(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116724051 A
(43)申请公布日 2023.09.08

(21)申请号 202180069002.4
(22)申请日 2021.08.09
(66)本国优先权数据
PCT/CN2020/108129 2020.08.10 CN
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.04.07
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2021/111469 2021.08.09
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/033419 EN 2022.02.17
(71)申请人 上海寻百会生物技术有限公司
地址 200120 上海市浦东新区张江高科技园区金科路3728号4幢3层
申请人 GV20治疗有限责任公司
(72)发明人 肖腾飞 X·胡 X·刘
(74)专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所有限公司 11038
专利代理师 陈晶晶
(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
C12N 15/13(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 37/02(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
G01N 33/68(2006.01)

权利要求书20页 说明书167页 附图52页

(54)发明名称

用于通过靶向IGSF8来治疗自身免疫性疾病和癌症的组合物和方法

(57)摘要

本发明提供了通过调节IGSF8及其结合配体的表达和/或活性来治疗癌症和/或自身免疫性疾病的方法和组合物。该药物组合物可以包括但不限于,特异性结合人IGSF8并且在有此需要的受试者中具有抑制IGSF8介导的免疫抑制的活性的抗体。

CN 116724051 A

1.对IGSF8特异性(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域特异性)的分离的或重组的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述单克隆抗体或其抗原结合片段包括含有VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的重链可变区(VH),以及含有VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的轻链可变区(VL),其中(a1)所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:714、715和716的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成;并且所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:717、718和719的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成;或者

(a2)所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:754、755和756的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成;并且所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:757、758和759的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成;或者

(b1)所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:720、721和722的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成;并且所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:723、724和725的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成;或者

(b2)所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:760、761和762的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成;并且所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:763、764和765的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成;或者

(c)所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含表D和表G的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3序列中任一项的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成;并且所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含表D和表G的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3序列中任一项的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成;或者

(d)所述VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含表D和表G中任一抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3序列的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成;

任选地,所述抗体及其抗原结合片段不具有与L1抗体和L2抗体的相同的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3序列(例如,所述抗体不是L1,也不是L2)。

2.权利要求1所述的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中:

(1)所述VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含表D中任一抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3序列的氨基酸序列;或者

(2)所述VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含表G中任一抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3序列的氨基酸序列。

3.权利要求1或2所述的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中:

(a)所述VH包含VH FR1、VH FR2、VH FR3和/或VH FR4,它们包含(i)表D(或表G)中任何一种或多种抗体的一个或多个相应VH FR序列的一个或多个氨基酸序列,(ii)与表D(或表G)中任何一种或多种抗体的一个或多个相应VH FR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的氨基酸序列;或者(iii)与表D(或表G)中任何一种或多种抗体的一个或多个相应VH FR序列相比,具有至多1、2、3、4或5个置换、缺失和/或添加的氨基酸序列;和/或

(b)所述VL包含VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4,它们包含(i)表D(或表G)中任何一种或多种抗体的一个或多个相应VL FR序列的一个或多个氨基酸序列,(ii)与表D(或表G)中任何一种或多种抗体的一个或多个相应VL FR序列具有至少90%、91%、92%、93%、

94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的氨基酸序列;或者(iii)与表D(或表G)中任何一种或多种抗体的一个或多个相应VL FR序列相比,具有至多1、2、3、4或5个置换、缺失和/或添加的氨基酸序列。

4.权利要求1或2所述的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中:

(a1)所述VH包含分别为SEQ ID NO:734、735和736的氨基酸序列;并且所述VL包含分别为SEQ ID NO:737、738和739的氨基酸序列;或者

(a2)所述VH包含分别为SEQ ID NO:774、775和776的氨基酸序列;并且所述VL包含分别为SEQ ID NO:777、778和779的氨基酸序列;或者

(b1)所述VH包含分别为SEQ ID NO:740、741和742的氨基酸序列;并且所述VL包含分别为SEQ ID NO:743、744和745的氨基酸序列;或者

(b2)所述VH包含分别为SEQ ID NO:780、781和782的氨基酸序列;并且所述VL包含分别为SEQ ID NO:783、784和785的氨基酸序列;或者

(c)所述VH包含表D和表G中任何VH序列的氨基酸序列;并且所述VL包含表D和表G中任何VL序列的氨基酸序列。

5.权利要求1-4中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述VH和VL序列分别包含表D和表G中任一抗体的VH和VL序列的氨基酸序列。

6.权利要求1-5中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合片段,其为人-小鼠嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、CDR移植抗体或表面重塑化抗体。

7.权利要求1-6中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述其抗原结合片段是Fab、Fab'、$F(ab')_2$、F_d、单链Fv或scFv、二硫键连接型Fv、V-NAR结构域、IgNar、胞内抗体、IgGΔCH_2、微小抗体、$F(ab')_3$、四抗体、三抗体、双抗体、单域抗体、DVD-Ig、Fcab、mAb_2、$(scFv)_2$或scFv-Fc。

8.权利要求1-7中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合片段,包含重链恒定区,其中

(a)所述重链恒定区是野生型人IgG1、人IgG2、人IgG3、人IgG4;或者

(b)所述重链恒定区具有以下Fc结构域,所述Fc结构域缺乏抗体依赖性细胞毒性(ADCC)、补体依赖性细胞毒性(CDC)和/或抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)。

9.权利要求8所述的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中具有缺陷型Fc结构域的所述重链恒定区选自下组:IgG1-L234A/L235A (IgG1-LALA)、IgG1-L234A/L235A/P329G(IgG1-LALA-PG)、IgG1-N297A/Q/G(IgG1-NA)、IgG1-L235A/G237A/E318A(IgG1-AAA)、IgG1-G236R/L328R(IgG1-RR)、IgG1-S298G/T299A(IgG1-GA)、IgG1-L234F/L235E/P331S(IgG1-FES)、IgG1-L234F/L235E/D265A(IgG1-FEA)、IgG4-L234A/L235A(IgG4-LALA)、IgG4-S228P/L235E(IgG4-PE)、IgG1-E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、IgG2-H268Q/V309L/A330S/P331S(IgG2m4)和IgG2-V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S(IgG2c4d)。

10.权利要求1-9中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述单克隆抗体或其抗原结合片段以小于约25nM、20nM、15nM、10nM、5nM、2nM或1nM的K_d与IGSF8结合。

11.一种单克隆抗体或其抗原结合片段,其与权利要求1-10中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合片段竞争结合IGSF8。

12.权利要求1-11中任一项所述的抗体或单克隆抗体,其中所述抗体或其抗原结合部分/片段抑制IGSF8与KIR3DL1/2的结合。

13.一种多核苷酸,其编码权利要求1-12中任一项所述的单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段。

14.一种多核苷酸,其在严格条件下与权利要求13所述的多核苷酸或与权利要求13所述的多核苷酸的互补物杂交。

15.一种载体,其包含权利要求13或14所述的多核苷酸。

16.一种宿主细胞,其包含权利要求13或14所述的多核苷酸或者权利要求15所述的载体,用于表达所编码的单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段。

17.一种产生权利要求1-12中任一项所述的单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的方法,所述方法包括:

(i)在适于表达所述单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的条件下,培养能够表达所述单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的权利要求15所述的宿主细胞;并且任选地

(ii)回收/分离/纯化所表达的单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段。

18.一种在有需要的受试者中调节免疫应答的方法,所述方法包括向受试者施用治疗有效量的权利要求1-12中任一项所述的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段。

19.一种在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括向受试者施用治疗有效量的权利要求1-12中任一项所述的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段。

20.权利要求18或19所述的方法,其进一步包括向受试者施用有效量的第二治疗剂,所述第二治疗剂包括免疫疗法、免疫检查点抑制剂、癌症疫苗、嵌合抗原受体、化学治疗剂、放射疗法、抗血管生成剂、生长抑制剂、免疫肿瘤剂、抗肿瘤组合物、手术或其组合。

21.权利要求18-20中任一项所述的方法,其中将所述抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段与细胞毒性剂缀合。

22.权利要求21所述的方法,其中所述细胞毒性剂选自下组:化学治疗剂、生物剂、毒素和放射性同位素。

23.权利要求19-21中任一项所述的方法,其中所述抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段减少癌症中增殖细胞的数量和/或减少癌症的肿瘤体积或大小。

24.权利要求18-23中任一项所述的方法,其中将所述抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段以药学上可接受的制剂施用。

25.权利要求19-24中任一项所述的方法,其中所述癌症是黑色素瘤(包括皮肤黑色素瘤)、宫颈癌、肺癌(例如,非小细胞肺癌、肺腺癌、肺鳞状细胞癌)、结直肠癌、淋巴瘤(包括B细胞淋巴瘤和DLBCL)、白血病(包括CLL和急性髓系白血病(AML))、BLCA肿瘤、乳腺癌、头和颈癌、头颈鳞状细胞癌、PRAD、THCA或UCEC、甲状腺癌、泌尿道癌、子宫癌、食管癌、肝癌、神经节癌、肾癌、胰腺癌、胰腺导管癌、卵巢癌、前列腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、胸腺瘤、B-CLL以及浸润有表达IGSF8受体的免疫细胞的癌症。

26.权利要求19-25中任一项所述的方法,其中所述癌症是肺癌、肾癌、胰腺癌、结直肠癌、急性髓系白血病(AML)、头和颈癌、肝癌、卵巢癌、前列腺癌或子宫癌。

27.权利要求19-26中任一项所述的方法,其中所述受试者中的癌细胞和/或肿瘤免疫浸润细胞表达IGSF8。

28.权利要求19-27中任一项所述的方法,其中所述抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合

片段刺激T细胞和/或NK细胞活化和/或浸润到肿瘤微环境中。

29.权利要求20-28中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是对PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG3、TIGIT、TIM3、NKG2A、CD276、VTCN1、VISR或HHLA2特异性的抗体或其抗原结合片段。

30.权利要求29所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是抗PD-1抗体，诸如西米普利单抗、纳武单抗或帕博利珠单抗。

31.权利要求29所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是抗PD-L1抗体，诸如阿维鲁单抗、德瓦鲁单抗、阿特珠单抗、KN035或CK-301。

32.权利要求20-28中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是PD-1/PD-L1的(非抗体)肽抑制剂，诸如AUNP12;PD-L1的小分子抑制剂诸如CA-170，或大环肽诸如BMS-986189。

33.权利要求20-32中任一项所述的方法，其中所述第二治疗剂包含有效治疗癌症的抗体或其抗原结合部分/片段，诸如3F8、8H9、阿巴伏单抗(Abagovomab)、阿昔单抗(Abciximab)、阿比妥珠单抗(Abituzumab)、阿泽奇单抗(Abrezekimab)、阿利鲁单抗(Abrilumab)、阿克托舒单抗(Actoxumab)、阿达木单抗(Adalimumab)、阿德木单抗(Adecatumumab)、阿杜卡努单抗(Aducanumab)、阿法库单抗(Afasevikumab)、阿非莫单抗(Afelimomab)、聚乙二醇化阿拉赛珠单抗(Alacizumab pegol)、阿仑珠单抗(Alemtuzumab)、阿利西尤单抗(Alirocumab)、喷替酸阿妥莫单抗(Altumomab pentetate)、阿麦妥单抗(Amatuximab)、埃万妥单抗(Amivantamab)、马安那莫单抗(Anatumomab mafenatox)、安德利昔单抗(Andecaliximab)、雷星-阿奈妥单抗(Anetumab ravtansine)、阿尼鲁单抗(Anifrolumab)、安芦组单抗(Anrukinzumab)、阿泊珠单抗(Apolizumab)、伊汀-阿普卢妥单抗(Aprutumab ixadotin)、阿西莫单抗(Arcitumomab)、阿伐苏单抗(Ascrinvacumab)、阿塞珠单抗(Aselizumab)、阿特珠单抗(Atezolizumab)、阿度尤单抗(Atidortoxumab)、阿替奴单抗(Atinumab)、阿托木单抗(Atorolimumab)、阿维鲁单抗(Avelumab)、维汀-阿妥昔珠单抗(Azintuxizumab vedotin)、巴匹珠单抗(Bapineuzumab)、巴利昔单抗(Basiliximab)、巴维昔单抗(Bavituximab)、BCD-100、贝妥莫单抗(Bectumomab)、贝戈洛单抗(Begelomab)、贝兰他单抗莫福汀(Belantamab mafodotin)、贝利木单抗(Belimumab)、贝玛妥珠单抗(Bemarituzumab)、贝那利珠单抗(Benralizumab)、贝度尤单抗(Berlimatoxumab)、贝迈奇单抗(Bermekimab)、博司利单抗(Bersanlimab)、柏替木单抗(Bertilimumab)、贝索单抗(Besilesomab)、贝伐珠单抗(Bevacizumab)、贝洛托舒单抗(Bezlotoxumab)、比西单抗(Biciromab)、比玛卢单抗(Bimagrumab)、比美吉珠单抗(Bimekizumab)、泊特埃单抗(Birtamimab)、比伐珠单抗(Bivatuzumab)、布来鲁单抗(Bleselumab)、博纳吐单抗(Blinatumomab)、布隆妥维单抗(Blontuvetmab)、布索组单抗(Blosozumab)、伯考赛珠单抗(Bococizumab)、布雷库单抗(Brazikumab)、维布妥昔单抗(Brentuximab vedotin)、布雷奴单抗(Briakinumab)、布达鲁单抗(Brodalumab)、布洛赛珠单抗(Brolucizumab)、布隆妥珠单抗(Brontictuzumab)、布洛舒单抗(Burosumab)、卡比利珠单抗(Cabiralizumab)、替卡米丹卢单抗(Camidanlumab tesirine)、卡瑞利珠单抗(Camrelizumab)、卡那奴单抗(Canakinumab)、莫坎妥珠单抗(Cantuzumab mertansine)、拉-坎妥珠单抗(Cantuzumab ravtansine)、卡普赛珠单抗(Caplacizumab)、卡罗单抗

(Capromab)、卡芦单抗(Carlumab)、卡罗妥昔单抗(Carotuximab)、卡妥索单抗(Catumaxomab)、cBR-多柔比星免疫缀合物、西利珠单抗(Cedelizumab)、西米普利单抗(Cemiplimab)、阿姆白介素-2-瑟妥珠单抗(Cergutuzumab amunaleukin)、聚乙二醇化赛妥珠单抗(Certolizumab pegol)、西利单抗(Cetrelimab)、西妥昔单抗(Cetuximab)、赛必妥单抗(Cibisatamab)、西妥珠单抗(Cirmtuzumab)、泊西他组单抗(Citatuzumab bogatox)、西妥木单抗(Cixutumumab)、克拉扎珠单抗(Clazakizumab)、克立昔单抗(Clenoliximab)、泰坦-克利妥珠单抗(Clivatuzumab tetraxetan)、考曲妥珠单抗(Codrituzumab)、培汀-考非妥珠单抗(Cofetuzumab pelidotin)、雷星-考妥昔单抗(Coltuximab ravtansine)、可那木单抗(Conatumumab)、康赛珠单抗(Concizumab)、考韦昔单抗(Cosfroviximab)、克瑞组单抗(Crenezumab)、立赞利珠单抗(Crizanlizumab)、克罗特度单抗(Crotedumab)、CR6261、古妥珠单抗(Cusatuzumab)、达西组单抗(Dacetuzumab)、达克珠单抗(Daclizumab)、达罗土珠单抗(Dalotuzumab)、聚乙二醇化达匹利珠单抗(Dapirolizumab pegol)、达雷木单抗(Daratumumab)、德屈库单抗(Dectrekumab)、登赛珠单抗(Demcizumab)、玛汀-地宁妥珠单抗(Denintuzumab mafodotin)、地诺单抗(Denosumab)、玛汀-迪妥昔珠单抗(Depatuxizumab mafodotin)、地洛昔单抗生物素(Derlotuximab biotin)、地莫单抗(Detumomab)、迪扎米珠单抗(Dezamizumab)、地努图希单抗(Dinutuximab)、地利伏单抗(Diridavumab)、多玛洛珠单抗(Domagrozumab)、阿托度单抗(Dorlimomab aritox)、多塔利单抗(Dostarlimab)、曲齐妥单抗(Drozitumab)、DS-8201、度戈妥珠单抗(Duligotuzumab)、度普利尤单抗(Dupilumab)、德瓦鲁单抗(Durvalumab)、度司妥单抗(Dusigitumab)、度妥昔珠单抗(Duvortuxizumab)、依美昔单抗(Ecromeximab)、依库珠单抗(Eculizumab)、埃巴单抗(Edobacomab)、依决洛单抗(Edrecolomab)、依法利珠单抗(Efalizumab)、依芬古单抗(Efungumab)、埃迪鲁单抗(Eldelumab)、依来努单抗(Elezanumab)、依更妥单抗(Elgemtumab)、埃罗妥珠单抗(Elotuzumab)、艾西莫单抗(Elsilimomab)、依米妥珠单抗(Emactuzumab)、依玛鲁单抗(Emapalumab)、依玛妥珠单抗(Emibetuzumab)、艾美赛珠单抗(Emicizumab)、维汀-恩泊妥单抗(Enapotamab vedotin)、依那妥组单抗(Enavatuzumab)、维汀-恩弗妥单抗(Enfortumab vedotin)、聚乙二醇化恩莫单抗(Enlimomab pegol)、依诺妥珠单抗(Enoblituzumab)、依诺凯组单抗(Enokizumab)、依诺苏单抗(Enoticumab)、恩妥昔单抗(Ensituximab)、西依匹莫单抗(Epitumomab cituxetan)、依帕珠单抗(Epratuzumab)、依普奈珠单抗(Eptinezumab)、依瑞奈尤单抗(Erenumab)、厄利珠单抗(Erlizumab)、厄妥索单抗(Ertumaxomab)、埃达珠单抗(Etaracizumab)、艾替利单抗(Etigilimab)、依曲利组单抗(Etrolizumab)、依维苏单抗(Evinacumab)、依洛尤单抗(Evolocumab)、艾韦单抗(Exbivirumab)、法索单抗(Fanolesomab)、法拉莫单抗(Faralimomab)、法瑞西单抗(Faricimab)、法妥组单抗(Farletuzumab)、法司努单抗(Fasinumab)、FBTA05、泛维珠单抗(Felvizumab)、非扎奴单抗(Fezakinumab)、菲巴妥珠单抗(Fibatuzumab)、非拉妥组单抗(Ficlatuzumab)、芬妥木单抗(Figitumumab)、非利伏单抗(Firivumab)、法兰妥单抗(Flanvotumab)、夫来库单抗(Fletikumab)、伏妥珠单抗(Flotetuzumab)、芳妥珠单抗(Fontolizumab)、福拉鲁单抗(Foralumab)、福拉韦单抗(Foravirumab)、瑞玛奈珠单抗(Fremanezumab)、非苏木单抗(Fresolimumab)、弗洛西单抗(Frovocimab)、夫卢维单抗(Frunevetmab)、福拉奴单抗(Fulranumab)、伏妥昔单抗

(Futuximab)、伽奈珠单抗(Galcanezumab)、加利昔单抗(Galiximab)、甘妥单抗(Gancotamab)、加尼妥单抗(Ganitumab)、更汀芦单抗(Gantenerumab)、伽妥珠单抗(Gatipotuzumab)、加维莫单抗(Gavilimomab)、格迪伏单抗(Gedivumab)、吉妥珠单抗奥佐米星(Gemtuzumab ozogamicin)、吉伏组单抗(Gevokizumab)、吉维单抗(Gilvetmab)、瑾司鲁单抗(Gimsilumab)、吉妥昔单抗(Girentuximab)、维汀-格巴妥木单抗(Glembatumumab vedotin)、戈利木单抗(Golimumab)、戈利昔单抗(Gomiliximab)、戈奈单抗(Gosuranemab)、古塞库单抗(Guselkumab)、伊利尤单抗(Ianalumab)、伊巴组单抗(Ibalizumab)、IBI308、替伊莫单抗(Ibritumomab tiuxetan)、艾芦库单抗(Icrucumab)、依达赛珠单抗(Idarucizumab)、依法妥珠单抗(Ifabotuzumab)、伊戈伏单抗(Igovomab)、维汀-伊达珠单抗(Iladatuzumab vedotin)、IMAB363、伊玛鲁单抗(Imalumab)、伊普利单抗(Imaprelimab)、英西单抗(Imciromab)、伊马曲单抗(Imgatuzumab)、英克拉单抗(Inclacumab)、雷星-英达妥昔单抗(Indatuximab ravtansine)、维汀-英度妥单抗(Indusatumab vedotin)、伊奈利珠单抗(Inebilizumab)、英夫利西单抗(Infliximab)、英妥木单抗(Intetumumab)、伊诺莫单抗(Inolimomab)、奥英妥珠单抗(Inotuzumab ozogamicin)、伊匹单抗(Ipilimumab)、Iomab-B、伊妥木单抗(Iratumumab)、伊莎妥昔单抗(Isatuximab)、伊卡利单抗(Iscalimab)、艾司妥单抗(Istiratumab)、伊利组单抗(Itolizumab)、艾克珠单抗(Ixekizumab)、凯利昔单抗(Keliximab)、拉贝珠单抗(Labetuzumab)、拉妥珠单抗(Lacnotuzumab)、纬拉妥珠单抗(Ladiratuzumab vedotin)、兰帕利珠单抗(Lampalizumab)、拉那鲁单抗(Lanadelumab)、兰洛珠单抗(Landogrozumab)、恩星-拉妥昔单抗(Laprituximab emtansine)、拉韦昔单抗(Larcaviximab)、来瑞珠单抗(Lebrikizumab)、来马索单抗(Lemalesomab)、兰达丽珠单抗(Lendalizumab)、伦韦单抗(Lenvervimab)、仑兹鲁单抗(Lenzilumab)、乐德木单抗(Lerdelimumab)、乐利单抗(Leronlimab)、来索伏单抗(Lesofavumab)、来利珠单抗(Letolizumab)、来沙木单抗(Lexatumumab)、利韦单抗(Libivirumab)、维汀-利法妥珠单抗(Lifastuzumab vedotin)、利格利珠单抗(Ligelizumab)、替朗妥昔单抗(Loncastuximab tesirine)、维汀-罗妥昔珠单抗(Losatuxizumab vedotin)、利洛托单抗-赛塔坦(Lilotomab satetraxetan)、林妥珠单抗(Lintuzumab)、利瑞鲁单抗(Lirilumab)、洛迪赛珠单抗(Lodelcizumab)、洛吉维单抗(Lokivetmab)、莫星-洛沃妥珠单抗(Lorvotuzumab mertansine)、卢卡木单抗(Lucatumumab)、聚乙二醇化鲁利珠单抗(Lulizumab pegol)、鲁昔单抗(Lumiliximab)、鲁妥珠单抗(Lumretuzumab)、鲁帕妥单抗(Lupartumab)、阿汀-鲁帕妥单抗(Lupartumab amadotin)、鲁吉珠单抗(Lutikizumab)、马帕木单抗(Mapatumumab)、玛格妥昔单抗(Margetuximab)、马塔西单抗(Marstacimab)、马司莫单抗(Maslimomab)、玛弗利木单抗(Mavrilimumab)、马妥珠单抗(Matuzumab)、美泊利单抗(Mepolizumab)、美替木单抗(Metelimumab)、米拉组单抗(Milatuzumab)、明瑞莫单抗(Minretumomab)、米吉珠单抗(Mirikizumab)、米维妥昔单抗索拉坦辛(Mirvetuximab soravtansine)、米妥莫单抗(Mitumomab)、莫多昔单抗(Modotuximab)、莫格利组单抗(Mogamulizumab)、莫那利珠单抗(Monalizumab)、莫罗木单抗(Morolimumab)、莫舒奈妥单抗(Mosunetuzumab)、莫维珠单抗(Motavizumab)、帕西妥莫单抗(Moxetumomab pasudotox)、莫罗单抗-CD3(Muromonab-CD3)、他那可单抗(Nacolomab tafenatox)、那美芦单抗(Namilumab)、埃托-那普妥莫单抗

(Naptumomab estafenatox)、恩星-那妥昔单抗(Naratuximab emtansine)、那呐妥单抗(Narnatumab)、那他珠单抗(Natalizumab)、那赛昔珠单抗(Navicixizumab)、那韦伏单抗(Navivumab)、那昔妥单抗(Naxitamab)、奈巴库单抗(Nebacumab)、耐昔妥珠单抗(Necitumumab)、奈莫利珠单抗(Nemolizumab)、NEOD001、奈瑞莫单抗(Nerelimomab)、奈伐苏单抗(Nesvacumab)、尼塔奇单抗(Netakimab)、尼妥珠单抗(Nimotuzumab)、尼塞韦单抗(Nirsevimab)、纳武单抗(Nivolumab)、巯诺非妥莫单抗(Nofetumomab merpentan)、奥托萨昔单抗(Obiltoxaximab)、奥妥珠单抗(Obinutuzumab)、奥卡妥珠单抗(Ocaratuzumab)、奥卡利珠单抗(Ocrelizumab)、奥度莫单抗(Odulimomab)、奥法木单抗(Ofatumumab)、奥拉单抗(Olaratumab)、奥来鲁单抗(Oleclumab)、奥仑达利珠单抗(Olendalizumab)、奥洛组单抗(Olokizumab)、奥马珠单抗(Omalizumab)、奥博妥单抗(Omburtamab)、OMS721、奥那妥组单抗(Onartuzumab)、昂妥昔珠单抗(Ontuxizumab)、奥瓦利单抗(Onvatilimab)、奥匹努单抗(Opicinumab)、莫妥组单抗(Oportuzumab monatox)、奥戈伏单抗(Oregovomab)、奥替苏单抗(Orticumab)、奥昔组单抗(Otelixizumab)、奥替利单抗(Otilimab)、奥乐妥珠单抗(Otlertuzumab)、奥塞芦单抗(Oxelumab)、奥扎奈珠单抗(Ozanezumab)、奥利组单抗(Ozoralizumab)、帕吉昔单抗(Pagibaximab)、帕利珠单抗(Palivizumab)、潘瑞鲁单抗(Pamrevlumab)、帕尼单抗(Panitumumab)、盘卡单抗(Pankomab)、帕巴库单抗(Panobacumab)、帕萨妥珠单抗(Parsatuzumab)、帕考珠单抗(Pascolizumab)、帕妥昔珠单抗(Pasotuxizumab)、帕替组单抗(Pateclizumab)、帕曲妥单抗(Patritumab)、PDR001、帕博利珠单抗(Pembrolizumab)、培妥莫单抗(Pemtumomab)、培拉凯珠单抗(Perakizumab)、帕妥珠单抗(Pertuzumab)、培克珠单抗(Pexelizumab)、匹地利珠单抗(Pidilizumab)、维汀-匹那妥珠单抗(Pinatuzumab vedotin)、平妥莫单抗(Pintumomab)、普拉鲁单抗(Placulumab)、普瑞鲁单抗(Prezalumab)、洛扎利珠单抗(Plozalizumab)、珀伽利珠单抗(Pogalizumab)、维泊妥珠单抗(Polatuzumab vedotin)、泊奈组单抗(Ponezumab)、珀韦昔单抗(Porgaviximab)、普尼珠单抗(Prasinezumab)、普瑞利珠单抗(Prezalizumab)、普立昔单抗(Priliximab)、瑞托萨昔单抗(Pritoxaximab)、普托木单抗(Pritumumab)、PRO 140、奎利珠单抗(Quilizumab)、雷妥莫单抗(Racotumomab)、雷曲妥单抗(Radretumab)、雷韦单抗(Rafivirumab)、雷泮赛珠单抗(Ralpancizumab)、雷莫芦单抗(Ramucirumab)、雷奈维单抗(Ranevetmab)、兰尼单抗(Ranibizumab)、雷昔库单抗(Raxibacumab)、拉瓦加利单抗(Ravagalimab)、雷夫利珠单抗(Ravulizumab)、瑞法奈珠单抗(Refanezumab)、瑞加韦单抗(Regavirumab)、REGN-EB、瑞拉利单抗(Relatlimab)、壬托鲁单抗(Remtolumab)、瑞替珠单抗(Reslizumab)、利妥木单抗(Rilotumumab)、利努苏单抗(Rinucumab)、瑞莎珠单抗(Risankizumab)、利妥昔单抗(Rituximab)、聚乙二醇化利伐巴珠单抗(Rivabazumab pegol)、罗妥木单抗(Robatumumab)、Rmab(Rmab)、罗来度单抗(Roledumab)、若奇单抗(Romilkimab)、洛莫索珠单抗(Romosozumab)、罗他珠单抗(Rontalizumab)、洛曼妥珠单抗(Rosmantuzumab)、替洛伐妥珠单抗(Rovalpituzumab tesirine)、罗维珠单抗(Rovelizumab)、洛利昔珠单抗(Rozanolixizumab)、卢利珠单抗(Ruplizumab)、SA237、戈沙妥珠单抗(Sacituzumab govitecan)、沙玛立珠单抗(Samalizumab)、维汀-沙马妥单抗(Samrotamab vedotin)、沙利姆单抗(Sarilumab)、萨特利珠单抗(Satralizumab)、沙妥莫单抗喷地肽(Satumomab pendetide)、司库奇尤单抗(Secukinumab)、塞鲁单抗

(Selicrelumab)、瑟瑞妥单抗(Seribantumab)、瑟托萨昔单抗(Setoxaximab)、塞曲苏单抗(Setrusumab)、司韦单抗(Sevirumab)、西罗珠单抗(Sibrotuzumab)、SGN-CD19A、SHP647、西法木单抗(Sifalimumab)、司妥昔单抗(Siltuximab)、辛妥珠单抗(Simtuzumab)、希普利珠单抗(Siplizumab)、维汀-斯妥尤单抗(Sirtratumab vedotin)、西鲁库单抗(Sirukumab)、维汀-索非妥珠单抗(Sofituzumab vedotin)、索兰珠单抗(Solanezumab)、索利托单抗(Solitomab)、索尼普兹珠单抗(Sonepcizumab)、松妥珠单抗(Sontuzumab)、斯巴达珠单抗(Spartalizumab)、司他芦单抗(Stamulumab)、硫索单抗(Sulesomab)、舒他伏单抗(Suptavumab)、苏替莫单抗(Sutimlimab)、舒维组单抗(Suvizumab)、苏托舒单抗(Suvratoxumab)、他贝芦单抗(Tabalumab)、他珠单抗四西坦(Tacatuzumab tetraxetan)、他度珠单抗(Tadocizumab)、塔妥珠单抗(Talacotuzumab)、他利珠单抗(Talizumab)、塔奎妥单抗(Talquetamab)、坦妥维单抗(Tamtuvetmab)、他尼珠单抗(Tanezumab)、帕他普莫单抗(Taplitumomab paptox)、他瑞妥单抗(Tarextumab)、他利昔珠单抗(Tavolimab)、特立妥单抗(Teclistamab)、替非珠单抗(Tefibazumab)、阿替莫单抗(Telimomab aritox)、特立妥珠单抗(Telisotuzumab)、维汀-特立妥珠单抗(Telisotuzumab vedotin)、替妥莫单抗(Tenatumomab)、替奈昔单抗(Teneliximab)、特普利珠单抗(Teplizumab)、替泊地塔单抗(Tepoditamab)、替妥木单抗(Teprotumumab)、特度鲁单抗(Tesidolumab)、特土罗单抗(Tetulomab)、特折鲁单抗(Tezepelumab)、TGN1412、替布利珠单抗(Tibulizumab)、替曲吉珠单抗(Tildrakizumab)、替加组单抗(Tigatuzumab)、替米妥珠单抗(Timigutuzumab)、替莫鲁单抗(Timolumab)、替瑞利尤单抗(tiragolumab)、替古妥单抗(Tiragotumab)、替雷利珠单抗(Tislelizumab)、维汀-替索单抗(Tisotumab vedotin)、TNX-650、托珠单抗(Tocilizumab)、托木妥昔单抗(Tomuzotuximab)、托利珠单抗(Toralizumab)、托萨托舒单抗(Tosatoxumab)、托西莫单抗(Tositumomab)、托维妥单抗(Tovetumab)、曲罗芦单抗(Tralokinumab)、曲妥珠单抗(Trastuzumab)、曲妥珠单抗-多卡马嗪(Trastuzumab duocarmazine)、恩美曲妥珠单抗(Trastuzumab emtansine)、TRBS07、曲利组单抗(Tregalizumab)、曲美木单抗(Tremelimumab)、曲戈卢单抗(Trevogrumab)、西莫白介素单抗(Tucotuzumab celmoleukin)、妥韦单抗(Tuvirumab)、乌妥昔单抗(Ublituximab)、乌洛鲁单抗(Ulocuplumab)、乌瑞芦单抗(Urelumab)、乌珠单抗(Urtoxazumab)、尤特克单抗(Ustekinumab)、乌托鲁单抗(Utomilumab)、伐达妥昔单抗-他利林(Vadastuximab talirine)、瓦纳利单抗(Vanalimab)、维汀-万多妥珠单抗(Vandortuzumab vedotin)、万替妥单抗(Vantictumab)、伐努赛珠单抗(Vanucizumab)、伐利昔单抗(Vapaliximab)、伐利苏单抗(Varisacumab)、伐立鲁单抗(Varlilumab)、伐利组单抗(Vatelizumab)、维多珠单抗(Vedolizumab)、维妥珠单抗(Veltuzumab)、维帕莫单抗(Vepalimomab)、维森库单抗(Vesencumab)、维西珠单抗(Visilizumab)、沃巴利珠单抗(Vobarilizumab)、伏洛昔单抗(Volociximab)、冯洛利珠单抗(Vonlerolizumab)、沃特利单抗(Vopratelimab)、玛汀-沃瑟妥珠单抗(Vorsetuzumab mafodotin)、伏妥莫单抗(Votumumab)、伏那吉珠单抗(Vunakizumab)、珍妥珠单抗(Xentuzumab)、XMAB-5574、扎芦木单抗(Zalutumumab)、扎木单抗(Zanolimumab)、扎妥昔单抗(Zatuximab)、泽妥珠单抗(Zenocutuzumab)、齐拉木单抗(Ziralimumab)、佐妥昔单抗(Zolbetuximab)(＝IMAB362,克劳迪昔单抗(Claudiximab))、阿佐莫单抗(Zolimomab aritox)或它们的组合。

34.权利要求20-33中任一项所述的方法,其中所述第二治疗剂包括有效诱导ADCC、ADCP和/或CDC的抗体或其抗原结合部分/片段。

35.权利要求19-34中任一项所述的方法,其中所述受试者是癌症的动物模型。

36.一种装置或试剂盒,其包含至少一种根据权利要求1-12中任一项所述的抗体、单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段,所述装置或试剂盒任选地包含用于检测所述至少一种抗体、单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的标记物,或者包含所述至少一种抗体、单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的复合物。

37.一种检测样品中IGSF8多肽的存在或水平的方法,所述方法包括使样品中的所述IGSF8多肽与根据权利要求1-12中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段接触,其中所述抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段由可检测标记物标记,或者可附接至可检测标记物。

38.权利要求37所述的方法,其中所述抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段与所述IGSF8多肽形成复合物,并且以酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)、免疫化学方法、Western印迹或细胞内流式测定的形式检测所述复合物。

39.一种用于监测受试者中与异常(例如,高于正常)的IGSF8表达相关的病症的进展的方法,所述方法包括:

a)使用根据权利要求1-12中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段,在第一时间点检测获自受试者的样品中IGSF8的第一水平;

b)在后续时间点重复步骤a)以获得IGSF8的第二水平;并且

c)比较分别在步骤a)和b)中检测的IGSF8的所述第一水平和第二水平,以监测所述受试者中所述病症的进展,

其中第二水平高于所述第一水平表明疾病已经进展。

40.权利要求39所述的方法,其中在所述第一时间点和后续时间点之间,所述受试者已经接受了治疗以改善所述病症。

41.一种用于预测患有与异常(例如,高于正常)的IGSF8表达相关的病症的受试者的临床结果的方法,所述方法包括:

a)使用根据权利要求1-12中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段,测定获自受试者的第一样品中IGSF8的水平;

b)使用根据权利要求1-12中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段,测定获自具有良好临床结果的对照受试者的第二样品中IGSF8的水平;并且

c)比较所述第一样品和第二样品中的IGSF8的水平;

其中与所述第二样品中IGSF8的水平相比,所述第一样品中IGSF8的水平显著升高(例如,>20%、>50%或更大增加)表明所述受试者具有的临床结果更差,和/或

其中与所述第二样品中IGSF8的水平相比,所述第一样品中IGSF8的水平显著降低(例如,>20%、>50%或更大降低)表明所述受试者具有的临床结果更好。

42.一种评估疗法对受试者中与异常(例如,高于正常)的IGSF8表达相关的病症的功效的方法,所述方法包括:

a)在向受试者提供所述疗法的至少一部分之前,使用根据权利要求1-12中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段测定获自所述受试者的第一样品中IGSF8的水

平,并且

b)在提供所述疗法的所述部分之后,在获自所述受试者的第二样品中重复步骤a),

其中相对于所述第一样品,所述第二样品中IGSF8的水平显著降低(>20%、>50%或更大降低)表明所述疗法对于抑制所述受试者中的所述病症有效;和/或

其中相对于所述第一样品,所述第二样品中IGSF8的水平基本上相同或升高表明所述疗法不能有效抑制所述受试者中的所述病症。

43.权利要求41或42所述的方法,其中所述疾病是癌症。

44.一种评估测试化合物对抑制受试者中与异常(例如,高于正常)的IGSF8表达相关的病症的功效的方法,所述方法包括:

a)使用根据权利要求1-12中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段测定获自受试者的第一样品中IGSF8的水平,其中已将所述第一样品暴露于一定量的所述测试化合物;并且

b)使用根据权利要求1-12中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段测定获自受试者的第二样品中IGSF8的水平,其中未将所述第二样品暴露于所述测试化合物,

其中相对于所述第二样品中IGSF8的水平,所述第一样品中IGSF8的水平显著降低(>20%、>50%或更大降低)表明所述量的测试化合物对于抑制所述受试者中的所述病症有效,和/或

其中相对于所述第二样品中IGSF8的水平,所述第一样品中IGSF8的水平基本上相同表明所述量的测试化合物不能有效抑制所述受试者中的所述病症。

45.权利要求44所述的方法,其中所述第一样品和第二样品是获自所述受试者的单个样品的部分,或者是获自所述受试者的合并样品的部分。

46.权利要求44或45所述的方法,其中所述病症是癌症。

47.权利要求46所述的方法,其中所述癌症是肺癌、肾癌、胰腺癌、结直肠癌、急性髓系白血病(AML)、头和颈癌、肝癌、卵巢癌、前列腺癌、子宫癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、乳腺癌、胰腺导管癌、胸腺瘤、B-CLL、白血病、B细胞淋巴瘤以及浸润有表达IGSF8受体(例如,KIR3DL1、KIR3DL2和/或KLRC1/D1)的免疫细胞(例如,T细胞和/或NK细胞)的癌症。

48.权利要求37-47中任一项所述的方法,其中所述样品包括从所述受试者获得的细胞、血清、瘤周组织和/或瘤内组织。

49.权利要求39-48中任一项所述的方法,其中所述受试者是人类。

50.一种对IGSF8特异性的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述单克隆抗体包括:

(1)重链可变区(HCVR),其包含HCVR CDR1-CDR3序列,所述序列与抗体C1-C39诸如C30-C39中任何一种的HCVR CDR1-CDR3分别存在至少95%(例如100%)同一性,或者在抗体C1-C39诸如C30-C39中任何一种的HCVR CDR1-CDR3中分别具有多达1、2、3、4、5、6、7、8或9个置换;以及

(2)轻链可变区(LCVR),其包含LCVR CDR1-CDR3序列,所述序列与抗体C1-C39诸如C30-C39中任何一种的LCVR CDR1-CDR3分别存在至少95%(例如100%)同一性,或者在抗体C1-C39诸如C30-C39中任何一种的LCVR CDR1-CDR3中分别具有多达1、2、3、4、5、6、7、8或9个置换。

51.权利要求50所述的单克隆抗体或其抗原结合片段,包括:

(a)HCVR序列,其与抗体C1-C39诸如C30-C39中任何一种的HCVR序列存在至少95%(例如100%)同一性;和/或

(b)LCVR序列,其与抗体C1-C39诸如C30-C39中任何一种的LCVR序列存在至少95%(例如100%)同一性。

52.权利要求50或51所述的单克隆抗体或其抗原结合片段,其为人-小鼠嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、CDR移植抗体或表面重塑化抗体。

53.权利要求50-52中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述其抗原结合片段是Fab、Fab'、$F(ab')_2$、F_d、单链Fv或scFv、二硫键连接型F_v、V-NAR结构域、IgNar、胞内抗体、IgGΔCH_2、微小抗体、$F(ab')_3$、四抗体、三抗体、双抗体、单域抗体、DVD-Ig、Fcab、mAb_2、$(scFv)_2$或scFv-Fc。

54.权利要求50-53中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述单克隆抗体或其抗原结合片段以小于约25nM、20nM、15nM、10nM、5nM、2nM或1nM的K_d与IGSF8结合。

55.一种单克隆抗体或其抗原结合片段,其与权利要求50-54中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合片段竞争结合IGSF8。

56.权利要求50-55中任一项所述的抗体或单克隆抗体,其中所述抗体或其抗原结合部分/片段特异性结合IGSF8的D1 ECD(或Ig-V组结构域),优选以不超过5nM、2nM或1nM的K_D。

57.权利要求50-56中任一项所述的抗体或单克隆抗体,其中所述抗体或其抗原结合部分/片段抑制IGSF8与KIR3DL1/2的结合。

58.权利要求50-57中任一项所述的抗体或单克隆抗体,其中所述抗体或其抗原结合部分/片段抑制IGSF8与KIR3DL1/2的D2结构域,诸如KIR3DL1/2的包含S165、I171和/或M186的表位结合。

59.一种单克隆抗体或其抗原结合部分/片段,其特异性结合IGSF8的D1ECD(或Ig-V组结构域),并抑制与KIR3DL1/2的结合,诸如抑制与KIR3DL1/2的D2结构域(例如,KIR3DL1/2的包含S165、I171和/或M186的表位)的结合。

60.权利要求59所述的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段,其具有不超过5nM、2nM或1nM的K_D。

61.一种多核苷酸,其编码权利要求50-60中任一项所述的单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段。

62.一种多核苷酸,其在严格条件下与权利要求61所述的多核苷酸或与权利要求61所述的多核苷酸的互补物杂交。

63.一种载体,其包含权利要求61或62所述的多核苷酸。

64.一种宿主细胞,其包含权利要求61或62所述的多核苷酸或者权利要求63所述的载体,用于表达所编码的单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段。

65.一种产生权利要求50-60中任一项所述的单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的方法,所述方法包括:

(i)在适于表达所述单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的条件下,培养能够表达所述单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的权利要求64所述的宿主细胞;并且

(ii)回收/分离/纯化所表达的单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段。

66.一种在有需要的受试者中调节免疫应答的方法,所述方法包括抑制IGSF8与选自KIR3DL1、KIR3DL2和KLRC1/D2异二聚体的IGSF8受体之间的相互作用。

67.一种用于在有需要的受试者中治疗癌症的免疫治疗方法,所述方法包括抑制IGSF8与选自KIR3DL1、KIR3DL2和KLRC1/D2异二聚体的IGSF8受体之间的相互作用。

68.一种在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的IGSF8(免疫球蛋白超家族成员8)调节剂(例如,拮抗剂)。

69.一种在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的抑制与IGSF8相互作用的KIR3DL1拮抗剂。

70.一种在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的抑制与IGSF8相互作用的KIR3DL2拮抗剂。

71.一种在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的抑制与IGSF8相互作用的KLRC1/D1拮抗剂。

72.权利要求66-71中任一项所述的方法,其进一步包括向受试者施用有效量的第二治疗剂,所述第二治疗剂包括免疫疗法、免疫检查点抑制剂、癌症疫苗、嵌合抗原受体、化学治疗剂、放射疗法、抗血管生成剂、生长抑制剂、免疫肿瘤剂、抗肿瘤组合物、手术或其组合。

73.权利要求66-68和72中任一项所述的方法,其包括向所述受试者施用选自于下列的IGSF8拮抗剂:抗IGSF8抗体或其抗原结合部分/片段、IGSF8的抑制性肽、靶向IGSF8的核酸(适体、反义多核苷酸、RNAi试剂如siRNA、miRNA、shRNA;2型CRISPR/Cas效应酶的向导RNA)或者靶向IGSF8的小分子(例如,其M.W.<1000Da或<500Da);任选地,所述IGSF8拮抗剂是抗IGSF8抗体或其抗原结合部分/片段。

74.权利要求66、67、69和72中任一项所述的方法,其包括向所述受试者施用选自于下列的KIR3DL1拮抗剂:抗KIR3DL1抗体或其抗原结合部分/片段、KIR3DL1的抑制性肽、靶向KIR3DL1的核酸(适体、反义多核苷酸、RNAi试剂如siRNA、miRNA、shRNA;2型CRISPR/Cas效应酶的向导RNA)或者靶向KIR3DL1的小分子(例如,其M.W.<1000Da或<500Da);任选地,所述KIR3DL1拮抗剂是抗KIR3DL1抗体或其抗原结合部分/片段。

75.权利要求66、67、70和72中任一项所述的方法,其包括向所述受试者施用选自于下列的KIR3DL2拮抗剂:抗KIR3DL2抗体或其抗原结合部分/片段、KIR3DL2的抑制性肽、靶向KIR3DL2的核酸(适体、反义多核苷酸、RNAi试剂如siRNA、miRNA、shRNA;2型CRISPR/Cas效应酶的向导RNA)或者靶向KIR3DL2的小分子(例如,其M.W.<1000Da或<500Da);任选地,所述KIR3DL2拮抗剂是抗KIR3DL2抗体或其抗原结合部分/片段。

76.权利要求66、67、71和72中任一项所述的方法,其包括向所述受试者施用选自于下列的KLRC1/D1拮抗剂:抗KLRC1/D1抗体或其抗原结合部分/片段、KLRC1/D1的抑制性肽、靶向KLRC1/D1的核酸(适体、反义多核苷酸、RNAi试剂如siRNA、miRNA、shRNA;2型CRISPR/Cas效应酶的向导RNA)或者靶向KLRC1/D1的小分子(例如,其M.W.<1000Da或<500Da);任选地,所述KLRC1/D1拮抗剂是抗KLRC1/D1抗体或其抗原结合部分/片段。

77.权利要求73-76中任一项所述的方法,其中所述抗体是嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。

78.权利要求73-77中任一项所述的方法,其中所述抗原结合部分/片段是Fab、Fab'、F

$(ab')_2$、F_d、单链Fv或scFv、二硫键连接型F_v、V-NAR结构域、IgNar、胞内抗体、IgGΔCH_2、微小抗体、$F(ab')_3$、四抗体、三抗体、双抗体、单域抗体、DVD-Ig、Fcab、mAb_2、$(scFv)_2$或scFv-Fc。

79.权利要求73、77和78中任一项所述的方法，其中所述抗IGSF8抗体或其抗原结合部分/片段特异性结合IGSF8的D1(或Ig-V组结构域)。

80.权利要求73、77和78中任一项所述的方法，其中所述抗IGSF8抗体或其抗原结合部分/片段抑制IGSF8与KIR3DL1和/或KIR3DL2的结合。

81.权利要求73、77和78中任一项所述的方法，其中所述抗IGSF8抗体或其抗原结合部分/片段抑制IGSF8与KIR3DL1和/或KIR3DL2的中间/D2结构域的结合。

82.权利要求73、77和78中任一项所述的方法，其中所述抗IGSF8抗体或其抗原结合部分/片段抑制IGSF8与KIR3DL1和/或KIR3DL2的S165、I171和/或M186的结合。

83.权利要求73和77-82中任一项所述的方法，其中所述抗IGSF8抗体或其抗原结合部分/片段是根据权利要求50-60中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段中的任一种。

84.权利要求74、75、77和78中任一项所述的方法，其中所述抗KIR3DL1/2抗体或其抗原结合部分/片段、针对KIR3DL1/2的抑制性肽、靶向KIR3DL1/2的核酸或者靶向KIR3DL1/2的小分子结合KIR3DL1/2的包含残基S165、I171和/或M186的表位，从而抑制IGSF8与KIR3DL1/2的D2结构域结合。

85.权利要求74、75、77和78中任一项所述的方法，其中所述抗KIR3DL1/2抗体或其抗原结合部分/片段特异性结合KIR3DL1/2的ECD的中间/D2 Ig样结构域，优选地，所述抗KIR3DL1/2抗体或其抗原结合部分/片段特异性结合包含残基S165、I171和/或M186的表位。

86.权利要求73-85中任一项所述的方法，其中将所述抗IGSF8和/或抗KIR3DL1/2和/或抗KLRC1/D1抗体或其抗原结合部分/片段与细胞毒性剂缀合。

87.权利要求86所述的方法，其中所述细胞毒性剂选自下组：化学治疗剂、生物剂、毒素和放射性同位素。

88.权利要求73-87中任一项所述的方法，其中所述抗IGSF8和/或抗KIR3DL1/2和/或抗KLRC1/D1抗体或其抗原结合部分/片段减少癌症中增殖细胞的数量和/或减少癌症的肿瘤体积或大小。

89.权利要求73-88中任一项所述的方法，其中将所述抗IGSF8和/或抗KIR3DL1/2和/或抗KLRC1/D1抗体或其抗原结合部分/片段以药学上可接受的制剂施用。

90.权利要求67-89中任一项所述的方法，其中所述癌症是黑色素瘤(包括皮肤黑色素瘤)、宫颈癌、肺癌(例如，非小细胞肺癌、肺腺癌、肺鳞状细胞癌)、结直肠癌、淋巴瘤(包括B细胞淋巴瘤和DLBCL)、白血病(包括CLL和急性髓系白血病(AML))、BLCA肿瘤、乳腺癌、头和颈癌、头颈鳞状细胞癌、PRAD、THCA或UCEC、甲状腺癌、泌尿道癌、子宫癌、食管癌、肝癌、神经节癌、肾癌、胰腺癌、胰腺导管癌、卵巢癌、前列腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、胸腺瘤、B-CLL以及浸润有表达IGSF8受体的免疫细胞的癌症。

91.权利要求67-89中任一项所述的方法，其中所述癌症是肺癌、肾癌、胰腺癌、结直肠癌、急性髓系白血病(AML)、头和颈癌、肝癌、卵巢癌、前列腺癌或子宫癌。

92.权利要求67-91中任一项所述的方法，其中所述受试者中的癌细胞和/或肿瘤免疫浸润细胞表达IGSF8。

93.权利要求68、72、73、77-83和86-92中任一项所述的方法，其中所述IGSF8拮抗剂促进选自下组的细胞因子或靶基因的表达、分泌或以其他方式增加其活性：CXCL10、CXCL9、TNFα、CD8b、CD8a、Prf1、IFNγ、Gzma、Gzmb、CD274、PDCD1、PDCD1 Ig2、LAG3、Havcr2、Tigit或CTLA4。

94.权利要求93所述的方法，其中所述细胞因子或所述靶基因的表达、分泌或以其他方式增加其活性发生在肿瘤微环境内。

95.权利要求93或94所述的方法，其中所述细胞因子或所述靶基因的表达、分泌或以其他方式增加其活性是由于免疫细胞(例如，T淋巴细胞或NK细胞)浸润到肿瘤微环境中所致。

96.权利要求68-95中任一项所述的方法，其中所述IGSF8拮抗剂、所述KIR3DL1拮抗剂、所述KIR3DL2拮抗剂或所述KLRC1/D1拮抗剂是免疫刺激分子。

97.权利要求96所述的方法，其中所述IGSF8拮抗剂、所述KIR3DL1拮抗剂、所述KIR3DL2拮抗剂或所述KLRC1/D1拮抗剂刺激T细胞或NK细胞活化和/或浸润到肿瘤微环境中。

98.权利要求72-97中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是对PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG3、TIGIT、TIM3、NKG2A、CD276、VTCN1、VISR或HHLA2具有特异性的抗体或其抗原结合片段。

99.权利要求98所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是抗PD-1抗体，诸如西米普利单抗、纳武单抗或帕博利珠单抗。

100.权利要求98所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是抗PD-L1抗体，诸如阿维鲁单抗、德瓦鲁单抗、阿特珠单抗、KN035或CK-301。

101.权利要求72-97中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是PD-1/PD-L1的(非抗体)肽抑制剂，诸如AUNP12；PD-L1的小分子抑制剂诸如CA-170或大环肽诸如BMS-986189。

102.权利要求72-101中任一项所述的方法，其中所述第二治疗剂包含有效治疗癌症的抗体或其抗原结合部分/片段，诸如3F8、8H9、阿巴伏单抗、阿昔单抗、阿比妥珠单抗、阿泽奇单抗、阿利鲁单抗、阿克托舒单抗、阿达木单抗、阿德木单抗、阿杜卡努单抗、阿法库单抗、阿非莫单抗、聚乙二醇化阿拉赛珠单抗、阿仑珠单抗、阿利西尤单抗、喷替酸阿妥莫单抗、阿麦妥单抗、埃万妥单抗、马安那莫单抗、安德利昔单抗、雷星-阿奈妥单抗、阿尼鲁单抗、安芦组单抗、阿泊珠单抗、伊汀-阿普卢妥单抗、阿西莫单抗、阿伐苏单抗、阿塞珠单抗、阿特珠单抗、阿度尤单抗、阿替奴单抗、阿托木单抗、阿维鲁单抗、维汀-阿妥昔珠单抗、巴匹珠单抗、巴利昔单抗、巴维昔单抗、BCD-100、贝妥莫单抗、贝戈洛单抗、贝兰他单抗莫福汀、贝利木单抗、贝玛妥珠单抗、贝那利珠单抗、贝度尤单抗、贝迈奇单抗、博司利单抗、柏替木单抗、贝索单抗、贝伐珠单抗、贝洛托舒单抗、比西单抗、比玛卢单抗、比美吉珠单抗、泊特埃单抗、比伐珠单抗、布来鲁单抗、博纳吐单抗、布隆妥维单抗、布索组单抗、伯考赛珠单抗、布雷库单抗、维布妥昔单抗、布雷奴单抗、布达鲁单抗、布洛赛珠单抗、布隆妥珠单抗、布洛舒单抗、卡比利珠单抗、替卡米丹卢单抗、卡瑞利珠单抗、卡那奴单抗、莫坎妥珠单抗、拉-坎妥珠单抗、卡普赛珠单抗、卡罗单抗、卡芦单抗、卡罗妥昔单抗、卡妥索单抗、cBR-多柔比星免疫缀合物、西利珠单抗、西米普利单抗、阿姆白介素-2-瑟妥珠单抗、聚乙二醇化赛妥珠单抗、西利单抗、西妥昔单抗、赛必妥单抗、西妥珠单抗、泊西他组单抗、西妥木单抗、克拉扎珠单抗、克立昔单抗、泰坦-克利妥珠单抗、考曲妥珠单抗、培汀-考非妥珠单抗、雷星-考妥昔单抗、可那

木单抗、康赛珠单抗、考韦昔单抗、克瑞组单抗、立赞利珠单抗、克罗特度单抗、CR6261、古妥珠单抗、达西组单抗、达克珠单抗、达罗土珠单抗、聚乙二醇化达匹利珠单抗、达雷木单抗、德屈库单抗、登赛珠单抗、玛汀-地宁妥珠单抗、地诺单抗、玛汀-迪妥昔珠单抗、地洛昔单抗生物素、地莫单抗、迪扎米珠单抗、地努图希单抗、地利伏单抗、多玛洛珠单抗、阿托度单抗、多塔利单抗、曲齐妥单抗、DS-8201、度戈妥珠单抗、度普利尤单抗、德瓦鲁单抗、度司妥单抗、度妥昔珠单抗、依美昔单抗、依库珠单抗、埃巴单抗、依决洛单抗、依法利珠单抗、依芬古单抗、埃迪鲁单抗、依来努单抗、依更妥单抗、埃罗妥珠单抗、艾西莫单抗、依米妥珠单抗、依玛鲁单抗、依玛妥珠单抗、艾美赛珠单抗、维汀-恩泊妥单抗、依那妥组单抗、维汀-恩弗妥单抗、聚乙二醇化恩莫单抗、依诺妥珠单抗、依诺凯组单抗、依诺苏单抗、恩妥昔单抗、西依匹莫单抗、依帕珠单抗、依普奈珠单抗、依瑞奈尤单抗、厄利珠单抗、厄妥索单抗、埃达珠单抗、艾替利单抗、依曲利组单抗、依维苏单抗、依洛尤单抗、艾韦单抗、法索单抗、法拉莫单抗、法瑞西单抗、法妥组单抗、法司努单抗、FBTA05、泛维珠单抗、非扎奴单抗、菲巴妥珠单抗、非拉妥组单抗、芬妥木单抗、非利伏单抗、法兰妥单抗、夫来库单抗、伏妥珠单抗、芳妥珠单抗、福拉鲁单抗、福拉韦单抗、瑞玛奈珠单抗、非苏木单抗、弗洛西单抗、夫卢维单抗、福拉奴单抗、伏妥昔单抗、伽奈珠单抗、加利昔单抗、甘妥单抗、加尼妥单抗、更汀芦单抗、伽妥珠单抗、加维莫单抗、格迪伏单抗、吉妥珠单抗奥佐米星、吉伏组单抗、吉维单抗、瑾司鲁单抗、吉妥昔单抗、维汀-格巴妥木单抗、戈利木单抗、戈利昔单抗、戈奈单抗、古塞库单抗、伊利尤单抗、伊巴组单抗、IBI308、替伊莫单抗、艾芦库单抗、依达赛珠单抗、依法妥珠单抗、伊戈伏单抗、维汀-伊达珠单抗、IMAB363、伊玛鲁单抗、伊普利单抗、英西单抗、伊马曲单抗、英克拉单抗、雷星-英达妥昔单抗、维汀-英度妥单抗、伊奈利珠单抗、英夫利西单抗、英妥木单抗、伊诺莫单抗、奥英妥珠单抗、伊匹单抗、Iomab-B、伊妥木单抗、伊莎妥昔单抗、伊卡利单抗、艾司妥单抗、伊利组单抗、艾克珠单抗、凯利昔单抗、拉贝珠单抗、拉妥珠单抗、纬拉妥珠单抗、兰帕利珠单抗、拉那鲁单抗、兰洛珠单抗、恩星-拉妥昔单抗、拉韦昔单抗、来瑞珠单抗、来马索单抗、兰达丽珠单抗、伦韦单抗、仑兹鲁单抗、乐德木单抗、乐利单抗、来索伏单抗、来利珠单抗、来沙木单抗、利韦单抗、维汀-利法妥珠单抗、利格利珠单抗、替朗妥昔单抗、维汀-罗妥昔珠单抗、利洛托单抗-赛塔坦、林妥珠单抗、利瑞鲁单抗、洛迪赛珠单抗、洛吉维单抗、莫星-洛沃妥珠单抗、卢卡木单抗、聚乙二醇化鲁利珠单抗、鲁昔单抗、鲁妥珠单抗、鲁帕妥单抗、阿汀-鲁帕妥单抗、鲁吉珠单抗、马帕木单抗、玛格妥昔单抗、马塔西单抗、马司莫单抗、玛弗利木单抗、马妥珠单抗、美泊利单抗、美替木单抗、米拉组单抗、明瑞莫单抗、米吉珠单抗、米维妥昔单抗索拉坦辛、米妥莫单抗、莫多昔单抗、莫格利组单抗、莫那利珠单抗、莫罗木单抗、莫舒奈妥单抗、莫维珠单抗、帕西妥莫单抗、莫罗单抗-CD3、他那可单抗、那美芦单抗、埃托-那普妥莫单抗、恩星-那妥昔单抗、那呐妥单抗、那他珠单抗、那赛昔珠单抗、那韦伏单抗、那昔妥单抗、奈巴库单抗、耐昔妥珠单抗、奈莫利珠单抗、NEOD001、奈瑞莫单抗、奈伐苏单抗、尼塔奇单抗、尼妥珠单抗、尼塞韦单抗、纳武单抗、巯诺非妥莫单抗、奥托萨昔单抗、奥妥珠单抗、奥卡妥珠单抗、奥卡利珠单抗、奥度莫单抗、奥法木单抗、奥拉单抗、奥来鲁单抗、奥仑达利珠单抗、奥洛组单抗、奥马珠单抗、奥博妥单抗、OMS721、奥那妥组单抗、昂妥昔珠单抗、奥瓦利单抗、奥匹努单抗、莫妥组单抗、奥戈伏单抗、奥替苏单抗、奥昔组单抗、奥替利单抗、奥乐妥珠单抗、奥塞芦单抗、奥扎奈珠单抗、奥利组单抗、帕吉昔单抗、帕利珠单抗、潘瑞鲁单抗、帕尼单抗、盘卡单抗、帕巴库单抗、帕萨妥珠单抗、帕考珠单抗、帕妥昔珠单

抗、帕替组单抗、帕曲妥单抗、PDR001、帕博利珠单抗、培妥莫单抗、培拉凯珠单抗、帕妥珠单抗、培克珠单抗、匹地利珠单抗、维汀-匹那妥珠单抗、平妥莫单抗、普拉鲁单抗、普瑞鲁单抗、洛扎利珠单抗、珀伽利珠单抗、维泊妥珠单抗、泊奈组单抗、珀韦昔单抗、普尼珠单抗、普瑞利珠单抗、普立昔单抗、瑞托萨昔单抗、普托木单抗、PRO 140、奎利珠单抗、雷妥莫单抗、雷曲妥单抗、雷韦单抗、雷泮赛珠单抗、雷莫芦单抗、雷奈维单抗、兰尼单抗、雷昔库单抗、拉瓦加利单抗、雷夫利珠单抗、瑞法奈珠单抗、瑞加韦单抗、REGN-EB、瑞拉利单抗、壬托鲁单抗、瑞替珠单抗、利妥木单抗、利努苏单抗、瑞莎珠单抗、利妥昔单抗、聚乙二醇化利伐巴珠单抗、罗妥木单抗、Rmab、罗来度单抗、若奇单抗、洛莫索珠单抗、罗他珠单抗、洛曼妥珠单抗、替洛伐妥珠单抗、罗维珠单抗、洛利昔珠单抗、卢利珠单抗、SA237、戈沙妥珠单抗、沙玛立珠单抗、维汀-沙马妥单抗、沙利姆单抗、萨特利珠单抗、沙妥莫单抗喷地肽、司库奇尤单抗、塞鲁单抗、瑟瑞妥单抗、瑟托萨昔单抗、塞曲苏单抗、司韦单抗、西罗珠单抗、SGN-CD19A、SHP647、西法木单抗、司妥昔单抗、辛妥珠单抗、希普利珠单抗、维汀-斯妥尤单抗、西鲁库单抗、维汀-索非妥珠单抗、索兰珠单抗、索利托单抗、索尼普兹珠单抗、松妥珠单抗、斯巴达珠单抗、司他芦单抗、硫索单抗、舒他伏单抗、苏替莫单抗、舒维组单抗、苏托舒单抗、他贝芦单抗、他珠单抗四西坦、他度珠单抗、塔妥珠单抗、他利珠单抗、塔奎妥单抗、坦妥维单抗、他尼珠单抗、帕他普莫单抗、他瑞妥单抗、他利昔珠单抗、特立妥单抗、替非珠单抗、阿替莫单抗、特立妥珠单抗、维汀-特立妥珠单抗、替妥莫单抗、替奈昔单抗、特普利珠单抗、替泊地塔单抗、替妥木单抗、特度鲁单抗、特土罗单抗、特折鲁单抗、TGN1412、替布利珠单抗、替曲吉珠单抗、替加组单抗、替米妥珠单抗、替莫鲁单抗、替瑞利尤单抗、替古妥单抗、替雷利珠单抗、维汀-替索单抗、TNX-650、托珠单抗、托木妥昔单抗、托利珠单抗、托萨托舒单抗、托西莫单抗、托维妥单抗、曲罗芦单抗、曲妥珠单抗、曲妥珠单抗-多卡马嗪、恩美曲妥珠单抗、TRBS07、曲利组单抗、曲美木单抗、曲戈卢单抗、西莫白介素单抗、妥韦单抗、乌妥昔单抗、乌洛鲁单抗、乌瑞芦单抗、乌珠单抗、尤特克单抗、乌托鲁单抗、伐达妥昔单抗-他利林、瓦纳利单抗、维汀-万多妥珠单抗、万替妥单抗、伐努赛珠单抗、伐利昔单抗、伐利苏单抗、伐立鲁单抗、伐利组单抗、维多珠单抗、维妥珠单抗、维帕莫单抗、维森库单抗、维西珠单抗、沃巴利珠单抗、伏洛昔单抗、冯洛利珠单抗、沃特利单抗、玛汀-沃瑟妥珠单抗、伏妥莫单抗、伏那吉珠单抗、珍妥珠单抗、XMAB-5574、扎芦木单抗、扎木单抗、扎妥昔单抗、泽妥珠单抗、齐拉木单抗、佐妥昔单抗(＝IMAB362,克劳迪昔单抗)、阿佐莫单抗或它们的组合。

103.权利要求72-102中任一项所述的方法,其中所述第二治疗剂包括有效诱导ADCC和/或CDC的抗体或其抗原结合部分/片段。

104.权利要求66-103中任一项所述的方法,其中所述受试者是癌症的动物模型。

105.IGSF8拮抗剂、KIR3DL1拮抗剂、KIR3DL2拮抗剂或KLRC1/D1拮抗剂用于治疗受试者中癌症的用途,所述拮抗剂抑制IGSF8与选自KIR3DL1、KIR3DL2和KLRC1/D2异二聚体的IGSF8受体的结合。

106.权利要求105所述的用途,用于与权利要求72和98-103中任一项所述的第二治疗剂联合使用。

107.用于权利要求66-104中任一项的组合物,其包含IGSF8拮抗剂、KIR3DL1拮抗剂、KIR3DL2拮抗剂或KLRC1/D1拮抗剂,所述拮抗剂抑制IGSF8与选自KIR3DL1、KIR3DL2和KLRC1/D2异二聚体的IGSF8受体的结合。

108.一种特异性结合IGSF8的抗体,其用于治疗癌症的方法中,优选通过刺激T细胞和/或NK细胞活化。

109.一种特异性结合IGSF8的抗体,其用于治疗癌症的方法中,优选通过与权利要求72和98-103中任一项所述的第二治疗剂联合使用。

110.一种装置或试剂盒,其包含至少一种根据权利要求50-60中任一项所述的抗体、单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段,所述装置或试剂盒任选地包含用于检测所述至少一种抗体、单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的标记物,或者包含一种复合物,所述复合物包含所述至少一种抗体、单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段。

111.一种融合蛋白,其包含IGSF8多肽和抗体Fc区。

112.权利要求111所述的融合蛋白,其中所述IGSF8多肽是全长IGSF8、IGSF8的ECD或IGSF8 ECD的D1(或Ig V组)结构域。

113.权利要求111或112所述的融合蛋白,其中所述抗体Fc区是IgG1 Fc区,诸如人IgG1 Fc区。

114.一种多核苷酸,其编码权利要求111-113中任一项所述的融合蛋白。

115.一种载体,其包含权利要求114所述的多核苷酸。

116.一种宿主细胞,其包含权利要求114所述的多核苷酸或权利要求115所述的载体,用于表达所编码的融合蛋白。

117.一种产生权利要求111-113中任一项所述的融合蛋白的方法,所述方法包括:

(i)在适于表达所述融合蛋白的条件下,培养能够表达所述融合蛋白的权利要求116所述的宿主细胞;并且

(ii)回收/分离/纯化所表达的融合蛋白。

118.一种抑制原代NK细胞或T细胞活性的方法,其包括使所述原代NK细胞或所述T细胞与权利要求111-113中任一项所述的融合蛋白进行接触。

119.一种检测样品中IGSF8多肽的存在或水平的方法,所述方法包括使所述样品中的IGSF8多肽与根据权利要求50-60中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段进行接触,其中所述抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段由可检测标记物标记,或者可附接至可检测标记物。

120.权利要求119所述的方法,其中所述抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段与所述IGSF8多肽形成复合物,并且以酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)、免疫化学方法、Western印迹或细胞内流式测定的形式检测所述复合物。

121.一种用于监测受试者中与异常(例如,高于正常)的IGSF8表达相关的病症进展的方法,所述方法包括:

a)使用根据权利要求50-60中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段,在第一时间点检测获自所述受试者的样品中IGSF8的第一水平;

b)在后续时间点重复步骤a)以获得IGSF8的第二水平;并且

c)比较分别在步骤a)和b)中检测的IGSF8的所述第一水平和第二水平,以监测所述受试者中所述病症的进展,

其中所述第二水平高于所述第一水平表明疾病已经进展。

122.权利要求121所述的方法,其中在所述第一时间点和后续时间点之间,所述受试者已经接受了治疗以改善所述病症。

123.一种用于预测患有与异常(例如,高于正常)的IGSF8表达相关的病症的受试者的临床结果的方法,所述方法包括:

a)使用根据权利要求50-60中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段,测定获自所述受试者的第一样品中IGSF8的水平;

b)使用根据权利要求50-60中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段,测定获自具有良好临床结果的对照受试者的第二样品中IGSF8的水平;并且

c)比较所述第一样品和第二样品中IGSF8的水平;

其中与所述第二样品中IGSF8的水平相比,所述第一样品中IGSF8的水平显著升高(例如,>20%、>50%或更大增加)表明所述受试者具有更差的临床结果,和/或

其中与所述第二样品中IGSF8的水平相比,所述第一样品中IGSF8的水平显著降低(例如,>20%、>50%或更大降低)表明所述受试者具有更好的临床结果。

124.一种评估疗法对受试者中与异常(例如,高于正常)的IGSF8表达相关的病症的功效的方法,所述方法包括:

a)在向所述受试者提供所述疗法的至少一部分之前,使用根据权利要求50-60中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段测定获自所述受试者的第一样品中IGSF8的水平,并且

b)在提供所述疗法的所述部分之后,在获自所述受试者的第二样品中重复步骤a),

其中相对于所述第一样品,所述第二样品中IGSF8的水平显著降低(>20%、>50%或更大降低)表明所述疗法有效抑制所述受试者中的所述病症;和/或

其中相对于所述第一样品,所述第二样品中IGSF8的水平基本上相同或升高表明所述疗法不能有效抑制所述受试者中的所述病症。

125.权利要求121或122所述的方法,其中所述疾病是癌症。

126.一种评估测试化合物对抑制受试者中与异常(例如,高于正常)的IGSF8表达相关的病症的功效的方法,所述方法包括:

a)使用根据权利要求50-60中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段测定获自所述受试者的第一样品中IGSF8的水平,其中已将所述第一样品暴露于一定量的所述测试化合物;并且

b)使用根据权利要求50-60中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段测定获自所述受试者的第二样品中IGSF8的水平,其中未将所述第二样品暴露于所述测试化合物,

其中相对于所述第二样品中IGSF8的水平,所述第一样品中IGSF8的水平显著降低(>20%、>50%或更大降低)表明所述量的测试化合物有效抑制所述受试者中的所述病症,和/或

其中相对于所述第二样品中IGSF8的水平,所述第一样品中IGSF8的水平基本上相同表明所述量的测试化合物不能有效抑制所述受试者中的所述病症。

127.权利要求126所述的方法,其中所述第一样品和第二样品是获自所述受试者的单个样品的部分,或者是获自所述受试者的合并样品的部分。

128.权利要求119-127中任一项所述的方法，其中所述病症是癌症。

129.权利要求128所述的方法，其中所述癌症是肺癌、肾癌、胰腺癌、结直肠癌、急性髓系白血病(AML)、头和颈癌、肝癌、卵巢癌、前列腺癌、子宫癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、乳腺癌、胰腺导管癌、胸腺瘤、B-CLL、白血病、B细胞淋巴瘤以及浸润有表达IGSF8受体(例如，KIR3DL1、KIR3DL2和/或KLRC1/D1)的免疫细胞(例如，T细胞和/或NK细胞)的癌症。

130.权利要求119-129中任一项所述的方法，其中所述样品包括从所述受试者获得的细胞、血清、瘤周组织和/或瘤内组织。

131.权利要求121-130中任一项所述的方法，其中所述受试者是人类。

132.一种筛选功能性IGSF8拮抗剂的方法，所述方法包括使候选作用剂(例如，小分子、肽、适体、多核苷酸等)与NK细胞和靶细胞的共培养物进行接触，所述靶细胞表达IGSF8且对NK细胞介导的细胞毒性具有抗性，并鉴定促进NK细胞介导的针对靶细胞的细胞溶解活性的候选作用剂，从而将所述候选作用剂鉴定为IGSF8拮抗剂。

133.一种筛选功能性IGSF8拮抗剂的方法，所述方法包括在T细胞活化信号和IGSF8存在的情况下，使候选作用剂(例如，小分子、肽、适体、多核苷酸等)与Jurkat NFAT报告细胞进行接触，其中当所述报告细胞在所述候选作用剂不存在的情况下未被激活且在所述候选作用剂存在的情况下被激活时，将所述候选作用剂鉴定为功能性IGSF8拮抗剂。

134.一种特异性结合KIR3DL1/2的抗体，其用于通过抑制KIR3DL1/2-IGSF8相互作用从而刺激NK细胞活化来治疗癌症的方法中。

135.一种特异性结合KIR3DL1/2的抗体，其用于治疗癌症的方法中，优选通过与权利要求72和98-103中任一项所述的第二治疗剂联合使用。

136.一种单克隆抗体或其抗原结合片段，其对KIR3DL1/2，优选KIR3DL1/2的ECD的第二/中间/D2 Ig样结构域，或包含残基S165、I171和/或M186的表位具有特异性。

137.权利要求136所述的单克隆抗体或其抗原结合片段，其为人-小鼠嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、CDR移植抗体或表面重塑化抗体。

138.权利要求136或137所述的单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述其抗原结合片段是Fab、Fab'、$F(ab')_2$、F_d、单链Fv或scFv、二硫键连接型F_v、V-NAR结构域、IgNar、胞内抗体、IgGΔCH_2、微小抗体、$F(ab')_3$、四抗体、三抗体、双抗体、单域抗体、DVD-Ig、Fcab、mAb_2、$(scFv)_2$或scFv-Fc。

139.权利要求136-138中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述单克隆抗体或其抗原结合片段以小于约25nM、20nM、15nM、10nM、5nM、2nM或1nM的K_d与KIR3DL1/2结合。

140.一种单克隆抗体或其抗原结合片段，其与权利要求136-139中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合片段竞争结合KIR3DL1/2。

141.权利要求136-140中任一项所述的单克隆抗体，其中所述抗体或其抗原结合部分/片段特异性结合KIR3DL1/2的第二/中间/D2 ECD，优选以不超过5nM、2nM或1nM的K_D结合。

142.权利要求136-141中任一项所述的单克隆抗体，其中所述抗体或其抗原结合部分/片段抑制IGSF8与KIR3DL1/2的结合。

143.一种单克隆抗体或其抗原结合部分/片段，其特异性结合KIR3DL1/2的中间/D2 ECD(例如，特异性结合包含残基S165、I171和/或M186的表位)，抑制IGSF8与KIR3DL1/2的结

合。

144.权利要求143所述的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段,其具有不超过5nM、2nM或1nM的K_D。

用于通过靶向IGSF8来治疗自身免疫性疾病和癌症的组合物和方法

[0001] 相关申请的引用

[0002] 本国际专利申请要求于2020年8月10日提交的国际专利申请号PCT/CN2020/108129的优先权,其包括所有附图和序列在内的全部内容都通过引用并入本文。

[0003] 发明背景

[0004] IGSF8(免疫球蛋白超家族成员8,亦称为EWI-2、CD316以及许多其他别名)编码613个氨基酸(或65kDa)的蛋白质,该蛋白质是免疫球蛋白蛋白超家族EWI亚家族的成员。此亚家族的蛋白质都含有单个跨膜结构域、EWI(Glu-Trp-Ile)基序(因此称为EWI亚家族)和数目不定的免疫球蛋白结构域。

[0005] 人类和鼠类IGSF8蛋白序列具有91%同一性。尽管这两个物种中的IGSF8转录本几乎在每种所测试的组织中都有表达,但对IGSF8的生物学功能知之甚少。据报道,IGSF8特异性地与四次跨膜蛋白CD81和CD9直接相互作用,但不与其他四次跨膜蛋白或整联蛋白相互作用,并且推测它调节CD9和CD81在某些细胞功能,包括细胞迁移和病毒感染中的作用(Stipp等人,J.Biol.Chem.276(44):40545-40554,2001)。还将IGSF8鉴定为潜在的肿瘤抑制因子,因为已经发现它与另一种四次跨膜蛋白KAI1/CD82(一种癌症转移抑制因子)直接相互作用。据推测,IGSF8对于KAI1/CD82介导的癌细胞迁移的抑制很重要或可能是必需的(Zhang等人,Cancer Res.63(10):2665-2674,2003)。还发现IGSF8与来自MOLT-4T白血病细胞的整联蛋白α4β1结合,并且已经提出细胞表面上α4β1-CD81复合物的IGSF8依赖性重构是IGSF8对整联蛋白依赖性形态和运动功能的影响的原因(Kolesnikova等人,Blood 103(8):3013-3019,2004)。最后,已经发现IGSF8调节层粘连蛋白-5上的α3β1整联蛋白依赖性细胞功能(Stipp等人,JCB 163(5):1167-1177,2003)。

[0006] 尽管在许多患者中已经注意到基于检查点的免疫疗法,诸如使用抗CTLA-4和抗PD-1/PD-L1抗体带来的显著临床获益,但仍然有大多数癌症患者对这些治疗未产生应答。研究人员正试图了解为什么这种基于T细胞的免疫疗法对这些所谓的“无应答者”无效。

[0007] 肿瘤可以通过下调主要组织相容性复合体I类(MHC-I)分子的表达来逃避T细胞介导的免疫。已经证明癌细胞表面上MHC-I表达的部分或完全丧失是对某些基于T细胞的免疫疗法产生获得性抗性的主要机制。更重要的是,大约40%对抗PD-1/PD-L1或CTLA4免疫疗法获得抗性的癌症患者显示其癌细胞上MHC-I表达的完全丧失。这些肿瘤是“免疫冷淡”肿瘤,不幸的是,在癌症患者中其占所有肿瘤的比例超过70%。

[0008] 尽管MHC-I缺失的肿瘤细胞可以完全逃避T细胞的杀伤,但至少在理论上,它们仍然容易受到先天性免疫系统的自然杀伤(NK)细胞的破坏。然而,在肿瘤微环境(TME)中,由于尚未完全了解的原因,大多数NK细胞失活,并且无法特异性识别或杀伤没有MHC-I表达的癌细胞。

[0009] 同时,已发现某些免疫抑制性受体(例如,NKG2A、PD-1、LAG-3、TIGIT和TIM-3)在两种效应性T/NK细胞上均有表达。针对这些靶标生成的一些单克隆抗体能够逆转肿瘤中NK细胞的功能性耗竭,从而使基于NK细胞的癌症免疫疗法可能有望弥补基于T细胞的免疫疗法

的局限性。然而，几乎所有已被鉴定为能够抑制肿瘤微环境中NK细胞活性的癌细胞上的配体都是HLA配体，这些配体从一个个体到另一个无关个体之间差异极大，这让人怀疑这种策略可能并不普遍适用于更大的患者群体。同时，极少数癌细胞上的非HLA配体已被鉴定为能够抑制肿瘤微环境中的NK细胞活性。

[0010] 因此，仍然需要鉴定可能已被癌细胞劫持以逃避肿瘤微环境中NK细胞介导性杀伤的NK细胞抑制性的非HLA配体，以及可以阻断NK细胞抑制的试剂，以便促进基于NK细胞的癌症免疫疗法。

发明内容

[0011] 本发明的一个方面提供了对IGSF8具有特异性(例如，对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性)的分离的或重组的单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述单克隆抗体或其抗原结合片段包括含有VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的重链可变区(VH)，以及含有VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的轻链可变区(VL)，其中(a1)VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:714、715和716的氨基酸序列、基本上由或由其组成；并且VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:717、718和719的氨基酸序列、基本上由或由其组成；或者(a2)VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:754、755和756的氨基酸序列、基本上由或由其组成；并且VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:757、758和759的氨基酸序列、基本上由或由其组成；或者(b1)VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:720、721和722的氨基酸序列、基本上由或由其组成；并且VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:723、724和725的氨基酸序列、基本上由或由其组成；或者(b2)VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:760、761和762的氨基酸序列、基本上由或由其组成；并且VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:763、764和765的氨基酸序列、基本上由或由其组成；或者(c)VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含表D和表G的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3序列中任一项的氨基酸序列、基本上由或由其组成；并且VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含表D和表G的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3序列中任一项的氨基酸序列、基本上由或由其组成；或者(d)VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含表D和表G中任一抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3序列的氨基酸序列、基本上由或由其组成；任选地，该抗体及其抗原结合片段不具有与L1抗体和L2抗体的相同的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3序列(例如，该抗体不是L1，也不是L2)。

[0012] 在某些实施方案中，该单克隆抗体或其抗原结合片段包括(1)VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3，它们分别包含表D中任一抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3序列的氨基酸序列；或者包括(2)VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3，它们分别包含表G中任一抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3序列的氨基酸序列。

[0013] 在一些实施方案中，该单克隆抗体或其抗原结合片段包括VH和VL，其中(a)该VH包含VH FR1、VH FR2、VH FR3和/或VH FR4，它们包含(i)表D(或表G)中任何一种或多种抗体的相应VH FR序列的氨基酸序列，(ii)与表D(或表G)中任何一种或多种抗体的相应VH FR序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％序列同一性的氨基酸序

列;或者(iii)与表D(或表G)中任何一种或多种抗体的相应VH FR序列相比,具有至多1、2、3、4或5个置换、缺失和/或添加的氨基酸序列;和/或(b)该VL包含VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4,它们包含(i)表D(或表G)中任何一种或多种抗体的相应VL FR序列的氨基酸序列,(ii)与表D(或表G)中任何一种或多种抗体的相应VL FR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的氨基酸序列;或者(iii)与表D(或表G)中任何一种或多种抗体的相应VL FR序列相比,具有至多1、2、3、4或5个置换、缺失和/或添加的氨基酸序列。

[0014] 在一些实施方案中,该单克隆抗体或其抗原结合片段包括VH和VL,其中(a1)该VH包含分别为SEQ ID NO:734、735和736的氨基酸序列;并且该VL包含分别为SEQ ID NO:737、738和739的氨基酸序列;或者(a2)该VH包含分别为SEQ ID NO:774、775和776的氨基酸序列;并且该VL包含分别为SEQ ID NO:777、778和779的氨基酸序列;或者(b1)该VH包含分别为SEQ ID NO:740、741和742的氨基酸序列;并且该VL包含分别为SEQ ID NO:743、744和745的氨基酸序列;或者(b2)该VH包含分别为SEQ ID NO:780、781和782的氨基酸序列;并且该VL包含分别为SEQ ID NO:783、784和785的氨基酸序列;或者(c)该VH包含表D和表G中任何VH序列的氨基酸序列;并且该VL包含表D和表G中任何VL序列的氨基酸序列。

[0015] 在一些实施方案中,VH和VL序列分别包含表D和表G中任一抗体的VH和VL序列的氨基酸序列。

[0016] 在一些实施方案中,该单克隆抗体或其抗原结合片段是人-小鼠嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、CDR移植抗体或表面重塑化抗体。

[0017] 在一些实施方案中,所述其抗原结合片段是Fab、Fab'、$F(ab')_2$、Fd、单链Fv或scFv、二硫键连接型F_v、V-NAR结构域、IgNar、胞内抗体、IgGΔCH_2、微小抗体、$F(ab')_3$、四抗体、三抗体、双抗体、单域抗体、DVD-Ig、Fcab、mAb_2、$(scFv)_2$或scFv-Fc。

[0018] 在一些实施方案中,该单克隆抗体或其抗原结合片段包括重链恒定区,其中(a)该重链恒定区是野生型人IgG1、人IgG2、人IgG3、人IgG4;或者(b)该重链恒定区具有一种Fc结构域,这种Fc结构域缺乏抗体依赖性细胞毒性(ADCC)、补体依赖性细胞毒性(CDC)和/或抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)。

[0019] 在一些实施方案中,具有缺陷型Fc结构域的重链恒定区选自于由下列组成的组:IgG1-L234A/L235A(IgG1-LALA)、IgG1-L234A/L235A/P329G(IgG1-LALA-PG)、IgG1-N297A/Q/G(IgG1-NA)、IgG1-L235A/G237A/E318A(IgG1-AAA)、IgG1-G236R/L328R(IgG1-RR)、IgG1-S298G/T299A(IgG1-GA)、IgG1-L234F/L235E/P331S(IgG1-FES)、IgG1-L234F/L235E/D265A(IgG1-FEA)、IgG4-L234A/L235A(IgG4-LALA)、IgG4-S228P/L235E(IgG4-PE)、IgG1-E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、IgG2-H268Q/V309L/A330S/P331S(IgG2m4)和IgG2-V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S(IgG2c4d)。

[0020] 在一些实施方案中,所述单克隆抗体或其抗原结合片段与IGSF8结合的K_d小于约25nM、20nM、15nM、10nM、5nM、2nM或1nM。

[0021] 在某些方面,本发明提供了一种单克隆抗体或其抗原结合片段,其与本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段竞争结合IGSF8。

[0022] 本发明的另一方面提供了一种对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中该单克隆抗体包括:(1)重链可变区(HCVR),其包含HCVR CDR1-CDR3序列,这些序列

与抗体C1-C39诸如C30-C39中任何一种的HCVR CDR1-CDR3分别存在至少95％(例如100％)同一性,或者在抗体C1-C39诸如C30-C39中任何一种的HCVR CDR1-CDR3中分别具有多达1、2、3、4、5、6、7、8或9个置换;以及,(2)轻链可变区(LCVR),其包含LCVR CDR1-CDR3序列,这些序列与抗体C1-C39诸如C30-C39中任何一种的LCVR CDR1-CDR3分别存在至少95％(例如100％)同一性,或者在抗体C1-C39诸如C30-C39中任何一种的LCVR CDR1-CDR3中分别具有多达1、2、3、4、5、6、7、8或9个置换。

