(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 115261392 B
(45)授权公告日 2025.05.13

(21)申请号 202210505305.2
(22)申请日 2018.10.29
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 115261392 A
(43)申请公布日 2022.11.01
(30)优先权数据
62/578,111 2017.10.27 US
62/665,175 2018.05.01 US
62/736,317 2018.09.25 US
(62)分案原申请数据
201880068104.2 2018.10.29
(73)专利权人 纽约大学
地址 美国纽约
专利权人 普尔泰克健康有限公司
(72)发明人 肖海·科伊德 乔治·米勒
秋子·科伊德 陈林潇
亚历山德拉·菲利波维奇
埃里克·埃伦科 约瑟夫·伯伦
(74)专利代理机构 北京清亦华知识产权代理事务所(普通合伙) 11201
专利代理师 宋融冰
(51)Int.Cl.
C12N 15/13(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
C12N 15/70(2006.01)
C12N 15/85(2006.01)
C12N 1/21(2006.01)
C12N 5/10(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61K 45/06(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
C12R 1/19(2006.01)
(56)对比文件
CN 1473271 A,2004.02.04
CN 1744910 A,2006.03.08
审查员 李莎莎
权利要求书3页 说明书152页
序列表（电子公布） 附图38页

(54)发明名称

抗半乳凝素-9抗体及其用途

(57)摘要

本文公开了抗半乳凝素-9抗体及使用其抑制通过半乳凝素-9介导的信号转导途径或消除表达半乳凝素-9的病理细胞的方法。这样的抗半乳凝素-9抗体还可用于诊断和/或治疗与半乳凝素-9相关的疾病,例如自身免疫性疾病和实体瘤。

CN 115261392 B

1.分离的核酸分子或核酸分子集,所述分离的核酸分子或核酸分子集包含核酸序列,所述核酸序列编码抗体的重链可变(VH)区和轻链可变(VL)区,所述抗体与人半乳凝素-9结合,其中所述抗体包含:

(a)SEQ ID NO:361所示的重链互补决定区1(CDR1)、SEQ ID NO:388所示的重链互补决定区2(CDR2)和SEQ ID NO:406所示的重链互补决定区3(CDR3);和

(b)SEQ ID NO:328所示的轻链互补决定区1(CDR1)、SEQ ID NO:329所示的轻链互补决定区2(CDR2)和SEQ ID NO:352所示的轻链互补决定区3(CDR3)。

2.根据权利要求1所述的分离的核酸分子或核酸分子集,其中所述核酸序列编码SEQ ID NO:55所示的VH和SEQ ID NO:54所示的VL。

3.根据权利要求1或2所述的分离的核酸分子或核酸分子集,其中所述核酸序列编码全长抗体的重链(HC)和轻链(LC),其中所述HC包含所述VH,所述LC包含所述VL。

4.根据权利要求1或2所述的分离的核酸分子或核酸分子集,其中所述核酸序列编码单链抗体的VH区和VL区。

5.根据权利要求1或2所述的分离的核酸分子或核酸分子集,其中所述核酸序列编码人抗体的HC和LC。

6.根据权利要求1或2所述的分离的核酸分子或核酸分子集,其中所述核酸序列编码IgG分子的HC。

7.根据权利要求6所述的分离的核酸分子或核酸分子集,其中所述IgG分子是IgG1分子或IgG4分子。

8.根据权利要求7所述的分离的核酸分子或核酸分子集,其中所述IgG分子是IgG4分子,并且其中所述IgG4相对于SEQ ID NO:263具有S228P突变。

9.根据权利要求1或2所述的分离的核酸分子或核酸分子集,其中所述核酸序列进一步编码SEQ ID NO:422所示的HC恒定区和SEQ ID NO:418所示的LC恒定区。

10.根据权利要求9所述的分离的核酸分子或核酸分子集,其中所述核酸序列编码SEQ ID NO:316所示的HC和SEQ ID NO:108所示的LC。

11.一个或两个载体,所述一个或两个载体包含如权利要求1所述的分离的核酸分子或核酸分子集。

12.根据权利要求11所述的一个或两个载体,其中所述一个或两个载体是一个或两个表达载体。

13.根据权利要求11或12所述的一个或两个载体,其中所述分离的核酸分子或核酸分子集包含编码SEQ ID NO:55所示的VH和SEQ ID NO:54所示的VL的核酸序列。

14.根据权利要求13所述的一个或两个载体,其中所述分离的核酸分子或核酸分子集进一步包含编码SEQ ID NO:422所示的HC恒定区和SEQ ID NO:418所示的LC恒定区的核酸序列。

15.根据权利要求14所述的一个或两个载体,其中所述分离的核酸分子或核酸分子集编码如SEQ ID NO:316所示的重链和如SEQ ID NO:108所示的轻链。

16.宿主细胞,所述宿主细胞包含如权利要求11所述的一个或两个载体。

17.根据权利要求16所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞选自由大肠杆菌细胞、猿猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞和骨髓瘤细胞组成的组。

18.根据权利要求16或17所述的宿主细胞,其中所述一个或两个载体编码SEQ ID NO:55所示的VH和SEQ ID NO:54所示的VL。

19.根据权利要求18所示的宿主细胞,其中所述一个或两个载体进一步编码SEQ ID NO:422所示的HC恒定区和SEQ ID NO:418所示的LC恒定区。

20.根据权利要求19所示的宿主细胞,其中所述一个或两个载体编码如SEQ ID NO:316所示的重链和如SEQ ID NO:108所示的轻链。

21.一种产生与人半乳凝素-9结合的抗体的方法,所述方法包括:

(i)在允许所述抗体表达的条件下培养如权利要求16或17所述的宿主细胞;和

(ii)从细胞培养物中收获由此产生的所述抗体。

22.根据权利要求21所述的方法,其中所述抗体包含SEQ ID NO:55所示的VH和SEQ ID NO:54所示的VL。

23.根据权利要求22所述的方法,其中所述抗体进一步包含SEQ ID NO:422所示的HC恒定区和SEQ ID NO:418所示的LC恒定区。

24.根据权利要求23所述的方法,其中所述抗体包含如SEQ ID NO:316所示的重链和如SEQ ID NO:108所示的轻链。

25.与人半乳凝素-9结合的抗体在制备用于治疗受试者中恶性血液病的药物中的用途,其中所述与人半乳凝素-9结合的抗体包含与人半乳凝素-9结合的抗体的重链可变(VH)区和轻链可变(VL)区,其中所述抗体包含:

(a)SEQ ID NO:361所示的重链互补决定区1(CDR1)、SEQ ID NO:388所示的重链互补决定区2(CDR2)和SEQ ID NO:406所示的重链互补决定区3(CDR3);和

(b)SEQ ID NO:328所示的轻链互补决定区1(CDR1)、SEQ ID NO:329所示的轻链互补决定区2(CDR2)和SEQ ID NO:352所示的轻链互补决定区3(CDR3),

其中所述恶性血液病是急性骨髓性白血病。

26.根据权利要求25所述的用途,其中所述抗体包含SEQ ID NO:55所示的VH和SEQ ID NO:54所示的VL。

27.根据权利要求25所述的用途,其中所述抗体是IgG1分子或IgG4分子。

28.根据权利要求27所述的用途,其中所述抗体进一步包含SEQ ID NO:422所示的HC恒定区和SEQ ID NO:418所示的LC恒定区。

29.根据权利要求28所述的用途,其中所述抗体包含SEQ ID NO:316所示的重链和SEQ ID NO:108所示的轻链。

30.根据权利要求25至29中任一项所述的用途,其中所述抗体用于与检查点分子的抑制剂或化学治疗剂共使用,其中所述检查点分子为PD-1或PD-L1,或者其中所述化学治疗剂选自由长春碱、长春新碱、埃博霉素、替尼泊苷、阿糖胞苷和甲氨蝶呤组成的组。

31.根据权利要求30所述的用途,其中所述抗体用于与所述检查点分子的所述抑制剂共使用,并且其中所述抑制剂是抗PD1抗体或抗PD-L1抗体。

32.与人半乳凝素-9结合的抗体在制备用于治疗受试者中实体瘤的药物中的用途,其中所述与人半乳凝素-9结合的抗体包含与人半乳凝素-9结合的抗体的重链可变(VH)区和轻链可变(VL)区,其中所述抗体包含:

(a)SEQ ID NO:361所示的重链互补决定区1(CDR1)、SEQ ID NO:388所示的重链互补决

定区2(CDR2)和SEQ ID NO:406所示的重链互补决定区3(CDR3);和

(b)SEQ ID NO:328所示的轻链互补决定区1(CDR1)、SEQ ID NO:329所示的轻链互补决定区2(CDR2)和SEQ ID NO:352所示的轻链互补决定区3(CDR3),

其中所述实体瘤是胰腺癌、结直肠癌、黑色素瘤、胆管癌或胆囊癌。

33.根据权利要求32所述的用途,其中所述抗体包含SEQ ID NO:55所示的VH和SEQ ID NO:54所示的VL。

34.根据权利要求32所述的用途,其中所述抗体是IgG1分子或IgG4分子。

35.根据权利要求33所述的用途,其中所述抗体进一步包含SEQ ID NO:422所示的HC恒定区和SEQ ID NO:418所示的LC恒定区。

36.根据权利要求35所述的用途,其中所述抗体包含SEQ ID NO:316所示的重链和SEQ ID NO:108所示的轻链。

37.根据权利要求32至36中任一项所述的用途,其中所述抗体用于与检查点分子的抑制剂或化学治疗剂共使用;其中所述检查点分子选自由PD-1、PD-L1、PD-L2和CTLA-4组成的组,或者其中所述化学治疗剂是吉西他滨、紫杉醇或其组合。

38.根据权利要求37所述的用途,其中所述抗体用于与PD-1抑制剂共使用,所述PD-1抑制剂是抗PD1抗体或抗PD-L1抗体。

抗半乳凝素-9抗体及其用途

背景技术

[0001] 在过去的几年中,免疫检查点阻断作为癌症治疗已显示出前所未有的成功。通常使用抗体来阻断免疫抑制途径,例如细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(CTLA-4)和程序性死亡1(PD-1)途径。虽然靶向这两种途径的疗法在治疗多种癌症类型中已显示出成功,但抗CTLA-4和抗PD-1疗法在接受治疗的患者中的响应率根据癌症类型为10％至60％,并且尚未显示出超过60％的响应率的能力,即使组合使用也是如此(Kyvistborg等人,Enhancing responses to cancer immunotherapy;Science.2018Feb 2;359(6375):516-517)。另外,大量癌症类型对于这些疗法是难治性的。作为改善临床中现有免疫疗法的努力的一部分,该领域已开始关注异常(abnormality)在干扰素信号转导和替代检查点上调中的作用,这是限制当前疗法的潜在原因。一种这样的潜在的替代检查点是T细胞免疫球蛋白粘蛋白3(Tim-3)/半乳凝素-9(例如,综述见于Yang和Hung;The role of T-cell immunoglobulin mucin-3and its ligand galectin-9in antitumor immunity and cancer immunotherapy;Cancer biology and cancer treatment;Oct 2017,第60卷,第10期:1058-1064,及其中的参考文献)。

[0002] 半乳凝素-9(Galectin-9)是由两个碳水化合物识别结构域(carbohydrate recognition domain,CRD)组成的串联重复凝集素,并于1997年首次在患有霍奇金淋巴瘤(HL)的患者中发现和描述(Tureci等人,J.Biol.Chem.1997,272,6416-6422)。存在三种同种型,并且可位于细胞内或细胞外。已在多种癌症中观察到升高的半乳凝素-9水平,包括黑色素瘤、霍奇金淋巴瘤、肝细胞癌、胰腺癌、胃癌、结肠癌和透明细胞肾细胞癌(Wdowiak等人.Int.J.Mol.Sci.2018,19,210)。在肾癌中,具有高半乳凝素-9表达的患者表现出更晚期的疾病进展,具有更大的肿瘤尺寸和坏死(Kawashima等人;BJU Int.2014;113:320-332)。在黑色素瘤(由于其侵袭性转移和对治疗的抗性而被认为是最致命的癌症之一)中,半乳凝素-9在57％的肿瘤中表达,并且与健康对照相比,在晚期黑色素瘤患者的血浆中显著增加(Enninga等人,Melanoma Res.2016Oct;26(5):429-441)。多项研究显示了Gal-9作为预后标志物并且最近作为潜在的新药物靶标的实用性(Enninga等人,2016;Kawashima等人.BJU Int 2014;113:320-332;Kageshita等人,Int J Cancer.2002Jun 20;99(6):809-16,以及其中的参考文献)。已经描述了半乳凝素-9在许多细胞过程如粘附、癌细胞聚集、细胞凋亡和趋化性中起重要作用。最近的研究显示了半乳凝素-9在支持肿瘤的免疫调节中起作用,例如通过对Th1型应答、Th2极化和巨噬细胞向M2表型的极化的负调节。这项工作还包括,研究已表明半乳凝素-9通过与T细胞免疫球蛋白和粘蛋白3(TIM-3)受体的相互作用而参与T细胞的直接失活(Dardalhon等人,J Immunol.,2010,185,1383-1392;Sanchez-Fueyo等人,Nat Immunol.,2003,4,1093-1101)。还已发现半乳凝素-9在极化T细胞分化为肿瘤抑制表型,以及促进致耐受性巨噬细胞编程和适应性免疫抑制中方面发挥作用(Daley等人,Nat Med.,2017,23,556-567)。在胰腺导管腺癌(PDA)的小鼠模型中,已经证明,阻断半乳凝素-9与存在于肿瘤微环境(TME)中的先天免疫细胞上的受体Dectin-1之间的检查点相互作用提高了TME中的抗肿瘤免疫应答并且减缓肿瘤进展(Daley等人,Nat Med.,2017,23,556-

567)。还已发现半乳凝素-9与M2型巨噬细胞的表面标志物CD206结合,导致CVL22(MDC)的分泌减少,CVL22是与肺癌的更长生存期和更低的复发风险相关的巨噬细胞来源的趋化因子(Enninga等人,JPathol.2018Aug;245(4):468-477)。

[0003] 因此,单独地或与现有疗法组合来调节半乳凝素-9和/或其一种或多种其受体的活性可提供新癌症治疗方法。本文描述了与人半乳凝素-9结合的新人抗体及其在癌症治疗中的治疗用途。

发明内容

[0004] 本公开内容至少部分地基于有效抑制由半乳凝素-9引起的信号转导的抗半乳凝素-9抗体的开发。这样的抗体能够抑制半乳凝素-9信号转导和/或消除半乳凝素-9阳性病理细胞,从而有益于与半乳凝素-9相关的疾病的治疗。

[0005] 因此,本公开内容的一个方面提供了分离的抗半乳凝素-9抗体,其与半乳凝素-9多肽例如人半乳凝素-9多肽的碳水化合物识别结构域(CRD)中的表位结合。在一些实施例中,本文所述的抗半乳凝素-9抗体可与人半乳凝素-9多肽和非人半乳凝素-9多肽(例如,小鼠半乳凝素-9、大鼠半乳凝素-9或灵长类动物半乳凝素-9)二者结合。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体仅与一个半乳凝素-9CRD结合。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体与两个半乳凝素-9CRD结合,例如以类似的或不同的亲和力。在一些实施例中,本文公开的抗半乳凝素-9抗体结合CRD1区内的表位。在一些实施例中,本文公开的抗半乳凝素-9抗体结合CRD1区内的表位,所述CRD1区可以具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列。在一些实施例中,本文公开的抗半乳凝素-9抗体结合具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的CRD1区内的表位。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体与选自由以下所组成的组的参考抗体结合相同的表位:G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13、G9.1-8m14、G9.1-9、G9.1-10和G9.1-11抗体,和/或与参考抗体竞争与CRD1区的结合。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体与抗体G9.1-8或抗体G9.1-8m13结合相同的表位和/或与抗体G9.1-8或抗体G9.1-8m13竞争与CRD1区的结合。

[0006] 在一些实施例中,本文公开的抗半乳凝素-9抗体是选自由以下以下所组成的组的抗体:G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13、G9.1-8m14、G9.1-9、G9.1-10和G9.1-11抗体。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是G9.1-8抗体。在一些实施例中,抗体是G9.1-8m13抗体。在一些实例中,抗半乳凝素-9抗体可包含与参考抗体例如本文提供的任何参考抗体相同的重链互补决定区(CDR)和相同的轻链CDR。在一个具体实例中,抗半乳凝素-9抗体包含与参考抗体例如上文或本文其它地方提供的任何参考抗体相同的重链可变区和相同的轻链可变区。

[0007] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:21或基本上由SEQ ID NO:21组成或由SEQ ID NO:21组成的V_L序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:86或基本上由SEQ ID NO:86组成或由SEQ ID NO:86组成的V_H序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:21的V_L序列和包含SEQ ID NO:86的V_H序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有基本上由SEQ ID NO:21组成的V_L序列和基本上由

SEQ ID NO:86组成的V_H序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有由SEQ ID NO:21组成的V_L序列和由SEQ ID NO:86组成的V_H序列。

[0008] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:22或基本上由SEQ ID NO:22组成或由SEQ ID NO:22组成的V_H序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:21的V_L序列和包含SEQ ID NO:22的V_H序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有基本上由SEQ ID NO:21组成的V_L序列和基本上由SEQ ID NO:22组成的V_H序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有由SEQ ID NO:21组成的V_L序列和由SEQ ID NO:22组成的V_H序列。

[0009] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:328、329和337中所示的一个或多个序列的V_L序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:361、364、374、366和383中所示的一个或多个序列的V_H序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:328、329和337中所示的一个或多个序列的V_L序列,和包含SEQ ID NO:361、364和374中所示的一个或多个序列的V_H序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:328、329和337中所示的一个或多个序列的V_L序列,和包含SEQ ID NO:361、366和383中所示的一个或多个序列的V_H序列。

[0010] 在一些实施例中,本文公开的抗半乳凝素-9抗体结合半乳凝素-9CRD2区内的表位。在一些实施例中,本文公开的抗半乳凝素-9抗体结合半乳凝素-9CRD2区内的表位,所述CRD2区可以具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列。在一些实施例中,本文公开的抗半乳凝素-9抗体结合具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CRD2区内的表位。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体结合半乳凝素-9CRD2区内的表位,所述表位包含对应于SEQ ID NO:1的残基W309的色氨酸残基。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体结合半乳凝素-9CRD2区内的表位,所述表位不包含对应于SEQ ID NO:1的R253、R271、Y330、R334、R341和Y236的一个或多个残基。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体可结合半乳凝素-9CRD2区内的表位,所述表位包含对应于SEQ ID NO:1的残基W309的色氨酸残基,并且另外不包含对应于SEQ IDNO:1的R253、R271、Y330、R334、R341和Y236的一个或多个残基。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体与选自由以下所组成的组的参考抗体结合相同的表位:G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂抗体,和/或与所述参考抗体竞争与CRD2区的结合。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体与抗体G9.2-17或抗体G9.2-17mut6结合相同的表位,和/或与抗体G9.2-17或抗体G92-17mut6竞争与CRD2区的结合。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是选自由以下所组成的组的抗体:G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25和G9.2-26抗体。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是G9.2-17抗体或G9.2-17mut6抗体。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:54或基本上由SEQ ID NO:54组成或由SEQ ID NO:54组成的V_L序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:55或基本上由SEQ ID NO:55组成或由SEQ ID NO:55组成的V_H序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:54的V_L序列和包含SEQ ID

NO:55的V_H序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有基本上由SEQ ID NO:54组成的V_L序列和基本上由SEQ ID NO:55组成的V_H序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有由SEQ ID NO:54组成的V_L序列和由SEQ IDNO:55组成的V_H序列。在一些实施例中,抗体具有包含SEQ ID NO:56的V_H序列。在一些实施例中,抗体具有基本上由SEQ ID NO:56组成或由SEQ ID NO:56组成的V_H序列。在一些实施例中,分离的抗体具有包含SEQ ID NO:54的V_L序列和包含SEQ ID NO:56的V_H序列。在一些实施例中,分离的抗体具有基本上由SEQ ID NO:54组成的V_L序列和基本上由SEQ ID NO:56组成的V_H序列。在一些实施例中,分离的抗体具有由SEQ ID NO:54组成的V_L序列和由SEQ ID NO:56组成的V_H序列。

[0011] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:328、329和352中所示的一个或多个序列的V_L序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:361、388、406和407中所示的一个或多个序列的V_H序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:328、329和352中所示的一个或多个序列的V_L序列,和包含SEQ IDNO:361、388和406中所示的一个或多个序列的V_H序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体具有包含SEQ ID NO:328、329和352中所示的一个或多个序列的V_L序列,和包含SEQ ID NO:361、388和407中所示的一个或多个序列的V_H序列。

[0012] 在一些实例中,抗半乳凝素-9抗体可包含与参考抗体例如本文提供的任何参考抗体相同的重链互补决定区(CDR)和相同的轻链CDR。在一个具体实例中,抗半乳凝素-9抗体包含与参考抗体例如本文提供的任何参考抗体相同的重链可变区和相同的轻链可变区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含重链互补决定区1(CDR1)、重链互补决定区2(CDR2)和重链互补决定区3(CDR3),它们共同地与参考抗体例如本文提供的任何参考抗体的重链CDR具有至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3,它们共同地与参考抗体例如本文提供的任何参考抗体的轻链CDR具有至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性。

[0013] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含:重链互补决定区1(CDR1)、重链互补决定区2(CDR2)和重链互补决定区3(CDR3),它们共同地与参考抗体例如本文提供的任何参考抗体的重链CDR具有至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性;和轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3,它们共同地与参考抗体例如本文提供的任何参考抗体的轻链CDR具有至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性。在一些实例中,抗半乳凝素-9抗体可包含与上述参考抗体相同的重链CDR和相同的轻链CDR。在一个具体实例中,抗半乳凝素-9抗体可包含与参考抗体例如本文提供的任何参考抗体相同的重链可变区和相同的轻链可变区。在一些实施例中,与CRD1结合的示例性分离的抗半乳凝素9抗体包括G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14。在一些实施例中,与CRD2结合的示例性分离的抗半乳凝素9抗体包括G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲

和力结合剂。

[0014] 在一些实施例中,分离的抗半乳凝素9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中所述轻链可变区包含选自SEQ ID NO:29、13、34、36、38、40、42、44、46、48、34、54、58、61、63、65、73、67、69和71的氨基酸序列。在一些实施例中,所述轻链可变区由选自SEQ ID NO:29、13、34、36、38、40、42、44、46、48、34、54、58、61、63、65、73、67、69和71的氨基酸序列组成。在一些实施例中,分离的抗半乳凝素9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链可变区包含选自SEQ IDNO:30、31、32、33、35、37、39、41、43、45、47、49、50、51、52、53、55、56、57、59、60、62、64、66、68、70、72和73的氨基酸序列。在一些实施例中,所述重链可变区由选自SEQ ID NO:30、31、32、33、35、37、39、41、43、45、47、49、50、51、52、53、55、56、57、59、60、62、64、66、68、70、72和73的氨基酸序列组成。

[0015] 在一些实施例中,分离的抗半乳凝素9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中所述轻链可变区包含选自SEQ ID NO:29、13、34、36、38、40、42、44、46、48、34、54、58、61、63、65、73、67、69和71的氨基酸序列,并且所述重链可变区包含选自SEQ ID NO:30、31、32、33、35、37、39、41、43、45、47、49、50、51、52、53、55、56、57、59、60、62、64、66、68、70、72和73的氨基酸序列。在一些实施例中,分离的抗半乳凝素9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中所述轻链可变区由选自SEQ ID NO:29、13、34、36、38、40、42、44、46、48、34、54、58、61、63、65、73、67、69和71的氨基酸序列组成,并且所述重链可变区由选自SEQ ID NO:30、31、32、33、35、37、39、41、43、45、47、49、50、51、52、53、55、56、57、59、60、62、64、66、68、70、72和73的氨基酸序列组成。

[0016] 在一些实施例中,分离的抗半乳凝素9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中所述轻链可变区包含选自SEQ ID NO:7、9、11、13、15、17、19、21、23、25和27的氨基酸序列。在一些实施例中,所述轻链可变区由选自SEQ ID NO:7、9、11、13、15、17、19、21、23、25和27的氨基酸序列组成。在一些实施例中,分离的抗半乳凝素9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链可变区包含选自SEQ ID NO:8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86和87的氨基酸序列。在一些实施例中,所述重链可变区由选自SEQ IDNO:8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86和87的氨基酸序列组成。因此,在一些实施例中,本文提供了分离的抗半乳凝素9抗体或其抗原结合部分,其包含重链可变区和轻链可变区,其中所述轻链可变区包含选自SEQ ID NO:7、9、11、13、15、17、19、21、23、25和27的氨基酸序列,并且所述重链可变区包含选自SEQ ID NO:8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86和87的氨基酸序列。在一些实施例中,所述轻链可变区由选自SEQ ID NO:7、9、11、13、15、17、19、21、23、25和27的氨基酸序列组成,并且所述重链可变区由选自SEQ ID NO:8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86和87的氨基酸序列组成。

[0017] 在一些实施例中,本文公开的任何抗半乳凝素-9抗体可以包含与本文公开的参考抗体的V_H具有至少85%同一性的重链可变结构域(V_H)。替代地或另外,抗半乳凝素-9抗体可以包含与参考抗体的V_L具有至少85%同一性的轻链可变结构域(V_L)。

[0018] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:54的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:55的VH

区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含由SEQ ID NO:54组成的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:55组成的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含分别包含SEQ ID NO:54和55的VL和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含分别由SEQ ID NO:54和55组成的VL和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是克隆9.2-17。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:56的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含分别包含SEQ ID NO:54和56的VL和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含分别由SEQ ID NO:54和56组成的VL和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是克隆9.2-17mut6。

[0019] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含包含SEQ ID NO:21的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含由SEQ ID NO:21组成的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含包含SEQ ID NO:86的V_H区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:86组成的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含分别包含SEQ ID NO:21和86的VL和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含分别由SEQ ID NO:21和86组成的VL和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是克隆G9.1-8m13。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含包含SEQ ID NO:22的V_H区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:22组成的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含分别包含SEQ ID NO:21和22的VL和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含分别由SEQ ID NO:21和22组成的VL和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是克隆G9.1-8。

[0020] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含与抗体9.1-8m13的VL区(SEQ ID NO:21)具有相同氨基酸序列的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含与抗体9.1-8m13的VH区(SEQ ID NO:86)具有相同氨基酸序列的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与抗体9.1-8m13的VL和VH区(分别为SEQ ID NO:21和86)具有相同氨基酸序列的VL和VH区。

[0021] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含与抗体9.2-17的VL区(SEQ ID NO:54)具有相同氨基酸序列的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含与抗体9.2-17的VH区(SEQ ID NO:55)具有相同氨基酸序列的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与抗体9.2-17的VL和VH区(分别为SEQ ID NO:54和55)具有相同氨基酸序列的VL和VH区。

[0022] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:7、9、11、13、15、17、19、21、23、25和27中所示的VL区具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86和87中所示的VH区具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:7、9、11、13、15、17、19、21、23、25和27中所示的VL区具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL区,和与SEQ ID NO:8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86和87中所示的VH区具有至少

80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH区。

[0023] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:13、29、34、36、38、40、42、44、46、48、29、34、54、58、61、63、65、73、67、69和71中所示的VL区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:30、31、32、33、35、37、39、41、43、45、47、49、50、51、52、53、55、56、57、59、60、62、64、66、68、70、72和73中所示的VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:13、29、34、36、38、40、42、44、46、48、29、34、54、58、61、63、65、73、67、69和71中所示的VL区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL区,和与SEQ ID NO:30、31、32、33、35、37、39、41、43、45、47、49、50、51、52、53、55、56、57、59、60、62、64、66、68、70、72和73中所示的VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH区。

[0024] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含与SEQ ID NO:21中所示的VL区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL区。

[0025] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含与SEQ ID NO:86中所示的VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含分别与SEQ ID NO:21和86中所示的VL和VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL和VH区。

[0026] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含与SEQ ID NO:54中所示的VL区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含与SEQ ID NO:55中所示的VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含分别与SEQ ID NO:54和55中所示的VL和/或VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL和/或VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.1-8m13的VL区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.1-8m13的VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.1-8m13的VL和VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.2-17的VL区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.2-17的VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.2-17的VL和VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的

VL和VH区。

[0027] 因此,在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含(a)SEQ ID NO:328中所示的VL CDR1氨基酸序列;(b)SEQ ID NO:329中所示的VL CDR2氨基酸序列;(c)选自SEQ ID NO:341-360的VL CDR3氨基酸序列;(d)SEQ ID NO:361、427、428、431、435、436、437中所示的VH CDR1氨基酸序列;(e)选自SEQ ID NO:362、363、387-389和446-466的VH CDR2氨基酸序列;(f)选自SEQ ID NO:390-417的VH CDR3氨基酸序列。因此,在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含(a)SEQ ID NO:328中所示的VL CDR1氨基酸序列;(b)SEQ ID NO:329中所示的VL CDR2氨基酸序列;(c)选自SEQ ID NO:330-340的VL CDR3氨基酸序列;(d)SEQ ID NO:361、424-434中所示的VH CDR1氨基酸序列;(e)选自SEQ ID NO:362-366和438-445的VH CDR2氨基酸序列;(f)选自SEQ ID NO:367-386的VH CDR3氨基酸序列。

[0028] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1包含SEQ ID NO:328。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合其部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR2包含$X_1X_2X_3X_4X_5SX_6X_7X_8$SYADSVKG(SEQ ID NO:467),其中X_1=Y或S,X_2=I或S,X_3=Y或S,X_4=P或S,X_5=Y或S,X_6=G或S,X_7=Y或S,并且X_8=T或S。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR3包含$X_1SX_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}KX_{11}X_{12}X_{13}$GMDY(SEQ ID NO:468),其中$X_1$=Y或S,$X_2$=T、S或不存在,$X_3$=Y、S或不存在,$X_4$=S或不存在,$X_5$=W、S或不存在,$X_6$=S或不存在,$X_7$=G、S或不存在,$X_8$=G、T、S或不存在,$X_9$=I、Y、S或不存在,$X_{10}$=G、S或Y,$X_{11}$=W或S,$X_{12}$=V或S,并且$X_{13}$=W或S。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1由SEQ ID NO:328组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR2由$X_1X_2X_3X_4X_5SX_6X_7X_8$SYADSVKG(SEQ ID NO:467)组成,其中X_1=Y或S,X_2=I或S,X_3=Y或S,X_4=P或S,X_5=Y或S,X_6=G或S,X_7=Y或S,并且X_8=T或S。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR3由$X_1SX_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}KX_{11}X_{12}X_{13}$GMDY(SEQ ID NO:468)组成,其中$X_1$=Y或S,$X_2$=T、S或不存在,$X_3$=Y、S或不存在,$X_4$=S或不存在,$X_5$=W、S或不存在,$X_6$=S或不存在,$X_7$=G、S或不存在,$X_8$=G、T、S或不存在,$X_9$=I、Y、S或不存在,$X_{10}$=G、S或Y,$X_{11}$=W或S,$X_{12}$=V或S,并且$X_{13}$=W或S。

[0029] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1包含SEQ ID NO:328。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR2包含SEQ ID NO:329。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR3包含SEQ ID NO:337。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1由SEQ ID NO:328组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR2由SEQ ID NO:329组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR3由SEQ ID NO:337组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ

ID NO:328、329和337。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和337组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m13相同的VL CDR。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1包含SEQ ID NO:361。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR2包含SEQ ID NO:366。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR3区包含SEQ ID NO:383。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1由SEQ ID NO:361组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR2由SEQ ID NO:366组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR3区由SEQ ID NO:383组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:361、366和383。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:361、366和383组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.1-8m13相同的VH CDR。在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、366和383。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和337组成,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:361、366和383组成。在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.1-8m13相同的VL CDR和VH CDR。

[0030] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1包含SEQ ID NO:328。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR2包含SEQ ID NO:329。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR3包含SEQ ID NO:352。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1由SEQ ID NO:328组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR2由SEQ ID NO:329组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR3由SEQ ID NO:352组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和352。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和352组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.2-17相同的VL CDR。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:361、388和406。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:361、388和406组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-17相同的VH CDR。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和352,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、388和406。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和352组成,并且重链可变区CDR1、

CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:361、388和406组成。在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.2-17相同的VL CDR和VH CDR。

[0031] 因此,在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含(a)与SEQ ID NO:328中所示的VL CDR1氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR1氨基酸序列;(b)与SEQ ID NO:329中所示的VL CDR2氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR2氨基酸序列;(c)与选自SEQ ID NO:330-340的VL CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR3氨基酸序列;(d)与SEQ ID NO:SEQ ID NO:361、427、428、431、435、436、437中所示的VH CDR1氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR1氨基酸序列;(e)与选自SEQ ID NO:362-366和438-445的VH CDR2氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR2氨基酸序列;(f)与选自SEQ ID NO:367-386的VH CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR3氨基酸序列。因此,在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含(a)与SEQ IDNO:328中所示的VL CDR1氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR1氨基酸序列;(b)与SEQ ID NO:329中所示的VL CDR2氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR2氨基酸序列;(c)与选自SEQ ID NO:341-360的VL CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR3氨基酸序列;(d)与SEQ ID NO:361、424-434中所示的VH CDR1氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR1氨基酸序列;(e)与选自SEQ ID NO:362、363、387-389和446-466的VH CDR2氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR2氨基酸序列;(f)与选自SEQ ID NO:390-417的VH CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR3氨基酸序列。

[0032] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:328、329和337中所示轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗体VL CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与G9.1-8m13的VL CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:361、366和383中所示重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗体VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与G9.1-8m13的VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性。在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包

含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:328、329和337中所示轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:361、366和383中所示重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性。在一个具体实施例中,抗体VL CDR1、CDR2和CDR3以及VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与G9.1-8m13的VL CDR1、CDR2和CDR3以及VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ IDNO:328、329和352中所示轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗体VL CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与G9.2-17的VL CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:361、388和406中所示重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗体VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与G9.2-17的VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:328、329和352中所示轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:361、388和406中所示重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性。在一个具体实施例中,抗体VL CDR1、CDR2和CDR3以及VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列与G9.2-17的VL CDR1、CDR2和CDR3以及VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性。

[0033] 在本文提供的任何抗半乳凝素-9抗体的一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链恒定区来自如本文所述的任何IgG亚家族的人IgG(γ重链),例如IgG1或IgG4。

[0034] 在一些实施例中,示例性抗半乳凝素-9抗体轻链的氨基酸序列对应于SEQ ID NO:88-98和SEQ ID NO:99-115中所示的序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:108的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含与SEQ ID NO:95中所示的轻链序列(或其可变区)具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含与SEQ ID NO:108中所示的轻链序列(或其可变区)具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,示例性抗半乳凝素-9抗体重链的氨基酸序列对应于SEQ ID NO:116-140;

169-193;222-246;275-299(与CRD1结合的抗半乳凝素-9抗体)以及SEQ ID NO:141-168;194-220;247-274;300-327(与CRD2结合的抗半乳凝素-9抗体)中所示的序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链恒定区来自人IgG1。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:136的重链序列。在一些实施例中,所述IgG1是具有最小Fc受体接合的突变体。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:189的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链恒定区来自人IgG4。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:242的重链序列。在一些实施例中,所述IgG4是IgG4交换突变体。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:295的重链序列。

[0035] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:157的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:210的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:263的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:316的重链序列。

[0036] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:136中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:189中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:242中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:295中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:157中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:210中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:263中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:316中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:95的轻链序列和SEQ ID NO:136的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:95的轻链序列和SEQ ID NO:189的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:95的轻链序列和SEQ ID NO:242的重链序列。

[0037] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:95的轻链序列和SEQ ID NO:295的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分

包含SEQ ID NO:108的轻链序列和SEQ ID NO:157的重链序列。

[0038] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:108的轻链序列和SEQ ID NO:210的重链序列。

[0039] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:108的轻链序列和SEQ ID NO:263的重链序列。

[0040] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:108的轻链序列和SEQ ID NO:316的重链序列。

[0041] 在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:95具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链氨基酸序列,和与SEQ ID NO:136具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的重链氨基酸序列。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:95具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链氨基酸序列,和与SEQ ID NO:189具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的重链氨基酸序列。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:95具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链氨基酸序列,和与SEQ ID NO:242具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的重链氨基酸序列。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ IDNO:95具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链氨基酸序列,和与SEQ ID NO:295具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的重链氨基酸序列。

[0042] 在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:108具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链氨基酸序列,和与SEQ ID NO:157具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的重链氨基酸序列。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:108具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链氨基酸序列,和与SEQ ID NO:210具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的重链氨基酸序列。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:108具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链氨基酸序列,和与SEQ ID NO:263具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的重链氨基酸序列。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ IDNO:108具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链氨基酸序列,和与SEQ ID NO:316具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的重链氨基酸序列。

[0043] 本文提供的任何抗半乳凝素-9抗体可包含VH 3-48的重链可变区框架;和/或Vκ1-39的轻链可变区框架。在一些实施例中,本文所述的任何VH和/或VL框架是种系VH和/或VL基因。在一些实施例中,本文所述的抗半乳凝素-9抗体是全长抗体(例如IgG分子)或其抗原结合片段。在一些实例中,抗体是Fab或单链抗体。在任何情况下,抗体可以是人抗体或人源

化抗体。

[0044] 在另一方面,本公开内容提供了分离的核酸或核酸集,其编码或共同编码本文公开的任何抗半乳凝素-9抗体。在一些情况下,抗体的重链和轻链由两个独立的核酸分子(核酸集)编码。在另一些情况下,抗体的重链和轻链由一个核酸分子编码,该核酸分子可以是多顺反子形式或在不同启动子的控制下。在一些实施例中,核酸或核酸集位于一个或两个载体上。在一些实例中,一个或两个载体可以是一个或两个表达载体。此外,本公开内容提供了宿主细胞,其包含编码本文所述的抗半乳凝素-9抗体的任何分离的核酸或核酸集。

[0045] 本文还提供了用于产生抗半乳凝素-9抗体的方法,其包括在允许抗体表达的合适条件下培养本文所述的宿主细胞,并且从细胞培养物(例如从培养基)收获由此产生的抗体。

[0046] 此外,本公开内容提供了药物组合物,其包含任何抗半乳凝素-9抗体或编码抗半乳凝素-9抗体的核酸,以及药学上可接受的载体。

[0047] 在另一方面,本公开内容的特征在于在受试者中抑制半乳凝素-9介导的细胞信号转导的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的抗半乳凝素-9抗体或包含抗半乳凝素-9抗体的药物组合物。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是本文公开的任何抗半乳凝素-9抗体或包含该抗体的药物组合物。在一些实施例中,有此需要的受试者是患有、怀疑患有或有风险患有自身免疫性疾病、实体癌、微生物疾病、恶性血液病或变应性疾病的人患者。示例性自身免疫性疾病包括但不限于类风湿性疾病(例如类风湿性关节炎)、自身免疫性呼吸系统疾病、自身免疫性代谢和/或内分泌紊乱(例如I型糖尿病)或纤维化疾病。示例性实体瘤包括但不限于胰腺导管腺癌(PDA)、结直肠癌(CRC)、黑色素瘤、胆管癌、乳腺癌、小细胞和非小细胞肺癌、上和下胃肠道恶性肿瘤、胃癌、鳞状细胞头颈癌、泌尿生殖系统癌、肝细胞癌、卵巢癌、肉瘤、间皮瘤、成胶质细胞瘤、食道癌、膀胱癌、尿路上皮癌、肾癌、宫颈癌和子宫内膜癌。示例性恶性血液病包括但不限于急性成淋巴细胞性白血病(acute lymphoblastic leukemia)、慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia)、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、和急性骨髓性白血病(acute myelogenous leukemia)、慢性骨髓性白血病(chronic myelogenous leukemia)、骨髓增生异常综合症(myedysplastic syndromes)或骨髓增生性肿瘤(myeloproliferative neoplasms)和其它骨髓增生性和骨髓发育不良障碍。在一些实例中,药物组合物的有效量足以阻断半乳凝素-9与Dectin-1之间的相互作用。在一些实施例中,药物组合物的有效量足以阻断半乳凝素-9与CD206之间的相互作用。替代地或另外地,但不限于,药物组合物的有效量足以阻断半乳凝素-9与Tim-3之间的相互作用。

[0048] 此外,本公开内容提供了用于改变、消除和/或减少表达半乳凝素-9的病理细胞(例如,通过抗体依赖性细胞的细胞毒性或ADCC)的方法,所述方法包括向具有表达半乳凝素-9的病理细胞的受试者施用有效量的抗半乳凝素-9抗体,例如本文所述的任何抗半乳凝素-9抗体,或其药物组合物。在一些实施例中,受试者是具有表达半乳凝素-9的癌细胞和/或表达半乳凝素-9的病理免疫细胞的人患者。在一些实施例中,药物组合物的有效量足以引发抗体依赖性细胞的细胞毒性(ADCC)和/或阻断表达半乳凝素-9的病理细胞。

[0049] 本文所述的任何治疗方法可进一步包括向受试者施用检查点分子的抑制剂、共刺激受体的激活剂或先天免疫细胞靶标的抑制剂。检查点分子的实例包括但不限于PD-1、PD-

L1、PD-L2、CTLA-4、LAG3、TIM-3和A2aR。共刺激受体的实例包括但不限于OX40、GITR、CD137、CD40、CD27和ICOS。先天免疫细胞靶标的实例包括但不限于KIR、NKG2A、CD96、TLR和IDO。

[0050] 本公开内容还提供了用于在治疗与半乳凝素-9相关的疾病(例如,本文所述的那些)中使用的药物组合物,其中所述药物组合物包含抗半乳凝素-9抗体,例如本文所述的任何抗半乳凝素-9抗体,或编码这样的抗体的核酸,以及药学上可接受的载体。另外,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体或编码核酸在制备用于治疗本文所述的目标疾病的药物中的用途。

[0051] 在下面的描述中阐述了本发明的一个或多个实施例的细节。从以下附图和多个实施例的详细描述以及从所附权利要求书中,本发明的其它特征或优点将变得明显。

附图说明

[0052] 以下附图构成本说明书的一部分,并且被包括在内以进一步说明本公开内容的某些方面,通过参考附图并结合本文给出的具体实施例的详细描述,可以更好地理解本公开内容的某些方面。

[0053] 图1A-1B包括通过使用噬菌体ELISA显示Fab对半乳凝素-9CRD2的结合特征的图。图1A:通过噬菌体ELISA显示的与人和小鼠半乳凝素-9CRD2的结合。图1B:通过竞争噬菌体ELISA确定的Fab克隆对半乳凝素-9CRD2的亲和力。

[0054] 图2A-2B包括通过使用噬菌体ELISA显示Fab对半乳凝素-9CRD1的结合特征的图。图2A:通过噬菌体ELISA显示的Fab克隆与人和小鼠半乳凝素-9CRD1的结合。图2B:通过竞争噬菌体ELISA确定的Fab克隆与半乳凝素-9CRD1的亲和力。

[0055] 图3A-3B包括显示采用竞争噬菌体ELISA的G.9-2Fab克隆(与CRD2结合)的表位鉴定(epitope binning)的图。图3A:将小鼠半乳凝素-9CRD2包被的孔与纯化的G9.2-1或G9.2-3Fab预孵育,然后添加噬菌体展示的半乳凝素-9CRD2结合Fab克隆。图3B:将人半乳凝素-9CRD2包被的孔与纯化的G9.2-15或G9.2-17Fab预孵育,然后添加噬菌体展示的半乳凝素-9CRD2结合Fab克隆。

[0056] 图4包括显示采用基于珠粒的结合测定法表征的纯化的G9.2 Fab与半乳凝素-9CRD2的亲和力的图。曲线显示了一对一结合模型的最佳拟合。左上:G9.2-1Fab。右上:G9.2-3Fab。左下:G9.2-15Fab。右下:G9.2-17Fab。表格中示出了表观Kd值。

[0057] 图5包括显示采用基于珠粒的结合测定法表征的纯化的G9.1 Fab与半乳凝素-9CRD1的亲和力的图。以与图4相同的方式进行实验。左上:G9.1-6Fab。右上:G9.1-5Fab。左下:G9.1-8Fab。右下:G9.1-11Fab。表中示出了表观Kd值。

[0058] 图6包括显示与人(顶部)和小鼠(底部)半乳凝素-9的CRD2结合的Fab G9.2-15和Fab G9.2.17的表面等离子体共振分析的图。在顶部小图中标记了实验的结合和解离阶段。左:G9.2-15Fab。右:G9.2-17Fab。

[0059] 图7包括显示与人(顶部)和小鼠(底部)半乳凝素-9的CRD2结合的G9.2-17人IgG4的SPR分析的图。灰线显示了非结合阴性对照G9.2-iso人IgG4的传感图。

[0060] 图8包括显示用Fab对细胞系样品的半乳凝素-9CRD2染色的图。显示了流式细胞术数据的直方图。左上:G9.2-1Fab。右上:G9.2-3Fab。左下:G9.2-15Fab。右下:G9.2-17Fab。

[0061] 图9是显示G9.2-17和G9.1-8对半乳凝素-9介导的Dectin-1信号转导活化的抑制

作用的图。

[0062] 图10A-10B包括显示通过系统诱变在人半乳凝素-9CRD2上对G.9-2.17进行表位作图的图。图10A:显示了通过噬菌体ELISA测定的G9.2-17与半乳凝素-9CRD2突变体的结合活性的图。ELISA信号的降低表明半乳凝素-9CRD2上对G9.2-17结合至关重要的位点。图10B:描绘了作图到人半乳凝素-9CRD2(PDB ID 3NV2)的晶体结构上的W309的位置的图,该位置与作图到晶体结构上的糖配体的结合位点相对(W309对应于UniProt ID O00182-2中的W277;PDB ID 3NV2)。

[0063] 图11包含显示Fab G9.2-17(上)、Fab G9.2-17mut6(中)和Fab G9.2-Iso(下)的尺寸排阻色谱分析的图。纯化的Fab样品在PBS中在TOSOH TSK Bioassist G2WXL柱上运行,并利用280nm处的吸光度进行检测。

[0064] 图12包含显示与人(左)和小鼠(右)半乳凝素-9的CRD2结合的Fab G9.2-17(顶部)和Fab G9.2.17mut6(底部)的表面等离子体共振分析的图。将人或小鼠半乳凝素-9CRD2固定在Pall ForteBio Pioneer仪器上预装载有中和亲和素(neutravidin)的Avicap芯片上。然后使用OneStep方法使Fab样品流动。在顶部小图中标记了实验的结合和解离阶段。

[0065] 图13是显示使用噬菌体ELISA进行的G9.2 Fab克隆对野生型半乳凝素-9CRD2或W309K突变体的结合特征的图。使用噬菌体ELISA测定Fab克隆与人半乳凝素-9CRD2的结合。将生物素化野生型人半乳凝素-9CRD2、W309K半乳凝素-9CRD2突变体或与G9.2-17IgG预先孵育的半乳凝素-9CRD2固定在中和亲和素包被的孔中,并与单个噬菌体展示的Fab克隆一起孵育。

[0066] 图14是Kaplan-Meier图,显示在胰腺癌动物模型(KPC小鼠)中阻断半乳凝素-9导致生存期显著延长。

[0067] 图15是小鼠肿瘤的照片,显示阻断半乳凝素-9和抗PD1产生了优秀的响应。

[0068] 图16是显示用G9.2-17mIgG1治疗的小鼠的肿瘤质量的条形图。将具有原位植入KPC肿瘤的小鼠(n=10/组)用市售同种型(200μg)或市售αGal9(200μg)mAb或G9.2-IsomIgG1(200μg)或G9.2-17mIgG1以两种剂量(200μg或400μg)每周一次治疗三周。取出肿瘤并称重,然后进行处理和染色以进行流式细胞术。

[0069] 图17描绘了条形图,显示了用单独的或与αPD1 mAb组合的G9.2-17mIgG2a治疗的小鼠的肿瘤重量。将具有原位植入KPC肿瘤的小鼠(n=10/组)用市售αPD-1(200μg)mAb或G9.2-17mIgG2a(200μg)或G9.2-17和αPD-1的组合或匹配的同种型每周一次治疗三周。取出肿瘤并称重,然后进行处理和染色以进行流式细胞术。每个点代表一只小鼠;*p<0.05;**p<0.01;***p<0.001;****p<0.0001;通过未配对的学生t检验。

[0070] 图18A-18C描绘了显示采用基于珠粒的结合测定法表征的纯化的G9.1-8m1-5mIgG1与人半乳凝素-9CRD1的结合的图。

[0071] 图19A-19G描绘了显示采用基于珠粒的结合测定法表征的纯化的G9.1-8m6-11Fab与人半乳凝素-9CRD1的结合的图。

[0072] 图20A-20C描绘了显示采用基于珠粒的结合测定法表征的纯化的G9.1-8m8、9和11mIgG2a抗体与人半乳凝素-9CRD1的亲和力的图。

[0073] 图21A-21D描绘了显示采用基于珠粒的结合测定法表征的纯化的G9.1-8m11-14Fab与人半乳凝素-9CRD1的结合的图。

[0074] 图22A-22D描绘了显示采用基于珠粒的结合测定法表征的纯化的G9.1-8m12-14mIgG2a抗体与人半乳凝素-9CRD1的结合的图。

[0075] 图23描绘了显示凋亡测定法结果的图,表明Gal-9抗体抑制半乳凝素-9诱导的Jurkat细胞凋亡。将Jurkat细胞用或不用半乳凝素-9(280nM)、G9.2-17IgG(1μM)和/或G9.1-8m13IgG(1μM)处理6小时(图23)。然后将细胞用膜联蛋白V和PI染色,然后进行流式细胞术分析。膜联蛋白V阳性细胞代表处于早期和晚期凋亡的细胞。条形表示三个重复的平均值,表示为各个数据点。通过未配对的学生t检验进行统计分析。(*p<0.05;**p<0.01;***p<0.001;****p<0.0001)。

[0076] 图24描绘了显示测定法读出的图,证明了本文公开的抗半乳凝素-9抗体破坏半乳凝素-9与CD206之间的相互作用。图24描绘了显示ELISA的图,该ELISA测量在不存在和存在添加G9.1-8m13或G9.2-17抗体的情况下固定的人半乳凝素-9与可溶性CD206之间的相互作用。同种型抗体孔用作对照。将半乳凝素-9包被的孔在具有或不具有G9.1-8m13、G9.2-17、两种抗体的组合或同种型的情况下与CD206孵育。(实验一式三份进行;*p<0.05;**p<0.01;***p<0.001;****p<0.0001;通过未配对的学生t检验)。这些结果表明,G9.1-8m13和G9.2-17两种抗体均抑制半乳凝素-9与CD206之间的相互作用,并且其作用是累加的。

[0077] 图25描绘了线图,其显示了采用基于珠粒的结合测定法表征的与G9.1-8(WT)相比,纯化的G9.1-8m12-14 mIgG2a抗体与人半乳凝素-9CRD2的结合。

[0078] 图26A和26B描绘了条形图,其显示了与同种型对照(100nM)相比,用G9.2-17IgG4(100nM)处理的胰腺腺癌原发性肿瘤样品患者来源的器官型肿瘤球体(PDOTS)中的CD3+T细胞中TNF-α(图26A)和IFNγ(图26B)的表达。

[0079] 图27A-27C描绘了条形图,其显示了与IgG1或IgG4同种型对照(100nM)相比,用G9.2-17IgG1(100nM)或G9.2-17IgG4(100nM)处理的胰腺腺癌原发性肿瘤样品患者来源的器官型肿瘤球体(PDOTS)中的CD3+ T细胞中CD44(图27A)、TNF-α(图27B)和IFNγ(图27C)的表达。

[0080] 图28A-28F描绘了条形图,其显示了与IgG4同种型对照(100nM)相比,用G9.2-17IgG4(100nM)处理的胆囊癌肿瘤样品(PDOTS)中的免疫谱表达;CD3+ T细胞中的CD44(图28A),CD3+ T细胞中的TNF-α(图28B),CD4+ T细胞中的CD44(图28C),CD4+ T细胞中的TNF-α(图28D),CD8+ T细胞中的CD44(图28E),CD8+ T细胞中的TNF-α(图28F)。

[0081] 图29A-29C描绘了条形图,其显示了与IgG1(100nM)或未处理的对照(Utx)相比,用G9.2-17IgG1(100nM)或G9.2-17IgG4(100nM)处理的结直肠癌患者(PDOTS)的肝转移样品中的CD3+ T细胞中的CD44(图29A)、TNF-α(图29B)和IFNγ(图29C)表达。

[0082] 图30描绘了线图,其显示了在B16F10皮下同基因模型中G9.2-17的作用。皮下植入肿瘤,并用G9.2-17IgG1小鼠mAb治疗。除非图例中另有说明,否则在第0天和第4天向动物静脉内(i.v.)给药。

[0083] 图31描绘了线图,其显示了在B16F10皮下同基因模型中G9.2-17的作用。皮下植入肿瘤,并用G9.2-17IgG2a小鼠mAb治疗。在第0天向动物给药,此后每4天向动物给药一次,直到实验结束。除非图例中另有说明,否则静脉内施用mAb。

[0084] 图32描绘了显示基于细胞的结合测定法的图,将CRL-2134细胞系与生物素化的Fab一起孵育,并使用与DyLight 650缀合的中和亲和素检测结合的Fab。然后使用流式细胞

术分析样品。对于半乳凝素-9抗体G9.2-17观察到强信号,但对于同种型对照则未观察到。两种形式的Gal-9抗体的K_D(nM)值如下:G9.2-17hIgG1:0.41±0.07;G9.2-17mIgG1:2.91±0.66。

[0085] 图33A和33B描绘了显示抗半乳凝素-9抗体的热稳定性测定的图。荧光发射的一阶导数作为温度的函数绘制(-dF/dT)。熔融温度表示为观察到峰的温度。使用实时PCR仪以每分钟1℃的加热速率通过荧光团SYPRO Orange(ThermoFisher)的结合变化来确定热转变,其基本上按照以下中所述的方法:Vedadi等人,Chemical screening methods to identify ligands that promote protein stability,protein crystallization,and structure determination;Proc Natl Acad Sci U S A.2006Oct 24;103(43):15835-40。

发明详述

[0086] 本文提供了能够结合半乳凝素-9(例如人、小鼠或其两者)的抗体。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体结合CRD1和/或CRD2结构域中的一个或多个表位。这样的抗半乳凝素-9抗体能够抑制由半乳凝素-9介导的信号转导(例如,由半乳凝素-9/Dectin-1或半乳凝素-9/Tim-3介导的信号转导途径)或通过例如ADCC消除表达半乳凝素-9的病理细胞。因此,本文所述的抗半乳凝素-9抗体可用于抑制任何半乳凝素-9信号转导和/或消除半乳凝素-9阳性病理细胞,从而有益于治疗与半乳凝素-9相关的疾病,例如自身免疫性疾病、实体瘤、变应性疾病或血液系统疾病(例如恶性血液病)。

[0087] 半乳凝素-9是串联重复的凝集素,是β-半乳糖苷结合蛋白,其显示出具有调节细胞-细胞和细胞-基质相互作用的作用。发现其在霍奇金病组织和其它病理状态中强烈过表达。其也可被发现在肿瘤微环境(TME)中循环。

[0088] 发现半乳凝素-9与Dectin-1相互作用,Dectin-1是在PDA中的巨噬细胞以及癌细胞上高表达的先天免疫受体(Daley D等人.Dectin 1activation on macrophages by galectin 9promotes pancreatic carcinoma and peritumoral immune tolerance;Nat Med.2017;23(5):556-6)。无论半乳凝素-9的来源如何,已证明破坏其与Dectin-1相互作用会导致CD4+和CD8+细胞重编程为抗肿瘤免疫力不可或缺的调节因子。因此,半乳凝集素-9充当了用于阻断由Dectin-1介导的信号转导的有价值的治疗靶标。因此,在一些实施例中,本文所述的抗半乳凝素-9抗体破坏了半乳凝素-9与Dectin-1之间的相互作用。

[0089] 还发现半乳凝素-9与TIM-3相互作用,TIM-3是在所有急性髓细胞白血病变种(除M3(急性早幼粒细胞白血病)之外)中的白血病干细胞表面表达但是不在正常人造血干细胞(HSC)上表达的I型细胞表面糖蛋白。已发现由半乳凝素-9连接产生的TIM-3信号转导对免疫细胞具有多效作用,诱导Th1细胞凋亡(Zhu等人,Nat Immunol.,2005,6:1245-1252)和刺激肿瘤坏死因子-α(TNF-α)的分泌,导致单核细胞成熟为树突状细胞,导致通过先天免疫的炎症(Kuchroo等人,Nat Rev Immunol.,2008,8:577-580)。另外还发现半乳凝素-9/TIM-3信号转导共激活NF-κB和β-连环蛋白信号转导,这是促进LSC自我更新的两条途径(Kikushige等人,Cell Stem Cell,2015,17(3):341-352)。干扰半乳凝素-9/TIM-3结合的抗半乳凝素-9抗体可能具有治疗作用,尤其是对于白血病和其它恶性血液病。因此,在一些实施例中,本文所述的抗半乳凝素-9抗体破坏半乳凝素-9与TIM-3之间的相互作用。

[0090] 还发现半乳凝素-9与CD206相互作用(在M2极化的巨噬细胞上高度表达的甘露糖

受体),从而促进肿瘤存活(Enninga等人,CD206-positive myeloid cells bind galectin-9and promote a tumor-supportive microenvironment.J Pathol.2018Aug;245(4):468-477)。表达CD206的肿瘤相关巨噬细胞是肿瘤免疫抑制、血管生成、转移和复发的调节因子(参见,例如Scodeller等人,Precision Targeting of Tumor Macrophages with a CD206 Binding Peptide.M1and M2 had been described as the functional states of macrophages;Sci Rep.2017Nov7;7(1):14655,以及其中的参考文献)。具体地,M1(也称为经典活化的巨噬细胞)被Th1相关细胞因子和细菌产物触发,表达高水平的IL-12,并且是杀肿瘤的。相比之下,M2(所谓的替代活化的巨噬细胞)被Th2相关因子活化,表达高水平的抗炎细胞因子(例如IL-10)并促进肿瘤进展(Biswas和Mantovani;Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets:cancer as a paradigm;Nat Immunol.2010Oct;11(10):889-96)。M2的促肿瘤作用包括促进血管生成、促进侵袭和转移和保护肿瘤细胞免受化学疗法诱导的凋亡(Hu等人,Functional significance of macrophages in pancreatic cancer biology;Tumour Biol.2015Dec;36(12):9119-9126,以及其中的参考文献)。肿瘤相关巨噬细胞被认为具有M2样表型,并具有促肿瘤作用。已表明半乳凝素-9介导骨髓细胞向M2表型的分化(Enninga等人,Galectin-9modulates immunity by promoting Th2/M2 differentiation and impacts survival in patients with metastatic melanoma;Melanoma Res.2016Oct;26(5):429-41)。可能的是结合CD206的半乳凝素-9可能导致TAM向M2表型重编程,这与先前针对Dectin所显示的类似。不希望受理论的束缚,阻断半乳凝素-9与CD206的相互作用可以提供一种机制,通过该机制,抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和表2中所述的抗体,例如抗体9.1-8m13和/或抗体9.2-17可具有治疗益处。因此,在一些实施例中,本文所述的抗半乳凝素-9抗体破坏半乳凝素-9与CD206之间的相互作用。

[0091] 还表明半乳凝素-9与蛋白质二硫键异构酶(PDI)和4-1BB相互作用(Bi S等人.Galectin-9binding to cell surface protein disulfide isomerase regulates the redox environment to enhance T-cell migration and HIV entry;Proc Natl Acad Sci U S A.2011;108(26):10650-5;Madireddi等人.Galectin-9controls the therapeutic activity of 4-1BB-targeting antibodies.J Exp Med.2014;211(7):1433-48)。

[0092] 抗半乳凝素-9抗体可用作治疗与半乳凝素-9相关的疾病(例如,半乳凝素-9信号转导起作用的疾病)的治疗剂。不受理论的束缚,抗半乳凝素-9抗体可以阻断由半乳凝素-9介导的信号转导途径。例如,抗体可干扰半乳凝素-9与其结合伴侣(例如Dectin-1、TIM-3或CD206)之间的相互作用,从而阻断由半乳凝素-9/配体相互作用触发的信号转导。替代地或另外,抗半乳凝素-9抗体还可通过诱导针对表达半乳凝素-9的病理细胞的阻断和/或细胞毒性,例如ADCC、CDC或ADCP来发挥其治疗作用。病理细胞是指直接或间接有助于疾病的发生和/或发展的细胞。

[0093] 因此,本文描述了抗半乳凝素-9抗体及其在治疗与半乳凝素-9相关的疾病中的治疗用途。

[0094] 与半乳凝素-9结合的抗体

[0095] 本公开内容提供了结合半乳凝素-9(例如人和/或小鼠半乳凝素-9)的抗体。

[0096] 在一些情况下,本文所述的抗半乳凝素-9抗体结合半乳凝素-9的碳水化合物识别结构域(CRD)(例如CRD1或CRD2)中的表位。在一些情况下,抗半乳凝素-9抗体可以结合CRD1和CRD2。半乳凝素-9是本领域众所周知的蛋白质。例如,NCBI GenBank登录号BAB83625.1和NP_034838.2分别提供了有关人和小鼠半乳凝素-1的信息。本文提供了示例性的人和小鼠半乳凝素-9多肽;人半乳凝素-9(同种型1;又名"长";)以SEQ ID NO:1提供;人CRD1和CRD2在本文中分别以SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:4提供;小鼠半乳凝素-9(同种型1;又名"长";)以SEQ ID NO:2提供;小鼠CRD1和CRD2在本文中分别以SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6提供。

[0097] 人半乳凝素-9的CRD1结构域(SEQ ID NO:3)包含SEQ ID NO:1的残基1-148,并且CRD2结构域(SEQ ID NO:4)跨越SEQ ID NO:1的残基218-355。类似地,鼠半乳凝素-9的CRD1结构域(SEQ ID NO:5)跨越SEQ ID NO:2的残基1-147,并且CRD2结构域(SEQ ID NO:6)跨越SEQ ID NO:2的残基226-353。

[0098] 来自其它物种的半乳凝素-9多肽在本领域中是已知的,并且可以使用人序列或小鼠序列作为查询从可被公众获得的基因数据库(例如GenBank)中获得。可以通过将半乳凝素-9多肽的序列与如本文所述的人或小鼠半乳凝素-9的序列进行比对来鉴定该半乳凝素-9多肽的CRD1和CRD2结构域。

[0099] 本文所述的抗体结合半乳凝素-9或其片段(例如,CRD1或CRD2)。如本文所用,术语"抗半乳凝素-9抗体"是指能够结合半乳凝素-9多肽的任何抗体,其可以具有合适的来源,例如人或非人哺乳动物(例如小鼠、大鼠、兔、灵长类动物(例如猴等))。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体可用于治疗性抑制半乳凝素-9的生物活性。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体可用于研究中或可用于诊断/预后方法,例如用于在治疗资格和/或功效的评估中检测表达半乳凝素-9的细胞。替代地或另外,抗半乳凝素-9抗体可阻断半乳凝素-9与其配体(例如Dectin-1、TIM-3)之间的相互作用,从而抑制例如由半乳凝素-9/Dectin-1或半乳凝素-9/TIM-3相互作用触发的信号转导途径。抗半乳凝素-9抗体还可例如通过抗体依赖性细胞的细胞毒性(ADCC)机制引起表达半乳凝素-9的细胞的死亡。

[0100] 抗体(多种形式可互换使用)是免疫球蛋白分子,其能够通过位于免疫球蛋白分子可变区中的至少一个抗原识别位点特异性结合至靶标,例如碳水化合物、多核苷酸、脂质、多肽等。如本文所用,术语"抗体"(例如抗半乳凝素-9抗体)不仅涵盖完整的(例如全长)多克隆或单克隆抗体,还包括其抗原结合片段(例如Fab、Fab'、F(ab')2、Fv)、单链(scFv)、其突变体、包含抗体部分的融合蛋白、人源化抗体、嵌合抗体、双抗体、纳米抗体、线性抗体、单链抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)和包含所需特异性的抗原识别位点的免疫球蛋白分子的任何其它经修饰构型,包括抗体的糖基化变体、抗体的氨基酸序列变体和共价修饰的抗体。抗体(例如抗半乳凝素-9抗体)包括任何类别的抗体,例如IgD、IgE、IgG、IgA或IgM(或其亚类),并且该抗体不必是任何特定类别。根据其重链恒定结构域的抗体氨基酸序列,免疫球蛋白可分为不同类别。免疫球蛋白有五种主要类别:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,其中的多种可以进一步分为亚类(同种型),例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。对应于不同类别的免疫球蛋白的重链恒定结构域分别称为α、δ、ε、γ和μ。不同类别的免疫球蛋白的亚基结构和三维构型是众所周知的。

[0101] 典型的抗体分子包含通常参与抗原结合的重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L)。V_H和V_L区可以进一步细分为高变区,也称为"互补决定区"("CDR"),其间穿插着被称为"框架

