(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119039441 A
(43)申请公布日 2024.11.29

(21)申请号 202411194018.X
(22)申请日 2020.02.21
(30)优先权数据
62/808,582 2019.02.21 US
(62)分案原申请数据
202080030429.9 2020.02.21
(71)申请人 马伦戈治疗公司
地址 美国马萨诸塞州
(72)发明人 A·洛 尼迪·马尔霍特拉
马丹·卡特拉加达 B·E·瓦什
斯蒂芬妮·J·马奥科
(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
专利代理师 王玉桂 武晶晶
(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
C12N 15/13(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 31/00(2006.01)
A61P 37/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书87页
序列表（电子公布） 附图2页

(54)发明名称

与NKP30结合的抗体分子及其用途

(57)摘要

本文公开了与NKp30特异性结合的抗体分子。抗NKp30抗体分子可用于治疗、预防和/或诊断癌性、自身免疫性或传染性病况和病症。

CN 119039441 A

1.一种与NKp30结合的分离的抗体分子,包括:

(i)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:7313的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:7315的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列);和/或

(ii)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:7326的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:7327的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:7329的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

2.根据权利要求1所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

(i)VH,包含SEQ ID NO:7298或7300-7304中的任一项的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:7298或7300-7304中的任一项具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和/或

(ii)VL,包含SEQ ID NO:7299或7305-7309中的任一项的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:7299或7305-7309中的任一项具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

3.一种多特异性分子,包含根据权利要求1-2中任一项所述的抗体分子。

4.一种分离的核酸分子,所述分离的核酸分子包含编码根据权利要求1-3中任一项所述的任何抗体分子或多特异性或多功能分子的核苷酸序列,或与其基本同源(例如,与其至少95%至99.9%相同)的核苷酸序列。

5.一种分离的核酸,编码根据权利要求1-3中任一项所述的抗体分子或多特异性分子。

6.一种载体,例如,表达载体,包含根据权利要求4或5所述的核酸分子的一种或多种。

7.一种宿主细胞,包含根据权利要求4-6中任一项所述的核酸分子或载体。

8.一种制备,例如,产生根据权利要求1-3中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽的方法,包括在合适的条件下,例如,在适合于基因表达和/或同源或异源二聚化的条件下,培养根据权利要求7所述的宿主细胞。

9.一种药物组合物,包含根据权利要求1-3中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽,以及药学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂。

10.根据权利要求1-3中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽在制备用于治疗癌症、自身免疫性病症、炎性病症或传染性病症的药物中的用途。

与NKP30结合的抗体分子及其用途

[0001] 本申请是申请日为2020年2月21日、申请号为202080030429.9、发明名称为“与NKP30结合的抗体分子及其用途”的中国专利申请(其对应PCT申请的申请日为2020年2月21日、申请号为PCT/US2020/019329)的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求于2019年2月21日提交的美国序列号62/808,582的优先权,其内容通过引用整体并入本文。

[0004] 序列表

[0005] 本申请包含以ASCII格式电子提交的序列表,并通过引用将其全部内容并入本文。所述ASCII副本创建于2020年2月20日,被命名为E2070-7025WO_SL.txt,大小为517,567字节。

背景技术

[0006] 天然杀伤(NK)细胞以独立于抗体的方式识别和破坏肿瘤和病毒感染的细胞。NK细胞的调节是通过激活和抑制NK细胞表面的受体来介导的。激活受体的一个家族是天然细胞毒性受体(NCR),其包括NKp30、NKp44和NKp46。

[0007] 鉴于免疫检查点通路在调节免疫反应中的重要性,需要开发调节免疫抑制蛋白(诸如PD-1)活性的新型药剂,从而激活免疫系统。这样的药剂可用于例如癌症免疫疗法和其他病况,例如慢性感染的治疗。

发明内容

[0008] 本文公开了以高亲和力和特异性与NKp30结合的抗体分子(例如,人源化抗体分子)。还提供了编码该抗体分子的核酸分子、表达载体、宿主细胞和制备该抗体分子的方法。还提供了多或双特异性或多功能抗体分子和包含该抗体分子的药物组合物。本文公开的抗NKp30抗体分子可用于(单独使用或与其他药剂或治疗方式组合使用)治疗、预防和/或诊断病症,诸如癌性病症(例如,实体瘤和软组织肿瘤)以及自身免疫性和传染性疾病。因此,本文公开了使用抗NKp30抗体分子检测NKp30的组合物和方法,以及使用抗NKp30抗体分子治疗包括癌症、自身免疫性和/或传染性疾病在内的各种病症的方法。

[0009] 因此,在一方面,本发明的特征在于抗体分子(例如,分离的或重组的抗体分子),包含根据以下列举的实施方案的一个或多个序列。任何所公开的抗体分子、多功能分子、核酸、载体、宿主细胞或方法的附加特征包括以下列举的实施方案中的一个或多个。

[0010] 本领域技术人员将认识到,或仅通过常规实验便能够确定本文所述的本发明的特定实施方案的许多等同方案。这些等同方案旨在由以下列举的实施方案涵盖。

附图说明

[0011] 图1是示出NKp30抗体与NK92细胞的结合的图。将数据计算为AF747阳性群体百分比。

[0012] 图2是示出通过NKp30抗体激活NK92细胞的图。使用仓鼠抗NKp30 mAb生成数据。

[0013] 列举的实施方案

[0014] 1.一种与NKp30结合的分离的抗体分子,包括:

[0015] (i)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:7313的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:7315的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列);和/或

[0016] (ii)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:7326的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:7327的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:7329的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0017] 2.根据实施方案1所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0018] (i)VH,包含SEQ ID NO:7298或7300-7304中的任一项的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:7298或7300-7304中的任一项具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和/或

[0019] (ii)VL,包含SEQ ID NO:7299或7305-7309中的任一项的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:7299或7305-7309中的任一项具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0020] 3.根据实施方案2所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0021] (i)VH,包含SEQ ID NO:7302的氨基酸序列(或与7302具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),以及VL,包含SEQ ID NO:7305的氨基酸序列(或与7305具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列);或者

[0022] (ii)VH,包含SEQ ID NO:7302的氨基酸序列(或与7302具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),以及VL,包含SEQ ID NO:7309的氨基酸序列(或与7309具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0023] 4.根据实施方案1-3中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0024] (i)SEQ ID NO:7310的氨基酸序列(或与7310具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列);或者

[0025] (ii)SEQ ID NO:7311的氨基酸序列(或与7311具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0026] 5.一种与NKp30结合的分离的抗体分子,包括:

[0027] (i)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6000的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6002的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列),以及

[0028] (ii)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6063的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸

序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6064的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:7293的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0029] 6.根据实施方案5所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0030] (i)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6000的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6002的VHCDR3氨基酸序列,以及

[0031] (ii)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6063的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6064的VLCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:7293的VLCDR3氨基酸序列。

[0032] 7.根据实施方案5或6所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0033] (1)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6003的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6004的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6005的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6006的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列),和/或

[0034] (2)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6066的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6067的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:7292的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6069的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0035] 8.根据实施方案7所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0036] (1)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6003的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6004的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6005的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6006的VHFWR4氨基酸序列,以及

[0037] (3)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6066的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6067的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:7292的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6069的VLFWR4氨基酸序列。

[0038] 9.根据实施方案5-8中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0039] (i)VH,包含SEQ ID NO:6121的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6121具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和/或

[0040] (ii)VL,包含SEQ ID NO:7294的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:7294具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0041] 10.根据实施方案5-9中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链,包含SEQ ID NO:6148或6149的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6148或6149具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0042] 11.根据实施方案5-10中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链,包含SEQ ID NO:6150的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6150具有至少约75%、80%、85%、

90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[0043] 12.根据实施方案5-11中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链,包含SEQ ID NO:6148或6149的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6148或6149具有至少约75％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列),以及轻链,包含SEQ ID NO:6150的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6150具有至少约75％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[0044] 13.根据实施方案5-12中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6014的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6015的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6016的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6017的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0045] 14.根据实施方案13所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6014的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6015的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6016的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6017的VHFWR4氨基酸序列。

[0046] 15.根据实施方案14所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6123的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6123具有至少约75％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[0047] 16.根据实施方案5-15中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6018的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6019的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6020的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6021的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0048] 17.根据实施方案16所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6018的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6019的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6020的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6021的VHFWR4氨基酸序列。

[0049] 18.根据实施方案17所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6124的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6124具有至少约75％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[0050] 19.根据实施方案5-18中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6022的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6023的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6024的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6025的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0051] 20.根据实施方案19所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6022的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6023的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6024的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6025的VHFWR4氨基酸序列。

[0052] 21.根据实施方案20所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6125的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6125具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0053] 22.根据实施方案5-21中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6026的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6027的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6028的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6029的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0054] 23.根据实施方案22所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6026的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6027的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6028的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6029的VHFWR4氨基酸序列。

[0055] 24.根据实施方案23所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6126的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6126具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0056] 25.根据实施方案5-24中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6030的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6032的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6033的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6034的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0057] 26.根据实施方案25所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6030的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6032的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6033的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6034的VHFWR4氨基酸序列。

[0058] 27.根据实施方案26所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6127的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6127具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0059] 28.根据实施方案5-27中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6035的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6036的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6037的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6038的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0060] 29.根据实施方案28所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6035的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6036的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6037的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6038的VHFWR4氨基酸序列。

[0061] 30.根据实施方案29所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6128的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6128具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0062] 31.根据实施方案5、6或13-30中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6077的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6078的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6079的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6080的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0063] 32.根据实施方案31所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6077的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6078的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6079的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6080的VLFWR4氨基酸序列。

[0064] 33.根据实施方案32所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6137的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6137具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0065] 34.根据实施方案5、6或13-30中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6081的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6082的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6083的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6084的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0066] 35.根据实施方案34所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6081的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6082的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6083的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6084的VLFWR4氨基酸序列。

[0067] 36.根据实施方案35所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6138的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6138具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0068] 37.根据实施方案5、6或13-30中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6085的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6086的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6087的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6088的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0069] 38.根据实施方案37所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6085的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6086的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6087的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6088的VLFWR4氨基酸序列。

[0070] 39.根据实施方案38所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6139的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6139具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0071] 40.根据实施方案5、6或13-30中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6089的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6090的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6091的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6092的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0072] 41.根据实施方案40所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6089的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6090的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6091的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6092的VLFWR4氨基酸序列。

[0073] 42.根据实施方案41所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6140的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6140具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0074] 43.根据实施方案5、6或13-30中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6093的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6094的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6095的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6096的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0075] 44.根据实施方案43所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6093的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6094的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6095的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6096的VLFWR4氨基酸序列。

[0076] 45.根据实施方案44所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6141的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6141具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0077] 46.一种与NKp30结合的分离的抗体分子,包括:

[0078] (i)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6007的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6008的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6009的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列),以及

[0079] (ii)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6070的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸

序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6071的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6072的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0080] 47.根据实施方案46所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0081] (i)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6007的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6008的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6009的VHCDR3氨基酸序列,以及

[0082] (ii)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6070的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6071的VLCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6072的VLCDR3氨基酸序列。

[0083] 48.根据实施方案46或47所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0084] (1)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6010的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6011的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6012的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6013的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列),和/或

[0085] (2)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6073的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6074的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6075的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6076的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0086] 49.根据实施方案48所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0087] (1)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6010的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6011的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6012的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6013的VHFWR4氨基酸序列,以及

[0088] (3)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6073的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6074的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6075的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6076的VLFWR4氨基酸序列。

[0089] 50.根据实施方案46-49中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0090] (i)VH,包含SEQ ID NO:6122的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6122具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和/或

[0091] (ii)VL,包含SEQ ID NO:6136的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6136具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0092] 51.根据实施方案46-50中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链,包含SEQ ID NO:6151或6152的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6151或6152具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0093] 52.根据实施方案46-51中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链,包含SEQ ID NO:6153的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6153具有至少约75%、80%、85%、

90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[0094] 53.根据实施方案46-51中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链,包含SEQ ID NO:6151或6152的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6151或6152具有至少约75％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列),以及轻链,包含SEQ ID NO:6153的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6153具有至少约75％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[0095] 54.根据实施方案46或47所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6039的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6040的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6041的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6042的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0096] 55.根据实施方案54所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6039的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6040的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6041的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6042的VHFWR4氨基酸序列。

[0097] 56.根据实施方案55所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6129的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6129具有至少约75％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[0098] 57.根据实施方案46或47所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6043的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6044的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6045的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6046的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0099] 58.根据实施方案57所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6043的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6044的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6045的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6046的VHFWR4氨基酸序列。

[0100] 59.根据实施方案58所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6130的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6130具有至少约75％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[0101] 60.根据实施方案46或47中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6047的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6048的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6049的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6050的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0102] 61.根据实施方案60所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6047的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6048的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6049的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6050的VHFWR4氨基酸序列。

[0103] 62.根据实施方案61所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6131的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6131具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0104] 63.根据实施方案46或47中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6051的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6052的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6053的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6054的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0105] 64.根据实施方案63所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6051的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6052的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6053的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6054的VHFWR4氨基酸序列。

[0106] 65.根据实施方案64所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6132的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6132具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0107] 66.根据实施方案46或47中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6055的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6056的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6057的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6058的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0108] 67.根据实施方案66所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6055的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6056的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6057的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6058的VHFWR4氨基酸序列。

[0109] 68.根据实施方案67所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6133的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6133具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0110] 69.根据实施方案46或47中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6059的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6060的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6061的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6062的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0111] 70.根据实施方案69所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6059的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6060的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6061的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6062的VHFWR4氨基酸序列。

[0112] 71.根据实施方案70所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6134的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6134具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0113] 72.根据实施方案46、47或54-71中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6097的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6098的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6099的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6100的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0114] 73.根据实施方案72所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6097的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6098的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6099的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6100的VLFWR4氨基酸序列。

[0115] 74.根据实施方案73所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6142的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6142具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0116] 75.根据实施方案46、47或54-74中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6101的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6102的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6103的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6104的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0117] 76.根据实施方案75所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6101的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6102的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6103的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6104的VLFWR4氨基酸序列。

[0118] 77.根据实施方案76所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6143的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6143具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0119] 78.根据实施方案46、47或54-77中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6105的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6106的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6107的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6108的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0120] 79.根据实施方案78所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6105的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6106的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6107的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6108的VLFWR4氨基酸序列。

[0121] 80.根据实施方案79所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6144的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6144具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0122] 81.根据实施方案46、47或54-80中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6109的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6110的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6111的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6112的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0123] 82.根据实施方案81所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6109的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6110的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6111的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6112的VLFWR4氨基酸序列。

[0124] 83.根据实施方案78所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6145的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6145具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0125] 84.根据实施方案46、47或54-83中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6113的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6114的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6115的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6116的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0126] 85.根据实施方案84所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6113的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6114的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6115的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6116的VLFWR4氨基酸序列。

[0127] 86.根据实施方案85所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6146的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6146具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0128] 87.根据实施方案46、47或54-86中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6117的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6118的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6119的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6120的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0129] 88.根据实施方案87所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6117的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6118的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6119的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6120的VLFWR4氨基酸序列。

[0130] 89.根据实施方案88所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6147的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6147具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0131] 90.根据前述实施方案中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0132] (i)VH,包含SEQ ID NO:6122的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6122具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和/或

[0133] (ii)VL,包含SEQ ID NO:6136的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6136具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0134] 91.一种多特异性分子,包含根据实施方案1-90中任一项所述的抗体分子。

[0135] 92.根据实施方案91所述的多特异性分子,进一步包含以下之一、二、三、四或更多:

[0136] a.肿瘤靶向部分,例如,如本文所述;

[0137] b.细胞因子分子,例如,如本文所述;

[0138] c.T细胞衔接物,例如,如本文所述;或者

[0139] d.基质修饰部分,例如,如本文所述。

[0140] 93.根据实施方案91所述的多特异性分子,进一步包含与自身反应性T细胞,例如,存在于与炎性或自身免疫性病症相关的自身反应性T细胞的表面上的抗原结合的结合特异性。

[0141] 94.根据实施方案91所述的多特异性分子,进一步包含与感染的细胞,例如,病毒或细菌感染的细胞结合的结合特异性。

[0142] 95.根据前述实施方案中任一项所述的抗体分子或多特异性分子,其是单特异性抗体分子、双特异性抗体分子或三特异性抗体分子。

[0143] 96.根据前述实施方案中任一项所述的抗体分子或多特异性分子,其是单价抗体分子、二价抗体分子或三价抗体分子。

[0144] 97.根据前述实施方案中任一项所述的抗体分子或多特异性分子,其是完整抗体(例如,包含至少一条、优选两条完整重链以及至少一条、优选两条完整轻链的抗体)或抗原结合片段(例如,Fab、$F(ab')_2$、Fv、单链Fv、单域抗体、双抗体(dAb)、二价抗体或双特异性抗体,或其片段、其单域变体或骆驼抗体)。

[0145] 98.根据前述实施方案中任一项所述的抗体分子或多特异性分子,其包含选自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的重链恒定区,或其片段。

[0146] 99.根据前述实施方案中任一项所述的抗体分子或多特异性分子,其包含选自κ或λ的轻链恒定区的轻链恒定区,或其片段。

[0147] 100.根据前述实施方案中任一项所述的抗体分子或多特异性分子,其中免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)被改变,例如突变,以增加或减少以下一项或多项: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。

[0148] 101.根据前述实施方案中任一项所述的抗体分子或多特异性分子,其中第一和第

二免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)的界面被改变,例如,突变,从而例如相对于非工程化界面增加或减少二聚化。

[0149] 102.根据实施方案101所述的抗体分子或多特异性分子,其中通过为第一和第二Fc区的Fc界面提供以下一种或多种:成对的腔-突起("杵臼结构")、静电相互作用或链交换,来增强所述免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)的二聚化,从而例如相对于非工程化界面形成更大比例的异源多聚体:同源多聚体。

[0150] 103.根据实施方案101或102所述的抗体分子或多特异性分子,其中所述免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)在选自例如人IgG1的Fc区的347、349、350、351、366、368、370、392、394、395、397、398、399、405、407或409中的一个或多个的位置包括氨基酸置换。

[0151] 104.根据实施方案103所述的抗体分子或多特异性分子,其中所述免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)包括选自以下的氨基酸置换:T366S、L368A或Y407V(例如,对应于腔或臼),或T366W(例如,对应于突起或杵),或其组合。

[0152] 105.根据实施方案1-104中任一项所述的抗体分子或多特异性分子,进一步包括接头,例如,在以下一种或多种之间的接头:所述靶向部分与所述细胞因子分子或所述基质修饰部分、所述靶向部分与所述免疫细胞衔接物、所述细胞因子分子或所述基质修饰部分与所述免疫细胞衔接物、所述细胞因子分子或所述基质修饰部分与所述免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)、所述靶向部分与所述免疫球蛋白链恒定区,或所述免疫细胞衔接物与所述免疫球蛋白链恒定区。

[0153] 106.根据实施方案105所述的抗体分子或多特异性分子,其中所述接头选自:可裂解的接头、不可裂解的接头、肽接头、柔性接头、刚性接头、螺旋接头或非螺旋接头。

[0154] 107.根据实施方案106所述的抗体分子或多特异性分子,其中所述接头是肽接头。

[0155] 108.根据实施方案107所述的抗体分子或多特异性分子,其中所述肽接头包含Gly和Ser。

[0156] 109.一种分离的核酸分子,所述分离的核酸分子包含编码本文所述的任何抗体分子或多特异性或多功能分子的核苷酸序列,或与其基本同源(例如,与其至少95%至99.9%相同)的核苷酸序列。

[0157] 110.一种分离的核酸,编码根据实施方案1-108中任一项所述的抗体分子或多特异性分子。

[0158] 111.一种载体,例如,表达载体,包含根据实施方案109或110中任一项所述的核酸分子的一种或多种。

[0159] 112.一种宿主细胞,包含根据实施方案111所述的核酸分子或载体。

[0160] 113.一种制备,例如,产生根据实施方案1-108中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽的方法,包括在合适的条件下,例如,在适合于基因表达和/或同源或异源二聚化的条件下,培养根据实施方案112所述的宿主细胞。

[0161] 114.一种药物组合物,包含根据实施方案1-108中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽,以及药学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂。

[0162] 115.一种治疗癌症的方法,包括向有需要的受试者施用根据前述实施方案中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽,其中以有效治疗所述癌症的量施用所述多特异性抗体。

[0163] 116.根据前述实施方案中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽在治疗癌症中的用途。

[0164] 117.根据实施方案115所述的方法或根据实施方案116所述的用途,其中所述癌症是实体瘤癌症或转移性病变。

[0165] 118.根据实施方案117所述的方法或根据实施方案117所述的用途,其中所述实体瘤癌症是胰腺癌(例如,胰腺腺癌)、乳腺癌、结直肠癌、肺癌(例如,小细胞肺癌或非小细胞肺癌)、皮肤癌、卵巢癌或肝癌中的一种或多种。

[0166] 119.根据实施方案115所述的方法或根据实施方案116所述的用途,其中所述癌症是血液学癌症。

[0167] 120.根据实施方案115或116-119中任一项所述的方法或根据实施方案116-119中任一项所述的用途,进一步包括施用第二治疗性治疗。

[0168] 121.根据实施方案120所述的方法或根据实施方案120所述的用途,其中所述第二治疗性治疗包括治疗剂(例如,化学治疗剂、生物制剂、激素疗法)、放射或外科手术。

[0169] 122.根据实施方案121所述的方法或根据实施方案121所述的用途,其中所述治疗剂选自:化学治疗剂或生物制剂。

[0170] 123.一种治疗自身免疫性或炎性病症的方法,包括向有需要的受试者施用根据前述实施方案中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽,其中以有效治疗所述自身免疫性或炎性病症的量施用所述多特异性抗体。

[0171] 124.根据前述实施方案中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽在治疗自身免疫性或炎性病症中的用途。

[0172] 125.一种治疗传染性病症的方法,包括向有需要的受试者施用根据前述实施方案中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽,其中以有效治疗所述传染性病症的量施用所述多特异性抗体。

[0173] 126.根据前述实施方案中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽在治疗传染性病症中的用途。

具体实施方式

[0174] 定义

[0175] 某些术语定义如下。

[0176] 如本文所用,冠词“一”和“一个”是指一个或超过一个(例如,至少一个)的冠词语法对象。当与术语“包括”一起使用时,术语“一”或“一个”的使用可以表示“一个”,但也与“一个或多个”、“至少一个”和“一个或超过一个”的含义一致。

[0177] 如本文所用,“约”和“近似”通常是指在给定测量的性质或精度的情况下,所测量的量的可接受的误差程度。示例性误差程度在给定值范围的20%之内,通常在10%之内,更通常在5%之内。

[0178] 如本文所用,在例如抗体分子、细胞因子分子、受体分子中使用的术语“分子”包括全长的、天然存在的分子,以及变体,例如,功能变体(例如,其截短、片段、突变(例如,基本上相似的序列)或衍生形式),只要未修饰的(例如,天然存在的)分子的至少一种功能和/或活性得到保留。

[0179] 如本文所用,“抗体分子”是指包括至少一个免疫球蛋白可变域序列的蛋白质,例如,免疫球蛋白链或其片段。抗体分子包括抗体(例如,全长抗体)和抗体片段。在实施方案中,抗体分子包括全长抗体的抗原结合或功能片段,或全长免疫球蛋白链。例如,全长抗体是天然存在或通过正常免疫球蛋白基因片段重组过程形成的免疫球蛋白(Ig)分子(例如,IgG抗体)。在实施方案中,抗体分子是指免疫球蛋白分子的免疫活性的抗原结合部分,如抗体片段。抗体片段,例如,功能片段,是抗体的一部分,例如,Fab、Fab′、$F(ab')_2$、$F(ab)_2$、可变片段(Fv)、域抗体(dAb)或单链可变片段(scFv)。功能性抗体片段与完整(例如,全长)抗体识别的相同抗原结合。术语“抗体片段”或“功能片段”还包括由可变区组成的分离的片段(如由重链和轻链的可变区组成的“Fv”片段),或重组单链多肽分子,其中轻链和重链可变区通过肽接头连接(“scFv蛋白”)。在一些实施方案中,抗体片段不包括无抗原结合活性的抗体部分,如Fc片段或单个氨基酸残基。示例性抗体分子包括全长抗体和抗体片段,例如,dAb(域抗体)、单链、Fab、Fab’和$F(ab')_2$片段,以及单链可变片段(scFv)。

[0180] 如本文所用,“免疫球蛋白可变域序列”是指可以形成免疫球蛋白可变域的结构的氨基酸序列。例如,该序列可以包括天然存在的可变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,或可以包括与蛋白质结构的形成相容的其他改变。

[0181] 在实施方案中,抗体分子是单特异性的,例如,其包含对单个表位的结合特异性。在一些实施方案中,抗体分子是多特异性的,例如,其包含多个免疫球蛋白可变域序列,其中第一免疫球蛋白可变域序列对第一表位具有结合特异性,而第二免疫球蛋白可变域序列对第二表位具有结合特异性。在一些实施方案中,抗体分子是双特异性抗体分子。如本文所用,“双特异性抗体分子”是指对超过一个(例如,两个、三个、四个或更多个)表位和/或抗原具有特异性的抗体分子。

[0182] 如本文所用,“抗原”(Ag)是指可以引起免疫应答(例如涉及某些免疫细胞的激活和/或抗体生成)的分子。包括几乎所有蛋白质或肽在内的任何大分子均可以是抗原。抗原也可以源自基因组重组体或DNA。例如,包含编码能够引发免疫应答的蛋白质的核苷酸序列或部分核苷酸序列的任何DNA都编码“抗原”。在实施方案中,抗原不必仅由基因的全长核苷酸序列编码,抗原也不必由基因编码。在实施方案中,抗原可以被合成或者可以衍生自生物样品,例如组织样品,肿瘤样品、细胞或具有其他生物学组分的流体。如本文所用,“肿瘤抗原”或可互换地,“癌抗原”包括存在于癌(例如可以引发免疫应答的癌细胞或肿瘤微环境)上或与之相关的任何分子。如本文所用,“免疫细胞抗原”包括存在于可引起免疫应答的免疫细胞上或与之相关的任何分子。

[0183] 抗体分子的“抗原结合位点”或“结合部分”是指参与抗原结合的抗体分子例如免疫球蛋白(Ig)分子的一部分。在实施方案中,抗原结合位点由重(H)链和轻(L)链的可变(V)区的氨基酸残基形成。在重链和轻链的可变区内的三个高度分歧的序列段称为高变区,位于更保守的侧翼序列段(称为“构架区”(FR))之间。FR是天然存在于免疫球蛋白中的高变区之间并与其相邻的氨基酸序列。在实施方案中,在抗体分子中,轻链的三个高变区和重链的三个高变区在三维空间中相对于彼此布置以形成抗原结合表面,其与结合抗原的三维表面互补。每一个重链和轻链中的三个高变区称为“互补决定区”或“CDR”。构架区和CDR已经在例如Kabat,E.A.,等人,(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第

五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242和Chothia,C.等人,(1987)J.Mol.Biol.196:901-917中定义和描述。每条可变链(例如,可变重链和可变轻链)通常由三个CDR和四个FR组成,它们按以下氨基酸顺序从氨基末端到羧基末端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。

[0184] 如本文所用,“癌症”可以涵盖所有类型的致癌过程和/或癌性生长。在实施方案中,癌症包括原发性肿瘤以及转移组织或恶性转化的细胞、组织或器官。在实施方案中,癌症涵盖所有组织病理学和阶段,例如癌症的浸润性/严重性的阶段。在实施方案中,癌症包括复发性和/或耐药性癌症。术语“癌症”和“肿瘤”可以互换使用。例如,两个术语都包括实体瘤和液体瘤。如本文所用,术语“癌症”或“肿瘤”包括恶变前以及恶性癌症和肿瘤。

[0185] 如本文所用,“免疫细胞”是指在免疫系统中起作用以例如保护免受感染源和异物侵害的各种细胞中的任何一种。在实施方案中,该术语包括白细胞,例如嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞。固有的白细胞包括吞噬细胞(例如巨噬细胞、嗜中性粒细胞和树突细胞)、肥大细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和天然杀伤细胞。固有白细胞通过经由接触来攻击更大的病原体或通过吞噬并杀死微生物来识别和消灭病原体,并且是激活适应性免疫应答的介质。适应性免疫系统的细胞是特殊类型的白细胞,称为淋巴细胞。B细胞和T细胞是重要的淋巴细胞类型,它们来源于骨髓中的造血干细胞。B细胞参与体液免疫应答,而T细胞参与细胞介导的免疫应答。术语“免疫细胞”包括免疫效应细胞。

[0186] 如本文所用,术语“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但不限于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(NK T)细胞和肥大细胞。

[0187] 术语“效应子功能”或“效应子应答”是指细胞的专有功能。T细胞的效应子功能例如可以是溶细胞活性或辅助活性,包括细胞因子的分泌。

[0188] 本发明的组合物和方法包括具有指定序列或与其基本相同或相似的序列(例如与指定序列至少80%、85%、90%、95%相同或更加相同的序列)的多肽和核酸。在氨基酸序列的上下文中,本文使用的术语“基本上相同”是指包含足够或最少数目的氨基酸残基的第一氨基酸,所述氨基酸残基与第二氨基酸序列中的比对氨基酸残基i)相同,或ii)具有保守置换,使得第一氨基酸序列和第二氨基酸序列可以具有共同的结构域和/或共同的功能活性。例如,氨基酸序列含有与参考序列(例如本文提供的序列)具有至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的共同结构域。

[0189] 在核苷酸序列的上下文中,本文使用的术语“基本上相同”是指第一核酸序列包含与第二核酸序列中的比对核苷酸相同的足够或最小数目的核苷酸,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,或编码共同的结构多肽结构域或共同的功能多肽活性的多肽。例如,与参考序列(例如本文提供的序列)具有至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核苷酸序列。