[0023] 本发明的一个相关方面提供了一种单克隆抗体或其抗原结合片段,其与本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段竞争对IGSF8的结合。

[0024] 在又一个相关方面中,本发明提供了一种单克隆抗体或其抗原结合部分/片段,其特异性结合IGSF8的D1 ECD(或Ig-V组结构域),并抑制与KIR3DL1/2的结合,诸如抑制与KIR3DL1/2的D2结构域(例如,包含KIR3DL1/2的S165、I171和/或M186的表位)的结合。

[0025] 本发明的另一方面提供了一种编码本发明单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的多核苷酸。

[0026] 在一个相关方面中,本发明提供了一种在严格条件下与本发明的多核苷酸或其互补物杂交的多核苷酸。

[0027] 本发明的另一方面提供了一种包含本发明多核苷酸的载体。

[0028] 本发明的另一方面提供了一种包含本发明多核苷酸或本发明载体的宿主细胞,用于表达所编码的本发明单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段。

[0029] 本发明的另一方面提供了一种产生本发明的单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的方法,该方法包括:(i)在适于表达本发明单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的条件下,培养能够表达本发明的单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的本发明的宿主细胞;并且(ii)回收/分离/纯化所表达的本发明单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段。

[0030] 本发明的另一方面提供了一种在有此需要的受试者中调节免疫应答的方法,该方法包括抑制IGSF8与选自KIR3DL1、KIR3DL2和KLRC1/D2异二聚体的IGSF8受体之间的相互作用。

[0031] 本发明的另一方面提供了一种用于在有此需要的受试者中治疗癌症的免疫治疗方法,该方法包括抑制IGSF8与选自KIR3DL1、KIR3DL2和KLRC1/D2异二聚体的IGSF8受体之间的相互作用。

[0032] 本发明的另一方面提供了一种在有此需要的受试者中治疗癌症的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的IGSF8(免疫球蛋白超家族成员8)调节剂(例如,拮抗剂)。

[0033] 本发明的另一方面提供了一种在有此需要的受试者中治疗癌症的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的抑制与IGSF8相互作用的KIR3DL1拮抗剂。

[0034] 本发明的另一方面提供了一种在有此需要的受试者中治疗癌症的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的抑制与IGSF8相互作用的KIR3DL2拮抗剂。

[0035] 本发明的另一方面提供了一种在有此需要的受试者中治疗癌症的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的抑制与IGSF8相互作用的KLRC1/D1拮抗剂。

[0036] 本发明的另一方面提供了IGSF8拮抗剂、KIR3DL1拮抗剂、KIR3DL2拮抗剂或KLRC1/D1拮抗剂的在受试者中治疗癌症的用途,所述拮抗剂抑制IGSF8与选自KIR3DL1、KIR3DL2和

KLRC1/D2异二聚体的IGSF8受体的结合。

[0037] 本发明的另一方面提供了包含IGSF8拮抗剂、KIR3DL1拮抗剂、KIR3DL2拮抗剂或KLRC1/D1拮抗剂的组合物用于前述方法权利要求中任一项，所述拮抗剂抑制IGSF8与选自KIR3DL1、KIR3DL2和KLRC1/D2异二聚体的IGSF8受体的结合。

[0038] 本发明的另一方面提供了特异性结合IGSF8的抗体用于治疗癌症的方法中，优选通过刺激T细胞和/或NK细胞活化。

[0039] 本发明的另一方面提供了特异性结合IGSF8的抗体用于治疗癌症的方法中，优选通过与如本文所述的第二治疗剂，诸如检查点抑制剂介导的免疫疗法联合使用。

[0040] 本发明的另一方面提供了一种装置或试剂盒，其包含至少一种本发明的抗体、单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段，该装置或试剂盒任选地包含用于检测所述至少一种抗体、单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的标记物，或者提供了一种复合物，其包含所述至少一种抗体、单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段。

[0041] 本发明的另一方面提供了一种包含IGSF8多肽和抗体Fc区的融合蛋白。

[0042] 本发明的另一方面提供了一种编码本发明融合蛋白的多核苷酸。

[0043] 本发明的另一方面提供了一种包含编码本发明融合蛋白的多核苷酸的载体。

[0044] 本发明的另一方面提供了一种宿主细胞，其包含编码本发明融合蛋白的多核苷酸或包含编码本发明融合蛋白的多核苷酸的载体，用于表达所编码的融合蛋白。

[0045] 本发明的另一方面提供了一种产生本发明融合蛋白的方法，该方法包括：(i)在适于表达所述融合蛋白的条件下，培养能够表达所述融合蛋白的本发明的宿主细胞；并且(ii)回收/分离/纯化所表达的融合蛋白。

[0046] 本发明的另一方面提供了一种抑制原代NK细胞或T细胞活性的方法，包括使所述原代NK细胞或所述T细胞与本发明的融合蛋白进行接触。

[0047] 本发明的另一方面提供了一种检测样品中IGSF8多肽的存在或水平的方法，该方法包括使样品中的IGSF8多肽与本发明的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段接触，其中所述抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段由可检测标记物标记，或者可附接至可检测标记物。

[0048] 本发明的另一方面提供了一种用于监测受试者中与异常(例如，高于正常)IGSF8表达相关的病症的进展的方法，该方法包括：a)使用本发明的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段，在第一时间点检测获自受试者的样品中IGSF8的第一水平；b)在后续时间点重复步骤a)以获得IGSF8的第二水平；并且c)比较分别在步骤a)和b)中检测的IGSF8的第一和第二水平，以监测受试者中病症的进展，其中第二水平高于第一水平表明疾病已进展。

[0049] 本发明的另一方面提供了一种用于预测患有与异常(例如，高于正常)IGSF8表达相关的病症的受试者的临床结果的方法，该方法包括：a)使用本发明的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段，确定获自受试者的第一样品中IGSF8的水平；b)使用本发明的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段，确定获自具有良好临床结果的对照受试者的第二样品中IGSF8的水平；并且c)比较第一和第二样品中IGSF8的水平；其中与第二样品中的IGSF8水平相比，第一样品中的IGSF8水平显著升高(例如，>20％、>50％或更大增加)表明该受试者的临床结果更差，和/或，其中与第二样品中的IGSF8水平相比，第一样品中的IGSF8水平

显著降低(例如,>20%、>50%或更大降低)表明该受试者的临床结果更好。

[0050] 本发明的另一方面提供了一种评估疗法对受试者中与异常(例如,高于正常)IGSF8表达相关的病症的功效的方法,该方法包括:a)在向受试者提供至少一部分的该疗法之前,使用本发明的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段确定获自该受试者的第一样品中IGSF8的水平,并且b)在提供所述部分的该疗法之后,在获自该受试者的第二样品中重复步骤a),其中相对于第一样品,第二样品中IGSF8的水平显著降低(>20%、>50%或更大降低)表明该疗法对于抑制受试者中的该病症有效;和/或,其中相对于第一样品,第二样品中IGSF8的水平基本上相同或升高,表明该疗法对于抑制受试者中的该病症无效。

[0051] 本发明的另一方面提供了一种评估测试化合物对抑制受试者中与异常(例如,高于正常)IGSF8表达相关的病症的功效的方法,该方法包括:a)使用本发明的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段确定获自受试者的第一样品中IGSF8的水平,其中已将第一样品暴露于一定量的所述测试化合物;并且b)使用本发明的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段确定获自受试者的第二样品中IGSF8的水平,其中未将第二样品暴露于该测试化合物,其中相对于第二样品IGSF8的水平,第一样品中IGSF8的水平显著降低(>20%、>50%或更大降低)表明该量的测试化合物对于抑制受试者中的该病症有效,和/或,其中相对于第二样品IGSF8的水平,第一样品中IGSF8的水平基本上相同表明该量的测试化合物对于抑制受试者中的该病症无效。

[0052] 本发明的另一方面提供了一种筛选功能性IGSF8拮抗剂的方法,该方法包括使候选作用剂(例如,小分子、肽、适体、多核苷酸等)与NK细胞和靶细胞的共培养物进行接触,所述靶细胞表达IGSF8且对NK细胞介导的细胞毒性具有抗性,并鉴定促进NK细胞介导的针对靶细胞的细胞溶解活性的候选作用剂,从而将该候选作用剂鉴定为IGSF8拮抗剂。

[0053] 本发明的另一方面提供了一种筛选功能性IGSF8拮抗剂的方法,该方法包括在T细胞活化信号和IGSF8存在的情况下,使候选作用剂(例如,小分子、肽、适体、多核苷酸等)与Jurkat NFAT报告细胞进行接触,其中当报告细胞在候选作用剂不存在的情况下未被激活且在候选作用剂存在的情况下才被激活时,将该候选作用剂鉴定为功能性IGSF8拮抗剂。

[0054] 本发明的另一方面提供了一种特异性结合KIR3DL1/2的抗体用于治疗癌症的方法中,其通过抑制KIR3DL1/2-IGSF8相互作用,从而刺激NK细胞活化。

[0055] 本发明的另一方面提供了一种特异性结合KIR3DL1/2的抗体用于治疗癌症的方法中,其优选通过与如本文所述的本发明的第二治疗剂,诸如检查点抑制剂介导的免疫疗法联合使用。

[0056] 本发明的另一方面提供了一种对KIR3DL1/2,优选KIR3DL1/2的ECD的第二/中间/D2 Ig样结构域,或包含残基S165、I171和/或M186的表位具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0057] 本发明的另一方面提供了与所述单克隆抗体或其抗原结合片段竞争结合KIR3DL1/2的单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0058] 本发明的另一方面提供了一种单克隆抗体或其抗原结合部分/片段,其特异性结合KIR3DL1/2的中间/D2 ECD(例如,特异性结合包含残基S165、I171和/或M186的表位),抑制IGSF8与KIR3DL1/2的结合。

[0059] 应该理解的是,本发明的任何一个实施方案,包括仅在实施例或权利要求书中描

述的那些实施方案,都可以与本发明的任何其他一个或多个另外的实施方案自由组合,除非明确并清晰地加以排除或出现不当。

附图说明

[0060] 图1示出了全基因组的自然杀伤(NK)细胞和癌细胞系(结直肠癌细胞系Colo205)共培养筛选的结果,表明Colo205中IGSF8功能的丧失增强了自然杀伤(NK)细胞对Colo205的细胞毒性。IGSF8基因是其丧失使Colo205细胞对NK细胞的杀伤变敏感的排名前2位的命中基因。

[0061] 图2A示出了用人Fc对照或人IGSF8-hFc(带人Fc标签的IGSF8)处理的来自人供体2和人供体3的原代NK细胞的剂量应答曲线。与Fc对照相比,随着IGSF8-hFc浓度的增加,NK细胞活力显著降低。

[0062] 图2B示出了用人Fc(hFc)对照或人IGSF8-hFc(带人Fc标签的IGSF8)处理的来自人供体2的原代T细胞的剂量应答曲线。与hFc对照相比,随着IGSF8-hFc浓度的增加,T细胞活力显著降低。

[0063] 图2C证实了IGSF8-Fc融合蛋白以剂量依赖性的方式对NK细胞活力的统计学显著($p<0.005$)降低。

[0064] 图2D示出了在用IGSF8-hFc融合蛋白或hFc对照蛋白处理的NK细胞的RNA-seq中下调的排名前5位的富集的KEGG通路。

[0065] 图2E示出了用IGSF8-hFc融合蛋白或hFc对照蛋白处理的NK细胞中基因的相对mRNA表达。

[0066] 图2F示出了IGSF8-hFc融合蛋白对原代NK细胞增殖的影响。

[0067] 图2G示出了IGSF8-hFc融合蛋白对原代$CD4^+$T细胞增殖的影响。

[0068] 图2H示出了IGSF8-hFc融合蛋白对原代$CD4^+$T细胞活化的影响。

[0069] 图3A示出了B16-F10黑色素瘤细胞中CRISPR/Cas9介导的IGSF8缺失显著($p<0.0001$)降低这种肿瘤细胞在小鼠异种移植模型中体内生长(如以mm^3为单位的肿瘤体积所测量)的能力(n=每组8只小鼠)。sg IGSF8-1和sg IGSF8-2代表两个实验组,其中使用靶向IGSF8不同区域的两种不同CRISPR/Cas9sgRNA删除B16-F10肿瘤细胞中的IGSF8基因,之后将这些IGSF8缺失型B16-F10肿瘤注射入小鼠中。作为对照,使用对AAVS1具有特异性的sgRNA在对照B16-F10肿瘤细胞中类似地删除了AAV整合位点AAVS1。

[0070] 图3B示出了IGSF8缺失后体内肿瘤生长迟缓不是由于基因缺失型B16-F10黑色素瘤细胞的相对体外细胞生长速率的差异。在缺失IGSF8的B16-F10细胞和缺失AAVS1的B16-F10细胞之间,体外细胞生长速率没有统计学上的显著性差异。

[0071] 图4示出了在多种癌细胞系中通过CRISPR/Cas9介导的基因编辑删除IGSF8促进了CXCL10的表达,将其测量为与缺失AAVS1的相同癌细胞相比,CXCL10的相对表达倍数增加。H292(NCI-H292)是一种人粘液表皮样肺癌细胞系;A549是一种人肺癌细胞系;Colo205是一种Dukes氏D型结直肠腺癌细胞系;N87是一种人胃癌细胞系;以及A375是一种人黑色素瘤细胞系。

[0072] 图5A-5D示出了在通过CRISPR/Cas9介导的基因编辑缺失AAVS1或IGSF8后,B16-F10细胞(图5A和5C)和肿瘤(图5B和5D)中多种基因的相对表达增强。*:$P<0.05$;**:$P<$

0.01;***:P<0.001。

[0073] 图6A示出了人癌细胞系中的IGSF8基因表达(数据获自博德研究所癌细胞系百科全书(CCLE))。

[0074] 图6B示出了在癌症基因组图谱(TCGA)队列中,IGSF8在多种肿瘤中的表达在统计学上显著升高。

[0075] 图6C示出了在癌症基因组图谱(TCGA)队列中,IGSF8的临床相关性。IGSF8的更高表达与不同的癌症类型中更差的临床结果相关。

[0076] 图7示出了本发明的代表性重组抗IGSF8抗体对IGSF8胞外结构域的结合亲和力,以及通过ELISA测量的其EC50值。

[0077] 图8示出了使用NK细胞作为效应细胞,并使用A431癌细胞作为靶细胞,对本发明的代表性抗IGSF8抗体进行抗体依赖性细胞毒性(ADCC)测定和相关的EC50值。

[0078] 图9示出了用本发明的代表性抗IGSF8抗体(10μg/mL)处理的Colo205细胞的人CXCL10 ELISA测定。

[0079] 图10示出了本发明的代表性抗IGSF8单克隆抗体对B16同基因小鼠中肿瘤生长的影响。将B16-F10细胞皮下注射到野生型(WT)C57BL/6小鼠中。然后从第6天开始,每3天用2mg/kg抗IGSF8抗体或对照人IgG1处理小鼠,一共给药4次。数据以均值±S.E.M.表示(n=每组8只小鼠)。

[0080] 图11是示出了用抗IGSF8抗体或用对照人IgG1处理的各组实验小鼠之间没有显著性重量差异的折线图。

[0081] 图12示出了本发明抗IGSF8抗体和抗PD-1抗体之间在降低同基因小鼠中B16-F10黑色素瘤肿瘤体积增加方面的协同效应。

[0082] 图13A示出了IGSF8-hFc融合蛋白对与K562细胞共培养的NK细胞的细胞溶解活性的影响。

[0083] 图13B示出了在NK-K562共培养模型中,IGSF8-hFc融合蛋白对NK细胞产生穿孔素的影响。

[0084] 图14示出了与K562细胞、强迫表达IGSF8的K562细胞或IGSF8敲除的K562细胞共培养对NK细胞的细胞溶解活性的影响。NK细胞来自两个不同的供体。

[0085] 图15A示出了IGSF8的拓扑结构域。

[0086] 图15B示出了IGSF8蛋白的D1和D2-4结构域对与K562细胞共培养的NK细胞的细胞溶解活性的影响。

[0087] 图16A示出了对NK细胞上IGSF8的受体脱孤(de-orphaning)研究的CRISPR筛选策略的概述。

[0088] 图16B示出了通过CRISPR筛选出的排名靠前的选定基因的点图。

[0089] 图17A示出了用于表达KIR受体的慢病毒载体的核心图。

[0090] 图17B示出了生物素标记的IGSF8与不同KIR家族蛋白的结合。

[0091] 图17C示出了用于表达KLRC1/D1异二聚体受体的两种慢病毒载体的核心图。

[0092] 图17D示出了只有KLRC1/D1异二聚体,而不是单独的每种单体,结合重组IGSF8-hFc蛋白。

[0093] 图17E示出了IGSF8与KIR3D1/2或KLRC1/D1受体的结合是由IGSF8的D1(Ig-V组)

ECD介导。

[0094] 图18A示出了KIR3DL1/2的拓扑结构域,以及用于缩减针对IGSF8的KIR3DL1/2的结合结构域的各个结构域构建体。

[0095] 图18B示出了生物素标记的IGSF8与KIR3DL1/2的不同结构域的结合。

[0096] 图19A示出了KIR家族蛋白的多序列比对,以及IGSF8结合所需的三个残基。

[0097] 图19B示出了KIR3DL1的晶体结构,以及IGSF8结合所需的三个残基。

[0098] 图20示出了生物素标记的IGSF8与KIR3DL1/2的不同突变体的结合。

[0099] 图21示出了IGSF8单克隆抗体(mAb)B34、1B4、2B4、1C2、3F12、B46和B104与细胞表面强迫表达人IGSF8的CT26细胞的结合和EC50值。这些抗体中至少有一些(例如,1B4、B46和B104)还结合在CT26细胞上表达的小鼠IGSF8(数据未显示)。

[0100] 图22示出了IGSF8 mAb与CT26细胞上IGSF8的D1结构域的结合。

[0101] 图23A是抗体阻断测定的两个实施方案的示意图。在左图中,用可溶性且生物素标记的受体(KIR3DL1/2)和抗IGSF8 mAb处理表达配体IGSF8的CT26细胞,随后用PE标记的链霉亲和素检测结合的受体。在右图中,使表达IGSF8配体的MC38细胞与表达KLR或KIR受体的CT26细胞接触,能够阻断MC38-CT26细胞/细胞缀合物的抗IGSF8抗体会减少FACS可检测的缀合物的形成。

[0102] 图23B示出了通过选定的抗IGSF8抗体阻断表达IGSF8的MC38细胞和表达KIR3DL2的CT26细胞之间的细胞-细胞缀合物形成。

[0103] 图23C示出了通过抗IGSF8抗体阻断表达IGSF8的MC38细胞和表达KLRC1/D1异二聚体的CT26细胞之间的细胞-细胞缀合物形成。

[0104] 图24A是图24B中NK细胞抑制测定的示意图。

[0105] 图24B示出了抗IGSF8 mAb可以逆转IGSF8介导的对K562细胞杀伤(通过人原代NK细胞)的抑制作用。

[0106] 图25A示出了使用B16-F10同基因模型的体内抗肿瘤功效。

[0107] 图25B示出了用抗IGSF8 mAb或同种型匹配的IgG对照处理的个体小鼠的应答。

[0108] 图26A示出了使用LLC同基因小鼠模型的体内抗肿瘤功效。

[0109] 图26B示出了使用CT26同基因小鼠模型的体内抗肿瘤功效。

[0110] 图27示出了LLC同基因小鼠模型中基因的相对mRNA表达。

[0111] 图28示出了L1和L2抗体重链和轻链可变区的氨基酸序列。根据IMGT编号方案的CDR序列在方框中。下划线序列包括可能影响结合亲和力的CDR区以及相邻框架区序列。

[0112] 图29示出了对L1重链CDR内突变的阴性选择热图。灰色方块代表与处于相同位置的L1 CDR残基的原始序列相比,降低结合的氨基酸置换。灰色阴影越深,与原始残基相比,结合越弱。

[0113] 图30示出了对L1重链CDR内突变的阳性选择热图。灰色方块代表与处于相同位置的L1 CDR残基的原始序列相比,增强/提高结合的氨基酸置换。灰色阴影越深,与原始残基相比,结合越强。

[0114] 图31示出了对L1轻链CDR内突变的阴性选择热图。

[0115] 图32示出了对L1轻链CDR内突变的阳性选择热图。

[0116] 图33示出了对L2重链CDR内突变的阴性选择热图。

[0117] 图34示出了对L2重链CDR内突变的阳性选择热图。

[0118] 图35示出了对L2轻链CDR内突变的阴性选择热图。

[0119] 图36示出了对L2轻链CDR内突变的阳性选择热图。

[0120] 图37A-37D示出了本发明的代表性L1和L2抗体对在CT26细胞表面上表达的人(图37A)、猴(图37B)和小鼠(图37C)IGSF8的结合亲和力,以及通过FACS测量的其EC50值(图37D)。

[0121] 图38A示出了通过FACS测量的慢病毒介导的CRISPR/Cas9对NK细胞的KIR3DL2敲减。图38B示出了NK细胞上KIR3DL2的丧失可以逆转IGSF8介导的对K562细胞杀伤(通过人原代NK细胞)的抑制作用。

[0122] 图39示出了通过FACS,代表性L1和L2抗体可以以剂量依赖性的方式完全阻断IGSF8与KIR3DL2的相互作用。

[0123] 图40A-40D示出了使用原代NK细胞与癌细胞系Jurkat(图40A)、SU-DHL2(图40B)、LNCap(图40C)和K562(图40D)的共培养模型,代表性L1和L2抗体的体外抗肿瘤细胞功效。****:P<0.0001。

[0124] 图41A-41B示出了使用PBMC与癌细胞系H1437(图41A)和SKBR3(图41B)的共培养模型,代表性L1和L2抗体的体外抗肿瘤细胞功效。****:P<0.0001。

[0125] 图42A-42B示出了使用PBMC与癌细胞系SW480(图42A)和H520(图42B)的共培养模型,代表性L1和L2抗体的体外抗肿瘤细胞功效。比较了具有正常人IgG1或IgG1缺陷型突变体(IgG1-LALA)的L1或L2抗体的功效。**:P<0.01;***:P<0.001;****:P<0.0001。

[0126] 图43A示出了使用B16-F10同基因模型,代表性L1抗体的体内抗肿瘤功效。图43B描绘了具有正常人IgG1、IgG4和IgG1缺陷型突变体(IgG1-LALA)的L1抗体之间的比较。**:P<0.01;***:P<0.001;****:P<0.0001。

[0127] 图44示出了经具有人正常IgG1、IgG4和IgG1缺陷型突变体(IgG1-LALA)的L1抗体处理的B16肿瘤中效应性NK和T细胞的标志物基因的表达。*:P<0.05;**:P<0.01。

[0128] 发明详述

[0129] 1.概览

[0130] 免疫球蛋白超家族成员8(IGSF8)基因编码免疫球蛋白蛋白超家族的一个成员,具有单次跨膜(TM)结构域。IGSF8含有胞外Ig V组结构域,其存在于多种蛋白家族中,包括T细胞受体如CD2、CD4、CD80和CD86,以及免疫检查点如PD1、LAG3、PDL1。在人类中,当与正常人类组织中的对照水平相比时,IGSF8似乎在选择的癌症患者的组织学组织中过表达。

[0131] 本文所述的发明部分上基于IGSF8是一种新型癌症治疗靶标的发现,因此IGSF8的拮抗剂可用于治疗此类癌症。本文提供的数据证明IGSF8独特地在癌细胞中表达,并且在多种癌症类型中高表达,特别是在黑色素瘤、宫颈癌、非小细胞肺癌、结直肠癌和许多其他癌症中。IGSF8与T细胞和NK(自然杀伤)细胞相互作用,从而阻止NK细胞和T细胞增殖和/或降低NK细胞和T细胞的活力。同时,敲除IGSF8基因或以其他方式使IGSF8功能失活可改善T细胞和NK细胞对肿瘤的浸润,并增强其在体内的细胞溶解活性。

[0132] 更具体地说,本发明部分上基于这样的发现,即IGSF8具有之前未认识到的功能,作为活化NK细胞的一种新型抑制性配体,并且作为免疫检查点来调节NK细胞介导的癌症免疫监视。IGSF8重组蛋白抑制活化的原代NK或T细胞的增殖和细胞溶解活性。另一方面,

IGSF8抑制(例如通过抗IGSF8单克隆抗体)在多种啮齿类动物肿瘤动物模型中产生体内功效。

[0133] 本文所述的发明部分基于抑制IGSF8介导的NK细胞功能,其优于基于MHC I类(HLA)的NK细胞抑制,部分原因是MHC I分子在不相关个体中高度多样化,而IGSF8不仅在不同个体之间是非多态性的,而且在物种间很大程度上具有保守性(诸如在人类和实验动物如小鼠之间高度保守),因此能够直接在动物(例如小鼠)模型中测试抗IGSF8作用剂,包括抗人IGSF8单克隆抗体。

[0134] 本文所述的发明进一步基于以下发现,即IGSF8可以通过其D1结构域(一种Ig V组结构域)特异性结合原代NK细胞,因为仅具有D1结构域作为胞外结构域的截短型IGSF8足以抑制NK细胞,而另一种仅仅不含D1结构域的截短型IGSF8蛋白完全丧失了对NK细胞的抑制功能。

[0135] 本文所述的发明进一步基于以下发现,即IGSF8通过特异性结合在NK细胞表面上表达的KIR家族受体即KIR3DL2(KIR3DL1程度低一些)而与NK细胞结合。就像肿瘤可以通过下调MHC-I或表达PD-L1配体,从而通过与T细胞上的PD1结合以抑制T细胞功能来逃避T细胞介导的免疫一样,肿瘤也可以类似地上调IGSF8,从而通过结合NK细胞上对IGSF8具有特异性的KIR受体(例如,KIR3DL1/2)来逃避NK细胞介导的癌症免疫监视。

[0136] 本文所述的发明进一步基于以下发现,即IGSF8通过特异性结合NK细胞表面上表达的KLRC1/KLRD1异二聚体受体(而不是仅KLRC1或KLRD1单体)而与NK细胞结合。如上文所述,肿瘤可以上调IGSF8,从而通过结合NK细胞上对IGSF8具有特异性的KLRC1/D1异二聚体受体来逃避NK细胞介导的癌症免疫监视。

[0137] 由于已发现IGSF8在多种类型的肿瘤中以高水平表达,因此使用抗IGSF8 mAb作为检查点抑制剂的免疫疗法可以增加对检查点抑制剂治疗产生应答的患者群。此外,已对PD-1疗法产生抗性的肿瘤患者也可能表达IGSF8作为一种替代免疫逃逸策略,而IGSF8阻断可以提供一条另外的途径来克服对PD-1免疫疗法的抗性。

[0138] 本文所述的发明进一步基于以下发现,即抗IGSF8疗法与抗PD1/PD-L1疗法协同发挥作用,部分上是通过同时激活肿瘤微环境中的T细胞和NK细胞,正如本文的动物模型所证明的那样。

[0139] 相应地,本发明提供了特异性结合IGSF8(特别是其Ig V组胞外结构域)的单克隆抗体及其抗原结合片段。此类抗体可抑制IGSF8的一种或多种功能,诸如IGSF8与NK细胞表面受体(例如,KIR3DL1或KIR3DL2或KLRC1/D1)的结合,并逆转或降低IGSF8介导的对NK细胞活性和/或活力的抑制。本发明进一步提供了编码抗IGSF8抗体或其抗原结合片段的核酸、携带此类核酸编码序列以在合适的宿主细胞中表达的载体,以及通过培养能够表达此类抗体或其抗原结合片段的宿主细胞来产生此类抗体或其抗原结合片段的方法。本发明进一步提供了将这种抗体用于诊断、预后和治疗目的的方法。

[0140] 已经生成了针对IGSF8的多种抗体,其中许多抗体已经验证了IGSF8结合、阻断、对表达IGSF8的癌细胞表现出ADCC,以及增强NK和/或T细胞对癌细胞的杀伤作用。更重要的是,本文提供的数据显示,同时抑制IGSF8功能和PD-1/PD-L1免疫检查点在体内小鼠癌症(黑色素瘤)模型中产生协同功效。

[0141] 本文所述抗体的部分特征在于抗体针对IGSF8的高结合亲和力。本文所述的抗体

进一步部分上基于以下令人惊讶的发现，即具有效应功能降低的某些形式的抗体表现出比具有完整效应功能的抗体更好的抗肿瘤功效。

[0142] 本发明还提供了特异性结合NK细胞上和/或T细胞上IGSF8受体之一，诸如KIR3DL1或KIR3DL2或KLRC1/D1的单克隆抗体及其抗原结合片段，以通过IGSF8与这些受体中一种或多种的结合来逆转或降低IGSF8介导的对NK/T细胞活性和/或活力的抑制。对KIR3DL2或KIR3DL1具有特异性的抗体可以对负责IGSF8结合的KIR3DL1/2的D2胞外结构域具有特异性，包括特异性阻断IGSF8与KIR3DL1/2的残基S165、I171和/或M186结合的抗体。此类抗体可抑制KIR3DL1/2和/或KLRC1/D1的一种或多种功能，诸如IGSF8结合，并逆转或降低IGSF8介导的对NK细胞活性和/或活力的抑制。本发明进一步提供了编码针对KIR3DL1或KIR3DL2或KLRC1/D1的此类抗体或其抗原结合片段的核酸、携带此类核酸编码序列以在合适的宿主细胞中表达的载体，以及通过培养能够表达此类抗体或其抗原结合片段的宿主细胞来产生此类抗体或其抗原结合片段的方法。本发明进一步提供了将这种抗体用于诊断、预后和治疗目的的方法。

[0143] 因此具体而言，本文所述的发明提供了通过调节(例如，抑制)IGSF8活性/拮抗IGSF8功能，通过破坏/拮抗IGSF8与NK/T细胞上一种或多种其受体(例如，KIR3DL1或KIR3DL2或KLRC1/D1)的相互作用，来调节免疫应答或治疗癌症的方法和试剂，其中任选地与靶向PD-1/PD-L1免疫检查点的任选第二治疗剂联合使用。

[0144] 本发明的详细方面将在以下各部分中进一步分别描述。然而，应该理解的是，本发明的任何一个实施方案，包括仅在实施例或附图中描述的实施方案以及仅在以下一个部分中描述的实施方案，都可以与本发明的任何其他一个或多个实施方案相组合。

[0145] 2.定义

[0146] 从最广义而言，术语“抗体”包括各种抗体结构，包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体和多特异性抗体(例如，双特异性抗体)。术语“抗体”还可以泛指包含重链的互补决定区(CDR)1、CDR2和CDR3以及轻链的CDR1、CDR2和CDR3的分子，其中该分子能够与抗原结合。术语“抗体”还包括但不限于嵌合抗体、人源化抗体、人抗体以及各种物种如小鼠、人类、食蟹猴等的抗体。

[0147] 然而，从狭义上而言，“抗体”指的是各种单克隆抗体，包括嵌合性单克隆抗体、人源化单克隆抗体和人单克隆抗体。

[0148] 在一些实施方案中，抗体包含重链可变区(HCVR或VH)和轻链可变区(LCVR或VL)。在一些实施方案中，抗体包括至少一条重链(HC)和至少一条轻链(LC)，该重链包含重链可变区和至少一部分重链恒定区，该轻链包含轻链可变区和至少一部分轻链恒定区。在一些实施方案中，抗体包括两条重链和两条轻链，其中每条重链包含重链可变区和至少一部分重链恒定区，其中每条轻链包含轻链可变区和至少一部分轻链恒定区。

[0149] 如本文所用的，单链Fv(scFv)或包括例如包含所有六个CDR(三个重链CDR和三个轻链CDR)的单个多肽链的任何其他抗体均被认为具有重链和轻链。在一些这样的实施方案中，重链是包含三个重链CDR的抗体区域，而轻链是包含三个轻链CDR的抗体区域。

[0150] 如本文所用的术语“重链可变区(HCVR或VH)”至少指的是重链CDR1(CDR-H1或VH-CDR1)、框架2(HFR2或VH-FR2)、CDR2(CDR-H2或VH-CDR2)、FR3(HFR3或VH-FR3)和CDR3(CDR-H3或VH-CDR3)。在一些实施方案中，重链可变区还包含FR1(HFR1或VH-FR1)的至少一部分，

其位于CDR-H1的N末端，和/或FR4(HFR4或VH-FR4)的至少一部分，其位于CDR-H3的C末端。

[0151] 如本文所用的术语“重链恒定区”指的是包含至少三个重链恒定结构域CH1、CH2和CH3的区域。非限制性的示例性重链恒定区包括γ、δ和α。非限制性的示例性重链恒定区还包括ε和μ。每个重链恒定区对应一种抗体同种型。例如，包含γ恒定区的抗体为IgG抗体(例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)，包含δ恒定区的抗体为IgD抗体，包含α恒定区的抗体为IgA抗体，包含ε恒定区的抗体为IgE抗体，并且包含μ恒定区的抗体为IgM抗体。

[0152] 可以将某些同种型进一步细分为亚类。例如，IgG抗体包括但不限于IgG1(包含γ1恒定区)、IgG2(包含γ2恒定区)、IgG3(包含γ3恒定区)以及IgG4(包含γ4恒定区)抗体；IgA抗体包括但不限于IgA1(包含α1恒定区)和IgA2(包含α2恒定区)抗体；并且IgM抗体包括但不限于IgM1(包含μ1恒定区)和IgM2(包含μ2恒定区)。

[0153] 重链恒定区在该分子的C端包含可结晶片段(Fc)结构域。Fc区的一个主要功能是通过与称为Fc受体(FcR)的细胞表面受体和补体系统的一些蛋白质(例如C1q)发生相互作用，诱发免疫效应功能，诸如抗体依赖性细胞毒性(ADCC)、补体依赖性细胞毒性(CDC)和抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)。不同的抗体同种型可能在不同程度上参与免疫效应功能，并且也已经采用Fc工程化策略来增强或降低免疫效应功能。

[0154] 如本文所用的术语“重链”指的是至少包含重链可变区的多肽，含有或不含前导序列。在一些实施方案中，重链包含至少一部分重链恒定区。如本文所用的术语“全长重链”指的是包含重链可变区和重链恒定区的多肽，含有或不含前导序列，并且带有或不带C末端赖氨酸。

[0155] 如本文所用的术语“轻链可变区(LCVR或VL)”指的是包含轻链CDR1(CDR-L1或VL-CDR1)、框架(FR)2(LFR2或VL-FR2)、CDR2(CDR-L2或VL-CDR2)、FR3(LFR3或VL-FR3)和CDR3(CDR-L3或VL-CDR3)的区域。在一些实施方案中，轻链可变区还包含FR1(LFR1或VL-FR1)的至少一部分和/或FR4(LFR4或VL-FR4)的至少一部分。

[0156] 如本文所用的术语“轻链恒定区”指的是包含轻链恒定结构域C_L的区域。轻链恒定区的非限制性示例包括λ和κ。

[0157] 如本文所用的术语“轻链”指的是至少包含轻链可变区的多肽，含有或不含前导序列。在一些实施方案中，轻链包含至少一部分轻链恒定区。如本文所用的术语“全长轻链”指的是包含轻链可变区和轻链恒定区的多肽，含有或不含前导序列。

[0158] 术语“抗体片段”或(抗体的)“抗原结合部分”包括但不限于能够结合抗原的片段，诸如Fv、单链Fv(scFv)、Fab、Fab'和$(Fab')_2$。

[0159] 可以通过抗体竞争测定法来确定与参照抗体“结合相同表位的抗体”。它指的是在竞争测定中将参照抗体与其抗原的结合阻断50％或更多的抗体，反之，指的是在竞争测定中参照抗体将该抗体与其抗原的结合阻断50％或更多。当在竞争相同表位的抗体的上下文中使用时，术语“竞争”意指抗体之间的竞争通过以下测定法来确定，在该测定法中，所测试的抗体阻止或抑制参照抗体与共同抗原的特异性结合。

[0160] 可使用许多类型的竞争性结合测定法，例如：固相直接或间接放射免疫测定法(RIA)、固相直接或间接酶联免疫测定法(EIA)、夹心式竞争性测定法(参见，例如Stahli等人，1983，Methods in Enzymology 9:242-253)；固相直接生物素-亲和素EIA(参见，例如Kirkland等人，1986，J.Immunol.137:3614-3619)；固相直接标记测定法；固相直接标记夹

心测定法(参见,例如Harlow和Lane,1988,Antibodies,ALaboratory Manual,Cold Spring Harbor Press);使用I^{125}标记物的固相直接标记RIA(参见,例如Morel等人,1988,Molec.Immunol.25:7-15);固相直接生物素-亲和素EIA (参见,例如Cheung等人,1990,Virology 176:546-552);以及直接标记RIA(Moldenhauer等人,1990,Scand.J.Immunol.)。

[0161] 通常情况下,这种测定法包括使用与固体表面结合的纯化抗原或携带其中任一种的细胞、未标记的测试抗原结合蛋白和标记的参照抗体。竞争性抑制是通过确定在测试抗体存在的情况下结合到固体表面或细胞上的标记物的量来测量的。通常测试抗体以过量存在。通过竞争测定法鉴定的抗体(竞争抗体)包括与参照抗体结合相同表位的抗体以及与相邻表位结合的抗体,该相邻表位与参照抗体所结合的表位足够接近,从而产生空间位阻。在一些实施方案中,当竞争抗体以过量存在时,它会将参照抗体与共同抗原的特异性结合抑制至少40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%或75%。在一些情况下,将结合抑制至少80%、85%、90%、95%或97%或者更多。

[0162] 术语“抗原”指的是能够由选择性结合剂,诸如抗体或其免疫功能性片段结合,并且另外能够在哺乳动物中用于产生能够结合该抗原的抗体的分子或分子的一部分。抗原可以具有一个或多个能够与抗体相互作用的表位。

[0163] 术语“表位”是抗原分子中由选择性结合剂如抗体或其片段结合的部分。该术语包括能够特异性结合抗体的任何决定簇。表位可以是连续的或非连续的(例如,在多肽中,氨基酸残基在多肽序列中彼此不连续,但在分子环境内由抗原结合蛋白所结合)。在一些实施方案中,表位可以是模拟物,因为它们包含类似于用于产生抗体的表位的三维结构,而不包含任何或仅包含一些存在于用于产生抗体的该表位中的氨基酸残基。表位决定簇可以包括分子的化学活性表面基团,诸如氨基酸、糖侧链、磷酰基或磺酰基,并且可以具有特定的三维结构特征和/或特定的电荷特征。

[0164] 在一些实施方案中,“表位”由用于确定它的方法来定义。例如,在一些实施方案中,如通过氢-氘交换(HDX)测定,如果一种抗体与参照抗体结合抗原的相同区域,则该抗体与参照抗体结合相同的表位。

[0165] 在某些实施方案中,如通过X射线衍射晶体分析法测定,如果一种抗体与参照抗体结合抗原的相同区域,则该抗体与参照抗体结合相同的表位。

[0166] 如本文所用的“嵌合抗体”指的是包含至少一个来自第一物种(诸如小鼠、大鼠、食蟹猴等)的可变区和至少一个来自第二物种(诸如人类、食蟹猴、鸡等)的恒定区的抗体。在一些实施方案中,嵌合抗体包含至少一个小鼠可变区和至少一个人类恒定区。在一些实施方案中,嵌合抗体的所有可变区都来自第一物种,并且该嵌合抗体的所有恒定区都来自第二物种。

[0167] 如本文所用的“人源化抗体”指的是这样一种抗体,已将其中非人类可变区(诸如小鼠、大鼠、食蟹猴、鸡等)的框架区中的至少一个氨基酸替换为来自人类可变区的相应氨基酸。在一些实施方案中,人源化抗体包含至少一个人类恒定区或其片段。在一些实施方案中,人源化抗体片段是Fab、scFv、$(Fab')_2$等。

[0168] 如本文所用的“CDR移植抗体”指的是一种人源化抗体,已将其中第一(非人类)物种的一个或多个互补决定区(CDR)移植到第二(人类)物种的框架区(FR)上。

[0169] 如本文所用的“人抗体”指的是在人类中产生的抗体、在非人动物诸如

XENOMOUSE®中产生的包含人免疫球蛋白基因的抗体，以及使用体外方法如噬菌体展示选定的抗体，其中抗体库基于人免疫球蛋白序列。

[0170] “宿主细胞”指的是一种可以是或已经是载体或分离型多核苷酸的接受体的细胞。宿主细胞可以是原核细胞或真核细胞。示例性真核细胞包括哺乳动物细胞，诸如灵长类或非灵长类动物细胞；真菌细胞，诸如酵母；植物细胞；以及昆虫细胞。非限制性的示例性哺乳动物细胞包括但不限于NSO细胞、PER.C6®细胞(Crucell)以及293和CHO细胞，及其衍生物，例如分别为293-6E和DG44细胞。

[0171] 如本文所用的术语“分离的”指的是已从通常与其一起存在于自然界中的至少一些组分中脱离出来的分子或者已从通常与其一起产生的至少一些组分中脱离出来的分子。例如，当多肽从产生它的细胞的至少一些组分中脱离出来时，将该多肽称为“分离的”。在多肽表达之后由细胞分泌的情况下，以物理方式将含有多肽的上清液从产生该多肽的细胞中脱离出来，被认为是“分离”该多肽。类似地，当一种多核苷酸不是通常与它一起存在于自然界中的较大多核苷酸(如例如，在DNA多核苷酸的情况下，为基因组DNA或线粒体DNA)的一部分，或者从产生它的细胞的至少一些组分中脱离出来(例如，在RNA多核苷酸的情况下)时，将该多核苷酸称为“分离的”。因此，可以将包含在宿主细胞内的载体中的DNA多核苷酸称为“分离的”，只要该多核苷酸在自然界中不存在于该载体中。

[0172] 术语“受试者”和“患者”在本文中可互换使用，用于指哺乳动物，诸如人类。在一些实施方案中，还提供了治疗其他非人哺乳动物的方法，这些其他非人哺乳动物包括但不限于啮齿类动物、猿猴类动物、猫科动物、犬科动物、马科动物、牛科动物、猪科动物、绵羊属动物、山羊属动物、哺乳动物类实验动物、哺乳动物类农场动物、哺乳动物类体育动物以及哺乳动物类宠物。在某些情况下，“受试者”或“患者”指的是需要治疗疾病或病症的(人类)受试者或患者。

[0173] 如本文所用的术语“样品”或“患者样品”指的是获自或源自目标受试者的材料，其包含待表征和/或鉴定的细胞和/或其他分子实体，例如基于物理、生物化学、化学和/或生理特征进行表征和/或鉴定。例如，短语“疾病样品”及其变型指的是从目标受试者获得的任何样品，其会被预期或已知含有待表征的细胞和/或分子实体。

[0174] 所谓“组织或细胞样品”意指从受试者或患者的组织中获得的相似细胞的集合。组织或细胞样品的来源可以是如来自新鲜、冷冻和/或保存的器官的实体组织或组织样品或者活检或抽吸物；血液或任何血液成分；体液，诸如痰液、脑脊液、羊水、腹膜液或间质液；受试者妊娠或发育过程中任何时间的细胞。组织样品也可以是原代或培养的细胞或细胞系。任选地，组织或细胞样品获自疾病组织/器官。组织样品可以包含在自然界中不与组织天然混合的化合物，例如防腐剂、抗凝剂、缓冲剂、固定剂、营养物、抗生素等。

[0175] 如本文所用的“参照样品”、“参照细胞”或“参照组织”指的是从已知或相信未患有使用本发明的方法或组合物来鉴定的疾病或病况的来源获得的样品、细胞或组织。在一个实施方案中，参照样品、参照细胞或参照组织是从使用本发明的组合物或方法鉴定某种疾病或病况的同一受试者或患者身体的健康部分获得的。在一个实施方案中，参照样品、参照细胞或参照组织是从并非使用本发明的组合物或方法鉴定某种疾病或病况的受试者或患者的至少一名个体身体的健康部分获得的。在一些实施方案中，参照样品、参照细胞或参照组织是先前在形成疾病或病况之前或在该疾病或病况的较早阶段从患者获得的。

[0176] “病症”或“疾病”是将受益于用本发明的一种或多种IGSF8拮抗剂治疗的任何病况。这包括慢性和急性病症或疾病，包括使哺乳动物易患所讨论病症的那些病理状况。本文中待治疗的病症的非限制性实例包括癌症。

[0177] 术语“癌症”在本文中用于指表现出异常高水平的增殖和生长的一组细胞。癌症可以是良性的(也称为良性肿瘤)、恶化前的或恶性的。癌细胞可以是实体癌细胞(即，形成实体瘤)或白血病性癌细胞。术语“癌症生长”在本文中用于指构成癌症的一个或多个细胞的增殖或生长，其导致癌症大小或范围的相应增加。

[0178] “化学治疗剂”是可用于治疗癌症的化合物。化学治疗剂的实例包括但不限于烷化剂类，诸如噻替哌(thiotepa)和CYTOXAN®环磷酰胺；烷基磺酸酯类，诸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶类，诸如苯并多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、美妥替派(meturedopa)和乌瑞替派(uredopa)；乙撑亚胺类和甲基蜜胺类，包括六甲蜜胺、三乙撑蜜胺(triethylenemelamine)、三乙撑磷酰胺(trietylenephosphoramide)、三乙撑硫代磷酰胺(triethiylenethiophosphoramide)和三羟甲基蜜胺(trimethylolomelamine)；乙酰精宁类(尤其是布拉它辛(bullatacin)和布拉它辛酮(bullatacinone))；喜树碱(包括合成类似物拓扑替康(topotecan))；苔藓虫素(bryostatin)；海绵多聚乙酰(callystatin)；CC-1065(包括其阿多来新(adozelesin)、卡折来新(carzelesin)和比折来新(bizelesin)合成类似物)；念珠藻素(cryptophycin)类(特别是念珠藻素1和念珠藻素8)；海兔毒素(dolastatin)；倍癌霉素(duocarmycin)(包括合成类似物KW-2189和CB1-TM1)；艾榴塞洛素(eleutherobin)；水鬼蕉碱(pancratistatin)；匍枝珊瑚醇(sarcodictyin)；海绵抑制素(spongistatin)；氮芥类，诸如苯丁酸氮芥、萘氮芥、胆磷酰胺、雌莫司汀、异环磷酰胺、二氯甲基二乙胺、盐酸氧氮芥(mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法仑、新氮芥(novembichin)、苯芥胆甾醇(phenesterine)、泼尼氮芥、曲磷胺、尿嘧啶氮芥；亚硝基脲类，诸如卡莫司汀、氯脲霉素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷莫司汀；抗生素类，诸如烯二炔类抗生素(例如，卡奇霉素(calicheamicin)，尤其是卡奇霉素γII和卡奇霉素ωII(参见，例如Agnew,Chem Intl.Ed.Engl,33:183-186(1994))；达内霉素(dynemicin)，包括达内霉素A；双膦酸盐，诸如氯膦酸盐；埃斯培拉霉素(esperamicin)；以及新制癌菌素发色团和相关色素蛋白烯二炔类抗生素发色团)、阿克拉霉素(aclacinomysins)、放线菌素(actinomycin)、氨茴霉素(authramycin)、偶氮丝氨酸(azaserine)、博来霉素、放线菌素C、卡柔比星(carabicin)、洋红霉素(carminomycin)、嗜癌霉素(carzinophilin)、色霉素(chromomycinis)、更生霉素(dactinomycin)、柔红霉素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-氧代-L-正亮氨酸、ADRIAMYCIN®多柔比星(包括吗啉代-多柔比星、氰基吗啉代-多柔比星、2-吡咯啉代-多柔比星和脱氧多柔比星)、表阿霉素(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、伊达比星(idarubicin)、马塞罗霉素(marcellomycin)、丝裂霉素类诸如丝裂霉素C、霉酚酸、诺加霉素(nogalamycin)、橄榄霉素(olivomycins)、培洛霉素(peplomycin)、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素、三铁阿霉素(quelamycin)、罗多比星(rodorubicin)、链黑霉素(streptonigrin)、链脲菌素、杀结核菌素(tubercidin)、乌苯美司(ubenimex)、净司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)；抗代谢类，诸如甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶(5-FU)；叶酸类似物，诸如二甲叶酸、甲氨蝶呤、蝶罗呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate)；嘌呤

类似物,诸如氟达拉滨(fludarabine)、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤;嘧啶类似物,诸如安西他滨(ancitabine)、阿扎胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、二脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨(enocitabine)、氟尿苷;雄激素类,诸如卡普睾酮(calusterone)、屈他雄酮丙酸酯(dromostanolone propionate)、环硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾内酯;抗肾上腺类,诸如氨鲁米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane);叶酸补充剂,诸如亚叶酸;醋葡醛内酯(aceglatone);醛磷酰胺糖苷;氨基乙酰丙酸;恩尿嘧啶(eniluracil);安吖啶;倍曲布西(bestrabucil);比生群(bisantrene);伊达曲沙(edatraxate);地磷酰胺(defofamine);秋水仙胺(demecolcine);地吖醌(diaziquone);依洛尼塞(elfomithine);依利醋铵(elliptinium acetate);埃博霉素(epothilone);依托格鲁(etoglucid);硝酸镓(gallium nitrate);羟基脲;香菇多糖(lentinan);氯尼达明(lonidainine);美登木素生物碱类,诸如美登素(maytansine)和安丝菌素(ansamitocins);米托胍腙(mitoguazone);米托蒽醌(mitoxantrone);莫哌达醇(mopidanmol);尼曲吖啶(nitraerine);喷司他丁(pentostatin);蛋胺氮芥(phenamet);吡柔比星(pirarubicin);洛索蒽醌(losoxantrone);鬼臼酸(podophyllinic acid);2-乙基酰肼;丙卡巴肼(procarbazine);PSK®多糖复合物(JHS Natural Products,Eugene,OR);雷佐生(razoxane);利索新(rhizoxin);西佐喃(sizofiran);锗螺胺(spirogermanium);细交链孢菌酮酸(tenuazonic acid);三亚胺醌;2,2',2"-三氯三乙胺;单端孢霉烯类(尤其是T-2毒素、疣孢菌素(verracurin)A、杆孢菌素A和蛇形菌素(anguidine));乌拉坦(urethan);长春地辛(vindesine);达卡巴嗪;甘露醇氮芥(mannomustine);二溴甘露醇;二溴卫矛醇;哌泊溴烷(pipobroman);加西托星(gacytosine);阿拉伯糖苷("Ara-C");环磷酰胺;噻替哌;紫杉烷类化合物,例如,TAXOL®紫杉醇(Bristol-Myers Squibb Oncology,Princeton,N.J.)、ABRAXANE®不含Cremophor的紫杉醇的白蛋白工程化纳米颗粒制剂(American Pharmaceutical Partners,Schaumberg,Illinois)和TAXOTERE®多西他赛(doxetaxel)(Rhone-Poulenc Rorer,Antony,France);苯丁酸氮芥(chloranbucil);GEMZAR®吉西他滨(gemcitabine);6-硫鸟嘌呤;巯基嘌呤;甲氨蝶呤;铂类似物,诸如顺铂、奥沙利铂(oxaliplatin)和卡铂(carboplatin);长春碱;铂;依托泊苷(VP-16);异环磷酰胺;米托蒽醌(mitoxantrone);长春新碱;NAVELBINE®长春瑞宾(vinorelbine);诺消灵(novantrone);替尼泊苷(teniposide);伊达曲沙(edatrexate);道诺霉素(daunomycin);氨基蝶呤;希罗达(xeloda);伊班膦酸盐(ibandronate);伊立替康(Camptosar,CPT-11)(包括伊立替康联合5-FU和甲酰四氢叶酸的治疗方案);拓朴异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟氨酸(DMFO);类视黄醇,诸如视黄酸;卡培他滨(capecitabine);考布他汀(combretastatin);甲酰四氢叶酸(LV);奥沙利铂,包括奥沙利铂治疗方案(FOLFOX);减少细胞增殖的PKC-α、Raf、H-Ras、EGFR(例如厄洛替尼(erlotinib)(TARCEVA®))和VEGF-A的抑制剂,以及上述任何一种的药学上可接受的盐类、酸类或衍生物。

[0179] 其他非限制性的示例性化学治疗剂包括抗激素剂,其作用是调节或抑制激素对癌症的作用,诸如抗雌激素和选择性雌激素受体调节剂(SERM),包括,例如他莫昔芬

(tamoxifen)(包括NOLVADEX®他莫昔芬)、雷洛昔芬(raloxifene)、屈洛昔芬(droloxifene)、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、可莫昔芬(keoxifene)、LY117018、奥那司酮(onapristone)和FARESTON®托瑞米芬(toremifene);抑制芳香化酶(其调节肾上腺中雌激素的产生)的芳香化酶抑制剂,如例如,4(5)-咪唑、氨鲁米特(aminoglutethimide)、MEGASE®醋酸甲地孕酮、AROMASIN®依西美坦(exemestane)、福美坦(formestanie)、法曲唑(fadrozole)、RIVISOR®伏氯唑(vorozole)、FEMARA®来曲唑(letrozole)和ARIMIDEX®阿那曲唑(anastrozole);和抗雄激素类,诸如氟他胺(flutamide)、尼鲁米特(nilutamide)、比卡鲁胺(bicalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)和戈舍瑞林(goserelin);以及曲沙他滨(troxacitabine)(一种1,3-二氧杂环戊烷核苷胞嘧啶类似物);反义寡核苷酸类,特别是那些抑制与异常细胞增殖有关的信号传导通路中基因(如例如,PKC-α、Ralf和H-Ras)表达的反义寡核苷酸;核酶类,诸如VEGF表达抑制剂(例如ANGIOZYME®核酶)和HER2表达抑制剂;疫苗类诸如基因治疗疫苗,例如ALLOVECTIN®疫苗、LEUVECTIN®疫苗和VAXID®疫苗;PROLEUKIN® rIL-2;LURTOTECAN®拓扑异构酶1抑制剂;ABARELIX® rmRH;以及上述任何一种的药学上可接受的盐类、酸类或衍生物。

[0180] “抗血管生成剂”或“血管生成抑制剂”指的是直接或间接抑制血管生成、血管发生或不良血管通透性的小分子量物质、多核苷酸(包括,例如抑制性RNA(RNAi或siRNA))、多肽、分离型蛋白质、重组蛋白、抗体,或者其缀合物或融合蛋白。应该理解的是,抗血管生成剂包括那些结合血管生成因子或其受体并阻断它们的血管生成活性的作用剂。例如,抗血管生成剂是针对血管生成剂的抗体或其他拮抗剂,例如,针对VEGF-A(如贝伐珠单抗(bevacizumab)(AVASTIN®))或针对VEGF-A受体(如KDR受体或Flt-1受体)的抗体、抗PDGFR抑制剂诸如GLEEVEC®(甲磺酸伊马替尼(Imatinib Mesylate))、阻断VEGF受体信号传导的小分子(例如PTK787/ZK2284、SU6668、SUTENT®/SU1 1248(苹果酸舒尼替尼(sunitinib malate))、AMG706,或者在例如国际专利申请WO 2004/113304中描述的那些)。抗血管生成剂还包括天然血管生成抑制剂,例如血管抑素、内皮抑素等。参见,例如Klagsbrun和D'Amore(1991)Annu.Rev.Physiol.53:217-39;Streit和Detmar(2003)Oncogene 22:3172-3179(例如,表3列出了恶性黑色素瘤的抗血管生成疗法);Ferrara和Alitalo(1999)Nature Medicine 5(12):1359-1364;Tonini等人(2003)Oncogene 22:6549-6556(例如,表2列出了已知的抗血管生成因子);以及Sato(2003)Int.J.Clin.Oncol.8:200-206(例如,表1列出了临床试验中使用的抗血管生成剂)。

[0181] 如本文所用的“生长抑制剂”指的是在体外或体内抑制细胞(如表达VEGF的细胞)生长的化合物或组合物。因此,生长抑制剂可以是显著降低处于S期的细胞(例如表达VEGF的细胞)百分比的作用剂。生长抑制剂的实例包括但不限于阻断细胞周期进程的作用剂(在S期以外的阶段),例如诱导G1期阻滞和M期阻滞的作用剂。经典的M期阻断剂包括长春花生物碱(长春新碱和长春碱)、紫杉烷类和拓扑异构酶Ⅱ抑制剂诸如多柔比星、表阿霉素、柔红霉素、依托泊苷和博莱霉素。阻滞G1期的作用剂也会蔓延到S期阻滞,例如,DNA烷化剂如他

莫昔芬、泼尼松、达卡巴嗪、二氯甲基二乙胺、顺铂、甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶和阿糖胞苷。更多信息可见于编者为Mendelsohn和Israel,The Molecular Basis of Cancer,第1章,由Murakami等人所著的标题为“Cell cycle regulation,oncogenes,and antineoplastic drugs”(W.B.Saunders,Philadelphia,1995),例如第13页。紫杉烷类(紫杉醇和多西他赛)都是来源于紫杉树的抗癌药物。多西他赛(TAXOTERE®,Rhone-Poulenc Rorer)来源于欧洲紫衫,是紫杉醇(TAXOL®,Bristol-Myers Squibb)的半合成类似物。紫杉醇和多西他赛促进由微管蛋白二聚体组装成微管,并通过防止解聚稳定微管,从而抑制细胞有丝分裂。

[0182] 术语“抗肿瘤组合物”指的是包含至少一种活性治疗剂的可用于治疗癌症的组合物。治疗剂的实例包括但不限于例如化学治疗剂、生长抑制剂、细胞毒剂、用于放射疗法的作用剂、抗血管生成剂、癌症免疫治疗剂(也称为免疫肿瘤剂)、凋亡剂、抗微管蛋白剂以及用于治疗癌症的其他作用剂,诸如抗HER-2抗体、抗CD20抗体、表皮生长因子受体(EGFR)拮抗剂(例如,酪氨酸激酶抑制剂)、HER1/EGFR抑制剂(例如,厄洛替尼(TARCEVA®))、血小板来源的生长因子抑制剂(例如,GLEEVEC®(甲磺酸伊马替尼))、COX-2抑制剂(例如,塞来昔布(celecoxib))、干扰素、CTLA4抑制剂(例如,抗CTLA抗体伊匹单抗(ipilimumab)(YERVOY®))、PD-1抑制剂(例如,抗PD1抗体BMS-936558)、PDL1抑制剂(例如,抗PDL1抗体MPDL3280A)、PDL2抑制剂(例如,抗PDL2抗体)、VISTA抑制剂(例如,抗VISTA抗体)、细胞因子、与一种或多种下列靶标结合的拮抗剂(例如中和抗体),即ErbB2、ErbB3、ErbB4、PDGFR-β、BlyS、APRIL、BCMA、PD-1、PDL1、PDL2、CTLA4、VISTA或VEGF受体、TRAIL/Apo2,以及其他生物活性剂和有机化学剂等。它们的组合也包括在本发明中。

[0183] “治疗”指的是治疗性处理,例如,其中目的是减缓(减轻)所针对的病理学病况或病症,以及例如,其中目的是抑制该病况或病症的复发。“治疗”涵盖任何对哺乳动物,包括人类的疾病(在本文中也称为“病症”或“病况”)施用或应用治疗剂,并且包括抑制疾病或疾病的进展、抑制或减缓疾病或其进展、阻止其形成、部分或完全缓解疾病、部分或完全缓解疾病的一种或多种症状或恢复或修复丧失的、缺失的或有缺陷的功能;或者刺激低效的过程。术语“治疗”还包括降低任何表型特征的严重程度和/或降低该特征的发生率、程度或可能性。需要治疗的对象包括已经患有该病症的以及处于该病症复发风险中的对象或要预防或减缓该病症复发的对象。

[0184] 术语“有效量”或“治疗有效量”指的是在受试者中有效治疗疾病或病症的药物量。在一些实施方案中,有效量指的是在必要的剂量下并持续必要的期限时,有效实现所需治疗性或预防性结果的量。本发明IGSF8拮抗剂的治疗有效量可以根据下列因素而变化,诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重以及该拮抗剂在个体中引发期望应答的能力。治疗有效量涵盖其中IGSF8拮抗剂的任何毒性或有害作用被治疗性有益作用所抵消的量。

[0185] “预防有效量”指的是在必要的剂量下并持续必要的期限时,有效实现所需预防性结果的量。通常情况下但不一定,因为预防性剂量是在疾病发生之前或在疾病的较早阶段用于受试者,所以预防有效量将小于治疗有效量。

[0186] “药学上可接受的载剂”指的是无毒固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、封装材

料、配制助剂或与治疗剂一起使用的本领域常规载剂，它们一起构成“药物组合物”以施用于受试者。药学上可接受的载剂在所采用的剂量和浓度下对接受者无毒并且与制剂的其他成分相容。药学上可接受的载剂适用于所采用的制剂。例如，如果治疗剂要经口施用，那么载剂可以是凝胶胶囊。如果治疗剂要皮下施用，那么理想情况下，载剂不会刺激皮肤，也不会引起注射部位反应。

[0187] “制品”是包含至少一种试剂或探针的任何制造品(例如包装或容器)或试剂盒，该试剂例如用于治疗疾病或病症的药剂，该探针用于特异性检测本文所述的生物标志物。在一些实施方案中，制造品或试剂盒作为一个整体进行推广、分发或销售，以实施本文所述的方法。

[0188] 3.治疗癌症的方法

[0189] 本文所述的发明提供了IGSF8及其受体(诸如KIR3DL1/2、KLRC1/D1)的调节剂，例如拮抗剂(例如，对IGSF8具有特异性的分离的或重组的单克隆抗体或其抗原结合片段)，用于治疗人类和其他非人类哺乳动物，例如癌症动物模型的方法。

[0190] 一方面，本发明提供了一种用于在有此需要的受试者中调节免疫应答的方法，该方法包括抑制IGSF8与选自KIR3DL1、KIR3DL2和KLRC1/D2异二聚体的IGSF8受体之间的相互作用。在某些实施方案中，该方法包括向受试者施用本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段(例如本文所述的那些)。

[0191] 另一方面，本发明提供了一种用于在有此需要的受试者中治疗癌症的免疫治疗方法，该方法包括抑制IGSF8与选自KIR3DL1、KIR3DL2和KLRC1/D2异二聚体的IGSF8受体之间的相互作用。在某些实施方案中，该方法包括向受试者施用本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段(例如本文所述的那些)。

[0192] 又一方面，本发明提供了一种用于在有此需要的受试者中治疗或预防癌症的方法，该方法包括向需要这种治疗的受试者施用治疗有效量的本发明的IGSF8、KIR3DL1/2或KLRC1/D1调节剂(例如拮抗剂，诸如抗体或抗原结合部分/片段)。

[0193] 具体而言，本发明提供了一种在有此需要的受试者中治疗癌症的方法，该方法包括向该受试者施用治疗有效量的IGSF8(免疫球蛋白超家族8)调节剂(例如，拮抗剂)。

[0194] 本发明还提供了一种在有此需要的受试者中治疗癌症的方法，该方法包括向该受试者施用治疗有效量的抑制与IGSF8相互作用的KIR3DL1拮抗剂。

[0195] 本发明进一步提供了一种在有此需要的受试者中治疗癌症的方法，该方法包括向该受试者施用治疗有效量的抑制与IGSF8相互作用的KIR3DL2拮抗剂。

[0196] 本发明另外提供了一种在有此需要的受试者中治疗癌症的方法，该方法包括向该受试者施用治疗有效量的抑制与IGSF8相互作用的KLRC1/D1拮抗剂。

[0197] 在一些实施方案中，提供了治疗癌症的方法，其中该方法包括向需要治疗的患有癌症的受试者施用有效量的本发明的IGSF8、KIR3DL1/2或KLRC1/D1调节剂(例如拮抗剂，诸如抗体或抗原结合部分/片段)。

[0198] 在一些实施方案中，提供了有效量的本发明的IGSF8、KIR3DL1/2或KLRC1/D1调节剂(例如拮抗剂，诸如抗体或抗原结合部分/片段)用于治疗癌症的用途。

[0199] 本文提供了可用IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)治疗的非限制性的示例性癌症，包括癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤和白血病。此类癌症

的更具体的非限制性实例包括黑色素瘤、宫颈癌、鳞状细胞癌、小细胞肺癌、垂体癌、食管癌、星形细胞瘤、软组织肉瘤、非小细胞肺癌、肺腺癌、肺鳞癌、腹膜癌、肝细胞癌、胃肠道癌、胰腺癌、胶质母细胞瘤、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、结直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾脏癌、肾癌、肝癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝瘤、脑癌、子宫内膜癌、睾丸癌、胆管细胞癌(cholangiocarcinoma)、胆囊癌、胃癌、黑色素瘤以及各种类型的头颈癌。

[0200] 在某些实施方案中,使用本发明的IGSF8、KIR3DL1/2或KLRC1/D1调节剂(例如拮抗剂,诸如抗体或抗原结合部分/片段)可用本发明的方法治疗的癌症包括但不限于:癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤和白血病。此类癌症的更具体的非限制性实例包括鳞状细胞癌、小细胞肺癌、垂体癌、食管癌、星形细胞瘤、软组织肉瘤、非小细胞肺癌、肺腺癌、肺鳞癌、腹膜癌、肝细胞癌、胃肠道癌、胰腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、结直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾脏癌、肾癌、肝癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝瘤、脑癌、子宫内膜癌、睾丸癌、胆管细胞癌、胆囊癌、胃癌、黑色素瘤以及各种类型的头颈癌。

[0201] 其他可治疗的癌症包括黑色素瘤(包括皮肤黑色素瘤)、宫颈癌、肺癌(例如,非小细胞肺癌、肺腺癌、肺鳞状细胞癌)、结直肠癌、淋巴瘤(包括B细胞淋巴瘤和DLBCL)、白血病(包括CLL和急性髓系白血病(AML))、BLCA肿瘤、乳腺癌、头颈癌、头颈鳞状细胞癌、PRAD、THCA或UCEC、甲状腺癌、泌尿道癌、子宫癌、食管癌、肝癌、神经节癌、肾癌、胰腺癌、胰腺导管癌、卵巢癌、前列腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、胸腺瘤、B-CLL以及浸润有表达IGSF8受体的免疫细胞的癌症。

[0202] 在某些实施方案中,可治疗的癌症是肺癌、肾癌、胰腺癌、结直肠癌、急性髓系白血病(AML)、头颈癌、肝癌、卵巢癌、前列腺癌或子宫癌。

[0203] 在一些实施方案中,肺癌是非小细胞肺癌或肺鳞状细胞癌。

[0204] 在一些实施方案中,白血病是急性髓系白血病(AML)或慢性淋巴细胞白血病(CLL)。

[0205] 在一些实施方案中,乳腺癌是浸润性乳腺癌。

[0206] 在一些实施方案中,卵巢癌是卵巢浆液性囊腺癌。

[0207] 在一些实施方案中,肾脏癌是肾透明细胞癌。

[0208] 在一些实施方案中,结肠癌是结肠腺癌。

[0209] 在一些实施方案中,膀胱癌是膀胱尿路上皮癌。

[0210] 在一些实施方案中,受试者中的癌细胞和/或肿瘤免疫浸润细胞表达IGSF8。

[0211] 尽管不希望受任何特定理论的束缚,但本发明的方法可以基于至少部分减轻施加于宿主先天性/适应性免疫系统的效应细胞诸如NK细胞和/或($CD8^+$)T细胞的IGSF8介导的对宿主先天性和/或适应性免疫系统的抑制。这种抑制可以通过使一种或多种IGSF8受体(诸如KIR3DL1/2和KLRC1/D1)参与IGSF8结合来实现,并且这种抑制可以通过中断IGSF8与在宿主先天性/适应性免疫系统的效应器(例如,NK细胞或T细胞)上表达的这些受体的结合来至少部分上减轻。因此,本发明的方法可能不依赖于(但不一定排除)传统上基于抗体在过表达IGSF8受体之一(诸如KIR3DL1/2和KLRC1/D1)的这些靶细胞表面上的ADCC或CDC介导的先天性免疫系统细胞(例如,NK细胞)对靶细胞的杀伤作用。

[0212] 因此，在一些实施方案中，通过抑制IGSF8与其至少一种受体，诸如KIR3DL1/2和KLRC1/D1之间的结合，可以治疗癌症。在一些实施方案中，癌症表达IGSF8。参见，例如图6A、6B或6C中描述的具有IGSF8表达的任何癌症。

[0213] 在一些实施方案中，癌症的特征不在于KIR3DL1/2的表达或过表达。在一些实施方案中，癌症不是皮肤T细胞淋巴瘤，诸如塞扎里综合征(Sézary syndrome)、$CD30^+$皮肤淋巴瘤和转化型蕈样真菌病。

[0214] 在一些实施方案中，癌症的特征不在于KLRC1/D1的表达或过表达。

[0215] 在一些实施方案中，KIR3DL1拮抗剂选自抗KIR3DL1抗体或其抗原结合部分/片段、KIR3DL1的抑制性肽、靶向KIR3DL1的核酸(适体、反义多核苷酸、RNAi试剂如siRNA、miRNA、shRNA;2型CRISPR/Cas效应酶的向导RNA)或靶向KIR3DL1的小分子(例如，其M.W.<1000Da或<500Da)；任选地，KIR3DL1拮抗剂是抗KIR3DL1抗体或其抗原结合部分/片段。

[0216] 在一些实施方案中，KIR3DL2拮抗剂选自抗KIR3DL2抗体或其抗原结合部分/片段、KIR3DL2的抑制性肽、靶向KIR3DL2的核酸(适体、反义多核苷酸、RNAi试剂如siRNA、miRNA、shRNA;2型CRISPR/Cas效应酶的向导RNA)或靶向KIR3DL2的小分子(例如，其M.W.<1000Da或<500Da)；任选地，KIR3DL2拮抗剂是抗KIR3DL2抗体或其抗原结合部分/片段。

[0217] 在一些实施方案中，抗KIR3DL1/2抗体或其抗原结合部分/片段、针对KIR3DL1/2的抑制性肽、靶向KIR3DL1/2的核酸或者靶向KIR3DL1/2的小分子结合KIR3DL1/2的包含残基S165、I171和/或M186的表位，从而抑制IGSF8与KIR3DL1/2的D2结构域结合。

[0218] 在一些实施方案中，抗KIR3DL1/2抗体或其抗原结合部分/片段特异性结合KIR3DL1/2的ECD的中间/D2 Ig样结构域，任选地，抗KIR3DL1/2抗体或其抗原结合部分/片段特异性结合包含残基S165、I171和/或M186的表位。

[0219] 在一些实施方案中，KLRC1/D1拮抗剂选自抗KLRC1/D1抗体或其抗原结合部分/片段、KLRC1/D1的抑制性肽、靶向KLRC1/D1的核酸(适体、反义多核苷酸、RNAi试剂如siRNA、miRNA、shRNA;2型CRISPR/Cas效应酶的向导RNA)或者靶向KLRC1/D1的小分子(例如，其M.W.<1000Da或<500Da)；任选地，KLRC1/D1拮抗剂是抗KLRC1/D1抗体或其抗原结合部分/片段。

[0220] 在一些实施方案中，IGSF8拮抗剂是抗IGSF8抗体或其抗原结合部分/片段、IGSF8的抑制性肽、靶向IGSF8的核酸(适体、反义多核苷酸、RNAi试剂如siRNA、miRNA、shRNA;2型CRISPR/Cas效应酶的向导RNA)或者靶向IGSF8的小分子(例如，其M.W.<1000Da或<500Da)；任选地，IGSF8拮抗剂是抗IGSF8抗体或其抗原结合部分/片段。

[0221] 在一些实施方案中，IGSF8拮抗剂选自抗IGSF8抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中，抗体是嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。在一些实施方案中，抗IGSF8抗体或其抗原结合片段结合IGSF8的末端Ig-V组ECD或D1。在一些实施方案中，抗IGSF8抗体或其抗原结合片段抑制IGSF8结合KIR3DL1/2，诸如KIR3DL1和/或KIR3DL2的中间/D2结构域，例如KIR3DL1/2的包含残基S165、I171和/或M186的表位。

[0222] 在一些实施方案中，抗原结合部分/片段是Fab、Fab'、$F(ab')_2$、F_d、单链Fv或scFv、二硫键连接型F_v、V-NAR结构域、IgNar、胞内抗体、$IgG\Delta CH_2$、微小抗体、$F(ab')_3$、四抗体、三抗体、双抗体、单域抗体、DVD-Ig、Fcab、mAb_2、$(scFv)_2$或scFv-Fc。

[0223] 在一些实施方案中，抗IGSF8抗体或其抗原结合部分/片段是本文所述的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段中的任一种(参见IGSF8拮抗剂，例如抗IGSF8抗体的部分)。

[0224] 在一些实施方案中,IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)促进选自下组的细胞因子或靶基因的表达、分泌或以其他方式增加其活性:CXCL10、CXCL9、TNFα、CD8b、CD8a、Prf1、IFNγ、Gzma、Gzmb、CD274、PDCD1、PDCD1 Ig2、LAG3、Havcr2、Tigit或CTLA4。

[0225] 在一些实施方案中,所述细胞因子或所述靶基因的表达、分泌或以其他方式增加其活性发生在肿瘤微环境内。

[0226] 在一些实施方案中,所述细胞因子或所述靶基因的表达、分泌或以其他方式增加其活性是由于免疫细胞(例如,T淋巴细胞或NK细胞)浸润到肿瘤微环境中。

[0227] 在一些实施方案中,将抗IGSF8和/或抗KIR3DL1/2和/或抗KLRC1/D1抗体或其抗原结合部分/片段与细胞毒性剂缀合。细胞毒性剂可以选自下组:化学治疗剂、生物剂、毒素和放射性同位素。

[0228] 在一些实施方案中,IGSF8拮抗剂、KIR3DL1拮抗剂、KIR3DL2拮抗剂或KLRC1/D1拮抗剂是免疫刺激分子。

[0229] 在一些实施方案中,IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)、KIR3DL1拮抗剂、KIR3DL2拮抗剂或KLRC1/D1拮抗剂刺激T细胞或NK细胞活化和/或浸润到肿瘤微环境中。

[0230] 在一些实施方案中,抗IGSF8和/或抗KIR3DL1/2和/或抗KLRC1/D1抗体或其抗原结合部分/片段减少了癌症中增殖细胞的数量和/或减少了癌症的肿瘤体积或大小。

[0231] 在一些实施方案中,将抗IGSF8和/或抗KIR3DL1/2和/或抗KLRC1/D1抗体或其抗原结合部分/片段以药学上可接受的制剂施用。

[0232] 在一些实施方案中,将抗IGSF8抗体或其抗原结合片段(例如,$F(ab')_2$片段)与第二治疗剂一起施用(参见联合治疗部分,通过引用方式并入此处)。

[0233] 在一些实施方案中,将抗IGSF8、抗KIR3DL1/2或抗KLRC1/D1抗体或其抗原结合片段与第二免疫检查点抑制剂(诸如恢复或促进T细胞介导的免疫治疗的免疫检查点抑制剂)一起施用。

[0234] 在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂是对PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG3、TIGIT、TIM3、NKG2A、CD276、VTCN1、VISR或HHLA2具有特异性的抗体或其抗原结合片段。

[0235] 在一些实施方案中,将抗IGSF8、抗KIR3DL1/2或抗KLRC1/D1抗体或其抗原结合片段与抗PD-1抗体或其抗原结合片段、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段和/或抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段一起施用。在一些实施方案中,抗IGSF8抗体是人抗体。

[0236] 在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂是抗PD-1抗体,诸如西米普利单抗(cemiplimab)、纳武单抗(nivolumab)或帕博利珠单抗(pembrolizumab)。

[0237] 在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂是抗PD-L1抗体,诸如阿维鲁单抗(avelumab)、德瓦鲁单抗(durvalumab)、阿特珠单抗(atezolizumab)、KN035或CK-301。

[0238] 在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂是PD-1/PD-L1的(非抗体)肽抑制剂,诸如AUNP12;PD-L1的小分子抑制剂诸如CA-170,或大环肽诸如BMS-986189。

[0239] 在某些实施方案中,联合疗法进一步包括有效治疗癌症或免疫学病况的治疗性抗体。示例性治疗性抗体包括:3F8、8H9、阿巴伏单抗(Abagovomab)、阿昔单抗(Abciximab)、阿比妥珠单抗(Abituzumab)、阿泽奇单抗(Abrezekimab)、阿利鲁单抗(Abrilumab)、阿克托舒

单抗(Actoxumab)、阿达木单抗(Adalimumab)、阿德木单抗(Adecatumumab)、阿杜卡努单抗(Aducanumab)、阿法库单抗(Afasevikumab)、阿非莫单抗(Afelimomab)、聚乙二醇化阿拉赛珠单抗(Alacizumab pegol)、阿仑珠单抗(Alemtuzumab)、阿利西尤单抗(Alirocumab)、喷替酸阿妥莫单抗(Altumomab pentetate)、阿麦妥单抗(Amatuximab)、埃万妥单抗(Amivantamab)、马安那莫单抗(Anatumomab mafenatox)、安德利昔单抗(Andecaliximab)、雷星-阿奈妥单抗(Anetumab ravtansine)、阿尼鲁单抗(Anifrolumab)、安芦组单抗(Anrukinzumab)、阿泊珠单抗(Apolizumab)、伊汀-阿普卢妥单抗(Aprutumab ixadotin)、阿西莫单抗(Arcitumomab)、阿伐苏单抗(Ascrinvacumab)、阿塞珠单抗(Aselizumab)、阿特珠单抗(Atezolizumab)、阿度尤单抗(Atidortoxumab)、阿替奴单抗(Atinumab)、阿托木单抗(Atorolimumab)、阿维鲁单抗(Avelumab)、维汀-阿妥昔珠单抗(Azintuxizumab vedotin)、巴匹珠单抗(Bapineuzumab)、巴利昔单抗(Basiliximab)、巴维昔单抗(Bavituximab)、BCD-100、贝妥莫单抗(Bectumomab)、贝戈洛单抗(Begelomab)、贝兰他单抗莫福汀(Belantamab mafodotin)、贝利木单抗(Belimumab)、贝玛妥珠单抗(Bemarituzumab)、贝那利珠单抗(Benralizumab)、贝度尤单抗(Berlimatoxumab)、贝迈奇单抗(Bermekimab)、博司利单抗(Bersanlimab)、柏替木单抗(Bertilimumab)、贝索单抗(Besilesomab)、贝伐珠单抗(Bevacizumab)、贝洛托舒单抗(Bezlotoxumab)、比西单抗(Biciromab)、比玛卢单抗(Bimagrumab)、比美吉珠单抗(Bimekizumab)、泊特埃单抗(Birtamimab)、比伐珠单抗(Bivatuzumab)、布来鲁单抗(Bleselumab)、博纳吐单抗(Blinatumomab)、布隆妥维单抗(Blontuvetmab)、布索组单抗(Blosozumab)、伯考赛珠单抗(Bococizumab)、布雷库单抗(Brazikumab)、维布妥昔单抗(Brentuximab vedotin)、布雷奴单抗(Briakinumab)、布达鲁单抗(Brodalumab)、布洛赛珠单抗(Brolucizumab)、布隆妥珠单抗(Brontictuzumab)、布洛舒单抗(Burosumab)、卡比利珠单抗(Cabiralizumab)、替卡米丹卢单抗(Camidanlumab tesirine)、卡瑞利珠单抗(Camrelizumab)、卡那奴单抗(Canakinumab)、莫坎妥珠单抗(Cantuzumab mertansine)、拉-坎妥珠单抗(Cantuzumab ravtansine)、卡普赛珠单抗(Caplacizumab)、卡罗单抗(Capromab)、卡芦单抗(Carlumab)、卡罗妥昔单抗(Carotuximab)、卡妥索单抗(Catumaxomab)、cBR-多柔比星免疫缀合物、西利珠单抗(Cedelizumab)、西米普利单抗(Cemiplimab)、阿姆白介素-2-瑟妥珠单抗(Cergutuzumab amunaleukin)、聚乙二醇化赛妥珠单抗(Certolizumab pegol)、西利单抗(Cetrelimab)、西妥昔单抗(Cetuximab)、赛必妥单抗(Cibisatamab)、西妥珠单抗(Cirmtuzumab)、泊西他组单抗(Citatuzumab bogatox)、西妥木单抗(Cixutumumab)、克拉扎珠单抗(Clazakizumab)、克立昔单抗(Clenoliximab)、泰坦-克利妥珠单抗(Clivatuzumab tetraxetan)、考曲妥珠单抗(Codrituzumab)、培汀-考非妥珠单抗(Cofetuzumab pelidotin)、雷星-考妥昔单抗(Coltuximab ravtansine)、可那木单抗(Conatumumab)、康赛珠单抗(Concizumab)、考韦昔单抗(Cosfroviximab)、克瑞组单抗(Crenezumab)、立赞利珠单抗(Crizanlizumab)、克罗特度单抗(Crotedumab)、CR6261、古妥珠单抗(Cusatuzumab)、达西组单抗(Dacetuzumab)、达克珠单抗(Daclizumab)、达罗土珠单抗(Dalotuzumab)、聚乙二醇化达匹利珠单抗(Dapirolizumab pegol)、达雷木单抗(Daratumumab)、德屈库单抗(Dectrekumab)、登赛珠单抗(Demcizumab)、玛汀-地宁妥珠单抗(Denintuzumab mafodotin)、地诺单抗(Denosumab)、玛汀-迪妥昔珠单抗