区”(“FR”)的更保守的区。每个V_H和V_L通常由三个CDR和四个FR组成,它们按以下顺序从氨基末端到羧基末端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。框架区和CDR的范围可使用本领域已知的方法精确地鉴定,例如通过Kabat定义、Chothia定义、AbM定义和/或接触定义,所有这些在本领域中是众所周知的。参见,例如Kabat,E.A等人.(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH公开号91-3242,Chothia等人,(1989)Nature 342:877;Chothia,C.等人.(1987)J.Mol.Biol.196:901-917,Al-lazikani等人(1997)J.Molec.Biol.273:927-948;以及Almagro,J.Mol.Recognit.17:132-143(2004)。还参见hgmp.mrc.ac.uk和bioinf.org.uk/abs)。

[0102] 本文所述的抗半乳凝素-9抗体可以是全长抗体,其包含两条重链和两条轻链,重链和轻链各自包含可变结构域和恒定结构域。或者,抗半乳凝素-9抗体可以是全长抗体的抗原结合片段。全长抗体的术语“抗原结合片段”中涵盖的结合片段的实例包括:(i)Fab片段,由V_L、V_H、C_L和C_H1结构域组成的单价片段;(ii)$F(ab')_2$片段,包含通过铰链区的二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段;(iii)由V_H和C_H1结构域组成的Fd片段;(iv)由抗体单臂的V_L和V_H结构域组成的Fv片段,(v)dAb片段(Ward等人,(1989)Nature 341:544-546),其由V_H结构域组成;以及(vi)保留功能的分离的互补决定区(CDR)。此外,尽管Fv片段的两个结构域V_L和V_H由不同的基因编码,但是它们可以使用重组方法通过合成接头连接,从而使它们成为一条蛋白链,其中V_L和V_H区配对形成被称为单链Fv(scFv)的单价分子。参见例如,Bird等人.(1988)Science 242:423-426;以及Huston等人.(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883。

[0103] 本文所述(如在表1和/或表2中)的抗半乳凝素-9抗体可以结合并抑制(例如降低或消除)半乳凝素-9的活性。在一些实施例中,本文所述的抗半乳凝素-9抗体可以结合并抑制半乳凝素-9的活性至少30%(例如31%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。表观抑制常数(Ki^{app}或$K_{i,app}$)(其提供抑制剂效力的量度)与降低酶活性所需的抑制剂浓度有关,而与酶浓度无关。本文所述的抗半乳凝素-9抗体的抑制活性可以通过本领域已知的常规方法来确定。

[0104] 抗体的$K_{i,}{}^{app}$值可以通过测量不同浓度的抗体对反应程度(例如,酶活性)的抑制作用来测定;将伪一阶速率常数(v)的变化作为抑制剂浓度的函数拟合到改良的Morrison方程(方程式1),得到表观Ki值的估计值。对于竞争性抑制剂,Ki^{app}可从$K_{i,}{}^{app}$对底物浓度的图的线性回归分析中提取y截距中获得。

[0105] $$v = A \cdot \frac{([E]-[I]-K_i^{app}) + \sqrt{([E]-[I]-K_i^{app})^2 + 4[E]\cdot K_i^{app}}}{2} \quad \text{(方程式 1)}$$

[0106] 其中A等于v_o/E,不存在抑制剂(I)时酶促反应的初始速度(v_o)除以总酶浓度(E)。在一些实施例中,本文所述的抗半乳凝素-9抗体对于靶抗原或抗原表位的Ki^{app}值可以为1000、900、800、700、600、500、400、300、200、100、50、40、30、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5pM或更小。在一些实施例中,相对于第二靶标(例如,半乳凝素-9的CRD1),抗半乳凝素-9抗体对于第一靶标(例如,半乳凝素-9的CRD2)可具有更低Ki^{app}。Ki^{app}的差异(例如,对于特异性或其它比较)可以为至少1.5、2、3、4、5、10、15、20、37.5、50、70、80、91、

100、500、1000、10,000或10^5倍。在一些实例中,相对于第二抗原(例如,第二构象的相同第一蛋白质或其模拟物;或第二蛋白质),抗半乳凝素-9抗体更大程度地抑制第一抗原(例如,第一构象的第一蛋白质或其模拟物)。在一些实施例中,任何抗半乳凝素-9抗体可以进一步亲和力成熟以降低抗体对靶抗原或其抗原表位的Ki^{app}。

[0107] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如在肿瘤浸润的免疫细胞(例如巨噬细胞)中)抑制Dectin-1信号转导。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体将由半乳凝素-9触发的Dectin-1信号转导抑制至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。可以通过常规方法或本文(例如实例2)所述的测定法来确定这种抑制活性。替代地或另外,抗半乳凝素-9抗体可抑制由半乳凝素-9启动的T细胞免疫球蛋白粘蛋白3(TIM-3)信号转导。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如在肿瘤浸润的免疫细胞中)抑制T细胞免疫球蛋白粘蛋白3(TIM-3)信号转导,例如在一些实施例中抑制至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。可以通过常规方法或本文(例如实例2)所述的测定法来确定这种抑制活性。

[0108] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如在肿瘤浸润的免疫细胞中)抑制CD206信号转导。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体使得由半乳凝素-9触发的CD206信号转导抑制至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。可以通过常规方法或本文(例如实例13)所述的测定法来确定这种抑制活性。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体阻断或阻止半乳凝素-9与CD206的结合至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。可以通过常规方法或本文(例如实例13)所述的测定法来确定这种抑制活性。

[0109] 在一些实施例中,本文所述的任何抗半乳凝素-9抗体在表达半乳凝素-9的靶细胞中诱导细胞毒性,例如ADCC,例如其中靶细胞是癌细胞或免疫抑制性免疫细胞。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体在免疫细胞(例如T细胞)或癌细胞中诱导细胞凋亡至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。可以通过常规方法或本文(例如实例14)所述的测定法来确定这种抑制活性。在一些实施例中,本文所述的任何抗半乳凝素-9抗体诱导针对表达半乳凝素-9的靶细胞的细胞毒性,例如补体依赖性细胞毒性(CDC)。

[0110] 抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)是通过吞噬作用介导其部分或全部作用的抗体的重要作用机制。在那种情况下,抗体介导抗原呈递细胞对特异性抗原的摄取。ADCP可以由单核细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞和树突状细胞通过FcγRIIa、FcγRI和FcγRIIIa介导,其中巨噬细胞上的FcγRIIa(CD32a)代表主要途径。

[0111] 在一些实施例中,本文所述的任何抗半乳凝素-9抗体均诱导表达半乳凝素-9的靶细胞(例如癌细胞或免疫抑制性免疫细胞)的细胞吞噬作用(ADCP)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体使靶细胞(例如癌细胞或免疫抑制性免疫细胞)的吞噬作用增加至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0112] 在一些实施例中,本文所述的任何抗半乳凝素-9抗体诱导针对靶细胞(例如癌细胞或免疫抑制性免疫细胞)的细胞细胞毒性,例如补体依赖性细胞毒性(CDC)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体使针对靶细胞的CDC增加至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0113] 在一些实施例中,本文所述的任何抗半乳凝素-9抗体均诱导(例如肿瘤浸润的T细胞中的)T细胞活化,即直接或间接地抑制半乳凝素-9介导的对T细胞活化的抑制。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体促进T细胞活化至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。可以通过常规方法或本文(例如实例6(例如,CD44、OX40、IFNγ、PD-1的测量))所述的测定法来确定T细胞活化。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体促进CD4+细胞活化至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。在一个非限制性实例中,抗半乳凝素-9抗体诱导CD4+细胞中的CD44表达。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体使CD4+细胞中的CD44表达增加至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。在一个非限制性实例中,抗半乳凝素-9抗体诱导CD4+细胞中的IFNγ表达。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体使CD4+细胞中的IFNγ表达增加至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。在一个非限制性实例中,抗半乳凝素-9抗体诱导CD4+细胞中的TNFα表达。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体使CD4+细胞中的TNFα表达增加至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0114] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体促进CD8+细胞活化至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。在一个非限制性实例中,抗半乳凝素-9抗体诱导CD8+细胞中的CD44表达。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体使CD8+细胞中的CD44表达增加至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。在一个非限制性实例中,抗半乳凝素-9抗体诱导CD8+细胞中的IFNγ表达。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体使CD8+细胞中的IFNγ表达增加至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。在一个非限制性实例中,抗半乳凝素-9抗体诱导CD8+细胞中的TNFα表达。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体使CD8+细胞中的TNFα表达增加至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0115] 本文所述的抗体可以是鼠、大鼠、人或任何其它来源(包括嵌合或人源化抗体)。这样的抗体是非天然存在的,即在没有人为行为(例如,用期望的抗原或其片段免疫这样的动物或从抗体文库中分离)的情况下不会在动物中产生。

[0116] 本文所述的任何抗体(例如抗半乳凝素-9抗体)可以是单克隆的或多克隆的。“单克隆抗体”是指同质抗体群,并且“多克隆抗体”是指异质抗体群。这两个术语并不限制抗体的来源或其制备方式。

[0117] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是人源化抗体。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是具有在以下或本文其它地方所述的一种或多种元件或特征的人源化抗体。人源化抗体是指非人(例如鼠)抗体的形式,其是包含最少的来源于非人免疫球蛋白的序列的特异性嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其抗原结合片段。通常,人源化抗体是人免疫球蛋白(接受体抗体),其中接受体的CDR残基被具有期望特异性、亲和力和容量的非人类物种(供体抗体)例如小鼠、大鼠或兔的CDR残基替换。在一些情况下,人免疫球蛋白的Fv框架区(FR)残基被相应的非人残基替换。此外,人源化抗体可包含既不存在于接受体抗体也不存在于导入的CDR或框架序列中但是被包含以进一步完善和优化抗体性能的残基。在一些情况下,

人源化抗体可包含至少一个并且通常两个可变结构域的基本上全部,其中CDR区的全部或基本上全部对应于非人免疫球蛋白的那些并且FR区的全部或基本上全部是人免疫球蛋白共有序列的那些。人源化抗体最佳地还包含免疫球蛋白恒定区或结构域(Fc)的至少一部分,通常是人免疫球蛋白的。抗体可具有如WO 99/58572中所述修饰的Fc区。人源化抗体的另一些形式具有相对于原始抗体有所改变的一个或多个CDR(一个、两个、三个、四个、五个或六个),也被称为"衍生自"原始抗体的一个或多个CDR的一个或多个CDR。人源化抗体还可能涉及亲和力成熟。

[0118] 构建人源化抗体的方法也是本领域众所周知的。参见,例如Queen等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,86:10029-10033(1989)。在一个实例中,按照本领域已知的方法对亲本非人抗体的V_H和V_L的可变区进行三维分子建模分析。接下来,使用相同的分子建模分析来鉴定预期对正确的CDR结构的形成重要的构架氨基酸残基。平行地,使用亲本V_H和V_L序列作为搜索查询,从任何抗体基因数据库中鉴定具有与亲本非人抗体的氨基酸序列同源的氨基酸序列的人V_H和V_L链。然后选择人V_H和V_L受体基因。

[0119] 所选择的人受体基因内的CDR区可以被来自亲本非人抗体的CDR区或其功能变体替换。必要时,可以使用预计在与CDR区相互作用中起重要作用的亲本链框架区内的残基替换人受体基因中的相应残基。

[0120] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是嵌合抗体。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是嵌合抗体,其可包含来自人抗体的重恒定区和轻恒定区。嵌合抗体是指具有来自第一物种的可变区或可变区的一部分和来自第二物种的恒定区的抗体。通常,在这些嵌合抗体中,轻链和重链的可变区模拟来源于一个哺乳动物物种(例如,非人哺乳动物,例如小鼠、兔和大鼠)的抗体的可变区,而恒定部分与来源于另一种哺乳动物(例如人)的抗体中的序列同源。在一些实施例中,可以在可变区和/或恒定区中进行氨基酸修饰。

[0121] 在一些实施例中,本文所述的抗半乳凝素-9抗体特异性结合相应的靶抗原或其表位,例如半乳凝素-9抗原或表位。"特异性结合"抗原或表位的抗体是本领域众所周知的术语。如果某个分子与特定靶抗原的反应比与替代靶标的反应更频繁、更快速、持续时间更长和/或具有更大的亲和力,则称该分子表现出"特异性结合"。如果抗体以比与其它物质的结合更大的亲和力、抗体亲抗原性、更容易和/或以更长的持续时间结合靶抗原或表位,则抗体"特异性结合"靶抗原或表位。例如,特异性(或优先)结合抗原(半乳凝素-9)或其中的抗原表位的抗体是这样的抗体,与该抗体与其它抗原或相同抗原中的其它表位的结合相比,该抗体以更大的亲和力、抗体亲抗原性、更容易和/或以更长的持续时间结合该靶抗原。对于该定义还应理解,例如,特异性结合第一靶抗原的抗体可以或可以不特异性结合或优先结合第二靶抗原。这样,"特异性结合"或"优先结合"并不一定需要(尽管可以包括)排他结合。在一些实例中,"特异性结合"靶抗原或其表位的抗体可能不结合其它抗原或相同抗原中的其它表位(即,在常规方法中只能检测到基线结合活性)。在一些实施例中,本文所述的抗半乳凝素-9抗体特异性结合半乳凝素-9。在一些实施例中,本文所述的抗半乳凝素-9抗体特异性结合半乳凝素-9的CRD2。在一些实施例中,本文所述的抗半乳凝素-9抗体特异性结合半乳凝素-9的CRD1。替代地或另外,相对于小鼠对应物,本文所述的抗半乳凝素-9抗体特异性结合人半乳凝素-9或其片段,反之亦然(例如,与一种抗原的结合亲和力是与另一种抗原的结合亲和力的至少10倍高,如在相同测定条件下的相同测定法中确定的)。

[0122] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体仅与CRD1结合(并且不与CRD2结合),例如,通过常规测定方法无法检测到与CRD2的有意义结合或与CRD2的结合。在一些实施例中,抗半乳凝素-9或其片段仅与CRD2结合(并且不与CRD1结合)。在一些实施例中,本文所述的某些抗体可以与CRD1和CRD2两者结合。在一些实施例中,本文所述的某些抗体或其片段可以与CRD1和CRD2两者结合,但是对CRD2具有较低的亲和力。在一些实施例中,本文所述的某些抗体或其片段可以与CRD1和CRD2两者结合,但是对CRD1具有较低的亲和力。

[0123] 在一些实施例中,结合CRD1的Gal-9抗体和结合CRD2的Gal-9抗体的作用可以是累加的。在一些实施例中,结合CRD1的Gal-9抗体和结合CRD2的Gal-9抗体的作用可以是协同的。在一些实施例中,可以在组合物中使用两种或更多种抗体的“鸡尾酒”,即混合物。这样的组合物可以包含一种或多种本文所述的与CRD1结合的抗体和一种或多种本文所述的与CRD2结合的抗体。在一个非限制性实例中,包含克隆9.1-8m13的可变区(例如,SEQ ID NO:21(轻链和SEQ ID NO:86)的抗体与包含克隆9.2-17的可变区(SEQ ID NO:54(轻链和SEQ ID NO:55)的抗体可组合在组合物中。两种抗体可以等摩尔量或以确定对于性能最佳的其它比例混合。

[0124] 在一些实施例中,抗体可以与CRD1和CRD2两者结合。在另一些情况下,本文所述的抗半乳凝素-9抗体可以与人和非人半乳凝素-9(例如小鼠)交叉反应,例如,与人和非人半乳凝素-9的结合亲和力的差异小于5倍,例如小于2倍,或基本上类似。

[0125] 在一些实施例中,本文所述的抗半乳凝素-9抗体对靶抗原(例如,半乳凝素-9)或其抗原表位具有合适的结合亲和力。如本文所用,“结合亲和力”是指表观缔合常数或K_A。K_A是解离常数(K_D)的倒数。本文所述的抗半乳凝素-9抗体对靶抗原或抗原表位的结合亲和力(K_D)为至少10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}、10^{-8}、10^{-9}、10^{-10}M或更小。结合亲和力升高对应于K_D降低。相对于第二抗原,抗体对第一抗原的更高亲和力结合可以通过与结合第二抗原的K_A(或数值K_D)相比与第一抗原结合的更高K_A(或更小数值K_D)指示。在这样的情况下,相对于第二抗原(例如,第二构象的相同的第一蛋白质或其模拟物;或第二蛋白质),抗体对第一抗原(例如,第一构象的第一蛋白质或其模拟物)具有特异性。在一些实施例中,与对半乳凝素-9的CRD2的结合亲和力相比,本文所述的抗半乳凝素-9抗体对半乳凝素-9的CRD1具有更高的结合亲和力(更高的K_A或更小的K_D)。在一些实施例中,与对半乳凝素-9的CRD1的结合亲和力相比,本文所述的抗半乳凝素-9抗体对半乳凝素-9的CRD2具有更高的结合亲和力(更高的K_A或更小的K_D)。结合亲和力的差异(例如,对于特异性或其它比较)可以为至少1.5、2、3、4、5、10、15、20、37.5、50、70、80、91、100、500、1000、10,000或10^5倍。在一些实施例中,任何抗半乳凝素-9抗体可以进一步亲和力成熟以提高抗体与靶抗原或其抗原表位的结合亲和力。

[0126] 结合亲和力(或结合特异性)可以通过多种方法确定,包括平衡透析、平衡结合、凝胶过滤、ELISA、表面等离子体共振或光谱法(例如,使用荧光测定法)。用于评估结合亲和力的示例性条件是在HBS-P缓冲液(10mM HEPES pH7.4、150mM NaCl,0.005%(v/v)表面活性剂P20)中。

[0127] 这些技术可用于将结合的结合蛋白的浓度测量为靶蛋白浓度的函数。在某些条件下,结合的结合蛋白的浓度分数([结合]/[总])通常通过下式与总靶蛋白的浓度([靶])相关:

[0128] [结合]/[总]=[靶]/(Kd+[靶])

[0129] 但是,并非总是必须精确确定K_A,因为有时获得对亲和力的定量测量是足够的,例如使用例如ELISA或FACS分析等方法确定,与K_A成比例,因此可用于比较,例如确定较高的亲和力是否例如2倍高,以获得对亲和力的定性测量,或例如通过功能测定(例如体外体内测定)中的活性来获得亲和力推断。在一些情况下,体外结合测定指示体内活性。在另一些情况下,体外结合测定不一定指示体内活性。在一些情况下,紧密结合是有益的,但在另一些情况下,紧密结合在体内可能不那么期望,而具有较低结合亲和力的抗体可能更期望。本文提供了许多示例性抗半乳凝素-9抗体(对CRD1或CRD2具有特异性)。

[0130] 本公开内容的与CRD1结合的示例性抗体克隆(参考抗体)包括G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6,G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14。本公开内容的与CRD2结合的示例性抗体克隆(参考抗体)包括G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂。

[0131] 可变区

[0132] 本文所述的与CRD1结合的示例性抗半乳凝素-9抗体是具有以下抗体的CDR和/或可变区序列的抗体,例如单克隆、重组和/或人抗体:G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14。本文所述的与CRD2结合的示例性抗半乳凝素-9抗体是具有以下抗体的CDR和/或可变区序列的抗体,例如单克隆、重组和/或人抗体:G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂。示例性序列和SEQ ID NO在表1和2中列出。使用Kabat方法确定的CDR以粗体显示。表3示出了用Kabat方法确定的所选克隆的CDR。在本文中,术语“m”和“mut”,例如“9.1-8m”和“9.1-8mut”可互换使用。例如,“G9.1-8m1”、“G9.1-8m2”、“G9.1-8m3”、“G9.1-8m4”、“G9.1-8m5”、“G9.1-8m6”、“G9.1-8m7”、“G9.1-8m8”、“G9.1-8m9”、“G9.1-8m10”、“G9.1-8m11”、“G9.1-8m12”、“G9.1-8m13”和“G9.1-8m14”可分别与“G9.1-8mut1”、“G9.1-8mut2”、“G9.1-8mut3”、“G9.1-8mut4”、“G9.1-8mut5”、“G9.1-8mut6”、“G9.1-8mut7”、“G9.1-8mut8”、“G9.1-8mut9”、“G9.1-8mut10”、“G9.1-8mut11”、“G9.1-8mut12”、“G9.1-8mut13”和“G9.1-8mut14互换使用。

[0133] 表1.针对CRD1的抗体

[0134]

克隆	序列	VR	CDR 1	CDR 2	CDR 3	LC/ HC IgG1	IgG1 LALA	IgG4	IgG 4 mut
		SEQ ID NO:							
G9.1-1	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITC**RASQSVSSAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYC**QQSWVGSLIT**FGQGTKV EIKR	7	328	329	330	88	88	88	88
G9.1-1	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTFSSSSIH**WVRQAP GKGLEWVA**SIYSSYGYTYYA DSVKG**RFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCAR**YYW GWSQNQGFWWYGLDY**WGQ GTLVTVSS	8	431	438	367	116	169	222	275
G9.1-2	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITC**RASQSVSSAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYC**QQWQWGYSLVT**FGQGT KVEIKR	9	328	329	331	89	89	89	89
G9.1-2	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTISSSSIH**WVRQAP GKGLEWVA**SISSYYGSTYYAD SVKG**RFTISADTSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCAR**SWSSSF WYNWALDY**WGQGTLVTVSS	10	435	439	368	117	170	223	276

[0135]

G9.1-3	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSWYSNKPIT**FGQGTKVEIKR	11	328	329	332	90	90	90	90
G9.1-3	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTIYSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**YIYSSSGYTSYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YSHSSLYYSWIWALDY**WGQGTLVTVSS	12	436	363	369	118	171	224	277
G9.1-4	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSSSSLIT**FGQGTKVEIKR	13	328	329	333	91	91	91	91
G9.1-4	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTIYYSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SISSSSGSTSYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**SYRPYSSYYWGMDY**WGQGTLVTVSS	14	437	440	370	119	172	225	278
G9.1-5	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQYYGWFYPVT**FGQGTKVEIKR	15	328	329	334	92	92	92	92
G9.1-5	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTIYYSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SISSSYGSTYYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**SVSWYPYYYYYGYGSGLDY**WGQGTLVTVSS	16	437	441	371	120	173	226	279
G9.1-6	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQYHSSLFT**FGQGTKVEIKR	17	328	329	335	93	93	93	93
G9.1-6	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTLSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SIYSSYGSTSYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**SSHWYMYWSYWGWYIGMDY**WGQGTLVTVSS	18	427	442	372	121	174	227	280
G9.1-7	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQYPGYRGLIT**FGQGTKVEIKR	19	328	329	336	94	94	94	94
G9.1-7	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQA	20	361	443	373	122	175	228	281

[0136]

	PGKGLEWVA**SISSYYGYTYYA** **DSVKG**RFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCAR**SYSY** **GYDYFVKYYTMDY**WGQGTL VTVSS								
G9.1-8	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITC**RASQSVSSAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKV EIKR	21	328	329	337	95	95	95	95
G9.1-8	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQA PGKGLEWVA**YIYPYSGYTSY** **ADSVKG**RFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCAR**YST** **YSWGGIGKWVWGMDY**WGQ GTLVTVSS	22	361	364	374	123	176	229	282
G9.1-9	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITC**RASQSVSSAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYC**QQSYFHKIPIT**FGQGTKV EIKR	23	328	329	338	96	96	96	96
G9.1-9	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQA PGKGLEWVA**YIYSSSGYTSYA** **DSVKG**RFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCAR**YSSY** **HYPYWLFAMDY**WGQGTLVT VSS	24	361	363	384	138	191	244	297
G9.1-10	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITC**RASQSVSSAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYC**QQWYWYYPVT**FGQGTK VEIKR	25	328	329	339	97	97	97	97
G9.1-10	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSYSSIH**WVRQA PGKGLEWVA**SIYSYYGSTYYA** **DSVKG**RFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCAR**GHYQ** **EGRKSGFSYWSPALDY**WGQ GTLVTVSS	26	429	444	385	139	192	245	298
G9.1-11	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITC**RASQSVSSAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYC**QQTYWGLIT**FGQGTKVE IKR	27	328	329	340	98	98	98	98
G9.1-11	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVYSSSIH**WVRQA PGKGLEWVA**SIYSYYGYTSYA** **DSVKG**RFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCAR**STEG** **YDRWGYYSSYWSSGLDY**WG QGTLVTVSS	28	428	445	386	140	193	246	299
G9.1-8m1	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITC**RASQSVSSAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRF	21	328	329	337	95	95	95	95

[0137]

	SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKV EIKR								
G9.1-8m1	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQA PGKGLEWVA**SSSSSSGYTSYA DSVKG**RFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCAR**YSTY SWGGIGKWVWGMDY**WGQG TLVTVSS	74	361	365	374	124	177	230	283
G9.1-8m2	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITC**RASQSVSSAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKV EIKR	21	328	329	337	95	95	95	95
G9.1-8m2	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQA PGKGLEWVA**YIYPYSSSSSYA DSVKG**RFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCAR**YSTY SWGGIGKWVWGMDY**WGQG TLVTVSS	75	361	366	374	125	178	231	284
G9.1-8m3	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITC**RASQSVSSAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKV EIKR	21	328	329	337	95	95	95	95
G9.1-8m3	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQA PGKGLEWVA**YIYPYSGYTSY ADSVKG**RFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCAR**SSSS SWGGIGKWVWGMDY**WGQG TLVTVSS	76	361	364	375	126	179	232	285
G9.1-8m4	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITC**RASQSVSSAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKV EIKR	21	328	329	337	95	95	95	95
G9.1-8m4	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQA PGKGLEWVA**YIYPYSGYTSY ADSVKG**RFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCAR**YST YSSSSSSKWVWGMDY**WGQG TLVTVSS	77	361	364	376	127	180	233	286
G9.1-8m5	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITC**RASQSVSSAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKV EIKR	21	328	329	337	95	95	95	95
G9.1-8m5	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQA PGKGLEWVA**YIYPYSGYTSY ADSVKG**RFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCAR**YST**	78	361	364	377	128	181	234	287

[0138]

	YSWGGIGSSSSSMDYWGQGTLVTVSS								
G9.1-8m6	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKVEIKR	21	328	329	337	95	95	95	95
G9.1-8m6	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**YIYPYSGYTSY****ADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YSTYSSSSSKWVWGMDY**WGQGTLVTVSS	79	361	364	378	129	182	235	288
G9.1-8m7	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKVEIKR	21	328	329	337	95	95	95	95
G9.1-8m7	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**YIYPYSGYTSY****ADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YSTYSSSSKWVWGMDY**WGQGTLVTVSS	80	361	364	379	130	183	236	289
G9.1-8m8	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKVEIKR	21	328	329	f337	95	95	95	95
G9.1-8m8	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**YIYPYSGYTSY****ADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YSTYSSSKWVWGMDY**WGQGTLVTVSS	81	361	364	380	131	184	237	290
G9.1-8m9	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKVEIKR	21	328	329	337	95	95	95	95
G9.1-8m9	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**YIYPYSGYTSY****ADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YSTYSSKWVWGMDY**WGQGTLVTVSS	82	361	364	383	132	185	238	291
G9.1-8m10	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKVEIKR	21	328	329	337	95	95	95	95

[0139]

G9.1-8m10	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**YIYPYSGYTSY****ADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YSTYSKWVWGMDY**WGQGTLVTVSS	83	361	364	381	133	186	239	292
G9.1-8m11	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKVEIKR	21	328	329	337	95	95	95	95
G9.1-8m11	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**YIYPYSGYTSY****ADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YSTYKWVWGMDY**WGQGTLVTVSS	84	361	364	382	134	187	240	293
G9.1-8m12	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKVEIKR	21	328	329	337	95	95	95	95
G9.1-8m12	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**YIYPYSSSSSYA****DSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YSTYSSSKWVWGMDY**WGQGTLVTVSS	85	361	366	380	135	188	241	294
G9.1-8m13	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKVEIKR	21	328	329	337	95	95	95	95
G9.1-8m13	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**YIYPYSSSSSYA****DSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YSTYSSKWVWGMDY**WGQGTLVTVSS	86	361	366	383	136	189	242	295
G9.1-8m14	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYYDSNPIT**FGQGTKVEIKR	21	328	329	337	95	95	95	95
G9.1-8m14	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**YIYPYSSSSSYA****DSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YSTYKWVWGMDY**WGQGTLVTVSS	87	361	366	382	137	190	243	296

[0140] 表2.针对CRD2的抗体

[0141]

克隆	序列	VR	CDR 1	CDR 2	CDR 3	LC /HC IgG1	IgG1 LALA	IgG4	IgG4 mut
		SEQ ID NO:							
G9.2-1	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQYKSKYPFT**FGQGTKVEIKR	29	328	329	341	99	99	99	99
G9.2-1	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTLYSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SIYSSSGYTYYAD SVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**TYTWKSS WSYQTGYGLDY**WGQGTLVTVSS	30	424	446	390	141	194	247	300
G9.2-2	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSSSSLIT**FGQGTKVEIKR	13	328	329	333	91	91	91	91
G9.2-2	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTFSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SISPYYGSTYYAD SVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**AVYYYVY NRSWYWWSGGFDY**WGQGTLVTVSS	31	431	447	391	142	195	248	301
G9.2-3	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSSSSLIT**FGQGTKVEIKR	13	328	329	333	91	91	91	91
G9.2-3	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTFSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SISSSSGSTSYADS VKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**PAYSYPYY YFHYGAMDY**WGQGTLVTVSS	32	431	448	392	143	196	249	302
G9.2-4	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYY**C QQSSSSLIT**FGQGTKVEIKR	13	328	329	342	91	91	91	91
G9.2-4	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTFSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SIYPSYGYTSYAD SVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**AWYHHE YWGHYSGMDY**WGQGTLVTVSS	33	431	449	393	144	197	250	303
G9.2-5	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSSWGLIT**FGQGTKVEIKR	34	328	329	343	100	100	100	100

[0142]

G9.2-5	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTFSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SIYSSYGSTYYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**SGYSHPYYSYYSGMDY**WGQGTLVTVSS	35	431	450	394	145	198	251	304
G9.2-6	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQFWGSKLFT**FGQGTKVEIKR	36	328	329	344	101	101	101	101
G9.2-6	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTFSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SIYSYSGYTYYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**TYMAGYKYYFISGYGFDY**WGQGTLVTVSS	37	431	451	395	146	199	252	305
G9.2-7	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQMYYPGYLIT**FGQGTKVEIKR	38	328	329	345	102	102	102	102
G9.2-7	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTFSYSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SIYPSYGYTYYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YWDYGWMYFDPAMDY**WGQGTLVTVSS	39	425	452	396	147	200	253	306
G9.2-8	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQDRWWSALT**FGQGTKVEIKR	40	328	329	346	103	103	103	103
G9.2-8	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTFSYSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SIYSYSGYTSYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YMENWEWPYHSAMDY**WGQGTLVTVSS	41	425	453	397	148	201	254	307
G9.2-9	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYGSWYPIT**FGQGTKVEIKR	42	328	329	347	104	104	104	104
G9.2-9	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTFYSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SIYSSYGSTYYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**SWWYPYWQYYPGGWHSSGFDY**WGQGTLVTVSS	43	426	454	398	149	202	255	308
G9.2-10	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQGWYASPIT**FGQGTKVEIKR	44	328	329	348	105	105	105	105

[0143]

G9.2-10	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTFYSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**YISPSSGYTSYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YTMTYQYYPSGAMDY**WGQGTLVTVSS	45	426	387	399	150	203	256	309
G9.2-11	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQYSSHKYPFT**FGQGTKVEIKR	46	328	329	349	106	106	106	106
G9.2-11	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTIYSSYIH**WVRQAPGKGLEWVA**SIYSSSGYTYYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**SYIYYMWQYNYGMSGYGLDY**WGQGTLVTVSS	47	432	455	400	151	204	257	310
G9.2-12	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQWVYPGSLIT**FGQGTKVEIKR	48	328	329	350	107	107	107	107
G9.2-12	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTLSYSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SISSSYGYTYYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**HSPYYLHSWWWSGLDY**WGQGTLVTVSS	49	433	456	401	152	205	258	311
G9.2-13	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQYKSKYPFT**FGQGTKVEIKR	29	328	329	341	99	99	99	99
G9.2-13	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTLYYSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SISPSYGSTSYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**HSWYYPYYYYALDY**WGQGTLVTVSS	50	434	362	402	153	206	259	312
G9.2-14	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSSSSLIT**FGQGTKVEIKR	13	328	329	333	91	91	91	91
G9.2-14	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SISSSSGYTYYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YWSYPYVYFLAFDY**WGQGTLVTVSS	51	361	457	403	154	207	260	313
G9.2-15	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSSWGLIT**FGQGTKVEIKR	34	328	329	343	100	100	100	100
G9.2-15	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SIYSSSGYTSYADS**	52	361	458	404	155	208	261	314

[0144]

	VKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCAR**NVENYPY WAWPWGYYGAIDY**WGQGTL VTVSS								
G9.2-16	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGK APKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGS RSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC **QQSSSSLIT**FGQGTKVEIKR	13	328	329	333	91	91	91	91
G9.2-16	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAP GKGLEWVA**SIYSSSGYTYYAD SVKG**RFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAR**TYKWSYY TGYGFDY**WGQGTLVTVSS	53	361	459	405	156	209	262	315
G9.2-17	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGK APKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGS RSGTDFTLTISSLQPEDFATYY**C QQSSTDPIT**FGQGTKVEIKR	54	328	329	352	108	108	108	108
G9.2-17	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAP GKGLEWVA**YISSSSGYTYYAD SVKG**RFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAR**YWSYPSW WPYRGMDY**WGQGTLVTVSS	55	361	388	406	157	210	263	316
G9.2-17mut6	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGK APKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGS RSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC **QQSSTDPIT**FGQGTKVEIKR	54	328	329	352	108	108	108	108
G9.2-17mut6（突变以下划线示出）	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAP GKGLEWVA**YISSSSGYTYYAD SVKG**RFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAR**YWSYPSW SPYRGMDY**WGQGTLVTVSS	56	361	388	407	158	211	264	317
G9.2-18	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGK APKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGS RSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC **QQSSSSLIT**FGQGTKVEIKR	13	328	329	333	91	91	91	91
G9.2-18	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSSYSIH**WVRQAP GKGLEWVA**YIYSSSGYTSYAD SVKG**RFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAR**VGYYYPY LYLGDGLDY**WGQGTLVTVSS	57	430	363	408	159	212	265	318
G9.2-19	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGK APKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGS RSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC **QQSSQYDLIT**FGQGTKVEIKR	58	328	329	354	109	109	109	109
G9.2-19	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSSYSIH**WVRQAP GKGLEWVA**SISSSSGSTSYADS VKG**RFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCAR**NAWHYEPS YWYGNYATYGFDY**WGQGTLV TVSS	59	430	460	409	160	213	266	319

[0145]

G9.2-20	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSSTDPIT**FGQGTKVEIKR	54	328	329	352	108	108	108	108
G9.2-20	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSYSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SISSSSSSTYYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**GQQYYPDQYWGLDY**WGQGTLVTVSS	60	429	461	410	161	214	267	320
G9.2-21	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSSSSSLFT**FGQGTKVEIKR	61	328	329	355	110	110	110	110
G9.2-21	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSYSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SIYSSSGYTYYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**TYYTYFDWWRTAVYYGFDY**WGQGTLVTVSS	62	429	462	411	162	215	268	321
G9.2-22	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQRWYPGDLIT**FGQGTKVEIKR	63	328	329	356	111	111	111	111
G9.2-22	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVYSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SISSSYGYTSYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DYYNYMSSYWWYSALDY**WGQGTLVTVSS	64	428	463	412	163	216	269	322
G9.2-23	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYFPSLVT**FGQGTKVEIKR	65	328	329	357	112	112	112	112
G9.2-23	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVYSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SIYPYYGYTSYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**KIFWPVSWMWQGYYPALDY**WGQGTLVTVSS	66	428	464	413	164	217	270	323
G9.2-24	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQWSQSPVT**FGQGTKVEIKR	67	328	329	358	113	113	113	113
G9.2-24	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVYSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**SIYSSYGYTSYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**SYSSETHYGWAMDY**WGQGTLVTVSS	68	428	465	414	165	218	271	324
G9.2-25	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGK	69	328	329	359	114	114	114	114

[0146]

	APKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGS RSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC **QQSYVYYPFT**FGQGTKVEIKR								
G9.2-25	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTLSSSSIH**WVRQAP GKGLEWVA**SIYSSYGSTSYADS VKG**RFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCAR**QYYTYFE WYMGWGYALDY**WGQGTLVT VSS	70	427	466	415	166	219	272	325
G9.2-26	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGK APKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGS RSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC **QQGGWYYGPIT**FGQGTKVEIK R	71	328	329	360	115	115	115	115
G9.2-26	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAP GKGLEWVA**YISSYSGSTYYAD SVKG**RFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAR**SSALYWM DFSYSALDY**WGQGTLVTVSS	72	361	389	416	167	220	273	326
G9.2-低亲和力结合剂	V_L:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGK APKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGS RSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC **QQSSTDPIT**FGQGTKVEIKR	54	328	329	352	108	108	108	108
G9.2-低亲和力结合剂	V_H:EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAP GKGLEWVA**YISSSSGYTYYAD SVKG**RFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAR**SSSSSSSSS SSSSDY**WGQGTLVTVSS	73	361	388	417	168	221	274	327

[0147] 表3.所选抗体CDR序列

[0148]

克隆		序列	SEQ ID NO:
G9.1-8	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YIYPYSGYTSYADSVKG	364
	V_H CDR3	YSTYSWGGIGKWVWGMDY	374
G9.1-8m1	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	SSSSSSGYTSYADSVKG	365
	V_H CDR3	YSTYSWGGIGKWVWGMDY	374
G9.1-8m2	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YIYPYSSSSSYADSVKG	366

[0149]

	V_H CDR3	YSTYSWGGIGKWVWGMDY	374
G9.1-8m3	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YIYPYSGYTSYADSVKG	364
	V_H CDR3	SSSSSWGGIGKWVWGMDY	375
G9.1-8m4	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YIYPYSGYTSYADSVKG	364
	V_H CDR3	YSTYSSSSSSKWVWGMDY	376
G9.1-8m5	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YIYPYSGYTSYADSVKG	364
	V_H CDR3	YSTYSWGGIGSSSSSMDY	377
G9.1-8m6	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YIYPYSGYTSYADSVKG	364
	V_H CDR3	YSTYSSSSSKWVWGMDY	378
G9.1-8m7	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YIYPYSGYTSYADSVKG	364
	V_H CDR3	YSTYSSSSKWVWGMDY	379
G9.1-8m8	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YIYPYSGYTSYADSVKG	364
	V_H CDR3	YSTYSSSKWVWGMDY	380
G9.1-8m9	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YIYPYSGYTSYADSVKG	364
	V_H CDR3	YSTYSSKWVWGMDY	383
G9.1-8m10	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YIYPYSGYTSYADSVKG	364

[0150]

	V_H CDR3	YSTYSKWVWGMDY	381
G9.1-8m11	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YIYPYSGYTSYADSVKG	364
	V_H CDR3	YSTYKWVWGMDY	382
G9.1-8m12	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YIYPYSSSSSYADSVKG	366
	V_H CDR3	YSTYSSSKWVWGMDY	380
G9.1-8m13	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YIYPYSSSSSYADSVKG	366
	V_H CDR3	YSTYSSKWVWGMDY	383
G9.1-8m14	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSYYDSNPIT	337
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YIYPYSSSSSYADSVKG	366
	V_H CDR3	YSTYKWVWGMDY	382
G9.2-17	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSSTDPIT	352
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YISSSSGYTYYADSVKG	388
	V_H CDR3	YWSYPSWWPYRGMDY	406
G9.2-17m6	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	328
	V_L CDR2	SASSLYS	329
	V_L CDR3	QQSSTDPIT	352
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	361
	V_H CDR2	YISSSSGYTYYADSVKG	388
	V_H CDR3	YWSYPSWSPYRGMDY	407

[0151] 如本文所述分离这样的结合CRD1和CRD2的抗半乳凝素-9抗体,并进行结构表征。本公开内容还考虑了与其可变区或CDR序列具有至少80％同一性(例如,至少85％、至少90％、至少95％或至少99％同一性)的抗体。G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26、G9.2-低亲和力结合剂的VL氨基酸序列在SEQ ID NO:29、13、34、36、38、40、42、44、46、48、29、34、54、58、61、63、65、73、67、69和71中示出。G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26、G9.2-低亲和力结合剂的VH氨基酸序列在SEQ ID NO:30、31、32、33、35、37、39、41、43、45、47、49、50、51、52、53、55、56、57、59、60、62、64、66、68、70、72和73中示出。因此,本文提供了分离的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分,其包含重链可变区和轻链可变区,其中所述轻链可变区包含选自SEQ ID NO:29、13、34、36、38、40、42、44、46、48、29、34、54、58、61、63、65、73、67、69和71的氨基酸序列。在一些实施

例中,所述轻链可变区由选自SEQ ID NO:29、13、34、36、38、40、42、44、46、48、29、34、54、58、61、63、65、73、67、69和71的氨基酸序列组成。还提供了分离的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分,其包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链可变区包含选自SEQ ID NO:30、31、32、33、35、37、39、41、43、45、47、49、50、51、52、53、55、56、57、59、60、62、64、66、68、70、72和73的氨基酸序列。在一些实施例中,所述重链可变区由选自SEQ ID NO:30、31、32、33、35、37、39、41、43、45、47、49、50、51、52、53、55、56、57、59、60、62、64、66、68、70、72和73的氨基酸序列组成。因此,本文提供了分离的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分,其包含重链可变区和轻链可变区,其中所述轻链可变区包含选自SEQ ID NO:29、13、34、36、38、40、42、44、46、48、29、34、54、58、61、63、65、73、67、69和71的氨基酸序列,并且所述重链可变区包含选自SEQ ID NO:30、31、32、33、35、37、39、41、43、45、47、49、50、51、52、53、55、56、57、59、60、62、64、66、68、70、72和73的氨基酸序列。因此,本文提供了分离的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分,其包含重链可变区和轻链可变区,其中所述轻链可变区由选自SEQ IDNO:29、13、34、36、38、40、42、44、46、48、29、34、54、58、61、63、65、73、67、69和71的氨基酸序列组成,并且所述重链可变区由SEQ ID NO:30、31、32、33、35、37、39、41、43、45、47、49、50、51、52、53、55、56、57、59、60、62、64、66、68、70、72和73的氨基酸序列组成。

[0152] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:54的序列的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:55的序列的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:56的序列的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:54的序列的VL区和具有SEQ ID NO:55的序列的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:54的序列的VL区和具有SEQ IDNO:56的序列的VH区。

[0153] G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13、G9.1-8m14的VL氨基酸序列分别在SEQ ID NO:7、9、11、13、15、17、19、21、23、25和27中示出。G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13、G9.1-8m14的VH氨基酸序列分别在SEQ ID NO:8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86和87中示出。因此,本文提供了分离的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分,其包含重链可变区和轻链可变区,其中所述轻链可变区包含选自SEQ ID NO:7、9、11、13、15、17、19、21、23、25和27的氨基酸序列。在一些实施例中,所述轻链可变区由选自SEQ ID NO:7、9、11、13、15、17、19、21、23、25和27的氨基酸序列组成。还提供了分离的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分,其包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链可变区包含选自SEQ ID NO:8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86和87的氨基酸序列。在一些实施例中,所述重链可变区由选自SEQ ID NO:8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86和87的氨基酸序组成。因此,本文提供了分离的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分,其包含重链可变区和轻链可变区,其中所述轻链可变区包含选自SEQ ID NO:7、9、11、13、15、17、19、21、23、25和27的氨基酸序列,并且所述重链

可变区包含选自SEQ ID NO:8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86和87的氨基酸序。在一些实施例中,所述轻链可变区由选自SEQ ID NO:7、9、11、13、15、17、19、21、23、25和27的氨基酸序列组成,并且所述重链可变区由选自SEQ ID NO:8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86和87的氨基酸序组成。

[0154] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:21的序列的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:22的序列的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:86的序列的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:21的序列的VL区和具有序列SEQ ID NO:22的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:21的序列的VL区和具有SEQ ID NO:86的序列的VH区。

[0155] 在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:7-87中的任何一个。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含选自SEQ ID NO:7-87的任何序列的一个或多个序列,及其任何组合。

[0156] 在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:7-28和74-87中的任何一个。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含选自SEQ ID NO:7-28和74-87的任何序列的一个或多个序列,及其任何组合。

[0157] 在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:13、29-73中的任何一个。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含选自SEQ IDNO:13、29-73的任何序列的一个或多个序列,及其任何组合。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:54、55或54和56中的任一个。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含选自SEQ ID NO:54、55或54和56的任何序列的一个或多个序列,及其任何组合。

[0158] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:54的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:55的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含由SEQ ID NO:54组成的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:55组成的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含包含SEQ ID NO:54和55的VL和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:54和55组成的VL和VH区。

[0159] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21组成的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:86的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:86组成的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21和86的VL和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ IDNO:21和86组成的VL和VH区。

[0160] 在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21、22和74-87中的任一个的VL或VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21、22和74-87组成的VL或VH区。在一些具体实施例中,抗半乳

凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含选自SEQ ID NO:21、22和74-87的序列及其任何组合的VL和/或VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由选自SEQ ID NO:21、22和74-87的序列及其任何组合组成的VL和/或VH区。

[0161] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ IDNO:15和SEQ ID NO:16的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:27和SEQ IDNO:28的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:74的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:75的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:76的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:77的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:78的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:79的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:80的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:81的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:82的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:83的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ IDNO:21和SEQ ID NO:84的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:85的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:86的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:31的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:32的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:13和SEQ IDNO:33的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:34和SEQ ID NO:35的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳

凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:36和SEQ ID NO:37的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:38和SEQ ID NO:39的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:40和SEQ ID NO:41的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:42和SEQ ID NO:43的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:44和SEQ ID NO:45的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:46和SEQ ID NO:47的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:48和SEQ ID NO:49的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:50的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:51的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ IDNO:34和SEQ ID NO:52的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:53的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:54和SEQ ID NO:55的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:57的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:59的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:54和SEQ ID NO:60的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:61和SEQ IDNO:62的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:63和SEQ ID NO:64的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:65和SEQ ID NO:66的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:54和SEQ ID NO:56的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:67和SEQ ID NO:68的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:69和SEQ ID NO:70的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:71和SEQ ID NO:72的VL区和VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含包含SEQ ID NO:54和SEQ ID NO:73的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ IDNO:17和SEQ ID NO:18组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原

结合部分包含由SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:27和SEQ IDNO:28组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:74组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:75组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:76组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:77组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:78组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:79组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:80组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21和SEQ IDNO:81组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:82组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:83组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:84组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:85组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:86组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:31组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:13和SEQ IDNO:32组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:33组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:34和SEQ ID NO:35组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:36和SEQ ID NO:37组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:38和SEQ ID NO:39组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:40和SEQ ID NO:41组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:42和SEQ ID NO:43组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:44和SEQ ID NO:45组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:46和SEQ IDNO:47组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:48和SEQ ID NO:49组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:50组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:51组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝

素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:34和SEQ ID NO:52组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:53组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:54和SEQ ID NO:55组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:57组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:58和SEQ IDNO:59组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:54和SEQ ID NO:60组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:61和SEQ ID NO:62组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:63和SEQ ID NO:64组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:65和SEQ ID NO:66组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:54和SEQ ID NO:56组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:67和SEQ ID NO:68组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:69和SEQ ID NO:70组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:71和SEQ IDNO:72组成的VL区和VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含由SEQ ID NO:54和SEQ ID NO:73组成的VL区和VH区。

[0162] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与前述段落中所述的任何抗半乳凝素-9抗体具有至少80%(例如80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:7、9、11、13、15、17、19、21、23、25和27中所示的VL区具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86和87中所示的VH区具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:7、9、11、13、15、17、19、21、23、25和27中所示的VL区具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL区,和与SEQ ID NO:8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86和87中所示的VH区具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:7-288和74-87中所示的VL或VH区具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL或VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:7-288和74-87及其任何组合中所示的VL或VH区具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL或VH区。

[0163] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与选自G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14的抗体的VL区具有至少80%(例如85%、90%、

95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与选自G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14的抗体的VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与选自G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14的抗体的VL或VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL和VH区。

[0164] 在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:21、22和74-87中任一个所示的VL或VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL或VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:21、22和74-87及其任何组合中所示的VL或VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL或VH区。

[0165] 在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.1-8m13的VL区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.1-8m13的VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.1-8m13的VL或VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL和VH区。

[0166] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含与SEQ ID NO:21中所示的VL区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含与SEQ IDNO:86中所示的VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含与SEQ ID NO:21和86中所示的VL和VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL和VH区。

[0167] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:13、29、34、36、38、40、42、44、46、48、29、34、54、58、61、63、65、73、67、69和71中所示的VL区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:30、31、32、33、35、37、39、41、43、45、47、49、50、51、52、53、55、56、57、59、60、62、64、66、68、70、72和73中所示的VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:13、29、34、36、38、40、42、44、46、48、29、34、54、58、61、63、65、73、67、69和71中所示的VL区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL区,和与SEQ ID NO:30、31、32、33、35、37、39、41、43、45、47、49、50、51、52、53、55、56、57、59、60、62、64、66、68、70、72和73中所示的VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同

一性的VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:29-75和77-85中所示的VL或VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL或VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:13、29-73及其任何组合中所示的VL或VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL或VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与SEQ ID NO:54、55和56中任一个中所示的VL或VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL或VH区。

[0168] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与选自G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂的抗体的VL区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与选自G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂的抗体的VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与选自G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂的抗体的VL和VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL和VH区。

[0169] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与选自SEQ ID NO:8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、31、32、33、35、37、39、41、43、45、47、49、50、51、52、53、55、56、57、59、60、62、64、66、68、70、72 73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86和87中任一个序列具有至少80％(例如80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的重链CDR。替代地或另外,抗半乳凝素-9抗体包含与选自SEQ ID NO:7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、34、36、38、40、42、44、46、48、54、58、61、63、65、67、69、71和73中任一个序列具有至少80％(例如80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的轻链CDR。

[0170] 在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.2-17的VL区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.2-17的VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含与G9.2-17的VL和VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL和VH区。

[0171] 在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:54中所示的VL区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段包含与

SEQ ID NO:55中所示的VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH区。在一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:54和55中所示的VL和/或VH区具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL和/或VH区。

[0172] 互补决定区(CDR)

[0173] (例如与CRD1结合的)抗半乳凝素-9抗体可包含G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14或其组合的轻链CDR1、CDR2和CDR3和重链CDR1、CDR2和CDR3。G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14的VL CDR1的氨基酸序列在SEQ ID NO:328中示出。G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14的VL CDR2的氨基酸序列在SEQ ID NO:329中示出。G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14的VL CDR3的氨基酸序列在SEQ ID NO:330-340中示出。G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14的VH CDR1的氨基酸序列在SEQ ID NO:361、427、428、431、435、436、437中示出。G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14的VH CDR2的氨基酸序列在SEQ ID NO:362-366和438-445中示出。G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14的VH CDR3的氨基酸序列在SEQ ID NO:367-386中示出。

[0174] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:328的序列的VL CDR1。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:329的序列的VL CDR2。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有选自SEQ ID NO:330-340中任一个的序列的VL CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:337的序列的VL CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:328的序列的VL CDR1,具有SEQ ID NO:329的序列的VL CDR2和具有选自SEQ ID NO:330-340中任一个的序列的VL CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:328的序列的VL CDR1,具有SEQ IDNO:329的序列的VL CDR2和具有SEQ ID NO:337的序列的VL CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有选自SEQ ID NO:361、427、428、431、435、436和437中任一个的序列的VH CDR1。

在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:361的序列的VH CDR1。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有选自SEQ ID NO:362-366和438-445中任一个的序列的VH CDR2。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有选自SEQ ID NO:364或366的序列的VH CDR2。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有选自SEQ ID NO:367-386中任一个的序列的VH CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:374或383的序列的VH CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有选自SEQ ID NO:361、427、428、431、435、436和437中任一个的序列的VH CDR1,具有选自SEQ ID NO:362-366和438-445中任一个的序列的VH CDR2,和具有选自SEQ ID NO:367-386中任一个的序列的VH CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:361的序列的VH CDR1,具有SEQ ID NO:364的序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:374的序列的VH CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:361的序列的VH CDR1,具有SEQ ID NO:366的序列的VH CDR2和具有SEQ IDNO:383的序列的VH CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:328的序列的VL CDR1,具有SEQ ID NO:329的序列的VL CDR2,具有选自SEQ ID NO:330-340中任一个的序列的VL CDR3,具有选自SEQ ID NO:361、427、428、431、435、436和437中任一个的序列的VH CDR1,具有选自SEQ ID NO:362-366和438-445中任一个的序列的VH CDR2,和具有选自SEQ ID NO:367-386中任一个的序列的VH CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:328的序列的VL CDR1,具有SEQ ID NO:329的序列的VL CDR2,具有SEQ ID NO:337的序列的VL CDR3,具有SEQ ID NO:361序列的VH CDR1,具有SEQ ID NO:364序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:374序列的VH CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:328序列的VL CDR1,具有SEQ ID NO:329序列的VL CDR2,具有SEQ ID NO:337序列的VL CDR3,具有SEQ ID NO:361的序列的VH CDR1,具有SEQ ID NO:366的序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:383的序列的VH CDR3。在这些实施例中的任一个中,抗半乳凝素-9抗体均与CRD1结合。

[0175] 在一些实施例中,(例如与CRD2结合的)抗半乳凝素-9抗体包含G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂或其组合的轻链CDR1、CDR2和CDR3和重链CDR1、CDR2和CDR3。G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂的VL CDR1的氨基酸序列在SEQ ID NO:328中示出。G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂的VL CDR2的氨基酸序列在SEQ ID NO:329中示出。G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂的VL CDR3的氨基酸序列在SEQ ID NO:341-360中示出。G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、

G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂的VH CDR1的氨基酸序列在SEQ ID NO:361、424-434中示出。G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂的VH CDR2的氨基酸序列在SEQ ID NO:362、363、387-389和446-466中示出。G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂的VH CDR3的氨基酸序列在SEQ ID NO:390-417中示出。

[0176] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:328的序列的VL CDR1。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:329的序列的VL CDR2。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有选自SEQ ID NO:341-360中任一个的序列的VL CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:352的序列的VL CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:328的序列的VL CDR1,具有SEQ ID NO:329的序列的VL CDR2和具有选自SEQ ID NO:341-360中任一个的序列的VL CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:328的序列的VL CDR1,具有SEQ IDNO:329的序列的VL CDR2和具有SEQ ID NO:352的序列的VL CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有选自SEQ ID NO:361和424-434中任一个的序列的VH CDR1。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:361的序列的VH CDR1。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有选自SEQ ID NO:362、363、387-389和446-466中任一个的序列的VH CDR2。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:388的序列的VH CDR2。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有选自SEQ ID NO:390-417中任一个的序列的VH CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:406或407的序列的VH CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有选自SEQ ID NO:361和424-434中任一个的序列的VH CDR1,具有选自SEQ ID NO:362、363、387-389和446-466中任一个的序列的VH CDR2,和具有选自SEQ ID NO:390-417中任一个的序列的VH CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:361的序列的VH CDR1,具有SEQ ID NO:388的序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:406的序列的VH CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:361的序列的VH CDR1,具有SEQ ID NO:388的序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:407的序列的VH CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:328的序列的VL CDR1,具有SEQ IDNO:329的序列的VL CDR2,具有选自SEQ ID NO:341-360中任一个的序列的VL CDR3,具有选自SEQ ID NO:361和424-434中任一个的序列的VH CDR1,具有选自SEQ ID NO:362、363、387-389和446-466中任一个的序列的VH CDR2,以及具有选自390-417中任一个的序列的VH CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:328的序列的VL CDR1,具有SEQ ID NO:329的序列的VL CDR2,具有SEQ ID NO:352的序列的VL CDR3,具有SEQ ID NO:361的序列的VH CDR1,具有SEQ ID NO:388的序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:406的序列的VH CDR3。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID

NO:328的序列的VL CDR1,具有SEQ ID NO:329的序列的VL CDR2,具有SEQ ID NO:352的序列的VL CDR3,具有SEQ ID NO:361的序列的VH CDR1,具有SEQ ID NO:388的序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:407的序列的VH CDR3。在这些实施例中的任一个中,抗半乳凝素-9抗体与CRD1结合。

[0177] 因为半乳凝素-9的结合特异性基本上由CDR1、2和3区决定,所以可以将上文公开的VH CDR1、2和3序列和VL CDR1、2和3序列混合并匹配以产生新的结合半乳凝素-9的抗体,只要每种所得新抗体具有VL CDR1、2和3和VH CDR1、2和3即可。使用本文所述的结合测定法可以测试由本文所述的CDR的新组合产生的此类抗体。在一些实施例中,来自特定VH或VL序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列被结构类似的CDR序列替代。根据本领域已知的方法,可以通过用来自本文公开的CDR序列的结构上类似的序列取代一个或多个VH和/或VL CDR序列来产生新的VH和VL序列。

[0178] 因此,在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含(a)SEQ ID NO:328中所示的VL CDR1氨基酸序列;(b)SEQ ID NO:329中所示的VL CDR2氨基酸序列;(c)选自SEQ ID NO:330-340和341-360的VL CDR3氨基酸序列;(d)SEQ ID NO:SEQ ID NO:361、427、428、431、435、436、437和SEQ ID NO:361、424-434中所示的VH CDR1氨基酸序列;(e)选自SEQ ID NO:362-366和438-445、362、363和387-389和446-466的VH CDR2氨基酸序列;(f)选自SEQ ID NO:367-386和390-417的VH CDR3氨基酸序列。

[0179] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:328中所示的VL CDR1氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ IDNO:329中所示的VL CDR2氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含选自SEQ ID NO:330-340的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:361、427、428、431、435、436、437中所示的VH CDR1氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含选自SEQ ID NO:362-366和438-445的VH CDR2氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含选自SEQ ID NO:367-386的VH CDR3氨基酸序列。因此,在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含(a)SEQ ID NO:328中所示的VL CDR1氨基酸序列;(b)SEQ ID NO:329中所示的VL CDR2氨基酸序列;(c)选自SEQ IDNO:330-340的VL CDR3氨基酸序列;(d)SEQ ID NO:361、427、428、431、435、436、437中所示的VH CDR1氨基酸序列;(e)选自SEQ ID NO:362-366和438-445的VH CDR2氨基酸序列;(f)选自SEQ ID NO:367-386的VH CDR3氨基酸序列。

[0180] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:328中所示的VL CDR1氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ IDNO:329中所示的VL CDR2氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含选自SEQ ID NO:341-360的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:361、424-434中所示的VH CDR1氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含选自SEQ ID NO:362、363、387-389和446-466的VH CDR2氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含选自SEQ ID NO:390-417的VH CDR3氨基酸序列。

[0181] 因此,在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含(a)SEQ ID NO:

328中所示的VL CDR1氨基酸序列;和(b)SEQ ID NO:329中所示的VL CDR2氨基酸序列;(c)选自SEQ ID NO:341-360的VL CDR3氨基酸序列;(d)SEQ ID NO:361中所示的VH CDR1氨基酸序列;(e)选自SEQ ID NO:362、363、387-389和446-466的VH CDR2氨基酸序列;(f)选自SEQ ID NO:390-417的VH CDR3氨基酸序列。

[0182] 9.1抗体克隆和相关CDR

[0183] 克隆9.1-来源的轻链可变区

[0184] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和330。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:328、329和330组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-1相同的VL CDR。

[0185] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和331。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:328、329和331组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-2相同的VL CDR。

[0186] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和332。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:328、329和332组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-3相同的VL CDR。

[0187] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和333。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:328、329和333组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-4相同的VL CDR。

[0188] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和334。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:328、329和334组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-5相同的VL CDR。

[0189] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和335。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:328、329和335组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-6相同的VL CDR。

[0190] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和336。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:328、329和336组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-7相同的VL CDR。

[0191] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:328、329和337组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8相同的VL CDR。

[0192] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可

变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和338。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:328、329和338组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-9相同的VL CDR。

[0193] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和339。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:328、329和339组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-10相同的VL CDR。

[0194] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和340。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:328、329和340组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-11相同的VL CDR。

[0195] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1包含SEQ ID NO:328。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR2包含SEQ ID NO:329。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR3包含SEQ ID NO:337。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1由SEQ ID NO:328组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR2由SEQ ID NO:329组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR3由SEQ ID NO:337组成。在一些实施例中,抗体包含与9.1-8、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13或G9.1-8m14相同的VL CDR。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m12相同的VL CDR。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m13相同的VL CDR。

[0196] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1包含SEQ ID NO:361。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR2包含$X_1X_2X_3X_4X_5SX_6X_7X_8$SYADSVKG(SEQ ID NO:467),其中X_1=Y或S,X_2=I或S,X_3=Y或S,X_4=P或S,X_5=Y或S,X_6=G或S,X_7=Y或S,并且X_8=T或S。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR3包含$X_1SX_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}KX_{11}X_{12}X_{13}$GMDY(SEQ ID NO:468),其中$X_1$=Y或S,$X_2$=T、S或不存在,$X_3$=Y、S或不存在,$X_4$=S或不存在,$X_5$=W、S或不存在,$X_6$=S或不存在,$X_7$=G、S或不存在,$X_8$=G、T、S或不存在,$X_9$=I、Y、S或不存在,$X_{10}$=G、S或Y,$X_{11}$=W或S,$X_{12}$=V或S,并且$X_{13}$=W或S。在一些实例中,抗半乳凝素-9抗体包含在重链CDR3结构域中的X_7处的G,X_8处的Y,和/或X_9处的T。替代地或另外,抗半乳凝素-9抗体在重链CDR2结构域的X_4-X_7中的一个或多个处包含缺失。在另一些实例中,抗半乳凝素-9抗体在重链CDR2结构域的X_6-X_8中的一个或多个处包含S。替代地或另外,抗半乳凝素-9抗体在重链CDR3结构域的X_5-X_7中的一个或多个处包含缺失。在另一个实例中,抗半乳凝素-9抗体在重链CDR2结构域的X_6-X_8中的一个或多个处包含S。替代地或另外,抗半乳凝素-9抗体在重链CDR3结构域的X_3-X_9中的一个或多个处包含缺失和/或X10是Y。

[0197] 克隆9.1-来源的重链可变区

[0198] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:431、438和367。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:431、438和367组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-1相同的VH CDR。

[0199] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:435、439和368。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:435、439和368组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-2相同的VH CDR。

[0200] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:436、363和369。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:436、363和369组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-3相同的VH CDR。

[0201] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:437、440和370。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:437、440和370组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-4相同的VH CDR。

[0202] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:437、441和371。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:437、441和371组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-5相同的VH CDR。

[0203] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:427、442和372。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:427、442和372组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-6相同的VH CDR。

[0204] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、443和373。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、443和373组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-7相同的VH CDR。

[0205] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和374。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、364和374组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8相同的VH CDR。

[0206] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、363和384。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、363和384组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-9相同的VH CDR。

[0207] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:429、444和385。在一些实施例

中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:429、444和385组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-10相同的VH CDR。

[0208] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:428、445和386。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:428、445和386组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-11相同的VH CDR。

[0209] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、365和374。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、365和374组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m1相同的VH CDR。

[0210] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、366和374。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、366和374组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m2相同的VH CDR。

[0211] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和375。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、364和375组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m3相同的VH CDR。

[0212] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和376。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:361、364和376组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m4相同的VH CDR。

[0213] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和377。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、364和377组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m5相同的VH CDR。

[0214] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和378。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、364和378组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m6相同的VH CDR。

[0215] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和379。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、364和379组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m7相同的VH CDR。

[0216] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和380。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、364和380组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m8相同的VH CDR。

[0217] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可

变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和383。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、364和383组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m9相同的VH CDR。

[0218] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和381。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、364和381组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m10相同的VH CDR。

[0219] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和382。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、364和382组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m11相同的VH CDR。

[0220] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、366和380。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、366和380组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m12相同的VH CDR。

[0221] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1包含SEQ ID NO:361。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR2包含SEQ ID NO:366。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR3区包含SEQ ID NO:383。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1由SEQ ID NO:361组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区区CDR2由SEQ ID NO:366组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR3区由SEQ ID NO:383组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、366和383。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、366和383组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m13相同的VH CDR。

[0222] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、366和382。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:361、366和382组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-8m14相同的VH CDR。

[0223] 克隆9.1-9.1重链可变区和轻链可变区

[0224] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和330,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:431、438和367。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别由SEQ ID NO:328、329和330组成和由SEQ ID NO:431、438和367组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.1-1相同的VL CDR和VH CDR。

[0225] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和331,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:435、439和368。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和331组成和由SEQ ID NO:435、439和368组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.1-2相同的VL CDR和VH CDR。

[0226] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和332,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:436、363和369。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和332组成和由SEQ ID NO:436、363和369组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.1-3相同的VL CDR和VH CDR。

[0227] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和333,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:437、440和370。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和333组成和由SEQ ID NO:437、440和370组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.1-4相同的VL CDR和VH CDR。

[0228] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和334,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:437、441和371。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和334组成和由SEQ ID NO:437、441和371组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.1-5相同的VL CDR和VH CDR。

[0229] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和335,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:427、442和372。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和335组成和由SEQ ID NO:427、442和372组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.1-6相同的VL CDR和VH CDR。

[0230] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和336,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、443和373。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和336组成和由SEQ ID NO:361、443和373组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.1-7相同的VL CDR和VH CDR。

[0231] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和374。在一些实施例中,轻链可变区

CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、364和374组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-8相同的VL CDR和VH CDR。

