



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115746138 A

(43) 申请公布日 2023.03.07

(21) 申请号 202211579747.8

(22) 申请日 2020.12.17

(30) 优先权数据

62/950,434 2019.12.19 US

(62) 分案原申请数据

202080087154.2 2020.12.17

(71) 申请人 恩格姆生物制药公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 苏珊妮·克里斯汀·克劳利

许哲源 丹尼尔·大卫·卡普兰

贝蒂·陈·李 维基·一冰·林

塞思·马尔摩斯约

凯文·詹姆斯·帕沃拉

朱莉·米歇尔·罗达 王艳

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

专利代理师 徐爱文 张奎燕

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书2页 说明书116页

序列表(电子公布) 附图21页

(54) 发明名称

ILT3结合剂及其使用方法

(57) 摘要

本公开提供了特异性地结合包括人ILT3在内的ILT3的结合剂诸如抗体,以及包含所述结合剂的组合物及它们的使用方法。本公开还提供了编码所述结合剂的相关多核苷酸和载体以及包含所述结合剂的细胞。

1. 一种特异性地结合人免疫球蛋白样转录物3 (ILT3) 的结合剂,其包含:

(1) 重链可变区 (VH),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:123中所示的重链可变区CDR1 (VH-CDR1)、重链可变区CDR2 (VH-CDR2) 和重链可变区CDR3 (VH-CDR3);和轻链可变区 (VL),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:124中所示的轻链可变区CDR1 (VL-CDR1)、轻链可变区CDR2 (VL-CDR2) 和轻链可变区CDR3 (VL-CDR3);

(2) 重链可变区 (VH),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:117中所示的重链可变区CDR1 (VH-CDR1)、重链可变区CDR2 (VH-CDR2) 和重链可变区CDR3 (VH-CDR3);和轻链可变区 (VL),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:118中所示的轻链可变区CDR1 (VL-CDR1)、轻链可变区CDR2 (VL-CDR2) 和轻链可变区CDR3 (VL-CDR3);

(3) 重链可变区 (VH),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:111中所示的重链可变区CDR1 (VH-CDR1)、重链可变区CDR2 (VH-CDR2) 和重链可变区CDR3 (VH-CDR3);和轻链可变区 (VL),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:112中所示的轻链可变区CDR1 (VL-CDR1)、轻链可变区CDR2 (VL-CDR2) 和轻链可变区CDR3 (VL-CDR3);

(4) 重链可变区 (VH),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:109中所示的重链可变区CDR1 (VH-CDR1)、重链可变区CDR2 (VH-CDR2) 和重链可变区CDR3 (VH-CDR3);轻链可变区 (VL),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:110中所示的轻链可变区CDR1 (VL-CDR1)、轻链可变区CDR2 (VL-CDR2) 和轻链可变区CDR3 (VL-CDR3);

(5) 重链可变区 (VH),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:113中所示的重链可变区CDR1 (VH-CDR1)、重链可变区CDR2 (VH-CDR2) 和重链可变区CDR3 (VH-CDR3);和轻链可变区 (VL),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:114中所示的轻链可变区CDR1 (VL-CDR1)、轻链可变区CDR2 (VL-CDR2) 和轻链可变区CDR3 (VL-CDR3);

(6) 重链可变区 (VH),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:115中所示的重链可变区CDR1 (VH-CDR1)、重链可变区CDR2 (VH-CDR2) 和重链可变区CDR3 (VH-CDR3);和轻链可变区 (VL),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:116中所示的轻链可变区CDR1 (VL-CDR1)、轻链可变区CDR2 (VL-CDR2) 和轻链可变区CDR3 (VL-CDR3);

(7) 重链可变区 (VH),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:119中所示的重链可变区CDR1 (VH-CDR1)、重链可变区CDR2 (VH-CDR2) 和重链可变区CDR3 (VH-CDR3);和轻链可变区 (VL),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:120中所示的轻链可变区CDR1 (VL-CDR1)、轻链可变区CDR2 (VL-CDR2) 和轻链可变区CDR3 (VL-CDR3);或者

(8) 重链可变区 (VH),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:121中所示的重链可变区CDR1 (VH-CDR1)、重链可变区CDR2 (VH-CDR2) 和重链可变区CDR3 (VH-CDR3);和轻链可变区 (VL),其包含如氨基酸序列SEQ ID NO:122中所示的轻链可变区CDR1 (VL-CDR1)、轻链可变区CDR2 (VL-CDR2) 和轻链可变区CDR3 (VL-CDR3)。

2. 如权利要求1所述的结合剂,其中:

(1) VH-CDR1包含SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列,VH-CDR2包含SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列,VH-CDR3包含SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列,VL-CDR1包含SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列,VL-CDR2包含SEQ ID NO:31所示的氨基酸序列,以及VL-CDR3包含SEQ ID NO:32所示的氨基酸序列;

(2) VH-CDR1包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,VH-CDR2包含SEQ ID NO:28所示的

氨基酸序列, VH-CDR3包含SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列, VL-CDR1包含SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列, VL-CDR2包含SEQ ID NO:31所示的氨基酸序列, 以及VL-CDR3包含SEQ ID NO:32所示的氨基酸序列;

(3) VH-CDR1包含SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列, VH-CDR2包含SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列, VH-CDR3包含SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列, VL-CDR1包含SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列, VL-CDR2包含SEQ ID NO:31所示的氨基酸序列, 以及VL-CDR3包含SEQ ID NO:32所示的氨基酸序列;

(4) VH-CDR1包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列, VH-CDR2包含SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列, VH-CDR3包含SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列, VL-CDR1包含SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列, VL-CDR2包含SEQ ID NO:31所示的氨基酸序列, 以及VL-CDR3包含SEQ ID NO:32所示的氨基酸序列; 或者

(5) VH-CDR1包含SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列, VH-CDR2包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列, VH-CDR3包含SEQ ID NO:107所示的氨基酸序列, VL-CDR1包含SEQ ID NO:108所示的氨基酸序列, VL-CDR2包含SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列, 以及VL-CDR3包含SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列。

3. 如权利要求2所述的结合剂, 其中所述VH包含如SEQ ID NO:123所示的氨基酸序列, 并且所述VL包含如SEQ ID NO:124所示的氨基酸序列。

4. 如权利要求2或3所述的结合剂, 其包含如SEQ ID NO:126所示氨基酸序列的重链, 和包含如SEQ ID NO:128所示氨基酸序列的轻链。

5. 一种分离的核酸, 其编码如权利要求1-4任一项所述的结合剂。

6. 一种表达载体, 其包含如权利要求5所述的核酸。

7. 一种分离的细胞, 其包含如权利要求5所述的分离的核酸或如权利要求6所述的表达载体。

8. 一种药物组合物, 其包含 (a) 如权利要求1-4任一项所述的结合剂; 和 (b) 药学上可接受的载体。

9. 一种制备特异性结合人ILT3的结合剂的方法, 所述方法包括:

(a) 在使所述结合剂表达的条件下培养如权利要求7所述的分离的细胞, 和

(b) 分离所述结合剂;

任选地, 其中所述方法还包括将所述结合剂配制成无菌药物组合物。

10. 如权利要求1-4任一项所述的结合剂或如权利要求8所述的药物组合物在制备用于治疗受试者的癌症的药物中的用途, 其中如权利要求1-4任一项所述的结合剂或如权利要求8所述的药物组合物将被施用于受试者。

ILT3结合剂及其使用方法

[0001] 本申请是申请日为2020年12月17日、发明名称为“ILT3结合剂及其使用方法”、申请号为202080087154.2的中国发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2019年12月19日提交的美国临时申请号62/950,434的优先权权益,所述申请的内容以引用的方式整体并入本文。

技术领域

[0004] 本公开总体上涉及结合免疫球蛋白样转录物3 (ILT3) 的剂 (特别是结合人ILT3的抗体)、以及包含所述ILT3结合剂的组合物和使用所述剂和组合物的方法。

背景技术

[0005] 免疫疗法的基础是操纵和/或调节免疫系统,包括先天性免疫应答和适应性免疫应答两者。免疫疗法的一般目的是通过控制对“外来因子”(例如病原体或肿瘤细胞)的免疫应答来治疗疾病。然而,在一些情形中,将免疫疗法用于治疗可能由针对正常在体内存在的蛋白质、分子和/或组织的异常免疫应答引起的自身免疫性疾病。免疫疗法可以包括诱导或增强特异性免疫应答或者抑制或降低特异性免疫应答的方法。

[0006] 免疫系统是由大量细胞类型组成的高度复杂的系统,所述细胞类型包括但不限于T细胞、B细胞、自然杀伤细胞、抗原呈递细胞、树突细胞、单核细胞和巨噬细胞。这些细胞拥有复杂而微妙的系统来控制它们的相互作用和反应。细胞利用激活和抑制机制以及反馈回路来约束反应,并且不允许不受控制的免疫应答(例如,自身免疫性疾病或细胞因子风暴)的负面结果。

[0007] 免疫系统的一些抑制机制使用来自白细胞Ig样受体 (LILR) 家族的蛋白质。白细胞Ig样受体亚家族B (LILRB) 是一组I型跨膜糖蛋白,具有细胞外Ig样结构域和细胞质免疫受体基于酪氨酸抑制基序 (ITIM)。这组含ITIM的受体包括5个成员:LILRB1 (又称为CD85J、LIR1、ILT2)、LILRB2 (又称为CD85D、LIR2、ILT4)、LILRB3 (又称为CD85A、LIR3、ILT5)、LILRB4 (又称为CD85K、LIR5、ILT3)、LILRB5 (又称为CD85C、LIR8)。许多这些LILRB (ILT) 的生物学功能和临床意义仍在研究中。

[0008] 癌症免疫监测的概念基于这样的理论,即免疫系统可以识别肿瘤细胞,启动免疫应答并抑制肿瘤的发展和/或生长。然而,很明显,许多癌细胞已经发展出机制和/或劫持正常的抑制机制来逃避免疫系统,这可以允许肿瘤不受抑制地生长。癌症/肿瘤免疫疗法(免疫肿瘤学)集中于开发能够激活和/或增强免疫系统以实现对癌症/肿瘤细胞的更有效攻击的新的和新型的剂,从而导致增加对癌症/肿瘤细胞的杀伤和/或对癌症/肿瘤生长的抑制。

发明内容

[0009] 本公开提供了结合免疫球蛋白样转录物3 (ILT3) 的剂。尽管在出版物中以许多名称提及LILRB家族成员,但本文将使用术语“ILT3” (LILRB4)。剂包括但不限于多肽,诸如特

异性地结合ILT3的抗体。剂在本文中可以被称为“ILT3结合剂”。本公开提供了制备和使用ILT3结合剂的方法。在一些实施方案中,ILT3结合剂抑制ILT3活性。在一些实施方案中,ILT3结合剂增强免疫应答。在一些实施方案中,ILT3结合剂逆转对免疫细胞的抑制。在一些实施方案中,在组合疗法中使用ILT3结合剂。在一些实施方案中,ILT3结合剂与至少一种另外的治疗剂组合使用。

[0010] 本公开还提供了包含本文所述的ILT3结合剂的组合物。在一些实施方案中,本公开提供了包含本文所述的ILT3结合剂的药物组合物。提供了编码所述ILT3结合剂的多核苷酸和/或载体。还提供了包含本文所述的多核苷酸和/或载体的细胞。提供了包含或产生本文所述的ILT3结合剂的细胞。还提供了制备本文所述的结合剂的方法。

[0011] 在一个方面,本公开的特征在于结合人ILT3并抑制人ILT3与纤连蛋白结合的抗体。在一些情形中,此抗体以任何组合或排列具有以下特性中的一种或多种(例如,1种、2种、3种、4种、5种、6种、7种、8种、9种、10种、11种或12种):也结合cyno ILT3;不结合或仅弱结合(相对于ILT3)ILT2、ILT4、ILT5和LILRB5;不结合或仅弱结合(相对于ILT3)LILRA1、LILRA2、LILRA4、LILRA5和LILRA6;是ILT3拮抗剂;抑制ILT3活性;抑制表达ILT3的细胞中的ILT3信号传导;抑制ILT3与APOE的结合;抑制ILT3与CNTFR的结合;抑制ILT3诱导的骨髓细胞抑制;抑制ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制;恢复表达ILT3的骨髓细胞中的FcR激活;和恢复表达ILT3的骨髓细胞中的趋化因子产生。在一些情形中,此抗体对人ILT3的 K_D 为 $1\mu\text{M}$ 至 1pM 、 1nM 至 1pM 、或 100nM 至 1pM (例如,通过Biacore评估)。在一些情形中,此抗体包含人IgG1恒定区。在一些情形中,此抗体包含人 κ 轻链恒定区。在一些情形中,此抗体包含人IgG1恒定区和人 κ 轻链恒定区。在某些情况下,人IgG1恒定区包含一个或多个降低或消除Fc效应子功能的突变。在某些情况下,人IgG1恒定区包含降低效应子功能的N297G突变。在一些情形中,此抗体是ILT3结合抗体片段。

[0012] 在一个方面,本公开提供了结合ILT3的剂。在一些实施方案中,剂结合人ILT3。在一些实施方案中,剂结合食蟹猴(“cyno”)ILT3。在一些实施方案中,剂结合人ILT3和cyno ILT3。在一些实施方案中,剂结合SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4和/或SEQ ID NO:5。在一些实施方案中,剂结合SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和/或SEQ ID NO:10。在一些实施方案中,剂是抗体。在一些实施方案中,剂是结合人ILT3的抗体。在一些实施方案中,剂是结合cyno ILT3的抗体。在一些实施方案中,剂是结合人ILT3和cyno ILT3的抗体。

[0013] 在一些实施方案中,剂在ILT3的胞外结构域内结合。在一些实施方案中,剂在SEQ ID NO:1的氨基酸22-259内结合。在一些实施方案中,剂在SEQ ID NO:1的氨基酸27-118内结合。在一些实施方案中,剂在SEQ ID NO:1的氨基酸124-218内结合。在一些实施方案中,剂在SEQ ID NO:1的氨基酸27-218内结合。在一些实施方案中,剂在SEQ ID NO:1的氨基酸124-259内结合。在一些实施方案中,剂结合在ILT3的胞外结构域内的构象表位。在一些实施方案中,剂结合ILT3的一个Ig样C2型结构域(例如,D1或D2结构域)内的构象表位。在一些实施方案中,剂结合ILT3的两个Ig样C2型结构域(D1和D2结构域)内的构象表位。在一些实施方案中,剂结合ILT3的D2茎区内的构象表位。在一些实施方案中,剂与位于ILT3的D1与D2结构域之间(例如,在D1与D2结构域之间的连接处)的构象表位结合。

[0014] 在一个方面,本公开提供了结合人ILT3并且具有以下特性中的至少一种或多种的

剂：(i) 结合cyno ILT3；(ii) 结合人和cyno ILT3；(iii) 不结合ILT2、ILT4、ILT5和LILRB5；(iv) 不结合LILRA1、LILRA2、LILRA4、LILRA5和LILRA6；(v) 是ILT3拮抗剂；(vi) 抑制ILT3活性；(vii) 抑制表达ILT3的细胞中的ILT3信号传导；(viii) 抑制ILT3与APOE的结合；(ix) 抑制ILT3与纤连蛋白的结合；(x) 抑制ILT3与CNTFR的结合；(xi) 抑制ILT3诱导的骨髓细胞抑制；(xii) 抑制ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制；(xiii) 恢复表达ILT3的骨髓细胞中的FcR活性；和(xiv) 恢复或增加表达ILT3的骨髓细胞中的趋化因子产生。在一些实施方案中，骨髓细胞是单核细胞。在一些实施方案中，骨髓细胞是巨噬细胞。在一些实施方案中，骨髓细胞是树突细胞。在一些实施方案中，骨髓细胞是致耐受性树突细胞。在一些实施方案中，骨髓细胞是抗原呈递细胞(APC)。

[0015] 在一个方面，本公开提供了特异性地结合人ILT3的剂。在一些实施方案中，本公开提供了ILT3结合剂(例如，抗体)，其中所述结合剂包含：(a) 重链可变区，所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29) 或具有一个置换(例如在位置5处的甲硫氨酸置换为另一个氨基酸(例如，酪氨酸))的SEQ ID NO:29的重链可变区CDR3；和(b) 轻链可变区，所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:30) 或具有一个或两个置换(例如在位置7处的天冬氨酸置换为另一个氨基酸(例如，谷氨酸)和/或在位置11处的天冬酰胺置换为另一个氨基酸(例如，丝氨酸))的SEQ ID NO:30的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含具有与SEQ ID NO:27-32基本相同的氨基酸序列的重链和轻链可变区CDR。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含重链可变区，所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:105) 的重链可变区CDR3；和轻链可变区，所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含具有与SEQ ID NO:27、28、105、106、31和32基本相同的氨基酸序列的重链和轻链可变区CDR。

[0016] 在一些实施方案中，ILT3结合剂(例如，抗体)包含：(a) 与SEQ ID NO:111 (5A7) 或SEQ ID NO:123 (Hz5A7.v5) 具有至少80%序列同一性的重链可变区；和/或(b) 与SEQ ID NO:112 (5A7) 或SEQ ID NO:124 (Hz5A7.v5) 具有至少80%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:111具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:112具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:123具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:124具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含SEQ ID NO:111的重链可变区和/或SEQ ID NO:112的轻链可变区。在

一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:111的重链可变区和SEQ ID NO:112的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:123的重链可变区和/或SEQ ID NO:124的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:123的重链可变区和SEQ ID NO:124的轻链可变区。

