(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 113784979 B
(45)授权公告日 2025.01.28

(21)申请号 202080014835.6
(22)申请日 2020.01.20
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113784979 A
(43)申请公布日 2021.12.10
(30)优先权数据
62/795,194 2019.01.22 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.08.16
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2020/051234 2020.01.20
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/152081 EN 2020.07.30
(73)专利权人 先天制药公司
地址 法国马赛
(72)发明人 H·阿卜杜拉齐姆 C·帕图雷
(74)专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245
专利代理师 姚远
(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
A61K 31/282(2006.01)
A61K 31/7068(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)
G01N 33/53(2006.01)
(56)对比文件
WO 2018073363 A1,2018.04.26
Liang Wang等.First-line combination of gemcitabine, oxaliplatin, and L-asparaginase (GELOX) followed by involved-field radiation therapy for patients with stage IE/IIE extranodal natural killer/T-cell lymphoma.《Cancer》.2012,第119卷(第2期),第348-55页.
审查员 王浩铭

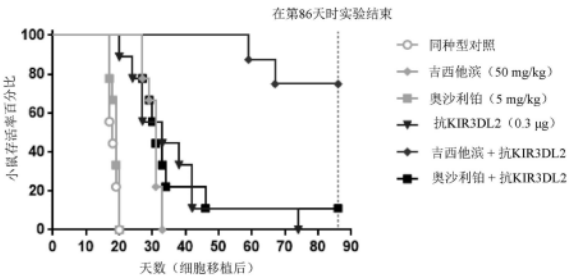
权利要求书1页 说明书36页
序列表31页 附图3页

(54)发明名称

T细胞淋巴瘤的治疗

(57)摘要

本发明涉及用于使用特异性结合KIR3DL2的化合物与化疗剂,特别是吉西他滨和/或奥沙利铂组合来治疗T细胞淋巴瘤的方法。所述治疗在外周T细胞淋巴瘤,例如PTCL-NOS的治疗中是特别有用的。



CN 113784979 B

1.结合KIR3DL2多肽并且能够耗竭表达KIR3DL2的细胞的抗体、奥沙利铂和吉西他滨在制备用于预防或治疗T细胞淋巴瘤的药物组合中的用途,其中所述抗体、奥沙利铂和吉西他滨被配制用于单独施用。

2.根据权利要求1所述的用途,其中所述预防或治疗包括以800-1000mg/m^2的剂量每两周施用一次吉西他滨。

3.根据权利要求1所述的用途,其中所述预防或治疗包括从每周一次到每四周一次施用所述抗体。

4.根据权利要求1-3中任一项所述的用途,其中所述预防或治疗包括所述抗体在第一阶段中每周施用一次,随后是第二阶段,在所述第二阶段中所述抗体每两周施用一次或每月施用一次。

5.根据权利要求1-3中任一项所述的用途,其中所述T细胞淋巴瘤是外周T细胞淋巴瘤。

6.根据权利要求5所述的用途,其中所述外周T细胞淋巴瘤是成人T细胞白血病、肠病相关T细胞淋巴瘤、PTCL-NOS或间变性大细胞淋巴瘤。

7.根据权利要求1-3中任一项所述的用途,其中所述预防或治疗包括以1-20mg/kg的剂量施用所述抗体。

8.根据权利要求1-3中任一项所述的用途,其中所述预防或治疗包括在包括至少一个施用周期的方案中施用所述抗体,其中对于所述至少一个施用周期中的每个周期,施用两个、三个或四个剂量的所述抗体,并且施用至少两个、三个或四个剂量的吉西他滨。

9.根据权利要求1到3中任一项所述的用途,其中个体的T细胞淋巴瘤的所述治疗包括:

a)确定患有T细胞淋巴瘤的所述个体内的恶性细胞的KIR3DL2多肽状态;以及

b)在确定所述个体具有在恶性细胞的表面上表达的KIR3DL2多肽后,向所述个体施用所述结合KIR3DL2多肽的抗体与所述奥沙利铂和/或吉西他滨的组合。

10.根据权利要求1-3中任一项所述的用途,其中所述抗体包括人IgG1或IgG3重链Fc结构域。

11.根据权利要求1-3中任一项所述的用途,其中所述结合KIR3DL2多肽的抗体包括:(a)重链可变区,所述重链可变区如SEQ ID NO:49所示;以及(b)轻链可变区,所述轻链可变区如SEQ ID NO:44或45所示。

12.根据权利要求1到3中任一项所述的用途,其中所述KIR3DL2抗体和所述奥沙利铂和吉西他滨同时施用、分开施用或按顺序施用。

13.试剂盒,其包括结合KIR3DL2多肽并且能够耗竭表达KIR3DL2的细胞的抗KIR3DL2抗体、奥沙利铂和吉西他滨。

14.确定或评估KIR3DL2的表达的物质在制备用于预测或评估奥沙利铂和吉西他滨用于与结合KIR3DL2多肽并且能够耗竭表达KIR3DL2的细胞的抗体组合使用以治疗TCL的功效或适合性的试剂或试剂盒中的用途,所述预测或评估包括确定或评估所述奥沙利铂和吉西他滨是否能够诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达,其中确定所述奥沙利铂和吉西他滨能够诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达表明所述奥沙利铂和吉西他滨能够与所述抗KIR3DL2抗体组合用于治疗癌症。

T细胞淋巴瘤的治疗

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2019年1月22日提交的美国临时申请第US 62/795,194号的权益,所述美国临时申请通过引用整体(包含任何附图)并入本文。

[0003] 序列表的引用

[0004] 本申请与电子格式的序列表一起提交。序列表以于2020年1月14日创建的大小为54KB的以“KIR-9PCT_ST25”命名的文件提供。序列表的电子格式中的信息通过引用整体并入本文。

技术领域

[0005] 本发明涉及一种KIR3DL2靶向剂用于诊断和治疗T细胞淋巴瘤的用途。

背景技术

[0006] KIR3DL2/CD158k是在健康循环NK和CD8+T淋巴细胞的亚群上表达的细胞表面受体。然而,KIR3DL2也已经发现于恶性T细胞,特别是恶性CD4+T细胞的表面上,并且因此也已经显现为用于治疗T细胞淋巴瘤(TCL)的靶标。

[0007] 表达KIR3DL2的TCL,包含皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL),如蕈样真菌病(MF)和塞扎里氏综合征(Sézary Syndrome;SS)(参见例如,PCT公开WO2010/081890(因内特制药公司(Innate Pharma))和WO02/50122(国家健康与医学研究院(INSERM))),以及外周T细胞非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin lymphomas)(参见例如,PCT公开WO2014/128221,因内特制药公司)。虽然MF和SS相对罕见,但是在西方国家,PTCL占侵袭性淋巴瘤的15%到20%并且占所有非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)的7%到10%。其通常发生在中年到老年患者中,并且呈递特征的特征在于68%的患者患有散播性疾病,其中几乎一半(45%)患者出现全身性症状,四分之一(25.8%)患者涉及骨髓(BM),以及三分之一(37%)患者涉及结外疾病。尽管有侵袭性疗法,但是仍有超过一半患者死于其患有的疾病。虽然某些独特的疾病实体(如果治疗的话)具有改进的预后,但是许多侵袭性PTCL的预后通过使用第二代和第三代化学疗法方案保持相对不变,并且例如,对于PTCL-NOS,5年总体存活期(OS)仍保持在25%与47%之间。

[0008] 与KIR3DL2特异性结合的抗体是本领域众所周知的。因内特制药公司例如已经描述了针对KIR3DL2上的一系列不同表位的众多抗KIR3DL2抗体,例如在PCT公开号WO2014/044681和WO2014/044686中描述的抗体15C11、19H12、22B2、18B10、12B11、13H1、10F6、2B12、18C6、9E10、10G5、13H1、5H1、1E2、1C3和20E9。通过因内特制药公司的临床试验已经证明了抗KIR3DL2抗体在人类蕈样真菌病和塞扎里氏综合征患者中的阳性结果。具体地,来自难治性SS患者的数据揭示在用单一药剂IPH4102(ADCC介导的抗KIR3DL2抗体)的重复施用治疗时的强临床活性,这通过42.9%的总应答率(ORR)、13.8个月的中值应答持续时间(DoR)和11.7个月的中值无进展存活期(PFS)来证明。此外,这些令人鼓舞的结果,几乎没有副作用并且具有耗竭恶性表达KIR3DL2的细胞而不引起健康表达KIR3DL2的NK和T细胞的耗竭的能力,提供了治疗TCL的重要进展。然而,一些患者展现出进展性疾病和/或对初始治疗反应不

充分。

[0009] 因此,本领域需要改善患有TCL的患者的益处。

发明内容

[0010] 本发明尤其源于以下发现:吉西他滨和奥沙利铂各自可以引起恶性T细胞中的KIR3DL2表达增加,并且当这些药剂与耗竭性抗KIR3DL2抗体组合时,导致免疫细胞(NK细胞)耗竭恶性T细胞的能力显著增加。

[0011] 有趣的是,不仅吉西他滨和奥沙利铂中的每一种单独地增加TCL细胞上的KIR3DL2表达,而且吉西他滨+奥沙利铂的组合引起TCL细胞上的KIR3DL2表达的甚至更大的增加。还观察到,与独立的药剂相比,吉西他滨+奥沙利铂+抗KIR3DL2抗体的三联体导致免疫细胞(NK细胞)具有耗竭恶性T细胞的强能力。因此,吉西他滨(或核苷类似物)和/或奥沙利铂(或其它铂化合物)可以用于增强抗KIR3DL2抗体的活性,或具体地用于增强抗KIR3DL2抗体引起淋巴细胞(例如,T细胞、NK细胞)消除TCL细胞的能力。

[0012] 吉西他滨和/或基于铂的化合物与抗KIR3DL2抗体的组合因此可以提供对患有TCL(例如,KIR3DL2-表达TCL、PTCL、CTCL、SS或MF)的患者的特别有利的治疗。

[0013] 吉西他滨(GEMZAR®)被批准作为核苷代谢抑制剂并且用于多种癌,包含:

[0014] -与卡铂组合,用于治疗在完成基于铂的疗法后至少6个月复发的晚期卵巢癌;

[0015] -与紫杉醇组合,用于在先前含蒽环类抗生素的辅助化学疗法失败之后一线治疗转移性乳腺癌,除非蒽环类抗生素在临床上是禁忌的;

[0016] -与顺铂组合,用于治疗非小细胞肺癌;以及

[0017] -作为单一药剂用于治疗胰腺癌。

[0018] 奥沙利铂(ELOXATIN®)是一种基于铂的药剂,其被批准用于:

[0019] -辅助治疗已经经历原发性肿瘤的完全切除的患者的III期结肠癌;以及

[0020] -治疗晚期结肠直肠癌。

[0021] 因此,一方面,本发明提供了通过使用结合KIR3DL2的抗体与诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达的药剂或治疗(例如,化疗剂)的组合介导针对表达KIR3DL2的恶性T细胞的抗肿瘤免疫应答的改进的方法。

[0022] 一方面,本公开提供了通过使用能够结合KIR3DL2的抗体与用于诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达的装置的组合增强抗肿瘤免疫应答的改进的方法。在一个实施例中,用于诱导或增加KIR3DL2的表达的装置是一种药物组合物,所述药物组合物包括化疗剂(例如,核苷类似物和/或铂药剂)和药学上可接受的载体。

[0023] 一方面,本文提供了一种结合KIR3DL2的抗体,所述抗体用于治疗TCL,其中所述结合KIR3DL2的抗体与诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达的药剂组合施用。

[0024] 一方面,本文提供了一种药剂,所述药剂诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达,所述药剂用于治疗TCL,其中诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达的药剂与结合KIR3DL2的抗体组合施用。

[0025] 在一个实施例中,提供了一种用于治疗或预防个体的TCL细胞的方法,所述方法包括向所述个体施用:(a)诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达的药剂;以及(b)结合KIR3DL2的抗体。

[0026] 在一个实施例中,提供了一种增强结合KIR3DL2的抗体的抗肿瘤作用的方法,所述方法包括向个体施用诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达的药剂。

[0027] 在一个实施例中,用于诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达的药剂或装置是基于铂的药剂。在一个实施例中,用于诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达的药剂或装置是核苷代谢抑制剂,任选地吉西他滨或其类似物或衍生物。在一个实施例中,用于诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达的药剂或装置是基于铂的药剂和核苷代谢抑制剂(例如,吉西他滨或其类似物或衍生物)的组合。

[0028] 在一个实施例中,结合KIR3DL2的抗体是介导或指导表达KIR3DL2的细胞(例如,恶性T细胞)的效应细胞介导的裂解的抗体。在一个实施例中,抗体包括能够介导ADCC和/或ADCP的Fc结构域。在一个实施例中,抗体在免疫效应细胞表面处表达(例如,作为免疫效应细胞上的嵌合抗原受体的一部分)。任选地,抗体是单特异性或多特异性(例如,双特异性)抗体,其将ADCC和/或ADCP导向表达KIR3DL2的细胞。在任何方面,结合KIR3DL2多肽并且能够耗竭表达KIR3DL2的细胞的抗体可以表征为能够耗竭表达KIR3DL2的细胞的组合物,其中所述组合物包括结合KIR3DL2多肽的抗体。在一个实施例中,结合KIR3DL2的抗体是拉克妥单抗(lacutamab)。

[0029] 在本文任何实施例的一方面,个体可以指定为人。

[0030] 在一个实施例中,抗KIR3DL2抗体和用于诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达的药剂或装置各自以治疗有效量施用。

[0031] 在一个实施例中,将抗KIR3DL2抗体以足以介导ADCC朝向表达KIR3DL2的肿瘤细胞的量和频率向患有癌症的个体施用。

[0032] 在一个实施例中,将用于诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达的药剂或装置以足以引起KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达增加的量和频率向患有癌症的个体施用。

[0033] 在本文的任何方面,根据本公开所治疗的个体可以是无应答者或在TCL的先前治疗后已经经历部分或不完全应答的个体。

[0034] 在其它实施例中,提供了用于预测或评估抗癌剂用于与结合KIR3DL2多肽的抗体组合使用以治疗TCL的功效或适合性的方法,所述方法包括确定或评估(例如,在体外)所述抗癌剂是否能够诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达,其中确定所述抗癌剂能够诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达表明所述药剂可以与抗KIR3DL2抗体组合用于治疗癌症。确定或评估抗癌剂是否能够诱导或增加KIR3DL2在恶性T细胞表面处的表达可以包括例如,使恶性表达KIR3DL2的T细胞(例如,肿瘤细胞)在体外与药剂接触并且评估KIR3DL2的表达。在一个实施例中,抗癌剂是化疗剂,任选地核苷类似物或铂药剂。

[0035] 在本文提供的本发明的描述中将更加充分地描述这些方面,并且另外的方面、特征和优点将是显而易见的。

附图说明

[0036] 图1示出了抗KIR3DL2抗体对HUT78 TCL细胞系(塞扎里氏综合征)的细胞毒性,抗KIR3DL2的抗肿瘤活性通过吉西他滨和奥沙利铂中的每一种增强,并且甚至通过吉西他滨和奥沙利铂的组合增强。

[0037] 图2示出了吉西他滨和奥沙利铂增加了肿瘤细胞中的细胞表面KIR3DL2表达。将RAJI-KIR3DL2(48小时温育)(图2,左图)或Hut 78(经转染的B-NHL细胞系;24小时温育)(图2,右图)与递增剂量的吉西他滨和奥沙利铂一起温育。通过流式细胞术分析肿瘤细胞系表面上的KIR3DL2的中值荧光强度。

[0038] 图3示出了用Raji-KIR3DL2移植IV并且每周两次用同种型对照mAb、IPH4102(每注射0.3μg)、吉西他滨(50mg/kg)或奥沙利铂(5mg/kg)、IPH4102+吉西他滨两者或IPH4102+奥沙利铂两者处理的小鼠(每组n=9)的存活率。

具体实施方式

[0039] 如本文所使用的,“一个(a)”或“一种(an)”可以意指一个或多个。如权利要求中所使用的,当与单词“包括(comprising)”结合使用时,单词“一个”或“一种”可以意指一个或多于一个。如本文所使用的,“另一个”可以意指至少第二个或更多个。

[0040] 当使用“包括”时,这可以任选地由“实质上由……组成”或“由……组成”替换。

[0041] 每当在此整个说明书内参考抗KIR3DL2结合剂(例如,抗体)提及“治疗TCL”等时,其意指:(a)治疗TCL的方法,所述方法包括以下步骤:以允许治疗TCL的剂量(治疗有效量),例如以如在上文和下文规定的剂量(量)向需要这种治疗的温血动物,尤其是人施用(用于至少一种治疗)抗KIR3DL2结合剂(例如,在药学上可接受的载体材料中);(b)抗KIR3DL2结合剂用于治疗TCL的用途,或抗KIR3DL2结合剂用于所述治疗(尤其是人)的用途;(c)抗KIR3DL2结合剂用于制造用于治疗TCL的药物制剂的用途,使用抗KIR3DL2结合剂制造用于治疗TCL的药物制剂的方法,所述方法包括将抗KIR3DL2结合剂与药学上可接受的载体或包括适用于治疗TCL的有效剂量的抗KIR3DL2结合剂的药物制剂进行混合;或(d)a)、b)和c)的任何组合,根据在本申请提交的国家允许申请专利的主题。

[0042] 如本文所使用的,术语“抗体”是指多克隆和单克隆抗体。根据重链中恒定结构域的类型,将抗体指定为以下五大类中的一种:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM。这些中的若干个进一步分为亚类或同种型,如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4等。示例性免疫球蛋白(抗体)结构单元包括四聚体。每个四聚体由两对相同的多肽链构成,每对具有一个“轻”链(约25kDa)和一个“重”链(约50-70kDa)。每条链的N-末端限定了约100个到110个或更多个氨基酸的可变区,其主要负责抗原识别。术语可变轻链(V_L)和可变重链(V_H)分别指这些轻链和重链。与不同类免疫球蛋白相对应的重链恒定结构域分别称为“α”、“δ”、“ε”、“γ”和“μ”。不同类免疫球蛋白的亚基结构和三维构型是众所周知的。IgG是本文使用的示例性抗体类别,因为其是生理情况中最常见的抗体并且因为其最容易在实验室环境中制备。在一个实施例中,抗体是单克隆抗体。提供了人源化、嵌合、人或其它人合适的抗体。“抗体”包含全长抗体以及本文所述的抗体的任何抗体的任何片段或衍生物。

[0043] 当在本文中使用时,术语“高变区”是指抗体的负责抗原结合的氨基酸残基。高变区通常包括来自“互补性决定区”或“CDR”的氨基酸残基(例如,轻链可变结构域中的残基24-34(L1)、50-56(L2)和89-97(L3)以及重链可变结构域中的31-35(H1)、50-65(H2)和95-102(H3);Kabat等人1991)和/或来自“高变环”的那些残基(例如,轻链可变结构域中的残基26-32(L1)、50-52(L2)和91-96(L3)以及重链可变结构域中的26-32(H1)、53-55(H2)和96-101(H3);Chothia和Lesk,《分子生物学杂志(J.Mol.Biol)》1987;196:901-917),或用于确

定负责抗原结合的必需氨基酸的类似系统。通常,此区域中氨基酸残基的编号通过Kabat等人,同上所述的方法进行。如“Kabat位置”、“如Kabat中的可变结构域残基编号”和“根据Kabat”等短语在本文中是指用于重链可变结构域或轻链可变结构域的此编号系统。使用Kabat编号系统,肽的实际线性氨基酸序列可以含有较少或另外的氨基酸,与可变结构域的FR或CDR的缩短或插入相对应。例如,重链可变结构域可以包含在CDR H2的残基52之后的单个氨基酸插入物(根据Kabat的残基52a)和在重链FR残基82之后的插入残基(例如,根据Kabat的残基82a、82b和82c等)。通过将抗体序列的同源区域与“标准”Kabat编号序列比对,可以确定给定抗体的Kabat残基编号。

[0044] 如本文所使用的,“框架”或“FR”残基意指除了定义为CDR的那些区域之外的抗体可变结构域的区域。每个抗体可变结构域框架可以进一步细分为由CDR分开的连续区域(FR1、FR2、FR3和FR4)。术语“Fc结构域”、“Fc部分”和“Fc区”是指抗体重链的C-末端片段,例如,来自人γ(γ)重链的约氨基酸(aa)230到约aa 450,或其在其它类型的抗体重链中的对应序列(例如,人抗体的α、δ、ε和μ),或其天然存在的同种异型。除非另有说明,否则在本公开全文中使用免疫球蛋白的普遍接受的Kabat氨基酸编号(参见Kabat等人(1991)《具有免疫学意义的蛋白质序列(Sequences of Protein of Immunological Interest)》,第5版,美国公共卫生局(United States Public Health Service),美国国立卫生研究院(National Institute of Health),贝塞斯达,马里兰州)。

[0045] 术语“与……特异性结合”意指抗体可以在竞争性结合测定中与结合配偶体结合,例如KIR3DL2,如使用蛋白质的重组形式、其中的表位或存在于分离的靶细胞的表面上的天然蛋白质所评估的。用于确定特异性结合的竞争性结合测定和其它方法在下文进一步描述,并且是本领域众所周知的。

[0046] 当抗体被称为与特定单克隆抗体“竞争”时,这意味着抗体在结合测定中使用重组KIR3DL2分子或表面表达的KIR3DL2分子与单克隆抗体竞争。例如,如果测试抗体在结合测定中降低AZ158、19H12、2B12或12B11与KIR3DL2多肽或表达KIR3DL2的细胞的结合,则抗体被称为分别与AZ158、19H12、2B12或12B11“竞争”。

[0047] 如本文所使用的,术语“亲和力”是指抗体与表位结合的强度。抗体的亲和力由解离常数Kd给出,定义为[Ab]x[Ag]/[Ab-Ag],其中[Ab-Ag]是抗体-抗原复合物的摩尔浓度,[Ab]是未结合的抗体的摩尔浓度,并且[Ag]是未结合的抗原的摩尔浓度。亲和力常数K_a由1/Kd定义。用于确定mAb的亲和力的方法可以在以下中找到:Harlow等人,《抗体:实验室手册(Antibodies:A Laboratory Manual)》,冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press),冷泉港,纽约,1988);Coligan等人编辑,《免疫学实验指南(Current Protocols in Immunology)》,格林出版协会和威立国际科学出版社(Wiley Interscience),纽约,(1992,1993)以及Muller,《酶学方法(Meth.Enzymol.)》92:589-601(1983),所述参考文献通过引用整体地并入本文。本领域众所周知的用于确定mAb的亲和力的一种标准方法是使用表面等离子共振(SPR)筛选(如通过用BIAcoreTMSPR分析装置进行分析)。

