(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118307674 A
(43)申请公布日 2024.07.09

(21)申请号 202410413464.9

(22)申请日 2018.06.21

(30)优先权数据
62/523,481 2017.06.22 US
62/636,510 2018.02.28 US

(62)分案原申请数据
201880041520.3 2018.06.21

(71)申请人 诺华股份有限公司
地址 瑞士巴塞尔
申请人 表面肿瘤学有限责任公司

(72)发明人 A·布洛克 V·克雷马斯科
C·A·萨巴托斯-佩顿
G·德拉诺夫 B·普里恩斯
J·M·托马斯 S·查佩尔
A·莱克 A·帕特森
R·W·奥康纳 M·沃伦 P·奥兰
K·K·苏布拉曼尼亚
M-L·费亚尔斯基 D·布西尔
M·沃尔德乔治斯 W·舒
J·D·维纳布尔三世
M·格拉德斯通 J·希尔
C·米勒

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
专利代理师 陈迎春 黄革生

(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
C12N 15/13(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
G01N 33/68(2006.01)

权利要求书5页 说明书290页
序列表（电子公布） 附图43页

(54)发明名称

针对CD73的抗体分子及其用途

(57)摘要

披露了与CD73结合的抗体分子。抗CD73抗体分子可用于治疗、预防和/或诊断癌症。

CN 118307674 A

1.一种结合人CD73的抗体分子,其包括:

(i)重链可变区(VH),其包含SEQ ID NO:88的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列;SEQ ID NO:89的VHCDR2氨基酸序列;和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及

(ii)轻链可变区(VL),其包含SEQ ID NO:48的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

2.一种结合人CD73的抗体分子,其包括:

(i)VH,其包含SEQ ID NO:90的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:91的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及

(ii)VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

3.一种结合人CD73的抗体分子,其包括:

(i)VH,其包含SEQ ID NO:189的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:89的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及

(ii)VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

4.一种结合人CD73的抗体分子,其包括:

(i)VH,其包含SEQ ID NO:196的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:91的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及

(ii)VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

5.一种组合物,其包含多个如权利要求1-4中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,其中当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%或40%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成。

6.一种组合物,其包含多个如权利要求1-4中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,其中当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自包含两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体。

7.一种结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体。

8.一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,其中当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域

时,所述组合物中至少30%、35%或40%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成。

9.一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,其中当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自包含两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体。

10.一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子以比所述抗体分子结合无催化活性的开放构象的人CD73时更低的亲和力,例如低50%、60%、70%、80%、90%、95%、或99%的亲和力结合催化活性的封闭构象的人CD73。

11.一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子阻止或减少人CD73从无催化活性的开放构象向催化活性的封闭构象的转化,例如与所述抗体分子不存在下的转化相比,将所述转化减少至少1.5倍、2倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、或100倍。

12.一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组。

13.一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子以比在选自核心区域A(SEQ ID NO:105的残基158-172)的X_A个残基、在选自核心区域B(SEQ ID NO:105的残基206-215)的X_B个残基、或在选自核心区域D(SEQ ID NO:105的残基297-309)的X_D个残基处更大的程度降低在选自核心区域C(SEQ ID NO:105的残基368-387)的X_C个残基处的平均氢氘交换,其中:

X_C等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15或20,

X_A等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14,

X_B等于1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,并且

X_D等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13。

14.一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子以比在选自核心区域B(SEQ ID NO:105的残基206-215)的X_B个残基、在选自核心区域C(SEQ ID NO:105的残基368-387)的X_C个残基、或在选自核心区域D(SEQ ID NO:105的残基297-309)的X_D个残基处更大的程度降低在选自核心区域A(SEQ ID NO:105的残基158-172)的X_A个残基处的平均氢氘交换,其中:

X_A等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14,

X_B等于1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,

X_C等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15或20,并且

X_D等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13。

15.一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有平均氢氘交换最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215。

16.一种结合人CD73的抗体分子,其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子导致:

(i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,在SEQ IDNO:105的残基368-387处,每个残基的平均氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da;或

(ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的平均氢氘交换减少小于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da。

17.一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个或四个残基直接或间接接触。

18.一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基206-215内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触。

19.一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105或106的残基368-387内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触。

20.一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基87-104内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触。

21.一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用TMT同位素标记,例如,使用实例9中所述的方法,例如,使用TMT同位素标记进行30s标记时间测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的残基K136(根据SEQ ID NO:105编号)时,所述抗体分子减少残基K136处的串联质谱标签(TMT)标记,任选地其中所述抗体分子进一步减少蛋白质的残基K133、K162、K179、K206、K214、K285、K291和K341(根据SEQ ID NO:105编号)中的一个或多个处的TMT标记,例如蛋白质的残基K162、K206、K214、K285、K291和K341(根据SEQ ID NO:105编号)中的一个或多个处的TMT标记。

22.一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用TMT同位素标记,例如,使用实例9中所述的方法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的残基K206和K214(根据SEQ ID NO:105编号)时,所述抗体分子减少残基K206和K214处的串联质谱标签(TMT)标记,其中残基K214处的减少不少于残基K206处的减少的90%、80%、70%、60%、或50%,例如其中使用TMT同位素标记进行30s标记时间,残基K214处的减少不少于残基K206处的减少的90%、80%、70%、60%、或50%,例如其中使用TMT同位素标记进行300s标记时间,残基K214处的减少不少于残基K206处的

减少的90％、80％、70％、60％、50％、40％、或30％。

23.一种结合人CD73的抗体分子,其中当所述抗体分子使用TMT同位素标记进行30s标记时间测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的残基K162(根据SEQ ID NO:105编号)时,所述抗体分子减少残基K162处的串联质谱标签(TMT)标记,其中:

(i)使用TMT同位素标记进行300s标记时间测试时,所述抗体分子不会减少残基K162处的TMT标记,或

(ii)使用TMT同位素标记进行300s标记时间测试时,所述抗体分子减少残基K162处的TMT标记,其中300s标记时间下残基K162处的减少不多于30s标记时间下残基K162处的减少的20％、30％、40％、或50％,

例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子例如使用实例9中所述的方法测试时。

24.一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子例如通过静电相互作用和/或氢键结合至CD73的一个或多个残基,其中所述一个或多个残基选自由残基Y110、K136、L132、L157、K162、S155和T209组成的组,根据SEQ ID NO:105进行编号,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的。

25.一种组合物,其包含多个如权利要求82-119中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,其中当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30％、35％或40％的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成。

26.一种组合物,其包含多个如权利要求82-119中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,其中当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多60％、65％或70％的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自包含两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体。

27.一种抗体分子,其与如权利要求1-127中任一项所述的抗体分子或组合物竞争结合人CD73。

28.一种抗体分子,其结合与如权利要求1-128中任一项所述的抗体分子或组合物的表位相同的表位、基本上相同的表位、与其重叠的表位或与其基本上重叠的表位。

29.一种药物组合物,其包含如权利要求1-129中任一项所述的抗体分子或组合物,以及药学上可接受的运载体、赋形剂或稳定剂。

30.一种核酸,其编码如权利要求1-28、34-74、80-120或126-129中任一项所述的抗体分子的抗体重链或轻链可变区。

31.一种核酸,其编码重链可变区,其中所述核酸包含SEQ ID NO:45、78、85、143、152、160、67、32、11或169的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:45、78、85、143、152、160、67、32、11或169具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的核苷酸序列。

32.一种核酸,其编码轻链可变区,其中所述核酸包含SEQ ID NO:56、144、22或170的核

苷酸序列,或与SEQ ID NO:56、144、22或170具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的核苷酸序列。

33.一种表达载体,其包含如权利要求131-135中任一项所述的核酸。

34.一种宿主细胞,其包含如权利要求131-135中任一项所述的核酸或如权利要求136所述的表达载体。

35.一种产生抗体分子的方法,所述方法包括在适合基因表达的条件下培养如权利要求137所述的宿主细胞。

36.一种刺激受试者中的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效刺激所述免疫应答的量的如权利要求1-130中任一项所述的抗体分子、组合物或药物组合物。

37.一种治疗受试者中的癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效治疗所述癌症的量的如权利要求1-130中任一项所述的抗体分子、组合物或药物组合物。

38.一种检测生物样品或受试者中CD73的方法,所述方法包括(i)在允许如权利要求1-94中任一项所述的抗体分子或组合物与CD73发生相互作用的条件下使所述样品或所述受试者(和任选地,参比样品或受试者)与所述抗体分子或组合物接触,以及(ii)检测所述抗体分子或组合物与所述样品或所述受试者(和任选地,所述参比样品或受试者)之间复合物的形成。

针对CD73的抗体分子及其用途

[0001] 本申请为申请日2018年6月21日,发明名称为“针对CD73的抗体分子及其用途”的中国申请201880041520.3的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求2017年6月22日提交的美国序列号62/523,481和2018年2月28日提交的美国序列号62/636,510的优先权,它们每一者的内容通过援引以其全文并入本文。

[0004] 序列表

[0005] 本申请包含按ASCII格式以电子方式提交并且特此通过引用以其全文并入的序列表。创建于2018年6月15日的所述ASCII副本名为N2067-7123WO_SL.txt且大小为497,959字节。

背景技术

[0006] 分化簇73(CD73)也称为胞外-5’-核苷酸酶(胞外-5’NT),是一种糖基磷脂酰肌醇(GPI)连接的细胞表面酶,存在于大多数组织中,特别是在内皮细胞和造血细胞亚群中表达(Resta等人,Immunol Rev[免疫学评论]161:95-109(1998)和Colgan等人,Prinergic Signal[嘌呤能信号传导]2:351-60(2006))。CD73催化腺苷单磷酸(AMP)转化为腺苷。腺苷是一种通过若干种受体介导其生物学作用的信号分子,所述受体包括腺苷A1、A2A、A2B和A3受体。A2A受体由于其在免疫细胞上的广泛表达而受到特别关注。腺苷在肿瘤微环境中具有多效性,包括调节性T细胞(Treg)的扩增,干扰素(IFN)-γ介导的效应T细胞(Teff)应答的抑制,以及髓源性抑制细胞(MDSC)的扩增。参见,例如Allard B等人,Curr Opin Pharmacol[药理学研究现状]29:7-16(2016)和Allard D等人,Immunotherapy[免疫疗法]8:145-163(2016)。

[0007] CD73也可在癌细胞上表达,包括结肠癌、肺癌、胰腺癌、卵巢癌、膀胱癌、白血病、胶质瘤、胶质母细胞瘤、黑色素瘤、甲状腺癌、食道癌、前列腺癌和乳腺癌(Jin等人,Cancer Res[癌症研究]70:2245-55(2010)和Stagg等人,PNAS107:1547-52(2010);Zhang等人,Cancer Res[癌症研究]70:6407-11(2010))。据报道,高CD73表达与各种癌症适应症(例如肺癌、黑色素瘤、三阴性乳腺癌、鳞状头颈癌和结直肠癌)的不良预后相关。参见例如,Allard B等人,Expert Opin Ther Targets[治疗靶标专家意见]18:863-881(2014);Leclerc BG等人,Clin Cancer Res[临床癌症研究]22:158-166(2016);Ren ZH等人,Oncotarget[肿瘤靶标]7:61690-61702(2016);Ren ZH等人,Oncol Lett[肿瘤学快报]12:556-562(2016);和Turcotte M等人,Cancer Res[癌症研究]75:4494-4503(2015)。

[0008] 鉴于对针对诸如癌症的疾病的改进策略的持续需求,非常需要用于调节CD73活性的新组合物和方法和相关治疗剂。

发明内容

[0009] 本文披露了以高亲和力和特异性结合CD73(分化簇73)的抗体分子。还提供了编码抗体分子的核酸分子、表达载体、宿主细胞和制备这些抗体分子的方法。还提供了免疫缀合

物、多特异性或双特异性抗体分子以及包含该抗体分子的药物组合物。本文披露的抗CD73抗体分子可以(单独或与其他药剂或治疗方式组合)用于治疗、预防和/或诊断障碍,包括免疫障碍和癌症。因此,本文披露了使用抗CD73抗体分子治疗和/或诊断各种疾病,包括癌症和免疫障碍的组合物和方法。

[0010] 因此,在某些方面,本披露提供了具有以下特性中的一个或多个(例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、或更多个,例如全部)的抗体分子(例如,分离的或重组的抗体分子):

[0011] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用Octet测试时,其以小于约100nM,例如小于约10nM、1nM、0.1nM、或0.01nM的解离常数(K_D)与CD73,例如人CD73结合;

[0012] (ii)与可溶性人CD73或膜结合人CD73或两者结合;

[0013] (iii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用Octet测试时,其以小于约100nM,例如小于约10nM、1nM、0.1nM、或0.01nM的解离常数(K_D)与非人灵长类CD73,例如食蟹猴CD73结合;

[0014] (iv)例如通过使用例如实例1中描述的Octet确定的,不结合鼠CD73;

[0015] (v)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子在例如实例1中描述的孔雀石绿(MG)磷酸盐测定或改良的Cell Titer Glo(CTG)测定中测试时,抑制或降低CD73(例如,可溶性人CD73或膜结合人CD73)的酶活性,例如抑制或降低人CD73介导的腺苷单磷酸(AMP)向腺苷的转化,例如通过本文所述的方法确定的;

[0016] (vi)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子在例如实例1中描述的CellTrace Violet(CTV)细胞增殖测定中测试时,在腺苷单磷酸(AMP)存在下,增加抗CD3/抗CD28刺激的T细胞,例如CD4+ T细胞的增殖,例如通过本文所述的方法确定的;

[0017] (vii)当与细胞表面上表达的人CD73结合时,增加人CD73向细胞中的内化,例如,将人CD73向细胞中的内化增加至少1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。

[0018] (viii)结合CD73上的表位,例如与本文所述抗体分子(例如本文所述人抗CD73抗体分子,例如表1的抗体分子)识别的表位相同或相似的表位;

[0019] (ix)结合CD73的、与第二抗体分子所结合的表位相同(或基本上相同)或重叠(或基本上重叠)的表位,其中第二抗体分子是本文所述的抗体分子,例如表1中所示的抗体分子;

[0020] (x)抑制(例如,竞争性抑制)第二抗体分子与CD73的结合,其中第二抗体分子是本文所述的抗体分子,例如表1中所示的抗体分子;

[0021] (xi)显示与表1中所述的抗体分子(例如表1中所示的包含重链可变区和/或轻链可变区的抗体分子)相同或相似的结合亲和力或特异性或两者;

[0022] (xii)结合人CD73的N-末端结构域;

[0023] (xiii)结合人CD73的A环和/或B环;

[0024] (xiv)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其

中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组;

[0025] (xv)当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,诱导SEQ ID NO:105的残基368-387的构象变化;

[0026] (xvi)例如与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个或四个残基直接或间接接触;

[0027] (xvii)例如与SEQ ID NO:105的残基206-215内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触;

[0028] (xviii)例如与SEQ ID NO:105或106的残基368-387内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触;

[0029] (xix)例如与SEQ ID NO:105的残基87-104内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触;

[0030] (xx)结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;

[0031] (xxi)优先结合CD73的开放构象(例如,无催化活性的构象),而不是CD73的封闭构象(例如,催化活性的构象),例如,不结合或以比所述抗体分子结合CD73的开放构象(例如,无催化活性的构象)时更低的亲和力(例如低50%、60%、70%、80%、90%、95%、或99%的亲和力)结合CD73的封闭构象(例如,催化活性的构象);

[0032] (xxii)将人CD73锁定为无催化活性的开放构象;

[0033] (xxiii)阻止或减少人CD73从无催化活性的开放构象向催化活性的封闭构象的转化,例如,将所述转化减少至少1.5倍、2倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、或100倍;

[0034] (xxiv)具有本文所述的抗体分子(例如,表1中所示的抗体分子)的一种或多种生物学特性;

[0035] (xxv)具有本文所述的抗体分子(例如,表1中所示的抗体分子)的一种或多种药代动力学特性;或

[0036] (xxvi)调节(例如,抑制)CD73的一种或多种活性,例如导致以下中的一种或多种:抑制或减少CD73的酶活性;抑制或减少腺苷单磷酸(AMP)转化为腺苷;在腺苷单磷酸(AMP)存在下,增加抗CD3/抗CD28刺激的T细胞,例如CD4+ T细胞的增殖;抑制调节性T细胞的增殖;增加效应T细胞反应;和/或抑制骨髓来源的抑制细胞的迁移、浸润或扩增。

[0037] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时。在一个实施例中,第一或第二CD73单体包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列。在一个实施例中,第一或第二CD73单体由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成。

[0038] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%或40%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的。在一个实施例中,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中例如,当使用包括如下步骤的尺寸排阻色谱(SEC)测定测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%或40%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成:

[0039] (i)将含有等摩尔量的二价抗体分子和CD73单体的样品在4℃下孵育过夜;

[0040] (ii)在室温下,在包含按体积计90%2x PBS和10%异丙醇的缓冲液中,使样品通过SEC柱(例如Shodex Protein KW-803柱(8x 300mm ID));以及

[0041] (iii)分析SEC峰,从而通过确定复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量来获得可区分的抗体CD73种类的相对百分比值。

[0042] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的。在一个实施例中,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中例如,当使用包括如下步骤的尺寸排阻色谱(SEC)测定测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成:

[0043] (i)将含有等摩尔量的二价抗体分子和CD73单体的样品在4℃下孵育过夜;

[0044] (ii)在室温下,在包含按体积计90%2x PBS和10%异丙醇的缓冲液中,使样品通过SEC柱(例如Shodex Protein KW-803柱(8x 300mm ID));以及

[0045] (iii)分析SEC峰,从而通过确定复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量来获得可区分的抗体CD73种类的相对百分比值。

[0046] 在一个方面,本文披露了多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一

CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的。在一个实施例中,本文披露了多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中例如,当使用包括如下步骤的尺寸排阻色谱(SEC)测定测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体:

[0047] (i)将含有等摩尔量的二价抗体分子和CD73单体的样品在4℃下孵育过夜;

[0048] (ii)在室温下,在包含按体积计90%2x PBS和10%异丙醇的缓冲液中,使样品通过SEC柱(例如Shodex Protein KW-803柱(8x 300mm ID));以及

[0049] (iii)分析SEC峰,从而通过确定复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量来获得可区分的抗体CD73种类的相对百分比值。

[0050] 在一个方面,本文披露了多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20%、25%或30%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的。在一个实施例中,本文披露了多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中例如,当使用包括如下步骤的尺寸排阻色谱(SEC)测定测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20%、25%或30%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体:

[0051] (i)将含有等摩尔量的二价抗体分子和CD73单体的样品在4℃下孵育过夜;

[0052] (ii)在室温下,在包含按体积计90%2x PBS和10%异丙醇的缓冲液中,使样品通过SEC柱(例如Shodex Protein KW-803柱(8x 300mm ID));以及

[0053] (iii)分析SEC峰,从而通过确定复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量来获得可区分的抗体CD73种类的相对百分比值。

[0054] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,所述抗体分子优先结合CD73的开放构象(例如,无催化活性的构象),而不是CD73的封闭构象(例如,催化活性的构

象),例如,不结合或以比所述抗体分子结合CD73的开放构象(例如,无催化活性的构象)时更低的亲和力(例如低50%、60%、70%、80%、90%、95%、或99%的亲和力)结合CD73的封闭构象(例如,催化活性的构象)。

[0055] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子阻止或减少人CD73从无催化活性的开放构象向催化活性的封闭构象的转化,例如与所述抗体分子不存在下的转化相比,将所述转化减少至少1.5倍、2倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、或100倍。

[0056] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组。

[0057] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在选自核心区域A(SEQ ID NO:105的残基158-172)的X_A个残基、在选自核心区域B(SEQ ID NO:105的残基206-215)的X_B个残基、或在选自核心区域D(SEQ ID NO:105的残基297-309)的X_D个残基处更大的程度降低在选自核心区域C(SEQ ID NO:105的残基368-387)的X_C个残基处的平均氢氘交换,其中:

[0058] X_C等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15或20,

[0059] X_A等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14,

[0060] X_B等于1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,并且

[0061] X_D等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13。

[0062] 在一个实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域C的20个残基处的平均氢氘交换:

[0063] (i)选自核心区域A的14个残基,

[0064] (ii)选自核心区域B的10个残基,或

[0065] (iii)选自核心区域D的13个残基,

[0066] 例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域A处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域A和核心区域B处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域A和核心区域D处更大的程度降

低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域A、核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[0067] 在一个实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域C的15个残基处的平均氢氘交换:

[0068] (i)选自核心区域A的10个残基,

[0069] (ii)选自核心区域B的8个残基,或

[0070] (iii)选自核心区域D的10个残基,

[0071] 例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域A处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域A和核心区域B处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域A和核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域A、核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[0072] 在一个实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域C的10个残基处的平均氢氘交换:

[0073] (i)选自核心区域A的7个残基,

[0074] (ii)选自核心区域B的5个残基,或

[0075] (iii)选自核心区域D的7个残基,

[0076] 例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域A处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域A和核心区域B处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域A和核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域A、核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[0077] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所

述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、或残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。

[0078] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在选自核心区域B(SEQ ID NO:105的残基206-215)的X_B个残基、在选自核心区域C(SEQ ID NO:105的残基368-387)的X_C个残基、或在选自核心区域D(SEQ ID NO:105的残基297-309)的X_D个残基处更大的程度降低在选自核心区域A(SEQ ID NO:105的残基158-172)的X_A个残基处的平均氢氘交换,其中:

[0079] X_A等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14,

[0080] X_B等于1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,

[0081] X_C等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15或20,并且

[0082] X_D等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13。

[0083] 在一个实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域A的14个残基处的平均氢氘交换:

[0084] (i)选自核心区域B的10个残基,

[0085] (ii)选自核心区域C的20个残基,或

[0086] (iii)选自核心区域D的13个残基,

[0087] 例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域C处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B和核心区域C处更大的程度降低核心区域A处

的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域C和核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B、核心区域C和核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[0088] 在一个实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域A的10个残基处的平均氢氘交换:

[0089] (i)选自核心区域B的8个残基,

[0090] (ii)选自核心区域C的15个残基,或

[0091] (iii)选自核心区域D的10个残基,例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域C处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B和核心区域C处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域C和核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B、核心区域C和核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[0092] 在一个实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域A的7个残基处的平均氢氘交换:

[0093] (i)选自核心区域B的5个残基,

[0094] (ii)选自核心区域C的10个残基,或

[0095] (iii)选自核心区域D的7个残基,

[0096] 例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域C处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B和核心区域C处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域C和核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比核心区域B、核心区域C和核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[0097] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基

27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387、或SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。

[0098] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有平均氢氘交换最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215。

[0099] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基368-387处,每个残基的平均氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da。

[0100] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的平均氢氘交换减少低于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da。

[0101] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个或四个残基直接或间接接触。在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105

的残基206-215内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触。在一个方面，本文披露了一种结合人CD73的抗体分子，其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105或106的残基368-387内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触。在一个方面，本文披露了一种结合人CD73的抗体分子，其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基87-104内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触。

[0102] 在一个实施例中，抗体分子与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个或四个残基结合。在一个实施例中，抗体分子与SEQ ID NO:105的残基206-215内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基结合。

[0103] 可替代地，或结合本文描述的实施例，例如，当所述抗体分子作为二价抗体分子使用TMT同位素标记，例如，使用实例9中所述的方法，例如，使用TMT同位素标记进行30s标记时间测试时，当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的残基K136(根据SEQ ID NO:105编号)时，所述抗体分子减少残基K136处的串联质谱标签(TMT)标记，任选地其中所述抗体分子进一步减少蛋白质的残基K133、K162、K179、K206、K214、K285、K291和K341(根据SEQ ID NO:105编号)中的一个或多个处的TMT标记，例如蛋白质的残基K162、K206、K214、K285、K291和K341(根据SEQ ID NO:105编号)中的一个或多个处的TMT标记。在一个实施例中，例如，当所述抗体分子作为二价抗体分子使用TMT同位素标记，例如，使用实例9中所述的方法，例如，使用TMT同位素标记进行30s标记时间测试时，当结合至残基K262和K274(根据SEQ ID NO:105编号)中的一者或两者处时，所述抗体分子减少所述残基中的一者或两者处的TMT标记。在一个实施例中，例如，当所述抗体分子作为二价抗体分子使用TMT同位素标记，例如，使用实例9中所述的方法测试时，当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的残基K206和K214(根据SEQ ID NO:105编号)时，所述抗体分子减少残基K206和K214处的串联质谱标签(TMT)标记，其中残基K214处的减少不少于残基K206处的减少的90％、80％、70％、60％、或50％，例如其中使用TMT同位素标记进行30s标记时间，残基K214处的减少不少于残基K206处的减少的90％、80％、70％、60％、或50％，例如其中使用TMT同位素标记进行300s标记时间，残基K214处的减少不少于残基K206处的减少的90％、80％、70％、60％、50％、40％、或30％。在一个实施例中，当所述抗体分子使用TMT同位素标记进行30s标记时间测试时，当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的残基K162(根据SEQ ID NO:105编号)时，所述抗体分子减少残基K162处的串联质谱标签(TMT)标记，其中

[0104] (i)使用TMT同位素标记进行300s标记时间测试时，所述抗体分子不会减少残基K162处的TMT标记，或

[0105] (ii)使用TMT同位素标记进行300s标记时间测试时，所述抗体分子减少残基K162处的TMT标记，其中300s标记时间下残基K162处的减少不多于30s标记时间下残基K162处的减少的20％、30％、40％、或50％，

[0106] 例如，当所述抗体分子作为二价抗体分子例如使用实例9中所述的方法测试时。

[0107] 可替代地，或结合本文描述的实施例，所述抗体分子例如通过静电相互作用和/或氢键结合至CD73的一个或多个残基，其中所述一个或多个残基选自由残基Y110、K136、L132、L157、K162、S155和T209组成的组，根据SEQ ID NO:105进行编号，例如，通过使用晶体结构分析，例如使用实例8中所述的方法确定的。在一个实施例中，抗体分子包含重链可变

区和轻链可变区,其中所述抗体分子具有以下特性中的一个或多个(例如1、2、3、4个或全部):

[0108] (i)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如,重链可变区的R54,根据卡巴特(Kabat)编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的Y110(例如,Y110的骨架羰基)或K136(例如,K136的骨架羰基)例如通过静电相互作用结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,

[0109] (ii)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如,重链可变区的R31,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的L132(例如,L132的骨架羰基)或L157(例如,L157的骨架羰基)例如通过静电相互作用结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,

[0110] (iii)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如,重链可变区的S99(例如,S99的骨架羰基)、R31(例如,R31的骨架羰基)、或E95(例如,E95的侧链),根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的K162(例如,K162的侧链)例如通过静电相互作用结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,

[0111] (iv)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如,重链可变区的E98,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的S155(例如,S155的侧链)例如通过氢键结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,以及

[0112] (v)所述抗体分子(例如,轻链可变区,例如,轻链可变区的W32(例如,W32的侧链,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的T209(例如,T209的侧链)例如通过氢键结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的。

[0113] 在一个实施例中,抗体分子例如通过形状互补和/或范德华相互作用结合至CD73的一个或多个区域,其中所述一个或多个区域选自由残基155-170、136-138和209-210组成的组,根据SEQ ID NO:105进行编号,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的。在一个实施例中,抗体分子包含重链可变区和轻链可变区,其中所述抗体分子具有以下特性中的一个或多个(例如1、2个或全部):

[0114] (i)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如重链可变区的残基33、50、52、56、97、98、100、或100a,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的残基155-170例如通过形状互补和/或范德华相互作用结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,

[0115] (ii)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如重链可变区的残基30或31,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的残基136-138例如通过形状互补和/或范德华相互作用结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,以及

[0116] (iii)所述抗体分子(例如,轻链可变区,例如轻链可变区的残基30或32,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的残基209-210结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的。

[0117] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子包含来自重可变区和/或轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个、或六个互补决定区(CDR)(或总体上全部CDR),所述重可变区和/或轻链可变区包含表1(例如,来自表1中披露的抗体

的重链和轻链可变区序列,所述抗体是例如抗体918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398)中所示的氨基酸序列、或由表1中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一些实施例中,CDR根据卡巴特定义(例如,如表1中所列出的)。在一些实施例中,CDR根据乔西亚(Chothia)定义(例如,如表1中所列出的)。在一些实施例中,CDR根据卡巴特定义和乔西亚定义的组合定义(例如,如表1中所列出的)。在一些实施例中,CDR基于IMGT定义(例如,如表1中所列出的)。在一个实施例中,相对于表1中所示的氨基酸序列,或由表1中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如氨基酸取代(例如,保守氨基酸取代)或缺失。

[0118] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0119] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,所述抗体分子包含:

[0120] (i)重链可变区(VH),其包含以下中的一个、两个或三个:X_1X_2AMS(SEQ ID NO:88)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、Y、或S,并且X_2是Y或N;X_1IX_2GX_3GX_4X_5TYYADSVKG(SEQ ID NO:89)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是A或S,X_2是S或T,X_3是S或T,X_4是M、G、或S,并且X_5是N、S、L、或Y;和GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的VHCDR3氨基酸序列;和/或

[0121] (ii)轻链可变区(VL),其包含以下中的一个、两个或三个:RASQSVGSNLA(SEQ ID NO:48)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;GASTRAT(SEQ ID NO:49)的VLCDR2氨基酸序列;和QQHNAFPYT(SEQ ID NO:50)的VLCDR3氨基酸序列。

[0122] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含:

[0123] (i)VH,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);和VL,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);

[0124] (ii)VH,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:72的VHCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);和VL,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);

[0125] (iii)VH,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、

插入或缺失,例如保守取代的序列);和VL,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);

[0126] (iv)VH,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);和VL,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);

[0127] (v)VH,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);和VL,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);或

[0128] (vi)VH,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);和VL,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列)。

[0129] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:44、77、84、142、151或159的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:44、77、84、142、151或159具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0130] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:55具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0131] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含重链,所述重链包含SEQ ID NO:46、79、86、114、116或117的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:46、79、86、114、116或117具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0132] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含轻链,所述轻链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:57具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0133] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含:

[0134] (i)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ

ID NO:55的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)；

[0135] (ii)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)；

[0136] (iii)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)；

[0137] (iv)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)；

[0138] (v)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)；或

[0139] (vi)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)。

[0140] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含：

[0141] (i)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)；

[0142] (ii)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)；

[0143] (iii)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)；

[0144] (iv)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)；

[0145] (v)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)；或

[0146] (vi)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)。

[0147] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,所述抗体分子包含重链可

变区(VH),所述重链可变区包含ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的VHCDR3氨基酸序列。

[0148] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,所述抗体分子包含:

[0149] (i)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2YWS(SEQ ID NO:90)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、G、或S,并且X_2是Y或R;YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS(SEQ ID NO:91)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是G或S,X_2是R、S或T,并且X_3是N或K;和ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的VHCDR3氨基酸序列;和/或

[0150] (ii)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQGISSWLA(SEQ ID NO:14)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;AASSLQS(SEQ ID NO:15)的VLCDR2氨基酸序列;和QQGNSFPRT(SEQ ID NO:16)的VLCDR3氨基酸序列。

[0151] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含:

[0152] (i)VH,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:61的VHCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);和VL,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);

[0153] (ii)VH,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);和VL,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);

[0154] (iii)VH,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);和VL,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);或

[0155] (iv)VH,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:163的VHCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列);和VL,其包含以下中的一个、两个或三个:SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列)。

[0156] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID

NO:66、31、10或168的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:66、31、10或168具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0157] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:21具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0158] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含重链,所述重链包含SEQ ID NO:68、33、12、115、113或112的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:68、33、12、115、113或112具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0159] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含轻链,所述轻链包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:23具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0160] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含:

[0161] (i)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[0162] (ii)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[0163] (iii)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);或

[0164] (iv)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列)。

[0165] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含:

[0166] (i)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[0167] (ii)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[0168] (iii)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[0169] (iv)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[0170] (v)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列(或与其具有至少约

85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列);或

[0171] (vi)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)。

[0172] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VH3-23种系序列的氨基酸序列的重链可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VK3-15种系序列的氨基酸序列的轻链可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VH3-23种系序列的氨基酸序列的重链可变区,以及具有源自人VK3-15种系序列的氨基酸序列的轻链可变区。

[0173] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VH4-59种系序列的氨基酸序列的重链可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VK1-12种系序列的氨基酸序列的轻链可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VH4-59种系序列的氨基酸序列的重链可变区,以及具有源自人VK1-12种系序列的氨基酸序列的轻链可变区。

[0174] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VH3-23种系序列的氨基酸序列的重链可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VK1-05种系序列的氨基酸序列的轻链可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VH3-23种系序列的氨基酸序列的重链可变区,以及具有源自人VK1-05种系序列的氨基酸序列的轻链可变区。

[0175] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VH1-02种系序列的氨基酸序列的重链可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VK1-12种系序列的氨基酸序列的轻链可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VH1-02种系序列的氨基酸序列的重链可变区,以及具有源自人VK1-12种系序列的氨基酸序列的轻链可变区。

[0176] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VH3-07种系序列的氨基酸序列的重链可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VK4-01种系序列的氨基酸序列的轻链可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VH3-07种系序列的氨基酸序列的重链可变区,以及具有源自人VK4-01种系序列的氨基酸序列的轻链可变区。

[0177] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VH1-69种系序列的氨基酸序列的重链可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VK3-15种系序列的氨基酸序列的轻链可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VH1-69种系序列的氨基酸序列的重链可变区,以及具有源自人VK3-15种系序列的氨基酸序列的轻链可变区。

[0178] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VH4-34种系序列的氨基酸序列的重链可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VK1-12种系序列的氨基酸序列的轻链可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含具有源自人VH4-34种系序列的氨基酸序列的重链可变区,以及具有源自人VK1-12种系序列的氨基酸序列的轻链可变

区。

[0179] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子是单克隆抗体或具有单一特异性的抗体。在某些实施例中,抗CD73抗体分子是双特异性或多特异性抗体。抗CD73抗体分子的重链和轻链可以是全长的(例如,抗体可以包括至少一个或至少两个完整重链,和至少一个或至少两个完整轻链),或者可以包括抗原结合片段(例如Fab、F(ab')2、Fv、单链Fv片段、单结构域抗体、双抗体(dAb)、二价抗体、或双特异性抗体或其片段、其单结构域变体、或骆驼科动物抗体(camelid antibody))。

[0180] 在其他实施例中,抗CD73抗体分子具有重链恒定区(Fc),该重链恒定区选自例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD、和IgE的重链恒定区;具体地,选自例如IgG1、IgG2、IgG3、和IgG4的重链恒定区,更具体地,选自IgG4的重链恒定区。在一些实施例中,重链恒定区是人IgG4。在一些实施例中,抗CD73抗体分子具有选自例如κ或λ的轻链恒定区的轻链恒定区。在一些实施例中,轻链恒定区是κ(例如,人κ)。在一些实施例中,改变(例如突变)恒定区以修饰抗CD73抗体分子的特性(例如,以增加或减少以下中的一种或多种:Fc受体结合、抗体糖基化、半胱氨酸残基数、效应细胞功能或补体功能)。在一些实施例中,例如表3中所示的,根据Eu编号,IgG4(例如人IgG4)的重链恒定区在位置228处具有突变(例如S至P)。在某些实施例中,例如表3中所示的,根据Eu编号,抗CD73抗体分子包含在的位置228处突变(例如S至P)的人IgG4;以及在例如表3中所示的κ轻链恒定区。在一些实施例中,例如表3中所示的,根据Eu编号,IgG4(例如人IgG4)的重链恒定区在位置228(例如,S至P)和位置235(例如,L至E)处具有突变。在某些实施例中,例如表3中所示的,根据Eu编号,抗CD73抗体分子包含在位置228(例如,S至P)和位置235(例如,L至E)处突变的人IgG4;以及在例如表3中所示的κ轻链恒定区。在仍另一个实施例中,例如表3中所示的,全部根据Eu编号,IgG1(例如人IgG1)的重链恒定区在如下位置中的一个或多个处具有突变:位置297(例如,N至A)、位置265(例如,D至A)、位置329(例如,P至A)、位置234(例如,L至A)、或位置235(例如,L至A)。在某些实施例中,例如表3中所示的,抗CD73抗体分子包含在前述位置中的一个或多个处突变的人IgG1;以及在例如表3中所示的κ轻链恒定区。

[0181] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的重链恒定区,以及选自κ或λ的轻链恒定区的轻链恒定区。在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含含有选自由SEQ ID NO:92-103、119、和120组成的组的氨基酸序列的重链恒定区,和含有SEQ ID NO:104的氨基酸序列的轻链恒定区。

[0182] 在一个方面,本发明特征在于与单克隆抗体(例如本文所述的抗体分子)竞争结合人CD73的抗体分子。本发明的特征还在于与人CD73的单克隆抗体(例如本文所述的抗体分子)结合相同(或基本上相同)或重叠(或基本上重叠)的表位的抗体分子。

[0183] 在一些实施例中,单克隆抗体包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0184] 在某些实施例中,单克隆抗体包含:

[0185] (i)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2AMS(SEQ ID NO:88)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、Y、或S,并且X_2是Y或N;$X_1IX_2GX_3GX_4X_5$TYYADSVKG(SEQ ID NO:89)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是A或S,X_2是S或T,X_3是S或T,X_4是M、G、或S,并且X_5是N、S、L、或Y;和GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的VHCDR3氨基酸序列;和/或

[0186] (ii)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQSVGSNLA(SEQ ID NO:48)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;GASTRAT(SEQ ID NO:49)的VLCDR2氨基酸序列;和QQHNAFPYT(SEQ ID NO:50)的VLCDR3氨基酸序列。

[0187] 在某些实施例中,单克隆抗体包含:

[0188] (i)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0189] (ii)VH,其包含SEQ ID NO:72的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0190] (iii)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0191] (iv)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0192] (v)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;或

[0193] (vi)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[0194] 在一些实施例中,单克隆抗体包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0195] 在某些实施例中,单克隆抗体包含:

[0196] (i)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2YWS(SEQ ID NO:90)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、G、或S,并且X_2是Y或R;YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS(SEQ ID NO:91)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是G或S,X_2是R、S或T,并且X_3是N或K;和ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的VHCDR3氨基酸序列;和/或

[0197] (ii)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQGISSWLA(SEQ ID NO:14)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;AASSLQS(SEQ ID NO:15)的VLCDR2氨基酸序列;和QQGNSFPRT(SEQ ID NO:16)的VLCDR3氨基酸序列。

[0198] 在某些实施例中,单克隆抗体包含:

[0199] (i)VH,其包含SEQ ID NO:61的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0200] (ii)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0201] (iii)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;或

[0202] (iv)VH,其包含SEQ ID NO:163的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0203] 在一个方面,本发明特征在于一种核酸分子,其包含一个或两个核苷酸序列,所述核苷酸序列编码如本文所述的抗CD73抗体分子的重链和轻链可变区、CDR、高变环、构架区。在某些实施例中,编码抗CD73抗体分子的核苷酸序列是经密码子优化的。例如,本发明的特征在于分别编码抗CD73抗体分子的重链和轻链可变区的第一和第二核酸,或与其基本上相同的序列,所述抗CD73抗体分子选自例如如表1所概述的918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430或398中的任何一个。例如,核酸可以包含如在表1中列出的核苷酸序列或与其基本上相同的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性,或与表1中示出的序列相差不多于3、6、15、30、或45个核苷酸的序列)。

[0204] 在一个方面,披露了包含核苷酸序列的核酸,所述核苷酸序列编码如本文所述的抗CD73抗体分子的重链和轻链可变区以及CDR。例如,本披露提供了分别编码根据表1的抗CD73抗体分子的重链和轻链可变区的第一和第二核酸,或与其基本上相同的序列。例如,核酸可以包含编码根据表1的抗CD73抗体分子的核苷酸序列或与其基本上相同的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性,或与前述序列相差不多于3、6、15、30、或45个核苷酸的序列)。

[0205] 在某些实施例中,核酸可以包含编码来自重链可变区(具有如表1中列出的氨基酸序列)的至少一个、两个、或三个CDR或高变环的核苷酸序列,或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列)。

[0206] 在某些实施例中,核酸可以包含编码来自轻链可变区(具有如表1中列出的氨基酸序列)的至少一个、两个、或三个CDR或高变环的核苷酸序列,或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列)。

[0207] 在某些实施例中,核酸可以包含编码来自重链和轻链可变区(具有如表1中列出的氨基酸序列)的至少一个、两个、三个、四个、五个、或六个CDR或高变环的核苷酸序列,或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列)。

[0208] 在某些实施例中,核酸编码重链可变区,其中所述核酸包含SEQ ID NO:45、78、85、143、152、160、67、32、11或169的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:45、78、85、143、152、160、67、32、11或169具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的核苷酸序列。

[0209] 在某些实施例中,核酸编码重链,其中所述核酸包含SEQ ID NO:47、80、87、69、34或13的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:47、80、87、69、34或13具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的核苷酸序列。

[0210] 在某些实施例中,核酸编码轻链可变区,其中所述核酸包含SEQ ID NO:56、144、22

或170的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:56、144、22或170具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的核苷酸序列。

[0211] 在某些实施例中,核酸编码轻链,其中所述核酸包含SEQ ID NO:58或24的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:58或24具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的核苷酸序列。

[0212] 在一个方面,本披露特征在于包含本文所述的核酸的宿主细胞和载体。核酸可存在于单一载体或不同载体中,所述载体存在于相同宿主细胞或不同宿主细胞中。本文还提供了一种产生抗C73抗体分子的方法,所述方法包括在适合基因表达的条件下培养本文所述的宿主细胞。

[0213] 在一个方面,本披露提供了一种提供本文所述的抗体分子的方法。所述方法可以包括:提供CD73抗原(例如,包含CD73表位的至少一部分(例如,CD73抗原的N-末端结构域)的抗原);获得结合CD73抗原的抗体分子;并评估所述抗体分子是否结合所述CD73抗原,或评估所述抗体分子调节(例如刺激或抑制)CD73活性的功效。所述方法可以进一步包括将所述抗体分子施用于受试者(例如人或非人动物)。

[0214] 在一个方面,本披露内容提供了组合物,例如药物组合物,其包括药学上可接受的运载体、赋形剂或稳定剂、和至少一种本文所述的抗CD73抗体分子。在一个实施例中,组合物(例如药物组合物)包括抗体分子和一种或多种试剂(例如,如本文所述的治疗剂或其他抗体分子)的组合。在一些实施例中,将抗体分子与标记物或治疗剂缀合。在一些实施例中,组合物(例如药物组合物)包括抗体分子和第二药剂(例如治疗剂)或两种或更多种前述抗体分子的组合。

[0215] 本文披露的抗CD73抗体分子可以抑制、降低或中和CD73的一种或多种活性,例如,抑制或降低CD73的酶活性;抑制或减少腺苷单磷酸(AMP)转化为腺苷;在腺苷单磷酸(AMP)存在下,增加抗CD3/抗CD28刺激的T细胞,例如CD4+ T细胞的增殖;抑制调节性T细胞的增殖;增加效应T细胞反应;和/或抑制骨髓来源的抑制细胞的迁移、浸润或扩增。因此,此类抗体分子可用于治疗或预防希望增强受试者免疫应答的障碍。

[0216] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0217] (i)所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成(例如,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;以及

[0218] (ii)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、或残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。

[0219] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在

SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。

[0220] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0221] (i)所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成(例如,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;以及

[0222] (ii)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387、或SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。

[0223] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。

[0224] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0225] (i)所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成(例如,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,例如,每个单体

均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;以及

[0226] (ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有平均氢氘交换最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215。

[0227] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0228] (i)所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成(例如,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;以及

[0229] (ii)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基368-387处,每个残基的平均氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da。

[0230] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0231] (i)所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成(例如,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;以及

[0232] (ii)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的平均氢氘交换减少低于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da。

[0233] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0234] (i)所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成(例如,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;以及

[0235] (ii)所述抗体分子与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个、或

四个残基,和/或与SEQ ID NO:105的残基206-215的至少一个、两个、三个、四个或五个残基结合。

[0236] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0237] (i)所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成(例如,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;以及

[0238] (ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性。

[0239] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0240] (i)所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成(例如,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;以及

[0241] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0242] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0243] (i)所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成(例如,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;以及

[0244] (ii)所述抗体分子包含:

[0245] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2AMS(SEQ ID NO:88)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、Y、或S,并且X_2是Y或N;$X_1IX_2GX_3GX_4X_5$TYYADSVKG(SEQ ID NO:89)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是A或S,X_2是S或T,X_3是S或T,X_4是M、G、或S,并且X_5是N、S、L、或Y;和GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0246] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQSVGSNLA(SEQ ID NO:48)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;GASTRAT(SEQ ID NO:49)的VLCDR2氨基酸序列;和QQHNAFPYT(SEQ ID NO:50)的VLCDR3氨基酸序列。

[0247] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0248] (i)所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成(例如,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;以及

[0249] (ii)所述抗体分子包含:

[0250] (a)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0251] (b)VH,其包含SEQ ID NO:72的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0252] (c)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0253] (d)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0254] (e)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;或

[0255] (f)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[0256] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0257] (i)所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成(例如,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;以及

[0258] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0259] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0260] (i)所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成(例如,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;以及

[0261] (ii)所述抗体分子包含:

[0262] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2YWS(SEQ ID NO:90)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、G、或S,并且X_2是Y或R;YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS(SEQ ID NO:91)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是G或S,X_2是R、S或T,并且X_3是N或K;和ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0263] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQGISSWLA(SEQ ID NO:14)的轻链互

补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;AASSLQS(SEQ ID NO:15)的VLCDR2氨基酸序列;和QQGNSFPRT(SEQ ID NO:16)的VLCDR3氨基酸序列。

[0264] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0265] (i)所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成(例如,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;以及

[0266] (ii)所述抗体分子包含:

[0267] (a)VH,其包含SEQ ID NO:61的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0268] (b)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0269] (c)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;或

[0270] (d)VH,其包含SEQ ID NO:163的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0271] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0272] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0273] (ii)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、或残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。

[0274] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平

均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。

[0275] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0276] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0277] (ii)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387、或SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。

[0278] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。

[0279] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,

所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0280] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0281] (ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有平均氢氘交换最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215。

[0282] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0283] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0284] (ii)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基368-387处,每个残基的平均氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da。

[0285] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0286] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0287] (ii)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱

法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的平均氢氘交换减少低于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da。

[0288] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0289] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0290] (ii)所述抗体分子与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个、或四个残基,和/或与SEQ ID NO:105的残基206-215的至少一个、两个、三个、四个或五个残基结合。

[0291] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0292] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0293] (ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性。

[0294] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0295] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0296] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0297] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0298] (i)所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域,例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,所述组合物中至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0299] (ii)所述抗体分子包含:

[0300] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2AMS(SEQ ID NO:88)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、Y、或S,并且X_2是Y或N;$X_1IX_2GX_3GX_4X_5$TYYADSVKG(SEQ ID NO:89)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是A或S,X_2是S或T,X_3是S或T,X_4是M、G、或S,并且X_5是N、S、L、或Y;和GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0301] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQSVGSNLA(SEQ ID NO:48)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;GASTRAT(SEQ ID NO:49)的VLCDR2氨基酸序列;和QQHNAFPYT(SEQ ID NO:50)的VLCDR3氨基酸序列。

[0302] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0303] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0304] (ii)所述抗体分子包含:

[0305] (a)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0306] (b)VH,其包含SEQ ID NO:72的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0307] (c)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0308] (d)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0309] (e)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;或

[0310] (f)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[0311] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0312] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0313] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0314] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0315] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0316] (ii)所述抗体分子包含:

[0317] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2YWS(SEQ ID NO:90)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、G、或S,并且X_2是Y或R;YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS(SEQ ID NO:91)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是G或S,X_2是R、S或T,并且X_3是N或K;和ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0318] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQGISSWLA(SEQ ID NO:14)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;AASSLQS(SEQ ID NO:15)的VLCDR2氨基酸序列;和QQGNSFPRT(SEQ ID NO:16)的VLCDR3氨基酸序列。

[0319] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0320] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%、40%、

45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或80％的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0321] (ii)所述抗体分子包含:

[0322] (a)VH,其包含SEQ ID NO:61的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0323] (b)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0324] (c)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;或

[0325] (d)VH,其包含SEQ ID NO:163的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0326] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0327] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％或70％的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0328] (ii)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、或残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。

[0329] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ

ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。

[0330] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0331] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0332] (ii)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387、或SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。

[0333] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ IDNO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。

[0334] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0335] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20%、25%、30%、

35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％或70％的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0336] (ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有平均氢氘交换最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215。

[0337] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0338] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％或70％的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0339] (ii)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基368-387处,每个残基的平均氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da。

[0340] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0341] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％或70％的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0342] (ii)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的平均氢氘交换减少低于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da。

[0343] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0344] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0345] (ii)所述抗体分子与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个、或四个残基,和/或与SEQ ID NO:105的残基206-215的至少一个、两个、三个、四个或五个残基结合。

[0346] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0347] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0348] (ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性。

[0349] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0350] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0351] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0352] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0353] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一

抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0354] (ii)所述抗体分子包含:

[0355] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2AMS(SEQ ID NO:88)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、Y、或S,并且X_2是Y或N;$X_1IX_2GX_3GX_4X_5$TYYADSVKG(SEQ ID NO:89)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是A或S,X_2是S或T,X_3是S或T,X_4是M、G、或S,并且X_5是N、S、L、或Y;和GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0356] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQSVGSNLA(SEQ ID NO:48)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;GASTRAT(SEQ ID NO:49)的VLCDR2氨基酸序列;和QQHNAFPYT(SEQ ID NO:50)的VLCDR3氨基酸序列。

[0357] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0358] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0359] (ii)所述抗体分子包含:

[0360] (a)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0361] (b)VH,其包含SEQ ID NO:72的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0362] (c)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0363] (d)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0364] (e)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;或

[0365] (f)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基

酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[0366] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0367] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0368] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0369] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0370] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0371] (ii)所述抗体分子包含:

[0372] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2YWS(SEQ ID NO:90)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、G、或S,并且X_2是Y或R;YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS(SEQ ID NO:91)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是G或S,X_2是R、S或T,并且X_3是N或K;和ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0373] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQGISSWLA(SEQ ID NO:14)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;AASSLQS(SEQ ID NO:15)的VLCDR2氨基酸序列;和QQGNSFPRT(SEQ ID NO:16)的VLCDR3氨基酸序列。

[0374] 在一个方面,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中:

[0375] (i)例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值,例如如实例2中所述的;以及

[0376] (ii)所述抗体分子包含:

[0377] (a)VH,其包含SEQ ID NO:61的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0378] (b)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0379] (c)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;或

[0380] (d)VH,其包含SEQ ID NO:163的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0381] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0382] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、或残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换;以及

[0383] (ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性。

[0384] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。

[0385] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0386] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至

包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387、或SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换;以及

[0387] (ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性。

[0388] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。

[0389] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0390] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有平均氢氘交换最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215;以及

[0391] (ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性。

[0392] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0393] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基368-387处,每个残基的平均氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da;以及

[0394] (ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、

80％或90％的酶活性。

[0395] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0396] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的平均氢氘交换减少低于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da;以及

[0397] (ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60％、70％、80％或90％的酶活性。

[0398] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0399] (i)所述抗体分子与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个、或四个残基,和/或与SEQ ID NO:105的残基206-215的至少一个、两个、三个、四个或五个残基结合;以及

[0400] (ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60％、70％、80％或90％的酶活性。

[0401] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0402] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、或残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换;以及

[0403] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0404] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。

[0405] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0406] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387、或SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换;以及

[0407] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0408] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。

[0409] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0410] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有平均氢氘交换最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215;以及

[0411] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0412] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0413] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基368-387处,每个残基的平均氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da;以及

[0414] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含GGLYGSGSYLSDFDL

(SEQ ID NO:37)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0415] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0416] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的平均氢氘交换减少低于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da;以及

[0417] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0418] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0419] (i)所述抗体分子与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个、或四个残基,和/或与SEQ ID NO:105的残基206-215的至少一个、两个、三个、四个或五个残基结合;以及

[0420] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0421] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0422] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、或残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换;以及

[0423] (ii)所述抗体分子包含:

[0424] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2AMS(SEQ ID NO:88)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、Y、或S,并且X_2是Y或N;$X_1IX_2GX_3GX_4X_5$TYYADSVKG(SEQ ID NO:89)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是A或S,X_2是S或T,X_3是S或T,X_4是M、G、或S,并且X_5是N、S、L、或Y;和GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0425] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQSVGSNLA(SEQ ID NO:48)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;GASTRAT(SEQ ID NO:49)的VLCDR2氨基酸序列;和QQHNAFPYT(SEQ ID NO:50)的VLCDR3氨基酸序列。

[0426] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:

105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。

[0427] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0428] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387、或SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换;以及

[0429] (ii)所述抗体分子包含:

[0430] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2AMS(SEQ ID NO:88)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、Y、或S,并且X_2是Y或N;X_1IX_2GX_3GX_4X_5TYYADSVKG(SEQ ID NO:89)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是A或S,X_2是S或T,X_3是S或T,X_4是M、G、或S,并且X_5是N、S、L、或Y;和GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0431] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQSVGSNLA(SEQ ID NO:48)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;GASTRAT(SEQ ID NO:49)的VLCDR2氨基酸序列;和QQHNAFPYT(SEQ ID NO:50)的VLCDR3氨基酸序列。

[0432] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。

[0433] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0434] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有平均氢氘交换

最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215;以及

[0435] (ii)所述抗体分子包含:

[0436] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2AMS(SEQ ID NO:88)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、Y、或S,并且X_2是Y或N;$X_1IX_2GX_3GX_4X_5$TYYADSVKG(SEQ ID NO:89)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是A或S,X_2是S或T,X_3是S或T,X_4是M、G、或S,并且X_5是N、S、L、或Y;和GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0437] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQSVGSNLA(SEQ ID NO:48)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;GASTRAT(SEQ ID NO:49)的VLCDR2氨基酸序列;和QQHNAFPYT(SEQ ID NO:50)的VLCDR3氨基酸序列。

[0438] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0439] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基368-387处,每个残基的平均氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da;以及

[0440] (ii)所述抗体分子包含:

[0441] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2AMS(SEQ ID NO:88)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、Y、或S,并且X_2是Y或N;$X_1IX_2GX_3GX_4X_5$TYYADSVKG(SEQ ID NO:89)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是A或S,X_2是S或T,X_3是S或T,X_4是M、G、或S,并且X_5是N、S、L、或Y;和GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0442] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQSVGSNLA(SEQ ID NO:48)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;GASTRAT(SEQ ID NO:49)的VLCDR2氨基酸序列;和QQHNAFPYT(SEQ ID NO:50)的VLCDR3氨基酸序列。

[0443] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0444] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的平均氢氘交换减少低于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da;以及

[0445] (ii)所述抗体分子包含:

[0446] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2AMS(SEQ ID NO:88)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、Y、或S,并且X_2是Y或N;$X_1IX_2GX_3GX_4X_5$TYYADSVKG(SEQ ID NO:89)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是A或S,X_2是S或T,X_3是S或T,X_4是M、G、或S,并且X_5是N、S、L、或Y;和GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0447] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQSVGSNLA(SEQ ID NO:48)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;GASTRAT(SEQ ID NO:49)的VLCDR2氨基酸序列;和QQHNAFPYT(SEQ ID NO:50)的VLCDR3氨基酸序列。

[0448] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0449] (i)所述抗体分子与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个、或

四个残基,和/或与SEQ ID NO:105的残基206-215的至少一个、两个、三个、四个或五个残基结合;以及

[0450] (ii)所述抗体分子包含:

[0451] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2AMS(SEQ ID NO:88)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、Y、或S,并且X_2是Y或N;$X_1IX_2GX_3GX_4X_5$TYYADSVKG(SEQ ID NO:89)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是A或S,X_2是S或T,X_3是S或T,X_4是M、G、或S,并且X_5是N、S、L、或Y;和GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0452] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQSVGSNLA(SEQ ID NO:48)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;GASTRAT(SEQ ID NO:49)的VLCDR2氨基酸序列;和QQHNAFPYT(SEQ ID NO:50)的VLCDR3氨基酸序列。

[0453] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0454] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、或残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换;以及

[0455] (ii)所述抗体分子包含:

[0456] (a)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0457] (b)VH,其包含SEQ ID NO:72的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0458] (c)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0459] (d)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0460] (e)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;或

[0461] (f)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[0462] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平

均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。

[0463] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0464] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387、或SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换;以及

[0465] (ii)所述抗体分子包含:

[0466] (a)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0467] (b)VH,其包含SEQ ID NO:72的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0468] (c)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0469] (d)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0470] (e)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;或

[0471] (f)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[0472] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平

均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。

[0473] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0474] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有平均氢氘交换最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215;以及

[0475] (ii)所述抗体分子包含:

[0476] (a)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0477] (b)VH,其包含SEQ ID NO:72的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0478] (c)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0479] (d)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0480] (e)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;或

[0481] (f)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[0482] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0483] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,

例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基368-387处,每个残基的平均氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da;以及

[0484] (ii)所述抗体分子包含:

[0485] (a)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0486] (b)VH,其包含SEQ ID NO:72的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0487] (c)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0488] (d)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0489] (e)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;或

[0490] (f)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[0491] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0492] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的平均氢氘交换减少低于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da;以及

[0493] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0494] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0495] (i)所述抗体分子与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个、或四个残基,和/或与SEQ ID NO:105的残基206-215的至少一个、两个、三个、四个或五个残基结合;以及

[0496] (ii)所述抗体分子包含:

[0497] (a)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0498] (b)VH,其包含SEQ ID NO:72的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0499] (c)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0500] (d)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0501] (e)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;或

[0502] (f)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[0503] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0504] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、或残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换;以及

[0505] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0506] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。

[0507] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0508] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,

例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387、或SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换;以及

[0509] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0510] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。

[0511] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0512] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有平均氢氘交换最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215;以及

[0513] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0514] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0515] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基368-387处,每个残基的平均氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da;以及

[0516] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0517] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0518] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的平均氢氘交换减少低于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da;以及

[0519] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0520] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0521] (i)所述抗体分子与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个、或四个残基,和/或与SEQ ID NO:105的残基206-215的至少一个、两个、三个、四个或五个残基结合;以及

[0522] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0523] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0524] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、或残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换;以及

[0525] (ii)所述抗体分子包含:

[0526] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2YWS(SEQ ID NO:90)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、G、或S,并且X_2是Y或R;YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS(SEQ ID NO:91)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是G或S,X_2是R、S或T,并且X_3是N或K;和ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0527] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQGISSWLA(SEQ ID NO:14)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;AASSLQS(SEQ ID NO:15)的VLCDR2氨基酸序列;和QQGNSFPRT(SEQ ID NO:16)的VLCDR3氨基酸序列。

[0528] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残

基158-172、SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。

[0529] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0530] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387、或SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换;以及

[0531] (ii)所述抗体分子包含:

[0532] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2YWS(SEQ ID NO:90)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、G、或S,并且X_2是Y或R;YIY$X_1$$X_2GSTX_3$YNPSLKS(SEQ ID NO:91)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是G或S,X_2是R、S或T,并且X_3是N或K;和ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0533] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQGISSWLA(SEQ ID NO:14)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;AASSLQS(SEQ ID NO:15)的VLCDR2氨基酸序列;和QQGNSFPRT(SEQ ID NO:16)的VLCDR3氨基酸序列。

[0534] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。

[0535] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0536] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有平均氢氘交换最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215;以及

[0537] (ii)所述抗体分子包含:

[0538] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2YWS(SEQ ID NO:90)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、G、或S,并且X_2是Y或R;YIYX$_1$X$_2$GSTX$_3$YNPSLKS(SEQ ID NO:91)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是G或S,X_2是R、S或T,并且X_3是N或K;和ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0539] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQGISSWLA(SEQ ID NO:14)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;AASSLQS(SEQ ID NO:15)的VLCDR2氨基酸序列;和QQGNSFPRT(SEQ ID NO:16)的VLCDR3氨基酸序列。

[0540] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0541] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基368-387处,每个残基的平均氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da;以及

[0542] (ii)所述抗体分子包含:

[0543] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2YWS(SEQ ID NO:90)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、G、或S,并且X_2是Y或R;YIYX$_1$X$_2$GSTX$_3$YNPSLKS(SEQ ID NO:91)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是G或S,X_2是R、S或T,并且X_3是N或K;和ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0544] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQGISSWLA(SEQ ID NO:14)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;AASSLQS(SEQ ID NO:15)的VLCDR2氨基酸序列;和QQGNSFPRT(SEQ ID NO:16)的VLCDR3氨基酸序列。

[0545] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0546] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的平均氢氘交换减少低于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da;以及

[0547] (ii)所述抗体分子包含:

[0548] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2YWS(SEQ ID NO:90)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、G、或S,并且X_2是Y或R;YIYX$_1$X$_2$GSTX$_3$YNPSLKS(SEQ ID NO:91)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是G或S,X_2是R、S或T,并且X_3是N或K;和ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0549] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQGISSWLA(SEQ ID NO:14)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;AASSLQS(SEQ ID NO:15)的VLCDR2氨基酸序列;和QQGNSFPRT(SEQ ID NO:16)的VLCDR3氨基酸序列。

[0550] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0551] (i)所述抗体分子与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个、或四个残基,和/或与SEQ ID NO:105的残基206-215的至少一个、两个、三个、四个或五个残基结合;以及

[0552] (ii)所述抗体分子包含:

[0553] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2YWS(SEQ ID NO:90)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、G、或S,并且X_2是Y或R;YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS(SEQ ID NO:91)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是G或S,X_2是R、S或T,并且X_3是N或K;和ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0554] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQGISSWLA(SEQ ID NO:14)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;AASSLQS(SEQ ID NO:15)的VLCDR2氨基酸序列;和QQGNSFPRT(SEQ ID NO:16)的VLCDR3氨基酸序列。

[0555] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0556] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、或残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换;以及

[0557] (ii)所述抗体分子包含:

[0558] (a)VH,其包含SEQ ID NO:61的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0559] (b)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0560] (c)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;或

[0561] (d)VH,其包含SEQ ID NO:163的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0562] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基158-172以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残

基158-172、SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基368-387处的平均氢氘交换。

[0563] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0564] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387、或SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换;以及

[0565] (ii)所述抗体分子包含:

[0566] (a)VH,其包含SEQ ID NO:61的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0567] (b)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0568] (c)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;或

[0569] (d)VH,其包含SEQ ID NO:163的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0570] 在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基368-387处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。在一个实施例中,抗体结合以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、SEQ ID NO:105的残基368-387以及SEQ ID NO:105的残基297-309处更大的程度降低在SEQ ID NO:105的残基158-172处的平均氢氘交换。

[0571] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0572] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171

的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有平均氢氘交换最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215;以及

[0573] (ii)所述抗体分子包含:

[0574] (a)VH,其包含SEQ ID NO:61的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0575] (b)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0576] (c)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;或

[0577] (d)VH,其包含SEQ ID NO:163的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0578] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0579] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基368-387处,每个残基的平均氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da;以及

[0580] (ii)所述抗体分子包含:

[0581] (a)VH,其包含SEQ ID NO:61的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0582] (b)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0583] (c)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;或

[0584] (d)VH,其包含SEQ ID NO:163的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0585] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0586] (i)当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例2中所述的氢氘交换质谱法,例如在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至

包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的平均氢氘交换减少低于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da;以及

[0587] (ii)所述抗体分子包含:

[0588] (a)VH,其包含SEQ ID NO:61的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0589] (b)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0590] (c)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;或

[0591] (d)VH,其包含SEQ ID NO:163的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0592] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0593] (i)所述抗体分子与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个、或四个残基,和/或与SEQ ID NO:105的残基206-215的至少一个、两个、三个、四个或五个残基结合;以及

[0594] (ii)所述抗体分子包含:

[0595] (a)VH,其包含SEQ ID NO:61的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0596] (b)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0597] (c)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;或

[0598] (d)VH,其包含SEQ ID NO:163的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0599] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0600] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性;以及

[0601] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0602] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0603] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性;以及

[0604] (ii)所述抗体分子包含:

[0605] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2AMS(SEQ ID NO:88)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、Y、或S,并且X_2是Y或N;$X_1IX_2GX_3GX_4X_5$TYYADSVKG(SEQ ID NO:89)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是A或S,X_2是S或T,X_3是S或T,X_4是M、G、或S,并且X_5是N、S、L、或Y;和GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的VHCDR3氨基酸序列;以及

[0606] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQSVGSNLA(SEQ ID NO:48)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;GASTRAT(SEQ ID NO:49)的VLCDR2氨基酸序列;和QQHNAFPYT(SEQ ID NO:50)的VLCDR3氨基酸序列。

[0607] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0608] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性;以及

[0609] (ii)所述抗体分子包含:

[0610] (a)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0611] (b)VH,其包含SEQ ID NO:72的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0612] (c)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0613] (d)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[0614] (e)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;或

[0615] (f)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[0616] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0617] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性;以及;

[0618] (ii)所述抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的重链互补决定区3(VHCDR3)氨基酸序列。

[0619] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0620] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性;以及

[0621] (ii)所述抗体分子包含:

[0622] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含X_1X_2YWS(SEQ ID NO:90)的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列,其中X_1是R、G、或S,并且X_2是Y或R;YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS(SEQ ID NO:91)的VHCDR2氨基酸序列,其中X_1是G或S,X_2是R、S或T,并且X_3是N或K;和ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的VHCDR3氨基酸序列;和/或

[0623] (b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含RASQGISSWLA(SEQ ID NO:14)的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列;AASSLQS(SEQ ID NO:15)的VLCDR2氨基酸序列;和QQGNSFPRT(SEQ ID NO:16)的VLCDR3氨基酸序列。

[0624] 在一个方面,本文披露了一种结合人CD73的抗体分子,其中:

[0625] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性;以及;

[0626] (ii)所述抗体分子包含:

[0627] (a)VH,其包含SEQ ID NO:61的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0628] (b)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[0629] (c)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;或

[0630] (d)VH,其包含SEQ ID NO:163的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0631] 抗CD73抗体分子的用途

[0632] 本文披露的抗体分子可以调节(例如,增强、刺激、增加、抑制、减少或中和)CD73的一种或多种活性。在一些实施例中,抗体分子导致以下中的一种或多种:抑制或减少CD73的酶活性;抑制或减少腺苷单磷酸(AMP)转化为腺苷;以及在腺苷单磷酸(AMP)存在下,增加抗CD3/抗CD28刺激的T细胞,例如CD4+ T细胞的增殖。

[0633] 在一些实施例中,抗体分子抑制或降低CD73(例如,可溶性人CD73或膜结合人CD73)的酶活性,例如抑制或降低人CD73介导的腺苷单磷酸(AMP)向腺苷的转化,例如通过本文所述的方法(例如,如例如实例1中描述的孔雀石绿(MG)磷酸盐测定或改良的Cell

Titer Glo(CTG)测定)确定的。

[0634] 在一些实施例中,例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性。在一个实施例中,例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用包括如下步骤的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测试时,所述抗体分子抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性:

[0635] (i)将抗体分子的剂量滴定(例如,1000ng/ml)与20,000细胞/ml表达人CD73的人癌症细胞系(例如,人乳腺癌细胞系MDA-MB-231或人卵巢癌细胞系SKOV3)一起在100μM AMP存在下,在37℃下孵育持续240分钟;

[0636] (ii)使用例如实例1中描述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测量AMP的消失;以及

[0637] (iii)使用零时对照作为100%抑制和使用无抗体对照作为0%抑制,计算抗体分子介导的抑制百分比。

[0638] 在一些实施例中,在腺苷单磷酸(AMP)存在下,抗体分子增加抗CD3/抗CD28刺激的T细胞,例如CD4+ T细胞的增殖,例如通过本文所述的方法(例如,CellTrace Violet(CTV)细胞增殖测定,例如实例1的测定)确定的。

[0639] 在某些方面,提供了一种调节(例如刺激或抑制)受试者中的免疫应答的方法。该方法包括向受试者单独施用或与一种或多种治疗剂或治疗术组合(例如,与抗肿瘤疗法,例如化学疗法、放射疗法和/或其他免疫调节剂组合)施用本文披露的抗CD73抗体分子(例如,治疗有效量的抗CD73抗体分子),从而调节受试者中的免疫应答。在一些实施例中,抗体分子抑制、减少或中和受试者的免疫应答。

[0640] 受试者可以是哺乳动物,例如猴、灵长类动物,优选高等灵长类动物,例如人(例如患有本文所述的障碍或处于患有本文所述的障碍的风险的患者)。在一些实施例中,受试者需要增强免疫应答,而在一些实施例中,受试者需要抑制免疫应答。在一些实施例中,受试者患有本文所述障碍,例如,如本文所述的癌症,或处于其风险中。在某些实施例中,受试者是免疫受损的或处于免疫受损的风险中。例如,受试者正在经历或已经历化学治疗和/或放射疗法。

[0641] 在一个方面,提供了一种刺激受试者中的免疫应答的方法。该方法包括向受试者单独施用或与一种或多种治疗剂或治疗术组合施用本文披露的抗CD73抗体分子(例如,治疗有效量的抗CD73抗体分子)。

[0642] 在一个方面,提供了对受试者的癌症或肿瘤进行治疗(例如,减轻、抑制或延迟进展中的一者或多者)的方法。该方法包括向受试者单独施用或与一种或多种治疗剂或治疗术组合施用本文披露的抗CD73抗体分子(例如,治疗有效量的抗CD73抗体分子)。

[0643] 在一些实施例中,将抗体分子与第二治疗剂或治疗术组合施用。在一些实施例中,第二治疗剂或治疗术选自化学疗法、靶向抗癌疗法、溶瘤药物、细胞毒性剂、基于免疫的疗法、细胞因子、外科手术、放射程序、共刺激分子的激活剂、抑制分子的抑制剂(例如,检查点抑制剂的抑制剂)、疫苗或细胞疗法中的一种或多种。在一些实施例中,第二治疗剂选自以下的一种或多种:1)蛋白激酶C(PKC)抑制剂;2)热休克蛋白90(HSP90)抑制剂;3)磷酸肌醇3-激酶(PI3K)和/或雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的抑制剂;4)细胞色素P450的抑制剂(例如,

CYP17抑制剂或17α-羟化酶/C17-20裂解酶抑制剂);5)铁螯合剂;6)芳香酶抑制剂;7)p53抑制剂,例如,p53/Mdm2相互作用的抑制剂;8)细胞凋亡诱导剂;9)血管生成抑制剂;10)醛固酮合酶抑制剂;11)平滑(SMO)受体抑制剂;12)催乳素受体(PRLR)抑制剂;13)Wnt信号传导抑制剂;14)CDK4/6抑制剂;15)成纤维细胞生长因子受体2(FGFR2)/成纤维细胞生长因子受体4(FGFR4)抑制剂;16)巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)的抑制剂;17)c-KIT、组胺释放、Flt3(例如FLK2/STK1)或PKC中的一种或多种的抑制剂;18)VEGFR-2(例如FLK-1/KDR)、PDGFRβ、c-KIT或Raf激酶C中一种或多种的抑制剂;19)生长激素抑制素激动剂和/或生长激素释放抑制剂;20)间变性淋巴瘤激酶(ALK)抑制剂;21)胰岛素样生长因子1受体(IGF-1R)抑制剂;22)P-糖蛋白1抑制剂;23)血管内皮生长因子受体(VEGFR)抑制剂;24)BCR-ABL激酶抑制剂;25)FGFR抑制剂;26)CYP11B2的抑制剂;27)HDM2抑制剂,例如HDM2-p53相互作用的抑制剂;28)酪氨酸激酶的抑制剂;29)c-MET的抑制剂;30)JAK的抑制剂;31)DAC的抑制剂;32)11β-羟化酶的抑制剂;33)IAP的抑制剂;34)PIM激酶的抑制剂;35)博库派恩的抑制剂;36)BRAF(例如BRAF V600E或野生型BRAF)的抑制剂;37)HER3的抑制剂;38)MEK的抑制剂;或39)脂质激酶的抑制剂。

[0644] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与PD-1抑制剂组合施用。在一些实施例中,PD-1抑制剂选自由PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗(pidilizumab)、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591和AMP-224组成的组。在一些实施例中,PD-1抑制剂是抗PD-1抗体分子。在一些实施例中,施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约250mg至350mg、约350mg至450mg、或约450mg至550mg,例如剂量为约300mg或约400mg,例如每三周施用一次(Q3W)或每四周施用一次(Q4W),例如剂量为约300mg Q3W、或剂量为约400mg Q4W。在一个实施例中,施用抗PD-1抗体分子,例如通过输注经30分钟的时段或经长达2小时的时段施用。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg、约100mg至500mg、约500mg至1000mg、约1000mg至1500mg、约1500mg至2000mg、约2000mg至2500mg、约2500mg至3000mg、约3000mg至3500mg、或约3500mg至4000mg,例如剂量为约6mg、约20mg、约60mg、约200mg、约600mg、约1200mg、约2400mg、约3000mg、或约3600mg,例如每周施用一次(QW)、每两周施用一次(Q2W)、或每四周施用一次(Q4W),例如Q2W。在一个实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如通过输注经30分钟的时段、经1小时的时段、或经长达2小时的时段施用。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如20mg,Q2W;并且施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如60mg,Q2W;并且施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约100mg至500mg,例如200mg,Q2W;并且施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约500mg至1000mg,例如600mg,Q2W;并且施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1000mg至1500mg,例如1200mg,Q2W;并且施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;并且施用抗PD-1抗体

分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg至3500mg,例如3000mg,Q2W;并且施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3500mg至4000mg,例如3600mg,Q2W;并且施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W。

[0645] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与PD-L1抑制剂组合施用。在一些实施例中,PD-L1抑制剂选自由FAZ053、阿特珠单抗(Atezolizumab)、阿维鲁单抗(Avelumab)、度伐鲁单抗(Durvalumab)、和BMS-936559组成的组。

[0646] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与CTLA-4抑制剂组合施用。在一些实施例中,CTLA-4抑制剂是艾匹利木单抗或曲美利木单抗。

[0647] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与TIM-3抑制剂组合施用。在一些实施例中,TIM-3抑制剂选自MGB453、TSR-022或LY3321367。

[0648] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与LAG-3抑制剂组合施用。在一些实施例中,LAG-3抑制剂选自由LAG525、BMS-986016、TSR-033、MK-4280、和REGN3767组成的组。

[0649] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与GITR激动剂组合施用。在一些实施例中,GITR激动剂选自由GWN323(诺华公司(Novartis))、BMS-986156(BMS)、MK-4166或MK-1248(默克公司(Merck))、TRX518(利普治疗公司(Leap Therapeutics))、INCAGN1876(Incyte/Agenus)、AMG 228(美商安进公司(Amgen))或INBRX-110(Inhibrx公司)组成的组。

[0650] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与抗CD3多特异性抗体分子组合施用。在一些实施例中,抗CD3多特异性抗体分子是抗CD3 x抗CD123双特异性抗体分子(例如XENP14045)、或抗CD3 x抗CD20双特异性抗体分子(例如XENP13676)。

[0651] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与细胞因子分子组合施用。在一些实施例中,细胞因子分子是与可溶形式的IL-15受体α(IL-15Ra)复合的IL-15。

[0652] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与STING激动剂组合施用。

[0653] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)抑制剂组合施用,任选地其中所述M-CSF抑制剂是MCS110。

[0654] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与CSF-1R抑制剂组合施用,任选地其中所述CSF-1R抑制剂是BLZ945。

[0655] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)和/或色氨酸2,3-双加氧酶(TDO)的抑制剂组合施用。

[0656] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与TGF-β抑制剂组合施用。

[0657] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与腺苷A2AR拮抗剂组合施用。在一些实施例中,腺苷A2AR拮抗剂选自由以下组成的组:PBF509、CPI444、AZD4635、维帕迪南(Vipadenant)、GBV-2034和AB928。在一些实施例中,腺苷A2AR拮抗剂选自由以下组成的组:5-溴-2,6-二-(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺;(S)-7-(5-甲基呋喃-2-基)-3-((6-(((四氢呋喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺;(R)-7-(5-甲基呋喃-2-基)-3-((6-(((四氢呋喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺,或其外消旋物;7-(5-甲基呋喃-2-基)-3-((6-(((四氢呋喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺;以及6-(2-氯-6-甲基吡啶-4-

基)-5-(4-氟苯基)-1,2,4-三嗪-3-胺。在一些实施例中,施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg、约60mg至100mg、约100mg至140mg、约140mg至180mg、约180mg至220mg、约220mg至260mg、约260mg至300mg、约300mg至340mg、约340mg至380mg、约380mg至480mg、约480mg至580mg、或约580mg至680mg,例如剂量为约40mg、约80mg、约160mg、约320mg、约480mg、或约620mg,例如每天施用一次(QD)、每天施用两次(BID)、或每天施用三次(TID),例如BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg、约100mg至500mg、约500mg至1000mg、约1000mg至1500mg、约1500mg至2000mg、约2000mg至2500mg、约2500mg至3000mg、约3000mg至3500mg、或约3500mg至4000mg,例如剂量为约6mg、约20mg、约60mg、约200mg、约600mg、约1200mg、约2400mg、约3000mg、或约3600mg,例如每周施用一次(QW)、每两周施用一次(Q2W)、或每四周施用一次(Q4W),例如Q2W。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如20mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如20mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约60mg至100mg,例如80mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如20mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如20mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如60mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如60mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约60mg至100mg,例如80mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如60mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如60mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约100mg至500mg,例如200mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约100mg至500mg,例如200mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约60mg至100mg,例如80mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约100mg至500mg,例如200mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约100mg至500mg,例如200mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约500mg至1000mg,例如600mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约500mg至1000mg,例如600mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约60mg至100mg,例如80mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约500mg至1000mg,例如600mg,Q2W;并且

施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约500mg至1000mg,例如600mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1000mg至1500mg,例如1200mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1000mg至1500mg,例如1200mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约60mg至100mg,例如80mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1000mg至1500mg,例如1200mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1000mg至1500mg,例如1200mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约60mg至100mg,例如80mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约480mg至580mg,例如480mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约580mg至680mg,例如620mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg至3500mg,例如3000mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg至3500mg,例如3000mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约480mg至580mg,例如480mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg至3500mg,例如3000mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约580mg至680mg,例如620mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3500mg至4000mg,例如3600mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3500mg至4000mg,例如3600mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约480mg至580mg,例如480mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3500mg至4000mg,例如3600mg,Q2W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约580mg至680mg,例如620mg,BID。

[0658] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与PD-1抑制剂和腺苷A2AR拮抗剂组合施用。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg、约100mg至

500mg、约500mg至1000mg、约1000mg至1500mg、约1500mg至2000mg、约2000mg至2500mg、约2500mg至3000mg、约3000mg至3500mg、或约3500mg至4000mg,例如剂量为约6mg、约20mg、约60mg、约200mg、约600mg、约1200mg、约2400mg、约3000mg、或约3600mg,例如每周施用一次(QW)、每两周施用一次(Q2W)、或每四周施用一次(Q4W),例如Q2W。在一些实施例中,PD-1抑制剂是抗PD-1抗体分子。在一些实施例中,施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约250mg至350mg、约350mg至450mg、或约450mg至550mg,例如剂量为约300mg或约400mg,例如每三周施用一次(Q3W)或每四周施用一次(Q4W),例如剂量为约300mg Q3W、或剂量为约400mg Q4W。在一些实施例中,施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg、约60mg至100mg、约100mg至140mg、约140mg至180mg、约180mg至220mg、约220mg至260mg、约260mg至300mg、约300mg至340mg、约340mg至380mg、约380mg至480mg、约480mg至580mg、或约580mg至680mg,例如剂量为约40mg、约80mg、约160mg、约320mg、约480mg、或约620mg,例如每天施用一次(QD)、每天施用两次(BID)、或每天施用三次(TID),例如BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如20mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如20mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约60mg至100mg,例如80mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如20mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如20mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如60mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如60mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约60mg至100mg,例如80mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如60mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如60mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约100mg至500mg,例如200mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约100mg至

500mg,例如200mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约60mg至100mg,例如80mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约100mg至500mg,例如200mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约100mg至500mg,例如200mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约500mg至1000mg,例如600mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约500mg至1000mg,例如600mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约60mg至100mg,例如80mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约500mg至1000mg,例如600mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约500mg至1000mg,例如600mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1000mg至1500mg,例如1200mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1000mg至1500mg,例如1200mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约60mg至100mg,例如80mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1000mg至1500mg,例如1200mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1000mg至1500mg,例如1200mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约60mg至100mg,例如80mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂

量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约480mg至580mg,例如480mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约580mg至680mg,例如620mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg至3500mg,例如3000mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg至3500mg,例如3000mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约480mg至580mg,例如480mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg至3500mg,例如3000mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约580mg至680mg,例如620mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3500mg至4000mg,例如3600mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3500mg至4000mg,例如3600mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约480mg至580mg,例如480mg,BID。在一些实施例中,施用抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3500mg至4000mg,例如3600mg,Q2W;施用抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约580mg至680mg,例如620mg,BID。

[0659] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与PD-L1抑制剂和腺苷A2AR拮抗剂组合施用。

[0660] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与嵌合抗原受体(CAR)T细胞疗法组合施用。在一些实施例中,CAR T细胞疗法是CTL019。

[0661] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子与表18中披露的一种或多种药剂组合施用,所述药剂是例如以下中的一种或多种:1)蛋白激酶C(PKC)抑制剂;2)热休克蛋白90(HSP90)抑制剂;3)磷酸肌醇3-激酶(PI3K)和/或雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的抑制剂;4)细胞色素P450的抑制剂(例如,CYP17抑制剂或17α-羟化酶/C17-20裂解酶抑制剂);5)铁螯合剂;6)芳香酶抑制剂;7)p53抑制剂,例如,p53/Mdm2相互作用的抑制剂;8)细胞凋亡诱导剂;9)血管生成抑制剂;10)醛固酮合酶抑制剂;11)平滑(SMO)受体抑制剂;12)催乳素受体(PRLR)抑制剂;13)Wnt信号传导抑制剂;14)CDK4/6抑制剂;15)成纤维细胞生长因子受体2(FGFR2)/成纤维细

胞生长因子受体4(FGFR4)抑制剂;16)巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)的抑制剂;17)c-KIT、组胺释放、Flt3(例如FLK2/STK1)或PKC中的一种或多种的抑制剂;18)VEGFR-2(例如FLK-1/KDR)、PDGFRβ、c-KIT或Raf激酶C中一种或多种的抑制剂;19)生长激素抑制素激动剂和/或生长激素释放抑制剂;20)间变性淋巴瘤激酶(ALK)抑制剂;21)胰岛素样生长因子1受体(IGF-1R)抑制剂;22)P-糖蛋白1抑制剂;23)血管内皮生长因子受体(VEGFR)抑制剂;24)BCR-ABL激酶抑制剂;25)FGFR抑制剂;26)CYP11B2的抑制剂;27)HDM2抑制剂,例如HDM2-p53相互作用的抑制剂;28)酪氨酸激酶的抑制剂;29)c-MET的抑制剂;30)JAK的抑制剂;31)DAC的抑制剂;32)11β-羟化酶的抑制剂;33)IAP的抑制剂;34)PIM激酶的抑制剂;35)博库派恩的抑制剂;36)BRAF(例如BRAF V600E或野生型BRAF)的抑制剂;37)HER3的抑制剂;38)MEK的抑制剂;或39)脂质激酶(例如,如本文和在表18中所述)的抑制剂。

[0662] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子单独使用或与第二治疗剂或治疗术组合使用治疗的癌症包括但不限于实体瘤、血液癌症(例如白血病、淋巴瘤、骨髓瘤,例如多发性骨髓瘤)和转移性病灶。在一些实施例中,癌症选自肺癌(例如,非小细胞肺癌)、胰腺癌(例如,胰管腺癌)、乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌)、黑色素瘤、头颈癌(例如,鳞状头颈癌)、结直肠癌(例如,微卫星稳定(MSS)结直肠癌)、卵巢癌或肾癌(例如,肾细胞癌)。在某些实施例中,抗CD73抗体分子单独使用或与第二治疗剂或治疗术组合使用,控制肿瘤生长、减少转移和/或改善生存。

[0663] 在某些实施例中,施用抗体分子,剂量为约100mg至1600mg、约100mg至1400mg、约100mg至1200mg、约100mg至1000mg、约100mg至800mg、约100mg至600mg、约100mg至400mg、约100mg至200mg、或约100mg、约180mg或约200mg,例如,每两周施用一次。在一个实施例中,将抗体分子以至少约180mg的剂量施用,每两周一次。

[0664] 在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg、约100mg至500mg、约500mg至1000mg、约1000mg至1500mg、约1500mg至2000mg、约2000mg至2500mg、约2500mg至3000mg、约3000mg至3500mg、或约3500mg至4000mg,例如每周施用一次(QW)、每两周施用一次(Q2W)、或每四周施用一次(Q4W)。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约6mg、约20mg、约60mg、约200mg、约600mg、约1200mg、约2400mg、约3000mg、或约3600mg,例如QW、Q2W、或Q4W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约60mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约200mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约600mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1200mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2400mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3600mg Q2W。

[0665] 更进一步,本披露提供了增强受试者对抗原的免疫应答的方法,所述方法包括向受试者施用:(i)抗原;和(ii)本文披露的抗CD73抗体分子,从而增强受试者对抗原的免疫应答。抗原可以是例如肿瘤抗原、病毒抗原、细菌抗原或来自病原体的抗原。

[0666] 抗CD73抗体分子可以全身(例如,口服、肠胃外、皮下、静脉内、直肠、肌肉内、腹膜内、鼻内、透皮、或通过吸入或通过腔内装置)施用于受试者。在一个实施例中,静脉内施用抗CD73抗体分子。

[0667] 抗CD73抗体分子能以未缀合形式单独使用,或可以与如下物质结合,例如,细胞毒

性剂或部分(例如,治疗药物;发射辐射的化合物;植物、真菌或细菌来源的分子);或生物蛋白(例如,蛋白毒素)或颗粒(例如,重组病毒颗粒,例如,通过病毒外壳蛋白)。例如,抗CD73抗体可以偶联至放射性同位素,例如α-、β-或γ-发射体,或β-和γ-发射体。

[0668] 抗CD73抗体的剂量和治疗方案可由技术人员确定。

[0669] 在另一个方面,提供了一种检测生物样品或受试者中CD73的方法。在一个实施例中,方法包括(i)在允许如权利要求1-57中任一项所述的抗体分子与CD73发生相互作用的条件下使所述样品或所述受试者(和任选地,参比样品或受试者)与所述抗体分子接触,以及(ii)检测所述抗体分子与所述样品或所述受试者(和任选地,所述参比样品或受试者)之间复合物的形成。

[0670] 本文所述的抗体分子对于在本文所述的方法中使用而言是优选的,但是也可以使用其他抗CD73抗体来代替,或与如本发明所述的抗CD73抗体分子组合使用。

附图说明

[0671] 图1是显示通过流式细胞术测量的抗CD73抗体或同种型对照抗体与CD8+ T细胞的结合的图。MFI值相对于抗体浓度作图。测试的抗体是抗CD73抗体350、356、358、373、374、377和379,以及同种型对照抗体,均以.B形式表示。

[0672] 图2A和2B是显示孔雀石绿无机磷酸盐测定的结果的图,该测定测试了抗CD73抗体抑制人CD73介导的腺苷单磷酸(AMP)向腺苷的转化的能力。将无机磷酸盐(Pi)的释放速率相对于测试的AMP浓度作图。如图2A所示,将重组人CD73与仅具有缓冲液(“hCD73 Km”)或存在IgG1同种型对照抗体(“ISO.C”)的底物AMP一起孵育。如图2B所示,将重组CD73与仅具有缓冲液(“hCD73 Km”)或存在指示浓度(“1μg/ml 350.C”、“0.3μg/ml 350.C”或“0.1μg/ml 350.C”)的抗CD73抗体350.C的AMP一起孵育。

[0673] 图3A、3B、和3C是显示孔雀石绿(MG)无机磷酸盐测定的结果的图,该测定测试了抗CD73抗体抑制重组可溶人或食蟹猴CD73的酶活性的能力。对于使用重组人CD73(图3A和3B)或食蟹猴CD73(图3C)的研究,将%INH磷酸盐形成相对于抗CD73抗体浓度作图。测试的抗体是抗CD73抗体350、356、373和374,以.A或.B形式表示。

[0674] 图4是显示改良的Cell Titer Glo(CTG)测定的结果的图,该测定检查了抗CD73抗体针对从乳腺癌细胞系MDA-MB-231脱落的CD73的酶抑制活性。将%INH相对于一系列抗CD73抗体浓度作图。测试的抗体是以.A或.B形式表示的抗CD73抗体350和373、IgG4 S228P同种型对照抗体(“ISO.A”)和IgG4 S228P/L235E同种型对照抗体(“ISO.B”)。

[0675] 图5是显示改良的Cell Titer Glo(CTG)测定的结果的图,该测定检查了抗CD73抗体抑制胰腺癌患者血清中CD73的酶活性的能力。相对于抗CD73抗体浓度绘制%INH AMP转化。测试的抗CD73抗体是350、356、358、373、374、377、和379,全部以.B形式表示。

[0676] 图6是显示使用孔雀石绿磷酸盐测定测量的,在乳腺癌细胞系MDA-MB-231的表面上表达的CD73的抑制的图。将%INH AMP转化相对于一系列抗CD73抗体浓度作图。测试的抗CD73抗体是350、356、358、373、374、377、和379,全部处于.B形式。

[0677] 图7A、7B、7C、和7D是显示改良的Cell Titer Glo(CTG)测定的结果的柱状图,该测定测试了抗CD73抗体抑制在人乳腺癌细胞系MDA-MB-231(图7A和7C)或鼠乳腺癌细胞系4T1(图7B和7D)表面表达的CD73的酶活性的能力。y轴显示相对于无抗体(完全转化)对照和零

时(无转化)对照的抑制百分比。对于每种抗体,从左到右的柱形分别代表10、3、1和0.3μg/ml剂量。测试的抗体是谱系1抗体918、350、356和358(图7A和7B)且谱系3抗体930、373、374、376、377和379(图7C和7D)。

[0678] 图8A和8B是显示通过改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测量的,抗CD73抗体针对在人乳腺癌细胞系MDA-MB-231或人卵巢癌细胞系SKOV3上表达的表面CD73的酶抑制活性的图。将%INH相对于抗CD73抗体浓度作图。测试的抗CD73抗体是350和373,以.A或.B形式表示。

[0679] 图9A和9B是类似于图8A和8B的图。测试的抗体是抗CD73抗体350、356、373和374,处于.A或.B形式。

[0680] 图10是显示通过改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测量的,抗CD73抗体针对在HEK293细胞上过量表达的人CD73的抑制的图。将%INH AMP转化相对于一系列抗CD73抗体浓度作图。测试的抗体是抗CD73抗体350、356、373和374,处于.A或.B形式。

[0681] 图11A和11B是显示通过改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测量的,抗CD73抗体针对在从两个单独的供体分离的初级人PBMC上表达的CD73的抑制的图。将%INH相对于一系列抗CD73抗体浓度作图。测试的抗CD73抗体是350、356、和358,全部处于.B形式。

[0682] 图12A和12B是显示在AMP和抗CD73抗体存在下抗CD3/28刺激的CD4+ T细胞的增殖的图。将增殖指数(T细胞分裂的量度)相对于一系列抗体浓度作图。图12A显示了测试抗CD73抗体350、356、358、374、377和379(全部处于.B形式)的研究的结果。图12B显示了使用抗体350和372(以.A或.B形式表示)的研究的结果。

[0683] 图13是显示测试抗CD73抗体在体内抑制CD73的酶活性的能力的异种移植研究结果的柱状图。y轴显示通过质谱法测量的,植入了CD73高表达的乳腺癌细胞系(MDA-MB-231)的免疫受损小鼠的血清中的腺苷和肌苷水平。抗CD73抗体350、356、373和374(以.A或.B形式表示)以20或200μg/小鼠腹膜内施用。对照多克隆人IgG抗体的施用量为200μg/小鼠。

[0684] 图14是显示通过片段氢氘交换质谱法(HDx-MS)测量的,373.A和373.B的保护谱的比较的图。图14显示了在pH 7.5和室温下1分钟交换的结果。

[0685] 图15是显示通过片段氢氘交换质谱法(HDx-MS)测量的,350.A2和350.B的保护谱的比较的图。图15显示了在pH 7.5和室温下1分钟交换的结果。

[0686] 图16A是显示CD73在封闭/有活性(蛋白质数据库(PDB)4H2I)和开放/无活性构象(PDB 4H2F)之间的构象变化的图。图16B是显示在将c-末端结构域与PDB 4H1S对齐之后,由两个单元的PDB 4H2F构成的CD73二聚体的开放/开放构象的图。

[0687] 图17A和17B分别是显示CD73-373.A和CD73-373.B复合物的SEC谱的图。

[0688] 图18A和18B分别是显示CD73-350.A2和CD73-350.B复合物的SEC谱的图。

[0689] 图19是显示使用积分方法计算的CD73/mAb种类的相对百分比的图。

[0690] 图20是显示用于统一HDx和SEC解释的低聚模型(oligomerization model)的示意图。

[0691] 图21A和21B是显示在用泛抗TGFβ抗体或hIgG2同种型对照治疗的小鼠的4T1肿瘤中通过流式细胞术分析的基质细胞亚群中CD73表达的图。在图21A中,与用匹配的同种型对照染色的样品相比,CD73表达显示为荧光强度。显示了一个代表性的样品。在图21B中,描述了以平均荧光强度测量的CD73表达的定量。每个符号代表一个样本。在显著的地方标出了P

值。CAF＝癌症相关的成纤维细胞。

[0692] 图22A、22B和22C是显示评估抗CD73抗体对B细胞中类别转换重组的影响的测定结果的图。从健康供体的外周血中分离初始($CD19^{+}CD27^{-}IgM^{+}IgD^{+}$)$CD73^{+}$和$CD73^{-}$B细胞,用CFSE标记并在体外用CpG 2006、抗CD40、IL-2、IL-21和转铁蛋白刺激。在抗CD73抗体350.B或同种型对照抗体(IgG4)存在下,以三种不同的浓度培养细胞:1、10和100ng/mL。在图22A中,在7天培养上清液中使用ELISA测定法测量了IgM分泌。在图22B中,在第7天测量了B细胞增殖,并且针对测试的三种不同浓度绘制了在CFSE稀释的群体上电子门控之后计数的分裂细胞的数量。在图22C中,在同一时间点通过ELISPOT测定法计数了IgG分泌细胞(IgG SC)。从两个独立的实验中收集数据。

[0693] 图23是一组图表,显示了所示组的个体肿瘤体积。在第25天,对同型对照小鼠实施安乐死。在抗PD-1治疗组中,对于所有剂量,小鼠接受300μg/小鼠。在350.B治疗组中,小鼠接受的第一剂量为600μg/小鼠,随后是为400μg/小鼠的其余四个剂量。组合组施用相同的给药方案。在第2、5、9、12和17天对所有小鼠进行处理。

[0694] 图24A是一对图,显示了对未标记的373.A预处理的来自两个供体的血液样品,生物素化的373.A的检测。图24B是显示抗体373.A在CD8+T细胞上靶占用百分比的图。