[0017] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含来自SEQ ID NO:111的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或来自SEQ ID NO:112的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含来自SEQ ID NO:123的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或来自SEQ ID NO:124的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含具有与来自SEQ ID NO:111的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和/或具有与来自SEQ ID NO:112的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含具有与来自SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和/或具有与来自SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0018] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:111的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:112的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:123的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:124的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:111的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:112的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:123的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:124的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0019] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是包含SEQ ID NO:126的重链和/或SEQ ID NO:128的轻链的抗体。在一些实施方案中,ILT3结合剂是包含SEQ ID NO:126的重链和SEQ ID NO:128的轻链的抗体。在一些实施方案中,ILT3结合剂是单克隆抗体,所述单克隆抗体包含含有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的轻链。

[0020] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体,所述抗体包含具有Hz5A7.v5的VH CDR和与SEQ ID NO:126至少70%(例如,至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%)相同的氨基酸序列的重链,和/或具有Hz5A7.v5的VL CDR和与SEQ ID NO:128至少70%(例如,至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%)相同的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,

ILT3结合剂是抗体,所述抗体包含具有与SEQ ID NO:126至少70% (例如,至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%) 相同的氨基酸序列的重链,和具有与SEQ ID NO:128至少70% (例如,至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%) 相同的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,ILT3结合剂是单克隆抗体,所述单克隆抗体包含具有与SEQ ID NO:126至少70% (例如,至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%) 相同的氨基酸序列的重链,和具有与SEQ ID NO:128至少70% (例如,至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%) 相同的氨基酸序列的轻链。

[0021] 在一些实施方案中,如SEQ ID NO:156-160中任一者所示的Hz48A6的重链可变区或如SEQ ID NO:162-163中任一者所示的Hz45G10的重链可变区被附加到SEQ ID NO:129。在某些实施方案中,如SEQ ID NO:156-160中任一者所示的Hz48A6的重链可变区或如SEQ ID NO:162-163中任一者所示的Hz45G10的重链可变区被附加到SEQ ID NO:129,除了在SEQ ID NO:129中引入了N297G突变以消除效应子功能。

[0022] 在一些实施方案中,如SEQ ID NO:161中所示的Hz48A6的轻链可变区或如SEQ ID NO:164中所示的Hz45G10的轻链可变区被附加到SEQ ID NO:135。在其他实施方案中,如SEQ ID NO:161中所示的Hz48A6的轻链可变区或如SEQ ID NO:164中所示的Hz45G10的轻链可变区被附加到SEQ ID NO:136。

[0023] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFSLTSYGVH (SEQ ID NO:11) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列VIWPGGTINYSALMS (SEQ ID NO:12) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13) 的重链可变区CDR3;和/或(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LASNRHT (SEQ ID NO:15) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列LQHLNYPLT (SEQ ID NO:16) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含具有与SEQ ID NO:11-16基本相同的氨基酸序列的重链和轻链可变区CDR。

[0024] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:109具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%) 同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:110具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%) 同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:109的重链可变区和/或SEQ ID NO:110的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:109的重链可变区和SEQ ID NO:110的轻链可变区。

[0025] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含来自SEQ ID NO:109的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或来自SEQ ID NO:110的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含具有与来自SEQ ID NO:109的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和/或具有与来自SEQ ID NO:110的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻

链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0026] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:109的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:110的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:109的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:110的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0027] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD(SEQ ID NO:43)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPNNGGTGYNQKFNS(SEQ ID NO:44)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列SPYYDYVGSYAMDY(SEQ ID NO:45)的重链可变区CDR3;和/或(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列TASSSVSSSYLH(SEQ ID NO:46)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列STSNLAS(SEQ ID NO:47)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列HQYHRSPRT(SEQ ID NO:48)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含具有与SEQ ID NO:43-48基本相同的氨基酸序列的重链和轻链可变区CDR。

[0028] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:113具有至少80%(例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:114具有至少80%(例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:113的重链可变区和/或SEQ ID NO:114的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:113的重链可变区和SEQ ID NO:114的轻链可变区。

[0029] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含来自SEQ ID NO:113的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或来自SEQ ID NO:114的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含具有与来自SEQ ID NO:113的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和/或具有与来自SEQ ID NO:114的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0030] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:113的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:114的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:113的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:114的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0031] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD(SEQ ID NO:43)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPSNNGGTGYNQKFNS(SEQ ID NO:59)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列VPYYDYLYYYAMDY(SEQ ID NO:60)的重链可变区CDR3;和/或(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基

酸序列RASSSVSFMH (SEQ ID NO:61) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列ATSNLAS (SEQ ID NO:62) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQWSTNPYMYT (SEQ ID NO:63) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含具有与SEQ ID NO:43、59、60、61、62和63基本相同的氨基酸序列的重链和轻链可变区CDR。

[0032] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:115具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%) 同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:116具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%) 同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:115的重链可变区和/或SEQ ID NO:116的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:115的重链可变区和SEQ ID NO:116的轻链可变区。

[0033] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含来自SEQ ID NO:115的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或来自SEQ ID NO:116的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂 (例如,抗体) 包含具有与来自SEQ ID NO:115的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和/或具有与来自SEQ ID NO:116的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0034] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:115的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:116的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂 (例如,抗体) 包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:115的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:116的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0035] 在一些实施方案中,ILT3结合剂 (例如,抗体) 包含 (a) 重链可变区,所述重链可变区包含所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSYDGMH (SEQ ID NO:71) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIFSGSSTIYYADTVKG (SEQ ID NO:72) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73) 的重链可变区CDR3,和/或 (b) 轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISKFLN (SEQ ID NO:74) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS (SEQ ID NO:75) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含具有与SEQ ID NO:71-76基本相同的氨基酸序列的重链和轻链可变区CDR。

[0036] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:117具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%) 同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:118具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%) 同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:162具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%) 同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:164具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%) 同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:163具有至少80% (例如,至少

85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:164具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:117的重链可变区和/或SEQ ID NO:118的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:117的重链可变区和SEQ ID NO:118的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:162的重链可变区和/或SEQ ID NO:164的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:162的重链可变区和SEQ ID NO:164的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:163的重链可变区和/或SEQ ID NO:164的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:163的重链可变区和SEQ ID NO:163的轻链可变区。

[0037] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含来自SEQ ID NO:117的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或来自SEQ ID NO:118的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含具有与来自SEQ ID NO:117的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和/或具有与来自SEQ ID NO:118的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0038] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:117的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:118的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:117的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:118的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0039] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISSGGTYTFYPDSVKG (SEQ ID NO:87)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列RGWLLHYAMDY (SEQ ID NO:88)的重链可变区CDR3;和/或(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RPSESVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LSSKLES (SEQ ID NO:90)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含具有与SEQ ID NO:27、87、88、89、90和91基本相同的氨基酸序列的重链和轻链可变区CDR。

[0040] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:119具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:120具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:156具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:161具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:157具有至少80% (例如,至少

85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:161具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:158具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:161具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:159具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:161具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:160具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:161具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:119的重链可变区和/或SEQ ID NO:120的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:119的重链可变区和SEQ ID NO:120的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:156的重链可变区和/或SEQ ID NO:161的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:156的重链可变区和SEQ ID NO:161的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:157的重链可变区和/或SEQ ID NO:161的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:157的重链可变区和SEQ ID NO:161的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:158的重链可变区和/或SEQ ID NO:161的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:158的重链可变区和SEQ ID NO:161的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:159的重链可变区和/或SEQ ID NO:161的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:159的重链可变区和SEQ ID NO:161的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:160的重链可变区和/或SEQ ID NO:161的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:160的重链可变区和SEQ ID NO:161的轻链可变区。

[0041] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含来自SEQ ID NO:119的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或来自SEQ ID NO:120的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含具有与来自SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和/或具有与来自SEQ ID NO:120的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0042] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:119的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:120的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:119的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:120的氨基酸序列的

CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0043] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSDYGMH(SEQ ID NO:71)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YISTGIITVYYADTVKG(SEQ ID NO:99)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY(SEQ ID NO:73)的重链可变区CDR3;和/或(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISNFLN(SEQ ID NO:100)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS(SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT(SEQ ID NO:76)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含具有与SEQ ID NO:71、99、73、100、75和76基本相同的氨基酸序列的重链和轻链可变区CDR。

[0044] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:121具有至少80%(例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的重链可变区和/或与SEQ ID NO:122具有至少80%(例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:121的重链可变区和/或SEQ ID NO:122的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含SEQ ID NO:121的重链可变区和SEQ ID NO:122的轻链可变区。

[0045] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含来自SEQ ID NO:121的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或来自SEQ ID NO:122的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含具有与来自SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和/或具有与来自SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0046] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:121的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:122的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含重链可变区和/或轻链可变区,所述重链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:121的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,所述轻链可变区包含具有与来自SEQ ID NO:122的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0047] 在本公开的另一个方面,本文提供了与本文所述的任何ILT3结合剂竞争结合ILT3的结合剂(例如,抗体)。在一些实施方案中,本文提供了与参考抗体竞争结合ILT3的剂,其中所述参考抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS(SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG(SEQ ID NO:28)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY(SEQ ID NO:29)或REWRYTLYAMDY(SEQ ID NO:105)的重链可变区CDR3;和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH(SEQ ID NO:30)或RASESVESYGSSFMH(SEQ ID NO:106)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES(SEQ ID NO:31)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNNEDPFT(SEQ ID NO:32)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,本文提供了与参考抗体竞争结合ILT3的剂,其中所述参考抗体包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS(SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列

TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29) 或REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105) 的重链可变区CDR3, 和 (b) 轻链可变区, 所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:30) 或RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNEDPFT (SEQ ID NO:32) 的轻链可变区CDR3, 并且其中所述与所述参考抗体竞争的剂包含: (a) 含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISSGGTYTFYPDSVKG (SEQ ID NO:87) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列RGWLLHYAMDY (SEQ ID NO:88) 的重链可变区CDR3, 和 (b) 含有氨基酸序列RPSESVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LSSKLES (SEQ ID NO:90) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91) 的轻链可变区CDR3。

[0048] 在上述方面和实施方案以及本文所述的其他方面和实施方案中的每个方面和实施方案的一些实施方案中, ILT3结合剂是抗体。在一些实施方案中, 抗体是单克隆抗体。在一些实施方案中, 抗体是人源化抗体。在一些实施方案中, 抗体是人抗体。在一些实施方案中, 抗体是嵌合抗体 (即, 所述抗体的可变区来自一个物种, 并且所述抗体的恒定区来自不同的物种)。在一些实施方案中, 抗体是整个或完整的抗体。在一些实施方案中, 抗体是双特异性抗体或多特异性抗体。在一些实施方案中, 抗体是包含至少一个抗原结合位点的抗体片段。在一些实施方案中, 抗体或抗体片段是Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、(scFv)₂、单链抗体、双可变区抗体、单可变区抗体、线性抗体、双抗体、纳米抗体或V区抗体。在一些实施方案中, 抗体是IgG抗体。在一些实施方案中, 抗体是IgG1抗体、IgG2抗体、IgG3抗体或IgG4抗体。在一些实施方案中, 抗体包含κ轻链。在一些实施方案中, 抗体包含λ轻链。

[0049] 在上述方面和实施方案以及本文所述的其他方面和实施方案中的每个方面和实施方案的一些实施方案中, ILT3结合剂 (直接或间接) 与半衰期延长部分衔接。

[0050] 在上述方面和实施方案以及本文所述的其他方面和实施方案中的每个方面和实施方案的一些实施方案中, 本文所述的ILT3结合剂是ILT3的拮抗剂。在一些实施方案中, ILT3结合剂抑制ILT3活性。在一些实施方案中, ILT3结合剂是拮抗性抗体。在一些实施方案中, ILT3结合剂是抑制ILT3诱导的免疫细胞抑制的抗体。在一些实施方案中, ILT3结合剂是抑制ILT3诱导的骨髓细胞抑制的抗体。在一些实施方案中, ILT3结合剂是重新激活致耐受性树突细胞的抗体。

[0051] 在另一个方面, 本公开提供了包含本文所述的ILT3结合剂的组合物。在一些实施方案中, 组合物包含本文所述的抗ILT3抗体。在一些实施方案中, 组合物包含本文所述的单克隆抗ILT3抗体。在一些实施方案中, 组合物包含选自由以下组成的组的抗ILT3抗体: 3A3、5A7、Hz5A7.v5、12A12、16C5、45G10、48A6、Hz45G10、Hz48A6和53F10。

[0052] 在另一个方面, 本公开提供了包含本文所述的ILT3结合剂和药学上可接受的载剂的药物组合物。在一些实施方案中, 药物组合物包含本文所述的抗ILT3抗体和药学上可接受的载剂。在一些实施方案中, 药物组合物包含本文所述的单克隆抗ILT3抗体和药学上可接受的载剂。在一些实施方案中, 药物组合物包含选自由3A3、5A7、Hz5A7.v5、12A12、16C5、45G10、48A6、Hz45G10、Hz48A6和53F10组成的组的抗ILT3抗体和药学上可接受的载体。在一些实施方案中, 药物组合物包含抗ILT3抗体和药学上可接受的载体, 所述抗ILT3抗体包含

重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含选自由以下组成的组的抗ILT3抗体的VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3:3A3、5A7、Hz5A7.v5、12A12、16C5、45G10、48A6、Hz45G10(实施例15中所述的2种人源化Hz45G10抗体中的任一种)、Hz48A6(实施例15中所述的5种人源化Hz48A6抗体中的任一种)和53F10;所述轻链可变区包含选自由以下组成的组的抗ILT3抗体的VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3:3A3、5A7、Hz5A7.v5、12A12、16C5、45G10、48A6、Hz45G10(实施例15中所述的2种人源化Hz45G10抗体中的任一种)、Hz48A6(实施例15中所述的5种人源化Hz48A6抗体中的任一种)和53F10。

[0053] 在上述方面以及本文别处所述的其他方面和/或实施方案中的每个方面和/或实施方案的一些实施方案中,ILT3结合剂是分离的。在一些实施方案中,ILT3结合剂是基本上纯的。

[0054] 在另一个方面,本公开提供了多核苷酸,所述多核苷酸包含编码本文所述的ILT3结合剂的一种或多种多核苷酸。在一些实施方案中,一种或多种多核苷酸是分离的。在一些实施方案中,载体包含编码本文所述的ILT3结合剂的一种或多种多核苷酸。在一些实施方案中,分离的细胞包含编码本文所述的ILT3结合剂的一种或多种多核苷酸。在一些实施方案中,分离的细胞包含载体,所述载体包含编码本文所述的ILT3结合剂的一种或多种多核苷酸。在一些实施方案中,细胞包含本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,细胞产生本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,细胞为单克隆细胞系。在一些实施方案中,细胞为杂交瘤。

[0055] 在另一个方面,本公开提供了使用本文所述的ILT3结合剂的方法。在一些实施方案中,方法包括使用包含本文所述的ILT3结合剂的组合物。在一些实施方案中,方法包括使用包含本文所述的ILT3结合剂的药物组合物。

[0056] 在一些实施方案中,提供了破坏、抑制或阻断ILT3与配体和/或结合配偶体结合的方法。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断细胞混合物中的ILT3与纤连蛋白结合的方法包括使所述细胞与本文所述的ILT3结合剂接触。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断细胞混合物中的ILT3与APOE结合的方法包括使所述细胞与本文所述的ILT3结合剂接触。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断细胞混合物中的ILT3与CNTFR结合的方法包括使所述细胞与本文所述的ILT3结合剂接触。

[0057] 在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断受试者中的ILT3与纤连蛋白结合的方法包括向所述受试者施用有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断受试者中的ILT3与APOE结合的方法包括向所述受试者施用有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断受试者中的ILT3与CNTFR结合的方法包括向所述受试者施用有效量的本文所述的ILT3结合剂。

[0058] 在一些实施方案中,提供了破坏、抑制或阻断ILT3活性的方法。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断细胞混合物中的纤连蛋白诱导的ILT3活性的方法包括使所述细胞与本文所述的ILT3结合剂接触。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断ILT3诱导的骨髓细胞抑制的方法包括使所述细胞与本文所述的ILT3结合剂接触。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制的方法包括使所述细胞与本文所述的ILT3结合剂接触。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制的方法恢复了骨髓细胞中的FcR活性。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断ILT3诱导的骨髓活性抑制的方法恢

恢复了骨髓细胞中的趋化因子/细胞因子产生。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制的方法恢复了细胞增殖活性。在一些实施方案中,骨髓细胞是单核细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是巨噬细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是树突细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是致耐受性树突细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是APC。

[0059] 在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断受试者中的纤连蛋白诱导的ILT3活性的方法包括向所述受试者施用有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断受试者中的ILT3诱导的骨髓细胞抑制的方法包括向所述受试者施用有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断受试者中的ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制的方法包括向所述受试者施用有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断受试者中的ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制的方法恢复了骨髓细胞中的FcR活性,和/或恢复了骨髓细胞中的趋化因子/细胞因子产生。在一些实施方案中,骨髓细胞是单核细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是巨噬细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是树突细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是致耐受性树突细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是抗原呈递细胞(APC)。

