-Tg(TcraTcrb)1100Mjb/J,The Jackson Laboratory)的脾纯化的CD8+T细胞,且将其添加至培养物中持续4天。随后藉由流式细胞测量术来评定增殖。增殖以具有Cell Trace Violet稀释的CD8+T细胞在总CD8+T细胞中的百分比进行计算。OT-I CD8+T细胞的增殖充当BMDC加工Ova肽且将其交叉呈递至CD8+T细胞的效率如何的指标。在使用MICA.36-IgG1-NF-G236A的情况下观测到OT-I CD8+T细胞增殖增强,其EC50为1.6nM(图15A)。

[0715] 实施例12:MICA.36-IgG1-NF-G236A介导抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)增强

[0716] 使用人类NK细胞作为效应子且使用异位表达MICA*009的Raji细胞或内源性表达MICA的A375黑素瘤细胞作为靶细胞来测试抗MICA/B抗体介导ADCC活性的能力。

[0717] 以5,000个细胞/孔(A375)或10,000个细胞/孔(Raji-MICA)将靶细胞接种在96孔

白色平底(A375)或V底(Raji-MICA)培养板中。向靶细胞中添加等体积的经过滴定的测试或对照抗体,且在37℃下培育2天。

[0718] 在第二天,藉由密度梯度离心自肝素化的全血样品纯化PBMC,且用补充有2%FBS的PBS(HyClone)洗涤。藉由负向选择使用基于磁珠的分离试剂盒(Miltenyi Biotec)自PBMC分离NK细胞。以1×10^6个细胞/毫升将经纯化的NK细胞再悬浮于补充有500IU/mL IL-2的MYELOCULT™(Stemcell Technologies)培养基中,且在37℃下培育隔夜。

[0719] 在隔夜培育之后,在ADCC分析培养基(具有L-谷氨酰胺、不含酚红且补充有10%超低IgG FBS的RPMI-1640)中洗涤经活化的NK效应细胞两次,且将浓度调整至5×10^5个细胞/毫升。洗涤与测试抗体一起培育的靶细胞,且将其再悬浮于100uL培养基中。随后添加经活化的NK效应细胞(100微升/孔),以得到最终效应细胞比靶细胞比率(E:T)为10:1。随后将培养板置放于潮湿37℃培育箱中持续4小时。

[0720] 对于黏附性A375细胞,移除含NK细胞的上清液,且用培养基洗涤靶细胞,之后添加100uL培养基。制备CellTiter-Glo试剂(Promega),且在室温下平衡,之后以100微升/孔添加至靶细胞中。在Envision培养板读取器上检测发光,其中信号与活细胞数目成比例。比细胞溶解的百分比使用式[100-((样品的发光-最大杀伤的发光)/(自发性溶解的发光-最大杀伤的发光)×100)]来进行计算。

[0721] 对于悬浮性Raji-MICA细胞,使用eBioscience可固定存活染料(Invitrogen)对靶细胞及效应细胞的CD3及CD56进行染色(Biolegend),且藉由LSRFortessa流式细胞仪(BD Biosciences)来读取荧光。排除NK细胞(CD3-,CD56+),且评定剩余细胞的细胞死亡(FVD+)。比细胞溶解的百分比使用式[样品细胞死亡百分比-自发性细胞死亡百分比]来进行计算。

[0722] 在分析中,单独的靶细胞提供自发性溶解的对照物,而用100微升/孔的5%Tween-20溶解缓冲液溶解的靶细胞呈现最大杀伤。使用来自GraphPad Inc的Prism v7软件来对各抗体绘制靶细胞溶解的百分比。

[0723] 与MICA.36的IgG1或IgG1 G236A变体相比,在使用抗体的NF变体(MICA.36-IgG1-NF-G236A及MICA.36 IgG1 NF)的情况下观测到ADCC增强(图16A及图16B)。

[0724] 实施例13:在B16.F10-MICA肺癌转移模型中的功效研究

[0725] 人类MICA/B由鼠类NKG2D受体识别,其使得能够在具有充分免疫活性的小鼠模型中测试抗MICA/B抗体。在鼠类B16F10黑素瘤、MC38结肠腺癌及EG7-ova胸腺瘤细胞系中异位表达全长MICA蛋白质,且分别使用人类Fcγ R-Tg小鼠及野生型小鼠品系(表达鼠类Fcγ R)来评估具有人类Fc(IgG1 NF G236A、IgG1 NF或IgG1)或小鼠Fc(IgG2a或IgG1-D265A)的MICA.36抗体的活性。

[0726] 在第0天,向小鼠(C57BL/6huFcγ R转基因小鼠)给予以2×10^6个细胞/毫升的浓度向侧尾静脉中静脉内(IV)注射200μL B16.F10-MICA细胞(经MICA转导的B16.F10黑素瘤细胞)。在第3天及第8天,向动物给予以5mg/kg腹膜内(IP)注射MICA.36-IgG1-NF-G236A。在第14天,采集肺以用于测量B16.F10-MICA细胞肿瘤转移。人类IgG1非岩藻糖基化mAb(自产)充当同种型对照。

[0727] 简言之,在存在定位于与肺相同的水平面上的公制比例尺的情况下对肺进行摄影。使用ImageJ软件,对影像进行按比例缩放,进行颜色平衡调整,设定阈值,且选择所关注的区域。执行癌转移粒度测定及计数。藉由既定表面区域中癌转移的累积面积(mm^2)或藉由

既定表面区域中癌转移的总计数来进行分析。

[0728] 在第14天,收集血清,且将其储存于-20℃下,之后使用ELISA试剂盒(Abcam ab100592)来测量sMICA。

[0729] 与同种型对照相比,具有IgG1 NF同种型的MICA.36抗体(MICA.36-IgG1-NF-G236A及MICA.36 IgG1 NF)有效减小由B16F10-MICA肿瘤细胞形成的总肿瘤面积以及小鼠血清中的sMICA含量(参见图17A及图17B)。

[0730] 实施例14:在B16.F10-MICA肺癌转移模型中的剂量递增研究

[0731] 在第0天,向小鼠(C57BL/6huFcγR转基因小鼠)给予以1×10^7个细胞/毫升的浓度向侧尾静脉中静脉内(IV)注射100μL B16.F10-MICA细胞。在第1天,向动物给予以指定浓度腹膜内(IP)注射抗体。在第14天,采集肺以用于测量癌转移。人类IgG1非岩藻糖基化mAb(BMS)充当同种型对照。

[0732] 简言之,在存在定位于与肺相同的水平面上的公制比例尺的情况下对肺进行摄影。使用ImageJ软件,对影像进行按比例缩放,进行颜色平衡调整,设定阈值,且选择所关注的区域。执行癌转移粒度测定及计数。藉由既定表面区域中癌转移的累积面积(mm^2)或藉由既定表面区域中癌转移的总计数来进行分析。

[0733] 来自两个单独研究的结果展示,与同种型对照(3mg/kg)相比,用MICA.36-IgG1-NF-G236A(MICA.36NF G236A)施与的小鼠中的总肿瘤面积减小(图18A及图18B)。

[0734] 实施例15:MICA.36-IgG1-NF-G236A(MICA.36 NF G236A)在具有EG7-MICA肿瘤的MICA转基因小鼠中的功效

[0735] 为了评估抗MICA/B抗体在MICA耐受性小鼠中的治疗功效,产生其中在probasin启动子控制下在C57BL/6小鼠的前列腺中表达人类MICA*009的转基因小鼠(MICA转基因(Tg)小鼠)(Liu,G.等人,2013;J.Clin.Invest.123,4410-22)。MICA-Tg雄性小鼠能够耐受异位表达MICA的MC38细胞(MC38-MICA)的生长,而在C57BL6或人类FcγR-Tg小鼠或MICA-Tg雌性小鼠中植入的相同肿瘤在很大程度上受到排斥。因此,在MC38-MICA植入后,与野生型C57BL6或人类FcγR-Tg小鼠相比,雄性MICA-Tg小鼠展示针对人类MICA的自体抗体产生较低。总之,这些结果表明MICA-Tg小鼠对MICA蛋白质及MICA表达性肿瘤具耐受性。

[0736] 使用皮下(SubQ)植入表达高水平的MICA的EL4胸腺瘤细胞系EG7及肽卵白蛋白来评估抗MICA/B抗体的功效。单独或与抗PD-1抗体组合测试具有Fc功能性的MICA.36抗体(具有最类似于IgG1 NF的小鼠Fc的MICA.36-mg2a)或具有Fc惰性的MICA.36抗体(在mIgG1中具有消除与小鼠CD16的结合的突变的MICA.36-mg1-D265A)。

[0737] 在研究中,将肿瘤植入当天指定为第0天。向B6.F10-MICA转基因小鼠给予以5×10^7个细胞/毫升浓度SubQ注射100μl EG7-MICA肿瘤细胞(5×10^6个细胞/小鼠)。在植入之后五天时,对小鼠进行随机分组,且开始给药。向小鼠给予每3天一次以10mL/kg的各抗体的剂量体积腹膜内(IP)注射(多种)指定抗体持续总计3个剂量。以各种组合测试以下抗体:具有D265A Fc突变的抗小鼠PD-1 mIgG1、抗人类MICA.36 mIgG2a、具有D265A Fc突变的抗人类MICA.36 mIgG1以及同种型对照mIgG1(MOPC-21,BioXCell)及mIgG2a mAb(C1.18.4,BioXCell)。

[0738] 藉由一周两次用测径规测量肿瘤来确定肿瘤反应,直至肿瘤达到$1cm^3$的预定“目标”大小为止(图19A及图19B)。肿瘤体积[mm^3]由下式估算:肿瘤体积[mm^3]=(长度[mm]×宽

度[mm]^2)/2。

[0739] 各处理组的肿瘤生长抑制百分比(TGI%)藉由计算该组的中位个体TGI来加以确定(图19C)。所处理的所有动物计算的第“t”天的个别TGI藉由下式来加以确定:

[0740] $[1-((T_t/T_0)/(C_t/C_0))]/[(C_t-C_0)/C_t]\times 100$ [式1]

[0741] 其中T_t=所处理的动物在时间“t”时的个别肿瘤大小,T_0=所处理的动物在第一次测量时的个别肿瘤大小,C_t=对照动物在时间“t”时的中位肿瘤大小,C_0=对照动物在第一次测量时的中位肿瘤大小。

[0742] 被视为在时间“t”时“无恶化”的动物的肿瘤大小(mm^3)比其初始测量结果小4倍(图19D)。

[0743] 在第11天收集血清。使用Meso Scale Discovery(MSD)平台来测量血清sMICA水平(图19E)。MICA.38用作捕获抗体,且MICA.2用作检测抗体。与同种型对照相比,MICA.36抗体减少血清中的sMICA(图19E)。

[0744] 虽然在此研究中,MICA.36-mg2a不展现明显单一药剂活性,但在另一研究中,抗体展示对肿瘤生长抑制的作用(实施例16)。然而,与单一抗体处理相比,组合的MICA.36-mg2a/抗PD-1处理增强肿瘤消退且延长存活期(图19C及图19D)。在组合处理后,70%的小鼠无肿瘤(TF),而在单独施与MICA.36-mg2a和抗PD-1抗体后,分别有10%及50%为TF。与在肺癌转移模型中的观测结果相符,MICA.36抗体单独或与抗PD-1抗体组合引起血清sMICA显著减少(图19E)。用MICA.36-mg2a/抗PD-1组合处理使抗肿瘤活性增强与T及NK细胞向肿瘤中的浸润增加以及肿瘤引流淋巴结中T及NK细胞上的Ki67及活化标记物的表达量增加相关联。Fc惰性MICA.36(MICA.36-mg1-D265A)在作为单一药剂或与抗PD-1抗体组合的情况下无活性(尽管引起血清sMICA减少)。

[0745] 实施例16:在B6-MICA转基因小鼠中的活体内研究

[0746] 在此实验中,向B6-MICA转基因小鼠给予皮下(SubQ)注射100μl EG7-MICA肿瘤细胞。在植入之后六天时,对小鼠进行随机分组,且开始给药。如实施例15中所描述,每3天一次以10mL/kg的各抗体的剂量体积向小鼠给予抗体抗小鼠CTLA4 mIgG2a、抗人类MICA.36 mIgG2a及同种型对照mIgG2a mAb(C1.18.4,BioXCell)的组合持续总计3个剂量。

[0747] MICA.36抗体单独及与抗CTLA4抗体组合减小肿瘤体积且增加TGI(图20A-图20C)。与单一抗体处理相比,MICA.36及抗CTLA4抗体组合展示无恶化存活期延长(图20D)。

[0748] 实施例17:在B6-MICA转基因小鼠中的活体内研究

[0749] 向B6-MICA转基因小鼠给予皮下(SubQ)注射100μl EG7-MICA肿瘤细胞,且如实施例16中所描述用以下抗体处理(每3天一次以10mL/kg各抗体的剂量体积持续总计3个剂量):具有D265A Fc突变的抗小鼠PD-1 mIgG1、抗人类MICA.36 mIgG2a及同种型对照mIgG1(MOPC-21,BioXCell)、mIgG2a mAb(C1.18.4,BioXCell)。

[0750] MICA.36抗体单独及与抗PD-1抗体组合减小肿瘤体积且增加TGI(图21A-图21C)。MICA.36及抗PD-1抗体组合延长无恶化存活期(图21D)。

[0751] 实施例18.抗MICA/B抗体的溶解度

[0752] MICA.2及MICA.36抗体藉由重组方法在CHO细胞中进行表达。使1mL冷冻小瓶的MICA.36CHO克隆或MICA.2CHO克隆解冻以用于规模放大生产。在设定点为37℃下及8%CO_2的培育箱中,在补充有8mM谷氨酰胺、1×HT及500ug/mL G418的CD CHO培养基中培育细胞培

养物。细胞最初在250mL摇瓶中以100mL工作体积生长,且在两个3L Corning费恩巴赫培养瓶(Fernbach flask)中规模放大至2L以用于分批生产。在生产阶段期间,培育培养物持续10天,且当存活力下降至低于40%时进行采集。使培养物澄清且用0.8/0.2um无菌过滤器来过滤,且供用于下游加工。

[0753] 将细胞培养物上清液施用于使用pH 7.5下的PBS预平衡的蛋白A亲和层析柱上。用PBS(5倍柱体积)洗涤柱。使用pH 3下的0.1M柠檬酸盐缓冲液使抗体洗脱。立即用pH 8.5下的2M Tris缓冲液中和含抗体的级分,以使其最终pH值达到7.2。随后针对PBS或组氨酸蔗糖缓冲液对抗体进行透析。将抗体储存于4℃-8℃。

[0754] MICA.2抗体展示不良溶解度。其在洗脱及中和步骤期间展示浑浊,且在透析及即使以低浓度(<2mg/ml)在4℃-8℃下储存期间展示大量沉淀。由于沉淀,故存在大量材料损失。MICA.2抗体在中性或弱酸性pH值下的最大溶解度为2mg/ml。努力制剂不能使MICA.2抗体的溶解度增加至超过15mg/ml,这对于制造目的将不可接受。

[0755] MICA.36抗体在所有纯化及以7.88mg/ml的浓度在4℃下储存的步骤期间不展示浑浊。即使处于高于7mg/ml的浓度,其在于中性或弱酸性pH值下的水性缓冲液中储存期间仍不沉淀。MICA.36抗体的变体MICA.36-NF-G236A抗体以50mg/ml浓度在40℃下稳定3个月。

[0756] 因此,与MICA.2抗体相比,MICA.36及MICA.36-NF-G236A抗体的溶解度特性优越。

[0757] 实施例19.藉由X射线共晶体学得到的表位定位

[0758] 蛋白质表达及纯化:

[0759] 将MICA*02的ECD克隆至具有N端蜜蜂蜂毒素信号肽及C端His_6标签的pVL1393载体中,且在T.ni细胞(EXPRESSION SYSTEMS)中进行表达。将MICA.36重链及轻链单独地克隆在具有N端骨粘连蛋白信号肽的pTT5载体中。重链也与C端His_6标签融合。MICA.36Fab在Expi293悬浮细胞中进行表达。使用Ni琼脂糖树脂来纯化MICA ECD及MICA.36Fab。

[0760] 结晶及结构确定:

[0761] 以1.2:1的摩尔比形成MICA.36:MICA ECD复合物,且藉由在50mM NaCl、10mM Tris pH 8中进行凝胶过滤来将复合物与未结合的Fab纯化分开。藉由将0.2μL浓蛋白质样品(22mg/mL)与0.2μL母液(0.2M脱水酒石酸二钠,30%PEG MME 550)混合,藉由在20℃下进行座滴蒸气扩散来使晶体生长。将晶体在液氮中急骤冷却,且在Advanced Photon Source的IMCA-CAT 17-ID射束在线收集精确至3.6 Å的衍射数据。使用XDS以$P6_5$空间群处理数据集,且藉由使用来自PDB ID 4NM4的Fab恒定结构域、来自PDB ID1HEZ的CDR经修整的Fab可变结构域及来自PDB ID 1HYR的MICA α3结构域,用Phaser进行分子置换来确定结构。无法藉由分子置换发现MICA α1-α2结构域。MICA α3:MICA.36Fab复合物的一个拷贝见于不对称单元中,且使用Phenix来优化且使用COOT来建构。

[0762] 结构分析:

[0763] 在Fab结合后埋入内部的MICA上的溶剂可接近表面积使用AREAIMOL,用1.4Å的探针半径来计算。在MICA.36结合后埋入内部的MICA残基为:T222、T224、R226、W233、N234、H248、D249、Q251、Q252、W253、G254、D255、V256、L257、P258、D259、G260、N261、Y264、Q265、W267和A269(图22A-图22C)。

[0764] 实施例20.对与MICA的结合的比较研究

[0765] 将MICA.2与表达MICA的细胞的结合与国际专利申请公开案WO2013/049517中所公

开的抗MICA抗体Ab2(CM24002 Ab2)及Ab29(CM33322 Ab29)以及国际专利申请公开案WO2015085210中所公开的Ab28(CM33322 Ab28)相比。

[0766] 抗体Ab2、Ab28及Ab29亦藉由重组方法在CHO细胞中进行表达(分别为MICA.5、MICA.7及MICA.6)。以100,000个细胞/孔接种经MICA等位基因002、004、008、009、010转导的CHO细胞。使细胞与经纯化的抗MICA/B抗体一起培育30分钟。使用与荧光团结合的二级抗人类F(ab')2抗体来检测抗体与细胞的结合。使用FACSCantoII细胞仪来执行流式细胞测量分析。使用FlowJo分析软件来测定结合于细胞的抗体的几何平均荧光强度。MICA.2展示其与所有表达各种MICA等位基因的CHO细胞系的结合明显强于MICA.5、MICA.7及MICA.6(图23A及图23B)。

[0767] 也测试抗体与人类RPMI-8226细胞的结合。以100,000个细胞/孔接种细胞,且将其与抗MICA/B抗体一起培育30分钟。使用与荧光团结合的二级抗人类F(ab')2抗体来检测抗体的结合。使用FACSCantoII细胞仪来执行流式细胞测量分析。使用FlowJo分析软件来测定结合于细胞的抗体的几何平均荧光强度。MICA.1及MICA.2展示其与RPMI-8226细胞的结合明显强于Ab2、Ab28及Ab29以及来自表达其重组对应物MICA.5、MICA.7及MICA.6的CHO细胞系的上清液("supe")(图24A及图24B)。

[0768] 实施例21.血清sMICA测量

[0769] 向B6-MICA转基因小鼠给予以5e7个细胞/毫升的浓度皮下(SubQ)注射100ul EG7-MICA细胞(5e6个细胞/小鼠)。将肿瘤植入当天指定为第0天。在第5天,向动物给予以10mL/kg剂量体积腹膜内(IP)注射指定抗体。在第8及12天(在抗体给予之后72及168小时时)收集血清样品以用于sMICA测量。

[0770] 在Meso Scale Discovery(MSD)平台上进行的定性配体结合分析用于测量EG7-MICA小鼠血清中的总可溶性MICA(sMICA)。简言之,首先用生物素化捕获MICA抗体(MICA.1-生物素)涂布MSD金96孔链亲和素培养板。随后将培养板与样品一起培育,且允许在该培养板上捕获sMICA。添加钌化检测MICA抗体(MICA.2-Ru)以完成夹心免疫分析。总sMICA分析在存在MICA.36-mIgG2a的情况下检测到重组及内源性MICA形式两者。分析读数为电化学发光(ECL)。在添加读取缓冲液及在MSD SECTOR仪器上读取培养板之后获得ECL。所得ECL为存在于样品中的sMICA量的定量量度。在抗体给予之后72小时时,用1mg/kg及10mg/kg的MICA.36-mIgG2a处理的小鼠在其血清中的sMICA的量增加;此类增加在抗体给予之后168小时时未观测到(图25)。

[0771] 实施例22.sMICA药物代谢动力学(PK)研究

[0772] 为了测量IV PK,在存在及不存在MICA.36-mIgG2a抗体的情况下,在B6-MICA转基因小鼠(未携有肿瘤)中以0.1及10ug/kg的剂量评估sMICA *009。首先,经由腹膜内途径(IP)施与10mpk(10mg/kg)剂量的MICA.36-mIgG2a抗体或KLH同种型对照。接着,在给予MICA.36-mIgG2a抗体后72小时时,以IV快速注射形式施与sMICA*009。在对小鼠进行sMICA给予后2分钟、15分钟、30分钟、1小时、6小时、24小时、72小时、168小时及336小时时,收集用于PK分析的血清样品。非分室PK分析用于估算sMICA及MICA.36-mIgG2a抗体的PK参数。以0.1μg/kg给药的动物中的sMICA的含量低于定量水平(BLQ)。当单独给予时,10ug/kg的sMICA的T1/2为0.07小时,但在存在MICA.36-mIgG2a的情况下,sMICA半衰期明显更长(3.5小时)(图26),很可能归因于sMICA-mAb复合物的$T_{1/2}$相对于sMICA的$T_{1/2}$更长。MICA.36-

mIgG2a的PK与先前研究相符,且不受sMICA给予影响。

[0773] 对特定实施方案的前述描述将充分揭露本发明的一般性质,以使得在不脱离本发明的一般概念的情况下,其他人可藉由应用熟习此项技术者所了解的知识针对各种应用而容易地修改和/或调适此类特定实施方案,而无需进行不当实验。因此,基于本文所呈现的教示及导引,此类调适及修改意欲处于所公开的实施方案的等效者的含义及范围内。应理解,本文中的措辞或术语是出于描述而非限制的目的,以使得本说明书的术语或措辞应由熟练技术人员鉴于教示及导引来进行解译。

[0774] 考虑本文所公开的本发明的说明书及实践,熟习此项技术者将清楚本发明的其他实施方案。意欲使本说明书及实施例仅视为例示性的,其中本发明的真正范畴及精神由以下权利要求指示。

[0775] 本文所公开的所有公开案、专利及专利申请案以引用的方式并入本文中作为参考,如同各个别公开案、专利或专利申请案具体且个别地指示为以引用的方式并入一般。

[0776] 本申请案主张2018年3月23日提交的美国临时申请案第62/647,556号及2018年5月4日提交的第62/667,170号的权益,所述申请案以全文引用的方式并入本文中作为参考。

序列表

<110> 百时美施贵宝公司
<120> 抗MICA和/或MICB抗体及其用途
<130> 3338.101PC02/ELE/C-K/BMD
<150> US 62/667,170
<151> 2018-05-04
<150> US 62/647,556
<151> 2018-03-23
<160> 133
<170> PatentIn版本3.5
<210> 1
<211> 345
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 19G6-MICA.36 VH1
<400> 1
caggtgcaac tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatgcca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcgagg ggctggaatg ggtggcactt atatggtatg atggaagtaa taaattctat 180
ggagactccg tgaagggccg cttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag cgccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaggga 300
agtgggcact actggggcca gggaaccctg gtcaccgtct cctca 345
<210> 2
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 19G6-MICA.36 VH1
<400> 2
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Leu Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Gly Asp Ser Val
50 55 60
[0001] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ser Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Gly Ser Gly His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 3
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 19G6-MICA.36 VK1
<400> 3
gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcatcagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagttc ctaagtccct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321
<210> 4
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 19G6-MICA.36 VK1
<400> 4
Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Ile

85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 5
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 19G6-MICA.36 VH1_CDR1
<400> 5
Asn Tyr Ala Met His
1 5
<210> 6
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 19G6-MICA.36 VH1_CDR2
<400> 6
Leu Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Gly Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 7
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 19G6-MICA.36 VH1_CDR3
<400> 7
Glu Gly Ser Gly His Tyr
1 5
<210> 8
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 19G6-MICA.36 VK1_CDR1
[0002] <400> 8
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10
<210> 9
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 19G6-MICA.36 VK1_CDR2
<400> 9
Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5
<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 19G6-MICA.36 VK1_CDR3
<400> 10
Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Ile Thr
1 5
<210> 11
<211> 408
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 VH1
<400> 11
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggagacgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120
tgtgcagcgt ctggattcac cttcagtaac tataacatac actgggtccg ccaggctcca 180
ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata aggtatgatg gaattaataa atactatgca 240
gactccgtga agggccgatt catcatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag cgggcccct 360
gatgctttta atatctgggg ccaagggaca atggtcaccg tctcttca 408
<210> 12
<211> 136
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 16A5-MICA.52 VH1
<400> 12
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Val Val Gln
20 25 30
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
Ser Asn Tyr Asn Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ala Val Ile Arg Tyr Asp Gly Ile Asn Lys Tyr Tyr Ala
65 70 75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Pro Pro Asp Ala Phe Asn Ile Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
130 135
<210> 13
<211> 381
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 VK1
<400> 13
atgagggtcc ccgctcagct cctggggctt ctgctgctct ggctcccagg tgccagatgt 60
gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120
atcacttgcc gggcaagtca gggcatcagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca 180
gggaaagttc ctaagtccct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 240
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 300
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgatcac cttcggccaa 360
gggacacgac tggagattaa a 381
<210> 14
<211> 127
<212> PRT
[0003] <213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 VK1
<400> 14
Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15
Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly
35 40 45
Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro
50 55 60
Lys Ser Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn
100 105 110
Ser Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
115 120 125
<210> 15
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 VH1_CDR1
<400> 15
Asn Tyr Asn Ile His
1 5
<210> 16
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 VH1_CDR2
<400> 16
Val Ile Arg Tyr Asp Gly Ile Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 VH1_CDR3
<400> 17
Gly Pro Pro Asp Ala Phe Asn Ile
1 5
<210> 18
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 VK1_CDR1
<400> 18
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10
<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 VK1_CDR2
<400> 19
Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5
<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 VK1_CDR3
<400> 20
Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Ile Thr
1 5
<210> 21
<211> 414
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 24G11-MICA.54 VH1
<400> 21
atggggtcaa ccgccatcct cgccctcctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct gaagatctcc 120
tgtaagggtt ctggatacag ttttaccaac tactggatcg gctgggtgcg ccagatgccc 180
gggaaaggcc tggagtggtt ggggatcatc catcctggtg actcttatac cagatacagc 240
ccgtccttcc aaggccaggt caccatctca gccgacaagt ccatcagcac cgcctacctg 300
cagtggagca gcctgaaggc ctcggacacc gccatatatt actgtgcgag agagggtata 360
gcagcaactc cctttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 414
<210> 22
<211> 138
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 24G11-MICA.54 VH1
<400> 22
Met Gly Ser Thr Ala Ile Leu Ala Leu Leu Leu Ala Val Leu Gln Gly
1 5 10 15
Val Cys Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30
Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe
35 40 45
Thr Asn Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Leu Gly Ile Ile His Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser
65 70 75 80
Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser
85 90 95
Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Ile
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Ile Ala Ala Thr Pro Phe Asp Tyr Trp
115 120 125
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135
<210> 23

[0004]

<211> 381
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 24G11-MICA.54 VK1
<400> 23
atggaagccc cagctcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggttcca acagaaacct 180
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 240
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 300
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcctccgac gttcggccaa 360
gggaccaagg tggaaatcaa a 381
<210> 24
<211> 127
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 24G11-MICA.54 VK1
<400> 24
Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15
Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30
Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45
Val Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60
Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95
Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser
100 105 110
Asn Trp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
<210> 25
<211> 5
[0005] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 24G11-MICA.54 VH1_CDR1
<400> 25
Asn Tyr Trp Ile Gly
1 5
<210> 26
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 24G11-MICA.54 VH1_CDR2
<400> 26
Ile Ile His Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 27
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 24G11-MICA.54 VH1_CDR3
<400> 27
Glu Gly Ile Ala Ala Thr Pro Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 28
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 24G11-MICA.54 VK1_CDR1
<400> 28
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10
<210> 29
<211> 7
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 24G11-MICA.54 VK1_CDR2
<400> 29
Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5
<210> 30
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 24G11-MICA.54 VK1_CDR3
<400> 30
Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr
1 5
<210> 31
<211> 414
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 3F5-MICA.2 VH1
<400> 31
atggagttgg ggctgtgctg gattttcctt gttgctattt tagaaggtgt ccagtgtgag 60
gtgcaactgg tggaatctgg gggaggcttg gtacagcctg gggggtccct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtacc tatagcatga actgggtccg ccaggctcca 180
gggaaggggc tggagtgggt ttcatacatt agttatcgta gtcgtaccat atactacgca 240
gactctgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaggaactc actgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagaga cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag atggggctat 360
ggttcggggg gctttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 414
<210> 32
<211> 138
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 3F5-MICA.2 VH1
<400> 32
Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Ile Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
1 5 10 15
[0006] Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
Ser Thr Tyr Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Tyr Arg Ser Arg Thr Ile Tyr Tyr Ala
65 70 75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn
85 90 95
Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Tyr Gly Ser Gly Gly Phe Asp Tyr Trp
115 120 125
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135
<210> 33
<211> 381
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 3F5-MICA.2 VK1
<400> 33
atggaaaccc cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 180
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 240
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 300
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcattcac tttcggccct 360
gggaccaaag tggatatcaa a 381
<210> 34
<211> 127
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 3F5-MICA.2 VK1
<400> 34
Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
20 25 30
Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45
Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50 55 60
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
65 70 75 80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
100 105 110
Gly Ser Ser Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
115 120 125

<210> 35
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 3F5-MICA.2 VH1_CDR1
<400> 35
Thr Tyr Ser Met Asn
1 5

<210> 36
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 3F5-MICA.2 VH1_CDR2
<400> 36
Tyr Ile Ser Tyr Arg Ser Arg Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

[0007]

<210> 37
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 3F5-MICA.2 VH1_CDR3
<400> 37
Trp Gly Tyr Gly Ser Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 38
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 3F5-MICA.2 VK1_CDR1
<400> 38
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 39
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 3F5-MICA.2 VK1_CDR2
<400> 39
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 40
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 3F5-MICA.2 VK1_CDR3
<400> 40
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Phe Thr
1 5

<210> 41
<211> 420
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 71C2 VH1
<400> 41

atggagttgg gactgagctg gattttcctt ttggctattt taaaaggtgt ccagtgtgaa 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtacagcctg gcaggtccct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac ctttaataat tatgccatgc actgggtccg gcaagctcca 180
gggaagggcc tggagtgggt ctcaggtatt acttggaata gtgatagcat aggctatgcg 240
gactctgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaactc cctgtatctg 300
caaatgaaca gtctgagagc tgaggacacg gccttgtatt actgtgcaaa agattccgta 360
ttactatggt tcgggggtat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 420

<210> 42
<211> 140
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 71C2 VH1
<400> 42

Met Glu Leu Gly Leu Ser Trp Ile Phe Leu Leu Ala Ile Leu Lys Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
Asn Asn Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ser Gly Ile Thr Trp Asn Ser Asp Ser Ile Gly Tyr Ala
65 70 75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95
Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Ser Val Leu Leu Trp Phe Gly Gly Met Asp
115 120 125
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

<210> 43
<211> 387
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 71C2 VK1

[0008] <400> 43

atggaaaccc cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 180
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 240
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 300
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcacctcc gtacactttt 360
ggccagggga ccaagctgga gatcaaa 387

<210> 44
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 71C2 VK1
<400> 44

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15
Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
20 25 30
Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45
Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50 55 60
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
65 70 75 80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
100 105 110
Gly Ser Ser Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
115 120 125
Lys

<210> 45
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 71C2 VH1_CDR1

<400> 45
Asn Tyr Ala Met His
1 5
<210> 46
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 71C2 VH1_CDR2
<400> 46
Gly Ile Thr Trp Asn Ser Asp Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 47
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 71C2 VH1_CDR3
<400> 47
Asp Ser Val Leu Leu Trp Phe Gly Gly Met Asp Val
1 5 10
<210> 48
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 71C2 VK1_CDR1
<400> 48
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10
<210> 49
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 71C2 VK1_CDR2
[0009] <400> 49
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5
<210> 50
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 71C2 VK1_CDR3
<400> 50
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Tyr Thr
1 5 10
<210> 51
<211> 332
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人MICA氨基酸序列
<400> 51
Met Gly Leu Gly Pro Val Phe Leu Leu Leu Ala Gly Ile Phe Pro Phe
1 5 10 15
Ala Pro Pro Gly Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu
20 25 30
Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu
35 40 45
Val His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Cys
50 55 60
Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys
65 70 75 80
Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu
85 90 95
Arg Met Thr Leu Ala His Ile Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser
100 105 110
Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg
115 120 125
Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn
130 135 140
Leu Glu Thr Glu Glu Trp Thr Val Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr
145 150 155 160

Leu Ala Met Asn Val Arg Asn Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr
165 170 175
Lys Thr His Tyr His Ala Met His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg
180 185 190
Arg Tyr Leu Glu Ser Gly Val Val Leu Arg Arg Thr Val Pro Pro Met
195 200 205
Val Asn Val Thr Arg Ser Glu Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr
210 215 220
Cys Arg Ala Ser Ser Phe Tyr Pro Arg Asn Ile Ile Leu Thr Trp Arg
225 230 235 240
Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val
245 250 255
Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile
260 265 270
Cys Arg Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly
275 280 285
Asn His Ser Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln
290 295 300
Ser His Trp Gln Thr Phe His Val Ser Ala Val Ala Ala Gly Cys Cys
305 310 315 320
Tyr Phe Cys Tyr Tyr Tyr Phe Leu Cys Pro Leu Leu
325 330

<210> 52
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA.36 NF G236A表位区1
<400> 52
Trp Thr Val Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met
1 5 10
<210> 53
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA.36 NF G236A表位区2
<400> 53

[0010]

Tyr Pro Arg Asn Ile Ile Leu Thr
1 5
<210> 54
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA.36 NF G236A表位区3.1
<400> 54
Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln
1 5 10
<210> 55
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA.36 NF G236A表位区3.2
<400> 55
Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp
1 5 10 15
<210> 56
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA.2表位区1
<400> 56
Leu Arg Arg Thr Val Pro Pro Met Val Asn Val Thr Arg Ser Glu Ala
1 5 10 15
Ser Glu Gly Asn
20
<210> 57
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA.2表位区2
<400> 57
Thr Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asp Thr Gln Gln

1 5 10 15

<210> 58
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 19G6-MICA.36 重链氨基酸
<400> 58

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

[0011]

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440

<210> 59
<211> 1332
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 19G6-MICA.36 重链核苷酸
<400> 59

caggtgcaac tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatgcca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcgagg ggctggaatg ggtggcactt atatggtatg atggaagtaa taaattctat 180
ggagactccg tgaagggccg cttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag cgccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaggga 300
agtgggcact actggggcca gggaaccctg gtcaccgtct cctcagctag caccaagggc 360

ccatcggtct tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctgggggcac agcggccctg 420
ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 480
ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 540
agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600
aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agcccaaatc ttgtgacaaa 660
actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaactcctgg cgggaccgtc agtcttcctc 720
ttcccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg 780
gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 900
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 960
gtctccaaca aagccctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020
ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1080
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200
tccttcttcc tctatagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1320
ctgtccccgg gt 1332

<210> 60
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 19G6-MICA.36 轻链氨基酸
<400> 60

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

[0012]

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 61
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 19G6-MICA.36 轻链核苷酸
<400> 61

gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcatcagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagttc ctaagtccct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa acgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 62
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 重链氨基酸
<400> 62

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

[0013]

```
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
                325                 330                 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
            340                 345                 350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
                405                 410                 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 63
<211> 1338
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 重链核苷酸
<400> 63

```
caggtgcagc tggtggagtc tgggggagac gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactataaca tacactgggt ccgccaggct     120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt ataaggtatg atggaattaa taaatactat     180
gcagactccg tgaagggccg attcatcatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat     240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagcgggccc     300
cctgatgctt ttaatatctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcttc agctagcacc     360
aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg     420
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca     480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac     540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc     600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt     660
gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc     720
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca     780
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac     840
```

[0014]

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1080
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200
gacggctcct tcttcctcta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320
ctctccctgt ccccgggt 1338

<210> 64
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 轻链氨基酸
<400> 64

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

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

<210> 65
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 轻链核苷酸
<400> 65

gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcatcagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagttc ctaagtccct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa acgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 66
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 24G11-MICA.54 重链氨基酸
<400> 66

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45
Gly Ile Ile His Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

[0015]

```
    50                  55                  60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Glu Gly Ile Ala Ala Thr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
<210>  67
<211>  1344
<212>  DNA
<213>  人工序列
<220>
<223>  24G11-MICA.54 重链核苷酸
<400>  67
gaggtgcagc tggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc       60
tcctgtaagg gttctggata cagttttacc aactactgga tcggctgggt gcgccagatg      120
cccgggaaag gcctggagtg gttggggatc atccatcctg gtgactctta taccagatac      180
agcccgtcct tccaaggcca ggtcaccatc tcagccgaca agtccatcag caccgcctac      240
ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac accgccatat attactgtgc gagagagggt      300
atagcagcaa ctccctttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctcagct      360
agcaccaagg gcccatcggt cttcccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc      420
acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg      480
aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga      540
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac      600
atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa      660
tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggaccg       720
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag      780
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac      840
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc      900
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag      960
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa     1020
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg     1080
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc     1140
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg     1200
gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag     1260
```

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320
aagagcctct ccctgtcccc gggt 1344
<210> 68
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 24G11-MICA.54 轻链氨基酸
<400> 68
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 69
[0016] <211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 24G11-MICA.54 轻链核苷酸
<400> 69
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggttcca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcctccgac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa acgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642
<210> 70
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 3F5-MICA.2 重链氨基酸
<400> 70
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Tyr Arg Ser Arg Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Trp Gly Tyr Gly Ser Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

[0017]

```
        115                 120                 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 71
<211> 1344
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 3F5-MICA.2 重链核苷酸
<400> 71

```
gaggtgcaac tggtggaatc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctatagca tgaactgggt ccgccaggct     120
ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagttatc gtagtcgtac catatactac     180
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaggaa ctcactgtat     240
ctgcaaatga acagcctgag agacgaggac acggctgtgt attactgtgc gagatggggc     300
tatggttcgg ggggctttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctcagct     360
agcaccaagg gcccatcggt cttcccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc     420
acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg     480
aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga     540
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac     600
atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa     660
tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg     720
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag     780
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac     840
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc     900
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag     960
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa    1020
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg    1080
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc    1140
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg    1200
gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag    1260
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag    1320
aagagcctct ccctgtcccc gggt                                           1344
```

<210> 72
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 3F5-MICA.2 轻链氨基酸

<400> 72
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 73
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 3F5-MICA.2 轻链核苷酸
<400> 73

[0018]

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcattcac tttcggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa acgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642
<210> 74
<400> 74
000
<210> 75
<400> 75
000
<210> 76
<400> 76
000
<210> 77
<400> 77
000
<210> 78
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GITR VH
<400> 78
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120
<210> 79
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GITR VL
<400> 79
Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 80
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GITR VH
<400> 80
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Phe His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Gln Leu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 81
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GITR VL
<400> 81
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 82
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GITR VH
<400> 82

[0019]

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser
1 5 10 15
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
20 25 30
Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
35 40 45
Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Gly Gly Arg Ile Ala Val Ala Phe Tyr Tyr Ser Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GITR VL
<400> 83
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

[0020]
<210> 84
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GITR 重链
<400> 84
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
130 135 140
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190
Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
210 215 220
Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly

<210> 85
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GITR 轻链
<400> 85
Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
[0021] Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 86
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GITR 重链
<400> 86
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
130 135 140
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
195 200 205
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
210 215 220
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225 230 235 240
Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
245 250 255
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
260 265 270
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
275 280 285
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
290 295 300
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305 310 315 320
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
325 330 335
Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
355 360 365
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380

[0022]

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445
Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 87
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GITR 轻链
<400> 87

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

[0023]

```
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
<210> 88
<211> 287
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人 MICA 同工型 2 (MICA2)
<400> 88
Met Gly Leu Gly Pro Val Phe Leu Leu Leu Ala Gly Ile Phe Pro Phe
1               5                   10                  15
Ala Pro Pro Gly Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu
            20                  25                  30
Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu
        35                  40                  45
Val His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys
    50                  55                  60
Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys
65                  70                  75                  80
Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu
                85                  90                  95
Arg Met Thr Leu Ala His Ile Lys Asp Gln Lys Glu Val Pro Pro Met
            100                 105                 110
Val Asn Val Thr Arg Ser Glu Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr
        115                 120                 125
Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg
    130                 135                 140
Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val
145                 150                 155                 160
Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile
                165                 170                 175
Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly
            180                 185                 190
Asn His Ser Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln
        195                 200                 205
Ser His Trp Gln Thr Phe His Val Ser Ala Val Ala Ala Ala Ala Ile
    210                 215                 220
Phe Val Ile Ile Ile Phe Tyr Val Arg Cys Cys Lys Lys Lys Thr Ser
225                 230                 235                 240
Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln Val Leu Asp Gln His
                245                 250                 255
Pro Val Gly Thr Ser Asp His Arg Asp Ala Thr Gln Leu Gly Phe Gln
            260                 265                 270
Pro Leu Met Ser Asp Leu Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly Ala
        275                 280                 285
<210> 89
<211> 284
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA EC 结构域
<400> 89
Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly
1               5                   10                  15
Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu Val His Leu Asp Gly Gln Pro
            20                  25                  30
Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln
        35                  40                  45
Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg
    50                  55                  60
Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile
65                  70                  75                  80
Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys
                85                  90                  95
Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr
            100                 105                 110
Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr
        115                 120                 125
Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Arg Asn
    130                 135                 140
Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr His Ala Met
145                 150                 155                 160
His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val
```

165 170 175
Val Leu Arg Arg Thr Val Pro Pro Met Val Asn Val Thr Arg Ser Glu
180 185 190
Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr
195 200 205
Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser
210 215 220
His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr
225 230 235 240
Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg
245 250 255
Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val
260 265 270
Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln Ser His Trp
275 280

<210> 90
<211> 274
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 食蟹猴 MICA (部分的) UniProt-Q2MGE0
<400> 90
Glu Leu His Ser Leu Arg Tyr Asn Val Thr Val Leu Ser Arg Asp Gly
1 5 10 15
Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu Gly His Leu Asp Gly Gln Leu
20 25 30
Phe Leu Leu Tyr Asp Arg Gln Lys Cys Arg Ala Arg Pro Gln Gly Glu
35 40 45
Trp Ser Glu Asp Val Leu Gly Ala Lys Thr Trp Asp Thr Glu Thr Gly
50 55 60
Asp Leu Thr Glu Asn Gly Lys Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile
65 70 75 80
Lys Gly Gln Lys Gly Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Lys Val Cys
85 90 95
Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Gly Gly Leu Arg His Phe Tyr Tyr
100 105 110
Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Gln Glu Trp Thr
115 120 125
[0024] Glu Leu Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Leu Asn Ile Arg Asn
130 135 140
Phe Trp Lys Glu Asp Thr Met Lys Thr Lys Thr His Tyr Arg Ala Val
145 150 155 160
Gln Ala Asp Cys Leu Lys Lys Leu Gln Gln Tyr Leu Glu Ser Gly Val
165 170 175
Ala Val Arg Arg Thr Ala Pro Pro Met Val Asn Val Thr His Ser Glu
180 185 190
Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr
195 200 205
Pro Arg Asn Ile Ala Leu Thr Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Asn
210 215 220
His Asn Ala Gln Gln Trp Gly Gly Ile Leu Pro Asp Gln Asn Gly Thr
225 230 235 240
Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Arg Gln Gly Glu Glu Gln Arg
245 250 255
Phe Ala Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val
260 265 270
Pro Ser

<210> 91
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 野生型人 IgG
<400> 91
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 92
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人 IgG 的同种异型变体
<400> 92

[0025]

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 93
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> IgG1.1f - 无效应子功能的人 IgG1 恒定结构域
<400> 93
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

[0026]

<210> 94
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> IgG1.3f - 无效应子功能的人 IgG1 恒定结构域
<400> 94
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 95
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人 IgG4
<400> 95

[0027]

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 96
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

[0028]

<223> 人 IgG1κ 轻链
<400> 96
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105
<210> 97
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 重链恒定区 C-端
<400> 97
Leu Ser Pro Gly Lys
1 5
<210> 98
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 重链恒定区 C-端
<400> 98
Leu Ser Pro Gly
1
<210> 99
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 重链恒定区 C-端
<400> 99
Leu Ser Pro
1
<210> 100
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 信号肽
<400> 100
Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
1 5 10 15
Ala His Ser

<210> 101
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 信号肽
<400> 101
Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15
Asp Thr Thr Gly
20
<210> 102
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 信号肽
<400> 102
Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15
Val Leu Ser

<210> 103

<210> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 信号肽
<400> 103
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys

<210> 104
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 信号肽
<400> 104
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu
1 5 10 15
Pro Gly Ala Arg Cys
20
<210> 105
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 信号肽
<400> 105
Met Arg Ala Trp Ile Phe Phe Leu Leu Cys Leu Ala Gly Arg Ala Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 106
<211> 51
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 信号肽
[0029] <400> 106
Ala Thr Gly Ala Gly Gly Gly Cys Thr Thr Gly Gly Ala Thr Cys Thr
1 5 10 15
Thr Cys Thr Thr Thr Cys Thr Gly Cys Thr Cys Thr Gly Cys Cys Thr
20 25 30
Gly Gly Cys Cys Gly Gly Gly Ala Gly Ala Gly Cys Gly Cys Thr Cys
35 40 45
Gly Cys Ala
50
<210> 107
<211> 51
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 信号肽
<400> 107
Ala Thr Gly Ala Gly Gly Gly Cys Thr Thr Gly Gly Ala Thr Cys Thr
1 5 10 15
Thr Cys Thr Thr Thr Cys Thr Gly Cys Thr Cys Thr Gly Cys Cys Thr
20 25 30
Gly Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly Cys Gly Cys Cys Thr Thr Gly
35 40 45
Gly Cys Cys
50
<210> 108
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头
<400> 108
Pro Val Gly Val Val
1 5
<210> 109
<211> 383
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA1 (MICA 变体)

<400> 109
Met Gly Leu Gly Pro Val Phe Leu Leu Leu Ala Gly Ile Phe Pro Phe
1 5 10 15
Ala Pro Pro Gly Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu
20 25 30
Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu
35 40 45
Val His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys
50 55 60
Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys
65 70 75 80
Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu
85 90 95
Arg Met Thr Leu Ala His Ile Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser
100 105 110
Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg
115 120 125
Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn
130 135 140
Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr
145 150 155 160
Leu Ala Met Asn Val Arg Asn Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr
165 170 175
Lys Thr His Tyr His Ala Met His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg
180 185 190
Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val Val Leu Arg Arg Thr Val Pro Pro Met
195 200 205
Val Asn Val Thr Arg Ser Glu Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr
210 215 220
Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg
225 230 235 240
Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val
245 250 255
Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile
260 265 270
Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly
275 280 285
Asn His Ser Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln
290 295 300
Ser His Trp Gln Thr Phe His Val Ser Ala Val Ala Ala Ala Ala Ile
305 310 315 320
Phe Val Ile Ile Ile Phe Tyr Val Arg Cys Cys Lys Lys Lys Thr Ser
325 330 335
Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln Val Leu Asp Gln His
340 345 350
Pro Val Gly Thr Ser Asp His Arg Asp Ala Thr Gln Leu Gly Phe Gln
355 360 365
Pro Leu Met Ser Asp Leu Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly Ala
370 375 380

[0030]

<210> 110
<211> 383
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA*002
<400> 110
Met Gly Leu Gly Pro Val Phe Leu Leu Leu Ala Gly Ile Phe Pro Phe
1 5 10 15
Ala Pro Pro Gly Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu
20 25 30
Thr Val Leu Ser Gly Asp Gly Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu
35 40 45
Val His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys
50 55 60
Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys
65 70 75 80
Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu
85 90 95
Arg Met Thr Leu Ala His Ile Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser
100 105 110
Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg
115 120 125
Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn
130 135 140
Leu Glu Thr Glu Glu Trp Thr Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr
145 150 155 160
Leu Ala Met Asn Val Arg Asn Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr

165 170 175
Lys Thr His Tyr His Ala Met His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg
180 185 190
Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val Val Leu Arg Arg Thr Val Pro Pro Met
195 200 205
Val Asn Val Thr Arg Ser Glu Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr
210 215 220
Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg
225 230 235 240
Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val
245 250 255
Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile
260 265 270
Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly
275 280 285
Asn His Ser Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln
290 295 300
Ser His Trp Gln Thr Phe His Val Ser Ala Val Ala Ala Ala Ala Ile
305 310 315 320
Phe Val Ile Ile Ile Phe Tyr Val Arg Cys Cys Lys Lys Lys Thr Ser
325 330 335
Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln Val Leu Asp Gln His
340 345 350
Pro Val Gly Thr Ser Asp His Arg Asp Ala Thr Gln Leu Gly Phe Gln
355 360 365
Pro Leu Met Ser Asp Leu Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly Thr
370 375 380

<210> 111
<211> 385
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA*004
<400> 111

Met Gly Leu Gly Pro Val Phe Leu Leu Leu Ala Gly Ile Phe Pro Phe
1 5 10 15
Ala Pro Pro Gly Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu
20 25 30

[0031]

Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu
35 40 45
Val His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Cys
50 55 60
Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys
65 70 75 80
Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu
85 90 95
Arg Met Thr Leu Ala His Ile Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser
100 105 110
Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg
115 120 125
Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn
130 135 140
Val Glu Thr Glu Glu Trp Thr Val Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr
145 150 155 160
Leu Ala Met Asn Val Arg Asn Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr
165 170 175
Lys Thr His Tyr His Ala Met His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg
180 185 190
Arg Tyr Leu Glu Ser Ser Val Val Leu Arg Arg Arg Val Pro Pro Met
195 200 205
Val Asn Val Thr Arg Ser Glu Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr
210 215 220
Cys Arg Ala Ser Ser Phe Tyr Pro Arg Asn Ile Thr Leu Ser Thr Arg
225 230 235 240
Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val
245 250 255
Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile
260 265 270
Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly
275 280 285
Asn His Ser Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln
290 295 300
Ser His Trp Gln Thr Phe His Val Ser Ala Val Ala Ala Ala Ala Ala
305 310 315 320
Ala Ile Phe Val Ile Ile Ile Phe Tyr Val Arg Cys Cys Lys Lys Lys
325 330 335
Thr Ser Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln Val Leu Asp

340 345 350
Gln His Pro Val Gly Thr Ser Asp His Arg Asp Ala Thr Gln Leu Gly
355 360 365
Phe Gln Pro Leu Met Ser Ala Leu Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly
370 375 380
Ala
385

<210> 112
<211> 331
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA*008
<400> 112

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

[0032] Arg Tyr Leu Glu Ser Gly Val Val Leu Arg Arg Thr Val Pro Pro Met
195 200 205
Val Asn Val Thr Arg Ser Glu Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr
210 215 220
Cys Arg Ala Ser Ser Phe Tyr Pro Arg Asn Ile Ile Leu Thr Trp Arg
225 230 235 240
Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val
245 250 255
Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile
260 265 270
Cys Arg Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly
275 280 285
Asn His Ser Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln
290 295 300
Ser His Trp Gln Thr Phe His Val Ser Ala Val Ala Ala Ala Ala Ile
305 310 315 320
Phe Val Ile Ile Ile Phe Tyr Val Arg Cys Cys
325 330

<210> 113
<211> 383
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA*009
<400> 113

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

Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg
115 120 125
Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn
130 135 140
Leu Glu Thr Glu Glu Trp Thr Val Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr
145 150 155 160
Leu Ala Met Asn Val Arg Asn Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr
165 170 175
Lys Thr His Tyr His Ala Met His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg
180 185 190
Arg Tyr Leu Glu Ser Ser Val Val Leu Arg Arg Thr Val Pro Pro Met
195 200 205
Val Asn Val Thr Arg Ser Glu Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr
210 215 220
Cys Arg Ala Ser Ser Phe Tyr Pro Arg Asn Ile Thr Leu Thr Trp Arg
225 230 235 240
Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val
245 250 255
Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile
260 265 270
Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly
275 280 285
Asn His Ser Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln
290 295 300
Ser His Trp Gln Thr Phe His Val Ser Ala Val Ala Ala Ala Ala Ile
305 310 315 320
Phe Val Ile Ile Ile Phe Tyr Val Arg Cys Cys Lys Lys Lys Thr Ser
325 330 335
Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln Val Leu Asp Gln His
340 345 350
Pro Val Gly Thr Ser Asp His Arg Asp Ala Thr Gln Leu Gly Phe Gln
355 360 365
Pro Leu Met Ser Ala Leu Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly Thr
370 375 380

[0033]

<210> 114
<211> 384
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA*010
<400> 114

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

Asn His Ser Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln
290 295 300
Ser His Trp Gln Thr Phe His Val Ser Ala Val Ala Ala Ala Ala Ala
305 310 315 320
Ile Phe Val Ile Ile Ile Phe Tyr Val Arg Cys Cys Lys Lys Lys Thr
325 330 335
Ser Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln Val Leu Asp Gln
340 345 350
His Pro Val Gly Thr Ser Asp His Arg Asp Ala Thr Gln Leu Gly Phe
355 360 365
Gln Pro Leu Met Ser Ala Leu Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly Ala
370 375 380

<210> 115
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA.20 VH
<400> 115

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

<210> 116
<211> 108
<212> PRT
[0034] <213> 人工序列
<220>
<223> MICA.20 VL
<400> 116

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

<210> 117
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA.21 VH
<400> 117

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 118
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA.21 VL
<400> 118

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

<210> 119
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA.22 VH
<400> 119

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

[0035]

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Trp Gly Tyr Gly Ser Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 120
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA.22 VL
<400> 120

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

<210> 121
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA.38 VH
<400> 121

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

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

<210> 122
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> MICA.38 VL
<400> 122
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Ser
85 90 95
Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 123
<400> 123
000

[0036]

<210> 124
<400> 124
000
<210> 125
<400> 125
000
<210> 126
<400> 126
000
<210> 127
<211> 387
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 VK2
<400> 127
Ala Thr Gly Gly Ala Cys Ala Thr Gly Ala Gly Gly Gly Thr Cys Cys
1 5 10 15
Cys Cys Gly Cys Thr Cys Ala Gly Cys Thr Cys Cys Thr Gly Gly Gly
20 25 30
Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Cys Thr Gly Gly
35 40 45
Cys Thr Cys Cys Cys Ala Gly Gly Thr Gly Cys Cys Ala Gly Ala Thr
50 55 60
Gly Thr Gly Cys Cys Ala Thr Cys Cys Ala Gly Thr Thr Gly Ala Cys
65 70 75 80
Cys Cys Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Thr Cys Cys Thr Cys Cys
85 90 95
Cys Thr Gly Thr Cys Thr Gly Cys Ala Thr Cys Thr Gly Thr Ala Gly
100 105 110
Gly Ala Gly Ala Cys Ala Gly Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr
115 120 125
Cys Ala Cys Thr Thr Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Thr
130 135 140
Cys Ala Gly Gly Gly Cys Ala Thr Thr Ala Gly Cys Ala Gly Thr Gly
145 150 155 160
Cys Thr Thr Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala
165 170 175
Gly Cys Ala Gly Ala Ala Ala Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Ala Ala
180 185 190

Gly Cys Thr Cys Cys Thr Ala Ala Gly Cys Thr Cys Cys Thr Gly Ala
195 200 205
Thr Cys Thr Ala Thr Gly Ala Thr Gly Cys Cys Thr Cys Cys Ala Gly
210 215 220
Thr Thr Thr Gly Gly Ala Ala Ala Gly Thr Gly Gly Gly Gly Thr Cys
225 230 235 240
Cys Cys Ala Thr Cys Ala Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Cys Gly
245 250 255
Gly Cys Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys
260 265 270
Ala Gly Ala Thr Thr Thr Cys Ala Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Cys
275 280 285
Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Gly Cys Ala Gly Cys
290 295 300
Cys Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Gly Cys Ala Ala Cys
305 310 315 320
Thr Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Ala Cys Ala Gly
325 330 335
Thr Thr Thr Ala Ala Thr Ala Gly Thr Thr Ala Cys Cys Cys Ala Thr
340 345 350
Thr Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Gly Gly Cys Cys Cys Thr Gly Gly
355 360 365
Gly Ala Cys Cys Ala Ala Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ala Thr Cys
370 375 380
Ala Ala Ala
385

<210> 128
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 16A5-MICA.52 VK2
<400> 128

[0037]

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15
Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30
Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
35 40 45
Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
50 55 60
Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
65 70 75 80
Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
85 90 95
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110
Phe Asn Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
115 120 125
Lys

<210> 129
<400> 129
000
<210> 130
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 19G6-MICA.36 重链氨基酸 (236G)
<400> 130

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

[0038]

```
        115                 120                 125
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
    130                 135                 140
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145                 150                 155                 160
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
                165                 170                 175
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
            180                 185                 190
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
        195                 200                 205
Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
    210                 215                 220
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225                 230                 235                 240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
                245                 250                 255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
            260                 265                 270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
        275                 280                 285
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
    290                 295                 300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305                 310                 315                 320
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
                325                 330                 335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
            340                 345                 350
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
        355                 360                 365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
    370                 375                 380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385                 390                 395                 400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
                405                 410                 415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
            420                 425                 430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440
<210>  131
<211>  1332
<212>  DNA
<213>  人工序列
<220>
<223>  19G6-MICA.36 重链核苷酸 (236G)
<400>  131
caggtgcaac tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatgcca tgcactgggt ccgccaggct     120
ccaggcgagg ggctggaatg ggtggcactt atatggtatg atggaagtaa taaattctat     180
ggagactccg tgaagggccg cttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat     240
ctgcaaatga acagcctgag cgccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaggga     300
agtgggcact actggggcca gggaaccctg gtcaccgtct cctcagctag caccaagggc     360
ccatcggtct tcccctggc accctcctcc aagagcacct ctgggggcac agcggccctg     420
ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc     480
ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc     540
agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg     600
aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agcccaaatc ttgtgacaaa     660
actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc     720
ttcccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg     780
gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg     840
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg     900
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag     960
gtctccaaca aagccctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag    1020
ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag    1080
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag    1140
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc    1200
tccttcttcc tctatagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc    1260
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc    1320
ctgtccccgg gt                                                        1332
<210>  132
<211>  383
<212>  PRT
<213>  智人 (Homo sapiens)
<400>  132
Met Gly Leu Gly Arg Val Leu Leu Phe Leu Ala Val Ala Phe Pro Phe
```

[0039]

```
1               5                   10                  15
Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu
            20                  25                  30
Met Val Leu Ser Gln Asp Glu Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu
        35                  40                  45
Gly His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Arg
    50                  55                  60
Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Ala Lys
65                  70                  75                  80
Thr Trp Asp Thr Glu Thr Glu Asp Leu Thr Glu Asn Gly Gln Asp Leu
                85                  90                  95
Arg Arg Thr Leu Thr His Ile Lys Asp Gln Lys Gly Gly Leu His Ser
            100                 105                 110
Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys Glu Ile His Glu Asp Ser Ser Thr Arg
        115                 120                 125
Gly Ser Arg His Phe Tyr Tyr Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn
    130                 135                 140
Leu Glu Thr Gln Glu Ser Thr Val Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr
145                 150                 155                 160
Leu Ala Met Asn Val Thr Asn Phe Trp Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr
                165                 170                 175
Lys Thr His Tyr Arg Ala Met Gln Ala Asp Cys Leu Gln Lys Leu Gln
            180                 185                 190
Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val Ala Ile Arg Arg Thr Val Pro Pro Met
        195                 200                 205
Val Asn Val Thr Cys Ser Glu Val Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr
    210                 215                 220
Cys Arg Ala Ser Ser Phe Tyr Pro Arg Asn Ile Thr Leu Thr Trp Arg
225                 230                 235                 240
Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asn Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val
                245                 250                 255
Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile
            260                 265                 270
Arg Gln Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly
        275                 280                 285
Asn His Gly Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln
    290                 295                 300
Ser Gln Arg Thr Asp Phe Pro Tyr Val Ser Ala Ala Met Pro Cys Phe
305                 310                 315                 320
Val Ile Ile Ile Ile Leu Cys Val Pro Cys Cys Lys Lys Lys Thr Ser
                325                 330                 335
Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln Val Leu Asp Gln His
            340                 345                 350
Pro Val Gly Thr Gly Asp His Arg Asp Ala Ala Gln Leu Gly Phe Gln
        355                 360                 365
Pro Leu Met Ser Ala Thr Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly Ala
    370                 375                 380
<210>  133
<211>  340
<212>  PRT
<213>  智人
<400>  133
Met Gly Leu Gly Arg Val Leu Leu Phe Leu Ala Val Ala Phe Pro Phe
1               5                   10                  15
Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu
            20                  25                  30
Met Val Leu Ser Gln Asp Glu Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu
        35                  40                  45
Gly His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Arg
    50                  55                  60
Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Ala Lys
65                  70                  75                  80
Thr Trp Asp Thr Glu Thr Glu Asp Leu Thr Glu Asn Gly Gln Asp Leu
                85                  90                  95
Arg Arg Thr Leu Thr His Ile Lys Asp Gln Lys Gly Val Pro Gln Ser
            100                 105                 110
Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Thr Asn Phe Trp Lys Glu
        115                 120                 125
Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr Arg Ala Met Gln Ala Asp Cys
    130                 135                 140
Leu Gln Lys Leu Gln Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val Ala Ile Arg Arg
145                 150                 155                 160
Thr Val Pro Pro Met Val Asn Val Thr Cys Ser Glu Val Ser Glu Gly
                165                 170                 175
Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Ser Phe Tyr Pro Arg Asn Ile
            180                 185                 190
Thr Leu Thr Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asn Thr Gln
```

[0040]

```
          195                 200                 205
Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp
    210                 215                 220
Val Ala Thr Arg Ile Arg Gln Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr
225                 230                 235                 240
Met Glu His Ser Gly Asn His Gly Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys
                245                 250                 255
Val Leu Val Leu Gln Ser Gln Arg Thr Asp Phe Pro Tyr Val Ser Ala
            260                 265                 270
Ala Met Pro Cys Phe Val Ile Ile Ile Ile Leu Cys Val Pro Cys Cys
        275                 280                 285
Lys Lys Lys Thr Ser Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln
    290                 295                 300
Val Leu Asp Gln His Pro Val Gly Thr Gly Asp His Arg Asp Ala Ala
305                 310                 315                 320
Gln Leu Gly Phe Gln Pro Leu Met Ser Ala Thr Gly Ser Thr Gly Ser
                325                 330                 335
Thr Glu Gly Ala
            340
```

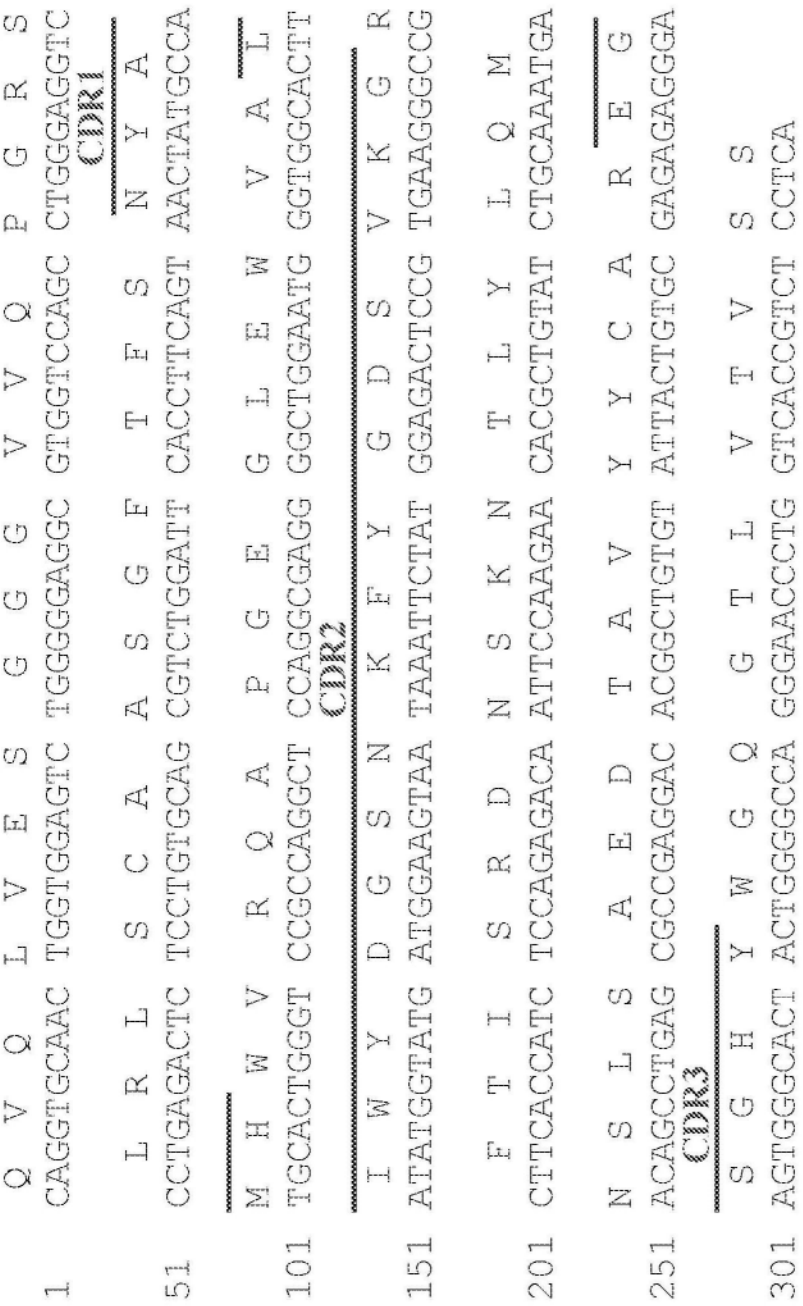

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S
CAGGTGCAAC TGGTGGAGTC TGGGGGAGGC GTGGTCCAGC CTGGGAGGTC
CDR1
L R L S C A A S G F T F S N Y A
CCTGAGACTC TCCTGTGCAG CGTCTGGATT CACCTTCAGT AACTATGCCA
M H W V R Q A P G E G L E W V A L
TGCACTGGGT CCGCCAGGCT CCAGGGCGAGG GGCTGGAATG GGTGGCACTT
CDR2
I W Y D G S N K F Y G D S V K G R
ATATGGTATG ATGGAAGTAA TAAATTCTAT GGAGACTCCG TGAAGGGCCG
F T I S R D N S K N T L Y L Q M
CTTCACCATC TCCAGAGACA ATTCCAAGAA CACGCTGTAT CTGCAAATGA
N S L S A E D T A V Y Y C A R E G
ACAGCCTGAG CGCCGAGGAC ACGGCTGTGT ATTACTGTGC GAGAGAGGGA
CDR3
S G H Y W G Q G T L V T V S S
AGTGGGCACT ACTGGGGCCA GGGAACCCTG GTCACCGTCT CCTCA
19G6-MICA.36 VH1

图1A

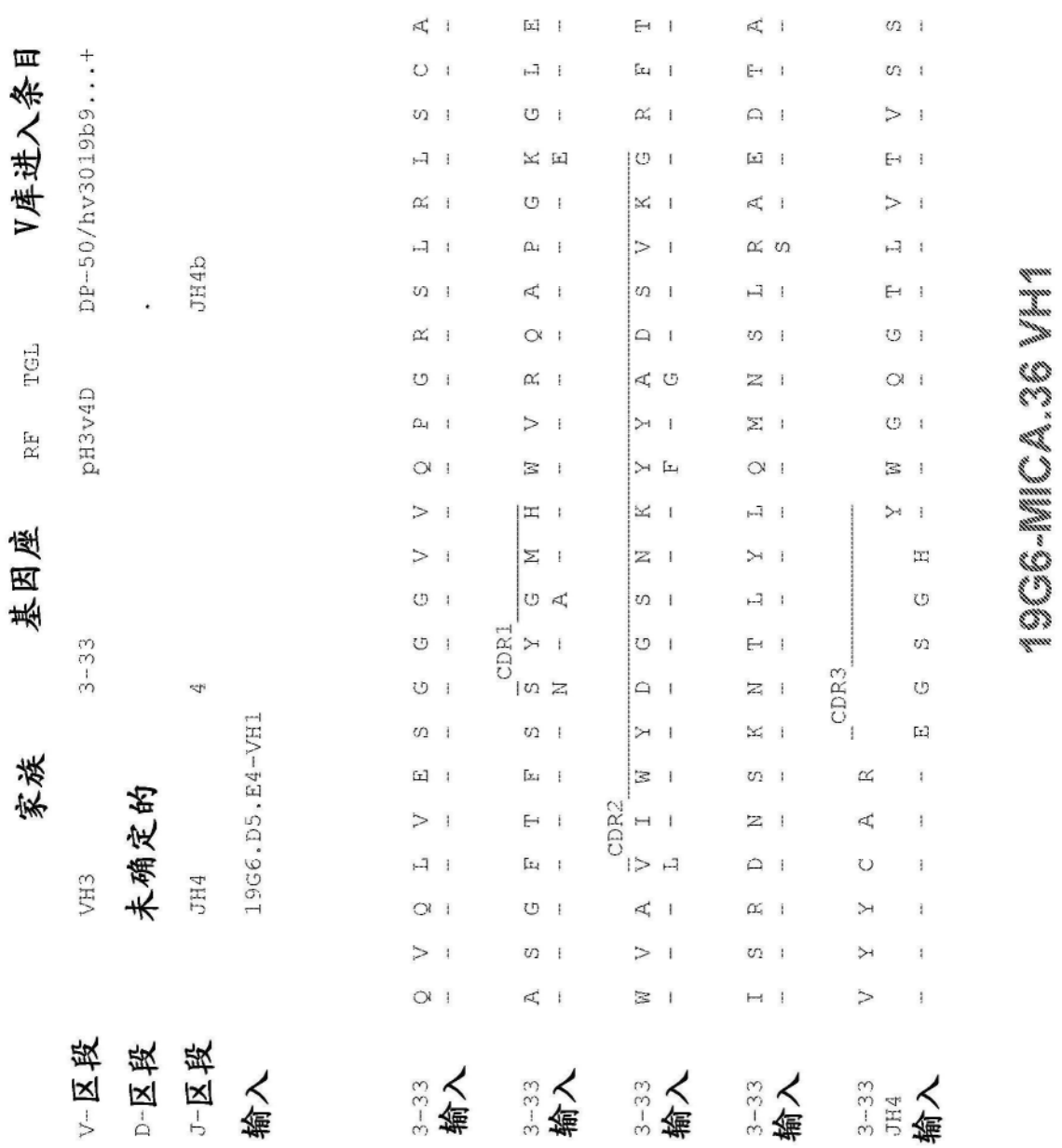

家族 基因座 RF TGL V库进入条目
V-区段 VH3 3-33 pH3v4D DP-50/hv3019b9...+
D-区段 未确定的
J-区段 JH4 4 JH4b
输入 19G6.D5.E4-VH1
3-33 Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A
输入 -
CDR1
3-33 A S G F T F S S Y G M H W V R Q A P G K G L E
输入 - - - - - - - N - A - - - - - - - - E - - -
CDR2
3-33 W V A V I W Y D G S N K Y Y A D S V K G R F T
输入 - - - L - - - - - - - - F - G - - - - - - -
3-33 I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A
输入 - - - - - - - - - - - - - - - - S - - - - -
CDR3
3-33 V Y Y C A R
JH4 Y W G Q G T L V T V S S
输入 - - - - - - E G S G H - - - - - - - - - - -
19G6-MICA.36 VH1

图1B

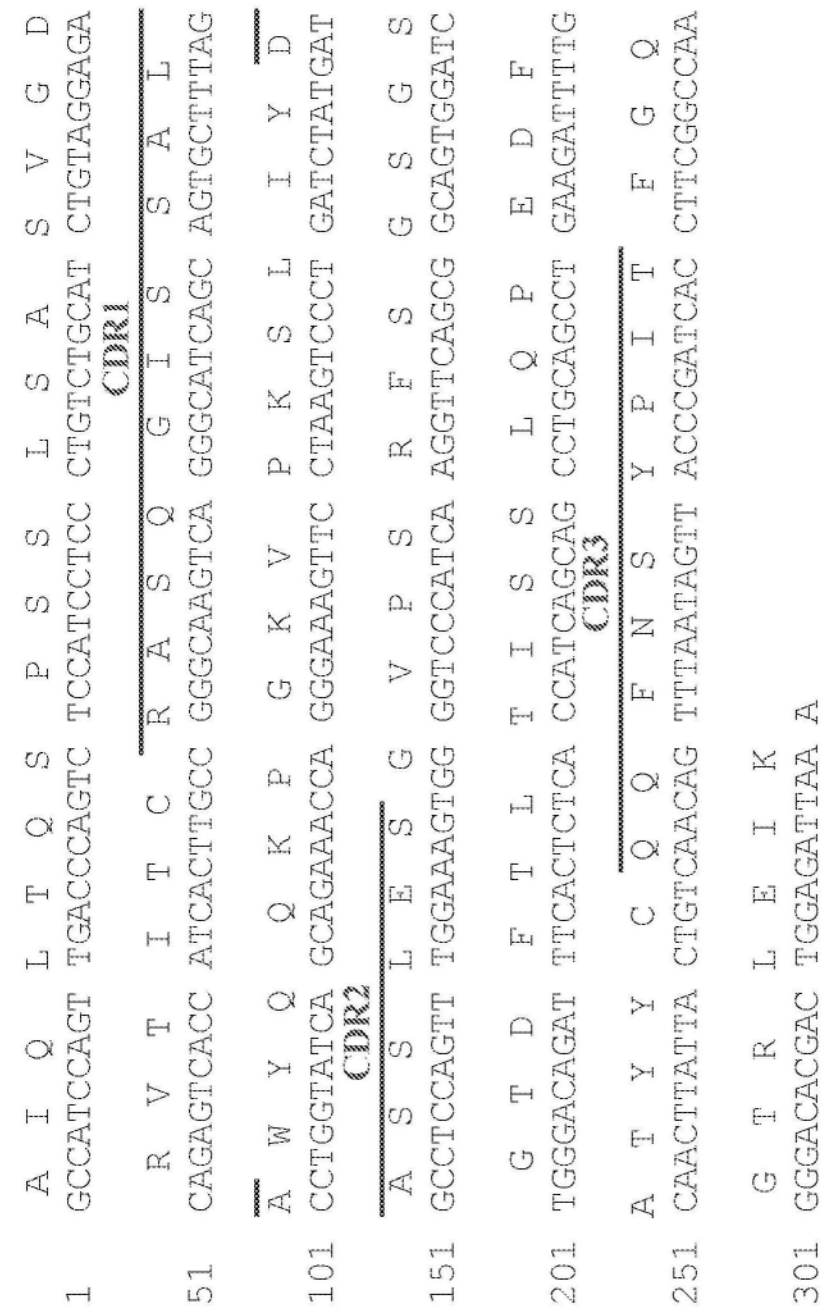

A I Q L T Q S P S S L S A S V G D
GCCATCCAGT TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA
CDR1
R V T I T C R A S Q G I S S A L
CAGAGTCACC ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GGGCATCAGC AGTGCTTTAG
A W Y Q Q K P G K V P K S L I Y D
CCTGGTATCA GCAGAAACCA GGGAAAGTTC CTAAGTCCCT GATCTATGAT
CDR2
A S S L E S G V P S R F S G S G S
GCCTCCAGTT TGGAAAGTGG GGTCCCATCA AGGTTCAGCG GCAGTGGATC
G T D F T L T I S S L Q P E D F
TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG CCTGCAGCCT GAAGATTTTG
CDR3
A T Y Y C Q Q F N S Y P I T F G Q
CAACTTATTA CTGTCAACAG TTTAATAGTT ACCCGATCAC CTTCGGCCAA
G T R L E I K
GGGACACGAC TGGAGATTAA A
19G6-MICA.36 VK1

图1C

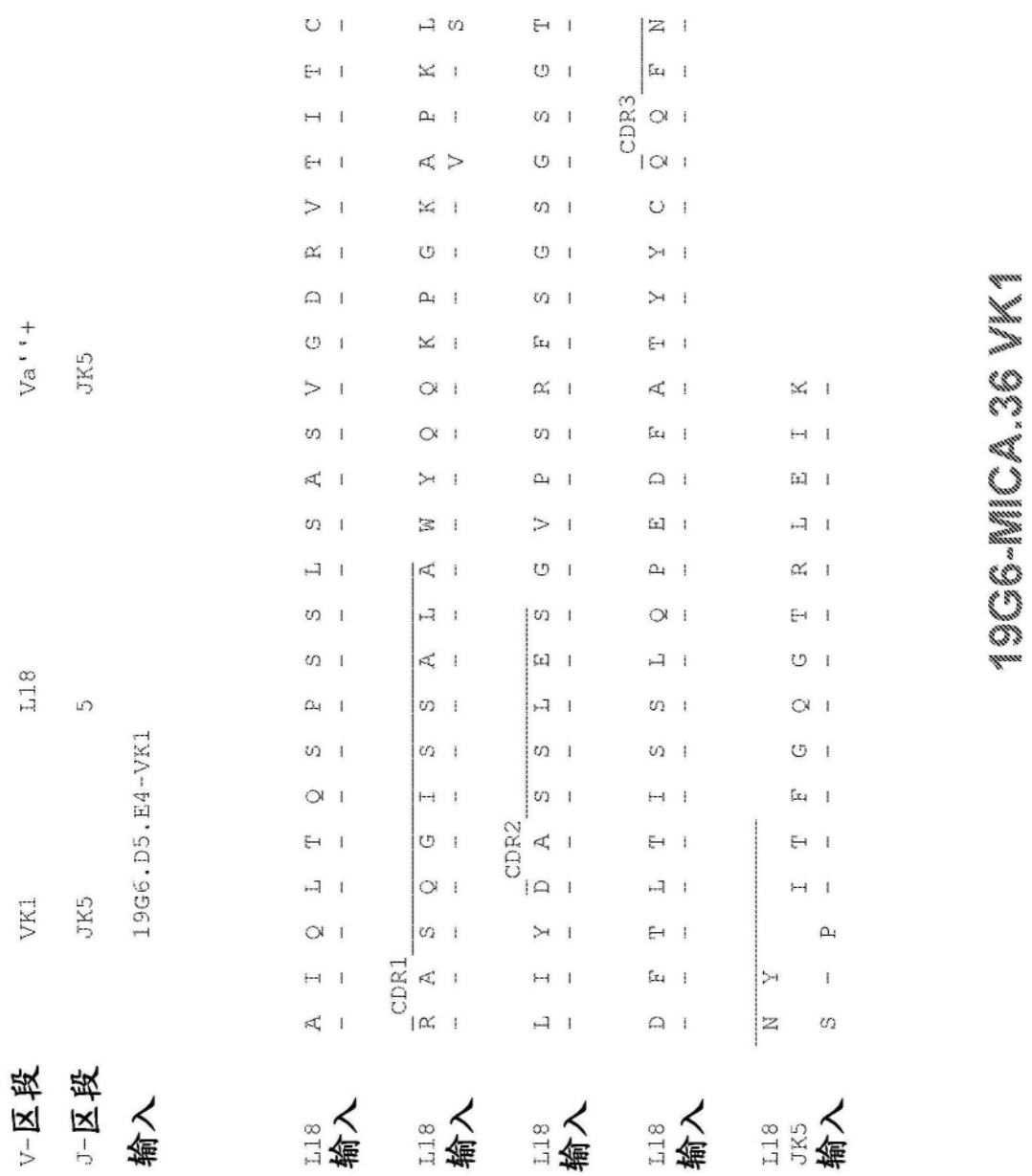

V库进入条目
基因座 TGL
家族 L18 Vα'+
V-区段 VK1
J-区段 JK5 5 JK5
输入 19G6.D5.E4-VK1
19G6-MICA.36 VK1
CDR1
CDR2
CDR3
L18 输入
JK5 输入

图1D

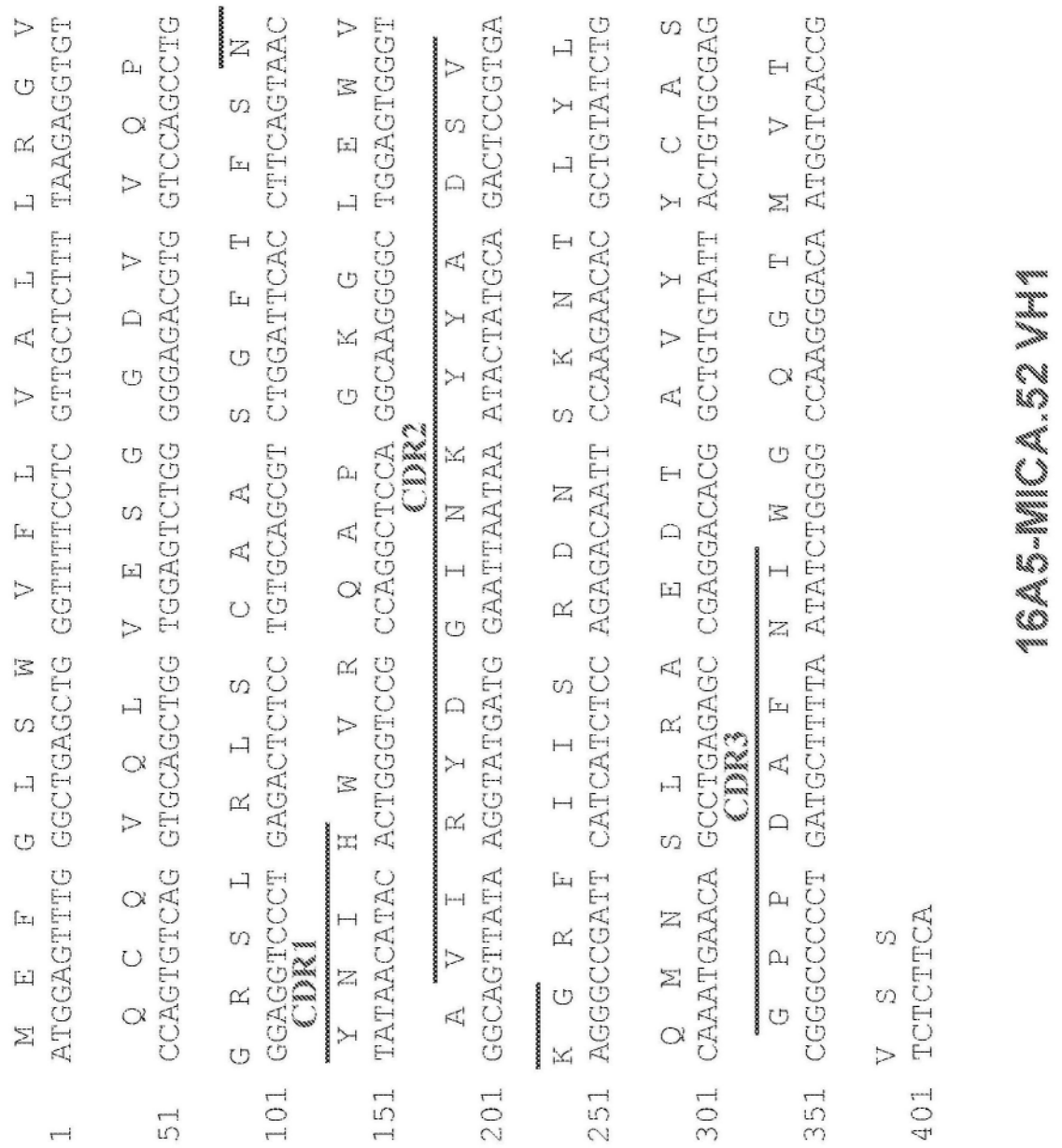

M E F G L S W V F L V A L L R G V
1 ATGGAGTTTG GGCTGAGCTG GGTTTTCCTC GTTGCTCTTT TAAGAGGTGT
Q C Q V Q L V E S G G D V V Q P
51 CCAGTGTCAG GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGACGTG GTCCAGCCTG
G R S L R L S C A A S G F T F S N
101 GGAGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCGT CTGGATTCAC CTTCAGTAAC
CDR1
Y N I H W V R Q A P G K G L E W V
151 TATAACATAC ACTGGGTCCG CCAGGCTCCA GGCAAGGGGC TGGAGTGGGT
CDR2
A V I R Y D G I N K Y Y A D S V
201 GGCAGTTATA AGGTATGATG GAATTAATAA ATACTATGCA GACTCCGTGA
K G R F I I S R D N S K N T L Y L
251 AGGGCCGATT CATCATCTCC AGAGACAATT CCAAGAACAC GCTGTATCTG
Q M N S L R A E D T A V Y Y C A S
301 CAAATGAACA GCCTGAGAGC CGAGGACACG GCTGTGTATT ACTGTGCGAG
CDR3
G P P D A F N I W G Q G T M V T
351 CGGGCCCCCT GATGCTTTTA ATATCTGGGG CCAAGGGACA ATGGTCACCG
V S S
401 TCTCTTCA
16A5-MICA.52 VH1

图2A

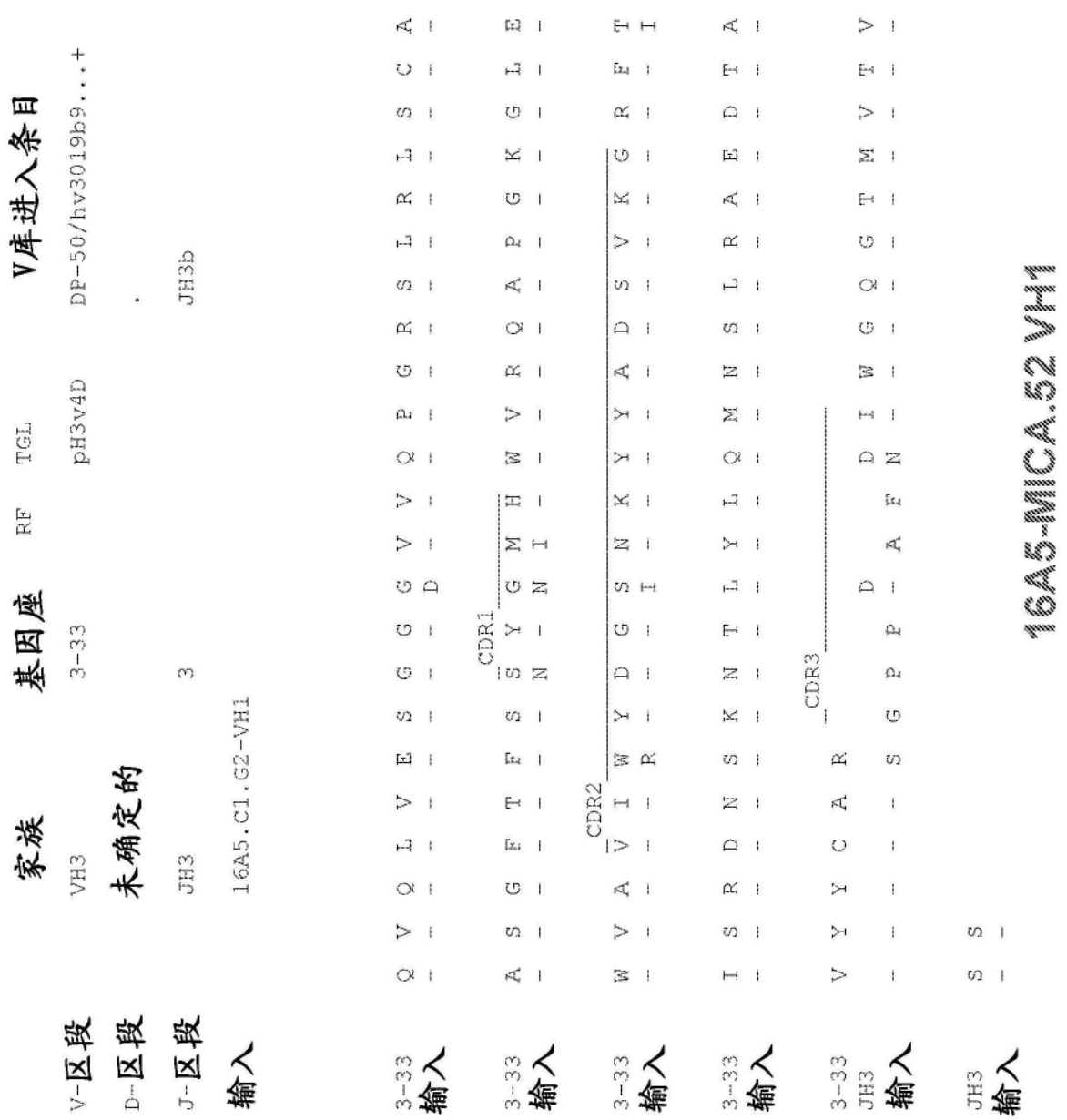
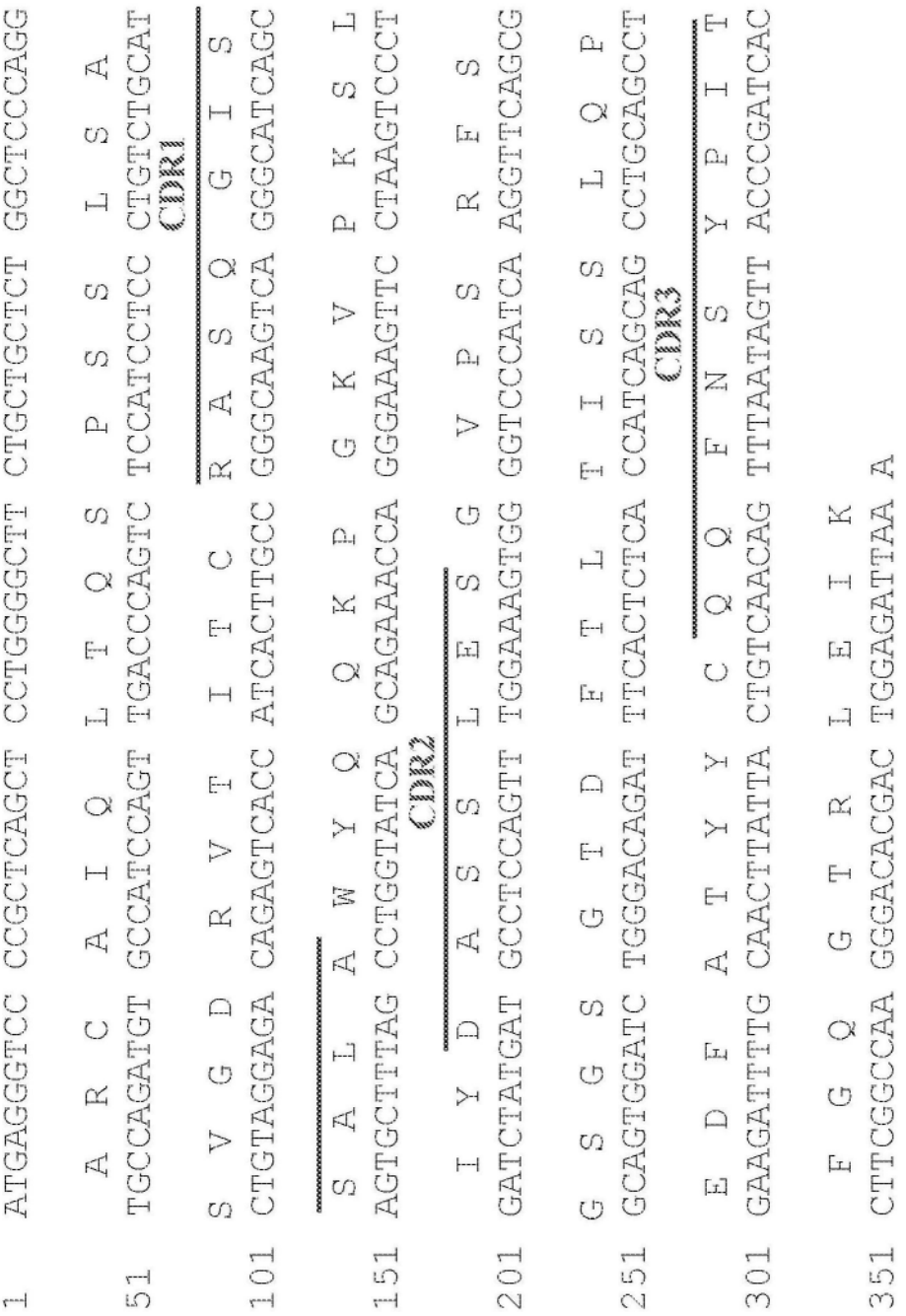