[0695] 图25A和25B是一组图,显示了在TCR介导的活化过程中AMP抑制了CD4+和CD8+ T细胞的增殖,并且抗体373.A可以恢复这种抑制。

[0696] 图26A和26B显示了通过直接焓相互作用(Y110、L132、K136、S155、L157和K162,根据SEQ ID NO:105编号)(图26A)或范德华与疏水相互作用(残基136-138和155-170,根据SEQ ID NO:105编号)(图26B)与350.A2 Fab重链相互作用的CD73残基(粗体、斜体和单下划线),如实例8中测量的。图26C和26D显示了通过直接焓相互作用(R31、R54、E95、E98和S99,根据卡巴特编号进行编号;或R31、R54、E98、E101和S102,根据其在SEQ ID NO:331中的线性位置编号)(图26C)或范德华与疏水相互作用(残基30、31、33、50、52、56、97、98、100和100a,根据卡巴特编号进行编号;或残基30、31、33、50、52、56、100、101、103和104,根据其在SEQ ID NO:331中的线性位置编号)(图26D)与CD73相互作用的350.A2 Fab重链残基(粗体、斜体和单下划线),如实例8中测量的。图26E和26F显示了通过直接焓相互作用(T209,根据SEQ ID NO:105编号)(图26E)或范德华与疏水相互作用(残基209和210,根据SEQ ID NO:105编号)(图26F)与350.A2 Fab轻链相互作用的CD73残基(粗体、斜体和单下划线),如实例8中测量的。图26G和26H显示了通过直接焓相互作用(W32,根据卡巴特编号或其在SEQ ID NO:23中的线性位置进行编号)(图26G)或范德华与疏水相互作用(残基30和32,根据卡巴特编号或其在SEQ ID NO:23中的线性位置进行编号)(图26H)与CD73相互作用的350.A2Fab轻链残基(粗体、斜体和单下划线),如实例8中测量的。信号肽在图26A、26B、26E和26F中用双下划线标出。

[0697] 图27A和27B是显示在30s标记脉冲后观察到的针对CD73/mAb复合物和仅CD73的标记比之间的差异的图。

[0698] 图28A和28B是显示在300s标记后观察到的针对CD73/mAb复合物和仅CD73的标记比之间的差异的图。

[0699] 表的说明

[0700] 表1提供了示例性抗CD73抗体的氨基酸和核苷酸序列。

[0701] 表2提供了示例性抗CD73抗体的共有CDR序列。

[0702] 表3提供了人IgG重链和人κ轻链的氨基酸序列。

[0703] 表4提供了CD73的示例性序列。

[0704] 表5和表6提供了示例性抗PD-1抗体分子的氨基酸和/或核苷酸序列。

[0705] 表7和表8提供了示例性抗PD-L1抗体分子的氨基酸和/或核苷酸序列。

[0706] 表9和表10提供了示例性抗LAG-3抗体分子的氨基酸和/或核苷酸序列。

[0707] 表11和表12提供了示例性抗TIM-3抗体分子的氨基酸和/或核苷酸序列。

[0708] 表13和表14提供了示例性抗GITR抗体分子的氨基酸和/或核苷酸序列。

[0709] 表15提供了示例性抗CD3双特异性抗体分子的氨基酸序列。

[0710] 表16和表17提供了示例性IL15/IL-15Ra复合物的氨基酸酸序列。

[0711] 表18总结了可以与本文所述的抗CD73抗体分子组合施用的所选治疗剂。表18从左到右提供以下:第二治疗剂的化合物名称、化合物结构和披露该化合物的专利公开。

[0712] 表19提供了抗CD73抗体的两个谱系的命名。

[0713] 表20提供了抗CD73抗体的亲和力。

[0714] 表21提供了抗CD73 Fab的亲和力。

[0715] 表22提供了373.A的临时剂量水平。

[0716] 表23提供了与PBF509组合使用的373.A的临时剂量水平。

[0717] 表24提供了与BAP049-克隆-E组合使用的373.A的临时剂量水平。

[0718] 表25提供了与373.A和BAP049-克隆-E组合使用的PBF509的临时剂量水平。

[0719] 表26提供了抗CD73抗体的相应种系序列。

具体实施方式

[0720] 如本文所用,术语“CD73”是指“分化簇73”,也称为5'-核苷酸酶(5'-NT)或胞外5'-核苷酸酶。术语“CD73”包括全长野生型CD73的突变体、片段、变体、同种型和同源物。在一个实施例中,CD73蛋白由NT5E基因编码。示例性CD73序列可在Uniprot数据库中以登录号Q6NZX3和P21589获得。示例性的未成熟CD73氨基酸序列提供为SEQ ID NO:105-107。“CD73单体”是指包含CD73的胞外结构域的多肽。在一个实施例中,CD73单体是全长CD73。“CD73二聚体”是指由彼此相互作用形成稳定的二聚体(例如,通过CD73单体的C-末端结构域之间的蛋白质-蛋白质相互作用形成的二聚体)的两个CD73单体(例如,两个相同的CD73单体)组成的两个多肽(例如,两个非共价缔合的多肽)。在一个实施例中,CD73二聚体是天然存在的CD73二聚体。

[0721] 不希望受理论束缚,人CD73具有两个结构域。保守的N-末端结构域(大约对应于SEQ ID NO:105的残基29-310)和保守的C-末端结构域(大约对应于SEQ ID NO:105的残基343-513),它们通过单个α-螺旋(大约对应于SEQ ID NO:105的残基318-336)连接。活性位点主要在封闭的构象中检测到并在C-和N-末端结构域之间形成。对于酶催化,相对于C-末端结构域,N-末端结构域的约100°的结构域运动可使底物结合和释放成为可能,这是在开放(催化失活)构象中发生的。人CD73通过C-末端结构域之间的蛋白质-蛋白质相互作用形成二聚体。酶的活性构象和非活性构象之间的掩埋面积以及二聚体界面处的分子相互作用显著不同。参见例如,Knapp K等人,Structure[结构]20:2161-73(2012),其通过引用整体

并入本文。

[0722] 因此,本发明至少部分提供了以高亲和力和特异性结合CD73的抗体分子。在一个实施例中,本文披露了结合CD73的人抗体。在一个实施例中,本文披露了能够抑制或降低CD73(例如人CD73,例如可溶性人CD73或膜结合人CD73)的酶活性的抗体分子。在一个实施例中,本文披露了能够抑制或减少CD73介导的腺苷单磷酸(AMP)向腺苷转化的抗体分子。本发明的其他方面包括编码抗体分子的核酸分子、表达载体、宿主细胞和制备这些抗体分子的方法。还提供了免疫缀合物、多特异性或双特异性分子以及包含该抗体分子的药物组合物。本文披露的抗CD73抗体分子可用于治疗、预防和/或诊断癌性或恶性障碍,例如实体瘤和液体瘤,例如,肺癌(例如,非小细胞肺癌)、胰腺癌(例如,胰管腺癌)、乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌)、黑色素瘤、头颈癌(例如,鳞状头颈癌)、结直肠癌(例如,微卫星稳定(MSS)结直肠癌)、卵巢癌或肾癌(例如,肾细胞癌)。本文披露的抗CD73抗体分子可用于治疗、预防和/或诊断传染病。因此,本文披露了用于检测CD73的方法,以及使用抗CD73抗体分子治疗包括癌症和传染病在内的各种障碍的方法。

[0723] 另外的术语在下面和整个申请中定义。

[0724] 如本文所用,冠词“一个”和“一种”是指一个或多于一个(例如,至少一个)该冠词的语法宾语。如本文所用,“多个”是指两个或更多个。

[0725] 除非上下文另外明确指明,否则术语“或”在本文中意指术语“和/或”并且可与术语“和/或”互换使用。

[0726] “约”和“大约”通常意指在给定测量的性质或精度的情况下测量的量的可接受的误差度。示例性误差度在给定值或值范围的20%内,典型地在10%内,并且更典型地,在5%内。

[0727] 本文披露的组合物和方法涵盖具有指定序列或与其基本相同或相似的序列,例如与指定序列具有至少约85%、90%或95%序列同一性的序列的多肽和核酸。在氨基酸序列的语境中,术语“基本上相同”在本文中用于指这样的第一氨基酸:它含有i)与第二氨基酸序列中的比对氨基酸残基相同的,或ii)为第二氨基酸序列中的比对氨基酸残基的保守置换的足够或最小数量的氨基酸残基,以使得第一氨基酸序列和第二氨基酸序列可以具有共同结构域和/或共同功能活性。例如,含有与参考序列(例如,本文提供的序列)具有至少约85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的共同结构域的氨基酸序列。

[0728] 在核苷酸序列的语境中,术语“基本上相同”在本文中用于指这样的第一核酸序列:它含有与第二核酸序列中比对的核苷酸相同的足够或最小数量的核苷酸,以使得第一核苷酸序列和第二核苷酸序列编码具有共同功能活性的多肽,或编码共同结构多肽域或具有共同功能多肽活性。例如与参考序列(例如,本文提供的序列)具有至少约85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核苷酸序列。

[0729] 术语“功能性变体”是指与天然存在的序列具有基本上相同的氨基酸序列,或由基本上相同的核苷酸序列编码,并且能够具有天然存在的序列的一种或多种活性的多肽。

[0730] 如下所述进行序列之间的同源性或序列同一性(这些术语在本文中可互换地使用)的计算。

[0731] 为了确定两个氨基酸序列或两个核酸序列的百分比同一性,出于最佳比较目的对

序列进行比对(例如,在第一氨基酸和第二氨基酸或第一核酸序列和第二核酸序列的一者或二者中引入空位以用于最佳比对,并且出于比较目的,非同源序列可以忽略)。在优选的实施例中,出于比较目的而比对的参比序列的长度为参比序列的长度的至少30%,例如至少40%、50%、60%,例如至少70%、80%、90%、100%。然后比较对应的氨基酸位置或核苷酸位置处的氨基酸残基或核苷酸。当第一序列中的位置被与在第二序列中的相应位置处相同的氨基酸残基或核苷酸占用时,则这些分子在那个位置处是相同的。

[0732] 将空位的数量和每个空位的长度考虑在内,两个序列之间的百分比同一性是这些序列共有的相同位置的数量的函数,需要引入这些空位以进行两个序列的最佳比对。

[0733] 两个序列之间的序列比较和百分比同一性确定可以使用数学算法来完成。在一些优选的实施例中,使用Needleman和Wunsch((1970)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]48:444-453)算法(所述算法已并入GCG软件包中的GAP程序中(可从http://www.gcg.com)),使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵以及16、14、12、10、8、6或4的空位权重和1、2、3、4、5或6的长度权重来确定两个氨基酸序列之间的百分比同一性。在某些实施例中,使用GCG软件包中的GAP程序(可从http://www.gcg.com获取),使用NWSgapdna.CMP矩阵以及40、50、60、70或80的空位权重和1、2、3、4、5或6的长度权重来确定两个核苷酸序列之间的百分比同一性。一组合适的参数(以及除非另外指定否则应所述使用的参数)是Blossum 62评分矩阵,其中空位罚分为12,空位延伸罚分为4,移码空位罚分为5。

[0734] 可以使用E.Meyers和W.Miller((1989)CABIOS[生物科学中的计算机应用]4:11-17)的算法(所述算法已并入ALIGN程序(版本2.0)中),使用PAM120权重残基表、12的空位长度罚分和4的空位罚分来确定两个氨基酸序列或核苷酸序列之间的百分比同一性。

[0735] 本文描述的核酸序列和蛋白质序列可以用作“查询序列”来对公共数据库进行搜索,从而例如鉴定其他家族成员或相关序列。可以使用Altschul等人(1990)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]215:403-10的NBLAST和XBLAST程序(版本2.0)来进行这些搜索。可以用NBLAST程序(得分=100,字长=12)来进行BLAST核苷酸搜索,以获得与本文所述的核酸同源的核苷酸序列。可以用XBLAST程序(得分=50,字长=3)来进行BLAST蛋白搜索,以获得与本文所述的蛋白分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的空位比对,可以如Altschul等人,(1997)Nucleic Acids Res.[核酸研究]25:3389-3402中所述使用空位BLAST(Gapped BLAST)。当使用BLAST和空位BLAST程序时,可以使用相应程序(例如,XBLAST和NBLAST)的默认参数。参见http://www.ncbi.nlm.nih.gov。

[0736] 如本文所用,术语“在低严格性、中等严格性、高严格性或非常高严格性条件下杂交”描述了杂交和洗涤的条件。用于进行杂交反应的指导可见于Current Protocols in Molecular Biology[现代分子生物学实验技术],John Wiley&Sons,N.Y.[约翰·威立父子出版公司,纽约](1989),6.3.1-6.3.6,将其通过引用以其全文特此并入。在该参考文献中描述了水性和非水性方法,并且可以使用这些方法中的任一种。本文涉及的特定杂交条件如下:1)低严格性杂交条件:在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中约45℃下杂交,然后在0.2×SSC、0.1%SDS中至少50℃下洗涤两次(对于低严格性条件,洗涤的温度可以增加至55℃);2)中等严格性杂交条件:在6×SSC中约45℃下杂交,然后在0.2×SSC、0.1%SDS中60℃下洗涤一次或多次;3)高严格性杂交条件:在6×SSC中约45℃下杂交,然后在0.2×SSC、0.1%SDS中65℃下洗涤一次或多次;以及优选地,4)非常高严格性杂交条件是0.5M磷酸钠、7%

SDS,65℃下,然后在0.2×SSC、1%SDS中65℃下洗涤一次或多次。除非另有说明,否则非常高严格条件(4)是合适的条件,且应使用这些条件。

[0737] 应当理解,本发明的分子可以具有另外的保守或非必需氨基酸置换,这些置换对分子的功能没有实质性影响。

[0738] 术语"氨基酸"旨在包括所有无论是天然的还是合成的分子,这些分子包括氨基官能团和酸官能团二者,并且能够包括在天然存在的氨基酸的聚合物中。示例性氨基酸包括天然存在的氨基酸;它们的类似物、衍生物和同类物;具有变体侧链的氨基酸类似物;以及任何前述中的任一者的所有立体异构体。如本文所用,术语"氨基酸"包括D-光学异构体或L-光学异构体和肽模拟物。

[0739] "保守氨基酸置换"是其中氨基酸残基被具有类似侧链的氨基酸残基替换的置换。具有相似侧链的氨基酸残基的家族已在本领域中进行了定义。这些家族包括具有以下侧链的氨基酸: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)、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、色氨酸)、β分支侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)以及芳香族侧链(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。

[0740] 术语"多肽"、"肽"和"蛋白质"(如果是单链的)在本文中可互换使用,是指任何长度的氨基酸的聚合物。聚合物可以是直链或支链的,它可以包含经修饰的氨基酸,并且它可以被非氨基酸中断。这些术语还涵盖已经修饰的氨基酸聚合物;例如,二硫键形成、糖基化、脂质化、乙酰化、磷酸化或任何其他操作,诸如与标记性组分缀合。多肽可以从天然来源分离,可以通过重组技术从宿主真核或原核宿主产生,或者可以是合成程序的产物。

[0741] 术语"核酸"、"核酸序列"、"核苷酸序列"或"多核苷酸序列"和"多核苷酸"可互换使用。它们是指任何长度的聚合形式的核苷酸,即脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸,或它们的类似物。多核苷酸可以是单链的或双链的,如果是单链的,多核苷酸可以是编码链或非编码(反义)链。多核苷酸可以包括经修饰的核苷酸,诸如甲基化的核苷酸和核苷酸的类似物。核苷酸的序列可以被非核苷酸组分中断。多核苷酸可以在聚合后进一步修饰,诸如通过与标记性组分缀合来修饰。核酸可以是重组多核苷酸,或基因组、cDNA、半合成或合成来源的多核苷酸,它们在自然界中不存在或以非天然排列连接至另一个多核苷酸。

[0742] 如本文所用,术语"分离的"是指从其原始或天然环境(例如其天然存在的天然环境)中移除的材料。例如,不分离存在于活动物中的天然存在的多核苷酸或多肽,而是分离通过人为干预从天然系统中的一些或所有共存材料中分出的相同多核苷酸或多肽。此类多核苷酸可以是载体的一部分和/或此类多核苷酸或多肽可以是组合物的一部分,并且仍然是分离的,因为这种载体或组合物不是其天然存在的环境的一部分。

[0743] 术语"嵌合抗原受体"或可替代地"CAR"是指一组多肽,在最简单的实施例中典型地是两种多肽,当在免疫效应细胞中时,它为该细胞提供针对靶细胞(典型地针对癌细胞)的特异性,并且提供细胞内信号生成。在一些实施例中,CAR至少包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞质信号传导结构域(本文中也称为"细胞内信号传导结构域"),该细胞质信号传导结构域包含源自如下定义的刺激分子和/或共刺激分子的功能性信号传导结构域。在一些方面,该组多肽彼此邻接。在一些实施例中,组多肽包括二聚化开关,该二聚化

开关在存在二聚化分子时可以将多肽彼此偶联,例如,可以将抗原结合结构域偶联至细胞内信号传导结构域。在一个方面,刺激分子是与T细胞受体复合物相关的ζ链。在一个方面,胞质信号传导结构域进一步包含源自如下定义的至少一种共刺激分子的一个或多个功能性信号传导结构域。在一个方面,共刺激分子选自本文所述的共刺激分子,例如4-1BB(即CD137)、CD27和/或CD28。在一个方面,CAR包含嵌合融合蛋白,该嵌合融合蛋白包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和包含源自刺激分子的功能性信号传导结构域的细胞内信号传导结构域。在一方面,CAR包含嵌合融合蛋白,其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域,该细胞内信号传导结构域包含源自共刺激分子的功能性信号传导结构域和源自刺激分子的功能性信号传导结构域。在一方面,CAR包含嵌合融合蛋白,其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域,该细胞内信号传导结构域包含源自一种或多种共刺激分子的两个功能性信号传导结构域和源自刺激分子的功能性信号传导结构域。在一方面,CAR包含嵌合融合蛋白,其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域,该细胞内信号传导结构域包含源自一种或多种共刺激分子的至少两个功能性信号传导结构域和源自刺激分子的功能性信号传导结构域。在一个方面,CAR包含CAR融合蛋白的氨基末端(N-ter)处的任选前导序列。在一个方面,CAR在细胞外抗原结合结构域的N-末端进一步包含前导序列,其中该前导序列任选地在细胞加工和CAR定位至细胞膜的过程中从抗原结合结构域(例如,scFv)切割。

[0744] 术语“信号传导结构域”是指蛋白质的功能性部分,其通过在细胞内传递信息以通过产生第二信使或通过响应于此类信使而用作效应子,经由定义的信号传导途径调控细胞活性起作用。

[0745] 如本文所用的术语“细胞内信号传导结构域”是指分子的细胞内部分。细胞内信号传导结构域产生信号,该信号促进含有CAR的细胞(例如CART细胞)的免疫效应子功能。免疫效应子功能的实例,例如在CART细胞中,包括细胞溶解活性和辅助活性(包括分泌细胞因子)。

[0746] 在一个实施例中,细胞内信号传导结构域可以包含初级细胞内信号传导结构域。示例性初级细胞内信号传导结构域包含源自负责初级刺激、或抗原依赖性模拟的分子的那些。在一个实施例中,细胞内信号传导结构域可以包含共刺激细胞内结构域。示例性共刺激细胞内信号传导结构域包含源自负责共刺激信号、或抗原非依赖性刺激的分子的那些。例如,在CART的情况下,初级细胞内信号传导结构域可以包括T细胞受体的胞质序列,并且共刺激细胞内信号传导结构域可以包括来自共受体或共刺激分子的胞质序列。

[0747] 初级细胞内信号传导结构域可以包含被称为基于免疫受体酪氨酸的活化基序或ITAM的信号传导基序。含有初级细胞质信号传导序列的ITAM的实例包括但不限于源自以下的那些:CD3ζ、常见FcRγ(FCER1G)、FcγRIIa、FcRβ(FcεR1b)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD79a、CD79b、DAP10和DAP12。

[0748] 术语“ζ”或可替代地“ζ链”、“CD3-ζ”或“TCR-ζ”被定义为以GenBank登录号BAG36664.1提供的蛋白质或来自非人物种例如小鼠、啮齿动物、猴子、猿等的等同残基,并且“ζ刺激结构域”或可替代地“CD3-ζ刺激结构域”或“TCR-ζ刺激结构域”被定义为来自ζ链的细胞质结构域的氨基酸残基或其功能衍生物,这些氨基酸残基或其功能衍生物足以在功能上传递T细胞激活所必需的初始信号。在一个方面,ζ的细胞质结构域包含GenBank登录号

BAG36664.1的残基52至164或是其功能性直向同源物的来自非人物种(例如小鼠、啮齿动物、猴、猿等)的等效残基。

[0749] 术语“共刺激分子”是指T细胞上与共刺激配体结合、从而介导T细胞的共刺激应答(例如但不限于增殖)的同源结合配偶体。共刺激分子是除抗原受体或其配体之外的细胞表面分子,其有助于高效的免疫应答。共刺激分子包括但不限于MHC I类分子、BTLA和Toll配体受体、以及OX40、CD27、CD28、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、ICOS(CD278)、以及4-1BB(CD137)。此类共刺激分子的其他实例包括CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD160、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、和结合CD83的配体。

[0750] 共刺激细胞内信号传导结构域可以是共刺激分子的细胞内部分。共刺激分子可以在以下蛋白质家族中表示:TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白、细胞因子受体、整联蛋白、信号传导淋巴细胞活化分子(SLAM蛋白)和活化型NK细胞受体。此类分子的实例包括CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、GITR、CD30、CD40、ICOS、BAFFR、HVEM、ICAM-1、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CDS、CD7、CD287、LIGHT、NKG2C、NKG2D、SLAMF7、NKp80、NKp30、NKp44、NKp46、CD160、B7-H3、以及结合CD83的配体等。

[0751] 细胞内信号传导结构域可以包含衍生它的分子的整个细胞内部分或整个天然细胞内信号传导结构域,或其功能片段或衍生物。

[0752] 术语“4-1BB”是指具有作为GenBank登录号AAA62478.2,或来自非人物种(例如小鼠、啮齿动物、猴、猿等)的等效残基提供的氨基酸序列的TNFR超家族的成员;并且“4-1BB共刺激结构域”定义为GenBank登录号AAA62478.2的氨基酸残基214-255,或来自非人物种(例如小鼠、啮齿动物、猴、猿等)的等效残基。

[0753] 当该术语在本文中使用时,“免疫效应细胞”是指参与免疫应答(例如促进免疫效应子应答)的细胞。免疫效应细胞的实例包括T细胞,例如α/βT细胞和γ/δT细胞、B细胞、天然杀伤(NK)细胞、天然杀伤T(NKT)细胞、肥大细胞、和骨髓衍生的吞噬细胞。

[0754] 当该术语在本文中使用时,“免疫效应子功能或免疫效应子应答”是指例如免疫效应细胞的增强或促进靶细胞的免疫攻击的功能或应答。例如,免疫效应子功能或应答是指促进靶细胞的杀伤或抑制生长或增殖的T或NK细胞的特性。在T细胞的情况下,初级刺激和共刺激是免疫效应子功能或应答的实例。

[0755] 术语“癌症相关抗原”或“肿瘤抗原”可互换地指在癌细胞表面上完全或作为片段(例如,MHC/肽)表达的分子(典型地是蛋白质、碳水化合物或脂质),并且其可用于优先将药理学药剂靶向癌细胞。在一些实施例中,肿瘤抗原是由正常细胞和癌细胞两者表达的标志,例如谱系标志,例如B细胞上的CD19。在一些实施例中,肿瘤抗原是与正常细胞相比在癌细胞中过表达的细胞表面分子,例如,与正常细胞相比,1倍过表达、2倍过表达、3倍过表达或更多。在一些实施例中,肿瘤抗原是在癌细胞中不适当合成的细胞表面分子,例如,与正常

细胞上表达的分子相比含有缺失、添加或突变的分子。在一些实施例中,肿瘤抗原将仅在癌细胞的细胞表面上完全或作为片段(例如,MHC/肽)表达,并且不在正常细胞的表面上合成或表达。在一些实施例中,本发明的CAR包括包含结合MHC呈递的肽的抗原结合结构域(例如抗体或抗体片段)的CAR。通常,源自内源性蛋白质的肽填充主要组织相容性复合物(MHC)I类分子的口袋,并且被CD8+ T淋巴细胞上的T细胞受体(TCR)识别。MHC I类复合物由所有有核细胞组成型表达。在癌症中,病毒特异性和/或肿瘤特异性肽/MHC复合物代表用于免疫疗法的独特类别的细胞表面靶标。已经描述了在人白细胞抗原(HLA)-A1或HLA-A2的上下文中靶向源自病毒或肿瘤抗原的肽的TCR样抗体(参见,例如,Sastry等人,JVirol.[病毒学杂志]2011 85(5):1935-1942;Sergeeva等人,Blood[血液],2011 117(16):4262-4272;Verma等人,J Immunol[免疫学杂志]2010184(4):2156-2165;Willemsen等人,Gene Ther[基因疗法]20018(21):1601-1608;Dao等人,Sci Transl Med[科学转化医学]20135(176):176ra33;Tassev等人,Cancer Gene Ther[癌基因疗法]201219(2):84-100)。例如,可以从筛选文库(如人scFv噬菌体展示文库)鉴定TCR样抗体。

[0756] 本文的组合物和方法的各个方面在下文进一步详细描述。另外的定义在整个申请书中陈述。

[0757] 抗体分子

[0758] 在一个实施例中,抗体分子结合哺乳动物(例如人)CD73。例如,抗体分子结合CD73上的表位,例如线性或构象表位(例如如本文所述的表位)。

[0759] 如本文所用,术语“抗体分子”是指包含至少一个免疫球蛋白可变结构域序列的蛋白质,例如免疫球蛋白链或其片段。术语“抗体分子”包括例如单克隆抗体(包括具有免疫球蛋白Fc区的全长抗体)。在实施例中,抗体分子包含全长抗体或全长免疫球蛋白链。在实施例中,抗体分子包含全长抗体或全长免疫球蛋白链的抗原结合或功能性片段。

[0760] 如本文所用,抗体分子“结合”抗原,正如这种结合是本领域技术人员理解的。在一个实施例中,抗体以约1x 10^{-3}M或更小、1x 10^{-4}M或更小或1x 10^{-5}M或更小的解离常数(K_D)结合抗原。

[0761] 在一个实施例中,抗体分子是单特异性抗体分子并且结合单个表位,例如,具有多个免疫球蛋白可变结构域序列的单特异性抗体分子,每个免疫球蛋白可变结构域序列结合相同的表位。

[0762] 在一个实施例中,抗体分子是多特异性抗体分子,例如其包含多个免疫球蛋白可变结构域序列,其中该多个中的第一免疫球蛋白可变结构域序列对第一表位具有结合特异性并且该多个中的第二免疫球蛋白可变结构域序列对第二表位具有结合特异性。在实施例中,第一和第二表位在相同的抗原(例如相同的蛋白质(或多聚体蛋白质的亚基))上。在实施例中,第一表位和第二表位重叠或基本上重叠。在实施例中,第一表位和第二表位不重叠或基本上不重叠。在一个实施例中,第一表位和第二表位在不同的抗原,例如不同的蛋白质(或多聚体蛋白质的不同亚基)上。在实施例中,多特异性抗体分子包含第三、第四或第五免疫球蛋白可变结构域。在实施例中,多特异性抗体分子是双特异性抗体分子、三特异性抗体分子、或四特异性抗体分子。

[0763] 在实施例中,多特异性抗体分子是双特异性抗体分子。双特异性抗体对不多于两种抗原具有特异性。双特异性抗体分子的特征在于具有对第一表位的结合特异性的第一免

疫球蛋白可变结构域序列、和具有对第二表位的结合特异性的第二免疫球蛋白可变结构域序列。在实施例中,第一和第二表位在相同的抗原(例如相同的蛋白质(或多聚体蛋白质的亚基))上。在实施例中,第一表位和第二表位重叠或基本上重叠。在实施例中,第一表位和第二表位不重叠或基本上不重叠。在一个实施例中,第一表位和第二表位在不同的抗原,例如不同的蛋白质(或多聚体蛋白质的不同亚基)上。在一个实施例中,双特异性抗体分子包含对第一表位具有结合特异性的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列,以及对第二表位具有结合特异性的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列。在实施例中,双特异性抗体分子包含对第一表位具有结合特异性的半抗体和对第二表位具有结合特异性的半抗体。在实施例中,双特异性抗体分子包含对第一表位具有结合特异性的半抗体、或其片段,以及对第二表位具有结合特异性的半抗体、或其片段。在实施例中,双特异性抗体分子包含对第一表位具有结合特异性的scFv、或其片段,以及对第二表位具有结合特异性的scFv、或其片段。

[0764] 在实施例中,抗体分子包括双抗体、和单链分子、以及抗体的抗原结合片段(例如,Fab、F(ab')$_2$、和Fv)。例如,抗体分子可以包含重(H)链可变结构域序列(在本文缩写为VH)、和轻(L)链可变结构域序列(在本文缩写为VL)。在实施例中,抗体分子包含重链和轻链(在本文中称为半抗体或由其组成。在另一个实例中,抗体分子包括两个重(H)链可变结构域序列和两个轻(L)链可变结构域序列,从而形成两个抗原结合位点,所述抗体分子例如Fab、Fab'、F(ab')2、Fc、Fd、Fd'、Fv、单链抗体(例如scFv)、单可变结构域抗体、双抗体(Dab)(二价和双特异性)、以及嵌合(例如,人源化)抗体,它们可通过修饰完整抗体而产生或可以是使用重组DNA技术从头合成的那些。这些功能抗体片段保留了与其各自的抗原或受体选择性结合的能力。抗体和抗体片段可以来自任何类别的抗体,包括但不限于IgG、IgA、IgM、IgD和IgE,以及来自任何亚类的抗体(例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)。抗体分子的制剂可以是单克隆或多克隆的。抗体分子也可以是人、人源化、CDR移植或体外产生的抗体。抗体可具有选自例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的重链恒定区。抗体还可以具有选自例如κ或λ的轻链。术语"免疫球蛋白"(Ig)与术语"抗体"在本文中可互换地使用。

[0765] 抗体分子的抗原结合片段的实例包括:(i)Fab片段,该片段是由VL、VH、CL和CH1结构域组成的单价片段;(ii)F(ab')2片段,包含在铰链区通过二硫键连接的两个Fab片段的二价片段;(iii)由VH和CH1结构域组成的Fd片段;(iv)由抗体单臂的VL和VH结构域组成的Fv片段,(v)由VH结构域组成的双抗体(dAb)片段;(vi)骆驼科(camelid)或骆驼化(camelized)可变结构域;(vii)单链Fv(scFv)(参见例如Bird等人(1988)Science[科学]242:423-426;和Huston等人(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]85:5879-5883);(viii)单一结构域抗体。这些抗体片段可以使用任何合适的方法获得,包括本领域技术人员已知的常规技术,并且能以与完整抗体相同的方式针对效用来筛选这些片段。

[0766] 术语"抗体"包括完整分子及其功能性片段。可以改变(例如突变)抗体的恒定区以修饰该抗体的性质(例如,以增加或减少以下中的一种或多种:Fc受体结合、抗体糖基化、半胱氨酸残基数、效应细胞功能或补体功能)。

[0767] 本文披露的抗体也可以是单结构域抗体。单结构域抗体可以包括其互补决定区是单结构域多肽的一部分的抗体。实例包括但不限于重链抗体、天然缺乏轻链的抗体、衍生自

常规4-链抗体的单结构域抗体、工程抗体和除衍生自抗体的那些以外的单结构域支架。单结构域抗体可以是任何本领域的抗体,或任何未来的单结构域抗体。单结构域抗体可以衍生自任何物种,包括但不限于小鼠、人、骆驼、美洲驼、鱼、鲨鱼、山羊、兔和牛。根据本发明的另一个方面,单结构域抗体是天然存在的单结构域抗体,称为缺乏轻链的重链抗体。例如在WO 9404678中披露了这种单结构域抗体。出于清楚的原因,衍生自天然缺乏轻链的重链抗体的这种可变结构域在本文中称为VHH或纳米抗体,以将其与四链免疫球蛋白的常规VH区分开。这种VHH分子可以衍生自骆驼科物种,例如骆驼、美洲驼、单峰骆驼、羊驼和原驼中产生的抗体。除骆驼科外的其他物种可产生天然缺乏轻链的重链抗体;此类VHH在本发明的范围内。

[0768] VH和VL区可以细分为被称为“互补决定区”(CDR)的高变区,其间插入被称为“框架区”(FR或FW)的更保守的区域。

[0769] 框架区和CDR的范围已经通过许多方法精确定义(参见Kabat,E.A.等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学感兴趣的蛋白质序列],第5版,U.S.Department of Health and Human Services[美国卫生与公众服务部],NIH公开号91-3242;Chothia,C.等人(1987)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]196:901-917;以及由牛津分子AbM抗体建模软件(Oxford Molecular's AbM antibody modelling software)使用的AbM定义)。通常参见例如,Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains[抗体可变结构域的蛋白质序列和结构分析]在:Antibody Engineering Lab Manual[抗体工程实验室手册](编辑:Duebel,S.和Kontermann,R.,施普林格出版社(Springer-Verlag),海德尔堡)中。

[0770] 如本文所用,术语“互补决定区”和“CDR”是指抗体可变区内的赋予抗原特异性和结合亲和力的氨基酸序列。在一些实施例中,每个重链可变区中存在三个CDR(HCDR1、HCDR2、HCDR3),并且每个轻链可变区中存在三个CDR(LCDR1、LCDR2、LCDR3)。

[0771] 给定CDR的精确氨基酸序列边界可以使用熟知的方案中的任何一种来确定,这些方案包括描述于以下的那些:Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学重要性的蛋白序列]”,第5版,Public Health Service[美国国立卫生研究院],National Institutes of Health[公共卫生事业部],Bethesda,MD[马里兰州贝塞斯达市](“卡巴特”编号方案);Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948(“乔西亚”编号方案)。如本文所用,根据“乔西亚”编号方案定义的CDR有时也称为“高变环”。

[0772] 例如,根据卡巴特,将重链可变结构域(VH)中的CDR氨基酸残基编号为31-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3);并将轻链可变结构域(VL)中的CDR氨基酸残基编号为24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)。根据乔西亚,将VH中的CDR氨基酸编号为26-32(HCDR1)、52-56(HCDR2)和95-102(HCDR3);并将VL中的氨基酸残基编号为26-32(LCDR1)、50-52(LCDR2)和91-96(LCDR3)。通过结合卡巴特和乔西亚二者的CDR定义,CDR由人VH中的氨基酸残基26-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3)和人VL中的氨基酸残基24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)组成。

[0773] 根据所有定义,每个VH和VL典型地包括三个CDR和四个FR,从氨基末端到羧基末端按照以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

[0774] 通常,除非特别指出,否则该抗CD73抗体分子可包括例如如表1中所述的一种或多种卡巴特CDR、乔西亚CDR、卡巴特和乔西亚CDR的组合、IMGT CDR和/或替代性定义。

[0775] 如本文所用,“免疫球蛋白可变结构域序列”是指可以形成免疫球蛋白可变结构域的结构的氨基酸序列。例如,该序列可包括天然存在的可变结构域的全部或部分氨基酸序列。例如,该序列可以包括或可以不包括一个、两个或更多个N-或C-末端氨基酸,或者可以包括与蛋白质结构的形成相容的其他改变。

[0776] 术语“抗原结合位点”是指抗体分子的一部分,其包含形成与CD73多肽或其表位结合的界面的决定簇。关于蛋白质(或蛋白质模拟物),抗原结合位点典型地包括形成与CD73多肽结合的界面的一个或多个环(具有至少四个氨基酸或氨基酸模拟物)。典型地,抗体分子的抗原结合位点包括至少一个或两个CDR和/或高变环,或更典型地至少三个、四个、五个或六个CDR和/或高变环。

[0777] 如本文所用,术语“Eu编号”是指抗体恒定区的Eu编号约定,如Edelman,G.M.等人,Proc.Natl.Acad.USA[美国国家科学院院刊],63,78-85(1969)和Kabat等人,于“Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学相关蛋白序列]”,美国卫生与公众服务部(U.S.Dept.Health and Human Services),第5版,1991中做了描述。

[0778] 术语“竞争”或“交叉竞争”在本文可互换使用,是指抗体分子干扰抗CD73抗体分子(例如,本文提供的抗CD73抗体分子)与靶(例如人CD73)结合的能力。对结合的干扰可以是直接的或间接的(例如,通过抗体分子或靶的变构调节)。抗体分子能够干扰另一种抗体分子与靶结合的程度以及因此是否可以称为竞争,可以使用竞争结合测定法(例如流式细胞术、ELISA或BIACORE测定)来确定。在一些实施例中,竞争结合测定法是定量竞争测定法。在一些实施例中,在竞争结合测定法(例如,本文所述的竞争测定法)中,当第一抗体分子与靶的结合降低10%或更高,例如20%或更高、30%或更高、40%或更高、50%或更高、55%或更高、60%或更高、65%或更高、70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高、95%或更高、98%或更高、99%或更高时,第一抗CD73抗体分子被认为与第二抗CD73抗体分子竞争结合靶。

[0779] 如本文所用,术语“表位”是指抗原(例如人CD73)的与抗体分子特异性相互作用的部分。这样的部分,在本文中也称为表位决定簇,通常包含诸如氨基酸侧链或糖侧链等的元件或作为其分部分。表位决定簇可以通过本领域已知或本文披露的方法(例如通过晶体学或通过氢氘交换)来定义。与表位决定簇特异性相互作用的抗体分子上的至少一个或一些部分通常位于一个或多个CDR中。通常,表位具有特定的三维结构特征。通常,表位具有特定的电荷特征。一些表位是线性表位,而另一些是构象表位。

[0780] 在实施例中,表位决定簇是抗原上的部分(例如氨基酸侧链或糖侧链)或其分部分,当抗原和抗体分子共结晶时,表位决定簇在预定距离内,例如在抗体分子上的部分的5埃之内,在本文中称为“晶体学表位决定簇”。表位的晶体学表位决定簇统称为“晶体学表位”。

[0781] 例如,当针对第一抗体和第二抗体或参比抗体以相同方式测量相互作用时,如果所述抗体与第二抗体或参比抗体在抗原上的相同表位决定簇相互作用,则第一抗体分子与第二抗体分子(例如,参比抗体分子,例如本文披露的抗体分子)结合相同的表位。重叠的表位共享至少一个表位决定簇。当两个抗体分子与共同的表位决定簇相互作用时,第一抗体

分子与第二抗体分子(例如,参比抗体分子,例如本文披露的抗体分子)结合重叠的表位。如果发现第二抗体或参比抗体的表位决定簇的至少一半是第一抗体分子表位中的表位决定簇,则第一和第二抗体分子(例如,参比抗体分子,例如本文披露的抗体分子)结合基本上重叠的表位。如果第一抗体分子结合第二或参比抗体的表位的核心表位决定簇的至少一半,则第一和第二抗体分子(例如,参比抗体分子,例如本文披露的抗体分子)结合基本上相同的表位,其中核心表位决定簇通过例如晶体学或氢氘交换来定义。

[0782] 如本文所用,如在氢氘交换测定中测量的,当在存在抗体分子下抗原片段中的氢氘交换低于在不存在所述抗体分子下所述抗原片段中的氢氘交换时,所述抗体分子"减少抗原片段中的氢氘交换"。

[0783] 如本文所用,"平均氢氘交换"的减少取决于抗体不存在下抗原片段中的标准化氢氘交换水平(Da/残基)减去抗体存在下抗原片段中的标准化氢氘交换水平(Da/残基)。

[0784] 如本文所用,术语"单克隆抗体"或"单克隆抗体组合物"是指单一分子组合物的抗体分子的制品。单克隆抗体组合物表现出对特定表位的单一结合特异性和亲和力。单克隆抗体可以通过杂交瘤技术或不使用杂交瘤技术的方法(例如重组方法)制备。

[0785] "有效的人"蛋白是不引起中和抗体应答,例如人抗鼠抗体(HAMA)应答的蛋白。在许多情况下,例如,如果抗体分子被重复施用,例如在治疗慢性或复发性疾病情况中,HAMA可能会成问题。由于增加的血清中抗体清除(参见例如,Saleh等人,Cancer Immunol.Immunother.[癌症免疫学,免疫疗法],32:180-190(1990)),并且还因为潜在的过敏性反应(参见例如,LoBuglio等人,Hybridoma[杂交瘤],5:5117-5123(1986)),HAMA应答可能使重复的抗体施用可能无效。

[0786] 抗体分子可以是多克隆或单克隆抗体。在其他实施例中,可以重组地产生抗体,例如通过酵母展示、噬菌体展示或通过组合方法产生。可替代地,此类抗体可以选自基于合成酵母的抗体呈递系统,例如在如Y.Xu等人,Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system:a FACS-based,high-throughput selection and analytical tool.[解决选自体外酵母呈递系统的抗体的多特异性问题:基于FACS、高通量筛选和分析工具]PEDS26.10,663-70(2013);WO 2009036379;WO 2010105256;和WO 2012009568中所述的那些,将上述文献通过引用以其整体并入本文。

[0787] 在一个实施例中,抗体是全人抗体(例如,通过酵母展示产生的抗体、通过噬菌体展示产生的抗体、或在已经基因工程化为从人免疫球蛋白序列产生抗体的小鼠中制备的抗体),或非人抗体,例如啮齿动物(小鼠或大鼠)、山羊、灵长类动物(例如,猴)、或骆驼抗体。用于生产啮齿动物抗体的方法在本领域中是已知的。

[0788] 可以使用携带人免疫球蛋白基因而不是小鼠系统的转基因小鼠产生人单克隆抗体。使用来自用目标抗原免疫的这些转基因小鼠的脾细胞产生分泌人mAb的杂交瘤,所述人mAb对来自人蛋白质的表位具有特异性亲和力(参见例如,Wood等人,国际申请WO 91/00906;Kucherlapati等人,PCT公开WO 91/10741;Lonberg等人,国际申请WO 92/03918;Kay等人,国际申请92/03917;Lonberg,N.等人,1994Nature[自然]368:856-859;Green,L.L.等人,1994Nature Genet.[自然遗传学]7:13-21;Morrison,S.L.等人,1994Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]81:6851-6855;Bruggeman等人,

1993Year Immunol[免疫学年评]7:33-40;Tuaillon等人,1993PNAS 90:3720-3724;Bruggeman等人,1991Eur J Immunol[欧洲免疫学杂志]21:1323-1326)。

[0789] 抗体可以是可变区或其一部分(例如,CDR)在非人生物(例如,大鼠或小鼠)中产生的抗体分子。嵌合抗体、CDR移植抗体、和人源化抗体属于本发明。在非人生物(例如,大鼠或小鼠)中产生并且然后在例如可变框架或恒定区中修饰以降低在人中的抗原性的抗体属于本发明。

[0790] 抗体可以通过本领域已知的任何合适的重组DNA技术来产生(参见Robinson等人,国际专利公开PCT/US86/02269;Akira等人,欧洲专利申请184,187;Taniguchi,M.,欧洲专利申请171,496;Morrison等人,欧洲专利申请173,494;Neuberger等人,国际申请WO 86/01533;Cabilly等人美国专利号4,816,567;Cabilly等人,欧洲专利申请125,023;Better等人(1988Science[科学]240:1041-1043);Liu等人(1987)PNAS 84:3439-3443;Liu等人,1987,J.Immunol.[免疫学杂志]139:3521-3526;Sun等人(1987)PNAS 84:214-218;Nishimura等人,1987,Canc.Res.[癌症研究]47:999-1005;Wood等人(1985)Nature[自然]314:446-449;以及Shaw等人,1988,J.Natl Cancer Inst.[美国国立癌症研究所杂志]80:1553-1559)。

[0791] 人源化抗体或CDR移植抗体的至少一个或两个但通常所有三个(重和/或轻免疫球蛋白链的)受体CDR被供体CDR替换。抗体可以被至少一部分非人CDR替换,或者仅一些CDR可以被非人CDR替换。仅需要替换人源化抗体与CD73结合所需的CDR的数量。在一些实施例中,供体是啮齿动物抗体,例如大鼠或小鼠抗体,并且接受者是人框架或人共有框架。典型地,提供CDR的免疫球蛋白称为“供体”,并且提供框架的免疫球蛋白称为“受体”。在一个实施例中,供体免疫球蛋白是非人(例如啮齿动物)。受体框架是天然存在的(例如,人)框架或共有框架,或与其具有约85%或更高,例如90%、95%、99%或更高同一性的序列。

[0792] 如本文所用,术语“共有序列”是指由相关序列家族中最常出现的氨基酸(或核苷酸)形成的序列(参见例如Winnaker,From Genes to Clones[从基因到克隆](德国魏因海姆出版社(Verlagsgesellschaft,Weinheim,Germany)1987)。在蛋白质家族中,共有序列中的每个位置被在该家族中该位置上最频繁出现的氨基酸占据。如果两个氨基酸同样频繁出现,则任一个均可以包括在共有序列中。“共有框架”是指共有免疫球蛋白序列中的框架区。

[0793] 抗体可以通过本领域已知的方法人源化(参见例如Morrison,S.L.,1985,Science[科学]229:1202-1207,Oi等人,1986,BioTechniques[生物技术]4:214,以及Queen等人US 5,585,089、US 5,693,761和US 5,693,762,所有文献的内容通过引用并入本文)。

[0794] 可以通过CDR移植或CDR取代产生人源化抗体或CDR移植抗体,其中免疫球蛋白链的一个、两个或所有CDR可以被替换。参见例如,美国专利5,225,539;Jones等人1986Nature[自然]321:552-525;Verhoeyan等人1988Science[科学]239:1534;Beidler等人1988J.Immunol.[免疫学杂志]141:4053-4060;Winter US 5,225,539,所有文献的内容通过引用特此并入。

[0795] 人源化抗体也在本发明的范围内,其中特定氨基酸已被取代、缺失或添加。从供体中选择氨基酸的标准描述于US 5,585,089,例如US 5,585,089的第12-16栏中,例如US 5,585,089的第12-16栏中,其内容通过引用并入本文。用于人源化抗体的其他技术描述于1992年12月23日公开的Padlan等人,EP 519596A1中。

[0796] 抗体分子可以是单克隆抗体。可以对单链抗体(scFV)进行工程化(参见例如,Colcher,D.等人(1999)Ann N Y Acad Sci[纽约科学院年鉴]880:263-80;和Reiter,Y.(1996)Clin Cancer Res[临床癌症研究]2:245-52)。可以将单链抗体二聚化或多聚化以产生对相同靶蛋白的不同表位具有特异性的多价抗体。

[0797] 在又其他实施例中,抗体分子具有重链恒定区,该重链恒定区选自例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD、和IgE的重链恒定区;具体地,选自例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的(例如人)重链恒定区。在另一个实施例中,抗体分子具有选自例如κ或λ的(例如人)轻链恒定区的轻链恒定区。可以改变(例如突变)恒定区以修饰抗体的性质(例如,以增加或减少以下中的一种或多种:Fc受体结合、抗体糖基化、半胱氨酸残基数、效应细胞功能和/或补体功能)。在一些实施例中,抗体具有效应子功能并且可以固定补体。在其他实施例中,抗体不募集效应细胞或固定补体。在某些实施例中,抗体具有降低的结合Fc受体的能力或没有该能力。例如,它可以是同种型或亚型、片段或其他突变体,不支持与Fc受体的结合,例如,具有诱变或缺失的Fc受体结合区。

[0798] 用于改变抗体恒定区的方法是本领域已知的。具有改变功能(改变的对效应配体(如细胞上的FcR)或补体的C1组分的亲和力)的抗体可以通过用不同的残基替换抗体恒定部分中的至少一个氨基酸残基而产生(参见例如EP 388,151A1、美国专利号5,624,821和美国专利号5,648,260,所有专利的内容通过引用并入本文)。还考虑了稳定抗体结构的氨基酸突变,例如人IgG4中的S228P(Eu编号)。可以描述类似类型的改变,所述改变如果应用于鼠或其他物种免疫球蛋白将减少或消除这些功能。

[0799] 抗体分子可以被衍生化或连接至另一功能分子(例如,另一种肽或蛋白质)。如本文所用,“衍生的”抗体分子是已被修饰的抗体分子。衍生化方法包括但不限于添加荧光部分、放射性核苷酸、毒素、酶或亲和配体例如生物素。因此,本发明的抗体分子旨在包括本文所述的抗体的衍生形式和其他修饰形式,包括免疫粘附分子。例如,抗体分子可以功能性地连接(通过化学偶联、遗传融合、非共价缔合或其他方式)至一个或多个其他分子实体,例如另一种抗体(例如,双特异性抗体或双抗体)、可检测的试剂、细胞毒性剂、药剂和/或可以介导抗体或抗体部分与另一个分子(例如链霉亲和素核心区域或多组氨酸标签)缔合的蛋白质或肽。

[0800] 一种类型的衍生抗体分子是通过交联两种或更多种抗体(相同类型或不同类型的,例如以生成双特异性抗体)而产生的。合适的交联剂包括为异双功能(具有两个被适当的间隔物(例如,间马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯)隔开的明显不同的反应性基团)或同双功能(例如,辛二酸二琥珀酰亚胺酯)的那些。此类接头可从伊利诺伊州罗克福德的皮尔斯化学公司(Pierce Chemical Company,Rockford,Ill)获得。

[0801] 可用本发明的抗体分子衍生(或标记)的有用的可检测剂包括荧光化合物、各种酶、辅基、发光材料、生物发光材料、发射荧光的金属原子(例如铕(Eu))和其他酸酐以及放射性材料(如下所述)。示例性荧光可检测剂包括荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、5二甲胺-1-萘磺酰氯、藻红蛋白等。抗体也可以用可检测的酶衍生,例如碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶、β-半乳糖苷酶、乙酰胆碱酯酶、葡萄糖氧化酶等。用可检测的酶衍生抗体时,可通过添加酶使用其产生可检测的反应产物的其他试剂进行检测。例如,当存在可检测剂辣根过氧化物酶时,过氧化氢和二氨基联苯胺的添加导致可检测的有色反应产物。抗体分子也可以

用辅基(例如,链霉亲和素/生物素和抗生物素蛋白/生物素)衍生化。例如,抗体可以用生物素衍生,并通过亲和素或链霉亲和素结合的间接测量来检测。合适的荧光材料的实例包括伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪胺荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白;发光材料的实例包括鲁米诺;以及生物发光材料的实例包括荧光素酶、荧光素和水母发光蛋白。

[0802] 标记的抗体分子可以在多种情况下例如在诊断和/或实验中使用,包括(i)通过诸如亲和色谱或免疫沉淀等标准技术分离预定抗原;(ii)检测预定抗原(例如在细胞裂解液或细胞上清液中),以评估蛋白质的丰度和表达模式;(iii)作为临床测试程序的一部分,监视组织中的蛋白质水平,例如,来确定给定治疗方案的功效。

[0803] 抗体分子可以与另一分子实体(通常是标记物或治疗剂(例如,免疫调节剂、免疫刺激剂、细胞毒性剂或细胞抑制剂)或部分)缀合。放射性同位素可用于诊断或治疗应用。可以与抗CD73抗体偶联的放射性同位素包括但不限于α-、β-或γ-发射体,或β-和γ-发射体。此类放射性同位素包括但不限于碘(^{131}I或^{125}I)、钇(^{90}Y)、镥(^{177}Lu)、锕(^{225}Ac)、镨、砹(^{211}At)、铼(^{186}Re)、铋(^{212}Bi或^{213}Bi)、铟(^{111}In)、锝(^{99}mTc)、磷(^{32}P)、铑(^{188}Rh)、硫(^{35}S)、碳(^{14}C)、氚(^{3}H)、铬(^{51}Cr)、氯(^{36}Cl)、钴(^{57}Co或^{58}Co)、铁(^{59}Fe)、硒(^{75}Se)、或镓(^{67}Ga)。可用作治疗剂的放射性同位素包括钇(^{90}Y)、镥(^{177}Lu)、锕(^{225}Ac)、镨、砹(^{211}At)、铼(^{186}Re)、铋(^{212}Bi或^{213}Bi)和铑(^{188}Rh)。可用作标记物(例如用于诊断)的放射性同位素包括碘(^{131}I或^{125}I)、铟(^{111}In)、锝(^{99}mTc)、磷(^{32}P)、碳(^{14}C)和氚(^{3}H),或上面列出的一种或多种治疗性同位素。

[0804] 本发明提供了放射性标记的抗体分子及其标记方法。在一个实施例中,披露了标记抗体分子的方法。该方法包括使抗体分子与螯合剂接触,从而产生缀合的抗体。用放射性同位素,例如^{111}铟、^{90}钇和^{177}镥对缀合的抗体进行放射性标记,从而产生标记的抗体分子。

[0805] 如上所述,抗体分子可以与治疗剂缀合。已经提到了治疗活性的放射性同位素。其他治疗剂的实例包括紫杉醇、细胞松弛素B、短杆菌肽D、溴化乙锭、依米丁、丝裂霉素、依托泊苷、替诺泊苷、长春新碱、长春碱、秋水仙碱、阿霉素、柔红霉素、二羟基蒽醌二酮、米托蒽醌、光神霉素、放线菌素D、1-去氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因、丁卡因、利多卡因、普萘洛尔、嘌呤霉素、美登木素生物碱例如美登醇(参见美国专利号5,208,020)、CC-1065(参见美国专利号5,475,092、5,585,499、5,846,545)及其类似物或同源物。治疗剂包括但不限于抗代谢物(例如甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤、6-硫代鸟嘌呤、阿糖胞苷、5-氟尿嘧啶氨烯咪胺)、烷基化剂(例如氮芥、苯丁酸氮芥、CC-1065、美法仑、卡莫司汀(BSNU)和洛莫司汀(CCNU)、环磷酰胺、白消安、二溴甘露醇、链脲霉素、丝裂霉素C和顺-二氯二胺铂(II)(DDP)顺铂)、蒽环类(例如柔红霉素(旧称道诺霉素)和多柔比星)、抗生素(例如更生霉素(旧称放线菌素)、博来霉素、光神霉素和安曲霉素(AMC))以及抗有丝分裂剂(例如长春新碱、长春碱、紫杉醇和美登木素生物碱)。

[0806] 在一个方面,本发明的特征在于一种提供结合CD73受体的靶结合分子的方法。例如,靶结合分子是抗体分子。该方法包括:提供包含非人蛋白的至少一部分的靶蛋白,该部分与人靶蛋白的相应部分同源(至少70%、75%、80%、85%、87%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同),但相差至少一个氨基酸(例如,至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个或九个氨基酸);获得结合抗原的抗体分子;和评估结合剂在调节靶蛋白活性中的功效。该方法可以进一步包括向人受试者施用结合剂(例如抗体分子)或衍生物(例如人源化抗体分子)。

[0807] 在某些实施例中,抗体分子是多特异性(例如双特异性或三特异性)抗体分子。用于产生双特异性或异源二聚体抗体分子的方案在本领域中是已知的;这些方案包括但不限于:“球状突起于孔中(knob in a hole)”途径,例如在US 5731168中所述;静电导向Fc配对,如例如在WO 09/089004、WO 06/106905和WO 2010/129304中所述;链交换工程化结构域(SEED)异源二聚体形成,如例如在WO 07/110205中所述;Fab臂交换,如例如在WO 08/119353、WO 2011/131746和WO 2013/060867中所述;双抗体缀合物,例如使用具有胺反应性基团和巯基反应性基团的异双官能试剂,通过抗体交联以产生双特异性结构,如例如在US4433059中所述;通过对两条重链之间的二硫键进行还原和氧化的循环,通过重组来自不同抗体的半抗体(重-轻链对或Fab)产生的双特异性抗体决定簇,如例如在US 4444878中所述;三功能抗体,例如通过巯基反应性基团交联的三个Fab'片段,如例如在US 5273743中所述;生物合成结合蛋白,例如通过C-末端尾优选通过二硫键或胺反应性化学交联作用交联的scFv对,如例如在US 5534254中所述;双功能抗体,例如具有不同结合特异性的Fab片段,这些Fab片段通过已经替代恒定结构域的亮氨酸拉链(例如,c-fos和c-jun)二聚化,如例如在US 5582996中所述;双特异性和寡特异性单价和寡价受体,例如两个抗体(两个Fab片段)的VH-CH1区,这些VH-CH1区通过在一个抗体的CH1区与另一个抗体的VH区(典型地具有相关联的轻链)之间的多肽间隔区连接,如例如在US 5591828中所述;双特异性DNA-抗体缀合物,例如抗体或Fab片段通过DNA的双链段交联,如例如在US 5635602中所述;双特异性融合蛋白,例如含有两个scFv(它们之间具有亲水性螺旋肽接头)和一个完全恒定区的表达构建体,如例如在US 5637481中所述;多价和多特异性结合蛋白,例如具有Ig重链可变区结合区的第一结构域和Ig轻链可变区结合区的第二结构域的多肽二聚体,通常称为双体抗体(还披露了更高级结构,产生双特异性、三特异性或四特异性分子),如例如在US 5837242中所述;具有连接的VL和VH链(它们进一步用肽间隔区连接至抗体铰链区和CH3区)的微型抗体构建体,其可以二聚化形成双特异性/多价分子,如例如在US 5837821所述;用短肽接头(例如5或10个氨基酸)连接的或在任一取向上完全没有接头连接的VH和VL结构域,这些VH和VL结构域可以形成二聚体以形成双特异性双体抗体;三聚体和四聚体,如例如在US 5844094中所述;VH结构域(或家族成员中的VL结构域)的串,其通过肽键与C-末端的可交联基团连接,这些可交联基团进一步与VL结构域相关联以形成一系列FV(或scFv),如例如在US 5864019中所述;具有经肽接头连接的VH和VL结构域二者的单链结合多肽通过非共价或化学交联组合成多价结构,以使用scFV或双体抗体类型形式形成例如同二价、异二价、三价和四价结构,如例如在US 5869620中所述。另外的示例性多特异性和双特异性分子及其制备方法见于例如US 5910573、US 5932448、US 5959083、US 5989830、US 6005079、US 6239259、US 6294353、US 6333396、US 6476198、US 6511663、US 6670453、US 6743896、US 6809185、US 6833441、US 7129330、US 7183076、US 7521056、US 7527787、US 7534866、US 7612181、US2002004587 A1、US2002076406 A1、US2002103345 A1、US2003207346A1、US2003211078A1、US2004219643A1、US 2004220388A1、US2004242847 A1、US2005003403 A1、US2005004352A1、US2005069552 A1、US2005079170 A1、US2005100543 A1、US 2005136049A1、US2005136051 A1、US2005163782 A1、US2005266425A1、US2006083747 A1、US2006120960 A1、US2006204493 A1、US 2006263367A1、US2007004909 A1、US2007087381 A1、US2007128150A1、US2007141049 A1、US2007154901 A1、US2007274985 A1、US

2008050370A1、US2008069820 A1、US2008152645 A1、US2008171855A1、US2008241884 A1、US2008254512 A1、US2008260738 A1、US 2009130106A1、US2009148905 A1、US2009155275 A1、US2009162359A1、US2009162360 A1、US2009175851 A1、US2009175867 A1、US 2009232811A1、US2009234105 A1、US2009263392 A1、US20092746 49A1、EP 346087A2、WO 0006605 A2、WO 02072635 A2、WO 04081051A1、WO 06020258 A2、WO 2007044887 A2、WO 2007095338 A2、WO 2007137760A2、WO 2008119353 A1、WO 2009021754 A2、WO 2009068630A1、WO 9103493 A1、WO 9323537 A1、WO9409131 A1、WO 9412625A2、WO 9509917 A1、WO 9637621 A2、WO 9964460 A1中。上述申请的内容通过引用以其全文并入本文。

[0808] 在其他实施例中,抗CD73抗体分子(例如单特异性、双特异性、或多特异性抗体分子)与另一个配偶体(例如蛋白质,例如作为融合分子,如融合蛋白的一个、两个或多个细胞因子)共价地连接(例如融合)。

[0809] "融合蛋白"和"融合多肽"是指具有至少两个共价连接在一起的部分的多肽,其中每个部分是具有不同特性的多肽。该性质可以是生物学性质,例如体外或体内活性。该性质也可以是简单的化学或物理性质,例如与靶分子的结合,反应的催化等。这两个部分可以通过单个肽键或通过肽接头直接连接,但彼此处于一个阅读框中。

[0810] 本发明提供了分离的核酸分子,该分离的核酸分子编码上述抗体分子、其运载体和宿主细胞。核酸分子包括但不限于RNA、基因组DNA和cDNA。

[0811] 示例性抗CD73抗体分子

[0812] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含来自本文所述的抗体(例如,选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的至少一个抗原结合区,例如其可变区或抗原结合片断;或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列或与前述序列中任何一项基本上相同(例如具有至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更高同一性)的序列所编码。

[0813] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含来自本文所述的抗体(例如,选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的至少一个、两个、三个或四个可变区体;或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列或与前述序列中任何一项基本上相同(例如具有至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更高同一性)的序列所编码。

[0814] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含来自本文所述的抗体(例如,选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的至少一个或两个重链可变区;或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列或与前述序列中任何一项基本上相同(例如具有至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更高同一性)的序列所编码。

[0815] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含来自本文所述的抗体(例如,选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的至少一个或两个轻链可变区;或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列或与前述序列中任何一项基本上相同(例如具有至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更高同一性)的序列所编码。

[0816] 在一个实施例中,抗CD73抗体分子包括IgG4(例如,人IgG4)的重链恒定区。在另一

个实施例中,人IgG4包括根据Eu编号在位置228处的取代(例如,Ser至Pro取代)。在仍另一个实施例中,抗CD73抗体分子包括IgG1(例如,人IgG1)的重链恒定区。在一个实施例中,人IgG1包括根据Eu编号在位置297处的取代(例如,Asn至Ala取代)。在一个实施例中,人IgG1包括根据Eu编号在位置265处的取代(例如,Asp至Ala取代)、根据Eu编号在位置329处的取代(例如,Pro至Ala取代)。在一个实施例中,人IgG1包括根据Eu编号在位置234处的取代(例如,Leu至Ala取代)、根据Eu编号在位置235处的取代(例如,Leu至Ala取代)、或两者。在一个实施例中,重链恒定区包含表3中列出的氨基酸序列,或与其基本上相同(例如具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性)的序列。

[0817] 在仍另一个实施例中,抗CD73抗体分子包括κ轻链恒定区,例如人κ轻链恒定区。在一个实施例中,轻链恒定区包含表3中列出的氨基酸序列,或与其基本上相同(例如具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性)的序列。

[0818] 在另一个实施例中,抗CD73抗体分子包括IgG4(例如人IgG4)的重链恒定区,和κ轻链恒定区(例如人κ轻链恒定区),例如包含表3中列出的氨基酸序列,或与其基本上相同(例如具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性)的序列的重链和轻链恒定区。在又另一个实施例中,抗CD73抗体分子包括IgG1(例如人IgG1)的重链恒定区,和κ轻链恒定区(例如人κ轻链恒定区),例如包含表3中列出的氨基酸序列,或与其基本上相同(例如具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性)的序列的重链和轻链恒定区。在一个实施例中,人IgG1包括根据Eu编号在位置297处的取代(例如Asn至Ala取代)。在一个实施例中,人IgG1包括根据Eu编号在位置265处的取代、根据Eu编号在位置329处的取代或两者(例如,在位置265处的Asp至Ala取代和/或在位置329处的Pro至Ala取代)。在一个实施例中,人IgG1包括根据Eu编号在位置234处的取代、根据Eu编号在位置235处的取代或两者(例如,在位置234处的Leu至Ala取代和/或在位置235处的Leu至Ala取代)。

[0819] 在另一个实施例中,抗CD73抗体分子包括重链可变区和恒定区、轻链可变区和恒定区,或两者,包含918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的氨基酸序列;或如表1中所述的;或由表1中的核苷酸序列所编码;或与前述序列中任何一项基本上相同(例如具有至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更高同一性)的序列。

[0820] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的重链可变区的至少一个、两个、或三个互补决定区(CDR);或如表1中所述,或由表1中的核苷酸序列编码;或与前述序列中任何一项基本上相同(例如具有至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更高同一性)的序列。

[0821] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含来自重链可变区的至少一个、两个或三个互补决定区(CDR),该重链可变区包含如表1所示或由表1所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一个实施例中,相对于表1中所示的氨基酸序列或由表1中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、或更多个变化,例如氨基酸取代、插入或缺失。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包括重链CDR中的取代,例如重链的CDR1、CDR2和/或CDR3中的一个或多个取代。

[0822] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的轻链可变区的至少一个、两个、或三个互补决定区(CDR);或如表1中所述,或由表1中的核苷酸序列编码;或与前述序列中任何一项基本上相同(例如具有至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更高同一性)的序列。

[0823] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自轻链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或总体上全部CDR),该轻链可变区包含表1所示或由表1所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一些实施例中,相对于表1中所示的CDR或由表1中所示的核苷酸序列编码的CDR,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、或更多个变化,例如氨基酸取代、插入或缺失。在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自轻链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或总体上全部CDR),该轻链可变区包含表1所示或由表1所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一些实施例中,相对于表1中所示的CDR或由表1中所示的核苷酸序列编码的CDR,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、或更多个变化,例如氨基酸取代、插入或缺失。

[0824] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(或总体上全部CDR),该重链和轻链可变区包含表1中所示的氨基酸序列,或由表1中所示的核苷酸序列编码。在一些实施例中,相对于表1中所示的CDR或由表1中所示的核苷酸序列编码的CDR,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、或更多个变化,例如氨基酸取代、插入或缺失。

[0825] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)全部六个CDR;或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列编码,或密切相关的CDR,例如相同或具有至少一个氨基酸改变,但不多于两个、三个或四个改变(例如取代、缺失、或插入,例如保守取代)的CDR。在某些实施例中,抗CD73抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包括重链CDR中的取代,例如重链的CDR1、CDR2和/或CDR3中的一个或多个取代。

[0826] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的重链可变区的至少一个、两个或三个根据卡巴特等人的CDR(例如,表1中所列出的至少一个、两个或三个根据卡巴特定义的CDR);或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列编码;或与前述序列中任一项基本上相同(例如具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性)的序列;或相对于表1所示的一个、两个或三个根据卡巴特等人的CDR,具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,取代、缺失或插入,例如保守取代)的CDR。

[0827] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的轻链可变区的至少一个、两个或三个根据卡巴特等人的CDR(例如,表1中所列出的至少一个、两个或三个根据卡巴特定义的CDR);或由表1中的核苷酸序列编码;或与前述序列中任一项基本上相同(例如具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性)的序

列;或相对于表1所示的一个、两个或三个根据卡巴特等人的CDR,具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,取代、缺失或插入,例如保守取代)的CDR。

[0828] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个根据卡巴特等人的CDR(例如,表1中所列出的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个根据卡巴特定义的CDR);或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列编码;或与前述序列中任一项基本上相同(例如具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性)的序列;或相对于表1所示的一个、两个、三个、四个、五个或六个根据卡巴特等人的CDR,具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,取代、缺失或插入,例如保守取代)的CDR。

[0829] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的重链和轻链可变区的全部六个根据卡巴特等人的CDR(例如,表1中所列出的全部六个根据卡巴特定义的CDR);或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列编码;或与前述序列中任一项基本上相同(例如具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性)的序列;或相对于表1所示的全部六个根据卡巴特等人的CDR,具有至少一个氨基酸改变但不多于两个、三个或四个改变(例如取代、缺失或插入,例如保守取代)的CDR。在一个实施例中,抗CD73抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[0830] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的重链可变区的至少一个、两个或三个乔西亚高变环(例如,表1中所列出的至少一个、两个或三个根据乔西亚定义的高变环);或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列编码;或至少来自接触CD73的那些高变环的氨基酸;或者相对于表1所示的一个、两个或三个根据乔西亚等人的高变环,具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,如保守置换)的高变环。

[0831] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的轻链可变区的至少一个、两个或三个乔西亚高变环(例如,表1中所列出的至少一个、两个或三个根据乔西亚定义的高变环);或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列编码;或至少来自接触CD73的那些高变环的氨基酸;或者相对于表1所示的一个、两个或三个根据乔西亚等人的高变环,具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,如保守置换)的高变环。

[0832] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个高变环(例如,表1中所列出的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个根据乔西亚定义的高变环);或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列编码;或至少来自接触CD73的那些高变环的氨基酸;或相对于表1所示的一个、两个、三个、四个、五个或六个根据乔西亚等人的高变环,具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,如保守置换)的高变环。

[0833] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的全部六个高变环(例如,表1中所列出的全部六个根据乔西亚定义的高变环);或密切相关的高变环,例如相同或具有至少一个氨基酸改变,但不多于两个、三个或四个改变(例如取代、缺失、或插入,例如保守取代)的高变环;或相对于表1所示的全部六个根据乔西亚等人的高变环,具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,如保守置换)的氨基酸的高变环。在一个实施例中,抗CD73抗体分子可以包括本文所述的任何高变环。

[0834] 在仍另一个实施例中,抗CD73抗体分子包括具有与本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的相应高变环相同的规范结构(例如,与本文所述的抗体的重链和/或轻链可变结构域的至少环1和/或环2相同的规范结构)的至少一个、两个或三个高变环。参见例如乔西亚等人,(1992)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]227:799-817;Tomlinson等人,(1992)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]227:776-798的高变环规范结构的描述。这些结构可以通过查阅这些参考文献中描述的表格来确定。

[0835] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包括根据卡巴特等人和乔西亚等人定义的CDR或高变环的组合。

[0836] 在一个实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的重链可变区的至少一个、两个或三个根据卡巴特或乔西亚定义的CDR或高变环(例如,表1中所列出的至少一个、两个或三个根据卡巴特或乔西亚定义的CDR或高变环);或由表1中的核苷酸序列编码;或与前述序列中任一项基本上相同(例如具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性)的序列;或相对于表1中所示根据卡巴特和/或乔西亚的一个、两个、或三个CDR或高变环,具有至少一个氨基酸改变但不多于两个、三个或四个改变(例如取代、缺失、或插入,例如保守取代)的序列。

[0837] 在另一个实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的轻链可变区的至少一个、两个或三个根据卡巴特或乔西亚定义的CDR或高变环(例如,表1中所列出的至少一个、两个或三个根据卡巴特或乔西亚定义的CDR或高变环);或由表1中的核苷酸序列编码;或与前述序列中任一项基本上相同(例如具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性)的序列;或相对于表1中所示根据卡巴特和/或乔西亚的一个、两个、或三个CDR或高变环,具有至少一个氨基酸改变但不多于两个、三个或四个改变(例如取代、缺失、或插入,例如保守取代)的序列。

[0838] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的重链可变区的至少一个、两个或三个根据IMGT定义的CDR(例如,表1中所列出的至少一个、两个或三个根据IMGT定义的CDR);或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列编码;或与前述序列中任一项基本上相同(例如具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性)的序列;或相对于表1所示的一个、两个或三个根据IMGT定义的CDR,具有至少一个

氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,取代、缺失或插入,例如保守取代)的CDR。

[0839] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的轻链可变区的至少一个、两个或三个根据IMGT定义的CDR(例如,表1中所列出的至少一个、两个或三个根据IMGT定义的CDR);或由表1中的核苷酸序列编码;或与前述序列中任一项基本上相同(例如具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性)的序列;或相对于表1所示的一个、两个或三个根据IMGT定义的CDR,具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,取代、缺失或插入,例如保守取代)的CDR。

[0840] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个根据IMGT定义的CDR(例如,表1中所列出的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个根据IMGT定义的CDR);或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列编码;或与前述序列中任一项基本上相同(例如具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性)的序列;或相对于表1所示的一个、两个、三个、四个、五个或六个根据IMGT定义的CDR,具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,取代、缺失或插入,例如保守取代)的CDR。

[0841] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的重链和轻链可变区的全部六个根据IMGT定义的CDR(例如,表1中所列出的全部六个根据IMGT定义的CDR);或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列编码;或与前述序列中任一项基本上相同(例如具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性)的序列;或相对于表1所示的全部六个根据IMGT定义的CDR,具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,取代、缺失或插入,例如保守取代)的CDR。在一个实施例中,抗CD73抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[0842] 抗CD73抗体分子可以含有根据卡巴特和乔西亚定义的CDR或高变环的任何组合。

[0843] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如表1的抗体)的重链可变区的至少一个、两个或三个乔西亚高变环,或至少来自与CD73接触的那些高变环的氨基酸。

[0844] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如表1的抗体)的轻链可变区的至少一个、两个或三个乔西亚高变环,或至少来自与CD73接触的那些高变环的氨基酸。

[0845] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如表1的抗体)的重链可变区的至少一个、两个或三个卡巴特高变环,或至少来自与CD73接触的那些高变环的氨基酸。

[0846] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如表1的抗体)的轻链可变区的至少一个、两个或三个卡巴特高变环,或至少来自与CD73接触的那些高变环的氨基酸。

[0847] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如表1的抗体)的

重链可变区的至少一个、两个或三个IMGT高变环,或至少来自与CD73接触的那些高变环的氨基酸。

[0848] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如表1的抗体)的轻链可变区的至少一个、两个或三个IMGT高变环,或至少来自与CD73接触的那些高变环的氨基酸。

[0849] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如表1的抗体)的重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个高变环,或至少来自与CD73接触的那些高变环的氨基酸。

[0850] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包括来自本文所述的抗体(例如表1的抗体)的重链和轻链可变区的全部六个高变环,或至少来自与CD73接触的那些高变环的氨基酸,或至少来自与CD73接触的那些高变环的氨基酸,或密切相关的高变环,例如相同或具有至少一个氨基酸改变,但不多于两个、三个或四个改变(例如取代(例如保守取代)、缺失、或插入)的高变环。

[0851] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包括具有与本文所述的抗体(例如表1的抗体)的相应高变环相同的规范结构(例如,与本文所述的抗体的重链和/或轻链可变结构域的至少环1和/或环2相同的规范结构)的至少一个、两个或三个高变环。参见例如乔西亚等人,(1992)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]227:799-817;Tomlinson等人,(1992)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]227:776-798的高变环规范结构的描述。这些结构可以通过查阅这些参考文献中描述的表格来确定。在一个实施例(例如包含可变区、CDR(例如乔西亚CDR或卡巴特CDR或IMGT CDR)、或本文例如在表1中提及的其他序列的实施例)中,抗体分子是单特异性抗体分子、双特异性抗体分子、或包含抗体的抗原结合片段(例如半抗体或半抗体的抗原结合片段)的抗体分子。

[0852] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子的重链或轻链可变结构域或两者包括如下氨基酸序列,其与本文披露的氨基酸基本上相同,例如与本文所述抗体(例如选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体)的可变结构域具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%序列同一性;或如表1中所述;或由表1中的核苷酸序列编码;或与本文所述抗体的可变区相差至少1或5个残基,但少于40、30、20、或10个残基。

[0853] 在一个实施例中,抗CD73抗体分子的重链或轻链可变区或两者包括由本文所述的核酸序列或例如在低严格、中等严格、或高严格、或本文所述的其他杂交条件下与本文所述核酸序列(例如,表1中所示的核酸序列)或其补体杂交的核酸编码的氨基酸序列。

[0854] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含至少一个、两个、三个、或四个抗原结合区,例如具有如表1中列出的氨基酸序列、或与其基本上相同的序列(例如与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性,或与表1中所示序列相差不多于1、2、5、10、或15个氨基酸残基的序列)的可变区。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包括由如下核酸编码的VH和/或VL结构域,所述核酸具有编码表1的抗体的核苷酸序列或与所述核苷酸序列中的任一者基本上相同的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性,或与表1中示出的序列相差不多于3、6、15、30、或45个核苷酸的序列)。

[0855] 在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含来自重链可变区(具有如表1中列出的氨基

酸序列)的至少一个、两个、或三个(例如,全部)CDR,或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列)。在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含来自轻链可变区(具有如表1中列出的氨基酸序列)的至少一个、两个、或三个(例如,全部)CDR,或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列)。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含来自重链和轻链可变区(具有如表1中列出的氨基酸序列)的至少一个、两个、三个、四个、五个、或六个(例如,全部)CDR,或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失,例如保守取代的序列)。

[0856] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含来自重链可变区的至少一个、两个、或三个(例如,全部)CDR和/或高变环,该重链可变区具有本文所述抗体(例如,选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体,如表1所概述)的氨基酸序列,或与其基本上相同的序列(例如与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失(例如保守取代)的序列)。在某些实施例中,抗CD73抗体分子包含来自轻链可变区的至少一个、两个、或三个(例如,全部)CDR和/或高变环,该轻链可变区具有本文所述抗体(例如,选自918、350、356、358、930、373、374、376、377、379、363、366、407、893、939、430、或398的抗体,如表1所概述)的氨基酸序列,或与其基本上相同的序列(例如与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失(例如保守取代)的序列)。在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含本文所述(例如表1中所述)的全部六个CDR和/或高变环。

[0857] 在一些实施例中,抗体分子具有可变区,该可变区与本文所述的可变区(例如本文披露的FR区)在序列上相同,或相差1、2、3、或4个氨基酸。

[0858] 在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含GGLYGSGSYLSDFDL(SEQ ID NO:37)的VHCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含ESQESPYNNWFDP(SEQ ID NO:3)的VHCDR3氨基酸序列。

[0859] 在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:88的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:89的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表2中。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:90的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:91的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表2中。

[0860] 在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:122的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:123的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的

VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:51的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:53的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表2中。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:124的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:125的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:17的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:18的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:19的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表2中。

[0861] 在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:126的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:89的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表2中。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:127的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:91的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表2中。

[0862] 在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:128的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:129的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:54的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表2中。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:130的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:131的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:20的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:18的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表2中。

[0863] 在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:189的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:89的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表2中。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:196的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:91的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表2中。

[0864] 在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:72的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨

基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:61的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:163的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0865] 在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:39的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:40的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:51的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:53的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:73的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:74的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:51的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:53的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:82的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:74的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:51的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:53的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:138的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:139的

VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:51的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:53的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:147的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:148的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:51的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:53的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:155的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:156的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:51的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:53的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:62的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:63的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:17的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:18的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:19的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:27的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:28的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:17的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:18的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:19的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:5的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:17的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:18的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:19的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:164的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:165的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:17的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:18的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:19的VLCDR3氨基酸序列。

[0866] 在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:35的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:70的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:81的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:135的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:145的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:

153的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:59的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:25的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:1的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:161的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0867] 在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:41的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:42的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:54的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:75的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:76的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:54的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:83的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:76的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:54的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:140的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:141的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:54的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:149的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:150的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:54的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:157的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:158的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:54的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:64的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:65的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:20的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:18的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗

CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:29的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:30的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:20的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:18的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:7的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:8的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:20的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:18的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:166的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:167的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:20的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:18的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0868] 在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:190的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:191的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:192的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:193的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:194的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:195的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:197的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:198的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:199的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3

氨基酸序列。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含VH,其包含SEQ ID NO:200的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[0869] 在其他实施例中,前述抗体包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:44、77、84、142、151或159中任何一项具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,前述抗体包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:66、31、10或168中任何一项具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列。

[0870] 在其他实施例中,前述抗体包含轻链可变区,该轻链可变区包含与SEQ ID NO:55或21中任何一项具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列。

[0871] 在其他实施例中,前述抗体包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:46、79、86、114、116或117中任何一项具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,前述抗体包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:68、33、12、115、113或112中任何一项具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列。

[0872] 在其他实施例中,前述抗体包含轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:57或23中任何一项具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列。

[0873] 在其他实施例中,抗体分子包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:44具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链可变区,该轻链可变区包含与SEQ ID NO:55具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:77具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链可变区,该轻链可变区包含与SEQ ID NO:55具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:84具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链可变区,该轻链可变区包含与SEQ ID NO:55具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:142具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链可变区,该轻链可变区包含与SEQ ID NO:55具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:151具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链可变区,该轻链可变区包含与SEQ ID NO:55具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:159具有

至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链可变区,该轻链可变区包含与SEQ ID NO:55具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:66具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链可变区,该轻链可变区包含与SEQ ID NO:21具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:31具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链可变区,该轻链可变区包含与SEQ ID NO:21具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:10具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链可变区,该轻链可变区包含与SEQ ID NO:21具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:168具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链可变区,该轻链可变区包含与SEQ ID NO:21具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。

[0874] 在其他实施例中,抗体分子包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:46具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:57具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:79具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:57具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:86具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:57具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:114具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:57具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:116具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:57具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:117具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:57具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:68具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、

98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:23具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:33具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:23具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:12具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:23具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:115具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:23具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:113具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:23具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。在其他实施例中,抗体分子包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:112具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列;以及轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:23具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列。

[0875] 在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:81、201、37、205、206、和207的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:38、201、37、205、206、和207的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:82、202、37、208、209、和228的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:83、203、43、229、209、和207的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:192、201、43、205、206、和207的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:204和230的氨基酸序列(例如,与其具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列)的VH和VL。

[0876] 在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:81、231、37、205、206、和207的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:38、231、37、205、206、和207的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:82、232、37、208、209、和228的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:83、233、43、229、209、和207的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:192、231、43、205、206、和207的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:

234和230的氨基酸序列(例如,与其具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列)的VH和VL。

[0877] 在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:235、236、237、246、15、和247的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:238、236、237、246、15、和247的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:239、240、237、248、18、和249的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:241、242、243、250、18、和247的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:244、236、243、246、15、和247的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:245和251的氨基酸序列(例如,与其具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列)的VH和VL。

[0878] 在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:252、253、254、262、263、和264的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:255、253、254、262、263、和264的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:155、256、254、265、266、和267的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:257、258、259、268、266、和264的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:260、253、259、262、263、和264的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:261和269的氨基酸序列(例如,与其具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列)的VH和VL。

[0879] 在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:287、288、289、298、49、和299的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:290、288、289、298、49、和299的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:291、292、289、300、52、和301的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:293、294、295、302、52、和299的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:296、288、295、298、49、和299的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:297和303的氨基酸序列(例如,与其具有至少约85％(例如,至少90％、95％、97％、98％、99％、或100％)序列同一性的氨基酸序列)的VH和VL。

[0880] 在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:304、305、306、14、15、和314的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:61、305、306、14、15、和314的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:

307、308、306、17、18、和315的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:309、310、311、20、18、和314的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:312、305、311、14、15、和314的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:313和316的氨基酸序列(例如,与其具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列)的VH和VL。

[0881] 在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:317、318、319、14、15、和328的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:320、318、319、14、15、和328的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:321、322、319、17、18、和329的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:323、324、325、20、18、和328的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:326、318、325、14、15、和328的氨基酸序列的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、和VLCDR3。在其他实施例中,抗体分子包含分别含有SEQ ID NO:327和330的氨基酸序列(例如,与其具有至少约85%(例如,至少90%、95%、97%、98%、99%、或100%)序列同一性的氨基酸序列)的VH和VL。

[0882] 在其他实施例中,前述抗体分子选自完整抗体、双特异性抗体、Fab、F(ab')2、Fv、或单链Fv片段(scFv)。

[0883] 在其他实施例中,前述抗体分子包含选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的重链恒定区。

[0884] 在其他实施例中,前述抗体分子包含选自κ或λ轻链恒定区的轻链恒定区。

[0885] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含表1中披露的重链可变区、轻链可变区、重链恒定区和/或轻链恒定区。在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含表3中披露的重链恒定区和/或轻链恒定区。在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含重链恒定区,该重链恒定区包含选自由SEQ ID NO:92-103、119和120组成的组的氨基酸序列。在一些实施例中,抗CD73抗体分子包含轻链恒定区,该轻链恒定区包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列。

[0886] 抗CD73抗体的示例性序列描述于下表1和2中。

[0887] 表1.示例性抗CD73抗体的氨基酸和核苷酸序列

[0888]

358		
SEQ ID NO: 1（组合的）	HCDR1	GGSISGRYWS
SEQ ID NO: 2（组合的）	HCDR2	YIYGTGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 3（组合的）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 4（卡巴特）	HCDR1	GRYWS
SEQ ID NO: 2（卡巴特）	HCDR2	YIYGTGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 3（卡巴特）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 5（乔西亚）	HCDR1	GGSISGR
SEQ ID NO: 6（乔西亚）	HCDR2	YGTGS
SEQ ID NO: 3（乔西亚）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 7（IMGT）	HCDR1	GGSISGRY
SEQ ID NO: 8（IMGT）	HCDR2	IYGTGST
SEQ ID NO: 9（IMGT）	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 199（替代物）	HCDR1	GSISGRYWS
SEQ ID NO: 2（替代物）	HCDR2	YIYGTGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 9（替代物）	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 10	VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGRYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYGTGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYCARESQESPYNNWFDPWGQGTL VTVSS
SEQ ID NO: 11	DNA VH	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGCCTGGTCA AGCCCTCCGAGACACTGTCCCTGACCTGCACCGTGTC CGGCGGCTCCATCTCCGGCCGGTACTGGTCTTGGATC CGGCAGCCTCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGC TACATCTACGGCACCGGCTCCACCAACTACAACCCCA GCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCTCCGTGGACACCTC CAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCCGTGACC GCCGCTGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGAGT CCCAGGAATCCCCTTACAACAATTGGTTCGACCCCTG GGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCTCT
SEQ ID NO: 12	358.A 重链	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGRYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYGTGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYCARESQESPYNNWFDPWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE

[0889]

		VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGX, 其中 X 是 K 或不存在。
SEQ ID NO: 13	358.A DNA 重链	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGCCTGGTCA AGCCCTCCGAGACACTGTCCCTGACCTGCACCGTGTC CGGCGGCTCCATCTCCGGCCGGTACTGGTCTTGGATC CGGCAGCCTCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGC TACATCTACGGCACCGGCTCCACCAACTACAACCCCA GCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCTCCGTGGACACCTC CAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCCGTGACC GCCGCTGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGAGT CCCAGGAATCCCCTTACAACAATTGGTTCGACCCCTG GGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCTCTGCTTCC ACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGCTC CCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGC CTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGT CCTGGAACTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCACAC CTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCC TGTCCAGCGTCGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGG CACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCC TCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTGGAATCTAAG TACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGCCCTGCCCCTGAGTT CCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTCCCTCCAAAG CCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAG TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAAGATCC CGAAGTCCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAA GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAG TTCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACA AGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCAT CGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCG CGAGCCCCAAGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAA GAGATGACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGTCTGG TCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAGTG GGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGAC CACCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCC TGTACTCTCGGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCA GGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAG GCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCC TGTCTCTGGGCX1X2X3, 其中 X1 是 A，X2 是 A，X3 是 G；或 X1 是不存在，X2 是不存在，并且 X3 是不存在。
SEQ ID NO: 112	358.B 重链	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGRYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYGTGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYCARESQESPYNNWFDPWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG

[0890]

		QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGX， 其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 14（组合的）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（组合的）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（组合的）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14（卡巴特）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（卡巴特）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（卡巴特）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 17（乔西亚）	LCDR1	SQGISSW
SEQ ID NO: 18（乔西亚）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 19（乔西亚）	LCDR3	GNSFPR
SEQ ID NO: 20（IMGT）	LCDR1	QGISSW
SEQ ID NO: 18（IMGT）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 16（IMGT）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14（替代物）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（替代物）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（替代物）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 21	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNSFPRTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 22	DNA VL	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCTCCGTGTCCG CCTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGC CTCCCAGGGCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACG CCGCCTCCAGCCTGCAGTCCGGCGTGCCCTCCAGATT CTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACC ATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACT ACTGCCAGCAGGGCAACTCCTTCCCTCGGACCTTCGG CGGAGGCACCAAAGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 23	轻链	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNSFPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 24	DNA 轻链	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCTCCGTGTCCG CCTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGC CTCCCAGGGCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACG CCGCCTCCAGCCTGCAGTCCGGCGTGCCCTCCAGATT CTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACC ATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACT ACTGCCAGCAGGGCAACTCCTTCCCTCGGACCTTCGG CGGAGGCACCAAAGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGC CGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGC AGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCGTGTGCCTGCT GAACAACTTCTACCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGG AAAGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAG GAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACC TACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCG

[0891]

		ACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGA CCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT CAACCGGGGCGAGTGC
356		
SEQ ID NO: 25（组合的）	HCDR1	GGSIEGRYWS
SEQ ID NO: 26（组合的）	HCDR2	YIYGSGSTKYNPSLKS
SEQ ID NO: 3（组合的）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 4（卡巴特）	HCDR1	GRYWS
SEQ ID NO: 26（卡巴特）	HCDR2	YIYGSGSTKYNPSLKS
SEQ ID NO: 3（卡巴特）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 27（乔西亚）	HCDR1	GGSIEGR
SEQ ID NO: 28（乔西亚）	HCDR2	YGSGS
SEQ ID NO: 3（乔西亚）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 29（IMGT）	HCDR1	GGSIEGRY
SEQ ID NO: 30（IMGT）	HCDR2	IYGSGST
SEQ ID NO: 9（IMGT）	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 198（替代物）	HCDR1	GSIEGRYWS
SEQ ID NO: 26（替代物）	HCDR2	YIYGSGSTKYNPSLKS
SEQ ID NO: 9（替代物）	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 31	VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIEGRYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYGSGSTKYNPSLKSRVTISVDTSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYCARESQESPYNNWFDPWGQGTL VTVSS
SEQ ID NO: 32	DNA VH	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGCCTGGTCA AGCCCTCCGAGACACTGTCCCTGACCTGCACCGTGTC CGGCGGCTCTATCGAGGGCCGGTACTGGTCCTGGATC CGGCAGCCTCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCT ACATCTACGGCTCCGGCTCCACCAAGTACAACCCCAG CCTGAAGTCCAGAGTGACCATCTCCGTGGACACCTCC AAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCCGTGACCG CCGCTGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGAGTC CCAGGAATCCCCTTACAACAATTGGTTCGACCCCTGG GGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCTCT
SEQ ID NO: 33	356.A 重链	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIEGRYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYGSGSTKYNPSLKSRVTISVDTSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYCARESQESPYNNWFDPWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGX, 其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 34	356.A DNA 重链	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGCCTGGTCA AGCCCTCCGAGACACTGTCCCTGACCTGCACCGTGTC CGGCGGCTCTATCGAGGGCCGGTACTGGTCCTGGATC CGGCAGCCTCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCT ACATCTACGGCTCCGGCTCCACCAAGTACAACCCCAG

[0892]

		CCTGAAGTCCAGAGTGACCATCTCCGTGGACACCTCC AAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCCGTGACCG CCGCTGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGAGTC CCAGGAATCCCCTTACAACAATTGGTTCGACCCCTGG GGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCTCTGCCTCCA CCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGCTCC CGGTCCACCTCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGCC TCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTC CTGGAACTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACC TTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCT GTCCAGCGTCGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGGC ACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCT CCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTGGAATCTAAGT ACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGCCCTGCCCCTGAGTTC CTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTCCCTCCAAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGT GACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAAGATCCC GAAGTCCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAA GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAG TTCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACA AGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCAT CGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCG CGAGCCCCAAGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAA GAGATGACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGTCTGG TCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAGTG GGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGAC CACCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCC TGTACTCTCGGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCA GGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAG GCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCC TGTCTCTGGGC $X_1X_2X_3$, 其中 X_1 是 A，X_2 是 A，X_3 是 G；或 X_1 是不存在，X_2 是不存在，并且 X_3 是不存在。
SEQ ID NO: 113	356.B 重链	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIEGRYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYGSGSTKYNPSLKSRVTISVDTSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYCARESQESPYNNWFDPWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGX, 其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 14（组合的）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（组合的）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（组合的）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14（卡巴特）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（卡巴特）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（卡巴特）	LCDR3	QQGNSFPRT

[0893]

SEQ ID NO: 17（乔西亚）	LCDR1	SQGISSW
SEQ ID NO: 18（乔西亚）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 19（乔西亚）	LCDR3	GNSFPR
SEQ ID NO: 20（IMGT）	LCDR1	QGISSW
SEQ ID NO: 18（IMGT）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 16（IMGT）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14（替代物）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（替代物）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（替代物）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 21	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNSFPRTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 22	DNA VL	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCTCCGTGTCCG CCTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGC CTCCCAGGGCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACG CCGCCTCCAGCCTGCAGTCCGGCGTGCCCTCCAGATT CTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACC ATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACT ACTGCCAGCAGGGCAACTCCTTCCCTCGGACCTTCGG CGGAGGCACCAAAGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 23	轻链	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNSFPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 24	DNA 轻链	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCTCCGTGTCCG CCTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGC CTCCCAGGGCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACG CCGCCTCCAGCCTGCAGTCCGGCGTGCCCTCCAGATT CTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACC ATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACT ACTGCCAGCAGGGCAACTCCTTCCCTCGGACCTTCGG CGGAGGCACCAAAGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGC CGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGC AGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCGTGTGCCTGCT GAACAACTTCTACCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGG AAAGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAG GAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACC TACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCG ACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGA CCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT CAACCGGGGCGAGTGC
373		
SEQ ID NO: 35（组合的）	HCDR1	GFTFHRYAMS
SEQ ID NO: 36（组合的）	HCDR2	AISGSGMNTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（组合的）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 38（卡巴特）	HCDR1	RYAMS
SEQ ID NO: 36（卡巴特）	HCDR2	AISGSGMNTYYADSVKG

[0894]

SEQ ID NO: 37（卡巴特）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 39（乔西亚）	HCDR1	GFTFHRY
SEQ ID NO: 40（乔西亚）	HCDR2	SGSGMN
SEQ ID NO: 37（乔西亚）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 41（IMGT）	HCDR1	GFTFHRYA
SEQ ID NO: 42（IMGT）	HCDR2	ISGSGMNT
SEQ ID NO: 43（IMGT）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 190（替代物）	HCDR1	FTFHRYAMS
SEQ ID NO: 36（替代物）	HCDR2	AISGSGMNTYYADSVKG
SEQ ID NO: 43（替代物）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 44	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFHRYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGMNTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDL WGRGTLVTVSS
SEQ ID NO: 45	DNA VH	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTG CAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCT CCGGCTTCACCTTCCACAGATACGCCATGTCCTGGGT CCGACAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTC CGCCATCTCCGGCTCCGGCATGAACACCTACTACGCC GACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGGGACA ACTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCT GCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAG AGGCGGCCTGTACGGCTCCGGCTCCTACCTGTCCGAC TTCGACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTCACCGTGT CCTCC
SEQ ID NO: 46	373.A 重链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFHRYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGMNTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDL WGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGX，其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 47	373.A DNA 重链	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTG CAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCT CCGGCTTCACCTTCCACAGATACGCCATGTCCTGGGT CCGACAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTC CGCCATCTCCGGCTCCGGCATGAACACCTACTACGCC GACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGGGACA ACTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCT GCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAG AGGCGGCCTGTACGGCTCCGGCTCCTACCTGTCCGAC TTCGACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTCACCGTGT CCTCCGCCTCCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCT GGCCCCTTGCTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGCC GCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGC CCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACCTC

[0895]

		CGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCC GGCCTGTACTCCCTGTCCAGCGTCGTGACCGTGCCCT CCTCCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGT GGACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAGCG GGTGGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGC CCTGCCCCTGAGTTCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCT GTTCCCTCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCC CGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGT CCCAGGAAGATCCCGAAGTCCAGTTCAATTGGTACGT GGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCC CAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACCGGGTGGT GTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAAC GGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGC CTGCCCTCCAGCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCA AGGGCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACCCTGCC TCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAAGTGTC CCTGACTTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGAT ATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCG ACGGCTCCTTCTTCCTGTACTCTCGGCTGACCGTGGAC AAGTCCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCT CCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCA GAAGTCCCTGTCCCTGTCTCTGGGC $X_1X_2X_3$, 其中 X_1 是 A，X_2 是 A，X_3 是 G；或 X_1 是不存在，X_2 是不存在，并且 X_3 是不存在。
SEQ ID NO: 114	373.B 重链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFHRYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGMNTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDL WGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGX, 其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 48（组合的）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（组合的）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（组合的）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48（卡巴特）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（卡巴特）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（卡巴特）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 51（乔西亚）	LCDR1	SQSVGSN
SEQ ID NO: 52（乔西亚）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 53（乔西亚）	LCDR3	HNAFPY
SEQ ID NO: 54（IMGT）	LCDR1	QSVGSN
SEQ ID NO: 52（IMGT）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 50（IMGT）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48（替代物）	LCDR1	RASQSVGSNLA