[0060] 在一些实施方案中,治疗受试者中的癌症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,施用本文所述的ILT3结合剂刺激/激活了肿瘤相关的抑制性骨髓细胞,例如,通过阻断ILT3与纤连蛋白、APOE或CNTFR之间的相互作用,导致免疫应答诸如抗肿瘤T细胞反应的增加,并因此激活受试者中针对所述癌症/肿瘤的免疫应答。在一些实施方案中,施用本文所述的ILT3结合剂阻断抑制性肿瘤微环境中的ILT3与纤连蛋白之间的相互作用,并且重新编程/刺激骨髓细胞(诸如致耐受性树突细胞)。结果,这增加了骨髓细胞对T细胞募集趋化因子的分泌以及骨髓细胞在肿瘤微环境中诱导T细胞增殖和细胞因子分泌的能力。在一些实施方案中,癌症是乳腺癌、肺癌、头颈癌、结肠直肠癌、前列腺癌、皮肤癌、黑素瘤、胃癌(stomach cancer)、胃部癌(gastric cancer)、肠癌、宫颈癌、子宫癌、子宫内膜癌、膀胱癌、脑癌、食管癌、肝癌、肾癌或睾丸癌。在一些实施方案中,癌症是胰腺癌。在一些实施方案中,癌症是卵巢癌。在一些实施方案中,癌症是肉瘤。在一些实施方案中,癌症是血液病。在一些实施方案中,癌症是骨髓性白血病。在一些实施方案中,骨髓性癌症是急性髓样白血病(AML)。在一些实施方案中,骨髓性癌症是慢性髓样白血病。在一些实施方案中,癌症是骨髓增生异常综合征。骨髓增生异常综合征(MDS)是其中骨髓中的未成熟血细胞不成熟并因此无法成为健康的血细胞的一组癌症。在一些实施方案中,骨髓增生异常综合征会发展成AML。在一些实施方案中,癌症或癌症所在的微环境富含纤连蛋白。在一些实施方案中,癌症或癌症所在的微环境比其非癌对应物具有更高的纤连蛋白表达。在一些实施方案中,癌症的肿瘤微环境具有增加的纤连蛋白表达水平。在一些实施方案中,癌症表达ILT3。在一些实施方案中,癌症是表达ILT3的某种类型的B细胞白血病或淋巴瘤。

[0061] 在一些实施方案中,抑制受试者中的肿瘤生长的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,增加或增强对受试者中的肿瘤或肿瘤细胞的免疫应答的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,激活或增强对受试者中的肿瘤或肿瘤细胞的持续或长期免疫应答的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,抑制受

试者中的肿瘤复发或肿瘤再生的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,诱导抑制受试者中的肿瘤复发或肿瘤再生的持久或长期免疫的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,肿瘤是胰腺肿瘤、乳腺肿瘤、肺部肿瘤、头颈部肿瘤、结肠直肠肿瘤、前列腺肿瘤、皮肤肿瘤、黑素瘤肿瘤、胃肿瘤(stomach tumor)、胃部肿瘤(gastric tumor)、肠肿瘤、卵巢肿瘤、宫颈肿瘤、子宫肿瘤、子宫内膜肿瘤、膀胱肿瘤、脑部肿瘤、食管肿瘤、肝肿瘤、肾肿瘤、睾丸肿瘤、肉瘤或血液肿瘤。在一些实施方案中,肿瘤源自骨髓增生异常综合征。在一些实施方案中,肿瘤表达ILT3。在一些实施方案中,肿瘤是表达ILT3的某种类型的B细胞白血病或淋巴瘤。

[0062] 在一些实施方案中,激活肿瘤受试者中的例如肿瘤微环境中的骨髓细胞的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,骨髓细胞是原代树突细胞或致耐受性树突细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是单核细胞或巨噬细胞。在一些实施方案中,重新激活受试者中的致耐受性树突细胞的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,在肿瘤微环境中发现了致耐受性树突细胞。

[0063] 在又另一个方面,本公开提供了治疗人受试者中的癌症的方法。所述方法包括向所述人受试者施用治疗有效量的本文所述的抗体或药物组合物。在一些情况下,癌症或癌症所在的微环境富含纤连蛋白。在一些实施方案中,癌症或癌症所在的微环境比其非癌对应物具有更高的纤连蛋白表达。在一些实施方案中,癌症的肿瘤微环境具有增加的纤连蛋白表达水平。在一些实施方案中,癌症表达ILT3。在某些情况下,癌症是胰腺癌、乳腺癌、肺癌、头颈癌、结肠直肠癌、前列腺癌、皮肤癌、黑素瘤、胃癌、胃部癌、肠癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、子宫内膜癌、膀胱癌、脑癌、食管癌、肝癌、肾癌、肉瘤或睾丸癌、血液癌、骨髓性白血病、急性髓样白血病(AML)、慢性髓样白血病或骨髓增生异常综合征。

[0064] 在本文所述的任何方法的一些实施方案中,作为组合疗法的一部分,向受试者施用ILT3结合剂。在一些实施方案中,组合疗法包含至少一种另外的治疗剂。

[0065] 在另一个方面,本公开提供了包含本文所述的结合剂或抗体和抗PD-1抗体的组合。在另一个方面,本公开提供了包含用于抑制人ILT-3与纤连蛋白之间相互作用的剂和抗PD-1抗体的组合。抑制ILT-3与纤连蛋白之间相互作用的剂是本文所述的抗体。

[0066] 在另一个方面,本公开的特征在于包含本文所述的抗体和药学上可接受的载剂的药物组合物。还公开了本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)在制造用于治疗癌症的药物中的用途。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂的用途是用于治疗癌症。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂的用途是用于抑制肿瘤生长。

[0067] 在另一个方面,本公开的特征在于包含用于抑制人ILT3与纤连蛋白之间相互作用的剂和药学上可接受的载剂的药物组合物。在一些情形中,抑制人ILT3与纤连蛋白之间相互作用的剂是抗人ILT3抗体。在某些情况下,抗体包含重链可变区的VH-CDR1、VH-CDR2和VH-CDR3以及轻链可变区的VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3,其中所述重链可变区和所述轻链可变区分别包含以下中的氨基酸序列:SEQ ID NO:123和124;SEQ ID NO:156和161;SEQ ID NO:157和161;SEQ ID NO:158和161;SEQ ID NO:159和161;SEQ ID NO:160和161;SEQ ID NO:162和164;或SEQ ID NO:163和164。在一些情况下,抗体包含重链可变区的VH-CDR1、VH-

CDR2和VH-CDR3以及轻链可变区的VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3,其中所述重链可变区和所述轻链可变区分别包含以下中的氨基酸序列:SEQ ID NO:123和124;SEQ ID NO:156和161;SEQ ID NO:157和161;SEQ ID NO:158和161;SEQ ID NO:159和161;SEQ ID NO:160和161;SEQ ID NO:162和164;或SEQ ID NO:163和164。

[0068] 在上述方面和实施方案以及本文所述的其他方面和实施方案中的每个方面和实施方案的一些实施方案中,受试者是人。

[0069] 在根据马库什(Markush)组或其他替代分组来描述本公开的方面或实施方案的情况下,本公开不仅涵盖作为整体列出的整个组,而且还包括所述组的每个单独成员和大组的所有可能的亚组以及缺少一个或多个组成员的大组。本公开还设想在所要求保护的公开内容中明确排除一个或多个任何组成员。

附图说明

[0070] 图1A-1F.用抗ILT3抗体和表达LILRB的细胞进行FACS筛选的代表性结果。

[0071] 图2A-2E.用抗ILT3抗体和表达LILRA的细胞进行FACS筛选的代表性结果。

[0072] 图3.报告细胞测定-ILT3和LX-2细胞相互作用。将LX-2细胞的大批培养物在基础培养基或激活培养基中培养三天。收获并洗涤经处理和未经处理的LX-2细胞。将 2×10^5 个LX-2细胞与 4×10^5 个报告细胞一起共培养,所述报告细胞含有(i)没有受体的报告细胞;(ii)具有B7-H4胞外结构域的报告细胞;或(iii)具有ILT3胞外结构域的报告细胞。将细胞在含有10%FBS的RPMI 1640中于37°C孵育过夜。将报告细胞用CellTracker深红色预染色,以便在分析时将它们与LX-2细胞区分开来。第二天,通过FACS测定报告细胞的GFP表达。

[0073] 图4.使用免疫沉淀和凝胶电泳鉴定ILT3配体。根据制造商的说明书,使用蛋白G dynabead进行免疫沉淀。在4°C下,将10 μ g ILT3ECD-Fc或对照人Fc与50 μ l磁性Dynabead结合30分钟。除去上清液,并且添加来自未经处理或激活的LX-2细胞的蛋白质裂解物。对于每种处理条件,将含有大约615 μ g蛋白质的裂解物添加到Dynabead复合物中,并且在4°C下伴随温和和旋转孵育过夜。去除蛋白质裂解物,并且将Dynabead用200 μ l裂解缓冲液洗涤三次,每次洗涤5分钟。向Dynabead中添加50 μ l的由比率为15:4:1的蛋白质加载缓冲液、还原剂和裂解缓冲液构成的洗脱缓冲液。将蛋白质在95°C下洗脱5分钟,并且将样品(每种蛋白质洗脱液10 μ l)在聚丙烯酰胺电泳凝胶上运行。为了鉴定感兴趣的条带,根据制造商的说明书,使用PlusOne银染试剂盒(GE Healthcare)进行银染分析。使用Gel Doc™ EZ系统(Bio-Rad)对凝胶进行成像。

[0074] 图5.报告细胞测定-ILT3与纤连蛋白的相互作用。在室温下用PBS中的5 μ g/mL的人Fc蛋白(R&D Systems)、血浆来源的纤连蛋白(Millipore)或重组纤连蛋白(R&D Systems)包被96孔Maxisorp(Nunc)板2小时。将板用PBS洗涤两次,然后用含有10%FBS的RPMI 1640封闭。将表达B7-H4胞外结构域、LAIR1胞外结构域或ILT3胞外结构域的NFAT-GFP报告细胞(如本文实施例5中所述)(1×10^5 个细胞/孔)添加到包被的孔中,并且将板在37°C下孵育过夜。通过FACS测定细胞的GFP表达并且将其与非激活的报告细胞进行比较。

[0075] 图6.对ILT3与纤连蛋白相互作用的抗体抑制。在室温下用PBS中的5 μ g/mL血浆来源的纤连蛋白包被96孔Maxisorp板1小时。包被后,将同种型对照抗体、抗ILT3抗体16C5、抗纤连蛋白抗体F14(兔单克隆抗体)或抗纤连蛋白抗体PA5(兔多克隆抗体)以5或20 μ g/mL的

终浓度添加到孔中。将表达ILT3胞外结构域的NFAT-GFP报告细胞(1×10^5 个细胞/孔)添加到孔中,并且将板在37°C下孵育过夜。通过FACS测定细胞的GFP表达并且将其与非激活的报告细胞进行比较。

[0076] 图7.对ILT3与纤连蛋白相互作用的抗体抑制。在室温下用5 μ g/mL血浆来源的纤连蛋白包被96孔Maxisorp板1小时。包被后,将同种型对照抗体、抗ILT3抗体16C5或抗ILT3抗体ch5A7以66nM至0.0002nM范围内的6倍稀释液添加到孔中。接下来,将表达ILT3胞外结构域的NFAT-GFP报告细胞(1×10^5 个细胞/孔)添加到孔中,并且将板在37°C下孵育过夜。通过FACS测定细胞的GFP表达并且将其与非激活的报告细胞进行比较。

[0077] 图8.纤连蛋白结构的示意图。

[0078] 图9.鉴定纤连蛋白上的ILT3结合位点的报告细胞测定。用全长纤连蛋白或纤连蛋白片段包被96孔Maxisorp板。将板在室温下孵育2小时。将板用PBS洗涤两次,然后用含有10%FBS的RPMI 1640封闭。将表达ILT3胞外结构域的NFAT-GFP报告细胞(1×10^5 个细胞/孔)添加到孔中,并且将板在37°C下孵育过夜。通过FACS测定细胞的GFP表达并且将其与非激活的报告细胞进行比较。

[0079] 图10.鉴定纤连蛋白上的ILT3结合位点的报告细胞测定。制备并且在96孔Maxisorp板上包被纤连蛋白片段以及全长纤连蛋白。将板在室温下孵育2小时。将板用PBS洗涤两次,然后用含有10%FBS的RPMI 1640封闭。将表达ILT3胞外结构域的NFAT-GFP报告细胞(1×10^5 个细胞/孔)添加到孔中,并且将板在37°C下孵育过夜。通过FACS测定细胞的GFP表达并且将其与非激活的报告细胞进行比较。

[0080] 图11.FcR诱导的THP-1细胞激活。用5 μ g/mL的纤连蛋白和0、1、5和10 μ g/mL的抗KLH抗体共同包被96孔Maxisorp板。将板在室温下孵育2小时,用PBS洗涤两次,并且用含有10%FBS的RPMI 1640封闭。将THP-1或THP-1 ILT3-KO细胞(2×10^5 个细胞/孔)添加到孔中,并且将板在37°C下孵育过夜。收集无细胞培养上清液,并且通过Luminex测定测量IL-8。将IL-8归一化为在没有FcR刺激的情况下的THP-1细胞的IL-8。

[0081] 图12A-12C.FcR诱导的THP-1细胞激活。12A.用纤连蛋白和抗KLH抗体共同包被96孔Maxisorp板。将板在室温下孵育2小时,洗涤,并且用含有10%FBS的RPMI 1640封闭。在存在抗ILT3抗体16C5(5 μ g/mL)或抗KLH抗体的情况下将THP-1或THP-1ILT3-KO细胞(2×10^5 个细胞/孔)添加到孔中。将板在37°C下孵育过夜,收集无细胞培养上清液,并且通过Luminex测定测量IL-8。12B.从冷冻保存的外周血单核细胞中分离出人单核细胞。为了产生树突细胞,将单核细胞以 2×10^6 个细胞/mL铺板在含有人GM-CSF和人IL-4的X-VIVO™ 15培养基中并培养5-7天。用纤连蛋白和抗KLH抗体共同包被96孔Maxisorp板。将板在室温下孵育2小时,洗涤,并且用含有10%FBS的RPMI 1640封闭。在存在抗ILT3抗体16C5或抗KLH抗体的情况下将树突细胞(2×10^5 个细胞/孔)添加到孔中。将板在37°C下孵育过夜,收集无细胞培养上清液,并且通过Luminex测定测量TNF- α 。12C.用纤连蛋白和抗KLH抗体包被96孔Maxisorp板。将板在室温下孵育1小时,用PBS洗涤,并且用X-VIVO™ 15培养基封闭30分钟。将树突细胞洗涤,重悬于X-VIVO™ 15培养基中,并且与抗ILT3抗体16C5、抗ILT3抗体ch5A7或对照抗KLH抗体一起在室温下孵育20分钟。将细胞铺板到包被的孔中(7×10^4 个细胞/孔)并孵育过夜。24小时后收获培养基,以通过Luminex测定确定TNF α 产生。

[0082] 图13.FcR诱导的THP-1细胞激活。在室温下用人纤连蛋白和抗KLH抗体共同包被

Nunc Maxisorp板2小时。在添加细胞和测试抗体之前,将板用X-VIVO™ 15培养基封闭30分钟。将X-VIVO™ 15培养基中的THP-1Dual™ KI-mSTING报告细胞(2×10^6 个细胞/mL)与对照抗体、抗ILT3抗体16C5或抗ILT3抗体ch5A7以1:1的比率混合。将混合物孵育30分钟,以100 μ L/孔接种到板上,将板孵育过夜。通过以下方式测量报告子活性:将25 μ L培养物上清液与100 μ L Quanti-Blue SEAP底物组合,在37 $^{\circ}$ C下孵育样品2小时并读取620nm处的吸光度。

[0083] 图14. ILT3与内源性表达的纤连蛋白的结合。将Detroit 551细胞以 6×10^3 个细胞/孔铺板到聚-D-赖氨酸包被的384孔板中,并且孵育两天。将单层用含有 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 的HBSS漂洗。在存在抗ILT3抗体16C5、抗ILT3抗体ch5A7或对照抗KLH抗体的情况下,将ILT3-ECD-Fc添加到孔中。将抗体在含有ILT3-ECD-Fc(范围为66nM至0.27nM)的培养基中连续稀释3倍。将细胞在室温下孵育1小时,然后用HBSS洗涤三次,并且用3.7%福尔马林固定10分钟。将单层用PBS冲洗,并且在用Hoechst染色剂和可商购获得的多克隆抗ILT3抗体染色之前用PBS中的1%BSA封闭。添加AlexaFluor 647缀合的兔抗山羊Fc二抗,对细胞进行成像,并且使用CellInsight成像系统对荧光水平进行定量。

[0084] 图15. 抗ILT3抗体对树突细胞的趋化因子产生的影响。使用Incucyte® Zoom活细胞分析系统进行巨噬细胞迁移测定。在37 $^{\circ}$ C下用50 μ g/mL的Matrigel®(在X-VIVO™ 15培养基中用10%FBS稀释)预包被Incucyte Clear-View 96孔趋化性板(Sartorius)的膜30分钟,然后在室温下包被30分钟。将巨噬细胞(5×10^3 个细胞/孔)添加到趋化性板的顶部室中,并用来源于树突细胞的条件培养基填充底部室。24小时内每小时捕获相差图像,并使用Incucyte分析软件分析数据。