(Depatuxizumab mafodotin)、地洛昔单抗生物素(Derlotuximab biotin)、地莫单抗(Detumomab)、迪扎米珠单抗(Dezamizumab)、地努图希单抗(Dinutuximab)、地利伏单抗(Diridavumab)、多玛洛珠单抗(Domagrozumab)、阿托度单抗(Dorlimomab aritox)、多塔利单抗(Dostarlimab)、曲齐妥单抗(Drozitumab)、DS-8201、度戈妥珠单抗(Duligotuzumab)、度普利尤单抗(Dupilumab)、德瓦鲁单抗(Durvalumab)、度司妥单抗(Dusigitumab)、度妥昔珠单抗(Duvortuxizumab)、依美昔单抗(Ecromeximab)、依库珠单抗(Eculizumab)、埃巴单抗(Edobacomab)、依决洛单抗(Edrecolomab)、依法利珠单抗(Efalizumab)、依芬古单抗(Efungumab)、埃迪鲁单抗(Eldelumab)、依来努单抗(Elezanumab)、依更妥单抗(Elgemtumab)、埃罗妥珠单抗(Elotuzumab)、艾西莫单抗(Elsilimomab)、依米妥珠单抗(Emactuzumab)、依玛鲁单抗(Emapalumab)、依玛妥珠单抗(Emibetuzumab)、艾美赛珠单抗(Emicizumab)、维汀-恩泊妥单抗(Enapotamab vedotin)、依那妥组单抗(Enavatuzumab)、维汀-恩弗妥单抗(Enfortumab vedotin)、聚乙二醇化恩莫单抗(Enlimomab)、依诺妥珠单抗(Enoblituzumab)、依诺凯组单抗(Enokizumab)、依诺苏单抗(Enoticumab)、恩妥昔单抗(Ensituximab)、西依匹莫单抗(Epitumomab cituxetan)、依帕珠单抗(Epratuzumab)、依普奈珠单抗(Eptinezumab)、依瑞奈尤单抗(Erenumab)、厄利珠单抗(Erlizumab)、厄妥索单抗(Ertumaxomab)、埃达珠单抗(Etaracizumab)、艾替利单抗(Etigilimab)、依曲利组单抗(Etrolizumab)、依维苏单抗(Evinacumab)、依洛尤单抗(Evolocumab)、艾韦单抗(Exbivirumab)、法索单抗(Fanolesomab)、法拉莫单抗(Faralimomab)、法瑞西单抗(Faricimab)、法妥组单抗(Farletuzumab)、法司努单抗(Fasinumab)、FBTA05、泛维珠单抗(Felvizumab)、非扎奴单抗(Fezakinumab)、菲巴妥珠单抗(Fibatuzumab)、非拉妥组单抗(Ficlatuzumab)、芬妥木单抗(Figitumumab)、非利伏单抗(Firivumab)、法兰妥单抗(Flanvotumab)、夫来库单抗(Fletikumab)、伏妥珠单抗(Flotetuzumab)、芳妥珠单抗(Fontolizumab)、福拉鲁单抗(Foralumab)、福拉韦单抗(Foravirumab)、瑞玛奈珠单抗(Fremanezumab)、非苏木单抗(Fresolimumab)、弗洛西单抗(Frovocimab)、夫卢维单抗(Frunevetmab)、福拉奴单抗(Fulranumab)、伏妥昔单抗(Futuximab)、伽奈珠单抗(Galcanezumab)、加利昔单抗(Galiximab)、甘妥单抗(Gancotamab)、加尼妥单抗(Ganitumab)、更汀芦单抗(Gantenerumab)、伽妥珠单抗(Gatipotuzumab)、加维莫单抗(Gavilimomab)、格迪伏单抗(Gedivumab)、吉妥珠单抗奥佐米星(Gemtuzumab ozogamicin)、吉伏组单抗(Gevokizumab)、吉维单抗(Gilvetmab)、瑾司鲁单抗(Gimsilumab)、吉妥昔单抗(Girentuximab)、维汀-格巴妥木单抗(Glembatumumab vedotin)、戈利木单抗(Golimumab)、戈利昔单抗(Gomiliximab)、戈奈单抗(Gosuranemab)、古塞库单抗(Guselkumab)、伊利尤单抗(Ianalumab)、伊巴组单抗(Ibalizumab)、IBI308、替伊莫单抗(Ibritumomab tiuxetan)、艾芦库单抗(Icrucumab)、依达赛珠单抗(Idarucizumab)、依法妥珠单抗(Ifabotuzumab)、伊戈伏单抗(Igovomab)、维汀-伊达珠单抗(Iladatuzumab vedotin)、IMAB363、伊玛鲁单抗(Imalumab)、伊普利单抗(Imaprelimab)、英西单抗(Imciromab)、伊马曲单抗(Imgatuzumab)、英克拉单抗(Inclacumab)、雷星-英达妥昔单抗(Indatuximab ravtansine)、维汀-英度妥单抗(Indusatumab vedotin)、伊奈利珠单抗(Inebilizumab)、英夫利西单抗(Infliximab)、英妥木单抗(Intetumumab)、伊诺莫单抗(Inolimomab)、奥英妥珠单抗(Inotuzumab

ozogamicin)、伊匹单抗(Ipilimumab)、Iomab-B、伊妥木单抗(Iratumumab)、伊莎妥昔单抗(Isatuximab)、伊卡利单抗(Iscalimab)、艾司妥单抗(Istiratumab)、伊利组单抗(Itolizumab)、艾克珠单抗(Ixekizumab)、凯利昔单抗(Keliximab)、拉贝珠单抗(Labetuzumab)、拉妥珠单抗(Lacnotuzumab)、纬拉妥珠单抗(Ladiratuzumab vedotin)、兰帕利珠单抗(Lampalizumab)、拉那鲁单抗(Lanadelumab)、兰洛珠单抗(Landogrozumab)、恩星-拉妥昔单抗(Laprituximab emtansine)、拉韦昔单抗(Larcaviximab)、来瑞珠单抗(Lebrikizumab)、来马索单抗(Lemalesomab)、兰达丽珠单抗(Lendalizumab)、伦韦单抗(Lenvervimab)、仑兹鲁单抗(Lenzilumab)、乐德木单抗(Lerdelimumab)、乐利单抗(Leronlimab)、来索伏单抗(Lesofavumab)、来利珠单抗(Letolizumab)、来沙木单抗(Lexatumumab)、利韦单抗(Libivirumab)、维汀-利法妥珠单抗(Lifastuzumab vedotin)、利格利珠单抗(Ligelizumab)、替朗妥昔单抗(Loncastuximab tesirine)、维汀-罗妥昔珠单抗(Losatuxizumab vedotin)、利洛托单抗-赛塔坦(Lilotomab satetraxetan)、林妥珠单抗(Lintuzumab)、利瑞鲁单抗(Lirilumab)、洛迪赛珠单抗(Lodelcizumab)、洛吉维单抗(Lokivetmab)、莫星-洛沃妥珠单抗(Lorvotuzumab mertansine)、卢卡木单抗(Lucatumumab)、聚乙二醇化鲁利珠单抗(Lulizumab pegol)、鲁昔单抗(Lumiliximab)、鲁妥珠单抗(Lumretuzumab)、鲁帕妥单抗(Lupartumab)、阿汀-鲁帕妥单抗(Lupartumab amadotin)、鲁吉珠单抗(Lutikizumab)、马帕木单抗(Mapatumumab)、玛格妥昔单抗(Margetuximab)、马塔西单抗(Marstacimab)、马司莫单抗(Maslimomab)、玛弗利木单抗(Mavrilimumab)、马妥珠单抗(Matuzumab)、美泊利单抗(Mepolizumab)、美替木单抗(Metelimumab)、米拉组单抗(Milatuzumab)、明瑞莫单抗(Minretumomab)、米吉珠单抗(Mirikizumab)、米维妥昔单抗索拉坦辛(Mirvetuximab soravtansine)、米妥莫单抗(Mitumomab)、莫多昔单抗(Modotuximab)、莫格利组单抗(Mogamulizumab)、莫那利珠单抗(Monalizumab)、莫罗木单抗(Morolimumab)、莫舒奈妥单抗(Mosunetuzumab)、莫维珠单抗(Motavizumab)、帕西妥莫单抗(Moxetumomab pasudotox)、莫罗单抗-CD3(Muromonab-CD3)、他那可单抗(Nacolomab tafenatox)、那美芦单抗(Namilumab)、埃托-那普妥莫单抗(Naptumomab estafenatox)、恩星-那妥昔单抗(Naratuximab emtansine)、那呐妥单抗(Narnatumab)、那他珠单抗(Natalizumab)、那赛昔珠单抗(Navicixizumab)、那韦伏单抗(Navivumab)、那昔妥单抗(Naxitamab)、奈巴库单抗(Nebacumab)、耐昔妥珠单抗(Necitumumab)、奈莫利珠单抗(Nemolizumab)、NEOD001、奈瑞莫单抗(Nerelimomab)、奈伐苏单抗(Nesvacumab)、尼塔奇单抗(Netakimab)、尼妥珠单抗(Nimotuzumab)、尼塞韦单抗(Nirsevimab)、纳武单抗(Nivolumab)、巯诺非妥莫单抗(Nofetumomab merpentan)、奥托萨昔单抗(Obiltoxaximab)、奥妥珠单抗(Obinutuzumab)、奥卡妥珠单抗(Ocaratuzumab)、奥卡利珠单抗(Ocrelizumab)、奥度莫单抗(Odulimomab)、奥法木单抗(Ofatumumab)、奥拉单抗(Olaratumab)、奥来鲁单抗(Oleclumab)、奥仑达利珠单抗(Olendalizumab)、奥洛组单抗(Olokizumab)、奥马珠单抗(Omalizumab)、奥博妥单抗(Omburtamab)、OMS721、奥那妥组单抗(Onartuzumab)、昂妥昔珠单抗(Ontuxizumab)、奥瓦利单抗(Onvatilimab)、奥匹努单抗(Opicinumab)、莫妥组单抗(Oportuzumab monatox)、奥戈伏单抗(Oregovomab)、奥替苏单抗(Orticumab)、奥昔组单抗(Otelixizumab)、奥替利单抗(Otilimab)、奥乐妥珠单抗(Otlertuzumab)、奥塞芦单抗(Oxelumab)、奥扎奈珠单抗(Ozanezumab)、奥利组单抗

(Ozoralizumab)、帕吉昔单抗(Pagibaximab)、帕利珠单抗(Palivizumab)、潘瑞鲁单抗(Pamrevlumab)、帕尼单抗(Panitumumab)、盘卡单抗(Pankomab)、帕巴库单抗(Panobacumab)、帕萨妥珠单抗(Parsatuzumab)、帕考珠单抗(Pascolizumab)、帕妥昔珠单抗(Pasotuxizumab)、帕替组单抗(Pateclizumab)、帕曲妥单抗(Patritumab)、PDR001、帕博利珠单抗(Pembrolizumab)、培妥莫单抗(Pemtumomab)、培拉凯珠单抗(Perakizumab)、帕妥珠单抗(Pertuzumab)、培克珠单抗(Pexelizumab)、匹地利珠单抗(Pidilizumab)、维汀-匹那妥珠单抗(Pinatuzumab vedotin)、平妥莫单抗(Pintumomab)、普拉鲁单抗(Placulumab)、普瑞鲁单抗(Prezalumab)、洛扎利珠单抗(Plozalizumab)、珀伽利珠单抗(Pogalizumab)、维泊妥珠单抗(Polatuzumab vedotin)、泊奈组单抗(Ponezumab)、珀韦昔单抗(Porgaviximab)、普尼珠单抗(Prasinezumab)、普瑞利珠单抗(Prezalizumab)、普立昔单抗(Priliximab)、瑞托萨昔单抗(Pritoxaximab)、普托木单抗(Pritumumab)、PRO 140、奎利珠单抗(Quilizumab)、雷妥莫单抗(Racotumomab)、雷曲妥单抗(Radretumab)、雷韦单抗(Rafivirumab)、雷泮赛珠单抗(Ralpancizumab)、雷莫芦单抗(Ramucirumab)、雷奈维单抗(Ranevetmab)、兰尼单抗(Ranibizumab)、雷昔库单抗(Raxibacumab)、拉瓦加利单抗(Ravagalimab)、雷夫利珠单抗(Ravulizumab)、瑞法奈珠单抗(Refanezumab)、瑞加韦单抗(Regavirumab)、REGN-EB、瑞拉利单抗(Relatlimab)、壬托鲁单抗(Remtolumab)、瑞替珠单抗(Reslizumab)、利妥木单抗(Rilotumumab)、利努苏单抗(Rinucumab)、瑞莎珠单抗(Risankizumab)、利妥昔单抗(Rituximab)、聚乙二醇化利伐巴珠单抗(Rivabazumab pegol)、罗妥木单抗(Robatumumab)、Rmab、罗来度单抗(Roledumab)、若奇单抗(Romilkimab)、洛莫索珠单抗(Romosozumab)、罗他珠单抗(Rontalizumab)、洛曼妥珠单抗(Rosmantuzumab)、替洛伐妥珠单抗(Rovalpituzumab tesirine)、罗维珠单抗(Rovelizumab)、洛利昔珠单抗(Rozanolixizumab)、卢利珠单抗(Ruplizumab)、SA237、戈沙妥珠单抗(Sacituzumab govitecan)、沙玛立珠单抗(Samalizumab)、维汀-沙马妥单抗(Samrotamab vedotin)、沙利姆单抗(Sarilumab)、萨特利珠单抗(Satralizumab)、沙妥莫单抗喷地肽(Satumomab pendetide)、司库奇尤单抗(Secukinumab)、塞鲁单抗(Selicrelumab)、瑟瑞妥单抗(Seribantumab)、瑟托萨昔单抗(Setoxaximab)、塞曲苏单抗(Setrusumab)、司韦单抗(Sevirumab)、西罗珠单抗(Sibrotuzumab)、SGN-CD19A、SHP647、西法木单抗(Sifalimumab)、司妥昔单抗(Siltuximab)、辛妥珠单抗(Simtuzumab)、希普利珠单抗(Siplizumab)、维汀-斯妥尤单抗(Sirtratumab vedotin)、西鲁库单抗(Sirukumab)、维汀-索非妥珠单抗(Sofituzumab vedotin)、索兰珠单抗(Solanezumab)、索利托单抗(Solitomab)、索尼普兹珠单抗(Sonepcizumab)、松妥珠单抗(Sontuzumab)、斯巴达珠单抗(Spartalizumab)、司他芦单抗(Stamulumab)、硫索单抗(Sulesomab)、舒他伏单抗(Suptavumab)、苏替莫单抗(Sutimlimab)、舒维组单抗(Suvizumab)、苏托舒单抗(Suvratoxumab)、他贝芦单抗(Tabalumab)、他珠单抗四西坦(Tacatuzumab tetraxetan)、他度珠单抗(Tadocizumab)、塔妥珠单抗(Talacotuzumab)、他利珠单抗(Talizumab)、塔奎妥单抗(Talquetamab)、坦妥维单抗(Tamtuvetmab)、他尼珠单抗(Tanezumab)、帕他普莫单抗(Taplitumomab paptox)、他瑞妥单抗(Tarextumab)、他利昔珠单抗(Tavolimab)、特立妥单抗(Teclistamab)、替非珠单抗(Tefibazumab)、阿替莫单抗(Telimomab aritox)、特立妥珠单抗(Telisotuzumab)、维汀-特立妥珠单抗(Telisotuzumab vedotin)、替妥莫单抗

(Tenatumomab)、替奈昔单抗(Teneliximab)、特普利珠单抗(Teplizumab)、替泊地塔单抗(Tepoditamab)、替妥木单抗(Teprotumumab)、特度鲁单抗(Tesidolumab)、特土罗单抗(Tetulomab)、特折鲁单抗(Tezepelumab)、TGN1412、替布利珠单抗(Tibulizumab)、替曲吉珠单抗(Tildrakizumab)、替加组单抗(Tigatuzumab)、替米妥珠单抗(Timigutuzumab)、替莫鲁单抗(Timolumab)、替瑞利尤单抗(Tiragolumab)、替古妥单抗(Tiragotumab)、替雷利珠单抗(Tislelizumab)、维汀-替索单抗(Tisotumab vedotin)、TNX-650、托珠单抗(Tocilizumab)、托木妥昔单抗(Tomuzotuximab)、托利珠单抗(Toralizumab)、托萨托舒单抗(Tosatoxumab)、托西莫单抗(Tositumomab)、托维妥单抗(Tovetumab)、曲罗芦单抗(Tralokinumab)、曲妥珠单抗(Trastuzumab)、曲妥珠单抗-多卡马嗪(Trastuzumab duocarmazine)、恩美曲妥珠单抗(Trastuzumab emtansine)、TRBS07、曲利组单抗(Tregalizumab)、曲美木单抗(Tremelimumab)、曲戈卢单抗(Trevogrumab)、西莫白介素单抗(Tucotuzumab celmoleukin)、妥韦单抗(Tuvirumab)、乌妥昔单抗(Ublituximab)、乌洛鲁单抗(Ulocuplumab)、乌瑞芦单抗(Urelumab)、乌珠单抗(Urtoxazumab)、尤特克单抗(Ustekinumab)、乌托鲁单抗(Utomilumab)、伐达妥昔单抗-他利林(Vadastuximab talirine)、瓦纳利单抗(Vanalimab)、维汀-万多妥珠单抗(Vandortuzumab vedotin)、万替妥单抗(Vantictumab)、伐努赛珠单抗(Vanucizumab)、伐利昔单抗(Vapaliximab)、伐利苏单抗(Varisacumab)、伐立鲁单抗(Varlilumab)、伐利组单抗(Vatelizumab)、维多珠单抗(Vedolizumab)、维妥珠单抗(Veltuzumab)、维帕莫单抗(Vepalimomab)、维森库单抗(Vesencumab)、维西珠单抗(Visilizumab)、沃巴利珠单抗(Vobarilizumab)、伏洛昔单抗(Volociximab)、冯洛利珠单抗(Vonlerolizumab)、沃特利单抗(Vopratelimab)、玛汀-沃瑟妥珠单抗(Vorsetuzumab mafodotin)、伏妥莫单抗(Votumumab)、伏那吉珠单抗(Vunakizumab)、珍妥珠单抗(Xentuzumab)、XMAB-5574、扎芦木单抗(Zalutumumab)、扎木单抗(Zanolimumab)、扎妥昔单抗(Zatuximab)、泽妥珠单抗(Zenocutuzumab)、齐拉木单抗(Ziralimumab)、佐妥昔单抗(Zolbetuximab)(＝IMAB362,克劳迪昔单抗(Claudiximab))、阿佐莫单抗(Zolimomab aritox)或它们的组合。

[0240] 在某些实施方案中,第二治疗剂包括有效诱导ADCC、ADCP和/或CDC的抗体或其抗原结合部分/片段。

[0241] 在一些实施方案中,用于治疗癌症的IGSF8拮抗剂可以是非抗体蛋白,诸如抑制IGSF8与其配体之间相互作用的IGSF8蛋白或其部分(例如,Ig-V组ECD)的可溶性形式,任选地进一步包含融合伴侣并呈融合分子形式,诸如(IgG1)Fc融合体。各种示例性IGSF8拮抗剂将在以下部分中进行更详细地描述。

[0242] 在一些实施方案中,用于治疗癌症的KIR3DL1/2拮抗剂可以是非抗体蛋白,诸如抑制IGSF8与KIR3DL1/2之间相互作用的KIR3DL1/2蛋白或其部分(例如,ECD的第二Ig结构域)的可溶性形式,任选地进一步包含融合伴侣并呈融合分子形式,诸如(IgG1)Fc融合体。

[0243] 在一些实施方案中,用于治疗癌症的KLRC1/D1拮抗剂可以是非抗体蛋白,诸如抑制IGSF8与KLRC1/D1之间相互作用的KLRC1/D1蛋白或其部分(例如,ECD)的可溶性形式,任选地进一步包含融合伴侣并呈融合分子形式,诸如(IgG1)Fc融合体。

[0244] 本文所述的发明还提供了KIR3DL1/2或KLRC1/D1拮抗剂用于治疗人类和其他非人类哺乳动物的方法中。

[0245] 在一些实施方案中，提供了治疗或预防癌症的方法，包括向需要这种治疗的受试者施用有效量的KIR3DL1/2或KLRC1/D1拮抗剂。

[0246] 在一些实施方案中，提供了用于激活NK细胞，诸如激活NK细胞介导的免疫治疗(其可用于治疗或预防癌症)的方法，包括使NK细胞与KIR3DL1/2或KLRC1/D1拮抗剂进行接触，或者向需要这种NK细胞介导的免疫治疗的受试者施用有效量的KIR3DL1/2或KLRC1/D1拮抗剂。

[0247] 在一些实施方案中，提供了治疗癌症的方法，其中该方法包括向患有癌症的受试者施用KIR3DL1/2或KLRC1/D1拮抗剂。

[0248] 在一些实施方案中，提供了KIR3DL1/2或KLRC1/D1拮抗剂用于治疗癌症的用途。

[0249] 在一些实施方案中，通过抑制IGSF8与KIR3DL1/2和/或KLRC1/D1之间的结合，可以治疗癌症。在一些实施方案中，癌症表达IGSF8。在一些实施方案中，癌症的特征不在于KIR3DL1/2的表达或过表达。在一些实施方案中，癌症不是皮肤T细胞淋巴瘤，诸如塞扎里综合征、$CD30^+$皮肤淋巴瘤和转化型蕈样真菌病。

[0250] 在一些实施方案中，KIR3DL1/2或KLRC1/D1拮抗剂是抗KIR3DL1/2或抗KLRC1/D1抗体，或者其抗原结合片段。在一个实施方案中，KIR3DL1/2或KLRC1/D1拮抗剂是特异性结合KIR3DL1/2或KLRC1/D1并抑制IGSF8与KIR3DL1/2或KLRC1/D1结合(例如，抑制IGSF8与KIR3DL1/2结合所介导的NK细胞中IFNγ分泌至少约20％、40％、50％、60％、80％、90％或更多)的抗体或其抗原结合片段。在一个实施方案中，抗KIR3DL1/2或抗KLRC1/D1抗体是人抗体。

[0251] 在某些实施方案中，抗KIR3DL1/2抗体或其抗原结合片段特异性结合KIR3DL1/2的D2结构域并抑制IGSF8结合。在某些实施方案中，抗KIR3DL1/2抗体或其抗原结合片段特异性结合KIR3DL1/2的D2结构域内的表位并抑制IGSF8结合KIR3DL1/2的残基S165、I171和/或M186。在一个实施方案中，抗KIR3DL2抗体不是IPH4102。

[0252] 在一个实施方案中，KIR3DL1/2拮抗剂是抑制IGSF8与KIR3DL1/2结合的IGSF8的胞外结构域(ECD)，例如抑制与KIR3DL1/2的残基S165、I171和/或M186的结合，而不会触发KIR3DL1/2对NK细胞活化、增殖和/或活力的抑制性功能。

[0253] 在一个实施方案中，KIR3DL1/2或KLRC1/D1拮抗剂是一种结合KIR3DL1/2或KLRC1/D1并抑制IGSF8与KIR3DL1/2或KLRC1/D1结合的小分子，例如抑制与KIR3DL1/2的残基S165、I171和/或M186的结合，而不会触发KIR3DL1/2对NK细胞活化、增殖和/或活力的抑制性功能。

[0254] 在一个实施方案中，KIR3DL1/2拮抗剂是CpG-寡脱氧核苷酸(CpG-ODN)，其在与KIR3DL1/2的ECD中的第一(或D1)Ig样结构域结合后，引起KIR3DL1/2从细胞表面下调并转位至内体，从而将CpG-ODN递送至toll样受体9，并激活NK细胞。

[0255] 在一个相关方面中，本发明提供了IGSF8拮抗剂、KIR3DL1拮抗剂、KIR3DL2拮抗剂或KLRC1/D1拮抗剂在受试者中治疗癌症的用途，所述拮抗剂抑制IGSF8与选自KIR3DL1、KIR3DL2和KLRC1/D2异二聚体的IGSF8受体的结合。

[0256] 在某些实施方案中，将该用途与如本文所述的任何一种或多种第二治疗剂联合使用。

[0257] 本发明的一个相关方面提供了包含IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆

抗体或其抗原结合片段)、KIR3DL1拮抗剂、KIR3DL2拮抗剂或KLRC1/D1拮抗剂的组合物用于本文所述的本发明的任何方法,所述拮抗剂抑制IGSF8与选自KIR3DL1、KIR3DL2和KLRC1/D2异二聚体的IGSF8受体的结合。

[0258] 4.施用途径和载剂

[0259] 在不同的实施方案中,可以以皮下方式或静脉内方式施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。

[0260] 在一些实施方案中,可以通过各种途径在体内施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂,包括但不限于经口、动脉内、胃肠外、鼻内、肌内、心内、室内、气管内、经颊、经直肠、腹膜内、通过吸入、皮内、局部、经皮和鞘内,或其他方式,例如通过植入。

[0261] 可以将本发明的组合物配制成固体、半固体、液体或气体形式的制剂,包括但不限于片剂、胶囊剂、散剂、颗粒剂、软膏剂、溶液剂、栓剂、灌肠剂、注射剂、吸入剂和气雾剂。

[0262] 在一些实施方案中,使用基因疗法递送IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。作为非限制性示例,可以将编码IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂(诸如Cas9和sgRNA,或Cas12a和crRNA)的核酸分子涂覆到金微粒上并通过粒子轰击装置或“基因枪”以皮内方式进行递送,例如,如在文献中所述(参见,例如Tang等人,Nature 356:152-154(1992))。

[0263] 在不同的实施方案中,将包含IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂的组合物以含有多种多样药学上可接受的载剂的制剂形式提供(参见,例如Gennaro,Remington:The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons:Drugfacts Plus,第20版(2003);Ansel等人,Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,第7版,Lippencott Williams and Wilkins(2004);Kibbe等人,Handbook of Pharmaceutical Excipients,第3版,Pharmaceutical Press(2000))。可获得各种药学上可接受的载剂,包括媒介物、佐剂和稀释剂。此外,还可以获得各种药学上可接受的辅助物质,诸如pH调节剂和缓冲剂、张力调节剂、稳定剂、润湿剂等。非限制性的示例性载剂包括盐水、缓冲盐水、葡萄糖、水、甘油、乙醇及其组合。

[0264] 在不同的实施方案中,通过将包含IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂的组合物溶解、悬浮或乳化在水性或非水性溶剂中,诸如植物油或其它油类、合成脂肪酸甘油酯、高级脂肪酸的酯或丙二醇中,可以将这些组合物配制成用于注射,包括皮下施用;并且如期望,还可以添加常规助剂,如增溶剂、等渗剂、悬浮剂、乳化剂、稳定剂和防腐剂。

[0265] 在不同的实施方案中,例如使用加压可接受的推进剂例如二氯二氟甲烷、丙烷、氮气等,可以将组合物配制成用于吸入。

[0266] 在不同的实施方案中,还可以将组合物配制成缓释微胶囊剂,诸如用可生物降解的或不可生物降解的聚合物。非限制性的示例性可生物降解性配方包括聚乳酸-乙醇酸(PLGA)聚合物。非限制性的示例性不可生物降解的配方包括聚甘油脂肪酸酯。在例如EP

1125584 A1中描述了制备此类制剂的某些方法。

[0267] 还提供了包括一个或多个容器的药物剂量包，每个容器包含一剂或多剂IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。在一些实施方案中，提供了一种单位剂量，其中该单位剂量含有预定量的包含IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂的组合物，含有或不含一种或多种另外的作用剂。在一些实施方案中，这种单位剂量以一次性预充式注射器的形式提供，用于注射。在不同的实施方案中，单位剂量中所含的组合物可以包括盐水、蔗糖等；缓冲剂，例如磷酸盐等；和/或将其在稳定且有效的pH值范围内配制。备选地，在一些实施方案中，组合物可以以冻干粉的形式提供，该冻干粉可以在加入合适的液体例如无菌水后进行重构。在一些实施方案中，组合物包含一种或多种抑制蛋白质聚集的物质，包括但不限于蔗糖和精氨酸。在一些实施方案中，本发明的组合物包含肝素和/或蛋白聚糖。

[0268] 以有效治疗或预防特定适应症的量来施用药物组合物。治疗有效量通常取决于接受治疗的受试者的体重、他或她的身体或健康状况、待治疗病况的广泛程度或接受治疗的受试者的年龄。

[0269] 在一些实施方案中，可以以范围为每剂约50μg/kg体重至约50mg/kg体重的量施用IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。在一些实施方案中，可以以范围为每剂约100μg/kg体重至约50mg/kg体重的量施用IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。在一些实施方案中，可以以范围为每剂约100μg/kg体重至约20mg/kg体重的量施用IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。在一些实施方案中，可以以范围为每剂约0.5mg/kg体重至约20mg/kg体重的量施用IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。

[0270] 在一些实施方案中，可以以范围为每剂约10mg至约1,000mg的量施用IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。在一些实施方案中，可以以范围为每剂约20mg至约500mg的量施用IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。在一些实施方案中，可以以范围为每剂约20mg至约300mg的量施用IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。在一些实施方案中，可以以范围为每剂约20mg至约200mg的量施用IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。

[0271] 可以根据需要向受试者施用IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂组合物。在一些实施方案中，一次或多次向受试者施用有效剂量的IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。在不同的实施方案中，每月一次、少于每月一次，例如每两个月一次、每三个月或每六个月一次向受试者施用有效剂量的IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或

KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。在其他实施方案中，每月超过一次，例如每两周一次、每周一次、每周两次、每周三次、每天一次或每天多次施用有效剂量的IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂。至少一次向受试者施用有效剂量的IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。在一些实施方案中，可以多次施用有效剂量的IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂，包括持续至少一个月、至少六个月或至少一年的时间。在一些实施方案中，根据需要向受试者施用IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂，以缓解病况的一种或多种症状。

[0272] 5.联合疗法

[0273] 可以将本发明的IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂，包括任何抗体及其功能性片段与其他生物活性物质或其他治疗程序联合施用于有此需要的受试者，以用于治疗疾病。例如，可以将IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂单独施用或者与其他治疗模式一起施用。它们可以在其他治疗模式如放射疗法之前、基本上与其同时或在其之后提供。

[0274] 在一些实施方案中，本发明的方法可以包括向受试者施用有效量的第二治疗剂，该第二治疗剂包括免疫疗法、免疫检查点抑制剂、癌症疫苗、嵌合抗原受体、化学治疗剂、放射疗法、抗血管生成剂、生长抑制剂、免疫肿瘤剂、抗肿瘤组合物、手术或其组合。

[0275] 对于癌症的治疗，可以将IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂与一种或多种抗癌剂联合施用，这些抗癌剂诸如免疫检查点抑制剂、化学治疗剂、生长抑制剂、抗血管生成剂或抗肿瘤组合物。

[0276] 在一些实施方案中，免疫检查点抑制剂是对PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG3、TIGIT、TIM3、NKG2A、CD276、VTCN1、VISR或HHLA2具有特异性的抗体或其抗原结合片段。

[0277] 在一些实施方案中，免疫检查点抑制剂是抗PD-1抗体，诸如西米普利单抗、纳武单抗或帕博利珠单抗。

[0278] 在一些实施方案中，免疫检查点抑制剂是抗PD-L1抗体，诸如阿维鲁单抗(avelumab)、德瓦鲁单抗(durvalumab)、阿特珠单抗(atezolizumab)、KN035或CK-301。

[0279] 在一些实施方案中，免疫检查点抑制剂是PD-1/PD-L1的(非抗体)肽抑制剂，诸如AUNP12;PD-L1的小分子抑制剂诸如CA-170，或大环肽诸如BMS-986189。

[0280] 在某些实施方案中，将与IGSF8特异性结合的IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)(“IGSF8结合拮抗剂”)，例如IGSF8拮抗性抗体或其抗原结合片段，与第二拮抗剂如免疫检查点抑制剂(例如，PD-1或PD-L1通路的抑制剂)一起施用于患有会从刺激免疫系统获益的疾病(例如癌症或感染性疾病)的受试者。这两种拮抗剂可以同时或连续施用，例如，如下文所述的IGSF8拮抗剂与免疫肿瘤剂的联合。可以将一种或多种另外的治疗剂例如检查点调节剂加入用IGSF8结合拮抗剂进行的治疗中，用于治疗癌症或感染性疾病。在一些实施方案中，IGSF8拮抗剂是特异性结合IGSF8的D1(Ig-V组结构

域)的抗体或其抗原结合片段。

[0281] 在某些实施方案中,将与KIR3DL1/2特异性结合的KIR3DL1/2拮抗剂("KIR3DL1/2结合拮抗剂"),例如KIR3DL1/2拮抗性抗体或其抗原结合片段,与第二拮抗剂如免疫检查点抑制剂(例如,PD-1或PD-L1通路的抑制剂)一起施用于患有会从刺激免疫系统获益的疾病(例如癌症或感染性疾病)的受试者。这两种拮抗剂可以同时或连续施用,例如,如下文所述的KIR3DL1/2拮抗剂与免疫肿瘤剂的联合。可以将一种或多种另外的治疗剂例如检查点调节剂加入用KIR3DL1/2结合拮抗剂进行的治疗中,用于治疗癌症或感染性疾病。在一些实施方案中,KIR3DL1/2拮抗剂是特异性结合KIR3DL1/2的D2(中间Ig样结构域)的抗体或其抗原结合片段,诸如结合KIR3DL1/2的S165、I171和/或M186或者通过S165、I171和/或M186抑制IGSF8结合的抗体或抗原结合片段。

[0282] 在某些实施方案中,将与KLRC1/D1特异性结合的KLRC1/D1拮抗剂("KLRC1/D1结合拮抗剂"),例如KLRC1/D1拮抗性抗体或其抗原结合片段,与第二拮抗剂如免疫检查点抑制剂(例如,PD-1或PD-L1通路的抑制剂)一起施用于患有会从刺激免疫系统获益的疾病(例如癌症或感染性疾病)的受试者。这两种拮抗剂可以同时或连续施用,例如,如下文所述的KLRC1/D1拮抗剂与免疫肿瘤剂的联合。可以将一种或多种另外的治疗剂例如检查点调节剂加入用KLRC1/D1结合拮抗剂进行的治疗中,用于治疗癌症或感染性疾病。

[0283] 在某些实施方案中,将IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂与另一种治疗同时或连续施用于受试者,例如患有癌症的受试者。例如,可以将IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂与以下中的一种或多种一起施用:放射疗法、手术或化学疗法,例如靶向化学疗法或免疫疗法。免疫疗法例如癌症免疫疗法包括癌症疫苗和免疫肿瘤剂。

[0284] IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂可以是例如分别与IGSF8或KIR/3DL1/2或KLRC1/D1结合的蛋白质、抗体、抗体片段或小分子。IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂可以是分别特异性结合IGSF8或KIR3DL1/2或KLRC1/D1的抗体或其抗原结合片段。

[0285] 在某些实施方案中,治疗患有癌症的受试者的方法包括向患有癌症的受试者施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂,例如IGSF8抗体和/或KIR3DL1/2抗体和/或KLRC1/D1抗体,以及一种或多种免疫肿瘤剂,诸如免疫检查点抑制剂。

[0286] 免疫疗法,例如用免疫肿瘤剂的疗法,可有效增强、刺激和/或上调受试者中的免疫应答。一方面,将IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂与免疫肿瘤剂(诸如PD-1抑制剂)一起施用在治疗癌症方面,例如在抑制肿瘤生长方面具有协同作用。

[0287] 一方面,在施用免疫肿瘤剂之前,序贯施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。一方面,将IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂与免疫肿瘤剂(诸如PD-1抑制剂)同时施用。又一方面,在施用免疫

肿瘤剂(诸如PD-1抑制剂)之后,序贯施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂。

[0288] 两种药剂开始施用的时间可以间隔例如30分钟、60分钟、90分钟、120分钟、3小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、3天、5天、7天或者1周或多周,或者可以在已施用第一药剂之后例如30分钟、60分钟、90分钟、120分钟、3小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、3天、5天、7天或者1周或多周时开始施用第二药剂。

[0289] 在某些方面,将IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂与免疫肿瘤剂(诸如PD-1抑制剂)同时施用于患者,例如同时输注,例如在30或60分钟的时间内。可以将IGSF8拮抗剂与免疫肿瘤剂(诸如PD-1抑制剂)共同配制。

[0290] 免疫肿瘤剂包括,例如小分子药物、抗体或其片段,或者其他生物制品或小分子。生物型免疫肿瘤剂的实例包括但不限于抗体、抗体片段、疫苗和细胞因子。一方面,抗体是单克隆抗体。在某些方面,单克隆抗体是人源化抗体或人抗体。

[0291] 一方面,免疫肿瘤剂是免疫细胞(例如T细胞)上(i)刺激性(包括共刺激性)分子(例如,受体或配体)的激动剂或(ii)抑制性(包括共抑制性)分子(例如,受体或配体)的拮抗剂,这两者都会引起抗原特异性T细胞应答的放大。在某些方面,免疫肿瘤剂是参与先天性免疫的细胞(例如NK细胞)上(i)刺激性(包括共刺激性)分子(例如,受体或配体)的激动剂或(ii)抑制性(包括共抑制性)分子(例如,受体或配体)的拮抗剂,并且其中该免疫肿瘤剂增强先天性免疫。此类免疫肿瘤剂通常称为免疫检查点调节剂,例如免疫检查点抑制剂或免疫检查点刺激剂。

[0292] 在某些实施方案中,免疫肿瘤剂靶向作为免疫球蛋白超家族(IgSF)成员的刺激性或抑制性分子。例如,免疫肿瘤剂可以是靶向(或特异性结合)膜结合型配体的B7家族成员或者与B7家族成员特异性结合的共刺激性或共抑制性受体的作用剂,这些B7家族成员包括B7-1、B7-2、B7-H1(PD-L1)、B7-DC(PD-L2)、B7-H2(ICOS-L)、B7-H3、B7-H4、B7-H5和B7-H6。免疫肿瘤剂可以是靶向膜结合型配体的TNF家族成员或者与其特异性结合的共刺激性或共抑制性受体(例如TNF受体家族成员)的作用剂。可以由免疫肿瘤剂靶向的示例性TNF和TNFR家族成员包括CD40和CD40L、OX-40、OX-40L、GITR、GITRL、CD70、CD27L、CD30、CD30L、4-1BBL、CD137(4-1BB)、TRAIL/Apo2-L、TRAILR1/DR4、TRAILR2/DR5、TRAILR3、TRAILR4、OPG、RANK、RANKL、TWEAKR/Fn14、TWEAK、BAFFR、EDAR、XEDAR、TACI、APRIL、BCMA、LTfiR、LIGHT、DcR3、HVEM、VEGI/TL1A、TRAMP/DR3、EDAR、EDA1、XEDAR、EDA2、TNFR1、淋巴毒素α/ＴＮＰβ、TNFR2、TNFα、LTfiR、淋巴毒素α1β2、FAS、FASL、RELT、DR6、TROY和NGFR。可与IGSF8拮抗剂联合使用以治疗癌症的免疫肿瘤剂可以是靶向IgSF成员(诸如B7家族成员、B7受体家族成员、TNF家族成员或TNFR家族成员,例如上述那些成员)的作用剂,例如抗体。

[0293] 一方面,将IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂与以下中的一种或多种一起施用,即(i)抑制T细胞活化的蛋白质(诸如CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG-3、TIM3、半乳糖凝集素9、CEACAM-1、BTLA、CD69、半乳糖凝集素-1、TIGIT、CD113、GPR56、VISTA、B7-H3、B7-H4、2B4、CD48、GARP、PDIH、LAIR1、TIM-1、TIM-4以及PSGL-1)的拮抗剂(例如免疫检查点抑制剂)和(ii)刺激T细胞活化的蛋白质(诸如B7-1、B7-2、CD28、4-1BB(CD137)、4-1BBL、ICOS、ICOS-L、

OX40、OX40L、GITR、GITRL、CD70、CD27、CD40、CD40L、DR3以及CD28H)的激动剂。

[0294] 一方面,免疫肿瘤剂是对抑制T细胞活化的细胞因子(例如IL-6、IL-10、TGF-β、VEGF以及其他免疫抑制性细胞因子)进行抑制的作用剂(即其拮抗剂),或者是刺激T细胞活化并刺激免疫应答的细胞因子(诸如IL-2、IL-7、IL-12、IL-15、IL-21以及IFNα)的激动剂(例如细胞因子本身)。

[0295] 可以与IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂联合用于刺激免疫系统,例如用于治疗癌症和感染性疾病的其他作用剂包括NK细胞上抑制性受体的拮抗剂或NK细胞上激活性受体的激动剂。例如,可以将抗IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)与KIR的拮抗剂,诸如KIR3DL1/2拮抗剂和/或针对KLRC1/D1的拮抗剂联合使用。

[0296] 用于联合疗法的另外其他作用剂包括抑制或消耗巨噬细胞或单核细胞的作用剂,包括但不限于CSF-IR拮抗剂,诸如CSF-IR拮抗性抗体,包括RG7155(WO1 1/70024、WO1 1/107553、WO11/131407、WO13/87699、WO13/119716、WO13/132044)或FPA008(WO1 1/140249;WO13169264;WO14/036357)。

[0297] 免疫肿瘤剂还包括抑制TGF-β信号传导的作用剂。

[0298] 可与IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂联合使用的其他作用剂包括增强肿瘤抗原呈递的作用剂,例如树突状细胞疫苗、GM-CSF分泌型细胞疫苗、CpG寡核苷酸以及咪喹莫特(imiquimod),或者增强肿瘤细胞的免疫原性的疗法(例如蒽环类药物)。

[0299] 可与IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂联合使用的另外其他疗法包括消耗或阻断Treg细胞的疗法,例如,与CD25特异性结合的作用剂。

[0300] 可与IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂联合使用的另一疗法是抑制代谢酶(诸如吲哚胺双加氧酶(IDO)、双加氧酶、精氨酸酶或氧化氮合成酶)的疗法。

[0301] 可以使用的另一类作用剂包括抑制腺苷形成或抑制腺苷A2A受体的作用剂。

[0302] 可与IGSF8拮抗剂和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂联合用于治疗癌症的其他疗法包括逆转/预防T细胞失能或耗竭的疗法以及在肿瘤部位触发先天性免疫活化和/或炎症的疗法。

[0303] IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂可以相互联合使用,和/或与多于一种免疫肿瘤剂(诸如免疫检查点抑制剂)联合使用,并且可以例如与靶向免疫通路的多个元件的组合方法联合使用,诸如以下一种或多种:增强肿瘤抗原呈递的疗法(例如树突状细胞疫苗、GM-CSF分泌型细胞疫苗、CpG寡核苷酸、咪喹莫特);抑制负向免疫调节的疗法,例如通过抑制CTLA-4和/或PD1/PD-L1/PD-L2通路和/或消耗或阻断Treg或其他免疫抑制性细胞;刺激正向免疫调节的疗法,例如使用刺激CD-137、OX-40和/或GITR通路和/或刺激T细胞效应功能的激动剂;全身性增加抗肿瘤T细胞频率的疗法;消耗或抑制Treg(诸如肿瘤中的Treg)的疗法,例如使用CD25的拮抗剂(例如达克珠单抗)或通过离体抗CD25珠消耗;影响肿瘤中抑制性髓系细胞功能的疗法;增强肿瘤细胞的免疫原性的疗法(例如蒽环类药物);过继性T细胞或NK细

胞转移,包括遗传修饰的细胞,例如由嵌合抗原受体修饰的细胞(CAR-T疗法);抑制代谢酶(诸如吲哚胺双加氧酶(IDO)、双加氧酶、精氨酸酶或氧化氮合成酶)的疗法;逆转/预防T细胞失能或耗竭的疗法;在肿瘤部位触发先天性免疫活化和/或炎症的疗法;施用免疫刺激性细胞因子或阻断免疫抑制性细胞因子。

[0304] 例如,可以将IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂与以下作用剂一起使用:连接正向共刺激性受体的一种或多种激动剂;通过抑制性受体减弱信号传导的一种或多种拮抗剂(阻断剂),诸如克服肿瘤微环境内不同免疫抑制性通路(例如阻断PD-L1/PD-1/PD-L2相互作用)的拮抗剂;全身性增加抗肿瘤免疫细胞(诸如T细胞)的频率、消耗或抑制Treg(例如通过抑制CD25)的一种或多种作用剂;抑制代谢酶(诸如IDO)的一种或多种作用剂;逆转/预防T细胞失能或耗竭的一种或多种作用剂;以及在肿瘤部位触发先天性免疫活化和/或炎症的一种或多种作用剂。

[0305] 在一个实施方案中,患有可能受益于刺激免疫系统的疾病(例如癌症和感染性疾病)的受试者通过向该受试者施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂和免疫肿瘤剂来治疗,其中该免疫肿瘤剂是CTLA-4拮抗剂,诸如拮抗性CTLA-4抗体。合适的CTLA-4抗体包括,例如YERVOY(伊匹单抗)或曲美木单抗(tremelimumab)。

[0306] 在一个实施方案中,患有可能受益于刺激免疫系统的疾病(例如癌症和感染性疾病)的受试者通过向该受试者施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂和免疫肿瘤剂来治疗,其中该免疫肿瘤剂是PD-1拮抗剂,诸如拮抗性PD-1抗体。合适的PD-1抗体包括,例如OPDIVO(纳武单抗)、KEYTRUDA(帕博利珠单抗)或MEDI-0680(AMP-514;WO2012/145493)。免疫肿瘤剂还可以包括匹地利珠单抗(CT-011)。另一种靶向PD-1受体的方法是由融合至IgG1的Fc部分的PD-L2(B7-DC)胞外结构域组成的重组蛋白,称为AMP-224。

[0307] 在一个实施方案中,患有可能受益于刺激免疫系统的疾病(例如癌症和感染性疾病)的受试者通过向该受试者施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂和免疫肿瘤剂来治疗,其中该免疫肿瘤剂是PD-L1拮抗剂,诸如拮抗性PD-L1抗体。合适的PD-L1抗体包括,例如MPDL3280A(RG7446;WO2010/077634)、德瓦鲁单抗(MEDI4736)、BMS-936559(WO2007/005874)、MSB0010718C(WO2013/79174)或rHigM12B7。

[0308] 在一个实施方案中,患有可能受益于刺激免疫系统的疾病(例如癌症和感染性疾病)的受试者通过向该受试者施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂和免疫肿瘤剂来治疗,其中该免疫肿瘤剂是LAG-3拮抗剂,诸如拮抗性LAG-3抗体。合适的LAG3抗体包括,例如BMS-986016(WO10/19570、WO14/08218)或IMP-731或IMP-321(WO08/132601、WO09/44273)。

[0309] 在一个实施方案中,患有可能受益于刺激免疫系统的疾病(例如癌症和感染性疾病)的受试者通过向该受试者施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂和免疫肿瘤剂来治疗,其中该免疫肿瘤剂是CD137(4-1BB)激动剂,诸如激动性CD137抗体。合适的CD137抗体包括,例如乌瑞

芦单抗或PF-05082566(WO12/32433)。

[0310] 在一个实施方案中,患有可能受益于刺激免疫系统的疾病(例如癌症和感染性疾病)的受试者通过向该受试者施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂和免疫肿瘤剂来治疗,其中该免疫肿瘤剂是GITR激动剂,诸如激动性GITR抗体。合适的GITR抗体包括,例如TRX-518(WO06/105021、WO09/009116)、MK-4166(WO11/028683)或WO2015/031667中所公开的GITR抗体。

[0311] 在一个实施方案中,患有可能受益于刺激免疫系统的疾病(例如癌症和感染性疾病)的受试者通过向该受试者施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂和免疫肿瘤剂来治疗,其中该免疫肿瘤剂是OX40激动剂,诸如激动性OX40抗体。合适的OX40抗体包括,例如MEDI-6383、MEDI-6469或MOXR0916(RG7888;WO06/029879)。

[0312] 在一个实施方案中,患有可能受益于刺激免疫系统的疾病(例如癌症和感染性疾病)的受试者通过向该受试者施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂和免疫肿瘤剂来治疗,其中该免疫肿瘤剂是CD40激动剂,诸如激动性CD40抗体。在某些实施方案中,免疫肿瘤剂是CD40拮抗剂,诸如拮抗性CD40抗体。合适的CD40抗体包括,例如卢卡木单抗(HCD122)、达西组单抗(SGN-40)、CP-870,893或Chi Lob 7/4。

[0313] 在一个实施方案中,患有可能受益于刺激免疫系统的疾病(例如癌症和感染性疾病)的受试者通过向该受试者施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂和免疫肿瘤剂来治疗,其中该免疫肿瘤剂是CD27激动剂,诸如激动性CD27抗体。合适的CD27抗体包括,例如伐立鲁单抗(CDX-1127)。

[0314] 在一个实施方案中,患有可能受益于刺激免疫系统的疾病(例如癌症和感染性疾病)的受试者通过向该受试者施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂和免疫肿瘤剂来治疗,其中该免疫肿瘤剂是MGA271(针对B7H3)(WO11/109400)。

[0315] 在一个实施方案中,患有可能受益于刺激免疫系统的疾病(例如癌症和感染性疾病)的受试者通过向该受试者施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂和免疫肿瘤剂来治疗,其中该免疫肿瘤剂是KIR拮抗剂,诸如利瑞鲁单抗。

[0316] 在一个实施方案中,患有可能受益于刺激免疫系统的疾病(例如癌症和感染性疾病)的受试者通过向该受试者施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂和免疫肿瘤剂来治疗,其中该免疫肿瘤剂是IDO拮抗剂。合适的IDO拮抗剂包括,例如INCB-024360(WO2006/122150、WO07/75598、WO08/36653、WO08/36642)、吲哚莫德(indoximod)、NLG-919(WO09/73620、WO09/1156652、WO11/56652、WO12/142237)或F001287。

[0317] 在一个实施方案中,患有可能受益于刺激免疫系统的疾病(例如癌症和感染性疾病)的受试者通过向该受试者施用IGSF8拮抗剂(例如,本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂和免疫肿瘤剂来治疗,其中该免

疫肿瘤剂是Toll样受体激动剂，例如TLR2/4激动剂(如卡介苗(Bacillus Calmette-Guerin))；TLR7激动剂(如Hiltonol或咪喹莫特)；TLR7/8激动剂(如雷西莫特(Resiquimod))；或TLR9激动剂(如CpG7909)。

[0318] 在一个实施方案中，患有可能受益于刺激免疫系统的疾病(例如癌症和感染性疾病)的受试者通过向该受试者施用IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂和免疫肿瘤剂来治疗，其中该免疫肿瘤剂是TGF-β抑制剂，例如GC1008、LY2157299、TEW7197或IMC-TR1。

[0319] 可与IGSF8拮抗剂(例如，本发明的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段)和/或KIR3DL1/2拮抗剂和/或KLRC1/D1拮抗剂联合使用的另一疗法是治疗性抗体，诸如有效治疗癌症的治疗性抗体。示例性但非限制性的治疗性抗体包括：3F8、8H9、阿巴伏单抗(Abagovomab)、阿昔单抗(Abciximab)、阿比妥珠单抗(Abituzumab)、阿泽奇单抗(Abrezekimab)、阿利鲁单抗(Abrilumab)、阿克托舒单抗(Actoxumab)、阿达木单抗(Adalimumab)、阿德木单抗(Adecatumumab)、阿杜卡努单抗(Aducanumab)、阿法库单抗(Afasevikumab)、阿非莫单抗(Afelimomab)、聚乙二醇化阿拉赛珠单抗(Alacizumab pegol)、阿仑珠单抗(Alemtuzumab)、阿利西尤单抗(Alirocumab)、喷替酸阿妥莫单抗(Altumomab pentetate)、阿麦妥单抗(Amatuximab)、埃万妥单抗(Amivantamab)、马安那莫单抗(Anatumomab mafenatox)、安德利昔单抗(Andecaliximab)、雷星-阿奈妥单抗(Anetumab ravtansine)、阿尼鲁单抗(Anifrolumab)、安芦组单抗(Anrukinzumab)、阿泊珠单抗(Apolizumab)、伊汀-阿普卢妥单抗(Aprutumab ixadotin)、阿西莫单抗(Arcitumomab)、阿伐苏单抗(Ascrinvacumab)、阿塞珠单抗(Aselizumab)、阿特珠单抗(Atezolizumab)、阿度尤单抗(Atidortoxumab)、阿替奴单抗(Atinumab)、阿托木单抗(Atorolimumab)、阿维鲁单抗(Avelumab)、维汀-阿妥昔珠单抗(Azintuxizumab vedotin)、巴匹珠单抗(Bapineuzumab)、巴利昔单抗(Basiliximab)、巴维昔单抗(Bavituximab)、BCD-100、贝妥莫单抗(Bectumomab)、贝戈洛单抗(Begelomab)、贝兰他单抗莫福汀(Belantamab mafodotin)、贝利木单抗(Belimumab)、贝玛妥珠单抗(Bemarituzumab)、贝那利珠单抗(Benralizumab)、贝度尤单抗(Berlimatoxumab)、贝迈奇单抗(Bermekimab)、博司利单抗(Bersanlimab)、柏替木单抗(Bertilimumab)、贝索单抗(Besilesomab)、贝伐珠单抗(Bevacizumab)、贝洛托舒单抗(Bezlotoxumab)、比西单抗(Biciromab)、比玛卢单抗(Bimagrumab)、比美吉珠单抗(Bimekizumab)、泊特埃单抗(Birtamimab)、比伐珠单抗(Bivatuzumab)、布来鲁单抗(Bleselumab)、博纳吐单抗(Blinatumomab)、布隆妥维单抗(Blontuvetmab)、布索组单抗(Blosozumab)、伯考赛珠单抗(Bococizumab)、布雷库单抗(Brazikumab)、维布妥昔单抗(Brentuximab vedotin)、布雷奴单抗(Briakinumab)、布达鲁单抗(Brodalumab)、布洛赛珠单抗(Brolucizumab)、布隆妥珠单抗(Brontictuzumab)、布洛舒单抗(Burosumab)、卡比利珠单抗(Cabiralizumab)、替卡米丹卢单抗(Camidanlumab tesirine)、卡瑞利珠单抗(Camrelizumab)、卡那奴单抗(Canakinumab)、莫坎妥珠单抗(Cantuzumab mertansine)、拉-坎妥珠单抗(Cantuzumab ravtansine)、卡普赛珠单抗(Caplacizumab)、卡罗单抗(Capromab)、卡芦单抗(Carlumab)、卡罗妥昔单抗(Carotuximab)、卡妥索单抗(Catumaxomab)、cBR-多柔比星免疫缀合物、西利珠单抗(Cedelizumab)、西米普利单抗(Cemiplimab)、阿姆白介素-2-瑟妥珠单抗(Cergutuzumab

amunaleukin)、聚乙二醇化赛妥珠单抗(Certolizumab pegol)、西利单抗(Cetrelimab)、西妥昔单抗(Cetuximab)、赛必妥单抗(Cibisatamab)、西妥珠单抗(Cirmtuzumab)、泊西他组单抗(Citatuzumab bogatox)、西妥木单抗(Cixutumumab)、克拉扎珠单抗(Clazakizumab)、克立昔单抗(Clenoliximab)、泰坦-克利妥珠单抗(Clivatuzumab tetraxetan)、考曲妥珠单抗(Codrituzumab)、培汀-考非妥珠单抗(Cofetuzumab pelidotin)、雷星-考妥昔单抗(Coltuximab ravtansine)、可那木单抗(Conatumumab)、康赛珠单抗(Concizumab)、考韦昔单抗(Cosfroviximab)、克瑞组单抗(Crenezumab)、立赞利珠单抗(Crizanlizumab)、克罗特度单抗(Crotedumab)、CR6261、古妥珠单抗(Cusatuzumab)、达西组单抗(Dacetuzumab)、达克珠单抗(Daclizumab)、达罗土珠单抗(Dalotuzumab)、聚乙二醇化达匹利珠单抗(Dapirolizumab pegol)、达雷木单抗(Daratumumab)、德屈库单抗(Dectrekumab)、登赛珠单抗(Demcizumab)、玛汀-地宁妥珠单抗(Denintuzumab mafodotin)、地诺单抗(Denosumab)、玛汀-迪妥昔珠单抗(Depatuxizumab mafodotin)、地洛昔单抗生物素(Derlotuximab biotin)、地莫单抗(Detumomab)、迪扎米珠单抗(Dezamizumab)、地努图希单抗(Dinutuximab)、地利伏单抗(Diridavumab)、多玛洛珠单抗(Domagrozumab)、阿托度单抗(Dorlimomab aritox)、多塔利单抗(Dostarlimab)、曲齐妥单抗(Drozitumab)、DS-8201、度戈妥珠单抗(Duligotuzumab)、度普利尤单抗(Dupilumab)、德瓦鲁单抗(Durvalumab)、度司妥单抗(Dusigitumab)、度妥昔珠单抗(Duvortuxizumab)、依美昔单抗(Ecromeximab)、依库珠单抗(Eculizumab)、埃巴单抗(Edobacomab)、依决洛单抗(Edrecolomab)、依法利珠单抗(Efalizumab)、依芬古单抗(Efungumab)、埃迪鲁单抗(Eldelumab)、依来努单抗(Elezanumab)、依更妥单抗(Elgemtumab)、埃罗妥珠单抗(Elotuzumab)、艾西莫单抗(Elsilimomab)、依米妥珠单抗(Emactuzumab)、依玛鲁单抗(Emapalumab)、依玛妥珠单抗(Emibetuzumab)、艾美赛珠单抗(Emicizumab)、维汀-恩泊妥单抗(Enapotamab vedotin)、依那妥组单抗(Enavatuzumab)、维汀-恩弗妥单抗(Enfortumab vedotin)、聚乙二醇化恩莫单抗(Enlimomab)、依诺妥珠单抗(Enoblituzumab)、依诺凯组单抗(Enokizumab)、依诺苏单抗(Enoticumab)、恩妥昔单抗(Ensituximab)、西依匹莫单抗(Epitumomab cituxetan)、依帕珠单抗(Epratuzumab)、依普奈珠单抗(Eptinezumab)、依瑞奈尤单抗(Erenumab)、厄利珠单抗(Erlizumab)、厄妥索单抗(Ertumaxomab)、埃达珠单抗(Etaracizumab)、艾替利单抗(Etigilimab)、依曲利组单抗(Etrolizumab)、依维苏单抗(Evinacumab)、依洛尤单抗(Evolocumab)、艾韦单抗(Exbivirumab)、法索单抗(Fanolesomab)、法拉莫单抗(Faralimomab)、法瑞西单抗(Faricimab)、法妥组单抗(Farletuzumab)、法司努单抗(Fasinumab)、FBTA05、泛维珠单抗(Felvizumab)、非扎奴单抗(Fezakinumab)、菲巴妥珠单抗(Fibatuzumab)、非拉妥组单抗(Ficlatuzumab)、芬妥木单抗(Figitumumab)、非利伏单抗(Firivumab)、法兰妥单抗(Flanvotumab)、夫来库单抗(Fletikumab)、伏妥珠单抗(Flotetuzumab)、芳妥珠单抗(Fontolizumab)、福拉鲁单抗(Foralumab)、福拉韦单抗(Foravirumab)、瑞玛奈珠单抗(Fremanezumab)、非苏木单抗(Fresolimumab)、弗洛西单抗(Frovocimab)、夫卢维单抗(Frunevetmab)、福拉奴单抗(Fulranumab)、伏妥昔单抗(Futuximab)、伽奈珠单抗(Galcanezumab)、加利昔单抗(Galiximab)、甘妥单抗(Gancotamab)、加尼妥单抗(Ganitumab)、更汀芦单抗(Gantenerumab)、伽妥珠单抗(Gatipotuzumab)、加维莫单抗(Gavilimomab)、格迪伏单抗(Gedivumab)、吉妥珠单抗奥佐

米星(Gemtuzumab ozogamicin)、吉伏组单抗(Gevokizumab)、吉维单抗(Gilvetmab)、瑾司鲁单抗(Gimsilumab)、吉妥昔单抗(Girentuximab)、维汀-格巴妥木单抗(Glembatumumab vedotin)、戈利木单抗(Golimumab)、戈利昔单抗(Gomiliximab)、戈奈单抗(Gosuranemab)、古塞库单抗(Guselkumab)、伊利尤单抗(Ianalumab)、伊巴组单抗(Ibalizumab)、IBI308、替伊莫单抗(Ibritumomab tiuxetan)、艾芦库单抗(Icrucumab)、依达赛珠单抗(Idarucizumab)、依法妥珠单抗(Ifabotuzumab)、伊戈伏单抗(Igovomab)、维汀-伊达珠单抗(Iladatuzumab vedotin)、IMAB363、伊玛鲁单抗(Imalumab)、伊普利单抗(Imaprelimab)、英西单抗(Imciromab)、伊马曲单抗(Imgatuzumab)、英克拉单抗(Inclacumab)、雷星-英达妥昔单抗(Indatuximab ravtansine)、维汀-英度妥单抗(Indusatumab vedotin)、伊奈利珠单抗(Inebilizumab)、英夫利西单抗(Infliximab)、英妥木单抗(Intetumumab)、伊诺莫单抗(Inolimomab)、奥英妥珠单抗(Inotuzumab ozogamicin)、伊匹单抗(Ipilimumab)、Iomab-B、伊妥木单抗(Iratumumab)、伊莎妥昔单抗(Isatuximab)、伊卡利单抗(Iscalimab)、艾司妥单抗(Istiratumab)、伊利组单抗(Itolizumab)、艾克珠单抗(Ixekizumab)、凯利昔单抗(Keliximab)、拉贝珠单抗(Labetuzumab)、拉妥珠单抗(Lacnotuzumab)、纬拉妥珠单抗(Ladiratuzumab vedotin)、兰帕利珠单抗(Lampalizumab)、拉那鲁单抗(Lanadelumab)、兰洛珠单抗(Landogrozumab)、恩星-拉妥昔单抗(Laprituximab emtansine)、拉韦昔单抗(Larcaviximab)、来瑞珠单抗(Lebrikizumab)、来马索单抗(Lemalesomab)、兰达丽珠单抗(Lendalizumab)、伦韦单抗(Lenvervimab)、仑兹鲁单抗(Lenzilumab)、乐德木单抗(Lerdelimumab)、乐利单抗(Leronlimab)、来索伏单抗(Lesofavumab)、来利珠单抗(Letolizumab)、来沙木单抗(Lexatumumab)、利韦单抗(Libivirumab)、维汀-利法妥珠单抗(Lifastuzumab vedotin)、利格利珠单抗(Ligelizumab)、替朗妥昔单抗(Loncastuximab tesirine)、维汀-罗妥昔珠单抗(Losatuxizumab vedotin)、利洛托单抗-赛塔坦(Lilotomab satetraxetan)、林妥珠单抗(Lintuzumab)、利瑞鲁单抗(Lirilumab)、洛迪赛珠单抗(Lodelcizumab)、洛吉维单抗(Lokivetmab)、莫星-洛沃妥珠单抗(Lorvotuzumab mertansine)、卢卡木单抗(Lucatumumab)、聚乙二醇化鲁利珠单抗(Lulizumab pegol)、鲁昔单抗(Lumiliximab)、鲁妥珠单抗(Lumretuzumab)、鲁帕妥单抗(Lupartumab)、阿汀-鲁帕妥单抗(Lupartumab amadotin)、鲁吉珠单抗(Lutikizumab)、马帕木单抗(Mapatumumab)、玛格妥昔单抗(Margetuximab)、马塔西单抗(Marstacimab)、马司莫单抗(Maslimomab)、玛弗利木单抗(Mavrilimumab)、马妥珠单抗(Matuzumab)、美泊利单抗(Mepolizumab)、美替木单抗(Metelimumab)、米拉组单抗(Milatuzumab)、明瑞莫单抗(Minretumomab)、米吉珠单抗(Mirikizumab)、米维妥昔单抗索拉坦辛(Mirvetuximab soravtansine)、米妥莫单抗(Mitumomab)、莫多昔单抗(Modotuximab)、莫格利组单抗(Mogamulizumab)、莫那利珠单抗(Monalizumab)、莫罗木单抗(Morolimumab)、莫舒奈妥单抗(Mosunetuzumab)、莫维珠单抗(Motavizumab)、帕西妥莫单抗(Moxetumomab pasudotox)、莫罗单抗-CD3(Muromonab-CD3)、他那可单抗(Nacolomab tafenatox)、那美芦单抗(Namilumab)、埃托-那普妥莫单抗(Naptumomab estafenatox)、恩星-那妥昔单抗(Naratuximab emtansine)、那呐妥单抗(Narnatumab)、那他珠单抗(Natalizumab)、那赛昔珠单抗(Navicixizumab)、那韦伏单抗(Navivumab)、那昔妥单抗(Naxitamab)、奈巴库单抗(Nebacumab)、耐昔妥珠单抗

(Necitumumab)、奈莫利珠单抗(Nemolizumab)、NEOD001、奈瑞莫单抗(Nerelimomab)、奈伐苏单抗(Nesvacumab)、尼塔奇单抗(Netakimab)、尼妥珠单抗(Nimotuzumab)、尼塞韦单抗(Nirsevimab)、纳武单抗(Nivolumab)、巯诺非妥莫单抗(Nofetumomab merpentan)、奥托萨昔单抗(Obiltoxaximab)、奥妥珠单抗(Obinutuzumab)、奥卡妥珠单抗(Ocaratuzumab)、奥卡利珠单抗(Ocrelizumab)、奥度莫单抗(Odulimomab)、奥法木单抗(Ofatumumab)、奥拉单抗(Olaratumab)、奥来鲁单抗(Oleclumab)、奥仑达利珠单抗(Olendalizumab)、奥洛组单抗(Olokizumab)、奥马珠单抗(Omalizumab)、奥博妥单抗(Omburtamab)、OMS721、奥那妥组单抗(Onartuzumab)、昂妥昔珠单抗(Ontuxizumab)、奥瓦利单抗(Onvatilimab)、奥匹努单抗(Opicinumab)、莫妥组单抗(Oportuzumab monatox)、奥戈伏单抗(Oregovomab)、奥替苏单抗(Orticumab)、奥昔组单抗(Otelixizumab)、奥替利单抗(Otilimab)、奥乐妥珠单抗(Otlertuzumab)、奥塞芦单抗(Oxelumab)、奥扎奈珠单抗(Ozanezumab)、奥利组单抗(Ozoralizumab)、帕吉昔单抗(Pagibaximab)、帕利珠单抗(Palivizumab)、潘瑞鲁单抗(Pamrevlumab)、帕尼单抗(Panitumumab)、盘卡单抗(Pankomab)、帕巴库单抗(Panobacumab)、帕萨妥珠单抗(Parsatuzumab)、帕考珠单抗(Pascolizumab)、帕妥昔珠单抗(Pasotuxizumab)、帕替组单抗(Pateclizumab)、帕曲妥单抗(Patritumab)、PDR001、帕博利珠单抗(Pembrolizumab)、培妥莫单抗(Pemtumomab)、培拉凯珠单抗(Perakizumab)、帕妥珠单抗(Pertuzumab)、培克珠单抗(Pexelizumab)、匹地利珠单抗(Pidilizumab)、维汀-匹那妥珠单抗(Pinatuzumab vedotin)、平妥莫单抗(Pintumomab)、普拉鲁单抗(Placulumab)、普瑞鲁单抗(Prezalumab)、洛扎利珠单抗(Plozalizumab)、珀伽利珠单抗(Pogalizumab)、维泊妥珠单抗(Polatuzumab vedotin)、泊奈组单抗(Ponezumab)、珀韦昔单抗(Porgaviximab)、普尼珠单抗(Prasinezumab)、普瑞利珠单抗(Prezalizumab)、普立昔单抗(Priliximab)、瑞托萨昔单抗(Pritoxaximab)、普托木单抗(Pritumumab)、PRO 140、奎利珠单抗(Quilizumab)、雷妥莫单抗(Racotumomab)、雷曲妥单抗(Radretumab)、雷韦单抗(Rafivirumab)、雷泮赛珠单抗(Ralpancizumab)、雷莫芦单抗(Ramucirumab)、雷奈维单抗(Ranevetmab)、兰尼单抗(Ranibizumab)、雷昔库单抗(Raxibacumab)、拉瓦加利单抗(Ravagalimab)、雷夫利珠单抗(Ravulizumab)、瑞法奈珠单抗(Refanezumab)、瑞加韦单抗(Regavirumab)、REGN-EB、瑞拉利单抗(Relatlimab)、壬托鲁单抗(Remtolumab)、瑞替珠单抗(Reslizumab)、利妥木单抗(Rilotumumab)、利努苏单抗(Rinucumab)、瑞莎珠单抗(Risankizumab)、利妥昔单抗(Rituximab)、聚乙二醇化利伐巴珠单抗(Rivabazumab pegol)、罗妥木单抗(Robatumumab)、Rmab、罗来度单抗(Roledumab)、若奇单抗(Romilkimab)、洛莫索珠单抗(Romosozumab)、罗他珠单抗(Rontalizumab)、洛曼妥珠单抗(Rosmantuzumab)、替洛伐妥珠单抗(Rovalpituzumab tesirine)、罗维珠单抗(Rovelizumab)、洛利昔珠单抗(Rozanolixizumab)、卢利珠单抗(Ruplizumab)、SA237、戈沙妥珠单抗(Sacituzumab govitecan)、沙玛立珠单抗(Samalizumab)、维汀-沙马妥单抗(Samrotamab vedotin)、沙利姆单抗(Sarilumab)、萨特利珠单抗(Satralizumab)、沙妥莫单抗喷地肽(Satumomab pendetide)、司库奇尤单抗(Secukinumab)、塞鲁单抗(Selicrelumab)、瑟瑞妥单抗(Seribantumab)、瑟托萨昔单抗(Setoxaximab)、塞曲苏单抗(Setrusumab)、司韦单抗(Sevirumab)、西罗珠单抗(Sibrotuzumab)、SGN-CD19A、SHP647、西法木单抗(Sifalimumab)、司妥昔单抗(Siltuximab)、辛妥珠单抗(Simtuzumab)、希普利珠

单抗(Siplizumab)、维汀-斯妥尤单抗(Sirtratumab vedotin)、西鲁库单抗(Sirukumab)、维汀-索非妥珠单抗(Sofituzumab vedotin)、索兰珠单抗(Solanezumab)、索利托单抗(Solitomab)、索尼普兹珠单抗(Sonepcizumab)、松妥珠单抗(Sontuzumab)、斯巴达珠单抗(Spartalizumab)、司他芦单抗(Stamulumab)、硫索单抗(Sulesomab)、舒他伏单抗(Suptavumab)、苏替莫单抗(Sutimlimab)、舒维组单抗(Suvizumab)、苏托舒单抗(Suvratoxumab)、他贝芦单抗(Tabalumab)、他珠单抗四西坦(Tacatuzumab tetraxetan)、他度珠单抗(Tadocizumab)、塔妥珠单抗(Talacotuzumab)、他利珠单抗(Talizumab)、塔奎妥单抗(Talquetamab)、坦妥维单抗(Tamtuvetmab)、他尼珠单抗(Tanezumab)、帕他普莫单抗(Taplitumomab paptox)、他瑞妥单抗(Tarextumab)、他利昔珠单抗(Tavolimab)、特立妥单抗(Teclistamab)、替非珠单抗(Tefibazumab)、阿替莫单抗(Telimomab aritox)、特立妥珠单抗(Telisotuzumab)、维汀-特立妥珠单抗(Telisotuzumab vedotin)、替妥莫单抗(Tenatumomab)、替奈昔单抗(Teneliximab)、特普利珠单抗(Teplizumab)、替泊地塔单抗(Tepoditamab)、替妥木单抗(Teprotumumab)、特度鲁单抗(Tesidolumab)、特土罗单抗(Tetulomab)、特折鲁单抗(Tezepelumab)、TGN1412、替布利珠单抗(Tibulizumab)、替曲吉珠单抗(Tildrakizumab)、替加组单抗(Tigatuzumab)、替米妥珠单抗(Timigutuzumab)、替莫鲁单抗(Timolumab)、替瑞利尤单抗(Tiragolumab)、替古妥单抗(Tiragotumab)、替雷利珠单抗(Tislelizumab)、维汀-替索单抗(Tisotumab vedotin)、TNX-650、托珠单抗(Tocilizumab)、托木妥昔单抗(Tomuzotuximab)、托利珠单抗(Toralizumab)、托萨托舒单抗(Tosatoxumab)、托西莫单抗(Tositumomab)、托维妥单抗(Tovetumab)、曲罗芦单抗(Tralokinumab)、曲妥珠单抗(Trastuzumab)、曲妥珠单抗-多卡马嗪(Trastuzumab duocarmazine)、恩美曲妥珠单抗(Trastuzumab emtansine)、TRBS07、曲利组单抗(Tregalizumab)、曲美木单抗(Tremelimumab)、曲戈卢单抗(Trevogrumab)、西莫白介素单抗(Tucotuzumab celmoleukin)、妥韦单抗(Tuvirumab)、乌妥昔单抗(Ublituximab)、乌洛鲁单抗(Ulocuplumab)、乌瑞芦单抗(Urelumab)、乌珠单抗(Urtoxazumab)、尤特克单抗(Ustekinumab)、乌托鲁单抗(Utomilumab)、伐达妥昔单抗-他利林(Vadastuximab talirine)、瓦纳利单抗(Vanalimab)、维汀-万多妥珠单抗(Vandortuzumab vedotin)、万替妥单抗(Vantictumab)、伐努赛珠单抗(Vanucizumab)、伐利昔单抗(Vapaliximab)、伐利苏单抗(Varisacumab)、伐立鲁单抗(Varlilumab)、伐利组单抗(Vatelizumab)、维多珠单抗(Vedolizumab)、维妥珠单抗(Veltuzumab)、维帕莫单抗(Vepalimomab)、维森库单抗(Vesencumab)、维西珠单抗(Visilizumab)、沃巴利珠单抗(Vobarilizumab)、伏洛昔单抗(Volociximab)、冯洛利珠单抗(Vonlerolizumab)、沃特利单抗(Vopratelimab)、玛汀-沃瑟妥珠单抗(Vorsetuzumab mafodotin)、伏妥莫单抗(Votumumab)、伏那吉珠单抗(Vunakizumab)、珍妥珠单抗(Xentuzumab)、XMAB-5574、扎芦木单抗(Zalutumumab)、扎木单抗(Zanolimumab)、扎妥昔单抗(Zatuximab)、泽妥珠单抗(Zenocutuzumab)、齐拉木单抗(Ziralimumab)、佐妥昔单抗(Zolbetuximab)(＝IMAB362,克劳迪昔单抗(Claudiximab))、阿佐莫单抗(Zolimomab aritox)或它们的组合。

[0320] 6.示例性IGSF8拮抗剂

[0321] 在一些实施方案中,IGSF8拮抗剂是IGSF8抗体。在一些实施方案中,用于治疗癌症的IGSF8拮抗剂可以是非抗体蛋白,诸如抑制IGSF8与其配体之间相互作用的可溶性IGSF8

或其部分(例如,其ECD),任选地进一步包含融合伴侣并呈融合分子形式。

[0322] 在一些实施方案中,IGSF8拮抗剂是KIR3DL1/2的可溶性ECD,诸如与IGSF8结合的KIR3DL1/2的D2结构域或其片段,其可任选地进一步包含融合伴侣,诸如序列标签(例如,His标签、FLAG标签等)。此类IGSF8拮抗剂可与IGSF8结合并阻断其与NK细胞上KIR3DL1/2受体的结合,从而阻断IGSF8介导的NK细胞活性和/或活力下调。

[0323] 在一些实施方案中,IGSF8拮抗剂是KLRC1/D1的可溶性ECD,诸如与IGSF8结合的KLRC1或KLRD1的ECD或其片段,其可任选地进一步包含融合伴侣,诸如序列标签(例如,His标签、FLAG标签等)。此类IGSF8拮抗剂可与IGSF8结合并阻断其与NK细胞上KLRC1/D1受体的结合,从而阻断IGSF8介导的NK细胞活性和/或活力下调。

[0324] 在其他实施方案中,拮抗剂还可以是小分子或小肽。

[0325] IGSF8抗体

[0326] 本发明的一个方面提供了一种对IGSF8具有特异性的单克隆抗体。在某些实施方案中,单克隆抗体对IGSF8的胞外结构域(ECD)具有特异性。在某些实施方案中,单克隆抗体对IGSF8的Ig-V组胞外结构域(D1结构域)具有特异性。在一些实施方案中,提供了阻断IGSF8和其配体结合的抗体。在某些实施方案中,单克隆抗体抑制IGSF8与KIR3DL2和/或KIR3DL1的结合,诸如抑制IGSF8与残基S165、I171和/或M186的结合。在某些实施方案中,单克隆抗体抑制IGSF8与KLRC1/D1的结合。在某些实施方案中,单克隆抗体具有跨物种反应性,例如,该单克隆抗体结合人和小鼠IGSF8。在某些实施方案中,单克隆抗体对人IGSF8具有特异性。在一些实施方案中,IGSF8抗体抑制IGSF8介导的信号传导。在某些实施方案中,单克隆抗体与本文公开的任何一种抗IGSF8抗体竞争结合IGSF8。在某些实施方案中,单克隆抗体与本文公开的任何一种抗IGSF8抗体结合IGSF8上相同的表位。

[0327] 在一些实施方案中,本发明的IGSF8抗体对IGSF8,例如对人IGSF8的解离常数(K_d)为≤1μM、≤100nM、≤10nM、≤1nM、≤0.1nM、≤0.01nM或≤0.001nM(例如10^{-8}M或更小,例如10^{-8}M至10^{-13}M,例如10^{-9}M至10^{-13}M)。在某些实施方案中,IGSF8抗体对IGSF8,例如对人IGSF8的解离常数(K_d)为≤1μM、≤100nM、≤10nM、≤1nM、≤0.1nM、≤0.01nM或≤0.001nM(例如10^{-8}M或更小,例如10^{-8}M至10^{-13}M,例如10^{-9}M至10^{-13}M)。

[0328] 在一些实施方案中,具有本文提供的任何特征的IGSF8抗体抑制至少25%、50%、75%、80%、90%或100%的IGSF8信号传导,例如通过KIR3DL1/2和/或KLRC1/D1的信号传导。例如,与IGSF8结合后的KIR3DL1/2和/或KLRC1/D1信号传导可以在NK细胞中基于IFNγ分泌进行测定,这可以使用标准技术如ELISA进行分析。在一些实施方案中,IGSF8抗体抑制NK细胞中的信号传导,诸如在图2D(例如,细胞周期、DNA复制等)或图2E(例如,PRF1、GZMB或GZMA)中描述的任何一条信号传导通路中。

[0329] 在一些实施方案中,本发明的IGSF8抗体包括本文所述的任何一种抗体,包括如实施例7中所述的C1-C39或C30-C39,以及如实施例24中所述的抗体L1-01至L1-033和L2-01至L2-010(全部通过引用方式并入此处),以及本部分中所述的任何抗体。

[0330] 除非明确说明,否则所有抗体和CDR序列均根据IMGT编号方案,除了C1-C29由Kabat编号方案进行注释(而其他的,诸如基于C30-C39和L1/L2衍生物的序列则根据IMGT编号方案)。此外,C39之后的仅重链序列的共有序列/基序,以及CDR区突变分析(L1/L2衍生物)中的CDR序列,也根据IMGT编号方案。

[0331] 使用高亲和力抗IGSF8抗体C30-C39的HCVR CDR1-3序列作为查询序列,在专有的人抗体库中鉴定出许多相似的CDR序列,并且具有如此小的CDR变异的抗体也是本发明对IGSF8具有特异性(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性)的抗IGSF8抗体。

[0332] 类似地,使用高亲和力抗IGSF8抗体C30-C39的LCVR CDR1-3序列作为查询序列,在专有的人抗体库中鉴定出许多相似的CDR序列,并且具有如此小的CDR变异的抗体也是本发明对IGSF8具有特异性(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性)的抗IGSF8抗体。

[0333] 因此,在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包括:(a)重链可变区(HCVR),其包含分别为SEQ ID NO:469、470和471的HCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C30/B34的HCVR CDR1-3;和/或(b)轻链可变区(LCVR),其包含分别为SEQ ID NO:562、563和564的LCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C30/B34的LCVR CDR1-3。

[0334] SEQ ID NO:469:G Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 A,其中Xaa1=F或Y;Xaa2=S或T;Xaa3=L、F或I;Xaa4=R、S或I;Xaa5=D或S;并且Xaa6=Y或S。

[0335] SEQ ID NO:470:I Xaa1 GSGG Xaa2 T,其中Xaa1=S或T,并且Xaa2=N或S。

[0336] SEQ ID NO:471:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8,其中Xaa1=E、A或S,Xaa2=R、L或S,Xaa3=W、A、Y、V、G或S,Xaa4=R、L或S,Xaa5=L、Y、P、T、I、N、K、H或Q,Xaa6=L、V、F、I、G、R或H,Xaa7=A、Y、V或任何酸性残基(D/E),并且Xaa8=Y、A、T、P、K、S或Q。

[0337] SEQ ID NO:562:Xaa1 Xaa2 Xaa3 H Xaa4 Y,其中Xaa1=K、Q、P或H,Xaa2=S、V、I或R,Xaa3=N、S、L、I或M,Xaa4=K、N或T,

[0338] SEQ ID NO:563:AAS,以及,

[0339] SEQ ID NO:564:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 P Xaa7 Xaa8,其中Xaa1=L、Q、K或H,Xaa2=L、Q、K或H,Xaa3=S、I或R,Xaa4=Y或F,Xaa5=P、N、S或T,Xaa6=P、N、S或T,Xaa7=L、I或R,Xaa8=P、N、S或T。

[0340] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包括:(a)重链可变区(HCVR),其包含分别为SEQ ID NO:472、473和474的HCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C31/B46的HCVR CDR1-3;和/或(b)轻链可变区(LCVR),其包含分别为SEQ ID NO:565、566和567的LCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们是单克隆抗体C31/B46的LCVR CDR1-3。

[0341] SEQ ID NO:472:GFTFSTYG,

[0342] SEQ ID NO:473:IWDDGSYK,以及,

[0343] SEQ ID NO:474:AXaa1 GYS Xaa2 S Xaa3 Xaa4 A Xaa5,其中Xaa1=V或G,Xaa2=D或Y,Xaa3=Y、D或S,Xaa4=R、L或M,Xaa5=L、I或S。

[0344] SEQ ID NO:565:QGISTF,

[0345] SEQ ID NO:566:AAS,以及,

[0346] SEQ ID NO:567:QQTYSTQWT。

[0347] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包括:(a)重链可变区(HCVR),其包含分别为SEQ ID NO:475、476和477的HCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C32/B104的HCVR CDR1-3;和/或(b)轻链可变区(LCVR),其包含分别为SEQ ID NO:568、569和570的LCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们是单克隆抗体C32/B104的LCVR CDR1-3。

[0348] SEQ ID NO:475:GYTFTNDI,

[0349] SEQ ID NO:476:INAGYGNT,以及,

[0350] SEQ ID NO:477:ARGYYRSPTW Xaa1 D Xaa2,其中Xaa1=F或I,并且Xaa2=W或Y。

[0351] SEQ ID NO:568:QSISSW,

[0352] SEQ ID NO:569:KAS,以及,

[0353] SEQ ID NO:570:QQYGDYPYT。

[0354] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包括:(a)重链可变区(HCVR),其包含分别为SEQ ID NO:478、479和480的HCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C33/1C2的HCVR CDR1-3;和/或(b)轻链可变区(LCVR),其包含分别为SEQ ID NO:571、572和573的LCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们是单克隆抗体C33/1C2的LCVR CDR1-3。

[0355] SEQ ID NO:478:GFTFSTYG,

[0356] SEQ ID NO:479:IWDDGSYK,以及,

[0357] SEQ ID NO:480:ARD Xaa1 S Xaa2 W Xaa3 YAFD Xaa4,其中Xaa1=G或C,Xaa2=V或G,Xaa3=V或G,并且Xaa4=L或I。

[0358] SEQ ID NO:571:Xaa1 D Xaa2 Xaa3 Xaa4 Y,其中Xaa1=K、Q、P或H,Xaa2=S、N、I或L,Xaa3=S、I或R,Xaa4=任何酸性残基(D/E)。

[0359] SEQ ID NO:572:DAA,以及,

[0360] SEQ ID NO:573:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9,其中Xaa1=L、Q、K或H,Xaa2=Q、K、H或L,Xaa3=Y、S、D或F,Xaa4=V、A或任何酸性残基(D/E),Xaa5=S、I或R,Xaa6=L、F或V,Xaa7=H、P或T,Xaa8=Y、S、F或D,Xaa9=P、N、S或T。

[0361] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包括:(a)重链可变区(HCVR),其包含分别为SEQ ID NO:481、482和483的HCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C34/1D7的HCVR CDR1-3;和/或(b)轻链可变区(LCVR),其包含分别为SEQ ID NO:574、575和576的LCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C34/1D7的LCVR CDR1-3。

[0362] SEQ ID NO:481:GFT Xaa1 Xaa2 S Xaa3 A,其中Xaa1=V或F,Xaa2=N或S,并且Xaa3=F或Y,

[0363] SEQ ID NO:482:I Xaa1 GSGG Xaa2 T,其中Xaa1=S或T,并且Xaa2=S或G,以及,

[0364] SEQ ID NO:483:AR Xaa1 V Xaa2 GYGAF Xaa3 Xaa4,其中Xaa1=任何酸性残基(D/E),Xaa2=任何酸性残基(D/E),Xaa3=A或任何酸性残基(D/E),并且Xaa4=L或I。

[0365] SEQ ID NO:574:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Y,其中Xaa1＝Q、P或任何碱性残基(R/H/K),Xaa2＝S、N或T,Xaa3＝N、S、L、I或M,Xaa4＝H、R、I或S,Xaa5＝H、N、D、S、K、T或I,

[0366] SEQ ID NO:575:GAS,以及,

[0367] SEQ ID NO:576:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9,其中Xaa1＝H、Q、K、L或P,Xaa2＝H、E、Q、K、L或P,Xaa3＝N、A、S、T或P,Xaa4＝Y、S、V、L或F,Xaa5＝S、I或R,Xaa6＝V、A或任何酸性残基(D/E),Xaa7＝A、Q、K、R、T或P,Xaa8＝Y或F,Xaa9＝P、N、S或T。

[0368] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包括:(a)重链可变区(HCVR),其包含分别为SEQ ID NO:484、485和486的HCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C35/1B1的HCVR CDR1-3;和/或(b)轻链可变区(LCVR),其包含分别为SEQ ID NO:577、578和579的LCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们是单克隆抗体C35/1B1的LCVR CDR1-3。

[0369] SEQ ID NO:484:GFTF Xaa1 Xaa2 Xaa3 A,其中Xaa1＝R、N或S,Xaa2＝D或S,并且Xaa3＝F或Y,

[0370] SEQ ID NO:485:I Xaa1 GSGG Xaa2 T,其中Xaa1＝S或T,并且Xaa2＝N、S或G,

[0371] SEQ ID NO:486:A Xaa1 Xaa2 GWE Xaa3 RTPG Xaa4 Xaa5 D Xaa6,其中Xaa1＝R或S,Xaa2＝V或任何酸性残基(D/E),Xaa3＝V或G,Xaa4＝D或Y,Xaa5＝L、F或I,并且Xaa6＝D、Y、H或S。

[0372] SEQ ID NO:577:HRIFSY,

[0373] SEQ ID NO:578:GAS,以及,

[0374] SEQ ID NO:579:QQSFSDPYT。

[0375] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包括:(a)重链可变区(HCVR),其包含分别为SEQ ID NO:487、488和489的HCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C36/1B4'的HCVR CDR1-3;和/或(b)轻链可变区(LCVR),其包含分别为SEQ ID NO:580、581和582的LCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C36/1B4的LCVR CDR1-3。

[0376] SEQ ID NO:487:GFTFSS Xaa1 A,其中Xaa1＝Y或S,

[0377] SEQ ID NO:488:ITGSGGST,以及,

[0378] SEQ ID NO:489:AR Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 L Xaa5 Xaa6,其中Xaa1＝D或G,Xaa2＝R或不存在,Xaa3＝G或C,Xaa4＝A、G或S,Xaa5＝任何酸性残基(D/E),并且Xaa6＝L、Y、I或V。

[0379] SEQ ID NO:580:Xaa1 Xaa2 Xaa3 H Xaa4 Y,其中Xaa1＝K、Q、P或H,Xaa2＝S、V、I或R,Xaa3＝N、S、L、I或M,Xaa4＝K、N或T,

[0380] SEQ ID NO:581:SAS,以及,

[0381] SEQ ID NO:582:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 P Xaa7 Xaa8,其中Xaa1＝L、Q、K或H,Xaa2＝L、Q、K或H,Xaa3＝S、I或R,Xaa4＝Y或F,Xaa5＝P、N、S或T,Xaa6＝P、N、S或T,Xaa7＝L、I或R,Xaa8＝P、N、S或T。

[0382] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体

或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包括:(a)重链可变区(HCVR),其包含分别为SEQ ID NO:490、491和492的HCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C37/3F12的HCVR CDR1-3;和/或(b)轻链可变区(LCVR),其包含分别为SEQ ID NO:583、584和585的LCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C37/3F12的LCVR CDR1-3。

[0383] SEQ ID NO:490:GFTFSSYS,

[0384] SEQ ID NO:491:ISSSSSYI,

[0385] SEQ ID NO:492:Xaa1 R Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 DXaa10 Xaa11 Xaa12 Xaa13,其中Xaa1=C或G,Xaa2=P或Q,Xaa3=Y或D,Xaa4=Y、A或任何酸性残基(D/E),Xaa5=F或L,Xaa6=W或L,Xaa7=S、R或I,Xaa8=C、V或G,Xaa9=W、C或L,Xaa10=W、C或G,Xaa11=Y、F或V,Xaa12=D或A,并且Xaa13=H、P或T。

[0386] SEQ ID NO:583:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6,其中Xaa1=Q、L、P或任何碱性残基(R/H/K),Xaa2=D、S、G、R、T或I,Xaa3=N、S、L、V、T或I,Xaa4=H、N、S、G、R、T或I,Xaa5=N、A、S、E、T、P或I,Xaa6=Q、D、S或Y,

[0387] SEQ ID NO:584:DAS,以及,

[0388] SEQ ID NO:585:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10,其中Xaa1=N、E、Q、L、P或任何碱性残基(R/H/K),Xaa2=N、E、Q、L、P或任何碱性残基(R/H/K),Xaa3=S、G、R、T或I,Xaa4=Y、H、D、S或F,Xaa5=S、G、R、T、I或M,Xaa6=N、A、S、T、P或I,Xaa7=H、L、V、R或I,Xaa8=A、S、Q、T、P或任何碱性残基(R/H/K),Xaa9=Y、H、N、S、F或任何酸性残基(D/E),Xaa10=N、A、S、T或P。

[0389] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包括:(a)重链可变区(HCVR),其包含分别为SEQ ID NO:493、494和495的HCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C38/2B4的HCVR CDR1-3;和/或(b)轻链可变区(LCVR),其包含分别为SEQ ID NO:586、587和588的LCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C38/2B4的LCVR CDR1-3。