[0190] 术语“变体”是指具有与参考氨基酸序列基本相同的氨基酸序列,或由基本相同的核苷酸序列编码的多肽。在一些实施方案中,所述变体是功能变体。

[0191] 术语“功能变体”是指具有与参考氨基酸序列基本相同的氨基酸序列,或由基本相同的核苷酸序列编码,并且能够具有参考氨基酸序列的一个或多个活性的多肽。

[0192] 如下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使用)的计算。

[0193] 为了确定两个氨基酸序列或两个核酸序列的同一性百分比,出于最佳比较目的而对序列进行比对(例如,可以在第一和第二氨基酸或核酸序列中的一个或两个中引入空位,以供最佳比对,并且出于比较的目的可以忽略非同源序列)。在一个优选的实施方案中,出于比较的目的而比对的参考序列的长度为参考序列长度的至少30%,优选至少40%,更优选至少50%、60%,并且甚至更优选至少70%、80%、90%、100%。然后比较相应氨基酸位置或核苷酸位置的氨基酸残基或核苷酸。当第一序列中的位置被与第二序列中相应位置的相同氨基酸残基或核苷酸占据时,则分子在该位置是相同的(如本文所用,氨基酸或核酸的"同一性"等同于氨基酸酸或核酸"同源性")。

[0194] 在考虑到需要将其引入以供两个序列进行最佳比对的空位的数目和每个空位的长度的情况下,两个序列之间的同一性百分比是由该序列共享的相同位置的数目的函数。

[0195] 可以使用数学算法来完成序列的比较和两个序列之间的同一性百分比的确定。在一个优选的实施方案中,使用Needleman和Wunsch((1970)J.Mol.Biol.48:444-453)算法(已结合到GCG软件包中的GAP程序中(可从www.gcg.com获取)),使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵以及空位权重为16、14、12、10、8、6或4以及长度权重为1、2、3、4、5或6,来确定两个氨基酸序列之间的同一性百分比。在又一个优选的实施方案中,使用GCG软件包(可从www.gcg.com获得)中的GAP程序,使用NWSgapdna.CMP矩阵,空位权重为40、50、60、70或80以及长度权重为1、2、3、4、5或6,来确定两个核苷酸序列之间的同一性百分比。一组特别优选的参数(除非另有说明,否则应使用的一组参数)是Blossum 62评分矩阵,其空位罚分为12,空位延伸罚分为4,移码空位罚分为5。

[0196] 可以使用E.Meyers和W.Miller((1989)CABIOS,4:11-17)的算法(已结合至ALIGN程序(2.0版)中),使用PAM120权重残基表,空位长度罚分为12和空位罚分为4,来确定两个氨基酸或核苷酸序列之间的同一性百分比。

[0197] 本文所述的核酸和蛋白质序列可以用作"查询序列"以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.215:403-10的NBLAST和XBLAST程序(2.0版)进行搜索。可以用NBLAST程序(评分=100,字长=12)进行BLAST核苷酸搜索,以获得与本发明的核酸分子同源的核苷酸序列。可以使用XBLAST程序(评分=50,字长=3)进行BLAST蛋白质搜索,以获得与本发明的蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的空位比对,可以利用Altschul等人,(1997)Nucleic Acids Res.25:3389-3402中描述的空位BLAST。使用BLAST和空位BLAST程序时,可以使用各个程序(例如XBLAST和NBLAST)的默认参数。参见ncbi.nlm.nih.gov。

[0198] 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,该置换对它们的功能没有实质性影响。

[0199] 术语"氨基酸"旨在涵盖所有分子,无论是天然的还是合成的,其既包括氨基官能团又包括酸官能团并且能够被包括在天然存在的氨基酸的聚合物中。示例性的氨基酸包括天然存在的氨基酸;类似物、衍生物和同类物;具有变异侧链的氨基酸类似物;以及前述的任一种的所有立体异构体。如本文所用,术语"氨基酸"包括D-或L-旋光异构体和拟肽。

[0200] "保守氨基酸置换"是其中氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基置换的一种

置换。具有相似侧链的氨基酸残基家族已在本领域中定义。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、具有酸性侧链的氨基酸(例如天冬氨酸、谷氨酸)、具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、具有非极性侧链的氨基酸(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、色氨酸)、具有β支链侧链的氨基酸(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和具有芳香族侧链的氨基酸(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。

[0201] 本文可互换地使用的术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”(如果是单链的话)是指任何长度的氨基酸的聚合物。该聚合物可以是直链或支链的,它可以包含修饰的氨基酸,并且可以被非氨基酸中断。该术语还涵盖已被修饰的氨基酸聚合物,所述修饰是例如,二硫键形成、糖基化、脂化、乙酰化、磷酸化或任何其他操作,例如与标记组分的缀合。多肽可以从天然来源中分离,可以通过重组技术从真核或原核宿主中产生,或者可以是合成方法的产物。

[0202] 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核苷酸聚合形式,即脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸或其类似物。多核苷酸可以是单链或双链的,并且如果是单链的,则可以是编码链或非编码(反义)链。多核苷酸可以包含修饰的核苷酸,例如甲基化的核苷酸和核苷酸类似物。核苷酸的序列可以被非核苷酸组分中断。多核苷酸可在聚合后进一步被修饰,例如与标记组分缀合。核酸可以是重组多核苷酸,或者是基因组、cDNA、半合成或合成来源的多核苷酸,其不是天然存在的,或是以非天然的方式与另一多核苷酸连接。

[0203] 如本文所用,术语“分离的”是指从其来源或天然环境(例如,自然环境,如果其天然存在的话)中取出的材料。例如,存在于活体动物中的天然存在的多核苷酸或多肽是没有分离的,而是通过人为干预从天然系统中的某些或全部共存物质中分离的相同多核苷酸或多肽则是分离的。这样的多核苷酸可以是载体的一部分,并且/或者这样的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,因为这样的载体或组合物不是其在自然界中发现的环境的一部分。

[0204] 下面进一步详细描述本发明的各个方面。整个说明书中阐述了其他定义。

[0205] 天然杀伤细胞衔接物

[0206] 天然杀伤(NK)细胞以独立于抗体的方式识别和破坏肿瘤和病毒感染的细胞。NK细胞的调节是通过激活和抑制NK细胞表面的受体来介导的。激活受体的一个家族是天然细胞毒性受体(NCR),其包括NKp30、NKp44和NKp46。NCR通过识别癌细胞上的硫酸乙酰肝素来启动肿瘤靶向。NKG2D是一种受体,可在激活的杀伤(NK)细胞上提供刺激性和共刺激性先天免疫应答,从而导致细胞毒活性。DNAM1是参与细胞毒性T淋巴细胞(CTL)和NK细胞介导的细胞间粘附、淋巴细胞信号传导、细胞毒性和淋巴因子分泌的受体。DAP10(也称为HCST)是一种跨膜衔接蛋白,可与KLRK1缔合形成淋巴样和髓样细胞中的激活受体KLRK1-HCST;该受体在触发针对表达细胞表面配体(例如MHC I类链相关的MICA和MICB)和U(可选L1)6-结合蛋白(ULBP)的靶细胞的细胞毒性中起主要作用;KLRK1-HCST受体在针对肿瘤的免疫监视中起作用,并且是肿瘤细胞的细胞溶解所必需的;实际上,不表达KLRK1配体的黑色素瘤细胞逃脱了NK细胞介导的免疫监视。CD16是IgG Fc区的受体,它结合复合或聚集的IgG以及单体IgG,从而介导抗体依赖性的细胞毒性(ADCC)和其他抗体依赖性应答,例如吞噬作用。

[0207] 本公开内容尤其提供了抗体分子,例如多特异性(例如,双,三,四特异性)或多功

能分子,其被工程化为包含一个或多个介导与NK细胞结合和/或激活NK细胞的NK细胞衔接物。因此,在一些实施方案中,NK细胞衔接物选自结合(例如激活)以下项的抗原结合域或配体:NKp30、NKp40、NKp44、NKp46、NKG2D、DNAM1、DAP10、CD16(例如,CD16a、CD16b或两者)、CRTAM、CD27、PSGL1、CD96、CD100(SEMA4D)、NKp80、CD244(也称为SLAMF4或2B4)、SLAMF6、SLAMF7、KIR2DS2、KIR2DS4、KIR3DS1、KIR2DS3、KIR2DS5、KIR2DS1、CD94、NKG2C、NKG2E或CD160。

[0208] 在一些实施方案中,NK细胞衔接物是与NKp30(例如,NKp30在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域并且包含表7-10中公开的任何CDR氨基酸序列、构架区(FWR)氨基酸序列或可变区氨基酸序列。在一些实施方案中,NK细胞衔接物是与NKp30(例如,NKp30在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域并且包含美国专利号6,979,546、美国专利号9,447,185、PCT申请号WO2015121383A1、PCT申请号WO2016110468A1、PCT申请号WO2004056392A1或美国申请公开号US20070231322A1中公开的任何CDR氨基酸序列、构架区(FWR)氨基酸序列或可变区氨基酸序列,其序列通过引用并入本文。在一些实施方案中,NK细胞衔接物的结合,例如,与NKp30结合的抗原结合域与NK细胞的结合激活NK细胞。与NKp30(例如,NKp30在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域可被称为靶向NKp30、NK细胞或两者。

[0209] 在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括表7、表18或表8中公开的一个或多个CDR(例如,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和/或VLCDR3)或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括表7、表18或表8中公开的一个或多个构架区(例如,VHFWR1、VHFWR2、VHFWR3、VHFWR4、VLFWR1、VLFWR2、VLFWR3和/或VLFWR4)或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括表9中公开的VH和/VL或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,可将表9中公开的任何VH结构域与表9中公开的任何VL结构域配对以形成与NKp30结合的抗原结合域。在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括表10中公开的氨基酸序列或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。

[0210] 在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括VH,包含重链互补决定区1(VHCDR1)、VHCDR2和VHCDR3,以及VL,包含轻链互补决定区1(VLCDR1)、VLCDR2和VLCDR3。

[0211] 在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、6001和7315的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、6001和6002的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、6008和6009的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、7385和7315的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、7318和6009的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0212] 在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:7326、7327和7329的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方

案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:6063、6064和7293的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:6070、6071和6072的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:6070、6064和7321的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0213] 在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、6001、7315、7326、7327和7329的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、6001、6002、6063、6064和7293的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、6008、6009、6070、6071和6072的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、7385、7315、6070、6064和7321的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、7318、6009、6070、6064和7321的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0214] 在一些实施方案中,VH包含选自SEQ ID NO:7298或7300-7304的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)并且/或者VL包含选自SEQ ID NO:7299或7305-7309的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VH和VL分别包含SEQ ID NO:7302和7305的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VH和VL分别包含SEQ ID NO:7302和7309的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0215] 在一些实施方案中,VH包含选自SEQ ID NO:6121或6123-6128的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)并且/或者VL包含选自SEQ ID NO:7294或6137-6141的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VH包含选自SEQ ID NO:6122或6129-6134的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)并且/或者VL包含选自SEQ ID NO:6136或6142-6147的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VH和VL分别包含SEQ ID NO:7295和7296的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VH和VL分别包含SEQ ID NO:7297和7296的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VH和VL分别包含SEQ ID NO:6122和6136的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0216] 在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括SEQ ID NO:7310的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括SEQ ID NO:7311的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括SEQ ID NO:6187、

6188、6189或6190的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。

[0217] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6000的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6002的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。在一些实施方案中,NKp30抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6000的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6002的VHCDR3氨基酸序列。

[0218] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6063的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6064的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:7293的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6063的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6064的VLCDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:7293的VLCDR3氨基酸序列。

[0219] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6000的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6002的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列),以及VL,包含SEQ ID NO:6063的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6064的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:7293的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。在一些实施方案中,NKp30抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6000的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6002的VHCDR3氨基酸序列,以及VL,包含SEQ ID NO:6063的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6064的VLCDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:7293的VLCDR3氨基酸序列。

[0220] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6007的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6008的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6009的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。在一些实施方案中,NKp30抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6007的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6008的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6009的VHCDR3氨基酸序列。

[0221] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6070的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6071的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6072的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包

括VL,包含SEQ ID NO:6070的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6071的VLCDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:6072的VLCDR3氨基酸序列。

[0222] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6007的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6008的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6009的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列),以及VL,包含SEQ ID NO:6070的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6071的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6072的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。在一些实施方案中,NKp30抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6007的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6008的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6009的VHCDR3氨基酸序列,以及VL,包含SEQ ID NO:6070的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6071的VLCDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:6072的VLCDR3氨基酸序列。

[0223] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6003的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6004的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6005的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6006的VHFWR4氨基酸序列。

[0224] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6066的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6067的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:7292的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6069的VLFWR4氨基酸序列。

[0225] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6003的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6004的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6005的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6006的VHFWR4氨基酸序列,以及VL,包含SEQ ID NO:6066的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6067的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:7292的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6069的VLFWR4氨基酸序列。

[0226] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6003的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6004的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6005的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6006的VHFWR4氨基酸序列。

[0227] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6066的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6067的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:7292的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6069的VLFWR4氨基酸序列。

[0228] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6003的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6004的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突

变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6005的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6006的VHFWR4氨基酸序列,以及VL,包含SEQ ID NO:6066的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6067的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:7292的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6069的VLFWR4氨基酸序列。

[0229] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6010的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6011的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6012的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6013的VHFWR4氨基酸序列。

[0230] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6073的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6074的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6075的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6076的VLFWR4氨基酸序列。

[0231] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6010的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6011的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6012的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6013的VHFWR4氨基酸序列,以及VL,包含SEQ ID NO:6073的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6074的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6075的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6076的VLFWR4氨基酸序列。

[0232] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6010的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6011的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6012的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6013的VHFWR4氨基酸序列。

[0233] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6073的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6074的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6075的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6076的VLFWR4氨基酸序列。

[0234] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6010的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6011的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6012的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6013的VHFWR4氨基酸序列,以及VL,包含SEQ ID NO:6073的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6074的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6075的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6076的VLFWR4氨基酸序列。

[0235] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6014的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ IDNO:6015的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6016的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6017的VHFWR4氨基酸序列。

[0236] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6014的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6015的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6016的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6017的VHFWR4氨基酸序列。

[0237] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6077的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6078的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6079的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6080的VLFWR4氨基酸序列。

[0238] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6077的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6078的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6079的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6080的VLFWR4氨基酸序列。

[0239] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6018的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6019的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6020的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6021的VHFWR4氨基酸序列。

[0240] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6018的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6019的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6020的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6021的VHFWR4氨基酸序列。

[0241] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6081的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6082的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6083的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6084的VLFWR4氨基酸序列。

[0242] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6081的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6082的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6083的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6084的VLFWR4氨基酸序列。

[0243] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6022的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6023的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6024的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6025的VHFWR4氨基酸序列。

[0244] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6022的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失

的序列)、SEQ ID NO:6023的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6024的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6025的VHFWR4氨基酸序列。

[0245] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6085的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ IDNO:6086的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6087的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6088的VLFWR4氨基酸序列。

[0246] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6085的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6086的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6087的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6088的VLFWR4氨基酸序列。

[0247] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6026的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6027的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6028的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6029的VHFWR4氨基酸序列。

[0248] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6026的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6027的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6028的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6029的VHFWR4氨基酸序列。

[0249] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6089的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6090的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6091的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6092的VLFWR4氨基酸序列。

[0250] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6089的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6090的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6091的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6092的VLFWR4氨基酸序列。

[0251] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6030的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6032的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6033的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6034的VHFWR4氨基酸序列。

[0252] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6030的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6032的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6033的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6034的VHFWR4氨基酸序列。

[0253] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6093的轻链

构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6094的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6095的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6096的VLFWR4氨基酸序列。

[0254] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6093的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6094的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6095的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6096的VLFWR4氨基酸序列。

[0255] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6035的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6036的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6037的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6038的VHFWR4氨基酸序列。

[0256] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6035的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6036的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6037的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6038的VHFWR4氨基酸序列。

[0257] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6039的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6040的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6041的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6042的VHFWR4氨基酸序列。

[0258] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6039的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6040的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6041的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6042的VHFWR4氨基酸序列。

[0259] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6097的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6098的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6099的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6100的VLFWR4氨基酸序列。

[0260] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6097的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6098的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6099的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6100的VLFWR4氨基酸序列。

[0261] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6043的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6044的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6045的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6046的VHFWR4氨基酸序列。

[0262] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6043的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6044的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突

变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6045的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6046的VHFWR4氨基酸序列。

[0263] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6101的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6102的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6103的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6104的VLFWR4氨基酸序列。

[0264] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6101的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6102的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6103的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6104的VLFWR4氨基酸序列。

[0265] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6047的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6048的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6049的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6050的VHFWR4氨基酸序列。

[0266] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6047的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6048的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6049的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6050的VHFWR4氨基酸序列。

[0267] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6105的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6106的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6107的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6108的VLFWR4氨基酸序列。

[0268] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6105的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6106的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6107的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6108的VLFWR4氨基酸序列。

[0269] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6051的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6052的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6053的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6054的VHFWR4氨基酸序列。

[0270] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6051的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6052的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6053的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6054的VHFWR4氨基酸序列。

[0271] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6109的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6110的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6111的

VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6112的VLFWR4氨基酸序列。

[0272] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6109的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6110的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6111的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6112的VLFWR4氨基酸序列。

[0273] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6055的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6056的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6057的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6058的VHFWR4氨基酸序列。

[0274] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6055的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6056的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6057的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6058的VHFWR4氨基酸序列。

[0275] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6113的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6114的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6115的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6116的VLFWR4氨基酸序列。

[0276] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6113的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6114的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6115的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6116的VLFWR4氨基酸序列。

[0277] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6059的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6060的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6061的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6062的VHFWR4氨基酸序列。

[0278] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6059的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6060的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6061的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6062的VHFWR4氨基酸序列。

[0279] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6117的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6118的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6119的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6120的VLFWR4氨基酸序列。

[0280] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6117的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6118的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6119的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)

和/或SEQ ID NO:6120的VLFWR4氨基酸序列。

[0281] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6148的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6148具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6149的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6149具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6150的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6150具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6148的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6149的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6150的氨基酸序列。

[0282] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6148的氨基酸序列,以及VL,包含SEQ ID NO:6150的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6149的氨基酸序列,以及VL,包含SEQ ID NO:6150的氨基酸序列。

[0283] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6151的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6151具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6152的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6152具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6153的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6153具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6151的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6152的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,包含SEQ ID NO:6153的氨基酸序列。

[0284] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6151的氨基酸序列,以及VL,包含SEQ ID NO:6153的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,包含SEQ ID NO:6152的氨基酸序列,以及VL,包含SEQ ID NO:6153的氨基酸序列。

[0285] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括scFv。在一些实施方案中,scFv包含选自SEQ ID NO:6187-6190的氨基酸序列,或与其具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0286] 表7.NKp30靶向抗原结合域的示例性重链CDR和FWR

[0287]

Ab ID	VHFWR1	VHCDR1	VHFWR2	VHCDR2	VHFWR3	VHCDR3	VHFWR4
9G1-HC	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSIN (SEQ ID NO: 6003)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6000)	WIRQFPGKKLEWMG (SEQ ID NO: 6004)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCAR (SEQ ID NO: 6005)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6006)
15H6-HC	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSIN (SEQ ID NO: 6010)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6007)	WIRQFPGKKLEWMG (SEQ ID NO: 6011)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYYCTR (SEQ ID NO: 6012)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVAVSS (SEQ ID NO: 6013)
9G1-HC_1	QIQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSIN (SEQ ID NO: 6014)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6000)	WIRQPAGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6015)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6016)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6017)
9G1-HC_2	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGFSIN (SEQ ID NO: 6018)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6000)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6019)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	LVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6020)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6021)
9G1-HC_3	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSC	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6000)	WVRQAPGKGLEWVG (SEQ	YIYSSGSTSYNPSLK	RFTISRDTSKNTFYLQMNSLRA	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS

[0288]

	AVSGFSIN (SEQ ID NO: 6022)		ID NO: 6023)	S (SEQ ID NO: 6001)	EDTAVYY CAR (SEQ ID NO: 6024)		(SEQ ID NO: 6025)
9G1-HC_4	QIQLVQS GAEVKKP GSSVKVS CKVSGFSI N (SEQ ID NO: 6026)	TGGYHW N (SEQ ID NO: 6000)	WVRQAP GQGLEW MG (SEQ ID NO: 6027)	YIYSSGST SYNPSLK S (SEQ ID NO: 6001)	RVTITRDT STNTFYM ELSSLRSE DTAVYYC AR (SEQ ID NO: 6028)	GNWHYF DF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTM VTVSS (SEQ ID NO: 6029)
9G1-HC_5	EIQLVESG GGLVQPG GSLRLSC AVSGFSIN (SEQ ID NO: 6030)	TGGYHW N (SEQ ID NO: 6000)	WVRQAP GKGLEW VG (SEQ ID NOL 6032)	YIYSSGST SYNPSLK S (SEQ ID NO: 6001)	RFTISRDT AKNSFYL QMNSLRA EDTAVYY CAR (SEQ ID NO: 6033)	GNWHYF DF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTM VTVSS (SEQ ID NO: 6034)
9G1-HC_6	QIQLVQS GAEVKKP GASVKVS CKVSGFSI N (SEQ ID NO: 6035)	TGGYHW N (SEQ ID NO: 6000)	WVRQAP GQGLEW MG (SEQ ID NO: 6036)	YIYSSGST SYNPSLK S (SEQ ID NO: 6001)	RVTMTRD TSTNTFY MELSSLR SEDTAVY YCAR (SEQ ID NO: 6037)	GNWHYF DF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTM VTVSS (SEQ ID NO: 6038)
15H6-HC_1	QIQLQES GPGLVKP SQTLSLTC TVSGFSIN (SEQ ID NO: 6039)	TGGYHW N (SEQ ID NO: 6007)	WIRQHPG KGLEWIG (SEQ ID NO: 6040)	YIYSSGTT RYNPSLK S (SEQ ID NO: 6008)	LVTISRDT SKNQFSL KLSSVTA ADTAVYY CAR (SEQ ID NO: 6041)	GNWHYF DY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 6042)
15H6-HC_2	QIQLQES GPGLVKP SETLSLTC TVSGFSIN (SEQ ID NO: 6043)	TGGYHW N (SEQ ID NO: 6007)	WIRQPAG KGLEWIG (SEQ ID NO: 6044)	YIYSSGTT RYNPSLK S (SEQ ID NO: 6008)	RVTMSRD TSKNQFS LKLSSVT AADTAVY YCAR (SEQ ID NO: 6045)	GNWHYF DY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 6046)
15H6-HC_3	EIQLLESG GGLVQPG GSLRLSC AVSGFSIN (SEQ ID NO: 6047)	TGGYHW N (SEQ ID NO: 6007)	WVRQAP GKGLEW VG (SEQ ID NO: 6048)	YIYSSGTT RYNPSLK S (SEQ ID NO: 6008)	RFTISRDT SKNTFYL QMNSLRA EDTAVYY CAR (SEQ ID NO: 6049)	GNWHYF DY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 6050)
15H6-HC_4	QIQLVES GGGLVKP GGSLRLS CAVSGFSI N (SEQ ID NO: 6051)	TGGYHW N (SEQ ID NO: 6007)	WIRQAPG KGLEWV G (SEQ ID NO: 6052)	YIYSSGTT RYNPSLK S (SEQ ID NO: 6008)	RFTISRDT AKNSFYL QMNSLRA EDTAVYY CAR (SEQ ID NO: 6053)	GNWHYF DY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 6054)
15H6-HC_5	QIQLVQS GAEVKKP GASVKVS CKVSGFSI N (SEQ ID NO: 6055)	TGGYHW N (SEQ ID NO: 6007)	WVRQAP GQGLEW MG (SEQ ID NO: 6056)	YIYSSGTT RYNPSLK S (SEQ ID NO: 6008)	RVTMTRD TSTNTFY MELSSLR SEDTAVY YCAR (SEQ ID NO: 6057)	GNWHYF DY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 6058)

[0289]

15H6-HC_6	EIQLVQS GAEVKKP GATVKIS CKVSGFSI N (SEQ ID NO: 6059)	TGGYHW N (SEQ ID NO: 6007)	WVQQAP GKGLEW MG (SEQ ID NO: 6060)	YIYSSGTT RYNPSLK S (SEQ ID NO: 6008)	RVTITRDT STNTFYM ELSSLRSE DTAVYYC AR (SEQ ID NO: 6061)	GNWHYF DY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 6062)

[0290] 表18.NKp30靶向抗原结合域的示例性重链CDR和FWR(根据Kabat编号方案)

[0291]

Ab ID	VHFWR1	VHCDR1	VHFWR2	VHCDR2	VHFWR3	VHCDR3	VHFWR4
9G1-HC	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTG (SEQ ID NO: 7317)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQFPGKKLEWMG (SEQ ID NO: 6004)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCAR (SEQ ID NO: 6005)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6006)
15H6-HC	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTG (SEQ ID NO: 7317)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQFPGKKLEWMG (SEQ ID NO: 6011)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYYCTR (SEQ ID NO: 6012)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVAVSS (SEQ ID NO: 6013)
9G1-HC_1	QIQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7371)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQPAGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6015)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6016)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6017)
9G1-HC_2	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7372)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6019)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	LVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6020)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6021)
9G1-HC_3	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7373)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NO: 6023)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6024)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6025)
9G1-HC_4	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7374)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO: 6027)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RVTITRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6028)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6029)
9G1-HC_5	EIQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSINTG (SEQ	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NOL 6032)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RFTISRDTAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6034)

	ID NO: 7375)				ID NO: 6033)		
9G1-HC_6	QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7376)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO: 6036)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RVTMTRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6037)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6038)
15H6-HC_1	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7372)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6040)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	LVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6041)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 6042)
15H6-HC_2	QIQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7371)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQPAGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6044)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6045)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 6046)
15H6-HC_3	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7373)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NO: 6048)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6049)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 6050)
15H6-HC_4	QIQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7377)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NO: 6052)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RFTISRDTAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6053)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 6054)
15H6-HC_5	QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7376)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO: 6056)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RVTMTRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6057)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 6058)
15H6-HC_6	EIQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7378)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVQQAPGKGLEWMG (SEQ ID NO: 6060)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RVTITRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6061)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 6062)
9D9-HC	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLSCSVTGFSINTG (SEQ ID NO: 7312)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQFPGKKVEWMG (SEQ ID NO: 7314)	YIYSSGTTKYNPSLKS (SEQ ID NO: 7385)	RISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCAR (SEQ ID NO: 6005)	GDWHYFDY (SEQ ID NO: 7315)	WGQGTMVAVSS (SEQ ID NO: 7316)
3A12-HC	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTC	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQFPGKKLEWM	YIYSSGSTRYNPSLK	RFSITRDTSKNQFFLQLNSVTT	GNWHYFDY (SEQ	WGQGTLVAVSS

[0292]

	SVTGFSINTG (SEQ ID NO: 7317)		G (SEQ ID NO: 6004)	S (SEQ ID NO: 7318)	EDTATYYCTR (SEQ ID NO: 7319)	ID NO: 6009)	(SEQ ID NO: 6013)
12D10-HC	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTG (SEQ ID NO: 7317)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQFPGKKLEWMG (SEQ ID NO: 6004)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYYCTR (SEQ ID NO: 6012)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVAVSS (SEQ ID NO: 6013)
15E1-HC	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLSCSVTGFSITTT (SEQ ID NO: 7322)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQFPGKKLEWMG (SEQ ID NO: 6004)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RFSITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCAR (SEQ ID NO: 7323)	GDWHYFDY (SEQ ID NO: 7315)	WGPGTMVTVSS (SEQ ID NO: 7324)
15E1_人源化变体_VH1	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGFSITTT (SEQ ID NO: 7330)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6019)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	LVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6020)	GDWHYFDY (SEQ ID NO: 7315)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6006)
15E1_人源化变体_VH2	QIQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAVSGFSITTT (SEQ ID NO: 7331)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NO: 6052)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RFTISRDTAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6033)	GDWHYFDY (SEQ ID NO: 7315)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6006)
15E1_人源化变体_VH3	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTT (SEQ ID NO: 7332)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NO: 6023)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6024)	GDWHYFDY (SEQ ID NO: 7315)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6006)
15E1_人源化变体_VH4	EIQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTT (SEQ ID NO: 7333)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NO: 6023)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RFTISRDTAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6033)	GDWHYFDY (SEQ ID NO: 7315)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6006)
15E1_人源化变体_VH5	QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFSITTT (SEQ ID NO: 7334)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO: 6027)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RVTMTRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6037)	GDWHYFDY (SEQ ID NO: 7315)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6006)

[0293]

[0294] 表8.NKp30靶向抗原结合域的示例性轻链CDR和FWR

[0295]

Ab ID	VLFWR1	VLCDR1	VLFWR2	VLCDR2	VLFWR3	VLCDR3	VLFWR4
9G1-LC	SYTLTQPPLLSVALGHKATITC	SGERLSDKYVH	WYQQKPGRAPVMVIY (SEQ	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GIPDQFSGSNSGNIATLTISKAQ	QSWDSTNSAV (SEQ	FGSGTQLTVL (SEQ

[0296]