[0232] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和338,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、363和384。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和338组成和由SEQ ID NO:361、363和384组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-9相同的VL CDR和VH CDR。

[0233] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和339,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:429、444和385。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和339组成和由SEQ ID NO:429、444和385组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-10相同的VL CDR和VH CDR。

[0234] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和340,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:428、445和386。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和340组成和由SEQ ID NO:428、445和386组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-11相同的VL CDR和VH CDR。

[0235] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、365和374。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、365和374组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-8m1相同的VL CDR和VH CDR。

[0236] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、366和374。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、366和374组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-8m2相同的VL CDR和VH CDR。

[0237] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和375。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、364和375组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-8m3相同的VL CDR和VH CDR。

[0238] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和376。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、364和376组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-8m4相同的VL CDR和VH CDR。

[0239] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和377。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、364和377组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-8m5相同的VL CDR和VH CDR。

[0240] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和378。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、364和378组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-8m6相同的VL CDR和VH CDR。

[0241] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和379。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、364和379组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-8m7相同的VL CDR和VH CDR。

[0242] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和380。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、364和380组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-8m8相同的VL CDR和VH CDR。

[0243] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和383。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、364和383组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-8m9相同的VL CDR和VH CDR。

[0244] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和381。在一些实施例中,轻链可变区

CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、364和381组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-8m10相同的VL CDR和VH CDR。

[0245] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、364和382。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、364和382组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-8m11相同的VL CDR和VH CDR。

[0246] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、366和380。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、366和380组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-8m12相同的VL CDR和VH CDR。

[0247] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、366和383。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、366和383组成。在一个具体实施例中,该抗体包含与G9.1-8m13相同的VL CDR和VH CDR。

[0248] 在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中:轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:328、329和337,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、366和382。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ IDNO:328、329和337组成和由SEQ ID NO:361、366和382组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.1-8m14相同的VL CDR和VH CDR。

[0249] 序列同一性

[0250] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与本文所述的示例性抗体的相应V_L CDR相比单独或共同地具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链CDR。替代地或另外,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1或CRD2具有特异性)可以包含与本文所述的示例性抗体的相应V_H CDR相比单独或共同地具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的重链CDR。

[0251] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与选自以下的抗体或其抗原结合部分的相应V_L CDR相比单独或共同地具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链CDR:G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、

G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与选自以下的抗体或其抗原结合部分的相应V_H CDR相比单独或共同地具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的重链CDR:G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14。

[0252] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与选自以下的抗体或其抗原结合部分的相应V_L CDR和V_H CDR相比单独或共同地具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链CDR和重链CDR:G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14。

[0253] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与SEQ ID NO:374中所示的VL CDR1氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR1氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与SEQ IDNO:329中所示的VL CDR2氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR2氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与选自SEQ ID NO:330-340的VL CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR3氨基酸序列。

[0254] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与SEQ ID NO:361、427、428、431、435、436、437中所示的VH CDR1氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR1氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与选自SEQ ID NO:362-366和438-445的VH CDR2氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR2氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与选自SEQ ID NO:367-386的VH CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR3氨基酸序列。

[0255] 因此,在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含(a)与SEQ ID NO:328中所示的VL CDR1氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR1氨基酸序列;(b)与SEQ ID NO:329中所示的VL CDR2氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR2氨基酸序列;(c)与选自SEQ ID NO:330-340的VL CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR3氨基酸序列;(d)与SEQ ID NO:361、427、428、431、435、436、437中所示的VH CDR1氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%

及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR1氨基酸序列;(e)与选自SEQ ID NO:362-366和438-445的VH CDR2氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR2氨基酸序列;(f)与选自SEQ ID NO:367-386的VH CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR3氨基酸序列。

[0256] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:328、329和337中所示的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗体VL CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列与G9.1-8m13的VL CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列与SEQ ID NO:361、366和383中所示的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗体VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列与G9.1-8m13的VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性。在一个具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:328、329和337中所示的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:361、366和383中所示的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性。在一个具体实施例中,抗体VL CDR1、CDR2和CDR3和VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与G9.1-8m13的VL CDR1、CDR2和CDR3和VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性。

[0257] 9.2抗体克隆和相关CDR

[0258] 克隆9.2-来源的轻链可变区

[0259] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和341。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和341组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-1相同的VL CDR。

[0260] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和333。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和333组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-2相同的VL CDR。

[0261] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和333。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和333组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-3相同的VL CDR。

[0262] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和342。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和342组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-4相同的VL CDR。

[0263] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和343。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和343组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-5相同的VL CDR。

[0264] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和344。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和344组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-6相同的VL CDR。

[0265] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和345。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和345组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-7相同的VL CDR。

[0266] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和346。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和346组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-8相同的VL CDR。

[0267] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和347。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和347组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-9相同的VL CDR。

[0268] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和348。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和348组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-10相同的VL CDR。

[0269] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和349。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和349组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-11相同的VL CDR。

[0270] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和350。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和350组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-12相同的VL CDR。

[0271] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和341。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和341组成。在一些实施例

中,抗体包含与G9.2-13相同的VL CDR。

[0272] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和333。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和333组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-14相同的VL CDR。

[0273] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和343。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和343组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-15相同的VL CDR。

[0274] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和333。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和333组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-16相同的VL CDR。

[0275] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1包含SEQ ID NO:328。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR2包含SEQ ID NO:329。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR3包含SEQ ID NO:352。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1由SEQ ID NO:328组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR2由SEQ ID NO:329组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR3由SEQ ID NO:352组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和352。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和352组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-17相同的VL CDR。

[0276] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和352。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和352组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-17mut6相同的VL CDR。

[0277] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和333。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和333组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-18相同的VL CDR。

[0278] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和354。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和354组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-19相同的VL CDR。

[0279] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和352。在一些实施例

中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和352组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-20相同的VL CDR。

[0280] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和355。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和355组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-21相同的VL CDR。

[0281] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和356。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和356组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-22相同的VL CDR。

[0282] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和357。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和357组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-23相同的VL CDR。

[0283] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和358。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和358组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-24相同的VL CDR。

[0284] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和359。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和359组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-25相同的VL CDR。

[0285] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和360。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和360组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-26相同的VL CDR。

[0286] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和352。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和352组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-低亲和力结合剂相同的VL CDR。

[0287] 克隆9.2-来源的重链可变区

[0288] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:424、446和390。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:424、446和390组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-1相同的VH CDR。

[0289] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:431、447和391。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:431、447和391组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-2相同的VH CDR。

[0290] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:431、448和392。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区由SEQ ID NO:431、448和392组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-3相同的VH CDR。

[0291] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:431、449和393。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:431、449和393组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-4相同的VH CDR。

[0292] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:431、450和394。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:431、450和394组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-5相同的VH CDR。

[0293] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:431、451和395。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:431、452和395组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-6相同的VH CDR。

[0294] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:425、453和396。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:425、453和396组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-7相同的VH CDR。

[0295] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:425、453和397。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:425、453和397组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-8相同的VH CDR。

[0296] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:426、454和398。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:426、454和398组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-9相同的VH CDR。

[0297] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:426、387和399。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:426、387和399组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-10相同的VH CDR。

[0298] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:432、455和400。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:432、455和400组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-11相同的VH CDR。

[0299] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:433、456和401。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:433、456和401组成。在一些实施例

中,抗体包含与G9.2-12相同的VH CDR。

[0300] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:434、362和402。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:434、362和402组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-13相同的VH CDR。

[0301] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:361、457和403。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:361、457和403组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-14相同的VH CDR。

[0302] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:361、458和404。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:361、458和404组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-15相同的VH CDR。

[0303] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:361、459和405。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:361、459和405组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-16相同的VH CDR。

[0304] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:361、388和406。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:361、388和406组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-17相同的VH CDR。

[0305] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:361、388和407。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:361、388和407组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-17mut6相同的VH CDR。

[0306] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:430、363和408。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:430、363和408组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-18相同的VH CDR。

[0307] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:430、460和409。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:430、460和409组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-19相同的VH CDR。

[0308] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:429、461和410。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:429、461和410组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-20相同的VH CDR。

[0309] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:429、462和411。在一些实施例

中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:429、462和411组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-21相同的VH CDR。

[0310] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:428、463和412。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:428、463和412组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-22相同的VH CDR。

[0311] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:428、464和413。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:428、464和413组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-23相同的VH CDR。

[0312] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:428、465和414。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:428、465和414组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-24相同的VH CDR。

[0313] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:427、466和415。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:427、466和415组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-25相同的VH CDR。

[0314] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:361、389和416。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:361、389和416组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-26相同的VH CDR。

[0315] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:361、388和417。在一些实施例中,重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:361、388和417组成。在一些实施例中,抗体包含与G9.2-低亲和力结合剂相同的VH CDR。

[0316] 克隆9.2-来源的重链可变区和轻链可变区

[0317] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和341,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:424、446和390。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和341和SEQ ID NO:424、446和390组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-1相同的VL CDR和VH CDR。

[0318] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和333,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:431、447和391。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和333和SEQ ID NO:431、447和391组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-2相同的VL CDR和VH CDR。

[0319] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和333,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:431、448和392。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和333和SEQ ID NO:431、448和392组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-3相同的VL CDR和VH CDR。

[0320] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和342,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:431、449和393。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和342和SEQ ID NO:431、449和393组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-4相同的VL CDR和VH CDR。

[0321] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和343,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:431、450和394。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和343和SEQ ID NO:431、450和394组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-5相同的VL CDR和VH CDR。

[0322] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和344,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:431、451和395。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和344和SEQ ID NO:431、451和395组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-6相同的VL CDR和VH CDR。

[0323] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和345,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:425、452和396。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和345和SEQ ID NO:425、452和396组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-7相同的VL CDR和VH CDR。

[0324] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和346,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:245、453和397。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和346和SEQ ID NO:245、453和397组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-8相同的VL CDR和VH CDR。

[0325] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和347,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:426、454和398。在一些实施例中,轻链可变区

CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和347和SEQ ID NO:426、454和398组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-9相同的VL CDR和VH CDR。

[0326] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和348,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:426、387和399。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和348和SEQ ID NO:426、387和399组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-10相同的VL CDR和VH CDR。

[0327] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和349,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:432、455和400。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和349和SEQ ID NO:432、455和400组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-11相同的VL CDR和VH CDR。

[0328] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和350,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:433、456和401。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和350和SEQ ID NO:433、456和401组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-12相同的VL CDR和VH CDR。

[0329] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和341,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:434、362和402。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和341和SEQ ID NO:434、362和402组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-13相同的VL CDR和VH CDR。

[0330] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和333,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、457和403。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和333和SEQ ID NO:361、457和403组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-14相同的VL CDR和VH CDR。

[0331] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和343,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、458和404。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和343和SEQ ID NO:361、458和404组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-15相同的VL CDR和VH CDR。

[0332] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和333,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、459和405。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和333和SEQ ID NO:361、459和405组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-16相同的VL CDR和VH CDR。

[0333] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和352,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、388和406。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和352和SEQ ID NO:361、388和406组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-17相同的VL CDR和VH CDR。

[0334] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和352,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、388和404。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和352和SEQ ID NO:361、388和404组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-17mut6相同的VL CDR和VH CDR。

[0335] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和333,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:430、363和408。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和333和SEQ ID NO:430、363和408组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-18相同的VL CDR和VH CDR。

[0336] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和354,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:430、460和409。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和354和SEQ ID NO:430、460和409组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-19相同的VL CDR和VH CDR。

[0337] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和352,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:429、461和410。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和352和SEQ ID NO:429、461和410组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-20相同的VL CDR和VH CDR。

[0338] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和355,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:429、462和411。在一些实施例中,轻链可变区

CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和355和SEQ ID NO:429、462和411组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-21相同的VL CDR和VH CDR。

[0339] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和356,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:428、463和412。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和356和SEQ ID NO:428、463和412组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-22相同的VL CDR和VH CDR。

[0340] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和357,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:428、464和413。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和357和SEQ ID NO:428、464和413组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-23相同的VL CDR和VH CDR。

[0341] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和358,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:428、465和414。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和358和SEQ ID NO:428、465和414组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-24相同的VL CDR和VH CDR。

[0342] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和359,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:427、466和415。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和359和SEQ ID NO:427、466和415组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-25相同的VL CDR和VH CDR。

[0343] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和360,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、389和416。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和360和SEQ ID NO:361、389和416组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-26相同的VL CDR和VH CDR。

[0344] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别包含SEQ ID NO:328、329和352,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:361、388和417。在一些实施例中,轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3和重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区分别由SEQ ID NO:328、329和352和SEQ ID NO:361、388和417组成。在一个具体实施例中,抗体包含与G9.2-低亲和力结合剂相同的VL CDR和VH CDR。

[0345] 序列同一性

[0346] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与选自以下的抗体或其抗原结合部分的相应V_L CDR相比单独或共同地具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链CDR:G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与选自以下的抗体或其抗原结合部分的相应V_H CDR相比单独或共同地具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的重链CDR:G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂。

[0347] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与选自以下的抗体或其抗原结合部分的相应V_L CDR和V_H CDR相比单独或共同地具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链CDR和重链CDR:G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂。

[0348] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与SEQ ID NO:328中所示的VL CDR1氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR1氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与SEQ IDNO:329中所示的VL CDR2氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR2氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与选自SEQ ID NO:341-360的VL CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR3氨基酸序列。

[0349] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与SEQ ID NO:361和424-434中所示的VH CDR1氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR1氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与选自SEQ ID NO:362、363、387-389和446-466的VH CDR2氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR2氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体(例如,对CRD1和/或CRD2具有特异性)可以包含与选自SEQ ID NO:390-417的VH CDR3氨基酸序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR3氨基酸序列。

[0350] 因此,在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含(a)与SEQ ID

NO:328中所示的VL CDR1氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR1氨基酸序列;(b)与SEQ ID NO:329中所示的VL CDR2氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR2氨基酸序列;(c)与选自SEQ ID NO:341-360的VL CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VL CDR3氨基酸序列;(d)与SEQ ID NO:361、424-434中所示的VH CDR1氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR1氨基酸序列;(e)与选自SEQ ID NO:362、363、387-389和446-466的VH CDR2氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR2氨基酸序列;(f)与选自SEQ ID NO:390-417的VH CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的VH CDR3氨基酸序列。

[0351] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:328、329和352中所示的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗体VL CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列与G9.2-17的VL CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:361、388和406中所示的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗体VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列与G9.2-17的VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其结合部分包含重链可变区和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:328、329和352中所示的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性,并且重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:361、388和406中所示的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性。在一个具体实施例中,抗体VL CDR1、CDR2和CDR3和VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列与G9.2-17的VL CDR1、CDR2和CDR3和VH CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性。

[0352] 表位和恒定区

[0353] 在一些实施例中,本文所述的抗半乳凝素-9抗体与本文所述的任何示例性抗体(例如,包含SEQ ID NO:7-87中任一个或其CDR的抗体)结合相同的表位或者与示例性抗体竞争与半乳凝素-9抗原结合。“表位”是指靶抗原上被抗体识别并结合的位点。该位点可以完全由氨基酸组分构成,完全由蛋白质氨基酸的化学修饰(例如,糖基部分)构成,或者由其组合构成。重叠表位包含至少一个共同氨基酸残基。表位可以是线性的,其长度通常为6-15个氨基酸。或者,表位可以是构象的。抗体结合的表位可以通过常规技术确定,例如表位作

图法(参见例如以下描述)。与本文所述的示例性抗体结合相同表位的抗体可以与示例性抗体结合完全相同的表位或基本上重叠的表位(例如,包含少于3个非重叠氨基酸残基,少于2个非重叠氨基酸残基,或仅1个非重叠氨基酸残基)。两种抗体是否彼此竞争与同源抗原的结合可以通过本领域众所周知的竞争测定法来确定。

[0354] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体可以结合至少其一个片段在半乳凝素-9蛋白(例如人半乳凝素-9或小鼠半乳凝素-9)的CRD1中的表位。在一些实施例中,抗体可以结合完全在半乳凝素-9蛋白的CRD1内的表位。在一些实施例中,抗体可以结合部分在半乳凝素-9蛋白的CRD1内的表位。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体结合的表位是线性表位。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体结合的表位是构象表位。

[0355] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体可以结合至少其一个片段在半乳凝素-9蛋白(例如人半乳凝素-9或小鼠半乳凝素-9)的CRD2中的表位。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体可以结合完全在半乳凝素-9蛋白的CRD2内的表位。在其中抗半乳凝素-9抗体结合部分或完全在CRD2内的表位的一些具体实施例中,抗体结合包含至少残基W309的表位。在其中抗半乳凝素-9抗体结合部分或完全在CRD2内的表位的一些具体实施例中,抗半乳凝素-9抗体结合的表位不包含SEQ ID NO:1的R253、R271、Y330、R334、R341和Y236中的一个或更多个。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体结合的表位是包含残基W309的线性表位。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体结合的表位是包含W309的构象表位。

[0356] 在一些实例中,抗半乳凝素-9抗体包含与本文所述的示例性抗体相同的V_H和/或V_L CDR。具有相同V_H和/或V_L CDR的两种抗体意味着,当通过相同方法(例如,本领域已知的Kabat方法或Chothia方法)确定时,它们的CDR是相同的。与本文所述的示例性抗体相比,这样的抗半乳凝素-9抗体可具有相同的V_H、相同的V_L或两者。

[0357] 具有相同CDR的两个重链可变区(或两个轻链可变区)是指通过相同编号方案确定的两个重链可变区(或轻链可变区)中的CDR是相同的。用于确定抗体CDR的示例性编号方案包括“Kabat”编号方案(Kabat等人.(1991),第5版.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md)、“Chothia”编号方案(Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948)、“Contact”编号方案(MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996))、“IMGT”编号方案(Lefranc M P等人,Dev Comp Immunol,2003January;27(1):55-77),和“AHo”编号方案(Honegger A和Pluckthun A,J Mol Biol,2001Jun.8;309(3):657-70)。如本领域技术人员已知的,本文鉴定的示例性抗pKal和抗FXII抗体的CDR区通过用作示例的“Chothia”编号方案确定。

[0358] 同样在本公开内容的范围内的是本文公开的任何示例性抗半乳凝素-9抗体的功能变体。这样的功能变体在结构和功能两方面与示例性抗体基本上类似。功能变体包含与示例性抗体基本上相同的V_H和V_L CDR。例如,其可以在抗体的整个CDR区中仅包含至多5个(例如4、3、2或1个)氨基酸残基变异,并以基本上类似的亲和力(例如,具有相同数量级的K_D值)结合半乳凝素-9的相同表位。替代地或另外,氨基酸残基变异是保守氨基酸残基取代。如本文所用,“保守氨基酸取代”是指不改变进行氨基酸取代的蛋白质的相对电荷或大小特征的氨基酸取代。可以根据本领域普通技术人员已知的用于改变多肽序列的方法来制备变体,例如在编译此类方法的参考文献中可以找到方法,例如Molecular Cloning:A Laboratory Manual,J.Sambrook等人编,第二版,Cold Spring Harbor Laboratory

Press,Cold Spring Harbor,New York,1989,或Current Protocols in Molecular Biology,F.M.Ausubel等人编,John Wiley&Sons,Inc.,New York。氨基酸的保守取代包括在以下组内的氨基酸之间进行的取代:(a)M、I、L、V;(b)F、Y、W;(c)K、R、H;(d)A、G;(e)S、T;(f)Q、N;和(g)E、D。

[0359] 使用以下中的算法确定两个氨基酸序列的“同一性百分比”:Karlin和Altschul Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87:2264-68,1990,修改版Karlin和Altschul Proc.Natl.Acad.Sci.USA90:5873-77,1993。这样的算法并入到了Altschul等人.J.Mol.Biol.215:403-10,1990的NBLAST和XBLAST程序(2.0版)中。可以用XBLAST程序进行BLAST蛋白质搜索,得分＝50,字长＝3,以获得与目的蛋白质分子同源的氨基酸序列。在两个序列之间存在缺口(gap)的情况下,可以如Altschul等人,Nucleic Acids Res.25(17):3389-3402,1997所述利用Gapped BLAST。当使用BLAST和Gapped BLAST程序时,可以使用各个程序(例如XBLAST和NBLAST)的默认参数。抗半乳凝素-9抗体可包含来源于种系VH片段亚类的重链可变区框架。这样的种系VH区是本领域众所周知的。参见例如IMGT数据库(www.imgt.org)或www.vbase2.org/vbstat.php。实例包括IGHV1亚家族(例如,IGHV1-2、IGHV1-3、IGHV1-8、IGHV1-18、IGHV1-24、IGHV1-45、IGHV1-46、IGHV1-58和IGHV1-69)、IGHV2亚家族(例如,IGHV2-5、IGHV2-26和IGHV2-70)、IGHV3亚家族(例如,IGHV3-7、IGHV3-9、IGHV3-11、IGHV3-13、IGHV3-15、IGHV3-20、IGHV3-21、IGHV3-23、IGHV3-30、IGHV3-33、IGHV3-43、IGHV3-48、IGHV3-49、IGHV3-53、IGHV3-64、IGHV3-66、IGHV3-72和IGHV3-73、IGHV3-74)、IGHV4亚家族(例如,IGHV4-4、IGHV4-28、IGHV4-31、IGHV4-34、IGHV4-39、IGHV4-59、IGHV4-61和IGHV4-B)、IGHV亚家族(例如,IGHV5-51或IGHV6-1),以及IGHV7亚家族(例如,IGHV7-4-1)。

[0360] 替代地或另外,抗半乳凝素-9抗体可包含轻链可变区,所述轻链可变区包含来源于种系Vκ片段的框架。实例包括IGKV1框架(例如,IGKV1-05、IGKV1-12、IGKV1-27、IGKV1-33或IGKV1-39)、IGKV2框架(例如,IGKV2-28)、IGKV3框架(例如IGKV3-11、IGKV3-15或IGKV3-20)和IGKV4框架(例如IGKV4-1)。在另一些情况下,抗半乳凝素-9抗体可包含轻链可变区,所述轻链可变区包含来源于种系Vλ片段的框架。实例包括IGλ1框架(例如,IGλV1-36、IGλV1-40、IGλV1-44、IGλV1-47、IGλV1-51)、IGλ2框架(例如,IGλV2-8、IGλV2-11、IGλV2-14、IGλV2-18、IGλV2-23)、IGλ3框架(例如,IGλV3-1、IGλV3-9、IGλV3-10、IGλV3-12、IGλV3-16、IGλV3-19、IGλV3-21、IGλV3-25、IGλV3-27)、IGλ4框架(例如,IGλV4-3、IGλV4-60、IGλV4-69)、IGλ5框架(例如,IGλV5-39、IGλV5-45)、IGλ6框架(例如,IGλV6-57)、IGλ7框架(例如,IGλV7-43、IGλV7-46、)、IGλ8框架(例如,IGλV8-61)、IGλ9框架(例如,IGλV9-49)、或IGλ10框架(例如,IGλV10-54)。

[0361] 在一些实施例中,本文所述的任何抗半乳凝素-9抗体的重链可进一步包含重链恒定区(CH)或其一部分(例如,CH1、CH2、CH3或其组合)。重链恒定区可以是任何合适的来源,例如人、小鼠、大鼠或兔。在一个具体实例中,重链恒定区来自本文所述的任何IgG亚家族的人IgG(γ重链)。

[0362] 在一些实施例中,本文所述的抗体的重链恒定区可以包含恒定区(例如,SEQ ID NO:419-423)的单个结构域(例如,CH1、CH2或CH3)或任何单个结构域的组合。在一些实施例中,本文所述的抗体的轻链恒定区可包含恒定区(例如SEQ ID NO:418)的单个结构域(例如

CL)。示例性的轻链和重链序列在下面列出。hIgG1 LALA序列包含两个突变L234A和L235A，二者抑制FcgR结合；还包含P329G突变以消除补体C1q结合，从而消除所有免疫效应子功能。这些突变在下面所示的序列中带有下划线和粗体。hIgG4 Fab Arm Exchange突变体序列包含抑制Fab Arm Exchange的突变(S228P)，带有下划线和粗体。在所有G9.2-17构建体中，G9.2-17的轻链序列是相同的。同样，在所有G9.1-8m13构建体中，G9.1-8m13的轻链序列是相同的。粗体残基为VH和VL区。IL2信号序列(MYRMQLLSCIALSLALVTNS；SEQ ID NO:469)位于可变区的N-末端。其用于表达载体，在分泌过程中被切割，因此不在成熟抗体分子中。成熟蛋白质(分泌后)重链以“EVQ”开始，并且轻链以“DIQM”开始。

[0363] 示例性的重链和轻链序列

G9.2-17 hIgG1 重链 (SEQ ID NO: 157)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRFTI
SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK
STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

轻链(SEQ ID NO: 108)

[0364]
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQSSTDPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC*

G9.2-17 hIgG1 LALA 重链 (SEQ ID NO: 210)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRFTI
SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK
STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL**G**APIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

轻链 (SEQ ID NO: 108)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQSSTDPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC*

G9.2-17 hIgG4 重链 (SEQ ID NO: 263)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRFTI
SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR
STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR
WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

轻链 (SEQ ID NO: 108)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQSSTDPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC*

G9.2-17 hIgG4 Fab Arm 交换 mut 重链 (SEQ ID NO: 316)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVK
GRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL
APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTY
TCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP
EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT
VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[0365]

轻链 (SEQ ID NO: 108)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQSSTDPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC*

G9.1-8m13 hIgG1 重链 (SEQ ID NO: 136)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYIYPYSSSSSYADSVKGRFTI
SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYSTYSSKWVWGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS
TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH
KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

轻链 (SEQ ID NO: 95)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYYDSNPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC*

G9.1-8m13 hIgG1 LALA 重链 (SEQ ID NO: 189)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYIYPYSSSSSYADSVKGRFTI
SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYSTYSSKWVWGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS
TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH
KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

轻链 (SEQ ID NO: 95)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYYDSNPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC*

G9.1-8m13 hIgG4 重链 (SEQ ID NO: 242)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYIYPYSSSSSYADSVKGRFTI
SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYSTYSSKWVWGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS
TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDH
KPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW
[0366] QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

轻链 (SEQ ID NO: 95)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYYDSNPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC*

G9.1-8m13 hIgG4 Fab Arm 交换 mut 重链 (SEQ ID NO: 295)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYIYPYSSSSSYADSVKGRFTI
SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYSTYSSKWVWGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS
TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDH
KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW
QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

轻链 (SEQ ID NO: 95)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYYDSNPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC

[0367] 在一些实施例中,抗半乳凝素9抗体具有包含SEQ ID NO:108、基本上由SEQ ID NO:108组成或由SEQ ID NO:108组成的轻链。在一些实施例中,抗半乳凝素9抗体具有包含选自由SEQ ID NO:295、242、189、157、210、263、316和136组成的组的序列的任一个序列、基本上由该任一个序列组成或由该任一个序列组成的重链。在一些实施例中,抗半乳凝素9抗体具有包含SEQ ID NO:108、基本上由SEQ ID NO:108组成或由SEQ ID NO:108组成的轻链,和包含选自由SEQ ID NO:295、242、189、157、210、263、316和136组成的组的序列的任一个序列、基本上由该任一个序列组成或由该任一个序列组成的重链。在一些实施例中,抗半乳凝素9抗体具有包含SEQ ID NO:108的轻链和包含选自由SEQ ID NO:295、242、189、157、210、263、316和136组成的组的序列的任一个序列的重链。在一些实施例中,抗半乳凝素9抗体具有基本上由SEQ ID NO:108组成的轻链和基本上由选自由SEQ ID NO:295、242、189、157、210、263、316和136组成的组的序列的任一个序列组成的重链。在一些实施例中,抗半乳凝素9抗体具有由SEQ ID NO:108组成的轻链和由选自由SEQ ID NO:295、242、189、157、

210、263、316和136组成的组的序列的任一个序列组成的重链。

[0368] 在一些实施例中,恒定区来自人IgG4。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含与SEQ ID NO:423具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的重链IgG4恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含包含SEQ ID NO:423的重链IgG4恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含由SEQ ID NO:423组成的重链IgG4恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含与SEQ ID NO:421具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的重链IgG4恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含包含SEQ ID NO:421的重链IgG4恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含由SEQ ID NO:421组成的重链IgG4恒定区。

[0369] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含与SEQ ID NO:418具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的轻链IgG4恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含包含SEQ ID NO:418的轻链IgG4恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含由SEQ ID NO:418组成的轻链IgG4恒定区。在一些实施例中,恒定区来自人IgG1。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含与SEQ ID NO:419具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的重链IgG1恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含包含SEQ ID NO:419的重链IgG1恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含由SEQ ID NO:419组成的重链IgG1恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含包含SEQ ID NO:418的轻链IgG4恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含由SEQ ID NO:418组成的轻链IgG4恒定区。

[0370] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含经修饰的恒定区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含经修饰的恒定区,所述经修饰的恒定区是免疫学上惰性的,例如不触发补体介导的裂解,或不刺激抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)。可以使用在美国专利号5,500,362中公开的方法评估ADCC活性。在另一些实施例中,如以下所述对恒定区进行修饰:Eur.J.Immunol.(1999)29:2613-2624;PCT申请号PCT/GB99/01441;和/或英国专利申请号9809951.8。在一些实施例中,IgG4恒定区是具有减少的重链交换的突变体。在一些实施例中,恒定区来自人IgG4 Fab Arm交换突变体S229P。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含与SEQ ID NO:422具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的重链IgG4恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含包含SEQ ID NO:422的重链IgG4恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含由SEQ ID NO:422组成的重链IgG4恒定区。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含与SEQ ID NO:418具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的轻链IgG4恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含包含SEQ ID NO:418的轻链IgG4恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含由SEQ ID NO:418组成的轻链IgG4恒定区。在一些实施例中,IgG是具有最小Fc受体接合的突变体。在一个实例中,恒定区来自人IgG1 LALA。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含与SEQ ID NO:420具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的重链IgG1恒定区。在一个实施例

中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含包含SEQ ID NO:420的重链IgG1恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含由SEQ ID NO:420组成的重链IgG1恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含与SEQ ID NO:418具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链IgG1恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含包含SEQ ID NO:418的轻链IgG4恒定区。在一个实施例中,抗半乳凝素-9抗体的恒定区包含由SEQ ID NO:418组成的轻链IgG4恒定区。

[0371] 在一些实施例中,对于轻链,抗半乳凝素-9抗体具有对应于SEQ ID NO:88-98(与CRD1结合的抗半乳凝素-9抗体)和SEQ ID NO:99-115(与CRD2结合的抗半乳凝素-9抗体)的链;对于重链,示例性重链的氨基酸序列对应于SEQ ID NO:116-140(hIgG1);169-193(hIgG1LALA);222-246(hIgG4);275-299(hIgG4交换突变)(与CRD1结合的抗半乳凝素-9抗体)和SEQ ID NO:141-168(hIgG1);194-221(hIgG1 LALA);247-274(hIgG4);300-327(hIgG4交换突变)(与CRD2结合的抗半乳凝素-9抗体)。IgG LALA,IgG4交换突变位于重链上;因此,对于本文公开的所有IgG1和IgG4序列,轻链是相同的。在一些实施例中,示例性抗半乳凝素-9抗体轻链的氨基酸序列对应于SEQ ID NO:88-98和SEQ ID NO:99-115中所示的序列。

[0372] 克隆9.1-来源的轻链

[0373] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含与本文所示的任何轻链(或其可变区)(例如,SEQ ID NO:88-98中所示的轻链序列)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由与本文所示的任何轻链(例如,SEQ ID NO:88-98中所示的轻链序列)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含SEQ ID NO:88-98中所示的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由SEQ ID NO:88-98中所示的氨基酸序列组成。

[0374] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:88的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:89的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:90的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:91的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:92的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:93的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:94的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:95的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:96的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:97的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:98的轻链序列。

[0375] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含与SEQ ID NO:95中所示的轻链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由与SEQ ID NO:95中所示的轻链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其

中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含SEQ ID NO:95中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由SEQ ID NO:95中所示的氨基酸序列组成。

[0376] 克隆9.1来源的重链

[0377] 在一些实施例中,示例性抗半乳凝素-9抗体重链的氨基酸序列对应于以下中所示的序列:SEQ ID NO:116-140(hIgG1);169-193(hIgG1 LALA);222-246(hIgG4);275-299(hIgG4交换突变)(与CRD1结合的抗半乳凝素-9抗体)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与本文所示的任何重链(或其可变区),例如SEQ ID NO:116-140;169-193;222-246;275-299(与CRD1结合的抗半乳凝素-9抗体)中所示的序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由与本文所示的任何重链,例如SEQ ID NO:116-140;169-193;222-246;275-299(与CRD1结合的抗半乳凝素-9抗体)中所示的序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。

[0378] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:116-140;169-193;222-246;275-299(与CRD1结合的抗半乳凝素-9抗体)中所示的重链氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:116-140;169-193;222-246;275-299(与CRD1结合的抗半乳凝素-9抗体)中所示的重链氨基酸序列组成。

[0379] 在一些实施例中,恒定区是IgG1。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:116的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:117的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:118的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:119的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:120的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:121的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:122的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:123的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:124的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:125的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:126的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:127的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:128的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:129的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:130的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:131的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:132的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:133的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:134的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:135的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含

SEQ ID NO:136的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:137的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:138的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:139的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:140的重链序列。

[0380] 在一些实施例中,恒定区是IgG1 LALA。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:169的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:170的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:171的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:172的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:173的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:174的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:175的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:176的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:177的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:178的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:179的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:180的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:181的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:182的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:183的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:184的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:185的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:186的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:187的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:188的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:189的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:190的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:191的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:192的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:193的重链序列。

[0381] 在一些实施例中,恒定区是IgG4。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:222的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:223的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:224的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:225的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:226的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:227的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:228的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含

SEQ ID NO:229的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:230的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:231的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:232的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:233的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:234的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:235的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:236的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:237的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:238的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:239的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:240的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:241的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:242的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:243的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:244的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:245的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:246的重链序列。

[0382] 在一些实施例中,恒定区是IgG4mut。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:275的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:276的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:277的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:278的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:279的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:280的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:281的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:282的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:283的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:284的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:285的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:286的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:287的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:288的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:289的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:290的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:291的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:292的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:293的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:294的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含

SEQ ID NO:295的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:296的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:297的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:298的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:299的重链序列。

[0383] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:136中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ IDNO:136中所示的重链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:136中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:136中所示的氨基酸序列组成。

[0384] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:189中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ IDNO:189中所示的重链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:189中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:189中所示的氨基酸序列组成。

[0385] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:242中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ IDNO:242中所示的重链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:242中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:242中所示的氨基酸序列组成。

[0386] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:295中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ IDNO:295中所示的重链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:295中所示的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:295中所示的氨基酸序列组成。

[0387] 克隆9.1来源的重链和轻链

[0388] VH结构域可包含与人IgG(例如IgG1)恒定区(例如人IgG1恒定结构域)氨基酸序列hIgG LALA、hIgG4或IgG4mut融合的本文所述的任何VH结构域的氨基酸序列。

[0389] 在一些实施例中,示例性抗半乳凝素-9抗体轻链的氨基酸序列对应于SEQ ID NO:88-98,或者示例性抗半乳凝素-9抗体重链的氨基酸序列对应于SEQ ID NO:116-140;169-193;222-246;275-299。

[0390] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:88的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:116、169、222或275的序列的重链。

[0391] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:89的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:117、170、223或276的序列的重链。

[0392] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:90的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:118、171、224或277的序列的重链。

[0393] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:91的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:119、172、225或278的序列的重链。

[0394] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:92的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:120、173、226或279的序列的重链。

[0395] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:93的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:121、174、227或280的序列的重链。

[0396] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:94的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:122、175、228或281的序列的重链。

[0397] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:123、176、229或282的序列的重链。

[0398] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:96的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:138、191、244或297的序列的重链。

[0399] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:97的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:139、192、245或298的序列的重链。

[0400] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:98的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:140、193、246或299的序列的重链。

[0401] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:124、177、230或283的序列的重链。

[0402] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:125、178、231或284的序列的重链。

[0403] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:126、179、232或285的序列的重链。

[0404] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:127,180、233或286的序列的重链。

[0405] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:128、181、234或287的序列的重链。

[0406] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:129、182、235或288的序列的重链。

[0407] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:130、183、236或289的序列的重链。

[0408] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:131、184、237或290的序列的重链。

[0409] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的

序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:132、185、238或291的序列的重链。

[0410] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:133、186、239或292的序列的重链。

[0411] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:137、187、240或293的序列的重链。

[0412] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:138、188、241或294的序列的重链。

[0413] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:139、189、242或295的序列的重链。

[0414] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:95的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:140、190、243或296的序列的重链。

[0415] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:95的轻链序列,并且包含SEQ ID NO:136的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含与SEQ ID NO:95中所示的轻链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列,并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:136中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由与SEQ ID NO:95中所示的轻链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ ID NO:136中所示的重链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含SEQ ID NO:95中所示的氨基酸序列(或其可变区),并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:136中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由SEQ ID NO:95中所示的氨基酸序列组成,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:136中所示的氨基酸序列组成。

[0416] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:95的轻链序列,并且包含SEQ ID NO:189的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含与SEQ ID NO:95中所示的轻链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列,并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:189中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ ID NO:189中所示的重链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由与SEQ ID NO:95中所示的轻链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含SEQ ID NO:95中所示的氨基酸序列(或其可变区),并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:189中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由SEQ ID NO:95中所示的氨基酸序列组成,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:189中所示的氨基酸序列组成。

[0417] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:95的轻链序列,并且包含SEQ ID NO:242的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含与SEQ ID NO:95中所示的轻链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列,并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:242中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由与SEQ ID NO:95中所示的轻链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ ID NO:242中所示的重链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含SEQ ID NO:95中所示的氨基酸序列(或其可变区),并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:242中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由SEQ ID NO:95中所示的氨基酸序列组成,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:242中所示的氨基酸序列组成。

[0418] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:95的轻链序列,并且包含SEQ ID NO:295的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含与SEQ ID NO:95中所示的轻链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列,并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:295中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由与SEQ ID NO:95中所示的轻链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ ID NO:295中所示的重链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含SEQ ID NO:95中所示的氨基酸序列(或其可变区),并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:295中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由SEQ ID NO:95中所示的氨基酸序列组成,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:295中所示的氨基酸序列组成。

[0419] 克隆9.2-来源的轻链

[0420] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含与本文所示的任何轻链(或其可变区)(例如,SEQ ID NO:99-115中所示的轻链序列)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由与本文所示的任何轻链(例如,SEQ ID NO:99-115中所示的轻链序列)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。

[0421] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含SEQ ID NO:99-115中所示的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由SEQ ID NO:99-115中所示的序列组成。

[0422] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:99的轻链

序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:100的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:101的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:102的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:103的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:104的轻链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:105的轻链序列。

[0423] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:106的轻链序列。

[0424] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:107的轻链序列。

[0425] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:108的轻链序列。

[0426] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:109的轻链序列。

[0427] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:110的轻链序列。

[0428] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:111的轻链序列。

[0429] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:112的轻链序列。

[0430] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:113的轻链序列。

[0431] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:114的轻链序列。

[0432] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:115的轻链序列。

[0433] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含与SEQ ID NO:108中所示的轻链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由与SEQ ID NO:108中所示的轻链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。

[0434] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含SEQ ID NO:108中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由SEQ ID NO:108中所示的组成。

[0435] 克隆9.2-来源的重链

[0436] 在一些实施例中,对于重链,示例性抗半乳凝素-9抗体重链的氨基酸序列对应于以下中所示的序列:SEQ ID NO:141-168(hIgG1);194-221(hIgG1 LALA);247-274(hIgG4);300-327(hIgG4交换突变)(与CRD2结合的抗半乳凝素-9抗体)。

[0437] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与本文所示的任何重链(或其可变区),例如SEQ ID NO:141-168;194-220;247-274;300-327(与CRD2结合的抗半乳凝素-9抗体)中所示的序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由与本文所示的任何重链,例如SEQ ID NO:141-168;194-220;247-274;300-327(与CRD2结合的抗半乳凝素-9抗体)中所示的序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。

[0438] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:141-168;194-220;247-274;300-327(与CRD2结合的抗半乳凝素-9抗体)中所示的重链氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:141-168;194-220;247-274;300-327(与CRD2结合的抗半乳凝素-9抗体)中所示的氨基酸序列组成。

[0439] 在一些实施例中,恒定区是IgG1。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:141的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:142的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:143的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:144的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:145的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:146的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:147的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:148的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:149的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:150的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:151的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:152的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:153的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:154的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:155的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:156的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:157的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:158的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:159的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:160的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:161的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:162的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:163的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:164的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:165的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:166的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:167的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含

SEQ ID NO:168的重链序列。

[0440] 在一些实施例中,恒定区是IgG1 LALA。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:194的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:195的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:196的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:197的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:198的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:199的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:200的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:201的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:202的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:203的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:204的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:205的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:206的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:207的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:208的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:209的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:210的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:211的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:212的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:213的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:214的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:215的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:216的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:217的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:218的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:219的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:220的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:221的重链序列。

[0441] 在一些实施例中,恒定区是IgG4。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:247的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:248的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:249的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:250的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:251的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:252的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:253的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:254的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含

SEQ ID NO:255的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:256的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:257的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:258的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:259的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:260的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:261的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:262的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:263的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:264的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:265的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:266的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:267的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:268的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:269的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:270的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:271的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:272的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:273的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:274的重链序列。

[0442] 在一些实施例中,恒定区是IgG4 mut。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:300的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:301的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:302的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:303的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:304的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:305的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:306的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:307的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:308的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:309的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:310的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:311的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:312的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:313的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:314的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:315的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:316的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:317的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含

SEQ ID NO:318的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:319的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:320的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:321的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:322的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:323的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:324的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:325的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:326的重链序列。

[0443] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:157中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ IDNO:157中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:157中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:157中所示的氨基酸序列组成。

[0444] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:210中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ IDNO:210中所示的重链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:210中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:210中所示的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:263中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ ID NO:263中所示的重链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。

[0445] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:263中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:263中所示的氨基酸序列组成。

[0446] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:316中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ IDNO:316中所示的重链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:316中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:316中所示的氨基酸序列组成。

[0447] 克隆9.2来源的重链和轻链

[0448] 在一些实施例中,示例性抗半乳凝素-9抗体轻链的氨基酸序列对应于SEQ ID NO:99-108,并且示例性抗半乳凝素-9抗体重链的氨基酸序列对应于SEQ ID NO:141-168;194-221;249-274;300-327。

[0449] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:99的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:141、194、247或300的序列的重链。

[0450] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:91的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:142、195、248或301的序列的重链。

[0451] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:91的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:143、196、249或302的序列的重链。

[0452] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:91的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:144、197、250或303的序列的重链。

[0453] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:100的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:145、198、251或304的序列的重链。

[0454] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:101的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:146、199、252或305的序列的重链。

[0455] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:102的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:147、200、253或306的序列的重链。

[0456] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:103的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:148、201、254或307的序列的重链。

[0457] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:104的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:149、202、255或308的序列的重链。

[0458] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:105的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:150、203、256或309的序列的重链。

[0459] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:106的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:151、204、257或310的序列的重链。

[0460] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:107的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:152、205、258或311的序列的重链。

[0461] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:99的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:153、206、259或312的序列的重链。

[0462] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:91的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:154、207、260或313的序列的重链。

[0463] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:100的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:155、208、261或314的序列的重链。

[0464] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:91的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:156、209、262或315的序列的重链。

[0465] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:108的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:157、210、263或316的序列的重链。

[0466] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:108的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:158、211、264或317的序列的重链。

[0467] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:91的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:159、212、265或318的序列的重链。

[0468] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:109的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:160、213、266或319的序列的重链。

[0469] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:108的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:161、214、267或320的序列的重链。

[0470] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:110的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:162、215、268或321的序列的重链。

[0471] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:111的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:163、216、269或322的序列的重链。

[0472] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:112的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:164、217、270或323的序列的重链。

[0473] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:113的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:165、218、271或324的序列的重链。

[0474] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:114的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:166、219、272或325的序列的重链。

[0475] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:115的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:167、220、273或326的序列的重链。。

[0476] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含具有SEQ ID NO:108的序列的轻链和具有选自SEQ ID NO:168、221、274或327的序列的重链。

[0477] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:108的轻链序列,并且包含SEQ ID NO:157的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含与SEQ ID NO:108中所示的轻链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列,并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:157中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由与SEQ ID NO:108中所示的轻链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ ID NO:157中所示的重链序列具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含SEQ ID NO:108中所示的氨基酸序列(或其可变区),并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:157中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由SEQ ID NO:108中所示的氨基酸序列组成,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:157中所示的氨基酸序列组成。

[0478] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:108的轻链序列,并且包含SEQ ID NO:210的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含与SEQ ID NO:108中所示的轻链序列(或其可变区)具有至少80%(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列,并且抗半乳凝

素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:210中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ ID NO:210中所示的重链序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由与SEQ ID NO:108中所示的轻链序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含SEQ ID NO:108中所示的氨基酸序列(或其可变区),并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:210中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由SEQ ID NO:108中所示的氨基酸序列组成,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:210中所示的氨基酸序列组成。

[0479] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:108的轻链序列,并且包含SEQ ID NO:263的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含与SEQ ID NO:108中所示的轻链序列(或其可变区)具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列,并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:263中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由与SEQ ID NO:108中所示的轻链序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ ID NO:263中所示的重链序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含SEQ ID NO:108中所示的氨基酸序列(或其可变区),并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:263中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由SEQ ID NO:108中所示的氨基酸序列组成,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:263中所示的氨基酸序列组成。

[0480] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合部分包含SEQ ID NO:108的轻链序列,并且包含SEQ ID NO:316的重链序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含与SEQ ID NO:108中所示的轻链序列(或其可变区)具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列,并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含与SEQ ID NO:316中所示的重链序列(或其可变区)具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由与SEQ ID NO:108中所示的轻链序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由与SEQ ID NO:316中所示的重链序列具有至少80％(例如85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％及其中的任何增量)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链包含SEQ ID NO:108中所示的氨基酸序列(或其可变区),并且抗半乳凝素-9抗体的重链包含SEQ ID NO:316中所示的氨基酸序列(或其可变区)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体的轻链由SEQ ID NO:108中所

示的氨基酸序列组成,并且抗半乳凝素-9抗体的重链由SEQ ID NO:316中所示的氨基酸序列组成。

[0481] 在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:157的序列的IgG1重链和具有SEQ ID NO:108的序列的轻链。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:210的序列的IgG1重链和具有SEQ ID NO:108的序列的轻链。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:263的序列的IgG4重链和具有SEQ ID NO:108的序列的轻链。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:316的序列的IgG4重链和具有SEQ ID NO:108的序列的轻链。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:136的序列的IgG1重链和具有SEQ ID NO:108的序列的轻链。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:189的序列的IgG1重链和具有SEQ ID NO:108的序列的轻链。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:242的序列的IgG4重链和具有SEQ ID NO:108的序列的轻链。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体包含具有SEQ ID NO:295的序列的IgG4重链和具有SEQ ID NO:108的序列的轻链。

[0482] 抗体重链和轻链恒定区是本领域众所周知的,例如,在IMGT数据库(www.imgt.org)或在www.vbase2.org/vbstat.php.中提供的那些,其两者通过引用并入本文。。

[0483] 抗半乳凝素-9抗体的制备

[0484] 可以通过本领域已知的任何方法制备本文所述的能够结合半乳凝素-9的抗体。参见例如Harlow和Lane,(1998)Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,New York。

[0485] 在一些实施例中,通过常规杂交瘤技术制备对靶抗原(例如,半乳凝素-9或其CRD)具有特异性的抗体。任选地与载体蛋白(例如KLH)连接的全长靶抗原或其片段可用于免疫宿主动物以产生与该抗原结合的抗体。如本文进一步所述,宿主动物的免疫接种途径和时间表通常与用于抗体刺激和产生的已经成熟且常规的技术一致。用于产生小鼠抗体、人源化抗体和人抗体的一般技术是本领域已知的,并在本文中进行了描述。预期可以操纵任何哺乳动物受试者(包括人)或由其产生抗体的细胞,以作为产生哺乳动物(包括人)杂交瘤细胞系的基础。通常,用一定量的免疫原(包括本文所述的)对宿主动物进行腹膜内、肌肉内、经口、皮下、足底内和/或皮内接种。

[0486] 可以使用Kohler,B.和Milstein,C.(1975)Nature 256:495-497或者Buck,D.W.等人的修改In Vitro,18:377-381(1982)的常规体细胞杂交技术由淋巴细胞和固定的骨髓瘤细胞制备杂交瘤。可用的骨髓瘤细胞系(包括但不限于X63-Ag8.653和来自Salk Institute,Cell Distribution Center,San Diego,Calif.,USA的那些)可用于杂交。通常,该技术涉及使用融合剂(例如聚乙二醇)或者通过本领域技术人员众所周知的电手段融合骨髓瘤细胞和淋巴样细胞。融合后,将细胞与融合培养基分离,并在选择性生长培养基(例如次黄嘌呤-氨基蝶呤-胸苷(HAT)培养基)中生长,以消除未杂交的亲本细胞。本文所述的补充或未补充血清的任何培养基均可用于培养分泌单克隆抗体的杂交瘤。作为细胞融合技术的另一种替代,EBV永生化B细胞可用于产生本文所述的抗半乳凝素-9单克隆抗体。如果需要,将杂交瘤扩增并且亚克隆,并通过常规免疫测定方法(例如,放射免疫测定、酶免疫测定或荧光免疫测定法)测定上清液的抗免疫原活性。

[0487] 可用作抗体来源的杂交瘤包括产生能够干扰半乳凝素-9活性的单克隆抗体的亲本杂交瘤的所有衍生物、后代细胞。产生这样的抗体的杂交瘤可以使用已知方法在体外或体内生长。如果需要,可以通过常规的免疫球蛋白纯化程序,例如硫酸铵沉淀、凝胶电泳、透析、色谱法和超滤,从培养基或体液中分离单克隆抗体。可以除去不希望的活性(如果有的话),例如通过在由附着于固相的免疫原制成的吸附剂上运行制备并从免疫原上洗脱或释放期望的抗体。用使用双官能或衍生剂与在待免疫接种的物种中是免疫原性的蛋白质(例如钥孔血蓝蛋白、血清白蛋白、牛甲状腺球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制剂)缀合的靶抗原或含靶氨基酸序列的片段对宿主动物进行免疫接种可产生抗体(例如单克隆抗体)的群体,所述双官能或衍生剂是例如马来酰亚胺基苯甲酰基磺基琥珀酰亚胺酯(maleimidobenzoyl sulfosuccinimide ester)(通过半胱氨酸残基缀合)、N-羟基琥珀酰亚胺(通过赖氨酸残基)、戊二醛、琥珀酸酐、SOCl或R1N=C=NR,其中R和R1是不同的烷基。

[0488] 如果需要,可以对目的(例如,由杂交瘤产生的)抗体(单克隆或多克隆)进行测序,然后可以将多核苷酸序列克隆到载体中以表达或繁殖。可以将编码目的抗体的序列维持在宿主细胞中的载体中,然后可以将该宿主细胞扩增并冷冻以备将来使用。在替代方案中,多核苷酸序列可用于遗传操作以使抗体“人源化”或改善抗体的亲和力(亲和力成熟)或其它特征。例如,如果抗体用于人的临床试验和治疗中,则恒定区可以被工程化以更类似于人恒定区以避免免疫应答。可能希望对抗体序列进行遗传操作以获得对靶抗原的更大亲和力和更大的抑制半乳凝素-9活性的功效。对于本领域技术人员显而易见的是,可以对抗体进行一个或多个多核苷酸改变,并且仍然保持其与靶抗原的结合特异性。

[0489] 在另一些实施例中,使用已经被工程化以表达特定人免疫球蛋白蛋白质的市售小鼠获得完全人抗体。设计为产生更理想的(例如,完全人抗体)或更强的免疫应答的转基因动物也可以用于产生人源化或人抗体。这样的技术的实例是来自Amgen,Inc.(Fremont,Calif.)的Xenomouse^{RTM}和来自Medarex,Inc.(Princeton,N.J.)的HuMAb-Mouse^{RTM}和TC MouseTM。在其另一些实施例中,通过噬菌体展示或酵母技术重组制备抗体。参见,例如,美国专利号5,565,332;5,580,717;5,733,743;和6,265,150;以及Winter等人,(1994)Annu.Rev.Immunol.12:433-455。在替代实施例中,噬菌体展示技术(McCafferty等人,(1990)Nature 348:552-553)用于从未免疫供体的免疫球蛋白可变(V)结构域基因库中体外产生人抗体和抗体片段。

[0490] 在替代实施例中,从合适的抗体文库中分离能够与本文所述的靶抗原结合的抗体。包含多种抗体组分的抗体文库可用于根据本领域已知的常规选择过程来鉴定与特定靶抗原(例如,在这种情况下半乳凝素-9的CRD1或CRD2)结合的抗体。在选择过程中,可以用靶抗原或其片段探测抗体文库,并且可以分离能够与靶抗原结合的文库成员,通常是通过保留在载体上。可以进行多轮(例如,包括阳性和阴性选择)这样的筛选过程,以富集能够与靶抗原结合的抗体库。然后可以分离富集库的各个克隆,并进一步表征以鉴定具有期望结合活性和生物学活性的克隆。也可以通过常规方法确定重链可变结构域和轻链可变结构域的序列。有许多本领域已知的常规方法可以鉴定和分离能够与本文所述靶抗原结合的抗体,包括噬菌体展示、酵母展示、核糖体展示或哺乳动物展示技术。

[0491] 例如,噬菌体展示通常使用共价连接将蛋白质(例如抗体)组分结合到噬菌体外壳蛋白上。所述连接源自编码融合至外壳蛋白的抗体组分的核酸的翻译。所述连接可包括柔

性肽接头、蛋白酶位点或由于终止密码子的抑制而引入的氨基酸。噬菌体展示在以下中进行了描述,例如美国专利号5,223,409;Smith(1985)Science 228:1315-1317;WO 92/18619;WO 91/17271;WO 92/20791;WO 92/15679;WO 93/01288;WO 92/01047;WO 92/09690;WO 90/02809;de Haard等人.(1999)J.Biol.Chem 274:18218-30;Hoogenboom等人.(1998)Immunotechnology4:1-20;Hoogenboom等人.(2000)Immunol Today 2:371-8以及Hoet等人(2005)Nat Biotechnol.23(3)344-8。Miller等人,PloS One,2012,7,e43746;Fellouse等人,J Mol Biol,2007,373,924-940中描述了另外的合适方法。展示蛋白质组分的噬菌体可以使用标准的噬菌体制备方法生长和收获,例如从生长培养基中PEG沉淀。在选择各个展示噬菌体之后,可以在扩增之后从感染了所选噬菌体的细胞或从噬菌体本身中分离编码所选蛋白质组分的核酸。可以选择各个菌落或噬菌斑,然后可以分离核酸并测序。

[0492] 其它展示形式包括基于细胞的展示(参见例如WO 03/029456)、蛋白质-核酸融合(参见例如美国专利号6,207,446)、核糖体展示(参见例如Mattheakis等人.(1994)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91:9022和Hanes等人.(2000)Nat Biotechnol.18:1287-92;Hanes等人.(2000)Methods Enzymol.328:404-30;以及Schaffitzel等人.(1999)J Immunol Methods.231(1-2):119-35),以及大肠杆菌周质展示(J Immunol Methods.2005Nov 22;PMID:16337958)。

[0493] 在分离与靶抗原结合的展示文库成员后,还可以测试每个分离的文库成员与非靶分子结合的能力以评估其结合特异性。非靶标分子的实例包括磁珠上的链霉亲和素,封闭剂如牛血清白蛋白、脱脂牛乳、大豆蛋白、任何捕获或靶固定的单克隆抗体或不表达靶标的未转染细胞。例如,高通量ELISA筛选可用于获取数据。ELISA筛选还可用于获得每个文库成员与靶标的结合的定量数据,并获得与相关靶标或靶抗原的亚基并且在不同条件下(例如pH 6或pH 7.5)的交叉物种反应性的定量数据。比较非靶标和靶标结合数据(例如,使用计算机和软件)以鉴定特异性结合靶标的文库成员。

[0494] 在选择与靶标结合的候选文库成员之后,可以进一步分析每个候选文库成员,例如,以进一步表征其与靶标(例如半乳凝素-9)的结合特性。每个候选文库成员可以进行一个或多个二次筛选测定。该测定可以是针对结合特性、催化特性、抑制特性、生理特性(例如,细胞毒性、肾清除率、免疫原性)、结构特性(例如,稳定性、构象、低聚状态)或其它功能特性。可以重复使用同一测定,但条件不同,例如以测定pH、离子或热敏感性。

[0495] 适当地,所述测定可直接采用展示文库成员,由编码所选多肽的核酸产生的重组多肽或基于所选多肽的序列合成的合成肽。在所选Fab的情况下,Fab可以被评估或可以被修饰以及作为完整IgG蛋白产生。结合特性的示例性测定描述如下。

[0496] 也可以使用ELISA测定来评估结合蛋白。例如,使每种蛋白质与底表面已用靶标(例如有限量的靶标)包被的微量滴定板接触。用缓冲液洗涤板以去除非特异性结合的多肽。然后,通过用可以识别结合蛋白(例如结合蛋白的标签或恒定部分)的抗体探测板来确定结合至板上的靶标的结合蛋白的量。将抗体连接至检测系统(例如,当提供适当底物时产生比色产物的酶,例如碱性磷酸酶或辣根过氧化物酶(HRP))。

[0497] 或者,可以使用均相测定法(homogenous assay)来分析本文所述的结合蛋白与靶抗原结合的能力,即,在添加测定法的所有组分之后,不需要额外的流体操作。例如,荧光共振能量转移(FRET)可以用作均相测定法(参见,例如,Lakowicz等人,美国专利号5,631,

169;Stavrianopoulos等人,美国专利号4,868,103)。选择第一分子(例如,在级分中鉴定的分子)上的荧光团标记,使得如果第二分子(例如,靶标)靠近第一分子,则第一分子发射的荧光能量可以被第二分子上的荧光标记吸收。第二分子上的荧光标记吸收转移的能量后发出荧光。由于标记之间的能量转移效率与分子相距的距离有关,因此可以评估分子之间的空间关系。在分子之间发生结合的情况下,测定中"受体"分子标记的荧光发射应最大。可以通过标准荧光检测手段,例如使用荧光计,方便地测量被配置用于通过FRET监测的结合事件。通过滴定第一或第二结合分子的量,可以产生结合曲线以估计平衡结合常数。

[0498] 表面等离子体共振(SPR)可用于分析结合蛋白与靶抗原的相互作用。SPR或生物分子相互作用分析(Biomolecular Interaction Analysis,BIA)实时检测生物特异性相互作用,而无需标记任何相互作用物。BIA芯片的结合表面的质量变化(指示结合事件)导致表面附近的光折射率发生改变(SPR的光学现象)。折射率的变化产生可检测的信号,该信号被测量以指示生物分子之间的实时反应。使用SPR的方法描述在以下中,例如美国专利No.5,641,640;Raether,1988,Surface Plasmons Springer Verlag;Sjolander和Urbaniczky,1991,Anal.Chem.63:2338-2345;Szabo等人,1995,Curr.Opin.Struct.Biol.5:699-705,以及由BIAcore International AB(Uppsala,Sweden)提供的在线资源。

[0499] 来自SPR的信息可用于提供对平衡解离常数(K_D)和结合蛋白与靶标结合的动力学参数(包括K_{on}和K_{off})的准确且定量测量。这样的数据可用于比较不同的生物分子。例如,可以比较来自表达文库的所选蛋白质,以鉴定对靶标具有高亲和力或具有慢K_{off}的蛋白质。此信息也可以用于开发结构-活性关系(SAR)。例如,可以将成熟形式的亲本蛋白的动力学和平衡结合参数与亲本蛋白的参数进行比较。可以鉴定给定位置上与特定结合参数(例如高亲和力和慢K_{off})相关的变体氨基酸。该信息可以与结构建模相结合(例如,使用同源性建模、能量最小化或通过X射线晶体学或NMR的结构确定)。结果,可以形成对蛋白质与其靶标之间的物理相互作用的理解,并用于指导其它设计过程。

[0500] 作为另一个实例,可以使用细胞测定法。可以筛选结合蛋白与瞬时或稳定地表达并且在细胞表面展示目的靶标的细胞结合的能力。例如,可以对半乳凝素-9结合蛋白进行荧光标记,并且可以使用流式细胞仪(例如FACS机器)通过荧光强度的变化来检测在存在或不存在拮抗抗体的情况下与半乳凝素-9的结合。

[0501] 可以通过常规方法制备完整抗体(全长抗体)的抗原结合片段。例如,可以通过抗体分子的胃蛋白酶消化来产生F(ab')2片段,并且可以通过还原F(ab')2片段的二硫键来产生Fab片段。

[0502] 可以通过例如常规重组技术来生产基因工程抗体,例如人源化抗体、嵌合抗体、单链抗体和双特异性抗体。在一个实例中,可以使用常规程序(例如,通过使用能够与编码单克隆抗体的重链和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针)容易地分离编码对靶抗原具有特异性的单克隆抗体的DNA并进行测序。分离后,可将DNA置于一种或多种表达载体中,然后将其转染入宿主细胞,例如大肠杆菌细胞、猿猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或骨髓瘤细胞(否则其将不会产生免疫球蛋白蛋白质),以获得重组宿主细胞中单克隆抗体的合成。参见例如PCT公开号WO 87/04462。然后可以对DNA进行修饰,例如通过用人重链和轻链恒定结构域的编码序列代替同源鼠序列(Morrison等人,(1984)Proc.Nat.Acad.Sci.81:6851),或通过将非免疫球蛋白多肽的编码序列的全部或一部分共价结合至免疫球蛋白编码序列。

以这种方式,可以制备对靶抗原具有结合特异性的遗传工程抗体,例如“嵌合”或“杂交”抗体。

[0503] 开发用于产生“嵌合抗体”的技术是本领域众所周知的。参见,例如,Morrison等人.(1984)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81,6851;Neuberger等人(1984)Nature 312,604;以及Takeda等人.(1984)Nature 314:452。

[0504] 构建人源化抗体的方法也是本领域众所周知的。参见,例如,Queen等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,86:10029-10033(1989)。在一个实例中,按照本领域已知的方法,对亲本非人抗体的V_H和V_L的可变区进行三维分子建模分析。接下来,使用相同的分子建模分析来鉴定预测对正确的CDR结构的形成重要的框架氨基酸残基。平行地,使用亲本V_H和V_L序列作为搜索查询,从任何抗体基因数据库中鉴定具有与亲本非人抗体的氨基酸序列同源的氨基酸序列的人V_H和V_L链。然后选择人V_H和V_L受体基因。

[0505] 所选人受体基因内的CDR区可以被来自亲本非人抗体的CDR区或其功能变体替代。必要时,可以使用预计在与CDR区相互作用中起重要作用的亲本链框架区内的残基(参见上述说明)来替代人受体基因中的相应残基。

[0506] 可以通过将编码重链可变区的核苷酸序列和编码轻链可变区的核苷酸序列连接来通过重组技术制备单链抗体。优选地,在两个可变区之间引入柔性接头。或者,描述的用于产生单链抗体的技术(美国专利号4,946,778和4,704,692)可以适于产生噬菌体或酵母scFv文库,并且可以按照常规程序从文库中鉴定出对半乳凝素-9具有特异性的scFv克隆。可以对阳性克隆进行进一步筛选,以鉴定抑制半乳凝素-9活性的克隆。

[0507] 可以使用本领域众所周知的方法表征按照本领域已知和本文所述的方法获得的抗体。例如,一种方法是鉴定抗原结合的表位,或“表位作图”。本领域中有许多已知的方法用于对表位在蛋白质上的位置作图和表征,包括解析抗体抗原复合物的晶体结构、竞争测定、基因片段表达测定和基于合成肽的测定,例如,Harlow和Lane的第11章,Using Antibodies,aLaboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.,1999所述。在另一个实例中,表位作图可用于确定抗体结合的序列。表位可以是线性表位(即包含在单个氨基酸延伸链(stretch)中),或通过未必包含在单个延伸链(一级结构线性序列)中的氨基酸的三维相互作用形成的构象表位。可以分离或合成(例如,重组地)多种长度(例如,至少4-6个氨基酸长)的肽,并将其用于与抗体的结合测定。在另一个实例中,可以通过使用源自靶抗原序列的重叠肽并确定抗体的结合来在系统筛选中确定抗体结合的表位。根据基因片段表达测定,将编码靶抗原的开放阅读框随机地或通过特定的遗传结构片段化,并确定抗原的表达片段与待测抗体的反应性。基因片段可以例如通过PCR产生,然后在放射性氨基酸存在下在体外转录并翻译成蛋白质。然后通过免疫沉淀和凝胶电泳确定抗体与放射性标记的抗原片段的结合。某些表位也可以通过使用在噬菌体颗粒表面展示的随机肽序列的较大文库(噬菌体文库)来鉴定。或者,可以在简单的结合测定中测试限定的重叠肽片段文库与受试抗体的结合。在另一个实例中,可以进行抗原结合结构域的诱变、结构域交换实验和丙氨酸扫描诱变,以鉴定表位结合所需、足够和/或必需的残基。例如,可以使用靶抗原的突变体进行结构域交换实验,其中半乳凝素-9多肽的多个片段已被来自密切相关但抗原性不同的蛋白质(例如β-半乳糖苷结合可溶性凝集素家族的另一个成员)的序列替换(交换)。通过评估抗体与突变体半乳凝素-9的结合,可以评估特定抗原片