[0390] SEQ ID NO:493:GFT Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 A,其中Xaa1=F或C,Xaa2=R、N或S,Xaa3=D或S,并且Xaa4=F或Y,

[0391] SEQ ID NO:494:I Xaa1 GSGG Xaa2 T,其中Xaa1=S或T,并且Xaa2=N、S或G,

[0392] SEQ ID NO:495:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9Xaa10 Xaa11 Xaa12 Xaa13 Xaa14 Xaa15,其中Xaa1=E、A或S,Xaa2=R、S或I,Xaa3=V或G,Xaa4=A或任何酸性残基(D/E),Xaa5=D、Y或S,Xaa6=Y或S,Xaa7=R、S或I,Xaa8=V、G或C,Xaa9=L、W、G或C,Xaa10=P、H或T,Xaa11=R、S或I,Xaa12=L、W、C、G或R,Xaa13=L、F、V或C,Xaa14=Y、D或A,并且Xaa15=P、H、S或T。

[0393] SEQ ID NO:586:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6,其中Xaa1=Q、R或L,Xaa2=A、S、N或T,Xaa3=V、F或L,Xaa4=G或D,Xaa5=A、S、K、T或P,Xaa6=Y、L、V、F或I,

[0394] SEQ ID NO:587:GVS,以及

[0395] SEQ ID NO:588:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 P Xaa7 Xaa8,其中Xaa1=K、Q、L或H,Xaa2=Q、K、H或L,Xaa3=S、I、T或R,Xaa4=N、H、D或Q,Xaa5=V、A或任何酸性残基

(D/E),Xaa6＝A、G、V、L或F,Xaa7＝G、R或L,Xaa8＝K、S、P或T。

[0396] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包括:(a)重链可变区(HCVR),其包含分别为SEQ ID NO:496、497和498的HCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并涵盖单克隆抗体C39/8G4的HCVR CDR1-3;和/或(b)轻链可变区(LCVR),其包含分别为SEQ ID NO:589、590和591的LCVR CDR1、CDR2和CDR3,它们类似于并包含单克隆抗体C39/8G4的LCVR CDR1-3。

[0397] SEQ ID NO:496:GFTFSSYA,

[0398] SEQ ID NO:497:ITGSGGST,以及,

[0399] SEQ ID NO:498:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 D Xaa7,其中Xaa1＝A或W,Xaa2＝F、P、R或Y,Xaa3＝D、H、P或S,Xaa4＝R或S,Xaa5＝D、I或N,Xaa6＝L或P,并且Xaa7＝S或W。

[0400] SEQ ID NO:589:Xaa1 Xaa2 Xaa3 H Xaa4 Y,其中Xaa1＝K、Q、P或H,Xaa2＝S、V、I或R,Xaa3＝N、S、L、I或M,Xaa4＝K、N或T,

[0401] SEQ ID NO:590:AAS,以及,

[0402] SEQ ID NO:591:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 P Xaa7 Xaa8,其中Xaa1＝L、Q、K或H,Xaa2＝L、Q、K或H,Xaa3＝S、I或R,Xaa4＝Y或F,Xaa5＝P、N、S或T,Xaa6＝P、N、S或T,Xaa7＝L、I或R,Xaa8＝P、N、S或T。

[0403] 在以下仅重链序列的共有序列/基序中,CDR序列也根据IMGT编号方案。

[0404] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:499、500和501的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0405] SEQ ID NO:499:GGTFSS Xaa1 G,其中Xaa1＝Y、N或D,

[0406] SEQ ID NO:500:IIPIFGTA,以及,

[0407] SEQ ID NO:501:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 S Xaa7 Xaa8,其中Xaa1＝S、E或A,Xaa2＝S、R或I,Xaa3＝Y、A或任何酸性残基(D/E),Xaa4＝Y、S、F或D,Xaa5＝S、C或任何芳香族残基(F/Y/W),Xaa6＝Y、A或任何酸性残基(D/E),Xaa7＝C、V或G,并且Xaa8＝Y或D。

[0408] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:502、503和504的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0409] SEQ ID NO:502:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Y Xaa7,其中Xaa1＝C、V或G,Xaa2＝Y或S,Xaa3＝P或T,Xaa4＝Y、F、L或I,Xaa5＝N或T,Xaa6＝H、N或K,并且Xaa7＝Y或S,

[0410] SEQ ID NO:503:INPYTGSA,以及,

[0411] SEQ ID NO:504:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11 Xaa12 Xaa13 Xaa14,其中Xaa1＝S、E或A,Xaa2＝S、R、K或G,Xaa3＝H、N、A或任何酸性残基(D/E),Xaa4＝S、D、T或A,Xaa5＝P、K或T,Xaa6＝E、R、V或G,Xaa7＝S、H、R或L,Xaa8＝H、N、P、L或Q,Xaa9＝Y、S或D,Xaa10＝H、N、K、I或T,Xaa11＝S、G、V、C或A,Xaa12＝M、R、L或I,

Xaa13＝H、N、G、V、Y、A或任何酸性残基(D/E)，并且Xaa14＝I、V、F、L或A。

[0412] 在一些实施方案中，本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如，对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性)，其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR)，该HCVR包含分别为SEQ ID NO:505、506和507的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0413] SEQ ID NO:505:GFT Xaa1 NSFA，其中Xaa1＝C、F或V，

[0414] SEQ ID NO:506:ISGSGGGT，以及，

[0415] SEQ ID NO:507:Xaa1 Xaa2 D Xaa3 SP Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 SGA Xaa8 D Xaa9，其中Xaa1＝E或A，Xaa2＝N、K、T或Q，Xaa3＝S、R或L，Xaa4＝Y、S或D，Xaa5＝Y或任何酸性残基(D/E)，Xaa6＝F或L，Xaa7＝W、L或G，Xaa8＝F、L或I，并且Xaa9＝Y、S或D。

[0416] 在一些实施方案中，本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如，对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性)，其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR)，该HCVR包含分别为SEQ ID NO:508、509和510的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0417] SEQ ID NO:508:Xaa1 FTF Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5，其中Xaa1＝C或G，Xaa2＝N、S或R，Xaa3＝S、N或D，Xaa4＝Y、S或F，并且Xaa5＝S或A，

[0418] SEQ ID NO:509:I Xaa1 GSGG Xaa2 T，其中Xaa1＝S或T，并且Xaa2＝S、N、T或G，以及，

[0419] SEQ ID NO:510:Xaa1 Xaa2 R Xaa3 Xaa4 Xaa5 F Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 D Xaa10 Xaa11 Xaa12 Xaa13，其中Xaa1＝E或A，Xaa2＝C或G，Xaa3＝P或Q，Xaa4＝Y或D，Xaa5＝Y或任何酸性残基(D/E)，Xaa6＝W、L或G，Xaa7＝S、R或I，Xaa8＝C、V或G，Xaa9＝W、C或G，Xaa10＝W、C或G，Xaa11＝F、L或V，Xaa12＝A或任何酸性残基(D/E)，并且Xaa13＝H、P或T。

[0420] 在一些实施方案中，本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如，对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性)，其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR)，该HCVR包含分别为SEQ ID NO:511、512和513的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0421] SEQ ID NO:511:Xaa1 Xaa2 TF Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6，其中Xaa1＝V或G，Xaa2＝Y、F或L，Xaa3＝N、S或R，Xaa4＝S、N或D，Xaa5＝Y、S或F，并且Xaa6＝S、D或A，

[0422] SEQ ID NO:512:I Xaa1 GS Xaa2 G Xaa3 T，其中Xaa1＝S或T，Xaa2＝S或G，并且Xaa3＝S、N、T或G，以及，

[0423] SEQ ID NO:513:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 GM Xaa11 Xaa12，其中Xaa1＝S、E或A，Xaa2＝R、K或T，Xaa3＝N或任何酸性残基(D/E)，Xaa4＝D、T或A，Xaa5＝K或T，Xaa6＝E、R或G，Xaa7＝H、R或L，Xaa8＝H或P，Xaa9＝Y或D，Xaa10＝S、N、K、I、Y或T，Xaa11＝Y、V或任何酸性残基(D/E)，并且Xaa12＝G、I或V。

[0424] 在一些实施方案中，本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如，对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性)，其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR)，该HCVR包含分别为SEQ ID NO:514、515和516的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0425] SEQ ID NO:514:GYTL Xaa1 Xaa2 LS，其中Xaa1＝S或T，并且Xaa2＝任何酸性残基

(D/E)，

[0426] SEQ ID NO:515:FDP Xaa1 Xaa2 Xaa3 E Xaa4,其中Xaa1＝E或Q,Xaa2＝任何酸性残基(D/E),Xaa3＝N或G,并且Xaa4＝I或T,以及，

[0427] SEQ ID NO:516:A Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Y Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Y Xaa11 G Xaa12 Xaa13 Xaa14 Xaa15 Xaa16 DV,其中Xaa1＝N、K或T,Xaa2＝Y或D,Xaa3＝L或V,Xaa4＝W、V或G,Xaa5＝Y、S或D,Xaa6＝Y、S或D,Xaa7＝Y或任何酸性残基(D/E),Xaa8＝S、R或I,Xaa9＝S或R,Xaa10＝V或G,Xaa11＝Y、S或D,Xaa12＝R或L,Xaa13＝N或T,Xaa14＝Y、S或D,Xaa15＝V或G,并且Xaa16＝M或I。

[0428] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:517、518和519的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0429] SEQ ID NO:517:GYT Xaa1 T Xaa2 Y Xaa3,其中Xaa1＝F或L,Xaa2＝S、R或N,并且Xaa3＝S或G，

[0430] SEQ ID NO:518:Xaa1 S Xaa2 Xaa3 Xaa4 G Xaa5 T,其中Xaa1＝I或V,Xaa2＝T、F、V或A,Xaa3＝Y或N,Xaa4＝S或N,并且Xaa5＝N或D,以及，

[0431] SEQ ID NO:519:Xaa1 K Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11 Xaa12 Xaa13 Xaa14 Xaa15 Xaa16 Xaa17 Xaa18 Xaa19 DXaa20,其中Xaa1＝E或A,Xaa2＝Y或D,Xaa3＝F、L或V,Xaa4＝V或G,Xaa5＝Y或D,Xaa6＝Y或D,Xaa7＝Y、S或D,Xaa8＝任何酸性残基(D/E),Xaa9＝S或R,Xaa10＝S、R或N,Xaa11＝V或G,Xaa12＝Y或D,Xaa13＝Y、S或D,Xaa14＝R或G,Xaa15＝R或L,Xaa16＝N或T,Xaa17＝Y或D,Xaa18＝S、C或G,Xaa19＝M、L或I,并且Xaa20＝F、I或V。

[0432] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:520、521和522的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0433] SEQ ID NO:520:Xaa1 Xaa2 T Xaa3 Xaa4 D Y Xaa5,其中Xaa1＝R或G,Xaa2＝F或L,Xaa3＝C、F或V,Xaa4＝N或D,并且Xaa5＝S或A，

[0434] SEQ ID NO:521:I Xaa1 WNSG Xaa2 I,其中Xaa1＝S或T,并且Xaa2＝S、H或R,以及，

[0435] SEQ ID NO:522:Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 F Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11 Xaa12 Xaa13 D Xaa14,其中Xaa15＝E或A,Xaa16＝C或G,Xaa17＝R或L,Xaa18＝P或Q,Xaa19＝Y或D,Xaa20＝任何酸性残基(D/E),Xaa21＝W或G,Xaa22＝S或R,Xaa23＝C或G,Xaa24＝G、L、C或任何芳香族残基(F/Y/W),Xaa25＝H或任何酸性残基(D/E),Xaa26＝W或G,Xaa27＝C、F或V,并且Xaa28＝L或P。

[0436] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:523、524和525的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0437] SEQ ID NO:523:RFTFDDY Xaa1,其中Xaa1＝S或A,

[0438] SEQ ID NO:524:ISWNSGRI,以及,

[0439] SEQ ID NO:525:ARYG Xaa1 P Xaa2 Xaa3 Xaa4 D Xaa5,其中Xaa1＝Y或D,Xaa2＝C、F或V,Xaa3＝Y、S或D,Xaa4＝C、F或L,并且Xaa5＝Y、S或D。

[0440] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:526、527和528的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0441] SEQ ID NO:526:Xaa1 Xaa2 Xaa3 F Xaa4 NY Xaa5,其中Xaa1＝V或G,Xaa2＝Y或S,Xaa3＝Y或S,Xaa4＝S或R,并且Xaa5＝W、C或L,

[0442] SEQ ID NO:527:IDPSNSYT,以及,

[0443] SEQ ID NO:528:A Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11 D Xaa12,其中Xaa1＝S或R,Xaa2＝A或任何酸性残基(D/E),Xaa3＝R、L、I或A,Xaa4＝K、T或A,Xaa5＝A、T或G,Xaa6＝S、C、R或G,Xaa7＝R、H或N,Xaa8＝Y、S或D,Xaa9＝N、K或不存在、Y或T,Xaa10＝C或G,Xaa11＝M或R,并且Xaa12＝F、V或G。

[0444] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:529、530和531的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0445] SEQ ID NO:529:GFTF Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4,其中Xaa1＝S或N,Xaa2＝S或N,Xaa3＝Y或F,并且Xaa4＝S或A,

[0446] SEQ ID NO:530:I Xaa1 Xaa2 S Xaa3 Xaa4 Xaa5 T,其中Xaa1＝S、N或T,Xaa2＝A或G,Xaa3＝S或G,Xaa4＝T或G,并且Xaa5＝S、R、T或G,以及,

[0447] SEQ ID NO:531:A Xaa1 DLGY Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 GY Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11 G Xaa12 Xaa13 V,其中Xaa1＝K或T,Xaa2＝Y或D,Xaa3＝Y或D,Xaa4＝任何酸性残基(D/E),Xaa5＝S、R或I,Xaa6＝S或R,Xaa7＝Y或S,Xaa8＝E、R或G,Xaa9＝H或R,Xaa10＝N、K或T,Xaa11＝Y、S或D,Xaa12＝M或I,并且Xaa13＝N或D。

[0448] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:532、533和534的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0449] SEQ ID NO:532:GFTF Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4,其中Xaa1＝N、S或R,Xaa2＝S或D,Xaa3＝Y或F,并且Xaa4＝S或A,

[0450] SEQ ID NO:533:I Xaa1 Xaa2 S Xaa3 Xaa4 Xaa5 T,其中Xaa1＝S、N或T,Xaa2＝A或G,Xaa3＝S或G,Xaa4＝T或G,并且Xaa5＝S、N、G、R或T,以及,

[0451] SEQ ID NO:534:A Xaa1 RG Xaa2 Y Xaa3 Xaa4 S Xaa5 Xaa6 Xaa7 YR Xaa8 Xaa9 R Xaa10 Xaa11 Xaa12 Xaa13 Xaa14,其中Xaa1＝S或R,Xaa2＝任何酸性残基(D/E),Xaa3＝Y、S或D,Xaa4＝S、T或A,Xaa5＝E、V或G,Xaa6＝S或R,Xaa7＝Y或S,Xaa8＝H或P,Xaa9＝H或R,Xaa10＝Y或D,Xaa11＝C、D或G,Xaa12＝M或L,Xaa13＝N或D,并且Xaa14＝I或V。

[0452] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:535、536和537的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0453] SEQ ID NO:535:G Xaa1 Xaa2 FTRYG,其中Xaa1=Y或S,并且Xaa2=N或T,

[0454] SEQ ID NO:536:ISTYSGNT,以及,

[0455] SEQ ID NO:537:Xaa1 R Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11 Xaa12 Xaa13,其中Xaa1=S或A,Xaa2=A、S或任何酸性残基(D/E),Xaa3=R、L、I或A,Xaa4=S、T或A,Xaa5=S、A、T或G,Xaa6=G、R、V、D或C,Xaa7=Y、H、R或Q,Xaa8=Y、S或D,Xaa9=Y、N或不存在,Xaa10=C、V或G,Xaa11=M或I,Xaa12=任何酸性残基(D/E),并且Xaa13=I或V。

[0456] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:538、539和540的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0457] SEQ ID NO:538:G Xaa1 TFSTYG,其中Xaa1=F或V,

[0458] SEQ ID NO:539:IWDDGSYK,以及,

[0459] SEQ ID NO:540:A Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11 Xaa12 D Xaa13,其中Xaa1=S、R或I,Xaa2=S或A,Xaa3=M或R,Xaa4=Y或S,Xaa5=P或T,Xaa6=M、R、L或I,Xaa7=S、D或A,Xaa8=R或L,Xaa9=R、L或I,Xaa10=W、V或G,Xaa11=W、C、L或G,Xaa12=F、L或V,并且Xaa13=H、P或T。

[0460] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:541、542和543的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0461] SEQ ID NO:541:GFTF Xaa1 Xaa2 Xaa3 A,其中Xaa1=N、S或R,Xaa2=S或D,并且Xaa3=Y或F,

[0462] SEQ ID NO:542:I Xaa1 Xaa2 SG Xaa3 Xaa4 T,其中Xaa1=S、N或T,Xaa2=A或G,Xaa3=T或G,并且Xaa4=S、R、N或G,以及,

[0463] SEQ ID NO:543:ARDS Xaa1 VAS Xaa2 GRG Xaa3 V Xaa4 H Xaa5 Xaa6 GM Xaa7 V,其中Xaa1=H、N或T,Xaa2=T、K或Q,Xaa3=V或G,Xaa4=Y或D,Xaa5=Y、S或D,Xaa6=H或P,并且Xaa7=N或D。

[0464] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:544、545和546的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0465] SEQ ID NO:544:Xaa1 FTF Xaa2 Xaa3 Y Xaa4,其中Xaa1=R或G,Xaa2=N或D,Xaa3=Y或D,并且Xaa4=S或A,

[0466] SEQ ID NO:545:ISWNSG Xaa1 I,其中Xaa1=S或R,以及,

[0467] SEQ ID NO:546:AXaa1 Xaa2 R Xaa3 Xaa4 D Xaa5,其中Xaa1＝R或L,Xaa2＝S、V或G,Xaa3＝T、H、N或Q,Xaa4＝R、L或V,并且Xaa5＝S、K、Y、Q、T或A。

[0468] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:547、548和549的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0469] SEQ ID NO:547:GYTFTNYY,

[0470] SEQ ID NO:548:INPYTGSA,以及,

[0471] SEQ ID NO:549:ARDP Xaa1 G Xaa2 VNH Xaa3 Y Xaa4 Xaa5 DXaa6,其中Xaa1＝C、F、L或V,Xaa2＝V或G,Xaa3＝F或L,Xaa4＝Y、S或D,Xaa5＝M、R、L或I,并且Xaa6＝V或G。

[0472] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:550、551和552的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0473] SEQ ID NO:550:GGSFSGYY,

[0474] SEQ ID NO:551:INHSGST,以及,

[0475] SEQ ID NO:552:Xaa1 Xaa2 P Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 ES Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11 Xaa12 D Xaa13,其中Xaa1＝E或A,Xaa2＝M或R,Xaa3＝Y、S或D,Xaa4＝H、N或T,Xaa5＝S或R,Xaa6＝S或A,Xaa7＝W、C或L,Xaa8＝Y、S或D,Xaa9＝Y、S或D,Xaa10＝Y、S或D,Xaa11＝V或G,Xaa12＝M、R或L,并且Xaa13＝F或V。

[0476] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:553、554和555的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0477] SEQ ID NO:543:GYTFTNYY,

[0478] SEQ ID NO:554:INPYTGSA,以及,

[0479] SEQ ID NO:555:AR Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11,其中Xaa1＝S、F、V或A,Xaa2＝R、L或I,Xaa3＝G或A,Xaa4＝S、T或A,Xaa5＝C、I或G,Xaa6＝R或L,Xaa7＝Y、S或D,Xaa8＝C、D、V或G,Xaa9＝M、R或I,Xaa10＝N或D,并且Xaa11＝I或V。

[0480] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:556、557和558的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0481] SEQ ID NO:556:GFT Xaa1 NSFA,其中Xaa1＝F或V,

[0482] SEQ ID NO:557:ISGSGGGT,以及,

[0483] SEQ ID NO:558:AXaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7,其中Xaa1＝R或L,Xaa2＝S、W或G,Xaa3＝R或L,Xaa4＝T、H、N或Q,Xaa5＝G、R、I、V或L,Xaa6＝任何酸性残基(D/E),并且Xaa7＝S、K或T。

[0484] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体包括对IGSF8具有特异性的单克隆抗体或其抗原结合部分/片段(例如,对IGSF8的ECD的Ig-V组结构域或D1结构域具有特异性),其中所述单克隆抗体包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含分别为SEQ ID NO:559、560和561的HCVR CDR1、CDR2和CDR3。

[0485] SEQ ID NO:559:G Xaa1 TFTRY Xaa2,其中Xaa1=Y或S,并且Xaa2=C或G,

[0486] SEQ ID NO:560:ISTYSGNT,以及,

[0487] SEQ ID NO:561:AXaa1 G Xaa2 Xaa3 P Xaa4 R Xaa5 H Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10,其中Xaa1=R或K,Xaa2=W、V或G,Xaa3=R或L,Xaa4=Y、S或D,Xaa5=W、V或G,Xaa6=Y或D,Xaa7=C、D或G,Xaa8=M或I,Xaa9=N或任何酸性残基(D/E),并且Xaa10=F、I或V。

[0488] 在一些实施方案中,本发明提供了一种对IGSF8具有特异性的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段,其中该单克隆抗体包括:(1)重链可变区(HCVR),其包含HCVR CDR1-CDR3序列,这些序列与抗体C1-C39诸如C30-C39中任何一种的HCVR CDR1-CDR3分别存在至少95%(例如100%)同一性,或者在抗体C1-C39诸如C30-C39中任何一种的HCVR CDR1-CDR3中分别具有多达1、2、3、4、5、6、7、8或9个置换;以及,(2)轻链可变区(LCVR),其包含LCVR CDR1-CDR3序列,这些序列与抗体C1-C39诸如C30-C39中所述任何一种的LCVR CDR1-CDR3分别存在至少95%(例如100%)同一性,或者在抗体C1-C39诸如C30-C39中所述任何一种的LCVR CDR1-CDR3中分别具有多达1、2、3、4、5、6、7、8或9个置换。在某些实施方案中,抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段具有抗体C1-C39中之一,诸如C30-C39中任何一种的HCVR CDR1-CDR3和LCVR CDR1-CDR3。

[0489] 在一些实施方案中,单克隆抗体或其抗原结合片段包括:(a)HCVR序列,其与抗体C1-C39,诸如C30-C39中任何一种的HCVR序列存在至少95%(例如100%)同一性;和/或,(b)LCVR序列,其与抗体C1-C39,诸如C30-C39中任何一种的LCVR序列存在至少95%(例如100%)同一性。在某些实施方案中,抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段具有抗体C1-C39中之一,诸如C30-C39中任何一种的HCVR和LCVR。

[0490] 在一些实施方案中,本发明提供了一种对IGSF8具有特异性的抗IGSF8单克隆抗体或其抗原结合片段,其中该单克隆抗体包括:(1)重链可变区(HCVR),其包含HCVR CDR1-CDR3序列,这些序列与抗体C1-C39诸如C30-C39中任何一种的HCVR CDR1-CDR3相比,分别具有多达1、2或3个残基置换;以及,(2)轻链可变区(LCVR),其包含LCVR CDR1-CDR3序列,这些序列与抗体C1-C39诸如C30-C39中所述任何一种的LCVR CDR1-CDR3相比,分别具有多达1、2或3个残基置换。在一些实施方案中,当一个CDR只有5、4或3个残基时,则除了保守性置换外不允许任何其他置换(例如,在不超过5、4或3个残基的CDR中具有多达1或2个保守性置换)。

基于彻底CDR区诱变分析的高亲和力IGSF8抗体

[0491] 为了鉴定对IGSF8结合重要(或不那么重要)的关键残基,选定了两种特异性高亲和力抗体进行进一步的CDR区序列分析,以确定每个CDR区残基以及CDR区周围框架区残基的相对重要性。具体而言,将两种先导抗体中的每个现有残基分别替换为19种其他氨基酸,以生成所有可能的突变体,以评估此类置换的影响,并且将每种置换的结果统一表示在图29-36中。基于这项研究,构建了代表所有可接受的置换(例如,基本上不影响抗原结合的置换)以及优选的置换(例如,与原始序列相比增加抗原结合的置换)的共有序列,并在本文中给出。

[0492] 因此,本公开包括CDR区序列(以及在一些情况下,还有根据IMGT编号方案的周围框架区序列)的氨基酸共有序列,示出了在抗体氨基酸序列中可被修饰性置换的特定氨基酸(使用变量“X”或“Xaa”显示),例如,如表A1和A2中所述。除非明确说明,否则所有抗体和CDR序列均由IMGT编号方案进行注释。

[0493] 将可以出现在抗体的相同VH和/或VL序列中的相关CDR序列一起分组在同一行中。例如,本发明的抗体可包含VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3中的每一个,其中所述VH CDR1-VH CDR3和VL CDR1-VL CDR3分别由SEQ ID NO:714、715、716、717、718和719表示。

[0494] 此外,在每个Xi位置(其中i＝1、2、3、…)的氨基酸可以是如每个共有序列中所指定的选定氨基酸子集。涵盖在每个Xi位置的任何一个或多个列举的特定氨基酸都可以是该Xi位置的容许值。例如,在SEQ ID NO:714中,X2可以是任何残基,诸如A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T或W。在一些实施方案中,X2是A或C、F或G;M、N或Q等。

[0495] 除非明确说明,否则所有抗体和CDR序列均由IMGT编号方案进行注释。

[0496]

表A1：CDR和FR的共有序列–不减弱结合的CDR和相邻FR置换

VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8 (SEQ ID NO: 714) X1 = A、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y X2 = A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T或W X3 = A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、P、Q、R、T、V或Y	X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (SEQ ID NO: 715) X3 = A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、W或Y X4 = A、D、E、F、H、I、K、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y，例如R X5 = C或D X6 = A、D、E、F或G，例如G、E或A，最优选为G	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13 (SEQ ID NO: 716) X1 = A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、W或Y X2 = A、C、D、E、F、H、L、M、N、P、Q、R、V、W或Y X3 = C、D、F、I或Q X4 = E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y	X4-X5-X6-X7-X8-X9 (SEQ ID NO: 717) X4 = A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、S、T、V、W或Y X5 = A、C、D、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V或W X6 = A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y X7 = A、C、D、I、K、S或T，例如D、S或T，最优选为S X8 = A、C、D、E、F、H、I、N、P、S、T、V或W，例如A、D、E、F、H、N、P、T、V或W，最优选为P	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9 (SEQ ID NO: 719) X1 = A、C、D、E、F、G、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y X2 = A、C、D、E、F、G、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y X3 = A、C、D、E、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y X4 = D、E、F、P、Q或Y，例如E、Q或Y X5 = G、K、L、M、N、P、Q、R或S，例如G、R或K

[0497]

X4=A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T或W	X7=D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、T、V、W或Y	I、K、L、M、N、P或Q	X7=C、D、E、F、G、K、L、M、R、S、T、V、W或Y，例如E、G、K、M、T、V或W		X6=C、D、E、F、H、I、L、M、N、P、Q、S、T、V或Y，例如D、E、L、M、N、Q、S、T或V
X5=A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、Q、R、S、V或W	X8=C、F、H、K、P、R、S、T、W或Y，最优选为K	H、I、K、L、M、P、Q、S、T、V、W或Y	X8=C、D、E、F、G、H、I、L、M、P、Q、R、V、W或Y		X7=A、C、D、E、F、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、V、W或Y
X6=C、D、E、F、G、H、I、L、N、P、Q、T、V、W或Y	X9=A、D、E、F、G、I、K、L、M、W或Y	X6=A、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、W或Y	X8=C、D、E、F、P、Q、S、T、V、W或Y，例如D、F、G、L、M、P、Q、S、T、V、W或Y		X8=A、E、F、G、I、K、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y
X7=A、D、E、F、G、I、K、L、M、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X10=A、C、D、F、G、H、I、K、L、P、Q、S、V、W或Y	X7=A、D、E、F、H、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y	X9=A、C、F、G、H、I、Q、S、T、W或Y，例如A、C、G、Q、S、T或W，最优选为W		X9=C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W或Y
X8=E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、W或Y		G、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、W或Y			
		X9=A、E、G、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y			

[0498]

		K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y X10 = A、C、E、F、H、I、K、L、M、N、Q或R X11 = D、F、G、H、M、N、P、R、T或W X12 = C、D、F、K、L、M、P、Q、R或W，例如R或K X13 = G、H、I、K、M、P、Q、R、W或Y			
VH CDR1 + 相邻残基	**VH CDR2 + 相邻残基**	**VH CDR3 + 相邻残基**	**VL CDR1 + 相邻残基**	**VL CDR2 + 相邻残基**	**VL CDR3 + 相邻残基**
X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (SEQ ID NO: 734)	X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11 (SEQ ID NO:	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12 (SEQ ID NO: 738)	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9 (SEQ ID NO: 739)

[0499]

	15-X16-X17-X18 (SEQ ID NO: 735)	(SEQ ID NO: 736)	737)		X1=A、C、D、E、F、G、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y
X1=A、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y	X1=C、D、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X1=A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、W或Y	X1=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y	X1=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y	X1=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y
X2=A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T或W	X2=C、D、F、H、R、S、T、V、W或Y	X2=A、C、D、E、F、H、L、M、N、P、Q、R、V、W或Y	X2=A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X2=A、C、D、E、F、G、I、K、M、N、P、Q、R、S、V、W或Y	X2=A、C、D、E、F、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、V、W或Y
X3=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、W或Y	X3=A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、V、W或Y	X3=C、D、F、I或Q	X3=A、D、E、F、H、K、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y	X3=A、C、E、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X3=A、C、D、E、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、V、W或Y
X4=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y	X4=A、D、E、F、H、I、K、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y	X4=E、F、G、H、I、K、L、M、N、P或Q	X4=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、W或Y	X4=A、C、E、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X4=D、E、F、P、Q或Y、例如E、Q或Y
X5=A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T或W	X5=C或D	X5=A、D、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X5=A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X5=A、D、E、F、G、H、K、N、P、Q、R、T或W	X5=G、K、L、M、N、P、Q、R或S，例如G、R或K
X6=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y	X6=A、D、E、F或G，例如G、E或A，最优选为G	X6=E、F、G、H、I、K、L、M、N、P或Q	X6=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、W或Y	X6=A、C、D、F、G、H、N、R或S，例如A、M、N、P、Q、S、T或V	X6=C、D、E、F、H、I、L、M、N、P、Q、S、T、V或Y，例如D、E、L、M、N、Q、S、T或V
X7=A、C、D、E、F、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X7=C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X7=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X7=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X7=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X7=A、C、D、E、F、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y

[0500]

M、N、Q、R、S、V或W	X7＝D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、W或Y，例如K或R，最优选为K	X6＝A、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y	F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V或W	G、H、N、R或S，最优选为G	R、V、W或Y
X6＝C、D、E、F、G、H、I、L、N、P、Q、T、V、W或Y	N、P、Q、T、W或Y	W或Y	T、V或W	X7＝A、C、D、I、K、S或T，例如D、S或T，最优选为S	X8＝A、E、F、G、I、K、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y
X7＝A、D、E、F、G、I、K、L、M、P、Q、R、S、T、V、W或Y	P、R、S、T、W或Y，例如K或R，最优选为K	X7＝A、D、E、F、H、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y，例如K或Y	X6＝A、C、D、E、F、W或Y	X8＝A、C、D、E、F、或W，例如A、D、E、F、H、I、N、P、S、T、V	X9＝C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W或Y
X8＝E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、W或Y	G、I、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y	X8＝A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y	X7＝C、D、E、F、G、K、L、M、R、S、T、V、W或Y，例如E、G、K、M、T、V或W	F、H、N、P、T、V或W，最优选为P	
X9＝A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、P、Q、S、T、V、W或Y	X10＝A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、S、V、W或Y	X9＝A、E、G、I、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y	X8＝C、D、E、F、G、H、I、L、M、或Y	R、V、W或Y，例如I	
X10＝A、C、D、E、F、G、H、M、N、P、Q、R、S、W或Y	X11＝A、G、I、L、M、P、R、V、W或Y	X10＝A、C、E、F、H、I、K、L、M、N、Q或R	X9＝A、E、G、I、L、M、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X10＝A、D、E、F、G、H、I、K、L、N、P、Q、R、T或Y，例如F	
X11＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、S、T、V或W	M、P、R、V、W或Y	X11＝D、F、G、S、T、V或W	X9＝A、C、F、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y	X11＝C、E、F、H、I、K、L、M、N、P、R、S、T、V或W	

[0501]

X12＝A、E、G、I、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y X13＝E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、T、V、W或Y，例如V X14＝C、D、F、I、K、L、M、P、Q、R、S、T或W X15＝A、D、E、F、H、K、L、M、P、Q、S、V、W或Y X16＝C、F、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如F X17＝A、C、D、F、G、H、K、L、M、	H、M、N、P、R、T或W X12＝C、D、F、K、L、M、P、Q、R或W，例如R或K X13＝G、H、I、K、M、P、Q、R、W或Y X14＝C、D、F、I、K、L、M、P、Q、R、S、T或W X15＝A、D、E、F、H、K、L、M、P、Q、S、V、W或Y X16＝C、F、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如F X17＝A、C、D、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	H、I、Q、S、T、W或Y，例如A、C、G、Q、S、T或W，最优选为W X10＝A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、W或Y X11＝A、C、D、E、F、G、H、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	V、W或Y X12＝C、D、E、F、G、H、L、M、N、Q、T、V、W或Y	

[0502]

	S、V、W或Y X18=E、F、G、H、 I、K、L、M、N、 P、Q、S、T、W或 Y				
VH CDR1	**VH CDR2**	**VH CDR3**	**VL CDR1**	**VL CDR2**	**VL CDR3**
X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8 (SEQ ID NO: 720)	X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9 (SEQ ID NO: 721)	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15 (SEQ ID NO: 722)	X4-X5-X6-X7-X8-X9 (SEQ ID NO: 723)	X6-X7-X8 (SEQ ID NO: 724)	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9 (SEQ ID NO: 725)
X1=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如R	X2=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X1=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X4=A、C、D、E、F、G、I、K、M、N、R、S、T、V、W或Y，例如E	X6=C、H、I、L、M、N、P、Q、W或Y，例如H或Q	X1=C、D、F、G、I、K、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y
X2=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如R	X3=A、C、E、F、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、S、V或Y	L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X5=C、D、E、H、K、L、M、Q、T、W或Y，例如D	P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如S、T或V，更优选为S或T	X3=C、E、G、K、M、P、S、V或W，例如P
X4=C、D、E、F、S、T、V或W，例如R	X4=C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、S、T、V或W	X2=F、G、H、I或T	X6=A、C、D、E、F、G、H、K、M、P、Q、R、S、T、V或W	X8=C、D、E、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、V或W	X4=C、H、L、M、P、Q、R、V或W

[0503]

G	G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S或V	X3＝A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如D	N、P、Q、R、T、V、W或Y	R、S、W或Y	X5＝C、D、E、F、L、M、P、V或W，例如F
X3＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y			X7＝C、E、G、I、L、M、P、Q、V、W或Y		X6＝A、C、E、G、H、K、M、N、P、Q、R、V或W，例如A、N、P、R或W
F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X5＝A、C、F、H、K、L、M、P、Q、R、S、T、V或W，例如M	X6＝A、C、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、V或W，例如F	X8＝C、M、P、Q、T或W，例如P		X7＝A、C、D、E、G、H、I、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
X4＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如K	X6＝F、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X7＝A、C、D、E、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y	X9＝A、C、E、F、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y		X8＝A、C、D、E、G、K、M、N、P、Q、R、S或W，例如D、P、S或W
X5＝I、K、L、M、P、Q、V、W或Y，例如K	X7＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X8＝A、C、D、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如D	X9＝C、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、T、V、W或Y		

[0504]

例如F、N或S，更优选为F X8＝A、C、D、E、F、H、K、L、M、N、P、Q、R、T或V	N、R、S或T，更优选为G或S X9＝C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y	S、T、V或W X9＝A、C、D、E、F、H、I、K、L、N、Q、R、S、V、W或Y X10＝A、C、D、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、V、W或Y X11＝A、C、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y X12＝F、H、I、K、N、P、Q、R、V、W或Y，例如F或Y X13＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、N、P、Q、		

[0505]

		R、S、T、V、W或Y X14 = D、F、G、H、P、Q或T，例如T X15 = D、E、F、G、I、K、L、N、P、Q、R、S或T			
VH CDR1 + 相邻残基	**VH CDR2 + 相邻残基**	**VH CDR3 + 相邻残基**	**VL CDR1 + 相邻残基**	**VL CDR2 + 相邻残基**	**VL CDR3 + 相邻残基**
X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (SEQ ID NO: 740) X1 = A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如R	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17 (SEQ ID NO: 741) X1 = A、C、D、E、F、H、K、L、N、P、Q、R、S或Y，例如P	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15 (SEQ ID NO: 742) X1 = A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11 (SEQ ID NO: 743) X1 = A、C、D、E、F、G、H、I、L、M、N、P、R、S、T、V、W或Y	X1-X2-X3-X4-L-X6-X7-X8-I-X10-X11-X12 (SEQ ID NO: 744) X1 = A、C、D、E、F、G、H、K、L、N、P、R、S、W或Y，例如K，更优选为K X2 = A、C、D、E、G、N或R	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9 (SEQ ID NO: 745) X1 = C、D、F、G、I、K、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y X2 = A、C、D、F、G、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W

[0506]

X2=A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W，例如G	例如A	R、S、T、V、W或Y	X2=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、V、W或Y	H、K、M、N、Q、T或W	X3=C、E、G、K、M、P、S、V或W，例如P
X3=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X2=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X2=F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	L、M、N、Q、R、S、V、W或Y	X3=A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X4=C、H、L、M、P、Q、R、V或W
X4=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X3=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X3=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X4=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、V、W或Y	P、Q、R、S、T、W或Y	X5=C、D、E、F、L、M、P、V或W，例如F
X5=I、K、L、M、P、Q、V、W或Y，例如K	X4=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X4=D、E、F、H、V或Y	X4=A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、V、W或Y	X5=C、D、E、H、如H或Q	X6=A、C、E、G、H、K、M、N、P、Q、R、S、V或W，例如A、N、P、R或W
X6=F、G、H、I、K、L、M、P、Q、T、V、W或Y	X5=A、C、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X5=A、H、I、L、M、N、Q或V	X5=C、D、E、H、K、L、M、Q、T、W或Y，例如E	X6=C、H、I、L、M、N、P、Q、W或Y，例如V	X7=A、C、D、E、G、H、I、K、M、T、V、W或Y
X7=I、K、L、M、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X6=A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如D	X6=A、C、D、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y	X6=A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X7=C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X8=A、C、D、E、G、K、M、N、P、Q、R、S、W，例如D、P、S或W
X8=F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X7=A、C、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X7=A、C、E、F、H、K、M、N、P、V或Y	X7=A、C、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X8=C、D、E、G、H、更优选为S或T	X9=C、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、T、V、W或Y

[0507]

X7＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如F、N或S，更优选为F	M、P、Q、R、V或W，例如F	Q、S、T、W或Y	X7＝C、E、G、I、L、M、P、Q、V、W或Y	I、K、L、M、P、Q、R、S、W或Y
X8＝A、C、D、E、F、H、K、L、N、P、Q、R、S、T、V	X7＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W	X8＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、N、Q、R、S、V、W或Y	X8＝C、M、P、Q、T或W，例如P	X10＝A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W
X9＝A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y	X9＝A、C、D、E、K、N、R、S、T、V、W或Y，例如G、S、T、V或W	X9＝A、C、E、F、G、I、K、L、M、P、Q、R、S、T、V或Y	X11＝C、E、G、I、L、M、P、Q、R、S、T、W或Y，例如R
X10＝A、C、D、E、F、I、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y	X8＝A、C、F、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V	X10＝A、C、D、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如G	G、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V或Y，例如Y	X12＝A、E、F、G、H、I、K、L、M、P、Q、V、W或Y，例如A、I、L或P
			X10＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	
			X11＝C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	
			X12＝F、H、I、K、L、M、P、Q、R、V、W或Y，例如A、I、L或P	

[0508]

	例如K X11＝A、C、D、 E、F、G、H、I、 K、L、M、N、P、 Q、R、T、V、W 或Y X12＝A、C、D、 E、F、H、I、K、 L、M、N、P、Q、 R、S、T、V、W 或Y X13＝A、C、D、 E、F、G、H、I、 K、L、M、N、R、 S、T、V、W或Y X14＝A、C、D、F、 G、H、I、L、M、 N、P、Q、R、S、 T、V、W或Y，例	W或Y，例如F或Y X13＝A、C、D、 E、F、G、H、I、 K、L、N、P、Q、 R、S、T、V、W 或Y X14＝D、F、G、 H、P、Q或T，例 如T X15＝D、E、F、G、 I、K、L、N、P、 Q、R、S或T		

[0509]

如N X15＝A、C、D、 E、G、H、I、K、 L、M、N、P、Q、 R、S、T、V、W 或Y X16＝A、C、D、F、 G、H、I、K、L、 M、N、P、S、T、 V、W或Y X17＝A、C、E、F、 G、H、I、K、L、 M、N、P、Q、R、 S、T、V、W或Y				

在某些实施方案中，在表A1的任何Xi残基定义中，与位于相同位置的原始残基相比，“例如”之后的残基结合更强。表A2中提供了具有这种更强结合的抗体共有序列。

[0510]

表A2：CDR和FR的共有序列–增强结合的CDR和FR置换

VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8 (SEQ ID NO: 754)	X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (SEQ ID NO: 755)	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13 (SEQ ID NO: 756)	X4-X5-X6-X7-X8-X9 (SEQ ID NO: 757)	X6-X7-X8 (SEQ ID NO: 758)	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9 (SEQ ID NO: 759)
X1 = A、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y	X3 = A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、W或Y	X1 = A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、W或Y	X4 = A、C、D、E、F、G、I、K、L、M、N、Q、S、T、V、W或Y	X6 = A、G、H、N、R或S，最优选为G	X1 = A、C、D、E、F、G、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y
X2 = A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T或W	X4 = R	G、H、I、K、L、M、N、Q、R、W或Y	X5 = A、C、D、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V或W	X7 = D、S或T，最优选为S	X2 = A、C、D、E、F、G、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y
X3 = A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y	X5 = C或D	X2 = A、C、D、E、F、H、L、M、N、P、Q、R、V、W或Y	X6 = A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、P、Q、R、V、W或Y	X8 = A、D、E、F、H、N、P、T、V或W，最优选为P	X3 = A、C、D、E、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y
X4 = A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y	X6 = G、E或A，最优选为G	X3 = C、D、F、I或Q	X7 = E、G、K、M、T、V或W		X4 = E、Q或Y
	X7 = D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、T、W或Y	X4 = E、F、G、H、I、K、L、M、N、P或Q	X8 = D、F、G、L、M、P、Q、S、T、V、W或Y		X5 = G、R或K
	X8 = K或R，最优选为K	X5 = A、D、E、F、H、I、K、L、M、P、Q、S、T、V、W或Y			X6 = D、E、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
	X9 = A、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y				

[0511]

P、Q、R、T或W X5＝A、C、D、E、 G、H、I、K、L、M、 N、Q、R、S、V或W X6＝C、D、E、F、 G、H、I、L、N、P、 Q、T、V、W或Y X7＝A、D、E、F、 G、I、K、L、M、P、 Q、R、S、T、V、W 或Y X8＝E、F、G、H、I、 K、L、M、N、P、Q、 R、T、W或Y	I、K、L、M、P、Q、 R、T、V、W或Y X10＝A、C、D、F、 G、H、I、K、L、P、 Q、S、V、W或Y	X6＝A、E、F、G、H、 I、K、L、M、N、P、 Q、R、T、W或Y X7＝Y X8＝A、C、D、F、 G、H、I、K、L、M、 N、P、Q、S、T、W 或Y X9＝A、E、G、I、K、 L、M、P、Q、R、T、 V、W或Y X10＝A、C、E、F、 H、I、K、L、M、N、 Q或R X11＝D、F、G、H、 M、N、P、R、T或W X12＝R或K X13＝G、H、I、K、 M、P、Q、R、W或Y	X9＝A、C、G、Q、 S、T或W，最优选为 W	N、Q、S、T或V X7＝A、C、D、E、F、 G、I、K、L、M、N、 P、Q、R、V、W或Y X8＝A、E、F、G、I、 K、M、N、P、Q、R、 T、V、W或Y X9＝C、D、E、F、G、 H、I、K、L、M、N、 Q、R、T、V、W或Y

[0512]

VH CDR1 + 相邻残基	VH CDR2 + 相邻残基	VH CDR3 + 相邻残基	VL CDR1 + 相邻残基	VL CDR2 + 相邻残基	VL CDR3 + 相邻残基
X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (SEQ ID NO: 774)	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18 (SEQ ID NO: 775)	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13 (SEQ ID NO: 776)	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11 (SEQ ID NO: 777)	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12 (SEQ ID NO: 778)	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9 (SEQ ID NO: 779)
X1 = A、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y	X1 = A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、T或W	X1 = A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、W或Y	X1 = A、C、D、E、F、G、I、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y	X1 = K或R	X1 = A、C、D、E、F、G、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y
X2 = A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、W或Y	X2 = C、D、F、H、I、K、M、N、P、Q、R、V、W或Y	X2 = A、C、D、E、F、H、L、M、N、P、Q、R、V、W或Y	X2 = A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y	X2 = A、C、D、E、F、G、I、K、M、V、W或Y	X2 = A、C、D、E、F、G、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y
X3 = A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y	X3 = C、D、F、H、I、K、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X3 = C、D、F、I或Q	X3 = A、D、E、F、H、K、L、M、N、P、Q、W或Y	X3 = A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、N、S、T、V、W或Y	X3 = A、C、D、E、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y
X4 = A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y	X4 = R	X4 = E、F、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、W或Y	X4 = A、C、D、E、F、H、S、T、V、W或Y	X4 = A、C、E、H、W或Y	X4 = E、Q或Y
X4 = A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、Y	X5 = C或D	X5 = A、D、E、F、H、I、K、L、M、P、Q、S、T、V、W或Y	G、I、K、L、M、N、Q、S、T、V、W或Y	K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、Q	X5 = G、R或K
					X6 = D、E、L、M、Q

[0513]

P、Q、R、T或W	X6＝G、E或A，最优选为G	X6＝A、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、W或Y	X5＝A、C、D、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V或W	N、Q、S、T或V
X5＝A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、V或W	X7＝D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、T、W或Y	X7＝Y	X6＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、P、Q、R、V、W或Y	X7＝A、C、D、E、G、I、K、L、M、N、P、R、S、T、V、W或Y
X6＝C、D、E、F、G、H、I、L、N、P、Q、T、V、W或Y	X8＝K或R，最优选为K	X8＝A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、W或Y	X7＝E、G、K、M、T、V或W	X8＝A、E、F、G、I、K、Q、R、V、W或Y
X7＝A、D、E、F、G、I、K、L、M、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X9＝A、D、E、F、G、I、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y	X9＝A、E、G、I、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y	X8＝D、F、G、L、M、P、Q、S、T、V、W或Y	X9＝C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W或Y
X8＝E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、V、W或Y	X10＝A、C、D、F、G、H、I、K、L、P、Q、S、V、W或Y	X10＝A、C、E、F、H、I、K、L、M、N、Q或R	X9＝A、C、G、Q、S、T或W，最优选为W	X9＝I或Y
R、T、W或Y	X11＝A、G、I、L、M、P、R、V、W或Y	X11＝D、F、G、H、M、N、P、R、T或W	X10＝A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、R、S、T、V、W或Y	X10＝F
X9＝A、C、D、E、F、G、H、M、N、P、Q、R、S、W或Y	X12＝A、E、G、I、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y	X12＝R或K	X11＝A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X11＝C、E、F、H、I、M、N、P、R、S、T、V、W或Y
X10＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、M	X13＝V	X13＝G、H、I、K、M、P、Q、R、W或Y	X12＝C、D、E、F、G、H、L、M、N、Q、T、V、W或Y	

[0514]

S、T、V或W	X14=C、D、F、I、K、L、M、P、Q、R、S、T或W X15=A、D、E、F、H、K、L、M、P、Q、S、V、W或Y X16=F X17=A、C、D、F、G、H、K、L、M、S、V、W或Y X18=E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、W或Y		F、G、H、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y		
VH CDR1	**VH CDR2**	**VH CDR3**	**VL CDR1**	**VL CDR2**	**VL CDR3**
X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8 (SEQ ID NO: 760) X1=R	X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9 (SEQ ID NO: 761) X2=A、C、D、E、	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15 (SEQ ID NO: 762)	X4-X5-X6-X7-X8-X9 (SEQ ID NO: 763) X4=E X5=D	X6-X7-X8 (SEQ ID NO: 764) X6=H或Q X7=S、T或V，更	X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9 (SEQ ID NO: 765) X1=C、D、F、G、I、

[0515]

X2＝G X3＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X1＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X6＝A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y X7＝C、E、G、I、L、M、N、P、Q、V、W或Y X8＝P X9＝Y	优选为S或T X8＝C、D、E、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、S、W或Y	K、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y X2＝A、C、D、F、G、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W X3＝P X4＝C、H、L、M、P、Q、R、V或W X5＝F X6＝A、N、P、R或W X7＝A、C、D、E、G、H、I、K、M、N、P、R、S、T、V、W或Y X8＝D、P、S或W X9＝C、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、T、V、W或Y
X2＝G X3＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y X4＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y X5＝K X6＝F、G、H、I、K、L、M、P、Q、T、V、W或Y X7＝F、N或S，更优选为F X8＝A、C、D、E、F、H、K、L、M、N、P、Q、R、T或V	G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y Q、R、S、V或Y X4＝C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V X5＝M X6＝F X7＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y X9＝C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X1＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y X2＝F、G、H、I或T X3＝A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y X4＝D X5＝A、H、I、L、M、N、Q或Y X6＝A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y X7＝A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y X8＝A、C、E、F、H、K、M、N、P、Q、S、T、W或Y X8＝A、C、D、E、F、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X6＝A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y X7＝C、E、G、I、L、M、N、P、Q、V、W或Y X8＝P X9＝Y		

[0516]

	Q、S、T、V、W或Y	G、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、V或W X9＝A、C、D、E、F、H、I、K、L、N、Q、R、S、V、W或Y X10＝A、C、D、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、V、W或Y X11＝A、C、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y X12＝F或Y X13＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y			

[0517]

		X14 = T X15 = D、E、F、G、I、K、L、N、P、Q、R、S或T			
VH CDR1 + 相邻残基	**VH CDR2 + 相邻残基**	**VH CDR3 + 相邻残基**	**VL CDR1 + 相邻残基**	**VL CDR2 + 相邻残基**	**VL CDR3 + 相邻残基**
X1-X2-X3-X4-X5-X6 -X7-X8-X9-X10 (SEQ ID NO: 780) X1 = R X2 = G X3 = A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y X4 = A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X1-X2-X3-X4-X5-X6 -X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17 (SEQ ID NO: 781) X1 = A X2 = A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、W或Y X3 = A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X1-X2-X3-X4-X5-X6 -X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15 (SEQ ID NO: 782) X1 = A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W X2 = F、G、H、I或T X3 = A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W	X1-X2-X3-X4-X5-X6 -X7-X8-X9-X10-X11 (SEQ ID NO: 783) X1 = A、C、D、E、F、G、H、I、L、M、N、P、R、S、T、V、W或Y X2 = A、C、D、E、G、H、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W X3 = A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W	X1-X2-X3-X4-L-X6-X7-X8-I-X10-X11-X12 (SEQ ID NO: 784) X1 = K、N或R，更优选为K X2 = A、C、D、E、G、H、K、M、N、Q、T或W X3 = A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W	X1-X2-X3-X4-X5-X6 -X7-X8-X9 (SEQ ID NO: 785) X1 = C、D、F、G、I、K、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y X2 = A、C、D、F、G、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W X3 = P X4 = C、H、L、M、P、Q、R、V或W

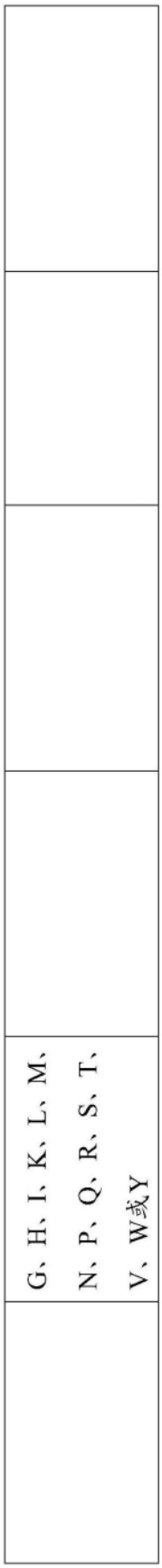
[0518]

V、W或Y	Q、R、S、V或Y	V、W或Y	G、H、I、K、L、M、N、Q、S、T、V、W或Y	S、T、W或Y	X5＝F
X5＝K	X4＝C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X4＝D		X4＝V	X6＝A、N、P、R或W
X6＝F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S或V	H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X5＝A、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y		X6＝H或Q	
L、M、P、Q、T、V、W或Y	Q、R、S或V	N、Q或Y	X4＝E	X7＝S、T或V，更优选为S或T	X7＝A、C、D、E、G、H、I、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
X7＝F、N或S，更优选为F	X5＝M	X6＝A、C、D、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y	X5＝D	X8＝C、D、E、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	
X8＝A、C、D、E、F、H、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y	X6＝F	G、H、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X6＝A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	P、Q、R、S、W或Y	
X9＝A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X7＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W	X7＝A、C、E、F、H、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、W或Y	X7＝C、E、G、I、L、M、P、Q、V、W或Y	X10＝A、C、D、E、G、H、I、K、S或T，更优选为G或S	X8＝D、P、S或W
X10＝A、C、D、E、F、I、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y	X8＝A、C、D、E、F、G、K、N、R、S或T，更优选为G或S	X8＝P	X8＝P	X9＝Y	X9＝C、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、T、V、W或Y
	X9＝C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X9＝Y	X9＝Y	X10＝A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	
	X10＝K	X10＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X10＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y	X11＝R	
	X11＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y	X11＝G	X11＝G	X12＝A、I、L或P	

[0519]

	V、W或Y X12＝A、C、D、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y X13＝A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、R、S、T、V、W或Y X14＝N X15＝A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y X16＝A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、S、T、V、W或Y X17＝A、C、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y			

[0520]



[0521] 因此,在某些实施方案中,抗IGSF8抗体或其抗原结合片段包含VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,它们分别包含SEQ ID NO:714、715、716、717、718和

719的氨基酸序列、基本上由或由SEQ ID NO:714、715、716、717、718和719的氨基酸序列组成。

[0522] 在某些实施方案中，抗IGSF8抗体或其抗原结合片段包含VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3，它们分别包含SEQ ID NO:720、721、722、723、724和725的氨基酸序列、基本上由或由SEQ ID NO:720、721、722、723、724和725的氨基酸序列组成。

[0523] 在某些实施方案中，抗IGSF8抗体或其抗原结合片段包含VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3，它们分别包含SEQ ID NO:754、755、756、757、758和759的氨基酸序列、基本上由或由SEQ ID NO:754、755、756、757、758和759的氨基酸序列组成。

[0524] 在某些实施方案中，抗IGSF8抗体或其抗原结合片段包含VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3，它们分别包含SEQ ID NO:760、761、762、763、764和765的氨基酸序列、基本上由或由SEQ ID NO:760、761、762、763、764和765的氨基酸序列组成。

[0525] 在某些实施方案中，抗IGSF8抗体或其抗原结合片段包含VH，该VH包含、基本上由或由分别为SEQ ID NO:734、735和736的氨基酸序列组成；和VL，该VL包含、基本上由或由分别为SEQ ID NO:737、738和739的氨基酸序列组成。

[0526] 在某些实施方案中，抗IGSF8抗体或其抗原结合片段包含VH，该VH包含、基本上由或由分别为SEQ ID NO:740、741和742的氨基酸序列组成；和VL，该VL包含、基本上由或由分别为SEQ ID NO:743、744和745的氨基酸序列组成。

[0527] 在某些实施方案中，抗IGSF8抗体或其抗原结合片段包含VH，该VH包含、基本上由或由分别为SEQ ID NO:774、775和776的氨基酸序列组成；和VL，该VL包含、基本上由或由分别为SEQ ID NO:777、778和779的氨基酸序列组成。

[0528] 在某些实施方案中，抗IGSF8抗体或其抗原结合片段包含VH，该VH包含、基本上由或由分别为SEQ ID NO:780、781和782的氨基酸序列组成；和VL，该VL包含、基本上由或由分别为SEQ ID NO:783、784和785的氨基酸序列组成。

[0529] 例如，在一些实施方案中，抗IGSF8抗体或其抗原结合片段包括：

[0530] (i)VH CDR1，其包含、基本上由或由氨基酸序列X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8(SEQ ID NO:714)组成，其中

[0531] X1是A、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y，

[0532] X2是A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T或W，

[0533] X3是A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y，

[0534] X4是A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T或W，

[0535] X5是A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、V或W，

[0536] X6是C、D、E、F、G、H、I、L、N、P、Q、T、V、W或Y，

[0537] X7是A、D、E、F、G、I、K、L、M、P、Q、R、S、T、V、W或Y，并且

[0538] X8是E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、W或Y；

[0539] (ii)VH CDR2，其包含、基本上由或由氨基酸序列X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10(SEQ ID NO:715)组成，其中

[0540] X3是A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、W或Y，

[0541] X4是A、D、E、F、H、I、K、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y，例如R，

[0542] X5是C或D，

[0543] X6是A、D、E、F或G，例如G、E或A，最优选为G，

[0544] X7是D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、T、W或Y，

[0545] X8是C、F、H、K、P、R、S、T、W或Y，例如K或R，最优选为K，

[0546] X9是A、D、E、F、G、I、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y，并且

[0547] X10是A、C、D、F、G、H、I、K、L、P、Q、S、V、W或Y；

[0548] (iii)VH CDR3，其包含、基本上由或由氨基酸序列X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13(SEQ ID NO:716)组成，其中

[0549] X1是A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、W或Y，

[0550] X2是A、C、D、E、F、H、L、M、N、P、Q、R、V、W或Y，

[0551] X3是C、D、F、I或Q，

[0552] X4是E、F、G、H、I、K、L、M、N、P或Q，

[0553] X5是A、D、E、F、H、I、K、L、M、P、Q、S、T、V、W或Y，

[0554] X6是A、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、W或Y，

[0555] X7是A、D、E、F、H、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y，例如Y，

[0556] X8是A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、W或Y，

[0557] X9是A、E、G、I、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y，

[0558] X10是A、C、E、F、H、I、K、L、M、N、Q或R，

[0559] X11是D、F、G、H、M、N、P、R、T或W，

[0560] X12是C、D、F、K、L、M、P、Q、R或W，例如R或K，并且

[0561] X13是G、H、I、K、M、P、Q、R、W或Y；

[0562] (iv)VL CDR1，其包含、基本上由或由氨基酸序列X4-X5-X6-X7-X8-X9(SEQ ID NO:717)组成，其中

[0563] X4是A、C、D、E、F、G、I、K、L、M、N、Q、S、T、V、W或Y，

[0564] X5是A、C、D、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V或W，X6是A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、P、Q、R、V、W或Y，

[0565] X7是C、D、E、F、G、K、L、M、R、S、T、V、W或Y，例如E、G、K、M、T、V或W，

[0566] X8是C、D、E、F、G、H、I、L、M、P、Q、S、T、V、W或Y，例如D、F、G、L、M、P、Q、S、T、V、W或Y，并且

[0567] X9是A、C、F、G、H、I、Q、S、T、W或Y，例如A、C、G、Q、S、T或W，最优选为W；

[0568] (v)VL CDR2，其包含、基本上由或由氨基酸序列X6-X7-X8(SEQ ID NO:718)组成，其中

[0569] X6是A、C、D、F、G、H、N、R或S，例如A、G、H、N、R或S，最优选为G，

[0570] X7是A、C、D、I、K、S或T，例如D、S或T，最优选为S，并且

[0571] X8是A、C、D、E、F、H、I、N、P、S、T、V或W，例如A、D、E、F、H、N、P、T、V或W，最优选为P

[0572] (vi)VL CDR3，其包含、基本上由或由氨基酸序列X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9(SEQ ID NO:719)组成，其中

[0573] X1是A、C、D、E、F、G、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y，

[0574] X2是A、C、D、E、F、G、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y，

[0575] X3是A、C、D、E、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y，

[0576] X4是D、E、F、P、Q或Y,例如E、Q或Y,

[0577] X5是G、K、L、M、N、P、Q、R或S,例如G、R或K,

[0578] X6是C、D、E、F、H、I、L、M、N、P、Q、S、T、V或Y,例如D、E、L、M、N、Q、S、T或V,

[0579] X7是A、C、D、E、F、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、V、W或Y,X8是A、E、F、G、I、K、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y,并且

[0580] X9是C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W或Y。

[0581] 再举一个示例,在一些实施方案中,抗IGSF8抗体或其抗原结合片段包括:

[0582] (i)VH CDR1,其包含、基本上由或由氨基酸序列X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8(SEQ ID NO:720)组成,其中

[0583] X1是A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y,例如R,

[0584] X2是A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W,例如G,

[0585] X3是A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y,

[0586] X4是A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y,

[0587] X5是I、K、L、M、P、Q、V、W或Y,例如K,

[0588] X6是F、G、H、I、K、L、M、P、Q、T、V、W或Y,

[0589] X7是A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y,例如F、S或N,更优选为F,并且

[0590] X8是A、C、D、E、F、H、K、L、M、N、P、Q、R、T或V;

[0591] (ii)VH CDR2,其包含、基本上由或由氨基酸序列X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9(SEQ ID NO:721)组成,其中

[0592] X2是A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y,

[0593] X3是A、C、E、F、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、S、V或Y,

[0594] X4是C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S或V,

[0595] X5是A、C、F、H、K、L、M、P、Q、R、S、T、V或W,例如M,

[0596] X6是A、C、E、F、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、V或W,例如F,

[0597] X7是A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y,

[0598] X8是A、C、F、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y,例如G、N、R、S或T,更优选为G或S,并且

[0599] X9是C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y;

[0600] (iii)VH CDR3,其包含、基本上由或由氨基酸序列X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15(SEQ ID NO:722)组成,其中

[0601] X1是A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y,

[0602] X2是F、G、H、I或T,

[0603] X3是A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y,

[0604] X4是D、E、F、H、N、Q、R、S、T、V、W或Y,例如D,

[0605] X5是A、H、I、L、M、N、Q或Y,

[0606] X6是A、C、D、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y,

[0607] X7是A、C、E、F、H、K、M、N、P、Q、S、T、W或Y,

[0608] X8是A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、V或W,

[0609] X9是A、C、D、E、F、H、I、K、L、N、Q、R、S、V、W或Y,

[0610] X10是A、C、D、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、V、W或Y，

[0611] X11是A、C、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y，X12是F、H、I、K、N、P、Q、R、V、W或Y，例如F或Y，

[0612] X13是A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，

[0613] X14是D、F、G、H、P、Q或T，例如T，并且

[0614] X15是D、E、F、G、I、K、L、N、P、Q、R、S或T；

[0615] (iv)VL CDR1，其包含、基本上由或由氨基酸序列X4-X5-X6-X7-X8-X9(SEQ ID NO:723)组成，其中

[0616] X4是A、C、D、E、F、G、I、K、M、N、R、S、T、V、W或Y，例如E，

[0617] X5是C、D、E、H、K、L、M、Q、T、W或Y，例如D，

[0618] X6是A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y，X7是C、E、G、I、L、M、P、Q、V、W或Y，

[0619] X8是C、M、P、Q、T或W，例如P，并且

[0620] X9是A、C、E、F、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V或Y，例如Y；

[0621] (v)VL CDR2，其包含、基本上由或由氨基酸序列X6-X7-X8(SEQ ID NO:724)组成，其中

[0622] X6是C、H、I、L、M、N、P、Q、W或Y，例如H或Q，

[0623] X7是C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如S、T或V，更优选为S或T，并且

[0624] X8是C、D、E、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、S、W或Y；以及

[0625] (vi)VL CDR3，其包含、基本上由或由氨基酸序列X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9(SEQ ID NO:725)组成，其中

[0626] X1是C、D、F、G、I、K、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y，

[0627] X2是A、C、D、F、G、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W，

[0628] X3是C、E、G、K、M、P、S、V或W，

[0629] X4是C、H、L、M、P、Q、R、V或W，例如P，

[0630] X5是C、D、E、F、L、M、P、V或W，例如F，

[0631] X6是A、C、E、G、H、K、M、N、P、Q、R、V或W，例如A、N、P、R或W，

[0632] X7是A、C、D、E、G、H、I、K、M、N、P、R、S、T、V、W或Y，

[0633] X8是A、C、D、E、G、K、M、N、P、Q、R、S或W，例如D、P、S或W，并且

[0634] X9是C、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、T、V、W或Y。

[0635] 在一些实施方案中，本发明的抗IGSF8抗体或其抗原结合片段(例如，具有上述共有CDR序列的那些)包含表D和G中列出的任何一种抗体的至少一个、两个或三个(例如，全部三个)相应的VH CDR。

[0636] 例如，在一个实施方案中，本发明的抗体可以具有与表D中列出的任何一种抗体的VH CDR1序列相同的VH CDR1序列。在一个实施方案中，本发明的抗体可以具有与表D中列出的任何一种抗体的VH CDR2序列相同的VH CDR2序列。在一个实施方案中，本发明的抗体可以具有与表D中列出的任何一种抗体的VH CDR3序列相同的VH CDR3序列。

[0637] 在另一实施方案中，本发明的抗体可以具有与表D中列出的任何一种第一抗体的VH CDR1序列相同的VH CDR1序列；以及与表D中列出的任何一种第二抗体的VH CDR2序列相

同的VH CDR2序列,其中第一抗体和第二抗体相同或不同。在另一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表D中列出的任何一种第一抗体的VH CDR2序列相同的VH CDR1序列;以及与表D中列出的任何一种第二抗体的VH CDR3序列相同的VH CDR3序列,其中第一抗体和第二抗体相同或不同。在另一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表D中列出的任何一种第一抗体的VH CDR2序列相同的VH CDR2序列;以及与表D中列出的任何一种第二抗体的VH CDR3序列相同的VH CDR3序列,其中第一抗体和第二抗体相同或不同。

[0638] 在又一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表D中列出的任何一种第一抗体的VH CDR1序列相同的VH CDR1序列;与表D中列出的任何一种第二抗体的VH CDR2序列相同的VH CDR2序列;以及与表D中列出的任何一种第三抗体的VH CDR3序列相同的VH CDR3序列,其中第一抗体、第二抗体和第三抗体相同或不同(例如,两种来自同一抗体而一种来自另一抗体,或者所有三种来自不同抗体)。

[0639] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体或其抗原结合片段(例如,具有上述共有CDR序列的那些)包含表G中列出的任何一种抗体的至少一个、两个或三个(例如,全部三个)相应的VH CDR。

[0640] 例如,在一个实施方案中,本发明的抗体可以具有与表G中列出的任何一种抗体的VH CDR1序列相同的VH CDR1序列。在一个实施方案中,本发明的抗体可以具有与表G中列出的任何一种抗体的VH CDR2序列相同的VH CDR2序列。在一个实施方案中,本发明的抗体可以具有与表G中列出的任何一种抗体的VH CDR3序列相同的VH CDR3序列。

[0641] 在另一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表G中列出的任何一种第一抗体的VH CDR1序列相同的VH CDR1序列;以及与表G中列出的任何一种第二抗体的VH CDR2序列相同的VH CDR2序列,其中第一抗体和第二抗体相同或不同。在另一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表G中列出的任何一种第一抗体的VH CDR2序列相同的VH CDR1序列;以及与表G中列出的任何一种第二抗体的VH CDR3序列相同的VH CDR3序列,其中第一抗体和第二抗体相同或不同。在另一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表G中列出的任何一种第一抗体的VH CDR2序列相同的VH CDR2序列;以及与表G中列出的任何一种第二抗体的VH CDR3序列相同的VH CDR3序列,其中第一抗体和第二抗体相同或不同。

[0642] 在又一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表G中列出的任何一种第一抗体的VH CDR1序列相同的VH CDR1序列;与表G中列出的任何一种第二抗体的VH CDR2序列相同的VH CDR2序列;以及与表G中列出的任何一种第三抗体的VH CDR3序列相同的VH CDR3序列,其中第一抗体、第二抗体和第三抗体相同或不同(例如,两种来自同一抗体而一种来自另一抗体,或者所有三种来自不同抗体)。

[0643] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体或其抗原结合片段(例如,具有上述共有CDR序列的那些)的VH CDR1、VH CDR2和/或VH CDR3相对于表D中列出的任何一种抗体的相应VH CDR1、VH CDR2和/或VH CDR3的氨基酸序列,各自或共同具有一个、两个、三个、四个、五个或更多个变化,例如氨基酸置换、插入或缺失。

[0644] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体或其抗原结合片段(例如,具有上述共有CDR序列的那些)的VH CDR1、VH CDR2和/或VH CDR3相对于表G中列出的任何一种抗体的相应VH CDR1、VH CDR2和/或VH CDR3的氨基酸序列,各自或共同具有一个、两个、三个、四个、五个或更多个变化,例如氨基酸置换、插入或缺失。

[0645] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体或其抗原结合片段(例如,具有上述共有CDR序列的那些)包含表D中列出的任何一种抗体的至少一个、两个或三个(例如,全部三个)相应的VL CDR。

[0646] 例如,在一个实施方案中,本发明的抗体可以具有与表D中列出的任何一种抗体的VL CDR1序列相同的VL CDR1序列。在一个实施方案中,本发明的抗体可以具有与表D中列出的任何一种抗体的VL CDR2序列相同的VL CDR2序列。在一个实施方案中,本发明的抗体可以具有与表D中列出的任何一种抗体的VL CDR3序列相同的VL CDR3序列。

[0647] 在另一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表D中列出的任何一种第一抗体的VL CDR1序列相同的VL CDR1序列;以及与表D中列出的任何一种第二抗体的VL CDR2序列相同的VL CDR2序列,其中第一抗体和第二抗体相同或不同。在另一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表D中列出的任何一种第一抗体的VL CDR2序列相同的VL CDR1序列;以及与表D中列出的任何一种第二抗体的VL CDR3序列相同的VL CDR3序列,其中第一抗体和第二抗体相同或不同。在另一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表D中列出的任何一种第一抗体的VL CDR2序列相同的VL CDR2序列;以及与表D中列出的任何一种第二抗体的VL CDR3序列相同的VL CDR3序列,其中第一抗体和第二抗体相同或不同。

[0648] 在又一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表D中列出的任何一种第一抗体的VL CDR1序列相同的VL CDR1序列;与表D中列出的任何一种第二抗体的VL CDR2序列相同的VL CDR2序列;以及与表D中列出的任何一种第三抗体的VL CDR3序列相同的VL CDR3序列,其中第一抗体、第二抗体和第三抗体相同或不同(例如,两种来自同一抗体而一种来自另一抗体,或者所有三种来自不同抗体)。

[0649] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体或其抗原结合片段(例如,具有上述共有CDR序列的那些)包含表G中列出的任何一种抗体的至少一个、两个或三个(例如,全部三个)相应的VL CDR。

[0650] 例如,在一个实施方案中,本发明的抗体可以具有与表G中列出的任何一种抗体的VL CDR1序列相同的VL CDR1序列。在一个实施方案中,本发明的抗体可以具有与表G中列出的任何一种抗体的VL CDR2序列相同的VL CDR2序列。在一个实施方案中,本发明的抗体可以具有与表G中列出的任何一种抗体的VL CDR3序列相同的VL CDR3序列。

[0651] 在另一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表G中列出的任何一种第一抗体的VL CDR1序列相同的VL CDR1序列;以及与表G中列出的任何一种第二抗体的VL CDR2序列相同的VL CDR2序列,其中第一抗体和第二抗体相同或不同。在另一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表G中列出的任何一种第一抗体的VL CDR2序列相同的VL CDR1序列;以及与表G中列出的任何一种第二抗体的VL CDR3序列相同的VL CDR3序列,其中第一抗体和第二抗体相同或不同。在另一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表G中列出的任何一种第一抗体的VL CDR2序列相同的VL CDR2序列;以及与表G中列出的任何一种第二抗体的VL CDR3序列相同的VL CDR3序列,其中第一抗体和第二抗体相同或不同。

[0652] 在又一实施方案中,本发明的抗体可以具有与表G中列出的任何一种第一抗体的VL CDR1序列相同的VL CDR1序列;与表G中列出的任何一种第二抗体的VL CDR2序列相同的VL CDR2序列;以及与表G中列出的任何一种第三抗体的VL CDR3序列相同的VL CDR3序列,其中第一抗体、第二抗体和第三抗体相同或不同(例如,两种来自同一抗体而一种来自另一

抗体,或者所有三种来自不同抗体)。

[0653] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体或其抗原结合片段(例如,具有上述共有CDR序列的那些)的VL CDR1、VL CDR2和/或VL CDR3相对于表D中列出的任何一种抗体的相应VL CDR1、VL CDR2和/或VL CDR3的氨基酸序列,各自或共同具有一个、两个、三个、四个、五个或更多个变化,例如氨基酸置换、插入或缺失。

[0654] 在一些实施方案中,本发明的抗IGSF8抗体或其抗原结合片段(例如,具有上述共有CDR序列的那些)的VL CDR1、VL CDR2和/或VL CDR3相对于表G中列出的任何一种抗体的相应VL CDR1、VL CDR2和/或VL CDR3的氨基酸序列,各自或共同具有一个、两个、三个、四个、五个或更多个变化,例如氨基酸置换、插入或缺失。

[0655] 在以下关于由6个CDR区序列定义的特定抗体的任何实施方案中,明确考虑了VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3包含各自列举的SEQ ID NO的氨基酸序列、基本上由、由各自列举的SEQ ID NO的氨基酸序列组成,并且VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3包含各自列举的SEQ ID NO的氨基酸序列、基本上由、由各自列举的SEQ ID NO的氨基酸序列组成。然而,为了方便起见,以下描述仅使用过渡短语“包含/包括”。

[0656] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:611、623和631的氨基酸序列。

[0657] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:612、623和631的氨基酸序列。

[0658] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:611、624和631的氨基酸序列。

[0659] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:611、625和631的氨基酸序列。

[0660] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:613、623和631的氨基酸序列。

[0661] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:614、623和631的氨基酸序列。

[0662] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、

VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:615、623和631的氨基酸序列。

[0663] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:616、623和631的氨基酸序列。

[0664] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:611、626和631的氨基酸序列。

[0665] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:611、627和631的氨基酸序列。

[0666] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:617、623和631的氨基酸序列。

[0667] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:611、628和631的氨基酸序列。

[0668] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:611、629和631的氨基酸序列。

[0669] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:611、630和631的氨基酸序列。

[0670] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:618、623和631的氨基酸序列。

[0671] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:614、625和631的氨基酸序列。

[0672] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:614、629和631的氨基酸序列。

[0673] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:614、625和631的氨基酸序列。

[0674] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:619、629和631的氨基酸序列。

[0675] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:615、625和631的氨基酸序列。

[0676] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:614、625和631的氨基酸序列。

[0677] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:620、625和631的氨基酸序列。

[0678] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:614、625和631的氨基酸序列。

[0679] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:621、635和631的氨基酸序列。

[0680] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:620、625和631的氨基酸序列。

[0681] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:619、625和631的氨基酸序

列。

[0682] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:622、625和631的氨基酸序列。

[0683] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:615、625和631的氨基酸序列。

[0684] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:614、629和631的氨基酸序列。

[0685] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、602和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:614、628和631的氨基酸序列。

[0686] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、603和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:614、624和631的氨基酸序列。

[0687] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、604和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:614、625和631的氨基酸序列。

[0688] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:601、603和605的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:614、625和631的氨基酸序列。

[0689] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:643、644和646的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:652、653和655的氨基酸序列。

[0690] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:643、644和646的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:652、654和655的氨基酸序列。

[0691] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:643、645和646的氨

基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:652、653和655的氨基酸序列。

[0692] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包括VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3,以及VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,该VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别包含SEQ ID NO:643、645和646的氨基酸序列,该VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:652、654和655的氨基酸序列。

[0693] 框架区(FR)

[0694] 根据本公开的抗IGSF抗体或其抗原结合片段可以使用如表D和/或表G中描述的任何框架区(FR)氨基酸序列,或与如表D和/或表G中描述的FR氨基酸序列基本上相同(例如,与其具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%或99%序列同一性)的任何序列来制备。

[0695] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体或其抗原结合片段具有重链可变区(VH),该VH包含表D或表G中列出的任何一种抗体的相应重链框架区的重链框架区1(VH FR1)、重链框架区2(VH FR2)、重链框架区3(VH FR3)和/或重链框架区4(VH FR4),或者包含与如表D或表G中描述的任何一种抗体的相应VH FR氨基酸序列基本上相同(例如,与其具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%或99%序列同一性)的序列的VH FR1、VH FR2、VH FR3和/或VH FR4中的一个、两个、三个或全部(即四个)。

[0696] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包含SEQ ID NO:606、647或648的VH FR1,或者与SEQ ID NO:606、647或648基本上相同(例如,与其具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。

[0697] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包含SEQ ID NO:607、649或650的VH FR2,或者与SEQ ID NO:607、649或650基本上相同(例如,与其具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。

[0698] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包含SEQ ID NO:608或651的VH FR3,或者与SEQ ID NO:608或651基本上相同(例如,与其具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。

[0699] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包含SEQ ID NO:609或610的VH FR4,或者与SEQ ID NO:609或610基本上相同(例如,与其具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。

[0700] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体具有包含VH FR1、VH FR2、VH FR3和/或VH FR4中一个、两个、三个或全部的VH,该VH FR1、VH FR2、VH FR3和/或VH FR4分别包含SEQ ID NO:606、607、608和/或609的氨基酸序列,或者与SEQ ID NO:606、607、608和/或609基本上相同(例如,与其具有至少约80%,85%,90%,92%,95%,97%,98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。

[0701] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体具有包含VH FR1、VH FR2、VH FR3和/或VH FR4中一个、两个、三个或全部的VH,该VH FR1、VH FR2、VH FR3和/或VH FR4分别包含SEQ ID NO:606、607、608和/或609的氨基酸序列,或者与SEQ ID NO:606、607、608和/或610基本上相同(例如,与其具有至少约80%,85%,90%,92%,95%,97%,98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。

[0702] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体具有包含VH FR1、VH FR2、VH FR3和/或VH FR4中一个、两个、三个或全部的VH,该VH FR1、VH FR2、VH FR3和/或VH FR4分别包含SEQ ID NO:647、649、651和/或610的氨基酸序列,或者与SEQ ID NO:647、649、651和/或610基本上相同(例如,与其具有至少约80%,85%,90%,92%,95%,97%,98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。

[0703] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体具有包含VH FR1、VH FR2、VH FR3和/或VH FR4中一个、两个、三个或全部的VH,该VH FR1、VH FR2、VH FR3和/或VH FR4分别包含SEQ ID NO:648、649、651和/或610的氨基酸序列,或者与SEQ ID NO:648、649、651和/或610基本上相同(例如,与其具有至少约80%,85%,90%,92%,95%,97%,98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。

[0704] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体具有包含VH FR1、VH FR2、VH FR3和/或VH FR4中一个、两个、三个或全部的VH,该VH FR1、VH FR2、VH FR3和/或VH FR4分别包含SEQ ID NO:648、650、651和/或610的氨基酸序列,或者与SEQ ID NO:648、650、651和/或610基本上相同(例如,与其具有至少约80%,85%,90%,92%,95%,97%,98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。

[0705] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体或其抗原结合片段具有轻链可变区(VL),该VL包含表D或表G中列出的任何一种抗体的相应轻链框架区的轻链框架区1(VL FR1)、轻链框架区2(VL FR2)、轻链框架区3(VL FR3)和/或轻链框架区4(VL FR4),或者包含与如表D或表G中描述的任何一种抗体的相应VL FR氨基酸序列基本上相同(例如,与其具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%或99%序列同一性)的序列的VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4中的一个、两个、三个或全部(即四个)。

[0706] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包含SEQ ID NO:632、633、656或657的VL FR1,或者与SEQ ID NO:632、633、656或657基本上相同(例如,与其具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。

[0707] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包含SEQ ID NO:634、635、636、637、658或659的VL FR2,或者与SEQ ID NO:634、635、636、637、658或659基本上相同(例如,与其具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。

[0708] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包含SEQ ID NO:638、639、640、660、661、662或663的VL FR3,或者与SEQ ID NO:638、639、640、660、661、662或663基本上相同(例如,与其具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。

[0709] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体包含SEQ ID NO:641、642、664或665的VL FR4,或者与SEQ ID NO:641、642、664或665基本上相同(例如,与其具有至少约80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。

[0710] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体具有包含VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4中一个、两个、三个或全部的VL,该VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4分别包含SEQ ID NO:632、634、638和/或641的氨基酸序列,或者与SEQ ID NO:632、634、638和/或641基本上相同(例如,与其具有至少约80%,85%,90%,92%,95%,97%,98%或99%序列同一性)的氨基酸序列。

[0711] 在一些实施方案中,抗IGSF8抗体具有包含VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4中

一个、两个、三个或全部的VL，该VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4分别包含SEQ ID NO:633、635、639和/或642的氨基酸序列，或者与SEQ ID NO:633、635、639和/或642基本上相同(例如，与其具有至少约80％，85％，90％，92％，95％，97％，98％或99％序列同一性)的氨基酸序列。

[0712] 在一些实施方案中，抗IGSF8抗体具有包含VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4中一个、两个、三个或全部的VL，该VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4分别包含SEQ ID NO:632、635、639和/或642的氨基酸序列，或者与SEQ ID NO:632、635、639和/或642基本上相同(例如，与其具有至少约80％，85％，90％，92％，95％，97％，98％或99％序列同一性)的氨基酸序列。

[0713] 在一些实施方案中，抗IGSF8抗体具有包含VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4中一个、两个、三个或全部的VL，该VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4分别包含SEQ ID NO:632、636、639和/或642的氨基酸序列，或者与SEQ ID NO:632、636、639和/或642基本上相同(例如，与其具有至少约80％，85％，90％，92％，95％，97％，98％或99％序列同一性)的氨基酸序列。

[0714] 在一些实施方案中，抗IGSF8抗体具有包含VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4中一个、两个、三个或全部的VL，该VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4分别包含SEQ ID NO:632、637、640和/或642的氨基酸序列，或者与SEQ ID NO:632、637、639和/或642基本上相同(例如，与其具有至少约80％，85％，90％，92％，95％，97％，98％或99％序列同一性)的氨基酸序列。

[0715] 在一些实施方案中，抗IGSF8抗体具有包含VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4中一个、两个、三个或全部的VL，该VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4分别包含SEQ ID NO:656、658、660和/或664的氨基酸序列，或者与SEQ ID NO:656、658、660和/或664基本上相同(例如，与其具有至少约80％，85％，90％，92％，95％，97％，98％或99％序列同一性)的氨基酸序列。

[0716] 在一些实施方案中，抗IGSF8抗体具有包含VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4中一个、两个、三个或全部的VL，该VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4分别包含SEQ ID NO:657、659、661和/或665的氨基酸序列，或者与SEQ ID NO:657、659、661和/或665基本上相同(例如，与其具有至少约80％，85％，90％，92％，95％，97％，98％或99％序列同一性)的氨基酸序列。

[0717] 在一些实施方案中，抗IGSF8抗体具有包含VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4中一个、两个、三个或全部的VL，该VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4分别包含SEQ ID NO:657、659、662和/或665的氨基酸序列，或者与SEQ ID NO:657、659、662和/或665基本上相同(例如，与其具有至少约80％，85％，90％，92％，95％，97％，98％或99％序列同一性)的氨基酸序列。

[0718] 在一些实施方案中，抗IGSF8抗体具有包含VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4中一个、两个、三个或全部的VL，该VL FR1、VL FR2、VL FR3和/或VL FR4分别包含SEQ ID NO:657、659、663和/或665的氨基酸序列，或者与SEQ ID NO:657、659、663和/或665基本上相同(例如，与其具有至少约80％，85％，90％，92％，95％，97％，98％或99％序列同一性)的氨基酸序列。

[0719] 在一些实施方案中，该单克隆抗体或其抗原结合片段是人-小鼠嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、CDR移植抗体或表面重塑化抗体。

[0720] 在一些实施方案中，其抗原结合片段是Fab、Fab'、$F(ab')_2$、F_d、单链Fv或scFv、二硫键连接型F_v、V-NAR结构域、IgNar、胞内抗体、IgGΔCH_2、微小抗体、$F(ab')_3$、四抗体、三抗体、双抗体、单域抗体、DVD-Ig、Fcab、mAb_2、$(scFv)_2$或scFv-Fc。

[0721] 在一些实施方案中，单克隆抗体或其抗原结合片段与IGSF8结合的K_d小于约25nM、20nM、15nM、10nM、5nM、2nM或1nM。

[0722] 在一些实施方案中，抗体与来自多个物种的IGSF8结合。例如，在一些实施方案中，抗体与人IGSF8结合，并且还与来自至少一种选自小鼠、大鼠、狗、豚鼠和食蟹猴的非人类哺乳动物的IGSF8结合。

[0723] 在一些实施方案中，提供了多特异性抗体。在一些实施方案中，提供了双特异性抗体。非限制性的示例性双特异性抗体包括包含第一臂和第二臂的抗体，该第一臂包含结合第一抗原的重链/轻链组合，并且该第二臂包含结合第二抗原的重链/轻链组合。另一个非限制性的示例性多特异性抗体是双可变结构域抗体。在一些实施方案中，双特异性抗体包含抑制IGSF8结合的第一臂和例如通过结合CD3而刺激T细胞的第二臂。在一些实施方案中，第一臂结合IGSF8。

[0724] 本发明的另一方面提供了一种单克隆抗体或其抗原结合片段，其与上文所述的本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段竞争。