[0085] 图16A-16B. 同种异体MLR测定。

[0086] 图17A-17B. 抗ILT3抗体对树突细胞的细胞因子产生的影响。

[0087] 图18A-18B. 抗ILT3抗体对耐受化树突细胞的影响。

[0088] 图19. 用抗ILT3抗体组合抗PD-1抗体进行同种异体MLR测定。

[0089] 图20A-20B显示了抗ILT3抗体逆转纤连蛋白介导的对原代巨噬细胞中的FcR信号传导和TNF- α 产生的抑制。

[0090] 图21A-21B显示了抗ILT3抗体逆转纤连蛋白介导的对IL-10极化的巨噬细胞中的FcR信号传导和IL-6产生的抑制。

[0091] 图22显示了抗ILT3抗体逆转纤连蛋白介导的对表达食蟹猴ILT3的THP-1细胞中的FcR信号传导(NF-kB报告子活性)的抑制。

[0092] 图23显示了抗ILT3抗体逆转纤连蛋白(FN)介导的对食蟹猴单核细胞来源的树突细胞中的MIP-1 α 产生的抑制。*表示 $P < 0.001$ 。

[0093] 图24显示了抗ILT3抗体逆转纤连蛋白(FN)介导的对食蟹猴单核细胞来源的树突细胞中的FcR信号传导和IL-8产生的抑制。*表示 $P < 0.01$ 。

[0094] 图25. 抗ILT3抗体在人源化小鼠模型中的抗肿瘤活性。

具体实施方式

[0095] 本公开提供了结合免疫球蛋白样转录物3(ILT3)的新型剂,包括但不限于多肽,诸如抗体。ILT3结合剂包括但不限于多肽、抗体(包括其抗原结合片段)、支架蛋白和异二聚体分子。ILT3结合剂包括但不限于ILT3活性的拮抗剂、ILT3活性的抑制剂和/或抑制ILT3抑制

活性的剂。还提供了相关多肽、多核苷酸、载体、包含所述剂的组合物、包含所述相关多核苷酸或载体的细胞和制备所述剂的方法。还提供了使用所述新型ILT3结合剂的方法。

[0096] I. 定义

[0097] 为了更全面地理解本申请，下面阐明了几个定义。此类定义意味着涵盖语法等同物。

[0098] 术语“抗体”以最广泛的含义使用，并且包括例如完整的免疫球蛋白和含有抗原结合部分的抗体片段。传统的抗体结构单元通常包含四聚体。每个四聚体通常由两个相同对的多肽链构成，每对多肽链具有一条“轻”链(分子量通常为约25 kDa)和一条“重”链(分子量通常为约50-70 kDa)。人轻链被分为 κ 和 λ 轻链。本发明涉及通常基于IgG类别的抗体或抗体片段(抗体单体)，所述IgG类别具有几个亚类，包括但不限于IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。一般来说，IgG1、IgG2和IgG4的使用频率高于IgG3。应该注意的是，IgG具有不同的同种异型。所有IgG同种异型都可以用于本发明。例如，IgG1在356(D或E)和358(L或M)处具有多态性。本文中所述序列使用356E/358M同种异型，然而，其他同种异型也包括在本文中。如本领域技术人员所理解的，互补决定区(CDR)的精确编号和位置在不同的编号系统中可以不同。然而，应该理解可变重链和/或可变轻链序列的公开包括相关(固有)CDR的公开。因此，每个重链可变区(VH)的公开是VHCDR(例如，VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3)的公开，并且每个轻链可变区(VL)的公开是VLCDR(例如，VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3)的公开。

[0099] 对CDR编号有用的比较如下，参见Lafranc等人，Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77(2003)：

	Ka bat+ Ch othia	IM GT	K abat	Ab M	Ch othia	Co ntact
vh CDR1	26- 35	27-3 8	31 -35	26- 35	26- 32	30- 35
vh CDR2	50- 65	56-6 5	50 -65	50- 58	52- 56	47- 58
vh CDR3	95- 102	105- 117	95 -102	95- 102	95- 102	93- 101
vlC DR1	24- 34	27-3 8	24 -34	24- 34	24- 34	30- 36
vlC DR2	50- 56	56-6 5	50 -56	50- 56	50- 56	46- 55
vlC DR3	89- 97	105- 117	89 -97	89- 97	89- 97	89- 96

[0101] 关于蛋白质序列的“氨基酸序列同一性百分比(%)”、“序列同一性百分比(%)”或“同一性百分比(%)”被定义为在比对所述序列并引入空位(如果需要的话)以实现最大序列同一性百分比之后并且在不将任何保守置换视为序列同一性的部分的情况下，候选序列中与特定(母体)序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。为了测定氨基酸序列同

一性百分比的比对可以通过本领域技术范围内的多种方式实现,例如,使用公开获得的计算机软件诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign (DNASTAR) 软件。本领域技术人员可以确定用于测量比对的适当参数,包括实现在所比较序列的全长上实现最大比对所需的任何算法。一个特别的程序是在美国公开号20160244525的段落[0279]至[0280] (据此以引用的方式并入) 中概述的ALIGN-2程序。Smith和Waterman, *Advances in Applied Mathematics*, 2: 482-489 (1981) 的局部同源性算法提供了核酸序列的另一种近似比对。此算法可以通过使用由Dayhoff, *Atlas of Protein Sequences and Structure*, M.O. Dayhoff编辑, 5增刊3: 353-358, National Biomedical Research Foundation, Washington, D.C., USA开发并且由Gribskov, *Nucl. Acids Res.* 14 (6) : 6745-6763 (1986) 标准化的评分矩阵应用于氨基酸序列中。

[0102] 如本文所用的“Fc”或“Fc区”或“Fc结构域”意指包含抗体恒定区(排除第一恒定区免疫球蛋白结构域(例如, CH1)) 以及在某些情况下铰链的一部分的多肽。对于IgG, Fc结构域包含免疫球蛋白结构域CH2和CH3 (C γ 2和C γ 3) 以及在CH1 (C γ 1) 与CH2 (C γ 2) 之间的较低级铰链区。尽管Fc区的边界可能有所不同, 但人IgG重链Fc区通常被定义为包括残基C226或P230至其羧基末端, 其中编号是根据Kabat的EU索引。因此, IgG上下文中的“CH”结构域为如下: “CH1”是指根据Kabat的EU索引的位置118-215。“铰链”是指根据Kabat的EU索引的位置216-230。“CH2”是指根据Kabat的EU索引的位置231-340, 并且“CH3”是指根据Kabat的EU索引的位置341-447。因此, “Fc结构域”包括-CH2-CH3结构域, 以及任选的铰链结构域(铰链-CH2-CH3)。在一些实施方案中, 如下文更全面描述的, 对Fc区进行氨基酸修饰, 例如以改变与一种或多种Fc γ R受体或与FcRn受体的结合。

[0103] 如本文所用的“骨髓细胞”是指任何具有骨髓来源的细胞, 包括但不限于单核细胞、巨噬细胞和树突细胞。

[0104] 如本文所用的关于CDR氨基酸序列的“基本相同”是指CDR序列中至少1个氨基酸修饰(例如, 1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸修饰), 其中与包含六个原始CDR的抗原结合结构域相比, CDR序列的修饰与其余五个CDR (在五个CDR的任何一个或多个中有或没有进一步修饰) 组合不改变所得抗原结合结构域的亲和力(通过例如Biacore系统中的SPR技术测量的K_d) 超过50倍。

[0105] II. ILT3结合剂

[0106] 人ILT3 (UniProtKB编号Q8NHJ6) 和食蟹猴 (“cyno”) ILT3 (NCBI参考号XP_015297198) 的氨基酸(aa) 序列在本文中分别作为SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:6提供。如本文所用, 提及ILT3的氨基酸位置是指对包括信号序列的氨基酸序列的编号。

[0107] ILT3是一种单程I型跨膜蛋白, 预测分子量为约47kDa。已观察到ILT3主要在骨髓抗原呈递细胞诸如正常单核细胞、巨噬细胞和树突细胞上表达。ILT3的特征在于包含两个Ig样C2型结构域的胞外结构域、跨膜结构域和含有3个ITIM结构域的长的胞质结构域(参见例如, Cella等人, 1997, *J. Exp. Med.*, 185:1743-1751)。所述两个Ig样C2型结构域在本文中可以被称为结构域1 (D1) 和结构域2 (D2)。D1位于蛋白质的N末端部分, 并且D2位于最靠近跨膜区的位置。如UniProtKB中所表征的, 人ILT3是448个氨基酸(aa) 的蛋白质-信号序列为aa 1-21, 胞外结构域为aa 22-259, 跨膜区为aa 260-280并且胞质结构域为aa 281-448。在胞外结构域内, D1为aa 27-188, D2为aa 124-218并且“茎区”为aa 219-259。在胞质结构域内,

ITIM为aa 358-363、410-415和440-445。

[0108] 在一些实施方案中,ILT3结合剂结合ILT3或ILT3的片段。在一些实施方案中,ILT3的片段包含胞外结构域。在一些实施方案中,ILT3的片段包含Ig样C2型结构域之一(例如,D1或D2)。在一些实施方案中,ILT3的片段包含两个Ig样C2型结构域(例如,D1-D2)。在一些实施方案中,ILT3的片段包含两个Ig样C2型结构域和茎区(例如,D1-D2-茎)。在一些实施方案中,ILT3的片段包含Ig样C2型结构域之一和茎区(例如,D1-茎或D2-茎)。在一些实施方案中,人ILT3的胞外结构域包含SEQ ID NO:1的氨基酸22-259。在一些实施方案中,人ILT3的D1包含SEQ ID NO:1的氨基酸27-118。在一些实施方案中,人ILT3的D2包含SEQ ID NO:1的氨基酸124-218。在一些实施方案中,人ILT3的D1-D2包含SEQ ID NO:1的氨基酸27-218。在一些实施方案中,人ILT3的D1-D2-茎包含SEQ ID NO:1的氨基酸27-259。在一些实施方案中,人ILT3的D2-茎包含SEQ ID NO:1的氨基酸124-259。在一些实施方案中,人ILT3的片段包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列。在一些实施方案中,人ILT3的片段包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。在一些实施方案中,人ILT3的片段包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列。在一些实施方案中,人ILT3的片段包含SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:5的氨基酸序列。在一些实施方案中,cyno ILT3的胞外结构域包含SEQ ID NO:6的氨基酸22-259。在一些实施方案中,cyno ILT3的D1包含SEQ ID NO:6的氨基酸27-118。在一些实施方案中,cyno ILT3的D2包含SEQ ID NO:6的氨基酸124-218。在一些实施方案中,cyno ILT3的D1-D2包含SEQ ID NO:6的氨基酸27-218。在一些实施方案中,cyno ILT3的D1-D2-茎包含SEQ ID NO:6的氨基酸27-259。在一些实施方案中,cyno ILT3的D2-茎包含SEQ ID NO:6的氨基酸124-259。在一些实施方案中,cyno ILT3的片段包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一些实施方案中,cyno ILT3的片段包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列。在一些实施方案中,cyno ILT3的片段包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。在一些实施方案中,cyno ILT3的片段包含SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的氨基酸序列。应当理解,本领域技术人员可以不同地定义ILT3(例如,人ILT3或cyno ILT3)的结构域,因此任何ILT3结构域或区域的N末端氨基酸和C末端氨基酸都可以有1个、2个、3个、4个、5个或更多个氨基酸残基的不同。

[0109] 本公开提供了结合ILT3的剂(例如,抗体)。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合ILT3的片段。在一些实施方案中,ILT3结合剂在ILT3的特定区域内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂在在ILT3的胞外结构域内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂在ILT3的D1结构域内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂在ILT3的D2结构域内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂在ILT3的D2-茎区域内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂在ILT3的D1与D2结构域之间的连接处内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合ILT3上的表位。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合ILT3上的构象表位。在一些实施方案中,ILT3结合剂不结合其他的人LILRB蛋白(例如,ILT2、ILT4、ILT5或LILRB5)。在一些实施方案中,ILT3结合剂不结合人LILRA蛋白(例如,LILRA1、LILRA2、LILRA4、LILRA5或LILRA6)。

[0110] 在一些实施方案中,ILT3结合剂结合人ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合cyno ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合人ILT3和cyno ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合SEQ ID NO:1。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合SEQ ID NO:2。在一些实施方案中,ILT3结合剂在SEQ ID NO:1的氨基酸22-259内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂在SEQ ID NO:1的氨基酸27-118内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂在SEQ ID NO:

1的氨基酸124-218内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂在SEQ ID NO:1的氨基酸124-259内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂在SEQ ID NO:1的氨基酸27-218内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合SEQ ID NO:3。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合SEQ ID NO:4。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合SEQ ID NO:5。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:5的ILT3片段。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合SEQ ID NO:6。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合SEQ ID NO:7。在一些实施方案中,ILT3结合剂在SEQ ID NO:6的氨基酸22-259内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂在SEQ ID NO:6的氨基酸27-118内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂在SEQ ID NO:6的氨基酸124-218内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂在SEQ ID NO:6的氨基酸27-218内结合。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合SEQ ID NO:8。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合SEQ ID NO:9。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合SEQ ID NO:10。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的ILT3片段。

[0111] 在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列和SEQ ID NO:5的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列和SEQ ID NO:10的氨基酸序列的多肽。

[0112] 在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:2内的氨基酸的表位。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:3内的氨基酸的表位。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:4内的氨基酸的表位。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:5内的氨基酸的表位。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:5内的氨基酸的表位。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:7内的氨基酸的表位。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:8内的氨基酸的表位。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:9内的氨基酸的表位。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:10内的氨基酸的表位。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合包含SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10内的氨基酸的表位。

[0113] 在一些实施方案中,ILT3结合剂结合人ILT3,并且具有以下特性中的至少一种或多种:(i)结合cyno ILT3;(ii)结合人和cyno ILT3;(iii)不结合ILT2、ILT4、ILT5和LILRB5;(iv)不结合LILRA1、LILRA2、LILRA4、LILRA5和LILRA6;(v)是ILT3拮抗剂;(vi)抑制ILT3活性;(vii)抑制表达ILT3的细胞中的ILT3信号传导;(viii)抑制ILT3与APOE的结合;(ix)抑制ILT3与纤连蛋白的结合;(x)抑制ILT3与CNTFR的结合;(xi)抑制ILT3诱导的骨髓细胞抑制;(xii)抑制ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制;(xiii)恢复表达ILT3的骨髓细胞中的FcR活性;和(xiv)恢复表达ILT3的骨髓细胞响应于趋化因子和/或产生趋化因子的能力。

[0114] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体。在一些实施方案中,抗体是重组抗体。在

一些实施方案中,抗体是单克隆抗体。在一些实施方案中,抗体是嵌合抗体。在一些实施方案中,抗体是人源化抗体。在一些实施方案中,抗体是人抗体。在一些实施方案中,抗体是IgG抗体。在一些实施方案中,抗体是IgG1抗体。在一些实施方案中,抗体是IgG2抗体。在一些实施方案中,抗体是IgG3抗体。在一些实施方案中,抗体是IgG4抗体。在一些实施方案中,抗体包含IgG重链。在一些实施方案中,抗体包含IgG1重链。在一些实施方案中,抗体包含IgG2重链。在一些实施方案中,抗体包含IgG4重链。在一些实施方案中,抗体包含 κ 轻链。在一些实施方案中,抗体包含 κ 轻链恒定区。在一些实施方案中,抗体包含 λ 轻链。在一些实施方案中,抗体包含 λ 轻链恒定区。在一些实施方案中,抗体是包含抗原结合位点的抗体片段。在一些实施方案中,抗体是scFv。在一些实施方案中,抗体是二硫键连接的scFv。在一些实施方案中,抗体是二硫键连接的sc(Fv)₂。在一些实施方案中,抗体是Fab、Fab'或F(ab)₂抗体。在一些实施方案中,抗体是双抗体。在一些实施方案中,抗体是纳米抗体。在一些实施方案中,抗体是单特异性抗体。在一些实施方案中,抗体是双特异性抗体。在一些实施方案中,抗体是多特异性抗体。在一些实施方案中,抗体是单价抗体。在一些实施方案中,抗体是多价抗体。在一些实施方案中,抗体是双价抗体。在一些实施方案中,抗体是四价抗体。

[0115] 在一些实施方案中,抗体是分离的。在一些实施方案中,抗体是基本上纯的。

[0116] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是多克隆抗体。多克隆抗体可以通过本领域技术人员已知的任何方法制备。在一些实施方案中,通过使用多次皮下或腹膜内注射用感兴趣的抗原(例如,纯化的肽片段、重组蛋白或融合蛋白)免疫动物(例如,兔、大鼠、小鼠、山羊、驴)来产生多克隆抗体。在一些实施方案中,将抗原与载体蛋白如匙孔血蓝蛋白(KLH)、血清白蛋白、牛甲状腺球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制剂缀合。将抗原(有或没有载体蛋白)稀释在无菌盐水中,并且通常与佐剂(例如,完全或不完全弗氏佐剂)组合以形成稳定的乳液。一段时间之后,从免疫的动物(例如,从血液或腹水)中回收多克隆抗体。在一些实施方案中,根据本领域的标准方法(包括但不限于亲和层析、离子交换色谱、凝胶电泳和/或透析),从血清或腹水中纯化多克隆抗体。

[0117] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是单克隆抗体。在一些实施方案中,使用本领域技术人员已知的任何方法制备单克隆抗体。在一些实施方案中,使用本领域技术人员已知的杂交瘤方法制备单克隆抗体。例如,使用杂交瘤方法,如上文所述使小鼠、大鼠、兔、仓鼠或其他适当的宿主动物免疫。在一些实施方案中,在体外使淋巴细胞免疫。在一些实施方案中,免疫抗原是人蛋白质或其片段。在一些实施方案中,免疫抗原是小鼠蛋白质或其片段。在一些实施方案中,免疫抗原是cyno蛋白质或其片段。