[0048] “决定簇”表示在多肽上相互作用或结合的位点。

[0049] 术语“表位”是指抗原决定簇,并且是抗体与其结合的抗原上的区或区域。蛋白质表位可以包括直接参与结合的氨基酸残基以及被特异性抗原结合抗体或肽有效阻断的氨

基酸残基,即抗体的“足迹”内的氨基酸残基。其是复杂抗原分子上最简单的形式或最小的结构区域,其可以与例如抗体或受体组合。表位可以是线性的或构象的/结构的。术语“线性表位”定义为由氨基酸的线性序列(一级结构)上连续的氨基酸残基构成的表位。术语“构象或结构表位”定义为由不完全连续的氨基酸残基构成的表位,并且因此代表通过折叠分子而彼此接近的氨基酸的线性序列的分开部分(二级、三级和/或四级结构)。构象表位取决于3维结构。因此,术语“构象的”通常与“结构的”可互换使用。

[0050] 关于表达KIR3DL2的细胞,术语“耗竭(depleting)”、“耗竭(deplete)”或“耗竭(depletion)”意指可以杀死、消除、裂解或诱导这种杀死、消除或裂解(例如,通过诱导ADCC或ADCP),从而负面影响存在于样品或受试者中的表达KIR3DL2的细胞的数量的过程、方法或化合物。

[0051] 术语“免疫缀合物”、“抗体缀合物”、“抗体药物缀合物”和“ADC”可互换使用,并且是指与另一部分(例如,任何非抗体部分、治疗剂、细胞毒性部分或标记)缀合的抗体。

[0052] 术语“药剂”在本文中用于表示化学化合物,化学化合物、生物大分子或由生物材料制成的提取物的混合物。术语“治疗剂”是指具有生物活性的药剂。

[0053] 术语“抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是本领域熟知的术语,并且是指细胞介导的反应,其中表达Fc受体(FcR)的非特异性细胞毒性细胞识别靶细胞上的结合抗体并且随后引起靶细胞的裂解。介导ADCC的非特异性细胞毒性细胞包含自然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞和嗜酸性粒细胞。

[0054] 术语“分离的”、“纯化的”或“生物学上纯的”是指基本上或实质上不含在其天然状态下发现的通常伴随其的组分的材料。纯度和均匀性通常使用分析化学技术,如聚丙烯酰胺凝胶电泳或高效液相色谱法确定。作为制剂中存在的主要物质的蛋白质是基本上纯化的。

[0055] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用,指氨基酸残基的聚合物。术语适用于氨基酸聚合物,以及天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物,其中一个或多个氨基酸残基是对应天然存在的氨基酸的人工化学模拟物。

[0056] 当关于例如细胞或核酸、蛋白质或载体使用时,术语“重组”表示细胞、核酸、蛋白质或载体已经通过引入异源核酸或蛋白质或改变天然核酸或蛋白质而被修饰,或者细胞源自如此修饰的细胞。因此,例如,重组细胞表达在天然(非重组)形式的细胞内未发现的基因,或表达以其它方式异常表达、表达不足或根本不表达的天然基因。

[0057] 在本文的上下文中,术语“结合”多肽或表位的抗体表示以特异性和/或亲和力结合所述决定簇的抗体。

[0058] 当在两个或更多个多肽的序列之间的关系中使用时,术语“同一性”或“相同的”是指多肽之间的序列相关性程度,如通过两个或更多个氨基酸残基的串之间的匹配数确定的。“同一性”测量两个或更多个序列中较小的序列之间相同匹配的百分比,其中间隙比对(如果有的话)由特定数学模型或计算机程序(即,“算法”)解决。通过已知方法可以容易地计算相关多肽的同一性。此类方法包含但不限于以下文献中描述的那些方法:《计算分子生物学(Computational Molecular Biology)》,Lesk,A.M.编辑,牛津大学出版社(Oxford University Press),纽约,1988;《生物计算:信息学和基因组计划(Biocomputing: Informatics and Genome Projects)》,Smith,D.W.编辑,学术出版社(Academic Press),

纽约,1993;《序列数据的计算机分析(Computer Analysis of Sequence Data)》,第1部分,Griffin,A.M.和Griffin,H.G.编辑,哈门那出版社(Humana Press),新泽西州,1994;《分子生物学中的序列分析(Sequence Analysis in Molecular Biology),von Heinje,G.,学术出版社,1987;《序列分析引物(Sequence Analysis Primer)》,Gribskov,M.和Devereux,J.编辑,米斯托克顿出版社(M.Stockton Press),纽约,1991;和Carillo等人,《工业与应用数学学会应用数学杂志(SIAM J.Applied Math.)》48,1073(1988)。

[0059] 设计用于确定同一性的方法以给出测试序列之间的最大匹配。在公开可用的计算机程序中描述了确定同一性的方法。用于确定两个序列之间的同一性的计算机程序方法包含GCG程序包,包含GAP(Devereux等人,《核酸研究(Nucl.Acid.Res.)》12,387(1984);基因学计算机组,威斯康星大学,麦迪逊,威斯康星州),BLASTP、BLASTN和FASTA(Altschul等人,《分子生物学杂志》215,403-410(1990))。BLASTX程序可从国家生物技术信息中心(NCBI)和其它来源公开获得(BLAST Manual,Altschul等人,NCB/NLM/NIH贝塞斯达,马里兰州(Bethesda,Md.)20894;Altschul等人,同上)。众所周知的史密斯沃特曼算法(Smith Waterman algorithm)也可以用于确定同一性。

[0060] T细胞恶性肿瘤的治疗

[0061] 本文描述了通过施用诱导或增加恶性T细胞表面处的KIR3DL2表达的药剂以增强结合KIR3DL2多肽的抗体的活性而在治疗和预防个体的TCL中有用的方法。本文所述的治疗方案和方法可以用于多种T细胞淋巴瘤,特别是CD4+T细胞淋巴瘤。在任何方面,TCL可以被指定为特征在于在其表面处表达KIR3DL2的恶性细胞的TCL。

[0062] 如本文所示,吉西他滨(Gemzar®,礼来公司(Eli Lilly and Company))可以诱导或增加恶性T细胞表面处的KIR3DL2表达。吉西他滨是在实体瘤治疗中被批准作为化学疗法的核苷类似物。与氟尿嘧啶和嘧啶的其它类似物一样,在DNA复制期间,药物替代核酸的构建块之一,在这种情况下是胞苷。因此,吉西他滨及其类似物和衍生物可以用于增强结合KIR3DL2多肽的抗体的活性。

[0063] 如本文所示,奥沙利铂可以诱导或增加恶性T细胞表面处的KIR3DL2表达。奥沙利铂和其它铂药剂是本领域众所周知的,并且包含例如顺铂、卡铂、奈达铂、菲铂、吡铂、赛特铂。因此,铂药剂可以用于增强结合KIR3DL2多肽的抗体的活性。

[0064] 铂药剂和/或吉西他滨药剂可以呈任何合适的构型或调配物,包含例如作为游离化合物或作为缀合物的一部分、纳米颗粒调配物、胶囊化(例如,在脂质体中),在每种情况下任选地进一步与另外的药学活性剂组合。

[0065] 因此,一方面,提供了用于治疗患有TCL的个体的方法,所述方法包括向个体施用有效量的以下中的每一种:(a)结合KIR3DL2多肽的抗体;以及(b)铂药剂和/或吉西他滨。在一个实施例中,所述方法包括向个体施用结合KIR3DL2多肽的抗体、铂药剂(例如,奥沙利铂)和吉西他滨。在另一个实施例中,所述方法包括向个体施用结合KIR3DL2多肽的抗体和铂药剂(例如,奥沙利铂),而不组合施用或使用吉西他滨。在另一个实施例中,所述方法包括向个体施用结合KIR3DL2多肽的抗体和吉西他滨,而不组合施用或使用奥沙利铂。在另一个实施例中,所述方法包括向个体施用结合KIR3DL2多肽的抗体和吉西他滨,而不组合施用或使用铂药剂。

[0066] 在一个实施例中,铂药剂(例如,奥沙利铂)和/或吉西他滨以有效引起KIR3DL2多

肽在恶性细胞表面上的表达增加的量施用。

[0067] 一方面,提供了用于增加KIR3DL2多肽在恶性细胞,任选地TCL细胞(例如,在患有TCL的个体中体外或体内)的表面上的表达的方法,所述方法包括使恶性细胞与有效量的铂药剂和/或吉西他滨接触。在一个实施例中,所述方法进一步包括耗竭表达KIR3DL2的恶性细胞(例如,具有增加的KIR3DL2表达)的步骤,其中所述步骤包括使恶性细胞与有效量的结合KIR3DL2多肽的抗体接触。

[0068] 本文提供的用于治疗癌症的组合疗法可以包括施用:(a)耗竭性抗KIR3DL2抗体(例如,结合KIR3DL2的抗体或抗体片段、在其表面处表达包括结合KIR3DL2的抗体片段的嵌合活化受体(例如,T细胞受体)的效应细胞);以及(b)铂药剂,任选地奥沙利铂,以治疗患有T细胞恶性肿瘤,任选地CD4+T细胞恶性肿瘤的个体。

[0069] 在另一个实施例中,本文提供的用于治疗癌症的组合疗法包括施用:(a)耗竭性抗KIR3DL2抗体(例如,结合KIR3DL2的抗体或抗体片段、在其表面处表达包括结合KIR3DL2的抗体片段的嵌合活化受体(例如,T细胞受体)的效应细胞);以及(b)核苷类似物,任选地吉西他滨,以治疗患有T细胞恶性肿瘤,任选地CD4+T细胞恶性肿瘤的个体。

[0070] 在另一个实施例中,本文提供的用于治疗癌症的组合疗法包括施用:(a)耗竭性抗KIR3DL2抗体(例如,结合KIR3DL2的抗体或抗体片段、在其表面处表达包括结合KIR3DL2的抗体片段的嵌合活化受体(例如,T细胞受体)的效应细胞);和(b)铂药剂,任选地奥沙利铂;以及(c)核苷类似物,任选地吉西他滨,以治疗患有T细胞恶性肿瘤,任选地CD4+T细胞恶性肿瘤的个体。

[0071] 提供了用于治疗患有TCL、易患TCL或经历过TCL的个体的治疗方法。在一个实施例中,TCL是侵袭性或晚期TCL(例如,IV期,或更一般地超过II期)。在一个实施例中,患者患有复发性或难治性疾病。在一个实施例中,患者具有疾病进展的不良预后(例如,存活的不良预后),对疗法的应答具有不良预后,或者在用先前疗法进行先前治疗后具有进展性或复发性疾病。

[0072] 在一个实施例中,TCL是侵袭性T细胞肿瘤。在一个实施例中,TCL是侵袭性非皮肤TCL。在另一个实施例中,TCL是侵袭性皮肤TCL,任选地原发性皮肤CD4+小/中等T细胞淋巴瘤或原发性CD8+小/中等T细胞淋巴瘤。在一个实施例中,TCL是皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL)。在一个实施例中,TCL是外周T细胞淋巴瘤(PTCL),任选地非皮肤PTCL。PTCL和PTCL-NOS可以任选地被指定为除皮肤T细胞淋巴瘤以外的疾病。

[0073] 皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL)(参见以下图像)是一组淋巴组织增生性病症,其特征在于肿瘤性T淋巴细胞定位于皮肤。总体来说,CTCL被分类为非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)的类型。在Willemze等人(2005)《血液(Blood)》105:3768-3785中报告了世界卫生组织-欧洲癌症研究和治疗组织(WHO-EORTC)CTCL分类。WHO-EORTC将CTCL分成具有无痛临床行为的那些和具有侵袭性亚型的那些。第三类是非T细胞淋巴瘤的前体血液肿瘤(CD4+/CD56+血液皮肤肿瘤、母细胞自然杀伤(NK)细胞淋巴瘤或B细胞源性原发性皮肤肿瘤)。可以具有无痛临床行为的CTCL包含蕈样真菌病(MF)及其变体、原发性皮肤CD30+淋巴组织增生性病症(例如,原发性皮肤间变性大细胞淋巴瘤、淋巴瘤样丘疹病)、皮下脂膜炎样T细胞淋巴瘤(临时性)和原发性皮肤CD4+小/中等大小的多形性T细胞淋巴瘤(临时性)。具有侵袭性临床行为的CTCL包含塞扎里氏综合征(SS)、成人T细胞白血病/淋巴瘤、结外NK/T细胞淋巴瘤、鼻型、原发性

皮肤外周T细胞淋巴瘤、未指定的原发性皮肤侵袭性嗜表皮性CD8+T细胞淋巴瘤(临时性)和皮肤γ/δ阳性T细胞淋巴瘤(临时性)。本文公开的方法可以用于治疗这些病状中的每种病状。

[0074] 最常见的CTLC是MF和SS。其特征例如在Willemze等人(2005)《血液》105:3768-3785中进行综述,所述文献的公开内容通过引用并入本文。在大多数MF病例中,由于其临床特征、疾病史以及组织形态学和细胞形态学发现而得到诊断。将CTCL与炎性皮肤病区分开的另外的诊断标准是通过分子测定(例如,Southern印迹、聚合酶链反应(PCR))证明皮肤活检样本中的显性T细胞克隆。也可以考虑基因检测。经典的蕈样真菌病分为三个阶段:(1)贴剂(萎缩性或非萎缩性):非特异性皮炎,下躯干和臀部上的贴剂;轻微/无瘙痒;(2)斑块:强烈瘙痒的斑块、淋巴结病和(3)肿瘤:容易发生溃疡。塞扎里氏综合征由红皮病和白血病定义。体征和症状包含水肿性皮肤、淋巴结病、手掌和/或足底角化过度、脱发、指甲营养不良、外翻和肝脾肿大。对于塞扎里氏综合征的诊断,标准通常包含通过分子或细胞遗传学方法显示的外周血中的绝对塞扎里氏细胞计数、免疫表型异常、T细胞抗原的损失和/或T细胞克隆。

[0075] 根据TNM分类,CTCL阶段包含I、II、III和IV,并且适当时,外周血受累。具有蕈样真菌病或塞扎里氏综合征(MF/SS)细胞的外周血受累与更晚期皮肤分期、淋巴结和内脏受累以及存活期缩短相关。MF和SS具有由国际皮肤淋巴瘤学会(ISCL)和欧洲癌症研究和治疗组织(EORTC)提出的正式分期系统。参见,Olsen等人,(2007)《血液》110(6):1713-1722;和Agar等人(2010)《临床肿瘤学杂志(J.Clin.Oncol.)》28(31):4730-4739,所述文献的公开内容通过引用并入本文。

[0076] 在一个实施例中,TCL是外周T细胞淋巴瘤(PTCL),任选地非皮肤PTCL。PTCL和PTCL-NOS可以任选地被指定为除被认为是不同病理学的皮肤T细胞淋巴瘤塞扎里氏综合征和蕈样真菌病以外的疾病。在一个实施例中,PTCL是结节(例如,主要或显著结节)PTCL。显著结节PTCL尤其包含PTCL-NOS(外周T细胞淋巴瘤,未另外指定)、间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)和血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(AITL)。例如,PTCL可以是侵袭性、非皮肤、显著结节PCTL(疾病可以另外具有结外呈递)。

[0077] 在一个实施例中,PTCL是结外(例如,主要结外)PTCL。例如,PTCL可以是侵袭性、非皮肤、结外PCTL。

[0078] 在一个实施例中,PTCL是成人T细胞白血病或淋巴瘤(ATL),例如HTLV+ATL。

[0079] 在一个实施例中,PTCL是结外NK/T细胞淋巴瘤、鼻型。在一个实施例中,PTCL是肠病相关T细胞淋巴瘤。

[0080] 在一个实施例中,PTCL是肝脾T细胞淋巴瘤,任选地肝脾αβT细胞淋巴瘤,任选地肝脾γδT细胞淋巴瘤。

[0081] 在一个实施例中,PTCL是间变性大细胞淋巴瘤(ALCL),任选地ALK+ALCL,任选地ALK-ALCL。ALK+ALCL通常享有使用常规疗法的有利预后(93%的5年存活期),但ALK-ALCL具有不良预后(37%)。ALCL通常特征在于均匀的CD30表面表达。在一个实施例中,PTCL是血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(AITL),任选地皮肤AITL,任选地原发性皮肤CD4+小/中等T细胞淋巴瘤或原发性CD8+小/中等T细胞淋巴瘤,任选地非皮肤AITL。

[0082] 在一个实施例中,PTCL是肠淋巴瘤,例如肠ALCL。

[0083] 在一个实施例中,PTCL是T细胞前淋巴细胞性白血病。

[0084] 在一个实施例中,PTCL是PTCL-NOS(外周T细胞淋巴瘤,未另外指定)。PTCL-NOS,也称为PCTL-U或未指定的PTCL,是侵袭性淋巴瘤,主要是结节型,但结外受累是常见的。大多数结节病例是$CD4^+$和$CD8^-$,并且CD30可以在大细胞变体中表达。大多数PTCL-NOS患者表现为结节受累;然而,还可能涉及许多结外位点(例如,肝、骨髓、胃肠、皮肤)。研究通常报告使用标准化学疗法的大约30%-35%的5年总存活期。在过去,已经描述了与可识别的T细胞肿瘤亚型相对应的许多明确实体,如伦纳特淋巴瘤(Lennert lymphoma)、T区淋巴瘤、多形性T细胞淋巴瘤和T免疫母细胞性淋巴瘤,但是仍然缺乏这些与独特的临床病理学实体相对应的证据。为此,世界卫生组织(WHO)最近对造血和淋巴肿瘤的分类已经将这些归入PTCL-NOS/U的单一广泛类别下。因此,可以指定PTCL-NOS排除某些独特的临床病理学实体,如T细胞前淋巴细胞性白血病、ATL/成人T细胞白血病、结外NK/T细胞白血病鼻型、EATL/肠病型T细胞淋巴瘤、肝脾T细胞淋巴瘤、皮下脂膜炎样T细胞淋巴瘤、ALCL/间变性大细胞淋巴瘤和/或AITL/血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤。

[0085] PTCL诊断标准可以是标准医学指南的那些诊断标准,例如,根据世界卫生组织(WHO)分类系统(参见例如,世界卫生组织WHO造血和淋巴组织肿瘤分类,第4版,里昂,法国:IARC出版社(IARC Press),2008)。还参见例如,Foss等人(2011)《血液》117:6756-6767,所述文献的公开内容通过引用并入本文。

[0086] 在一个实施例中,TCL的特征在于在其表面处不表达显著和/或可检测的CD30多肽的肿瘤或肿瘤细胞(CD30阴性)。在其它实施例中,TCL的特征在于在其表面处表达CD30的肿瘤或肿瘤细胞(CD30阳性);在一个实施例中,肿瘤或肿瘤细胞在其表面处表达低水平的CD30;在另一个实施例中,肿瘤或肿瘤细胞在其表面处表达高水平的CD30。任选地,CD30表达通过免疫组织化学来确定。

[0087] 在一个示例性方面,提供了一种减少具有可检测水平的癌细胞的哺乳动物宿主(例如,人患者)中的TCL进展的方法,所述方法包括以足以可检测地减少宿主中的血液恶性肿瘤的进展的量施用抗KIR3DL2抗体、抗KIR3DL2抗体组合物或相关组合物(例如,对抗KIR3DL2抗体进行编码的核酸、表达抗KIR3DL2抗体片段的细胞组合物)。

[0088] 在一个示例性方面,提供了一种治疗具有不良疾病预后和/或已经复发、对用第一治疗剂的疗法有抗性或无响应的个体的TCL的方法。

[0089] PTCL(例如,PTCL-NOS)通常基于通过详细的免疫组织化学、流式细胞术、细胞遗传学和分子遗传学补充的组织学特征的外周血或组织活检的检查。检查可以包含例如全血计数和差异、肾和肝功能测试、乳酸脱氢酶(LDH)、β2微球蛋白、白蛋白、血清钙、尿酸、骨髓活检、胸部X射线和胸部、腹部和骨盆的计算机断层(CT)扫描。进展任选地通过评估起始细胞的选择性克隆扩增来确定。用于检测癌症和癌症进展的方法可以通过任何合适的技术来实现,所述技术的若干实例是本领域已知的。合适的技术的实例包含PCR和RT-PCR(例如,癌细胞相关基因或“标志物”的)、活检、成像技术、核型分析和其它染色体分析、免疫测定/免疫细胞化学检测技术、组织学和/或组织病理学测定、细胞动力学研究和细胞周期分析、流式细胞术以及身体检查技术(例如,针对身体症状)。

[0090] 向受试者递送抗KIR3DL2抗体(通过作为分离的或纯化的抗体(例如,溶液中的抗体)、作为由CAR细胞表达的抗体片段直接施用,或通过从其中的核酸表达,如从包括抗

KIR3DL2抗体-编码核酸序列的痘病毒基因转移载体)并且实践本文的其它方法可以用于减少、治疗、预防或以其它方式改善癌症进展(显著地TCL进展)的任何合适的方面。本文的方法可以特别用于减少和/或改善肿瘤生长(例如,百分比(肿瘤细胞与健康T细胞比较)、循环中肿瘤细胞的数量)和与其相关(例如,生物标志物)的任何参数或症状。独立地且共同地减少、预防或以其它方式改善癌症进展的这些方面的方法是有利的特征。

[0091] 在另外的方面,提供了一种促进哺乳动物宿主(如人患者)的TCL的缓解的方法,所述方法包括向所述宿主施用包括抗KIR3DL2抗体的组合物,以便促进所述宿主的TCL缓解。

[0092] 在甚至另外的方面,提供了一种用于降低发展TCL的风险、减少癌性病状的发作时间和/或降低在早期阶段诊断出的TCL的严重程度的方法,所述方法包括向宿主施用预防有效量的抗KIR3DL2抗体或相关组合物,以便实现期望的生理效应。

[0093] 在另外的方面,提供了一种增加诊断患有TCL的人患者在相关时间段内存活的可能性的方法。在另一方面,提供了一种用于改善TCL患者的生活质量的方法,所述方法包括以有效改善其生活质量的量向所述患者施用组合物。在另外的方面,可以应用本文所述的方法以显著减少脊椎动物宿主中的TCL细胞的数量,使得例如TCL细胞的总数减少。在相关意义上,提供了一种用于杀死脊椎动物,如人癌症患者的TCL细胞(例如,直接或间接引起其死亡)的方法。

[0094] 如本文所使用的,辅助或组合施用包含以相同或不同的剂型同时施用化合物或单独施用化合物(例如,顺序施用)。因此,结合KIR3DL2的抗体可以与铂药剂和/或吉西他滨组合使用。例如,抗KIR3DL2抗体和铂药剂和/或吉西他滨可以在单一调配物中同时施用。可替代地,抗KIR3DL2抗体和铂药剂和/或吉西他滨可以被调配成单独施用并且同时或顺序地施用。

[0095] 吉西他滨的施用的合适剂量是静脉内施用的800-1200mg/m^2的剂量。吉西他滨的施用可以每2周重复一次。可替代地,吉西他滨可以在3周周期(可以重复)的第1天和第8天施用。