[0725] 在某些实施方案中，抗体或其抗原结合部分/片段特异性结合IGSF8的D1 ECD(或Ig-V组结构域)，优选其K_D不超过5nM、2nM或1nM。

[0726] 在某些实施方案中，抗体或其抗原结合部分/片段抑制IGSF8与KIR3DL1/2的结合。

[0727] 在某些实施方案中，抗体或其抗原结合部分/片段抑制IGSF8与KIR3DL1/2的D2结构域，诸如KIR3DL1/2的包含S165、I171和/或M186的表位的结合。

[0728] 本发明的另一方面提供了一种单克隆抗体或其抗原结合部分/片段，其特异性结合IGSF8的D1 ECD(或Ig-V组结构域)，并抑制与KIR3DL1/2的结合，诸如抑制与KIR3DL1/2的D2结构域(例如，KIR3DL1/2的包含S165、I171和/或M186的表位)的结合。

[0729] 在一些实施方案中，单克隆抗体或其抗原结合部分/片段具有的K_D不超过5nM、2nM或1nM。

[0730] 在一个相关方面中，本发明还提供了编码本发明单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的多核苷酸。请参见下文的单独部分。

[0731] 在一个相关方面中，本发明还提供了在严格条件下与本发明的多核苷酸或其互补物杂交的多核苷酸。

[0732] 在一个相关方面中，本发明还提供了一种包含本发明多核苷酸的载体。请参见下文的单独部分。

[0733] 在一个相关方面中，本发明还提供了一种包含本发明多核苷酸或本发明载体的宿主细胞，用于表达所编码的单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段。请参见下文的单独部分。

[0734] 在一个相关方面中，本发明还提供了一种产生本发明的单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的方法，该方法包括：(i)在适于表达所述单克隆抗体、其重链

或轻链或者其抗原结合部分/片段的条件下,培养能够表达所述单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的本发明的宿主细胞;并且(ii)回收/分离/纯化所表达的单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段。

[0735] 在一个相关方面中,本发明还提供了一种装置或试剂盒,其包含至少一种本发明的抗体、单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段,所述装置或试剂盒任选地包含用于检测所述至少一种抗体、单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段的标记物,或者提供了一种复合物,其包含所述至少一种抗体、单克隆抗体、其重链或轻链或者其抗原结合部分/片段。

[0736] 根据本公开的抗IGSF8抗体可以使用本文提供的任何抗体序列(例如,可变结构域氨基酸序列、可变结构域氨基酸序列对、CDR氨基酸序列、可变结构域CDR氨基酸序列组、可变结构域CDR氨基酸序列组对和/或框架区氨基酸序列)来制备,可以将任何抗体制备成例如单克隆抗体、多特异性抗体、嵌合抗体、抗体模拟物、scFv或抗体片段。

[0737] KIR3DL1/2抗体

[0738] 本发明的一个方面提供了对KIR3DL1/2具有特异性的单克隆抗体。在某些实施方案中,单克隆抗体对KIR3DL1/2的胞外结构域(ECD)具有特异性。在某些实施方案中,单克隆抗体对负责IGSF8结合的KIR3DL1/2的第二Ig样胞外结构域(D2结构域)具有特异性。在一些实施方案中,提供了阻断与IGSF8结合的抗体。在某些实施方案中,抗KIR3DL1/2单克隆抗体抑制IGSF8与KIR3DL2和/或KIR3DL1的结合,诸如抑制IGSF8与KIR3DL1/2的残基S165、I171和/或M186的结合。

[0739] 在某些实施方案中,单克隆抗体对人KIR3DL1/2具有特异性。在一些实施方案中,抗KIR3DL1/2抗体通过KIR3DL1/2抑制IGSF8介导的信号传导。在某些实施方案中,单克隆抗体与任何一种抗KIR3DL1/2抗体竞争结合IGSF8。

[0740] 在某些实施方案中,抗KIR3DL1/2抗体是人-小鼠嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、CDR移植抗体或表面重塑化抗体。

[0741] 在某些实施方案中,其抗原结合片段是Fab、Fab'、$F(ab')_2$、F_d、单链Fv或scFv、二硫键连接型F_v、V-NAR结构域、IgNar、胞内抗体、IgGΔCH_2、微小抗体、$F(ab')_3$、四抗体、三抗体、双抗体、单域抗体、DVD-Ig、Fcab、mAb_2、$(scFv)_2$或scFv-Fc。

[0742] 在某些实施方案中,单克隆抗体或其抗原结合片段与KIR3DL1/2结合,其K_d小于约25nM、20nM、15nM、10nM、5nM、2nM或1nM。

[0743] 一个相关方面提供了一种单克隆抗体或其抗原结合片段,其与本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段竞争结合KIR3DL1/2。

[0744] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合部分/片段特异性结合KIR3DL1/2的第二/中间/D2 ECD,优选其K_D不超过5nM、2nM或1nM。

[0745] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合部分/片段抑制IGSF8与KIR3DL1/2的结合。

[0746] 本发明的另一方面提供了一种单克隆抗体或其抗原结合部分/片段,其特异性结合KIR3DL1/2的中间/D2 ECD(例如,特异性结合包含残基S165、I171和/或M186的表位),抑制IGSF8与KIR3DL1/2的结合。

[0747] 在某些实施方案中,单克隆抗体或其抗原结合部分/片段具有的K_D不超过5nM、2nM或1nM。

[0748] 7.人源化抗体

[0749] 在一些实施方案中,IGSF8抗体是人源化抗体。人源化抗体可用作治疗分子,因为人源化抗体降低或消除了人类对非人抗体的免疫应答(诸如人抗小鼠抗体(HAMA)应答),这种应答会导致对抗体治疗剂的免疫应答并降低该治疗剂的有效性。

[0750] 可以通过任何标准方法将抗体人源化。人源化的非限制性的示例性方法包括在以下文献中描述的方法,例如第5,530,101号;第5,585,089号;第5,693,761号;第5,693,762号;第6,180,370号美国专利;Jones等人,Nature321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature 332:323-27(1988);Verhoeyen等人,Science 239:1534-36(1988);以及美国公布号US 2009/0136500。所有这些都通过引用方式并入本文。

[0751] 人源化抗体是这样一种抗体,已将其中非人类可变区的框架区中的至少一个氨基酸替换为来自人类框架区中相应位置的氨基酸。在一些实施方案中,将非人类可变区的框架区中的至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个、至少11个、至少12个、至少15个或至少20个氨基酸替换为来自一个或多个人类框架区中一个或多个相应位置的氨基酸。

[0752] 在一些实施方案中,一些用于置换的相应人类氨基酸来自不同的人免疫球蛋白基因的框架区。也就是说,在一些这样的实施方案中,可以将一个或多个非人类氨基酸替换为来自第一人抗体的或由第一人类免疫球蛋白基因编码的人类框架区的相应氨基酸,可以将一个或多个非人类氨基酸替换为来自第二人抗体的或由第二人类免疫球蛋白基因编码的人类框架区的相应氨基酸,可以将一个或多个非人类氨基酸替换为来自第三人抗体的或由第三人类免疫球蛋白基因编码的人类框架区的相应氨基酸,等等。此外,在一些实施方案中,用于在单个框架区例如FR2中进行置换的所有相应人类氨基酸不需要来自相同的人类框架。然而,在一些实施方案中,用于进行置换的所有相应人类氨基酸来自相同的人抗体或由相同的人类免疫球蛋白基因编码。

[0753] 在一些实施方案中,通过将一个或多个完整的框架区替换为相应的人类框架区来使抗体人源化。在一些实施方案中,选择与被替换的非人类框架区具有最高水平同源性的人类框架区。在一些实施方案中,这种人源化抗体是CDR移植抗体。

[0754] 在一些实施方案中,在CDR移植后,将一个或多个框架氨基酸变回小鼠框架区中的相应氨基酸。在一些实施方案中,进行这种“回复突变”以保留一个或多个小鼠框架氨基酸,这些氨基酸似乎有助于一个或多个CDR的结构和/或可能参与抗原接触和/或似乎参与抗体的整体结构完整性。在一些实施方案中,在CDR移植后,对抗体的框架区进行10个或更少、9个或更少、8个或更少、7个或更少、6个或更少、5个或更少、4个或更少、3个或更少、2个或更少、1个或0个回复突变。

[0755] 在一些实施方案中,人源化抗体还包含人重链恒定区和/或人轻链恒定区。

[0756] 8.嵌合抗体

[0757] 在一些实施方案中,IGSF8抗体是嵌合抗体。在一些实施方案中,IGSF8抗体包含至少一个非人类可变区和至少一个人类恒定区。在一些这样的实施方案中,IGSF8抗体的所有可变区都是非人类可变区,并且IGSF8抗体的所有恒定区都是人类恒定区。在一些实施方案中,嵌合抗体的一个或多个可变区是小鼠可变区。嵌合抗体的人类恒定区不需要与它所替换的非人类恒定区(如果有的话)属于相同的同种型。在以下文献中论述了嵌合抗体,例如

第4,816,567号美国专利;和Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA81:6851-55(1984)。

[0758] 9.人抗体

[0759] 在一些实施方案中,IGSF8抗体是人抗体。可以通过任何合适的方法来制备人抗体。非限制性的示例性方法包括在包含人免疫球蛋白基因座的转基因小鼠中制备人抗体。参见,例如Jakobovits等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA90:2551-55(1993);Jakobovits等人,Nature 362:255-8(1993);onberg等人,Nature 368:856-9(1994);以及第5,545,807号;第6,713,610号;第6,673,986号;第6,162,963号;第5,545,807号;第6,300,129号;第6,255,458号;第5,877,397号;第5,874,299号;和第5,545,806号美国专利。

[0760] 非限制性的示例性方法还包括使用噬菌体展示库来制备人抗体。参见,例如Hoogenboom等人,J.Mol.Biol.227:381-8(1992);Marks等人,J.Mol.Biol.222:581-97(1991);和PCT公布号WO 99/10494。

[0761] 人抗体恒定区

[0762] 在一些实施方案中,本文所述的人源化抗体、嵌合抗体或人抗体包含一个或多个人类恒定区。在一些实施方案中,人重链恒定区具有选自IgA、IgG和IgD的同种型。在一些实施方案中,人轻链恒定区具有选自κ和λ的同种型。在一些实施方案中,本文所述的抗体包含人IgG恒定区,例如人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。在一些实施方案中,抗体或Fc融合伴侣包含C237S突变,例如在IgG1恒定区中。在一些实施方案中,本文所述的抗体包含人IgG2重链恒定区。在一些这样的实施方案中,IgG2恒定区包含P331S突变,如在第6,900,292号美国专利中所述。在一些实施方案中,本文所述的抗体包含人IgG4重链恒定区。在一些这样的实施方案中,本文所述的抗体包含人IgG4恒定区中的S241P突变。参见,例如Angal等人,Mol.Immunol.30(1):105-108(1993)。在一些实施方案中,本文所述的抗体包含人IgG4恒定区和人κ轻链。

[0763] 重链恒定区的选择可以决定抗体在体内是否具有效应功能。在一些实施方案中,这种效应功能包括抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、补体依赖性细胞毒性(CDC)和/或抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP),并且可以导致对抗体所结合的细胞的杀伤作用。通常,包含人IgG1或IgG3重链的抗体具有效应功能。

[0764] 在一些实施方案中,效应功能是不期望的。例如,在一些实施方案中,在炎性病况和/或自身免疫性病症的治疗中,效应功能可能是不期望的。在一些这样的实施方案中,选择或工程化改造人IgG4或IgG2重链恒定区。在一些实施方案中,IgG4恒定区包含S241P突变。

[0765] 在一些其它实施方案中,当抗体的目的是阻断受体和配体之间的相互作用但不希望消耗靶细胞时,效应功能可能是不期望的。在一些这样的实施方案中,选择或工程化改造具有缺乏效应功能的Fc的重链恒定区。在例如Liu等人,Antibodies 9:64(2020)中描述了效应功能降低的Fc和赋予Fc效应功能降低的突变的非限制性实例,其全部内容通过引用方式并入本文。

[0766] 在一些实施方案中,赋予效应功能降低的突变是C1q结合位点中的L234A/L235A突变。在一些实施方案中,效应功能降低的重链恒定区是包含L234A/L235A突变的人IgG1或IgG4,也分别称为IgG1-L234A/L235A(IgG1-LALA)或IgG4-L234A/L235A(IgG4-LALA)。

[0767] 在一些实施方案中,赋予效应功能降低的突变是P329G突变,其能够破坏人IgG和

人FcγR之间的相互作用。在一些实施方案中，赋予效应功能降低的突变是L234A/L235A/P329G。在一些实施方案中，效应功能降低的重链恒定区是包含L234A/L235A/P329G突变的人IgG1，亦称为IgG1-L234A/L235A/P329G(IgG1-LALA-PG)。

[0768] 在一些实施方案中，赋予效应功能降低的突变是N297A、N297Q或N297G突变，其去除了对人IgG与C1q和FcγR之间的结合至关重要的多糖。在一些实施方案中，效应功能降低的重链恒定区是包含N297A、N297Q或N297G突变的人IgG1，亦称为IgG1-N297A/Q/G(IgG1-NA)。

[0769] 在一些实施方案中，赋予效应功能降低的突变是L235A/G237A/E318A突变。在一些实施方案中，效应功能降低的重链恒定区是包含L235A/G237A/E318A突变的人IgG1，亦称为IgG1-L235A/G237A/E318A(IgG1-AAA)。

[0770] 在一些实施方案中，赋予效应功能降低的突变是G236R/L328R，其可以导致降低或完全取消与多种FcγR的结合。在一些实施方案中，效应功能降低的重链恒定区是包含G236R/L328R突变的人IgG1，亦称为IgG1-G236R/L328R(IgG1-RR)。

[0771] 在一些实施方案中，赋予效应功能降低的突变是S298G/T299A突变，其可以消除或显著降低与C1q和大多数FcγR的结合。在一些实施方案中，效应功能降低的重链恒定区是包含S298G/T299A突变的IgG1，亦称为IgG1-S298G/T299A(IgG1-GA)。

[0772] 在一些实施方案中，赋予效应功能降低的突变是L234F/L235E/P331S突变，其可以导致与低亲和力FcγR的结合减少，并且无法检测到与FcγRI的结合。在一些实施方案中，效应功能降低的重链恒定区是包含L234F/L235E/P331S突变的人IgG1，亦称为IgG1-L234F/L235E/P331S(IgG1-FES)。

[0773] 在一些实施方案中，赋予效应功能降低的突变是L234F/L235E/D265A突变，其可以导致Fc区的强效沉默。在一些实施方案中，效应功能降低的重链恒定区是包含L234F/L235E/D265A突变的人IgG1，亦称为IgG1-L234F/L235E/D265A(IgG1-FEA)。

[0774] 在一些实施方案中，赋予效应功能降低的突变是E233P/L234V/L235A/G236del/S267K突变，其可以导致不与多种FcγR结合。在一些实施方案中，效应功能降低的重链恒定区是包含E233P/L234V/L235A/G236del/S267K突变的人IgG1，亦称为IgG1-E233P/L234V/L235A/G236del/S267K。

[0775] 在一些实施方案中，赋予效应功能降低的突变是228P/L235E突变，其阻止人IgG4中的Fab臂交换。在一些实施方案中，效应功能降低的重链恒定区是包含228P/L235E突变的人IgG4，亦称为IgG4-S228P/L235E(IgG4-PE)。

[0776] 在一些实施方案中，赋予效应功能降低的突变是H268Q/V309L/A30S/P331S突变。在一些实施方案中，效应功能降低的重链恒定区是包含H268Q/V309L/A30S/P331S突变的人IgG2，亦称为IgG2-H268Q/V309L/A30S/P331S(IgG2m4)。

[0777] 在一些实施方案中，赋予效应功能降低的突变是V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S突变。在一些实施方案中，效应功能降低的重链恒定区是包含V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S突变的人IgG2，亦称为IgG2-V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S(IgG2c4d)。

[0778] 可通过任何合适的方法纯化本文所述的任何抗体。此类方法包括但不限于使用亲和基质或疏水相互作用层析。合适的亲和配体包括抗体所结合的抗原和/或表位，以及结合

抗体恒定区的配体。例如,蛋白A、蛋白G、蛋白A/G或抗体亲和柱可用于结合恒定区并纯化抗体。

[0779] 在一些实施方案中,疏水相互作用层析(HIC),例如丁基或苯基柱,也用于纯化一些多肽。许多纯化多肽的方法是本领域已知的。

[0780] 备选地,在一些实施方案中,本文所述的抗体是在无细胞系统中产生的。在以下文献中描述了非限制性的示例性无细胞系统,例如Sitaraman等人,Methods Mol.Biol.498:229-44(2009);Spirin,Trends Biotechnol.22:538-45(2004);Endo等人,Biotechnol.Adv.21:695-713(2003)。

[0781] 10.抗体特性

[0782] 在一些实施方案中,本发明的IGSF8抗体结合IGSF8并抑制IGSF8介导的信号传导,诸如如图4和5A-5D所示的下游基因的上调或下调。在一些实施方案中,IGSF8抗体与IGSF8结合的结合亲和力(K_D)或EC50值小于50nM、小于20nM、小于10nM或小于1nM。在一些实施方案中,如通过例如放射免疫测定法(RIA)所测量,IGSF8抗体与不相关的非IGSF8蛋白的结合程度小于该抗体与IGSF8结合程度的约10%。在一些实施方案中,IGSF8抗体结合在来自不同物种的IGSF8之间具有保守性的IGSF8表位。在一些实施方案中,IGSF8抗体与结合humIGSF8的人抗体或人源化IGSF8抗体结合相同的表位。

[0783] 在一些实施方案中,将IGSF8抗体与标记物缀合,该标记物是有利于检测该抗体和/或有利于检测该抗体所结合分子的部分。非限制性的示例性标记物包括但不限于放射性同位素、荧光基团、酶促基团、化学发光基团、生物素、表位标签、金属结合标签等。本领域技术人员可以根据意图的应用选择合适的标记物。

[0784] 在一些实施方案中,在体外使用化学方法将标记物与抗体缀合。缀合的非限制性的示例性化学方法是本领域已知的,并且包括可从下列公司商购的服务、方法和/或试剂,例如Thermo Scientific Life Science Research Produces(以前称为Pierce;Rockford,IL)、Prozyme(Hayward,CA)、SACRI Antibody Services(Calgary,Canada)、AbD Serotec(Raleigh,NC)等。在一些实施方案中,当标记物是多肽时,该标记物可以从与至少一条抗体链相同的表达载体表达,以产生包含与抗体链融合的标记物的多肽。

[0785] 11.IGSF8 ECD、融合体和小肽

[0786] 在一些实施方案中,IGSF8拮抗剂是抑制IGSF8与其配体结合的IGSF8多肽,诸如全长IGSF8或其片段。

[0787] 在一些实施方案中,IGSF8片段是IGSF8胞外结构域(ECD)。在一些实施方案中,IGSF8片段是全长IGSF8 ECD。在某些实施方案中,ECD作为一种拮抗性多肽发挥作用,其抑制由野生型IGSF8结合产生的IGSF8受体(诸如KIR3dL1/2)的功能。然而在其他实施方案中,ECD作为一种激动性多肽发挥作用,其对其受体(诸如KIR3DL1/2)发挥作用类似于野生型全长IGSF8。

[0788] 在一些实施方案中,本发明提供了IGSF8 ECD片段,例如,该片段占其来源于其中的全长IGSF8 ECD氨基酸序列的至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。在一些实施方案中,IGSF8 ECD片段包含IGSF8的D1(或最N末端Ig-V组)结构域、基本上由或由IGSF8的D1(或最N末端Ig-V组)结构域组成。

[0789] 在一些实施方案中,本发明提供了IGSF8 ECD变体,例如,该变体与其来源于其中

的全长IGSF8 ECD或片段(例如,Ig-V组D1结构域)具有至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性。在一些实施方案中,该变体保留了结合KIR3DL1/2的能力。

[0790] 在其他实施方案中,IGSF8 ECD来自非人类IGSF8 ECD,并且可以是全长、片段(例如,D1或Ig-V组结构域)或变体(例如,具有至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性并保留结合KIR3DL1/2的能力的变体)。

[0791] 在一个相关实施方案中,本发明提供了一种IGSF8变体,它缺少ECD的D2-D4 Ig样C2结构域,但保留了ECD的D1 Ig-V组结构域。这种变体可以基本上保持wt IGSF8的功能,例如结合KIR3DL1/2的能力。

[0792] 在一些实施方案中,IGSF8或IGSF8片段或IGSF8变体与至少一个融合伴侣组合。

[0793] 因此在一些这样的实施方案中,本发明提供了全长IGSF8的融合体,诸如C末端与Ig Fc区融合。在一个实施方案中,Ig Fc融合体是人IgG1 Fc融合体。

[0794] 本发明进一步提供了全长IGSF8 ECD和至少一个融合伴侣以形成IGSF8ECD融合分子。在一些实施方案中,融合分子的IGSF8 ECD部分包含IGSF8ECD片段,例如,该片段占其来源于其中的全长IGSF8 ECD氨基酸序列的至少80%、至少85%、至少90%或至少95%(例如,D1或Ig-V组结构域)。在一些实施方案中,融合分子的IGSF8 ECD部分是一种IGSF8 ECD变体,例如,该变体与其来源于其中的全长IGSF8 ECD(或D1或Ig-V组结构域)包含至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性,其保持与KIR3DL1/2的结合。

[0795] 在其他实施方案中,IGSF8组分来自非人类IGSF8,并且可以是全长、片段(例如ECD)或变体。

[0796] 在上述任何融合分子实施方案中,融合伴侣可包含免疫球蛋白Fc分子,例如人Fc分子(如人IgG1 Fc)。在其他实施方案中,融合伴侣可以是不同的分子,例如白蛋白或聚乙二醇(PEG)。在一些实施方案中,可以将多于一个融合伴侣附接至IGSF8或其ECD。在一些实施方案中,融合伴侣(或多个伴侣)附接在C末端,而其他附接也是可能的,诸如在氨基酸侧链上或在N末端。融合伴侣附接至IGSF8或片段(例如ECD)或变体可以是直接的(即通过共价键)或通过接头间接的。接头可包含例如至少一个间插氨基酸或一些其他化学部分,用于将融合伴侣以共价方式或非共价方式连接至ECD。

[0797] 在任何上述实施方案中,IGSF8多肽可以包括信号序列或处于成熟形式,即不包括信号序列。信号序列可以来自天然IGSF8分子,或者它可以是来自不同蛋白质的信号序列,例如选择用于增强IGSF8多肽在细胞培养中表达的信号序列。

[0798] 在一些实施方案中,IGSF8 ECD可以包含以下序列:REVLVPEGPLYRVAGTAVSISCNVTGYEGPAQQNFEWFLYRPEAPDTALGIVSTKDTQFSYAVFKSRVVAGEVQVQRLQGDAVVLKIARLQAQDAGIYECHTPSTDTRYLGSYSGKVELRVLPDVLQVSAAPPGPRGRQAPTSPPRMTVHEGQELALGCLARTSTQKHTHLAVSFGRSVPEAPVGRSTLQEVVGIRSDLAVEAGAPYAERLAAGELRLGKEGTDRYRMVVGGAQAGDAGTYHCTAAEWIQDPDGSWAQIAEKRAVLAHVDVQTLSSQLAVTVGPGERRIGPGEPLELLCNVSGALPPAGRHAAYSVGWEMAPAGAPGPGRLVAQLDTEGVGSLGPGYEGRHIAMEKVASRTYRLRLEAARPGDAGTYRCLAKAYVRGSGTRLREAASARSRPLPVHVREEGVVLEAVAWLAGGTVYRGETASLLCNISVRGGPPGLRLAASWWVERPEDGELSSVPAQLVGGVGQDGVAELGVRPGGGPVSVELVGPRSHRLRLHSLGPEDEGVYHCAPSAWVQHADYSWYQAGSARSGPVTVYPYMHALDT(SEQ

ID NO:468)。

[0799] 在上述任何一种情况下,IGSF8 ECD可以是融合分子的一部分,如此一来,上述氨基酸序列可以直接或通过接头连接至融合伴侣,诸如Fc、白蛋白或PEG。例如,在一些实施方案中,IGSF8 ECD融合分子可包含上述序列之一加上免疫球蛋白Fc序列,或来自人IgG1的Fc。IGSF8 ECD Fc融合分子可通过将IGSF8 ECD氨基酸序列直接或通过接头(间插氨基酸或氨基酸序列或者另一种化学部分)附接至Fc氨基酸序列而形成。

[0800] 在一个相关方面中,本发明提供了一种对NK和/或T细胞功能、活力和/或活化进行下调的方法,包括使NK和/或T细胞与本发明的IGSF8多肽或其融合体进行接触。

[0801] 在一个相关方面中,本发明提供了一种治疗由NK细胞和/或T细胞活化介导的疾病或病况,诸如自身免疫性疾病或过度炎症应答(例如在慢性炎症性疾病中)的方法,包括使NK细胞和/或T细胞与本发明的IGSF8多肽或其融合体进行接触。

[0802] 在某些实施方案中,自身免疫性疾病与NK细胞和/或T细胞功能或活化过度相关。在某些实施方案中,自身免疫性疾病是类风湿性关节炎(RA)、糖尿病如1型糖尿病、银屑病、银屑病性关节炎、强直性脊椎炎、系统性硬化、多发性硬化、SLE、干燥症(Sjögren's disease)、抗磷脂综合征、寻常性天疱疮、脊椎关节病变、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎或克罗恩病(Crohn'sdisease)。

[0803] 在某些实施方案中,慢性炎症性疾病包括心血管疾病、神经退行性疾病、糖尿病、代谢综合征、牙周炎和动脉粥样硬化。

[0804] 在某些实施方案中,IGSF8多肽包括IGSF8的全长、ECD或可溶性片段,其抑制NK和/或T细胞增殖、活力和/或功能。在一些实施方案中,IGSF8的ECD包含、基本上由或由ECD的Fc融合体组成,诸如结合KIR3DL1/2的IGSF8的D1(或Ig-V组)结构域的Fc融合体。在一些实施方案中,Fc是人IgG1 Fc融合体、人IgG2 Fc融合体、人IgG3 Fc融合体或人IgG4Fc融合体。在一些实施方案中,Fc是人IgG1 Fc融合体。融合可以在IGSF8或其片段的C末端。

[0805] 在一些实施方案中,IGSF8拮抗剂可以是小分子或肽,例如小肽。在一些实施方案中,IGSF8拮抗剂可以是包含IGSF8 ECD片段的氨基酸序列的小肽。在一些实施方案中,IGSF8拮抗剂可以是包含KIR3DL1/2的残基S165-M186的小肽。在一些实施方案中,IGSF8拮抗剂是具有例如5-50个、3-20个,例如3-15个或3-10个氨基酸的小肽,该肽可以是线性或环状的,其序列包含IGSF8片段、IGSF8 ECD片段、或者IGSF8片段或IGSF8 ECD片段的变体。IGSF8的这种变体可以与其来源于其中的天然片段序列具有例如至少95%、至少97%、至少99%序列同一性。在某些实施方案中,IGSF8衍生的拮抗剂(例如IGSF8 ECD片段或其衍生物)保留了结合KIR3DL1/2的能力,而不会触发IGSF8对KIR3DL1/2的抑制性功能,使得拮抗剂的功能就类似于IGSF8介导的KIR3DL1/2功能的显性失活抑制剂。

[0806] 在某些实施方案中,本发明的任何多肽,包括抗体及其抗原结合部分、IGSF8多肽及其ECD,在合成时可具有异源信号肽。为了使一些分泌蛋白大量表达和分泌,可能需要来自异源蛋白的信号肽。采用异源信号肽可能是有利的,因为在分泌过程中信号肽在ER中被去除时,由此产生的成熟多肽可保持不变。可能需要添加异源信号肽来表达和分泌一些蛋白质。

[0807] 例如,在由新加坡国立大学生物化学系维护的在线信号肽数据库中描述了非限制性的示例性信号肽序列。参见Choo等人,BMC Bioinformatics,6:249(2005);和PCT公布号

WO 2006/081430。

[0808] 12.KIR3DL1/2ECD、融合体和小肽

[0809] 在一些实施方案中,KIR3DL1/2拮抗剂是KIR3DL1/2多肽,例如KIR3DL1/2的片段或IGSF8的片段,其抑制KIR3DL1/2与IGSF8的结合(例如,抑制KIR3DL1/2与IGSF8的D1或Ig-V组结构域的结合)。

[0810] 在一些实施方案中,KIR3DL1/2片段是KIR3DL1/2胞外结构域(ECD)。在一些实施方案中,本发明提供了KIR3DL1/2片段,例如,该片段占其来源于其中的全长KIR3DL1/2ECD氨基酸序列的至少30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%或至少95%。在一些实施方案中,该片段包含结合IGSF8的KIR3DL1/2的中间(第二或D2)Ig样结构域。

[0811] 在一些实施方案中,KIR3DL1/2片段是全长KIR3DL1/2ECD。在一些实施方案中,KIR3DL1/2片段是部分KIR3DL1/2ECD,其包含结合IGSF8的中间(第二或D2)Ig样结构域。在一些实施方案中,KIR3DL1/2片段包含、基本上由或由结合IGSF8的KIR3DL1/2的中间(第二或D2)Ig样结构域组成。在一些实施方案中,KIR3DL1/2片段包含一起结合IGSF8的KIR3DL1/2的第二和第三(D2和D3)Ig样结构域、基本上由或由一起结合IGSF8的KIR3DL1/2的第二和第三(D2和D3)Ig样结构域组成。在一些实施方案中,KIR3DL1/2片段包含包括KIR3DL1/2的残基S165和M186的多肽或表位、基本上由或由包含KIR3DL1/2的残基S165和M186的多肽或表位组成,该多肽或表位结合IGSF8并抑制IGSF8与KIR3DL1/2的结合。在一些实施方案中,多肽或表位为约25个残基、30个残基、35个残基、40个残基、45个残基或约50个残基。在一些实施方案中,多肽或表位独立地包含KIR3DL1/2的约1-20个、约2-15个、约3-10个、约5-8个、约2-7个或约3-5个残基,该多肽或表位紧邻S165的N末端、紧邻M186的C末端或者紧邻S165的N末端和紧邻M186的C末端两者。

[0812] 在一些实施方案中,本发明提供了KIR3DL1/2ECD变体,例如,该变体与其来源于其中的全长IGSF8 ECD或片段(例如,Ig-V组D1结构域)具有至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性。在一些实施方案中,该变体保留了结合KIR3DL1/2的能力。

[0813] 在其他实施方案中,KIR3DL1/2ECD来自非人类KIR3DL1/2ECD,并且可以是全长、片段(例如,D2或中间Ig样结构域)或变体(例如,具有至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性并保留结合IGSF8的能力的变体)。

[0814] 在一个相关实施方案中,本发明提供了KIR3DL1/2变体,其缺少KIR3DL1/2的ECD的第一或D Ig样C2结构域,但保留了ECD的D2 Ig样结构域。这种变体可以基本上保持wt KIR3DL1/2的功能,例如结合IGSF8的能力。

[0815] 在一些实施方案中,KIR3DL1/2或片段或变体与至少一个融合伴侣组合。

[0816] 因此在一些这样的实施方案中,本发明提供了一种全长KIR3DL1/2的融合体,诸如ECD C末端与Ig Fc区的融合体。在一个实施方案中,Ig Fc融合体是人IgG1 Fc融合体。

[0817] 在上述任何融合分子实施方案中,融合伴侣可包含免疫球蛋白Fc分子,例如人Fc分子(如人IgG1 Fc)。在其他实施方案中,融合伴侣可以是不同的分子,例如白蛋白或聚乙二醇(PEG)。在一些实施方案中,可以将多于一个融合伴侣附接至KIR3DL1/2或其ECD(诸如包含结合IGSF8的D2结构域的ECD片段)。在一些实施方案中,融合伴侣(或多个伴侣)附接在

C-末端,而其他附接也是可能的,诸如在氨基酸侧链上或在N-末端。融合伴侣附接至KIR3DL1/2或片段(例如ECD或ECD的D2)或变体可以是直接的(即通过共价键)或通过接头间接的。接头可包含例如至少一个间插氨基酸或一些其他化学部分,用于将融合伴侣以共价方式或非共价方式连接至ECD。

[0818] 在任何上述实施方案中,KIR3DL1/2多肽可以包括信号序列或处于成熟形式,即不包括信号序列。信号序列可以来自天然KIR3DL1/2分子,或者它可以是来自不同蛋白质的信号序列,例如选择用于增强KIR3DL1/2多肽/片段在细胞培养中表达和/或分泌的信号序列。在一些实施方案中,可以包括蛋白标签以促进富集或纯化。

[0819] 在上述任何一种情况下,KIR3DL1/2ECD可以是融合分子的一部分,如此一来,上述氨基酸序列可以直接或通过接头连接至融合伴侣,诸如Fc、白蛋白或PEG。例如,在一些实施方案中,ECD融合分子可包含上述序列之一加上免疫球蛋白Fc序列,或来自人IgG1的Fc。ECD Fc融合分子可通过将KIR3DL1/2ECD氨基酸序列直接或通过接头(间插氨基酸或氨基酸序列或者另一种化学部分)附接至Fc氨基酸序列而形成。

[0820] 在一些实施方案中,KIR3DL1/2拮抗剂可以是小分子或肽,例如小肽。在一些实施方案中,KIR3DL1/2拮抗剂可以是包含IGSF8 ECD片段氨基酸序列的小肽,其与KIR3DL1/2的D2结构域结合并抑制IGSF8-KIR3DL1/2相互作用,但不会触发KIR3DL1/2对NK细胞的抑制性功能(这可以通过NK细胞的IFNγ分泌来测定)。在一些实施方案中,KIR3DL1/2拮抗剂是具有例如5-50个、3-20个,例如3-15个或3-10个氨基酸的小肽,该肽可以是线性或环状的,其序列包含抑制IGSF8-KIR3DL1/2结合的IGSF8片段、IGSF8 ECD片段、或者IGSF8片段或IGSF8 ECD片段的变体。IGSF8的这种变体可以与其来源于其中的天然片段序列具有例如至少95%、至少97%、至少99%序列同一性。

[0821] 在某些实施方案中,本发明的任何多肽,包括抗体及其抗原结合部分、多肽及其ECD,在合成时可具有异源信号肽。为了使一些分泌蛋白大量表达和分泌,可能需要来自异源蛋白的信号肽。采用异源信号肽可能是有利的,因为在分泌过程中信号肽在ER中被去除时,由此产生的成熟多肽可保持不变。可能需要添加异源信号肽来表达和分泌一些蛋白质。

[0822] 例如,在由新加坡国立大学生物化学系维护的在线信号肽数据库中描述了非限制性的示例性信号肽序列。参见Choo等人,BMC Bioinformatics,6:249(2005);和PCT公布号WO 2006/081430。

[0823] 13.共翻译和翻译后修饰

[0824] 在一些实施方案中,在翻译期间或翻译之后,例如通过糖基化、唾液酸化、乙酰化、磷酸化、酰胺化、利用已知保护/封闭基团的衍生化、蛋白水解裂解或者与抗体分子或其他细胞配体的连接,对多肽如IGSF8和/或KIR3DL1/2或其ECD进行差异化修饰。许多化学修饰中的任何一种都可以通过已知技术进行,包括但不限于,通过溴化氰、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、木瓜蛋白酶、V8蛋白酶进行特异性化学裂解;NABH4;乙酰化;甲酰化;氧化;还原;和/或在衣霉素存在的情况下进行代谢合成。

[0825] 本发明所包含的其他翻译后修饰包括,例如N-连接或O-连接的碳水化合物链;N-末端或C-末端的加工;化学部分附接至氨基酸主链;N-连接或O-连接的碳水化合物链的化学修饰;以及作为原核宿主细胞表达的结果而添加或删除N-末端蛋氨酸残基。

[0826] 14.编码IGSF8拮抗剂和/或KIR3DL1/2拮抗剂的核酸分子

[0827] 本发明还提供了包含编码本文所述抗体(例如IGSF8抗体和/或KIR3DL1/2抗体)的一条或多条链的多核苷酸的核酸分子。在一些实施方案中,核酸分子包含编码本文所述抗体的重链或轻链的多核苷酸。在一些实施方案中,核酸分子包含编码本文所述抗体的重链的多核苷酸和编码轻链的多核苷酸两者。在一些实施方案中,第一核酸分子包含编码重链的第一多核苷酸,并且第二核酸分子包含编码轻链的第二多核苷酸。

[0828] 在一些这样的实施方案中,重链和轻链由一个核酸分子表达,或者由两个分别的核酸分子表达为两种分别的多肽。在一些实施方案中,例如当抗体是scFv时,单个多核苷酸编码包含连接在一起的重链和轻链的单个多肽。

[0829] 在一些实施方案中,编码本文所述抗体的重链或轻链的多核苷酸包含编码前导序列的核苷酸序列,该前导序列在翻译后位于重链或轻链的N-末端。如上文所述,前导序列可以是天然的重链或轻链前导序列,或者可以是另一种异源前导序列。

[0830] 还提供了编码其他IGSF8拮抗剂和/或KIR3DL1/2拮抗剂的核酸,诸如IGSF8的片段或变体,包括IGSF8 ECD分子(例如,结合KIR3DL1/2的D1Ig-V组结构域),或者IGSF8 ECD融合分子,并包括其片段或变体;以及KIR3DL1/2的片段或变体,包括KIR3DL1/2ECD分子(例如,结合IGSF8的KIR3DL1/2的中间或D2 Ig样结构域),或者KIR3DL1/2ECD融合分子,并包括其片段或变体。可以使用本领域常规的重组DNA技术来构建核酸分子。在一些实施方案中,核酸分子是一种适于在选定的宿主细胞中表达的表达载体。

[0831] 15.载体

[0832] 提供了包含编码本文所述抗体的重链和/或轻链的多核苷酸的载体。这种载体包括但不限于DNA载体、噬菌体载体、病毒载体、逆转录病毒载体等。在一些实施方案中,载体包含编码重链的第一多核苷酸序列和编码轻链的第二多核苷酸序列。在一些实施方案中,重链和轻链由载体表达为两条分别的多肽。在一些实施方案中,例如当抗体是scFv时,重链和轻链表达为单一多肽的部分。

[0833] 在一些实施方案中,第一载体包含编码重链的多核苷酸,并且第二载体包含编码轻链的多核苷酸。在一些实施方案中,将第一载体和第二载体以相似的量(诸如相似的摩尔量或相似的质量量)转染到宿主细胞中。在一些实施方案中,将摩尔比或质量比为5:1至1:5的第一载体和第二载体转染到宿主细胞中。在一些实施方案中,对于编码重链的载体和编码轻链的载体,使用1:1至1:5的质量比。在一些实施方案中,对于编码重链的载体和编码轻链的载体,使用1:2的质量比。

[0834] 在一些实施方案中,选择为在CHO或CHO来源的细胞或者在NSO细胞中表达多肽而优化的载体。例如在以下文献中描述了示例性的此类载体,即Running Deer等人,Biotechnol.Prog.20:880-889(2004)。在一些实施方案中,选择用于在动物(包括人类)中体内表达IGSF8拮抗剂的载体。在一些这样的实施方案中,一种或多种多肽的表达受以组织特异性方式发挥作用的一个或多个启动子的控制。例如,在以下文献中描述了肝脏特异性启动子,例如PCT公布号WO 2006/076288。

[0835] 16.宿主细胞

[0836] 在多个实施方案中,可以在原核细胞,诸如细菌细胞中;或在真核细胞,诸如真菌细胞(例如酵母)、植物细胞、昆虫细胞和哺乳动物细胞中表达本文所述抗体的重链和/或轻链。这种表达可以例如根据本领域已知的程序来进行。可用于表达多肽的示例性真核细胞

包括但不限于COS细胞，包括COS 7细胞；293细胞，包括293-6E细胞；CHO细胞，包括CHO-S和DG44细胞；PER.C6®细胞(Crucell)；以及NSO细胞。在一些实施方案中，可以在酵母中表达本文所述抗体的重链和/或轻链。参见，例如美国公布号US 2006/0270045A1。在一些实施方案中，选择特定的真核宿主细胞是根据其对IGSF8抗体的重链和/或轻链进行所需翻译后修饰的能力。例如，在一些实施方案中，CHO细胞产生的多肽比在293细胞中产生的相同多肽具有更高的唾液酸化水平。

[0837] 可通过任何方法实现将一种或多种核酸导入所需的宿主细胞，包括但不限于磷酸钙转染、DEAE-葡聚糖介导的转染、阳离子脂质介导的转染、电穿孔、转导、感染等，例如在以下文献中描述了非限制性的示例性方法，即Sambrook等人，Molecular Cloning，ALaboratory Manual，第3版Cold Spring Harbor Laboratory Press(2001)。根据任何合适的方法，可以将核酸瞬时或稳定转染到所需的宿主细胞中。

[0838] 在一些实施方案中，根据任何合适的方法，可以使一种或多种多肽在已经用一种或多种编码该多肽的核酸分子进行工程化改造或转染的动物中体内产生。

[0839] 17.测定、诊断、预后方法

[0840] 在一个相关方面中，本发明还提供了一种用于确定抗IGSF8拮抗剂或抗KIR3DL1/2拮抗剂抑制IGSF8-KIR3DL1/2结合的能力的体外测定方法，或者用于鉴定抑制IGSF8-KIR3DL1/2结合的抗IGSF8拮抗剂或抗KIR3DL1/2拮抗剂(诸如小分子或肽拮抗剂)的筛选方法，该方法包括使候选抗IGSF8拮抗剂或候选抗KIR3DL1/2拮抗剂(例如，抗体、肽片段或小分子)与IGSF8多肽和KIR3DL1/2多肽进行接触，其中该IGSF8多肽和/或KIR3DL1/2多肽由可检测信号标记，并且其中候选抗IGSF8拮抗剂或抗KIR3DL1/2拮抗剂对IGSF8-KIR3DL1/2结合的抑制引起可检测信号的可检测或可测量的变化。

[0841] 在一个相关方面中，本发明还提供了一种用于确定抗IGSF8拮抗剂或抗KLRC1/D1拮抗剂抑制IGSF8-KLRC1/D1结合的能力的体外测定方法，或者用于鉴定抑制IGSF8-KLRC1/D1结合的抗IGSF8拮抗剂或抗KLRC1/D1拮抗剂(诸如小分子或肽拮抗剂)的筛选方法，该方法包括使候选抗IGSF8拮抗剂或候选抗KLRC1/D1拮抗剂(例如，抗体、肽片段或小分子)与IGSF8多肽和KLRC1/D1多肽进行接触，其中该IGSF8多肽和/或KLRC1/D1多肽由可检测信号标记，并且其中候选抗IGSF8拮抗剂或抗KLRC1/D1拮抗剂对IGSF8-KLRC1/D1结合的抑制引起可检测信号的可检测或可测量的变化。

[0842] 在一个实施方案中，IGSF8多肽包含负责KIR3DL1/2结合的IGSF8的D1或Ig-V组结构域，并且KIR3DL1/2多肽包含KIR3DL1/2的D2(或中间)Ig样结构域。

[0843] 在一个实施方案中，将IGSF8多肽固定在固体支持物上，或者在细胞(诸如不表达MHC I类(HLA)受体的细胞)上表达。一种示例性细胞是K562，其稳定地或可诱导性表达外源性IGSF8，可以通过载体诸如编码IGSF8多肽的慢病毒载体将外源性IGSF8转导到K562细胞中。在另一实施方案中，该细胞是表达外源性IGSF8的CT26细胞(ATCC CRL-2638™小家鼠(Mus musculus)结肠癌)。

[0844] 在一个实施方案中，KIR3DL1/2多肽由可检测信号如生物素标记。可以通过链霉亲和素连接的信号，诸如PE标记的链霉亲和素来检测生物素标记物。

[0845] 在一个备选实施方案中，IGSF8多肽和KIR3DL1/2多肽可以由荧光分子和当该荧光分子和抑制物彼此非常接近时抑制荧光发射的分子标记，但是一旦拮抗剂抑制IGSF8-

KIR3DL1/2结合，就会产生荧光信号。

[0846] 在一个相关方面中，本发明提供了一种检测样品中IGSF8多肽的存在或水平的方法，该方法包括使样品中的IGSF8多肽与本发明的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段进行接触，其中所述抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段由可检测标记物标记，或者可附接至可检测标记物。

[0847] 在某些实施方案中，所述抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段与IGSF8多肽形成复合物，并且以酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)、免疫化学方法、Western印迹或细胞内流式测定的形式检测该复合物。

[0848] 在一个相关方面中，本发明提供了一种用于监测受试者中与异常(例如，高于正常)IGSF8表达相关的病症进展的方法，该方法包括：a)使用本发明的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段，检测在第一时间点获自受试者的样品中IGSF8的第一水平；b)在后续时间点重复步骤a)以获得IGSF8的第二水平；并且c)比较分别在步骤a)和b)中检测的IGSF8的第一和第二水平，以监测受试者中病症的进展，其中第二水平高于第一水平表明疾病已经进展。

[0849] 在某些实施方案中，在第一时间点和后续时间点之间，受试者已经接受治疗以改善该病症。

[0850] 在一个相关方面中，本发明提供了一种用于预测患有与异常(例如，高于正常)IGSF8表达相关的病症的受试者的临床结果的方法，该方法包括：a)使用本发明的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段，确定获自受试者的第一样品中IGSF8的水平；b)使用本发明的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段，确定获自具有良好临床结果的对照受试者的第二样品中IGSF8的水平；并且c)比较第一和第二样品中IGSF8的水平；其中与第二样品中的IGSF8水平相比，第一样品中的IGSF8水平显著升高(例如，>20％、>50％或更大增幅)表明该受试者的临床结果更差，和/或，其中与第二样品中的IGSF8水平相比，第一样品中的IGSF8水平显著降低(例如，>20％、>50％或更大降低)表明该受试者的临床结果更好。

[0851] 在一个相关方面中，本发明提供了一种评估疗法对受试者中与异常(例如，高于正常)IGSF8表达相关的病症的功效的方法，该方法包括：a)在向受试者提供该疗法的至少一部分之前，使用本发明的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段确定获自该受试者的第一样品中IGSF8的水平，并且b)在提供该疗法的所述部分之后，在获自该受试者的第二样品中重复步骤a)，其中相对于第一样品，第二样品中IGSF8的水平显著降低(>20％、>50％或更大降低)表明该疗法有效抑制受试者中的病症；和/或，其中相对于第一样品，第二样品中IGSF8的水平基本上相同或升高表明该疗法不能有效抑制受试者中的病症。

[0852] 在某些实施方案中，疾病是癌症。

[0853] 在一个相关方面中，本发明提供了一种评估测试化合物对抑制受试者中与异常(例如，高于正常)IGSF8表达相关的病症的功效的方法，该方法包括：a)使用本发明的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段确定获自受试者的第一样品中IGSF8的水平，其中已将第一样品暴露于一定量的测试化合物；并且b)使用本发明的抗体、单克隆抗体或其抗原结合部分/片段确定获自受试者的第二样品中IGSF8的水平，其中未将第二样品暴露于该测试化合物，其中相对于第二样品中IGSF8的水平，第一样品中IGSF8的水平显著降低(>20％、>50％或更大降低)表明该量的测试化合物有效抑制受试者中的病症，和/或，其中相对于第

二样品中IGSF8的水平，第一样品中IGSF8的水平基本上相同表明该量的测试化合物不能有效抑制受试者中的病症。

[0854] 在某些实施方案中，第一和第二样品是获自受试者的单个样品的部分，或者是获自受试者的合并样品的部分。

[0855] 在某些实施方案中，病症是癌症。

[0856] 在某些实施方案中，癌症是肺癌、肾癌、胰腺癌、结直肠癌、急性髓系白血病(AML)、头颈癌、肝癌、卵巢癌、前列腺癌、子宫癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、乳腺癌、胰腺导管癌、胸腺瘤、B-CLL、白血病、B细胞淋巴瘤以及浸润有表达IGSF8受体(例如，KIR3DL1、KIR3DL2和/或KLRC1/D1)的免疫细胞(例如，T细胞和/或NK细胞)的癌症。

[0857] 在某些实施方案中，样品包括从受试者获得的细胞、血清、瘤周组织和/或瘤内组织。

[0858] 在某些实施方案中，受试者是人类。

[0859] 在一个相关方面中，本发明提供了一种筛选功能性IGSF8拮抗剂的方法，该方法包括使候选作用剂(例如，小分子、肽、适体、多核苷酸等)与NK细胞和靶细胞的共培养物进行接触，所述靶细胞表达IGSF8且对NK细胞介导的细胞毒性具有抗性，并鉴定促进NK细胞介导的针对靶细胞的细胞溶解活性的候选作用剂，从而将该候选作用剂鉴定为IGSF8拮抗剂。

[0860] 在一个相关方面中，本发明提供了一种筛选功能性IGSF8拮抗剂的方法，该方法包括在T细胞活化信号和IGSF8存在的情况下，使候选作用剂(例如，小分子、肽、适体、多核苷酸等)与Jurkat NFAT报告细胞进行接触，其中当报告细胞在候选作用剂不存在的情况下未被激活而在候选作用剂存在的情况下被激活时，将该候选作用剂鉴定为功能性IGSF8拮抗剂。

[0861] 在一个相关方面中，本发明提供了一种特异性结合KIR3DL1/2的抗体，用于通过抑制KIR3DL1/2-IGSF8相互作用从而刺激NK细胞活化来治疗癌症的方法中。

[0862] 在一个相关方面中，本发明提供了一种特异性结合KIR3DL1/2的抗体用于治疗癌症的方法中，优选通过与如本文所述的本发明的第二治疗剂联合使用。

实施例

[0863] 实施例1Colo205癌细胞中IGSF8的丧失增强了自然杀伤(NK)细胞对Colo205细胞的细胞毒性

[0864] 本实验证明，IGSF8活性/表达负向调节NK细胞对癌细胞(例如，Colo205结直肠癌细胞)的细胞毒性，而IGSF8活性/表达的丧失增强了NK细胞的细胞毒性。

[0865] 使用NK细胞和Colo205癌细胞进行基因组范围的共培养筛选，以确定哪种基因或哪些基因是Colo205癌细胞逃避NK细胞杀伤所需的或所必需的。具体而言，用全基因组向导RNA(gRNA)Cas9文库转导Colo205肿瘤细胞，然后与表现出典型活化表型的原代人NK细胞进行连续两轮过夜共培养。对由此产生的细胞群进行测序，以鉴定使肿瘤细胞对NK细胞的杀伤变得敏感的所消耗gRNA。随后使用基于模型的全基因组CRISPR/Cas9敲除(MAGeCK)软件对读段进行计数，并在经处理和未处理(对照)样品之间进行基因/gRNA倍数变化、选择得分和统计分析。

[0866] 对测定中所测试的每种基因生成了包含选择得分和gRNA倍数变化的火山点图，示

出了在与NK细胞共培养后排名最靠前的所消耗基因。研究发现与抗原呈递相关的基因(诸如HLA-C、Tap1、Tap2和B2m)在消耗时,使肿瘤细胞对NK细胞的杀伤变得最敏感。另外,IGSF8是排名最靠前的两种命中之一,其在Colo205细胞中活性/表达的丧失增强了NK细胞的细胞毒性。将结果总结在图1中。

[0867] 实施例2IGSF8降低了来自健康供体的原代自然杀伤细胞和原代T细胞的活力

[0868] 为了进一步证明IGSF8对NK细胞活性的负面影响,将浓度递增的由人Fc区标记的重组人IGSF8(IGSF8-hFc)与分离自两名健康供体的原代人NK细胞一起孵育,并测定这些原代NK细胞在IGSF8-hFc浓度下的活力(剂量应答曲线)。

[0869] 使用市售阴性/阳性分离试剂盒(StemCell Technologies,Inc.)从健康供体的外周血单核细胞(PBMC)中分离出原代NK或T细胞。将NK或T细胞在补充有10%胎牛血清(FBS)、青霉素/链霉素、L-谷氨酰胺、非必需氨基酸、丙酮酸钠、HEPES、2-巯基乙醇和重组人IL-2(1,000IU/mL)的RPMI培养基中培养,并在37℃和5% CO_2条件下孵育。用抗CD3和抗CD28微珠激活T细胞,每周一次。

[0870] 然后将原代NK或T细胞接种在96孔板中(每孔3,000个细胞)并培养18至24小时,之后再加入IGSF8-hFc融合蛋白或人Fc蛋白作为阴性对照。72小时后,通过细胞计数试剂盒8(CCK8)方法以三个生物学重复测定细胞活力。

[0871] 图2A中的数据显示,随着IGSF8-hFc浓度的增加,体外NK细胞活力降低。同时,在同一测定中用作对照的人Fc基本上不影响NK细胞的活力。此数据与实施例1中的观察结果一致,即Colo205癌细胞上IGSF8的存在抑制了NK细胞的功能,这可能至少部分是通过降低NK细胞的活力来实现的。

[0872] 从分离自供体2的原代T淋巴细胞中也获得了类似结果。参见图2B。

[0873] 这些数据表明,IGSF8在体外降低了原代NK细胞和原代T细胞的活力,表明拮抗IGSF8活性可用于恢复或促进NK/T细胞活性的机制。同时,IGSF8(包括其hFc融合体)可用于在疾病治疗中抑制T细胞和/或NK细胞活性,其中过度的T细胞和/或NK细胞活性是有害的,例如在某些自身免疫性疾病或移植物抗宿主病中。

[0874] 实施例3B16-F10肿瘤细胞中CRISPR/Cas9介导的IGSF8敲除在体内延缓同基因肿瘤模型中的肿瘤生长

[0875] 为了进一步证明肿瘤表达的IGSF8对宿主免疫系统的负面影响,比较了具有或不具有IGSF8功能/表达(IGSF8缺失)的B16-F10黑色素瘤细胞在野生型(WT)小鼠中作为同基因肿瘤生长的能力。使用IGSF8特异性单向导RNA(sgRNA)序列,通过CRISPR/Cas9介导的基因编辑使IGSF8基因缺失/失活。建立了两种分别的IGSF8灭活的B16-F10癌细胞系,即sg IGSF8-1和sg IGSF8-2,其中靶向了IGSF8的不同区域。通过流式细胞术验证了IGSF8表达的下调(数据未显示)。作为阴性对照,还在B16-F10细胞中通过CRISPR/Cas9介导的基因编辑类似地使腺相关病毒整合序列AAVS1缺失/失活(sg AAVS1)。然后在第0天时,分别将各100万个未改变的B16-F10癌细胞、sg IGSF8-1细胞、sg IGSF8-2细胞以及sg AAVS1细胞植入C57BL/6小鼠(每组8只小鼠)中,并在2周内根据标准方法测量和计算每只小鼠中的肿瘤体积。对每组的结果进行平均(带有标准差),并绘制在图3A中。

[0876] 很明显,早在第11天时,IGSF8表达/功能不存在就显著延缓了肿瘤生长($p<0.05$),并且在第14天时肿瘤体积的差异具有显著性($p<0.0001$)。这一体内结果与之前的观察结果

一致,即IGSF8在体外降低了NK和T细胞的活力。

[0877] 有趣的是,IGSF8的存在与否显然不是肿瘤生长本身所必需的。如在体外对上述每种测试细胞系所测量的,在6天过程中的相对肿瘤细胞生长速率基本上没有区别(参见图3B)。

[0878] 这一结果也与以下观察结果相一致,即在基于625种类型的癌细胞系的全基因组CRISPR筛选(数据从DepMap Portal下载)中IGSF8的平均基本得分仅略呈负值,且非常接近于0(约-0.05)(数据未显示),这表明IGSF8在细胞生长中发挥着非常次要(如果有的话)的直接作用。相比之下,原癌基因如myc和细胞周期基因如CDK1都远低于-1.0,而肿瘤抑制基因Tp53的平均基本得分为+0.2(数据未显示)。

[0879] 总之,这些数据有力地表明,肿瘤细胞上缺乏IGSF8在体内延缓了肿瘤细胞的生长,不是通过降低肿瘤细胞本身的生长速率,而是可能通过对宿主免疫系统的负面影响(例如,抑制)。

[0880] 实施例4TNFα信号传导通路受IGSF8负向调节

[0881] 为了确定肿瘤细胞中IGSF8的缺失使肿瘤细胞逃避免疫监视的机制,对如实施例3中所述的IGSF8缺失与AAVS1对照的B16-F10黑色素瘤细胞进行了RNA测序。

[0882] 重要的是,发现B16-F10细胞中IGSF8的消耗激活了TNFα信号传导通路,并增加了许多免疫相关细胞因子(尤其是CXCL10和CXCL9,参见图5A-5B)的基因表达。CXCL10是一种属于CXC趋化因子家族的小细胞因子,它在诱导趋化性、促进白细胞分化和增殖以及引起组织外渗方面发挥作用。CXCL10是由几种细胞类型对IFN-γ作出响应而分泌的。

[0883] 由于已知CXCL9和CXCL10调节免疫细胞迁移、分化和活化,从而引起肿瘤抑制(Tokunaga等人,Cancer Treat Rev.63:40-47,2018),因此检查了IGSF8对其他人类癌细胞中CXCL10表达的影响。

[0884] 具体而言,通过CRISPR/Cas9在六种不同的人类癌细胞系中敲除IGSF8,并对这些IGSF8缺失和AAVS1对照的人类癌细胞进行RNA测序。图4显示,与具有完整IGSF8的对应癌细胞系相比,在IGSF8缺失的癌细胞中,CXCL10在各种测试的肿瘤细胞系中的相对表达有所增加,有时急剧增加几乎10倍。所测试的癌细胞系包括:H292(NCI-H292)是一种人粘液表皮样肺癌细胞系;A549是一种人肺癌细胞系;Colo205是一种Dukes氏D型结直肠腺癌细胞系;N87是一种人胃癌细胞系;以及A375,是另一种人黑色素瘤细胞系。

[0885] 这些数据表明,IGSF8可能是各种癌症中CXCL10表达的通用负向调节因子,并且IGSF8的缺失或失活促进CXCL10表达。

[0886] 实施例5IGSF8的缺失重塑肿瘤微环境(TME)以提高NK和T细胞活性

[0887] 为了确定B16-F10肿瘤中IGSF8失活显著降低肿瘤生长(参见图3A)的机制,将IGSF8缺失和AAVS1对照的B16-F10细胞皮下接种到C57BL6小鼠中。当肿瘤生长到约1至2mm^3时,分离出肿瘤,并对所分离的肿瘤进行RNA测序。

[0888] 发现代表对肿瘤的免疫细胞溶解活性(CYT)的基因(Gzmb、Prf1等)在IGSF8缺失的肿瘤中显著上调(图5B),但在IGSF8缺失的细胞中未上调(图5A)。而且,IGSF8缺失的肿瘤中(而非在IGSF8缺失的细胞中,图5A)CD8基因(CD8a和CD8b)表达也急剧增加(图5B),表明更多$CD8^+$T细胞浸润到IGSF8缺失的肿瘤中。

[0889] 这些数据表明,B16-F10肿瘤中IGSF8的缺失重塑了肿瘤微环境(TME),以提高体内

免疫细胞溶解活性，从而抑制肿瘤，这可能是通过增加$CD8^+$T细胞浸润而实现的。

[0890] 更重要的是，IGSF8的缺失增加了充分确定的IO靶标(PDCD1、CD274、LAG3、TIM3或TIGIT)的表达(图5D)，表明在联合疗法中将IGSF8拮抗剂与PDCD1、CD274、Lag3、TIM3或TIGIT的拮抗剂组合使用对于癌症治疗是有效的。参见下文。

[0891] 实施例6IGSF8在许多癌症类型中过表达并导致更差的临床结果

[0892] 本实施例表明，许多癌细胞过表达IGSF8，这可能作为逃避宿主免疫应答的一种机制。

[0893] 图6A示出了基于来自博德研究所(Broad Institute)癌细胞系百科全书(CCLE)的数据，IGSF8在许多人类癌细胞系中的基因表达。下面列出了CCLE数据集中IGSF8表达最高的前30种癌细胞系。

[0894] 另外，基于对癌症基因组图谱(TCGA)数据集的分析，发现IGSF8在许多类型的癌症中显著过表达：BLCA：膀胱癌，BRCA：乳腺癌，HNSC：头颈鳞状细胞癌，LUAD：肺腺癌，LUSC：肺鳞状细胞癌，PRAD：前列腺腺癌，SKCM：皮肤黑色素瘤，THCA：甲状腺癌，UCEC：子宫体子宫内膜癌，READ：直肠腺癌，COAD：结肠腺癌(图6B)。

[0895] 通过预期最大化进行RNA-Seq

[0896]

细胞系	XBH25 表达 (log2(RSEM)
MALME3M_皮肤	9.226186
HS936T_皮肤	8.806057
IGR37_皮肤	8.626165
K029AX_皮肤	8.458715
COLO679_皮肤	8.448694
DU4475_乳腺	8.439735
MELHO_皮肤	8.34886
COLO741_皮肤	8.26553
TT_甲状腺	8.093418
SKMEL2_皮肤	8.006397
SKMEL5_皮肤	8.005364
G361_皮肤	7.911904
NCIH520_肺	7.905627
C32_皮肤	7.901319
COLO829_皮肤	7.896537
MHHNB11_自主神经节	7.838727
UACC257_皮肤	7.74993
HS939T_皮肤	7.722027
UBLC1_泌尿道	7.69668
KURAMOCHI_卵巢	7.67295
OE19_食管	7.598727
UACC62_皮肤	7.554536
CAL148_乳腺	7.51395
HCC1419_乳腺	7.477927
JHH2_肝	7.471425
HS944T_皮肤	7.460963
SKMEL30_皮肤	7.453764
AU565_乳腺	7.443264
SKMEL24_皮肤	7.425736
BT483_乳腺	7.419773

[0897] 基于癌症基因组图谱(TCGA)的数据也证明了IGSF8表达的临床相关性。具体而言，图6C显示，在不同癌症类型中，IGSF8的较高表达与较差的临床结果相关。例如，在黑色素瘤中，IGSF8高表达的13名患者(“上”)的生存曲线比IGSF8表达较低的304名患者(“下”)的生存曲线差得多。差异具有统计学意义($p<0.0018$)。

[0898] 在宫颈癌、LUAD(肺腺癌)、淋巴瘤(包括弥漫性大B细胞淋巴瘤或DLBCL)、LUSC(肺鳞状细胞癌)、READ(直肠腺癌)、COAD(结肠腺癌)和白血病(包括CLL)中也观察到了同样的情况。

[0899] 因此，据预测本发明的IGSF8拮抗剂，诸如抗IGSF8抗体或其抗原结合片段，能够治疗具有IGSF8过表达的癌症，例如上表中列出的癌症和图6A-6C中的癌症。

[0900] 实施例7抗IGSF8抗体对IGSF8胞外结构域(ED)表现出纳摩尔级(nM)亲和力

[0901] 产生了约50种抗IGSF8单克隆抗体，其中12种，即抗IGSF8 C1至C12，在使用ELISA的亲和结合测定中进行了测试，它们都表现出对IGSF8胞外结构域(ED)的高亲和力。参见图7。表现出最强结合亲和力的抗体的EC50值为约中nM至低nM范围。参见C1-C4、C8和C11。

[0902] 下表列出了这些代表性抗体的序列，包括轻链(LC)和重链(HC)可变区、CDR区、框架区(FR)和恒定区(H＝重链;L＝轻链;CDR-H1至CDR-H3:三个重链CDR序列;CDR-L1至CDR-L3:三个轻链CDR序列;FR:框架区)。

[0903] 在下面的抗体序列中，标明了HCVR和LCVR序列，其中6个CDR序列带有双下划线。其余的序列是重链和轻链框架区HFR1-HFR4和LFR1至LFR4。因此，每个表都按此顺序包含以下16个序列:CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、HFR1-HFR4、LFR1-LFR4、HCVR和LCVR(即，SEQ ID NO:1-16代表抗体C1、SEQ ID NO:17-32代表抗体C2，等等)。为了方便起见，仅显示了HCVR和LCVR序列以及带有双下划线的CDR序列。

[0904]

	抗体C1 (SEQ ID NO: 1-16)
HCVR	QVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYRMSWVRQAPGKGLEWVSRISRSGGATAYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDATGRHYNGMDVWGRGTLVTVSS
LCVR	EIALTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTITRHLNWFQQKPGKAPNLLIHGTSALQTGVPPRFSGGGSGTDFTLTINSLQPEDFGTYYCQQSHTKPWTFGPGTKVEIKRTV

[0905]

	抗体C2 (SEQ ID NO: 17-32)
HCVR	EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYPMNWVRQAPGKGLEWVSRISRSGGRTSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDATR

[0906]

	RHYNGMDVWGKGTTVTVSS
LCVR	DVVMTQSPATLSLSPGERASLSCRASRSVGKYLAWYQQKPGQAPRLLFYYASLRAGDIPSRFTASGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPRTFGQGTKLEMKRTV

[0907]

	抗体C3 (SEQ ID NO: 33-48)
HCVR	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYPMRWVRQAPGKGLEWVSSIRRSGGRTKYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDATGRHYNGMDVWGKGTTVTVSS
LCVR	DVVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQVIGTSLNWYQQKPGRAPRLLIYSASNLQSGVPSRFSGSGHGTQFTLTISSLQPEDFATYSCQQSSRVPHTFGQGTKLEMRRTV

[0908]

	抗体C4 (SEQ ID NO: 49-64)
HCVR	QVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYRMGWVRQAPGKGLEWVSSIARSGGRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGVRYCSSPSCSRGPRYAMDVWGKGTTVTVSS
LCVR	EIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIKRTV

[0909]

	抗体C5 (SEQ ID NO: 65-80)
HCVR	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYRMAWVRQAPGKGLEWVSNITRSGGVTRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPNRVTAISSHYGMDVWGKGTTVTVSS
LCVR	EIVLTQSPSTLSASVGDRVTISCRASQSISRWLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGVPARFSVSGSETDSTLTISSLEPEDFAMYYCQQRSNWPPMYTFGQGTKLEIKRTV

[0910]

	抗体C6 (SEQ ID NO: 81-96)

[0911]

HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSPYRMHWVRQAPGKGLEWVSRINPSGGRTWYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDATGRHYNGMDVWGQGTMVTVSS
LCVR	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSINKWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDFATYYCQQSHSAPWTFGQGTKVEIERTV

[0912]

	抗体C7 (SEQ ID NO: 97-112)
HCVR	EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYPMNWVRQAPGKGLEWVSRISRSGGRTSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDATRRHYNGMDVWGKGTTVTVSS
LCVR	ETTLTQSPATLSLSPGERASLSCRASRSVGKYLAWYQQKPGQAPRLLFYYASLRAGDIPSRFTASGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPRTFGQGTKLEMKRTV

[0913]

	抗体C8 (SEQ ID NO: 113-128)
HCVR	EVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPYNSAWESYYYGMDVWGKGTTVTVSS
LCVR	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQRHSYPITFGQGTRLEIKRTV

[0914]

	抗体C9 (SEQ ID NO: 129-144)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYDMSWVRQAPGKGLEWVSRIRYSGGRTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGVRYCSSPSCSRGPRYAMDVWGKGTTVTVSS
LCVR	DVVMTQSPATLSLSPGEGATLSCRASQSVRGYLAWYQQKPGQAPRLLIYDTFKRATGIPARFSGSGSGADFTLTISSLEPEDSAVYYCQQYFASPWTFGQGTKVEIKRTV

[0915]

	抗体C10 (SEQ ID NO: 145-160)
HCVR	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYRMYWVRQAPGKGLEWVSTISRSGGRTVYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDATGRHYNGMDVWGQGTLVTV
LCVR	ETTLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNVAWYQQKPGQAPRLLMFGSGTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAAYYCQQYNDWPSFGQGTRVEIKGTV

[0916]

	抗体C11 (SEQ ID NO: 161-176)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYRMYWVRQAPGKGLEWVSSISSSGGRTKYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGVRYCSSPSCSRGPRYAMDVWGKGTTVTVSS
LCVR	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASYVIRNDLSWYQQKPGKAPKLLIYGTSSLHNGVPSRFSGSGYGTYFTLTISSLQPEDFGTYYCLQDDKYPLTFGGGTKVEIKRTV

[0917]

	抗体C12 (SEQ ID NO: 177-192)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSKYKMSWVRQAPGKGLEWVSTIAPSGGGTRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGHFSNPWGQGTLVTVSS
LCVR	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHTDGDTYLNWYQQRPGQSPRRLIYKVSKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGIKRPYTLGQGTKLEIKRTV

[0918]

	抗体C13 (SEQ ID NO: 193-208)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSPYRMHWVRQAPGKGLEWVSSINRSGGRTNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATGRGIGTFRNWGQGTLVTVSS
LCVR	DIALTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSTYLAWYQQKPGQAPRLLISDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNNWPPTFGQGTKVEIKRTV

[0919]

	抗体C14 (SEQ ID NO: 209-224)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTIPGYMDVWGKGTTVTVSS
LCVR	DIMLTQSPSSLSGSVGDSVTFTCRASQSISNYLSWYQQKSGKAPQLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSSPYTFGQGTKLEIKRTV

[0920]

	抗体C15 (SEQ ID NO: 225-240)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYRMAWVRQAPGKGLEWVSAIARSGGRTWYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGGAKWLYNWFDSWGQGTLVTV
LCVR	EIVLTQSPGTLSLSAGERATLSCRASQSVSNTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASIRAPGIPDRFSGSGSGTDFTLTVNRLEPEDSAVYYCQQYARSRIAFGQGTRLEIRRTV

[0921]

	抗体C16 (SEQ ID NO: 241-256)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYWMGWVRQAPGKGLEWVSGIGASGGWTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTSGAYFDYWGQGTLVTVSS
LCVR	EIVLTQSPGTLSLSPGQRATLSCRASQSVSSDYLAWYQQKPGQAPRLLMYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSTPLTFGGGTTVEIRRTV

[0922]

	抗体C17 (SEQ ID NO: 257-272)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYPMTWVRQAPGKGLEWVSTIRGSGGDTWYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWVGRDAWGQGTLVTVSS
LCVR	DIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFRQRPGQSPRRLIYKVSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPPTFGQGTKLEIKRTV

[0923]

[0924]

	抗体C18 (SEQ ID NO: 273-288)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYPMNWVRQAPGKGLEWVSRISRSGGRTSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDATRRHYNGMDVWGKGTTVTVSS
LCVR	DIVLTQSPATLSLSPGERASLSCRASRSVGKYLAWYQQKPGQAPRLLFYYASLRAGDIPSRFTASGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPRTFGQGTKLEMKRTV

[0925]

	抗体C19 (SEQ ID NO: 289-304)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYRMHWVRQAPGKGLEWVSSIASSGGRTRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLPYRGHYGMDVWGQGTLVTVSS
LCVR	EIMLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLISVASSLQSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQARSIPWTFGQGTNVEIKRTV

[0926]

	抗体C20 (SEQ ID NO: 305-320)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLPYRGHYGMDVWGQGTLVTVSS
LCVR	DIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYVDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALKIPRTFGQGTKVEIKRTV

[0927]

	抗体C21 (SEQ ID NO: 321-336)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSPYYMVWVRQAPGKGLEWVSSINRSGGRTAYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAIAAGRYGMDVWGKGTTVTVSS

[0928]

LCVR	DIEMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQPPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRTNWPPLTFGGGTKVEIKRTV

[0929]

	抗体C22 (SEQ ID NO: 337-352)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYTMRWVRQAPGKGLEWVSGISRSGGRTVYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPFGVVNHFYYMDVWGKGTTVTVSS
LCVR	EIMLTQSPPSLSASVGDRVTITCRASQSIHTYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASNLQNGVPSRFSGTGSGTDFALTISSLQPEDFATYSCQQTYRTPTTFGPGTKVDIKRTV

[0930]

	抗体C23 (SEQ ID NO: 353-368)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYRMSWVRQAPGKGLEWVSGIGRSGGRTRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAIAAGRYGMDVWGKGTTVTVSS
LCVR	DIMLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSIRNNYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASYRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGGGTKVEIKRTV

[0931]

	抗体C24 (SEQ ID NO: 369-384)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYPMVWVRQAPGKGLEWVSRISRSGGRTQYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDATGRHYNGMDVWGQGTLVTVSS
LCVR	EIAMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGTKVEIKRTV

[0932]

	抗体C25 (SEQ ID NO: 385-400)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYRMSWVRQAPGKGLEWVSGI

[0933]

	GRSGGRTRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAIAAGRYGMDVWGKGTTVTVSS
LCVR	EIELTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSIRNNYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASYRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGGGTKVEIKRTV

[0934]

	抗体C26 (SEQ ID NO: 401-416)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYRMAWVRQAPGKGLEWVSGISYSGGETLYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDVRWLQGLDNWGQGTLVTVSS
LCVR	EIKLTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHTNGNNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQTLQTPLTFGGGTKVEIKRTV

[0935]

	抗体C27 (SEQ ID NO: 417-432)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGRPGYMDVWGQGTLVTVSS
LCVR	EIVLTQSPSLLSASVGDRVTITCRTSLSIATYLHWYQQKPGRAPKLLIYHASSLQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLLPEDFATYFCQQSYSSPYTFGRGTKLEIKRTV

[0936]

	抗体C28 (SEQ ID NO: 433-448)
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVYGMIWVRQAPGKGLEWVSGIPPSGGVTLYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNYGMDVWGKGTTVTVSS
LCVR	EIALTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGGGTKVEIKRTV

[0937]

	抗体C29
HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYPMTWVRQAPGKGLEWVSTIRGSGGDTWYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWVGRDAWGQGTLVTVSS
LCVR	DIQLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRDSGVPDRFSGSVSGPDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPYTFGQGTKLEIKRTV

[0938] 在下表中,仅HCVR和LCVR序列给出了SEQ ID NO。

[0939]

	抗体C30 (B34) (SEQ ID NO: 563-564)
HCVR	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRQVDKWGQGTLVTVSS
LCVR	DIMLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIHNYLNWIQQTPGKAPKLLVFAASTLQRGVPPRYSGRGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPLTFGGGTKVEIRRTV

[0940]

	抗体C31 (B46) (SEQ ID NO: 565-566)
HCVR	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVA VIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGG YSYSYMAIWGKGTTVTVSS
LCVR	DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISTFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIGSLQPEDFASYFCQQTYSTQWTFGQGTKVEI KRTV

[0941]

	抗体C32 (B104) (SEQ ID NO: 567-568)
HCVR	QVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTNDIIHWVRQAPGQRLEWMG WINAGYGNTQYSQNFQDRVSITRDTSASTAYMELISLRSEDTAVYYCARGY YRSPTWFDWWGQGTLVTVSS
LCVR	ETTLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASS LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYGDYPYTFGQGTKLEI

[0942]

	KRTV

[0943]

	抗体C33 (1C2) (SEQ ID NO: 569-570)
HCVR	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVA VIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD GSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS
LCVR	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISEYLNWYQHKPGKAPNPLVFDAA NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFGQGTRLD IKRTV

[0944]

	抗体C34 (1D7) (SEQ ID NO: 571-572)
HCVR	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAI SGSGGGTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCAREVDG YGAFDIWGQGTMVTVSS
LCVR	DIQMTQSPSSLSASVGNRVTITCRASQTIRNYLNWYQQKPGEAPKVLIYGAS TLQSGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPDDFATYHCQQTFSDPYTFGQGTKVE IKRTV

[0945]

	抗体C35 (1B1) (SEQ ID NO: 573-574)
HCVR	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGGTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGWEVRTPGYFDYWGQGTLVTVSS
LCVR	DVVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASHRIFSYLTWYHQKPGKAPNLLISGASSLGAGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFGTYYCQQSFSDPYTFGQGTKLEIKRTV

[0946]

	抗体C36 (1B4) (SEQ ID NO: 575-576)
HCVR	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARGGALDIWGQGTMVTVSS

[0947]

LCVR	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIHNYLAWYKQKPGQAPKLLIYSASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKRTV

[0948]

	抗体C37 (3F12) (SEQ ID NO: 577-578)
HCVR	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGRQYDFWSGWDWFDPWGQGTLVTVSS
LCVR	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTYLNWYQQKPGKAPKLLIHDASILQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDFATYYCQQSYSTLPYTFGQGTKVEIKRTV

[0949]

	抗体C38 (2B4) (SEQ ID NO: 579-580)
HCVR	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAGSGFTFRDYAMTWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARGEYSSGWPSWFDPWGQGTLVTVSS
LCVR	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTISCRASRTVGTFLNWYQQRPGKPPQALILGVSILEGGVSSRFSGAGSGTEFSLTISSLQPEDIGTYYCQQSHDVPRTFGQGTKVDLRRTV

[0950]

	抗体C39 (8G4) (SEQ ID NO: 581-582)
HCVR	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGI TGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSRNL DSWGQGTLVTVSS
LCVR	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIHNYLNWIQQTPGKAPKLLVFAAST LQRGVPPRYSGRGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPLTFGGGTKVEI RRTV

[0951] 在所有上述序列中,HCVR(重链可变区)序列可以基于所公开的HFR1/CDR-H1/HFR2/CDR-H2/HFR3/CDR-H3/HFR4(N末端至C末端)的序列,加上最N-末端的信号肽序列MHSSALLCCLVLLTGVRA(SEQ ID NO:465)来组装。

[0952] 同样地,LCVR(轻链可变区)序列可以基于所公开的LFR1/CDR-L1/LFR2/CDR-L2/LFR3/CDR-L3/LFR4(N末端至C末端)的序列,加上最N-末端的信号序列MHSSALLCCLVLLTGVRA(SEQ ID NO:465)来组装。

[0953] 一个人类轻链恒定区序列如下所示:

[0954] AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:466)

[0955] 人IgG1重链恒定区序列如下所示:

[0956] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:467)

[0957] 尽管对于本申请中描述的体内测定,仅使用了人IgG1抗IGSF8抗体,但也涵盖了具有其他Ig恒定区(诸如IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM、IgD恒定区)的其他抗IGSF8抗体,并且处于本发明的范围内。

[0958] 实施例8抗IGSF8抗体表现出强大的ADCC效应

[0959] 本实验证明,使用NK细胞作为效应细胞并使用A431癌细胞作为靶细胞,本发明的抗IGSF8抗体表现出强大的ADCC效应。

[0960] 在这里,ADCC(抗体依赖性细胞介导的细胞毒性)代表一种免疫应答,其中抗体通过包覆靶细胞,使它们容易受到免疫细胞的攻击。具体而言,A431癌细胞表面上表达的IGSF8由浓度不断增加的抗IGSF8抗体识别并结合。抗IGSF8抗体的Fc区又由NK细胞上的CD16 Fc受体识别。CD16 Fc受体的交联触发脱颗粒进入溶解性突触。结果,通过凋亡杀伤所靶向的肿瘤细胞。

[0961] 将A431细胞接种在含有RPMI培养基的96孔板中,并与不同浓度的抗IGSF8同种型一起孵育约1小时。然后将活化的来自供体的原代NK细胞以4,000个细胞/孔加入到含有A431细胞和抗体的孔中(靶标:效应器比为1:2.5),并在37℃再孵育4小时。通过乳酸脱氢酶(LDH)释放测定法来确定细胞死亡。

[0962] 为12种所测试的抗体C1-C12中的每一种建立剂量-应答曲线,并确定它们的EC_{50}

值。

[0963] 所有12种所测试的抗IGSF8抗体(C1-C12)针对A431癌细胞显示出约3-12mM范围的ADCC EC_{50}值。

[0964] 实施例9抗IGSF8抗体刺激CXCL10表达

[0965] 上述图4显示,使用CRISPR/Cas9介导的基因编辑使Colo205癌细胞中的IGSF8失活引起Colo205细胞的CXCL10表达/分泌增加了近7-10倍。本实验表明,基于ELISA,将Colo205癌细胞与本发明的抗IGSF8抗体(10μg/mL)一起孵育可类似地引起CXCL10表达/分泌。

[0966] 具体而言,将Colo205癌细胞接种在96孔板中(每孔4,000个细胞),并用RPMI培养基培养12小时,之后以5μg/mL加入测试抗体之一,在37℃下、5%CO_2的湿润环境中孵育24小时。然后收集培养基的上清液进行标准的ELISA测定,以通过使用市售CXCL10 ELISA试剂盒确定培养基中CXCL10的滴度/量。抗体C1-C4、C8和C10均诱导Colo205细胞表达相对高水平的CXCL10。

[0967] 实施例10抗IGSF8抗体显示出体内功效

[0968] 在图3A-3B中,显示了在小鼠异种移植模型中,使用CRISPR/Cas9介导的基因编辑敲除IGSF8引起体内B16-F10黑色素瘤生长迟缓,而不会影响体外肿瘤细胞的生长速率本身。

[0969] 在本实验中,测试了在B16同基因小鼠模型中本发明的代表性抗IGSF8单克隆抗体对肿瘤生长的影响。具体而言,将一百万个B16-F10黑色素瘤细胞皮下注射到野生型(WT)C57BL/6小鼠中。然后从第6天开始,每3天1次通过尾静脉注射,用4种抗IGSF8抗体(C1-C4)之一以2mg/kg的剂量或对照人IgG1治疗小鼠,总共4剂。数据以平均值±s.e.m.表示(n=每组8只小鼠)。

[0970] 显然,在野生型宿主小鼠中,受试抗IGSF8单克隆抗体同样延缓了B16-F10黑色素瘤肿瘤的生长(体积增大),使得至少对于C3和C4,在约18天后与IgG1对照相比的差异变得具有统计学意义($p<0.005$)。参见图10。

[0971] 在裸鼠($Foxn1^{nu}$)中重复了类似的实验,裸鼠缺乏胸腺,并且不能产生成熟的T淋巴细胞,但具有B细胞和稳健的NK细胞应答。本发明抗IGSF8抗体的作用似乎是相似的。在第14天时,C2抗体的作用具有统计学意义($p<0.05$),C4的作用也是如此($p<0.005$)。

[0972] 值得注意的是,在不同组的实验小鼠之间似乎没有任何显著性重量差异(图11),这一结果与使用CRISPR/Cas9敲除IGSF8对肿瘤细胞生长速率本身没有明显影响的事实相一致。

[0973] 实施例11抗IGSF8抗体与抗PD-1抗体的协同抗肿瘤作用

[0974] 本实验表明,在同基因小鼠模型中,本发明的抗IGSF8单克隆抗体和抗PD-1抗体在体内抑制B16-F10黑色素瘤的肿瘤生长方面具有协同效应。

[0975] 具体而言,将一百万个B16-F10黑色素瘤细胞皮下注射到野生型(WT)C57BL/6小鼠中。然后通过尾静脉注射,用四种抗体或抗体组合中的一种治疗小鼠:剂量为2mg/kg的IgG对照、剂量为2mg/kg的抗PD-1抗体、剂量为2mg/kg的抗IGSF8抗体C3、或剂量减半(1mg/kg)的抗PD-1抗体和剂量减半(1mg/kg)的抗IGSF8抗体的组合。第一剂在第6天时施用,并且后续剂次每3天施用1次,总共4剂。数据以平均值±s.e.m.表示(n=每组8只小鼠)。

[0976] 很明显,本发明的抗IGSF8抗体和抗PD-1抗体在体内抑制黑色素瘤生长方面表现

出协同效应,因为对于组合中每个组分以50%剂量(1mg/kg)施用的联合疗法在统计学上显著优于(1)使用两倍剂量(2mg/kg)的仅抗IGSF8抗体C3($p<0.01$)、(2)使用两倍剂量(2mg/kg)的仅市售抗PD-1抗体(克隆29F.1A12,BioXcell)($p<0.005$)以及(3)IgG对照($p<0.001$)。

[0977] 这一令人惊讶的发现有力地表明,同时抑制IGSF8通路和PD-1/PD-L1免疫检查点能在体内协同抑制肿瘤生长。

[0978] 实施例12体内基因筛选以揭示免疫抑制基因

[0979] 本实施例说明了使用开发的混合基因筛选方法来鉴定接受免疫疗法治疗的动物中,增加或降低体内生长的肿瘤细胞的"适应性"的基因(图1A)。

[0980] 具体而言,创建慢病毒载体文库(其编码约6,000种sgRNA)以靶向来自相关功能分类的约1,000个基因,这些基因在小鼠黑色素瘤细胞系B16-F10中以可检测水平表达。该筛选旨在鉴定当由CRISPR/Cas介导的敲减下调时改变肿瘤细胞的适应性评分的基因。

[0981] 在对B16-F10肿瘤细胞进行转导和体外传代以允许基因编辑发生后,将B16-F10细胞移植到野生型C57BL/6小鼠中,然后用人IgG1-Fc片段或者抗PD1、抗PD-L1或抗CTLA4单克隆抗体处理这些小鼠,以产生足以对肿瘤细胞施加免疫选择压力的适应性免疫应答。并行地,在体外维持文库转导的B16-F10细胞。

[0982] 14天后,收集肿瘤和细胞。然后将从经免疫疗法治疗的小鼠中分离出的肿瘤中的文库表现度与体外维持的细胞的文库表现度进行比较。鉴定了免疫抑制基因,当这些免疫抑制基因通过CRISPR缺失时,特异性降低体内(在小鼠中)肿瘤细胞的生长,但不影响体外细胞的生长。

[0983] 在用IgG或PD1、PDL1、CTLA4阻断治疗的肿瘤中,IGSF8以及三种众所周知的免疫调节剂(CD47、PDL1和IFNGR1)明显被消耗(数据未显示)。因此,本实施例表明体内基因筛选找回了已知赋予癌细胞免疫逃逸特性的基因。

[0984] 实施例13IGSF8人Fc融合蛋白抑制活化的来自健康供体的原代NK或T细胞的增殖和细胞溶解活性

[0985] 上面的实施例2证明了IGSF8对NK或T细胞活性的负面影响,因为当与分离自健康供体的原代人NK细胞或T细胞一起孵育时,浓度增加的由人Fc区标记的重组人IGSF8胞外结构域(IGSF8-hFc)降低了随着IGSF8-hFc浓度的这些原代NK或T细胞的活力(剂量应答曲线)。参见图2A和图2B。

