



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119213023 A

(43) 申请公布日 2024.12.27

(21) 申请号 202380041222.5

(22) 申请日 2023.03.28

(30) 优先权数据

63/325,101 2022.03.29 US

63/386,634 2022.12.08 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.11.18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2023/065027 2023.03.28

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/192850 EN 2023.10.05

(71) 申请人 恩格姆生物制药公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 基斯·阿卡玛 程儒进

安朱什里·R·伊尔

维基·一冰·林 李·B·里韦拉

朱莉·M·罗达 唐杰 杨鸿

(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 徐爱文 张奎燕

(51) Int.Cl.

C07K 16/00 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

权利要求书7页 说明书84页

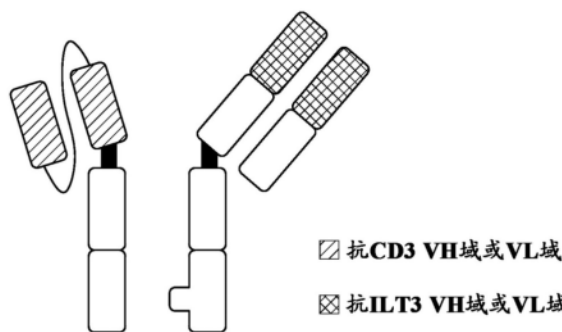
序列表(电子公布) 附图42页

(54) 发明名称

ILT3和CD3结合剂及其使用方法

(57) 摘要

本公开涉及ILT3×CD3结合剂、包含其的组合物和其使用方法。本公开还涉及编码此类ILT3×CD3结合剂的多核苷酸和载体。



1. 一种结合剂,所述结合剂包含结合至人类ILT3的第一结合区和结合至人类CD3的第二结合区,其中所述CD3结合区包含抗CD3scFv。

2. 如权利要求1所述的结合剂,其中所述第一结合区包含抗ILT3Fab。

3. 如权利要求1或2所述的结合剂,其中所述第一结合区对人类ILT3的结合亲和力高于所述第二结合区对人类CD3的结合亲和力。

4. 如权利要求3所述的结合剂,所述第一结合区对人类ILT3的结合亲和力比所述第二结合区对人类CD3的结合亲和力高约10倍至约100倍之间。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的结合剂,所述结合剂还包含Fc区。

6. 如权利要求5所述的结合剂,所述结合剂包含:

(i) 第一多肽,其包含所述抗CD3 scFv、第一CH2域和第一CH3域;

(ii) 第二多肽,其包含所述第一结合区的VH域、CH1域、第二CH2域和第二CH3域;和

(iii) 第三多肽,其包含所述第一结合区的VL域以及CL域,

其中所述第一结合区的所述VH域、所述CH1域、所述第一结合区的所述VL域、和所述CL域形成所述抗ILT3 Fab,并且所述第一CH2域、所述第二CH2域、所述第一CH3域和所述第二CH3域形成所述Fc区。

7. 如权利要求6所述的结合剂,其中所述第一多肽包含形成工程化凹穴的一个或多个氨基酸突变,并且所述第二多肽包含形成工程化突起的一个或多个氨基酸突变,并且其中所述第一多肽经由将所述突起定位至所述凹穴中而与所述第二多肽二聚化。

8. 如权利要求1-7中任一项所述的结合剂,其中所述第二结合区包含:VH域,其包含以SEQ ID NO:149所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和VL域,其包含以SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

9. 如权利要求8所述的结合剂,其中在所述第二结合区中,

所述第二结合区的所述VH域包含:包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第二结合区的所述VL域包含:包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列的LCDR3。

10. 如权利要求1-9中任一项所述的结合剂,其中所述第一结合区包含:VH域,其包含以SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和VL域,其包含以SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

11. 如权利要求10所述的结合剂,其中在所述第一结合区中,

(a) 所述第一结合区的所述VH域包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的所述VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;

(b) 所述第一结合区的所述VH域包含:包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的所述VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;

(c) 所述第一结合区的所述VH域包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCDR1、包含

SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的所述VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;

(d) 所述第一结合区的所述VH域包含:包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的所述VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;或

(e) 所述第一结合区的所述VH域包含:包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的所述VL域包含:包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的LCDR3。

12. 如权利要求10或11所述的结合剂,其中

(i) 所述第一结合区包含与SEQ ID NO:17的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VL域;并且所述第二结合区包含与SEQ ID NO:149的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:150的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VL域;或

(ii) 所述第一结合区包含:包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL域;并且所述第二结合区包含:包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的VL域。

13. 一种结合剂,所述结合剂包含结合至人类ILT3的第一结合区和结合至人类CD3的第二结合区,其中所述第二结合区包含:VH域,其包含以SEQ ID NO:149所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和VL域,其包含以SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

14. 如权利要求13所述的结合剂,其中所述第二结合区的所述VH域包含:包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第二结合区的所述VL域包含:包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的LCDR1;包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的LCDR2;和包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列的LCDR3。

15. 如权利要求13或14所述的结合剂,其中所述第一结合区包含:VH域,其包含以SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和VL域,其包含以SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

16. 如权利要求13-15中任一项所述的结合剂,其中在所述第一结合区中,

(a) 所述第一结合区的所述VH域包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的所述VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;

(b) 所述第一结合区的所述VH域包含:包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的所述VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨

氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;

(c) 所述第一结合区的所述VH域包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的所述VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;

(d) 所述第一结合区的所述VH域包含:包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的所述VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;或

(e) 所述第一结合区的所述VH域包含:包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的所述VL域包含:包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的LCDR3。

17. 如权利要求15或16所述的结合剂,其中

(i) 所述第一结合区包含与SEQ ID NO:17的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VL域;并且所述第二结合区包含与SEQ ID NO:149的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:150的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VL域;或

(ii) 所述第一结合区包含:包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL域;并且所述第二结合区包含:包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的VL域。

18. 如权利要求13至17中任一项所述的结合剂,其中所述第一结合区包含抗ILT3 Fab。

19. 如权利要求13至18中任一项所述的结合剂,其中所述第二结合区包含抗CD3 scFv。

20. 如权利要求13至19中任一项所述的结合剂,其中所述结合剂还包含Fc区。

21. 如权利要求20所述的结合剂,其中所述结合剂包含:

(i) 第一多肽,其包含所述抗CD3 scFv、第一CH2域和第一CH3域;

(ii) 第二多肽,其包含所述第一结合区的所述VH域、CH1域、第二CH2域和第二CH3域;和

(iii) 第三多肽,其包含所述第一结合区的所述VL域以及CL域,

其中所述第一结合区的所述VH域、所述CH1域、所述第一结合区的所述VL域、和所述CL域形成所述抗ILT3 Fab,并且所述第一CH2域、所述第二CH2域、所述第一CH3域和所述第二CH3域形成所述Fc区。

22. 如权利要求21所述的结合剂,其中所述第一多肽包含形成工程化凹穴的一个或多个氨基酸突变,并且所述第二多肽包含形成工程化突起的一个或多个氨基酸突变,并且其中所述第一多肽经由将所述突起定位至所述凹穴中而与所述第二多肽二聚化。

23. 如权利要求21或22所述的结合剂,其中

(i) 所述第一多肽包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列,所述第二多肽包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列,并且所述第三多肽包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,或

(ii) 所述第一多肽包含与SEQ ID NO:147的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,所述第二多肽包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨

基酸序列,并且所述第三多肽包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

24. 如权利要求13至17所述的结合剂,其中所述第一结合区包含两个相同抗ILT3 Fab,并且所述第二结合区包含抗CD3 scFv。

25. 如权利要求24所述的结合剂,其中所述结合剂包含:

(i) 第一多肽,其包含所述抗CD3 scFv、第一CH2域和第一CH3域;

(ii) 第二多肽,其包含第一VH域、第二VH域、第一CH1域、第二CH1域、第二CH2域和第二CH3域,其中所述第一VH域和所述第二VH域中的每一者包含所述第一结合区的所述VH域;

(iii) 第三多肽,其包含第一VL域和第一CL域,其中所述第一VL域包含所述第一结合区的所述VL域;和

(iv) 第四多肽,其包含第二VL域和第二CL域,其中所述第二VL域包含所述第一结合区的所述VL域,

其中所述第二多肽的所述第一VH域和所述第一CH1域与所述第三多肽的所述第一VL域和所述第一CL域形成第一Fab区,所述第二多肽的所述第二VH域和所述第二CH1域与所述第四多肽的所述第二VL域和所述第二CL域形成第二Fab区,并且所述第一CH2域、所述第二CH2域、所述第一CH3域和所述第二CH3域形成所述Fc区。

26. 如权利要求25所述的结合剂,其中所述第一多肽包含形成工程化凹穴的一个或多个氨基酸突变,并且所述第二多肽包含形成工程化突起的一个或多个氨基酸突变,并且其中所述第一多肽经由将所述突起定位至所述凹穴中而与所述第二多肽二聚化。

27. 如权利要求25或26所述的结合剂,其中

(i) 所述第一多肽包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列,所述第二多肽包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列,所述第三多肽包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,并且所述第四多肽包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列;或

(ii) 所述第一多肽包含与SEQ ID NO:147的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,所述第二多肽包含与SEQ ID NO:169的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,所述第三多肽包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述第四多肽包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

28. 如权利要求1-12和19-27中任一项所述的结合剂,其中所述抗CD3 scFv包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列。

29. 如权利要求1至28中任一项所述的结合剂,其中所述结合剂为人源化抗体。

30. 一种结合剂,所述结合剂包含:

(i) 第一多肽,其包含结合至人类CD3的scFv、第一CH2域和第一CH3域;

(ii) 第二多肽,其包含结合至人类ILT3的VH域、CH1域、第二CH2域和第二CH3域;和

(iii) 第三多肽,其包含结合至人类ILT3的VL域,和CL域,

其中结合至人类CD3的所述scFv包含:VH域,其包含以SEQ ID NO:149所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和VL域,其包含以SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;并且

其中结合至人类ILT3的所述VH域包含以SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的HCDR1、

HCDR2和HCDR3,并且结合至人类ILT3的所述VL域包含以SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

31. 如权利要求30所述的结合剂,其中:

(a) 所述scFv的所述HCDR1包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列,所述scFv的所述HCDR2包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列,所述scFv的所述HCDR3包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列,所述scFv的所述LCDR1包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列,所述scFv的所述LCDR2包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列,并且所述scFv的所述LCDR3包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列;并且

(b) 在结合至人类ILT3的所述VH域和所述VL域中

(i) 所述HCDR1包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述LCDR2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;

(ii) 所述HCDR1包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述LCDR2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;

(iii) 所述HCDR1包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述LCDR2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;

(iv) 所述HCDR1包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述LCDR2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;或

(v) 所述HCDR1包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列;所述LCDR2包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

32. 如权利要求30或31所述的结合剂,其中结合至人类CD3的所述scFv的所述VH域包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列,并且结合至人类CD3的所述scFv的所述VL域包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列;并且结合至人类ILT3的所述VH域包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,并且结合至人类ILT3的所述VL域包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

33. 如权利要求30至32中任一项所述的结合剂,其中所述scFv包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列。

34. 一种经分离的多核苷酸,所述经分离的多核苷酸编码权利要求1至33中任一项所述的结合剂。

35. 一种载体,所述载体包含权利要求34所述的多核苷酸。

36. 一种经分离的细胞,所述经分离的细胞包含权利要求34所述的多核苷酸或权利要

求35所述的载体。

37. 一种经分离的细胞,所述经分离的细胞产生权利要求1至33中任一项所述的结合剂。

38. 一种药物组合物,所述药物组合物包含权利要求1至33中任一项所述的结合剂、权利要求34所述的经分离的多核苷酸、权利要求35所述的载体、或权利要求36或权利要求37所述的经分离的细胞,和药学上可接受的赋形剂。

39. 一种将T细胞引导至表达ILT3的癌症或肿瘤细胞的方法,所述方法包括使所述T细胞与有效量的权利要求1至33中任一项所述的结合剂或权利要求38所述的药物组合物接触。

40. 如权利要求39所述的方法,其中所述T细胞诱导杀伤所述表达ILT3的癌症或肿瘤细胞。

41. 如权利要求40所述的方法,其中所述癌症或肿瘤细胞为血液癌症或肿瘤细胞。

42. 如权利要求41所述的方法,其中所述血液癌症或肿瘤细胞选自自由以下组成的组:急性骨髓白血病(AML)细胞、M4/M5 AML细胞、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)细胞、B细胞急性淋巴母细胞白血病(B-ALL)细胞、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)细胞、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)细胞、套细胞淋巴瘤(MCL)细胞、多发性骨髓瘤(MM)细胞、骨髓发育不良综合征(MDS)细胞、霍奇金淋巴瘤细胞、淋巴浆细胞淋巴瘤(LPL)细胞、滤泡性淋巴瘤细胞、伯基特淋巴瘤细胞、母细胞浆细胞样树突状细胞赘瘤(BPDCN)细胞、边缘区淋巴瘤细胞或粘膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤细胞。

43. 如权利要求39至42中任一项所述的方法,其中所述T细胞不会诱导杀伤正常造血干细胞(HSC)。

44. 一种激活T细胞的方法,所述方法包括使所述T细胞与有效量的权利要求1至33中任一项所述的结合剂或权利要求38所述的药物组合物接触,其中所述第二结合区结合至所述T细胞。

45. 如权利要求44所述的方法,其中所述T细胞为初始T细胞。

46. 如权利要求44或权利要求45所述的方法,其中所述T细胞是从PBMC群体多克隆扩增。

47. 一种杀伤或抑制表达ILT3的癌症或肿瘤细胞增殖的方法,所述方法包括使所述癌症或肿瘤细胞与权利要求1至33中任一项所述的结合剂或权利要求38所述的药物组合物接触。

48. 如权利要求47所述的方法,其中所述结合剂使T细胞活化。

49. 如权利要求48所述的方法,其中所述经活化的T细胞诱导杀伤所述癌症或肿瘤细胞。

50. 如权利要求47至49中任一项所述的方法,其中所述癌症或肿瘤细胞包含血液癌症或肿瘤细胞。

51. 如权利要求50所述的方法,其中所述血液癌症或肿瘤细胞选自自由以下组成的组:急性骨髓白血病(AML)细胞、M4/M5 AML细胞、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)细胞、B细胞急性淋巴母细胞白血病(B-ALL)细胞、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)细胞、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)细胞、套细胞淋巴瘤(MCL)细胞、多发性骨髓瘤(MM)细胞、骨髓发育不良综合征

(MDS) 细胞、霍奇金淋巴瘤细胞、淋巴浆细胞淋巴瘤 (LPL) 细胞、滤泡性淋巴瘤细胞、伯基特淋巴瘤细胞、母细胞浆细胞样树突状细胞赘瘤 (BPDCN) 细胞、边缘区淋巴瘤细胞或粘膜相关淋巴组织 (MALT) 淋巴瘤细胞。

52. 一种治疗受试者中表达ILT3的癌症或肿瘤的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的权利要求1至33中任一项所述的结合剂或权利要求38所述的药物组合物。

53. 如权利要求52所述的方法,其中所述癌症或肿瘤包含血液癌症或肿瘤。

54. 如权利要求53所述的方法,其中所述血液癌症或肿瘤选自由以下组成的组:急性骨髓白血病 (AML)、M4/M5 AML、慢性骨髓单核细胞性白血病 (CMML)、B细胞急性淋巴母细胞白血病 (B-ALL)、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL)、套细胞淋巴瘤 (MCL)、多发性骨髓瘤 (MM)、骨髓发育不良综合征 (MDS)、霍奇金淋巴瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤 (LPL)、滤泡性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、母细胞浆细胞样树突状细胞赘瘤 (BPDCN)、边缘区淋巴瘤或粘膜相关淋巴组织 (MALT) 淋巴瘤。

## ILT3和CD3结合剂以及其使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2022年3月29日提交的美国临时申请第63/325,101号和2022年12月8日提交的美国临时申请第63/386,634号的优先权,所述申请中的每一者的内容通过引用整体并入本文。

[0003] 序列列表

[0004] 本申请含有已以XML文件格式与本申请一起提交的计算机可读序列列表,所述文件的全部内容通过引用整体并入本文。与本申请一起提交的序列列表XML文件命名为“13370-172-228\_SEQLISTING.xml”,创建于2023年3月24日并且大小为189,173个字节。

### 1. 技术领域

[0005] 本公开涉及结合免疫球蛋白样转录本3 (ILT3) 和CD3的ILT3×CD3结合剂、包含其的组合物和其使用方法。本公开还涉及编码此类ILT3×CD3结合剂的多核苷酸和载体。

### 2. 背景技术

[0006] 免疫疗法的基础是免疫系统的操纵和/或调节,包括先天性免疫反应和适应性免疫反应两者。免疫疗法的普遍目的是通过控制对“外来物质 (foreign agent)”,例如病原体或肿瘤细胞的免疫反应来治疗疾病。然而,在一些情况下,免疫疗法用于治疗自身免疫疾病,其可产生于对通常存在于体内的蛋白质、分子和/或组织的异常免疫反应。免疫疗法可包括诱导或增强特异性免疫反应,或抑制或减少特异性免疫反应的方法。

[0007] 癌症免疫监视的概念是基于以下理论:免疫系统可识别肿瘤细胞,建立免疫反应,并且抑制肿瘤的发展和/或生长。然而,显然许多癌细胞已发展出机制和/或强行操控 (hijacked) 正常的抑制机制以避免免疫系统,其可使得肿瘤的生长不受抑制。癌症/肿瘤免疫疗法 (免疫肿瘤学) 聚焦于新型和新型药剂的开发,所述药剂可激活和/或增强免疫系统以达到对癌症/肿瘤细胞更有效的攻击,从而增加癌症/肿瘤细胞的杀伤和/或抑制癌症/肿瘤生长。本领域中仍需要用于治疗各种疾病或病症的更有效的分子。

### 3. 发明内容

[0008] 在一个方面,本公开提供了一种结合剂,其包含结合至人类ILT3的第一结合区和结合至人类CD3的第二结合区,其中所述CD3结合区包含抗CD3 scFv。

[0009] 在某些实施方案中,所述第一结合区包含抗ILT3 Fab。在某些实施方案中,所述第一结合区对人类ILT3的结合亲和力高于所述第二结合区对人类CD3的结合亲和力。在某些实施方案中,所述第一结合区对人类ILT3的结合亲和力比所述第二结合区对人类CD3的结合亲和力高约10倍至约100倍之间。在某些实施方案中,所述结合剂还包含Fc区。

[0010] 在某些实施方案中,所述结合剂包含 (i) 第一多肽,其包含抗CD3scFv、第一CH2域和第一CH3域; (ii) 第二多肽,其包含第一结合区的VH域、CH1域、第二CH2域和第二CH3域;和 (iii) 第三多肽,其包含第一结合区的VL域以及CL域,其中所述第一结合区的VH域、所述CH1

域、所述第一结合区的VL域、和所述CL域形成抗ILT3Fab,并且所述第一CH2域、所述第二CH2域、所述第一CH3域和所述第二CH3域形成Fc区。

[0011] 在某些实施方案中,所述第一多肽包含形成工程化凹穴(cavity)的一个或多个氨基酸突变,并且所述第二多肽包含形成工程化突起(protuberance)的一个或多个氨基酸突变,并且其中所述第一多肽经由将所述突起定位至所述凹穴中而与所述第二多肽二聚化。

[0012] 在某些实施方案中,所述第二结合区包含:VH域,其包含以SEQ ID NO:149所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和VL域,其包含以SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0013] 在某些实施方案中,在所述第二结合区中,所述第二结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第二结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列的LCDR3。

[0014] 在某些实施方案中,所述第一结合区包含:VH域,其包含以SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和VL域,其包含以SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0015] 在某些实施方案中,在所述第一结合区中,(a)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;(b)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;(c)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;(d)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;或(e)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的LCDR3。

[0016] 在某些实施方案中,(i)所述第一结合区包含与SEQ ID NO:17的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VL域;并且所述第二结合区包含与SEQ ID NO:149的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:150的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VL域;或(ii)所述第

一结合区包含:包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL域;并且所述第二结合区包含:包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的VL域。

[0017] 在另一方面,本公开提供了一种结合剂,其包含结合至人类ILT3的第一结合区和结合至人类CD3的第二结合区,其中所述第二结合区包含:VH域,其以包含SEQ ID NO:149所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和VL域,其包含以SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0018] 在某些实施方案中,所述第二结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第二结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的LCDR1;包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的LCDR2;和包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列的LCDR3。

[0019] 在某些实施方案中,所述第一结合区包含:VH域,其包含以SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和VL域,其包含以SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0020] 在某些实施方案中,在所述第一结合区中,(a)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;(b)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;(c)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;(d)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;或(e)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的LCDR3。

[0021] 在某些实施方案中,(i)所述第一结合区包含与SEQ ID NO:17的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VL域;并且所述第二结合区包含与SEQ ID NO:149的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:150的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VL域;或(ii)所述第一结合区包含:包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL域;并且所述第二结合区包含:包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ

ID NO:150的氨基酸序列的VL域。

[0022] 在某些实施方案中,所述第一结合区包含抗ILT3 Fab。在某些实施方案中,所述第二结合区包含抗CD3 scFv。在某些实施方案中,所述结合剂还包含Fc区。

[0023] 在某些实施方案中,所述结合剂包含:(i) 第一多肽,其包含抗CD3 scFv、第一CH2域和第一CH3域;(ii) 第二多肽,其包含第一结合区的VH域、CH1域、第二CH2域和第二CH3域;和(iii) 第三多肽,其包含第一结合区的VL域以及CL域,其中所述第一结合区的VH域、所述CH1域、所述第一结合区的VL域、和所述CL域形成抗ILT3 Fab,并且所述第一CH2域、所述第二CH2域、所述第一CH3域和所述第二CH3域形成Fc区。

[0024] 在某些实施方案中,所述第一多肽包含形成工程化凹穴的一个或多个氨基酸突变,并且所述第二多肽包含形成工程化突起的一个或多个氨基酸突变,并且其中所述第一多肽经由将所述突起定位至凹穴中而与所述第二多肽二聚化。

[0025] 在某些实施方案中,(i) 所述第一多肽包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列,所述第二多肽包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列,并且所述第三多肽包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,或(ii) 所述第一多肽包含与SEQ ID NO:147的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,所述第二多肽包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述第三多肽包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

[0026] 在某些实施方案中,所述第一结合区包含两个相同抗ILT3 Fab,并且所述第二结合区包含抗CD3 scFv。

[0027] 在某些实施方案中,所述结合剂包含:(i) 第一多肽,其包含抗CD3 scFv、第一CH2域和第一CH3域;(ii) 第二多肽,其包含第一VH域、第二VH域、第一CH1域、第二CH1域、第二CH2域和第二CH3域,其中所述第一VH域和第二VH域中的每一者包含第一结合区的VH域;(iii) 第三多肽,其包含第一VL域和第一CL域,其中所述第一VL域包含第一结合区的VL域;和(iv) 第四多肽,其包含第二VL域和第二CL域,其中所述第二VL域包含第一结合区的VL域,其中所述第二多肽的第一VH域和第一CH1域以及所述第三多肽的第一VL域和第一CL域形成第一Fab区,所述第二多肽的第二VH域和第二CH1域以及所述第四多肽的第二VL域和第二CL域形成第二Fab区,并且所述第一CH2域、所述第二CH2域、所述第一CH3域和所述第二CH3域形成Fc区。

[0028] 在某些实施方案中,所述第一多肽包含形成工程化凹穴的一个或多个氨基酸突变,并且所述第二多肽包含形成工程化突起的一个或多个氨基酸突变,并且其中所述第一多肽经由将所述突起定位至所述凹穴中而与所述第二多肽二聚化。

[0029] 在某些实施方案中,(i) 所述第一多肽包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列,所述第二多肽包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列,所述第三多肽包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,并且所述第四多肽包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列;或(ii) 所述第一多肽包含与SEQ ID NO:147的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,所述第二多肽包含与SEQ ID NO:169的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,所述第三多肽包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述第四多肽包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

[0030] 在某些实施方案中,所述抗CD3 scFv包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列。在某些实

施方案中,所述结合剂为人源化抗体。

[0031] 在另一方面,本公开提供了一种结合剂,其包含:(i)第一多肽,其包含结合至人类CD3的scFv、第一CH2域和第一CH3域;(ii)第二多肽,其包含结合至人类ILT3的VH域、CH1域、第二CH2域和第二CH3域;和(iii)第三多肽,其包含结合至人类ILT3的VL域,和CL域,其中所述结合至人类CD3的scFv包含:VH域,其包含以SEQ ID NO:149所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和VL域,其包含以SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;并且其中所述结合至人类ILT3的VH域包含以SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3,并且所述结合至人类ILT3的VL域包含以SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0032] 在某些实施方案中,(a)所述scFv的HCDR1包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列,所述scFv的HCDR2包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列,所述scFv的HCDR3包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列,所述scFv的LCDR1包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列,所述scFv的LCDR2包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列,并且所述scFv的LCDR3包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列;并且(b)在所述结合至人类ILT3的VH域和所述结合至人类ILT3的VL域中,(i)所述HCDR1包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述LCDR2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;(ii)所述HCDR1包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述LCDR2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;(iii)所述HCDR1包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述LCDR2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;(iv)所述HCDR1包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述LCDR2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;或(v)所述HCDR1包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列;所述LCDR2包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0033] 在某些实施方案中,所述结合至人类CD3的scFv的VH域包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列,并且所述结合至人类CD3的scFv的VL域包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列;并且所述结合至人类ILT3的VH域包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,并且所述结合至人类ILT3的VL域包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述scFv包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列。

[0034] 在另一方面,本公开提供了一种编码本文所公开的结合剂的经分离的多核苷酸。

[0035] 在另一方面,本公开提供了一种包含本文所公开的多核苷酸的载体。

[0036] 在另一方面,本公开提供了一种包含本文所公开的多核苷酸或载体的经分离的细胞。

[0037] 在另一方面,本公开提供了一种产生本文所公开的结合剂的经分离的细胞。

[0038] 在另一方面,本公开提供了一种药物组合物,其包含本文所公开的结合剂、本文所公开的经分离多核苷酸、本文所公开的载体或本文所公开的经分离细胞和药学上可接受的赋形剂。

[0039] 在另一方面,本公开提供了一种将T细胞引导至表达ILT3的癌症或肿瘤细胞的方法,所述方法包括使T细胞与有效量的本文所公开的结合剂或本文所公开的药物组合物接触。

[0040] 在某些实施方案中,所述T细胞诱导表达ILT3的癌症或肿瘤细胞的杀伤。在某些实施方案中,所述癌症或肿瘤细胞为血液癌症或肿瘤细胞。在某些实施方案中,所述血液癌症或肿瘤细胞选自由以下组成的组:急性骨髓白血病(AML)细胞、M4/M5 AML细胞、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)细胞、B细胞急性淋巴母细胞白血病(B-ALL)细胞、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)细胞、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)细胞、套细胞淋巴瘤(MCL)细胞、多发性骨髓瘤(MM)细胞、骨髓发育不良综合征(MDS)细胞、霍奇金淋巴瘤细胞(Hodgkin lymphoma cell)、淋巴浆细胞淋巴瘤(LPL)细胞、滤泡性淋巴瘤细胞、伯基特淋巴瘤细胞(Burkitt lymphoma cell)、母细胞浆细胞样树突状细胞赘瘤(BPDCN)细胞、边缘区淋巴瘤细胞或粘膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤细胞。在某些实施方案中,所述T细胞未能诱导正常造血干细胞(HSC)的杀伤。

[0041] 在另一方面,本公开提供了一种激活T细胞的方法,所述方法包括使所述T细胞与有效量的本文所公开的结合剂或本文所公开的药物组合物接触,其中第二结合区与所述T细胞结合。

[0042] 在某些实施方案中,所述T细胞为初始(naïve)T细胞。在某些实施方案中,所述T细胞是从PBMC群体多克隆扩增。

[0043] 在另一方面,本公开提供了一种杀伤或抑制表达ILT3的癌症或肿瘤细胞增殖的方法,所述方法包括使所述癌症或肿瘤细胞与本文所公开的结合剂或本文所公开的药物组合物接触。

[0044] 在某些实施方案中,所述结合剂使T细胞活化。在某些实施方案中,活化的T细胞诱导所述癌症或肿瘤细胞的杀伤。

[0045] 在某些实施方案中,所述癌症或肿瘤细胞包含血液癌症或肿瘤细胞。在某些实施方案中,所述血液癌症或肿瘤细胞选自由以下组成的组:急性骨髓白血病(AML)细胞、M4/M5 AML细胞、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)细胞、B细胞急性淋巴母细胞白血病(B-ALL)细胞、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)细胞、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)细胞、套细胞淋巴瘤(MCL)细胞、多发性骨髓瘤(MM)细胞、骨髓发育不良综合征(MDS)细胞、霍奇金淋巴瘤细胞、淋巴浆细胞淋巴瘤(LPL)细胞、滤泡性淋巴瘤细胞、伯基特淋巴瘤细胞、母细胞浆细胞样树突状细胞赘瘤(BPDCN)细胞、边缘区淋巴瘤细胞或粘膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤细胞。

[0046] 在另一方面,本公开提供了一种治疗受试者中表达ILT3的癌症或肿瘤的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的本文所公开的结合剂或本文所公开的药物组合物。

[0047] 在某些实施方案中,所述癌症或肿瘤包含血液癌症或肿瘤。在某些实施方案中,所述血液癌症或肿瘤选自由以下组成的组:急性骨髓白血病(AML)、M4/M5 AML、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)、B细胞急性淋巴母细胞白血病(B-ALL)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、多发性骨髓瘤(MM)、骨髓发育

不良综合征 (MDS)、霍奇金淋巴瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤 (LPL)、滤泡性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、母细胞浆细胞样树突状细胞赘瘤 (BPDCN)、边缘区淋巴瘤或粘膜相关淋巴组织 (MALT) 淋巴瘤。

#### 4. 附图说明

[0048] 图1显示本文所公开的示例性ILT3×CD3双特异性抗体 (ABX1446)。左臂 (抗体的第二结合区) 表示本文所提供的抗CD3 scFv, 并且右臂 (抗体的第一结合区) 表示本文所提供的抗ILT3 Fab。

[0049] 图2显示使用不同ILT3×CD3双特异性抗体 (hz45G10-2B2、16C5-2B2和12A12-2B2) 的T细胞依赖性细胞毒性 (TDCC) 测定的结果。抗KLH用作阴性对照。

[0050] 图3显示使用不同ILT3×CD3双特异性抗体 (hz45G10-1G4、16C5-1G4和12A12-1G4) 的T细胞依赖性细胞毒性 (TDCC) 测定的结果。抗KLH用作阴性对照。

[0051] 图4显示使用不同ILT3×CD3双特异性抗体 (hz45G10-2B2、3A3-2B2和12A12-2B2) 的TNF $\alpha$ 细胞因子产生测定的结果。抗KLH用作阴性对照。

[0052] 图5显示在具有ILT3×CD3双特异性抗体的AML细胞中T细胞依赖性细胞毒性 (TDCC) 测定的结果。抗KLH用作阴性对照。

[0053] 图6显示使用ILT3×CD3双特异性抗体的TNF $\alpha$ 细胞因子产生测定的结果。抗KLH用作阴性对照。

[0054] 图7显示本文所提供的示例性ILT3×CD3双特异性抗体的各种型式。

[0055] 图8显示当经扩增的T细胞用作效应子时, MOLM13细胞中各种型式 (图7) 的ILT3×CD3双特异性抗体的T细胞依赖性细胞毒性 (TDCC) 活性。抗KLH表示阴性对照并且维克妥单抗 (Vibecotamab) (CD123×CD3双特异性) 表示阳性对照。

[0056] 图9显示当将全血样品添加至在指定浓度 (对于每个处理组, 条柱从左至右分别表示50 $\mu$ g/ml、10 $\mu$ g/ml、1 $\mu$ g/ml和0.1 $\mu$ g/ml) 下经各种型式 (图7) 的ILT3×CD3双特异性抗体预包被的板中时的TNF $\alpha$ 细胞因子释放。

[0057] 图10显示当将全血样品添加至在指定浓度 (对于每个处理组, 条柱从左至右分别表示100 $\mu$ g/ml、10 $\mu$ g/ml、1 $\mu$ g/ml和0.1 $\mu$ g/ml) 下含有各种型式 (图7) 的可溶性ILT3×CD3双特异性抗体的培养基中时的TNF $\alpha$ 细胞因子释放。

[0058] 图11显示当经扩增的T细胞用作效应子时, ILT3×CD3双特异性抗体 (ABX1446和ABX1520) 诱导ILT3阳性 (ILT3<sup>+</sup>) AML细胞 (MOLM13) 的有效细胞凋亡。维克妥单抗 (CD123×CD3双特异性) 用作阳性对照。抗KLH用作阴性对照。

[0059] 图12显示当初始T细胞用作效应子时, ILT3×CD3双特异性抗体 (ABX1446和ABX1520) 诱导ILT3阳性 (ILT3<sup>+</sup>) AML细胞 (MOLM13) 的有效细胞凋亡。维克妥单抗 (CD123×CD3双特异性) 用作阳性对照。抗KLH用作阴性对照。

[0060] 图13显示ILT3×CD3双特异性抗体 (ABX1446和ABX1520) 诱导具有低ILT3表达的OCI-AML-2细胞的细胞凋亡。维克妥单抗 (CD123×CD3双特异性) 用作阳性对照。抗KLH用作阴性对照。

[0061] 图14显示ILT3×CD3双特异性抗体 (ABX1446和ABX1520) 诱导具有低ILT3表达的NALM-1细胞的细胞凋亡。维克妥单抗 (CD123×CD3双特异性) 用作阳性对照。抗KLH用作阴性

对照。

[0062] 图15显示当初始T细胞用作效应子时,ILT3×CD3双特异性抗体(ABX1446和ABX1520)诱导具有较低ILT3表达的OCI-AML-2细胞的细胞凋亡。维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)用作阳性对照。抗KLH用作阴性对照。

[0063] 图16显示当初始T细胞用作效应子时,ILT3×CD3双特异性抗体(ABX1446和ABX1520)诱导具有低ILT3表达的NALM-1细胞的细胞凋亡。维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)用作阳性对照。抗KLH用作阴性对照。

[0064] 图17显示ILT3×CD3双特异性抗体(ABX1446和ABX1520)未能诱导ILT3基因敲除THP-1细胞的细胞凋亡。维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)用作阳性对照。抗KLH用作阴性对照。

[0065] 图18显示PBMC中TNF $\alpha$ 细胞因子产生的结果,所述PBMC与浓度递增(对于每个处理组,条柱从左至右分别表示100 $\mu$ g/ml、10 $\mu$ g/ml、1 $\mu$ g/ml和0.1 $\mu$ g/ml)的板包被的型式抗KLH(阴性对照)、维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)和ILT3×CD3双特异性抗体(ABX1446和ABX1520)一起温育。包括可溶性葡萄球菌肠毒素B(SEB)作为阳性对照。

[0066] 图19显示PBMC中TNF $\alpha$ 细胞因子产生的结果,所述PBMC与本文所提供的浓度递增(对于每个处理组,条柱从左至右分别表示10 $\mu$ g/ml、1 $\mu$ g/ml、0.1 $\mu$ g/ml和0.01 $\mu$ g/ml)的可溶性抗KLH(阴性对照)、葡萄球菌肠毒素B(SEB;阳性对照)、维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)和ILT3×CD3双特异性抗体(ABX1446和ABX1520)一起温育。

[0067] 图20显示全血中TNF $\alpha$ 细胞因子分泌测定的结果,所述全血与递增浓度(对于每个处理组,条柱从左至右分别表示10 $\mu$ g/ml、1 $\mu$ g/ml、0.1 $\mu$ g/ml和0.01 $\mu$ g/ml)的板包被的抗KLH(阴性对照)、维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)和呈两种不同型式的ILT3×CD3双特异性抗体(包括F0(ABX1446)和F13(ABX1520))(参见图7)一起温育。包括可溶性葡萄球菌肠毒素B(SEB)作为阳性对照。

[0068] 图21显示全血中TNF $\alpha$ 细胞因子分泌测定的结果,所述全血与递增浓度(对于每个处理组,条柱从左至右分别表示10 $\mu$ g/ml、1 $\mu$ g/ml、0.1 $\mu$ g/ml和0.01 $\mu$ g/ml)的可溶性抗KLH(阴性对照)、葡萄球菌肠毒素B(SEB;阳性对照)、维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)和呈两种不同型式的ILT3×CD3双特异性抗体(包括F0(ABX1446)和F14(ABX1521))(参见图7)一起温育。

[0069] 图22显示当初始T细胞用作效应子时,ILT3×CD3双特异性抗体(ABX1446)用ILT3阳性(ILT3<sup>+</sup>)AML细胞(MOLM13)在TDCC测定中诱导低TNF $\alpha$ 细胞因子分泌。抗KLH表示阴性对照(阴性对照)并且维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)表示阳性对照。

[0070] 图23显示当初始T细胞用作效应子时,ILT3×CD3双特异性抗体(ABX1446)用ILT3阳性(ILT3<sup>+</sup>)AML细胞(MOLM13)在TDCC测定中诱导低IL6细胞因子分泌。抗KLH表示阴性对照并且维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)表示阳性对照。

[0071] 图24显示使用抗KLH(阴性对照)、维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)和ILT3×CD3双特异性抗体ABX1446和伏妥珠单抗(Flotetuzumab)(CD123×CD3 DART)的T细胞依赖性细胞毒性(TDCC)测定的结果。

[0072] 图25显示全血中TNF $\alpha$ 细胞因子分泌测定的结果,所述全血与递增浓度(对于每个处理组,条柱从左至右分别表示10 $\mu$ g/ml、1 $\mu$ g/ml、0.1 $\mu$ g/ml和0.01 $\mu$ g/ml)的可溶性抗KLH

(阴性对照)、葡萄球菌肠毒素B(SEB;阳性对照)、维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)、ILT3×CD3双特异性抗体ABX1446和伏妥珠单抗(CD123×CD3 DART)一起温育。

[0073] 图26显示在递增浓度(对于每个处理组,条柱从左至右分别表示0.1μg/ml、1μg/ml和10μg/ml)的抗KLH(阴性对照)、维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)和ILT3×CD3双特异性抗体ABX1446下从M5 AML患者分离的PBMC中的CD3阳性(CD3<sup>+</sup>)T细胞的扩增(呈总PBMC的百分比形式)。

[0074] 图27显示从使用递增浓度(对于每个处理组,条柱从左至右分别表示0.1μg/ml、1μg/ml和10μg/ml)的抗KLH(阴性对照)、维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)和ILT3×CD3双特异性抗体ABX1446的M5 AML患者分离的PBMC中的CD25阳性(CD25<sup>+</sup>)T细胞的扩增(呈总T细胞的百分比形式)。

[0075] 图28显示ILT3×CD3双特异性抗体ABX1446未能诱导针对CD34阳性(CD34<sup>+</sup>)造血干细胞(HSC)的T细胞依赖性细胞毒性(TDCC),而维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)诱导针对CD34+HSC的TDCC。对于每个处理组,条柱从左至右分别表示0.0006μg/ml、0.005μg/ml、0.04μg/ml、0.3μg/ml和2.5μg/ml。

[0076] 图29显示ILT3×CD3双特异性抗体ABX1446未能诱导针对CD34阳性(CD34<sup>+</sup>)造血干细胞(HSC)的细胞凋亡,而维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)诱导针对CD34+HSC的细胞凋亡。对于每个处理组,条柱从左至右分别表示0.001μg/ml、0.01μg/ml、0.1μg/ml和1.0μg/ml。

[0077] 图30显示ILT3×CD3双特异性抗体ABX1446未能诱导针对非单核细胞性KU812嗜碱细胞的细胞凋亡。

[0078] 图31显示ILT3×CD3双特异性抗体ABX1446未能诱导针对非单核细胞性LAMA84嗜碱细胞的细胞凋亡。

[0079] 图32显示当经扩增的T细胞用作效应子时,MM1S细胞中各种型式(图7)的ILT3×CD3双特异性抗体的T细胞依赖性细胞毒性(TDCC)活性。抗KLH表示阴性对照并且倍利妥(Blincyto)(CD3×CD19BiTe)表示阳性对照。

[0080] 图33显示当经扩增的T细胞用作效应子时,H929细胞中各种型式(图7)的ILT3×CD3双特异性抗体的T细胞依赖性细胞毒性(TDCC)活性。抗KLH表示阴性对照并且倍利妥(CD3×CD19 BiTe)表示阳性对照。

[0081] 图34显示当经扩增的T细胞用作效应子时,U226B1细胞中各种型式(图7)的ILT3×CD3双特异性抗体的T细胞依赖性细胞毒性(TDCC)活性。抗KLH表示阴性对照并且倍利妥(CD3×CD19 BiTe)表示阳性对照。

[0082] 图35显示小鼠AML模型中的处理方案和肿瘤负荷定量。在MOLM13或MV4;11细胞注射之前48小时照射小鼠。在第2天,将经扩增的T细胞注射至接受MOLM13细胞的小鼠中或将全部PBMC注射至接受MV4;11细胞的小鼠中。然后在第7天、第14天、第21天和第28天注射ABX1446。然后利用FACS和方程式(所获取的细胞数目/所获取的珠粒数目×1000)定量外周血中的肿瘤负荷。

[0083] 图36显示ABX1446和ABX1520减少MOLM13小鼠AML模型中的循环肿瘤负荷。NTB表示非荷瘤小鼠,抗KLH表示阴性对照,hz45G10表示在Fc区中包含N297G取代的ILT3抗体,I0-202表示拮抗ILT3的单克隆抗体,ABX1559对应于缺乏ILT3 Fab结合区的抗体并且因此表示

仅抗CD3对照,并且维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)表示阳性对照。

[0084] 图37显示ABX1446减少MV4;11小鼠AML模型在第2周的循环肿瘤负荷。NTB表示非荷瘤小鼠,抗KLH表示阴性对照,并且维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)表示阳性对照(从左至右在0.01mpk、0.1mpk和1mpk的递增浓度下)。

[0085] 图38显示ABX1446减少在MV4;11小鼠AML模型在第3周的循环肿瘤负荷。NTB表示非荷瘤小鼠,抗KLH表示阴性对照,并且维克妥单抗(CD123×CD3双特异性)表示阳性对照(从左至右在0.01mpk、0.1mpk和1mpk的递增浓度下)。

[0086] 图39显示小鼠AML模型中的处理方案和肿瘤负荷定量。在MV4;11细胞注射之前3个月将CD34+造血干细胞(HSC)移植至小鼠中。在第7天、第14天、第21天和第28天,注射ABX1446。然后利用FACS和方程式(所获取的细胞数目/所获取的珠粒数目×1000)定量肿瘤负荷。

[0087] 图40显示ABX1446减少CD34<sup>+</sup>人源化小鼠中的循环肿瘤负荷。当抗KLH(阴性对照)、维克妥单抗(CD123×CD3双特异性;阳性对照)和ABX1446以1mpk给药时,每1μL血液的循环MV4;11细胞的数目极大地减少。

[0088] 图41显示ABX1446诱导原代M5 AML骨髓培养物中的剂量依赖性肿瘤细胞耗乏。

[0089] 图42显示ABX1446诱导原代M5 AML骨髓培养物中的剂量依赖性T细胞活化。

[0090] 图43显示ABX1446诱导原代MM骨髓培养物中的剂量依赖性肿瘤细胞耗乏。

[0091] 图44显示ABX1446诱导原代MM骨髓培养物中的剂量依赖性T细胞活化。

## 5. 具体实施方式

[0092] 本公开部分地基于本文所提供的新颖结合剂和其惊人特性。

[0093] 除非本文中另外定义,否则本说明书中所使用的技术和科学术语应具有本领域普通技术人员通常所理解的含义。在适当的情况下,以单数形式使用的术语也将包括复数形式,并且反之亦然。在所阐述的术语的任何说明与通过引用并入本文的任何文献存在冲突的情况下,以下文阐述的术语说明为准。

[0094] 如本文所用,术语“结合剂”是指结合特异性抗原或目标(例如ILT3和/或CD3)的分子。结合剂可包含蛋白质、肽、核酸、碳水化合物、脂质或小分子量化合物。在一些实施方案中,结合剂包含全长抗体。在一些实施方案中,结合剂为抗体的抗原结合片段。在一些实施方案中,结合剂包含替代的蛋白质骨架或人造骨架(例如非免疫球蛋白主链)。在一些实施方案中,结合剂为包含抗原结合位点的融合蛋白。在一些实施方案中,结合剂为包含至少两个抗原结合位点的双特异性分子。

[0095] 术语“结合(binds)”或“结合(binding)”是指分子间的相互作用,包括例如形成复合物。相互作用可为例如非共价相互作用,包括氢键、离子键、疏水相互作用和/或范德华相互作用(van der Waals interaction)。复合物也可包括通过共价或非共价键、相互作用或力保持在一起的两个或更多个分子的结合。抗体上的单一抗原结合位点与目标分子(例如抗原)的单一表位之间的总非共价相互作用的强度为抗体或功能片段对所述表位的亲和力。结合分子(例如抗体)相对于单价抗原的解离速率( $k_{\text{off}}$ )与缔合速率( $k_{\text{on}}$ )的比率( $k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ )为解离常数 $K_D$ ,其与亲和力逆相关。 $K_D$ 值越低,则抗体亲和力越高。 $K_D$ 值因抗体与抗原的不同复合物而变并且取决于 $k_{\text{on}}$ 与 $k_{\text{off}}$ 二者。本文所提供的抗体的解离常数 $K_D$ 可使用本文所

提供的任何方法或本领域技术人员众所周知的任何其他方法测定。一个结合位点处的亲和力并不始终反映抗体与抗原之间的相互作用的真实强度。当含有多个重复抗原决定子的复合抗原(例如多价抗原)与含有多个结合位点的抗体接触时,抗体与抗原在一个位点处的相互作用将增加第二个位点处的反应机率。多价抗体与抗原之间的此类多重相互作用的强度称为亲合力(avidity)。