[0096] 奥沙利铂的施用的合适剂量是静脉内施用的75-150mg/m^2(例如,75mg/m^2、100mg/m^2、130mg/m^2、75-130mg/m^2)的剂量。奥沙利铂的施用可以每2周进行重复,例如以75-100mg/m^2(例如,75mg/m^2、100mg/m^2)的剂量。可替代地,奥沙利铂可以每三周施用一次(例如,在3周周期的第1天和第8天,其中周期可以重复)。当奥沙利铂每三周施用一次时,剂量范围可以任选地高于每周施用2次,例如对于每3周方案,剂量为100-150mg/m^2(例如,100mg/m^2、130mg/m^2)。

[0097] 通常,治疗包括至少一个施用周期(例如,八周或更短的时间段),其中对于至少一个周期中的每个周期,施用两个、三个或四个剂量的抗KIR3DL2抗体,并且施用至少两个、三个或四个剂量的铂药剂(例如,奥沙利铂)和/或吉西他滨。

[0098] 吉西他滨和奥沙利铂可以在同一天(例如,第1天)施用,或者吉西他滨可以例如在第一天(第1天)施用,随后奥沙利铂在第二天(第2天)施用。

[0099] 用于治疗患有CTL(例如,PTCL、CTCL、MF或SS)的人的合适的治疗方案包含例如,向患者施用有效量的抗KIR3DL2抗体和吉西他滨中的每一种,其中治疗包括其中(例如,每周、每两周、每四周)施用至少一个剂量,任选地至少两个剂量的抗KIR3DL2抗体并且施用至少一个剂量,任选地至少两个剂量的吉西他滨的至少一个施用周期,任选地其中吉西他滨以

约800-1200mg/m^2,任选地约800-1000mg/m^2的剂量施用。任选地,吉西他滨每2周施用一次,或在重复的3周周期的第1天和第8天施用。任选地,治疗方案的特征在于不用铂药剂或奥沙利铂进行组合治疗。

[0100] 用于治疗患有MF或SS的人的示例性治疗方案可以包含例如,向患者施用有效量的抗KIR3DL2抗体和吉西他滨中的每一种,其中治疗包括其中(例如,每周、每两周、每四周)施用至少一个剂量,任选地至少两个剂量的抗KIR3DL2抗体并且施用至少一个剂量,任选地至少两个剂量的吉西他滨的至少一个施用周期,其中吉西他滨在重复的4周周期的第1周、第2周和第3周(例如,在约第1天、第8天和第15天)以约800-1200mg/m^2的剂量施用。可以重复4周周期,例如持续3个、4个、5个、6个或更多个月的时间段。方案的特征可以在于不用铂药剂或奥沙利铂进行组合治疗。

[0101] 用于治疗患有CTL(例如,PTCL)的人的进一步合适的治疗方案包含例如,向患者施用有效量的抗KIR3DL2抗体和奥沙利铂中的每一种,其中治疗包括其中(例如,每周、每两周、每四周)施用至少一个剂量,任选地至少两个剂量的抗KIR3DL2抗体并且施用至少一个剂量,任选地至少两个剂量的奥沙利铂的至少一个给药周期,任选地其中奥沙利铂以约75-130mg/m^2的剂量施用。任选地,每2周施用一次或每3周施用一次奥沙利铂。

[0102] 用于治疗患有PCTL的人的另一种合适的治疗方案包含例如,向患者施用有效量的抗KIR3DL2抗体、吉西他滨和奥沙利铂中的每一种,其中治疗包括至少一个施用周期,所述至少一个施用周期包括施用:

[0103] -至少一个剂量,任选地至少两个剂量的抗KIR3DL2抗体(例如,每周、每两周、每四周);

[0104] -至少一个剂量,任选地至少两个剂量的吉西他滨,任选地其中吉西他滨以约800-1000mg/m^2的剂量施用,任选地其中吉西他滨每2周施用一次或在重复的3周周期的第1天和第8天施用;以及

[0105] -至少一个剂量,任选地至少两个剂量的奥沙利铂,任选地其中奥沙利铂以约75-130mg/m^2的剂量施用,任选地其中奥沙利铂每2周施用一次或每3周施用一次(例如,或在重复的3周周期的第1天)。在一个实施例中,奥沙利铂和吉西他滨各自每两周施用一次,任选地进一步在同一天施用。在另一个实施例中,奥沙利铂和吉西他滨各自每3周进行施用,其中奥沙利铂在3周时间段的第1天施用,并且吉西他滨在3周时间段的第1天和第8天施用。

[0106] 应当理解,施用周期可以是与本文所述的施用频率一致的合适的时间段。例如,施用周期可以是4周、8周、超过8周、小于8周等的时间段。

[0107] 在一个实施例中,抗KIR3DL2抗体与吉西他滨和/或奥沙利铂在同一天施用。在一个实施例中,在施用吉西他滨后至少一天(例如,一天、两天、三天)施用抗KIR3DL2抗体。在一个实施例中,在施用奥沙利铂后至少一天(例如,一天、两天、三天)施用抗KIR3DL2抗体。在一个实施例中,在施用吉西他滨和奥沙利铂两者后至少一天(例如,一天、两天、三天、四天、五天、六天或七天)(例如,在稍后施用化合物之后至少一天)施用抗KIR3DL2抗体。

[0108] 抗KIR3DL2抗体(例如,被称为IPH4102或拉克妥单抗的人源化2B12抗体)可以有利地通过静脉内输注以1-20mg/kg体重,任选地1-10mg/kg体重的剂量或以750mg的固定剂量施用。抗KIR3DL2抗体可以有利地每月施用1-4次,例如每周一次、每两周一次或每四周一次。在一个实施例中,根据包括以下的方案施用抗KIR3DL2抗体:第一阶段,在所述第一阶段

期间,每周施用抗KIRDL2抗体(例如,每周施用四次),随后是第二阶段,在所述第二阶段期间,每周施用抗KIRDL2抗体少于一次,例如每月1-2次、每两周一次、每月一次。在一个实施例中,根据包括以下的方案施用抗KIR3DL2抗体:第一阶段,在所述第一阶段期间,每周施用抗KIRDL2抗体(例如,每周施用四次),随后是第二阶段,在所述第二阶段期间,每两周施用抗KIRDL2抗体一次(例如,每两周施用至少2次连续施用,例如每两周施用2次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次或10次或更多次施用),随后是第三阶段,在所述第三阶段期间,每月施用抗KIRDL2抗体一次(例如,每月施用至少2次连续施用,例如每月施用2次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次或10次或更多次施用。

[0109] 当与吉西他滨和奥沙利铂组合时,治疗方法可以例如被指定为包括至少一个施用周期(例如,八周或更短,任选地八周,任选地四周的时间段),其中对于至少一个周期中的每个周期,施用两个、三个或四个剂量的抗KIR3DL2抗体(例如,以1-20或1-10mg/kg体重的剂量,以750mg的固定剂量施用人源化2B12抗体)并且施用至少两个、三个或四个剂量的吉西他滨和奥沙利铂。吉西他滨和奥沙利铂可以被指定为在同一天或连续天施用(例如,在吉西他滨以800-1000mg/m^2施用后的当天将奥沙利铂以75-130mg/m^2施用)。结合KIR3DL2的抗体可以被指定为与吉西他滨和/或奥沙利铂在同一天施用、在吉西他滨和/或奥沙利铂之前或之后的连续天施用或在吉西他滨和/或奥沙利铂之前或之后的若干天施用。

[0110] 在治疗方法中,结合KIR3DL2的抗体和铂和/或吉西他滨药剂可以单独、一起或顺序施用,或以混合物(cocktail)形式施用。在一些实施例中,在施用铂和/或吉西他滨药剂之前施用结合KIR3DL2的抗体。例如,可以在施用吉西他滨之前大约0到30天,任选地1到7天或者在施用铂药剂之前0到30天,任选地1到7天施用结合KIR3DL2的抗体。在一些实施例中,在施用吉西他滨(或铂药剂)之前约30分钟到约2周、约30分钟到约1周、约1小时到约2小时、约2小时到约4小时、约4小时到约6小时、约6小时到约8小时、约8小时到1天或约1到5天施用结合KIR3DL2的抗体。在一些实施例中,结合KIR3DL2的抗体与铂药剂和/或吉西他滨的施用同时施用。在一些实施例中,在施用铂和/或吉西他滨药剂之后施用结合KIR3DL2的抗体。例如,可以在施用铂和/或吉西他滨药剂之后大约0到30天,任选地1到7天施用结合KIR3DL2的抗体。在一些实施例中,在施用铂和/或吉西他滨药剂之后约30分钟到约2周、约30分钟到约1周、约1小时到约2小时、约2小时到约4小时、约4小时到约6小时、约6小时到约8小时、约8小时到1天或约1到5天施用结合KIR3DL2的抗体。

[0111] 在一个实施例中,抗KIR3DL2抗体和铂和/或吉西他滨药剂以以下剂量施用:

[0112] (a)750mg的抗KIR3DL2抗体以及(i)75-130mg/m^2的铂药剂(例如,奥沙利铂)或(ii)800-1200mg/m^2的吉西他滨;

[0113] (b)1-10mg/kg或750mg的抗KIR3DL2抗体和75-130mg/m^2奥沙利铂;

[0114] (c)1-10mg/kg或750mg的抗KIR3DL2抗体和800-1200mg/m^2吉西他滨;

[0115] (d)1-10mg/kg或750mg的抗KIR3DL2抗体、75-100mg/m^2奥沙利铂和800-1000mg/m^2吉西他滨;

[0116] (e)1-10mg/kg或750mg的抗KIR3DL2抗体、100-130mg/m^2奥沙利铂和800-1000mg/m^2吉西他滨。

[0117] 还提供了试剂盒,例如包含以下的试剂盒:

[0118] (i)含有抗KIR3DL2抗体的药物组合物和含有吉西他滨的药物组合物;

[0119] (ii)含有抗KIR3DL2抗体的药物组合物和含有铂药剂(例如,奥沙利铂)的药物组合物;

[0120] (iii)含有抗KIR3DL2抗体的药物组合物、含有铂药剂(例如,奥沙利铂)的药物组合物和含有吉西他滨的药物组合物;

[0121] (iv)含有抗KIR3DL2抗体的第一药物组合物,以及将所述抗KIR3DL2抗体与铂药剂(例如,奥沙利铂)和/或吉西他滨一起施用的说明书;

[0122] (v)含有铂药剂(例如,奥沙利铂)和/或吉西他滨的药物组合物,以及将所述组合物与抗KIR3DL2抗体一起施用的说明书;

[0123] (vi)含有铂药剂(例如,奥沙利铂)的药物组合物,以及将所述组合物与抗KIR3DL2抗体(以及任选地另外的吉西他滨)一起施用的说明书;

[0124] (vii)含有吉西他滨的药物组合物,以及将所述组合物与抗KIR3DL2抗体(以及任选地另外的铂药剂(例如,奥沙利铂)一起施用的说明书。

[0125] 药物组合物可以任选地被指定为包括药学上可接受的载体。抗KIR3DL2抗体、铂药剂和/或吉西他滨可以任选地被指定为以适用于本文任何方法的治疗有效量存在,任选地以增加恶性TCL细胞表面处的KIR3DL2水平的量存在。试剂盒任选地还可以包含说明书,例如包括施用方案,以允许从业者(例如,医师、护士或患者)向患有癌症(例如,在本文公开的具体CTLC或PTCL中)的患者施用其中含有的组合物。在任何实施例中,试剂盒还可以包含注射器。

[0126] 任选地,试剂盒包含多个包装的单剂量药物组合物,所述多个包装的单剂量药物组合物各自含有有效量的抗KIR3DL2抗体和/或铂药剂(例如,奥沙利铂)和/或吉西他滨,用于根据以上提供的方法进行单次施用。用于施用药物组合物所必需的仪器或装置也可以包含在试剂盒中。例如,试剂盒可以提供含有一定量的抗KIR3DL2抗体、铂药剂或吉西他滨的一个或多个预充式注射器或小瓶。

[0127] 在一个实施例中,本发明提供了一种用于治疗人患者的TCL的试剂盒,所述试剂盒包括:

[0128] (a)一定剂量的抗KIR3DL2抗体,其包括重链可变区的H-CDR1、H-CDR2和H-CDR3结构域和轻链可变区的L-CDR1、L-CDR2和L-CDR3结构域,所述重链可变区具有SEQ ID NO:32或48-51中任一项所示的序列,所述轻链可变区具有SEQ ID NO:33或43-47所示的序列;和/或

[0129] (b)一定剂量的铂药剂(例如,奥沙利铂)和/或一定剂量的吉西他滨;和

[0130] (c)任选地,在本文所述的任何方法中使用所述抗KIR3DL2抗体和/或所述铂药剂(例如,奥沙利铂)和/或吉西他滨的说明书。

[0131] 在一个实施例中,治疗包括施用抗KIR3DL2抗体、铂药剂(例如,奥沙利铂)和吉西他滨,而不施用任何另外的抗癌剂。

[0132] 应当理解,本公开的治疗方法可以涉及或可以不涉及在治疗之前表征针对KIR3DL2-表达的肿瘤细胞的步骤。在任何实施例中,KIR3DL2表达可以通过免疫组织化学来确定。

[0133] 在一个实施例中,所述方法包括:(a)确定个体是否患有TCL,任选地PTCL;并且(b)如果个体患有TCL,任选地PTCL,则确定个体是否具有表达KIR3DL2多肽的TCL细胞。确定个

体具有表达KIR3DL2多肽的TCL细胞表明个体可以用本公开的治疗方法来治疗。任选地,所述方法包括向个体施用本公开的治疗的步骤。

[0134] 在一个实施例中,KIR3DL2多肽在取自给定患者的大量肿瘤细胞(例如,TCL细胞)中表达。例如,KIR3DL2可以存在于取自患者的至少30%、40%、50%、60%、70%、80%或更多的TCL细胞上。

[0135] 方法可以任选地进一步包括评估TCL(分期疾病)的发展水平的步骤,所述步骤允许评估患者的某一身体区室内存在的恶性TCL细胞的比例(例如,百分比)。根据这种方法,使来自从所述身体区室收集的生物样品的细胞与抗KIR3DL2抗体接触,并且测量在其表面处表达KIR3DL2多肽的肿瘤细胞(例如,细胞的比例)。细胞可以是例如CD4+细胞或CD4-CD8+细胞。肿瘤细胞表达或主要表达KIR3DL2的发现表明TCL是侵袭性或晚期TCL(例如,IV期,或更一般地超过II期)。这种TCL可以有利地使用本公开的治疗方法进行治疗。

[0136] 在任何实施例中,方法可以包括TCL诊断的步骤,所述步骤包括使来自个体的生物样品的细胞与抗KIR3DL2抗体接触,并且测量在其表面处表达KIR3DL2多肽的T细胞的比例(例如,百分比),并且将此比例与在非TCL人中(例如,在健康人中)观察到的在其表面处表达KIR3DL2多肽的T细胞的平均比例(例如,百分比)进行比较,其中当所述所测得比例显著高于所述平均比例时,做出TCL阳性诊断。

[0137] 在另一个实施例中,所述方法包括确定来自已经接受铂药剂或吉西他滨的施用的个体的生物样品中的KIR3DL2核酸或多肽的表达水平的步骤,例如在生物学样品中发现的肿瘤细胞上。

[0138] 在另一个实施例中,所述方法包括确定抗癌剂(例如,铂药剂或吉西他滨)是否增加来自个体的生物样品中的KIR3DL2核酸或多肽的表达水平的步骤,例如在生物学样品中发现的肿瘤细胞上。

[0139] 确定生物样品中的KIR3DL2核酸或多肽的表达水平可以包括将所述水平与健康个体或与在用抗癌剂(例如,铂药剂或吉西他滨)治疗之前的个体相对应的参考水平(例如,值、弱细胞表面染色等)进行比较。确定生物样品以与参考水平相比增加的水平表达KIR3DL2核酸或多肽表明个体患有可以受益于用抗KIR3DL2抗体治疗的TCL,或任选地个体患有可以受益于用抗KIR3DL2抗体与抗癌剂(例如,分别为铂药剂和/或吉西他滨)组合治疗的TCL。任选地,检测生物样品中的KIR3DL2多肽包括检测在恶性淋巴细胞的表面上表达的KIR3DL2多肽。

[0140] 抗体的产生

[0141] KIR3DL2(CD158k)是约140kD的三-Ig结构域分子的二硫键连接的同源二聚体,其描述于Pende等人(1996)《实验医学杂志(J.Exp.Med.)》184:505-518,所述文献的公开内容通过引用并入本文。已经报道了针对KIR3DL2多肽的若干等位基因变体,这些中的每一个被术语KIR3DL2涵盖。成熟的人KIR3DL2(等位基因*002)的氨基酸序列如以下SEQ ID NO:1所示,与Genbank登录号AAB52520相对应,其中省略了21个氨基酸残基前导序列。

[0142] LMGGQDKPF LSARPSTVVP RGGHVALQCH YRRGFNNFML YKEDRSHVPI FHGRIFQESF IMGPVTPAHA GTYRCRGSRP HSLTGWSAPS NPLVIMVTGN HRKPSLLAHP GPLLKSGETV ILQCWSDVMF EHFFLHRDGI SEDPSRLVGQ IHDGVSKANF SIGPLMPVLA GTYRCYGSVP HSPYQLSAPS DPLDIVITGL YEKPSLSAQP GPTVQAGENV TLSCSSWSSY DIYHLSREGE AHERRLRAVP KVNRTFQADF PLGPATHGGT YRCFGSFRAL PCVWSNSSDP LLVSVTGNPS SSWPSPTEPS SKSGICRHLH VLIGTSVVIF LFILLLFFLL YRWCSNKKNA AVMDQEPAGD RTVNRQDSDE QDPQEVTYAQ LDHCVFIQRK ISRPSQRPKT PLTDTSVYTE LPNAEPRSKV VSCPRAPQSG LEGVF (SEQ ID NO: 1)。

[0143] KIR3DL2(等位基因*002)的cDNA如Genbank登录号U30272所示。人KIR3DL2等位基因*003的氨基酸序列如以下所示,与Genbank登录号AAB36593相对应:

[0144] MSLTVVSMAC VGFFLLQGAW PLMGGQDKPF LSARPSTVVP RGGHVALQCH YRRGFNNFML YKEDRSHVPI FHGRIFQESF IMGPVTPAHA GTYRCRGSRP HSLTGWSAPS NPVVIMVTGN HRKPSLLAHP GPLLKSGETV ILQCWSDVMF EHFFLHREGI SEDPSRLVGQ IHDGVSKANF SIGPLMPVLA GTYRCYGSVP HSPYQLSAPS DPLDIVITGL YEKPSLSAQP GPTVQAGENV

[0145] TLSCSSWSSY DIYHLSREGE AHERRLRAVP KVNRTFQADF PLGPATHGGT YRCFGSFRAL PCVWSNSSDP LLVSVTGNPS SSWPSPTEPS SKSGICRHLH VLIGTSVVIF LFILLLFFLL YRWCSNKKNA AVMDQEPAGD RTVNRQDSDE QDPQEVTYAQ LDHCVFIQRK ISRPSQRPKT PLTDTSVYTE LPNAEPRSKV VSCPRAPQSG LEGVF (SEQ ID NO: 2)。

[0146] 还涵盖了分别与野生型、全长KIR3DL2共享一个或多个生物性质或功能并且共享至少70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的核苷酸或氨基酸同一性的任何核酸或蛋白质序列。

[0147] 密切相关的KIR3DL1(CD158e1)是约70kD的单体分子,其描述于Colonna和Samaridis(1995)《科学(Science)》268(5209),405-408中。对KIR3DL1(CD158e2)多肽(等位基因*00101)进行编码的cDNA如Genbank登录号L41269所示;经编码的氨基酸序列如Genbank登录号AAA69870所示。在一个实施例中,本文提及的KIR3DL1多肽是等位基因*00101。

[0148] 结合人KIR3DL2的抗体的实例包含抗体19H12、12B11、10F6、2B12、9E10、10G5、13H1、5H1、1E2、1C3或20E9。这些和另外的抗体提供于均于2013年9月17日提交的PCT/EP2013/069302和PCT/EP2013/069293中,所述抗体的公开内容通过引用并入本文。这些抗体与KIR3DL2选择性地结合并且不结合KIR3DL1(或KIR3DS1)。虽然抗体10F6、2B12、9E10、10G5、13H1、5H1、1E2、1C3或20E9可以用作例如向个体施用的用于耗竭表达KIR3DL2的靶标的治疗剂,例如通过诱导ADCC朝向病原性表达KIR3DL2的细胞,但是抗体12B11和19H12将有利于用于检测(例如,体外测定)细胞表面上的KIR3DL2表达,因为12B11和19H12在检测测定中对KIR3DL2阳性细胞的检测是特别有效的,12B11对于使用冷冻组织切片的免疫组织化学测定是有利的,而19H12对于流式细胞术检测是有利的。

[0149] 2B12、10G5、19H12和12B11中的每一个也适合用作向个体施用的用于消除表达KIR3DL2的靶细胞的治疗剂。19H12和12B11以及PCT/EP2013/069293中公开的其它抗体能够通过KIR3DL2内化到细胞中,并且可以有利地用作被配置成抗体-药物缀合物的耗竭性抗体,例如当抗体与毒性部分缀合时。2B12和PCT/EP2013/069302中公开的其它抗体不诱导任

何KIR3DL2内化到肿瘤细胞中,从而在寻求效应细胞介导的活性时提供有利的用途,例如用于耗竭诱导ADCC的抗体。

[0150] 抗体10F6、9E10、10G5、13H1、1E2、1C3或20E9的重链可变区和轻链可变区的氨基酸序列列于表A中。

[0151] 表A

[0152]