	(SEQ ID NO: 6066)	(SEQ ID NO: 6063)	ID NO: 6067)		AGYEADYYC (SEQ ID NO: 7292)	ID NO: 7293)	ID NO: 6069)
15H6-LC	SYTLTQPPSLSVAPGQKATIIC (SEQ ID NO: 6073)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQKPGRAPVMVIY (SEQ ID NO: 6074)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GIPDQFSGSNSGNIATLTISKAQPGSEADYYC (SEQ ID NO: 6075)	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGSGTHLTVL (SEQ ID NO: 6076)
9G1-LC_1	QSVTTQPPSVSGAPGQRVTISC (SEQ ID NO: 6077)	SGERLSDKYVH (SEQ ID NO: 6063)	WYQQLPGTAPKMLIY (SEQ ID NO: 6078)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GVPDRFSGSNSGNSASLAITGLQAEDEADYYC (SEQ ID NO: 6079)	QSWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7293)	FGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 6080)
9G1-LC_2	QSVTTQPPSASGTPGQRVTISC (SEQ ID NO: 6081)	SGERLSDKYVH (SEQ ID NO: 6063)	WYQQLPGTAPKMLIY (SEQ ID NO: 6082)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GVPDRFSGSNSGNSASLAISGLQSEDEADYYC (SEQ ID NO: 6083)	QSWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7293)	FGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 6084)
9G1-LC_3	QSVTTQPPSASGTPGQRVTISC (SEQ ID NO: 6085)	SGERLSDKYVH (SEQ ID NO: 6063)	WYQQLPGTAPKMLIY (SEQ ID NO: 6086)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GVPDRFSGSNSGNSASLAISGLRSEDEADYYC (SEQ ID NO: 6087)	QSWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7293)	FGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 6088)
9G1-LC_4	SSETTQPHSVSVATAQMARITC (SEQ ID NO: 6089)	SGERLSDKYVH (SEQ ID NO: 6063)	WYQQKPGQDPVMVIY (SEQ ID NO: 6090)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GIPERFSGSNPGNTATLTISRIEAGDEADYYC (SEQ ID NO: 6091)	QSWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7293)	FGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 6092)
9G1-LC_5	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 6093)	SGERLSDKYVH (SEQ ID NO: 6063)	WYQQKPGKAPKMLIY (SEQ ID NO: 6094)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GVPSRFSGSNSGNEATLTISSLQPDDFATYYC (SEQ ID NO: 6095)	QSWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7293)	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 6096)
15H6-LC_1	QYVLTQPPSASGTPGQRVTISC (SEQ ID NO: 6097)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQLPGTAPKMLIY (SEQ ID NO: 6098)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GVPDRFSGSNSGNSASLAISGLQSEDEADYYC (SEQ ID NO: 6099)	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGEGTELTVL (SEQ ID NO: 6100)
15H6-LC_2	QYVLTQPPSASGTPGQRVTISC (SEQ ID NO: 6101)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQLPGTAPKMLIY (SEQ ID NO: 6102)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GVPDRFSGSNSGNSASLAISGLRSEDEADYYC (SEQ ID NO: 6103)	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGEGTELTVL (SEQ ID NO: 6104)

[0297]

15H6-LC_3	SYELTQPPSVSVSPGQTASITC (SEQ ID NO: 6105)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQKPGQSPVMVIY (SEQ ID NO: 6106)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC (SEQ ID NO: 6107)	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGEGTELTVL (SEQ ID NO: 6108)
15H6-LC_4	DYVLTQSPLSLPVTPGEPASISC (SEQ ID NO: 6109)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYLQKPGQSPQMLIY (SEQ ID NO: 6110)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GVPDRFSGSNSGNDATLKISRVEAEDVGVYYC (SEQ ID NO: 6111)	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 6112)
15H6-LC_5	AYQLTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 6113)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQKPGKAPKMLIY (SEQ ID NO: 6114)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GVPSRFSGSNSGNDATLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 6115)	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 6116)
15H6-LC_6	EYVLTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO: 6117)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQKPGQAPRMLIY (SEQ ID NO: 6118)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GIPARFSGSNSGNEATLTISSLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO: 6119)	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 6120)
9D9-LC	SYTLTQPPLVSVALGQKATIIC (SEQ ID NO: 7320)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQKPGRAPVMVIY (SEQ ID NO: 6067)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GIPDQFSGSNSGNIATLTISKAQAGYEADYYC (SEQ ID NO: 7292)	HCWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7321)	FGSGTHLTVL (SEQ ID NO: 6076)
3A12-LC	SYTLTQPPLVSVALGQKATIIC (SEQ ID NO: 7320)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQKPGRAPVMVIY (SEQ ID NO: 6067)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GIPDQFSGSNSGNIATLTISKAQAGYEADYYC (SEQ ID NO: 7292)	HCWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7321)	FGSGTHLTVL (SEQ ID NO: 6076)
12D10-LC	SYTLTQPPSLSVAPGQKATIIC (SEQ ID NO: 6073)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQKPGRAPVMVIY (SEQ ID NO: 6074)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GIPDQFSGSNSGNIATLTISKAQPGSEADYYC (SEQ ID NO: 6075)	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGSGTHLTVL (SEQ ID NO: 6076)
15E1-LC	SFTLTQPPLVSVAVGQVATITC (SEQ ID NO: 7325)	SGEKLSDKYVH (SEQ ID NO: 7326)	WYQQKPGRAPVMVIY (SEQ ID NO: 6067)	ENDRRPS (SEQ ID NO: 7327)	GIPDQFSGSNSGNIASLTISKAQAGDEADYFC (SEQ ID NO: 7328)	QFWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7329)	FGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 6080)
15E1_人源化变体_VL1	SSETTQPPSVSVSPGQTASITC (SEQ ID NO: 7335)	SGEKLSDKYVH (SEQ ID NO: 7326)	WYQQKPGQSPVMVIY (SEQ ID NO: 6106)	ENDRRPS (SEQ ID NO: 7327)	GIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYFC (SEQ ID NO: 7336)	QFWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7329)	FGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 6080)

15E1_人源化变体_VL2	SSETTQPHSVSVATAQMARITC (SEQ ID NO: 6089)	SGEKLSDKYVH (SEQ ID NO: 7326)	WYQQKPGQDPVMVIY (SEQ ID NO: 6090)	ENDRRPS (SEQ ID NO: 7327)	GIPERFSGSNPGNTATLTISRIEAGDEADYFC (SEQ ID NO: 7337)	QFWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7329)	FGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 6080)
15E1_人源化变体_VL3	QSVTTQPPSASGTPGQRVTISC (SEQ ID NO: 6081)	SGEKLSDKYVH (SEQ ID NO: 7326)	WYQQLPGTAPKMLIY (SEQ ID NO: 6078)	ENDRRPS (SEQ ID NO: 7327)	GVPDRFSGSNSGNSASLAISGLRSEDEADYFC (SEQ ID NO: 7338)	QFWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7329)	FGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 6080)
15E1_人源化变体_VL4	QSVTTQPPSVSGAPGQRVTISC (SEQ ID NO: 6077)	SGEKLSDKYVH (SEQ ID NO: 7326)	WYQQLPGTAPKMLIY (SEQ ID NO: 6078)	ENDRRPS (SEQ ID NO: 7327)	GVPDRFSGSNSGNSASLAITGLQAEDEADYFC (SEQ ID NO: 7339)	QFWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7329)	FGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 6080)
15E1_人源化变体_VL5	DSVTTQSPLSLPVTLGQPASISC (SEQ ID NO: 7340)	SGEKLSDKYVH (SEQ ID NO: 7326)	WYQQRPGQSPRMLIY (SEQ ID NO: 7341)	ENDRRPS (SEQ ID NO: 7327)	GVPDRFSGSNSGNDATLKISRVEAEDVGVYFC (SEQ ID NO: 7342)	QFWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7329)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 233)

[0298]

[0299] 表9.NKp30靶向抗原结合域的示例性可变区

[0300]

SEQ ID NO	Ab ID	说明	序列
SEQ ID NO: 6121	9G1-HC	9G1 重链可变区	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYHWNWIRQFPGKKLEWMGYIYSSGSTSYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARGNWHYFDFWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 6122	15H6-HC	15H6 重链可变区	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYHWNWIRQFPGKKLEWMGYIYSSGTTRYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYYCTRGNWHYFDYWGQGTLVAVSS
SEQ ID NO: 6123	9G1-HC_1	9G1 重链可变区人源化变体1	QIQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSINTGGYHWNWIRQPAGKGLEWIGYIYSSGSTSYNPSLKSRVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGNWHYFDFWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 6124	9G1-HC_2	9G1 重链可变区人源化变体2	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGFSINTGGYHWNWIRQHPGKGLEWIGYIYSSGSTSYNPSLKSLVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGNWHYFDFWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 6125	9G1-HC_3	9G1 重链可变区人源化变体3	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSINTGGYHWNWVRQAPGKGLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSRFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNWHYFDFWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 6126	9G1-HC_4	9G1 重链可变区人源化变体4	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGFSINTGGYHWNWVRQAPGQGLEWMGYIYSSGSTSYNPSLKSRVTITRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWHYFDFWGQGTMVTVSS

[0301]

SEQ ID NO: 6127	9G1-HC_5	9G1 重链可变区人源化变体5	EIQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSINTGGYHWN WVRQAPGKGLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSRFTISRD TAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNWHYFDFWG QGTMVTVSS
SEQ ID NO: 6128	9G1-HC_6	9G1 重链可变区人源化变体6	QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFSINTGGYHW NWVRQAPGQGLEWMGYIYSSGSTSYNPSLKSRVTMT RDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWHYFDFW GQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 6129	15H6-HC_1	15H6 重链可变区人源化变体1	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGFSINTGGYHWN WIRQHPGKGLEWIGYIYSSGTTRYNPSLKSLVTISRDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGNWHYFDYWGQ GTLVTVSS
SEQ ID NO: 6130	15H6-HC_2	15H6 重链可变区人源化变体2	QIQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSINTGGYHWN WIRQPAGKGLEWIGYIYSSGTTRYNPSLKSRVTMSRD TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGNWHYFDYWG QGTLVTVSS
SEQ ID NO: 6131	15H6-HC_3	15H6 重链可变区人源化变体3	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSINTGGYHWN WVRQAPGKGLEWVGYIYSSGTTRYNPSLKSRFTISRD TSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNWHYFDYW GQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 6132	15H6-HC_4	15H6 重链可变区人源化变体4	QIQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAVSGFSINTGGYHWN WIRQAPGKGLEWVGYIYSSGTTRYNPSLKSRFTISRD TAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNWHYFDYW GQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 6133	15H6-HC_5	15H6 重链可变区人源化变体5	QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFSINTGGYHW NWVRQAPGQGLEWMGYIYSSGTTRYNPSLKSRVTM TRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWHYFDY WGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 6134	15H6-HC_6	15H6 重链可变区人源化变体6	EIQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFSINTGGYHWN WVQQAPGKGLEWMGYIYSSGTTRYNPSLKSRVTITR DTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWHYFDYW GQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 7294	9G1-LC	9G1 轻链可变区	SYTLTQPPLLSVALGHKATITCSGERLSDKYVHWYQQ KPGRAPVMVIYENDKRPSGIPDQFSGSNSGNIATLTIS KAQAGYEADYYCQSWDSTNSAVFGSGTQLTVL
SEQ ID NO: 6136	15H6-LC	15H6 轻链可变区	SYTLTQPPSLSVAPGQKATIICSGENLSDKYVHWYQQ KPGRAPVMVIYENEKRPSGIPDQFSGSNSGNIATLTIS KAQPGSEADYYCHYWESINSVVFGSGTHLTVL
SEQ ID NO: 6137	9G1-LC_1	9G1 轻链可变区人源化变体1	QSVTTQPPSVSGAPGQRVTISCSGERLSDKYVHWYQQ LPGTAPKMLIYENDKRPSGVPDRFSGSNSGNSASLAIT GLQAEDEADYYCQSWDSTNSAVFGGGTQLTVL
SEQ ID NO: 6138	9G1-LC_2	9G1 轻链可变区人源化变体2	QSVTTQPPSASGTPGQRVTISCSGERLSDKYVHWYQQ LPGTAPKMLIYENDKRPSGVPDRFSGSNSGNSASLAIS GLQSEDEADYYCQSWDSTNSAVFGGGTQLTVL
SEQ ID NO: 6139	9G1-LC_3	9G1 轻链可变区人源化变体3	QSVTTQPPSASGTPGQRVTISCSGERLSDKYVHWYQQ LPGTAPKMLIYENDKRPSGVPDRFSGSNSGNSASLAIS GLRSEDEADYYCQSWDSTNSAVFGGGTQLTVL
SEQ ID NO: 6140	9G1-LC_4	9G1 轻链可变区人源化变体4	SSETTQPHSVSVATAQMARITCSGERLSDKYVHWYQ QKPGQDPVMVIYENDKRPSGIPERFSGSNPGNTATLTI SRIEAGDEADYYCQSWDSTNSAVFGGGTQLTVL
SEQ ID NO: 6141	9G1-LC_5	9G1 轻链可变区人源化变体5	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCSGERLSDKYVHWYQ QKPGKAPKMLIYENDKRPSGVPSRFSGSNSGNEATLT ISSLQPDDFATYYCQSWDSTNSAVFGQGTKVEIK

[0302]

SEQ ID NO: 6142	15H6-LC_1	15H6 轻链可变区人源化变体1	QYVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGENLSDKYVHWYQQLPGTAPKMLIYENEKRPSGVPDRFSGSNSGNSASLAISGLQSEDEADYYCHYWESINSVVFGEGTELTVL
SEQ ID NO: 6143	15H6-LC_2	15H6 轻链可变区人源化变体2	QYVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGENLSDKYVHWYQQLPGTAPKMLIYENEKRPSGVPDRFSGSNSGNSASLAISGLRSEDEADYYCHYWESINSVVFGEGTELTVL
SEQ ID NO: 6144	15H6-LC_3	15H6 轻链可变区人源化变体3	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGENLSDKYVHWYQQKPGQSPVMVIYENEKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCHYWESINSVVFGEGTELTVL
SEQ ID NO: 6145	15H6-LC_4	15H6 轻链可变区人源化变体4	DYVLTQSPLSLPVTPGEPASISCSGENLSDKYVHWYLQKPGQSPQMLIYENEKRPSGVPDRFSGSNSGNDATLKISRVEAEDVGVYYCHYWESINSVVFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 6146	15H6-LC_5	15H6 轻链可变区人源化变体5	AYQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSGENLSDKYVHWYQQKPGKAPKMLIYENEKRPSGVPSRFSGSNSGNDATLTISSLQPEDFATYYCHYWESINSVVFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 6147	15H6-LC_6	15H6 轻链可变区人源化变体6	EYVLTQSPATLSVSPGERATLSCSGENLSDKYVHWYQQKPGQAPRMLIYENEKRPSGIPARFSGSNSGNEATLTISSLQSEDFAVYYCHYWESINSVVFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 7295	9D9-HC	9D9 重链可变区	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLSCSVTGFSINTGGYHWNWIRQFPGKKVEWMGYIYSSGTTKYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARGDWHYFDYWGQGTMVAVSS
SEQ ID NO: 7296	9D9-LC	9D9 轻链可变区	SYTLTQPPLVSVALGQKATIICSGENLSDKYVHWYQQKPGRAPVMVIYENDKRPSGIPDQFSGSNSGNIATLTISKAQAGYEADYYCHCWDSTNSAVFGSGTHLTVL
SEQ ID NO: 7297	3A12-HC	3A12 重链可变区	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYHWNWIRQFPGKKLEWMGYIYSSGSTRYNPSLKSRFSITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCTRGNWHYFDYWGQGTLVAVSS
SEQ ID NO: 7296	3A12-LC	3A12 轻链可变区	SYTLTQPPLVSVALGQKATIICSGENLSDKYVHWYQQKPGRAPVMVIYENDKRPSGIPDQFSGSNSGNIATLTISKAQAGYEADYYCHCWDSTNSAVFGSGTHLTVL
SEQ ID NO: 6122	12D10-HC	12D10 重链可变区	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYHWNWIRQFPGKKLEWMGYIYSSGTTRYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYYCTRGNWHYFDYWGQGTLVAVSS
SEQ ID NO: 6136	12D10-LC	12D10 轻链可变区	SYTLTQPPSLSVAPGQKATIICSGENLSDKYVHWYQQKPGRAPVMVIYENEKRPSGIPDQFSGSNSGNIATLTISKAQPGSEADYYCHYWESINSVVFGSGTHLTVL
SEQ ID NO: 7298	15E1-HC	15E1 重链可变区	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLSCSVTGFSITTTGYHWNWIRQFPGKKLEWMGYIYSSGSTSYNPSLKSRFSITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARGDWHYFDYWGPGTMVTVSS
SEQ ID NO: 7299	15E1-LC	15E1 轻链可变区	SFTLTQPPLVSVAVGQVATITCSGEKLSDKYVHWYQQKPGRAPVMVIYENDRRPSGIPDQFSGSNSGNIASLTISKAQAGDEADYFCQFWDSTNSAVFGGGTQLTVL
SEQ ID NO: 7300	15E1_人源化变体_VH1	15E1 重链可变区人源化变体1	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGFSITTTGYHWNWIRQHPGKGLEWIGYIYSSGSTSYNPSLKSLVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGDWHYFDYWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 7301	15E1_人源化变体_VH2	15E1 重链可变区人源化变体2	QIQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAVSGFSITTTGYHWNWIRQAPGKGLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSRFTISRDTAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDWHYFDYWGQGTMVTVSS

[0303]

SEQ ID NO: 7302	15E1_人源化变体_VH3 (BJM0407 VH和BJM0411 VH)	15E1 重链可变区人源化变体3	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTTGYHWN WVRQAPGKGLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSRFTISRD TSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDWHYFDYW GQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 7303	15E1_人源化变体_VH4	15E1 重链可变区人源化变体4	EIQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTTGYHWN WVRQAPGKGLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSRFTISRD TAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDWHYFDYW GQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 7304	15E1_人源化变体_VH5	15E1 重链可变区人源化变体5	QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFSITTTGYHW NWVRQAPGQGLEWMGYIYSSGSTSYNPSLKSRVTMT RDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCARGDWHYFDY WGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 7305	15E1_人源化变体_VL1 (BJM0407 VL)	15E1 轻链可变区人源化变体1	SSETTQPPSVSVSPGQTASITCSGEKLSDKYVHWYQQ KPGQSPVMVIYENDRRPSGIPERFSGSNSGNTATLTIS GTQAMDEADYFCQFWDSTNSAVFGGGTQLTVL
SEQ ID NO: 7306	15E1_人源化变体_VL2	15E1 轻链可变区人源化变体2	SSETTQPHSVSVATAQMARITCSGEKLSDKYVHWYQ QKPGQDPVMVIYENDRRPSGIPERFSGSNPGNTATLTI SRIEAGDEADYFCQFWDSTNSAVFGGGTQLTVL
SEQ ID NO: 7307	15E1_人源化变体_VL3	15E1 轻链可变区人源化变体3	QSVTTQPPSASGTPGQRVTISCSGEKLSDKYVHWYQQ LPGTAPKMLIYENDRRPSGVPDRFSGSNSGNSASLAIS GLRSEDEADYFCQFWDSTNSAVFGGGTQLTVL
SEQ ID NO: 7308	15E1_人源化变体_VL4	15E1 轻链可变区人源化变体4	QSVTTQPPSVSGAPGQRVTISCSGEKLSDKYVHWYQ QLPGTAPKMLIYENDRRPSGVPDRFSGSNSGNSASLAI TGLQAEDEADYFCQFWDSTNSAVFGGGTQLTVL
SEQ ID NO: 7309	15E1_人源化变体_VL5 (BJM0411 VL)	15E1 轻链可变区人源化变体5	DSVTTQSPLSLPVTLGQPASISCSGEKLSDKYVHWYQ QRPGQSPRMLIYENDRRPSGVPDRFSGSNSGNDATLK ISRVEAEDVGVYFCQFWDSTNSAVFGGGTKVEIK

[0304] 表10.示例性的NKp30靶向抗原结合域/抗体分子

[0305]

SEQ ID NO	Ab ID	说明	序列
SEQ ID NO: 6148	Ch(抗NKp30 9G1)HC N297A	9G1 重链	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYHWN WIRQFPGKKLEWMGYIYSSGSTSYNPSLKSRISITRDT SKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARGNWHYFDFWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLS CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK

[0306]

SEQ ID NO: 6149	Ch(抗NKp30 9G1)HC	9G1 重链	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYHWN WIRQFPGKKLEWMGYIYSSGSTSYNPSLKSRISITRDT SKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARGNWHYFDFWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLS CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6150	Ch(抗NKp30 9G1)LC	9G1 轻链	SYTLTQPPLLSVALGHKATITCSGERLSDKYVHWYQQ KPGRAPVMVIYENDKRPSGIPDQFSGSNSGNIATLTIS KAQAGYEADYYCQSWDSTNSAVFGSGTQLTVLGQP KANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTP EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 6151	Ch(抗NKp30 15H6)HC N297A	15H6 重链	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYHWN WIRQFPGKKLEWMGYIYSSGTTRYNPSLKSRISITRDT SKNQFFLQLNSVTPEDTATYYCTRGNWHYFDYWGQ GTLVAVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLS CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6152	Ch(抗NKp30 15H6)HC (白)	15H6 重链	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYHWN WIRQFPGKKLEWMGYIYSSGTTRYNPSLKSRISITRDT SKNQFFLQLNSVTPEDTATYYCTRGNWHYFDYWGQ GTLVAVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLS CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6153	Ch(抗NKp30 15H6)LC	15H6 轻链	SYTLTQPPSLSVAPGQKATIICSGENLSDKYVHWYQQ KPGRAPVMVIYENEKRPSGIPDQFSGSNSGNIATLTIS KAQPGSEADYYCHYWESINSVVFGSGTHLTVLGQPK ANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVA WKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 7310	BJM0859 λ scFv		EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTTGYHWN WVRQAPGKGLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSRFTISRD TSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDWHYFDYW GQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSSETTQ

[0307]

			PPSVSVSPGQTASITCSGEKLSDKYVHWYQQKPGQSP VMVIYENDRRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD EADYFCQFWDSTNSAVFGGGTQLTVL
SEQ ID NO: 7311	BJM0860 κ scFv		EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTTGYHWN WVRQAPGKGLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSRFTISRD TSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDWHYFDYW GQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDSVTT QSPLSLPVTLGQPASISCSGEKLSDKYVHWYQQRPGQ SPRMLIYENDRRPSGVPDRFSGSNSGNDATLKISRVEA EDVGVYFCQFWDSTNSAVFGGGTKVEIK

[0308] 在一些实施方案中,NK细胞衔接物是与NKp46(例如,NKp46在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域并且包含表15中公开的任何CDR氨基酸序列、构架区(FWR)氨基酸序列或可变区氨基酸序列。在一些实施方案中,NK细胞衔接物的结合,例如,与NKp46结合的抗原结合域与NK细胞的结合激活NK细胞。与NKp46(例如,NKp46在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域可被称为靶向NKp46、NK细胞或两者。

[0309] 在一些实施方案中,NK细胞衔接物是与NKG2D(例如,NKG2D在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域并且包含表15中公开的任何CDR氨基酸序列、构架区(FWR)氨基酸序列或可变区氨基酸序列。在一些实施方案中,NK细胞衔接物的结合,例如,与NKG2D结合的抗原结合域与NK细胞的结合激活NK细胞。与NKG2D(例如,NKG2D在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域可被称为靶向NKG2D、NK细胞或两者。

[0310] 在一些实施方案中,NK细胞衔接物是与CD16(例如,CD16在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域并且包含表15中公开的任何CDR氨基酸序列、构架区(FWR)氨基酸序列或可变区氨基酸序列。在一些实施方案中,NK细胞衔接物的结合,例如,与CD16结合的抗原结合域与NK细胞的结合激活NK细胞。与CD16(例如,CD16在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域可被称为靶向CD16、NK细胞或两者。

[0311] 表15.NKp46、NKG2D或CD16靶向抗原结合域的示例性可变区

[0312]

SEQ ID NO	Ab ID	说明	序列
SEQ ID NO:6175	NKG2D_1scFV	结合 NKG2D 的 scFV	QVHLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSDDSISSYYWSWIR QPPGKGLEWIGHISYSGSANYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCANWDDAFNIWGQGTMV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSL SPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIY GASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYGSSPWTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO:6176	NKG2D_1 VH	结合 NKG2D 的 VH	QVHLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSDDSISSYYWSWIR QPPGKGLEWIGHISYSGSANYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCANWDDAFNIWGQGTMV TVSS
SEQ ID NO:6177	NKG2D_1 VL	结合 NKG2D 的 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO:6178	NKG2D_2scFV	结合 NKG2D 的 scFV	EVQLVQSGAEVKEPGESLKISCKNSGYSFTNYWVGW VRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISAD KSINTAYLQWSSLKASDTAMYYCGRLTMFRGIIIGYF DYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEI VLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSL EPEDFAVYYCQQRSNWPWTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO:6179	NKG2D_2 VH	结合 NKG2D 的 VH	EVQLVQSGAEVKEPGESLKISCKNSGYSFTNYWVGW VRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISAD KSINTAYLQWSSLKASDTAMYYCGRLTMFRGIIIGYF DYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO:6180	NKG2D_2 VL	结合 NKG2D 的 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS LEPEDFAVYYCQQRSNWPWTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO:6181	NKp46scFV	结合 NKp46 的 scFV	QVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYVINW GKQRSGQGLEWIGEIYPGSGTNYYNEKFKAKATLTA DKSSNIAYMQLSSLTSEDSAVYFCARRGRYGLYAMD YWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKP DGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTINNL EQEDIATYFCQQGNTRPWTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO:6182	NKp46VH	结合 NKp46 的 VH	QVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYVINW GKQRSGQGLEWIGEIYPGSGTNYYNEKFKAKATLTA DKSSNIAYMQLSSLTSEDSAVYFCARRGRYGLYAMD YWGQGTSVTVSS
SEQ ID NO:6183	NKp46VL	结合 NKp46 的 VL	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQ QKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTI NNLEQEDIATYFCQQGNTRPWTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO:6184	CD16scFV	结合 CD16 的 scFV	EVQLVESGG GVVRPGGSLR LSCAASGFTF DDYGMSWVRQ APGKGLEWVS GINWNGGSTG YADSVKGRFT ISRDNAKNSL YLQMNSLRAE DTAVYYCARG RSLLFDYWGQ GTLVTVSRGG GGSGGGGSGG GGSSELTQDP AVSVALGQTV RITCQGDSLR SYYASWYQQK PGQAPVLVIY GKNNRPSGIP DRFSGSSSGN TASLTITGAQ AEDEADYYCN SRDSSGNHVV FGGGTKLTVL

[0313]

SEQ ID NO:6185	CD16VH	结合 CD16 的 VH	EVQLVESGG GVVRPGGSLR LSCAASGFTF DDYGMSWVRQ APGKGLEWVS GINWNGGSTG YADSVKGRFT ISRDNAKNSL YLQMNSLRAE DTAVYYCARG RSLLFDYWGQ GTLVTVSR
SEQ ID NO:6186	CD16VL	结合 CD16 的 VL	SSELTQDP AVSVALGQTVRITCQGDSLR SYYASWYQQK PGQAPVLVIY GKNNRPSGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQ AEDEADYYCN SRDSSGNHVV FGGGTKLTVL

[0314] 在一个实施方案中,NK细胞衔接物是NKp30的配体,例如B7-6,例如,包含以下氨基酸序列:

[0315] DLKVEMMAGGTQITPLNDNVTIFCNIFYSQPLNITSMGITWFWKSL

[0316] TFDKEVKVFEFFGDHQEAFRPGAIVSPWRLKSGDASLRLPGIQLEE

[0317] AGEYRCEVVVTPLKAQGTVQLEVVASPASRLLLDQVGMKENEDK

[0318] YMCESSGFYPEAINITWEKQTQKFPHPIEISEDVITGPTIKNMDGTF

[0319] NVTSCLKLNSSQEDPGTVYQCVVRHASLHTPLRSNFTLTAARHSLSETEKTDNFS(SEQ ID NO:7233),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7233的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[0320] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是NKp44或NKp46的配体,即病毒HA。病毒血凝素(HA)是病毒表面的糖蛋白。HA蛋白允许病毒通过唾液酸糖部分与细胞膜结合,唾液酸糖部分有助于病毒膜与细胞膜融合(参见例如,Eur J Immunol.2001年9月;31(9):2680-9“Recognition of viral hemagglutinins by NKp44 but not by NKp30”;以及Nature.2001年2月22日;409(6823):1055-60“Recognition of haemagglutinins on virus-infected cells by NKp46 activates lysis by human NK cells”,其各自的内容均通过引用并入本文)。

[0321] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是选自MICA、MICB或ULBP1的NKG2D配体,例如,其中:

[0322] (i)MICA包含氨基酸序列:

[0323] EPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAKP

[0324] QGQWAEDVLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLH

[0325] SLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETKEWTMPQSSR

[0326] AQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLKSGVV

[0327] LRRTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWNITLSWRQDGVS

[0328] LSHDTQQWGDVLPDGNGTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHW(SEQ ID NO:7234),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7234的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列;(ii)MICB包含氨基酸序列:

[0329] AEPHSLRYNLMVLSQDESVQSGFLAEGHLDGQPFLRYDRQKRRAK

[0330] PQGQWAEDVLGAKTWDTETEDLTENGQDLRRTLTHIKDQKGGLH

[0331] SLQEIRVCEIHEDSSTRGSRHFYYDGELFLSQNLETQESTVPQSSRA

[0332] QTLAMNVTNFWKEDAMKTKTHYRAMQADCLQKLQRYLKSGVAI

[0333] RRTVPPMVNVTCSEVSEGNITVTCRASSFYPRNITLTWRQDGVSLS

[0334] HNTQQWGDVLPDGNGTYQTWVATRIRQGEEQRFTCYMEHSGNHGTHPVPSGKVLVLQSQRTD(SEQ ID NO:7235),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7235的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列;或者(iii)ULBP1包含氨基酸序列:

[0335] GWVDTHCLCYDFIITPKSRPEPQWCEVQGLVDERPFLHYDCVNHK

[0336] AKAFASLGKKVNVTKTWEEQTETLRDVVDFLKGQLLDIQVENLIPI

[0337] EPLTLQARMSCEHEAHGHGRGSWQFLFNGQKFLLFDSNNRKWTA

[0338] LHPGAKKMTEKWEKNRDVTMFFQKISLGDCKMWLEEFLMYWEQMLDPTKPPSLAPG(SEQ ID NO:7236),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7236的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[0339] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是选自NECTIN2或NECL5的DNAM1配体,例如,其中:

[0340] (i)NECTIN2包含氨基酸序列:

[0341] QDVRVQVLPEVRGQLGGTVELPCHLLPPVPGLYISLVTWQRPDAP

[0342] ANHQNVAAFHPKMGPSFPSPKPGSERLSFVSAKQSTGQDTEAELQ

[0343] DATLALHGLTVEDEGNYTCEFATFPKGSVRGMTWLRVIAKPKNQ

[0344] AEAQKVTFSQDPTTVALCISKEGRPPARISWLSSLDWEAKETQVSG

[0345] TLAGTVTVTSRFTLVPSGRADGVTVTCKVEHESFEEPALIPVTLSVR

[0346] YPPEVSISGYDDNWYLGRTDATLSCDVRSNPEPTGYDWSTTSGTFP

[0347] TSAVAQGSQLVIHAVDSLFNTTFVCTVTNAVGMGRAEQVIFVRETPNTAGAGATGG(SEQ ID NO:7237),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7237的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列;或者

[0348] (ii)NECL5包含氨基酸序列:

[0349] WPPPGTGDVVVQAPTQVPGFLGDSVTLPCYLQVPNMEVTHVSQLT

[0350] WARHGESGSMAVFHQTQGPSYSESKRLEFVAARLGAELRNASLR

[0351] MFGLRVEDEGNYTCLFVTFPQGSRSVDIWLRVLAKPQNTAEVQKV

[0352] QLTGEPVPMARCVSTGGRPPAQITWHSDLGGMPNTSQVPGFLSGT

[0353] VTVTSLWILVPSSQVDGKNVTCKVEHESFEKPQLLTVNLTVYYPPE

[0354] VSISGYDNNWYLGQNEATLTCDARSNPEPTGYNWSTTMGPLPPFA

[0355] VAQGAQLLIRPVDKPINTTLICNVTNALGARQAELTVQVKEGPPSEHSGISRN(SEQ ID NO:7238),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7238的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[0356] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是DAP10的配体,该配体是NKG2D的衔接子(参见例如Proc Natl Acad Sci U S A.2005年5月24日;102(21):7641-7646;和Blood,2011年9月15日,第118卷第11期,其各自的全部内容通过引用并入本文。

[0357] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是CD 16的配体,该配体是CD16a/b配体,例如,进一步包含抗体Fc区的CD16a/b配体(参见,例如,Front Immunol.2013;4:76讨论了抗体如何使用Fc通过CD16触发NK细胞,其全部内容并入本文)。

[0358] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是CRTAM的配体,即NECL2,例如其中NECL2包含氨基酸序列:

[0359] QNLFTKDVTVIEGEVATISCQVNKSDDSVIQLLNPNRQTIYFRDFRP

[0360] LKDSRFQLLNFSSSELKVSLTNVSISDEGRYFCQLYTDPPQESYTTIT

[0361] VLVPPRNLMIDIQKDTAVEGEEIEVNCTAMASKPATTIRWFKGNTE

[0362] LKGKSEVEEWSDMYTVTSQLMLKVHKEDDGVPVICQVEHPAVTG

[0363] NLQTQRYLEVQYKPQVHIQMTYPLQGLTREGDALELTCEAIGKPQ

[0364] PVMVTWVRVDDEMPQHAVLSGPNLFINNLNKTDNGTYRCEASNI

[0365] VGKAHSDYMLYVYDPPTTIPPPTTTTTTTTTTTTTILTIITDSRAGEEGSIRAVDH(SEQ ID NO:7239),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7239的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[0366] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是CD27的配体,即CD70,例如,其中CD70包含氨基酸序列:

[0367] QRFAQAQQQLPLESLGWDVAELQLNHTGPQQDPRLYWQGGPALG

[0368] RSFLHGPELDKGQLRIHRDGIYMVHIQVTLAICSSTTASRHHPTTLA

[0369] VGICSPASRSISLLRLSFHQGCTIASQRLTPLARGDTLCTNLTGTLLPSRNTDETFFGVQWVRP(SEQ ID NO:7240),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7240的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[0370] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是PSGL1的配体,即L-选择蛋白(CD62L),例如,其中L-选择蛋白包含氨基酸序列:WTYHYSEKPMNWQRARRFCRDNYTDLVAIQNKAEIEYLEKTLPFSRSYYWIGIRKIGGIWTWVGTNKSLTEEAENWGDGEPNNKKNKEDCVEIYIKRNKDAGKWNDDACHKLKAALCYTASCQPWSCSGHGECVEIINNYTCNCDVGYYGPQCQFVIQCEPLEAPELGTMDCTHPLGNFSFSSQCAFSCSEGTNLTGIEETTCGPFGNWSSPEPTCQVIQCEPLSAPDLGIMNCSHPLASFSFTSACTFICSEGTELIGKKKTICESSGIWSNPSPICQKLDKSFSMIKEGDYN(SEQ ID NO:7241),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7241的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[0371] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是CD96的配体,即NECL5,例如其中NECL5包含氨基酸序列:

[0372] WPPPGTGDVVVQAPTQVPGFLGDSVTLPCYLQVPNMEVTHVSQLT

[0373] WARHGESGSMAVFHQTQGPSYSESKRLEFVAARLGAELRNASLR

[0374] MFGLRVEDEGNYTCLFVTFPQGSRSVDIWLRVLAKPQNTAEVQKV

[0375] QLTGEPVPMARCVSTGGRPPAQITWHSDLGGMPNTSQVPGFLSGT

[0376] VTVTSLWILVPSSQVDGKNVTCKVEHESFEKPQLLTVNLTVYYPPE

[0377] VSISGYDNNWYLGQNEATLTCDARSNPEPTGYNWSTTMGPLPPFA

[0378] VAQGAQLLIRPVDKPINTTLICNVTNALGARQAELTVQVKEGPPSEHSGISRN(SEQ ID NO:7238),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7238的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[0379] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是CD 100(SEMA4D)的配体,即CD72,其中CD72包含氨基酸序列:

[0380] RYLQVSQQLQQTNRVLEVTNSSLRQQLRLKITQLGQSAEDLQGSR

[0381] RELAQSQEALQVEQRAHQAAEGQLQACQADRQKTKETLQSEEQQ

[0382] RRALEQKLSNMENRLKPFFTCGSADTCCPSGWIMHQKSCFYISLTS

[0383] KNWQESQKQCETLSSKLATFSEIYPQSHSYYFLNSLLPNGGSGNSY

[0384] WTGLSSNKDWKLTDDTQRTRTYAQSSKCNKVHKTWSWWTLESESCRSSLPYICEMTAFRFPD(SEQ ID NO:7242),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7242的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[0385] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是NKp80的配体,即CLEC2B(AICL),例如其中CLEC2B(AICL)包含氨基酸序列:KLTRDSQSLCPYDWIGFQNKCYYFSKEEGDWNSSKYNCSTQHADL TII DNIEEMNFLRRYKCSSDHWIGLKMAKNRTGQWVDGATFTKSF GMRGSEGCAYLSDDGAATARCYTERKWICRKRIH (SEQ ID NO:7243),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7243的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[0386] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是CD244的配体,即CD48,例如,其中CD48包含氨基酸序列:

[0387] QGHLVHMTVVSGSNVTLNISESLPENYKQLTWFYTFDQKIVEWDS

[0388] RKSKYFESKFKGRVRLDPQSGALYISKVQKEDNSTYIMRVLKKTG

[0389] NEQEWKIKLQVLDPVPKPVIKIEKIEDMDDNCYLKLSCVIPGESVN

[0390] YTWYGDKRPFPKELQNSVLETTLMPHNYSRCYTCQVSNSVSSKNGTVCLSPPCTLARS(SEQ ID NO:7244),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7244的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[0391] 在一些实施方案中,NK细胞衔接物是病毒血凝素(HA),HA是在流感病毒表面上发现的糖蛋白。它负责使病毒与膜上带有唾液酸的细胞,例如上呼吸道中的细胞或红细胞结合。HA具有至少18种不同的抗原。这些亚型被命名为H1至H18。NCR可以识别病毒蛋白。已经证明NKp46能够与流感的HA和副粘病毒(包括仙台病毒和新城疫病毒)的HA-NA相互作用。除了NKp46,NKp44也可以在功能上与不同流感亚型的HA相互作用。

[0392] 抗体分子

[0393] 在一个实施方案中,抗NKp30抗体分子是单特异性抗体分子,并结合NKp30上的单个表位。例如,单特异性抗体分子具有多个免疫球蛋白可变域序列,每个序列结合相同的表位。

[0394] 在另一个实施方案中,抗NKp30抗体分子是多特异性或多功能抗体分子,例如,其包含多个免疫球蛋白可变域序列,其中所述多个中的第一免疫球蛋白可变域序列对第一表位具有结合特异性,而所述多个中的第二免疫球蛋白可变域序列对第二表位具有结合特异性。在一个实施方案中,第一表位和第二表位在相同的抗原上,例如相同的蛋白质(或多聚体蛋白质的亚基)上。在一个实施方案中,第一和第二表位重叠。在一个实施方案中,第一和第二表位不重叠。在一个实施方案中,第一表位和第二表位在不同的抗原上,例如,不同的蛋白质(或多聚体蛋白质的不同亚基)上。在一个实施方案中,多特异性抗体分子包含第三、

第四或第五免疫球蛋白可变域。在一个实施方案中,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。

[0395] 在一个实施方案中,多特异性抗体分子是双特异性抗体分子。双特异性抗体对不超过两种抗原具有特异性。双特异性抗体分子的特征在于对第一表位具有结合特异性的第一免疫球蛋白可变域序列和对第二表位具有结合特异性的第二免疫球蛋白可变域序列。在一个实施方案中,第一表位和第二表位在相同的抗原上,例如相同的蛋白质(或多聚体蛋白质的亚基)上。在一个实施方案中,第一和第二表位重叠。在一个实施方案中,第一和第二表位不重叠。在一个实施方案中,第一表位和第二表位在不同的抗原上,例如,不同的蛋白质(或多聚体蛋白质的不同亚基)上。在一个实施方案中,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域序列和轻链可变域序列以及对第二表位具有结合特异性的重链可变域序列和轻链可变域序列。在一个实施方案中,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。在一个实施方案中,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和对第二表位具有结合特异性的半抗体或其片段。在一个实施方案中,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Fab或其片段,以及对第二表位具有结合特异性的scFv或Fab或其片段。

[0396] 在一个实施方案中,抗体分子包含双抗体、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,抗体分子可以包括重(H)链可变域序列(在本文中缩写为VH))和轻(L)链可变域序列(在本文中缩写为VL)。在一个实施方案中,抗体分子包含重链和轻链或由其组成(在本文中称为半抗体)。在另一个实例中,抗体分子包括两个重(H)链可变域序列和两个轻(L)链可变域序列,从而形成两个抗原结合位点,例如Fab、Fab'、F(ab')$_2$、Fc、Fd、Fd'、Fv、单链抗体(例如scFv)、单可变域抗体、双抗体(Dab)(双价和双特异性)和嵌合(例如人源化)抗体,它们可以通过修饰完整抗体而产生或使用重组DNA技术从头合成。这些功能性抗体片段保留与它们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种类的抗体,包括但不限于IgG、IgA、IgM、IgD和IgE,以及来自抗体的任何亚类(例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)。抗体分子的制剂可以是单克隆的或多克隆的。抗体分子也可以是人的、人源化的、CDR移植的或体外产生的抗体。抗体可以具有选自例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的重链恒定区。抗体还可具有选自例如κ或λ的轻链。术语"免疫球蛋白"(Ig)在本文中可以与术语"抗体"互换使用。

[0397] 抗体分子的抗原结合片段的实例包括:(i)Fab片段,一种由VL、VH、CL和CH1结构域组成的单价片段;(ii)F(ab')2片段,一种包含两个在铰链区通过二硫键连接的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)骆驼或骆驼化可变域;(vii)单链Fv(scFv),参见例如Bird等人,(1988)Science 242:423-426;和Huston等人,(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883);(viii)单域抗体。使用本领域技术人员已知的常规技术获得这些抗体片段,并以与完整抗体相同的方式筛选片段的效用。

[0398] 抗体分子包括完整分子及其功能片段。抗体分子的恒定区可以被改变,例如突变,以修饰抗体的性质(例如,增加或减少以下一项或多项: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)。

[0399] 抗体分子也可以是单域抗体。单域抗体可以包括其互补决定区是单域多肽的一部分的抗体。实例包括但不限于重链抗体、天然不含轻链的抗体、衍生自常规4链抗体的单域抗体、工程化的抗体和并非衍生自抗体的单域支架。单域抗体可以是任何本领域的单域抗体,或任何未来的单域抗体。单域抗体可衍生自任何物种,包括但不限于小鼠、人类、骆驼、美洲驼羊、鱼、鲨鱼、山羊、兔和牛。根据本发明的另一个方面,单域抗体是天然存在的单域抗体,称为缺乏轻链的重链抗体。例如在WO 9404678中公开了这种单域抗体。为了清楚起见,这种源自天然缺乏轻链的重链抗体的可变域在本文中被称为VHH或纳米抗体,以使其与四链免疫球蛋白的常规VH区分开。这样的VHH分子可以源自在骆驼科物种(例如骆驼、美洲驼羊、单峰骆驼、羊驼和原驼)中产生的抗体。除骆驼科外,其他物种也可能产生天然缺乏轻链的重链抗体;这样的VHH在本发明的范围内。

[0400] VH和VL区可以细分为高变区,称为“互补决定区”(CDR),其间散布着更为保守的区,称为“构架区”(FR或FW)。

[0401] 构架区和CDR的范围已通过多种方法精确地定义(参见Kabat、E.A.,等人,(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH PublicationNo.91-3242;Chothia,C.等人,(1987)J.Mol.Biol.196:901-917;和Oxford Molecular的AbM建模软件使用的AbM定义。通常参见,例如,抗体可变域的蛋白质序列和结构分析(Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains)。载于《抗体工程实验室手册(Antibody Engineering Lab Manual)》(编辑:Duebel,S.和Kontermann,R.,Springer-Verlag,Heidelberg)。

[0402] 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。通常,每个重链可变区中有三个CDR(HCDR1、HCDR2、HCDR3),每个轻链可变区中有三个CDR(LCDR1、LCDR2、LCDR3)。

[0403] 可以使用多种已知方案中的任何一种来确定给定CDR的精确氨基酸序列边界,包括Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”第5版,美国国立卫生研究院公共卫生局(Public Health Service,National Institutes of Health),Bethesda,MD(“Kabat”编号方案);Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948(“Chothia”编号方案)描述的方案。如本文所用,根据“Chothia”编号方案定义的CDR有时也称为“高变环”。

[0404] 例如,在Kabat下,重链可变域(VH)中的CDR氨基酸残基编号为31-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3);而轻链可变域(VL)中的CDR氨基酸残基编号为24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)。在Chothia下,VH中的CDR氨基酸编号为26-32(HCDR1)、52-56(HCDR2)和95-102(HCDR3);而VL中的氨基酸残基编号为26-32(LCDR1)、50-52(LCDR2)和91-96(LCDR3)。

[0405] 每个VH和VL通常包括三个CDR和四个FR,它们按以下顺序从氨基末端到羧基末端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

[0406] 抗体分子可以是多克隆或单克隆抗体。

[0407] 如本文所用,术语“单克隆抗体”或“单克隆抗体组合物”是指单一分子组成的抗体分子的制剂。单克隆抗体组合物显示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。

[0408] 抗体可以重组产生,例如通过噬菌体展示或通过组合方法产生。

[0409] 用于产生抗体的噬菌体展示和组合方法在本领域中是已知的(如在例如Ladner等人,美国专利号5,223,409;Kang等人,国际公开号WO 92/18619;Dower等人,国际公开号WO 91/17271;Winter等人,国际公开号WO 92/20791;Markland等人,国际公开号WO 92/15679;Breitling等人,国际公开号WO 93/01288;McCafferty等人,国际公开号WO 92/01047;Garrard等人,国际公开号WO 92/09690;Ladner等人,国际公开号WO 90/02809;Fuchs等人,(1991)Bio/Technology 9:1370-1372;Hay等人,(1992)Hum Antibod Hybridomas3:81-85;Huse等人,(1989)Science 246:1275-1281;Griffths等人,(1993)EMBO J 12:725-734;Hawkins等人,(1992)J Mol Biol 226:889-896;Clackson等人,(1991)Nature 352:624-628;Gram等人,(1992)PNAS 89:3576-3580;Garrad等人,(1991)Bio/Technology 9:1373-1377;Hoogenboom等人,(1991)Nuc Acid Res 19:4133-4137;以及Barbas等人,(1991)PNAS 88:7978-7982中所述,其全部内容通过引用并入本文)。

[0410] 在一个实施方案中,抗体是完全人抗体(例如,在已被基因工程化以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)、骆驼的抗体。优选地,非人抗体是啮齿动物抗体(小鼠或大鼠抗体)。产生啮齿动物抗体的方法是本领域已知的。

[0411] 可以使用携带人免疫球蛋白基因而非小鼠系统的转基因小鼠来产生人单克隆抗体。该杂交瘤分泌对人蛋白质的表位具有特定亲和力的人mAb(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 368:856-859;Green,L.L.等人,1994Nature Genet.7:13-21;Morrison,S.L.等人,1994Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851-6855;Bruggeman等人,1993Year Immunol 7:33-40;Tuaillon等人,1993PNAS 90:3720-3724;Bruggeman等人,1991Eur J Immunol 21:1323-1326)。

[0412] 抗体分子可以是在非人类生物体例如大鼠或小鼠中产生可变区或其一部分例如CDR的抗体分子。嵌合的、CDR移植的和人源化的抗体在本发明之内。在非人类生物体例如大鼠或小鼠中产生,然后例如在可变构架或恒定区中修饰以降低在人中的抗原性的抗体分子在本发明之内。

[0413] “有效人”蛋白是基本上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,如果反复施用抗体分子,例如用于治疗慢性或复发性疾病,HAMA可能会成问题。由于从血清中清除的抗体增加(参见例如Saleh等人,Cancer Immunol.Immunother.,32:180-190(1990)),并且还由于潜在的变态反应(参见,例如LoBuglio等人,Hybridoma,5:5117-5123(1986)),HAMA应答可能会使重复的抗体给药无效。

[0414] 嵌合抗体可以通过本领域已知的重组DNA技术来产生(参见Robinson等人,国际专利公开号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 240:1041-1043);Liu等人,(1987)PNAS 84:3439-3443;Liu等人,1987,J.Immunol.139:3521-3526;Sun等人,(1987)PNAS 84:214-218;Nishimura等人,1987,

Canc.Res.47:999-1005;Wood等人,(1985)Nature 314:446-449;和Shaw等人,1988,J.Natl Cancer Inst.80:1553-1559)。

[0415] 人源化或CDR移植的抗体将有(免疫球蛋白重链和/或轻链的)至少一个或两个,但通常所有三个受体CDR被供体CDR置换。抗体可以被非人CDR的至少一部分置换,或者仅一些CDR可以被非人CDR置换。仅需要替换与抗原结合所需的CDR数目。优选地,供体将是啮齿动物抗体,例如大鼠或小鼠抗体,而受体将是人构架或人共有构架。通常,提供CDR的免疫球蛋白称为"供体",而提供构架的免疫球蛋白称为"受体"。在一个实施方案中,供体免疫球蛋白是非人的(例如啮齿动物)。受体构架是天然存在的(例如人)构架或共有构架,或与其具有约85%或更高,优选90%、95%、99%或更高的同一性的序列。

[0416] 如本文所用,术语"共有序列"是指在相关序列家族中由最频繁出现的氨基酸(或核苷酸)形成的序列(参见例如Winnaker,From Genes to Clones(Verlagsgesellschaft,Weinheim,Germany 1987)。在蛋白质家族中,共有序列中的每个位置都被该家族中该位置最频繁出现的氨基酸占据。如果两个氨基酸频率均等地出现,则任何一个都可以包括在共有序列中。"共有构架"是指共有免疫球蛋白序列中的构架区。

[0417] 抗体分子可以通过本领域已知的方法人源化(参见例如Morrison,S.L.,1985,Science 229:1202-1207;Oi等人,1986,BioTechniques 4:214以及Queen等人,US 5,585,089、US 5,693,761和US 5,693,762,其全部内容通过引用并入本文)。

[0418] 人源化或CDR移植的抗体分子可以通过CDR移植或CDR置换来产生,其中免疫球蛋白链的一个、两个或全部CDR可以被置换。参见,例如,美国专利5,225,539;Jones等人,1986Nature 321:552-525;Verhoeyan等人,1988Science 239:1534;Beidler等人,1988J.Immunol.141:4053-4060;Winter US 5,225,539,其全部内容通过引用明确并入本文。Winter描述了可用于制备本发明的人源化抗体的CDR移植方法(1987年3月26日提交的英国专利申请GB 2188638A;Winter US 5,225,539),其内容通过引用明确并入本文。

[0419] 人源化抗体分子也在本发明的范围内,其中已置换、删除或添加特定氨基酸。从供体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,例如,US 5,585,089的第12-16栏中,其内容通过引用并入本文。用于使抗体人源化的其他技术描述于1992年12月23日公开的Padlan等人,EP 519596A1。

[0420] 抗体分子可以是单链抗体。可以对单链抗体(scFV)进行工程化(例如,参见Colcher,D.等人,(1999)Ann N Y Acad Sci 880:263-80;以及Reiter,Y.(1996)Clin Cancer Res 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。

[0421] 在其他实施方案中,抗体分子具有重链恒定区,所述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;特别地选自例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的(例如,人的)重链恒定区。在另一个实施方案中,抗体分子具有选自例如κ或λ的(例如,人的)轻链恒定区的轻链恒定区。恒定区可以被改变,例如突变,以修饰抗体的性质(例如,增加或减少以下一项或多项: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)。在一个实施方案中,该抗体具有:效应子功能;并可以修复补体。在其他实施方案中,抗体不会:募集效应细胞;或修复补体。在另一个实施方案中,抗体具有降低的结合Fc受体的能力或没有结合Fc受体的能力。例如,它是不支持与Fc受体的结合的同

种型或亚型、片段或其他突变体,例如,其具有诱变或缺失的Fc受体结合区。

[0422] 改变抗体恒定区的方法是本领域已知的。功能改变(例如对效应子配体(例如细胞上的FcR或补体的C1成分)的亲和力改变)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来产生(参见例如EP 388,151A1,美国专利号5,624,821和美国专利号5,648,260,其全部内容通过引用并入本文)。可以描述相似类型的改变,如果其应用于鼠或其他物种,免疫球蛋白将减少或消除这些功能。

[0423] 抗体分子可以被衍生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一种抗体分子。衍生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,抗体分子可以被功能性地连接(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)、可检测试剂、细胞毒剂、药物试剂,和/或可介导抗体或抗体部分与另一种分子结合的蛋白质或肽(例如链霉亲和素核心区或多组氨酸标签)。

[0424] 一种类型的衍生抗体分子是通过交联两种或更多种抗体(相同或不同类型,例如以产生双特异性抗体)而产生的。合适的交联剂包括异双功能的交联剂,具有两个被适当的间隔基隔开的不同的反应性基团(例如,间马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯),或同双功能的交联剂(例如,辛二酸二琥珀酰亚胺酯)。此类接头可从Pierce Chemical Company,Rockford,Ill获得。

[0425] 多特异性或多功能抗体分子

[0426] 全文描述了本文定义的多特异性和多功能分子的示例性结构。在以下文献中进一步描述了示例性结构:Weidle U等人,(2013)The Intriguing Options of Multispecific Antibody Formats for Treatment of Cancer,Cancer Genomics&Proteomics 10:1-18(2013);以及Spiess C等人(2015)Alternative molecular formats and therapeutic applications for bispecific antibodies,Molecular Immunology 67:95-106;其全部内容通过引用并入本文。

[0427] 在实施方案中,多特异性抗体分子可包含超过一个的抗原结合位点,其中不同的位点对不同的抗原具有特异性。在实施方案中,多特异性抗体分子可以结合同一抗原上的超过一个(例如,两个或更多个)的表位。在实施方案中,多特异性抗体分子包含对靶细胞(例如癌细胞)具有特异性的抗原结合位点和对免疫效应细胞具有特异性的不同抗原结合位点。在一个实施方案中,多特异性抗体分子是双特异性抗体分子。双特异性抗体分子可分为五个不同的结构组:(i)双特异性免疫球蛋白G(BsIgG);(ii)附加有额外的抗原结合部分的IgG;(iii)双特异性抗体片段;(iv)双特异性融合蛋白;以及(v)双特异性抗体缀合物。

[0428] BsIgG是对每种抗原为单价的形式。示例性的BsIgG形式包括但不限于crossMab、DAF(二合一)、DAF(四合一)、DutaMab、DT-IgG、杵臼结构的常见LC、杵臼结构组装体、电荷对、Fab臂交换、SEEDbody、triomab、LUZ-Y、Fcab、κλ抗体、正交Fab。参见Spiess等人,Mol.Immunol.67(2015):95-106。示例性的BsIgG包括卡妥索单抗(catumaxomab)(Fresenius Biotech,Trion Pharma,Neopharm),其包含抗CD3臂和抗EpCAM臂;以及厄马索单抗(ertumaxomab)(Neovii Biotech,Fresenius Biotech),其靶向CD3和HER2。在一些实

施方案中,BsIgG包含经工程化用于异源二聚化的重链。例如,可以使用“杵臼结构”策略、SEED平台、常见的重链(例如,在kλ抗体中)和使用异源二聚体Fc区来将重链工程化以进行异源二聚化。参见Spiess等人,Mol.Immunol.67(2015):95-106。用来避免BsIgG中同源二聚体的重链配对的策略包括杵臼结构、Duobody、azymetric、电荷对、HA-TF、SEEDbody和差异A蛋白亲和力。参见前一文献。BsIgG可以通过在不同宿主细胞中分别表达组分抗体并随后纯化/组装成BsIgG来产生。BsIgG也可以通过在单个宿主细胞中表达组分抗体来产生。可以使用亲和色谱法纯化BsIgG,例如使用A蛋白和连续的pH洗脱。

[0429] 附加有额外的抗原结合部分的IgG是双特异性抗体分子的另一种形式。例如,可以通过在单特异性IgG上(例如在重链或轻链的N-末端或C-末端)附加额外的抗原结合单元,将单特异性IgG工程化为具有双特异性。示例性的额外的抗原结合单元包括单域抗体(例如,可变重链或可变轻链)、工程化的蛋白支架和成对的抗体可变域(例如,单链可变片段或可变片段)。参见前一文献。附加的IgG形式的实例包括双可变域IgG(DVD-Ig)、IgG(H)-scFv、scFv-(H)IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L)IgG、IgG(L,H)-Fv、IgG(H)-V、V(H)-IgG、IgG(L)-V、V(L)-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、scFv4-Ig、zybody和DVI-IgG(四合一)。参见Spiess等人,Mol.Immunol.67(2015):95-106。IgG-scFv的实例是MM-141(Merrimack Pharmaceuticals),其结合IGF-1R和HER3。DVD-Ig的实例包括结合IL-1α和IL-1β的ABT-981(AbbVie);以及结合TNF和IL-17A的ABT-122(AbbVie)。

[0430] 双特异性抗体片段(BsAb)是缺乏一些或全部抗体恒定域的双特异性抗体分子的形式。例如,一些BsAb缺乏Fc区。在实施方案中,双特异性抗体片段包括通过肽接头连接的重链和轻链区,所述肽接头允许BsAb在单个宿主细胞中有效表达。示例性的双特异性抗体片段包括但不限于纳米抗体、纳米抗体-HAS、BiTE、双抗体、DART、TandAb、sc双抗体、sc双抗体-CH3、双抗体-CH3、三抗体(triple body)、微抗体、微体、TriBi微体、scFv-CH3 KIH、Fab-scFv、scFv-CH-CL-scFv、F(ab')2、F(ab')2-scFv2、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc、四价HCAb、sc双抗体-Fc、双抗体-Fc、串联scFv-Fc和细胞内抗体。参见前一文献。例如,BiTE形式包括串联scFv,其中组分scFv与T细胞上的CD3和癌细胞上的表面抗原结合。

[0431] 双特异性融合蛋白包括与其他蛋白连接的抗体片段,例如,以增加额外的特异性和/或功能。双特异性融合蛋白的一个实例是immTAC,其包含与识别HLA呈递肽的亲和力成熟的T细胞受体连接的抗CD3 scFv。在实施方案中,对接锁定(dock-and-lock,DNL)方法可用于产生具有更高价态的双特异性抗体分子。而且,与白蛋白结合蛋白或人血清白蛋白的融合体可以延长抗体片段的血清半衰期。参见前一文献。

[0432] 在实施方案中,化学缀合,例如抗体和/或抗体片段的化学缀合,可用于产生BsAb分子。参见前一文献。示例性的双特异性抗体缀合物包括CovX体形式,其中低分子量药物在每个Fab臂或抗体或其片段中位点特异性地缀合至单个反应性赖氨酸。在实施方案中,缀合改善了低分子量药物的血清半衰期。示例性的CovX体是CVX-241(NCT01004822),其包含缀合至两个抑制VEGF或Ang2的短肽的抗体。参见前一文献。