[0986] 这里也重复了类似的实验。简言之,使用市售阴性/阳性分离试剂盒(StemCell Technologies,Inc.)从健康供体的外周血单核细胞(PBMC)中分离出原代NK或T细胞。将NK细胞在补充有10%胎牛血清(FBS)、青霉素/链霉素、L-谷氨酰胺、非必需氨基酸、丙酮酸钠、HEPES、2-巯基乙醇、饲养层细胞(ARK company,Hangzhou)和重组人IL-2(1,000IU/mL)的RPMI培养基中培养并激活,并在37℃和5% CO_2条件下孵育。在37℃和5% CO_2条件下,将T细胞在含有人IL-2(1,000IU/mL)的TexMACS培养基中培养,并且用抗CD3和抗CD28 mAb每周激活一次。

[0987] 然后将原代NK细胞接种在96孔板中(每孔约3,000个细胞)并培养18至24小时,之后再加入IGSF8-hFc融合蛋白(5μg/mL)或人Fc蛋白(5μg/mL,作为阴性对照)。72小时后,通过细胞计数试剂盒8(CCK8)方法以三个生物学重复测定细胞活力。实验中使用了两个生物学重复的重组IGSF8人Fc融合蛋白IGSF8-hFc0601和IGSF8-hFc0604。结果再次表明,IGSF8-

hFc融合蛋白以剂量依赖性的方式抑制原代NK细胞的细胞增殖，具有统计学意义($p<0.005$)。参见图2C。

[0988] 为了进一步了解IGSF8-hFc融合蛋白抑制NK细胞活性的机制，对用hFc(5μg/mL，阴性对照)或IGSF8-hFc蛋白(5μg/mL)处理24小时的NK细胞进行RNA-seq。通过比较这两组细胞之间的差异基因表达，将细胞周期基因通路鉴定为最富集的基因本体论(GO)条目，其在用IGSF8-hFc蛋白处理的NK细胞中相对于用hFc蛋白处理的NK细胞中下调(图2D)。然而，在用IGSF8-hFc处理的NK细胞中，没有细胞死亡基因通路显著下调。在图2E中示出了用IGSF8-hFc融合蛋白或hFc对照蛋白处理的NK细胞中基因的相对mRNA表达。这些结果与PBMC细胞中的细胞增殖测定结果一致(参见图2F，其中IGSF8-hFc融合蛋白抑制NK细胞从第2次分裂及以后的增殖)。

[0989] 同时，对于T细胞增殖测量，按照生产商的说明书用CFSE(Thermo)标记$CD4^+$T细胞，之后加入IGSF8-hFc融合蛋白(5μg/mL)或人Fc蛋白(5μg/mL，作为阴性对照)，并将T细胞再培养24小时。通过流式细胞术对数据进行分析。有意思的是，IGSF8-hFc处理也明显抑制了$CD4^+$T细胞的增殖(图2G)。

[0990] 由于通过RNA-seq发现在用IGSF8-hFc处理的NK细胞中代表活化NK细胞的细胞溶解活性的几个基因(Gzmb、Prf1等)的活性显著降低(图2E)，因此对NK细胞的细胞溶解活性进行分析，以查看IGSF8-hFc处理是否会影响这种活性。

[0991] 使用NK细胞和K562细胞的细胞共培养模型，发现NK细胞的细胞溶解活性因IGSF8-hFc处理而显著受损(图13A)，这是由于IGSF8-hFc处理后NK细胞中的穿孔素表达的消耗(图13B)。

[0992] 此外，使用CD69作为激活标志物，$CD4^+$T细胞活化也受到IGSF8-hFc处理的强烈抑制(图2H)。

[0993] 总之，这些数据有力地表明，IGSF8-hFc融合蛋白作为NK细胞或T细胞介导的免疫应答的抑制物发挥作用。因此，该融合蛋白可用作治疗剂以下调不需要的T细胞和/或NK细胞介导的免疫反应，例如治疗自身免疫性疾病或器官移植的急性排斥。

[0994] 实施例14重组IGSF8与活化的NK细胞和T细胞的结合增加

[0995] 本实施例表明NK细胞和T细胞都表达IGSF8的受体。

[0996] 在本实验中，构建了表达融合蛋白的载体，该融合蛋白由融合至8×His标签(用于纯化)和AVI标签(通过生物素蛋白连接酶(GeneCopoeia)进行生物素化)的人IGSF8胞外结构域组成。然后使用纯化的含有生物素的重组蛋白通过流式细胞术分析来检测NK/T细胞上是否存在推定的IGSF8受体。

[0997] 尽管带标签的重组IGSF8与新鲜分离的人NK/T细胞结合较弱，但约40％的由饲养层细胞共培养激活的$CD56^+$NK细胞和约20％的由抗CD3 mAb刺激的$CD4^+$T细胞染色阳性(FACS数据未显示)。

[0998] 这些数据表明，活化的人NK和T细胞都表达IGSF8的一种或多种推定受体。

[0999] 实施例15IGSF8在靶细胞表面上的表达影响原代NK细胞的细胞溶解活性

[1000] 本实施例证明了IGSF8在靶细胞表面上的表达可以调节NK细胞的杀伤活性。

[1001] 在本实验中，使用了NK细胞-K562共培养模型，其中选定MHC-I缺陷型K562细胞系(一种已知的NK敏感细胞系)作为NK细胞介导性杀伤的靶细胞系。具体而言，将原代NK细胞

接种在96孔板中(每孔10,000个细胞),并以E/T比＝5:1与K562细胞共培养2小时。用7-AAD(Biolegend)对死亡细胞进行染色,之后通过流式细胞术对细胞进行分析。NK细胞的细胞毒性通过以下方式计算,NK细胞毒性(%)＝(与NK细胞共培养的7-AAD+%(死亡)K562细胞)-(未与NK细胞共培养的自发7-AAD+%(死亡)K562细胞)。

[1002] 第一,通过慢病毒递送IGSF8表达构建体在K562细胞上强迫表达IGSF8蛋白很大程度上保护表达IGSF8的K562细胞免受原代NK细胞杀伤。参见图14。在本实验中使用了来自两名不相关供体的NK细胞。

[1003] 第二,通过慢病毒介导的CRISPR/Cas9敲减K562细胞中任何内源性IGSF8表达导致的IGSF8表达丧失,使K562细胞对获自两名不相关供体的原代NK细胞的敏感性明显提高(图14)。这一结果非常可靠,并且与使用来自十名不同供体的原代NK细胞时的相同测定中的结果一致(数据未显示)。

[1004] 这些数据表明,IGSF8是一种调节NK细胞介导的免疫监视的新型关键检查点基因,并且在缺乏MHC I类的癌细胞上过表达IGSF8可以逃避NK细胞介导的癌症免疫监视。

[1005] 实施例16结构域1是IGSF8抑制NK细胞免疫的主要功能性结构域

[1006] 本实施例证明了IGSF8的结构域1(而非其他细胞外部分)对于抑制NK细胞介导的杀伤是至关重要的。

[1007] IGSF8有4个Ig样拓扑胞外结构域。请参见下面的结构域组成。

[1008]

IGSF8蛋白	氨基酸位置	说明
信号肽	1-27	-
拓扑结构域1(D1)	28-149	Ig V组结构域
拓扑结构域2(D2)	162-286	Ig样C2结构域
拓扑结构域3(D3)	303-424	Ig样C2结构域
拓扑结构域4(D4)	431-560	Ig样C2结构域
跨膜结构域(TM)	580-600	-
胞质尾	601-613	-

[1009] 构建了IGSF8的两个截短形式,一个是(“D1”),表达第一(最外侧)胞外结构域D1,另一个是(“D24”),表达更靠近跨膜结构域的其余三个(D2-D4)胞外结构域。参见图15A。两种构建体都在K562细胞上强迫表达,用于如实施例14和15中的共培养实验。

[1010] 证明了含有Ig V组结构域的IGSF8的第一结构域(D1)是NK细胞结合的主要功能性结构域(图15B),而不含D1结构域的截短型IGSF8蛋白(D24)完全丧失了IGSF8对NK细胞免疫的抑制功能(图15B)。

[1011] 这一数据表明,D1结构域是负责NK细胞抑制的主要(如果不是唯一的)功能性结构域。通过各种类型的抑制剂(例如,小分子、抗体、肽或核酸)靶向D1结构域可以调节(抑制)基于NK细胞的免疫疗法。

[1012] 实施例17KIR3DL1/2和KLRC1&D1异二聚体是NK细胞的IGSF8受体

[1013] 本实施例证明了KIR3DL1/2和KLRC1&D1异二聚体是NK细胞上的IGSF8受体,并且是调节IGSF8介导的NK细胞免疫的潜在药物靶标。

[1014] 实施例14显示重组IGSF8蛋白可以稳定地结合活化的原代NK细胞,表明NK细胞表达IGSF8的一种或多种受体。

[1015] 为了鉴定IGSF8受体，对分离自健康供体的原代NK细胞中所有人细胞表面蛋白进行了CRISPR筛选。具体而言，在用慢病毒CRISPR文库转导细胞后，使用荧光激活细胞分选术(FACS)分离IGSF8高或低结合的细胞，随后进行高通量gRNA测序。随后使用基于模型的全基因组CRISPR/Cas9敲除(MAGeCK)软件对gRNA读段进行计数，并在IGSF8高结合和低结合细胞样品之间进行基因/gRNA倍数变化、选择得分和统计分析。参见图16A。

[1016] 基于上述分析，将KIR3DL2鉴定为最佳命中，并且还显示KIR3DL1、KLRC1为离群命中，表明这些基因在NK细胞上的表达丧失降低了IGSF8结合(图16B)。

[1017] KIR3DL2和KIR3DL1都属于杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR)，它们是在自然杀伤(NK)细胞和少数T细胞的质膜上表达的I型跨膜糖蛋白家族。至少有15个基因和2个假基因编码KIR家族蛋白，它们定位于人类染色体19q13.4上白细胞受体复合物(LRC)的150-kb区域。认为KIR受体通过与所有有核细胞类型上表达的主要组织相容性(MHC)I类分子相互作用来调节这些细胞的杀伤功能。大多数KIR是抑制性的，因为它们对MHC分子的识别导致表达KIR的NK细胞的细胞毒活性受到抑制。这些抑制性KIR具有相对较长的胞质尾(因此它们的基因名称中有“L”)，具有一个或两个所谓的ITIM基序。只有数量有限的KIR是激活性的，因为它们对MHC分子的识别激活了表达激活性KIR的NK细胞的细胞毒性活性。这些激活性KIR具有短的胞质尾(因此它们的基因名称中有“S”)，不含ITIM基序。激活性KIR(aKIR)的一个共同特征是在其跨膜区存在带电残基(Lys)，这使得它们可以与含有免疫受体酪氨酸激活基序(ITAM)的信号传导衔接蛋白KARAP/DAP12缔合。

[1018] KLRC1(杀伤细胞凝集素样受体，亚家族C，成员1)，作为选择性剪接变体亦称为NKG2A或NKG2B，是跨膜蛋白家族中的一员，优先且主要在NK细胞中表达，并参与调节NK细胞功能，其特征在于独特的II型膜取向(细胞外C末端)和存在C型凝集素结构域。NKG2基因在T细胞中也受到差异化调节。这些蛋白质的有限分布及其与已知受体分子的序列相似性适合其作为NK细胞受体的功能。像KIR受体一样，NKG2A具有2个ITIM，与SHP1或SHP2相互作用。NKG2A通常在所有NK细胞的大约一半以及$CD8^+$T细胞的子集上表达。NKG2A还识别HLA-E，这是一种序列变异性有限的非经典MHC分子。

[1019] KLRD1(杀伤细胞凝集素样受体，亚家族D，成员1)，亦称为CD94，在NK细胞系中表达为0.8、1.8和3.5kb的3种主要转录本以及5.5kb的次要转录本。与KLRC1一样，KLRD1也是一种不寻常的II型膜蛋白，具有外部C末端。所预测的蛋白质包含一个147个氨基酸的胞外结构域，其中具有几个C型凝集素特征性的基序、26个氨基酸的跨膜结构域，并且除了一个7个氨基酸的胞质结构域外基本上没有胞质尾。CD94与NKG2家族蛋白(包括NKG2A(KLRC1))具有较低的序列同一性(27％至32％)。几乎不存在胞质结构域与以下发现相一致，即KLRD1/CD94必须与KLRC1形成异二聚体以结合IGSF8。已经证明KLRD1与NKG2A(KLRC1)、NKG2C和NKG2E形成二硫键键结的异二聚体。此外，发现HLA-E四聚体与来自外周血的自然杀伤(NK)细胞和T细胞的小子集结合，这可能是通过与CD94/NKG2A(KLRD1/C1异二聚体)、CD94/NKG2B和CD94/NKG2C NK细胞受体结合，但HLA-E四聚体不与NK细胞受体KIR的免疫球蛋白家族结合。

[1020] 由于在KIR受体家族中KIR受体具有强的同源性，因此进行了进一步的实验以表明IGSF8特异性结合KIR3DL1/2。

[1021] 对于本实验，首先将不同的人KIR受体(KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR2DL4、

KIR2DL5A、KIR2DL5B、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3)克隆到含有thy1.1标签的专有慢病毒载体中(图17A)。然后用这些慢病毒构建体转导小鼠CT26细胞,并用生物素标记的重组IGSF8 hFc融合蛋白测试IGSF8结合。使用抗thy1.1 mAb(Biolegend)通过流式细胞术,以CT26细胞上不同KIR的表达将IGSF8与不同CT26细胞结合的平均荧光强度(MFI)进行标准化。

[1022] 结果证明了IGSF8与表达KIR3DL1和KIR3DL2的CT26细胞结合的选择性,因为在该实验条件下未观察到或最多只能观察到与其他KIR受体(KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR2DL5A、KIR2DL5B、KIR3DL3)的弱结合(图17B)。

[1023] 像其他失活性KIR一样,KIR3DL1/2的胞质尾包含由序列"VTYAQL"构成的ITIM基序,表明KIR3DL1/2是IGSF8的抑制性受体,其可以作为癌症免疫治疗的检查点受体靶标。

[1024] 由于KLRC1在之前的筛选中也显示为命中,因此进行了附加实验以确认这也是IGSF8的受体。

[1025] KLRC1在其细胞内结构域中也含有ITIM基序,并且已知是NK细胞或$CD8^+$T细胞的抑制性受体,作为细胞表面上与KLRD1的异二聚体的一部分。本文提供的数据表明IGSF8特异性结合由KLRC1和KLRD1共转染的细胞,但不结合单独用KLRC1或KLRD1慢病毒构建体转导的细胞(图17C&17D)。具体而言,用含有2% FBS的PBS缓冲液洗涤过表达抗原(KIR或KLR)的100,000个CT26细胞,并与100μL IGSF8重组蛋白或抗体(5μg/mL)在冰上孵育30分钟。然后用洗涤缓冲液洗涤细胞两次,并与100μL的1:100抗人Fc-PE抗体在冰上孵育15分钟。将细胞用洗涤缓冲液洗涤两次,并在FACS分析仪(CytoFlex,Beckman)上进行分析。在这些实验中,使用抗thy1.1 mAb通过流式细胞术,以CT26细胞上不同KLR的表达将IGSF8与不同CT26细胞结合的平均荧光强度(MFI)进行标准化。

[1026] 与实施例16中的数据一致,IGSF8蛋白的D1结构域特异性结合细胞表面上的KIR3DL1/2和KLRC1&D1异二聚体受体,而不含D1结构域的IGSF8蛋白无法结合这些受体(图17E)。

[1027] 总之,这些数据表明KIR3DL1/2和KLRC1&D1异二聚体受体都是NK细胞或T细胞上IGSF8的抑制性受体,并且IGSF8的D1结构域是介导这些受体相互作用的关键结构域。

[1028] 实施例18重组IGSF8特异性结合KIR3DL1/2的结构域2

[1029] 本实施例证明了KIR3DL1/2的结构域2对于IGSF8结合至关重要。

[1030] 像IGSF8一样,KIR3DL1/2受体也有数个Ig样C2拓扑胞外结构域。请参见下面的结构域组成。

[1031]

KIR3DL1/2蛋白	氨基酸位置	说明
信号肽	1-21	-
拓扑结构域1 (D1)	42-102	Ig样C2结构域

[1032]

拓扑结构域2 (D2)	137-202	Ig样C2结构域
拓扑结构域3 (D3)	237-300	Ig样C2结构域
跨膜结构域 (TM)	341-360	-
胞质尾	361-444/455	-

[1033] 如图18A所示,KIR3DL1和KIR3DL2具有非常相似的拓扑结构。将不同截短形式的KIR3DL1/2基因克隆并构建到慢病毒载体中(参见图17A),接着对小鼠CT26细胞进行慢病毒转导,并用生物素标记的重组IGSF8蛋白测试IGSF8结合。通过流式细胞术,以不同CT26细胞上thy1.1标签的表达将IGSF8与不同CT26细胞结合的平均荧光强度(MFI)进行标准化。

[1034] 证明了IGSF8与KIR3DL1和KIR3DL2蛋白的结构域2(D2)结合的选择性,因为IGSF8与含有两个末端KIR结构域的D12构建体的结合等于与全长KIR3DL1/2蛋白的结合,但在IGSF8与仅含有末端D1/D3结构域的D1/D3构建体之间未观察到结合(图18B)。

[1035] 这一数据表明,KIR3DL1/2的中间D2结构域是要由IGSF8结合的主要(如果不是唯一的)功能性结构域。因此,通过各种类型的抑制剂(例如,小分子、抗体、肽或核酸)靶向KIR3DL1/2的中间D2结构域可以调节(抑制)基于NK细胞的免疫疗法。

[1036] 实施例19S165、I171和M186是实现KIR3DL1/2与IGSF8阻断的三个关键氨基酸

[1037] 本实施例表明,KIR3DL1/2中的三个残基在与IGSF8相互作用中发挥重要作用,并且可能是设计阻断IGSF8与KIR3DL1/2结合的抑制剂(小分子、抗体、肽或核酸等)的关键。

[1038] 尽管在KIR家族中KIR受体具有强的序列同源性,但实施例17中的数据表明IGSF8仅选择性结合许多KIR受体中的两种-KIR3DL1和KIR3DL2,这表明IGSF8与特定KIR受体的结合可能由KIR3DL1/2中的非保守性残基介导。

[1039] 因此,进行了KIR蛋白的多重序列比对,结果如图19A所示。此外,从PDB数据库中获得了KIR3DL1(3VH8)蛋白的晶体结构(图19B)。基于这些信息和对结合的进一步突变筛选,在KIR3DL1/2中成功鉴定了对IGSF8结合发挥重要作用的三个关键氨基酸(S165、I171和M186)。KIR3DL1/2中所有S165A、I171A突变和M186A突变都显著影响IGSF8与KIR3DL1/2受体的结合(图20)。

[1040] 该数据说明这三个残基对于IGSF8结合很重要,并且可能是设计用于阻断KIR3DL1/2和IGSF8相互作用的抑制剂的关键。

[1041] 实施例20抗IGSF8单克隆抗体(mAb)的表征

[1042] 使用专有的计算机辅助设计算法通过计算机模拟生成了许多针对IGSF8的单克隆抗体,该算法部分上通过利用人类B细胞受体(BCR)库中的可用序列,生成了针对不同靶标的全人单克隆抗体的序列。这项技术能够快速设计出许多针对靶抗原的给定功能性结构域的单克隆抗体。例如,通过这种方法生成了超过一百种针对人IGSF8的人单克隆抗体。在获得这些抗体的重链和轻链序列后,使用CHO细胞表达基于这些序列的单克隆抗体,并通过Biacore T100使用表面等离子体共振(SPR)进一步筛选与全长IGSF8或IGSF8的D1结构域的高亲和力结合物。选定结合亲和力(K_D)小于50nM的抗体进行进一步测试,以通过荧光激活细胞分选术(FACS)确定其结合细胞表面上表达的IGSF8的能力。与通过Biacore测量的结合相比,结合细胞表面表达的靶抗原(即,在这种情况下为IGSF8)的能力代表更真实的结合。

[1043] 对于基于细胞表达抗原的抗体结合测定,用含有2% FBS的PBS缓冲液洗涤100,000个过表达抗原(全长IGSF8或其D1结构域)的细胞,然后与100μL不同浓度的抗体或IgG在冰上孵育30分钟。然后用洗涤缓冲液洗涤细胞两次,并与100μL的1:100抗人Fc-PE抗体在冰上孵育15分钟。将细胞用洗涤缓冲液洗涤两次,并在FACS分析仪(CytoFlex,Beckman)上进行分析。

[1044] 在所测试的约100个序列中,发现10种不同的单克隆抗体能够结合D1结构域和全

长IGSF8两者,其中基于Biacore T100测量,它们的K_D值小于50nM(表1)。

[1045] 表1

[1046] 通过Biacore T100的SPR测试

[1047]

	K_D (nM)
mAb-B34 (C30)	13.8
mAb-B46 (C31)	7.29
mAb-B104 (C32)	25.9

[1048]

mAb-1C2 (C33)	33.2
mAb-1D7 (C34)	2.12
mAb-1B1 (C35)	2.06
mAb-1B4 (C36)	4.57
mAb-3F12 (C37)	22.5
mAb-2B4 (C38)	3.83
mab-8G4 (C39)	34.4

[1049] 然而,基于Biacore测量,这些高亲和力结合物中有三种与细胞表面表达的IGSF8结合较弱或基本上没有结合,因此从进一步的功能分析中去除。

[1050] 其余7种抗体显示出与CT26细胞表面上表达的人IGSF8蛋白具有强的结合(1-10nM水平)。更重要的是,且与实施例16中的数据一致,所有这些抗IGSF8抗体也显示出与IGSF8的D1结构域特异性结合(图21和22)。

[1051] 然后设计了一种竞争测定(图23A)来测试这七种mAb是否阻断IGSF8与KIR3DL1/2或KLRC1&D1异二聚体受体的结合。用CFSE(羧基荧光素琥珀酰亚胺酯,Thermo)标记MC38细胞(一种源自来自NIH的C57BL6鼠结肠腺癌细胞的细胞系),该细胞通过慢病毒递送人IGSF8表达构建体而在细胞表面上强迫表达IGSF8蛋白。将强迫表达KIR3DL1/2或KLRC1&D1的CT26细胞用CellTrace Far Red(Thermo)标记。然后将MC38细胞与CT26细胞以1:1的比例在室温混合约1小时。通过流式细胞术评估MC38和CT26的细胞/细胞缀合物的形成。

[1052] 基于这一分析,结果表明1B4、3F12、2B4和B46 mAb可以与IGSF8竞争结合MC38细胞上的KIR3DL2(图23B),因为MC38和CT26的细胞/细胞缀合物的数量显著减少。同时,所有这七种单抗都可以阻断IGSF8结合MC38细胞上的KLRC1&D1(图23C)。这些数据表明,所有这些靶向IGSF8的D1结构域的mAb都在功能上阻断了IGSF8与其在NK细胞或T细胞上的细胞表面受体的结合。

[1053] 实施例21在K562-NK共培养中用B46和B104 mAb处理恢复了NK细胞的细胞溶解活性

[1054] 本实施例证明了抗IGSF8单克隆抗体可以恢复受IGSF8抑制的NK细胞的细胞溶解活性。

[1055] 图24A中所示的功能测定旨在进一步筛选针对IGSF8或KIR3DL1/2的功能性分子。在实施例4中，显示了通过慢病毒递送在K562细胞上强迫表达IGSF8很大程度上保护了K562细胞免受原代NK细胞介导的杀伤。在此，在这种共培养模型中，IGSF8表达所赋予的保护作用由抗IGSF8 mAb处理逆转。

[1056] 为了在实验中排除IgG1-Fc介导的抗体依赖性细胞毒性(ADCC)的混杂因素，在该测定中使用了N297A突变型IgG1-Fc，已知其在很大程度上丧失了人IgG1的ADCC作用。如图24B所示，用B46和B104 mAb处理显著恢复了NK细胞的细胞溶解活性。

[1057] 实施例22B46和B104 mAb显示出体内抗肿瘤功效

[1058] 由于B46和B104 mAb都可以与人和小鼠IGSF8结合，因此使用B16-F10同基因小鼠模型测试了它们在体内抑制IGSF8-KIR3DL1/2结合的能力。

[1059] 具体而言，将约一百万个B16-F10黑色素瘤细胞皮下注射到野生型(WT)C57BL/6小鼠中。然后通过尾静脉注射，从肿瘤细胞接种后第7天开始，每3天1次，以约4mg/kg的剂量分别用两种抗IGSF8 mAb中的一种和一种同种型匹配的对照抗体处理三组小鼠(n＝每组8只小鼠)，总共四剂。数据以平均值±s.e.m.表示。

[1060] 如图25A所示，与同种型匹配的对照相比，用B46和B104 mAb治疗B16肿瘤显著且大幅降低肿瘤生长。更引人注目的是，接受B46 mAb治疗的八只小鼠中有两只在治疗后实现了完全应答(CR)，未检测到肿瘤(图25B)。

[1061] 实施例23向代表性小鼠模型施用抗IGSF8抗体和抗PD-1抗体的协同抗肿瘤作用

[1062] 检查点抑制剂是针对选定的人类恶性肿瘤的公认治疗方法。一项主要的研究工作一直是寻找可以增强该通路免疫活性的其他治疗方法。鉴于这些特征，在实施例11中研究了IGSF8与基于T细胞的免疫治疗剂-抗PD-1抗体组合的潜力。来自该实施例的结果表明，在同基因小鼠模型中，抗IGSF8单克隆抗体和抗PD-1抗体在体内抑制B16-F10黑色素瘤的肿瘤生长方面表现出协同效应。

[1063] 本实施例使用CT-26(结肠癌)和LLC(Lewis肺癌)癌细胞系提供了进一步的证据来证明由于IGSF8单克隆抗体和抗PD-1单克隆抗体的组合而引起协同活性增强(图26A&26B)。

[1064] 具体而言，将约一百万个CT26或LLC细胞皮下注射到野生型(WT)C57BL/6小鼠中。然后通过尾静脉注射，用四种抗体或抗体组合中的一种治疗小鼠：剂量为2mg/kg的IgG对照；剂量为2mg/kg的抗PD-1抗体；剂量为2mg/kg的抗IGSF8抗体B46；或剂量减半(1mg/kg)的抗PD-1抗体和剂量减半(1mg/kg)的抗IGSF8抗体B46的组合。第一剂在肿瘤细胞接种后第6天时施用，并且后续剂次每3天施用1次，总共4剂。数据以平均值±s.e.m.表示(n＝每组8只小鼠)。

[1065] 抗IGSF8抗体和抗PD-1抗体的组合在体内抑制B16黑色素瘤生长方面表现出协同效应，因为当以50％剂量(1mg/kg)施用组合中每个组分时，该联合疗法在统计学上显著优于(1)两倍剂量(2mg/kg)的仅抗IGSF8抗体B46($p<0.01$)、(2)两倍剂量(2mg/kg)的仅市售抗PD-1抗体(克隆29F.1A12,BioXcell)($p<0.005$)以及(3)IgG对照($p<0.001$)。

[1066] 而且，与接受抗-PD-1mAb或IgG对照治疗的肿瘤相比，用抗IGSF8B46 mAb治疗的LLC肿瘤中活化NK细胞的基因标志物显著增加(图27)，表明在抗IGSF8 B46治疗后LLC肿瘤中存在更多活化NK细胞浸润。

[1067] 这些数据与之前的发现一致，其表明IGSF8的丧失或抑制重塑了肿瘤微环境，并重

新激活了体内NK细胞介导的抗肿瘤功能。

[1068] 虽然不希望受到任何特定理论的束缚,但这一机制有助于阐明抗IGSF8治疗与抗PD-1治疗联合应用所表现出的协同抗肿瘤作用的潜在原因。

[1069] 这些结果表明,将IGSF8拮抗剂与基于T细胞的免疫检查点抑制或基于靶向疗法的靶标的拮抗剂联合应用可能对多种癌症治疗有效。

[1070] 实施例24生成IGSF8全人单克隆抗体

[1071] 使用专有的计算机辅助设计算法通过计算机模拟生成了许多针对IGSF8的单克隆抗体,该算法部分上通过利用人类B细胞受体(BCR)库中的可用序列,生成了针对不同靶标的全人单克隆抗体的序列。这项技术能够快速设计出许多针对靶抗原的给定功能性结构域的单克隆抗体。

[1072] 使用这种方法,生成了超过一百种针对人IGSF8的人单克隆抗体。在通过计算机模拟获得这些抗体的重链和轻链序列后,使用CHO细胞表达基于这些序列的单克隆抗体,并通过Biacore T100使用表面等离子体共振(SPR)进一步筛选与全长IGSF8或IGSF8的D1结构域的高亲和力结合物。选定具有小于50nM的高结合亲和力(K_D)的抗体进行进一步测试,以通过荧光激活细胞分选术(FACS)确定其结合细胞表面上表达的IGSF8的能力。与通过Biacore测量的结合相比,结合细胞表面表达的靶抗原(即,在这种情况下为IGSF8)的能力代表更真实的结合。

[1073] 在所测试的约100个序列中,选定了两种抗体(L1、L2)进行进一步研究。L1和L2的序列分别列于表D的L1-01中和表G的L2-01中。

[1074] 实施例25针对Ab重链和轻链的CDR的诱变研究

[1075] 为了研究抗体重链和轻链的CDR区内有助于结合IGSF8靶抗原的氨基酸,选定来自L1和L2抗体(参见实施例24)的重链和轻链CDR1、2、3,通过使用简并密码子NNK进行随机化(图28)。

[1076] 首先生成针对每个CDR区的六个子文库,随后进行两轮噬菌体展示筛选。通过Illumina高通量测序平台进一步评估噬菌体淘选前后的文库。为了对影响与IGSF8结合的每个突变体的阳性或阴性选择进行综合分析,计算并绘制了重链和轻链CDR每个位置内每个突变的频率的倍数变化(图29-36)。请注意,对于每个CDR区中的每个残基,都测试了所有19种可能的突变。

[1077] 热图显示了重链和轻链CDR内对结合IGSF8重要的关键位置,例如L1-VH中的D53、D54、D99、G100G、A106、F107、D108和I109在阴性选择中富集,表明该区域/这些残基中的突变降低了抗体亲和力。参见图29。

[1078] 为了进一步验证经确定为结合所必需的突变体(基于以上阴性选择),选定了L1抗体的8个突变体和L2抗体的10个突变体以在CHO细胞中进一步表达,并通过表面等离子体共振(SPR)测试了它们与IGSF8的结合亲和力。表1和3显示突变体降低了亲和力。

[1079] 基于突变体的阳性选择,进一步优化了L1和L2抗体的亲和力。对L1的32个序列和L2的9个序列进行了测试,并证实它们可以大幅提高抗体亲和力(表2和4)。

[1080] 通过表面等离子体共振(SPR)测定L1和L2抗体与IGSF8重组蛋白的结合亲和力。简言之,将抗人Fab抗体固定在羧基衍生化SPR芯片表面上,并以5μg/ml的浓度在所得表面上捕获抗体30秒。然后将不同浓度(0nM、3.7nM、11.1nM、33.3nM、100nM和300nM)的IGSF8-hFc

蛋白流过该表面，并允许其在解离阶段与抗IGSF8抗体结合。使用1:1结合模型拟合数据，并将代表性结果总结在表1-4中。

[1081] 表1.L1重链或轻链上降低亲和力的代表性突变

[1082]

	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K_D (M)
L1-01	1.97E+05	2.47E-03	1.26E-08
L1VH-W52L	1.93E+04	1.65E-02	8.55E-07
L1VH-D53Y	4.61E+04	1.68E-02	3.65E-07
L1VH-D54T	2.29E+03	1.31E-03	5.71E-07
L1VH-D99N	1.78E+04	2.46E-03	1.38E-07
L1VL-P46L	2.75E+04	3.41E-03	1.24E-07
L1VL-Q24H	5.37E+04	7.75E-03	1.44E-07
L1VL-V48D	3.24E+04	2.30E-02	7.08E-07
L1VL-Y91F	4.50E+03	1.45E-03	3.21E-07

[1083] 表2.亲和力增强的L1衍生抗体

[1084]

	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
L1-01	1.97E+05	2.47E-03	1.26E-08
L1-02	3.00E+05	1.27E-03	4.22E-09
L1-03	2.93E+05	1.72E-03	5.88E-09
L1-04	3.00E+05	2.20E-03	7.33E-09
L1-05	2.41E+05	1.48E-03	6.17E-09
L1-06	4.53E+05	1.04E-03	2.30E-09
L1-07	3.32E+05	4.45E-04	1.34E-09
L1-08	4.37E+05	2.53E-03	5.78E-09
L1-09	4.08E+05	2.23E-03	5.47E-09
L1-10	3.01E+05	1.96E-03	6.52E-09
L1-11	3.39E+05	2.40E-03	7.08E-09
L1-12	4.61E+05	1.42E-03	3.08E-09
L1-13	4.43E+05	2.16E-03	4.88E-09

[1085]

L1-14	3.81E+05	2.44E-03	6.41E-09
L1-15	3.62E+05	1.55E-03	4.28E-09
L1-16	3.33E+05	1.11E-03	3.33E-09
L1-17	3.18E+05	1.20E-03	3.78E-09
L1-18	2.85E+04	2.68E-04	9.40E-09
L1-19	1.54E+05	7.05E-04	4.58E-09
L1-20	3.29E+05	7.02E-06	2.14E-11
L1-21	4.06E+05	2.72E-03	6.71E-09
L1-22	1.23E+05	3.63E-04	2.94E-09
L1-23	5.06E+05	1.19E-06	2.35E-12
L1-24	4.50E+05	3.06E-06	6.80E-12
L1-25	4.92E+05	2.20E-03	4.46E-09
L1-26	5.03E+05	4.97E-04	9.87E-10
L1-27	4.44E+05	8.35E-04	1.88E-09
L1-28	3.67E+05	4.28E-07	1.17E-12
L1-29	3.81E+05	4.25E-06	1.12E-11
L1-30	4.72E+05	3.03E-06	6.42E-12
L1-31	2.10E+05	7.80E-07	3.71E-12
L1-32	3.12E+05	6.56E-06	2.10E-11
L1-33	2.76E+05	8.01E-06	2.90E-11

[1086] 表B:L1 VH的CDR中不对L1结合产生负面影响的容许氨基酸置换(参见图29)

[1087]

位置	原始氨基酸	容许氨基酸
CDR1		
26	G	A、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y
27	F	A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T或W
28	T	A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y
29	F	A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T或W
30	S	A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、V或W
31	T	C、D、E、F、G、H、I、L、N、P、Q、T、V、W或Y
32	Y	A、D、E、F、G、I、K、L、M、P、Q、R、S、T、V、W

[1088]

		或Y
33	G	E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、W或Y
34	M	A、C、D、E、F、G、H、M、N、P、Q、R、S、W或Y
35	H	A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、S、T、V或W
CDR2		
50	V	C、D、F、H、I、K、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
51	I	A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、W或Y
52	W	A、D、E、F、H、I、K、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y，例如R
53	D	C或D
54	D	A、D、E、F或G，例如G、E或A，最优选为G
55	G	D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、T、W或Y
56	S	C、F、H、K、P、R、S、T、W或Y，例如K或R，最优选为K
57	Y	A、D、E、F、G、I、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y
58	K	A、C、D、F、G、H、I、K、L、P、Q、S、V、W或Y
59	Y	A、G、I、L、M、P、R、V、W或Y
60	Y	A、E、G、I、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y
61	G	E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、T、V、W或Y，例如V
62	D	C、D、F、I、K、L、M、P、Q、R、S、T或W
63	S	A、D、E、F、H、K、L、M、P、Q、S、V、W或Y
64	V	C、F、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如F
65	K	A、C、D、F、G、H、K、L、M、S、V、W或Y
66	G	E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、W或Y
CDR3		
97	A	A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、W或Y
98	R	A、C、D、E、F、H、L、M、N、P、Q、R、V、W或Y
99	D	C、D、F、I或Q
100	G	E、F、G、H、I、K、L、M、N、P或Q
101	S	A、D、E、F、H、I、K、L、M、P、Q、S、T、V、W或Y
102	G	A、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、W或Y
103	W	A、D、E、F、H、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y，例如Y
104	G	A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、W或Y
105	Y	A、E、G、I、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y
106	A	A、C、E、F、H、I、K、L、M、N、Q或R
107	F	D、F、G、H、M、N、P、R、T或W
108	D	C、D、F、K、L、M、P、Q、R或W，例如R或K
109	I	G、H、I、K、M、P、Q、R、W或Y

[1089] 在上表中，“例如”之后的残基是与原始残基相比结合增强的残基变化。

[1090] 表C:L1 VL的CDR中不对L1结合产生负面影响的容许氨基酸置换(参见图31)

[1091]

位置	原始氨基酸	容许氨基酸
CDR1		
24	Q	A、C、D、E、F、G、I、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y
25	A	A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y
26	S	A、D、E、F、H、K、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y
27	Q	A、C、D、E、F、G、I、K、L、M、N、Q、S、T、V、W或Y
28	D	A、C、D、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V或W
29	I	A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、P、Q、R、V、W或Y
30	S	C、D、E、F、G、K、L、M、R、S、T、V、W或Y，例如E、G、K、M、T、V或W
31	E	C、D、E、F、G、H、I、L、M、P、Q、S、T、V、W或Y，例如D、F、G、L、M、P、Q、S、T、V、W或Y
32	Y	A、C、F、G、H、I、Q、S、T、W或Y，例如A、C、G、Q、S、T或W，最优选为W
33	L	A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、W或Y
34	N	A、C、D、E、F、G、H、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
CDR2		
45	N	A、C、D、E、F、G、K、L、M、N、P、Q、R、S、V、W或Y
46	P	A、C、D、E、F、G、I、K、M、N、P、Q、R、S、V、W或Y
47	L	A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、N、S、T、V、W或Y
48	V	A、C、E、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
49	F	A、D、E、F、G、H、K、N、P、Q、R、T或W
50	D	A、C、D、F、G、H、N、R或S，例如A、G、H、N、R或S，最优选为G
51	A	A、C、D、I、K、S或T，例如D、S或T，最优选为S
52	A	A、C、D、E、F、H、I、N、P、S、T、V或W，例如A、D、E、F、H、N、P、V或W，最优选为P
53	N	A、C、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、V、W或Y

54	L	A、D、E、F、G、H、I、K、L、N、P、Q、R、T或Y
55	E	C、E、F、H、I、M、N、P、R、S、T、V、W或Y
56	T	C、D、E、F、G、H、L、M、N、Q、T、V、W或Y
CDR3		
89	Q	A、C、D、E、F、G、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y
90	Q	A、C、D、E、F、G、I、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y
91	Y	A、C、D、E、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y
92	D	D、E、F、P、Q或Y，例如E、Q或Y
93	S	G、K、L、M、N、P、Q、R或S，例如G或K
94	F	C、D、E、F、H、I、L、M、N、P、Q、S、T、V或Y，例如D、E、L、M、N、Q、T或V
95	P	A、C、D、E、F、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、V、W或Y
96	Y	A、E、F、G、I、K、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y
97	T	C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W或Y

[1092]

[1093] 在上表中，“例如”之后的残基是与原始残基相比结合增强的残基变化。

[1094] 表D：选定的亲和力增强的L1衍生抗体的序列

抗体		序列	SEQ ID NO:
L1-01	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISEYLNWYQHKPGKAPNPLVFDAANLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 673
	VL CDR1	QDISEY	SEQ ID NO: 611
	VL CDR2	DAA	SEQ ID NO: 623
	VL	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631

[1095]

[1096]

	CDR3		
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-02	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISKPLN WYQHKPGKAPNPLVFDAANLETGVPPRFSAT GSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTF GQGTRLDIK	SEQ ID NO: 674
	VL CDR1	QDISKP	SEQ ID NO: 612
	VL CDR2	DAA	SEQ ID NO: 623
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-03	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC	SEQ ID NO: 608

[1097]

	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISEYLN WYQHKPGKAPNPLVFRSPNLETGVPPRFSATG SGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFG QGTRLDIK	SEQ ID NO: 675
	VL CDR1	QDISEY	SEQ ID NO: 611
	VL CDR2	RSP	SEQ ID NO: 624
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-04	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISEYLN WYQHKPGKAPNPLVFGSPNLETGVPPRFSATG SGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFG QGTRLDIK	SEQ ID NO: 676
	VL CDR1	QDISEY	SEQ ID NO: 611
	VL CDR2	GSP	SEQ ID NO: 625
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-05	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669

[1098]

	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITKGLNWYQHKPGKAPNPLVFDAANLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 677
	VL CDR1	QDITKG	SEQ ID NO: 613
	VL CDR2	DAA	SEQ ID NO: 623
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-06	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGPWLNWYQHKPGKAPNPLVFDAANLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 678
	VL CDR1	QDIGPW	SEQ ID NO: 614
	VL CDR2	DAA	SEQ ID NO: 623
	VL	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631

[1099]

	CDR3		
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-07	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIEWWL NWYQHKPGKAPNPLVFDAANLETGVPPRFSA TGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYT FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 679
	VL CDR1	QDIEWW	SEQ ID NO: 615
	VL CDR2	DAA	SEQ ID NO: 623
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-08	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC	SEQ ID NO: 608

[1100]

	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGAYL NWYQHKPGKAPNPLVFDAANLETGVPPRFSA TGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYT FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 680
	VL CDR1	QDIGAY	SEQ ID NO: 616
	VL CDR2	DAA	SEQ ID NO: 623
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-09	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISEYLN WYQHKPGKAPNPLVFARDNLETGVPPRFSAT GSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTF GQGTRLDIK	SEQ ID NO: 681
	VL CDR1	QDISEY	SEQ ID NO: 611
	VL CDR2	ARD	SEQ ID NO: 626
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-10	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669

[1101]

	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISEYLNWYQHKPGKAPNPLVFTSANLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 682
	VL CDR1	QDISEY	SEQ ID NO: 611
	VL CDR2	TSA	SEQ ID NO: 627
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-11	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIEWALNWYQHKPGKAPNPLVFDAANLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 683
	VL CDR1	QDIEWA	SEQ ID NO: 617
	VL CDR2	DAA	SEQ ID NO: 623
	VL	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631

[1102]

	CDR3		
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-12	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISEYLN WYQHKPGKAPNPLVFGADNLETGVPPRFSAT GSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTF GQGTRLDIK	SEQ ID NO: 684
	VL CDR1	QDISEY	SEQ ID NO: 611
	VL CDR2	GAD	SEQ ID NO: 628
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-13	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC	SEQ ID NO: 608

[1103]

	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISEYLN WYQHKPGKAPNPLVFDAPNLETGVPPRFSAT GSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTF GQGTRLDIK	SEQ ID NO: 685
	VL CDR1	QDISEY	SEQ ID NO: 611
	VL CDR2	DAP	SEQ ID NO: 629
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-14	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISEYLN WYQHKPGKAPNPLVFSQPNLETGVPPRFSATG SGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFG QGTRLDIK	SEQ ID NO: 686
	VL CDR1	QDISEY	SEQ ID NO: 611
	VL CDR2	SQP	SEQ ID NO: 630
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-15	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 669

[1104]

	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTMVTVSS	SEQ ID NO: 609
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIMKTLNWYQHKPGKAPNPLVFDAANLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 687
	VL CDR1	QDIMKT	SEQ ID NO: 618
	VL CDR2	DAA	SEQ ID NO: 623
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPNPLVF	SEQ ID NO: 634
	VL FR3	NLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYC	SEQ ID NO: 638
	VL FR4	FGQGTRLDIK	SEQ ID NO: 641
L1-16	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 670
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGPWLNWYQQKPGKAPKLLIYGSPNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDSFPYTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 688
	VL CDR1	QDIGPW	SEQ ID NO: 614
	VL CDR2	GSP	SEQ ID NO: 625
	VL	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631

[1105]

	CDR3		
	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 633
	VL FR2	LNWYQQKPGKAPKLLIY	SEQ ID NO: 635
	VL FR3	NLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC	SEQ ID NO: 639
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-17	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 670
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGPWLNWYQQKPGKAPKLLIYDAPNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDSFPYTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 689
	VL CDR1	QDIGPW	SEQ ID NO: 614
	VL CDR2	DAP	SEQ ID NO: 629
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 633
	VL FR2	LNWYQQKPGKAPKLLIY	SEQ ID NO: 635
	VL FR3	NLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC	SEQ ID NO: 639
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-18	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 670
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608

[1106]

	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGPWL NWYQQKPGKAPKLLIYGSPNLETGVPSRFSGS GSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDSFPYTF GQGTKVEIK	SEQ ID NO: 688
	VL CDR1	QDIGPW	SEQ ID NO: 614
	VL CDR2	GSP	SEQ ID NO: 625
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 633
	VL FR2	LNWYQQKPGKAPKLLIY	SEQ ID NO: 635
	VL FR3	NLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATY YC	SEQ ID NO: 639
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-19	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 670
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISPYL NWYQQKPGKAPKLLIYDAPNLETGVPSRFSGS GSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDSFPYTF GQGTKVEIK	SEQ ID NO: 690
	VL CDR1	QDISPY	SEQ ID NO: 619
	VL CDR2	DAP	SEQ ID NO: 629
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 633
	VL FR2	LNWYQQKPGKAPKLLIY	SEQ ID NO: 635
	VL FR3	NLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATY YC	SEQ ID NO: 639
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-20	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV	SEQ ID NO: 670

[1107]

		YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIEWWLNWYQQKPGKAPKLLIYGSPNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDSFPYTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 691
	VL CDR1	QDIEWW	SEQ ID NO: 615
	VL CDR2	GSP	SEQ ID NO: 625
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQQKPGKAPKLLIY	SEQ ID NO: 635
	VL FR3	NLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC	SEQ ID NO: 639
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-21	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 670
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGPWLNWYQHKPGKAPKPLIYGSPNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDSFPYTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 692
	VL CDR1	QDIGPW	SEQ ID NO: 614
	VL	GSP	SEQ ID NO: 625

[1108]

	CDR2		
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPKPLIY	SEQ ID NO: 636
	VL FR3	NLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC	SEQ ID NO: 639
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-22	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 670
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISPWLNWYQHKPGKAPKPLIYGSPNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDSFPYTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 693
	VL CDR1	QDISPW	SEQ ID NO: 620
	VL CDR2	GSP	SEQ ID NO: 625
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPKPLIY	SEQ ID NO: 636
	VL FR3	NLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC	SEQ ID NO: 639
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-23	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 670
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606

[1109]

	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGPWLNWYQHKPGKAPKPLVFGSPNLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 694
	VL CDR1	QDIGPW	SEQ ID NO: 614
	VL CDR2	GSP	SEQ ID NO: 625
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPKPLVF	SEQ ID NO: 637
	VL FR3	NLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	SEQ ID NO: 640
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-24	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 670
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGPYLNWYQHKPGKAPKPLVFGSPNLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 695
	VL CDR1	QDIGPY	SEQ ID NO: 621
	VL CDR2	GSP	SEQ ID NO: 625
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPKPLVF	SEQ ID NO: 637
	VL FR3	NLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	SEQ ID NO: 640
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642

[1110]

L1-25	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 670
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISPWL NWYQHKPGKAPKPLVFGSPNLETGVPSRFSAS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTF GQGTKVEIK	SEQ ID NO: 696
	VL CDR1	QDISPW	SEQ ID NO: 620
	VL CDR2	GSP	SEQ ID NO: 625
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPKPLVF	SEQ ID NO: 637
	VL FR3	NLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 640
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-26	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 670
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISPYLN WYQHKPGKAPKPLVFGSPNLETGVPSRFSASG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFG QGTKVEIK	SEQ ID NO: 697

[1111]

	VL CDR1	QDISPY	SEQ ID NO: 619
	VL CDR2	GSP	SEQ ID NO: 625
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPKPLVF	SEQ ID NO: 637
	VL FR3	NLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	SEQ ID NO: 640
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-27	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 670
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISYNLNWYQHKPGKAPKPLVFGSPNLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 698
	VL CDR1	QDISYN	SEQ ID NO: 622
	VL CDR2	GSP	SEQ ID NO: 625
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPKPLVF	SEQ ID NO: 637
	VL FR3	NLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	SEQ ID NO: 640
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-28	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 670
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602

[1112]

	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIEWWLNWYQHKPGKAPKPLIYGSPNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDSFPYTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 699
	VL CDR1	QDIEWW	SEQ ID NO: 615
	VL CDR2	GSP	SEQ ID NO: 625
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPKPLIY	SEQ ID NO: 636
	VL FR3	NLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC	SEQ ID NO: 639
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-29	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 670
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGPWLNWYQHKPGKAPKPLVFDAPNLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 700
	VL CDR1	QDIGPW	SEQ ID NO: 614
	VL CDR2	DAP	SEQ ID NO: 629
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPKPLVF	SEQ ID NO: 637

[1113]

	VL FR3	NLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	SEQ ID NO: 640
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-30	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 670
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDDGSYK	SEQ ID NO: 602
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGPWLNWYQHKPGKAPKPLVFGADNLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 701
	VL CDR1	QDIGPW	SEQ ID NO: 614
	VL CDR2	GAD	SEQ ID NO: 628
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPKPLVF	SEQ ID NO: 637
	VL FR3	NLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	SEQ ID NO: 640
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-31	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGGKYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 671
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDGGKYK	SEQ ID NO: 603
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGPWL	SEQ ID NO: 702

[1114]

		NWYQHKPGKAPKPLVFRSPNLETGVPSRFSAS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTF GQGTKVEIK	
	VL CDR1	QDIGPW	SEQ ID NO: 614
	VL CDR2	RSP	SEQ ID NO: 624
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPKPLVF	SEQ ID NO: 637
	VL FR3	NLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 640
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-32	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGGSYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 672
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601
	VH CDR2	IWDGGSYK	SEQ ID NO: 604
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGPWL NWYQHKPGKAPKPLVFGSPNLETGVPSRFSAS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTF GQGTKVEIK	SEQ ID NO: 694
	VL CDR1	QDIGPW	SEQ ID NO: 614
	VL CDR2	GSP	SEQ ID NO: 625
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPKPLVF	SEQ ID NO: 637
	VL FR3	NLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YC	SEQ ID NO: 640
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642
L1-33	**VH**	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGGKYKYYG DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGSGWGYAFDIWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 671
	VH CDR1	GFTFSTYG	SEQ ID NO: 601

[1115]

	VH CDR2	IWDGGKYK	SEQ ID NO: 603
	VH CDR3	ARDGSGWGYAFDI	SEQ ID NO: 605
	VH FR1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 606
	VH FR2	MHWVRQAPGKGLEWVAV	SEQ ID NO: 607
	VH FR3	YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	SEQ ID NO: 608
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGPWLNWYQHKPGKAPKPLVFGSPNLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDSFPYTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 694
	VL CDR1	QDIGPW	SEQ ID NO: 614
	VL CDR2	GSP	SEQ ID NO: 625
	VL CDR3	QQYDSFPYT	SEQ ID NO: 631
	VL FR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	SEQ ID NO: 632
	VL FR2	LNWYQHKPGKAPKPLVF	SEQ ID NO: 637
	VL FR3	NLETGVPSRFSASGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	SEQ ID NO: 640
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 642

[1116] 表3.L2重链或轻链上降低亲和力的代表性突变

[1117]

	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
L2-01	3.38E+04	2.82E-04	8.34E-09
L2VH-R30S	1.14E+04	1.65E-03	1.46E-07
L2VH-D31S	1.22E+04	5.67E-03	4.65E-07
L2VH-S50A	2.05E+04	4.86E-04	2.37E-08
L2VH-T35S	6.11E+04	1.39E-03	2.28E-08
L2VH-R98K	5.10E+04	2.48E-03	4.87E-08
L2VL-L49Y	3.08E+02	4.71E-03	1.53E-05
L2VL-I53S	1.35E+03	1.73E-03	1.28E-06
L2VL-G56S	1.07E+05	3.11E-03	2.91E-08
L2VL-S52V	1.25E+04	8.06E-04	6.45E-08
L2VL-D93S	2.97E+04	2.02E-03	6.80E-08

[1118] 表4.亲和力增强的L2衍生抗体

	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K_D (M)
L2-01	3.38E+04	2.82E-04	8.34E-09
L2-02	2.71E+04	1.31E-04	4.85E-09
L2-03	1.42E+05	4.65E-04	3.27E-09
L2-04	4.76E+04	1.42E-04	2.98E-09
L2-05	4.27E+04	1.12E-04	2.63E-09
L2-06	4.57E+04	2.49E-04	5.45E-09
L2-07	1.11E+05	1.29E-04	1.16E-09
L2-08	1.29E+05	1.12E-04	8.69E-10
L2-09	1.51E+05	7.15E-05	4.75E-10
L2-10	1.44E+05	3.68E-05	2.56E-10

[1119]

[1120] 表E:L2 VH的CDR中不对L2结合产生负面影响的容许氨基酸置换(参见图33)

位置	原始氨基酸	容许氨基酸
CDR1		
26	G	A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
27	F	A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W，例如G
28	T	A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y
29	F	A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
30	R	I、K、L、M、P、Q、V、W或Y，例如K
31	D	F、G、H、I、K、L、M、P、Q、T、V、W或Y
32	Y	A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如F或N，更优选为F
33	A	A、C、D、E、F、H、K、L、M、N、P、Q、R、T或V
34	M	A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
35	T	A、C、D、E、F、I、K、L、M、P、Q、R、T、V、W或Y

[1121]

[1122]

CDR2		
50	S	A、C、D、E、F、H、K、L、N、P、Q、R、S或Y，例如A
51	I	A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
52	S	A、C、E、F、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、S、V或Y
53	G	C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S或V
54	S	A、C、F、H、K、L、M、P、Q、R、S、T、V或W，例如M
55	G	A、C、E、F、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、V或W
56	G	A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y
57	N	A、C、F、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如G、N、R、S或T，更优选为G或S
58	T	C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y
59	Y	A、C、E、H、K、L、M、P、S、T、V、W或Y，例如K
60	Y	A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y
61	A	A、C、D、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
62	D	A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、R、S、T、V、W或Y
63	S	A、C、D、F、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如N
64	V	A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
65	K	A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、S、T、V、W或Y
66	G	A、C、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
CDR3		
97	A	A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
98	R	F、G、H、I或T
99	G	A、C、D、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
100	E	D、E、F、H、N、Q、R、S、T、V、W或Y，例如D
101	Y	A、H、I、L、M、N、Q或Y
102	S	A、C、D、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y
103	S	A、C、E、F、H、K、M、N、P、Q、S、T、W或Y
104	G	A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、V或W

[1123]

105	W	A、C、D、E、F、H、I、K、L、N、Q、R、S、V、W或Y
106	P	A、C、D、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、V、W或Y
107	S	A、C、E、F、H、I、K、L、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y
108	W	F、H、I、K、N、P、Q、R、V、W或Y，例如F或Y
109	F	A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y
110	D	D、F、G、H、P、Q或T，例如T
111	P	D、E、F、G、I、K、L、N、P、Q、R、S或T

[1124] 在上表中，“例如”之后的残基是与原始残基相比结合增强的残基变化。

[1125] 表F:L2 VL的CDR中不对L2结合产生负面影响的容许氨基酸置换(参见图35)

[1126]

位置	原始氨基酸	容许氨基酸
CDR1		
24	R	A、C、D、E、F、G、H、I、L、M、N、P、R、S、T、V、W或Y
25	A	A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、V、W或Y
26	S	A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、S、T、V、W或Y
27	R	A、C、D、E、F、G、I、K、M、N、R、S、T、V、W或Y，例如E
28	T	C、D、E、H、K、L、M、Q、T、W或Y，例如D
29	V	A、C、D、E、F、G、H、K、M、N、P、Q、R、T、V、W或Y
30	G	C、E、G、I、L、M、P、Q、V、W或Y
31	T	C、M、P、Q、T或W，例如P
32	F	A、C、E、F、G、I、K、L、M、N、P、Q、R、T、V或Y，例如Y
33	L	A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、W或Y
34	N	C、D、E、F、G、I、L、M、N、P、Q、R、W或Y，例如G
CDR2		
45	Q	A、C、D、E、F、G、H、K、L、N、P、R、S、W或Y，例如K、N或R，更优选为K
46	A	A、C、D、E、G、H、K、M、N、Q、T或W
47	L	A、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、W或Y

48	I	A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、P、Q、R、S、V、W或Y，例如V
49	L	L
50	G	C、H、I、L、M、N、P、Q、W或Y，例如H或Q
51	V	C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W或Y，例如S、T或V，更优选为S或T
52	S	C、D、E、G、H、I、K、L、M、P、Q、R、S、W或Y
53	I	I
54	L	A、C、D、E、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、T、W或Y
55	E	C、E、G、I、L、M、P、R、S、T、W或Y，例如R
56	G	A、E、F、G、H、I、K、L、M、P、Q、V、W或Y，例如A、I、L或P

[1127]

CDR3	
89	Q	C、D、F、G、I、K、M、N、P、Q、S、T、V、W或Y
90	Q	A、C、D、F、G、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W
91	S	C、E、G、K、M、P、S、V或W
92	H	C、H、L、M、P、Q、R、V或W
93	D	C、D、E、F、L、M、P、V或W，例如F
94	V	A、C、E、G、H、K、M、N、P、Q、R、V或W，例如A、N、P、R或W
95	P	A、C、D、E、G、H、I、K、M、N、P、R、S、T、V、W或Y
96	R	A、C、D、E、G、K、M、N、P、Q、R、S或W，例如D、S或W
97	T	C、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、T、V、W或Y

[1128] 在上表中，“例如”之后的残基是与原始残基相比结合增强的残基变化。

[1129] 表G：选定的亲和力增强的L2衍生抗体的序列

[1130]

抗体		序列	SEQ ID NO:
L2-01	VH	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAGSGFTFRDYAMTWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARGEYSSGWPSWFDPWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 703
	VH CDR1	GFTFRDYA	SEQ ID NO: 643
	VH CDR2	ISGSGGNT	SEQ ID NO: 644
	VH CDR3	ARGEYSSGWPSWFDP	SEQ ID NO: 646
	VH FR1	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAGS	SEQ ID NO: 647
	VH FR2	MTWVRQAPGKGLEWVSS	SEQ ID NO: 649
	VH FR3	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYC	SEQ ID NO: 651
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTISCRASRTVGTFLNWYQQRPGKPPQALILGVSILEGGVSSRFSGAGSGTEFSLTISSLQPEDIGTYYCQQSHDVPRTFGQGTKVDLR	SEQ ID NO: 707

[1131]

	VL CDR1	RTVGTF	SEQ ID NO: 652
	VL CDR2	GVS	SEQ ID NO: 653
	VL CDR3	QQSHDVPRT	SEQ ID NO: 655
	VL FR1	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTISCRAS	SEQ ID NO: 656
	VL FR2	LNWYQQRPGKPPQALIL	SEQ ID NO: 658
	VL FR3	ILEGGVSSRFSGAGSGTEFSLTISSLQPEDIGTYYC	SEQ ID NO: 660
	VL FR4	FGQGTKVDLR	SEQ ID NO: 664
L2-02	VH	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAGSGFTFRDYAMTWVR QAPGKGLEWVSSISGSGGNTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARGEYSSGWPSWFDPWG QGTLVTVSS	SEQ ID NO: 703
	VH CDR1	GFTFRDYA	SEQ ID NO: 643
	VH CDR2	ISGSGGNT	SEQ ID NO: 644
	VH CDR3	ARGEYSSGWPSWFDP	SEQ ID NO: 646
	VH FR1	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAGS	SEQ ID NO: 647
	VH FR2	MTWVRQAPGKGLEWVSS	SEQ ID NO: 649
	VH FR3	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYC	SEQ ID NO: 651
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTISCRASRTVGTFLNWYQQR PGKPPQALILHTSILEGGVSSRFSGAGSGTEFSLTISSLQP EDIGTYYCQQSHDVPRTFGQGTKVDLR	SEQ ID NO: 708
	VL CDR1	RTVGTF	SEQ ID NO: 652
	VL CDR2	HTS	SEQ ID NO: 654
	VL CDR3	QQSHDVPRT	SEQ ID NO: 655
	VL FR1	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTISCRAS	SEQ ID NO: 656
	VL FR2	LNWYQQRPGKPPQALIL	SEQ ID NO: 658
	VL FR3	ILEGGVSSRFSGAGSGTEFSLTISSLQPEDIGTYYC	SEQ ID NO: 660
	VL FR4	FGQGTKVDLR	SEQ ID NO: 664
L2-03	VH	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAGSGFTFRDYAMTWVR QAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAIYYCARGEYSSGWPSWFDPWGQ GTLVTVSS	SEQ ID NO: 704
	VH CDR1	GFTFRDYA	SEQ ID NO: 643
	VH CDR2	ISGSGGST	SEQ ID NO: 645
	VH CDR3	ARGEYSSGWPSWFDP	SEQ ID NO: 646
	VH FR1	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAGS	SEQ ID NO: 647
	VH FR2	MTWVRQAPGKGLEWVSS	SEQ ID NO: 649
	VH FR3	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYC	SEQ ID NO: 651
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTISCRASRTVGTFLNWYQQR PGKPPQALILGVSILEGGVSSRFSGAGSGTEFSLTISSLQP EDIGTYYCQQSHDVPRTFGQGTKVDLR	SEQ ID NO: 707
	VL CDR1	RTVGTF	SEQ ID NO: 652
	VL CDR2	GVS	SEQ ID NO: 653
	VL CDR3	QQSHDVPRT	SEQ ID NO: 655
	VL FR1	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTISCRAS	SEQ ID NO: 656
	VL FR2	LNWYQQRPGKPPQALIL	SEQ ID NO: 658
	VL FR3	ILEGGVSSRFSGAGSGTEFSLTISSLQPEDIGTYYC	SEQ ID NO: 660
	VL FR4	FGQGTKVDLR	SEQ ID NO: 664

[1132]

L2-04	VH	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAASGFTFRDYAMTWVR QAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAIYYCARGEYSSGWPSWFDPWGQ GTLVTVSS	SEQ ID NO: 705
	VH CDR1	GFTFRDYA	SEQ ID NO: 643
	VH CDR2	ISGSGGST	SEQ ID NO: 645
	VH CDR3	ARGEYSSGWPSWFDP	SEQ ID NO: 646
	VH FR1	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 648
	VH FR2	MTWVRQAPGKGLEWVSS	SEQ ID NO: 649
	VH FR3	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYC	SEQ ID NO: 651
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTISCRASRTVGTFLNWYQQR PGKPPQALILGVSILEGGVSSRFSGAGSGTEFSLTISSLQP EDIGTYYCQQSHDVPRTFGQGTKVDLR	SEQ ID NO: 707
	VL CDR1	RTVGTF	SEQ ID NO: 652
	VL CDR2	GVS	SEQ ID NO: 653
	VL CDR3	QQSHDVPRT	SEQ ID NO: 655
	VL FR1	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTISCRAS	SEQ ID NO: 656
	VL FR2	LNWYQQRPGKPPQALIL	SEQ ID NO: 658
	VL FR3	ILEGGVSSRFSGAGSGTEFSLTISSLQPEDIGTYYC	SEQ ID NO: 660
	VL FR4	FGQGTKVDLR	SEQ ID NO: 664
L2-05	VH	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAASGFTFRDYAMTWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARGEYSSGWPSWFDPWG QGTLVTVSS	SEQ ID NO: 706
	VH CDR1	GFTFRDYA	SEQ ID NO: 643
	VH CDR2	ISGSGGST	SEQ ID NO: 645
	VH CDR3	ARGEYSSGWPSWFDP	SEQ ID NO: 646
	VH FR1	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 648
	VH FR2	MTWVRQAPGKGLEWVSA	SEQ ID NO: 650
	VH FR3	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYC	SEQ ID NO: 651
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTISCRASRTVGTFLNWYQQR PGKPPQALILGVSILEGGVSSRFSGAGSGTEFSLTISSLQP EDIGTYYCQQSHDVPRTFGQGTKVDLR	SEQ ID NO: 707
	VL CDR1	RTVGTF	SEQ ID NO: 652
	VL CDR2	GVS	SEQ ID NO: 653
	VL CDR3	QQSHDVPRT	SEQ ID NO: 655
	VL FR1	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTISCRAS	SEQ ID NO: 656
	VL FR2	LNWYQQRPGKPPQALIL	SEQ ID NO: 658
	VL FR3	ILEGGVSSRFSGAGSGTEFSLTISSLQPEDIGTYYC	SEQ ID NO: 660
	VL FR4	FGQGTKVDLR	SEQ ID NO: 664
L2-06	VH	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAASGFTFRDYAMTWVR QAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAIYYCARGEYSSGWPSWFDPWGQ GTLVTVSS	SEQ ID NO: 705
	VH CDR1	GFTFRDYA	SEQ ID NO: 643
	VH CDR2	ISGSGGST	SEQ ID NO: 645
	VH CDR3	ARGEYSSGWPSWFDP	SEQ ID NO: 646
	VH FR1	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 648

[1133]

	VH FR2	MTWVRQAPGKGLEWVSS	SEQ ID NO: 649
	VH FR3	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYC	SEQ ID NO: 651
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRTVGTFLNWYQQK PGKAPKALILGVSILEGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQL EDFATYYCQQSHDVPRTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 709
	VL CDR1	RTVGTF	SEQ ID NO: 652
	VL CDR2	GVS	SEQ ID NO: 653
	VL CDR3	QQSHDVPRT	SEQ ID NO: 655
	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS	SEQ ID NO: 657
	VL FR2	LNWYQQKPGKAPKALIL	SEQ ID NO: 659
	VL FR3	ILEGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQLEDFATYYC	SEQ ID NO: 661
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 665
L2-07	VH	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAASGFTFRDYAMTWVR QAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAIYYCARGEYSSGWPSWFDPWGQ GTLVTVSS	SEQ ID NO: 705
	VH CDR1	GFTFRDYA	SEQ ID NO: 643
	VH CDR2	ISGSGGST	SEQ ID NO: 645
	VH CDR3	ARGEYSSGWPSWFDP	SEQ ID NO: 646
	VH FR1	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 648
	VH FR2	MTWVRQAPGKGLEWVSS	SEQ ID NO: 649
	VH FR3	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYC	SEQ ID NO: 651
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRTVGTFLNWYQQK PGKAPKALILGVSILEGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDIGTYYCQQSHDVPRTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 710
	VL CDR1	RTVGTF	SEQ ID NO: 652
	VL CDR2	GVS	SEQ ID NO: 653
	VL CDR3	QQSHDVPRT	SEQ ID NO: 655
	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS	SEQ ID NO: 657
	VL FR2	LNWYQQKPGKAPKALIL	SEQ ID NO: 659
	VL FR3	ILEGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIGTYYC	SEQ ID NO: 662
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 665
L2-08	VH	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAASGFTFRDYAMTWVR QAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAIYYCARGEYSSGWPSWFDPWGQ GTLVTVSS	SEQ ID NO: 705
	VH CDR1	GFTFRDYA	SEQ ID NO: 643
	VH CDR2	ISGSGGST	SEQ ID NO: 645
	VH CDR3	ARGEYSSGWPSWFDP	SEQ ID NO: 646
	VH FR1	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 648
	VH FR2	MTWVRQAPGKGLEWVSS	SEQ ID NO: 649
	VH FR3	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYC	SEQ ID NO: 651
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRTVGTFLNWYQQK PGKAPKALILGVSILEGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDIATYYCQQSHDVPRTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 711
	VL CDR1	RTVGTF	SEQ ID NO: 652
	VL CDR2	GVS	SEQ ID NO: 653

[1134]

	VL CDR3	QQSHDVPRT	SEQ ID NO: 655
	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS	SEQ ID NO: 657
	VL FR2	LNWYQQKPGKAPKALIL	SEQ ID NO: 659
	VL FR3	ILEGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYC	SEQ ID NO: 663
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 665
L2-09	VH	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAASGFTFRDYAMTWVR QAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAIYYCARGEYSSGWPSWFDPWGQ GTLVTVSS	SEQ ID NO: 705
	VH CDR1	GFTFRDYA	SEQ ID NO: 643
	VH CDR2	ISGSGGST	SEQ ID NO: 645
	VH CDR3	ARGEYSSGWPSWFDP	SEQ ID NO: 646
	VH FR1	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 648
	VH FR2	MTWVRQAPGKGLEWVSS	SEQ ID NO: 649
	VH FR3	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYC	SEQ ID NO: 651
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRTVGTFLNWYQQK PGKAPKALILHTSILEGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDIGTYYCQQSHDVPRTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 712
	VL CDR1	RTVGTF	SEQ ID NO: 652
	VL CDR2	HTS	SEQ ID NO: 654
	VL CDR3	QQSHDVPRT	SEQ ID NO: 655
	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS	SEQ ID NO: 657
	VL FR2	LNWYQQKPGKAPKALIL	SEQ ID NO: 659
	VL FR3	ILEGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIGTYYC	SEQ ID NO: 662
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 665
L2-10	VH	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAASGFTFRDYAMTWVR QAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAIYYCARGEYSSGWPSWFDPWGQ GTLVTVSS	SEQ ID NO: 705
	VH CDR1	GFTFRDYA	SEQ ID NO: 643
	VH CDR2	ISGSGGST	SEQ ID NO: 645
	VH CDR3	ARGEYSSGWPSWFDP	SEQ ID NO: 646
	VH FR1	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAAS	SEQ ID NO: 648
	VH FR2	MTWVRQAPGKGLEWVSS	SEQ ID NO: 649
	VH FR3	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYC	SEQ ID NO: 651
	VH FR4	WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 610
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRTVGTFLNWYQQK PGKAPKALILHTSILEGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDIATYYCQQSHDVPRTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 713
	VL CDR1	RTVGTF	SEQ ID NO: 652
	VL CDR2	HTS	SEQ ID NO: 654
	VL CDR3	QQSHDVPRT	SEQ ID NO: 655
	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS	SEQ ID NO: 657
	VL FR2	LNWYQQKPGKAPKALIL	SEQ ID NO: 659
	VL FR3	ILEGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYC	SEQ ID NO: 663
	VL FR4	FGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 665

[1135] 实施例26与细胞表面上表达的IGSF8结合的单克隆抗体的表征

[1136] 为了测试L1和L2抗体的交叉反应性，通过慢病毒递送生成了强迫表达人、食蟹猴或小鼠IGSF8的CT26细胞。对于基于细胞表达抗原的抗体结合测定，用含有2% FBS的PBS缓冲液洗涤100,000个过表达抗原的细胞，然后与100μL不同浓度的抗体或IgG在冰上孵育30分钟。然后用洗涤缓冲液洗涤细胞两次，并与100μL的1:100抗人Fc-PE抗体在冰上孵育15分

钟。将细胞用洗涤缓冲液洗涤两次，并在FACS分析仪(CytoFlex,Beckman)上进行分析。绘制了MFI与抗体浓度的关系图。使用非线性回归曲线拟合计算EC50细胞结合效力。图37显示L1抗体与来自所有这些所测试物种的IGSF8抗原具有交叉反应性，而L2抗体可与人和猴IGSF8交叉反应，但不与小鼠抗体发生交叉反应。与L1和L2抗体的原始序列相比，随机选定了优化形式(L1-20和L1-10)，并且发现其EC50细胞结合效力明显提高(表5)。

[1137] 表5.L1和L2抗体与IGSF8结合的EC50

	人IGSF8	猴IGSF8	小鼠IGSF8
	EC50 (ug/ml)	EC50 (ug/ml)	EC50 (ug/ml)
IgG1同种型	~	~	~
L1-01-IgG1	0.2056	0.2241	0.5384
L1-20-IgG1	0.05371	0.02676	0.02751
L2-01-IgG1	0.4726	0.21167	~
L2-10-IgG1	0.1446	0.04098	~

[1139] 实施例27IGSF8对原代NK细胞细胞毒性的抑制由KIR3DL2介导

[1140] 发现KIR3DL2是NK细胞或T细胞上IGSF8的受体。本实施例证明了IGSF8充当癌细胞上表达的抑制配体，并通过与KIR3DL2结合来调节NK细胞或T细胞的细胞毒性。

[1141] 在本实验中，使用了NK细胞-K562共培养模型，其中选定MHC-I缺陷型K562细胞系(一种已知的NK敏感细胞系)作为NK细胞介导性杀伤的靶细胞系。具体而言，将原代NK细胞接种在96孔板中(每孔10,000个细胞)，并以E/T比＝5:1与K562细胞共培养2小时。用7-AAD(Biolegend)对死亡细胞进行染色，之后通过流式细胞术对细胞进行分析。NK细胞的细胞毒性通过以下方式计算，NK细胞毒性(%)＝(与NK细胞共培养的7-AAD+%(死亡)K562细胞)-(未与NK细胞共培养的自发7-AAD+%(死亡)K562细胞)。

[1142] 第一，通过慢病毒递送IGSF8表达构建体在K562细胞上强迫表达IGSF8蛋白基本上保护表达IGSF8的K562细胞免受原代NK细胞杀伤(图38B)。

[1143] 第二，通过慢病毒介导的CRISPR/Cas9敲减原代NK细胞中任何内源性KIR3DL2表达导致的KIR3DL2表达缺失，使K562和K562-IGSF8细胞两者的敏感性明显提高。对K562和K562-IGSF8细胞的杀伤没有差异(参见图38A-38B)。

[1144] 这些数据表明，IGSF8不能抑制敲除KIR3DL2的NK细胞的细胞毒性，说明IGSF8是用于介导NK细胞毒性的KIR3DL2的功能性配体。

[1145] 实施例28抗体阻断IGSF8和KIR3DL2之间的相互作用

[1146] 本实施例证明，根据基于流式细胞术的测定，本发明的抗IGSF8抗体能够阻断IGSF8与其配体KIR3DL2之间的相互作用。

[1147] 在存在抗体L1-20、L2-10和同种型对照抗体的情况下，将强迫表达异位/外源人KIR3DL2的CT26细胞与生物素化的IGSF8-hFc重组蛋白(1μg/mL)一起孵育。使用链霉亲和素-PE，通过流式细胞术分析来测定IGSF8-hFc-生物素与Ct26细胞的结合(图39)。结果表明，L1-20和L2-10均能以剂量依赖性的方式完全阻断IGSF8与KIR3DL2之间的相互作用，而

对照无作用。

[1148] 实施例29抗IGSF8 mAb增强NK或PBMC对不同癌细胞的杀伤

[1149] 由于已发现IGSF8在许多不同的癌细胞类型/细胞系上表达,因此设计了体外NK或PBMC杀伤测定以表明通过本发明的抗体阻断IGSF8可以增强NK或PBMC对不同癌细胞的细胞毒性。

[1150] 羧基荧光素琥珀酰亚胺酯(CFSE,ThermoFisher Scientific)标记癌细胞结合7-AAD(Biolegend)染色死亡细胞是通过流式细胞术测量体外细胞杀伤的可靠方法。简言之,将NK细胞或PBMC与CFSE标记的癌细胞在U型底96孔板中以E/T比＝1:1或5:1共培养4小时。然后,将每个样品都与7-AAD混合,并通过FACS进行分析。通过总癌细胞中7-AAD阳性癌细胞的百分比来计算细胞溶解。在不存在NK或PBMC的情况下,自发性癌细胞死亡低于5%,并且将其从存在NK或PBMC的情况下的总杀伤中扣除。

[1151] 为了在本实验中排除IgG1-Fc介导的抗体依赖性细胞毒性(ADCC)的混杂因素,在这一测定中使用了L234A和L235A突变型人IgG1(IgG1-LALA),先前已证明这些突变型人IgG1在很大程度上丧失了人IgG1的ADCC作用。如图40A-40D、41A-41B和42A-42B所示,用L1-20和L2-10 mAb处理明显使NK或PBMC对许多癌细胞系的细胞毒性更敏感,这些癌细胞系包括Jurkat(T细胞白血病)、SU-DHL2(大细胞淋巴瘤)、LNCaP(前列腺癌)、K562(慢性髓性白血病)、H1437(肺腺癌)、SKBR3(乳腺癌)、SW480(结直肠腺癌)和H520(肺鳞状细胞癌)。

[1152] 由于缺乏IgG1介导性ADCC的抗IGSF8单克隆抗体仍然可以增强NK或PBMC对癌细胞的细胞毒性,因此预计含有野生型IgG1恒定区序列的本发明抗IGSF8单克隆抗体,其具有正常效应功能(诸如补体依赖性细胞毒性(CDC)、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)),将能够维持甚至进一步提高PBMC的细胞毒性。

[1153] 出乎意料的是,结果发现与缺乏IgG1效应功能(诸如IgG1-LALA)的抗IGSF8单克隆抗体相比,具有正常效应功能的抗IGSF8单克隆抗体显著降低了PBMC对两种类型癌细胞系SW480和H520的细胞毒性(图42A-42B)。这些数据表明,使用本发明抗IGSF8抗体进行的癌症治疗不仅不依赖于这些抗体的Fc效应功能,而且还受益于缺陷型Fc的存在。

[1154] 实施例30具有缺陷型IgG1的抗IGSF8 mAb显示出比具有正常IgG1或IgG4的mAb更好的体内抗肿瘤功效

[1155] 由于具有缺陷性Fc功能的L1和L2抗体显示出更好地增强NK或PBMC对不同癌细胞的杀伤(实施例29),因此通过已知对当前免疫疗法(抗PD1/L1、抗CTLA4等)具有抗性的B16-F10同基因小鼠模型进一步检查了这些抗体的体内功效。

[1156] 具体而言,将约一百万个B16-F10黑色素瘤细胞皮下接种到野生型(WT)C57BL/6小鼠中。然后通过尾静脉注射,从肿瘤细胞接种后第7天开始,每3天1次,以约4mg/kg的剂量分别用具有人IgG1、IgG4和IgG1-LALA的L1-10抗体以及一种IgG1同种型抗体处理四组小鼠(n＝每组8只小鼠),总共四剂。数据以平均值±s.e.m.表示。

[1157] 如图43A所示,与同种型匹配的对照相比,用L1-10-IgG1治疗B16肿瘤显著且大幅降低肿瘤生长。然而,已知具有弱ADCC但具有强ADCP效应功能的L1-10-IgG4降低肿瘤生长的功效更好。L1-10-IgG4组的无瘤小鼠为37.5%(3/8),比L1-10-IgG1组多。更引人注目的是,缺乏ADCC或ADCP效应功能的L1-10-IgG1-LALA在体内具有最佳的抗肿瘤功效(图43B)。接受L1-10-IgG1-LALA治疗的8只小鼠中有4只(50%)在治疗后实现了完全应答(CR),未检

测到肿瘤(图43A)。这些数据表明,使用本发明的抗IGSF8抗体治疗癌症受益于缺乏ADCC或ADCP效应功能的缺陷型Fc的存在。

[1158] 实施例31具有效应Fc功能的抗IGSF8 mAb削弱了效应NK和T细胞向B16肿瘤的浸润

[1159] 为了确定使用具有缺陷性Fc功能的IGSF8 mAb治疗B16-F10肿瘤比使用具有正常IgG1和IgG4的IGSF8 mAb功效更好(实施例30)的机制,当体内研究完成时,分离出经不同IGSF8 mAb(每组三个样品)治疗的B16肿瘤,并对所分离的肿瘤进行RNA测序。通过DESeq2计算TPM(每一百万个的转录本)得分(Genome Biology,15,550.doi:10.1186/s13059-014-0550-8)。

[1160] 基于RNA-seq数据,发现与对照组相比,在经不同IGSF8 mAb治疗的肿瘤中,代表效应NK细胞的基因标志物(Klrk1、Klrb1b和Klra2)和代表效应T细胞的基因标志物(CD8a和CD8b)显著上调(图44)。这些表明抗IGSF8治疗有力地重塑肿瘤微环境(TME)以增加NK和T细胞浸润。此外,与用具有IgG1和IgG4的mAb处理的组相比,用具有缺陷型Fc的IGSF8 mAb处理的组中这些标志基因显著增加,表明具有正常效应Fc功能的抗IGSF8 mAb削弱了效应性NK和T细胞向B16肿瘤的浸润。

[1161] 这些数据可以解释为什么通过抗IGSF8抗体治疗癌症受益于缺乏ADCC、CDC和ADCP效应功能的缺陷型Fc。

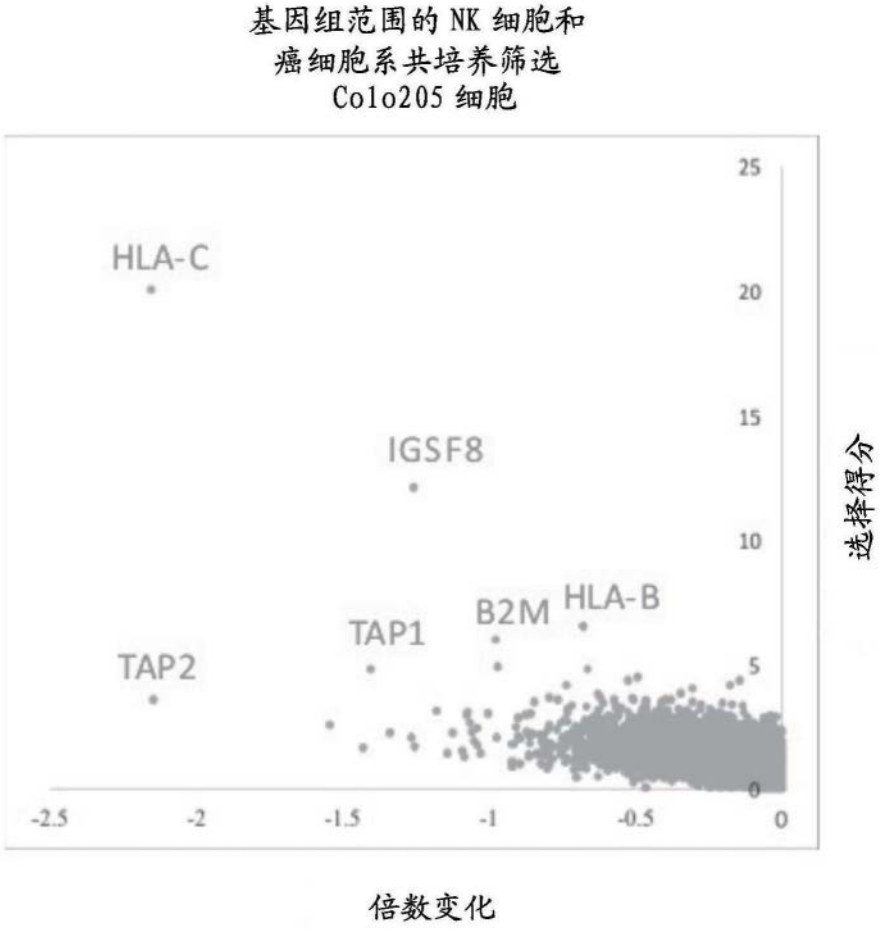

基因组范围的 NK 细胞和
癌细胞系共培养筛选
Colo205 细胞
HLA-C
IGSF8
TAP1
B2M
HLA-B
TAP2
25
20
15
10
5
0
-2.5
-2
-1.5
-1
-0.5
0
选择得分
倍数变化

图1

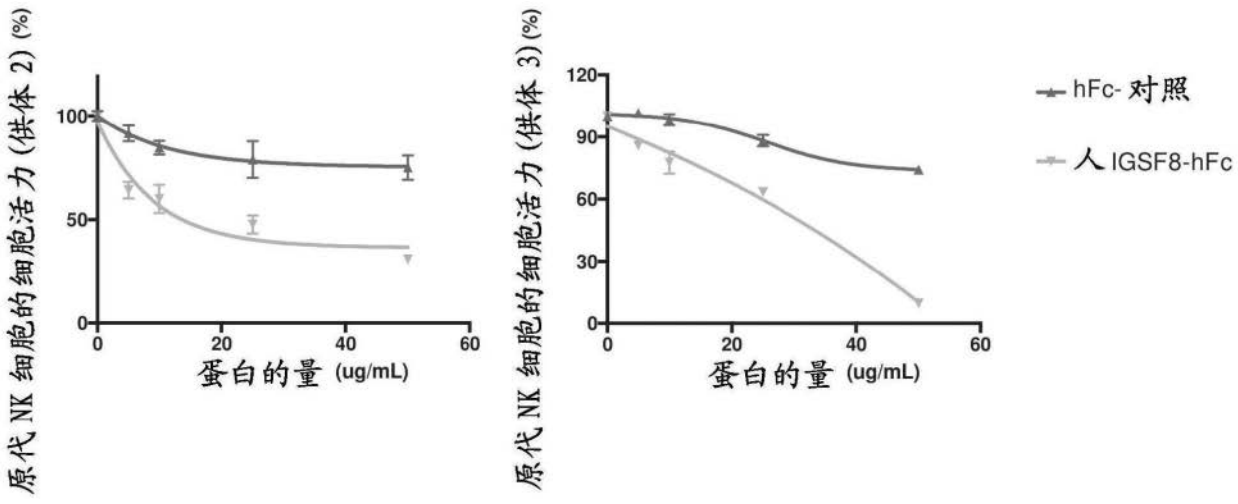

原代 NK 细胞的细胞活力 (供体 2) (%)
100
50
0
0
20
40
60
蛋白的量 (ug/mL)
原代 NK 细胞的细胞活力 (供体 3) (%)
120
90
60
30
0
0
20
40
60
蛋白的量 (ug/mL)
hFc- 对照
人 IGSF8-hFc