段对抗体结合的重要性。

[0508] 或者,可以使用已知与相同抗原结合的其它抗体进行竞争测定,以确定抗体是否与其它抗体结合相同的表位。竞争测定是本领域技术人员众所周知的。

[0509] 在一些实例中,通过如下示例的重组技术制备抗半乳凝素-9抗体。

[0510] 可以将编码本文所述的抗半乳凝素-9抗体的重链和轻链的核酸克隆到一个表达载体中,每个核苷酸序列与合适的启动子可操作地连接。在一个实例中,编码重链和轻链的每个核苷酸序列与不同的启动子可操作地连接。或者,编码重链和轻链的核苷酸序列可以与单个启动子可操作地连接,使得重链和轻链两者由同一启动子表达。必要时,可以在重链和轻链编码序列之间插入内部核糖体进入位点(IRES)。

[0511] 在一些实例中,将编码抗体的两条链的核苷酸序列克隆到两个载体中,可以将它们引入相同或不同的细胞中。当两条链在不同细胞中表达时,可以将它们各自从表达它们的宿主细胞中分离出来,并且可以将分离的重链和轻链混合并在合适的条件下孵育以形成抗体。

[0512] 通常,可以使用本领域已知的方法将编码抗体的一条或全部链的核酸序列克隆到合适的表达载体中并与合适的启动子可操作地连接。例如,可以在合适的条件下使核苷酸序列和载体与限制酶接触,以在每个分子上产生可以彼此配对的互补末端,并用连接酶连接在一起。或者,可以将合成核酸接头连接至基因的末端。这些合成接头含有对应于载体中特定限制性位点的核酸序列。表达载体/启动子的选择将取决于用于产生抗体的宿主细胞的类型。

[0513] 多种启动子可用于表达本文所述的抗体,包括但不限于巨细胞病毒(CMV)立即早期启动子、病毒LTR例如劳斯肉瘤病毒LTR、HIV-LTR、HTLV-1LTR、猿猴病毒40(SV40)早期启动子、大肠杆菌lac UV5启动子和单纯疱疹tk病毒启动子。

[0514] 也可以使用可调节启动子。这样的可调节启动子包括:使用大肠杆菌的lac阻遏物作为转录调节剂来调节来自带有lac操纵子的哺乳动物细胞启动子的转录的那些[Brown,M.等人,Cell,49:603-612(1987)]、使用四环素阻遏物(tetR)的那些[Gossen,M.,和Bujard,H.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:5547-5551(1992);Yao,F.等人,Human Gene Therapy,9:1939-1950(1998);Shockelt,P.,等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,92:6522-6526(1995)]。其它系统包括使用雌二醇(astradiol)、RU486、二元酚米乐甾酮(diphenol murislerone)或雷帕霉素的FK506二聚体、VP16或p65。诱导系统可从Invitrogen、Clontech和Ariad获得。

[0515] 可以使用包括操纵子阻遏物的可调节启动子。在一个实施例中,来自大肠杆菌的lac阻遏物可充当转录调节剂,以调节来自带有lac操纵子的哺乳动物细胞启动子的转录(M.Brown等人,Cell,49:603-612(1987);Gossen和Bujard(1992);M.Gossen等人,Natl.Acad.Sci.USA,89:5547-5551(1992)),将四环素阻遏物(tetR)与转录激活因子(VP16)结合在一起,形成tetR哺乳动物细胞转录激活因子融合蛋白tTa(tetR-VP 16),带有源自人类巨细胞病毒(hCMV)主要立即早期启动子的带有tetO的最小启动子,以产生tetR-tet操纵子系统来控制哺乳动物细胞中的基因表达。在一个实施例中,使用四环素诱导型开关。当四环素操纵子正确地位于CMVIE启动子的TATA元件下游时,单独的四环素阻遏物(tetR)而不是tetR-哺乳动物细胞转录因子融合衍生物可以作为有效的反式调节剂来调节哺乳动

物细胞中的基因表达(Yao等人,Human Gene Therapy,10(16):1392-1399(2003))。这种四环素诱导型开关的一个特殊优点是实现可调节作用不需要使用四环素阻遏物-哺乳动物细胞反式激活因子或阻遏物融合蛋白,这在某些情况下对细胞可能具有毒性(Gossen等人,Natl.Acad.Sci.USA,89:5547-5551(1992);Shockett等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,92:6522-6526(1995))。

[0516] 另外,载体可以包含例如以下的一些或全部:选择性标记基因,例如用于选择在哺乳动物细胞中稳定或瞬时转染子的新霉素基因;来自人CMV立即早期基因的增强子/启动子序列,用于高水平的转录;来自SV40的转录终止和RNA处理信号,用于mRNA稳定;SV40多瘤病毒的复制起点和ColE1,用于适当的游离复制;内部核糖体结合位点(IRES),多用途的多克隆位点;以及T7和SP6 RNA启动子,用于有义和反义RNA的体外转录。用于产生包含转基因的载体的合适的载体和方法是本领域众所周知的并且是可获得的。

[0517] 可用于实施本文所述方法的聚腺苷酸化信号的实例包括但不限于人胶原蛋白I聚腺苷酸化信号、人胶原蛋白II聚腺苷酸化信号和SV40聚腺苷酸化信号。

[0518] 可以将包含编码任何抗体的核酸的一种或多种载体(例如表达载体)引入合适的宿主细胞中以产生抗体。可以在合适的条件下培养宿主细胞以表达抗体或其任何多肽链。这样的抗体或其多肽链可以通过常规方法例如亲和纯化由培养的细胞回收(例如,从细胞或培养上清液中回收)。如果需要,可以在合适的条件下将抗体的多肽链孵育一段合适的时间以产生抗体。

[0519] 在一些实施例中,用于制备本文所述抗体的方法涉及编码也如本文所述的抗半乳凝素-9抗体的重链和轻链二者的重组表达载体。可通过常规方法(例如磷酸钙介导的转染)将重组表达载体引入合适的宿主细胞(例如,dhfr-CHO细胞)。可以选择阳性转化宿主细胞并在合适的条件下进行培养,以表达形成抗体的两条多肽链,可以从细胞或培养基中回收它们。必要时,可以在合适的条件下孵育从宿主细胞回收的两条链,以形成抗体。

[0520] 在一个实例中,提供了两种重组表达载体,一种编码抗半乳凝素-9抗体的重链,并且另一种编码抗半乳凝素-9抗体的轻链。可通过常规方法(例如磷酸钙介导的转染)将两种重组表达载体两者引入合适的宿主细胞(例如,dhfr-CHO细胞)中。或者,可以将每种表达载体引入合适的宿主细胞中。可以选择阳性转化子并在合适的条件下培养,以允许抗体的多肽链表达。当将两种表达载体引入相同的宿主细胞时,可以从宿主细胞或从培养基中回收其中产生的抗体。如果需要,可以从宿主细胞或从培养基中回收多肽链,然后在合适的条件下孵育以形成抗体。当将两种表达载体引入不同的宿主细胞中时,它们各自可以从相应的宿主细胞或从相应的培养基中回收。然后可以在合适的条件下孵育两条多肽链以形成抗体。

[0521] 使用标准分子生物学技术制备重组表达载体,转染宿主细胞,选择转化子,培养宿主细胞并从培养基中回收抗体。例如,一些抗体可以通过亲和色谱用蛋白A或蛋白G偶联的基质分离。

[0522] 编码如本文所述的抗半乳凝素-9抗体的重链、轻链或两者的任何核酸,含有所述核酸的载体(例如表达载体),和包含载体的宿主细胞均在本公开内容的范围内。

[0523] 由此制备的抗半乳凝素-9抗体可以使用本领域已知的方法表征,从而检测和/或测量半乳凝素-9生物活性的降低、改善或中和。例如,ELISA类型的测定可能适合定性或定

量测量Dectin-1或TIM-3信号转导的半乳凝素-9抑制。

[0524] 可以通过将候选抗体与Dectin-1和半乳凝素-9一起孵育,并监测以下任何一个或多个特征来验证抗半乳凝素-9抗体的生物活性:(a)Dectin-1与半乳凝素-9之间的结合和由结合介导的信号转导的抑制;(b)预防、改善或治疗实体瘤的任何方面;(c)阻断或降低Dectin-1活化;(d)抑制(减少)半乳凝素-9的合成、产生或释放。或者,TIM-3可用于使用上述方案验证抗半乳凝素-9抗体的生物活性。或者,CD206可用于使用上述方案验证抗半乳凝素-9抗体的生物活性。

[0525] 确定抗半乳凝素-9抗体生物活性的其它测定包括测量CD8+和CD4+(常规)T细胞活化(在体外或体内测定中,例如通过测量炎性细胞因子水平,例如IFNγ、TNFα、CD44、ICOS颗粒酶B、穿孔素、IL2(上调);CD26L和IL-10(下调));测量巨噬细胞重编程(体外或体内),例如从M2到M1表型(例如MHCII增加,CD206减少,TNF-α和iNOS增加)。或者,可以如本文所述(例如在体外测定中)评估ADCC的水平。

[0526] 治疗方法

[0527] 本公开内容提供了包含至少一种本文所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段的药物组合物,以及其在抑制或降低由半乳凝素-9介导的信号转导或者消除或减少半乳凝素-9阳性细胞中的用途。本文所述的任何抗半乳凝素-9抗体都可以用于本文所述的任何方法。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14或其组合。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂或其组合。这样的抗体的非限制性实例包括例如抗体9.2-17或9.1-8mut13。这样的抗体可用于治疗与半乳凝素-9相关的疾病。在一些方面,本发明提供了治疗癌症的方法。在一些实施例中,本公开内容的方法用于减少、改善或消除与癌症有关的一种或多种症状。

[0528] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于治疗受试者中的癌症的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,本公开内容提供了用于治疗受试者中的癌症的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的包含本文所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段的药物组合物。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14抗体或其组合组成的组。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂抗体或其组合组成的组。这样的抗体的非限制性实例包括例如抗体9.2-17或9.1-8mut13。

[0529] 鉴于半乳凝素-9的促肿瘤作用是通过与免疫细胞的相互作用(即,通过TIM-3、CD44和41BB与淋巴样细胞的相互作用,和通过dectin-1和CD206与巨噬细胞的相互作用)介导的,并且鉴于半乳凝素-9在许多肿瘤中表达,因此例如使用半乳凝素-9结合抗体靶向半乳凝素-9来抑制与其受体的相互作用提供了可应用于多种不同肿瘤类型的治疗方法。

[0530] 在一些实施例中,癌症选自肾上腺癌、肾上腺皮质癌、肛门癌、阑尾癌、胆管癌(bile duct cancer)、膀胱癌、骨癌(例如,尤因肉瘤肿瘤、骨肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤)、脑癌(例如,星形细胞瘤、脑干神经胶质瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤)、支气管肿瘤、胆管癌(cholangiocarcinoma)、胆管肉瘤、中枢神经系统肿瘤、乳腺癌、Castleman病、宫颈癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、子宫内膜癌、食道癌、眼癌、胆囊癌、胃肠道癌、胃肠道类癌肿瘤、胃肠道间质瘤、泌尿生殖道癌、妊娠滋养细胞疾病、心脏病、卡波济肉瘤、肾癌、喉癌、下咽癌、白血病(例如,急性成淋巴细胞性白血病(acute lymphoblastic leukemia)、急性髓细胞性白血病(acute myeloid leukemia)、慢性淋巴细胞性白血病(chronic lymphocytic leukemia)、慢性骨髓性白血病(chronic myelogenous leukemia))、肝癌、肺癌(例如,非小细胞肺癌NSCLC和小细胞肺癌SCLC)、淋巴瘤(例如,AIDS相关淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤)、恶性间皮瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合症、鼻腔癌、鼻旁窦癌、胰腺导管腺癌(PDA)、鼻咽癌、神经母细胞瘤、口腔癌、口咽癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、阴茎癌、垂体瘤、前列腺癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、横纹肌样瘤(rhabdoid tumor)、唾液腺癌、肉瘤、皮肤癌(例如,基底细胞癌、黑色素瘤)、鳞状细胞头颈癌、小肠癌、胃癌、畸胎瘤、睾丸癌、喉癌、胸腺癌、甲状腺癌、不寻常的儿童期癌症、上和下胃肠道恶性肿瘤(包括但不限于食道癌、胃癌和肝胆癌)、尿道癌、子宫癌、子宫肉瘤、阴道癌、外阴癌、Waldenstrom巨球蛋白血症和Wilms肿瘤。在一些实施例中,所述癌症选自恶性血液病,包括急性成淋巴细胞性白血病(acute lymphoblastic leukemia)、慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia)、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性骨髓性白血病(acute myelogenous leukemia)、慢性骨髓性白血病(chronic myelogenous leukemia)、骨髓增生异常综合症(myedysplastic syndromes)和骨髓增生性肿瘤(myeloproliferative neoplasms),例如原发性血小板增多症、真性红细胞增多症、骨髓纤维化和胆囊癌(腺癌或鳞状细胞癌)。在一些实施例中,与其相关的症状包括但不限于贫血、食欲不振、膀胱内膜刺激、出血和挫伤(血小板减少)、味觉或气味改变、便秘、腹泻、口干、吞咽困难、水肿、疲劳、脱发(秃头)、感染、不孕、淋巴水肿、口疮、恶心、疼痛、周围神经病变、蛀牙、尿路感染和/或记忆力和注意力集中问题。该方法可以包括制备具有本文所述的抗半乳凝素-9抗体的药物组合物,和以治疗有效量将所述药物组合物施用于受试者。

[0531] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于治疗受试者中的胆囊癌的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文中如表1或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体,包括但不限于9.1-8m13和/或9.2-17,或其抗原结合片段。

[0532] 在某些实施例中,向受试者施用药物组合物(例如本文中如表1和/或表2中所述的一种或多种抗半乳凝素-9抗体,包括但不限于9.2-17和9.1-8m13)降低受试者中的细胞增殖、肿瘤生长和/或肿瘤体积,或使得转移性病灶的数量随时间减少。在一些实施例中,施用组合物导致完全响应、部分响应或使疾病稳定。

[0533] 胰腺导管腺癌(PDA)是一种毁灭性疾病,长期存活者很少(Yadav等人,

Gastroenterology,2013,144,1252-1261)。炎症在PDA进展中是最重要的,因为在没有伴随的炎症的情况下,单独的致癌突变不足以肿瘤发生(Guerra等人,Cancer Cell,2007,11,291-302)。先天性免疫和适应性免疫共同促进PDA中肿瘤的进展。特别地,肿瘤微环境(TME)内的特定先天性免疫亚群倾向于教育适应性免疫效应细胞朝向允许肿瘤的表型。抗原呈递细胞(APC)群体(包括M2极化的肿瘤相关巨噬细胞(TAM)和髓样树突细胞(DC))诱导免疫抑制性Th2细胞的产生,有利于具有肿瘤保护性的Th1细胞(Ochi等人,J of Exp Med.,2012,209,1671-1687;Zhu等人,Cancer Res.,2014,74,5057-5069)。类似地,已显示骨髓来源的抑制细胞(MDSC)抵消了PDA中的抗肿瘤$CD8^+$细胞毒性T淋巴细胞(CTL)响应,并促进了转移进程(Connolly等人,J Leuk Biol.,2010,87,713-725;Pylayeva-Gupta等人,Cancer Cell,2012,21,836-847;Bayne等人,Cancer Cell,2012,21,822-8355)。

[0534] 最近,显示巨噬细胞上的dectin-1与胰腺导管腺癌(PDA)中的半乳凝素-9结合(Daley等人,2017)。dectin-1信号转导的去除(在Dectin-/-小鼠中)导致M2型(抑制性CD206+)巨噬细胞的肿瘤浸润的减少。此外,基于抗体的半乳凝素-9中和仅增强Dectin-1+/+宿主中的T细胞活化,表明半乳凝素-9发挥了对Dectin-1信号转导特异性的主要免疫抑制作用。在中断Dectin-1-半乳凝素-9轴后,对于具有完整信号转导轴的宿主中的PDA进展可有可无的CD4+和CD8+ T细胞被重编程为抗肿瘤免疫不可或缺的调节因子。不希望受到理论的束缚,阻断半乳凝素-9-Dectin-1信号转导提供了一种示例性机制(除了TIM-3和其它信号转导途径之外),其可以作为PDA中半乳凝素-9靶向免疫治疗方法(例如,通过施用与半乳凝素-9结合的抗体,例如本文所述的那些)的强抗肿瘤响应的基础。

[0535] 在一些实施例中,本公开内容提供了一种用于治疗受试者的胰腺导管腺癌(PDA)的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14抗体或其组合组成的组。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂抗体及其组合组成的组。这样的抗体的非限制性实例包括例如抗体9.2-17或9.1-8mut13。在任何这些治疗方法中,抗半乳凝素-9抗体是抗体9.2-17和/或抗体9.1-8mut13。

[0536] 在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是本文表1和/或表2中所述的任何抗体,并且其中所述癌症是胰腺导管腺癌(PDA)。在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是抗体9.1-8m13和/或9.2-17,并且其中癌症是胰腺导管腺癌(PDA)。结直肠癌(CRC),也称为肠癌、结肠癌或直肠癌,是影响结肠和直肠的任何癌症。已知CRC由肿瘤细胞的基因改变驱动,并且还受肿瘤-宿主相互作用的影响。最近的报道表明了某些T淋巴细胞亚群的密度与CRC的良好临床疗效之间的直接相关性,支持T细胞介导的免疫在抑制CRC肿瘤进展中的重要作用。

[0537] 如本文其它地方所述,Tim-3是一种免疫调节分子,其在受半乳凝素-9刺激后触发下游级联事件(Zhu C等人.The Tim-3ligand galectin-9negatively regulates T helper type limmunity;Nature immunology.2005;6:1245-1252)。已发现Tim-3是CRC进展中的关键调节因子(Yu等人;,Tim-3is upregulated in human colorectal carcinoma and associated with tumor progression;Mol Med Rep.2017Feb;15(2):689-695)。在这项研究中,Tim-3的表达与肿瘤尺寸(P＝0.007))、肿瘤淋巴结转移分期(P<0.0001)和远端转移(P<0.0001)显著相关。此外,Tim-3表达增加与结肠癌中M2巨噬细胞极化有关,并且促进肿瘤生长。Tim-3途径的阻断抑制肿瘤支持性巨噬细胞的极化和结肠癌的生长二者(Jiang等人,Tim-3promotes tumor-promoting M2 macrophage polarization by binding to STAT1 and suppressing the STAT1-miR-155signaling axis;Oncoimmunology,2016Aug 3;5(9):e1211219)。鉴于这些发现并且在结直肠癌中观察到的半乳凝素-9的高表达(Lahm等人,J.Cancer Res.Clin.Oncol.2001;127:375-386),通过抑制半乳凝素-9与TIM-3之间的相互作用(例如通过施用与半乳凝素-9结合的抗体)来调节半乳凝素-9/TIM-3轴是在临床上治疗此类癌症的新方法,可能得到改善治疗效果。

[0538] 在一些实施例中,本公开内容提供了一种用于治疗受试者中的结直肠癌(CRC)的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14抗体或其组合组成的组。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂抗体及其组合组成的组。这样的抗体的非限制性实例包括例如抗体9.2-17或9.1-8mut13。在任何这些治疗方法中,抗半乳凝素-9抗体是抗体9.2-17和/或抗体9.1-8mut13。

[0539] 在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是本文表1和/或表2中所述的任何抗体,并且其中所述癌症是结直肠癌(CRC)。在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是抗体9.1-8m13和/或9.2-17,并且其中所述癌症是结直肠癌(CRC)。

[0540] 黑色素瘤是最致命的皮肤癌形式,并且在过去30年中发病率一直在上升,尤其是在年轻人中。最近的进展导致了许多免疫活化疗法的发展,其极大地改善了患者的存活率。

[0541] 黑色素细胞中遗传疾病(最常见的是B-Raf和N-Ras突变)的积累是黑色素瘤的标志(Rodríguez-Cerdeira等人,Advances in Immunotherapy for Melanoma:A Comprehensive Review;Mediators Inflamm.2017;2017:3264217,以及其中的参考文献)。然而,微环境之间的相互作用对于这些改变导致发育不良的黑素细胞转化为黑色素瘤细胞是必需的。然后,微环境还进一步促进侵袭和转移。已经开发出包括CTLA-4、PD-1和PD-L1/2阻滞剂在内的新治疗策略,并显著改善了黑色素瘤患者的治疗效果(Farkona等人,Cancer

immunotherapy:the beginning of the end of cancer?BMC Med.2016;14:73)。然而,这些疗法取决于功能性免疫系统的存在,而这在晚期癌症患者中被抑制,因此需要新的方法来重新激活这种被抑制的全身性免疫,以进一步改善黑色素瘤患者的预后。

[0542] 在患有转移性黑色素瘤的患者中,高血液半乳凝素-9水平与较差的总生存率和偏向支持肿瘤生长的Th2炎症状态有关。此外,半乳凝素-9在转移性黑色素瘤中与M2巨噬细胞群体共定位,并且血液中可溶形式的半乳凝素-9对应于较差存活率(Enninga等人,Melanoma Res.2016Oct;26(5):429-41)。半乳凝素-9与M2巨噬细胞的缔合被发现是由于半乳凝素-9与M2巨噬细胞上的CD206连接,导致局部微环境中的促肿瘤表型。因此,半乳凝素-9/dectin-1和半乳凝素-9/CD206两种相互作用都可促进巨噬细胞介导的免疫抑制作用。不希望受到理论的束缚,这些发现表明,抑制半乳凝素-9/dectin-1和半乳凝素-9/CD206两种相互作用(例如通过施用与半乳凝素-9结合的抗体)可能是在黑色素瘤的治疗方法中采用抗半乳凝素-9抗体的基本原理,这将导致患者(包括但不限于抗CTLA-4、PD-1和PD-L1/2治疗来说难治的那些)中提高的总体存活率。

[0543] 在一些实施例中,本公开内容提供了一种用于治疗受试者中的黑色素瘤的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14抗体或其组合组成的组。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂抗体及其组合组成的组。这样的抗体的非限制性实例包括例如抗体9.2-17或9.1-8mut13。在任何这些治疗方法中,抗半乳凝素-9抗体是抗体9.2-17和/或抗体9.1-8mut13。

[0544] 在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是本文表1和/或表2中所述的任何抗体,并且其中所述癌症是黑色素瘤。在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是抗体9.1-8m13和/或9.2-17,并且其中所述癌症是黑色素瘤。

[0545] 胆管癌(CCA)是一种在胆管中形成的上皮癌,是最常见的胆道恶性肿瘤和继肝细胞癌之后第二大最常见的肝恶性肿瘤,在过去的四十年中,胆管癌的总发病率在全球范围内逐渐增加。CCA根据其解剖位置分为三种亚型:肝内胆管癌(iCCA)、肝门CCA(pCCA)和远端CCA(dCCA)(参见,例如,Loeuillard等人,Animal models of cholangiocarcinoma;Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.2018Apr 5.,以及Rizvi等人Cholangiocarcinoma—evolving concepts and therapeutic strategies;Nat Rev Clin Oncol.2018Feb;15(2):95-111)。

[0546] 在一项99例手术切除的iHCC的回顾性免疫分析研究中,观察到位于中心的肿瘤浸润淋巴细胞的TIM-3阳性染色,其水平是PD-1染色的3倍高。总体存活率与较低数量的TIM-3

肿瘤浸润淋巴细胞显著相关(ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.12049)。因此,降低TIM-3活性或信号转导,例如通过在免疫治疗方法中例如通过施用抗半乳凝素-9抗体(例如本文所述的一种或多种抗半乳凝素-9抗体)抑制Gal-9/Tim-3相互作用可对总体存活率产生积极影响。

[0547] 在一些实施例中,本公开内容提供了一种用于治疗受试者中的胆管癌的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14抗体或其组合组成的组。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂抗体及其组合组成的组。这样的抗体的非限制性实例包括例如抗体9.2-17或9.1-8mut13。在任何这些治疗方法中,抗半乳凝素-9抗体是抗体9.2-17和/或抗体9.1-8mut13。

[0548] 在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是本文表1和/或表2中所述的任何抗体,并且其中所述癌症是胆管癌。在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是抗体9.1-8m13和/或9.2-17,并且其中所述癌症是胆管癌。

[0549] 肾细胞癌(RCC)是具有最高死亡率的泌尿生殖系统癌症的,并且RCC的发病率稳步上升,同时临床疗效仍然很差。每年全世界范围诊断出约273,000例新的肾癌病例。约有三分之一的局部疾病患者会复发或转移。一旦发生转移(恶性转移)患者的5年生存率不到10%。透明细胞肾细胞癌(ccRCC)是主要的组织学亚型,其占所有RCC的80-90%。RCC对免疫疗法和靶向疗法敏感,同时对化学疗法和放射疗法两者具有高抗性。

[0550] 在RCC患者中,Gal-9在癌病灶中的表达水平比周围正常组织高得多,而具有高半乳凝素-9表达的患者显示出更严重的疾病进展,具有更大的肿瘤和坏死(Kawashima等人;BJU Int.2014;113:320-332)。ccRCC患者肿瘤组织中的Gal-9与肿瘤尺寸、Fuhrman分级、坏死和受损的临床疗效(包括较差存活率和早期复发)显著正相关(Fu等人,Galectin-9predicts postoperative recurrence and survival of patients with clear-cell renal cell carcinoma;Tumour Biol.2015Aug;36(8):5791-9)。TIM-3也与RCC的不良预后有关,而TIM-3的敲低抑制了ccRCC细胞系的增殖和侵袭能力(Yuan等人,Prognostic implication of Tim-3in clear cell renal cell carcinoma.Neoplasma.2014;61:35-40)。因此,Gal-9/TIM-3轴可能在肾细胞癌的发展中具有重要作用,并且施用抑制Gal-9与TIM-3结合的免疫治疗剂(例如本文在例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体)可能导致RCC存活率增加和复发率降低。

[0551] 在一些实施例中,本公开内容提供了一种用于治疗受试者中的肾癌的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合

片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14抗体或其组合组成的组。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂抗体及其组合组成的组。这样的抗体的非限制性实例包括例如抗体9.2-17或9.1-8mut13。在任何这些治疗方法中,抗半乳凝素-9抗体是抗体9.2-17和/或抗体9.1-8mut13。

[0552] 在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是本文表1和/或表2中所述的任何抗体,并且其中所述癌症是肾细胞癌(RCC)。在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是抗体9.1-8m13和/或9.2-17,并且其中所述癌症是肾细胞癌(RCC)。

[0553] 肝细胞癌(HCC)是最常见的原发性肝癌类型。肝细胞癌最常见于患有慢性肝病(例如由乙型肝炎或丙型肝炎引起的肝硬化)的人中。由于慢性病毒感染,HCC通常伴有肝硬化并伴有大量淋巴细胞浸润。许多研究表明,肿瘤手术切除后,肿瘤浸润效应CD8+ T细胞和T辅助17(Th17)细胞与提高的存活率相关。然而,肿瘤浸润效应T细胞不能控制肿瘤的生长和转移(Pang等人,The immunosuppressive tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma;Cancer Immunol Immunother 2009;58:877-886)。

[0554] TIM-3/半乳凝素-9相互作用导致人HCC中的免疫功能障碍(Li,等人,Tim-3/galectin-9signaling pathway mediates T-cell dysfunction and predicts poor prognosis in patients with hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma;Hepatology.2012Oct;56(4):1342-51)。在骨髓APC上发现了半乳凝素-9的高表达,在HBV相关的HCC中发现了大量的Tim-3+ T细胞,并且使用TIM-3抗体阻断Tim-3/半乳凝素-9信号转导恢复了从人HCC中分离的T细胞中的效应T细胞功能。因此,靶向Tim-3/半乳凝素-9轴(例如通过施用抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和表2所示的抗半乳凝素-9抗体,包括但不限于抗体9.1-8mut13和/或抗体9.2-17)构成了治疗患有HBV相关HCC的患者的新免疫治疗策略。

[0555] 在一些实施例中,本公开内容提供了一种用于治疗受试者中的肝细胞癌的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14抗体或其组合组成的组。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂抗体及其组合组成的组。这样的抗体的非限制性实例包括例如

抗体9.2-17或9.1-8mut13。在任何这些治疗方法中,抗半乳凝素-9抗体是抗体9.2-17和/或抗体9.1-8mut13。

[0556] 在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是本文表1和/或表2中所述的任何抗体,并且其中所述癌症是肝细胞癌(HCC)。在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是抗体9.1-8m13和/或9.2-17,并且其中所述癌症是肝细胞癌(HCC)。

[0557] 急性髓细胞性白血病(AML,acute myeloid leukemia)是急性白血病的最常见形式,其发病率随着年龄的增长而增加。通常病因不明,AML也可能由于暴露于遗传毒性剂或在先前的血液学疾病之后发生。AML很复杂,具有遗传、表观遗传和表型异质性(Lowenberg和Rowe,Introduction to the review series on advances in acute myeloid leukemia(AML);Blood2016 127:1)。

[0558] 最近的研究表明了TIM-3/Gal-9轴,其中TIM-3和Gal-9连接以建立AML。恶性干细胞通过获得多种遗传异常来实现优势克隆选择。这些遗传异常在自我更新的造血干细胞(HSC)中逐渐累积,结果,这些遗传受损的白血病前期HSC胞转化为白血病干细胞(LSC)。作为此过程的一部分,白血病前期HSC的生长超出正常HSC,并最后在造血祖细胞阶段自我更新成为骨髓LSC(Walter等人,Clonal architecture of secondary acute myeloid leukemia;N.Engl.J.Med.,366(2012),第1090-1098页)。Kikushige等人(Kikushige等人,A TIM-3/Gal-9Autocrine Stimulatory Loop Drives Self-Renewal of Human Myeloid Leukemia Stem Cells and Leukemic Progression(Cell Stem Cell 17;3(2015),341-352)观察到在AML患者中血清半乳凝素-9水平显著升高,并且Tim3/Gal-9轴刺激自分泌循环,其发挥作用以实现LSC的克隆优势和自我更新。Gal-9介导的TIM-3刺激导致LSC自我更新途径的诱导。值得注意的是,由于在患有白血病前期髓样疾病的患者中观察到HSC和HPC群体中TIM-3显著上调以及血清Gal-9升高,因此半乳凝素-9分泌的获得可能在白血病进展的早期发生。因此,靶向Gal-9/TIM-3轴(例如通过施用抗半乳凝素-9抗体,例如本文中如表1和/或表2中所述的一种或多种抗半乳凝素-9抗体,包括抗体9.1-8mut13和/或抗体9.2-17)可能构成人骨髓恶性肿瘤常见的癌症干细胞疗法的新方法,而且这样的疗法不仅可用于根除AML中的LSC,而且还可防止白血病前期疾病进展为明显的AML。这样的白血病前期疾病包括伴有骨髓增生异常综合症(MDS)中的多谱系发育不良阶段的难治性血细胞减少症(RCMD)或骨髓增生性肿瘤(MPN)的慢性阶段(包括慢性骨髓性白血病)的难治性血细胞减少症。

[0559] 在一些实施例中,本公开内容提供了一种用于治疗受试者的恶性血液病的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,本公开内容提供了一种用于治疗受试者的急性淋巴细胞性白血病的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,本公开内容提供了一种用于治疗受试者中的急性髓细胞性白血病的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。

[0560] 在一些实施例中,本公开内容提供了一种用于在受试者中预防白血病前期疾病发

展成急性髓细胞性白血病的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,白血病前期疾病包括MDS中的RCMD阶段或MPN的慢性期,包括慢性骨髓性白血病。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14及其组合组成的组。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂抗体及其组合组成的组。这样的抗体的非限制性实例包括例如抗体9.2-17或9.1-8mut13。在任何这些治疗方法中,抗半乳凝素-9抗体是抗体9.2-17和/或抗体9.1-8mut13。

[0561] 在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是本文表1和/或表2中所述的任何抗体,并且其中所述癌症是恶性血液病。在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是抗体9.1-8m13和/或9.2-17,并且其中所述癌症是恶性血液病。

[0562] 在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是本文表1和/或表2中所述的任何抗体,并且其中所述癌症是AML。在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是抗体9.1-8m13和/或9.2-17,并且其中所述癌症是AML。

[0563] 在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是本文表1和/或表2中所述的任何抗体,并且其中所述癌症是ALL。在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为用于治疗癌症的药物的用途,其中抗半乳凝素-9抗体是抗体9.1-8m13和/或9.2-17,并且其中所述癌症是ALL。在任何上述方法中,治疗方法还包括向受试者施用检查点分子的抑制剂、共刺激受体的激活剂和/或先天免疫细胞靶标的抑制剂。在一些实施例中,治疗方法还包括向受试者施用检查点分子的抑制剂。在一些实施例中,检查点分子选自由PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA-4、LAG3、TIM-3和A2aR组成的组。在一些实施例中,治疗方法还包括向受试者施用检查点分子的抑制剂、共刺激受体的激活剂和/或先天免疫细胞靶标的抑制剂。在一些实施例中,共刺激受体选自由OX40、GITR、CD137、CD40、CD27和ICOS组成的组。在一些实施例中,治疗方法还包括向受试者施用先天免疫细胞靶标的抑制剂。在一些实施例中,先天免疫细胞靶标选自由KIR、NKG2A、CD96、TLR和IDO组成的组。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.1-1、G9.1-2、G9.1-3、G9.1-4、G9.1-5、G9.1-6、G9.1-7、G9.1-8、G9.1-9、G9.1-10、G9.1-11、G9.1-8m1、G9.1-8m2、G9.1-8m3、G9.1-8m4、G9.1-8m5、G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10、G9.1-8m11、G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14及其组合组成的组。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体选自由G9.2-1、G9.2-2、G9.2-3、G9.2-4、G9.2-5、G9.2-6、G9.2-7、G9.2-8、G9.2-9、G9.2-10、G9.2-11、G9.2-12、G9.2-13、G9.2-14、G9.2-15、G9.2-16、G9.2-17、G9.2-17mut6、G9.2-18、G9.2-19、G9.2-20、G9.2-21、G9.2-22、G9.2-23、G9.2-24、G9.2-25、

G9.2-26和G9.2-低亲和力结合剂抗体及其组合组成的组。这样的抗体的非限制性实例包括例如抗体9.2-17或9.1-8mut13。在任何这些治疗方法中,抗半乳凝素-9抗体是抗体9.2-17和/或抗体9.1-8mut13。在一些实施例中,所述癌症选自胰腺癌,例如胰腺导管腺癌,胆管癌,肝细胞癌,结直肠癌,黑色素瘤,肾细胞癌和急性髓细胞性白血病。

[0564] 在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为与检查点抑制剂分子组合用于治疗癌症的药物的用途,例如,其中检查点抑制剂分子选自由PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA-4、LAG3、TIM-3和A2aR组成的组,并且其中抗半乳凝素-9抗体是本文表1和/或表2中所述的任何抗体。在一些实施例中,本公开内容提供了抗-半乳凝素-9抗体作为与检查点抑制剂分子组合用于治疗癌症的药物的用途,其中所述检查点抑制剂分子选自由PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA-4、LAG3、TIM-3和A2aR组成的组,并且其中抗半乳凝素-9抗体是抗体9.1-8m13和/或9.2-17。

[0565] 在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为与共刺激分子组合用于治疗癌症的药物的用途,例如其中共刺激分子选自由OX40、GITR、CD137、CD40、CD27和ICOS组成的组,并且其中抗半乳凝素-9抗体是本文表1和/或表2中所述的任何抗体。在一些实施例中,本公开内容提供了抗半乳凝素-9抗体作为与共刺激分子组合用于治疗癌症的药物的用途,例如其中共刺激分子选自由OX40、GITR、CD137、CD40、CD27和ICOS组成的组,其中抗半乳凝素-9抗体是抗体9.1-8m13和/或9.2-17。在一些实施例中,与治疗之前或者对照受试者中的水平相比,本公开内容中的方法可以将抗肿瘤活性提高(例如,随着时间降低细胞增殖、肿瘤生长、肿瘤体积和/或肿瘤负荷或负载或减少转移性病灶的数量)至少约10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。在一些实施例中,通过比较在施用药物组合物之前和之后受试者中的细胞增殖、肿瘤生长和/或肿瘤体积来测量降低。在一些实施例中,治疗或改善受试者的癌症的方法可使癌症的一种或多种症状改善至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多。在施用药物组合物之前、期间和之后,可以在生物样品中测量受试者中的癌细胞和/或生物标志物,所述生物样品例如是血液、血清、血浆、尿液、腹膜液和/或来自组织或器官的活检。在一些实施例中,所述方法可以包括施用本发明的组合物以将受试者中的肿瘤体积、尺寸、负荷或负载降低至不可检测的大小,或小于治疗之前受试者的肿瘤体积、尺寸、负荷或负载的约1%、2%、5%、10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%或90%。在另一些实施例中,所述方法可以包括施用本发明的组合物以将受试者中的细胞增殖速率或肿瘤生长速率降低至不可检测的速率,或小于治疗之前速率的约1%、2%、5%、10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%或90%。在另一些实施例中,所述方法可以包括施用本发明的组合物以将受试者中转移性病灶的发展或数量或尺寸降低至不可检测的比率,或小于治疗之前比率的约1%、2%、5%、10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%或90%。

[0566] 在一些实施例中,提供了包含一种或多种抗半乳凝素-9抗体的组合物,其可用于治疗、管理、改善和/或预防癌症。在一些实施例中,本公开内容的组合物包含单独或与预防剂、治疗剂(例如化学疗法或免疫疗法)和/或药学上可接受的载体组合的两种或更多种抗半乳凝素-9抗体,并且提供了其用途。在一些实施例中,一种或多种抗体与CRD1结合。在一些实施例中,一种或多种抗体与CRD2结合。在一些实施例中,一种或多种抗体与CRD1结合。

在一些实施例中,所述组合物可以包含抗体的组合,其中一些与CRD1结合,并且其中一些与CRD2结合。组合的非限制性实例是包含9.2-17和9.1-8mut1的组合。抗体可以等摩尔或非等摩尔量结合。

[0567] 药物组合物

[0568] 如本文所述的抗半乳凝素-9抗体和编码核酸或核酸集、包含其的载体或包含该载体的宿主细胞可以与药学上可接受的载体(辅料)混合以形成用于治疗目标疾病的药物组合物。"可接受的"是指载体必须与组合物的活性成分相容(并且优选地能够稳定活性成分)并且对待治疗的受试者无害。药学上可接受的辅料(载体)包括缓冲剂,这是本领域众所周知的。参见,例如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy第20版.(2000)Lippincott Williams和Wilkins编.K.E.Hoover。

[0569] 本发明方法中使用的药物组合物可以包含冻干制剂或水溶液形式的药学上可接受的载体、辅料或稳定剂。(Remington:The Science and Practice of Pharmacy第20版.(2000)Lippincott Williams和Wilkins编.K.E.Hoover)。可接受的载体、辅料或稳定剂在使用的剂量和浓度下对接受者无毒,并且可以包含缓冲剂,例如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(例如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化己烷双胺;苯扎氯铵(benzalkonium chloride)、苯索氯铵(benzethonium chloride);苯酚、丁醇或苄醇;对羟基苯甲酸烷基酯,例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其它碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或右旋糖酐;螯合剂,例如EDTA;糖,例如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨糖醇;成盐的抗衡离子,例如钠;金属配合物(例如锌-蛋白质配合物);和/或非离子表面活性剂,例如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。在一些实例中,本文所述的药物组合物包含含有抗体(或编码核酸)的脂质体,其可以通过本领域已知的方法制备,例如在以下中所述:Epstein,等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 82:3688(1985);Hwang,等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4030(1980);以及美国专利号4,485,045和4,544,545。具有延长的循环时间的脂质体在美国专利号5,013,556中公开。特别有用的脂质体可以通过反相蒸发法用包含磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG-衍生的磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂质组合物产生。通过具有限定孔径的过滤器挤出脂质体,以产生具有期望直径的脂质体。

[0570] 抗半乳凝素-9抗体或编码核酸也可被包埋在微胶囊(例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备,分别例如羟甲基纤维素或明胶-微胶囊和聚-(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊)中,胶体药物递送系统(例如脂质体、白蛋白微球、微乳剂、纳米颗粒和纳米胶囊)中或大乳剂中。这样的技术是本领域已知的,参见例如Remington,The Science and Practice of Pharmacy第20版.Mack Publishing(2000)。

[0571] 在另一些实例中,本文所述的药物组合物可以配制成持续释放形式。持续释放制剂的合适实例包括含有抗体的固体疏水性聚合物的半透性基质,所述基质为定型制品例如膜或微胶囊的形式。持续释放基质的实例包括聚酯、水凝胶(例如,聚(甲基丙烯酸2-羟乙基酯)或(聚乙烯醇))、聚交酯(美国专利号3,773,919)、L-谷氨酸和7-乙基-L-谷氨酸的共聚物、不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯、可降解的乳酸-乙醇酸共聚物,例如LUPRON DEPOT™(由乳

酸-乙醇酸共聚物和乙酸亮丙瑞林组成的可注射微球)、蔗糖乙酸异丁酸酯和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。

[0572] 用于体内施用的药物组合物必须是无菌的。这很容易通过例如经无菌滤膜的过滤来完成。通常将治疗性抗体组合物放入具有无菌进入口的容器中,例如,具有由皮下注射针可刺穿的塞子的静脉内溶液袋或小瓶。

[0573] 本文所述的药物组合物可以是单位剂型,例如片剂、丸剂、胶囊剂、散剂、颗粒剂、溶液剂或混悬剂或栓剂,用于口服、肠胃外或直肠施用,或通过吸入或吹入施用。

[0574] 为了制备固体组合物,例如片剂,可以将主要活性成分与药物载体(例如常规制片成分,例如玉米淀粉、乳糖、蔗糖、山梨糖醇、滑石、硬脂酸、硬脂酸镁、磷酸二钙或树胶)以及其它药物稀释剂,例如水)混合以形成包含本发明化合物或其无毒的药学上可接受的盐的均质混合物的固体预配制组合物。当将这些预配制组合物称为均质时,是指活性成分均匀地分散在整个组合物中,从而可以将组合物容易地细分为等效单位剂量形式,例如片剂、丸剂和胶囊剂。然后将该固体预配制组合物细分为含有0.1至约500mg本发明活性成分的上述类型的单位剂量形式。可以将新组合物的片剂或丸剂包衣或以其它方式混合以提供具有延长作用的优点的剂量形式。例如,片剂或丸剂可包含内部剂量和外部剂量组分,后者为前者上的包封形式。这两种组分可以由肠溶层分开,肠溶层用于抵抗胃中的崩解并允许内部组分完整地进入十二指肠或延迟释放。多种材料可用于这样的肠溶层或包衣,这样的材料包括多种聚合物酸以及聚合物酸与诸如虫胶、鲸蜡醇和乙酸纤维素的材料的混合物。合适的表面活性剂尤其包括非离子试剂,例如聚氧乙烯脱水山梨糖醇(例如,Tween™ 20、40、60、80或85)和其它脱水山梨糖醇(例如,Span™ 20、40、60、80或85)。具有表面活性剂的组合物将方便地包含0.05至5%的表面活性剂,并且可以为0.1至2.5%。将理解的是,如果需要,可以添加其它成分,例如甘露醇或其它药学上可接受的载剂。

[0575] 可以使用可商购的脂肪乳剂,例如Intralipid™、Liposyn™、Infonutrol™、Lipofundin™和Lipiphysan™来制备合适的乳剂。活性成分可以溶解在预混合的乳剂组合物中,或者可选地其可以溶解在油(例如大豆油、红花油、棉籽油、芝麻油、玉米油或杏仁油)中并且在与磷脂(例如卵磷脂、大豆磷脂或大豆卵磷脂)和水混合后形成乳剂。应当理解,可以添加其它成分,例如甘油或葡萄糖,以调节乳剂的张度。合适的乳剂通常将包含至多20%的油,例如5%至20%。所述脂肪乳剂可包含0.1至1.0μm,特别是0.1至0.5μm的脂肪滴,并且具有5.5至8.0的pH。

[0576] 乳剂组合物可以是通过将抗体与Intralipid™或其组分(大豆油、卵磷脂、甘油和水)混合而制备的那些。

[0577] 用于吸入或吹入的药物组合物包括在药学上可接受的水性或有机溶剂或其混合物中的溶液和悬浮液,以及粉末。液体或固体组合物可以包含如上所述的合适的药学上可接受的载体。在一些实施例中,通过经口或经鼻呼吸途径施用组合物以产生局部或全身作用。

[0578] 可以通过使用气体使优选无菌的药学上可接受的溶剂中的组合物雾化。雾化的溶液可以直接从雾化装置中呼吸,或者雾化装置可以连接到面罩、帐篷或间歇性正压呼吸机上。溶液、悬浮液或粉末组合物可以优选以适当方式递送制剂的装置经口或经鼻施用。

[0579] 治疗应用

[0580] 本公开内容提供了消除表达半乳凝素-9的病理细胞的方法,所述方法包括向具有表达半乳凝素-9的病理细胞的受试者施用有效量的本文所述的包含抗半乳凝素-9抗体的药物组合物。本公开内容还提供了在受试者中抑制半乳凝素-9介导的细胞信号转导的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的包含抗半乳凝素-9抗体的药物组合物。

[0581] 为了实施本文公开的方法,可以通过合适的途径全身或局部地将有效量的本文所述的药物组合物施用于需要治疗的受试者(例如人)。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体通过以下方式施用:通过静脉内施用(例如作为推注或通过在一段时间内的连续输注)、通过肌内、腹膜内、脑脊髓内、皮下、动脉内、关节内、滑膜内、鞘内、肿瘤内、口服、吸入或局部途径。用于液体制剂的可商购的喷雾器(包括喷射喷雾器和超声喷雾器)可用于施用。液体制剂可以直接喷雾,并且冻干粉末可以在重构后喷雾。或者,可使用碳氟化合物制剂和计量吸入器将本文所述的抗体气雾化,或以冻干和研磨粉末吸入。

[0582] 通过本文所述的方法治疗的受试者可以是哺乳动物,更优选是人。哺乳动物包括但不限于农场动物、运动动物、宠物、灵长类动物、马、狗、猫、小鼠和大鼠。需要治疗的人受试者可以是患有、有风险患或被怀疑患有目标疾病或病症例如实体瘤、恶性血液病、自身免疫性疾病(例如变应性疾病)、微生物病和纤维化疾病的人患者。

[0583] 实体瘤癌症的例子包括胰腺导管腺癌(PDA)、结直肠癌(CRC)、黑色素瘤、胆管癌、乳腺癌、肺癌(例如非小细胞肺癌NSCLC和小细胞肺癌SCLC)、上和下胃肠道恶性肿瘤(包括但不限于食道癌、胃癌和肝胆癌)、鳞状细胞头颈癌、泌尿生殖系统癌、卵巢癌和肉瘤。恶性血液病包括急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、骨髓增生异常综合症和骨髓增生性肿瘤、例如原发性血小板增多症、真性红细胞增多症和骨髓纤维化。可以通过常规医学检查,例如实验室检查、器官功能检查、CT扫描或超声来鉴定患有实体瘤或恶性血液病的受试者。在一些实施例中,通过本文所述的方法治疗的受试者可以是已经或正在接受抗癌疗法,例如化学疗法、放射疗法、免疫疗法或手术的人癌症患者。

[0584] 自身免疫性疾病的实例包括类风湿性疾病、代谢和内分泌疾病以及呼吸道和过敏性疾病。患有自身免疫性疾病的受试者可以通过常规医学检查来鉴定,例如通过实验室检查,例如抗核抗体、抗线粒体自身抗体、抗中性粒细胞胞质抗体、抗磷脂抗体、抗瓜氨酸化肽(anti-CCP)、抗类风湿因子、免疫球蛋白A、C反应蛋白测试、补体测试、红细胞沉降率(ESR)测试、凝血分析以及蛋白质电泳/免疫固定电泳等。在一些实施例中,通过本文所述的方法治疗的受试者可以是患有自身免疫性疾病的人类受试者,其已经或正在接受自身免疫性疾病的治疗,例如免疫抑制药物、激素替代疗法、输血、抗炎性药物和/或止痛药。

[0585] 微生物疾病可由多种病原体引起,包括细菌、真菌、原生动物和病毒。示例性的感染性细菌包括酿脓性链球菌(Streptococcus pyogenes)、肺炎链球菌(Streptococcus pneumoniae)、淋病奈瑟氏菌(Neisseria gonorrheae)、脑膜炎奈瑟氏菌(Neisseria meningitidis)、白喉棒状杆菌(Corynebacterium diphtheriae)、肉毒梭菌(Clostridium botulinum)、产气荚膜梭菌(Clostridium perfringens)、破伤风梭菌(Clostridium tetani)、流感嗜血杆菌(Hemophilus influenzae)、肺炎克雷伯氏菌(Klebsiella pneumoniae)、臭鼻克雷伯氏菌(Klebsiella ozaenas)、鼻硬结克雷伯氏菌(Klebsiella

rhinoscleromotis)、金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)、霍乱弧菌(Vibrio cholerae)、大肠杆菌(Escherichia coli)、铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)、胎儿弯曲杆菌(弧菌)(Campylobacter(Vibrio)fetus)、嗜水气单胞菌(Aeromonas hydrophila)、蜡状芽孢杆菌(Bacillus cereus)、迟缓爱德华菌(Edwardsiella tarda)、小肠结肠炎耶尔森氏菌(Yersinia enterocolitica)、鼠疫耶尔森氏菌(Yersinia pestis)、假结核耶尔森氏菌(Yersinia pseudotuberculosis)、痢疾志贺氏菌(Shigella dysenteriae)、弗氏志贺氏菌(Shigella flexneri)、宋内氏志贺氏菌(Shigella sonnei)、鼠伤寒沙门氏菌(Salmonella typhimurium)、苍白密螺旋体(Treponema pallidum)、极细密螺旋体(Treponema pertenue)、Treponema carateneum、奋森氏螺旋体(Borrelia vincentii)、布氏疏螺旋体(Borrelia burgdorferi)、出血性黄疸钩端螺旋体(Leptospira icterohemorrhagiae)、结核分枝杆菌(Mycobacterium tuberculosis)、卡氏肺孢子虫(Pneumocystis carinii)、土拉热弗朗西斯氏菌(Francisella tularensis)、流产布鲁氏菌(Brucella abortus)、猪布鲁氏菌(Brucella suis)、山羊布鲁氏杆菌(Brucella melitensis)、支原体属(Mycoplasma spp.)、普氏立克次氏体(Rickettsia prowazeki)、恙虫病立克次氏体(Rickettsia tsutsugumushi)和衣原体属(Chlamydia spp.)。病理性真菌的实例包括粗球孢子菌(Coccidioides immitis)、烟曲霉菌(Aspergillusfumigatus)、白色念珠菌(Candida albicans)、皮炎芽生菌(Blastomyces dermatitidis)、新型隐球菌(Cryptococcus neoformans)、和荚膜组织胞浆菌(Histoplasma capsulatum)。病理性原生动物包括溶组织内阿米巴(Entomoeba histolytica)、弓形虫(Toxoplasma gondii)、口月空滴虫(Trichomonas tenas)、人毛滴虫(Trichomonas hominis)、阴道毛滴虫(Trichomonas vaginalis)、冈比亚锥虫(Trypanosoma gambiense)、罗德西亚锥虫(Trypanosoma rhodesiense)、克鲁氏锥虫(Trypanosoma cruzi)、杜氏利什曼原虫(Leishmania donovani)、热带利什曼原虫(Leishmania tropica)、巴西利什曼原虫(Leishmania braziliensis)、肺炎肺孢子虫(Pneumocystis pneumonia)、间日疟原虫(Plasmodium vivax)、恶性疟原虫(Plasmodium falciparum)和三日疟原虫(Plasmodium malaria)。蠕虫的实例包括蠕形住肠蛲虫(Enterobius vermicularis)、毛首鞭虫(Trichuris trichiura)、似蚓蛔线虫(Ascaris lumbricoides)、旋毛虫(Trichinella spiralis)、粪类圆线虫(Strongyloides stercoralis)、日本血吸虫(Schistosoma japonicum)、曼氏血吸虫(Schistosoma mansoni)、埃及血吸虫(Schistosoma haematobium)和钩虫(hookworms)。病毒感染性疾病包括由以下引起的那些:腺病毒(Adenovirus)、拉沙热病毒(Lassa fever virus)(沙粒病毒(Arenavirus))、星状病毒(Astrovirus)、汉坦病毒(Hantavirus)、裂谷热病毒(Rift Valley Fever virus)(白蛉病毒属(Phlebovirus))、杯状病毒(Calicivirus)、埃博拉病毒(Ebola virus)、马尔堡病毒(Marburg Virus)、日本脑炎病毒(Japanese encephalitis virus)、登革热病毒(Dengue virus)、黄热病毒(Yellow fever virus)、丙型肝炎病毒(Hepatitis C virus)、庚型肝炎病毒(Hepatitis G virus)、乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus)、丁型肝炎病毒(Hepatitis D virus)、单纯疱疹病毒1(Herpes simplex virus 1)、单纯疱疹病毒2(Herpes simplex virus 2)、巨细胞病毒(Cytomegalovirus)、爱泼斯坦巴尔病毒(Epstein Barr virus)、水痘带状疱疹病毒(Varicella Zoster Virus)、人疱疹病毒7(Human

Herpesvirus 7)、人疱疹病毒8(Human Herpesvirus 8)、流感病毒(Influenza virus)、副流感病毒(Parainfluenza virus)、风疹病毒(Rubella virus)、腮腺炎病毒(Mumps virus)、麻疹病毒(Morbilli virus)、麻疹病毒(Measles virus)、呼吸道合胞病毒(Respiratory Syncytial virus)、乳突瘤病毒(Papillomaviruses)、JC病毒(多瘤病毒(Polyomavirus))、BK病毒(多瘤病毒)、细小病毒(Parvovirus)、柯萨奇病毒(Coxsackie virus)(A和B)、甲型肝炎病毒(Hepatitis A virus)、脊髓灰质炎病毒(Polioviruses)、鼻病毒(Rhinoviruses)、呼肠孤病毒(Reovirus)、狂犬病毒(Rabies Virus)(狂犬病毒属(Lyssavirus))、人类免疫缺陷病毒1和2和人T细胞白血病病毒。可以通过常规医学检查例如实验室检查来鉴定患有微生物疾病的受试者。例如,可以使用显微镜(例如革兰氏阳性和/或革兰氏阴性染色)、样品培养、生化测试(例如代谢和/或酶促产物例如发酵产物、酸、醇或气体的测试),和分子诊断(例如PCR)。在一些实施例中,通过本文所述的方法治疗的受试者可以是已经或正在接受抗微生物疗法,例如免疫疗法的人感染性疾病患者。

[0586] 纤维化疾病的实例包括肺纤维化(例如,囊性纤维化、特发性肺纤维化)、肝硬化、胆道闭锁、心房纤维化、心内膜心肌纤维化、胶质瘢痕、关节纤维化、克罗恩病、杜普伊特伦氏挛缩(Dupuytren's contracture)、蟹足肿(keloid)、纵膈纤维化、骨髓纤维化、肾源性全身纤维化、进行性大规模纤维化、腹膜后纤维化和硬皮病/全身性硬化。可以通过常规医学检查例如实验室检查、CT扫描、X射线、超声心动图或超声来鉴定患有纤维化疾病的受试者。在一些实施例中,通过本文所述的方法治疗的受试者可以是已经或正在接受抗纤维化疗法,例如药物、物理疗法、氧气疗法或手术的人纤维化患者。

[0587] 怀疑患有任何这样的目标疾病/病症的受试者可能显示出该疾病/病症的一种或多种症状。具有疾病/病症风险的受试者可以是具有该疾病/病症的一种或多种风险因素的受试者。

[0588] 如本文所用,“有效量”是指单独或与一种或多种其它活性剂组合赋予受试者治疗效果所需的每种活性剂的量。在一些实施例中,治疗效果是降低的半乳凝素-9活性和/或量/表达、降低的Dectin-1信号转导、降低的TIM-3信号转导、降低的CD206信号转导或提高的肿瘤微环境中的抗肿瘤免疫应答。提高的抗肿瘤应答的非限制性实例包括提高的效应T细胞的活化水平,或TAM从M2表型转换为M1表型,和提高的ADCC应答。确定抗体的量是否达到治疗效果对于本领域技术人员将是显而易见的。如本领域技术人员所认识的,有效量根据所治疗的特定病症、病症的严重程度、个体患者参数(包括年龄、身体状况、大小、性别和体重)、治疗持续时间、同时治疗(如果有的话)的性质、具体施用途径以及卫生从业人员的知识和专长内的类似因素而变化。这些因素是本领域普通技术人员众所周知的,并且仅通过常规实验即可解决。通常优选使用各个组分或其组合的最大剂量,即根据合理医学判断的最高安全剂量。

[0589] 诸如半衰期的经验性考虑因素通常将有助于确定剂量。例如,与人免疫系统相容的抗体(例如人源化抗体或完全人抗体)可用于延长抗体的半衰期并防止抗体受到宿主免疫系统的攻击。施用频率可以在治疗过程中确定和调整,并且通常但并非必须基于目标疾病/病症的治疗和/或抑制和/或改善和/或延迟。或者,抗体的持续连续释放制剂可能是合适的。用于实现持续释放的多种制剂和装置是本领域已知的。

[0590] 在一实例中,本文所述抗体的剂量可以在已经给予抗体的一次或多次施用的个体

中凭经验确定。给予个体递增剂量的拮抗剂。为了评估拮抗剂的功效,可以追踪疾病/病症的指标。

[0591] 通常,对于施用本文所述的任何抗体,例如本文表1或表2中所述的那些抗体,例如抗体9.2-17和抗体9.1-8mut13,初始候选剂量可以为约2mg/kg。为了本公开内容的目的,典型的日剂量可以为约0.1μg/kg至3μg/kg至30μg/kg至300μg/kg至3mg/kg至30mg/kg至100mg/kg或更多中的任一个,这取决于上述因素。对于数天或更长的重复施用,取决于病情,持续治疗直到出现所期望的症状抑制或直到达到足够的治疗水平以减轻目标疾病或病症或其症状。示例性的给药方案包括施用约2mg/kg的初始剂量,随后每周约1mg/kg抗体的维持剂量,或随后每隔一周约1mg/kg的维持剂量。然而,取决于从业者希望达到的药代动力学衰减的模式,其它剂量方案可能是有用的。例如,考虑了每周一至四次的给药。在一些实施例中,可以使用约3μg/mg至约2mg/kg(约3μg/mg、约10μg/mg、约30μg/mg、约100μg/mg、约300μg/mg、约1mg/kg和约2mg/kg)的剂量。在一些实施例中,给药频率为每周一次、每2周、每4周、每5周、每6周、每7周、每8周、每9周或每10周一次。或每月一次,每2个月或每3个月或更长时间一次。通过常规技术和测定很容易监测该疗法的进展。给药方案(包括使用的抗体)可随时间变化。

[0592] 在一些实施例中,对于正常体重的成年患者,可以施用范围在约0.3至5.00mg/kg的剂量。在一些实例中,本文所述的抗半乳凝素-9抗体的剂量可以为10mg/kg。特定的剂量方案(即剂量、时间和重复)将取决于特定的个体和该个体的病史,以及各个药物的特性(例如药物的半衰期,以及本领域周知的其它考虑)。

[0593] 为了本公开内容的目的,本文所述的抗体的合适剂量将取决于所使用的特定抗体、多个抗体和/或非抗体肽(或其组合物),疾病/病症的类型和严重性,抗体是用于预防还是治疗目的,先前的治疗,患者的临床病史和对拮抗剂的响应以及主治医师的判断。通常,临床医生将施用抗体,直到达到实现期望结果的剂量为止。在一些实施例中,期望结果是在肿瘤微环境中抗肿瘤免疫应答的升高。确定剂量是否产生期望结果的方法对本领域技术人员是显而易见的。一种或多种抗体的施用可以是连续的或间歇的,取决于例如接受者的生理状况,施用的目的是治疗性的还是预防性的,和熟练从业者已知的其它因素。抗体的施用可以在预先选择的时间段内基本上是连续的,或者可以是一系列间隔的剂量,例如在目标疾病或病症发展之前、期间或之后。

[0594] 如本文所用,术语“治疗”是指将包含一种或多种活性剂的组合物应用或施用于患有目标疾病或病症,疾病/病症的症状,或易感于疾病/病症的受试者,目的是治愈、痊愈、减轻、缓解、改变、补救、改进、改善或影响疾病、疾病的症状或对疾病或病症的易感性。

[0595] 减轻目标疾病/病症包括延迟疾病的发展或进程,或降低疾病严重性或延长生存期。减轻疾病或延长生存期不一定需要治愈结果。如本文所用,“延迟”目标疾病或病症的发展是指延迟、阻碍、减缓、延缓、稳定和/或推迟疾病的发展。该延迟可以具有不同的时间长度,这取决于疾病史和/或所治疗的个体。“延迟”或减轻疾病发展或延迟疾病发作的方法是与未使用该方法相比,在给定的时间框内降低一种或多种疾病症状发展的可能性和/或在给定的时间框内降低症状程度的方法。这样的比较通常基于使用足以给出统计学上显著结果的大量受试者进行的临床研究。

[0596] 疾病的“发展”或“进展”是指疾病的初始表现和/或随后的进展。使用本领域众所

周知的标准临床技术,疾病的发展可以能够检测到和可以被评估。但是,发展也指可能无法检测到的进展。为了本公开内容的目的,发展或进展是指症状的生物学过程。“发展”包括发生、复发和发作。如本文所用,目标疾病或病症的“发作”或“发生”包括初始发作和/或复发。

[0597] 在一些实施例中,以足以在体内将肿瘤中免疫抑制性免疫细胞中半乳凝素-9(和/或Dectin-1或TIM-3或CD206)的活性抑制至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在另一些实施例中,以有效地将肿瘤中免疫抑制性免疫细胞中半乳凝素-9(和/或Dectin-1或TIM-3或CD206)的活性水平降低至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量施用本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)。在一些实施例中,以足以在体内将TAM中的M1样编程促进至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。

[0598] 在一些实施例中,以足以促进肿瘤中靶细胞中ADCC的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于有此需要的受试者。在一些实施例中,以足以在体内将肿瘤中靶细胞中的ADCC促进至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。

[0599] 在一些实施例中,以足以促进肿瘤中靶细胞中CDC的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以在体内将肿瘤中靶细胞中的CDC促进至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。

[0600] 在一些实施例中,以足以促进肿瘤中靶细胞中ADCP的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以在体内将肿瘤中靶细胞中的ADCP促进至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。

[0601] 在一些实施例中,以足以促进肿瘤中T细胞活化的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以在体内将肿瘤中T细胞活化促进至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。

[0602] 在一些实施例中,以足以促进肿瘤中CD4+ T细胞活化的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以在体内将肿瘤中CD4+ T细胞活化促进至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。

[0603] 在一些实施例中,以足以诱导肿瘤中CD4+细胞中CD44表达的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以在体内将肿瘤中CD4+细胞中CD44表达诱导至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。

[0604] 在一些实施例中,以足以诱导肿瘤中CD4+细胞中TNFα表达的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以在体内将肿瘤中CD4+细胞中TNFα表达诱导至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。

[0605] 在一些实施例中,以足以促进肿瘤中CD8+ T细胞活化的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以在体内将肿瘤中CD8+ T细胞活化促进至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。

[0606] 在一些实施例中,以足以诱导肿瘤中CD8+细胞中CD44表达的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以在体内将肿瘤中CD8+细胞中CD44表达诱导至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。

[0607] 在一些实施例中,以足以诱导肿瘤中CD8+细胞中TNFα表达的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以在体内将肿瘤中CD8+细胞中TNFα表达诱导至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。

[0608] 在这些实施例的任一个中,将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于患有癌症的受试者,其中所述癌症是选自胰腺癌,例如胰腺导管腺癌、胆管癌、肝细胞癌、结直肠癌、黑色素瘤、肾细胞癌和急性髓细胞性白血病。

[0609] 利用约40,000个单独的样品,发明人使用来自29种不同类型实体瘤的TCGA(癌症基因组图谱,The Cancer Genome Atlas)RNA Seq数据进行了分析,以分析特定肿瘤类型中T细胞浸润与PD1、PD-L1、IFNγ和TNFα表达水平之间的相关性。通过给定基因的中值表达对肿瘤类型进行排名。使用4种TCR组分(CD3d、CD3e、CD3g、CD3z)的基因表达和T细胞特异性效应蛋白激酶ZAP70来确定与给定肿瘤类型的相对T细胞关联水平。还评估了TBX21,其为控制标志Th1细胞因子干扰素-γ(IFNg)和肿瘤坏死因子(TNF)的表达的Th1细胞特异性转录因

子。

[0610] 根据分析,除胰腺癌(PDA)以外,与各个肿瘤类型的T细胞关联水平(代表T细胞浸润)通常与IFNg表达的排名成正比。在PDA中,IFNg的转录水平被显著抑制,显示为高于在其它实体瘤中观察到的,这表明PDA的免疫抑制环境特别强大。在该数据集中,TNF的表达通常与T细胞浸润程度不相关。值得注意的是,在大多数情况下,TNF是由活化的巨噬细胞产生的,而Th1 T细胞、NK细胞、嗜中性粒细胞、肥大细胞和嗜酸性粒细胞的贡献较小。