[0433] 可以通过在宿主系统中重组表达例如至少一种或多种组分来产生抗体分子。示例性的宿主系统包括真核细胞(例如哺乳动物细胞,例如CHO细胞,或昆虫细胞,例如SF9或S2细胞)和原核细胞(例如,大肠杆菌)。双特异性抗体分子可以通过组分在不同宿主细胞中的单独表达以及随后的纯化/组装来产生。或者,可以通过在单个宿主细胞中表达组分来产生

抗体分子。双特异性抗体分子的纯化可以通过各种方法进行,例如亲和色谱法,例如,使用A蛋白和连续的pH洗脱。在其他实施方案中,亲和标签可以用于纯化,例如含组氨酸的标签、myc标签或链霉亲和素标签。

[0434] CDR移植的支架

[0435] 在实施方案中,抗体分子是CDR移植的支架结构域。在实施方案中,支架结构域基于纤连蛋白结构域,例如纤连蛋白III型结构域。纤连蛋白III型(Fn3)结构域的整体折叠与最小的功能性抗体片段(抗体重链的可变域)的折叠紧密相关。Fn3的末尾有三个环;BC、DE和FG环的位置大致对应于抗体的VH结构域的CDR1、2和3的位置。Fn3没有二硫键;因此,与抗体及其片段不同,Fn3在还原条件下是稳定的(参见,例如,WO 98/56915;WO 01/64942;WO 00/34784)。可以修饰(例如,使用本文所述的CDR或高变环)或改变Fn3结构域,例如,以选择与本文所述的抗原/标志物/细胞结合的结构域。

[0436] 在实施方案中,支架结构域,例如折叠结构域,是基于抗体,例如通过从单克隆抗体的重链可变域中删除三条β链而产生的"微抗体"支架(参见,例如,Tramontano等人,1994,J Mol.Recognit.7:9;和Martin等人,1994,EMBO J.13:5303-5309)。"微抗体"可用于呈现两个高变环。在实施方案中,支架结构域是V样结构域(参见,例如,Coia等人,WO 99/45110)或是衍生自tendamistatin的结构域,tendamistatin是由两个二硫键保持在一起的74残基的六链β片层夹心结构(例如参见McConnell和Hoess,1995,J Mol.Biol.250:460)。例如,可以修饰或改变(例如,使用CDR或高变环)tendamistatin的环,例如以选择与本文所述的标志物/抗原/细胞结合的结构域。另一个示例性的支架结构域是衍生自CTLA-4的胞外域的β-夹心结构(参见,例如,WO 00/60070)。

[0437] 其他示例性的支架结构域包括但不限于T细胞受体;MHC蛋白;胞外域(例如纤连蛋白III型重复序列,EGF重复序列);蛋白酶抑制剂(例如Kunitz结构域、大肠杆菌素、BPTI等);TPR重复序列;三叶(trifoil)结构;锌指结构域;DNA结合蛋白;特别是单体DNA结合蛋白;RNA结合蛋白;酶,例如蛋白酶(特别是灭活的蛋白酶),RNA酶;蛋白伴侣分子,例如硫氧还蛋白和热休克蛋白;以及细胞内信号传导域(例如SH2和SH3结构域)。参见,例如,US20040009530和US 7,501,121,其通过引用并入本文。

[0438] 在实施方案中,例如通过以下标准中的一个或多个来评估和选择支架结构域:(1)氨基酸序列,(2)几个同源结构域的序列,(3)3维结构,和/或(4)在pH、温度、盐度、有机溶剂、氧化剂浓度范围内的稳定性数据。在实施方案中,支架结构域是小的、稳定的蛋白质结构域,例如少于100、70、50、40或30个氨基酸的蛋白质。该结构域可以包括一个或多个二硫键或可以螯合金属,例如锌。

[0439] 基于抗体的融合体

[0440] 可以产生包含附着于抗体N或C末端的另外结合实体的多种形式。这些具有单链或二硫键稳定化的Fv或Fab的融合体导致产生对每种抗原具有二价结合特异性的四价分子。scFv和scFab与IgG的结合可产生可识别三种或更多种不同抗原的分子。

[0441] 抗体-Fab融合体

[0442] 抗体-Fab融合体是双特异性抗体,其包含与抗体重链的C末端融合的针对第一靶标的传统抗体和针对第二靶标的Fab。通常,抗体和Fab将具有共同的轻链。抗体融合体可以通过以下方式产生:(1)将靶标融合体的DNA序列工程化,以及(2)将靶标DNA转染到合适的

宿主细胞中以表达融合蛋白。如Coloma,J.等人(1997)Nature Biotech 15:159所述,似乎抗体-scFv融合体可以通过CH3结构域的C末端与scFv的N末端之间的(Gly)-Ser接头连接。

[0443] 抗体-scFv融合体

[0444] 抗体-scFv融合体是双特异性抗体,其包含与抗体重链的C末端融合的传统抗体和具有独特特异性的scFv。scFv可以直接通过scFv重链或通过接头肽融合至C末端。抗体融合体可以通过以下方式产生:(1)将靶标融合体的DNA序列工程化,以及(2)将靶标DNA转染到合适的宿主细胞中以表达融合蛋白。如Coloma,J.等人(1997)Nature Biotech 15:159所述,似乎抗体-scFv融合体可以通过CH3结构域的C末端与scFv的N末端之间的(Gly)-Ser接头连接。

[0445] 可变域免疫球蛋白DVD

[0446] 一种相关的形式是双重可变域免疫球蛋白(DVD),其通过较短的接头序列由在V结构域N末端的第二个特异性位置的VH和VL结构域组成。

[0447] 其他示例性的多特异性抗体形式包括,例如在以下专利中描述的那些:US20160114057A1、US20130243775A1、US20140051833、US20130022601、US20150017187A1、US20120201746A1、US20150133638A1、US20130266568A1、US20160145340A1、WO2015127158A1、US20150203591A1、US20140322221A1、US20130303396A1、US20110293613、US20130017200A1、US20160102135A1、WO2015197598A2、WO2015197582A1、US9359437、US20150018529、WO2016115274A1、WO2016087416A1、US20080069820A1、US9145588B、US7919257和US20150232560A1。采用完整抗体-Fab/scFab形式的示例性的多特异性分子包括在以下专利中描述的那些:US9382323B2、US20140072581A1、US20140308285A1、US20130165638A1、US20130267686A1、US20140377269A1、US7741446B2和WO1995009917A1。采用结构域交换形式的示例性的多特异性分子包括在以下专利中描述的那些:US20150315296A1、WO2016087650A1、US20160075785A1、WO2016016299A1、US20160130347A1、US20150166670、US8703132B2、US20100316645、US8227577B2、US20130078249。

[0448] 含Fc的实体(微抗体)

[0449] 含Fc的实体(也称为微抗体)可以通过将scFv与恒定重链结构域3的C末端(CH3-scFv)和/或与具有不同特异性的抗体的铰链区(scFv-铰链-Fc)融合而产生。也可以制备具有与IgG的CH3结构域的C末端融合的二硫键稳定化的可变域(无肽接头)的三价实体。

[0450] 含Fc的多特异性分子

[0451] 在一些实施方案中,本文公开的多特异性分子包括免疫球蛋白恒定区(例如,Fc区)。示例性的Fc区可以选自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的重链恒定区;更特别地,人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的重链恒定区。

[0452] 在一些实施方案中,免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)被改变,例如突变,以增加或减少以下一项或多项: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。

[0453] 在其他实施方案中,第一免疫球蛋白链恒定区和第二免疫球蛋白链恒定区(例如,第一Fc区和第二Fc区)的界面被改变(例如使其突变),以例如相对于非工程化界面(例如天然存在的界面)增加或减少二聚化。例如,免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)的二聚化可以

通过为第一Fc区和第二Fc区的Fc界面提供以下一种或多种来增强:成对的突起-腔(“杵臼结构”)、静电相互作用或链交换,以使得例如相对于非工程化界面,异源多聚体与同源多聚体的比例更大。

[0454] 在一些实施方案中,多特异性分子包括在选自例如人IgG1的Fc区的347、349、350、351、366、368、370、392、394、395、397、398、399、405、407或409的一个或多个中的位置的成对的氨基酸置换。例如,免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)可以包括选自以下的成对的氨基酸置换:T366S、L368A或Y407V(例如,对应于腔或臼)和T366W(例如,对应于突起或杵)。

[0455] 在其他实施方案中,多功能分子包括半衰期延长剂,例如人血清白蛋白,或针对人血清白蛋白的抗体分子。

[0456] 异源二聚化的抗体分子及其制备方法

[0457] 已经公开了产生多特异性抗体的各种方法来解决不正确的重链配对的问题。示例性方法描述如下。示例性的多特异性抗体形式和制备所述多特异性抗体的方法也公开于例如Speiss等人,Molecular Immunology 67(2015)95-106;和Klein等人,mAbs 4:6,653-663;2012年11月/12月中;其每一个的全部内容通过引用并入本文。

[0458] 异源二聚化的双特异性抗体基于天然IgG结构,其中两个结合臂识别不同的抗原。通过强制重链异源二聚化,并结合将轻链(例如共有轻链)错配最小化的技术,来产生能够实现确定的单价(和同时的)抗原结合的IgG衍生形式。强制重链异源二聚化可以使用例如杵-臼结构或链交换工程化结构域(SEED)获得。

[0459] 杵臼结构

[0460] 杵臼结构在US 5,731,116、US 7,476,724和Ridgway,J.等人(1996)Prot.Engineering 9(7):617-621中描述,一般说来涉及:(1)使一种或两种抗体的CH3结构域突变以促进异源二聚化;和(2)在促进异源二聚化的条件下将突变的抗体组合。“杵”或“突起”通常是通过将亲本抗体中的小氨基酸替换为较大的氨基酸(例如T366Y或T366W)来生成的;“臼”或“腔”是通过将亲本抗体中的较大残基替换为较小氨基酸(例如,Y407T、T366S、L368A和/或Y407V)来生成的。

[0461] 对于包括Fc结构域的双特异性抗体,可以利用将特定突变引入重链的恒定区来促进Fc部分的正确异源二聚化。在Klein等人,(mAbs(2012)4:6,1-11)中综述了几种这样的技术,其内容通过引用整体并入本文。这些技术包括“杵臼结构”(KiH)法,该方法涉及将庞大的残基引入一条抗体重链的一个CH3结构域中。该庞大的残基配合到配对重链的另一个CH3结构域中的互补“臼”中,从而促进重链的正确配对(参见,例如,US7642228)。

[0462] 示例性的KiH突变包括“杵”重链中的S354C、T366W和“臼”重链中的Y349C、T366S、L368A、Y407V。表1提供了其他示例性的KiH突变,以及另外的可选的稳定化Fc半胱氨酸突变。

[0463] 表1.示例性的Fc KiH突变和可选的半胱氨酸突变

[0464]

位置	杵突变	臼突变
T366	T366W	T366S
L368	-	L368A
Y407	-	Y407V
另外的半胱氨酸突变，用于形成稳定的二硫桥		
位置	**杵 CH3**	**臼 CH3**
S354	S354C	-
Y349	-	Y349C

[0465] Igawa和Tsunoda提供了其他Fc突变,他们确定了一条链的CH3结构域中的3个带负电荷的残基,其与另一条链的CH3结构域中的3个带正电荷的残基配对。这些特定的带电荷残基对为:E356-K439、E357-K370、D399-K409,反之亦然。通过单独地或与新发现的二硫桥结合地在链A中引入以下三个突变中的至少两个:E356K、E357K和D399K,以及在链B中引入以下三个突变中的至少两个:K370E、K409D、K439E,能够促进非常有效的异源二聚化,同时抑制同源二聚化(Martens T等人,A novel one-armed antic-Met antibody inhibits glioblastoma growth in vivo.Clin Cancer Res 2006;12:6144-52;PMID:17062691)。Xencor基于结构计算和序列信息的组合定义了41个变体对,随后筛选了最大异源二聚化,定义了链A上的S364H、F405A(HA)和链B上的Y349T、T394F(TF)的组合(Moore GL等人,A novel bispecific antibody format enables simultaneous bivalent and monovalent co-engagement of distinct target antigens.MAbs 2011;3:546-57;PMID:22123055)。

[0466] 促进多特异性抗体异源二聚化的其他示例性的Fc突变包括在以下参考文献中描述的那些,其各自内容通过引用并入本文:WO2016071377A1、US20140079689A1、US20160194389A1、US20160257763、WO2016071376A2、WO2015107026A1、WO2015107025A1、WO2015107015A1、US20150353636A1、US20140199294A1、US7750128B2、US20160229915A1、US20150344570A1、US8003774A1、US20150337049A1、US20150175707A1、US20140242075A1、US20130195849A1、US20120149876A1、US20140200331A1、US9309311B2、US8586713、US20140037621A1、US20130178605A1、US20140363426A1、US20140051835A1和US20110054151A1。

[0467] 稳定化半胱氨酸突变也已经与KiH和其他促进Fc异源二聚化的变体组合使用,参见例如US7183076。其他示例性半胱氨酸修饰包括,例如在US20140348839A1、US7855275B2和US9000130B2公开的那些。

[0468] 链交换工程化结构域(SEED)

[0469] 通过设计链交换工程化结构域(SEED)C(H)3异源二聚体来支持双特异性和不对称融合蛋白设计的异源二聚体Fc平台是已知的。人IgG和IgA C(H)3结构域的这些衍生物可形成互补的人SEED C(H)3异源二聚体,其由人IgA和IgG C(H)3序列的交替区段组成。当在哺乳动物细胞中表达时,所得的一对SEED C(H)3结构域优先缔合形成异源二聚体。SEEDbody(Sb)融合蛋白由[IgG1铰链]-C(H)2-[SEED C(H)3]组成,可以与一个或多个融合伴侣遗传

连接(例如,参见Davis JH等人,SEEDbodies:fusion proteins based on strand exchange engineered domain(SEED)CH3 heterodimers in an Fc analogue platform for asymmetric binders or immunofusions and bispecific antibodies,Protein Eng Des Sel 2010;23:195-202;PMID:20299542和US8871912。其每一个的内容通过引用并入本文)。

[0470] Duobody

[0471] 产生具有正确重链配对的双特异性抗体的"Duobody"技术是已知的。DuoBody技术涉及三个基本步骤,用于在生产后的交换反应中生成稳定的双特异性人IgG1抗体。第一步,使用标准的哺乳动物重组细胞系分别生产两个IgG1,每个IgG1在第三恒定(CH3)结构域中包含单个匹配的突变。随后,根据用于回收和纯化的标准方法来纯化这些IgG1抗体。在生产和(生产后的)纯化后,两个抗体在定制的实验室条件下重组,从而以非常高的产率(通常>95%)产生双特异性抗体产品(参见例如Labrijn等人,PNAS2013;110(13):5145-5150和Labrijn等人,Nature Protocols 2014;9(10):2450-63,其各自的内容通过引用并入本文)。

[0472] 静电相互作用

[0473] 公开了采用带电荷的氨基酸,使用CH3氨基酸变化而制备多特异性抗体的方法,使得同二聚体的形成在静电上是不利的。EP1870459和WO 2009089004描述了在宿主细胞中共表达不同抗体结构域时有利于异源二聚体形成的其他策略。在这些方法中,用带电荷的氨基酸替换两个CH3结构域中组成重链恒定域3(CH3)、CH3-CH3界面的一个或多个残基,使得同二聚体形成在静电上是不利的并且异源二聚化在静电上是有利的。在以下参考文献中描述了使用静电相互作用制备多特异性分子的其他方法,每个参考文献的内容通过引用并入本文,包括US20100015133、US8592562B2、US9200060B2、US20140154254A1和US9358286A1。

[0474] 共有轻链

[0475] 需要避免轻链错配以产生双特异性IgG的均质制剂。其实现方式之一是通过使用共有轻链原理,即将共享一个轻链但仍具有不同特异性的两种结合物组合。增强由单体混合物形成期望的双特异性抗体的示例性方法是通过提供共有的可变轻链来与双特异性抗体的每个异聚可变重链区相互作用。产生具有共同轻链的双特异性抗体的组合物和方法公开于例如US7183076B2、US20110177073A1、EP2847231A1、WO2016079081A1和EP3055329A1中,其各自的内容通过引用并入本文。

[0476] CrossMab

[0477] 减少轻链错配的另一种选择是CrossMab技术,它通过交换一半双特异性抗体的Fab中的CH1和CL结构域来避免非特异性L链错配。这样的交错变体保留了结合特异性和亲和力,但是使两个臂如此不同,以至于防止了L链错配。CrossMab技术(如前述Klein等人中所概述)涉及重链和轻链之间的结构域互换,以促进正确配对的形成。简而言之,为了通过使用两个不同的轻链-重链对来构建可以结合两种抗原的双特异性IgG样CrossMab抗体,采用了两步式修饰过程。首先,使用异源二聚化方法(例如,杵臼(KiH)技术)将二聚化界面工程化到每个重链的C末端,以确保仅有效地形成了来自一个抗体(例如,抗体A)和第二抗体(例如抗体B)的两条不同重链的异源二聚体。接下来,交换一种抗体(抗体A)的恒定重链1结构域(CH1)和恒定轻链结构域(CL),同时使可变重链(VH)和可变轻链(VL)结构域保持如一。

CH1和CL结构域的交换确保修饰的抗体(抗体A)轻链仅能与修饰的抗体(抗体A)重链有效地二聚化,而未修饰的抗体(抗体B)轻链仅能与未修饰的抗体(抗体B)的重链有效地二聚化;因此仅有效地形成期望的双特异性CrossMab(参见例如Cain,C.SciBX 4(28);doi:10.1038/scibx.2011.783,其内容通过引用并入本文)。

[0478] 共有重链

[0479] 增强由单体混合物形成期望的双特异性抗体的示例性方法是通过提供共有的可变重链来与双特异性抗体的每个异聚可变轻链区相互作用。产生具有共有重链的双特异性抗体的组合物和方法公开于例如US20120184716、US20130317200和US20160264685A1中,其各自的内容通过引用并入本文。

[0480] 氨基酸修饰

[0481] 产生具有正确的轻链配对的多特异性抗体的替代组合物和方法包括各种氨基酸修饰。例如,Zymeworks描述了在CH1和/或CL结构域中具有一个或多个氨基酸修饰,在VH和/或VL结构域中具有一个或多个氨基酸修饰,或其组合的杂二聚体,这些修饰是轻链和重链之间的界面的一部分,并在每条重链和所期望的轻链之间建立优先配对,使得当异源二聚体对的两条重链和两条轻链在细胞中共表达时,第一异源二聚体的重链优先与一条轻链而不是彼此配对(例如,参见WO2015181805)。其他示例性方法记载于WO2016026943(Argen-X)、US20150211001、US20140072581A1、US20160039947A1和US20150368352中。

[0482] λ/κ形式

[0483] 包括λ轻链多肽和κ轻链多肽的多特异性分子(例如,多特异性抗体分子)可用于允许异源二聚化。产生包含λ轻链多肽和κ轻链多肽的双特异性抗体分子的方法公开于2017年9月22日提交的PCT/US17/53053,其通过引用整体并入本文。

[0484] 在实施方案中,多特异性分子包含多特异性抗体分子,例如,具有两种结合特异性的抗体分子,例如,双特异性抗体分子。多特异性抗体分子包括:

[0485] 对第一表位具有特异性的λ轻链多肽1(LLCP1);

[0486] 对第一表位具有特异性的重链多肽1(HCP1);

[0487] 对第二表位具有特异性的κ轻链多肽2(KLCP2);以及

[0488] 对第二表位具有特异性的重链多肽2(HCP2)。

[0489] 如本文所用,术语“λ轻链多肽1(LLCP1)”是指包含足够的轻链(LC)序列的多肽,使得当与同源重链可变区结合时,可以介导与其表位的特异性结合以及与HCP1的复合。在一个实施方案中,LLCP1包含CH1区的全部或片段。在一个实施方案中,LLCP1包含LC-CDR1、LC-CDR2、LC-CDR3、FR1、FR2、FR3、FR4和CH1,或来自其中的足以介导其表位的特异性结合以及与HCP1的复合的序列。LLCP1与其HCP1一起对第一表位提供特异性(而KLCP2与其HCP2一起对第二表位提供特异性)。如本文其他地方所述,LLCP1对HCP1的亲和力高于对HCP2的亲和力。

[0490] 如本文所用,术语“κ轻链多肽2(KLCP2)”是指包含足够的轻链(LC)序列的多肽,使得当与同源重链可变区结合时,可以介导与其表位的特异性结合以及与HCP2的复合。在一个实施方案中,LLCP1包含CH1区的全部或片段。在一个实施方案中,KLCP2包含LC-CDR1、LC-CDR2、LC-CDR3、FR1、FR2、FR3、FR4和CH1,或来自其中的足以介导其表位的特异性结合以及与HCP2的复合的序列。KLCP2与其HCP2一起为第二表位提供特异性(而LLCP1及其HCP1为第

一表位提供特异性)。

[0491] 如本文所用,术语“重链多肽1(HCP1)”是指包含足够的重链(HC)序列(例如,HC可变区序列)的多肽,使得当与同源LLCP1结合时可以介导与其表位的特异性结合以及与HCP1的复合。在一个实施方案中,HCP1包含CH1区的全部或片段。在一个实施方案中,HCP1包含CH2和/或CH 3区的全部或片段。在一个实施方案中,HCP1包含HC-CDR1、HC-CDR2、HC-CDR3、FR1、FR2、FR3、FR4、CH1、CH2和CH3,或来自其中的足以实现以下各项的序列:(i)介导其表位的特异性结合以及与LLCP1的复合,(ii)如本文所述优先与LLCP1而非KLCP2复合;以及(iii)如本文所述优先与HCP2而非另一HCP1分子复合。HCP1与其LLCP1一起提供对第一表位的特异性(而KLCP2与其HCP2一起提供对第二表位的特异性)。

[0492] 如本文所用,术语“重链多肽2(HCP2)”是指包含足够的重链(HC)序列(例如,HC可变区序列)的多肽,使得当与同源LLCP1结合时可以介导与其表位的特异性结合以及与HCP1的复合。在一个实施方案中,HCP2包含CH1区的全部或片段。在一个实施方案中,HCP2包含CH2和/或CH3区的全部或片段。在一个实施方案中,HCP1包含HC-CDR1、HC-CDR2、HC-CDR3、FR1、FR2、FR3、FR4、CH1、CH2和CH3,或来自其中的足以实现以下各项的序列:(i)介导其表位的特异性结合以及与KLCP2的复合,(ii)如本文所述优先与KLCP2而非LLCP1复合;和(iii)如本文所述优先与HCP1而非另一HCP2分子复合。HCP2与其KLCP2一起提供了对第二表位的特异性(而LLCP1与其HCP1一起提供了对第一表位的特异性)。

[0493] 在本文公开的多特异性抗体分子的一些实施方案中:LLCP1对HCP1的亲和力高于对HCP2的亲和力;并且/或者KLCP2对HCP2的亲和力高于对HCP1的亲和力。

[0494] 在实施方案中,LLCP1对HCP1的亲和力充分大于其对HCP2的亲和力,使得在预选条件下,例如在水性缓冲液中(例如在pH 7下)、在盐水中(例如在pH 7下),或在生理条件下,至少75%、80%、90%、95%、98%、99%、99.5%或99.9%的多特异性抗体分子具有与HCP1复合或接合的LLCP1。

[0495] 在本文公开的多特异性抗体分子的一些实施方案中:HCP1对HCP2的亲和力大于对HCP1第二分子的亲和力;并且/或者HCP2对HCP1的亲和力大于对HCP2第二分子的亲和力。

[0496] 在实施方案中,HCP1对HCP2的亲和力充分大于其对第二HCP1分子的亲和力,使得在预选条件下,例如在水性缓冲液中(例如在pH 7下)、在盐水中(例如在pH 7下),或在生理条件下,至少75%、80%、90%、95%、98%、99%、99.5%或99.9%的多特异性抗体分子具有与HCP2复合或接合的HCP1。

[0497] 在另一方面,本文公开了用于制备或产生多特异性抗体分子的方法。该方法包括在(i)-(iv)缔合的条件下:

[0498] (i)提供第一重链多肽(例如,包含第一重链可变区(第一VH)、第一CH1、第一重链恒定区(例如,第一CH2、第一CH3或两者)中的一个、两个、三个或全部的重链多肽);

[0499] (ii)提供第二重链多肽(例如,包含第二重链可变区(第二VH)、第二CH1、第二重链恒定区(例如,第二CH2、第二CH3或两者)中的一个、两个、三个或全部的重链多肽);

[0500] (iii)提供优先与第一重链多肽(例如,第一VH)缔合的λ链多肽(例如λ轻可变区(VLλ)、λ轻恒定链(VLλ)或两者);和

[0501] (iv)提供优先与第二重链多肽(例如,第二VH)缔合的κ链多肽(例如κ轻可变区(VLκ)、κ轻恒定链(VLκ)或两者)。

[0502] 在实施方案中,第一重链和第二重链多肽形成增强异源二聚化的Fc界面。

[0503] 在实施方案中,将(i)-(iv)(例如,编码(i)-(iv)的核酸)引入单个细胞,例如单个哺乳动物细胞,例如CHO细胞中。在实施方案中,(i)-(iv)在细胞中表达。

[0504] 在实施方案中,将(i)-(iv)(例如,编码(i)-(iv)的核酸)引入不同的细胞,例如不同的哺乳动物细胞,例如两个或更多个CHO细胞中。在实施方案中,(i)-(iv)在细胞中表达。

[0505] 在一个实施方案中,该方法进一步包括例如使用λ特异性和/或κ特异性纯化,例如亲和色谱,纯化细胞表达的抗体分子。

[0506] 在实施方案中,该方法进一步包括评估细胞表达的多特异性抗体分子。例如,纯化的细胞表达的多特异性抗体分子可以通过本领域已知的技术(包括质谱法)进行分析。在一个实施方案中,将纯化的细胞表达的抗体分子裂解,例如用木瓜蛋白酶消化以产生Fab部分,并使用质谱法进行评估。

[0507] 在实施方案中,该方法以高产率,例如至少75%、80%、90%、95%、98%、99%、99.5%或99.9%,产生正确配对的κ/λ多特异性(例如双特异性)抗体分子。

[0508] 在其他实施方案中,多特异性(例如,双特异性)抗体分子包括:

[0509] (i)第一重链多肽(HCP1)(例如,包含第一重链可变区(第一VH)、第一CH1、第一重链恒定区(例如,第一CH2、第一CH3或两者)中的一个、两个、三个或全部的重链多肽),例如,其中HCP1与第一表位结合;

[0510] (ii)第二重链多肽(HCP2)(例如,包含第二重链可变区(第二VH)、第二CH1、第二重链恒定区(例如,第二CH2、第二CH3或两者)中的一个、两个、三个或全部的重链多肽),例如,其中HCP2与第二表位结合;

[0511] (iii)优先与第一重链多肽(例如,第一VH)缔合的λ轻链多肽(LLCP1)(例如,λ轻可变区(VL1)、λ轻恒定链(VL1)或两者),例如,其中LLCP1与第一表位结合;以及

[0512] (iv)优先与第二重链多肽(例如,第二VH)缔合的κ轻链多肽(KLCP2)(例如,κ轻可变区(VLk)、κ轻恒定链(VLk)或两者),例如其中KLCP2与第二表位结合。

[0513] 在实施方案中,第一重链和第二重链多肽形成增强异源二聚化的Fc界面。在实施方案中,多特异性抗体分子具有第一结合特异性和第二结合特异性,所述第一结合特异性包括杂合的VL1-CL1,其异源二聚化至与Fc恒定CH2-CH3结构域连接的第一重链可变区(具有杵修饰),而所述第二结合特异性包括杂合的VLk-CLk,其异源二聚化至与Fc恒定CH2-CH3结构域连接的第二重链可变区(具有臼修饰)。

[0514] 接头

[0515] 本文公开的多特异性或多功能分子可以进一步包括接头,例如,在以下一种或多种之间的接头:抗原结合域与细胞因子分子、抗原结合域与免疫细胞衔接物、抗原结合域与基质修饰部分、细胞因子分子与免疫细胞衔接物、细胞因子分子与基质修饰部分、免疫细胞衔接物与基质修饰部分、抗原结合域与免疫球蛋白链恒定区、细胞因子分子与免疫球蛋白链恒定区、免疫细胞衔接物与免疫球蛋白链恒定区,或基质修饰部分与免疫球蛋白链恒定区。在实施方案中,接头选自:可裂解的接头、不可裂解的接头、肽接头、柔性接头、刚性接头、螺旋接头或非螺旋接头,或其组合。

[0516] 在一个实施方案中,多特异性分子可包括一个、两个、三个或四个接头,例如肽接头。在一个实施方案中,肽接头包括Gly和Ser。在一些实施方案中,肽接头选自GGGGS(SEQ

ID NO:42);GGGGSGGGGS(SEQ ID NO:43);GGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:44);和DVPSGPGGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:45)。在一些实施方案中,肽接头是接头的A(EAAAK)nA(SEQ ID NO:6154)家族(例如,如Protein Eng.(2001)14(8):529-532)所述)。这些是刚性螺旋接头,n范围为2-5。在一些实施方案中,肽接头选自AEAAAKEAAAKAAA(SEQ ID NO:75);AEAAAKEAAAKEAAAKAAA(SEQ ID NO:76);AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAA(SEQ ID NO:77);和AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAA(SEQ ID NO:78)。

[0517] 靶向部分

[0518] 在一个实施方案中,抗NKp30抗体分子进一步包含与癌抗原,例如肿瘤抗原或基质抗原结合的第二抗原结合部分,例如肿瘤靶向部分。在一些实施方案中,癌抗原是例如哺乳动物例如人的癌抗原。在其他实施方案中,抗体分子进一步包含与免疫细胞抗原,例如哺乳动物例如人的免疫细胞抗原结合的第二结合部分。在其他实施方案中,抗体分子进一步包含与病毒抗原结合的第二结合部分。例如,抗体分子特异性结合癌抗原、免疫细胞抗原上的表位,例如线性或构象表位。