图2A

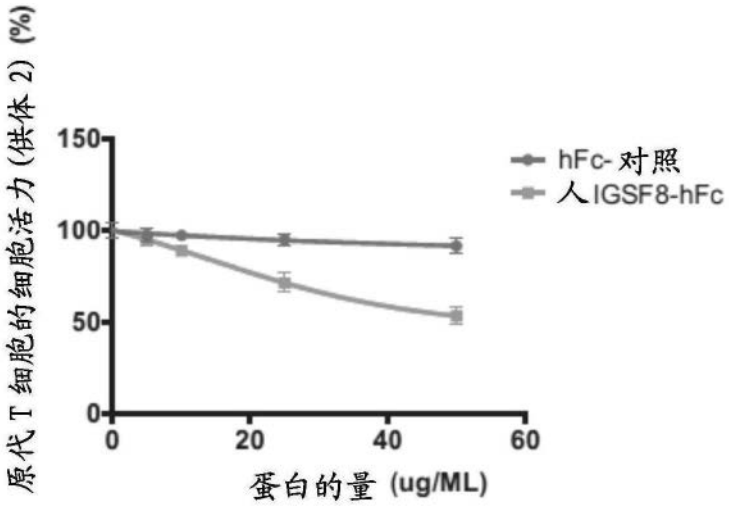

原代T细胞的细胞活力(供体2)(%)
150
100
50
0
0
20
40
60
蛋白的量 (ug/ML)
hFc-对照
人IGSF8-hFc

图2B

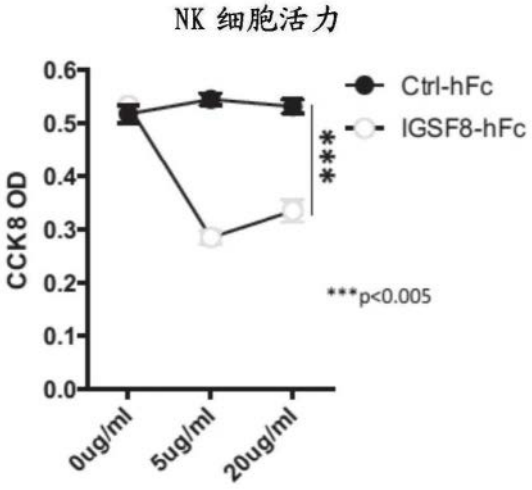

NK 细胞活力
CCK8 OD
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
0ug/ml
5ug/ml
20ug/ml
Ctrl-hFc
IGSF8-hFc
***
***p<0.005

图2C

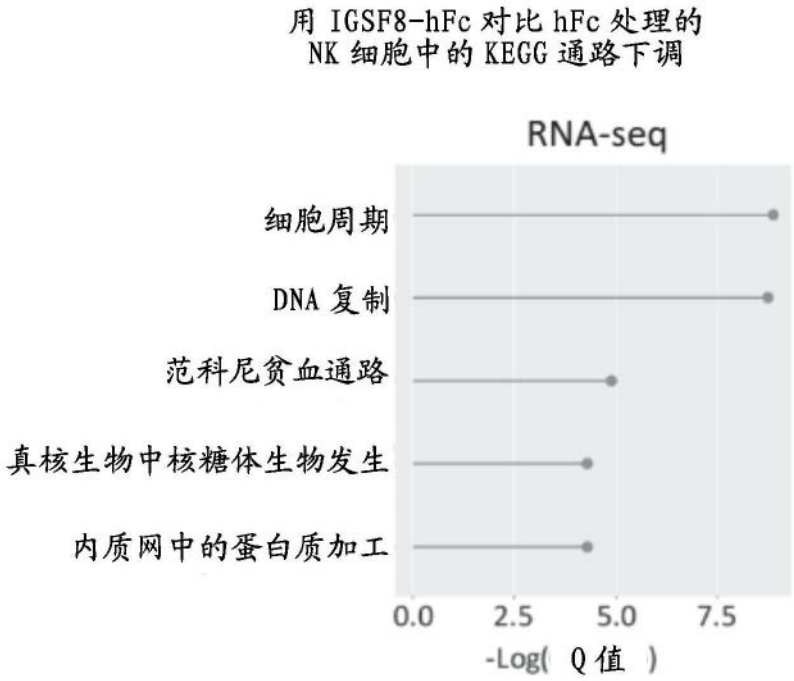

用 IGSF8-hFc 对比 hFc 处理的
NK 细胞中的 KEGG 通路下调
RNA-seq
细胞周期
DNA 复制
范科尼贫血通路
真核生物中核糖体生物发生
内质网中的蛋白质加工
0.0
2.5
5.0
7.5
-Log(Q值)

图2D

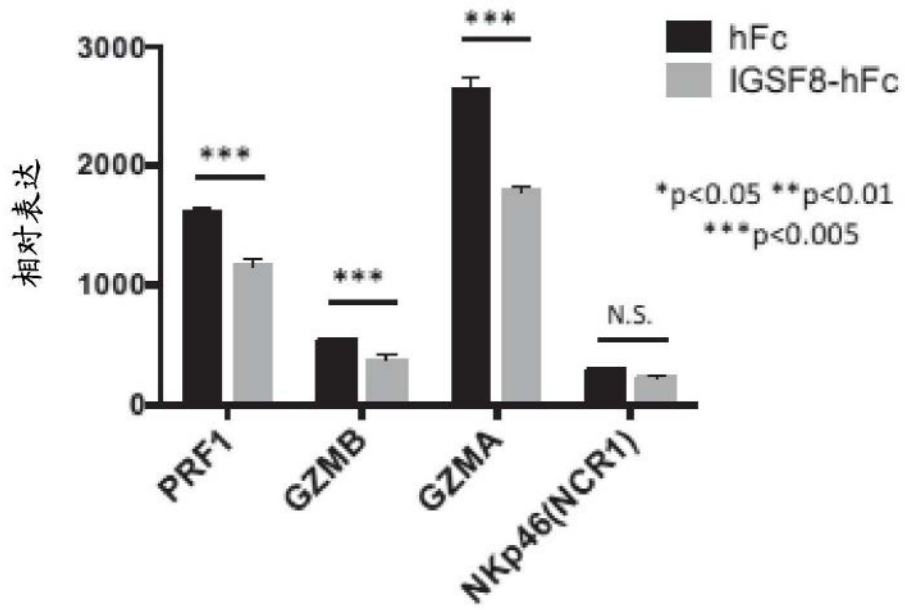

3000
2000
1000
0
相对表达
***
***
***
N.S.
hFc
IGSF8-hFc
*p<0.05 **p<0.01
***p<0.005
PRF1
GZMB
GZMA
NKp46(NCR1)

图2E

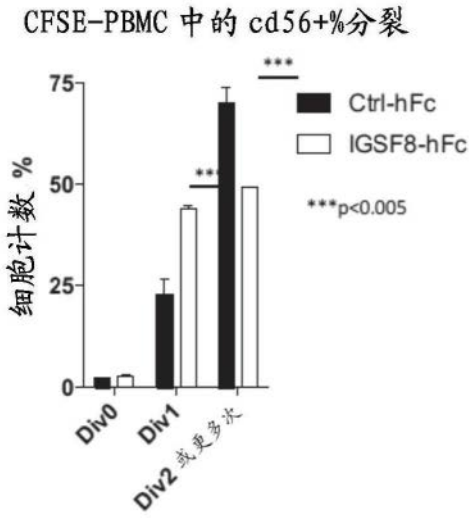

CFSE-PBMC 中的 cd56+%分裂
细胞计数 %
75
50
25
0
***
***
***
Ctrl-hFc
IGSF8-hFc
***p<0.005
Div0
Div1
Div2 或更多次

图2F

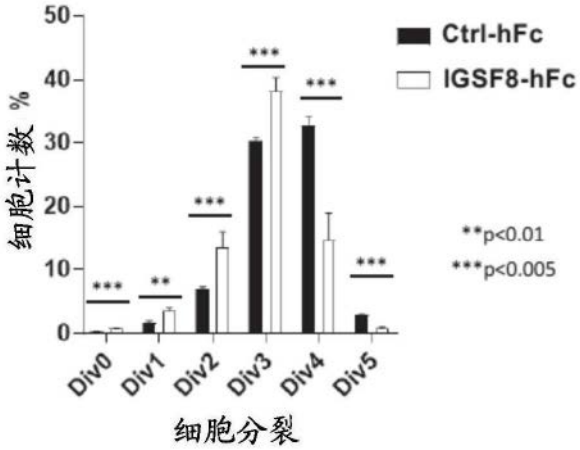

细胞计数 %
50
40
30
20
10
0
***
**
***
***
***
***
Ctrl-hFc
IGSF8-hFc
**p<0.01
***p<0.005
Div0
Div1
Div2
Div3
Div4
Div5
细胞分裂

图2G

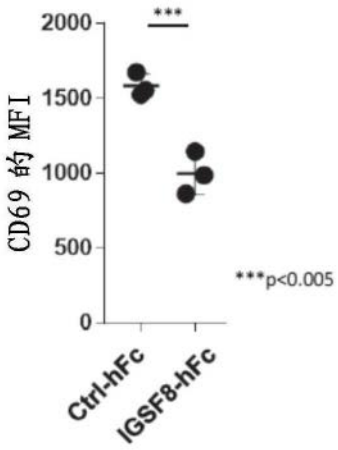

CD69 的 MFI
2000
1500
1000
500
0
***
***p<0.005
Ctrl-hFc
IGSF8-hFc

图2H

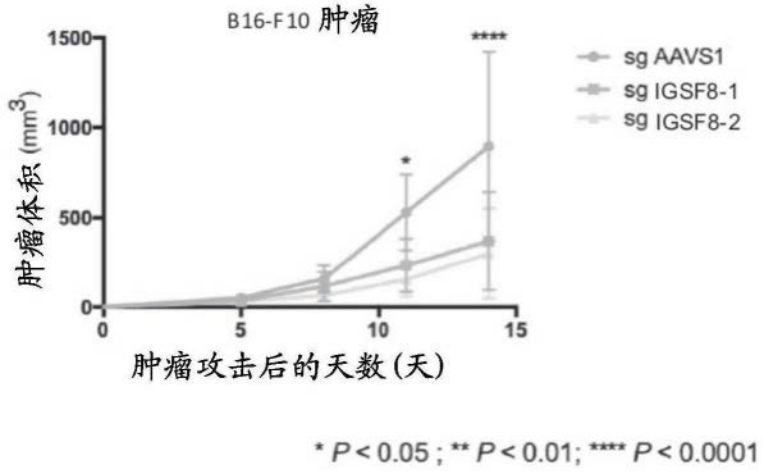

B16-F10 肿瘤
肿瘤体积 (mm3)
1500
1000
500
0
0
5
10
15
肿瘤攻击后的天数(天)
*
****
sg AAVS1
sg IGSF8-1
sg IGSF8-2
* P < 0.05 ; ** P < 0.01; **** P < 0.0001

图3A

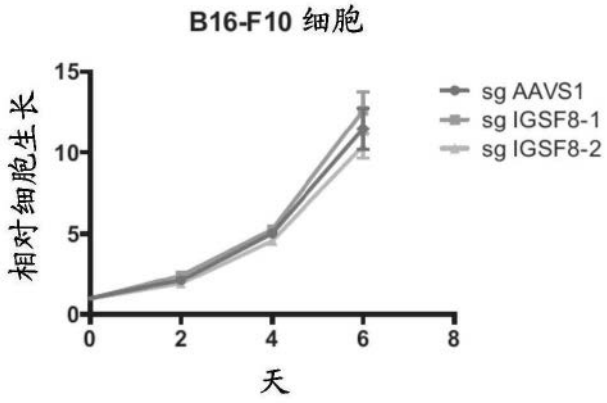

B16-F10 细胞
相对细胞生长
15
10
5
0
0
2
4
6
8
天
sg AAVS1
sg IGSF8-1
sg IGSF8-2

图3B

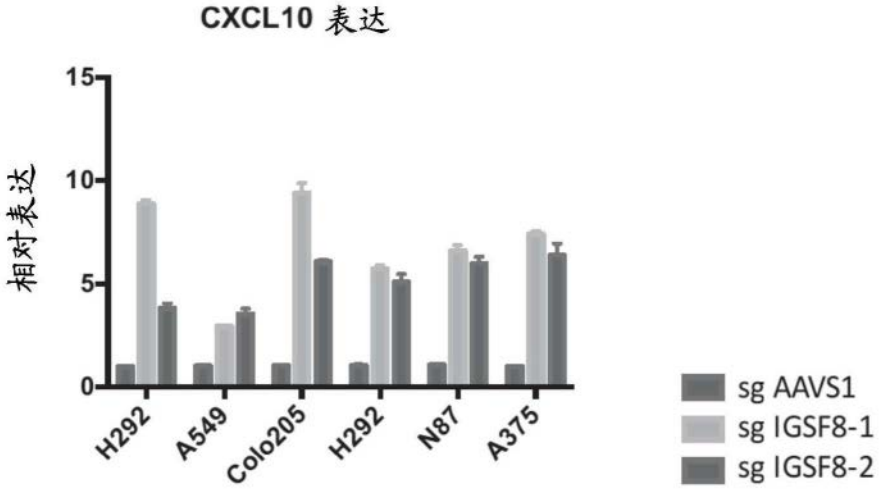

CXCL10 表达
相对表达
15
10
5
0
H292
A549
Colo205
H292
N87
A375
sg AAVS1
sg IGSF8-1
sg IGSF8-2

图4

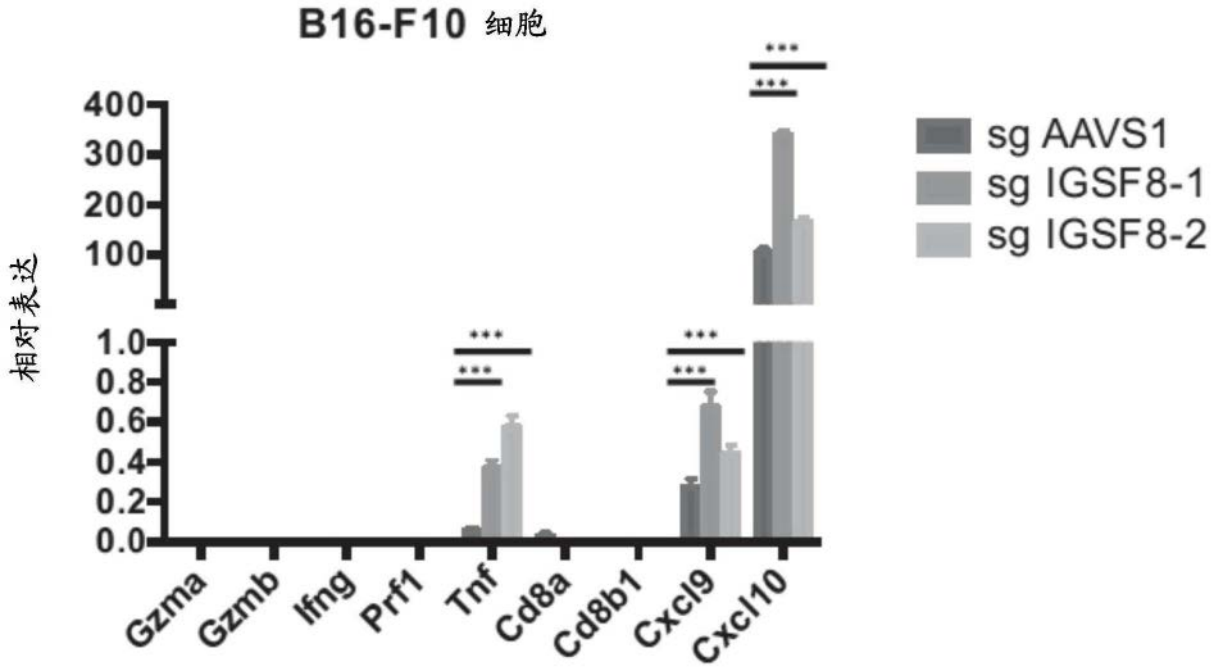

B16-F10 细胞
相对表达
400
300
200
100
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
***
Gzma
Gzmb
Ifng
Prf1
Tnf
Cd8a
Cd8b1
Cxcl9
Cxcl10
sg AAVS1
sg IGSF8-1
sg IGSF8-2

图5A

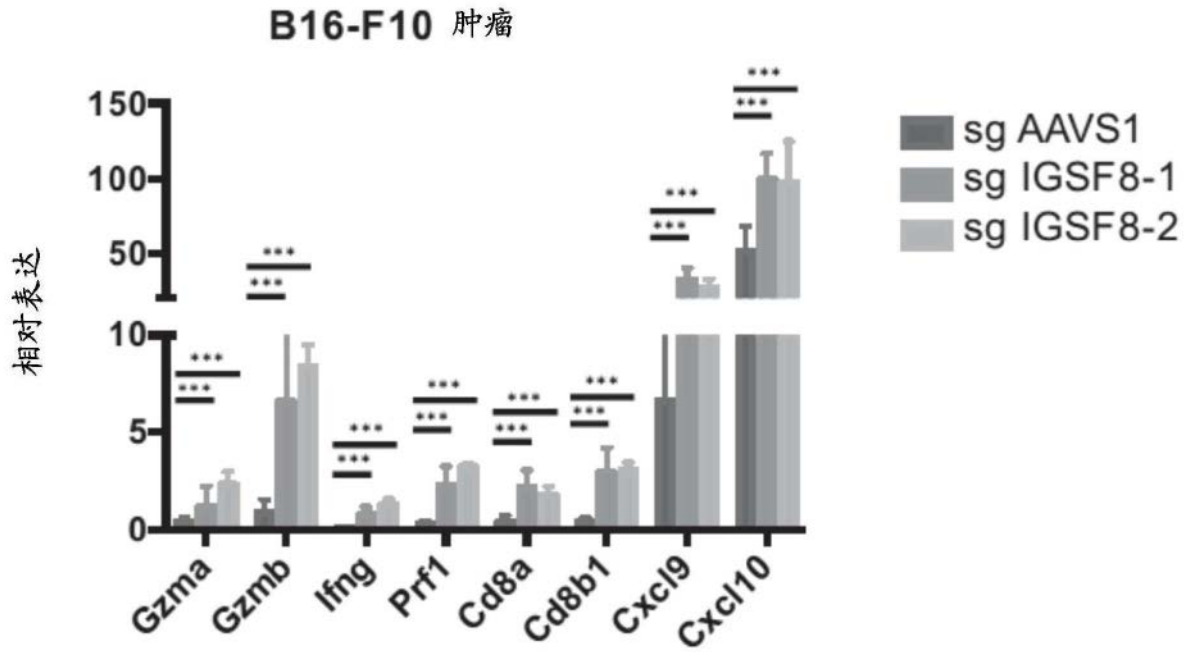

B16-F10 肿瘤
相对表达
150
100
50
10
5
0
***
Gzma
Gzmb
Ifng
Prf1
Cd8a
Cd8b1
Cxcl9
Cxcl10
sg AAVS1
sg IGSF8-1
sg IGSF8-2

图5B

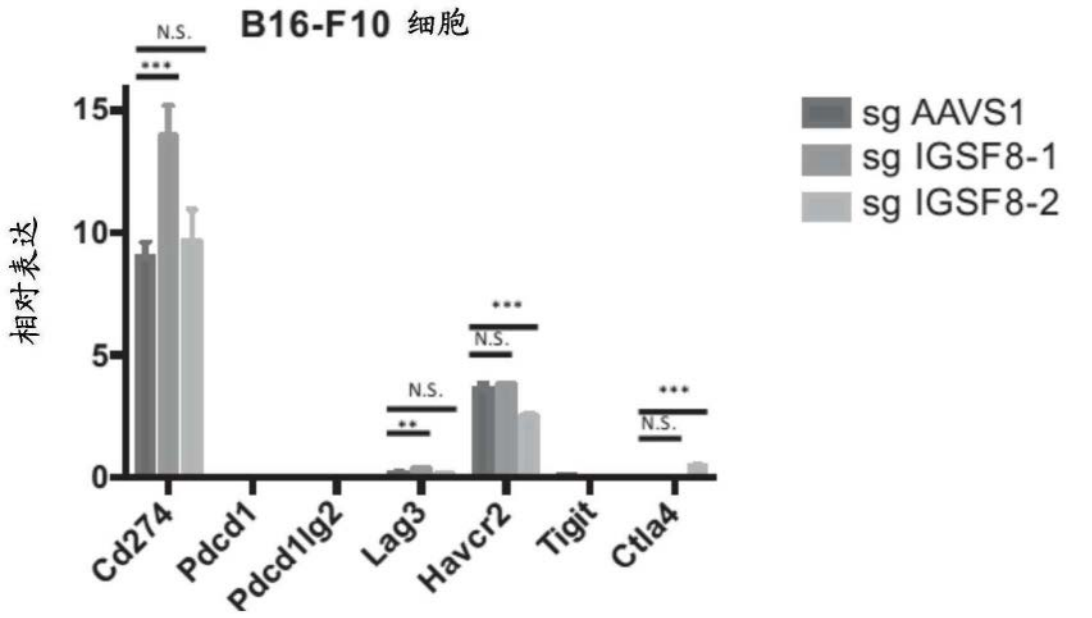

B16-F10 细胞
相对表达
15
10
5
0
N.S.
***
**
sg AAVS1
sg IGSF8-1
sg IGSF8-2
Cd274
Pdcd1
Pdcd1lg2
Lag3
Havcr2
Tigit
Ctla4

图5C

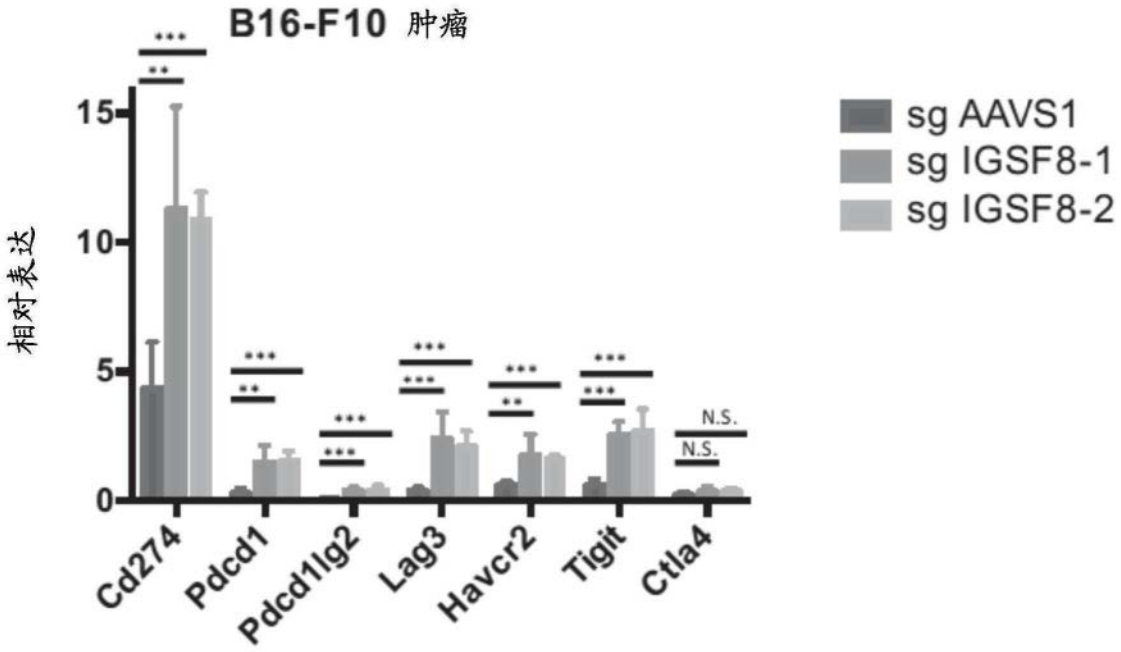

B16-F10 肿瘤
相对表达
15
10
5
0
***
**
N.S.
sg AAVS1
sg IGSF8-1
sg IGSF8-2
Cd274
Pdcd1
Pdcd1lg2
Lag3
Havcr2
Tigit
Ctla4

图5D

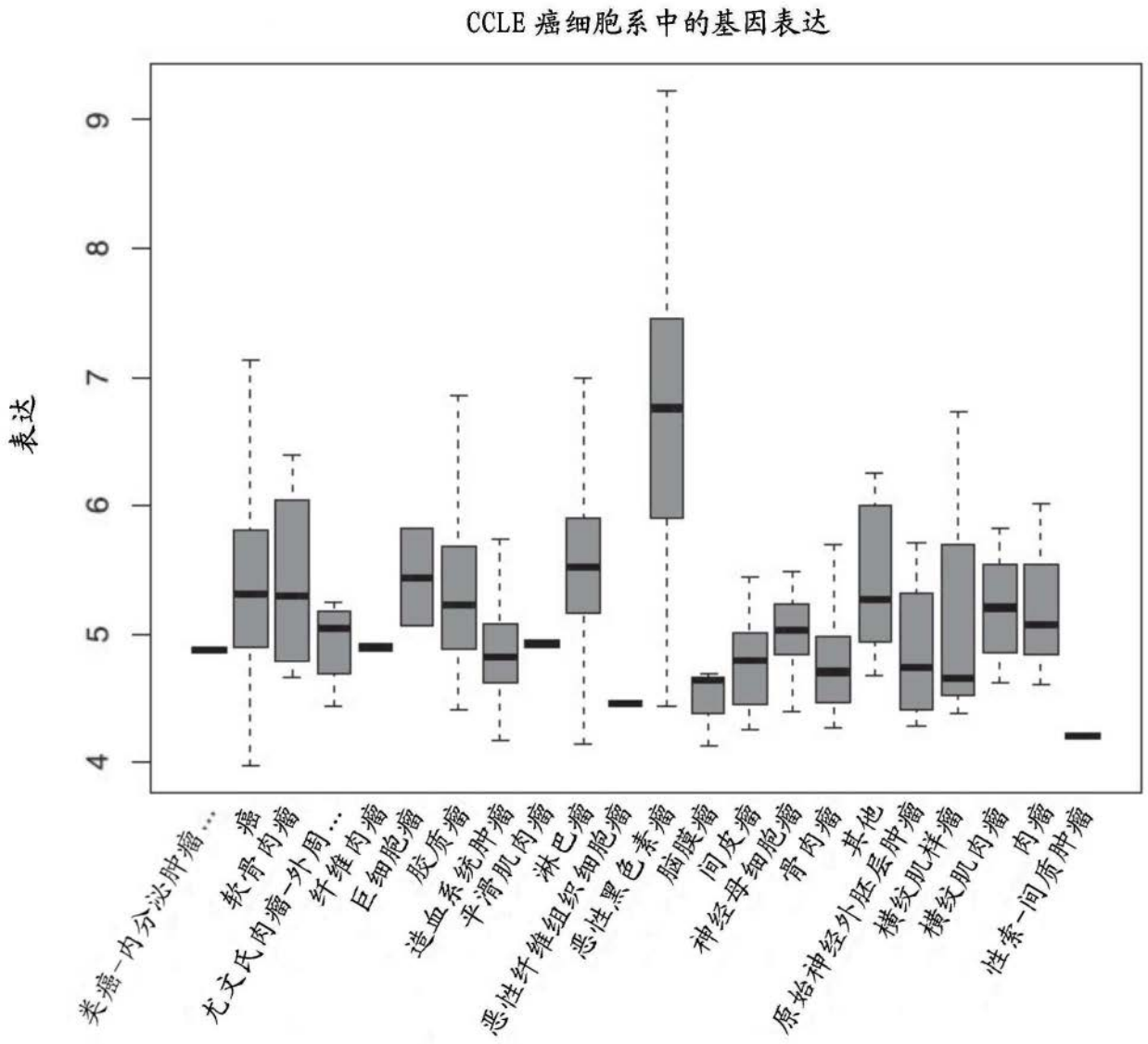

CCLE 癌细胞系中的基因表达
表达
4
5
6
7
8
9
类癌-内分泌肿瘤…
癌
软骨肉瘤
尤文氏肉瘤-外周…
纤维肉瘤
巨细胞瘤
胶质瘤
造血系统肿瘤
平滑肌肉瘤
淋巴瘤
恶性纤维组织细胞瘤
恶性黑色素瘤
脑膜瘤
间皮瘤
神经母细胞瘤
骨肉瘤
其他
原始神经外胚层肿瘤
横纹肌样瘤
横纹肌肉瘤
肉瘤
性索-间质肿瘤

图6A

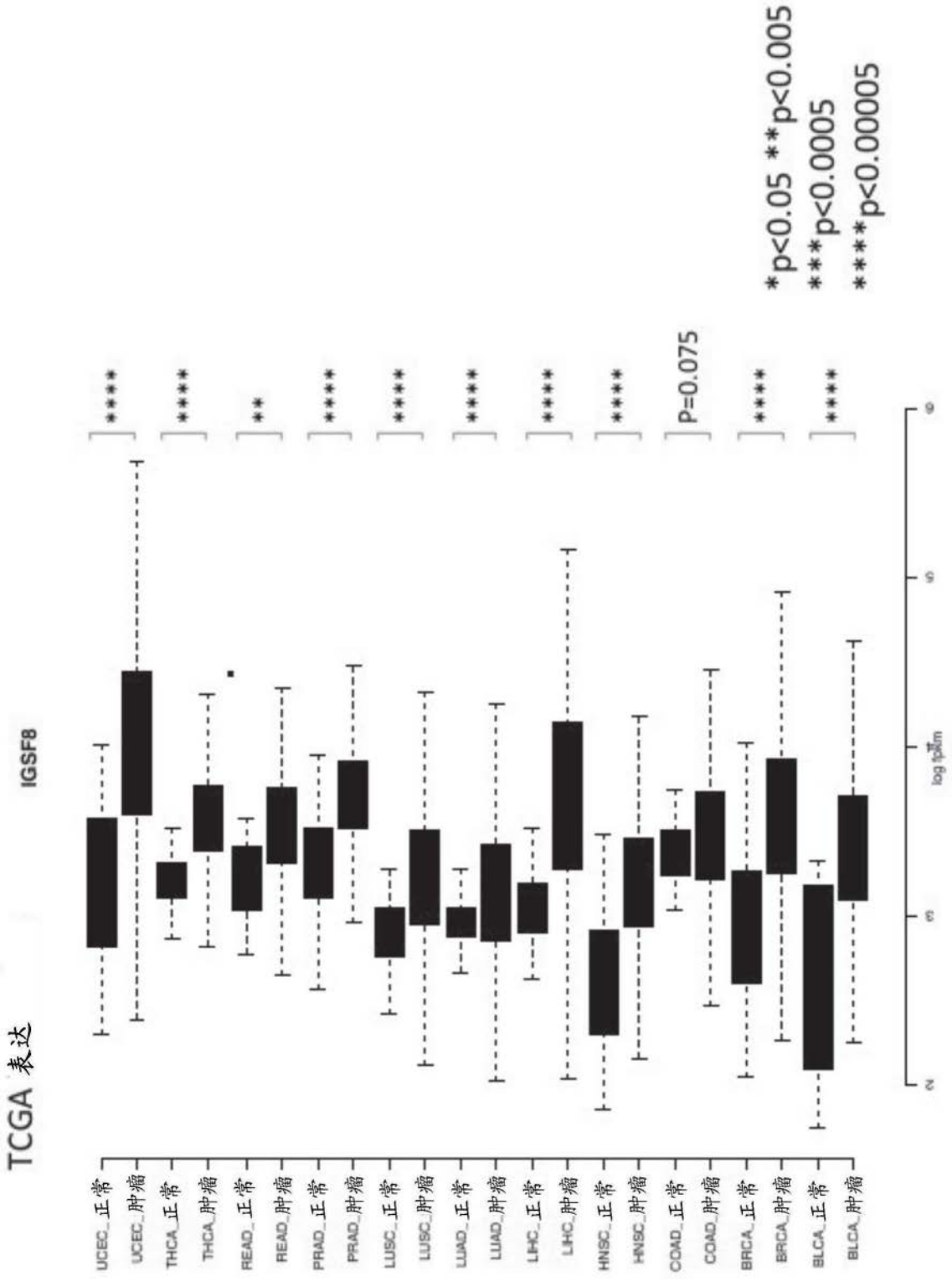

TCGA 表达
IGSF8
*p<0.05 **p<0.005
***p<0.0005
****p<0.00005
****
**
P=0.075
log tpm
UCEC_正常
UCEC_肿瘤
THCA_正常
THCA_肿瘤
READ_正常
READ_肿瘤
PRAD_正常
PRAD_肿瘤
LUSC_正常
LUSC_肿瘤
LUAD_正常
LUAD_肿瘤
LIHC_正常
LIHC_肿瘤
HNSC_正常
HNSC_肿瘤
COAD_正常
COAD_肿瘤
BRCA_正常
BRCA_肿瘤
BLCA_正常
BLCA_肿瘤

图6B

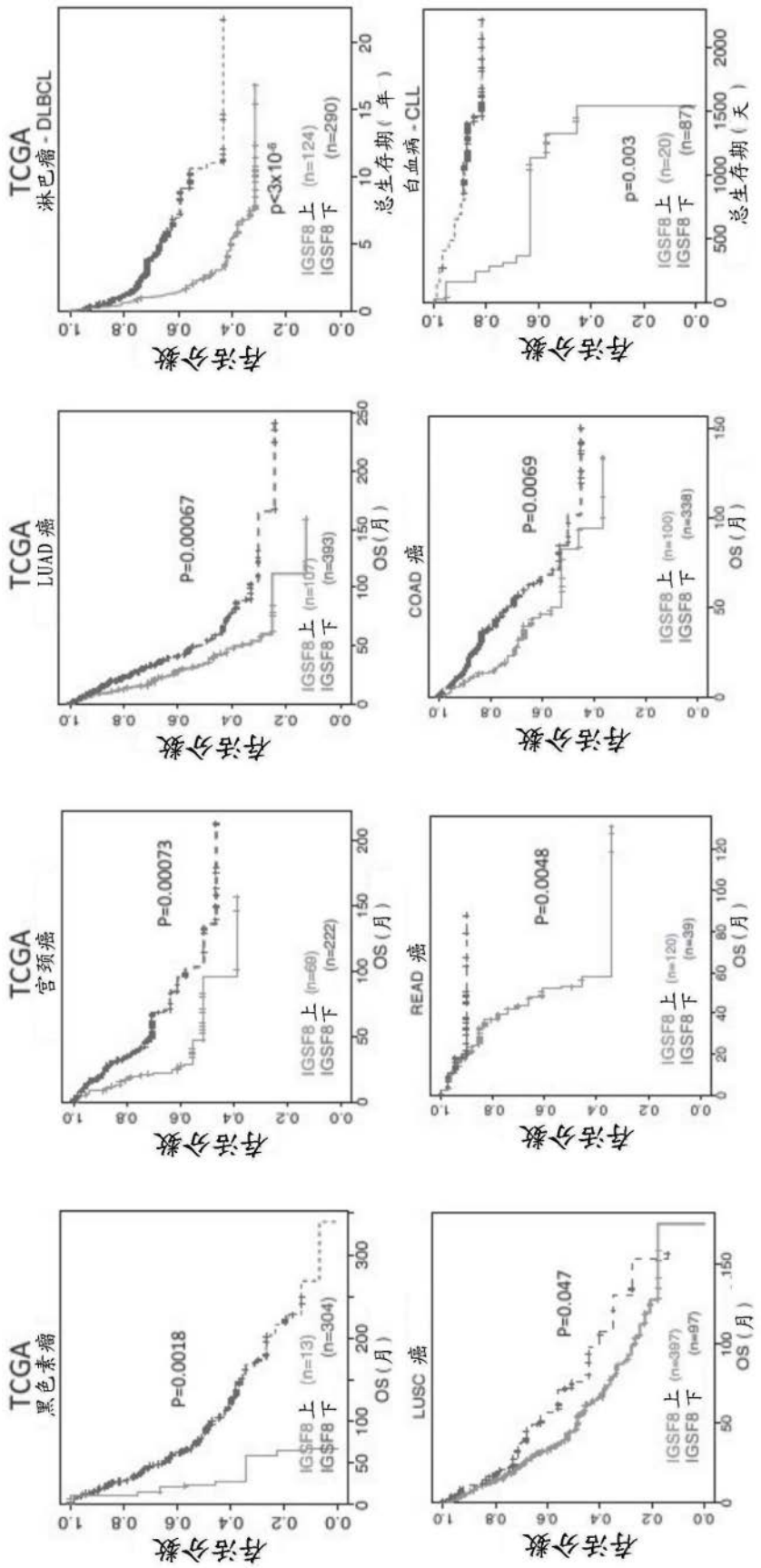

TCGA
淋巴瘤 - DLBCL
p<3x10-6
IGSF8 上 (n=124)
IGSF8 下 (n=290)
总生存期（年）
TCGA
白血病 - CLL
p=0.003
IGSF8 上 (n=20)
IGSF8 下 (n=87)
总生存期（天）
TCGA
LUAD 癌
P=0.00067
IGSF8 上 (n=107)
IGSF8 下 (n=393)
OS（月）
COAD 癌
P=0.0069
IGSF8 上 (n=100)
IGSF8 下 (n=338)
OS（月）
TCGA
宫颈癌
P=0.00073
IGSF8 上 (n=69)
IGSF8 下 (n=222)
OS（月）
READ 癌
P=0.0048
IGSF8 上 (n=120)
IGSF8 下 (n=39)
OS（月）
TCGA
黑色素瘤
P=0.0018
IGSF8 上 (n=13)
IGSF8 下 (n=304)
OS（月）
LUSC 癌
P=0.047
IGSF8 上 (n=387)
IGSF8 下 (n=97)
OS（月）
存活分数

图6C

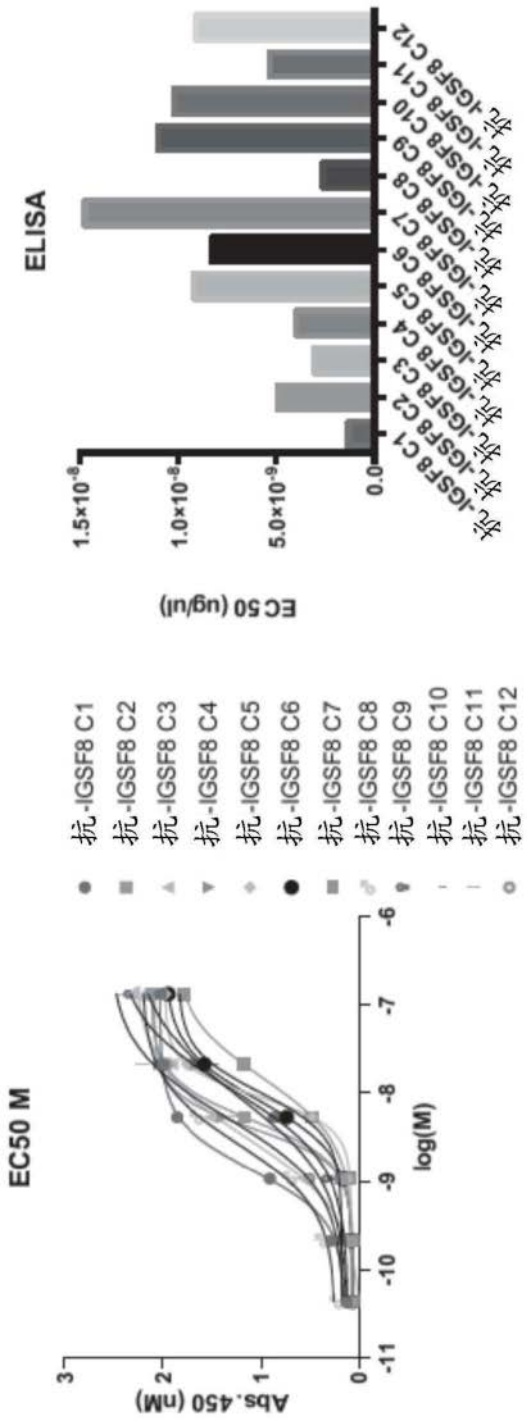

ELISA
EC50 (ug/ul)
1.5×10⁻⁸
1.0×10⁻⁸
5.0×10⁻⁹
0.0
抗-IGSF8 C1
抗-IGSF8 C2
抗-IGSF8 C3
抗-IGSF8 C4
抗-IGSF8 C5
抗-IGSF8 C6
抗-IGSF8 C7
抗-IGSF8 C8
抗-IGSF8 C9
抗-IGSF8 C10
抗-IGSF8 C11
抗-IGSF8 C12
EC50 M
Abs.450 (nM)
log(M)
3
2
1
0
-6
-7
-8
-9
-10
-11

图7

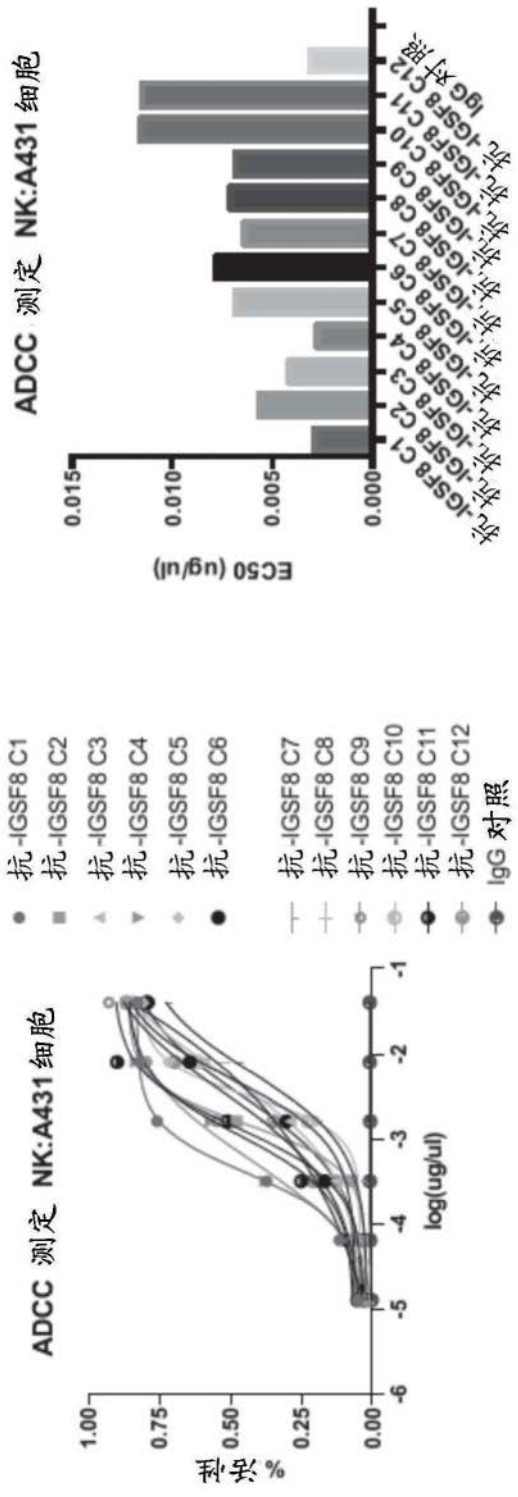

ADCC 测定 NK:A431 细胞
EC50 (ug/ul)
0.015
0.010
0.005
0.000
抗-IGSF8 C1
抗-IGSF8 C2
抗-IGSF8 C3
抗-IGSF8 C4
抗-IGSF8 C5
抗-IGSF8 C6
抗-IGSF8 C7
抗-IGSF8 C8
抗-IGSF8 C9
抗-IGSF8 C10
抗-IGSF8 C11
抗-IGSF8 C12
IgG 对照
ADCC 测定 NK:A431 细胞
% 活性
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
log(ug/ul)
-1
-2
-3
-4
-5
-6

图8

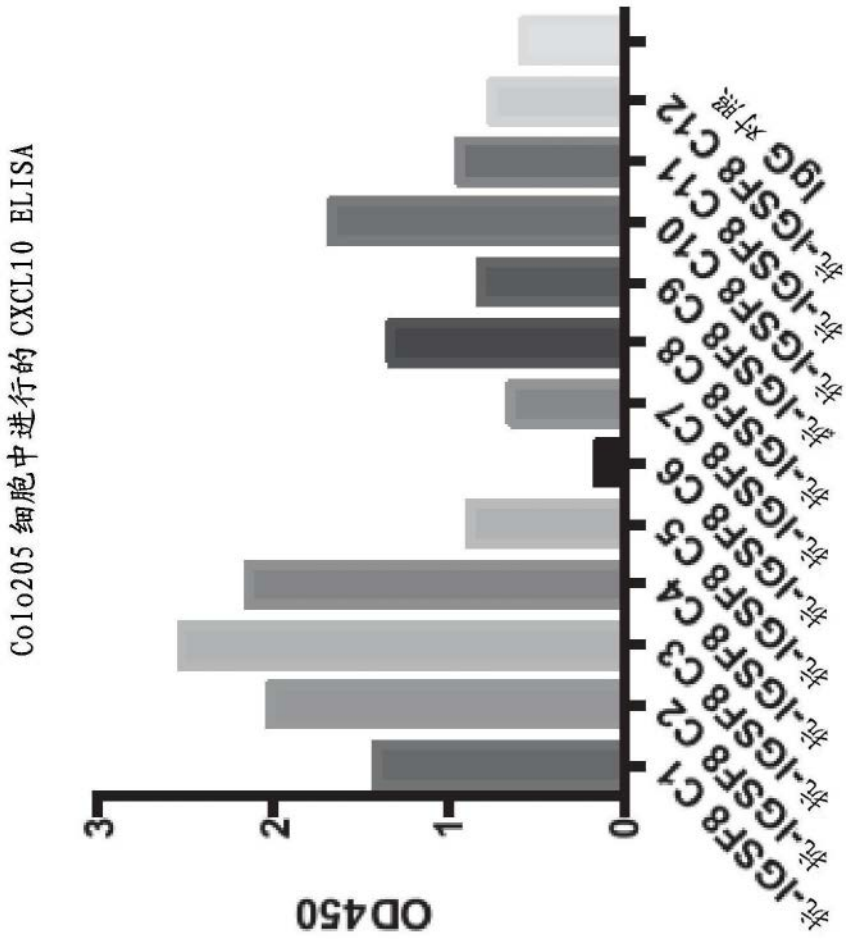

Colo205 细胞中进行的 CXCL10 ELISA
OD450
0
1
2
3
抗-IGSF8 C1
抗-IGSF8 C2
抗-IGSF8 C3
抗-IGSF8 C4
抗-IGSF8 C5
抗-IGSF8 C6
抗-IGSF8 C7
抗-IGSF8 C8
抗-IGSF8 C9
抗-IGSF8 C10
抗-IGSF8 C11
抗-IGSF8 C12
IgG 对照

图9

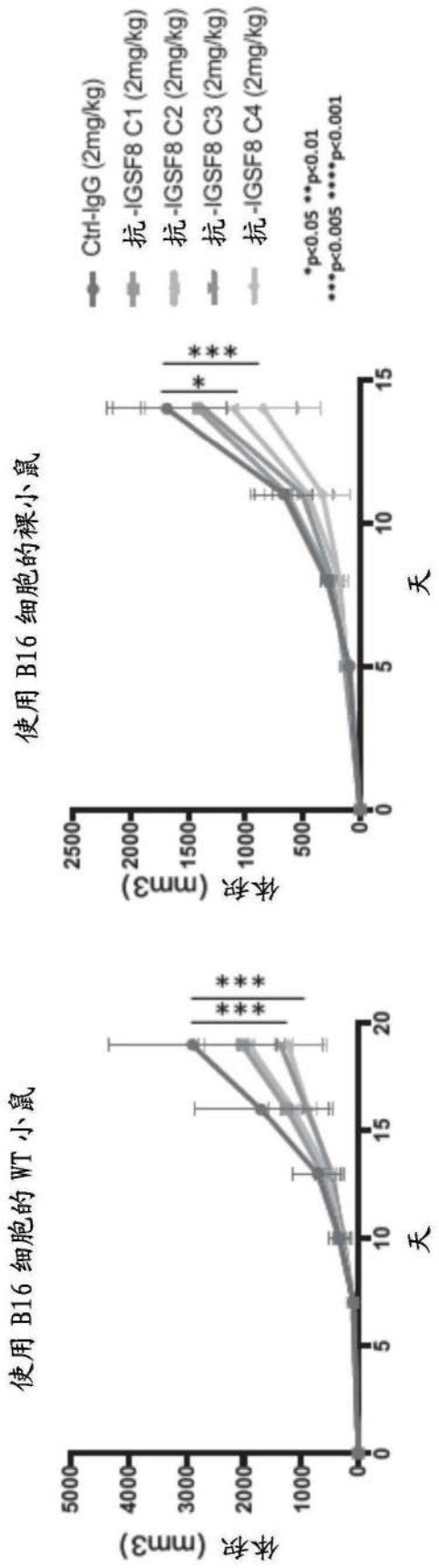

Ctrl-IgG (2mg/kg)
抗-IGSF8 C1 (2mg/kg)
抗-IGSF8 C2 (2mg/kg)
抗-IGSF8 C3 (2mg/kg)
抗-IGSF8 C4 (2mg/kg)
*p<0.05 **p<0.01
***p<0.005 ****p<0.001
使用 B16 细胞的裸小鼠
体积 (mm3)
天
使用 B16 细胞的 WT 小鼠
体积 (mm3)
天

图10

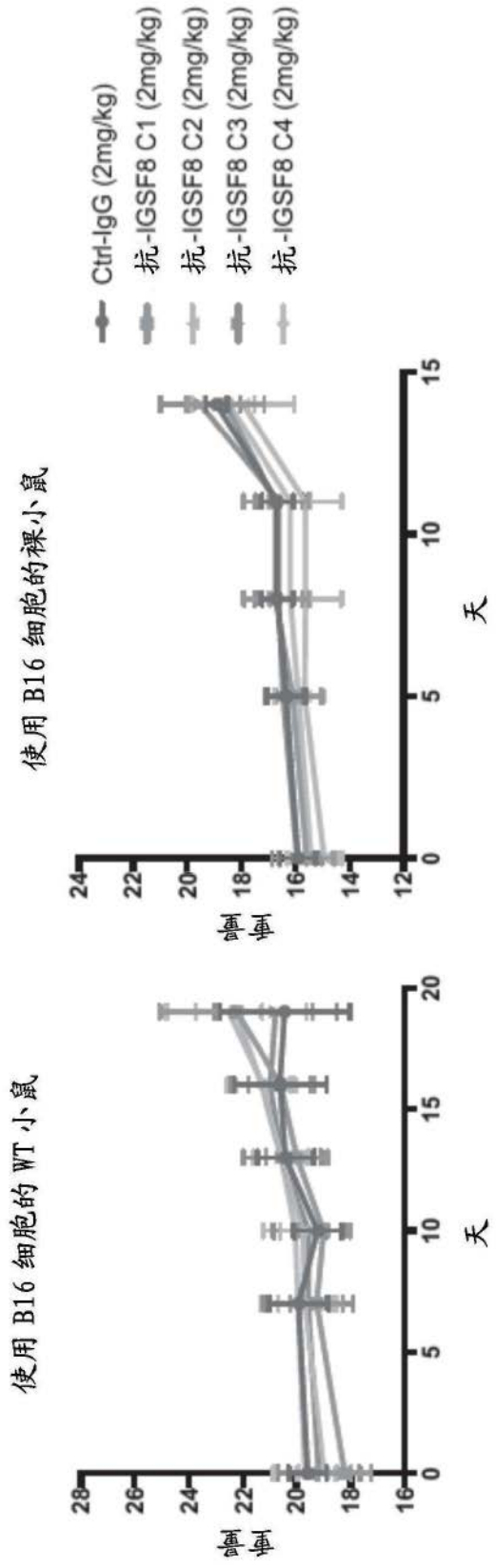

Ctrl-IgG (2mg/kg)
抗-IGSF8 C1 (2mg/kg)
抗-IGSF8 C2 (2mg/kg)
抗-IGSF8 C3 (2mg/kg)
抗-IGSF8 C4 (2mg/kg)
使用 B16 细胞的裸小鼠
使用 B16 细胞的 WT 小鼠
肿瘤
天

图11

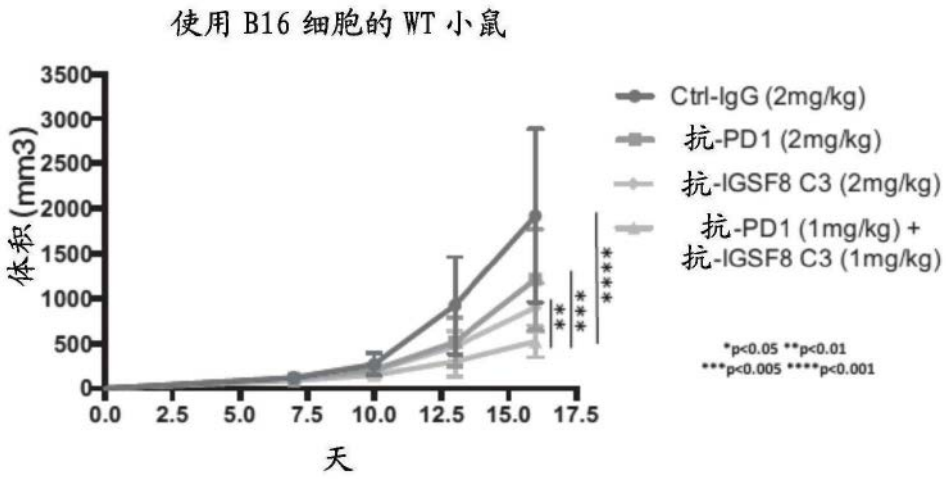

使用 B16 细胞的 WT 小鼠
体积 (mm3)
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0.0
2.5
5.0
7.5
10.0
12.5
15.0
17.5
天
Ctrl-IgG (2mg/kg)
抗-PD1 (2mg/kg)
抗-IGSF8 C3 (2mg/kg)
抗-PD1 (1mg/kg) +
抗-IGSF8 C3 (1mg/kg)
**
***
****
*p<0.05 **p<0.01
***p<0.005 ****p<0.001

图12

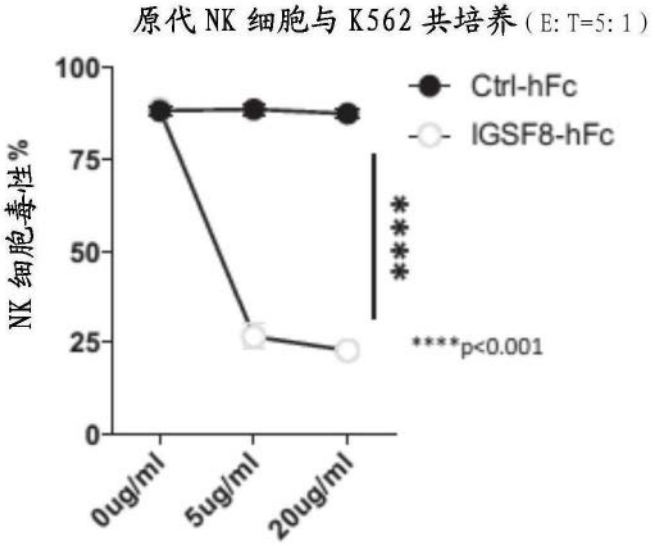

原代 NK 细胞与 K562 共培养 (E: T=5: 1)
NK 细胞毒性 %
100
75
50
25
0
0ug/ml
5ug/ml
20ug/ml
Ctrl-hFc
IGSF8-hFc
****
****p<0.001

图13A

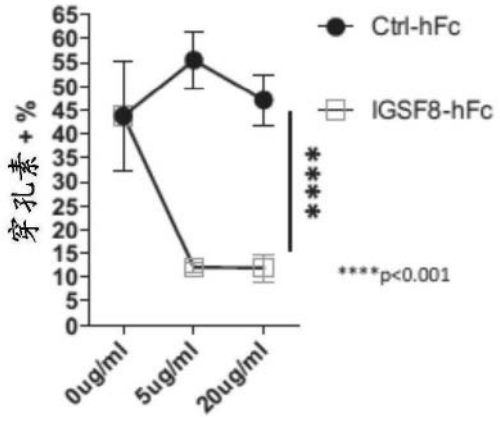

穿孔素+%
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
0ug/ml
5ug/ml
20ug/ml
Ctrl-hFc
IGSF8-hFc
****
****p<0.001

图13B

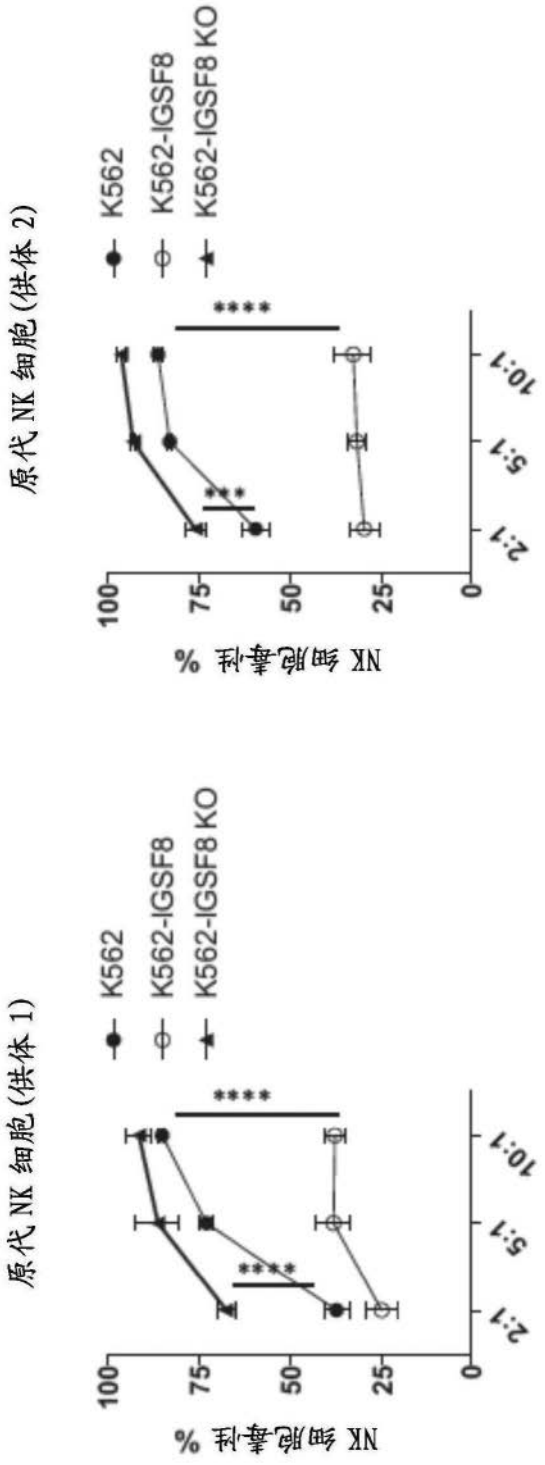

原代 NK 细胞(供体 2)
K562
K562-IGSF8
K562-IGSF8 KO
NK 细胞毒性 %
100
75
50
25
0
2:1
5:1
10:1
****
***
原代 NK 细胞(供体 1)
K562
K562-IGSF8
K562-IGSF8 KO
NK 细胞毒性 %
100
75
50
25
0
2:1
5:1
10:1
****
****

图14

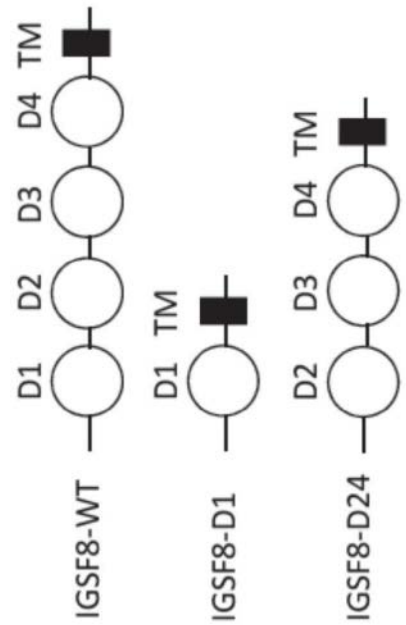

D1
D2
D3
D4
TM
IGSF8-WT
D1
TM
IGSF8-D1
D2
D3
D4
TM
IGSF8-D24

图15A

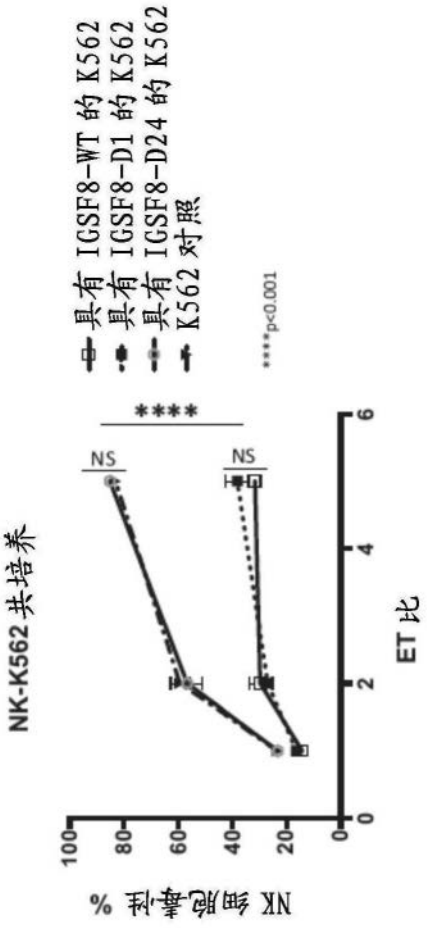

具有 IGSF8-WT 的 K562
具有 IGSF8-D1 的 K562
具有 IGSF8-D24 的 K562
K562 对照
****p<0.001
NK-K562 共培养
NK 细胞毒性 %
ET 比
****
NS
NS
0
20
40
60
80
100
0
2
4
6

图15B

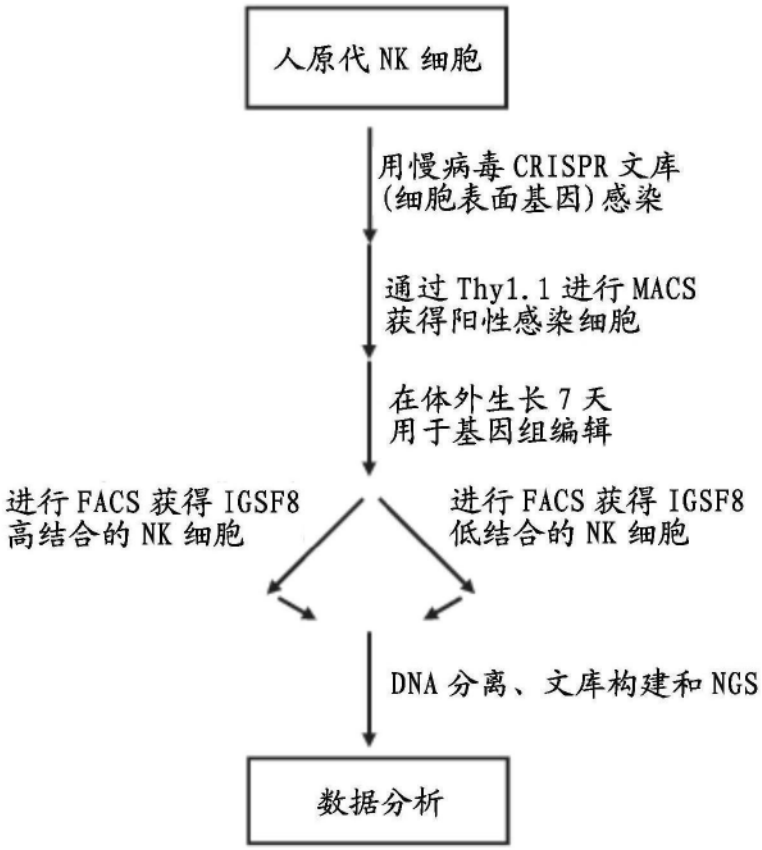

人原代 NK 细胞
用慢病毒 CRISPR 文库
(细胞表面基因)感染
通过 Thy1.1 进行 MACS
获得阳性感染细胞
在体外生长 7 天
用于基因组编辑
进行 FACS 获得 IGSF8
高结合的 NK 细胞
进行 FACS 获得 IGSF8
低结合的 NK 细胞
DNA 分离、文库构建和 NGS
数据分析

图16A

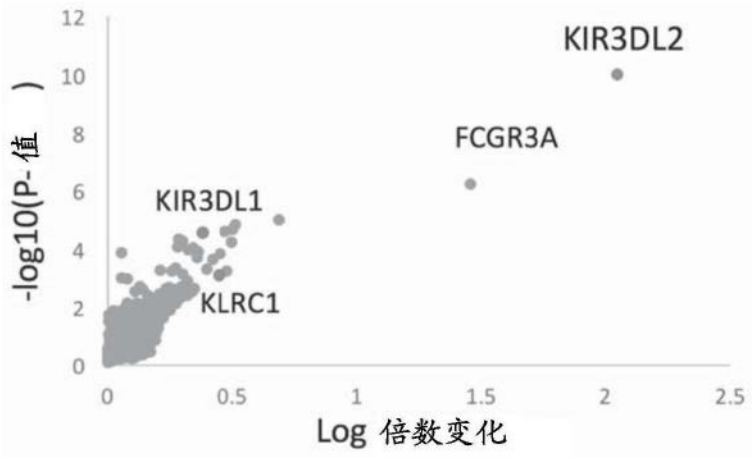

KIR3DL2
FCGR3A
KIR3DL1
KLRC1
-log10(P-值)
Log 倍数变化
0
2
4
6
8
10
12
0
0.5
1
1.5
2
2.5

图16B



图17A

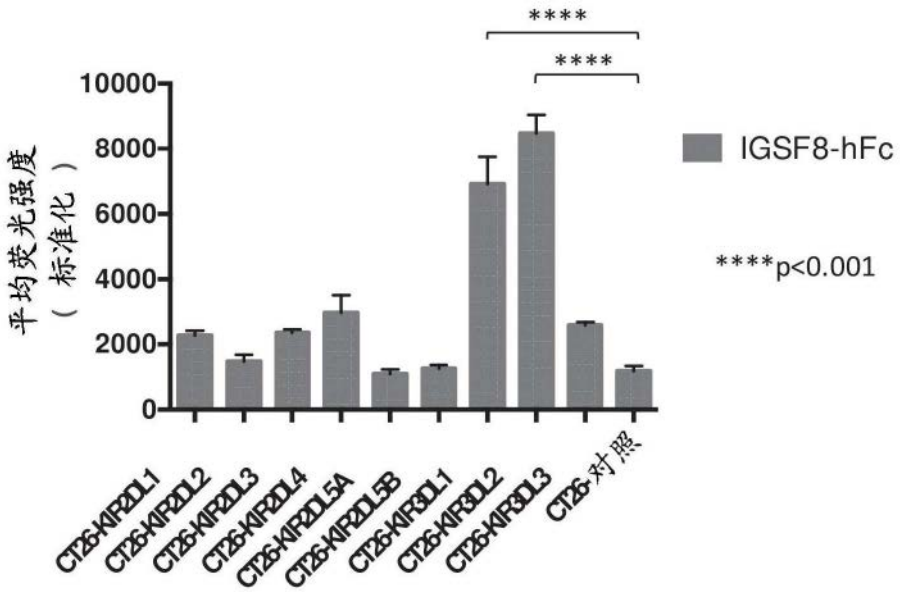


图17B



图17C

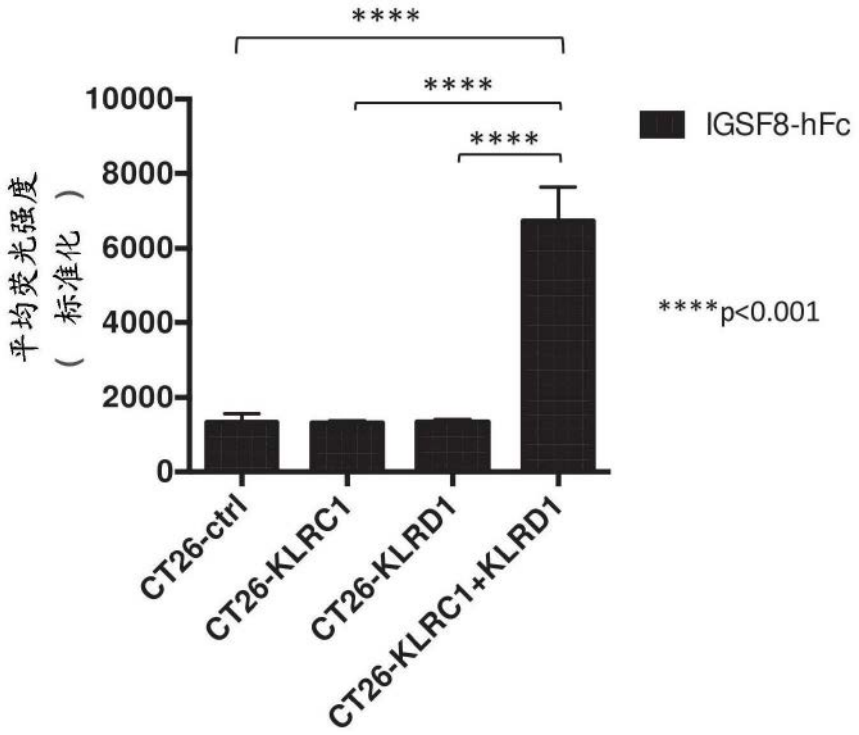

****
****
****
10000
8000
6000
4000
2000
0
平均荧光强度
（ 标准化 ）
IGSF8-hFc
****p<0.001
CT26-ctrl
CT26-KLRC1
CT26-KLRD1
CT26-KLRC1+KLRD1

图17D

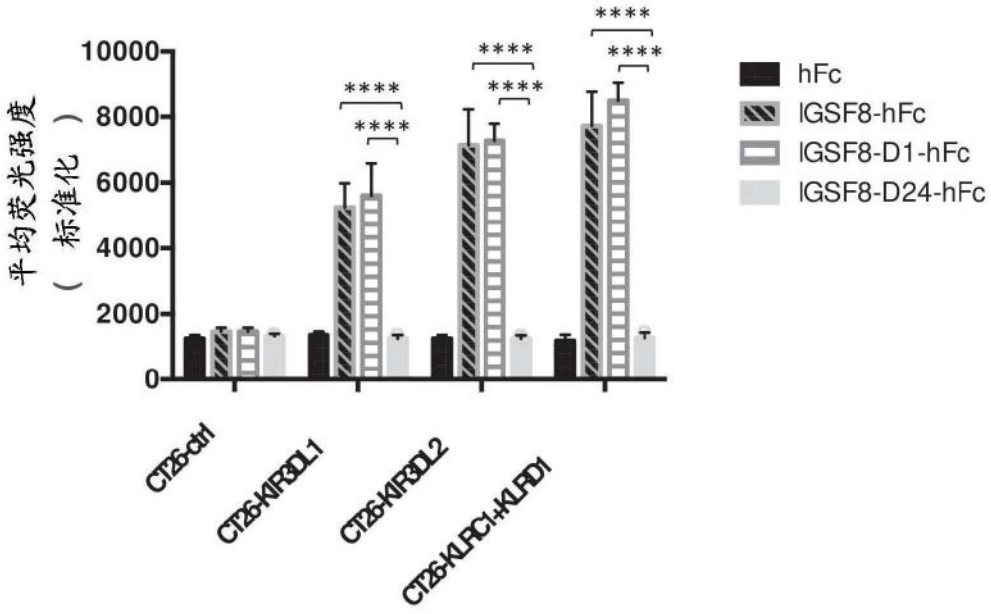

10000
8000
6000
4000
2000
0
平均荧光强度
（ 标准化 ）
hFc
IGSF8-hFc
IGSF8-D1-hFc
IGSF8-D24-hFc
CT26-ctrl
CT26-KLRD1.1
CT26-KLRD1.2
CT26-KLRC1+KLRD1

图17E

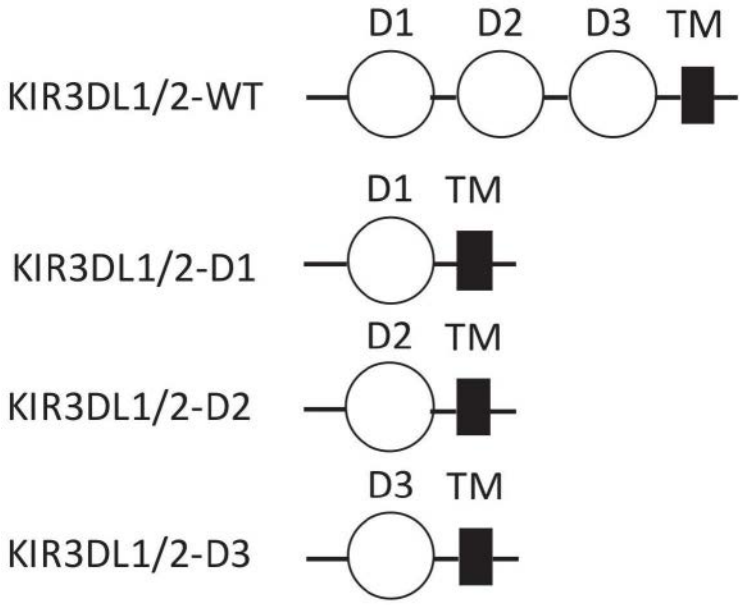

D1
D2
D3
TM
KIR3DL1/2-WT
D1
TM
KIR3DL1/2-D1
D2
TM
KIR3DL1/2-D2
D3
TM
KIR3DL1/2-D3

图18A

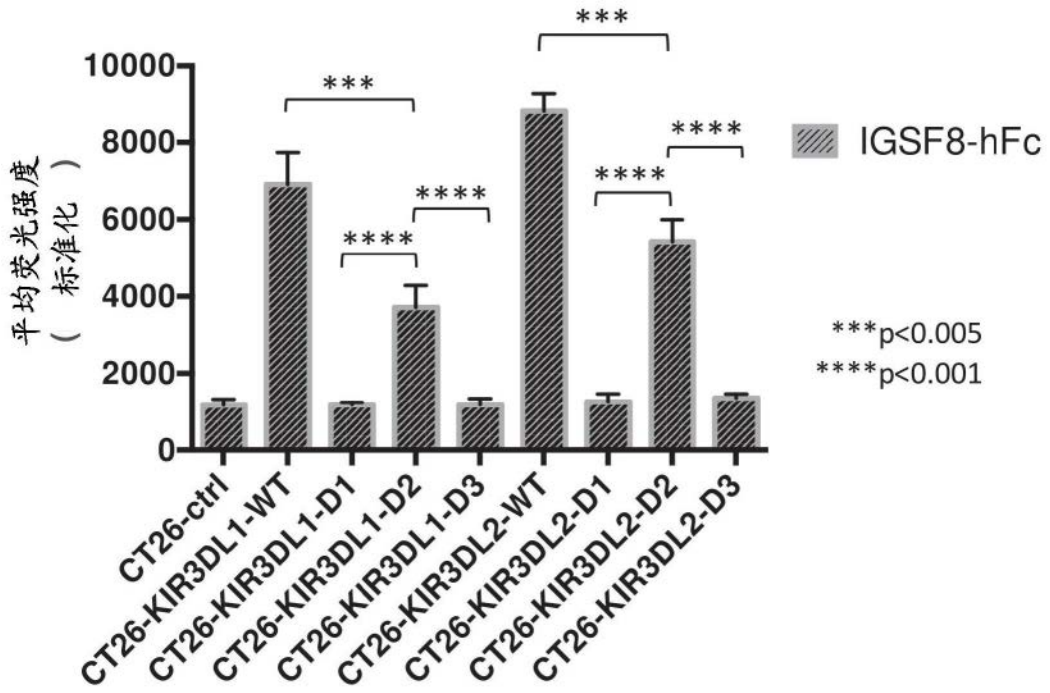

平均荧光强度（标准化）
10000
8000
6000
4000
2000
0
***
***
****
****
****
****
IGSF8-hFc
***p<0.005
****p<0.001
CT26-ctrl
CT26-KIR3DL1-WT
CT26-KIR3DL1-D1
CT26-KIR3DL1-D2
CT26-KIR3DL1-D3
CT26-KIR3DL2-WT
CT26-KIR3DL2-D1
CT26-KIR3DL2-D2
CT26-KIR3DL2-D3

图18B

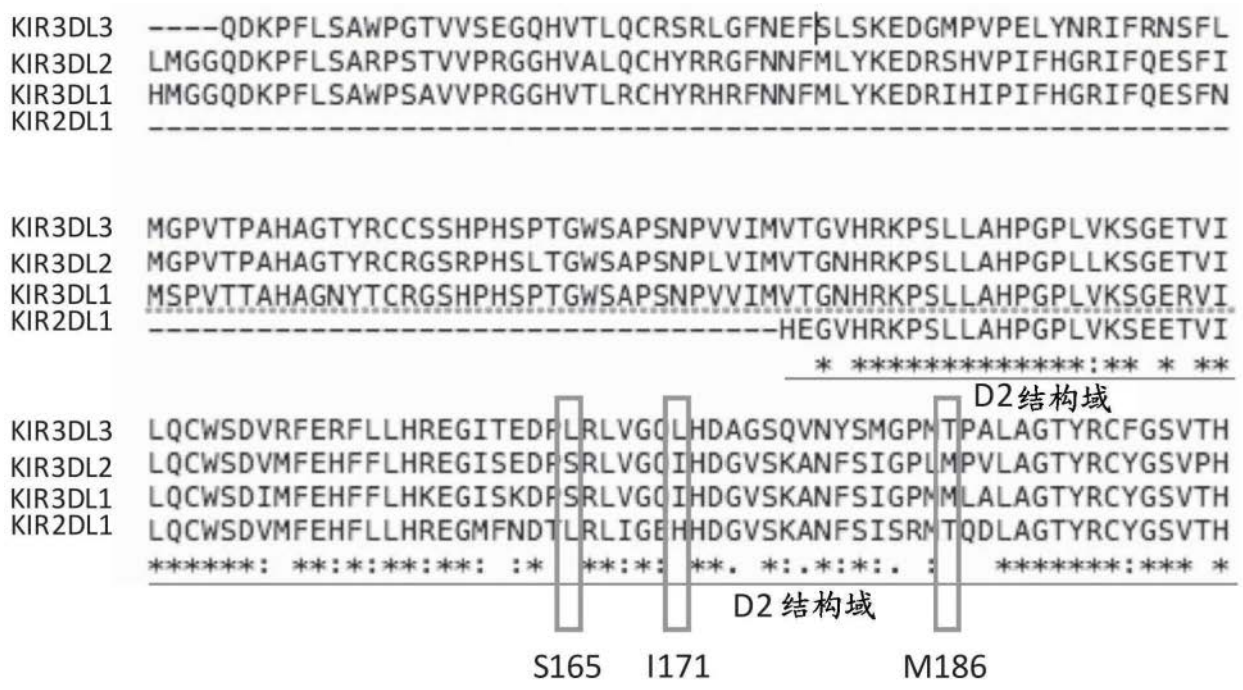


图19A

KIR3DL1 的晶体结构

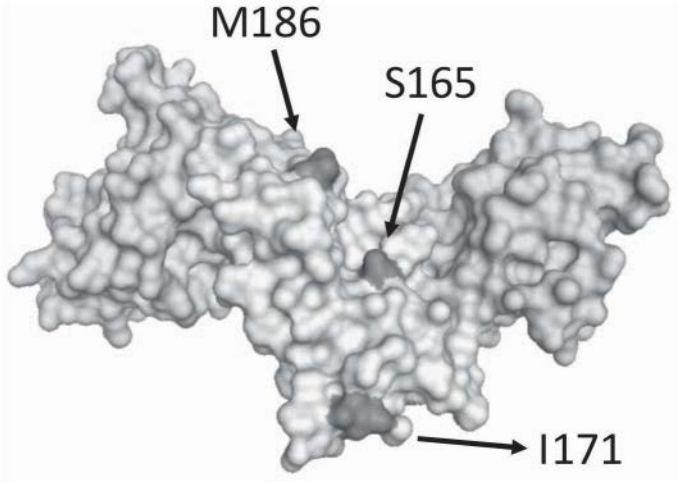


图19B

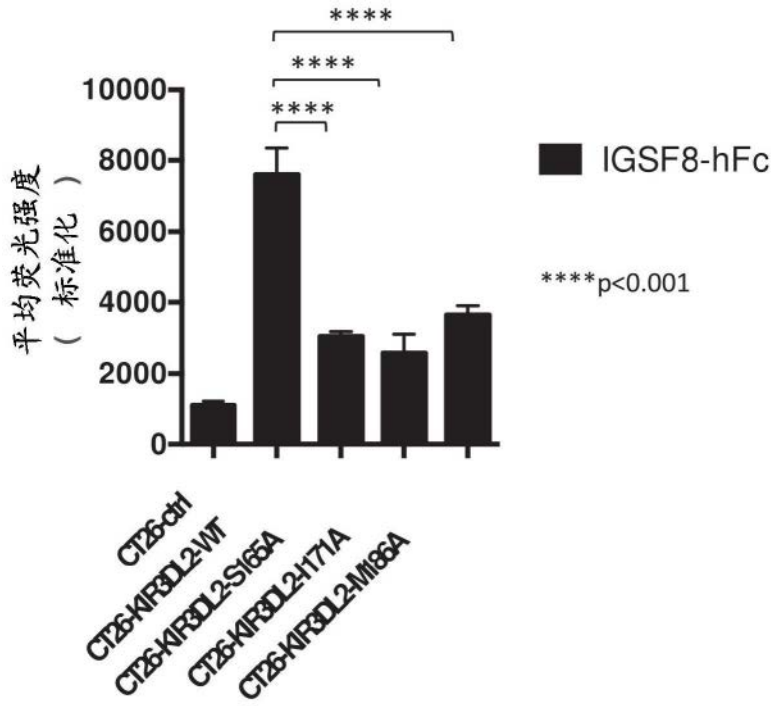
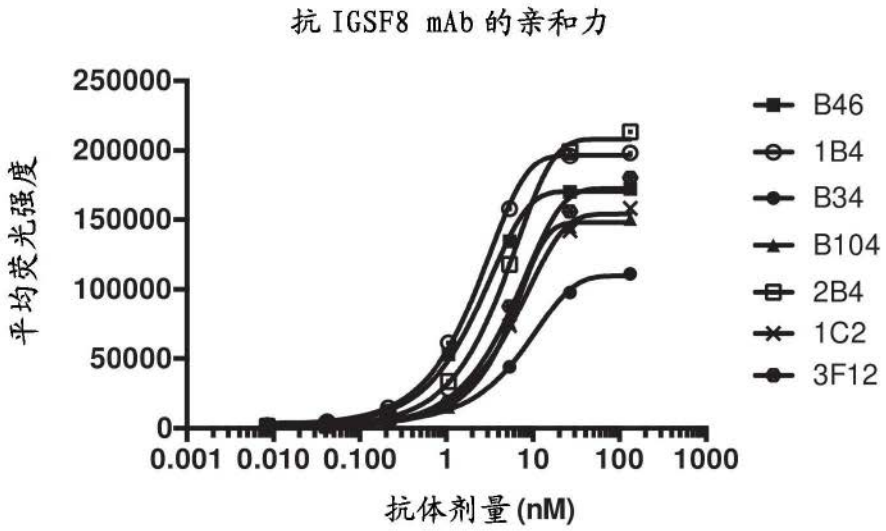


图20



	EC50 (nM)
B46	2.080
1B4	2.024
B34	7.882
B104	5.418
2B4	4.639
1C2	6.200
3F12	5.932

图21

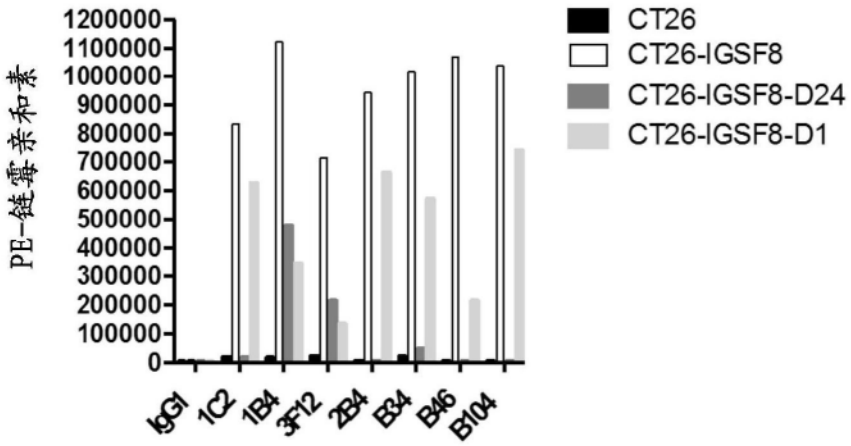


图22

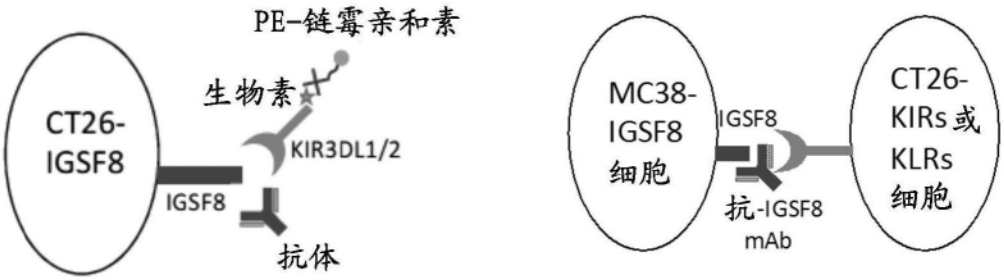


图23A

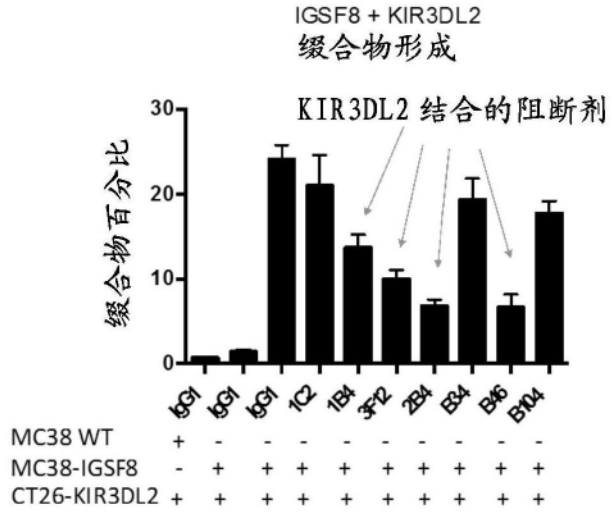


图23B

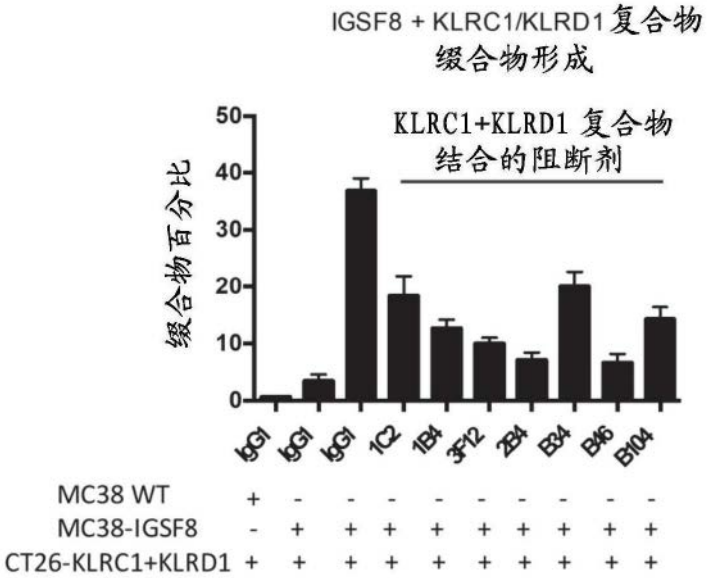

IGSF8 + KLRC1/KLRD1复合物
缀合物形成
KLRC1+KLRD1 复合物
结合的阻断剂
缀合物百分比
50
40
30
20
10
0
IgG1
IgG1
IgG1
1C2
1B4
3F12
2B4
B24
B46
B104
MC38 WT + - - - - - - - - -
MC38-IGSF8 - + + + + + + + + +
CT26-KLRC1+KLRD1 + + + + + + + + + +