家族 基因座 RF TGL V库进入条目
V-区段 VH3 3-33 pH3v4D DP-50/hv3019b9...+
D-区段 未确定的
J-区段 JH3 3 JH3b
输入 16A5.C1.G2-VH1
CDR1
CDR2
CDR3
16A5-MICA.52 VH1

图2B



16A5-MICA.52 VH1

图2C

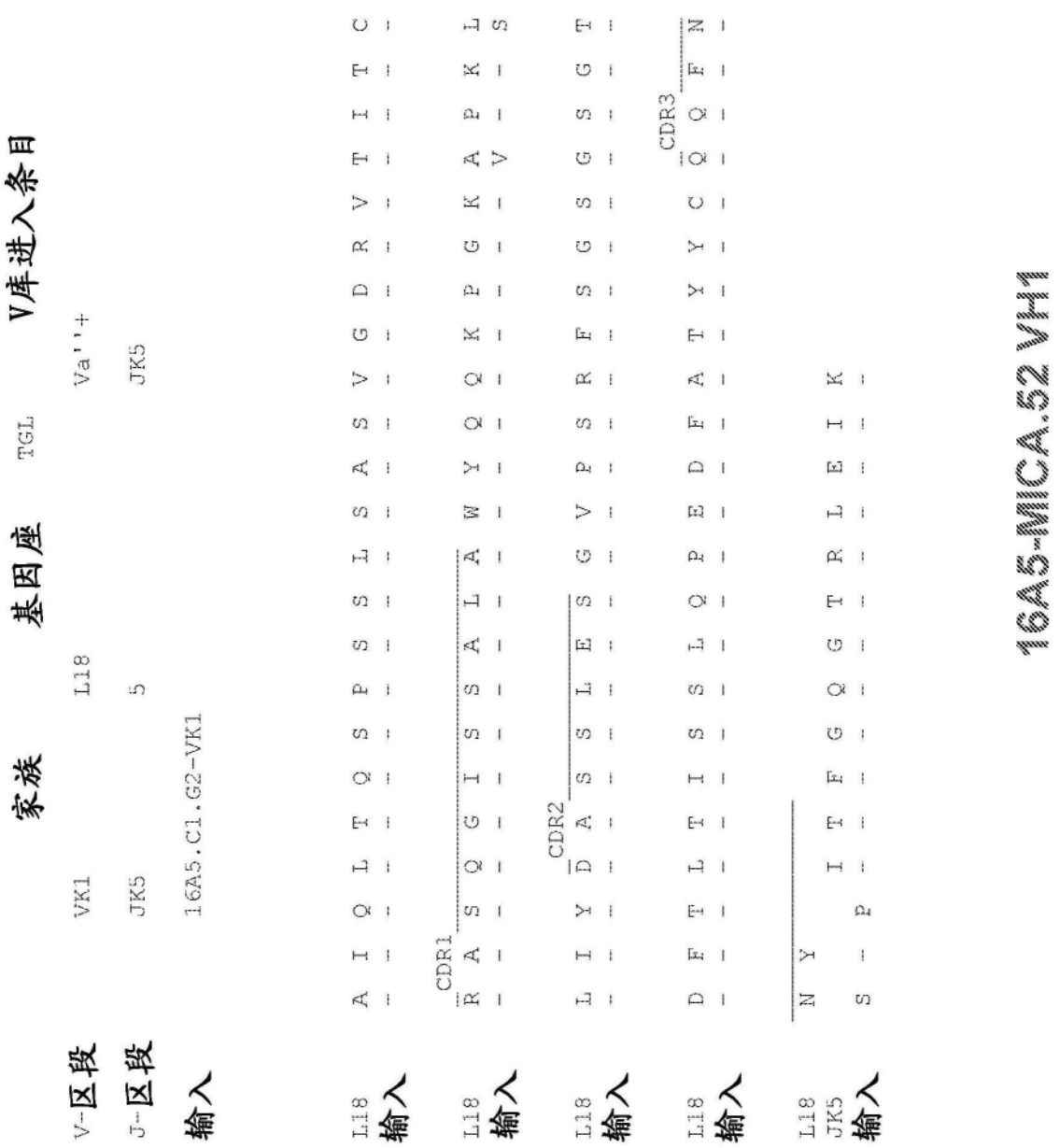

家族 基因座 TGL V库进入条目
V-区段 VK1 L18 Va''+
J-区段 JK5 5 JK5
输入 16A5.C1.G2-VK1
L18 A I Q L T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C
输入 -
CDR1
L18 R A S Q G I S S A L A W Y Q Q K P G K A P K L
输入 -
CDR2
L18 L I Y D A S S L E S G V P S R F S G S G S G T
输入 -
CDR3
L18 D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q F N
输入 -
L18 N Y I T F G Q G T R L E I K
JK5 S - P - - - - - - - - - - -
输入
16A5-MICA.52 VH1

图2D

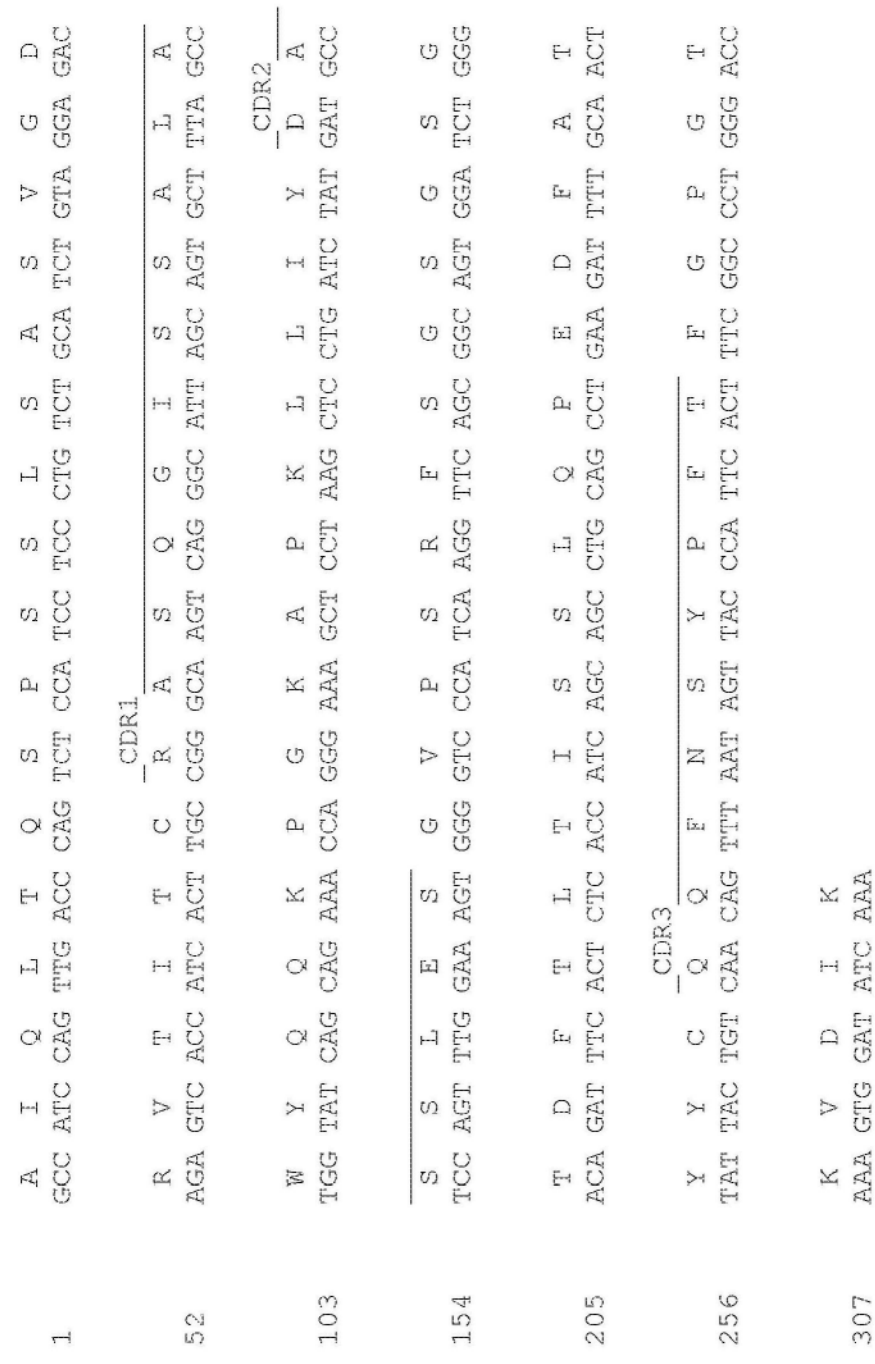


图2E

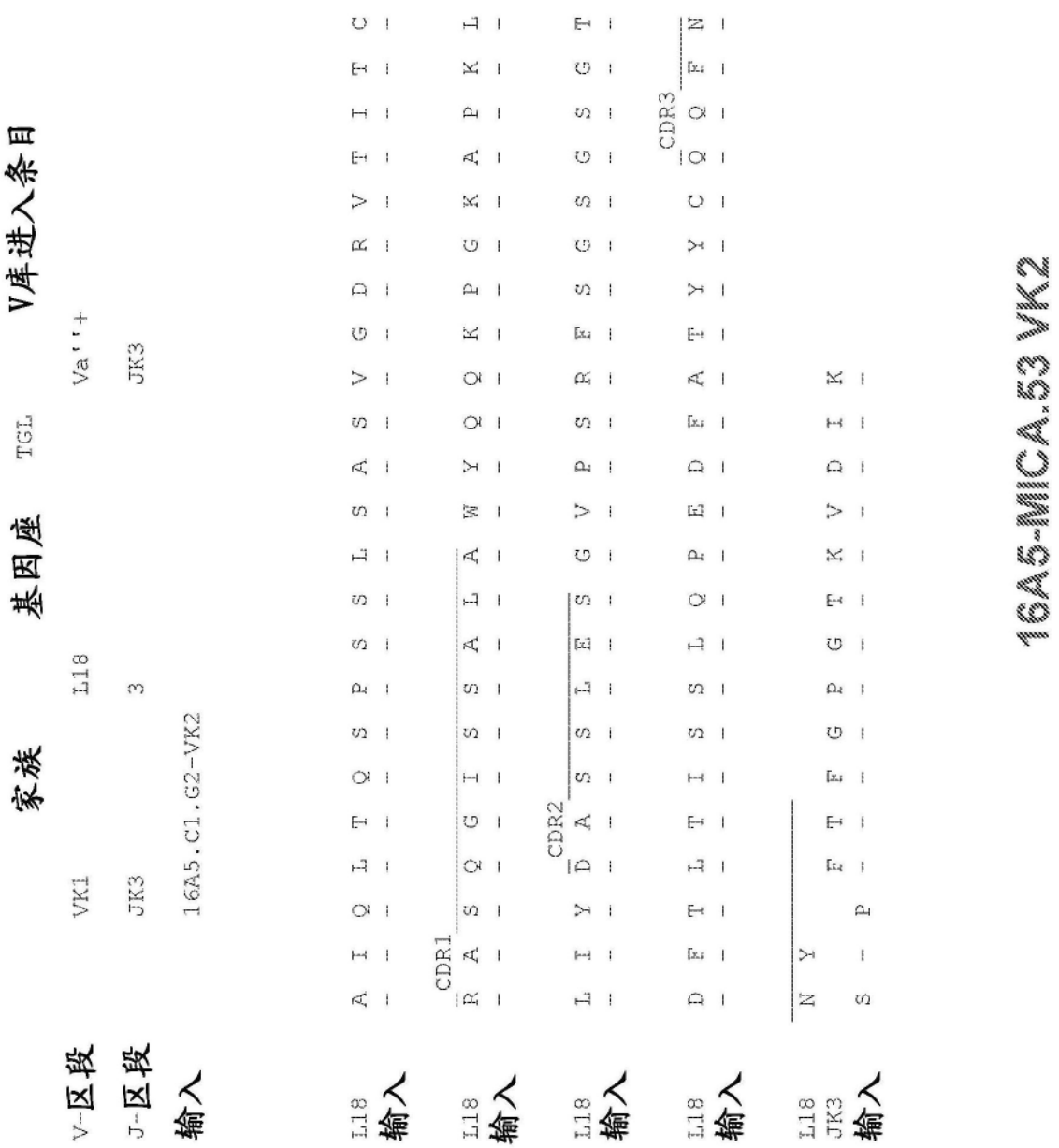

家族 基因座 TGL V库进入条目
V-区段 VK1 L18 Va''+
J-区段 JK3 3 JK3
输入 16A5.C1.G2-VK2
L18 A I Q L T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C
输入 -
CDR1
L18 R A S Q G I S S A L A W Y Q Q K P G K A P K L L
输入 -
CDR2
L18 L I Y D A S S L E S G V P S R F S G S G S G T
输入 -
CDR3
L18 D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q F N
输入 -
N Y
L18 F T F G P G T K V D I K
JK3 P
输入 - - - - - - - - - - -
16A5-MICA.53 VK2

图2F

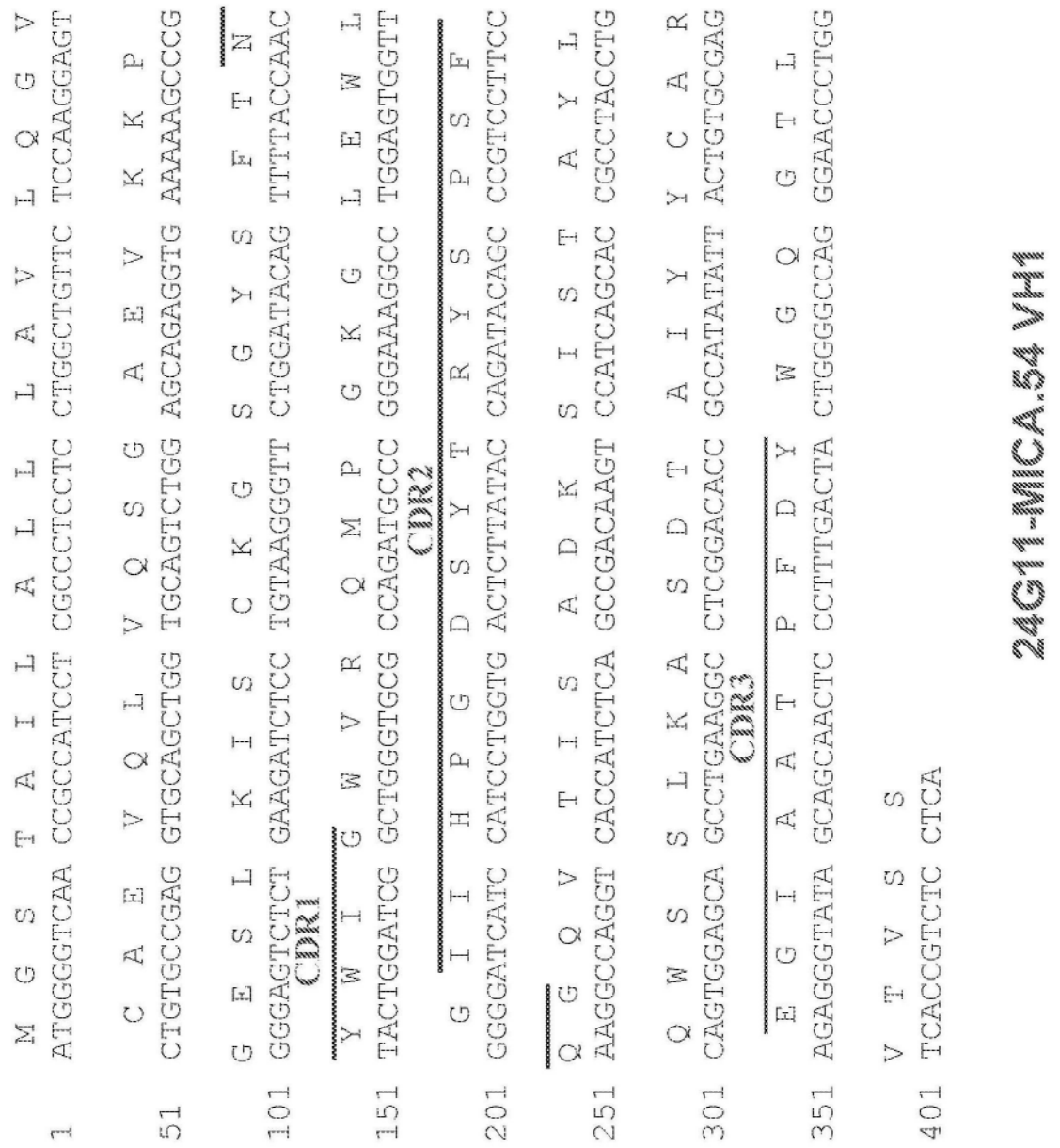

M G S T A I L A L L L A V L Q G V
ATGGGGTCAA CCGCCATCCT CGCCCTCCTC CTGGCTGTTC TCCAAGGAGT
C A E V Q L V Q S G A E V K K P
CTGTGCCGAG GTGCAGCTGG TGCAGTCTGG AGCAGAGGTG AAAAAGCCCG
G E S L K I S C K G S G Y S F T N
GGGAGTCTCT GAAGATCTCC TGTAAGGGTT CTGGATACAG TTTTACCAAC
CDR1
Y W I G W V R Q M P G K G L E W L
TACTGGATCG GCTGGGTGCG CCAGATGCCC GGGAAAGGCC TGGAGTGGTT
CDR2
G I I H P G D S Y T R Y S P S F
GGGGATCATC CATCCTGGTG ACTCTTATAC CAGATACAGC CCGTCCTTCC
Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L
AAGGCCAGGT CACCATCTCA GCCGACAAGT CCATCAGCAC CGCCTACCTG
Q W S S L K A S D T A I Y Y C A R
CAGTGGAGCA GCCTGAAGGC CTCGGACACC GCCATATATT ACTGTGCGAG
CDR3
E G I A A T P F D Y W G Q G T L
AGAGGGTATA GCAGCAACTC CCTTTGACTA CTGGGGCCAG GGAACCCTGG
V T V S S
TCACCGTCTC CTCA
24G11-MICA.54 VH1

图3A

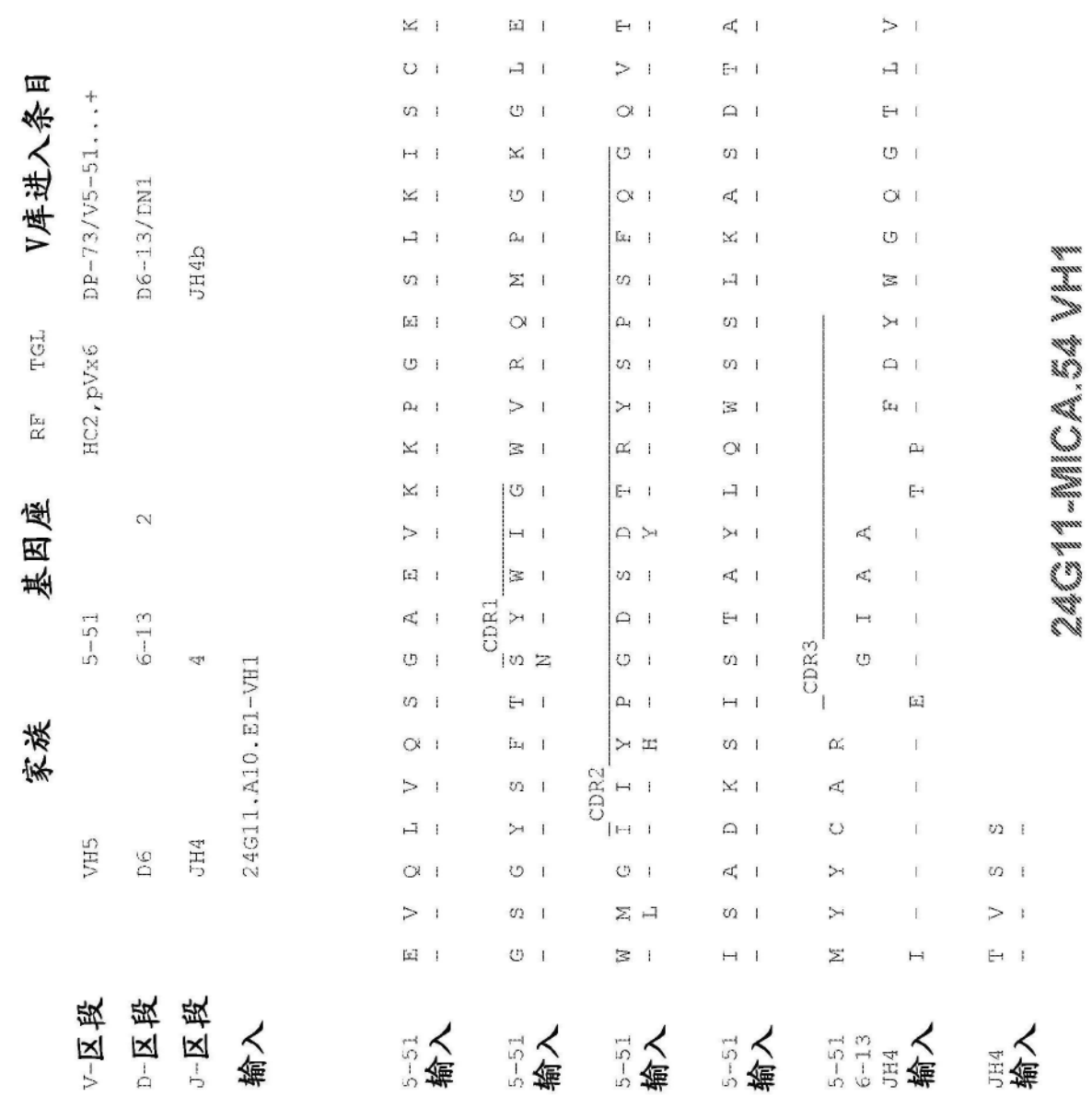

家族 基因座 RF TGL V库进入条目
V-区段 VH5 5-51 HC2,pVx6 DP-73/V5-51...+
D-区段 D6 6-13 2 D6-13/TN1
J-区段 JH4 4 JH4b
输入 24G11.A10.E1-VH1
CDR1
CDR2
CDR3
5-51 输入
5-51 输入
5-51 输入
5-51 输入
5-51 6-13 JH4 输入
JH4 输入
24G11-MICA.54 VH1

图3B

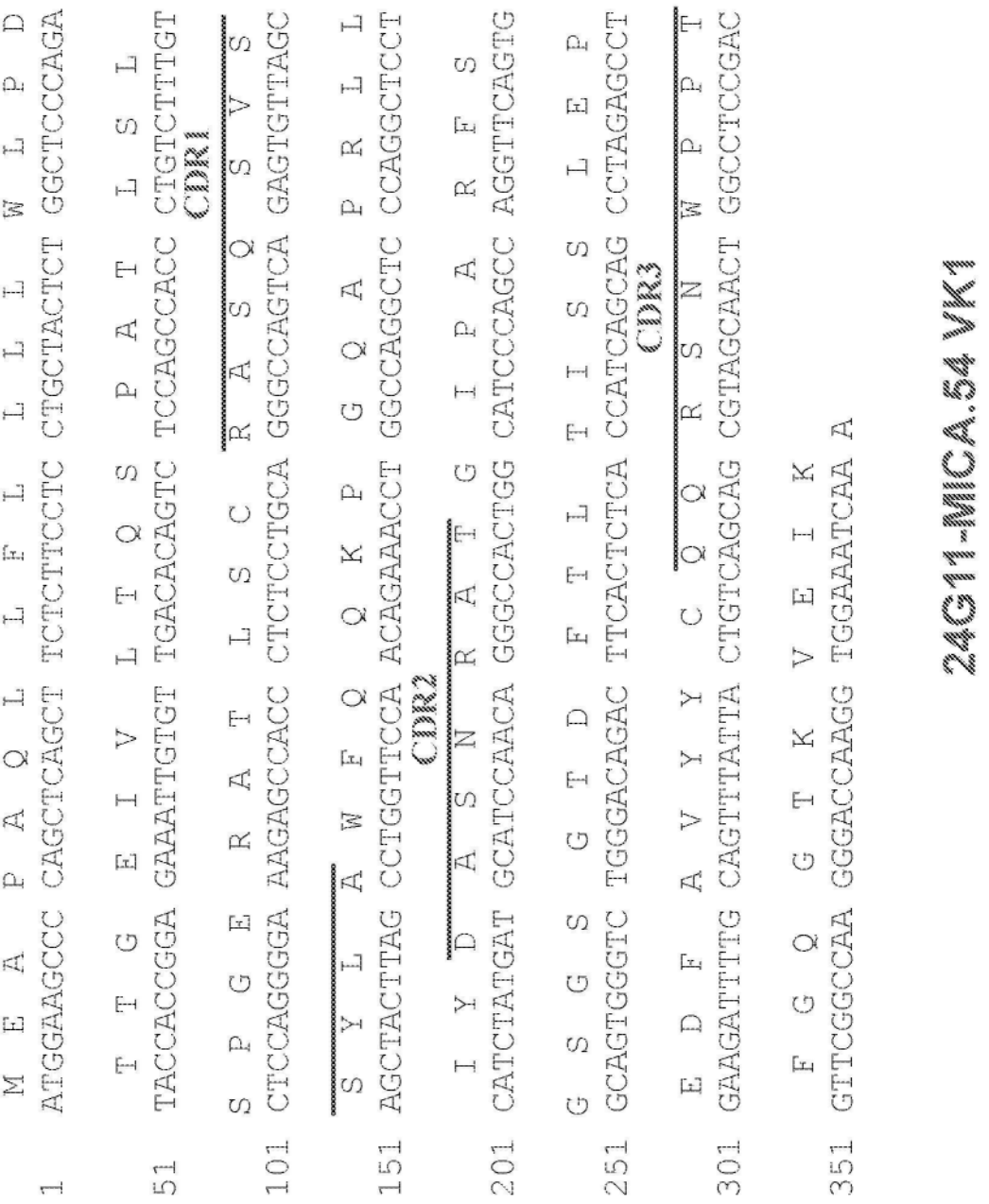

M E A P A Q L L F L L L L W L P D
ATGGAAGCCC CAGCTCAGCT TCTCTTCCTC CTGCTACTCT GGCTCCCAGA
T T G E I V L T Q S P A T L S L
TACCACCGGA GAAATTGTGT TGACACAGTC TCCAGCCACC CTGTCTTTGT
CDR1
S P G E R A T L S C R A S Q S V S
CTCCAGGGGA AAGAGCCACC CTCTCCTGCA GGGCCAGTCA GAGTGTTAGC
S Y L A W F Q Q K P G Q A P R L L
AGCTACTTAG CCTGGTTCCA ACAGAAACCT GGCCAGGCTC CCAGGCTCCT
CDR2
I Y D A S N R A T G I P A R F S
CATCTATGAT GCATCCAACA GGGCCACTGG CATCCCAGCC AGGTTCAGTG
G S G S G T D F T L T I S S L E P
GCAGTGGGTC TGGGACAGAC TTCACTCTCA CCATCAGCAG CCTAGAGCCT
CDR3
E D F A V Y Y C Q Q R S N W P P T
GAAGATTTTG CAGTTTATTA CTGTCAGCAG CGTAGCAACT GGCCTCCGAC
F G Q G T K V E I K
GTTCGGCCAA GGGACCAAGG TGGAAATCAA A
24G11-MICA.54 VK1

图3C

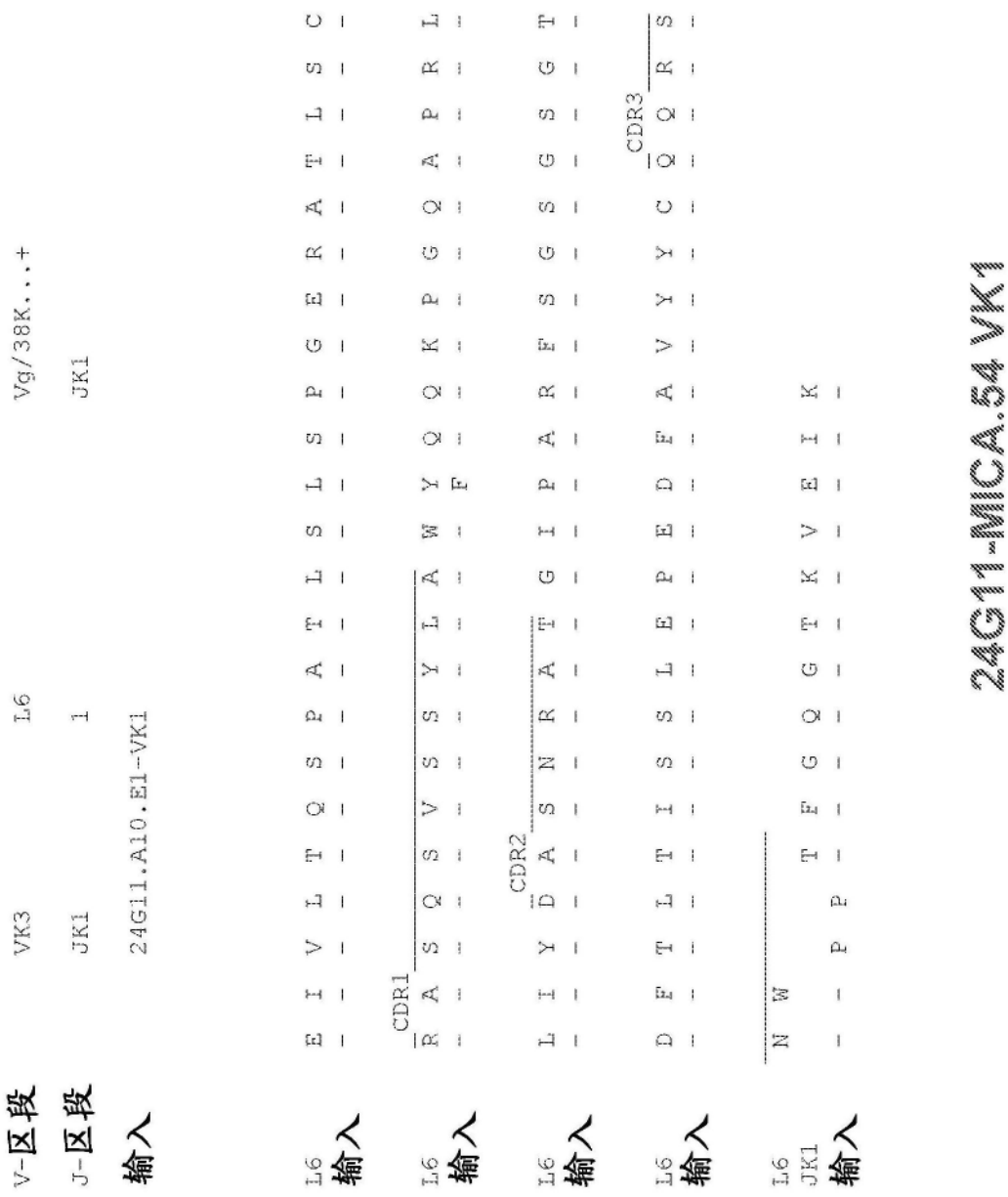

家族 基因座 TGL V库进入条目
V-区段 VK3 L6 Vg/38K...+
J-区段 JK1 1 JK1
输入 24G11.A10.E1-VK1
L6 输入
CDR1
CDR2
CDR3
JK1 输入
24G11-MICA.54 VK1

图3D

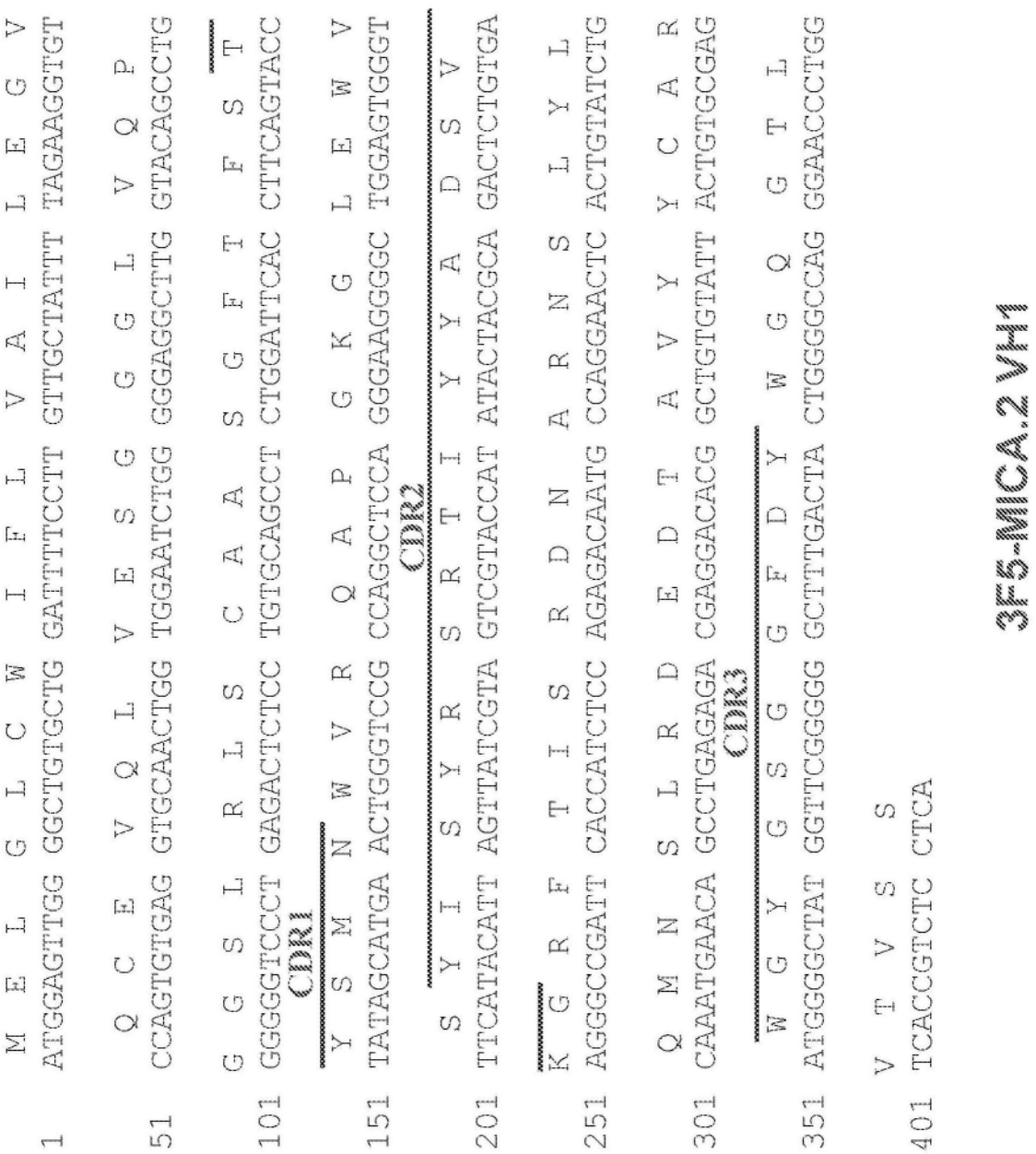

M E L G L C W I F L V A I L E G V
ATGGAGTTGG GGCTGTGCTG GATTTTCCTT GTTGCTATTT TAGAAGGTGT
Q C E V Q L V E S G G G L V Q P
CCAGTGTGAG GTGCAACTGG TGGAATCTGG GGGAGGCTTG GTACAGCCTG
G G S L R L S C A A S G F T F S T
GGGGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCCT CTGGATTCAC CTTCAGTACC
CDR1
Y S M N W V R Q A P G K G L E W V
TATAGCATGA ACTGGGTCCG CCAGGCTCCA GGGAAGGGGC TGGAGTGGGT
CDR2
S Y I S S Y R S R T I Y Y A D S V
TTCATACATT AGTTATCGTA GTCGTACCAT ATACTACGCA GACTCTGTGA
K G R F T I S R D N A R N S L Y L
AGGGCCGATT CACCATCTCC AGAGACAATG CCAGGAACTC ACTGTATCTG
Q M N S L R D E D T A V Y Y C A R
CAAATGAACA GCCTGAGAGA CGAGGACACG GCTGTGTATT ACTGTGCGAG
CDR3
W G G Y G S G G F D Y W G Q G T L
ATGGGGCTAT GGTTCGGGGG GCTTTGACTA CTGGGGCCAG GGAACCCTGG
V T V S S
TCACCGTCTC CTCA
3F5-MICA.2 VH1

图4A

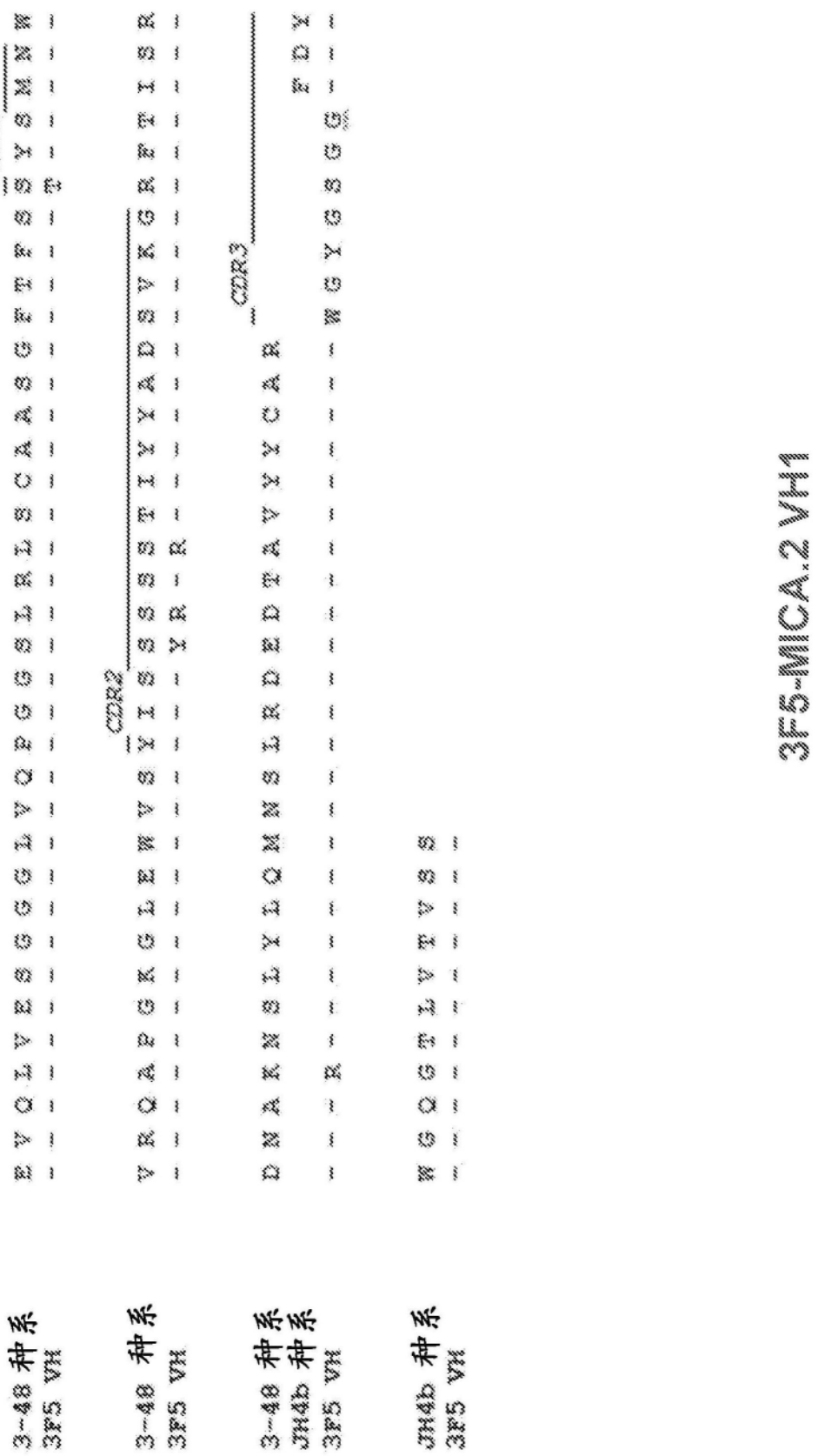

3F5-MICA.2 VH1
CDR1
CDR2
CDR3
3-48 种系
3F5 VH
3-40 种系
3F5 VH
3-40 种系
JH4b 种系
3F5 VH
JH4b 种系
3F5 VH

图4B

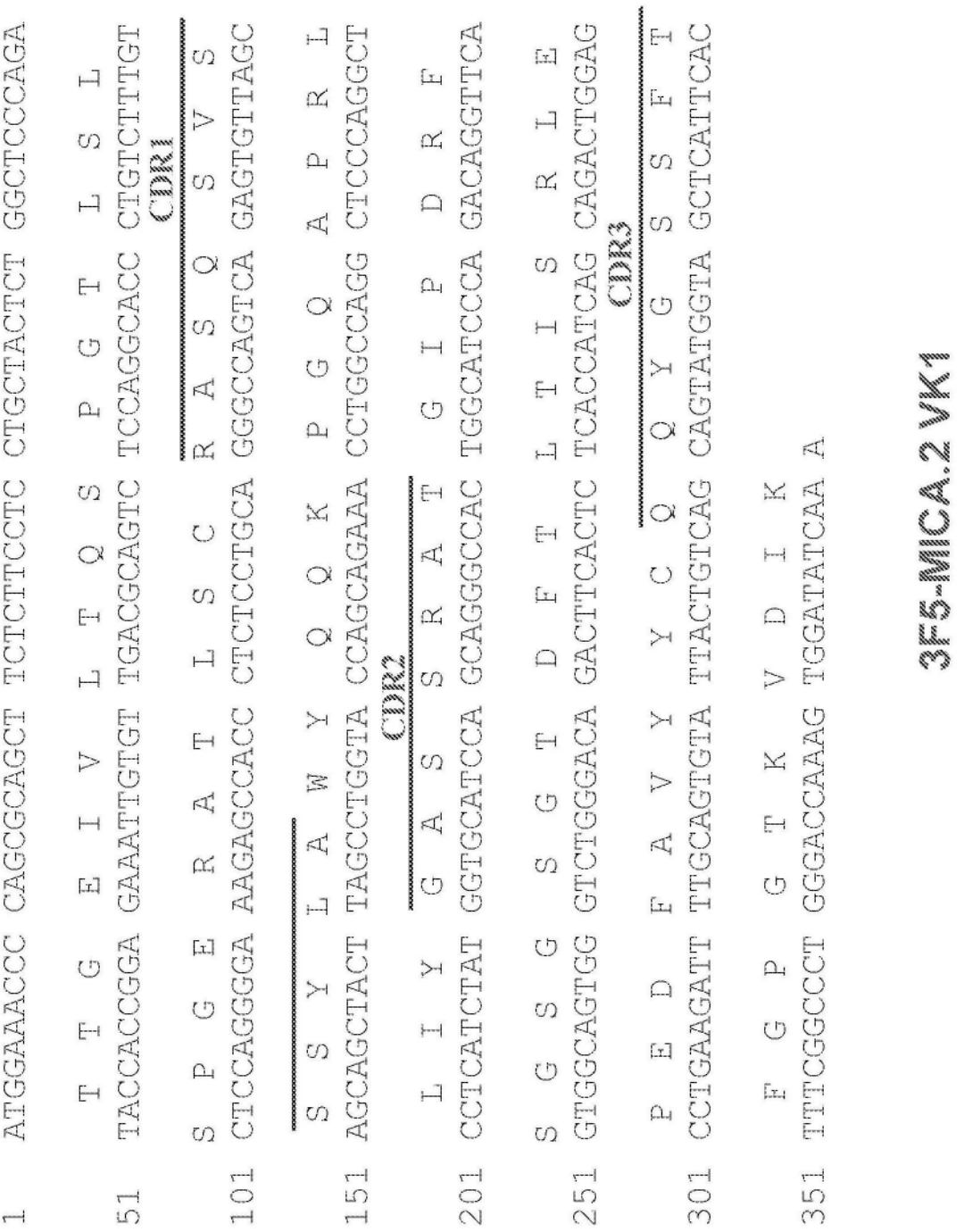

M E T P A Q L L F L L L L W L P D
ATGGAAACCC CAGCGCAGCT TCTCTTCCTC CTGCTACTCT GGCTCCCAGA
T T G E I V L T Q S P G T L S L
TACCACCGGA GAAATTGTGT TGACGCAGTC TCCAGGGCACC CTGTCTTTGT
CDR1
S P G E R A T L S C R A S Q S V S
CTCCAGGGGA AAGAGCCACC CTCTCCTGCA GGGCCAGTCA GAGTGTTAGC
S S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L
AGCAGCTACT TAGCCTGGTA CCAGCAGAAA CCTGGCCAGG CTCCCAGGCT
CDR2
L I Y G A S S R A T G I P D R F
CCTCATCTAT GGTGCATCCA GCAGGGCCAC TGGCATCCCA GACAGGTTCA
S G S G S G T D F T L T I S R L E
GTGGCAGTGG GTCTGGGACA GACTTCACTC TCACCATCAG CAGACTGGAG
CDR3
P E D F A V Y Y C Q Q Y G S S F T
CCTGAAGATT TTGCAGTGTA TTACTGTCAG CAGTATGGTA GCTCATTCAC
F G P G T K V D I K
TTTCGGCCCT GGGACCAAAG TGGATATCAA A
3F5-MICA.2 VK1