[0519] 在一些实施方案中,多特异性分子(例如,双、三、四特异性)包括,例如被工程化成包含,一个或多个将分子引导至肿瘤细胞的肿瘤特异性靶向部分。在某些实施方案中,本文公开的多特异性分子包括肿瘤靶向部分。肿瘤靶向部分可以选自抗体分子(例如,如本文所述的抗原结合域)、受体或受体片段,或配体或配体片段,或其组合。在一些实施方案中,肿瘤靶向部分与肿瘤细胞(例如,存在于肿瘤细胞表面上的分子,例如抗原)缔合,例如结合。在某些实施方案中,肿瘤靶向部分将本文公开的多特异性分子靶向,例如引导至癌(例如,癌或肿瘤细胞)。在一些实施方案中,癌症选自血液学肿瘤、实体癌、转移性癌症,或其组合。

[0520] 在一些实施方案中,多特异性分子,例如肿瘤靶向部分,与实体瘤抗原或基质抗原结合。实体瘤抗原或基质抗原可存在于实体瘤或其转移性病变上。在一些实施方案中,实体瘤选自胰腺癌(例如,胰腺腺癌)、乳腺癌、结直肠癌、肺癌(例如小细胞肺癌或非小细胞肺癌)、皮肤癌、卵巢癌或肝癌中的一种或多种。在一个实施方案中,实体瘤是纤维化或增生性实体瘤。例如,实体瘤抗原或基质抗原可以存在于肿瘤上,例如以下列一项或多项为特征的一类肿瘤:有限的肿瘤灌注、压缩的血管或纤维化的肿瘤间质。

[0521] 在某些实施方案中,实体瘤抗原选自以下一种或多种:PDL1、CD47、间皮素、神经节苷脂2(GD2)、前列腺干细胞抗原(PSCA)、前列腺特异性膜抗原(PMSA)、前列腺特异性抗原(PSA)、癌胚抗原(CEA)、Ron激酶、c-Met、未成熟层粘连蛋白受体、TAG-72、BING-4、钙激活的氯通道2、细胞周期蛋白-B1、9D7、Ep-CAM、EphA3、Her2/neu、端粒酶、SAP-1、存活蛋白、NY-ESO-1/LAGE-1、PRAME、SSX-2、Melan-A/MART-1、Gp100/pmel17、酪氨酸酶、TRP-1/-2、MC1R、β-连环蛋白、BRCA1/2、CDK4、CML66、纤连蛋白、p53、Ras、TGF-B受体、AFP、ETA、MAGE、MUC-1、CA-125、BAGE、GAGE、NY-ESO-1、β-连环蛋白、CDK4、CDC27、CD47、α辅肌动蛋白-4、TRP1/gp75、TRP2、gp100、Melan-A/MART1、神经节苷脂、WT1、EphA3、表皮生长因子受体(EGFR)、CD20、MART-2、MART-1、MUC1、MUC2、MUM1、MUM2、MUM3、NA88-1、NPM、OA1、OGT、RCC、RUI1、RUI2、SAGE、TRG、TRP1、TSTA、叶酸受体α、L1-CAM、CAIX、EGFRvIII、gpA33、GD3、GM2、VEGFR、整合素(整合素αVβ3、整合素α5β1)、碳水化合物(Le)、IGF1R、EPHA3、TRAILR1、TRAILR2或RANKL。在一些实施方案中,实体瘤抗原选自:PDL1、间皮素、CD47、GD2、PMSA、PSCA、CEA、Ron激酶或c-Met。用于肿瘤靶向部分的示例性氨基酸和核苷酸序列公开于WO 2017/165464,参见例如第102-

108、172-290页,其通过引用并入本文。

[0522] 在一些实施方案中,抗NKp30抗体分子(例如,多特异性抗体分子)进一步包含与自身反应性T细胞,例如,存在于与炎性或自身免疫性病症相关的自身反应性T细胞的表面上的抗原结合的靶向部分,例如结合特异性。

[0523] 在一些实施方案中,抗NKp30抗体分子(例如,多特异性抗体分子)进一步包含与感染的细胞,例如病毒感染的细胞结合的靶向部分,例如结合特异性。

[0524] T细胞衔接物

[0525] 在其他实施方案中,抗NKp30抗体分子(例如,多特异性抗体分子)进一步包含一个或多个介导与T细胞结合和/或激活T细胞的T细胞衔接物。因此,在一些实施方案中,T细胞衔接物选自与以下一个或多个结合(例如,并且在一些实施方案中将其激活)的抗原结合域或配体:CD3、TCRα、TCRβ、TCRγ、TCRζ、ICOS、CD28、CD27、HVEM、LIGHT、CD40、4-1BB、OX40、DR3、GITR、CD30、TIM1、SLAM、CD2或CD226。在其他实施方案中,T细胞衔接物选自与以下一个或多个结合但不进行激活的抗原结合域或配体:CD3、TCRα、TCRβ、TCRγ、TCRζ、ICOS、CD28、CD27、HVEM、LIGHT、CD40、4-1BB、OX40、DR3、GITR、CD30、TIM1、SLAM、CD2或CD226。

[0526] 示例性的T细胞衔接物公开于WO 2017/165464,其通过引用并入本文。

[0527] 细胞因子分子

[0528] 在其他实施方案中,抗NKp30抗体分子(例如,多特异性抗体分子)进一步包含一种或多种细胞因子分子,例如免疫调节性(例如促炎性)细胞因子及其变体,例如其功能变体。因此,在一些实施方案中,细胞因子分子是白介素或其变体,例如其功能变体。在一些实施方案中,白介素是促炎白介素。在一些实施方案中,白介素选自白介素-2(IL-2)、白介素-12(IL-12)、白介素-15(IL-15)、白介素-18(IL-18)、白介素-21(IL-21)、白介素7(IL-7)或干扰素γ。在一些实施方案中,细胞因子分子是促炎细胞因子。在某些实施方案中,细胞因子是单链细胞因子。在某些实施方案中,细胞因子是多链细胞因子(例如,细胞因子包含2个或更多个(例如2个)多肽链。示例性的多链细胞因子是IL-12。

[0529] 有用的细胞因子的实例包括但不限于GM-CSF、IL-1α、IL-1β、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-21、IFN-α、IFN-β、IFN-γ、MIP-1α、MIP-1β、TGF-β、TNF-α和TNFβ。在一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子是选自以下的细胞因子:GM-CSF、IL-2、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-15、IL-21、IFN-α、IFN-γ、MIP-1α、MIP-1β和TGF-β。在一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子是选自IL-2、IL-7、IL-10、IL-12、IL-15、IFN-α和IFN-γ的细胞因子。在某些实施方案中,使细胞因子突变以去除N-和/或O-糖基化位点。消除糖基化增加了重组生产中可获得的产物的均质性。

[0530] 在一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子是IL-2。在具体的实施方案中,IL-2细胞因子可引起选自以下的一种或多种细胞应答:激活的T淋巴细胞的增殖、激活的T淋巴细胞的分化、细胞毒性T细胞(CTL)活性、激活的B细胞的增殖、激活的B细胞的分化、天然杀伤(NK)细胞的增殖、NK细胞的分化、由激活的T细胞或NK细胞的细胞因子分泌,以及NK/淋巴细胞激活的杀伤细胞(LAK)抗肿瘤细胞毒性。在另一个特定的实施方案中,IL-2细胞因子是对IL-2受体的α-亚基具有降低的结合亲和力的突变体IL-2细胞因子。α-亚基(也称为CD25)与β-亚基和γ-亚基(分别称为CD122和CD132)一起形成异源三聚体的高亲和力IL-2受体,而仅由β-亚基和γ-亚基组成的二聚体受体称为中等亲和力IL-2受体。如在

PCT专利申请号PCT/EP2012/051991中描述的(其通过引用整体并入本文),与IL-2受体的α-亚基的结合减少的突变体IL-2多肽,与野生型IL-2多肽相比,具有降低的在调节性T细胞中诱导IL-2信号传导的能力,在T细胞中诱导更少的激活诱导的细胞死亡(AICD),并且在体内具有降低的毒性特征。这种具有降低的毒性的细胞因子的使用在本发明的多特异性或多功能多肽中特别有利,该多肽由于存在Fc结构域而具有较长的血清半衰期。在一个实施方案中,根据本发明的多特异性或多功能多肽的突变体IL-2细胞因子包含至少一种氨基酸突变,其与未突变的IL-2细胞因子相比,降低或消除了突变体IL-2细胞因子对IL-2受体的α-亚基(CD25)的亲和力,但保留突变体IL-2细胞因子对中等亲和力IL-2受体(由IL-2受体的β和γ亚基组成)的亲和力。在一个实施方案中,一个或多个氨基酸突变是氨基酸置换。在一个具体的实施方案中,突变体IL-2细胞因子在选自对应于人IL-2的残基42、45和72的位置的一个、两个或三个位置上包含一个、两个或三个氨基酸置换。在更具体的实施方案中,突变体IL-2细胞因子在对应于人IL-2的残基42、45和72的位置上包含三个氨基酸置换。在甚至更具体的实施方案中,突变体IL-2细胞因子是人IL-2,其包含氨基酸置换F42A、Y45A和L72G。在一个实施方案中,突变体IL-2细胞因子在与人IL-2的位置3相对应的位置处另外包含氨基酸突变,这消除了IL-2的O-糖基化位点。特别地,所述另外的氨基酸突变是通过丙氨酸残基代替苏氨酸残基的氨基酸置换。可用于本发明的特定的突变体IL-2细胞因子在对应于人IL-2的残基3、42、45和72的位置处包含四个氨基酸置换。特定的氨基酸置换是T3A、F42A、Y45A和L72G。如PCT专利申请号PCT/EP2012/051991和所附实施例所示,所述四重突变体IL-2多肽(IL-2qm)与CD25没有可检测的结合,在T细胞中诱导凋亡的能力降低,在T.sub.reg细胞中诱导IL-2信号传导的能力降低,以及体内毒性特征降低。但是,它保留了激活效应细胞中的IL-2信号传导,诱导效应细胞增殖以及由NK细胞产生IFN-γ作为次级细胞因子的能力。

[0531] 根据上述实施方案中任一项的IL-2或突变体IL-2细胞因子可包含提供进一步的优势例如增加的表达或稳定性的其他突变。例如,位置125处的半胱氨酸可以用中性氨基酸例如丙氨酸代替,以避免形成二硫键桥接的IL-2二聚体。因此,在某些实施方案中,本发明的多特异性或多功能多肽的IL-2或突变体IL-2细胞因子在对应于人IL-2的残基125的位置处包含另外的氨基酸突变。在一个实施方案中,所述另外的氨基酸突变是氨基酸置换C125A。

[0532] 示例性的细胞因子分子公开于WO 2017/165464,参见例如第108-118、169-172页,其通过引用并入本文。

[0533] TGF-β抑制剂

[0534] 在其他实施方案中,抗NKp30抗体分子(例如,多特异性抗体分子)进一步包含TGF-β的一种或多种调节因子(例如,TGF-β抑制剂)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂与TGF-β结合并且抑制TGF-β,例如,降低TGF-β的活性。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂抑制TGF-β1(例如,降低TGF-β1的活性)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂抑制TGF-β2(例如,降低TGF-β2的活性)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂抑制TGF-β3(例如,降低TGF-β3的活性)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂抑制TGF-β1和TGF-β3(例如,降低TGF-β1和TGF-β3的活性)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂抑制TGF-β1、TGF-β2和TGF-β3(例如,降低TGF-β1、TGF-β2和TGF-β3的活性)。

[0535] 在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含能够抑制TGF-β(例如,降低TGF-β的活性)的TGF-β受体的一部分(例如,TGF-β受体的胞外域),或其功能片段或变体。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含TGFBR1多肽(例如,TGFBR1的胞外域或其功能变体)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含TGFBR2多肽(例如,TGFBR2的胞外域或其功能变体)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含TGFBR3多肽(例如,TGFBR3的胞外域或其功能变体)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含TGFBR1多肽(例如,TGFBR1的胞外域或其功能变体)和TGFBR2多肽(例如,TGFBR2的胞外域或其功能变体)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含TGFBR1多肽(例如,TGFBR1的胞外域或其功能变体)和TGFBR3多肽(例如,TGFBR3的胞外域或其功能变体)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含TGFBR2多肽(例如,TGFBR2的胞外域或其功能变体)和TGFBR3多肽(例如,TGFBR3的胞外域或其功能变体)。

[0536] 可用作TGF-β抑制剂的示例性TGF-β受体多肽已公开于US8993524、US9676863、US8658135、US20150056199、US20070184052和WO2017037634,其全部通过引用整体并入本文。

[0537] 在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含TGFBR1的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含SEQ ID NO:3095的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含SEQ ID NO:3096的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含SEQ ID NO:3097的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含SEQ ID NO:3104的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含SEQ ID NO:3105的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。

[0538] 在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含TGFBR2的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含SEQ ID NO:3098的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含SEQ ID NO:3099的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含SEQ ID NO:3100的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含SEQ ID NO:3101的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含SEQ ID NO:3102的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含SEQ ID NO:3103的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。

[0539] 在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含TGFBR3的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含SEQ ID NO:3106的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含SEQ ID NO:3107的胞外域或与其基本

相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含SEQ ID NO:3108的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其至少80%、85%、90%或95%相同的序列)。

[0540] 在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含不超过一个TGF-β受体胞外域。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包含两个或更多个(例如,两个、三个、四个、五个或更多个)例如通过接头连接在一起的TGF-β受体胞外域。

[0541] 表4.TGF-β多肽或TGF-β受体多肽的示例性氨基酸序列

[0542]

SEQ ID NO	说明	氨基酸序列
SEQ ID NO: 3092	不成熟的人 TGF-β 1 (P01137-1)	MPPSGLRLLLLLLPLLWLLVLTPGRPAAGLSTCKTIDMELVKRKRIE AIRGQILSKLRLASPPSQGEVPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEP EPEPEADYYAKEVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNTSELRE AVPEPVLLSRAELRLLRLKLKVEQHVELYQKYSNNSWRYLSNRLLA PSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFRLSAHCSCDSRDNTLQV DINGFTTGRRGDLATIHGMNRPFLLLMATPLERAQHLQSSRHRRAL DTNYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCLGP CPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNPGASAAPCCVPQALEPLPIVYYVG RKPKVEQLSNMIVRSCKCS
SEQ ID NO: 3117	人 TGF-β 1 (P01137-1)	LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGEVPPGPLPEAV LALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAKEVTRVLMVETHNEIYDK FKQSTHSIYMFFNTSELREAVPEPVLLSRAELRLLRLKLKVEQHVEL YQKYSNNSWRYLSNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIE GFRLSAHCSCDSRDNTLQVDINGFTTGRRGDLATIHGMNRPFLLLM ATPLERAQHLQSSRHRRALDTNYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLG WKWIHEPKGYHANFCLGPCPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNPGASA APCCVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS
SEQ ID NO: 3093	不成熟的人 TGF-β 2 (P61812-1)	MHYCVLSAFLILHLVTVALSLSTCSTLDMDQFMRKRIEAIRGQILSK LKLTSPPEDYPEPEEVPPEVISIYNSTRDLLQEKASRRAAACERERSD EEYYAKEVYKIDMPPFFPSENAIPPTFYRPYFRIVRFDVSAMEKNAS NLVKAEFRVFRLQNPKARVPEQRIELYQILKSKDLTSPTQRYIDSKV VKTRAEGEWLSFDVTDAVHEWLHHKDRNLGFKISLHCPCCTFVPS NNYIIPNKSEELEARFAGIDGTSTYTSGDQKTIKSTRKKNSGKTPHLL LMLLPSYRLESQQTNRRKKRALDAAYCFRNVQDNCCLRPLYIDFKR DLGWKWIHEPKGYNANFCAGACPYLWSSDTQHSRVLSLYNTINPE ASASPCCVSQDLEPLTILYYIGKTPKIEQLSNMIVKSCKCS
SEQ ID NO: 3118	人 TGF-β 2 (P61812-1)	LSTCSTLDMDQFMRKRIEAIRGQILSKLKLTSPPEDYPEPEEVPPEVIS IYNSTRDLLQEKASRRAAACERERSDEEYYAKEVYKIDMPPFFPSEN AIPPTFYRPYFRIVRFDVSAMEKNASNLVKAEFRVFRLQNPKARVPE QRIELYQILKSKDLTSPTQRYIDSKVVKTRAEGEWLSFDVTDAVHE WLHHKDRNLGFKISLHCPCCTFVPSNNYIIPNKSEELEARFAGIDGTS TYTSGDQKTIKSTRKKNSGKTPHLLLMLLPSYRLESQQTNRRKKRA LDAAYCFRNVQDNCCLRPLYIDFKRDLGWKWIHEPKGYNANFCAG ACPYLWSSDTQHSRVLSLYNTINPEASASPCCVSQDLEPLTILYYIGK TPKIEQLSNMIVKSCKCS
SEQ ID NO: 3094	不成熟的人 TGF-β 3 (P10600-1)	MKMHLQRALVVLALLNFATVSLSLSTCTTLDFGHIKKKRVEAIRGQ ILSKLRLTSPPEPTVMTHVPYQVLALYNSTRELLEEMHGEREEGCTQ ENTESEYYAKEIHKFDMIQGLAEHNELAVCPKGITSKVFRFNVSSVE KNRTNLFRAEFRVLRVPNPSSKRNEQRIELFQILRPDEHIAKQRYIGG KNLPTRGTAEWLSFDVTDTVREWLLRRESNLGLEISIHCPCHTFQPN

[0543]

		GDILENIHEVMEIKFKGVDNEDDHGRGDLGRLKKQKDHHNPHLIL MMIPPHRLDNPGQGGQRKKRALDTNYCFRNLEENCCVRPLYIDFRQ DLGWKWVHEPKGYYANFCSGPCPYLRSADTTHSTVLGLYNTLNPE ASASPCCVPQDLEPLTILYYVGRTPKVEQLSNMVVKSCKCS
SEQ ID NO: 3119	人 TGF-β 3 (P10600-1)	LSTCTTLDFGHIKKKRVEAIRGQILSKLRLTSPPEPTVMTHVPYQVL ALYNSTRELLEEMHGEREEGCTQENTESEYYAKEIHKFDMIQGLAE HNELAVCPKGITSKVFRFNVSSVEKNRTNLFRAEFRVLRVPNPSSKR NEQRIELFQILRPDEHIAKQRYIGGKNLPTRGTAEWLSFDVTDTVRE WLLRRESNLGLEISIHCPCHTFQPNGDILENIHEVMEIKFKGVDNED DHGRGDLGRLKKQKDHHNPHLILMMIPPHRLDNPGQGGQRKKRAL DTNYCFRNLEENCCVRPLYIDFRQDLGWKWVHEPKGYYANFCSGP CPYLRSADTTHSTVLGLYNTLNPEASASPCCVPQDLEPLTILYYVGR TPKVEQLSNMVVKSCKCS
SEQ ID NO: 3095	不成熟的人 TGFBR1 同工型 1 (P36897-1)	MEAAVAAPRPRLLLLVLAAAAAAAAALLPGATALQCFCHLCTKDN FTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPRDRPFVCAPSSKTG SVTTTYCCNQDHCNKIELPTTVKSSPGLGPVELAAVIAGPVCFVCISL MLMVYICHNRTVIHHRVPNEEDPSLDRPFISEGTTLKDLIYDMTTSG SGSGLPLLVQRTIARTIVLQESIGKGRFGEVWRGKWRGEEVAVKIFS SREERSWFREAEIYQTVMLRHENILGFIAADNKDNGTWTQLWLVSD YHEHGSLFDYLNRYTVTVEGMIKLALSTASGLAHLHMEIVGTQGKP AIAHRDLKSKNILVKKNGTCCIADLGLAVRHDSATDTIDIAPNHRVG TKRYMAPEVLDDSINMKHFESFKRADIYAMGLVFWEIARRCSIGGI HEDYQLPYYDLVPSDPSVEEMRKVVCEQKLRPNIPNRWQSCEALR VMAKIMRECWYANGAARLTALRIKKTLSQLSQQEGIKM
SEQ ID NO: 3120	人 TGFBR1 同工型 1 (P36897-1)	LQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPR DRPFVCAPSSKTGSVTTTYCCNQDHCNKIELPTTVKSSPGLGPVELA AVIAGPVCFVCISLMLMVYICHNRTVIHHRVPNEEDPSLDRPFISEGT TLKDLIYDMTTSGSGSGLPLLVQRTIARTIVLQESIGKGRFGEVWRG KWRGEEVAVKIFSSREERSWFREAEIYQTVMLRHENILGFIAADNK DNGTWTQLWLVSDYHEHGSLFDYLNRYTVTVEGMIKLALSTASGL AHLHMEIVGTQGKPAIAHRDLKSKNILVKKNGTCCIADLGLAVRHD SATDTIDIAPNHRVGTKRYMAPEVLDDSINMKHFESFKRADIYAMG LVFWEIARRCSIGGIHEDYQLPYYDLVPSDPSVEEMRKVVCEQKLRP NIPNRWQSCEALRVMAKIMRECWYANGAARLTALRIKKTLSQLSQ QEGIKM
SEQ ID NO: 3096	不成熟的人 TGFBR1 同工型 2 (P36897-2)	MEAAVAAPRPRLLLLVLAAAAAAAAALLPGATALQCFCHLCTKDN FTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPRDRPFVCAPSSKTG SVTTTYCCNQDHCNKIELPTTGPFSVKSSPGLGPVELAAVIAGPVCF VCISLMLMVYICHNRTVIHHRVPNEEDPSLDRPFISEGTTLKDLIYD MTTSGSGSGLPLLVQRTIARTIVLQESIGKGRFGEVWRGKWRGEEV AVKIFSSREERSWFREAEIYQTVMLRHENILGFIAADNKDNGTWTQ LWLVSDYHEHGSLFDYLNRYTVTVEGMIKLALSTASGLAHLHMEI VGTQGKPAIAHRDLKSKNILVKKNGTCCIADLGLAVRHDSATDTIDI APNHRVGTKRYMAPEVLDDSINMKHFESFKRADIYAMGLVFWEIA RRCSIGGIHEDYQLPYYDLVPSDPSVEEMRKVVCEQKLRPNIPNRW QSCEALRVMAKIMRECWYANGAARLTALRIKKTLSQLSQQEGIKM

[0544]

SEQ ID NO: 3121	人 TGFBR1 同工型 2 (P36897-2)	LQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPR DRPFVCAPSSKTGSVTTTYCCNQDHCNKIELPTTGPFSVKSSPGLGP VELAAVIAGPVCFVCISLMLMVYICHNRTVIHHRVPNEEDPSLDRPFI SEGTTLKDLIYDMTTSGSGSGLPLLVQRTIARTIVLQESIGKGRFGEV WRGKWRGEEVAVKIFSSREERSWFREAEIYQTVMLRHENILGFIAA DNKDNGTWTQLWLVSDYHEHGSLFDYLNRYTVTVEGMIKLALST ASGLAHLHMEIVGTQGKPAIAHRDLKSKNILVKKNGTCCIADLGLA VRHDSATDTIDIAPNHRVGTKRYMAPEVLDDSINMKHFESFKRADI YAMGLVFWEIARRCSIGGIHEDYQLPYYDLVPSDPSVEEMRKVVCE QKLRPNIPNRWQSCEALRVMAKIMRECWYANGAARLTALRIKKTL SQLSQQEGIKM
SEQ ID NO: 3097	不成熟的人 TGFBR1 同工型 3 (P36897-3)	MEAAVAAPRPRLLLLVLAAAAAAAAALLPGATALQCFCHLCTKDN FTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPRDRPFVCAPSSKTG SVTTTYCCNQDHCNKIELPTTGLPLLVQRTIARTIVLQESIGKGRFGE VWRGKWRGEEVAVKIFSSREERSWFREAEIYQTVMLRHENILGFIA ADNKDNGTWTQLWLVSDYHEHGSLFDYLNRYTVTVEGMIKLALS TASGLAHLHMEIVGTQGKPAIAHRDLKSKNILVKKNGTCCIADLGL AVRHDSATDTIDIAPNHRVGTKRYMAPEVLDDSINMKHFESFKRAD IYAMGLVFWEIARRCSIGGIHEDYQLPYYDLVPSDPSVEEMRKVVC EQKLRPNIPNRWQSCEALRVMAKIMRECWYANGAARLTALRIKKT LSQLSQQEGIKM
SEQ ID NO: 3122	人 TGFBR1 同工型 3 (P36897-3)	LQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPR DRPFVCAPSSKTGSVTTTYCCNQDHCNKIELPTTGLPLLVQRTIARTI VLQESIGKGRFGEVWRGKWRGEEVAVKIFSSREERSWFREAEIYQT VMLRHENILGFIAADNKDNGTWTQLWLVSDYHEHGSLFDYLNRYT VTVEGMIKLALSTASGLAHLHMEIVGTQGKPAIAHRDLKSKNILVK KNGTCCIADLGLAVRHDSATDTIDIAPNHRVGTKRYMAPEVLDDSI NMKHFESFKRADIYAMGLVFWEIARRCSIGGIHEDYQLPYYDLVPS DPSVEEMRKVVCEQKLRPNIPNRWQSCEALRVMAKIMRECWYAN GAARLTALRIKKTLSQLSQQEGIKM
SEQ ID NO: 3104	人 TGFBR1 片段 1	LQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPR DRPFVCAPSSKTGSVTTTYCCNQDHCNKIELPTTVKSSPGLGPVEL
SEQ ID NO: 3105	人 TGFBR1 片段 2	ALQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIP RDRPFVCAPSSKTGSVTTTYCCNQDHCNKIEL
SEQ ID NO: 3098	不成熟的人 TGFBR2 同工型 B (短同工型) (P37173-1)	MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV KFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKN DENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSC SSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLLLVIFQVTGISLLPPLGVAISVIIIFYCY RVNRQQKLSSTWETGKTRKLMEFSEHCAIILEDDRSDISSTCANNIN HNTELLPIELDTLVGKGRFAEVYKAKLKQNTSEQFETVAVKIFPYEE YASWKTEKDIFSDINLKHENILQFLTAEERKTELGKQYWLITAFHAK GNLQEYLTRHVISWEDLRKLGSSLARGIAHLHSDHTPCGRPKMPIV HRDLKSSNILVKNDLTCCLCDFGLSLRLDPTLSVDDLANSGQVGTA RYMAPEVLESRMNLENVESFKQTDVYSMALVLWEMTSRCNAVGE VKDYEPPFGSKVREHPCVESMKDNVLRDRGRPEIPSFWLNHQGIQM

[0545]

		VCETLTECWDHDPEARLTAQCVAERFSELEHLDRLSGRSCSEEKIPEDGSLNTTK
SEQ ID NO: 3123	人 TGFBR2 同工型 B（短同工型）(P37173-1)	TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLLLVIFQVTGISLLPPLGVAISVIIIFYCYRVNRQQKLSSTWETGKTRKLMEFSEHCAIILEDDRSDISSTCANNINHNTELLPIELDTLVGKGRFAEVYKAKLKQNTSEQFETVAVKIFPYEEYASWKTEKDIFSDINLKHENILQFLTAEERKTELGKQYWLITAFHAKGNLQEYLTRHVISWEDLRKLGSSLARGIAHLHSDHTPCGRPKMPIVHRDLKSSNILVKNDLTCCLCDFGLSLRLDPTLSVDDLANSGQVGTARYMAPEVLESRMNLENVESFKQTDVYSMALVLWEMTSRCNAVGEVKDYEPPFGSKVREHPCVESMKDNVLRDRGRPEIPSFWLNHQGIQMVCETLTECWDHDPEARLTAQCVAERFSELEHLDRLSGRSCSEEKIPEDGSLNTTK
SEQ ID NO: 3099	不成熟的人 TGFBR2 同工型 A（长同工型）(P37173-2)	MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSDVEMEAQKDEIICPSCNRTAHPLRHINNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLLLVIFQVTGISLLPPLGVAISVIIIFYCYRVNRQQKLSSTWETGKTRKLMEFSEHCAIILEDDRSDISSTCANNINHNTELLPIELDTLVGKGRFAEVYKAKLKQNTSEQFETVAVKIFPYEEYASWKTEKDIFSDINLKHENILQFLTAEERKTELGKQYWLITAFHAKGNLQEYLTRHVISWEDLRKLGSSLARGIAHLHSDHTPCGRPKMPIVHRDLKSSNILVKNDLTCCLCDFGLSLRLDPTLSVDDLANSGQVGTARYMAPEVLESRMNLENVESFKQTDVYSMALVLWEMTSRCNAVGEVKDYEPPFGSKVREHPCVESMKDNVLRDRGRPEIPSFWLNHQGIQMVCETLTECWDHDPEARLTAQCVAERFSELEHLDRLSGRSCSEEKIPEDGSLNTTK
SEQ ID NO: 3124	人 TGFBR2 同工型 A（长同工型）(P37173-2)	TIPPHVQKSDVEMEAQKDEIICPSCNRTAHPLRHINNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLLLVIFQVTGISLLPPLGVAISVIIIFYCYRVNRQQKLSSTWETGKTRKLMEFSEHCAIILEDDRSDISSTCANNINHNTELLPIELDTLVGKGRFAEVYKAKLKQNTSEQFETVAVKIFPYEEYASWKTEKDIFSDINLKHENILQFLTAEERKTELGKQYWLITAFHAKGNLQEYLTRHVISWEDLRKLGSSLARGIAHLHSDHTPCGRPKMPIVHRDLKSSNILVKNDLTCCLCDFGLSLRLDPTLSVDDLANSGQVGTARYMAPEVLESRMNLENVESFKQTDVYSMALVLWEMTSRCNAVGEVKDYEPPFGSKVREHPCVESMKDNVLRDRGRPEIPSFWLNHQGIQMVCETLTECWDHDPEARLTAQCVAERFSELEHLDRLSGRSCSEEKIPEDGSLNTTK
SEQ ID NO: 3100	人 TGFBR2 片段 1（人 TGFBR2 同工型 B 的 ECD）	TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD
SEQ ID NO: 3101	人 TGFBR2 片段 2	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD

[0546]

SEQ ID NO: 3102	人 TGFBR2 片段 3 (人 TGFBR2 同工型 A 的 ECD)	TIPPHVQKSDVEMEAQKDEIICPSCNRTAHPLRHINNDMIVTDNNGA VKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRK NDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCS CSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD
SEQ ID NO: 3103	人 TGFBR2 片段 4	QLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDEN ITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSD ECNDNIIF
SEQ ID NO: 3106	不成熟的人 TGFBR3 同工型 1 (Q03167-1)	MTSHYVIAIFALMSSCLATAGPEPGALCELSPVSASHPVQALMESFT VLSGCASRGTTGLPQEVHVLNLRTAGQGPGQLQREVTLHLNPISSV HIHHHKSVVFLLNSPHPLVWHLKTERLATGVSRLFLVSEGSVVQFSSA NFSLTAETEERNFPHGNEHLLNWARKEYGAVTSFTELKIARNIYIKV GEDQVFPPKCNIGKNFLSLNYLAEYLQPKAAEGCVMSSQPQNEEVH IIELITPNSNPYSAFQVDITIDIRPSQEDLEVVKNLILILKCKKSVNWVI KSFDVKGSLKIIAPNSIGFGKESERSMTMTKSIRDDIPSTQGNLVKW ALDNGYSPITSYTMAPVANRFHLRLENNAEEMGDEEVHTIPPELRIL LDPGALPALQNPPIRGGEGQNGGLPFPFPDISRRVWNEEGEDGLPRP KDPVIPSIQLFPGLREPEEVQGSVDIALSVKCDNEKMIVAVEKDSFQ ASGYSGMDVTLLDPTCKAKMNGTHFVLESPLNGCGTRPRWSALDG VVYYNSIVIQVPALGDSSGWPDGYEDLESGDNGFPGDMDEGDASLF TRPEIVVFNCSLQQVRNPSSFQEQPHGNITFNMELYNTDLFLVPSQG VFSVPENGHVYVEVSVTKAEQELGFAIQTCFISPYSNPDRMSHYTIIE NICPKDESVKFYSPKRVHFPIPQADMDKKRFSFVFKPVFNTSLLFLQ CELTLCTKMEKHPQKLPKCVPPDEACTSLDASIIWAMMQNKKTFTK PLAVIHHEAESKEKGPSMKEPNPISPPIFHGLDTLTVMGIAFAAFVIG ALLTGALWYIYSHTGETAGRQQVPTSPPASENSSAAHSIGSTQSTPC SSSSTA
SEQ ID NO: 3125	人 TGFBR3 同工型 1 (Q03167-1)	GPEPGALCELSPVSASHPVQALMESFTVLSGCASRGTTGLPQEVHVL NLRTAGQGPGQLQREVTLHLNPISSVHIHHKSVVFLLNSPHPLVWH LKTERLATGVSRLFLVSEGSVVQFSSANFSLTAETEERNFPHGNEHL LNWARKEYGAVTSFTELKIARNIYIKVGEDQVFPPKCNIGKNFLSLN YLAEYLQPKAAEGCVMSSQPQNEEVHIIELITPNSNPYSAFQVDITID IRPSQEDLEVVKNLILILKCKKSVNWVIKSFDVKGSLKIIAPNSIGFGK ESERSMTMTKSIRDDIPSTQGNLVKWALDNGYSPITSYTMAPVANR FHLRLENNAEEMGDEEVHTIPPELRILLDPGALPALQNPPIRGGEGQ NGGLPFPFPDISRRVWNEEGEDGLPRPKDPVIPSIQLFPGLREPEEVQ GSVDIALSVKCDNEKMIVAVEKDSFQASGYSGMDVTLLDPTCKAK MNGTHFVLESPLNGCGTRPRWSALDGVVYYNSIVIQVPALGDSSG WPDGYEDLESGDNGFPGDMDEGDASLFTRPEIVVFNCSLQQVRNPS SFQEQPHGNITFNMELYNTDLFLVPSQGVFSVPENGHVYVEVSVTK AEQELGFAIQTCFISPYSNPDRMSHYTIIENICPKDESVKFYSPKRVHF PIPQADMDKKRFSFVFKPVFNTSLLFLQCELTLCTKMEKHPQKLPKC VPPDEACTSLDASIIWAMMQNKKTFTKPLAVIHHEAESKEKGPSMK EPNPISPPIFHGLDTLTVMGIAFAAFVIGALLTGALWYIYSHTGETAG RQQVPTSPPASENSSAAHSIGSTQSTPCSSSSTA
SEQ ID NO: 3107	不成熟的人 TGFBR3	MTSHYVIAIFALMSSCLATAGPEPGALCELSPVSASHPVQALMESFT VLSGCASRGTTGLPQEVHVLNLRTAGQGPGQLQREVTLHLNPISSV HIHHKSVVFLLNSPHPLVWHLKTERLATGVSRLFLVSEGSVVQFSSA

[0547]

	同工型 2 (Q03167-2)	NFSLTAETEERNFPHGNEHLLNWARKEYGAVTSFTELKIARNIYIKV GEDQVFPPKCNIGKNFLSLNYLAEYLQPKAAEGCVMSSQPQNEEVH IIELITPNSNPYSAFQVDITIDIRPSQEDLEVVKNLILILKCKKSVNWVI KSFDVKGSLKIIAPNSIGFGKESERSMTMTKSIRDDIPSTQGNLVKW ALDNGYSPITSYTMAPVANRFHLRLENNEEMGDEEVHTIPPELRILL DPGALPALQNPPIRGGEGQNGGLPFPFPDISRRVWNEEGEDGLPRPK DPVIPSIQLFPGLREPEEVQGSVDIALSVKCDNEKMIVAVEKDSFQAS GYSGMDVTLLDPTCKAKMNGTHFVLESPLNGCGTRPRWSALDGV VYYNSIVIQVPALGDSSGWPDGYEDLESGDNGFPGDMDEGDASLFT RPEIVVFNCSLQQVRNPSSFQEQPHGNITFNMELYNTDLFLVPSQGV FSVPENGHVYVEVSVTKAEQELGFAIQTCFISPYSNPDRMSHYTIIEN ICPKDESVKFYSPKRVHFPIPQADMDKKRFSFVFKPVFNTSLLFLQCE LTLCTKMEKHPQKLPKCVPPDEACTSLDASIIWAMMQNKKTFTKPL AVIHHEAESKEKGPSMKEPNPISPPIFHGLDTLTVMGIAFAAFVIGAL LTGALWYIYSHTGETAGRQQVPTSPPASENSSAAHSIGSTQSTPCSSS STA
SEQ ID NO: 3126	人 TGFBR3 同工型 2 (Q03167-2)	GPEPGALCELSPVSASHPVQALMESFTVLSGCASRGTTGLPQEVHVL NLRTAGQGPGQLQREVTLHLNPISSVHIHHKSVVFLLNSPHPLVWH LKTERLATGVSRLFLVSEGSVVQFSSANFSLTAETEERNFPHGNEHL LNWARKEYGAVTSFTELKIARNIYIKVGEDQVFPPKCNIGKNFLSLN YLAEYLQPKAAEGCVMSSQPQNEEVHIIELITPNSNPYSAFQVDITID IRPSQEDLEVVKNLILILKCKKSVNWVIKSFDVKGSLKIIAPNSIGFGK ESERSMTMTKSIRDDIPSTQGNLVKWALDNGYSPITSYTMAPVANR FHLRLENNEEMGDEEVHTIPPELRILLDPGALPALQNPPIRGGEGQN GGLPFPFPDISRRVWNEEGEDGLPRPKDPVIPSIQLFPGLREPEEVQG SVDIALSVKCDNEKMIVAVEKDSFQASGYSGMDVTLLDPTCKAKM NGTHFVLESPLNGCGTRPRWSALDGVVYYNSIVIQVPALGDSSGWP DGYEDLESGDNGFPGDMDEGDASLFTRPEIVVFNCSLQQVRNPSSF QEQPHGNITFNMELYNTDLFLVPSQGVFSVPENGHVYVEVSVTKAE QELGFAIQTCFISPYSNPDRMSHYTIIENICPKDESVKFYSPKRVHFPI PQADMDKKRFSFVFKPVFNTSLLFLQCELTLCTKMEKHPQKLPKCV PPDEACTSLDASIIWAMMQNKKTFTKPLAVIHHEAESKEKGPSMKE PNPISPPIFHGLDTLTVMGIAFAAFVIGALLTGALWYIYSHTGETAGR QQVPTSPPASENSSAAHSIGSTQSTPCSSSSTA
SEQ ID NO: 3108	人 TGFBR3 片段 1	GPEPGALCELSPVSASHPVQALMESFTVLSGCASRGTTGLPQEVHVL NLRTAGQGPGQLQREVTLHLNPISSVHIHHKSVVFLLNSPHPLVWH LKTERLATGVSRLFLVSEGSVVQFSSANFSLTAETEERNFPHGNEHL LNWARKEYGAVTSFTELKIARNIYIKVGEDQVFPPKCNIGKNFLSLN YLAEYLQPKAAEGCVMSSQPQNEEVHIIELITPNSNPYSAFQVDITID IRPSQEDLEVVKNLILILKCKKSVNWVIKSFDVKGSLKIIAPNSIGFGK ESERSMTMTKSIRDDIPSTQGNLVKWALDNGYSPITSYTMAPVANR FHLRLENNAEEMGDEEVHTIPPELRILLDPGALPALQNPPIRGGEGQ NGGLPFPFPDISRRVWNEEGEDGLPRPKDPVIPSIQLFPGLREPEEVQ GSVDIALSVKCDNEKMIVAVEKDSFQASGYSGMDVTLLDPTCKAK MNGTHFVLESPLNGCGTRPRWSALDGVVYYNSIVIQVPALGDSSG WPDGYEDLESGDNGFPGDMDEGDASLFTRPEIVVFNCSLQQVRNPS SFQEQPHGNITFNMELYNTDLFLVPSQGVFSVPENGHVYVEVSVTK AEQELGFAIQTCFISPYSNPDRMSHYTIIENICPKDESVKFYSPKRVHF

[0548]

		PIPQADMDKKRFSFVFKPVFNTSLLFLQCELTLCTKMEKHPQKLPKC VPPDEACTSLDASIIWAMMQNKKTFTKPLAVIHHEAESKEKGPSMK EPNPISPPIFHGLDTLTV
SEQ ID NO: 3192	hCH1-hFc_白 -3x4GS-TGFbR2	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVC TLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGXGGGGSGGGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVK FPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKND ENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCS SDECNDNIIFSEEYNTSNPD，其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 3193	hCH1-hFc_杵 -3x4GS-TGFbR2	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGXGGGGSGGGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVK FPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKND ENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCS SDECNDNIIFSEEYNTSNPD，其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 3194	hFc_白 -3x4GS-TGFbR2	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREE MTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGXG GGGSGGGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC DVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETV CHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNI IFSEEYNTSNPD，其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 3195	hFc_杵 -3x4GS-TGFbR2	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREE MTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGX GGGGSGGGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKF CDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLET VCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECND NIIFSEEYNTSNPD，其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 3196	TGFbR2-3x4GS-hCH1-hFc_白	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMS NCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDA ASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGG SGGGGSGGGGSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC

[0549]

		NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGX，其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 3197	TGFbR2-3x4GS-hCH1-hFc_杵	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMS NCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDA ASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGG SGGGGSGGGGSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGX，其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 3198	TGFbR2-3x4GS-hCLIg_vl	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMS NCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDA ASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGG SGGGGSGGGGSGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPG AVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 3199	TGFβR2-3x4GS-hCLIg_vk	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMS NCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDA ASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGG SGGGGSGGGGSRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0550] 基质修饰部分

[0551] 在其他实施方案中,抗NKp30抗体分子(例如,多特异性抗体分子)进一步包含一个或多个基质修饰部分。本文所述的基质修饰部分包括能够降解基质组分的部分,该基质组分是例如ECM组分,例如糖胺聚糖,例如乙酰透明质酸(也称为透明质酸或HA)、硫酸软骨素、软骨素、硫酸皮肤素、硫酸肝素、肝素、巢蛋白、生腱蛋白、聚集蛋白聚糖和硫酸角蛋白;或细胞外蛋白,例如胶原蛋白、层粘连蛋白、弹性蛋白、纤维蛋白原、纤连蛋白和玻连蛋白。

[0552] 在一些实施方案中,基质修饰部分是酶。例如,基质修饰部分可包括但不限于透明质酸酶、胶原酶、软骨素酶、基质金属蛋白酶(例如,巨噬细胞金属弹性蛋白酶)。

[0553] 用于基质修饰部分的示例性氨基酸和核苷酸序列公开于WO 2017/165464,参见例如第131-136、188-193页,其通过引用并入本文。

[0554] 核酸

[0555] 还公开了编码前述抗体分子,例如多特异性或多功能分子的核酸。

[0556] 在某些实施方案中,本发明的特征在于核酸,其包含编码如本文所述的抗体分子的重链和轻链可变区和CDR或高变环的核苷酸序列。例如,本发明的特征在于分别编码选自本文公开的一种或多种抗体分子的抗体分子的重链和轻链可变区的第一核酸和第二核酸。核酸可包含如本文表中所列的核苷酸序列,或与其基本相同(例如,与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的序列)或与本文表中所示的序列相差不超过3、6、15、30或45个核苷

酸的序列。

[0557] 在某些实施方案中,核酸可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,所述重链可变区具有如本文表中所列的氨基酸序列或与其基本同源的序列(例如,与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,和/或具有一个或多个置换,例如保守置换的序列)。在其他实施方案中,核酸可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,所述轻链可变区具有如本文表中所列的氨基酸序列,或与其基本同源的序列(例如,与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,和/或具有一个或多个置换,例如保守置换)的序列。在又一个实施方案中,核酸可以包含编码来自重链可变区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,所述重链可变区和轻链可变区具有本文表中所列的氨基酸序列,或与其基本同源的序列(例如,与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,和/或具有一个或多个置换,例如保守置换的序列)。

[0558] 在某些实施方案中,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,所述重链可变区具有如本文表中所列的核苷酸序列,与其基本同源的序列(例如,与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,和/或能够在本文描述的严格条件下杂交的序列)。在另一个实施方案中,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,所述轻链可变区具有如本文表中所列的核苷酸序列,或与其基本同源的序列(例如,与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,和/或能够在本文描述的严格条件下杂交的序列)。在另一个实施方案中,核酸可以包含编码来自重链可变区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,所述重链可变区和轻链可变区具有本文表中所列的核苷酸序列,或与其基本同源的序列(例如,与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,和/或能够在本文描述的严格条件下杂交的序列)。

[0559] 在某些实施方案中,核酸可以包含编码本文公开的细胞因子分子、免疫细胞衔接物或基质修饰部分的核苷酸序列。

[0560] 在另一方面,本申请的特征在于含有本文所述核酸的宿主细胞和载体。核酸可以存在于同一宿主细胞或不同的宿主细胞中的单个载体或不同载体中,如下文更详细地描述。

[0561] 载体

[0562] 本文还提供了载体,其包含编码本文所述的多特异性或多功能分子的核苷酸序列。在一个实施方案中,载体包含编码本文所述的多特异性或多功能分子的核苷酸。在一个实施方案中,载体包含本文所述的核苷酸序列。载体包括但不限于病毒、质粒、粘粒、λ噬菌体或酵母人工合成染色体(YAC)。

[0563] 可以采用许多载体系统。例如,一类载体利用来自动物病毒的DNA元件,所述动物病毒例如牛乳头瘤病毒、多瘤病毒、腺病毒、牛痘病毒、杆状病毒、逆转录病毒(Rous肉瘤病毒、MMTV或MOMLV)或SV40病毒。另一类载体利用来自RNA病毒(例如西门利克森林病毒、东方马脑炎病毒和黄病毒)的RNA元件。

[0564] 另外,可以通过引入一种或多种允许选择转染的宿主细胞的标记来选择DNA被稳定整合到其染色体中的细胞。例如,标记可以向营养缺陷宿主提供质子移变、杀生物剂抗性

(例如抗生素)或对重金属如铜的抗性等。可选择的标记基因可以直接连接到要表达的DNA序列,或可以通过共转化引入相同的细胞。mRNA的最佳合成可能还需要其他元件。这些元件可能包括剪接信号,以及转录启动子、增强子和终止信号。

[0565] 一旦准备好用于表达的表达载体或包含DNA序列的构建体,就可以将表达载体转染或引入合适的宿主细胞中。可以采用多种技术来实现这一点,例如,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常规技术。在原生质体融合的情况下,将细胞在培养基中生长并筛选适当的活性。

[0566] 用于培养所得转染细胞和用于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,并且基于本说明书,可以根据所使用的特定表达载体和哺乳动物宿主细胞进行改变或优化。

[0567] 细胞

[0568] 在另一方面,本申请的特征在于含有本文所述核酸的宿主细胞和载体。核酸可以存在于同一宿主细胞或不同宿主细胞中的单个载体或不同载体中。宿主细胞可以是真核细胞,例如,哺乳动物细胞、昆虫细胞、酵母细胞或原核细胞,例如,大肠杆菌。例如,哺乳动物细胞可以是培养的细胞或细胞系。示例性的哺乳动物细胞包括淋巴细胞细胞系(例如,NSO)、中国仓鼠卵巢细胞(CHO)、COS细胞、卵母细胞和来自转基因动物的细胞,例如,乳腺上皮细胞。

[0569] 本发明还提供了包含编码本文所述抗体分子的核酸的宿主细胞。

[0570] 在一个实施方案中,对宿主细胞进行遗传工程化以包含编码抗体分子的核酸。

[0571] 在一个实施方案中,通过使用表达盒对宿主细胞进行遗传工程化。短语“表达盒”是指核苷酸序列,其能够影响基因在与此类序列相容的宿主中的表达。这样的盒可以包括启动子,具有或没有内含子的可读框以及终止信号。也可以使用对影响表达所必需或有帮助的其他因素,例如可诱导的启动子。

[0572] 本发明还提供了包含本文所述载体的宿主细胞。

[0573] 该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、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。

[0574] 用途

[0575] 本文所述的方法包括通过使用抗NKp30抗体分子,例如本文所述的多特异性分子,例如使用本文所述的药物组合物来治疗受试者的病症,例如癌症、自身免疫性或炎性病症或者传染性病症。还提供了用于减轻或改善受试者的病症,例如癌症、自身免疫性或炎性病症或者传染性病症的症状的方法,以及用于抑制病变细胞,例如癌细胞的生长和/或杀死或耗尽一种或多种病变细胞,例如癌细胞的方法。在实施方案中,本文所述的方法在施用了本文描述的或本文描述的药物组合物的受试者中减小了肿瘤的大小并且/或者减少了癌细胞的数目。

[0576] 在实施方案中,将抗体分子,例如多特异性分子或药物组合物在肠胃外施用给受试者。在实施方案中,将抗体分子或药物组合物经静脉内、皮下、肿瘤内、结节内、肌内、皮内或腹膜内施用给受试者。在一些实施方案中,将细胞直接施用(例如注射)到肿瘤或淋巴结中。在实施方案中,细胞以输注(例如,如Rosenberg等人,New Eng.J.of Med.319:1676,

1988)或静脉推注的形式施用。在实施方案中,细胞以以可注射的储库型长效制剂形式施用。

[0577] 在实施方案中,受试者是哺乳动物。在实施方案中,受试者是人、猴、猪、狗、猫、牛、绵羊、山羊、兔、大鼠或小鼠。在实施方案中,受试者是人。在实施方案中,受试者是儿科受试者,例如小于18岁,例如小于17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1岁或更小的年龄。在实施方案中,受试者是成年人,例如,至少18岁,例如,至少19、20、21、22、23、24、25、25-30、30-35、35-40、40-50、50-60、60-70、70-80或80-90岁。

[0578] 癌症

[0579] 在实施方案中,癌症是血液学癌症、实体瘤或其转移性病变。在一些实施方案中,用于治疗癌症的抗NKp30抗体分子进一步包含肿瘤靶向部分,例如如本文所述的肿瘤靶向部分。

[0580] 在实施方案中,血液学癌症是白血病或淋巴瘤。如本文所用,“血液学癌症”是指造血或淋巴组织的肿瘤,例如,影响血液、骨髓或淋巴结的肿瘤。示例性的血液学恶性肿瘤包括但不限于白血病(例如,急性成淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、毛细胞白血病、急性单核细胞白血病(AMoL)、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)、少年骨髓单核细胞白血病(JMML)或巨粒淋巴细胞白血病)、淋巴瘤(例如艾滋病相关淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤(例如经典霍奇金淋巴瘤或结节性淋巴细胞为主的霍奇金淋巴瘤)、蕈样真菌病、非霍奇金淋巴瘤(例如B细胞非霍奇金淋巴瘤(例如伯基特淋巴瘤、小淋巴细胞淋巴瘤(CLL/SLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、免疫母细胞性大细胞淋巴瘤、前体B淋巴母细胞性淋巴瘤或套细胞淋巴瘤)或T细胞非霍奇金淋巴瘤(蕈样真菌病、退行性大细胞淋巴瘤或前体T淋巴母细胞性淋巴瘤))、原发性中枢神经系统淋巴瘤、塞扎里综合征、沃尔登斯特伦巨球蛋白血症)、慢性骨髓增生性肿瘤、郎格汉斯细胞组织细胞增多症、多发性骨髓瘤/浆细胞赘生物、骨髓增生异常综合征或骨髓增生异常/骨髓增生性赘生物。

[0581] 在实施方案中,癌症是实体癌。示例性的实体癌包括但不限于卵巢癌、直肠癌、胃癌、睾丸癌、肛门区域癌、子宫癌、结肠癌、直肠癌、肾细胞癌、肝癌、非小细胞癌肺癌、小肠癌、食管癌、黑素瘤、卡波济氏肉瘤、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头或颈癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、脑干神经胶质瘤、垂体腺瘤、表皮样癌、子宫颈鳞状细胞癌、输卵管癌、子宫内膜癌、阴道癌、软组织肉瘤、尿道癌、外阴癌、阴茎癌、膀胱癌、肾癌或输尿管癌、肾盂癌、脊柱轴肿瘤、中枢神经系统(CNS)赘生物、原发性中枢神经系统淋巴瘤、肿瘤血管生成、所述癌症的转移性病变,或其组合。

[0582] 在某些实施方案中,癌症是上皮细胞的、间充质细胞的或血液系统的恶性肿瘤。在某些实施方案中,所治疗的癌症是实体瘤(例如类癌、癌或肉瘤)、软组织肿瘤(例如血红素恶性肿瘤)和转移性病变,例如本文公开的任何癌症的转移性病变。在一个实施方案中,所治疗的癌症是纤维化或增生性实体瘤,例如具有以下一种或多种的肿瘤:有限的肿瘤灌注、压缩的血管、纤维化的肿瘤间质或增加的间质液压力。在一个实施方案中,实体瘤选自胰腺癌(例如,胰腺腺癌或胰腺导管腺癌)、乳腺癌、结肠癌、结直肠癌、肺癌(例如,小细胞肺癌(SCLC)或非小细胞肺癌)(NSCLC))、皮肤癌、卵巢癌、肝癌、食管癌、子宫内膜癌、胃癌、头颈癌、肾癌或前列腺癌中的一种或多种。

[0583] 癌症的实例包括但不限于癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤和白血病或淋巴样恶性肿瘤。此类癌症的更具体实例如下所示并包括:鳞状细胞癌(例如上皮鳞状细胞癌)、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌(包括胃肠癌)、胰腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、子宫内膜癌或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、肛门癌、阴茎癌以及头颈癌。术语“癌症”包括原发性恶性细胞或肿瘤(例如,其细胞未迁移至受试者体内除原始恶性肿瘤或肿瘤的部位以外的部位的那些)和继发性恶性细胞或肿瘤(例如,由恶性细胞或肿瘤细胞向不同于原始肿瘤部位的继发性部位的迁移引起的那些)。

[0584] 癌症或恶性肿瘤的其他实例包括但不限于:儿童急性成淋巴细胞性白血病、急性成淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、急性髓性白血病、肾上腺皮质癌、成人(原发性)肝细胞癌、成人(原发性)肝癌、成人急性淋巴细胞性白血病、成人急性髓性白血病、成人霍奇金病、成人霍奇金淋巴瘤、成人淋巴细胞性白血病、成人非霍奇金淋巴瘤、成人原发性肝癌、成人软组织肉瘤、与艾滋病相关的淋巴瘤、与艾滋病相关的恶性肿瘤、肛门癌、星细胞瘤、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脑干神经胶质瘤、脑瘤、乳腺癌、肾盂和输尿管癌、中枢神经系统(原发性)淋巴瘤、中枢神经系统淋巴瘤、小脑星形细胞瘤、大脑星形细胞瘤、宫颈癌、儿童(原发性)肝细胞癌、儿童(原发性)肝癌、儿童急性成淋巴细胞性白血病、儿童急性髓性白血病、儿童脑干神经胶质瘤、儿童小脑星形细胞瘤、儿童大脑星形细胞瘤、儿童颅外生殖细胞瘤、儿童霍奇金病、儿童霍奇金淋巴瘤、儿童下丘脑和视觉通路神经胶质瘤、儿童成淋巴细胞性白血病、儿童髓母细胞瘤、儿童非霍奇金淋巴瘤、儿童松果体和幕上原始神经外胚层肿瘤、儿童原发性肝癌、儿童横纹肌肉瘤、儿童软组织肉瘤、儿童视觉通路和下丘脑神经胶质瘤、慢性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、结肠癌、皮肤T细胞淋巴瘤、内分泌胰腺胰岛细胞癌、子宫内膜癌、室管膜瘤、上皮样癌、食管癌、尤文肉瘤及相关肿瘤、外分泌胰腺癌、颅外生殖细胞瘤、性腺外生殖细胞瘤、肝外胆管癌、眼癌、女性乳腺癌、高歇病、胆囊癌、胃癌、胃肠道类癌、胃肠道肿瘤、生殖细胞肿瘤、妊娠滋养细胞肿瘤、多毛细胞白血病、头颈癌、肝细胞癌、霍奇金病、霍奇金淋巴瘤、高丙种球蛋白血症、下咽癌、肠癌、眼内黑素瘤、胰岛细胞癌、胰岛细胞胰腺癌、卡波济氏肉瘤、肾癌、喉癌、唇和口腔癌、肝癌、肺癌、淋巴组织增生性病症、巨球蛋白血症、男性乳腺癌、恶性间皮瘤、恶性胸腺瘤、髓母细胞瘤、黑素瘤、间皮瘤、转移性隐匿性原发性鳞状颈癌、转移性原发性鳞状颈癌、转移性鳞状颈癌、多发性骨髓瘤、多发性骨髓瘤/浆细胞赘生物、骨髓增生异常综合征、髓细胞性白血病、髓性白血病、骨髓增生性病症、鼻腔和鼻窦癌、鼻咽癌、神经母细胞瘤、妊娠期非霍奇金淋巴瘤、非黑素瘤皮肤癌、非小细胞肺癌、隐匿性原发性转移性鳞状颈癌、口咽癌、骨/恶性纤维肉瘤、骨肉瘤/恶性纤维组织细胞瘤、骨肉瘤/骨恶性纤维组织细胞瘤、卵巢上皮瘤、卵巢生殖细胞肿瘤、卵巢低恶性潜能肿瘤、胰腺癌、副蛋白血症、紫癜、甲状旁腺癌、阴茎癌、嗜铬细胞瘤、垂体瘤、浆细胞赘生物/多发性骨髓瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性肝癌、前列腺癌、直肠癌、肾细胞癌、肾盂和输尿管癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、涎腺癌、结节病肉瘤、塞扎里综合征、皮肤癌、小细胞肺癌、小肠癌、软组织肉瘤、鳞状颈癌、胃癌、幕上原始神经外胚层和松果体肿瘤、T细胞淋巴瘤、睾丸癌、胸腺瘤、甲状腺癌、肾盂和输尿管移行细胞癌、肾盂和输尿管移行癌、滋养细胞瘤、输尿管和肾盂细胞癌、尿道癌、子宫癌、子宫肉瘤、阴道癌、视觉通路和下丘脑神经胶质瘤、外阴癌、沃尔登斯特伦巨球蛋白血症、肾母细胞瘤以及位于上文所

列器官系统中的除瘤形成以外的任何其他过度增生性疾病。

[0585] 在其他实施方案中,如上所述和本文所述的多特异性分子用于治疗过度增殖性病症,例如过度增殖性结缔组织病症(例如过度增殖性纤维化疾病)。在一个实施方案中,过度增殖性纤维化疾病是多系统的或器官特异性的。示例性的过度增生性纤维化疾病包括但不限于多系统性病症(例如系统性硬化病、多灶性纤维硬化、骨髓移植受者中的硬皮病移植物抗宿主病、肾源性系统性纤维化、硬皮病)和器官特异性病症(例如眼、肺、肝脏、心脏、肾脏、胰腺、皮肤和其他器官的纤维化)。在其他实施方案中,病症选自肝硬化或结核病。在其他实施方案中,病症是麻风病。