[0896]

SEQ ID NO: 49（替代物）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（替代物）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 55	VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQK PGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQS EDFAVYYCQQHNAFPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 56	DNA VL	GAGATCGTGCTGACACAGTCCCCTGCCACCCTGTCTG TGTCTCCCGGCGAGAGAGCCACCCTGAGCTGCAGAGC CTCCCAGTCCGTGGGCTCCAACCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCCAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACG GCGCCTCTACCAGAGCCACCGGCATCCCTGCCAGATT CTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTCACCCTGACC ATCTCCAGCCTGCAGTCCGAGGACTTCGCCGTGTACT ACTGCCAGCAGCACAACGCCTTCCCTTACACCTTCGG CGGAGGCACCAAAGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 57	轻链	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQK PGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQS EDFAVYYCQQHNAFPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 58	DNA 轻链	GAGATCGTGCTGACACAGTCCCCTGCCACCCTGTCTG TGTCTCCCGGCGAGAGAGCCACCCTGAGCTGCAGAGC CTCCCAGTCCGTGGGCTCCAACCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCCAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACG GCGCCTCTACCAGAGCCACCGGCATCCCTGCCAGATT CTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTCACCCTGACC ATCTCCAGCCTGCAGTCCGAGGACTTCGCCGTGTACT ACTGCCAGCAGCACAACGCCTTCCCTTACACCTTCGG CGGAGGCACCAAAGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGC CGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGC AGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCGTGTGCCTGCT GAACAACTTCTACCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGG AAAGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAG GAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACC TACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCG ACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGA CCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT CAACCGGGGCGAGTGC
350		
SEQ ID NO: 59（组合的）	HCDR1	GGSIERYYWS
SEQ ID NO: 60（组合的）	HCDR2	YIYGRGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 3（组合的）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 61（卡巴特）	HCDR1	RYYWS
SEQ ID NO: 60（卡巴特）	HCDR2	YIYGRGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 3（卡巴特）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 62（乔西亚）	HCDR1	GGSIERY
SEQ ID NO: 63（乔西亚）	HCDR2	YGRGS
SEQ ID NO: 3（乔西亚）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 64（IMGT）	HCDR1	GGSIERYY
SEQ ID NO: 65（IMGT）	HCDR2	IYGRGST
SEQ ID NO: 9（IMGT）	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP

[0897]

SEQ ID NO: 197（替代物）	HCDR1	GSIERYYWS
SEQ ID NO: 60（替代物）	HCDR2	YIYGRGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 9（替代物）	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 66	VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIERYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYGRGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCARESQESPYNNWFDPWGQGT LVTVSS
SEQ ID NO: 67	DNA VH	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGCCTGGTCA AGCCCTCCGAGACACTGTCCCTGACCTGCACCGTGTC CGGCGGCTCCATCGAGCGGTACTACTGGTCCTGGATC CGGCAGCCTCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGC TACATCTACGGCAGAGGCTCCACCAACTACAACCCCA GCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCTCCGTGGACACCTC CAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCCGTGACC GCCGCTGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGAGT CCCAGGAATCCCCTTACAACAATTGGTTCGACCCCTG GGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCTCT
SEQ ID NO: 68	350.A 重链	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIERYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYGRGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCARESQESPYNNWFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGX，其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 69	350.A DNA 重链	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGCCTGGTCA AGCCCTCCGAGACACTGTCCCTGACCTGCACCGTGTC CGGCGGCTCCATCGAGCGGTACTACTGGTCCTGGATC CGGCAGCCTCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGC TACATCTACGGCAGAGGCTCCACCAACTACAACCCCA GCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCTCCGTGGACACCTC CAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCCGTGACC GCCGCTGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGAGT CCCAGGAATCCCCTTACAACAATTGGTTCGACCCCTG GGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCTCTGCCTCC ACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGCTC CCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGC CTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGT CCTGGAACTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCACAC CTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCC TGTCCAGCGTCGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGG CACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCC TCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTGGAATCTAAG TACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGCCCTGCCCCTGAGTT CCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTCCCTCCAAAG CCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAG TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAAGATCC CGAAGTCCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAA GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAG

[0898]

		TTCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACA AGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCAT CGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCG CGAGCCCCAAGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAA GAGATGACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGTCTGG TCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAGTG GGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGAC CACCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCC TGTACTCTCGGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCA GGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAG GCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCC TGTCTCTGGGC $X_1X_2X_3$, 其中 X_1 是 A，X_2 是 A，X_3 是 G；或 X_1 是不存在，X_2 是不存在，并且 X_3 是不存在。
SEQ ID NO: 115	350.B 重链	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIERYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYGRGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCARESQESPYNNWFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGX, 其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 331	350 Fab 重链	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIERYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYGRGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCARESQESPYNNWFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGP
SEQ ID NO: 14（组合的）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（组合的）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（组合的）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14（卡巴特）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（卡巴特）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（卡巴特）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 17（乔西亚）	LCDR1	SQGISSW
SEQ ID NO: 18（乔西亚）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 19（乔西亚）	LCDR3	GNSFPR
SEQ ID NO: 20（IMGT）	LCDR1	QGISSW
SEQ ID NO: 18（IMGT）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 16（IMGT）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14（替代物）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（替代物）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（替代物）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 21	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQ

[0899]

		KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNSFPRTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 22	DNA VL	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCTCCGTGTCCG CCTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGC CTCCCAGGGCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACG CCGCCTCCAGCCTGCAGTCCGGCGTGCCCTCCAGATT CTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACC ATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACT ACTGCCAGCAGGGCAACTCCTTCCCTCGGACCTTCGG CGGAGGCACCAAAGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 23	轻链	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNSFPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 24	DNA 轻链	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCTCCGTGTCCG CCTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGC CTCCCAGGGCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACG CCGCCTCCAGCCTGCAGTCCGGCGTGCCCTCCAGATT CTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACC ATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACT ACTGCCAGCAGGGCAACTCCTTCCCTCGGACCTTCGG CGGAGGCACCAAAGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGC CGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGC AGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCGTGTGCCTGCT GAACAACTTCTACCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGG AAAGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAG GAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACC TACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCG ACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGA CCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT CAACCGGGGCGAGTGC
374		
SEQ ID NO: 70（组合的）	HCDR1	GFTFSYNAMS
SEQ ID NO: 71（组合的）	HCDR2	SISGTGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（组合的）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 72（卡巴特）	HCDR1	YNAMS
SEQ ID NO: 71（卡巴特）	HCDR2	SISGTGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（卡巴特）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 73（乔西亚）	HCDR1	GFTFSYN
SEQ ID NO: 74（乔西亚）	HCDR2	SGTGGS
SEQ ID NO: 37（乔西亚）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 75（IMGT）	HCDR1	GFTFSYNA
SEQ ID NO: 76（IMGT）	HCDR2	ISGTGGST
SEQ ID NO: 43（IMGT）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 191（替代物）	HCDR1	FTFSYNAMS
SEQ ID NO: 71（替代物）	HCDR2	SISGTGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 43（替代物）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL

[0900]

SEQ ID NO: 77	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYNAMSWVR QAPGKGLEWVSSISGTGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLW GRGTLVTVSS
SEQ ID NO: 78	DNA VH	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTG CAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCT CCGGCTTCACCTTCTCCTACAACGCCATGTCCTGGGTC CGACAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCT CCATCTCCGGCACCGGCGGCTCCACCTACTACGCCGA CTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGGGACAAC TCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGC GGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAG GCGGCCTGTACGGCTCCGGCTCCTACCTGTCCGACTT CGACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTCACCGTGTCC TCC
SEQ ID NO: 79	374.A 重链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYNAMSWVR QAPGKGLEWVSSISGTGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLW GRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGX, 其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 80	374.A DNA 重链	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTG CAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCT CCGGCTTCACCTTCTCCTACAACGCCATGTCCTGGGTC CGACAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCT CCATCTCCGGCACCGGCGGCTCCACCTACTACGCCGA CTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGGGACAAC TCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGC GGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAG GCGGCCTGTACGGCTCCGGCTCCTACCTGTCCGACTT CGACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTCACCGTGTCC TCCGCCTCCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCTGG CCCCTTGCTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGCCGCT CTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCG TGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACCTCCGG CGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCCGGC CTGTACTCCCTGTCCAGCGTCGTGACCGTGCCCTCCTC CAGCCTGGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGAC CACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTG GAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGCCCTG CCCCTGAGTTCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTC CCTCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGA CCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCA GGAAGATCCCGAAGTCCAGTTCAATTGGTACGTGGAC GGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGA GAGGAACAGTTCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCG TGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAA AGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGCCTGCC

[0901]

		CTCCAGCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGG CCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACCCTGCCTCCC AGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAAGTGTCCCTG ACTTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCG CCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAACA ACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGG CTCCTTCTTCCTGTACTCTCGGCTGACCGTGGACAAGT CCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGTCCCTGTCTCTGGGC $X_1X_2X_3$, 其中 X_1 是 A，X_2 是 A，X_3 是 G；或 X_1 是不存在，X_2 是不存在，并且 X_3 是不存在。
SEQ ID NO: 116	374.B 重链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYNAMSWVR QAPGKGLEWVSSISGTGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLW GRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGX, 其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 48（组合的）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（组合的）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（组合的）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48（卡巴特）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（卡巴特）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（卡巴特）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 51（乔西亚）	LCDR1	SQSVGSN
SEQ ID NO: 52（乔西亚）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 53（乔西亚）	LCDR3	HNAFPY
SEQ ID NO: 54（IMGT）	LCDR1	QSVGSN
SEQ ID NO: 52（IMGT）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 50（IMGT）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48（替代物）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（替代物）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（替代物）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 55	VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQK PGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQS EDFAVYYCQQHNAFPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 56	DNA VL	GAGATCGTGCTGACACAGTCCCCTGCCACCCTGTCTG TGTCTCCCGGCGAGAGAGCCACCCTGAGCTGCAGAGC CTCCCAGTCCGTGGGCTCCAACCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCCAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACG GCGCCTCTACCAGAGCCACCGGCATCCCTGCCAGATT CTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTCACCCTGACC ATCTCCAGCCTGCAGTCCGAGGACTTCGCCGTGTACT ACTGCCAGCAGCACAACGCCTTCCCTTACACCTTCGG

		CGGAGGCACCAAAGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 57	轻链	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQK PGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQS EDFAVYYCQQHNAFPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 58	DNA 轻链	GAGATCGTGCTGACACAGTCCCCTGCCACCCTGTCTG TGTCTCCCGGCGAGAGAGCCACCCTGAGCTGCAGAGC CTCCCAGTCCGTGGGCTCCAACCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCCAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACG GCGCCTCTACCAGAGCCACCGGCATCCCTGCCAGATT CTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTCACCCTGACC ATCTCCAGCCTGCAGTCCGAGGACTTCGCCGTGTACT ACTGCCAGCAGCACAACGCCTTCCCTTACACCTTCGG CGGAGGCACCAAAGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGC CGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGC AGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCGTGTGCCTGCT GAACAACTTCTACCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGG AAAGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAG GAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACC TACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCG ACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGA CCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT CAACCGGGGCGAGTGC
379		
SEQ ID NO: 81（组合的）	HCDR1	GFTFSRYAMS
SEQ ID NO: 71（组合的）	HCDR2	SISGTGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（组合的）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 38（卡巴特）	HCDR1	RYAMS
SEQ ID NO: 71（卡巴特）	HCDR2	SISGTGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（卡巴特）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 82（乔西亚）	HCDR1	GFTFSRY
SEQ ID NO: 74（乔西亚）	HCDR2	SGTGGS
SEQ ID NO: 37（乔西亚）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 83（IMGT）	HCDR1	GFTFSRYA
SEQ ID NO: 76（IMGT）	HCDR2	ISGTGGST
SEQ ID NO: 43（IMGT）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 192（替代物）	HCDR1	FTFSRYAMS
SEQ ID NO: 71（替代物）	HCDR2	SISGTGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 43（替代物）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 84	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVR QAPGKGLEWVSSISGTGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLW GRGTLVTVSS
SEQ ID NO: 85	DNA VH	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTG CAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCT CCGGCTTCACCTTCTCCAGATACGCCATGTCCTGGGT CCGACAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTC CTCCATCTCCGGCACCGGCGGCTCCACCTACTACGCC

[0902]

			GACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGGGACA ACTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCT GCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAG AGGCGGCCTGTACGGCTCCGGCTCCTACCTGTCCGAC TTCGACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTCACCGTGT CCTCC
	SEQ ID NO: 86	379.A 重链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVR QAPGKGLEWVSSISGTGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLW GRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGX, 其中 X 是 K 或不存在
[0903]	SEQ ID NO: 87	379.A DNA 重链	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTG CAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCT CCGGCTTCACCTTCTCCAGATACGCCATGTCCTGGGT CCGACAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTC CTCCATCTCCGGCACCGGCGGCTCCACCTACTACGCC GACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGGGACA ACTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCT GCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAG AGGCGGCCTGTACGGCTCCGGCTCCTACCTGTCCGAC TTCGACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTCACCGTGT CCTCCGCCTCCACAAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCT GGCCCCTTGCTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGCC GCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGC CCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACCTC CGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCC GGCCTGTACTCCCTGTCCAGCGTCGTGACCGTGCCCT CCTCCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGT GGACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAGCG GGTGGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGC CCTGCCCCTGAGTTCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCT GTTCCCTCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCC CGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGT CCCAGGAAGATCCCGAAGTCCAGTTCAATTGGTACGT GGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCC CAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACCGGGTGGT GTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAAC GGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGC CTGCCCTCCAGCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCA AGGGCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACCCTGCC TCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAAGTGTC CCTGACTTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGAT ATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCG ACGGCTCCTTCTTCCTGTACTCTCGGCTGACCGTGGAC AAGTCCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCT CCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCA GAAGTCCCTGTCCCTGTCTCTGGGC $X_1X_2X_3$,

[0904]

		其中 X_1 是 A，X_2 是 A，X_3 是 G；或 X_1 是不存在，X_2 是不存在，并且 X_3 是不存在。
SEQ ID NO: 117	379.B 重链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVR QAPGKGLEWVSSISGTGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLW GRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGX, 其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 48（组合的）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（组合的）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（组合的）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48（卡巴特）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（卡巴特）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（卡巴特）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 51（乔西亚）	LCDR1	SQSVGSN
SEQ ID NO: 52（乔西亚）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 53（乔西亚）	LCDR3	HNAFPY
SEQ ID NO: 54（IMGT）	LCDR1	QSVGSN
SEQ ID NO: 52（IMGT）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 50（IMGT）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48（替代物）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（替代物）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（替代物）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 55	VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQK PGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQS EDFAVYYCQQHNAFPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 56	DNA VL	GAGATCGTGCTGACACAGTCCCCTGCCACCCTGTCTG TGTCTCCCGGCGAGAGAGCCACCCTGAGCTGCAGAGC CTCCCAGTCCGTGGGCTCCAACCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCCAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACG GCGCCTCTACCAGAGCCACCGGCATCCCTGCCAGATT CTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTCACCCTGACC ATCTCCAGCCTGCAGTCCGAGGACTTCGCCGTGTACT ACTGCCAGCAGCACAACGCCTTCCCTTACACCTTCGG CGGAGGCACCAAAGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 57	轻链	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQK PGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQS EDFAVYYCQQHNAFPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 58	DNA 轻链	GAGATCGTGCTGACACAGTCCCCTGCCACCCTGTCTG TGTCTCCCGGCGAGAGAGCCACCCTGAGCTGCAGAGC CTCCCAGTCCGTGGGCTCCAACCTGGCCTGGTATCAG

[0905]

		CAGAAGCCCGGCCAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACG GCGCCTCTACCAGAGCCACCGGCATCCCTGCCAGATT CTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTCACCCTGACC ATCTCCAGCCTGCAGTCCGAGGACTTCGCCGTGTACT ACTGCCAGCAGCACAACGCCTTCCCTTACACCTTCGG CGGAGGCACCAAAGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGC CGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGC AGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCGTGTGCCTGCT GAACAACTTCTACCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGG AAAGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAG GAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACC TACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCG ACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGA CCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT CAACCGGGGCGAGTGC
376		
SEQ ID NO: 135（组合的）	HCDR1	GFTFRSYAMS
SEQ ID NO: 136（组合的）	HCDR2	AITGSGGLTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（组合的）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 137（卡巴特）	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 136（卡巴特）	HCDR2	AITGSGGLTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（卡巴特）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 138（乔西亚）	HCDR1	GFTFRSY
SEQ ID NO: 139（乔西亚）	HCDR2	TGSGGL
SEQ ID NO: 37（乔西亚）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 140（IMGT）	HCDR1	GFTFRSYA
SEQ ID NO: 141（IMGT）	HCDR2	ITGSGGLT
SEQ ID NO: 43（IMGT）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 193（替代物）	HCDR1	FTFRSYAMS
SEQ ID NO: 136（替代物）	HCDR2	AITGSGGLTYYADSVKG
SEQ ID NO: 43（替代物）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 142	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAITGSGGLTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDL WGRGTLVTVSS
SEQ ID NO: 143	DNA VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTAC AGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTC TGGATTCACCTTTCGTAGCTATGCCATGAGCTGGGTC CGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCA GCTATTACGGGAAGTGGTGGTTTGACATACTACGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAA TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTG AGAGCCGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGA GGTGGATTGTACGGAAGCGGAAGCTACTTGAGTGACT TCGACCTATGGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCGTCTC CTCA
SEQ ID NO: 48（组合的）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（组合的）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（组合的）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48（卡巴特）	LCDR1	RASQSVGSNLA

SEQ ID NO: 49（卡巴特）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（卡巴特）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 51（乔西亚）	LCDR1	SQSVGSN
SEQ ID NO: 52（乔西亚）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 53（乔西亚）	LCDR3	HNAFPY
SEQ ID NO: 54（IMGT）	LCDR1	QSVGSN
SEQ ID NO: 52（IMGT）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 50（IMGT）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48（替代物）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（替代物）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（替代物）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 55	VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQK PGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQS EDFAVYYCQQHNAFPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 144	DNA VL	GAAATAGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTG TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGC CAGTCAGAGTGTTGGCAGCAACTTAGCCTGGTACCAG CAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATG GTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCACTCTCACC ATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGCAGTTTATT ACTGTCAGCAGCACAATGCCTTCCCTTACACTTTTGG CGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
377		
SEQ ID NO: 145（组合的）	HCDR1	GFTFKSYAMS
SEQ ID NO: 146（组合的）	HCDR2	AISGSGSYTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（组合的）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 137（卡巴特）	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 146（卡巴特）	HCDR2	AISGSGSYTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（卡巴特）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 147（乔西亚）	HCDR1	GFTFKSY
SEQ ID NO: 148（乔西亚）	HCDR2	SGSGSY
SEQ ID NO: 37（乔西亚）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 149（IMGT）	HCDR1	GFTFKSYA
SEQ ID NO: 150（IMGT）	HCDR2	ISGSGSYT
SEQ ID NO: 43（IMGT）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 194（替代物）	HCDR1	FTFKSYAMS
SEQ ID NO: 146（替代物）	HCDR2	AISGSGSYTYYADSVKG
SEQ ID NO: 43（替代物）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 151	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGSYTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDL WGRGTLVTVSS
SEQ ID NO: 152	DNA VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTAC AGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTC TGGATTCACCTTTAAGAGCTATGCCATGAGTTGGGTC CGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCA

[0906]

		GCTATTAGTGGAAGTGGTTCGTATACATACTACGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAA TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTG AGAGCCGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGA GGTGGATTGTACGGAAGCGGAAGCTACTTGAGTGACT TCGACCTATGGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCGTCTC CTCA
SEQ ID NO: 48（组合的）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（组合的）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（组合的）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48（卡巴特）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（卡巴特）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（卡巴特）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 51（乔西亚）	LCDR1	SQSVGSN
SEQ ID NO: 52（乔西亚）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 53（乔西亚）	LCDR3	HNAFPY
SEQ ID NO: 54（IMGT）	LCDR1	QSVGSN
SEQ ID NO: 52（IMGT）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 50（IMGT）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48（替代物）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（替代物）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（替代物）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 55	VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQK PGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQS EDFAVYYCQQHNAFPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 144	DNA VL	GAAATAGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTG TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGC CAGTCAGAGTGTTGGCAGCAACTTAGCCTGGTACCAG CAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATG GTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCACTCTCACC ATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGCAGTTTATT ACTGTCAGCAGCACAATGCCTTCCCTTACACTTTTGG CGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
930		
SEQ ID NO: 153（组合的）	HCDR1	GFTFSSYAMS
SEQ ID NO: 154（组合的）	HCDR2	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（组合的）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 137（卡巴特）	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 154（卡巴特）	HCDR2	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（卡巴特）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 155（乔西亚）	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 156（乔西亚）	HCDR2	SGSGGS
SEQ ID NO: 37（乔西亚）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 157（IMGT）	HCDR1	GFTFSSYA
SEQ ID NO: 158（IMGT）	HCDR2	ISGSGGST
SEQ ID NO: 43（IMGT）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL

[0907]

[0908]

SEQ ID NO: 195（替代物）	HCDR1	FTFSSYAMS
SEQ ID NO: 154（替代物）	HCDR2	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 43（替代物）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 159	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDL WGRGTLVTVSS
SEQ ID NO: 160	DNA VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTAC AGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTC TGGATTCACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTC CGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCA GCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAA TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTG AGAGCCGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGA GGTGGATTGTACGGAAGCGGAAGCTACTTGAGTGACT TCGACCTATGGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCGTCTC CTCA
SEQ ID NO: 48（组合的）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（组合的）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（组合的）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48（卡巴特）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（卡巴特）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（卡巴特）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 51（乔西亚）	LCDR1	SQSVGSN
SEQ ID NO: 52（乔西亚）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 53（乔西亚）	LCDR3	HNAFPY
SEQ ID NO: 54（IMGT）	LCDR1	QSVGSN
SEQ ID NO: 52（IMGT）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 50（IMGT）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48（替代物）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（替代物）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（替代物）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 55	VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQK PGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQS EDFAVYYCQQHNAFPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 144	DNA VL	GAAATAGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTG TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGC CAGTCAGAGTGTTGGCAGCAACTTAGCCTGGTACCAG CAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATG GTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCACTCTCACC ATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGCAGTTTATT ACTGTCAGCAGCACAATGCCTTCCCTTACACTTTTGG CGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
918		
SEQ ID NO: 161（组合的）	HCDR1	GGSISSYYWS
SEQ ID NO: 162（组合的）	HCDR2	YIYSSGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 3（组合的）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP

[0909]

SEQ ID NO: 163（卡巴特）	HCDR1	SYYWS
SEQ ID NO: 162（卡巴特）	HCDR2	YIYSSGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 3（卡巴特）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 164（乔西亚）	HCDR1	GGSISSY
SEQ ID NO: 165（乔西亚）	HCDR2	YSSGS
SEQ ID NO: 3（乔西亚）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 166（IMGT）	HCDR1	GGSISSYY
SEQ ID NO: 167（IMGT）	HCDR2	IYSSGST
SEQ ID NO: 9（IMGT）	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 200（替代物）	HCDR1	GSISSYYWS
SEQ ID NO: 162（替代物）	HCDR2	YIYSSGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 9（替代物）	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 168	VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYSSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYCARESQESPYNNWFDPWGQGTL VTVSS
SEQ ID NO: 169	DNA VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTG AAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCT CTGGTGGCTCCATCAGTAGTTACTACTGGAGCTGGAT CCGGCAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGG GTATATCTATAGTAGTGGGAGCACCAACTACAACCCC TCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGT CCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGAC CGCCGCAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGA ATCTCAGGAGAGTCCATACAACAATTGGTTCGACCCA TGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 14（组合的）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（组合的）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（组合的）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14（卡巴特）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（卡巴特）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（卡巴特）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 17（乔西亚）	LCDR1	SQGISSW
SEQ ID NO: 18（乔西亚）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 19（乔西亚）	LCDR3	GNSFPR
SEQ ID NO: 20（IMGT）	LCDR1	QGISSW
SEQ ID NO: 18（IMGT）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 16（IMGT）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14（替代物）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（替代物）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（替代物）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 21	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNSFPRTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 170	DNA VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTG CATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGC GAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAG

		CAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATG CTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTT CAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACC ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATT ACTGTCAGCAGGGAAACAGTTTCCCTAGGACTTTTGG CGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
363		
SEQ ID NO: 81（组合的）	HCDR1	GFTFSRYAMS
SEQ ID NO: 201（组合的）	HCDR2	AISGTGISTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（组合的）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 38（卡巴特）	HCDR1	RYAMS
SEQ ID NO: 201（卡巴特）	HCDR2	AISGTGISTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（卡巴特）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 82（乔西亚）	HCDR1	GFTFSRY
SEQ ID NO: 202（乔西亚）	HCDR2	SGTGIS
SEQ ID NO: 37（乔西亚）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 83（IMGT）	HCDR1	GFTFSRYA
SEQ ID NO: 203（IMGT）	HCDR2	ISGTGIST
SEQ ID NO: 43（IMGT）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 192（替代物）	HCDR1	FTFSRYAMS
SEQ ID NO: 201（替代物）	HCDR2	AISGTGISTYYADSVKG
SEQ ID NO: 43（替代物）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
[0910] SEQ ID NO: 204	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGTGISTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLW GRGTLVTVSS
SEQ ID NO: 205（组合的）	LCDR1	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 206（组合的）	LCDR2	DASSLES
SEQ ID NO: 207（组合的）	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 205（卡巴特）	LCDR1	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 206（卡巴特）	LCDR2	DASSLES
SEQ ID NO: 207（卡巴特）	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 208（乔西亚）	LCDR1	SQSISSW
SEQ ID NO: 209（乔西亚）	LCDR2	DAS
SEQ ID NO: 228（乔西亚）	LCDR3	SNTFY
SEQ ID NO: 229（IMGT）	LCDR1	QSISSW
SEQ ID NO: 209（IMGT）	LCDR2	DAS
SEQ ID NO: 207（IMGT）	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 205（替代物）	LCDR1	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 206（替代物）	LCDR2	DASSLES
SEQ ID NO: 207（替代物）	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 230	VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQK PGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP DDFATYYCQQSNTFYTFGGGTKVEIK
366		
SEQ ID NO: 81（组合的）	HCDR1	GFTFSRYAMS

[0911]

SEQ ID NO: 231（组合的）	HCDR2	AISGTGLSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（组合的）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 38（卡巴特）	HCDR1	RYAMS
SEQ ID NO: 231（卡巴特）	HCDR2	AISGTGLSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37（卡巴特）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 82（乔西亚）	HCDR1	GFTFSRY
SEQ ID NO: 232（乔西亚）	HCDR2	SGTGLS
SEQ ID NO: 37（乔西亚）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 83（IMGT）	HCDR1	GFTFSRYA
SEQ ID NO: 233（IMGT）	HCDR2	ISGTGLST
SEQ ID NO: 43（IMGT）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 192（替代物）	HCDR1	FTFSRYAMS
SEQ ID NO: 231（替代物）	HCDR2	AISGTGLSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 43（替代物）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 234	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGTGLSTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDL WGRGTLVTVSS
SEQ ID NO: 205（组合的）	LCDR1	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 206（组合的）	LCDR2	DASSLES
SEQ ID NO: 207（组合的）	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 205（卡巴特）	LCDR1	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 206（卡巴特）	LCDR2	DASSLES
SEQ ID NO: 207（卡巴特）	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 208（乔西亚）	LCDR1	SQSISSW
SEQ ID NO: 209（乔西亚）	LCDR2	DAS
SEQ ID NO: 228（乔西亚）	LCDR3	SNTFY
SEQ ID NO: 229（IMGT）	LCDR1	QSISSW
SEQ ID NO: 209（IMGT）	LCDR2	DAS
SEQ ID NO: 207（IMGT）	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 205（替代物）	LCDR1	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 206（替代物）	LCDR2	DASSLES
SEQ ID NO: 207（替代物）	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 230	VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQK PGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP DDFATYYCQQSNTFYTFGGGTKVEIK
407		
SEQ ID NO: 235（组合的）	HCDR1	GYTFTYYWMH
SEQ ID NO: 236（组合的）	HCDR2	SINPNSGSTNYAQKFQG
SEQ ID NO: 237（组合的）	HCDR3	DTGGDKSPLTYYYYGMDV
SEQ ID NO: 238（卡巴特）	HCDR1	YYWMH
SEQ ID NO: 236（卡巴特）	HCDR2	SINPNSGSTNYAQKFQG
SEQ ID NO: 237（卡巴特）	HCDR3	DTGGDKSPLTYYYYGMDV
SEQ ID NO: 239（乔西亚）	HCDR1	GYTFTYY

[0912]

SEQ ID NO: 240（乔西亚）	HCDR2	NPNSGS
SEQ ID NO: 237（乔西亚）	HCDR3	DTGGDKSPLTYYYYGMDV
SEQ ID NO: 241（IMGT）	HCDR1	GYTFTYYW
SEQ ID NO: 242（IMGT）	HCDR2	INPNSGST
SEQ ID NO: 243（IMGT）	HCDR3	ARDTGGDKSPLTYYYYGMDV
SEQ ID NO: 244（替代物）	HCDR1	YTFTYYWMH
SEQ ID NO: 236（替代物）	HCDR2	SINPNSGSTNYAQKFQG
SEQ ID NO: 243（替代物）	HCDR3	ARDTGGDKSPLTYYYYGMDV
SEQ ID NO: 245	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTYYWMHW VRQAPGQGLEWMGSINPNSGSTNYAQKFQGRVTMTRD TSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDTGGDKSPLTYYY YGMDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 246（组合的）	LCDR1	RASQGISRWLA
SEQ ID NO: 15（组合的）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 247（组合的）	LCDR3	QQAIALPPFT
SEQ ID NO: 246（卡巴特）	LCDR1	RASQGISRWLA
SEQ ID NO: 15（卡巴特）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 247（卡巴特）	LCDR3	QQAIALPPFT
SEQ ID NO: 248（乔西亚）	LCDR1	SQGISRW
SEQ ID NO: 18（乔西亚）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 249（乔西亚）	LCDR3	AIALPPF
SEQ ID NO: 250（IMGT）	LCDR1	QGISRW
SEQ ID NO: 18（IMGT）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 247（IMGT）	LCDR3	QQAIALPPFT
SEQ ID NO: 246（替代物）	LCDR1	RASQGISRWLA
SEQ ID NO: 15（替代物）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 247（替代物）	LCDR3	QQAIALPPFT
SEQ ID NO: 251	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISRWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQAIALPPFTFGGGTKVEIK
893		
SEQ ID NO: 252（组合的）	HCDR1	GFTFSSYWMS
SEQ ID NO: 253（组合的）	HCDR2	NIKQDGSEKYYVDSVKG
SEQ ID NO: 254（组合的）	HCDR3	APEYYSTTTRLYYYYGMDV
SEQ ID NO: 255（卡巴特）	HCDR1	SYWMS
SEQ ID NO: 253（卡巴特）	HCDR2	NIKQDGSEKYYVDSVKG
SEQ ID NO: 254（卡巴特）	HCDR3	APEYYSTTTRLYYYYGMDV
SEQ ID NO: 155（乔西亚）	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 256（乔西亚）	HCDR2	KQDGSE
SEQ ID NO: 254（乔西亚）	HCDR3	APEYYSTTTRLYYYYGMDV
SEQ ID NO: 257（IMGT）	HCDR1	GFTFSSYW
SEQ ID NO: 258（IMGT）	HCDR2	IKQDGSEK
SEQ ID NO: 259（IMGT）	HCDR3	ARAPEYYSTTTRLYYYYGMDV
SEQ ID NO: 260（替代物）	HCDR1	FTFSSYWMS

[0913]

SEQ ID NO: 253（替代物）	HCDR2	NIKQDGSEKYYVDSVKG
SEQ ID NO: 259（替代物）	HCDR3	ARAPEYYSTTTRLYYYYGMDV
SEQ ID NO: 261	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVR QAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNA KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAPEYYSTTTRLYYY YGMDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 262（组合的）	LCDR1	KSSQSVLYSSNNKNYLA
SEQ ID NO: 263（组合的）	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 264（组合的）	LCDR3	QQYDAHPFT
SEQ ID NO: 262（卡巴特）	LCDR1	KSSQSVLYSSNNKNYLA
SEQ ID NO: 263（卡巴特）	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 264（卡巴特）	LCDR3	QQYDAHPFT
SEQ ID NO: 265（乔西亚）	LCDR1	SQSVLYSSNNKNY
SEQ ID NO: 266（乔西亚）	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 267（乔西亚）	LCDR3	YDAHPF
SEQ ID NO: 268（IMGT）	LCDR1	QSVLYSSNNKNY
SEQ ID NO: 266（IMGT）	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 264（IMGT）	LCDR3	QQYDAHPFT
SEQ ID NO: 262（替代物）	LCDR1	KSSQSVLYSSNNKNYLA
SEQ ID NO: 263（替代物）	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 264（替代物）	LCDR3	QQYDAHPFT
SEQ ID NO: 269	VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYL AWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQQYDAHPFTFGGGTKVEIK
939		
SEQ ID NO: 287（组合的）	HCDR1	GGTFSSYAIS
SEQ ID NO: 288（组合的）	HCDR2	GIIPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 289（组合的）	HCDR3	HYYDYWSGYYTNTGIY
SEQ ID NO: 290（卡巴特）	HCDR1	SYAIS
SEQ ID NO: 288（卡巴特）	HCDR2	GIIPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 289（卡巴特）	HCDR3	HYYDYWSGYYTNTGIY
SEQ ID NO: 291（乔西亚）	HCDR1	GGTFSSY
SEQ ID NO: 292（乔西亚）	HCDR2	IPIFGT
SEQ ID NO: 289（乔西亚）	HCDR3	HYYDYWSGYYTNTGIY
SEQ ID NO: 293（IMGT）	HCDR1	GGTFSSYA
SEQ ID NO: 294（IMGT）	HCDR2	IIPIFGTA
SEQ ID NO: 295（IMGT）	HCDR3	ARHYYDYWSGYYTNTGIY
SEQ ID NO: 296（替代物）	HCDR1	GTFSSYAIS
SEQ ID NO: 288（替代物）	HCDR2	GIIPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 295（替代物）	HCDR3	ARHYYDYWSGYYTNTGIY
SEQ ID NO: 297	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDTAVYYCARHYYDYWSGYYTNTGIY WGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 298（组合的）	LCDR1	RASQSVSSNLA

[0914]

SEQ ID NO: 49（组合的）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 299（组合的）	LCDR3	QQSGALPIT
SEQ ID NO: 298（卡巴特）	LCDR1	RASQSVSSNLA
SEQ ID NO: 49（卡巴特）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 299（卡巴特）	LCDR3	QQSGALPIT
SEQ ID NO: 300（乔西亚）	LCDR1	SQSVSSN
SEQ ID NO: 52（乔西亚）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 301（乔西亚）	LCDR3	SGALPI
SEQ ID NO: 302（IMGT）	LCDR1	QSVSSN
SEQ ID NO: 52（IMGT）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 299（IMGT）	LCDR3	QQSGALPIT
SEQ ID NO: 298（替代物）	LCDR1	RASQSVSSNLA
SEQ ID NO: 49（替代物）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 299（替代物）	LCDR3	QQSGALPIT
SEQ ID NO: 303	VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQK PGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQS EDFAVYYCQQSGALPITFGGGTKVEIK
430		
SEQ ID NO: 304（组合的）	HCDR1	GGSFLRYYWS
SEQ ID NO: 305（组合的）	HCDR2	EIDHSGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 306（组合的）	HCDR3	GQNYYGSGSADGFDP
SEQ ID NO: 61（卡巴特）	HCDR1	RYYWS
SEQ ID NO: 305（卡巴特）	HCDR2	EIDHSGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 306（卡巴特）	HCDR3	GQNYYGSGSADGFDP
SEQ ID NO: 307（乔西亚）	HCDR1	GGSFLRY
SEQ ID NO: 308（乔西亚）	HCDR2	DHSGS
SEQ ID NO: 306（乔西亚）	HCDR3	GQNYYGSGSADGFDP
SEQ ID NO: 309（IMGT）	HCDR1	GGSFLRYY
SEQ ID NO: 310（IMGT）	HCDR2	IDHSGST
SEQ ID NO: 311（IMGT）	HCDR3	ARGQNYYGSGSADGFDP
SEQ ID NO: 312（替代物）	HCDR1	GSFLRYYWS
SEQ ID NO: 305（替代物）	HCDR2	EIDHSGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 311（替代物）	HCDR3	ARGQNYYGSGSADGFDP
SEQ ID NO: 313	VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFLRYYWSWI RQPPGKGLEWIGEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARGQNYYGSGSADGFDPW GQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 14（组合的）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（组合的）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 314（组合的）	LCDR3	QQANSFPPT
SEQ ID NO: 14（卡巴特）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（卡巴特）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 314（卡巴特）	LCDR3	QQANSFPPT
SEQ ID NO: 17（乔西亚）	LCDR1	SQGISSW

[0915]

SEQ ID NO: 18（乔西亚）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 315（乔西亚）	LCDR3	ANSFPP
SEQ ID NO: 20（IMGT）	LCDR1	QGISSW
SEQ ID NO: 18（IMGT）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 314（IMGT）	LCDR3	QQANSFPPT
SEQ ID NO: 14（替代物）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（替代物）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 314（替代物）	LCDR3	QQANSFPPT
SEQ ID NO: 316	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQANSFPPTFGGGTKVEIK
398		
SEQ ID NO: 317（组合的）	HCDR1	GGSFSGYYWS
SEQ ID NO: 318（组合的）	HCDR2	EIDASGSTRYNPSLKS
SEQ ID NO: 319（组合的）	HCDR3	PLYDAYLDV
SEQ ID NO: 320（卡巴特）	HCDR1	GYYWS
SEQ ID NO: 318（卡巴特）	HCDR2	EIDASGSTRYNPSLKS
SEQ ID NO: 319（卡巴特）	HCDR3	PLYDAYLDV
SEQ ID NO: 321（乔西亚）	HCDR1	GGSFSGY
SEQ ID NO: 322（乔西亚）	HCDR2	DASGS
SEQ ID NO: 319（乔西亚）	HCDR3	PLYDAYLDV
SEQ ID NO: 323（IMGT）	HCDR1	GGSFSGYY
SEQ ID NO: 324（IMGT）	HCDR2	IDASGST
SEQ ID NO: 325（IMGT）	HCDR3	ARPLYDAYLDV
SEQ ID NO: 326（替代物）	HCDR1	GSFSGYYWS
SEQ ID NO: 318（替代物）	HCDR2	EIDASGSTRYNPSLKS
SEQ ID NO: 325（替代物）	HCDR3	ARPLYDAYLDV
SEQ ID NO: 327	VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQPPGKGLEWIGEIDASGSTRYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARPLYDAYLDVWGQGTMV TVSS
SEQ ID NO: 14（组合的）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（组合的）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 328（组合的）	LCDR3	QQAPIYPIT
SEQ ID NO: 14（卡巴特）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（卡巴特）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 328（卡巴特）	LCDR3	QQAPIYPIT
SEQ ID NO: 17（乔西亚）	LCDR1	SQGISSW
SEQ ID NO: 18（乔西亚）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 329（乔西亚）	LCDR3	APIYPI
SEQ ID NO: 20（IMGT）	LCDR1	QGISSW
SEQ ID NO: 18（IMGT）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 328（IMGT）	LCDR3	QQAPIYPIT
SEQ ID NO: 14（替代物）	LCDR1	RASQGISSWLA

[0916]

SEQ ID NO: 15（替代物）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 328（替代物）	LCDR3	QQAPIYPIT
SEQ ID NO: 330	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQAPIYPITFGGGTKVEIK

[0917] 表2.示例性抗CD73抗体的共有CDR序列

[0918]

谱系 3		
SEQ ID NO: 126（组合的）	HCDR1	GFTFX$_1$X$_2$X$_3$AMS，其中 X$_1$是 H、S、R 或 K； X$_2$是 R、Y 或 S；以及 X$_3$是 Y 或 N；
SEQ ID NO: 89（组合的）	HCDR2	X$_1$IX$_2$GX$_3$GX$_4$X$_5$TYYADSVKG，其中 X$_1$是 A 或 S； X$_2$是 S 或 T； X$_3$是 S 或 T； X$_4$是 M、G 或 S；以及 X$_5$是 N、S、L 或 Y
SEQ ID NO: 37（组合的）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 48（组合的）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（组合的）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（组合的）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 88（卡巴特）	HCDR1	X$_1$X$_2$AMS，其中 X$_1$是 R、Y 或 S；以及 X$_2$是 Y 或 N；
SEQ ID NO: 89（卡巴特）	HCDR2	X$_1$IX$_2$GX$_3$GX$_4$X$_5$TYYADSVKG，其中 X$_1$是 A 或 S； X$_2$是 S 或 T； X$_3$是 S 或 T； X$_4$是 M、G 或 S；以及 X$_5$是 N、S、L 或 Y
SEQ ID NO: 37（卡巴特）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 48（卡巴特）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（卡巴特）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（卡巴特）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 122（乔西亚）	HCDR1	GFTFX$_1$X$_2$X$_3$，其中 X$_1$是 H、S、R 或 K； X$_2$是 R、Y 或 S；以及 X$_3$是 Y 或 N；
SEQ ID NO: 123（乔西亚）	HCDR2	X$_1$GX$_2$GX$_3$X$_4$，其中 X$_1$是 S 或 T； X$_2$是 S 或 T； X$_3$是 M、G 或 S；以及 X$_4$是 N、S、L 或 Y
SEQ ID NO: 37（乔西亚）	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 51（乔西亚）	LCDR1	SQSVGSN

[0919]

SEQ ID NO: 52（乔西亚）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 53（乔西亚）	LCDR3	HNAFPY
SEQ ID NO: 128（IMGT）	HCDR1	GFTFX$_1$X$_2$X$_3$A，其中 X$_1$是H、S、R或K； X$_2$是R、Y或S；以及 X$_3$是Y或N；
SEQ ID NO: 129（IMGT）	HCDR2	IX$_1$GX$_2$GX$_3$X$_4$T，其中 X$_1$是S或T； X$_2$是S或T； X$_3$是M、G或S；以及 X$_4$是N、S、L或Y
SEQ ID NO: 43（IMGT）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 54（IMGT）	LCDR1	QSVGSN
SEQ ID NO: 52（IMGT）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 50（IMGT）	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 189（替代物）	HCDR1	FTFX$_1$X$_2$X$_3$AMS，其中 X$_1$是H、S、R或K； X$_2$是R、Y或S；以及 X$_3$是Y或N；
SEQ ID NO: 89（替代物）	HCDR2	X$_1$IX$_2$GX$_3$GX$_4$X$_5$TYYADSVKG，其中 X$_1$是A或S； X$_2$是S或T； X$_3$是S或T； X$_4$是M、G或S；以及 X$_5$是N、S、L或Y
SEQ ID NO: 43（替代物）	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 48（替代物）	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49（替代物）	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50（替代物）	LCDR3	QQHNAFPYT
谱系 1		
SEQ ID NO: 127（组合的）	HCDR1	GGSIX$_1$X$_2$X$_3$YWS，其中 X$_1$是E或S； X$_2$是R、G或S；以及 X$_3$是Y或R
SEQ ID NO: 91（组合的）	HCDR2	YIYX$_1$X$_2$GSTX$_3$YNPSLKS，其中 X$_1$是G或S； X$_2$是、S或T；以及 X$_3$是N或K
SEQ ID NO: 3（组合的）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 14（组合的）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（组合的）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（组合的）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 90（卡巴特）	HCDR1	X$_1$X$_2$YWS，其中 X$_1$为R、G或S；以及 X$_2$为Y或R

[0920]

SEQ ID NO: 91（卡巴特）	HCDR2	YIYX$_1$X$_2$GSTX$_3$YNPSLKS，其中 X$_1$是 G 或 S； X$_2$是、S 或 T；以及 X$_3$是 N 或 K
SEQ ID NO: 3（卡巴特）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 14（卡巴特）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（卡巴特）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（卡巴特）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 124（乔西亚）	HCDR1	GGSIX$_1$X$_2$X$_3$，其中 X$_1$是 E 或 S； X$_2$是 R、G 或 S；以及 X$_3$是 Y 或 R
SEQ ID NO: 125（乔西亚）	HCDR2	YX$_1$X$_2$GS，其中 X$_1$是 G 或 S；以及 X$_2$是 R、S 或 T
SEQ ID NO: 3（乔西亚）	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 17（乔西亚）	LCDR1	SQGISSW
SEQ ID NO: 18（乔西亚）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 19（乔西亚）	LCDR3	GNSFPR
SEQ ID NO: 130（IMGT）	HCDR1	GGSIX$_1$X$_2$X$_3$Y，其中 X$_1$是 E 或 S； X$_2$是 R、G 或 S；以及 X$_3$是 Y 或 R
SEQ ID NO: 131（IMGT）	HCDR2	IYX$_1$X$_2$GST，其中 X$_1$是 G 或 S；以及 X$_2$是 R、S 或 T
SEQ ID NO: 9（IMGT）	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 20（IMGT）	LCDR1	QGISSW
SEQ ID NO: 18（IMGT）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 16（IMGT）	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 196（替代物）	HCDR1	GSIX$_1$X$_2$X3YWS，其中 X$_1$是 E 或 S； X$_2$是 R、G 或 S；以及 X$_3$是 Y 或 R
SEQ ID NO: 91（替代物）	HCDR2	YIYX$_1$X$_2$GSTX$_3$YNPSLKS，其中 X$_1$是 G 或 S； X$_2$是、S 或 T；以及 X$_3$是 N 或 K
SEQ ID NO: 9（替代物）	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 14（替代物）	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15（替代物）	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16（替代物）	LCDR3	QQGNSFPRT

[0921] 表26.抗CD73抗体的相应种系序列

[0922]

抗体	VH 种系	VL 种系

[0923]

918	VH4-59	VK1-12
350	VH4-59	VK1-12
356	VH4-59	VK1-12
358	VH4-59	VK1-12
930	VH3-23	VK3-15
373	VH3-23	VK3-15
374	VH3-23	VK3-15
376	VH3-23	VK3-15
377	VH3-23	VK3-15
379	VH3-23	VK3-15
363	VH3-23	VK1-05
366	VH3-23	VK1-05
407	VH1-02	VK1-12
893	VH3-07	VK4-01
939	VH1-69	VK3-15
430	VH4-34	VK1-12
398	VH4-34	VK1-12

[0924] 表3.人IgG重链和人κ轻链的恒定区氨基酸序列

[0925]

SEQ ID NO	描述	序列
92	IgG4（S228P）	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
93	缺乏C-末端赖氨酸的IgG4（S228P）	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
94	IgG4（S228P/L235E）	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
95	缺乏C-末端赖氨酸的IgG4（S228P/L235E）	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF

[0926]

		FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
119	IgG1 野生型	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
120	缺乏 C-末端赖氨酸的 IgG1 野生型	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
96	IgG1 野生型	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
97	缺乏 C-末端赖氨酸的 IgG1 野生型	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
98	IgG1（N297A）	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
99	缺乏 C-末端赖氨酸的 IgG1（N297A）	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
100	IgG1（D265A/P329A）	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
101	缺乏 C-末端赖氨酸的 IgG1（D265A/P329A）	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS

		REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
102	IgG1（L234A/L235A）	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
103	缺乏C-末端赖氨酸的IgG1（L234A/L235A）	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
104	人κ恒定区	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC

[0927]

[0928] 表4.CD73的示例性序列

SEQ ID NO	描述	序列
105	人CD73（Q6NZX3）	MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSR LEQTSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLL DAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNALRYDAMALGNHEF DNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKV LPVGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVD KLKTLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVRGVDVVVGGHSN TFLYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKY LGYLKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIK LDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMGNLICDAMINN NLRHADETFWNHVSMCILNGGGIRSPIDERNNGTITWENLA AVLPFGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVG GIHVVYDLSRKPGDRVVKLDVLCTKCRVPSYDPLKMDEVY KVILPNFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISK MKVIYPAVEGRIKFSTGSHCHGSFSLIFLSLWAVIFVLYQ
106	人CD73同种型（P21589-1）	MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSR LEQTSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLL DAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNALRYDAMALGNHEF DNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKV LPVGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVD KLKTLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVRGVDVVVGGHSN TFLYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKY LGYLKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIK LDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMGNLICDAMINN NLRHTDEMFWNHVSMCILNGGGIRSPIDERNNGTITWENLA AVLPFGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVG GIHVVYDLSRKPGDRVVKLDVLCTKCRVPSYDPLKMDEVY KVILPNFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISK MKVIYPAVEGRIKFSTGSHCHGSFSLIFLSLWAVIFVLYQ
107	人CD73同种型（P21589-2）	MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSR LEQTSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLL

[0929]

[0930]

		DAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNALRYDAMALGNHEF DNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKV LPVGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVD KLKTLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVRGVDVVVGGHSN TFLYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKY LGYLKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIK LDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMGNLICDAMINN NLRHTDEMFWNHVSMCILNGGGIRSPIDERNNGIIHVVYDLS RKPGDRVVKLDVLCTKCRVPSYDPLKMDEVYKVILPNFLA NGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISKMKVIYPAVE GRIKFSTGSHCHGSFSLIFLSLWAVIFVLYQ
108	CD73 片段（SEQ ID NO: 105 的残基范围 158-172）	YLPYKVLPVGDEVVG
109	CD73 片段（SEQ ID NO: 105 的残基范围 206-215）	KLKTLNVNKI
110	CD73 片段（SEQ ID NO: 105 的残基范围 368-387）	MINNNLRHADETFWNHVSMC
121	CD73 片段（SEQ ID NO: 106 的残基范围 368-387）	MINNNLRHTDEMFWNHVSMC
111	CD73 片段（SEQ ID NO: 105 的残基范围 87-104）	YQGTIWFTVYKGAEVAHF
118	CD73 片段（SEQ ID NO: 105 的残基范围 297-309）	RGNVISSHGNPIL
134	CD73 片段（SEQ ID NO: 105 的残基范围 27-547）	WELTILHTNDVHSRLEQTSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTK VQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNA LRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGP LASQISGLYLPYKVLPVGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNL VFEDEITALQPEVDKLKTLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKV RGVDVVVGGHSNTFLYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRK VPVVQAYAFGKYLGYLKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPED PSIKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECN MGNLICDAMINNNLRHADETFWNHVSMCILNGGGIRSPIDE RNNGTITWENLAAVLPFGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHR YGQSTGEFLQVGGIHVVYDLSRKPGDRVVKLDVLCTKCRV PSYDPLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGD QDINVVSTYISKMKVIYPAVEGRIK
171	与 C 末端 6-His 标签（SEQ ID NO: 922）融合的 CD73 片段（SEQ ID NO: 105 的残基范围 27-547）	WELTILHTNDVHSRLEQTSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTK VQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNA LRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGP LASQISGLYLPYKVLPVGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNL VFEDEITALQPEVDKLKTLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKV RGVDVVVGGHSNTFLYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRK VPVVQAYAFGKYLGYLKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPED PSIKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECN MGNLICDAMINNNLRHADETFWNHVSMCILNGGGIRSPIDE RNNGTITWENLAAVLPFGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHR YGQSTGEFLQVGGIHVVYDLSRKPGDRVVKLDVLCTKCRV

[0931]

		PSYDPLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGD QDINVVSTYISKMKVIYPAVEGRIKHHHHHH
332	与C末端6-His标签（SEQ ID NO: 922）融合的CD73片段（SEQ ID NO: 105的残基范围27-547），包括信号肽	MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSR LEQTSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLL DAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNALRYDAMALGNHEF DNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKV LPVGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVD KLKTLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVRGVDVVVGGHSN TFLYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKY LGYLKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIK LDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMGNLICDAMINN NLRHADETFWNHVSMCILNGGGIRSPIDERNNGTITWENLA AVLPFGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVG GIHVVYDLSRKPGDRVVKLDVLCTKCRVPSYDPLKMDEVY KVILPNFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISK MKVIYPAVEGRIKHHHHHHH

[0932] 在其他实施例中,前述抗体分子能够以小于约1x 10^{-4}M、1x 10^{-5}M、1x 10^{-6}M、1x 10^{-7}M、1x 10^{-8}M、1x 10^{-9}M的解离常数(K_D)结合人CD73,例如,通过Biacore、Octet、流式细胞仪或ELISA测量的。

[0933] 在一些实施例中,抗体分子结合哺乳动物(例如人或食蟹猴)CD73。例如,抗体分子结合CD73上的表位,例如线性或构象表位(例如如本文所述的表位)。在某些方面,鉴定与目标蛋白质的人和食蟹猴同源物高亲和力结合的抗体是有利的。这种理想的交叉反应性可以在动物模型中测试相同的抗体(或两种具有相同CDR或可变区的抗体),然后将其作为治疗剂施用于人类患者。

[0934] 在一些实施例中,本文披露了分离的抗体分子,其与前述抗CD73抗体分子竞争结合人CD73。

[0935] 在一些实施例中,本文披露了分离的抗体分子,其结合与前述抗CD73抗体分子的表位相同的表位、基本上相同的表位、与其重叠的表位或与其基本上重叠的表位。

[0936] 在一些实施例中,抗体分子结合人CD73的N-末端结构域。在一些实施例中,抗体分子结合人CD73的A环和/或B环。在一些实施例中,抗体分子当与人CD73结合时,在人CD73的C环中诱导构象变化。

[0937] 在一些实施例中,例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用氢氘交换质谱法(例如,例如,用于图14和15的方法)测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组。代表性数据在图14和15中示出。在一些实施例中,氢氘交换减少了至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。

[0938] 在一些实施例中,例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:106的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:106的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组。

[0939] 在一些实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗体分子导致相比于在SEQ ID NO:105的残基297-309处,在SEQ ID NO:105的残基368-387处的氢氘交换的减少更

高,例如通过本文所述的方法,例如在pH 7.5和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法,例如,图14和15使用的方法测量的。代表性数据在图14和15中示出。在一些实施例中,在SEQ ID NO:105的残基368-387处氢氘交换的减少是SEQ ID NO:105的残基297-309处氢氘交换的减少的至少1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、或4倍。

[0940] 在一些实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:106的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗CD73抗体分子导致相比于在SEQ ID NO:106的残基297-309处,在SEQ ID NO:106的残基368-387处的氢氘交换的减少更高,例如通过本文所述的方法,例如在pH 7.5和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测量的。

[0941] 在一些实施例中,当结合人CD73时,抗CD73抗体分子比人CD73的A环、B环或D环更大程度地减少人CD73的C环处的氢氘交换,例如通过本文所述的方法,例如在pH 7.5和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法,例如,图14和15使用的方法测量的。代表性数据在图14和15中示出。在一些实施例中,人CD73的C环处氢氘交换的减少是人CD73的A环、B环或D环处氢氘交换的减少的至少1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、或4倍。

[0942] 在一些实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗CD73抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、或残基297-309处更大程度地减少在SEQ ID NO:105的残基368-387处的氢氘交换,例如通过本文所述的方法,例如在pH 7.5和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法,例如,图14和15使用的方法测量的。代表性数据在图14和15中示出。在一些实施例中,在SEQ ID NO:105的残基368-387处氢氘交换的减少是SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、或残基297-309处氢氘交换的减少的至少1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、或4倍。

[0943] 在一些实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:106的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗CD73抗体分子以比在SEQ ID NO:106的残基158-172、残基206-215、或残基297-309处更大程度地减少SEQ ID NO:106的残基368-387处的氢氘交换,例如通过本文所述的方法,例如在pH 7.5和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测量的。

[0944] 在一些实施例中,当结合人CD73时,抗CD73抗体分子比人CD73的B环、C环或D环更大程度地减少人CD73的A环处的氢氘交换,例如通过本文所述的方法,例如在pH 7.5和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法,例如,图14和15使用的方法测量的。代表性数据在图14和15中示出。在一些实施例中,人CD73的A环处氢氘交换的减少是人CD73的B环、C环或D环处氢氘交换的减少的至少1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、或4倍。

[0945] 在一些实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗CD73抗体分子以比在SEQ ID NO:105的残基206-215、残基368-387、或残基297-309处更大程度地减少在SEQ ID NO:105的残基158-172处的氢氘交换,例如通过本文所述的方法,例如在pH 7.5和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法,例如,图14和15使用的方法测量的。代表性数据在图14和15中示出。在一些实施例中,在SEQ ID NO:105的残基158-172处氢氘交换的减少是SEQ ID

NO:105的残基206-215、残基368-387、或残基297-309处氢氘交换的减少的至少1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、或4倍。

[0946] 在一些实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗CD73抗体分子以比在SEQ ID NO:106的残基206-215、残基368-387、或残基297-309处更大程度地减少在SEQ ID NO:106的残基158-172处的氢氘交换,例如通过本文所述的方法,例如在pH 7.5和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测量的。

[0947] 在一些实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗CD73抗体分子能够减少人CD73的一个或多个区域处的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215,例如通过本文所述的方法,例如在pH 7.5和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法,例如,图14和15使用的方法测量的。代表性数据在图14和15中示出。

[0948] 在一些实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:106的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗CD73抗体分子能够减少人CD73的一个或多个区域处的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:106的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有最大减少的区域不是SEQ ID NO:106的残基206-215,例如通过本文所述的方法,例如在pH 7.5和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测量的。

[0949] 在一些实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗CD73抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基368-387处,每个残基的氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da,例如通过本文所述的方法,例如在pH 7.5和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法,例如,图14和15使用的方法测量的。代表性数据在图14和15中示出。

[0950] 在一些实施例中,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,所述抗CD73抗体分子导致在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的氢氘交换减少小于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da,例如通过本文所述的方法,例如在pH 7.5和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法,例如,图14和15使用的方法测量的。代表性数据在图14和15中示出。

[0951] 在一些实施例中,抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时,例如,当使用本文所述的方法(例如,图17A和17B使用的方法)测试时。

[0952] 在一些实施例中,本文披露了一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构

域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％或80％的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值(例如当使用本文所述的方法,例如图17A、17B、18A、和18B使用的方法检测时)。代表性数据在图17A、17B、18A和18B中示出。

[0953] 在一些实施例中,本文披露了多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列(例如,每个单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成),其中例如,当使用尺寸排阻色谱测量时,当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％或70％的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物(其中所述复合物各自包括两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体)并且通过确定所述复合物中抗体分子的量相对于与CD73结合的抗体分子(不包括未结合的抗体分子)的总量获得百分比值(例如当使用本文所述的方法,例如图17A、17B、18A、和18B使用的方法检测时)。代表性数据在图17A、17B、18A和18B中示出。

[0954] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子一旦与人CD73结合,就不会导致人CD73的寡聚。

[0955] 在一些实施例中,抗体分子优先结合CD73的开放构象(例如,无催化活性的构象),而不是CD73的封闭构象(例如,催化活性的构象),例如,不结合或以比所述抗体分子结合CD73的开放构象(例如,无催化活性的构象)时更低的亲和力(例如低50％、60％、70％、80％、90％、95％、或99％的亲和力)结合CD73的封闭构象(例如,催化活性的构象)。

[0956] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子阻止或减少人CD73从无催化活性的开放构象向催化活性的封闭构象的转化。在一些实施例中,与抗体分子不存在下的转化相比,人CD73从无催化活性的开放构象向催化活性的封闭构象的转化减少至少1.5倍、2倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、或100倍。

[0957] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个残基直接或间接接触。在一些实施例中,抗CD73抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基206-215内的至少一个残基直接或间接接触。在一些实施例中,抗CD73抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基368-387内的至少一个残基直接或间接接触。在一些实施例中,抗CD73抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基87-104内的至少一个残基直接或间接接触。在一些实施例中,抗CD73抗体分子例如与SEQ ID NO:106的残基368-387内的至少一个残基直接或间接接触。

[0958] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子抑制或降低CD73(例如,可溶性人CD73或膜结合人CD73)的酶活性,例如抑制或降低人CD73介导的腺苷单磷酸(AMP)向腺苷的转化,例如通过本文所述的方法(例如,孔雀石绿(MG)磷酸盐测定或改良的Cell Titer Glo(CTG)测定,例如图2B、3A、3B、3C、4、5、6、7A、7B、7C、8A、8B、9A、9B、10、11A、11B、或13中使用的方法)确定的。代表性数据在图2B、3A、3B、3C、4、5、6、7A、7B、7C、8A、8B、9A、9B、10、11A、11B、和13中示出。在一些实施例中,CD73(例如可溶性人CD73或膜结合人CD73)的酶活性降低了至少10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、或99％。

[0959] 在一些实施例中,在腺苷单磷酸(AMP)存在下,抗CD73抗体分子增加抗CD3/抗CD28刺激的T细胞,例如CD4+ T细胞的增殖,例如通过本文所述的方法(例如,CellTrace Violet(CTV)细胞增殖测定,例如图12A或12B中使用的方法)确定的。代表性数据在图12A和12B中示出。在一些实施例中,抗CD3/抗CD28刺激的T细胞(例如CD4+T细胞)的增殖增加至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、或10倍。

[0960] 在另一个方面,本发明提供了分离的核酸,其编码上述抗体分子、其载体和宿主细胞中的任一项。核酸分子包括但不限于RNA、基因组DNA和cDNA。

[0961] 在一些实施例中,分离的核酸编码任何上述抗体分子的抗体重链可变区、轻链可变区、重链和/或轻链。

[0962] 在一些实施例中,分离的核酸编码重链可变区,其中所述核酸包含SEQ ID NO:45、78、85、143、152、160、67、32、11或169的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:45、78、85、143、152、160、67、32、11或169具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的核苷酸序列。

[0963] 在一些实施例中,分离的核酸编码重链,其中所述核酸包含SEQ ID NO:47、80、87、69、34或13的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:47、80、87、69、34或13具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的核苷酸序列。

[0964] 在一些实施例中,分离的核酸编码轻链可变区,其中所述核酸包含SEQ ID NO:56、144、22或170的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:56、144、22或170具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的核苷酸序列。

[0965] 在一些实施例中,分离的核酸编码轻链,其中所述核酸包含SEQ ID NO:58或24的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:58或24具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的核苷酸序列。

[0966] 药物组合物和药剂盒

[0967] 在一些方面,本披露提供了组合物,例如药学上可接受的组合物,其包括与药学上可接受的运载体一起配制的本文所述的抗CD73抗体分子。如本文所用,“药学上可接受的运载体”包括生理学上相容的任何和所有溶剂、分散介质、等渗剂和吸收延迟剂等。运载体可适用于静脉内、肌肉内、皮下、肠胃外、直肠、脊柱或表皮施用(例如通过注射或输注)。

[0968] 本发明的组合物可以呈多种形式。这些包括例如液体、半固体和固体剂型,如液体溶液(例如,可注射和可输注溶液),分散体或悬浮液,脂质体和栓剂。该形式取决于施用和治疗应用的预期模式。典型的优选组合物呈可注射或可输注溶液的形式。一种合适的施用方式是肠胃外(例如静脉内、皮下、腹膜内、肌肉内)施用。在一些实施例中,抗体通过静脉内输注或注射施用。在某些实施例中,抗体通过肌肉内或皮下注射施用。

[0969] 如本文所用,短语“肠胃外施用”和“经肠胃外施用”意指除了肠道和局部施用以外的施用方式,通常通过注射施用,并且包括但不限于静脉内、肌肉内、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、脊柱内、硬脑膜外以及胸骨内注射和输注。

[0970] 治疗组合物在制造和贮藏条件下典型地应该是无菌和稳定的。该组合物可以被配制成溶液、微乳剂、分散体、脂质体或其他适合于高抗体浓度的有序结构。可以通过以下各项来制备无菌可注射溶液:将活性化合物(即抗体或抗体部分)以所需的量,根据需要,与一种以上列举的成分或这些成分的组合并入适当的溶剂中,然后进行过滤灭菌。总体上,通过

将有效化合物掺入无菌媒介物来制备分散体,该无菌媒介物含有基础分散介质以及来自以上列举的所需其他成分。就用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末而言,优选制备方法是真空干燥和冷冻干燥,这些方法产生活性成分的粉末以及来自其以前的无菌过滤溶液的任何其他所需成分。可以例如通过使用涂层(如卵磷脂)、通过在分散液的情况下维持所需粒度以及通过使用表面活性剂来维持适当的溶液流动性。可以通过在组合物中包含延迟吸收的药剂(例如单硬脂酸盐和明胶)来实现可注射组合物的吸收延长。

[0971] 可以通过多种方法施用抗体分子。在本领域中有几种是已知的,并且对于许多治疗应用而言,合适的施用途径/方式是静脉内注射或输注。在实施例中,抗体分子能以通过静脉内输注以超过20mg/min(例如,20-40mg/min)的速率施用。在实施例中,抗体分子能以大于或等于40mg/min的速率通过静脉输注施用以达到约35至440mg/m^2、约70至310mg/m^2、或约110至130mg/m^2的剂量。在实施例中,抗体分子能以小于10mg/min,例如小于或等于5mg/min的速率通过静脉输注施用以达到约1至100mg/m^2、约5至50mg/m^2、约7至25mg/m^2、或约10mg/m^2的剂量。如本领域技术人员将理解的,给予途经和/或模式将根据所希望的结果而变化。在某些实施例中,活性化合物可与将保护该化合物避免快速释放的运载体一起制备,如控释配制品,包括植入物、经皮贴片和微胶囊化递送系统。可以使用可生物降解的生物相容性聚合物,如乙烯乙酸乙烯酯、聚酐类、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯类和聚乳酸。用于制备此类配制品的许多方法是获得专利权的或是本领域技术人员通常已知的。参见例如Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems[缓控释药物递送系统],J.R.Robinson编辑,马塞尔稠德克尔公司(Marcel Dekker,Inc.),纽约,1978。

[0972] 在某些实施例中,抗体分子可以口服给予,例如,与惰性稀释剂或可同化的可食用运载体一起。抗体分子(和其他成分,如果希望的话)也可以包封在硬壳或软壳明胶胶囊中,压制成片剂,或直接掺入受试者的饮食中。对于口服治疗给药,抗体分子可与赋形剂混合并以可摄入的片剂、口含片、锭剂、胶囊、酏剂、悬浮液、糖浆、糯米纸囊剂等形式使用。为了通过除肠胃外给药以外的其他方式给予抗体分子,可能需要用材料包被该化合物或将该化合物与材料共同给予以防止其失活。治疗组合物还可以用本领域已知的医疗装置给予。

[0973] 调整剂量方案以提供所期望反应(例如,治疗反应)。例如,如由治疗情况的紧急状态所指示的,可以施用单次推注,可以随着时间的推移施用若干个分次剂量,或可以按比例地减少或增加剂量。特别有利的是以剂量单位形式配制肠胃外组合物以便施用和剂量统一。如本文所用,剂量单位形式是指适合作为用于要治疗的受试者的单元剂量的物理上离散的单位;每个单位含有经计算与所要求的药物运载体联合产生所期望的治疗效果的预定量的活性化合物。剂量单位形式的规格是通过以下指定并且直接取决于以下:(a)活性化合物的独特特征和有待实现的具体治疗效果,以及(b)在混配这种活性化合物用于治疗个体的敏感性的领域中的固有限制。

[0974] 在一些实施例中,本文披露的抗CD73抗体分子通过(例如皮下或静脉内)注射施用,剂量(例如,固定剂量)为约60mg至2400mg,例如,约100mg至2400mg、约100mg至2200mg、约100mg至2000mg、约100mg至1800mg、约100mg至1600mg、约100mg至1400mg、约100mg至1200mg、约100mg至1000mg、约100mg至800mg、约100mg至600mg、约100mg至400mg、约100mg至200mg、或约100mg、约180mg、或约200mg。给药日程表(例如,固定给药方案)可以从例如每周一次至每2、3或4周一次变化。在一个实施例中,将本文披露的抗CD73抗体分子以从约100mg

至200mg的剂量施用,每周一次、每两周一次、或每三周一次。在一个实施例中,将本文披露的抗CD73抗体分子以至少约180mg的剂量施用,每两周一次。

[0975] 在一些实施例中,将本文披露的抗CD73抗体分子通过(例如皮下或静脉内)注射施用,剂量(例如,固定剂量)为约5mg至100mg、约100mg至500mg、约500mg至1000mg、约1000mg至1500mg、约1500mg至2000mg、约2000mg至2500mg、约2500mg至3000mg、约3000mg至3500mg、或约3500mg至4000mg,例如每周施用一次(QW)、每两周施用一次(Q2W)、或每四周施用一次(Q4W)。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约6mg、约20mg、约60mg、约200mg、约600mg、约1200mg、约2400mg、约3000mg、或约3600mg,例如QW、Q2W、或Q4W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约60mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约200mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约600mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1200mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2400mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3600mg Q2W。

[0976] 在一个实施例中,施用本文披露的抗CD73抗体分子,例如通过输注经30分钟的时段、经1小时的时段、或经长达2小时的时段施用。

[0977] 治疗或预防有效量的抗体分子的示例性、非限制性范围是0.1mg/kg-30mg/kg,更优选1mg/kg-25mg/kg。抗CD73抗体的剂量和治疗方案可由技术人员确定。在某些实施例中,将抗CD73抗体分子通过注射(例如皮下或静脉内)以约1mg/kg至40mg/kg,例如1mg/kg至30mg/kg,例如约5mg/kg至25mg/kg、约10mg/kg至20mg/kg、约1至5mg/kg、1mg/kg至10mg/kg、5mg/kg至15mg/kg、10mg/kg至20mg/kg、15mg/kg至25mg/kg、或约3mg/kg的剂量给予。给药日程表可以从例如每周一次至每2、3、或4周一次变化。在一个实施例中,将抗CD73抗体分子以从约10至20mg/kg的剂量施用,每两周一次。该抗体分子可以通过静脉内输注以超过20mg/min,例如20-40mg/min,例如大于或等于40mg/min的速率给予,以达到约35至440mg/m^2,约70至310mg/m^2,或约110至130mg/m^2的剂量。在实施例中,约110mg/m^2至130mg/m^2的输注速率达到约3mg/kg的水平。在其他实施例中,抗体分子能以小于10mg/min,例如小于或等于5mg/min的速率通过静脉输注施用以达到约1至100mg/m^2,例如约5至50mg/m^2、约7至25mg/m^2,或约10mg/m^2的剂量。在一些实施例中,抗体在约30min的时间内输注。应注意,剂量值可随待缓解的病症的类型和严重程度而变化。应进一步理解,对于任何特定受试者,应根据个体需要和给予或监督组合物给予的人的专业判断随时间调整特定剂量方案,并且本文所述的剂量范围仅是示例性的,并不旨在限制所要求保护的组合物的范围或实践。

[0978] 本发明的药物组合物可包括“治疗有效量”或“预防有效量”的本发明的抗体分子。“治疗有效量”是指以必要的剂量和在必要的时间段内有效实现所需治疗结果的量。治疗有效量的经修饰抗体或抗体片段可根据诸如疾病状态、年龄、性别和个体体重等因素以及抗体或抗体部分在个体中引发所希望响应的能力而变化。治疗有效量也是抗体分子的治疗有益效果超过任何毒性或有害作用的量。“治疗有效剂量”优选地抑制可测量的参数,例如相对于未治疗的受试者,抑制至少约20%,更优选至少约40%,甚至更优选至少约60%,并且仍更优选至少约80%。可测量的参数可以是例如肿瘤生长速率或病原体生长速率。可以在动物模型系统中评估抗体分子抑制可测量的参数的能力,该系统可预测相应人类疾病的功

效。可替代地,组合物的这种性质可以通过检查化合物抑制的能力来评估,这种抑制在体外通过本领域技术人员已知的测定进行。

[0979] “预防有效量”是指以剂量计并且持续所需的时间段以实现所希望的预防结果的有效的量。典型地,因为预防的剂量是在疾病之前或早期在受试者体内使用的,所以这种预防有效量将小于治疗有效量。

[0980] 包含本文所述抗体分子的药剂盒也在本发明的范围内。该药剂盒可包括一种或多种其他要素,包括:使用说明书;其他试剂,例如标记物、治疗剂、或用于螯合或以其他方式偶联抗体与标记物或治疗剂或辐射防护组合物的试剂;用于制备用于施用的抗体分子的装置或其他材料;药学上可接受的运载体;和用于对受试者给予的装置或其他材料。

[0981] 抗CD73抗体分子的用途

[0982] 本文披露的抗CD73抗体分子具有体外和体内诊断、以及治疗和预防用途。例如,可以将这些分子施用于在体外或离体培养的细胞或者受试者,例如人类受试者,以治疗、预防和/或诊断多种障碍,如癌症和感染性障碍。

[0983] 因此,在一个方面,本发明提供了一种修饰受试者中免疫应答的方法,该方法包括向该受试者施用本文所述的抗体分子,从而修饰该受试者中的免疫应答。在一个实施例中,免疫应答被增强、刺激或上调。在一个实施例中,抗体分子通过阻断CD73增强受试者的免疫应答。

[0984] 如本文所用,术语“受试者”意在包括人和非人动物。在一个实施例中,受试者是人类受试者,例如患有以CD73功能异常为特征的疾病或病症的人类患者。术语“非人动物”包括哺乳动物和非哺乳动物,例如非人灵长类动物。在一个实施例中,受试者是人。在一个实施例中,受试者是需要增强免疫应答的人类患者。在一个实施例中,受试者免疫受损,例如,受试者正在或已经进行化学疗法或放射疗法。替代性地或组合地,受试者由于感染而免疫受损或处于免疫受损的风险中。本文所述的方法和组合物适用于治疗患有可通过增强T细胞介导的免疫应答来治疗的疾病的人类患者。例如,本文所述的方法和组合物可以增强多种免疫活性。在一个实施例中,受试者的肿瘤浸润T淋巴细胞(TIL)的数量或活性增加。

[0985] 治疗用途

[0986] 癌症

[0987] 在一个方面,本发明涉及使用抗CD73抗体分子在体内治疗受试者,从而抑制或减少癌性肿瘤的生长。抗CD73抗体可以单独用于抑制癌性肿瘤的生长。可替代地,抗CD73抗体可以与以下中的一种或多种组合使用:护理治疗的标准物(例如,针对癌症)、另一种抗体分子、免疫调节剂(例如,共刺激性分子的活化剂或共抑制性分子的抑制剂);疫苗,例如治疗性癌症疫苗;或如下所述的其他形式的细胞疗法。

[0988] 因此,在一个实施例中,本发明提供了抑制受试者中肿瘤细胞生长的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的本文披露的抗CD73抗体分子。

[0989] 在一个实施例中,方法适用于体内癌症的治疗。为了实现免疫的抗原特异性增强,可以将抗CD73抗体分子与目的抗原一起施用。当将针对CD73的抗体与一种或多种药剂组合施用时,能以顺序或同时施用组合。

[0990] 癌症类型

[0991] 在另一个方面,提供了一种治疗受试者,例如减轻或改善受试者的过度增生性病

状或障碍(例如,癌症)、例如实体瘤、血液癌、软组织肿瘤或转移性病灶的方法。该方法包括单独地或与其他药剂或治疗方式组合地向受试者施用一种或多种本文所述的抗CD73抗体分子。

[0992] 如本文所用,术语“癌症”意指包括所有类型的癌性生长或致癌过程、转移性组织或恶性转化的细胞、组织或器官,而不考虑组织病理学类型或侵袭的阶段。癌性疾病的实例包括但不限于实体瘤、血液癌症、软组织肿瘤和转移性病灶。实体瘤的实例包括各种器官系统(诸如影响肝、肺、乳腺、淋巴、胃肠(例如,结肠)、泌尿生殖道(例如,肾细胞、尿路上皮细胞)、前列腺和咽的那些器官系统)的恶性肿瘤,例如肉瘤和癌(包括腺癌和鳞状细胞癌)。腺癌包括诸如大多数结肠癌、直肠癌、肾细胞癌、肝癌、非小细胞肺癌、小肠癌和食管癌的恶性肿瘤。鳞状细胞癌包括例如肺、食道、皮肤、头颈部区域、口腔、肛门和子宫颈中的恶性肿瘤。在一个实施例中,癌症是黑色素瘤,例如晚期黑色素瘤。还可以使用本发明的方法和组合物来治疗或预防上述癌症的转移性病灶。

[0993] 可以使用本文披露的抗体分子抑制其生长的示例性癌症包括通常对免疫疗法有应答的癌症。用于治疗的优选的癌症的非限制性实例包括黑色素瘤(例如,转移性恶性黑色素瘤)、肾癌(例如,透明细胞癌)、前列腺癌(例如,激素难治性前列腺腺癌)、乳腺癌、结肠癌和肺癌(例如,非小细胞肺癌)。另外,可以使用本文描述的抗体分子来治疗难治性或复发性恶性肿瘤。

[0994] 可以治疗的其他癌症的实例包括骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头颈癌、皮肤或眼内恶性黑色素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛门癌、胃食道癌、胃癌、睾丸癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、宫颈癌、阴道癌、外阴癌、默克(Merkel)细胞癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌症、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、慢性或急性白血病(包括急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、急性成淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病)、儿童实体瘤、淋巴细胞性淋巴瘤、膀胱癌、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、肾或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统肿瘤(CNS)、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊髓轴肿瘤、脑干胶质瘤、垂体腺瘤、卡波西氏(Kaposi)肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症(包括石棉诱导的癌症(例如,间皮瘤))以及所述癌症的组合。

[0995] 在一些实施例中,此处的疗法可用于治疗患有(或被鉴定为具有)与感染相关的癌症(例如,病毒或细菌感染)的患者。示例性癌症包括宫颈癌、肛门癌、HPV相关的头颈部鳞状细胞癌、HPV相关的食管乳头状瘤、HHV6相关的淋巴瘤、EBV相关的淋巴瘤(包括伯基特淋巴瘤)、胃MALT淋巴瘤、其他感染相关的MALT淋巴瘤、HCC、和卡波西氏肉瘤。

[0996] 在其他实施例中,癌症是血液恶性肿瘤或癌症,包括但不限于白血病或淋巴瘤。例如,抗CD73抗体分子可用于治疗癌症和恶性肿瘤,如包括但不限于例如急性白血病,包括但不限于例如B细胞急性淋巴细胞白血病(BALL)、T细胞急性淋巴细胞白血病(TALL)、急性淋巴细胞白血病(ALL);一种或多种慢性白血病,其包括但不限于例如慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL);另外的血液癌症或血液病状包括但不限于,例如B细胞幼淋巴细胞性白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生性病状、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常和骨髓增

生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、华氏(Waldenstrom)巨球蛋白血症、和为由骨髓血细胞的无效产生(或发育异常)联合在一起的各种血液病状集合的“白血病前期”等。

[0997] 在一个实施例中,癌症选自肺癌(例如,非小细胞肺癌(NSCLC)(例如,具有鳞状组织学和/或非鳞状组织学的NSCLC,或NSCLC腺癌))、黑色素瘤(例如,晚期黑色素瘤)、肾癌(例如,肾细胞癌,例如透明细胞肾细胞癌)、肝癌、骨髓瘤(例如,多发性骨髓瘤)、前列腺癌、乳腺癌(例如,不表达雌激素受体、孕酮受体或Her2/neu中的一者、二者或全部的乳腺癌,例如三阴性乳腺癌)、结直肠癌(例如,微卫星稳定(MSS)大肠癌)、卵巢癌)、胰腺癌、头颈癌(例如,头颈部鳞状细胞癌(HNSCC))、肛门癌、胃食管癌、甲状腺癌、宫颈癌、淋巴细胞增生性疾病(例如,移植后淋巴增生性疾病)或血液学癌症、T细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或白血病(例如,骨髓性白血病)。

[0998] 在一个实施例中,癌症选自肺癌(例如,非小细胞肺癌)、胰腺癌(例如,胰管腺癌)、乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌)、黑色素瘤、头颈癌(例如,鳞状头颈癌)、结直肠癌(例如,微卫星稳定(MSS)结直肠癌)、卵巢癌或肾癌(例如,肾细胞癌)。

[0999] 在一个实施例中,癌症选自膀胱癌、白血病、淋巴瘤、神经胶质瘤、胶质母细胞瘤、卵巢癌、甲状腺癌、食道癌、前列腺癌、子宫/宫颈癌、睾丸癌、食道癌、胃肠道癌、结肠癌、肾脏癌症、胃癌、生殖细胞癌、骨癌、肝癌、皮肤癌、中枢神经系统肿瘤、骨髓瘤、肉瘤和病毒相关癌。

[1000] 抗CD73抗体分子的组合

[1001] 可以将抗CD73抗体分子与其他疗法组合使用。例如,组合疗法可包括与一种或多种另外的治疗剂共同配制和/或共同给予的本发明的组合物,例如,一种或多种抗癌剂、细胞毒剂或细胞抑制剂、激素治疗、疫苗和/或其他免疫疗法。在其他实施例中,抗体分子与其他治疗性治疗方式组合给予,包括手术、放射、冷冻手术和/或热疗。此类组合疗法可以有利地使用较低剂量的所给予的治疗剂,从而避免与各种单一疗法相关的可能的毒性或并发症。

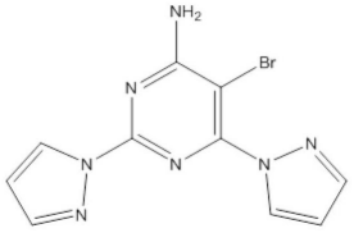
[1002] “与……组合”并不旨在暗示必需同时给予这些治疗剂或治疗性药剂和/或配制其用于一起递送,尽管这些递送方法也在本文所述的范围内。抗CD73抗体分子可以与一种或多种其他另外的疗法或治疗剂同时、在其之前或之后给予。可以按任何顺序给予抗CD73抗体分子和其他药剂或治疗方案。一般而言,每种药剂将以针对该药剂所确定的剂量和/或时间排程给予。还应理解,该组合中使用的另外的治疗剂可以以单一组合物一起给予或以不同组合物分开给予。一般而言,预期组合中使用的另外的治疗剂以不超过它们单独使用时的水平使用。在一些实施例中,组合中使用的水平将低于单独使用的水平。

[1003] 示例性腺苷A2A受体拮抗剂

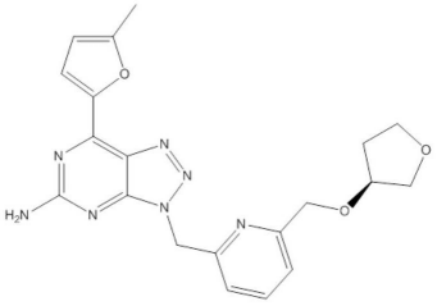
[1004] 在某些实施例中,本文所述的这些抗CD73抗体分子与腺苷A2A受体(A2AR)拮抗剂组合施用。示例性A2AR拮抗剂包括,例如,PBF509(帕罗生物制药公司/诺华公司(Palobiofarma/Novartis))、CPI444/V81444(卡沃斯公司/基因泰克公司(Corvus/Genentech))、AZD4635/HTL-1071(阿斯利康公司/海普泰公司(AstraZeneca/Heptares))、维帕迪南(Redox/Juno公司)、GBV-2034(Globavir公司)、AB928(阿克斯生物科学公司(Arcus Biosciences))、茶碱、伊曲茶碱(协和发酵工业株式会社(Kyowa Hakko Kogyo))、

托扎迪南/SYN-115(Acorda公司)、KW-6356(协和发酵工业株式会社)、ST-4206(理地安生物科学公司(Leadiant Biosciences))、和普瑞迪南/SCH 420814(默克公司/谢林公司(Merck/Schering))。

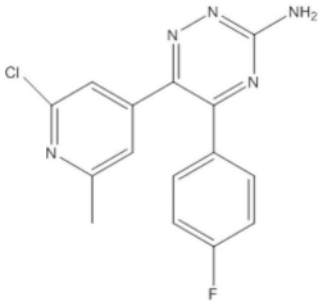
[1005] 在某些实施例中,A2AR拮抗剂是PBF509。PBF509和其他A2AR拮抗剂在US 8,796,284和WO 2017/025918中披露,这些申请通过引用以其全文并入。PBF509是指具有以下结构的5-溴-2,6-二-(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺:

[1006] 

[1007] 在某些实施例中,A2AR拮抗剂是CPI444/V81444。CPI-444和其他A2AR拮抗剂在WO 2009/156737中披露,该申请通过引用以其全文并入本文。在某些实施例中,A2AR拮抗剂是(S)-7-(5-甲基呋喃-2-基)-3-((6-(((四氢呋喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺。在某些实施例中,A2AR拮抗剂是(R)-7-(5-甲基呋喃-2-基)-3-((6-(((四氢呋喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺,或其外消旋体。在某些实施例中,A2AR拮抗剂是7-(5-甲基呋喃-2-基)-3-((6-(((四氢呋喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺。在某些实施例中,A2AR拮抗剂具有以下结构:

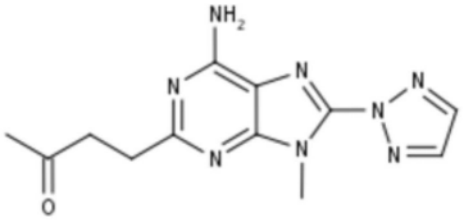
[1008] 

[1009] 在某些实施例中,A2AR拮抗剂是AZD4635/HTL-1071。A2AR拮抗剂在WO 2011/095625中披露,该申请通过引用以其全文并入本文。在某些实施例中,A2AR拮抗剂是6-(2-氯-6-甲基吡啶-4-基)-5-(4-氟苯基)-1,2,4-三嗪-3-胺。在某些实施例中,A2AR拮抗剂具有以下结构:

[1010] 

[1011] 在某些实施例中,A2AR拮抗剂是ST-4206(理地安生物科学公司)。在某些实施例中,A2AR拮抗剂是在US 9,133,197中描述的A2AR拮抗剂,该申请通过引用以其全文并入本

文。在某些实施例中,A2AR拮抗剂具有以下结构:

[1012] 

[1013] 在某些实施例中,A2AR拮抗剂是在US 8114845、US 9029393、US 20170015758、或US 20160129108中描述的A2AR拮抗剂,通过引用以其全文并于本文中。

[1014] 在某些实施例中,A2AR拮抗剂是伊曲茶碱(CAS注册号:155270-99-8)。伊曲茶碱也称为KW-6002或8-[(E)-2-(3,4-二甲氧基苯基)乙烯基]-1,3-二乙基-7-甲基-3,7-二氢-1H-嘌呤-2,6-二酮。例如,在LeWitt等人,(2008)Annals of Neurology[神经病学年鉴]63(3):295-302)中披露了伊曲茶碱。

[1015] 在某些实施例中,A2aR拮抗剂是托扎迪南(Biotie公司)。托扎迪南也称为SYN115或4-羟基-N-(4-甲氧基-7-吗啉-4-基-1,3-苯并噻唑-2-基)-4-甲基哌啶-1-甲酰胺。托扎迪南阻断在A2a受体上的内源性腺苷的作用,导致多巴胺对D2受体的作用增强,并抑制mGluR5受体上的谷氨酸的作用。在一些实施例中,A2aR拮抗剂是普瑞迪南(CAS登记号:377727-87-2)。普瑞迪南也称为SCH 420814或2-(2-呋喃基)-7-[2-[4-[4-(2-甲氧基乙氧基)苯基]-1-哌嗪基]乙基]7H-吡唑并[4,3-e][1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-5-胺。普瑞迪南被开发为一种药物,可作为腺苷A2A受体的有效和选择性拮抗剂。

[1016] 在某些实施例中,A2aR拮抗剂是维帕迪南。维帕迪南也称为BIIB014、V2006、或3-[(4-氨基-3-甲基苯基)甲基]-7-(呋喃-2-基)三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺。

[1017] 其他示例性A2aR拮抗剂包括例如,ATL-444、MSX-3、SCH-58261、SCH-412,348、SCH-442,416、VER-6623、VER-6947、VER-7835、CGS-15943、或ZM-241,385。

[1018] 在一些实施例中,A2aR拮抗剂是A2aR途径拮抗剂(例如,CD-73抑制剂,例如抗CD73抗体)是MEDI9447。MEDI9447是对CD73具有特异性的单克隆抗体。通过CD73靶向腺苷的细胞外产生可降低腺苷的免疫抑制作用。MEDI9447报道为具有一系列活性,例如,抑制CD73外核苷酸酶活性、减轻AMP介导的淋巴细胞抑制、以及抑制同基因肿瘤生长。MEDI9447可以驱动肿瘤微环境中骨髓和淋巴浸润白细胞群体两者的变化。这些变化包括例如CD8效应细胞和活化的巨噬细胞的增加,以及骨髓源性抑制细胞(MDSC)和调节性T淋巴细胞的比例的降低。

[1019] 示例性PD-1抑制剂

[1020] 在某些实施例中,将如本文所述的抗CD73抗体分子与PD-1抑制剂组合施用。PD-1抑制剂可以是抗体、其抗原结合片段、免疫黏附素、融合蛋白、或寡肽。在一些实施例中,PD-1抑制剂选自PDR001(诺华公司)、纳武单抗(百时美施贵宝公司)、兰洛利珠单抗(默克公司(Merck&Co))、匹地利珠单抗(CureTech公司)、MEDI0680(英商梅迪缪思有限公司(Medimmune))、REGN2810(再生元公司(Regeneron))、TSR-042(Tesaro公司)、PF-06801591(辉瑞制药公司(Pfizer))、BGB-A317(百济神州公司(Beigene))、BGB-108(百济神州公司)、INCSHR1210(因赛特公司(Incyte))、或AMP-224(Amplimmune公司)。

[1021] 示例性抗PD-1抗体分子

[1022] 在一个实施例中,PD-1抑制剂是抗PD-1抗体分子。在一个实施例中,PD-1抑制剂是

抗PD-1抗体分子,如题为“PD-1的抗体分子及其用途”的2015年7月30日公布的US2015/0210769(将其通过引用以其全文并入)中所述的。

[1023] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含来自重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个互补决定区(CDR)(或总体上全部CDR),所述重链和轻链可变区包含表5(例如,来自表5中披露的BAP049-克隆-E或BAP049-克隆-B的重链和轻链可变区序列)中所示的氨基酸序列,或由表5中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一些实施例中,这些CDR根据卡巴特定义(例如,如表5中所列出的)。在一些实施例中,这些CDR根据乔西亚定义(例如,如表5中所列出的)。在一些实施例中,这些CDR根据卡巴特和乔西亚二者的组合CDR定义(例如,如表5中所列出的)。在一个实施例中,VH CDR1的卡巴特和乔西亚CDR的组合包含氨基酸序列GYTFTTYWMH(SEQ ID NO:541)。在一个实施例中,相对于表5中所示的氨基酸序列,或由表5中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如氨基酸取代(例如,保守氨基酸取代)或缺失。

[1024] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:501的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:502的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:503的VHCDR3氨基酸序列的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:510的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:511的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:512的VLCDR3氨基酸序列的轻链可变区(VL),各自披露于表5中。

[1025] 在一个实施例中,抗体分子包含:含有由SEQ ID NO:524的核苷酸序列编码的VHCDR1、由SEQ ID NO:525的核苷酸序列编码的VHCDR2、和由SEQ ID NO:526的核苷酸序列编码的VHCDR3的VH;以及含有由SEQ ID NO:529的核苷酸序列编码的VLCDR1、由SEQ ID NO:530的核苷酸序列编码的VLCDR2、和由SEQ ID NO:531的核苷酸序列编码的VLCDR3的VL,各自披露于表5中。

[1026] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:506的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:506具有至少约85%、90%、95%、或99%或更高序列同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:520的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:520具有至少约85%、90%、95%、或99%或更高序列同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:516的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:516具有至少约85%、90%、95%、或99%或更高序列同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:506的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:520的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:506的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:516的氨基酸序列的VL。

[1027] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:507的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:507具有至少约85%、90%、95%、或99%、或更高序列同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:521或517的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:521或517具有至少约85%、90%、95%、或99%或更高序列同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:507的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:521或517的核苷酸序列编码的VL。

[1028] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:508的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:508具有至少约85%、90%、95%、或99%、或更高序列同一性的氨基酸序列的重

链。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:522的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:522具有至少约85%、90%、95%、或99%、或更高序列同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:518的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:518具有至少约85%、90%、95%、或99%、或更高序列同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:508的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:522的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:508的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:518的氨基酸序列的轻链。

[1029] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:509的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:509具有至少约85%、90%、95%、或99%、或更高序列同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:523或519的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:523或519具有至少约85%、90%、95%、或99%或更高序列同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:509的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:523或519的核苷酸序列编码的轻链。

[1030] 本文所述的抗体分子可以通过载体、宿主细胞、和在US 2015/0210769(将其通过引用以其全文并入)中描述的方法制得。

[1031] 表5.示例性抗PD-1抗体分子的氨基酸和核苷酸序列

[1032]

BAP049-克隆-B HC		
SEQ ID NO: 501（卡巴特）	HCDR1	TYWMH
SEQ ID NO: 502（卡巴特）	HCDR2	NIYPGTGGSNFDEKFKN
SEQ ID NO: 503（卡巴特）	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 504（乔西亚）	HCDR1	GYTFTTY
SEQ ID NO: 505（乔西亚）	HCDR2	YPGTGG
SEQ ID NO: 503（乔西亚）	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 506	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVRQATGQG LEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCTRWTTGTGAYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 507	DNA VH	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCG GCGAGTCACTGAGAATTAGCTGTAAAGGTTCAGGCTACACCTT CACTACCTACTGGATGCACTGGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAA GGCCTCGAGTGGATGGGTAATATCTACCCCGGCACCGGCGGCT CTAACTTCGACGAGAAGTTTAAGAATAGAGTGACTATCACCGC CGATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAACTGTCTAGCCTGA GATCAGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCACTAGGTGGACTAC CGGCACAGGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTG TCTAGC
SEQ ID NO: 508	重链	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVRQATGQG LEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCTRWTTGTGAYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 509	DNA 重链	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCG GCGAGTCACTGAGAATTAGCTGTAAAGGTTCAGGCTACACCTT CACTACCTACTGGATGCACTGGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAA GGCCTCGAGTGGATGGGTAATATCTACCCCGGCACCGGCGGCT

[1033]

		CTAACTTCGACGAGAAGTTTAAGAATAGAGTGACTATCACCGC CGATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAACTGTCTAGCCTGA GATCAGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCACTAGGTGGACTAC CGGCACAGGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTG TCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACC TTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCC TGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAAC AGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCT GCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGTCACGGTGC CTTCATCTAGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGAC CACAAGCCTTCCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGA AGTACGGCCCACCGTGCCCGCCTTGTCCCGCGCCGGAGTTCCTC GGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCCACCGAAGCCCAAGGACAC TTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTGG ACGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGT GGATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGA GGAGCAGTTCAACTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGG TGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAA AGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCAATCGAAAAGACCATC TCGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCC TGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATT GACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGG AATGGGAGTCCAACGGCCAGCCGGAAAACAACTACAAGACCA CCCCTCCGGTGCTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCCTCTACTCG CGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGGAAATGTGT TCAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACTACACT CAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
BAP049-克隆-B LC		
SEQ ID NO: 510（卡巴特）	LCDR1	KSSQSLLDSGNQKNFLT
SEQ ID NO: 511（卡巴特）	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 512（卡巴特）	LCDR3	QNDYSYPYT
SEQ ID NO: 513（乔西亚）	LCDR1	SQSLLDSGNQKNF
SEQ ID NO: 514（乔西亚）	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 515（乔西亚）	LCDR3	DYSYPY
SEQ ID NO: 516	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLLDSGNQKNFLTWYQQKP GKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYY CQNDYSYPYTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 517	DNA VL	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCC TGGCGAGCGGGCTACACTGAGCTGTAAATCTAGTCAGTCACTG CTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACTTCCTGACCTGGTATCAGC AGAAGCCCGGTAAAGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCTC TACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTCACCTTCACTATCTCTAGCCTGCAGCCCGA GGATATCGCTACCTACTACTGTCAGAACGACTATAGCTACCCCT ACACCTTCGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 518	轻链	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLLDSGNQKNFLTWYQQKP GKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYY CQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 519	DNA 轻链	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCC TGGCGAGCGGGCTACACTGAGCTGTAAATCTAGTCAGTCACTG CTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACTTCCTGACCTGGTATCAGC

[1034]

		AGAAGCCCGGTAAAGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCTC TACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTCACCTTCACTATCTCTAGCCTGCAGCCCGA GGATATCGCTACCTACTACTGTCAGAACGACTATAGCTACCCCT ACACCTTCGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGT GGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGC TGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTT CTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCC CTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGAC AGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGA GCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGT GACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAAC AGGGGCGAGTGC
BAP049-克隆-E HC		
SEQ ID NO: 501（卡巴特）	HCDR1	TYWMH
SEQ ID NO: 502（卡巴特）	HCDR2	NIYPGTGGSNFDEKFKN
SEQ ID NO: 503（卡巴特）	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 504（乔西亚）	HCDR1	GYTFTTY
SEQ ID NO: 505（乔西亚）	HCDR2	YPGTGG
SEQ ID NO: 503（乔西亚）	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 506	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVRQATGQG LEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCTRWTTGTGAYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 507	DNA VH	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCG GCGAGTCACTGAGAATTAGCTGTAAAGGTTCAGGCTACACCTT CACTACCTACTGGATGCACTGGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAA GGCCTCGAGTGGATGGGTAATATCTACCCCGGCACCGGCGGCT CTAACTTCGACGAGAAGTTTAAGAATAGAGTGACTATCACCGC CGATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAACTGTCTAGCCTGA GATCAGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCACTAGGTGGACTAC CGGCACAGGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTG TCTAGC
SEQ ID NO: 508	重链	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVRQATGQG LEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCTRWTTGTGAYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 509	DNA 重链	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCG GCGAGTCACTGAGAATTAGCTGTAAAGGTTCAGGCTACACCTT CACTACCTACTGGATGCACTGGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAA GGCCTCGAGTGGATGGGTAATATCTACCCCGGCACCGGCGGCT CTAACTTCGACGAGAAGTTTAAGAATAGAGTGACTATCACCGC CGATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAACTGTCTAGCCTGA GATCAGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCACTAGGTGGACTAC CGGCACAGGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTG TCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACC TTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCC TGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAAC

[1035]

		AGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCT GCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGTCACGGTGC CTTCATCTAGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGAC CACAAGCCTTCCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGA AGTACGGCCCACCGTGCCCGCCTTGTCCCGCGCCGGAGTTCCTC GGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCCACCGAAGCCCAAGGACAC TTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTGG ACGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGT GGATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGA GGAGCAGTTCAACTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGG TGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAA AGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCAATCGAAAAGACCATC TCGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCC TGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATT GACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGG AATGGGAGTCCAACGGCCAGCCGGAAAACAACTACAAGACCA CCCCTCCGGTGCTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCCTCTACTCG CGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGGAAATGTGT TCAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACTACACT CAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
BAP049-克隆-E LC		
SEQ ID NO: 510（卡巴特）	LCDR1	KSSQSLLDSGNQKNFLT
SEQ ID NO: 511（卡巴特）	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 512（卡巴特）	LCDR3	QNDYSYPYT
SEQ ID NO: 513（乔西亚）	LCDR1	SQSLLDSGNQKNF
SEQ ID NO: 514（乔西亚）	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 515（乔西亚）	LCDR3	DYSYPY
SEQ ID NO: 520	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLLDSGNQKNFLTWYQQKP GQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYY CQNDYSYPYTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 521	DNA VL	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCC TGGCGAGCGGGCTACACTGAGCTGTAAATCTAGTCAGTCACTG CTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACTTCCTGACCTGGTATCAGC AGAAGCCCGGTCAAGCCCCTAGACTGCTGATCTACTGGGCCTCT ACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTA GTGGCACCGACTTCACCTTCACTATCTCTAGCCTGGAAGCCGAG GACGCCGCTACCTACTACTGTCAGAACGACTATAGCTACCCCTA CACCTTCGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 522	轻链	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLLDSGNQKNFLTWYQQKP GQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYY CQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 523	DNA 轻链	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCC TGGCGAGCGGGCTACACTGAGCTGTAAATCTAGTCAGTCACTG CTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACTTCCTGACCTGGTATCAGC AGAAGCCCGGTCAAGCCCCTAGACTGCTGATCTACTGGGCCTCT ACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTA GTGGCACCGACTTCACCTTCACTATCTCTAGCCTGGAAGCCGAG GACGCCGCTACCTACTACTGTCAGAACGACTATAGCTACCCCTA CACCTTCGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTG GCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCT GAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTC

[1036]

		TACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCC TGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACA GCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAG CAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTG ACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACA GGGGCGAGTGC
BAP049-克隆-B HC		
SEQ ID NO: 524（卡巴特）	HCDR1	ACCTACTGGATGCAC
SEQ ID NO: 525（卡巴特）	HCDR2	AATATCTACCCCGGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGAGAAGT TTAAGAAT
SEQ ID NO: 526（卡巴特）	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
SEQ ID NO: 527（乔西亚）	HCDR1	GGCTACACCTTCACTACCTAC
SEQ ID NO: 528（乔西亚）	HCDR2	TACCCCGGCACCGGCGGC
SEQ ID NO: 526（乔西亚）	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
BAP049-克隆-B LC		
SEQ ID NO: 529（卡巴特）	LCDR1	AAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACT TCCTGACC
SEQ ID NO: 530（卡巴特）	LCDR2	TGGGCCTCTACTAGAGAATCA
SEQ ID NO: 531（卡巴特）	LCDR3	CAGAACGACTATAGCTACCCCTACACC
SEQ ID NO: 532（乔西亚）	LCDR1	AGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACTTC
SEQ ID NO: 533（乔西亚）	LCDR2	TGGGCCTCT
SEQ ID NO: 534（乔西亚）	LCDR3	GACTATAGCTACCCCTAC
BAP049-克隆-E HC		
SEQ ID NO: 524（卡巴特）	HCDR1	ACCTACTGGATGCAC
SEQ ID NO: 525（卡巴特）	HCDR2	AATATCTACCCCGGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGAGAAGT TTAAGAAT
SEQ ID NO: 526（卡巴特）	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
SEQ ID NO: 527（乔西亚）	HCDR1	GGCTACACCTTCACTACCTAC
SEQ ID NO: 528（乔西亚）	HCDR2	TACCCCGGCACCGGCGGC
SEQ ID NO: 526（乔西亚）	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
BAP049-克隆-E LC		
SEQ ID NO: 529（卡巴特）	LCDR1	AAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACT TCCTGACC
SEQ ID NO: 530（卡巴特）	LCDR2	TGGGCCTCTACTAGAGAATCA
SEQ ID NO: 531（卡巴特）	LCDR3	CAGAACGACTATAGCTACCCCTACACC
SEQ ID NO: 532（乔西	LCDR1	AGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACTTC

[1037]

亚）		
SEQ ID NO: 533（乔西亚）	LCDR2	TGGGCCTCT
SEQ ID NO: 534（乔西亚）	LCDR3	GACTATAGCTACCCCTAC

[1038] 其他示例性PD-1抑制剂

[1039] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是纳武单抗(百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb)),也称为MDX-1106、MDX-1106-04、ONO-4538、BMS-936558、或OPDIVO®。纳武单抗(克隆5C4)和其他抗PD-1抗体披露于US 8,008,449和WO 2006/121168(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:纳武单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表6中所披露的。

[1040] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是派姆单抗(默克公司(Merck&Co)),也称为兰罗利珠单抗(Lambrolizumab)、MK-3475、MK03475、SCH-900475、或KEYTRUDA®。派姆单抗和其他抗PD-1抗体披露于Hamid,O.等人,(2013)New England Journal of Medicine[新英格兰医学期刊]369(2):134-44;US 8,354,509;和WO 2009/114335(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:派姆单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表6中所披露的。

[1041] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是匹地利珠单抗(治疗科技公司(CureTech)),也称为CT-011。匹地利珠单抗和其他抗PD-1抗体披露于Rosenblatt,J.等人,(2011)J Immunotherapy[免疫疗法杂志]34(5):409-18;US 7,695,715;US 7,332,582;和US 8,686,119(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:匹地利珠单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表6中所披露的。

[1042] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是MEDI0680(英商梅迪缪思有限公司(Medimmune)),也称为AMP-514。MEDI0680和其他抗PD-1抗体披露于US 9,205,148和WO 2012/145493(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:MEDI0680的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1043] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是REGN2810(再生元公司)。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:REGN2810的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1044] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是PF-06801591(辉瑞公司)。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:PF-06801591的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1045] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是BGB-A317或BGB-108(百济神州公司)。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:BGB-A317、或BGB-108的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1046] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是INCSHR1210(因赛特公司),也称为INCSHR01210或SHR-1210。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:INCSHR1210的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1047] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是TSR-042(泰萨罗公司),也称为ANB011。在一

个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:TSR-042的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1048] 其他已知的抗PD-1抗体包括描述于例如以下中的那些:WO 2015/112800、WO 2016/092419、WO 2015/085847、WO 2014/179664、WO 2014/194302、WO 2014/209804、WO 2015/200119、US 8,735,553、US 7,488,802、US 8,927,697、US 8,993,731、和US 9,102,727(将其通过引用以其全文并入)。

[1049] 在一个实施例中,抗PD-1抗体是与本文所述的抗PD-1抗体之一竞争PD-1上的相同表位结合和/或结合至PD-1上的相同表位的抗体。

[1050] 在一个实施例中,PD-1抑制剂是例如如US 8,907,053(将其通过引用以其全文并入)中所述的抑制PD-1信号传导途径的肽。在一个实施例中,PD-1抑制剂是免疫粘附素(例如包含融合到恒定区(例如免疫球蛋白序列的Fc区)的PD-L1或PD-L2的细胞外或PD-1结合部分的免疫粘附素)。在一个实施例中,PD-1抑制剂是AMP-224(B7-DCIg(安普利公司(Amplimmun)),例如,披露于WO 2010/027827和WO 2011/066342(将其通过引用以其全文并入)中。

[1051] 表6.其他示例性抗PD-1抗体分子的氨基酸序列

[1052]

纳式单抗		
SEQ ID NO: 535	重链	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
SEQ ID NO: 536	轻链	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
派姆单抗		
SEQ ID NO: 537	重链	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
SEQ ID NO: 538	轻链	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
匹地利珠单抗		
SEQ ID NO: 539	重链	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLQWMGWINTDSGESTYAEEFKGRFVFSLDTSVNTAYLQITSLTAEDTGMYFCVRVGYDALDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP

[1053]

		VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 540	轻链	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCSARSSVSYMHWFQQKPGKAPKLWIYRTSN LASGVPSRFSGSGSGTSYCLTINSLQPEDFATYYCQQRSSFPLTFGGGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC

[1054] 示例性PD-L1抑制剂

[1055] 在某些实施例中,将如本文所述的抗CD73抗体分子与PD-L1抑制剂组合施用。PD-L1抑制剂可以是抗体、其抗原结合片段、免疫黏附素、融合蛋白、或寡肽。在一些实施例中,PD-L1抑制剂选自FAZ053(诺华公司);阿特珠单抗(基因泰克公司/罗氏公司);阿维鲁单抗(默克雪兰诺公司(Merck Serono)和辉瑞制药公司);度伐鲁单抗(英商梅迪缪思有限公司/阿斯利康公司);或BMS-936559(百时美施贵宝)。

[1056] 示例性抗PD-L1抗体分子

[1057] 在一个实施例中,PD-L1抑制剂是抗PD-L1抗体分子。在一个实施例中,PD-L1抑制剂是抗PD-L1抗体分子,如题为“PD-L1的抗体分子及其用途”的2016年4月21日公开的US2016/0108123(将其通过引用以其全文并入)中所披露的。

[1058] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含来自重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个、或六个互补决定区(CDR)(或总体上全部CDR),所述重链和轻链可变区包含表7(例如,来自表7中披露的BAP058-克隆O、或BAP058-克隆N的重链和轻链可变区序列)中所示的氨基酸序列、或由表7中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一些实施例中,这些CDR根据卡巴特定义(例如,如表7中所列出的)。在一些实施例中,这些CDR根据乔西亚定义(例如,如表7中所列出的)。在一些实施例中,这些CDR根据卡巴特和乔西亚二者的组合CDR定义(例如,如表7中所列出的)。在一个实施例中,VH CDR1的卡巴特和乔西亚CDR的组合包含氨基酸序列GYTFTSYWMY(SEQ ID NO:647)。在一个实施例中,相对于表7中所示的氨基酸序列,或由表7中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如氨基酸取代(例如,保守氨基酸取代)或缺失。

[1059] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:601的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:602的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:603的VHCDR3氨基酸序列的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:609的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:610的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:611的VLCDR3氨基酸序列的轻链可变区(VL),各自披露于表7中。

[1060] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有由SEQ ID NO:628的核苷酸序列编码的VHCDR1、由SEQ ID NO:629的核苷酸序列编码的VHCDR2、和由SEQ ID NO:630的核苷酸序列编码的VHCDR3的VH;以及含有由SEQ ID NO:633的核苷酸序列编码的VLCDR1、由SEQ ID NO:634的核苷酸序列编码的VLCDR2、和由SEQ ID NO:635的核苷酸序列编码的VLCDR3的VL,各自披露于表7中。

[1061] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:606的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:606具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的VH。在一个

实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:616的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:616具有至少约85%、90%、95%、或99%或更高序列同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:620的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:620具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:624的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:624具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:606的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:616的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:620的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:624的氨基酸序列的VL。

[1062] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:607的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:607具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:617的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:617具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:621的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:621具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:625的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:625具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:607的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:617的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:621的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:625的核苷酸序列编码的VL。

[1063] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:608的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:608具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:618的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:618具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:622的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:622具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:626的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:626具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:608的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:618的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:622的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:626的氨基酸序列的轻链。

[1064] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:615的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:615具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:619的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:619具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:623的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:623具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:627的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:627具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:615的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:619的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含由

SEQ ID NO:623的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:627的核苷酸序列编码的轻链。

[1065] 本文所述的抗体分子可以通过载体、宿主细胞、和在US 2016/0108123(将其通过引用以其全文并入)中描述的方法制得。

[1066] 表7.示例性抗PD-L1抗体分子的氨基酸和核苷酸序列

[1067]

BAP058-克隆 O HC		
SEQ ID NO: 601（卡巴特）	HCDR1	SYWMY
SEQ ID NO: 602（卡巴特）	HCDR2	RIDPNSGSTKYNEKFKN
SEQ ID NO: 603（卡巴特）	HCDR3	DYRKGLYAMDY
SEQ ID NO: 604（乔西亚）	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 605（乔西亚）	HCDR2	DPNSGS
SEQ ID NO: 603（乔西亚）	HCDR3	DYRKGLYAMDY
SEQ ID NO: 606	VH	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTSYWMYWVRQARGQ RLEWIGRIDPNSGSTKYNEKFKNRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 607	DNA VH	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCC GGCGCTACCGTGAAGATTAGCTGTAAAGTCTCAGGCTACACCT TCACTAGCTACTGGATGTACTGGGTCCGACAGGCTAGAGGGCA AAGACTGGAGTGGATCGGTAGAATCGACCCTAATAGCGGCTC TACTAAGTATAACGAGAAGTTTAAGAATAGGTTCACTATTAGT AGGGATAACTCTAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAATAGC

[1068]

		CTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGACT ATAGAAAGGGCCTGTACGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGCA CTACCGTGACCGTGTCTTCA
SEQ ID NO: 608	重链	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTSYWMYWVRQARGQ RLEWIGRIDPNSGSTKYNEKFKNRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SLG
SEQ ID NO: 615	DNA 重链	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCC GGCGCTACCGTGAAGATTAGCTGTAAAGTCTCAGGCTACACCT TCACTAGCTACTGGATGTACTGGGTCCGACAGGCTAGAGGGCA AAGACTGGAGTGGATCGGTAGAATCGACCCTAATAGCGGCTC TACTAAGTATAACGAGAAGTTTAAGAATAGGTTCACTATTAGT AGGGATAACTCTAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAATAGC CTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGACT ATAGAAAGGGCCTGTACGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGCA CTACCGTGACCGTGTCTTCAGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGT GTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACC GCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCG TGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCA CACCTTCCCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTG TCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTACCAAGA CCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACTAAGGT GGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCCACCGTGCCCGCC TTGTCCCGCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGT TCCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCC TGAAGTGACATGCGTGGTCGTGGACGTGTCACAGGAAGATCC GGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCA CAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCCAC TTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTGCATCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGA CTTCCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGA CAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCACCGAGCCAG GAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACTTGCCTTGTGA AGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAA CGGCCAGCCGGAAAACAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGCT GGACTCAGACGGATCCTTCTTCCTCTACTCGCGGCTGACCGTG GATAAGAGCAGATGGCAGGAGGGAAATGTGTTCAGCTGTTCT GTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCC TGTCCCTCTCCCTGGGA
BAP058-克隆 O LC		
SEQ ID NO: 609（卡巴特）	LCDR1	KASQDVGTAVA
SEQ ID NO: 610（卡巴特）	LCDR2	WASTRHT
SEQ ID NO: 611（卡巴特）	LCDR3	QQYNSYPLT
SEQ ID NO: 612（乔西亚）	LCDR1	SQDVGTA
SEQ ID NO: 613（乔西亚）	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 614（乔西亚）	LCDR3	YNSYPL

[1069]

SEQ ID NO: 616	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVAWYLQKPGQSPQ LLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQY NSYPLTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 617	DNA VL	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTG TGGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAAAGCCTCTCAGGACGT GGGCACCGCCGTGGCCTGGTATCTGCAGAAGCCTGGTCAATCA CCTCAGCTGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGACACACCGGCG TGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCAC CTTCACTATCTCTTCACTGGAAGCCGAGGACGCCGCTACCTAC TACTGTCAGCAGTATAATAGCTACCCCCTGACCTTCGGTCAAG GCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 618	轻链	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVAWYLQKPGQSPQ LLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQY NSYPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 619	DNA 轻链	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTG TGGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAAAGCCTCTCAGGACGT GGGCACCGCCGTGGCCTGGTATCTGCAGAAGCCTGGTCAATCA CCTCAGCTGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGACACACCGGCG TGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCAC CTTCACTATCTCTTCACTGGAAGCCGAGGACGCCGCTACCTAC TACTGTCAGCAGTATAATAGCTACCCCCTGACCTTCGGTCAAG GCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGT GTTCATCTTCCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACC GCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGG CCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCA ACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCA CCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACT ACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGG GCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
BAP058-克隆 N HC		
SEQ ID NO: 601（卡巴特）	HCDR1	SYWMY
SEQ ID NO: 602（卡巴特）	HCDR2	RIDPNSGSTKYNEKFKN
SEQ ID NO: 603（卡巴特）	HCDR3	DYRKGLYAMDY
SEQ ID NO: 604（乔西亚）	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 605（乔西亚）	HCDR2	DPNSGS
SEQ ID NO: 603（乔西亚）	HCDR3	DYRKGLYAMDY
SEQ ID NO: 620	VH	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTSYWMYWVRQATGQ GLEWMGRIDPNSGSTKYNEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 621	DNA VH	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCC GGCGCTACCGTGAAGATTAGCTGTAAAGTCTCAGGCTACACCT TCACTAGCTACTGGATGTACTGGGTCCGACAGGCTACCGGTCA AGGCCTGGAGTGGATGGGTAGAATCGACCCTAATAGCGGCTC TACTAAGTATAACGAGAAGTTTAAGAATAGAGTGACTATCACC GCCGATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAACTGTCTAGCC TGAGATCAGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGACTA TAGAAAGGGCCTGTACGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGCAC TACCGTGACCGTGTCTTCA
SEQ ID NO: 622	重链	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTSYWMYWVRQATGQ GLEWMGRIDPNSGSTKYNEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRS

[1070]

		EDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SLG
SEQ ID NO: 623	DNA 重链	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCC GGCGCTACCGTGAAGATTAGCTGTAAAGTCTCAGGCTACACCT TCACTAGCTACTGGATGTACTGGGTCCGACAGGCTACCGGTCA AGGCCTGGAGTGGATGGGTAGAATCGACCCTAATAGCGGCTC TACTAAGTATAACGAGAAGTTTAAGAATAGAGTGACTATCACC GCCGATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAACTGTCTAGCC TGAGATCAGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGACTA TAGAAAGGGCCTGTACGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGCAC TACCGTGACCGTGTCTTCAGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTG TTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCG CTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGT GACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCA CACCTTCCCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTG TCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTACCAAGA CCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACTAAGGT GGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCCACCGTGCCCGCC TTGTCCCGCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGT TCCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCC TGAAGTGACATGCGTGGTCGTGGACGTGTCACAGGAAGATCC GGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCA CAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCCAC TTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTGCATCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGA CTTCCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGA CAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCACCGAGCCAG GAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACTTGCCTTGTGA AGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAA CGGCCAGCCGGAAAACAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGCT GGACTCAGACGGATCCTTCTTCCTCTACTCGCGGCTGACCGTG GATAAGAGCAGATGGCAGGAGGGAAATGTGTTCAGCTGTTCT GTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCC TGTCCCTCTCCCTGGGA
BAP058-克隆 N LC		
SEQ ID NO: 609（卡巴特）	LCDR1	KASQDVGTAVA
SEQ ID NO: 610（卡巴特）	LCDR2	WASTRHT
SEQ ID NO: 611（卡巴特）	LCDR3	QQYNSYPLT
SEQ ID NO: 612（乔西亚）	LCDR1	SQDVGTA
SEQ ID NO: 613（乔西亚）	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 614（乔西亚）	LCDR3	YNSYPL
SEQ ID NO: 624	VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKASQDVGTAVAWYQQKPGQAP RLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQ YNSYPLTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 625	DNA VL	GACGTCGTGATGACTCAGTCACCCCTGAGCCTGCCCGTGACCC TGGGGCAGCCCGCCTCTATTAGCTGTAAAGCCTCTCAGGACGT

[1071]

		GGGCACCGCCGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGCAAGC CCCTAGACTGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGACACACCGGC GTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGAGTTCA CCCTGACTATCTCTTCACTGCAGCCCGACGACTTCGCTACCTAC TACTGTCAGCAGTATAATAGCTACCCCCTGACCTTCGGTCAAG GCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 626	轻链	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKASQDVGTAVAWYQQKPGQAP RLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQ YNSYPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 627	DNA 轻链	GACGTCGTGATGACTCAGTCACCCCTGAGCCTGCCCGTGACCC TGGGGCAGCCCGCCTCTATTAGCTGTAAAGCCTCTCAGGACGT GGGCACCGCCGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGCAAGC CCCTAGACTGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGACACACCGGC GTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGAGTTCA CCCTGACTATCTCTTCACTGCAGCCCGACGACTTCGCTACCTAC TACTGTCAGCAGTATAATAGCTACCCCCTGACCTTCGGTCAAG GCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGT GTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACC GCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGG CCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCA ACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCA CCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACT ACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGG GCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
BAP058-克隆 O HC		
SEQ ID NO: 628（卡巴特）	HCDR1	agctactggatgtac
SEQ ID NO: 629（卡巴特）	HCDR2	agaatcgaccctaatagcggctctactaagtataacgagaagtttaagaat
SEQ ID NO: 630（卡巴特）	HCDR3	gactatagaaagggcctgtacgctatggactac
SEQ ID NO: 631（乔西亚）	HCDR1	ggctacaccttcactagctac
SEQ ID NO: 632（乔西亚）	HCDR2	gaccctaatagcggctct
SEQ ID NO: 630（乔西亚）	HCDR3	gactatagaaagggcctgtacgctatggactac
BAP058-克隆 O LC		
SEQ ID NO: 633（卡巴特）	LCDR1	aaagcctctcaggacgtgggcaccgccgtggcc
SEQ ID NO: 634（卡巴特）	LCDR2	tgggcctctactagacacacc
SEQ ID NO: 635（卡巴特）	LCDR3	cagcagtataatagctacccccgacc
SEQ ID NO: 636（乔西亚）	LCDR1	tctcaggacgtgggcaccgcc
SEQ ID NO: 637（乔西亚）	LCDR2	tgggcctct
SEQ ID NO: 638（乔西亚）	LCDR3	tataatagctacccccctg
BAP058-克隆 N HC		
SEQ ID NO: 628（卡巴特）	HCDR1	agctactggatgtac

[1072]

SEQ ID NO: 629（卡巴特）	HCDR2	agaatcgaccctaatagcggctctactaagtataacgagaagtttaagaat
SEQ ID NO: 630（卡巴特）	HCDR3	gactatagaaagggcctgtacgctatggactac
SEQ ID NO: 631（乔西亚）	HCDR1	ggctacaccttcactagctac
SEQ ID NO: 632（乔西亚）	HCDR2	gaccctaatagcggctct
SEQ ID NO: 630（乔西亚）	HCDR3	gactatagaaagggcctgtacgctatggactac
BAP058-克隆 N LC		
SEQ ID NO: 633（卡巴特）	LCDR1	aaagcctctcaggacgtgggcaccgccgtggcc
SEQ ID NO: 634（卡巴特）	LCDR2	tgggcctctactagacacacc
SEQ ID NO: 635（卡巴特）	LCDR3	cagcagtataatagctacccccctgacc
SEQ ID NO: 636（乔西亚）	LCDR1	tctcaggacgtgggcaccgcc
SEQ ID NO: 637（乔西亚）	LCDR2	tgggcctct
SEQ ID NO: 638（乔西亚）	LCDR3	tataatagctacccccctg

[1073] 其他示例性PD-L1抑制剂

[1074] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子是阿特珠单抗(基因泰克公司/罗氏公司),也称为MPDL3280A、RG7446、RO5541267、YW243.55.S70、或TECENTRIQ™。阿特珠单抗和其他抗PD-L1抗体在US 8,217,149中披露,这些抗体通过引用以其全文并入。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含以下的一种或多种:阿特利珠单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,在表8中所披露的。

[1075] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子是阿维鲁单抗(默克雪兰诺公司和辉瑞公司),也称为MSB0010718C。阿维鲁单抗和其他抗PD-L1抗体披露于WO 2013/079174(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含以下的一种或多种:阿维鲁单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,在表8中所披露的。

[1076] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子是度伐鲁单抗(英商梅迪缪思有限公司/阿斯利康公司),也称为MEDI4736。度伐鲁单抗和其他抗PD-L1抗体披露于US 8,779,108(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含以下中的一种或多种:度伐鲁单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表8中所披露的。

[1077] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子是BMS-936559(百时美施贵宝公司),也称为MDX-1105或12A4。BMS-936559和其他抗PD-L1抗体披露于US 7,943,743和WO 2015/081158(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含以下中的一种或多种:BMS-936559的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表8中所披露的。

[1078] 其他已知的抗PD-L1抗体包括描述于例如以下中的那些:WO 2015/181342、WO 2014/100079、WO 2016/000619、WO 2014/022758、WO 2014/055897、WO 2015/061668、WO 2013/079174、WO 2012/145493、WO 2015/112805、WO 2015/109124、WO 2015/195163、US 8,

168,179、US 8,552,154、US 8,460,927、和US 9,175,082(将其通过引用以其全文并入)。

[1079] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体是与本文所述的抗PD-L1抗体之一竞争与PD-L1上的相同表位结合和/或结合至PD-L1上的相同表位的抗体。

[1080] 表8.其他示例性抗PD-L1抗体分子的氨基酸序列

[1081]

阿特珠单抗		
SEQ ID NO: 639	重链	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWI SPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWP GGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 640	轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF LYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
阿维鲁单抗		
SEQ ID NO: 641	重链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIY PSGGITFYADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTV TTVDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 642	轻链	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYD VSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGT KVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGS PVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT VAPTECS
度伐鲁单抗		
SEQ ID NO: 643	重链	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANI KQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGG WFGELAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 644	轻链	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAS SRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSLPWTFGQGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
BMS-936559		
SEQ ID NO: 645	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKTSGDTFSTYAISWVRQAPGQGLEWMGGII PIFGKAHYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARKFHFVSG SPFGMDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 646	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPTFGQGTKVEIK

[1083] 示例性LAG-3抑制剂

[1084] 在某些实施例中,将如本文所述的抗CD73分子与LAG-3抑制剂组合施用。LAG-3可以是抗体、其抗原结合片段、免疫黏附素、融合蛋白、或寡肽。在一些实施例中,LAG-3抑制剂选自LAG525(诺华公司(Novartis))、BMS-986016(百时美施贵宝公司(Bristol-Myers

Squibb)、TSR-033(Tesaro公司)、MK-4280(默克公司(Merck&Co))、或REGN3767(再生元公司(Regeneron))。

[1085] 示例性抗LAG-3抗体分子

[1086] 在一个实施例中,LAG-3抑制剂是抗LAG-3抗体分子。在一个实施例中,LAG-3抑制剂是抗LAG-3抗体分子,如题为“LAG-3的抗体分子及其用途”的2015年9月17日公开的US2015/0259420(将其通过引用以其全文并入)中所披露的。

[1087] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含来自重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个、或六个互补决定区(CDR)(或总体上全部CDR),所述重链和轻链可变区包含表9(例如,来自表9中披露的BAP050-克隆I、或BAP050-克隆J的重链和轻链可变区序列)中所示的氨基酸序列、或由表9中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一些实施例中,这些CDR根据卡巴特定义(例如,如表9中所列出的)。在一些实施例中,这些CDR根据乔西亚定义(例如,如表5中所列出的)。在一些实施例中,这些CDR根据卡巴特和乔西亚二者的组合CDR定义(例如,如表9中所列出的)。在一个实施例中,VH CDR1的卡巴特和乔西亚CDR的组合包含氨基酸序列GFTLTNYGMN(SEQ ID NO:766)。在一个实施例中,相对于表9中所示的氨基酸序列,或由表9中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如氨基酸取代(例如,保守氨基酸取代)或缺失。

[1088] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:701的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:702的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:703的VHCDR3氨基酸序列的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:710的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:711的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:712的VLCDR3氨基酸序列的轻链可变区(VL),各自披露于表9中。

[1089] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:VH,所述VH含有由SEQ ID NO:736或737的核苷酸序列编码的VHCDR1、由SEQ ID NO:738或739的核苷酸序列编码的VHCDR2、和由SEQ ID NO:740或741的核苷酸序列编码的VHCDR3;以及VL,所述VL含有由SEQ ID NO:746或747的核苷酸序列编码的VLCDR1、由SEQ ID NO:748或749的核苷酸序列编码的VLCDR2、和由SEQ ID NO:750或751的核苷酸序列编码的VLCDR3,这些序列各自披露于表9中。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:VH,所述VH含有由SEQ ID NO:758或737的核苷酸序列编码的VHCDR1、由SEQ ID NO:759或739的核苷酸序列编码的VHCDR2、和由SEQ ID NO:760或741的核苷酸序列编码的VHCDR3;以及VL,所述VL含有由SEQ ID NO:746或747的核苷酸序列编码的VLCDR1、由SEQ ID NO:748或749的核苷酸序列编码的VLCDR2、和由SEQ ID NO:750或751的核苷酸序列编码的VLCDR3,这些序列各自披露于表9中。

[1090] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:706的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:706具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:718的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:718具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:724的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:724具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:730的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:730具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有

SEQ ID NO:706的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:718的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:724的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:730的氨基酸序列的VL。

[1091] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:707或708的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:707或708具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:719或720的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:719或720具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:725或726的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:725或726具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:731或732的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:731或732具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:707或708的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:719或720的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:725或726的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:731或732的核苷酸序列编码的VL。

[1092] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:709的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:709具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:721的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:721具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:727的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:727具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:733的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:733具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:709的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:721的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:727的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:733的氨基酸序列的轻链。

[1093] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:716或717的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:716或717具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:722或723的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:722或723具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:728或729的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:728或729具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:734或735的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:734或735具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:716或717的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:722或723的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:728或729的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:734或735的核苷酸序列编码的轻链。

[1094] 本文所述的抗体分子可以通过载体、宿主细胞、和在US 2015/0259420(将其通过引用以其全文并入)中描述的方法制得。

[1095] 表9.示例性抗LAG-3抗体分子的氨基酸和核苷酸序列

[1096]

BAP050-克隆 I HC		
SEQ ID NO: 701（卡巴特）	HCDR1	NYGMN
SEQ ID NO: 702（卡巴特）	HCDR2	WINTDTGEPTYADDFKG
SEQ ID NO: 703（卡巴特）	HCDR3	NPPYYYGTNNAEAMDY
SEQ ID NO: 704（乔西亚）	HCDR1	GFTLTNY
SEQ ID NO: 705（乔西亚）	HCDR2	NTDTGE
SEQ ID NO: 703（乔西亚）	HCDR3	NPPYYYGTNNAEAMDY
SEQ ID NO: 706	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTLTNYGMNWVRQARGQ RLEWIGWINTDTGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAE DTAVYYCARNPPYYYGTNNAEAMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 707	DNA VH	CAAGTGCAGCTGGTGCAGTCGGGAGCCGAAGTGAAGAAGCCTG GAGCCTCGGTGAAGGTGTCGTGCAAGGCATCCGGATTCACCCT CACCAATTACGGGATGAACTGGGTCAGACAGGCCCGGGGTCAA CGGCTGGAGTGGATCGGATGGATTAACACCGACACCGGGGAGC CTACCTACGCGGACGATTTCAAGGGACGGTTCGTGTTCTCCCTC GACACCTCCGTGTCCACCGCCTACCTCCAAATCTCCTCACTGAA AGCGGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGCGAGGAACCCGCCC TACTACTACGGAACCAACAACGCCGAAGCCATGGACTACTGGG GCCAGGGCACCACTGTGACTGTGTCCAGC
SEQ ID NO: 708	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTG GCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTTCACCCTG ACCAACTACGGCATGAACTGGGTGCGACAGGCCAGGGGCCAGC GGCTGGAATGGATCGGCTGGATCAACACCGACACCGGCGAGCC TACCTACGCCGACGACTTCAAGGGCAGATTCGTGTTCTCCCTGG ACACCTCCGTGTCCACCGCCTACCTGCAGATCTCCAGCCTGAAG

[1097]

		GCCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGAACCCCCCTT ACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCATGGACTATTGGGG CCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCCTCT
SEQ ID NO: 709	重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTLTNYGMNWVRQARGQ RLEWIGWINTDTGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAE DTAVYYCARNPPYYYGTNNAEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LG
SEQ ID NO: 716	DNA 重链	CAAGTGCAGCTGGTGCAGTCGGGAGCCGAAGTGAAGAAGCCTG GAGCCTCGGTGAAGGTGTCGTGCAAGGCATCCGGATTCACCCT CACCAATTACGGGATGAACTGGGTCAGACAGGCCCGGGGTCAA CGGCTGGAGTGGATCGGATGGATTAACACCGACACCGGGGAGC CTACCTACGCGGACGATTTCAAGGGACGGTTCGTGTTCTCCCTC GACACCTCCGTGTCCACCGCCTACCTCCAAATCTCCTCACTGAA AGCGGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGCGAGGAACCCGCCC TACTACTACGGAACCAACAACGCCGAAGCCATGGACTACTGGG GCCAGGGCACCACTGTGACTGTGTCCAGCGCGTCCACTAAGGG CCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCG AATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCG GAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCG GAGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTAC TCGCTGTCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTAC CAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACT AAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCCACCGTGCC CGCCTTGTCCCGCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTT CTGTTCCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCAC CCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTGGACGTGTCACAGGAAGAT CCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGC ACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCCAC TTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTGCATCAGGACTGGC TGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGAC TTCCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACA GCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCACCGAGCCAGGAA GAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACTTGCCTTGTGAAGG GCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGG CCAGCCGGAAAACAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGCTGGAC TCAGACGGATCCTTCTTCCTCTACTCGCGGCTGACCGTGGATAA GAGCAGATGGCAGGAGGGAAATGTGTTCAGCTGTTCTGTGATG CATGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCT CTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 717	DNA 重链	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTG GCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTTCACCCTG ACCAACTACGGCATGAACTGGGTGCGACAGGCCAGGGGCCAGC GGCTGGAATGGATCGGCTGGATCAACACCGACACCGGCGAGCC TACCTACGCCGACGACTTCAAGGGCAGATTCGTGTTCTCCCTGG ACACCTCCGTGTCCACCGCCTACCTGCAGATCTCCAGCCTGAAG GCCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGAACCCCCCTT ACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCATGGACTATTGGGG CCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCCTCTGCTTCTACCAAGGGGC CCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTGCTCCAGAAGCACCAGCGA GAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCG GCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTA CAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGC ACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACA

[1098]

		CCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAGAGCAAGTACGGCCCACCCT GCCCCCCCTGCCCAGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGT GTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCA GAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGA GGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTTTAACA GCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGTAAGGTCTCCAACAAG GGCCTGCCAAGCAGCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAG GGCCAGCCTAGAGAGCCCCAGGTCTACACCCTGCCACCCAGCC AAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGT GAAGGGCTTCTACCCAAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCAGTGC TGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAGGCTGACCGT GGACAAGTCCAGATGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCC GTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCC TGAGCCTGTCCCTGGGC
BAP050-克隆 I LC		
SEQ ID NO: 710（卡巴特）	LCDR1	SSSQDISNYLN
SEQ ID NO: 711（卡巴特）	LCDR2	YTSTLHL
SEQ ID NO: 712（卡巴特）	LCDR3	QQYYNLPWT
SEQ ID NO: 713（乔西亚）	LCDR1	SQDISNY
SEQ ID NO: 714（乔西亚）	LCDR2	YTS
SEQ ID NO: 715（乔西亚）	LCDR3	YYNLPW
SEQ ID NO: 718	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSSSQDISNYLNWYLQKPGQSPQL LIYYTSTLHLGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYYN LPWTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 719	DNA VL	GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGT GGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGCTCTAGTCAGGATATCT CTAACTACCTGAACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGTCAATCACCT CAGCTGCTGATCTACTACACTAGCACCCTGCACCTGGGCGTGCC CTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGAGTTCACCCTGA CTATCTCTAGCCTGCAGCCCGACGACTTCGCTACCTACTACTGT CAGCAGTACTATAACCTGCCCTGGACCTTCGGTCAAGGCACTA AGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 720	DNA VL	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGTCTGCTTCCGT GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTTCCTCCAGCCAGGACATC TCCAACTACCTGAACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCC TCAGCTGCTGATCTACTACACCTCCACCCTGCACCTGGGCGTGC CCTCCAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGAGTTTACCCTG ACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTG CCAGCAGTACTACAACCTGCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCACC AAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 721	轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSSSQDISNYLNWYLQKPGQSPQL LIYYTSTLHLGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYYN LPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 722	DNA 轻链	GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGT GGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGCTCTAGTCAGGATATCT CTAACTACCTGAACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGTCAATCACCT CAGCTGCTGATCTACTACACTAGCACCCTGCACCTGGGCGTGCC CTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGAGTTCACCCTGA

[1099]

		CTATCTCTAGCCTGCAGCCCGACGACTTCGCTACCTACTACTGT CAGCAGTACTATAACCTGCCCTGGACCTTCGGTCAAGGCACTA AGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCAT CTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGC GTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGG TGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCA GGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGC CTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGC ATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAG CCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
SEQ ID NO: 723	DNA 轻链	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGTCTGCTTCCGT GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTTCCTCCAGCCAGGACATC TCCAACTACCTGAACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCC TCAGCTGCTGATCTACTACACCTCCACCCTGCACCTGGGCGTGC CCTCCAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGAGTTTACCCTG ACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTG CCAGCAGTACTACAACCTGCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCACC AAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCA TCTTCCCCCCAAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAG CGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAG GTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCC AGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAA GCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCC AGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
BAP050-克隆 J HC		
SEQ ID NO: 701（卡巴特）	HCDR1	NYGMN
SEQ ID NO: 702（卡巴特）	HCDR2	WINTDTGEPTYADDFKG
SEQ ID NO: 703（卡巴特）	HCDR3	NPPYYYGTNNAEAMDY
SEQ ID NO: 704（乔西亚）	HCDR1	GFTLTNY
SEQ ID NO: 705（乔西亚）	HCDR2	NTDTGE
SEQ ID NO: 703（乔西亚）	HCDR3	NPPYYYGTNNAEAMDY
SEQ ID NO: 724	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTLTNYGMNWVRQAPGQ GLEWMGWINTDTGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKA EDTAVYYCARNPPYYYGTNNAEAMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 725	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCG GCGCTAGTGTGAAAGTCAGCTGTAAAGCTAGTGGCTTCACCCT GACTAACTACGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGTCAA GGCCTCGAGTGGATGGGCTGGATTAACACCGACACCGGCGAGC CTACCTACGCCGACGACTTTAAGGGCAGATTCGTGTTTAGCCTG GACACTAGTGTGTCTACCGCCTACCTGCAGATCTCTAGCCTGAA GGCCGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAAACCCCCCC TACTACTACGGCACTAACAACGCCGAGGCTATGGACTACTGGG GTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 726	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTG GCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTTCACCCTG ACCAACTACGGCATGAACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAGG GCCTGGAATGGATGGGCTGGATCAACACCGACACCGGCGAGCC TACCTACGCCGACGACTTCAAGGGCAGATTCGTGTTCTCCCTGG ACACCTCCGTGTCCACCGCCTACCTGCAGATCTCCAGCCTGAAG GCCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGAACCCCCCTT ACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCATGGACTATTGGGG CCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCCTCT

[1100]

SEQ ID NO: 727	重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTLTNYGMNWVRQAPGQ GLEWMGWINTDTGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKA EDTAVYYCARNPPYYYGTNNAEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LG
SEQ ID NO: 728	DNA 重链	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCG GCGCTAGTGTGAAAGTCAGCTGTAAAGCTAGTGGCTTCACCCT GACTAACTACGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGTCAA GGCCTCGAGTGGATGGGCTGGATTAACACCGACACCGGCGAGC CTACCTACGCCGACGACTTTAAGGGCAGATTCGTGTTTAGCCTG GACACTAGTGTGTCTACCGCCTACCTGCAGATCTCTAGCCTGAA GGCCGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAAACCCCCCC TACTACTACGGCACTAACAACGCCGAGGCTATGGACTACTGGG GTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGG CCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCG AATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCG GAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCG GAGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTAC TCGCTGTCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTAC CAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACT AAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCCACCGTGCC CGCCTTGTCCCGCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTT CTGTTCCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCAC CCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTGGACGTGTCACAGGAAGAT CCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGC ACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCCAC TTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTGCATCAGGACTGGC TGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGAC TTCCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACA GCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCACCGAGCCAGGAA GAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACTTGCCTTGTGAAGG GCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGG CCAGCCGGAAAACAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGCTGGAC TCAGACGGATCCTTCTTCCTCTACTCGCGGCTGACCGTGGATAA GAGCAGATGGCAGGAGGGAAATGTGTTCAGCTGTTCTGTGATG CATGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCT CTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 729	DNA 重链	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTG GCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTTCACCCTG ACCAACTACGGCATGAACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAGG GCCTGGAATGGATGGGCTGGATCAACACCGACACCGGCGAGCC TACCTACGCCGACGACTTCAAGGGCAGATTCGTGTTCTCCCTGG ACACCTCCGTGTCCACCGCCTACCTGCAGATCTCCAGCCTGAAG GCCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGAACCCCCCTT ACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCATGGACTATTGGGG CCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCCTCTGCTTCTACCAAGGGGC CCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTGCTCCAGAAGCACCAGCGA GAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCG GCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTA CAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGC ACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACA CCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAGAGCAAGTACGGCCCACCCT GCCCCCCCTGCCCAGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGT GTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCA

[1101]

		GAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGA GGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTTTAACA GCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGTAAGGTCTCCAACAAG GGCCTGCCAAGCAGCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAG GGCCAGCCTAGAGAGCCCCAGGTCTACACCCTGCCACCCAGCC AAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGT GAAGGGCTTCTACCCAAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCAGTGC TGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAGGCTGACCGT GGACAAGTCCAGATGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCC GTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCC TGAGCCTGTCCCTGGGC
BAP050-克隆 J LC		
SEQ ID NO: 710（卡巴特）	LCDR1	SSSQDISNYLN
SEQ ID NO: 711（卡巴特）	LCDR2	YTSTLHL
SEQ ID NO: 712（卡巴特）	LCDR3	QQYYNLPWT
SEQ ID NO: 713（乔西亚）	LCDR1	SQDISNY
SEQ ID NO: 714（乔西亚）	LCDR2	YTS
SEQ ID NO: 715（乔西亚）	LCDR3	YYNLPW
SEQ ID NO: 730	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSSSQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSTLHLGIPPRFSGSGYGTDFTLTINNIESEDAAYYFCQQYYN LPWTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 731	DNA VL	GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGT GGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGCTCTAGTCAGGATATCT CTAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCC TAAGCTGCTGATCTACTACACTAGCACCCTGCACCTGGGAATCC CCCCTAGGTTTAGCGGTAGCGGCTACGGCACCGACTTCACCCTG ACTATTAACAATATCGAGTCAGAGGACGCCGCCTACTACTTCTG TCAGCAGTACTATAACCTGCCCTGGACCTTCGGTCAAGGCACTA AGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 732	DNA VL	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGTCTGCTTCCGT GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTTCCTCCAGCCAGGACATC TCCAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCC CCAAGCTGCTGATCTACTACACCTCCACCCTGCACCTGGGCATC CCCCCTAGATTCTCCGGCTCTGGCTACGGCACCGACTTCACCCT GACCATCAACAACATCGAGTCCGAGGACGCCGCCTACTACTTC TGCCAGCAGTACTACAACCTGCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCA CCAAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 733	轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSSSQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSTLHLGIPPRFSGSGYGTDFTLTINNIESEDAAYYFCQQYYN LPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 734	DNA 轻链	GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGT GGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGCTCTAGTCAGGATATCT CTAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCC TAAGCTGCTGATCTACTACACTAGCACCCTGCACCTGGGAATCC CCCCTAGGTTTAGCGGTAGCGGCTACGGCACCGACTTCACCCTG ACTATTAACAATATCGAGTCAGAGGACGCCGCCTACTACTTCTG TCAGCAGTACTATAACCTGCCCTGGACCTTCGGTCAAGGCACTA AGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCAT

[1102]

		CTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGC GTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGG TGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCA GGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGC CTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGC ATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAG CCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
SEQ ID NO: 735	DNA 轻链	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGTCTGCTTCCGT GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTTCCTCCAGCCAGGACATC TCCAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCC CCAAGCTGCTGATCTACTACACCTCCACCCTGCACCTGGGCATC CCCCCTAGATTCTCCGGCTCTGGCTACGGCACCGACTTCACCCT GACCATCAACAACATCGAGTCCGAGGACGCCGCCTACTACTTC TGCCAGCAGTACTACAACCTGCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCA CCAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTT CATCTTCCCCCCAAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCC AGCGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCA AGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACA GCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTA CAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAG AAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGT CCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
BAP050-克隆 I HC		
SEQ ID NO: 736（卡巴特）	HCDR1	AATTACGGGATGAAC
SEQ ID NO: 737（卡巴特）	HCDR1	AACTACGGCATGAAC
SEQ ID NO: 738（卡巴特）	HCDR2	TGGATTAACACCGACACCGGGGAGCCTACCTACGCGGACGATT TCAAGGGA
SEQ ID NO: 739（卡巴特）	HCDR2	TGGATCAACACCGACACCGGCGAGCCTACCTACGCCGACGACT TCAAGGGC
SEQ ID NO: 740（卡巴特）	HCDR3	AACCCGCCCTACTACTACGGAACCAACAACGCCGAAGCCATGG ACTAC
SEQ ID NO: 741（卡巴特）	HCDR3	AACCCCCCTTACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCATGG ACTAT
SEQ ID NO: 742（乔西亚）	HCDR1	GGATTCACCCTCACCAATTAC
SEQ ID NO: 743（乔西亚）	HCDR1	GGCTTCACCCTGACCAACTAC
SEQ ID NO: 744（乔西亚）	HCDR2	AACACCGACACCGGGGAG
SEQ ID NO: 745（乔西亚）	HCDR2	AACACCGACACCGGCGAG
SEQ ID NO: 740（乔西亚）	HCDR3	AACCCGCCCTACTACTACGGAACCAACAACGCCGAAGCCATGG ACTAC
SEQ ID NO: 741（乔西亚）	HCDR3	AACCCCCCTTACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCATGG ACTAT
BAP050-克隆 I LC		
SEQ ID NO: 746（卡巴特）	LCDR1	AGCTCTAGTCAGGATATCTCTAACTACCTGAAC
SEQ ID NO: 747（卡巴特）	LCDR1	TCCTCCAGCCAGGACATCTCCAACTACCTGAAC
SEQ ID NO: 748（卡巴特）	LCDR2	TACACTAGCACCCTGCACCTG
SEQ ID NO: 749（卡巴	LCDR2	TACACCTCCACCCTGCACCTG

[1103]

特）		
SEQ ID NO: 750（卡巴特）	LCDR3	CAGCAGTACTATAACCTGCCCTGGACC
SEQ ID NO: 751（卡巴特）	LCDR3	CAGCAGTACTACAACCTGCCCTGGACC
SEQ ID NO: 752（乔西亚）	LCDR1	AGTCAGGATATCTCTAACTAC
SEQ ID NO: 753（乔西亚）	LCDR1	AGCCAGGACATCTCCAACTAC
SEQ ID NO: 754（乔西亚）	LCDR2	TACACTAGC
SEQ ID NO: 755（乔西亚）	LCDR2	TACACCTCC
SEQ ID NO: 756（乔西亚）	LCDR3	TACTATAACCTGCCCTGG
SEQ ID NO: 757（乔西亚）	LCDR3	TACTACAACCTGCCCTGG
BAP050-克隆 J HC		
SEQ ID NO: 758（卡巴特）	HCDR1	AACTACGGGATGAAC
SEQ ID NO: 737（卡巴特）	HCDR1	AACTACGGCATGAAC
SEQ ID NO: 759（卡巴特）	HCDR2	TGGATTAACACCGACACCGGCGAGCCTACCTACGCCGACGACTTTAAGGGC
SEQ ID NO: 739（卡巴特）	HCDR2	TGGATCAACACCGACACCGGCGAGCCTACCTACGCCGACGACTTCAAGGGC
SEQ ID NO: 760（卡巴特）	HCDR3	AACCCCCCCTACTACTACGGCACTAACAACGCCGAGGCTATGGACTAC
SEQ ID NO: 741（卡巴特）	HCDR3	AACCCCCCTTACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCATGGACTAT
SEQ ID NO: 761（乔西亚）	HCDR1	GGCTTCACCCTGACTAACTAC
SEQ ID NO: 743（乔西亚）	HCDR1	GGCTTCACCCTGACCAACTAC
SEQ ID NO: 744（乔西亚）	HCDR2	AACACCGACACCGGGGAG
SEQ ID NO: 745（乔西亚）	HCDR2	AACACCGACACCGGCGAG
SEQ ID NO: 760（乔西亚）	HCDR3	AACCCCCCCTACTACTACGGCACTAACAACGCCGAGGCTATGGACTAC
SEQ ID NO: 741（乔西亚）	HCDR3	AACCCCCCTTACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCATGGACTAT
BAP050-克隆 J LC		
SEQ ID NO: 746（卡巴特）	LCDR1	AGCTCTAGTCAGGATATCTCTAACTACCTGAAC
SEQ ID NO: 747（卡巴特）	LCDR1	TCCTCCAGCCAGGACATCTCCAACTACCTGAAC
SEQ ID NO: 748（卡巴特）	LCDR2	TACACTAGCACCCTGCACCTG
SEQ ID NO: 749（卡巴特）	LCDR2	TACACCTCCACCCTGCACCTG
SEQ ID NO: 750（卡巴	LCDR3	CAGCAGTACTATAACCTGCCCTGGACC

[1104]

特）		
SEQ ID NO: 751（卡巴特）	LCDR3	CAGCAGTACTACAACCTGCCCTGGACC
SEQ ID NO: 752（乔西亚）	LCDR1	AGTCAGGATATCTCTAACTAC
SEQ ID NO: 753（乔西亚）	LCDR1	AGCCAGGACATCTCCAACTAC
SEQ ID NO: 754（乔西亚）	LCDR2	TACACTAGC
SEQ ID NO: 755（乔西亚）	LCDR2	TACACCTCC
SEQ ID NO: 756（乔西亚）	LCDR3	TACTATAACCTGCCCTGG
SEQ ID NO: 757（乔西亚）	LCDR3	TACTACAACCTGCCCTGG

[1105] 其他示例性LAG-3抑制剂

[1106] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子是BMS-986016(百时美施贵宝公司),也称为BMS986016。BMS-986016和其他抗LAG-3抗体披露于WO 2015/116539和US 9,505,839(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含以下中的一种或多种:BMS-986016的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表10中所披露的。

[1107] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子是TSR-033(泰萨罗公司)。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含以下的一种或多种:TSR-033的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1108] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子是MK-4280(默克公司(Merck&Co))。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含以下的一种或多种:MK-4280的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1109] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子是REGN3767(再生元公司(Regeneron))。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含以下的一种或多种:REGN3767的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1110] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子是IMP731或GSK2831781(GSK公司和普瑞马生物医药公司(Prima BioMed))。IMP731和其他抗LAG-3抗体披露于WO 2008/132601和US 9,244,059(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含以下的一种或多种:IMP731的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,在表10中所披露的。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含以下中的一种或多种:GSK2831781的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1111] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子是IMP761(普瑞马生物医药公司)。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含以下的一种或多种:IMP761的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1112] 其他已知的抗LAG-3抗体包括在例如WO 2008/132601、WO 2010/019570、WO 2014/140180、WO 2015/116539、WO 2015/200119、WO 2016/028672、US 9,244,059、US 9,505,839(将其通过引用以其全文并入)中描述的那些。

[1113] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体是与本文所述的抗LAG-3抗体之一竞争与LAG-3上

的相同表位结合和/或结合至LAG-3上的相同表位的抗体。

[1114] 在一个实施例中,抗LAG-3抑制剂是可溶性LAG-3蛋白,例如,IMP321(普瑞马生物医药公司),例如,如WO 2009/044273(将其通过引用以其全文并入)中所披露的。

[1115] 表10.其他示例性抗LAG-3抗体分子的氨基酸序列

[1116]

BMS-986016		
SEQ ID NO: 762	重链	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWIRQPPGKGLE WIGEINHRGSTNSNPSLKSRVTLSLDTSKNQFSLKLRSVTAADTAVYYC AFGYSDYEYNWFDPWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
		NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
SEQ ID NO: 763	轻链	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFG QGTNLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
IMP731		
SEQ ID NO: 764	重链	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTAYGVNWVRQPPGKGLEWL GMIWDDGSTDYNSALKSRLSISKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTARYYC AREGDVAFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 765	轻链	DIVMTQSPSSLAVSVGQKVTMSCKSSQSLLNGSNQKNYLAWYQQKPG QSPKLLVYFASTRDSGVPDRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCLQ HFGTPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[1117]

[1118] 示例性TIM-3抑制剂

[1119] 在某些实施例中,将如本文所述的抗CD73抗体分子与TIM-3抑制剂组合施用。TIM-3抑制剂可以是抗体、其抗原结合片段、免疫黏附素、融合蛋白、或寡肽。在一些实施例中,TIM-3抑制剂选自MGB453(诺华公司(Novartis)、TSR-022(Tesaro公司)或LY3321367(礼来制药公司(Eli Lilly))。

[1120] 示例性抗TIM-3抗体分子

[1121] 在一个实施例中,TIM-3抑制剂是抗TIM-3抗体分子。在一个实施例中,TIM-3抑制剂是抗TIM-3抗体分子,如题为“TIM-3的抗体分子及其用途”的2015年8月6日公开的US2015/0218274(将其通过引用以其全文并入)中所披露的。

[1122] 在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含来自重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个、或六个互补决定区(CDR)(或总体上全部CDR),所述重链和轻链可变区包含表11(例如,来自表11中披露的ABTIM3-hum11、或ABTIM3-hum03的重链和轻链可变区序列)中所示的氨基酸序列、或由表11中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一些实施例中,这些CDR根据卡巴特定义(例如,如表11中所列出的)。在一些实施例中,这些CDR根据乔西亚定义(例如,如表11中所列出的)。在一个实施例中,相对于表11中所示的氨基酸序列,

或由表11中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如氨基酸取代(例如,保守氨基酸取代)或缺失。

[1123] 在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:801的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:802的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:803的VHCDR3氨基酸序列的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:810的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:811的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:812的VLCDR3氨基酸序列的轻链可变区(VL),各自披露于表11中。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:801的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:820的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:803的VHCDR3氨基酸序列的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:810的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:811的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:812的VLCDR3氨基酸序列的轻链可变区(VL),各自披露于表11中。

[1124] 在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:806的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:806具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:816的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:816具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:822的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:822具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:826的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:826具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:806的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:816的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:822的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:826的氨基酸序列的VL。

[1125] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:807的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:807具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:817的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:817具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:823的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:823具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:827的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:827具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:807的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:817的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:823的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:827的核苷酸序列编码的VL。

[1126] 在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:808的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:808具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:818的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:818具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:824的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:824具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:828的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:828具有至少约85%、

90％、95％、或99％序列同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:808的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:818的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:824的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:828的氨基酸序列的轻链。

[1127] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:809的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:809具有至少约85％、90％、95％、或99％序列同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:819的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:819具有至少约85％、90％、95％、或99％序列同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:825的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:825具有至少约85％、90％、95％、或99％序列同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:829的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:829具有至少约85％、90％、95％、或99％序列同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:809的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:819的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:825的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:829的核苷酸序列编码的轻链。

[1128] 本文所述的抗体分子可以通过载体、宿主细胞、和在US 2015/0218274(将其通过引用以其全文并入)中描述的方法制得。

[1129] 表11.示例性抗TIM-3抗体分子的氨基酸和核苷酸序列

[1130]

ABTIM3-hum11		
SEQ ID NO: 801（卡巴特）	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 802（卡巴特）	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 803（卡巴特）	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 804（乔西亚）	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 805（乔西亚）	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 803（乔西亚）	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 806	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPG QGLEWMGDIYPGNGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 807	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACC CGGCTCTAGCGTGAAAGTTTCTTGTAAAGCTAGTGGCTACAC CTTCACTAGCTATAATATGCACTGGGTTCGCCAGGCCCCAGG GCAAGGCCTCGAGTGGATGGGCGATATCTACCCCGGGAACGG CGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGTCACTAT CACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAACTGAG TTCCCTGAGGTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAG AGTGGGCGGAGCCTTCCCTATGGACTACTGGGGTCAAGGCAC TACCGTGACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 808	重链	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPG QGLEWMGDIYPGNGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYMELSS

[1131]

		LRSEDTAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLG
SEQ ID NO: 809	DNA 重链	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACC CGGCTCTAGCGTGAAAGTTTCTTGTAAAGCTAGTGGCTACAC CTTCACTAGCTATAATATGCACTGGGTTCGCCAGGCCCCAGG GCAAGGCCTCGAGTGGATGGGCGATATCTACCCCGGGAACGG CGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGTCACTAT CACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAACTGAG TTCCCTGAGGTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAG AGTGGGCGGAGCCTTCCCTATGGACTACTGGGGTCAAGGCAC TACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGT GTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCAC CGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCC CGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGT GCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTC GCTGTCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTACC AAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACT AAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCCACCGTG CCCGCCTTGTCCCGCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTC TTTCTGTTCCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCC GCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTGGACGTGTCACAGG AAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTC AACTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTGCATC AGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCC AACAAGGGACTTCCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAA GCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCA CCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACT TGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAA TGGGAGTCCAACGGCCAGCCGGAAAACAACTACAAGACCAC CCCTCCGGTGCTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCCTCTACTCG CGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGGAAATGT GTTCAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACTA CACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 810（卡巴特）	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 811（卡巴特）	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 812（卡巴特）	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 813（乔西亚）	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 814（乔西亚）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 815（乔西亚）	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 816	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKP GKAPKLLIYAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY FCQQSRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 817	DNA VL	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGT GTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGAGCTAGTGAATCA GTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAG AAGCCCGGGAAAGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCTCT AACGTGGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGCAGCCC GAGGACTTCGCTACCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGAC CCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 818	轻链	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKP GKAPKLLIYAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY

		FCQQSRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 819	DNA 轻链	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGT GTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGAGCTAGTGAATCA GTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAG AAGCCCGGGAAAGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCTCT AACGTGGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGCAGCCC GAGGACTTCGCTACCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGAC CCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGT ACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGAC GAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTG AACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCAC CGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCA CCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGT ACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGA CCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum03		
SEQ ID NO: 801（卡巴特）	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 820（卡巴特）	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 803（卡巴特）	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 804（乔西亚）	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 821（乔西亚）	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 803（乔西亚）	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 822	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPG QGLEWIGDIYPGQGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTLVTVSS
[1132] SEQ ID NO: 823	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACC CGGCGCTAGTGTGAAAGTTAGCTGTAAAGCTAGTGGCTATAC TTTCACTTCTTATAATATGCACTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGT CAAGGCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTACCCCGGTCAAGGC GACACTTCCTATAATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGCTACTATG ACCGCCGATAAGTCTACTTCTACCGTCTATATGGAACTGAGTT CCCTGAGGTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAG TGGGCGGAGCCTTCCCAATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCC TGGTCACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 824	重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPG QGLEWIGDIYPGQGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLG
SEQ ID NO: 825	DNA 重链	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACC CGGCGCTAGTGTGAAAGTTAGCTGTAAAGCTAGTGGCTATAC TTTCACTTCTTATAATATGCACTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGT CAAGGCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTACCCCGGTCAAGGC GACACTTCCTATAATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGCTACTATG ACCGCCGATAAGTCTACTTCTACCGTCTATATGGAACTGAGTT CCCTGAGGTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAG TGGGCGGAGCCTTCCCAATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCC TGGTCACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGT TCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCG CTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGT

[1133]

		GACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCA CACCTTCCCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTG TCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTACCAAG ACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACTAAG GTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCCACCGTGCCCG CCTTGTCCCGCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTC TGTTCCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCA CCCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTGGACGTGTCACAGGAAG ATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGG TGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAAC TCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTGCATCAGG ACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAAC AAGGGACTTCCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCC AAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCACCG AGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACTTGC CTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGG GAGTCCAACGGCCAGCCGGAAAACAACTACAAGACCACCCC TCCGGTGCTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCCTCTACTCGCGG CTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGGAAATGTGTT CAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACTACAC TCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 810（卡巴特）	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 811（卡巴特）	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 812（卡巴特）	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 813（乔西亚）	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 814（乔西亚）	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 815（乔西亚）	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 826	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKP GQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQSRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 827	DNA VL	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGC CTGGGCGAGCGGGCTACTATTAACTGTAGAGCTAGTGAATCA GTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAG AAGCCCGGTCAACCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCTCT AACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCC GAGGACGTGGCCGTCTACTACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGAC CCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 828	轻链	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKP GQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQSRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 829	DNA 轻链	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGC CTGGGCGAGCGGGCTACTATTAACTGTAGAGCTAGTGAATCA GTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAG AAGCCCGGTCAACCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCTCT AACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCC GAGGACGTGGCCGTCTACTACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGAC CCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGT ACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGAC GAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTG AACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCAC CGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCA CCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGT ACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGA CCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC

[1134] 其他示例性TIM-3抑制剂

[1135] 在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子是TSR-022(安奈普泰斯生物有限公司(AnaptysBio)/泰萨罗公司)。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含以下中的一种或多种:TSR-022的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含以下中的一种或多种:APE5137、或APE5121的

CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表12中所披露的。APE5137、APE5121和其他抗TIM-3抗体披露于WO 2016/161270(将其通过引用以其全文并入)中。

[1136] 在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子是LY3321367(礼来制药公司(Eli Lilly))。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含以下的一种或多种:LY3321367的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1137] 在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子是抗体克隆F38-2E2。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含以下中的一种或多种:F38-2E2的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1138] 其他已知的抗TIM-3抗体包括例如在WO 2016/111947、WO 2016/071448、WO 2016/144803、US 8,552,156、US 8,841,418、和US 9,163,087(将其通过引用以其全文并入)中描述的那些。

[1139] 在一个实施例中,抗TIM-3抗体是与本文所述的抗TIM-3抗体之一竞争与TIM-3上的相同表位结合和/或结合至TIM-3上的相同表位的抗体。

[1140] 表12.其他示例性抗TIM-3抗体分子的氨基酸序列

[1141]

APE5137		
SEQ ID NO: 830	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLDWVS TISGGGTYTYYQDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASMD YWGQGTTVTVSSA
SEQ ID NO: 831	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRRYLNWYHQKPGKAPKLLIYGAS TLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQSHSAPLTFGGGTKVE IKR
APE5121		
SEQ ID NO: 832	VH	EVQVLESGGGLVQPGGSLRLYCVASGFTFSGSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKKY YVGPADYWGQGTLVTVSSG
SEQ ID NO: 833	VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQHKPGQPPK LLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSSPLTF GGGTKIEVK

[1142]

[1143] 示例性CTLA-4抑制剂

[1144] 在某些实施例中,将如本文所述的抗CD73抗体分子与CTLA-4抑制剂组合施用。该CTLA-4抑制剂可以是抗体、其抗原结合片段、免疫黏附素、融合蛋白、或寡肽。在一些实施例中,CTLA-4抑制剂是艾匹利木单抗(Yervoy®,百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb))或曲美利木单抗(辉瑞制药公司(Pfizer))。抗体艾匹利木单抗和其他抗CTLA-4抗体披露在US 6,984,720中,通过引用并于本文中。抗体曲美利木单抗和其他抗CTLA-4抗体披露在US 7,411,057中,通过引用并于本文中。

[1145] 示例性GITR激动剂

[1146] 在某些实施例中,将如本文所述的抗CD73抗体分子与GITR激动剂组合施用。该GITR激动剂可以是抗体、其抗原结合片段、免疫黏附素、融合蛋白、或寡肽。在一些实施例中,GITR激动剂是GWN323(诺华公司(Novartis))、BMS-986156(BMS)、MK-4166或MK-1248(默克公司(Merck))、TRX518(利普治疗公司(Leap Therapeutics))、INCAGN1876(Incyte/Agenus)、AMG 228(美商安进公司(Amgen))或INBRX-110(Inhibrx公司)。

[1147] 示例性抗GITR抗体分子

[1148] 在一个实施例中,GITR激动剂是抗GITR抗体分子。在一个实施例中,GITR激动剂是抗GITR抗体分子,如题为“Compositions and Methods of Use for Augmented Immune Response and Cancer Therapy[用于增强免疫应答和癌症治疗的组合物和方法]”的2016年4月14日公布的WO 2016/057846(将其通过引用以其全文并入)中所述的。

[1149] 在一个实施例中,抗GITR抗体分子包含来自重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个、或六个互补决定区(CDR)(或总体上全部CDR),所述重链和轻链可变区包含表13(例如,来自表13中披露的MAB7的重链和轻链可变区序列)中所示的氨基酸序列、或由表13中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一些实施例中,CDR根据卡巴特定义(例如,如表13中所列出的)。在一些实施例中,这些CDR根据乔西亚定义(例如,如表13中所列出的)。在一个实施例中,相对于表13中所示的氨基酸序列,或由表13中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如氨基酸取代(例如,保守氨基酸取代)或缺失。

[1150] 在一个实施例中,抗GITR抗体分子包含:含有SEQ ID NO:909的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:911的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:913的VHCDR3氨基酸序列的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:914的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:916的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:918的VLCDR3氨基酸序列的轻链可变区(VL),各自披露于表13中。

[1151] 在一个实施例中,抗GITR抗体分子包含:含有SEQ ID NO:901的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:901具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,抗GITR抗体分子包含:含有SEQ ID NO:902的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:902具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗GITR抗体分子包含:含有SEQ ID NO:901的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:902的氨基酸序列的VL。

[1152] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:905的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:905具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:906的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:906具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:905的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:906的核苷酸序列编码的VL。

[1153] 在一个实施例中,抗GITR抗体分子包含:含有SEQ ID NO:903的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:903具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,抗GITR抗体分子包含:含有SEQ ID NO:904的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:904具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗GITR抗体分子包含:含有SEQ ID NO:903的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:904的氨基酸序列的轻链。

[1154] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:907的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:907具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:908的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:908具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:907的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:908的核苷酸序列编

码的轻链。

[1155] 本文所述的抗体分子可以通过载体、宿主细胞、和在WO 2016/057846(将其通过引用以其全文并入)中描述的方法制得。

[1156] 表13.示例性抗GITR抗体分子的氨基酸和核苷酸序列

[1157]

MAB7		
SEQ ID NO: 901	VH	EVQLVESGGGLVQSGGSLRLSCAASGFSLSSYGVDWVRQAP GKGLEWVGVIWGGGGTYYASSLMGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARHAYGHDGGFAMDYWGQGTLVTVS S
SEQ ID NO: 902	VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASESVSSNVAWYQQRPGQ APRLLIYGASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCGQSYSYPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 903	重链	EVQLVESGGGLVQSGGSLRLSCAASGFSLSSYGVDWVRQAP GKGLEWVGVIWGGGGTYYASSLMGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARHAYGHDGGFAMDYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS

[1158]

		NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 904	轻链	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASESVSSNVAWYQQRPGQ APRLLIYGASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCGQSYSYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
SEQ ID NO: 905	DNA VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAG TCCGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGCGCTGCCTCCGGCTT CTCCCTGTCCTCTTACGGCGTGGACTGGGTGCGACAGGCC CCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGGGAGTGATCTGGGGC GGAGGCGGCACCTACTACGCCTCTTCCCTGATGGGCCGGT TCACCATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTGTACCT GCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAC TACTGCGCCAGACACGCCTACGGCCACGACGGCGGCTTCG CCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTC CTCC
SEQ ID NO: 906	DNA VL	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCCGCCACCCTGTCTGTGT CTCCCGGCGAGAGAGCCACCCTGAGCTGCAGAGCCTCCGA GTCCGTGTCCTCCAACGTGGCCTGGTATCAGCAGAGACCT GGTCAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACGGCGCCTCTAACC GGGCCACCGGCATCCCTGCCAGATTCTCCGGCTCCGGCAG CGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTCCCGGCTGGAACCC GAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCGGCCAGTCCTACTCAT ACCCCTTCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAA G
SEQ ID NO: 907	DNA 重链	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAG TCCGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGCGCTGCCTCCGGCTT CTCCCTGTCCTCTTACGGCGTGGACTGGGTGCGACAGGCC CCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGGGAGTGATCTGGGGC GGAGGCGGCACCTACTACGCCTCTTCCCTGATGGGCCGGT TCACCATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTGTACCT GCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAC TACTGCGCCAGACACGCCTACGGCCACGACGGCGGCTTCG CCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTC CTCCGCTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCC CCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCTGCCCTGG GTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGT GTCCTGGAACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGCACACC TTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGA GCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCA GACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAG ACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGCTGG GAGGGCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGA CACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTG GTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTC AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAG ACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGG GTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGCAAGGCCAAGG GCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAG CCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTG TCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACC ACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGT ACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGG GCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCA

[1159]

		CAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGC AAG
SEQ ID NO: 908	DNA 轻链	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCCGCCACCCTGTCTGTGT CTCCCGGCGAGAGAGCCACCCTGAGCTGCAGAGCCTCCGA GTCCGTGTCCTCCAACGTGGCCTGGTATCAGCAGAGACCT GGTCAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACGGCGCCTCTAACC GGGCCACCGGCATCCCTGCCAGATTCTCCGGCTCCGGCAG CGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTCCCGGCTGGAACCC GAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCGGCCAGTCCTACTCAT ACCCCTTCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAA GCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCC AGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTG TGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGC AGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCC AGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACT ACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACC AGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGG GCGAGTGC
SEQ ID NO: 909（卡巴特）	HCDR1	SYGVD
SEQ ID NO: 910（乔西亚）	HCDR1	GFSLSSY
SEQ ID NO: 911（卡巴特）	HCDR2	VIWGGGGTYYASSLMG
SEQ ID NO: 912（乔西亚）	HCDR2	WGGGG
SEQ ID NO: 913（卡巴特）	HCDR3	HAYGHDGGFAMDY
SEQ ID NO: 913（乔西亚）	HCDR3	HAYGHDGGFAMDY
SEQ ID NO: 914（卡巴特）	LCDR1	RASESVSSNVA
SEQ ID NO: 915（乔西亚）	LCDR1	SESVSSN
SEQ ID NO: 916（卡巴特）	LCDR2	GASNRAT
SEQ ID NO: 917（乔西亚）	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 918（卡巴特）	LCDR3	GQSYSYPFT
SEQ ID NO: 919（乔西亚）	LCDR3	SYSYPF

[1160] 其他示例性GITR激动剂

[1161] 在一个实施例中,抗GITR抗体分子是BMS-986156(百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb)),也称为BMS 986156或BMS986156。BMS-986156和其他抗GITR抗体披露于例如US 9,228,016和WO 2016/196792(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗GITR抗体分子包含以下的一种或多种:BMS-986156的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,在表14中所披露的。

[1162] 在一个实施例中,抗GITR抗体分子是MK-4166或MK-1248(默克公司)。MK-4166、MK-1248、和其他抗GITR抗体披露于例如,US 8,709,424、WO 2011/028683、WO 2015/026684、和Mahne等人,Cancer Res.[癌症研究]2017;77(5):1108-1118(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗GITR抗体分子包含以下中的一种或多种:MK-4166或MK-1248的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1163] 在一个实施例中,抗GITR抗体分子是TRX518(利普治疗公司)。TRX518和其他抗GITR抗体披露于例如US 7,812,135、US 8,388,967、US 9,028,823、WO 2006/105021,以及Ponte J等人,(2010)Clinical Immunology[临床免疫学];135:S96中,这些申请通过引用以其全文并入。在一个实施例中,抗GITR抗体分子包含以下中的一种或多种:TRX518的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1164] 在一个实施例中,抗GITR抗体分子是INCAGN1876(因赛特公司/艾吉纳斯公司)。INCAGN1876和其他抗GITR抗体披露于例如US 2015/0368349和WO 2015/184099(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗GITR抗体分子包含以下中的一种或多种:INCAGN1876的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序

列。

[1165] 在一个实施例中,抗GITR抗体分子是AMG 228(美商安进公司)。AMG 228和其他抗GITR抗体披露于例如US 9,464,139和WO 2015/031667(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗GITR抗体分子包含以下的一种或多种:AMG 228的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1166] 在一个实施例中,抗GITR抗体分子是INBRX-110(印希彼公司)。INBRX-110和其他抗GITR抗体披露于例如US2017/0022284和WO 2017/015623(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,GITR激动剂包含以下中的一种或多种:INBRX-110的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1167] 在一个实施例中,GITR激动剂(例如,融合蛋白)是MEDI 1873(英商梅迪缪思有限公司(MedImmune)),也称为MEDI1873。MEDI1873和其他GITR激动剂披露于例如US2017/0073386、WO 2017/025610,以及Ross等人,Cancer Res[癌症研究]2016;76(14增刊):摘要nr 561(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,GITR激动剂包含MEDI 1873的IgG Fc结构域、功能性多聚化结构域、和糖皮质激素诱导的TNF受体配体(GITRL)的受体结合结构域中的一种或多种。

[1168] 另外的已知GITR激动剂(例如,抗GITR抗体)包括例如在WO 2016/054638(将其通过引用以其全文并入)中描述的那些。

[1169] 在一个实施例中,抗GITR抗体是与本文所述的抗GITR抗体之一竞争与GITR上的相同表位结合和/或结合至GITR上的相同表位的抗体。

[1170] 在一个实施例中,GITR激动剂是激活GITR信号传导途径的肽。在一个实施例中,GITR激动剂是与恒定区(例如,免疫球蛋白序列的Fc区)融合的免疫黏附素结合片段(例如,包含GITRL的细胞外或GITR的结合部分的免疫黏附素结合片段)。

[1171] 表14.其他示例性抗GITR抗体分子的氨基酸序列

[1172]

BMS-986156		
SEQ ID NO: 920	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 921	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPYTFGQGTKLEIK

[1173] 示例性抗CD3多特异性抗体分子

[1174] 在某些实施例中,将本文所述的抗CD73抗体分子与抗CD3多特异性抗体分子(例如,抗CD3双特异性抗体分子)组合给予。在一个实施例中,抗CD3多特异性抗体分子结合CD3合靶肿瘤抗原(TTA)。在一个实施例中,TTA选自CD19、CD20、CD38、或CD123。在一个实施例中,抗CD3多特异性抗体分子处于在WO 2016/182751中的图1A、1B、1C和125中披露的形式,该申请通过引用以其全文并入本文。

[1175] 在一个实施例中,抗CD3多特异性抗体分子是抗CD3 x抗CD123双特异性抗体分子,例如,在WO 2016/086189或WO 2016/182751中披露的XENP14045(例如,如表15中所列出的)或抗CD3 x抗CD123双特异性抗体分子,这些申请通过引用以其全文并入本文中。在一个实施例中,抗CD3 x抗CD123双特异性抗体分子包含一个或多个CDR序列(或总体上全部CDR序列),XENP14045的重链或轻链可变区序列,或重链或轻链序列,或与其基本上相同的氨基酸

序列(例如,与其具有至少约85%、90%、或95%序列同一性的序列)。

[1176] 在一个实施例中,抗CD3多特异性抗体是抗CD3 x抗CD20双特异性抗体分子,例如,XENP13676(例如,如表15中列出的)或在WO 2016/086189或WO 2016/182751中披露的抗CD3 x抗CD20双特异性抗体分子,通过引用以其全文并于本文中。在一个实施例中,抗CD3 x抗CD20双特异性抗体分子包含一个或多个CDR序列(或总体上全部CDR序列),XENP13676的重链或轻链可变区序列,或重链或轻链序列,或与其基本上相同的氨基酸序列(例如,与其具有至少约85%、90%、或95%序列同一性的序列)。

[1177] 表15.示例性抗CD3双特异性抗体分子的氨基酸序列

[1178]

XENP14045（抗CD123 x 抗CD3 Fab-scFv-Fc）		
SEQ ID NO: 177	重链 1（抗CD123 Fab-Fc）	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMKWVKQSHGKS LEWMGDIIPSNGATFYNQKFKGKATLTVDRSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARSHLLRASWFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 178	重链 2（抗CD3 scFv-Fc）	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGL EWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGKPGSGKPG SGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAP PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 179	轻链	DFVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNTGNQKNYLTWYQQKP GQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYY CQNDYSYPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
XENP13676（抗		

[1179]

CD20 x 抗 CD3 Fab-scFv-Fc）		
SEQ ID NO: 180	重链 1（Fab-Fc）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQG LEWMGAIYPGNGDTSYNQKFQGRVTITADKSISTAYMELSSLRSED TAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 181	重链 2（scFv-Fc）	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGL EWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGKPGSGKPG SGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAP PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 182	轻链	QIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSYIHWFQQKPGKSPKPLIY ATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWTSNPP TFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[1180] 示例性IL15/IL-15Ra复合物

[1181] 在某些实施例中,将本文所述的抗CD73抗体分子与IL-15/IL-15Ra复合物组合施用。在一些实施例中,IL-15/IL-15Ra复合物选自NIZ985(诺华公司)、ATL-803(亚拉斯托公司(Altor))或CYP0150(Cytune公司)。

[1182] 示例性IL-15/IL-15Ra复合物

[1183] 在一个实施例中,IL-15/IL-15Ra复合物包含人IL-15与可溶形式的人IL-15Ra复合。该复合物可以包含共价或非共价连接至IL-15Rα的可溶性形式的IL-15。在具体的实施例中,人IL-15非共价地与可溶形式的IL-15Ra结合。在具体的实施例中,组合物的人IL-15包含表16中SEQ ID NO:183的氨基酸序列,并且可溶形式的人IL-15Ra包含表16中的SEQ ID NO:184的氨基酸序列,如在WO 2014/066527中的描述,通过引用以其全文并入。本文所述的这些分子可以通过运载体、宿主细胞、和在WO 2007/084342中描述的方法制得,该申请通过引用以其全文并入。

[1184] 表16.示例性IL-15/IL-15Ra复合物的氨基酸和核苷酸序列

[1185]

NIZ985		
SEQ ID NO: 183	人 IL-15	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLEL QVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNI KEFLQSFVHIVQMFINTS
SEQ ID NO: 184	人可溶性 IL-15Ra	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLN KATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSG KEPAASSPSSNNTAATTAAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPS QTTAKNWELTASASHQPPGVYPQG

[1186] 其他示例性IL-15/IL-15Ra复合物

[1187] 在一个实施例中,IL-15/IL-15Ra复合物是ALT-803(IL-15/IL-15Ra Fc融合蛋白(IL-15N72D:IL-15RaSu/Fc可溶性复合物))。ALT-803披露在WO 2008/143794中,通过引用以其全文并入。在一个实施例中,IL-15/IL-15Ra Fc融合蛋白包含如表17中所披露的序列。

[1188] 在一个实施例中,IL-15/IL-15Ra复合物包含与IL-15Ra的sushi结构域融合的IL-15(CYP0150,赛腾制药)。IL-15Ra的sushi结构域是指在IL-15Ra的信号肽之后的第一半胱氨酸残基处开始并且在所述信号肽之后的第四个半胱氨酸残基处结束的结构域。与IL-15Ra的sushi结构域融合的IL-15的复合物披露在WO 2007/04606和WO 2012/175222中,这些申请通过引用以其全文并入。在一个实施例中,IL-15/IL-15Ra sushi结构域融合物包含如在表17中所披露的序列。

[1189] 表17.其他示例性IL-15/IL-15Ra复合物的氨基酸序列

[1190]

ALT-803 (Altor)		
SEQ ID NO: 185	IL-15N72D	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLEL QVISLESGDASIHDTVENLIILANDSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNI KEFLQSFVHIVQMFINTS
SEQ ID NO: 186	IL-15RaSu/ Fc	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLN KATNVAHWTTPSLKCIREPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
IL-15/IL-15Ra sushi 结构域融合物 (Cytune)		
SEQ ID NO: 187	人 IL-15	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLEL QVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEXKNI KEFLQSFVHIVQMFINTS 其中 X 是 E 或 K
SEQ ID NO: 188	人 IL-15Ra sushi 和铰链结构域	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLN KATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPP

[1191] 示例性STING激动剂

[1192] 在某些实施例中,将如本文所述的抗CD73抗体分子与STING激动剂组合施用。在一些实施例中,组合用于治疗癌症,例如,本文所述癌症,例如,实体瘤(例如,乳腺癌、鳞状细胞癌、黑色素瘤、卵巢癌、输卵管癌、腹膜癌、软组织肉瘤、食道癌、头颈癌、子宫内膜癌、宫颈癌或基底细胞癌),例如血液系统恶性肿瘤(例如白血病(例如,慢性淋巴细胞性白血病(CLL)或淋巴瘤(例如边缘区B细胞淋巴瘤、小淋巴细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤)。在一些实施例中,癌症选自头颈癌(例如头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、皮肤癌(例如黑色素瘤)、肺癌(例如非小细胞肺癌(NSCLC))或乳腺癌(例如三阴性乳腺癌(TNBC))。

[1193] 在一些实施例中,STING激动剂是环二核苷酸,例如包含嘌呤或嘧啶核碱基(例如,腺苷、鸟嘌呤、尿嘧啶、胸腺嘧啶、或胞嘧啶核碱基)的环二核苷酸。在一些实施例中,环二核苷酸的核碱基包含相同核碱基或不同核碱基。

[1194] 在一些实施例中,STING激动剂包含腺苷或鸟苷核碱基。在一些实施例中,STING激动剂包含一个腺苷核碱基和一个鸟苷核碱基。在一些实施例中,STING激动剂包含两个腺苷核碱基或两个鸟苷核碱基。

[1195] 在一些实施例中,STING激动剂包含修饰的环二核苷酸,例如包含修饰的核碱基、修饰的核糖、或修饰的磷酸酯键。在一些实施例中,修饰的环二核苷酸包含修饰的磷酸酯键,例如硫代磷酸键。

[1196] 在一些实施例中,STING激动剂包含具有2',5'或3',5'磷酸酯键的环二核苷酸(例如,修饰的环二核苷酸)。在一些实施例中,STING激动剂包含在磷酸酯键周围具有Rp或Sp立

体化学的环二核苷酸(例如,修饰的环二核苷酸)。

[1197] 在一些实施例中,STING激动剂是Rp,Rp二硫代2',3'c-二-AMP(例如,Rp,Rp-二硫代c-[A(2',5')pA(3',5')p]),或其环状二核苷酸类似物。在一些实施例中,STING激动剂是美国专利公开号US2015/0056224中描述的化合物(例如,图2c中的化合物,例如,化合物21或化合物22)。在一些实施例中,STING激动剂是c-[G(2',5')pG(3',5')p],其二硫代核糖O-取代的衍生物,或PCT公开号WO 2014/189805和WO 2014/189806的图4中所示的化合物。在一些实施例中,STING激动剂是c-[A(2',5')pA(3',5')p]或其二硫代核糖O-取代的衍生物,或PCT公开号WO 2014/189805和WO 2014/189806的图5中所示的化合物。在一些实施例中,STING激动剂是c-[G(2',5')pA(3',5')p],或其二硫代核糖O-取代的衍生物,或PCT公开号WO 2014/189805和WO 2014/189806的图5中所示的化合物。在一些实施例中,STING激动剂是2'-O-炔丙基-环-[A(2',5')pA(3',5')p](2'-O-炔丙基-ML-CDA)或PCT公开号WO 2014/189806的图7中所示的化合物。

[1198] 其他示例性STING激动剂披露于例如PCT公开号WO 2014/189805和WO 2014/189806,以及美国公开号2015/0056225中。

[1199] 示例性CSF-1/1R结合剂

[1200] 在某些实施例中,将本文所述的抗CD73抗体分子与CSF-1/1R结合剂组合给予。在一些实施例中,将组合用于治疗癌症,例如本文所述的癌症,例如实体瘤(例如前列腺癌、乳腺癌、或色素沉着绒毛状滑膜炎(PVNS))。

[1201] 在一些实施例中,CSF-1/1R结合剂是巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)的抑制剂。M-CSF有时也称为CSF-1。

[1202] 在另一个实施例中,该CSF-1/1R结合剂是CSF-1R酪氨酸激酶抑制剂、4-((2-(((1R,2R)-2-羟基环己基)氨基)苯并[d]噻唑-6-基)氧基)-N-甲基吡啶酰胺(化合物A15)、或在PCT公开号WO 2005/073224中披露的化合物。在一些实施例中,癌症选自脑癌(例如多形性胶质母细胞瘤(GBM))、胰腺癌或乳腺癌(例如三阴性乳腺癌(TNBC))。

[1203] 在一些实施例中,将CSF-1/1R结合剂(例如,CSF-1R酪氨酸激酶抑制剂)4-((2-(((1R,2R)-2-羟基环己基)氨基)苯并[d]噻唑-6-基)氧基)-N-甲基吡啶酰胺(化合物A15)、或在PCT公开号WO 2005/073224中披露的化合物与CD73抑制剂(例如,抗CD73抗体分子)组合施用。

[1204] 在某些实施例中,将CSF-1/1R结合剂(例如,CSF-1R酪氨酸激酶抑制剂)4-((2-(((1R,2R)-2-羟基环己基)氨基)苯并[d]噻唑-6-基)氧基)-N-甲基吡啶酰胺(化合物A15)或在PCT公开号WO 2005/073224中披露的化合物与CD73抑制剂(例如抗CD73抗体分子)组合施用,以治疗癌症,例如实体瘤(例如晚期实体瘤),例如脑癌(例如多形性胶质母细胞瘤(GBM),例如复发性胶质母细胞瘤),乳腺癌(例如三阴性乳腺癌(例如NTBC))或胰腺癌(例如晚期胰腺癌)。

[1205] 在一些实施例中,CSF-1/1R结合剂是M-CSF抑制剂、化合物A33、或在PCT公开号WO 2004/045532或PCT公开号WO 2005/068503中披露的CSF-1的结合剂(包括RX1或5H4)(例如,抗体分子或针对M-CSF的Fab片段)。在一些实施例中,癌症选自子宫内膜癌、皮肤癌(例如黑色素瘤)、胰腺癌或乳腺癌(例如三阴性乳腺癌(TNBC))。

[1206] 在一些实施例中,CSF-1/1R结合剂是CSF1R抑制剂或4-(2-((1R,2R)-2-羟基环己

基氨基)苯并噻唑-6-基氧基)-N-甲基吡啶酰胺。4-(2-((1R,2R)-2-羟基环己基氨基)苯并噻唑-6-基氧基)-N-甲基吡啶酰胺被披露为PCT公开号WO 2007/121484在第117页的实例157。

[1207] 在一些实施例中,CSF-1/1R结合剂是培达替尼(pexidartinib)(CAS登记号1029044-16-3)。培达替尼也称为PLX3397或5-((5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)甲基)-N-((6-(三氟甲基)吡啶-3-基)甲基)吡啶-2-胺。培达替尼是KIT、CSF1R和FLT3的小分子受体酪氨酸激酶(RTK)抑制剂。在一些实施例中,CSF-1/1R结合剂(例如培达替尼)与CD73抑制剂(例如本文所述的抗CD73抗体分子)组合使用。

[1208] 在一些实施例中,CSF-1/1R结合剂是依米妥珠单抗(emactuzumab)。依米妥珠单抗也称为RG7155或RO5509554。依米妥珠单抗是人源化IgG1 mAb靶向的CSF1R。在一些实施例中,CSF-1/1R结合剂(例如培达替尼)与CD73抑制剂(例如本文所述的抗CD73抗体分子)组合使用。

[1209] 在一些实施例中,CSF-1/1R结合剂是FPA008。FPA008是抑制CSF1R的人源化mAb。在一些实施例中,CSF-1/1R结合剂(例如FPA008)与CD73抑制剂(例如本文所述的抗CD73抗体分子)组合使用。

[1210] 示例性IDO/TDO抑制剂

[1211] 在某些实施例中,将本文所述的抗CD73抗体分子与吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)和/或色氨酸2,3-双加氧酶(TDO)的抑制剂组合给予。在一些实施例中,组合用于治疗癌症,例如本文所述的癌症,例如实体瘤(例如,黑色素瘤、非小细胞肺癌、结肠癌、鳞状细胞头颈癌、卵巢癌、腹膜癌、输卵管癌、乳腺癌(例如,转移性或HER2阴性乳腺癌)),例如血液恶性肿瘤(例如淋巴瘤,例如非霍奇金淋巴瘤或霍奇金淋巴瘤(例如,弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)))。

[1212] 在一些实施例中,IDO/TDO抑制剂选自(4E)-4-[(3-氯-4-氟苯胺基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺(也称为INCB24360)、英多莫德(indoximod)(1-甲基-D-色氨酸)、或α-环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吲哚-5-乙醇(也称为NLG919)。

[1213] 在一些实施例中,IDO/TDO抑制剂是依多司他(CAS登记号:1204669-58-8)。依多司他也称为INCB24360或INCB024360(因赛特公司)。依多司他是有效的和选择性的吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO1)抑制剂,具有10nM的IC50,对其他相关酶(例如IDO2或色氨酸2,3-双加氧酶(TDO))具有高选择性。

[1214] 在一些实施例中,IDO/TDO抑制剂是英多莫德(纽琳基因公司(New Link Genetics))。英多莫德,1-甲基-色氨酸的D异构体,是一种口服给予的小分子吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)途径抑制剂,该抑制剂破坏了由肿瘤逃避免疫介导的破坏的机制。

[1215] 在一些实施例中,IDO/TDO抑制剂是NLG919(纽琳基因公司)。NLG919是有效的IDO(吲哚胺-(2,3)-双加氧酶)途径抑制剂,在无细胞测定中具有7nM/75nM的Ki/EC50。

[1216] 在一些实施例中,IDO/TDO抑制剂是F001287(福克斯公司/BMS公司(Flexus/BMS))。F001287是吲哚胺2,3-双加氧酶1(IDO1)的小分子抑制剂。

[1217] 示例性TGF-β抑制剂

[1218] 在某些实施例中,将本文所述的抗CD73抗体分子与转化生长因子β(TGF-β)抑制剂组合给予。在一些实施例中,组合用于治疗癌症,例如本文所述的癌症,例如实体瘤(例如脑

癌(例如脑胶质瘤)、黑色素瘤、肾脏癌症(例如肾细胞癌)、胸膜恶性间皮瘤(例如复发性胸膜恶性间皮瘤)或乳腺癌(例如转移性乳腺癌))。在某些实施例中,癌症选自结直肠癌(例如,微卫星稳定结直肠癌(MSS CRC)、肝癌(例如肝细胞癌)、肺癌(例如非小细胞肺癌(HSCLC))、乳腺癌(例如三阴性乳腺癌(TNBC))、TGF-β-表达癌、胰腺癌、前列腺癌或肾癌(例如肾细胞癌)。

[1219] TGF-β属于结构相关的细胞因子的大家族,包括例如骨形态发生蛋白(BMP)、生长和分化因子、活化素和抑制素。在一些实施例中,本文所述的TGF-β抑制剂可以结合和/或抑制TGF-β的一种或多种同种型(例如,TGF-β1、TGF-β2、或TGF-β3中的一种、两种、或全部)。

[1220] 在一些实施例中,TGF-β抑制剂是夫苏木单抗(CAS注册号:948564-73-6)。夫苏木单抗也称为GC1008。夫苏木单抗是结合和抑制TGF-β同种型1、2和3的人单克隆抗体。

[1221] 夫苏木单抗的重链具有以下氨基酸序列:QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSNVISWVRQAPGQGLEWMGGVIPIVDIANYAQRFKGRVTITADESTSTTYMELSSLRSEDTAVYYCASTLGLVLDAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK(SEQ ID NO:172)。

[1222] 夫苏木单抗的轻链具有以下氨基酸序列:ETVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSLGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAPGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYADSPITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:173)。

[1223] 例如,在WO 2006/086469、US 8,383,780、和US 8,591,901中披露了夫苏木单抗。

[1224] 在一些实施例中,TGF-β抑制剂是XOMA 089。XOMA 089也称为XPA.42.089。XOMA 089是完全人单克隆抗体,该抗体结合并中和TGF-β1和2配体。

[1225] XOMA 089的重链可变区具有以下氨基酸序列:QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLE WMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLWEVRALPSVYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:174)(在WO 2012/167143中披露为SEQ ID NO:6)。

[1226] XOMA 089的轻链可变区具有以下氨基酸序列:SYELTQPPSVSVAPGQTARITCGANDIGSKSVHWYQQKAGQAPVLV VSEDIIRPSGIPERISGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDRDSDQYVFGTGTKVTVLG(SEQ ID NO:175)(在WO 2012/167143中披露为SEQ ID NO:8)。

[1227] 在某些实施例中,组合包括CD73的抑制剂(例如,本文所述的抗CD73抗体分子)和TGF-β抑制剂(例如,本文所述的TGF-β抑制剂)。

[1228] 在一些实施例中,组合包括TGF-β抑制剂XOMA 089或PCT公开号WO 2012/167143中披露的化合物,以及CD73的抑制剂(例如本文所述的抗CD73抗体)。