图4C

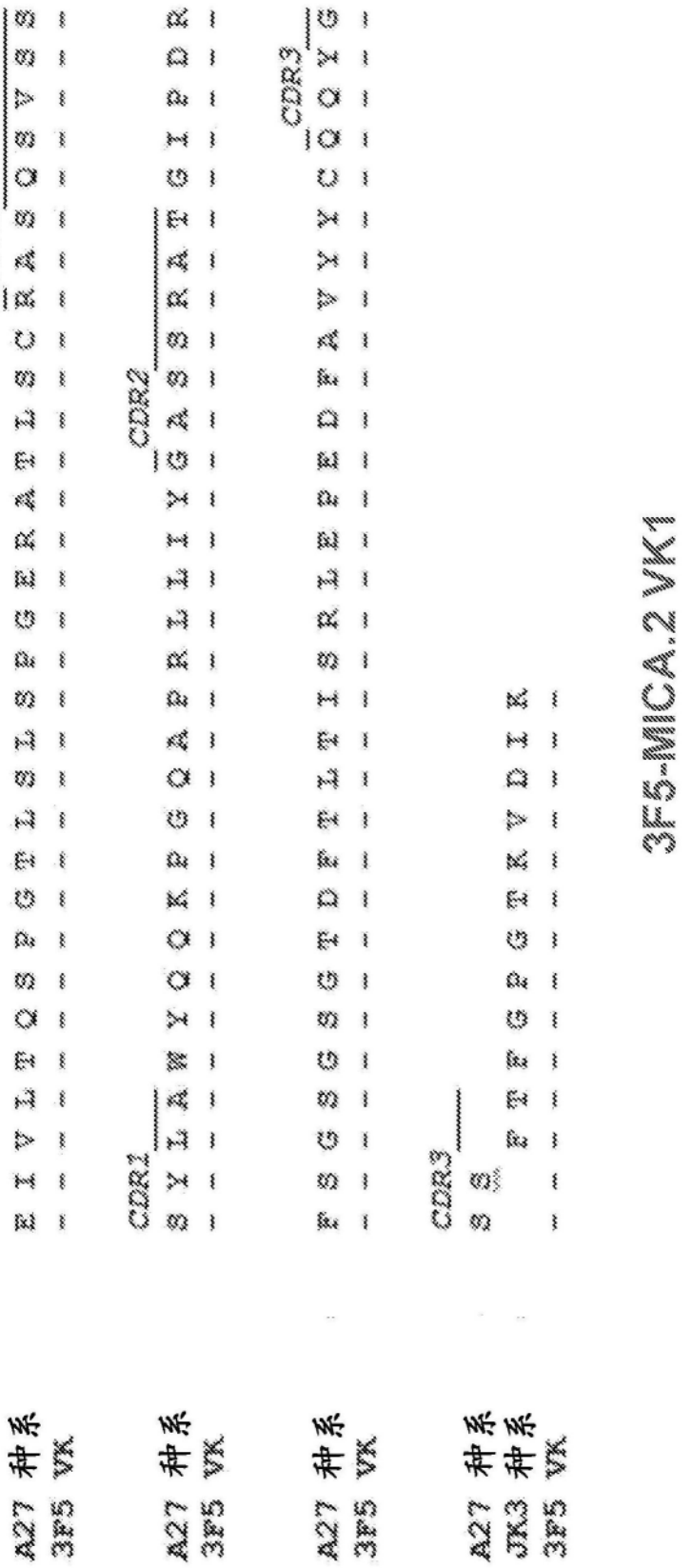
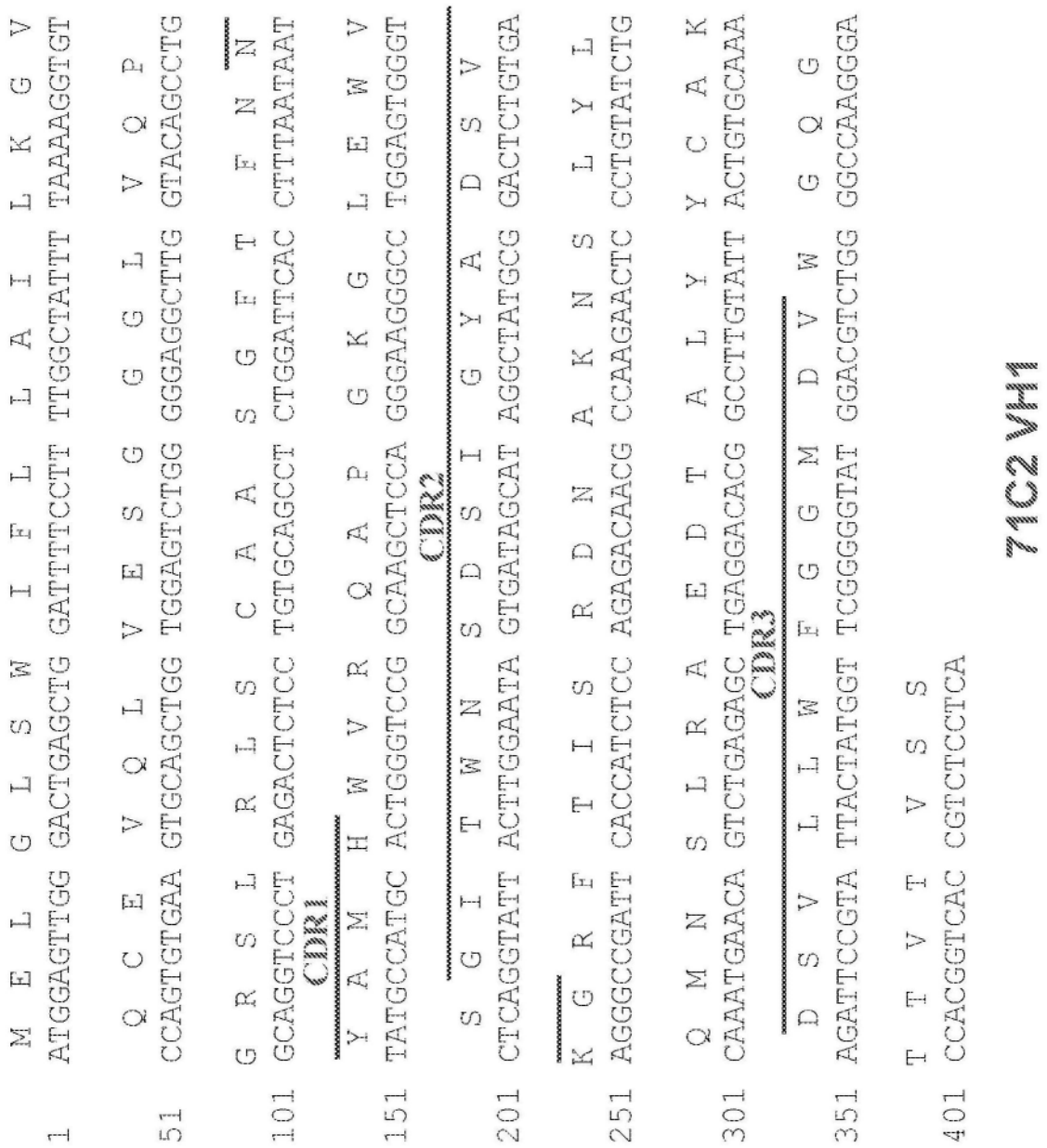

CDR1
CDR2
CDR3
A27 种系
3F5 VK
A27 种系
3F5 VK
A27 种系
3F5 VK
A27 种系
JK3 种系
3F5 VK
3F5-MICA.2 VK1

图4D


M E L G L S W I F L L A I L K G V
ATGGAGTTGG GACTGAGCTG GATTTTCCTT TTGGCTATTT TAAAAGGTGT
Q C E V Q L V E S G G G L V Q P
CCAGTGTGAA GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGGCTTG GTACAGCCTG
G R S L R L S C A A S G F T F N N
GCAGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCCT CTGGATTCAC CTTTAATAAT
CDR1
Y A M H W V R Q A P G K G L E W V
TATGCCATGC ACTGGGTCCG GCAAGCTCCA GGGAAGGGCC TGGAGTGGGT
CDR2
S G I T W N S D S I G Y A D S V
CTCAGGTATT ACTTGGAATA GTGATAGCAT AGGCTATGCG GACTCTGTGA
K G R F T I S R D N A K N S L Y L
AGGGCCGATT CACCATCTCC AGAGACAACG CCAAGAACTC CCTGTATCTG
Q M N S L R A E D T A L Y Y C A K
CAAATGAACA GTCTGAGAGC TGAGGACACG GCCTTGTATT ACTGTGCAAA
CDR3
D S V L L W F G G M D V W G Q G
AGATTCCGTA TTACTATGGT TCGGGGGTAT GGACGTCTGG GGCCAAGGGA
T T V T V S S
CCACGGTCAC CGTCTCCTCA

71C2 VH1

图5A

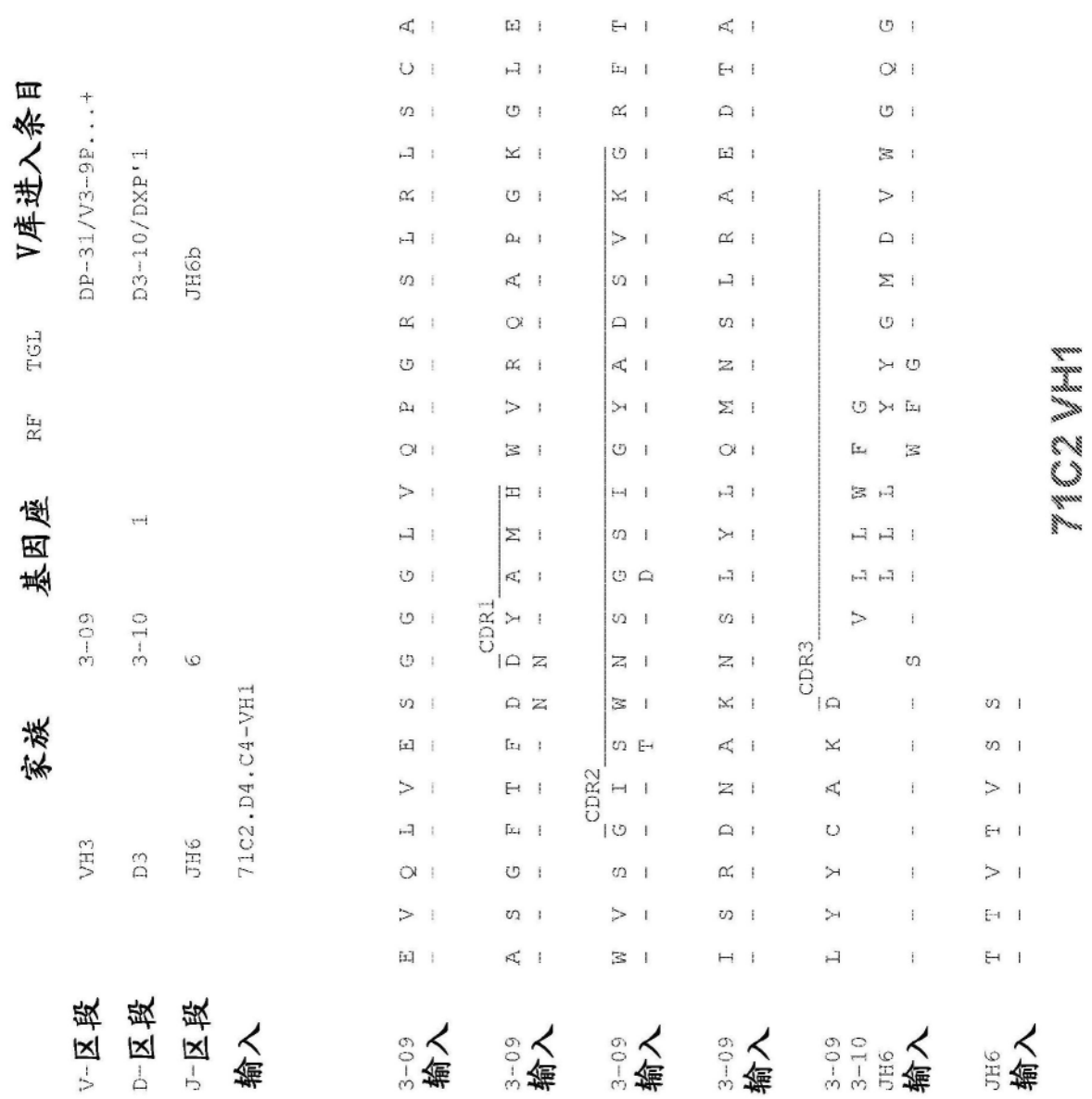
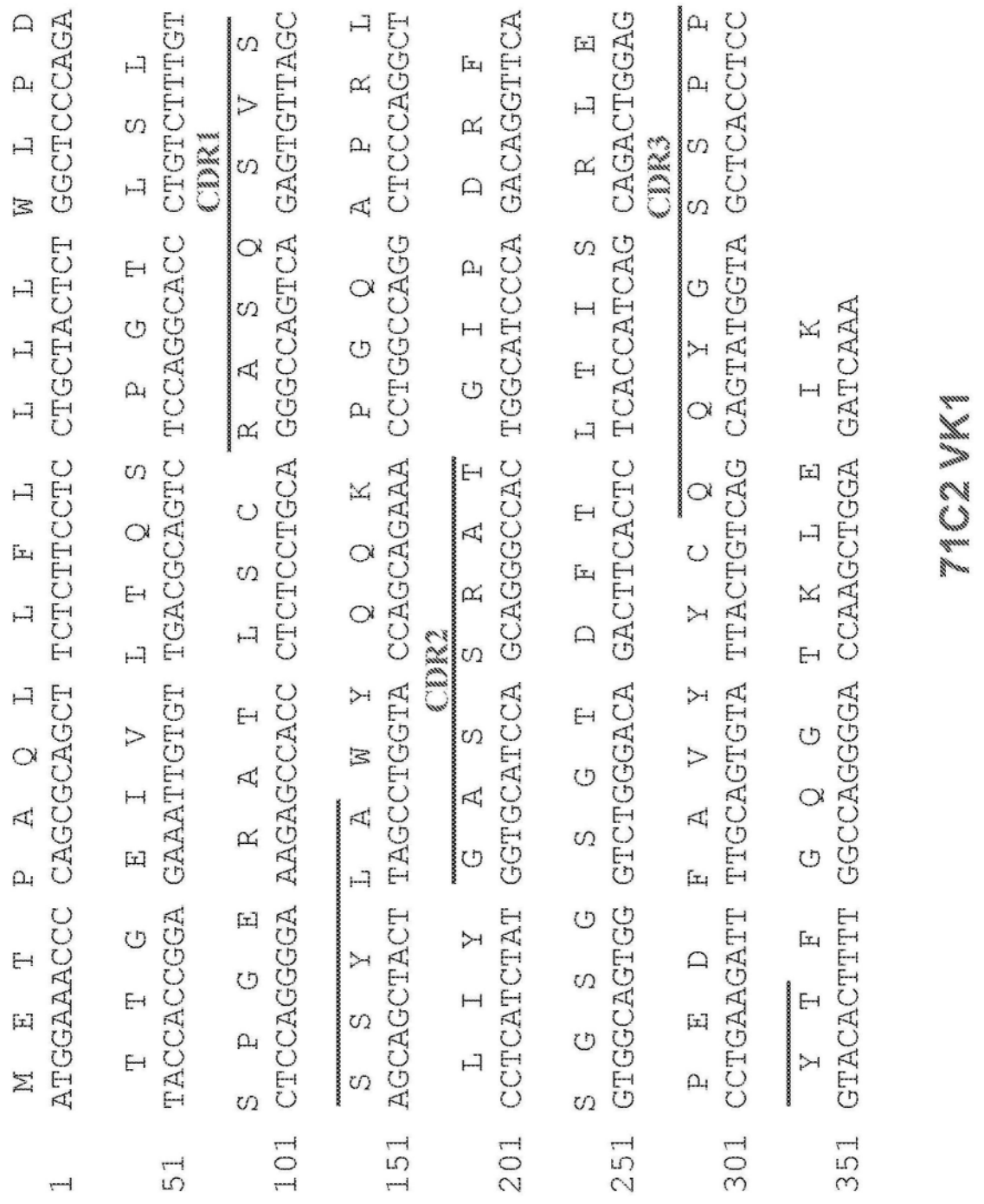

家族 基因座 RF TGL V库进入条目
V-区段 VH3 3-09 DP-31/V3-9P...+
D-区段 D3 3-10 1 D3-10/DXP'1
J-区段 JH6 6 JH6b
输入 71C2.D4.C4-VH1
CDR1
CDR2
CDR3
71C2 VH1

图5B


M E T P A Q L L F L L L L W L P D
ATGGAAACCC CAGCGCAGCT TCTCTTCCTC CTGCTACTCT GGCTCCCAGA
T T G E I V L T Q S P G T L S L
TACCACCGGA GAAATTGTGT TGACGCAGTC TCCAGGCACC CTGTCTTTGT
CDR1
S P G E R A T L S C R A S Q S V S
CTCCAGGGGA AAGAGCCACC CTCTCCTGCA GGGCCAGTCA GAGTGTTAGC
S S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L
AGCAGCTACT TAGCCTGGTA CCAGCAGAAA CCTGGCCAGG CTCCCAGGCT
CDR2
L I Y G A S S R A T G I P D R F
CCTCATCTAT GGTGCATCCA GCAGGGCCAC TGGCATCCCA GACAGGTTCA
S G S G S G T D F T L T I S R L E
GTGGCAGTGG GTCTGGGACA GACTTCACTC TCACCATCAG CAGACTGGAG
CDR3
P E D F A V Y Y C Q Q Y G S S P P
CCTGAAGATT TTGCAGTGTA TTACTGTCAG CAGTATGGTA GCTCACCTCC
Y T F G Q G T K L E I K
GTACACTTTT GGCCAGGGGA CCAAGCTGGA GATCAAA

71C2 VK1

图5C

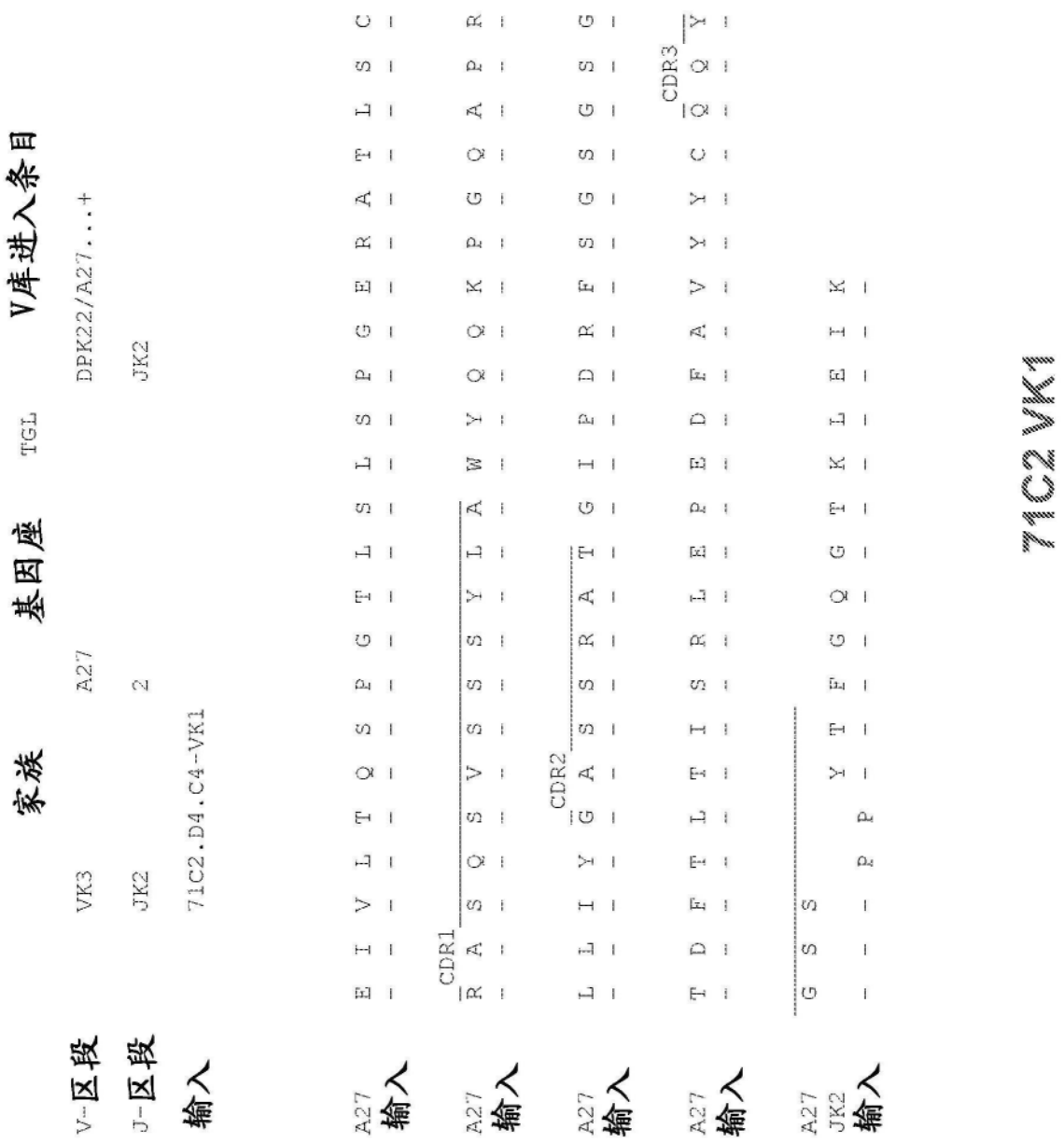

V库进入条目
家族 基因座 TGL
V-区段 VK3 A27 DPK22/A27...+
J-区段 JK2 2 JK2
输入 71C2.D4.C4-VK1
71C2 VK1
A27 E I V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C
输入 -
CDR1
A27 R A S Q S V S S S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R
输入 -
CDR2
A27 L L I Y G A S S R A T G I P D R F S G S G S G
输入 -
CDR3
A27 T D F T L T I S R L E P E D F A V Y Y C Q Q Y
输入 -
A27 G S S Y T F G Q G T K L E I K
JK2 - - - P P - - - - - - - - - -
输入

图5D

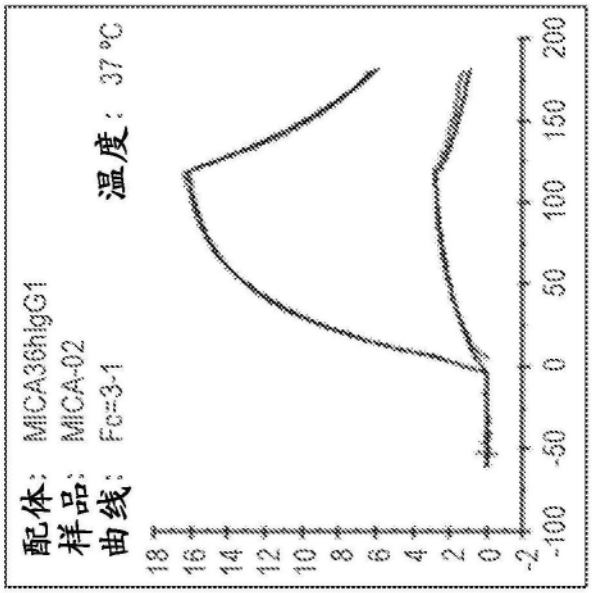

配体： MICA36hIgG1
样品： MICA-02
曲线： Fc=3-1
温度： 37 °C
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
-2
-100
-50
0
50
100
150
200

图6A

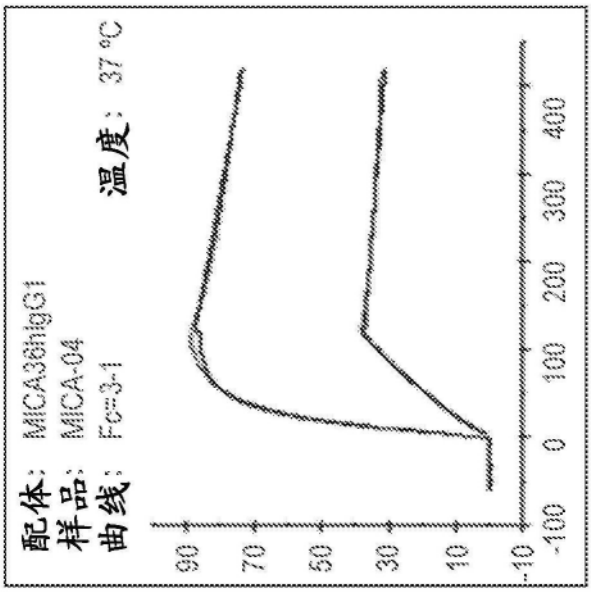

配体： MICA36hIgG1
样品： MICA-04
曲线： Fc=3-1
温度： 37 °C
90
70
50
30
10
-10
-100
0
100
200
300
400

图6B

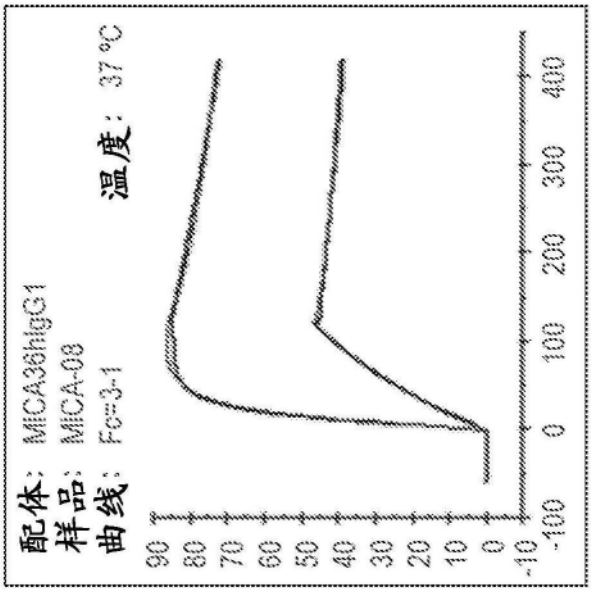

配体: MICA36hIgG1
样品: MICA-08
曲线: Fc=3-1
温度: 37 °C
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
-100
0
100
200
300
400

图6C

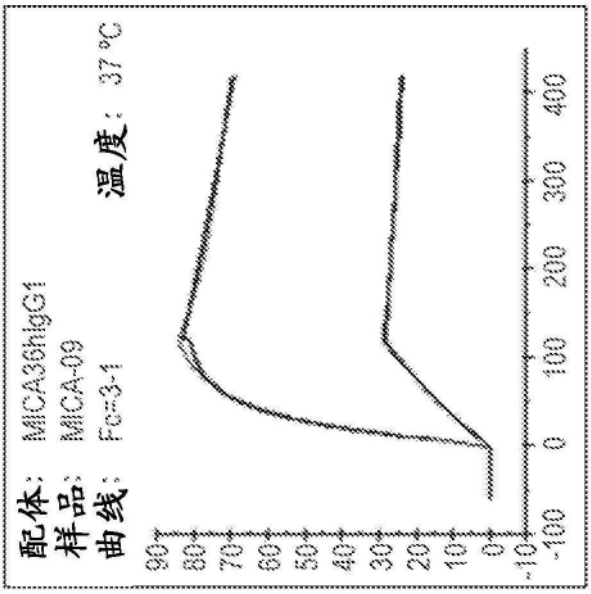

配体: MICA36hIgG1
样品: MICA-09
曲线: Fc=3-1
温度: 37 °C
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
-100
0
100
200
300
400

图6D

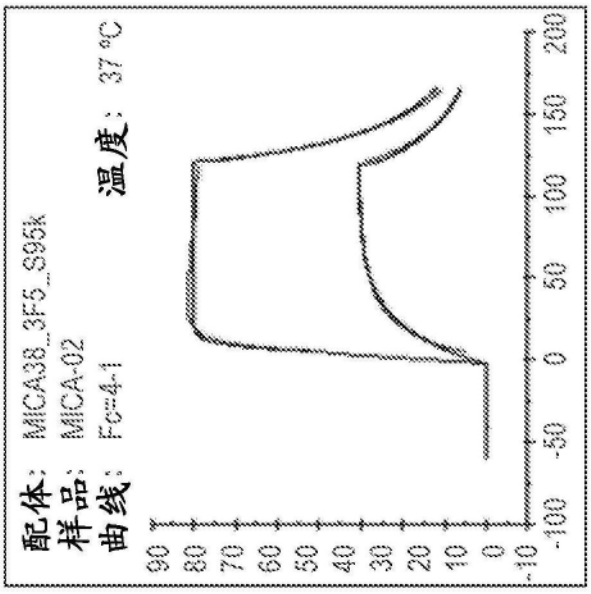

配体: MICA38_3F5_S95k
样品: MICA-02
曲线: Fc=4-1
温度: 37 °C
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
-100
-50
0
50
100
150
200

图6E

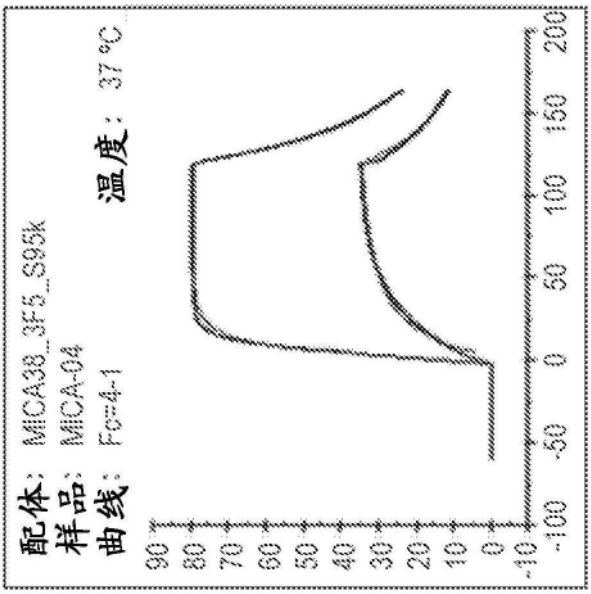

配体: MICA38_3F5_S95k
样品: MICA-04
曲线: Fc=4-1
温度: 37 °C
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
-100
-50
0
50
100
150
200

图6F

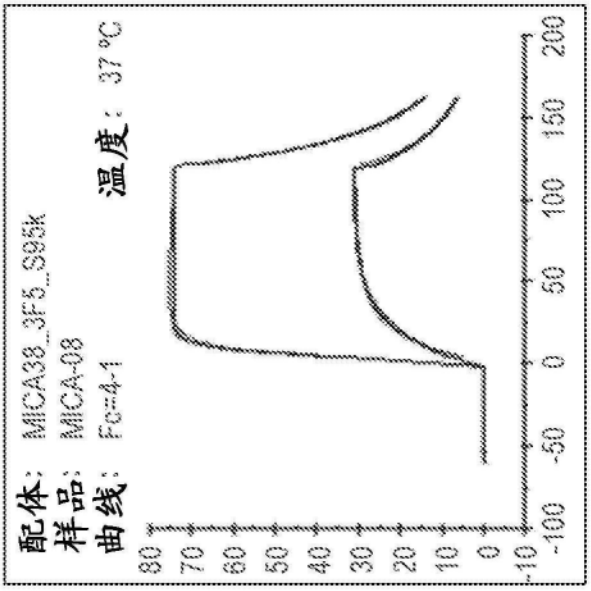

配体: MICA38_3F5_S95k
样品: MICA-08
曲线: Fc=4-1
温度: 37 °C
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
-100
-50
0
50
100
150
200

图6G

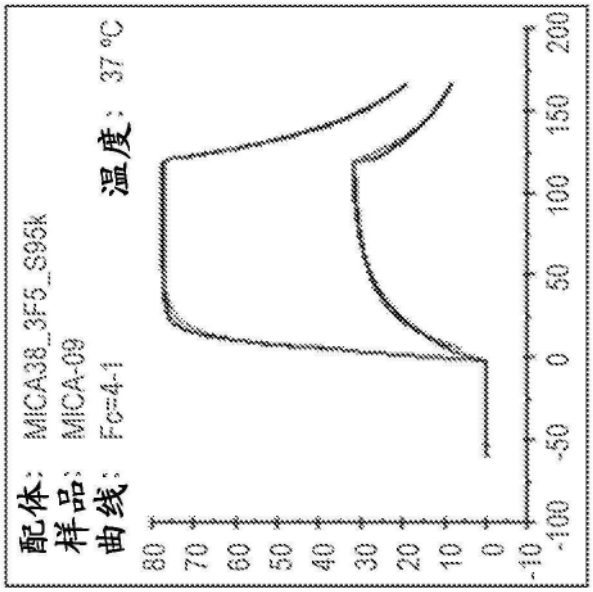

配体: MICA38_3F5_S95k
样品: MICA-09
曲线: Fc=4-1
温度: 37 °C
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
-100
-50
0
50
100
150
200

图6H

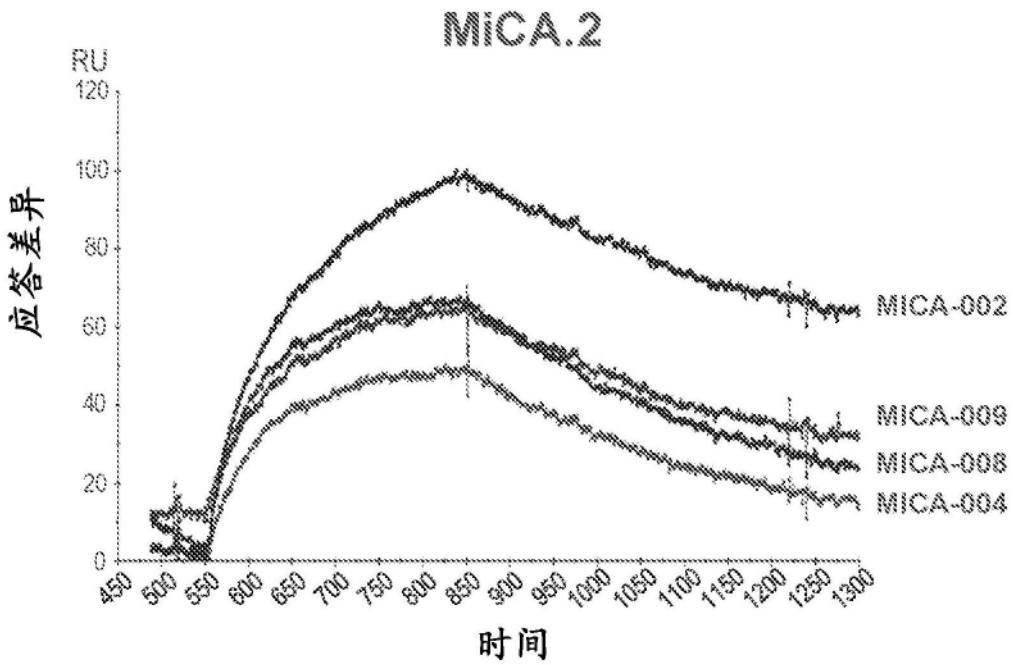

MiCA.2
RU
120
100
80
60
40
20
0
应答差异
MICA-002
MICA-009
MICA-008
MICA-004
450 500 550 600 650 700 750 800 850 900 950 1000 1050 1100 1150 1200 1250 1300
时间

图6I

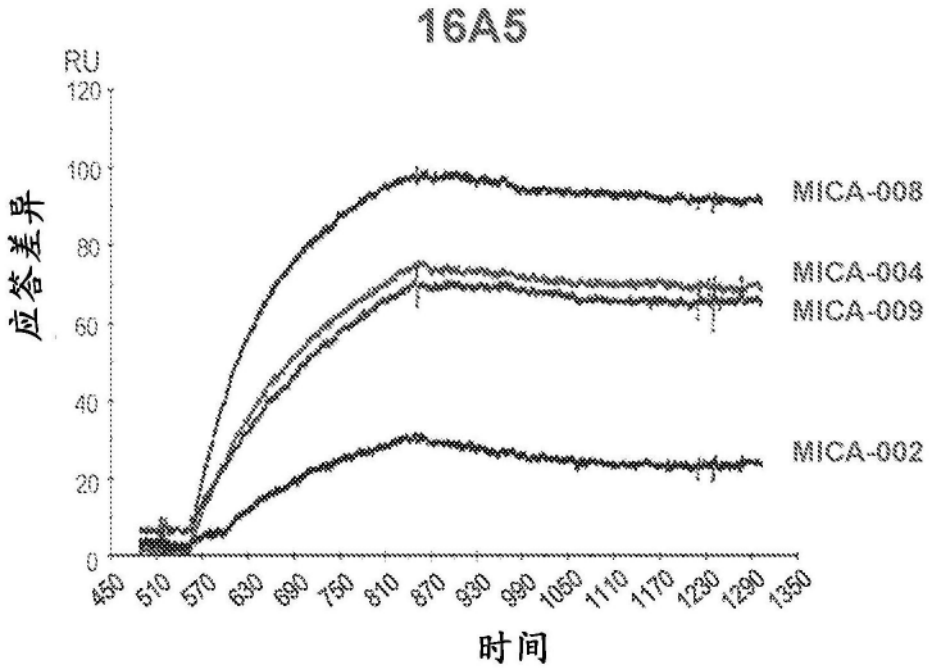

16A5
RU
120
100
80
60
40
20
0
应答差异
MICA-008
MICA-004
MICA-009
MICA-002
450 510 570 630 690 750 810 870 930 990 1050 1110 1170 1230 1290 1350
时间

图6J

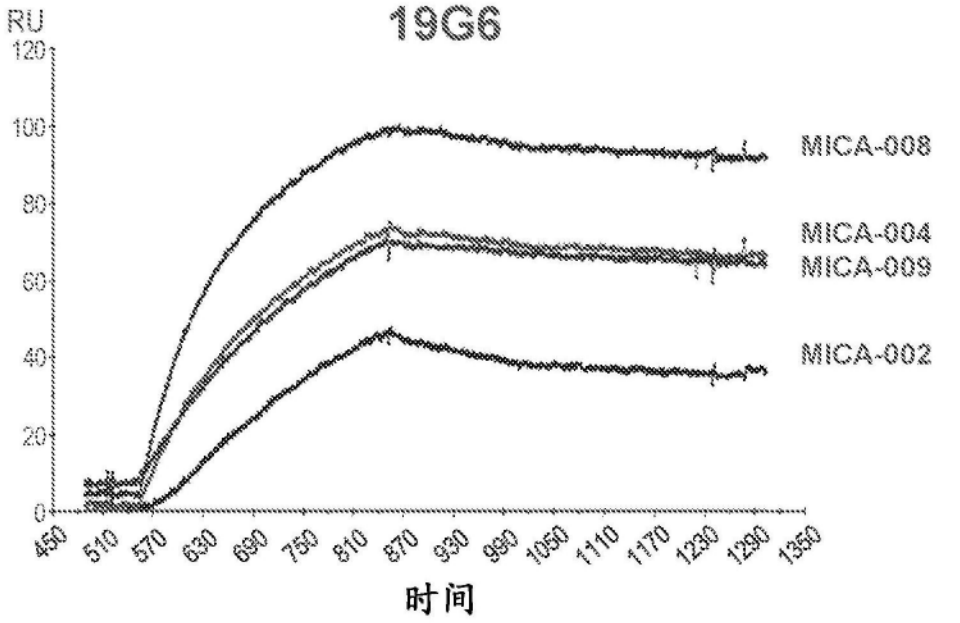

19G6
RU
120
100
80
60
40
20
0
MICA-008
MICA-004
MICA-009
MICA-002
450
510
570
630
690
750
810
870
930
990
1050
1110
1170
1230
1290
1350
时间

图6K

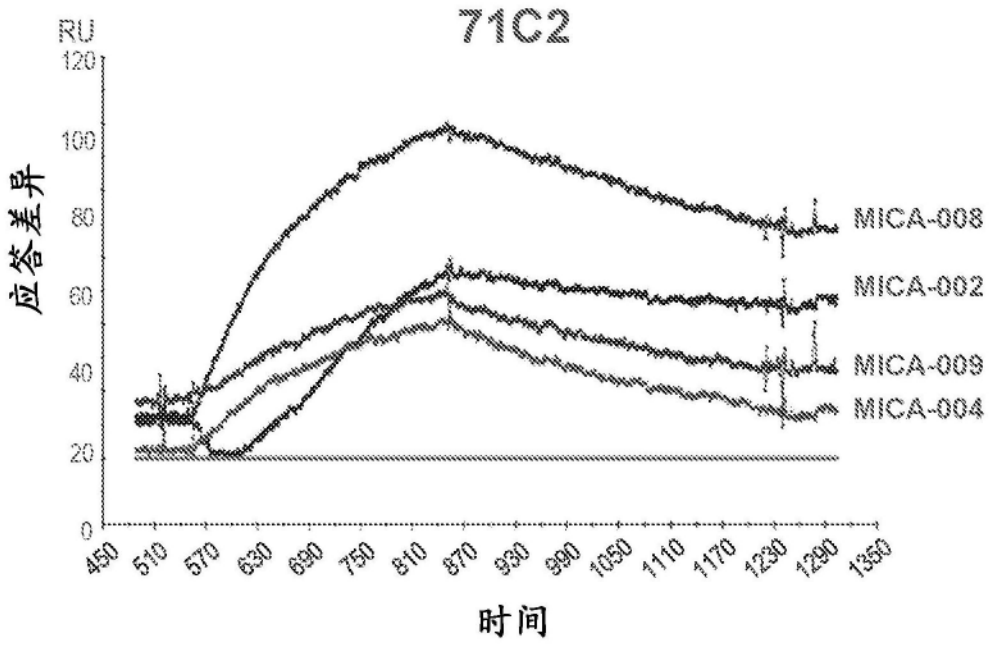

71C2
RU
120
100
80
60
40
20
0
应答差异
MICA-008
MICA-002
MICA-009
MICA-004
450
510
570
630
690
750
810
870
930
990
1050
1110
1170
1230
1290
1350
时间

图6L

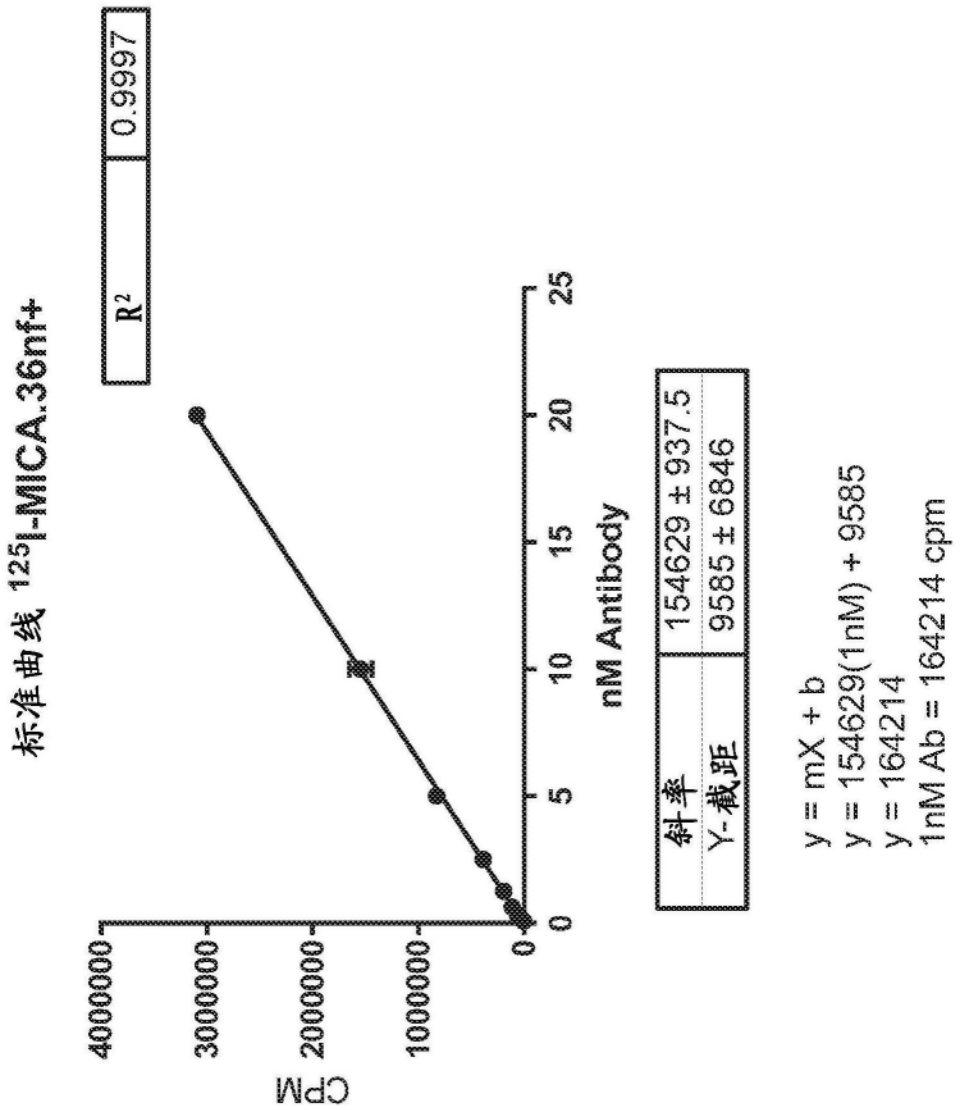
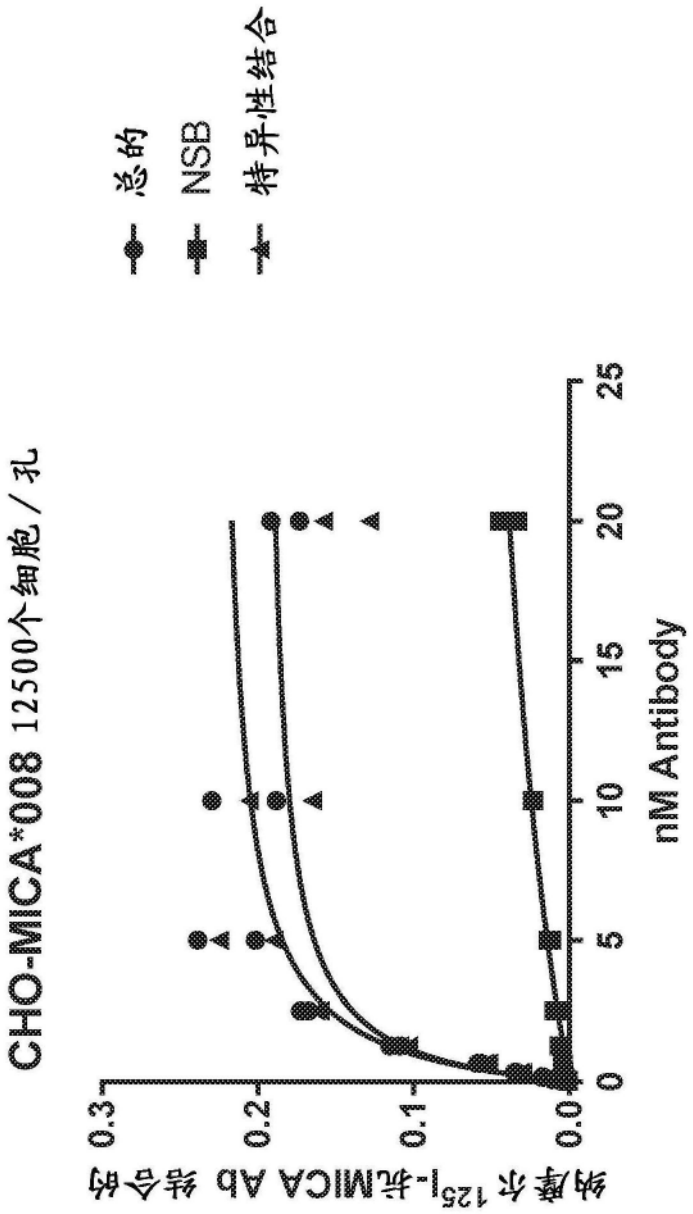