抗体	SEQ ID NO	氨基酸序列
10F6 VH	27	QIQLVQSGPELKKPGETVRISCKASGYTFTIAGMQWVQKMPGKGLKWI GWINTHSGVPKYAEDFKGRFAFSLETSANIAYLQISNLKNEDTATYFC ARGGDEGVMDYWGQGTSVTVS
10F6 VL	28	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYHQKPGQSPKLLI YWASTRHTGVPDRFSGSGSGTDYTLTISALQAEDLALYYCQQHYNTPW TFGGGTKLEIK
9E10 VH	29	QVQLQQSAAELARPGASVKMSCKASGYTFTSYTMHWVKQRPGQGLEWI GYINPSSGYTDYNQKFKDKTTLTADRSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC ARLGKGLLPPFDYWGQGSTLTVSS
9E10 VL	30	EIVLTQSIPSLTVSAGERVTISCKSNQNLLWSGNQRYCLVWHQWKPGQ TPTPLITWTSDRYSGVPDRFIGSGSVTDFTLTISSVQAEDVAVYFCQQ HLHIPYTFGGGTKLEIK
13H1 VH	31	EVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASHYSFIGYTMNWVKQRHGKNLEWI GLINPYNGDTTYNQKFKGKASLTVDKSSSTAYMEILSLTSEDSAVYYC ARENWGYPYAMDYWGQGTSVTVS
13H1 VL	62	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNFGISFMNWFQQKPGQPP KLLIYAASNQGSGVPARFSGSRSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSK EVPYTFGGGTKLEIK
1E2 VH	63	QVQLQQSGAELVRPGVSVKISCKGSGYTFTDYAMNWVKQSHAKSLEWI GVISTYYGDANYNQKFKGKATMTVDKSSSTAYMELARLTSEDSAIYYC ALIYYDYDGSYWGQGTTLTVS
1E2 VL	64	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQS PKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQS THVPPYTFGGGTKLEIK
1C3 VH	65	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYWMQWVKQRPGQGLEWI GAIYPGDGDTRYTQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYC ARRYDGYYHFDYWGQGTTLTVS
1C3 VL	66	DIVMTQSPSSLAVTAGEKVTMSCKSSQSLLWSVNQKNYLSWYQQKQRQ PPKLLIYGASIRESWVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVHAEDLAVYYCQH NHGSFLPLTFGSGTKLEIK
20E9 VH	67	QVQLQQSGAEVARPGASVKLSCKSSGFTFTTYWMQWVKQRPGQGLEWI GAIYPGDGDTRYTQKFKGKATLTADKSSITAYMQLSSLASEDSAVYYC ARRGDYGNYGMDYWGQGTSVTVSS
20E9 VL	68	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQS PKLLIYKVSNHFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQG SHVPPTFGGGTKLEIK
10G5 VH	69	QVQLQQSAAELARPGASVKMSCKASGYTFTSYTMHWVKQRPGQGLEW IGYINPSSGYTENNRKFKDKTTLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYY CARLGKGLLPPFDYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQT
10G5 VL	70	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASENIYSNLAWYQQKQGKSPQLLV YAATNLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGSYYCQHFWGTPY TFGGGTKLEIK

[0153] 在具体实施例中,提供了一种抗体,所述抗体结合与单克隆抗体AZ158、19B12、10G5、12B11、10G5或2B12中的任一个实质上相同的表位或决定簇;任选地,所述抗体包括抗

体AZ158、10G5、19B12、12B11或2B12的抗原结合区。在本文的任何实施例中,抗体AZ158、19B12、12B11、10G5或2B12可以通过其氨基酸序列和/或对其进行编码的核酸序列来表征。在一个实施例中,单克隆抗体包括AZ158、19B12、12B11、10G5或2B12的Fab或$F(ab')_2$部分。还提供了一种单克隆抗体,所述单克隆抗体包括AZ158、19B12、12B11、10G5或2B12的重链可变区。根据一个实施例,单克隆抗体包括AZ158、19B12、12B11、10G5或2B12的重链可变区的三个CDR。还提供了一种单克隆抗体,所述单克隆抗体进一步包括AZ158、19B12、12B11、10G5或2B12的可变轻链可变区或AZ158、19B12、12B11、10G5或2B12的轻链可变区的CDR中的一个、两个或三个。任选地,所述轻链或重链CDR中的任何一个或多个可以含有一个、两个、三个、四个或五个或更多个氨基酸修饰(例如,取代、插入或缺失)。任选地,提供了一种抗体,其中包括抗体AZ158、19B12、12B11、10G5或2B12的抗原结合区的部分或全部的任何轻链和/或重链可变区与人IgG类型的免疫球蛋白恒定区,任选地人恒定区,任选地人IgG1或IgG3同种型融合。

[0154] 用于治疗TCL的结合KIR3DL2的抗体(或抗体片段)可以例如呈分离的和/或纯化的蛋白质组合物的形式,或所述抗体可以存在于细胞(例如,CAR效应细胞,如T细胞、NK细胞或NKT细胞)的表面上或与其结合,或仍进一步呈编码抗体的核酸的形式,如来自痘病毒基因转移载体或包括抗KIR3DL2抗体-编码核酸序列的其它病毒基因转移载体。可以构建表达嵌合抗原受体(CAR)的细胞。CAR的实例被工程化以包括与T细胞抗原受体复合物ζ链的胞内信号传导结构域融合的胞外单链抗体(scFv),并且当在效应细胞,如T细胞、NKT细胞或NK细胞中表达时,具有基于单克隆抗体的特异性重定向抗原识别(即,KIR3DL2识别)的能力。一方面,提供了经基因工程化的免疫细胞,所述经基因工程化的免疫细胞在细胞表面膜上表达并携带KIR3DL2特异性嵌合免疫受体,所述嵌合免疫受体包括胞内信号传导结构域、跨膜结构域(TM)和KIR3DL2特异性胞外结构域(例如,源自与KIR3DL2特异性结合的单克隆抗体的可变重链区和轻链区的结构域,例如,本文公开的抗体之一)。还提供了KIR3DL2特异性嵌合免疫受体、对受体进行编码的DNA构建体以及含有处于适当朝向进行表达的构建体的质粒表达载体。

[0155] 在一个实施例中,结合KIR3DL2的抗体包括引导ADCC和任选地另外的ADCP朝向表达KIR3DL2的细胞的抗体或抗体片段。

[0156] 在一个实施例中,本文任何实施例中使用的抗体结合KIR3DL2多肽,任选地其中抗体基本上不与KIR3DL1多肽结合,其特征在于针对人KIR3DL2多肽的结合亲和力(K_D)小于(优于)100ng/ml,任选地在1与100ng/ml之间。

[0157] 抗体的特征任选地在于,通过来自健康志愿者的PBMC对于HuT78肿瘤裂解的^{51}Cr-释放测定中的EC_{50}小于100ng/ml,任选地在1与100ng/ml之间,任选地在1与50ng/ml之间,任选地在25与75ng/ml之间,任选地约50ng/ml。抗体的特征任选地在于:通过来自健康志愿者的PBMC对于HuT78肿瘤裂解的^{51}Cr-释放测定中的EC_{50}与本文公开的抗KIR3DL2抗体的EC_{50}相当(例如,其EC_{50}低于本文公开的2B12抗体的EC_{50}的1-log或0.5-log或处于其内,所述2B12抗体具有SEQ ID NO:49的VH和SEQ ID NO:44或45的VL,包括野生型或经修饰的人IgG1同种型的Fc结构域,并且介导ADCC。

[0158] 抗体AZ158

[0159] AZ158结合人KIR3DL2以及人KIR3DL1多肽(参见PCT专利公开号WO2010/081890)。

AZ158的VH如下所示,其中CDR1、2和3分别加下划线:

[0160] QVQLKESGPG LVAPSQSLSI TCTVSGFSLTSFGVHWVRQP PGKGLEWLGV IWAGGSTNYN SALMSRLSIS KDNSKSQVFL KMNSLQNDDT AMYYCARGNS NHYVSSFYYF DYWGQGTTLT VSS

[0161] (SEQ ID NO:3)。

[0162] AZ158的VL如下所示,其中CDR1、2和3分别加下划线:

[0163] DIQMTQSPSS LSASLGGKVT ITCKASQDINKYIAWYQHKP GKGPRLLIHY TSTLQPGIPS RFSGSGSGRD YSFSISNLEP EDITTYYCLQ YDNLWTFGGG TKLEIK

[0164] (SEQ ID NO:4)。

[0165] 抗KIR3DL2抗体可以包含具有来自此类AZ158抗体的可变区或CDR序列的抗体(例如,与人恒定区融合的重链和/或轻链可变区;与人IgG1重链恒定区融合的重链可变区);可替代地,抗KIR3DL2抗体可以是除了具有来自AZ158抗体的可变区或CDR序列的抗体之外的抗体。

[0166] 抗体19H12

[0167] 以下列出了抗体19H12的重链可变区的氨基酸序列:

[0168] QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNFGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFA FSLETSASTAYLQINNLKNEDMATYFCARNGNFGYYFDYWGQGTTLTVSS

[0169] (SEQ ID NO:5)。

[0170] 以下列出了抗体19H12的轻链可变区的氨基酸序列:

[0171] DVLMTQTPLSLPVSLGDQASFSCRSSQNIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPSLLIYKVSNRFSGVPDRFSG SGSGTDFTLKITRVEAEDLGVYYCFQGSHVPFTFGSGTKLEIK

[0172] (SEQ ID NO:6)。

[0173] 一方面,提供了一种编码抗体的经纯化的多肽,其中所述抗体包括:HCDR1区,其包括如在SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列GYTFTNFGMN或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列(例如,NFGMN(SEQ ID NO:7)、GYTFTN(SEQ ID NO:8)),其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;HCDR2区,其包括如在SEQ ID NO:10中所示的氨基酸序列WINTYTGEPTYADDF或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列(例如,WINTYTGE(SEQ ID NO:11)),其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;HCDR3区,其包括如在SEQ ID NO:12中所示的氨基酸序列NGNFGYYFDY或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列,其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;LCDR1区,其包括如在SEQ ID NO:13中所示的氨基酸序列RSSQNIVHSNGNTYLE或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列,其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;LCDR2区,其包括如在SEQ ID NO:14中所示的氨基酸序列KVSNRFS或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列,其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;和/或LCDR3区,其包括如在SEQ ID NO:15中所示的氨基酸序列FQGSHVPFT或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列,其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被缺失或被不同的氨基酸取代,或者其中所述序列可以包括一个或多个氨基酸的插入。

[0174] 另一方面,提供了一种结合人KIR3DL2的抗体,所述抗体包括:

[0175] (a)SEQ ID NO:5的重链可变区,其中一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0176] (b)SEQ ID NO:6的轻链可变区,其中一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0177] (c)SEQ ID NO:5的重链可变区,其中一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;以及SEQ ID NO:6的轻链可变区,其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0178] (d)如分别在SEQ ID NO:7-9、10-11和12中所示的重链CDR1、2和3(HCDR1、HCDR2、HCDR3)氨基酸序列,其中任何CDR的一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0179] (e)如分别在SEQ ID NO:13、14或15中所示的轻链CDR1、2和3(LCDR1、LCDR2、LCDR3)氨基酸序列,其中任何CDR的一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0180] (f)如分别在SEQ ID NO:7、8或9、10或11和12中所示的重链CDR1、2和3(HCDR1、HCDR2、HCDR3)氨基酸序列,其中任何CDR的一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;以及如在SEQ ID NO:13、14或15中所示的轻链CDR1、2和3(LCDR1、LCDR2、LCDR3)氨基酸序列,其中一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0181] (g)与具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的可变区至少60%、70%、80%、85%、90%或95%相同的重链可变区,其中一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0182] (h)与具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的可变区至少60%、70%、80%、85%、90%或95%相同的轻链可变区,其中一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代。

[0183] 抗体12B11

[0184] 以下列出了抗体12B11的重链可变区的氨基酸序列:

[0185] QLVQSGPELKNPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCAHGPWLAYWGQGTLVTVS

[0186] (SEQ ID NO:16)。

[0187] 以下列出了抗体12B11的轻链可变区的氨基酸序列:

[0188] DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINVYLSWFQQKPGKSPKTLIYRAIRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLDYEDMGIYYCLQYDELPYTFGGGTKLEIE

[0189] (SEQ ID NO:17)。

[0190] 一方面,提供了一种编码抗体的经纯化的多肽,其中所述抗体包括:HCDR1区,其包括如在SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列GYTFTNYGMN或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列(例如,NYGMN(SEQ ID NO:18)、GYTFTN(SEQ ID NO:19)),其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;HCDR2区,其包括如在SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列WINTYTGEPTYADDFKG或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列(例如,WINTYTGEPT(SEQ ID NO:22)),其中这些氨基酸中的一个或多个

氨基酸可以被不同的氨基酸取代;HCDR3区,其包括如在SEQ ID NO:23中所示的氨基酸序列GPWLAY或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列,其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;LCDR1区,其包括如在SEQ ID NO:24中所示的氨基酸序列KASQDINVYLS或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列,其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;LCDR2区,其包括如在SEQ ID NO:25中所示的氨基酸序列RAIRLVD或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列,其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;LCDR3区,其包括如在SEQ ID NO:26中所示的氨基酸序列LQYDELPYT或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列,其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被缺失或被不同的氨基酸取代。

[0191] 另一方面,提供了一种结合人KIR3DL2的抗体,所述抗体包括:

[0192] (a)SEQ ID NO:16的重链可变区,其中一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0193] (b)SEQ ID NO:17的轻链可变区,其中一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0194] (c)SEQ ID NO:16的重链可变区,其中一个或多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;以及SEQ ID NO:17的轻链可变区,其中这些氨基酸中的一个、两个、三个或更多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0195] (d)如分别在SEQ ID NO:18、19或20、21或22和23中所示的重链CDR1、2和3(HCDR1、HCDR2、HCDR3)氨基酸序列,其中任何CDR的一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0196] (e)如在SEQ ID NO:24、25和26中所示的轻链CDR1、2和3(LCDR1、LCDR2、LCDR3)氨基酸序列,其中任何CDR的一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0197] (f)如分别在SEQ ID NO:18、19或20、21或22和23中所示的重链CDR1、2和3(HCDR1、HCDR2、HCDR3)氨基酸序列,其中任何CDR的一个或多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;以及如在SEQ ID NO:24、25和26中所示的轻链CDR1、2和3(LCDR1、LCDR2、LCDR3)氨基酸序列,其中任何CDR的一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0198] (g)与具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的可变区至少60%、70%、80%、85%、90%或95%相同的重链可变区,其中一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0199] (h)与具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的可变区至少60%、70%、80%、85%、90%或95%相同的轻链可变区,其中一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代。

[0200] 抗体2B12

[0201] 以下列出了抗体2B12的重链可变区的氨基酸序列(Kabat定义CDR加下划线):

[0202] QIQLVQSGPELKKPGETVRISCKASGYTFTTAGMQWVQKTPGKGLKWIGWINSHSGVPKYAEDFKGRFAFSLETSASTAYLQISTLKNEDTATYFCARGGDEGVMDYWGQGTSVTVS

[0203] (SEQIDNO:32)。

[0204] 以下列出了抗体2B12的轻链可变区的氨基酸序列(KabatCDR加下划线):

[0205] DIVMTQSHKFMSTSLGDRVSFTCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWTSTRHTGVPDRFTGSGSGTDYTLTISSVQAEDLALYYCQQHYSTPWTFGGGTKLEIK

[0206] (SEQIDNO:33)。

[0207] 一方面,提供了一种编码抗体的经纯化的多肽,其中所述抗体包括:HCDR1区,其包括如在SEQIDNO:36中所示的氨基酸序列GYTFTTAGMQ或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列(例如,GYTFTT(SEQIDNO:34)或TAGMQ(SEQ ID NO:35)),其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;HCDR2区,其包括如在SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列WINSHSGVPKYAEDFKG或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列(例如,WINSHSGVP(SEQ ID NO:38)),其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;HCDR3区,其包括如在SEQ ID NO:39中所示的氨基酸序列GGDEGVMDY(任选地进一步包括色氨酸残基)或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列,其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;LCDR1区,其包括如在SEQ ID NO:40中所示的氨基酸序列KASQDVSTAVA或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列,其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;LCDR2区,其包括如在SEQ ID NO:41中所示的氨基酸序列WTSTRHT或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列,其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸取代;LCDR3区,其包括如在SEQ ID NO:42中所示的氨基酸序列QQHYSTPWT或其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列,其中这些氨基酸中的一个或多个氨基酸可以被缺失或被不同的氨基酸取代。

[0208] 另一方面,提供了一种结合人KIR3DL2的抗体,所述抗体包括:

[0209] (a)如分别在SEQ ID NO:34、35或36(HCDR1)、37或38(HCDR2)和39(HCDR3)中所示的重链CDR1、2和3(HCDR1、HCDR2、HCDR3)氨基酸序列,其中任何CDR的一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0210] (b)如在SEQ ID NO:40、41和42中所示的轻链CDR1、2和3(LCDR1、LCDR2、LCDR3)氨基酸序列,其中任何CDR的一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0211] (c)如分别在SEQ ID NO:34、35或36(HCDR1)、37或38(HCDR2)和39(HCDR3)中所示的重链CDR1、2和3(HCDR1、HCDR2、HCDR3)氨基酸序列,其中任何CDR的一个或多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;以及如在SEQ ID NO:40、41和42中所示的轻链CDR1、2和3(LCDR1、LCDR2、LCDR3)氨基酸序列,其中任何CDR的一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0212] (d)与具有SEQ ID NO:32或48-51的氨基酸序列的可变区至少60%、70%、80%、85%、90%或95%相同的重链可变区,其中一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代;和/或

[0213] (e)与具有SEQ ID NO:33或43-47的氨基酸序列的可变区至少60%、70%、80%、85%、90%或95%相同的轻链可变区,其中一个、两个、三个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨基酸取代。

[0214] 在本文的任何实施例的另一方面,重链和轻链的任何CDR1、2和3的特征可以在于其至少4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的序列,和/或具有与特定CDR或对应的SEQ ID NO中列出的CDR组共有至少50%、60%、70%、80%、85%、90%或95%序列同一性的氨基酸序列。

[0215] 另一方面,提供了一种抗体,所述抗体针对任何上述抗体与(a)到(h)的单克隆抗体竞争KIR3DL2结合。

[0216] 人源化抗体

[0217] 另一方面,在本发明治疗方法中使用的抗KIR3DL2抗体是人源化抗体,例如具有选自下表B中所示的2B12和10G5可变区的VH和VL的人源化2B12或10G5抗体。

[0218] 例如,人源化2B12抗体可以包括:

[0219] (a)CDR-H1,其包括SEQ ID NO:34、35或36的氨基酸序列;

[0220] (b)CDR-H2,其包括SEQ ID NO:37或38的氨基酸序列;

[0221] (c)CDR-H3,其包括SEQ ID NO:39的氨基酸序列;

[0222] (d)CDR-L1,其包括SEQ ID NO:40的氨基酸序列;

[0223] (e)CDR-L2,其包括SEQ ID NO:41的氨基酸序列;

[0224] (f)CDR-L3,其包括SEQ ID NO:42的氨基酸序列;以及

[0225] (g)人框架序列。

[0226] 在一个实施例中,人源化抗体包括来自人亚组VH1和/或VH7连同JH6的重链框架,任选地抗体包括IGHV7-4-1*02和/或IGHV1-c*01连同IGHJ6*01。在一个实施例中,人源化抗体包括来自人亚组VK1和/或VK4(任选地IGKV4-1*01和/或IGKV1-39*01)连同JH4(任选地IGKJ4*01)的轻链框架。

[0227] 任选地,例如,人框架包括一个或多个突变,例如回复突变。

[0228] 另一方面,人源化抗体包括VH结构域,其与SEQ ID NO:48-51的人源化2B12的VH结构域具有至少约80%序列同一性(例如,至少约85%、90%、95%、97%、98%或更高同一性)。在另一个特定方面,人源化抗体包括:(a)VH结构域,其包括结合到人VH结构域中的非人CDR残基,其中VH结构域与SEQ ID NO:48-51的人源化2B12 VH至少约80%(如至少90%、95%、97%、98%)相同;以及(b)VL结构域,其包括结合到人VL结构域中的非人CDR残基,其中VL结构域与SEQ ID NO:43-47的人源化2B12 VL至少约80%(如至少90%、95%、97%、98%)相同。

[0229] 另一方面,人源化抗体包括VH结构域,其与SEQ ID NO:57-61的人源化10G5的VH结构域具有至少约80%序列同一性(例如,至少约85%、90%、95%、97%、98%或更高同一性)。在另一个特定方面,人源化抗体包括:(a)VH结构域,其包括结合到人VH结构域中的非人CDR残基,其中VH结构域与SEQ ID NO:57-61的人源化10G5 VH至少约80%(如至少90%、95%、97%、98%)相同;以及(b)VL结构域,其包括结合到人VL结构域中的非人CDR残基,其中VL结构域与SEQ ID NO:52-56的人源化10G5 VL至少约80%(如至少90%、95%、97%、98%)相同。

[0230] 10G5或2B12抗体可以进一步包括天然或工程化人IgG恒定结构域。任选地,恒定结构域是IgG1结构域,任选地进一步包括修饰以增加Fc受体结合。

[0231] 表B

[0232]

抗体结构域	氨基酸序列（SEQ ID NO）
2B12-L0	DIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQPPKLLIYWTSTRHTGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 43)
2B12-L1	DIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQPPKLLIYWTSTRHTGVPD RFSGSGSGTDYTLTISSLQAEDVAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 44)
2B12-L2	DIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQPPKLLIYWTSTRHTGVPD RFSGSGSGTDYTLTISSVQAEDVAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 45)
2B12-L3	DIVMTQSPSFLSASVGDRVTFTCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWTSTRHTGVPD RFSGSGSGTDYTLTISSVQAEDVAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 46)
2B12-L4	DIVMTQSHKFLSASVGDRVTFTCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWTSTRHTGVPD RFSGSGSGTDYTLTISSVQAEDVAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 47)
2B12-H1	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTTAGMQWVQKSPGQGLEWMGWINSHSGVPKY AEDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYFCARGGDEGVMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 48)
2B12-H2	QIQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTTAGMQWVRQAPGQGLEWIGWINSHSGVPKY AEDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYFCARGGDEGVMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 49)
2B12-H3	QIQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTTAGMQWVQKSPGQGLEWIGWINSHSGVPKY AEDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYFCARGGDEGVMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 50)
2B12-H4	QIQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTTAGMQWVQKTPGKGLEWIGWINSHSGVPKY AEDFKGRFAFSLDTSASTAYLQISSLKAEDTAVYFCARGGDEGVMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 51)
10G5-L0	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYSNLAWYQQKPGKAPKLLLYAATNLADGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 52)
10G5-L2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYSNLAWYQQKPGKAPQLLVYAATNLADGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 53)
10G5-L3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYSNLAWYQQKPGKAPQLLVYAATNLADGVPS RFSGSGSGTQYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 54)
10G5-L4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYSNLAWYQQKQGKAPQLLVYAATNLADGVPS

[0233]

	RFSGSGSGTQYTLTINSLQPEDFATYYCQHFWGTPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 55)
10G5-L5	DIQMTQSPSSLSASVGETVTITCRASENIYSNLAWYQQKQGKAPQLLVYAATNLADGVPS RFSGSGSGTQYTLTINSLQPEDFATYYCQHFWGTPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 56)
10G5-H0	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPSSGYTEN NRKFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARLGKGLLPPFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 57)
10G5-H3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPSSGYTEN NRKFKDKTTMTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLGKGLLPPFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 58)
10G5-H4	QVQLQQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPSSGYTEN NRKFKDKTTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLGKGLLPPFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 59)
10G5-H5	QVQLVQSGAELARPGASVKVSCKASGYTFTSYTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPSSGYTEN NRKFKDKTTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLGKGLLPPFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 60)
10G5-H6	QVQLQQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSSGYTEN NRKFKDKTTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLGKGLLPPFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 61)