[1229] 在一个实施例中,将TGF-β抑制剂XOMA 089或PCT公开号WO 2012/167143中披露的化合物与CD73的抑制剂(例如抗CD73抗体分子)组合施用,以治疗胰腺癌、结直肠癌(例如,微卫星稳定结直肠癌(MSS-CRC))、肺癌(例如,非小细胞肺癌)、乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌)、肝癌(例如,肝细胞癌)、前列腺癌或肾癌(例如,透明细胞肾细胞癌)。

[1230] 示例性VEGFR抑制剂

[1231] 在某些实施例中,将本文所述的抗CD73抗体分子与血管内皮生长因子(VEGF)受体抑制剂(例如,一种或多种VEGFR(例如,VEGFR-1、VEGFR-2、或VEGFR-3)或VEGF的抑制剂)组合给予。在一些实施例中,组合用于治疗癌症,例如本文所述的癌症,例如实体瘤(例如黑色素瘤、乳腺癌、结肠癌、食道癌、胃肠道间质瘤(GIST)、肾脏癌症(例如肾细胞癌)、肝癌、非小细胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌或胃癌),例如血液学恶性肿瘤(例如淋巴瘤)。

[1232] 在一些实施例中,VEGFR抑制剂是琥珀酸伐他拉尼(化合物A47)或在EP 296122中披露的化合物。

[1233] 在一些实施例中,VEGFR抑制剂是以下各项中一种或多种的抑制剂:VEGFR-2、PDGFRβ、KIT或Raf激酶C、1-甲基-5-((2-(5-(三氟甲基)-1H-咪唑-2-基)吡啶-4-基)氧基)-N-(4-(三氟甲基)苯基)-1H-苯并[d]咪唑-2-胺(化合物A37)或在PCT公开号WO 2007/030377中披露的化合物。

[1234] 可以在本文披露的组合中使用的其他示例性VEGFR途径抑制剂包括,例如,贝伐单抗(AVASTIN®)、阿西替尼(INLYTA®);丙氨酸布立尼布(BMS-582664,(S)-((R)-1-(4-(4-氟-2-甲基-1H-吲哚-5-基氧基)-5-甲基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-6-基氧基)丙烷-2-基)2-氨基丙酸酯);索拉非尼(NEXAVAR®);帕唑帕尼(VOTRIENT®);苹果酸舒尼替尼(SUTENT®);西地尼布(AZD2171,CAS288383-20-1);尼达尼布(BIBF1120,CAS 928326-83-4);氟列替布(Foretinib)(GSK1363089);替拉替尼(BAY57-9352,CAS 332012-40-5);阿帕替尼(YN968D1,CAS 811803-05-1);伊马替尼(GLEEVEC®);帕纳替尼(AP24534,CAS 943319-70-8);提瓦扎尼(tivozanib)(AV951,CAS 475108-18-0);瑞格拉非尼(BAY73-4506,CAS 755037-03-7);瓦他拉尼二盐酸盐(PTK787,CAS212141-51-0);布立尼布(BMS-540215,CAS 649735-46-6);凡德他尼(CAPRELSA®或AZD6474);二磷酸莫替沙尼(AMG706,CAS 857876-30-3,N-(2,3-二氢-3,3-二甲基-1H-吲哚-6-基)-2-[(4-吡啶基甲基)氨基]-3-吡啶甲酰胺,在PCT公开号WO 02/066470中描述);林夫尼(linfanib)(ABT869,CAS 796967-16-3);卡博替尼(XL184,CAS 849217-68-1);来他替尼(CAS111358-88-4);N-[5-[[[5-(1,1-二甲基乙基)-2-噁唑基]甲基]硫代]-2-噻唑基]-4-哌啶甲酰胺(BMS38703,CAS 345627-80-7);(3R,4R)-4-氨基-1-((4-((3-甲氧基苯基)氨基)吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-5-基)甲基)哌啶-3-醇(BMS690514);N-(3,4-二氯-2-氟苯基)-6-甲氧基-7-[[(3aα,5β,6aα)-八氢-2-甲基环戊[c]吡咯-5-基]甲氧基]-4-喹唑啉胺(XL647,CAS 781613-23-8);4-甲基-3-[[1-甲基-6-(3-吡啶基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-基]氨基]-N-[3-(三氟甲基)苯基]-苯甲酰胺(BHG712,CAS 940310-85-0);阿柏西普(EYLEA®)和内皮抑素(ENDOSTAR®)。

[1235] 可以在本文披露的组合中使用的示例性抗VEGF抗体包括例如,结合与由杂交瘤ATCC HB 10709产生的单克隆抗VEGF抗体A4.6.1相同的表位的单克隆抗体;根据Presta等人,(1997)Cancer Res.[癌症研究]57:4593-4599产生的重组人源化抗VEGF单克隆抗体。在一个实施例中,抗VEGF抗体是贝伐单抗(BV),也称为rhuMAb VEGF或AVASTIN®。它包含突变的人IgG1框架区和来自鼠抗hVEGF单克隆抗体A.4.6.1的抗原结合互补决定区,抗体阻

断人VEGF与其受体的结合。贝伐单抗和其他人源化抗VEGF抗体被进一步描述于2005年2月26日发布的美国专利6,884,879。另外的抗体包括如在PCT公开号WO 2005/012359,PCT公开号WO 2005/044853中所述的G6或B20系列抗体(例如,G6-31,B20-4.1),这些专利申请的内容通过引用特此并入本文。对于另外的抗体,参见美国专利号7,060,269、6,582,959、6,703,020、6,054,297;WO 98/45332、WO 96/30046、WO 94/10202、EP 0666868B1;美国专利申请公开号2006/009360、2005/0186208、2003/0206899、2003/0190317、2003/0203409、和2005/0112126;以及Popkov等人,Journal of Immunological Methods[免疫学方法杂志]288:149-164(2004)。其他抗体包括与人VEGF上的功能性表位结合的抗体,包含残基F17、M18、D19、Y21、Y25、Q89、191、K1 01、E1 03、和C104或可替代地包含残基F17、Y21、Q22、Y25、D63、183和Q89。

[1236] 示例性c-MET抑制剂

[1237] 在某些实施例中,将本文所述的抗CD73抗体分子与c-MET的抑制剂组合给予。在一些实施例中,组合用于治疗癌症,例如本文所述的癌症,例如实体瘤(例如非小细胞肺癌、胰腺癌、肝癌、甲状腺癌(例如变性甲状腺癌)、脑瘤(例如胶质母细胞瘤)、肾脏癌症(例如肾细胞癌)或头颈癌(例如头颈鳞状细胞癌)。在某些实施例中,癌症是肝癌,例如肝细胞癌(HCC)(例如,c-MET表达HCC)。

[1238] 在一些实施例中,c-MET抑制剂是化合物A17或美国专利号7,767,675和8,420,645中描述的化合物。

[1239] 在一些实施例中,c-MET抑制剂是JNJ-38877605。JNJ-38877605是口服可用的c-Met的小分子抑制剂。JNJ-38877605选择性结合c-MET,从而抑制c-MET磷酸化并破坏c-Met信号转导途径。

[1240] 在一些实施例中,c-Met抑制剂是AMG 208。AMG 208是c-MET的选择性小分子抑制剂。AMG 208抑制c-MET的配体依赖性和配体非依赖性活化,抑制其酪氨酸激酶活性,这可能导致过表达c-Met的肿瘤中的细胞生长抑制。

[1241] 在一些实施例中,c-Met抑制剂是AMG 337。AMG 337是c-Met的口服生物可利用的抑制剂。AMG 337选择性结合c-MET,从而破坏c-MET信号转导途径。

[1242] 在一些实施例中,c-Met抑制剂是LY2801653。LY2801653是口服可用的c-Met的小分子抑制剂。LY2801653选择性结合c-MET,从而抑制c-MET磷酸化作用并破坏c-Met信号转导途径。

[1243] 在一些实施例中,c-Met抑制剂是MSC2156119J。MSC2156119J是口服生物可利用的c-Met抑制剂。MSC2156119J选择性结合c-MET,抑制c-MET磷酸化作用并破坏c-Met介导的信号转导途径。

[1244] 在一些实施例中,c-MET抑制剂是卡玛替尼。卡玛替尼也称为INCB028060。卡玛替尼是口服生物可利用的c-MET抑制剂。卡玛替尼选择性结合c-Met,从而抑制c-Met磷酸化作用并破坏c-Met信号转导途径。

[1245] 在一些实施例中,c-MET抑制剂是克唑替尼(crizotinib)。克唑替尼也称为PF-02341066。克唑替尼是口服可用的受体酪氨酸激酶间变性淋巴瘤激酶(ALK)和c-Met/肝细胞生长因子受体(HGFR)的基于氨基吡啶的抑制剂。克唑替尼以ATP竞争方式结合并抑制ALK激酶和ALK融合蛋白。此外,克唑替尼抑制c-Met激酶,并破坏c-Met信号传导途径。总之,该

药剂抑制肿瘤细胞生长。

[1246] 在一些实施例中,c-MET抑制剂是戈伐替尼(golvatinib)。戈伐替尼是口服生物可利用的c-MET和VEGFR-2的双激酶抑制剂,该抑制剂具有潜在的抗肿瘤活性。戈伐替尼结合并抑制c-MET和VEGFR-2的活性,这可能抑制肿瘤细胞生长和过表达这些受体酪氨酸激酶的肿瘤细胞的存活。

[1247] 在一些实施例中,c-MET抑制剂是替万替尼。替万替尼也称为ARQ 197。替万替尼是口服生物可利用的c-MET小分子抑制剂。替万替尼结合c-MET蛋白并破坏c-Met信号转导途径,可在过表达c-MET蛋白或表达组成型活化的c-Met蛋白的肿瘤细胞中诱导细胞死亡。

[1248] 示例性IAP抑制剂

[1249] 在某些实施例中,将本文所述的抗CD73抗体分子与细胞凋亡蛋白抑制剂(IAP)的抑制剂组合给予。在一些实施例中,组合用于治疗癌症,例如本文所述的癌症,例如实体瘤(例如,结直肠癌(CRC)、肺癌(例如,非小细胞肺癌(NSCLC))、乳腺癌(例如三阴性乳腺癌(TNBC))、卵巢癌或胰腺癌),例如血液系统恶性肿瘤(例如多发性骨髓瘤)。

[1250] 在一些实施例中,IAP抑制剂是(S)-N-((S)-1-环己基-2-((S)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺(化合物A21)或在美国专利号8,552,003中披露的化合物。

[1251] 在一些实施例中,本文所述的组合包括IAP剂(S)-N-((S)-1-环己基-2-((S)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺(化合物A21)或美国专利号8,552,003中披露的化合物、以及免疫检查点分子的抑制剂(例如,CD73的抑制剂(例如,抗CD73抗体分子))。

[1252] 示例性EGFR抑制剂

[1253] 在某些实施例中,将本文所述的抗CD73抗体分子与表皮生长因子受体(EGFR)的抑制剂组合给予。在一些实施例中,组合用于治疗癌症,例如本文所述的癌症,例如实体瘤(例如,肺癌(例如,非小细胞肺癌)、胰腺癌、乳腺癌(例如三阴性乳腺癌(TNBC))或结肠癌)。在某些实施例中,癌症选自结直肠癌(例如,微卫星稳定结直肠癌(MSS CRC)、肺癌(例如,非小细胞肺癌)或乳腺癌(例如,三阴性肺癌(TNBC))。

[1254] 在一些实施例中,EGFR抑制剂是(R,E)-N-(7-氯-1-(1-(4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰)氮杂环庚烷-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺(化合物A40)或在PCT公开号WO 2013/184757中披露的化合物。

[1255] 在一些实施例中,本文所述的组合包括EGFR抑制剂(R,E)-N-(7-氯-1-(1-(4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰)氮杂环庚烷-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺(化合物A40)或在PCT公开号WO 2013/184757中披露的化合物、以及免疫检查点分子的抑制剂(例如,CD73的抑制剂(例如,抗CD73抗体分子))。

[1256] 在一些实施例中,将EGFR抑制剂(R,E)-N-(7-氯-1-(1-(4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰)氮杂环庚烷-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺(化合物A40)或在PCT公开号WO 2013/184757中披露的化合物与CD73的抑制剂(例如,抗CD73抗体分子)组合施用,以治疗结直肠癌(CRC)(例如,MSS-CRC)、肺癌(例如,非小细胞肺癌(NSCLC))或乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌(TNBC))。

[1257] 在一些实施例中,EGFR抑制剂选自厄洛替尼、吉非替尼、塞妥昔单抗、帕尼妥木单

抗、奈西妥木单抗、PF-00299804、尼莫妥珠单抗、或RO5083945之一。

[1258] 示例性mTOR抑制剂

[1259] 在某些实施例中,将本文所述的抗CD73抗体分子与雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的抑制剂组合给予。在一些实施例中,组合用于治疗癌症,例如,本文所述的癌症,例如,实体瘤(例如,前列腺癌、乳腺癌、脑癌、膀胱癌、胰腺癌、肾癌或肝癌、肺癌(例如,小细胞肺癌或非小细胞肺癌)、呼吸道/胸腔癌、肉瘤、骨癌、非小细胞肺癌、内分泌癌、星形细胞瘤、宫颈癌、神经系统癌、胃癌或黑色素瘤),例如血液系统恶性肿瘤(例如,白血病(例如,淋巴细胞性白血病),例如淋巴瘤或多发性骨髓瘤)。在某些实施例中,癌症选自结直肠癌(例如,微卫星稳定结直肠癌(MSS CRC)、肺癌(例如,非小细胞肺癌)或乳腺癌(例如,三阴性肺癌(TNBC))。

[1260] 在一些实施例中,mTOR抑制剂是8-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-3-甲基-1-(4-哌嗪-1-基-3-三氟甲基-苯基)-1,3-二氢-咪唑并[4,5-c]喹啉-2-酮(化合物A41)。

[1261] 在一些实施例中,mTOR抑制剂是依维莫司(也称为AFINITOR®;化合物A36)或在PCT公开号WO 2014/085318中披露的化合物。

[1262] 在一些实施例中,本文所述的组合包括mTOR抑制剂、依维莫司(化合物A36)或PCT公开号WO 2014/085318中披露的化合物、以及免疫检查点分子的抑制剂(例如,CD73的抑制剂(例如,抗CD73抗体分子))。

[1263] 在一些实施例中,将mTOR抑制剂、依维莫司(化合物A36)或PCT公开号WO 2014/085318中披露的化合物与CD73抑制剂(例如,抗CD73抗体分子)组合施用,以治疗结直肠癌、肺癌(例如,非小细胞肺癌(NSCLC))或乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌(NTBC))。

[1264] 在一些实施例中,mTOR抑制剂选自以下中的一种或多种:雷帕霉素、特罗莫司(temsirolimus,TORISEL®)AZD8055、BGT226、XL765、PF-4691502、GDC0980、SF1126、OSI-027、GSK1059615、KU-0063794、WYE-354、Palomid 529(P529)、PF-04691502、或PKI-587。地磷莫司(正式地称为deferolimus,(1R,2R,4S)-4-[(2R)-2[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-二羟基-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-2,3,10,14,20-五氧杂-11,36-二氧杂-4-氮杂三环[30.3.1.04,9]三十六碳-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧基环已基二甲基次膦酸酯,也称为AP23573和MK8669,并且描述于PCT公开号WO 03/064383中);依维莫司(AFINITOR®或RAD001);雷帕霉素(AY22989,SIROLIMUS®);simapimod(CAS登记号:164301-51-3);(5-{2,4-双[(3S)-3-甲基吗啉-4-基]吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-基}-2-甲氧基苯基)甲醇(AZD8055);2-氨基-8-[反式-4-(2-羟基乙氧基)环已基]-6-(6-甲氧基-3-吡啶基)-4-甲基-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮(PF04691502,CAS登记号:1013101-36-4);N2-[1,4-二氧代-4-[[4-(4-氧代-8-苯基-4H-1-苯并吡喃-2-基)吗啉-4-基]甲氧基]丁基]-L-精氨酰甘氨酰-L-α-天冬氨酰L-丝氨酸(SEQ ID NO:176)内盐(SF1126,CAS登记号:936487-67-1)或XL765(SAR245409)。

[1265] 其他示例性mTOR抑制剂包括但不限于特罗莫司(Torisel®);地磷莫司(1R,2R,4S)-4-[(2R)-2[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-二羟基-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-2,3,10,14,20-五氧杂-11,36-二氧杂-4-氮杂三环[30.3.1.$0^{4,9}$]三十六碳-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧基环

己基二甲基次膦酸酯,也称为AP23573和MK8669;依维莫司(RAD001);雷帕霉素(AY22989);塞马莫德(simapimod);(5-{2,4-双[(3S)-3-甲基吗啉-4-基]吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-基}-2-甲氧基苯基)甲醇(AZD8055);2-氨基-8-[反式-4-(2-羟基乙氧基)环己基]-6-(6-甲氧基-3-吡啶基)-4-甲基-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮(PF04691502);和N^2-[1,4-二氧代-4-[[4-(4-氧代-8-苯基-4H-1-苯并吡喃-2-基)吗啉-4-基]甲氧基]丁基]-L-精氨酰甘氨酰-L-α-天冬氨酰L-丝氨酸-(SEQ ID NO:176)内盐(SF1126);和XL765。

[1266] 示例性PI3K-γ,δ抑制剂

[1267] 在某些实施例中,将本文所述的抗CD73抗体分子与磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸3-激酶(PI3K),例如,磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸3-激酶γ和/或δ(PI3K-γ,δ)的抑制剂组合给予。在一些实施例中,组合用于治疗癌症,例如,本文所述癌症,例如,实体瘤(例如,前列腺癌、乳腺癌、脑癌、膀胱癌、胰腺癌、肾癌、实体瘤、肝癌、非小细胞肺癌、内分泌癌、卵巢癌、黑色素瘤、女性生殖系统癌、消化/胃肠道癌、多形性胶质母细胞瘤、头颈癌或结肠癌),例如血液系统恶性肿瘤(例如白血病(例如,淋巴细胞性白血病,例如慢性淋巴细胞性白血病(CLL)(例如,复发性CLL)),例如淋巴瘤(例如,非霍奇金淋巴瘤(例如,复发性滤泡性B细胞非霍奇金淋巴瘤(FL))或复发性小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)),或多发性骨髓瘤)。

[1268] 在一些实施例中,PI3K抑制剂是PI3K的δ和γ同种型的抑制剂。可以在组合中使用的示例性PI3K抑制剂描述于例如,WO 2010/036380、WO 2010/006086、WO 09/114870、WO 05/113556、GSK 2126458、GDC-0980、GDC-0941、Sanofi XL147、XL756、XL147、PF-46915032、BKM 120、CAL-101、CAL 263、SF1126、PX-886、以及双重PI3K抑制剂中。

[1269] 在一些实施例中,PI3K-γ,δ抑制剂是艾拉利司(idelalisib)(CAS登记号:870281-82-6)。艾拉利司也称为ZYDELIG®、GS-1101、CAL-101、或5-氟-3-苯基-2-[(1S)-1-(7H-嘌呤-6-基氨基)丙基]-4(3H)-喹唑啉酮。艾拉利司阻断P110δ(PI3K的δ同种型)。例如,在Wu等人,Journal of Hematology&Oncology[血液学和肿瘤学杂志](2013)6:36中披露了艾拉利司。

[1270] 在一些实施例中,PI3K-γ,δ抑制剂是8-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-3-甲基-1-(4-哌嗪-1-基-3-三氟甲基-苯基)-1,3-二氢-咪唑并[4,5-c]喹啉-2-酮(化合物A41)。

[1271] 在一些实施例中,PI3K-γ,δ抑制剂是布帕利司(化合物A6)或在PCT公开号WO 2007/084786中披露的化合物。

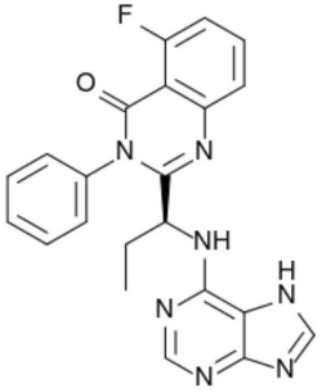
[1272] 在组合中可以使用的其他示例性PI3K-γ,δ抑制剂包括例如,匹替利司(pictilisib)(GDC-0941)、LY294002、匹雷利司(pilaralisib)(XL147)、PI-3065、PI-103、VS-5584(SB2343)、CZC24832、度维利司(duvelisib)(IPI-145、INK1197)、TG100-115、CAY10505、GSK1059615、PF-04691502、AS-605240、沃他利司(voxtalisib)(SAR245409、XL765)、IC-87114、奥帕利司(omipalisib)(GSK2126458、GSK458)、TG100713、吉托利司(PF-05212384、PKI-587)、PKI-402、XL147类似物、PIK-90、PIK-293、PIK-294、3-甲基腺嘌呤(3-MA)、AS-252424、AS-604850、或阿托利司(apitolisib)(GDC-0980、RG7422)。

[1273] 在一些实施例中,PI3K抑制剂是化合物A8或在PCT公开号WO 2010/029082中所述的化合物。

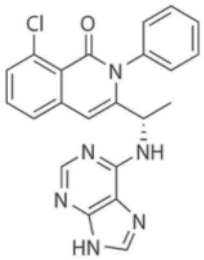
[1274] 在一些实施例中,PI3K抑制剂是泛-PI3K抑制剂,(4S,5R)-3-(2'-氨基-2-吗啉代-4'-(三氟甲基)-[4,5'-二嘧啶]-6-基)-4-(羟基甲基)-5-甲基噁唑烷-2-酮(化合物A13)或

在PCT公开号WO 2013/124826中披露的化合物。

[1275] 示例性PI3K-γ,-δ抑制剂包括,但不限于度维利司和艾拉利司。艾拉利司(也称为GS-1101或CAL-101;吉利德公司(Gilead))是阻断PI3K的δ同种型的小分子。艾拉利司(5-氟-3-苯基-2-[(1S)-1-(7H-嘌呤-6-基氨基)丙基]-4(3H)-喹唑啉酮)的结构如下所示。

[1276] 

[1277] 度维利司(也称为IPI-145;无限制药公司(Infinity Pharmaceuticals)和艾伯维公司(Abbvie))是阻断PI3K-δ、γ的小分子。度维利司(8-氯-2-苯基-3-[(1S)-1-(9H-嘌呤-6-基氨基)乙基]-1(2H)-异喹啉酮)的结构如下所示。

[1278] 

[1279] 在一个实施例中,抑制剂是双磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)和mTOR抑制剂,选自2-氨基-8-[反式-4-(2-羟基乙氧基)环己基]-6-(6-甲氧基-3-吡啶基)-4-甲基-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮(PF-04691502);N-[4-[[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]羰基]苯基]-N'-[4-(4,6-二-4-吗啉基-1,3,5-三嗪-2-基)苯基]脲(PF-05212384,PKI-587);艾皮托里昔布(apitolisib)(GDC-0980,RG7422);2,4-二氟-N-{2-(甲氧基)-5-[4-(4-哒嗪基)-6-喹啉基]-3-吡啶基}苯磺酰胺(GSK2126458);8-(6-甲氧基吡啶-3-基)-3-甲基-1-(4-(哌嗪-1-基)-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑并[4,5-c]喹啉-2(3H)-酮马来酸(NVP-BGT226);3-[4-(4-吗啉基吡啶并[3',2':4,5]呋喃并[3,2-d]嘧啶-2-基]苯酚(PI-103);5-(9-异丙基-8-甲基-2-吗啉代-9H-嘌呤-6-基)嘧啶-2-胺(VS-5584,SB2343);和N-[2-[(3,5-二甲氧基苯基)氨基]喹喔啉-3-基]-4-[(4-甲基-3-甲氧基苯基)羰基]氨基苯磺酰胺(XL765)。

[1280] 示例性JAK抑制剂

[1281] 在某些实施例中,将本文所述的抗CD73抗体分子与Janus激酶(JAK)的抑制剂组合给予。在一些实施例中,组合用于治疗癌症,例如本文所述的癌症,例如实体瘤(例如,结肠癌、前列腺癌、肺癌、乳腺癌或胰腺癌),例如血液系统恶性肿瘤(例如,白血病(例如,髓细胞性白血病或淋巴细胞性白血病),例如淋巴瘤(例如非霍奇金淋巴瘤)或多发性骨髓瘤。

[1282] 在一些实施例中,JAK抑制剂是2-氟-N-甲基-4-(7-(喹啉-6-基甲基)咪唑并[1,2-b][1,2,4]三嗪-2-基)苯甲酰胺(化合物A17),或其二盐酸盐,或在PCT公开号WO 2007/070514中披露的化合物。

[1283] 在一些实施例中,JAK抑制剂是磷酸鲁索替尼(也称为JAKAFI;化合物A18)或在PCT公开号WO 2007/070514中披露的化合物。

[1284] 示例性细胞疗法

[1285] 还可以将抗CD73抗体分子与细胞疗法组合,例如,嵌合抗原受体(CAR)疗法、T细胞疗法、自然杀伤(NK)细胞疗法、或树突细胞疗法。

[1286] 与CAR疗法的组合

[1287] 本文所述的抗CD73抗体分子可以与第二治疗剂(例如,包含嵌合抗原受体(CAR)的细胞)组合给予。该CAR可以包括i)细胞外抗原结合结构域、ii)跨膜结构域、和iii)细胞内信号传导结构域(可以包含第初级信号传导结构域和共刺激结构域中的一个或两个第一信号传导结构域和共刺激结构域)。该CAR可以进一步包含前导序列和/或铰链序列。在具体的实施例中,CAR构建体包含scFv结构域,其中scFv之前可以是任选的前导序列,并且之后是任选的铰链序列、跨膜区和细胞内信号传导结构域,例如,其中这些结构域与相同的阅读框架邻接并在其中形成单一的融合蛋白。

[1288] 在一些实施例中,CAR分子包含本文所述的CD19 CAR分子,例如,在US2015/0283178中所述的CD19 CAR分子(例如,CTL019)。在实施例中,CD19 CAR包含氨基酸,或具有US2015/0283178中所示的核苷酸序列(通过引用以其全文并入本文),或与其基本上相同的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、或95%序列同一性的序列)。

[1289] 在一个实施例中,结合CD19的CAR T细胞具有USAN名称TISAGENLECLEUCEL-T。CTL019通过T细胞的基因修饰来制备,该CTL019通过用在EF-1α启动子控制下含有CTL019转基因的自身失活、复制缺陷型慢病毒(LV)运载体的转导进行稳定插入来介导。CTL019可以是转基因阳性和阴性T细胞的混合物,其基于转基因阳性T细胞百分比递送至受试者。

[1290] 在一个实施例中,CD19 CAR包含在PCT公开WO2012/079000中作为SEQ ID NO:12提供的氨基酸序列。在实施例中,氨基酸序列是:

[1291] MALPVTALLLPLALLLHAARPdiqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvkll iyhtsrlhsgvpsrfsgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntlpytfgggtkleitggggsggggsggggse vklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirqpprkglewlgviwgsettyynsalksrltiikdnsksq vflkmnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdywgqgtsvtvsstttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaagg avhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggc elrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeaysei gmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr(SEQ ID NO:132),或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、或95%序列同一性的序列),具有或不具有用大写字母表示的信号肽序列。

[1292] 在一个实施例中,氨基酸序列是:

[1293] diqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvklliyhtsrlhsgvpsrfsgsgsg tdysltisnleqediatyfcqqgntlpytfgggtkleitggggsggggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtc tvsgvslpdygvswirqpprkglewlgviwgsettyynsalksrltiikdnsksqvflkmnslqtddtaiyycakh yyyggsyamdywgqgtsvtvsstttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplag tcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnq lynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglst

atkdtydalhmqalppr(SEQ ID NO:133),或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、或95%序列同一性的序列)。

[1294] 嵌合抗原受体(CAR)的抗原结合结构域

[1295] 抗原结合结构域可以是与抗原结合的任何结构域,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、重组抗体、人抗体、人源化抗体、及其功能片段,包括但不限于单结构域抗体(如骆驼来源的纳米抗体的重链可变结构域(VH)、轻链可变结构域(VL)、和可变结构域(VHH)),以及本领域已知的用作抗原结合结构域的可替代支架(如重组纤连蛋白结构域等)、T细胞受体(TCR)或其片段(例如,单链TCR)等。在一些情况下,抗原结合结构域衍生自其中最终将使用CAR的相同物种是有益的。例如,对于在人中使用,CAR的抗原结合结构域包含抗体或抗体片段的抗原结合结构域的人或人源化残基可以是有益的。

[1296] 在一些实施例中,CAR的抗原结合结构域是scFv抗体片段,该scFv抗体片段与衍生出它的scFv的鼠序列相比是人源化的。

[1297] 在一些实施例中,抗原结合结构域结合本文所述的肿瘤抗原。在实施例中,肿瘤抗原选自:CD19;CD123;CD22;CD30;CD171;CS-1(也称为CD2亚群1、CRACC、SLAMF7、CD319、以及19A24);C型凝集素样分子-1(CLL-1或CLECL1);CD33;表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII);神经节苷脂G2(GD2);神经节苷脂GD3(aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlcp(1-1)Cer);TNF受体家族成员B细胞成熟(BCMA);Tn抗原((Tn Ag)或(GalNAcα-Ser/Thr));前列腺特异性膜抗原(PSMA);受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1);Fms样酪氨酸激酶3(FLT3);肿瘤相关糖蛋白72(TAG72);CD38;CD44v6;癌胚抗原(CEA);上皮细胞粘附分子(EPCAM);B7H3(CD276);KIT(CD117);白细胞介素-13受体亚基α-2(IL-13Ra2或CD213A2);间皮素;白细胞介素11受体α(IL-11Ra);前列腺干细胞抗原(PSCA);蛋白酶丝氨酸21(睾蛋白或PRSS21);血管内皮生长因子受体2(VEGFR2);Lewis(Y)抗原;CD24;血小板衍生的生长因子受体β(PDGFR-β);阶段特异性胚胎抗原-4(SSEA-4);CD20;叶酸受体α;受体酪氨酸蛋白激酶ERBB2(Her2/neu);黏蛋白1,细胞表面相关的(MUC1);表皮生长因子受体(EGFR);神经细胞粘附分子(NCAM);前列腺酶;前列腺酸性磷酸酶(PAP);突变的延伸因子2(ELF2M);肝配蛋白B2;成纤维细胞活化蛋白α(FAP);胰岛素样生长因子1受体(IGF-I受体),碳酸酐酶IX(CAIX);蛋白酶体(Prosome,Macropain)亚基,β型,9(LMP2);糖蛋白100(gp100);由断裂点簇集区(BCR)和Abelson鼠白血病病毒致癌基因同源物1(Abl)组成的致癌基因融合蛋白(bcr-abl);酪氨酸酶;肝配蛋白A型受体2(EphA2);岩藻糖基GM1;唾液酸Lewis粘附分子(sLe);神经节苷脂GM3(aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlcp(1-1)Cer);转谷氨酰胺酶5(TGS5);高分子量-黑色素瘤相关抗原(HMWMAA);o-乙酰基-GD2神经节苷脂(OAcGD2);叶酸受体β;肿瘤内皮标记1(TEM1/CD248);肿瘤内皮标记7相关的(TEM7R);密封蛋白6(CLDN6);促甲状腺激素受体(TSHR);G蛋白偶联受体C类5组,成员D(GPRC5D);染色体X可读框61(CXORF61);CD97;CD179a;间变性淋巴瘤激酶(ALK);聚唾液酸;胎盘特异性1(PLAC1);globoH糖基神经酰胺(GloboH)的六糖部分;乳腺分化抗原(NY-BR-1);尿溶蛋白2(UPK2);甲型肝炎病毒细胞受体1(HAVCR1);肾上腺素受体β3(ADRB3);泛连接蛋白3(PANX3);G蛋白偶联受体20(GPR20);淋巴细胞抗原6复合物,基因座K 9(LY6K);嗅觉受体51E2(OR51E2);TCRγ替代性阅读框蛋白(TARP);肾母细胞瘤蛋白(WT1);癌/睾丸抗原1(NY-ESO-1);癌/睾丸抗原2(LAGE-1a);黑色素瘤相关抗原1(MAGE-A1);ETS易位变异基因6,位于

染色体12p上(ETV6-AML);精子蛋白17(SPA17);X抗原家族,成员1A(XAGE1);血管生成素结合细胞表面受体2(Tie 2);黑色素瘤癌睾丸抗原-1(MAD-CT-1);黑色素瘤癌睾丸抗原-2(MAD-CT-2);Fos相关的抗原1;肿瘤蛋白p53(p53);p53突变体;前列腺特异性蛋白(prostein);存活蛋白(surviving);端粒酶;前列腺癌肿瘤抗原-1(PCTA-1或半乳糖蛋白8)、T细胞1识别的黑色素瘤抗原(MelanA或MART1);大鼠肉瘤(Ras)突变体;人端粒酶逆转录酶(hTERT);肉瘤易位断点;黑色素瘤细胞凋亡抑制剂(ML-IAP);ERG(跨膜蛋白酶、丝氨酸2(TMPRSS2)ETS融合基因);N-乙酰葡糖胺基转移酶V(NA17);配对盒蛋白Pax-3(PAX3);雄激素受体;细胞周期蛋白B1;v-myc禽类骨髓细胞瘤病毒致癌基因神经母细胞瘤来源同源物(MYCN);Ras同源物家族成员C(RhoC);酪氨酸酶相关蛋白2(TRP-2);细胞色素P450 1B1(CYP1B1);CCCTC-结合因子(锌指蛋白)样(BORIS或印记位点调节因子样蛋白(Brother of the Regulator of Imprinted Sites)),T细胞3识别的鳞状细胞癌抗原(SART3);配对盒蛋白Pax-5(PAX5);前顶体蛋白结合蛋白sp32(OY-TES1);淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶(LCK);激酶锚蛋白4(AKAP-4);滑膜肉瘤,X断点2(SSX2);晚期糖基化终产物受体(RAGE-1);肾遍在蛋白1(RU1);肾遍在蛋白2(RU2);Legumain;人乳头状瘤病毒E6(HPV E6);人乳头状瘤病毒E7(HPV E7);肠羧酸酯酶;突变的热休克蛋白70-2(mut hsp70-2);CD79a;CD79b;CD72;白细胞相关的免疫球蛋白样受体1(LAIR1);IgA受体的Fc片段(FCAR或CD89);白细胞免疫球蛋白样受体亚家族A成员2(LILRA2);CD300分子样家族成员f(CD300LF);C型凝集素结构域家族12成员A(CLEC12A);骨髓基质细胞抗原2(BST2);含EGF样模块的粘蛋白样激素受体样2(EMR2);淋巴细胞抗原75(LY75);磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3);Fc受体样5(FCRL5);以及免疫球蛋白λ样多肽1(IGLL1)。

[1298] 在一个实施例中,CAR分子包含BCMACAR分子,例如,在US 2016/0046724或WO 2016/014565中所述的BCMACAR,这些申请通过引用并入本文中。在实施例中,BCMACAR包含氨基酸,或具有CAR分子的核苷酸序列,或根据US2016/0046724、或表1或16、WO 2016/014565(通过引用并入本文中)的SEQ ID NO:271或SEQ ID NO:273的抗原结合结构域,或与前述序列中任一项基本上同一的序列(例如,与前述BCMACAR序列中的任一项具有至少约85%、90%、或95%序列同一性)。在WO 2016/014565中详细说明了编码BCMACAR分子和抗原结合结构域(例如,包括根据卡巴特或乔西亚的一个、两个、三个VH CDR和一个、两个、三个VL CDR)的氨基酸和核苷酸序列。

[1299] 嵌合抗原受体(CAR)的跨膜结构域

[1300] 关于跨膜结构域,在各种实施例中,CAR可以设计为包含附接至CAR的细胞外结构域的跨膜结构域。

[1301] 跨膜结构域可以源自天然来源或来自重组来源。在来源是天然的情况下,该结构域可以源自任何膜结合或跨膜蛋白。在一个方面,每当CAR结合靶标时,跨膜结构域能够将信号传导至一个或多个细胞内结构域。跨膜结构域可以至少包括例如T细胞受体的α、β或ζ链、CD28、CD27、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154的一个或多个跨膜区。在一些实施例中,跨膜结构域可以至少包括以下中的一个或多个跨膜区:例如KIRDS2、OX40、CD2、CD27、LFA-1(CD11a、CD18)、ICOS(CD278)、4-1BB(CD137)、GITR、CD40、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD160、CD19、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA1、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、

VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、PAG/Cbp、NKG2D或NKG2C。

[1302] 在一些情况下,跨膜结构域可以通过铰链(例如来自人蛋白质的铰链)附接到CAR的细胞外区域(例如CAR的抗原结合结构域)。例如,在一个实施例中,铰链可以是人Ig(免疫球蛋白)铰链(例如IgG4铰链、IgD铰链)、GS接头(例如本文所述的GS接头)、KIR2DS2铰链或CD8a铰链。

[1303] 嵌合抗原受体(CAR)的细胞内信号传导结构域

[1304] CAR的细胞质结构域或区包含细胞内信号传导结构域。细胞内信号传导结构域通常负责活化已引入CAR的免疫细胞的至少一种正常效应子功能。

[1305] 用于在CAR中使用的细胞内信号传导结构域的实例包括T细胞受体(TCR)和共受体的细胞质序列(它们协同作用以在抗原受体接合后启动信号转导)以及这些序列的任何衍生物或变体和任何具有相同功能能力的重组序列。

[1306] 初级信号传导结构域以刺激方式或以抑制方式调控TCR复合物的初级活化。以刺激方式起作用的初级细胞内信号传导结构域可以含有被称为基于免疫受体酪氨酸的活化基序或ITAM的信号传导基序。

[1307] 含有初级胞内信号传导结构域的ITAM的实例包括以下的那些:CD3ζ、常见FcRγ(FCER1G)、FcγRIIa、FcRβ(FcεR1b)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD79a、CD79b、DAP10、和DAP12。在一个实施例中,CAR包含细胞内信号传导结构域,例如,CD3-ζ的第一信号传导结构域。

[1308] CAR的细胞内信号传导结构域可以包含CD3-ζ信号传导结构域本身,或者它可以与在本发明的CAR的背景中使用的任何其他所需细胞内信号传导结构域组合。例如,CAR的细胞内信号传导结构域可以包含CD3ζ链部分和共刺激信号传导结构域。共刺激信号传导结构域是指CAR的包含共刺激分子的细胞内结构域的部分。共刺激分子是除了抗原受体或其配体之外的细胞表面分子,是淋巴细胞对抗原的有效应答所必需的。此类分子的实例包括CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3和结合CD83的配体等。例如,已证明CD27共刺激可增强体外人CART细胞的扩增、效应子功能、和存活,并增加体内人T细胞持久性和抗肿瘤活性(Song等人Blood.[血液]2012;119(3):696-706)。此类共刺激分子的其他实例包括CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD160、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、NKG2D、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、和CD19a。

[1309] 免疫效应细胞(例如T细胞)的活化和扩增

[1310] 免疫效应细胞(如T细胞)通常可以使用如描述于例如以下中的方法进行活化和扩

增:美国专利6,352,694;6,534,055;6,905,680;6,692,964;5,858,358;6,887,466;6,905,681;7,144,575;7,067,318;7,172,869;7,232,566;7,175,843;5,883,223;6,905,874;6,797,514;6,867,041;和美国专利申请公开号2006/0121005,通过引用并入本文中。

[1311] 免疫效应细胞的实例包括T细胞,例如α/βT细胞和γ/δT细胞、B细胞、天然杀伤(NK)细胞、天然杀伤T(NKT)细胞、肥大细胞、和骨髓衍生的吞噬细胞。

[1312] 制备CAR表达细胞的方法描述于例如,US2016/0185861中,通过引用并入本文中。

[1313] 示例性癌症疫苗

[1314] 可以将抗CD73抗体分子与以下项组合:免疫原性剂(例如,癌细胞)、经纯化的肿瘤抗原(包括重组蛋白质、肽、和碳水化合物分子)、细胞和用编码免疫刺激的细胞因子的基因转染的细胞(He等人,(2004)J.Immunol.[免疫学杂志]173:4919-28)。可以使用的肿瘤疫苗的非限制性实例包括黑色素瘤抗原的肽,例如gp100、MAGE抗原、Trp-2、MART1和/或酪氨酸酶的肽、转染以表达细胞因子GM-CSF的肿瘤细胞、基于DNA的疫苗、基于RNA的疫苗、和基于病毒转导的疫苗。癌症疫苗可以是预防性或治疗性的。

[1315] 可以将CD73阻断物与肿瘤中表达的重组蛋白和/或肽的集合结合使用,以便于产生对这些蛋白的免疫应答。

[1316] 其他肿瘤疫苗可以包括来自与人癌症有关的以下病毒的蛋白质,如人乳头瘤病毒(HPV)、肝炎病毒(HBV和HCV)、卡波西氏疱疹肉瘤病毒(KHSV)和EB病毒(Epstein Barr virus,EBV)。可以与CD73阻断物结合使用的另一种形式的肿瘤特异性抗原是从肿瘤组织本身分离的经纯化的热休克蛋白(HSP)。这些热休克蛋白含有来自肿瘤细胞的蛋白质片段,并且这些HSP在递送至抗原递送细胞时具有高效率,可引发肿瘤免疫(Suot,R和Srivastava,P(1995)Science[科学]269:1585-1588;Tamura,Y.等人,(1997)Science[科学]278:117-120)。

[1317] 树突细胞(DC)是有效的抗原呈递细胞,可用于引发抗原特异性应答。DC可以离体产生并加载各种蛋白质和肽抗原以及肿瘤细胞提取物(Nestle,F.等人,(1998)Nature Medicine[自然医学]4:328-332)。DC也可以通过遗传手段转导以表达这些肿瘤抗原。出于免疫目的,DC也已经直接与肿瘤细胞融合(Kugler,A.等人,(2000)Nature Medicine[自然医学]6:332-336)。作为疫苗接种的方法,DC免疫可以与CD73阻断物有效组合以活化更有效的抗肿瘤反应。

[1318] 示例性溶瘤病毒

[1319] 可以将抗CD73抗体分子与溶瘤病毒组合给予。在实施例中,溶瘤病毒能够选择性地复制并引发癌细胞的死亡或减缓其生长。在一些情况下,溶瘤病毒对非癌细胞没有影响或影响很小。在一些实施例中,将组合用于治疗癌症,例如,本文所述的癌症。在某些实施例中,癌症是脑癌,如胶质母细胞瘤(GBM)。溶瘤病毒包括但不限于溶瘤腺病毒、溶瘤性单纯疱疹病毒、溶瘤性逆转录病毒、溶瘤性细小病毒、溶瘤性痘苗病毒、溶瘤性辛奈病毒(oncolytic Sindbis virus)、溶瘤性流感病毒、或溶瘤性RNA病毒(例如,溶瘤性呼肠孤病毒、溶瘤性新城疫病毒(NDV)、溶瘤性麻疹病毒、或溶瘤性水疱性口炎病毒(VSV))。

[1320] 示例性溶瘤病毒包括但不限于:

[1321] B组溶瘤腺病毒(ColoAd1)(PsiOxus Therapeutics公司)(参见例如,临床试验标识:NCT02053220);

[1322] ONCOS-102(以前称为CGTG-102),其是包含粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)(昂克斯治疗公司(Oncos Therapeutics))的腺病毒(参见例如,临床试验标识符:NCT01598129);

[1323] VCN-01,其是编码人PH20透明质酸酶的遗传修饰的溶瘤人腺病毒(VCN Biosciences,S.L.公司)(参见,例如,临床试验标识符:NCT02045602和NCT02045589);

[1324] 条件复制型腺病毒ICOVIR-5,其是经修饰以在癌细胞中用失调的视网膜母细胞瘤/E2F途径选择性复制的源自野生型人腺病毒血清型5(Had5)的病毒,(Institut Català d'Oncologia公司)(参见例如,临床试验标识:NCT01864759);

[1325] Celyvir,其包含用ICOVIR5感染的骨髓来源的自体间充质干细胞(MSC),该ICOVIR5是溶瘤腺病毒(西班牙马德里的小耶稣大学儿童医院(Hospital Infantil Universitario Niño Jesús,Madrid,Spain)/Ramon Alemany)(参见例如,临床试验标识:NCT01844661);

[1326] CG0070,其是条件性复制的溶瘤血清型5腺病毒(Ad5),其中人E2F-1启动子驱动必需E1a病毒基因的表达,从而限制病毒复制和对Rb途径缺陷型肿瘤细胞的细胞毒性(Cold Genesys公司)(参见例如,临床试验标识:NCT02143804);或

[1327] DNX-2401(以前命名为δ-24-RGD),其是腺病毒,该腺病毒经工程化以在视网膜母细胞瘤(Rb)途径缺陷型细胞中选择性地复制并感染更高效地表达某些RGD结合整联蛋白的细胞(纳瓦拉大学医院(Clinica Universidad de Navarra),纳瓦拉大学(Universidad de Navarra)/德那翠丝有限公司(DNAtrix,Inc.))(参见例如,临床试验标识符:NCT01956734)。

[1328] 在一些实施例中,通过注射(例如,皮下、动脉内、静脉内、肌内、鞘内、或腹膜内注射)施用本文描述的溶瘤病毒。在实施例中,将本文所述的溶瘤病毒通过肿瘤内、透皮、经粘膜、口服、鼻内、或经由肺部施用。

[1329] 另外的示例性癌症疗法

[1330] 抗CD73抗体分子(单独地或与其他刺激剂组合)和癌症护理的标准物的示例性组合包括至少以下。在某些实施例中,将抗CD73抗体分子(例如,本文所述的抗CD73抗体分子)与癌症护理的化学治疗剂的标准物组合使用,这些化学治疗剂包括但不限于阿那曲唑(Arimidex®)、比卡鲁胺(Casodex®)、硫酸博莱霉素(Blenoxane®)、白消安(Myleran®)、白消安注射液(Busulfex®)、卡培他滨(Xeloda®)、N4-戊氧基羰基-5-脱氧-5--氟胞苷、卡铂(Paraplatin®)、卡莫司汀(BiCNU®)、苯丁酸氮芥(Leukeran®)、顺铂(Platinol®)、克拉屈滨(Leustatin®)、环磷酰胺(Cytoxan®或Neosar®)、阿糖胞苷、胞嘧啶阿拉伯糖苷(Cytosar-U®)、阿糖胞苷脂质体注射液(DepoCyt®)、达卡巴嗪(DTIC-Dome®)、更生霉素(放线菌素D、Cosmegan)、盐酸柔红霉素(Cerubidine®)、柠檬酸道诺霉素脂质体注射液(DaunoXome®)、地塞米松、多西他赛(Taxotere®)、盐酸阿霉素(Adriamycin®、Rubex®)、依托泊苷

(Vepesid®)、磷酸氟达拉滨(Fludara®)、5-氟尿嘧啶(Adrucil®、Efudex®)、氟他米特(Eulexin®)、替扎他滨、吉西他滨(二氟脱氧胞二磷胆碱)、羟基脲(Hydrea®)、伊达比星(Idamycin®)、异环磷酰胺(IFEX®)、伊立替康(Camptosar®)、L-天冬酰胺酶(ELSPAR®)、亚叶酸钙、美法仑(Alkeran®)、6-巯基嘌呤(Purinethol®)、氨甲蝶呤(Folex®)、米托蒽醌(Novantrone®)、吉妥单抗(mylotarg)、紫杉醇(Taxol®)、夫尼斯(phoenix)(钇90/MX-DTPA)、喷司他丁(pentostatin)、具有卡莫司汀灌输的聚苯丙生20(Gliadel®)、柠檬酸他莫西芬(Nolvadex®)、替尼泊苷(Vumon®)、6-硫鸟嘌呤、噻替派、替拉扎明(tirapazamine)(Tirazone®)、注射用盐酸拓扑替康(Hycamptin®)、长春花碱(Velban®)、长春新碱(Oncovin®)、长春瑞滨(Navelbine®)、依鲁替尼、艾拉利司(idelalisib)、和本妥昔单抗。

[1331] 示例性的烷化剂包括但不限于氮芥、乙烯亚胺衍生物、烷基磺酸盐、亚硝基脲和三氮烯):乌拉莫司汀(Aminouracil Mustard®、Chlorethaminacil®、Demethyldopan®、Desmethyldopan®、

[1332] Haemanthamine®、Nordopan®、Uracil nitrogen mustard®、Uracillost®、Uracilmostaza®、Uramustin®、Uramustine®)、氮芥(chlormethine)(Mustargen®)、环磷酰胺(Cytoxan®、Neosar®、Clafen®、Endoxan®、Procytox®、Revimmune™)、异环磷酰胺(Mitoxana®)、美法仑(Alkeran®)、苯丁酸氮芥(Leukeran®)、哌泊溴烷(Amedel®、Vercyte®)、三乙烯蜜胺(Hemel®、Hexalen®、Hexastat®)、三乙烯硫代磷酰胺、替莫唑胺(Temodar®)、噻替派(Thioplex®)、白消安(Busilvex®、Myleran®)、卡莫司汀(BiCNU®)、洛莫司汀(CeeNU®)、链脲佐菌素(Zanosar®)和达卡巴嗪(DTIC-Dome®)。另外的示例性烷化剂包括而不限于奥沙利铂(Eloxatin®);替莫唑胺(Temodar®和Temodal®);更生霉素(也称为放线菌素-D、Cosmegen®);美法仑(也称为L-PAM、L-溶肉瘤素和苯丙氨酸氮芥、Alkeran®);六甲蜜胺(也称为六甲基三聚氰胺(HMM)、Hexalen®);卡莫司汀(BiCNU®);苯达莫司汀(Treanda®);白消安(Busulfex®和Myleran®);卡铂(Paraplatin®);洛莫司汀(也称为CCNU、CeeNU®);顺铂(也称为CDDP、Platinol®和Platinol®-AQ);苯丁酸氮芥(Leukeran®);环磷酰胺(Cytoxan®和Neosar®);达卡巴嗪(也称为DTIC、DIC和咪唑甲酰胺、DTIC-Dome®);六甲蜜胺(也称为六甲基三聚氰胺(HMM)、

Hexalen®);异环磷酰胺(Ifex®);Prednumustine;丙卡巴肼(Matulane®);二氯甲基二乙胺(也称为氮芥、盐酸氮芥和盐酸二氯甲基二乙胺、Mustargen®);链脲佐菌素(Zanosar®);噻替派(也称为硫代磷酰胺、TESPA和TSPA、Thioplex®);环磷酰胺(Endoxan®、Cytoxan®、Neosar®、Procytox®、Revimmune®);和盐酸苯达莫司汀(Treanda®)。

[1333] 示例性蒽环霉素包括例如,多柔比星(Adriamycin®和Rubex®);博莱霉素(lenoxane®);柔红霉素(盐酸柔红霉素、道诺霉素、和盐酸红比霉素,Cerubidine®);柔红霉素脂质体(柔红霉素柠檬酸盐脂质体,DaunoXome®);米托蒽醌(DHAD,Novantrone®);表柔比星(Ellence™);伊达比星(Idamycin®,Idamycin PFS®);丝裂霉素C(Mutamycin®);格尔德霉素;除莠霉素;近灰霉素(ravidomycin);和去乙酰近灰霉素(desacetylravidomycin)。可以与抗CD73抗体分子组合使用的示例性长春花碱,包括但不限于酒石酸长春瑞滨(Navelbine®)、长春新碱(Oncovin®)、和长春地辛(Eldisine®));长春碱(也称为硫酸长春碱、长春花碱和VLB,Alkaban-AQ®和Velban®);和长春瑞滨(Navelbine®)。

[1334] 可以与抗CD73抗体分子组合使用的示例性蛋白酶体抑制剂包括,但不限于硼替佐米(Velcade®);卡非佐米(PX-171-007,(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基环氧乙烷-2-基)-1-氧代戊-2-基)氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-吗啉代乙酰氨基)-4-苯基丁酰氨基)-戊酰胺);马瑞佐米(marizomib)(NPI-0052);艾沙佐米柠檬酸盐(MLN-9708);德兰佐米(delanzomib)(CEP-18770);和O-甲基-N-[(2-甲基-5-噻唑基)羰基]-L-丝氨酰-O-甲基-N-[(1S)-2-[(2R)-2-甲基-2-环氧乙烷基]-2-氧代-1-(苯基甲基)乙基]-L-丝氨酰胺(ONX-0912)。

[1335] 在一些实施例中,抗CD73抗体分子(例如,本文所述的抗CD73抗体分子)与酪氨酸激酶抑制剂(例如,受体酪氨酸激酶(RTK)抑制剂)组合使用。示例性酪氨酸激酶抑制剂包括,但不限于表皮生长因子(EGF)途径抑制剂(例如,表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂)、血管内皮生长因子(VEGF)途径抑制剂(例如,血管内皮生长因子受体(VEGFR)抑制剂(例如,VEGFR-1抑制剂、VEGFR-2抑制剂、VEGFR-3抑制剂))、血小板衍生生长因子(PDGF)途径抑制剂(例如,血小板衍生生长因子受体(PDGFR)抑制剂(例如,PDGFR-β抑制剂))、RAF-1抑制剂、KIT抑制剂和RET抑制剂。在一些实施例中,与刺猬抑制剂组合使用的抗癌剂选自下组,该组由以下组成:阿西替尼(AG013736)、伯舒替尼(SKI-606)、西地尼布(RECENTIN™、AZD2171)、达沙替尼(SPRYCEL®、BMS-354825)、埃罗替尼(TARCEVA®)、吉非替尼(IRESSA®)、伊马替尼(Gleevec®、CGP57148B、STI-571)、拉帕替尼(TYKERB®、TYVERB®)、来他替尼(CEP-701)、来那替尼(HKI-272)、尼罗替尼(TASIGNA®)、司马沙尼(semaxanib)(司马西尼(semaxinib)、SU5416)、舒尼替尼(

SUTENT®、SU11248)、toceranib(PALLADIA®)、凡德他尼(ZACTIMA®、ZD6474)、瓦他拉尼(PTK787、PTK/ZK)、曲妥珠单抗(HERCEPTIN®)、贝伐单抗(AVASTIN®)、利妥昔单抗(RITUXAN®)、西妥昔单抗(ERBITUX®)、帕尼单抗(VECTIBIX®)、兰尼单抗(Lucentis®)、尼罗替尼(TASIGNA®)、索拉非尼(NEXAVAR®)、阿仑单抗(CAMPATH®)、吉妥单抗奥佐米星(MYLOTARG®)、ENMD-2076、PCI-32765、AC220、BIBW 2992(TOVOK™)、SGX523、PF-04217903、PF-02341066、PF-299804、BMS-777607、ABT-869、MP470、BIBF 1120(VARGATEF®)、AP24534、JNJ-26483327、MGCD265、DCC-2036、BMS-690154、CEP-11981、提瓦扎尼(AV-951)、OSI-930、MM-121、XL-184、XL-647、XL228、AEE788、AG-490、AST-6、BMS-599626、CUDC-101、PD153035、培立替尼(EKB-569)、凡德他尼(zactima)、WZ3146、WZ4002、WZ8040、ABT-869(linifanib)、AEE788、AP24534(帕纳替尼)、AV-951(提瓦扎尼)、阿西替尼、BAY 73-4506(瑞格拉非尼)、丙氨酸布立尼布(BMS-582664)、布立尼布(BMS-540215)、西地尼布(AZD2171)、CP 673451、CYC116、E7080、Ki8751、马赛替尼(AB1010)、MGCD-265、二磷酸莫替沙尼(AMG-706)、MP-470、OSI-930、帕唑帕尼盐酸盐、PD173074、甲苯磺酸索拉非尼(Bay 43-9006)、SU 5402、TSU-68(SU6668)、瓦他拉尼、XL880(GSK1363089、EXEL-2880)。所选的酪氨酸激酶抑制剂是选自舒尼替尼、厄洛替尼、吉非替尼或索拉非尼。

[1336] 放射疗法可以通过若干方法之一或方法的组合来给予,包括但不限于外部束疗法、内部放射疗法、植入物放射、立体定向放射外科手术、全身放射疗法、放射疗法和永久或临时间质近距离放射疗法。术语“近距离放射疗法”是指通过将空间限制的放射性物质插入体内在肿瘤或其他增殖性组织疾病部位处或附近而递送的放射疗法。术语意在但不限于包括暴露于放射性同位素(例如,At-211、I-131、I-125、Y-90、Re-186、Re-188、Sm-153、Bi-212、P-32、和Lu的放射性同位素)。适合用作本发明细胞调节剂的辐射源包括固体和液体。通过非限制性实例,辐射源可以是放射性核素,例如作为固体源的I-125、I-131、Yb-169、Ir-192,作为固体源的I-125,或其他发射光子、β粒子、γ辐射或其他治疗射线的放射性核素。放射性材料也可以是由一种或多种放射性核素的任何溶液(例如I-125或I-131的溶液)制成的流体,或可以使用含有小颗粒的固体放射性核素(如Au-198,Y-90)的合适流体的浆液来生产放射性流体。

[1337] CD73阻断物也可以与化学治疗方案有效组合。在这些情况下,可以减少所给予的化学治疗剂的剂量。

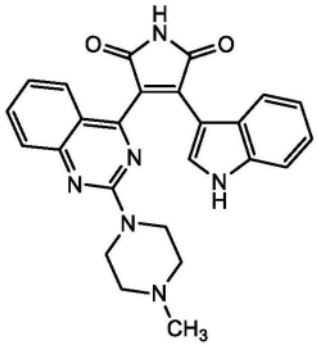
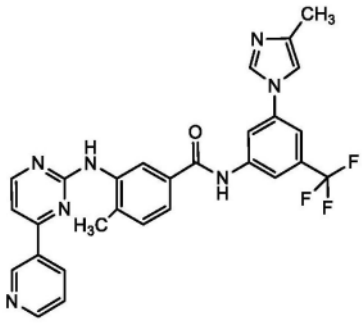
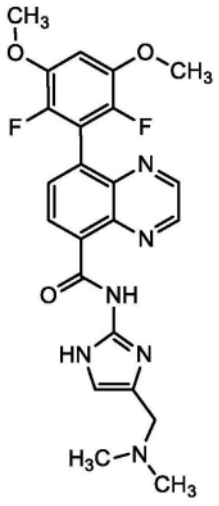
[1338] 可以与抗CD73抗体分子组合给予的示例性细胞毒性剂包括抗微管剂、拓扑异构酶抑制剂、抗代谢物、有丝分裂抑制剂、烷化剂、蒽环类药物、长春花生物碱、嵌入剂、能够干扰信号转导途径的试剂、促进细胞凋亡的试剂、蛋白酶体抑制剂和辐射(例如局部或全身辐射)。

[1339] 在某些实施例中,本文披露的任何组合,可替代地或组合地,进一步包括表18中描述的一种或多种药剂。

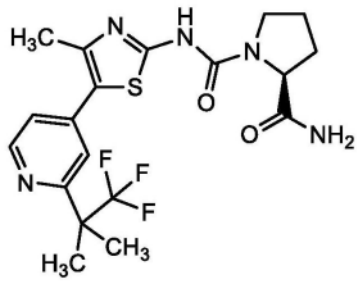
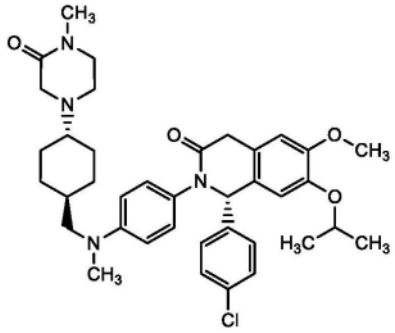
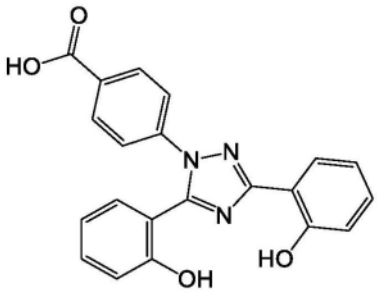
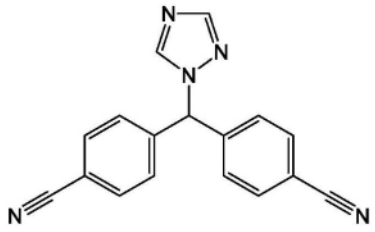
[1340] 表18.可以将所选治疗剂与抗CD73抗体分子组合给予,例如,作为单一药剂或与本文所述的其他免疫调节剂组合。该表中列出的每个出版物通过引用以其全文并入本文,包

括其中的所有结构式。

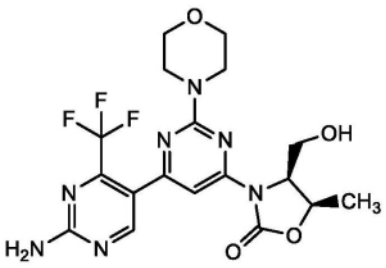
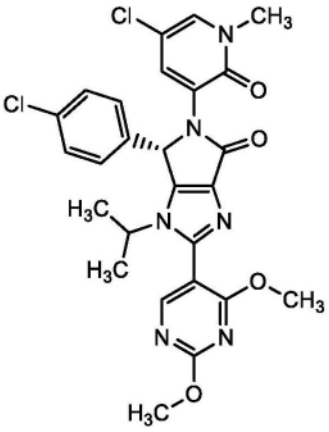
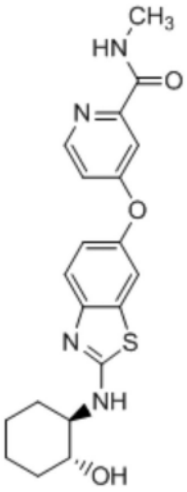
[1341]

化合物名称	通用名 商品名	化合物结构	专利/专利申请出版物
A1	索曲滔林		EP 1682103 US 2007/142401 WO 2005/039549
A2	尼罗替尼盐酸一水合物 TASIGNA®	 HCl • H_2O	WO 2004/005281 US 7,169,791
A7			WO 2009/141386 US 2010/0105667

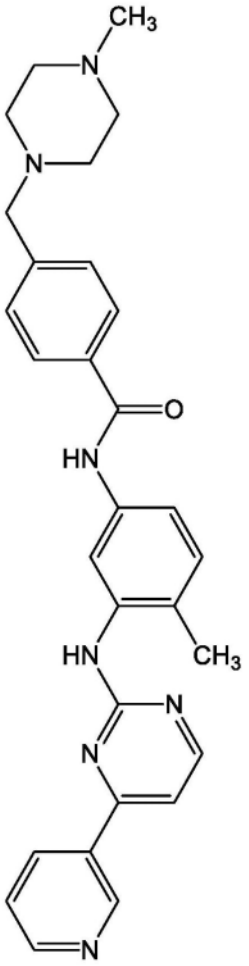
[1342]

A8			WO 2010/029082
A10			WO 2011/076786
A11	地拉罗司 EXJADE®		WO 1997/049395
A12	来曲唑 FEMARA®		US 4,978,672

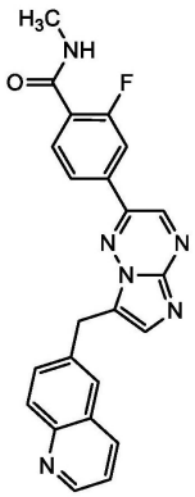
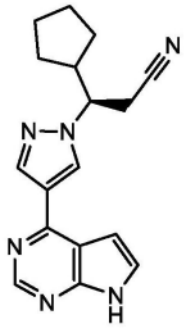
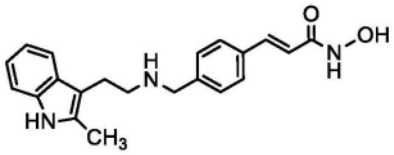
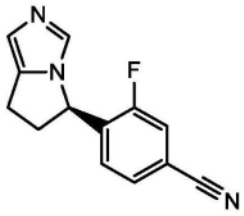
[1343]

A13			WO 2013/124826 US 2013/0225574
A14			WO 2013/111105
A15			WO 2005/073224

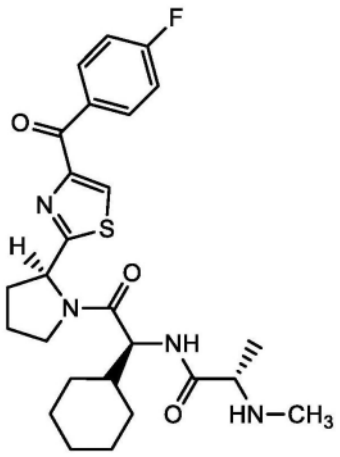
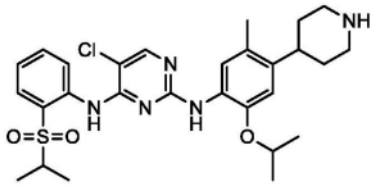
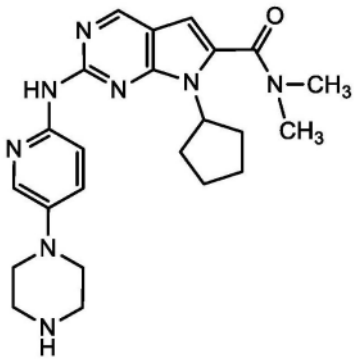
[1344]

A16	甲磺酸伊马替尼 GLEEVEC®	 甲磺酸盐	WO 1999/003854
A17			EP 2099447 US 7,767,675 US 8,420,645

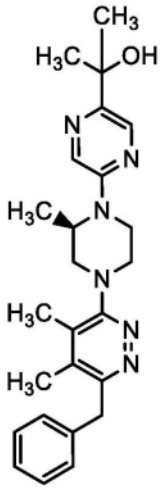
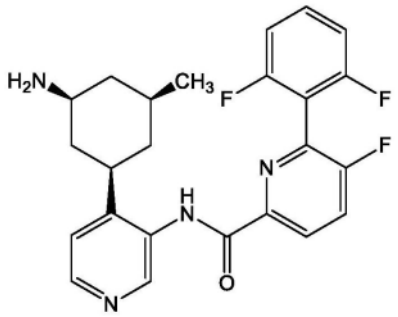
[1345]

		 二盐酸盐	
A18	磷酸鲁索替尼 JAKAFI®	 H_3PO_4	WO 2007/070514 EP 2474545 US 7,598,257 WO 2014/018632
A19	帕比司他		WO 2014/072493 WO 2002/022577 EP 1870399
A20	奥斯洛左斯特		WO 2007/024945

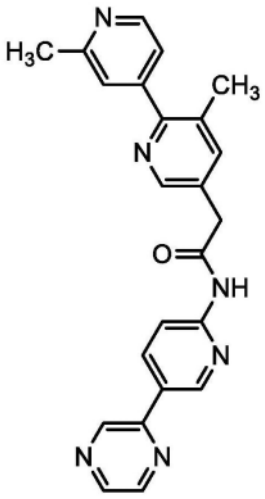
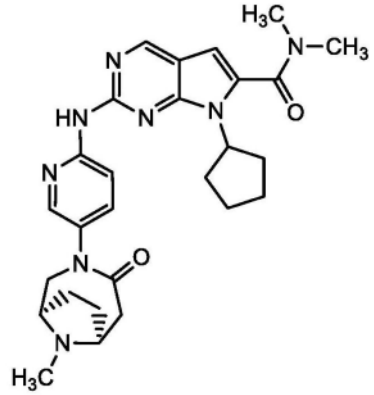
[1346]

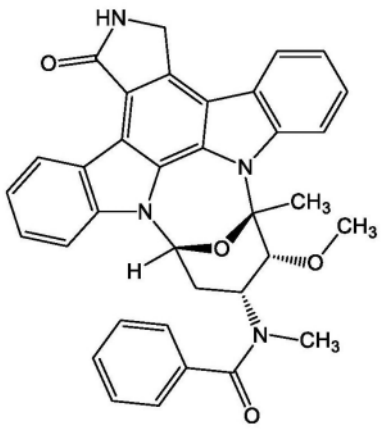
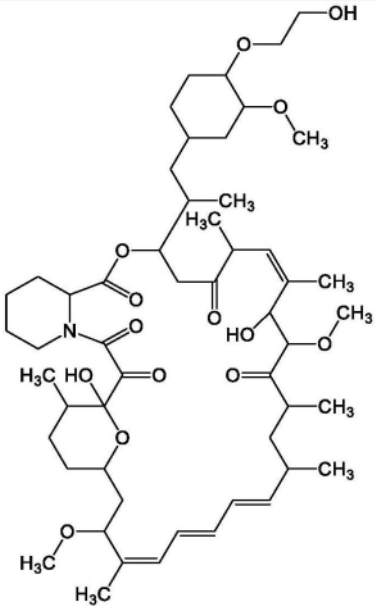
A21			WO 2008/016893 EP 2051990 US 8,546,336
A23	色瑞替尼（ceritinib） ZYKADIA™		WO 2008/073687 US 8,039,479
A24			US 8,415,355 US 8,685,980

[1347]

A25			WO 2010/007120
A26		针对 PRLR 的人单克隆抗体	US 7,867,493
A27			WO 2010/026124 EP 2344474 US 2010/0056576 WO2008/106692

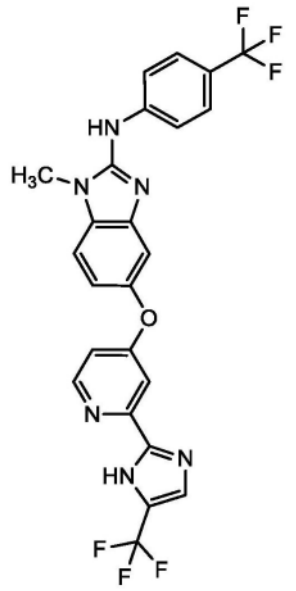
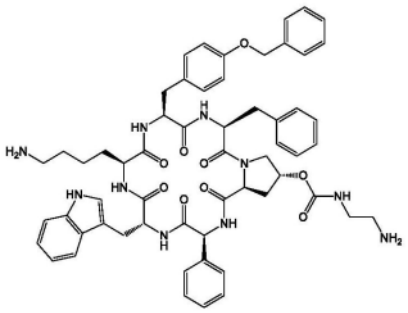
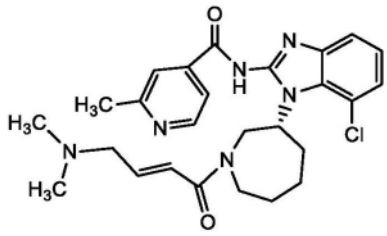
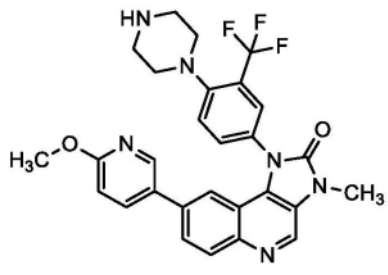
[1348]

A28			WO 2010/101849
A30			WO 2011/101409
A31		针对 HER3 的人单克隆抗体	WO 2012/022814 EP 2606070 US 8,735,551
A32		抗体药物缀合物（ADC）	WO 2014/160160 Ab：12425（参见表 1，段落[00191]） 接头：SMCC（参见段落[00117]） 有效负载：DM1（参见段落[00111]）

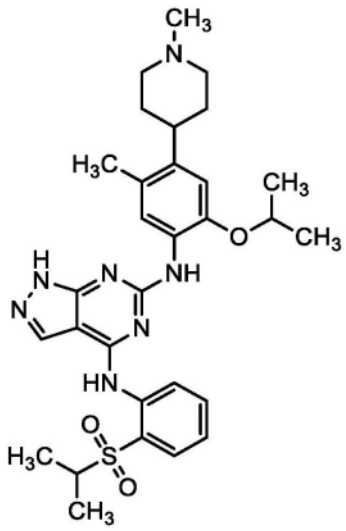
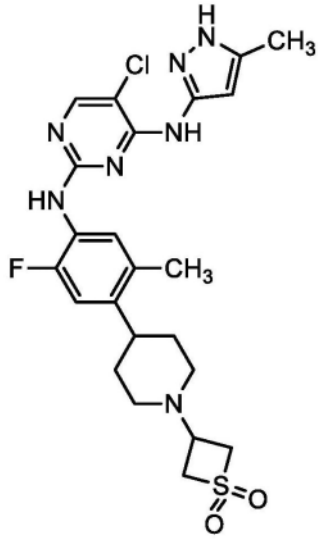
			还参见权利要求 29
A33		单克隆抗体或 Fab 至 M-CSF	WO 2004/045532
A35	米哚妥林		WO 2003/037347 EP 1441737 US 2012/252785
A36	依维莫司 AFINITOR®		WO 2014/085318

[1349]

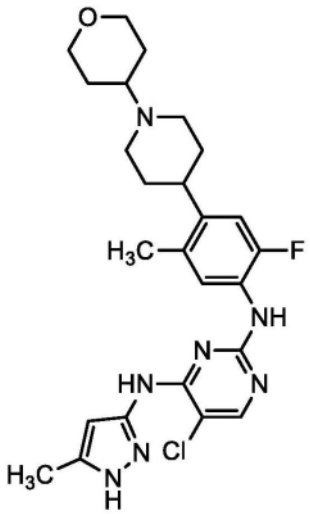
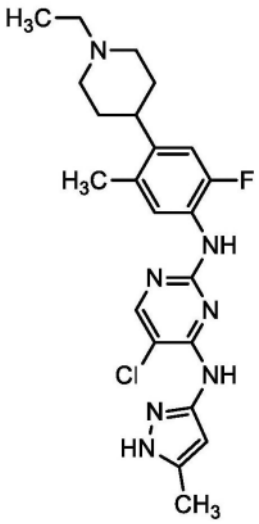
[1350]

A37			WO 2007/030377 US 7,482,367
A38	天门冬氨酸帕瑞肽 SIGNIFOR®		WO2002/010192 US 7,473,761
A40			WO 2013/184757
A41			WO 2006/122806

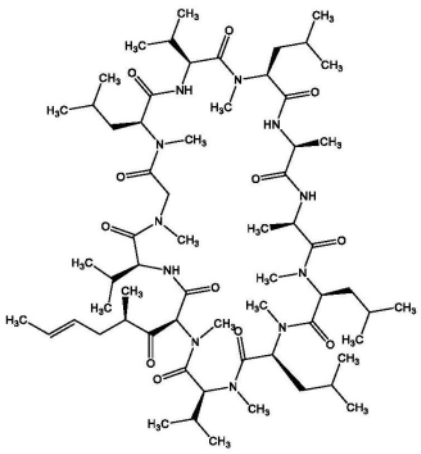
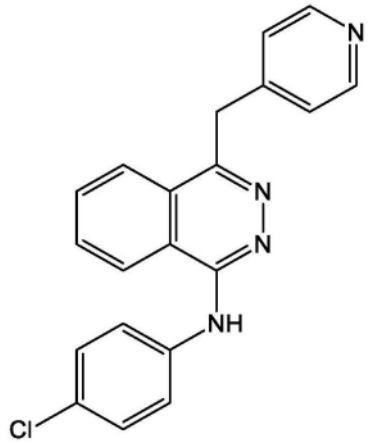
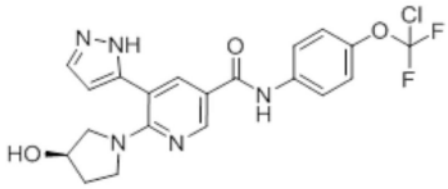
[1351]

A42			WO 2008/073687 US 8,372,858
A43			WO 2010/002655 US 8,519,129

[1352]

A44			WO 2010/002655 US 8,519,129
A45			WO 2010/002655

[1353]

A46	戊司泊达 AMDRAY™		EP 296122
A47	琥珀酸瓦他拉尼	 琥珀酸盐	WO 98/35958
A48		IDH 抑制剂	WO 2014/141104
A49		BCR-ABL 抑制剂 	WO 2013/171639 WO 2013/171640 WO 2013/171641 WO 2013/171642
A50		cRAF 抑制剂	WO2014/151616
A51		ERK1/2 ATP 竞争性抑制剂	WO2015/066188

[1354] 在一些实施例中,另外的治疗剂选自以下的一种或多种:1)蛋白激酶C(PKC)抑制剂;2)热休克蛋白90(HSP90)抑制剂;3)磷酸肌醇3-激酶(PI3K)和/或雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的抑制剂;4)细胞色素P450的抑制剂(例如,CYP17抑制剂或17α-羟化酶/C17-20裂解酶抑制剂);5)铁螯合剂;6)芳香酶抑制剂;7)p53抑制剂,例如,p53/Mdm2相互作用的抑制剂;8)细胞凋亡诱导剂;9)血管生成抑制剂;10)醛固酮合酶抑制剂;11)平滑(SMO)受体抑制剂;12)催乳素受体(PRLR)抑制剂;13)Wnt信号传导抑制剂;14)CDK4/6抑制剂;15)成纤维细胞生长因子受体2(FGFR2)/成纤维细胞生长因子受体4(FGFR4)抑制剂;16)巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)的抑制剂;17)c-KIT、组胺释放、Flt3(例如FLK2/STK1)或PKC中的一种或多

种的抑制剂;18)VEGFR-2(例如FLK-1/KDR)、PDGFRβ、c-KIT或Raf激酶C中一种或多种的抑制剂;19)生长激素抑制素激动剂和/或生长激素释放抑制剂;20)间变性淋巴瘤激酶(ALK)抑制剂;21)胰岛素样生长因子1受体(IGF-1R)抑制剂;22)P-糖蛋白1抑制剂;23)血管内皮生长因子受体(VEGFR)抑制剂;24)BCR-ABL激酶抑制剂;25)FGFR抑制剂;26)CYP11B2的抑制剂;27)HDM2抑制剂,例如HDM2-p53相互作用的抑制剂;28)酪氨酸激酶的抑制剂;29)c-MET的抑制剂;30)JAK的抑制剂;31)DAC的抑制剂;32)11β-羟化酶的抑制剂;33)IAP的抑制剂;34)PIM激酶的抑制剂;35)博库派恩的抑制剂;36)BRAF(例如BRAF V600E或野生型BRAF)的抑制剂;37)HER3的抑制剂;38)MEK的抑制剂;或39)脂质激酶(例如,如本文和在表18中所述)的抑制剂。

[1355] 示例性酪氨酸激酶抑制剂包括,但不限于表皮生长因子(EGF)途径抑制剂(例如,表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂)、血管内皮生长因子(VEGF)途径抑制剂(例如,血管内皮生长因子受体(VEGFR)抑制剂(例如,VEGFR-1抑制剂、VEGFR-2抑制剂、VEGFR-3抑制剂))、血小板衍生生长因子(PDGF)途径抑制剂(例如,血小板衍生生长因子受体(PDGFR)抑制剂(例如,PDGFR-β抑制剂))、RAF-1抑制剂、KIT抑制剂和RET抑制剂。

[1356] 在一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下各项或与以下各项组合使用用于治疗障碍(例如,本文所述的障碍):PKC抑制剂、索曲滔林(化合物A1)或在PCT公开号WO 2005/039549中披露的化合物。在一个实施例中,PKC抑制剂是索曲滔林(化合物A1)或在PCT公开号WO 2005/039549中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与索曲滔林(化合物A1)或如PCT公开号WO 2005/039549中所述的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、炎性肠病、移植排斥、眼科疾病或牛皮癣)。

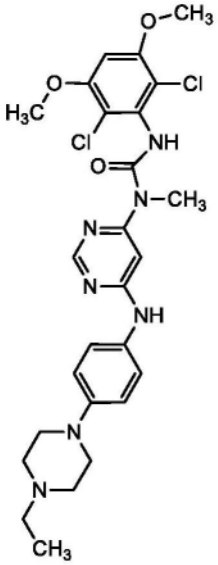
[1357] 在一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下各项或与以下各项组合使用用于治疗障碍(例如,本文所述的障碍):BCR-ABL抑制剂、TASIGNA(化合物A2)或在PCT公开号WO 2004/005281中披露的化合物。在一个实施例中,BCR-ABL抑制剂是TASIGNA或在PCT公开号WO 2004/005281中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与TASIGNA(化合物A2)或如PCT公开号WO 2004/005281中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,淋巴细胞性白血病、帕金森氏病、神经癌、黑色素瘤、消化道/胃肠道癌、结直肠癌、髓样白血病、头颈癌或肺动脉高压)。

[1358] 在另一个实施例中,组合(例如包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括HSP90抑制剂或与HSP90抑制剂组合使用,以治疗障碍(例如,癌症、多发性骨髓瘤、非小细胞肺癌、淋巴瘤、胃癌、乳腺癌、消化道/胃肠道癌、胰腺癌、结直肠癌、实体瘤或造血障碍)。

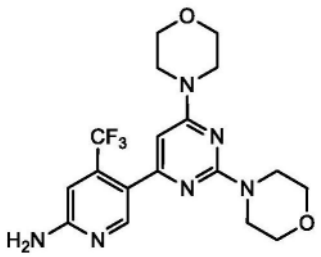
[1359] 在另一个实施例中,将组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)与PI3K和/或mTOR的抑制剂,8-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-3-甲基-1-(4-哌嗪-1-基-3-三氟甲基-苯基)-1,3-二氢-咪唑并[4,5-c]喹啉-2-酮(化合物A41)组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍)。在一个实施例中,PI3K和/或mTOR抑制剂是8-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-3-甲基-1-(4-哌嗪-1-基-3-三氟甲基-苯基)-1,3-二氢-咪唑并[4,5-c]喹啉-2-酮(化合物A41)。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与8-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-3-甲基-1-(4-哌嗪-1-基-3-三氟甲基-苯基)-1,3-二氢-咪唑并[4,5-c]喹啉-2-酮(化合物A41)组合使用,以治疗障碍(例如,癌症、前列腺癌、白血病(例如,淋巴细胞性白血病)、乳腺癌、脑癌、膀胱癌、胰

腺癌、肾癌、实体瘤或肝癌)。

[1360] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):FGFR抑制剂、3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-(6-((4-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)-1-甲基脲(化合物A5)或在美国专利8,552,002中披露的化合物。在一个实施例中,FGFR抑制剂是3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-(6-((4-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)-1-甲基脲(化合物A5)或在美国专利号8,552,002中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与化合物A5或如US 8,552,002中所述的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,消化道/胃肠道癌、血液癌或实体瘤)。化合物A5具有以下结构:

[1361] 

[1362] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):PI3K抑制剂、布帕利司(Buparlisib)(化合物A6)、或在PCT公开号WO 2007/084786中披露的化合物。在一个实施例中,PI3K抑制剂是布帕利司(化合物A6)或在PCT公开号WO 2007/084786中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与布帕利司(化合物A6)或PCT公开号WO 2007/084786中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,前列腺癌、非小细胞肺癌、内分泌癌、白血病、卵巢癌、黑色素瘤、膀胱癌、乳腺癌、女性生殖系统癌、消化道/胃肠道癌、结直肠癌,多形性胶质母细胞瘤、实体瘤、非霍奇金淋巴瘤、造血障碍或头颈癌)。化合物A6具有以下结构:

[1363] 

[1364] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):FGFR抑制剂、8-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-N-(4-((二甲基氨基)甲基)-1H-咪唑-2-基)喹喔啉-5-甲酰胺(化合物A7)或在PCT公开号WO 2009/141386中披露的化合物。在一个实施例中,FGFR抑制剂是

8-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-N-(4-((二甲基氨基)甲基)-1H-咪唑-2-基)喹喔啉-5-甲酰胺(化合物A7)或在PCT公开号WO 2009/141386中披露的化合物。在一个实施例中,FGFR抑制剂是8-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-N-(4-((二甲基氨基)甲基)-1H-咪唑-2-基)喹喔啉-5-甲酰胺(化合物A7)。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与8-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-N-(4-((二甲基氨基)甲基)-1H-咪唑-2-基)喹喔啉-5-甲酰胺(化合物A7)或在PCT公开号WO 2009/141386中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,以血管生成为特征的癌症)。

[1365] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):PI3K抑制剂、(S)-N1-(4-甲基-5-(2-(1,1,1-三氟-2-甲基丙烷-2-基)吡啶-4-基)噻唑-2-基)吡咯烷-1,2-二甲酰胺(化合物A8)或在PCT公开号WO 2010/029082中披露的化合物。在一个实施例中,PI3K抑制剂是(S)-N1-(4-甲基-5-(2-(1,1,1-三氟-2-甲基丙烷-2-基)吡啶-4-基)噻唑-2-基)吡咯烷-1,2-二甲酰胺(化合物A8)或在PCT公开号WO 2010/029082中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与(S)-N1-(4-甲基-5-(2-(1,1,1-三氟-2-甲基丙烷-2-基)吡啶-4-基)噻唑-2-基)吡咯烷-1,2-二甲酰胺(化合物A8))或在PCT公开号WO 2010/029082中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,胃癌、乳腺癌、胰腺癌、消化道/胃肠道癌、实体瘤和头颈癌)。

[1366] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):细胞色素P450(例如,CYP17抑制剂)的抑制剂或在PCT公开号WO 2010/149755中披露的化合物。在一个实施例中,细胞色素P450抑制剂(例如,CYP17抑制剂)是CFG920或在PCT公开号WO 2010/149755;US 8,263,635 B2;或EP 2445903 B1中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与PCT公开号WO 2010/149755中披露的化合物组合使用,以治疗前列腺癌。

[1367] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):HDM2抑制剂、(S)-1-(4-氯苯基)-7-异丙氧基-6-甲氧基-2-(4-(甲基(((1r,4S)-4-(4-甲基-3-氧代哌嗪-1-基)环己基)甲基)氨基)苯基)-1,2-二氢异喹啉-3(4H)-酮(化合物A10)或在PCT公开号WO 2011/076786中披露的化合物。在一个实施例中,HDM2抑制剂是(S)-1-(4-氯苯基)-7-异丙氧基-6-甲氧基-2-(4-(甲基(((1r,4S)-4-(4-甲基-3-氧代哌嗪-1-基)环己基)甲基)氨基)苯基)-1,2-二氢异喹啉-3(4H)-酮(化合物A10)或在PCT公开号WO 2011/076786中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与(S)-1-(4-氯苯基)-7-异丙氧基-6-甲氧基-2-(4-(甲基(((1r,4S)-4-(4-甲基-3-氧代哌嗪-1-基)环己基)甲基)氨基)苯基)-1,2-二氢异喹啉-3(4H)-酮(化合物A10)或在PCT公开号WO 2011/076786中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,实体瘤)。

[1368] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):铁螯合剂,地拉罗司(也称为EXJADE;化合物A11),或在PCT公开号WO 1997/049395中披露的化合物。在一个实施例中,铁螯合剂是地拉罗司或在PCT公开号WO 1997/049395中披露的化合物。在一个实施例中,铁螯合剂是地拉罗司(化合物A11)。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与地拉罗司(化合

物A11)或在PCT公开号WO 1997/049395中披露的化合物组合使用,以治疗铁超负荷、血色素沉着或骨髓增生异常。

[1369] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):芳香酶抑制剂,来曲唑(也称为FEMARA;化合物A12)或在US 4,978,672中披露的化合物。在一个实施例中,芳香酶抑制剂是来曲唑(化合物A12)或在美国专利4,978,672中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与来曲唑(化合物A12)或在美国专利4,978,672中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症、平滑肌肉瘤、子宫内膜癌、乳腺癌、女性生殖系统癌或激素缺乏症)。

[1370] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):PI3K抑制剂,例如,泛-PI3K抑制剂,(4S,5R)-3-(2'-氨基-2-吗啉代-4'-(三氟甲基)-[4,5'-二嘧啶]-6-基)-4-(羟基甲基)-5-甲基噁唑烷-2-酮(化合物A13)或在PCT公开号WO2013/124826中披露的化合物。在一个实施例中,PI3K抑制剂是(4S,5R)-3-(2'-氨基-2-吗啉代-4'-(三氟甲基)-[4,5'-二嘧啶]-6-基)-4-(羟基甲基)-5-甲基噁唑烷-2-酮(化合物A13)或在PCT公开号WO 2013/124826中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与(4S,5R)-3-(2'-氨基-2-吗啉代-4'-(三氟甲基)-[4,5'-二嘧啶]-6-基)-4-(羟基甲基)-5-甲基噁唑烷-2-酮(化合物A13)或在PCT公开号WO 2013/124826中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症或晚期实体瘤)。

[1371] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):p53和/或p53/Mdm2相互作用的抑制剂,(S)-5-(5-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)-6-(4-氯苯基)-2-(2,4-二甲氧基嘧啶-5-基)-1-异丙基-5,6-二氢吡咯并[3,4-d]咪唑-4(1H)-酮(化合物A14)或在PCT公开号WO2013/111105中披露的化合物。在一个实施例中,p53和/或p53/Mdm2相互作用抑制剂是(S)-5-(5-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)-6-(4-氯苯基)-2-(2,4-二甲氧基嘧啶-5-基)-1-异丙基-5,6-二氢吡咯并[3,4-d]咪唑-4(1H)-酮(化合物A14)或在PCT公开号WO 2013/111105中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与(S)-5-(5-氯-1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)-6-(4-氯苯基)-2-(2,4-二甲氧基嘧啶-5-基)-1-异丙基-5,6-二氢吡咯并[3,4-d]咪唑-4(1H)-酮(化合物A14)或在PCT公开号WO 2013/111105中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症或软组织肉瘤)。

[1372] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):CSF-1R酪氨酸激酶抑制剂,4-((2-(((1R,2R)-2-羟基环己基)氨基)苯并[d]噻唑-6-基)氧基)-N-甲基吡啶酰胺(化合物A15)或在PCT公开号WO 2005/073224中披露的化合物。在一个实施例中,CSF-1R酪氨酸激酶抑制剂是4-((2-(((1R,2R)-2-羟基环己基)氨基)苯并[d]噻唑-6-基)氧基)-N-甲基吡啶酰胺(化合物A15)或在PCT公开号WO 2005/073224中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与4-((2-(((1R,2R)-2-羟基环己基)氨基)苯并[d]噻唑-6-基)氧基)-N-甲基吡啶酰胺(化合物A15))或在PCT公开号WO 2005/073224中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症)。

[1373] 在某些实施例中,CSF-1R酪氨酸激酶抑制剂4-((2-(((1R,2R)-2-羟基环己基)氨基)苯并[d]噻唑-6-基)氧基)-N-甲基吡啶酰胺(化合物A15)或在PCT公开号WO 2005/073224中披露的化合物与CD73抑制剂(例如抗CD73抗体分子)组合施用,以治疗障碍(例如实体瘤,例如晚期实体瘤)。可以通过组合治疗的示例性癌症包括但不限于脑癌(例如多形性胶质母细胞瘤(GBM),例如复发性胶质母细胞瘤)、乳腺癌(例如三阴性乳腺癌(例如NTBC))或胰腺癌(例如晚期胰腺癌)。这些癌症的共同特征包括,例如,以肿瘤微环境中高水平的TAM(其可能有助于免疫逃避和免疫抑制)表征的肿瘤生物学。在一些实施例中,与抗CD73疗法联合的CSF-1R的阻断可以例如促进TAM的重编程和/或去除肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)的免疫抑制。

[1374] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如所述障碍):细胞凋亡诱导剂和/或血管生成抑制剂(例如甲磺酸伊马替尼(也称为GLEEVEC®;化合物A16)或在PCT公开号WO1999/003854中披露的化合物。在一个实施例中,细胞凋亡诱导剂和/或血管生成抑制剂是甲磺酸伊马替尼(化合物A16)或在PCT公开号WO 1999/003854中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与甲磺酸伊马替尼(化合物A16)或在PCT公开号WO 1999/003854中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症、多发性骨髓瘤、前列腺癌、非小细胞肺癌、淋巴瘤、胃癌、黑色素瘤、乳腺癌、胰腺癌、消化道/胃肠道癌、结直肠癌、多形性胶质母细胞瘤、肝癌、头颈癌、哮喘、多发性硬化症、过敏、阿尔茨海默氏痴呆症、肌萎缩侧索硬化或类风湿性关节炎)。

[1375] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):JAK抑制剂,2-氟-N-甲基-4-(7-(喹啉-6-基甲基)咪唑并[1,2-b][1,2,4]三嗪-2-基)苯甲酰胺(化合物A17),或其二盐酸盐,或在PCT公开号WO 2007/070514中披露的化合物。在一个实施例中,JAK抑制剂是2-氟-N-甲基-4-(7-(喹啉-6-基甲基)咪唑并[1,2-b][1,2,4]三嗪-2-基)苯甲酰胺(化合物A17)或其二盐酸盐,或在PCT公开号WO 2007/070514中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与2-氟-N-甲基-4-(7-(喹啉-6-基甲基)咪唑并[1,2-b][1,2,4]三嗪-2-基)苯甲酰胺(化合物A17)或其二盐酸盐、或在PCT公开号WO 2007/070514中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,结直肠癌、髓样白血病、血液癌、自身免疫性疾病、非霍奇金淋巴瘤或血小板增多症)。

[1376] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):JAK抑制剂,磷酸鲁索替尼(也称为JAKAFI;化合物A18)或在PCT公开号WO 2007/070514中披露的化合物。在一个实施例中,JAK抑制剂是磷酸鲁索替尼(化合物A18)或在PCT公开号WO 2007/070514中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与磷酸鲁索替尼(化合物A18)或在PCT公开号WO 2007/070514中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,前列腺癌、淋巴细胞性白血病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、肺癌、白血病、恶病质、乳腺癌、胰腺癌、类风湿性关节炎、牛皮癣、结直肠癌、髓样白血病、血液病、自身免疫疾病、非霍奇金淋巴瘤或血小板增多症)。

[1377] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):脱乙酰酶(DAC)抑制剂,

帕比司他(化合物A19),或在PCT公开号WO 2014/072493中披露的化合物。在一个实施例中,DAC抑制剂是帕比司他(化合物A19)或在PCT公开号WO 2014/072493中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与PCT公开号WO 2014/072493中披露的化合物帕比司他(化合物A19)组合使用,以治疗障碍,例如,结直肠癌、小细胞肺癌、呼吸道/胸腺癌、前列腺癌、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、骨癌、非小细胞肺癌、内分泌癌、淋巴瘤、神经癌、白血病、HIV/AIDS、免疫障碍、移植排斥、胃癌、黑色素瘤、乳腺癌(例如三阴性乳腺癌(TNBC))、胰腺癌、结直肠癌、多形性胶质母细胞瘤、髓样白血病、血液癌、肾癌、非霍奇金淋巴瘤、头颈癌、造血障碍或肝癌。在一些实施例中,癌症选自结直肠癌(例如,微卫星稳定结直肠癌(MSS CRC)、肺癌(例如,非小细胞肺癌)或乳腺癌(例如,三阴性肺癌(TNBC))。

[1378] 在一些实施例中,本文所述的组合包括脱乙酰酶(DAC)抑制剂、帕比司他(化合物A19)或PCT公开号WO 2014/072493中披露的化合物、以及免疫检查点分子的抑制剂(例如,CD73的抑制剂(例如,CD73))。

[1379] 在一个实施例中,将DAC抑制剂、帕比司他(化合物A19)或PCT公开号WO 2014/072493中披露的化合物与CD73抑制剂(例如,抗CD73抗体分子)组合施用,以治疗结直肠癌(例如,MSS CRC)、肺癌(例如,非小细胞肺癌(NSCLC)或乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌(TNBC))。

[1380] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):细胞色素P450(例如,11B2)、醛固酮或血管生成、奥斯洛左斯特(化合物A20)或在PCT公开号WO2007/024945中披露的化合物中的一种或多种的抑制剂。在一个实施例中,细胞色素P450(例如11B2)、醛固酮或血管生成中的一种或多种的抑制剂是奥斯洛左斯特(化合物A20)或在PCT公开号WO 2007/024945中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与奥斯洛左斯特(化合物A20)或在PCT公开号WO 2007/024945中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,库欣综合征、高血压或心力衰竭疗法)。