[0586] 在实施方案中,以适合于待治疗或预防的疾病的方式施用多特异性分子(或药物组合物)。施用的量和频率取决于患者的病情、患者疾病的类型和严重性等因素。适当的剂量可以通过临床试验确定。例如,当指示"有效量"或"治疗量"时,医师可以通过考虑肿瘤大小的个体差异、感染或转移的程度、受试者的年龄、体重和状况来确定要施用的药物组合物(或多特异性分子)的精确量。在实施方案中,本文描述的药物组合物可以以10^4至10^9个细胞/kg体重的剂量施用,例如10^5至10^6个细胞/kg体重,包括在这些范围内的所有整数值。在实施方案中,本文所述的药物组合物可以以这些剂量多次施用。在实施方案中,本文所述的药物组合物可以使用在免疫疗法中所述的输注技术来施用(参见例如Rosenberg等人,New Eng.J.of Med.319:1676,1988)。

[0587] 在实施方案中,癌症是骨髓增生性赘生物,例如原发性或特发性骨髓纤维化(ML)、原发性血小板增多症(ET)、真性红细胞增多症(PV)或慢性髓细胞性白血病(CML)。在实施方案中,癌症是骨髓纤维化。在实施方案中,受试者患有骨髓纤维化。在实施方案中,受试者具有钙网蛋白突变,例如本文公开的钙网蛋白突变。在实施方案中,受试者不具有JAK2-V617L突变。在实施方案中,受试者具有JAK2-V617L突变。在实施方案中,受试者具有MPL突变。在实施方案中,受试者不具有MPL突变。

[0588] 在实施方案中,癌症是实体癌。示例性的实体癌包括但不限于卵巢癌、直肠癌、胃癌、睾丸癌、肛门区域癌、子宫癌、结肠癌、直肠癌、肾细胞癌、肝癌、非小细胞癌肺癌、小肠癌、食管癌、黑素瘤、卡波济氏肉瘤、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头或颈癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、脑干神经胶质瘤、垂体腺瘤、表皮样癌、子宫颈鳞状细胞癌、输卵管癌、子宫内膜癌、阴道癌、软组织肉瘤、尿道癌、外阴癌、阴茎癌、膀胱癌、肾癌或输尿管癌、肾盂癌、脊柱轴肿瘤、中枢神经系统(CNS)赘生物、原发性中枢神经系统淋巴瘤、肿瘤血管生成、所述癌症的转移性病变,或其组合。

[0589] 炎性和自身免疫性病症

[0590] 在一些实施方案中,本文公开的抗NKp30抗体分子,例如多特异性抗体分子可用于治疗炎性和自身免疫性病症和移植物抗宿主病(GvHD)。在一些实施方案中,本文公开的抗NKp30抗体分子,例如多特异性抗体分子通过将NK细胞,例如表达NKp30的细胞引导至自身反应性T细胞来耗尽自身反应性T细胞。在一些实施方案中,抗NKp30抗体分子进一步包含与自身反应性T细胞,例如,存在于与炎性或自身免疫性病症相关的自身反应性T细胞的表面上的抗原结合的结合特异性。

[0591] 如本文所用,术语"自身免疫性"疾病、病症或病况是指身体免疫系统攻击其自身细胞或组织的疾病。自身免疫性疾病可导致自身抗体的产生,该自身抗体不适当地和/或过

度地针对自体抗原或自身抗原产生。自身免疫性疾病包括但不限于心血管疾病、类风湿疾病、腺病、胃肠疾病、皮肤疾病、肝脏疾病、神经系统疾病、肌肉疾病、肾脏疾病、生殖相关疾病、结缔组织疾病和全身性疾病。在一些实施方案中,自身免疫性疾病由T细胞、B细胞、先天免疫细胞(例如,巨噬细胞、嗜酸性粒细胞或天然杀伤细胞)或补体介导的通路介导。

[0592] 可以通过施用本发明的抗体治疗的自身免疫性疾病的实例包括但不限于斑秃、强直性脊柱炎、抗磷脂综合征、自身免疫性阿狄森氏病、肾上腺自身免疫性疾病、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性卵巢炎和睾丸炎、自身免疫性血小板减少症、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、乳糜泻-皮炎、慢性疲劳免疫功能紊乱综合征(CFIDS)、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、Churg-Strauss综合征、瘢痕性类天疱疮、CREST综合征、冷凝集素病、克罗恩病、盘状狼疮、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肾小球肾炎、格雷夫斯病、吉兰-巴雷综合征、桥本甲状腺炎、特发性肺纤维化、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、IgA神经病、幼年型关节炎、扁平苔藓、红斑狼疮、美尼尔病、混合型结缔组织病、多发性硬化、视神经脊髓炎(NMO)、1型或免疫介导的糖尿病、重症肌无力、寻常型天疱疮、恶性贫血、结节性多动脉炎、多软骨炎、多腺性综合征、风湿性多肌痛、多肌炎和皮肌炎、原发性无丙种球蛋白血症、原发性胆汁性肝硬化、银屑病、银屑病性关节炎、雷诺现象、赖特综合征、类风湿性关节炎、结节病、硬皮病、干燥综合征、僵人综合征、系统性红斑狼疮、红斑狼疮、高安动脉炎、颞动脉炎/巨细胞动脉炎、横贯性脊髓炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎诸如疱疹样皮炎、血管炎、白癜风和韦格纳肉芽肿。在一些实施方案中,自身免疫性病症是SLE或1型糖尿病。

[0593] 可以根据本发明的方法预防、治疗或控制的炎性病症的实例包括但不限于哮喘、脑炎、炎性肠病、慢性阻塞性肺病(COPD)、变态反应性病症、感染性休克、肺纤维化、未分化脊柱关节病、未分化关节病、关节炎、炎性骨溶解和由慢性病毒或细菌感染引起的慢性炎症。

[0594] 因此,本发明的抗NKp30抗体分子,例如多特异性分子可用于治疗炎性和自身免疫性疾病。

[0595] 传染性疾病

[0596] 在一些实施方案中,本文公开的抗NKp30抗体分子,例如多特异性抗体分子可用于治疗传染性疾病。在一些实施方案中,本文公开的抗体分子,例如多特异性抗体分子耗尽表达病毒或细菌抗原的细胞。在一些实施方案中,抗NKp30抗体分子进一步包含与存在于感染的细胞,例如病毒感染的细胞的表面上的抗原结合的结合特异性。

[0597] 可通过方法治疗的引起感染的致病病毒的一些实例包括HIV、肝炎(甲型、乙型或丙型)、疱疹病毒(例如VZV、HSV-1、HAV-6、HSV-II和CMV、Epstein Barr病毒)、腺病毒、流感病毒、黄病毒、埃可病毒、鼻病毒、柯萨奇病毒、冠状病毒、呼吸道合胞病毒、腮腺炎病毒、轮状病毒、麻疹病毒、风疹病毒、细小病毒、痘苗病毒、HTLV病毒、登革热病毒、乳头瘤病毒、软疣病毒、脊髓灰质炎病毒、狂犬病病毒、JC病毒和虫媒病毒脑炎病毒。在一个实施方案中,感染是流感感染。

[0598] 在另一个实施方案中,感染是肝炎感染,例如乙型肝炎或丙型肝炎感染。

[0599] 可治疗的示例性病毒病症包括但不限于Epstein Bar病毒(EBV)、流感病毒、HIV、SIV、结核病、疟疾和HCMV。

[0600] 可通过本发明的方法治疗的引起感染的致病细菌的一些实例包括梅毒、衣原体(chlamydia)、立克次氏体细菌(rickettsial bacteria)、分枝杆菌(mycobacteria)、葡萄球菌(staphylococci)、链球菌(streptococci)、肺炎双球菌(pneumonococci)、脑膜炎球菌(meningococci)和淋病球菌(conococci)、克雷伯菌(klebsiella)、变形杆菌(proteus)、沙雷氏菌(serratia)、假单胞菌(pseudomonas)、军团菌(legionella)、白喉(diphtheria)、沙门氏菌(salmonella)、杆菌(bacilli)、霍乱、破伤风、肉毒中毒、炭疽、鼠疫、钩端螺旋体病和莱姆病的细菌。抗NKp30抗体分子可以与上述感染的现有治疗方式组合使用。例如,梅毒的治疗包括青霉素(例如青霉素G.)、四环素、强力霉素、头孢曲松和阿奇霉素。

[0601] 诊断用途

[0602] 在一方面,本发明提供了用于在体外(例如,在生物样品中,诸如组织活检物,例如来自癌性组织)或体内(例如,受试者的体内成像)检测NKp30蛋白存在的诊断方法。该方法包括:(i)使样品与本文所述的抗体分子接触,或将抗体分子施用至受试者;(可选地)(ii)接触参照样品,例如对照样品(例如,对照生物样品,诸如血浆、组织、活检物)或对照受试者;以及(iii)检测抗体分子与样品或受试者或者对照样品或对照受试者之间复合物的形成,其中在样品或受试者中相对于对照样品或对照受试者的复合物形成的变化,例如统计学上的显著变化指示NKp30在样品中的存在。可以使用可检测物质直接或间接标记抗体分子以促进结合或未结合抗体的检测。合适的可检测物质包括各种酶、辅基、荧光材料、发光材料和放射性材料,如上所述且如下文更详细地描述。

[0603] 术语“样品”在指用于检测多肽的样品时包括但不限于细胞、细胞裂解物、蛋白质或细胞膜提取物、体液或组织样品。

[0604] 可以通过测量或可视化与NKp30抗原结合的结合分子或未结合的结合分子来检测抗体分子与NKp30之间的复合物形成。可以使用常规检测测定,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法。作为标记抗体分子的替代方法,可以通过竞争免疫测定法利用标有可检测物质的标准品和未标记的抗体分子来测定NKp30的存在。在该测定中,将生物样品、标记的标准品和抗体分子组合并测定与未标记的结合分子结合的标记的标准品的量。样品中NKp30的量和与抗体分子结合的标记的标准品的量成反比。

[0605] 本发明提供了包括但不限于以下实施方式:

[0606] 1.一种与NKp30结合的分离的抗体分子,包括:

[0607] (i)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:7313的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:7315的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列);和/或

[0608] (ii)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:7326的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:7327的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:7329的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0609] 2.根据实施方式1所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0610] (i)VH,包含SEQ ID NO:7298或7300-7304中的任一项的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:7298或7300-7304中的任一项具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和/或

[0611] (ii)VL,包含SEQ ID NO:7299或7305-7309中的任一项的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:7299或7305-7309中的任一项具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0612] 3.根据实施方式2所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0613] (i)VH,包含SEQ ID NO:7302的氨基酸序列(或与7302具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),以及VL,包含SEQ ID NO:7305的氨基酸序列(或与7305具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列);或者

[0614] (ii)VH,包含SEQ ID NO:7302的氨基酸序列(或与7302具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),以及VL,包含SEQ ID NO:7309的氨基酸序列(或与7309具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0615] 4.根据实施方式1-3中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0616] (i)SEQ ID NO:7310的氨基酸序列(或与7310具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列);或者

[0617] (ii)SEQ ID NO:7311的氨基酸序列(或与7311具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0618] 5.一种与NKp30结合的分离的抗体分子,包括:

[0619] (i)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6000的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6002的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列),以及

[0620] (ii)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6063的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6064的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:7293的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0621] 6.根据实施方式5所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0622] (1)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6003的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6004的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6005的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6006的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列),和/或

[0623] (2)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6066的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6067的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添

加或缺失的序列)、SEQ ID NO:7292的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6069的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0624] 7.根据实施方式5或6中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0625] (i)VH,包含SEQ ID NO:6121的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6121具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和/或

[0626] (ii)VL,包含SEQ ID NO:7294的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:7294具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0627] 8.根据实施方式5-7中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0628] (i)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6007的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6008的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6009的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列),以及

[0629] (ii)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6070的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6071的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6072的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0630] 9.根据实施方式5-8中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0631] (1)重链可变区(VH),包含SEQ ID NO:6010的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6011的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6012的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6013的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列),和/或

[0632] (2)轻链可变区(VL),包含SEQ ID NO:6073的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6074的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6075的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)或SEQ ID NO:6076的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。

[0633] 10.根据实施方式5-9中任一项所述的抗体分子,其中所述抗原结合域包括:

[0634] (i)VH,包含SEQ ID NO:6122的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6122具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和/或

[0635] (ii)VL,包含SEQ ID NO:6136的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6136具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0636] 11.一种多特异性分子,包含根据实施方式1-10中任一项所述的抗体分子。

[0637] 12.根据实施方式11所述的多特异性分子,进一步包含以下之一、二、三、四或更

多:

[0638] a.肿瘤靶向部分,例如,如本文所述;

[0639] b.细胞因子分子,例如,如本文所述;

[0640] c.T细胞衔接物,例如,如本文所述;或者

[0641] d.基质修饰部分,例如,如本文所述。

[0642] 13.根据实施方式11所述的多特异性分子,进一步包含与自身反应性T细胞,例如,存在于与炎性或自身免疫性病症相关的自身反应性T细胞的表面上的抗原结合的结合特异性。

[0643] 14.根据实施方式11所述的多特异性分子,进一步包含与感染的细胞,例如,病毒或细菌感染的细胞结合的结合特异性。

[0644] 15.根据实施方式1-10中任一项所述的抗体分子,或根据实施方式11-14中任一项所述的多特异性分子,其是单特异性抗体分子、双特异性抗体分子或三特异性抗体分子。

[0645] 16.根据实施方式1-10中任一项所述的抗体分子,或根据实施方式11-14中任一项所述的多特异性分子,其是单价抗体分子、二价抗体分子或三价抗体分子。

[0646] 17.根据实施方式1-10、15或16中任一项所述的抗体分子,或者根据实施方式11-15中任一项所述的多特异性分子,其是完整抗体(例如,包含至少一条、优选两条完整重链以及至少一条、优选两条完整轻链的抗体)或抗原结合片段(例如,Fab、$F(ab')_2$、Fv、单链Fv、单域抗体、双抗体(dAb)、二价抗体或双特异性抗体,或其片段、其单域变体或骆驼抗体)。

[0647] 18.根据实施方式1-17中任一项所述的抗体分子或多特异性分子,其包含选自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的重链恒定区,或其片段。

[0648] 19.根据实施方式1-18中任一项所述的抗体分子或多特异性分子,其包含选自κ或λ的轻链恒定区的轻链恒定区,或其片段。

[0649] 20.根据实施方式1-19中任一项所述的抗体分子或多特异性分子,其中免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)被改变,例如突变,以增加或减少以下一项或多项: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。

[0650] 21.根据实施方式1-20中任一项所述的抗体分子或多特异性分子,其中第一和第二免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)的界面被改变,例如,突变,从而例如相对于非工程化界面增加或减少二聚化。

[0651] 22.根据实施方式21所述的抗体分子或多特异性分子,其中通过为第一和第二Fc区的Fc界面提供以下一种或多种:成对的腔-突起(“杵臼结构”)、静电相互作用或链交换,来增强所述免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)的二聚化,从而例如相对于非工程化界面形成更大比例的异源多聚体:同源多聚体。

[0652] 23.根据实施方式21或22所述的抗体分子或多特异性分子,其中所述免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)在选自例如人IgG1的Fc区的347、349、350、351、366、368、370、392、394、395、397、398、399、405、407或409中的一个或多个的位置包括氨基酸置换。

[0653] 24.根据实施方式21所述的抗体分子或多特异性分子,其中所述免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)包括选自以下的氨基酸置换:T366S、L368A或Y407V(例如,对应于腔或臼),或T366W(例如,对应于突起或杵),或其组合。

[0654] 25.根据实施方式1-24中任一项所述的抗体分子或多特异性分子,进一步包括接头,例如,在以下一种或多种之间的接头:所述靶向部分与所述细胞因子分子或所述基质修饰部分、所述靶向部分与所述免疫细胞衔接物、所述细胞因子分子或所述基质修饰部分与所述免疫细胞衔接物、所述细胞因子分子或所述基质修饰部分与所述免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)、所述靶向部分与所述免疫球蛋白链恒定区,或所述免疫细胞衔接物与所述免疫球蛋白链恒定区。

[0655] 26.根据实施方式25所述的抗体分子或多特异性分子,其中所述接头选自:可裂解的接头、不可裂解的接头、肽接头、柔性接头、刚性接头、螺旋接头或非螺旋接头。

[0656] 27.根据实施方式26所述的抗体分子或多特异性分子,其中所述接头是肽接头。

[0657] 28.根据实施方式27所述的抗体分子或多特异性分子,其中所述肽接头包含Gly和Ser。

[0658] 29.一种分离的核酸分子,所述分离的核酸分子包含编码本文所述的任何抗体分子或多特异性或多功能分子的核苷酸序列,或与其基本同源(例如,与其至少95%至99.9%相同)的核苷酸序列。

[0659] 30.一种分离的核酸,编码根据实施方式1-29中任一项所述的抗体分子或多特异性分子。

[0660] 31.一种载体,例如,表达载体,包含根据实施方式29或30所述的核酸分子的一种或多种。

[0661] 32.一种宿主细胞,包含根据实施方式29-31中任一项所述的核酸分子或载体。

[0662] 33.一种制备,例如,产生根据实施方式1-28中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽的方法,包括在合适的条件下,例如,在适合于基因表达和/或同源或异源二聚化的条件下,培养根据实施方式32所述的宿主细胞。

[0663] 34.一种药物组合物,包含根据实施方式1-28中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽,以及药学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂。

[0664] 35.一种治疗癌症的方法,包括向有需要的受试者施用根据实施方式1-12或15-28中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽,其中以有效治疗所述癌症的量施用所述多特异性抗体。

[0665] 36.根据实施方式1-12或15-28中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽在治疗癌症中的用途。

[0666] 37.根据实施方式35所述的方法或根据实施方式36所述的用途,其中所述癌症是实体瘤癌症或转移性病变。

[0667] 38.根据实施方式37所述的方法或根据实施方式37所述的用途,其中所述实体瘤癌症是胰腺癌(例如,胰腺腺癌)、乳腺癌、结直肠癌、肺癌(例如,小细胞肺癌或非小细胞肺癌)、皮肤癌、卵巢癌或肝癌中的一种或多种。

[0668] 39.根据实施方式35所述的方法或根据实施方式36所述的用途,其中所述癌症是血液学癌症。

[0669] 40.根据实施方式35或37-39中任一项所述的方法或根据实施方式36-39中任一项所述的用途,进一步包括施用第二治疗性治疗。

[0670] 41.根据实施方式40所述的方法或根据实施方式40所述的用途,其中所述第二治

疗性治疗包括治疗剂(例如,化学治疗剂、生物制剂、激素疗法)、放射或外科手术。

[0671] 42.根据实施方式41所述的方法或根据实施方式41所述的用途,其中所述治疗剂选自:化学治疗剂或生物制剂。

[0672] 43.一种治疗自身免疫性或炎性病症的方法,包括向有需要的受试者施用根据实施方式1-11、13或15-28中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽,其中以有效治疗所述自身免疫性或炎性病症的量施用所述多特异性抗体。

[0673] 44.根据实施方式1-11、13或15-28中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽在治疗自身免疫性或炎性病症中的用途。

[0674] 45.一种治疗传染性病症的方法,包括向有需要的受试者施用根据实施方式1-11或14-28中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽,其中以有效治疗所述传染性病症的量施用所述多特异性抗体。

[0675] 46.根据实施方式1-11或14-28中任一项所述的抗体分子或多特异性或多功能分子多肽在治疗传染性病症中的用途。

[0676] 实施例

[0677] 列出以下实施例以助于理解本发明,但不旨在且不应解释为以任何方式限制其范围。

[0678] 实施例1:对亚美尼亚仓鼠进行免疫接种以产生抗NKp30抗体

[0679] 简而言之,用完全弗氏佐剂中的人NKp30蛋白的胞外域对亚美尼亚仓鼠进行免疫接种,并在第14天和第28天用不完全弗氏佐剂(IFA)中的NKp30加强两次。在第56天施予在IFA中的再次加强,并在三天后收获动物。收集脾脏并与P3X63Ag8.653鼠骨髓瘤细胞系融合。以0.9x 10^5个细胞/孔将125ul置于96孔板中并饲喂125μl的I-20+2ME+HAT(IMDM(4g/L葡萄糖)),其中补充有20%胎牛血清、4mM L-谷氨酰胺、1mM丙酮酸钠、50U青霉素、50μg链霉素和50μM 2-ME,不存在或存在HAT或HT以用于选择,并且在第7、11天和此后所需的时间饲喂杂交瘤克隆因子(最终1%)。在融合后大约2周(细胞汇合约50%),收集上清液并测定结合。

[0680] 实施例2:NKp30 mAb的杂交瘤筛选

[0681] 筛选前用BG160(hNKp30细胞抗原)转染Expi293细胞18小时。筛选当天,将转染的细胞稀释至0.05x10^6/mL,并添加抗亚美尼亚仓鼠Fc Alexa Fluor 488至终浓度为0.4ug/mL。将50uL(2,500个细胞)该混合物添加到384孔板的每个孔中。使用相同密度带有二抗的未转染293细胞作为阴性对照。将5uL杂交瘤上清液添加到细胞混合物中,并将板在37℃下温育1小时。然后将板在Mirrorball上成像。鉴定阳性克隆并通过连续稀释来亚克隆以获得克隆选择的杂交瘤。使用相同方案再次确认后,收获杂交瘤细胞并回收相应的重链和轻链序列。将DNA亚克隆到pcDNA3.4中以用于随后表达相应抗体并进行进一步验证。

[0682] 实施例3:NKp30抗体与NK92细胞的结合

[0683] 用含有0.5% BSA和0.1%叠氮化钠(染色缓冲液)的PBS洗涤NK-92细胞,并以200,000个细胞/孔添加到96孔V型底的板中。将仓鼠NKp30抗体以2.0倍连续稀释添加到细胞,并在室温下温育1小时。将板用染色缓冲液洗涤两次。以1:100的稀释度(1.4mg/ml的原液)添加与AF647缀合的抗仓鼠Fc的二抗(Jackson,127-605-160),并在4℃下与细胞温育30分钟,然后用染色缓冲液洗涤。随后将细胞在室温下用4%多聚甲醛固定10分钟。在CytoFLEX LS

(Beckman Coulter)上读取该板。将数据计算为AF747阳性群体的百分比(图1)。

[0684] 实施例4:使用NK92细胞系测量NKp30抗体活性的生物测定

[0685] 将NKp30抗体在PBS中进行三倍连续稀释,并于2-8℃下在平底96孔板中温育过夜。将板在PBS中洗涤两次,并将40,000个NK-92细胞添加至含有IL-2的生长培养基中。在收集上清液之前,将板在37℃、5% CO2的加湿培养箱中温育16-24小时。按照MSD测定说明书测量上清液中的IFNγ水平(图2)。将从与仓鼠同种型IgG一起温育的细胞收集的上清液用作阴性对照,并将来自与NKp30单克隆抗体(R&D,clone 210847)一起温育的细胞的上清液用作阳性对照。使用仓鼠抗NKp30 mAB生成数据。

[0686] 实施例5:人源化抗NKp30抗体的生成和表征

[0687] 选择一系列仓鼠抗NKp30抗体。这些抗体显示与人NKp30和食蟹猴NKp30结合并诱导NK-90细胞产生IFNγ(数据未显示)。示例性的仓鼠抗NKp30抗体15E1、9G1、15H6、9D9、3A12和12D10的VH和VL序列公开于表9。基于15E1、9G1和15H6的示例性人源化抗NKp30抗体的VH和VL序列也公开于表9。这些抗体的Kabat CDR公开于表18和表8。

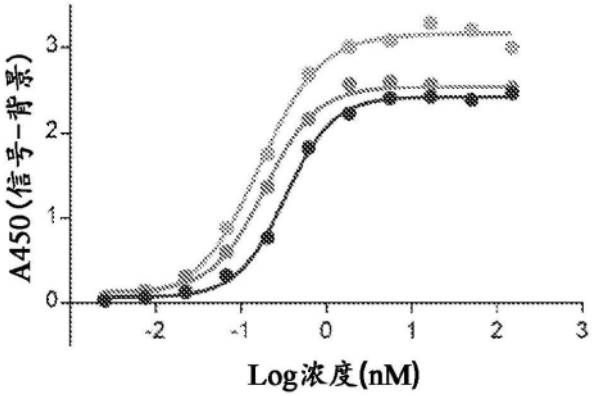
[0688] 选择两个基于15E1的人源化构建体。第一构建体BJM0407是Fab,包含含有SEQ ID NO:7302的氨基酸序列的重链可变区以及含有SEQ ID NO:7305的氨基酸序列的λ轻链可变区。其对应的scFv构建体BJM0859包含SEQ ID NO:7310的氨基酸序列。第二构建体BJM0411是Fab,包含含有SEQ ID NO:7302的氨基酸序列的重链可变区以及含有SEQ ID NO:7309的氨基酸序列的κ轻链可变区。其对应的scFv构建体BJM0860包含SEQ ID NO:7311的氨基酸序列。BJM0407和BJM0411显示出相当的生物物理特性,例如对NKp30的结合亲和力和热稳定性。scFv构建体BJM0859和BJM0860也显示出相当的生物物理特性。

[0689] 援引并入

[0690] 本文提及的所有出版物和专利均通过引用整体并入本文,如同每个单独的出版物或专利均被特别地和单独地指出通过引用并入。

[0691] 等同方案

[0692] 虽然已经讨论了本发明的特定实施方案,但上述说明书是说明性的而非限制性的。在阅读本说明书和以下权利要求后,本发明的许多变化对于本领域技术人员来说将变得显而易见。本发明的全部范围应通过参考权利要求及其等同方案的全部范围、说明书以及这些变化来确定。



NKp30 IC_{50}

mAb克隆：	人	食蟹猴	大鼠
9D9-1C1	0.89 nM	0.89 nM	0.32 nM
16F2-2F3	0.51 nM	0.46 nM	0.72 nM
16G3-1E5	0.44 nM	0.38 nM	0.74 nM

图1

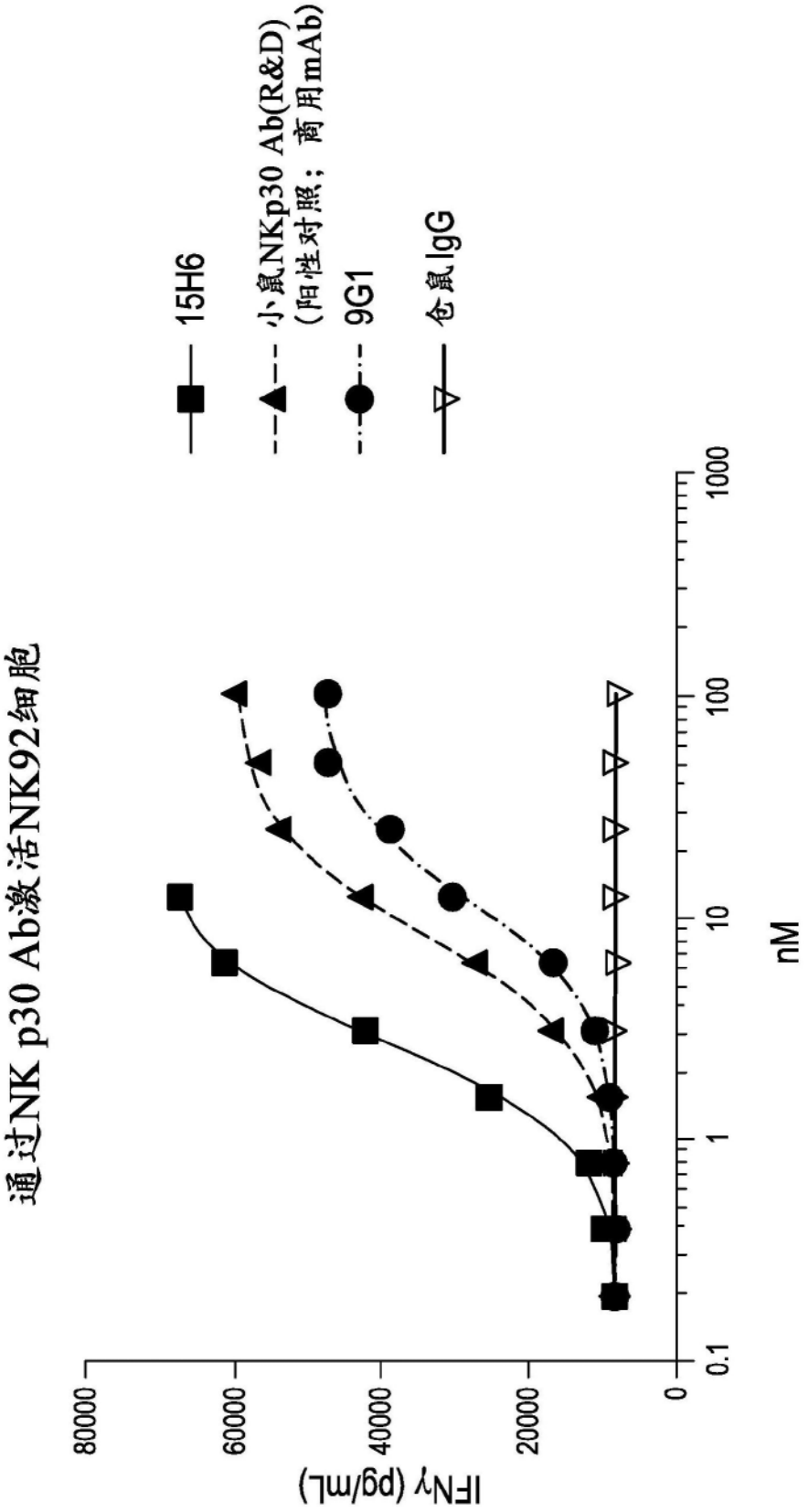

通过NK p30 Ab激活NK92细胞
15H6
小鼠NKp30 Ab(R&D)
(阳性对照；商用mAb)
9G1
仓鼠IgG
IFNγ (pg/mL)
80000
60000
40000
20000
0
0.1
1
10
100
1000
nM

图2