[0234] 在一个实施例中,人源化2B12单克隆抗体包括:

[0235] (a)重链可变区,所述重链可变区包括SEQ ID NO:49的氨基酸序列;以及

[0236] (b)轻链可变区,所述轻链可变区包括SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

[0237] 在一个实施例中,人源化2B12单克隆抗体包括:

[0238] (a)重链可变区,所述重链可变区包括SEQ ID NO:49的氨基酸序列;以及

[0239] (b)轻链可变区,所述轻链可变区包括SEQ ID NO:45的氨基酸序列。

[0240] 在一个实施例中,人源化10G5单克隆抗体包括:

[0241] (a)重链可变区,所述重链可变区包括SEQ ID NO:58的氨基酸序列;以及

[0242] (b)轻链可变区,所述轻链可变区包括SEQ ID NO:53的氨基酸序列。

[0243] 在一个实施例中,人源化10G5单克隆抗体包括:

[0244] (a)重链可变区,所述重链可变区包括SEQ ID NO:59的氨基酸序列;以及

[0245] (b)轻链可变区,所述轻链可变区包括SEQ ID NO:53的氨基酸序列。

[0246] 在一个实施例中,人源化2B12抗体是或包括抗体IPH4102(因内特制药公司,法国)(也被称为拉克妥单抗)(参见《世界卫生组织药物信息(WHO Drug Information)》,第32卷,第4期,2018)的重链和轻链氨基酸序列。拉克妥单抗是人源化2B12抗体(具有2B12的Kabat重链和轻链CDR1、2和3)并且包括重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包括SEQ ID NO:49的氨基酸序列,所述轻链可变区包括SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

[0247] 虽然应当理解可以使用任何合适的抗体,但是一方面,所使用的抗体与已知抗KIR3DL2抗体(包含本文所述的任何抗KIR3DL2抗体)相同的区或区域结合。抗KIR3DL2抗体可以与表位结合,所述表位至少部分地与SEQ ID NO:1(或其子序列)的KIR3DL2多肽的残基1-192、残基1-98或残基99-192相对应的区段中的至少一个残基重叠或包含所述至少一个残基。在一个实施例中,表位的所有关键残基均位于与SEQ ID NO:1的KIR3DL2多肽的残基1-192、残基1-98或残基99-192相对应的区段中。在一个实施例中,抗体结合表位,所述表位包括与SEQ ID NO:1的KIR3DL2多肽的残基1-192、1-98或99-192相对应的区段中的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个或更多个残基。优选地,由抗体结合的残基存在于KIR3DL2多肽的

表面上。

[0248] 任选地,抗体结合表位,所述表位包括SEQ ID NO:1的残基P179和/或残基S181。任选地,抗体与表位结合,所述表位包括选自由以下组成的组的1个、2个、3个、4个、5个、6个或7个或更多个残基:SEQ ID NO:1的N99、H100、E130、H131、F132、V178、P179、H180、S181、P182、Y183和/或残基Q184。

[0249] PCT/EP2013/069302和PCT/EP2013/069293描述了一系列突变体人KIR3DL2多肽的测试。测量抗KIR3DL2抗体与用KIR3DL2突变体转染的细胞的结合,并且将其与抗KIR3DL2抗体结合野生型KIR3DL2多肽(SEQ ID NO:1)的能力进行比较。如本文所使用的抗KIR3DL2抗体与突变体KIR3DL2多肽之间的结合减少意指结合亲和力降低(例如,如通过已知方法,如表达特定突变体的细胞的FACS测试,或通过与突变体多肽结合的Biacore测试所测量的)和/或抗KIR3DL2抗体的总结合能力的降低(例如,如通过抗KIR3DL2抗体浓度对多肽浓度的图中的Bmax的降低所证明)。结合的显著减少表明,当抗KIR3DL2抗体与KIR3DL2结合时,突变残基直接参与与抗KIR3DL2抗体的结合或与结合蛋白紧密接近。抗体表位因此可以包含这种残基,并且可以包含在空间上与这种残基相邻的另外的残基。

[0250] 在一些实施例中,结合的显著减少意指相对于抗体与野生型KIR3DL2多肽(例如,在SEQ ID NO:1中所示的多肽)之间的结合,抗KIR3DL2抗体与突变体KIR3DL2多肽之间的结合亲和力和/或能力降低大于40%、大于50%、大于55%、大于60%、大于65%、大于70%、大于75%、大于80%、大于85%、大于90%或大于95%。在某些实施例中,结合减少到可检测限度以下。在一些实施例中,当抗KIR3DL2抗体与突变体KIR3DL2多肽的结合小于在抗KIR3DL2抗体与野生型KIR3DL2多肽(例如,在SEQ ID NO:1中所示的胞外结构域)之间观察到的结合的50%(例如,小于45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%或10%)时,证明结合显著减少。可以使用本领域已知的各种结合测定进行此类结合测量。实例部分中描述了一个此类测定的具体实例。

[0251] 在一些实施例中,抗KIR3DL2抗体针对其中野生型KIR3DL2多肽(例如,SEQ ID NO:1)中的残基被取代的突变体KIR3DL2多肽展现出显著更低的结合。在此使用的简化符号中,格式为:野生型残基:多肽中的位置:突变体残基,其中残基的编号如SEQ ID NO:1所示。

[0252] 任选地,抗体与在SEQ ID NO:1的残基N99、H100、E130、H131、F132、V178、P179、H180、S181、P182、Y183和/或残基Q184处具有取代的KIR3DL2多肽的结合减少。

[0253] 在一些实施例中,抗KIR3DL2抗体结合具有SEQ ID NO:1的序列的野生型KIR3DL2多肽,但是与具有以下突变中的任何一个或多个(例如,1个、2个、3个或4个)突变的突变体KIR3DL2多肽的结合减少:P179T和/或S181T(参考SEQ ID NO:1)。在一个实施例中,与野生型KIR3DL2的结合相比,与突变体KIR3DL2的结合显著减少。

[0254] 在一些实施例中,抗KIR3DL2抗体针对其中在与野生型KIR3DL2多肽(例如,SEQ ID NO:1)中的残基1-98、残基99-292或残基99-192(或其子序列)相对应的区段中的残基被不同的氨基酸取代的突变体KIR3DL2多肽展现出显著更低的结合。

[0255] 一方面,抗体可以与单克隆抗体AZ158、10G5、19H12、2B12或12B11竞争并且识别与KIR3DL2分子上的与单克隆抗体AZ158、10G5、19H12、2B12或12B11基本上相同或实质上相同或相同的表位或“表位位点”的结合,或者具有针对所述表位或“表位位点”的免疫特异性。在其它实施例中,单克隆抗体由抗体AZ158、10G5、19H12、2B12或12B11组成或是其衍生物或

片段。

[0256] 应当理解,虽然抗体可以与抗体AZ158、10G5、19H12、2B12或12B11结合同一表位,但合适的抗体可以识别并针对KIR3DL2多肽的任何部分而产生,只要抗体结合KIR3DL2并且具有期望功能。例如,KIR3DL2的任何片段(例如,人KIR3DL2)或KIR3DL2片段的任何组合可以用作产生抗体的免疫原,并且抗体可以识别KIR3DL2多肽内的任何位置处的表位,只要其可以在如本文所述的表达KIR3DL2的NK细胞上进行此操作。在一个实施例中,所识别的表位存在于细胞表面上,即所述表位可接近存在于细胞外部的抗体。任选地,所述表位是由抗体AZ158、10G5、19H12、2B12或12B11特异性识别的表位。进一步地,识别KIR3DL2内的不同表位的抗体可以组合使用,例如以便与在不同个体之间具有最大功效和宽度的KIR3DL2多肽结合。

[0257] 可以通过本领域已知的各种技术产生抗体。通常,所述抗体是通过用包括KIR3DL2多肽,任选地人KIR3DL2多肽的免疫原对非人动物,任选地小鼠进行免疫而产生的。KIR3DL2多肽可以包括人KIR3DL2多肽的全长序列或其片段或衍生物,通常是免疫原性片段的全长序列,即,包括暴露于表达KIR3DL2多肽的细胞的表面上的表位的多肽的一部分,任选地表位由AZ158、10G5、19H12、2B12或12B11抗体识别。此类片段通常含有成熟多肽序列的至少约7个连续氨基酸,或其至少约10个连续氨基酸。片段通常基本上源自受体的胞外结构域。在一个实施例中,免疫原包括脂质膜中的野生型人KIR3DL2多肽,通常在细胞表面。在一个实施例中,免疫原包括任选地处理或裂解的完整细胞,特别是完整的人细胞。在另一个实施例中,多肽是重组KIR3DL2多肽。

[0258] 用抗原免疫非人哺乳动物的步骤可以以本领域众所周知的任何方式进行,用于刺激小鼠中抗体的产生(参见例如,E.Harlow和D.Lane,《抗体:实验室手册》,冷泉港实验室出版社,冷泉港,纽约(1988),所述文献的全部公开内容通过引用并入本文)。将免疫原悬浮或溶解在缓冲液中,任选地与佐剂,如完全或不完全的弗氏佐剂一起。用于确定免疫原的量、缓冲液的类型和佐剂的量的方法是本领域的技术人员众所周知的,并且不以任何方式进行限制。对于不同的免疫原,这些参数可能有所不同,但是很容易阐明。

[0259] 类似地,足以刺激抗体产生的免疫位置和频率也是本领域众所周知的。在典型的免疫方案中,非人动物在第1天和约一周后再次腹膜内注射抗原。随后在第20天左右召回抗原注射,任选地与如不完全弗氏佐剂等佐剂一起注射。召回注射是静脉内进行的,并且可以连续数天重复进行。随后在第40天,通常在没有佐剂的情况下静脉内或腹膜内加强注射。此方案导致约40天之后产生产生抗原特异性抗体的B细胞。也可以使用其它方案,只要其导致产生表达针对免疫中所使用抗原的抗体的B细胞即可。

[0260] 对于多克隆抗体制剂,从免疫的非人动物获得血清,并且通过众所周知的技术分离其中存在的抗体。血清可以使用上述连接到固体支持物的任何免疫原进行亲和纯化,以便获得与KIR3DL2多肽反应的抗体。

[0261] 在替代性实施例中,分离来自非免疫非人哺乳动物的淋巴细胞,使其在体外生长,并且然后在细胞培养物中暴露于免疫原。然后收集淋巴细胞,并且进行下述融合步骤。

[0262] 对于示例性单克隆抗体,下一个步骤是从免疫的非人哺乳动物中分离脾细胞,并且随后将这些脾细胞与永生化细胞融合,以形成产生抗体的杂交瘤。从非人哺乳动物中分离脾细胞是本领域众所周知的,并且通常涉及从麻醉的非人哺乳动物中除去脾脏,将其切

割成小块,并且通过细胞过滤网的尼龙网,将来自脾脏的脾细胞挤压到合适的缓冲液中,以产生单个细胞悬浮液。将细胞洗涤、离心并且重悬于裂解任何红细胞的缓冲液中。再次离心溶液,并且最后将沉淀中剩余的淋巴细胞重悬于新鲜缓冲液中。

[0263] 一旦分离并且存在于单细胞悬浮液中,淋巴细胞可以与永生细胞系融合。尽管本领域已知许多其它可用于产生杂交瘤的永生细胞系,但是这通常是小鼠骨髓瘤细胞系。鼠类骨髓瘤细胞系包含但不限于源自可从美国圣地亚哥的Salk研究所细胞分配中心(Salk Institute Cell Distribution Center,San Diego,U.S.A.)获得的MOPC-21和MPC-11小鼠肿瘤,可从美国马里兰州罗克维尔市的美国典型培养物收集(American Type Culture Collection,Rockville,Maryland U.S.A)获得的X63 Ag8653和SP-2细胞的那些。使用聚乙二醇等进行融合。然后,使所得杂交瘤在含有抑制未融合的亲代骨髓瘤细胞的生长或存活的一种或多种物质的选择性培养基中生长。例如,如果亲代骨髓瘤细胞缺乏次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶(HGPRT或HPRT),则杂交瘤的培养基通常将包含次黄嘌呤、氨基蝶呤和胸苷(HAT培养基),所述物质阻止HGPRT缺陷型细胞的生长。

[0264] 杂交瘤通常生长于巨噬细胞的饲养层上。巨噬细胞可以来自用于分离脾细胞的非人哺乳动物的同窝动物,并且通常在铺板杂交瘤之前几天用不完全弗氏佐剂等引发。融合方法描述于Goding,“单克隆抗体:原理和实践(Monoclonal Antibodies:Principles and Practice)”,第59-103页(学术出版社,1986),所述文献的公开内容通过引用并入本文。

[0265] 使细胞在选择培养基中生长足够的时间,以用于菌落形成和抗体产生。这通常介于约7天到约14天之间。

[0266] 然后针对与KIR3DL2多肽基因产物(任选地由抗体AZ158、19H12、2B12或12B11特异性识别的表位)特异性结合的抗体的产生对杂交瘤集落进行测定。测定通常是比色ELISA型测定,尽管可以采用可以适合杂交瘤生长的孔的任何测定。其它测定包含放射免疫测定法或荧光活化细胞分选。检查所需抗体产生阳性的孔,以确定是否存在一个或多个不同的菌落。如果存在多于一个菌落,则可以将细胞重新克隆并且生长,以确保仅单个细胞已经产生了产生所需抗体的菌落。通常,还将测试抗体结合KIR3DL2多肽,例如表达KIR3DL2的细胞的能力。

[0267] 可以在适当的培养基,如DMEM或RPMI-1640中大量生长已证实产生单克隆抗体的杂交瘤。可替代地,杂交瘤细胞可以在动物中作为腹水肿瘤在体内生长。在充分生长以产生所需的单克隆抗体之后,将含有单克隆抗体(或腹水)的生长培养基与细胞分离,并且纯化其中存在的单克隆抗体。纯化通常是通过凝胶电泳、渗析、使用蛋白A或蛋白G琼脂糖或连接固相支持物,如琼脂糖或琼脂糖珠的抗小鼠Ig色谱法来实现的(全部描述于例如《抗体纯化手册(Antibody Purification Handbook)》中,生物科学,出版号18-1037-46,AC版,所述文献的公开内容通过引用并入本文)。通常通过使用低pH缓冲液(pH等于或小于3.0的甘氨酸或乙酸盐缓冲液)从蛋白A/蛋白G柱上洗脱结合抗体,立即中和含抗体的馏分。根据需要将这些馏分合并、透析和浓缩。

[0268] 通常重新克隆和重新测定具有单个表观菌落的阳性孔,以确保仅检测和产生一种单克隆抗体。

[0269] 抗体也可以通过选择免疫球蛋白的组合文库产生,例如在(Ward等人,《自然(Nature)》,341(1989),第544页,所述文献的全部公开内容通过引用并入本文)中所公开。

[0270] 鉴定与感兴趣的抗原结合的一种或多种抗体,即,KIR3DL2,特别是或实质上与单克隆抗体AZ158、19H12、2B12或12B11相同的区域、决定簇或表位,可以使用多种免疫筛选测定中的任一种容易地确定,其中可以评估抗体竞争。许多此类测定是常规实践的,并且是本领域众所周知的(参见例如,1997年8月26日发布的美国专利第5,660,827号,所述美国专利通过引用明确并入本文)。

[0271] 例如,在从不同的来源动物获得待检测的测试抗体,或者甚至是不同的Ig同种型的情况下,可以使用简单的竞争测定,其中混合(或预先吸附)对照(例如,AZ158、19H12、2B12或12B11)和测试抗体,并且应用到含有KIR3DL2多肽的样品上。基于蛋白质印迹的方案和BIACORE分析的使用适用于此类竞争研究。

[0272] 在某些实施例中,在应用于KIR3DL2抗原样品之前,将对照抗体(例如,AZ158、19H12、2B12或12B11)与不同量的测试抗体(例如,约1:10或约1:100)预混合一段时间。在其它实施例中,可以在暴露于KIR3DL2抗原样品期间,简单地混合对照和不同量的测试抗体。只要可以将结合抗体与游离抗体区分开(例如,通过使用分离或洗涤技术以消除未结合的抗体)并且将2B12与测试抗体区分开(例如,通过使用物种特异性或同种型特异性的二级抗体或通过具有可检测标记的特异性标记AZ158、19H12、2B12或12B11),就可以确定测试抗体是否降低AZ158、19H12、2B12或12B11与抗原的结合。在不存在完全不相关的抗体的情况下,(标记的)对照抗体的结合可以作为对照高值。通过将标记的(AZ158、19H12、2B12或12B11)抗体与完全相同类型的未标记抗体(AZ158、19H12、2B12或12B11)一起温育获得对照低值,其中将发生竞争并且减少标记抗体的结合。在测试测定中,在测试抗体的存在下,标记抗体反应性的显著降低表明与标记(AZ158、19H12、2B12或12B11)抗体"交叉反应"或竞争的测试抗体。可以以约1:10与约1:100之间AZ158、19H12、2B12或12B11:测试抗体的任何比率选择任何测试抗体,所述任何测试抗体将AZ158、19H12、2B12或12B11与KIR3DL2抗原的结合减少至少约50%,如至少约60%或更优选地至少约80%或90%(例如,约65-100%)。在一个实施例中,此类测试抗体将AZ158、19H12、2B12或12B11与KIR3DL2抗原的结合减少至少约90%(例如,约95%)。

[0273] 还可以通过例如流式细胞术测试评估竞争。在此类测试中,携带给定KIR3DL2多肽的细胞可以首先与2B12一起温育,例如,并且然后与用荧光染料或生物素标记的测试抗体一起温育。如果与饱和量的2B12一起预温育获得的结合是通过未与2B12一起预温育的抗体获得的结合(如通过荧光的平均值测量的)的约80%,优选地约50%、约40%或更低(例如,约30%、20%或10%),则称抗体与2B12竞争。可替代地,如果在与饱和量的测试抗体一起预温育的细胞上用标记的2B12抗体(通过荧光染料或生物素)获得的结合是未与测试抗体一起预温育获得的结合的约80%,优选地约50%、约40%或更低(例如,约30%、20%或10%),则称抗体与2B12竞争。

[0274] 确定抗体是否在表位区内结合可以以本领域的技术人员已知的方式进行。作为此类作图/表征方法的一个实例,抗KIR3DL2抗体的表位区可以通过使用相应KIR3DL2蛋白中暴露的胺/羧基的化学修饰的表位"足迹法(foot-printing)"来确定。此类足迹法技术的一个具体实例是使用HXMS(通过质谱法检测的氢-氘交换),其中发生受体和配体蛋白酰胺质子的氢/氘交换、结合和反向交换,其中参与蛋白质结合的主链酰胺基受到保护免于反向交换,并且因此将保持氘代。此时,可以通过消化蛋白水解、快速微孔高效液相色谱分离和/或

电喷雾电离质谱法鉴定相关区域。参见例如,Ehring H,《分析生物化学(Analytical Biochemistry)》,第267(2)卷,第252-259页,(1999);Engen,J.R.和Smith,D.L.(2001)《分析化学(Anal.Chem.)》73,256A-265A。合适的表位鉴定技术的另一个实例是核磁共振表位作图(NMR),其中通常比较游离抗原和与抗原结合肽复合的抗原,如抗体的二维NMR光谱中信号的位置。通常用15N选择性地同位素标记抗原,使得在NMR谱中仅看到与抗原相对应的信号,并且看不到来自抗原结合肽的信号。源自参与与抗原结合肽相互作用的氨基酸的抗原信号通常将在复合物的光谱中与游离抗原的光谱相比移位,并且可以以所述方式鉴定参与结合的氨基酸。参见例如,恩斯特先灵研究基金会研讨会(Ernst Schering Res Found Workshop.)2004;(44):149-67;Huang等人,《分子生物学杂志》,第281(1)卷,第61-67页(1998);以及Saito和Patterson,《方法(Methods)》1996年6月;9(3):516-24。

[0275] 也可以使用质谱法进行表位作图/表征。参见例如,Downard,《质谱学杂志(J Mass Spectrom.)》2000年4月;35(4):493-503;以及Kiselar和Downard,《分析化学》,1999年5月1日;71(9):1792-1801。蛋白酶消化技术也可以用于表位作图和鉴定。抗原决定簇相关区域/序列可以通过蛋白酶消化确定,例如通过以约1:50的比率使用胰蛋白酶与KIR3DL2或在pH 7-8下消化o/n,随后进行用于肽鉴定的质谱(MS)分析。随后可以通过将经历胰蛋白酶消化的样品和与抗体一起温育,并且然后通过例如胰蛋白酶消化的样品进行比较,鉴定通过抗KIR3DL2结合剂保护免受胰蛋白酶切割的肽(从而揭示粘合剂的足迹)。其它酶如胰凝乳蛋白酶、胃蛋白酶等也可以或可替代地用于类似的表位表征方法中。此外,酶促消化可以提供用于分析潜在的抗原决定簇序列是否在KIR3DL2多肽的未表面暴露的区域内的快速方法,并且因此,在免疫原性/抗原性方面最可能不相关。

[0276] 定点诱变是可用于阐明结合表位的另一种技术。例如,在“丙氨酸扫描”中,蛋白质区段内的每个残基用丙氨酸残基取代,并且测量结合亲和力的结果。如果突变导致结合亲和力显著降低,则很可能参与结合。对结构表位特异的单克隆抗体(即,不结合未折叠蛋白质的抗体)可以用于验证丙氨酸取代不影响蛋白质的总体折叠。参见例如,Clackson和Wells,《科学(Science)》1995;267:383-386;以及Wells,《美国国家科学院院刊(Proc Natl Acad Sci USA)》1996;93:1-6。

[0277] 电子显微镜也可以用于表位“足迹法”。例如,Wang等人,《自然》1992;355:275-278使用冷冻电镜术、三维图像重建和X射线晶体学的协调应用,以确定Fab片段在天然豇豆花叶病毒的衣壳表面上的物理足迹。

[0278] 用于表位评估的其它形式的“无标记”测定包含表面等离子共振(SPR,BIACORE)和反射干涉光谱(RifS)。参见例如,Fägerstam等人,《分子识别杂志(Journal Of Molecular Recognition)》1990;3:208-14;Nice等人,《色谱杂志(J.Chroma-togr.)》1993;646:159-168;Leipert等人,《应用化学国际版(Angew.Chem.Int.Ed.)》1998;37:3308-3311;Kröger等人,《生物传感器和生物电子学(Biosensors and Bioelectronics)》2002;17:937-944。

[0279] 还应注意,可以在本文所述的示例性竞争测定中的一种或多种竞争测定中,鉴定结合与抗体相同或基本上相同的表位的抗体。

[0280] 一旦鉴定出能够结合KIR3DL2和/或具有其它期望性质(例如,介导ADCC和/或抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)的能力)的抗体,通常还将使用标准方法(包含本文所述的那些方法)评估所述抗体与其它多肽(包含不相关多肽)结合的能力。理想地,抗体仅以显著亲和