图23C

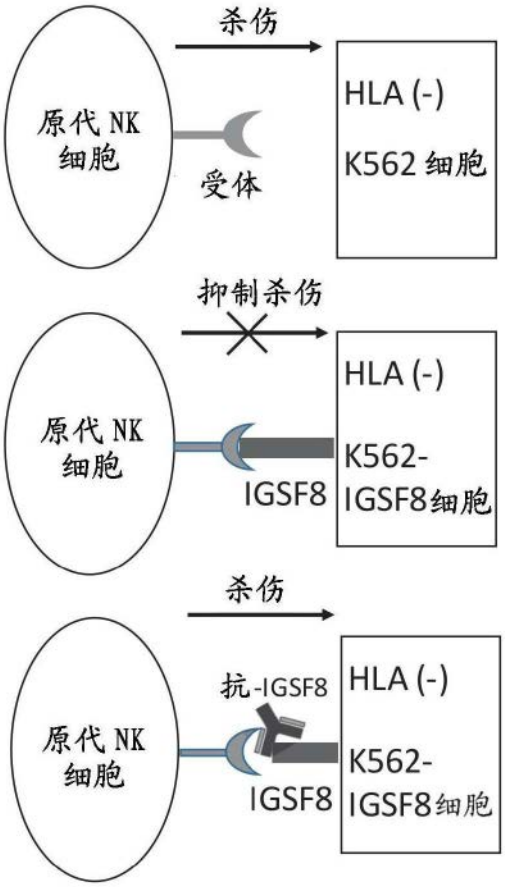

杀伤
原代 NK 细胞
受体
HLA (-)
K562 细胞
抑制杀伤
原代 NK 细胞
IGSF8
HLA (-)
K562-IGSF8细胞
杀伤
抗-IGSF8
原代 NK 细胞
IGSF8
HLA (-)
K562-IGSF8细胞

图24A

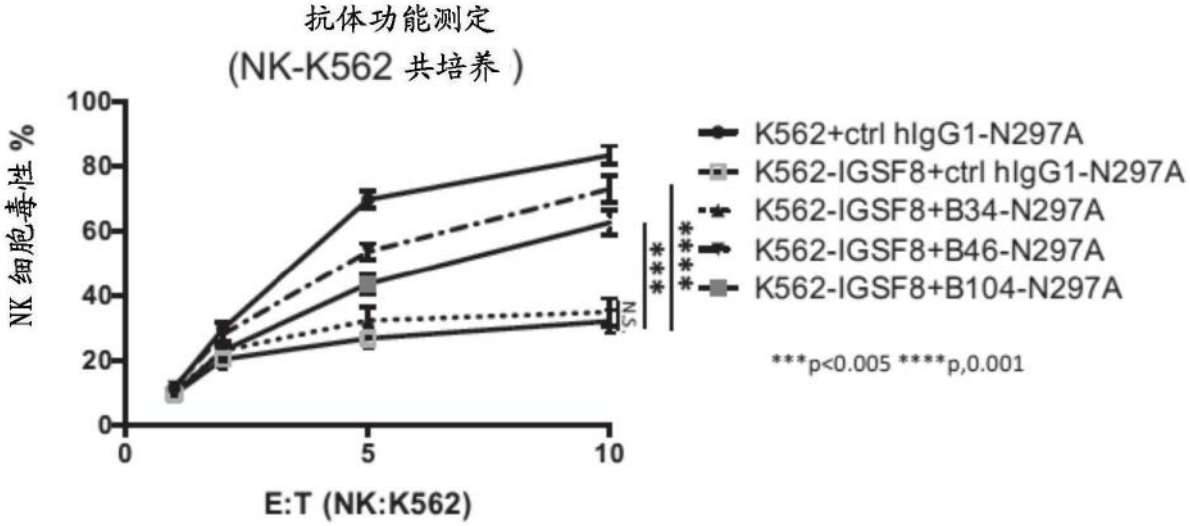


图24B

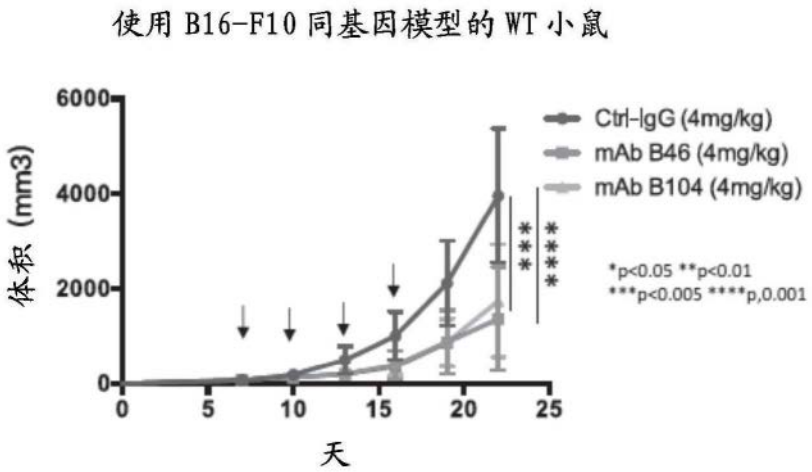


图25A

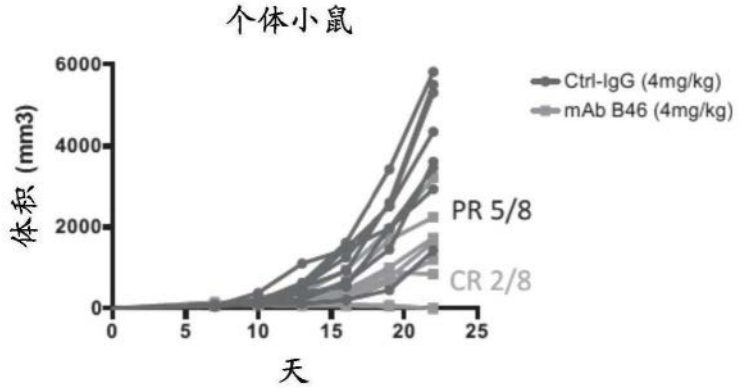


图25B

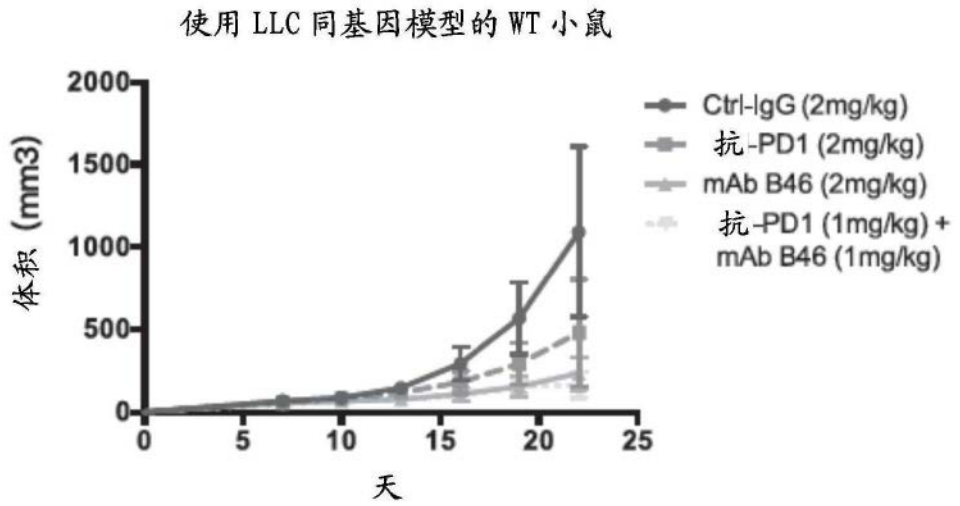


图26A

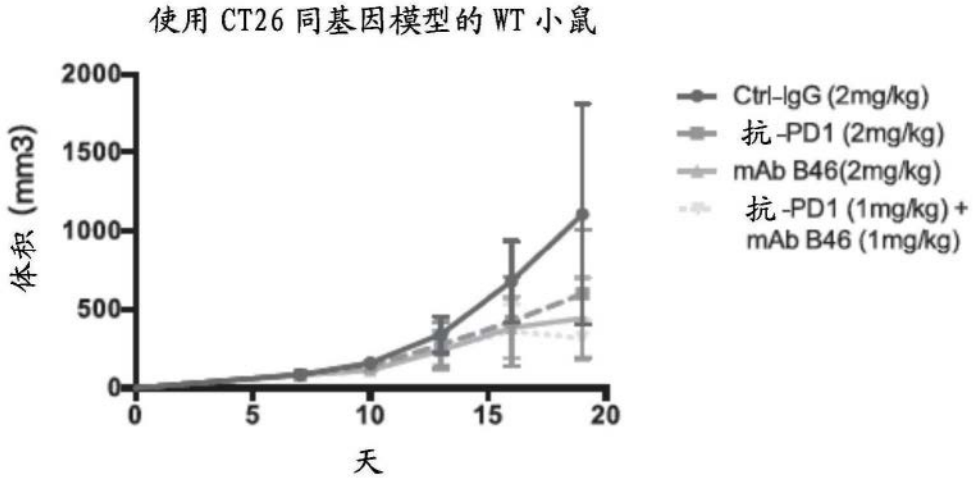


图26B

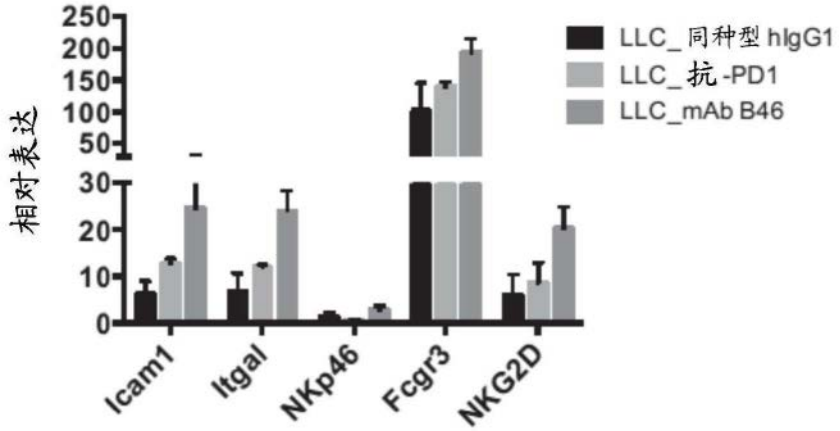


图27


L1 VH 序列：
CDR1
CDR2
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN
SLRAEDTAVYYCARDGSGWGYAFDIWGQGTMVTVSS
CDR3
L1 VL 序列：
CDR1
CDR2
DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISEYLNWYQHKPGKAPNPLVFDAANLETGVPPRFSATGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYC
QQYDSFPYTFGQGTRLDIKRTV
CDR3
L2 VH 序列：
CDR1
CDR2
EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAGSGFTFRDYAMTWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM
NSLRAEDTAIYYCARGEYSSGWPSWFDPWGQGTLVTVSS
CDR3
L2 VL 序列：
CDR1
CDR2
EIVLTQSPSSLSASVGDRVTISCRASRTVGTFLNWYQQRPGKPPQALILGVSILEGGVSSRFSGAGSGTEFSLTISSLQPEDIGTYYC
QQSHDVPRTFGQGTKVDLRRTV
CDR3

图28

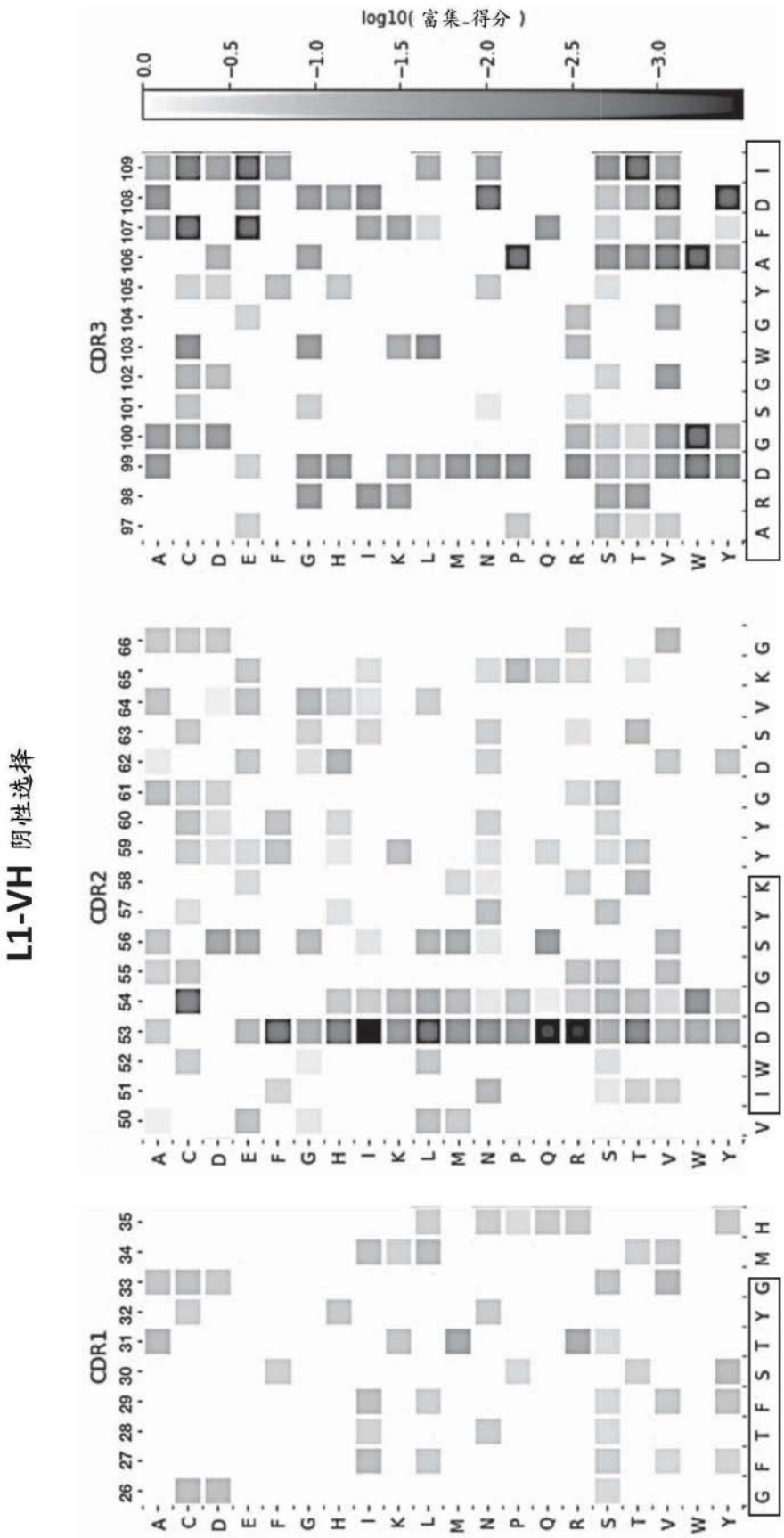


图29

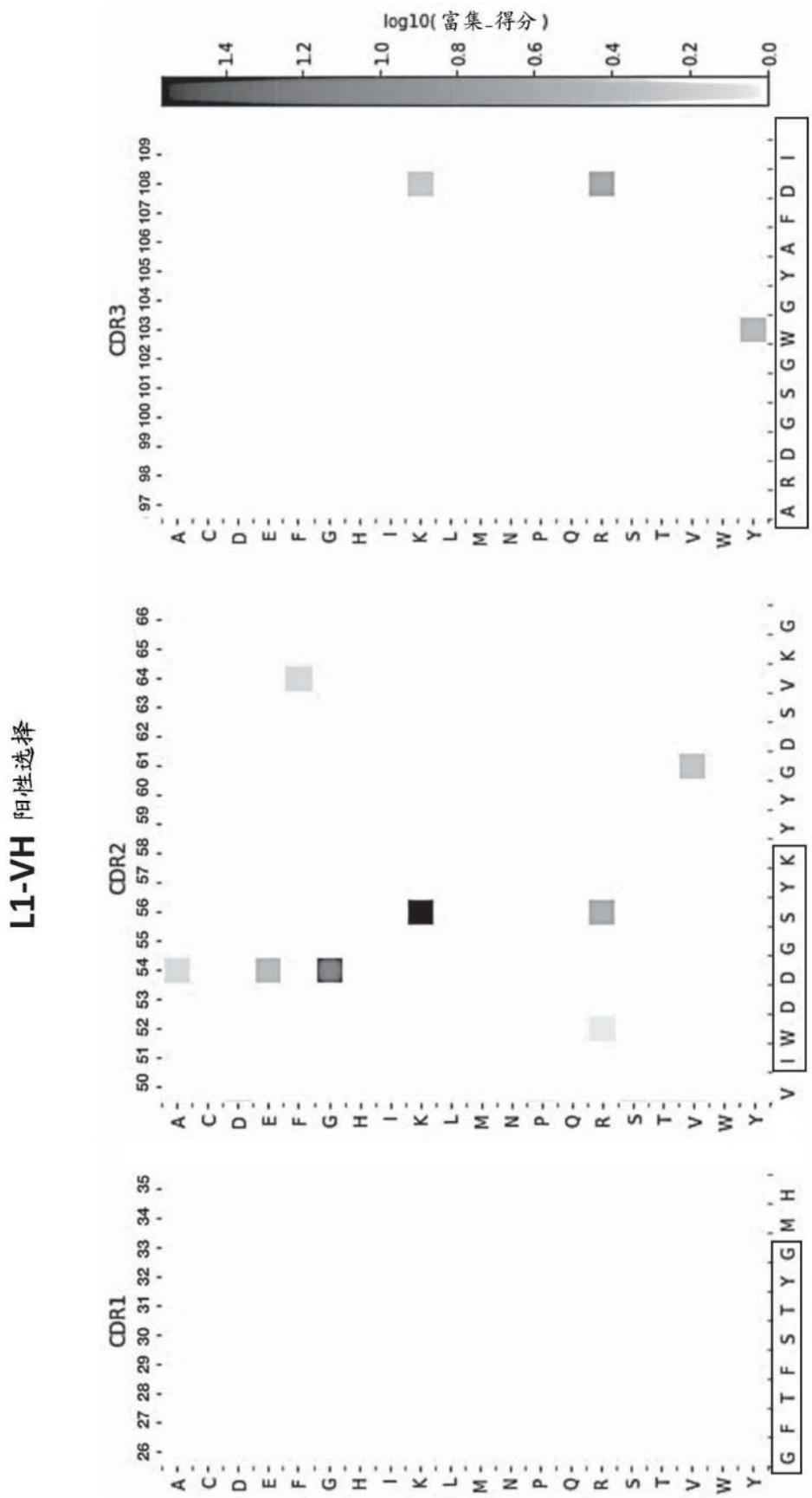

L1-VH 阳性选择
log10(富集-得分)
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
CDR1
CDR2
CDR3
G F T F S T Y G M H
I W D D G S Y K Y Y G D S V K G
A R D G S G W G Y A F D I

图30

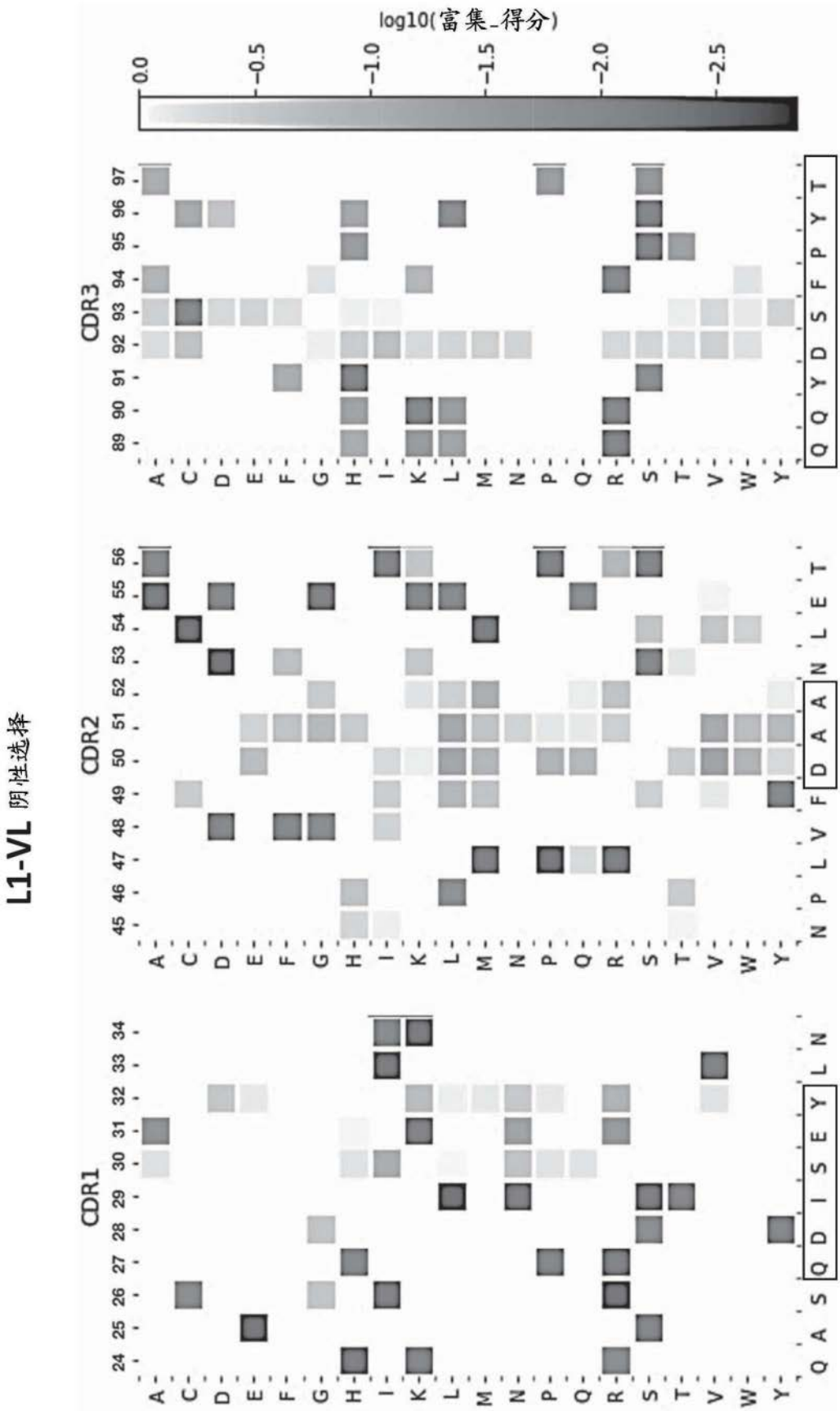

L1-VL 阴性选择
log10(富集_得分)
0.0
−0.5
−1.0
−1.5
−2.0
−2.5
CDR1
CDR2
CDR3
Q A S Q D I S E Y L N
N P L V F D A A N L E T
Q Q Y D S F P Y T

图31

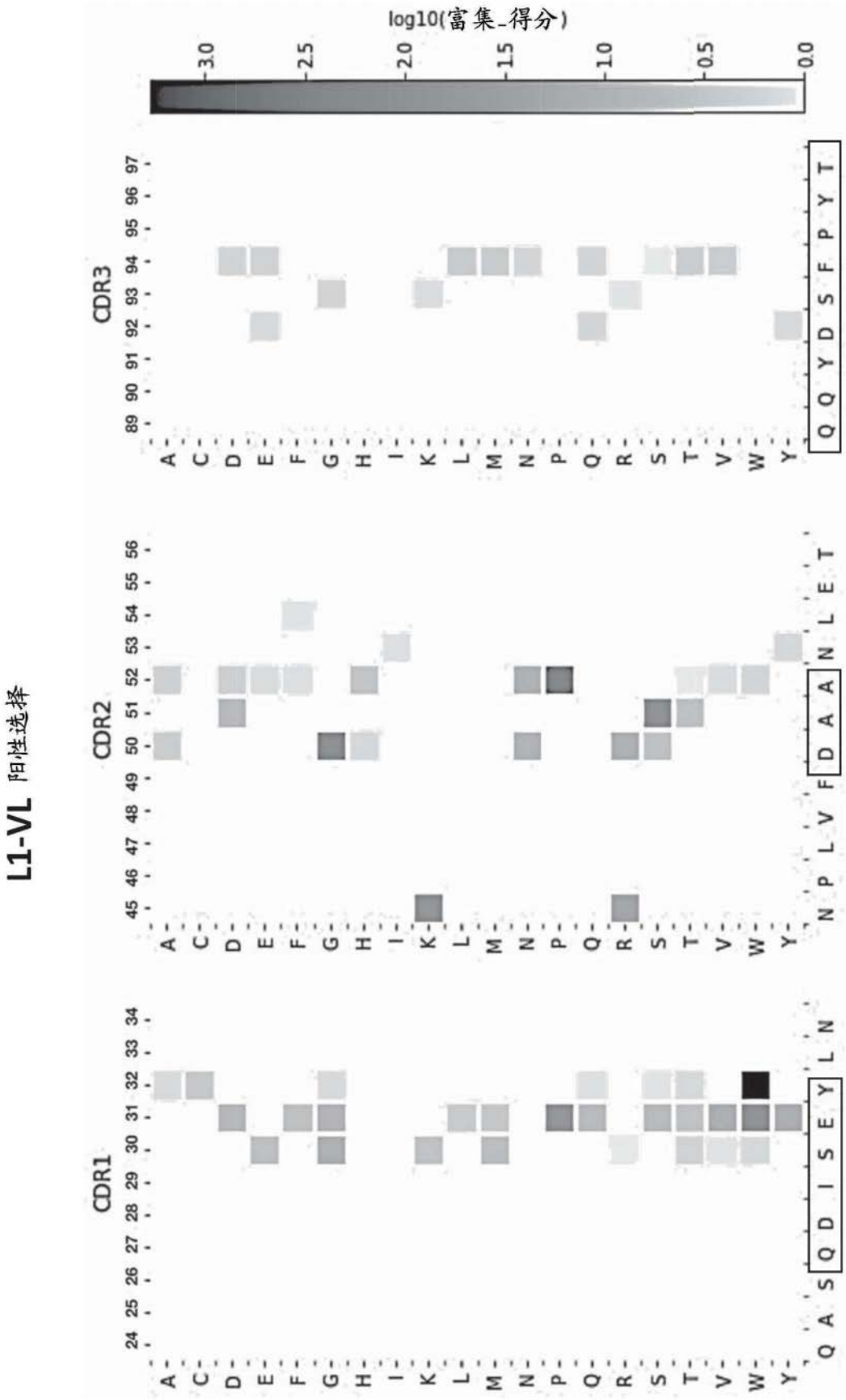

L1-VL 阳性选择
log10(富集_得分)
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
CDR1
CDR2
CDR3
Q A S Q D I S E Y L N
N P L V F D A A N L E T
Q Q Y D S F P Y T

图32

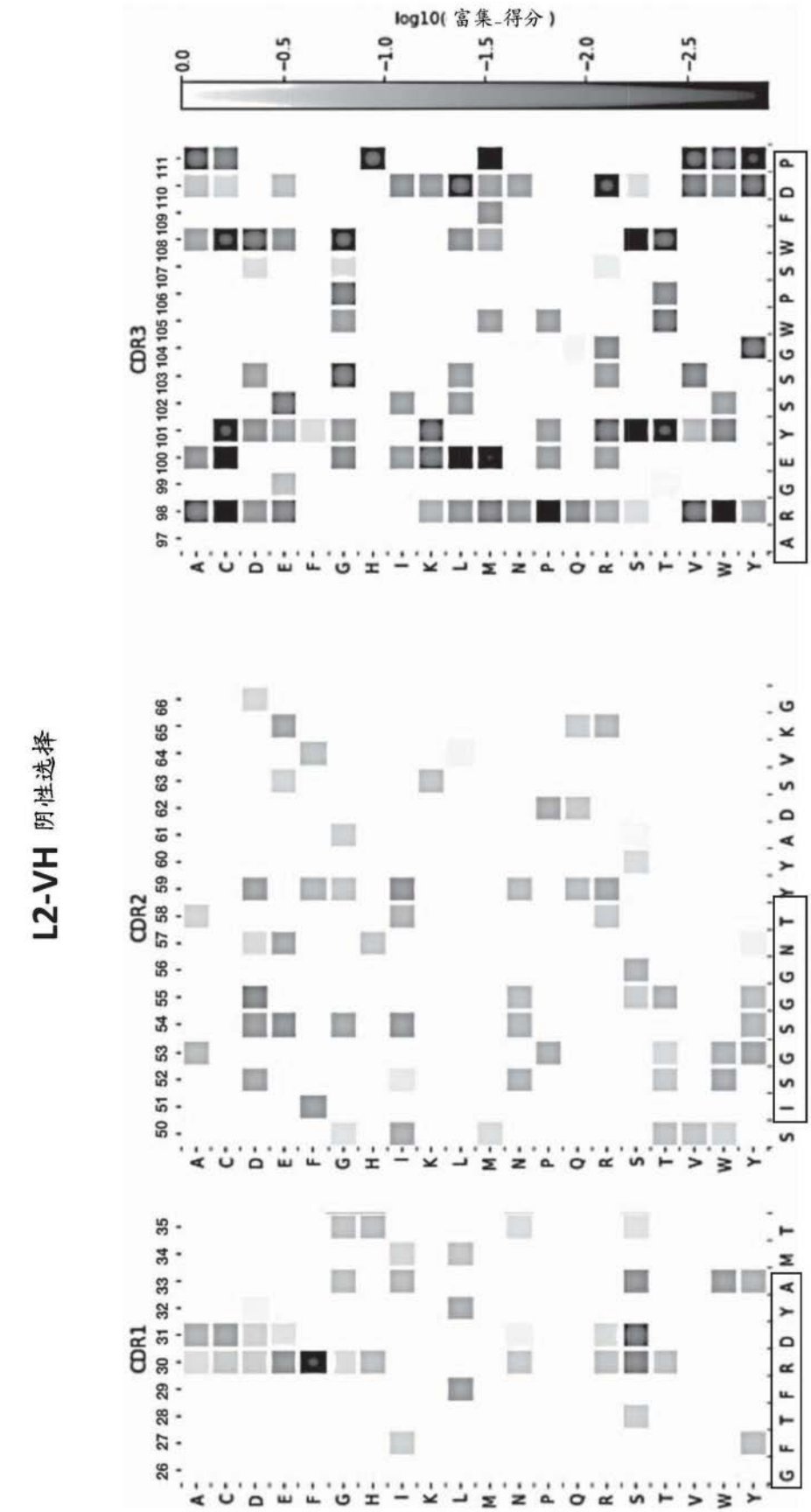


图33

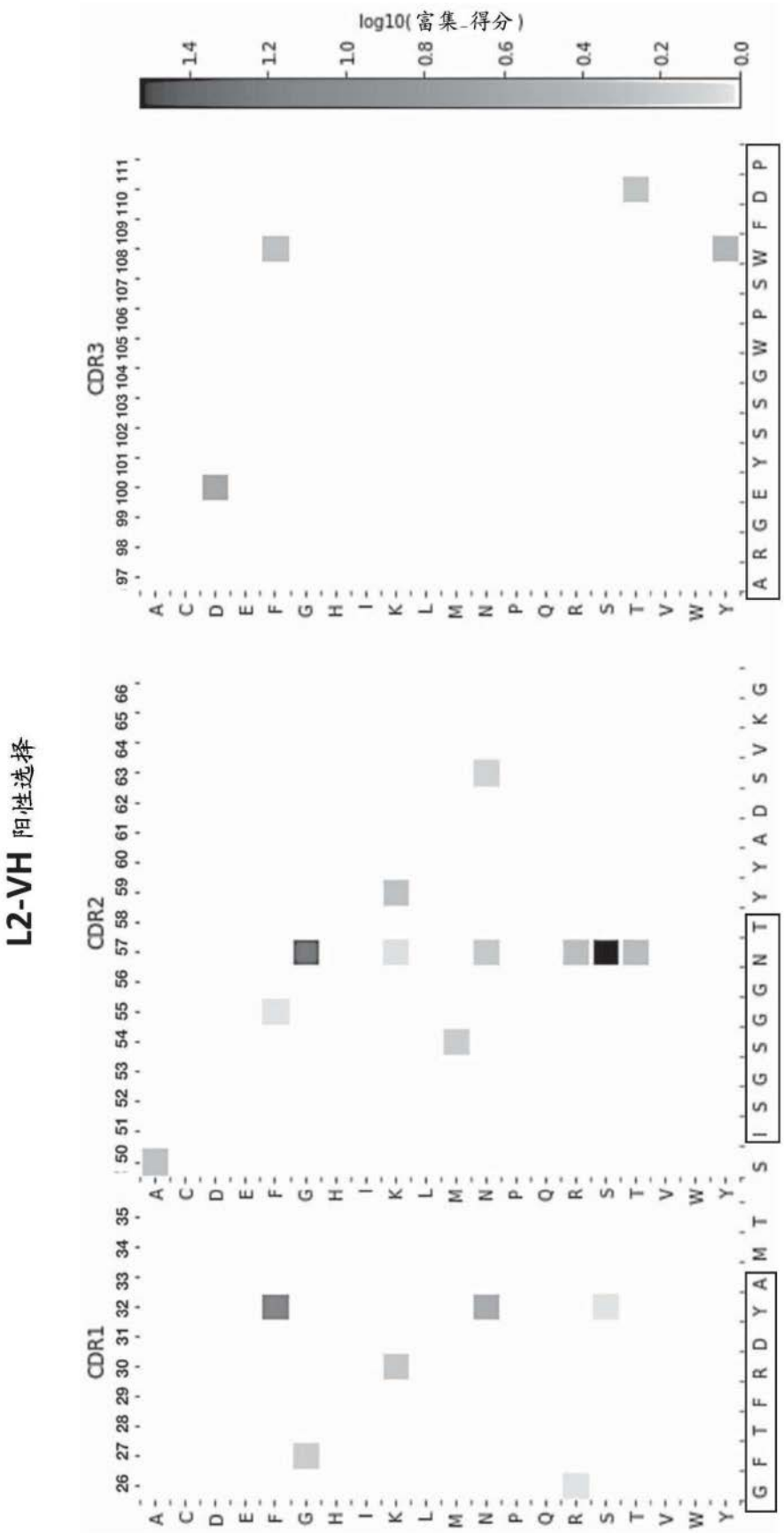

L2-VH 阳性选择
log10(富集_得分)
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
CDR1
CDR2
CDR3
G F T F R D Y A
I S G S G G N T
A R G E Y S S G W P S W F D P

图34

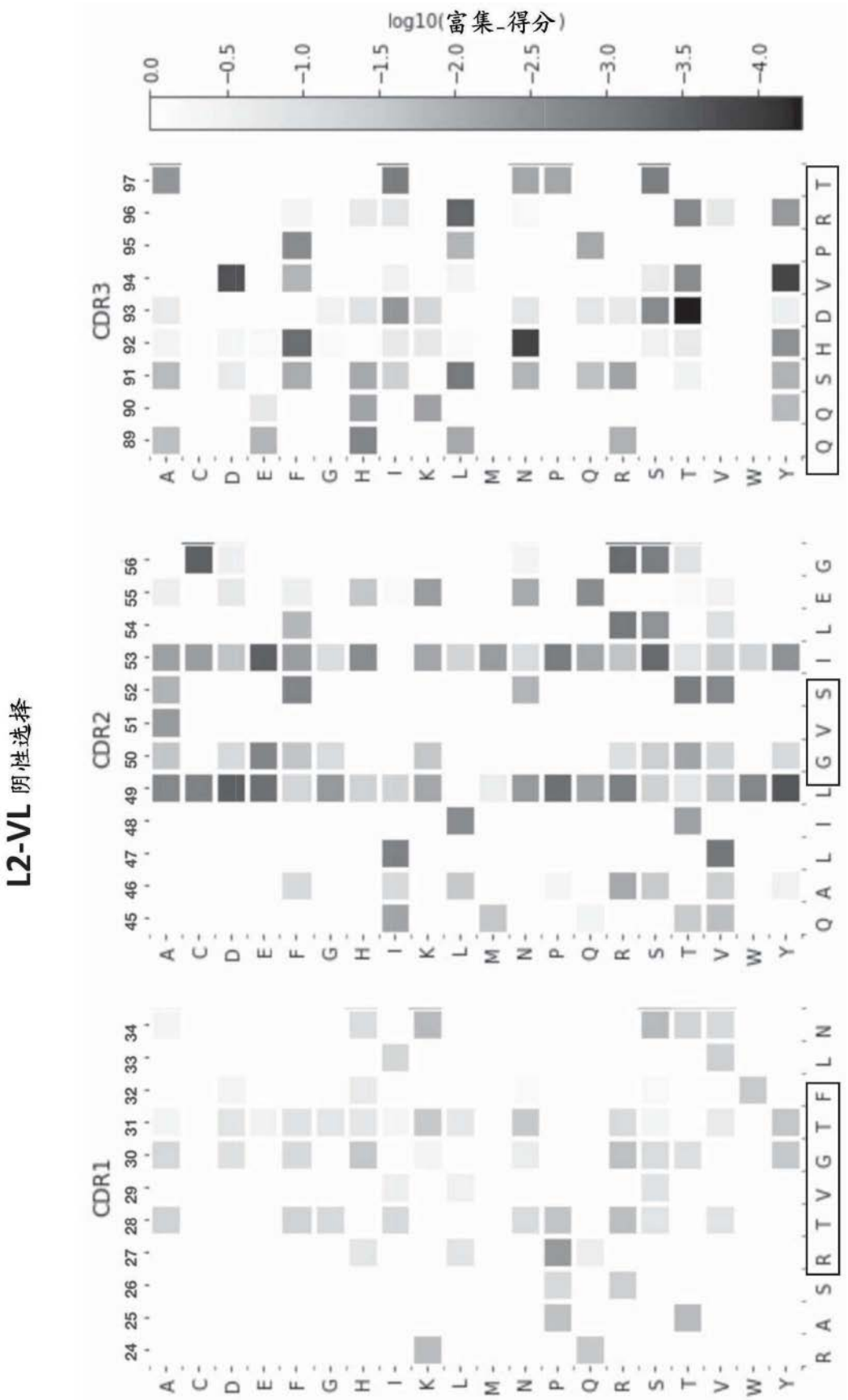

L2-VL 阴性选择
log10(富集_得分)
0.0
−0.5
−1.0
−1.5
−2.0
−2.5
−3.0
−3.5
−4.0
CDR3
CDR2
CDR1
Q Q S H D V P R T
Q A L I L G V S I L E G
R A S R T V G T F L N

图35

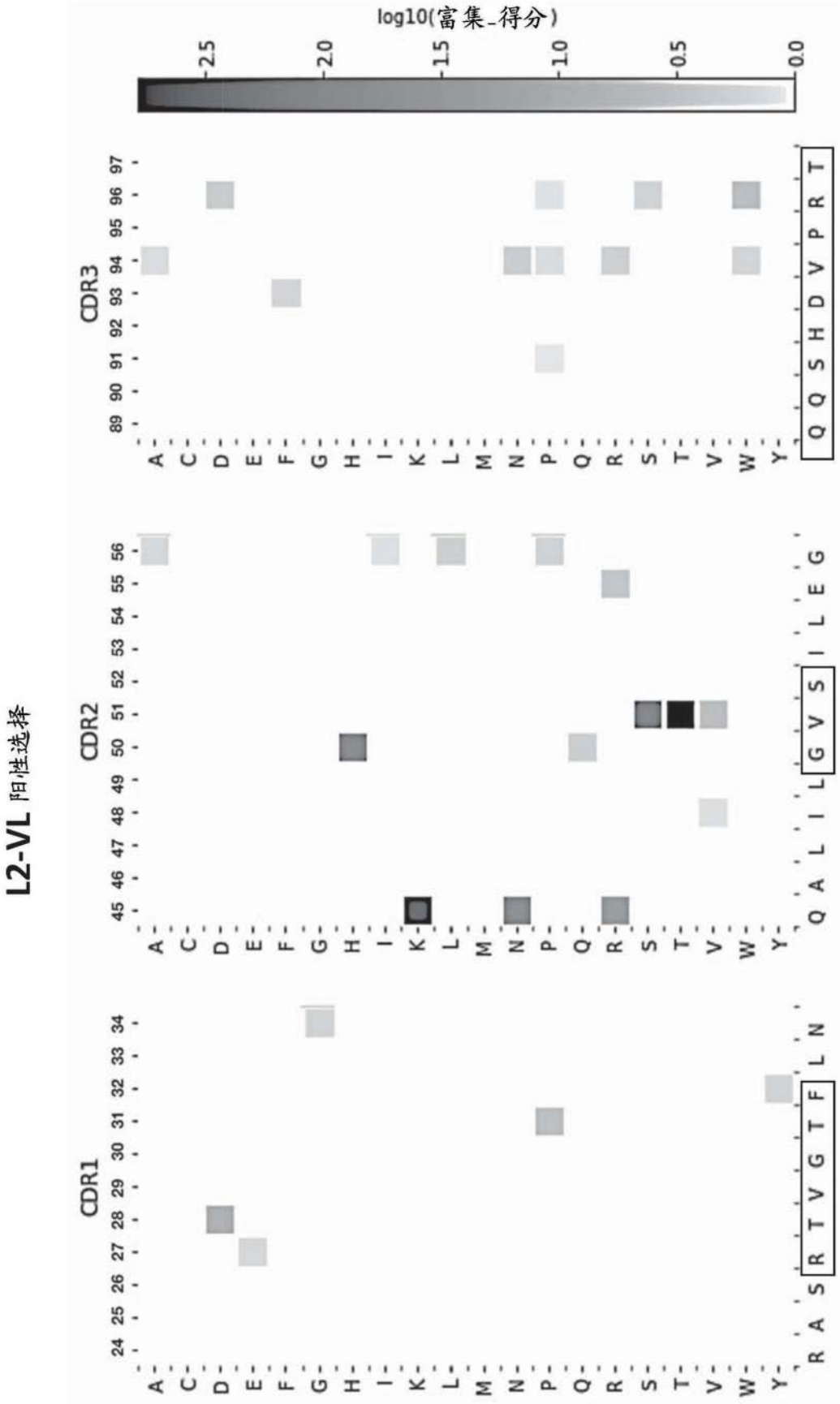

L2-VL 阳性选择
log10(富集_得分)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
CDR1
CDR2
CDR3
R A S R T V G T F L N
Q A L I L G V S I L E G
Q Q S H D V P R T

图36

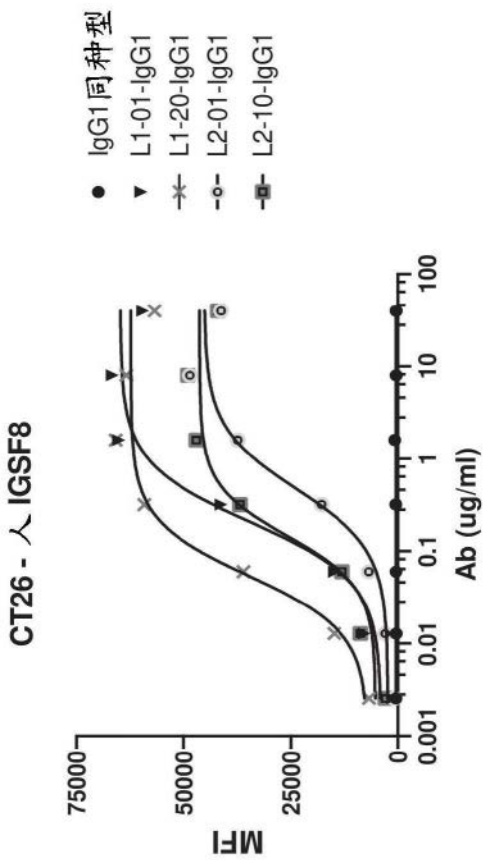

CT26 - 人 IGSF8
MFI
75000
50000
25000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
Ab (ug/ml)
IgG1同种型
L1-01-IgG1
L1-20-IgG1
L2-01-IgG1
L2-10-IgG1

图37A

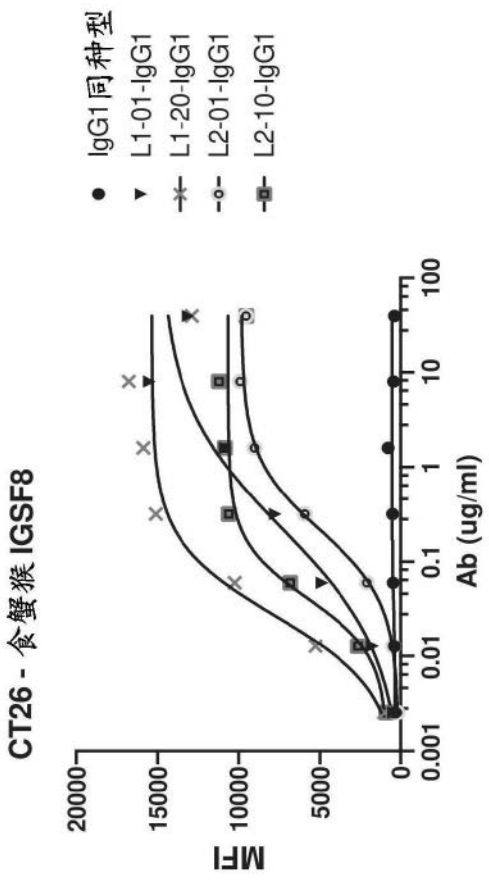

CT26 - 食蟹猴 IGSF8
MFI
20000
15000
10000
5000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
Ab (ug/ml)
IgG1同种型
L1-01-IgG1
L1-20-IgG1
L2-01-IgG1
L2-10-IgG1

图37B

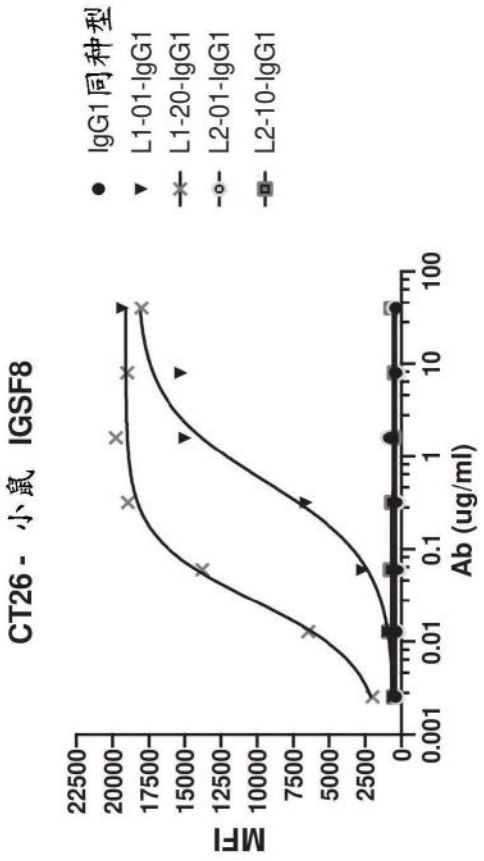

CT26 - 小鼠 IGSF8
IgG1同种型
L1-01-IgG1
L1-20-IgG1
L2-01-IgG1
L2-10-IgG1
MFI
22500
20000
17500
15000
12500
10000
7500
5000
2500
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
Ab (ug/ml)

图37C

IgG1 同种型	人 IGSF8 EC50 (ug/ml)	猴 IGSF8 EC50 (ug/ml)	小鼠 IGSF8 EC50 (ug/ml)
L1-01-IgG1	0.2056	0.2241	0.5384
L1-20-IgG1	0.05371	0.02676	0.02751
L2-01-IgG1	0.4726	0.21167	~
L2-10-IgG1	0.1446	0.04098	~

图37D

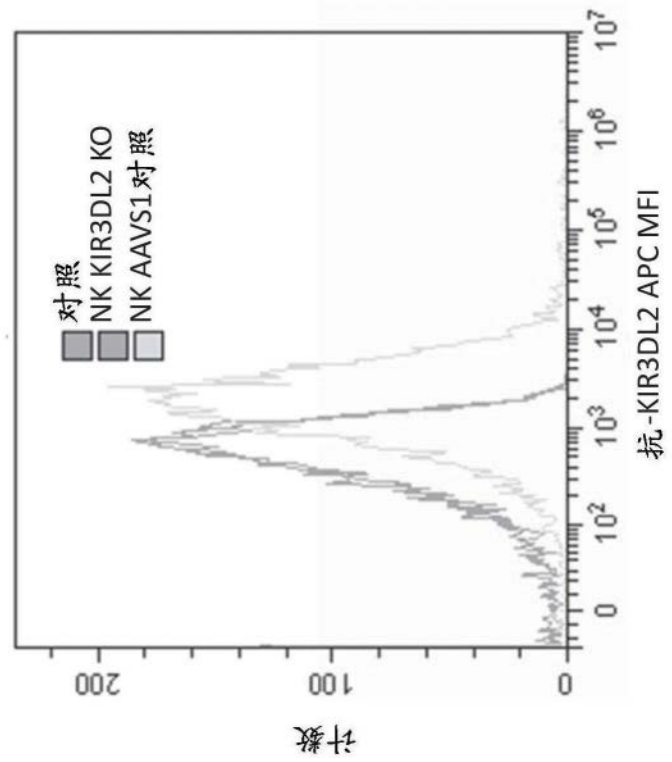

对照
NK KIR3DL2 KO
NK AAVS1对照
抗-KIR3DL2 APC MFI
0
10²
10³
10⁴
10⁵
10⁶
10⁷
计数
0
100
200

图38A

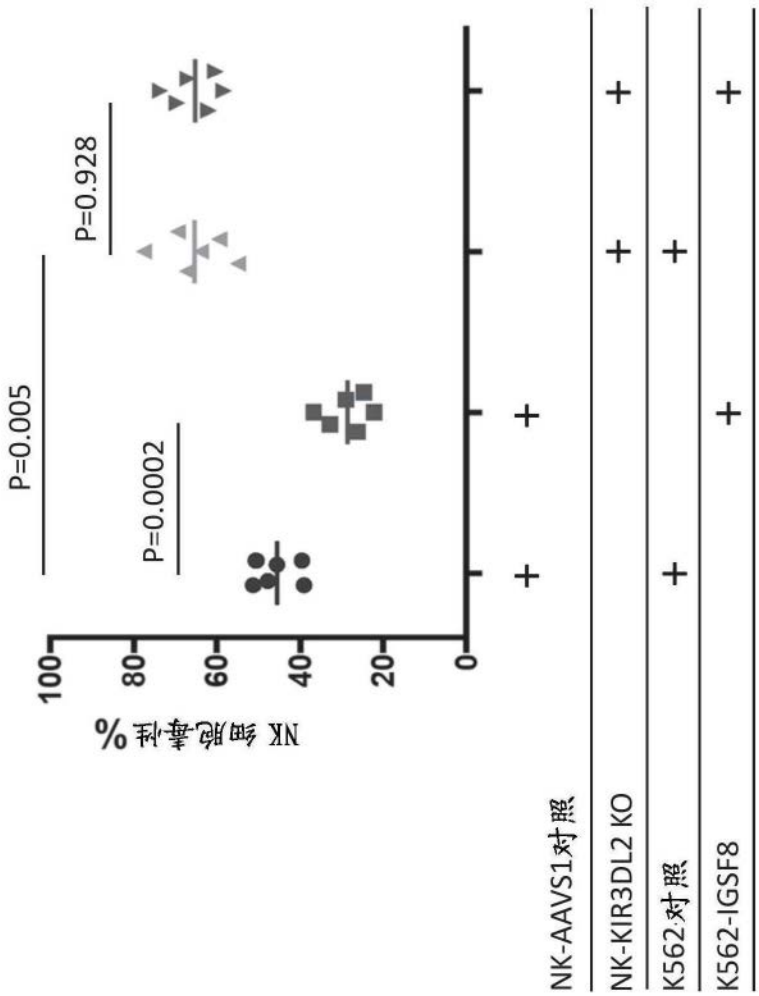

P=0.005
P=0.928
P=0.0002
NK 细胞毒性 %
100
80
60
40
20
0
NK-AAVS1对照
NK-KIR3DL2 KO
K562对照
K562-IGSF8

图38B

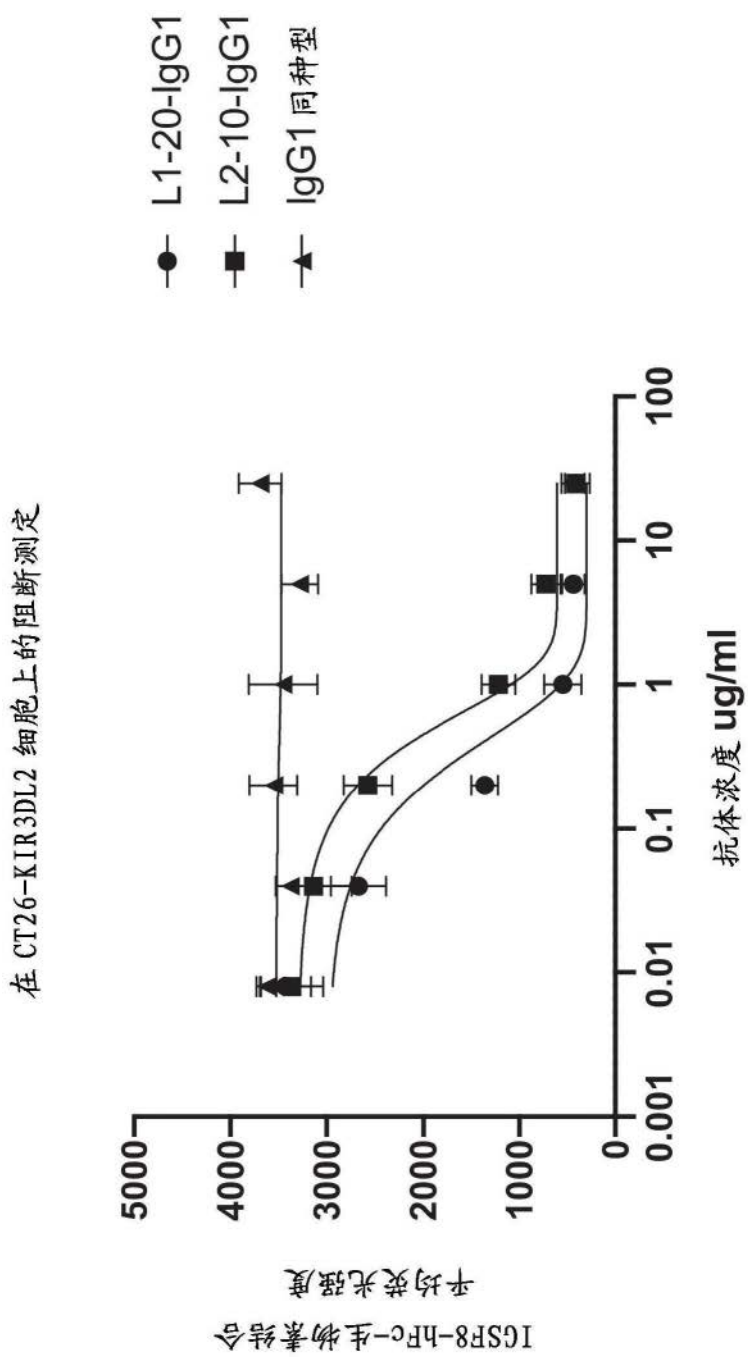

在 CT26-KIR3DL2 细胞上的阻断测定
L1-20-IgG1
L2-10-IgG1
IgG1 同种型
IGSF8-hFc-生物素结合
平均荧光强度
5000
4000
3000
2000
1000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
抗体浓度 ug/ml

图39

FIG. 40A

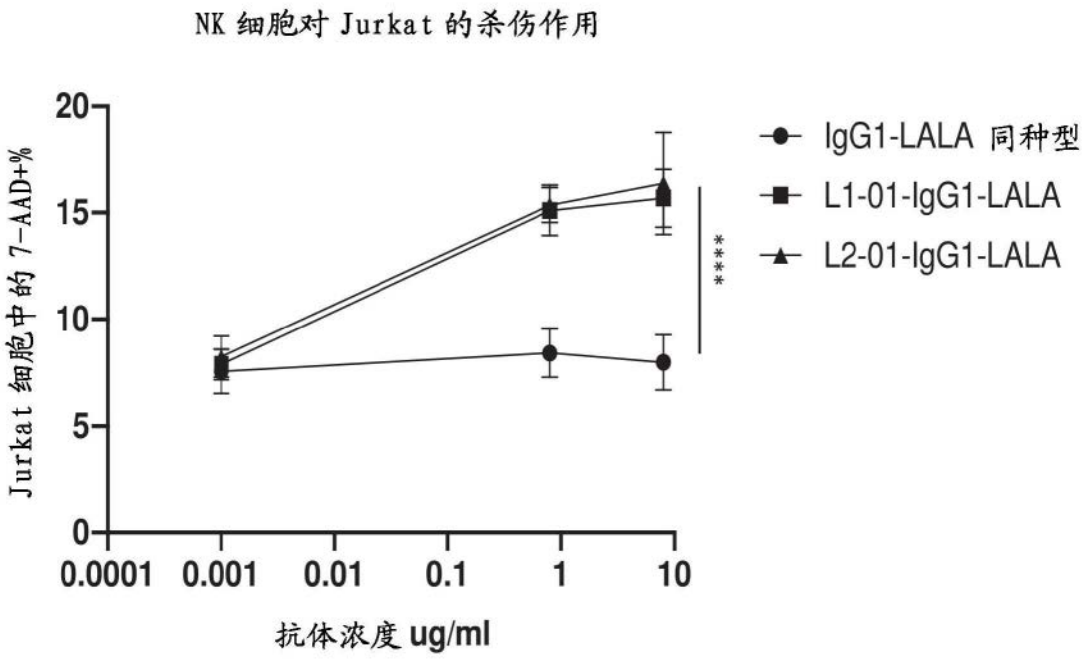


图40A

FIG. 40B

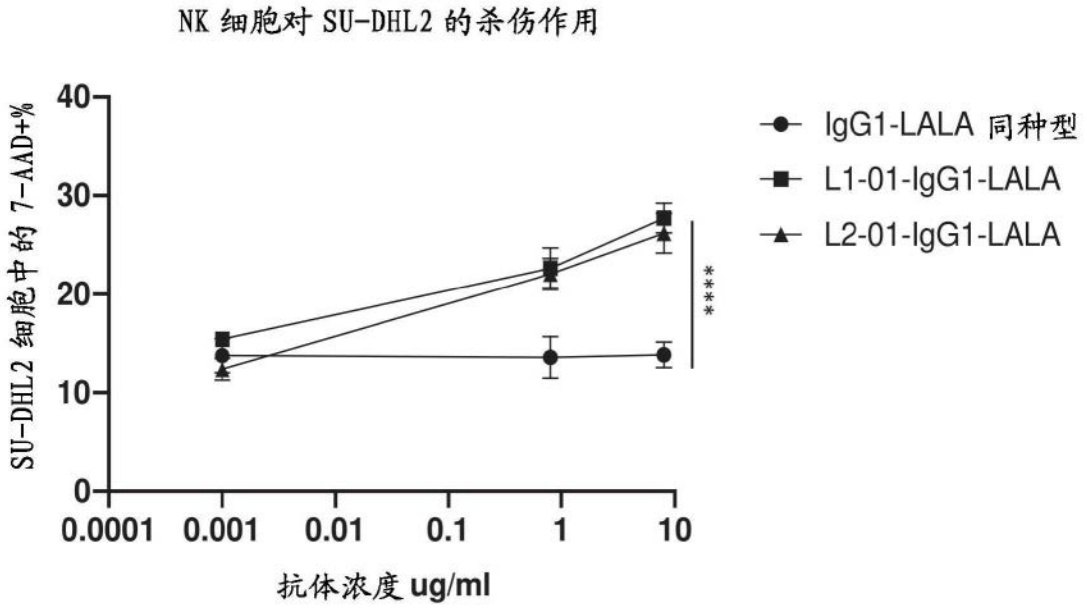


图40B

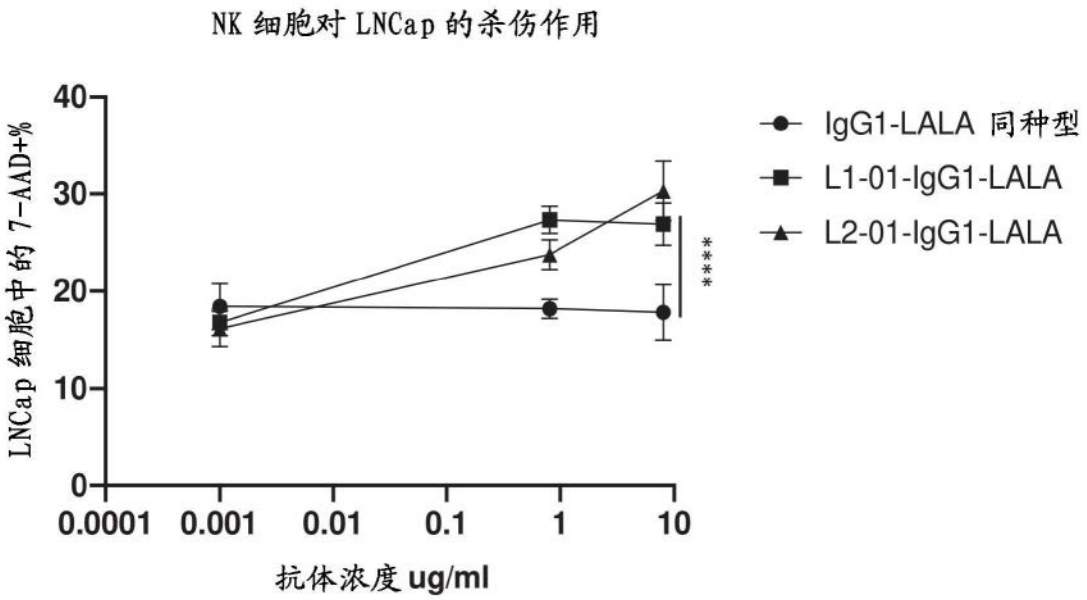

NK 细胞对 LNCap 的杀伤作用
LNCap 细胞中的 7-AAD+%
40
30
20
10
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
抗体浓度 ug/ml
****
IgG1-LALA 同种型
L1-01-IgG1-LALA
L2-01-IgG1-LALA

图40C

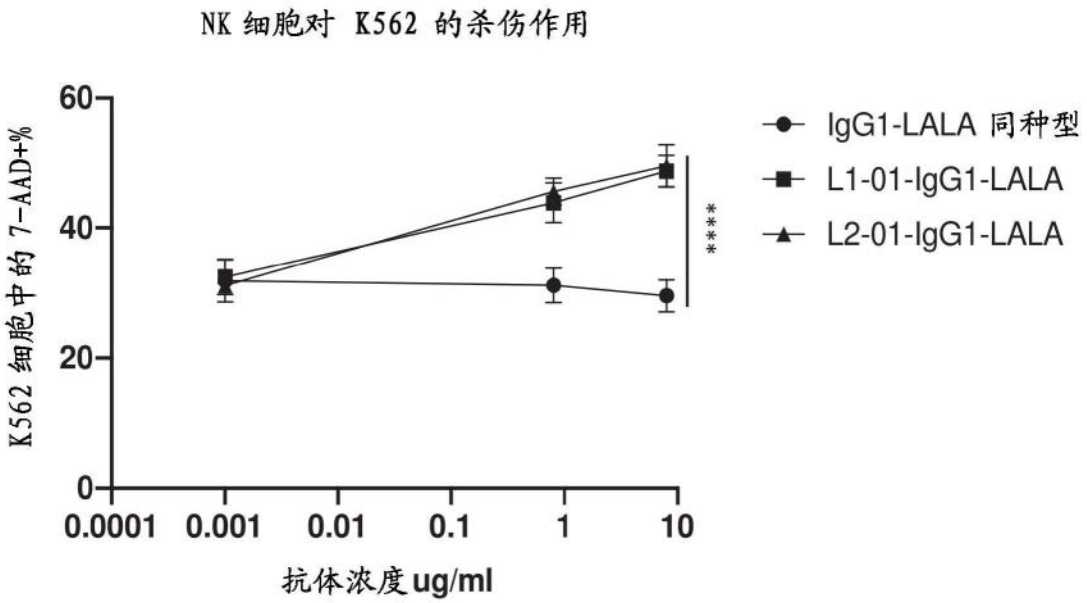

NK 细胞对 K562 的杀伤作用
K562 细胞中的 7-AAD+%
60
40
20
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
抗体浓度 ug/ml
****
IgG1-LALA 同种型
L1-01-IgG1-LALA
L2-01-IgG1-LALA

图40D

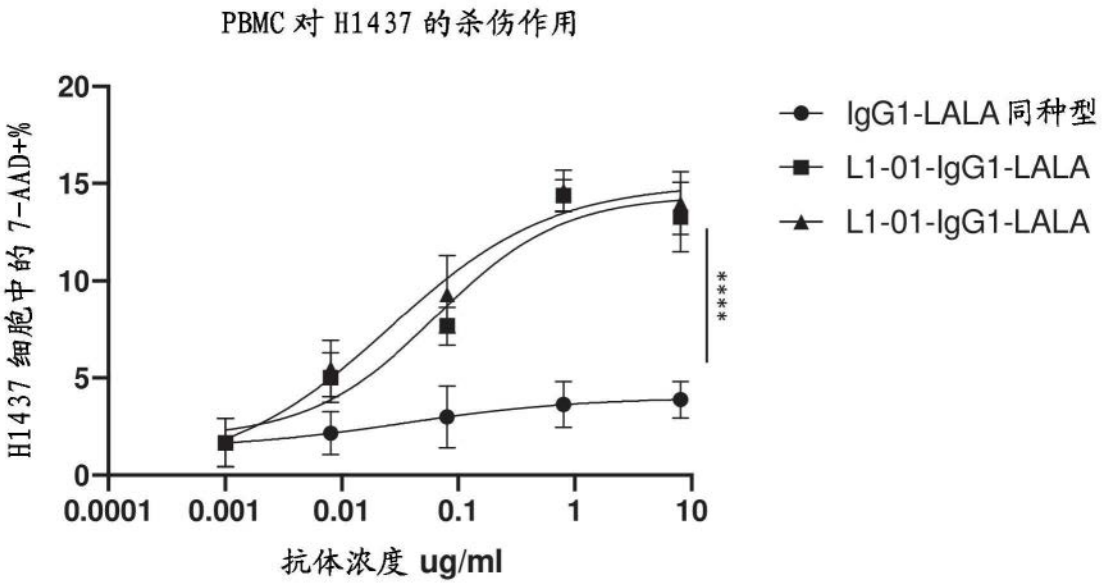

PBMC 对 H1437 的杀伤作用
H1437 细胞中的 7-AAD+%
20
15
10
5
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
抗体浓度 ug/ml
****
IgG1-LALA 同种型
L1-01-IgG1-LALA
L1-01-IgG1-LALA

图41A

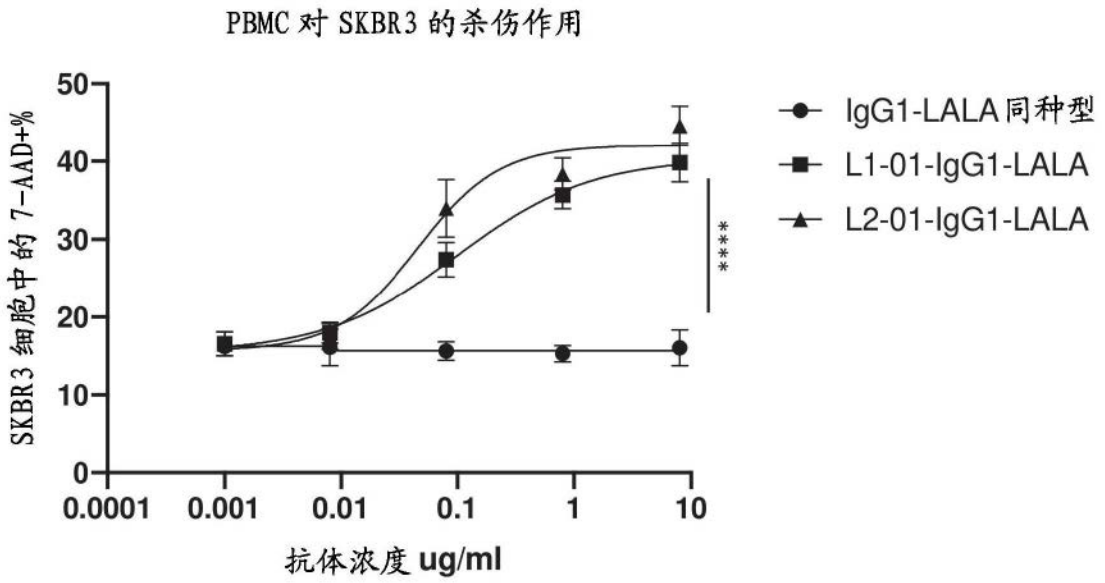

PBMC 对 SKBR3 的杀伤作用
SKBR3 细胞中的 7-AAD+%
50
40
30
20
10
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
抗体浓度 ug/ml
****
IgG1-LALA 同种型
L1-01-IgG1-LALA
L2-01-IgG1-LALA

图41B

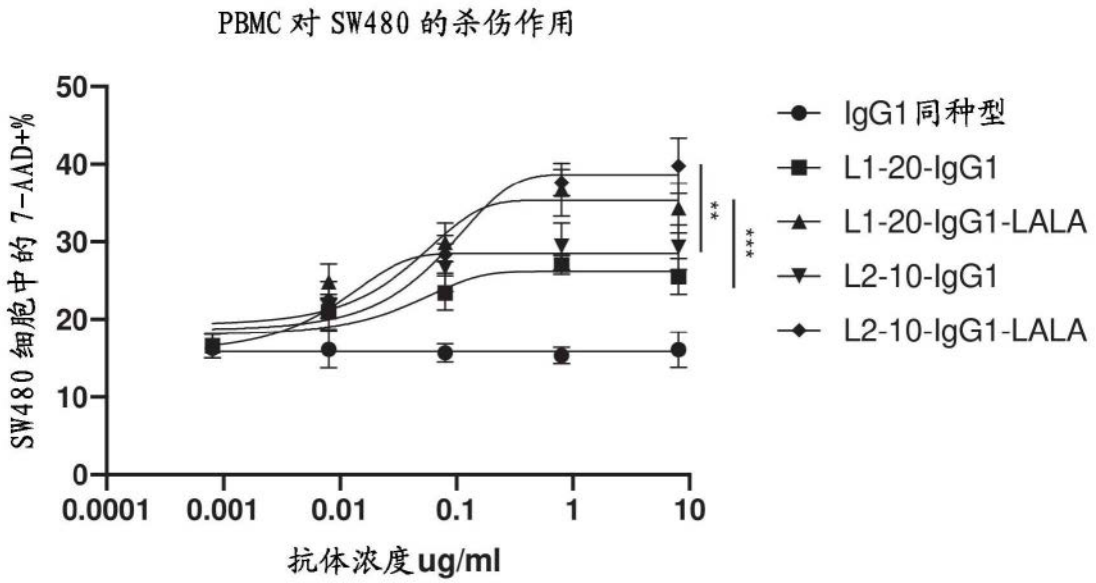

PBMC 对 SW480 的杀伤作用
SW480 细胞中的 7-AAD+%
50
40
30
20
10
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
抗体浓度 ug/ml
**
***
IgG1 同种型
L1-20-IgG1
L1-20-IgG1-LALA
L2-10-IgG1
L2-10-IgG1-LALA

图42A

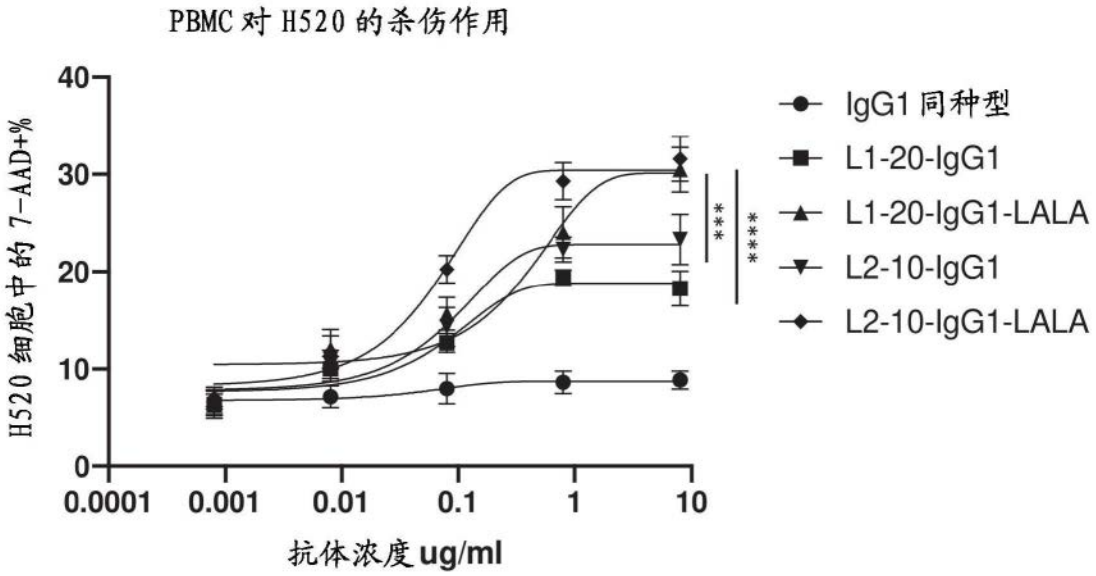

PBMC 对 H520 的杀伤作用
H520 细胞中的 7-AAD+%
40
30
20
10
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
抗体浓度 ug/ml
***
****
IgG1 同种型
L1-20-IgG1
L1-20-IgG1-LALA
L2-10-IgG1
L2-10-IgG1-LALA

图42B

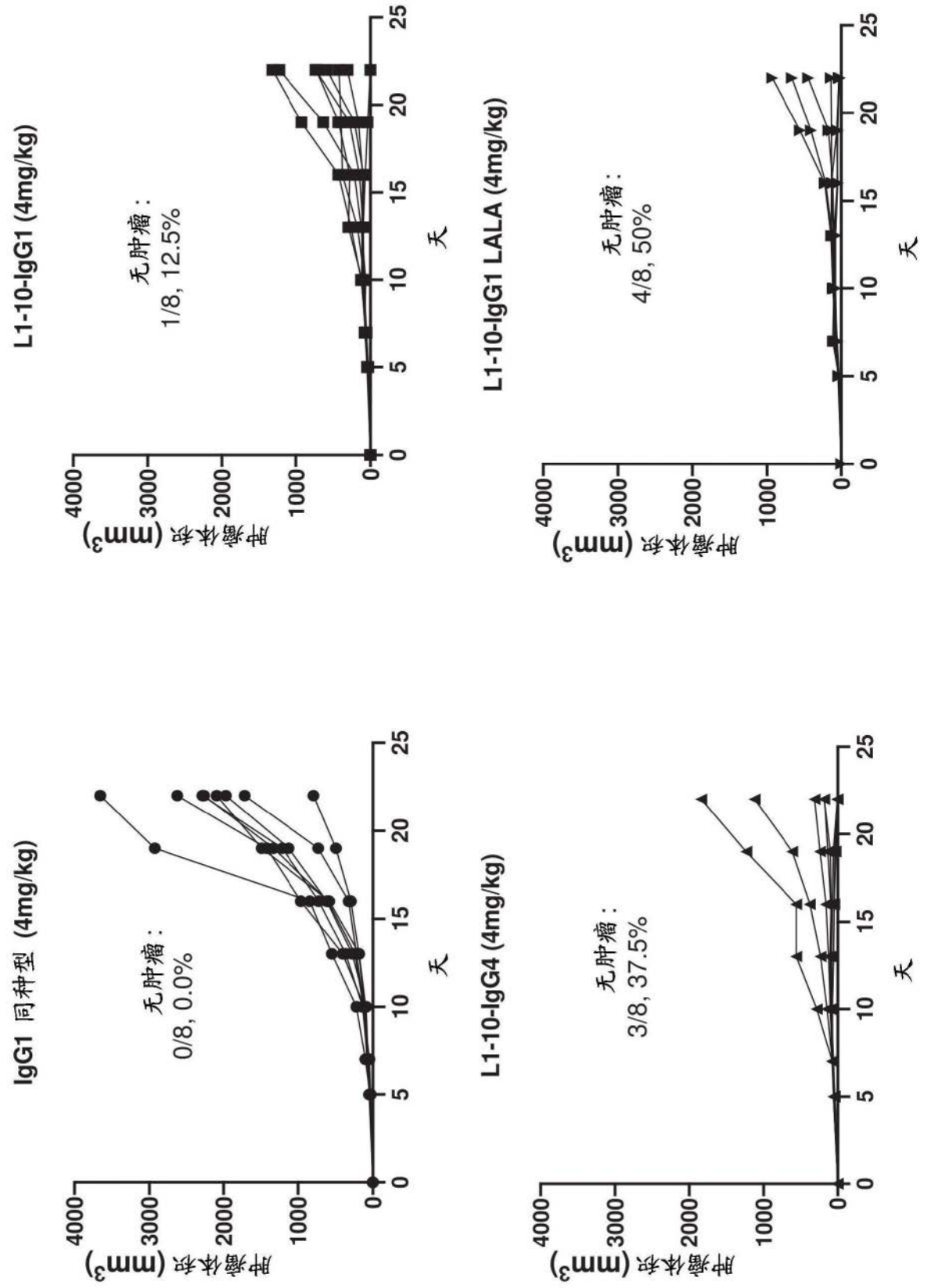

L1-10-IgG1 (4mg/kg)
无肿瘤：
1/8, 12.5%
L1-10-IgG1 LALA (4mg/kg)
无肿瘤：
4/8, 50%
IgG1 同种型 (4mg/kg)
无肿瘤：
0/8, 0.0%
L1-10-IgG4 (4mg/kg)
无肿瘤：
3/8, 37.5%
肿瘤体积 (mm³)
天
0
1000
2000
3000
4000
0
5
10
15
20
25

图43A

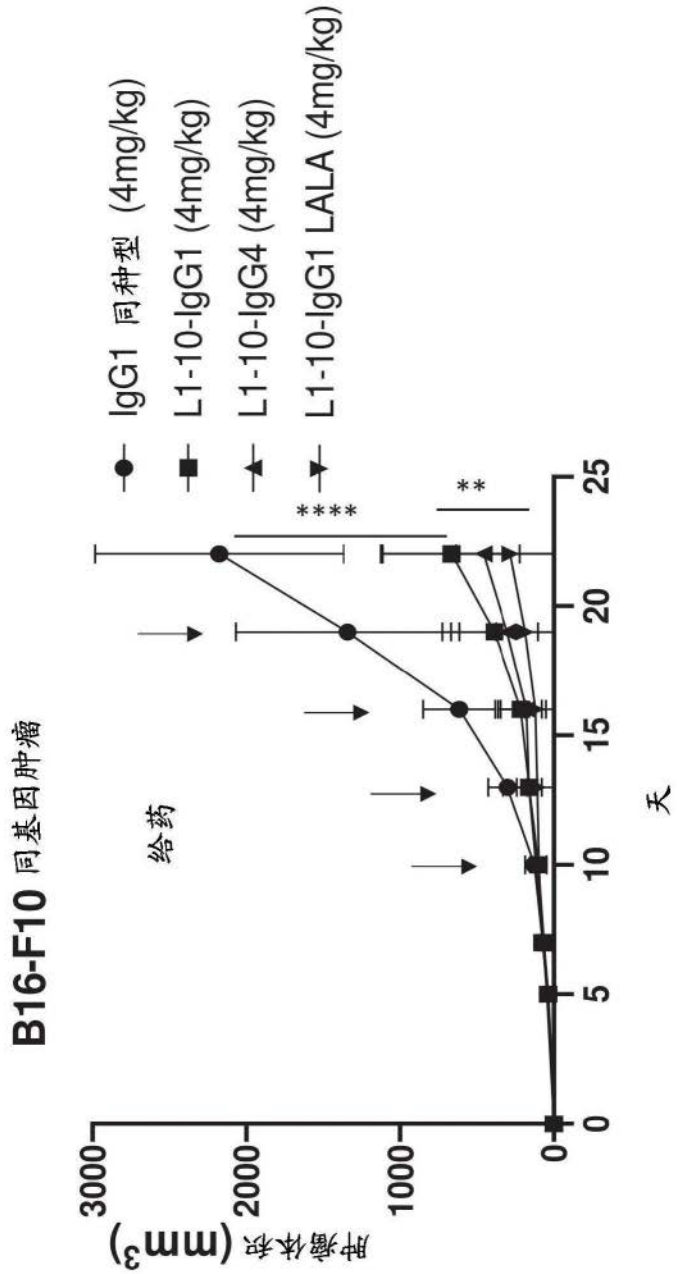

B16-F10 同基因肿瘤
肿瘤体积 (mm3)
3000
2000
1000
0
0
5
10
15
20
25
天
给药
IgG1 同种型 (4mg/kg)
L1-10-IgG1 (4mg/kg)
L1-10-IgG4 (4mg/kg)
L1-10-IgG1 LALA (4mg/kg)
****
**

图43B

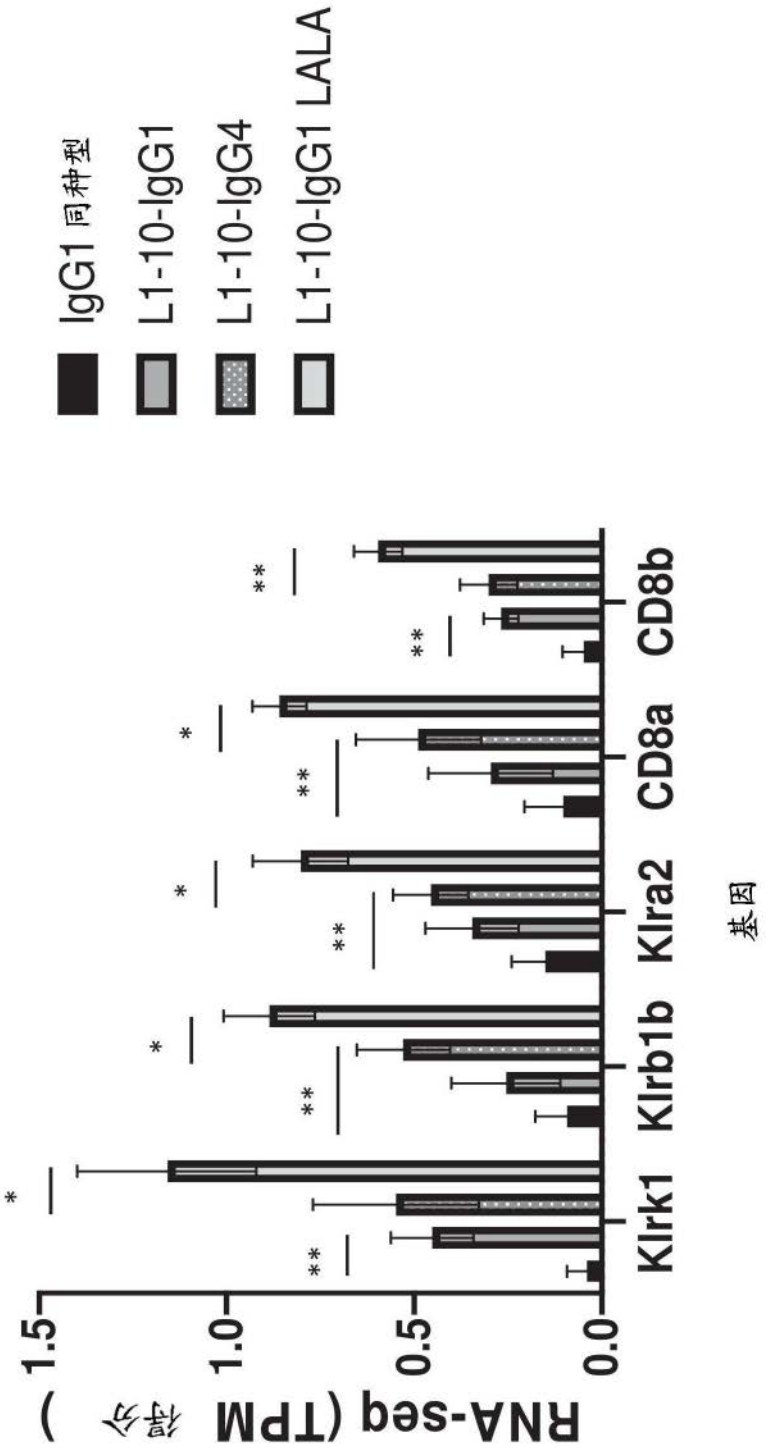

IgG1 同种型
L1-10-IgG1
L1-10-IgG4
L1-10-IgG1 LALA
RNA-seq (TPM 得分)
1.5
1.0
0.5
0.0
Klrk1
Klrb1b
Klra2
CD8a
CD8b
基因

图44