[0118] 免疫后,分离淋巴细胞,并且使用例如聚乙二醇与合适的骨髓瘤细胞系融合。使用如本领域已知的专门培养基选择杂交瘤细胞,并且未融合的淋巴细胞和骨髓瘤细胞不能在选择过程中存活。产生特异性地针对所选抗原的单克隆抗体的杂交瘤可以通过各种方法鉴定,所述方法包括但不限于免疫沉淀、免疫印迹和体外结合测定(例如,流式细胞术、FACS、ELISA、SPR(例如,Biacore)和放射免疫测定)。一旦鉴定出产生所需特异性、亲和力和/或活性的抗体的杂交瘤细胞,就可以将克隆通过有限稀释技术亚克隆。在一些实施方案中,使用高通量方法将单细胞杂交瘤细胞分配到板中。杂交瘤可以使用标准方法在体外培养中繁殖,或者在动物中作为腹水肿瘤在体内繁殖。根据本领域的标准方法(包括但不限于亲和层析、离子交换色谱、凝胶电泳和透析),可以从培养基或腹水中纯化单克隆抗体。

[0119] 在一些实施方案中,使用本领域技术人员已知的重组DNA技术制备单克隆抗体。例如,从成熟B细胞或杂交瘤细胞中例如使用特异性地扩增编码所述抗体的重链和轻链的基因的寡核苷酸引物通过RT-PCR分离编码抗体的多核苷酸,并且使用标准技术确定它们的序列。然后将编码所述重链和轻链的分离的多核苷酸克隆到合适的表达载体中,所述表达载体在转染到宿主细胞诸如大肠杆菌、猿COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或不另外产生免疫球蛋白的骨髓瘤细胞中时产生单克隆抗体。

[0120] 在一些实施方案中,从表达所需物种的可变结构域或CDR的噬菌体展示文库中分离重组单克隆抗体。噬菌体文库的筛选可以通过本领域已知的各种技术来完成。

[0121] 在一些实施方案中,通过使用重组DNA技术来修饰单克隆抗体,以产生替代抗体。在一些实施方案中,小鼠单克隆抗体的轻链和重链的恒定区置换了人抗体的恒定区以产生嵌合抗体。在一些实施方案中,恒定区被截短或去除以产生单克隆抗体的所需抗体片段。在一些实施方案中,将可变区的定点或高密度诱变用于优化单克隆抗体的特异性和亲和力。

[0122] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是人源化抗体。用于产生人源化抗体的各种方法是本领域已知的。在一些实施方案中,人源化抗体包含已经从非人来源引入其中的一个或多个氨基酸残基。在一些实施方案中,人源化通过将一个人或多个非人CDR序列置换成人抗体的对应CDR序列来进行。在一些实施方案中,人源化抗体通过将非人抗体(例如,小鼠抗体)的所有六个CDR置换成人抗体的对应CDR来构建。

[0123] 可以基于多种因素并通过本领域已知的多种方法来选择用于产生人源化抗体的人重链可变区和/或轻链可变区。在一些实施方案中,使用“最适合”方法,其中对照已知人可变区序列的整个文库来筛选非人(例如啮齿动物)抗体的可变区序列。选择与非人(例如啮齿动物)序列最相似的人序列作为人源化抗体的人可变区框架。在一些实施方案中,选择从特定轻链或重链亚组的所有人抗体的共有序列来源的特定可变区框架作为可变区框架。在一些实施方案中,可变区框架序列来源于最丰富的人亚类的共有序列。在一些实施方案中,人种系基因被用作可变区框架序列的来源。

[0124] 用于人源化的其他方法包括但不限于被描述为将CDR直接转移到人种系框架中的称为“超人源化”的方法、基于“抗体人类性”度量的称为人字符串含量(Human String Content, HSC)的方法、基于产生人源化变体的大型文库(包括噬菌体、核糖体和酵母展示文库)的方法以及基于框架区改组的方法。

[0125] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是人抗体。可以使用本领域已知的各种技术制备人抗体。在一些实施方案中,人抗体由体外免疫的永生化人B淋巴细胞产生。在一些实施方案中,人抗体由从免疫的个体分离的淋巴细胞产生。在任何情况下,可以产生和分离产生针对靶抗原的抗体的细胞。在一些实施方案中,人抗体选自噬菌体文库,其中该噬菌体文库表达人抗体。可替代地,噬菌体展示技术可以用于在体外从来自未免疫的人供体的免疫球蛋白可变区基因库产生人抗体和抗体片段。抗体噬菌体文库的产生和使用技术是本领域熟知的。一旦抗体被鉴定,本领域已知的亲和力成熟策略(包括但不限于链改组和定点诱变)就可以用于产生更高亲和力的人抗体。在一些实施方案中,在含有人免疫球蛋白基因座的转基因小鼠中产生人抗体。免疫后,这些小鼠能够在没有内源性免疫球蛋白产生的情况下产生完整的人抗体库。

[0126] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体片段。如本文所用,术语“抗体片段”是指除

完整抗体之外的包含抗体的一部分和通常为抗原结合位点的分子。抗体片段的实例包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、单链抗体分子(例如,scFv)、二硫键连接的scFv(dsscFv)、纳米抗体、双抗体、三抗体、四抗体、微型抗体、双可变结构域抗体(DVD)、单可变结构域抗体(例如,骆驼科抗体)和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0127] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是scFv抗体。在一些实施方案中,scFv是二硫键连接的scFv(dsscFv),其是在scFv的轻链可变区与重链可变区之间包含工程化二硫键的scFv。在一些实施方案中,二硫键增加了scFv分子的稳定性。在一些实施方案中,二硫键增加了scFv分子的热稳定性。

[0128] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是Fv。在一些实施方案中,ILT3结合剂是Fab。在一些实施方案中,ILT3结合剂是F(ab')₂。在一些实施方案中,ILT3结合剂是F(ab')。

[0129] 抗体片段可以通过各种技术制备,所述技术包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化。本文所述的抗体片段可以使用本领域已知的重组技术(例如,大肠杆菌或噬菌体表达)来产生。

[0130] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是双特异性抗体。双特异性抗体能够识别并结合至少两种不同的抗原或表位。在一些实施方案中,ILT3结合剂是多特异性抗体。多特异性抗体能够识别并结合至少三种不同的抗原或表位。不同的表位可以是在同一分子内(例如,ILT3上的两个或更多个表位)或在不同的分子上(例如,ILT3上的一个表位和除ILT3以外的一个或多个靶标上的其余表位)。在一些实施方案中,与单个抗体或多于一种抗体的组合相比,双特异性或多特异性抗体具有增强的效力。在一些实施方案中,与单个抗体或多于一种抗体的组合相比,双特异性或多特异性抗体具有降低的毒性。本领域技术人员已知任何治疗剂都可能具有独特的药代动力学(PK)(例如,循环半衰期)。在一些实施方案中,双特异性或多特异性抗体具有同步两种或更多种活性结合剂的PK的能力,其中所述两种或更多种单独的结合剂具有不同的PK曲线。在一些实施方案中,双特异性或多特异性抗体具有将两种或更多种剂的作用集中在受试者(例如人)的共同区域(例如组织)的能力。在一些实施方案中,双特异性或多特异性抗体具有将两种或更多种剂的作用集中于共同靶标(例如,特定细胞类型)的能力。在一些实施方案中,双特异性或多特异性抗体具有将两种或更多种剂的作用靶向多于一个生物途径或功能的能力。在一些实施方案中,双特异性或多特异性抗体具有靶向两种或更多种不同细胞并且使它们更靠近在一起的能力。

[0131] 在一些实施方案中,双特异性或多特异性抗体具有降低的毒性和/或副作用。在一些实施方案中,与两种或更多种单独抗体的混合物或作为单一剂的抗体相比,双特异性或多特异性抗体具有降低的毒性和/或副作用。在一些实施方案中,双特异性或多特异性抗体具有增加的治疗指数。在一些实施方案中,与两种或更多种单独抗体的混合物或作为单一剂的抗体相比,双特异性或多特异性抗体具有增加的治疗指数。

[0132] 许多用于制备双特异性或多特异性抗体的技术是本领域技术人员已知的。在一些实施方案中,双特异性或多特异性抗体包含在作为两条重链之间界面的一部分的氨基酸中具有修饰的重链恒定区。进行这些修饰以增强异二聚体的形成,并且通常减少或消除同二聚体形成。在一些实施方案中,双特异性或多特异性抗体是使用杵臼结构(knobs-into-holes,KIH)策略产生的。在一些实施方案中,双特异性或多特异性抗体包含不能在相同重链之间形成二硫键的变体铰链区(例如,减少同二聚体形成)。在一些实施方案中,双特异性

或多特异性抗体包含具有导致静电相互作用改变的氨基酸变化的重链。在一些实施方案中，双特异性或多特异性抗体包含具有导致改变的疏水/亲水相互作用的氨基酸变化的重链。

[0133] 在一些实施方案中，双特异性或多特异性抗体可以是完整抗体或包含抗原结合位点的抗体片段。

[0134] 在一些实施方案中，ILT3结合剂是结合ILT3的抗体。在一些实施方案中，ILT3结合剂结合人ILT3。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合cyno ILT3。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合人ILT3和cyno ILT3。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合ILT3表位。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合人ILT3的胞外结构域内的ILT3表位。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合cyno ILT3的胞外结构域内的ILT3表位。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合包含在SEQ ID NO:1的氨基酸22-259内的至少一个氨基酸的表位。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合包含在SEQ ID NO:1的氨基酸22-120内的至少一个氨基酸的表位。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合包含在SEQ ID NO:1的氨基酸27-118内的至少一个氨基酸的表位。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合包含在SEQ ID NO:1的氨基酸121-259内的至少一个氨基酸的表位。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合包含在SEQ ID NO:1的氨基酸124-218内的至少一个氨基酸的表位。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合包含在SEQ ID NO:1的氨基酸124-259内的至少一个氨基酸的表位。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合包含在SEQ ID NO:3内的氨基酸的表位。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合包含在SEQ ID NO:4内的氨基酸的表位。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合包含在SEQ ID NO:5内的氨基酸的表位。在一些实施方案中，抗ILT3抗体结合包含在SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:5内的氨基酸的表位。在一些实施方案中，表位是构象表位。在一些实施方案中，表位是线性表位。

[0135] 在一些实施方案中，抗ILT3抗体与第二剂竞争在人ILT3的胞外结构域内结合。在一些实施方案中，抗ILT3抗体与第二剂竞争在cyno ILT3的胞外结构域内结合。在一些实施方案中，抗ILT3抗体与第二剂竞争在SEQ ID NO:1的氨基酸22-259内结合。在一些实施方案中，抗ILT3抗体与第二剂竞争在SEQ ID NO:1的氨基酸22-120内结合。在一些实施方案中，抗ILT3抗体与第二剂竞争在SEQ ID NO:1的氨基酸27-118内结合。在一些实施方案中，抗ILT3抗体与第二剂竞争在SEQ ID NO:1的氨基酸121-259内结合。在一些实施方案中，抗ILT3抗体与第二剂竞争在SEQ ID NO:1的氨基酸124-218内结合。在一些实施方案中，抗ILT3抗体与第二剂竞争在SEQ ID NO:1的氨基酸124-259内结合。在一些实施方案中，抗ILT3抗体与第二剂竞争在氨基酸序列SEQ ID NO:3内结合。在一些实施方案中，抗ILT3抗体与第二剂竞争在氨基酸序列SEQ ID NO:4内结合。在一些实施方案中，抗ILT3抗体与第二剂竞争在氨基酸序列SEQ ID NO:5内结合。在一些实施方案中，抗ILT3抗体与第二剂竞争在氨基酸序列SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:5内结合。

[0136] 在一些实施方案中，ILT3结合剂是本文所述的抗ILT3抗体。在一些实施方案中，ILT3结合剂是本文所述的抗ILT3抗体的变体。在一些实施方案中，ILT3抗体的变体保留了本文所述的ILT3结合剂的一个或多个结合特征。在一些实施方案中，抗ILT3抗体的变体包含1个至30个氨基酸置换。在一些实施方案中，抗ILT3抗体的变体包含1个至25个氨基酸置换。在一些实施方案中，抗ILT3抗体的变体包含1个至20个氨基酸置换。在一些实施方案中，抗ILT3抗体的变体包含1个至15个氨基酸置换。在一些实施方案中，抗ILT3抗体的变体包含

1个至10个氨基酸置换。在一些实施方案中,抗ILT3抗体的变体包含1个至5个氨基酸置换。在一些实施方案中,抗ILT3抗体的变体包含1个至3个氨基酸置换。在一些实施方案中,氨基酸置换在抗体的CDR中。在一些实施方案中,氨基酸置换不在抗体的CDR中。在一些实施方案中,氨基酸置换在抗体的框架区中。在一些实施方案中,氨基酸置换是保守氨基酸置换。

[0137] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含在本文所述的抗体的CDR中的一个或多个(例如,1个、2个、3个、4个、5个或6个等)氨基酸置换,同时保留本文所述的ILT3结合剂的一个或多个结合特征。在一些实施方案中,氨基酸置换是保守置换。在一些实施方案中,CDR包含一个氨基酸置换。在一些实施方案中,CDR包含两个氨基酸置换。在一些实施方案中,CDR包含三个氨基酸置换。在一些实施方案中,CDR包含四个氨基酸置换。在一些实施方案中,CDR是重链可变区CDR1。在一些实施方案中,CDR是重链可变区CDR2。在一些实施方案中,CDR是重链可变区CDR3。在一些实施方案中,CDR是轻链可变区CDR1。在一些实施方案中,CDR是轻链可变区CDR2。在一些实施方案中,CDR是轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,这六个CDR中的一个或多个具有不超过六个氨基酸置换。在一些实施方案中,置换作为人源化过程的一部分进行。在一些实施方案中,置换是作为种系人源化过程的一部分进行。在一些实施方案中,置换作为亲和力成熟过程的一部分进行。在一些实施方案中,置换作为优化过程的一部分进行。

[0138] 本领域技术人员使用各种方法/系统来定义抗体的CDR。这些系统和/或定义已经被开发和完善了许多年,并且包括Kabat、Chothia、IMGT、AbM和Contact。Kabat定义是基于序列可变性,并且被常用的。Chothia定义是基于结构环区域的位置。IMGT系统是基于序列可变性和在可变结构域的结构内的位置。AbM定义是在Kabat与Chothia之间的折衷。Contact定义是基于对可用抗体晶体结构的分析。示例性的系统是Kabat和Chothia的组合。用于分析抗体序列和确定CDR的软件程序(例如,abYsis)是可获得的并且是本领域技术人员已知的。

[0139] 本文所定义的特定CDR序列通常基于Kabat和Chothia定义的组合(示例性定义)。然而,应当理解,提及特定抗体的一个或多个重链可变区CDR和/或一个或多个轻链可变区CDR将涵盖本领域技术人员已知的所有CDR定义。

[0140] 在一些实施方案中,本文所述的抗ILT3抗体包含基于Kabat定义的抗体3A3、5A7、Hz5A7、12A12、16C5、45G10、48A6或53F10的六个CDR。在一些实施方案中,本文所述的抗ILT3抗体包含基于Chothia定义的抗体3A3、5A7、Hz5A7、12A12、16C5、45G10、48A6或53F10的六个CDR。在一些实施方案中,本文所述的抗ILT3抗体包含基于AbM定义的抗体3A3、5A7、Hz5A7、12A12、16C5、45G10、48A6或53F10的六个CDR。在一些实施方案中,本文所述的抗ILT3抗体包含基于IMGT定义的抗体3A3、5A7、Hz5A7、12A12、16C5、45G10、48A6或53F10的六个CDR。在一些实施方案中,本文所述的抗ILT3抗体包含基于Contact定义的抗体3A3、5A7、Hz5A7、12A12、16C5、45G10、48A6或53F10的六个CDR。在一些实施方案中,本文所述的抗ILT3抗体包含基于示例性定义的抗体3A3、5A7、Hz5A7、12A12、16C5、45G10、48A6或53F10的六个CDR。

[0141] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是包含本文所述的任何一种抗体的一个、两个、三个、四个、五个和/或六个CDR的抗ILT3抗体。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表1的一个、两个和/或三个重链可变区CDR的重链可变区,和/或(ii)含有来自表1的一个、两个和/或三个轻链可变区CDR的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)

含有来自表2的一个、两个和/或三个重链可变区CDR的重链可变区,和/或(ii)含有来自表2的一个、两个和/或三个轻链可变区CDR的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表3的一个、两个和/或三个重链可变区CDR的重链可变区,和/或(ii)含有来自表3的一个、两个和/或三个轻链可变区CDR的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表4的一个、两个和/或三个重链可变区CDR的重链可变区,和/或(ii)含有来自表4的一个、两个和/或三个轻链可变区CDR的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表5的一个、两个和/或三个重链可变区CDR的重链可变区,和/或(ii)含有来自表5的一个、两个和/或三个轻链可变区CDR的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表6的一个、两个和/或三个重链可变区CDR的重链可变区,和/或(ii)含有来自表6的一个、两个和/或三个轻链可变区CDR的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表7的一个、两个和/或三个重链可变区CDR的重链可变区,和/或(ii)含有来自表7的一个、两个和/或三个轻链可变区CDR的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表8的一个、两个和/或三个重链可变区CDR的重链可变区,和/或(ii)含有来自表8的一个、两个和/或三个轻链可变区CDR的轻链可变区。