力与KIR3DL2(例如,人KIR3DL2)结合,并且不以显著水平与不相关多肽结合。然而,应当理解,只要KIR3DL2的亲和力比其它不相关多肽的亲和力基本上大(例如,5x、10x、50x、100x、500x、1000x、10,000x或更多),然后抗体适用于本发明方法中。

[0281] 抗体与表达KIR3DL2的细胞的结合还可以在非人灵长类动物(例如,食蟹猴或其它哺乳动物,如小鼠)中进行评估。提供了一种抗体以及其片段和衍生物,其中所述抗体、片段或衍生物特异性地结合KIR3DL2,并且此外结合来自非人灵长类动物(例如,食蟹猴)的KIR3DL2。

[0282] 在脊椎动物或细胞中免疫和产生抗体后,可以进行特定的选择步骤,以隔离如所要求保护的抗体。在此方面,在具体实施例中,本公开还涉及产生此类抗体的方法,所述方法包括:(a)用包括KIR3DL2多肽的免疫原对非人哺乳动物进行免疫;以及(b)从所述免疫动物制备抗体;以及(c)从步骤(b)选择能够结合KIR3DL2的抗体。

[0283] 在任何实施例的一方面,根据本发明方法制备的抗体是单克隆抗体。另一方面,用于产生抗体的非人动物是哺乳动物,如啮齿动物、牛、猪、家禽、马、兔、山羊或绵羊。

[0284] 根据替代实施例,从杂交瘤中分离对结合KIR3DL2多肽上存在的表位的抗体进行编码的DNA,并且将其放置于适当的表达载体中,以转染到适当的宿主中。然后,将宿主用于重组产生抗体或其变体,如所述单克隆抗体的人源化形式、抗体的活性片段、包括抗体的抗原识别部分的嵌合抗体或包括可检测部分的形式。

[0285] 对单克隆抗体进行编码的DNA可以容易地分离,并且使用常规方法测序(例如,通过使用能够与对鼠类抗体的重链和轻链进行编码的基因特异性地结合的寡核苷酸探针)。分离后,可以将DNA置于表达载体中,然后将其转染到宿主细胞中,如大肠杆菌细胞、猿猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或不以其它方式产生免疫球蛋白的骨髓瘤细胞,以获得重组宿主细胞中单克隆抗体的合成。如本说明书中其它地方所述,可以修饰此类DNA序列用于任何大量目的,例如用于人源化抗体、产生片段或衍生物、或用于修饰抗体的序列,例如在抗原结合位点中,以优化抗体的结合特异性。

[0286] 对抗体进行编码的DNA在细菌中的重组表达是本领域众所周知的(参见例如,Skerra等人,《免疫学最新观点(Curr.Opinion in Immunol.)》,第5期,第256页(1993);以及Pluckthun,《免疫学(Immunol.)》第130期,第151页(1992)。

[0287] 一旦获得抗原结合化合物,就可以评估其诱导ADCC、ADCP和/或CDC朝向和/或耗竭表达KIR3DL2的靶细胞的能力。评估抗原结合化合物诱导ADCC、ADCP和/或CDC(补体依赖性细胞毒性)或通常导致表达KIR3DL2的靶细胞的活性的消除或抑制的能力可以在方法的任何合适阶段进行。这种评估可以用于参与预定用于治疗用途的抗体(或其它化合物)的鉴定、产生和/或发育的各个步骤中的一个或多个步骤。例如,可以在鉴定候选抗原结合化合物的筛选方法的上下文中或者在选择抗原结合化合物并使之适合人的方法中(例如,在抗体的情况下使其嵌合或人源化),在已经获得表达抗原结合化合物的细胞(例如,表达重组抗原结合化合物的宿主细胞)并评估其产生功能性抗体(或其它化合物)的能力的情况下和/或在已经产生一定量的抗原结合化合物并将评估其活性(例如,以测试产品的批次或批号)的情况下评估活性。通常,已知抗原结合化合物将与KIR3DL2多肽特异性结合。步骤可以涉及测试多种(例如,使用高通量筛选方法的非常大量的或更少数量的)抗原结合化合物。

[0288] 可以进行的测试ADCP、CDC和ADCC可以通过各种测定来确定,包含本领域已知的那

些测定以及在本文实验实例中描述的那些测定。测试ADCC通常涉及评估细胞介导的细胞毒性,其中具有结合的抗KIR3DL2抗体的表达KIR3DL2的靶细胞(例如,TCL细胞或其它表达KIR3DL2的细胞)被携带Fc受体的效应细胞识别,而不涉及补体。不表达KIR3DL2抗原的细胞可以任选地用作对照。NK细胞细胞毒性的活化通过测量细胞因子产生(例如,IFN-γ产生)或细胞毒性标志物(例如,CD107动员)的增加来评估。在一个实施例中,与对照抗体(例如,未与KIR3DL2结合的抗体,具有鼠类恒定区的KIR3DL2抗体)相比,抗体将在存在靶细胞的情况下诱导细胞因子产生、细胞毒性标志物表达或靶细胞裂解增加至少20%、50%、80%、100%、200%或500%。在另一个实例中,例如在铬释放测定中检测到靶细胞的裂解,例如抗体将诱导至少10%、20%、30%、40%或50%的靶细胞的裂解。

[0289] 抗体的片段和衍生物(其被本申请中使用的术语“抗体(antibody)”或“抗体(antibodies)”涵盖,除非另有说明或上下文明显矛盾)可以通过本领域已知的技术产生。“片段”包括完整抗体的一部分,通常是抗原结合位点或可变区。抗体片段的实例包含Fab、Fab’、Fab’-SH、F(ab’)2和Fv片段;双功能抗体;任何抗体片段是具有由一个不间断的连续氨基酸残基序列组成的一级结构的多肽(在本文中称为“单链抗体片段”或“单链多肽”),包含但不限于(1)单链Fv分子(2)仅含有一个轻链可变结构域的单链多肽,或含有轻链可变结构域的三个CDR,无相关的重链部分的其片段和(3)仅含有一个重链可变区的单链多肽,或含有重链可变区的三个CDR,无相关的轻链部分的其片段;以及由抗体片段形成的多特异性抗体。尤其包含纳米抗体、结构域抗体、单结构域抗体或“dAb”。

[0290] 在某些实施例中,可以在插入到表达载体中之前,修饰产生抗体的杂交瘤的DNA,例如,通过用编码序列取代人重链和轻链恒定结构域代替同源非人序列(例如,Morrison等人,《美国国家科学院院刊(PNAS)》第6851页(1984)),或通过共价连接免疫球蛋白编码序列全部或部分非免疫球蛋白多肽的编码序列。以所述方式,制备具有原始抗体的结合特异性的“嵌合”或“杂合”抗体。通常,此类非免疫球蛋白多肽取代抗体的恒定结构域。

[0291] 因此,根据另一个实施例,抗体是人源化的。“人源化”形式的抗体相应地是特异性嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(如Fv、Fab、Fab’、F(ab’)2或抗体的其它抗原结合子序列),其含有源自鼠类免疫球蛋白的最小序列。在大多数情况下,人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体的互补决定区(CDR)的残基被来自原始抗体(供体抗体)的CDR的残基替换,同时维持原始抗体所需的特异性、亲和力和能力。

[0292] 在一些情况下,人免疫球蛋白的Fv框架残基可以被对应的非人残基替换。此外,人源化抗体可以包括在受体抗体或导入的CDR或框架序列中未发现的残基。进行这些修饰以进一步改进和优化抗体性能。通常,人源化抗体将包括基本上全部至少一个、并且通常两个可变结构域,其中所有或基本上所有CDR区对应于原始抗体的那些,并且所有或基本上所有FR区是人免疫球蛋白共有序列中的那些。人源化抗体最佳地还将包括免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常是人免疫球蛋白恒定区的至少一部分。另外的细节参见Jones等人,《自然》,321,第522页(1986);Reichmann等人,《自然》,332,第323页(1988);Presta,《结构生物学新见(Curr.Op.Struct.Biol.)》,2,第593页(1992);Verhoeyen等人,《科学》,239,第1534页;以及美国专利第4,816,567号,所述文献和美国专利的全部公开内容通过引用并入本文)。用于人源化抗体的方法是本领域众所周知的。

[0293] 用于制备人源化抗体的人可变结构域,轻链和重链两者的选择对于降低抗原性非

常重要。根据所谓的“最佳拟合”方法,针对已知人可变结构域序列的整个文库,筛选抗体的可变结构域的序列。然后接受最接近小鼠的人序列作为人源化抗体的人框架(FR)(Sims等人,《免疫学杂志(J.Immunol.)》151,第2296页(1993);Chothia和Lesk,《分子杂志(J.Mol.)》196,1987,第901页)。另一种方法使用来自特定轻链或重链亚组的所有人抗体的共有序列的特定框架。同一框架可以用于若干种不同的人源化抗体(Carter等人,《美国国家科学院院刊》89,第4285页,(1992);Presta等人,《免疫学杂志》,151,第2623页(1993))。

[0294] 更重要的是,抗体被人源化,保留对KIR3DL2受体的高亲和力和其它有利的生物学性质。为了实现此目标,根据一种方法,通过使用亲代和人源化序列的三维模型分析亲代序列和各种概念性人源化产物的过程,制备人源化抗体。三维免疫球蛋白模型通常是可获得的,并且是本领域的技术人员熟悉的。可获得计算机程序,其展示和显示所选候选免疫球蛋白序列的可能的三维结构。检查这些显示允许分析残基在候选免疫球蛋白序列的功能中的可能作用,即,分析影响候选免疫球蛋白结合其抗原的能力的残基。以此方式,可以从共有序列和输入序列中选择并组合FR残基,从而实现所需的抗体特性,如对靶抗原的亲和力增加。通常,CDR残基直接且最实质地参与影响抗原结合。

[0295] 制备人或人源化单克隆抗体的另一种方法是使用经基因修饰的小鼠进行免疫。已知免疫球蛋白基因被功能性人免疫球蛋白基因替换的若干种鼠类宿主。因此,由此小鼠产生的抗体或由此小鼠的B细胞制成的杂交瘤中产生的抗体已经是人或人源化的。在美国专利第6,162,963号和Jakobovitz等人,《自然》362(1993)255中描述了示例性动物,所述美国专利和文献以引用的方式并入本文。人抗体还可以根据各种其它技术产生,如通过使用噬菌体展示方法选择抗体谱。此类技术是本领域的技术人员已知的,并且可以从本申请公开的单克隆抗体开始实施。

[0296] KIR3DL2结合化合物(例如,抗KIR3DL2抗体)可以进一步与第二部分结合,其中抗体能够向表达KIR3DL2的细胞递送第二部分。任选地,第二部分是治疗剂、毒性剂和/或可检测剂。

[0297] 虽然处于未衍生化或未经修饰的形式(特别是IgG1或IgG3类型)的抗体预期会抑制过度增生细胞的增殖或对过度增生细胞(如来自PTCL患者的那些细胞)具有细胞毒性,例如,通过引导ADCC、ADCP和/或CDC朝向表达KIR3DL2的PTCL细胞,但是还有可能制备细胞毒性的衍生化抗体免疫缀合物。在一个实施例中,一旦KIR3DL2特异性抗体被分离并且任选地以其它方式被修饰(例如,人源化),其将被衍生化以使其对细胞具有毒性。以此方式,向PTCL患者施用抗体将导致抗体与过度增生细胞的相对特异性结合,从而直接杀死或抑制作为病症的原因的细胞。

[0298] 鉴于抗KIR3DL2抗体诱导ADCC和CDC的能力,还可以对抗体进行修饰以增加其结合Fc受体的能力,所述Fc受体可以影响效应子功能,如抗体依赖性细胞毒性、肥大细胞脱粒和吞噬作用,以及免疫调节信号,如淋巴细胞增殖和抗体分泌的调节。典型的修饰包含经修饰的人IgG1恒定区,其包括至少一个氨基酸修饰(例如,取代、缺失、插入)和/或改变的糖基化类型,例如低岩藻糖基化。

[0299] 抗KIR3DL2抗体可以包括人IgG1或IgG3同种型的Fc结构域(或其部分),任选地被修饰。

[0300] 在某些实施例中,CH2和/或CH3结构域(或包括其的Fc结构域)可以包括一个或多

个氨基酸修饰(例如,氨基酸取代),所述一个或多个氨基酸修饰增加与人CD16和任选地另一种受体,如FcRn的结合。任选地,修饰将不会显著降低或消除Fc源性多肽与新生儿Fc受体(FcRn)结合的能力,例如人FcRn。典型的修饰包含经修饰的人IgG1源性恒定区,其包括至少一个氨基酸修饰(例如,取代、缺失、插入)和/或改变的糖基化类型,例如低岩藻糖基化。此类修饰可以影响与Fc受体的相互作用:Fc γ RI(CD64)、Fc γ RII(CD32)、和Fc γ RIII(CD16)。Fc γ RI(CD64)、Fc γ RIIA(CD32A)和Fc γ RIII(CD16)是活化(即,免疫系统增强)受体,而Fc γ RIIB(CD32B)是抑制(即,免疫系统抑制)受体。修饰可以例如增加Fc结构域与效应子(例如,NK)细胞上的Fc γ RIIIa的结合和/或减少与Fc γ RIIB的结合。在PCT公开号WO2014/044686中提供了修饰的实例,所述文献的公开内容通过引用并入本文。下文还阐述了影响(增强)Fc γ RIIIa或FcRn结合的特异性突变(在IgG1 Fc结构域中)。

[0301]

同种型	物种	修饰	效应子功能	修饰效果
IgG1	人	T250Q/M428L	与 FcRn 的结合增加	半衰期增加
IgG1	人	1M252Y/S254T/T256E + H433K/N434F	与 FcRn 的结合增加	半衰期增加
IgG1	人	E333A	与 FcγRIIIa 的结合增加	ADCC 和 CDC 增加
IgG1	人	S239D/I332E 或 S239D/A330L/I332E	与 FcγRIIIa 的结合增加	ADCC 增加
IgG1	人	P257I/Q311	与 FcRn 的结合增加	半衰期不变
IgG1	人	S239D/I332E/G236A	FcγRIIa/FcγRIIb 比率增加	巨噬细胞吞噬作用增加

[0302] 变体Fc区可以在Fc区的CH2和/或CH3结构域中包括至少一个氨基酸修饰(例如,具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或更多个氨基酸修饰),其中修饰增强了与人CD16多肽的结合。在其它实施例中,Fc区包括来自氨基酸237-341的Fc区的CH2结构域中的或包括残基231-341的下铰链-CH2区内的至少一个氨基酸修饰(例如,1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或更多个氨基酸修饰)。在一些实施例中,Fc区包括至少两个氨基酸修饰(例如,2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或更多个氨基酸修饰),其中此类修饰中的至少一个修饰位于CH3区内,并且至少一个此类修饰位于CH2区内。还涵盖铰链区中的氨基酸修饰。在一个实施例中,涵盖了CH1结构域中,任选地在包括残基216-230(Kabat EU编号)的上铰链区中的氨基酸修饰。可以进行Fc修饰的任何合适的功能性组合,例如在以下中公开的不同Fc修饰的任何组合:美国专利第US,7,632,497号;第7,521,542号;第7,425,619号;第7,416,727号;第7,371,826号;第7,355,008号;第7,335,742号;第7,332,581号;第7,183,387号;第7,122,637号;第6,821,505号和第6,737,056号中的任一个;和/或PCT公开号WO2011/109400;WO 2008/105886;WO 2008/002933;WO 2007/021841;WO 2007/106707;WO 06/088494;WO 05/115452;WO 05/110474;WO 04/1032269;WO 00/42072;WO 06/088494;WO 07/024249;WO 05/047327;WO 04/099249和WO 04/063351;和/或Lazar等人(2006),《美国国家科学院院刊(Proc.Nat.Acad.Sci.USA)》103(11):405-410;Presta,L.G.等人(2002)《生化学会会刊(Biochem.Soc.Trans.)》30(4):487-490;Shields,R.L.等人(2002)《生物化学杂志(J.Biol.Chem.)》26;277(30):26733-26740以及Shields,R.L.等人(2001)《生物化

学杂志》276(9):6591-6604)。

[0303] 实例

[0304] 实例1—使用化疗剂的体外组合研究

[0305] 已知化疗剂可以负面影响宿主免疫系统并且因此抑制介导ADCC的治疗性抗体的功效。因此,试图评估化疗剂是否影响具有人IgG1同种型和分别在SEQ ID NO:49和44中所示的VH和VL氨基酸序列的人源化2B12抗体拉克妥单抗的NK细胞介导的ADCC活性。在抗KIR3DL2抗体浓度不断增加的情况下,将化疗剂单独地或组合地添加到使用同种异体NK细胞和表达KIR3DL2的塞扎里氏综合征细胞系(Hut 78)的体外细胞毒性(ADCC)测定中。

[0306] 图1中示出了结果。在这个实验设置中,吉西他滨和奥沙利铂均不会干扰抗KIR3DL2抗体诱导的针对HUT78 CTCL细胞系的ADCC。事实上,抗KIR3DL2抗肿瘤活性令人惊讶地通过吉西他滨和奥沙利铂中的每一种来增强,并且甚至更多地通过吉西他滨和奥沙利铂的组合来增强。

[0307] 实例2—吉西他滨和奥沙利铂各自增强KIR3DL2表达

[0308] 为了研究抗KIR3DL2抗体诱导的针对HUT78 CTCL细胞系的ADCC增强的可能原因,评估了KIR3DL2表达是否可以在体外由相同的化疗剂进行调节。

[0309] 简言之,将Hut78细胞(塞扎里氏综合征细胞系)或RAJI-KIR3DL2细胞(用人KIR3DL2转染的RAJI B-NHL细胞系)与递增剂量的吉西他滨和奥沙利铂一起温育。通过流式细胞术分析肿瘤细胞系表面上的KIR3DL2的中值荧光强度。

[0310] 图2中示出了结果。图A(左手侧)中示出了RAJI-KIR3DL2细胞,并且图B(右手侧)中示出了Hut78细胞。发现奥沙利铂和吉西他滨两者均以剂量依赖性方式在两种细胞系上增强KIR3DL2表面表达,与基线相比高达2到3倍的平稳期(图2)。这些附图表示两个独立实验。值得注意的是,其它化疗剂(如环磷酰胺)在相同实验条件下未增加KIR3DL2表达。

[0311] 总之,这些结果支持探索抗KIR3DL2抗体与吉西他滨和奥沙利铂的组合,特别是在可能特别需要改进的治疗的复发性PTCL患者中。

[0312] 实例3—体内功效

[0313] CB17-SCID小鼠中的异种移植模型,其中免疫功能低下的小鼠品系保留完全功能性NK细胞和巨噬细胞。另外,小鼠Fc受体有效地结合人Fc,从而允许鼠类效应细胞被人源化mAb募集并且在体内进行ADCC或ADCP。转染B-NHL细胞系RAJI以稳定地表达KIR3DL2(RAJI-KIR3DL2),并且将转染子通过IV接种(5×10^6个细胞)到SCID小鼠中,从而提供散播性肿瘤模型。最初,在此异种移植模型中建立吉西他滨和奥沙利铂的单独剂量。然而,虽然吉西他滨和奥沙利铂可以一起用于人,但不可能找到可以组合以提供活性但在这些小鼠中耐受的吉西他滨和奥沙利铂的剂量。因此,将抗KIR3DL2抗体(拉克妥单抗)分别与吉西他滨或奥沙利铂组合。

[0314] 在这种散播性肿瘤模型(每组n=9只小鼠)中,小鼠组因此一周用以下治疗两次:

[0315] -同种型对照mAb;

[0316] -抗KIR3DL2抗体(拉克妥单抗);

[0317] -吉西他滨(50mg/kg);

[0318] -奥沙利铂(5mg/kg);

[0319] -抗KIR3DL2抗体(拉克妥单抗)+吉西他滨(50mg/kg),或者

[0320] -抗KIR3DL2抗体(拉克妥单抗)+奥沙利铂(5mg/kg)。

[0321] 将抗KIR3DL2抗体和同种型对照两者以每次注射0.3μg施用。

[0322] 图3中示出了结果。抗KIR3DL2抗体和奥沙利铂的组合至少与单独的抗KIR3DL2抗体一样有活性(奥沙利铂本身在模型中具有非常有限的(如果有的话)抗肿瘤作用)。有趣的是,抗KIR3DL2抗体和吉西他滨在体内均显示出协同抗肿瘤活性。与分别用每种药剂治疗的小鼠相比,用抗KIR3DL2抗体和吉西他滨治疗的小鼠具有显著改进的存活率。在2个独立实验中重现了以上显示的效果,其中每次每组9只小鼠。

[0323] 这些结果连同体外组合数据以及通过吉西他滨和奥沙利铂对KIR3DL2的潜在诱导一起支持抗KIR3DL2抗体与吉西他滨和奥沙利铂在TCL患者中的治疗组合。虽然与人源化2B12的组合作为抗癌治疗是特别有效的,但吉西他滨和/或奥沙利铂增加KIR3DL2表达的能力对于增强单独比2B12效力更低的抗体的抗肿瘤的目的也可以是有用的。所述组合可能对复发性PTCL患者是特别有效的。

[0324] 本文引用的所有参考文献,包含公开、专利申请和专利均特此通过引用整体并入,并且其程度如同每个参考文献被单独地且具体地指示以通过引用并入并且在本文中整体阐述(在法律允许的最大范围内)一样,不论是否单独提供了本文其它地方参考的特定文件的并入。

[0325] 除非另有说明,否则本文提供的所有精确值均代表对应的近似值(例如,关于特定因子或测量提供的所有确切示例性值可以被视为还提供对应的近似测量,由“约”修饰,在适当的情况下)。

[0326] 本发明使用如“包括”、“具有(having)”、“包含(having)”或“含有(containing)”等术语的本文对任何方面或实施例的描述旨在提供对本发明的“由所述一个或多个特定元素组成”、“基本上由所述一个或多个特定元素组成”或“基本上包括所述一个或多个特定元素”的类似方面或实施例的支持,除非另有说明或明确与上下文矛盾(例如,本文描述的包括特定元素的组合物应理解为还描述由所述元素组成的组合物,除非另有说明或明确与上下文矛盾)。

[0327] 除非另外声明,否则本文提供的任何和所有实例或示例性语言(例如,“如”)的使用仅旨在更好地阐明本发明,并且不对本发明的范围构成限制。本说明书中的任何语言都不应被解释为将任何未要求保护的要素指示为实践本发明所必须的。

[0001] 序列表

[0002] <110> 先天制药公司(Innate Pharma)

[0003] <120> T细胞淋巴瘤的治疗

[0004] <130> KIR-9

[0005] <150> US 62/795,194

[0006] <151> 2019-01-22

[0007] <160> 70

[0008] <170> PatentIn版本3.5

[0009] <210> 1

[0010] <211> 434

[0011] <212> PRT

[0012] <213> 智人(homo sapiens)