[0096] 关于本文所描述的结合分子,例如“结合至”、“特异性结合至”的术语和类似术语也在本文中可互换使用并且是指抗原结合域的结合分子,其特异性结合至抗原(例如多肽)。结合至或特异性结合至抗原的结合分子或抗原结合域可例如通过免疫测定、**Octet<sup>®</sup>**、**Biacore<sup>®</sup>**或本领域技术人员已知的其他技术鉴定。在一些实施方案中,经使用例如酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)的实验技术测定,当结合分子或抗原结合域以比对任何交叉反应性抗原更高的亲和力结合至抗原时,所述结合分子或抗原结合域结合至或特异性结合至抗原。通常,特异性或选择性反应将为背景信号或噪声的至少两倍并且可超过背景的10倍。关于结合特异性的论述,参见例如Fundamental Immunology 332-36 (Paul编,第2版1989)。在某些实施方案中,结合分子或抗原结合域与“非目标”蛋白质的结合程度小于结合分子或抗原结合域与其特定目标抗原的结合的约10%,例如经荧光活化细胞分选(FACS)分析所测定。结合至抗原的结合分子或抗原结合域包括能够以足够亲和力结合抗原,使得结合分子适用作例如靶向抗原的治疗剂和/或诊断剂的结合分子或抗原结合域。在某些实施方案中,结合至抗原的结合分子或抗原结合域的解离常数( $K_D$ )小于或等于1 $\mu$ M、800nM、600nM、550nM、500nM、300nM、250nM、100nM、50nM、10nM、5nM、4nM、3nM、2nM、1nM、0.9nM、0.8nM、0.7nM、0.6nM、0.5nM、0.4nM、0.3nM、0.2nM或0.1nM。在某些实施方案中,结合分子或抗原结合域结合至在来自不同物种的抗原中为保守的抗原的表位。

[0097] 术语“抗体”在本文中以最广泛意义使用并且涵盖各种抗体结构,包括但不限于经由至少一个抗原结合位点识别并结合目标的免疫球蛋白分子、多克隆抗体、重组抗体、单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体、双特异性抗体、多特异性抗体、双功能抗体、三功能抗体、四功能抗体、单链Fv(scFv)抗体和抗体片段,只要其表现出所需抗原结合活性即可。

[0098] 典型4链抗体单元是由两条相同轻(L)链和两条相同重(H)链构成的杂四聚糖蛋白。在IgG的情况下,4链单元通常为约150,000道尔顿。每条L链经一个共价二硫键连接至H链,而两条H链根据H链同型经一个或多个二硫键彼此连接。每条H链和L链也具有有规律地隔开的链内二硫桥键。每条H链在N端具有可变域(VH),接着是每条 $\alpha$ 和 $\gamma$ 链的三个恒定域(CH)以及 $\mu$ 和 $\epsilon$ 同型的四个CH域。每条L链在N端具有可变域(VL),接着是在其另一端的恒定域(CL)。将VL与VH比对,并且将CL与重链的第一恒定域(CH1)比对。据认为特定氨基酸残基在轻链可变域与重链可变域之间形成界面。VH与VL配对在一起而形成单一抗原结合位点。关于不同类别的抗体的结构和特性,参见例如Basic and Clinical Immunology 71 (Stites等人编,第8版1994);和Immunobiology (Janeway等人编,第5版2001)。

[0099] 术语“Fab”或“Fab区”是指与抗原结合的抗体区。常规IgG通常包含两个Fab区,各自驻存于Y形IgG结构的两个臂中的一者上。每个Fab区通常由重链和轻链中的每一者的一个可变区和一个恒定区构成。更具体而言,Fab区中的重链的可变区和恒定区为VH和CH1区,

并且Fab区中的轻链的可变区和恒定区为VL和CL区。Fab区中的VH、CH1、VL和CL可以各种方式排列以根据本公开赋予抗原结合能力。例如，VH和CH1区可位于一个多肽上，并且VL和CL区可位于单独的多肽上，类似于常规IgG的Fab区。或者，VH、CH1、VL和CL区可全部在同一个多肽上并且以如以下章节中更详细描述的不同次序定向。

[0100] 在一些实施方案中，所述Fab为单链Fab(scFab)，其中所述Fab的重链和轻链经多肽接头连接。

[0101] 术语“可变区”、“可变域”、“V区”或“V域”是指抗体的轻链或重链的一部分，其通常位于轻链或重链的氨基端并且在重链中长度为约120至130个氨基酸并且在轻链中长度为约100至110个氨基酸，并且用于每个特定抗体对其特定抗原的结合和特异性。重链的可变区可称为“VH”。轻链的可变区可称为“VL”。术语“可变”是指可变区的某些区段在抗体中的序列方面广泛不同的事实。V区介导抗原结合并且定义特定抗体对其特定抗原的特异性。然而，可变性不均匀分布于可变区的110个氨基酸跨距内。实际上，V区由以下组成：约15-30个氨基酸的弱可变(例如相对恒定)延伸部分(称为框架区(FR))，所述延伸部分被较短的可变性更大的(例如极端可变性)区域(称为“高变区”，各自长度为约9-12个氨基酸)分隔。重链和轻链的可变区各自包含大体上采用 $\beta$ 折叠构型的四个FR，所述FR由三个高变区连接，所述高变区形成连接 $\beta$ 折叠结构的环并且在一些情况下形成 $\beta$ 折叠结构的一部分。每条链中的高变区通过FR并且与来自其他链的高变区紧密结合在一起，促进形成抗体的抗原结合位点(参见例如Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest(第5版1991))。恒定区不直接涉及抗体与抗原的结合，但表现出多种效应功能，例如使抗体参与抗体依赖性细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC)。可变区在不同抗体之间的序列方面广泛不同。在特定实施方案中，可变区是人类可变区。

[0102] 术语“根据Kabat的可变区残基编号”或“如Kabat中的氨基酸位置编号”和其变化形式是指上文Kabat等人中用于编译抗体的重链可变区或轻链可变区的编号系统。使用此编号系统，实际线性氨基酸序列可含有对应于可变域的FR或CDR的缩短或其中的插入的较少或额外氨基酸。例如，重链可变域可包括位于残基52之后的单一氨基酸插入(残基52a，根据Kabat)和位于残基82之后的三个插入残基(例如残基82a、82b和82c等，根据Kabat)。对于给定抗体，可通过将抗体序列的同源区与“标准”Kabat编号序列比对来确定残基的Kabat编号。Kabat编号系统通常在提及可变域中的残基(大约轻链的残基1-107和重链的残基1-113)时使用(例如Kabat等人，见上文)。“EU编号系统”或“EU索引”通常在提及免疫球蛋白重链恒定区中的残基时使用(例如Kabat等人，见上文中报道的EU索引)。“如Kabat中的EU索引”是指人类IgG 1EU抗体的残基编号。已通过例如AbM、Chothia、Contact、IMGT和AHon描述其他编号系统。

[0103] 当关于抗体使用时，术语“重链”是指约50-70kDa的多肽链，其中氨基端部分包括具有约120至130个或更多个氨基酸的可变区，并且羧基端部分包括恒定区。基于重链恒定区的氨基酸序列，恒定区可为五种不同类型中的一种(例如同型)，称为 $\alpha$ (alpha)、 $\delta$ (delta)、 $\epsilon$ (epsilon)、 $\gamma$ (gamma)和 $\mu$ (mu)。不同重链的大小不同： $\alpha$ 、 $\delta$ 和 $\gamma$ 含有大约450个氨基酸，而 $\mu$ 和 $\epsilon$ 含有大约550个氨基酸。这些不同类型的重链当与轻链组合时，产生五种众所周知的抗体类别(例如同型)，分别为IgA、IgD、IgE、IgG和IgM，包括IgG的四种子类别，即IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。

[0104] 当参考抗体使用时,术语“轻链”是指约25kDa的多肽链,其中氨基端部分包括约100至约110个或更多个氨基酸的可变区,并且羧基端部分包括恒定区。轻链的近似长度为211至217个氨基酸。基于恒定域的氨基酸序列,存在两种不同类型,称为 $\kappa$  (kappa) 或 $\lambda$  (lambda)。

[0105] 如本文所用,术语“高变区”、“HVR”、“互补决定区”和“CDR”可互换地使用。“CDR”是指免疫球蛋白(Ig或抗体)VH $\beta$ 折叠框架的非框架区内的三个高变区(H1、H2或H3)中的一者,或抗体VL $\beta$ 折叠框架的非框架区内的三个高变区(L1、L2或L3)中的一者。VH域中的CDR1、CDR2和CDR3也分别称为HCDR1、HCDR2和HCDR3。VL域中的CDR1、CDR2和CDR3也分别称为LCDR1、LCDR2和LCDR3。因此,CDR为框架区序列内穿插的可变区序列。

[0106] CDR区是本领域技术人员众所周知的并且已通过众所周知的编号系统定义。例如,Kabat互补决定区(CDR)是基于序列可变性并且最常用(参见例如Kabat等人,见上文;Nick Deschacht等人,J Immunol 2010;184:5696-5704)。Chothia实际上是指结构环的位置(参见例如Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196:901-17(1987))。在使用Kabat编号规约进行编号时,Chothia CDR-H1环的末端在H32与H34之间变化,这取决于环的长度(这是因为Kabat编号方案将插入置于H35A和H35B处;如果既不存在35A,也不存在35B,则环末端位于32;如果仅存在35A,则环末端位于33;如果35A与35B均存在,则环末端位于34)。AbM高变区表示Kabat CDR与Chothia结构环之间的折衷,并且由Oxford Molecular的AbM抗体建模软件使用(参见例如Antibody Engineering第2卷(Kontermann和Dübel编,第2版,2010))。“接触”高变区是基于对可用复杂晶体结构的分析。已开发且广泛采用的另一个通用编号系统为ImmunoGeneTics (IMGT) Information System<sup>®</sup> (Lafranc等人,Dev.Comp.Immunol.27(1):55-77(2003))。IMGT是专用于人类和其他脊椎动物的免疫球蛋白(IG)、T细胞受体(TCR)和主要组织相容复合物(MHC)的整合式信息系统。本文中,关于氨基酸序列和轻链或重链内的位置提及CDR。由于免疫球蛋白可变域的结构内的CDR的“位置”在物种之间是保守的并且存在于称为环的结构中,因此使用根据结构特征来比对可变域序列的编号系统容易鉴定CDR和框架残基。这种信息可用于将来自一个物种的免疫球蛋白的CDR残基移植和置换到通常来自人类抗体的接受体框架中。Honegger和Plückthun,J.Mol.Biol.309:657-70(2001)已开发出额外编号系统(AHon)。编号系统(包括例如Kabat编号和IMGT独特编号系统)之间的对应性是本领域技术人员众所周知的(参见例如Kabat,见上文;Chothia和Lesk,见上文;Martin,见上文;Lefranc等人,见上文)。来自这些高变区或CDR中的每一者的残基示例于下表中。

[0107] 根据不同编号系统的示例性CDR

环	Kabat	AbM	Chothia	Contact	IMGT
CDR L1	L24--L34	L24--L34	L26--L32 或 L24--L34	L30--L36	L27--L38
CDR L2	L50--L56	L50--L56	L50--L52 或 L50--L56	L46--L55	L56--L65
CDR L3	L89--L97	L89--L97	L91--L96 或 L89--L97	L89--L96	L105-L117
[0108] CDR H1	H31--H35B (Kabat 编号)	H26--H35B	H26--H32..34	H30--H35B	H27--H38
	CDR H1				
CDR H2	H50--H65	H50--H58	H53--H55 或 H52--H56	H47--H58	H56--H65
CDR H3	H95--H102	H95--H102	H96--H101 或 H95--H102	H93--H101	H105-H117

[0109] 给定CDR的边界可根据用于鉴定的方案而变化。因此,除非另外说明,否则术语给定抗体的“CDR”和“互补决定区”或其区域,例如可变区,以及抗体的个别CDR(例如CDR-H1、CDR-H2)或其区域,应理解为涵盖如依据任何上述已知方案定义的互补决定区。在一些情况下,规定了用于鉴定一个或多个特定CDR的方案,例如通过IMGT、Kabat、Chothia或Contact方法所定义的CDR。在其他情况下,给出了CDR的特定氨基酸序列。应注意,CDR区也可由各种编号系统的组合,例如Kabat与Chothia编号系统的组合或Kabat与IMGT编号系统的组合定义。因此,例如“如特定VH所阐述的CDR1”的术语包括如通过上文所描述的示例性CDR编号系统所定义的任何CDR1,但不限于此。在给定可变区(例如VH或VL)后,本领域技术人员应理解所述区域内的CDR可由不同编号系统或其组合定义。

[0110] 高变区可包含如下“延伸的高变区”:VL中的24-36或24-34(L1)、46-56或50-56(L2)和89-97或89-96(L3);以及VH中的26-35或26-35A(H1)、50-65或49-65(H2)和93-102、94-102或95-102(H3)。

[0111] 术语“恒定区”或“恒定域”是指轻链和重链的羧基端部分,其不直接涉及抗体与抗原的结合,但表现出多种效应功能,例如与Fc受体的相互相用。所述术语是指免疫球蛋白分子的一部分,其相对于免疫球蛋白的含有抗原结合位点的另一部分(可变区)具有保守性更高的氨基酸序列。恒定区可含有重链的CH1、CH2和CH3区以及轻链的CL区。

[0112] 术语“框架”或“FR”是指侧接CDR的那些可变区残基。FR残基存在于例如嵌合、人源化、人类、域抗体、双功能抗体、线性抗体和双特异性抗体中。FR残基是除高变区残基或CDR残基之外的那些可变区残基。

[0113] 在本文中,术语“Fc区”用于定义免疫球蛋白重链的C端区,包括例如原生序列Fc区、重组Fc区和变异Fc区。尽管免疫球蛋白重链的Fc区的边界可变化,但人类IgG重链Fc区通常定义为从位置Cys226处的氨基酸残基或从Pro230延伸至其羧基端。可去除Fc区的C端赖氨酸(残基447,根据EU编号系统),例如在抗体的产生或纯化期间,或通过以重组方式工程化编码抗体的重链的核酸。因此,完整抗体的组合物可包含所有K447残基都被去除的抗体群体、没有K447残基被去除的抗体群体和具有含有和不含K447残基的抗体的混合物的抗体群体。“功能性Fc区”具有原生序列Fc区的“效应功能”。示例性“效应功能”包括C1q结合;CDC;Fc受体结合;ADCC;吞噬作用;细胞表面受体(例如B细胞受体)的下调等。此类效应功能通常需要Fc区与结合区或结合域(例如抗体可变区或域)组合,并且可使用本领域技术人员已知的各种测定法评估。“变异Fc区”包含与原生序列Fc区相差至少一个氨基酸修饰(例如取代、添加或缺失)的氨基酸序列。在某些实施方案中,变异Fc区相较于原生序列Fc区或相较于亲本多肽的Fc区,在原生序列Fc区中或在亲本多肽的Fc区中具有至少一个氨基酸取

代,例如约一个至约十个氨基酸取代,或约一个至约五个氨基酸取代。本文中的变异Fc区可与原生序列Fc区和/或亲本多肽的Fc区具有至少约80%同源性,或与其具有至少约90%同源性,例如与其具有至少约95%同源性。

[0114] 如本文所用的术语“抗体片段”是指除完整抗体之外的分子,其包含抗体的一部分并且通常包含抗原结合位点。抗体片段的实例包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、单链抗体分子、scFv、sc(Fv)<sub>2</sub>、二硫键连接的scFv(dsscFv)、双功能抗体、三功能抗体、四功能抗体、微型抗体、双可变域抗体(DVD)、单可变域抗体(例如骆驼科抗体)和由抗原结合抗体片段形成的多特异性抗体。

[0115] 如本文所用的术语“单克隆抗体”是指涉及单一抗原决定子或表位的高度特异性识别和结合的大体上同源抗体群体。术语“单克隆抗体”涵盖完整且全长抗体以及抗体片段(例如Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv)、单链抗体、scFv、包含抗原结合抗体片段的融合蛋白和包含至少一个抗原结合位点的任何其他经修饰免疫球蛋白分子。此外,“单克隆抗体”是指通过任何数目的技术制得的此类抗体,所述技术包括但不限于融合瘤产生、噬菌体文库展示、重组表达和转基因动物。

[0116] 术语“表位”和“抗原决定子”在本文中可互换使用并且是指能够由特定抗体识别和结合的抗原或目标的所述部分。当抗原或目标为多肽时,表位可从相邻氨基酸和通过蛋白质的三级折叠并接的非相邻氨基酸形成。由相邻氨基酸形成的表位(也称为线性表位)通常在蛋白质变性后保留,而由三级折叠形成的表位(也称为构象表位)通常在蛋白质变性后损失。表位在独特空间构象中典型地包括至少3个,并且更通常至少5个、6个、7个或8-10个氨基酸。可使用大量公开可用的生物信息学软件工具中的任一者预测表位。X射线结晶学可用于通过分析抗原/抗体复合物的氨基酸残基相互作用来表征目标蛋白上的表位。

[0117] 术语“嵌合抗体”是指重链和/或轻链的一部分源自第一来源或物种,同时所述重链和/或轻链的其余部分源自不同来源或物种的抗体。

[0118] 如本文所用的术语“人源化抗体”是指包含人类重链可变区和轻链可变区的抗体,其中原生CDR氨基酸残基被来自非人类抗体(例如小鼠、大鼠、兔或非人类灵长类动物)的对应CDR的残基置换,其中非人类抗体具有所需特异性、亲和力和/或活性。在一些实施方案中,人类重链或轻链可变区中的一个或多个框架区氨基酸残基被来自非人类抗体的对应残基置换。此外,人源化抗体可包含未见于人类抗体或非人类抗体中的氨基酸残基。在一些实施方案中,进行这些修饰以使抗体特征进一步改进和/或优化。在一些实施方案中,人源化抗体包含人类免疫球蛋白恒定区(例如CH1、CH2、CH3、Fc和/或铰链区)的至少一部分。

[0119] 如本文所用的术语“人类抗体”是指具有对应于通过人类产生的抗体和/或已使用本领域技术人员已知用于制得人类抗体的技术中的任一者制得的抗体的氨基酸序列的抗体。这些技术包括但不限于噬菌体展示文库、酵母展示文库、转基因动物、重组蛋白产生和B细胞融合瘤技术。

[0120] 如本文所用的术语“特异性结合”是指相比于替代物质,更频繁、更快速、以更大持续时间、以更大亲和力或以上述的某一组合与特定抗原、表位、蛋白质或目标分子相互作用的药剂。在一些实施方案中,术语“特异性结合”和“结合”可互换使用。特异性结合抗原的结合剂可例如通过免疫测定、ELISA、表面等离子体共振(SPR)或本领域技术人员已知的其他技术鉴定。在一些实施方案中,特异性结合抗原(例如人类ILT3或CD3)的药剂可结合相关抗

原(例如猕猴ILT3或CD3)。通常,特异性结合抗原的结合剂将以相比于其对不同抗原的亲合力更高的亲合力结合目标抗原。不同抗原可为相关抗原。在一些实施方案中,特异性结合抗原的结合剂可以比其对不同抗原的亲合力大至少20倍、大至少30倍、大至少40倍、大至少50倍、大至少60倍、大至少70倍、大至少80倍、大至少90倍或大至少100倍的亲合力结合目标抗原。在一些实施方案中,特异性结合特定抗原的结合剂以无法使用本文所描述或本领域中另外已知的测定检测到结合的此类较低亲合力结合不同抗原。在一些实施方案中,使用SPR技术在如本文所描述或如本领域技术人员已知的Biacore系统中测量亲合力。

[0121] 术语“多肽”和“肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用并且是指任何长度的氨基酸的聚合物。聚合物可为线性或支化的,其可包含经修饰的氨基酸,并且其可间杂有非氨基酸。所述术语也涵盖已经天然修饰或通过干预(例如二硫键形成、糖基化、脂质化、乙酰化、磷酸化,或任何其他操纵或修饰)修饰的氨基酸聚合物。所述定义内也包括例如含有一种或多种氨基酸类似物(包括但不限于非天然氨基酸)以及本领域中已知的其他修饰的多肽。应理解,因为本公开的多肽可基于抗体,所以术语“多肽”涵盖呈单链的多肽和两条或更多条相关链的多肽。

[0122] 术语“多核苷酸”和“核酸”和“核酸分子”在本文中可互换使用并且是指任何长度的核苷酸的聚合物,并且包括DNA和RNA。核苷酸可为脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、经修饰的核苷酸或碱和/或其类似物,或任何可通过DNA或RNA聚合酶并入聚合物中的底物。

[0123] 术语“同一”或“同一性”百分比在两个或更多个核酸或多肽的情形中是指两个或更多个序列或子序列当根据最大对应性比较和比对(根据需要引入空位)时为相同的或具有指定百分比的相同核苷酸或氨基酸残基,不考虑任何保守性氨基酸取代作为序列同一性的一部分。同一性百分比可使用序列比较软件或算法或通过目视检查来测量。可用于获得氨基酸或核苷酸序列的比对的各种算法和软件是本领域中众所周知的。这些算法和软件包括但不限于BLAST、ALIGN、Megalign、BestFit、GCG Wisconsin Package和其变体。在一些实施方案中,两个本公开的核酸或多肽大体上同一,意指当根据最大对应性比较和比对时,其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%并且在一些实施方案中至少95%、96%、97%、98%、99%核苷酸或氨基酸同一性,通过使用序列比较算法或通过目视检查测量。在一些实施方案中,同一性存在于长度为至少约10个、至少约20个、至少约20-40个、至少约40-60个、至少约60-80个或其间的任何整数值个核苷酸或氨基酸的序列区域。在一些实施方案中,同一性存在于比60-80个核苷酸或氨基酸,例如至少约80-100个核苷酸或氨基酸更长的区域,并且在一些实施方案中,序列在所比较序列,例如(i)核苷酸序列的编码区或(ii)氨基酸序列的全长上大体上同一。

[0124] 如本文所用的术语“载体”意指能够在宿主细胞中递送,并且通常表达一种或多种相关基因或序列的构建体。载体的实例包括但不限于病毒载体、裸DNA或RNA表达载体、质粒、粘粒或噬菌体载体、与阳离子缩合剂相关的DNA或RNA表达载体和囊封在脂质体中的DNA或RNA表达载体。

[0125] 如本文所用的术语“分离”是指多肽、可溶性蛋白质、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物呈自然界中未发现的形式。“分离”的抗体大体上不含来自其衍生的细胞来源的材料。在一些实施方案中,经分离的多肽、可溶性蛋白质、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物为已纯化至一定程度以使得其不再呈其在自然界中发现的形式的那些。在一些实施方案

中,经分离的多肽、可溶性蛋白质、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物为大体上纯的。多肽、可溶性蛋白质、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物可从天然来源(例如组织)或例如工程化细胞系的来源分离。

[0126] 如本文所用的术语“大体上纯”是指至少50%纯(即,不含污染物)、至少90%纯、至少95%纯、至少98%纯或至少99%纯的材料。

[0127] 术语“受试者”是指任何动物(例如哺乳动物),包括但不限于人类、非人类灵长类动物、犬科动物、猫科动物、兔、啮齿动物等。

[0128] 如本文所用,术语“载剂”是指任何赋形剂、稀释剂、填充剂、盐、缓冲剂、稳定剂、增溶剂、油、脂质、含脂质的囊泡、微球体、脂质体囊封体或本领域中众所周知用于药物制剂中的其他材料。应理解,载剂、赋形剂或稀释剂的特征将取决于用于特定应用的施用途径。如本文所用的术语“药学上可接受的”是指经监管机构批准或可批准或美国药典、欧洲药典或用于包括人类的动物的其他一般公认药典中列出的物质。

[0129] 如本文所用的术语“药学上可接受的赋形剂、载剂或佐剂”或“可接受的药物载剂”是指可与至少一种治疗剂一起向受试者施用并且通常安全无毒并且对治疗剂的药理学活性无影响的赋形剂、载剂或佐剂。一般而言,本领域技术人员和政府机构将药学上可接受的赋形剂、载剂或佐剂视为任何制剂或任何药物组合物的非活性成分。

[0130] 如本文所用的术语“药物组合物”或“药物制剂”是指呈允许结合剂的生物活性有效的此类形式的制剂。药物制剂或组合物通常包含额外组分,例如药学上可接受的赋形剂、载剂、佐剂、缓冲剂等。

[0131] 如本文所用的术语“有效量”或“治疗有效量”是指足以降低和/或改善(i)受试者的疾病、病症或疾患和/或(ii)受试者的症状的严重程度和/或持续时间的药剂的量。所述术语也涵盖针对以下所必需的药剂的量:(i)降低或改善给定病症、疾病或疾患的推进或进展、(ii)降低或改善给定病症、疾病或疾患的复发、发展或发作和/或(iii)改进或增强另一种药剂或疗法(例如除本文所提供的结合剂外的药剂)的防治或治疗效果。

[0132] 如本文所用的术语“治疗(treat)”或“治疗(treatment)”或“治疗(treating)”或“以治疗(to treat)”或“缓解(alleviate)”或“缓解(alleviation)”或“缓解(alleviating)”或“以缓解(to alleviate)”是指旨在治愈、减缓、减轻病理性疾患或病症的症状和/或中断其进展的治疗措施。因此,需要治疗者包括已患病症者。

[0133] 如本文所用的术语“免疫反应”包括来自先天性免疫系统和后天性免疫系统两者的反应。其包括细胞介导的免疫反应和/或体液免疫反应。其包括T细胞反应和B细胞反应两者,以及来自免疫系统的其他细胞(例如自然杀手(NK)细胞、单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞等)的反应。

[0134] 如本文所用,提及“约”或“大约”值或参数包括(和描述)关于所述值或参数的实施方案。例如,提及“约X”的描述包括“X”的描述。

[0135] 除非上下文另有明确规定,否则如本公开和权利要求中所用,单数形式“一(a)”、“一(an)”和“所述(the)”包括复数形式。

[0136] 应理解,当本文中用术语“包含”描述实施方案时,也提供了用术语“由……组成”和/或“基本上由……组成”描述的其他类似实施方案。还应理解,当在本文中用短语“基本上由……组成”描述实施方案时,也提供用术语“由……组成”描述的其他类似实施方案。

[0137] 如在例如“A和/或B”的短语中所使用的术语“和/或”在本文中旨在包括A和B两者；A或B；A(单独)；和B(单独)。同样，如在例如“A、B和/或C”的短语中所使用的术语“和/或”旨在涵盖以下实施方案中的每一者：A、B和C；A、B或C；A或C；A或B；B或C；A和C；A和B；B和C；A(单独)；B(单独)；和C(单独)。

[0138] 5.1ILT3结合区

[0139] 本文所提供的结合剂包含结合ILT3(例如人类ILT3)的区域，并且因此本公开结合剂为ILT3结合剂。

[0140] 已知人类ILT3(UniProtKB编号Q8NHJ6)和食蟹猕猴(“猕猴”)ILT3(NCBI Ref编号XP\_015297198)的氨基酸(aa)序列。ILT3为具有大约47kDa的预测分子量的单向I型跨膜蛋白质。已观测到ILT3主要表达于骨髓抗原呈现细胞上，例如正常单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞。ILT3的特征在于包含两个Ig样C2型域的细胞外域、跨膜域和含有3个ITIM域的长细胞质域(参见例如Cella等人，1997，J. Exp. Med.，185:1743-1751)。两个Ig样C2型域在本文中可称为域1(D1)和域2(D2)。D1位于蛋白质的N端部分处，并且D2位于最接近跨膜区处。如在UniProtKB内表征，人类ILT3为448个氨基酸(aa)的蛋白质，信号序列为aa 1-21，细胞外域为aa 22-259，跨膜区为aa260-280，并且细胞质域为aa 281-448。在细胞外域内，D1为aa 27-188，D2为aa 124-218，并且“茎区”为aa 219-259。在细胞质域内，ITIM为aa 358-363、410-415和440-445。

[0141] 本公开提供了结合ILT3的药剂(例如双特异性抗体)。在一些实施方案中，所述ILT3结合剂结合人类ILT3或其片段。

[0142] 在一些实施方案中，本公开结合剂中的ILT3结合区为抗体或源自抗体的结合域。在一些实施方案中，所述抗体为重组抗体。在一些实施方案中，所述抗体为单克隆抗体。在一些实施方案中，所述抗体为嵌合抗体。在一些实施方案中，所述抗体为人源化抗体。在一些实施方案中，所述抗体为人类抗体。在一些实施方案中，所述抗体为IgG抗体。在一些实施方案中，所述抗体为IgG1抗体。在一些实施方案中，所述抗体为IgG2抗体。在一些实施方案中，所述抗体为IgG3抗体。在一些实施方案中，所述抗体为IgG4抗体。在一些实施方案中，所述抗体包含IgG重链。在一些实施方案中，所述抗体包含IgG1重链。在一些实施方案中，所述抗体包含IgG2重链。在一些实施方案中，所述抗体包含IgG4重链。在一些实施方案中，所述抗体包含 $\kappa$ 轻链。在一些实施方案中，所述抗体包含 $\kappa$ 轻链恒定区。在一些实施方案中，所述抗体包含 $\lambda$ 轻链。在一些实施方案中，所述抗体包含 $\lambda$ 轻链恒定区。在一些实施方案中，所述抗体为包含抗原结合位点的抗体片段。在一些实施方案中，所述抗体为scFv。在一些实施方案中，所述抗体为二硫键连接的scFv。在一些实施方案中，所述抗体为二硫键连接的sc(Fv)<sub>2</sub>。在一些实施方案中，所述抗体为Fab、Fab'或F(ab)<sub>2</sub>抗体。在一些实施方案中，所述抗体为单链Fab(scFab)。在一些实施方案中，所述抗体为双功能抗体。在一些实施方案中，所述抗体为纳米抗体。在一些实施方案中，所述抗体为单特异性抗体。在一些实施方案中，所述抗体为双特异性抗体。在一些实施方案中，所述抗体为单价抗体。在一些实施方案中，所述抗体为多价抗体。在一些实施方案中，所述抗体为二价抗体。在一些实施方案中，所述抗体为四价抗体。

[0143] 在一些实施方案中，所述ILT3结合区源自单克隆抗体。可通过本领域技术人员已知的任何方法制备单克隆抗体。在一些实施方案中，使用本领域技术人员已知的融合瘤方

法制备单克隆抗体。例如,使用融合瘤方法,如上文所描述使小鼠、大鼠、兔、仓鼠或其他适当的宿主动物免疫。在一些实施方案中,淋巴细胞是体外免疫的。在一些实施方案中,免疫抗原为人类蛋白质或其片段。在一些实施方案中,免疫抗原为小鼠蛋白质或其片段。在一些实施方案中,免疫抗原为猕猴蛋白质或其片段。

[0144] 在免疫接种之后,分离淋巴细胞并且使用例如聚乙二醇与适合的骨髓瘤细胞系融合。使用如本领域中已知的特殊化培养基选择融合瘤细胞,并且未融合淋巴细胞和骨髓瘤细胞无法经受选择程序。尤其针对所选抗原产生单克隆抗体的融合瘤可通过多种方法鉴定,所述方法包括但不限于免疫沉淀、免疫印迹和体外结合测定(例如流式细胞术、FACS、ELISA、SPR(例如Biacore)和放射免疫测定)。一旦鉴定出产生具有所需特异性、亲和力和/或活性的抗体的融合瘤细胞,则可通过限制稀释技术对克隆进行亚克隆。在一些实施方案中,使用高通量方法将单细胞融合瘤细胞分配至板中。融合瘤可在体外培养物中使用标准方法或在体内作为动物中的腹水肿瘤繁殖。单克隆抗体可根据本领域中的标准方法从培养基或腹水纯化,所述标准方法包括但不限于亲和性色谱法、离子交换色谱法、凝胶电泳和透析。

[0145] 在一些实施方案中,使用如本领域技术人员已知的重组DNA技术制得单克隆抗体。例如,例如通过RT-PCR,使用尤其增强编码抗体的重链和轻链的基因的寡核苷酸引物,从成熟B细胞或融合瘤细胞分离编码抗体的多核苷酸,并且使用标准技术确定其序列。当转染至宿主细胞,例如不会另外产生免疫球蛋白的大肠杆菌(*E. coli*)、猿猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或骨髓瘤细胞中时,编码重链和轻链的经分离多核苷酸然后克隆至产生单克隆抗体的适合表达载体中。

[0146] 在一些实施方案中,重组单克隆抗体是从表达所需物种的可变域或CDR的噬菌体展示文库分离。可通过本领域中已知的各种技术实现噬菌体文库的筛选。

[0147] 在一些实施方案中,通过使用重组DNA技术修饰单克隆抗体以生成替代抗体。在一些实施方案中,小鼠单克隆抗体的轻链和重链的恒定域取代人类抗体的恒定区以生成嵌合抗体。在一些实施方案中,将恒定区截短或去除以生成单克隆抗体的所需抗体片段。在一些实施方案中,可变区的定点或高密度诱变用于优化单克隆抗体的特异性和亲和力。

[0148] 在一些实施方案中,所述ILT3结合区源自人源化抗体。用于生成人源化抗体的各种方法是本领域中已知的。在一些实施方案中,人源化抗体包含一个或多个已引入至非人类来源中的氨基酸残基。在一些实施方案中,通过一个或多个非人类CDR序列取代人类抗体的对应CDR序列来进行人源化。在一些实施方案中,通过非人类抗体(例如小鼠抗体)的所有六个CDR取代人类抗体的对应CDR来构建人源化抗体。

[0149] 用于生成人源化抗体的人类重链可变区和/或轻链可变区的选择可基于多种因素并且通过本领域中已知的多种方法来进行。在一些实施方案中,使用“最佳拟合”方法,其中针对已知人类可变区序列的整个文库筛选非人类(例如啮齿动物)抗体的可变区的序列。与非人类(例如啮齿动物)序列最类似的人类序列选择为人源化抗体的人类可变区框架。在一些实施方案中,选择源自特定轻链或重链子组的所有人类抗体的共同序列的特定可变区框架作为可变区框架。在一些实施方案中,可变区框架序列源自最大量人类子类别的共同序列。在一些实施方案中,人类种系基因用作可变区框架序列的来源。

[0150] 用于人源化的其他方法包括但不限于:称作“超人源化”的方法,其描述为将CDR直

接传送至人类种系框架;称为人类字符串内容(Human String Content,HSC)的方法,其是基于“抗体人源化(humanness)”的量度;基于较大人源化变体文库(包括噬菌体、核糖体和酵母展示文库)产生的方法;和基于框架区改组的方法。

[0151] 在一些实施方案中,所述ILT3结合区源自人类抗体。可使用本领域中已知的各种技术制备人类抗体。在一些实施方案中,人类抗体由体外免疫的永生化人类B淋巴细胞产生。在一些实施方案中,人类抗体由从经免疫个体分离的淋巴细胞产生。在任何情况下,可产生和分离产生针对目标抗原的抗体的细胞。在一些实施方案中,人类抗体选自噬菌体文库,其中所述噬菌体文库表达人类抗体。或者,噬菌体呈现技术可用于由来自未经免疫的人类供体的免疫球蛋白可变区基因谱系体外产生人类抗体和抗体片段。用于产生和使用抗体噬菌体文库的技术是本领域中众所周知的。一旦鉴定出抗体,则本领域中已知的亲和力成熟策略(包括但不限于链改组和定点诱变)可用于产生更高亲和力人类抗体。在一些实施方案中,在含有人类免疫球蛋白基因座的转基因小鼠中产生人类抗体。在免疫接种后,这些小鼠能够在不存在内源性免疫球蛋白产生的情况下产生人类抗体的完全谱系。

[0152] 在一些实施方案中,ILT3结合区为抗体片段。如本文所用,术语“抗体片段”是指除完整抗体之外的分子,其包含抗体的一部分并且通常包含抗原结合位点。抗体片段的实例包括但不限于:Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、单链抗体分子(例如scFv)、二硫键连接的scFv(dsscFv)、纳米抗体、双功能抗体、三功能抗体、四功能抗体、微型抗体、双可变域抗体(DVD)、单可变域抗体(例如骆驼科抗体)和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0153] 在一些特定实施方案中,所述ILT3结合区包含结合ILT3的scFv。在一些特定实施方案中,所述ILT3结合区包含一个或多个结合ILT3的Fab。在一些特定实施方案中,所述ILT3结合区包含Fab。在其他特定实施方案中,所述ILT3结合区包含两个Fab。在其他特定实施方案中,所述ILT3结合区包含两个串联Fab。

[0154] 可通过各种技术,包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化来制得抗体片段。可使用本领域中已知的重组技术(例如大肠杆菌或噬菌体表达)产生本文所描述的抗体片段。

[0155] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区以 $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 、 $\leq 0.1\text{nM}$ 、 $\leq 0.01\text{nM}$ 或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如 $10^{-8}\text{M}$ 或更低,例如 $10^{-8}\text{M}$ 至 $10^{-13}\text{M}$ ,例如 $10^{-9}\text{M}$ 至 $10^{-13}\text{M}$ )的解离常数( $K_D$ )结合至ILT3(例如人类ILT3)。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区以 $\leq 0.1\text{nM}$ 的解离常数结合至ILT3(例如人类ILT3)。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区以 $\leq 0.2\text{nM}$ 的解离常数结合至ILT3(例如人类ILT3)。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区以 $\leq 0.3\text{nM}$ 的解离常数结合至ILT3(例如人类ILT3)。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区以 $\leq 0.8\text{nM}$ 的解离常数结合至ILT3(例如人类ILT3)。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区以 $\leq 3\text{nM}$ 的解离常数结合至ILT3(例如人类ILT3)。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区以 $\leq 9\text{nM}$ 的解离常数结合至ILT3(例如人类ILT3)。测量结合亲和力的多种方法是本领域中已知的,其中任一者可出于本公开的目的使用,包括通过RIA,例如用所关注的抗体和其抗原的Fab型式进行(Chen等人,1999,J.Mol Biol293:865-81);通过生物层干涉术(BLI)或表面等离子体共振(SPR)测定,通过Octet®,使用例如Octet®Red96系统,或通过Biacore®,使用例如Biacore®TM-2000或Biacore®TM-3000。“结合速率(on-rate)”或“缔合的速率(rate of association)”或“缔合速率(association rate)”或“kon”也可用上文描述的相同生物层干涉术(BLI)或表面等离子体共振(SPR)技

术,使用例如Octet®Red96、Biacore®TM-3000或Biacore®TM-8000系统测定。

[0156] 本领域中已知的任何ILT3结合剂(例如抗ILT3抗体)可用于衍生本文所公开的ILT3结合区。在某些实施方案中,本文所公开的ILT3结合区源自国际公开第W02021/183839号中所公开的ILT3抗体中的任一者,所述文献的内容通过引用并入本文。例如,本文所公开的ILT3结合区源自W02021/183839中所公开的H7K3或其变体。在某些实施方案中,所述H7K3变体包含选自由H7m1、H7m2、H7m3和H7m4组成的组的VH变体,和/或包含选自由如W02021/183839中所公开的K3m1、K3m2、K3m3、K3m4、K3m5、K3m6、K3m7和K3m8组成的组的VL变体。H7K3和其变体的CDR、VL和VH的氨基酸序列公开于例如表1和W02021/183839的段落[0155]中。在某些实施方案中,本文公开的ILT3结合区源自以下专利公开中的任一者中所描述的任何抗ILT3抗体:US20190153093、W02020056077、W02021183839、US20200031926、US20210221887、US20150110714、US20200031926、US20190241655、W02020180789和W02020056077,所述文献中的每一者的内容通过引用并入本文。

[0157] 在一些实施方案中,本文提供的ILT3结合区源自国际公开第W0 2021/127200号中的抗体,所述文献的内容通过引用并入本文。在一些实施方案中,所述ILT3结合区为表1-8中的那些中的任一者。

[0158] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以下中的任一者所示的氨基酸序列的一个或多个CDR序列:SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:145和SEQ ID NO:146。CDR序列可根据任何众所周知的编号系统确定和定义。在一些实施方案中,所述CDR是根据IMGT编号确定和定义。在一些实施方案中,所述CDR是根据Kabat编号确定和定义。在一些实施方案中,所述CDR是根据AbM编号确定和定义。在其他实施方案中,所述CDR是根据Chothia编号确定和定义。在其他实施方案中,所述CDR是根据Contact编号确定和定义。在一些实施方案中,所述ILT3结合区是人源化的。在一些实施方案中,所述ILT3结合区包含接受体人类框架,例如人类免疫球蛋白框架或人类共同框架。

[0159] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3,以及以SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0160] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3,以及以SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0161] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:55所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:56所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:55所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3,以及以SEQ ID NO:56

所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0162] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3,以及以SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0163] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3,以及以SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0164] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:109所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:110所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:109所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3,以及以SEQ ID NO:110所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0165] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:127所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:128所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:127所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3,以及以SEQ ID NO:128所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0166] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:145所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:146所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含以SEQ ID NO:145所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3,以及以SEQ ID NO:146所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0167] 可根据众所周知的编号系统或其组合来确定CDR序列。在一些实施方案中,所述CDR是根据IMGT编号定义。在一些实施方案中,所述CDR是根据Kabat编号定义。在一些实施方案中,所述CDR是根据AbM编号定义。在其他实施方案中,所述CDR是根据Chothia编号定义。在其他实施方案中,所述CDR是根据Contact编号定义。

[0168] 在其他实施方案中,所述ILT3结合区包含:HCDR1,其包含与SEQ ID NO:1、7、10和11中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(ii)HCDR2,其包含与SEQ ID NO:2、8、9和12中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,(iii)HCDR3,其包含与SEQ ID NO:3或13具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(iv)LCDR1,其包含与SEQ ID NO:4或14具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基

酸序列; (v) Lcdr2, 其包含与SEQ ID NO:5或15具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列; 和/或 (vi) Lcdr3, 其包含与SEQ ID NO:6或16具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中, 所述ILT3结合区为人源化的。在一些实施方案中, 所述ILT3结合区包含接受体人类框架, 例如人类免疫球蛋白框架或人类共同框架。

[0169] 在一些特定实施方案中, 本文所提供的ILT3结合区包含表1中的一个或多个CDR。

[0170] 在一些实施方案中, 本文所提供的ILT3结合区包含: Hcdr1, 其包含SEQ ID NO:1、7、10和11中的任一者的氨基酸序列; (ii) Hcdr2, 其包含SEQ ID NO:2、8、9和12中的任一者的氨基酸序列, (iii) Hcdr3, 其包含SEQ ID NO:3或13的氨基酸序列; (iv) Lcdr1, 其包含SEQ ID NO:4或14的氨基酸序列; (v) Lcdr2, 其包含SEQ ID NO:5或15的氨基酸序列; 和/或 (vi) Lcdr3, 其包含SEQ ID NO:6或16的氨基酸序列。

[0171] 在一些特定实施方案中, 在本文所提供的ILT3结合区中, Hcdr1包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列, Hcdr2包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列, Hcdr3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列, Lcdr1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列, Lcdr2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列, 并且Lcdr3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。

[0172] 在一些特定实施方案中, 在本文所提供的ILT3结合区中, Hcdr1包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列, Hcdr2包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列, Hcdr3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列, Lcdr1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列, Lcdr2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列, 并且Lcdr3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。

[0173] 在一些特定实施方案中, 在本文所提供的ILT3结合区中, Hcdr1包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列, Hcdr2包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列, Hcdr3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列, Lcdr1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列, Lcdr2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列, 并且Lcdr3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。

[0174] 在一些特定实施方案中, 在本文所提供的ILT3结合区中, Hcdr1包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列, Hcdr2包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列, Hcdr3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列, Lcdr1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列, Lcdr2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列, 并且Lcdr3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。

[0175] 在一些特定实施方案中, 在本文所提供的ILT3结合区中, Hcdr1包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列, Hcdr2包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列, Hcdr3包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列, Lcdr1包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列, Lcdr2包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列, 并且Lcdr3包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0176] 在其他实施方案中, 所述ILT3结合区包含: Hcdr1, 其包含与SEQ ID NO:21、27、30和31中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列; (ii) Hcdr2, 其包含与SEQ ID NO:22、28、29和32中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列, (iii) Hcdr3, 其包含与SEQ ID NO:23或33具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基

酸序列；(iv) Lcdr1,其包含与SEQ ID NO:24或34具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列；(v) Lcdr2,其包含与SEQ ID NO:25或35具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列；和/或(vi) Lcdr3,其包含与SEQ ID NO:26或36具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述ILT3结合区为人源化的。在一些实施方案中,所述ILT3结合区包含接受体人类框架,例如人类免疫球蛋白框架或人类共同框架。

[0177] 在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含表2中的一个或多个CDR。

[0178] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:Hcdr1,其包含SEQ ID NO:21、27、30和31中的任一者的氨基酸序列；(ii) Hcdr2,其包含SEQ ID NO:22、28、29和32中的任一者的氨基酸序列, (iii) Hcdr3,其包含SEQ ID NO:23或33的氨基酸序列；(iv) Lcdr1,其包含SEQ ID NO:24或34的氨基酸序列；(v) Lcdr2,其包含SEQ ID NO:25或35的氨基酸序列；和/或(vi) Lcdr3,其包含SEQ ID NO:26或36的氨基酸序列。

[0179] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,Hcdr1包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,Hcdr2包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列,Hcdr3包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,Lcdr1包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,Lcdr2包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,并且Lcdr3包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列。

[0180] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,Hcdr1包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列,Hcdr2包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列,Hcdr3包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,Lcdr1包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,Lcdr2包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,并且Lcdr3包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列。

[0181] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,Hcdr1包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,Hcdr2包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列,Hcdr3包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,Lcdr1包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,Lcdr2包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,并且Lcdr3包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列。

[0182] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,Hcdr1包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列,Hcdr2包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列,Hcdr3包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,Lcdr1包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,Lcdr2包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,并且Lcdr3包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列。

[0183] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,Hcdr1包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,Hcdr2包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列,Hcdr3包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列,Lcdr1包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列,Lcdr2包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列,并且Lcdr3包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列。

[0184] 在其他实施方案中,所述ILT3结合区包含:Hcdr1,其包含与SEQ ID NO:39、45、48和49中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列；(ii) Hcdr2,其包含与SEQ ID NO:40、46、47和50中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、

90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,(iii)HCDR3,其包含与SEQ ID NO:41或51具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(iv)LCDR1,其包含与SEQ ID NO:42或52具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(v)LCDR2,其包含与SEQ ID NO:43或53具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;和/或(vi)LCDR3,其包含与SEQ ID NO:44或54具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述ILT3结合区为人源化的。在一些实施方案中,所述ILT3结合区包含接受体人类框架,例如人类免疫球蛋白框架或人类共同框架。