标准曲线 125I-MICA.36nf+
R²
0.9997
CPM
4000000
3000000
2000000
1000000
0
0
5
10
15
20
25
nM Antibody
斜率
154629 ± 937.5
Y-截距
9585 ± 6846
y = mX + b
y = 154629(1nM) + 9585
y = 164214
1nM Ab = 164214 cpm

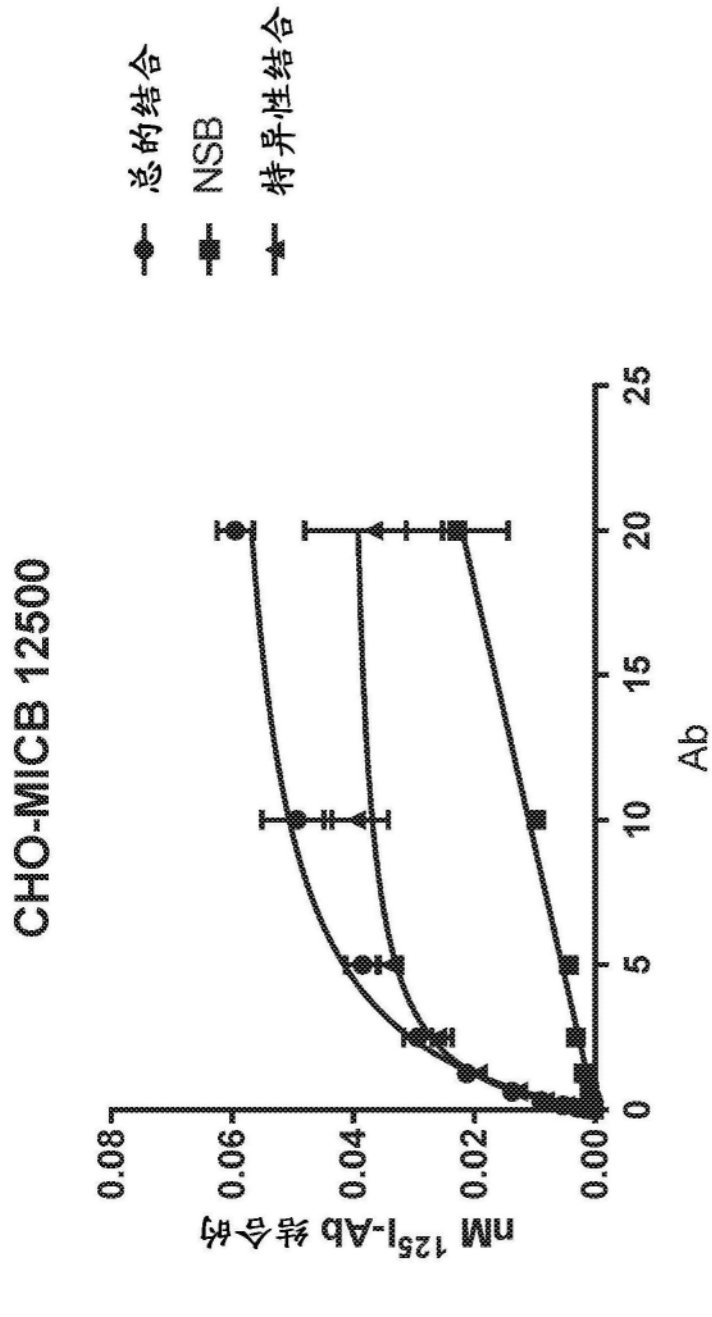
图7A



	总的	NSB	特异性结合
Bmax	0.2304	0.08932	0.1991
Kd	1.241	26.06	1.066

1.5e6 个受体 / 细胞

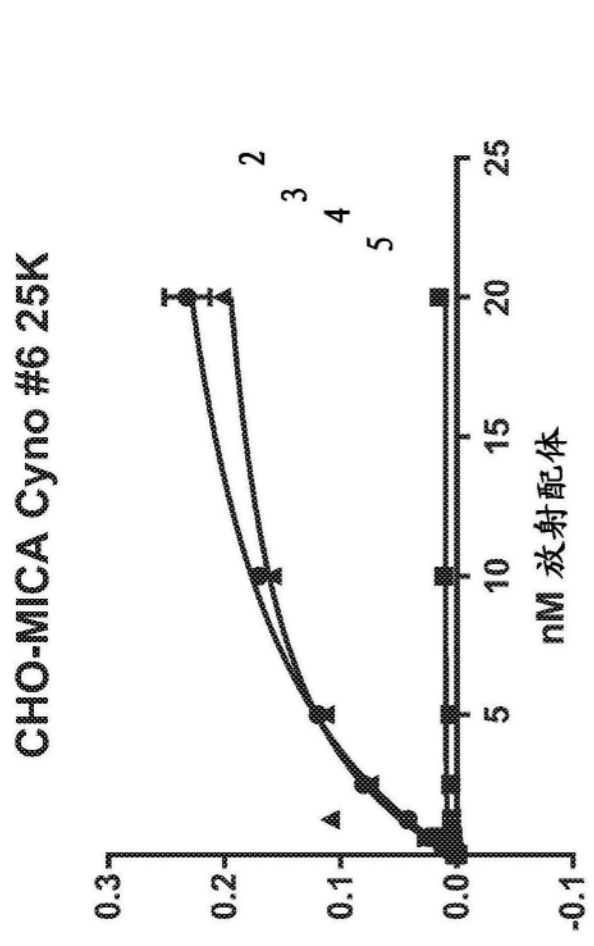
图7B



	总的结合	NSB	特异性结合
Bmax	0.06481	~ 2454441154507	0.04191
Kd	2.799	~ 2.226e+015	1.361

0.2e6 个受体 / 细胞

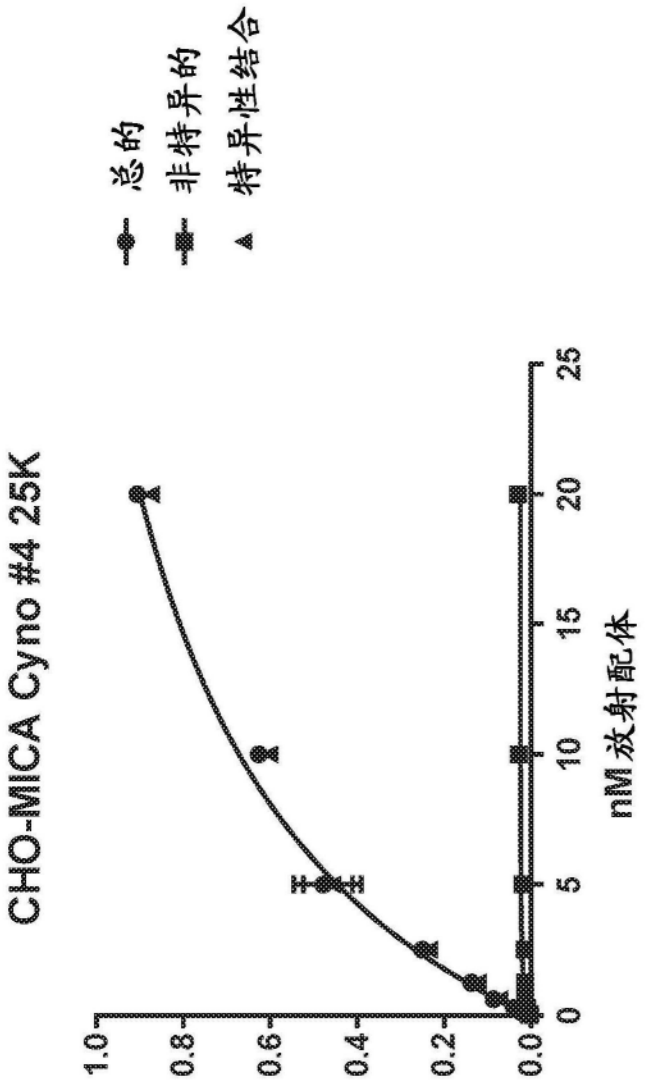
图7C



	总的	非特异的	特异性结合
Bmax	0.3233	0.009976	0.2448
Kd	8.272	0.2264	5.123

587,520个受体 / 细胞

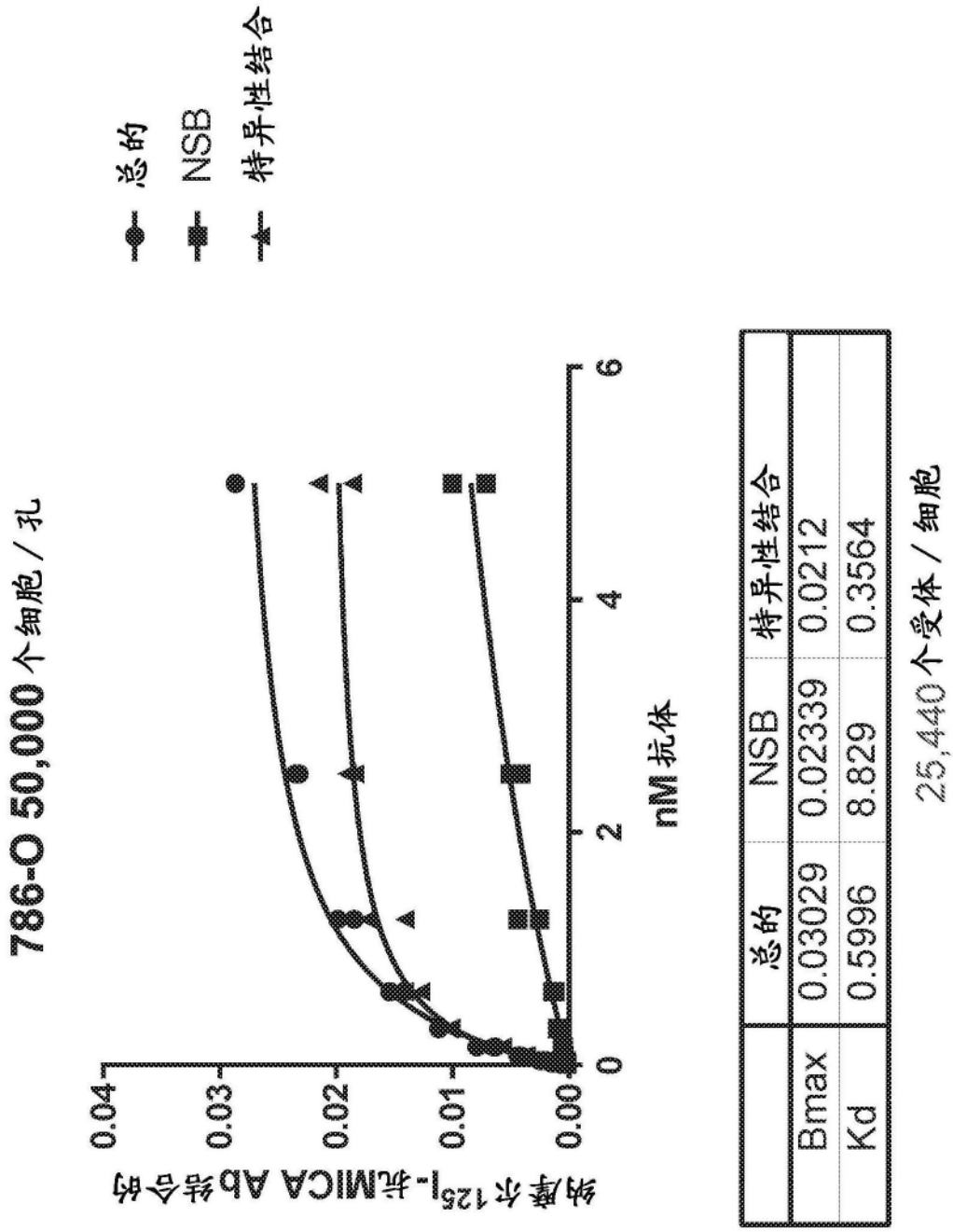
图7D



	总的	非特异的	特异性结合
Bmax	1.361	0.02652	1.353
Kd	10.25	0.5731	11.04

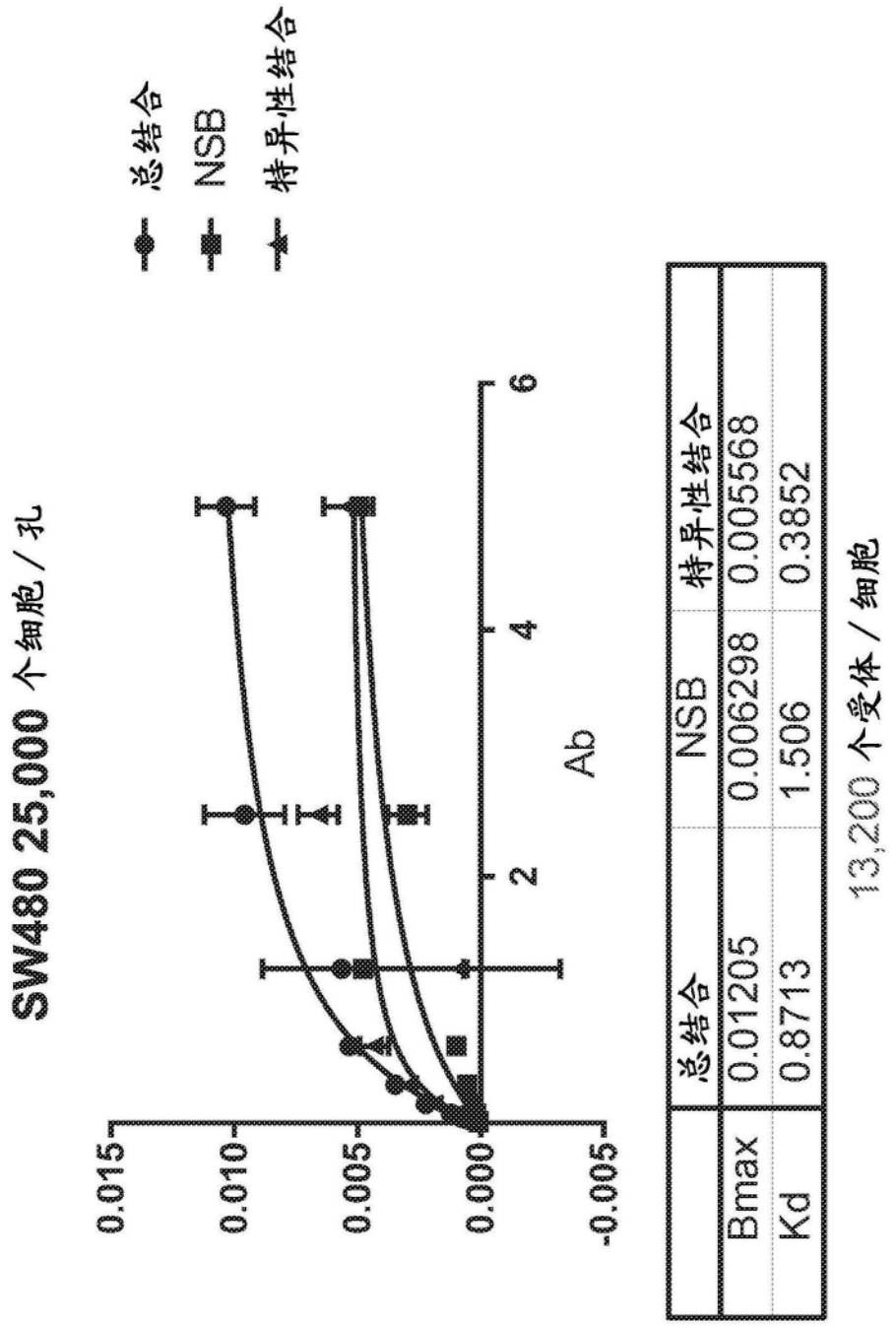
3.25e6 个受体 / 细胞

图7E



	总的	NSB	特异性结合
Bmax	0.03029	0.02339	0.0212
Kd	0.5996	8.829	0.3564

图7F



	总结合	NSB	特异性结合
Bmax	0.01205	0.006298	0.005568
Kd	0.8713	1.506	0.3852

图7G

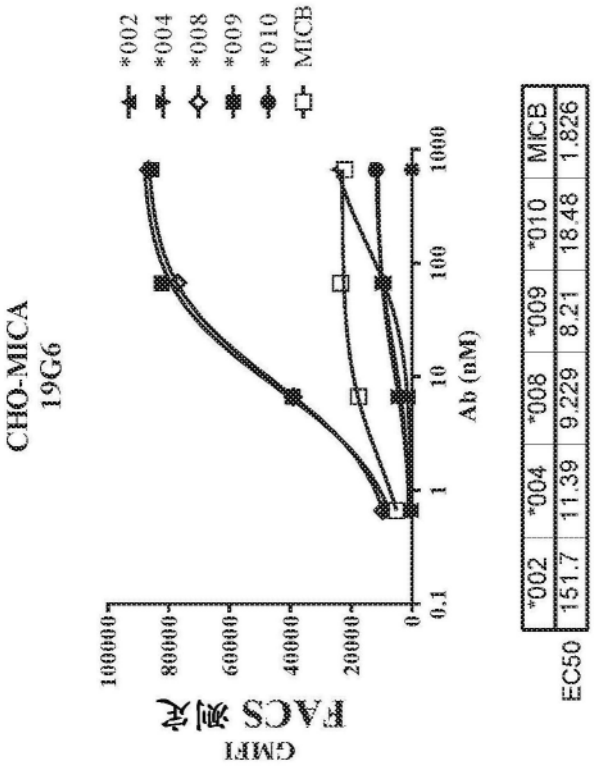

CHO-MICA
19G6
GMFI
FACS 测定
Ab (nM)
*002
*004
*008
*009
*010
MICB
EC50
*002 *004 *008 *009 *010 MICB
151.7 11.39 9.229 8.21 18.48 1.826

图8A

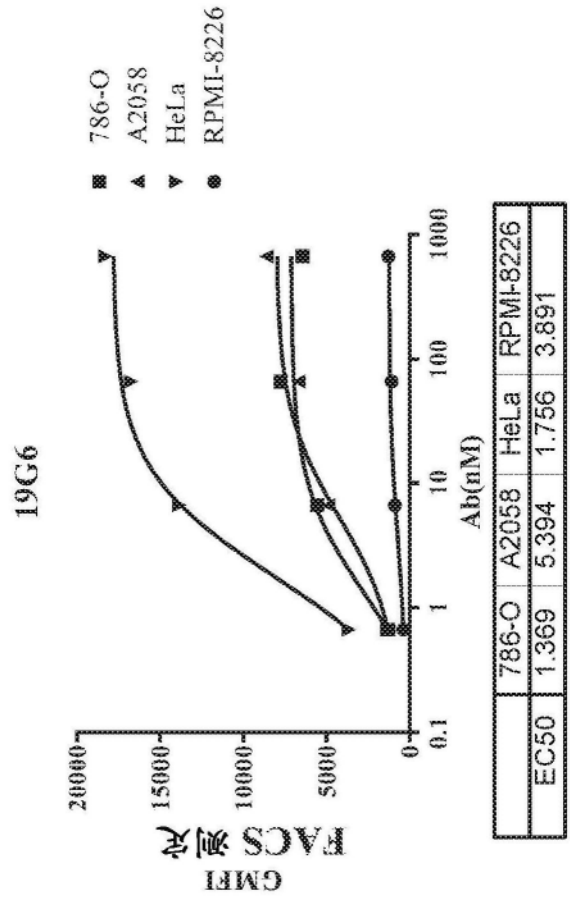

19G6
786-O
A2058
HeLa
RPMI-8226
GMFI
FACS 测定
20000
15000
10000
5000
0
0.1
1
10
100
1000
Ab(nM)
EC50
786-O 1.369
A2058 5.394
HeLa 1.756
RPMI-8226 3.891

图8B

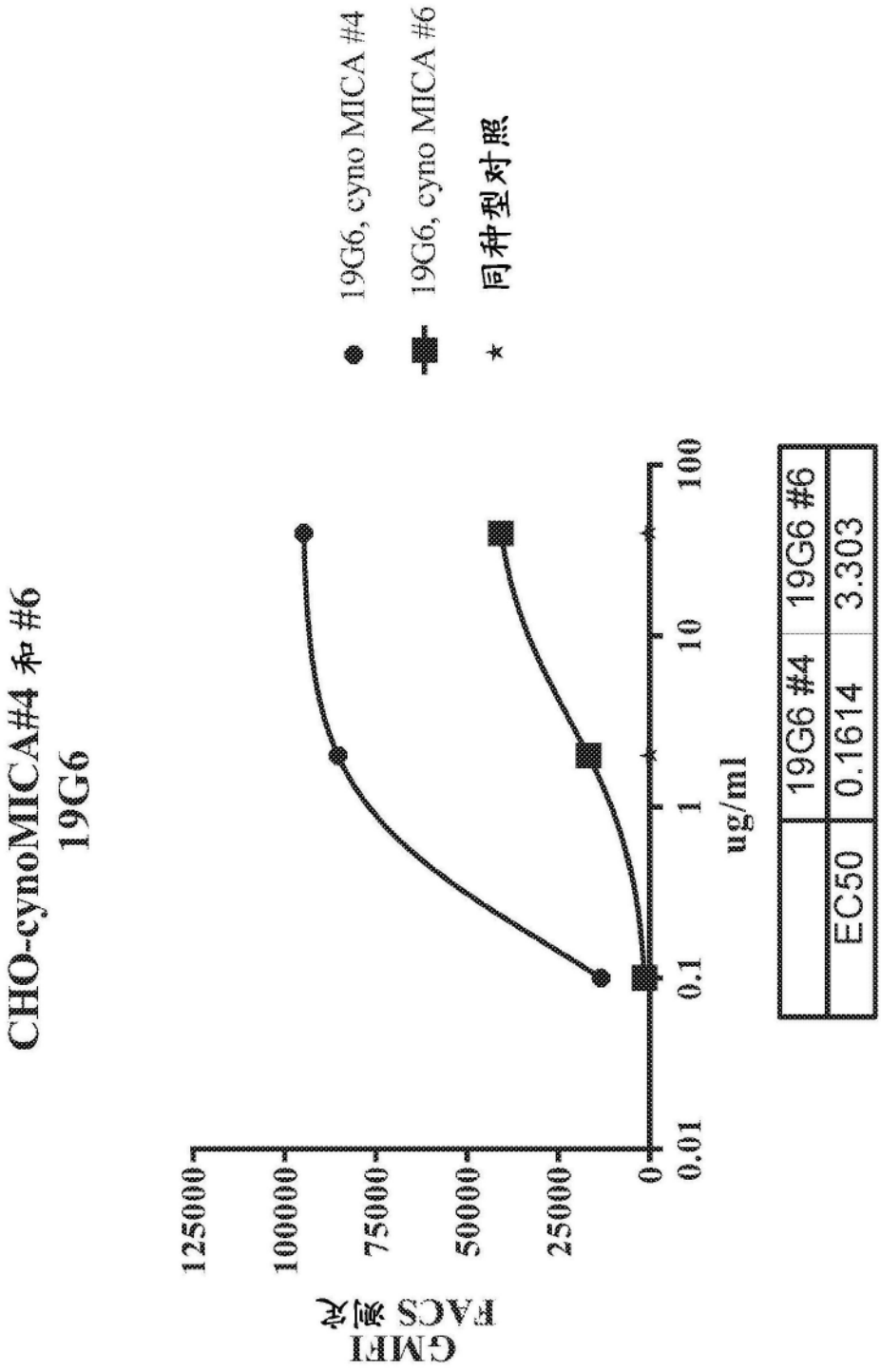

CHO-cynoMICA#4 和 #6
19G6
GMFI
FACS 测定
125000
100000
75000
50000
25000
0
0.01
0.1
1
10
100
ug/ml
19G6, cyno MICA #4
19G6, cyno MICA #6
同种型对照
19G6 #4
19G6 #6
EC50
0.1614
3.303

图8C

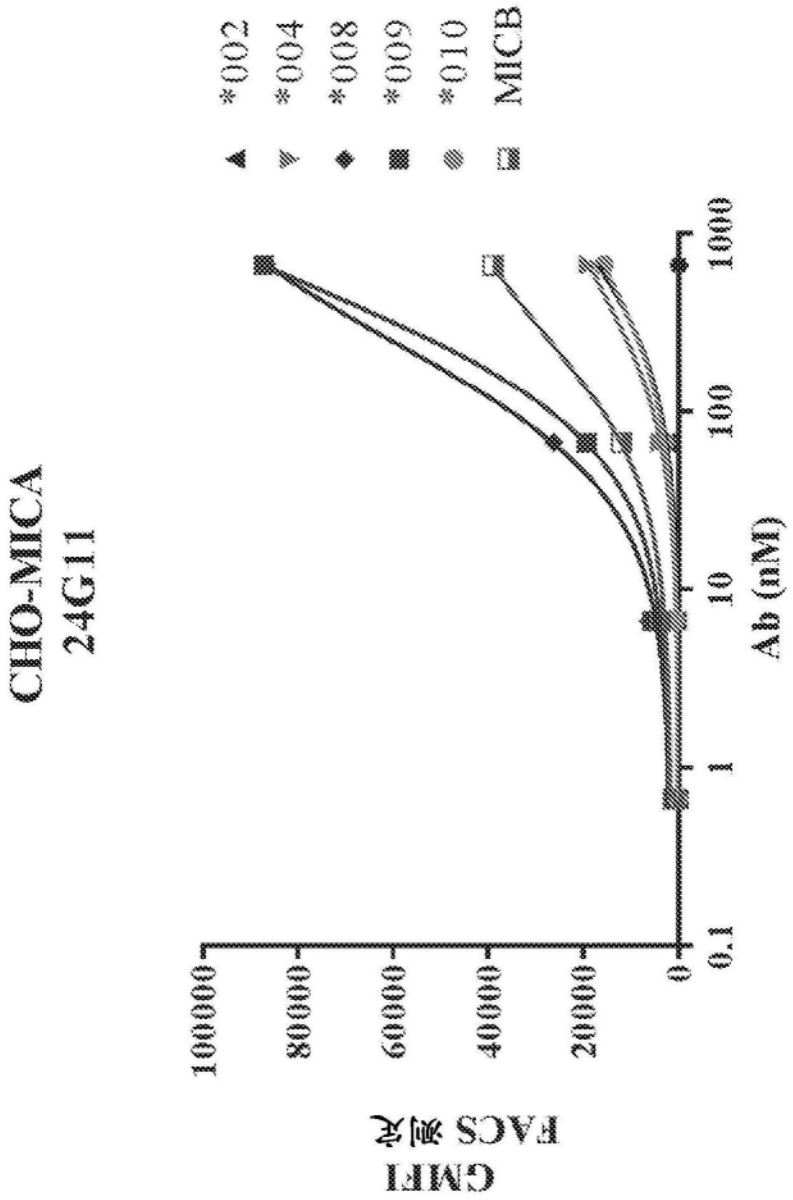

*002
*004
*008
*009
*010
MICB
CHO-MICA
24G11
GMFI
FACS 测定
100000
80000
60000
40000
20000
0
0.1
1
10
100
1000
Ab (nM)

图8D

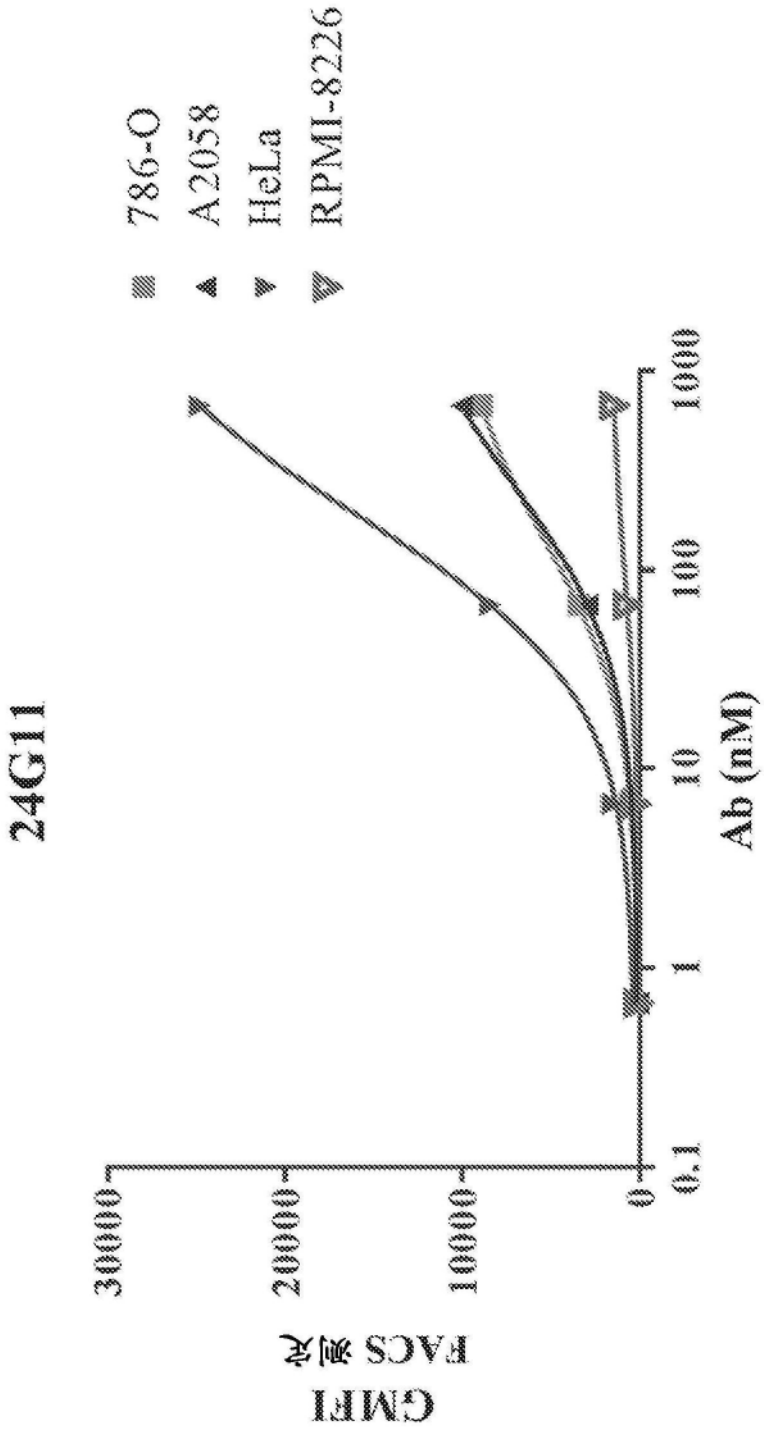

786-O
A2058
HeLa
RPMI-8226
24G11
GMFI
FACS 测定
30000
20000
10000
0
0.1
1
10
100
1000
Ab (nM)

图8E

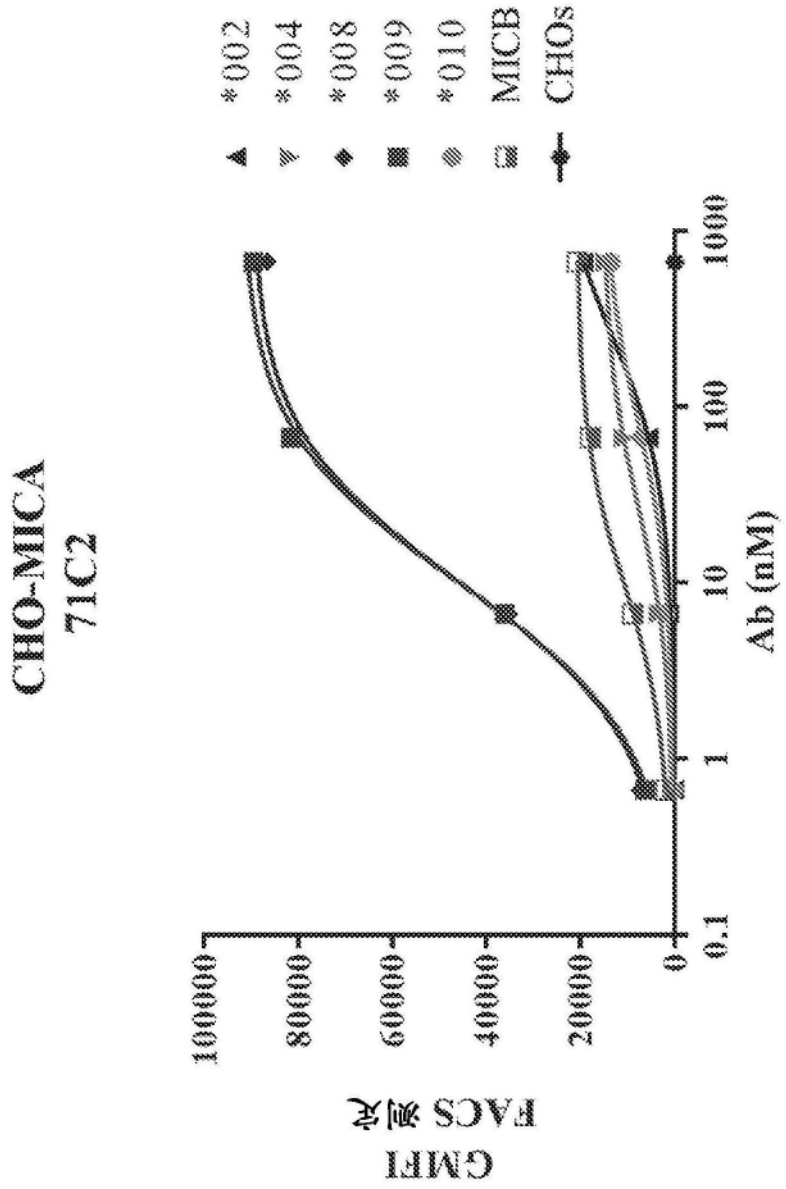

CHO-MICA
71C2
GMFI
FACS 测定
100000
80000
60000
40000
20000
0
0.1
1
10
100
1000
Ab (nM)
*002
*004
*008
*009
*010
MICB
CHOs

图8F

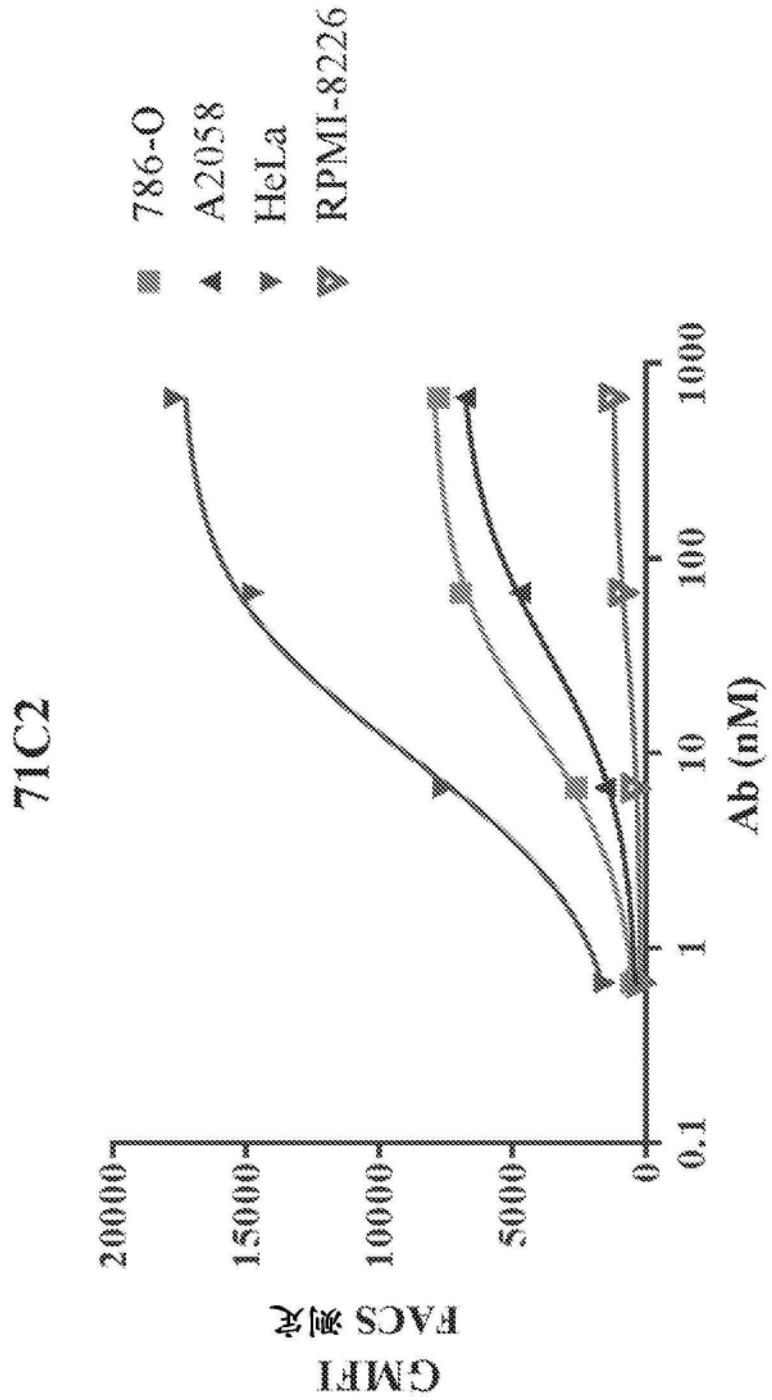

786-O
A2058
HeLa
RPMI-8226
71C2
GMFI
FACS 测定
200000
150000
100000
50000
0
0.1
1
10
100
1000
Ab (nM)

图8G

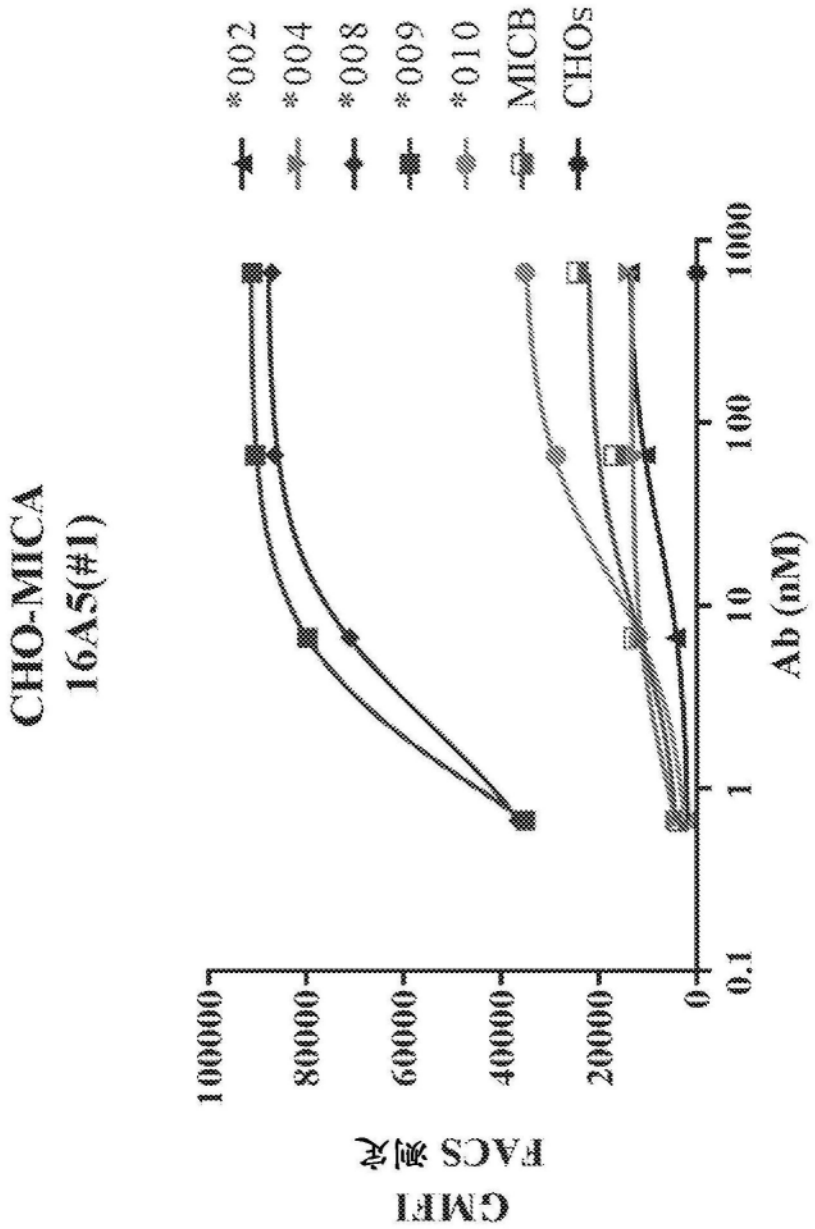

CHO-MICA
16A5(#1)
*002
*004
*008
*009
*010
MICB
CHOs
GMFI
FACS 测定
100000
80000
60000
40000
20000
0
0.1
1
10
100
1000
Ab (nM)

图8H

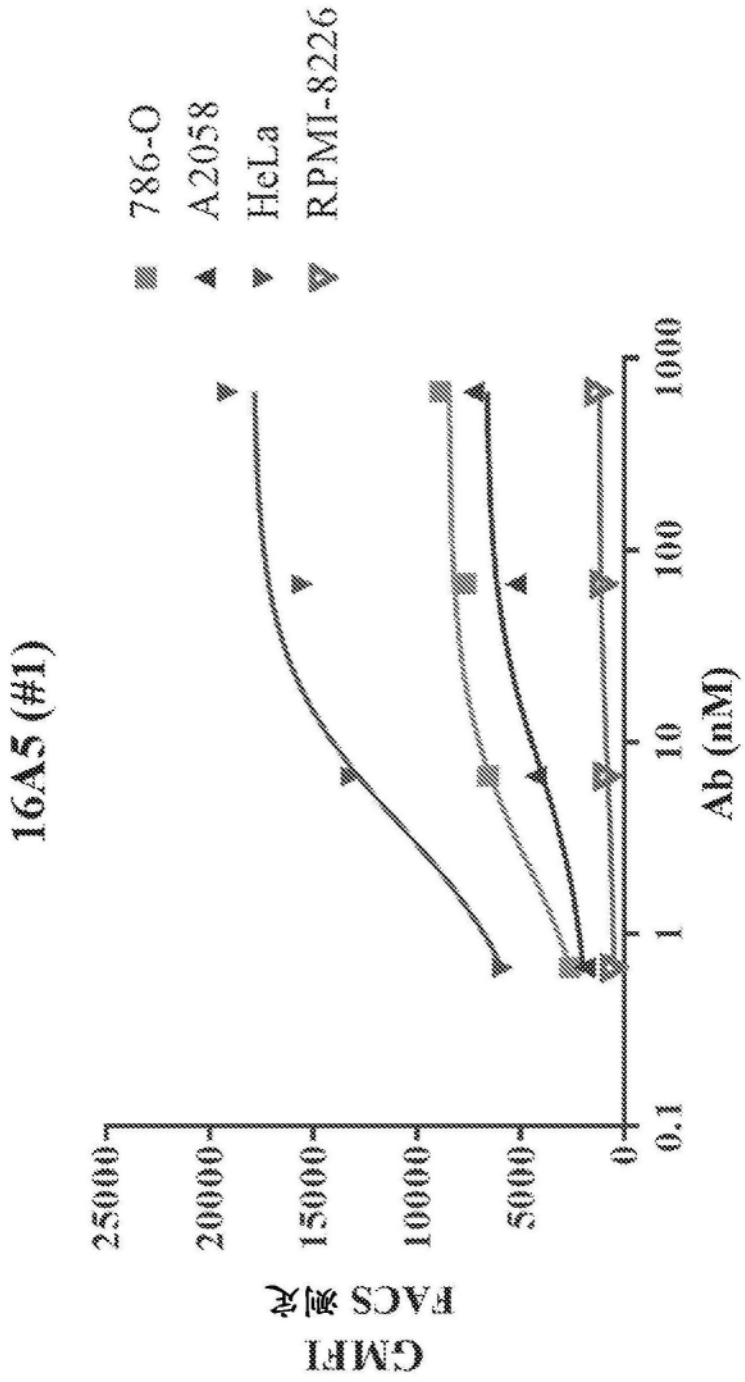

786-O
A2058
HeLa
RPMI-8226
16A5 (#1)
GMFI
FACS 测定
25000
20000
15000
10000
5000
0
0.1
1
10
100
1000
Ab (nM)