[0013] <400> 1

[0014] Leu Met Gly Gly Gln Asp Lys Pro Phe Leu Ser Ala Arg Pro Ser Thr

[0015] 1 5 10 15

[0016] Val Val Pro Arg Gly Gly His Val Ala Leu Gln Cys His Tyr Arg Arg

[0017] 20 25 30

[0018] Gly Phe Asn Asn Phe Met Leu Tyr Lys Glu Asp Arg Ser His Val Pro

[0019] 35 40 45

[0020] Ile Phe His Gly Arg Ile Phe Gln Glu Ser Phe Ile Met Gly Pro Val

[0021] 50 55 60

[0022] Thr Pro Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Arg Gly Ser Arg Pro His

[0023] 65 70 75 80

[0024] Ser Leu Thr Gly Trp Ser Ala Pro Ser Asn Pro Leu Val Ile Met Val

[0025] 85 90 95

[0026] Thr Gly Asn His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala His Pro Gly Pro Leu

[0027] 100 105 110

[0028] Leu Lys Ser Gly Glu Thr Val Ile Leu Gln Cys Trp Ser Asp Val Met

[0029] 115 120 125

[0030] Phe Glu His Phe Phe Leu His Arg Asp Gly Ile Ser Glu Asp Pro Ser

[0031] 130 135 140

[0032] Arg Leu Val Gly Gln Ile His Asp Gly Val Ser Lys Ala Asn Phe Ser

[0033] 145 150 155 160

[0034] Ile Gly Pro Leu Met Pro Val Leu Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly

[0035] 165 170 175

[0036] Ser Val Pro His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu

[0037] 180 185 190

[0038] Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys Pro Ser Leu Ser Ala Gln

[0039] 195 200 205

[0040] Pro Gly Pro Thr Val Gln Ala Gly Glu Asn Val Thr Leu Ser Cys Ser

[0041] 210 215 220

[0042] Ser Trp Ser Ser Tyr Asp Ile Tyr His Leu Ser Arg Glu Gly Glu Ala

[0043] 225 230 235 240

[0044] His Glu Arg Arg Leu Arg Ala Val Pro Lys Val Asn Arg Thr Phe Gln

[0045] 245 250 255

[0046] Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly Gly Thr Tyr Arg Cys

[0047] 260 265 270

[0048] Phe Gly Ser Phe Arg Ala Leu Pro Cys Val Trp Ser Asn Ser Ser Asp

[0049] 275 280 285

[0050] Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser Ser Ser Trp Pro Ser

[0051] 290 295 300

[0052] Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Ser Gly Ile Cys Arg His Leu His Val

[0053] 305 310 315 320

[0054] Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile Phe Leu Phe Ile Leu Leu Leu Phe

[0055] 325 330 335

[0056] Phe Leu Leu Tyr Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys Asn Ala Ala Val Met

[0057] 340 345 350

[0058] Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asp Arg Thr Val Asn Arg Gln Asp Ser Asp

[0059] 355 360 365

[0060] Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu Asp His Cys Val

[0061] 370 375 380

[0062] Phe Ile Gln Arg Lys Ile Ser Arg Pro Ser Gln Arg Pro Lys Thr Pro

[0063] 385 390 395 400

[0064] Leu Thr Asp Thr Ser Val Tyr Thr Glu Leu Pro Asn Ala Glu Pro Arg

[0065] 405 410 415

[0066] Ser Lys Val Val Ser Cys Pro Arg Ala Pro Gln Ser Gly Leu Glu Gly

[0067] 420 425 430

[0068] Val Phe

[0069] <210> 2

[0070] <211> 455

[0071] <212> PRT

[0072] <213> 智人(homo sapiens)

[0073] <400> 2

[0074] Met Ser Leu Thr Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu

[0075] 1 5 10 15

[0076] Gln Gly Ala Trp Pro Leu Met Gly Gly Gln Asp Lys Pro Phe Leu Ser

[0077] 20 25 30

[0078] Ala Arg Pro Ser Thr Val Val Pro Arg Gly Gly His Val Ala Leu Gln
[0079] 35 40 45
[0080] Cys His Tyr Arg Arg Gly Phe Asn Asn Phe Met Leu Tyr Lys Glu Asp
[0081] 50 55 60
[0082] Arg Ser His Val Pro Ile Phe His Gly Arg Ile Phe Gln Glu Ser Phe
[0083] 65 70 75 80
[0084] Ile Met Gly Pro Val Thr Pro Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Arg
[0085] 85 90 95
[0086] Gly Ser Arg Pro His Ser Leu Thr Gly Trp Ser Ala Pro Ser Asn Pro
[0087] 100 105 110
[0088] Val Val Ile Met Val Thr Gly Asn His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala
[0089] 115 120 125
[0090] His Pro Gly Pro Leu Leu Lys Ser Gly Glu Thr Val Ile Leu Gln Cys
[0091] 130 135 140
[0092] Trp Ser Asp Val Met Phe Glu His Phe Phe Leu His Arg Glu Gly Ile
[0093] 145 150 155 160
[0094] Ser Glu Asp Pro Ser Arg Leu Val Gly Gln Ile His Asp Gly Val Ser
[0095] 165 170 175
[0096] Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Pro Leu Met Pro Val Leu Ala Gly Thr
[0097] 180 185 190
[0098] Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Pro His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser Ala
[0099] 195 200 205
[0100] Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys Pro
[0101] 210 215 220
[0102] Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val Gln Ala Gly Glu Asn Val
[0103] 225 230 235 240
[0104] Thr Leu Ser Cys Ser Ser Trp Ser Ser Tyr Asp Ile Tyr His Leu Ser
[0105] 245 250 255
[0106] Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Leu Arg Ala Val Pro Lys Val
[0107] 260 265 270
[0108] Asn Arg Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly
[0109] 275 280 285
[0110] Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg Ala Leu Pro Cys Val Trp
[0111] 290 295 300
[0112] Ser Asn Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser
[0113] 305 310 315 320
[0114] Ser Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Ser Gly Ile Cys
[0115] 325 330 335
[0116] Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile Phe Leu Phe

[0117] 340 345 350

[0118] Ile Leu Leu Leu Phe Phe Leu Leu Tyr Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys

[0119] 355 360 365

[0120] Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asp Arg Thr Val Asn

[0121] 370 375 380

[0122] Arg Gln Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln

[0123] 385 390 395 400

[0124] Leu Asp His Cys Val Phe Ile Gln Arg Lys Ile Ser Arg Pro Ser Gln

[0125] 405 410 415

[0126] Arg Pro Lys Thr Pro Leu Thr Asp Thr Ser Val Tyr Thr Glu Leu Pro

[0127] 420 425 430

[0128] Asn Ala Glu Pro Arg Ser Lys Val Val Ser Cys Pro Arg Ala Pro Gln

[0129] 435 440 445

[0130] Ser Gly Leu Glu Gly Val Phe

[0131] 450 455

[0132] <210> 3

[0133] <211> 123

[0134] <212> PRT

[0135] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0136] <400> 3

[0137] Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

[0138] 1 5 10 15

[0139] Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Phe

[0140] 20 25 30

[0141] Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

[0142] 35 40 45

[0143] Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met

[0144] 50 55 60

[0145] Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu

[0146] 65 70 75 80

[0147] Lys Met Asn Ser Leu Gln Asn Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala

[0148] 85 90 95

[0149] Arg Gly Asn Ser Asn His Tyr Val Ser Ser Phe Tyr Tyr Phe Asp Tyr

[0150] 100 105 110

[0151] Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

[0152] 115 120

[0153] <210> 4

[0154] <211> 106

[0155] <212> PRT

[0156] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0157] <400> 4

[0158] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

[0159] 1 5 10 15

[0160] Gly Lys Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Lys Tyr

[0161] 20 25 30

[0162] Ile Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Gly Pro Arg Leu Leu Ile

[0163] 35 40 45

[0164] His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[0165] 50 55 60

[0166] Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Ser Phe Ser Ile Ser Asn Leu Glu Pro

[0167] 65 70 75 80

[0168] Glu Asp Ile Thr Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asn Leu Trp Thr

[0169] 85 90 95

[0170] Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

[0171] 100 105

[0172] <210> 5

[0173] <211> 119

[0174] <212> PRT

[0175] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0176] <400> 5

[0177] Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

[0178] 1 5 10 15

[0179] Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Phe

[0180] 20 25 30

[0181] Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

[0182] 35 40 45

[0183] Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe

[0184] 50 55 60

[0185] Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

[0186] 65 70 75 80

[0187] Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys

[0188] 85 90 95

[0189] Ala Arg Asn Gly Asn Phe Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

[0190] 100 105 110

[0191] Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

[0192] 115

[0193] <210> 6

[0194] <211> 112

[0195] <212> PRT

[0196] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0197] <400> 6

[0198] Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

[0199] 1 5 10 15

[0200] Asp Gln Ala Ser Phe Ser Cys Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser

[0201] 20 25 30

[0202] Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

[0203] 35 40 45

[0204] Pro Ser Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

[0205] 50 55 60

[0206] Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

[0207] 65 70 75 80

[0208] Thr Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

[0209] 85 90 95

[0210] Ser His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

[0211] 100 105 110

[0212] <210> 7

[0213] <211> 5

[0214] <212> PRT

[0215] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0216] <400> 7

[0217] Asn Phe Gly Met Asn

[0218] 1 5

[0219] <210> 8

[0220] <211> 6

[0221] <212> PRT

[0222] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0223] <400> 8

[0224] Gly Tyr Thr Phe Thr Asn

[0225] 1 5

[0226] <210> 9

[0227] <211> 10

[0228] <212> PRT

[0229] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0230] <400> 9

[0231] Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Phe Gly Met Asn

[0232] 1 5 10

[0233] <210> 10

[0234] <211> 15

[0235] <212> PRT

[0236] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0237] <400> 10

[0238] Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe

[0239] 1 5 10 15

[0240] <210> 11

[0241] <211> 8

[0242] <212> PRT

[0243] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0244] <400> 11

[0245] Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu

[0246] 1 5

[0247] <210> 12

[0248] <211> 10

[0249] <212> PRT

[0250] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0251] <400> 12

[0252] Asn Gly Asn Phe Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr

[0253] 1 5 10

[0254] <210> 13

[0255] <211> 16

[0256] <212> PRT

[0257] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0258] <400> 13

[0259] Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu

[0260] 1 5 10 15

[0261] <210> 14

[0262] <211> 7

[0263] <212> PRT

[0264] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0265] <400> 14

[0266] Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

[0267] 1 5

[0268] <210> 15

[0269] <211> 7

[0270] <212> PRT

[0271] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0272] <400> 15

[0273] Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
[0274] 1 5
[0275] <210> 16
[0276] <211> 112
[0277] <212> PRT
[0278] <213> 小家鼠(mus musculus)
[0279] <400> 16
[0280] Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Asn Pro Gly Glu Thr Val
[0281] 1 5 10 15
[0282] Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met
[0283] 20 25 30
[0284] Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met Gly Trp
[0285] 35 40 45
[0286] Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys Gly
[0287] 50 55 60
[0288] Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Leu Gln
[0289] 65 70 75 80
[0290] Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala His
[0291] 85 90 95
[0292] Gly Pro Trp Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
[0293] 100 105 110
[0294] <210> 17
[0295] <211> 107
[0296] <212> PRT
[0297] <213> 小家鼠(mus musculus)
[0298] <400> 17
[0299] Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
[0300] 1 5 10 15
[0301] Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Val Tyr
[0302] 20 25 30
[0303] Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
[0304] 35 40 45
[0305] Tyr Arg Ala Ile Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0306] 50 55 60
[0307] Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Asp Tyr
[0308] 65 70 75 80
[0309] Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Leu Pro Tyr
[0310] 85 90 95
[0311] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Glu

[0312] 100 105

[0313] <210> 18

[0314] <211> 5

[0315] <212> PRT

[0316] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0317] <400> 18

[0318] Asn Tyr Gly Met Asn

[0319] 1 5

[0320] <210> 19

[0321] <211> 6

[0322] <212> PRT

[0323] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0324] <400> 19

[0325] Gly Tyr Thr Phe Thr Asn

[0326] 1 5

[0327] <210> 20

[0328] <211> 10

[0329] <212> PRT

[0330] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0331] <400> 20

[0332] Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn

[0333] 1 5 10

[0334] <210> 21

[0335] <211> 17

[0336] <212> PRT

[0337] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0338] <400> 21

[0339] Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys

[0340] 1 5 10 15

[0341] Gly

[0342] <210> 22

[0343] <211> 10

[0344] <212> PRT

[0345] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0346] <400> 22

[0347] Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr

[0348] 1 5 10

[0349] <210> 23

[0350] <211> 6

[0351] <212> PRT
[0352] <213> 小家鼠(mus musculus)
[0353] <400> 23
[0354] Gly Pro Trp Leu Ala Tyr
[0355] 1 5
[0356] <210> 24
[0357] <211> 11
[0358] <212> PRT
[0359] <213> 小家鼠(mus musculus)
[0360] <400> 24
[0361] Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Val Tyr Leu Ser
[0362] 1 5 10
[0363] <210> 25
[0364] <211> 7
[0365] <212> PRT
[0366] <213> 小家鼠(mus musculus)
[0367] <400> 25
[0368] Arg Ala Ile Arg Leu Val Asp
[0369] 1 5
[0370] <210> 26
[0371] <211> 9
[0372] <212> PRT
[0373] <213> 小家鼠(mus musculus)
[0374] <400> 26
[0375] Leu Gln Tyr Asp Glu Leu Pro Tyr Thr
[0376] 1 5
[0377] <210> 27
[0378] <211> 117
[0379] <212> PRT
[0380] <213> 小家鼠(mus musculus)
[0381] <400> 27
[0382] Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
[0383] 1 5 10 15
[0384] Thr Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ile Ala
[0385] 20 25 30
[0386] Gly Met Gln Trp Val Gln Lys Met Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Ile
[0387] 35 40 45
[0388] Gly Trp Ile Asn Thr His Ser Gly Val Pro Lys Tyr Ala Glu Asp Phe
[0389] 50 55 60

[0390] Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Asn Ile Ala Tyr
[0391] 65 70 75 80
[0392] Leu Gln Ile Ser Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
[0393] 85 90 95
[0394] Ala Arg Gly Gly Asp Glu Gly Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
[0395] 100 105 110
[0396] Ser Val Thr Val Ser
[0397] 115
[0398] <210> 28
[0399] <211> 107
[0400] <212> PRT
[0401] <213> 小家鼠(mus musculus)
[0402] <400> 28
[0403] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
[0404] 1 5 10 15
[0405] Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
[0406] 20 25 30
[0407] Val Ala Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
[0408] 35 40 45
[0409] Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
[0410] 50 55 60
[0411] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ala Leu Gln Ala
[0412] 65 70 75 80
[0413] Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Asn Thr Pro Trp
[0414] 85 90 95
[0415] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[0416] 100 105
[0417] <210> 29
[0418] <211> 120
[0419] <212> PRT
[0420] <213> 小家鼠(mus musculus)
[0421] <400> 29
[0422] Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Ala Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
[0423] 1 5 10 15
[0424] Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
[0425] 20 25 30
[0426] Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[0427] 35 40 45
[0428] Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Thr Asp Tyr Asn Gln Lys Phe

[0429] 50 55 60

[0430] Lys Asp Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Arg Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

[0431] 65 70 75 80

[0432] Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

[0433] 85 90 95

[0434] Ala Arg Leu Gly Lys Gly Leu Leu Pro Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

[0435] 100 105 110

[0436] Gly Ser Thr Leu Thr Val Ser Ser

[0437] 115 120

[0438] <210> 30

[0439] <211> 113

[0440] <212> PRT

[0441] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0442] <400> 30

[0443] Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Ile Pro Ser Leu Thr Val Ser Ala Gly

[0444] 1 5 10 15

[0445] Glu Arg Val Thr Ile Ser Cys Lys Ser Asn Gln Asn Leu Leu Trp Ser

[0446] 20 25 30

[0447] Gly Asn Gln Arg Tyr Cys Leu Val Trp His Gln Trp Lys Pro Gly Gln

[0448] 35 40 45

[0449] Thr Pro Thr Pro Leu Ile Thr Trp Thr Ser Asp Arg Tyr Ser Gly Val

[0450] 50 55 60

[0451] Pro Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Val Thr Asp Phe Thr Leu Thr

[0452] 65 70 75 80

[0453] Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln

[0454] 85 90 95

[0455] His Leu His Ile Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile

[0456] 100 105 110

[0457] Lys

[0458] <210> 31

[0459] <211> 119

[0460] <212> PRT

[0461] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0462] <400> 31

[0463] Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

[0464] 1 5 10 15

[0465] Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser His Tyr Ser Phe Ile Gly Tyr

[0466] 20 25 30

[0467] Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Arg His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile

[0468] 35 40 45

[0469] Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe

[0470] 50 55 60

[0471] Lys Gly Lys Ala Ser Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

[0472] 65 70 75 80

[0473] Met Glu Ile Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

[0474] 85 90 95

[0475] Ala Arg Glu Asn Trp Gly Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

[0476] 100 105 110

[0477] Gly Thr Ser Val Thr Val Ser

[0478] 115

[0479] <210> 32

[0480] <211> 117

[0481] <212> PRT

[0482] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0483] <400> 32

[0484] Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

[0485] 1 5 10 15

[0486] Thr Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Ala

[0487] 20 25 30

[0488] Gly Met Gln Trp Val Gln Lys Thr Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Ile

[0489] 35 40 45

[0490] Gly Trp Ile Asn Ser His Ser Gly Val Pro Lys Tyr Ala Glu Asp Phe

[0491] 50 55 60

[0492] Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

[0493] 65 70 75 80

[0494] Leu Gln Ile Ser Thr Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

[0495] 85 90 95

[0496] Ala Arg Gly Gly Asp Glu Gly Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

[0497] 100 105 110

[0498] Ser Val Thr Val Ser

[0499] 115

[0500] <210> 33

[0501] <211> 107

[0502] <212> PRT

[0503] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0504] <400> 33

[0505] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Leu Gly

[0506] 1 5 10 15

[0507] Asp Arg Val Ser Phe Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
[0508] 20 25 30
[0509] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
[0510] 35 40 45
[0511] Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
[0512] 50 55 60
[0513] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
[0514] 65 70 75 80
[0515] Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp
[0516] 85 90 95
[0517] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[0518] 100 105
[0519] <210> 34
[0520] <211> 6
[0521] <212> PRT
[0522] <213> 小家鼠(mus musculus)
[0523] <400> 34
[0524] Gly Tyr Thr Phe Thr Thr
[0525] 1 5
[0526] <210> 35
[0527] <211> 5
[0528] <212> PRT
[0529] <213> 小家鼠(mus musculus)
[0530] <400> 35
[0531] Thr Ala Gly Met Gln
[0532] 1 5
[0533] <210> 36
[0534] <211> 10
[0535] <212> PRT
[0536] <213> 小家鼠(mus musculus)
[0537] <400> 36
[0538] Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Ala Gly Met Gln
[0539] 1 5 10
[0540] <210> 37
[0541] <211> 17
[0542] <212> PRT
[0543] <213> 小家鼠(mus musculus)
[0544] <400> 37
[0545] Trp Ile Asn Ser His Ser Gly Val Pro Lys Tyr Ala Glu Asp Phe Lys

[0546] 1 5 10 15

[0547] Gly

[0548] <210> 38

[0549] <211> 9

[0550] <212> PRT

[0551] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0552] <400> 38

[0553] Trp Ile Asn Ser His Ser Gly Val Pro

[0554] 1 5

[0555] <210> 39

[0556] <211> 9

[0557] <212> PRT

[0558] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0559] <400> 39

[0560] Gly Gly Asp Glu Gly Val Met Asp Tyr

[0561] 1 5

[0562] <210> 40

[0563] <211> 11

[0564] <212> PRT

[0565] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0566] <400> 40

[0567] Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala

[0568] 1 5 10

[0569] <210> 41

[0570] <211> 7

[0571] <212> PRT

[0572] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0573] <400> 41

[0574] Trp Thr Ser Thr Arg His Thr

[0575] 1 5

[0576] <210> 42

[0577] <211> 9

[0578] <212> PRT

[0579] <213> 小家鼠(mus musculus)

[0580] <400> 42

[0581] Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp Thr

[0582] 1 5

[0583] <210> 43

[0584] <211> 107

[0585] <212> PRT

[0586] <213> 人工的(Artificial)

[0587] <220>

[0588] <213> 合成的

[0589] <400> 43

[0590] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0591] 1 5 10 15

[0592] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala

[0593] 20 25 30

[0594] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

[0595] 35 40 45

[0596] Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

[0597] 50 55 60

[0598] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala

[0599] 65 70 75 80

[0600] Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp

[0601] 85 90 95

[0602] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

[0603] 100 105

[0604] <210> 44

[0605] <211> 107

[0606] <212> PRT

[0607] <213> 人工的(Artificial)

[0608] <220>

[0609] <213> 合成的

[0610] <400> 44

[0611] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0612] 1 5 10 15

[0613] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala

[0614] 20 25 30

[0615] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

[0616] 35 40 45

[0617] Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

[0618] 50 55 60

[0619] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala

[0620] 65 70 75 80

[0621] Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp

[0622] 85 90 95

[0623] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

[0624] 100 105

[0625] <210> 45

[0626] <211> 107

[0627] <212> PRT

[0628] <213> 人工的(Artificial)

[0629] <220>

[0630] <213> 合成的

[0631] <400> 45

[0632] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0633] 1 5 10 15

[0634] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala

[0635] 20 25 30

[0636] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

[0637] 35 40 45

[0638] Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

[0639] 50 55 60

[0640] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala

[0641] 65 70 75 80

[0642] Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp

[0643] 85 90 95

[0644] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

[0645] 100 105

[0646] <210> 46

[0647] <211> 107

[0648] <212> PRT

[0649] <213> 人工的(Artificial)

[0650] <220>

[0651] <213> 合成的

[0652] <400> 46

[0653] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0654] 1 5 10 15

[0655] Asp Arg Val Thr Phe Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala

[0656] 20 25 30

[0657] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

[0658] 35 40 45

[0659] Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

[0660] 50 55 60

[0661] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala

[0662] 65 70 75 80

[0663] Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp
[0664] 85 90 95
[0665] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[0666] 100 105
[0667] <210> 47
[0668] <211> 107
[0669] <212> PRT
[0670] <213> 人工的(Artificial)
[0671] <220>
[0672] <213> 合成的
[0673] <400> 47
[0674] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0675] 1 5 10 15
[0676] Asp Arg Val Thr Phe Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
[0677] 20 25 30
[0678] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
[0679] 35 40 45
[0680] Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
[0681] 50 55 60
[0682] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
[0683] 65 70 75 80
[0684] Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp
[0685] 85 90 95
[0686] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[0687] 100 105
[0688] <210> 48
[0689] <211> 118
[0690] <212> PRT
[0691] <213> 人工的(Artificial)
[0692] <220>
[0693] <213> 合成的
[0694] <400> 48
[0695] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
[0696] 1 5 10 15
[0697] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Ala
[0698] 20 25 30
[0699] Gly Met Gln Trp Val Gln Lys Ser Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[0700] 35 40 45
[0701] Gly Trp Ile Asn Ser His Ser Gly Val Pro Lys Tyr Ala Glu Asp Phe