[0185] 在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含表3中的一个或多个CDR。

[0186] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:HCDR1,其包含SEQ ID NO:39、45、48和49中的任一者的氨基酸序列;(ii)HCDR2,其包含SEQ ID NO:40、46、47和50中的任一者的氨基酸序列,(iii)HCDR3,其包含SEQ ID NO:41或51的氨基酸序列;(iv)LCDR1,其包含SEQ ID NO:42或52的氨基酸序列;(v)LCDR2,其包含SEQ ID NO:43或53的氨基酸序列;和/或(vi)LCDR3,其包含SEQ ID NO:44或54的氨基酸序列。

[0187] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

[0188] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

[0189] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

[0190] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

[0191] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列。

[0192] 在其他实施方案中,所述ILT3结合区包含:HCDR1,其包含与SEQ ID NO:57、63、66

和67中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列；(ii)HCDR2,其包含与SEQ ID NO:58、64、65和68中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列, (iii)HCDR3,其包含与SEQ ID NO:59或69具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列；(iv)LCDR1,其包含与SEQ ID NO:60或70具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列；(v) LCDR2,其包含与SEQ ID NO:61或71具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列；和/或(vi) LCDR3,其包含与SEQ ID NO:62或72具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述ILT3结合区为人源化的。在一些实施方案中,ILT3结合区包含接受体人类框架,例如人类免疫球蛋白框架或人类共同框架。

[0193] 在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含表4中的一个或多个CDR。

[0194] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:HCDR1,其包含SEQ ID NO:57、63、66和67中的任一者的氨基酸序列；(ii)HCDR2,其包含SEQ ID NO:58、64、65和68中的任一者的氨基酸序列, (iii)HCDR3,其包含SEQ ID NO:59或69的氨基酸序列；(iv)LCDR1,其包含SEQ ID NO:60或70的氨基酸序列；(v) LCDR2,其包含SEQ ID NO:61或71的氨基酸序列；和/或(vi) LCDR3,其包含SEQ ID NO:62或72的氨基酸序列。

[0195] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列。

[0196] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列。

[0197] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列。

[0198] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列。

[0199] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列,并且

LCDR3包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列。

[0200] 在其他实施方案中,所述ILT3结合区包含:HCDR1,其包含与SEQ ID NO:75、81、84和85中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(ii)HCDR2,其包含与SEQ ID NO:76、82、83和86中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,(iii)HCDR3,其包含与SEQ ID NO:77或87具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(iv)LCDR1,其包含与SEQ ID NO:78或88具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(v)LCDR2,其包含与SEQ ID NO:79或89具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;和/或(vi)LCDR3,其包含与SEQ ID NO:80或90具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述ILT3结合区为人源化的。在一些实施方案中,所述ILT3结合区包含接受体人类框架,例如人类免疫球蛋白框架或人类共同框架。

[0201] 在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含表5中的一个或多个CDR。

[0202] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:HCDR1,其包含SEQ ID NO:75、81、84和85中的任一者的氨基酸序列;(ii)HCDR2,其包含SEQ ID NO:76、82、83和86中的任一者的氨基酸序列,(iii)HCDR3,其包含SEQ ID NO:77或87的氨基酸序列;(iv)LCDR1,其包含SEQ ID NO:78或88的氨基酸序列;(v)LCDR2,其包含SEQ ID NO:79或89的氨基酸序列;和/或(vi)LCDR3,其包含SEQ ID NO:80或90的氨基酸序列。

[0203] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列。

[0204] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列。

[0205] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列。

[0206] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列。

[0207] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列。

[0208] 在其他实施方案中,所述ILT3结合区包含:HCDR1,其包含与SEQ ID NO:93、99、102和103中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(ii)HCDR2,其包含与SEQ ID NO:94、100、101和104中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,(iii)HCDR3,其包含与SEQ ID NO:95或105具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(iv)LCDR1,其包含与SEQ ID NO:96或106具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(v)LCDR2,其包含与SEQ ID NO:97或107具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;和/或(vi)LCDR3,其包含与SEQ ID NO:98或108具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述ILT3结合区为人源化的。在一些实施方案中,所述ILT3结合区包含接受体人类框架,例如人类免疫球蛋白框架或人类共同框架。

[0209] 在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含表6中的一个或多个CDR。

[0210] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:HCDR1,其包含SEQ ID NO:93、99、102和103中的任一者的氨基酸序列;(ii)HCDR2,其包含SEQ ID NO:94、100、101和104中的任一者的氨基酸序列,(iii)HCDR3,其包含SEQ ID NO:95或105的氨基酸序列;(iv)LCDR1,其包含SEQ ID NO:96或106的氨基酸序列;(v)LCDR2,其包含SEQ ID NO:97或107的氨基酸序列;和/或(vi)LCDR3,其包含SEQ ID NO:98或108的氨基酸序列。

[0211] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列。

[0212] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列。

[0213] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列。

[0214] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:

102的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列。

[0215] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列。

[0216] 在其他实施方案中,所述ILT3结合区包含:HCDR1,其包含与SEQ ID NO:111、117、120和121中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(ii)HCDR2,其包含与SEQ ID NO:112、118、119和122中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,(iii)HCDR3,其包含与SEQ ID NO:113或123具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(iv)LCDR1,其包含与SEQ ID NO:114或124具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(v)LCDR2,其包含与SEQ ID NO:115或125具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;和/或(vi)LCDR3,其包含与SEQ ID NO:116或126具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述ILT3结合区为人源化的。在一些实施方案中,所述ILT3结合区包含接受体人类框架,例如人类免疫球蛋白框架或人类共同框架。

[0217] 在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含表7中的一个或多个CDR。

[0218] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:HCDR1,其包含SEQ ID NO:111、117、120和121中的任一者的氨基酸序列;(ii)HCDR2,其包含SEQ ID NO:112、118、119和122中的任一者的氨基酸序列,(iii)HCDR3,其包含SEQ ID NO:113或123的氨基酸序列;(iv)LCDR1,其包含SEQ ID NO:114或124的氨基酸序列;(v)LCDR2,其包含SEQ ID NO:115或125的氨基酸序列;和/或(vi)LCDR3,其包含SEQ ID NO:116或126的氨基酸序列。

[0219] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列。

[0220] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列。

[0221] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:113的氨

氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列。

[0222] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列。

[0223] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列。

[0224] 在其他实施方案中,所述ILT3结合区包含:HCDR1,其包含与SEQ ID NO:129、135、138和139中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(ii)HCDR2,其包含与SEQ ID NO:130、136、137和140中的任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,(iii)HCDR3,其包含与SEQ ID NO:131或141具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(iv)LCDR1,其包含与SEQ ID NO:132或142具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(v)LCDR2,其包含与SEQ ID NO:133或143具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;和/或(vi)LCDR3,其包含与SEQ ID NO:134或144具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述ILT3结合区为人源化的。在一些实施方案中,所述ILT3结合区包含接受体人类框架,例如人类免疫球蛋白框架或人类共同框架。

[0225] 在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含表8中的一个或多个CDR。

[0226] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:HCDR1,其包含SEQ ID NO:129、135、138和139中的任一者的氨基酸序列;(ii)HCDR2,其包含SEQ ID NO:130、136、137和140中的任一者的氨基酸序列,(iii)HCDR3,其包含SEQ ID NO:131或141的氨基酸序列;(iv)LCDR1,其包含SEQ ID NO:132或142的氨基酸序列;(v)LCDR2,其包含SEQ ID NO:133或143的氨基酸序列;和/或(vi)LCDR3,其包含SEQ ID NO:134或144的氨基酸序列。

[0227] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列。

[0228] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:133的氨基酸序

列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列。

[0229] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列。

[0230] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列。

[0231] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的ILT3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列。

[0232] 在一些实施方案中,所述ILT3结合区还包含以下的氨基酸序列的一个或多个框架区:SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:145和SEQ ID NO:146。基于CDR编号系统的边界确定本文所描述的框架区。换句话说,如果CDR是通过例如Kabat、IMGT或Chothia确定,则框架区为可变区中的CDR周围的氨基酸残基,其从N端至C端呈以下型式:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。例如,FR1定义为在CDR1氨基酸残基的N端的氨基酸残基,如由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统所定义,FR2定义为在CDR1与CDR2氨基酸残基之间的氨基酸残基,如由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统所定义,FR3定义为在CDR2与CDR3氨基酸残基之间的氨基酸残基,如由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统所定义,并且FR4定义为在CDR3氨基酸残基的C端的氨基酸残基,如由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统所定义。

[0233] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列的VL域。

[0234] 在某些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含相对于本文所提供的任何ILT3

结合区具有一定同一性百分比的氨基酸序列(例如在表1、表2、表3、表4、表5、表6、表7和表8中)。

[0235] 两个序列(例如氨基酸序列或核酸序列)之间的同一性百分比的测定可使用数学算法来实现。用于比较两个序列的数学算法的非限制性实例为Karlin和Altschul, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 87:2264 2268 (1990)的算法,如Karlin和Altschul, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.90:5873 5877 (1993)中所修改。将此种算法并入Altschul等人, J.Mol.Biol.215:403 (1990)的NBLAST和XBLAST程序中。可利用NBLAST核苷酸程序参数集(例如分数=100,字长=12)进行BLAST核苷酸搜寻,以获得与本文所描述的核酸分子同源的核苷酸序列。可利用XBLAST程序参数集(例如分数50,字长=3)进行BLAST蛋白质搜寻,以获得与本文所描述的蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了使空位式比对达到比较目的, 可如Altschul等人, Nucleic Acids Res.25:33893402 (1997)中所描述使用空位式BLAST。或者, PSI BLAST可用于进行迭代搜寻,其检测分子间的远距离关系(同上)。当利用BLAST、空位式BLAST和PSI Blast程序时,可使用相应程序(例如XBLAST和NBLAST)的默认参数(参见例如全球信息网上的国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI), ncbi.nlm.nih.gov)。用于比较序列的数学算法的另一个非限制性实例为Myers和Miller, CABIOS 4:11-17 (1998)的算法。此种算法并入ALIGN程序(2.0版)中, 所述ALIGN程序为GCG序列比对软件包的一部分。当利用ALIGN程序来比较氨基酸序列时,可使用PAM120权重残基表、空位长度罚分12和空位罚分4。两个序列之间的同一性百分比可在允许有空位或不允许有空位的情况下,使用与上文所描述类似的技术来测定。在计算同一性百分比时,通常仅对精确匹配进行计数。

[0236] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区相对于参考序列含有取代(例如保守取代)、插入或缺失,但包含所述序列的ILT3结合区仍能够结合至ILT3。在一些实施方案中,已在参考氨基酸序列中取代、插入和/或缺失总共1至10个氨基酸。在一些实施方案中,取代、插入或缺失发生在CDR外部区域中(即在FR中)。任选地,本文所提供的ILT3结合区包括参考序列的翻译后修饰。

[0237] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:VH域,其与SEQ ID NO:17的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性;和VL域,其与SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性。

[0238] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:VH域,其与SEQ ID NO:37的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性;和VL域,其与SEQ ID NO:38的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性。

[0239] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:VH域,其与SEQ ID NO:55的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至

少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性;和VL域,其与SEQ ID NO:56的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性。

[0240] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:VH域,其与SEQ ID NO:73的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性;和VL域,其与SEQ ID NO:74的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性。

[0241] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:VH域,其与SEQ ID NO:91的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性;和VL域,其与SEQ ID NO:92的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性。

[0242] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:VH域,其与SEQ ID NO:109的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性;和VL域,其与SEQ ID NO:110的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性。

[0243] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:VH域,其与SEQ ID NO:127的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性;和VL域,其与SEQ ID NO:128的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性。

[0244] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区包含:VH域,其与SEQ ID NO:145的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性;和VL域,其与SEQ ID NO:146的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性。

[0245] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区结合至与ILT3结合区相同的表位,所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区结合至与ILT3结合区相同的表位,所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区结合至与ILT3结合区

相同的表位,所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区结合至与ILT3结合区相同的表位,所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区结合至与ILT3结合区相同的表位,所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区结合至与ILT3结合区相同的表位,所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区结合至与ILT3结合区相同的表位,所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区结合至与ILT3结合区相同的表位,所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列的VL域。

[0246] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区与ILT3结合区竞争性地特异性结合至ILT3(例如人类ILT3),所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区与ILT3结合区竞争性地特异性结合至ILT3(例如人类ILT3),所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区与ILT3结合区竞争性地特异性结合至ILT3(例如人类ILT3),所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区与ILT3结合区竞争性地特异性结合至ILT3(例如人类ILT3),所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区与ILT3结合区竞争性地特异性结合至ILT3(例如人类ILT3),所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区与ILT3结合区竞争性地特异性结合至ILT3(例如人类ILT3),所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区与ILT3结合区竞争性地特异性结合至ILT3(例如人类ILT3),所述ILT3结合区包含:包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的ILT3结合区与ILT3结合区竞争性地特异性结合至ILT3(例如人类ILT3),所述ILT3结合区包含:包含SEQ IDNO:145的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列的VL域。

[0247] 表1:45G10结合区序列

	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
重链可变区 CDR1	GFTFSDYGM H (SEQ ID NO:1)	GFTFSDY (SEQ ID NO:7)	GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:1)	DYGMH (SEQ ID NO:10)	SDYGMH (SEQ ID NO:11)
重链可变区 CDR2	YIFSGSSTIYY ADTVKG (SEQ ID NO:2)	FSGSST (SEQ ID NO:8)	YIFSGSSTIY (SEQ ID NO:9)	YIFSGSSTIYY ADTVKG (SEQ ID NO:2)	WVAYIFSGSST IY (SEQ ID NO:12)
重链可变区 CDR3	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:3)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:3)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:3)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:3)	ARADGRGAM D (SEQ ID NO:13)
轻链可变区 CDR1	RASQDISKFL N (SEQ ID NO:4)	RASQDISKFLN (SEQ ID NO:4)	RASQDISKFLN (SEQ ID NO:4)	RASQDISKFLN (SEQ ID NO:4)	SKFLNWy (SEQ ID NO:14)
轻链可变区 CDR2	YTSRLHS (SEQ ID NO:5)	YTSRLHS (SEQ ID NO:5)	YTSRLHS (SEQ ID NO:5)	YTSRLHS (SEQ ID NO:5)	LLIYYTSRLH (SEQ ID NO:15)
轻链可变区 CDR3	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:6)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:6)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:6)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:6)	QQGNTLPW (SEQ ID NO:16)
VH (SEQ ID NO:17): EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAYIFSGSSTIYY ADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARADGRGAMDYWGQGTLVTVSS					
VL (SEQ ID NO:18): DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISKFLNWyQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFS GSGSGTDFFTISSLQPEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGTKLEIK					

[0249] 表2:3A3结合区序列

	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
重链可 变区 CDR1	GFSLTSYGVH (SEQ ID NO:21)	GFSLTSY (SEQ ID NO:27)	GFSLTSYGV H (SEQ ID NO:21)	SYGVH (SEQ ID NO:30)	TSYGVH (SEQ ID NO:31)
重链可 变区 CDR2	VIWPGGTINYNS ALMS (SEQ ID NO:22)	WPGGT (SEQ ID NO:28)	VIWPGGTIN (SEQ ID NO:29)	VIWPGGTINYNS ALMS (SEQ ID NO:22)	WLGVIWPGGT IN (SEQ ID NO:32)
重链可 变区 CDR3	DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:23)	DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:23)	DKYDGGWF AY (SEQ ID NO:23)	DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:23)	ASDKYDGGW FA (SEQ ID NO:33)
轻链可 变区 CDR1	KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:24)	KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:24)	KASQNVRTA VA (SEQ ID NO:24)	KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:24)	RTAVAWY (SEQ ID NO:34)
轻链可 变区 CDR2	LASNRHT (SEQ ID NO:25)	LASNRHT (SEQ ID NO:25)	LASNRHT (SEQ ID NO:25)	LASNRHT (SEQ ID NO:25)	ALIYLASNRH (SEQ ID NO:35)
轻链可	LQHLNYPLT	LQHLNYPLT	LQHLNYPLT	LQHLNYPLT	LQHLNYPL
变区 CDR3	(SEQ ID NO:26)	(SEQ ID NO:26)	(SEQ ID NO:26)	(SEQ ID NO:26)	(SEQ ID NO:36)
3A3 重链可变区(SEQ ID NO:37) QVQLKESGPGLVAPSQSLTCTVSGFSLTSYGVHWRQPPGKGLEWLGVIWPGGTINYNS ALMSRLSISKDNSKQVFLKLSLQTDDTAMYYCASDKYDGGWFAYWGQGLVTVSA					
3A3 轻链可变区(SEQ ID NO:38) DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTAVAWYQQKPGQSPEALIYLASNRHTGVDP RFTGSGSGTDFSLNISNVQSEDLADYFCLQHLNYPLTFGSGTKLEIK					

[0252] 表3:5A7结合区序列

	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
重链可变区 CDR1	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:39)	GFTFSSY (SEQ ID NO:45)	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:39)	SYGMS (SEQ ID NO:48)	SSYGMS (SEQ ID NO:49)
重链可变区 CDR2	TISGGGSYTN YPDSVKG (SEQ ID NO:40)	SGGGSY (SEQ ID NO:46)	TISGGGSYTN (SEQ ID NO:47)	TISGGGSYTN YPDSVKG (SEQ ID NO:40)	WVATISGGG SYTN (SEQ ID NO:50)
重链可变区 CDR3	REWRMTLYA MDY (SEQ ID NO:41)	REWRMTLYAM DY (SEQ ID NO:41)	REWRMTLYA MDY (SEQ ID NO:41)	REWRMTLYA MDY (SEQ ID NO:41)	ARREWRMT LYAMD (SEQ ID NO:51)
轻链可变区 CDR1	RASESVDSYG NSFMH (SEQ ID NO:42)	RASESVDSYGN SFMH (SEQ ID NO:42)	RASESVDSYG NSFMH (SEQ ID NO:42)	RASESVDSY GNSFMH (SEQ ID NO:42)	DSYGNSFMH WY (SEQ ID NO:52)
轻链可变区 CDR2	LTSNLES (SEQ ID NO:43)	LTSNLES (SEQ ID NO:43)	LTSNLES (SEQ ID NO:43)	LTSNLES (SEQ ID NO:43)	LLIYLTSNLE (SEQ ID NO:53)
轻链可变区 CDR3	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:44)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:44)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:44)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:44)	QQNNEDPF (SEQ ID NO:54)
5A7 重链可变区(SEQ ID NO:55) EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSSYGMSWVRQTPEKRLEWVATISGGGSYTNYPDSVKGRLTISRDNACKNLYLEMSSLRSEDTALYYCARREWRMTLYAMDYWGQGTSVTVSS					
5A7 轻链可变区(SEQ ID NO:56) NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNNSFMHWYQQKPGQAPKLLIYLTSNLESGVPARFSGSGSRITDFTLTIDPVEADDAATYYCQQNNEDPFTFGSGTKLEIK					

[0254] 表4:12A12结合区序列

	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
重链可变区 CDR1	GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:57)	GYTFTDY (SEQ ID NO:63)	GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:57)	DYNMD (SEQ ID NO:66)	TDYNMD (SEQ ID NO:67)
重链可变区 CDR2	YIYPNNGGTGY NQKFNS (SEQ ID NO:58)	YPNNGG (SEQ ID NO:64)	YIYPNNGGTG (SEQ ID NO:65)	YIYPNNGGTG YNQKFNS (SEQ ID NO:58)	WIGYIYPNN GGTG (SEQ ID NO:68)
重链可变区 CDR3	SPYYDYVGSYA MDY (SEQ ID NO:59)	SPYYDYVGSY AMDY (SEQ ID NO:59)	SPYYDYVGSYA MDY (SEQ ID NO:59)	SPYYDYVGSY AMDY (SEQ ID NO:59)	ASSPYYDYV GSYAMD (SEQ ID

					NO:69)
轻链可变区 CDR1	TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:60)	TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:60)	TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:60)	TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:60)	SSSYLHWY (SEQ ID NO:70)
轻链可变区 CDR2	STSNLAS (SEQ ID NO:61)	STSNLAS (SEQ ID NO:61)	STSNLAS (SEQ ID NO:61)	STSNLAS (SEQ ID NO:61)	LWIYSTSNL A (SEQ ID NO:71)
轻链可变区 CDR3	HQYHRSPRT (SEQ ID NO:62)	HQYHRSPRT (SEQ ID NO:62)	HQYHRSPRT (SEQ ID NO:62)	HQYHRSPRT (SEQ ID NO:62)	HQYHRSPR (SEQ ID NO:72)
12A12 重链可变区(SEQ ID NO:73) EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGYIYPNNGGTG YNQKFNKATLTVDKSSSTAYMELHSLTSEDSAVYYCASSPYYDYVGSYAMDYWGQGT SVTVSS					
12A12 轻链可变区(SEQ ID NO:74) QIVLTQSPAIMSASLGERVTMTCTASSSVSSSYLHWYQKPKGSSPKLWIYSTSNLASGVPA RFGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQYHRSPRTFSGGKLEIK					

[0257] 表5:16C5结合区序列

	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
重链可变区 CDR1	GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:75)	GYTFTDY (SEQ ID NO:81)	GYTFTDYN MD (SEQ ID NO:75)	DYNMD (SEQ ID NO:84)	TDYNMD (SEQ ID NO:85)
重链可变区 CDR2	YIYPSNNGGTGYN QKFKS (SEQ ID NO:76)	YPSNNGG (SEQ ID NO:82)	YIYPSNNGG TG (SEQ ID NO:83)	YIYPSNNGGTG YNQKFKS (SEQ ID NO:76)	WIGYIYPSNNGGTG (SEQ ID NO:86)
重链可变区 CDR3	VPYYDYLYYYA MDY (SEQ ID NO:77)	VPYYDYLY YYAMDY (SEQ ID NO:77)	VPYYDYLY YYAMDY (SEQ ID NO:77)	VPYYDYLYYY AMDY (SEQ ID NO:77)	ARVPYYDYLYYY AMD (SEQ ID NO:87)
轻链可变区 CDR1	RASSSVFMH (SEQ ID NO:78)	RASSVSF MH (SEQ ID NO:78)	RASSVSF MH (SEQ ID NO:78)	RASSSVFMH (SEQ ID NO:78)	SFMHWY (SEQ ID NO:88)
轻链可变区 CDR2	ATSNLAS (SEQ ID NO:79)	ATSNLAS (SEQ ID NO:79)	ATSNLAS (SEQ ID NO:79)	ATSNLAS (SEQ ID NO:79)	PWIYATSNLA (SEQ ID NO:89)
轻链可变区 CDR3	QQWSTNPYMYT (SEQ ID NO:80)	QQWSTNPY MYT (SEQ ID NO:80)	QQWSTNPY MYT (SEQ ID NO:80)	QQWSTNPYMY YT (SEQ ID NO:80)	QQWSTNPYMY (SEQ ID NO:90)
16C5 重链可变区(SEQ ID NO:91) EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGYIYPSNNGGT GYNQKFKSKATLTVDKSSNTAYMELHSLTSEDSAVYYCARVPYYDYLYYYAMDYWG QGTSVTVSS					
16C5 轻链可变区(SEQ ID NO:92) QIVLSQPAILSASPGEKVTMACRASSSVFMHWYQKPKGSSPQPWIYATSNLASGVPA RFGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWSTNPYMYTFGGGKLEIK					

[0259] 表6:48A6结合区序列

[0260]

	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
重链可变区 CDR1	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:93)	GFTFSSY (SEQ ID NO:99)	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:93)	SYGMS (SEQ ID NO:102)	SSYGMS (SEQ ID NO:103)
重链可变区 CDR2	TISSGGTYTF YPDSVKG (SEQ ID NO:94)	SSGGTY (SEQ ID NO:100)	TISSGGTYTF (SEQ ID NO:101)	TISSGGTYTFY PDSVKG (SEQ ID NO:94)	WVATISSGG TYTF (SEQ ID NO:104)
重链可变区 CDR3	RGWLLHYA MDY (SEQ ID NO:95)	RGWLLHYA MDY (SEQ ID NO:95)	RGWLLHYA MDY (SEQ ID NO:95)	RGWLLHYA MDY (SEQ ID NO:95)	ARRGWLLH YYAMD (SEQ ID NO:105)
轻链可变区 CDR1	RPSESVDSFG NSFMH (SEQ ID NO:96)	RPSESVDSFGN SFMH (SEQ ID NO:96)	RPSESVDSFGN SFMH (SEQ ID NO:96)	RPSESVDSFGN SFMH (SEQ ID NO:96)	DSFGNSFMH WF (SEQ ID NO:106)
轻链可变区 CDR2	LSSKLES (SEQ ID NO:97)	LSSKLES (SEQ ID NO:97)	LSSKLES (SEQ ID NO:97)	LSSKLES (SEQ ID NO:97)	LLIYLSSKLE (SEQ ID NO:107)
轻链可变区 CDR3	QQHNEDPFT (SEQ ID NO:98)	QQHNEDPFT (SEQ ID NO:98)	QQHNEDPFT (SEQ ID NO:98)	QQHNEDPFT (SEQ ID NO:98)	QQHNEDPF (SEQ ID NO:108)
48A6 重链可变区(SEQ ID NO:109) EVQLVESGGDLMKPGGSLKLSAASGFTFSSYGMSWVRQTPDKRLEWVATISSGGTYT FYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLKSSEDAMYYCARRGWLLHYAMDYWGQG TSVTVSS					
48A6 轻链可变区(SEQ ID NO:110) NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRPSESVDSFGNSFMHWFQKPGQPPELLIYLSSKLESG VPAFSGSGSRDFTLTIDPVEADDAATYCYQQHNEDPFTFGSGTKLEIK					

[0261] 表7:53F10结合区序列

[0262]

	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
重链可变区 CDR1	GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:111)	GFTFSDY (SEQ ID NO:117)	GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:111)	DYGMH (SEQ ID NO:120)	SDYGMH (SEQ ID NO:121)
重链可变区 CDR2	YISTGIITVYY ADTVKG (SEQ ID NO:112)	STGIIT (SEQ ID NO:118)	YISTGIITVY (SEQ ID NO:119)	YISTGIITVYYA DTVKG (SEQ ID NO:112)	WVAYISTGII TVY (SEQ ID NO:122)
重链可变区 CDR3	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:113)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:113)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:113)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:113)	ARADGRGA MD (SEQ ID NO:123)
轻链可变区 CDR1	RASQDISNFLN (SEQ ID NO:114)	RASQDISNFLN (SEQ ID NO:114)	RASQDISNFLN (SEQ ID NO:114)	RASQDISNFLN (SEQ ID NO:114)	SNFLNWFY (SEQ ID NO:124)
轻链可变区 CDR2	YTSRLHS (SEQ ID NO:115)	YTSRLHS (SEQ ID NO:115)	YTSRLHS (SEQ ID NO:115)	YTSRLHS (SEQ ID NO:115)	LLIYYTSRLH (SEQ ID NO:125)
轻链可变区 CDR3	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:116)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:116)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:116)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:116)	QQGNTLPW (SEQ ID NO:126)
53F10 重链可变区(SEQ ID NO:127) EVQVVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAYISTGIITV YYADTVKGRFTMSRDNAKNTLFLQMTSLRSEDAIYYCARADGRGAMDYWGQGTSVI					

	VSS
[0263]	53F10 轻链可变区(SEQ ID NO:128) DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNFLNWWYQQKPDGTVLLIYYTSRLHSGVPS RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDFATYFCQQGNTLPWTFGGGKLEIK

[0264] 表8:Hz5A7.v5结合区序列

	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
重链可变区 CDR1	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:129)	GFTFSSY (SEQ ID NO:135)	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:129)	SYGMS (SEQ ID NO:138)	SSYGMS (SEQ ID NO:139)
重链可变区 CDR2	TISGGGSYTN YPDSVKG (SEQ ID NO:130)	SGGGSY (SEQ ID NO:136)	TISGGGSYTN (SEQ ID NO:137)	TISGGGSYTN PDSVKG (SEQ ID NO:130)	WVATISGGGS YTN (SEQ ID NO:140)
重链可变区 CDR3	REWRYTLYA MDY (SEQ ID NO:131)	REWRYTLY AMDY (SEQ ID NO:131)	REWRYTLYA MDY (SEQ ID NO:131)	REWRYTLYA MDY (SEQ ID NO:131)	ARREWRYTLY AMD (SEQ ID NO:141)
轻链可变区 CDR1	RASESVESYG SSFMH (SEQ ID NO:132)	RASESVESY GSSFMH (SEQ ID NO:132)	RASESVESYG SSFMH (SEQ ID NO:132)	RASESVESYGS SFMH (SEQ ID NO:132)	ESYGSSFMHW Y (SEQ ID NO:142)
轻链可变区 CDR2	LTSNLES (SEQ ID NO:133)	LTSNLES (SEQ ID NO:133)	LTSNLES (SEQ ID NO:133)	LTSNLES (SEQ ID NO:133)	LLIYLTSNLE (SEQ ID NO:143)
轻链可变区 CDR3	QQNEDPFT (SEQ ID NO:134)	QQNEDPFT (SEQ ID NO:134)	QQNEDPFT (SEQ ID NO:134)	QQNEDPFT (SEQ ID NO:134)	QQNEDPF (SEQ ID NO:144)
Hz5A7.v5 重链可变区(SEQ ID NO:145) EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSY TNYPSVKGGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARREWRYTLYAMDYWG QGTTVTVSS					
Hz5A7.v5 轻链可变区(SEQ ID NO:146) DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRASESVESYGSSSFHMYQQKPGKAPKLLIYLTSLNLE SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQNEDPFTFGQGKLEIK					

[0266] 5.2CD3结合区

[0267] 本文所提供的结合剂包含结合CD3 (例如人类CD3) 的区域,并且因此本公开结合剂为CD3结合剂。

[0268] 已知人类CD3 (UniProtKB编号P07766) 和食蟹猕猴 (“猕猴”) CD3 (例如同工型X1 (NCBI Ref编号XP\_015290838.2) 和X2 (NCBI Ref编号XP\_015290839.2) 的氨基酸(aa) 序列。CD3为具有大约23kDa的预测分子量的单向I型跨膜蛋白质。已观测到CD3在T细胞以及其他组织上表达。CD3的特征在于包含配对Ig折叠域、跨膜域和含有1个ITAM域的长细胞质域的细胞外域(参见例如Kuhns等人,2006,Immunity,24.2:133-139)。如在UniProtKB内表征,人类CD3为207个氨基酸(aa) 的蛋白质,信号序列为aa 1-22,细胞外域为aa 23-126,跨膜区为aa 127-152,并且细胞质域为aa 153-207。在细胞外域内,Ig样域为aa 32-112。在细胞质域内,ITAM为aa 178-205。

[0269] 本公开提供了结合CD3的药剂(例如双特异性抗体)。在一些实施方案中,CD3结合剂结合人类CD3或其片段。

[0270] 在一些实施方案中,本公开结合剂中的CD3结合区为抗体或源自抗体的结合域。在

一些实施方案中,所述抗体为重组抗体。在一些实施方案中,所述抗体为单克隆抗体。在一些实施方案中,所述抗体为嵌合抗体。在一些实施方案中,所述抗体为人源化抗体。在一些实施方案中,所述抗体为人类抗体。在一些实施方案中,所述抗体为IgG抗体。在一些实施方案中,所述抗体为IgG1抗体。在一些实施方案中,所述抗体为IgG2抗体。在一些实施方案中,所述抗体为IgG3抗体。在一些实施方案中,所述抗体为IgG4抗体。在一些实施方案中,所述抗体包含IgG重链。在一些实施方案中,所述抗体包含IgG1重链。在一些实施方案中,所述抗体包含IgG2重链。在一些实施方案中,所述抗体包含IgG4重链。在一些实施方案中,所述抗体包含 $\kappa$ 轻链。在一些实施方案中,所述抗体包含 $\kappa$ 轻链恒定区。在一些实施方案中,所述抗体包含 $\lambda$ 轻链。在一些实施方案中,所述抗体包含 $\lambda$ 轻链恒定区。在一些实施方案中,所述抗体为包含抗原结合位点的抗体片段。在一些实施方案中,所述抗体为scFv。在一些实施方案中,所述抗体为二硫键连接的scFv。在一些实施方案中,所述抗体为二硫键连接的(scFv)<sub>2</sub>。在一些实施方案中,所述抗体为Fab、Fab'或F(ab)<sub>2</sub>抗体。在一些实施方案中,所述抗体为单链Fab(scFab)。在一些实施方案中,所述抗体为双功能抗体。在一些实施方案中,所述抗体为纳米抗体。在一些实施方案中,所述抗体为单特异性抗体。在一些实施方案中,所述抗体为双特异性抗体。在一些实施方案中,所述抗体为单价抗体。在一些实施方案中,所述抗体为多价抗体。在一些实施方案中,所述抗体为二价抗体。在一些实施方案中,所述抗体为四价抗体。

[0271] 在一些实施方案中,所述CD3结合区源自单克隆抗体。可通过本领域技术人员已知的任何方法制备单克隆抗体。在一些实施方案中,使用如以上部分中所描述的融合瘤方法制备单克隆抗体。在一些实施方案中,使用如以上部分中所描述的重组DNA技术修饰单克隆抗体。

[0272] 在一些实施方案中,所述CD3结合区源自人源化抗体。用于生成人源化抗体的各种方法是本领域中已知的。在一些实施方案中,人源化抗体包含一个或多个已引入至非人类来源中的氨基酸残基。在一些实施方案中,通过一个或多个非人类CDR序列取代人类抗体的对应CDR序列来进行人源化。在一些实施方案中,通过非人类抗体(例如小鼠抗体)的所有六个CDR取代人类抗体的对应CDR来构建人源化抗体。用于人源化的其他方法包括以上部分中所描述的那些方法。

[0273] 在一些实施方案中,所述CD3结合区源自人类抗体。人类抗体可使用本领域中已知的各种技术制备,包括以上部分中所描述的那些技术。

[0274] 在一些实施方案中,所述CD3结合区为抗体片段。例如,抗体片段包括但不限于: Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、单链抗体分子(例如scFv)、二硫键连接的scFv(dsscFv)、纳米抗体、双功能抗体、三功能抗体、四功能抗体、微型抗体、双可变域抗体(DVD)、单可变域抗体(例如骆驼科抗体)和由抗体片段形成的多特异性抗体。抗体片段可通过各种技术制得,包括但不限于以上部分中所描述的那些技术。

[0275] 在一些特定实施方案中,所述CD3结合区包含抗CD3 scFv。在一些特定实施方案中,所述CD3结合区包含一个或多个Fab。在一些特定实施方案中,所述CD3结合区包含Fab。在其它特定实施方案中,所述CD3结合区包含两个Fab。

[0276] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区以 $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 、 $\leq 0.1\text{nM}$ 、 $\leq 0.01\text{nM}$ 或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如 $10^{-8}\text{M}$ 或更低,例如 $10^{-8}\text{M}$ 至 $10^{-13}\text{M}$ ,例如 $10^{-9}\text{M}$ 至 $10^{-13}\text{M}$ )的

解离常数 ( $K_D$ ) 结合至CD3 (例如人类CD3)。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区以 $\leq 0.1$ nM的解离常数结合至CD3 (例如人类CD3)。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区以 $\leq 0.01$ nM的解离常数结合至CD3 (例如人类CD3)。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区以 $\leq 2$ nM的解离常数结合至CD3 (例如人类CD3)。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区以 $\leq 3$ nM的解离常数结合至CD3 (例如人类CD3)。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区以 $\leq 4$ nM的解离常数结合至CD3 (例如人类CD3)。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区以 $\leq 300$ nM的解离常数结合至CD3 (例如人类CD3)。

[0277] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区以约1nM至约1 $\mu$ M的 $K_D$ 结合至CD3 (例如人类CD3)。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区通过以下 $K_D$ 结合至CD3 (例如人类CD3): 约1nM至约500nM、约1nM至约250nM、约1nM至约100nM、约1nM至约50nM、约1nM至约25nM、约1nM至约20nM、约1nM至约15nM、约1nM至约10nM、约1nM至约5nM、约5nM至约1 $\mu$ M、约5nM至约500nM、约5nM至约250nM、约5nM至约100nM、约5nM至约50nM、约5nM至约25nM、约5nM至约20nM、约5nM至约15nM、约5nM至约10nM、约10nM至约1 $\mu$ M、约10nM至约500nM、约10nM至约250nM、约10nM至约100nM、约10nM至约50nM、约10nM至约25nM、约10nM至约20nM、约10nM至约15nM、约15nM至约1 $\mu$ M、约15nM至约500nM、约15nM至约250nM、约15nM至约100nM、约15nM至约50nM、约15nM至约25nM、约15nM至约20nM、约20nM至约1 $\mu$ M、约20nM至约500nM、约20nM至约250nM、约20nM至约100nM、约20nM至约50nM、约20nM至约25nM、约25nM至约1 $\mu$ M、约25nM至约500nM、约25nM至约250nM、约25nM至约100nM、约25nM至约50nM、约50nM至约1 $\mu$ M、约50nM至约500nM、约50nM至约250nM、约50nM至约100nM、约100nM至约1 $\mu$ M、约100nM至约500nM、约100nM至约250nM、约250nM至约1 $\mu$ M、约250nM至约500nM或约500nM至约1 $\mu$ M。

[0278] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区以约5nM至约15nM的 $K_D$ 结合至CD3 (例如人类CD3)。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区以6nM至13nM的 $K_D$ 结合至CD3 (例如人类CD3)。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区以通过SRP测量的6nM的 $K_D$ 结合至CD3 (例如人类CD3)。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区以通过测量结合亲和力的不同方法测量的6nM至13nM的 $K_D$ 结合至CD3 (例如人类CD3)。

[0279] 测量结合亲和力的多种方法是本领域中已知的,其中任一者可出于本公开的目的使用,包括通过RIA,例如用所关注的抗体和其抗原的Fab型式进行 (Chen等人,1999, J. Mol Biol 293:865-81); 通过生物层干涉术 (BLI) 或表面等离子体共振 (SPR) 测定,通过 Octet®, 使用例如 Octet® Red96 系统,或通过 Biacore®, 使用例如 Biacore® TM-2000 或 Biacore® TM-3000。“结合速率”或“缔合的速率”或“缔合速率”或“kon”也可用上文描述的不同生物层干涉术 (BLI) 或表面等离子体共振 (SPR) 技术,使用例如 Octet® Red96、Biacore® TM-3000 或 Biacore® TM-8000 系统测定。

[0280] 本领域中已知的任何抗CD3抗体都可用于衍生本文所公开的CD3结合区,例如以下中所公开的抗CD3抗体:Kuhn和Weiner, Immunotheray, 2016年7月;8(8):889-906、国际专利公开第W02016204966号、第W02017053856号、第W02015095392号、第W02016116626号、第W02018114748号、第W02005118635号和第W02014047231号,所述文献中的每一者的内容通过引用并入本文。

[0281] 在一些实施方案中,所述CD3结合区源自国际专利公开第W0 2008/119567号和美

国专利第10,066,016号中所描述的抗体,所述文献中的每一者的内容通过引用并入本文。在一些实施方案中,所述CD3结合区如以下实施例部分(参见部分7)中所描述。在一些实施方案中,所述CD3结合区为2B2或其衍生物。在一些实施方案中,所述CD3结合区为1G4或其衍生物。

[0282] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含以SEQ ID NO:149、150、158和159所示的氨基酸序列的一个或多个CDR序列。CDR序列可根据众所周知的编号系统确定。在一些实施方案中,所述CDR是根据IMGT编号。在一些实施方案中,所述CDR是根据Kabat编号。在一些实施方案中,所述CDR是根据AbM编号。在其他实施方案中,所述CDR是根据Chothia编号。在其他实施方案中,所述CDR是根据Contact编号。在一些实施方案中,所述CD3结合区为人源化的。在一些实施方案中,所述CD3结合区包含接受体人类框架,例如人类免疫球蛋白框架或人类共同框架。

[0283] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含以SEQ ID NO:149所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含以SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含以SEQ ID NO:149所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3,以及以SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。可根据众所周知的编号系统或其组合来确定CDR序列。在一些实施方案中,所述CDR是根据IMGT编号。在一些实施方案中,所述CDR是根据Kabat编号。在一些实施方案中,所述CDR是根据AbM编号。在其他实施方案中,所述CDR是根据Chothia编号。在其他实施方案中,所述CDR是根据Contact编号。

[0284] 在其他实施方案中,所述CD3结合区包含:(i)HCDR1,其包含与SEQ ID NO:152具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(ii)HCDR2,其包含与SEQ ID NO:153具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,(iii)HCDR3,其包含与SEQ ID NO:154具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(iv)LCDR1,其包含与SEQ ID NO:155具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(v)LCDR2,其包含与SEQ ID NO:156具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;和/或(vi)LCDR3,其包含与SEQ ID NO:157具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述CD3结合区为人源化的。在一些实施方案中,所述CD3结合区包含接受体人类框架,例如人类免疫球蛋白框架或人类共同框架。

[0285] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的CD3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列。

[0286] 在一些实施方案中,所述CD3结合区还包含SEQ ID NO:149和150的氨基酸序列的

一个或多个框架区。基于CDR编号系统的边界确定本文所描述的框架区。换句话说,如果CDR是通过例如Kabat、IMGT或Chothia确定,则框架区为可变区中的CDR周围的氨基酸残基,其从N端至C端呈以下型式:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。例如,FR1定义为在CDR1氨基酸残基的N端的氨基酸残基,如由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统所定义,FR2定义为在CDR1与CDR2氨基酸残基之间的氨基酸残基,如由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统所定义,FR3定义为在CDR2与CDR3氨基酸残基之间的氨基酸残基,如由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统所定义,并且FR4定义为在CDR3氨基酸残基的C端的氨基酸残基,如由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统所定义。

[0287] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含:包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的VL域。

[0288] 在某些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含相对于本文所提供的任何CD3结合区具有一定同一性百分比的氨基酸序列。同一性百分比的测定可使用以上部分中所描述的数学算法来实现。

[0289] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区相对于参考序列含有取代(例如保守取代)、插入或缺失,但包含所述序列的CD3结合区仍能够结合至CD3。在一些实施方案中,已在参考氨基酸序列中取代、插入和/或缺失总共1至10个氨基酸。在一些实施方案中,取代、插入或缺失发生在CDR外部区域中(即在FR中)。任选地,本文所提供的CD3结合区包括参考序列的翻译后修饰。

[0290] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含:VH域,其与SEQ ID NO:149的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性;和VL域,其与SEQ ID NO:150的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含:VH域,其与SEQ ID NO:149的氨基酸序列具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性;和VL域,其与SEQ ID NO:150的氨基酸序列具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含与SEQ ID NO:149的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:150的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含与SEQ ID NO:149的氨基酸序列具有95%与96%之间序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:150的氨基酸序列具有90%与91%之间序列同一性的VL域。

[0291] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区结合至与CD3结合区相同的表位,所述CD3结合区包含:包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的VL域。

[0292] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区与CD3结合区竞争性地特异性结合至CD3(例如人类CD3),所述CD3结合区包含:包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的VL域。

[0293] 在一些特定实施方案中,所述CD3结合区为scFv。在一些实施方案中,所述scFv包

含一个或多个氨基酸取代,例如使scFv稳定的那些氨基酸取代。在一个特定实施方案中,scFv稳定突变为G44C突变。在另一个特定实施方案中,scFv稳定突变为G100C突变。在又一个实施方案中,scFv包含G44C和G100C两种突变。在一些实施方案中,抗CD3 scFv包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列。

[0294] 在一些实施方案中,抗CD3 scFv包含与SEQ ID NO:151的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗CD3 scFv包含与SEQ ID NO:151的氨基酸序列具有至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗CD3 scFv包含与SEQ ID NO:151的氨基酸序列具有至少92%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗CD3 scFv包含与SEQ ID NO:151的氨基酸序列具有92%与93%之间序列同一性的氨基酸序列。

[0295] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含以SEQ ID NO:158所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含以SEQ ID NO:159所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含以SEQ ID NO:158所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3,以及以SEQ ID NO:159所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。可根据众所周知的编号系统或其组合来确定CDR序列。在一些实施方案中,所述CDR是根据IMGT编号。在一些实施方案中,所述CDR是根据Kabat编号。在一些实施方案中,所述CDR是根据AbM编号。在其他实施方案中,所述CDR是根据Chothia编号。在其他实施方案中,所述CDR是根据Contact编号。

[0296] 在其他实施方案中,所述CD3结合区包含:(i)HCDR1,其包含与SEQ ID NO:161具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(ii)HCDR2,其包含与SEQ ID NO:162具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,(iii)HCDR3,其包含与SEQ ID NO:163具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(iv)LCDR1,其包含与SEQ ID NO:164具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(v)LCDR2,其包含与SEQ ID NO:165具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;和/或(vi)LCDR3,其包含与SEQ ID NO:166具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述CD3结合区为人源化的。在一些实施方案中,所述CD3结合区包含接受体人类框架,例如人类免疫球蛋白框架或人类共同框架。

[0297] 在一些特定实施方案中,在本文所提供的CD3结合区中,HCDR1包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列,HCDR3包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列,LCDR1包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列,LCDR2包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列,并且LCDR3包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列。

[0298] 在一些实施方案中,所述CD3结合区还包含SEQ ID NO:158和159的氨基酸序列的一个或多个框架区。基于CDR编号系统的边界确定本文所描述的框架区。换句话说,如果CDR是通过例如Kabat、IMGT或Chothia确定,则框架区为可变区中的CDR周围的氨基酸残基,其从N端至C端呈以下型式:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。例如,FR1定义为在CDR1氨基酸残基的N端的氨基酸残基,如由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统所定义,FR2定义为在CDR1与CDR2氨基酸残基之间的氨基酸残基,如由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统所定义,FR3定义为在CDR2与CDR3氨基酸残基之间的氨基酸残基,如由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统所定义,并且FR4定义为在CDR3氨基酸残基的C端的氨基酸残基,如由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统所定义。

[0299] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含:包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列的VL域。

[0300] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含:VH域,其与SEQ ID NO:158的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性;和VL域,其与SEQ ID NO:159的氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含与SEQ ID NO:158的氨基酸序列具有至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:159的氨基酸序列具有至少98%或至少99%序列同一性的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含与SEQ ID NO:158的氨基酸序列具有至少97%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:159的氨基酸序列具有至少98%序列同一性的VL域。在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区包含与SEQ ID NO:158的氨基酸序列具有97%与98%之间序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:159的氨基酸序列具有98%与99%之间序列同一性的VL域。