图8I

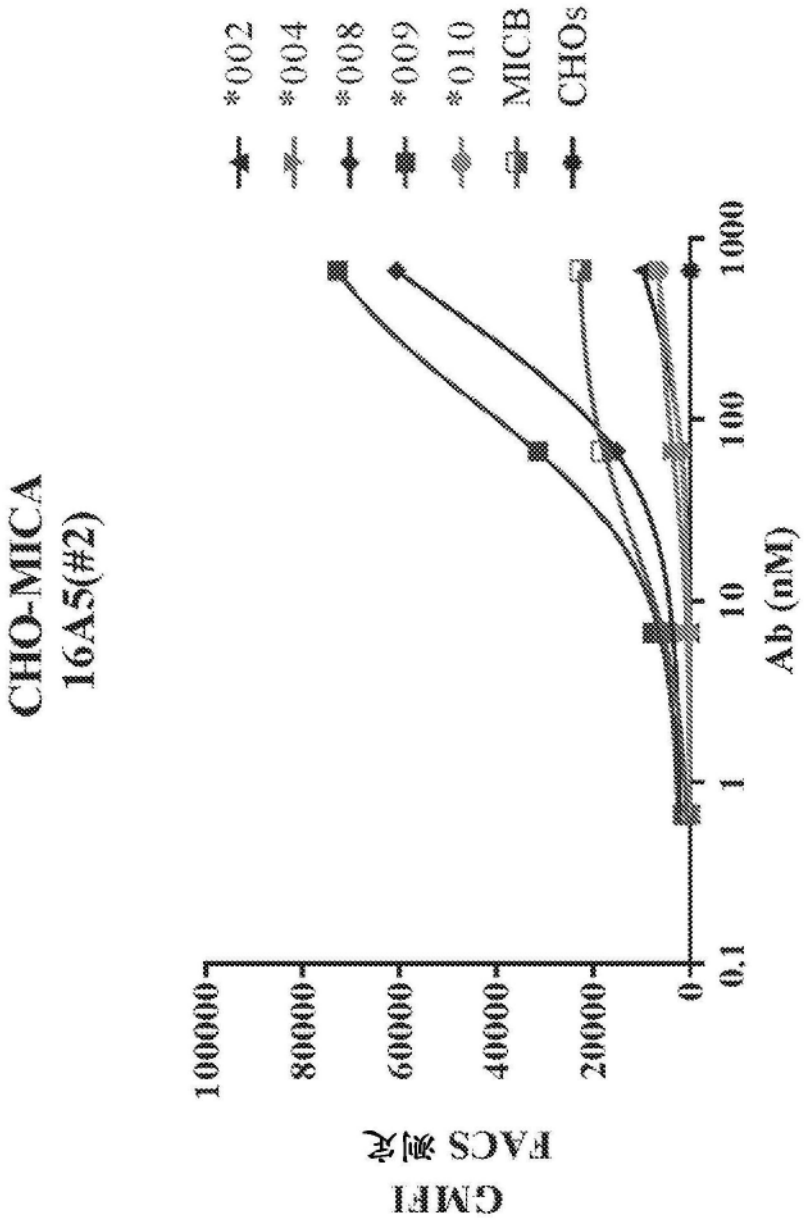

CHO-MICA
16A5(#2)
*002
*004
*008
*009
*010
MICB
CHOs
GMFI
FACS 测定
100000
80000
60000
40000
20000
0
0.1
1
10
100
1000
Ab (nM)

图8J

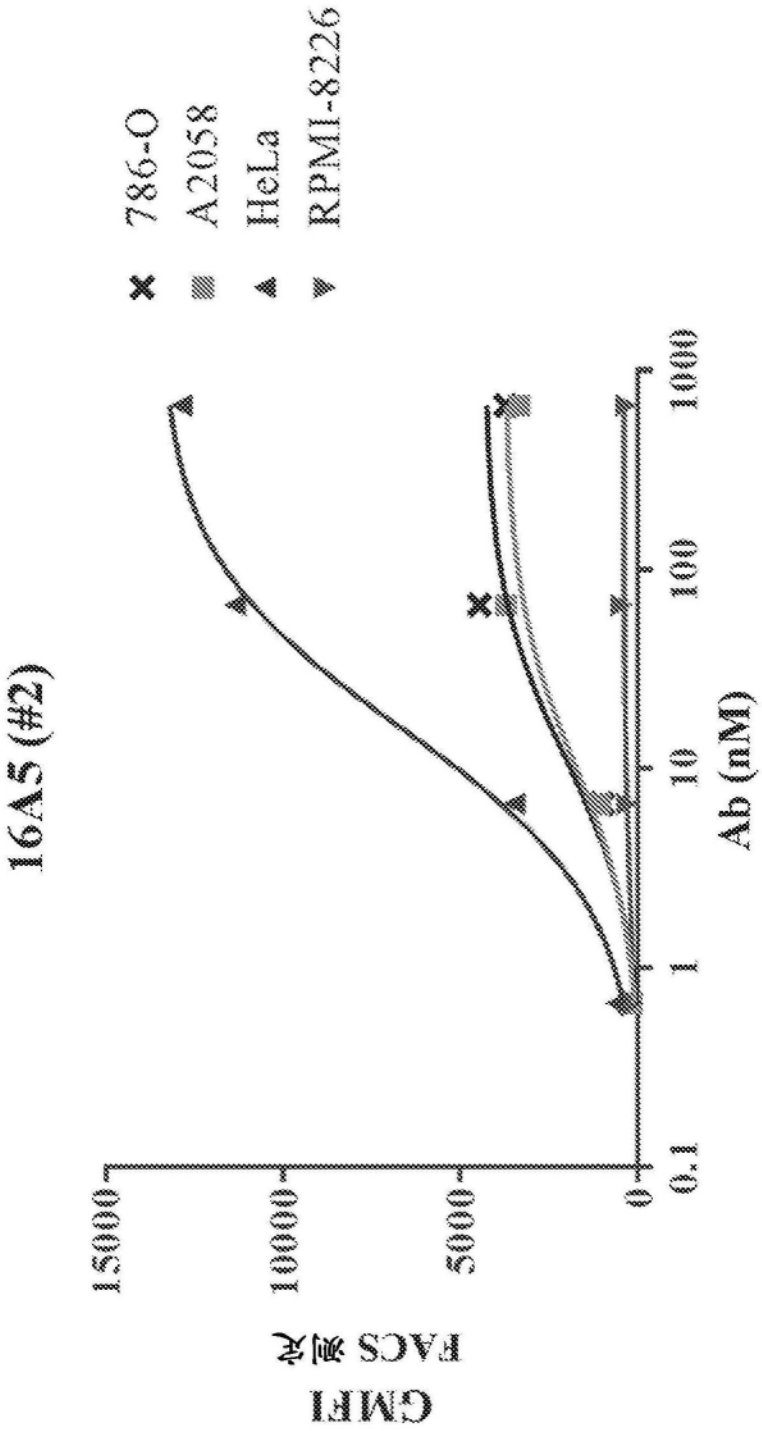

786-O
A2058
HeLa
RPMI-8226
16A5 (#2)
GMFI
FACS 测定
150000
100000
50000
0
0.1
1
10
100
1000
Ab (nM)

图8K

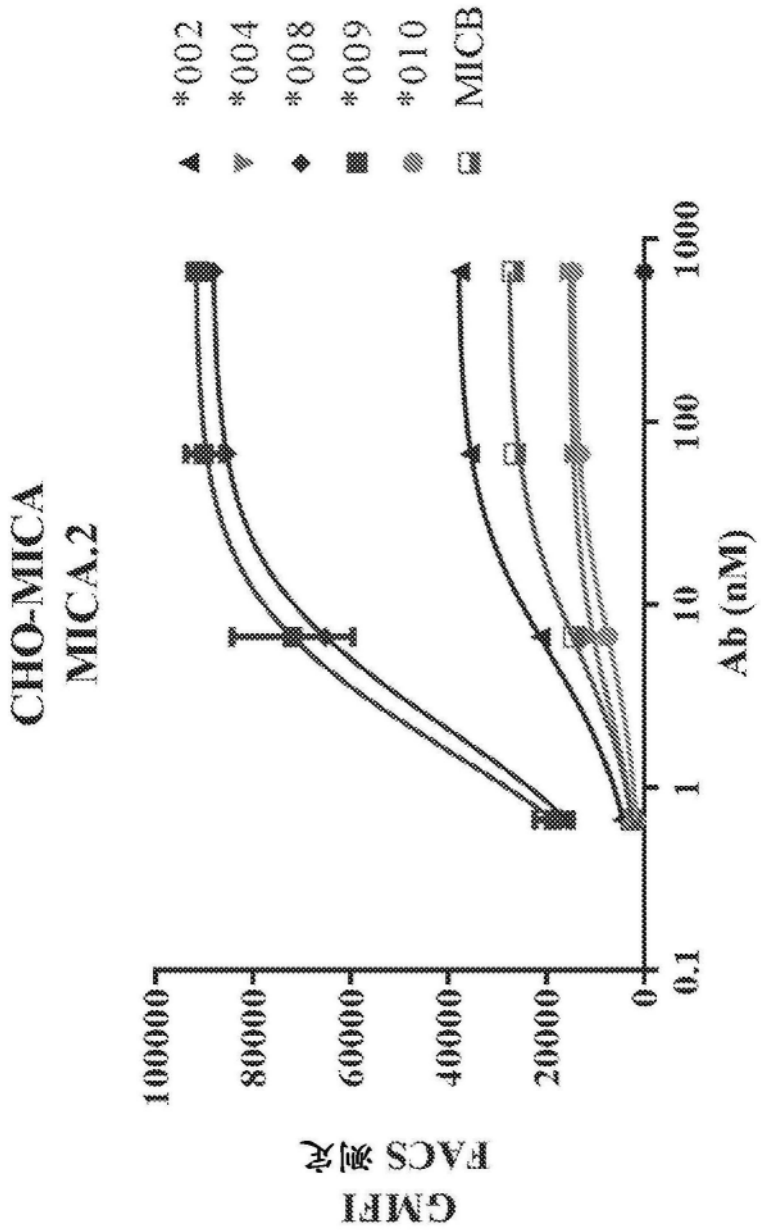

*002
*004
*008
*009
*010
MICB
CHO-MICA
MICA.2
GMFI
FACS 测定
100000
80000
60000
40000
20000
0
0.1
1
10
100
1000
Ab (nM)

图8L

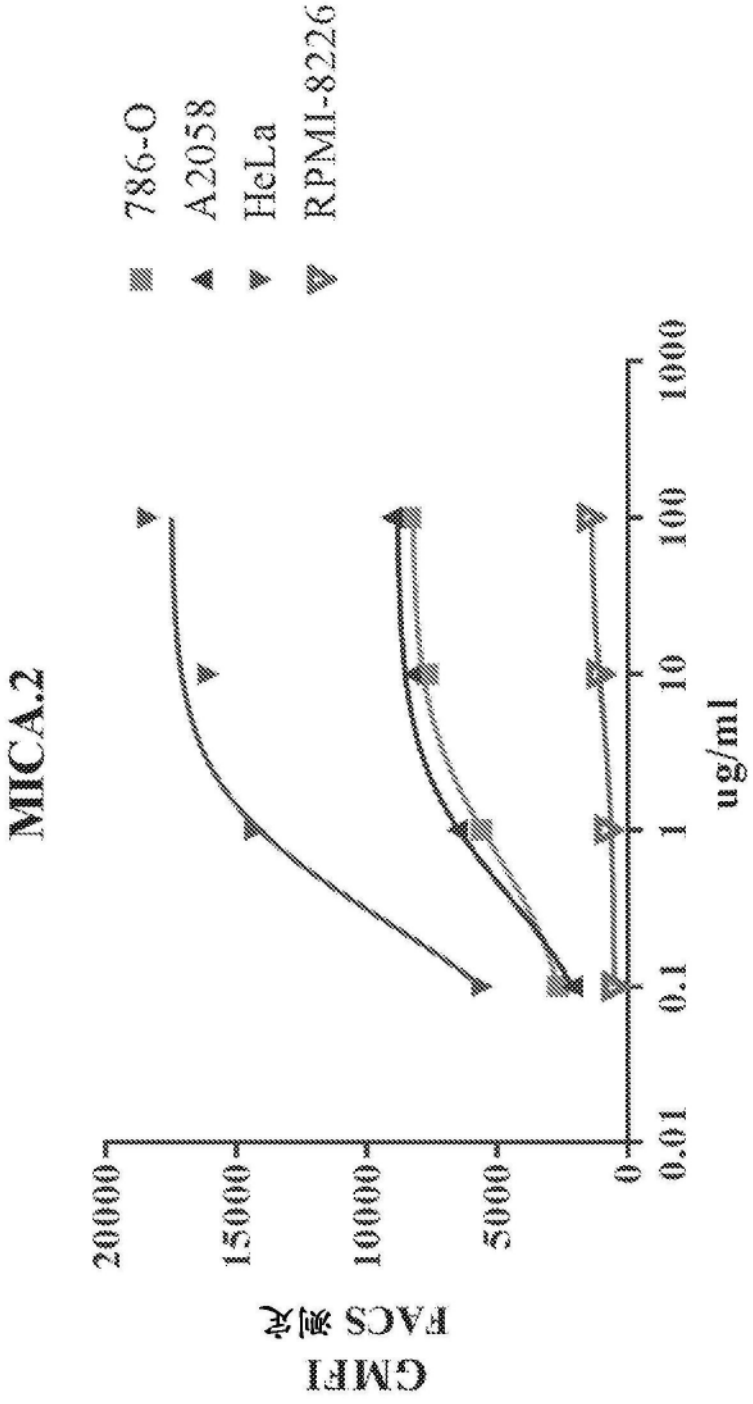

786-O
A2058
HeLa
RPMI-8226
MICA.2
GMFI
FACS 测定
20000
15000
10000
5000
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
ug/ml

图8M

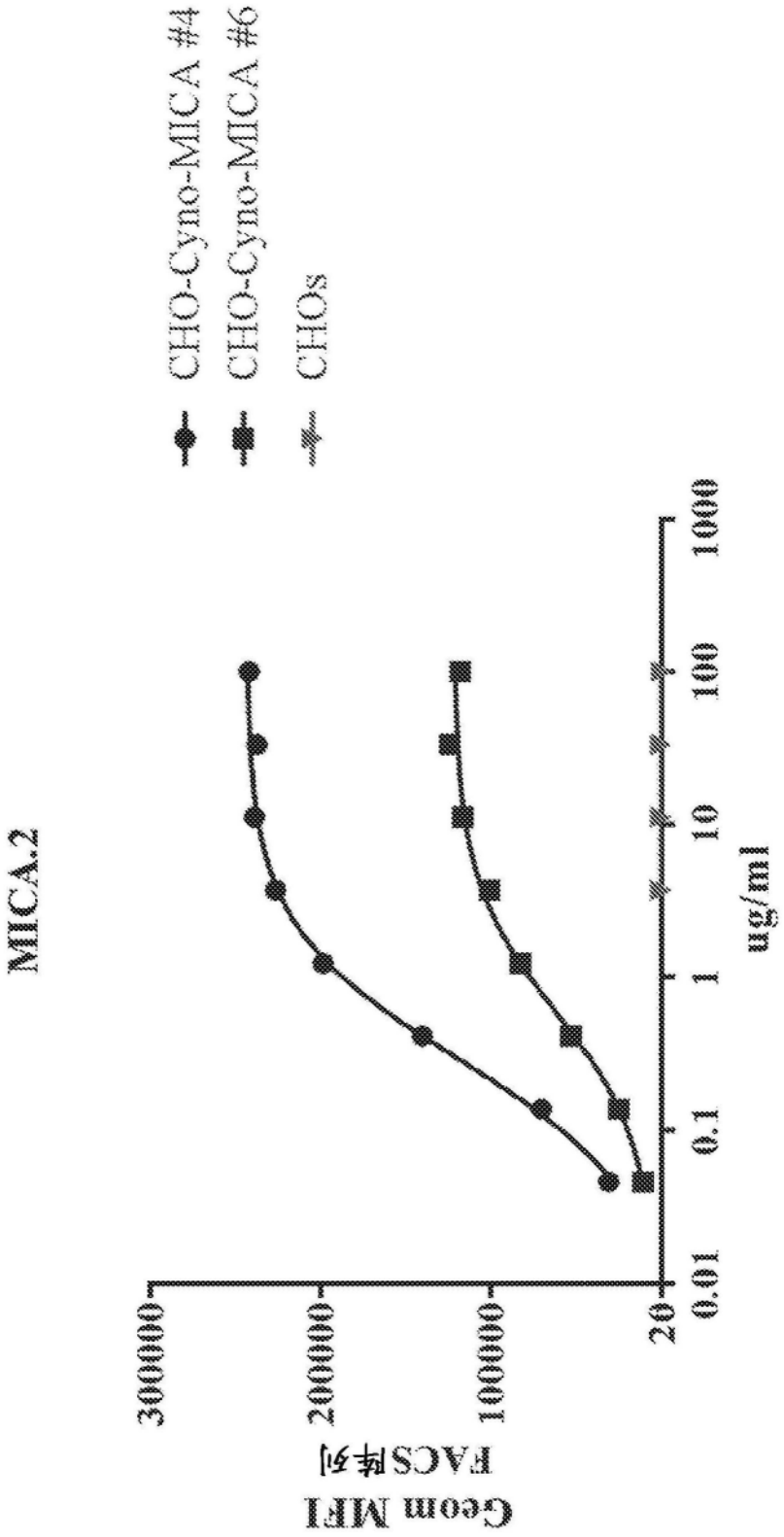

MICA.2
CHO-Cyno-MICA #4
CHO-Cyno-MICA #6
CHOs
Geom MFI
FACS降列
3000000
2000000
1000000
20
0.01
0.1
1
10
100
1000
ug/ml

图8N

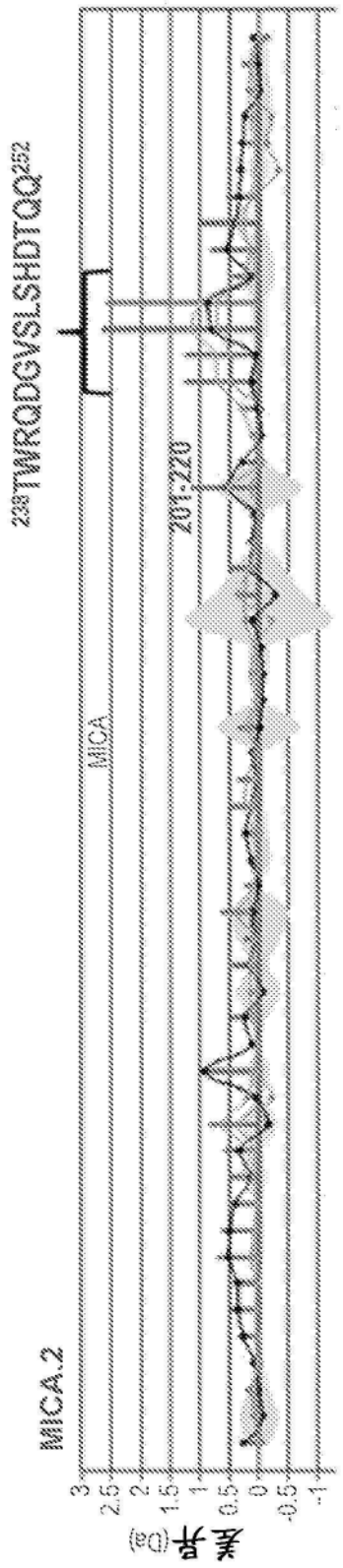

MICA.2
238TWRQDGVSLSHDTQQ252
MICA
201-220
差异(Da)
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
-0.5
-1

图9A

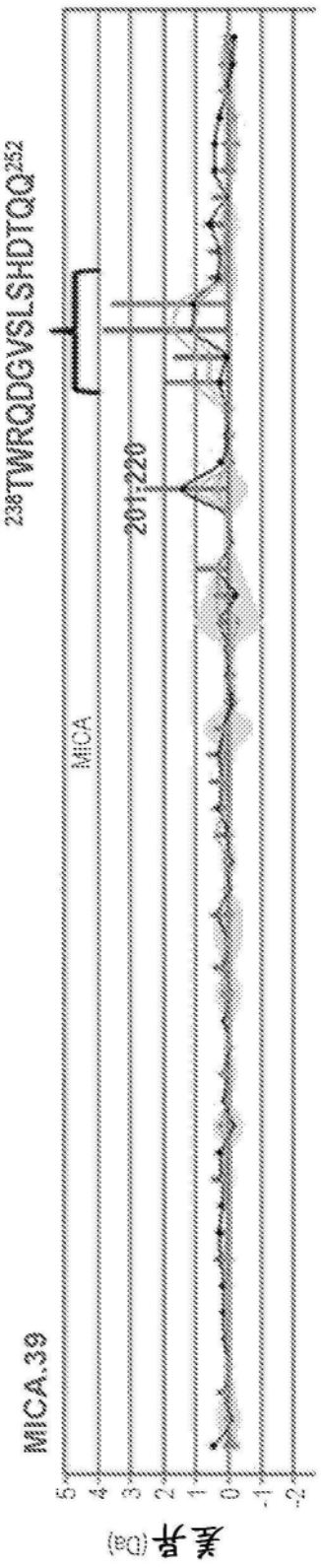


图9B

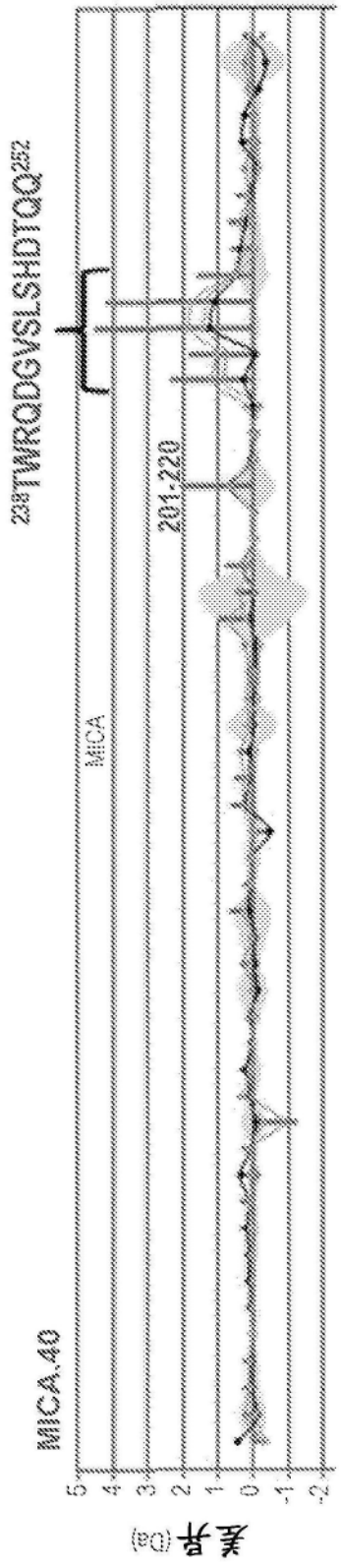


图9C

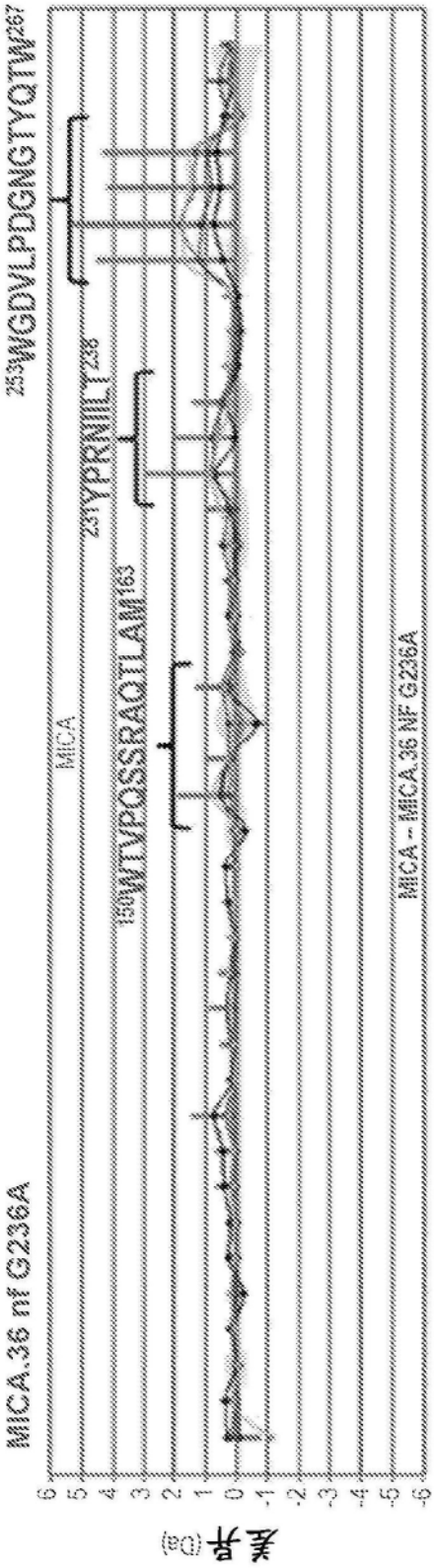

MICA.36 nf G236A
MICA
MICA – MICA.36 NF G236A
253WGDVLPDGMGTYQTW267
231YPRNIILT238
150WTVPOSSRAOTLAM163
差异 (Da)
6
5
4
3
2
1
0
-1
-2
-3
-4
-5
-6

图9D

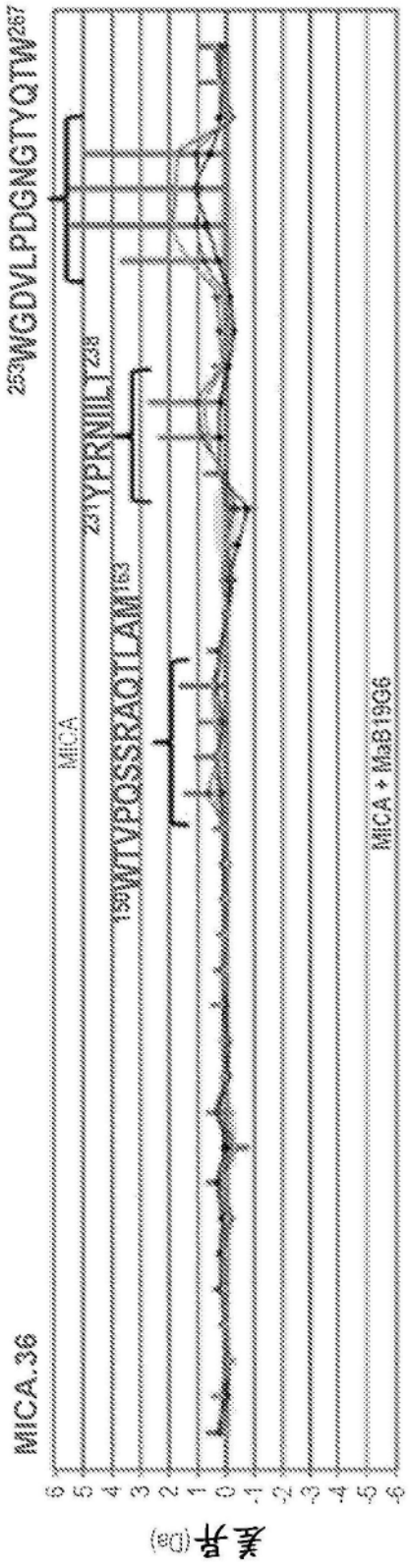

253WGDVLPDGMGTYQTW267
231YPRMILT238
159WTVPQSSRAQTLAM183
MICA
MICA • MaB19G6
MICA.36
差异(Da)
6 5 4 3 2 1 0 -1 -2 -3 -4 -5 -6

图9E

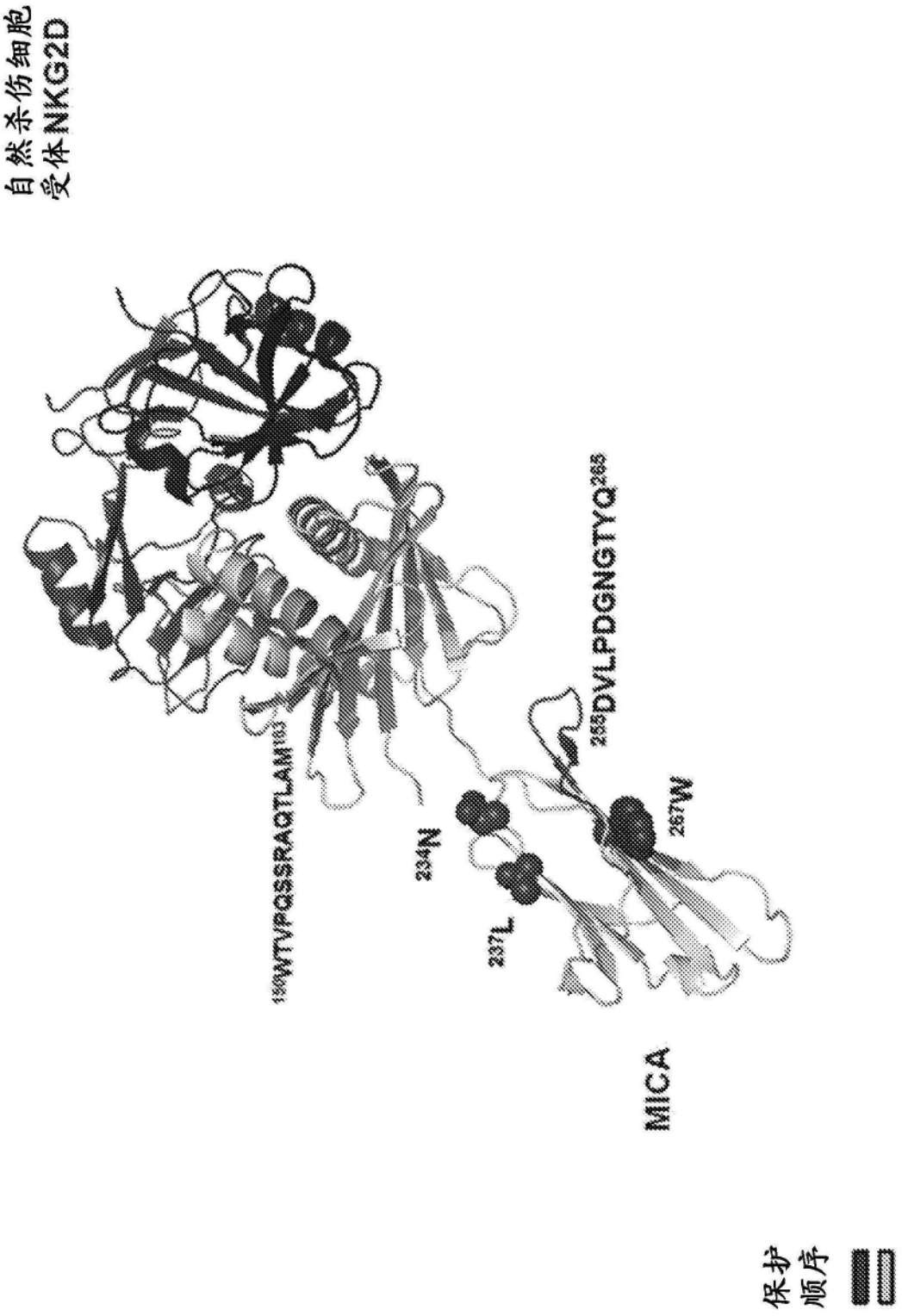

自然杀伤细胞
受体NKG2D
150WTVPQSSRAQTLAM163
234N
237L
255DVLPDGNGTYQ265
267W
MICA
保护
顺序

图9F

```
   1 MGLGFVFLLL AGIFPFAPPG AAAEPHSLRY NLTVLSWDGS VQSGFLAEVH LDGQPFLRYD
  61 RQKCRAKPQG QWAEDVLGNK TWDRETRDLT GNGKDLRMTL AHIKDQKEGL HSLQEIRVCE
 121 IHEDNSTRSS QHFYYDGELF LSQNLETEEW TVPQSSRAQT LAMNVRNFLK EDAMKTKTHY
 181 HAMHADCLQE LRRYLESGVV LRRTVPPMVN VTRSEASEGN ITVTCRASSF YPRNILTWR
 241 QDGVSLSHDT QQWGDVLPDG NGTYQTWVAT RICRGEEQRF TCYMEHSGNH STHPVPSGKV
 301 LVLQSHWQTF HVSAVAGCC YFCYYYFFLCP LL
```

图10A

```
  1 MGLGPVFLLL AGIFPFAPPG AAAEPHSLRY NLTVLSWDGS VQSGFLAEVH LDGQPFLRYD
 61 RQKCRAKPQG QWAEDVLGNK TWDRETRDLT GNGKDLRMTL AHIKDQKEGL HSLQEIRVCE
121 IHEDNSTRSS QHFYYDGELF LSQNLETEEW TVPQSSRAQT LAMNVRNFLK EDAMKTKTHY
181 HAMHADCLQE LRRYLESGVV LRRTVPPMVN VTRSEASEGN ITVTCRASSF YPRNILLTWR
241 QDGVSLSHDT QQWGDVLPDG NGTYQTWVAT RICRGEEQRF TCYMEHSGNH STHPVPSGKV
301 LVLQSHWQTF HVSAVAAGCC YFCYYYFTCP LL
```

图10B

```
   1 MGLGPVFLLL AGIFPFAPPG AAAEPHSLRY NLTVLSWDGS VQSGFLAEVH LDGQPFLRYD
  61 RQKCRAKPQG QWAEDVLGNK TWDRETRDLT QNGKDLRMTL AHIKDQKEGL HSLQEIRVCE
 121 IHEDNSTRSS QHFYYDGELF LSQNLETEEW TVPQSSRAQT LAMNVRNFLK EDAMKTKTHY
 181 HAMHADCLQE LRRYLESGVV LRRTVPPMVN VTRSEASEGN ITVTCRASSF YPRNILTWR
 241 QDGVSLSHDT QQWGDVLPDG NGTYQTWVAT RICRGEEQRF TCYMEHSGNH STHPVPSGKV
 301 LVLQSHWQTF HVSAVAAGCC YFCYYYFLCP LL
```

图10C

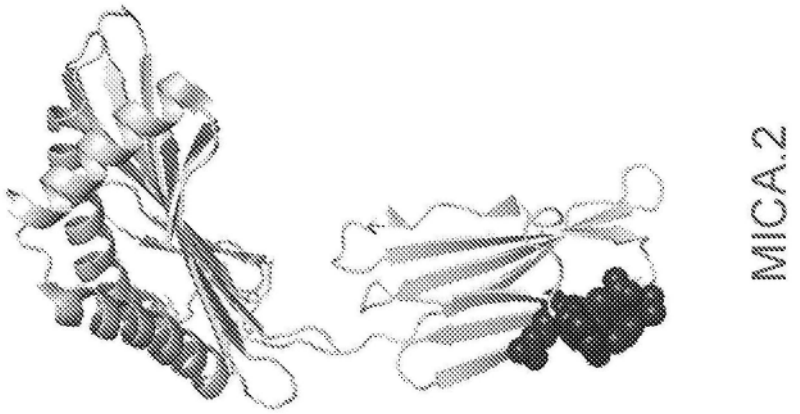


图10D

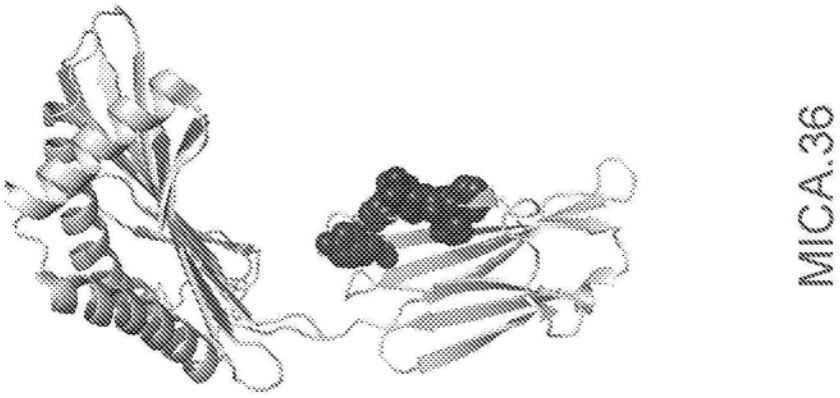


图10E



图10F

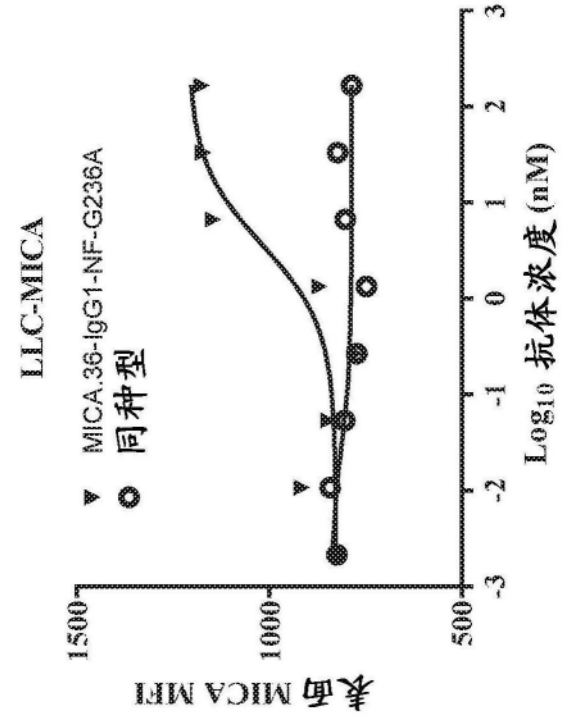

LLC-MICA
MICA.36-IgG1-NF-G236A
同种型
表面 MICA MFI
1500
1000
500
-3
-2
-1
0
1
2
3
Log10 抗体浓度 (nM)

图11A

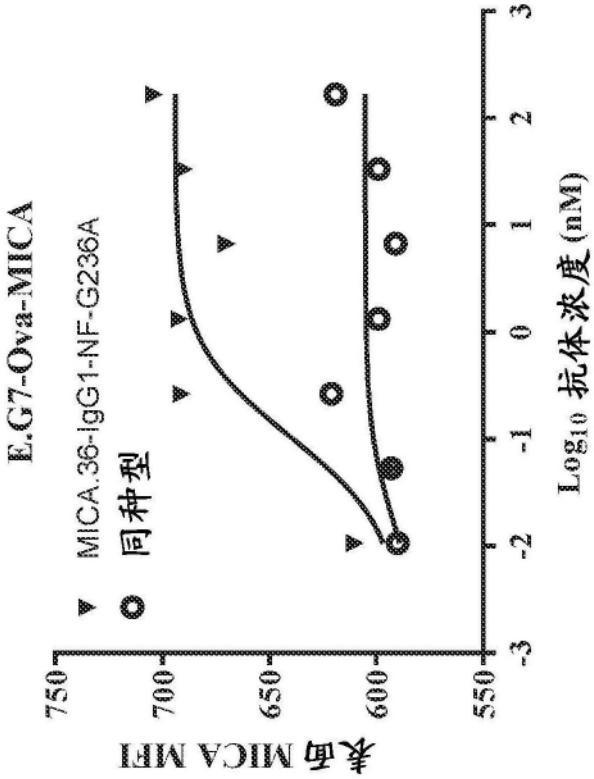

E.G7-Ova-MICA
MICA.36-IgG1-NF-G236A
同种型
表面 MICA MFI
750
700
650
600
550
-3
-2
-1
0
1
2
3
Log10 抗体浓度 (nM)

图11B

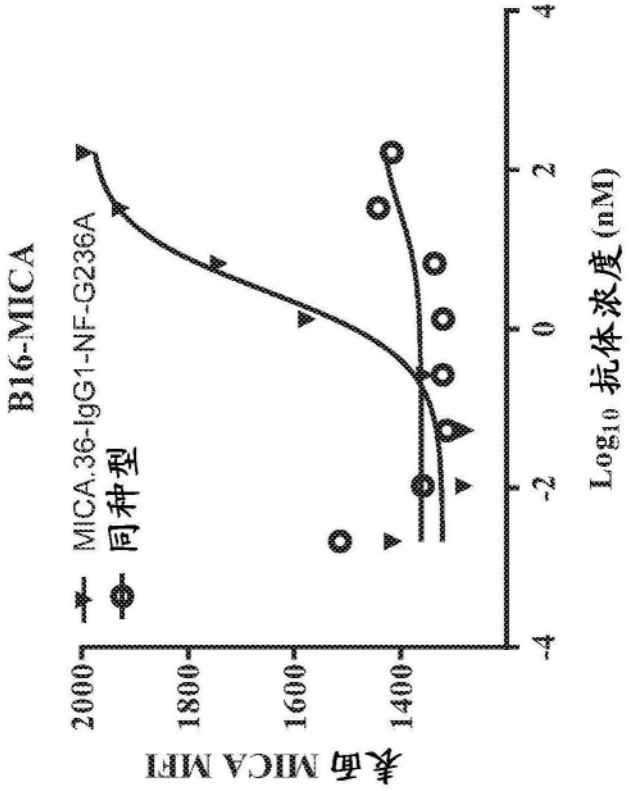

B16-MICA
MICA.36-IgG1-NF-G236A
同种型
表面 MICA MFI
2000
1800
1600
1400
-4
-2
0
2
4
Log10 抗体浓度 (nM)

图11C

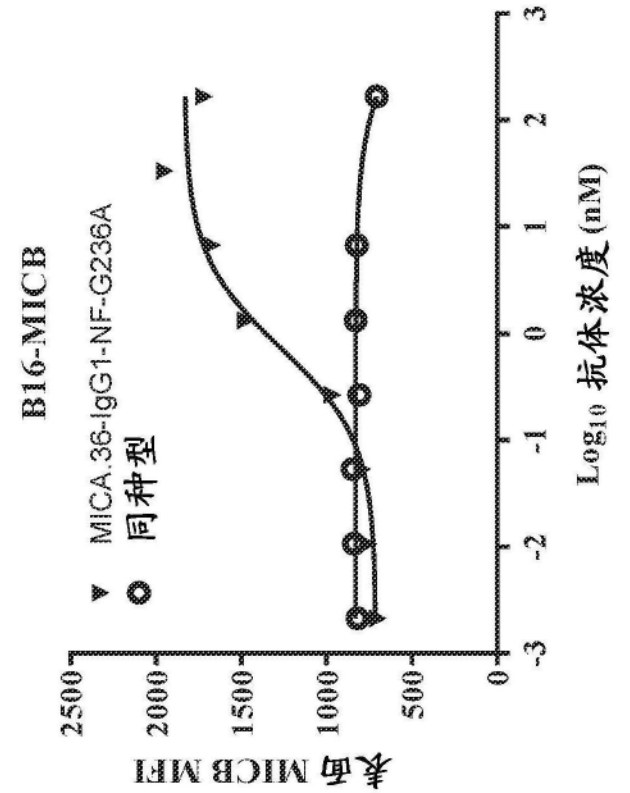

B16-MICB
MICA.36-IgG1-NF-G236A
同种型
表面 MICB MFI
2500
2000
1500
1000
500
0
-3
-2
-1
0
1
2
3
Log10 抗体浓度 (nM)

图11D

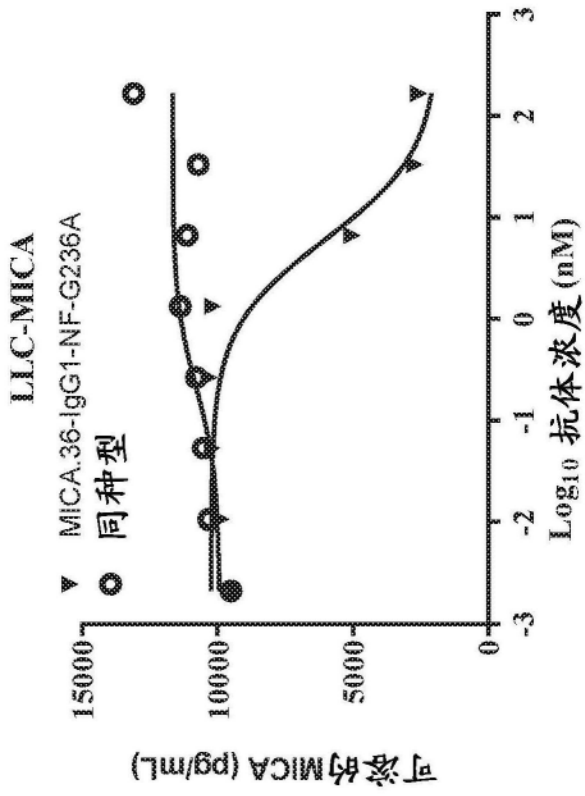

LLC-MICA
MICA.36-IgG1-NF-G236A
同种型
可溶的MICA (pg/mL)
15000
10000
5000
0
-3
-2
-1
0
1
2
3
Log10 抗体浓度 (nM)