[0611] 不希望受到理论的束缚,特别是在PDA中,增加IFNγ水平可能对于对于对抗免疫抑制环境和重新激活髓样和淋巴样应答特别有用。因此,在一个实施例中,本文提供了增加癌症中IFNγ的水平的方法,其中所述方法包括施用抗半乳凝素-9抗体,例如,如本文表1和/或表2中所述的,包括但不限于限于抗体9.1-8m13和/或抗体9.2-17,并且其中在施用之前癌症中的IFNγ水平较低,例如,相对于T细胞标志物的表达水平评估的。在一些实施例中,癌症是PDA。

[0612] 因此,在一些实施例中,本文提供了增加癌症中IFNγ的水平的方法,其中所述方法包括施用抗半乳凝素-9抗体,例如,如本文表1和/或表2中所述的,包括但不限于限于抗体9.1-8m13和/或抗体9.2-17,并且其中所述癌症是PDA。在一些实施例中,本文提供了方法,其中以足以诱导肿瘤中效应T细胞中的IFNγ表达的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以诱导肿瘤中效应T细胞中的IFNγ表达的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以在体内将肿瘤中CD4+细胞中的IFNγ表达诱导至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。

[0613] 在一些实施例中,本文提供了方法,其中以足以诱导肿瘤中CD4+细胞中的IFNγ表达的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以诱导肿瘤中CD4+细胞中的IFNγ表达的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以在体内将肿瘤中CD4+细胞中的IFNγ表达诱导至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。

[0614] 在一些实施例中,本文提供了方法,其中以足以诱导肿瘤中CD8+细胞中的IFNγ表达的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以诱导肿瘤中CD8+细胞中的IFNγ表达的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。在一些实施例中,以足以在体内将肿瘤中CD8+细胞中的IFNγ表达诱导至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)(与治疗之前或对照受试者中的水平相比)的量将本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)施用于需要治疗的受试者。

[0615] 在一些实施例中,本文提供了方法,其中在体外或离体分析肿瘤样品中的免疫细

胞群体。相应地,本文提供了方法,其中以足以诱导肿瘤中效应T细胞中的IFNγ表达的量在体外或离体提供本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)。在一些实施例中,以足以诱导肿瘤中效应T细胞中的IFNγ表达的量在体外或离体提供本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)。在一些实施例中,本文例如表1和/或表2中所述的抗体(包括但不限于9.2-17和9.1-8mut13)在体外或离体将肿瘤中CD4+细胞中的IFNγ表达诱导至少20%(例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)。

[0616] 在一些实施例中,本文所述的一种或多种抗体的施用导致随时间推移肿瘤尺寸减小、肿瘤生长降低、肿瘤消除、转移性病灶的数量减少、完全响应、部分响应或使疾病稳定。取决于待治疗的疾病类型或疾病部位,可以使用医学领域普通技术人员已知的那些常规方法将药物组合物施用于受试者。该组合物也可以通过其它常规途径施用,例如口服、胃肠外、通过吸入喷雾、局部、直肠、鼻、颊、阴道或通过植入的储库施用。如本文所用,术语"肠胃外"包括皮下、皮内、静脉内、肌内、关节内、动脉内、滑膜内、胸骨内、鞘内、病灶内、肿瘤内和颅内注射或输注技术。另外,其可以通过可注射的储库(depot)施用途径,例如使用1、3、6个月的储库可注射或可生物降解的材料和方法来施用于受试者。在一些实例中,药物组合物是眼内或玻璃体内施用的。

[0617] 可注射组合物可以包含多种载体,例如植物油、二甲基乙酰胺、二甲基甲酰胺、乳酸乙酯、碳酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯、乙醇和多元醇(甘油、丙二醇、液态聚乙二醇等)。对于静脉内注射,可以通过滴注法施用水溶性抗体,其中输注包含抗体和生理学上可接受的辅料的药物制剂。生理上可接受的辅料可以包括,例如5%葡萄糖、0.9%生理盐水、林格氏溶液或其它合适的辅料。可以将肌内制剂(例如合适的可溶性盐形式的抗体的无菌制剂)在药用辅料中(例如注射用水、0.9%生理盐水或5%葡萄糖溶液)中溶解并施用。

[0618] 在一个实施例中,通过位点特异性或靶向局部递送技术施用抗体。位点特异性或靶向局部递送技术的实例包括抗体的各种可植入的储库来源,或局部递送导管,例如输注导管、留置导管、或针导管、合成移植物、外膜套(adventitial wrap)、分流器和血管内支架或其它可植入装置,位点特异性载体,直接注射或直接施用。参见,例如,PCT公开号WO 00/53211和美国专利号5,981,568。

[0619] 也可以使用包含反义多核苷酸、表达载体或亚基因组多核苷酸的治疗组合物的靶向递送。受体介导的DNA递送技术描述在以下中,例如Findeis等人.,Trends Biotechnol.(1993)11:202;Chiou等人,Gene Therapeutics:Methods And Applications Of Direct Gene Transfer(J.A.Wolff编)(1994);Wu等人,J.Biol.Chem.(1988)263:621;Wu等人,J.Biol.Chem.(1994)269:542;Zenke等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA(1990)87:3655;Wu等人,J.Biol.Chem.(1991)266:338。

[0620] 对于基因治疗方案中的局部施用,包含多核苷酸(例如,编码本文所述抗体的那些)的治疗组合物以约100ng至约200mg DNA的范围施用。在一些实施例中,在基因治疗方案期间也可以使用约500ng至约50mg、约1μg至约2mg、约5μg至约500μg、和约20μg至约100μg DNA或更高的浓度。

[0621] 本文所述的治疗性多核苷酸和多肽可使用基因递送载剂来递送。基因递送载剂可以是病毒或非病毒来源的(一般参见,Jolly,Cancer Gene Therapy(1994)1:51;Kimura,

Human Gene Therapy(1994)5:845;Connelly,Human Gene Therapy(1995)1:185;和Kaplitt,Nature Genetics(1994)6:148)。可以使用内源哺乳动物或异源启动子和/或增强子来诱导这样的编码序列的表达。编码序列的表达可以是组成型或调节型的。

[0622] 用于递送期望的多核苷酸并且在期望的细胞中表达的基于病毒的载体(vector)是本领域众所周知的。基于病毒的示例性载剂(vehicle)包括但不限于重组逆转录病毒(参见,例如,PCT公开号WO 90/07936;WO 94/03622;WO 93/25698;WO 93/25234;WO 93/11230;WO 93/10218;WO 91/02805;US专利号5,219,740和4,777,127;GB专利号2,200,651;和EP专利号0 345 242),基于甲病毒的载体(例如,辛德毕斯病毒载体、塞姆利基森林病毒(ATCC VR-67;ATCC VR-1247)、罗斯河病毒(ATCC VR-373;ATCC VR-1246)和委内瑞拉马脑炎病毒(ATCC VR-923;ATCC VR-1250;ATCC VR 1249;ATCC VR-532),以及腺相关病毒(AAV)载体(参见,例如,PCT公开号WO 94/12649,WO 93/03769;WO 93/19191;WO 94/28938;WO 95/11984和WO 95/00655)。也可以使用与杀灭的腺病毒连接的DNA的施用,如Curiel,Hum.Gene Ther.(1992)3:147中所述。

[0623] 也可以使用非病毒递送载剂和方法,包括但不限于单独的与杀灭的腺病毒连接或不连接的聚阳离子缩合DNA(参见,例如,Curiel,Hum.Gene Ther.(1992)3:147);配体连接的DNA(参见,例如,Wu,J.Biol.Chem.(1989)264:16985);真核细胞递送载剂细胞(参见,例如,US专利号5,814,482;PCT公开号WO 95/07994;WO 96/17072;WO 95/30763;和WO97/42338)和核酸电荷中和或与细胞膜融合。也可以使用裸DNA。示例性裸DNA引入方法描述在PCT公开号WO 90/11092和US专利号5,580,859。可以用作基因递送载剂的脂质体描述在以下中:US专利号5,422,120;PCT公开号WO 95/13796;WO 94/23697;WO 91/14445;和EP专利号0524968。另一些方法描述在Philip,Mol.Cell.Biol.(1994)14:2411和Woffendin,Proc.Natl.Acad.Sci.(1994)91:1581中。

[0624] 本文所述方法中使用的特定剂量方案(即剂量、时间和重复)将取决于特定受试者和该受试者的病史。

[0625] 在一些实施例中,可以将超过一种抗体或抗体与另一种合适的治疗剂的组合施用于需要治疗的受试者。抗体还可以与用于增强和/或补充药剂的效力的其它药剂联合使用。可以通过本领域公知的方法评估针对目标疾病/病症的治疗效力。

[0626] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于例如在免疫抑制性免疫细胞例如肿瘤浸润免疫细胞例如巨噬细胞中抑制Dectin-1信号转导的方法,所述方法包括向受试者提供或施用本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法例如在免疫抑制性免疫细胞中将Dectin-1信号转导抑制至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0627] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于例如在肿瘤浸润免疫细胞中抑制TIM-3信号转导的方法,所述方法包括向受试者提供或施用本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法例如在肿瘤浸润免疫细胞中将TIM-3信号转导抑制至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0628] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于例如在肿瘤浸润免疫细胞例如巨噬细胞中抑制CD206信号转导的方法,所述方法包括向受试者提供或施用本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法例如在肿瘤浸润免疫细胞例如巨噬细胞中将CD206信号转导抑制至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0629] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于在表达半乳凝素-9的靶细胞中诱导细胞毒性(例如ADCC)的方法,例如其中靶细胞是癌细胞或免疫抑制性免疫细胞,所述方法包括向受试者提供或施用本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法在免疫细胞例如T细胞中诱导细胞凋亡至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0630] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于在受试者中诱导针对表达半乳凝素-9的靶细胞的细胞毒性(例如补体依赖性细胞毒性(CDC))的方法,所述方法包括向受试者提供或施用本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法将针对表达半乳凝素-9的靶细胞的细胞毒性(例如补体依赖性细胞毒性(CDC))诱导至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0631] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于在受试者中诱导例如针对表达半乳凝素-9的靶细胞的细胞毒性(例如ADCC)的方法,所述方法包括向受试者提供或施用本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法将细胞毒性诱导至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0632] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于诱导表达半乳凝素-9的靶细胞的吞噬作用(ADCP)的方法,所述方法包括向受试者提供或施用本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体使靶细胞的吞噬作用提高至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0633] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于诱导针对表达半乳凝素-9的靶细胞的细胞毒性(例如补体依赖性细胞毒性(CDC))的方法,所述方法包括向受试者提供或施用本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法将针对靶细胞的细胞毒性诱导至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0634] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于直接或间接地例如在肿瘤浸润T细胞中诱导T细胞活化,即抑制半乳凝素-9介导的对T细胞活化的抑制作用的方法,所述方法包括向受试者提供或施用本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片

段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法将T细胞活化促进至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0635] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于促进CD4+细胞活化的方法,所述方法包括向受试者提供或施用本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法将CD4+细胞活化促进至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0636] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于在CD4+细胞中诱导CD44表达的方法,所述方法包括向受试者提供或施用本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法将CD4+细胞中的CD44表达提高至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0637] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于在CD4+细胞中诱导IFNγ表达的方法,所述方法包括向受试者提供或施用本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法将CD4+细胞中的IFNγ表达提高至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0638] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于在CD4+细胞中诱导TNFα表达的方法,所述方法包括向受试者提供或施用本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法将CD4+细胞中的TNFα表达提高至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0639] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于在CD8+细胞中诱导CD44表达的方法,所述方法包括向受试者提供或施用本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法将CD8+细胞中的CD44表达提高至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0640] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于在CD8+细胞中诱导IFNγ表达的方法,所述方法包括向受试者提供或施用有效量的本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法将CD8+细胞中的IFNγ表达提高至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0641] 在一些实施例中,本公开内容提供了用于在CD8+细胞中诱导TNFα表达的方法,所述方法包括向受试者提供或施用有效量的本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗半乳凝素-9抗体是9.1-8mut13抗体和/或9.2-17抗体。在一些实施例中,所述方法将CD8+细胞中的TNFα表达提高至少30%(例如31%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,包括其中的任何增量)。

[0642] 在这些实施例的一些中,包括提供或施用有效量的本文所述的抗半乳凝素-9抗体

的所述方法在CD4+和CD8+细胞中诱导CD44、IFNγ和/或TNFα。上述方法实施例,用于抑制Dectin-1信号转导,用于抑制TIM-3信号转导,用于抑制CD206信号转导,用于诱导针对靶细胞的ADCC,用于诱导针对靶细胞的CDC,用于诱导针对靶细胞的ADCP,用于诱导T细胞活化,用于促进CD4+细胞活化,用于在CD4+细胞中诱导CD44表达,用于在CD4+细胞中诱导IFNγ表达,用于在CD4+细胞中诱导TNFα表达,用于在CD8+细胞中诱导CD44表达,用于在CD8+细胞中诱导IFNγ表达,用于在CD8+细胞中诱导TNFα表达的方法,其中所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体,或其抗原结合片段。

[0643] 上述方法实施例(用于抑制Dectin-1信号转导,用于抑制TIM-3信号转导,用于抑制CD206信号转导,用于诱导针对靶细胞的ADCC,用于诱导针对靶细胞的CDC,用于诱导针对靶细胞的ADCP,用于诱导T细胞活化,用于促进CD4+细胞活化,用于在CD4+细胞中诱导CD44表达,用于在CD4+细胞中诱导IFNγ表达,用于在CD4+细胞中诱导TNFα表达,用于在CD8+细胞中诱导CD44表达,用于在CD8+细胞中诱导IFNγ表达,用于在CD8+细胞中诱导TNFα表达),其中所述方法包括向分离自肿瘤的样品提供有效量的本文例如表1和/或表2中所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段,并且在体外或离体测量选自以下的一种或多种参数:Dectin-1抑制、TIM-3抑制、CD206抑制、ADCC诱导、CDC诱导、ADCP诱导、T细胞活化诱导、CD4+细胞活化的促进、CD4+细胞中CD44表达的诱导、CD4+细胞中IFNγ表达的诱导、CD4+细胞中TNFα表达的诱导、CD8+细胞中CD44表达的诱导、CD8+细胞中IFNγ表达的诱导、CD8+细胞中TNFα表达的诱导。

[0644] 上述体内方法实施例,其中需要施用的受试者患有癌症,并且其中所述癌症选自胰腺癌,例如胰腺导管腺癌、胆管癌、肝细胞癌、结直肠癌、黑色素瘤、肾细胞癌和急性髓细胞性白血病。在一些实施例中,相对于T细胞标志物的表达,癌症具有低水平的IFNγ表达。在一些实施例中,癌症是PDA。

[0645] 上述体外或离体方法实施例,其中分离自肿瘤的样品来自选自以下的癌症:胰腺癌,例如胰腺导管腺癌、胆管癌、肝细胞癌、结直肠癌、黑色素瘤、肾细胞癌和急性骨髓性白血病。

[0646] 联合疗法

[0647] 本文所述的任何抗半乳凝素-9抗体可与用于癌症或自身免疫性疾病的其它类型的疗法(例如化学疗法、手术、放射疗法、基因疗法)联合或与用于自身免疫性疾病的其它类型的疗法(例如免疫抑制药物、激素替代疗法、输血、抗炎药和/或止痛药等)联合。这样的疗法可以与根据本公开内容的免疫疗法同时或相继(以任何顺序)施用。

[0648] 在一些实施例中,本文提供了方法,其中本文所述的抗半乳凝素-9抗体与用于癌症或自身免疫性疾病的其它类型的疗法(例如化学疗法、手术、放射疗法、基因疗法)联合或与用于自身免疫性疾病的其它类型的疗法(例如免疫抑制药物、激素替代疗法、输血、抗炎药和/或止痛药等)联合。在一些实施例中,所述方法包括与根据本公开内容的免疫疗法同时或相继(以任何顺序)施用抗半乳凝素-9抗体,例如本文例如表1和/或表2中所述的任何抗半乳凝素-9抗体。当与另外的治疗剂共施用时,由于加成作用或协同作用,每种药物的合适治疗有效剂量可能会降低。

[0649] 在一些实施例中,本文提供了方法,其中将抗半乳凝素-9抗体(例如抗体9.2-17或

9.1-8mut13)与其它免疫调节治疗例如检查点分子(例如,PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA-4、LAG3、TIM3或A2aR)的抑制剂、共刺激受体(例如DX40、GITR、CD137、CD40、CD27和ICOS)的激活剂和/或先天免疫细胞靶标(例如KIR、NKG2A、CD96、TLR和IDO)的抑制剂联合。不受理论的束缚,认为抗半乳凝素-9抗体通过抑制Dectin-1可以重编程针对肿瘤细胞的免疫应答,通过例如抑制浸润到肿瘤微环境中的γδT细胞的活性,和/或通过例如激活CD4+和/或CD8+ T细胞来增强对肿瘤细胞的免疫监视。因此,预期抗-半乳凝素-9抗体与免疫调节剂(例如本文所述的那些)的组合使用显著增强抗肿瘤功效。

[0650] 在一些实施例中,提供了方法,其中抗半乳凝素-9抗体与检查点抑制剂同时施用。在一些实施例中,其中抗半乳凝素-9抗体在施用检查点抑制剂之前或之后施用。在一些实施例中,检查点抑制剂是全身施用的。在一些实施例中,检查点抑制剂是局部施用的。

[0651] 在一些实施例中,提供了方法,其中与相同条件下的单独检查点抑制剂疗法相比,抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何半乳凝素-9抗体,例如9.2-17或9.1-8mut13能够将共施用的检查点抑制剂(例如,PD-1、PD-L1和/或CTLA-4或本文列出或本领域已知的其它)的抗肿瘤活性(例如,随时间推移的降低的肿瘤增殖、尺寸、体积、重量、负载或负荷、转移性病灶数量的减少)改善例如10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独检查点抑制剂疗法相比,抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何半乳凝素-9抗体,例如抗体9.2-17或抗体9.1-8mut13能够将共施用的检查点抑制剂(例如PD-1、PD-L1和/或CTLA-4或本文列出或本领域已知的其它)的抗肿瘤活性(例如,随时间推移的肿瘤增殖、尺寸、体积、重量、负载或负荷、转移性病灶数量的减少)改善例如1.0-1.2倍、1.2-1.4倍、1.4-1.6倍、1.6-1.8倍、1.8-2倍或高于2倍或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独检查点抑制剂疗法相比,抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何半乳凝素-9抗体,包括但不限于抗体9.1-8mut13和/或抗体9.2-17能够将共施用的检查点抑制剂(例如PD-1、PD-L1和/或CTLA-4或本文列出或本领域已知的其它)的抗肿瘤活性(例如,随时间推移的肿瘤增殖、尺寸、体积、重量、负载或负荷、转移性病灶数量的减少)改善例如约三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍、十倍或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独抗半乳凝素-9疗法相比,共施用的检查点抑制剂(例如PD-1、PD-L1和/或CTLA-4或本文列出或本领域已知的其它)能够将抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何半乳凝素-9抗体,包括但不限于抗体9.1-8mut13和/或抗体9.2-17的抗肿瘤活性(例如,随时间推移的肿瘤增殖、尺寸、体积、重量、负载或负荷、转移性病灶数量的减少)改善例如10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独抗半乳凝素-9疗法相比,共施用的检查点抑制剂(例如PD-1、PD-L1和/或CTLA-4或本文列出或本领域已知的其它)能够将抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何半乳凝素-9抗体,包括但不限于抗体9.1-8mut13和/或抗体9.2-17的抗肿瘤活性(例如,随时间推移的肿瘤增殖、尺寸、体积、重量、负载或负荷、转移性病灶数量的减少)改善例如1.0-1.2倍、1.2-1.4倍、1.4-1.6倍、1.6-1.8倍、1.8-2倍或高于2倍或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独抗半乳凝素-9疗法相比,共施用的检查点抑制剂(例如PD-1、PD-L1和/或CTLA-4或本文列出或本领域已知的其它)能够将抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何半乳凝素-9抗体,包括但不限于抗体9.1-8mut13

和/或抗体9.2-17的抗肿瘤活性(例如,随时间推移的肿瘤增殖、尺寸、体积、重量、负载或负荷、转移性病灶数量的减少)改善例如约三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍、十倍或更多。

[0652] 在一些实施例中,提供了方法,其中与相同条件下的单独免疫疗法相比,抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何半乳凝素-9抗体,包括但不限于抗体9.1-8mut13和/或抗体9.2-17能够将免疫疗法(例如本文所述或本领域已知的)活化T细胞的能力(例如通过本文所述的细胞因子标志物测量的)改善例如10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独免疫疗法相比,抗半乳凝素-9抗体能够将免疫疗法(例如本文所述或本领域已知的)活化T细胞的能力(例如通过本文所述的细胞因子标志物测量的)改善例如1.0-1.2倍、1.2-1.4倍、1.4-1.6倍、1.6-1.8倍、1.8-2倍或高于2倍或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独免疫疗法相比,抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何半乳凝素-9抗体,包括但不限于抗体9.1-8mut13和/或抗体9.2-17能够将免疫疗法(例如本文所述或本领域已知的)活化T细胞的能力(例如通过本文所述的细胞因子标志物测量的)改善例如约三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍、十倍或更多。

[0653] 在一些实施例中,提供了方法,其中与相同条件下的单独抗半乳凝素-9疗法相比,共施用的免疫疗法(例如本文所述或本领域已知的)能够将抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何半乳凝素-9抗体,包括但不限于抗体9.1-8mut13和/或抗体9.2-17活化T细胞的能力(例如通过本文所述的细胞因子标志物测量的)改善例如10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独抗半乳凝素-9疗法相比,共施用的免疫疗法(例如本文所述或本领域已知的)能够将抗半乳凝素-9抗体活化T细胞的能力(例如通过本文所述的细胞因子标志物测量的)改善例如1.0-1.2倍、1.2-1.4倍、1.4-1.6倍、1.6-1.8倍、1.8-2倍或高于2倍或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独抗半乳凝素-9疗法相比,共施用的免疫疗法(例如本文所述或本领域已知的)能够将抗半乳凝素-9抗体活化T细胞的能力(例如通过本文所述的细胞因子标志物测量的)改善例如约三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍、十倍或更多。

[0654] 在另一些实施例中,本文提供了方法,其中抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何半乳凝素-9抗体,包括但不限于抗体9.1-8mut13和/或抗体9.2-17与一种或多种用于治疗自身免疫性疾病的现有方式联合施用,所述现有方式包括但不限于:静脉内Ig治疗、非甾体抗炎药(NSAID)和皮质类固醇;以及抗炎治疗,例如环孢菌素(cyclosporin)、雷帕霉素(rapamycin)或子囊霉素(ascomycin)或其免疫抑制类似物,例如环孢菌素A、环孢菌素G、FK-506、雷帕霉素、40-O-(2-羟基)乙基雷帕霉素等;环磷酰胺;咪唑硫嘌呤(azathioprene);甲氨蝶呤;布喹那(brequinar);FTY 720;来氟米特(leflunomide);咪唑立宾(mizorbine);霉酚酸(mycophenolic acid);麦考酚酸酯(mycophenolate mofetil);15-脱氧司加林(15-deoxyspergualine);免疫抑制性单克隆抗体,例如白细胞受体的单克隆抗体,例如MHC、CD2、CD3、CD4、CD7、CD25、CD28、B7、CD45或CD58或它们的配体;或其它免疫调节化合物,例如CTLA4Ig,或其它粘附分子抑制剂,例如mAb或低分子量抑制剂,包括选择素拮抗剂和VLA-4拮抗剂。这些联合疗法可以是免疫调节方案的

一部分或用于治疗或预防炎性疾病或自身免疫性疾病的方案的一部分。

[0655] 在一些实施例中,提供了方法,其中抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何半乳凝素-9抗体,包括但不限于抗体9.1-8mut13和/或抗体9.2-17可与化学治疗剂共使用,所述化学治疗剂包括烷化剂、蒽环类、细胞骨架破坏剂(紫杉烷类)、埃博霉素(epothilone)、组蛋白脱乙酰基酶抑制剂、拓扑异构酶I抑制剂、拓扑异构酶II抑制剂、激酶抑制剂、核苷酸类似物以及前体类似物、肽抗生素、基于铂的药物、类维生素A、长春花生物碱及其衍生物。

[0656] 非限制性实例包括:(i)抗血管生成剂(例如TNP-470、血小板因子4、血小板反应蛋白1、金属蛋白酶的组织抑制剂(TIMP1和TIMP2)、催乳素(16-Kd片段)、血管抑素(纤溶酶原的38-Kd片段)、内皮抑素、bFGF可溶性受体、转化生长因子β、干扰素α、可溶性KDR和FLT-1受体、胎盘增殖素相关蛋白,和Carmeliet和Jain(2000)所示的那些);(ii)VEGF拮抗剂或VEGF受体拮抗剂,例如抗VEGF抗体、VEGF变体、可溶性VEGF受体片段、能够阻断VEGF或VEGFR的适体、中和抗VEGFR抗体、VEGFR酪氨酸激酶抑制剂及其任何组合;和(iii)化学治疗化合物,例如嘧啶类似物(5-氟尿嘧啶、氟尿苷、卡培他滨(capecitabine)、吉西他滨(gemcitabine)和阿糖胞苷(cytarabine))、嘌呤类似物、叶酸拮抗剂和相关抑制剂(巯基嘌呤(mercaptopurine)、硫鸟嘌呤(thioguanine)、喷司他丁(pentostatin)和2-氯脱氧腺苷)(克拉屈滨(cladribine));抗增殖/抗有丝分裂剂,包括天然产物,例如长春花生物碱(长春碱(vinblastine)、长春新碱(vincristine)和长春瑞滨(vinorelbine)),微管破坏剂,例如紫杉烷类(taxane)(紫杉醇(paclitaxel)、多西他赛(docetaxel))、长春新碱(vincristine)、长春碱(vinblastine)、诺考达唑(nocodazole)、埃博霉素(epothilones)和诺维本(navelbine)、epidipodophyllotoxins(依托泊苷(etoposide)和替尼泊苷(teniposide))、DNA破坏剂(放线菌素(actinomycin)、安吖啶(amsacrine)、蒽环类(anthracyclines)、博来霉素(bleomycin)、白消安(busulfan)、喜树碱(camptothecin)、卡铂(carboplatin)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、顺铂(csplatin)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、环磷酰胺(cytoxan)、更生霉素(dactinomycin)、柔红霉素(daunorubicin)、多柔比星(doxorubicin)、表柔比星(epirubicin)、六甲基三聚氰胺奥沙利铂(hexamethylmelamineoxaliplatin)、异环磷酰胺(iphosphamide)、美法仑(melphalan)、二氯甲基二乙胺(merchlorethamine)、丝裂霉素(mitomycin)、米托蒽醌(mitoxantrone)、亚硝基脲(nitrosourea)、普卡霉素(plicamycin)、丙卡巴肼(procarbazine)、紫杉醇(taxol)、泰索帝(taxotere)、替尼泊苷(teniposide)、三亚乙基硫代磷酰胺和依托泊苷(etoposide)(VP16));抗生素,例如更生霉素(放线菌素D(actinomycin D))、柔红霉素、多柔比星(阿霉素(adriamycin))、伊达比星(idarubicin)、蒽环类、米托蒽醌、博来霉素、普卡霉素(光辉霉素(mithramycin))和丝裂霉素;酶(L-天冬酰胺酶,其全身性代谢L-天冬酰胺,并且剥夺细胞合成自己的天冬酰胺的能力);抗血小板药;抗增殖/抗有丝分裂的烷基化剂,例如氮芥(二氯甲基二乙胺、环磷酰胺及其类似物、美法仑、苯丁酸氮芥)、氮杂环丙烷(ethylenimine)和甲基三聚氰胺(六甲基三聚氰胺(hexamethylmelamine)和噻替哌(thiotepa))、烷基磺酸盐-白消安、亚硝基脲(nitrosoureas)(卡莫司汀(carmustine)(BCNU)和类似物、链脲菌素(streptozocin))、三氮烯-达卡巴嗪(trazenes-dacarbazinine)(DTIC);抗增殖/抗有丝分裂抗代谢物,例如叶

酸类似物(甲氨蝶呤);铂配位配合物(顺铂、卡铂)、丙卡巴肼、羟基脲(hydroxyurea),米托坦(mitotane),氨鲁米特(aminoglutethimide);激素、激素类似物(雌激素、他莫昔芬(tamoxifen)、戈舍瑞林(goserelin)、比卡鲁胺(bicalutamide)、尼鲁米特(nilutamide))和芳香酶抑制剂(来曲唑(letrozole)、阿那曲唑(anastrozole));抗凝剂(肝素、合成肝素盐和其它凝血酶抑制剂);纤维蛋白溶解剂(例如组织纤维蛋白溶酶原激活剂、链激酶和尿激酶)、阿司匹林(aspirin)、双嘧达莫(dipyridamole)、噻氯匹定(ticlopidine)、氯吡格雷(clopidogrel)、阿昔单抗(abciximab)、抗迁移剂;抗分泌剂(布雷韦林(breveldin));免疫抑制剂(环孢霉素(cyclosporine)、他克莫司(tacrolimus)(FK-506)、西罗莫司(sirolimus)(雷帕霉素)、硫唑嘌呤(azathioprine)、麦考酚酸酯);抗血管生成化合物(例如TNP-470、染料木黄酮(genistein)、贝伐单抗(bevacizumab))和生长因子抑制剂(例如成纤维细胞生长因子(FGF)抑制剂);血管紧张素受体阻滞剂;一氧化氮供体;反义寡核苷酸;抗体(曲妥珠单抗(trastuzumab));细胞周期抑制剂和分化诱导剂(维甲酸(tretinoin));mTOR抑制剂、拓扑异构酶抑制剂(多柔比星(阿霉素)、安吖啶、喜树碱,柔红霉素、更生霉素、替尼泊苷、表柔比星、依托泊苷、伊达比星、米托蒽醌、拓扑替康(topotecan)和伊立替康(irinotecan))、皮质类固醇(可的松、地塞米松、氢化可的松、甲基泼尼松龙、泼尼松和泼尼松龙);生长因子信号转导激酶抑制剂;线粒体功能障碍诱导剂和胱天蛋白酶激活剂;以及染色质破坏剂。

[0657] 在一些实施例中,本文提供了方法,其中抗半乳凝素-9抗体(例如本文表1和/或表2中所述的任何半乳凝素-9抗体,包括但不限于抗体9.1-8m13和/或抗体9.2-17)与化学治疗剂同时施用。在一些实施例中,本文提供了方法,其中抗半乳凝素-9抗体在化学治疗剂之前或之后施用。在一些实施例中,本文提供了方法,其中化学治疗剂全身性施用。在一些实施例中,本文提供了方法,其中化学治疗剂局部施用。

[0658] 在一些实施例中,提供了方法,其中与相同条件下的单独化学治疗剂治疗相比,抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何抗体,例如抗体9.2-17或抗体9.1-8mut13能够将共施用的化学治疗剂(例如如本文所述的或本领域已知的)的抗肿瘤活性(例如,随时间推移的肿瘤增殖、尺寸、体积、重量、负载或负荷、或转移性病灶数量的减少)改善例如10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独化学治疗剂治疗相比,抗半乳凝素-9抗体能够将共施用的化学治疗剂(例如如本文所述的或本领域已知的)的抗肿瘤活性(例如,随时间推移的肿瘤增殖、尺寸、体积、重量、负载或负荷、或转移性病灶数量的减少)改善例如1.0-1.2倍、1.2-1.4倍、1.4-1.6倍、1.6-1.8倍、1.8-2倍或高于2倍或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独化学治疗剂治疗相比,抗半乳凝素-9抗体能够将共施用的化学治疗剂(例如如本文所述的或本领域已知的)的抗肿瘤活性(例如,随时间推移的肿瘤增殖、尺寸、体积、重量、负载或负荷、或转移性病灶数量的减少)改善例如约三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍、十倍或更多。

[0659] 在一些实施例中,提供了方法,其中与相同条件下的单独抗半乳凝素-9治疗相比,共施用的化学治疗剂(例如如本文所述的或本领域已知的)能够将抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何抗体,例如抗体9.2-17或抗体9.1-8mut13的抗肿瘤活性(例如,随时间推移的肿瘤增殖、尺寸、体积、重量、负载或负荷、转移性病灶数量的减少)改善例

如10％、20％、25％、30％、40％、50％、60％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独抗半乳凝素-9治疗相比,共施用的化学治疗剂(例如如本文所述的或本领域已知的)能够将抗半乳凝素-9抗体的抗肿瘤活性(例如,随时间推移的肿瘤增殖、尺寸、体积、重量、负载或负荷、转移性病灶数量的减少)改善例如1.0-1.2倍、1.2-1.4倍、1.4-1.6倍、1.6-1.8倍、1.8-2倍或高于2倍或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独抗半乳凝素-9治疗相比,共施用的化学治疗剂(例如如本文所述的或本领域已知的)能够将抗半乳凝素-9抗体的抗肿瘤活性(例如,随时间推移的肿瘤增殖、尺寸、体积、重量、负载或负荷、转移性病灶数量的减少)改善例如约三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍、十倍或更多。

[0660] 在一些实施例中,提供了方法,其中与相同条件下的单独化学治疗剂治疗相比,抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何抗体,例如抗体9.2-17或抗体9.1-8mut13能够将化学治疗剂(例如如本文所述的或本领域已知的)活化T细胞的能力(例如,如通过本文所述的细胞因子标志物测量的)改善例如10％、20％、25％、30％、40％、50％、60％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独化学治疗剂治疗相比,抗半乳凝素-9抗体能够将化学治疗剂(例如如本文所述的或本领域已知的)活化T细胞的能力(例如,如通过本文所述的细胞因子标志物测量的)改善例如1.0-1.2倍、1.2-1.4倍、1.4-1.6倍、1.6-1.8倍、1.8-2倍或高于2倍或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独化学治疗剂治疗相比,抗半乳凝素-9抗体能够将化学治疗剂(例如如本文所述的或本领域已知的)活化T细胞的能力(例如,如通过本文所述的细胞因子标志物测量的)改善例如约三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍、十倍或更多。

[0661] 在一些实施例中,提供了方法,其中与相同条件下的单独抗半乳凝素-9治疗相比,共施用的化学治疗剂(例如如本文所述的或本领域已知的)能够将抗半乳凝素-9抗体,例如本文表1和/或表2中所述的任何抗体,例如抗体9.2-17或抗体9.1-8mut13活化T细胞的能力(例如,如通过本文所述的细胞因子标志物测量的)改善例如10％、20％、25％、30％、40％、50％、60％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独抗半乳凝素-9治疗相比,共施用的化学治疗剂(例如如本文所述的或本领域已知的)能够将抗半乳凝素-9抗体活化T细胞的能力(例如,如通过本文所述的细胞因子标志物测量的)改善例如1.0-1.2倍、1.2-1.4倍、1.4-1.6倍、1.6-1.8倍、1.8-2倍或高于2倍或更多。在一些实施例中,与相同条件下的单独抗半乳凝素-9治疗相比,共施用的化学治疗剂(例如如本文所述的或本领域已知的)能够将抗半乳凝素-9抗体活化T细胞的能力(例如,如通过本文所述的细胞因子标志物测量的)改善例如约三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍、十倍或更多。

[0662] 在一些这些方法实施例中,其中抗-半乳凝素-9抗体的施用与检查点抑制剂的施用相结合,所述受试者患有选自由以下组成的组的癌症:胰腺癌(例如胰腺导管腺癌)、胆管癌、肝细胞癌、结直肠癌、黑色素瘤、肾细胞癌和急性髓细胞性白血病。在一些实施例中,本文提供了方法,其中将抗半乳凝素-9抗体施用于对先前治疗(例如检查点抑制剂治疗,例如PD-1)来说为难治性的患者。

[0663] 在一些实施例中,本公开内容提供了在对于检查点抑制剂疗治疗来说为难治性的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的抗

半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段,其中检查点抑制剂分子选自由PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA-4、LAG3、TIM3和A2aR组成的组。在一些实施例中,本公开内容提供了用于治疗对于检查点抑制剂疗治疗来说为难治性的受试者中的癌症的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本文所述的抗半乳凝素-9抗体或其抗原结合片段,其中检查点抑制剂分子PD-1。在一些实施例中,所述癌症选自由胰腺癌(例如胰腺导管腺癌)、胆管癌、肝细胞癌、结直肠癌、黑色素瘤、肾细胞癌和急性髓细胞性白血病组成的组。其它可用的药剂可以在以下中找到:例如,Physician's Desk Reference,59.sup.th edition,(2005),Thomson P D R,Montvale N.J.;Gennaro等人编.Remington's The Science and Practice of Pharmacy 20.sup.th edition,(2000),Lippincott Williams and Wilkins,Baltimore Md.;Braunwald等人编.Harrison's Principles of Internal Medicine,15.sup.th edition,(2001),McGraw Hill,NY;Berkow等人编.The Merck Manual of Diagnosis and Therapy,(1992),Merck Research Laboratories,Rahway N.J。

[0664] 据报道,实体瘤的化学疗法和/或免疫疗法可提高免疫调节剂例如检查点分子的水平,从而导致针对肿瘤细胞的免疫力降低。Erisson等人,J.Translational Medicine (2016),14:282;Grabosch等人,J.ImmunoTherapy of Cancer(2015),3(suppl 2):P302;和Azad等人,EMBO J.(2016)。已经发现抗半乳凝素-9抗体可以重编程针对肿瘤细胞的免疫应答,尤其是在PDA中。这样,预期共使用抗半乳凝素-9抗体和化学治疗剂(例如,吉西他滨)或免疫治疗剂(例如,抗PD-L1抗体)导致显著提高针对实体瘤(例如PDA)的治疗活性。

[0665] 在任何描述的联合疗法中,另外的治疗剂或疗法可以在施用抗半乳凝素-9抗体之前、同时或之后施用。

[0666] 用于在治疗与半乳凝素-9相关的疾病中使用的试剂盒

[0667] 本公开内容还提供了用于在治疗或减轻与半乳凝素-9相关(例如与结合细胞表面糖蛋白(例如Dectin-1、TIM3等)的半乳凝素-9或表达半乳凝素-9的病理细胞(例如癌细胞)相关)的疾病中使用的试剂盒。实例包括实体肿瘤,例如PDA和本文所述的其它疾病,和自身免疫性疾病,例如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮(SLE)、自身免疫性内分泌疾病、自身免疫性血液疾病和本文所述的其它疾病。这样的试剂盒可以包括一个或多个容器,所述容器包含抗半乳凝素-9抗体(例如,本文所述的任一种),和任选地与抗半乳凝素-9抗体共使用的第二治疗剂(其也在本文中进行了描述)。

[0668] 在一些实施例中,试剂盒可包含根据本文所述的任何方法的使用说明书。所包括的说明书可包括施用抗半乳凝素-9抗体和任选地第二治疗剂以治疗、延迟发作或减轻目标疾病(如本文所述的那些)的描述。试剂盒可还包括基于鉴定个体是否患有目标疾病(例如应用本文所述的诊断方法)来选择适合治疗的个体的描述。在另一些实施例中,说明书包括向具有目标疾病风险的个体施用抗体的描述。

[0669] 有关使用抗半乳凝素-9抗体的说明书通常包括有关预期治疗的剂量、给药方案和给药途径的信息。容器可以是单位剂量、散装包装(例如多剂量包装)或亚单位剂量。本发明的试剂盒中提供的说明书通常是在标签或包装插页(例如,试剂盒中包括的纸张)上的书面说明,但是机器可读的说明(例如,磁性或光学存储磁盘上携带的说明)也是可以接受的。

[0670] 标签或包装插页指示组合物用于治疗、延迟发作和/或减轻与半乳凝素-9(例如Dectin-1或TIM-3信号转导)有关的疾病。可以提供用于实践本文所述的任何方法的说明。

[0671] 本发明的试剂盒在合适的包装中。合适的包装包括但不限于小瓶、瓶子、广口瓶、软包装(例如密封的聚酯薄膜或塑料袋)等。还考虑了与特定装置例如吸入器、鼻腔施用装置(例如雾化器)或输注装置例如微型泵组合使用的包装。试剂盒可以具有无菌的进入口(例如,容器可以是具有由皮下注射针可刺穿的塞子的静脉注射溶液袋或小瓶)。所述容器也可以具有无菌进入口(例如,容器可以是具有由皮下注射针可刺穿的塞子的静脉内溶液袋或小瓶)。组合物中的至少一种活性剂是如本文所述的抗半乳凝素-9抗体。

[0672] 试剂盒可以任选地提供其它成分,例如缓冲液和解释性信息。通常,试剂盒包括容器和在容器上或与容器相关的标签或包装插页。在一些实施例中,本发明提供了包含上述试剂盒内容物的制品。

[0673] 通用技术

[0674] 除非另有说明,否则本发明的实施将采用分子生物学(包括重组技术)、微生物学、细胞生物学、生物化学和免疫学的常规技术,其在本领域技术范围内。这样的技术在以下文献中进行了充分解释:例如,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第2版(Sambrook,等人,1989)Cold Spring Harbor Press;Oligonucleotide Synthesis(M.J.Gait编,1984);Methods in Molecular Biology,Humana Press;Cell Biology:A Laboratory Notebook(J.E.Cellis编,1998)Academic Press;Animal Cell Culture(R.I.Freshney编,1987);Introduction to Cell and Tissue Culture(J.P.Mather和P.E.Roberts,1998)Plenum Press;Cell and Tissue Culture:Laboratory Procedures(A.Doyle,J.B.Griffiths和D.G.Newell编,1993-8)J.Wiley和Sons;Methods in Enzymology(Academic Press,Inc.);Handbook of Experimental Immunology(D.M.Weir和C.C.Blackwell编s.);Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells(J.M.Miller和M.P.Calos编1987);Current Protocols in Molecular Biology(F.M.Ausubel,等人编,1987);PCR:The Polymerase Chain Reaction,(Mullis,等人编,1994);Current Protocols in Immunology(J.E.Coligan等人编,1991);Short Protocols in Molecular Biology(Wiley和Sons,1999);Immunobiology(C.A.Janeway和P.Travers,1997);Antibodies(P.Finch,1997);Antibodies:apractical approach(D.Catty.编,IRL Press,1988-1989);Monoclonal antibodies:a practical approach(P.Shepherd和C.Dean编,Oxford University Press,2000);Using antibodies:alaboratory manual(E.Harlow and D.Lane(Cold Spring Harbor Laboratory Press,1999);The Antibodies(M.Zanetti和J.D.Capra编,Harwood Academic Publishers,1995)。

[0675] 无需进一步阐述,相信本领域的技术人员可以基于以上描述最大程度地利用本发明。因此,以下具体实施例应被解释为仅是说明性的,而不以任何方式限制本公开内容的其余部分。本文引用的所有出版物出于本文引用的目的或主题通过引用并入。

[0676] 实例

[0677] 实例1:抗半乳凝素-9抗体的产生

[0678] 使用pGEX载体将编码人半乳凝素-9CRD1(残基1-148;SEQ ID NO:3)和小鼠半乳凝素-9CRD1(残基1-147;SEQ ID NO:5)的密码子优化基因克隆为GST融合物,pGEX载体包含位于克隆基因的上游的凝血酶切割位点和Avitag。将人半乳凝素-9CRD2(残基218-355;SEQ ID NO:4)和小鼠半乳凝素-9CRD2(残基226-353;SEQ ID NO:6)克隆到pHBT载体中,pHBT载

体是包含位于克隆基因上游的六组氨酸标签、Avitag和TEV切割位点的IPTG诱导型表达载体(Sha等人,Proc Natl Acad Sci USA,2013,110:14924-14929)。然后,通过Ni-Sepharose柱纯化人和小鼠半乳凝素-9CRD2样品,然后进行凝胶过滤至明显均匀,并且使用重组BirA在体外进行生物素化。通过GST亲和色谱纯化人和小鼠半乳凝素-9CRD1样品,然后进行凝血酶裂解。将样品使用凝胶过滤色谱法进一步纯化,并以与半乳凝素-9CRD2类似的方式进行生物素化。必要时,使用重组全长小鼠半乳凝素-9(R&D Systems)作为对照。

[0679] 从噬菌体展示Fab文库中分离出能够与如上所述的人或小鼠半乳凝素-9片段结合的抗体克隆。该文库遵循非常成功的"文库E"的设计(Miller等人,PloS One,2012,7,e43746)并进行了改进。使用CRD1和CRD2样品作为靶标进行总共四轮噬菌体文库筛选,基本上遵循已公开的程序(Miller等人,PloS One,2012,7,e43746;Fellouse等人,J Mol Biol,2007,373,924-940)。对于CRD2,使用以下进行选择竞争:(a)仅小鼠或人CRD2作为靶标,或者(b)连续的文库筛选轮次中交替使用人和小鼠CRD2样品。对于CRD1,仅使用人CRD1样品。

[0680] 通过噬菌体ELISA确定与半乳凝素-9CRD的结合(Sidhu等人,Methods Enzymol,2000,328,333-363)。将生物素化的CRD样品固定在中性亲和素包被的孔中,并用过量的生物素封闭。将孔与展示单个Fab克隆的噬菌体一起孵育,然后用HRP缀合的抗M13噬菌体抗体检测结合的噬菌体。

[0681] 然后,将噬菌体展示的Fab克隆与50nM非生物素化的半乳凝素-9CRD2或CRD1预孵育,然后添加到ELISA板中。与没有竞争者的克隆相比,具有竞争者的克隆的ELISA信号降低表明对半乳凝素-9CRD1或CRD2具有高亲和力和高特异性。

[0682] 从富集的抗体克隆库中,鉴定出总共23个与CRD2结合的克隆(图1A-1B)和总共11个与CRD1结合的克隆(图2A-2B)。通过确定噬菌体克隆中的Fab基因的DNA序列(在本文提供为SEQ ID NO:7-75和77-85)来推导它们的氨基酸序列。

[0683] 将鉴定出的抗体克隆子集的基因转移到先前已经描述过的大肠杆菌表达载体中(Zhang等人,Proc Natl Acad Sci USA,2012,109,8534-8539)。在大肠杆菌BL21(EMD Millipore)中表达Fab蛋白,并使用HiTrap Protein G HP柱(GE Healthcare)如所描述的进行纯化(Hattori等人,Nat Methods,2013,10,992-995),随后进行Superdex S200或ResourceS柱(GE Healthcare)。需要时,使用BirA通过连接至重链C末端的Avitag对纯化的Fab进行生物素化。

[0684] 通过将V_H和V_L区的基因克隆到用于IgG生产的哺乳动物表达载体中(Invivogen)来产生人IgG1、人IgG4、小鼠IgG1和小鼠IgG2a形式的抗体。因此,因为Fc(即CH2和CH2)是小鼠IgG1,而CH1和CL是人的,所以mIgG1和mIgG2a是人/小鼠杂交体。通过瞬时转染ExpiCHO细胞(ThermoFisher)产生蛋白质,并使用Protein G Sepharose色谱然后Superdex S200或ResourceS色谱(GE Healthcare)进行纯化。

[0685] 实例2:抗半乳凝素-9抗体克隆的表征

[0686] 表位鉴定(Epitope Binning)

[0687] 使用竞争噬菌体ELISA检查抗体克隆是否与半乳凝素-9中不同(非重叠)表位结合。通过纯化的G9.2-1、G9.2-3、G9.2-15或G9.2-17Fab克隆的预孵育,显著抑制了所有结合CRD2的克隆的结合(图3A-3B),表明分离的克隆与CRD2中的重叠表位结合。选择克隆G9.2-15和G9.2-17作为代表性克隆用于进一步表征,因为它们具有强结合活性和在人和小鼠半

乳凝素-9之间的良好交叉反应性(图1A-1B)。

[0688] 表位作图(Epitope Mapping)

[0689] 选择G9.2-17克隆用于进一步的表位分析。为了确定其在半乳凝素-9CRD2上的表位,构建了一系列点突变体。如图10A所示,使用噬菌体ELISA测定了它们与G9.2-17结合的能力。ELISA信号降低表明半乳凝素-9CRD2上对G9.2-17结合至关重要的位点。值得注意的是,W309K突变(残基编号根据同种型1,NCBI GenBank登录号BAB83625.1)极大降低了结合,而其它突变具有微不足道的影响,表明G9.2-17与包含W309的区域结合。该区域的晶体结构分析表明其位于糖结合位点的对面(图10B)。术语"W309"或"残基W309"是指在SEQ ID NO:1(半乳凝素-9)的第309位存在的色氨酸残基或在半乳凝素-9同种型2(UniProt ID O00182-2)的序列中位于第277位的色氨酸残基,或者指与在SEQ ID NO:1的第309位或UniProt ID O00182-2同种型序列的第277位存在的残基对应的半乳凝素-9CRD2中的残基。术语"R253"、"R271"、"R334"和"R341"是指分别在SEQ ID NO:1的第253、271、334和341位存在的精氨酸残基,或分别在半乳凝素-9同种型2(UniProt ID O00182-2)序列中的第221、239、302、309位存在的赖氨酸残基。术语"Y330"和"Y236"是指分别在SEQ ID NO:1的第330和236位存在的酪氨酸残基,或分别在半乳凝素-9同种型2(UniProt ID O00182-2)序列中的第298和204位存在的酪氨酸残基。

[0690] 抑制G9.2-17Fab与色谱基质相互作用的突变

[0691] 将纯化的抗体(Fab或IgG)样品在PBS中在TOSOH TSKgel Bioassist G2WXL柱上运行,并使用280nm的吸光度进行检测。发现G9.2-17的Fab样品显示比对于其尺寸所预期的更长的保留时间,表明其与色谱柱材料发生相互作用(图11)。相比之下,G9.2-Iso的Fab样品以预期时间洗脱。发现被称为G9.2.17mut6的G9.2-17的点突变体具有改善的色谱图谱,同时保留了对人和小鼠半乳凝素-9CRD2的亲和力(图12),表明该突变体具有降低的脱靶结合的水平。

[0692] 与CRD2中不同表位结合的抗体

[0693] 使用与半乳凝素-9CRD2结合的其它克隆探索了可能的其它表位。使用修改的方案进行噬菌体展示文库筛选,以富集与不同于G9.2-17进行的的表位结合的克隆。将野生型人生物素化的半乳凝素-9CRD2、W309K半乳凝素-9CRD2突变体或与G9.2-17IgG预先孵育的半乳凝素-9CRD2固定在中性亲和素包被的孔中,并与各个噬菌体展示的Fab克隆一起孵育。结果显示在图13中。三个克隆(G9.2-24、G9.2-25和G9.2-26)对以下三种测试靶标显示出类似的结合水平:野生型半乳凝素-9CRD2、W309K突变体和与G9.2-17复合的野生型CRD2。其结合谱表明它们与不同于G9.2-17的表位结合。

[0694] 亲和力测量

[0695] 使用先前描述的基于珠粒的测定法(Nishikori等人.,J Mol Biol,2012,424,391-399)和表面等离子体共振(SPR)来评估抗体的亲和力。在基于珠粒的测定法中,将生物素化蛋白质(半乳凝素-9样品或Fab样品)通过生物素-链霉亲和素相互作用固定在链霉亲和素包被的Dynabeads M280上。在使用未缀合的生物素封闭珠粒上过量的生物素结合位点后,通过孵育第二种组分(即对于固定的半乳凝素-9为Fab,反之亦然)进行结合滴定,然后使用染料标记的中性亲和素(ThermoFisher)和流式细胞术分析进行定量。由该实验获得的结果提供在图4和图5中。在第二组分是IgG的实验中,使用染料标记的抗人IgG或抗小鼠IgG

抗体进行检测。

[0696] 在SPR实验中,将生物素化的半乳凝素-9样品固定在已经预装载中性亲和素(ThermoFisher)的Avicap芯片(Pall ForteBio)上。在Pioneer SPR仪器(Pall ForteBio)上使用OneStep方法流动抗体样品,并且结果提供在图6中。

[0697] 上述两种测定法揭示了所分析的Fab样品对于其各自的靶标具有低或亚纳摩尔范围内的解离常数(K_D),如图4-6中提供的。

[0698] 如由IgG4的二价性质所预期的,将G9.2-17转化为人IgG4形式极大降低了解离速率(图7)。使用上述OneStep方法对此进行了证明。

[0699] 细胞上内源半乳凝素-9的检测

[0700] 为了确认抗体与人细胞中产生的内源性半乳凝素-9结合,将HEK293T和CRL-2134细胞系与生物素化的Fab一起孵育,并使用与DyLight 650缀合的中性亲和素检测结合的Fab。然后使用流式细胞术分析样品。对于表达半乳凝素-9的CRL-2134观察到强信号,而对于不表达半乳凝素-9的HEK293T未观察到(Lahm等人,J Cancer Res Clin Oncol,2001,127,375-386)(图8)。

[0701] 数据表明这些抗体识别内源性半乳凝素-9,并且也显示出它们对其它细胞表面蛋白具有最小交叉反应性。为了测量与人细胞中产生的内源性半乳凝素-9结合的抗体,使用多种浓度的抗半乳凝素-9抗体或阴性对照对CRL-2134细胞进行染色。然后洗涤样品,并使用与Dylight650缀合的抗小鼠IgG(Invitrogen,Carlsbad,CA)检测结合的抗体。在流式细胞术分析之前,将碘化丙锭(1μg/mL)添加到每个样品中。然后使用流式细胞术分析样品。使用未染色的细胞作为阴性对照来确定半乳凝素-9阳性细胞的百分比。由基于半乳凝素9阳性细胞的百分比作为抗体浓度的函数和1:1结合模型产生的饱和曲线来计算基于细胞的解离常数(K_D)。

[0702] 半乳凝素-9介导的Dectin-1信号转导激活的抑制

[0703] 使用人Dectin-1信号传导的报告细胞系(Invivogen),检查了抗半乳凝素-9抗体对半乳凝素-9介导的信号转导激活的影响。在该测定法中,Dectin-1信号转导途径的激活导致碱性磷酸酶分泌到细胞培养基中,其作为可定量的比色变化进行检测。将细胞系与指示的分子孵育16小时。在没有抗体的情况下,半乳凝素-9(R&D Systems)强烈激活了报道细胞,其与消耗的酵母聚糖(Dectin-1的已知配体)大致相等,如图9所示。如预期的,半乳凝素-9表现出不激活未表达Dectin-1的匹配的细胞系。

[0704] 抗体抑制半乳凝素-9的激活作用,表明它们阻断了Galectin-9与细胞表面的Dectin-1的相互作用。

[0705] 实例3:导管腺癌(PDA)的小鼠模型中抗Gal-9抗体的评估

[0706] 为了测试抗Gal-9抗体对胰腺导管腺癌(PDA)的治疗效果,可以使用两种PDA小鼠模型:缓慢进行性PDA模型p48Cre;LSL-KrasG12D(KC),其中小鼠在其胰腺祖细胞中表达致癌性Kras,和更具侵袭性的原位PDA模型,该模型使用了来自Pdx1Cre;LSL-KrasG12D;Tp53R172H(KPC)小鼠的肿瘤细胞,其表达突变体Kras和p53;以及人PDA42,43。与同种型对照相比,可以使用免疫组织化学分析、流式细胞术或免疫荧光显微镜的组合来进行免疫分析并评估抗半乳凝素-9抗体的治疗效果。类似的技术用于研究来自PDA患者的人样品。

[0707] 在小鼠研究的一个实例中,用抗半乳凝素-9抗体(例如G9.2-17)处理六周龄KC小

鼠,以测试抗半乳凝素-9抗体降低或防止肿瘤生长的能力。与载剂处理的动物相比,在1、2、3、4、5、6、7和8周后评估肿瘤的进展。处死动物并评估胰腺的腺泡结构并对其评分。根据本领域已知的FACS方法进行免疫分析。

[0708] 实例4:患者肿瘤样品的球体制备和微流体培养

[0709] 将新鲜肿瘤标本(人患者)接收到冰上的培养基(DMEM)中,并使用无菌镊子和手术刀在10cm的皿中(冰上)切碎。将切碎的肿瘤重悬于DMEM(4.5mmol/L葡萄糖,100mmol/L丙酮酸钠,1:100青霉素-链霉素;Corning CellGro)+10% FBS(Gemini BioProducts)、100U/mL IV型胶原酶(Life Technologies)和15mmol/L HEPES(Life Technologies)中。使样品沉淀并重悬于10至20mL培养基中。使用RBC裂解缓冲液(Boston Bio-Products)从可见的血液样品中去除红细胞(RBC)。将样品沉淀,然后重悬于新鲜的DMEM+10% FBS中,并在100μm过滤器和40μm过滤器上过滤,以产生S1(>100μm)、S2(40-100μm)和S3(<40μm)球体级分,随后将其保留在超低附着的组织培养板中。S2级分用于离体培养。将S2级分的等分试样沉淀,然后以2.5mg/mL的浓度重悬于I型大鼠尾部胶原蛋白(Corning)中,然后添加10×PBS和酚红,并用NaOH调节pH。使用PANPEHA Whatman纸(Sigma-Aldrich)确认pH值为7.0-7.5。然后将球体-胶原蛋白混合物注入3-D微流体培养装置的中心凝胶区,如以下所述:Jenkins等人,Cancer Discov.2018Feb;8(2):196-215;Ex Vivo Profiling of PD-1Blockade Using Organotypic Tumor Spheroids,其内容通过引用整体并入本文。在37℃下30分钟后,含有患者来源的器官型肿瘤球体(PDOTS)的胶原蛋白水凝胶与含有或不含抗Gal-9单克隆抗体的培养基水合。

[0710] 在某些情况下,为了测试与检查点抑制剂或其它免疫治疗剂的协同作用,可将PDOTS用抗PD-1(派姆单抗(pembrolizumab),250μg/mL)、抗CTLA4(伊匹单抗(ipilimumab),50μg/mL)或组合(250μg/mL派姆单抗+50g/mL伊匹单抗)进行处理。对于指定的PDOTS研究,抗人PD-L1(600μg/mL阿特珠单抗(atezolizumab)+人IFNγ)。按照Jenkins等人的描述通过流式细胞仪进行免疫分析。

[0711] 实例5:克隆G9.1-8变体的产生和分析

[0712] 通过用Ser替换CDR残基或通过截短CDR区来设计克隆G9.1-8的突变体。使用标准的定点诱变方法构建突变体基因,并如实例1所述产生。总共14种突变体命名为G9.1-8m1-G9.1-8m14(参见表4-9)。G9.1-8m1和G9.1-8m2具有CDR-H2突变。G9.1-8m3、G9.1-8m4和G9.1-8m5具有CDR-H3突变。G9.1-8m6、G9.1-8m7、G9.1-8m8、G9.1-8m9、G9.1-8m10和G9.1-8m11具有CDR-H3截短。G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14具有CDR-H2和CDR-H3突变。G9.1-8m12包含G9.1-8m2突变和G9.1-8m8突变的组合;G9.1-8m13包含G9.1-8m2突变和G9.1-8m9突变的组合;G9.1-8m14包含G9.1-8m2突变和G9.1-8m11突变的组合。

[0713] 表4.G9.1-8突变体的轻链和重链序列

[0714]

克隆名称	轻链SEQ ID	重链SEQ ID
G9.1-8m1	21	74
G9.1-8m2	21	75
G9.1-8m3	21	76
G9.1-8m4	21	77
G9.1-8m5	21	78

G9.1-8m6	21	79
G9.1-8m7	21	80
G9.1-8m8	21	81
G9.1-8m9	21	82
G9.1-8m10	21	83
G9.1-8m11	21	84
G9.1-8m12	21	85
G9.1-8m13	21	86
G9.1-8m14	21	87

[0715] 图18-22描绘了显示使用如实例2中所述的珠粒结合测定法测量的这些克隆的结合数据的图。表5-表9列出了各种克隆的KD。如上所述,通过将V_H和V_L区的基因克隆到用于产生IgG的哺乳动物表达载体(Invivogen)中来产生抗体小鼠IgG1和小鼠IgG2a形式。

[0716] 表5.使用基于珠粒的结合测定法表征的纯化的G9.1-8突变体mIgG1克隆的结合

[0717]

克隆名称	KD(nM)
G9.1-8WT mIgG1	2.4±1.1
G9.1-8m2 mIgG1	6.51±0.65
G9.1-8m4 mIgG1	12.0±4.2
G9.1-8m1 mIgG1	没有可检测的结合
G9.1-8m3 mIgG1	没有可检测的结合
G9.1-8m5 mIgG1	没有可检测的结合

[0718] 表6.使用基于珠粒的结合测定法表征的纯化的G9.1-8突变体Fab的结合

[0719]

克隆名称	KD(nM)
G9.1-8WT Fab	0.45±0.03
G9.1-8m6 Fab	0.52±0.05
G9.1-8m7 Fab	0.93±0.05
G9.1-8m8 Fab	0.56±0.04
G9.1-8m9 Fab	1.57±0.16
G9.1-8m10 Fab	58.4±3.4
G9.1-8m11 Fab	52.7±8.8

[0720] 表7.使用基于珠粒的结合测定法表征的纯化的G9.1-8突变体mIgG2a的结合

[0721]

克隆名称	KD(nM)
G9.1-8m8 mIgG2a	0.51±0.05
G9.1-8m9 mIgG2a	0.71±0.04
G9.1-8m11 mIgG2a	1.46±0.05

[0722] 表8.使用基于珠粒的结合测定法表征的纯化的G9.1-8突变体Fab的结合

[0723]

克隆名称	KD(nM)
G9.1-8WT Fab	2.13±0.13
G9.1-8m12 Fab	2.48±0.21

G9.1-8m13 Fab	20.7±0.8
G9.1-8m14 Fab	58.5±7.7

[0724] 表9.使用基于珠粒的结合测定法表征的纯化的G9.1-8突变体mIgG2a的结合

[0725]

克隆名称	KD(nM)
G9.1-8WT mIgG1	0.63±0.07
G9.1-8m12 mIgG2a	0.32±0.04
G9.1-8m13 mIgG2a	0.30±0.04
G9.1-8m14 mIgG2a	2.01±0.11

[0726] 这些结果表明,G9.1-8克隆的CDR-H2和CDR-H3内的某些残基可以被替换或截短,而对抗原结合的影响最小。如从IgG的二价性质所预期的,将G9.1-8突变体克隆从Fab转化为IgG2A形式可降低解离速率(参见例如图21和图22,例如G9.1-8m13和G9.1-8m14)。值得注意的是,观察到原始G9.1-8克隆和G9.1-8m8与CRD2的反应性(图25,数据未示出)。在基于珠粒的测定中,G9.1-8m12、G9.1-8m13和G9.1-8m14不与CRD2结合。

[0727] 实例6:用于分析小鼠和人组织的细胞制备和流式细胞术

[0728] 将新鲜的PDA肿瘤置于具有胶原酶IV(1mg/mL;Worthington Biochemical,Lakewood,NJ)、胰蛋白酶抑制剂(1mg/mL;EMD Millipore,Billerica,MA)和DNase(2U/mL;Promega,Madison,WI)的冷FACS缓冲液(具有2% FBS的PBS)中,并且用剪刀切碎成亚毫米碎片。然后将组织在37℃下孵育20分钟,每5分钟轻轻摇动。将样品通过70μm筛孔,并以350g离心5分钟。将细胞沉淀重新悬浮在FACS缓冲液中,并首先用僵尸黄(BioLegend)对1×10^6个细胞进行染色以排除死细胞。活力染色后,将细胞与抗CD16/CD32 mAb(eBiosciences,San Diego,CA)孵育以封闭FcγRIII/II,然后用1μg荧光缀合的细胞外mAb进行抗体染色。使用Fixation/Permeabilization Solution Kit(eBiosciences)对细胞因子和转录因子进行细胞内染色。对于小鼠样品,我们使用了小鼠CD44(IM7)、PD-1(29F.1A12)、CD3(17A2)、CD4(RM4-5)、CD8(53-6.7)、CD45(30-F11)、CD11b(M1/70)、Gr1(RB6-8C5)、MHC II(M5/114.15.2)、IL-10(JES5-16E3)、IFNγ(XMG1.2)、TNFα(MP6-XT22)、ICOS(15F9)、CD69(H1.2F3)、IL-17A(TC11-18H10.1)、TGFα(TW7-16B4)、LFA-1(H155-78)、T-bet(eBio4B10)、RORγt(AFKJS-9)和FoxP3(FJK-16s;全部为eBiosciences)。除非另有说明,否则抗体均来自BioLegend。人流式细胞术抗体包括CD45(HI30)、CD3(UCHT1)、CD4(A161A1)、CD8(HIT8a)、CD44(BJ18)、TNFα(MAb11)、IFNγ(4S.B3;全部为Biolegend))。在LSR-II流式细胞仪(BD Biosciences)上进行流式细胞术。使用FlowJo v.10.1(Treestar,Ashland,OR)分析数据。

[0729] 实例7:在胰腺癌小鼠模型中评估单独的或与检查点抑制剂组合的Gal-9抗体以及用G9.2-17mIgG1处理的小鼠的肿瘤质量和免疫特性

[0730] 在胰腺癌小鼠模型中评估了G9.2-17mIgG1对肿瘤重量和免疫特性的影响。向8周龄的C57BL/6雄性(Jackson Laboratory,Bar Harbor,ME)小鼠进行FC1242 PDA细胞的胰腺内注射,所述细胞来自Pdx1Cre;KrasG12D;Trp53R172H(KPC)小鼠(Zambirinis CP,等人,TLR9ligation in pancreatic stellate cells promotes tumorigenesis.J Exp Med.2015;212:2077-94)。将肿瘤细胞悬浮在具有50% Matrigel(BD Biosciences,Franklin Lakes,NJ)的PBS中,并通过剖腹术将$1x10^5$个肿瘤细胞注入胰腺体内。小鼠(n=10/组)i.p.接受一个预处理剂量然后3个剂量(q.w.)的市售α半乳凝素9mAb(RG9-1,200ug,