[0301] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区结合至与CD3结合区相同的表位,所述CD3结合区包含:包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列的VH域和包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列的VL域。

[0302] 在一些实施方案中,本文所提供的CD3结合区与CD3结合区竞争性地特异性结合至CD3(例如人类CD3),所述CD3结合区包含:包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列的VL域。

[0303] 在一些特定实施方案中,所述CD3结合区为scFv。在一些实施方案中,所述scFv包含一个或多个氨基酸取代,例如使scFv稳定的那些氨基酸取代。在一些实施方案中,所述scFv包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列。

[0304] 5.3ILT3和CD3的多特异性结合剂

[0305] 本文所提供的ILT3×CD3结合剂包含ILT3结合区和CD3结合区,其各自更详细地描述于以上部分5.1和部分5.2中。

[0306] 在某些实施方案中,所述ILT3结合区对人类ILT3的结合亲和力高于所述CD3结合区对人类CD3的结合亲和力。在某些实施方案中,所述ILT3结合区对人类ILT3的结合亲和力比所述CD3结合区对人类CD3的结合亲和力高约10倍至约100倍之间。在某些实施方案中,所

述ILT3结合区对人类ILT3的结合亲和力比所述CD3结合区对人类CD3的结合亲和力高约10倍至约100倍之间、约10倍至约90倍之间、约10倍至约80倍之间、约10倍至约70倍之间、约10倍至约60倍之间、约10倍至约50倍之间、约10倍至约40倍之间、约10倍至约30倍之间、约10倍至约20倍之间、约20倍至约100倍之间、约20倍至约90倍之间、约20倍至约80倍之间、约20倍至约70倍之间、约20倍至约60倍之间、约20倍至约50倍之间、约20倍至约40倍之间、约20倍至约30倍之间、约30倍至约100倍之间、约30倍至约90倍之间、约30倍至约80倍之间、约30倍至约70倍之间、约30倍至约60倍之间、约30倍至约50倍之间、约30倍至约40倍之间、约40倍至约100倍之间、约40倍至约90倍之间、约40倍至约80倍之间、约40倍至约70倍之间、约40倍至约60倍之间、约40倍至约50倍之间、约50倍至约100倍之间、约50倍至约90倍之间、约50倍至约80倍之间、约50倍至约70倍之间、约50倍至约60倍之间、约60倍至约100倍之间、约60倍至约90倍之间、约60倍至约80倍之间、约60倍至约70倍之间、约70倍至约100倍之间、约70倍至约90倍之间、约70倍至约80倍之间、约80倍至约100倍之间、约80倍至约90倍或约90倍至约100倍之间。两个结合区之间的此类结合亲和力差异使得ILT3×CD3结合剂能够在接合任何T细胞之前结合表达ILT3的目标细胞,并且因此降低脱靶效应并且增加本文所公开的ILT3×CD3结合剂的安全概况。

[0307] 在一些实施方案中,所述ILT3×CD3结合剂为多特异性抗体,例如双特异性抗体。本领域中已知用于构建多特异性抗体或本领域中已知的任何多特异性型的任何技术可用于构建本文所提供的本公开多特异性抗体。非限制性示例性技术和型式在下文描述。

[0308] 本文所提供的结合剂可包含具有全长抗体结构的抗体。“全长抗体”是指具有两条全长抗体重链和两条全长抗体轻链的抗体。全长抗体重链(HC)由众所周知的重链可变域和恒定域VH、CH1、铰链、CH2和CH3组成。全长抗体轻链(LC)由众所周知的轻链可变域和恒定域VL和CL组成。全长抗体可缺乏一条或两条重链中的C端赖氨酸(K)。“Fab臂”或“半分子”是指特异性结合抗原的一个重链-轻链对。

[0309] 全长双特异性抗体可例如在两个单特异性二价抗体之间使用Fab臂交换(或半分子交换),通过在每个半分子中的重链CH3界面处引入取代以促进具有不同特异性的两个抗体半分子在体外无细胞环境中或使用共表达的杂二聚体形成来产生。Fab臂交换反应为二硫键异构化反应和CH3域的解离缔合的结果。亲本单特异性抗体的铰链区中的重链二硫键经还原。亲本单特异性抗体中的一者的所得游离半胱氨酸与第二亲本单特异性抗体分子的半胱氨酸残基形成重链间二硫键,并且同时亲本抗体的CH3域通过解离-缔合而释放和重新形成。Fab臂的CH3域可经工程化以有利于杂二聚化而非均二聚化。所得产物为具有各自结合不同表位(即ILT3上的表位和CD3上的表位)的两个Fab臂或半分子的双特异性抗体。

[0310] “均二聚化”是指具有相同CH3氨基酸序列的两条重链的相互作用。“均二聚体”是指具有两条具有相同CH3氨基酸序列的重链的抗体。“杂二聚化”是指具有不相同CH3氨基酸序列的两条重链的相互作用。“杂二聚体”是指具有两条具有不相同CH3氨基酸序列的重链的抗体。

[0311] 在一些实施方案中,本文所提供的结合剂包括设计,例如Triomab/Quadroma (Trion Pharma/Fresenius Biotech)、杵-臼(Knob-in-Hole) (Genentech)、CrossMAbs (Roche)和静电匹配(Chugai、Amgen、NovoNordisk、Oncomed)、LUZ-Y (Genentech)、链交换工程化域体(Strand Exchange Engineered Domain body, SEED体) (EMD Serono)、Biclonic

(Merus) 和 DuoBody (Genmab A/S)。

[0312] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂呈杵-臼型式。在一些实施方案中,Fc区的CD3结合区(例如抗CD3 scFv)侧携带臼(hole)并且Fc区的ILT3结合区(例如抗ILT3 Fab)侧携带杵(knob)。

[0313] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂呈DuoBody型式。

[0314] Triomab quadroma技术可用于产生本文所提供的全长双特异性抗体。Triomab技术促进两个亲本嵌合抗体(具有IgG2a的一个亲本mAb和具有大鼠IgG2b恒定区的第二亲本mAb)之间的Fab臂交换,从而产生嵌合双特异性抗体。

[0315] “杵-臼”策略(参见例如国际公开第WO 2006/028936号)可用于产生全长双特异性抗体。简而言之,形成人类IgG中CH3域的界面的所选氨基酸可在影响CH3域相互作用的位置发生突变,以促进杂二聚体形成。将具有小侧链的氨基酸(臼)引入特异性结合第一抗原的抗体的重链中,并且将具有大侧链的氨基酸(杵)引入特异性结合第二抗原的抗体的重链中。在共表达两种抗体后,由于具有“臼”的重链与具有“杵”的重链的优先相互作用而形成杂二聚体。形成杵和臼的示例性CH3取代对为(以第一重链的第一CH3域中经修饰的位置/第二重链的第二CH3域中经修饰的位置表示):T366Y/F405A、T366W/F405W、F405W/Y407A、T394W/Y407T、T394S/Y407A、T366W/T394S、F405W/T394S和T366W/T366S\_L368A\_Y407V。

[0316] CrossMAb技术可用于产生本文所提供的全长双特异性抗体。除利用“杵-臼”策略促进Fab臂交换之外,CrossMAb在半臂中的一者中交换CH1和CL域以确保所得双特异性抗体的正确轻链配对(参见例如美国专利第8,242,247号)。

[0317] 其他交叉策略可用于通过在一个臂或两个臂中在双特异性抗体中的重链与轻链之间或重链内交换可变域或恒定域或两种域来产生本文所提供的全长双特异性抗体。这些交换包括例如VH-CH1与VL-CL、VH与VL、CH3与CL和CH3与CH1,如国际公开第WO 2009/080254号、第WO 2009/080251号、第WO 2009/018386号和第WO 2009/080252号中所描述。

[0318] 可使用其他策略,例如通过在一个CH3表面处取代带正电残基和在第二CH3表面处取代带负电残基,使用静电相互作用促进重链杂二聚化,如美国专利公开第US2010/0015133号;美国专利公开第US2009/0182127号;美国专利公开第US2010/028637号;或美国专利公开第US2011/0123532号,其中的每一者的内容通过引用并入本文。在其他策略中,杂二聚化可通过以下取代(以第一重链的第一CH3域中经修饰的位置/第二重链的第二CH3域中经修饰的位置表示)促进:L351Y\_F405A\_Y407V/T394W、T366I\_K392M\_T394W/F405A\_Y407V、T366L\_K392M\_T394W/F405A\_Y407V、L351Y\_Y407A/T366A\_K409F、L351Y\_Y407A/T366V\_K409F\_Y407A/T366A\_K409F或T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V/T350V\_T366L\_K392L\_T394W,如美国专利公开第US2012/0149876号或美国专利公开第US2013/0195849号中所描述,其中的每一者的内容通过引用并入本文。

[0319] LUZ-Y技术可用于产生本文所提供的双特异性抗体。在此技术中,将亮氨酸拉链添加至CH3域的C端以驱动来自亲本mAb的杂二聚体组装,其如Wranik等人,(2012) J Biol Chem 287(52):42221-9中所描述经纯化后去除。

[0320] SEED体技术可用于产生本文所提供的双特异性抗体。SEED体在其恒定域中选择经IgA残基取代的IgG残基以促进杂二聚化,如美国专利第US20070287170号中所描述,其内容通过引用并入本文。

[0321] 除上文所描述的方法以外,本文所提供的结合剂可在体外无细胞环境中通过在两种单特异性均二聚抗体的CH3区中引入不对称突变,并且根据PCT专利公开第WO 2011/131746号中所描述的方法,在允许二硫键异构化的还原条件下由两种亲本单特异性均二聚抗体形成双特异性杂二聚抗体来产生。

[0322] 在本文所描述的一些实施方案中,ILT3×CD3双特异性抗体包含结合ILT3的第一结合区和结合CD3的第二结合区,并且还包含抗体CH3恒定域中的至少一个取代。通常使用标准方法以DNA水平对分子(例如抗体的恒定域)进行取代。

[0323] 本文所提供的抗体可经工程化成各种众所周知的抗体形式。

[0324] 在一些实施方案中,所述双特异性抗体为双功能抗体或交叉抗体(cross-body)。

[0325] 在一些实施方案中,所述双特异性抗体包括具有促进杂二聚化的互补CH3域的IgG样分子;重组IgG样双重靶向分子,其中所述分子的两侧各自含有至少两种不同抗体的Fab片段或Fab片段的一部分;IgG融合分子,其中全长IgG抗体融合至额外Fab片段或Fab片段的部分;Fc融合分子,其中单链Fv分子或稳定化双功能抗体融合至重链恒定域、Fc区或其部分;Fab融合分子,其中不同Fab片段融合在一起;基于ScFv和双功能抗体的抗体和重链抗体(例如域抗体、纳米抗体),其中不同单链Fv分子或不同双功能抗体或不同重链抗体(例如域抗体、纳米抗体)彼此间融合或融合至另一蛋白质或载剂分子。

[0326] 在一些实施方案中,所述重组IgG样双重靶向分子包括双重靶向(DT)-Ig(GSK/Domantis)、二合一抗体(Genentech)、交联Mab(Karmanos Cancer Center)、mAb2(F-Star)和CovX体(CovX/Pfizer)。

[0327] 在一些实施方案中,IgG融合分子包括双重可变域(DVD)-Ig(Abbott)、IgG样双特异性(ImClone/Eli Lilly)、Ts2Ab(MedImmune/AZ)和BsAb(Zymogenetics)、HERCULES(Biogen Idec)和TvAb(Roche)。

[0328] 在一些实施方案中,Fc融合分子可包括ScFv/Fc融合体(Academic Institution)、SCORPION(Emergent BioSolutions/Trubion,Zymogenetics/BMS)、双重亲和力再靶向技术(Fc-DART)(MacroGenics)和双重(ScFv)<sub>2</sub>-Fab(National Research Center for Antibody Medicine--China)。

[0329] 在一些实施方案中,Fab融合双特异性抗体包括F(ab)<sub>2</sub>(Medarex/AMGEN)、双重作用或双Fab(Genentech)、对接与锁定(Dock-and-Lock,DNL)(ImmunoMedics)、二价双特异性(Biotechnol)和Fab-Fv(UCB-Celltech)。基于ScFv、双功能抗体的抗体和域抗体包括但不限于双特异性T细胞接合子(Bispecific T Cell Engager,BiTE)(Micromet)、串联双功能抗体(Tandab)(Affimed)、双重亲和力再靶向技术(DART)(MacroGenics)、单链双功能抗体(Academic)、TCR样抗体(AIT,ReceptorLogics)、人类血清白蛋白ScFv融合物(Merrimack)和COMBODY(Epigen Biotech)、双重靶向纳米抗体(Ablynx)、双重靶向重链唯一域抗体。各种型式的双特异性抗体已描述于例如Chames和Baty(2009)Curr Opin Drug Disc Dev 12:276以及Nunez-Prado等人,(2015)Drug Discovery Today 20(5):588-594中。

[0330] 本文所鉴定的VH和VL域中的任一者(例如结合CD3的那些域)可经工程化成scFv型式。在一些实施方案中,所述scFv型式呈VH-接头-VL取向。在其他实施方案中,所述scFv型式呈VL-接头-VH取向。本文所鉴定的VH和VL域中的任一者也可用于产生sc(Fv)<sub>2</sub>结构。在一些实施方案中,所述sc(Fv)<sub>2</sub>结构为VH-接头-VL-接头-VL-接头-VH。在一些实施方案中,所

述sc (Fv)<sub>2</sub>结构为VH-接头-VL-接头-VH-接头-VL。在一些实施方案中,所述sc (Fv)<sub>2</sub>结构为VH-接头-VH-接头-VL-接头-VL。在一些实施方案中,所述sc (Fv)<sub>2</sub>结构为VL-接头-VH-接头-VH-接头-VL。在一些实施方案中,所述sc (Fv)<sub>2</sub>结构为VL-接头-VH-接头-VL-接头-VH。在一些实施方案中,所述sc (Fv)<sub>2</sub>结构为VL-接头-VL-接头-VH-接头-VH。

[0331] 在特定实施方案中,所述接头为肽接头。在一些实施方案中,所述接头包含天然存在的氨基酸。可包括于接头中的示例性氨基酸为Gly、Ser、Pro、Thr、Glu、Lys、Arg、Ile、Leu、His和The。在一些实施方案中,所述接头的长度足以使Fab的VH和VL或重链和轻链以一定方式连接,使得其相对于彼此形成正确构象,以便其保留所需活性,例如结合至目标(例如ILT3或CD3)。

[0332] 在某些实施方案中,所述接头为约5-50个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为约10-40个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为约10-35个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为约10-30个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为约10-25个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为约10-20个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为约15-20个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为6个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为7个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为8个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为9个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为10个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为11个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为12个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为13个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为14个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为15个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为16个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为17个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为18个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为19个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为20个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为21个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为22个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为23个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为24个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为25个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为26个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为27个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为28个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为29个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为30个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为31个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为32个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为33个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为34个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为35个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为36个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为37个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为38个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为39个氨基酸长。在一些实施方案中,所述接头为40个氨基酸长。可使用的示例性接头为富含Gly的接头、含有Gly和Ser的接头、含有Gly和Ala的接头、含有Ala和Ser的接头和其他柔性接头。示例性接头包括序列(G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>,其中n=1-10,例如1-5或2-5,例如2、3、4或5。

[0333] 可使用的示例性接头包括例如国际专利申请第W0 2019/060695号中所描述的接头中的任一者,所述文献的内容通过引用并入本文。在某些实施方案中,抗体(包括本文所提供的抗体)包含两个接头。在其他实施方案中,本文所提供的抗体包含三个接头。在其他实施方案中,本文所提供的抗体包含四个或更多个接头。在某些实施方案中,所述抗体为其抗原结合片段。

[0334] 在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂被构造成图7中所公开的形式中的任一者。在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂具有如图7中所示的F0型式。在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂具有如图7中所示的F1型式。在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂具有如图7中所示的F5型式。在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂具有如图7中所示的F13型式。在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂具有如图7中所示的F7型式。在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂具有如图7中所示的F2型式。在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂具有如图7中所示的F6型式。在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂具有如图7中所示的F3型式。在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂具有如图7中所示的F14型式。在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂具有如图7中所示的F4型式。

[0335] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂包含结合CD3的scFv和结合ILT3的Fab,并且所述结合剂还包含Fc区。在某些实施方案中,所述CD3结合区呈scFv型式时,可改善细胞毒性并减少本文所提供的ILT3×CD3结合剂的细胞因子释放。

[0336] 在一些实施方案中,改变本文所公开的Fc区以具有降低的Fc介导的效应功能,例如经由降低的Fc受体结合。在一些实施方案中,所述Fc区在以下氨基酸位置中的一者或多者处改变以减少Fc受体结合:Leu 234 (L234)、Leu235 (L235)、Asp265 (D265)、Asp270 (D270)、Ser298 (S298)、Asn297 (N297)、Asn325 (N325)和Ala327 (A327)。在某些实施方案中,所述Fc区包含以下氨基酸取代中的一者或多者:Leu 234Ala (L234A)、Leu235Ala (L235A)、Asp265Asn (D265N)、Asp270Asn (D270N)、Ser298Asn (S298N)、Asn297Ala (N297A)、Asn325Glu (N325E)和Ala327Ser (A327S)。在一些实施方案中,所述Fc区在氨基酸234和235两者处改变,例如Leu234Ala和Leu235Ala (L234A/L235A)。对Fc区中的氨基酸取代的参考是通过Kabat的EU编号。EU编号是已知的并且是根据最近更新的IMGT科学图表 (IMGT®, 国际ImMunoGeneTics information System®) 和如Kabat, E.A.等人Sequences of Proteins of Immunological interest.第5版US Department of Health and Human Services, NIH出版物编号91-3242 (1991)中报道的EU索引。

[0337] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂包含:(i) 第一多肽,其包含结合与Fc区的一个臂连接的CD3的scFv;(ii) 第二多肽,其包含结合与Fc区的另一个臂连接的ILT3的VH域;和(iii) 第三多肽,其包含结合ILT3的VL域,其中所述VH域与所述VL域形成结合ILT3的Fab,并且所述第一多肽与所述第二多肽形成Fc区。在一些实施方案中,所述第一多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述第二多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述Fc区包含减少或消除Fc效应功能的一个或多个氨基酸突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含L234A/L235A突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含促进Fc区的两个臂的二聚化的一个或多个氨基酸突变。在某些实施方案中,所述第一多肽在形成Fc区的域(例如CH3域)处包含T366S、L368A和Y407V突变中的一者或多者(例如所有T366S、L368A和Y407V突变),并且所述第二多肽在形成Fc区的域(例如CH3域)处包含T366W突变。

[0338] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂包含:(i) 第一多肽,其包含结合与Fc区的一个臂连接的CD3的scFv;(ii) 第二多肽,其包含结合ILT3的VH域和连接至Fc区的另一个臂的CH1域;和(iii) 第三多肽,其包含结合ILT3的VL域以及CL域,其中所述VH域、

所述CH1域、所述CL域和所述VL域形成结合ILT3的Fab,并且所述第一多肽与所述第二多肽形成Fc区。在一些实施方案中,所述第一多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述第二多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述Fc区包含减少或消除Fc效应功能的一个或多个氨基酸突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含L234A/L235A突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含促进Fc区的两个臂的二聚化的一个或多个氨基酸突变。在某些实施方案中,所述第一多肽在形成Fc区的域(例如CH3域)处包含T366S、L368A和Y407V突变中的一者或多者(例如所有T366S、L368A和Y407V突变),并且所述第二多肽在形成Fc区的域(例如CH3域)处包含T366W突变。

[0339] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂包含:(i)第一多肽,其包含结合CD3的scFv、CH2域和CH3域,(ii)第二多肽,其包含结合ILT3的VH域、CH2域和CH3域,和(iii)第三多肽,其包含结合ILT3的VL域,其中所述VH域与所述VL域形成结合ILT3的Fab,并且所述第一多肽与所述第二多肽形成Fc区。在一些实施方案中,所述第一多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述第二多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述Fc区包含减少或消除Fc效应功能的一个或多个氨基酸突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含L234A/L235A突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含促进Fc区的两个臂的二聚化的一个或多个氨基酸突变。在某些实施方案中,所述第一多肽的CH3域包含T366S、L368A和Y407V突变中的一者或多者(例如所有T366S、L368A和Y407V突变),并且所述第二多肽的CH3域包含T366W突变。

[0340] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂包含:(i)第一多肽,其包含结合CD3的scFv、CH2域和CH3域,(ii)第二多肽,其包含结合ILT3的VH域、CH1域、CH2域和CH3域,和(iii)第三多肽,其包含结合ILT3的VL域以及CL域,其中所述VH域、所述CH1域、所述CL域和所述VL域形成结合ILT3的Fab,并且所述第一CH2域、所述第二CH2域、所述第一CH3域和所述第二CH3域形成Fc区。在一些实施方案中,所述第一多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述第二多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述Fc区包含减少或消除Fc效应功能的一个或多个氨基酸突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含L234A/L235A突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含促进Fc区的两个臂的二聚化的一个或多个氨基酸突变。在某些实施方案中,所述第一多肽的CH3域包含T366S、L368A和Y407V突变中的一者或多者(例如所有T366S、L368A和Y407V突变),并且所述第二多肽的CH3域包含T366W突变。在某些实施方案中,所述ILT3×CD3结合剂具有如图7的F0中所描绘的构型。

[0341] 在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂包含:包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列的第一多肽、包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的第二多肽和包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的第三多肽。

[0342] 在其他实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂包含结合CD3的scFv和两个各自结合ILT3的Fab,并且所述结合剂还包含Fc区。在一些实施方案中,所述两个Fab相同并且彼此连接。

[0343] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂包含:(i)第一多肽,其包含结合与Fc区的一个臂连接的CD3的scFv;(ii)第二多肽,其包含两个相同的串联VH域,其各自结合与Fc区的另一个臂连接的ILT3;(iii)第三多肽,其包含结合ILT3的VL域;和(iv)第四多肽,其包含结合ILT3的VL域,其中所述两个VH域与所述两个VL域形成结合ILT3的两个

Fab,并且所述第一多肽与所述第二多肽形成Fc区。在一些实施方案中,所述第一多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述第二多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述Fc区包含减少或消除Fc效应功能的一个或多个氨基酸突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含L234A/L235A突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含促进Fc区的两个臂的二聚化的一个或多个氨基酸突变。在某些实施方案中,所述第一多肽在形成Fc区的域(例如CH3域)处包含T366S、L368A和Y407V突变中的一者或多者(例如所有T366S、L368A和Y407V突变),并且所述第二多肽在形成Fc区的域(例如CH3域)处包含T366W突变。

[0344] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂包含:(i)第一多肽,其包含结合与Fc区的一个臂连接的CD3的scFv;(ii)第二多肽,其包含各自结合ILT3的两个相同VH域以及两个相同CH1域,其中CH1域中的一者连接至Fc区的另一个臂;(iii)第三多肽,其包含结合ILT3的VL域以及CL域,和(iv)第四多肽,其包含结合ILT3的VL域以及CL域,其中所述两个VH域、所述两个VL域、所述两个CH1域和所述两个CL域形成结合ILT3的两个Fab,并且所述第一多肽与所述第二多肽形成Fc区。在一些实施方案中,所述第一多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述第二多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述Fc区包含减少或消除Fc效应功能的一个或多个氨基酸突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含L234A/L235A突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含促进Fc区的两个臂的二聚化的一个或多个氨基酸突变。在某些实施方案中,所述第一多肽在形成Fc区的域(例如CH3域)处包含T366S、L368A和Y407V突变中的一者或多者(例如所有T366S、L368A和Y407V突变),并且所述第二多肽在形成Fc区的域(例如CH3域)处包含T366W突变。

[0345] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂包含:(i)第一多肽,其包含结合CD3的scFv、CH2域和CH3域,(ii)第二多肽,其包含结合ILT3的第一VH域、结合ILT3的第二VH域、CH2域和CH3域,(iii)第三多肽,其包含结合ILT3的第一VL域,和(iv)第四多肽,其包含结合ILT3的第二VH域,其中所述第一VH域与所述第一VL域形成结合ILT3的第一Fab,所述第二VH域与所述第二VL域形成结合ILT3的第二Fab,并且所述第一多肽与所述第二多肽形成Fc区。在一些实施方案中,所述第一多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述第二多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述Fc区包含减少或消除Fc效应功能的一个或多个氨基酸突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含L234A/L235A突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含促进Fc区的两个臂的二聚化的一个或多个氨基酸突变。在某些实施方案中,所述第一多肽在形成Fc区的域(例如CH3域)处包含T366S、L368A和Y407V突变中的一者或多者(例如所有T366S、L368A和Y407V突变),并且所述第二多肽在形成Fc区的域(例如CH3域)处包含T366W突变。

[0346] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂包含:(i)第一多肽,其包含结合CD3的scFv、第一CH2域和第一CH3域,(ii)第二多肽,其包含结合ILT3的第一VH域、第一CH1域、结合ILT3的第二VH域、第二CH1域、第二CH2域和第二CH3域,(iii)第三多肽,其包含结合ILT3的第一VL域以及第一CL域,和(iv)第四多肽,其包含结合ILT3的第二VL域以及第二CL域,其中所述第一VH域、所述第一CH1域、所述第一VL域和所述第一CL域形成结合ILT3的第一Fab,所述第二VH域、所述第二CH1域、所述第二VL域和所述第二CL域形成结合ILT3的第二Fab,并且所述第一CH2域、所述第二CH2域、所述第一CH3域和所述第二CH3域形成Fc区。在一些实施方案中,所述第一多肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述第二多

肽包含完整或部分铰链域。在一些实施方案中,所述Fc区包含减少或消除Fc效应功能的一个或多个氨基酸突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含L234A/L235A突变。在一些实施方案中,所述Fc区包含促进Fc区的两个臂的二聚化的一个或多个氨基酸突变。在某些实施方案中,所述第一多肽在形成Fc区的域(例如CH3域)处包含T366S、L368A和Y407V突变中的一者或多者(例如所有T366S、L368A和Y407V突变),并且所述第二多肽在形成Fc区的域(例如CH3域)处包含T366W突变。在某些实施方案中,所述ILT3×CD3结合剂具有如图7的F13中所描绘的构型。在一些特定实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂包含:包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列的第一多肽、包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列的第二多肽、包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的第三多肽和包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的第四多肽。

#### [0347] 5.4 药物组合物

[0348] 在另一个通用方面,提供了一种药物组合物,其包含本文所提供的ILT3×CD3结合剂和药学上可接受的赋形剂。在另一个通用方面,提供了一种药物组合物,其包含编码本文所提供的ILT3×CD3结合剂的核酸或其片段或部分和药学上可接受的赋形剂。在另一个通用方面,提供了一种药物组合物,其包含表达本文所提供的ILT3×CD3结合剂的工程化细胞和药学上可接受的赋形剂。

[0349] 在一些实施方案中,本文所提供的药物组合物通过将具有所需纯度的结合剂与任选的生理学上可接受的赋形剂(参见例如Remington, *Remington's Pharmaceutical Sciences* (第18版1980))混合来制备以呈水溶液形式或冻干或其他干燥形式用于储存。

[0350] 在另一个通用方面,本文提供了一种产生包含本文所提供的抗体或其抗原结合片段的药物组合物的方法,所述方法包括将抗体或其抗原结合片段与药学上可接受的载剂组合以获得所述药物组合物。

#### [0351] 5.5 使用方法

[0352] 本文所提供的结合剂的功能活性可通过本领域中已知并且如本文所描述的方法表征。用于表征结合剂的方法包括但不限于亲和力和特异性测定法,包括Biacore、ELISA和OctetRed分析;通过FACS检测抗体与目标细胞的结合的结合测定法;检测细胞上抗体与目标抗原的结合的结合测定法。根据特定实施方案,用于表征结合剂的方法包括下文所描述的那些方法。

[0353] 本公开的ILT3×CD3结合剂适用于多种应用,包括但不限于治疗性治疗方法,例如治疗表达人类ILT3的癌症。在一些实施方案中,所述治疗性治疗方法包含用于表达ILT3(例如人类ILT3)的癌症的免疫疗法。在一些实施方案中,ILT3×CD3结合剂适用于激活、促进、增加和/或增强对表达ILT3(例如人类ILT3)的癌症或癌细胞的免疫反应。在一些实施方案中,ILT3×CD3结合剂适用于激活、促进、增加和/或增强对表达ILT3(例如人类ILT3)的肿瘤或肿瘤细胞的免疫反应。在一些实施方案中,ILT3×CD3结合剂适用于激活、促进、增加和/或增强对表达ILT3(例如人类ILT3)的癌症或癌细胞的T细胞反应。在一些实施方案中,ILT3×CD3结合剂适用于激活、促进、增加和/或增强对表达ILT3(例如人类ILT3)的肿瘤或肿瘤细胞的T细胞反应。使用方法可为体外、离体或体内方法。

[0354] 在一个方面,本文提供了一种将T细胞引导至表达ILT3(例如人类ILT3)的癌症或肿瘤细胞的方法,所述方法包括使T细胞与有效量的本文所提供的ILT3×CD3结合剂接触,其中CD3结合区结合T细胞。在另一方面,本文提供了一种将T细胞引导至表达ILT3(例如人

类ILT3)的癌症或肿瘤细胞的方法,所述方法包括使T细胞与有效量的包含本文提供的ILT3×CD3结合剂的药物组合物接触,其中CD3结合区结合T细胞。在一些实施方案中,经引导的T细胞诱导癌症或肿瘤细胞中的细胞凋亡。在一些实施方案中,当T细胞是针对表达ILT3(例如人类ILT3)的癌症或肿瘤细胞时,所述T细胞诱导差异细胞毒性和细胞因子释放。也就是说,将T细胞引导至表达ILT3(例如人类ILT3)的癌症或肿瘤细胞的方法产生与T细胞细胞因子释放成反比的T细胞依赖性细胞毒性(TDCC)。例如,在一些实施方案中,TDCC相比于参考物增加,并且细胞因子释放相比于参考物降低。在一些实施方案中,所述TDCC参考物为:(a)在对应正常细胞或组织中测量的TDCC;(b)在相同受试者的相邻非癌细胞或组织中测量的TDCC;或(c)在健康受试者组中测量的对应细胞或组织中测量的TDCC。在一些实施方案中,所述TDCC是通过测量细胞凋亡测定。在一些实施方案中,半胱天冬酶介导的细胞凋亡增加。在一些实施方案中,细胞因子参考物为:(a)在对应正常细胞或组织中测量的细胞因子;(b)在相同受试者的相邻非癌细胞或组织中测量的细胞因子;或(c)在健康受试者组中测量的对应细胞或组织中测量的细胞因子。在一些实施方案中,所述细胞因子释放是通过测量TNF $\alpha$ 测定。在一些实施方案中,TNF $\alpha$ 细胞因子释放降低。

[0355] 在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤细胞包含血液癌症或肿瘤细胞。在一些实施方案中,所述血液癌症或肿瘤细胞为急性骨髓白血病(AML)细胞。在一些实施方案中,所述AML为M4/M5 AML。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤细胞为急性骨髓白血病(AML)细胞、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)细胞、B细胞急性淋巴母细胞白血病(B-ALL)细胞、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)细胞、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)细胞、套细胞淋巴瘤(MCL)细胞、多发性骨髓瘤(MM)浆细胞、骨髓发育不良综合征(MDS)细胞、霍奇金淋巴瘤细胞、淋巴浆细胞淋巴瘤(LPL)细胞、滤泡性淋巴瘤细胞、伯基特淋巴瘤细胞、母细胞浆细胞样树突状细胞赘瘤(BPDCN)细胞、或边缘区淋巴瘤细胞或粘膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤细胞。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤细胞包含实体肿瘤细胞。

[0356] 在一些实施方案中,与参考表达水平相比,所述癌细胞表达高水平的ILT3。在一些实施方案中,与参考表达水平相比,所述癌细胞表达低水平的ILT3。在一些实施方案中,ILT3的所述参考表达水平为:(a)ILT3的预定表达水平;(b)对应正常细胞或组织中的ILT3表达水平;(c)在相同受试者的相邻非癌细胞或组织中测量的ILT3表达水平;或(d)在健康受试者组中测量的对应细胞或组织中的ILT3表达水平。在一些实施方案中,所述ILT3表达水平是通过测量ILT3的蛋白质表达水平测定。在一些实施方案中,与参考表达水平相比,所述癌细胞表达低水平的ILT3,其中所述参考表达水平为已知ILT3<sup>高</sup>癌细胞或组织中的ILT3表达水平。表达低水平的ILT3的癌细胞包括OCI-AML-2或NALM-1细胞。表达高水平的ILT3的癌细胞包括M4和M5 AML、MM和B-ALL、THP-1和MOLM13细胞。

[0357] 在一些实施方案中,本文所提供的结合剂不诱导T细胞介导的正常骨髓造血干细胞(HSC)的杀伤。

[0358] 在一个方面,本文提供了一种激活T细胞的方法,所述方法包括使所述T细胞与有效量的本文所提供的ILT3×CD3结合剂接触,其中CD3结合区结合所述T细胞。在另一方面,本文提供了一种激活T细胞的方法,所述方法包括使所述T细胞与包含本文所提供的ILT3×CD3结合剂的药物组合物接触。在一些实施方案中,所述T细胞为初始T细胞。在一些实施方案中,所述T细胞是从PBMC群体多克隆扩增。

[0359] 在一个方面,本文提供了一种靶向表达ILT3(例如人类ILT-3)的目标细胞的表面上的抗原的方法,所述方法包括使所述目标细胞与有效量的本文所提供的ILT3×CD3结合剂接触,其中ILT3结合区结合至所述目标细胞。在另一方面,本文提供了一种靶向目标细胞的表面上的抗原的方法,所述方法包括使所述目标细胞与有效量的包含本文所提供的ILT3×CD3结合剂的药物组合物接触,其中ILT3结合区结合至所述目标细胞。在一些实施方案中,本文提供了一种靶向目标细胞的表面上的抗原的方法,所述方法包括使所述目标细胞与有效量的包含本文所提供的ILT3×CD3结合剂的药物组合物接触。在一些实施方案中,与参考表达水平相比,所述目标细胞表达高水平的ILT3。在一些实施方案中,与参考表达水平相比,所述目标细胞表达低水平的ILT3。在一些实施方案中,ILT3的所述参考表达水平为:(a)ILT3的预定表达水平;(b)对应正常细胞或组织中的ILT3表达水平;(c)在相同受试者的相邻非癌细胞或组织中测量的ILT3表达水平;或(d)在健康受试者组中测量的对应细胞或组织中的ILT3表达水平。在一些实施方案中,ILT3的所述表达水平是通过测量ILT3的蛋白质表达水平测定。在一些实施方案中,与参考表达水平相比,所述目标细胞表达低水平的ILT3,其中所述参考表达水平为已知ILT3<sup>高</sup>癌细胞或组织中的ILT3表达水平。表达低水平的ILT3的癌细胞包括OCI-AML-2或NALM-1细胞。表达高水平的ILT3的癌细胞包括M4和M5 AML、MM和B-ALL、THP-1和MOLM13细胞。在一些实施方案中,所述目标细胞来自癌症(例如血液癌症)。在一些实施方案中,所述目标细胞包含来自B细胞恶性肿瘤或白血病的细胞。在一些实施方案中,所述癌症为急性骨髓白血病(AML)(包括M4/M5 AML)、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)、B细胞急性淋巴母细胞白血病(B-ALL)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、多发性骨髓瘤(MM)、骨髓发育不良综合征(MDS)、霍奇金淋巴瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤(LPL)、滤泡性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、母细胞浆细胞样树突状细胞赘瘤(BPDCN)或边缘区淋巴瘤(例如粘膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤)。在一些实施方案中,所述癌症为实体肿瘤。

[0360] 在一个方面,本文提供了一种杀伤或抑制表达ILT3(例如人类ILT3)的癌症或肿瘤细胞增殖的方法,所述方法包括使所述癌症或肿瘤细胞与本文所提供的ILT3×CD3结合剂接触。在另一方面,本文提供了一种杀伤或抑制表达ILT3(例如人类ILT3)的癌症或肿瘤细胞增殖的方法,所述方法包括使所述癌症或肿瘤细胞与包含本文所提供的ILT3×CD3结合剂的药物组合物接触。在一些实施方案中,所述ILT3×CD3结合剂使T细胞活化。在一些实施方案中,CD3结合区使T细胞活化。在一些实施方案中,经活化的T细胞诱导癌症或肿瘤细胞中的细胞凋亡。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤细胞包含血液癌症或肿瘤细胞。在一些实施方案中,所述血液癌症或肿瘤细胞为急性骨髓白血病(AML)细胞。在一些实施方案中,所述AML为M4/M5AML。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤细胞为急性骨髓白血病(AML)细胞、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)细胞、B细胞急性淋巴母细胞白血病(B-ALL)细胞、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)细胞、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)细胞、套细胞淋巴瘤(MCL)细胞、多发性骨髓瘤(MM)细胞、骨髓发育不良综合征(MDS)细胞、霍奇金淋巴瘤细胞、淋巴浆细胞淋巴瘤(LPL)细胞、滤泡性淋巴瘤细胞、伯基特淋巴瘤细胞、母细胞浆细胞样树突状细胞赘瘤(BPDCN)细胞、或边缘区淋巴瘤细胞或粘膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤细胞。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤细胞包含实体肿瘤细胞。在一些实施方案中,与参考表达水平相比,所述癌症或肿瘤细胞表达高水平的ILT3。在一些实施方案中,与参考表达水平相比,

所述癌症或肿瘤细胞表达低水平的ILT3。在一些实施方案中,ILT3的所述参考表达水平为:(a) ILT3的预定表达水平;(b) 对应正常细胞或组织中的ILT3表达水平;(c) 在相同受试者的相邻非癌细胞或组织中测量的ILT3表达水平;或(d) 在健康受试者组中测量的对应细胞或组织中的ILT3表达水平。在一些实施方案中,ILT3的所述表达水平是通过测量ILT3的蛋白质表达水平测定。在一些实施方案中,与参考表达水平相比,所述癌细胞表达低水平的ILT3,其中所述参考表达水平为已知ILT3<sup>高</sup>癌细胞或组织中的ILT3表达水平。表达低水平的ILT3的癌细胞包括OCI-AML-2或NALM-1细胞。表达高水平的ILT3的癌细胞包括M4和M5 AML、MM和B-ALL、THP-1和MOLM13细胞。

[0361] 在一个方面,本文提供了一种治疗受试者中表达ILT3(例如人类ILT3)的癌症或肿瘤的方法,所述方法包括施用有效量的本文所提供的ILT3×CD3结合剂。在另一方面,本文提供了一种治疗受试者中表达ILT3(例如人类ILT3)的癌症或肿瘤的方法,所述方法包括施用有效量的包含本文所提供的ILT3×CD3结合剂的药物组合物或本文所提供的药物组合物。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤为血液癌症或肿瘤。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤为白血病。在一些实施方案中,所述血液癌症或肿瘤为急性骨髓白血病(AML)。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤为骨髓发育不良综合征。骨髓发育不良综合征(MDS)为一组癌症,其中骨髓中的未成熟血细胞并不成熟并且因此未变成健康血细胞。在一些实施方案中,骨髓发育不良综合征发展成AML。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤为急性骨髓白血病(AML)(包括M4/M5 AML)、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)、B细胞急性淋巴母细胞白血病(B-ALL)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、多发性骨髓瘤(MM)、骨髓发育不良综合征(MDS)、霍奇金淋巴瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤(LPL)、滤泡性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、母细胞浆细胞样树突状细胞赘瘤(BPDCN)或边缘区淋巴瘤(例如粘膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤)。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤包含实体肿瘤。在一些实施方案中,与参考表达水平相比,所述癌症或肿瘤细胞表达高水平的ILT3。在一些实施方案中,与参考表达水平相比,所述癌症或肿瘤细胞表达低水平的ILT3。在一些实施方案中,ILT3的所述参考表达水平为:(a) ILT3的预定表达水平;(b) 对应正常细胞或组织中的ILT3表达水平;(c) 在相同受试者的相邻非癌细胞或组织中测量的ILT3表达水平;或(d) 在健康受试者组中测量的对应细胞或组织中的ILT3表达水平。在一些实施方案中,ILT3的所述表达水平是通过测量ILT3的蛋白质表达水平测定。在一些实施方案中,与参考表达水平相比,所述癌细胞表达低水平的ILT3,其中所述参考表达水平为已知ILT3<sup>高</sup>癌细胞或组织中的ILT3表达水平。表达低水平的ILT3的癌细胞包括OCI-AML-2或NALM-1细胞。表达高水平的ILT3的癌细胞包括M4和M5 AML、MM和B-ALL、THP-1和MOLM13细胞。

[0362] 在另一方面,本文提供了一种本文所提供的ILT3×CD3结合剂的用途,其用于制造供治疗其受试者中表达ILT3(例如人类ILT3)的癌症或肿瘤用的药剂。在又另一方面,本文提供了一种用于治疗表达ILT3(例如人类ILT3)的癌症或肿瘤的结合剂。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤为血液癌症或肿瘤。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤为急性骨髓白血病(AML)(包括M4/M5 AML)、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)、B细胞急性淋巴母细胞白血病(B-ALL)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、多发性骨髓瘤(MM)、骨髓发育不良综合征(MDS)、霍奇金淋巴瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤(LPL)、滤泡性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、母细胞浆细胞样树突状细胞赘瘤(BPDCN)或边缘区淋

巴瘤(例如粘膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤)。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤为骨髓发育不良综合征。骨髓发育不良综合征(MDS)为一组癌症,其中骨髓中的未成熟血细胞并不成熟并且因此未变成健康血细胞。在一些实施方案中,骨髓发育不良综合征发展成AML。在某些实施方案中,所述癌症或肿瘤包含血液癌症。在一些实施方案中,所述血液癌症或肿瘤为急性骨髓白血病(AML)。在一些实施方案中,所述AML为M4/M5 AML。在一些实施方案中,所述癌症或肿瘤包含实体肿瘤。

[0363] 在一些实施方案中,与参考表达水平相比,所述癌症或肿瘤细胞表达高水平的ILT3。在一些实施方案中,与参考表达水平相比,所述癌症或肿瘤细胞表达低水平的ILT3。在一些实施方案中,ILT3的所述参考表达水平为:(a) ILT3的预定表达水平;(b) 对应正常细胞或组织中的ILT3表达水平;(c) 在相同受试者的相邻非癌细胞或组织中测量的ILT3表达水平;或(d) 在健康受试者组中测量的对应细胞或组织中的ILT3表达水平。在一些实施方案中,ILT3的所述表达水平是通过测量ILT3的蛋白质表达水平测定。在一些实施方案中,与参考表达水平相比,所述癌细胞表达低水平的ILT3,其中所述参考表达水平为已知ILT3<sup>高</sup>癌细胞或组织中的ILT3表达水平。表达低水平的ILT3的癌细胞包括OCI-AML-2或NALM-1细胞。表达高水平的ILT3的癌细胞包括M4和M5 AML、MM和B-ALL、THP-1和MOLM13细胞。

[0364] 在一些实施方案中,所述受试者为有需要的受试者。在一些实施方案中,所述受试者为人类。在特定实施方案中,向所述受试者施用有效量的本文所公开的结合剂或药物组合物。

[0365] 根据特定实施方案,本文所描述的药物组合物经配制以适用于针对受试者的预期施用途径。例如,本文所描述的药物组合物可经配制以适用于静脉内、皮下或肌肉内施用。

[0366] 在一些实施方案中,本文所提供的ILT3×CD3结合剂与补充疗法组合使用。

[0367] 如本文所用,术语“组合(in combination)”在向受试者施用两种或更多种疗法的情形中是指使用超过一种疗法。使用术语“组合”不限制向受试者施用疗法的次序。例如,第一疗法(例如本文所描述的组合物)可在向受试者施用第二疗法之前(例如之前5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、16小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周)施用,与其同时施用,或在其之后(例如之后5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、16小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周)施用。

[0368] 5.6药盒

[0369] 在另一个通用方面,本公开涉及包含本文所提供的经分离双特异性抗体或其抗原结合片段和使用说明书的药盒。

[0370] 在一个实施方案中,提供了一种药盒,其包含本文所提供的ILT3×CD3结合剂。所描述的药盒可用于进行使用本文所提供的ILT3×CD3结合片段的方法或本领域技术人员已知的其他方法。在一些实施方案中,所描述的药盒可包括本文所描述的抗体或抗原结合片段和用于检测生物样品中的ILT3×CD3结合剂的存在试剂。因此,所描述的药盒可包括本文所描述的抗体或其抗原结合片段中的一者或多者和用于在不使用时容纳抗体或片段的容器、抗体或片段的使用说明书、贴附至固体支撑物的抗体或片段和/或如本文所描述的抗体或片段的可检测标记形式。

[0371] 在另一个实施方案中,提供了一种药盒,所述药盒包含ILT3×CD3结合剂,其包含

特异性结合ILT3的第一结合区和特异性结合本文所提供的CD3的第二结合区。

[0372] 在一些实施方案中,所述药盒包含本文所描述的抗体和用于检测抗体的试剂。所述药盒还可包括一个或多个其他组件,其包括:使用说明书;其他试剂,例如标记物、治疗剂或适用于将抗体与标记物或治疗剂整合或以其他方式偶联的药剂,或放射防护组合物;用于制备供施用的抗体的装置或其他材料;药学上可接受的载剂;和用于向受试者施用的装置或其他材料。

[0373] 在一些实施方案中,所述药盒包含容器中的本文所提供的ILT3×CD3结合剂和药盒的使用说明书。

[0374] 在一些实施方案中,所述药盒中的ILT3×CD3结合剂经标记。

[0375] 在有冲突的情况下,将以说明书(包括定义)为准。除非上下文另外明确指示,否则如本文中中和所附权利要求中所使用,单数形式“一(a)”、“一(an)”和“所述(the)”包括复数个指示物。因此,例如,提及“肽序列”或“治疗”包括多个此类序列、治疗,等等。应进一步注意,权利要求可撰写成排除任何任选的要素。因此,此陈述旨在与对权利要求要素的叙述结合充当使用例如“仅仅(solely)”、“仅(only)”等的此类排他性术语或使用“否定性”限制的前提基础。