图12A

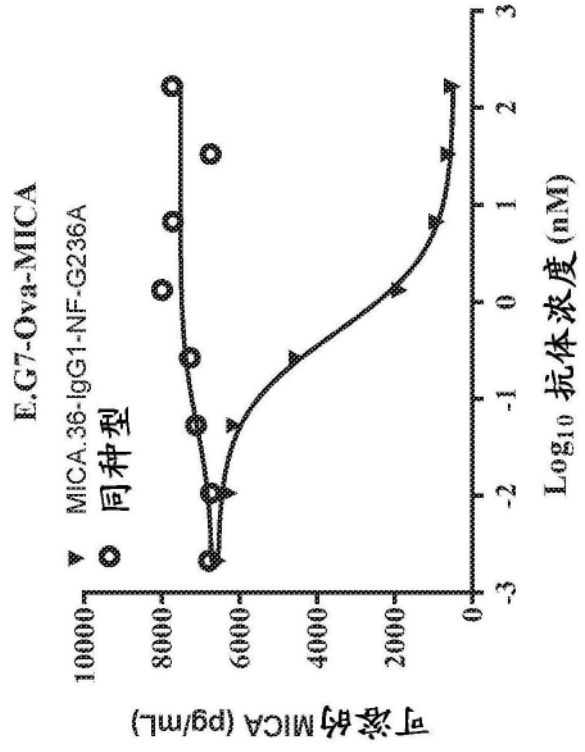

E.G7-Ova-MICA
MICA.36-IgG1-NF-G236A
同种型
可溶的MICA (pg/mL)
10000
8000
6000
4000
2000
0
-3
-2
-1
0
1
2
3
Log10 抗体浓度 (nM)

图12B

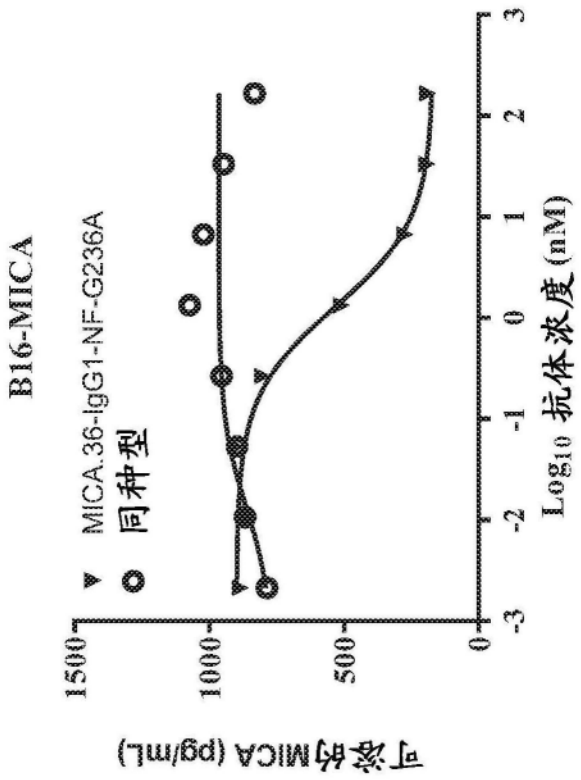

B16-MICA
MICA.36-IgG1-NF-G236A
同种型
可溶的MICA (pg/mL)
1500
1000
500
0
-3
-2
-1
0
1
2
3
Log10 抗体浓度 (nM)

图12C

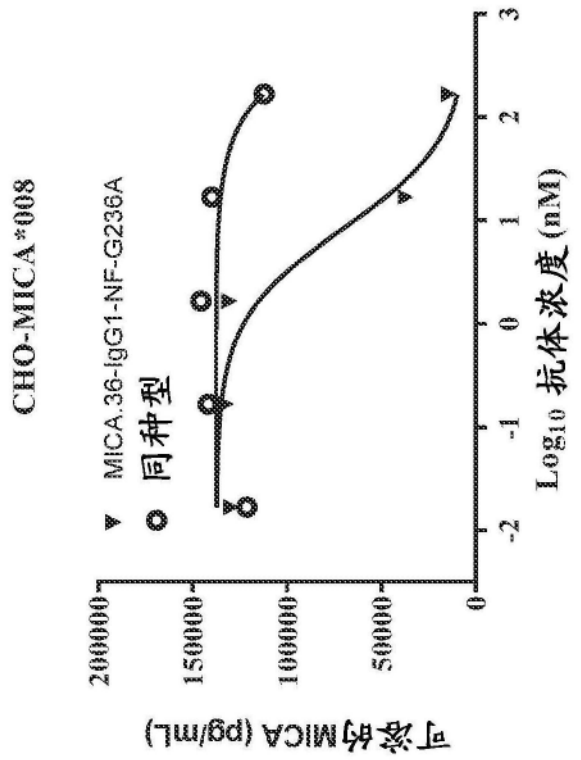

CHO-MICA*008
MICA.36-IgG1-NF-G236A
同种型
可溶的MICA (pg/mL)
200000
150000
100000
50000
0
-2
-1
0
1
2
3
Log10 抗体浓度 (nM)

图12D

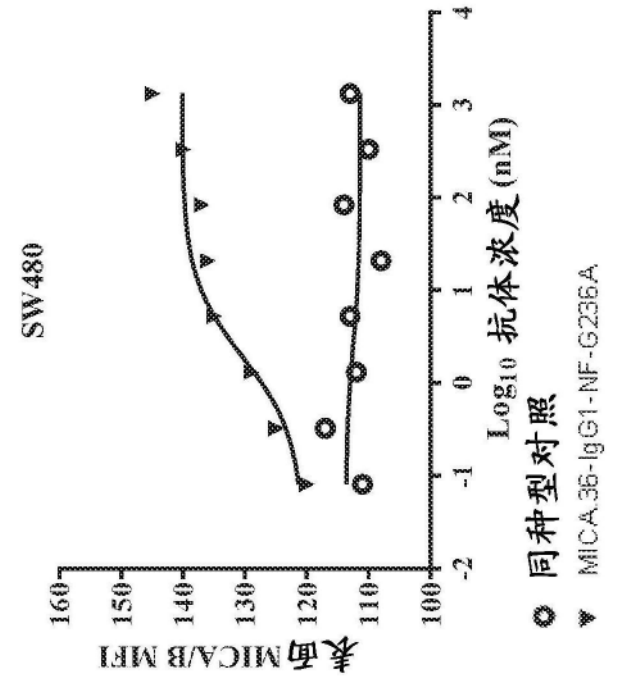

SW480
表面MICA/B MFI
160
150
140
130
120
110
100
-2
-1
0
1
2
3
4
Log10 抗体浓度(nM)
同种型对照
MICA.36-IgG1-NF-G236A

图13A

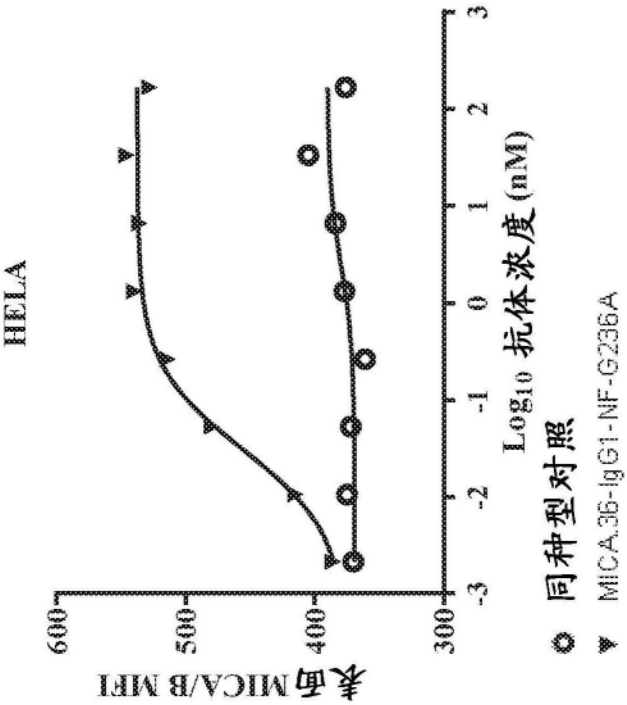

HELA
表面MICA/B MFI
600
500
400
300
-3
-2
-1
0
1
2
3
Log10 抗体浓度(nM)
同种型对照
MICA.36-IgG1-NF-G236A

图13B

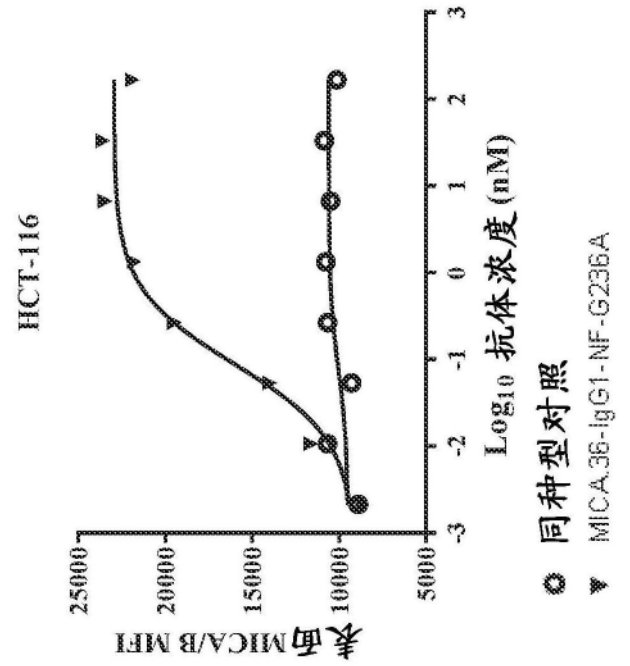

HCT-116
未固MICA/B MFI
25000
20000
15000
10000
5000
-3
-2
-1
0
1
2
3
Log10 抗体浓度(nM)
同种型对照
MICA.36-IgG1-NF-G236A

图13C

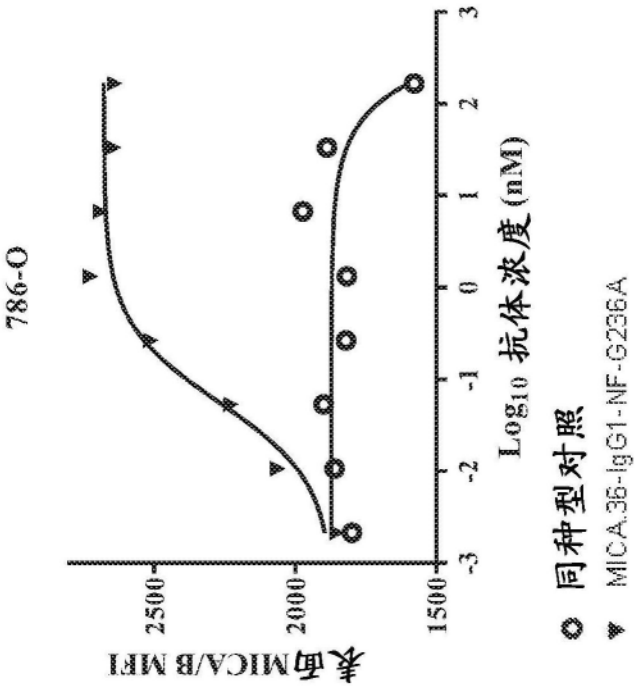

786-O
未固MICA/B MFI
2500
2000
1500
-3
-2
-1
0
1
2
3
Log10 抗体浓度(nM)
同种型对照
MICA.36-IgG1-NF-G236A

图13D

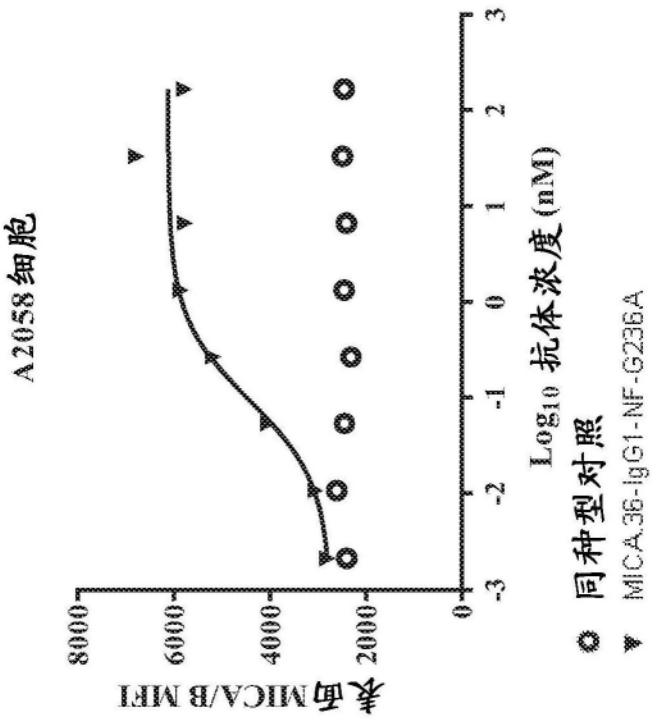

A2058细胞
表面MICA/B MFI
8000
6000
4000
2000
0
-3
-2
-1
0
1
2
3
Log10 抗体浓度 (nM)
同种型对照
MICA.36-IgG1-NF-G236A

图13E

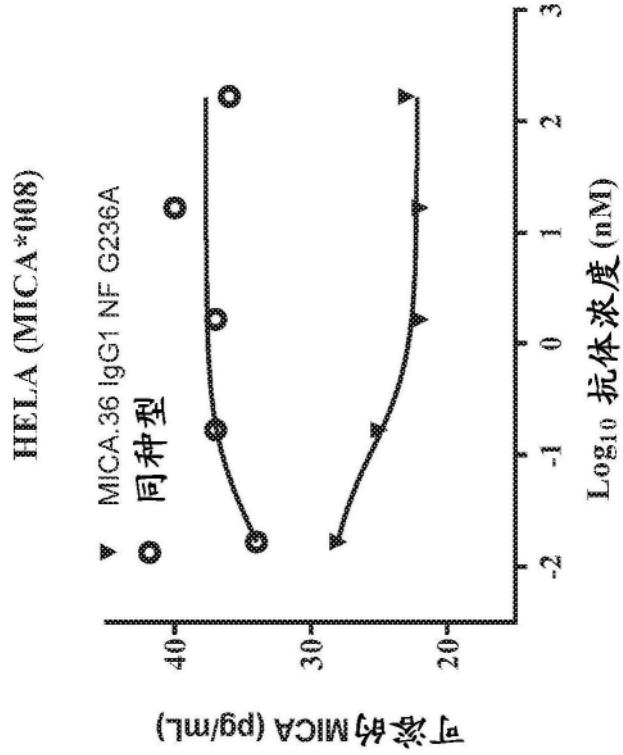

HELA (MICA*008)
MICA.36 IgG1 NF G236A
同种型
可溶的MICA (pg/mL)
40
30
20
-2
-1
0
1
2
3
Log10 抗体浓度 (nM)

图14A

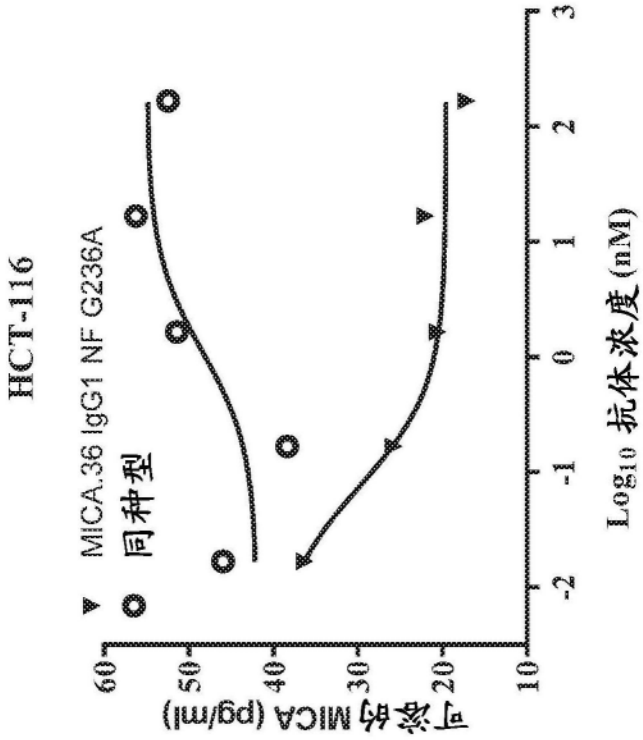

HCT-116
MICA.36 IgG1 NF G236A
同种型
可溶的MICA (pg/ml)
60
50
40
30
20
10
-2
-1
0
1
2
3
Log10 抗体浓度 (nM)

图14B

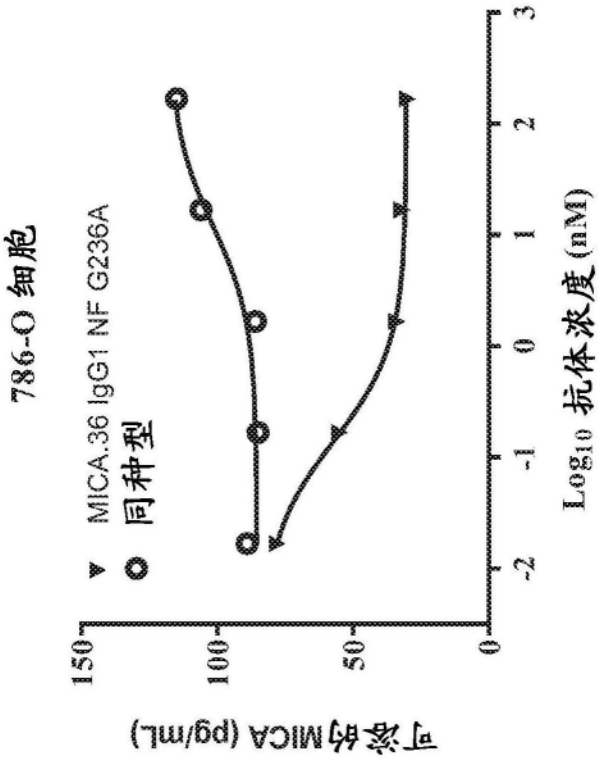

786-O 细胞
MICA.36 IgG1 NF G236A
同种型
可溶的MICA (pg/mL)
150
100
50
0
-2
-1
0
1
2
3
Log10 抗体浓度 (nM)

图14C

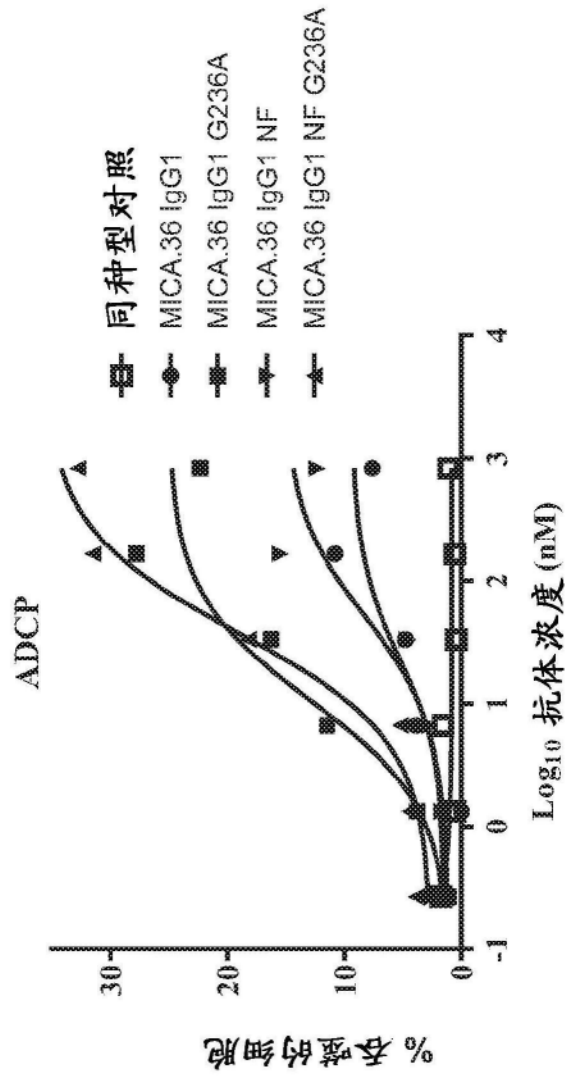

ADCP
同种型对照
MICA.36 IgG1
MICA.36 IgG1 G236A
MICA.36 IgG1 NF
MICA.36 IgG1 NF G236A
% 杀伤的细胞
30
20
10
0
-1
0
1
2
3
4
Log10 抗体浓度(nM)

图15A

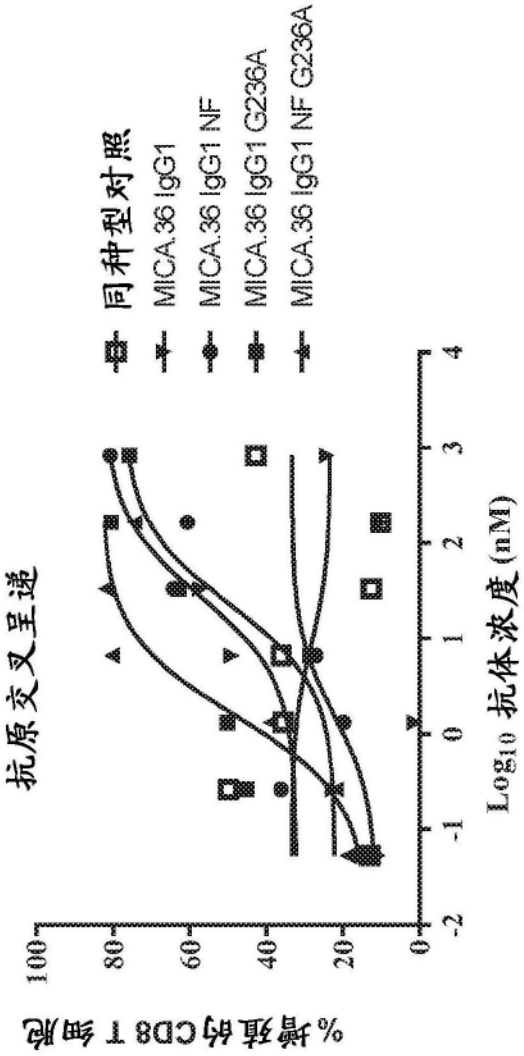

同种型对照
MICA.36 IgG1
MICA.36 IgG1 NF
MICA.36 IgG1 G236A
MICA.36 IgG1 NF G236A
抗原交叉呈递
% 增殖的CD8 T 细胞
100
80
60
40
20
0
-2
-1
0
1
2
3
4
Log10 抗体浓度 (nM)

图15B

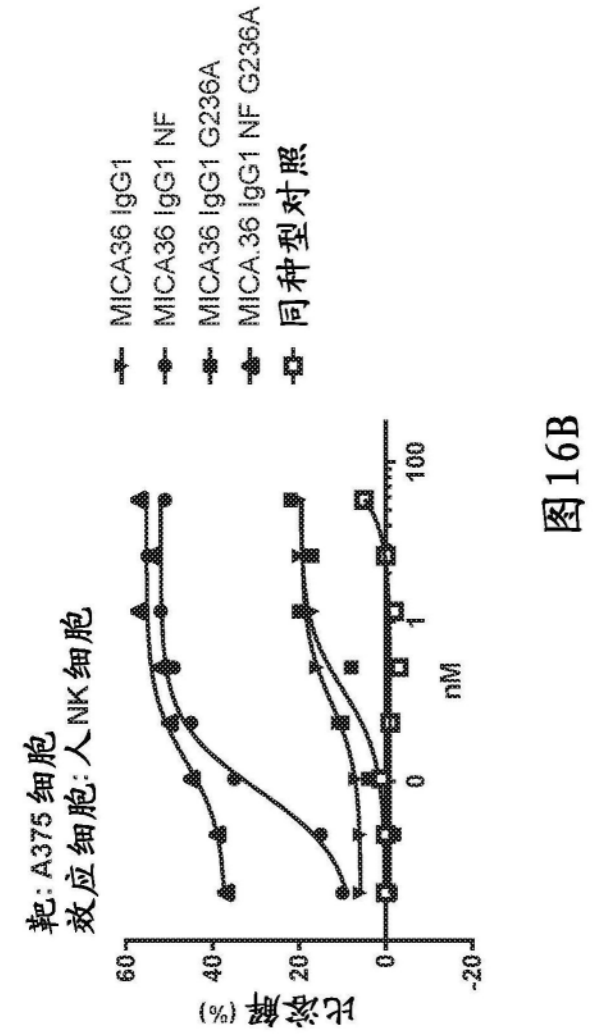

靶:A375细胞
效应细胞:人NK细胞
MICA36 IgG1
MICA36 IgG1 NF
MICA36 IgG1 G236A
MICA.36 IgG1 NF G236A
同种型对照
比溶解(%)
nM

图16B

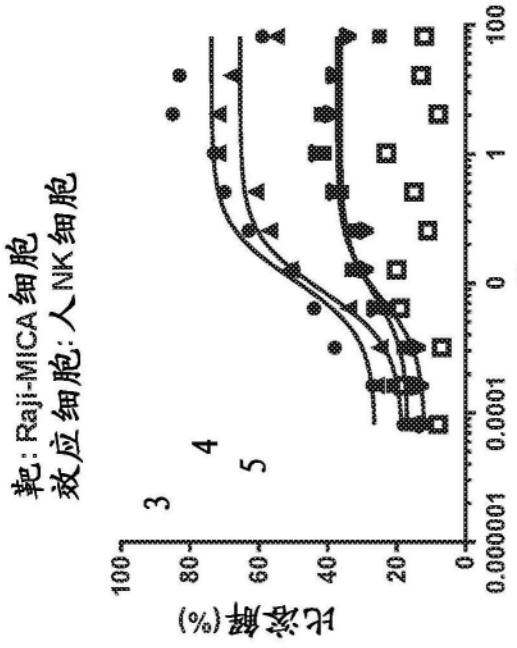

靶:Raji-MICA细胞
效应细胞:人NK细胞
比溶解(%)
nM

图16A

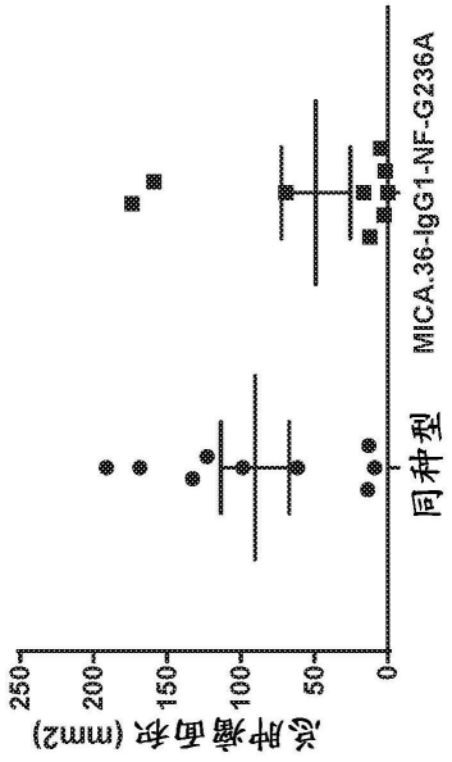

总肿瘤面积 (mm2)
250
200
150
100
50
0
同种型
MICA.36-IgG1-NF-G236A

图17A

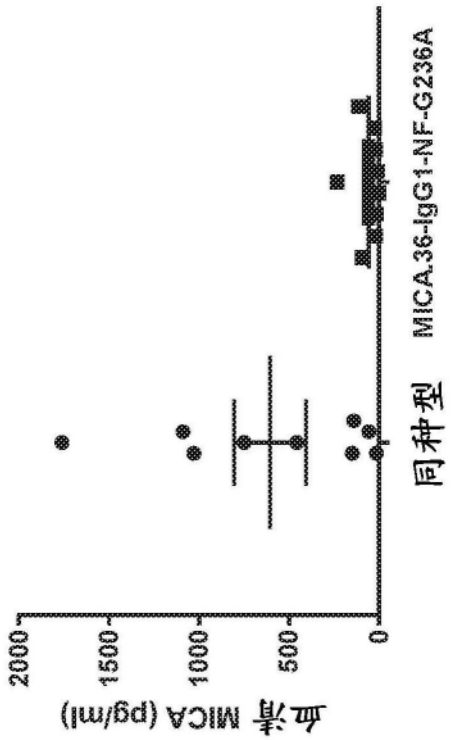

血清 MICA (pg/ml)
2000
1500
1000
500
0
同种型
MICA.36-IgG1-NF-G236A

图17B

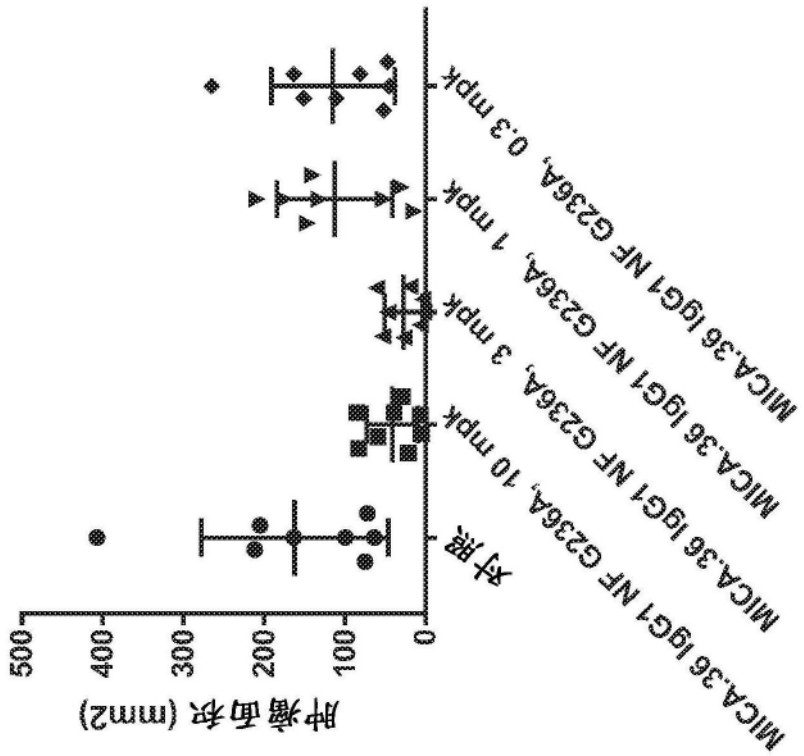

肿瘤面积 (mm2)
0
100
200
300
400
500
对照
MICA.36 IgG1 NF G236A, 10 mpk
MICA.36 IgG1 NF G236A, 3 mpk
MICA.36 IgG1 NF G236A, 1 mpk
MICA.36 IgG1 NF G236A, 0.3 mpk

图18A

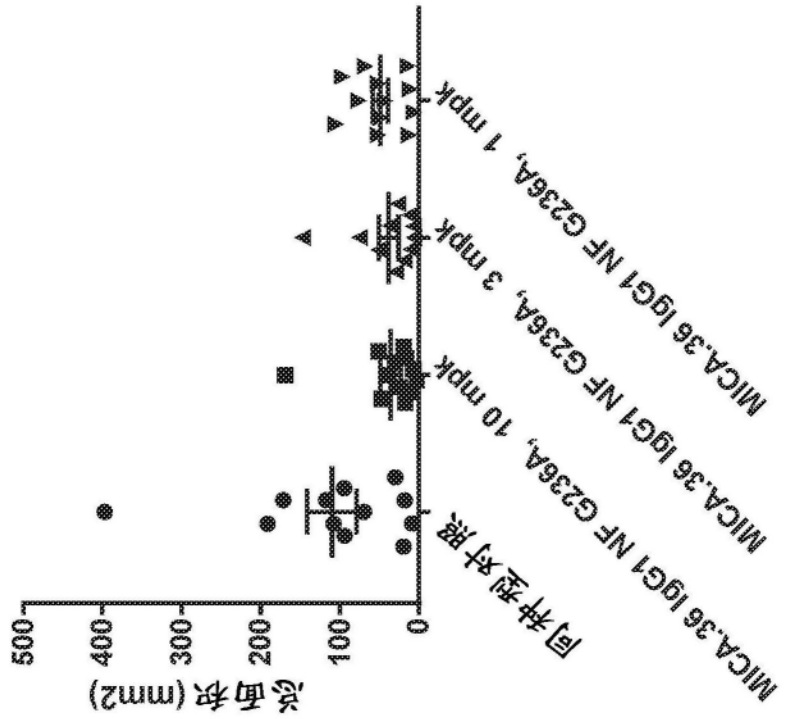

总面积 (mm2)
0
100
200
300
400
500
同种型对照
MICA.36 IgG1 NF G236A, 10 mpk
MICA.36 IgG1 NF G236A, 3 mpk
MICA.36 IgG1 NF G236A, 1 mpk

图18B

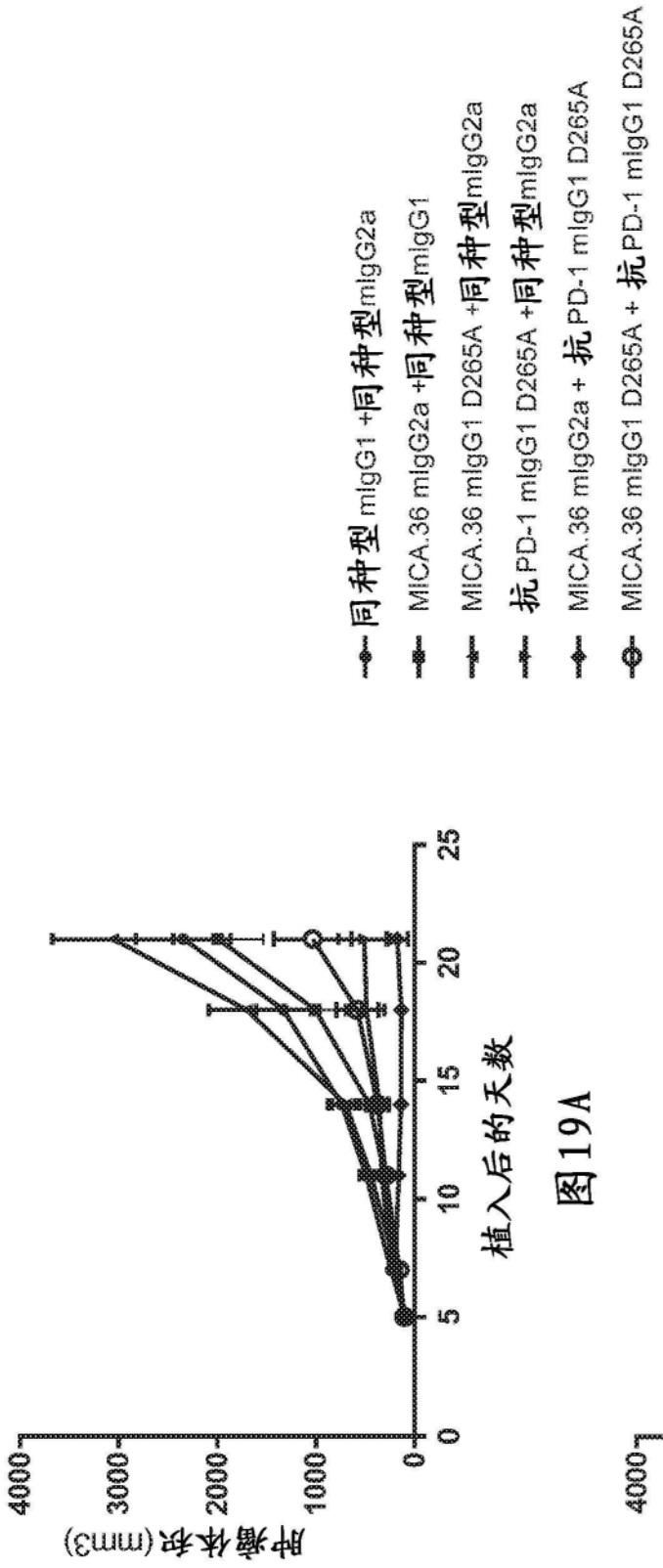

同种型 mIgG1 +同种型mIgG2a
MICA.36 mIgG2a +同种型mIgG1
MICA.36 mIgG1 D265A +同种型mIgG2a
抗PD-1 mIgG1 D265A +同种型mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 抗PD-1 mIgG1 D265A
MICA.36 mIgG1 D265A + 抗PD-1 mIgG1 D265A
肿瘤体积(mm3)
4000
3000
2000
1000
0
0
5
10
15
20
25
植入后的天数

图19A

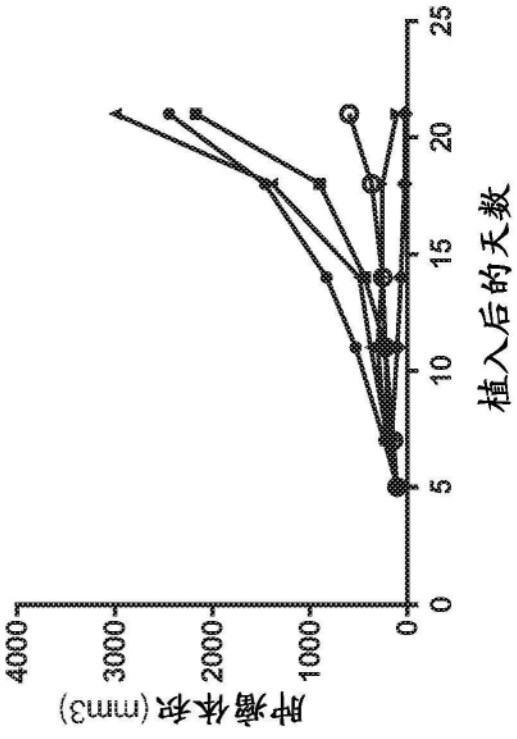

肿瘤体积(mm3)
4000
3000
2000
1000
0
0
5
10
15
20
25
植入后的天数

图19B

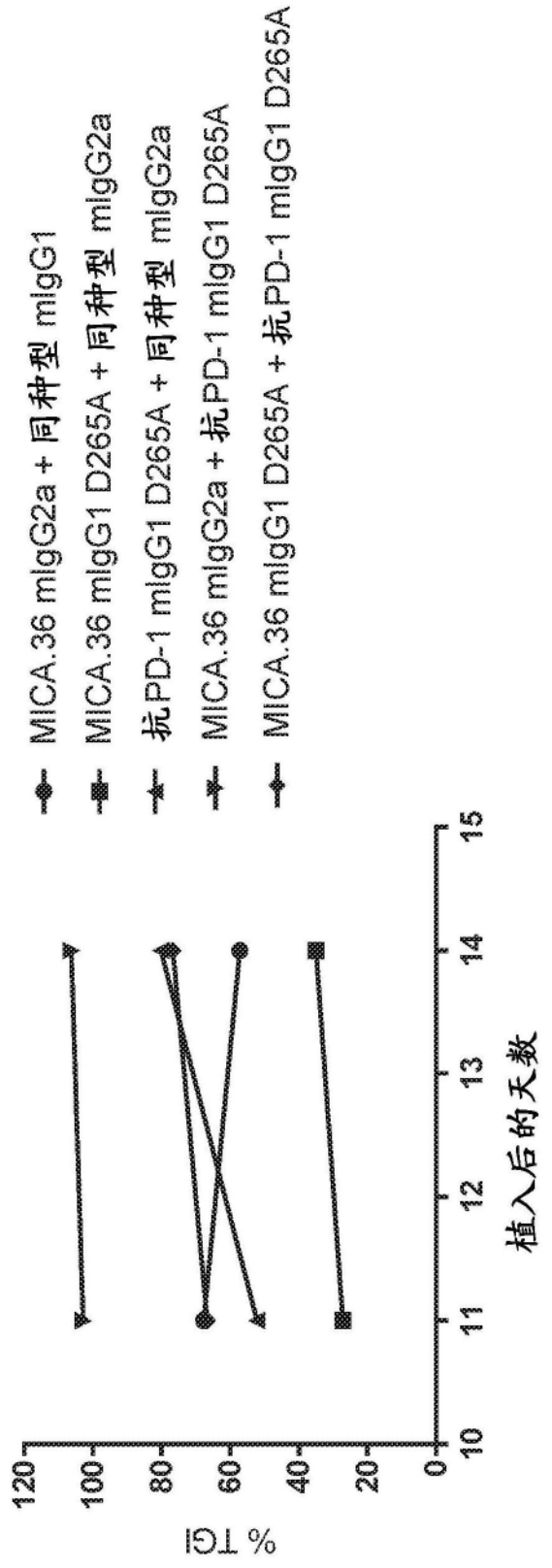

MICA.36 mIgG2a + 同种型 mIgG1
MICA.36 mIgG1 D265A + 同种型 mIgG2a
抗PD-1 mIgG1 D265A + 同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 抗PD-1 mIgG1 D265A
MICA.36 mIgG1 D265A + 抗PD-1 mIgG1 D265A
% TGI
120
100
80
60
40
20
0
10
11
12
13
14
15
植入后的天数

图19C

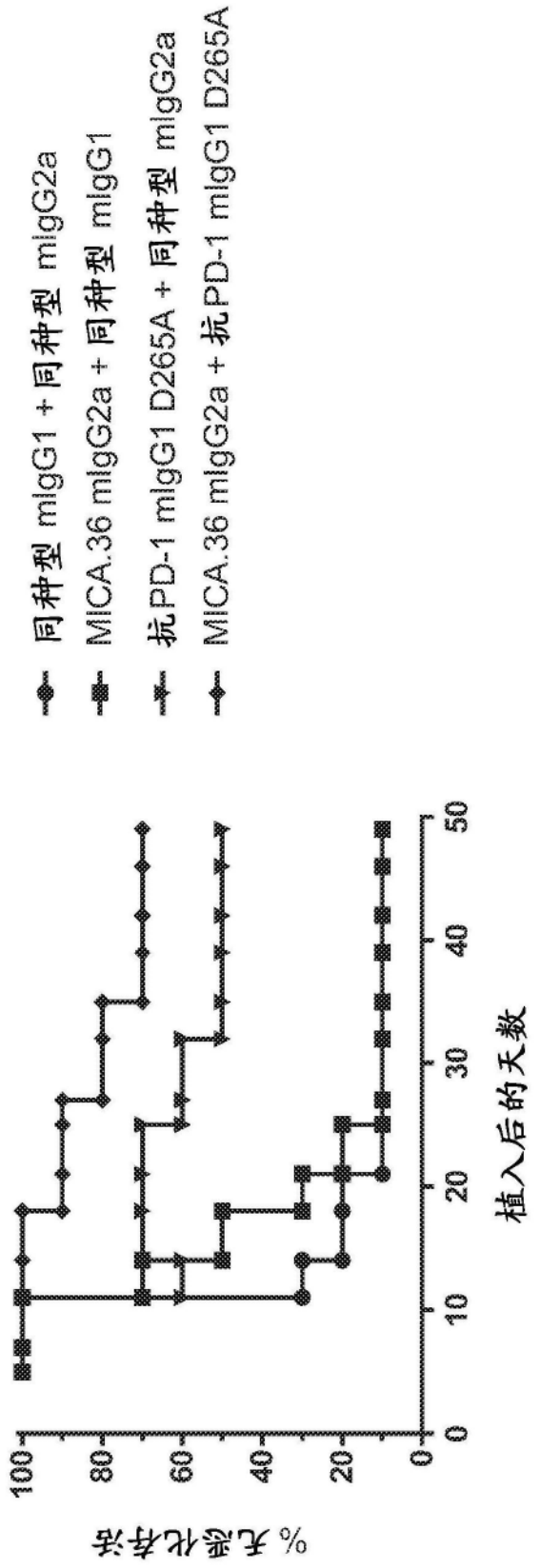

同种型 mIgG1 + 同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 同种型 mIgG1
抗PD-1 mIgG1 D265A + 同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 抗PD-1 mIgG1 D265A
% 无恶化存活
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
40
50
植入后的天数

图19D

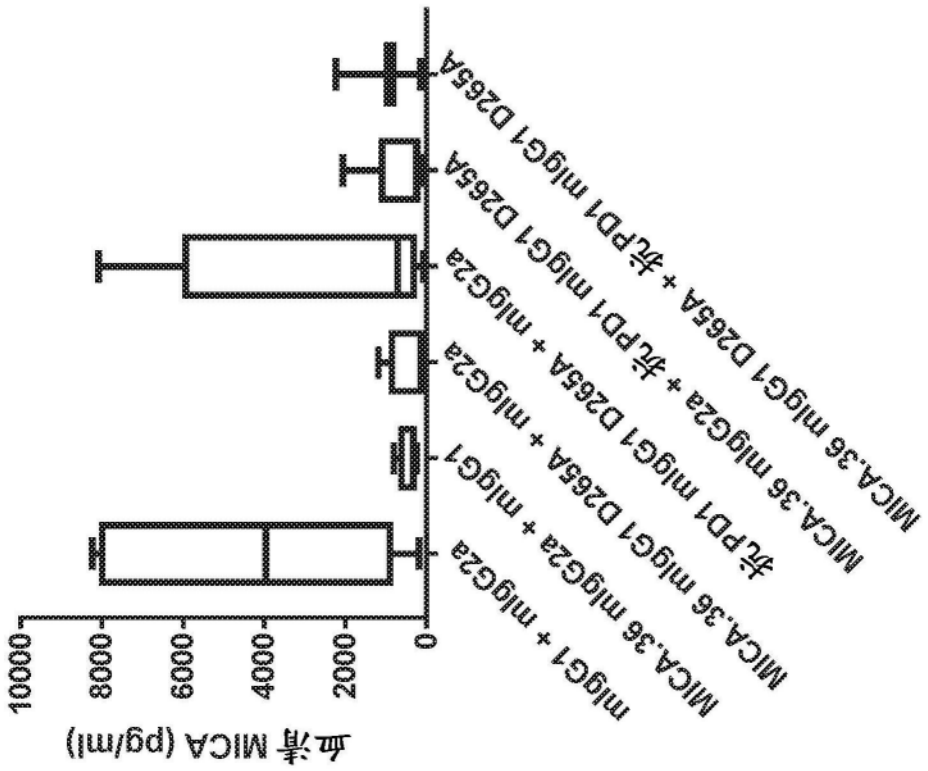

血清 MICA (pg/ml)
10000
8000
6000
4000
2000
0
mIgG1 + mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + mIgG1
MICA.36 mIgG1 D265A + mIgG2a
抗PD1 mIgG1 D265A + mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 抗PD1 mIgG1 D265A
MICA.36 mIgG1 D265A + 抗PD1 mIgG1 D265A