[0702] 50 55 60

[0703] Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr

[0704] 65 70 75 80

[0705] Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

[0706] 85 90 95

[0707] Ala Arg Gly Gly Asp Glu Gly Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

[0708] 100 105 110

[0709] Thr Val Thr Val Ser Ser

[0710] 115

[0711] <210> 49

[0712] <211> 118

[0713] <212> PRT

[0714] <213> 人工的(Artificial)

[0715] <220>

[0716] <213> 合成的

[0717] <400> 49

[0718] Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala

[0719] 1 5 10 15

[0720] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Ala

[0721] 20 25 30

[0722] Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

[0723] 35 40 45

[0724] Gly Trp Ile Asn Ser His Ser Gly Val Pro Lys Tyr Ala Glu Asp Phe

[0725] 50 55 60

[0726] Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr

[0727] 65 70 75 80

[0728] Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

[0729] 85 90 95

[0730] Ala Arg Gly Gly Asp Glu Gly Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

[0731] 100 105 110

[0732] Thr Val Thr Val Ser Ser

[0733] 115

[0734] <210> 50

[0735] <211> 118

[0736] <212> PRT

[0737] <213> 人工的(Artificial)

[0738] <220>

[0739] <213> 合成的

[0740] <400> 50

[0741] Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
[0742] 1 5 10 15
[0743] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Ala
[0744] 20 25 30
[0745] Gly Met Gln Trp Val Gln Lys Ser Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[0746] 35 40 45
[0747] Gly Trp Ile Asn Ser His Ser Gly Val Pro Lys Tyr Ala Glu Asp Phe
[0748] 50 55 60
[0749] Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
[0750] 65 70 75 80
[0751] Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[0752] 85 90 95
[0753] Ala Arg Gly Gly Asp Glu Gly Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
[0754] 100 105 110
[0755] Thr Val Thr Val Ser Ser
[0756] 115
[0757] <210> 51
[0758] <211> 118
[0759] <212> PRT
[0760] <213> 人工的(Artificial)
[0761] <220>
[0762] <213> 合成的
[0763] <400> 51
[0764] Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
[0765] 1 5 10 15
[0766] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Ala
[0767] 20 25 30
[0768] Gly Met Gln Trp Val Gln Lys Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
[0769] 35 40 45
[0770] Gly Trp Ile Asn Ser His Ser Gly Val Pro Lys Tyr Ala Glu Asp Phe
[0771] 50 55 60
[0772] Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
[0773] 65 70 75 80
[0774] Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[0775] 85 90 95
[0776] Ala Arg Gly Gly Asp Glu Gly Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
[0777] 100 105 110
[0778] Ser Val Thr Val Ser Ser
[0779] 115

[0780] <210> 52

[0781] <211> 107

[0782] <212> PRT

[0783] <213> 人工的(Artificial)

[0784] <220>

[0785] <213> 合成的

[0786] <400> 52

[0787] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0788] 1 5 10 15

[0789] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn

[0790] 20 25 30

[0791] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Leu

[0792] 35 40 45

[0793] Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[0794] 50 55 60

[0795] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

[0796] 65 70 75 80

[0797] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr

[0798] 85 90 95

[0799] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

[0800] 100 105

[0801] <210> 53

[0802] <211> 107

[0803] <212> PRT

[0804] <213> 人工的(Artificial)

[0805] <220>

[0806] <213> 合成的

[0807] <400> 53

[0808] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0809] 1 5 10 15

[0810] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn

[0811] 20 25 30

[0812] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Val

[0813] 35 40 45

[0814] Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[0815] 50 55 60

[0816] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

[0817] 65 70 75 80

[0818] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr

[0819] 85 90 95

[0820] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

[0821] 100 105

[0822] <210> 54

[0823] <211> 107

[0824] <212> PRT

[0825] <213> 人工的(Artificial)

[0826] <220>

[0827] <213> 合成的

[0828] <400> 54

[0829] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0830] 1 5 10 15

[0831] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn

[0832] 20 25 30

[0833] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Val

[0834] 35 40 45

[0835] Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[0836] 50 55 60

[0837] Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

[0838] 65 70 75 80

[0839] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr

[0840] 85 90 95

[0841] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

[0842] 100 105

[0843] <210> 55

[0844] <211> 107

[0845] <212> PRT

[0846] <213> 人工的(Artificial)

[0847] <220>

[0848] <213> 合成的

[0849] <400> 55

[0850] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0851] 1 5 10 15

[0852] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn

[0853] 20 25 30

[0854] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Val

[0855] 35 40 45

[0856] Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[0857] 50 55 60

[0858] Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
[0859] 65 70 75 80
[0860] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr
[0861] 85 90 95
[0862] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[0863] 100 105
[0864] <210> 56
[0865] <211> 107
[0866] <212> PRT
[0867] <213> 人工的(Artificial)
[0868] <220>
[0869] <213> 合成的
[0870] <400> 56
[0871] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0872] 1 5 10 15
[0873] Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn
[0874] 20 25 30
[0875] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Val
[0876] 35 40 45
[0877] Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0878] 50 55 60
[0879] Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
[0880] 65 70 75 80
[0881] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr
[0882] 85 90 95
[0883] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[0884] 100 105
[0885] <210> 57
[0886] <211> 120
[0887] <212> PRT
[0888] <213> 人工的(Artificial)
[0889] <220>
[0890] <213> 合成的
[0891] <400> 57
[0892] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[0893] 1 5 10 15
[0894] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
[0895] 20 25 30
[0896] Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

[0897] 35 40 45

[0898] Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Thr Glu Asn Asn Arg Lys Phe

[0899] 50 55 60

[0900] Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

[0901] 65 70 75 80

[0902] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0903] 85 90 95

[0904] Ala Arg Leu Gly Lys Gly Leu Leu Pro Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

[0905] 100 105 110

[0906] Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

[0907] 115 120

[0908] <210> 58

[0909] <211> 120

[0910] <212> PRT

[0911] <213> 人工的(Artificial)

[0912] <220>

[0913] <213> 合成的

[0914] <400> 58

[0915] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

[0916] 1 5 10 15

[0917] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

[0918] 20 25 30

[0919] Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

[0920] 35 40 45

[0921] Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Thr Glu Asn Asn Arg Lys Phe

[0922] 50 55 60

[0923] Lys Asp Lys Thr Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

[0924] 65 70 75 80

[0925] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0926] 85 90 95

[0927] Ala Arg Leu Gly Lys Gly Leu Leu Pro Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

[0928] 100 105 110

[0929] Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

[0930] 115 120

[0931] <210> 59

[0932] <211> 120

[0933] <212> PRT

[0934] <213> 人工的(Artificial)

[0935] <220>

[0936] <213> 合成的

[0937] <400> 59

[0938] Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

[0939] 1 5 10 15

[0940] Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

[0941] 20 25 30

[0942] Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

[0943] 35 40 45

[0944] Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Thr Glu Asn Asn Arg Lys Phe

[0945] 50 55 60

[0946] Lys Asp Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

[0947] 65 70 75 80

[0948] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0949] 85 90 95

[0950] Ala Arg Leu Gly Lys Gly Leu Leu Pro Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

[0951] 100 105 110

[0952] Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

[0953] 115 120

[0954] <210> 60

[0955] <211> 120

[0956] <212> PRT

[0957] <213> 人工的(Artificial)

[0958] <220>

[0959] <213> 合成的

[0960] <400> 60

[0961] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala

[0962] 1 5 10 15

[0963] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

[0964] 20 25 30

[0965] Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

[0966] 35 40 45

[0967] Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Thr Glu Asn Asn Arg Lys Phe

[0968] 50 55 60

[0969] Lys Asp Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

[0970] 65 70 75 80

[0971] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0972] 85 90 95

[0973] Ala Arg Leu Gly Lys Gly Leu Leu Pro Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

[0974] 100 105 110

[0975] Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
[0976] 115 120
[0977] <210> 61
[0978] <211> 120
[0979] <212> PRT
[0980] <213> 人工的(Artificial)
[0981] <220>
[0982] <213> 合成的
[0983] <400> 61
[0984] Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[0985] 1 5 10 15
[0986] Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
[0987] 20 25 30
[0988] Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[0989] 35 40 45
[0990] Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Thr Glu Asn Asn Arg Lys Phe
[0991] 50 55 60
[0992] Lys Asp Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[0993] 65 70 75 80
[0994] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0995] 85 90 95
[0996] Ala Arg Leu Gly Lys Gly Leu Leu Pro Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
[0997] 100 105 110
[0998] Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
[0999] 115 120
[1000] <210> 62
[1001] <211> 111
[1002] <212> PRT
[1003] <213> 小家鼠(mus musculus)
[1004] <400> 62
[1005] Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
[1006] 1 5 10 15
[1007] Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Phe
[1008] 20 25 30
[1009] Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
[1010] 35 40 45
[1011] Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ala
[1012] 50 55 60
[1013] Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Asn Ile His

[1014] 65 70 75 80
[1015] Pro Met Glu Glu Asp Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys
[1016] 85 90 95
[1017] Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[1018] 100 105 110
[1019] <210> 63
[1020] <211> 117
[1021] <212> PRT
[1022] <213> 小家鼠(mus musculus)
[1023] <400> 63
[1024] Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Val
[1025] 1 5 10 15
[1026] Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[1027] 20 25 30
[1028] Ala Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Ala Lys Ser Leu Glu Trp Ile
[1029] 35 40 45
[1030] Gly Val Ile Ser Thr Tyr Tyr Gly Asp Ala Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
[1031] 50 55 60
[1032] Lys Gly Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
[1033] 65 70 75 80
[1034] Met Glu Leu Ala Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
[1035] 85 90 95
[1036] Ala Leu Ile Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
[1037] 100 105 110
[1038] Thr Leu Thr Val Ser
[1039] 115
[1040] <210> 64
[1041] <211> 113
[1042] <212> PRT
[1043] <213> 小家鼠(mus musculus)
[1044] <400> 64
[1045] Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
[1046] 1 5 10 15
[1047] Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
[1048] 20 25 30
[1049] Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[1050] 35 40 45
[1051] Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
[1052] 50 55 60

[1053] Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[1054] 65 70 75 80
[1055] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
[1056] 85 90 95
[1057] Thr His Val Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
[1058] 100 105 110
[1059] Lys
[1060] <210> 65
[1061] <211> 118
[1062] <212> PRT
[1063] <213> 小家鼠(mus musculus)
[1064] <400> 65
[1065] Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
[1066] 1 5 10 15
[1067] Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
[1068] 20 25 30
[1069] Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[1070] 35 40 45
[1071] Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
[1072] 50 55 60
[1073] Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
[1074] 65 70 75 80
[1075] Met Gln Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
[1076] 85 90 95
[1077] Ala Arg Arg Tyr Asp Gly Tyr Tyr His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[1078] 100 105 110
[1079] Thr Thr Leu Thr Val Ser
[1080] 115
[1081] <210> 66
[1082] <211> 115
[1083] <212> PRT
[1084] <213> 小家鼠(mus musculus)
[1085] <400> 66
[1086] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Thr Ala Gly
[1087] 1 5 10 15
[1088] Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Trp Ser
[1089] 20 25 30
[1090] Val Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Arg Gln
[1091] 35 40 45

[1092] Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ile Arg Glu Ser Trp Val
[1093] 50 55 60
[1094] Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
[1095] 65 70 75 80
[1096] Ile Ser Asn Val His Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His
[1097] 85 90 95
[1098] Asn His Gly Ser Phe Leu Pro Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu
[1099] 100 105 110
[1100] Glu Ile Lys
[1101] 115
[1102] <210> 67
[1103] <211> 120
[1104] <212> PRT
[1105] <213> 小家鼠(mus musculus)
[1106] <400> 67
[1107] Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Ala Arg Pro Gly Ala
[1108] 1 5 10 15
[1109] Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gly Phe Thr Phe Thr Thr Tyr
[1110] 20 25 30
[1111] Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[1112] 35 40 45
[1113] Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
[1114] 50 55 60
[1115] Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ile Thr Ala Tyr
[1116] 65 70 75 80
[1117] Met Gln Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
[1118] 85 90 95
[1119] Ala Arg Arg Gly Asp Tyr Gly Asn Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[1120] 100 105 110
[1121] Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
[1122] 115 120
[1123] <210> 68
[1124] <211> 112
[1125] <212> PRT
[1126] <213> 小家鼠(mus musculus)
[1127] <400> 68
[1128] Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
[1129] 1 5 10 15
[1130] Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser

[1131] 20 25 30
[1132] Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[1133] 35 40 45
[1134] Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn His Phe Ser Gly Val Pro
[1135] 50 55 60
[1136] Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[1137] 65 70 75 80
[1138] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
[1139] 85 90 95
[1140] Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[1141] 100 105 110
[1142] <210> 69
[1143] <211> 139
[1144] <212> PRT
[1145] <213> 小家鼠(mus musculus)
[1146] <400> 69
[1147] Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Ala Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
[1148] 1 5 10 15
[1149] Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
[1150] 20 25 30
[1151] Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[1152] 35 40 45
[1153] Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Thr Glu Asn Asn Arg Lys Phe
[1154] 50 55 60
[1155] Lys Asp Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
[1156] 65 70 75 80
[1157] Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
[1158] 85 90 95
[1159] Ala Arg Leu Gly Lys Gly Leu Leu Pro Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
[1160] 100 105 110
[1161] Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val
[1162] 115 120 125
[1163] Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr
[1164] 130 135
[1165] <210> 70
[1166] <211> 107
[1167] <212> PRT
[1168] <213> 小家鼠(mus musculus)
[1169] <400> 70

[1170] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly
[1171] 1 5 10 15
[1172] Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn
[1173] 20 25 30
[1174] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
[1175] 35 40 45
[1176] Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[1177] 50 55 60
[1178] Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser
[1179] 65 70 75 80
[1180] Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr
[1181] 85 90 95
[1182] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[1183] 100 105

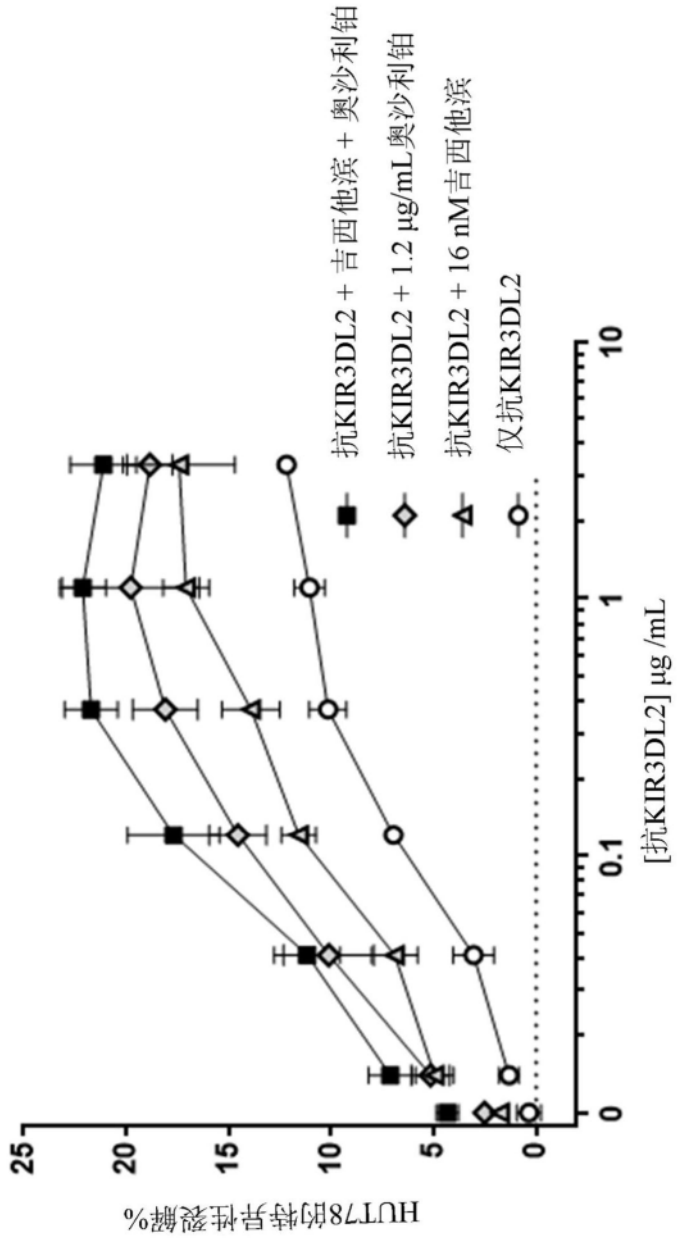

抗KIR3DL2 + 吉西他滨 + 奥沙利铂
抗KIR3DL2 + 1.2 μg/mL奥沙利铂
抗KIR3DL2 + 16 nM吉西他滨
仅抗KIR3DL2
HUT78的特异性裂解%
25
20
15
10
5
0
0
0.1
1
10
[抗KIR3DL2] μg /mL

图1

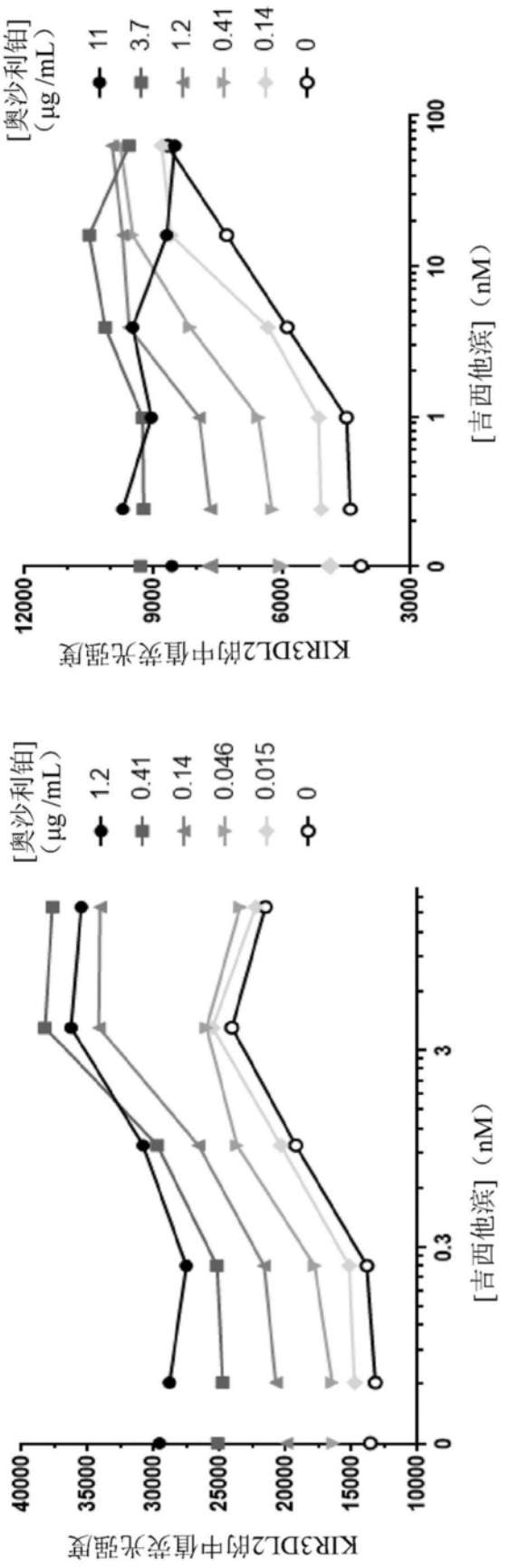

[奥沙利铂]
（μg /mL）
11
3.7
1.2
0.41
0.14
0
KIR3DL2的中值荧光强度
12000
9000
6000
3000
0
1
10
100
[吉西他滨]（nM）
[奥沙利铂]
（μg /mL）
1.2
0.41
0.14
0.046
0.015
0
KIR3DL2的中值荧光强度
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
0
0.3
3
[吉西他滨]（nM）

图2

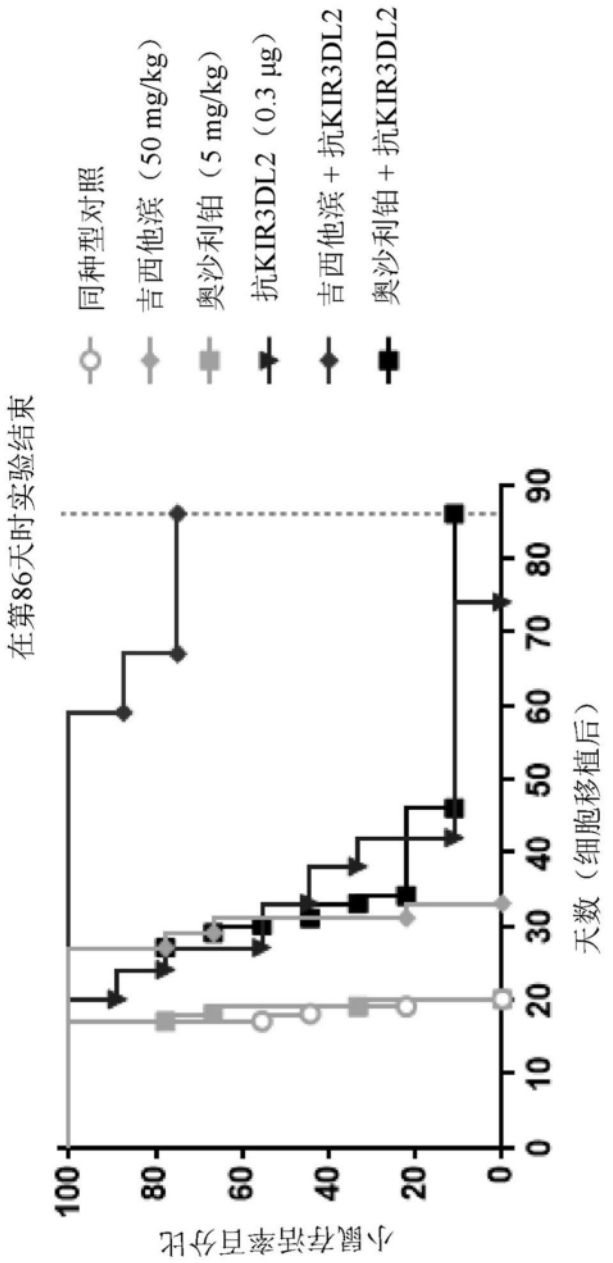

同种型对照
吉西他滨（50 mg/kg）
奥沙利铂（5 mg/kg）
抗KIR3DL2（0.3 μg）
吉西他滨 + 抗KIR3DL2
奥沙利铂 + 抗KIR3DL2
在第86天时实验结束
小鼠存活率百分比
天数（细胞移植后）
0
20
40
60
80
100
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90

图3