[1381] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包含以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):IAP抑制剂(S)-N-((S)-1-环己基-2-((S)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺(化合物A21)或在US 8,552,003中披露的化合物。在一个实施例中,IAP抑制剂是(S)-N-((S)-1-环己基-2-((S)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺(化合物A21)或在美国专利8,552,003中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与(S)-N-((S)-1-环己基-2-((S)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺(化合物A21)或在美国专利8,552,003中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,多发性骨髓瘤、结直肠癌(CLC)、肺癌(例如,非小细胞肺癌(NSCLC)、乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌(TNBC))、卵巢癌、胰腺癌或造血障碍)。在一些实施例中,癌症选自结直肠癌(例如,微卫星稳定结直肠癌(MSS CRC)、肺癌(例如,非小细胞肺癌)或乳腺癌(例如,三阴性肺癌(TNBC))。

[1382] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):平滑(SMO)抑制剂,(R)-2-(5-(4-(6-苄基-4,5-二甲基哒嗪-3-基)-2-甲基哌嗪-1-基)吡嗪-2-基)丙烷-2-醇(化合

物A25),或在PCT公开号WO 2010/007120中披露的化合物。在一个实施例中,SMO抑制剂是(R)-2-(5-(4-(6-苄基-4,5-二甲基哒嗪-3-基)-2-甲基哌嗪-1-基)吡嗪-2-基)丙烷-2-醇(化合物A25),或在PCT公开号WO 2010/007120中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与(R)-2-(5-(4-(6-苄基-4,5-二甲基哒嗪-3-基)-2-甲基哌嗪-1-基)吡嗪-2-基)丙烷-2-醇(化合物A25)或在PCT公开号WO 2010/007120中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症、髓母细胞瘤、小细胞肺癌、前列腺癌、基底细胞癌、胰腺癌或炎症)。

[1383] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):Alk抑制剂、色瑞替尼(ceritinib)(也称为ZYKADIA;化合物A23)。在一些实施例中,Alk抑制剂是色瑞替尼(化合物A23)。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与色瑞替尼(化合物A23)组合使用,以治疗障碍(例如,非小细胞肺癌或实体瘤)。

[1384] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):JAK和/或CDK4/6抑制剂,7-环戊基-N,N-二甲基-2-((5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺(化合物A24),或在美国专利8,415,355或美国专利8,685,980中披露的化合物。在一个实施例中,JAK和/或CDK4/6抑制剂是7-环戊基-N,N-二甲基-2-((5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺(化合物A24),或在美国专利8,415,355或美国专利8,685,980中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与7-环戊基-N,N-二甲基-2-((5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺(化合物A24)或在US 8,415,355或US 8,685,980中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,淋巴瘤、神经癌、黑色素瘤、乳腺癌或实体瘤)。

[1385] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):催乳素受体(PRLR)抑制剂、如在美国专利7,867,493中披露的人单克隆抗体分子(化合物A26)。在一个实施例中,PRLR抑制剂是披露于US 7,867,493中的人单克隆抗体(化合物A26)。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与美国专利7,867,493中所述的人单克隆抗体分子(化合物A26)组合使用,以治疗障碍(例如,癌症、前列腺癌、或乳腺癌)。

[1386] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):PIM激酶抑制剂,N-(4-((1R,3S,5S)-3-氨基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-6-(2,6-二氟苯基)-5-氟吡啶酰胺(化合物A27)或在PCT公开号WO 2010/026124中披露的化合物。在一个实施例中,PIM激酶抑制剂是N-(4-((1R,3S,5S)-3-氨基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-6-(2,6-二氟苯基)-5-氟吡啶酰胺(化合物A27)或在PCT公开号WO 2010/026124中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与N-(4-((1R,3S,5S)-3-氨基-5-甲基环己基)吡啶-3-基)-6-(2,6-二氟苯基)-5-氟吡啶酰胺(化合物A27)或在PCT公开号WO 2010/026124中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、髓样白血病或非霍奇金淋巴瘤)。

[1387] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):Wnt信号传导抑制剂,2-(2',3-二甲基-[2,4'-二吡啶]-5-基)-N-(5-(吡嗪-2-基)吡啶-2-基)乙酰胺(化合物A28)

或在PCT公开号WO 2010/101849中披露的化合物。在一个实施例中,Wnt信号传导抑制剂是2-(2',3-二甲基-[2,4'-二吡啶]-5-基)-N-(5-(吡嗪-2-基)吡啶-2-基)乙酰胺(化合物A28)或在PCT公开号WO 2010/101849中披露的化合物。在一个实施例中,Wnt信号传导抑制剂是2-(2',3-二甲基-[2,4'-二吡啶]-5-基)-N-(5-(吡嗪-2-基)吡啶-2-基)乙酰胺(化合物A28)。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与2-(2',3-二甲基-[2,4'-二吡啶]-5-基)-N-(5-(吡嗪-2-基)吡啶-2-基)乙酰胺(化合物A28))或在PCT公开号WO 2010/101849中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症(例如头颈癌、鳞状细胞癌、乳腺癌、胰腺癌或结肠癌)。在某些实施例中,癌症选自皮肤癌(例如黑色素瘤)、微卫星不稳定高(MSI高)实体瘤、胰腺癌或乳腺癌(例如三阴性乳腺癌(TNBC))。

[1388] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括BRAF抑制剂或与BRAF抑制剂组合使用,以治疗障碍(例如,本文所述的障碍,例如,非小细胞肺癌、黑色素瘤或结直肠癌)。

[1389] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):CDK4/6抑制剂,7-环戊基-N,N-二甲基-2-((5-((1R,6S)-9-甲基-4-氧代-3,9-二氮杂二环[4.2.1]壬-3-基)吡啶-2-基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺(化合物A30),或在PCT公开号WO 2011/101409中披露的化合物。在一个实施例中,CDK4/6抑制剂是7-环戊基-N,N-二甲基-2-((5-((1R,6S)-9-甲基-4-氧代-3,9-二氮杂二环[4.2.1]壬-3-基)吡啶-2-基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺(化合物A30)或在PCT公开号WO 2011/101409中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与7-环戊基-N,N-二甲基-2-((5-((1R,6S)-9-甲基-4-氧代-3,9-二氮杂二环[4.2.1]壬-3-基)吡啶-2-基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺(化合物A30)或在PCT公开号WO 2011/101409中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症、套细胞淋巴瘤、脂肪肉瘤、非小细胞肺癌、黑色素瘤、鳞状细胞食管癌或乳腺癌)。

[1390] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):HER3抑制剂,化合物A31或在PCT公开号WO 2012/022814中披露的化合物。在一个实施例中,HER3抑制剂是化合物A31或在PCT公开WO 2012/022814中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与化合物A31或在PCT公开WO 2012/022814中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,胃癌、食管癌、头颈癌、鳞状细胞癌、胃癌、乳腺癌(例如,转移性乳腺癌)或消化道/胃肠道癌)。

[1391] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):FGFR2和/或FGFR4抑制剂,化合物A32或在出版物PCT公开号WO 2014/160160中披露的化合物(例如,针对FGFR2和/或FGFR4的抗体分子药物缀合物,例如,mAb 12425)。在一个实施例中,FGFR2和/或FGFR4抑制剂是化合物A32或在PCT公开号WO 2014/160160中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与化合物A32或如表18中所述的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症、胃癌、乳腺癌、横纹肌肉瘤、肝癌、肾上腺癌、肺癌、食管癌、结肠癌或子宫内膜癌)。

[1392] 在一些实施例中,化合物A32是针对FGFR2和/或FGFR4的抗体分子药物缀合物(例如,mAb 12425)。

[1393] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括

以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):M-CSF抑制剂,化合物A33或在PCT公开号WO 2004/045532中披露的化合物(例如,抗体分子或针对M-CSF的Fab片段)。在一个实施例中,M-CSF抑制剂是化合物A33或在PCT公开号WO 2004/045532中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与化合物A33或如PCT公开号WO 2004/045532中所述的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症、前列腺癌、乳腺癌或色素沉着绒毛结节性滑膜炎(PVNS))。

[1394] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括MEK抑制剂或与MEK抑制剂组合使用,以治疗障碍(例如非小细胞肺癌、多系统遗传病、黑色素瘤、卵巢癌、消化道/胃肠道癌、类风湿关节炎或结直肠癌)。

[1395] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):c-KIT、组胺释放、Flt3(例如,FLK2/STK1)或PKC、米哚妥林(Midostaurin)(化合物A35)或在PCT公开号WO 2003/037347中披露的化合物中一种或多种的抑制剂。在一个实施例中,抑制剂是米哚妥林(化合物A35)或在PCT公开号WO 2003/037347中披露的化合物。在一个实施例中,c-KIT、组胺释放、Flt3(例如,FLK2/STK1)或PKC中的一种或多种的抑制剂是米哚妥林。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与米哚妥林(化合物A35)或在PCT公开号WO 2003/037347中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症、结直肠癌、髓样白血病、骨髓增生异常综合征、年龄相关性黄斑变性、糖尿病并发症或皮肤病)。

[1396] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):TOR抑制剂(例如mTOR抑制剂)、依维莫司(也称为AFINITOR;化合物A36)或在PCT公开号WO 2014/085318中披露的化合物。在一个实施例中,TOR抑制剂是依维莫司(化合物A36)或在PCT公开号WO 2014/085318中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与依维莫司(化合物A36)组合使用,以治疗障碍,例如,结直肠癌、间质性肺疾病、小细胞肺癌,呼吸道/胸腺癌、前列腺癌、多发性骨髓瘤、肉瘤、年龄相关的黄斑变性、骨癌、结节性硬化症、非小细胞肺癌、内分泌癌、淋巴瘤、神经障碍、星形细胞瘤、子宫颈癌、神经癌、白血病、免疫障碍、移植排斥、胃癌、黑色素瘤、癫痫、乳腺癌(例如三阴性乳腺癌(TNBC))或膀胱癌。在一些实施例中,癌症选自结直肠癌(例如,微卫星稳定结直肠癌(MSS CRC)、肺癌(例如,非小细胞肺癌)或乳腺癌(例如,三阴性肺癌(TNBC))。

[1397] 在一些实施例中,本文所述的组合包括mTOR抑制剂、依维莫司(化合物A36)或PCT公开号WO 2014/085318中披露的化合物、以及免疫检查点分子的抑制剂(例如,CD73的抑制剂(例如,抗CD73抗体分子))。

[1398] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):VEGFR-2、PDGFRβ、KIT或Raf激酶C、1-甲基-5-((2-(5-(三氟甲基)-1H-咪唑-2-基)吡啶-4-基)氧基)-N-(4-(三氟甲基)苯基)-1H-苯并[d]咪唑-2-胺(化合物A37)或在PCT公开号WO 2007/030377中披露的化合物中一种或多种的抑制剂。在一个实施例中,VEGFR-2、PDGFRβ、KIT或Raf激酶C的一种或多种的抑制剂是1-甲基-5-((2-(5-(三氟甲基)-1H-咪唑-2-基)吡啶-4-基)氧基)-N-(4-(三氟甲基)苯基)-1H-苯并[d]咪唑-2-胺(化合物A37)或在PCT公开号WO 2007/030377中披

露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与1-甲基-5-((2-(5-(三氟甲基)-1H-咪唑-2-基)吡啶-4-基)氧基)-N-(4-(三氟甲基)苯基)-1H-苯并[d]咪唑-2-胺(化合物A37)或在PCT公开号WO 2007/030377中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症、黑色素瘤或实体瘤)。

[1399] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):生长激素抑制素激动剂和/或生长激素释放抑制剂、门冬氨酸帕瑞肽(也称为SIGNIFOR;化合物A38)或在PCT公开号WO 2002/010192或美国专利号7,473,761中披露的化合物。在一个实施例中,生长激素抑制素激动剂和/或生长激素释放抑制剂是天门冬氨酸帕瑞肽(化合物A38)或在PCT公开号WO2002/010192或美国专利号7,473,761中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与天门冬氨酸帕瑞肽(化合物A38)或在PCT公开号WO 2002/010192或美国专利号7,473,761中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,前列腺癌、内分泌癌、神经系统癌(nurologic cancer)、神经内分泌肿瘤(NET)(例如,非典型肺类癌)、皮肤癌(例如,黑色素瘤或默克尔细胞癌)、胰腺癌、肝癌、库欣氏综合征、胃肠道疾病、肢端肥大症、肝胆道障碍或肝硬化)。

[1400] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括信号转导调节剂和/或血管生成抑制剂或与信号转导调节剂和/或血管生成抑制剂组合使用,以治疗障碍(例如,癌症、呼吸道/胸腔癌、多发性骨髓瘤、前列腺癌、非小细胞肺癌、内分泌癌或神经遗传障碍)。

[1401] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):EGFR抑制剂(R,E)-N-(7-氯-1-(1-(4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰)氮杂环庚烷-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺(化合物A40)或在PCT公开号WO 2013/184757中披露的化合物。在一个实施例中,EGFR抑制剂是(R,E)-N-(7-氯-1-(1-(4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰)氮杂环庚烷-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺(化合物A40)或在PCT公开号WO 2013/184757中披露的化合物。在一个实施例中,将抗CD73抗体分子与(R,E)-N-(7-氯-1-(1-(4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰)氮杂环庚烷-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺(化合物A40)或在PCT公开号WO 2013/184757中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如癌症,例如实体瘤)。

[1402] 在一些实施例中,将EGFR剂、(R,E)-N-(7-氯-1-(1-(4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰)氮杂环庚烷-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺(化合物A40)或在PCT公开号WO 2013/184757中披露的化合物与CD73的抑制剂(例如,抗CD73抗体分子)组合施用,以治疗结直肠癌(CRC)、肺癌(例如,非小细胞肺癌(NSCLC))或乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌(TNBC))。

[1403] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):ALK抑制剂,N6-(2-异丙氧基-5-甲基-4-(1-甲基哌啶-4-基)苯基)-N4-(2-(异丙基磺酰基)苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4,6-二胺(化合物A42)或在PCT公开号WO 2008/073687中披露的化合物。在一个实施例中,ALK抑制剂是N^6-(2-异丙氧基-5-甲基-4-(1-甲基哌啶-4-基)苯基)-N^4-(2-(异丙基

磺酰基)苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4,6-二胺(化合物A42)或在PCT公开号WO 2008/073687中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与N^6-(2-异丙氧基-5-甲基-4-(1-甲基哌啶-4-基)苯基)-N^4-(2-(异丙基磺酰基)苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4,6-二胺(化合物A42)或在PCT公开号WO 2008/073687中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症、间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)、非小细胞肺癌(NSCLC)或神经母细胞瘤)。

[1404] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,所述的障碍):IGF-1R抑制剂、3-(4-(4-((5-氯-4-((5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-2-基)氨基)-5-氟-2-甲基苯基)哌啶-1-基)硫杂环丁烷1,1-二氧化物(化合物A43)、5-氯-N2-(2-氟-5-甲基-4-(1-(四氢-2H-吡喃-4-基)哌啶-4-基)苯基)-N4-(5-甲基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-2,4-二胺(化合物A44)、或5-氯-N2-(4-(1-乙基哌啶-4-基)-2-氟-5-甲基苯基)-N4-(5-甲基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-2,4-二胺(化合物A45)或在PCT公开号WO 2010/002655中披露的化合物。在一个实施例中,IGF-1R抑制剂是3-(4-(4-((5-氯-4-((5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-2-基)氨基)-5-氟-2-甲基苯基)哌啶-1-基)硫杂环丁烷1,1-二氧化物(化合物A43)、5-氯-N^2-(2-氟-5-甲基-4-(1-(四氢-2H-吡喃-4-基)哌啶-4-基)苯基)-N^4-(5-甲基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-2,4-二胺(化合物A44)、5-氯-N2-(4-(1-乙基哌啶-4-基)-2-氟-5-甲基苯基)-N^4-(5-甲基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-2,4-二胺(化合物A45),或在PCT公开号WO 2010/002655中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与3-(4-(4-((5-氯-4-((5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-2-基)氨基)-5-氟-2-甲基苯基)哌啶-1-基)硫杂环丁烷1,1-二氧化物(化合物A43)、5-氯-N^2-(2-氟-5-甲基-4-(1-(四氢-2H-吡喃-4-基)哌啶-4-基)苯基)-N^4-(5-甲基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-2,4-二胺(化合物A44)、5-氯-N2-(4-(1-乙基哌啶-4-基)-2-氟-5-甲基苯基)-N^4-(5-甲基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-2,4-二胺(化合物A45)或在PCT公开号WO 2010/002655中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症或肉瘤)。

[1405] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):P-糖蛋白1抑制剂、戊司泊达(也称为AMDRAY;化合物A46)或在中EP 296122披露的化合物。在一个实施例中,P-糖蛋白1抑制剂是戊司泊达(化合物A46)或在EP 296122中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与戊司泊达(化合物A46)或EP 296122中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症或抗药肿瘤)。

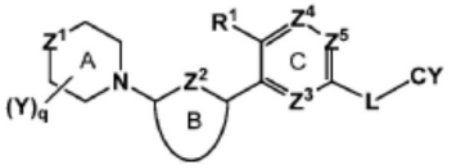
[1406] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):VEGFR抑制剂、琥珀酸瓦他拉尼(化合物A47)或在EP 296122中披露的化合物中的一种或多种。在一个实施例中,VEGFR抑制剂是琥珀酸瓦他拉尼(化合物A47)或在EP 296122中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与琥珀酸瓦他拉尼(化合物A47)或EP 296122中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症或抗药肿瘤)。

[1407] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):IDH抑制剂或在WO 2014/141104中披露的化合物。在一个实施例中,IDH抑制剂是在PCT公开号WO 2014/141104中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与WO 2014/141104中披露的化合物组合使

用,以治疗障碍(例如,癌症)。

[1408] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):BCL-ABL抑制剂或在PCT公开号WO2013/171639、WO2013/171640、WO2013/171641、或WO2013/171642中披露的化合物。在一个实施例中,BCL-ABL抑制剂是在PCT公开号WO 2013/171639、WO 2013/171640、WO 2013/171641、或WO 2013/171642中披露的化合物。在一个实施例中,抗CD73抗体分子与PCT公开号WO 2013/171639、WO 2013/171640、WO 2013/171641、或WO 2013/171642中披露的化合物组合使用,以治疗障碍(例如,癌症)。

[1409] 在另一个实施例中,组合(例如,包含如本文所述的抗CD73抗体分子的组合)包括以下项或与以下项组合使用以治疗障碍(例如,本文所述的障碍):c-RAF抑制剂或在PCT公开号WO 2014/151616中披露的化合物。在一个实施例中,c-RAF抑制剂是化合物A50或在PCT公开号WO 2014/151616中披露的化合物。在一些实施例中,c-RAF抑制剂或化合物A50是具有式的(I)的化合物:

[1410] 

(I)

[1411] 或其药学上可接受的盐,其中:

[1412] Z^1是O、S、S(=O)或SO_2;

[1413] Z^2是N、S或CR^a,其中R^a是H、卤素、C_{1-4}烷基或C_{1-4}卤代烷基;

[1414] R^1是CN、卤素、OH、C_{1-4}烷氧基、或C_{1-4}烷基,任选地被选自卤素、C_{1-4}烷氧基、CN、和羟基的一个至三个基团取代;

[1415] 环B选自苯基、吡啶、嘧啶、吡嗪、哒嗪、吡啶酮、嘧啶酮、吡嗪酮、哒嗪酮、和噻唑,其各自任选地被多达两个基团取代,该基团选自卤素、OH、CN、C_{1-4}烷基、C_{2-4}烯基、-O-(C_{1-4}烷基)、NH_2、NH-(C_{1-4}烷基)、-N(C_{1-4}烷基)$_2$、$-SO_2R^2$、$NHSO_2R^2$、$NHC(O)R^2$、$NHCO_2R^2$、C_{3-6}环烷基、5-6元杂芳基、-O-C_{3-6}环烷基、-O-(5-6元杂芳基)、C_{4-8}杂环烷基、和-O-(4-8元杂环烷基),其中每个杂环烷基和杂芳基包含选自N、O和S的多达三个杂原子作为环成员,

[1416] 其中每个C_{1-4}烷基、C_{2-4}烯基、C_{3-6}环烷基、5-6元杂芳基、和4-8元杂环烷基各自任选地被选自氧代、羟基1、卤素、C_{1-4}烷基、C_{1-4}卤代烷基、C_{1-4}烷氧基、和-$(CH_2)_{1-2}$Q的多达三个基团任选地取代,其中Q是OH、C_{1-4}烷氧基、-CN、NH_2、$-NHR^3$、-N$(R^3)_2$、$-SO_2R^3$、$NHSO_2R^3$、$NHC(O)OR^3$、或$NHC(O)R^3$;每个R^2和R^3独立地是C_{1-4}烷基;以及

[1417] 环B任选地与含有选自N、O合S的多达两个杂原子的5-6元芳香族或非芳香族环稠和,其中该5-6元环可以被卤素、C_{1-4}烷基、C_{1-4}卤代烷基、或C_{1-4}烷氧基取代,并且如果该稠和的环是非芳香族的,那么这些取代基选择可以进一步包括氧代;

[1418] 每个Y独立地选自C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基、CN、卤素、氧代、-$(CH_2)_pOR^4$、-(CH_2)p N$(R^4)_2$、-(CH_2)pNHC(O)R^4、-$(CH_2)_p$NHCOO(C_{1-4}烷基)和咪唑,

[1419] 或环A上的两个Y基团任选地一起形成与环A稠和或桥接的环,其中所述稠和或桥接的环任选地包含选自N、O和S的杂原子作为环成员,并且任选地被选自C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧

基、CN、卤素、氧代、-$(CH_2)_pOR^4$、-$(CH_2)_pN(R^4)_2$、-$(CH_2)_pNHC(O)R^4$、和-$(CH_2)_pNHCOO(C_{1-4}$烷基)的多达两个基团取代；

[1420] 每个R^4独立地是H或C_{1-4}烷基；

[1421] 每个p独立地是0、1、或2；

[1422] q是0、1或2；

[1423] Z^3、Z^4、和Z^5独立地选自CH和N以及任选地NO；

[1424] L是-C(=O)-NR^4-[CY]或-NR^4-C(=O)-[CY]，其中[CY]表示L的哪个原子附接至CY；以及

[1425] CY是选自苯基、吡啶、嘧啶、吡嗪、哒嗪e、吡啶酮、噻唑、异噻唑、噁唑、吡唑、和异噁唑的芳香族环，其中该环任选地与噻吩、咪唑、噁唑酮、或吡咯环稠和；

[1426] 并且CY被多达两个基团取代，该基团选自卤素、CN、R^5、OR^5、SO_2R^5、-S(=NH)(=O)R^5、OH、NH_2、NHR^5、和-$N(R^5)_2$，

[1427] 其中每个R^5独立地是C_{1-4}烷基、C_{2-4}.烯基、C_{2-6}杂环基、5元杂芳基(含有选自N、O和S的多达三个杂原子作为环成员)、或C_{3-8}环烷基，并且R^5任选地被选自氧代、卤素、CN、R^6、OH、OR^6、SO_2R^6、NH_2、NHR^6、$N(R^6)_2$、$NHSO_2R^6$、$NHCOOR^6$、NHC(=O)R^6、-CH_2OR^7、-$CH_2N(R^7)_2$的多达四个基团取代，其中每个

[1428] R^6独立地是C_{1-4}烷基，并且每个R^7独立地是H或C_{1-4}烷基；

[1429] 并且在相同氮原子上的两个R^4、R^5、R^6、或R^7可以一起形成5-6元杂环的环，该环任选地含有另外的N、O或S作为环成员并且任选地被选自C_{1-4}烷基、氧代、卤素、OH、和C_{1-4}烷氧基的多达两个基团取代。

[1430] 给予抗体分子的方法是本领域已知的，并在下文描述。使用的分子的适合剂量将取决于受试者的年龄和体重以及使用的特定药物。抗CD73抗体的剂量和治疗方案可由技术人员确定。

[1431] 在某些实施例中，抗CD73抗体分子通过(例如静脉内)注射施用，剂量(例如，固定剂量)为约60mg至2400mg，例如，约100mg至2400mg、约100mg至2200mg、约100mg至2000mg、约100mg至1800mg、约100mg至1600mg、约100mg至1400mg、约100mg至1200mg、约100mg至1000mg、约100mg至800mg、约100mg至600mg、约100mg至400mg、约100mg至200mg、或约100mg、约180mg、或约200mg。给药日程表(可以从例如每周一次至每2、3或4周一次变化。在一些实施例中，将抗CD73抗体分子以约100mg的剂量，每两周一次通过静脉内输注施用。在一些实施例中，将抗CD73抗体分子以至少约180mg的剂量，每两周一次通过静脉内输注施用。在一些实施例中，将抗CD73抗体分子以约200mg的剂量，每两周一次通过静脉内输注施用。

[1432] 在一些实施例中，将本文披露的抗CD73抗体分子通过(例如皮下或静脉内)注射施用，剂量(例如，固定剂量)为约5mg至100mg、约100mg至500mg、约500mg至1000mg、约1000mg至1500mg、约1500mg至2000mg、约2000mg至2500mg、约2500mg至3000mg、约3000mg至3500mg、或约3500mg至4000mg，例如每周施用一次(QW)、每两周施用一次(Q2W)、或每四周施用一次(Q4W)。在某些实施例中，施用抗体分子，例如静脉内施用，剂量为约6mg、约20mg、约60mg、约200mg、约600mg、约1200mg、约2400mg、约3000mg、或约3600mg，例如QW、Q2W、或Q4W。在某些实施例中，施用抗体分子，例如静脉内施用，剂量为约60mg Q2W。在某些实施例中，施用抗体分子，例如静脉内施用，剂量为约200mg Q2W。在某些实施例中，施用抗体分子，例如静脉内施

用,剂量为约600mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1200mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2400mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg Q2W。在某些实施例中,施用抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3600mg Q2W。

[1433] 在某些实施例中,将抗CD73抗体分子通过(例如皮下或静脉内)注射以约1mg/kg至30mg/kg,例如约5mg/kg至25mg/kg、约10mg/kg至20mg/kg、约1至5mg/kg、或约3mg/kg的剂量施用。在一些实施例中,将抗CD73抗体分子以约1mg/kg、约3mg/kg、或10mg/kg、约20mg/kg、约30mg/kg、或约40mg/kg的剂量施用。在一些实施例中,将抗CD73抗体分子以约1-3mg/kg、或约3-10mg/kg的剂量施用。在一些实施例中,将抗CD73抗体分子以约0.5-2、2-4、2-5、5-15、或5-20mg/kg的剂量施用。给药日程表可以从例如每周一次至每2、3、或4周一次变化。在一个实施例中,将抗CD73抗体分子以约10至20mg/kg的剂量施用,每两周一次。

[1434] 抗体分子能以未缀合形式使用或与第二药剂(例如细胞毒性药物)、放射性同位素或蛋白质(例如蛋白质毒素或病毒蛋白质)缀合使用。该方法包括:将抗体分子单独或与细胞毒性药物缀合,向需要这种治疗的受试者施用。抗体分子可用于递送多种治疗剂,例如细胞毒性部分,例如治疗药物,放射性同位素,植物、真菌或细菌来源的分子,或生物蛋白(例如蛋白毒素)或颗粒(例如重组病毒颗粒,例如通过病毒外壳蛋白),或其混合物。

[1435] 诊断用途

[1436] 在一个方面,本发明提供了一种诊断方法,用于在体外(例如,在生物样品,例如组织活检中,例如,来自癌性组织)或体内(例如,受试者体内成像)检测CD73蛋白的存在。该方法包括:(i)使样品与本文所述的抗体分子接触,或向受试者施用该抗体分子;(任选地)(ii)接触参比样品,例如,对照样品(例如,对照生物样品,例如血浆、组织、活组织检查)或对照受试者));以及(iii)检测抗体分子与样品或受试者、或对照样品或受试者之间的复合物的形成,其中相对于对照样品或受试者,样品或受试者中复合物的形成的变化(例如统计学上显著的变化)指示样品中CD73的存在。抗体分子可以直接或间接地用可检测物质标记,以促进结合或未结合抗体的检测。合适的可检测物质包括如上所述的各种酶、辅基、荧光材料、发光材料和放射性材料,下面将更详细地描述。

[1437] 术语“样品”是指用于检测多肽的样品,包括但不限于细胞、细胞裂解物、细胞或体液或组织样品的蛋白质或膜提取物。

[1438] 抗体分子和CD73之间的复合物形成可以通过测量或可视化与CD73抗原结合的结合分子或未结合的结合分子来检测。可以使用常规的检测测定法,例如酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)或组织免疫组织化学。除了标记抗体分子外,CD73的存在可以通过竞争性免疫测定法,利用标记有可检测物质和未标记抗体分子的标准物,在样品中进行测定。在该测定中,将生物学样品、标记的标准物和抗体分子合并,并确定与未标记的结合分子结合的标记的标准物的量。样品中CD73的量和与抗体分子结合的标记的标准物的量成反比。

[1439] 核酸

[1440] 本发明的特征还在于包含核苷酸序列的核酸,所述核苷酸序列编码如本文所述的抗CD73抗体分子的重链和轻链可变区以及CDR或高变环。例如,本发明的特征在于分别编码选自本文披露的一种或多种抗体分子的抗CD73抗体分子的重链和轻链可变区的第一和第

二核酸。核酸可以包含如在表1中列出的核苷酸序列或与其基本上相同的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性,或与表1中示出的序列相差不多于3、6、15、30、或45个核苷酸的序列)。

[1441] 在某些实施例中,核酸可以包含编码来自重链可变区的至少一个、两个、或三个CDR或高变环的核苷酸序列,该重链可变区具有如表1中列出的氨基酸序列,或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列,和/或具有一个或多个取代,例如保守取代的序列)。在其他实施例中,核酸可以包含编码来自轻链可变区的至少一个、两个或三个CDR或高变环的核苷酸序列,该轻链可变区具有如表1中列出的氨基酸序列,或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列,和/或具有一个或多个取代,例如保守取代的序列)。在又另一个实施例中,核酸可以包含编码来自重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个、或六个CDR或高变环的核苷酸序列,这些重链和轻链可变区具有如在表1中列出的氨基酸序列,或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列,和/或具有一个或多个取代,例如保守取代的序列)。

[1442] 在某些实施例中,核酸可以包含编码来自重链可变区的至少一个、两个、或三个CDR或高变环的核苷酸序列,该重链可变区具有如在表1中列出的核苷酸序列,与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列,和/或能够在本文所述的严格条件下杂交的序列)。在另一个实施例中,核酸可以包含编码来自轻链可变区的至少一个、两个、或三个CDR或高变环的核苷酸序列,该轻链可变区具有如在表1中列出的核苷酸序列,或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列,和/或能够在本文所述的严格条件下杂交的序列)。在又另一个实施例中,核酸可以包含编码来自重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR或高变环的核苷酸序列,该重链和轻链可变区具有如在表1中列出的核苷酸序列,或与其基本上同源的序列(例如,与其具有至少约85%、90%、95%、或99%序列同一性的序列,和/或能够在本文所述的严格条件下杂交的序列)。

[1443] 在另一个方面,本申请的特征在于含有本文所述的核酸的宿主细胞和载体。所述核酸可存在于单一运载体或不同运载体中,所述运载体存在于相同宿主细胞或不同宿主细胞中,如下文中更详细地所述的。

[1444] 载体

[1445] 本文进一步提供了包含编码本文所述的抗体分子的核苷酸序列的载体。在一个实施例中,载体包含编码本文所述的抗体分子的核苷酸。在一个实施例中,运载体包含本文所述的核苷酸序列。所述运载体包括但不限于病毒、质粒、粘粒、λ噬菌体或酵母人工染色体(YAC)。

[1446] 可以使用多种运载体系统。例如,一类载体利用衍生自动物病毒的DNA元件,例如牛乳头瘤病毒、多瘤病毒、腺病毒、牛痘病毒、杆状病毒、逆转录酶病毒(劳氏肉瘤病毒、MMTV或MOMLV)或SV40病毒。另一类载体利用衍生自RNA病毒的RNA元件,例如塞姆利基森林病毒(Semliki Forest virus)、东部马脑炎病毒(Eastern Equine Encephalitis virus)和黄病毒。

[1447] 另外,将DNA稳定地整合进其染色体中的细胞可通过引入一个或多个标记物(其允

许对转染的宿主细胞进行选择)进行选择。所述标记物可向例如营养缺陷型宿主提供质子移变,可提供杀微生物剂抗性(例如,抗生素)、或对重金属例如铜等的抗性。所述可选择的标记物基因可直接连接至待表达的DNA序列,或通过共转化引入相同的细胞。mRNA的最佳合成也可能需要另外的元件。这些元件可包括拼接信号,以及转录启动子、增强子、和终止信号。

[1448] 一旦含有构建体的表达载体或DNA序列被制备用于表达,所述表达载体可以被转染或引入适宜的宿主细胞中。可以使用多种技术,例如像,原生质体融合、磷酸钙沉淀、电穿孔、逆转录病毒转导、病毒转染、基因枪、基于脂质的转染或其他的常规技术,来实现这一目标。在原生质体融合的情况下,使细胞在培养基中生长并筛选适当的活性。用于培养所得转染细胞和回收产生的抗体分子的方法和条件是本领域技术人员已知的,并且可以根据本说明书中所用的特定表达载体和哺乳动物宿主细胞进行改变或优化。

[1449] 细胞

[1450] 本发明还提供了包含编码本文所述的抗体分子的核酸的宿主细胞。

[1451] 在一个实施例中,这些宿主细胞被基因工程化以包含编码抗体分子的核酸。

[1452] 在一个实施例中,通过使用表达盒使宿主细胞基因工程化。短语“表达盒”是指核苷酸序列,其能够影响在与此类序列相容的宿主中的基因的表达。此类盒可以包括启动子,具有或不具有内含子的开放阅读框和终止信号。还可以使用在实现表达中必需或有帮助的其他因子,例如诱导型启动子。

[1453] 本发明还提供了包含本文所述的载体的宿主细胞。

[1454] 所述细胞可以是但不限于真核细胞、细菌细胞、昆虫细胞、或人细胞。合适的真核细胞包括但不限于Vero细胞、HeLa细胞、COS细胞、CHO细胞(例如CHO-C8TD细胞)、HEK293细胞、BHK细胞、和MDCKII细胞。合适的昆虫细胞包括,但不限于Sf9细胞。

[1455] 1.一种结合人CD73的抗体分子,其包括:

[1456] (i)重链可变区(VH),其包含SEQ ID NO:88的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列;SEQ ID NO:89的VHCDR2氨基酸序列;和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及

[1457] (ii)轻链可变区(VL),其包含SEQ ID NO:48的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[1458] 2.如实施方案1所述的抗体分子,其包括:

[1459] (i)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[1460] (ii)VH,其包含SEQ ID NO:72的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[1461] (iii)VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[1462] (iv)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨

基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[1463] (v)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;或

[1464] (vi)VH,其包含SEQ ID NO:137的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[1465] 3.如实施方案1所述的抗体分子,其包括VH,其包含SEQ ID NO:38的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:37的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[1466] 4.如实施方案1-3中任一项所述的抗体分子,其包括:重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:44、77、84、142、151或159的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:44、77、84、142、151或159具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[1467] 5.如实施方案1-4中任一项所述的抗体分子,其包括:轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:55具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[1468] 6.如实施方案1-5中任一项所述的抗体分子,其包括:重链,所述重链包含SEQ ID NO:46、79、86、114、116或117的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:46、79、86、114、116或117具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[1469] 7.如实施方案1-6中任一项所述的抗体分子,其包括:轻链,所述轻链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:57具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[1470] 8.如实施方案1-7中任一项所述的抗体分子,其包括:

[1471] (i)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[1472] (ii)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[1473] (iii)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[1474] (iv)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[1475] (v)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列

(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列);或

[1476] (vi)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)。

[1477] 9.如实施方案1-8中任一项所述的抗体分子,其包括:包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的轻链可变区。

[1478] 10.如实施方案1-9中任一项所述的抗体分子,其包括:

[1479] (i)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列);

[1480] (ii)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列);

[1481] (iii)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列);

[1482] (iv)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列);

[1483] (v)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列);或

[1484] (vi)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列(或与其具有至少约85％、90％、95％或99％序列同一性的序列)。

[1485] 11.如实施方案1-10中任一项所述的抗体分子,其包括:包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的重链和包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的轻链。

[1486] 12.一种结合人CD73的抗体分子,其包括:

[1487] (i)VH,其包含SEQ ID NO:90的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:91的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及

[1488] (ii)VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[1489] 13.如实施方案12所述的抗体分子,其包括:

[1490] (i)VH,其包含SEQ ID NO:61的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[1491] (ii)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸

序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[1492] (iii)VH,其包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;或

[1493] (iv)VH,其包含SEQ ID NO:163的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[1494] 14.如实施方案12或13所述的抗体分子,其包括:重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:66、31、10或168的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:66、31、10或168具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[1495] 15.如实施方案12-14中任一项所述的抗体分子,其包括:轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:21具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[1496] 16.如实施方案12-15中任一项所述的抗体分子,其包括:重链,所述重链包含SEQ ID NO:68、33、12、115、113或112的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:68、33、12、115、113或112具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[1497] 17.如实施方案12-16中任一项所述的抗体分子,其包括:轻链,所述轻链包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:23具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[1498] 18.如实施方案12-17中任一项所述的抗体分子,其包括:

[1499] (i)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[1500] (ii)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[1501] (iii)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);或

[1502] (iv)重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列)。

[1503] 19.如实施方案12-18中任一项所述的抗体分子,其包括:

[1504] (i)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[1505] (ii)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[1506] (iii)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[1507] (iv)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);

[1508] (v)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列);或

[1509] (vi)重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列),所述轻链包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列(或与其具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的序列)。

[1510] 20.一种结合人CD73的抗体分子,其包括:

[1511] (i)VH,其包含SEQ ID NO:189的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:89的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及

[1512] (ii)VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[1513] 21.如实施方案20所述的抗体分子,其包括:

[1514] (i)VH,其包含SEQ ID NO:190的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:36的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[1515] (ii)VH,其包含SEQ ID NO:191的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[1516] (iii)VH,其包含SEQ ID NO:192的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[1517] (iv)VH,其包含SEQ ID NO:193的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;

[1518] (v)VH,其包含SEQ ID NO:194的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:146的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列;或

[1519] (vi)VH,其包含SEQ ID NO:195的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:43的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:50的VLCDR3氨基酸序列。

[1520] 22.一种结合人CD73的抗体分子,其包括:

[1521] (i)VH,其包含SEQ ID NO:196的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:91的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及

[1522] (ii)VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[1523] 23.如实施方案22所述的抗体分子,其包括:

[1524] (i)VH,其包含SEQ ID NO:197的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:60的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[1525] (ii)VH,其包含SEQ ID NO:198的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;

[1526] (iii)VH,其包含SEQ ID NO:199的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列;或

[1527] (iv)VH,其包含SEQ ID NO:200的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:162的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:9的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:14的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:15的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:16的VLCDR3氨基酸序列。

[1528] 24.如实施方案1-23中任一项所述的抗体分子,所述抗体分子是人抗体、全长抗体、双特异性抗体、Fab、F(ab')2、Fv或单链Fv片段(scFv)。

[1529] 25.如实施方案1-24中任一项所述的抗体分子,其包括:选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的重链恒定区,以及选自κ或λ的轻链恒定区的轻链恒定区。

[1530] 26.如实施方案1-25中任一项所述的抗体分子,其包括:包含选自由SEQ ID NO:92-103、119、和120组成的组的氨基酸序列的重链恒定区,和/或包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列的轻链恒定区。

[1531] 27.如实施方案1-26中任一项所述的抗体分子,其具有以下特性中的一个或多个(例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、或更多个,例如全部):

[1532] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用Octet测试时,其以小于约1x 10^{-8}M的解离常数(K_D)结合人CD73;

[1533] (ii)与可溶性人CD73和/或膜结合人CD73结合;

[1534] (iii)例如通过使用Octet测定的,不结合鼠CD73;

[1535] (iv)抑制或降低CD73(例如,可溶性人CD73或膜结合人CD73)的酶活性,例如人CD73介导的腺苷单磷酸(AMP)向腺苷的转化,例如通过孔雀石绿(MG)磷酸盐测定或改良的Cell Titer Glo(CTG)测定确定的;

[1536] (v)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用改良的Cell Titer Glo(CTG)测试时,抑制膜结合人CD73的至少约60%、70%、80%或90%的酶活性;

[1537] (vi)在腺苷单磷酸(AMP)存在下,增加抗CD3/抗CD28刺激的T细胞,例如CD4+ T细胞)的增殖,例如通过CellTrace Violet(CTV)细胞增殖测定确定的;

[1538] (vii)结合人CD73的N-末端结构域;

[1539] (viii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)的一个或多个区域时,降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组;

[1540] (ix)当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质(例如,由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成的蛋白质)时,诱导SEQ ID NO:105的残基368-387的构象变化;

[1541] (x)例如与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个或四个残基直接或间接接触;

[1542] (xi)例如与SEQ ID NO:105的残基206-215内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触;

[1543] (xii)例如与SEQ ID NO:105或106的残基368-387内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触;

[1544] (xiii)例如与SEQ ID NO:105的残基87-104内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触;

[1545] (xiv)结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体,例如,当使用尺寸排阻色谱法测试时;

[1546] (xv)以比所述抗体分子结合无催化活性的开放构象的人CD73时更低的亲和力,例如低50%、60%、70%、80%、90%、95%、或99%的亲和力结合催化活性的封闭构象的人CD73;

[1547] (xvi)将人CD73锁定为无催化活性的开放构象;或

[1548] (xvii)阻止或减少人CD73从无催化活性的开放构象向催化活性的封闭构象的转化,例如与所述抗体分子不存在下的转化相比,将所述转化减少至少1.5倍、2倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、或100倍。

[1549] 28.如实施方案1-27中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体。

[1550] 29.一种组合物,其包含多个如实施方案1-27中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,其中当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%或40%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成。

[1551] 30.如实施方案29所述的组合物,其中所述组合物中至少70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成所述复合物。

[1552] 31.一种组合物,其包含多个如实施方案1-27中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,其中当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自包含两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体。

[1553] 32.如实施方案31所述的组合物,其中所述组合物中至多20%、25%或30%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成所述复合物。

[1554] 33.如实施方案29-32中任一项所述的组合物,其中每个CD73单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成。

[1555] 34.如实施方案1-28中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子以比所述抗体分子结合无催化活性的开放构象的人CD73时更低的亲和力,例如低50%、60%、70%、80%、90%、95%、或99%的亲和力结合催化活性的封闭构象的人CD73。

[1556] 35.如实施方案1-28或34中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子阻止或减少人CD73从无催化活性的开放构象向催化活性的封闭构象的转化,例如与所述抗体分子不存在下的转化相比,将所述转化减少至少1.5倍、2倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、或100倍。

[1557] 36.如实施方案1-28、34、或35中任一项所述的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组。

[1558] 37.如实施方案1-28或34-36中任一项所述的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子以比在选自核心区域A(SEQ ID NO:105的残基158-172)的X_A个残基、在选自核心区域B(SEQ ID NO:105的残基206-215)的X_B个残基、或在选自核心区域D(SEQ ID NO:105的残基297-309)的X_D个残基处更大的程度降低在选自核心区域C(SEQ ID NO:105的残基368-387)的X_C个残基处的平均氢氘交换,其中:

[1559] X_C等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15或20,

[1560] X_A等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14,

[1561] X_B等于1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,并且

[1562] X_D等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13。

[1563] 38.如实施方案37所述的抗体分子,其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域C的20个残基处的平均氢氘交换:

[1564] (i)选自核心区域A的14个残基,

[1565] (ii)选自核心区域B的10个残基,或

[1566] (iii)选自核心区域D的13个残基,

[1567] 例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。

[1568] 39.如实施方案37所述的抗体分子,其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域C的15个残基处的平均氢氘交换:

[1569] (i)选自核心区域A的10个残基,

[1570] (ii)选自核心区域B的8个残基,或

[1571] (iii)选自核心区域D的10个残基,

[1572] 例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。

[1573] 40.如实施方案37所述的抗体分子,其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域C的10个残基处的平均氢氘交换:

[1574] (i)选自核心区域A的7个残基,

[1575] (ii)选自核心区域B的5个残基,或

[1576] (iii)选自核心区域D的7个残基,

[1577] 例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。

[1578] 41.如实施方案37-40中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域A处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[1579] 42.如实施方案37-40中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域B处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[1580] 43.如实施方案37-40中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[1581] 44.如实施方案37-40中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域A和核心区域B处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[1582] 45.如实施方案37-40中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域A和核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[1583] 46.如实施方案37-40中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[1584] 47.如实施方案37-40中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域A、核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[1585] 48.如实施方案1-28或34-36中任一项所述的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子以比在选自核心区域B(SEQ ID NO:105的残基206-215)的X_B个残基、在选自核心区域C(SEQ ID NO:105的残基368-387)的X_C个残基、或在选自核心区域D(SEQ ID NO:105的残基297-309)的X_D个残基处更大的程度降低在选自核心区域A(SEQ ID NO:105的残基158-172)的X_A个残基处的平均氢氘交换,其中:

[1586] X_A等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14，

[1587] X_B等于1、2、3、4、5、6、7、8、9或10，

[1588] X_C等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15或20，并且

[1589] X_D等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13。

[1590] 49.如实施方案48所述的抗体分子，其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时，所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域A的14个残基处的平均氢氘交换：

[1591] (i)选自核心区域B的10个残基，

[1592] (ii)选自核心区域C的20个残基，或

[1593] (iii)选自核心区域D的13个残基，

[1594] 例如，当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如，pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。

[1595] 50.如实施方案48所述的抗体分子，其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时，所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域A的10个残基处的平均氢氘交换：

[1596] (i)选自核心区域B的8个残基，

[1597] (ii)选自核心区域C的15个残基，或

[1598] (iii)选自核心区域D的10个残基，

[1599] 例如，当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如，pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。

[1600] 51.如实施方案48所述的抗体分子，其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时，所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域A的7个残基处的平均氢氘交换：

[1601] (i)选自核心区域B的5个残基，

[1602] (ii)选自核心区域C的10个残基，或

[1603] (iii)选自核心区域D的7个残基，

[1604] 例如，当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如，pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。

[1605] 52.如实施方案48-51中任一项所述的抗体分子，其中抗体结合以比核心区域B处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[1606] 53.如实施方案48-51中任一项所述的抗体分子，其中抗体结合以比核心区域C处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[1607] 54.如实施方案48-51中任一项所述的抗体分子，其中抗体结合以比核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[1608] 55.如实施方案48-51中任一项所述的抗体分子，其中抗体结合以比核心区域B和核心区域C处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[1609] 56.如实施方案48-51中任一项所述的抗体分子，其中抗体结合以比核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[1610] 57.如实施方案48-51中任一项所述的抗体分子，其中抗体结合以比核心区域C和

核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[1611] 58.如实施方案48-51中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域B、核心区域C和核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[1612] 59.如实施方案1-28或34-58中任一项所述的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有平均氢氘交换最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215。

[1613] 60.如实施方案1-28或34-59中任一项所述的抗体分子,其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子导致:

[1614] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,在SEQ ID NO:105的残基368-387处,每个残基的平均氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da;或

[1615] (ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的平均氢氘交换减少小于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da。

[1616] 61.如实施方案36-60中任一项所述的抗体分子,其中所述蛋白质由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成。

[1617] 62.如实施方案1-28或34-61中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个或四个残基直接或间接接触。

[1618] 63.如实施方案1-28或34-62中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基206-215内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触。

[1619] 64.如实施方案1-28或34-63中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105或106的残基368-387内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触。

[1620] 65.如实施方案1-28或34-64中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基87-104内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触。

[1621] 66.如实施方案1-28或34-65中任一项所述的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用TMT同位素标记,例如,使用实例9中所述的方法,例如,使用TMT同位素标记进行30s标记时间测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的残基K136(根据SEQ ID NO:105编号)时,所述抗体分子减少残基K136处的串联质谱标签(TMT)标记,任选地其中所述抗体分子进一步减少蛋白质的残基K133、K162、K179、K206、K214、K285、K291和K341(根据SEQ ID NO:105编号)中的一个或多个处的TMT标记,例如蛋白质的残基K162、K206、K214、K285、K291和K341(根据SEQ ID NO:105编号)中的一个或多个处的TMT标记。

[1622] 67.如实施方案1-28或34-66中任一项所述的抗体分子,其中例如,当所述抗体分

子作为二价抗体分子使用TMT同位素标记,例如,使用实例9中所述的方法,例如,使用TMT同位素标记进行30s标记时间测试时,当结合至残基K262和K274(根据SEQ ID NO:105编号)中的一者或两者处时,所述抗体分子减少所述残基中的一者或两者处的TMT标记。

[1623] 68.如实施方案1-28或34-67中任一项所述的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用TMT同位素标记,例如,使用实例9中所述的方法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的残基K206和K214(根据SEQ ID NO:105编号)时,所述抗体分子减少残基K206和K214处的串联质谱标签(TMT)标记,其中残基K214处的减少不少于残基K206处的减少的90%、80%、70%、60%、或50%,例如其中使用TMT同位素标记进行30s标记时间,残基K214处的减少不少于残基K206处的减少的90%、80%、70%、60%、或50%,例如其中使用TMT同位素标记进行300s标记时间,残基K214处的减少不少于残基K206处的减少的90%、80%、70%、60%、50%、40%、或30%。

[1624] 69.如实施方案1-28或34-68中任一项所述的抗体分子,其中当所述抗体分子使用TMT同位素标记进行30s标记时间测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的残基K162(根据SEQ ID NO:105编号)时,所述抗体分子减少残基K162处的串联质谱标签(TMT)标记,其中

[1625] (i)使用TMT同位素标记进行300s标记时间测试时,所述抗体分子不会减少残基K162处的TMT标记,或

[1626] (ii)使用TMT同位素标记进行300s标记时间测试时,所述抗体分子减少残基K162处的TMT标记,其中300s标记时间下残基K162处的减少不多于30s标记时间下残基K162处的减少的20%、30%、40%、或50%,

[1627] 例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子例如使用实例9中所述的方法测试时。

[1628] 70.如实施方案1-28或34-69中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子例如通过静电相互作用和/或氢键结合至CD73的一个或多个残基,其中所述一个或多个残基选自由残基Y110、K136、L132、L157、K162、S155和T209组成的组,根据SEQ ID NO:105进行编号,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的。

[1629] 71.如实施方案1-28或34-70中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子包含重链可变区和轻链可变区,其中所述抗体分子具有以下特性中的一个或多个(例如1、2、3、4个或全部):

[1630] (i)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如,重链可变区的R54,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的Y110(例如,Y110的骨架羰基)或K136(例如,K136的骨架羰基)例如通过静电相互作用结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,

[1631] (ii)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如,重链可变区的R31,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的L132(例如,L132的骨架羰基)或L157(例如,L157的骨架羰基)例如通过静电相互作用结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,

[1632] (iii)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如,重链可变区的S99(例如,S99的骨架羰基)、R31(例如,R31的骨架羰基)、或E95(例如,E95的侧链),根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的K162(例如,K162的侧链)例如通过静电相互作用结合,例

如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,

[1633] (iv)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如,重链可变区的E98,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的S155(例如,S155的侧链)例如通过氢键结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,以及

[1634] (v)所述抗体分子(例如,轻链可变区,例如,轻链可变区的W32(例如,W32的侧链,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的T209(例如,T209的侧链)例如通过氢键结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的。

[1635] 72.如实施方案1-28或34-71中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子例如通过形状互补和/或范德华相互作用结合至CD73的一个或多个区域,其中所述一个或多个区域选自由残基155-170、136-138和209-210组成的组,根据SEQ ID NO:105进行编号,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的。

[1636] 73.如实施方案1-28或34-72中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子包含重链可变区和轻链可变区,其中所述抗体分子具有以下特性中的一个或多个(例如1、2个或全部):

[1637] (i)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如重链可变区的残基33、50、52、56、97、98、100、或100a,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的残基155-170例如通过形状互补和/或范德华相互作用结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,

[1638] (ii)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如重链可变区的残基30或31,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的残基136-138例如通过形状互补和/或范德华相互作用结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,以及

[1639] (iii)所述抗体分子(例如,轻链可变区,例如轻链可变区的残基30或32,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的残基209-210结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的。

[1640] 74.一种结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体。

[1641] 75.一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,其中当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%或40%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成。

[1642] 76.如实施方案75所述的组合物,其中所述组合物中至少70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成所述复合物。

[1643] 77.一种组合物,其包含多个结合人CD73二聚体的抗体分子,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,其中当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合

结构域时,所述组合物中至多60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自包含两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体。

[1644] 78.如实施方案77所述的组合物,其中所述组合物中至多20%、25%或30%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成所述复合物。

[1645] 79.如实施方案75-78中任一项所述的组合物,其中每个CD73单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成。

[1646] 80.一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子以比所述抗体分子结合无催化活性的开放构象的人CD73时更低的亲和力,例如低50%、60%、70%、80%、90%、95%、或99%的亲和力结合催化活性的封闭构象的人CD73。

[1647] 81.一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子阻止或减少人CD73从无催化活性的开放构象向催化活性的封闭构象的转化,例如与所述抗体分子不存在下的转化相比,将所述转化减少至少1.5倍、2倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、或100倍。

[1648] 82.一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组。

[1649] 83.一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子以比在选自核心区域A(SEQ ID NO:105的残基158-172)的X_A个残基、在选自核心区域B(SEQ ID NO:105的残基206-215)的X_B个残基、或在选自核心区域D(SEQ ID NO:105的残基297-309)的X_D个残基处更大的程度降低在选自核心区域C(SEQ ID NO:105的残基368-387)的X_C个残基处的平均氢氘交换,其中:

[1650] X_C等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15或20,

[1651] X_A等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14,

[1652] X_B等于1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,并且

[1653] X_D等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13。

[1654] 84.如实施方案83所述的抗体分子,其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域C的20个残基处的平均氢氘交换:

[1655] (i)选自核心区域A的14个残基,

[1656] (ii)选自核心区域B的10个残基,或

[1657] (iii)选自核心区域D的13个残基,

[1658] 例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。

[1659] 85.如实施方案83所述的抗体分子,其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区

域C的15个残基处的平均氢氘交换：

[1660] (i)选自核心区域A的10个残基，

[1661] (ii)选自核心区域B的8个残基，或

[1662] (iii)选自核心区域D的10个残基，

[1663] 例如，当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如，pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。

[1664] 86.如实施方案83所述的抗体分子，其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时，所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域C的10个残基处的平均氢氘交换：

[1665] (i)选自核心区域A的7个残基，

[1666] (ii)选自核心区域B的5个残基，或

[1667] (iii)选自核心区域D的7个残基，

[1668] 例如，当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如，pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。

[1669] 87.如实施方案83-86中任一项所述的抗体分子，其中抗体结合以比核心区域A处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[1670] 88.如实施方案83-86中任一项所述的抗体分子，其中抗体结合以比核心区域B处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[1671] 89.如实施方案83-86中任一项所述的抗体分子，其中抗体结合以比核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[1672] 90.如实施方案83-86中任一项所述的抗体分子，其中抗体结合以比核心区域A和核心区域B处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[1673] 91.如实施方案83-86中任一项所述的抗体分子，其中抗体结合以比核心区域A和核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[1674] 92.如实施方案83-86中任一项所述的抗体分子，其中抗体结合以比核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[1675] 93.如实施方案83-86中任一项所述的抗体分子，其中抗体结合以比核心区域A、核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域C处的平均氢氘交换。

[1676] 94.一种结合人CD73的抗体分子，其中例如，当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如，pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时，当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时，所述抗体分子以比在选自核心区域B(SEQ ID NO:105的残基206-215)的X_B个残基、在选自核心区域C(SEQ ID NO:105的残基368-387)的X_C个残基、或在选自核心区域D(SEQ ID NO:105的残基297-309)的X_D个残基处更大的程度降低在选自核心区域A(SEQ ID NO:105的残基158-172)的X_A个残基处的平均氢氘交换，其中：

[1677] X_A等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14，

[1678] X_B等于1、2、3、4、5、6、7、8、9或10，

[1679] X_C等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15或20，并且

[1680] X_D等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13。

[1681] 95.如实施方案94所述的抗体分子,其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域A的14个残基处的平均氢氘交换:

[1682] (i)选自核心区域B的10个残基,

[1683] (ii)选自核心区域C的20个残基,或

[1684] (iii)选自核心区域D的13个残基,

[1685] 例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。

[1686] 96.如实施方案94所述的抗体分子,其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域A的10个残基处的平均氢氘交换:

[1687] (i)选自核心区域B的8个残基,

[1688] (ii)选自核心区域C的15个残基,或

[1689] (iii)选自核心区域D的10个残基,

[1690] 例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。

[1691] 97.如实施方案94所述的抗体分子,其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子以比在以下处更大的程度降低在选自核心区域A的7个残基处的平均氢氘交换:

[1692] (i)选自核心区域B的5个残基,

[1693] (ii)选自核心区域C的10个残基,或

[1694] (iii)选自核心区域D的7个残基,

[1695] 例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时。

[1696] 98.如实施方案94-97中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域B处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[1697] 99.如实施方案94-97中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域C处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[1698] 100.如实施方案94-97中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[1699] 101.如实施方案94-97中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域B和核心区域C处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[1700] 102.如实施方案94-97中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域B和核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[1701] 103.如实施方案94-97中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域C和核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[1702] 104.如实施方案94-97中任一项所述的抗体分子,其中抗体结合以比核心区域B、核心区域C和核心区域D处更大的程度降低核心区域A处的平均氢氘交换。

[1703] 105.一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子

使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的一个或多个区域时,所述抗体分子降低所述一个或多个区域的氢氘交换,其中所述一个或多个区域选自由SEQ ID NO:105的残基158-172、残基206-215、残基368-387和残基87-104组成的组,其中所述一个或多个区域中具有平均氢氘交换最大减少的区域不是SEQ ID NO:105的残基206-215。

[1704] 106.一种结合人CD73的抗体分子,其中当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质时,所述抗体分子导致:

[1705] (i)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,在SEQ ID NO:105的残基368-387处,每个残基的平均氢氘交换减少超过例如0.02、0.03、0.04、0.05或0.06Da;或

[1706] (ii)例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用在pH 7-8(例如,pH 7.5)和室温下进行1分钟交换的氢氘交换质谱法测试时,在SEQ ID NO:105的残基206-215处,每个残基的平均氢氘交换减少小于例如0.05、0.04、0.03或0.02Da。

[1707] 107.如实施方案82-106中任一项所述的抗体分子,其中所述蛋白质由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成。

[1708] 108.一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基158-172内的至少一个、两个、三个或四个残基直接或间接接触。

[1709] 109.一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基206-215内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触。

[1710] 110.一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105或106的残基368-387内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触。

[1711] 111.一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子例如与SEQ ID NO:105的残基87-104内的至少一个、两个、三个、四个或五个残基直接或间接接触。

[1712] 112.一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用TMT同位素标记,例如,使用实例9中所述的方法,例如,使用TMT同位素标记进行30s标记时间测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的残基K136(根据SEQ ID NO:105编号)时,所述抗体分子减少残基K136处的串联质谱标签(TMT)标记,任选地其中所述抗体分子进一步减少蛋白质的残基K133、K162、K179、K206、K214、K285、K291和K341(根据SEQ ID NO:105编号)中的一个或多个处的TMT标记,例如蛋白质的残基K162、K206、K214、K285、K291和K341(根据SEQ ID NO:105编号)中的一个或多个处的TMT标记。

[1713] 113.如实施方案112所述的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用TMT同位素标记,例如,使用实例9中所述的方法,例如,使用TMT同位素标记进行30s标记时间测试时,当结合至残基K262和K274(根据SEQ ID NO:105编号)中的一者或两者处时,所述抗体分子减少所述残基中的一者或两者处的TMT标记。

[1714] 114.一种结合人CD73的抗体分子,其中例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子使用TMT同位素标记,例如,使用实例9中所述的方法测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的残基K206和K214(根据SEQ ID NO:105编号)时,所述抗体分子减少残基K206和K214处的串联质谱标签(TMT)标记,其中残基K214处的减少不

少于残基K206处的减少的90％、80％、70％、60％、或50％,例如其中使用TMT同位素标记进行30s标记时间,残基K214处的减少不少于残基K206处的减少的90％、80％、70％、60％、或50％,例如其中使用TMT同位素标记进行300s标记时间,残基K214处的减少不少于残基K206处的减少的90％、80％、70％、60％、50％、40％、或30％。

[1715] 115.一种结合人CD73的抗体分子,其中当所述抗体分子使用TMT同位素标记进行30s标记时间测试时,当结合至包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列的蛋白质的残基K162(根据SEQ ID NO:105编号)时,所述抗体分子减少残基K162处的串联质谱标签(TMT)标记,其中:

[1716] (i)使用TMT同位素标记进行300s标记时间测试时,所述抗体分子不会减少残基K162处的TMT标记,或

[1717] (ii)使用TMT同位素标记进行300s标记时间测试时,所述抗体分子减少残基K162处的TMT标记,其中300s标记时间下残基K162处的减少不多于30s标记时间下残基K162处的减少的20％、30％、40％、或50％,

[1718] 例如,当所述抗体分子作为二价抗体分子例如使用实例9中所述的方法测试时。

[1719] 116.一种结合人CD73的抗体分子,其中所述抗体分子例如通过静电相互作用和/或氢键结合至CD73的一个或多个残基,其中所述一个或多个残基选自由残基Y110、K136、L132、L157、K162、S155和T209组成的组,根据SEQ ID NO:105进行编号,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的。

[1720] 117.如实施方案116所述的抗体分子,其中所述抗体分子包含重链可变区和轻链可变区,其中所述抗体分子具有以下特性中的一个或多个(例如1、2、3、4个或全部):

[1721] (i)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如,重链可变区的R54,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的Y110(例如,Y110的骨架羰基)或K136(例如,K136的骨架羰基)例如通过静电相互作用结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,

[1722] (ii)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如,重链可变区的R31,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的L132(例如,L132的骨架羰基)或L157(例如,L157的骨架羰基)例如通过静电相互作用结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,

[1723] (iii)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如,重链可变区的S99(例如,S99的骨架羰基)、R31(例如,R31的骨架羰基)、或E95(例如,E95的侧链),根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的K162(例如,K162的侧链)例如通过静电相互作用结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,

[1724] (iv)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如,重链可变区的E98,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的S155(例如,S155的侧链)例如通过氢键结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,以及

[1725] (v)所述抗体分子(例如,轻链可变区,例如,轻链可变区的W32(例如,W32的侧链,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的T209(例如,T209的侧链)例如通过氢键结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的。

[1726] 118.如实施方案116或117所述的抗体分子,其中所述抗体分子例如通过形状互补

和/或范德华相互作用结合至CD73的一个或多个区域,其中所述一个或多个区域选自由残基155-170、136-138和209-210组成的组,根据SEQ ID NO:105进行编号,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的。

[1727] 119.如实施方案116-118中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子包含重链可变区和轻链可变区,其中所述抗体分子具有以下特性中的一个或多个(例如1、2个或全部):

[1728] (i)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如重链可变区的残基33、50、52、56、97、98、100、或100a,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的残基155-170例如通过形状互补和/或范德华相互作用结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,

[1729] (ii)所述抗体分子(例如,重链可变区,例如重链可变区的残基30或31,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的残基136-138例如通过形状互补和/或范德华相互作用结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的,以及

[1730] (iii)所述抗体分子(例如,轻链可变区,例如轻链可变区的残基30或32,根据卡巴特编号进行编号)与CD73(根据SEQ ID NO:105编号)的残基209-210结合,例如,通过使用晶体结构分析,例如使用实例8中所述的方法确定的。

[1731] 120.如实施方案82-119中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,其中当所述抗体分子包含第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域时,所述第一抗原结合结构域结合所述第一CD73单体并且所述第二抗原结合结构域结合所述第二CD73单体。

[1732] 121.一种组合物,其包含多个如实施方案82-119中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,其中当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至少30%、35%或40%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自由一个抗体分子和一个CD73二聚体组成。

[1733] 122.如实施方案121所述的组合物,其中所述组合物中至少70%、75%或80%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成所述复合物。

[1734] 123.一种组合物,其包含多个如实施方案82-119中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子结合人CD73二聚体,所述二聚体由第一CD73单体和第二CD73单体组成,每个单体均包含SEQ ID NO:105的残基27-547的氨基酸序列,其中当所述多个抗体分子各自包含相同的第一抗原结合结构域和相同的第二抗原结合结构域时,所述组合物中至多60%、65%或70%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成复合物,其中所述复合物各自包含两个或更多个抗体分子和两个或更多个CD73二聚体。

[1735] 124.如实施方案123所述的组合物,其中所述组合物中至多20%、25%或30%的所述抗体分子结合所述CD73二聚体以形成所述复合物。

[1736] 125.如实施方案121-124中任一项所述的组合物,其中每个CD73单体均由SEQ ID NO:171的氨基酸序列组成。

[1737] 126.如实施方案82-119中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子以比所述抗体分子结合无催化活性的开放构象的人CD73时更低的亲和力,例如低50%、60%、70%、80%、90%、95%、或99%的亲和力结合催化活性的封闭构象的人CD73。

[1738] 127.如实施方案82-119中任一项所述的抗体分子,其中所述抗体分子阻止或减少人CD73从无催化活性的开放构象向催化活性的封闭构象的转化,例如与所述抗体分子不存在下的转化相比,将所述转化减少至少1.5倍、2倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、或100倍。

[1739] 128.一种抗体分子,其与如实施方案1-127中任一项所述的抗体分子或组合物竞争结合人CD73。

[1740] 129.一种抗体分子,其结合与如实施方案1-128中任一项所述的抗体分子或组合物的表位相同的表位、基本上相同的表位、与其重叠的表位或与其基本上重叠的表位。

[1741] 130.一种药物组合物,其包含如实施方案1-129中任一项所述的抗体分子或组合物,以及药学上可接受的运载体、赋形剂或稳定剂。

[1742] 131.一种核酸,其编码如实施方案1-28、34-74、80-120或126-129中任一项所述的抗体分子的抗体重链或轻链可变区。

[1743] 132.一种核酸,其编码重链可变区,其中所述核酸包含SEQ ID NO:45、78、85、143、152、160、67、32、11或169的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:45、78、85、143、152、160、67、32、11或169具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的核苷酸序列。

[1744] 133.如实施方案132所述的核酸,其中所述核酸编码重链,其中所述核酸包含SEQ ID NO:47、80、87、69、34或13的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:47、80、87、69、34或13具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的核苷酸序列。

[1745] 134.一种核酸,其编码轻链可变区,其中所述核酸包含SEQ ID NO:56、144、22或170的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:56、144、22或170具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的核苷酸序列。

[1746] 135.如实施方案134所述的核酸,其中所述核酸编码轻链,其中所述核酸包含SEQ ID NO:58或24的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:58或24具有至少约85%、90%、95%或99%序列同一性的核苷酸序列。

[1747] 136.一种表达载体,其包含如实施方案131-135中任一项所述的核酸。

[1748] 137.一种宿主细胞,其包含如实施方案131-135中任一项所述的核酸或如实施方案136所述的表达载体。

[1749] 138.一种产生抗体分子的方法,所述方法包括在适合基因表达的条件下培养如实施方案137所述的宿主细胞。

[1750] 139.一种刺激受试者中的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效刺激所述免疫应答的量的如实施方案1-130中任一项所述的抗体分子、组合物或药物组合物。

[1751] 140.一种治疗受试者中的癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效治疗所述癌症的量的如实施方案1-130中任一项所述的抗体分子、组合物或药物组合物。

[1752] 141.如实施方案140所述的方法,其中所述癌症选自肺癌(例如,非小细胞肺癌)、胰腺癌(例如,胰管腺癌)、乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌)、黑色素瘤、头颈癌(例如,鳞状头颈

癌)、结直肠癌(例如,微卫星稳定(MSS)结直肠癌)、卵巢癌或肾癌(例如,肾细胞癌)。

[1753] 142.如实施方案139-141中任一项所述的方法,其中施用所述抗体分子,剂量为约100mg至1600mg、约100mg至1400mg、约100mg至1200mg、约100mg至1000mg、约100mg至800mg、约100mg至600mg、约100mg至400mg、约100mg至200mg、或约100mg、约180mg或约200mg,每两周施用一次(Q2W);任选地其中所述抗体分子的施用剂量为至少约180mg Q2W。

[1754] 143.如实施方案139-141中任一项所述的方法,其中施用所述抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg、约100mg至500mg、约500mg至1000mg、约1000mg至1500mg、约1500mg至2000mg、约2000mg至2500mg、约2500mg至3000mg、约3000mg至3500mg、或约3500mg至4000mg,例如剂量为约6mg、约20mg、约60mg、约200mg、约600mg、约1200mg、约2400mg、约3000mg、或约3600mg,例如每周施用一次(QW)、每两周施用一次(Q2W)、或每四周施用一次(Q4W),例如Q2W。

[1755] 144.如实施方案139-143中任一项所述的方法,其中静脉内施用所述抗体分子。

[1756] 145.如实施方案139-144中任一项所述的方法,其中将所述抗体分子与第二治疗剂或治疗术组合施用。

[1757] 146.如实施方案145所述的方法,其中所述第二治疗剂或治疗术选自化学疗法、靶向抗癌疗法、溶瘤药物、细胞毒性剂、基于免疫的疗法、细胞因子、外科手术、放射程序、共刺激分子的激活剂、抑制分子的抑制剂、疫苗或细胞疗法中的一种或多种。

[1758] 147.如实施方案145所述的方法,其中所述第二治疗剂或治疗术选自以下中的一种或多种:1)蛋白激酶C(PKC)抑制剂;2)热休克蛋白90(HSP90)抑制剂;3)磷酸肌醇3-激酶(PI3K)和/或雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的抑制剂;4)细胞色素P450的抑制剂(例如,CYP17抑制剂或17α-羟化酶/C17-20裂解酶抑制剂);5)铁螯合剂;6)芳香酶抑制剂;7)p53抑制剂,例如,p53/Mdm2相互作用的抑制剂;8)细胞凋亡诱导剂;9)血管生成抑制剂;10)醛固酮合酶抑制剂;11)平滑(SMO)受体抑制剂;12)催乳素受体(PRLR)抑制剂;13)Wnt信号传导抑制剂;14)CDK4/6抑制剂;15)成纤维细胞生长因子受体2(FGFR2)/成纤维细胞生长因子受体4(FGFR4)抑制剂;16)巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)的抑制剂;17)c-KIT、组胺释放、Flt3(例如FLK2/STK1)或PKC中的一种或多种的抑制剂;18)VEGFR-2(例如FLK-1/KDR)、PDGFRβ、c-KIT或Raf激酶C中一种或多种的抑制剂;19)生长激素抑制素激动剂和/或生长激素释放抑制剂;20)间变性淋巴瘤激酶(ALK)抑制剂;21)胰岛素样生长因子1受体(IGF-1R)抑制剂;22)P-糖蛋白1抑制剂;23)血管内皮生长因子受体(VEGFR)抑制剂;24)BCR-ABL激酶抑制剂;25)FGFR抑制剂;26)CYP11B2的抑制剂;27)HDM2抑制剂,例如HDM2-p53相互作用的抑制剂;28)酪氨酸激酶的抑制剂;29)c-MET的抑制剂;30)JAK的抑制剂;31)DAC的抑制剂;32)11β-羟化酶的抑制剂;33)IAP的抑制剂;34)PIM激酶的抑制剂;35)博库派恩的抑制剂;36)BRAF(例如BRAF V600E或野生型BRAF)的抑制剂;37)HER3的抑制剂;38)MEK的抑制剂;或39)脂质激酶的抑制剂。

[1759] 148.如实施方案145所述的方法,其中将所述抗体分子与PD-1抑制剂组合施用,任选地其中所述PD-1抑制剂选自由PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591和AMP-224组成的组,任选地其中:

[1760] 所述PD-1抑制剂是抗PD-1抗体分子,其中施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约250mg至350mg、约350mg至450mg、或约450mg至550mg,例如剂量为约300mg或

约400mg,例如每三周施用一次(Q3W)或每四周施用一次(Q4W),例如剂量为约300mg Q3W、或剂量为约400mg Q4W,任选地其中:

[1761] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如20mg,Q2W;并且施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W,

[1762] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如60mg,Q2W;并且施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W,

[1763] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约100mg至500mg,例如200mg,Q2W;并且施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W,

[1764] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约500mg至1000mg,例如600mg,Q2W;并且施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W,

[1765] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1000mg至1500mg,例如1200mg,Q2W;并且施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W,

[1766] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;并且施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W,

[1767] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg至3500mg,例如3000mg,Q2W;并且施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W,或

[1768] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3500mg至4000mg,例如3600mg,Q2W;并且施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W。

[1769] 149.如实施方案145所述的方法,其中将所述抗体分子与腺苷A2AR拮抗剂组合施用,任选地其中:

[1770] (i)所述腺苷A2AR拮抗剂选自由以下组成的组:PBF509、CPI444、AZD4635、维帕迪南、GBV-2034和AB928;或

[1771] (ii)所述腺苷A2AR拮抗剂选自由以下组成的组:5-溴-2,6-二-(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺;(S)-7-(5-甲基呋喃-2-基)-3-((6-(((四氢呋喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺;(R)-7-(5-甲基呋喃-2-基)-3-((6-(((四氢呋喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺,或其外消旋物;7-(5-甲基呋喃-2-基)-3-((6-(((四氢呋喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺;以及6-(2-氯-6-甲基吡啶-4-基)-5-(4-氟苯基)-1,2,4-三嗪-3-胺,任选地其中:

[1772] 施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg、约60mg至100mg、约100mg至140mg、约140mg至180mg、约180mg至220mg、约220mg至260mg、约260mg至300mg、约

300mg至340mg、约340mg至380mg、约380mg至480mg、约480mg至580mg、或约580mg至680mg,例如剂量为约40mg、约80mg、约160mg、约320mg、约480mg、或约620mg,例如每天施用一次(QD)、每天施用两次(BID)、或每天施用三次(TID),例如BID,任选地其中:

[1773] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如20mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID,

[1774] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如60mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID,

[1775] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约100mg至500mg,例如200mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约60mg至100mg,例如80mg,BID,

[1776] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约100mg至500mg,例如200mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID,

[1777] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约500mg至1000mg,例如600mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID,

[1778] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1000mg至1500mg,例如1200mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID,

[1779] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID,

[1780] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID,

[1781] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约480mg至580mg,例如480mg,BID,

[1782] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约580mg至680mg,例如620mg,BID,

[1783] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg至3500mg,例如3000mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID,

[1784] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg至3500mg,例如3000mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约480mg至580mg,例如480mg,BID,

[1785] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg至3500mg,例如3000mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约580mg至680mg,例如620mg,BID,

[1786] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3500mg至4000mg,例如3600mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID,

[1787] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3500mg至4000mg,例如3600mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约480mg至580mg,例如480mg,BID,或

[1788] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3500mg至4000mg,例如3600mg,Q2W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约580mg至680mg,例如620mg,BID。

[1789] 150.如实施方案145所述的方法,其中将所述抗体分子与PD-1抑制剂和腺苷A2AR拮抗剂组合施用,任选地其中:

[1790] 所述PD-1抑制剂是抗PD-1抗体分子,其中施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约250mg至350mg、约350mg至450mg、或约450mg至550mg,例如剂量为约300mg或约400mg,例如每三周施用一次(Q3W)或每四周施用一次(Q4W),例如剂量为约300mg Q3W、或剂量为约400mg Q4W,任选地其中:

[1791] 施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg、约60mg至100mg、约100mg至140mg、约140mg至180mg、约180mg至220mg、约220mg至260mg、约260mg至300mg、约300mg至340mg、或约340mg至380mg,例如剂量为约40mg、约80mg、约160mg、或约320mg,例如每天施用一次(QD)、每天施用两次(BID)、或每天施用三次(TID),例如BID,任选地其中:

[1792] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如20mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID,

[1793] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约5mg至100mg,例如60mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约20mg至60mg,例如40mg,BID,

[1794] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约100mg至500mg,例如200mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约60mg至100mg,例如80mg,BID,

[1795] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约100mg至500mg,例如200mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID,

[1796] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约500mg至1000mg,例如600mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID,

[1797] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约1000mg至1500mg,例如1200mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID,

[1798] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约140mg至180mg,例如160mg,BID,

[1799] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID,

[1800] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约480mg至580mg,例如480mg,BID,

[1801] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约2000mg至2500mg,例如2400mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约580mg至680mg,例如620mg,BID,

[1802] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg至3500mg,例如3000mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID,

[1803] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg至3500mg,例如3000mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约480mg至580mg,例如480mg,BID,

[1804] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3000mg至3500mg,例如3000mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约580mg至680mg,例如620mg,BID,

[1805] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3500mg至4000mg,例如3600mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约300mg至340mg,例如320mg,BID,

[1806] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3500mg至4000mg,例如3600mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约480mg至580mg,例如480mg,BID,或

[1807] 施用所述抗CD73抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约3500mg至4000mg,例如3600mg,Q2W;施用所述抗PD-1抗体分子,例如静脉内施用,剂量为约350mg至450mg,例如400mg,Q4W;并且施用所述腺苷A2AR拮抗剂,例如口服施用,剂量为约580mg至680mg,例如

620mg,BID。

[1808] 151.如实施方案145所述的方法,其中将所述抗体分子与PD-L1抑制剂组合施用,任选地其中所述PD-L1抑制剂选自由FAZ053、阿特珠单抗、阿维鲁单抗、度伐鲁单抗和BMS-936559组成的组。

[1809] 152.如实施方案145所述的方法,其中将所述抗体分子与PD-L1抑制剂和腺苷A2AR拮抗剂组合施用。

[1810] 153.如实施方案145所述的方法,其中将所述抗体分子与如下组合施用:

[1811] (i)CTLA-4抑制剂,任选地其中所述CTLA-4抑制剂是艾匹利木单抗或曲美利木单抗;

[1812] (ii)TIM-3抑制剂,任选地其中所述TIM-3抑制剂选自由MGB453、TSR-022和LY3321367组成的组;

[1813] (iii)LAG-3抑制剂,任选地其中所述LAG-3抑制剂选自由LAG525、BMS-986016、TSR-033、MK-4280和REGN3767组成的组;

[1814] (iv)GITR激动剂,任选地其中所述GITR激动剂选自GWN323、BMS-986156、MK-4166、MK-1248、TRX518、INCAGN1876、AMG 228、或INBRX-110组成的组;

[1815] (v)抗CD3多特异性抗体分子,任选地其中所述抗CD3多特异性抗体分子是抗CD3 x抗CD123双特异性抗体分子(例如XENP14045)、或抗CD3 x抗CD20双特异性抗体分子(例如XENP13676);

[1816] (vi)细胞因子分子,任选地其中所述细胞因子分子是与可溶形式的IL-15受体α(IL-15Ra)复合的IL-15;

[1817] (vii)STING激动剂;

[1818] (viii)巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)抑制剂,任选地其中所述M-CSF抑制剂是MCS110;

[1819] (ix)CSF-1R抑制剂,任选地其中所述CSF-1R抑制剂是BLZ945;

[1820] (x)吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)和/或色氨酸2,3-双加氧酶(TDO)的抑制剂;

[1821] (xi)TGF-β抑制剂;

[1822] (xii)溶瘤疫苗;

[1823] (xiii)嵌合抗原受体(CAR)T细胞疗法,任选地其中所述CART细胞疗法是CTL019;或

[1824] (xiv)表18中披露的化合物。

[1825] 154.一种检测生物样品或受试者中CD73的方法,所述方法包括(i)在允许如实施方案1-94中任一项所述的抗体分子或组合物与CD73发生相互作用的条件下使所述样品或所述受试者(和任选地,参比样品或受试者)与所述抗体分子或组合物接触,以及(ii)检测所述抗体分子或组合物与所述样品或所述受试者(和任选地,所述参比样品或受试者)之间复合物的形成。

[1826] 实例

[1827] 以下实例用于帮助理解本发明,但并不旨在且也不应解释为以任何方式限制其范围。

[1828] 实例1:抗CD73抗体的产生和表征

[1829] 从合成酵母抗体库中选择和优化抗CD73抗体

[1830] 使用下述方法从八个初始人合成酵母文库中选择代表五个不同抗原箱(epitope bin)的抗CD73单克隆抗体。

[1831] 材料与方法

[1832] 使用皮尔斯公司(Pierce)的EZ-Link Sulfo-NHS-生物素化试剂盒对抗原进行生物素化。山羊F(ab')$_2$抗人κ-FITC(LC-FITC)、ExtrAvidin-PE(EA-PE)和链霉亲和素-AF633(SA-633)分别得自南方生物技术公司(Southern Biotech)、西格玛公司(Sigma)和分子探针公司(Molecular Probes)。链霉亲和素微珠(MicroBead)和MACS LC分离柱购自美天旎生物技术公司(Miltenyi Biotec)。山羊抗人IgG-PE(人-PE)获自南方生物技术公司。

[1833] 初步发现

[1834] 如前所述繁殖了8个初始人合成酵母文库,每个文库约10^9个多样性(参见例如,Y.Xu等人,Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system:a FACS-based,high-throughput selection and analytical tool.[解决选自体外酵母呈递系统的抗体的多特异性问题:基于FACS、高通量筛选和分析工具]PEDS26.10,663-70(2013);WO 2009036379;WO 2010105256;和WO 2012009568中所述的那些,将上述文献通过引用以其整体并入本文。对于前两轮选择,如前所述进行了利用美天旎(Miltenyi)MACS系统的磁珠分选技术(参见例如,Siegel等人,High efficiency recovery and epitope-specific sorting of an scFv yeast display library.[scFv酵母展示文库的高效回收和表位特异性分选]JImmunol Methods[免疫学方法杂志]286(1-2),141-153(2004),该文献通过引用以其全文并入本文)。简而言之,将酵母细胞(约10^{10}个细胞/文库)与3ml的100nM生物素化抗原在洗涤缓冲液(磷酸缓冲盐水(PBS)/0.1%牛血清白蛋白(BSA))中于30℃孵育30min。用40ml冰冷的洗涤缓冲液洗涤一次后,将细胞沉淀重悬于20mL洗涤缓冲液中,并将链霉亲和素微珠(500μl)添加到酵母中,并在4℃下孵育15min。接下来,将酵母细胞沉淀,重悬于20mL洗涤缓冲液中,并加载到美天旎LS柱上。加载20mL后,用3ml洗涤缓冲液将柱洗涤3次。然后从磁场中移出该柱,并将酵母细胞用5mL生长培养基洗脱然后生长过夜。使用流式细胞仪进行以下几轮选择。沉淀大约2×10^7个酵母细胞,用洗涤缓冲液洗涤3次,并与在平衡条件下浓度降低的生物素化抗原(100至1nM)、30nM不同物种的生物素化抗原在30℃孵育,以便获得物种交叉反应性,或用多特异性耗竭试剂(PSR)从选择中去除非特异性抗体。对于PSR耗竭,将文库用如前所述的生物素化PSR试剂的1:10稀释物进行孵育(参见例如,Y.Xu等人,Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system:a FACS-based,high-throughput selection and analytical tool.[解决选自体外酵母呈递系统的抗体的多特异性问题:基于FACS、高通量筛选和分析工具]PEDS 26.10,663-70(2013),将上述文献通过引用以其整体并入)。然后将酵母细胞用洗涤缓冲液洗涤两次,并在4℃下用LC-FITC(1:100稀释)和SA-633(1:500稀释)或EAPE(1:50稀释)二级试剂染色15分钟。用洗涤缓冲液洗涤两次后,将细胞沉淀重悬于0.3mL洗涤缓冲液中,并转移至加盖滤网(strainer)的分选管中。使用FACS ARIA分选仪(BD生物科学公司(BD Biosciences))进行分选,并确定分选门以选择具有所需特征的抗体。重复选择轮次,直到获得具有所有所需特征的群体。在最后一轮分选后,将酵母细胞铺板并挑选单个菌落进行表征。

[1835] 在初步发现阶段期间使用了轻链多样化方案,以进一步发现和改进抗体。

[1836] 轻链批多样化方案:来自初始选择输出的重链质粒通过粉碎和抓取(grab)从酵母中提取,在大肠杆菌中繁殖并随后纯化,然后转化到具有5x 10^6多样性的轻链文库中。使用与初始发现相同的条件,通过一轮MACS和四轮FACS进行选择。

[1837] 抗体优化

[1838] 通过将多样性引入重链和轻链可变区来进行抗体的优化,如下所述。

[1839] CDRH1和CDRH2选择:将单抗体的CDRH3重组到具有1x 10^8多样性的CDRH1和CDRH2变体的预制文库中,并按照初始发现中所述,用一轮MACS和四轮FACS进行选择。在不同的FACS轮次中,通过滴定或亲代Fab预复合来检查文库的PSR结合、物种交叉反应性、和亲和力,并进行分选以获得具有所需特征的群体。

[1840] 抗体生产与纯化

[1841] 将酵母克隆生长至饱和,并且然后在30℃摇动诱导48h。诱导后,将酵母细胞沉淀,并收集上清液用于纯化。使用蛋白A(Protein A)柱纯化IgG,并用pH 2.0的乙酸洗脱。Fab片段通过木瓜蛋白酶消化产生,并通过KappaSelect(GE医疗生命科学集团(GE Healthcare LifeSciences))纯化。

[1842] ForteBio K_D测量

[1843] 大体上如前所述在Octet RED384上进行ForteBio亲和力测量(参见例如Estep等人,High throughput solution-based measurement of antibody-antigen affinity and epitope binning.[抗体-抗原亲和力和表位装箱的基于溶液的高通量测量]Mabs 5(2),270-278(2013),将其通过引用以其整体并入本文)。简而言之,通过将IgG在线加载到AHQ传感器上进行ForteBio亲和力测量。传感器在分析缓冲液中离线平衡30min,然后在线监测60秒以建立基线。将带有加载的IgG的传感器暴露于100nM抗原3分钟,然后转移到测定缓冲液中3min以进行解离速率(off-rate)测量。使用1:1结合模型分析所有动力学。使用的抗原是:

[1844] • 人CD73-His:重组人5'-核苷酸酶/CD73蛋白,CF来自R&D系统公司(R&D Systems)目录:5795-EN

[1845] • 小鼠CD73-His:重组小鼠5'-核苷酸酶/CD73蛋白,CF来自R&D系统公司(R&D Systems)目录:4488-EN

[1846] • 食蟹猴CD73-His:食蟹猴CD73/NT5E蛋白(His标签),来自义翘神州公司(Sino Biological)目录:90192-C08H-50

[1847] ForteBio表位装箱(epitope binning)/配体阻断

[1848] 使用标准夹心形式交叉阻断测定进行表位装箱/配体阻断。将对照抗靶IgG加载到AHQ传感器上,并用无关的人IgG1抗体阻断传感器上未占用的Fc结合位点。然后将传感器暴露于100nM靶抗原,然后暴露于第二种抗靶抗体或配体。抗原缔合后第二抗体或配体的额外结合表明未占用的表位(非竞争者),而没有结合表明表位被阻断(竞争者或配体阻断)。

[1849] MSD-SET动力学测定

[1850] 如前所述进行平衡亲和力测量(Estep等人,2013)。溶液平衡滴定(SET)在PBS+0.1%不含IgG的BSA(PBSF)中进行,抗原保持恒定在10-100pM,并与从5-100nM开始的抗体的3至5倍系列稀释物一起孵育(实验条件取决于样本)。将抗体(PBS中20nM)于4℃下过夜或

于室温下30min涂覆到标准结合MSD-ECL板上。然后将板在700rpm摇动下阻断30min,然后用洗涤缓冲液(PBSF+0.05％Tween 20)洗涤3次。施加SET样品,并在板上以700rpm摇动孵育150s,然后洗涤一次。通过在板上孵育3min,用PBSF中的250ng/mL硫标签标记的链霉亲和素检测在板上捕获的抗原。将板用洗涤缓冲液洗涤3次,然后在MSD Sector Imager 2400仪器上使用具有表面活性剂的1x读数缓冲液T读数。绘制游离抗原百分数作为Prism中滴定抗体的函数,并拟合为二次方程以提取K_D。为了提高通量,在整个MSD-SET实验(包括SET样品制备)中都使用了液体处理机器人。

[1851] 细胞结合分析

[1852] 用洗涤缓冲液洗涤大约100,000个过表达抗原的细胞,并在室温下与100μl 100nM IgG孵育5分钟。然后将细胞用洗涤缓冲液洗涤两次,并与100μl的1:100人-PE在冰上孵育15分钟。然后将细胞用洗涤缓冲液洗涤两次,并在FACS Canto II分析仪(BD生物科学公司)上进行分析。

[1853] 结果

[1854] 筛选在其表面上表达人抗体的文库的酵母细胞,用于结合人CD73。来自表位箱4、918和930的两种抗体与CD73良好结合并抑制CD73的酶活性(数据未显示)。将这两种抗体进行亲和力成熟,产生两个相关抗体谱系,分别称为谱系1和谱系3(表19)。这些抗CD73抗体以三种不同的形式表达:IgG1抗体(称为.C构建体,例如350.C)、在Fc区包含S228P突变的IgG4抗体(IgG4 S228P,称为.A构建体,例如350.A)、或在Fc区包含S228P和L235E突变的IgG4抗体(IgG4 S228P/L235E,称为.B构建体,例如350.B),根据Eu编号进行编号。这些抗体的序列在表1中披露。对于抗体350.A,产生了两批抗体,以下称为350.A1和350.A2。

[1855] 表19.抗CD73抗体的两个谱系

[1856]

谱系1	抗体	IgG1形式	IgG4 S228P形式	IgG4 S228P/L235E形式
母体	918	918.C	918.A	918.B
后代	350	350.C	350.A1;350.A2;	350.B
后代	356	356.C	356.A	356.B
后代	358	358.C	358.A	358.B
谱系3	抗体	IgG1形式	IgG4 S228P形式	IgG4 S228P/L235E形式
母体	930	930.C	930.A	930.B
后代	373	373.C	373.A	373.B
后代	374	374.C	374.A	374.B
后代	376	376.C	376.A	376.B
后代	377	377.C	377.A	377.B
后代	379	379.C	379.A	379.B

[1857] 全部测试的抗CD73抗体均与人和食蟹猴CD73结合。谱系1抗体也结合鼠CD73。表20提供了使用如上所述的Octet测量的这些抗体的K_d值。

[1858] 表20.抗CD73抗体的亲和力

[1859]

mAb	人 ForteBio 完整 IgG Kd (M)	食蟹猴 ForteBio 完整 IgG Kd (M)	鼠 ForteBio 完整 IgG Kd (M)
918.C	1.53E-09	未确定	8.88E-09
350.C	2.48E-10*	6.35E-10	4.09E-10*
356.C	2.43E-10*	6.93E-10	4.01E-10
358.C	3.17E-10	8.14E-10	3.51E-09
930.C	1.83E-09	未确定	未结合
373.C	6.21E-10	9.14E-10	未结合
374.C	3.58E-10	1.03E-10	未结合
376.C	3.01E-10	未确定	未结合
377.C	5.72E-10	1.42E-09	未结合
379.C	5.50E-10	1.62E-09	未结合

[1860] *K_d测量值接近上限

[1861] 接下来,使用表位装箱/配体阻断研究,发现亲本抗体918与后代抗体350、356和358竞争结合CD73。类似地,亲本抗体930与后代抗体373、374、376、377和379竞争结合CD73。918和930均与内部参比抗CD73抗体竞争,这表明这些抗体共享相同的表位箱。

[1862] 使用表面等离子体共振测量Fab和抗体亲和力

[1863] mAb 350和373的Fab是通过在350和373的重链的核心铰链区上方的两个脯氨酸残基之间改造终止子(stop)来产生的。两者均在Expi293F(赛默飞世尔(ThermoFisher))细胞中表达,并使用CaptureSelect IgG CH1亲和树脂(赛默飞世尔)纯化。

[1864] Biacore用于测量与mAb 350和373的Fab材料的跨物种亲和力。使用的蛋白质如下:重组人CD73(R&D系统公司5795-EN);重组食蟹猴CD73(义翘神州公司90912-C08H):重组小鼠CD73(R&D系统公司4488-EN);以及重组大鼠CD73(义翘神州公司80375-R08H)。将抗人Fab(GE医疗生命科学集团)固定在CM5芯片(GE)的所有4个流通池(Fc)上。Fab 350和373以约20RU捕获在Fc2和Fc4上。使0.01nM至90nM CD73(3倍稀释系列)流过所有4个Fc。将所有样品在运行缓冲液HBS-EP+(pH 7.4,0.01M HEPES,150mM NaCl,3mM EDTA和0.05%(v/v)P20)中稀释。

[1865] 表21中显示了350和373Fab的跨物种结合的K_d(M)亲和力的结果。

[1866] 表21.抗CD73 Fab的亲和力

[1867]

Fab	抗原	K_d(M)
Fab 350	hCD73	≤1E-10
Fab 350	cCD73	≤1E-10
Fab 350	mCD73	1.728E-8
Fab 350	rCD73	2.829E-8
Fab 373	hCD73	1.304E-8
Fab 373	cCD73	9.465E-9
Fab 373	mCD73	未结合
Fab 373	rCD73	未结合

[1868] 在另一项研究中,全长抗体373.A或373.A Fab片段对人、食蟹猴、小鼠和大鼠CD73的亲和力是通过利用表面等离子共振(SPR)使用抗组氨酸(His)抗体捕获Biacore方法进行

确定。通过胺偶联将抗His Ab直接固定在CM5芯片表面上。使His标记的人CD73/His、食蟹猴CD73/His、小鼠CD73/His或大鼠CD73/His流过,并以所需的共振单位(RU)捕获(Rmax为20)。将连续稀释的IgG或Fab抗体分析物浓缩物以60μL/min流过。使用制造商的软件针对1:1结合模型对传感器图进行了分析。373.A和373.A Fab无法检测到与小鼠CD73/His蛋白和大鼠CD73/His蛋白的结合,表明373.A没有啮齿动物交叉反应。

[1869] 建立了人和食蟹猴CD73与373.A和373.A Fab的亲和力。氢-氘质谱和尺寸排阻色谱研究支持通过373.A将CD73二聚体构象锁定为开放-开放(无活性-无活性)构象的模型,支持1Ab:1CD73二聚体的1:1双齿结合(参见实例2)。因此,考虑到1:1双齿结合将有利于亲合力,使用了整个Ab亲和力而不是Fab测量。通过Biacore动力学结合研究确定,全长抗体373.A以0.991±0.267nM的K_d结合重组人CD73,并以0.068±0.009nM的K_d与重组食蟹猴CD73交叉反应。

[1870] 抗CD73抗体与全血靶接合

[1871] 使用来自健康人供体的全血通过流式细胞术评估全血靶接合。简而言之,在红细胞裂解和固定之前,将生物素化抗体与全血孵育30分钟。对固定细胞进行CD3和CD8染色以鉴定CD8+ T细胞,对链霉亲和素APC进行染色以检测生物素。染色后,洗涤细胞并进行流式细胞术分析。

[1872] 对于测试的抗CD73抗体,观察到剂量依赖性结合,如通过APC信号的中值荧光强度(MFI)所测量的(图1)。生物素化同种型对照抗体未显示与CD8+ T细胞的结合(图1)。

[1873] 人全血样本上CD73靶占用

[1874] 通过用未标记的373.A离体处理供体血液来进行CD73在人全血样品上的靶占用(TO)的概念性证明。从10μg/mL到0.17ng/mL,进行373.A或DNP-IgG4sm同种型对照的滴定。如图24A所示,来自两个供体的样品用未标记的373.A进行了较高剂量(10 μg/mL 至∽0.1 μg/mL)的处理,阻止了生物素化373.A与细胞的结合,从而降低了几何平均荧光强度(gMFI)在荧光的背景水平(两个供体约550gMFI)时达到一个稳定值。这表明全部CD73靶占用。相比之下,用较少量的未标记373.A(0.17ng/mL和0.51ng/mL)预处理的细胞的gMFI值类似于用DNP-IgG4sm同型对照预处理的样品(供体1为约1600gMFI,和供体2约为2200gMFI)。同种型对照处理的样品模仿零靶占用的血液。所得的%TO值在图24B中示出。