图19E

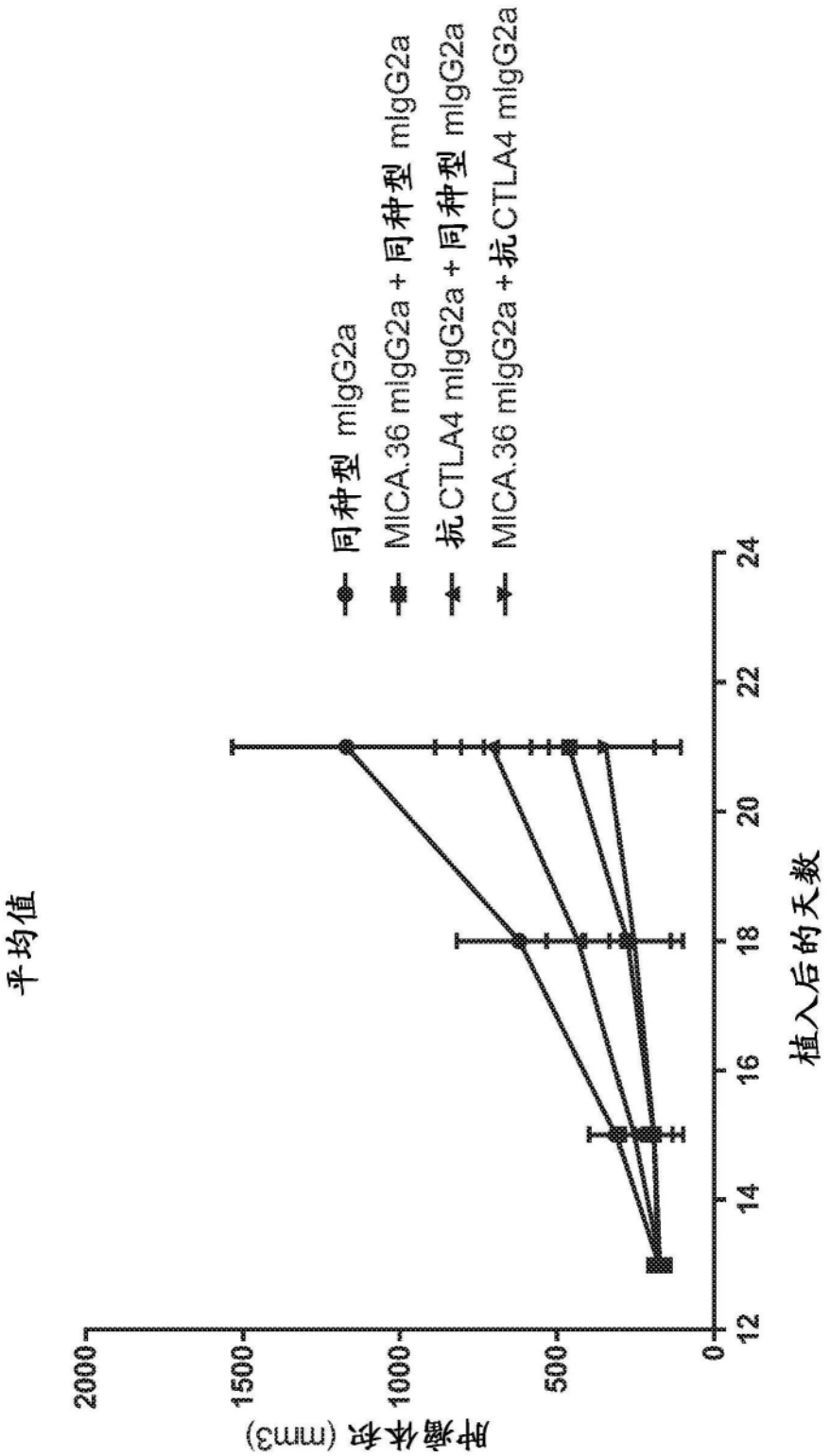

平均值
肿瘤体积 (mm3)
2000
1500
1000
500
0
12
14
16
18
20
22
24
植入后的天数
同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 同种型 mIgG2a
抗CTLA4 mIgG2a + 同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 抗CTLA4 mIgG2a

图20A

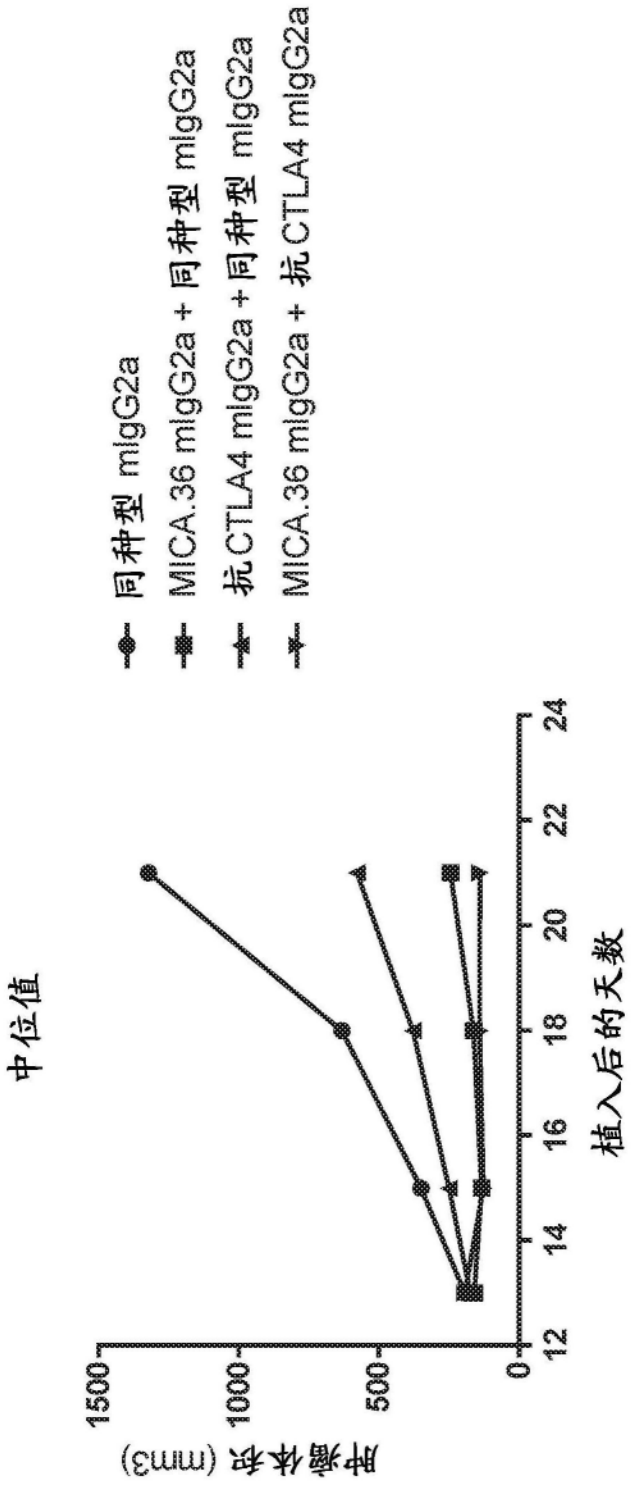

中位值
同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 同种型 mIgG2a
抗CTLA4 mIgG2a + 同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 抗CTLA4 mIgG2a
肿瘤体积 (mm3)
1500
1000
500
0
12
14
16
18
20
22
24
植入后的天数

图20B

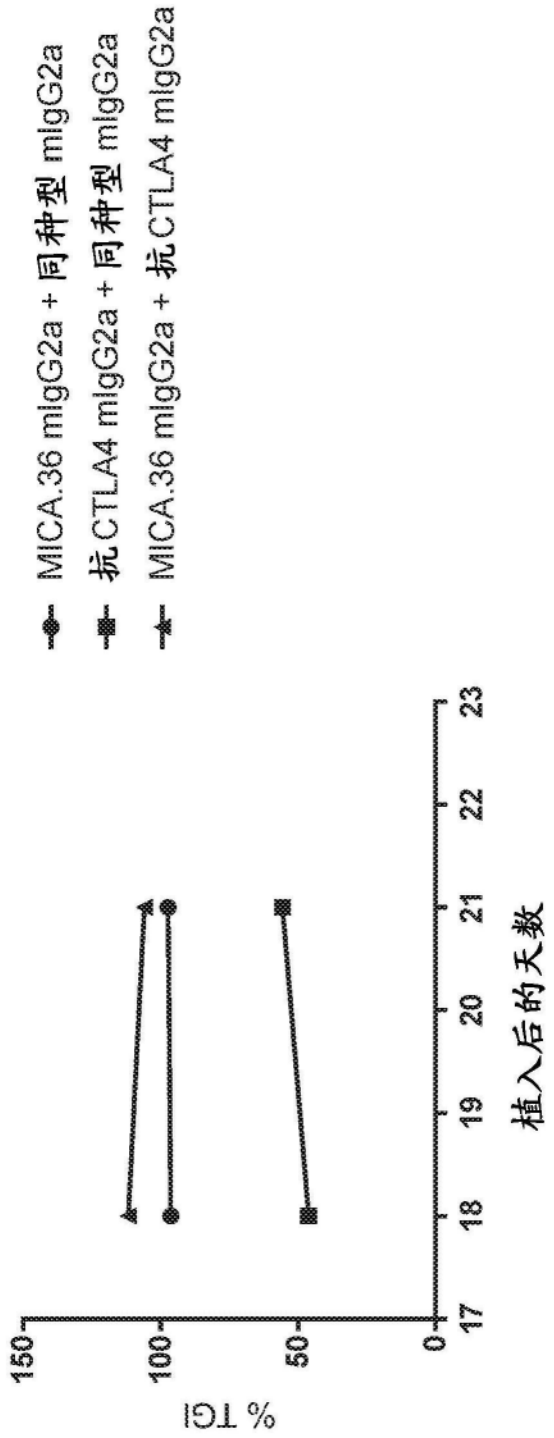

MICA.36 mIgG2a + 同种型 mIgG2a
抗CTLA4 mIgG2a + 同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 抗CTLA4 mIgG2a
% TGI
150
100
50
0
17
18
19
20
21
22
23
植入后的天数

图20C

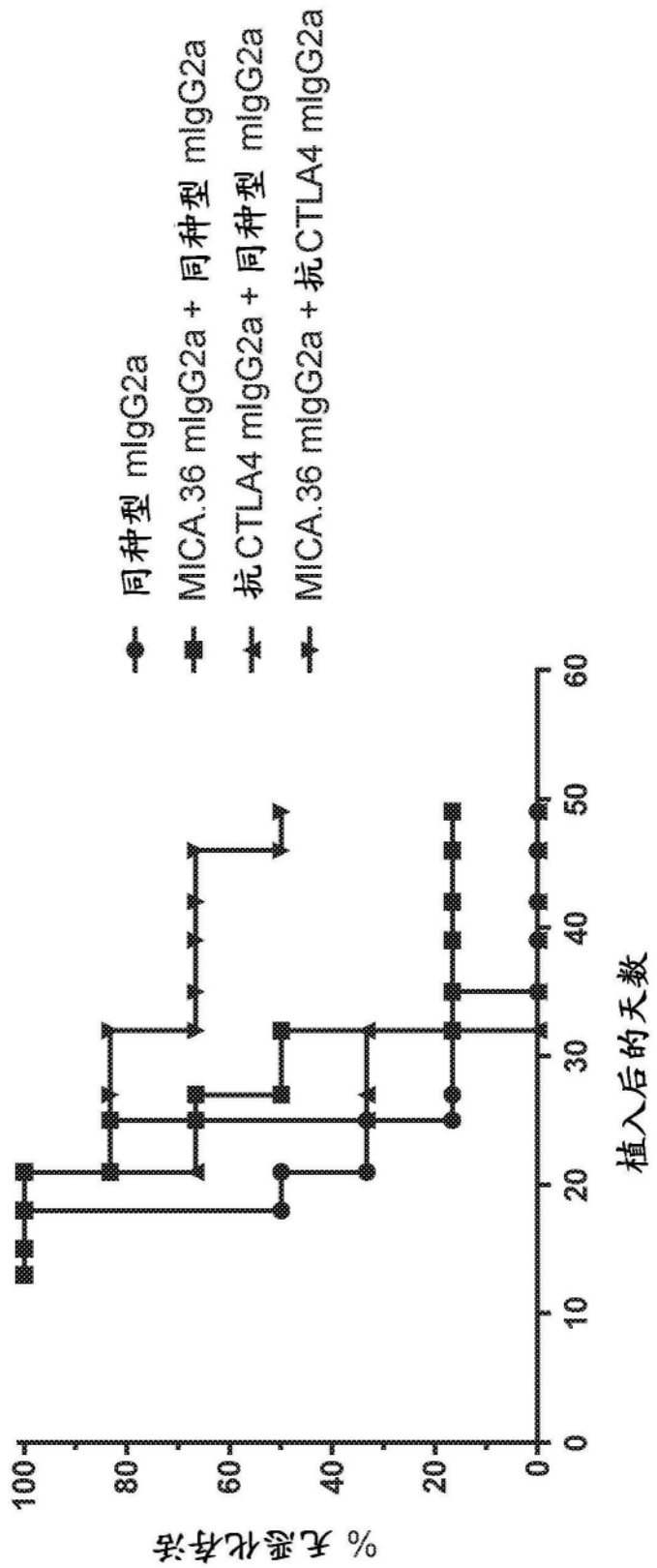

同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 同种型 mIgG2a
抗CTLA4 mIgG2a + 同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 抗CTLA4 mIgG2a
% 无恶化存活
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
40
50
60
植入后的天数

图20D

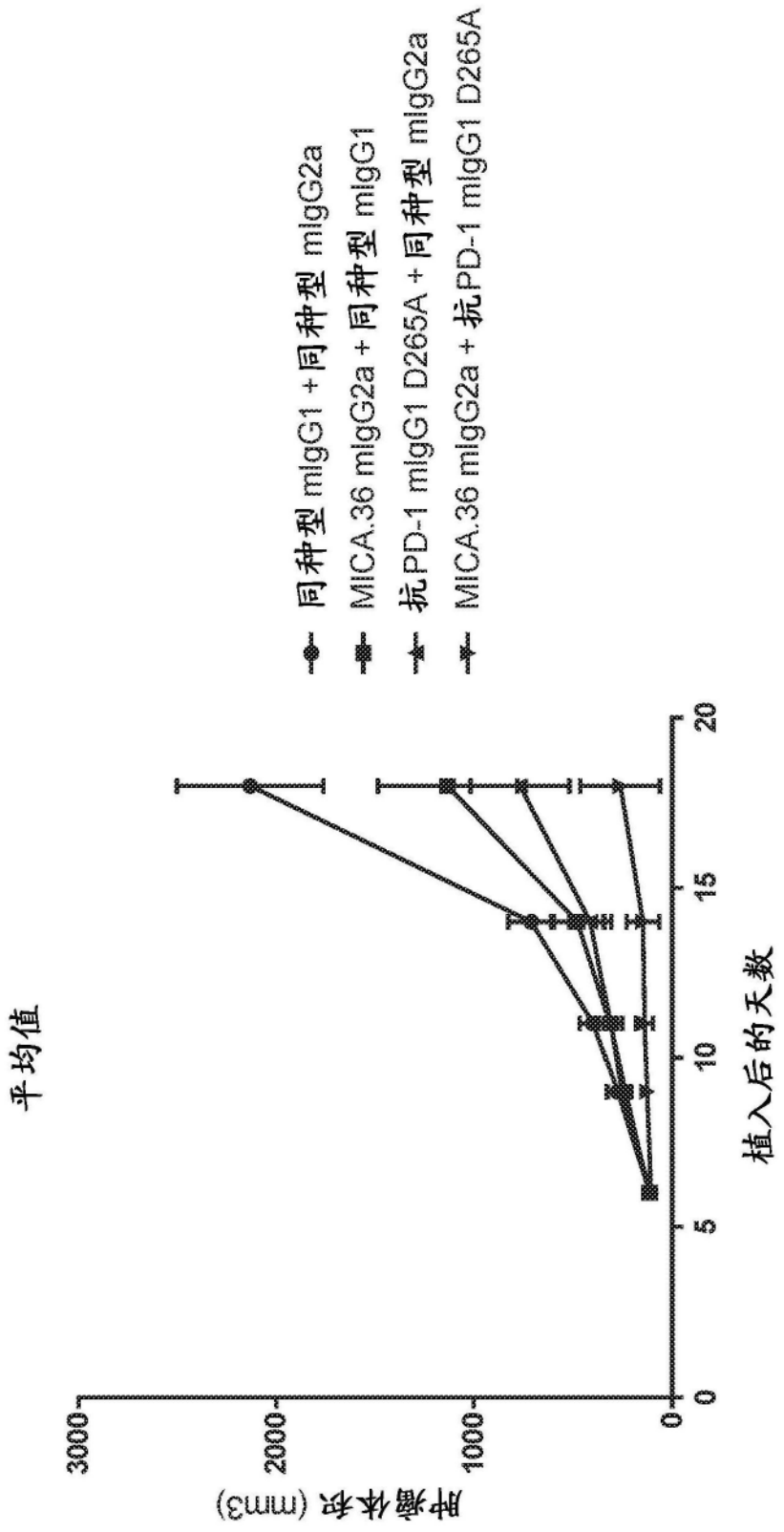

同种型 mIgG1 + 同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 同种型 mIgG1
抗PD-1 mIgG1 D265A + 同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 抗PD-1 mIgG1 D265A
平均值
肿瘤体积 (mm3)
3000
2000
1000
0
0
5
10
15
20
植入后的天数

图21A

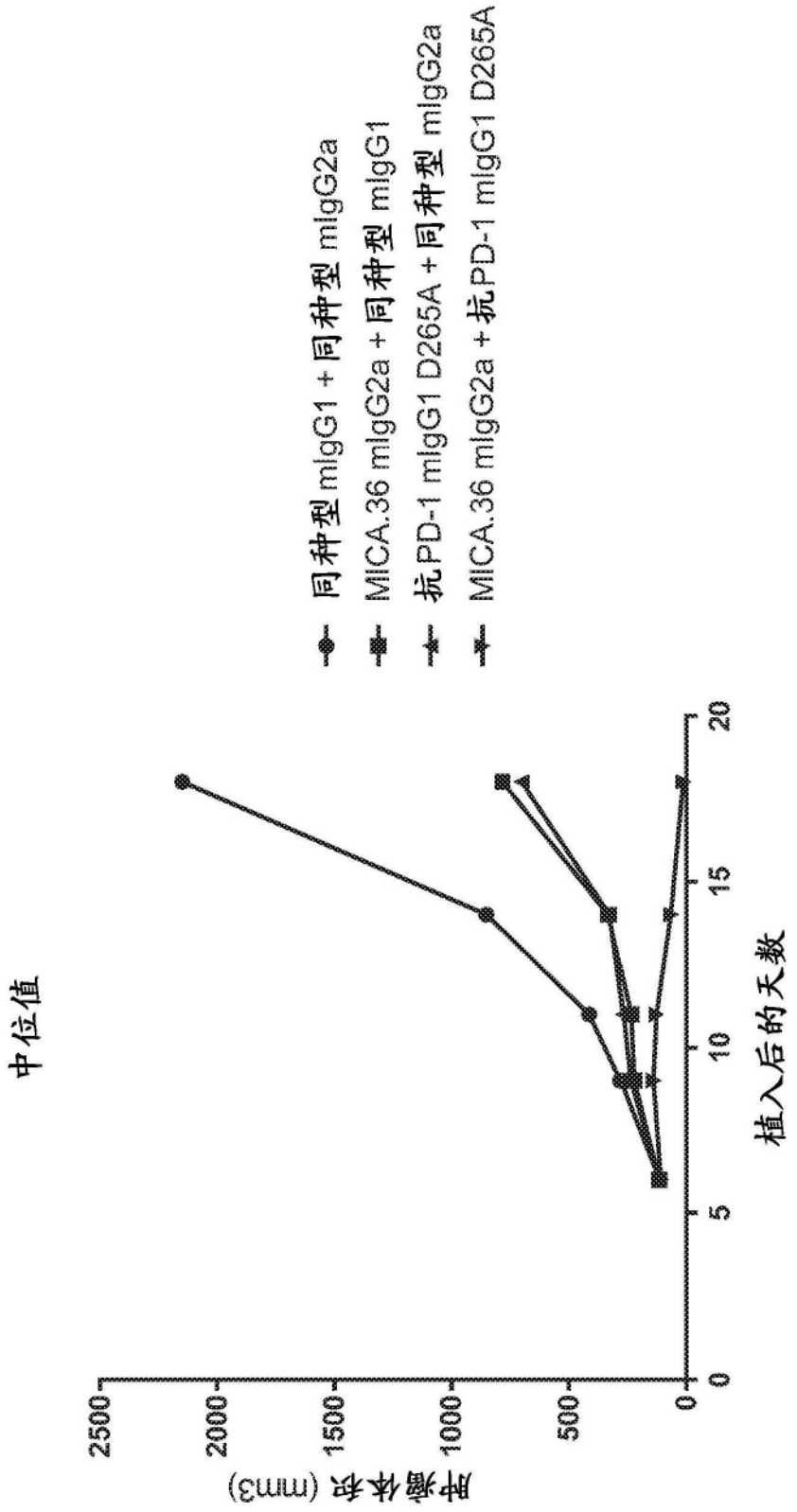

中位值
肿瘤体积 (mm3)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
植入后的天数
同种型 mIgG1 + 同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 同种型 mIgG1
抗PD-1 mIgG1 D265A + 同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 抗PD-1 mIgG1 D265A

图21B

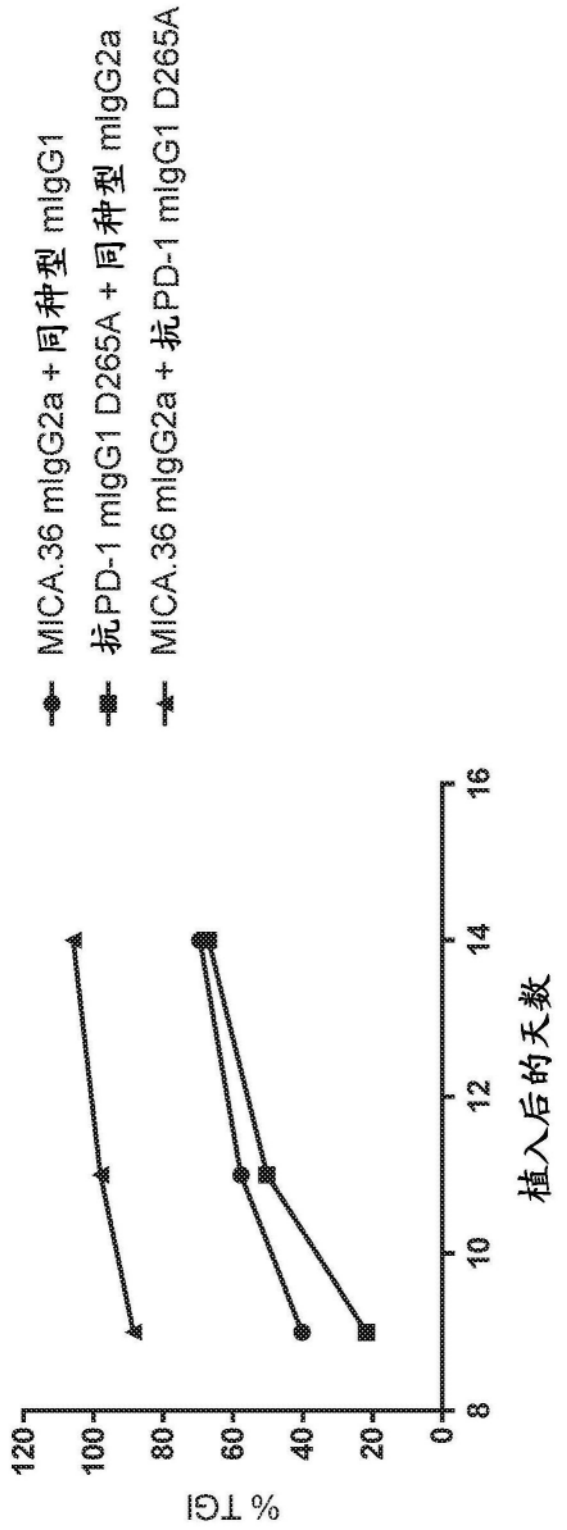

MICA.36 mIgG2a + 同种型 mIgG1
抗PD-1 mIgG1 D265A + 同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 抗PD-1 mIgG1 D265A
% TGI
120
100
80
60
40
20
0
8
10
12
14
16
植入后的天数

图21C

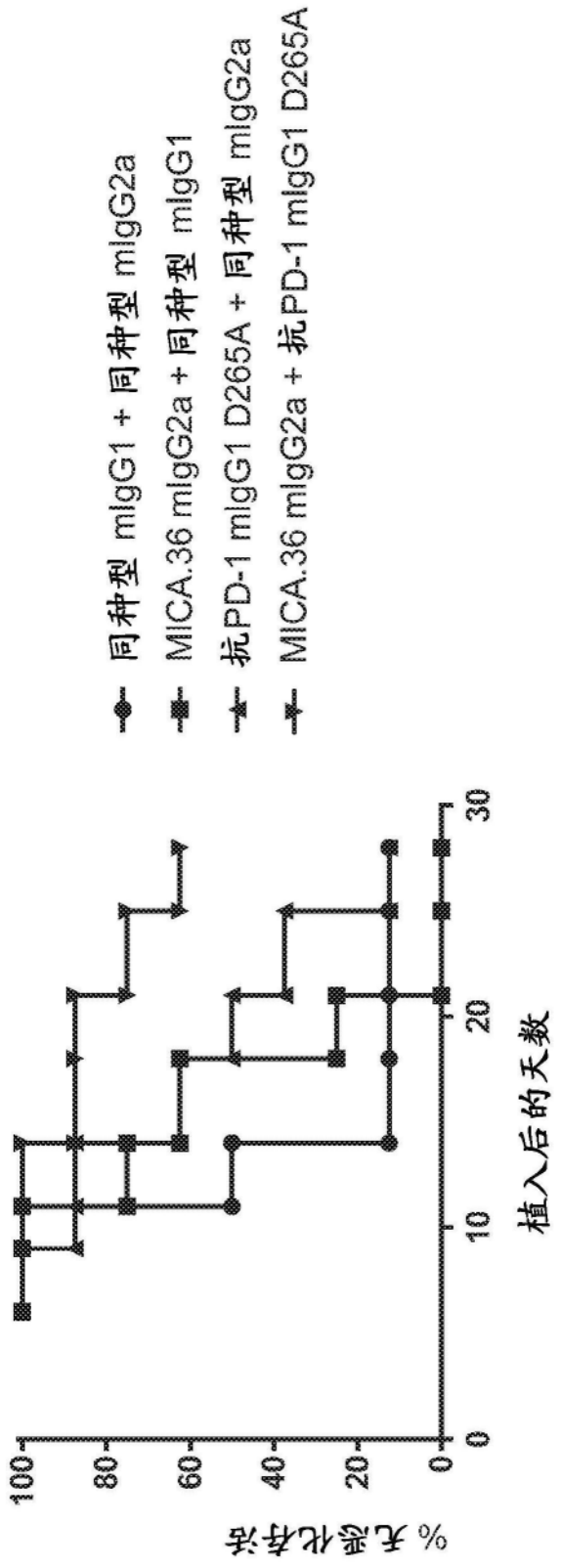

同种型 mIgG1 + 同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 同种型 mIgG1
抗PD-1 mIgG1 D265A + 同种型 mIgG2a
MICA.36 mIgG2a + 抗PD-1 mIgG1 D265A
% 无瘤化存活
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
植入后的天数

图21D

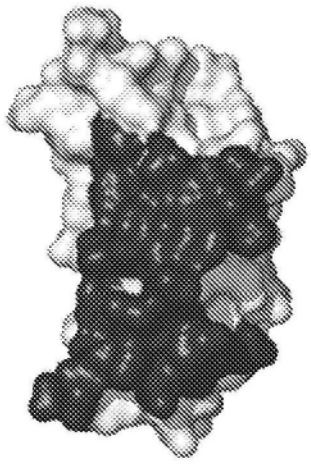


图22A

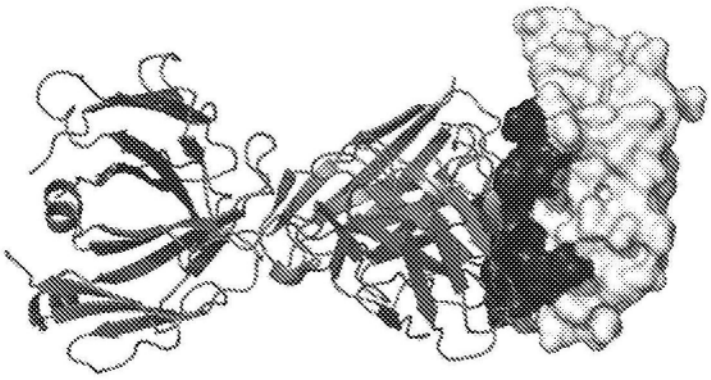


图22B

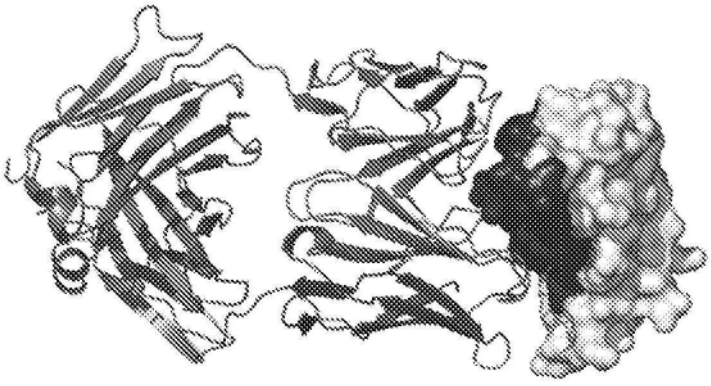


图22C

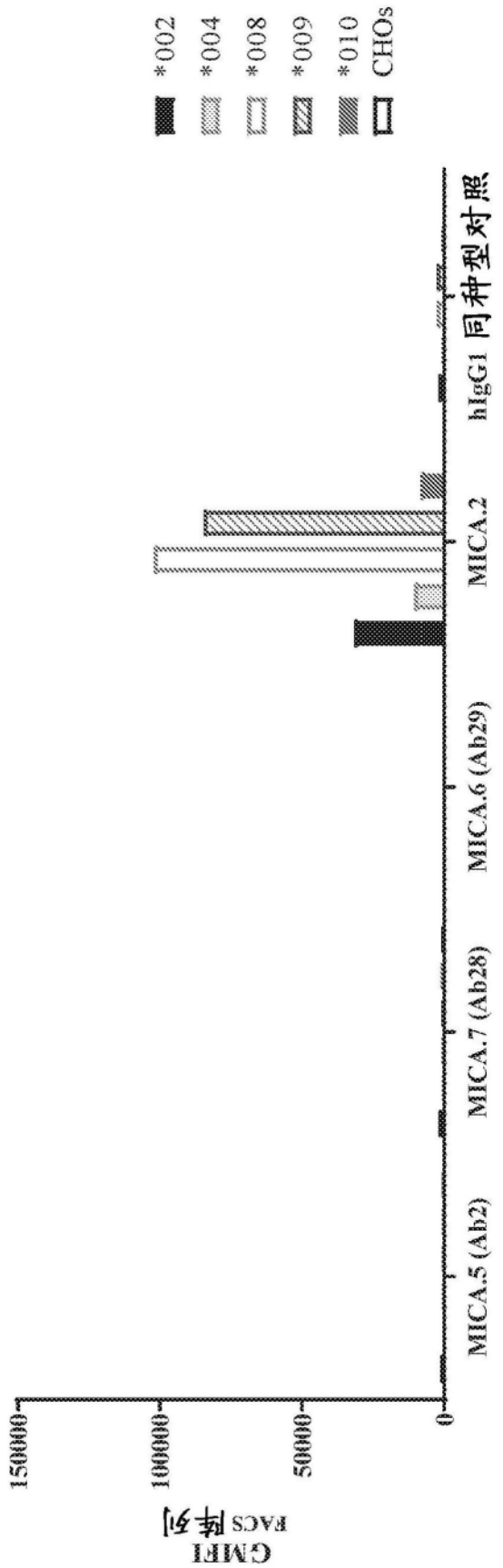

*002
*004
*008
*009
*010
CHOs
hIgG1 同种型对照
MICA.2
MICA.6 (Ab29)
MICA.7 (Ab28)
MICA.5 (Ab2)
0
50000
100000
150000
GMFI
FACS 降列

图23A

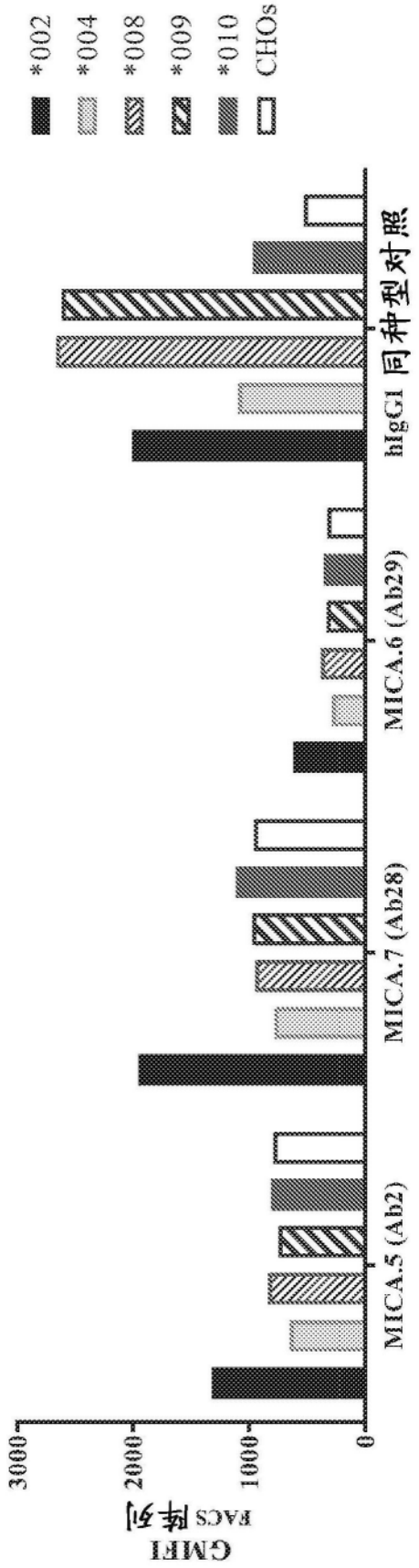

*002
*004
*008
*009
*010
CHOs
GMFI
FACS 降列
3000
2000
1000
0
MICA.5 (Ab2)
MICA.7 (Ab28)
MICA.6 (Ab29)
hIgG1 同种型对照

图23B

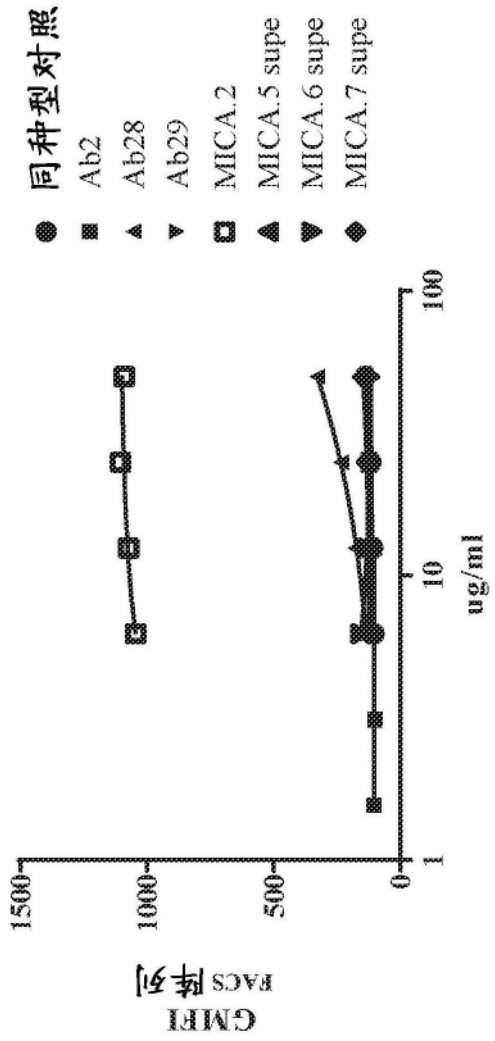

同种型对照
Ab2
Ab28
Ab29
MICA.2
MICA.5 supe
MICA.6 supe
MICA.7 supe
GMFI
FACS 降列
1500
1000
500
0
1
10
100
ug/ml

图24A

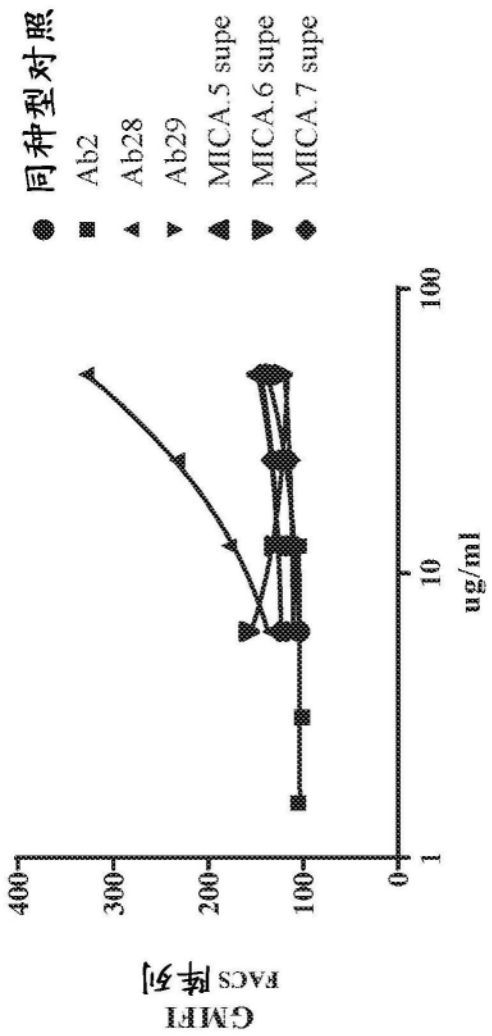

同种型对照
Ab2
Ab28
Ab29
MICA.5 supe
MICA.6 supe
MICA.7 supe
GMFI
FACS 降列
400
300
200
100
0
1
10
100
ug/ml

图24B

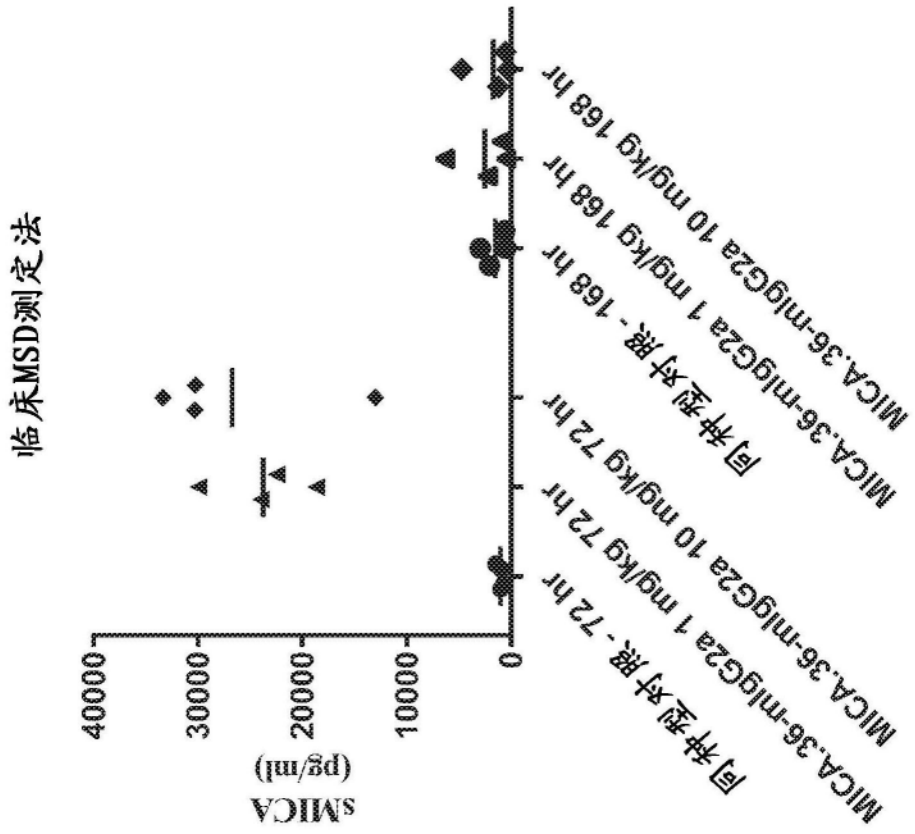

临床MSD测定法
sMICA (pg/ml)
40000
30000
20000
10000
0
同种型对照 - 72 hr
MICA.3δ-mIgG2a 1 mg/kg 72 hr
MICA.3δ-mIgG2a 10 mg/kg 72 hr
同种型对照 - 168 hr
MICA.3δ-mIgG2a 1 mg/kg 168 hr
MICA.3δ-mIgG2a 10 mg/kg 168 hr

图25

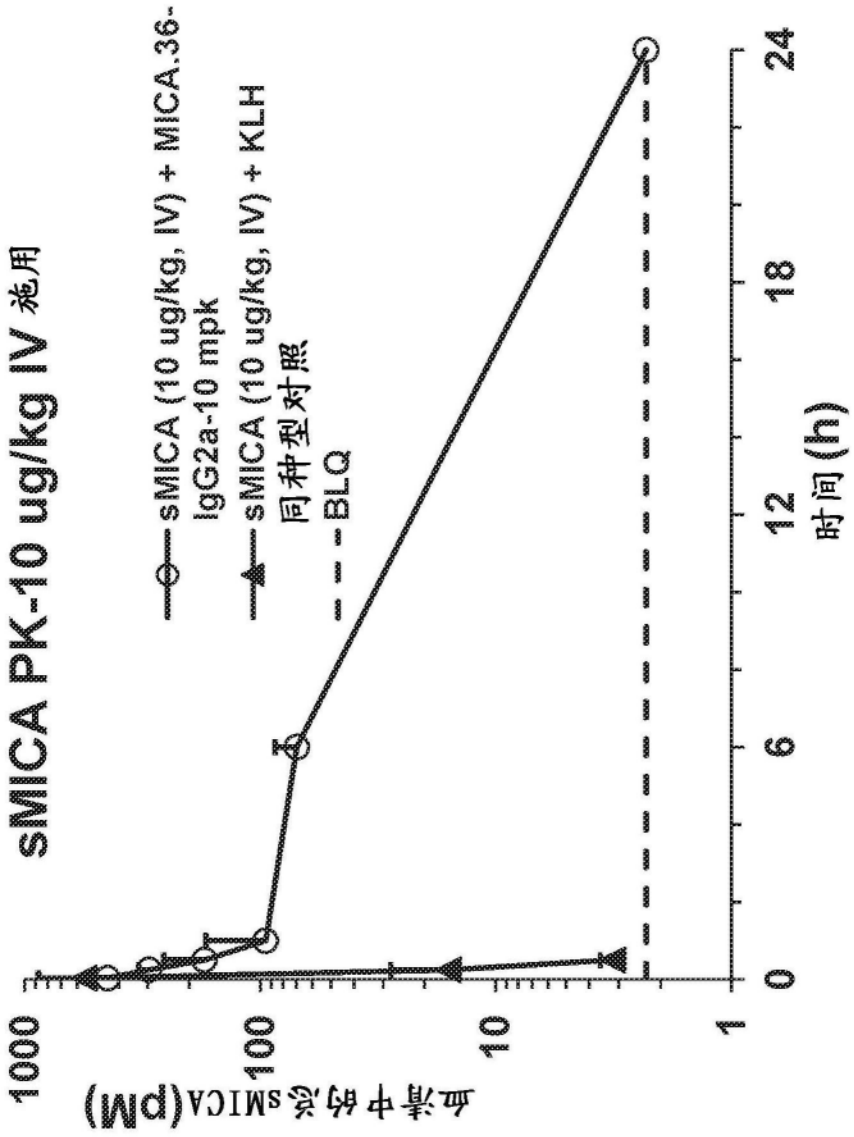

sMICA PK-10 ug/kg IV 施用
sMICA (10 ug/kg, IV) + MICA.36-IgG2a-10 mpk
sMICA (10 ug/kg, IV) + KLH
同种型对照
BLQ
血清中的总sMICA(pM)
1000
100
10
1
0
6
12
18
24
时间(h)

图26