BioXcell,Lebanon,NH)或G9.2-17mIgG1(200μg),或配对的同种型G9.2-Iso或大鼠IgG2a(LTF-2,BioXcell,Lebanon,NH)(200μg)(每周一个剂量,持续三周)。3周后处死小鼠,收集肿瘤并用于通过流式细胞术进行分析。如实例5所述处理和制备组织,并进行流式细胞术分析。

[0731] 用单独的或与αPD1mAb组合的G9.2-17mIgG2a处理的小鼠的肿瘤质量和免疫特性

[0732] 在胰腺癌小鼠模型中评估单独的或与免疫治疗组合的G9.2-17mIgG2a对肿瘤重量和免疫特性的影响。向8周龄的C57BL/6雄性小鼠(Jackson Laboratory,Bar Harbor,ME)进行FC1242 PDA细胞的胰腺内注射,所述细胞来自Pdx1Cre;KrasG12D;Trp53R172H(KPC)小鼠。将肿瘤细胞悬浮在具有50% Matrigel(BD Biosciences,Franklin Lakes,NJ)的PBS中,并通过剖腹术将1×10^5个肿瘤细胞注入胰腺体内。小鼠i.p.接受一个预处理剂量然后3个剂量(q.w.)的分开或组合的G9.2-17mIgG2a(200μg)或中和性αPD-1mAb(29F.1A12,200μg,BioXcell,Lebanon,NH),或配对的同种型(LTF-2和C1.18.4,BioXcell,Lebanon,NH),如指示的。在第26天处死小鼠,并收集肿瘤用于分析。如实例5所述处理和制备组织,并进行流式细胞术分析。结果示出在图17中。每个点代表一只小鼠;*p<0.05;**p<0.01;***p<0.001;****p<0.0001;通过未配对的学生t检验。这些结果表明,用G9.2-17mIgG2a进行单药剂处理在两种剂量水平下降低了肿瘤生长,而单独抗PD-1对肿瘤尺寸没有影响。

[0733] 实例8:球体的制备和抗Gal9抗体在来自患者样品的肿瘤球体中的作用的分析

[0734] 从新鲜的患者肿瘤标本(胰腺腺癌、胆囊癌和来自结直肠癌的肝转移)制备患者源性器官型肿瘤球体(PDOTS)。简单地说,将标本接收到冰上的培养基中,在10cm的皿中切碎,并重悬在DMEM+10% FBS+100U/mL IV型胶原酶中。将部分消化的样品沉淀,重悬并在100μm和40μm过滤器上过滤,以产生S1(>100μm)、S2(40-100μm)和S3(<40μm)球体级分,随后将其保留在低附着的组织培养板中。将S2级分的等分试样沉淀,然后以2.5mg/mL的浓度重悬于I型大鼠尾部胶原蛋白中,然后添加10×PBS和酚红,并用NaOH调节pH。将球体-胶原蛋白混合物注入DAX-1 3D微流体细胞培养芯片的中心凝胶区。在37℃下30分钟后,含有PDOTS的胶原蛋白水凝胶与培养基水合,并用Gal9抗体(G9.2-17)处理。三天后,收获PDOTS并流动用于免疫改变。单一患者样品的初步结果显示在图26-29中。如果获得超过100个细胞,则对细胞进行CD3+、CD4+和CD8+分选。否则细胞仅进行CD3+分选。

[0735] 实例9:Gal-9抗体的效应子功能、交叉反应性和免疫原性的表征

[0736] 抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)测定

[0737] 在抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)中,效应细胞裂解靶细胞,其中抗体已经特异性结合至靶细胞膜上的特定抗原。开发的ADCC旨在表征抗体的Fc效应子功能并测量ADCC活性。尽管开发的最初测定法依赖于靶细胞和效应细胞二者,但通过将目标抗原直接包被板上而绕过对靶细胞的需求进一步改进了该测定法。使用在NFAT应答元件的控制下表达萤火虫荧光素酶基因并且具有人FcγRIIIa的组成型表达的重组Jurkat T细胞系作为效应细胞系。使用包被在无菌ELISA板上的抗原作为靶标,并将测试抗体与抗原一起孵育以允许通过Fab片段结合。然后将展示正确类型的FcgR的效应细胞与板上的抗原/抗体复合物一起孵育。当抗体的Fc部分与效应细胞表面上的FcgRIIIa结合时,受体交联导致NFAT途径活化,从而导致荧光素酶表达。使基因表达进行5-6小时,并使用发光计测量荧光素酶活性。为每种抗体生成剂量反应曲线。

[0738] 抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)测定

[0739] 抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)是通过吞噬作用介导其一部分或全部作用的抗体的重要作用机制。在该情况下,抗体介导抗原呈递细胞对特定抗原的摄取。ADCP可以由单核细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞和树突状细胞通过FcγRIIa、FcγRI和FcγRIIIa介导,其中巨噬细胞上的FcγRIIa(CD32a)代表了主要途径。在采用的ADCP测定中,使用THP-1细胞(源自急性单核细胞白血病患者的人单核细胞系)来测量ADCP。将荧光标记的珠粒与靶抗原缀合,然后与测试抗体一起孵育。然后将THP-1细胞添加到板中,使其与结合到抗原包被的荧光珠粒上的抗体的Fc部分结合。抗体与珠粒结合和Fc受体的接合导致THP-1细胞通过吞噬机制摄取珠粒。使用流式细胞术分析吞噬事件。测量每个细胞中的荧光总量(代表被吞噬的珠粒的数量)和荧光阳性细胞的百分比(代表吞噬的频率)。产生剂量依赖性曲线以评估每种测试抗体介导的ADCP活性。

[0740] 交叉反应性测定

[0741] 在治疗性单克隆抗体的药物开发过程中,脱靶毒性可能代表了重大问题。因此,特异性是评估任何新的单克隆候选物部分特性的关键因素,也是其预测安全性的重要指标。为了评估抗体特异性和交叉反应性,测试了测试抗体和测试样品与人蛋白质组学阵列的结合,人蛋白质组学阵列是由天然和变性并且在两个工作浓度下的人蛋白质的大量集合组成。使用CDI的HuProt Human Proteome Microarray(人蛋白质组的约75%)评估抗体的特异性。将微阵列与一抗一起孵育,润洗,与荧光标记的二抗一起孵育,随后分析每种靶蛋白检测到的荧光量。结果汇编为微阵列图像。

[0742] 抗药物抗体(ADA)的检测

[0743] 对来自体内用抗-Gal9 mAb处理的动物的小鼠血清进行抗药物抗体的检测。ADA测定在Mesoscale Discovery(MSD)平台上进行,因为其具有相对于标准ELISA方法提高的灵敏度和动态范围。将生物素缀合的Gal9和硫标记的抗Gal9抗体(药物)与测试血清一起孵育,以形成桥复合物。ADA桥接复合物将与链霉亲和素板结合,并且通过电化学发光检测来检测测试血清样品中ADA的存在。

[0744] 实例10:在人源化小鼠的急性髓细胞性白血病(AML)模型中评估CRD2克隆17IgG1和IgG4人半乳凝素9单克隆抗体。

[0745] 进行了一项研究,以在人源化小鼠的急性髓细胞性白血病模型(CTG-2243,Champions)中评估CRD2克隆17IgG1和IgG4人半乳凝素9单克隆抗体。研究方案如表10所示。

[0746] 表10.AML功效研究设计:

[0747]

组	-n-	试剂	剂量(ug/剂量)	ROA/方案
1	10	载剂对照	-	p.o./qwx4
2	10	对照IgG1/4	100	p.o./qwx4
3	10	对照IgG1/4	200	p.o./qwx4
4	10	对照IgG 1/4	400	p.o./qwx4
5	10	抗Gal9 1/4	100	p.o./qwx4
6	10	抗Gal9 1/4	200	p.o./qwx4
7	10	抗Gal9 1/4	400	p.o./qwx4
8	10	阿糖胞苷	50	QDx5

9	10	阿糖胞苷载剂	-	QDx5

[0748] 研究动物准备

[0749] 对动物进行亚致死性辐照并通过尾静脉注射用1-5百万个原代AML细胞重建。每月一次进行活体(in-life)血液采集,并使用以下流式方案进行流式细胞术:huCD45/muCD45/huCD3/huCD33,以用于确定植入情况。一旦人CD33+水平达到20-1000计数/ul,使6只代表性动物无痛致死并进行全面的免疫表型分析,并通过上述流式方案分析脾、骨髓和外周血。基于外周血细胞计数将动物随机分为各个治疗组。进行弥散性肿瘤生长/负担分析,直至第42天给药和观察。对一半的末梢全血处理并分析免疫参数,血清用于Gal9ELISA。

[0750] 收集末梢血和骨髓用于流式细胞术。从所有动物的末梢骨髓和外周血进行8色细胞表面流式细胞术:流式方案为:LD/huCD45/huCD3/huCD33/huGalectin9/huTim9/huPD1/huCD34/huCD38/huCD117。

[0751] 在基线(治疗开始之前)、治疗第1周结束时和研究终点,从所有动物收集新鲜粪便样品(每只小鼠1粒)到聚丙烯管中。将收集的样品快速冷冻并储存在-80℃。如果可能,收集描述的末梢血液样品和组织以评估药物毒性。

[0752] 数据分析

[0753] 为了评估动物毒性,从第0天开始,每天观察动物并使用数字秤每周称重3次;记录每组的数据,包括个体和平均体重克数(平均We±SEM),相对于第0天的平均体重变化百分比(%vD_0),并在研究结束时绘制%vD_0。每天记录任何动物死亡,并根据体重减轻和肉眼观察将其划分为与药物相关(D)、技术(T)、肿瘤相关(B)或未知(U);对于所评估方案的治疗,报告平均%vD_0>20%和/或>10%死亡率的单一药剂或组合组被认为高于最大耐受剂量(MTD)。研究结束时报告每个治疗组的最大平均%vD_0(体重最低点)。为了评估Gal-9抗体的功效,测量了肿瘤生长抑制。从第0天开始,用数字卡尺每周3次测量肿瘤尺寸,并记录每组的数据,包括单个和平均估计肿瘤体积(平均TV±SEM);使用公式TV=宽度^{2}x长度x 0.52计算肿瘤体积(TV)。在研究接受后,使用初始(i)和最终(f)肿瘤测量通过公式%TGI=1-(T_f-T_i)/(C_f-C_i)计算并记录每个治疗组(T)相对于对照组(C)的肿瘤生长抑制百分比(%TGI)值。报告连续两次测量的肿瘤体积≤第0天测量的30%的个体小鼠被认为是部分响应者(PR)。无明显肿瘤(两次连续测量为0.00mm^3)的个体小鼠被归类为完全响应者(CR);持续到研究结束的CR被视为无肿瘤幸存者(TFS)。使用以下公式确定载剂处理组的肿瘤倍增时间(DT):DT=(D_f-D_i)*log^2/(logTV_f-logTV_i),D=天,TV=肿瘤体积。本研究中收集的所有数据均以电子方式进行管理,并存储在冗余服务器系统上。

[0754] 实例11:在具有免疫能力的小鼠的B16F10黑色素瘤同基因肿瘤模型中对Gal-9抗体的评估

[0755] 在具有黑色素瘤免疫能力的小鼠的B16F10同基因小鼠模型中评估了Gal-9抗体G9.2-17。将研究前的动物(雌性C57BL/6,6-8周龄(Charles River Labs))在左侧腹单侧皮下植入100μl PBS中的5×10^{5}B16.F10。从植入后2-3天开始,记录每个实验的研究前肿瘤体积。当肿瘤达到50-100mm^3(优选50-75mm^3)的平均肿瘤体积时,根据肿瘤体积将动物匹配到治疗组或对照组(n=8)中以进行给药,并在第0天开始给药。动物在第0天和第4天iv给药。用于测试Anti-Gal9 G9.2-17IgG1和Anti-Gal9 G9.2-17IgG2的研究设计总结于表11和表12中。

[0756] 表11.抗Gal9 IgG1

[0757]

组	-n-	测试试剂	剂量 (ug/小鼠)	剂量体积	施用途径 (ROA)
1	8	对照未处理	-	-	-
2	8	对照 mIgG1	200 ug	200 ul	IV

[0758]

7	8	抗 Gal9 mIgG1 (G9.2-17)	200 ug	200 ul	IV

[0759] 表12.抗Gal9 IgG2

[0760]

组	-n-	测试试剂	剂量 (ug/小鼠)	剂量体积	施用途径 (ROA)	方案	剂量总数
1	10	对照未处理	-	-	-	-	-
2	10	对照 mIgG2	200 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
3	10	对照 mIgG2	200 ug	200 ul	IP	BIWx4	8
4	10	抗 Gal9 mIgG2 (G9.2-17)	200 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6

[0761] 每周三次获取肿瘤体积并对动物称重。当对照组(无约束)的平均肿瘤体积达到1500mm^{3}时设定研究终点。在研究达到终点的那一天获取最终肿瘤体积。在研究达到终点的那一天(第10天)获取最终体重。肿瘤体积示于图30和图31。

[0762] 实例12:Jurkat凋亡测定

[0763] 评估了半乳凝素-9G9.2-17和G9.1-8m9抗体阻止半乳凝素-9诱导的Jurkat细胞凋亡的能力。将Jurkat细胞(TIB-152,ATCC,Manassas,VA)在37℃、5% CO_2下生长在具有10% FBS、100mU/mL青霉素和100μg/mL链霉素的改良的RPMI(2mM L-谷氨酰胺,10mM HEPES,1mM丙酮酸钠,4.5g/L葡萄糖,1.5g/L碳酸氢钠)中。在添加或不添加280nM半乳凝素-9(2045-GA,RnD Systems,Minneapolis,MN)、1μM G9.2-17IgG和/或1μM G9.1-8m9 IgG的96孔培养板的孔中孵育细胞(2x10^{5}细胞/孔)。将细胞在37℃、5% CO_2下孵育5小时,然后重悬于膜联蛋白V结合缓冲液中。然后将细胞在黑暗中于4℃用AnnexinV-AlexaFluor488(Invitrogen,Carlsbad,CA)染色30分钟。在流式细胞术之前,添加碘化丙啶(PI)(1μg/mL)。将细胞在Guava easyCyte流式细胞仪(MilliporeSigma,Burlington,MA)上运行,并使用FlowJo(Treestar,Ashland,OR)进行分析。通过前向和侧向散射对细胞群进行门控,然后在AnnexinV上分析所有凋亡细胞,在PI上分析晚期凋亡细胞。结果如图23所示。

[0764] 实例13.抗半乳凝素-9抗体破坏半乳凝素-9与CD206之间的相互作用

[0765] 将Microlon高结合力96孔板(Greiner Bio-One,Kremsmünster,Austria)在室温下用hGalectin-9(RnD Systems,Minneapolis,MN)(50μL,TBS中4μg/mL)包被1小时。然后将板在室温下用TBS+0.5% BSA(150μL)封闭1小时。将孔用TBS+0.1% BSA洗涤3次。将G9.1-8m13和/或G9.2-17抗体添加到每个孔(50μL,TBS+0.1% BSA中100nM)中,并在室温下孵育30分钟。然后添加CD206-His(RnD Systems,Minneapolis,MN)至终浓度13nM,并在室温下再

孵育30分钟。将孔用TBS+0.05％ Tween20洗涤3次。将aHis-HRP(ab1187,Abcam,Cambridge,MA)添加到每个孔(50μL,TBS+0.05％ Tween20中1:2500,0.1％ BSA),并在室温下再孵育30分钟中。将孔用TBS+0.05％ Tween20洗涤3次,并用TBS洗涤一次。将1Step TMB-Ultra ELISA底物(Thermofisher,Waltham,MA)(50μL)添加到每个孔中。

[0766] 用2M H_2SO_4(50μL)中和反应,并使用Epoch2分光光度计(BioTek,Winooski,VT)读取450nm处的吸光度信号。实验一式三份进行。*p<0.05;**p<0.01;***p<0.001;****p<0.0001;未配对的Student t检验)。结果显示在图24中,并且表明G9.1-8m13和G9.2-17两种抗体均抑制半乳凝素-9和CD206之间的相互作用,并且它们的作用是累加的。

[0767] 实例14.细胞毒性活性的评估

[0768] 为了评估9.1-8mut13和9.2-17的补体诱导的细胞毒性活性,进行补体依赖性细胞毒性(CDC)测定,并与2种小鼠单克隆抗体(g9.2-17和g9.1-8m9的小鼠单克隆抗体)进行比较。将抗体与表达gal-9的适当靶细胞孵育,并且添加物种特异性血清作为补体蛋白的来源,以与细胞结合的单克隆抗体结合并启动靶细胞的补体依赖性细胞溶解。在与荧光细胞活力染料一起孵育并通过流式细胞术评估后,通过具有渗透膜与非渗透膜的细胞(即裂解的细胞与未裂解的细胞)中获得的差异染色来确定靶细胞的细胞死亡。

[0769] 实例15:在具有免疫能力的小鼠的结直肠癌和黑色素瘤癌的两种同基因模型中对Gal-9抗体的评估

[0770] 在具有免疫能力的小鼠中的结直肠癌和黑色素瘤癌的同基因模型中评估Gal-9抗体G9.2-17和G9.1-8m13。在研究期间,每周根据表13配制和制备测试物品。

[0771] 表13测试物品

[0772]

试剂	原液存储	原液稳定性	状态	工作液存储	工作液稳定性
对照mIgG1	4℃,黑暗	研究的持续时间	液体	4℃,黑暗	研究的持续时间
对照mIgG2	4℃,黑暗	研究的持续时间	液体	4℃,黑暗	研究的持续时间
Gal9-IgG1(G9.2-17)	-80℃	研究的持续时间	液体	-20℃	研究的持续时间
Gal9-IgG2(G9.2-17)	-80℃	研究的持续时间	液体	-20℃	研究的持续时间
Gal9-IgG1(G9.1-8m13)	-80℃	研究的持续时间	液体	-20℃	研究的持续时间
mGal9-IgG2(G9.1-8m13)	-80℃	研究的持续时间	液体	-20℃	研究的持续时间
抗mPD-1	4℃,黑暗	研究的持续时间	液体	4℃,黑暗	研究的持续时间

[0773] 载剂对照:mGal9-IgG1和mGal9-IgG2;对照mIgG1,对照mIgG2和抗mPD-1:无菌PBS

实验设计

[0774] 使研究前的动物(雌性C57BL/6,6-8周大(Charles River Labs)适应环境3天,然后左侧腹单侧皮下植入重悬在100μl PBS中的5×10^5B16.F10(黑色素瘤细胞系)或MC38细胞(结直肠癌细胞系)。从植入后2-3天开始,记录每个实验的研究前肿瘤体积。当肿瘤达到50-100mm^3(优选50-75mm^3)的平均肿瘤体积时,根据肿瘤体积将动物匹配到治疗组或对照组中以进行给药,并在第0天开始给药。表14和表15总结了用于测试抗Gal9 IgG1和抗Gal9 IgG2的研究设计。

[0775] 表14.抗Gal9 IgG1(B16F10和MC38)

[0776]

组	-n-	测试试剂	剂量 (ug/小鼠)	剂量体积	施用途径 (ROA)	方案	剂量总数
1	8	对照未处理	-	-	-	-	-
2	8	对照 mIgG1	200 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
3	8	对照 mIgG1	400 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
4	8	对照 mIgG2	200 ug	200 ul	IP	BIWx4	8
5	8	抗 Gal9 mIgG1	200 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
6	8	抗 Gal9 mIgG1	400 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
7	8	抗 Gal9 mIgG1 (G9.1-8m13)	200 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
8	8	抗 Gal9 mIgG1 (G9.1-8m13)	400 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
9	8	抗 Gal9 mIgG1 + mAnti-PD1	200 ug 200 ug	200 ul 200 ul	IV IP	Q4Dx6 BIWx4	6 8
10	8	Anti-Gal9 mIgG1 + mAnti-PD1	400 ug 200 ug	200 ul 200 ul	IV IP	Q4Dx6 BIWx4	6 8
11	8	抗 Gal9 mIgG1 (G9.1-8m13) + mAnti-PD1	200 ug 200 ug	200 ul 200 ul	IV IP	Q4Dx6 BIWx4	6 8
12	8	抗 Gal9 mIgG1 (G9.1-8m13) + mAnti-PD1	400 ug 200 ug	200 ul 200 ul	IV IP	Q4Dx6 BIWx4	6 8
13	8	mAnti-PD1	200 ug	200 ul	IP	BIWx4	8

[0777] 表15.抗Gal9 IgG2(B16F10和MC38)

[0778]

组	-n-	测试试剂	剂量 (ug/小鼠)	剂量体积	施用途径 (ROA)	方案	剂量总数
1	10	照未处理	-	-	-	-	-
2	10	对照 mIgG2	200 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
3	10	对照 mIgG2	400 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
4	10	对照 mIgG2	200 ug	200 ul	IP	BIWx4	8
5	10	抗 Gal9 mIgG2	200 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
6	10	抗 al9 mIgG2	400 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
5	10	抗 Gal9 mIgG2 (G9.1-8m13)	200 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
6	10	抗 Gal9 mIgG2 (G9.1-8m13)	400 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
7	10	抗 Gal9 mIgG2 + mAnti-PD1	200 ug 200 ug	200 ul 200 ul	IV IP	Q4Dx6 BIWx4	6 8
8	10	抗 Gal9 mIgG2 + mAnti-PD1	400 ug 200 ug	200 ul 200 ul	IV IP	Q4Dx6 BIWx4	6 8
7	10	抗 Gal9 mIgG2 (G9.1-8m13) + mAnti-PD1	200 ug 200 ug	200 ul 200 ul	IV IP	Q4Dx6 BIWx4	6 8
8	10	抗 Gal9 mIgG2 (G9.1-8m13) + mAnti-PD1	400 ug 200 ug	200 ul 200 ul	IV IP	Q4Dx6 BIWx4	6 8
9	10	mAnti-PD1	200 ug	200 ul	IP	BIWx4	8

[0779] 每周三次获取肿瘤体积。在研究达到终点的那一天获取最终的肿瘤体积。如果发现动物垂死,则获取最终肿瘤体积。每周三次对动物称重。在研究达到终点或发现动物垂死的那一天获取最终体重。向与第0天相比表现出≥10%的体重减轻的动物自由提供DietGel®。在持续7天的时间内表现出>20%的净体重减轻的任何动物或者与第0天相比表现出>30%的净体重减轻的小鼠被认为是垂死的并实施安乐死。当对照组(无约束)的平均肿瘤体积达到1500mm^{3}时设定研究终点。如果在第28天之前发生这种情况,则向治疗组和个体小鼠给药和测量直至第28天。如果到第28天时对照组(无约束)的平均肿瘤体积未达到1500mm^3,则所有动物的终点为对照组(无约束)的平均肿瘤体积达到1500mm^{3}时那一天,直至最多第60天。从各组的所有动物收集血液。对于血液收集,在异氟烷吸入引起的深度麻醉下,通过心脏穿刺将尽可能多的血液收集到K_2EDTA管(400ul)和血清分离器管(剩余)中。收集到K_2EDTA管中的血液放在湿冰上,直到用于进行如表16所示的免疫组流动为止。

[0780] 表16.流式细胞术方案1

[0781]

抗体描述	缀合物	克隆	供应商
mCD3	FITC	17A2	BioLegend
mCD4	APC-Fire 750	RM4-4	BioLegend
mGamma Delta	BV605	GL3	BioLegend
mCD8	APC-R700	53-6.7	BioLegend
mCD44	BV786	IM7	BioLegend
mCD11b	APC	M1/70	BioLegend
mCD45	BV510	30-F11	BioLegend
Live Dead	7AAD	-	BioLegend
mCD62L	PE-Cy7	MEL-14	BioLegend
mPD-1	BV711	29F.1A12	BioLegend
mCTLA4	PE	UC10-4B9	BioLegend
mCD27	BV421	LG.3A10	BioLegend

[0782] 使收集到血清分离器管中的血液在室温下凝结至少15分钟。将样品在室温下以3500离心10分钟。分离得到的血清,转移到唯一标记的透明聚丙烯管中,并立即在干冰上或设定为保持-80℃的冰箱中冷冻,直至运输用于桥接ADA测定(一周内装运)。

[0783] 如下收集来自所有动物的肿瘤。将尺寸小于400mm^{3}的肿瘤速冻,置于干冰上,并在-80℃下保存,直到用于RT-qPCR分析。对于尺寸为400-500mm^{3}的肿瘤,将整个肿瘤收集到MACS培养基中以用于流式方案(如下表16A所示)。对于尺寸大于500mm^{3}的肿瘤,将一小块(约50mm^3)速冻,置在干冰上,并在-80℃下保存用于RT-qPCR,并将剩余的肿瘤收集在MACS培养基中用于流式细胞术(如下表16A所示))。对于流式细胞术,将肿瘤置于MACS培养基中并保存在湿冰上直至处理。表16A中显示了所进行的流式细胞术分析的概要。

[0784] 表16A.流式细胞术方案2

[0785]

抗体描述	缀合物	C 克隆	供应商
mCD3	FITC	17A2	BioLegend
mCD4	APC-Fire 750	RM4-4	BioLegend

[0786]

mGamma Delta	BV605	GL3	BioLegend
mCD8	APC-R700	53-6.7	BioLegend
mCD69	BV421	H1.2F3	BioLegend
mCD11b	APC	M1/70	BioLegend
mCD45	BV510	30-F11	BioLegend
Live Dead	7AAD	-	BioLegend
mCD62L	PE-Cy7	MEL-14	BioLegend
mPD-1	BV711	29F.1A12	BioLegend
mCTLA4	PE	UC10-4B9	BioLegend
mNk1.1	BV786	PK136	BioLegend

[0787] 将所有动物的脾、肝、结肠、肺、心脏和肾在10％中性福尔马林(NBF)中保留18-24小时,转移到70％乙醇中并在室温下保存。将尔马林固定样品用石蜡包埋。

[0788] 实例16:在胆管癌模型中评估Gal-9抗体

[0789] 在胆管癌的小鼠模型中评估Gal-9抗体的功效,如S.Rizvi等人所述(YAP-associated chromosomal instability and cholangiocarcinoma in mice,Oncotarget,9(2018)5892-5905),其内容通过引用整体并入本文。在将癌基因(AKT/YAP)直接滴入胆道树的这种转导模型中,肿瘤是由具有物种匹配的肿瘤微环境的具有免疫功能的宿主的胆道引起的。给药在17中描述。

[0790] 表17.给药

[0791]

组	-n-	测试试剂	剂量 (ug/小鼠)	剂量体积	施用途径(ROA)	方案	剂量总数
1	10	对照未处理	-	-	-	-	-
2	10	对照 mIgG2	200 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
3	10	对照 mIgG2	400 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
4	10	对照 mIgG2	200 ug	200 ul	IP	BIWx4	8
5	10	抗 Gal9 mIgG2 (G9.2-17)	200 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
6	10	抗 Gal9 mIgG2 (G9.2-17)	400 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6
7	10	抗 Gal9 mIgG2 (G9.1-8m13)	200 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6

[0792]

8	10	抗 Gal9 mIgG2 (G9.1-8m13)	400 ug	200 ul	IV	Q4Dx6	6

[0793] 简单地说,收获鼠CCA细胞(描述于S.Rizvi,等人),并在DMEM中洗涤。使用1.5-3%的异氟烷麻醉来自Jackson实验室的雄性C57BL/6小鼠。在深度麻醉下,通过剑突下方1cm的切口打开腹腔。使用无菌棉签(sterile cotton tipped applicator)暴露肝脏内侧叶的上外侧。使用27号针,将40μL含有1×10^6细胞的标准培养基注入内侧叶的外侧。将棉签固定在注射部位上方,以防止细胞泄漏和失血。随后,用可吸收的铬3-0肠缝合材料将腹壁和皮肤分别封闭。

[0794] 植入后两周,根据肿瘤体积将动物分为治疗组或对照组用于给药,并且在第0天开始给药。每周三次测量肿瘤体积并且对动物称重。在研究达到终点的那一天(4周或当对照的肿瘤负荷变为1500mm^{3}时)获取最终肿瘤体积和重量。对于每组的所有动物收集血液。基本上如实例15所述收集所有动物的肿瘤。基本上如实例15所述进行分析。

[0795] 等同物

[0796] 根据以上描述,本领域技术人员可以容易地确定本发明的基本特征,并且在不脱离本发明的精神和范围的情况下,可以对本发明进行各种改变和修改以使其适应各种用途和条件。因此,其他实施例也在权利要求之内。

[0797] 尽管已经在本文中描述和示出了多个发明实施例,但是本领域普通技术人员将容易想到用于执行本文所述的功能和/或获得其结果和/或一个或多个优点的多种其他手段和/或结构,并且这些变型和/或修改中的每一个都被认为在本文所述的发明实施例的范围内。更一般地,本领域技术人员将容易地理解,本文所述的所有参数、尺寸、材料和构造均是示例性的,并且实际参数、尺寸、材料和/或构造将取决于使用本发明教导的一个或多个特定应用。本领域技术人员将认识或仅使用常规实验就能够确定本文所述的具体发明实施例的许多等同方案。因此,应当理解,前述实施例仅以示例的方式给出,并且在所附权利要求及其等同物的范围内,可以以不同于具体描述和要求保护的方式来实践本发明的实施例。本公开内容的发明实施例涉及本文所述的每个单独的特征、系统、制品、材料、套件和/或方法。另外,如果这样的特征、系统、制品、材料、套件和/或方法不是相互矛盾的,则两个或更多个这样的特征、系统、制品、材料、套件和/或方法的任意组合包括在本公开内容的发明范围内。

[0798] 如本文所定义和使用的所有定义应被理解为控制字典定义、通过引用并入的文献中的定义和/或所定义术语的普通含义。

[0799] 本文公开的所有参考文献、专利和专利申请关于其各自被引用的主题通过引用并入本文,在某些情况下,其可以涵盖整个文献。

[0800] 除非明确相反地指出,否则本文在说明书和权利要求书中使用的未用数量词限定的名词应理解为表示“至少一个”。

[0801] 如在说明书和权利要求书中所使用的,短语“和/或”应理解为是指这样结合的元素中的“一个或两个”,即在某些情况下共同存在而在另一些情况下分开存在的元素。用“和/或”所示的多个元素应以相同的方式解释,即,如此连接的元素中的“一个或多个”。除了由“和/或”子句明确标识的元素之外,还可以任选地存在其他元素,无论其与具体标识的

那些元素相关还是无关。因此,作为非限制性示例,在一个实施例中,当与诸如“包括”的开放式语言结合使用时,对“A和/或B”的提及可以仅指A(任选地包含B以外的元素);在另一个实施例中,仅指B(任选地包含A以外的元素);在又一个实施例中,指A和B两者(任选地包含其他元素);等等。

[0802] 如本文在说明书和权利要求书中所使用的,“或”应被理解为具有与如上所定义的“和/或”相同的含义。例如,当分开列表中的项目,“或”或“和/或”应解释为包含性的,即包含若干元素或元素列表中的至少一个,但也包括了多于一个;以及任选地未指出的项目。仅明确指出相反的术语,例如“仅一个”或“恰好一个”或当在权利要求书中使用时“由...组成”将指包含若干元素或元素列表中的精确一个元素。一般而言,本文中使用的术语“或”仅当在排他性术语例如“两个中的任一个”、“…中的一个”、“…中的仅一个”或“…中的恰好一个”之前时才解释为表示互斥的替代方案(“一个或另一个但不是全部两个”)。当在权利要求书中使用时,“基本上由…组成”应具有专利法领域中所使用的普通含义。

[0803] 如本文在说明书和权利要求书中所使用的,在提及一个或多个元素的列表时,短语“至少一个”应被理解为是指从元素列表中的任一个或多个元素中选择的至少一个元素,但未必包含元素列表中具体所示的每个和每一个元素的至少一个,并且不排除元素列表中元素的任何组合。该定义还允许短语“至少一个”所指代的元素列表中具体指出的元素以外元素可以任选地存在,无论其与具体指出的那些元素相关还是无关。因此,作为非限制性实例,“A和B中的至少一个”(或等效地,“A或B中的至少一个”,或等效地“A和/或B中的至少一个”)可以指,在一个实施例中指至少一个A,任选地包含多于一个A,并且不存在B(并且任选地包含B以外的元素);在另一个实施例中,指至少一个B,任选地包含多于一个B,并且不存在A(并且任选地包含A以外的元素);在另一些实施例中,指至少一个A,任选地包含多于一个A,以及至少一个B,任选地包含多于一个B(并且任选地包含其他元素);等等

[0804] 还应理解的是,除非有明显的相反指示,否则在包括多于一个步骤或动作的本文要求保护的任何方法中,所述方法的步骤或动作的顺序未必限于记载的方法的步骤或动作的顺序。

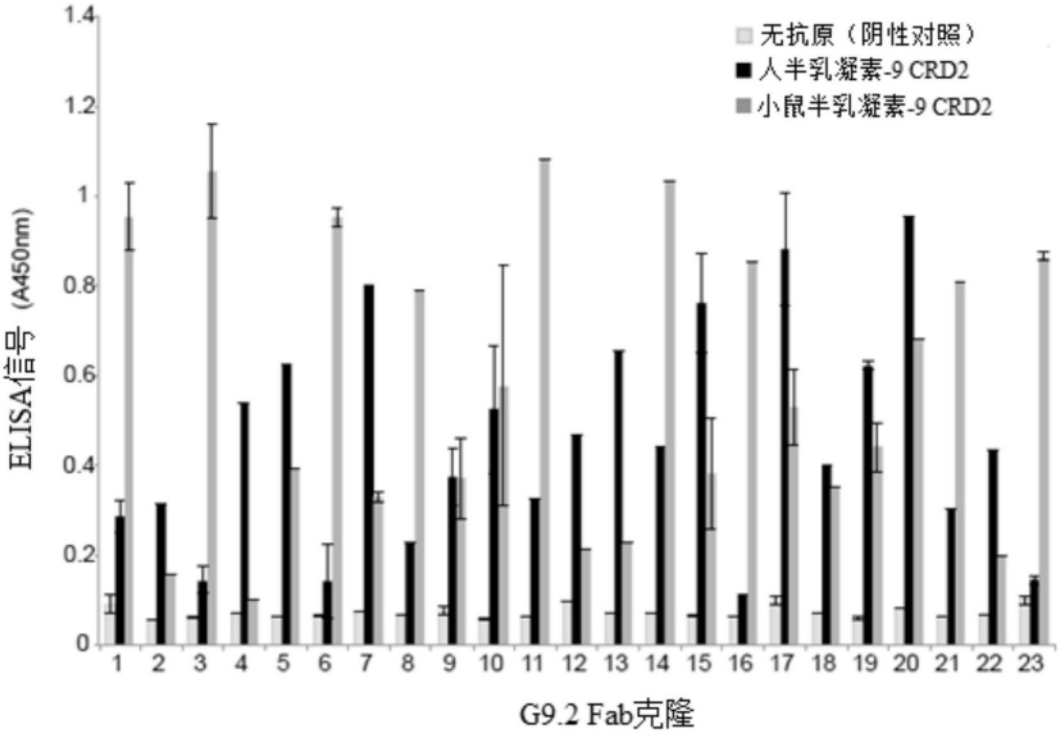

无抗原（阴性对照）
人半乳凝素-9 CRD2
小鼠半乳凝素-9 CRD2
ELISA信号 (A450nm)
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23
G9.2 Fab克隆

图1A

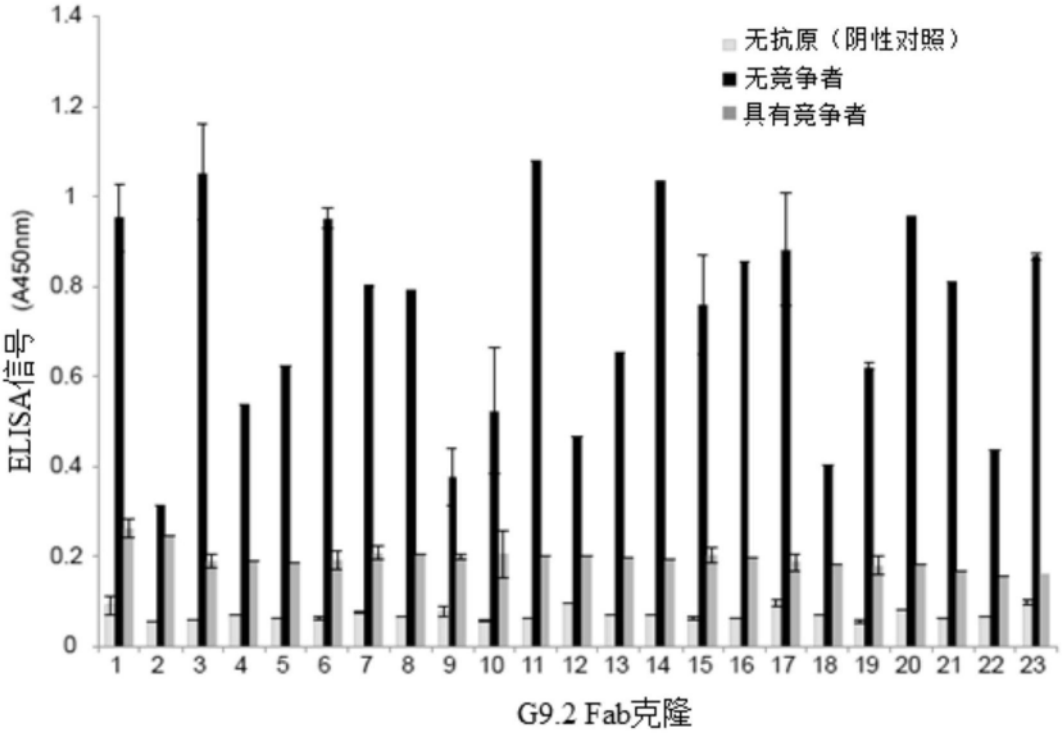

无抗原（阴性对照）
无竞争者
具有竞争者
ELISA信号 (A450nm)
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23
G9.2 Fab克隆

图1B

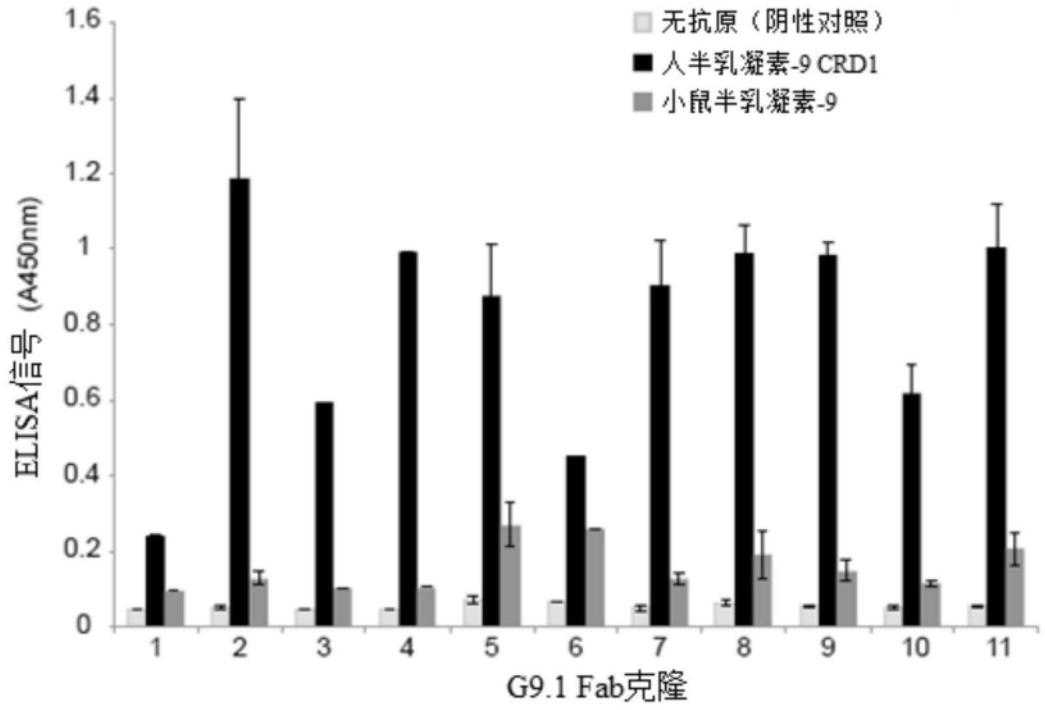

无抗原（阴性对照）
人半乳凝素-9 CRD1
小鼠半乳凝素-9
ELISA信号 (A450nm)
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
G9.1 Fab克隆

图2A

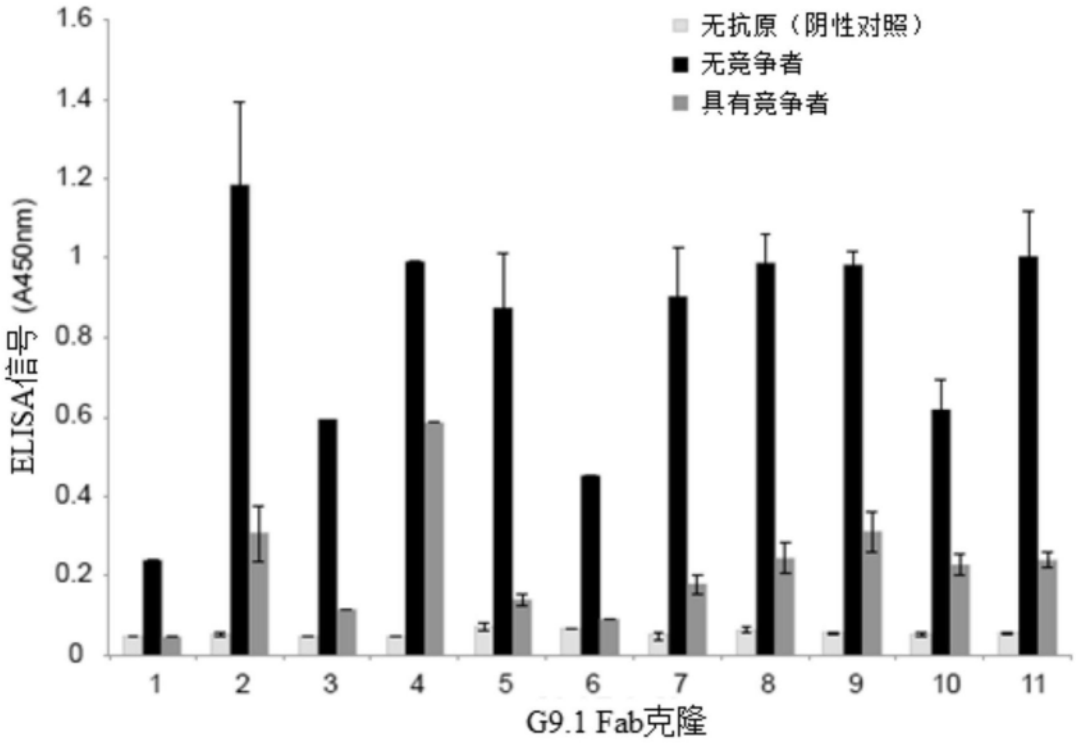

无抗原（阴性对照）
无竞争者
具有竞争者
ELISA信号 (A450nm)
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
G9.1 Fab克隆

图2B

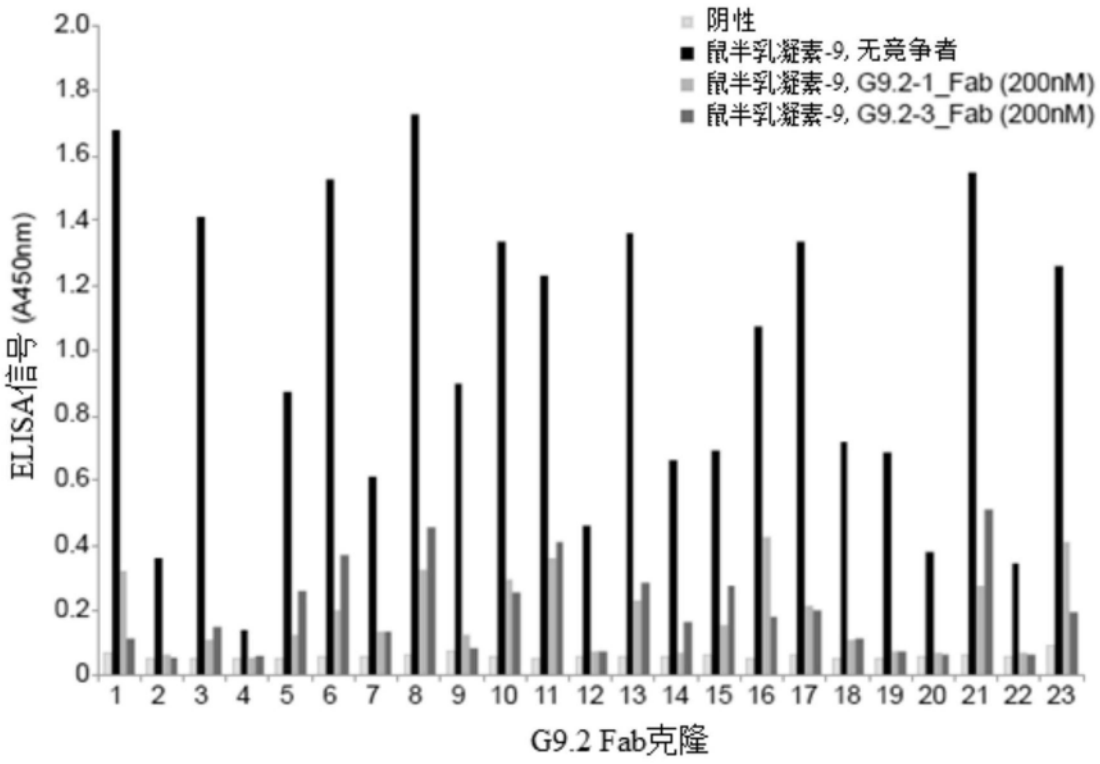

阴性
鼠半乳凝素-9, 无竞争者
鼠半乳凝素-9, G9.2-1_Fab (200nM)
鼠半乳凝素-9, G9.2-3_Fab (200nM)
ELISA信号 (A450nm)
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23
G9.2 Fab克隆

图3A

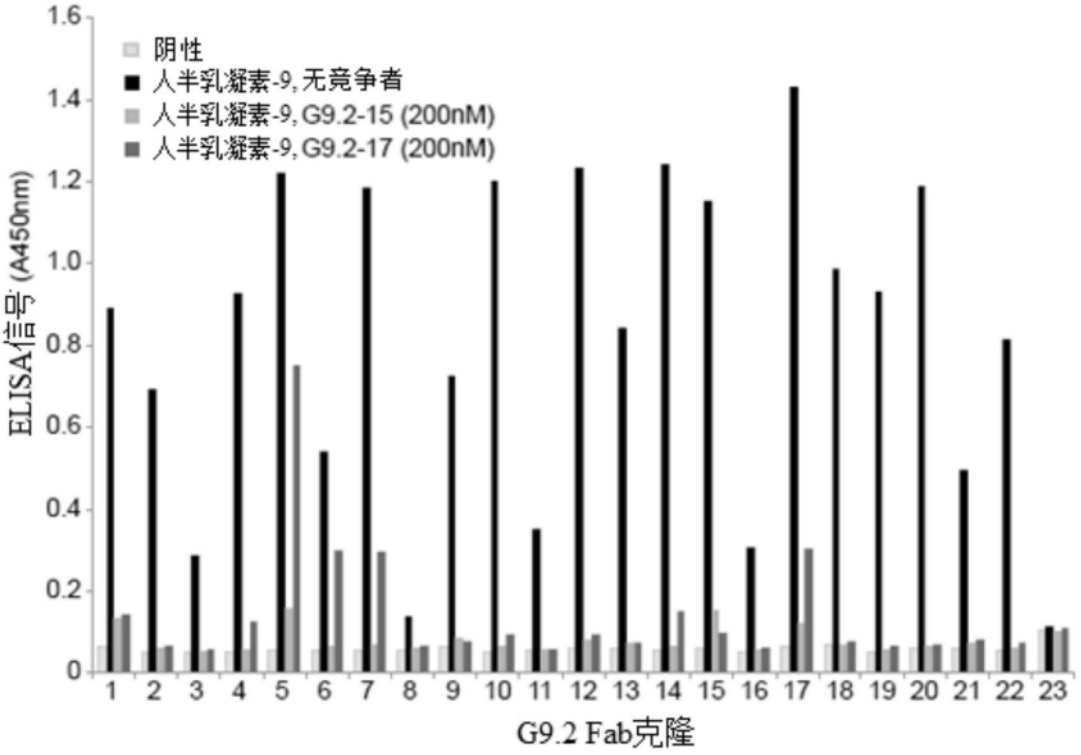
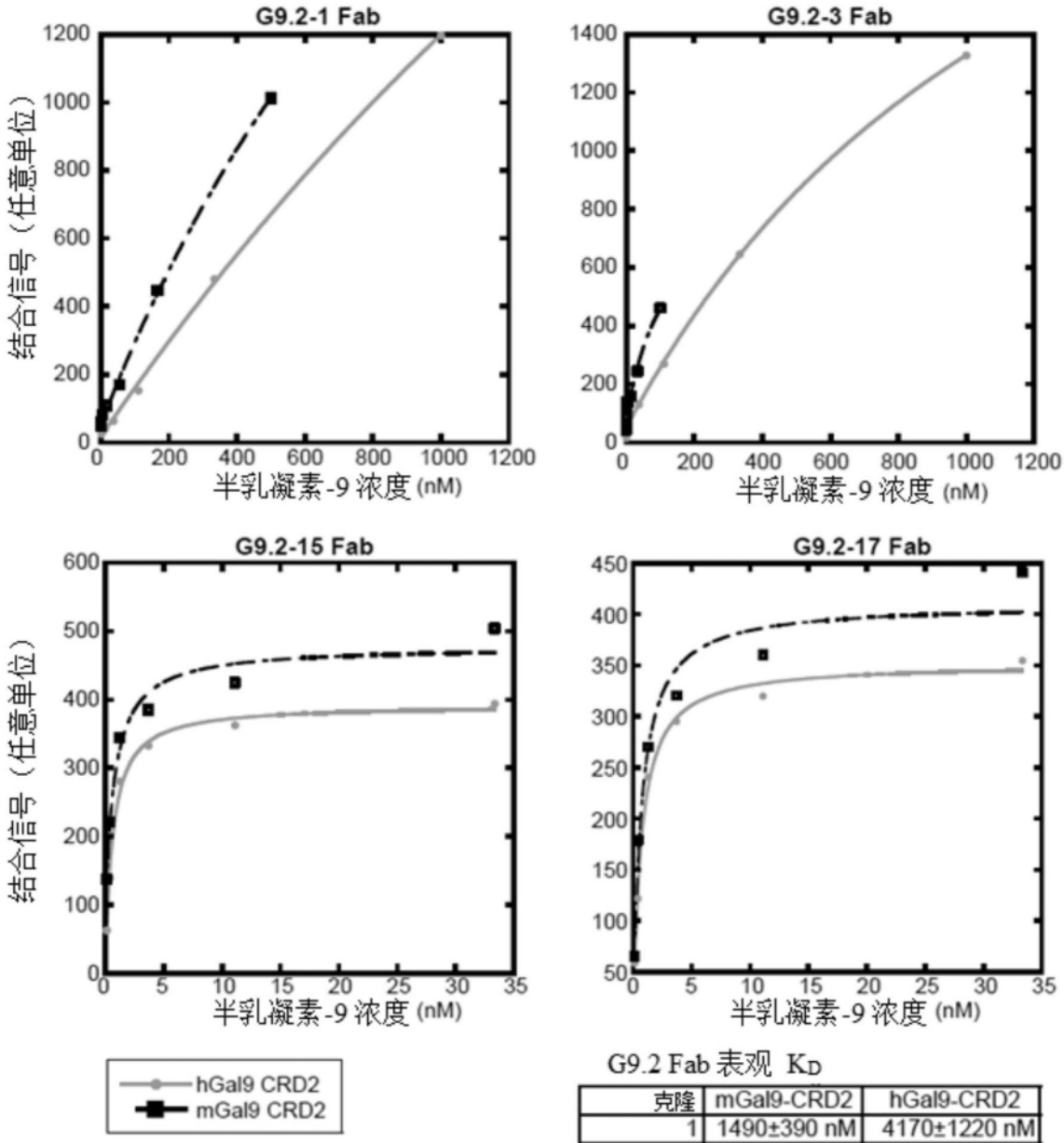

阴性
人半乳凝素-9, 无竞争者
人半乳凝素-9, G9.2-15 (200nM)
人半乳凝素-9, G9.2-17 (200nM)
ELISA信号 (A450nm)
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23
G9.2 Fab克隆

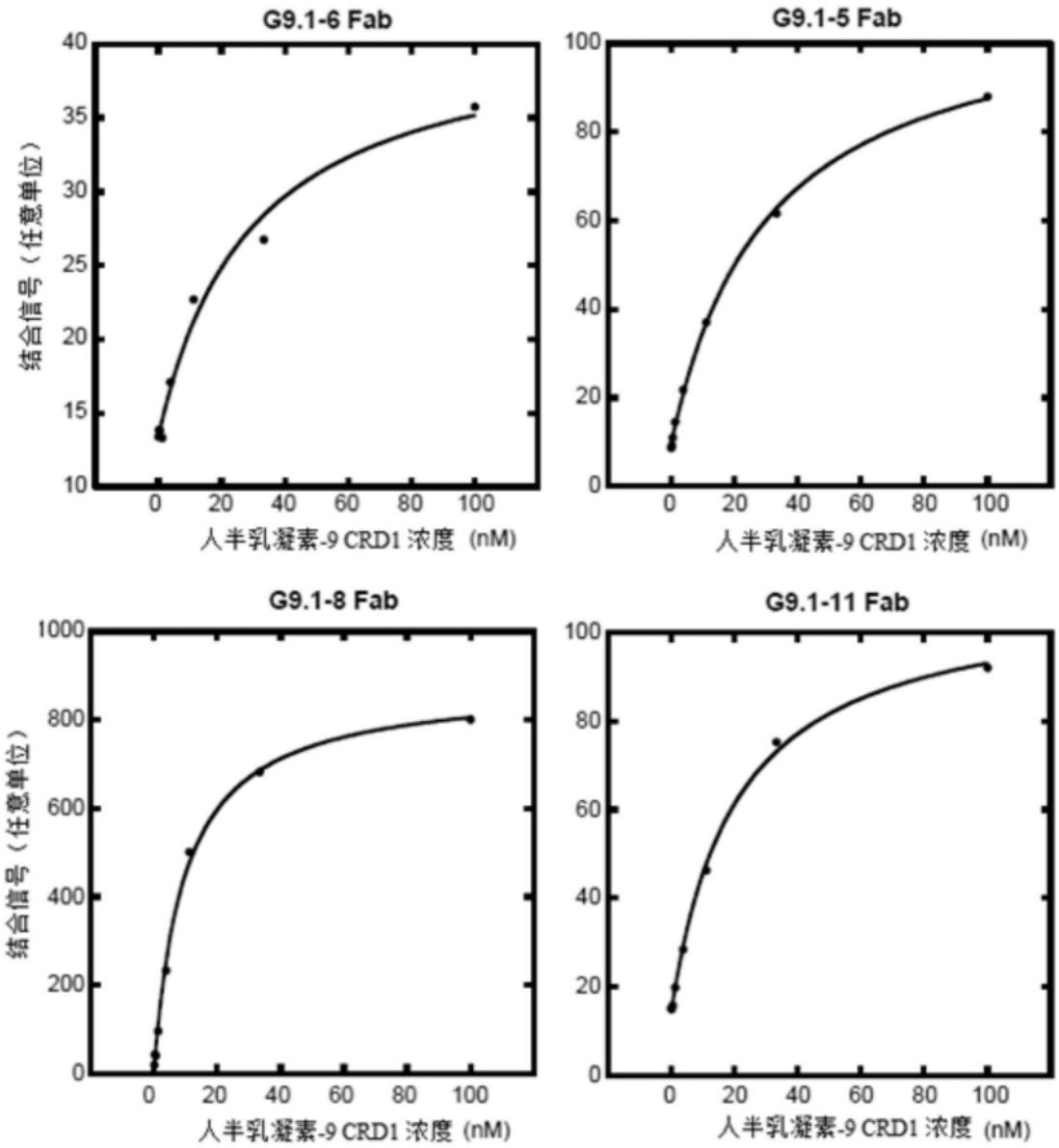
图3B



G9.2 Fab 表观 K_D

克隆	mGal9-CRD2	hGal9-CRD2
1	1490±390 nM	4170±1220 nM
3	122±89 nM	1380±210nM
15	0.65±0.16 nM	0.71±0.39 nM
17	0.55±0.14 nM	0.76±0.39 nM

图4



G9.1 Fab表观K_d	
克隆	hGal9-1
5	30.4±2.1 nM
6	29.2±8.5 nM
8	9.8±1.0 nM
11	20.4±1.7 nM

图5

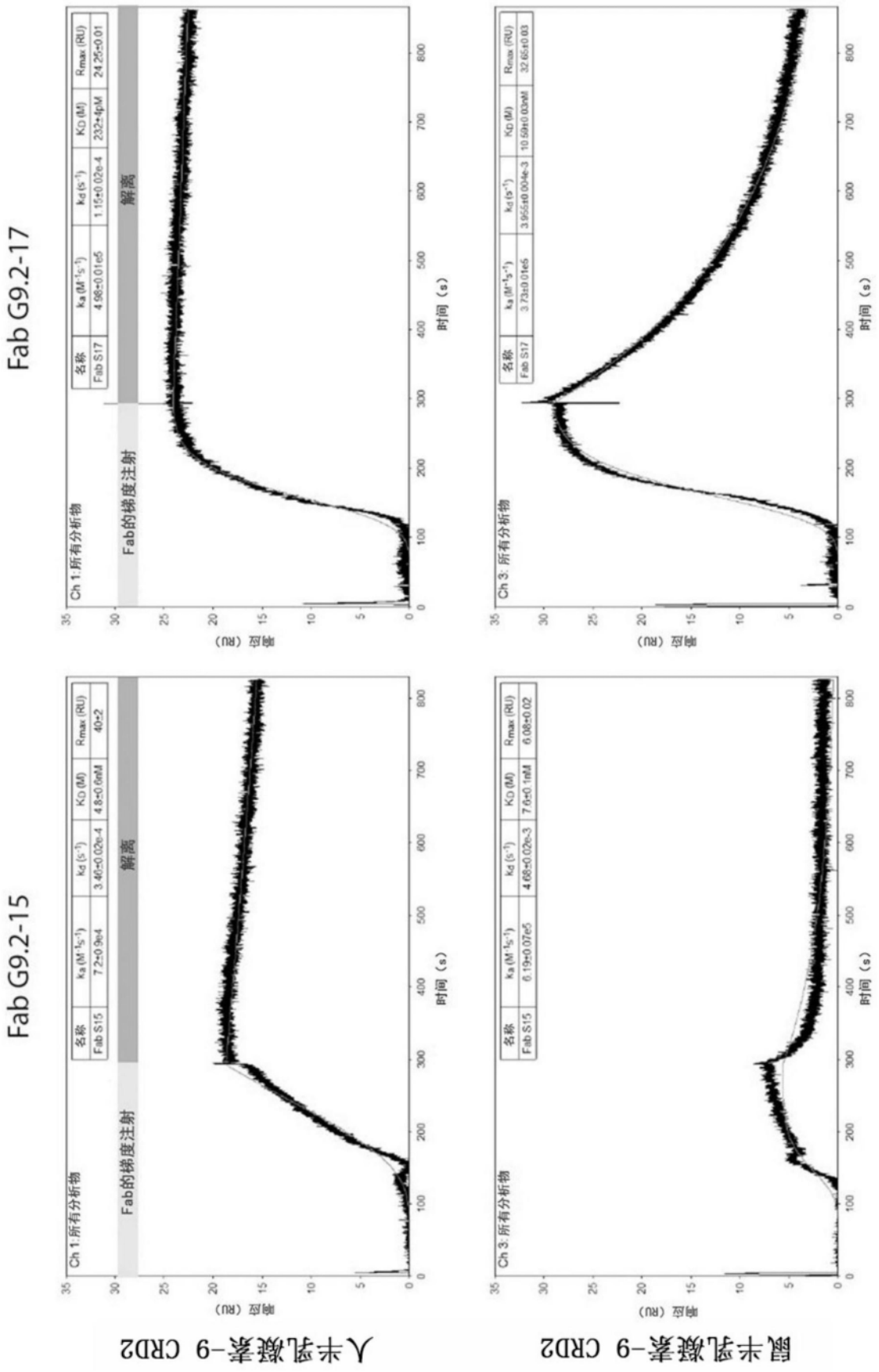

Fab G9.2-17
Fab G9.2-15
Ch 1:所有分析物
Ch 3: 所有分析物
名称
Fab S17
Fab S15
Fab的梯度注射
解离
时间（s）
响应（RU）
人半乳凝素-9 CRD2
鼠半乳凝素-9 CRD2

图6

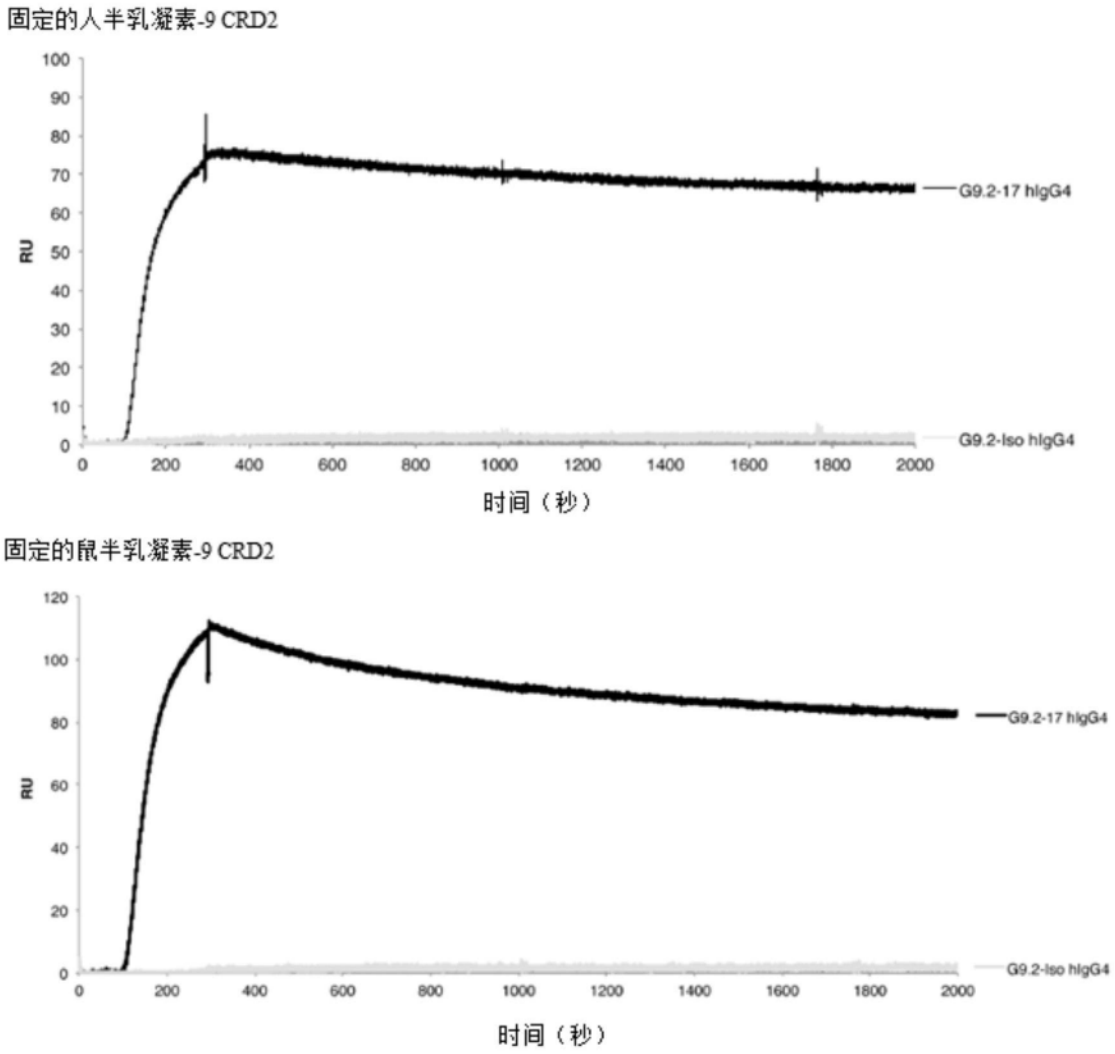

固定的人半乳凝素-9 CRD2
RU
时间（秒）
G9.2-17 hIgG4
G9.2-Iso hIgG4
固定的鼠半乳凝素-9 CRD2
RU
时间（秒）
G9.2-17 hIgG4
G9.2-Iso hIgG4