[0376] 在提供值范围时,应理解本发明涵盖所述范围的上限与下限之间的每个中间值(除非上下文另外明确指示,否则至下限单位的十分之一)和所述陈述范围内的任何其他陈述或中间值。这些较小范围的上限和下限可独立地包括于较小范围内并且也涵盖于本发明内,在所陈述范围内受到任何特定排他性的限制。当所陈述的范围包括限度中的一者或两者时,排除那些所包括的限度中的任一者或两者的范围也包括于本发明中。

[0377] 如本文所用,在整个本文中,数值通常以范围格式呈现。范围格式的使用仅为了方便和简洁起见并且不应理解为对本发明的范围的不灵活限制,除非上下文另外明确指出。因此,范围的使用明确地包括所有可能子范围、所述范围内的所有个别数值,和此类范围内的所有数值或数值范围(包括整数),和范围内的分数值或整数,除非上下文另外明确指出。不论范围的广度,此构造均适用并且适用于此专利文献通篇的所有上下文中。因此,例如,提及范围90-100%包括91-99%、92-98%、93-95%、91-98%、91-97%、91-96%、91-95%、91-94%、91-93%,以此类推。提及范围90-100%也包括91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%等,以及91.1%、91.2%、91.3%、91.4%、91.5%等,92.1%、92.2%、92.3%、92.4%、92.5%等,以此类推。此外,提及范围1-3、3-5、5-10、10-20、20-30、30-40、40-50、50-60、60-70、70-80、80-90、90-100、100-110、110-120、120-130、130-140、140-150、150-160、160-170、170-180、180-190、190-200、200-225、225-250包括1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20等。在另一个实例中,提及范围25-250、250-500、500-1000、1000-2500、2500-5000、5000-25,000或5000-50,000包括此类值内的任何数值或范围或涵盖此类值的任何数值或范围,例如,25、26、27、28、29……250、251、252、253、254……500、501、502、503、504……等。一系列范围的使用包括上限与下限范围的组合以提供另一范围。不论范围的广度,此构造均适用并且适用于此专利文献通篇的所有上下文中。因此,例如,提及一系列范围(例如5-10、10-20、20-30、30-40、40-50、50-75、75-100、100-150)包括例如5-20、5-30、5-40、5-50、5-75、5-100、5-150和10-30、10-40、10-50、10-75、10-100、10-150和20-40、20-50、20-75、20-100、20-150的范围等。

[0378] 出于简洁性起见,本文中某些缩写。一个实例为表示氨基酸残基的单字母缩写。氨基酸和其对应的三字母和单字母缩写如下:

	丙氨酸	Ala	(A)
	精氨酸	Arg	(R)
	天冬酰胺	Asn	(N)
	天冬氨酸	Asp	(D)
	半胱氨酸	Cys	(C)
	谷氨酸	Glu	(E)
	谷氨酰胺	Gln	(Q)
	甘氨酸	Gly	(G)
	组氨酸	His	(H)
[0379]	异亮氨酸	Ile	(I)
	亮氨酸	Leu	(L)
	赖氨酸	Lys	(K)
	甲硫氨酸	Met	(M)
	苯丙氨酸	Phe	(F)
	脯氨酸	Pro	(P)
	丝氨酸	Ser	(S)
	苏氨酸	Thr	(T)
	色氨酸	Trp	(W)
	酪氨酸	Tyr	(Y)
	缬氨酸	Val	(V)

[0380] 本文中通过使用肯定的语言描述多个实施方案来大体上公开本发明。本发明也特定包括其中完全或部分排除特定主题的实施方案,例如物质或材料、方法步骤和条件、方案、程序、测定或分析。因此,尽管本文中未依本发明不包括的内容来大体上表述本发明,但本文中公开了未明确包括在本发明中的方面。

[0381] 本发明的特定实施方案描述于本文中,包括本发明人已知地实施本发明的最佳模式。在阅读前述描述后,所公开实施方案的变化形式对于在本领域中工作的个体可变得显而易见,并且我们预期,那些熟练技术人员在适当时可采用此类变体。因此,预期本发明不同于如本文所特定描述来实践,并且本发明包括如由适用法律准许的在所附权利要求中叙述的主题的所有修改和等效物。此外,除非本文另外指出或另外明显与上下文矛盾,否则本发明涵盖上述要素在其所有可能变化中的任何组合。

[0382] 在本说明书中所引用的所有公开、专利申请、登录号和其他参考文献都通过引用整体并入本文,如同每个个别公开或专利申请特定且个别地指示为通过引用并入一般。本文中论述的公开仅仅提供在本申请的申请日之前的公开内容。不应将本文中的任何内容解释为承认本发明无权在此类依赖于现有发明的公开之前进行。另外,所提供的公开日期可能不同于可能需要独立确认的实际公开日期。

[0383] 已描述许多本发明的实施方案。尽管如此,应理解可在不偏离本发明的精神和范围的情况下进行各种修改。因此,实验部分中的描述旨在说明而非限制权利要求中所描述的本发明的范围。

[0384] 6. 实施方案

[0385] 本发明提供以下非限制性实施方案：

[0386] 1. 一种结合剂，所述结合剂包含结合至人类ILT3的第一结合区和结合至人类CD3的第二结合区，其中所述CD3结合区包含抗CD3scFv。

[0387] 2. 如实施方案1所述的结合剂，其中所述第一结合区包含抗ILT3Fab。

[0388] 3. 如实施方案1或2所述的结合剂，其中所述第一结合区对人类ILT3的结合亲和力高于所述第二结合区对人类CD3的结合亲和力。

[0389] 4. 如实施方案3所述的结合剂，所述第一结合区对人类ILT3的结合亲和力比所述第二结合区对人类CD3的结合亲和力高约10倍至约100倍之间。

[0390] 5. 如实施方案1-4中任一项所述的结合剂，所述结合剂还包含Fc区。

[0391] 6. 如实施方案5所述的结合剂，所述结合剂包含：

[0392] (i) 第一多肽，其包含所述抗CD3 scFv、第一CH2域和第一CH3域；

[0393] (ii) 第二多肽，其包含所述第一结合区的VH域、CH1域、第二CH2域和第二CH3域；和

[0394] (iii) 第三多肽，其包含所述第一结合区的VL域以及CL域，

[0395] 其中所述第一结合区的VH域、所述CH1域、所述第一结合区的VL域、和所述CL域形成所述抗ILT3 Fab，并且所述第一CH2域、所述第二CH2域、所述第一CH3域和所述第二CH3域形成所述Fc区。

[0396] 7. 如实施方案6所述的结合剂，其中所述第一多肽包含形成工程化凹穴的一个或多个氨基酸突变，并且所述第二多肽包含形成工程化突起的一个或多个氨基酸突变，并且其中所述第一多肽经由将所述突起定位至所述凹穴中而与所述第二多肽二聚化。

[0397] 8. 如实施方案1-7中任一项所述的结合剂，其中所述第二结合区包含：VH域，其包含以SEQ ID NO:149所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3；和VL域，其包含以SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0398] 9. 如实施方案8所述的结合剂，其中在所述第二结合区中，

[0399] 所述第二结合区的VH域包含：包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的HCDR3；并且所述第二结合区的VL域包含：包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列的LCDR3。

[0400] 10. 如实施方案1-9中任一项所述的结合剂，其中所述第一结合区包含：VH域，其包含以SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3；和VL域，其包含以SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0401] 11. 如实施方案10所述的结合剂，其中在所述第一结合区中，

[0402] (a) 所述第一结合区的VH域包含：包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3；并且所述第一结合区的VL域包含：包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3；

[0403] (b) 所述第一结合区的VH域包含：包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3；并且所述第一结合区的VL域包含：包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3；

[0404] (c)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;

[0405] (d)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;或

[0406] (e)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的LCDR3。

[0407] 12.如实施方案10或11所述的结合剂,其中

[0408] (i)所述第一结合区包含与SEQ ID NO:17的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VL域;并且所述第二结合区包含与SEQ ID NO:149的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:150的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VL域;或

[0409] (ii)所述第一结合区包含:包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL域;并且所述第二结合区包含:包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的VL域。

[0410] 13.一种结合剂,所述结合剂包含结合至人类ILT3的第一结合区和结合至人类CD3的第二结合区,其中所述第二结合区包含:VH域,其包含以SEQ ID NO:149所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和VL域,其包含以SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0411] 14.如实施方案13所述的结合剂,其中所述第二结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第二结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的LCDR1;包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的LCDR2;和包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列的LCDR3。

[0412] 15.如实施方案13或14所述的结合剂,其中所述第一结合区包含:VH域,其包含以SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和VL域,其包含以SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0413] 16.如实施方案13-15中任一项所述的结合剂,其中在所述第一结合区中,

[0414] (a)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;

[0415] (b)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第

—结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;

[0416] (c)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;

[0417] (d)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCDR3;或

[0418] (e)所述第一结合区的VH域包含:包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCDR1、包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HCDR2和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HCDR3;并且所述第一结合区的VL域包含:包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的LCDR1、包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCDR2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的LCDR3。

[0419] 17.如实施方案15或16所述的结合剂,其中

[0420] (i)所述第一结合区包含与SEQ ID NO:17的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VL域;并且所述第二结合区包含与SEQ ID NO:149的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH域,和与SEQ ID NO:150的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的VL域;或

[0421] (ii)所述第一结合区包含:包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL域;并且所述第二结合区包含:包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VH域,和包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的VL域。

[0422] 18.如实施方案13至17中任一项所述的结合剂,其中所述第一结合区包含抗ILT3 Fab。

[0423] 19.如实施方案13至18中任一项所述的结合剂,其中所述第二结合区包含抗CD3 scFv。

[0424] 20.如实施方案13至19中任一项所述的结合剂,其中所述结合剂还包含Fc区。

[0425] 21.如实施方案20所述的结合剂,其中所述结合剂包含:

[0426] (i)第一多肽,其包含所述抗CD3 scFv、第一CH2域和第一CH3域;

[0427] (ii)第二多肽,其包含所述第一结合区的VH域、CH1域、第二CH2域和第二CH3域;和

[0428] (iii)第三多肽,其包含所述第一结合区的VL域以及CL域,

[0429] 其中所述第一结合区的VH域、所述CH1域、所述第一结合区的VL域、和所述CL域形成所述抗ILT3 Fab,并且所述第一CH2域、所述第二CH2域、所述第一CH3域和所述第二CH3域形成所述Fc区。

[0430] 22.如实施方案21所述的结合剂,其中所述第一多肽包含形成工程化凹穴的一个或多个氨基酸突变,并且所述第二多肽包含形成工程化突起的一个或多个氨基酸突变,并且其中所述第一多肽经由将所述突起定位至所述凹穴中而与所述第二多肽二聚化。

[0431] 23.如实施方案21或22所述的结合剂,其中

[0432] (i)所述第一多肽包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列,所述第二多肽包含SEQ ID

NO:19的氨基酸序列,并且所述第三多肽包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,或

[0433] (ii)所述第一多肽包含与SEQ ID NO:147的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,所述第二多肽包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述第三多肽包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

[0434] 24.如实施方案13至17所述的结合剂,其中所述第一结合区包含两个相同抗ILT3 Fab,并且所述第二结合区包含抗CD3 scFv。

[0435] 25.如实施方案24所述的结合剂,其中所述结合剂包含:

[0436] (i)第一多肽,其包含所述抗CD3 scFv、第一CH2域和第一CH3域;

[0437] (ii)第二多肽,其包含第一VH域、第二VH域、第一CH1域、第二CH1域、第二CH2域和第二CH3域,其中所述第一VH域和所述第二VH域中的每一者包含所述第一结合区的VH域;

[0438] (iii)第三多肽,其包含第一VL域和第一CL域,其中所述第一VL域包含所述第一结合区的VL域;和

[0439] (iv)第四多肽,其包含第二VL域和第二CL域,其中所述第二VL域包含所述第一结合区的VL域,

[0440] 其中所述第二多肽的第一VH域和第一CH1域与所述第三多肽的第一VL域和第一CL域形成第一Fab区,所述第二多肽的第二VH域和第二CH1域与所述第四多肽的第二VL域和第二CL域形成第二Fab区,并且所述第一CH2域、所述第二CH2域、所述第一CH3域和所述第二CH3域形成所述Fc区。

[0441] 26.如实施方案25所述的结合剂,其中所述第一多肽包含形成工程化凹穴的一个或多个氨基酸突变,并且所述第二多肽包含形成工程化突起的一个或多个氨基酸突变,并且其中所述第一多肽经由将所述突起定位至所述凹穴中而与所述第二多肽二聚化。

[0442] 27.如实施方案25或26所述的结合剂,其中

[0443] (i)所述第一多肽包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列,所述第二多肽包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列,所述第三多肽包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,并且所述第四多肽包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列;或

[0444] (ii)所述第一多肽包含与SEQ ID NO:147的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,所述第二多肽包含与SEQ ID NO:169的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,所述第三多肽包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述第四多肽包含与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

[0445] 28.如实施方案1-12和19-27中任一项所述的结合剂,其中所述抗CD3 scFv包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列。

[0446] 29.如实施方案1至28中任一项所述的结合剂,其中所述结合剂为人源化抗体。

[0447] 30.一种结合剂,所述结合剂包含:

[0448] (i)第一多肽,其包含结合至人类CD3的scFv、第一CH2域和第一CH3域;

[0449] (ii)第二多肽,其包含结合至人类ILT3的VH域、CH1域、第二CH2域和第二CH3域;和

[0450] (iii)第三多肽,其包含结合至人类ILT3的VL域,和CL域,

[0451] 其中结合至人类CD3的所述scFv包含:VH域,其包含以SEQ ID NO:149所示的氨基

酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3；和VL域，其包含以SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3；并且

[0452] 其中结合至人类ILT3的所述VH域包含以SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3，并且结合至人类ILT3的所述VL域包含以SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0453] 31. 如实施方案30所述的结合剂，其中：

[0454] (a) 所述scFv的HCDR1包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列，所述scFv的HCDR2包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列，所述scFv的HCDR3包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列，所述scFv的LCDR1包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列，所述scFv的LCDR2包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列，并且所述scFv的LCDR3包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列；并且

[0455] (b) 在结合至人类ILT3的所述VH域和结合至人类ILT3的所述VL域中

[0456] (i) 所述HCDR1包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列；所述HCDR2包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列；所述HCDR3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列；所述LCDR1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列；所述LCDR2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列；并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列；

[0457] (ii) 所述HCDR1包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列；所述HCDR2包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列；所述HCDR3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列；所述LCDR1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列；所述LCDR2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列；并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列；

[0458] (iii) 所述HCDR1包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列；所述HCDR2包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列；所述HCDR3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列；所述LCDR1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列；所述LCDR2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列；并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列；

[0459] (iv) 所述HCDR1包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列；所述HCDR2包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列；所述HCDR3包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列；所述LCDR1包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列；所述LCDR2包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列；并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列；或

[0460] (v) 所述HCDR1包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列；所述HCDR2包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列；所述HCDR3包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列；所述LCDR1包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列；所述LCDR2包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列；并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0461] 32. 如实施方案30或实施方案31所述的结合剂，其中结合至人类CD3的所述scFv的VH域包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列，并且结合至人类CD3的所述scFv的VL域包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列；并且结合至人类ILT3的所述VH域包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列，并且结合至人类ILT3的所述VL域包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0462] 33. 如实施方案30至32中任一项所述的结合剂，其中所述scFv包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列。

[0463] 34. 一种经分离的多核苷酸，所述经分离的多核苷酸编码实施方案至33中任一项所述的结合剂。

- [0464] 35.一种载体,所述载体包含实施方案34所述的多核苷酸。
- [0465] 36.一种经分离的细胞,所述经分离的细胞包含实施方案34所述的多核苷酸或实施方案35所述的载体。
- [0466] 37.一种经分离的细胞,所述经分离的细胞产生实施方案1至33中任一项所述的结合剂。
- [0467] 38.一种药物组合物,所述药物组合物包含实施方案1至33中任一项所述的结合剂、实施方案34所述的经分离的多核苷酸、实施方案35所述的载体或实施方案36或实施方案37所述的经分离的细胞和药学上可接受的赋形剂。
- [0468] 39.一种将T细胞引导至表达ILT3的癌症或肿瘤细胞的方法,所述方法包括使所述T细胞与有效量的实施方案1至33中任一项所述的结合剂或实施方案38所述的药物组合物接触。
- [0469] 40.如实施方案39所述的方法,其中所述T细胞诱导表达ILT3的癌症或肿瘤细胞的杀伤。
- [0470] 41.如实施方案40所述的方法,其中所述癌症或肿瘤细胞为血液癌症或肿瘤细胞。
- [0471] 42.如实施方案41所述的方法,其中所述血液癌症或肿瘤细胞选自自由以下组成的组:急性骨髓白血病(AML)细胞、M4/M5 AML细胞、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)细胞、B细胞急性淋巴母细胞白血病(B-ALL)细胞、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)细胞、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)细胞、套细胞淋巴瘤(MCL)细胞、多发性骨髓瘤(MM)细胞、骨髓发育不良综合征(MDS)细胞、霍奇金淋巴瘤细胞、淋巴浆细胞淋巴瘤(LPL)细胞、滤泡性淋巴瘤细胞、伯基特淋巴瘤细胞、母细胞浆细胞样树突状细胞赘瘤(BPDCN)细胞、边缘区淋巴瘤细胞或粘膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤细胞。
- [0472] 43.如实施方案39至42中任一项所述的方法,其中所述T细胞未能诱导正常造血干细胞(HSC)的杀伤。
- [0473] 44.一种激活T细胞的方法,所述方法包括使所述T细胞与有效量的实施方案1至33中任一项所述的结合剂或实施方案38所述的药物组合物接触,其中所述第二结合区结合所述T细胞。
- [0474] 45.如实施方案44所述的方法,其中所述T细胞为初始T细胞。
- [0475] 46.如实施方案44或实施方案45所述的方法,其中所述T细胞是从PBMC群体多克隆扩增。
- [0476] 47.一种杀伤或抑制表达ILT3的癌症或肿瘤细胞增殖的方法,所述方法包括使所述癌症或肿瘤细胞与实施方案1至33中任一项所述的结合剂或实施方案38所述的药物组合物接触。
- [0477] 48.如实施方案47所述的方法,其中所述结合剂使T细胞活化。
- [0478] 49.如实施方案48所述的方法,其中所述经活化的T细胞诱导所述癌症或肿瘤细胞的杀伤。
- [0479] 50.如实施方案47至49中任一项所述的方法,其中所述癌症或肿瘤细胞包含血液癌症或肿瘤细胞。
- [0480] 51.如实施方案50所述的方法,其中所述血液癌症或肿瘤细胞选自自由以下组成的组:急性骨髓白血病(AML)细胞、M4/M5 AML细胞、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)细胞、B

细胞急性淋巴母细胞白血病 (B-ALL) 细胞、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL) 细胞、弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL) 细胞、套细胞淋巴瘤 (MCL) 细胞、多发性骨髓瘤 (MM) 细胞、骨髓发育不良综合征 (MDS) 细胞、霍奇金淋巴瘤细胞、淋巴浆细胞淋巴瘤 (LPL) 细胞、滤泡性淋巴瘤细胞、伯基特淋巴瘤细胞、母细胞浆细胞样树突状细胞赘瘤 (BPDCN) 细胞、边缘区淋巴瘤细胞或粘膜相关淋巴组织 (MALT) 淋巴瘤细胞。

[0481] 52. 一种治疗受试者中表达ILT3的癌症或肿瘤的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的实施方案1至33中任一项所述的结合剂或实施方案38所述的药物组合物。

[0482] 53. 如实施方案52所述的方法,其中所述癌症或肿瘤包含血液癌症或肿瘤。

[0483] 54. 如实施方案53所述的方法,其中所述血液癌症或肿瘤选自自由以下组成的组:急性骨髓白血病 (AML)、M4/M5 AML、慢性骨髓单核细胞性白血病 (CMML)、B细胞急性淋巴母细胞白血病 (B-ALL)、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL)、套细胞淋巴瘤 (MCL)、多发性骨髓瘤 (MM)、骨髓发育不良综合征 (MDS)、霍奇金淋巴瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤 (LPL)、滤泡性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、母细胞浆细胞样树突状细胞赘瘤 (BPDCN)、边缘区淋巴瘤或粘膜相关淋巴组织 (MALT) 淋巴瘤。

[0484] 7. 实施例

[0485] 以下为用于研究的各种方法和材料的描述,并且为了向本领域普通技术人员完整公开和描述如何制造和使用本发明而提出,并且不希望限制本发明人视为其发明的范围,也不希望其表示以下进行的实验为可进行的所有实验。应理解,以现在时态书写的示例性描述未必进行,而实际上可进行所述描述以产生与本发明的教导相关的数据等。已努力确保关于所使用的数字(例如量、温度等)的准确性,但应考虑存在一些实验性误差和偏差。

[0486] 除非另有指示,否则份数为重量份,分子量为重量平均分子量,温度是以摄氏度(°C)计,并且压力为大气压或接近大气压。使用标准缩写,包括以下:bp=碱基对;kb=千碱基;s或sec=秒;min=分钟;h或hr=小时;aa=氨基酸;kb=千碱基;nt=核苷酸;pg=皮克;ng=纳克;µg=微克;mg=毫克;g=克;kg=千克;pL或pL=皮升;dL或dL=分升;µL或µL=微升;ml或mL=毫升;l或L=升;µM=微摩尔浓度;mM=毫摩尔浓度;M=摩尔浓度;kDa=千道尔顿;i.m.=肌肉内;i.p.=腹膜内;SC或SQ=皮下;QD=每日;BID=每日两次;QW=每周;TIW=一周三次;QM=每月;HPLC=高效液相色谱法;BW=体重;U=单位;ns=非统计学上显著;PBS=磷酸盐缓冲盐水;PCR=聚合酶链反应;NHS=N-羟基丁二酰亚胺;HSA=人类血清白蛋白;BSA=牛血清白蛋白;DMEM=杜贝卡氏改良依格培养基(Dulbecco's Modification of Eagle's Medium);GC=基因组拷贝;EDTA=乙二胺四乙酸。

[0487] 在本文所描述的整个实施例中采用以下实验方法。

[0488] 产生经扩增的T细胞的方案。使用泛T细胞分离试剂盒(Miltenyi)通过负向选择从人类PBMC纯化T细胞,并且以1:1细胞:珠粒比率在含有5%正常人类血清(MilliporeSigma)、2mM GlutaGro(Corning)、10mM HEPES(Corning)和5ng/mL IL-17、5ng/mL IL-15和25ng/mL IL-2(全部来自Peprotech)的X-Vivo 15培养基(Lonza)中用包被有人类抗CD3/CD28抗体(Gibco/ThermoFisher Scientific)的戴诺磁珠(Dynabead)活化2天。在通过经由磁性柱去除戴诺磁珠后,将经活化的T细胞在相同培养基中再培养8天并且在CryoStor CS10细胞保存培养基(StemCell Technologies)中活冷冻以供将来用于T细胞依赖性细胞毒性(TDCC)测定。

[0489] 产生红色荧光细胞系以用于T细胞依赖性细胞毒性 (TDCC) 测定的方案。目标细胞系以1-3的感染倍率 (MOI) 使用Nuclight Red慢病毒试剂 (Sartorius) 经红色核染料稳定转染。红色荧光细胞在Aria II流式细胞仪上分选并扩增。

[0490] 用经扩增的T细胞评价T细胞依赖性细胞毒性 (TDCC) 的方案。在T细胞毒性测定前一天,将冷冻保存的经扩增T细胞(如上文所描述产生)解冻并在X-Vivo 15培养基 (Lonza) 中培养过夜。第二天,用100微升/孔的在X-Vivo 15中稀释至最终浓度的4倍的测试抗体的连续稀释液预填充96孔平底板的孔。使用最高最终浓度1 $\mu$ g/mL的每个测试品。冷冻保存的经扩增T细胞经活解冻并且以 $1 \times 10^6$ 个细胞/毫升的密度重悬于X-Vivo 15培养基中,并且将其以50微升/孔添加至板。对经荧光标记的细胞系进行计数并且使其以 $2 \times 10^5$ 个细胞/毫升的密度重悬于X-Vivo 15培养基中,并且将其以50微升/孔添加至板。最终效应子:目标细胞比率为5:1。以1:1000的最终浓度将半胱天冬酶3/7绿色试剂 (Sartorius),即偶联至绿色DNA结合荧光标记的半胱天冬酶裂解域 (DEVD) 添加至孔中,所述绿色DNA结合荧光标记在DEVD通过活化半胱天冬酶3/7裂解后释放。培养物然后使用Incucyte ZOOM活细胞成像器 (Sartorius) 经24小时时段成像。细胞凋亡目标细胞的百分比是通过红色和绿色(半胱天冬酶3/7+) 信号的重叠测定。使用Incucyte ZOOM软件,2018A版 (Sartorius) 分析数据。在一些实验中,24小时后采集无细胞培养物上清液并且通过Luminex (ProcartaPlex系统; ThermoFisher Scientific) 分析细胞因子水平。

[0491] 评价PBMC细胞毒性的方案。用100微升/孔的在X-Vivo 15培养基 (Lonza) 中稀释至最终浓度的4倍的测试抗体的连续稀释液预填充96孔平底板的孔。使用最高最终浓度10 $\mu$ g/mL的每个测试品。冷冻保存的人类PBMC经活解冻并以 $1 \times 10^6$ 个细胞/毫升的密度重悬于X-Vivo 15培养基中,并且将其以50微升/孔添加至板。对经荧光标记的细胞系进行计数并且使其以 $2 \times 10^5$ 个细胞/毫升的密度重悬于X-Vivo 15培养基中,并且将其以50微升/孔添加至板。最终效应子:目标细胞比率为5:1。以1:1000的最终浓度将半胱天冬酶3/7绿色试剂 (Sartorius),即偶联至绿色DNA结合荧光标记的半胱天冬酶裂解域 (DEVD) 添加至孔中,所述绿色DNA结合荧光标记在DEVD通过活化半胱天冬酶3/7裂解后释放。培养物然后使用Incucyte ZOOM活细胞成像器 (Sartorius) 经24小时时段成像,并且在24小时后采集上清液用于通过Luminex (ProcartaPlex系统; ThermoFisher Scientific) 进行细胞因子测量。细胞凋亡目标细胞的百分比是通过红色和绿色(半胱天冬酶3/7+) 信号的重叠测定。使用Incucyte ZOOM软件,2018A版 (Sartorius) 分析数据。

[0492] 全血细胞因子释放测定。通过抗体和参考分子进行的免疫活化通过细胞因子释放测定来评估。测试呈板包被和可溶性型式的抗体。对于板包被型式,以指定浓度在PBS中制备抗体稀释液并且以50微升/孔添加至96孔平底组织培养板中。板在4 $^{\circ}$ C下在振荡器上以300rpm温育过夜,接着用PBS洗涤两次。对于可溶性抗体型式,以20倍指定最终浓度制备抗体稀释液并且以7.5微升/孔添加至96孔U底组织培养板的底部。将新鲜收集的经Na<sup>2+</sup>肝素处理的全血以150微升/孔添加至板中并且在37 $^{\circ}$ C下温育样品过夜。在室温下以1800 $\times$ g离心5分钟后,从每个孔收集血浆以用于通过Luminex测定 (ProcartaPlex系统; ThermoFisher Scientific) 进行细胞因子分析。所使用的参考分子包括葡萄球菌肠毒素B (1 $\mu$ g/ml,仅可溶)、抗CD3 (Biolegend) 和抗CD28超激动剂抗体 (克隆ANC28.1, AnCell)。

[0493] PBMC细胞因子释放测定。用PBMC进行细胞因子释放测定类似于全血细胞因子释放

测定,不同之处在于冷冻保存的PBMC经活解冻并且以 $2 \times 10^5$ 个细胞/孔涂铺于最终体积为150微升/孔的X-Vivo15培养基(Lonza)中。

[0494] 使用原代AML样品的T细胞活化测定。使来自M5 AML患者的冷冻保存的骨髓或PBMC (Reprocell) 在室温下在HBSS中解冻并重悬于含有10%热灭活FBS、1% GlutaGro (Corning)、50mM $\beta$ -巯基乙醇(Gibco/ThermoFisher Scientific)和1%青霉素-链霉素(Corning)的RPMI 1640(Corning)中。将原代AML细胞( $2 \times 10^5$ 个细胞/孔于100 $\mu$ L培养基中)添加至以2倍浓度制备于X-Vivo 15培养基中的100 $\mu$ L测试抗体。细胞与测试抗体在37 $^{\circ}$ C下一起温育5天。在第5天,采集细胞并且在4 $^{\circ}$ C下用下文所列的荧光染料缀合的抗体染色30分钟。在LSR Fortessa流式细胞仪(BD Biosciences)上收集数据并使用FlowJo软件第10版分析。

[0495]

	荧光团	供应商	目录号	同型目录号
CD45	805	Becton Dickinson	612891	612904
CD34	395	Becton Dickinson	563778	563547
CD3	650	Becton Dickinson	563999	563231
CD4	PerCP 5.5	Becton Dickinson	552838	522384
CD25	605	Biologend	302632	400161
CD14	PE	Biologend	367104	557436
ILT3	647	Biologend	333010	400130
CD123	786	Becton Dickinson	751834	563330
Sytox Blue	421	Life Technologies	S34857	

[0496] 使用原代CD34<sup>+</sup>HSC的TDCC测定。在T细胞毒性测定前一天,将冷冻保存的经扩增T细胞(如上文所描述产生)解冻并在X-Vivo 15培养基(Lonza)中培养过夜。在测定当天,将冷冻保存的CD34<sup>+</sup>骨髓细胞(StemCell Technologies)在室温下在HBSS(Corning)中解冻并重悬于X-Vivo 15培养基中。用呈2倍浓度的100 $\mu$ L测试抗体预填充96孔板的孔。将CD34<sup>+</sup>造血干细胞(50 $\mu$ L体积中的 $1 \times 10^4$ 个细胞/孔)和经扩增T细胞(50 $\mu$ L体积中的 $5 \times 10^4$ 个细胞/孔)添加至含有测试抗体的每个孔中,并且以1:1000的最终浓度添加半胱天冬酶3/7绿色试剂(Sartorius)。细胞在37 $^{\circ}$ C下培养过夜。离心后,收集上清液用于细胞因子分泌分析,并且细胞在4 $^{\circ}$ C下使用上文所列的试剂通过针对CD45、CD25、CD34、ILT3和CD123的抗体染色30分钟。在LSR Fortessa流式细胞仪(BD Biosciences)上收集数据并使用FlowJo软件第10版分析。

[0497] 7.1实施例1:产生ILT3 $\times$ CD3双特异性分子

[0498] 此研究的目的是设计对肿瘤细胞具有增强的选择性并且具有改进的治疗指数(即结合至ILT3表达细胞的高亲和力,和与有效肿瘤细胞杀伤组合的良好安全概况)的细胞毒性T细胞接合子。T细胞接合子的安全性取决于最小化细胞因子释放以及最大化肿瘤细胞杀伤。治疗指数使用由T细胞接合子诱导的肿瘤细胞杀伤与细胞因子释放之间的比率来测量。比率越大,T细胞接合子的治疗指数越好。

[0499] 测试了一组具有不同结合亲和力(高和低)的抗ILT3抗体和抗CD3抗体。选择双特异物的ILT3靶向臂的主要标准是高亲和力。选择CD3靶向臂的标准是良好治疗指数。此外,设计基本原理是使ILT3靶向臂以比CD3靶向臂结合至CD3高10倍至100倍的亲和力结合至

ILT3,使得T细胞接合子将在接合任何T细胞之前结合ILT3表达癌细胞。因此,此设计降低了脱靶效应并增加了安全概况。用各种抗体组合和型式评价肿瘤细胞毒性和细胞因子产生。

[0500] 选择ILT3靶向臂。各种ILT3抗体克隆(参见表1-8)与高亲和力CD3 scFv(2B2)或低亲和力CD3 scFv(1G4)偶联。各种ILT3抗体对ILT3的结合亲和力示于表9中。当与CD3 scFv 2B2或CD3 scFv 1G4偶联时,每个抗ILT3 Fab的T细胞依赖性细胞毒性(TDCC)示于表9中。

[0501] 表9

ILT3 臂	ILT3 亲和力(nM)	TDCC, EC <sub>50</sub> (nM)	
		CD3 臂	
		2B2 (6 nM)	1G4 (217 nM)
Hz45G10	0.13	0.008	1.26
53F10	0.25	0.013	2.0
48A6	0.08	0.025	0.50
3A3	2.0	0.40	50.12
16C5	0.7	3.16	50.12
12A12	8.5	3.16	251.2

[0503] 所有测试的ILT3×CD3双特异性分子都诱导TDCC和细胞因子释放。在所有抗ILT3克隆测试中,Hz45G10对ILT3具有高亲和力。相较于其他ILT3抗体克隆(16C5或12A12),Hz45G10当与CD3 scFv 2B2(图2)或CD3 scFv 1G4(图3)偶联时有效诱导细胞凋亡。此外,Hz45G10 Fab当与CD3 scFv 2B2偶联时诱导低TNF $\alpha$ 释放(图4,表10)。改变ILT3抗体对细胞毒性与细胞因子产生之间的比率无影响(参见表10)。

[0504] 表10

ILT3 臂	TDCC, EC <sub>50</sub> (nM)	ILT3 亲和力 (nM)	TNF- $\alpha$ , EC <sub>50</sub> (nM)	比率 (TDCC/TNF)
Hz45G10	0.008	0.13	1.58	0.005
53F10	0.013	0.25	2.0	0.007
48A6	0.025	0.08	2.51	0.010
3A3	0.4	2.0	79.4	0.005
16C5	3.16	0.7	398.1	0.008
12A12	3.16	8.5	2511.9	0.001

[0506] 选择CD3靶向臂。T细胞接合子的CD3结合臂的亲和力可根据肿瘤抗原结合臂而变化。对于ILT3-CD3 T细胞接合子,基于所选择的Hz45G10克隆产生最佳CD3 scFv。首先,在与Hz45G10偶联时,测试了两个具有不同CD3结合亲和力的CD3 scFv克隆(对CD3具有高亲和力的CD3 scFv 2B2,和对CD3具有低亲和力的CD3 scFv 1G4,参见国际公开第W0 2008/119567号和美国专利第10,066,016号)。CD3 scFv 2B2显示对于CD3的亲和力比scFv 1G4高35倍。2B2 scFv显示与scFv 1G4相比,T细胞依赖性细胞毒性(TDCC)增加160倍,但细胞因子产生

仅增加20倍。参见图5、图6和表11。

[0507] 表11

TDCC, EC <sub>50</sub> (nM)		TNF- $\alpha$ 分泌, EC <sub>50</sub> (nM)	
CD3 臂		CD3 臂	
2B2 (6 nM)	1G4 (217 nM)	2B2 (6 nM)	1G4 (217 nM)
0.008	1.26	50.12	2.51

[0509] 鉴于以上结果,开发出对CD3具有高结合亲和力的抗CD3 scFv克隆(VH为SEQ ID NO:149,VL为SEQ ID NO:150, $K_D=6$ nM,通过SPR测定)。Hz45G10对人类ILT3的结合亲和力比CD3 scFv的亲和力高38倍。

[0510] 接下来,如图7中所指示,并入Hz45G10和CD3 scFv的双特异性抗体以多种型式产生并且经评价。在细胞毒性和细胞因子释放测定中筛选所有双特异性型式。

[0511] F0(即ABX1446)ILT3 $\times$ CD3双特异性抗体型式在AML细胞系MOLM13中显示强溶细胞活性(参见表12和图8)。当将全血添加至预包被有F0的板(图9)或添加至具有可溶性F0的培养基(图10)中时,F0 ILT3 $\times$ CD3双特异性抗体型式也在全血细胞因子释放测定中诱导低细胞因子分泌。参见表13。类似地,在测试型式中,F13(即ABX1520)显示强溶细胞活性,但显示低细胞因子分泌。

[0512] 表12

	型式	TDCC, EC <sub>50</sub> (pM)
	维克妥单抗	0.8
	ABX1446	0.9
	ABX1376	0.09
	ABX1380	0.007
	ABX1506	0.01
	ABX1507	0.15
	ABX1524	0.02

[0514] 表13

型式	包被 Ab		可溶性 Ab	
	EC <sub>50</sub> , TNF- $\alpha$ (nM)	10 $\mu$ g/mL Ab 的 TNF- $\alpha$ (pg/mL)	EC <sub>50</sub> , TNF- $\alpha$ (nM)	10 $\mu$ g/mL Ab 的 TNF- $\alpha$ (pg/mL)
维克妥单抗	2.05	422.5	ND	1217.9
F0	114.0	73.3		112.3
F2	3.07	1075.3		1475.4
F1	0.027	1012.9		1524.5
F6	0.524	856.7		1235.2
F5	1.386	852.7		1185.6
F7	0.016	1176.1		1784.9

[0517] 7.2实施例2:ILT3×CD3双特异性分子的体外表征

[0518] 此研究的目的是评价表达ILT3的细胞系中F0(即ABX1446)和F13(即ABX1520)的体外活性。如实施例1中所概述进行细胞毒性测定和细胞因子分泌。

[0519] 在扩增的T细胞(图11)或初始T细胞(来自PBMC;图12)用作效应子时,ABX1446和ABX1520有效诱导ILT3阳性(ILT3<sup>+</sup>)AML细胞(MOLM13)中的细胞凋亡。参见表14。

[0520] 表14

[0521]	TDCC, EC <sub>50</sub> (pM)	PBMC细胞毒性, EC <sub>50</sub> (pM)
维克妥单抗	6.3	24.5
ABX1446	10.9	46.8
ABX1520	1.4	53.7

[0522] 在扩增的T细胞(图13、图14和表15)或初始T细胞(来自PBMC;图15、图16和表16)用作效应子时,ABX1446和ABX1520有效诱导具有ILT3的低表达的AML细胞(OCI-AML-2和NALM-1细胞)中的细胞凋亡。

[0523] 表15

[0524]	TDCC 相对于 OCI-AML-2 细胞, EC <sub>50</sub> (pM)	TDCC 相对于 NALM-1 细胞, EC <sub>50</sub> (pM)
维克妥单抗	106.2	5.0
ABX1446	13.5	5.7

[0525]	ABX1520	23.3	3.6
--------	---------	------	-----

[0526] 表16

[0527]	TDCC 相对于 OCI-AML-2 细胞, EC <sub>50</sub> (pM)	TDCC 相对于 NKM-1 细胞, EC <sub>50</sub> (pM)
维克妥单抗	20.0	11.2
ABX1446	2.5	20.4
ABX1520	2.0	2.6

[0528] ABX1446和ABX1520未能诱导针对ILT3基因敲除THP-1细胞的TDCC。参见图17和表17。

[0529] 表17

[0530]	TDCC相对于ILT3基因敲除THP-1细胞, EC <sub>50</sub> (pM)
维克妥单抗	2.7
ABX1446	
ABX1520	-

[0531] 当PBMC与呈板包被型式(图18)或呈可溶性型式(图19)的ABX1446或ABX1520一起温育时,ABX1446和ABX1520诱导PBMC细胞因子分泌测定中的低细胞因子释放。参见表18。

[0532] 表18

[0533]	包被 Ab		可溶性 Ab	
	EC <sub>50</sub> , TNF- $\alpha$ (nM)	10 $\mu$ g/mL Ab 的 TNF- $\alpha$ (pg/mL)	EC <sub>50</sub> , TNF- $\alpha$ (nM)	10 $\mu$ g/mL Ab 的 TNF- $\alpha$ (pg/mL)
维克妥单抗	18	3764.9	35.3	3777.1*
ABX1446	21.5	1492.9	42.5	1837.2**
ABX1520	9.4	1726.8	45.8	2240.0***

[0534] \*维克妥单抗:10 $\mu$ g/mL Ab=74.62nM

[0535] \*\*ABX1446::10 $\mu$ g/mL Ab=80.65nM

[0536] \*\*\*ABX1520::10 $\mu$ g/mL Ab=55.2nM

[0537] 在全血与呈板包被型式(图20)或呈可溶性型式(图21)的ABX1446一起温育时, ABX1446和ABX1520诱导全血细胞因子分泌测定中的低细胞因子释放。参见表19。另外,虽然ABX1446与维克妥单抗在PBMC细胞毒性测定中显示类似效能,但ABX1446在PBMC细胞毒性测定中诱导低细胞因子分泌。参见图22、图23和表20。

[0538] 表19

[0539]	供体 830	包被 Ab	
		EC <sub>50</sub> , TNF- $\alpha$ (nM)	10 $\mu$ g/mL Ab 的 TNF- $\alpha$ (pg/mL)
	维克妥单抗	2.05	422.5*
	ABX1446	114.0	73.3**
	ABX1376	3.07	1075.3
	供体 830	可溶性 Ab	
		EC <sub>50</sub> , TNF- $\alpha$ (nM)	10 $\mu$ g/mL Ab 的 TNF- $\alpha$ (pg/mL)
	维克妥单抗	ND	179.3*
	ABX1446	ND	53.1**
	ABX1376	ND	356.3
	ABX1520	ND	24.6***

[0540] 表20

[0541]	EC <sub>50</sub> , TNF- $\alpha$ (nM)	EC <sub>50</sub> , IL-6 (nM)	EC <sub>50</sub> , IL-2 (nM)	EC <sub>50</sub> , IFN- $\gamma$ (nM)
维克妥单抗	0.03	2.5	0.1	0.03
ABX1446	0.3	7933.3	0.1	0.4

[0542] \*维克妥单抗:10 $\mu$ g/mL Ab=74.62nM

[0543] \*\*ABX1446:10 $\mu$ g/mL Ab=80.65nM

[0544] \*\*\*ABX1520:10 $\mu$ g/mL Ab=55.2nM

[0545] 当与CD123 $\times$ CD3 DART (伏妥珠单抗) 相比时,ABX1446诱导低细胞因子分泌(图25)但诱导MOLM13细胞的强效细胞凋亡(图24)。相较于伏妥珠单抗,ABX1446诱导较少细胞因子分泌。参见表21。

[0546] 表21

	TDCC, EC <sub>50</sub> (pM)	细胞因子释放	
		EC <sub>50</sub> , TNF- $\alpha$ (nM)	10 $\mu$ g/mL Ab 的 TNF- $\alpha$ (pg/mL)
[0547] 维克妥单抗	6.5	-7.56	518.1
伏妥珠单抗	0.97	ND	778.2
ABX1446	11	-7.1	61.5

[0548] 为了研究从M5 AML患者分离的PBMC中的T细胞扩增和活化,将PBMC与ABX1446一起温育,并且通过流式细胞术测量扩增和活化。ABX1446诱导M5 PBMC中的T细胞扩增(图26)和活化(图27)。

[0549] ABX1446未能诱导针对原代HSC的耗乏(图28)和细胞凋亡(图29)。

[0550] 此外,ABX1446未能除去非单核细胞性免疫细胞。CD123在许多免疫细胞类型上表达,而ILT3仅在子集上表达。双特异性抗体维克妥单抗的使用可表示临床配置中的安全风险。因此,测量了KU812嗜碱细胞和LAMA84嗜碱细胞中的细胞毒性。两种细胞类型为CD123阳性和ILT3阴性。因此,ABX1446对这些嗜碱细胞无影响。参见图30和图31。

[0551] 多发性骨髓瘤细胞也表达ILT3。F0 ILT3 $\times$ CD3双特异性抗体型式(ABX1446)显示针对MM1S(图32)、H929(图33)和U226B1(图34)多发性骨髓瘤细胞系的强溶细胞活性。参见表22。

[0552] 表22

	MM1S	H929	U226B1
	TDCC, EC <sub>50</sub> (pM)		
[0553] 倍利妥	704.7	1503.1	163.7
ABX1446	18.6	18.62	6.5

[0554] 上述研究表明,相比于T细胞接合子双特异性维克妥单抗,ABX1446显示强效细胞毒性与低水平的细胞因子释放。另外,ABX1446并未除去HSC或成熟免疫细胞。因此,ABX1446具有区分其与当前市场上的T细胞接合双特异性抗体的安全概况。

[0555] 7.3实施例3:ILT3 $\times$ CD3双特异性分子的体内表征

[0556] 此研究的目的是评价三种人类AML小鼠模型中F0(即ABX1446)和F13(即ABX1520)的体内活性,所述模型包括MOLM13 AML模型(图35)、MV4;11AML模型(图35)和具有经MV4;

11AML细胞移植的CD34+人源化小鼠的模型(图39)。

[0557] 在MOLM13小鼠模型中,ABX1446和ABX1520类似于维克妥单抗降低循环肿瘤细胞的数目。参见图36和表23。

[0558] 表23

群组	每 1 $\mu$ L 血液的平均肿瘤细胞
NTB	0
抗 KLH	11.7
hz45G10	7.5
IO-202	5.6
ABX1559	10.4
维克妥单抗	1.0
ABX1446	0.9
ABX1520	2.2

[0561] 在MV4;11小鼠模型中,类似于维克妥单抗,接受递增浓度(0.01mpk、0.1mpk和1mpk)的ABX1446的小鼠在第2周(图37)和第3周(图38)具有降低数目的循环肿瘤细胞。参见表24,其表示每 $\mu$ L血液中MV4;11细胞的数目。

[0562] 表24

群组	第2周*	第3周*
NTB	0.2	.04
抗KLH	100.1	480.4
维克妥单抗0.01mpk	50.2	173.4
维克妥单抗0.1mpk	12.5	71.0
维克妥单抗1mpk	0.4	6.1
ABX1446 0.01mpk	42.4	206.6
ABX1446 0.1mpk	3.2	6.9
ABX1446 1mpk	1.9	6.6

[0564] 在具有经MV4;11AML细胞移植的CD34<sup>+</sup>人源化小鼠的模型中,ABX1446减少每 $\mu$ L血液中循环MV4;11细胞的数目。参见图40和表25,其表示每 $\mu$ L血液中MV4;11细胞的数目。小鼠以1mpk接受ABX1446、抗KLH和维克妥单抗。