[1875] 抑制可溶性重组CD73的酶活性

[1876] 5'外切核苷酸酶CD73是AMP转化为腺苷的速率限制步骤。使用孔雀石绿磷酸盐测定法测量抗CD73抗体抑制CD73的酶活性的能力。简而言之,将25ng/ml重组人CD73与仅含缓冲液或在1μg/ml的同种型对照抗体或浓度为1、0.3或0.1μg/ml的抗CD73抗体350.C的存在下,与剂量滴定(0-500μM)的底物腺苷单磷酸(AMP)一起孵育。使用孔雀石绿磷酸盐检测试剂盒(Enzo Life Sciences公司,目录号BML-AK111)测量无机磷酸盐(Pi)的释放。

[1877] 如图2A所示,测试浓度的对照抗体对重组人CD73的米氏常数(K_m)没有影响。相反,抗CD73抗体350.C引起K_m曲线上的V_{max}剂量依赖性降低(图2B),表明抗体350.C是人CD73的非竞争性抑制剂。

[1878] 接下来,使用与上文所述的类似的孔雀石绿磷酸盐测试了以.A或.B形式表示的抗CD73抗体350、356、373和374抑制重组人和食蟹猴CD73的酶活性的能力。简而言之,将抗

CD73抗体与25ng/ml重组人或食蟹猴CD73在25μM AMP存在下孵育10分钟。使用孔雀石绿磷酸盐检测试剂盒(Enzo Life Sciences公司,目录号BML-AK111)测量无机磷酸盐(Pi)的释放。使用零时对照作为100％INH和使用无抗体对照作为0％INH来确定标准化的百分比抑制(％INH)。

[1879] 如图3A-3C所示,所有测试的抗CD73抗体均抑制了可溶性重组人和食蟹猴CD73的酶活性。

[1880] 抑制可溶性内源CD73的酶活性

[1881] 此外,测试了抗CD73抗体对可溶性内源CD73(例如,从细胞表面脱落的CD73)的酶抑制活性。

[1882] 在第一个研究中,在100μM AMP存在下,以.A或.B形式表示的抗CD73抗体350和373、或同种型对照抗体与MDA-MB-231(人乳腺癌细胞系)无血清条件培养基(conditioned serum free media)孵育240分钟。通过改良的Cell Titer Glo(CTG)测定(普洛麦格(Promega),目录号G9242/3)测量AMP的消失。AMP抑制CTG试剂盒中的荧光素酶信号。随着添加的AMP被CD73酶促消耗,荧光素酶信号增加。使用零时对照作为100％INH和使用无抗体对照作为0％INH来确定标准化的百分比抑制(％INH)。

[1883] 如图4所示,抗CD73抗体剂量依赖性地抑制从乳腺癌细胞系MDA-MB-231脱落的CD73的酶活性。

[1884] 在第二个研究中,在100μM AMP存在下,全部以.B形式表示的抗CD73抗体350、356、358、373、374、377和379与来自胰腺癌患者的经稀释的(PBS中12.5％v:v)血清孵育60分钟。与第一个研究相似,通过改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测量AMP的消失,并使用零时对照作为100％INH和使用无抗体对照作为0％INH来确定标准化的抑制百分比(％INH)。

[1885] 抗CD73抗体也以剂量依赖的方式抑制来自胰腺癌患者的血清中的CD73酶活性(图5)。

[1886] 抑制细胞表面表达的CD73的酶活性

[1887] 首先,使用孔雀石绿磷酸盐测定来检测抗CD73抗体350、356、358、373、374、377和379(均处于.B形式)抑制乳腺癌细胞系MDA-MB-231上表达的CD73的能力。简而言之,将抗体与细胞在100μM AMP存在下孵育180分钟。使用孔雀石绿磷酸盐检测试剂盒(Enzo Life Sciences公司,目录号BML-AK111)测量无机磷酸盐从AMP的释放。使用零时对照作为100％INH和使用无抗体对照作为0％INH来确定标准化的百分比抑制(％INH)。

[1888] 如图6所示,所有测试的抗CD73抗体均抑制乳腺癌细胞系MDA-MB-231表面表达的CD73酶活性。

[1889] 接下来,由于谱系1抗体与小鼠CD73交叉反应,而谱系3抗体没有交叉反应,因此针对在人或鼠乳腺癌细胞系表面表达的CD73测试了来自两个谱系的抗体。将抗CD73抗体与人乳腺癌细胞系MDA-MB-231或鼠乳腺癌细胞系4T1在100μM AMP存在下孵育240分钟。通过上文所述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测量AMP的消失,并使用零时对照作为100％INH和使用无抗体对照作为0％INH来确定标准化的抑制百分比(％INH)。

[1890] 与它们的结合谱一致,谱系1抗体918、350、356和358抑制人和鼠CD73(图7A和7B),而谱系3抗体930、373、374、376、377和379抑制人CD73但不抑制鼠CD73(图7C和7D)。

[1891] 此外,进行了两次改良的Cell Titer Glo(CTG)测定以测试抗CD73抗体针对在人

乳腺癌细胞系MDA-MB-231或人卵巢癌细胞系SKOV3上表达的CD73的酶抑制活性。在两项研究中,在37℃在100μM AMP存在下,将1000ng/ml抗CD73抗体与20,000个细胞/ml细胞孵育240分钟。通过上文所述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测量AMP的消失,并使用零时对照作为100％INH和使用无抗体对照作为0％INH来确定标准化的抑制百分比(％INH)。

[1892] 在两项研究中,所有测试的抗CD73抗体均能够抑制在人乳腺癌细胞系MDA-MB-231或人卵巢癌细胞系SKOV3上表达的表面CD73(图8A、8B、9A和9B)。

[1893] 接着,进行类似的Cell Titer Glo(CTG)测定以检查抗CD73抗体抑制在HEK 293细胞系上表达的人CD73的能力。简而言之,工程化HEK 293细胞系,使其稳定地过表达人CD73,并在100μM AMP的存在下与抗CD73抗体孵育150分钟。通过上文所述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测量AMP的消失,并使用零时对照作为100％INH和使用无抗体对照作为0％INH来确定标准化的抑制百分比(％INH)。

[1894] 如图10所示,处于.A或.B形式的抗CD73抗体350、356、373和374以剂量依赖性方式抑制膜结合人CD73。

[1895] 另外,还使用人PBMC检查了抗CD73抗体的酶抑制活性。简而言之,从两个单独的供体中分离出原代人PBMC,并在25μM AMP的存在下与抗CD73抗体孵育480分钟。通过上文所述的改良的Cell Titer Glo(CTG)测定测量AMP的消失,并使用零时对照作为100％INH和使用无抗体对照作为0％INH来确定标准化的抑制百分比(％INH)。

[1896] 如图11A和11B所示,测试的抗CD73抗体抑制了来自两个供体的在原始人PBMC上表达的CD73的酶活性。

[1897] 在AMP存在下恢复CD4+和CD8+ T细胞增殖

[1898] 接下来,测试抗CD73抗体缓解AMP介导的CD4+ T细胞抑制的能力。简而言之,从健康人类供体汇集的外周血单核细胞(PBMC)中分离出CD4+ T细胞。在存在800μM AMP的情况下用抗CD3/28珠刺激之前,将CD4+ T细胞用CellTrace Violet(CTV)(赛默飞世尔科技公司(Thermo Fisher Scientific),目录号C34557)染色以跟踪细胞分裂。在第4天,使用流式细胞术通过CTV稀释测定增殖。如流式细胞仪测得的,CTV染色的细胞每次分裂荧光信号损失大约一半。计算增殖指数作为每种条件下T细胞分裂水平的量度,其中100代表最大增殖而0代表没有增殖。

[1899] 如图12A和12B所示,所有测试的抗CD73抗体都能够在AMP存在下恢复CD4+ T细胞增殖。

[1900] 在另一项研究中,测试了CD4+和CD8+ T细胞两者。简而言之,从分离自健康人供体的外周血单核细胞(PBMC)中纯化CD4+和CD8+ T细胞,并用羧基荧光素琥珀酰亚胺酯(CFSE)标记。CFSE标记的CD4+或CD8+ T细胞在800μM AMP和同种型对照hIgG4或373.A的系列稀释物存在下,用抗CD3/CD28 T细胞活化剂磁珠(1珠/16细胞)活化4天。针对CD4+ T细胞(图25A)和CD8+ T细胞(图25B),显示了来自三个供体各自的代表性数据。数据表示为CD4+(图25A)或CD8+(图25B)T细胞增殖的百分比,其中同种型对照表明在AMP存在下最大增殖受到抑制,而373.A的存在则以剂量依赖性方式恢复增殖。尽管应答的强度随供体的不同而不同,但在(图25A)中表示的所有三个CD4+ T细胞供体和针对CD8+ T细胞显示的2/3供体中(图25B),373.A证明了恢复了T细胞增殖的体外活性。

[1901] 体内CD73酶活性的抑制

[1902] 此外,检查了抗CD73抗体在体内的酶抑制活性。以10x10^{6}个细胞/小鼠/200μl,向无胸腺裸鼠雌性小鼠(6-8周龄)植入CD73高表达的MDA-MB231乳腺癌细胞系(ATCC HTB-26)。当肿瘤为200mm^{3}时,每组五只小鼠被随机分配,并以20或200μg/小鼠的对照多克隆人IgG或一组抗CD73 mAb进行腹膜内处理。测试的抗体是抗CD73抗体350、356、373和374,以.A或.B形式表示。

[1903] 给药后三天以按体积计一份血浆加入五份甲醇之比收集血浆。使用前将甲醇淬灭的样品储存在-80℃下,使用时后将样品离心。丢弃沉淀物,并将上清液转移至新的Eppendorf管中。加入内标(IS,C-13标记的腺苷和N-15标记的肌苷,马萨诸塞州剑桥同位素实验室(Cambridge Isotope Laboratories,MA))的储备溶液至最终浓度为50nM。然后使用API-6500QTrap(美国AB Sciex公司)的LC/MS系统(偶联有Shimadzu LC泵(LC-20AD)和带有DLW洗涤液的CTC自动进样器)对制备的样品进行分析。对于每个样品,注入5μL并使用保持在40℃的SeQuant ZIC-pHILIC色谱柱(5μm,150x2.1mm,密理博公司(Millipore),MA)分离。使用二元梯度进行洗脱,其中流动相B为100%乙腈(无添加物),且流动相A为水和乙腈的1:1(v/v)混合种类的12mM甲酸铵和12mM甲酸。洗脱程序设置为(0,85,0.6),(0.5,85,0.4),(2,10,0.4),(4.5,10,0.4),(5,85,0.4),(5.5,85,0.6),其中括号中的值按次序是时间(以分钟为单位),流动相B的百分比和流速(以mL/min为单位)。在ESI阳性模式下,从0.5到4.5分钟监测腺苷和C13-腺苷,质量转换分别为268->136和273->136。在ESI阴性模式下,从0.5到4.5分钟监测肌苷和N15-肌苷,质量转换分别为267->135和271->139。结果报告为nM腺苷或肌苷。

[1904] 测试的所有抗CD73抗体均有效减少了植入了CD73高表达的MDA-MB231乳腺癌细胞系的免疫受损小鼠血清中腺苷和肌苷的积累(图13)。

[1905] 实例2:抗CD73抗体的表位和结合模式的确定

[1906] 在该实例中,抗CD73抗体350.A2、350.B,373.A和373.B的表位和结合模式通过片段酰胺氢/氘交换(HDx)和尺寸排阻色谱法(SEC)确定。

[1907] 方法

[1908] 片段氢氘交换质谱法(HDx-MS)

[1909] 如先前所述进行HDx-MS实验(Park IH等人,J.Chem.Inf.Model.[化学信息与建模杂志];55(9):1914-1925(2015);Chalmers MJ,等人,Anal.Chem.[分析化学];78(4):1005-14(2006))。制备抗体抗原复合物,并通过在4℃下过夜孵育以1:1摩尔比使用。重要的是要注意,这意味着在复合混合物中存在2倍过量的Fab结合位点。

[1910] 室温交换实验是通过手动将50μL交换缓冲液(50mM磷酸盐,150mM NaCl,pH 7.1,在D_2O中)添加到10μL的0.5mg/ml rhCD73蛋白(R&D系统公司(R&D systems),目录号5795,AAH65937的Trp27-Lys547融合到C-末端6-His标签(SEQ ID NO:922))或摩尔当量的CD73-mAb复合物(50mM磷酸盐,150mM NaCl,pH 7.1)中进行的。在室温下交换60s后,通过添加250μL淬灭缓冲液(4M胍盐酸盐,0.5M三(2-羧乙基)盐酸膦(TCEP-HCl),0.2M磷酸盐,pH 2.5,0℃)淬灭样品并在30s后用300μL冰冷储存缓冲液(20%甘油,0.25%甲酸的水溶液)进一步稀释,然后用液氮快速冷冻并在-80℃下存储直到使用或转移到与位于0℃外壳内的液体处理机(PAL HTS,LEAP科技公司(LEAP Technologies),北卡莱罗纳州,罗市)的导轨连接的-70℃抽屉中

[1911] 。通过使N_2气体流过样品瓶(由液体处理器与融化装置配合使用),将冷冻的样品解冻120s,然后将其装入进样阀的样品环(Valco,休斯敦,德克萨斯州)。将样品(上样缓冲液0.05％三氟乙酸(TFA),500μL/min)加载到色谱系统的预柱上,并使用双泵系统(2x,Accela 1250,赛默科技(Thermo Scientific),马萨诸塞州沃尔瑟姆)在线进行胃蛋白酶消化(将胃蛋白酶固定在Poros AL20,2.1x 150mm,保持在15℃),所述系统通过混合三通进行消化后,允许混合上样缓冲液的第二流550μLmin(0.05％TFA,500μL/min)。将合并的流导入保持在0℃的色谱系统中,以15μL/min的流速进行脱盐和梯度LC分离(Dionex UltiMate3000,赛默科技,马萨诸塞州沃尔瑟姆)和同时进行色谱流出物的质谱分析(QExactive,赛默科技,马萨诸塞州沃尔瑟姆市)。色谱系统由阀(15kPSI Valco,得克萨斯州休斯敦)、4μL EXP Halo C18反相捕获柱体(Optimize Technologies Inc.公司,俄勒冈州俄勒冈市)和分析柱(2.1x 10mm ID,Prozap 1.5μm C18,Grace)组成。使用缓冲液组合物A:99.75:0.25％v/v(H20:甲酸)和B:99.75:0.25％v/v(乙腈:甲酸)经20分钟从0％到40％B梯度分离,然后经5分钟从40％到75％B梯度分离。

[1912] MS扫描在70,000的分辨率获取,MS的m/z范围为350-2000,MS/MS为35,000。所有实验中使用的仪器参数(包括2.5kV的喷雾电压,最长注入时间为120ms,MS的AGC靶为500,000个离子)在所有运行中均保持相同。样品进行三次重复分析。

[1913] 通过使用Proteome Discoverer 1.4将原始数据转换为.mgf形式来进行肽鉴定,使用MASCOT 2.4(Matrix Science,伦敦,英国)针对构建体序列进行搜索,并使用Scaffold 1.4进行过滤。将过滤后的结果与原始数据文件一起导入HDExaminer(v1.3,Sierra Analytics,Modesto,CA)中,以进行氘化定量分析。将氘代值导出到微软Excel中以计算氘代差,并通过可观察到的酰胺数(残基数减去2,进一步减去序列中脯氨酸的数量,不包括N-末端和倒数第二个残基),将肽中的氘掺入标准化。为了将肽差数据压缩到序列上,在可观察到各自酰胺的肽观察结果上,对每个一级序列残基的标准化差异氘化值进行平均。

[1914] 水、氧化氘、盐酸胍、氯化钠、甘油、甲酸、三氟乙酸(TFA)、三氟乙醇(TFE)、乙腈(ACN)购自西格玛化工公司(Sigma Chemical Company)(密苏里州圣路易斯)。(三-(2-羧乙基)膦)TCEP购自金生物科技有限公司(Gold Biotechnology Inc)(密苏里州圣路易斯)。

[1915] 尺寸排阻色谱(SEC)

[1916] 将等摩尔量的rhCD73(3.2μL,1.6mg/mL)与mAb(2.6μL,5mg/mL)混合,并在4℃下复合过夜。使用连接到具有安捷伦(Agilent)UV检测器的安捷伦1200系列泵的安捷伦自动进样器运行样品。该系统由安捷伦化学工作站软件(Agilent Chemstation software)控制。使用的柱是Shodex Protein KW-803柱(8x300mm ID)。流动相:90％2x PBS,10％异丙醇(按体积计)。流速:500μL/min。注射体积:8μL。检测波长:220nm。运行时间:30min。

[1917] 制备抗体抗原复合物,并通过在4℃下孵育过夜,使用提供的浓度值以1:1的比例使用。重要的是要注意,这意味着在复合混合物中标称2倍过量的Fab结合位点。

[1918] 结构数据

[1919] 用于解释的结构数据从蛋白质数据库(www.rcsb.org)中检索,由条目4H2F、4H2I和4H1S组成。使用PyMOL(PyMOL分子图形系统(PyMOL Molecular Graphics System),版本1.8Schrödinger,LLC)进行各种模型对齐和可视化。

[1920] 结果

[1921] 氢交换数据

[1922] 如图14所示,373.A和373.B的HDx MS保护谱与CD73的整个序列重叠。这证明了抗体在其表位方面的等效性。

[1923] 如图15所示,350.A2和350.B的HDx MS保护谱与CD73的整个序列彼此非常吻合。这证明了抗体在其表位方面的等效性。

[1924] 在图中标注了观察到最强保护的序列,并且该序列大部分对应于CD73的环区。它们的相对空间布置在图16A和16B所示的结构模型中示出。尽管观察到的A、B和D环的序列的保护可归因于抗体-CD73相互作用,但观察到的标注为C环的序列的保护作用可能是由于构象锁定。C环以CD73的开放/无活性的构象折叠,并以封闭/活性的构象展开(图16A)。可溶性以及膜结合CD73通过C-末端结构域形成二聚体(图16B)。当N-末端结构域旋转大约90度以从开放形式转换为封闭形式时,开放和封闭构象之间存在平衡。C环报告回到该平衡。如果抗体与CD73结合后,平衡更多地向开放构象移动,则较大部分的C环将被折叠,这是一种受保护状态。另一方面,如果平衡在与CD73结合的抗体上更多地向封闭构象移动,则预期有脱保护作用。在C环处观察到的373.A和373.B的异常强大的保护作用(图14)表明,它们最有效地将CD73维持在无活性构象和/或通过独特的机制起作用。

[1925] 从谱中推断最大保护的序列是残基范围158-172,YLPYKVLPVGDEVVG(SEQ ID NO:108),指定为A环;残基范围206-215,KLKTLNVNKI(SEQ ID NO:109),指定为B环,以及残基范围368-387,MINNNLRHADETFWNHVSMC(SEQ ID NO:110),指定为C环(根据SEQ ID NO:105编号)。

[1926] 对于抗体373.A和373.B,在A和B环区域中的残基对于表位似乎同样重要,如图14中观察到的相当量的保护所表明的。就抗体350.A2和350.B而言,大多数A环残基对于表位似乎很重要,即使观察到一些B环保护,但尚不清楚这是否应解释为抗体与残基在该范围内直接接合或由于与A环的接近而只是间接作用。

[1927] 尺寸排阻数据

[1928] 尺寸排阻数据与上面讨论的HDx数据很好地相关。抗体373.A和373.B的等效性在其尺寸排阻色谱(SEC)谱的相似性中可见,这反映了寡聚状态分布(图17A和17B)。抗体350.A2和350.B具有相同的评估(图18A和18B)。

[1929] 17min左右的特征对应于CD73二聚体和游离抗体,与仅供参考的基于校准物的分子量范围相符。该特征在约14.8min或约300kDa处与CD73二聚体/mAb复合物一致。12.4min左右,观察到约600kDa的特征,与两个CD73二聚体+2mAb(2xCD73二聚体/2xmAb)的组成一致。600kDa以上的其他特征受柱排阻极限的影响。然而,它们可以被指定为较高的低聚状态,意味着复合物由3个或更多个CD73二聚体以及3个或更多个mAb(3^{+}xCD73二聚体/3^{+}xmAb)组成。

[1930] 图17A和17B中显示的CD73-373.A和CD73-373.B谱中的优势种类是CD73二聚体/mAb复合物。仅观察到少量的2xCD73二聚体/2xmAb种类。这与一种抗体和CD73二聚体的优选的双齿结合模式一致。

[1931] 图18A和18B中显示的CD73-350.A2和CD73-350.B的SEC谱显示了:CD73二聚体/mAb种类和2xCD73二聚体/2xmAb种类的丰度相当。洗脱时间较短的肩部表明存在一些较高的低聚物。这表明350.A2和350.B能够以双齿方式结合CD73,如373.A和373.B,但是该模式不一

定是实验所用的至少在高浓度时热力学上有利的模式。

[1932] 通过对可区分种类的SEC谱的积分来估计形成1xCD73二聚体/1xmAb复合物、2xCD73二聚体/2xmAb复合物或较高的低聚物的抗CD73抗体的百分比(图19)。零基线用于所有积分,较高的低聚物的积分间隔为10.5min至11.65min,2xCD73二聚体/2xmAb复合物的积分间隔为11.65min至13.5min。1xCD73二聚体/1xmAb复合物种类的积分间隔略有变化,对于CD73-373.A,选择为13.5min至16.2min;对于CD73-373.B,选择为13.5min至16min;对于CD73-350.A2,选择为13.5min至15.75min;对于CD73-350.B,选择为13.5min至15.75min,以便从未积分的游离抗体信号中获得最佳分离,因为这与分析无关(抗体在假过量中使用,复合混合物中存在Fab结合位点数量约为CD73结合位点的两倍)

[1933] 结果和讨论

[1934] 上面的HDx和SEC数据提供了令人信服的证据证明373.A和373.B以及350.A2和350.B就与CD73的相互作用模式而言等同。考虑到这对之间的唯一序列差异是恒定区中的单个突变(L235E以消除残留的FcR相互作用),因此这可以预期。

[1935] 来自HDx和SEC实验的数据是一致的,并且完全支持图20所示的模型。根据该模型,所有抗体的表位都在N-末端结构域上。抗体373.A和373.B与CD73二聚体相互作用以几乎排他地形成图20左侧所示的均质种类。在该种类中,CD73二聚体的两个活性位点均被锁定为无活性构象。此外,在这种构象中,在膜结合CD73的情况下,CD73二聚体的两个N-末端结构域都指向远离细胞表面,从而使373.A和373.B以相同的效率抑制靶的可溶和膜结合版本。

[1936] 抗体350.A2和350.B可以在左侧形成双齿均质复合物,但与2xCD73二聚体/2xmAb种类(图20中部所示)相比,没有显示出该形式的偏好。还观察到在图20的右侧示出的较高的低聚物种类。推测在膜结合CD73或低浓度的抗体和抗原的情况下,种类的分布将向均质双齿复合物转移,这是体内可能的情况。预期抗体350.A2和350.B通过非活性位点锁定机制有效抑制所有形式的CD73。应当理解,即使在活性构象中,由于抗体结合,由于其他变构抑制机制,靶仍可能是催化失活的。

[1937] 基于该模型,人们预期图20中部和右侧所示的优先形成寡聚种类的抗CD73抗体抑制可溶性和膜结合CD73的效率较低,尤其是在低浓度下。这是因为大部分CD73始终处于活性构象,并且即使在这些情况下抗体可能通过间接机制抑制催化作用,抗体的任何分离都会立即产生催化活性CD73。此外,随着抗原和抗体的总浓度接近于零,将需要两个抗体分子来抑制单个CD73二聚体,而对于373和350抗体,单个分子仍然足够。

[1938] 总结

[1939] 确定了rhCD73上抗体373.A、373.B、350.A2和350.B的推定结合位点,以及它们与rhCD73二聚体相互作用的模式。表位被表征为可能是不连续的,并且由人CD73的序列范围158-172YLPYKVLPVGDEVVG(SEQ ID NO:108)和206-215KLKTLNVNKI(SEQ ID NO:109)中发现的残基组成(根据SEQ ID NO:105编号)。如果考虑一个需要将CD73锁定到无活性构象以进行抑制的模型,则根据HDx MS和SEC的实验观察,可以预测373.A、373.B、350.A2、和350.B能够抑制CD73的可溶和膜结合形式。

[1940] 实例3:体内TGFβ阻断后基质细胞中CD73的上调

[1941] CD73在癌症中的表达不仅在癌细胞中,而且在构成肿瘤微环境的基质成分中也有报道。另外,已经提出了几种基质因子,包括TGFβ,为在组织微环境中产生腺苷提供了潜在

的扩增机制。在该实例中,进行了一项研究以确定体内TGFβ的阻断是否可能促使肿瘤基质细胞中CD73表达的改变。

[1942] 为此,使用了以高亲和力结合人和鼠TGFβ1和TGFβ2以及以低亲和力结合TGFβ3的人源化IgG2单克隆抗体。这种抗体已被证实具有针对在体外和体内TGFβ同种型的中和活性。以$10x10^4$个细胞/小鼠/100μl,向免疫感受态BALB/c雌性小鼠(6-8周龄)于右侧腹植入4T1鼠三阴性乳腺癌细胞系。每组十只小鼠每隔一天腹膜内接受泛TGFβ阻断抗体或同种型对照(hIgG2)处理,两者最终浓度均为10mg/kg体重。使肿瘤生长14天,然后使动物安乐死并收集肿瘤并进行流式细胞术分析。简而言之,从小鼠切除肿瘤并使用物理和酶解离(DNaseI,CollagenaseP,Dispase)的组合消化。将单细胞悬浮液Fc阻断30分钟以防止非特异性抗体结合,并用与特异性细胞表面标志物结合的一组抗体进行染色,这些标志物包括CD45(排除造血细胞)、CD31(内皮细胞)、CD90(泛间充质标志物)、CD26和平足蛋白(Podoplanin),以鉴定基质细胞群。与同种型对照的染色样品(eFluor 450缀合的大鼠IgG1,eBioscience#48-4301-82)相比,使用eFluor450缀合的抗CD73抗体(eBioscience#48-0731-82)评估了CD73表达。在4℃下染色40分钟后,将样品用FACS缓冲液(PBS,5mM EDTA,2%胎牛血清)洗涤,按照制造商的说明用Fix/Perm溶液(eBioscience#00-5523)固定,并在BD LSRFortessa™流式细胞仪上分析。CD73在同种型对照处理的小鼠中的内皮细胞中高表达,而在间充质基质细胞(CD26+和CD26-CAF和周细胞)中检测到最低表达(图21A和21B)。引人注目的是,用TGFβ中和抗体处理小鼠提示癌症相关成纤维细胞(CAF)中CD73的显著上调,独立于CD26表达(图21A和21B)。虽然程度较小,内皮细胞中CD73的上调也很明显,而在周细胞中未观察到上调(图21A和21B)。总之,这些数据表明,中和肿瘤微环境中的TGFβ引起基质细胞中CD73的表达,表明肿瘤纤维细胞的CD73和腺苷生产的上调可提供替代性机制(肿瘤增选(co-opted)以保持在TGFβ阻断后免疫静态)。

[1943] 实例4:抗CD73抗体对B细胞的影响

[1944] 为了评估对CD73依赖性腺苷生成的阻断是否可以特异性抑制类别转换重组(CSR)而又不影响B细胞应答效率,测试了抗CD73抗体350.B。基于CD73表达,从两个健康供体的外周血中纯化初始B(CD19+CD27-IgM+IgD+)细胞,并用TLR9激动剂、抗CD40抗体和细胞因子(IL-2和IL-21)在抗体350.B存在下进行刺激。测试了三种不同浓度的抗体-1ng/ml、10ng/ml和100ng/ml-以及IgG4同种型对照。在培养上清液中在第7天测量了IgM分泌,与同种型对照相比未观察到差异(图22A)。值得注意的是,用350.B处理抑制CD73酶活性会导致IgG分泌细胞的分化降低,这是通过ELISPOT测定检测的,所述测定以检测IgG分泌浆细胞(Millipore MSIPS4510板,涂有10μg/ml山羊抗人IgG),Southern Biotechnologies公司),在浓度为100ng/ml时效果最强(图22C)。还评估了活细胞的数量,且没有观察到差异(图22B),这排除了在用350.B处理后在初始CD73+B细胞中观察到的低存活率和差CSR效率之间的联系。作为对照,初始CD73-细胞被同等刺激,且没有观察到差异(图22A-C)。最后,在同种型对照条件下的CSR评估证实了初始CD73+区室中IgG ISC的数量增加(图22C)。综上所述,这些结果表明,CD73酶活性的阻断在不改变IgM应答的情况下对类别转换重组具有影响。

[1945] 实例5:在同基因小鼠肿瘤模型中抗CD73和抗PD-1共阻断

[1946] 为了确定CD73和PD-1途径在荷瘤小鼠中的共阻断作用,将抗PD-1和抗CD73(350.B)抗体施用于接种了同基因结肠癌细胞系CT-26的免疫感受态小鼠中。将每只6-10周

龄的BALB/c小鼠的腹侧接种1x10^{5}CT-26肿瘤细胞。接种后第2天,对小鼠(n=10/组)进行如下腹膜内处理:同种型对照抗体;350.B 600μg,1个剂量然后是400μg,4个剂量;抗PD-1 300μg,共5个剂量(低剂量);抗PD-1 600μg,共5个剂量(高剂量);高剂量抗PD-1+350.B的组合;或低剂量抗PD-1+350.B的组合。每周记录三次肿瘤尺寸和体重,两次测量之间的间隔为2至3天,并且如果肿瘤大小达到>2000mm^3、如果小鼠垂死或如果肿瘤溃烂,则对每只动物实施安乐死。计算到第25天的肿瘤生长抑制百分比(因为对照组在第26天安乐死)。

[1947] 在第25天,单独使用350.B或低剂量抗PD-1(300μg)处理显示部分肿瘤生长抑制(分别为30.96%和52.04%)。相反,低剂量抗PD-1+350.B的组合导致了88.41%的肿瘤生长抑制(图23)。单独使用高剂量的抗PD-1进行肿瘤控制已足够,因此未观察到350.B带来的额外益处。在任何一组中均未观察到明显的体重减轻,并且对于所研究的动物没有明显的临床观察。这些数据表明,亚最佳剂量的抗CD73和抗PD-1抗体的组合处理可导致CT-26同基因肿瘤模型中肿瘤生长抑制增强。

[1948] 实例6:抗CD73抗体373.A在食蟹猴中的药代动力学和毒理学研究

[1949] 作为单一药剂,当以高达100mg/kg的剂量每周一次持续四周向食蟹猴静脉内施用时,抗CD73抗体373.A的耐受性良好。通过心电图评估发现对心功能无影响,对临床病理、免疫表型或组织病理学也无毒理学意义。因此,在食蟹猴中的373.A的无可见有害作用水平(NOAEL)为100mg/kg,而最高非严重毒性剂量(HNSTD)为>100mg/kg。

[1950] 在非GLP单剂量毒理学研究,食蟹猴施用单IV剂量的对照,3、30或100mg/kg的抗体373.A。IV注射后,3mg/kg组的373.A迅速下降,可能是由于靶介导的药物处置所致。在30mg/kg和100mg/kg组中,下降通常以多指数方式出现。在373.A Cmax和$AUC_{0-168hr}$值中未观察到性别差异。用373.A平均Cmax和$AUC_{0-168hr}$值评估的暴露随剂量水平从3mg/kg增加到100mg/kg而增加。373.A平均Cmax和$AUC_{0-168hr}$值的增加通常与剂量成比例,但剂量水平在3和30mg/kg之间的$AUC_{0-168hr}$除外。在100mg/kg剂量组中,平均Cmax和$AUC_{0-168hr}$分别为2540μg/mL和173,000μg.hr/mL。本研究中抗药物抗体(ADA)发生率不影响PK。

[1951] 在GLP毒理学研究中,对猴施用四次每周IV剂量的对照,10、30或100mg/kg的373.A。373.A Cmax和$AUC_{0-168hr}$中的性别差异很小(0.7至1.2倍之间)。用平均Cmax和$AUC_{0-168hr}$评估的暴露从10到100mg/kg按比例增加。IV推注后,在100mg/kg组第22天的恢复阶段后,373.APK以双指数方式下降,平均去除期(mean elimination phase)$t_{1/2}$值为266小时。在100mg/kg剂量组中,在第22天给药后,平均Cmax和$AUC_{0-168hr}$分别为5030μg/mL和365,000μg.hr/mL。ADA发病率降低了30mg/kg组中一只动物的暴露。

[1952] 在另一项研究中,用373.A以50、100、500和1000μg/mL刺激人全血24小时后,以体外可溶性测定形式评估了细胞因子的释放。从十个健康人供体采集血液样本。对于每个样品,包括阴性(全血和全血与培养基)和阳性(抗人CD3)对照。使用Luminex多重法测量IL-1β、IL-2、IL-6、IL-8、IL-10、IFNγ和TNFα的细胞因子水平。用缓冲液对照获得的结果与阴性对照(仅血液)获得的结果相似,并且稀释剂(0.5%葡萄糖)未观察到细胞因子释放减少或增加的趋势。对于所有供体,所有细胞因子的抗CD3阳性对照均具有诱导细胞因子释放的作用,这表明刺激是适当的,并且可以在所有样品中诱导细胞因子释放。373.A刺激后获得的细胞因子水平与阴性对照中测得的水平相似。总之,用373.A体外刺激人全血在浓度高达1000μg/mL时不会诱导细胞因子释放。

[1953] 实例7:抗CD73抗体373.A作为单一药剂以及与BAP049-克隆-E和/或PBF509组合用于晚期恶性肿瘤患者的I/Ib期研究

[1954] 在过去的十年中,针对不同免疫检查点的免疫疗法(例如PD-1、PD-L1和CTLA-4)已在多种癌症适应症中显示出功效。然而,尽管一些患者对检查点阻断实现了客观而持久的应答,但大多数患者并未显示出适度的临床获益或无临床获益,这表明肿瘤使用了替代性的免疫抑制机制来实现免疫逃逸(Allard等人,Clin Cancer Res.[临床癌症研究]2013;19(20):5626-35;Vesely等人,Annu Rev Immunol[免疫学年度回顾]2011;29:235-271)。因此,可能需要同时阻断多种免疫抑制途径才能在大量患者中引起临床上有意义的应答。

[1955] 在过去的几年中,腺苷产生和信号传导已成为癌症治疗中潜在的治疗靶。腺苷通过减少细胞毒性抗肿瘤免疫应答、增强免疫抑制细胞的增殖和极化以及增加新血管形成来创建免疫抑制性肿瘤微环境(Young等人,Cancer Discovery 2014[癌症发现];4(8):879-88)。临床前数据表明,在免疫感受态同基因小鼠模型中,CD73阻断可显着延迟原发性肿瘤生长并抑制肺转移的发生(Stagg等人,2010)。在一项研究中观察到了相似的结果,其中宿主中A2aR的基因缺失导致A2aR缺陷小鼠中已建立的免疫原性肿瘤被排斥,而在对照野生型小鼠中未见排斥(Ohta等人,PNAS2006;103(35):13132-37)。

[1956] I/Ib期开放标签多中心研究旨在评估抗CD73抗体373.A作为单一药剂以及与$A2a_AR$拮抗剂PBF509和/或抗PD-1抗体BAP049-克隆-E组合用于晚期恶性肿瘤患者的安全性、耐受性、初步抗肿瘤活性、药代动力学(PK)和药效学(PD)。主要目标是表征安全性和耐受性,并确定373.A作为单一药剂以及与PBF509和/或BAP049-克隆-E组合的推荐剂量(RD)。次要目标是评估373.A作为单一药物以及与PBF509和/或BAP049-克隆-E组合时的初步抗肿瘤活性和PK,评估373.A和BAP049-克隆-E的免疫原性,并表征治疗后肿瘤中免疫浸润的变化,例如肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)、肿瘤相关巨噬细胞(TAM)、CD8+ T细胞和PDL-1表达自基线的变化。

[1957] BAP049-克隆-E是一种高亲和力的配体阻断人源化抗程序性死亡1(PD-1)IgG4抗体,可阻断PD-L1和PD-L2与PD-1的结合。BAP049-克隆-E正在I/II期研究的晚期恶性肿瘤中进行测试。PBF509是一种新的非基于黄嘌呤的化合物,是一种有效的口服腺苷$A2a_AR$拮抗剂。BAP049-克隆-E的序列在表5中披露。

[1958] 正在进行的两项I/Ib期和II期研究分别评估了PBF509作为单一药剂和/或与BAP049-克隆-E组合,用于晚期非小细胞肺癌(NSCLC)和实体瘤以及非霍奇金淋巴瘤的患者。

[1959] 这项I/Ib研究将首先招募已发展成晚期恶性肿瘤的成人患者,这些恶性肿瘤已经进展,或者适应症对标准疗法不耐受,其中中度至高水平的CD73表达与较差的预后有关,这表明了腺苷介导的免疫逃逸(Wu等人,Journal of Surgical Oncology[外科肿瘤学杂志]2012,106(2):130-137;Gaudreau等人,Oncoimmunology[肿瘤免疫学];2016,5(5):e1127496;Inoue等人,Oncotarget.[肿瘤标靶];2017,8(5):8738-8751)。这些适应症包括非小细胞肺癌(NSCLC)、三阴性乳腺癌(TNBC)、胰腺癌(PDAC)、肾细胞癌(RCC)、卵巢癌和微卫星稳定(MSS)结直肠癌,尽管除此之外可以根据新出现的临床数据(例如功效数据或已证实的途径激活)来登记另外的适应症。

[1960] 该研究由两个部分组成:(1)单一药剂373.A、双重组合373.A/PBF509和373.A/

BAP049-克隆-E或三重组合373.A/PBF509/BAP049-克隆-E的剂量递增部分,其导致每种处理的推荐剂量(RD)声明,以及(2)剂量扩大部分,其中患者将接受处于RD的单一药剂、双重组合和三重组合。递增部分将招募患有晚期NSCLC、TNBC、PDAC、RCC、卵巢癌和结直肠癌(MSS)的患者;而且对先前治疗的次数没有限制。扩大部分将招募已接受高达3线先前治疗的晚期恶性肿瘤患者。

[1961] 在扩大部分,每种适应症的患者均被同样的随机分配到组合治疗组。将根据适应症进行随机分组,并通过先前的PD-1/PD-L1治疗(初始或耐药)在某些适应症内进一步分层。

[1962] 剂量和方案选择

[1963] 373.A单一疗法

[1964] 根据食蟹猴中观察到的临床前安全性、耐受性和PK数据以及已发表的CD73缺陷患者的病史,选择每2周(Q2W)静脉内施用的60mg固定剂量373.A的起始剂量。

[1965] 60mg剂量被认为是最低药理活性剂量(mPAD),因为预计它将提供(1)约20小时的>90%CD8+ T细胞CD73占有,(2)约22小时的>90%腺苷抑制,(3)约17小时估算的>90%总体CD73占有。

[1966] 根据食蟹猴毒理学研究的TK数据、离体CD8+ T细胞CD73占用数据和抑制腺苷形成的体外数据的建模,预计≥1200mg Q2W剂量在整个给药间隔将在CD8+ T上实现>90%的靶占用并且预计≥600mg Q2W剂量将实现>90%的腺苷产生抑制。

[1967] 在贝叶斯逻辑回归模型(BLRM)结合剂量过量控制(EWOC)标准的指导下,373.A的剂量将递增,直到确定最大的耐受剂量(MTD)或扩大的推荐剂量(RD)。临床前数据和模型表明,可能存在高抗原沉积,且可能需要高剂量(例如≥1200mg Q2W)才能在整个剂量间隔内实现连续的靶占用。剂量递增将主要通过Q2W方案进行。但是,如果此方案显示出快速的373.A消除且在给药间隔内没有靶饱和,则可以测试更频繁的QW方案。另一方面,如果预测Q4W方案在给药间隔内没有快速消除,则可以改为研究Q4W方案。

[1968] 373.A/PBF509组合

[1969] 373.A/PBF509双重组合的最大起始剂量为200mg Q2W 373.A和80mg BID PBF509。

[1970] 200mg Q2W 373.A是373.A的低剂量,预计在CD8+ T细胞上将达到约2.3天>90%的靶占用。200mg Q2W 373.A剂量是1200mg Q2W剂量的16%,预计在整个给药间隔内将达到>90%CD8+ T细胞靶占用。

[1971] PBF509已作为单一药剂被测试,最高640mg BID,在晚期/转移性NSCLC中没有安全性问题(在640mg BID剂量下5名可评估患者中只有1个DLT)。在同一项研究中,PBF509在总共18名患者中在80mg BID至480mg BID范围内显示出单一药剂活性,具有2个部分应答(PR)和6个病情稳定(SD)。

[1972] 为了确定组合中每种药物的合适剂量,将采用373.A和PBF509的剂量递增方法,以贝叶斯逻辑回归模型(BLRM)结合剂量过量控制(EWOC)原则标准为指导。

[1973] 373.A/BAP049-克隆-E组合

[1974] 373.A/BAP049-克隆-E双重组合的最大起始剂量为200mg Q2W373.A和400mg Q4W BAP049-克隆-E。

[1975] 上面已经描述了200mg Q2W 373.A的基本原理。200mg Q2W373.A将与BAP049-克

隆-E的RD(即400mg Q4W,这已被证明是安全有效的)组合使用。

[1976] 373.A剂量水平在贝叶斯逻辑回归模型(BLRM)结合剂量过量控制(EWOC)原则标准的指导下,将使用固定剂量的BAP049-克隆-E逐步提高。

[1977] 373.A/BAP049-克隆-E/PBF509组合

[1978] 373.A/BAP049-克隆-E/PBF509三重组合的最大起始剂量为200mg Q2W 373.A、400mg Q4W BAP049-克隆-E和80mg BID PBF509。

[1979] PBF509已安全地以高达160mg BID与400mg Q4W BAP049-克隆-E组合进行安全施用(6名可评估患者中只有1个DLT),功效的组合活性为:共10个患者中2个PR和6个SD。目前在Ph2研究中使用了160mg BID PBF509和400mg Q4W BAP049-克隆-E剂量。

[1980] 将采用固定剂量的BAP049-克隆-E的373.A/BAP049-克隆-E/PBF509的剂量递增方法,以确定三重组合中373.A和PBF509的适当剂量,以贝叶斯逻辑回归模型(BLRM)结合剂量过量控制(EWOC)标准为指导。

[1981] 抗体373.A(100mg粉剂,用于输注溶液)将以1小时(如果临床需要,最长可达2小时)输注的方式静脉内施用。BAP049-克隆-E(100mg粉剂,用于输注溶液)将以30分钟(如果临床需要,最长可达2小时)输注的方式静脉内施用。组合使用时,每次输注应使用单独的输注材料(袋、管线、过滤器)在同一天施用373.A和BAP049-克隆-E。相同的进入部位可用于两种输注。首先输注373.A,然后休息30分钟,然后输注BAP049-克隆-E。连续不断地每天口服两次(BID)PBF509(40mg和/或80mg和/或160mg胶囊,用于口服)。在将要施用373.A和/或BAP049-克隆-E的就诊中,首先要给药PBF509,然后再进行373.A输注。PBF509施用和373.A输注之间不需要中断。373.A输注应尽快开始,并且在给予PBF509后不超过60分钟内开始。

[1982] 表22-25说明了该试验期间的起始剂量和可以评估的剂量水平。接受373.A单一药剂或373.A与BAP049-克隆-E和/或PBF509组合处理的患者将于处理第1周期第1天开始研究。每个周期由28天组成。373.AQ2W将在周期的第1天和第15天施用。373.A QW将在周期的第1、8、15、和22天施用。373.A Q4W将在周期的第1天施用。BAP049-克隆-EQ4W将在周期的第1天施用。PBF509 BID将在周期的每一天施用。

[1983] 表22.373.A的临时剂量水平

[1984]

剂量水平	拟议的给药方案*	与先前剂量相比的增量
-2**	6 mg Q2W	-233%
-1**	20 mg Q2W	-200%
1	60 mg Q2W	(起始剂量)
2	200 mg Q2W	233%
3	600 mg Q2W	200%
4	1200 mg Q2W	100%
5	2400 mg Q2W	100%
6	3600 mg Q2W	50%

*有可能在研究过程中添加其他和/或中间剂量水平为了更好地了解安全性、PK 或 PD, 可以在低于 MTD 的任何剂量水平添加组。

**剂量水平-1 和-2 代表需要从起始剂量水平降低剂量的患者的治疗剂量。此研究不允许将剂量降低至低于剂量水平-2。

[1985] 表23.与PBF509组合的373.A的临时剂量水平

[1986]

剂量水平	拟议的剂量373.A*	与先前剂量相比的增量373.A	拟议的剂量PBF509*	与先前剂量相比的增量PBF509
-2**	20 mg Q2W	-200%	40 mg BID	0%
-1**	60 mg Q2W	-233%	40 mg BID	-100%
1	200 mg Q2W	（起始剂量）	80 mg BID	（起始剂量）
2	200 mg Q2W	0%	160 mg BID	100%
3	600 mg Q2W	200%	160 mg BID	0%
4	1200 mg Q2W	100%	160 mg BID	0%
5	2400 mg Q2W	100%	160 mg BID	0%
6	2400 mg Q2W	100%	320 mg BID	100%
7	2400 mg Q2W		480 mg BID	
8	2400 mg Q2W		620 mg BID	
9	3600 mg Q2W		320 mg BID	
10	3600 mg Q2W		480 mg BID	
11	3600 mg Q2W		620 mg BID	

*有可能在研究过程中添加其他和/或中间剂量水平为了更好地了解安全性、PK 或 PD，可以在低于 MTD 的任何剂量水平添加组。

**剂量水平-1 和-2 代表需要从起始剂量水平降低剂量的患者的治疗剂量。此研究不允许将剂量降低至低于剂量水平-2。

[1987] 表24.与BAP049-克隆-E组合的373.A的临时剂量水平

[1988]

剂量水平	拟议的剂量373.A*	与先前剂量相比的增量373.A	拟议的剂量BAP049-克隆-E	与先前剂量相比的增量BAP049-克隆-E
-2**	20 mg Q2W	-200%	400 mg Q4w	0%
-1**	60 mg Q2W	-233%	400 mg Q4w	0%
1	200 mg Q2W	（起始剂量）	400 mg Q4w	（起始剂量）
2	600 mg Q2W	200%	400 mg Q4w	0%
3	1200 mg Q2W	100%	400 mg Q4w	0%
4	2400 mg Q2W	100%	400 mg Q4w	0%
5	3600 mg Q2W	50%	400 mg Q4W	0%

*有可能在研究过程中添加其他和/或中间剂量水平为了更好地了解安全性、PK 或 PD，可以在低于 MTD 的任何剂量水平添加组。

**剂量水平-1 和-2 代表需要从起始剂量水平降低剂量的患者的治疗剂量。此研究不允许将剂量降低至低于剂量水平-2。

[1989] 表25.与373.A和BAP049-克隆-E组合的PBF509的临时剂量水平

[1990]

剂量水平	拟议的剂量373.A*	与先前剂量相比的增量373.A	拟议的剂量BAP049-克隆-E	与先前剂量相比的增量BAP049-克隆-E	拟议的剂量PBF509*	与先前剂量相比的增量PBF509
-2**	20 mg Q2W	-200%	400 mg Q4W	0%	40 mg BID	0%
-1**	60 mg Q2W	-233%	400 mg Q4W	0%	40 mg BID	-100%
1	200 mg Q2W	（起始剂量）	400 mg Q4W	（起始剂量）	80 mg BID	（起始剂量）
2	200 mg Q2W	0%	400 mg Q4W	0%	160 mg BID	100%
3	600 mg Q2W	200%	400 mg Q4W	0%	160 mg BID	0%
4	1200 mg Q2W	100%	400 mg Q4W	0%	160 mg BID	0%
5	2400 mg Q2W	100%	400 mg Q4W	0%	160 mg BID	0%
6	2400 mg Q2W		400 mg Q4W		320 mg BID	

[1991]

剂量水平	拟议的剂量373.A*	与先前剂量相比的增量373.A	拟议的剂量BAP049-克隆-E	与先前剂量相比的增量BAP049-克隆-E	拟议的剂量PBF509*	与先前剂量相比的增量PBF509
7	2400 mg Q2W		400 mg Q4W		480 mg BID	
8	2400 mg Q2W		400 mg Q4W		620 mg BID	
9	3600 mg Q2W		400 mg Q4W		320 mg BID	
10	3600 mg Q2W		400 mg Q4W		480 mg BID	
11	3600 mg Q2W		400 mg Q4W		620 mg BID	

*有可能在研究过程中添加其他和/或中间剂量水平为了更好地了解安全性、PK 或 PD，可以在低于 MTD 的任何剂量水平添加组。

**剂量水平-1 和-2 代表需要从起始剂量水平降低剂量的患者的治疗剂量。此研究不允许将剂量降低至低于剂量水平-2。

[1992] 实例8.晶体结构分析

[1993] 克隆

[1994] 350.A2的Fab片段是通过在350.A2抗体的重链的核心铰链区上方的两个脯氨酸残基之间改造终止密码子而生成的。所述350.A2 Fab包含:含有SEQ ID NO:331的氨基酸序列的重链,以及含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的轻链。将具有his标签(SEQ ID NO:171)的

CD73 ECD克隆到pRS5a载体中。

[1995] 表达与纯化

[1996] 将Expi293F细胞以1:1 350.A2与CD73 ECD的比进行转染,转染后5天以2000rpm沉淀细胞。在这段时间内,Fab:CD73复合物被分泌到上清液中。通过0.2μm SteriFlip过滤器过滤上清液。将沉淀的细胞碎片丢弃。Fab-ECD复合物先后用蛋白L柱和Mono Q柱纯化。从MonoQ柱洗脱后,使用蛋白L柱重新纯化复合物(在流通中捕获)。将纯化的样品在10mM tris、pH 7.5、100mM NaCl中透析,并通过SEC-MALS分析纯度。随后将其浓缩至9mg/ml。

[1997] 结晶、冷冻保存和数据收集

[1998] 使用悬滴法使350.A2 Fab-CD73复合物结晶。在设置结晶托盘之前,将纯化的复合物以14,000rpm旋转10m分钟,以去除聚集的蛋白质和碎片。在此之后,将9mg/ml的1.0μl的复合物与1.0μl的蛋白质沉淀(由0.2M Li_2SO_4、1.2M NaH_2PO_4、0.8M K_2HPO_4、0.1M甘氨酸组成,pH 10.5)混合的,然后将其悬浮在300μl蛋白质沉淀的孔中。晶体在大约3-4天生长。收获晶体,然后使用蛋白质沉淀(与25%(v:v)甘油)组合的溶液冷冻保存。X射线衍射数据是在高级光源(Advanced Light Source)光束线5.0.1处收集的。衍射数据可用于大约2.85埃。

[1999] 结构解决方案和完善

[2000] 使用MOE建模套件,使用AL-57(RCSB登录号3HI5)的Fab片段作为模板,对350.A2的结构进行了建模。使用程序PHASER和糖基化人CD73(RCSB 4H1S)的二聚体结构以及Fab同源模型作为搜索模型,可以解决共结构问题。简而言之,将人CD73的二聚体结构用作第一个搜索模型,将人CD73的两个二聚体定位在不对称单元中。使用Phenix-Refine改进了此初始结构。随后,将重链和轻链的同源模型用作单独的搜索模型,从而相对于人CD73的两个二聚体定位了两个Fab的位置。完成的结构经过完善,可以在多轮完善和真实空间重建中会聚。最终的R因子和游离R因子分别为22.78%和27.12%。电子密度图显示,每个CD73单体在天冬酰胺311上都被糖基化。但是,这种糖基化是异源的,因此不可能确定糖基化事件的确切化学结构。因此,糖基化不包括在结构模型中。

[2001] 350.A2 Fab-CD73共晶体结构揭示了抗体与CD73的相互作用。这些相互作用可分为直接焓相互作用,例如氢键或静电相互作用,以及由抗体和CD73之间的形状互补驱动的范德华与疏水相互作用。

[2002] 由共晶体结构确定的关键焓和VDW/疏水相互作用如下。Fab重链与CD73之间发生以下相互作用。Fab重链残基根据卡巴特编号进行编号,并在图26C和26D中突出显示(粗体、斜体和单下划线)。CD73残基根据SEQ ID NO:105编号,并在图26A和26B中突出显示(粗体、斜体和单下划线)。

[2003] • Fab重链的R54定位为与CD73中的Y110和K136的骨架羰基发生静电相互作用。

[2004] • Fab重链的R31定位为与CD73中的L132和L157的骨架羰基发生静电相互作用。

[2005] • Fab重链的S99主链羰基、R31主链羰基和E95侧链定位为与CD73的K162侧链发生静电相互作用。

[2006] • Fab重链的E98侧链定位为与CD73中的S155的侧链发生氢键键合。

[2007] • Fab重链的氨基酸33、50、52、56、97、98、100和100a与CD73的氨基酸155-170之间的形状互补和范德华相互作用。

[2008] • Fab重链的氨基酸30-31与CD73的氨基酸136-138之间的形状互补和范德华相互作用。

[2009] Fab轻链与CD73之间发生以下相互作用。Fab轻链残基根据卡巴特编号进行编号，并在图26G和26H中突出显示(粗体、斜体和单下划线)。CD73残基根据SEQ ID NO:105编号，并在图26E和26F中突出显示(粗体、斜体和单下划线)。

[2010] • Fab轻链的W32侧链定位为与CD73的T209侧链发生氢键键合。

[2011] • Fab轻链的氨基酸30和32与CD73的氨基酸209-210之间的形状互补和范德华相互作用。

[2012] 实例9.使用串联质量标签(TMT)同位素标记的表位定位

[2013] 使用TMT同位素编码试剂的抗体比较主要是按照John D.等人，Analytical Chemistry[分析化学]2015 87(15)，7540-7544中所述进行，将上述文献通过引用以其整体并入。

[2014] 方法

[2015] TMT标记

[2016] DPBS中的抗体具有以下浓度，且无需进一步处理即可使用:374(1.37mg/mL)、377.B(2.25mg/mL)、379.B(2.82mg/mL)、373(1mg/mL)、和350(1mg/mL)。将CD73(R&D系统公司，目录号5795-EN)缓冲液交换到pH 8的100mM三乙铵碳酸氢盐缓冲液(TEAB)中并浓缩至5mg/ml，以除去接收的材料和条件样品中的游离胺，用于使用10kDa分子量截留微型浓缩器(Millipore Amicon Ultra)进行TMT标记。抗原/抗体复合物(CD73/抗CD73 mAb复合物)的制备如下:将10μgCD73与12.8μg mAb(等量或CD73:mAb的2:1摩尔比或1:1的结合位点当量)在100mM TEAB、pH 8缓冲液中相对于CD73以大约2μM的浓度组合，并在室温下平衡30min。通过添加5μl 35mM TMT试剂进行标记。以类似方式标记制备仅CD73对照。标记时间分别为30s和300s，之后通过添加50μL的5％羟胺溶液淬灭标记反应。一式两份制备所有反应。

[2017] 消化

[2018] 羟胺淬灭后15分钟，在旋转浓缩器中合并样品，总体积降至约30μL。然后用PNGase F去糖基化，并通过标准方法使SDS PAGE分离还原/变性。

[2019] 从凝胶上切下含有CD73的条带，用于凝胶内消化。凝胶处理遵循用于脱色、还原、烷基化和脱水的标准程序。为了在弹性蛋白酶消化之前进行调理，将脱水的凝胶碎片用50mM Tris-缓冲液pH8再水化，而对于胃蛋白酶消化，在最后的再水化步骤中使用1％的甲酸，然后在真空中完全脱水。

[2020] 通过在50mM Tris pH8中添加25μL的12.5ng/μL的弹性蛋白酶，将弹性蛋白酶消化的样品在冰上再水化1hr。通过添加在1％甲酸中的25μl的10ng/μL胃蛋白酶，将胃蛋白酶消化的样品在冰上再水化1hr。

[2021] 用酶再水化后，弃去多余的酶溶液，并在37℃消化4hr之前，添加50μl相应的消化缓冲液。消化后，肽回收又遵循标准的凝胶内消化方法。

[2022] LCMSMS

[2023] LCMSMS使用Orbitrap Lumos质谱仪(赛默科技，马萨诸塞州沃尔瑟姆)和Easy-nLC 1200色谱系统(赛默科技，马萨诸塞州沃尔瑟姆)进行。分离柱是一根75μm毛细管，其拉伸的尖端装有15cm的ReproSil-Pur 120C18 AQ 3μm(目录号r13.aq)。使用分段梯度洗脱蛋白水

解片段:在120min内0%-35%B、在30min内35%-63%B、在5min内63%-100%B、100%B保持5min,在2min内100%-0%B、0%B保持2min,流速为500nL/min,使用洗脱缓冲液A=0.1%甲酸水和B=80%-MCN中的0.1%甲酸。

[2024] 数据采集方法使用制造商的默认方法参数(用于带有MSMS检测的TMT实验)。

[2025] 数据缩减与分析

[2026] 使用MASCOT 2.5.1(MatrixScience,UK),使用MASCOT Daemon(MatrixScienc,UK)和ExtractMSn(赛默科技,马萨诸塞州沃尔瑟姆),针对CD73蛋白序列搜索原始数据,以将弹性蛋白酶和胃蛋白酶原始文件转换并合并为.mgf峰列表。为了进行定量,使用了内置在MASCOT中的默认TMT10plex方法。包含TMT报告离子强度的搜索结果以.csv格式输出,并进一步完善/仔细挑选以消除异常值,然后使用微软Excel计算一级序列中给定赖氨酸残基的整个肽谱匹配(PSM)的强度加权报告离子强度平均值。在分析中仅使用含有单个赖氨酸残基的肽的PSM以避免标记位点的不明确。

[2027] 结果

[2028] 将覆盖一级序列的可观察到的赖氨酸残基的强度加权的CD73归一化的报告离子强度比绘制为CD73/抗CD73 mAb复合物与CD73之间的比值之差(归一化定义为1)。以这种方式绘制比率可以直接评估由于复合物形成而导致的标记率变化。负差表示抗体/抗原复合物中的标记减少,并且与HDX数据类似地被解释为保护。期望的是最强的保护作用反映了抗体将抗原的蛋白质表面与药剂屏蔽开。除了直接在蛋白质-蛋白质界面处屏蔽外,其他地方的变化也不是意外的,因为蛋白质会整体折叠,并且整个构象总体可能会受到复合物形成的干扰。尽管有复杂性,但仍有助于以绝对规模解释分子事件。在复合物形成后显示出相似总体效果(标记谱)的抗体可能具有相似的表位,并通过相似的分子机制发挥其效应子功能。该实例中显示的所有残基均根据SEQ ID NO:105编号。

[2029] 图27A和27B显示了如在30s标记时观察到的,在CD73的一级序列中35个赖氨酸中的29个的比值之差。赖氨酸K162、K206和K214的保护(图27A)与373的表位的先前HDX解释(实例2)很好地相关。具体地,HDX研究了分配的残基158-172(YLPYKVLPVGDEVVG,SEQ ID NO:108,A环),其包含K162;和残基206-215(KLKTLNVNKI,SEQ ID NO:109,B环),其包含K206和K214,作为373表位的一部分。赖氨酸K285和K291(图27B)的保护与在残基300周围区域中的现有HDX数据中观察到的微小保护一致(图14和实例2)。K262和K274相对于表位(K162、K206和K214)位于N-末端结构域的相对侧,且在这两个残基处的标记增加(图27A)可能反映了该区域中“可稳定化”mAb接合的结果。K136在空间上接近K162,但更靠近二聚体的中心。抗体374、377、379和373的K136处的保护(图27A)与实例2中针对373所述的双齿结合模式一致。该数据表明抗体374、377、379和373可以形成高度均一的基团。K341位于N/C-末端域接口中,并且靠近二聚体接口。

[2030] 图28A和28B显示了如在300s标记时观察到的,在CD73的一级序列中35个赖氨酸中的29个的比值之差。对于mAb 374、377、379和373不再能观察到K162的保护,而对350保护仍然很强。相反,K206和K214的保护不变。这提供了抗体374、377、379和373的高度同源性的进一步证据,如通过时空标记模式评估的。

[2031] 值得注意的是,对于所有这些抗体,在K206处的保护与在K214处的保护相当(图27A和28A)。

[2032] 通过引用并入

[2033] 本文提及的所有出版物、专利和登录号均通过引用以其全文特此并入，如同每个单独的出版物或专利被明确且单独地表明通过引用而并入。

[2034] 等同物

[2035] 虽然已经讨论了本发明的特定实施例，但上述说明是说明性而非限制性的。在综述本说明书和以下权利要求书之后，本发明的许多修改对于本领域的技术人员将是显而易见的。应当通过参考权利要求书及其等同物的全范围以及说明书连同此类变化来确定本发明的全范围。

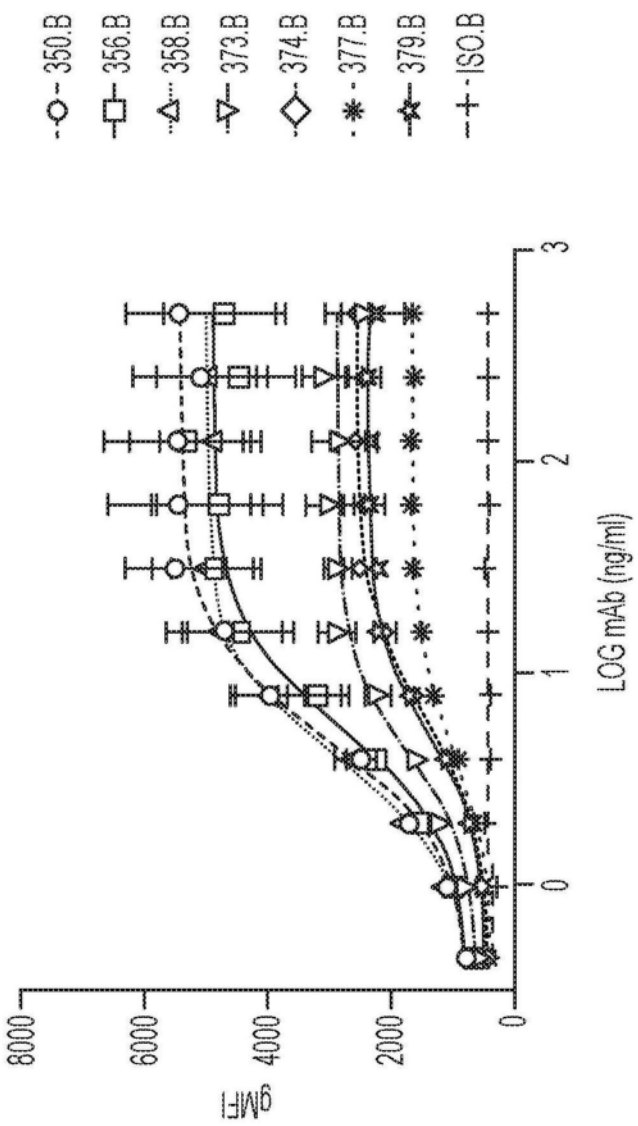

350.B
356.B
358.B
373.B
374.B
377.B
379.B
ISO.B
gMFI
8000
6000
4000
2000
0
0
1
2
3
LOG mAb (ng/ml)

图1

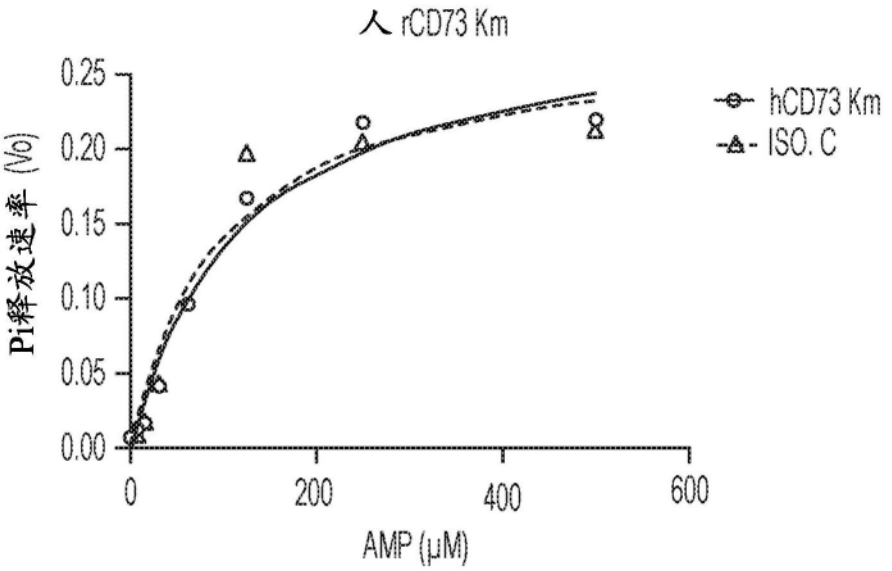

人 rCD73 Km
Pi释放速率 (Vo)
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
0
200
400
600
AMP (μM)
hCD73 Km
ISO. C

图2A

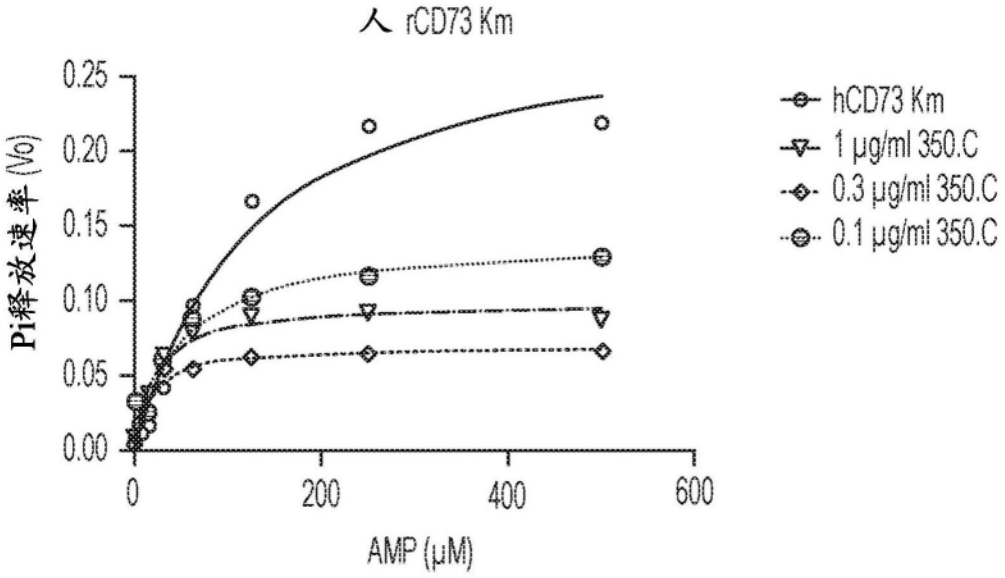

人 rCD73 Km
Pi释放速率 (Vo)
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
0
200
400
600
AMP (μM)
hCD73 Km
1 μg/ml 350.C
0.3 μg/ml 350.C
0.1 μg/ml 350.C

图2B

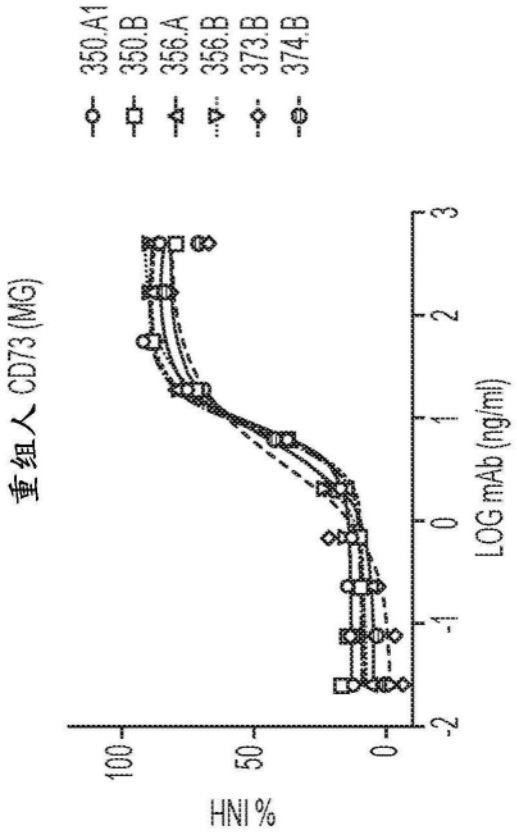

350.A1
350.B
356.A
356.B
373.B
374.B
重组人 CD73 (MG)
HNI %
100
50
0
-2
-1
0
1
2
3
LOG mAb (ng/ml)

图3A

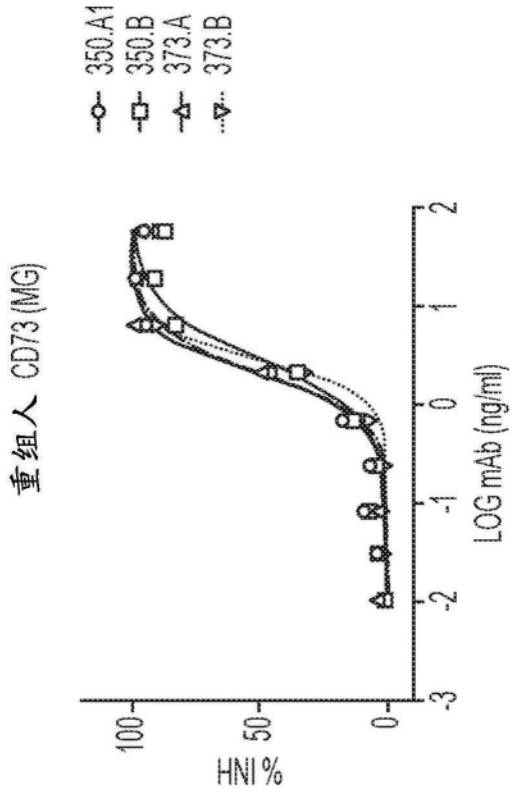

350.A1
350.B
373.A
373.B
重组人 CD73 (MG)
HNI %
100
50
0
-3
-2
-1
0
1
2
LOG mAb (ng/ml)

图3B

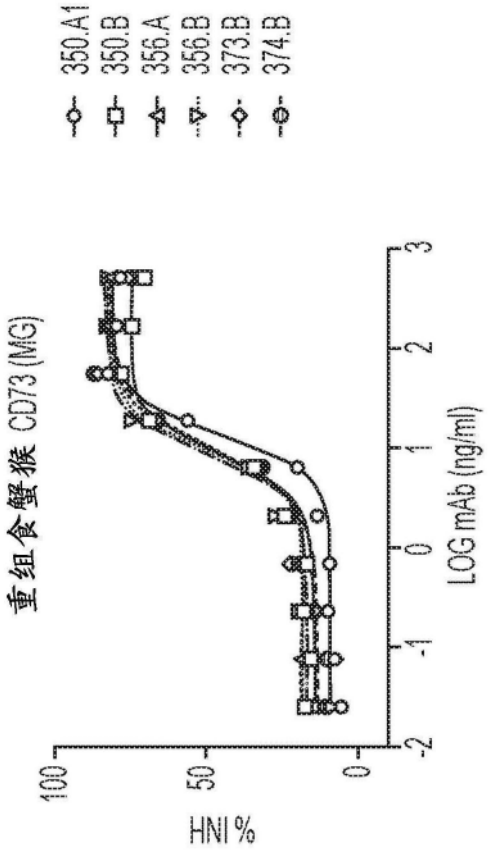

350.A1
350.B
356.A
356.B
373.B
374.B
重组食蟹猴 CD73 (MG)
LOG mAb (ng/ml)
HNI %
100
50
0
-2
-1
0
1
2
3

图3C

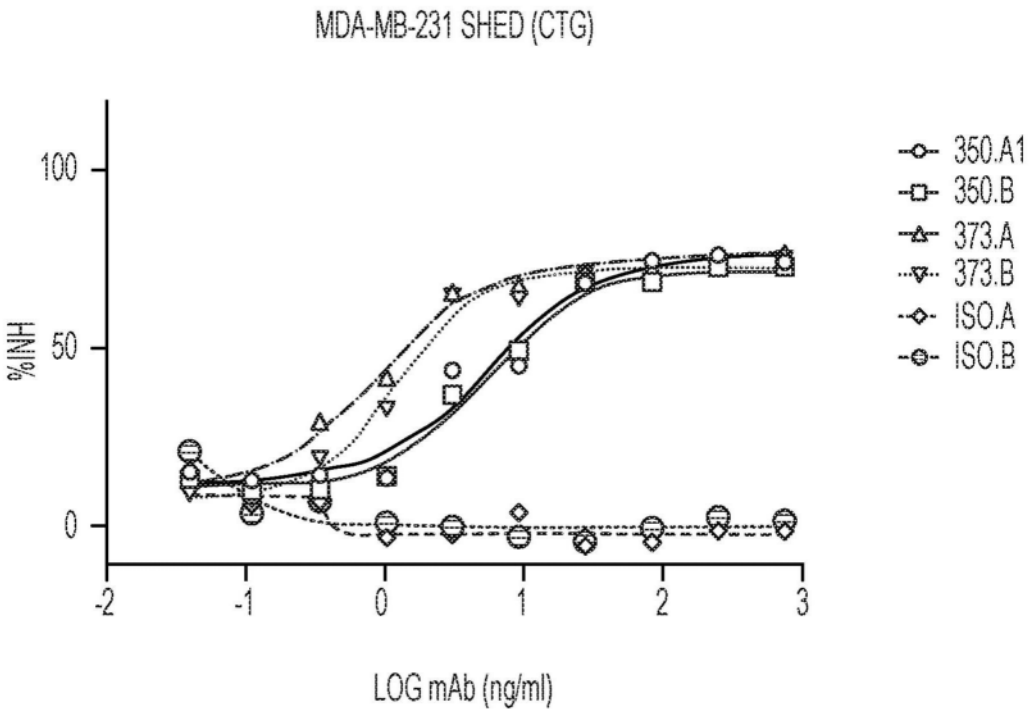

MDA-MB-231 SHED (CTG)
%INH
LOG mAb (ng/ml)
350.A1
350.B
373.A
373.B
ISO.A
ISO.B
100
50
0
-2
-1
0
1
2
3

图4

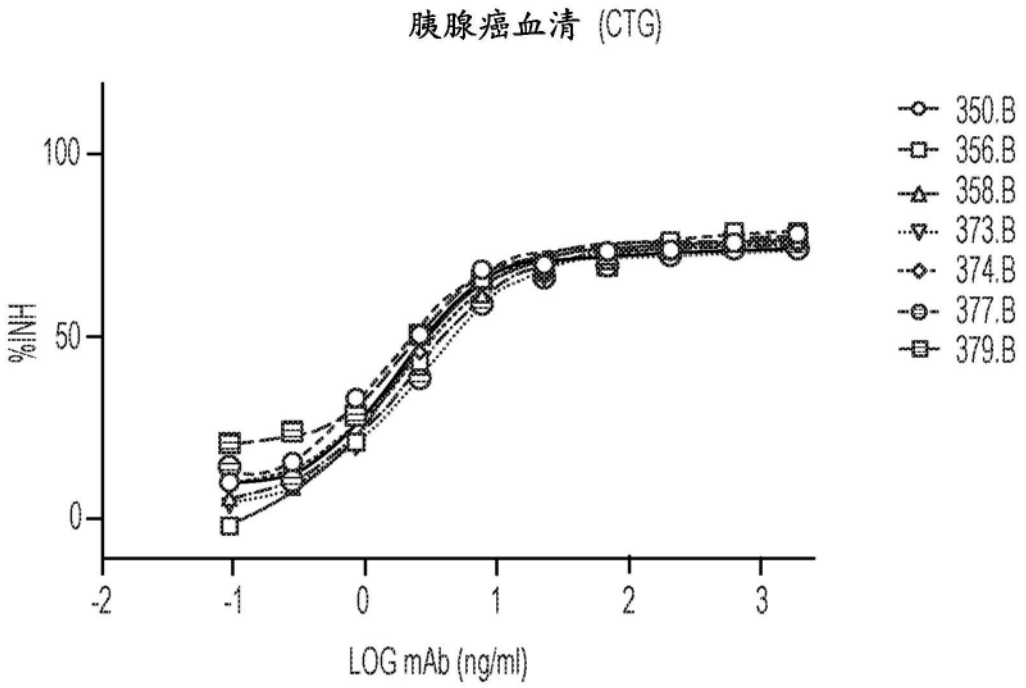

胰腺癌血清 (CTG)
100
50
0
%INH
-2
-1
0
1
2
3
LOG mAb (ng/ml)
350.B
356.B
358.B
373.B
374.B
377.B
379.B

图5

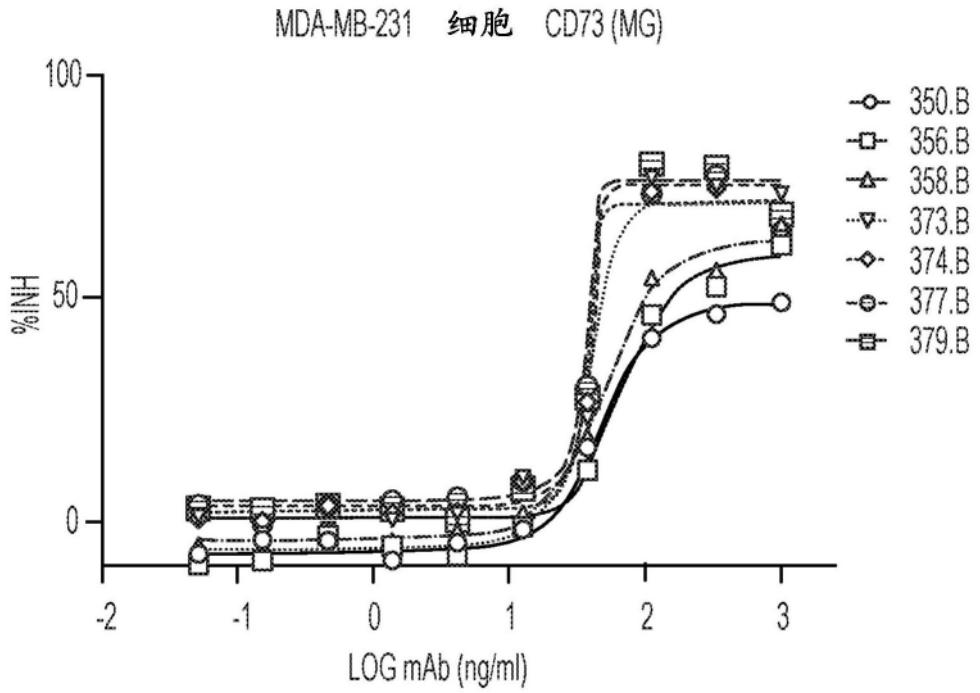

MDA-MB-231 细胞 CD73 (MG)
100
50
0
%INH
-2
-1
0
1
2
3
LOG mAb (ng/ml)
350.B
356.B
358.B
373.B
374.B
377.B
379.B

图6

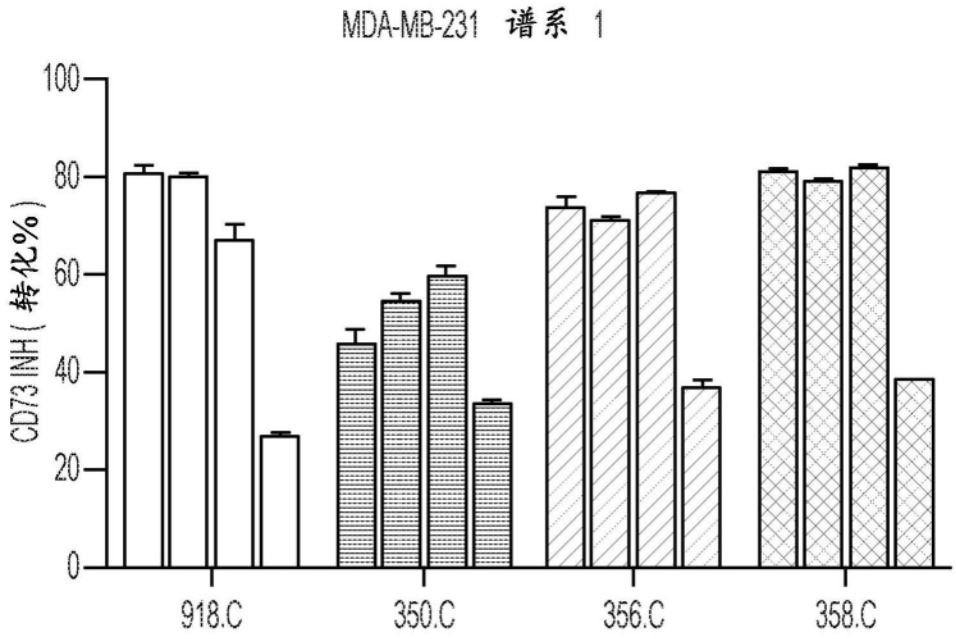

MDA-MB-231 谱系 1
CD73 INH (转化%)
100
80
60
40
20
0
918.C
350.C
356.C
358.C

图7A

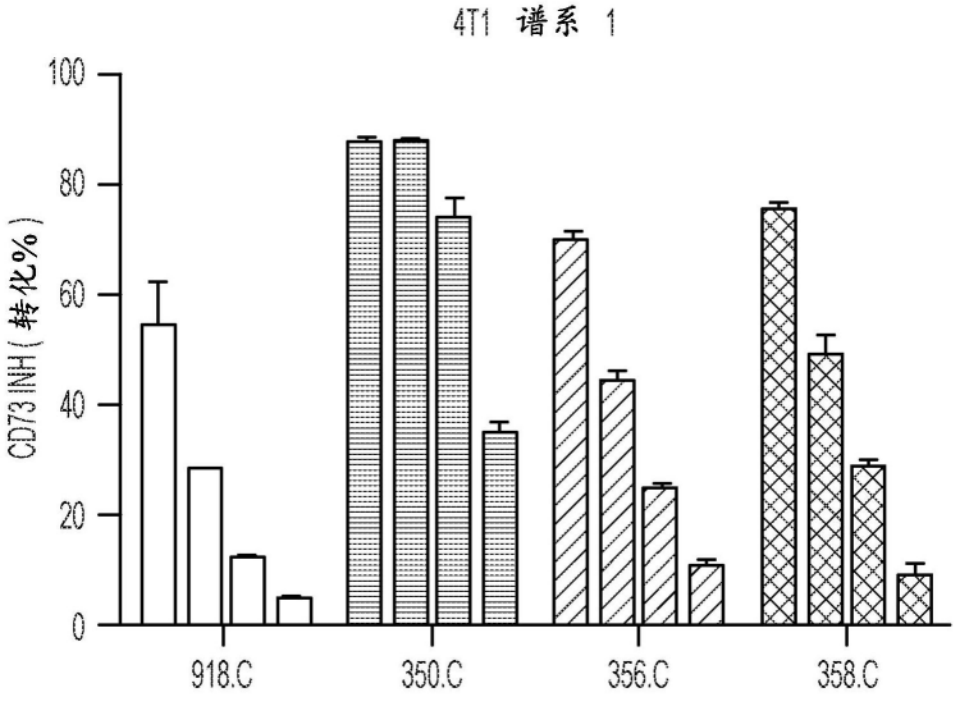

4T1 谱系 1
CD73 INH (转化%)
100
80
60
40
20
0
918.C
350.C
356.C
358.C

图7B

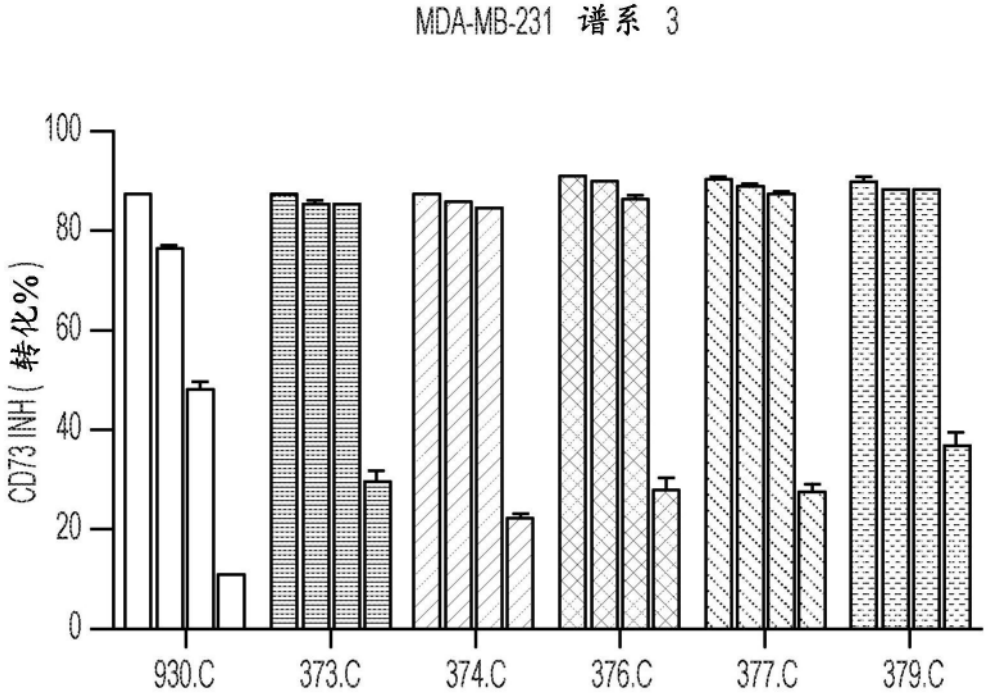

MDA-MB-231 谱系 3
CD73 INH (转化%)
100
80
60
40
20
0
930.C
373.C
374.C
376.C
377.C
379.C

图7C

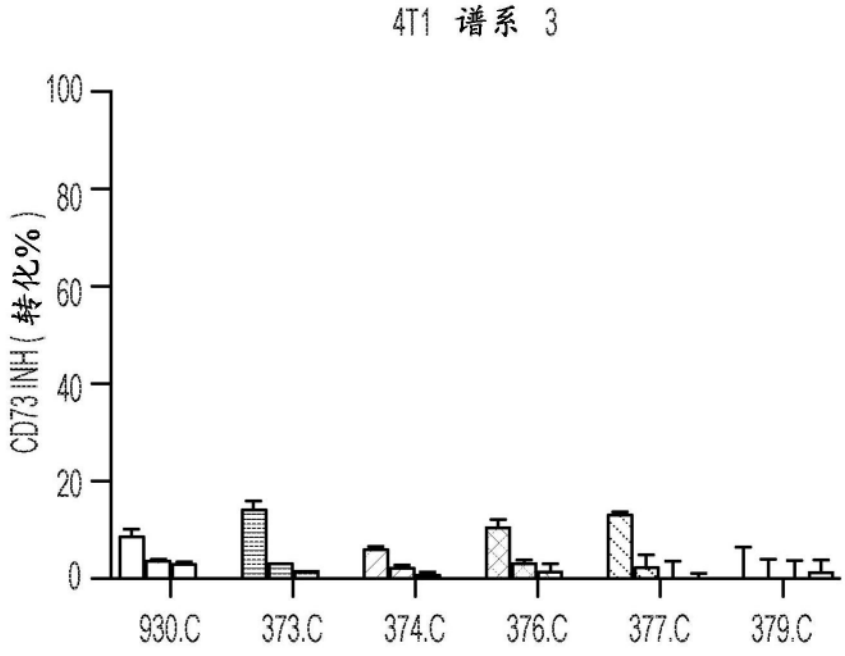

4T1 谱系 3
CD73 INH (转化%)
100
80
60
40
20
0
930.C
373.C
374.C
376.C
377.C
379.C

图7D

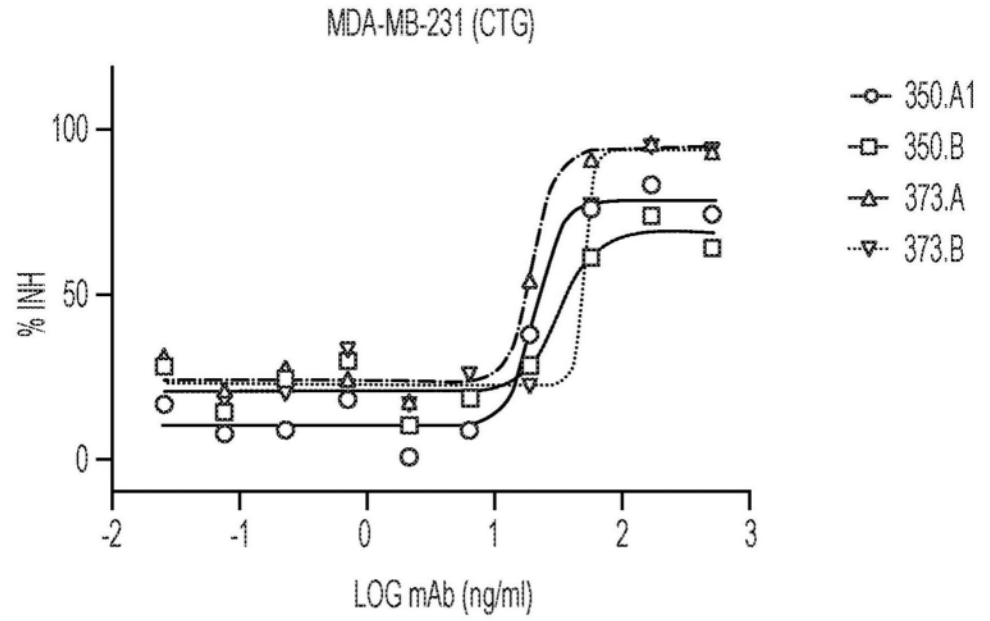

MDA-MB-231 (CTG)
100
50
0
% INH
-2
-1
0
1
2
3
LOG mAb (ng/ml)
350.A1
350.B
373.A
373.B

图8A

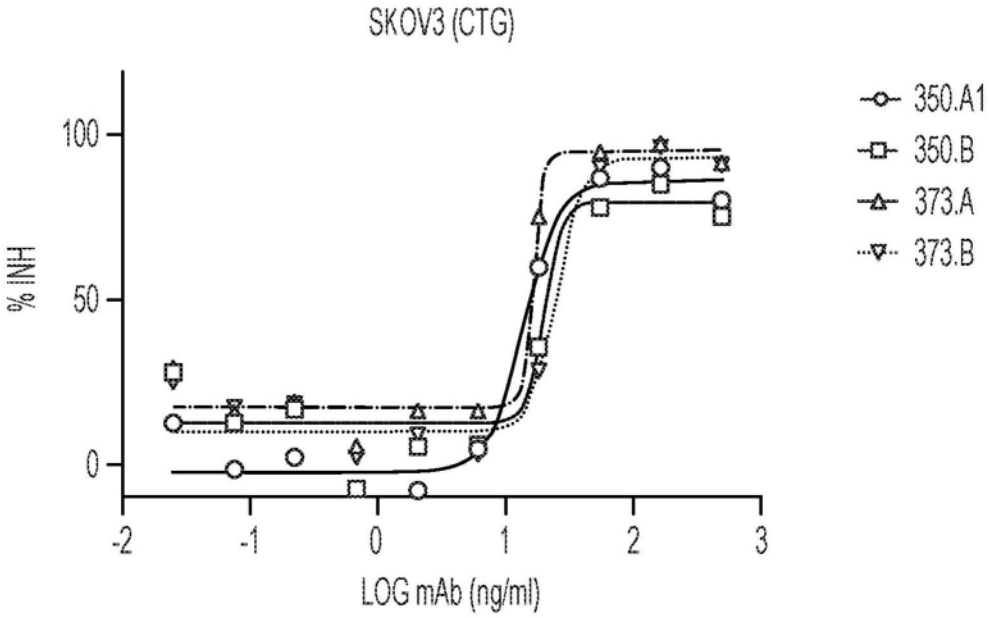

SKOV3 (CTG)
100
50
0
% INH
-2
-1
0
1
2
3
LOG mAb (ng/ml)
350.A1
350.B
373.A
373.B

图8B

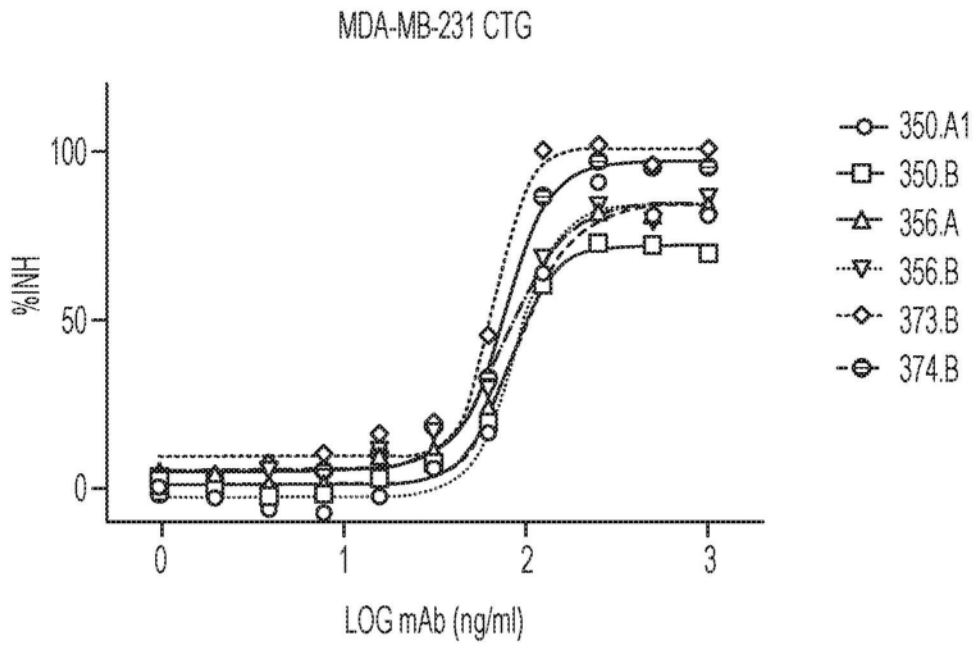

MDA-MB-231 CTG
%INH
100
50
0
0
1
2
3
LOG mAb (ng/ml)
350.A1
350.B
356.A
356.B
373.B
374.B

图9A

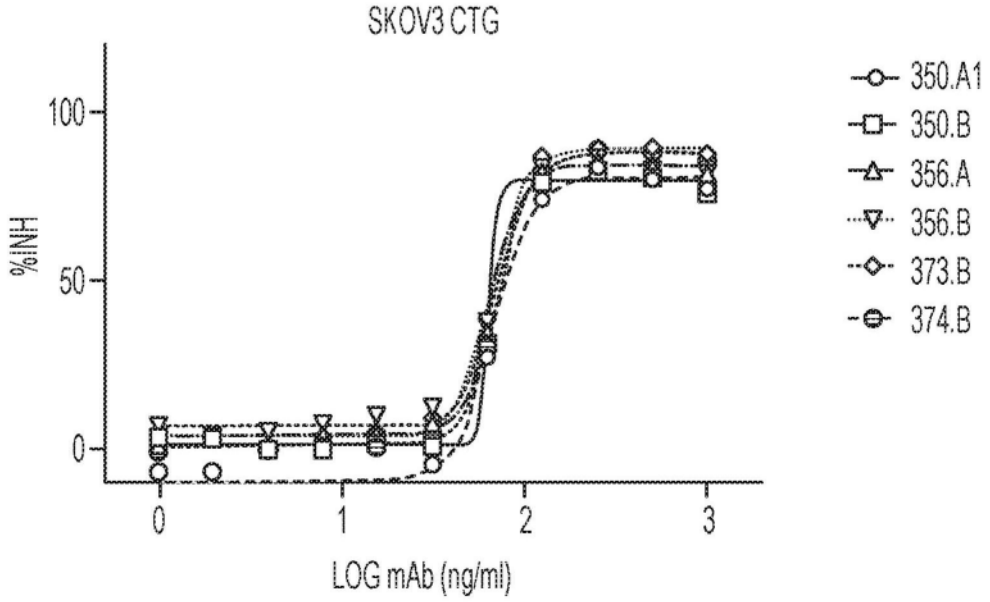

SKOV3 CTG
%INH
100
50
0
0
1
2
3
LOG mAb (ng/ml)
350.A1
350.B
356.A
356.B
373.B
374.B