图7

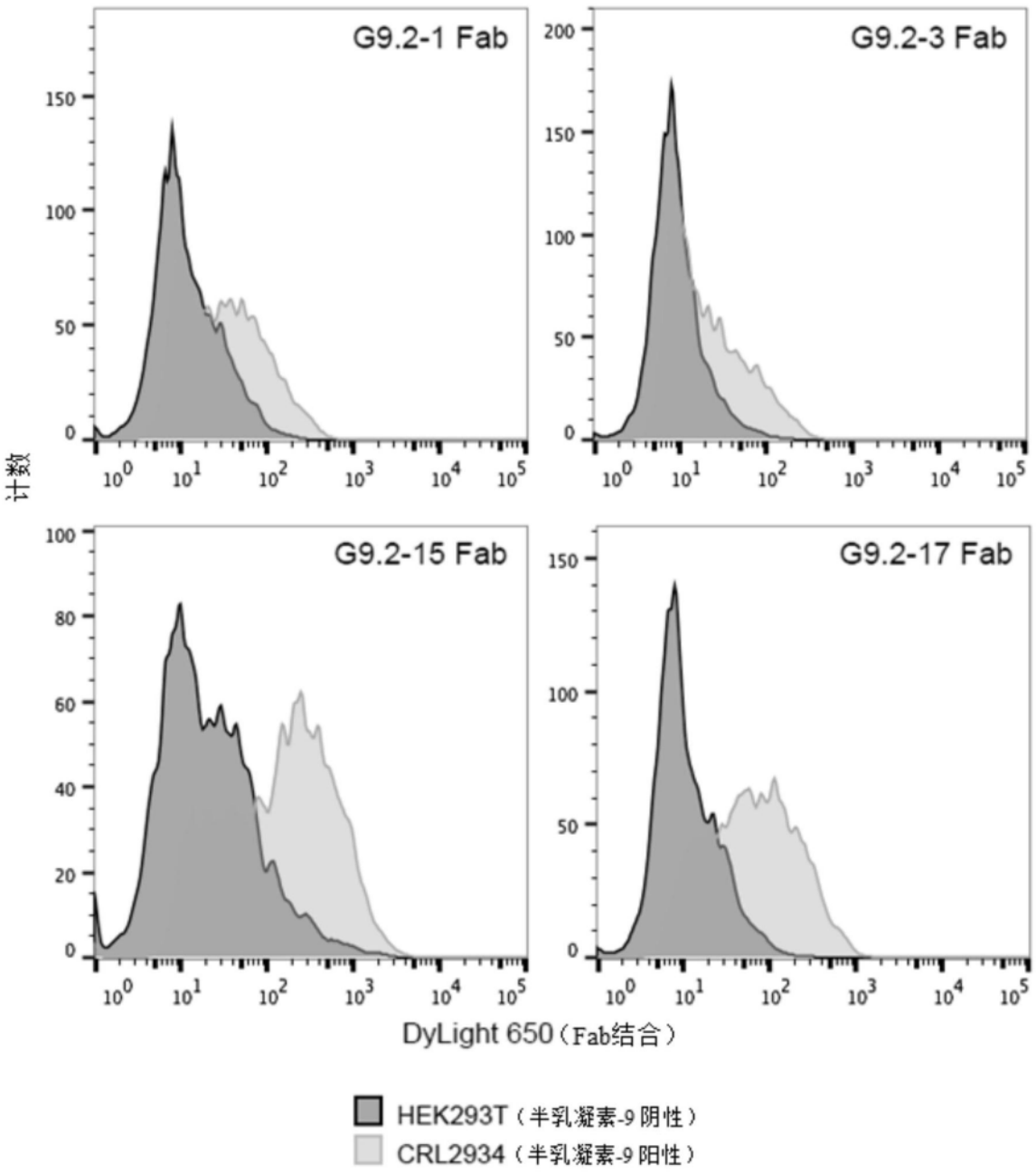

G9.2-1 Fab
G9.2-3 Fab
G9.2-15 Fab
G9.2-17 Fab
计数
DyLight 650（Fab结合）
HEK293T（半乳凝素-9 阴性）
CRL2934（半乳凝素-9 阳性）

图8

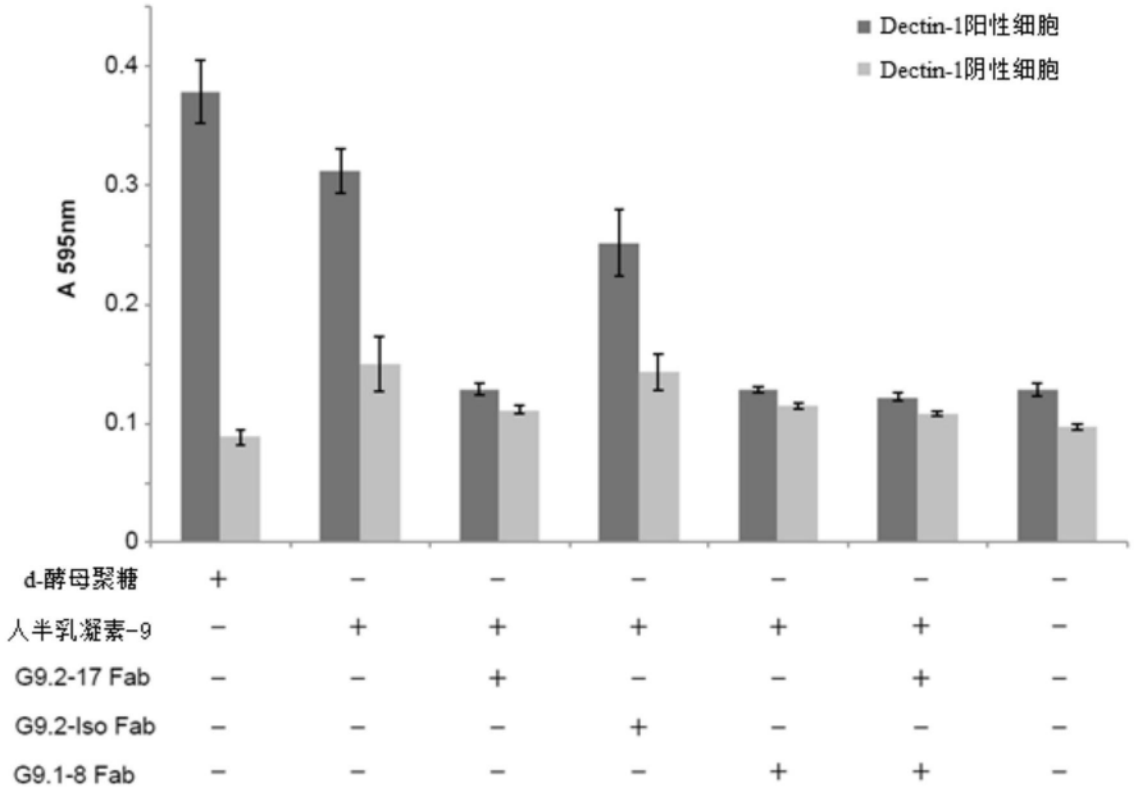

Dectin-1阳性细胞
Dectin-1阴性细胞
A 595nm
0.4
0.3
0.2
0.1
0
d-酵母聚糖 + − − − − − −
人半乳凝素-9 − + + + + + −
G9.2-17 Fab − − + − − + −
G9.2-Iso Fab − − − + − − −
G9.1-8 Fab − − − − + + −

图9

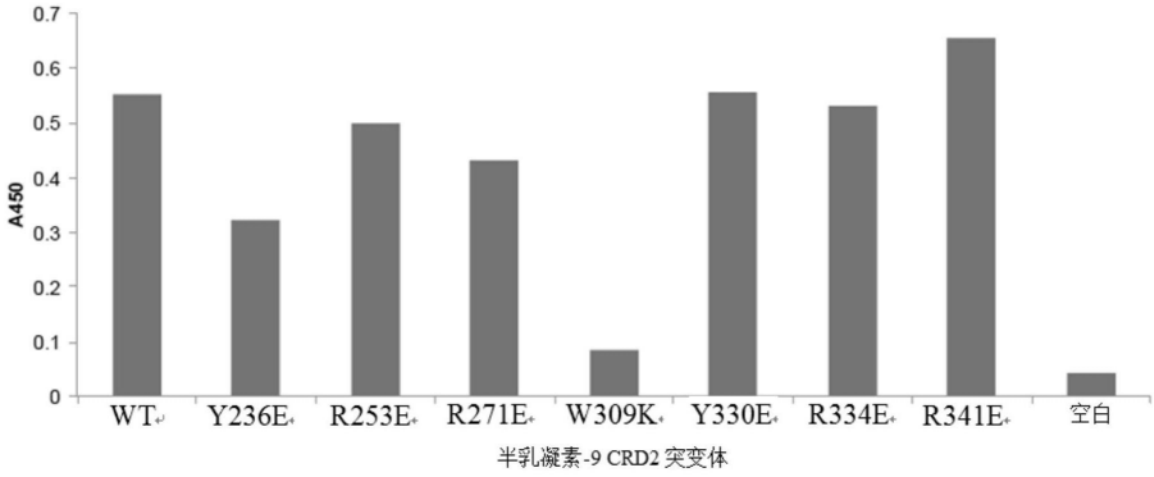

A450
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
WT
Y236E
R253E
R271E
W309K
Y330E
R334E
R341E
空白
半乳凝素-9 CRD2 突变体

图10A

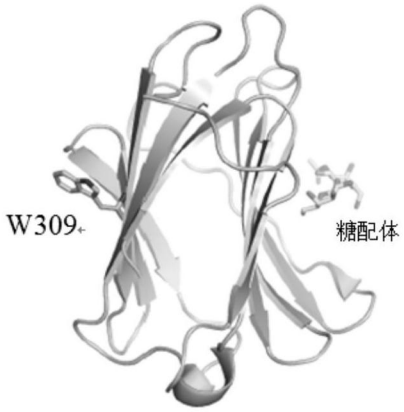

W309
糖配体

图10B

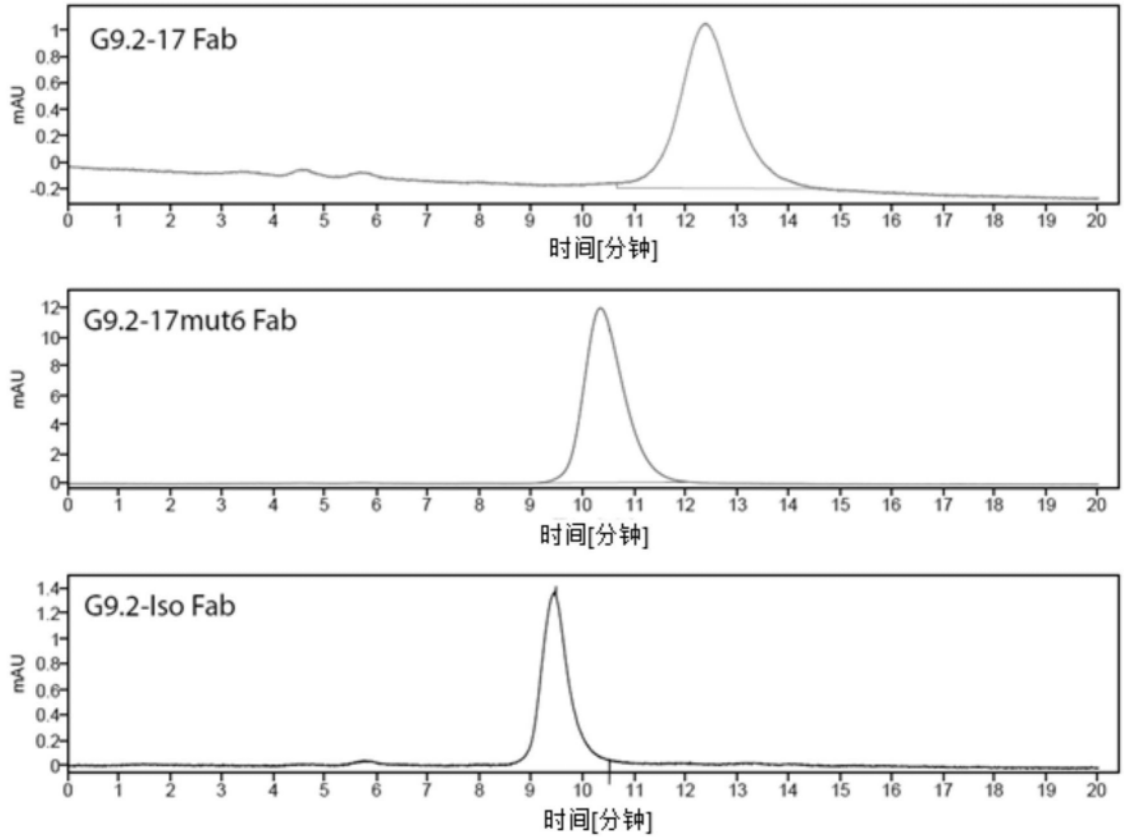

G9.2-17 Fab
mAU
时间[分钟]
G9.2-17mut6 Fab
mAU
时间[分钟]
G9.2-Iso Fab
mAU
时间[分钟]

图11

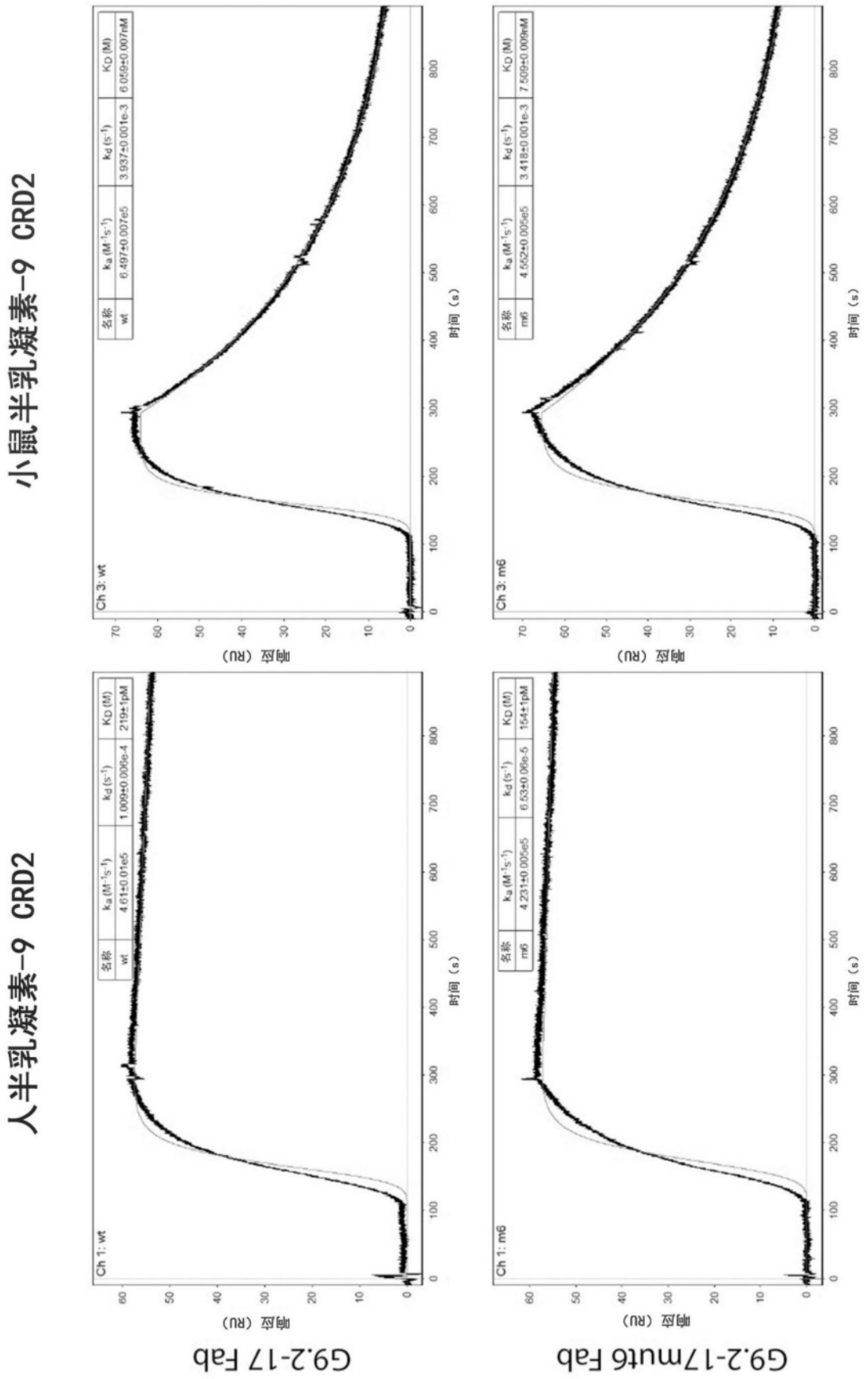

人半乳凝素-9 CRD2
小鼠半乳凝素-9 CRD2
G9.2-17 Fab
G9.2-17mut6 Fab
Ch 1: wt
Ch 3: wt
Ch 1: m6
Ch 3: m6
响应 (RU)
时间 (s)
名称 ka (M-1s-1) kd (s-1) KD (M)
wt 4.61±0.01e5 1.009±0.006e-4 219±1pM
wt 6.497±0.007e5 3.937±0.001e-3 6.059±0.007nM
m6 4.231±0.005e5 6.53±0.06e-5 154±1pM
m6 4.552±0.005e5 3.418±0.001e-3 7.509±0.009nM

图12

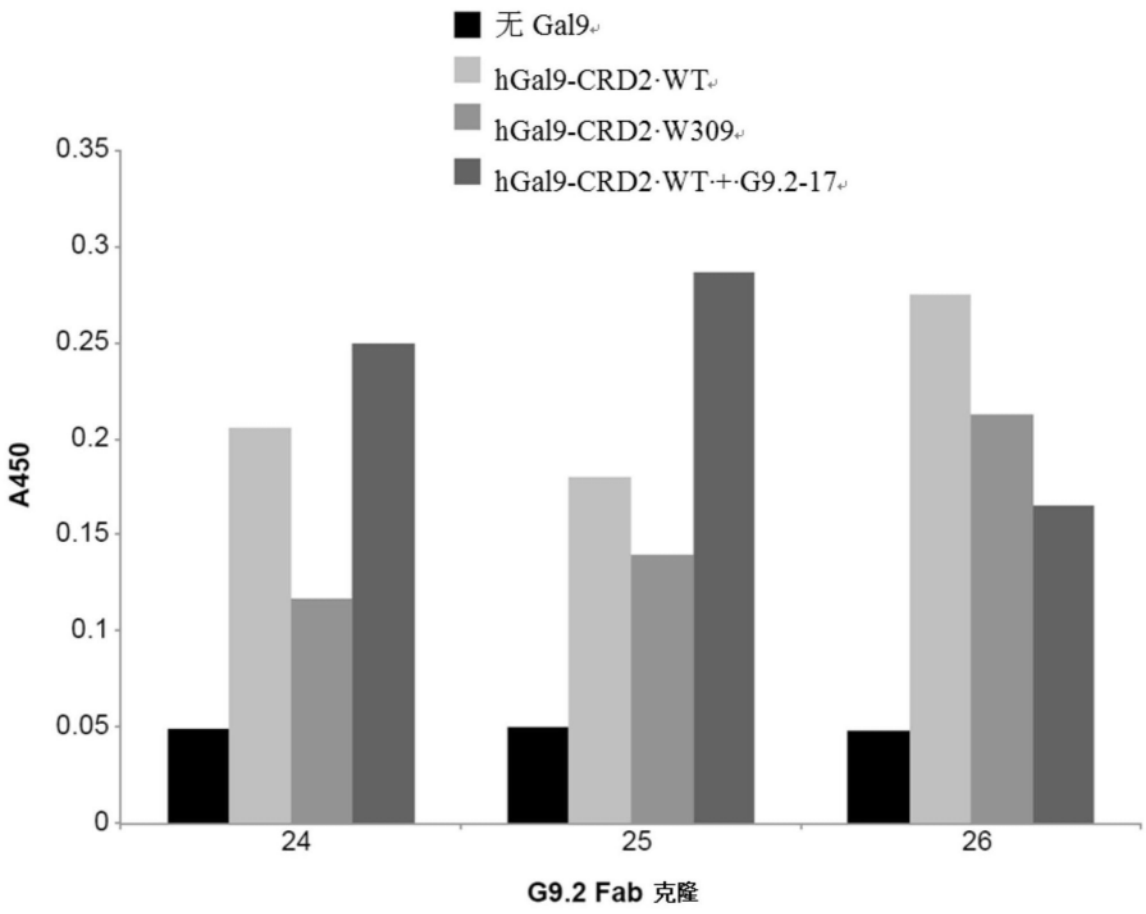

无 Gal9
hGal9-CRD2·WT
hGal9-CRD2·W309
hGal9-CRD2·WT·+·G9.2-17
A450
0.35
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
24
25
26
G9.2 Fab 克隆

图13

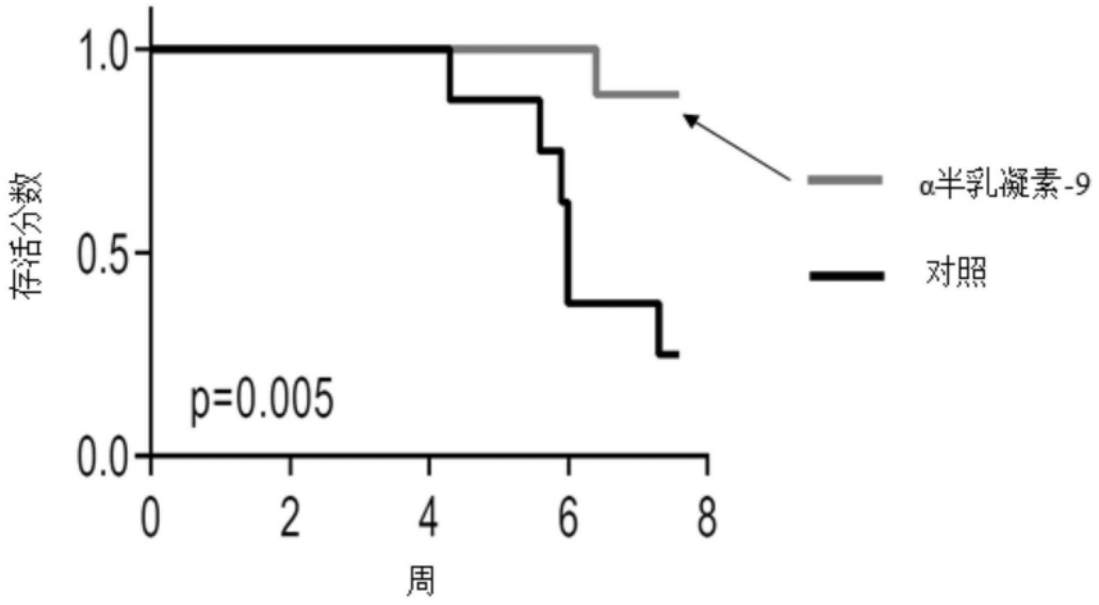

1.0
0.5
0.0
存活分数
p=0.005
0
2
4
6
8
周
α半乳凝素-9
对照

图14

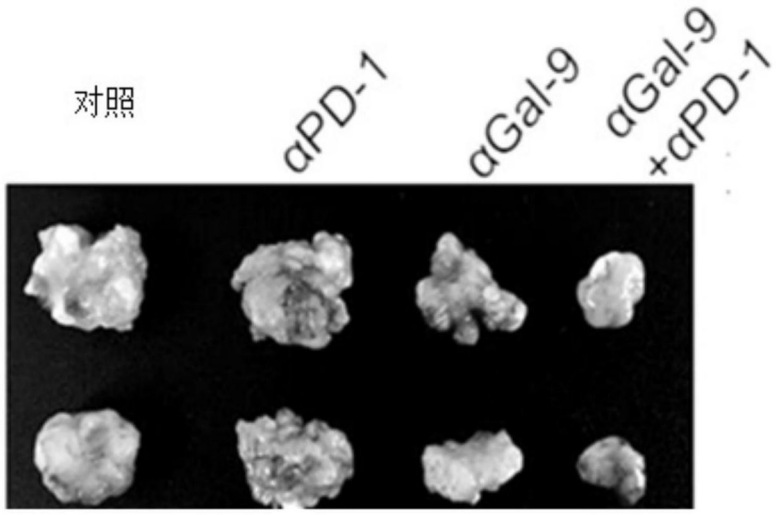

对照
αPD-1
αGal-9
αGal-9
+αPD-1

图15

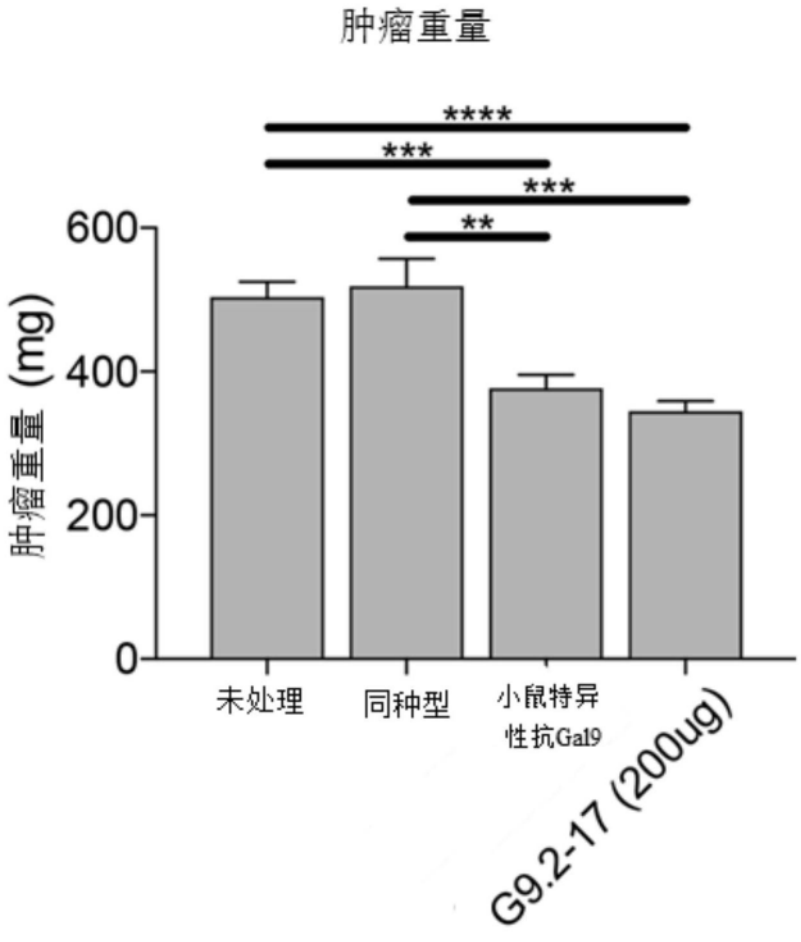

肿瘤重量
****
***
***
**
600
400
200
0
肿瘤重量 (mg)
未处理
同种型
小鼠特异
性抗Gal9
G9.2-17 (200ug)

图16

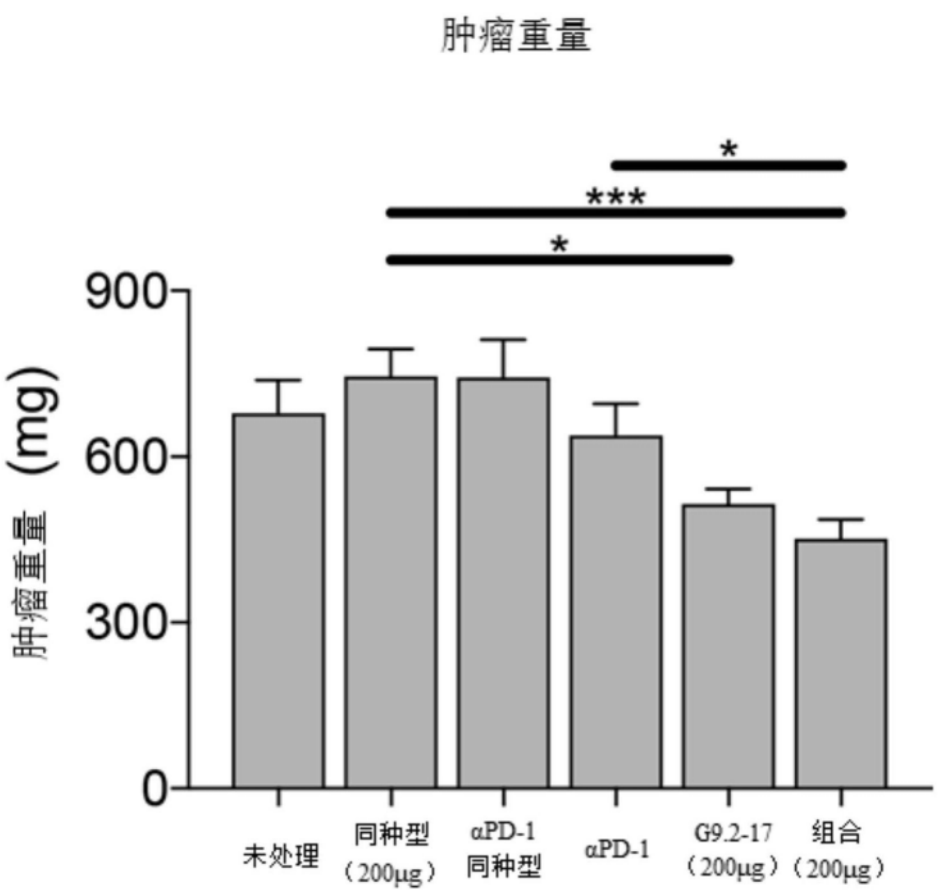

肿瘤重量
*
***
*
900
600
300
0
肿瘤重量 (mg)
未处理
同种型
（200μg）
αPD-1
同种型
αPD-1
G9.2-17
（200μg）
组合
（200μg）

图17

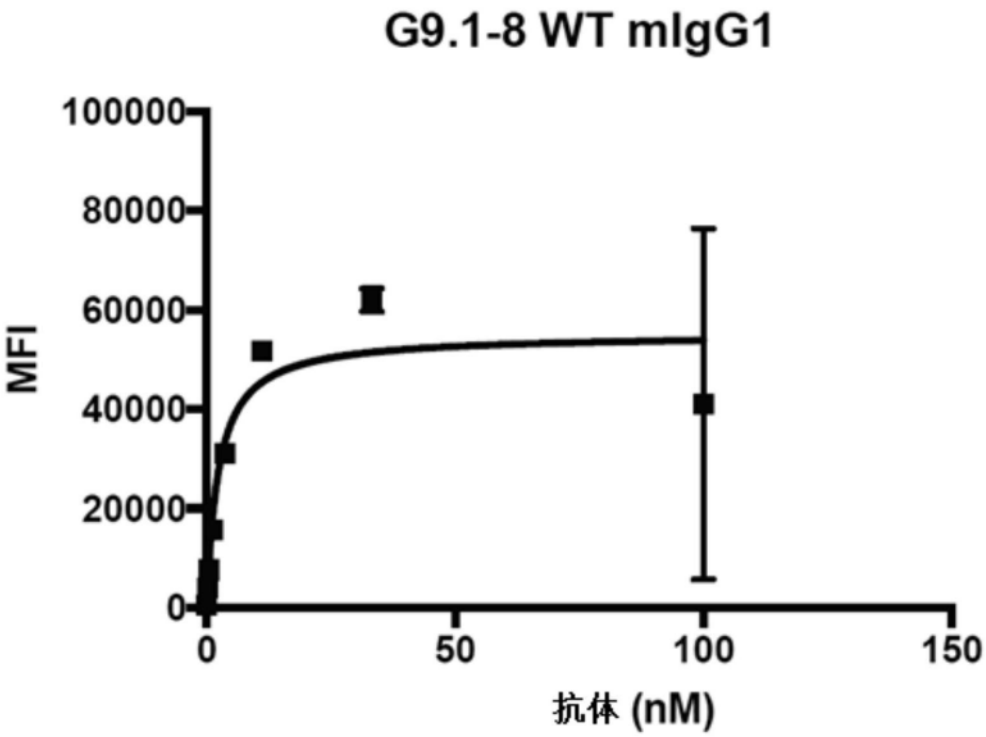

G9.1-8 WT mIgG1
MFI
100000
80000
60000
40000
20000
0
0
50
100
150
抗体 (nM)

图18A

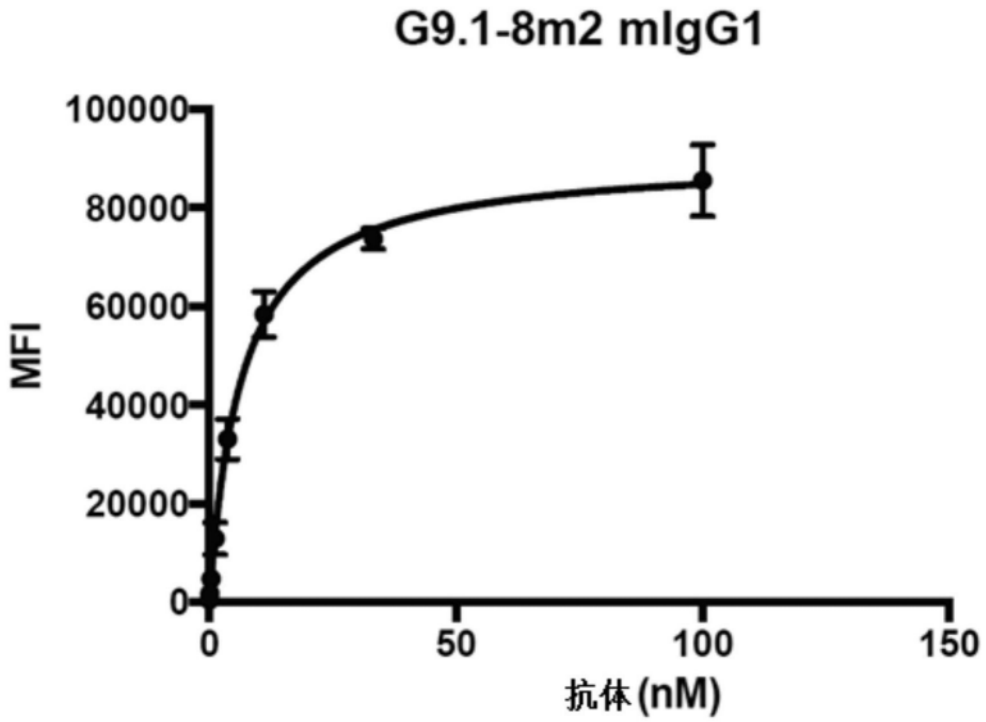

G9.1-8m2 mIgG1
MFI
100000
80000
60000
40000
20000
0
0
50
100
150
抗体 (nM)

图18B

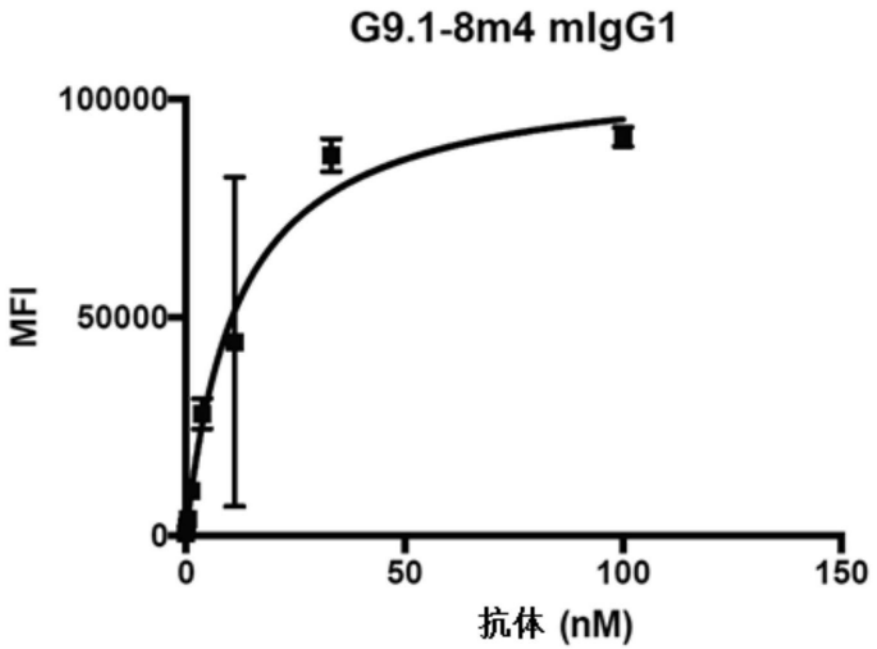

G9.1-8m4 mIgG1
100000
50000
0
MFI
0
50
100
150
抗体 (nM)

图18C

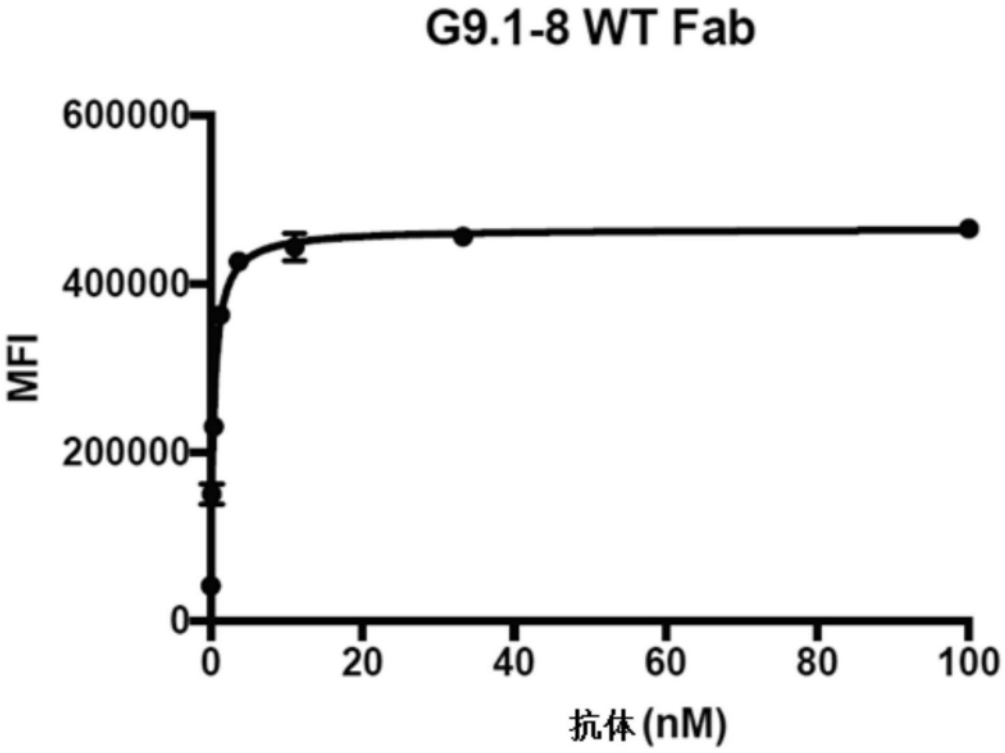

G9.1-8 WT Fab
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
80
100
抗体(nM)

图19A

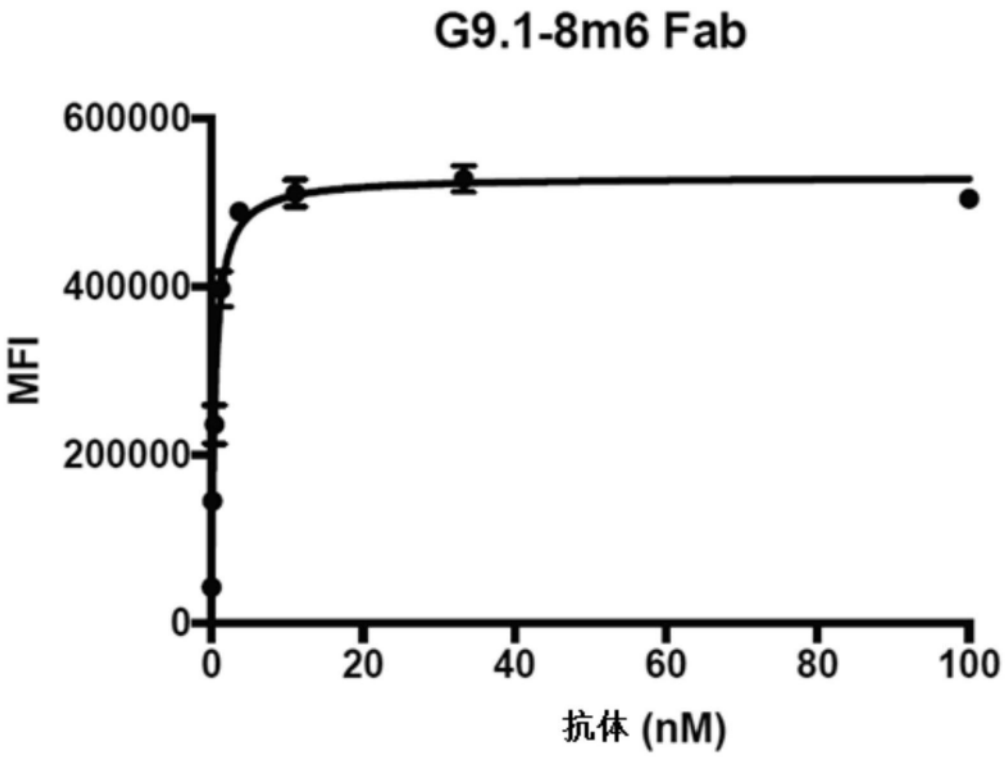

G9.1-8m6 Fab
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
80
100
抗体 (nM)

图19B

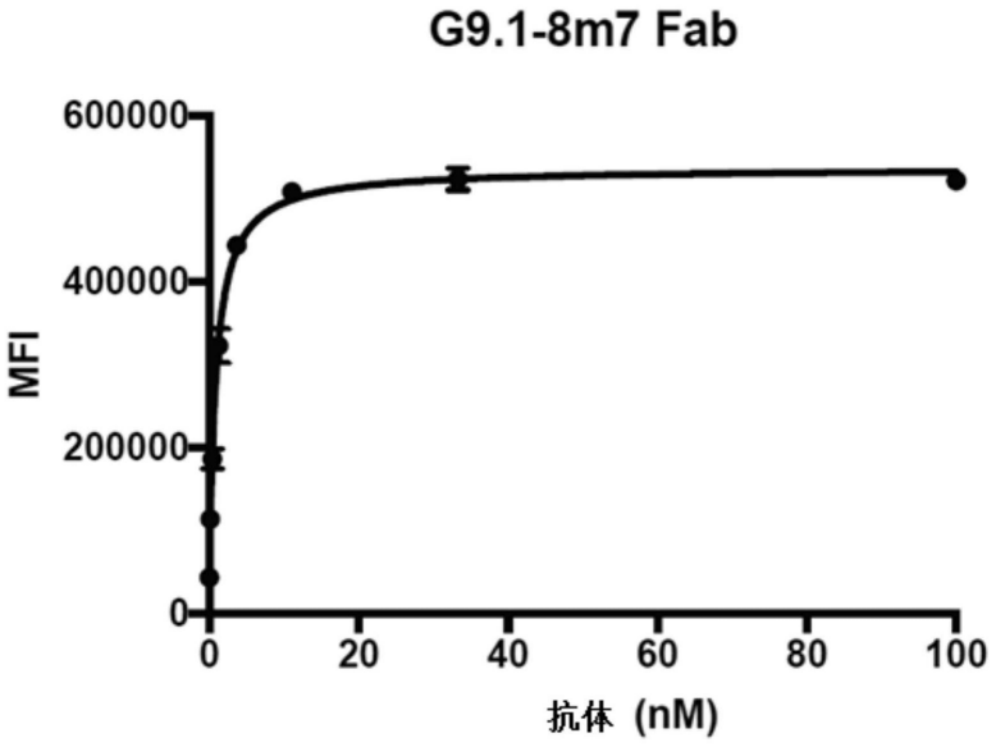

G9.1-8m7 Fab
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
80
100
抗体 (nM)

图19C

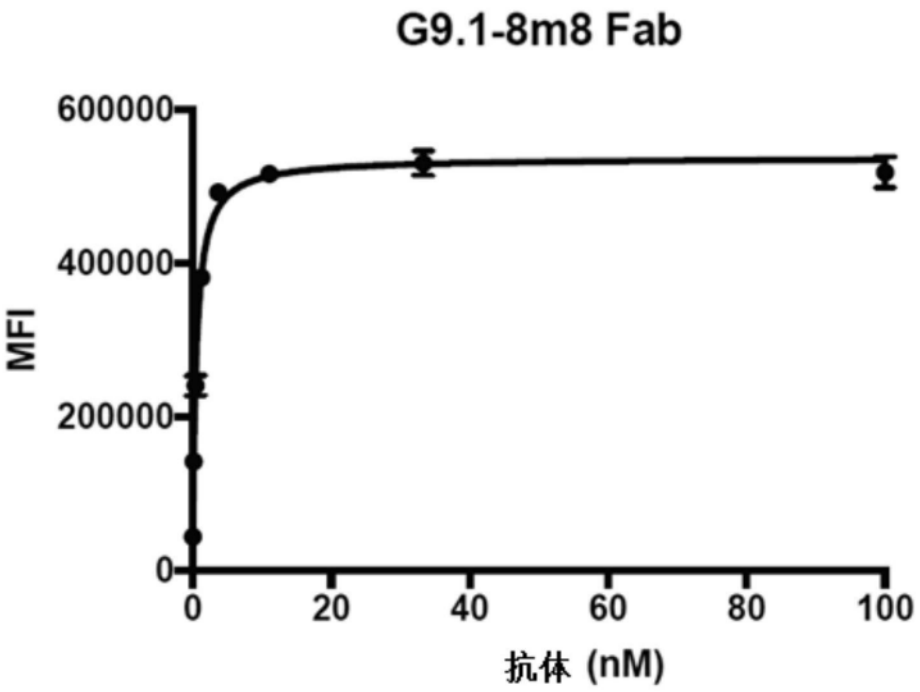

G9.1-8m8 Fab
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
80
100
抗体 (nM)

图19D

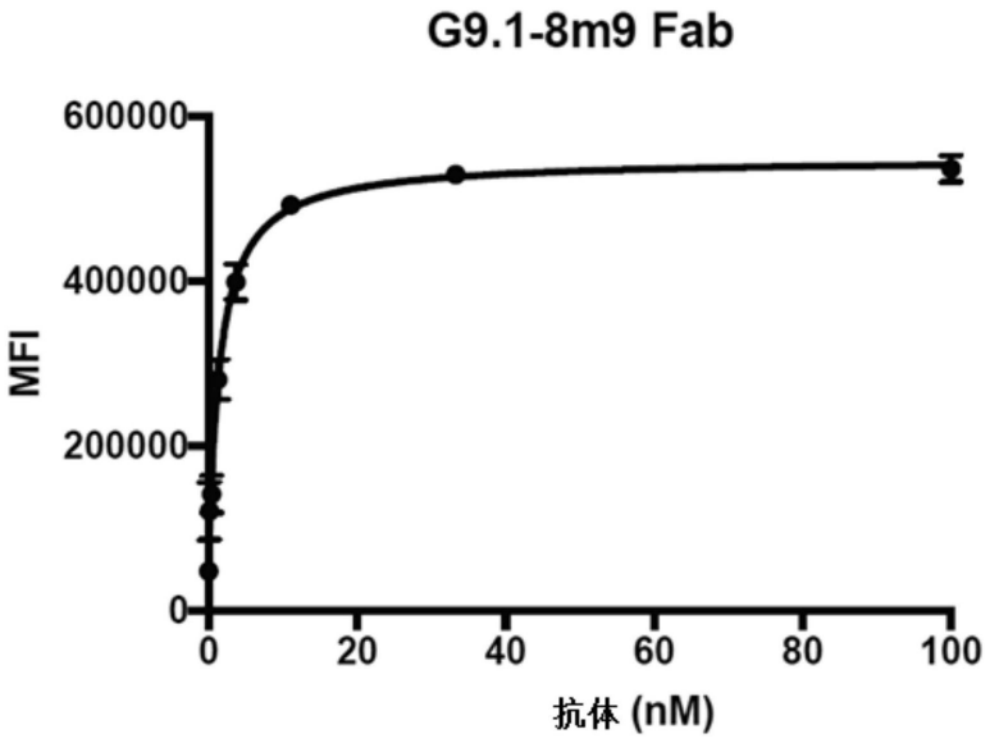

G9.1-8m9 Fab
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
80
100
抗体 (nM)

图19E

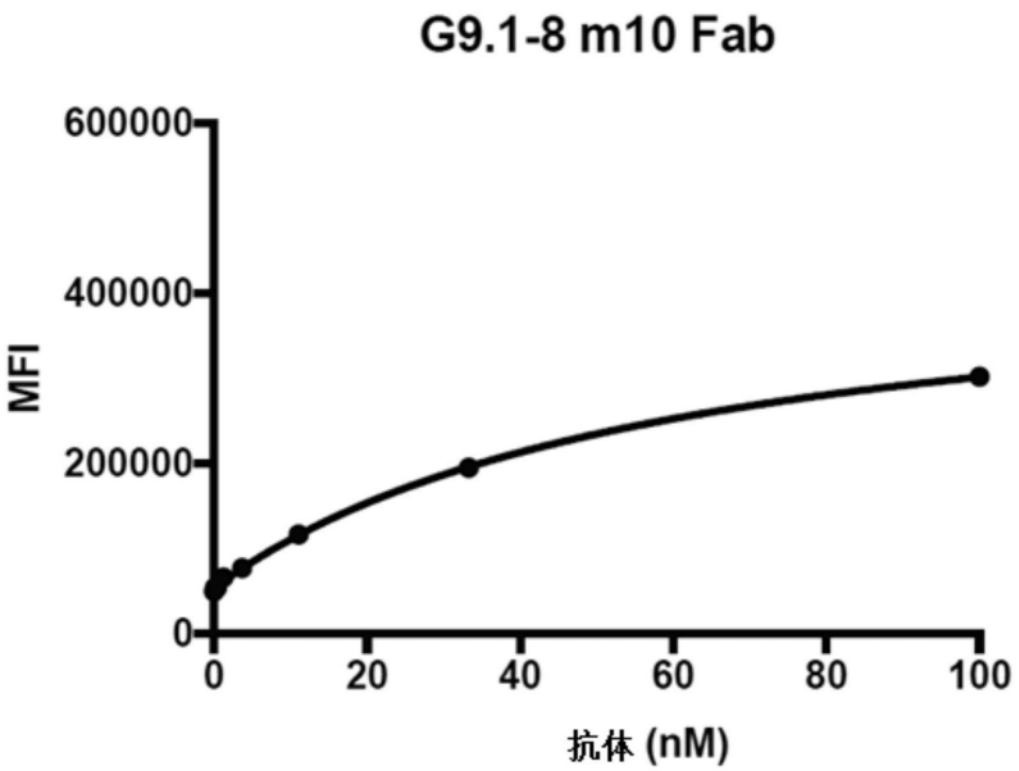

G9.1-8 m10 Fab
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
80
100
抗体 (nM)

图19F

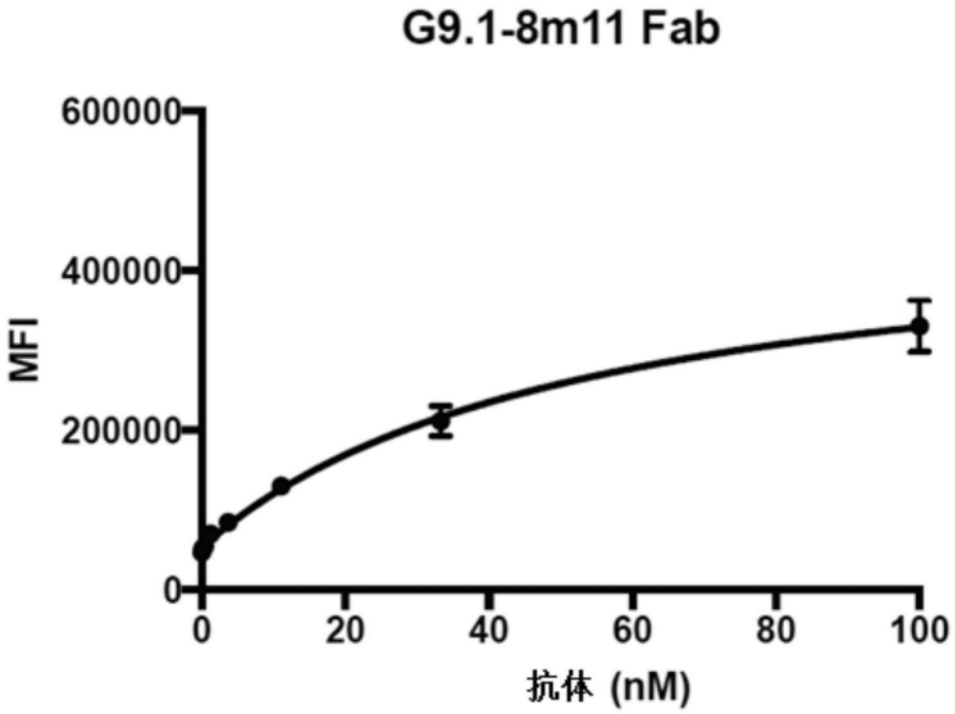

G9.1-8m11 Fab
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
80
100
抗体 (nM)

图19G

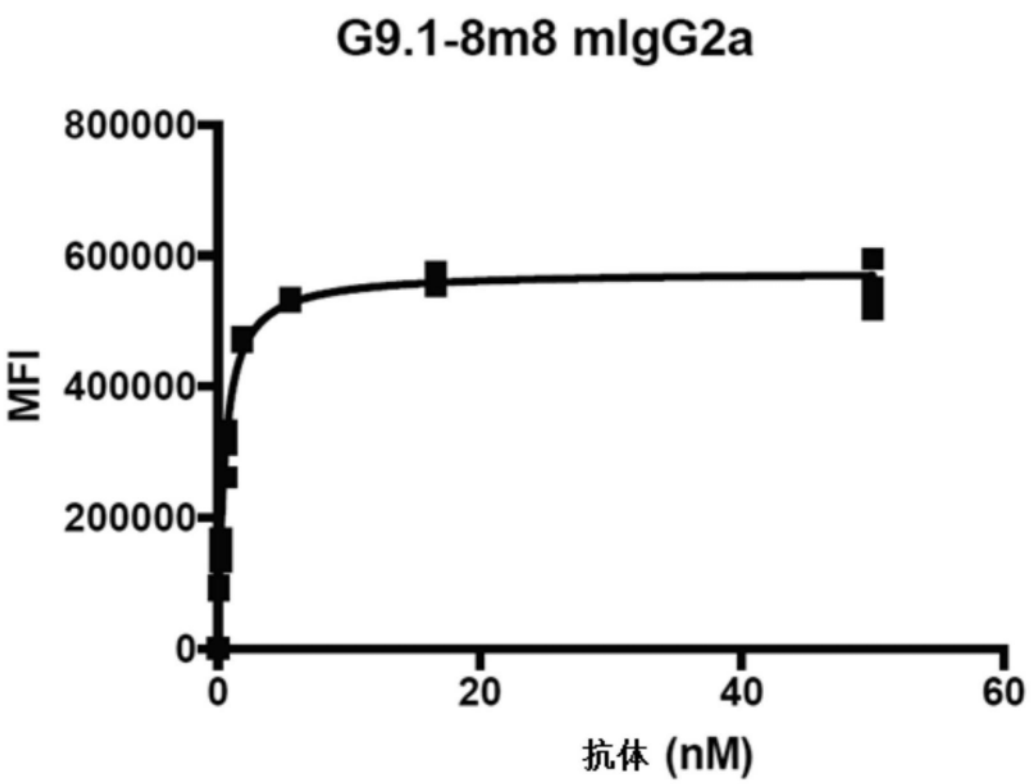

G9.1-8m8 mIgG2a
800000
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
抗体 (nM)

图20A

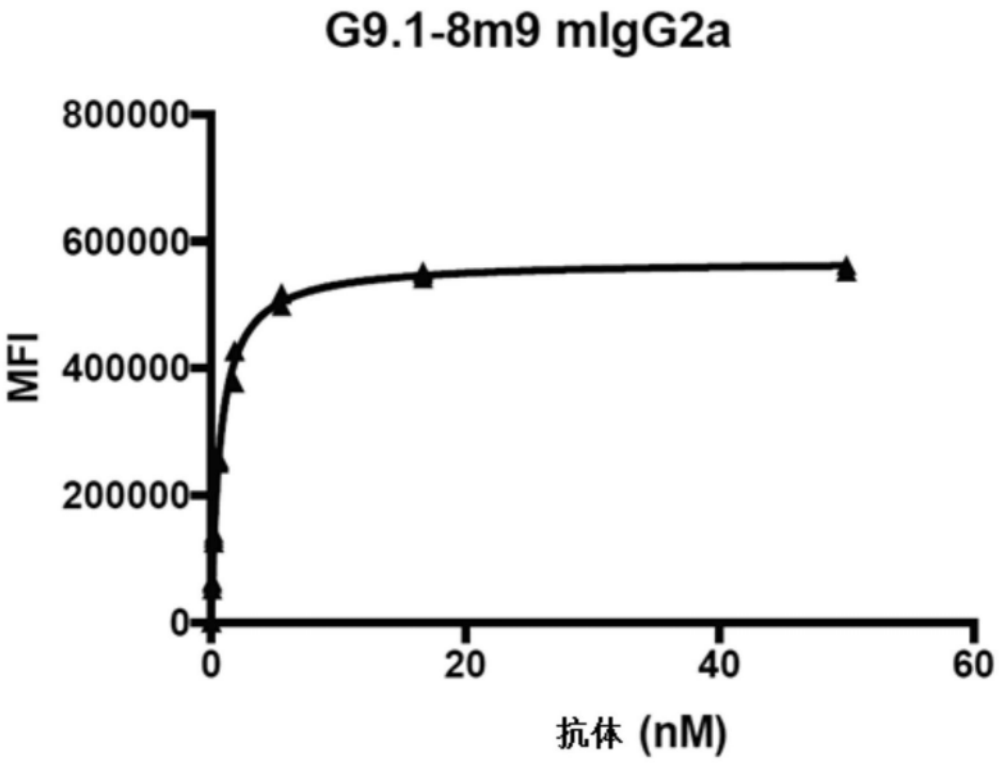

G9.1-8m9 mIgG2a
800000
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
抗体 (nM)

图20B

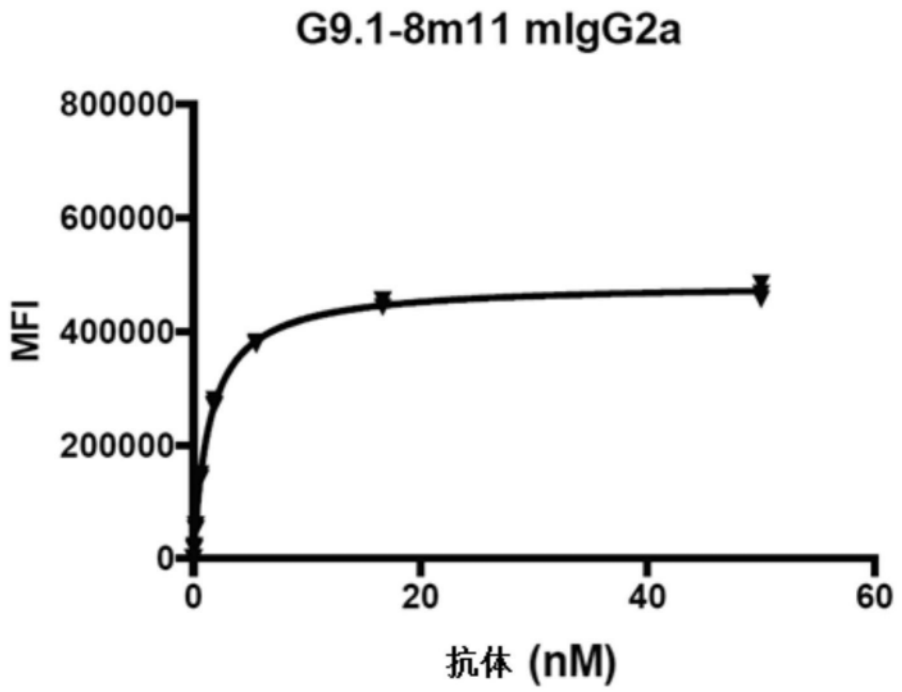

G9.1-8m11 mIgG2a
800000
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
抗体 (nM)

图20C

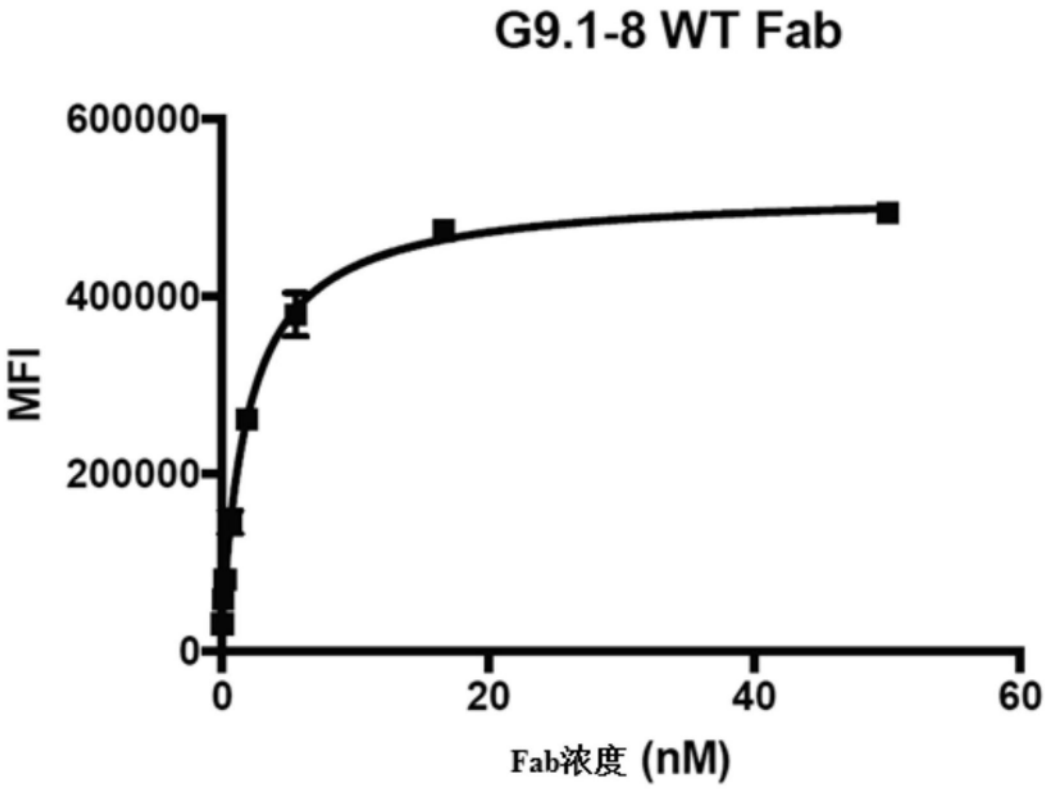

G9.1-8 WT Fab
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
Fab浓度 (nM)

图21A

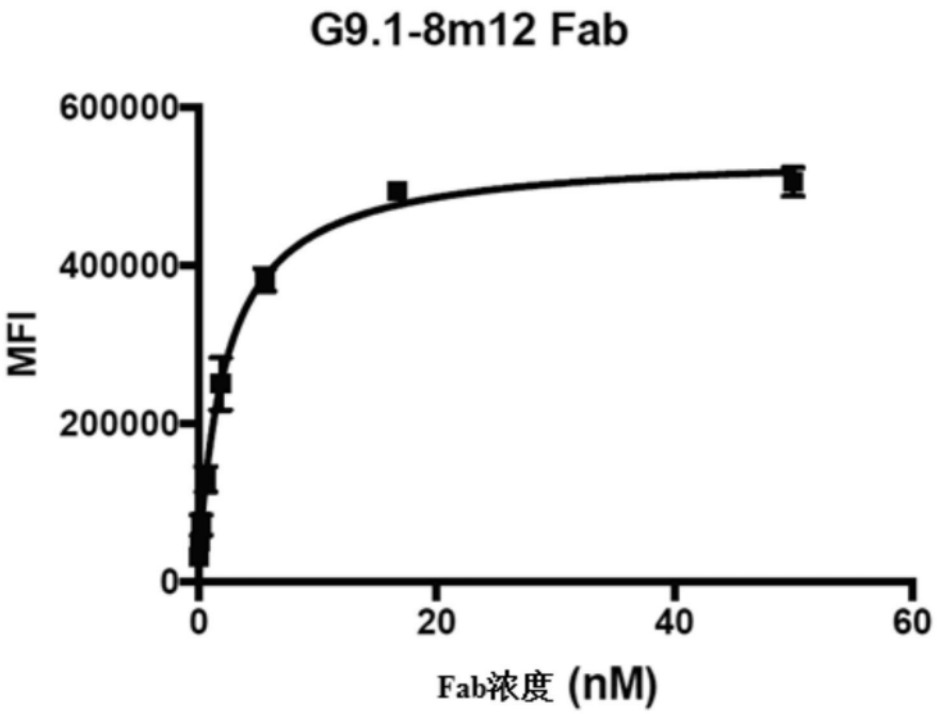

G9.1-8m12 Fab
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
Fab浓度 (nM)