[0142] 在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表1的三个重链可变区CDR的重链可变区,和(ii)含有来自表1的三个轻链可变区CDR的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表2的三个重链可变区CDR的重链可变区,和(ii)含有来自表2的三个轻链可变区CDR的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表3的三个重链可变区CDR的重链可变区,和(ii)含有来自表3的三个轻链可变区CDR的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表4的三个重链可变区CDR的重链可变区,和(ii)含有来自表4的三个轻链可变区CDR的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表5的三个重链可变区CDR的重链可变区,和(ii)含有来自表5的三个轻链可变区CDR的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表6的三个重链可变区CDR的重链可变区,和(ii)含有来自表6的三个轻链可变区CDR的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表7的三个重链可变区CDR的重链可变区,和(ii)含有来自表7的三个轻链可变区CDR的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(i)含有来自表8的三个重链可变区CDR的重链可变区,和(ii)含有来自表8的三个轻链可变区CDR的轻链可变区。

[0143]

表 1: 抗体 3A3 序列

	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
重链可变区 CDR1	GFSLTSYGVH (SEQ ID NO:11)	GFSLTSY (SEQ ID NO:17)	GFSLTSYGVH (SEQ ID NO:11)	SYGVH (SEQ ID NO:20)	TSYGVH (SEQ ID NO:21)
重链可变区 CDR2	VIWPGGTINYSALMS (SEQ ID NO:12)	WPGGT (SEQ ID NO:18)	VIWPGGTIN (SEQ ID NO:19)	VIWPGGTINYSALMS (SEQ ID NO:22)	WLGVIWPGGTIN (SEQ ID NO:22)
重链可变区 CDR3	DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13)	DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13)	DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13)	DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13)	ASDKYDGGWFAY (SEQ ID NO:23)
轻链可变区 CDR1	KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14)	KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14)	KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14)	KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14)	RTAVAWY (SEQ ID NO:24)
轻链可变区 CDR2	LASNRHT (SEQ ID NO:15)	LASNRHT (SEQ ID NO:15)	LASNRHT (SEQ ID NO:15)	LASNRHT (SEQ ID NO:15)	ALIYLASNRH (SEQ ID NO:25)
轻链可变区 CDR3	LQHLNYPLT (SEQ ID NO:16)	LQHLNYPLT (SEQ ID NO:16)	LQHLNYPLT (SEQ ID NO:16)	LQHLNYPLT (SEQ ID NO:16)	LQHLNYPL (SEQ ID NO:26)
3A3 重链可变区(SEQ ID NO:109)					
QVQLKESGPGLVAPSSQSLTCTVSGFSLTSYGVHVVRRPPGKGLEWLGVIWPGGTINYN					
SALMSRLSISKDNSKQVFLKLNLSLQTTDDTAMYYCASDKYDGGWFAYWGQGLTVTVA					
3A3 轻链可变区(SEQ ID NO:110)					
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSIICKASQNVRTAVAWYQKPKGQSPEALIYLASNRHTGVDPD					
RFTGSGGTDFLSISNVQSEDLADYFCLQHLNYPLTFGSGTKLEIK					

[0144]

表 2: 抗体 5A7 序列

	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
重链可变区 CDR1	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)	GFTFSSY (SEQ ID NO:33)	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)	SYGMS (SEQ ID NO:36)	SSYGMS (SEQ ID NO:37)
重链可变区 CDR2	TISGGGSYTNYPDSVK G (SEQ ID NO:28)	SGGGSY (SEQ ID NO:34)	TISGGGSYTN (SEQ ID NO:35)	TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28)	WVATISGGGSYTN (SEQ ID NO:38)
重链可变区 CDR3	REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29)	REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29)	REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29)	REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29)	ARREWRMTLYAMD (SEQ ID NO:39)
轻链可变区 CDR1	RASESVDSYGNFSFMH (SEQ ID NO:30)	RASESVDSYGNFSFM H (SEQ ID NO:30)	RASESVDSYGNFSFM H (SEQ ID NO:30)	RASESVDSYGNFSFMH (SEQ ID NO:30)	DSYGNFSFMHWY (SEQ ID NO:40)
轻链可变区 CDR2	LTSNLES (SEQ ID NO:31)	LTSNLES (SEQ ID NO:31)	LTSNLES (SEQ ID NO:31)	LTSNLES (SEQ ID NO:31)	LLIYLTSNLE (SEQ ID NO:41)
轻链可变区 CDR3	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:42)
5A7 重链可变区(SEQ ID NO:111)					
EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYGMWVRQTPEKRLWVATISGGGSYTN					
PDSVKGRLLTISRDNKKNLYLEMSSLRSEDTALYCARREWRMTLYAMDYWGQGISVTVSS					
5A7 轻链可变区(SEQ ID NO:112)					
NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNFSFMHWYQQKPKGQAPKLLIYLTSNLES					
GVPARFSGSGSRITDFLITIDPVEADDAATYYCQQNNEDPFTFGSGTKLEIK					

[0145]

表 3: 抗体 12A12 序列

	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
重链可变区 CDR1	GYTFIDYNMMD (SEQ ID NO:43)	GYTFIDY (SEQ ID NO:49)	GYTFIDYNMMD (SEQ ID NO:43)	DYNMMD (SEQ ID NO:52)	TDYNMMD (SEQ ID NO:53)
重链可变区 CDR2	YIYPNNGGTGYNQ KFNS (SEQ ID NO:44)	YPNNGG (SEQ ID NO:50)	YIYPNNGGTG (SEQ ID NO:51)	YIYPNNGGTGYNQKF NS (SEQ ID NO:44)	WIGYIYPNNGGTG (SEQ ID NO:54)
重链可变区 CDR3	SPYYDYVGSYAMDY (SEQ ID NO:45)	SPYYDYVGSYAMD Y (SEQ ID NO:45)	SPYYDYVGSYAMD Y (SEQ ID NO:45)	SPYYDYVGSYAMDY (SEQ ID NO:45)	ASSPYDYVGSYAM D (SEQ ID NO:55)
轻链可变区 CDR1	TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:46)	TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:46)	TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:46)	TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:46)	SSSYLHWY (SEQ ID NO:56)
轻链可变区 CDR2	STSNLAS (SEQ ID NO:47)	STSNLAS (SEQ ID NO:47)	STSNLAS (SEQ ID NO:47)	STSNLAS (SEQ ID NO:47)	LWIYSTSNLA (SEQ ID NO:57)
轻链可变区 CDR3	HQYHRSPRT (SEQ ID NO:48)	HQYHRSPRT (SEQ ID NO:48)	HQYHRSPRT (SEQ ID NO:48)	HQYHRSPRT (SEQ ID NO:48)	HQYHRSPR (SEQ ID NO:58)
12A12 重链可变区(SEQ ID NO:113)					
EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFIDYNMMDWVKQSHGKSLIEWIGYIYPNNGGTGY					
NQKFNKATLTVDKSSSTAYMELHSLTSEDSAVYVCASSPYDYVGSYAMDYWGQGISVTVSS					
12A12 轻链可变区(SEQ ID NO:114)					
QIVLTQSPAIMASLGERVITMTCTASSVSSSYLHWYQQKPKGSSPKLWIYSTSNLASGVP					
ARFSGSGGTISYSLTISSMEAEADAATYYCHQYHRSPRTFGGGTKLEIK					

[0146]

表 4: 抗体 16C5 序列

重链可变区	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
CDR1	GYTFTDYNMMD (SEQ ID NO:43)	GYTFTIDY (SEQ ID NO:49)	GYTFTDYNMMD (SEQ ID NO:43)	DYNMMD (SEQ ID NO:52)	TDYNNMMD (SEQ ID NO:53)
重链可变区 CDR2	YIYPSNNGGTGYNQK FKS (SEQ ID NO:59)	YPSNNGG (SEQ ID NO:64)	YIYPSNNGGTG (SEQ ID NO:65)	YIYPSNNGGTGYNQKF KS (SEQ ID NO:59)	WIGYIYPSNNGGTG (SEQ ID NO:66)
重链可变区 CDR3	VPYYDYLYYYAMDY (SEQ ID NO:60)	VPYYDYLYYYAMD Y (SEQ ID NO:60)	VPYYDYLYYYAMD Y (SEQ ID NO:60)	VPYYDYLYYYAMDY (SEQ ID NO:60)	ARVPYYDYLYYYAM D (SEQ ID NO:67)
轻链可变区 CDR1	RASSSVFMH (SEQ ID NO:61)	RASSSVFMH (SEQ ID NO:61)	RASSSVFMH (SEQ ID NO:61)	RASSSVFMH (SEQ ID NO:61)	SFMHWY (SEQ ID NO:68)
轻链可变区 CDR2	ATSNLAS (SEQ ID NO:62)	ATSNLAS (SEQ ID NO:62)	ATSNLAS (SEQ ID NO:62)	ATSNLAS (SEQ ID NO:62)	PWIYATSNLA (SEQ ID NO:69)
轻链可变区 CDR3	QQWSTNPNMYT (SEQ ID NO:63)	QQWSTNPNMYT (SEQ ID NO:63)	QQWSTNPNMYT (SEQ ID NO:63)	QQWSTNPNMYT (SEQ ID NO:63)	QQWSTNPNMY (SEQ ID NO:70)
16C5 重链可变区(SEQ ID NO:115)					
EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNMDEVKQSHGKSLWIGYIYPSNNGGTGY					
NQKFKSKATLTVDKSSNTAYMELHSLTSEDSAVVYCARVPYYDYLYYYAMDYWGQGTSTVTVSS					
16C5 轻链可变区(SEQ ID NO:116)					
QIVLSQSPAILASPGKEKVTMACRASSSVFMHWYQQKPGSSPPWYIYATSNLASGVPAR					
FSGSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWSTNPNMYTFGGGKLEIK					

[0147]

表 5: 抗体 45G10 序列

重链可变区	重链可变区	Chothia	AbM	Kabat	Contact
CDR1	GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:71)	GFTFSDY (SEQ ID NO:77)	GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:71)	DYGMH (SEQ ID NO:80)	SDYGMH (SEQ ID NO:81)
重链可变区 CDR2	YIFSGSSTIYYADTVK G (SEQ ID NO:72)	FSGSST (SEQ ID NO:78)	YIFSGSSTIY (SEQ ID NO:79)	YIFSGSSTIYYADTVK (SEQ ID NO:72)	WVAYIFSGSSTIY (SEQ ID NO:82)
重链可变区 CDR3	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73)	ARADGRGAMD (SEQ ID NO:83)
轻链可变区 CDR1	RASQDISKFLN (SEQ ID NO:74)	RASQDISKFLN (SEQ ID NO:74)	RASQDISKFLN (SEQ ID NO:74)	RASQDISKFLN (SEQ ID NO:74)	SKFLN (SEQ ID NO:84)
轻链可变区 CDR2	YTSRLHS (SEQ ID NO:75)	YTSRLHS (SEQ ID NO:75)	YTSRLHS (SEQ ID NO:75)	YTSRLHS (SEQ ID NO:75)	LLIYYTSRLH (SEQ ID NO:85)
轻链可变区 CDR3	QQGN'TLPWT (SEQ ID NO:76)	QQGN'TLPWT (SEQ ID NO:76)	QQGN'TLPWT (SEQ ID NO:76)	QQGN'TLPWT (SEQ ID NO:76)	QQGN'TLPW (SEQ ID NO:86)
45G10 重链可变区(SEQ ID NO:117)					
EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAYIFSGSSTIY ADTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTLSRSEDTAMYYCARADGRGAMDYWGQGTSTVTVSS					
45G10 轻链可变区(SEQ ID NO:118)					
DVQMTQT'TSSLSASLGDRTISCRASQDISKFLNWIYQQKPDGTVTLIYYTSRLHSGVPS RFSGSGGTDYSLTISNLDQEDIAITYFCQQGN'TLPWTFGGG'TKLEIK					

[0148]

表 6: 抗体 48A6 序列

	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
重链可变区 CDR1	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)	GFTFSSY (SEQ ID NO:33)	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)	SYGMS (SEQ ID NO:36)	SSYGMS (SEQ ID NO:37)
重链可变区 CDR2	TISSGGTYTFYPDSVK G (SEQ ID NO:87)	SSGGTY (SEQ ID NO:92)	TISSGGTYTF (SEQ ID NO:93)	TISSGGTYTFYPDSVK G (SEQ ID NO:87)	WVATISSGGTYTF (SEQ ID NO:94)
重链可变区 CDR3	RGWLLHYYAMDY (SEQ ID NO:88)	RGWLLHYYAMDY (SEQ ID NO:88)	RGWLLHYYAMDY (SEQ ID NO:88)	RGWLLHYYAMDY (SEQ ID NO:88)	ARRGWLLHYYAMD (SEQ ID NO:95)
轻链可变区 CDR1	RPSEVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89)	RPSEVDSFGNSFM H (SEQ ID NO:89)	RPSEVDSFGNSFM H (SEQ ID NO:89)	RPSEVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89)	DSFGNSFMHWF (SEQ ID NO:96)
轻链可变区 CDR2	LSSKLES (SEQ ID NO:90)	LSSKLES (SEQ ID NO:90)	LSSKLES (SEQ ID NO:90)	LSSKLES (SEQ ID NO:90)	LLIYLSSKLE (SEQ ID NO:97)
轻链可变区 CDR3	QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91)	QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91)	QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91)	QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91)	QQHNEDPFT (SEQ ID NO:98)
48A6 重链可变区(SEQ ID NO:119)					
EVQLVESGGDLMKPGSLKLSCAASGFTFSSYGMSWVRQTPDKRLEWVATISSGGTYTFY					
PDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMYVCARRGWLLHYYAMDYWGQTSVTVSS					
48A6 轻链可变区(SEQ ID NO:120)					
NIIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRPSEVDSFGNSFMHWFQKPKGQPPKLLIYLSSKLES					
GVPARFSGSRSRTDFTLTIDPVEADDAATYYCQQHNEDPFTFGSGTKLEIK					

[0149]

表 7: 抗体 53F10 序列

	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
重链可变区 CDR1	GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:74)	GFTFSDY (SEQ ID NO:77)	GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:71)	DYGMH (SEQ ID NO:80)	SDYGMH (SEQ ID NO:81)
重链可变区 CDR2	YISTGHTVYYADTVKG (SEQ ID NO:99)	STGHT (SEQ ID NO:101)	YISTGHTVY (SEQ ID NO:102)	YISTGHTVYYADTVKG (SEQ ID NO:99)	WVAYISTGHTVY (SEQ ID NO:103)
重链可变区 CDR3	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73)	ARADGRGAMD (SEQ ID NO:83)
轻链可变区 CDR1	RASQDISNFLN (SEQ ID NO:100)	RASQDISNFLN (SEQ ID NO:100)	RASQDISNFLN (SEQ ID NO:100)	RASQDISNFLN (SEQ ID NO:100)	SNFLNWy (SEQ ID NO:104)
轻链可变区 CDR2	YTSRLHS (SEQ ID NO:75)	YTSRLHS (SEQ ID NO:75)	YTSRLHS (SEQ ID NO:75)	YTSRLHS (SEQ ID NO:75)	LLIYYTSRLH (SEQ ID NO:85)
轻链可变区 CDR3	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76)	QQGNTLPW (SEQ ID NO:86)
53F10 重链可变区(SEQ ID NO:121)					
EVQVVEGGGLVKPGGSLKLSCAAASGFTFSDYGMHWVVRQAPEKGLEWVAYISTGHTVYY					
ADTVKGRFTMSRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAIYYCARADGRGAMDYWGQGTSVIVSS					
53F10 轻链可变区(SEQ ID NO:122)					
DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNFLNWyQQKPDGTVTLIIYYTSRLHSGVPS					
RFSGSGGTDYSLTISNLEQEDFATYFCQQGNTLPWTFGGGTKLEIK					

[0150]

表 8: 抗体 Hz5A7.v5 序列

	示例性	Chothia	AbM	Kabat	Contact
重链可变区 CDR1	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)	GFTFSSY (SEQ ID NO:33)	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)	SYGMS (SEQ ID NO:36)	SSYGMS (SEQ ID NO:37)
重链可变区 CDR2	TISGGGSYTNYPDSV KG (SEQ ID NO:28)	SGGGSY (SEQ ID NO:34)	TISGGGSYTIN (SEQ ID NO:35)	TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28)	WVATISGGGSYTIN (SEQ ID NO:38)
重链可变区 CDR3	REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105)	REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105)	REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105)	REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105)	ARREWRYTLYAMD (SEQ ID NO:107)
轻链可变区 CDR1	RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106)	RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106)	RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106)	RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106)	ESYGSSFMHWY (SEQ ID NO:108)
轻链可变区 CDR2	LTSNLES (SEQ ID NO:31)	LTSNLES (SEQ ID NO:31)	LTSNLES (SEQ ID NO:31)	LTSNLES (SEQ ID NO:31)	LLIYLTSNLE (SEQ ID NO:41)
轻链可变区 CDR3	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:42)
Hz5A7.v5 重链可变区(SEQ ID NO:123)					
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLVWVATISGGGSYTNY					
PDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYFCARREWRYTLYAMDYWGQGTTVTVSS					
Hz5A7.v5 重链可变区(SEQ ID NO:124)					
DIQLTQSPFLSASVGDRTITCRASESVESYGSSFMHWYQQKPGKAPKLLIYLTSNLES					
GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLPEDFAITYCQQNNEDPFTFGQGTKLEIK					