[0565] 表25

群组	MV4;11 细胞*
抗 KLH	734.8

[0567]	维克妥单抗	1.2
	ABX1446	0.2

[0568] 上述研究表明ABX1446抑制三种不同人类AML小鼠模型中的肿瘤生长。

[0569] 7.4实施例4:原代肿瘤细胞培养物中的ILT3×CD3双特异性分子的表征

[0570] 在原生肿瘤微环境平台(Native Tumor Microenvironment platform)(Vivia Biotech)中评价ILT3×CD3双特异性分子的活性。在此平台上,用ABX1446的剂量滴定来培养来自诊断患有M5 AML的人类患者的全骨髓样品。评价T细胞活化和肿瘤细胞耗乏。简而言之,在Vivia Biotech原生肿瘤微环境平台中评价来自患有M5 AML的三名患者的全骨髓。骨髓供体的人口统计数据如下:

[0571] 表26.患者人口统计数据

[0572]	供体ID	FAB亚型	年龄	治疗线	先前疗法
	13273	M5	31	复发性/难治性	埃达霉素、阿糖胞苷
	15443	M5	44	新诊断	未知
	15802	M5b	68	新诊断	未知

[0573] 对于每个样品,冷冻保存的全骨髓经活解冻并且通过流式细胞术使用Quantibrite珠粒(BD Biosciences,340495)和PE缀合的ILT3抗体(克隆ZM4.1,BD Biosciences,333007)定量基线处的ILT3受体密度。另外,使用流式细胞术对基线处的肿瘤细胞和T细胞的数目进行计数。计算每个样品的基线效应子:目标(E:T)比率。

[0574] 表27.ILT3受体密度和基线E:T比率

	供体 ID	ILT3 受体密度(抗体结合能力)	基线效应子:目标(E:T)比率
[0575]	13273	23504	1:25
	15443	7398	1:14
[0576]	15802	5312	1:8

[0577] 为评价ILT3×CD3双特异性分子的活性,将骨髓样品涂铺于补充有胎牛血清(FBS)和专用生长因子混合液的无血清培养基中。将ABX1446以8点剂量滴定(最终浓度, $0.3-3 \times 10^{-6}$  mg/mL)添加至培养物中。对照条件包括用PBS处理的骨髓和用0.3mg/mL同型对照抗体处理的骨髓。在72和120小时采集细胞以通过流式细胞术评价肿瘤细胞耗乏和T细胞活化。相对于每个供体的基线值对结果进行归一化。在一个代表性供体(出自所评价的3个供体)中,ABX1446诱导原代M5 AML骨髓样品中的剂量依赖性肿瘤细胞耗乏和T细胞活化,如图41和图42中所示。

[0578] 开始类似研究以评价ILT3×CD3双特异性分子在ILT3<sup>+</sup>多发性骨髓瘤样品的原代培养物中的活性。首先分析新鲜多发性骨髓瘤骨髓样品的ILT3表达,并且在原生肿瘤微环境平台中评价具有足够细胞数目和存活力的ILT3<sup>+</sup>样品(定义为其中≥60%的CD138<sup>+</sup>骨髓瘤母细胞为ILT3<sup>+</sup>的样品)。ABX1446诱导CD138<sup>+</sup>多发性骨髓瘤细胞的剂量依赖性耗乏和同时T细胞活化。代表性供体的结果示于图43和图44中。

[0579] 序列

SEQ ID NO	描述	序列
1	Hz45G10 重链可变区 CDR1	GFTFSDYGMH
2	Hz45G10 重链可变区 CDR2	YIFSGSSTIYYADTVKG
3	Hz45G10 重链可变区 CDR3	ADGRGAMDY
4	Hz45G10 轻链可变区 CDR1	RASQDISKFLN
5	Hz45G10 轻链可变区 CDR2	YTSRLHS
6	Hz45G10 轻链可变区 CDR3	QQGNTLPWT
7	Hz45G10 重链可变区 CDR1	GFTFSDY
8	Hz45G10 重链可变区 CDR2	FSGSST
9	Hz45G10 重链可变区 CDR2	YIFSGSSTIY
10	Hz45G10 重链可变区 CDR1	DYGMH
11	Hz45G10 重链可变区 CDR1	SDYGMH
12	Hz45G10 重链可变区 CDR2	WVAYIFSGSSTIY
13	Hz45G10 重链可变区 CDR3	ARADGRGAMD
14	Hz45G10 轻链可变区	SKFLNWY

[0580]

	CDR1	
15	Hz45G10 轻链可变区 CDR2	LLIYYTSRLH
16	Hz45G10 轻链可变区 CDR3	QQGNTLPW
17	Hz45G10 重链可变区氨基酸 序列(VH)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS DYGMHWVRQAPGKGLEWVAYIFSGSSTIY YADTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA EDTAVYYCARADGRGAMDYWGQGLVT VSS
18	Hz45G10 轻链可变区氨基酸 序列(VL)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDISK FLNWFYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYFCQQGN TLPWTFGGGTKLEIK
19	Hz45G10 重链氨基酸序列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS DYGMHWVRQAPGKGLEWVAYIFSGSSTIY YADTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA EDTAVYYCARADGRGAMDYWGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKCKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
20	Hz45G10 轻链氨基酸序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDISK FLNWFYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYFCQQGN TLPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLS KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
21	3A3 重链可变区 CDR1	GFSLTSYGVH
22	3A3 重链可变区 CDR2	VIWPGGTINYNLSALMS
23	3A3 重链可变区 CDR3	DKYDGGWFAY
24	3A3 轻链可变区 CDR1	KASQNVRTAVA
25	3A3 轻链可变区 CDR2	LASNRHT
26	3A3 轻链可变区 CDR3	LQHLNYPLT
27	3A3 重链可变区 CDR1	GFSLTSY
28	3A3 重链可变区 CDR2	WPGGT
29	3A3 重链可变区 CDR2	VIWPGGTIN
30	3A3 重链可变区 CDR1	SYGVH
31	3A3 重链可变区 CDR1	TSYGVH
32	3A3 重链可变区 CDR2	WLGVIWPGGTIN
33	3A3 重链可变区 CDR3	ASDKYDGGWFA

[0581]

[0582]

34	3A3 轻链可变区 CDR1	RTAVAWY
35	3A3 轻链可变区 CDR2	ALIYLASNRH
36	3A3 轻链可变区 CDR3	LQHLYPL
37	3A3 重链可变区氨基酸序列	QVQLKESGPGLVAPSQSLTCTVSGFSLTS YGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWPGGTINY NSALMSRLSISKDNSKSKVFLKLSLQTDD TAMYYCASDKYDGGWFAYWGQGLTVV SA
38	3A3 轻链可变区氨基酸序列	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVR TAVAWYQQKPGQSPEALIYLASNRHTGVP DRFTGSGSGTDFLSISNVQSEDLADYFCLQ HLNYPLTFGSGTKLEIK
39	5A7 重链可变区 CDR1	GFTFSSYGMS
40	5A7 重链可变区 CDR2	TISGGGSYTNYPDSVKG
41	5A7 重链可变区 CDR3	REWRMTLYAMDY
42	5A7 轻链可变区 CDR1	RASESVDSYGNSFMH
43	5A7 轻链可变区 CDR2	LTSNLES
44	5A7 轻链可变区 CDR3	QQNNEDPFT
45	5A7 重链可变区 CDR1	GFTFSSY
46	5A7 重链可变区 CDR2	SGGGSY
47	5A7 重链可变区 CDR2	TISGGGSYTN
48	5A7 重链可变区 CDR1	SYGMS
49	5A7 重链可变区 CDR1	SSYGMS
50	5A7 重链可变区 CDR2	WVATISGGGSYTN
51	5A7 重链可变区 CDR3	ARREWRMTLYAMD
52	5A7 轻链可变区 CDR1	DSYGNSFMHWY
53	5A7 轻链可变区 CDR2	LLIYLTSNLE
54	5A7 轻链可变区 CDR3	QQNNEDPF
55	5A7 重链可变区氨基酸序列	EVKLVESGGGLVKPGSLKLSAASGFTFS SYGMSWVRQTPEKRLEWVATISGGGSYTN YPDSVKGRLTISRDNKKNLYLEMSSLRSE DTALYYCARREWRMTLYAMDYWGQGTST VTVSS
56	5A7 轻链可变区氨基酸序列	NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDS YGNSFMHWYQQKPGQAPKLLIYLTSNLES GVPARFSGSGRDTFTLTIDPVEADDAATY YCQQNNEDPFTFGSGTKLEIK
57	12A12 重链可变区 CDR1	GYTFTDYNMD
58	12A12 重链可变区 CDR2	YIYPNNGGTGYNQKFNS
59	12A12 重链可变区 CDR3	SPYYDYVGSYAMDY
60	12A12 轻链可变区 CDR1	TASSSVSSSYLH
61	12A12 轻链可变区 CDR2	STSNLAS
62	12A12 轻链可变区 CDR3	HQYHRSPRT
63	12A12 重链可变区 CDR1	GYTFTDY
64	12A12 重链可变区 CDR2	YPNNGG
65	12A12 重链可变区 CDR2	YIYPNNGGTG
66	12A12 重链可变区 CDR1	DYNMD
67	12A12 重链可变区 CDR1	TDYNMD

[0583]

68	12A12 重链可变区 CDR2	WIGYIYPNNGGTG
69	12A12 重链可变区 CDR3	ASSPYYDYVGSYAMD
70	12A12 轻链可变区 CDR1	SSSYLHWY
71	12A12 轻链可变区 CDR2	LWIYSTSNLA
72	12A12 轻链可变区 CDR3	HQYHRSPR
73	12A12 重链可变区氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFT DYNMDWVKQSHGKSLEWIGYIYPNNGGT GYNQKFNKATLTVDKSSSTAYMELHSLTS EDSAVYYCASSPYYDYVGSYAMDYWGQG TSVTVSS
74	12A12 轻链可变区氨基酸序列	QIVLTQSPAISASLGERVTMTCTASSSVSS SYLHWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPA RFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQ YHRSPRTFGGGTKLEIK
75	16C5 重链可变区 CDR1	GYTFTDYNMD
76	16C5 重链可变区 CDR2	YIYPSNGGTGYNQKFKS
77	16C5 重链可变区 CDR3	VPYYDYLYYYAMDY
78	16C5 轻链可变区 CDR1	RASSVSFMH
79	16C5 轻链可变区 CDR2	ATSNLAS
80	16C5 轻链可变区 CDR3	QQWSTNPYMYT
81	16C5 重链可变区 CDR1	GYTFTDY
82	16C5 重链可变区 CDR2	YPSNGG
83	16C5 重链可变区 CDR2	YIYPSNGGTG
84	16C5 重链可变区 CDR1	DYNMD
85	16C5 重链可变区 CDR1	TDYNMD
86	16C5 重链可变区 CDR2	WIGYIYPSNGGTG
87	16C5 重链可变区 CDR3	ARVPYYDYLYYYAMD
88	16C5 轻链可变区 CDR1	SFMHWY
89	16C5 轻链可变区 CDR2	PWIYATSNLA
90	16C5 轻链可变区 CDR3	QQWSTNPYMY
91	16C5 重链可变区氨基酸序列	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFT DYNMDWVKQSHGKSLEWIGYIYPSNGGTG YNQKFKSKATLTVDKSSNTAYMELHSLTS EDSAVYYCARVPYYDYLYYYAMDYWGQ GTSVTVSS
92	16C5 轻链可变区氨基酸序列	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMACRASSVSF MHWYQQKPGSSQPWIYATSNLASGVPAR FSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQW STNPYMYTFGGGTKLEIK
93	48A6 重链可变区 CDR1	GFTFSSYGMS
94	48A6 重链可变区 CDR2	TISSGGTYTFYPDSVKG
95	48A6 重链可变区 CDR3	RGWLLHYAMDY
96	48A6 轻链可变区 CDR1	RPSEVDSFGNSFMH
97	48A6 轻链可变区 CDR2	LSSKLES
98	48A6 轻链可变区 CDR3	QQHNEDPFT
99	48A6 重链可变区 CDR1	GFTFSSY
100	48A6 重链可变区 CDR2	SSGGTY
101	48A6 重链可变区 CDR2	TISSGGTYTF

[0584]

102	48A6 重链可变区 CDR1	SYGMS
103	48A6 重链可变区 CDR1	SSYGMS
104	48A6 重链可变区 CDR2	WVATISSGGTYTF
105	48A6 重链可变区 CDR3	ARRGWLLHYYAMD
106	48A6 轻链可变区 CDR1	DSFGNSFMHWF
107	48A6 轻链可变区 CDR2	LLIYLSSKLE
108	48A6 轻链可变区 CDR3	QQHNEDPF
109	48A6 重链可变区氨基酸序列	EVQLVESGGDLMKPGGSLKLSAASGFTFS SYGMSWVRQTPDKRLEWVATISSGGTYTF YPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLSE DTAMYYCARRGWLLHYYAMDYWGQGTS VTVSS
110	48A6 轻链可变区氨基酸序列	NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRPSESVD FGNSFMHWFQKPGQPPKLLIYLSSKLESG VPAFSGSGSRTDFLTIDPVEADDAATYY CQQHNEDPFTFGSGTKLEIK
111	53F10 重链可变区 CDR1	GFTFSDYGMH
112	53F10 重链可变区 CDR2	YISTGIITVYYADTVKG
113	53F10 重链可变区 CDR3	ADGRGAMDY
114	53F10 轻链可变区 CDR1	RASQDISNFLN
115	53F10 轻链可变区 CDR2	YTSRLHS
116	53F10 轻链可变区 CDR3	QQGNTLPWT
117	53F10 重链可变区 CDR1	GFTFSDY
118	53F10 重链可变区 CDR2	STGIIT
119	53F10 重链可变区 CDR2	YISTGIITVY
120	53F10 重链可变区 CDR1	DYGMH
121	53F10 重链可变区 CDR1	SDYGMH
122	53F10 重链可变区 CDR2	WVAYISTGIITVY
123	53F10 重链可变区 CDR3	ARADGRGAMD
124	53F10 轻链可变区 CDR1	SNFLNWY
125	53F10 轻链可变区 CDR2	LLIYYTSRLH
126	53F10 轻链可变区 CDR3	QQGNTLPW
127	53F10 重链可变区氨基酸序列	EVQVVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFS DYGMHWVRQAPEKGLEWVAYISTGIITVY YADTVKGRFTMSRDNKNTLFLQMTSLRS EDTAIYYCARADGRGAMDYWGQGTSVIVS S
128	53F10 轻链可变区氨基酸序列	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISN FLNWYQQKPDGTVTLIYYTSRLHSGVPSR FSGSGSGTDYSLTISNLEQEDFATYFCQQG NTPWTFGGGKLEIK
129	Hz5A7.v5 重链可变区 CDR1	GFTFSSYGMS
130	Hz5A7.v5 重链可变区 CDR2	TISGGGSYTNYPDSVKG
131	Hz5A7.v5 重链可变区 CDR3	REWRYTLYAMDY
132	Hz5A7.v5 轻链可变区 CDR1	RASESVESYGSSFMH
133	Hz5A7.v5 轻链可变区 CDR2	LTSNLES
134	Hz5A7.v5 轻链可变区 CDR3	QQNNEDPFT
135	Hz5A7.v5 重链可变区 CDR1	GFTFSSY

136	Hz5A7.v5 重链可变区 CDR2	SGGGSY
137	Hz5A7.v5 重链可变区 CDR2	TISGGGSYTN
138	Hz5A7.v5 重链可变区 CDR1	SYGMS
139	Hz5A7.v5 重链可变区 CDR1	SSYGMS
140	Hz5A7.v5 重链可变区 CDR2	WVATISGGGSYTN
141	Hz5A7.v5 重链可变区 CDR3	ARREWRYTLYAMD
142	Hz5A7.v5 轻链可变区 CDR1	ESYGSSFHMY
143	Hz5A7.v5 轻链可变区 CDR2	LLIYLTSNLE
144	Hz5A7.v5 轻链可变区 CDR3	QQNNEDPF
145	Hz5A7.v5 重链可变区氨基酸序列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYGMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSY NYPDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLR AEDTAVYYCARREWRYTLYAMDY WGQG TTVTVSS
146	Hz5A7.v5 轻链可变区氨基酸序列	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRASES VES YGSSFHMYVQKPKGAPKLLIYL TSNLES GVPSRFSGSGSGTEFTLTI SSLQPEDFATYY CQQNNEDPFTFGQ GKLEIK
147	CD3 scFv-Fc 氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN TYAMNWRQAPGKCLEWVARIRSKYNNY ATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN N LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSELVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNY ANWVQKPKGQAPRGLIGGTNKRAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLVSGVPEDEAEYYCAL WYSLWVFGCGTKLTVLGGGSDKTHTC PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALH NHYTQKSLSLSPGK
148	CD3 scFv-Fc 核酸序列	GAGGTGCAGCTGTTGGAATCTGGCGGAG GATTGGTTCAGCCTGGCGGCTCTCTGAAG CTGTCTTGTGCCGCTTCTGGCTTCACCTC AACACCTACCCATGAACTGGGTCCGAC AGGCCCTGGCAAATGCCTGGAATGGGT CGCCCGGATCAGATCCAAGTACAACAAT TACGCCACCTACTACGCCGACTCCGTGAA GGACCGGTTACCATCTCTCGGGACGACT CCAAGAACACCGCCTACCTGCAGATGAA CAACCTCAAGACCGAGGATACCGCCGTG TACTACTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGG CAACTCCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACT GGGGCCAGGGCACACTGGTCACAGTTTC TAGCGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGCGGA GGTAGTGGTGGTGGCGGATCTGAACTGG TGGTCACCCAAGAGCCTAGCCTGACAGTT TCTCCTGGCGGCACCGTGACACTGACCTG

[0585]

[0586]

		TAGATCTTCTACCGGCGCTGTGACCACCT CCAACTACGCCAATTGGGTGCAGCAGAA GCCAGGCCAGGCTCCTAGAGGACTGATC GCGGCACAAACAAGAGAGCCCCTGGAA CTCCTGCCAGGTTCTCTGGATCTCTGCTC GCGGAAAGGCTGCTCTGACACTGTCTG GTGTCCAGCCTGAGGACGAGGCCGAGTA TTA CTGTGCCCTGTGGTACTCCAACCTGT GGGTGTTCGGCTGTGGCACCAAGCTGAC AGTTCTCGGAGGCCGGCAGTCCGACAAG ACCATACTTGTCTCCATGTCTCTGCTCC AGAGGCTGCTGGTGGCCCTTCCGTGTTTC TGTTCCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTG ATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTG CGTGGTGGTCGATGTGTCTCACGAGGACC CAGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGA CGGCGTGGAAGTGCATAACGCCAAGACC AAGCCTAGAGAGGAACAGTACA ACTCCA CCTACAGAGTGGTGCCGTGCTGACCGTG CTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAG AGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGC CCTGCCTGCTCCTATCGAAAAGACCATCT CCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACC CCAGGTTTACACCTTGCCTCCAAGCCGGG AAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCT GTCCTGTGCCGTGAAGGGCTTCTACCCTT CCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAA TGGCCAGCCAGAGAACA ACTACAAGACA ACCCTCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTC ATTCTTCCTGGTGTCTAAGCTGACTGTGG ACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGT GTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCC TGCACAATCACTACACACAGAAGTCCCT GAGCCTGTCTCCTGGCAAG
149	CD3 VH 氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN TYAMNWVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNY ATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYW GQGLVTVSS
150	CD3 VL 氨基酸序列	ELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVT TSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CALWYSNLWVFGCGTKLTVL
151	CD3 scFv 氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN TYAMNWVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNY ATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYW GQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNY ANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCAL WYSNLWVFGCGTKLTVL
152	CD3 重链可变区 CDR1	GFTFNTYAMN
153	CD3 重链可变区 CDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKD

[0587]

154	CD3 重链可变区 CDR3	HGNFGNSYVSWFAY
155	CD3 轻链可变区 CDR1	RSSTGAVTTSNYAN
156	CD3 轻链可变区 CDR2	GTNKRAP
157	CD3 轻链可变区 CDR3	ALWYSNLWV
158	CD3 VH 氨基酸序列	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFEFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNY ETYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSLISYWAYW GQGTLVTVSS
159	CD3 VL 氨基酸序列	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSSGAVT SGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFGAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
160	CD3 scFv 氨基酸序列	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFEFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNY ETYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSLISYWAYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGSSGGGSSQTVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSSGAVTSGNY PNWVQKPGQAPRGLIGGTKFGAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVL WYSNRWVFGGGTKLTVL
161	CD3 重链可变区 CDR1	GFEFNKYAMN
162	CD3 重链可变区 CDR2	RIRSKYNNYETYYADSVKD
163	CD3 重链可变区 CDR3	HGNFGNSLISYWAY
164	CD3 轻链可变区 CDR1	GSSSGAVTSGNYPN
165	CD3 轻链可变区 CDR2	GTKFGAP
166	CD3 轻链可变区 CDR3	VLWYSNRWV
167	Hz45G10 重链核苷酸序列	gaggtgcagctggtgaatctggcggaggactggtcagcctggc ggatctctgagactgtctgtgccgccagcggctcacctcagcga ttatggcatgcaactgggtccgacagggccctggcaaggactgag tgggtgcctacatcttcagcggcagcagcaccatctactacgccg acacagtgaaggcagattcaccatcagcgggacaacgccaaag aacagcctgtacctgcagatgaactccctgagagccgaggacacc gccgtgtactattgtgccagagccgatggcagaggcgtatggatt attggggccagggcaccctggcaccgtttctagcgtatgaccaa gggacccaagcgtgtccctctggctcctagcagcaagtctacaagc ggaggaacagcgcctctgggtgctgtcaaggattacttcccg agcctgtgaccgtgtcctggaatagcggagcactgacaagcggcg tgcaaccttccagctgtgctgcaaaagcagcggcctgtactctetg agcagcgtggtcacagtccaagctctagcctgggacccagacc tacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggaca agaaggtggaaccaagactgcgacaagaccacacctgtcctc catgtcctgtccagaagctgtggcggccctccgtgtttctgtcc ctcaaagcctaaggacacctgatgatcagcagaacctgaagt gacctgcgtggtggtgatgtgtctcacgaggaccccgaagtga gtcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaaagac caagcctagagaggaacagtacaacagcactacagagtgtgtc cgtgctgaccgtgctgaccaggattggctgaacggcaaaagta caagtgaaggtgtccaacaaggccctgctgctctatcgagaaa accatcagaaggccaaggccagcctagggaaacccaggttta cacactgcctccaagccgggaagagatgaccaagaaccaggtgt

[0588]

		<p>ccctgtggtgcctcgtgaagggcttaccctccgatatgccgtg                      gaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagacaac                      ccctcctgtgctggacagcgacggctcatttctctgtacagcaagc                      tgacagtggacaagtccagatggcagcagggcaacgtgtcagct                      gcagcgtgatgcagaggccctgcacaaccactacaccagaagt                      ccctgagcctgtctcctggcaaa</p>
168	Hz45G10 轻链核苷酸序列	<p>gacatccagatgaccagctcctcctctctgtcgcctctgtggg                      cgacagagtgaccatcacctgtagagccagccagatctccaa                      gttcctgaactggtatcagcagaagcccggcaaggcccctaagct                      gctgatctactacacctctcggctgcactctggcgtgcctctagatt                      ttctggctccggctctggcaccgactttaccttacaatctccagcctg                      cagcctgaggatcgtctactctctgcccagcaaggcaacaccc                      tgccttggacatttggcggaggcaccaagctggaatcaagcgtac                      ggtggctgcaccatctgtctctcctcctccgcatctgatgagcagtt                      gaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatccc                      agagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgcctccaatcg                      ggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacag                      cacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaaagcagacta                      cgagaaacacaaagtctacgctcgcgaagtcacccatcagggcct                      gagctcggcctcacaagagcttcaacaggggagagtggt</p>
169	F13 的抗 ILT3 结合区的重链	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS                      DYGMHWVRQAPGKGLEWVAYIFSGSSTIY                      YADTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA                      EDTAVYYCARADGRGAMDYWGQGTLLV                      VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL                      VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL                      QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK                      PSNTKVDKKVEPKSCGGGGSEVQLVESGG                      GLVQPGGSLRLSCAASGFTFS                      DYGMHWVRQAPGKGLEWVAYIFSGSSTIY                      YADTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA                      EDTAVYYCARADGRGAMDYWGQGTLLV                      TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL                      VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL                      QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK                      PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA                      PEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV                      TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK                      TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG                      KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP                      QVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA                      VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL                      TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL                      SLSPGK</p>

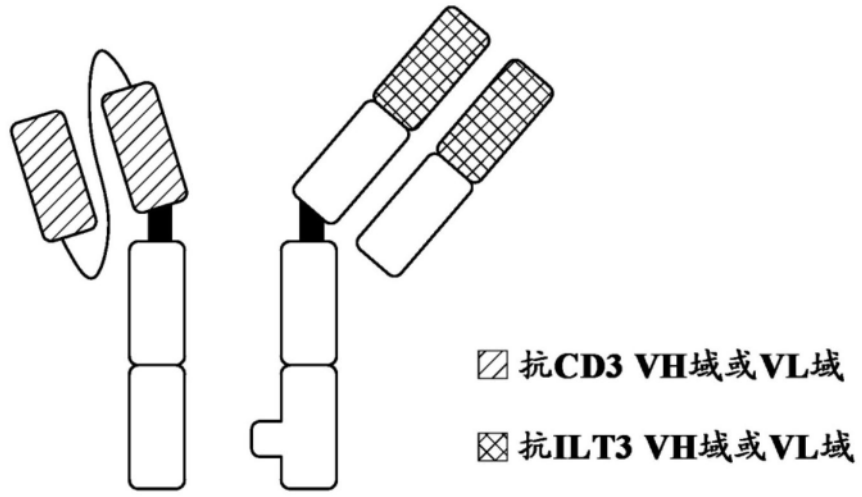


图1

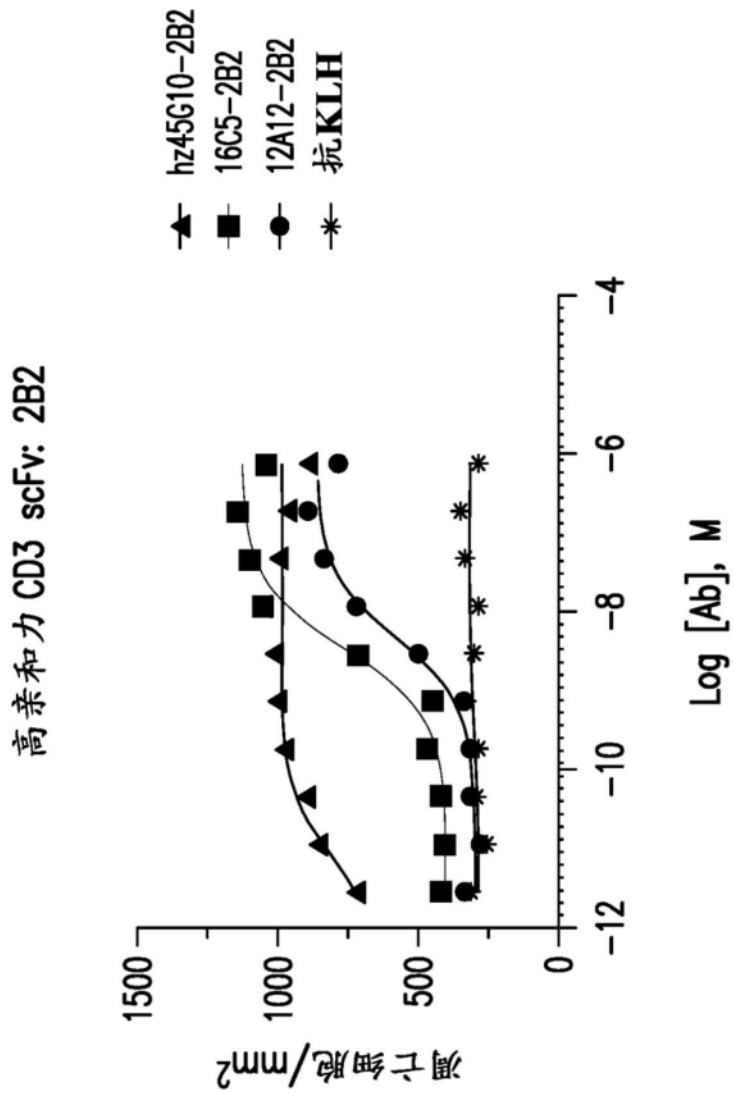


图2

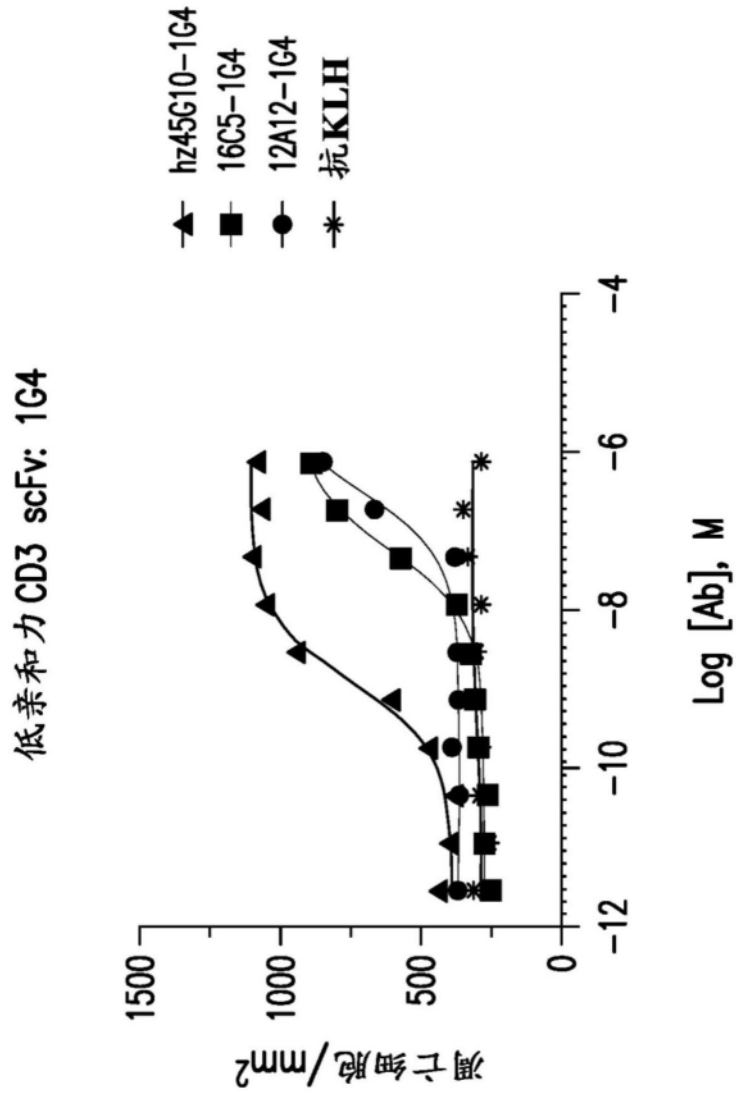


图3

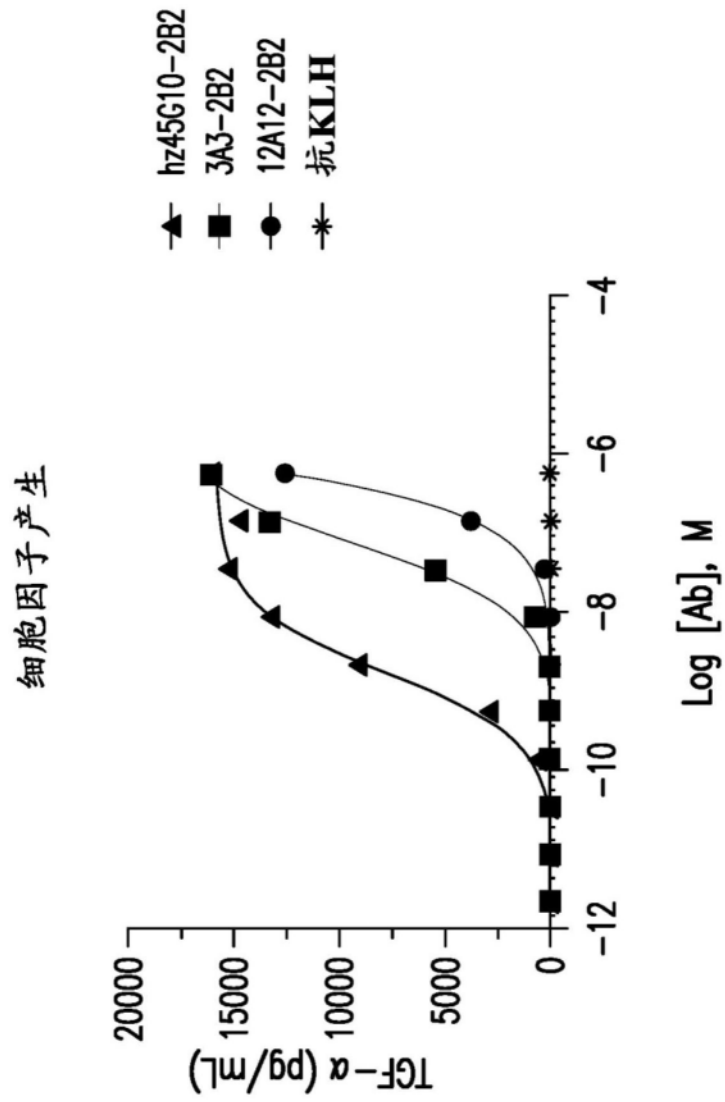


图4

hz45G10与高亲和力或低亲和力  
CD3 scFv配对的活性

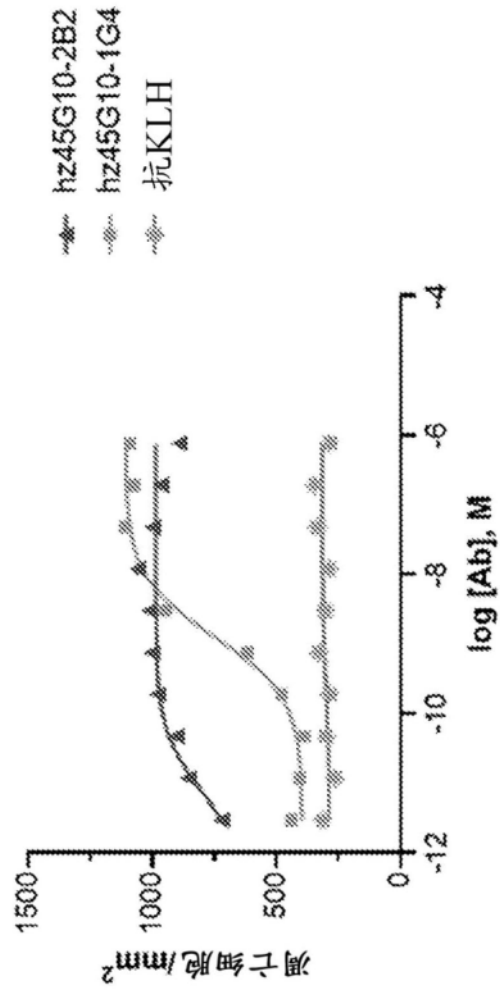


图5

### hz45G10与高亲和力或低亲和力 CD3 scFv配对的活性

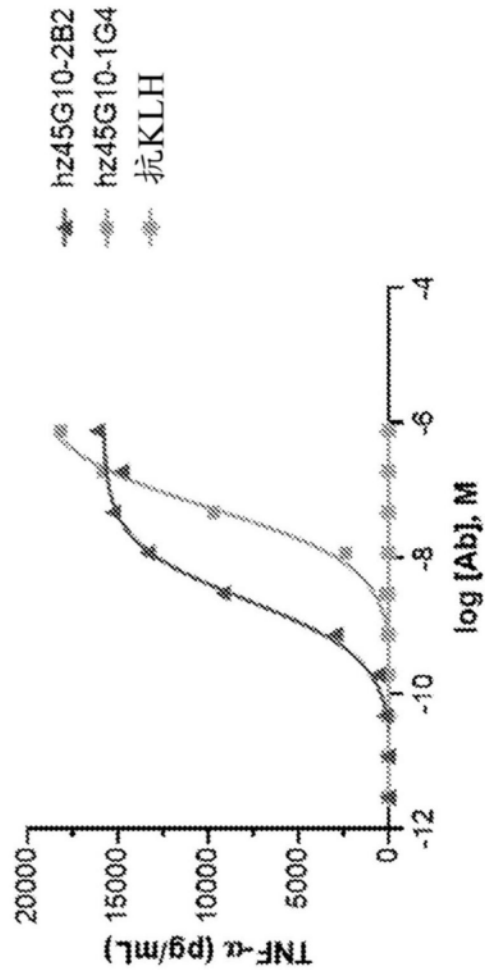


图6

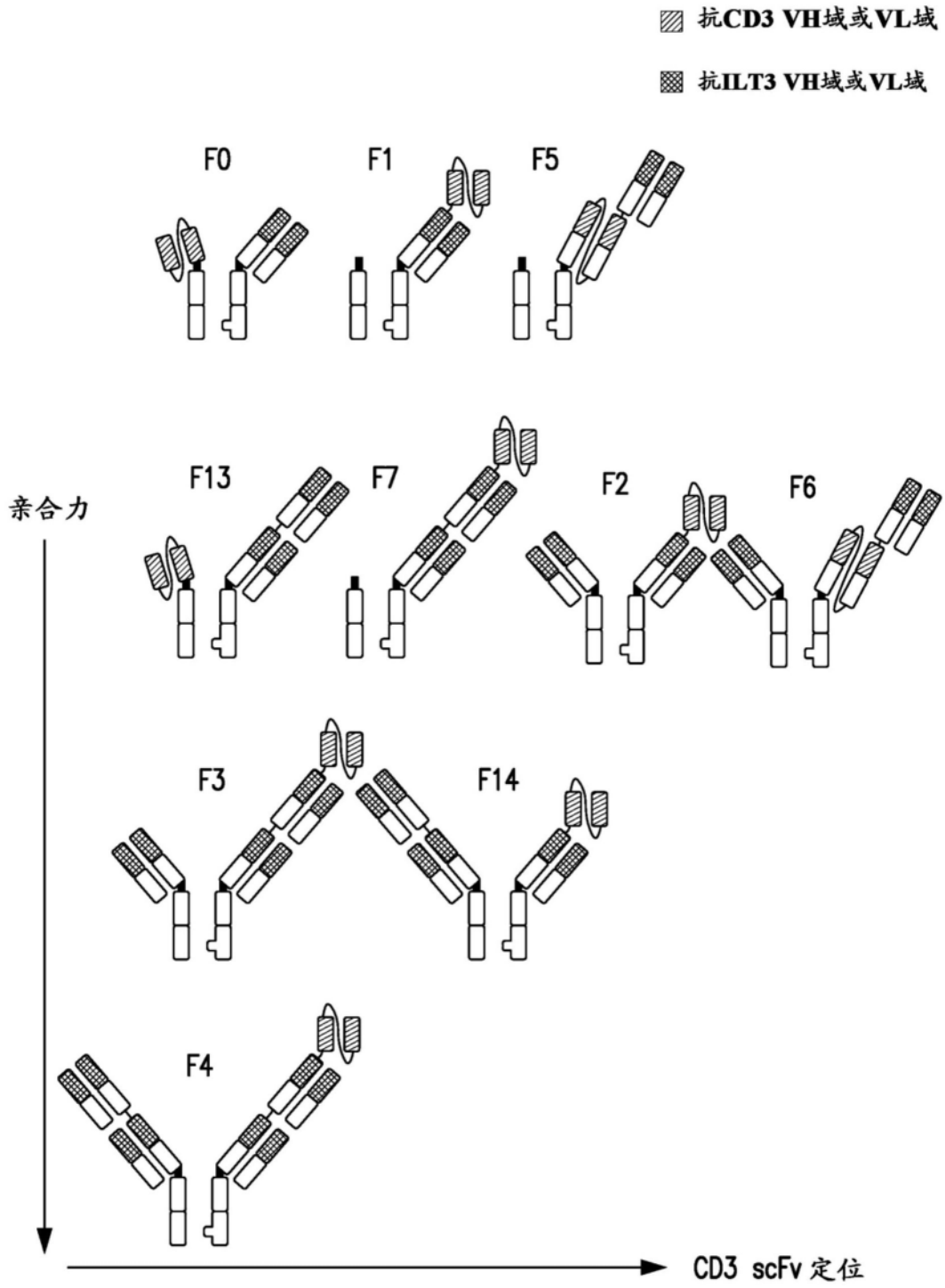


图7

经扩增T细胞的细胞毒性(TDCC)