图21B

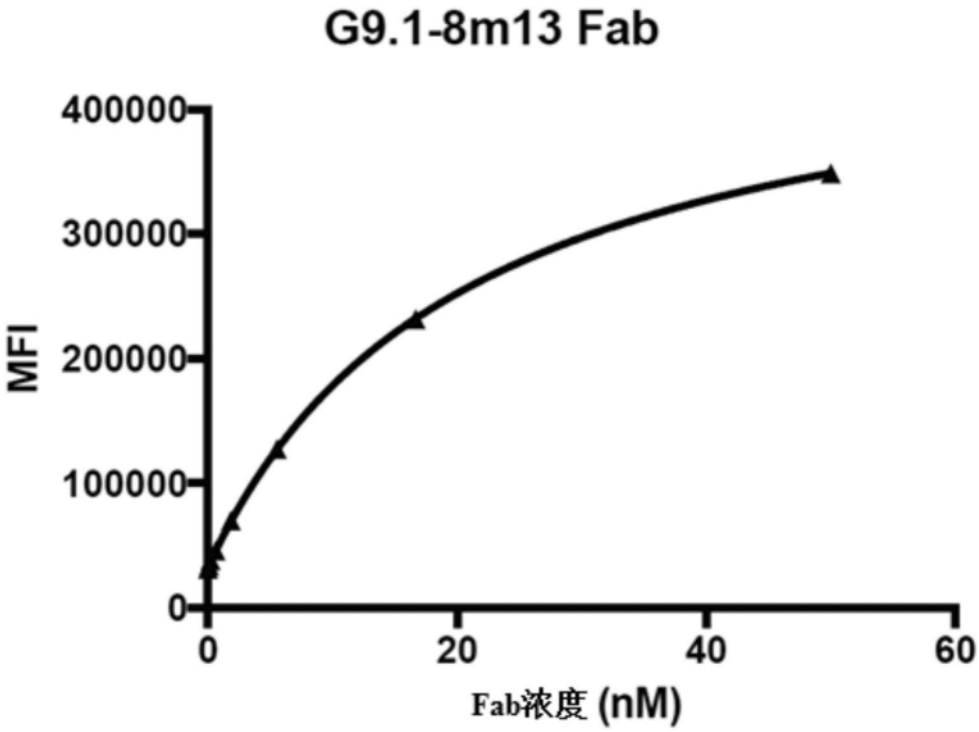

G9.1-8m13 Fab
400000
300000
200000
100000
0
MFI
0
20
40
60
Fab浓度 (nM)

图21C

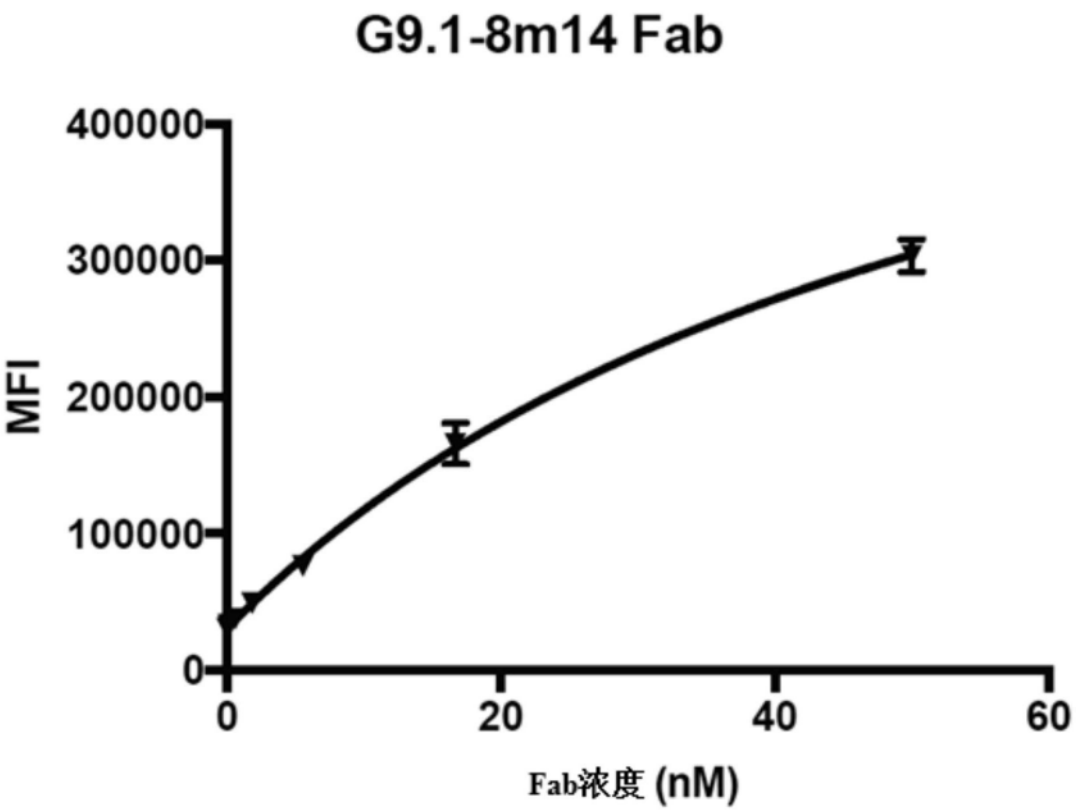

G9.1-8m14 Fab
400000
300000
200000
100000
0
MFI
0
20
40
60
Fab浓度 (nM)

图21D

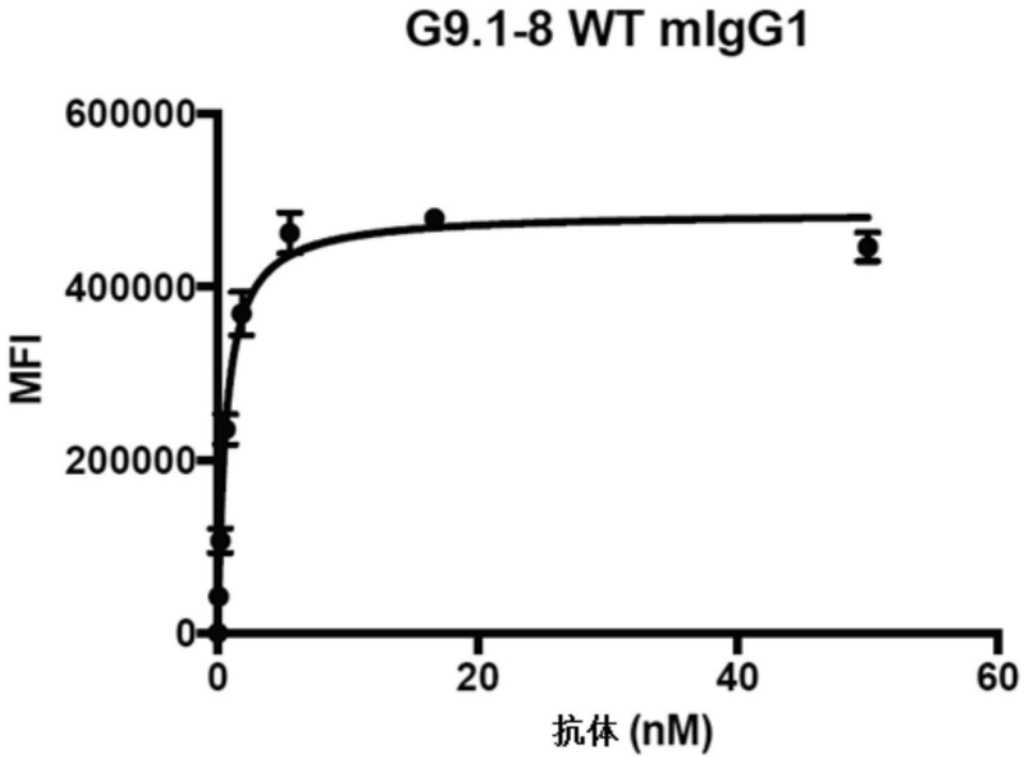

G9.1-8 WT mIgG1
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
抗体 (nM)

图22A

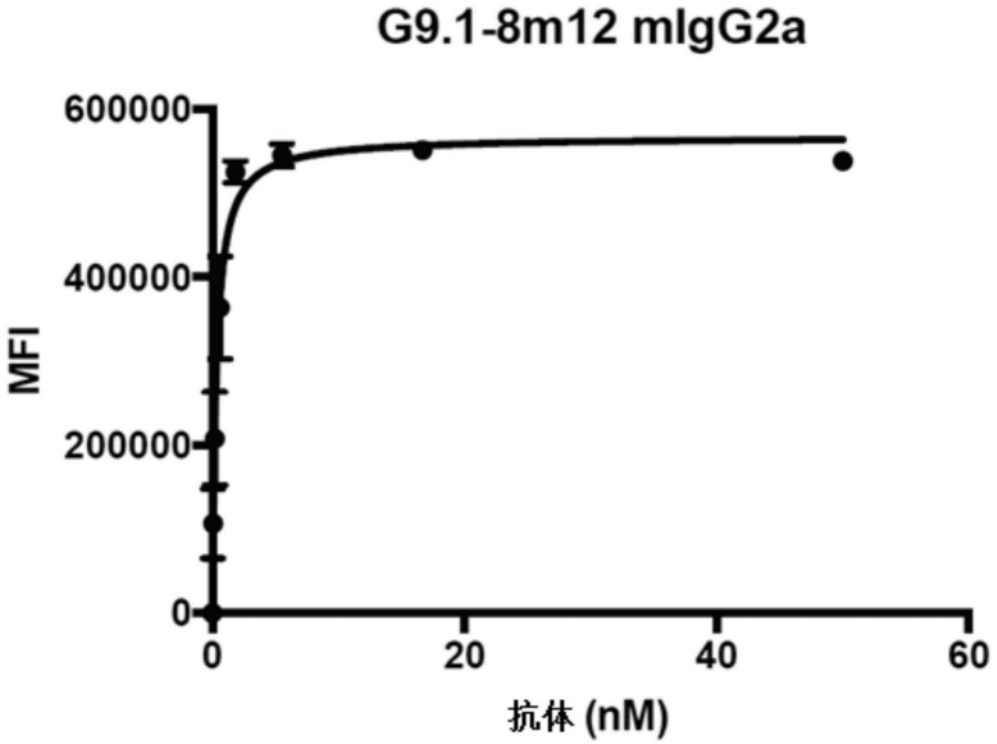

G9.1-8m12 mIgG2a
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
抗体 (nM)

图22B

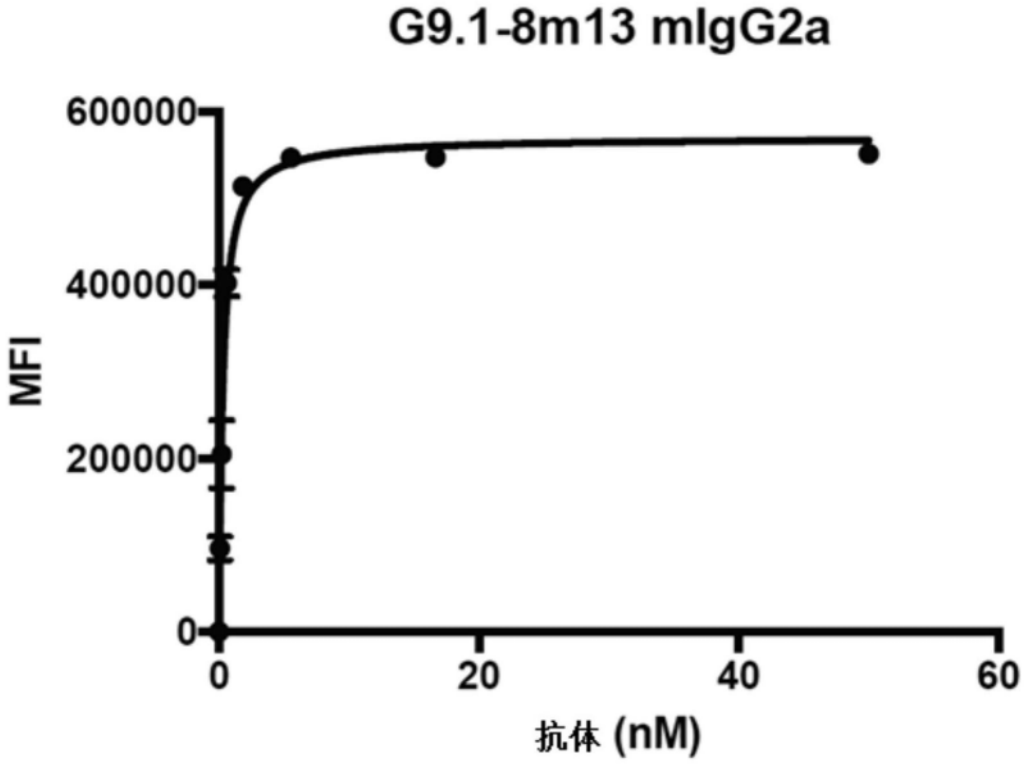

G9.1-8m13 mIgG2a
600000
400000
200000
0
MFI
0
20
40
60
抗体 (nM)

图22C

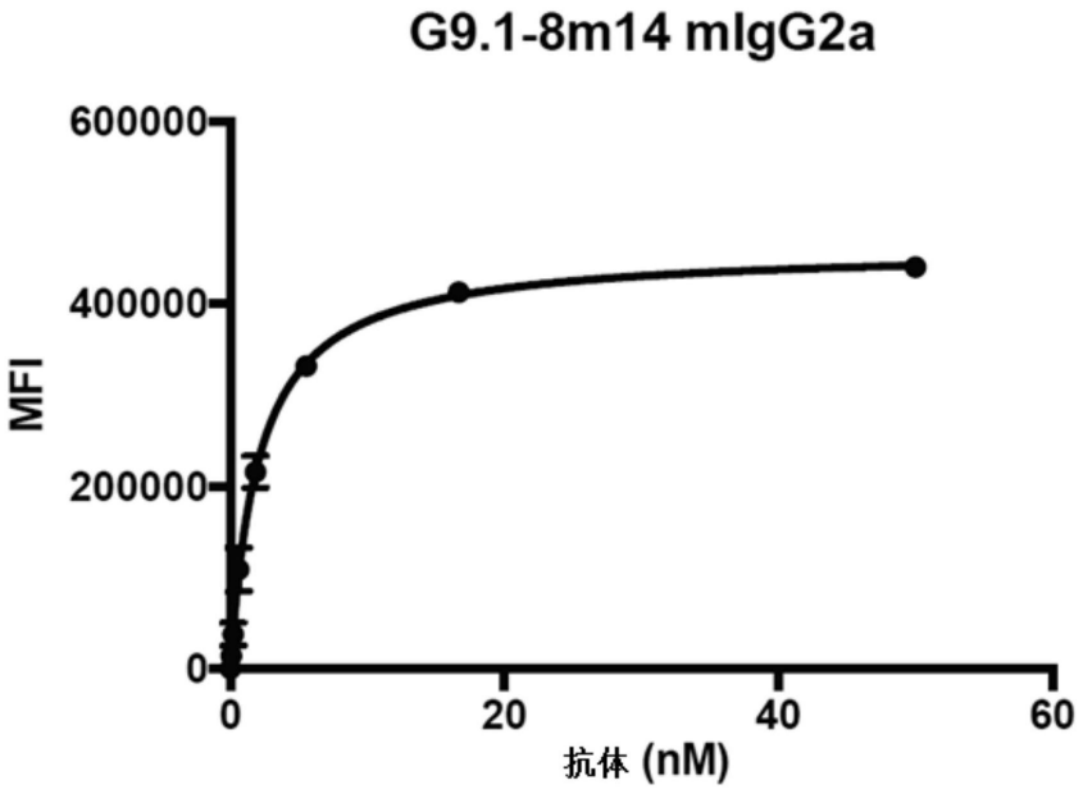


图22D

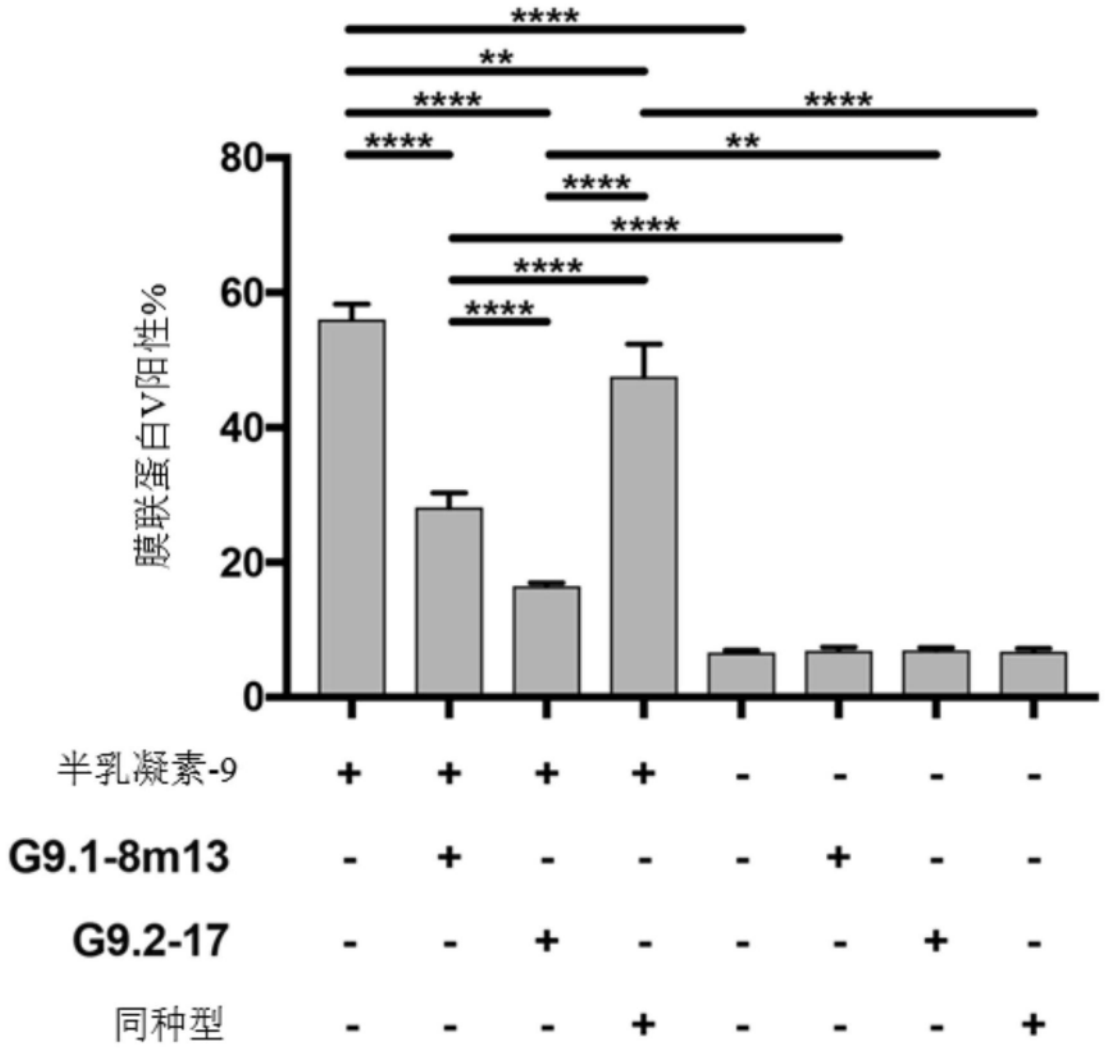


图23

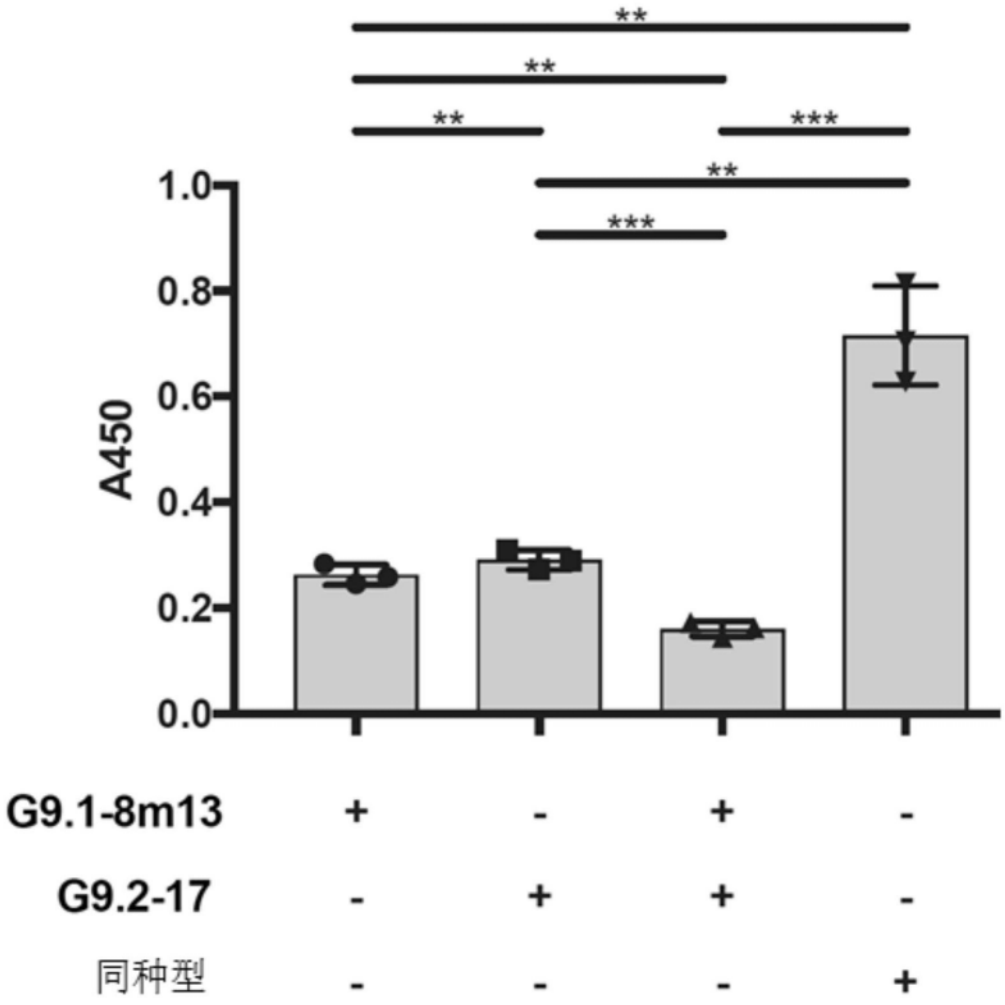

**
**
**
***
**
***
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
A450
G9.1-8m13 + - + -
G9.2-17 - + + -
同种型 - - - +

图24

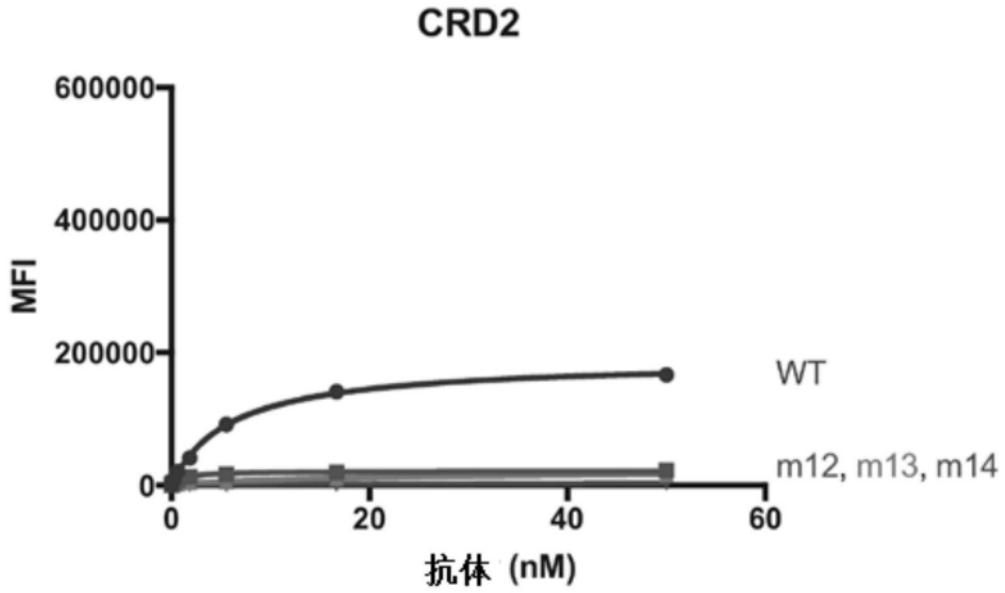

CRD2
600000
400000
200000
0
MFI
WT
m12, m13, m14
0
20
40
60
抗体 (nM)

图25

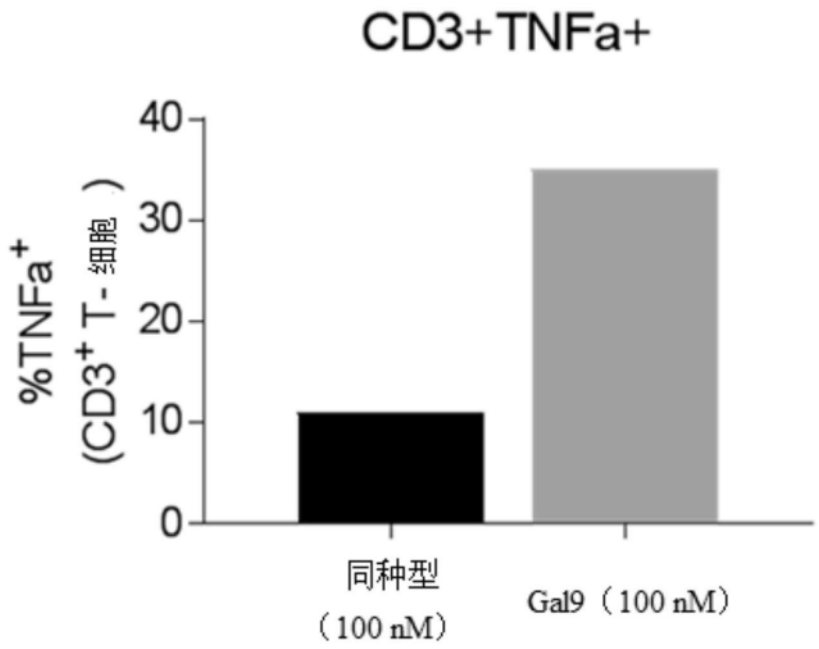

CD3+TNFa+
%TNFa+ (CD3+ T-细胞)
40
30
20
10
0
同种型 (100 nM)
Gal9（100 nM）

图26A

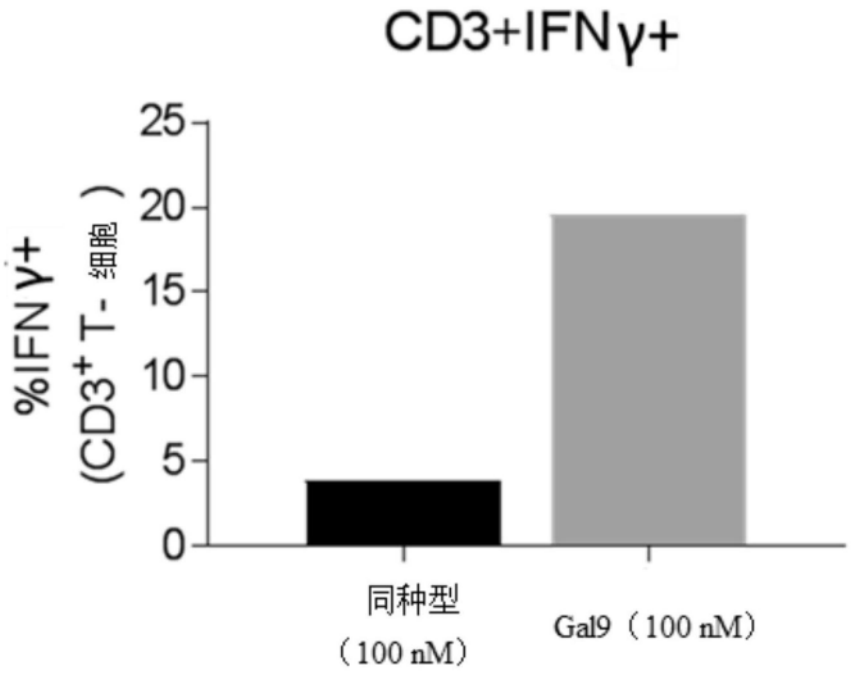

CD3+IFNγ+
%IFNγ+ (CD3+ T-细胞)
25
20
15
10
5
0
同种型 (100 nM)
Gal9（100 nM）

图26B

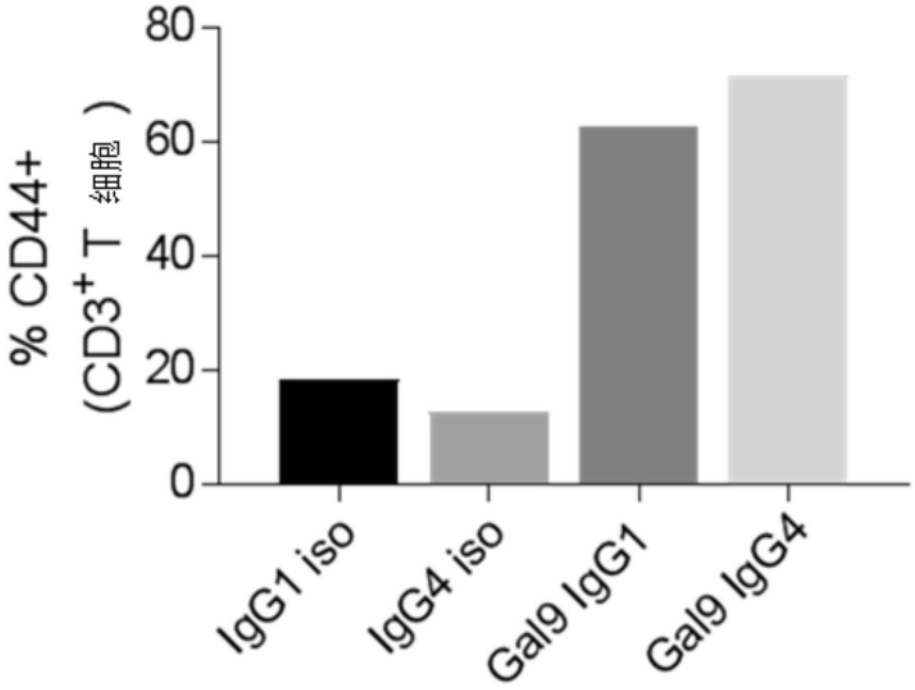

% CD44+
(CD3+ T 细胞)
80
60
40
20
0
IgG1 iso
IgG4 iso
Gal9 IgG1
Gal9 IgG4

图27A

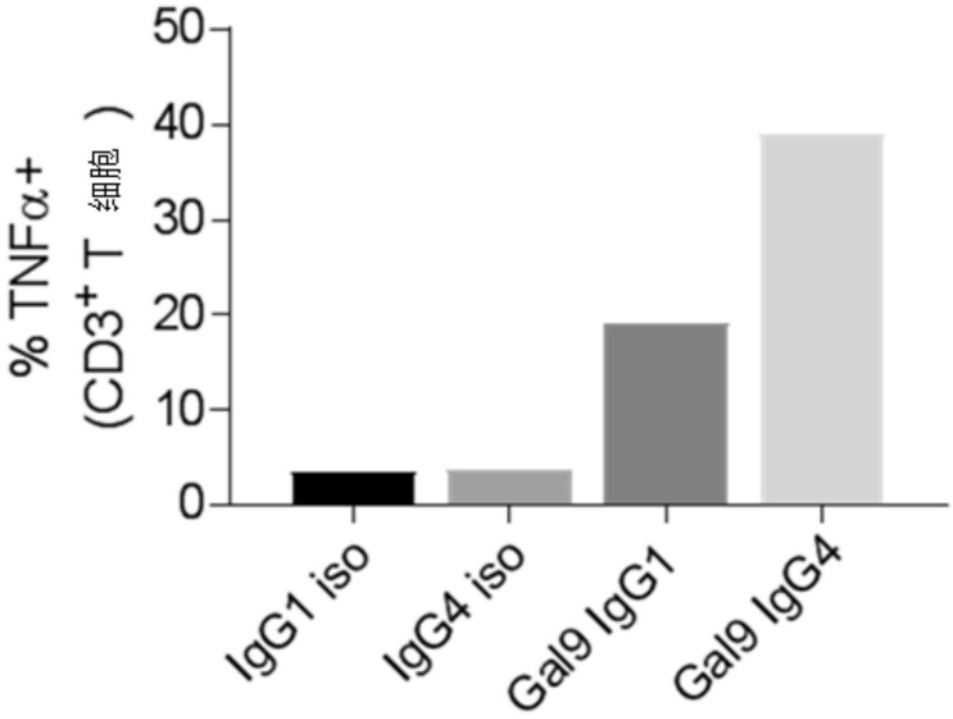

% TNFα+
(CD3+ T 细胞)
50
40
30
20
10
0
IgG1 iso
IgG4 iso
Gal9 IgG1
Gal9 IgG4

图27B

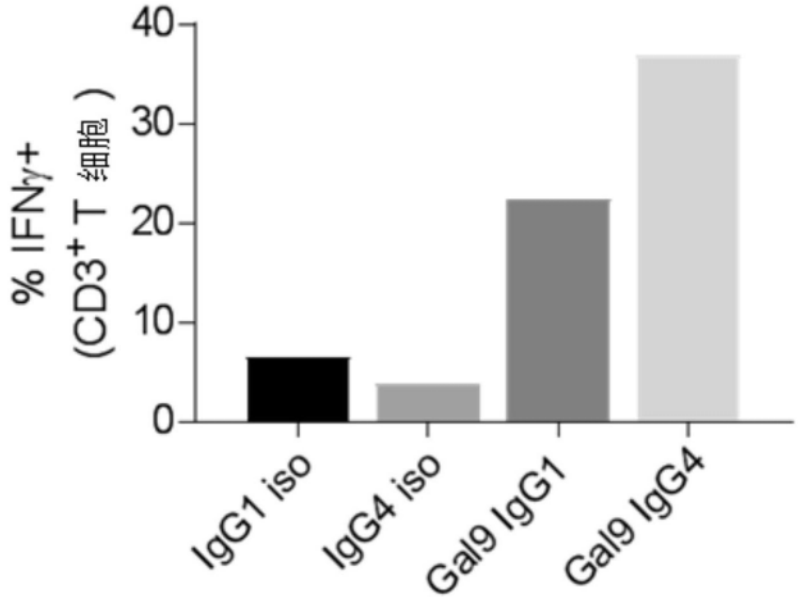

40
30
20
10
0
% IFNγ+
(CD3+ T 细胞)
IgG1 iso
IgG4 iso
Gal9 IgG1
Gal9 IgG4

图27C

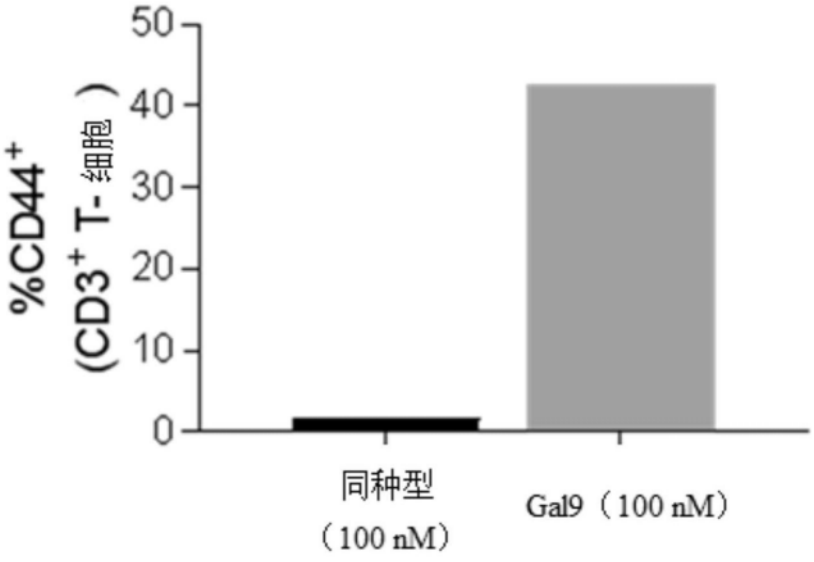

50
40
30
20
10
0
%CD44+
(CD3+ T- 细胞)
同种型
(100 nM)
Gal9 (100 nM)

图28A

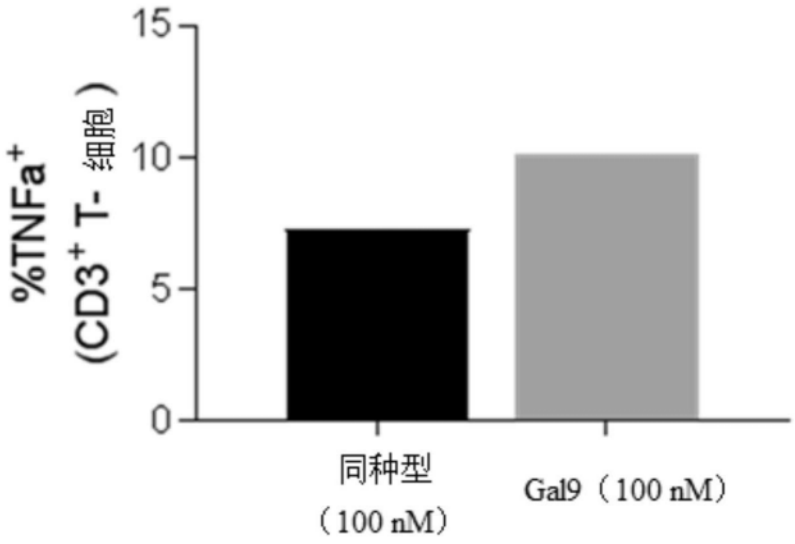

15
10
5
0
%TNFa+
(CD3+ T- 细胞)
同种型
（100 nM）
Gal9（100 nM）

图28B

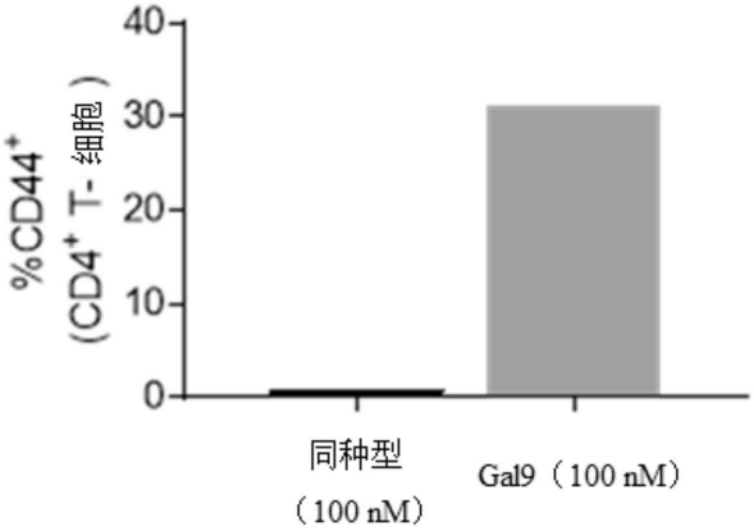

40
30
20
10
0
%CD44+
(CD4+ T- 细胞)
同种型
（100 nM）
Gal9（100 nM）

图28C

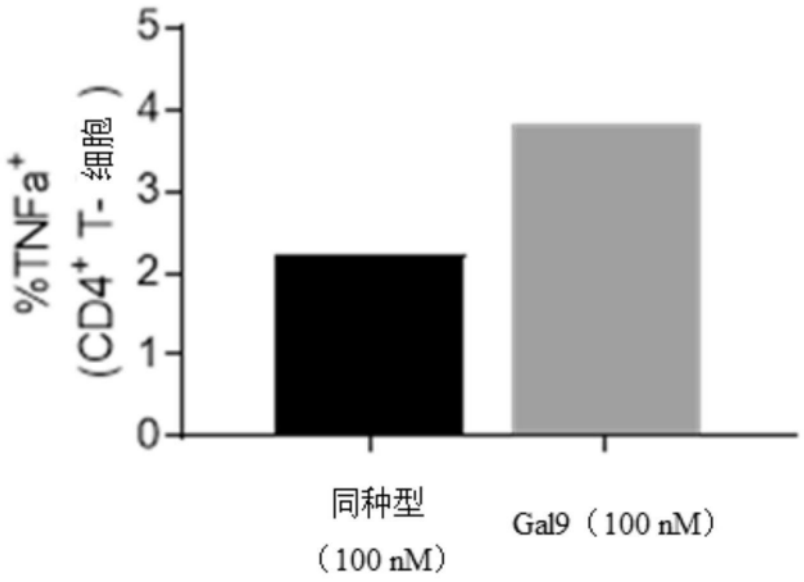

%TNFa+ (CD4+ T- 细胞)
5
4
3
2
1
0
同种型 (100 nM)
Gal9（100 nM）

图28D

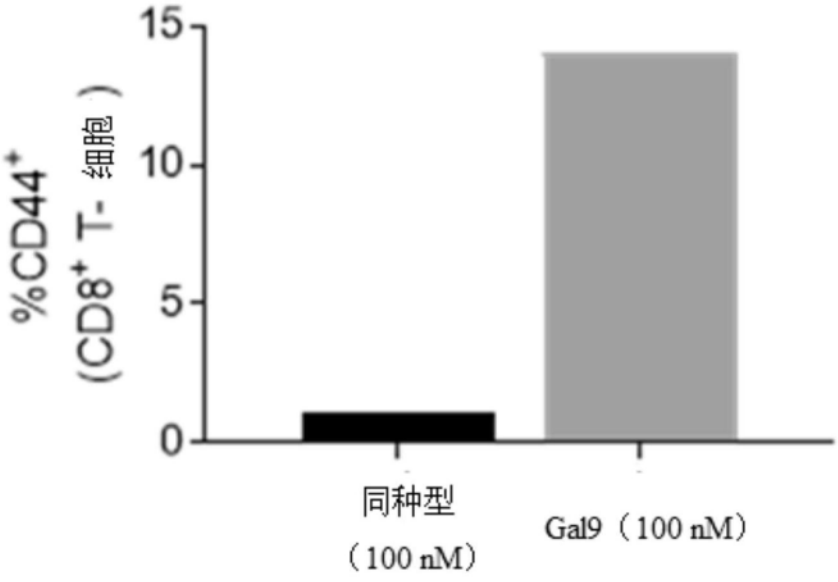

%CD44+ (CD8+ T- 细胞)
15
10
5
0
同种型 (100 nM)
Gal9（100 nM）

图28E

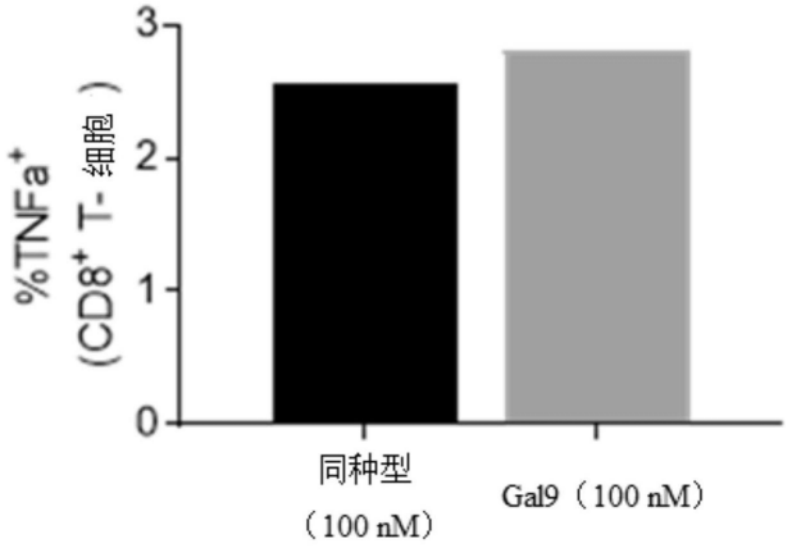

3
2
1
0
%TNFa+
(CD8+ T- 细胞)
同种型
（100 nM）
Gal9（100 nM）

图28F

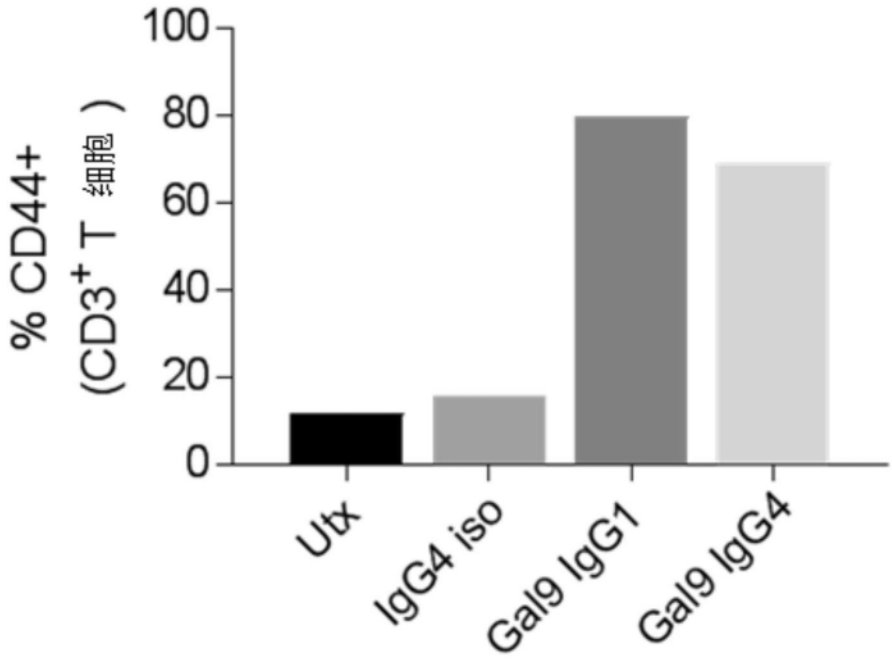

100
80
60
40
20
0
% CD44+
(CD3+ T 细胞)
Utx
IgG4 iso
Gal9 IgG1
Gal9 IgG4

图29A

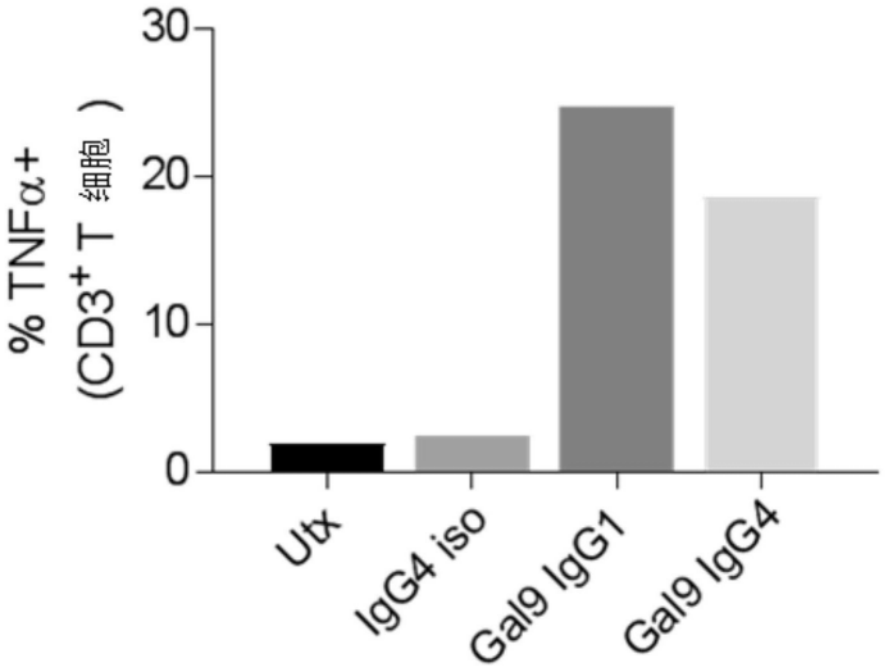

30
20
10
0
% TNFα+
(CD3+ T 细胞)
Utx
IgG4 iso
Gal9 IgG1
Gal9 IgG4

图29B

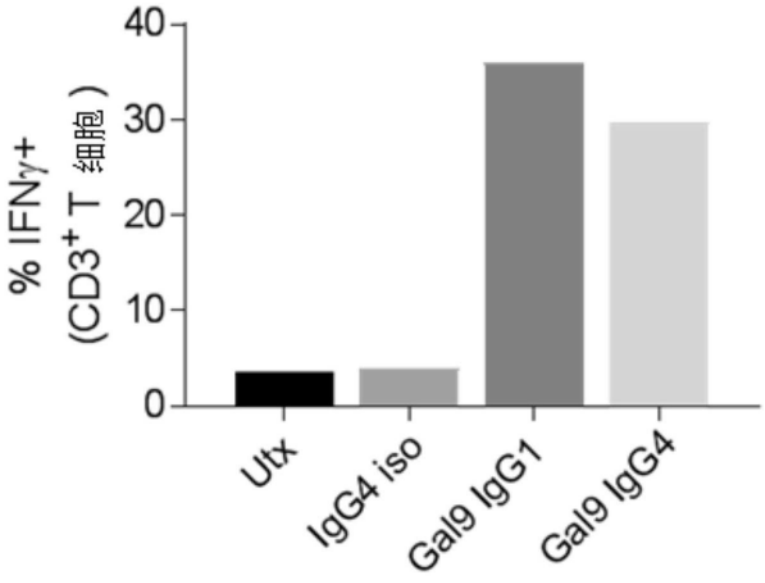

40
30
20
10
0
% IFNγ+
(CD3+ T 细胞)
Utx
IgG4 iso
Gal9 IgG1
Gal9 IgG4

图29C

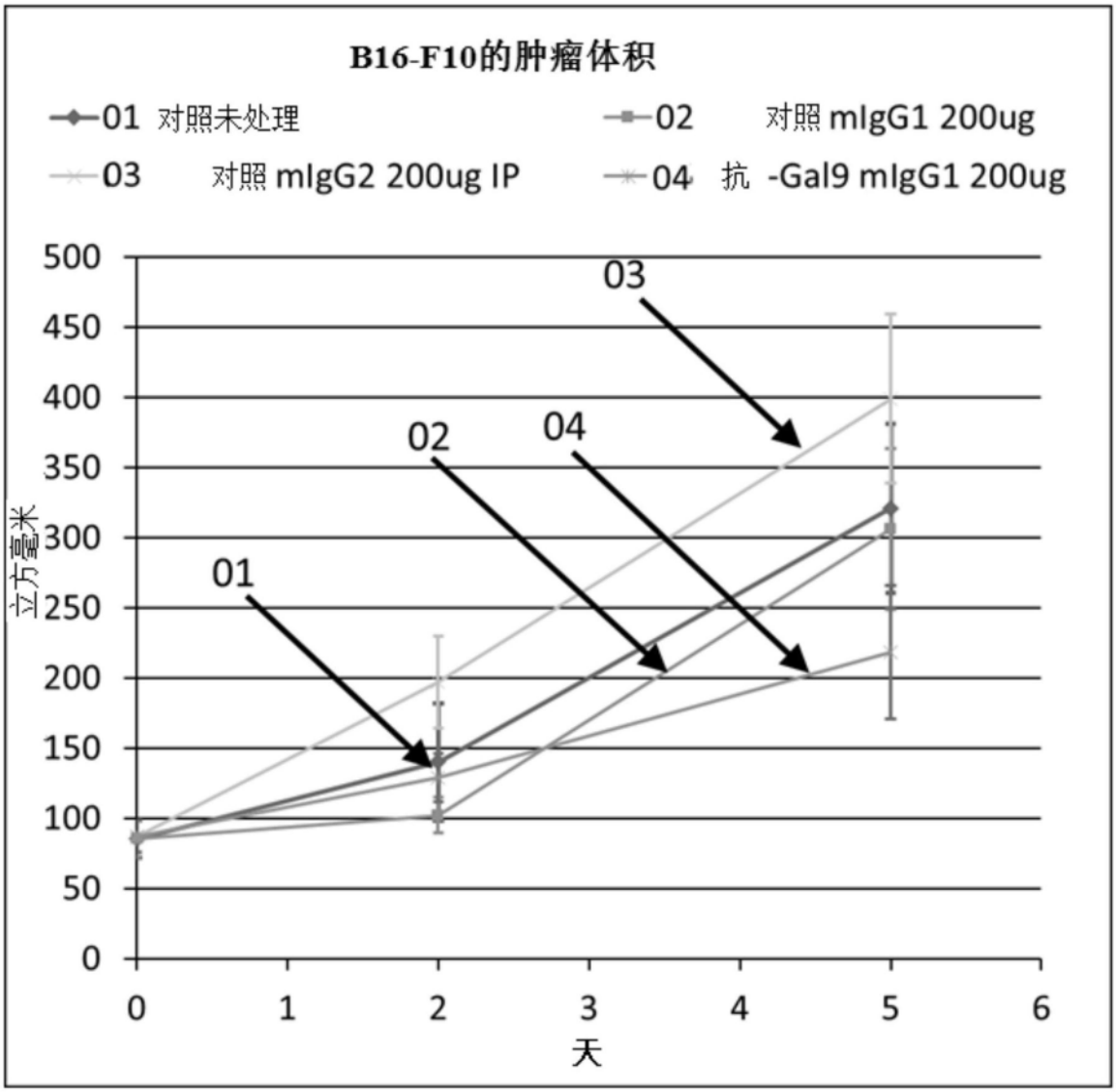

B16-F10的肿瘤体积
01 对照未处理
02 对照 mIgG1 200ug
03 对照 mIgG2 200ug IP
04 抗 -Gal9 mIgG1 200ug
立方毫米
天
01
02
03
04
0
50
100
150
200
250
300
350
400
450
500
0
1
2
3
4
5
6

图30

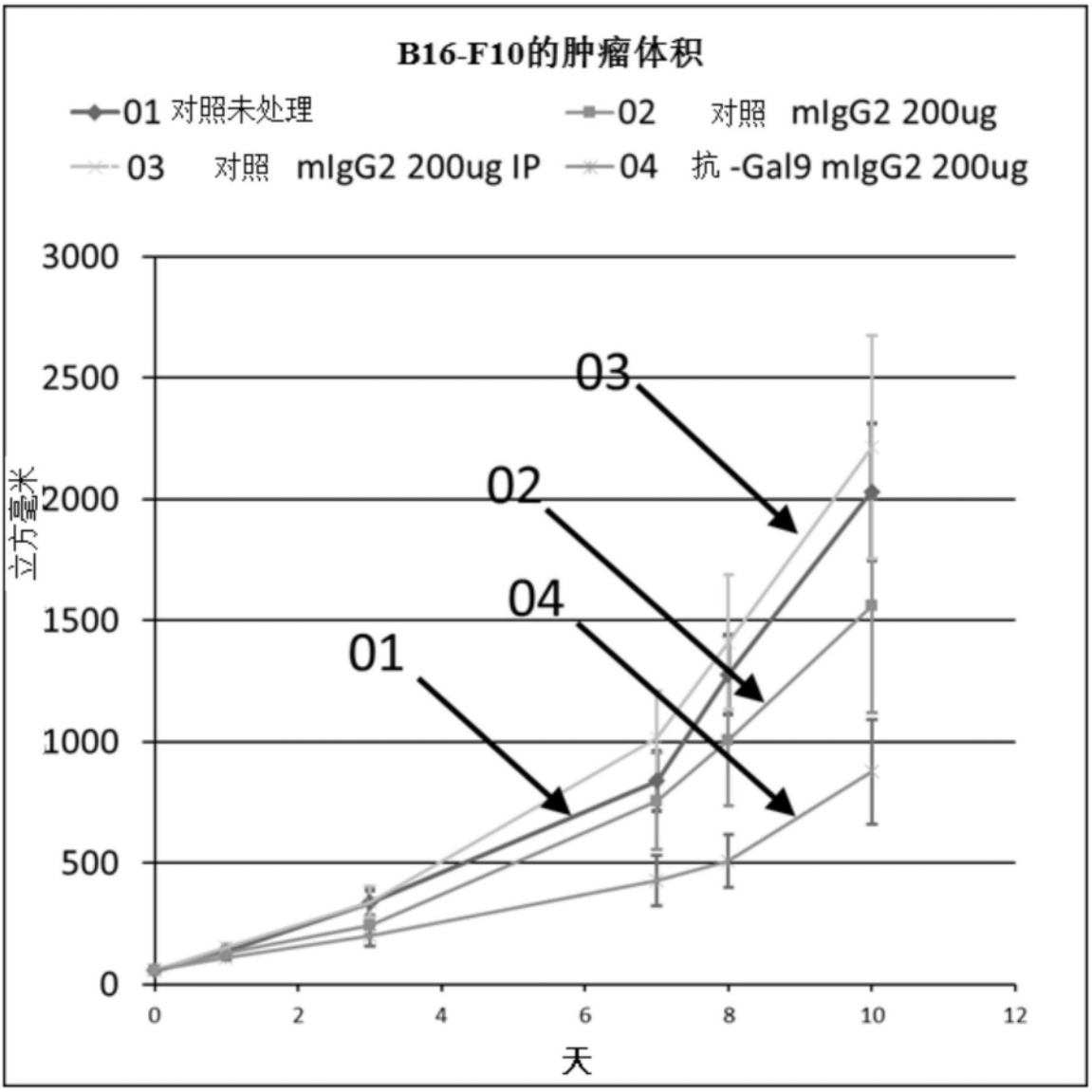

B16-F10的肿瘤体积
01 对照未处理
02 对照 mIgG2 200ug
03 对照 mIgG2 200ug IP
04 抗 -Gal9 mIgG2 200ug
立方毫米
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
2
4
6
8
10
12
天
01
02
03
04

图31

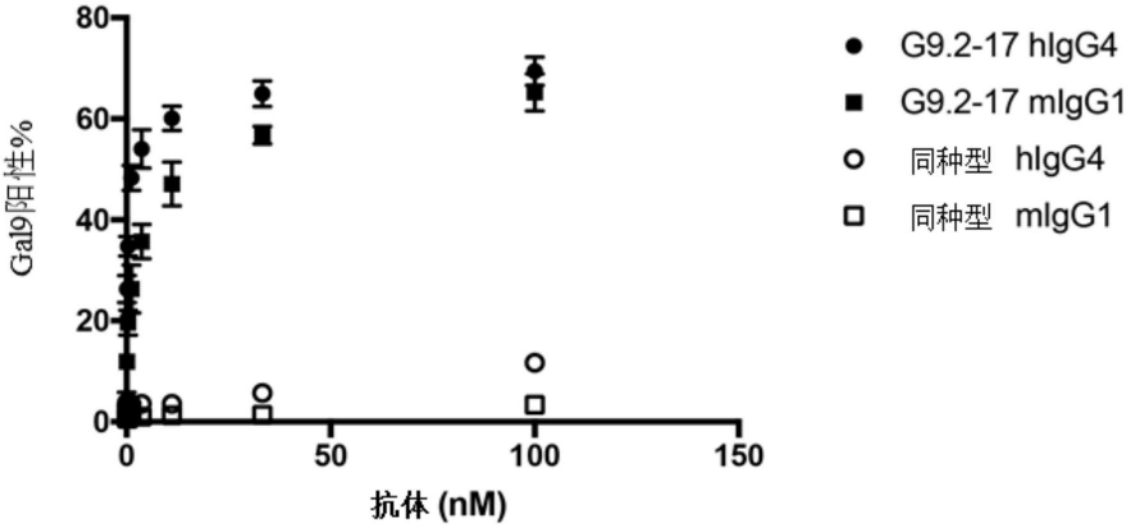

Gal9阳性%
80
60
40
20
0
0
50
100
150
抗体 (nM)
G9.2-17 hIgG4
G9.2-17 mIgG1
同种型 hIgG4
同种型 mIgG1

图32

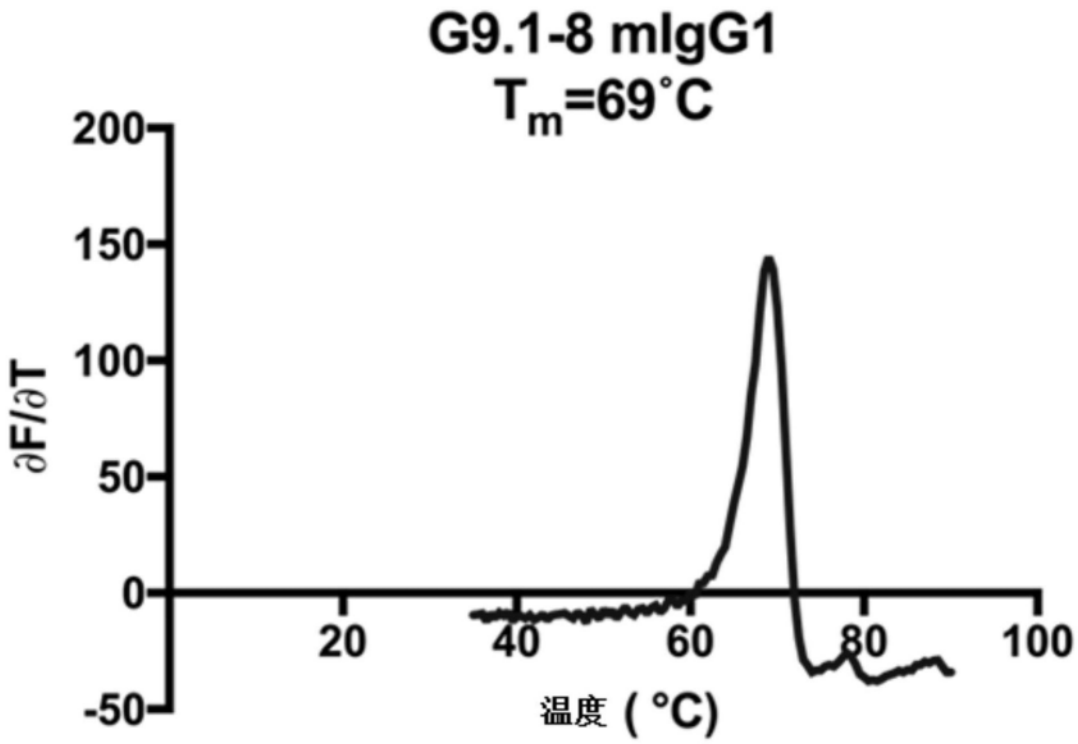

G9.1-8 mIgG1
Tm=69°C
∂F/∂T
200
150
100
50
0
-50
20
40
60
80
100
温度 (°C)

图33A

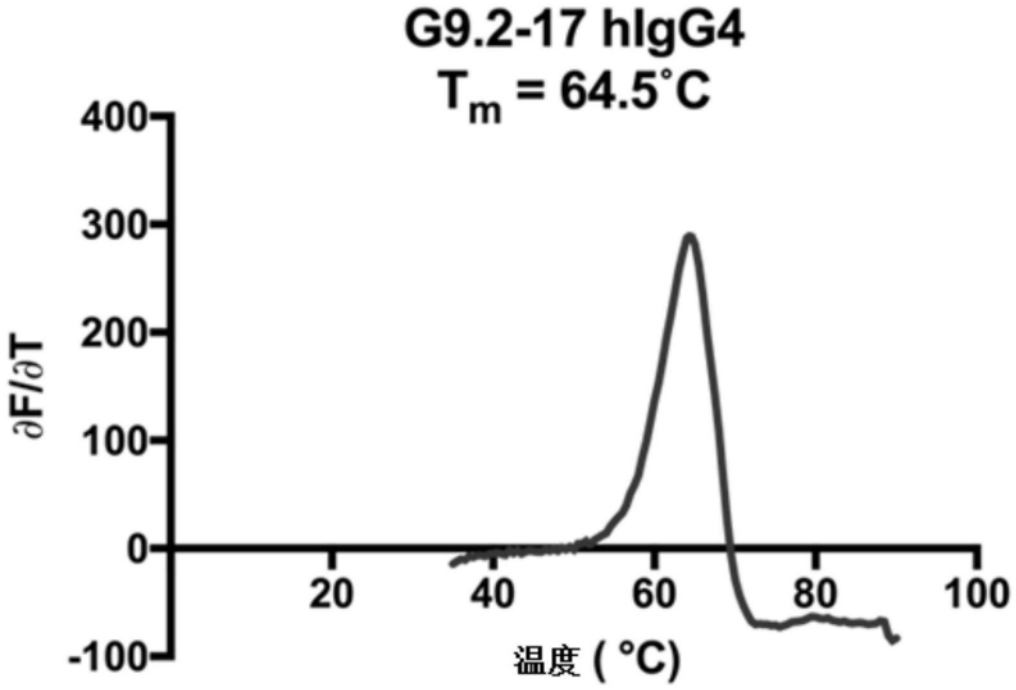


图33B