[0151] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含来自本文所述抗体的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含来自本文

所述抗体的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含:(a)含有来自本文所述抗体的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区;和(b)含有轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区。

[0152] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含来自抗体5A7、其人源化版本或其变体的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有来自抗体5A7的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2和重链可变区CDR3的重链可变区。在其他实施方案中,ILT3结合剂包含含有来自抗体5A7的轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在某些实施方案中,ILT3结合剂包含:(a)含有来自抗体5A7的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3的重链可变区;和(b)含有轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体5A7的人源化版本(例如,Hz5A7)。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体5A7或人源化5A7的变体(例如,Hz5A7.v5)。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有来自抗体Hz5A7.v5的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2和重链可变区CDR3的重链可变区。在其他实施方案中,ILT3结合剂包含含有来自抗体Hz5A7.v5的轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在某些实施方案中,ILT3结合剂包含:(a)含有来自抗体Hz5A7.v5的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3的重链可变区;和(b)含有轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。

[0153] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含来自抗体3A3、其人源化版本或其变体的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有来自抗体3A3的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2和重链可变区CDR3的重链可变区。在其他实施方案中,ILT3结合剂包含含有来自抗体3A3的轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在某些实施方案中,ILT3结合剂包含:(a)含有来自抗体3A3的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3的重链可变区;和(b)含有轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体3A3的人源化版本。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体3A3的变体。

[0154] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含来自抗体12A12、其人源化版本或其变体的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有来自抗体12A12的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2和重链可变区CDR3的重链可变区。在其他实施方案中,ILT3结合剂包含含有来自抗体12A12的轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在某些实施方案中,ILT3结合剂包含:(a)含有来自抗体12A12的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3的重链可变区;和(b)含有轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体12A12的人源化版本。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体12A12的变体。

[0155] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含来自抗体16C5、其人源化版本或其变体的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有来自抗体16C5的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2和重链可变区CDR3的重链可变区。在其他实施方案中,ILT3结合剂包含含有来自抗体16C5的轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在某些实施方案中,ILT3结合剂包含:(a)含有

来自抗体16C5的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3的重链可变区；和(b)含有轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在一些实施方案中，ILT3结合剂是抗体16C5的人源化版本。在一些实施方案中，ILT3结合剂是抗体16C5的变体。

[0156] 在一些实施方案中，ILT3结合剂包含来自抗体45G10、其人源化版本或其变体的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含含有来自抗体45G10的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2和重链可变区CDR3的重链可变区。在其他实施方案中，ILT3结合剂包含含有来自抗体45G10的轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在某些实施方案中，ILT3结合剂包含：(a)含有来自抗体45G10的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3的重链可变区；和(b)含有轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在一些实施方案中，ILT3结合剂是抗体45G10的人源化版本。在一些实施方案中，ILT3结合剂是抗体45G10的变体。

[0157] 在一些实施方案中，ILT3结合剂包含来自抗体48A6、其人源化版本或其变体的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含含有来自抗体48A6的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2和重链可变区CDR3的重链可变区。在其他实施方案中，ILT3结合剂包含含有来自抗体48A6的轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在某些实施方案中，ILT3结合剂包含：(a)含有来自抗体48A6的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3的重链可变区；和(b)含有轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在一些实施方案中，ILT3结合剂是抗体48A6的人源化版本。在一些实施方案中，ILT3结合剂是抗体48A6的变体。

[0158] 在一些实施方案中，ILT3结合剂包含来自抗体53F10、其人源化版本或其变体的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3和/或轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含含有来自抗体53F10的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2和重链可变区CDR3的重链可变区。在其他实施方案中，ILT3结合剂包含含有来自抗体53F10的轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在某些实施方案中，ILT3结合剂包含：(a)含有来自抗体53F10的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3的重链可变区；和(b)含有轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3的轻链可变区。在一些实施方案中，ILT3结合剂是抗体53F10的人源化版本。在一些实施方案中，ILT3结合剂是抗体53F10的变体。

[0159] 在一些实施方案中，ILT3结合剂(例如，抗体)包含：(a)重链可变区，所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28)的重链可变区CDR2、和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29)或REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105)的重链可变区CDR3，以及轻链可变区，所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:30)或RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31)的轻链可变区CDR2、和含有氨基酸序列QQNNEPFFT (SEQ ID NO:32)的轻链可变区CDR3；(b)重链可变区，所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSY (SEQ ID NO:33)的重链可变区CDR1、含有氨

氨基酸序列SGGGSY (SEQ ID NO:34) 的重链可变区CDR2、和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29) 或REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105) 的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:30) 或RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31) 的轻链可变区CDR2、和含有氨基酸序列QQNEDPFT (SEQ ID NO:32) 的轻链可变区CDR3; (c) 重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTN (SEQ ID NO:35) 的重链可变区CDR2、和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29) 或REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105) 的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:30) 或RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31) 的轻链可变区CDR2、和含有氨基酸序列QQNEDPFT (SEQ ID NO:32) 的轻链可变区CDR3; (d) 重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列SYGMS (SEQ ID NO:36) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVK (SEQ ID NO:28) 的重链可变区CDR2、和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29) 或REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105) 的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:30) 或RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31) 的轻链可变区CDR2、和含有氨基酸序列QQNEDPFT (SEQ ID NO:32) 的轻链可变区CDR3;或 (e) 重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列SSYGMS (SEQ ID NO:37) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列WVATISGGGSYTN (SEQ ID NO:38) 的重链可变区CDR2、和含有氨基酸序列ARREWRMTLYAMD (SEQ ID NO:39) 或ARREWRYTLYAMD (SEQ ID NO:107) 的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列DSYGNSFMHWY (SEQ ID NO:40) 或ESYGSSFMHWY (SEQ ID NO:108) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LLIYLTSNLE (SEQ ID NO:41) 的轻链可变区CDR2、和含有氨基酸序列QQNEDPF (SEQ ID NO:42) 的轻链可变区CDR3。

[0160] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含:(a) 重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVK (SEQ ID NO:28) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29) 或REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105) 的重链可变区CDR3,和/或(b) 轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:30) 或RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNEDPFT (SEQ ID NO:32) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVK (SEQ ID NO:28) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29) 的重链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVK (SEQ ID NO:28) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105) 的重链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:30) 的轻链可变区CDR1、

含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29)的重链可变区CDR3;和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:30)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105)的重链可变区CDR3;和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)的轻链可变区CDR3。

[0161] 在某些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)或其具有1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸置换的变体的重链可变区CDR1;含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28)或其具有1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸置换的变体的重链可变区CDR2;和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29)、REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105)或其具有1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸置换的变体的重链可变区CDR3;和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:30)、RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106)或其具有1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸置换的变体的轻链可变区CDR1;含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31)或其具有1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸置换的变体的轻链可变区CDR2;和含有氨基酸序列QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)或其具有1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸置换的变体的轻链可变区CDR3。

[0162] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含一个或多个已经被修饰以减少CDR序列内的脱酰胺作用的重链可变区CDR或轻链可变区CDR。脱酰胺作用是其中氨基酸天冬酰胺(Asn或N)或谷氨酰胺(Gln或Q)的侧链中的酰胺官能团被除去或转化成另一种官能团的一种化学反应。通常,天冬酰胺被转化成天冬氨酸或异天冬氨酸,并且谷氨酰胺被转化成谷氨酸或聚谷氨酸。在一些情境中,脱酰胺作用可能改变多肽的结构、功能和/或稳定性,从而潜在地导致生物活性降低。在一些实施方案中,本文所述的抗体的轻链可变区CDR1、CDR2和/或CDR3被修饰以减少脱酰胺作用。在一些实施方案中,本文所述的抗体的轻链可变区CDR1、CDR2和/或CDR3被修饰以减少脱酰胺作用。抗体5A7、3A3、Hz5A7、12A12、16C5、45G10、48A6或53F10的重链可变区CDR和轻链可变区CDR中的任何一个都可以被修饰以减少脱酰胺作用。

[0163] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含一个或多个已经被修饰以减少

异构化作用的重链可变区CDR或轻链可变区CDR。异构化作用是一种化学过程,通过该化学过程,化合物被转化成其任何异构形式,即具有相同化学组成但具有不同结构或构型并且可能还具有不同物理和化学性质的形式。研究已经表明CDR内的天冬氨酸(Asp或D)异构化可以影响抗体结合和/或稳定性。在一些实施方案中,本文所述的抗体的重链可变区CDR1、CDR2和/或CDR3被修饰以减少异构化。在一些实施方案中,轻链可变区CDR1、CDR2和/或CDR3被修饰以减少异构化。抗体5A7、3A3、Hz5A7、12A12、16C5、45G10、48A6或53F10的重链可变区CDR和轻链可变区CDR中的任何一个都可以被修饰以减少异构化作用。

[0164] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含一个或多个已经被修饰以减少氧化作用的重链可变区CDR或轻链可变区CDR。氧化作用是一种化学过程,通过该化学过程氧被添加到一个原子上,例如,甲硫氨酸通过将氧添加到硫原子上而被转化成甲硫氨酸亚砷。一个或多个氨基酸的氧化作用可能会潜在地影响蛋白质的物理和化学性质。研究已经表明CDR内的甲硫氨酸(Met或M)的氧化具有影响抗体结合和/或稳定性的可能性。在一些实施方案中,本文所述的抗体的重链可变区CDR1、CDR2和/或CDR3被修饰以减少氧化作用(例如,甲硫氨酸氧化作用)。在一些实施方案中,本文所述的抗体的轻链可变区CDR1、CDR2和/或CDR3被修饰以减少氧化作用(例如,甲硫氨酸氧化作用)。抗体5A7、3A3、Hz5A7、12A12、16C5、45G10、48A6或53F10的重链可变区CDR和轻链可变区CDR中的任何一个都可以被修饰以减少甲硫氨酸氧化作用。

[0165] 在一些实施方案中,抗ILT3结合剂(例如,抗体)包含含有抗体5A7的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列并且与SEQ ID NO:111的序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的重链可变区,以及含有抗体5A7的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列并且与SEQ ID NO:112的序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗ILT3结合剂包含含有抗体Hz5A7.v5的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列并且与SEQ ID NO:123的序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的重链可变区,以及含有抗体Hz5A7.v5的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列并且与SEQ ID NO:124的序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%同一性的轻链可变区。

[0166] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含与SEQ ID NO:111的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:112的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:123的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:124的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的轻链可变区。

[0167] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含含有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的重链

可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:124的氨基酸序列的轻链可变区。

[0168] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含与SEQ ID NO:111具有至少80%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:112具有至少80%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:111具有至少90%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:112具有至少90%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:111具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:112具有至少95%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的轻链可变区。

[0169] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含与SEQ ID NO:123具有至少80%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:124具有至少80%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:123具有至少90%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:124具有至少90%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:123具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:124具有至少95%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:124的氨基酸序列的轻链可变区。

[0170] 在某些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含重链可变区,所述重链可变区包含含有GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28)的重链可变区CDR2、含有REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106)的轻链可变区CDR1、含有LTSNLES (SEQ ID NO:31)的轻链可变区CDR2和含有QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)的轻链可变区CDR3,其中所述重链可变区与SEQ ID NO:123的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%的同一性,并且其中所述轻链可变区与SEQ ID NO:124的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%的同一性。

[0171] 在某些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含重链,所述重链包含含有GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28)的重链可变区CDR2、含有REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105)的重链可变区CDR3,以及轻链,所述轻链包含含有RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106)的轻链可变区CDR1、含有LTSNLES (SEQ ID NO:31)的轻链可变区CDR2和含有QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)的轻链可变区CDR3,其中所述重链与SEQ ID NO:126的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或100%的同一性,并且其中所述轻链与SEQ ID NO:128的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或100%的同一性。在某些实施方案中,ILT3结合剂包含重链,所述重链包含含有GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28)的重链可变区CDR2、含有REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105)的重链可变区CDR3,以及轻链,所述轻链包含含有RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106)的轻链可变区CDR1、含有LTSNLES (SEQ ID NO:31)的轻链可变区CDR2和含有QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)的轻链可变区CDR3,其中所述重链与SEQ ID NO:126的序列具有至少95%的同一性,并且其中所述轻链与SEQ ID NO:128的序列具有至少95%的同一性。在某些实施方案中,ILT3结合剂包含(a)含有SEQ ID NO:126的氨基酸的重链,和(b)轻链,所述轻链包含含有RASESVESYGSSFMH

(SEQ ID NO:106)的轻链可变区CDR1、含有LTSNLES (SEQ ID NO:31)的轻链可变区CDR2和含有QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32)的轻链可变区CDR3,其中所述轻链与SEQ ID NO:128的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或100%的同一性。在某些实施方案中,ILT3结合剂包含(a)重链,所述重链包含含有GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28)的重链可变区CDR2、含有REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105)的重链可变区CDR3,其中所述重链与SEQ ID NO:126的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或100%的同一性,和(b)含有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体,所述抗体包含含有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的轻链。

[0172] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体5A7。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体Hz5A7.v5。

[0173] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFSLTSYGVH (SEQ ID NO:11)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列VIWPGGTINYNLSALMS (SEQ ID NO:12)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LASNRHT (SEQ ID NO:15)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列LQHLNYPLT (SEQ ID NO:16)的轻链可变区CDR3;(b)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFSLTSY (SEQ ID NO:17)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列WPGGT (SEQ ID NO:18)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LASNRHT (SEQ ID NO:15)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列LQHLNYPLT (SEQ ID NO:16)的轻链可变区CDR3;(c)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFSLTSYGVH (SEQ ID NO:11)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列VIWPGGTIN (SEQ ID NO:19)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LASNRHT (SEQ ID NO:15)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列LQHLNYPLT (SEQ ID NO:16)的轻链可变区CDR3;或(e)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列SYGVH (SEQ ID NO:20)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列VIWPGGTINYNLSALMS (SEQ ID NO:12)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LASNRHT (SEQ ID NO:15)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列LQHLNYPLT (SEQ ID NO:16)的轻链可变区CDR3;或(e)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列TSYGVH (SEQ ID NO:21)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列WLGVIWPGGTIN (SEQ ID NO:22)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ASDKYDGGWFA (SEQ ID NO:23)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RTAVAWY (SEQ ID NO:24)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列ALIYLASNRH (SEQ ID NO:25)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列LQHLNYPL (SEQ ID NO:26)的轻链可变区CDR3。

[0174] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基

酸序列GFSLTSYGVH (SEQ ID NO:11) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列VIWPGGTINYSALMS (SEQ ID NO:12) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13) 的重链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LASNRHT (SEQ ID NO:15) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列LQHLNYPLT (SEQ ID NO:16) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含 (a) 重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFSLTSYGVH (SEQ ID NO:11) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列VIWPGGTINYSALMS (SEQ ID NO:12) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13) 的重链可变区CDR3;和 (b) 轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LASNRHT (SEQ ID NO:15) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列LQHLNYPLT (SEQ ID NO:16) 的轻链可变区CDR3。

[0175] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:109的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:110的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:109的氨基酸序列的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:110的氨基酸序列的轻链可变区。

[0176] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:109具有至少80%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:110具有至少80%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:109具有至少90%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:110具有至少90%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:109具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:110具有至少95%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:109的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:110的氨基酸序列的轻链可变区。

[0177] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体3A3。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体3A3的人源化版本。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体3A3或人源化抗体3A3的变体。

[0178] 在某些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含 (a) 重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:43) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPNNGGTGYNQKFNS (SEQ ID NO:44) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列SPYYDYVGSYAMDY (SEQ ID NO:45) 的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:46) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列STSNLAS (SEQ ID NO:47) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列HQYHRSPRT (SEQ ID NO:48) 的轻链可变区CDR3; (b) 重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDY (SEQ ID NO:49) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YPNNGG (SEQ ID NO:50) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列SPYYDYVGSYAMDY (SEQ ID NO:45) 的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:46) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列STSNLAS (SEQ ID NO:47) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列HQYHRSPRT (SEQ ID NO:48) 的轻链可变区CDR3; (c) 重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:43) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPNNGGTG (SEQ ID NO:51) 的重链可变区

CDR2和含有氨基酸序列SPYYDYVGSYAMDY (SEQ ID NO:45)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:46)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列STSNLAS (SEQ ID NO:47)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列HQYHRSPRT (SEQ ID NO:48)的轻链可变区CDR3; (d) 重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列DYNMD (SEQ ID NO:52)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPNNGGTGYNQKFNS (SEQ ID NO:44)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列SPYYDYVGSYAMDY (SEQ ID NO:45)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:46)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列STSNLAS (SEQ ID NO:47)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列HQYHRSPRT (SEQ ID NO:48)的轻链可变区CDR3;或(e) 重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列TDYNMD (SEQ ID NO:53)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列WIGYIYPNNGGTG (SEQ ID NO:54)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ASSPYYDYVGSYAMD (SEQ ID NO:55)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列SSSYLHWY (SEQ ID NO:56)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LWIYSTSNLA (SEQ ID NO:57)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列HQYHRSPR (SEQ ID NO:58)的轻链可变区CDR3。

[0179] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:43)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPNNGGTGYNQKFNS (SEQ ID NO:44)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列SPYYDYVGSYAMDY (SEQ ID NO:45)的重链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:46)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列STSNLAS (SEQ ID NO:47)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列HQYHRSPRT (SEQ ID NO:48)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含(a) 重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:43)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPNNGGTGYNQKFNS (SEQ ID NO:44)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列SPYYDYVGSYAMDY (SEQ ID NO:45)的重链可变区CDR3;和(b) 轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:46)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列STSNLAS (SEQ ID NO:47)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列HQYHRSPRT (SEQ ID NO:48)的轻链可变区CDR3。