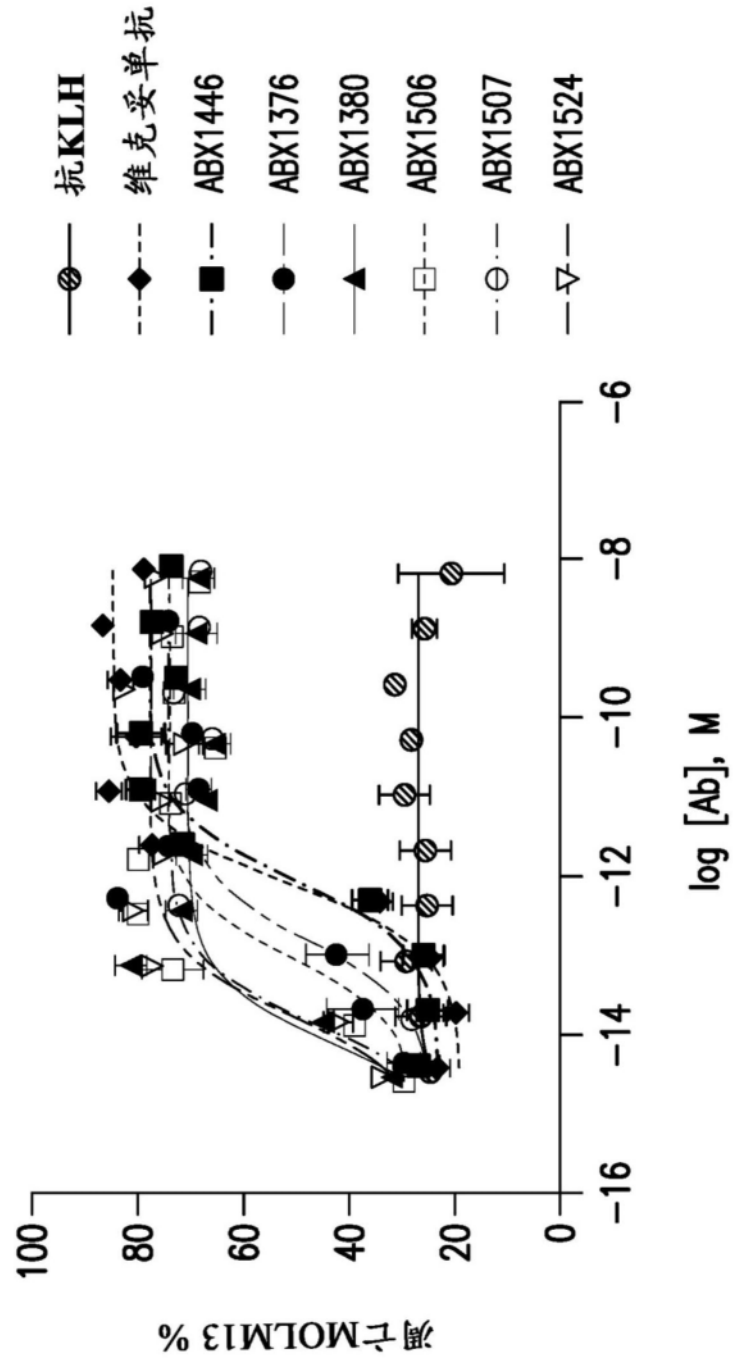


图8

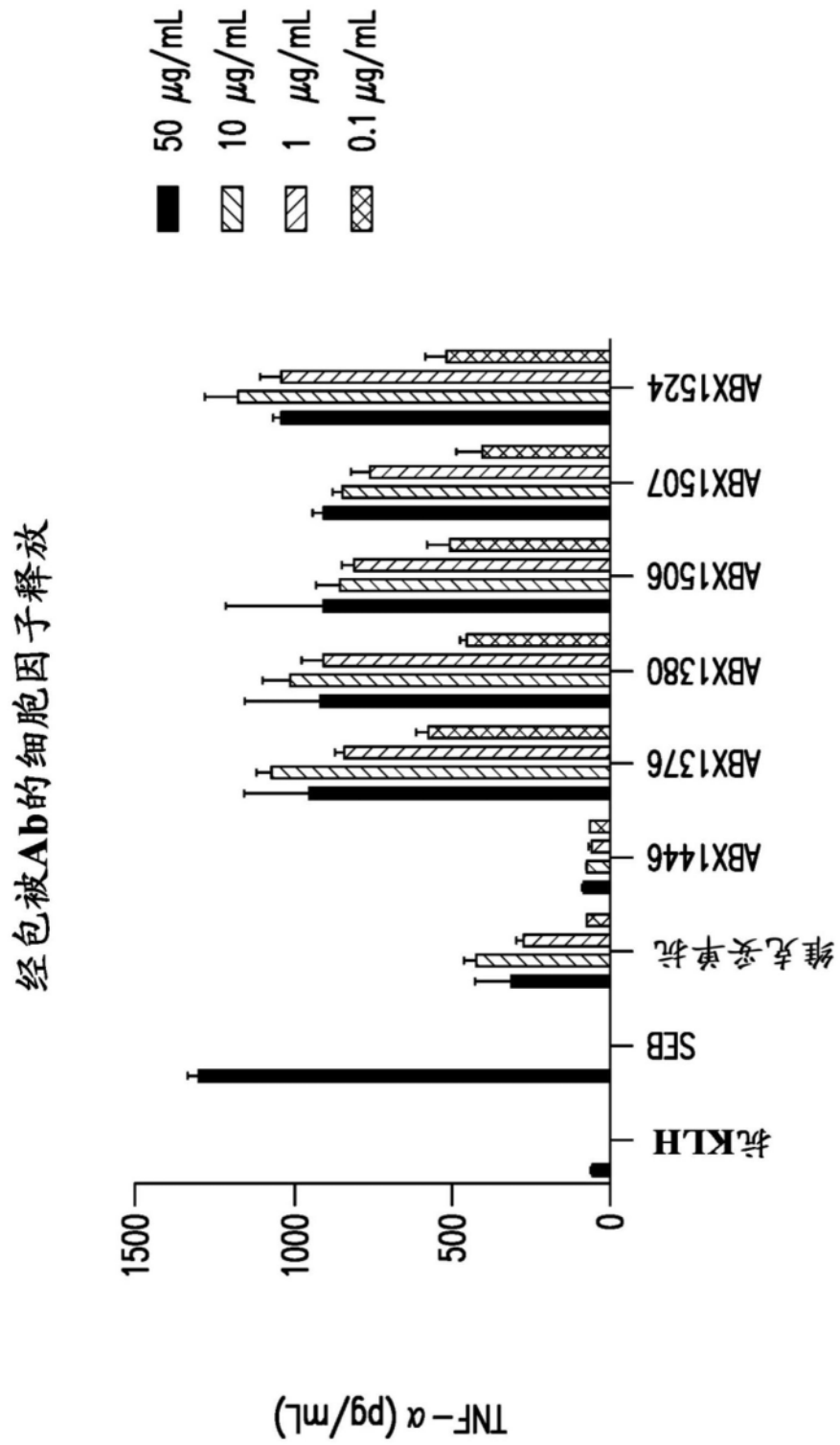


图9

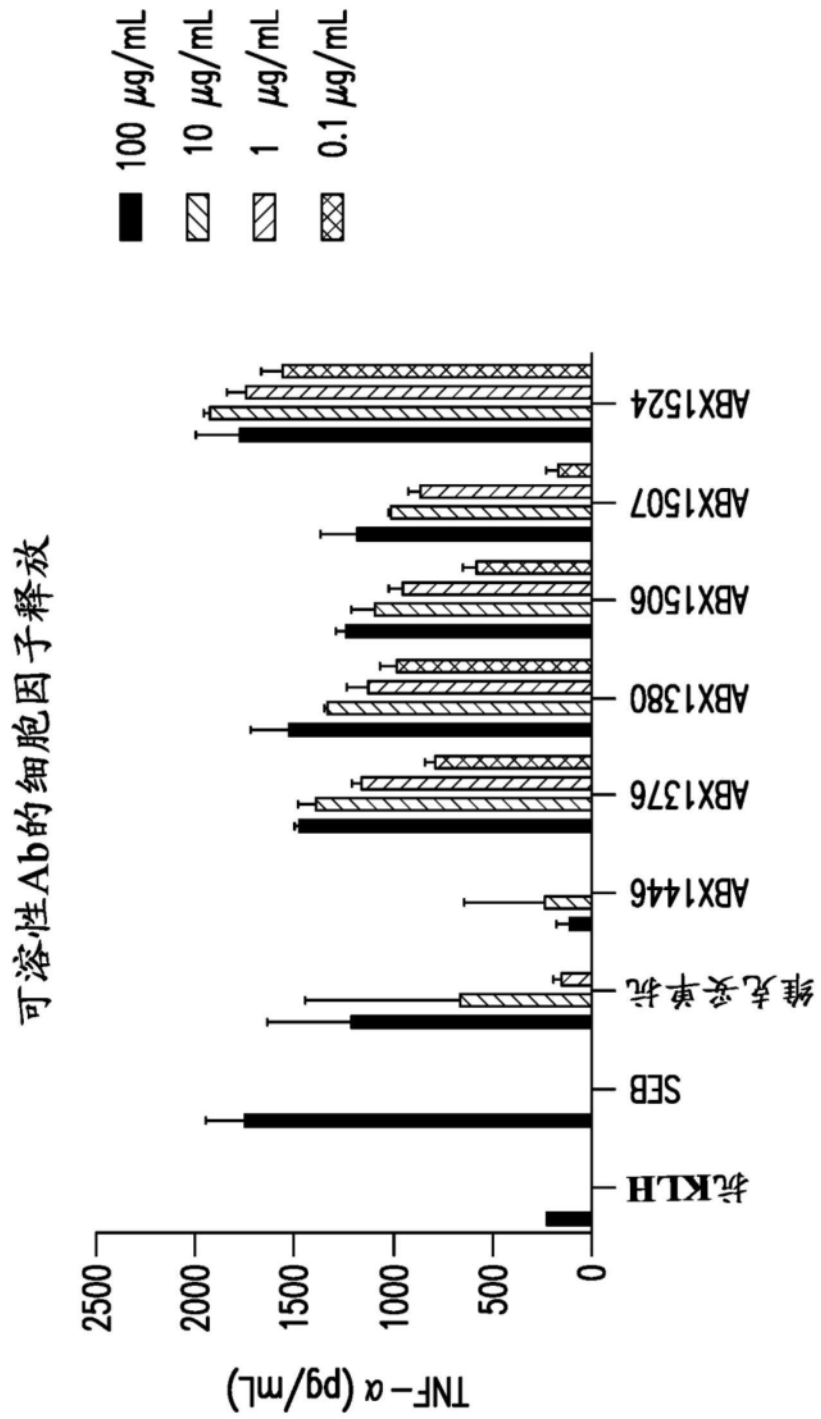


图10

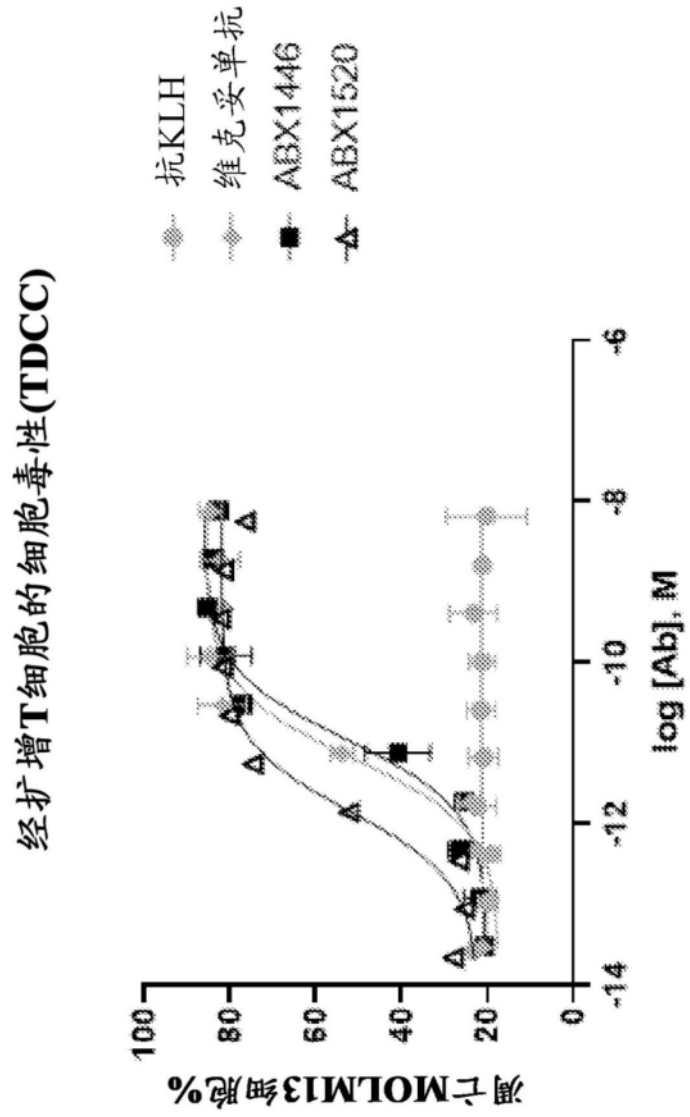


图11

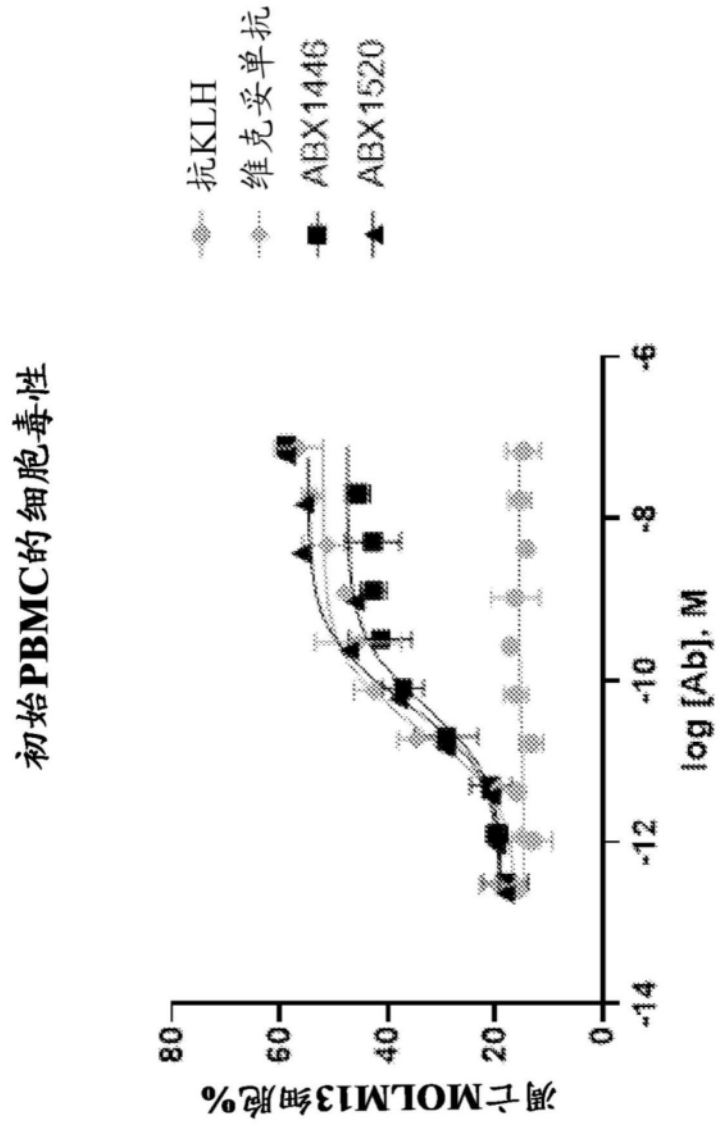


图12

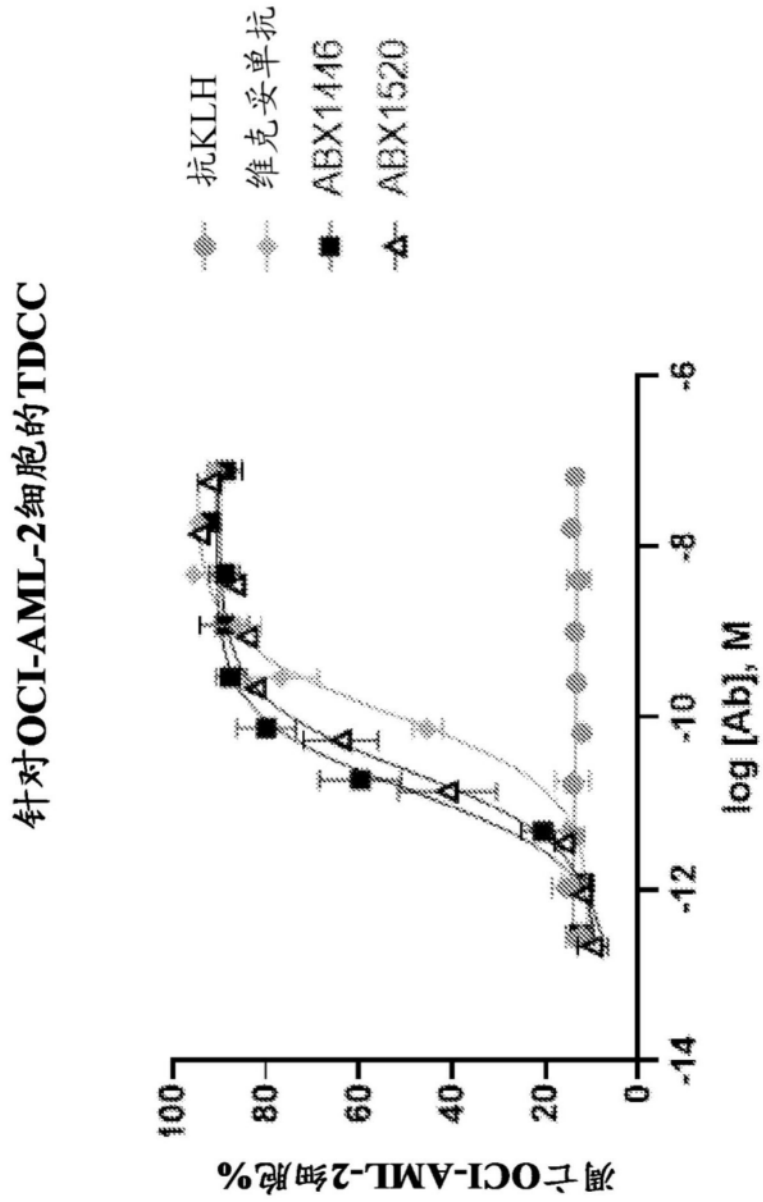


图13

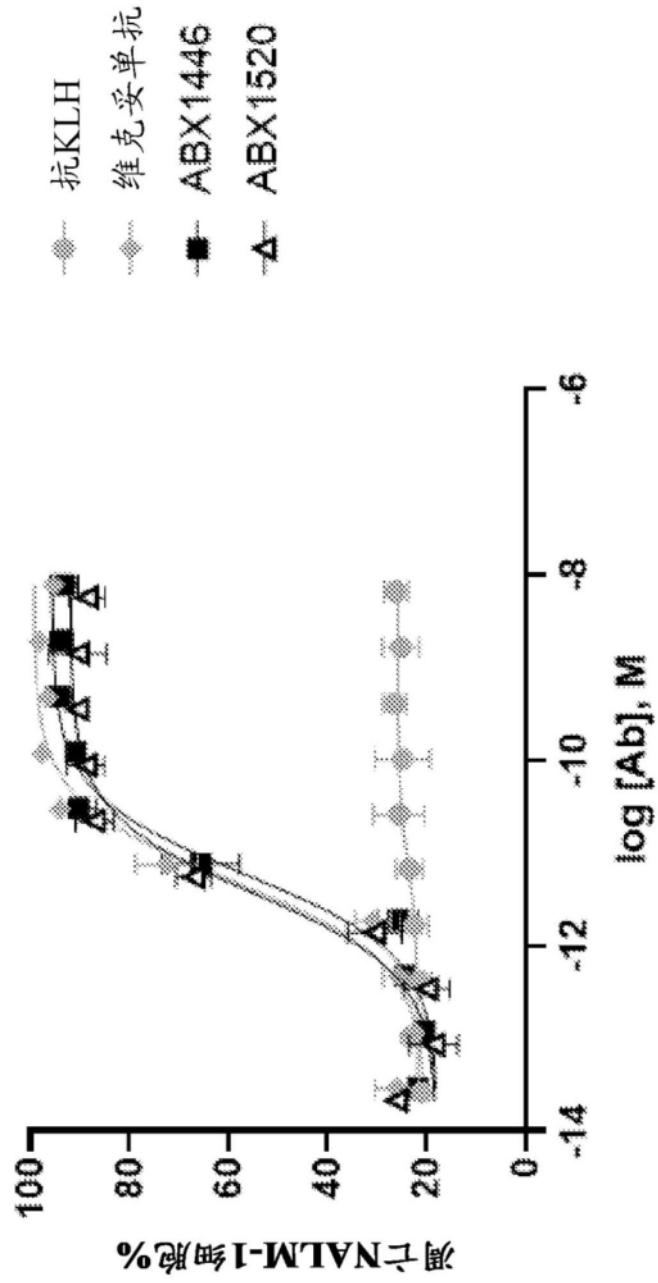


图14

针对OCI-AML-2细胞的PBMC细胞毒性

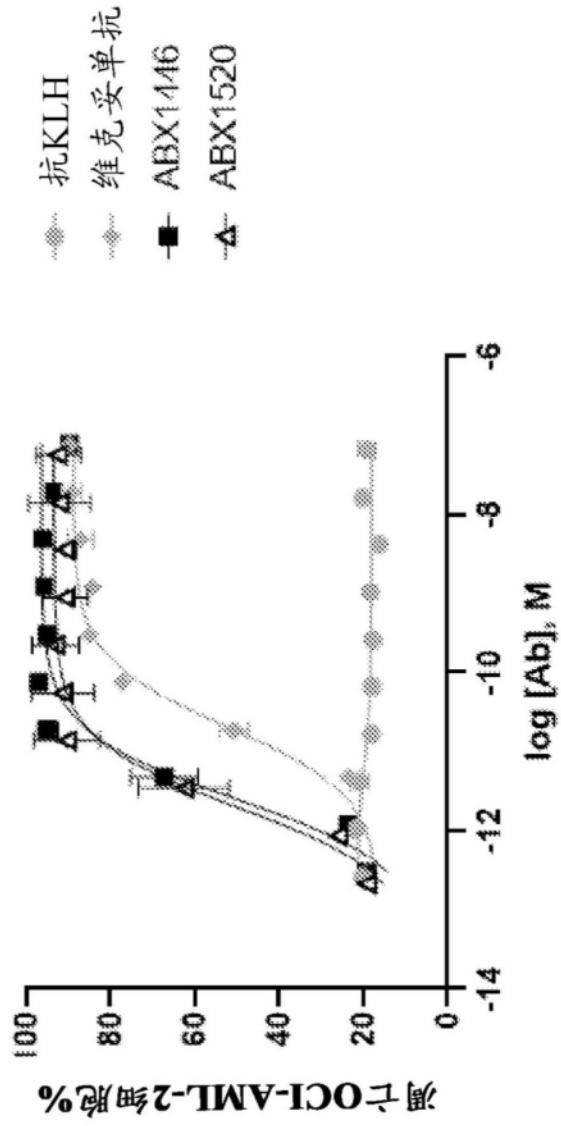


图15

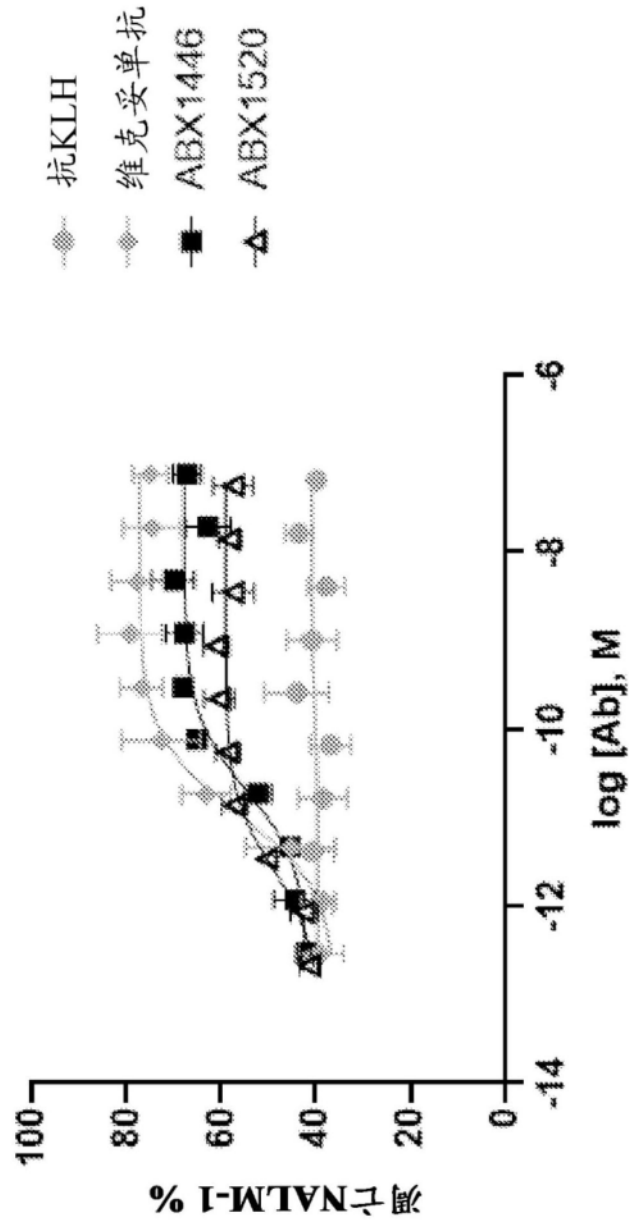


图16

针对ILT3基因敲除THP-1细胞的TDCC

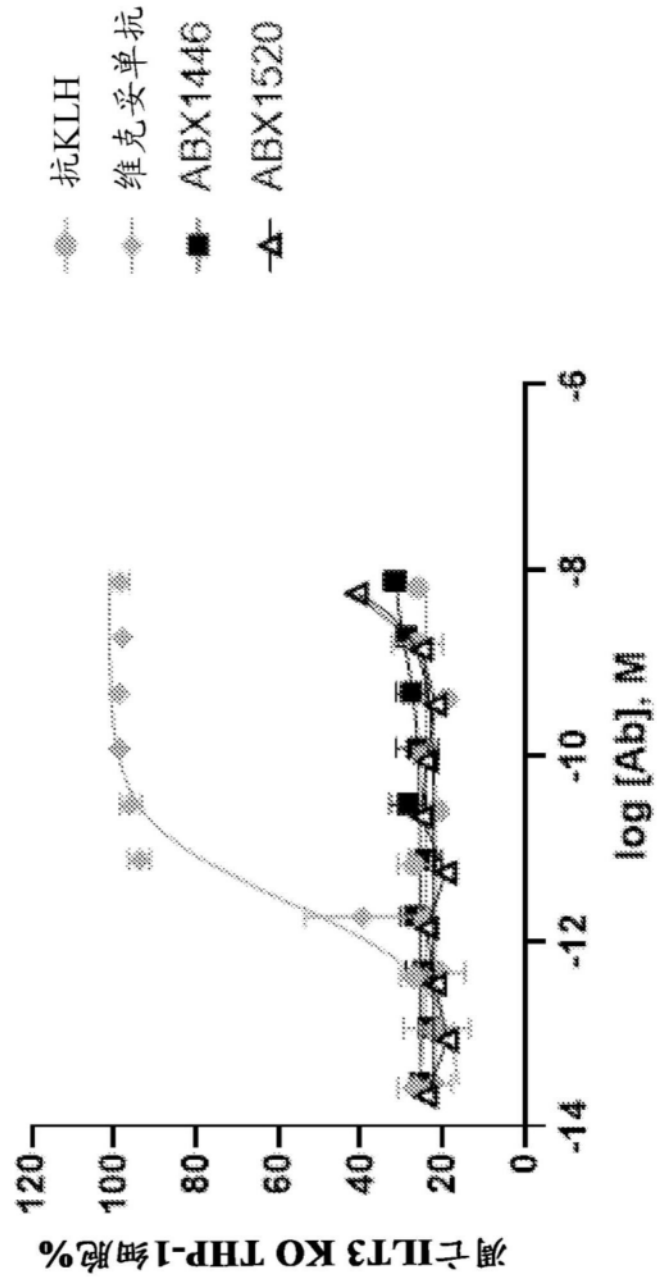


图17

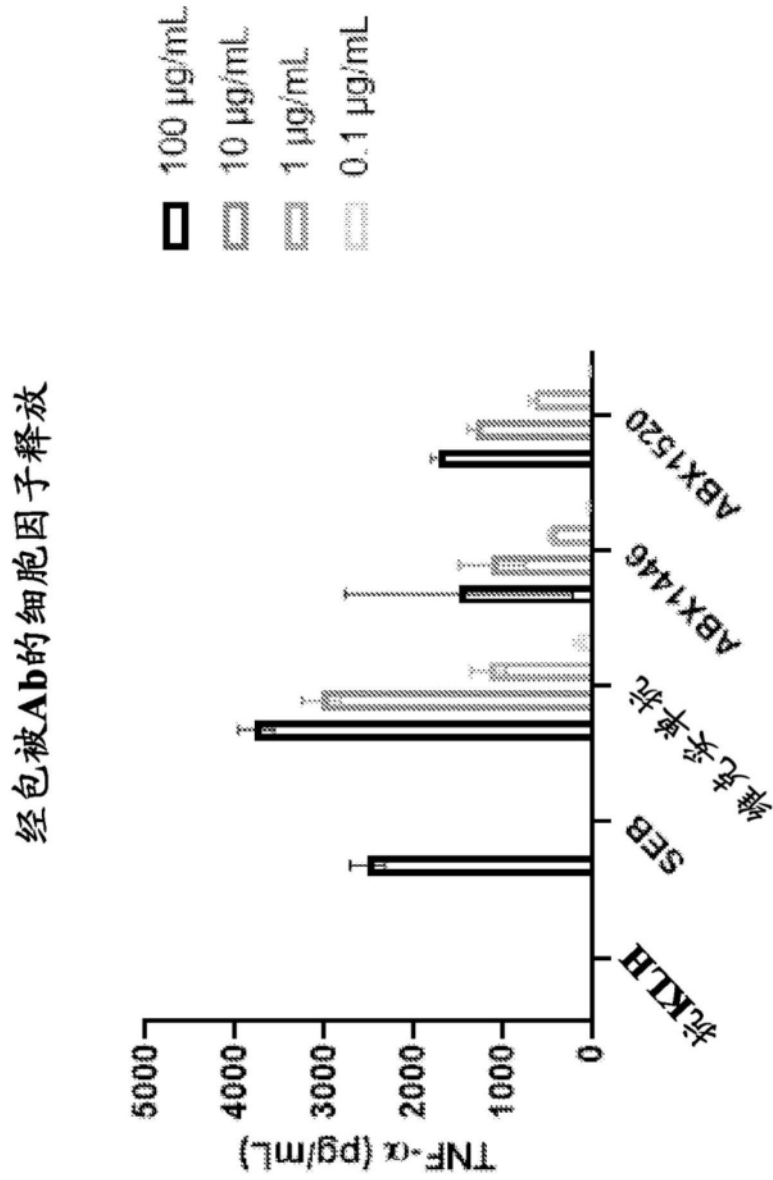


图18

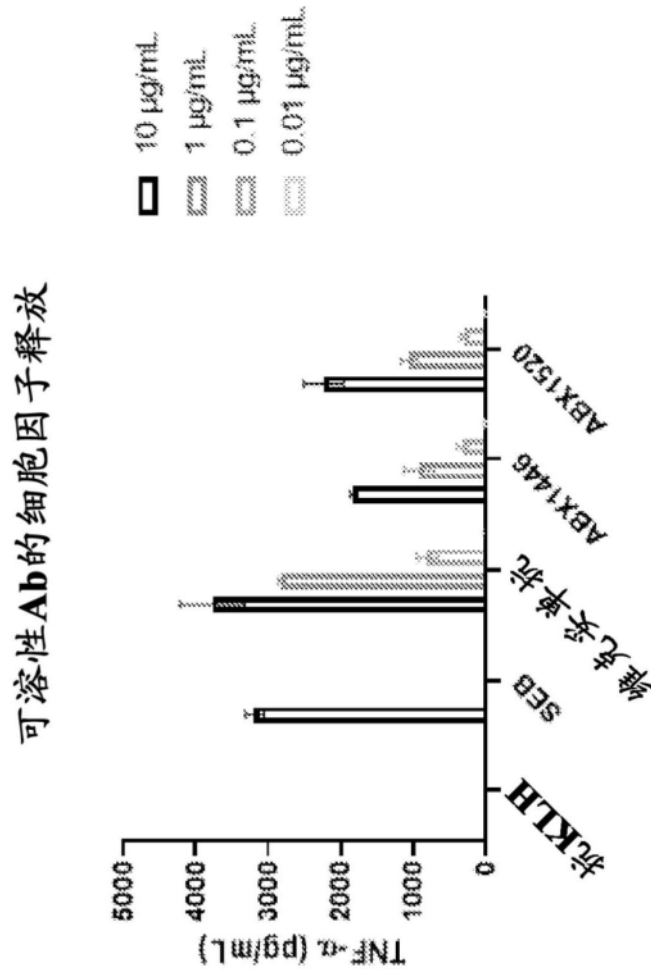


图19

经包被Ab的细胞因子释放

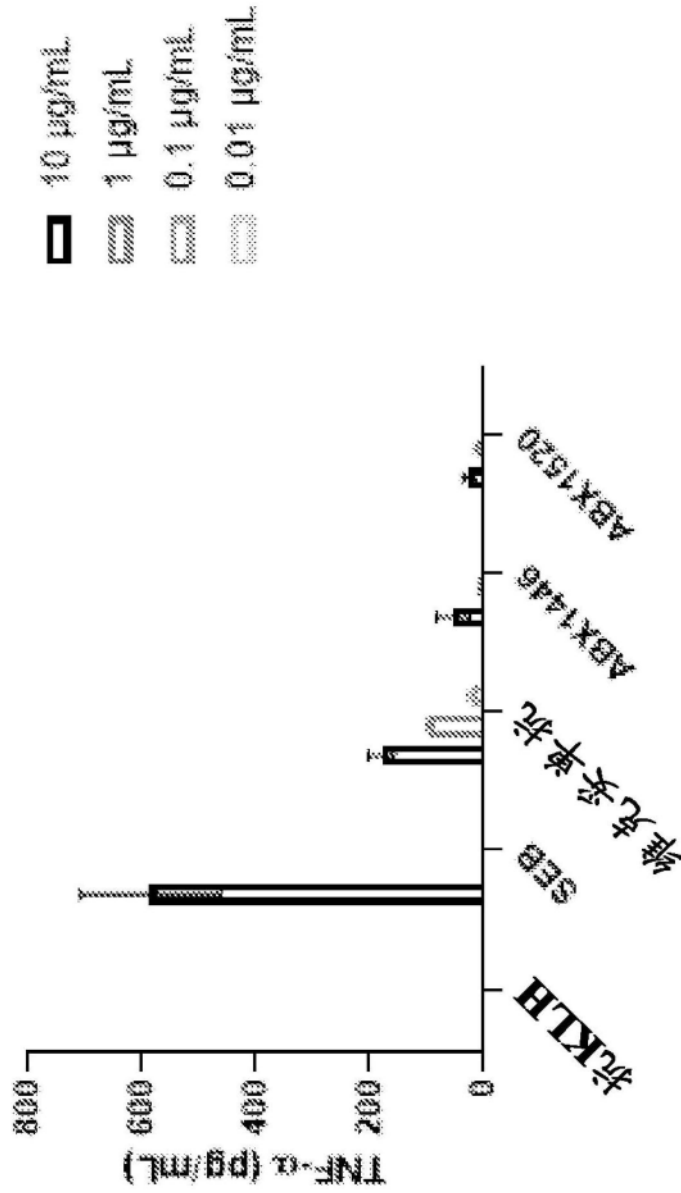


图20

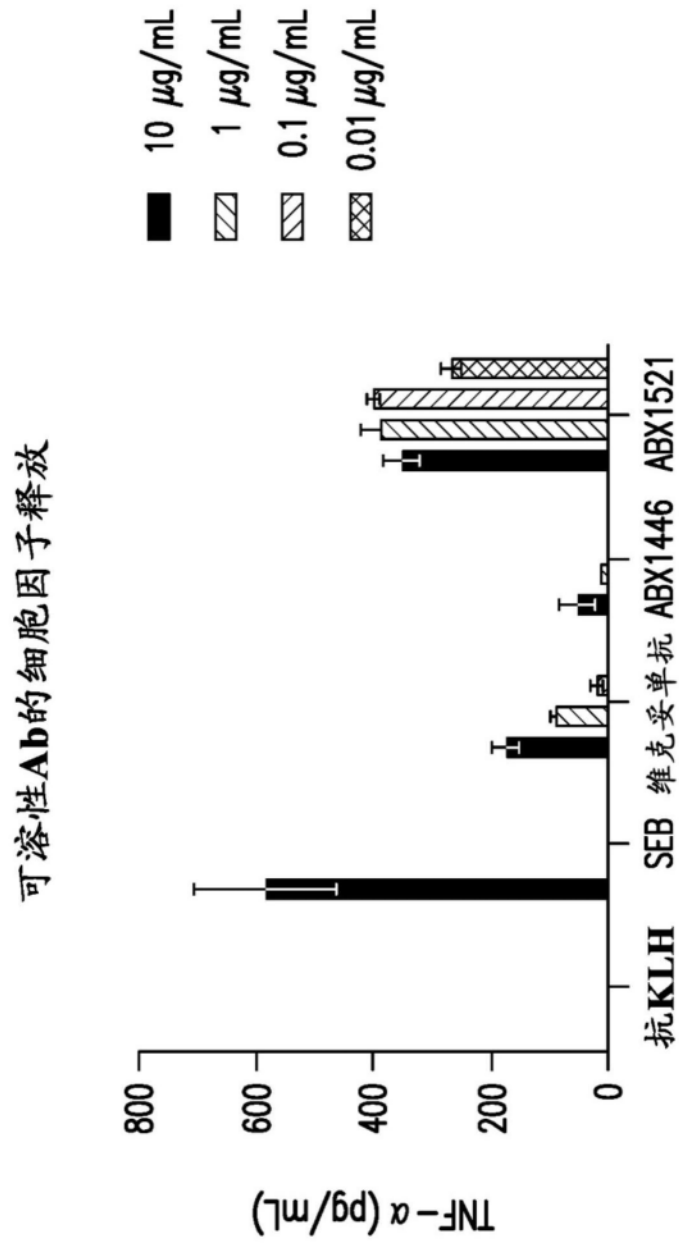


图21

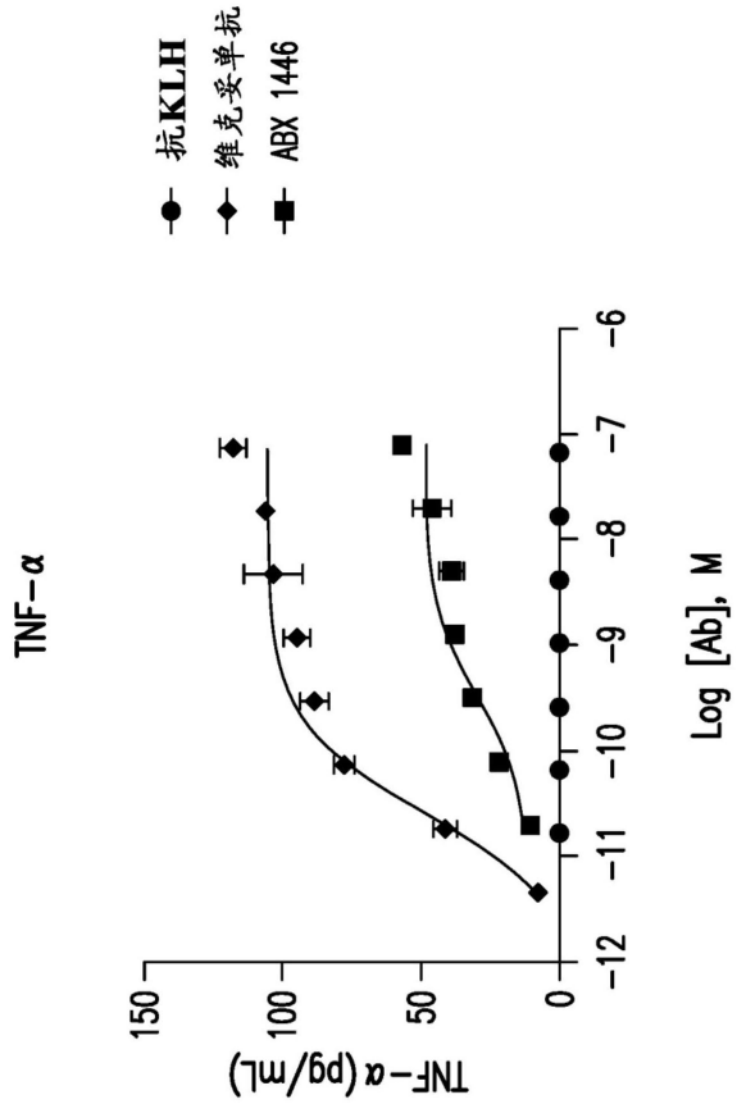


图22

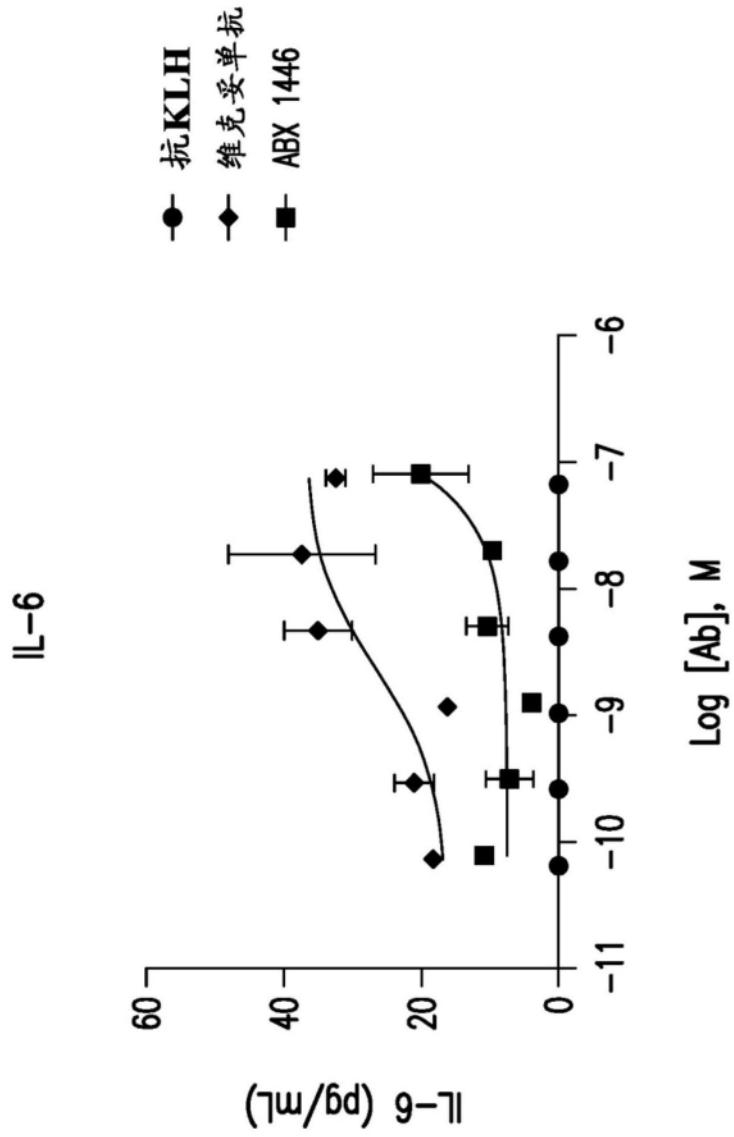


图23

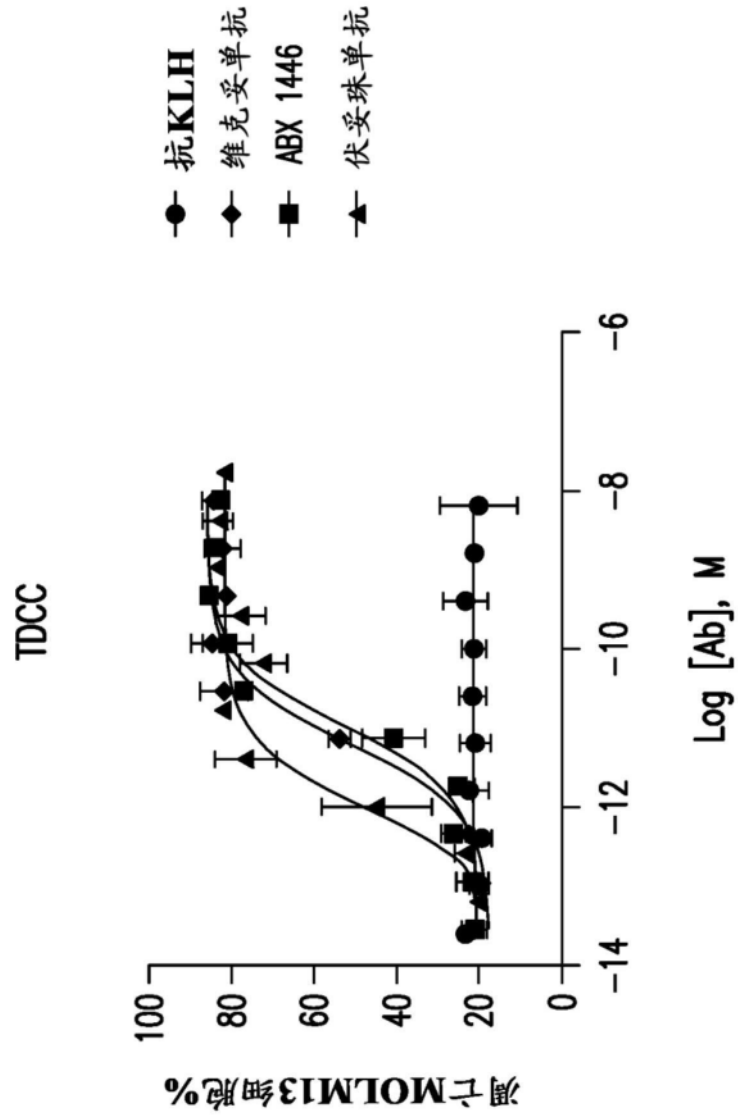


图24

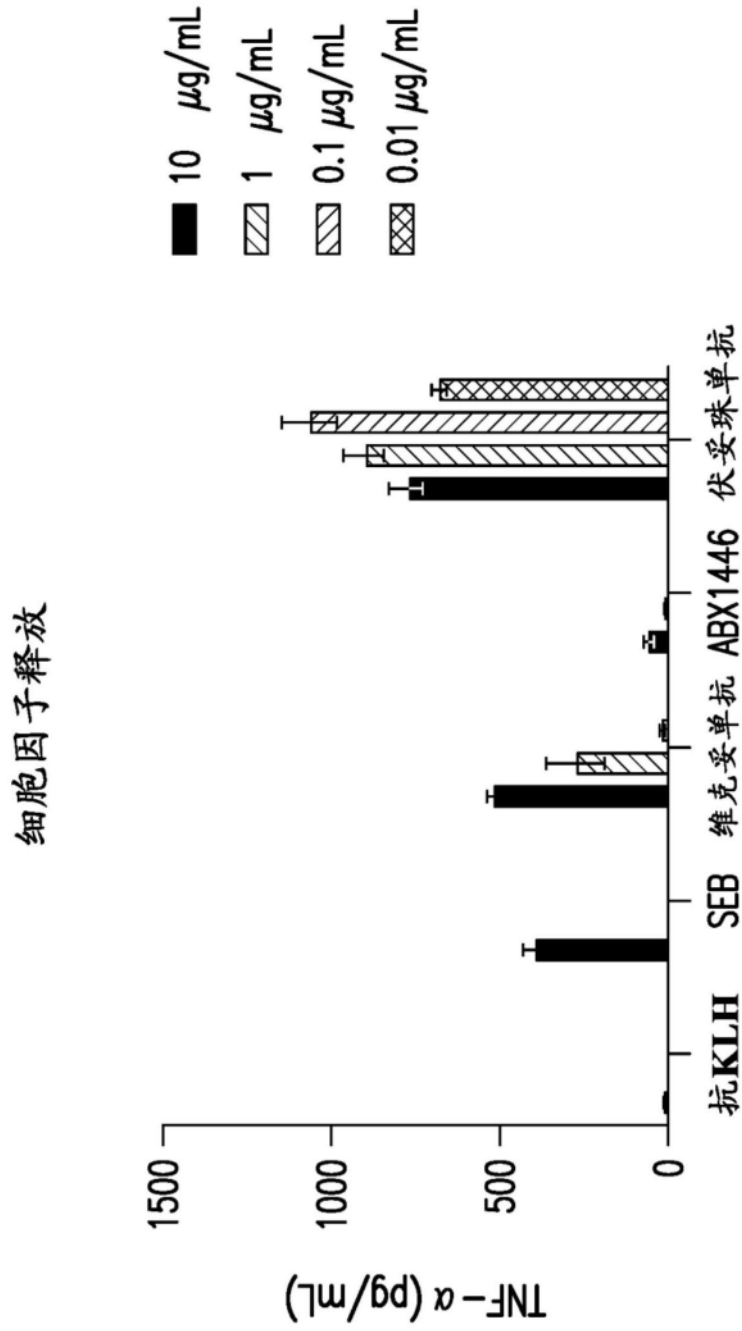


图25

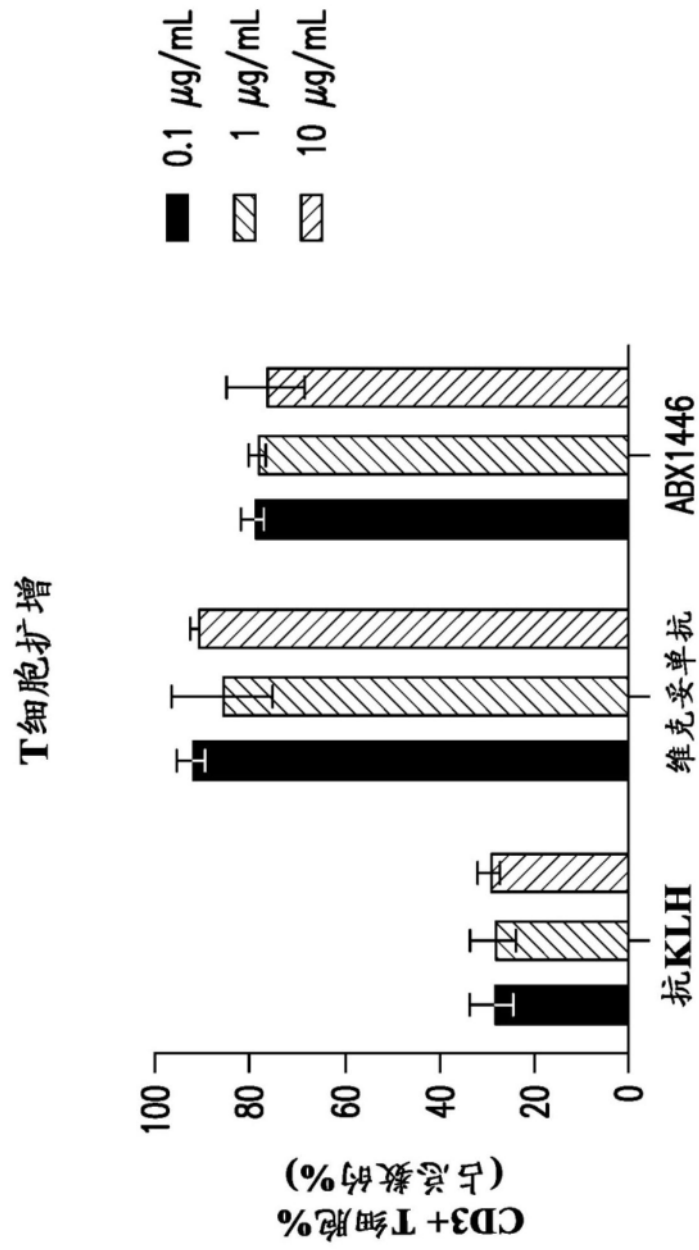


图26

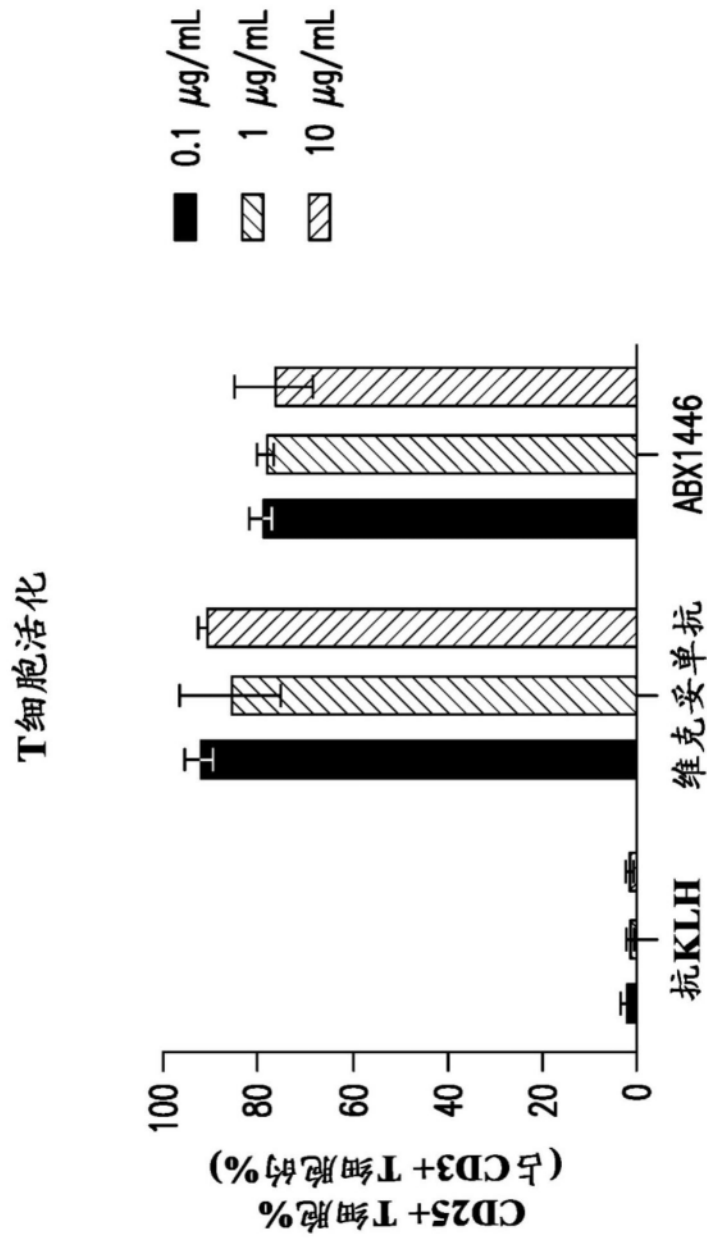


图27