图9B

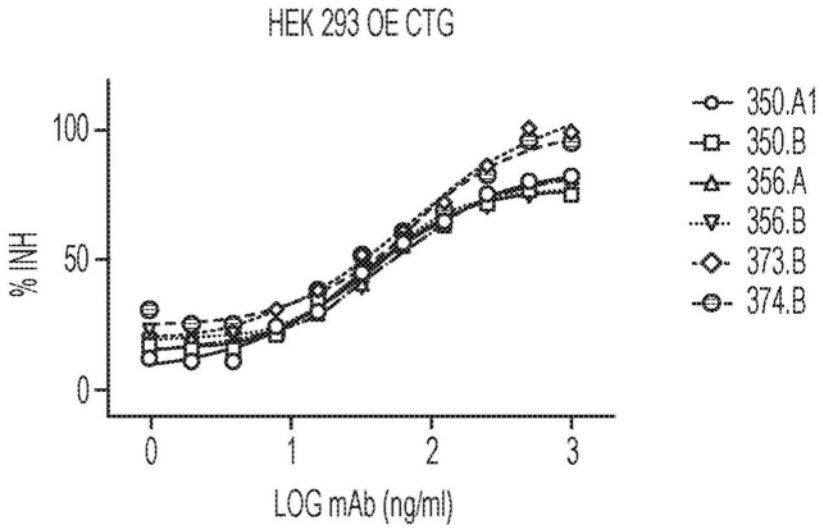

HEK 293 OE CTG
% INH
100
50
0
0
1
2
3
LOG mAb (ng/ml)
350.A1
350.B
356.A
356.B
373.B
374.B

图10

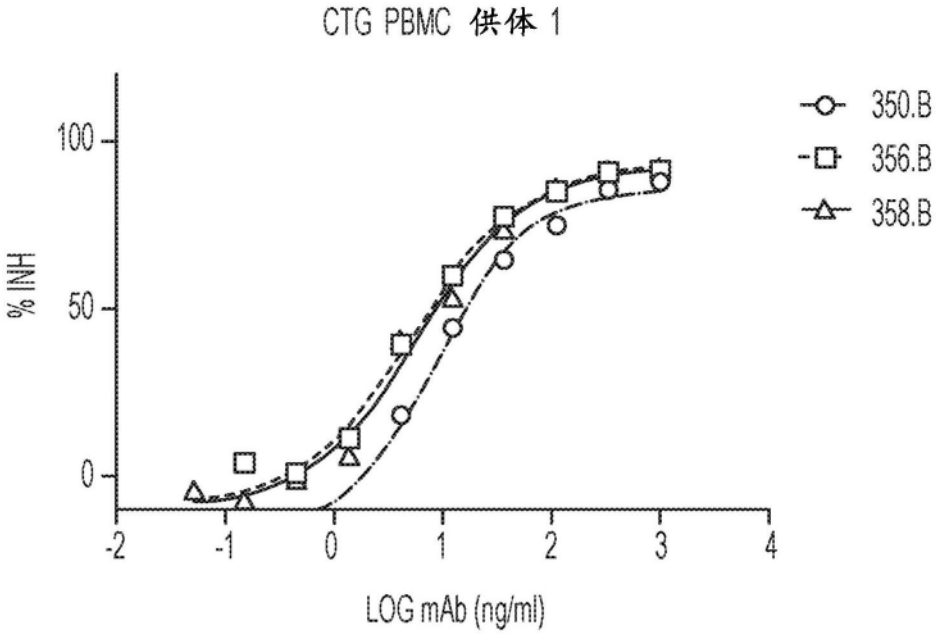

CTG PBMC 供体 1
% INH
100
50
0
-2
-1
0
1
2
3
4
LOG mAb (ng/ml)
350.B
356.B
358.B

图11A

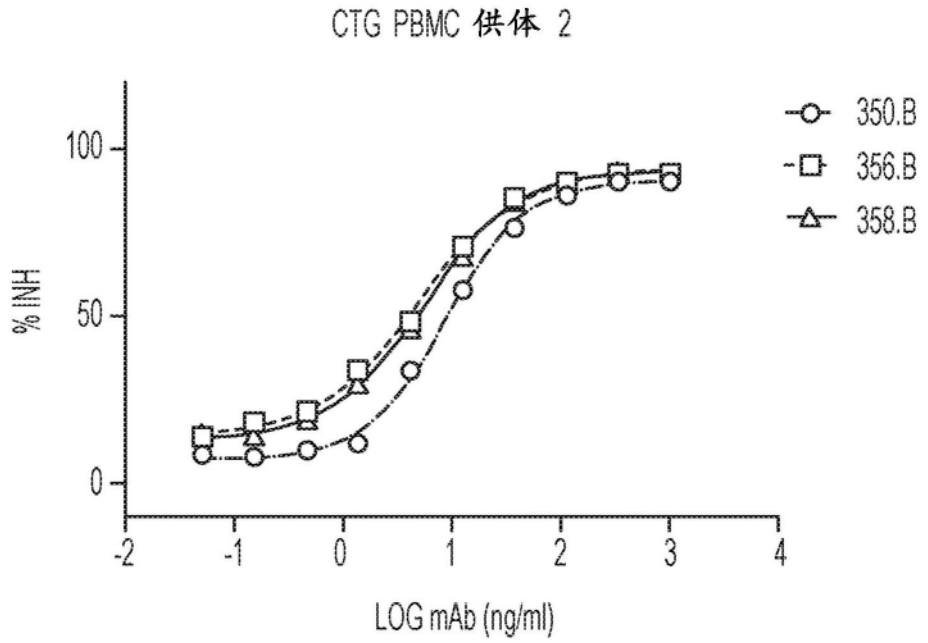

CTG PBMC 供体 2
% INH
100
50
0
-2
-1
0
1
2
3
4
LOG mAb (ng/ml)
350.B
356.B
358.B

图11B

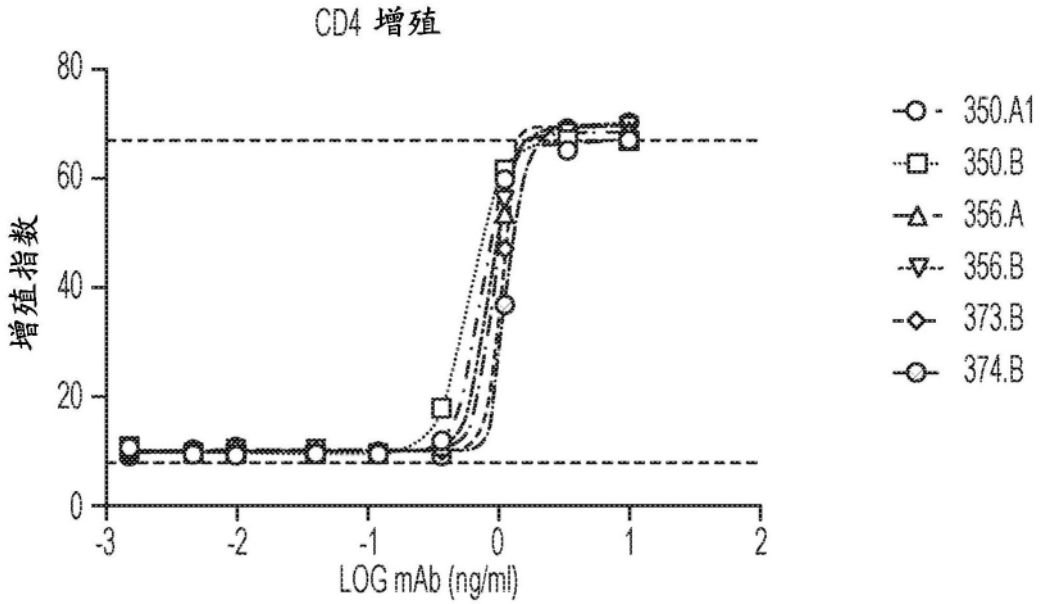

CD4 增殖
增殖指数
80
60
40
20
0
-3
-2
-1
0
1
2
LOG mAb (ng/ml)
350.A1
350.B
356.A
356.B
373.B
374.B

图12A

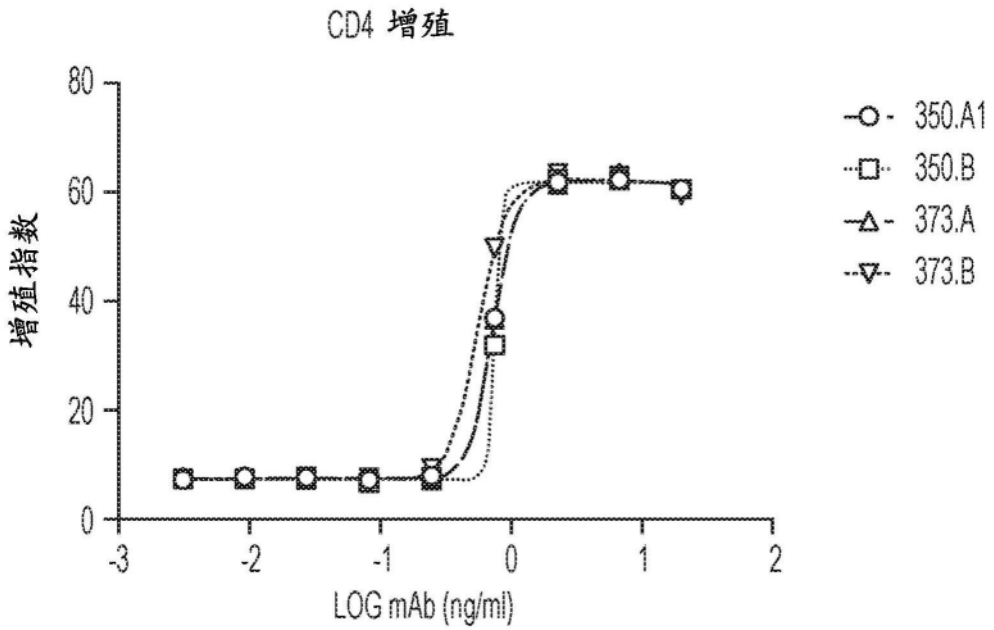

CD4 增殖
增殖指数
80
60
40
20
0
-3
-2
-1
0
1
2
LOG mAb (ng/ml)
350.A1
350.B
373.A
373.B

图12B

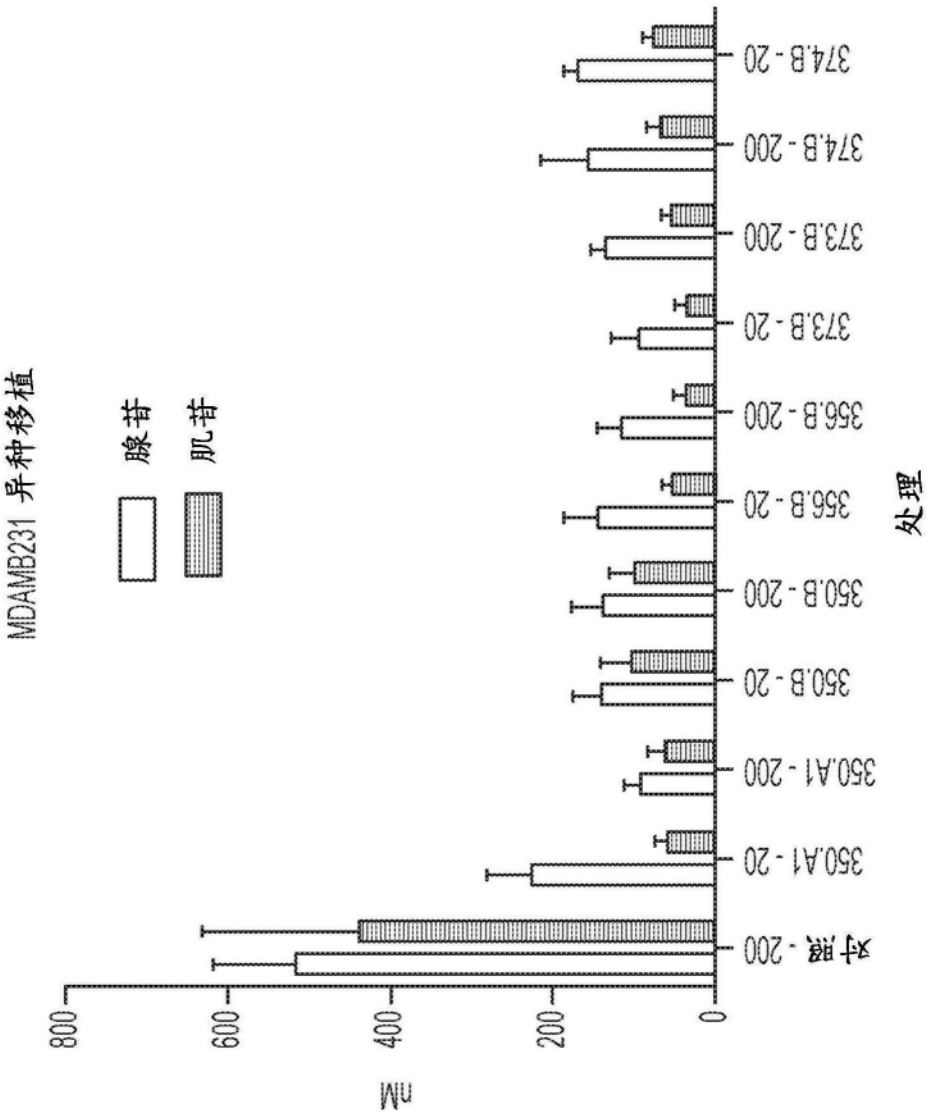

MDAMB231 异种移植
腺苷
肌苷
nM
800
600
400
200
0
对照 - 200
350.A1 - 20
350.A1 - 200
350.B - 20
350.B - 200
356.B - 20
356.B - 200
373.B - 20
373.B - 200
374.B - 200
374.B - 20
处理

图13

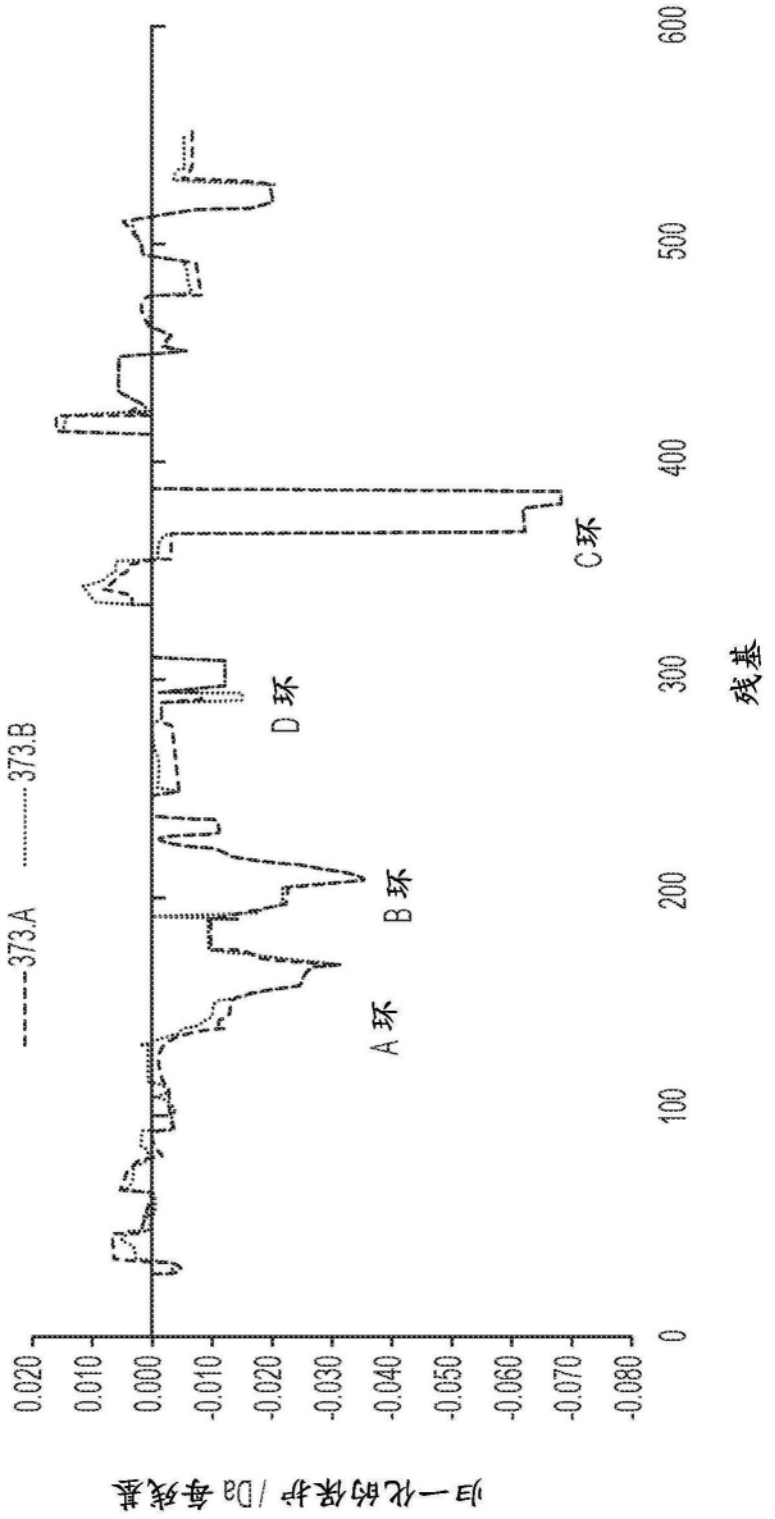

373.A
373.B
A 环
B 环
D 环
C环
残基
归一化的保护 /Da 每残基
0.020
0.010
0.000
-0.010
-0.020
-0.030
-0.040
-0.050
-0.060
-0.070
-0.080
0
100
200
300
400
500
600

图14

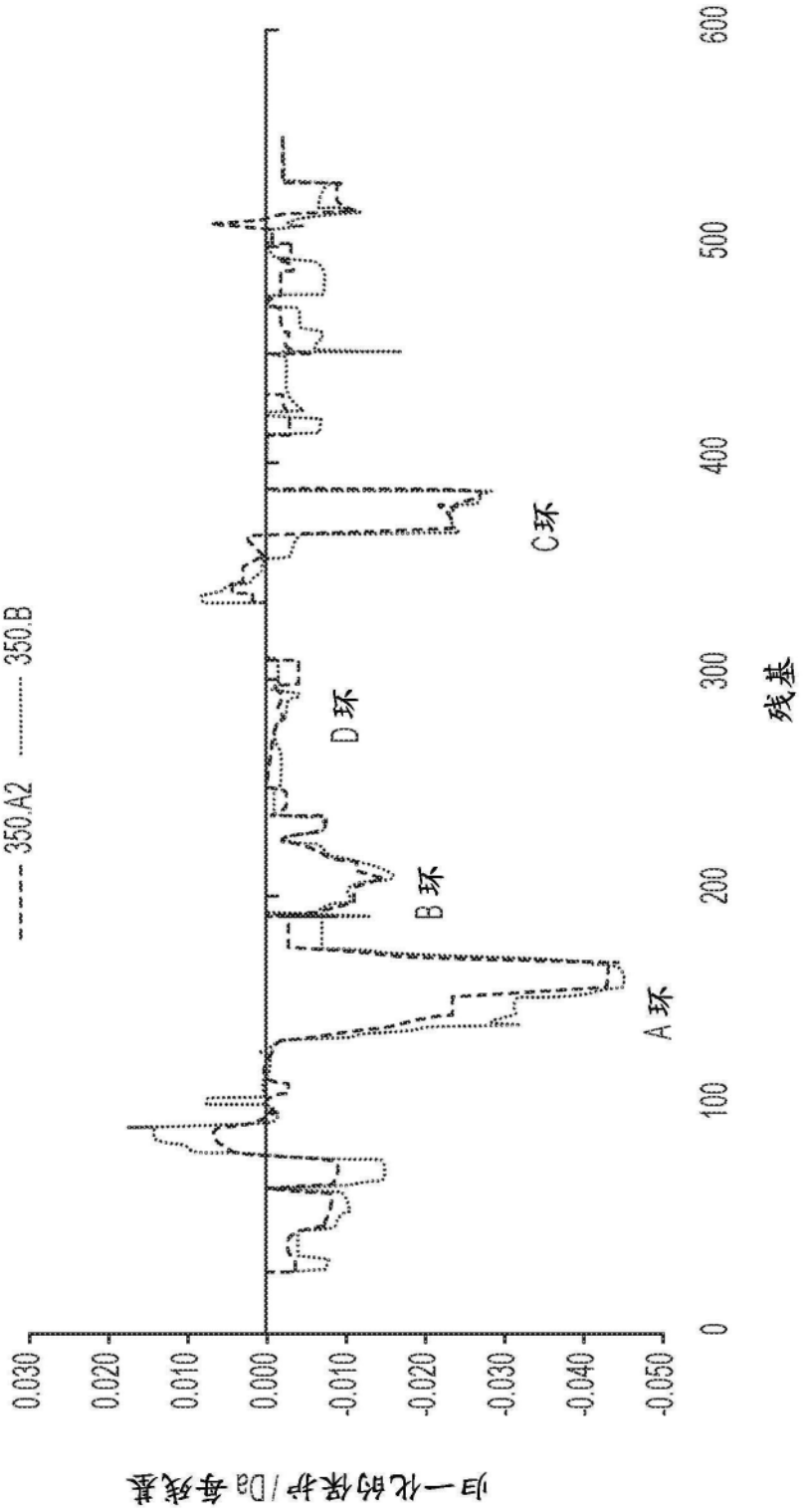

350.A2
350.B
A环
B环
D环
C环
残基
归一化的保护/Da每残基
0.030
0.020
0.010
0.000
-0.010
-0.020
-0.030
-0.040
-0.050
0
100
200
300
400
500
600

图15

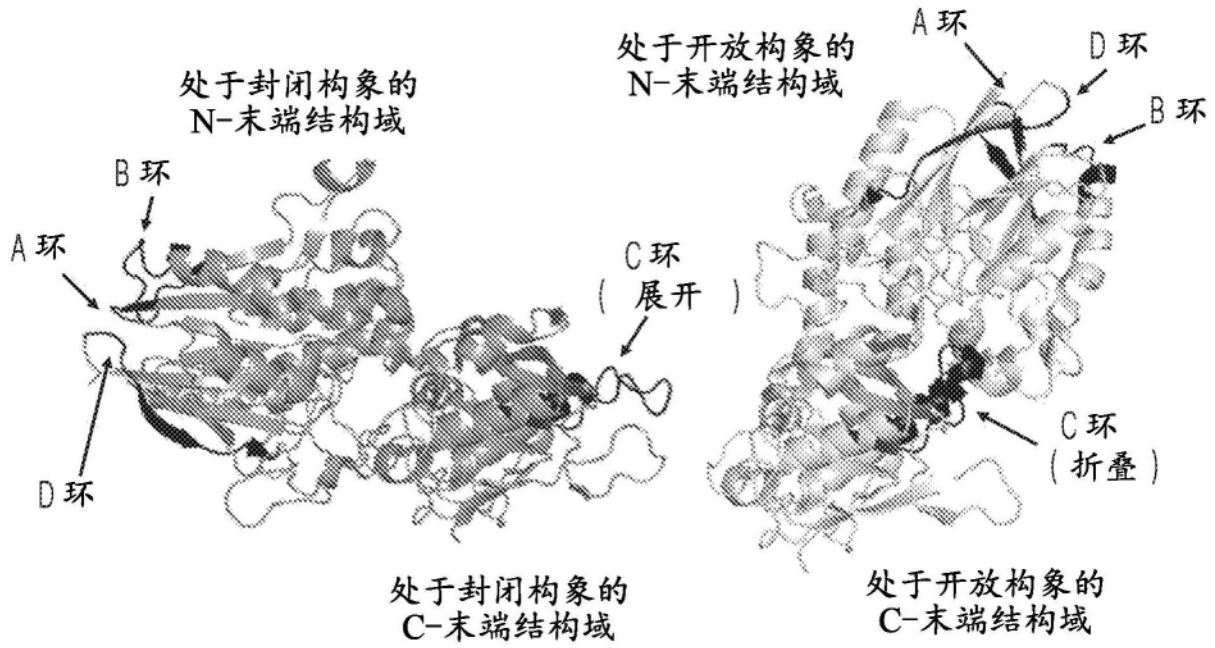

处于封闭构象的
N-末端结构域
B 环
A 环
D 环
C 环
（ 展开 ）
处于封闭构象的
C-末端结构域
处于开放构象的
N-末端结构域
A 环
D 环
B 环
C 环
（ 折叠 ）
处于开放构象的
C-末端结构域

图16A

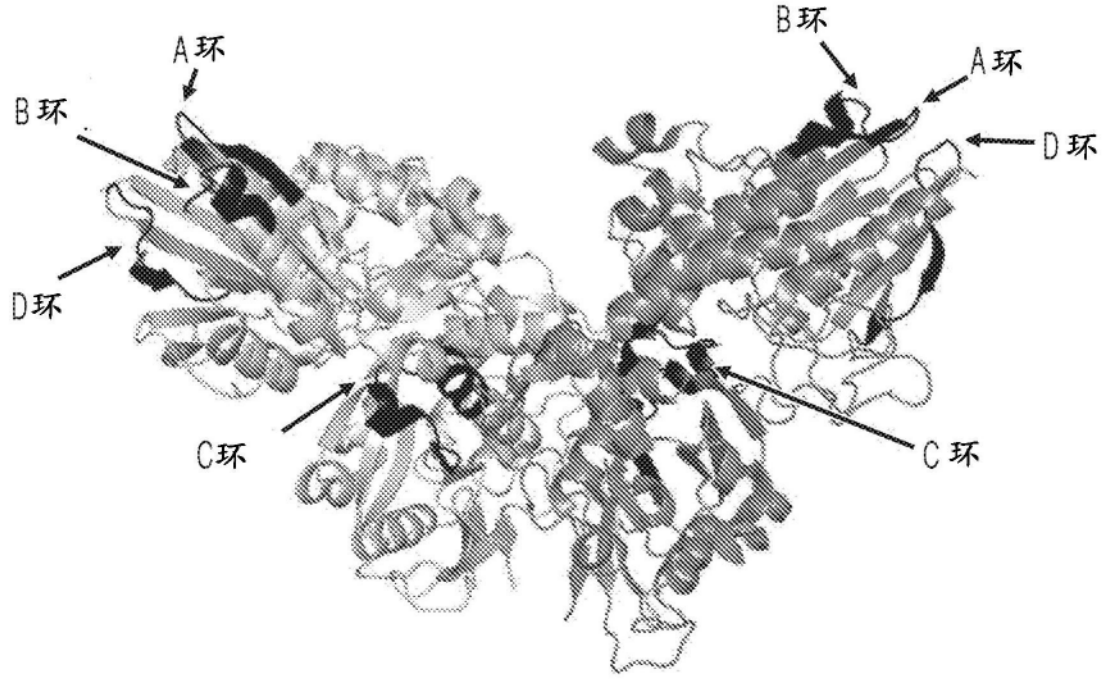

A 环
B 环
D 环
C 环
B 环
A 环
D 环
C 环

图16B

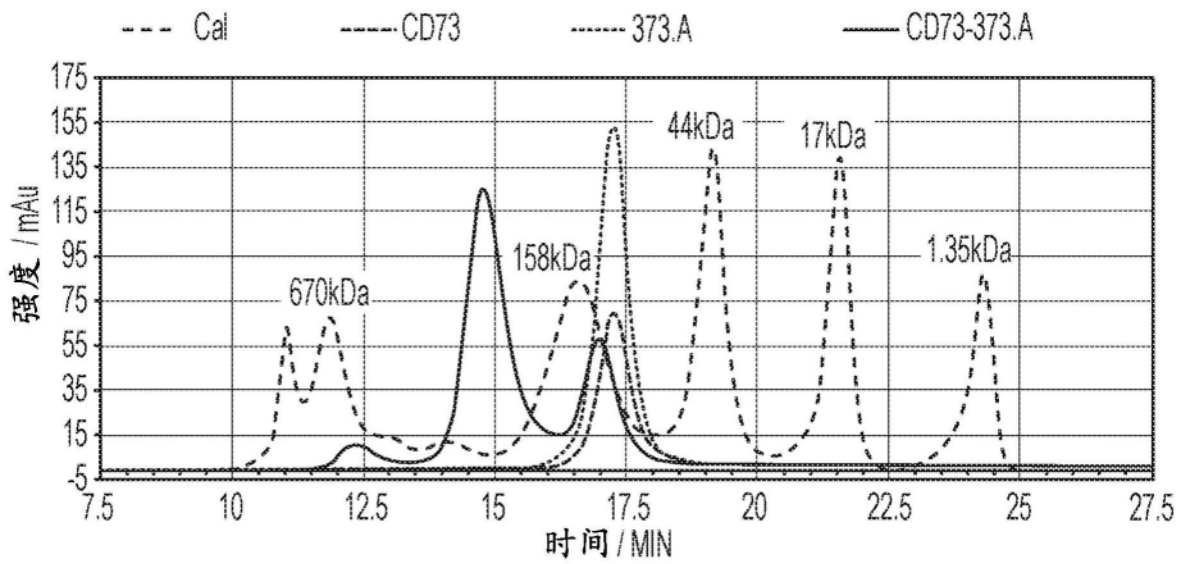

Cal
CD73
373.A
CD73-373.A
强度 / mAu
时间 / MIN
670kDa
158kDa
44kDa
17kDa
1.35kDa

图17A

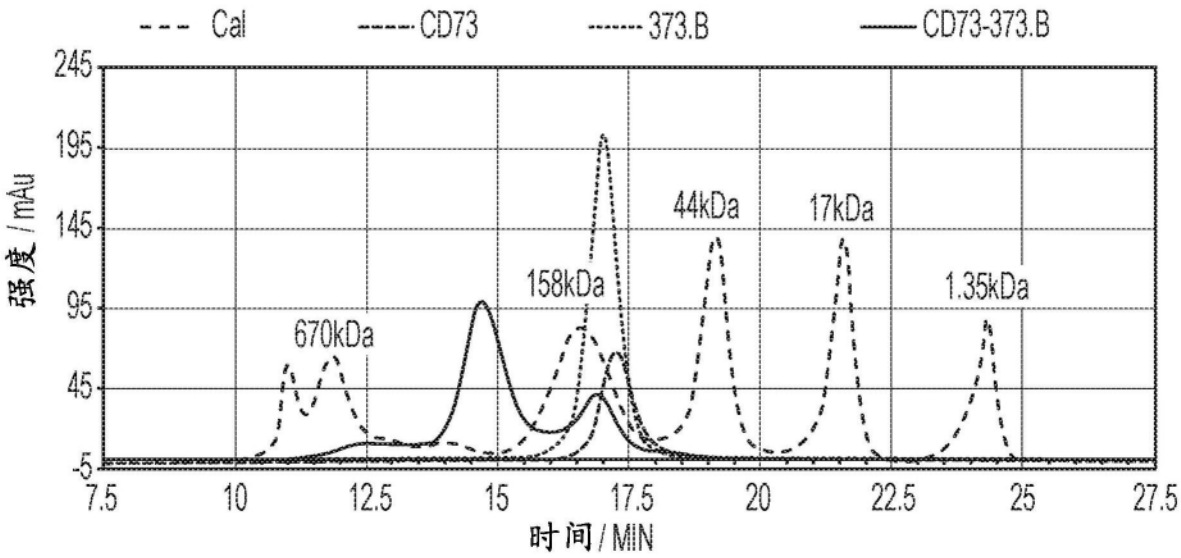

Cal
CD73
373.B
CD73-373.B
强度 / mAu
时间 / MIN
670kDa
158kDa
44kDa
17kDa
1.35kDa

图17B

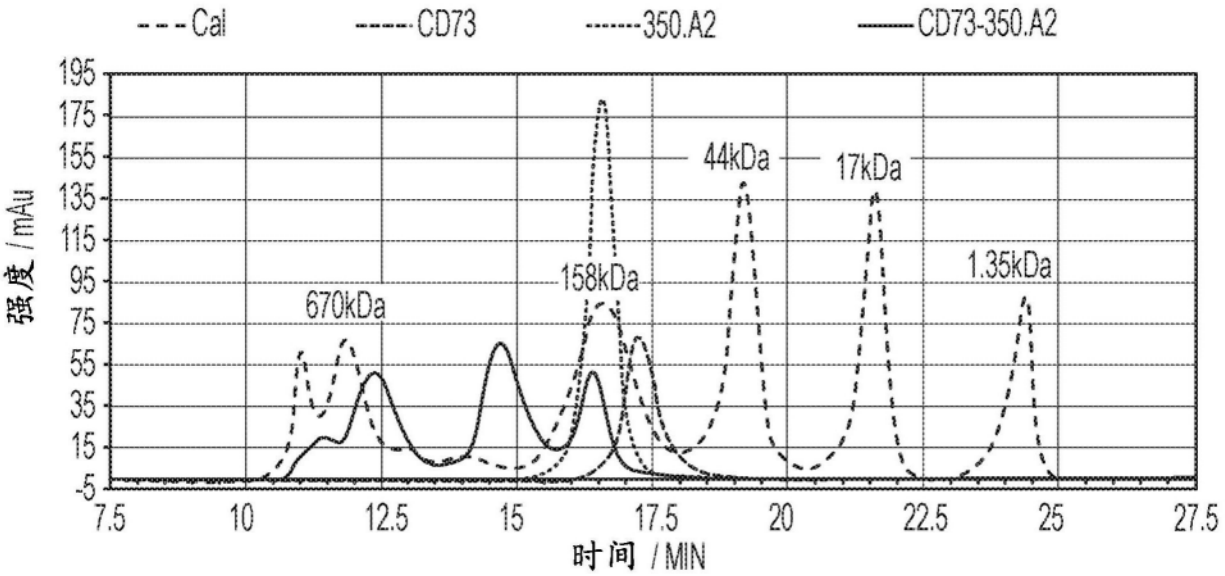

Cal
CD73
350.A2
CD73-350.A2
强度 / mAu
195
175
155
135
115
95
75
55
35
15
-5
670kDa
158kDa
44kDa
17kDa
1.35kDa
7.5
10
12.5
15
17.5
20
22.5
25
27.5
时间 / MIN

图18A

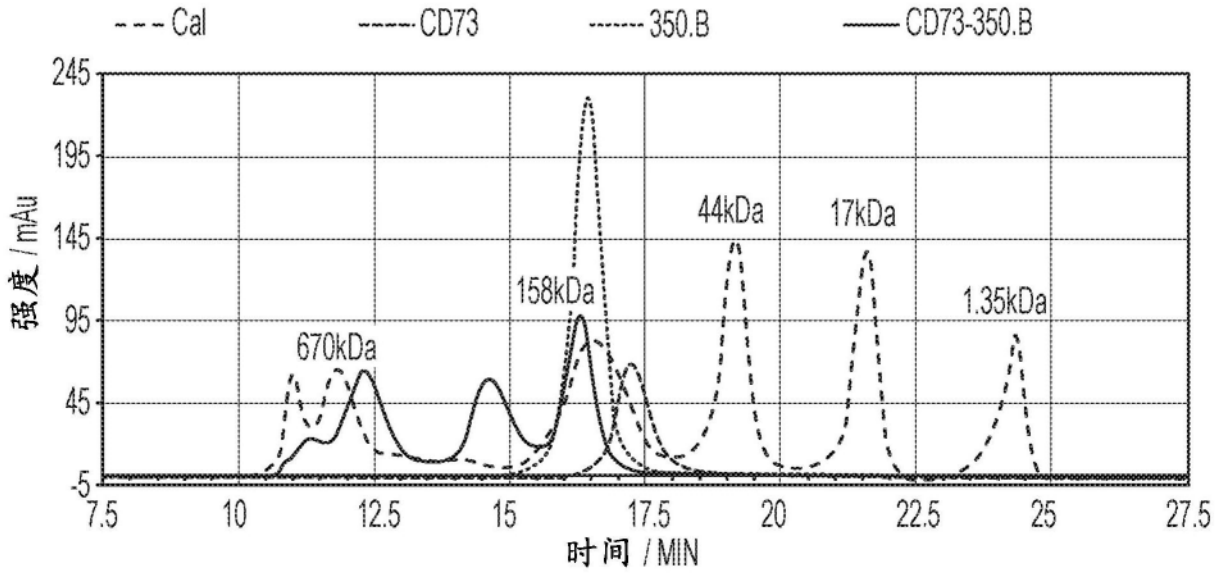

Cal
CD73
350.B
CD73-350.B
强度 / mAu
245
195
145
95
45
-5
670kDa
158kDa
44kDa
17kDa
1.35kDa
7.5
10
12.5
15
17.5
20
22.5
25
27.5
时间 / MIN

图18B

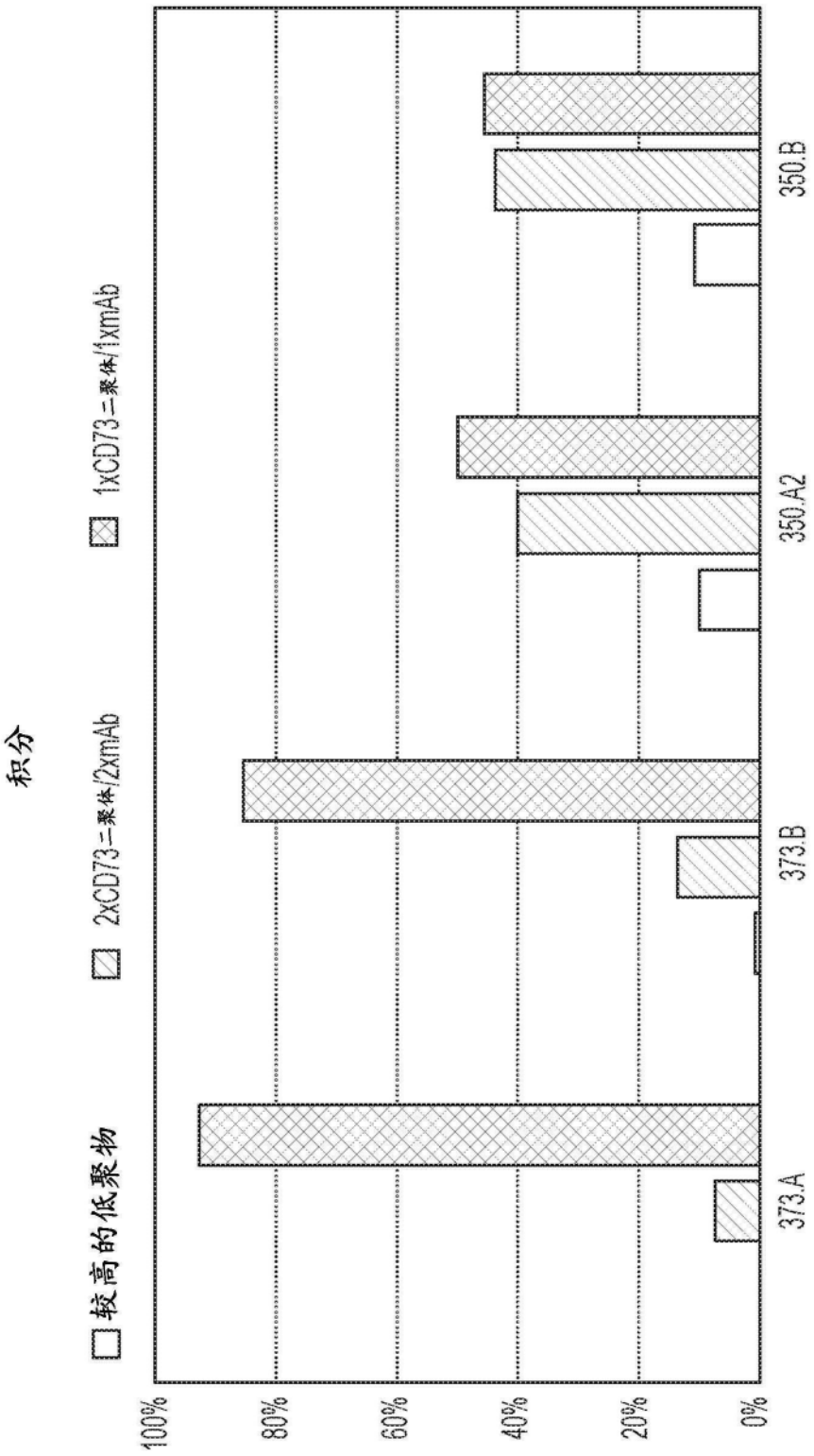

积分
□较高的低聚物
2xCD73=聚体/2xmAb
1xCD73=聚体/1xmAb
100%
80%
60%
40%
20%
0%
373.A
373.B
350.A2
350.B

图19

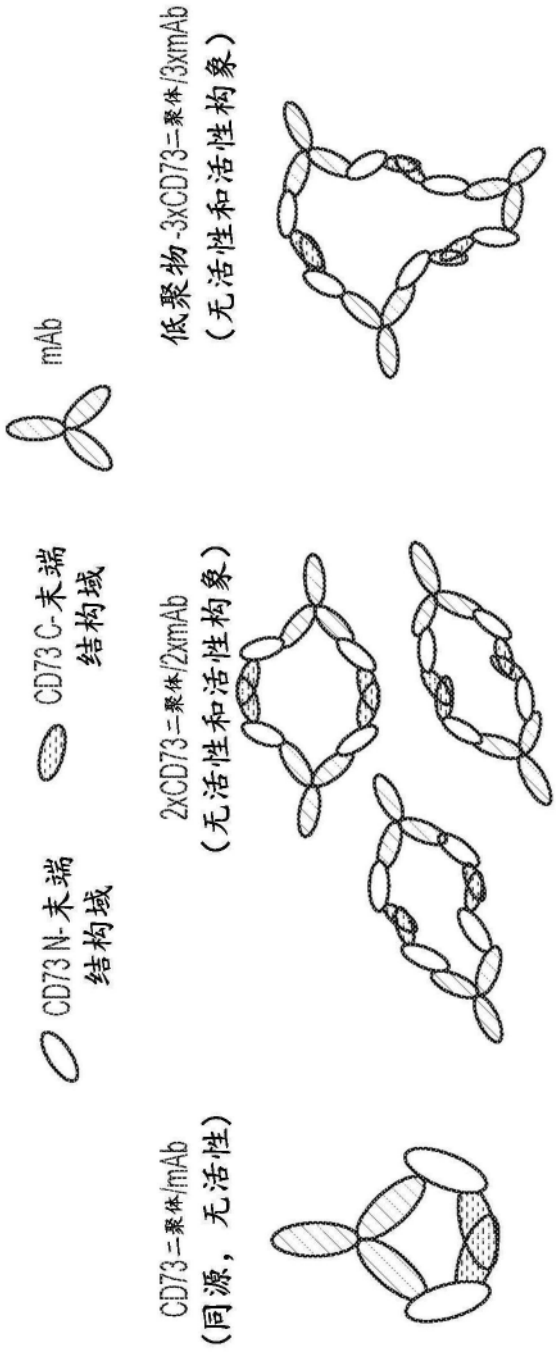

CD73 N-末端结构域
CD73 C-末端结构域
mAb
CD73二聚体/mAb
(同源，无活性)
2xCD73二聚体/2xmAb
(无活性和活性构象)
低聚物-3xCD73二聚体/3xmAb
(无活性和活性构象)

图20

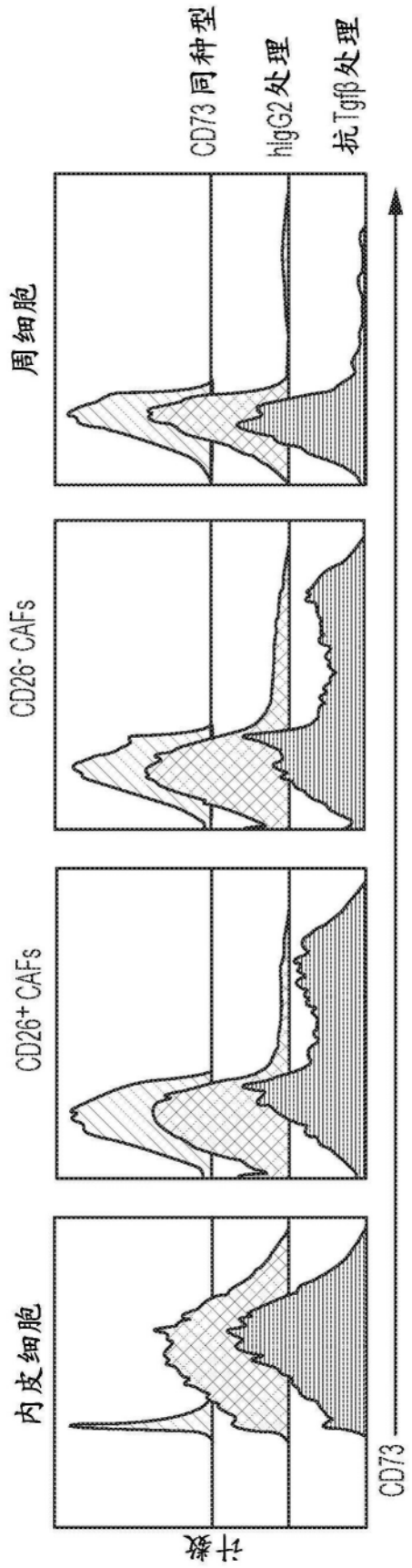

CD73 同种型
hIgG2 处理
抗 Tgfβ 处理
周细胞
CD26- CAFs
CD26+ CAFs
内皮细胞
计数
CD73

图21A

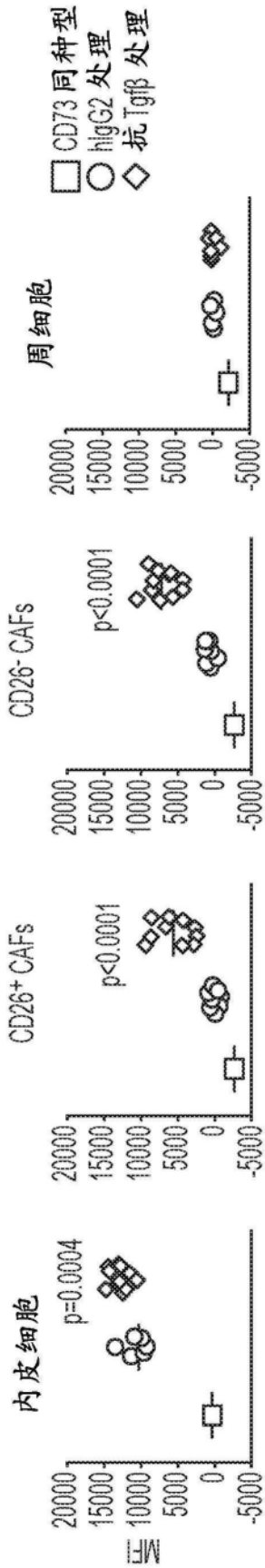

内皮细胞
CD26+ CAFs
CD26- CAFs
周细胞
CD73 同种型
hIgG2 处理
抗 Tgfβ 处理
p=0.0004
p<0.0001
p<0.0001
20000
15000
10000
5000
0
-5000

图21B

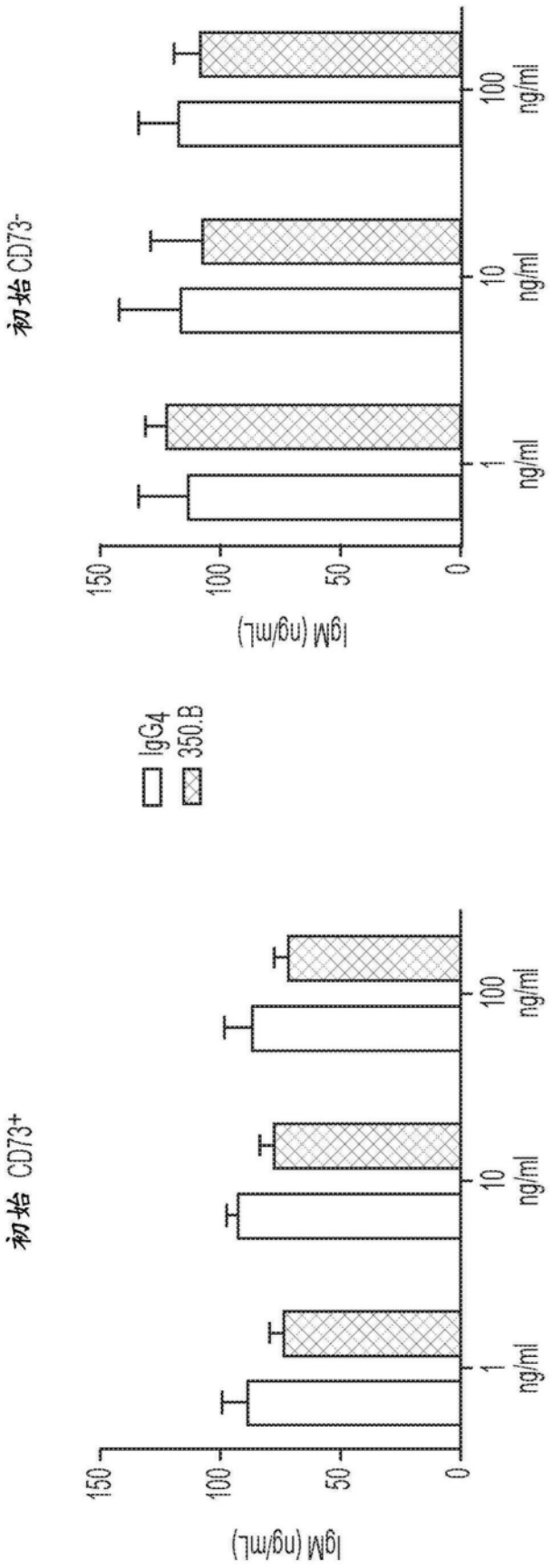

初始 CD73-
IgM (ng/mL)
150
100
50
0
1 ng/ml
10 ng/ml
100 ng/ml
IgG4
350.B
初始 CD73+
IgM (ng/mL)
150
100
50
0
1 ng/ml
10 ng/ml
100 ng/ml

图22A

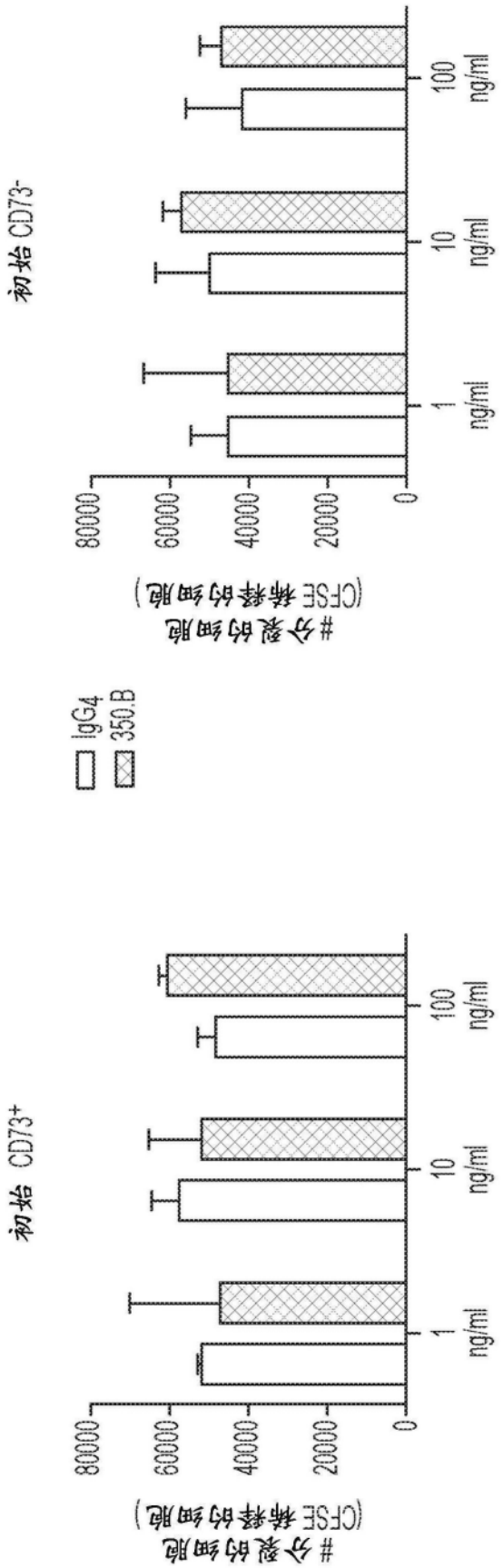

初始 CD73+
初始 CD73-
分裂的细胞
(CFSE 稀释的细胞)
80000
60000
40000
20000
0
1 ng/ml
10 ng/ml
100 ng/ml
IgG4
350.B

图22B

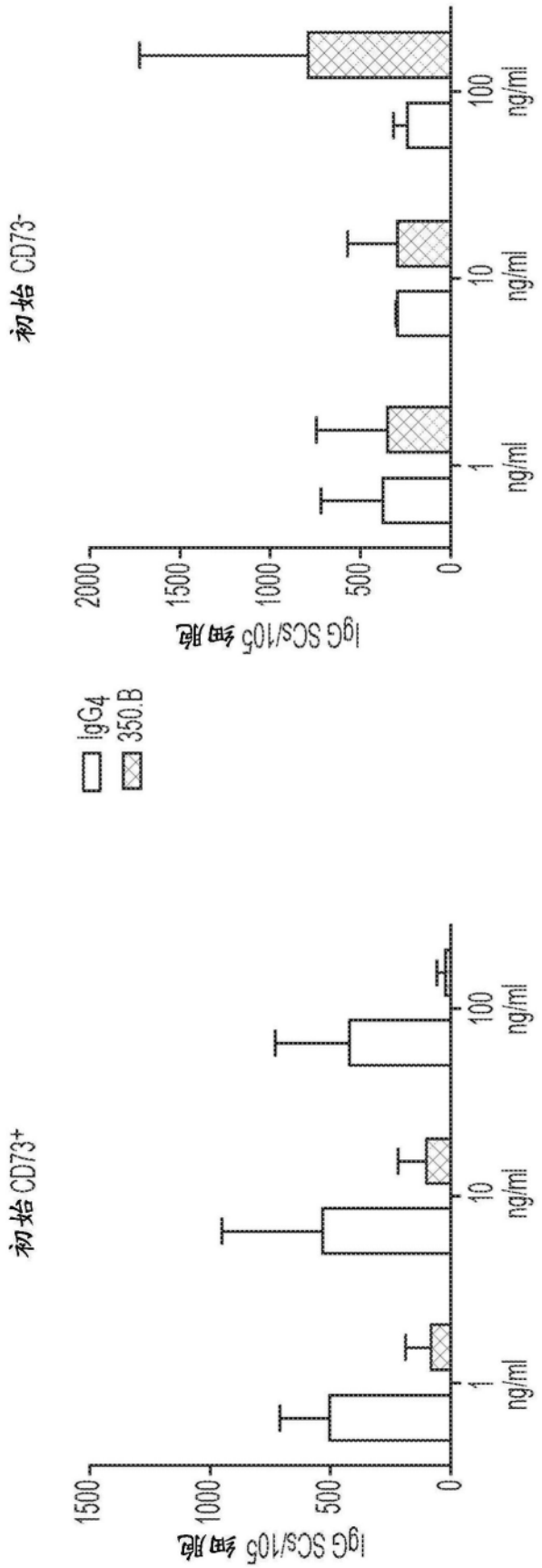

初始 CD73-
IgG SCs/10⁵ 细胞
2000
1500
1000
500
0
1 ng/ml
10 ng/ml
100 ng/ml
IgG4
350.B
初始 CD73+
IgG SCs/10⁵ 细胞
1500
1000
500
0
1 ng/ml
10 ng/ml
100 ng/ml

图22C

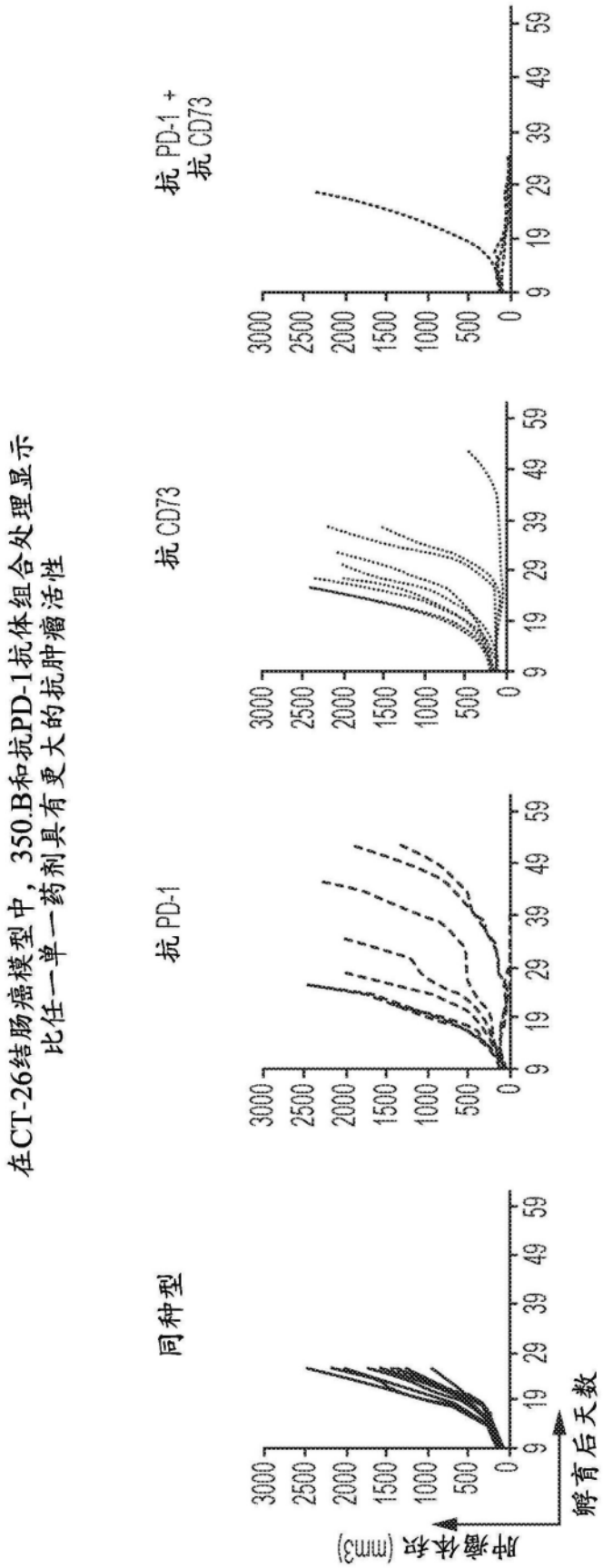

在CT-26结肠癌模型中，350.B和抗PD-1抗体组合处理显示
比任一单一药剂具有更大的抗肿瘤活性
同种型
抗 PD-1
抗 CD73
抗 PD-1 +
抗 CD73
肿瘤体积 (mm3)
孵育后天数
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
9
19
29
39
49
59

图23

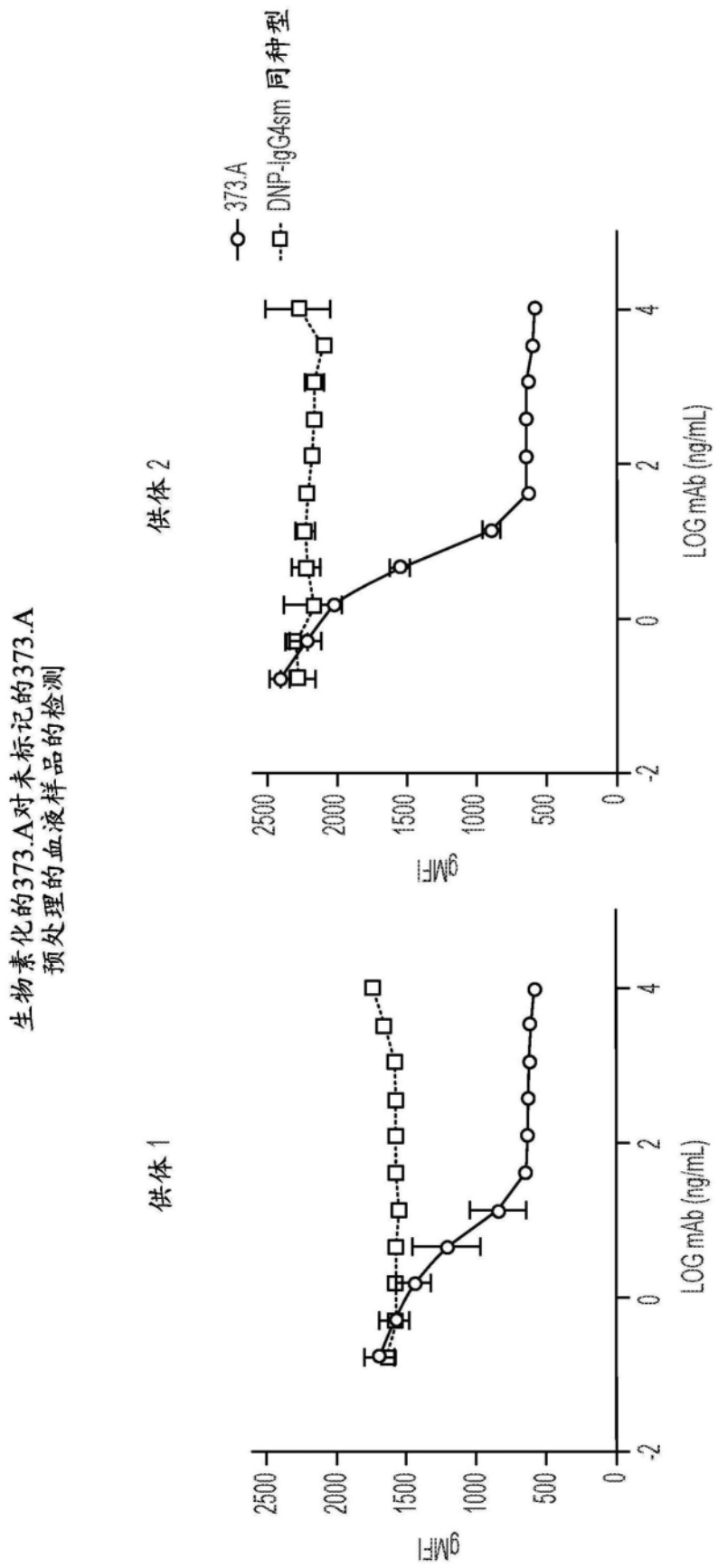

生物素化的373.A对未标记的373.A
预处理的血液样品的检测
供体 1
供体 2
373.A
DNP-IgG4sm 同种型
gMFI
LOG mAb (ng/mL)
2500
2000
1500
1000
500
0
-2
0
2
4

图24A

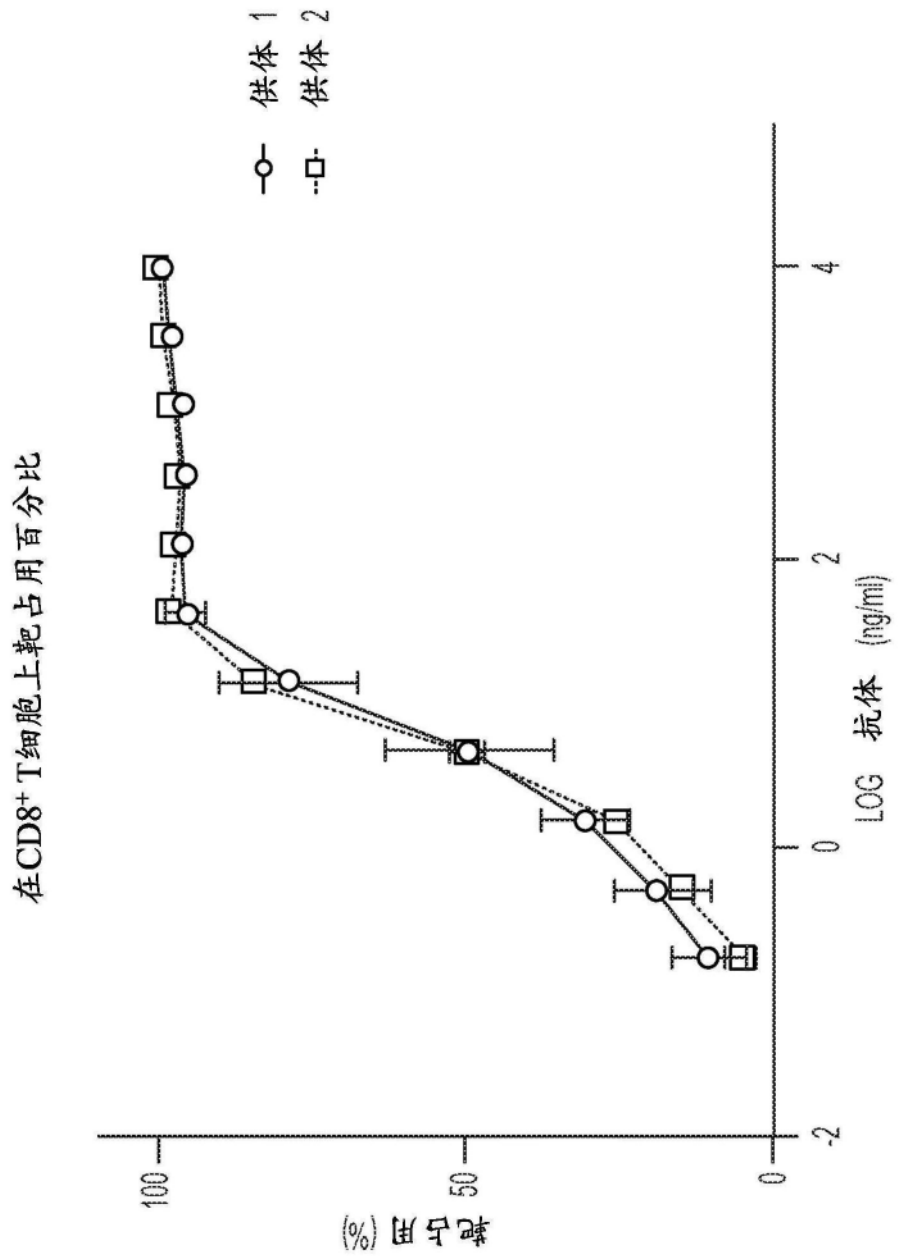


图24B

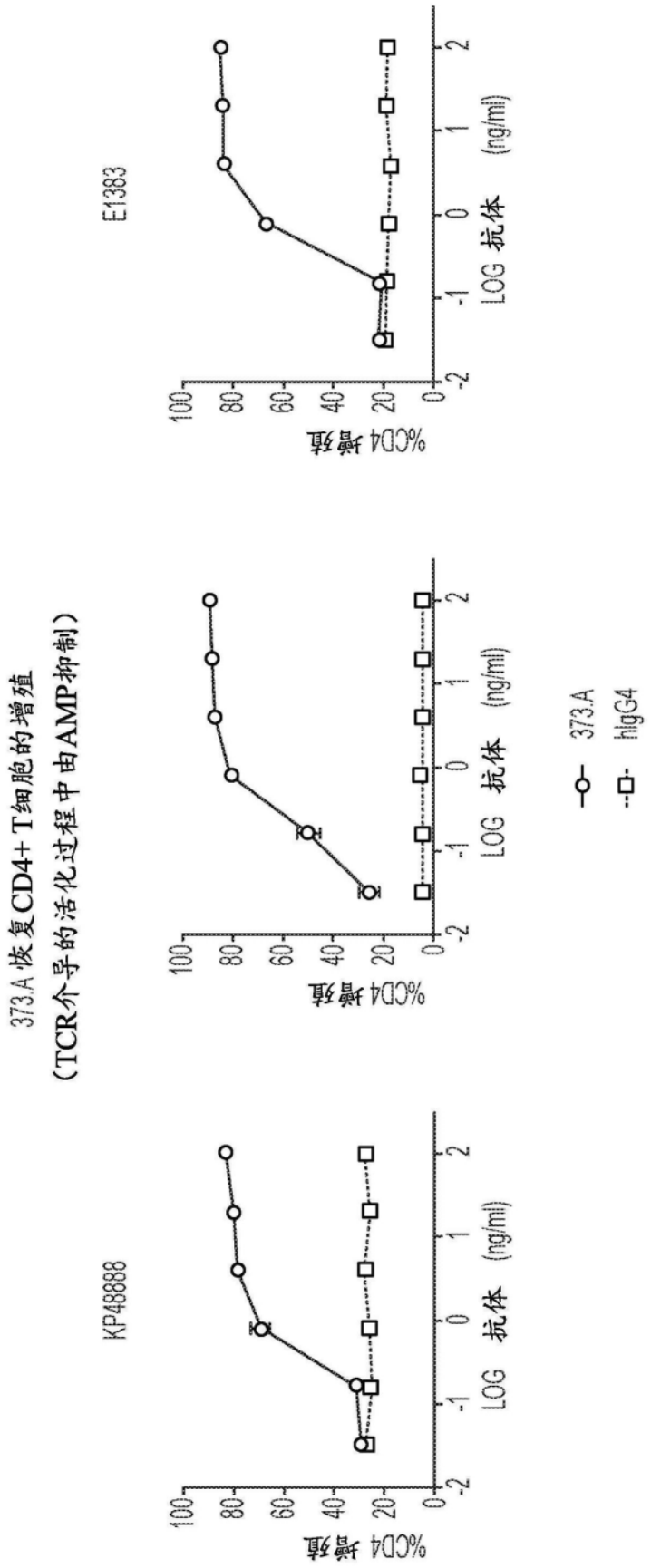

373.A 恢复CD4+ T细胞的增殖
(TCR介导的活化过程中由AMP抑制)
KP48888
E1383
%CD4 增殖
LOG 抗体 (ng/ml)
373.A
hIgG4

图25A

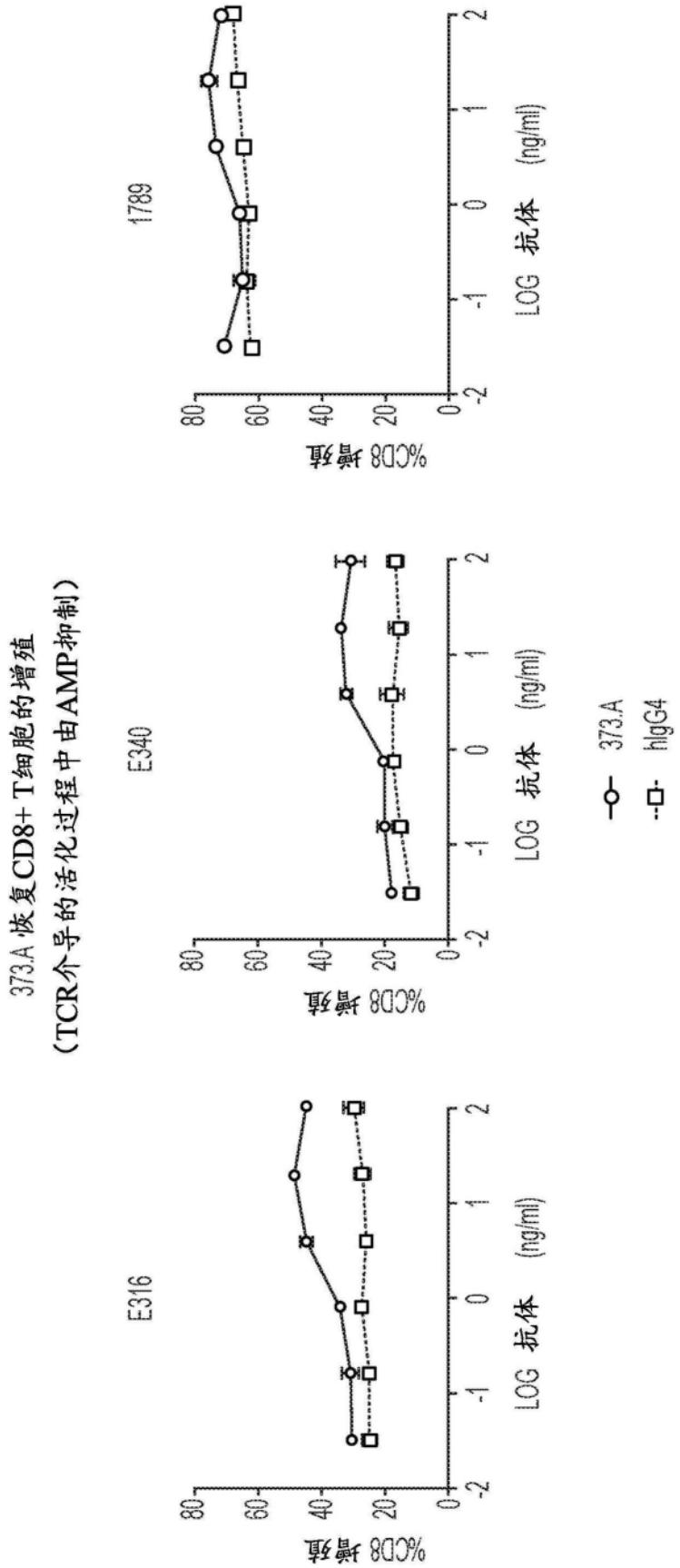

373.A恢复CD8+ T细胞的增殖
(TCR介导的活化过程中由AMP抑制)
E316
E340
1789
%CD8 增殖
LOG 抗体 (ng/ml)
373.A
hIgG4

图25B


MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSRLEQTSEDSSKCVNASRC
MGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNALRYDA
MALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKVLPVGDEVVG
IVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDKLKTLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKV
RGVDVVVGGHSNTFLYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKYLGYLKI
EFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSC
RFRECNMGNLICDAMINNNLRHADETFWNHVSMCILNGGGIRSPIDERNNGTITWE
NLAAVLPFGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVGGIHVVYDLSRKPGD
RVVKLDVLCTKCRVPSYDPLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDI
NVVSTYISKMKVIYPAVEGRIKHHHHHH (SEQ ID NO: 332)

图26A

MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSRLEQTSEDSSKCVNASRC
MGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNALRYDA
MALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEA**KFP**ILSANIKAKGPLASQI**SGLYLPYKVLPVGDEVV**
GIVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDKLKTLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQK
VRGVDVVVGGHSNTFLYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKYLGYL
KIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQS
CRFRECNMGNLICDAMINNNLRHADETFWNHVSMCILNGGGIRSPIDERNNGTITW
ENLAAVLPFGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVGGIHVVYDLSRKPG
DRVVKLDVLCTKCRVPSYDPLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQ
DINVVSTYISKMKVIYPAVEGRIKHHHHHH (SEQ ID NO: 332)

图26B

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIERYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYGRGS
TNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARESQESPYNWFDPW
GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG
P (SEQ ID NO: 331)

图26C

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIERYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYGRGS
TNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARESQESPYNWFDPW
GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG
P (SEQ ID NO: 331)

图26D

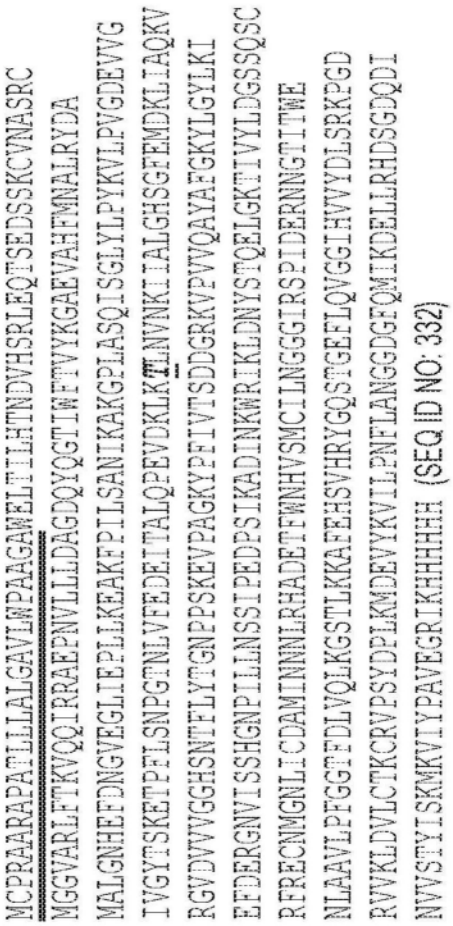

MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSRLEQTSEDSSKCVNASRC
MGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNALRYDA
MALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKVLPVGDEVVG
IVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDKLKTLNVNKLIALGHSGFEMDKLIAQKV
RGVDVVVGGHSNTFLYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKYLGYLKI
EFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSC
RFRECNMGNLICDAMINNNLRHADETFWNHVSMCILNGGGIRSPIDERNNGTITWE
NLAAVLPFGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVGGIHVVYDLSRKPGD
RVVKLDVLCTKCRVPSYDPLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDI
NVVSTYISKMKVIYPAVEGRIKHHHHHH (SEQ ID NO: 332)

图26E

MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSRLEQTSEDSSKCVNASRC
MGGVARLFTKVQQIRREEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNALRYDA
MALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKVLPVGDEVVG
IVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDKLKTTANVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKV
RGVDVVVGGHSNTFLYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKYLGYLKI
EFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSC
RFRECNMGNLICDAMINNNLRHADETFWNHVSMCLINGGGIRSPIDERNNGTITWE
NLAAVLPFGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVGGIHVVYDLSRKPGD
RVVKLDVLCTKCRVPSYDPLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDI
NVVSTYISKMKVIYPAVEGRIKHHHHHH (SEQ ID NO: 332)

图26F

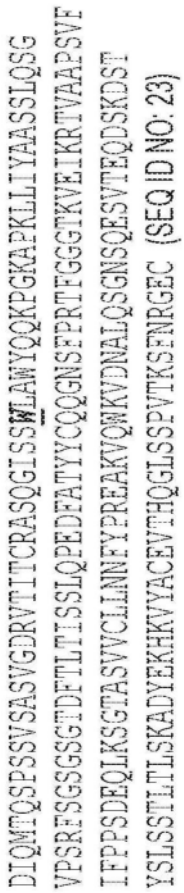

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGNSFPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST
YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 23)

图26G

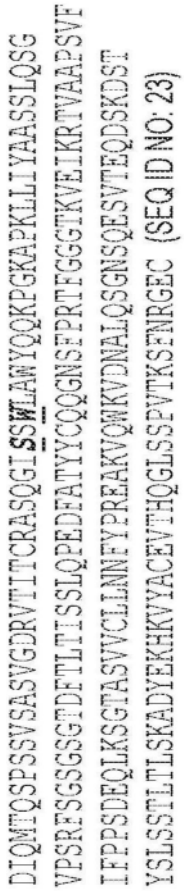

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGNSFPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST
YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 23)

图26H

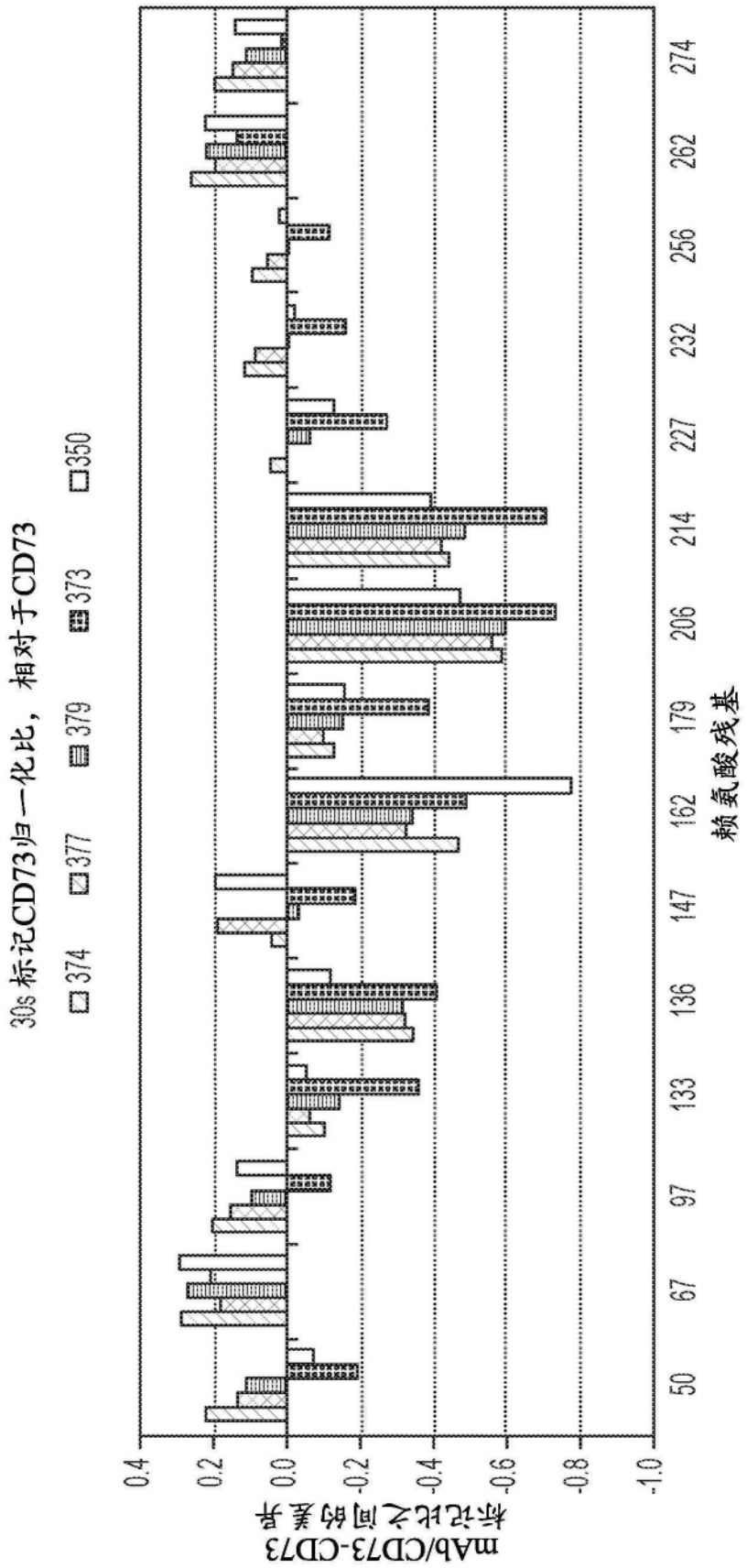

30s 标记CD73归一化比，相对于CD73
374
377
379
373
350
mAb/CD73-CD73
标记比之间的差异
0.4
0.2
0.0
-0.2
-0.4
-0.6
-0.8
-1.0
50
67
97
133
136
147
162
179
206
214
227
232
256
262
274
赖氨酸残基

图27A

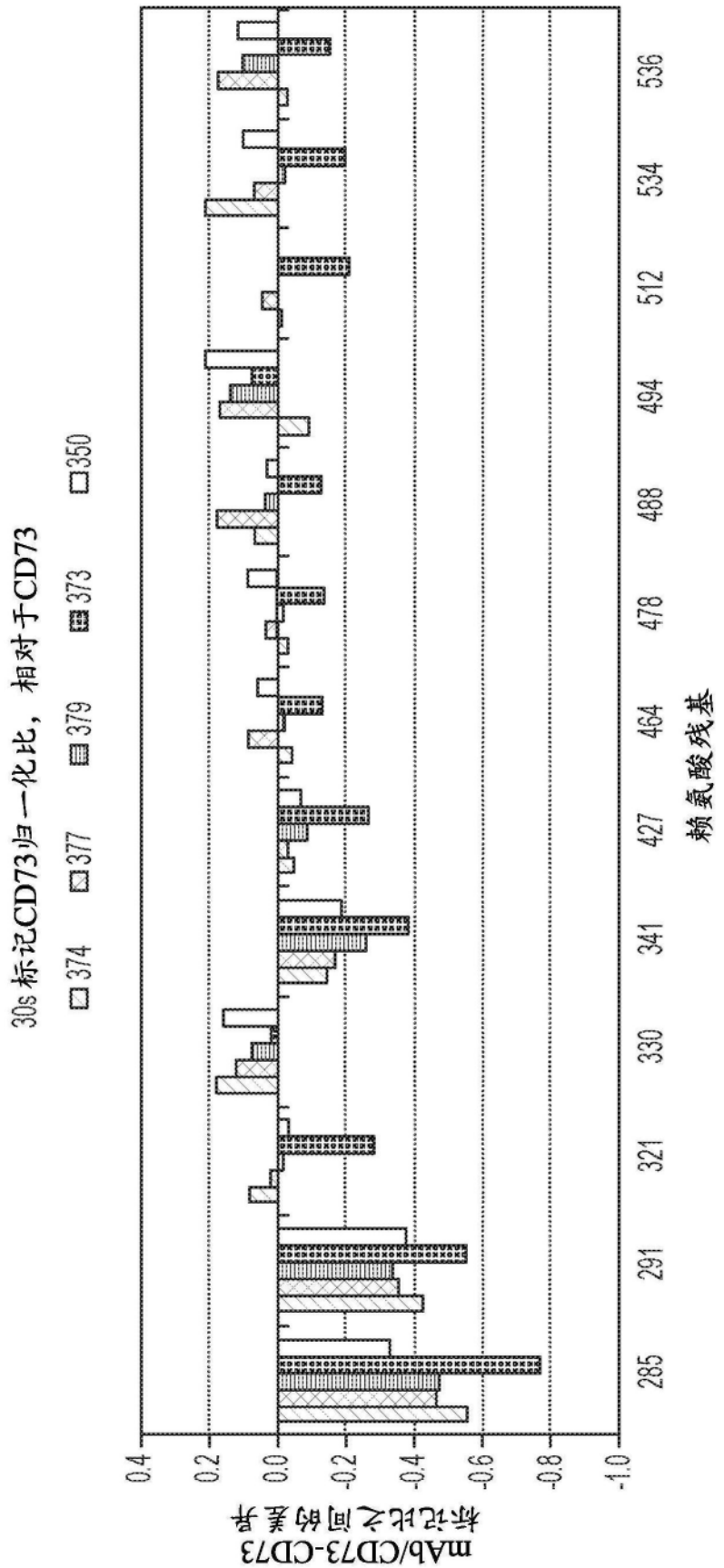

30s标记CD73归一化比，相对于CD73
374
377
379
373
350
mAb/CD73-CD73
标记比之间的差异
0.4
0.2
0.0
-0.2
-0.4
-0.6
-0.8
-1.0
285
291
321
330
341
427
464
478
488
494
512
534
536
赖氨酸残基

图27B

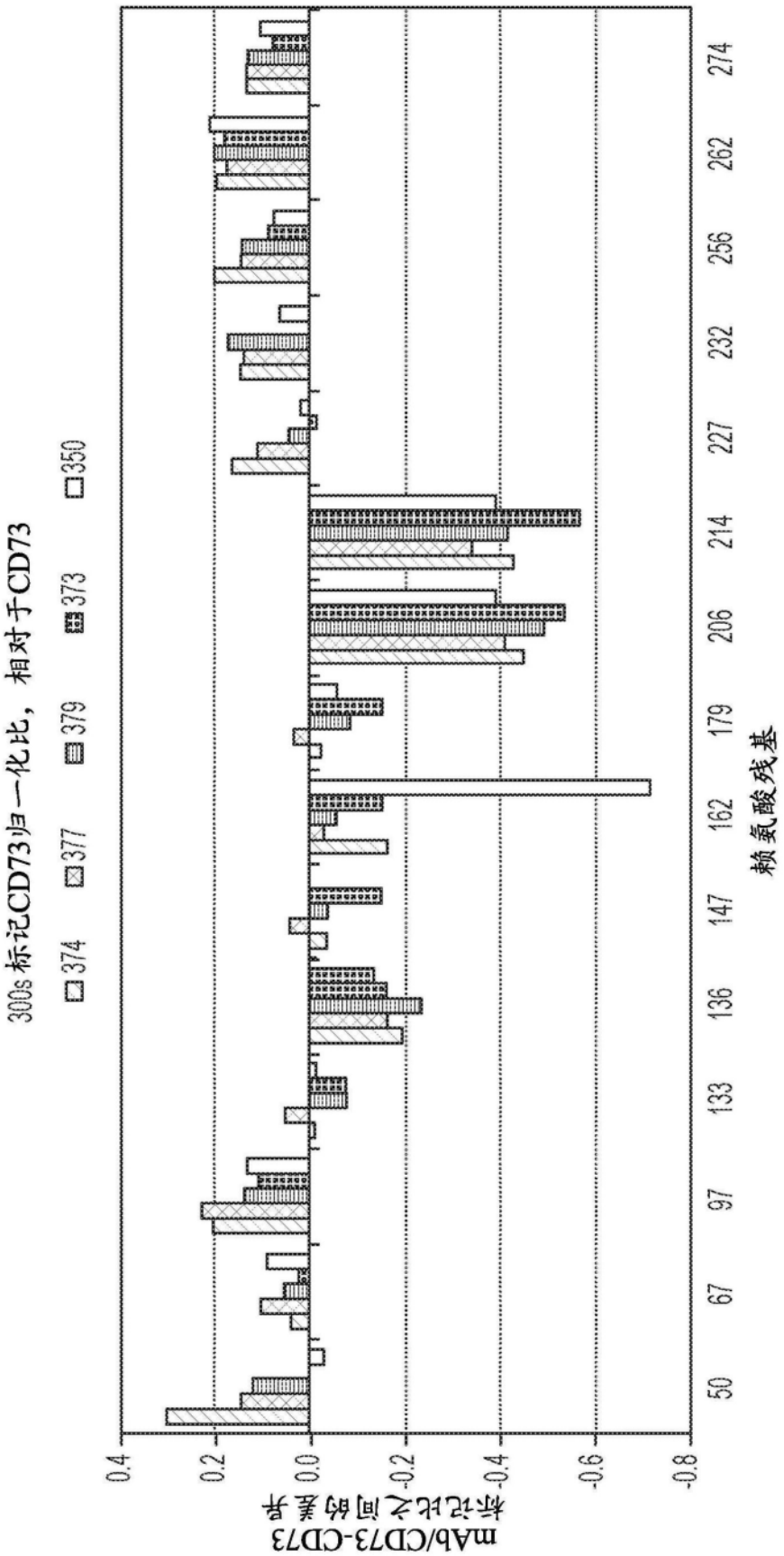

300s 标记CD73归一化比，相对于CD73
374
377
379
373
350
mAb/CD73-CD73
标记比之间的差异
0.4
0.2
0.0
-0.2
-0.4
-0.6
-0.8
50
67
97
133
136
147
162
179
206
214
227
232
256
262
274
赖氨酸残基

图28A

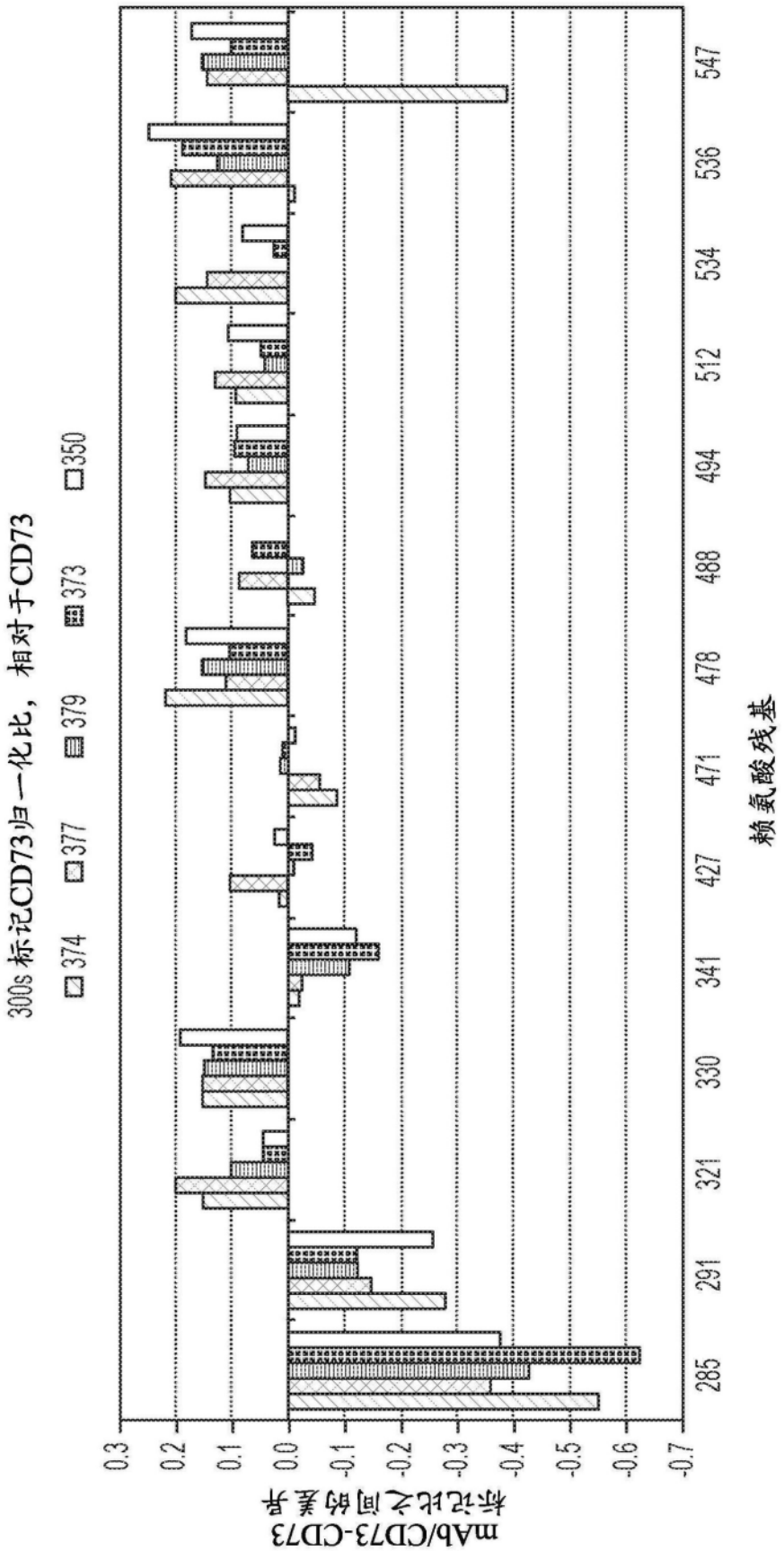

300s 标记CD73归一化比，相对于CD73
374
377
379
373
350
mAb/CD73-CD73
标记比之间的差异
0.3
0.2
0.1
0.0
-0.1
-0.2
-0.3
-0.4
-0.5
-0.6
-0.7
285
291
321
330
341
427
471
478
488
494
512
534
536
547
赖氨酸残基

图28B