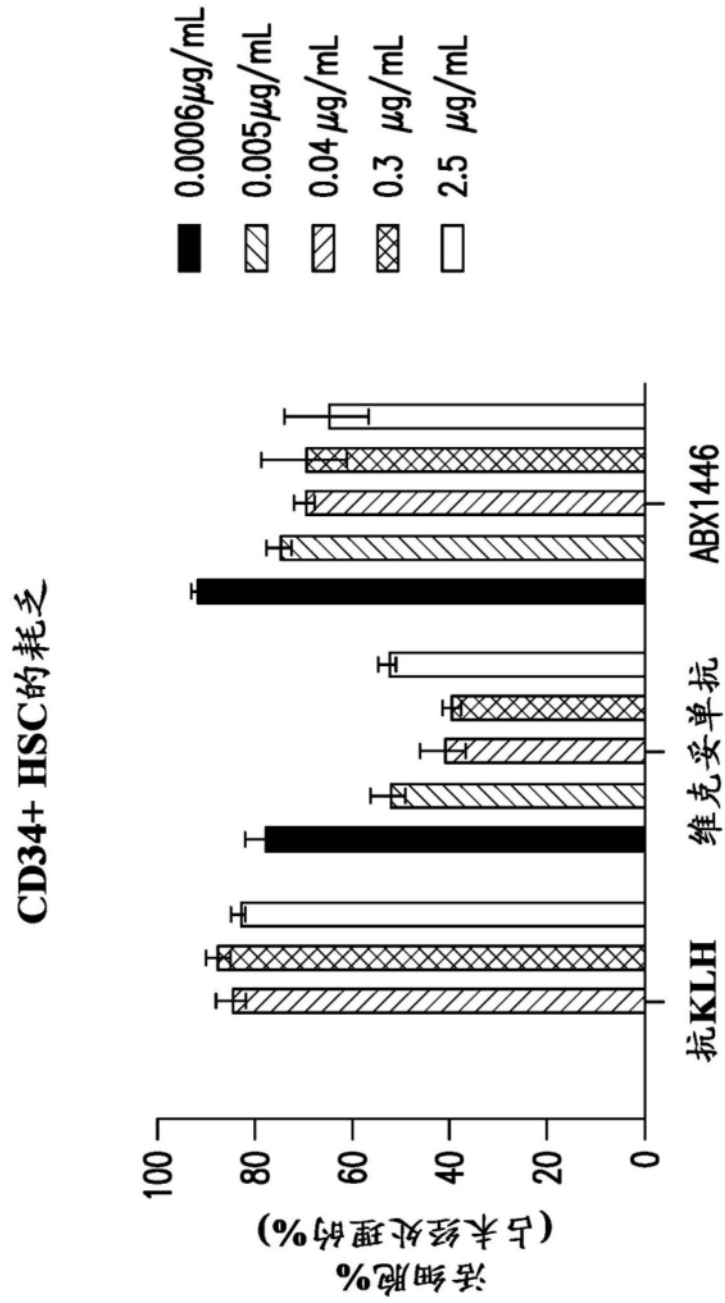


图28

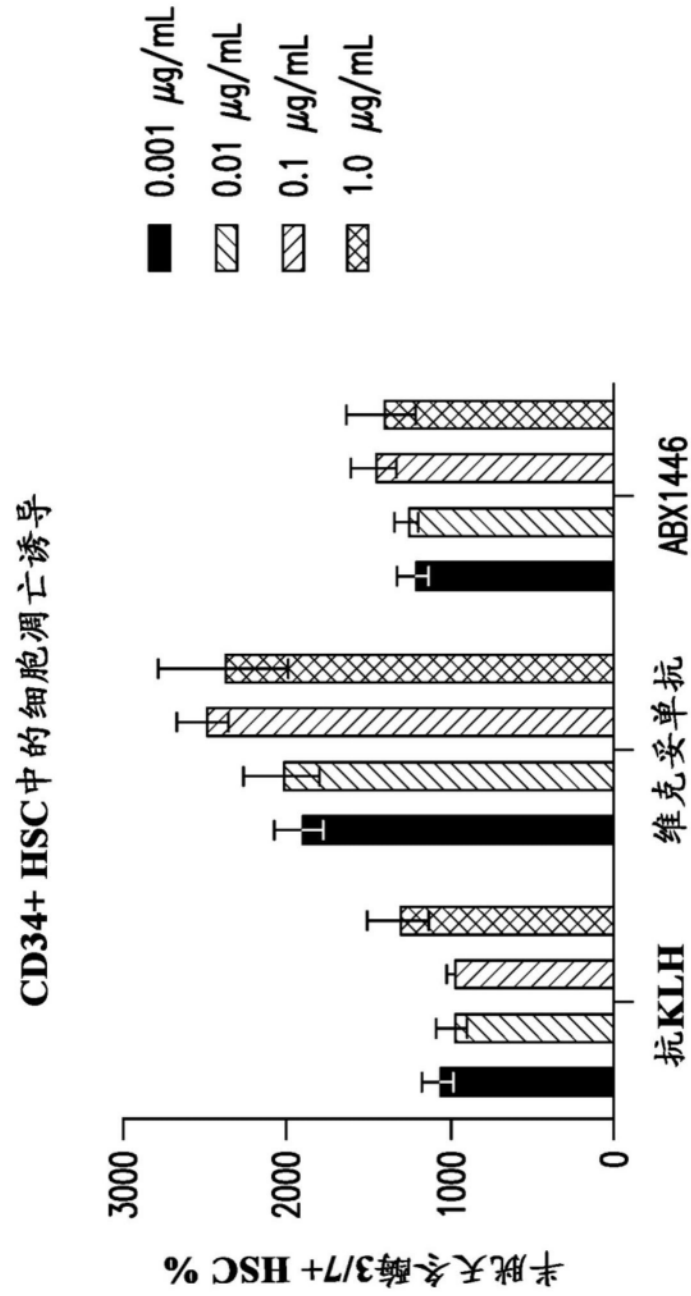


图29

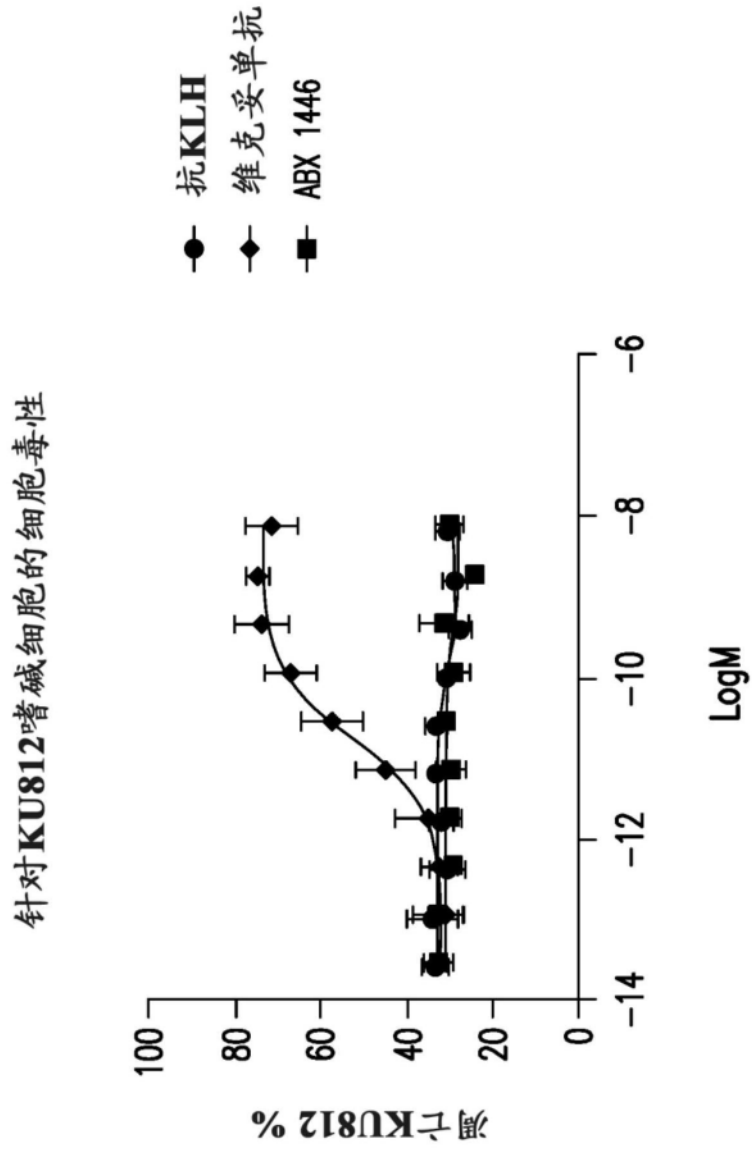


图30

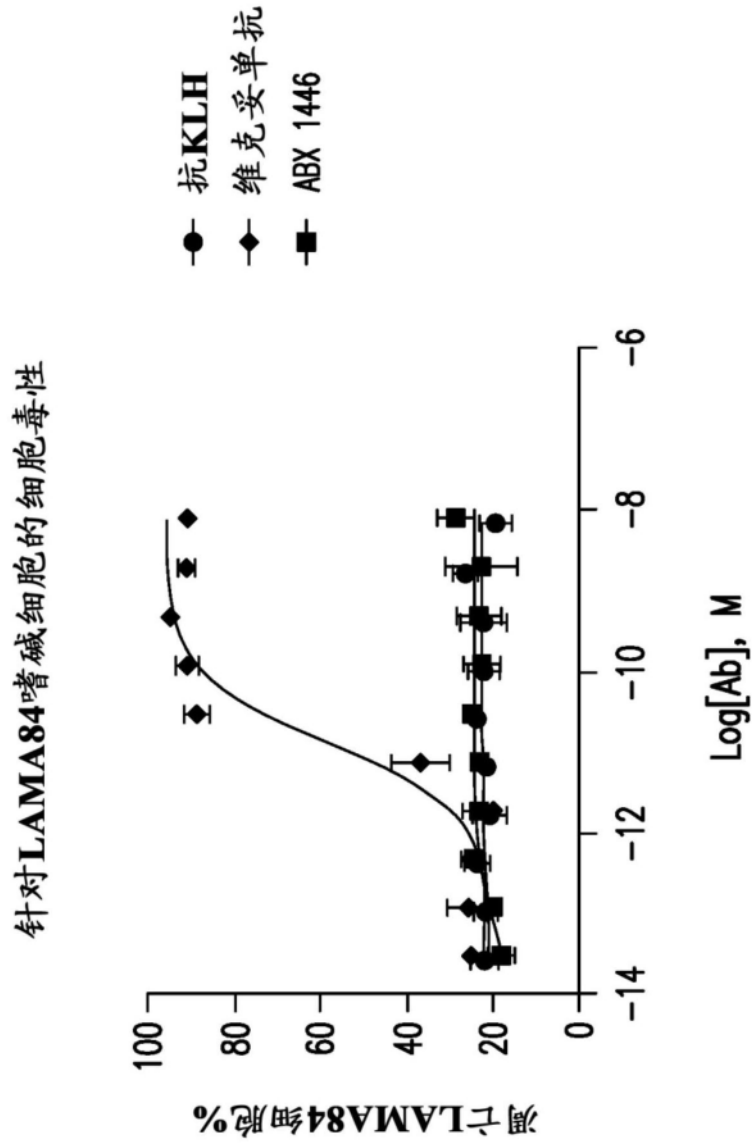


图31

经扩增T细胞的细胞毒性(TDCC)和多发性骨髓瘤细胞系

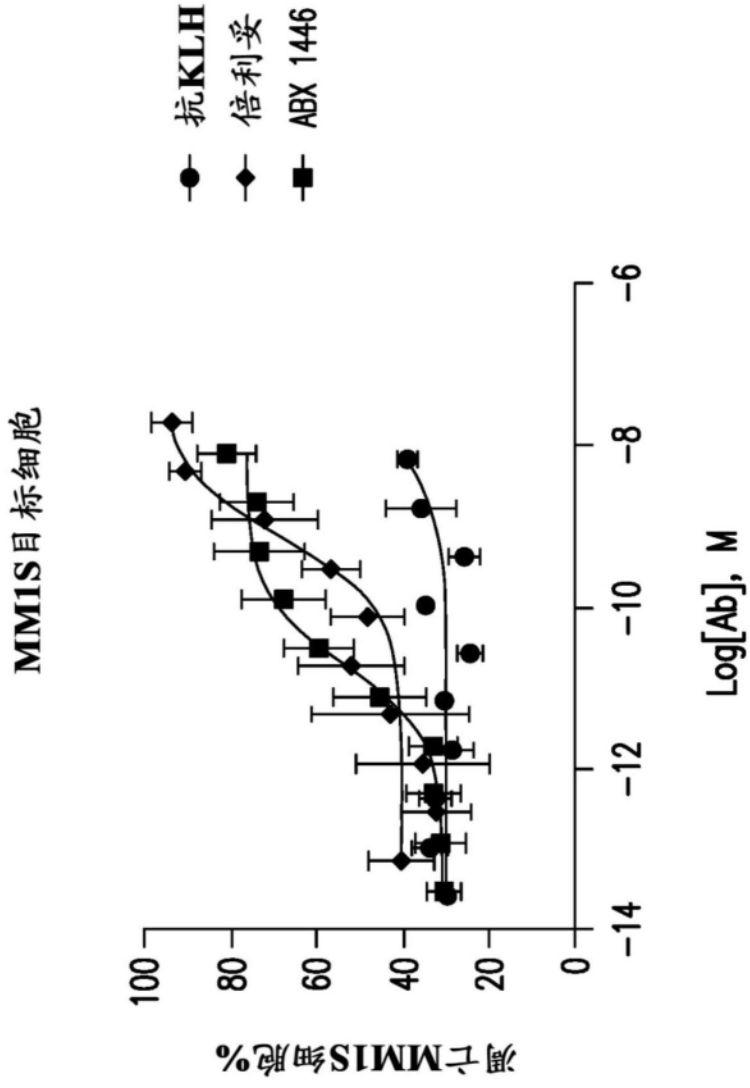


图32

经扩增T细胞的细胞毒性(TDCC)和多发性骨髓瘤细胞系

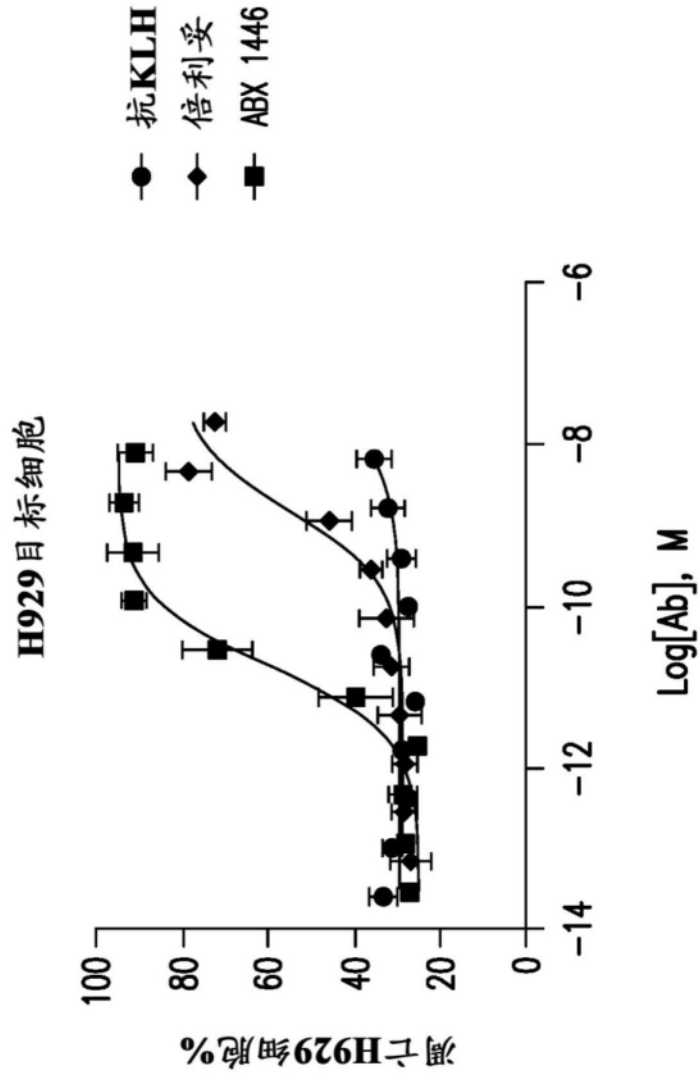


图33

经扩增T细胞的细胞毒性(TDCC)和多发性骨髓瘤细胞系

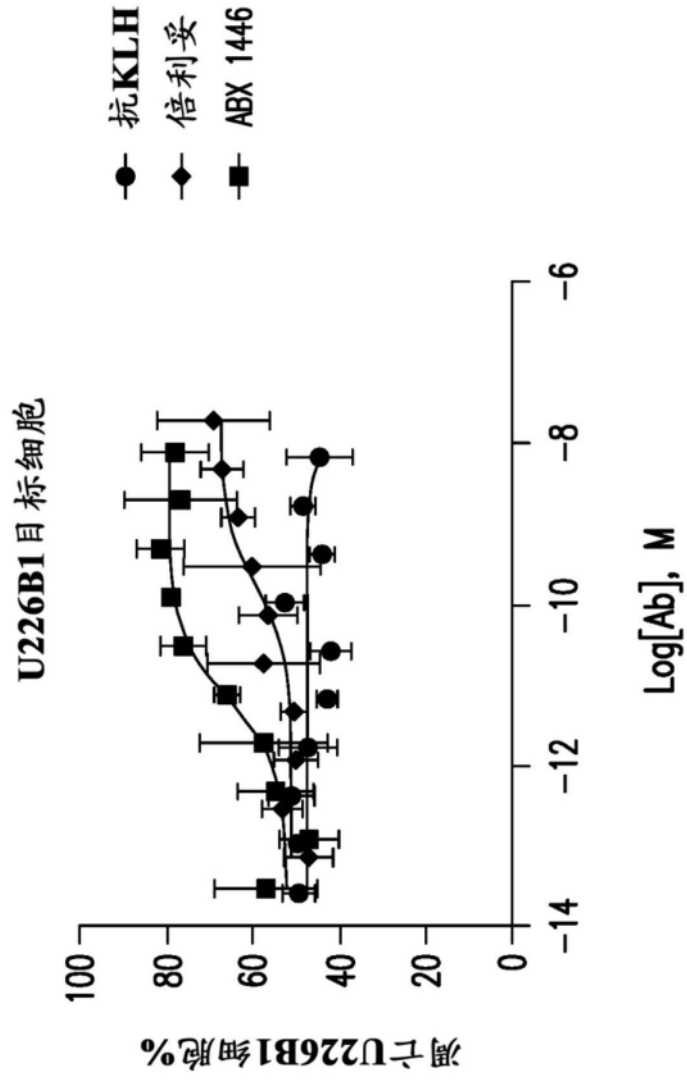


图34

小鼠AML模型中的处理方案和肿瘤负荷定量

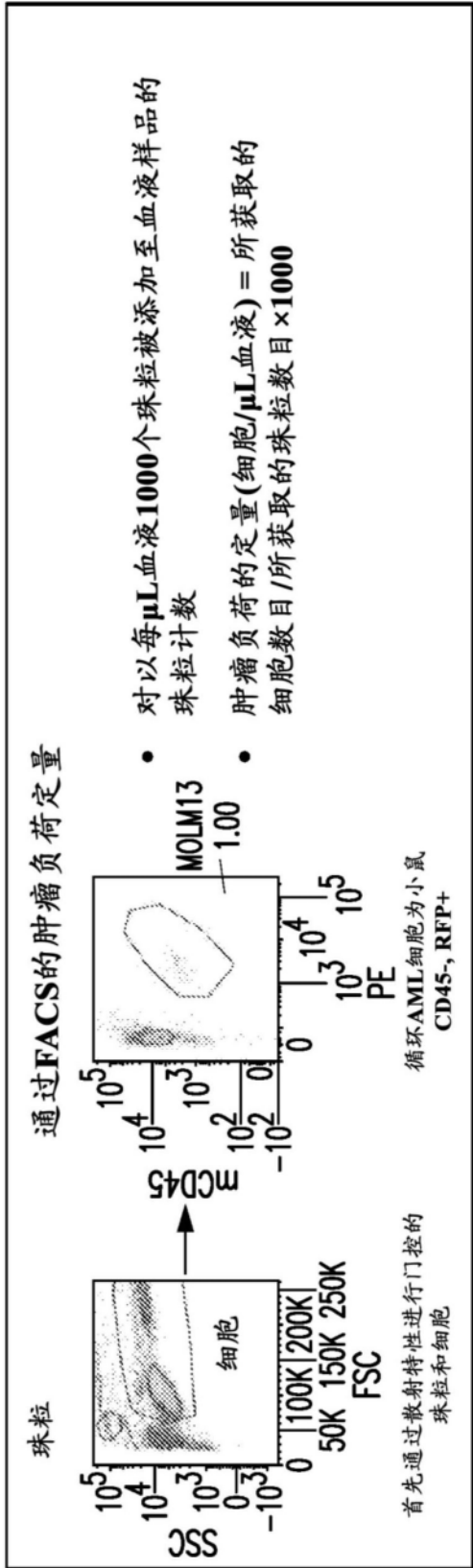
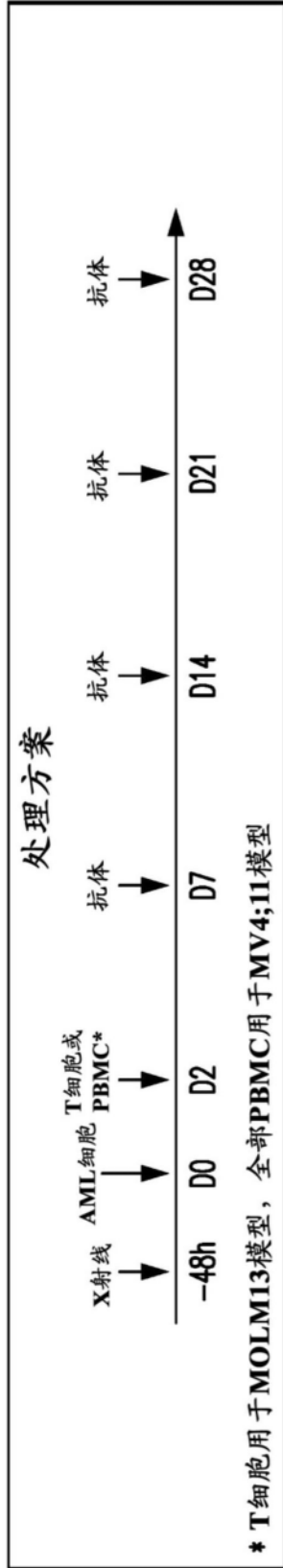


图35

维克妥单抗和ABX1446减少  
MOLM13小鼠模型中循环肿瘤细胞的数目

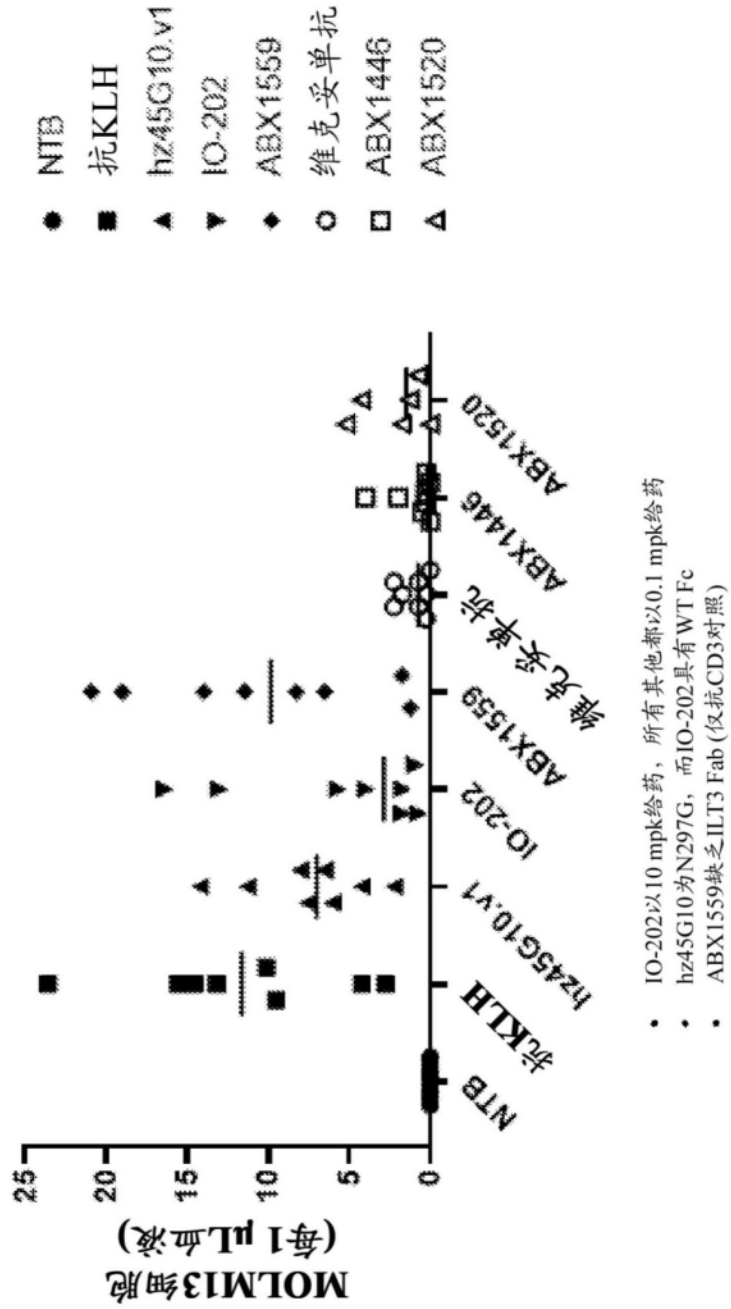


图36

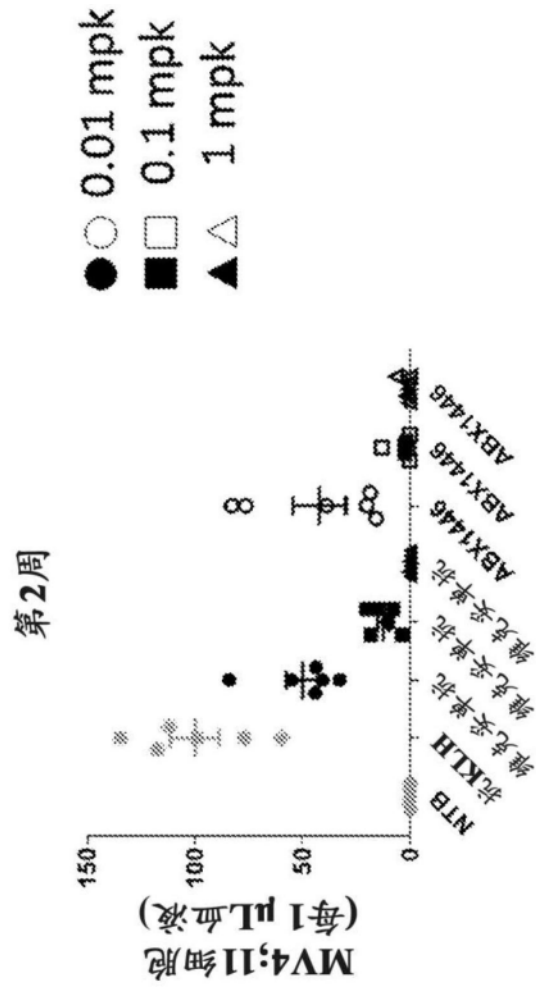


图37

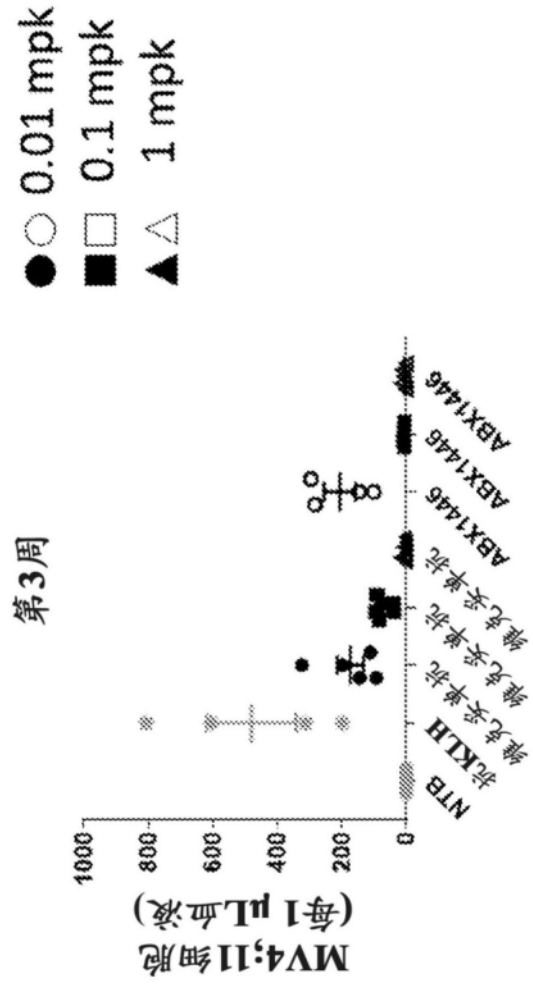


图38

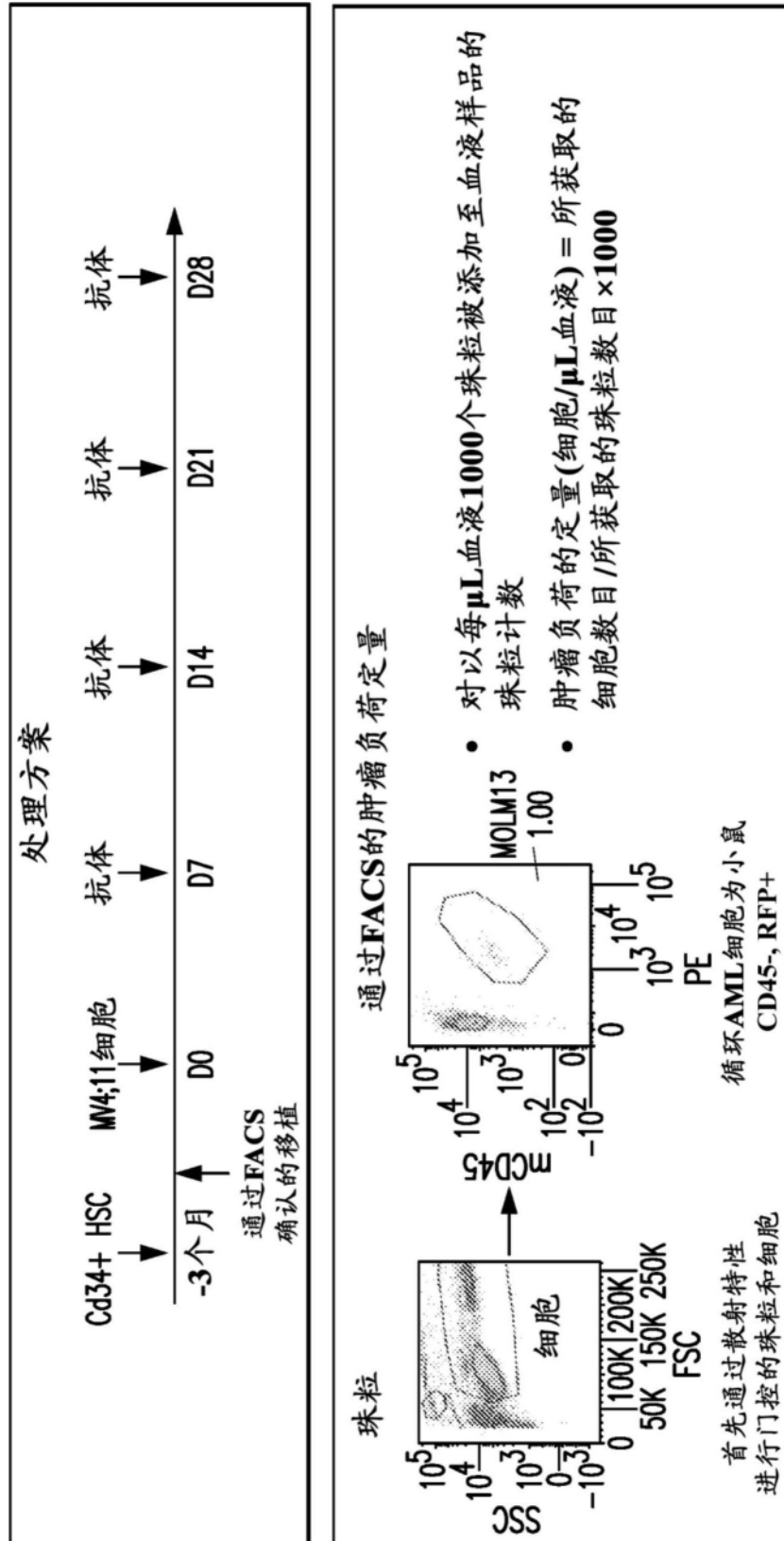
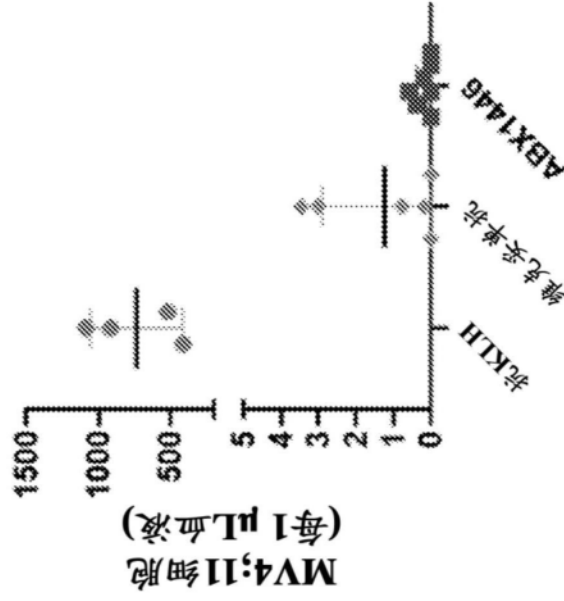


图39

ABX1446减少CD34+人源化小鼠中的  
循环肿瘤负荷



以1 mpk给与指定分子的动物

图40

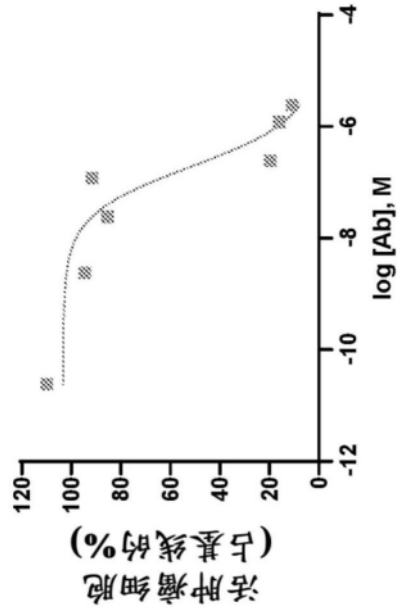


图41

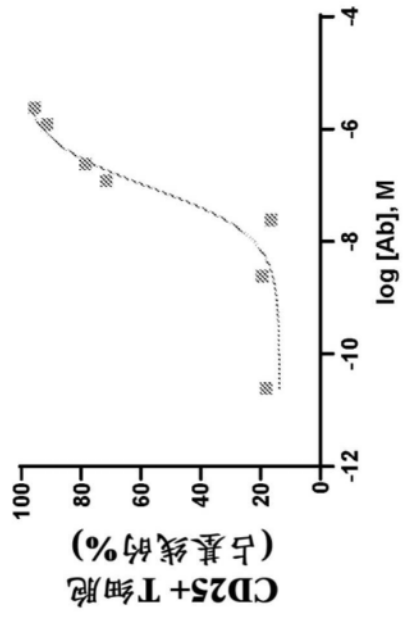


图42

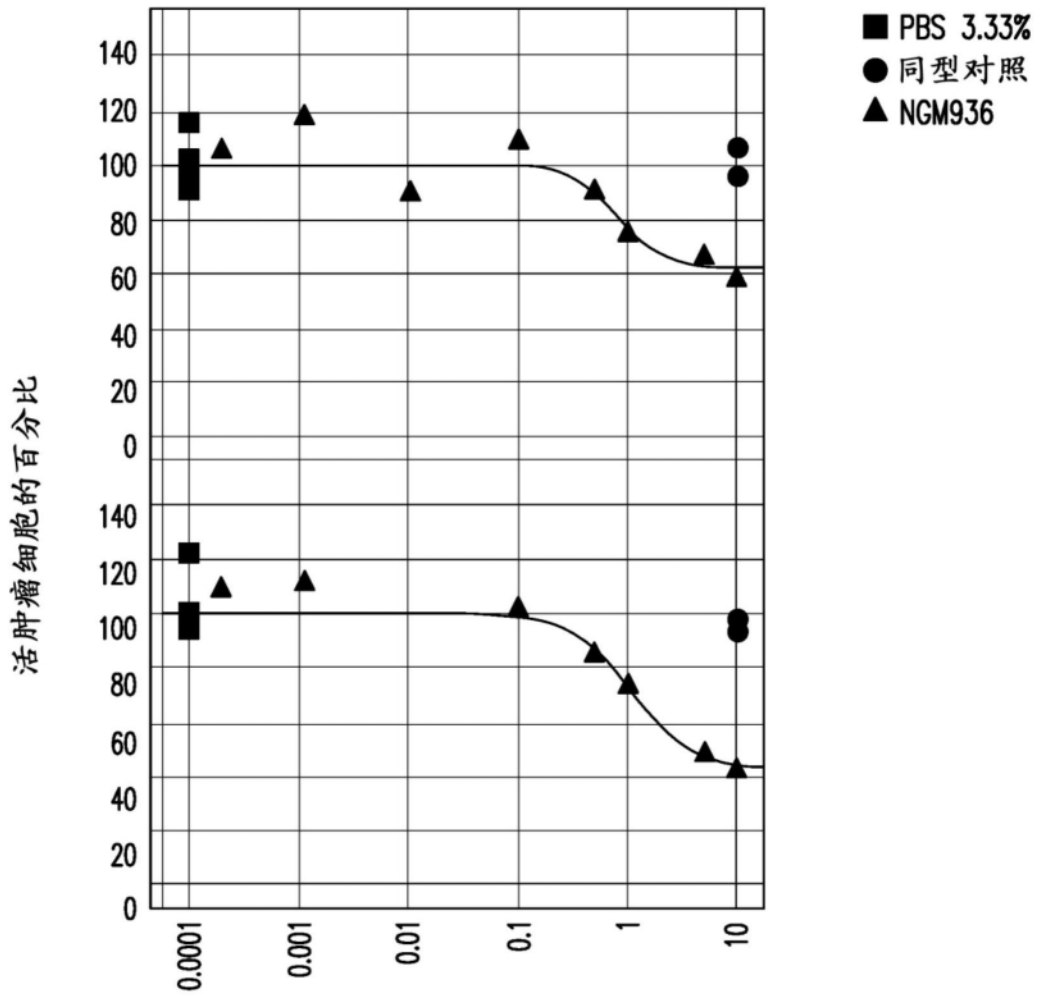


图43

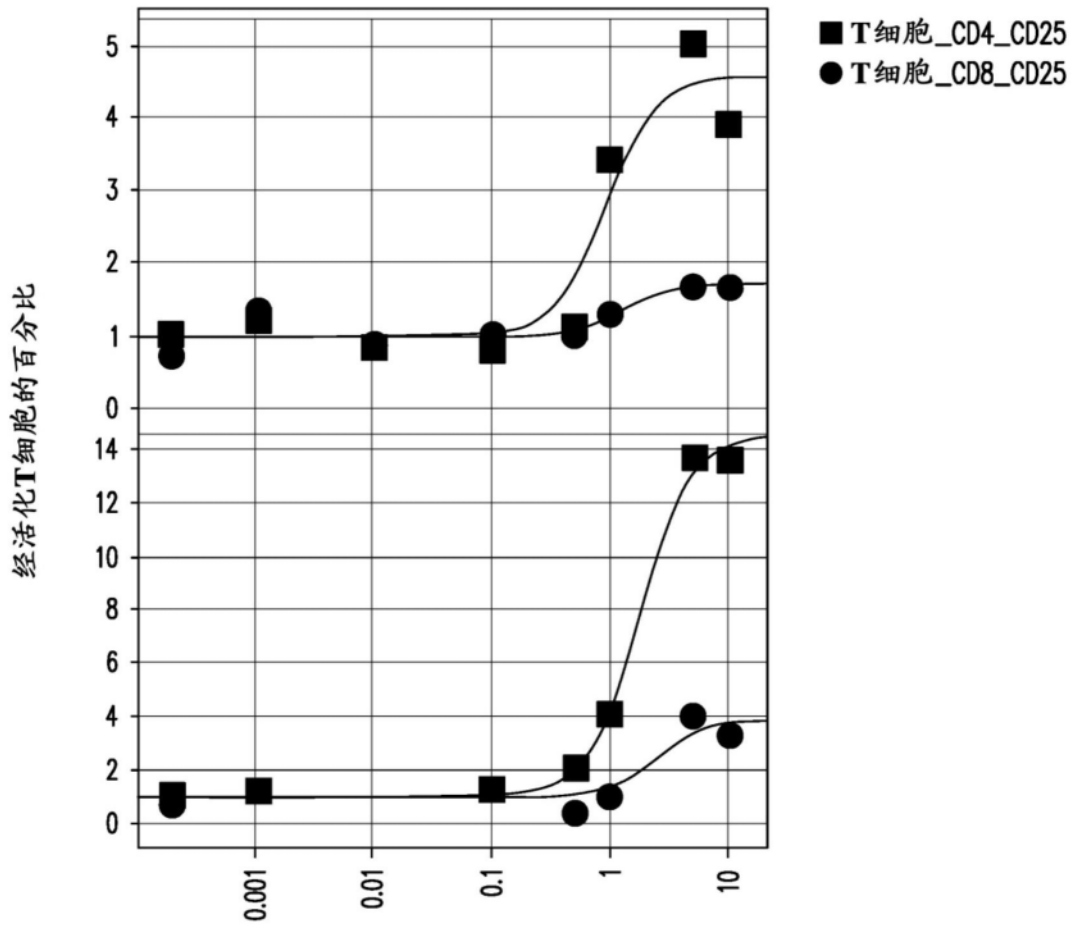


图44