[0180] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:113的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:114的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:114的氨基酸序列的轻链可变区。

[0181] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:113具有至少80%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:114具有至少80%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:113具有至少90%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:114具有至少90%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:113具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:114具有至少95%

序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:114的氨基酸序列的轻链可变区。

[0182] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体12A12。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体12A12的人源化版本。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体12A12或人源化抗体12A12的变体。

[0183] 在某些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:43)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPSNGGTGYNQKFKS (SEQ ID NO:59)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列VPYYDYLYYYAMDY (SEQ ID NO:60)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASSSVSFMH (SEQ ID NO:61)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列ATSNLAS (SEQ ID NO:62)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQWSTNPYMYT (SEQ ID NO:63)的轻链可变区CDR3; (b)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDY (SEQ ID NO:49)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YPSNGG (SEQ ID NO:64)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列VPYYDYLYYYAMDY (SEQ ID NO:60)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASSSVSFMH (SEQ ID NO:61)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列ATSNLAS (SEQ ID NO:62)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQWSTNPYMYT (SEQ ID NO:63)的轻链可变区CDR3; (c)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:43)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPSNGGTG (SEQ ID NO:65)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列VPYYDYLYYYAMDY (SEQ ID NO:60)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASSSVSFMH (SEQ ID NO:61)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列ATSNLAS (SEQ ID NO:62)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQWSTNPYMYT (SEQ ID NO:63)的轻链可变区CDR3; (d)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列DYNMD (SEQ ID NO:52)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPSNGGTGYNQKFKS (SEQ ID NO:59)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列VPYYDYLYYYAMDY (SEQ ID NO:60)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASSSVSFMH (SEQ ID NO:61)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列ATSNLAS (SEQ ID NO:62)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQWSTNPYMYT (SEQ ID NO:63)的轻链可变区CDR3; 或(e)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列TDYNMD (SEQ ID NO:53)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列WIGYIYPSNGGTG (SEQ ID NO:66)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ARVPYYDYLYYYAMD (SEQ ID NO:67)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列SFMHWY (SEQ ID NO:68)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列PWIYATSNLA (SEQ ID NO:69)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQWSTNPYMY (SEQ ID NO:70)的轻链可变区CDR3。

[0184] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:43)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPSNGGTGYNQKFKS (SEQ ID NO:59)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列VPYYDYLYYYAMDY (SEQ ID NO:60)的重链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASSSVSFMH (SEQ ID NO:61)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列ATSNLAS (SEQ ID NO:62)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQWSTNPYMYT (SEQ ID

NO:63)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD(SEQ ID NO:43)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPSNGGTGYNQKFKS(SEQ ID NO:59)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列VPYYDYLYYYAMDY(SEQ ID NO:60)的重链可变区CDR3;和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASSSVSFMH(SEQ ID NO:61)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列ATSNLAS(SEQ ID NO:62)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQWSTNPYMYT(SEQ ID NO:63)的轻链可变区CDR3。

[0185] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:115的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:116的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:115的氨基酸序列的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:116的氨基酸序列的轻链可变区。

[0186] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:115具有至少80%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:116具有至少80%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:115具有至少90%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:116具有至少90%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:115具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:116具有至少95%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:115的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:116的氨基酸序列的轻链可变区。

[0187] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体16C5。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体16C5的人源化版本。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体16C5或人源化抗体16C5的变体。

[0188] 在某些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSDYGMH(SEQ ID NO:71)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIFSGSSTIYYADTVKG(SEQ ID NO:72)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY(SEQ ID NO:73)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISKFLN(SEQ ID NO:74)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS(SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT(SEQ ID NO:76)的轻链可变区CDR3;(b)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSDY(SEQ ID NO:77)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列FSGSST(SEQ ID NO:78)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY(SEQ ID NO:73)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISKFLN(SEQ ID NO:74)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS(SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT(SEQ ID NO:76)的轻链可变区CDR3;(c)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSDYGMH(SEQ ID NO:71)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIFSGSSTIY(SEQ ID NO:79)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY(SEQ ID NO:73)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISKFLN(SEQ ID NO:74)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS(SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT(SEQ ID NO:76)

的轻链可变区CDR3; (d) 重链可变区, 所述重链可变区包含含有氨基酸序列DYGMH (SEQ ID NO:80) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIFSGSSTIYYADTVKG (SEQ ID NO:72) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73) 的重链可变区CDR3, 以及轻链可变区, 所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISKFLN (SEQ ID NO:74) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS (SEQ ID NO:75) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76) 的轻链可变区CDR3; 或 (e) 重链可变区, 所述重链可变区包含含有氨基酸序列SDYGMH (SEQ ID NO:81) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列WVAYIFSGSSTIY (SEQ ID NO:82) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ARADGRGAMD (SEQ ID NO:83) 的重链可变区CDR3, 以及轻链可变区, 所述轻链可变区包含含有氨基酸序列SKFLNWX (SEQ ID NO:84) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LLIYYTSRLH (SEQ ID NO:85) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPW (SEQ ID NO:86) 的轻链可变区CDR3。

[0189] 在一些实施方案中, ILT3结合剂包含重链可变区, 所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:71) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIFSGSSTIYYADTVKG (SEQ ID NO:72) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73) 的重链可变区CDR3。在一些实施方案中, ILT3结合剂包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISKFLN (SEQ ID NO:74) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS (SEQ ID NO:75) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中, ILT3结合剂包含 (a) 重链可变区, 所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:71) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIFSGSSTIYYADTVKG (SEQ ID NO:72) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73) 的重链可变区CDR3; 和 (b) 轻链可变区, 所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISKFLN (SEQ ID NO:74) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS (SEQ ID NO:75) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76) 的轻链可变区CDR3。

[0190] 在一些实施方案中, ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:117的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的重链可变区。在一些实施方案中, ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:118的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的轻链可变区。在一些实施方案中, ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的重链可变区。在一些实施方案中, ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:118的氨基酸序列的轻链可变区。

[0191] 在一些实施方案中, ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:117具有至少80%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:118具有至少80%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中, ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:117具有至少90%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:118具有至少90%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中, ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:117具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:118具有至少95%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中, ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:118的氨基酸序列的轻链可变区。

[0192] 在一些实施方案中, ILT3结合剂包含与选自SEQ ID NO:162-163的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的重链可变区。在一些实施方案中, ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:164的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至

少95%、至少97%或至少99%同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有选自SEQ ID NO:162-163的氨基酸序列的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:164的氨基酸序列的轻链可变区。

[0193] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与选自SEQ ID NO:162-163的氨基酸序列具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%) 序列同一性的重链可变区,和与SEQ ID NO:164具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%) 序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:162的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:164的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:163的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:164的氨基酸序列的轻链可变区。

[0194] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体45G10。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体45G10的人源化版本。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体45G10或人源化抗体45G10的变体。

[0195] 在某些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISSGGTYTFYPDSVKG (SEQ ID NO:87)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列RGWLLHYAMDY (SEQ ID NO:88)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RPSESVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LSSKLES (SEQ ID NO:90)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91)的轻链可变区CDR3; (b)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSY (SEQ ID NO:33)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列SSGGTY (SEQ ID NO:92)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列RGWLLHYAMDY (SEQ ID NO:88)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RPSESVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LSSKLES (SEQ ID NO:90)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91)的轻链可变区CDR3; (c)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISSGGTYTF (SEQ ID NO:93)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列RGWLLHYAMDY (SEQ ID NO:88)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RPSESVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LSSKLES (SEQ ID NO:90)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91)的轻链可变区CDR3; (d)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列SYGMS (SEQ ID NO:36)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISSGGTYTFYPDSVKG (SEQ ID NO:87)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列RGWLLHYAMDY (SEQ ID NO:88)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RPSESVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LSSKLES (SEQ ID NO:90)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91)的轻链可变区CDR3;或(e)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列SSYGMS (SEQ ID NO:37)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列WVATISSGGTYTF (SEQ ID NO:94)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ARRGWLLHYAMD (SEQ ID NO:95)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列DSFGNSFMHWF (SEQ ID NO:96)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列

LLIYLSSKLE (SEQ ID NO:97) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQHNEDPF (SEQ ID NO:98) 的轻链可变区CDR3。

[0196] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISSGGTYTFYPDSVKG (SEQ ID NO:87) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列RGWLLHYYAMDY (SEQ ID NO:88) 的重链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RPSESVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LSSKLES (SEQ ID NO:90) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISSGGTYTFYPDSVKG (SEQ ID NO:87) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列RGWLLHYYAMDY (SEQ ID NO:88) 的重链可变区CDR3;和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RPSESVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LSSKLES (SEQ ID NO:90) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91) 的轻链可变区CDR3。

[0197] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:119的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:120的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:119的氨基酸序列的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:120的氨基酸序列的轻链可变区。

[0198] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:119具有至少80%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:120具有至少80%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:119具有至少90%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:120具有至少90%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:119具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:120具有至少95%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:119的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:120的氨基酸序列的轻链可变区。

[0199] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与选自SEQ ID NO:156-160的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:161的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有选自SEQ ID NO:156-160的氨基酸序列的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的轻链可变区。

[0200] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与选自SEQ ID NO:156-160的氨基酸序列具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%) 序列同一性的重链可变区,和与SEQ ID NO:161具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%) 序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:156的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的轻链可变区。

在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:158的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:159的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:160的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的轻链可变区。

[0201] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体48A6。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体48A6的人源化版本。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体48A6或人源化抗体48A6的变体。

[0202] 在某些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSDYGMH(SEQ ID NO:71)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YISTGIITVYYADTVKG(SEQ ID NO:99)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY(SEQ ID NO:73)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISNFLN(SEQ ID NO:100)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS(SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT(SEQ ID NO:76)的轻链可变区CDR3;(b)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSDY(SEQ ID NO:77)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列STGIIT(SEQ ID NO:101)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY(SEQ ID NO:73)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISNFLN(SEQ ID NO:100)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS(SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT(SEQ ID NO:76)的轻链可变区CDR3;(c)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSDYGMH(SEQ ID NO:71)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YISTGIITVY(SEQ ID NO:102)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY(SEQ ID NO:73)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISNFLN(SEQ ID NO:100)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS(SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT(SEQ ID NO:76)的轻链可变区CDR3;(d)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列DYGMH(SEQ ID NO:80)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YISTGIITVYYADTVKG(SEQ ID NO:99)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY(SEQ ID NO:73)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISNFLN(SEQ ID NO:100)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS(SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT(SEQ ID NO:76)的轻链可变区CDR3;或(e)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列SDYGMH(SEQ ID NO:81)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列WVAYISTGIITVY(SEQ ID NO:103)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ARADGRGAMD(SEQ ID NO:83)的重链可变区CDR3,以及轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列SNFLNWX(SEQ ID NO:104)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LLIYYTSLRH(SEQ ID NO:85)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPW(SEQ ID NO:86)的轻链可变区CDR3。

[0203] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含重链可变区,所述重链可变区包含所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSDYGMH(SEQ ID NO:71)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序

列YISTGIITVYYADTVKG (SEQ ID NO:99)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73)的重链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISNFLN (SEQ ID NO:100)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS (SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:71)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YISTGIITVYYADTVKG (SEQ ID NO:99)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73)的重链可变区CDR3;和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISNFLN (SEQ ID NO:100)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS (SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76)的轻链可变区CDR3。

[0204] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:121的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:122的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的重链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:122的氨基酸序列的轻链可变区。

[0205] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:121具有至少80%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:122具有至少80%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:121具有至少90%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:122具有至少90%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:121具有至少95%序列同一性的重链可变区和与SEQ ID NO:122具有至少95%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:122的氨基酸序列的轻链可变区。

[0206] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体53F10。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体53F10的人源化版本。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体53F10或人源化抗体53F10的变体。

[0207] 本文提供了与一种或多种本文所述的结合剂(例如,抗体)竞争结合ILT3的剂。在一些实施方案中,剂与一种或多种本文所述的抗体竞争结合ILT3。在一些实施方案中,与一种或多种本文所述的抗体竞争的剂是抗体。在一些实施方案中,剂结合与本文所述的抗体之一相同的表位。在一些实施方案中,剂结合与本文所述的抗体之一所结合的表位重叠的表位。预期与本文所述的抗体竞争或结合与本文所述的抗体相同的表位的抗体和抗原结合片段显示出相似的功能特性。

[0208] 在一些实施方案中,剂(例如,抗体)与参考抗体竞争结合人ILT3,其中所述参考抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGTYNYPDSVKG (SEQ ID NO:28)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29)或REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105)的重链可变区CDR3;和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNFSFMH (SEQ ID NO:30)或RASESVESYGSFSFMH (SEQ ID NO:106)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列

QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,剂(例如,抗体)与参考抗体竞争结合人ILT3,其中所述参考抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29) 或REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105) 的重链可变区CDR3,和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNFSFMH (SEQ ID NO:30) 或RASESVESYGSFSFMH (SEQ ID NO:106) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32) 的轻链可变区CDR3;并且其中所述竞争剂包含重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISSGGTYTFYPDSVKG (SEQ ID NO:87) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列RGWLLHYAMDY (SEQ ID NO:88) 的重链可变区CDR3,和轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RPSESVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LSSKLES (SEQ ID NO:90) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91) 的轻链可变区CDR3。

[0209] 在一些实施方案中,剂(例如,抗体)与参考抗体竞争结合人ILT3,其中所述参考抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFSLTSYGVH (SEQ ID NO:11) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列VIWPGGTINYNLSALMS (SEQ ID NO:12) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13) 的重链可变区CDR3;和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LASNRHT (SEQ ID NO:15) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列LQHLNYPLT (SEQ ID NO:16) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,剂(例如,抗体)与参考抗体竞争结合人ILT3,其中所述参考抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:43) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPNNGGTGYNQKFNS (SEQ ID NO:44) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列SPYYDYVGSYAMDY (SEQ ID NO:45) 的重链可变区CDR3;和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:46) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列STSNLAS (SEQ ID NO:47) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列HQYHRSPRT (SEQ ID NO:48) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,剂(例如,抗体)与参考抗体竞争结合人ILT3,其中所述参考抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:43) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPSNGGTGYNQKFNS (SEQ ID NO:59) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列VPYYDYLYYYAMDY (SEQ ID NO:60) 的重链可变区CDR3,和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASSSVSFSFMH (SEQ ID NO:61) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列ATSNLAS (SEQ ID NO:62) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQWSTNPYMYT (SEQ ID NO:63) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,剂(例如,抗体)与参考抗体竞争结合人ILT3,其中所述参考抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:71) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIFSGSSTIYYADTVKG (SEQ ID NO:72) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73) 的重链可变区CDR3;和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISKFLN (SEQ ID NO:74) 的轻链可

变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS (SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,剂(例如,抗体)与参考抗体竞争结合人ILT3,其中所述参考抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISSGGTYTFYPDSVKG (SEQ ID NO:87)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列RGWLLHYAMDY (SEQ ID NO:88)的重链可变区CDR3;和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RPSESVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LSSKLES (SEQ ID NO:90)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,剂(例如,抗体)与参考抗体竞争结合人ILT3,其中所述参考抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:71)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YISTGIITVYYADTVKG (SEQ ID NO:99)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73)的重链可变区CDR3,和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISNFLN (SEQ ID NO:100)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS (SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76)的轻链可变区CDR3。

[0210] 在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂包含抗体,其中所述抗体的至少一个或多个恒定区已经被修饰或缺失。在一些实施方案中,抗体包含对三个重链恒定区(CH1、CH2或CH3)中的一个或多个和/或对轻链恒定区(CL)的一个或多个修饰。在一些实施方案中,抗体包含对铰链区的一个或多个修饰。在一些实施方案中,所修饰的抗体的重链恒定区包含至少一个人恒定区。在一些实施方案中,所修饰的抗体的重链恒定区包含多于一个人恒定区。在一些实施方案中,对恒定区的修饰包括在一个或多个区域中的一个或多个氨基酸的添加、缺失或置换。在一些实施方案中,一个或多个区域从所修饰的抗体的恒定区中部分或全部缺失。在一些实施方案中,整个CH2结构域已从抗体(Δ CH2构建体)中去除。在一些实施方案中,一个或多个区域从所修饰的抗体的铰链区中部分或全部缺失。在一些实施方案中,缺失的恒定区被短的氨基酸间隔子替代,所述间隔子提供了一些通常由缺失的恒定区赋予的分子柔性。在一些实施方案中,缺失的铰链区被短的氨基酸间隔子替代,所述间隔子提供了一些通常由缺失的铰链区赋予的分子柔性。在一些实施方案中,经修饰的抗体包含直接与抗体铰链区融合的CH3结构域。在一些实施方案中,经修饰的抗体包含插入铰链区与经修饰的CH2和/或CH3结构域之间的肽间隔子。

[0211] 本领域已知抗体的恒定区介导几种效应子功能,并且这些效应子功能可以根据抗体的同种型而变化。例如,补体的C1成分与IgG或IgM抗体(与抗原结合的)的Fc区的结合激活补体系统。补体的激活在细胞病原体的调理和溶解中是重要的。补体的激活也刺激炎症反应,并且可以参与自身免疫性超敏反应。此外,抗体的Fc区可以结合表达Fc受体(FcR)的细胞。有许多Fc受体对不同种类的抗体具有特异性,包括IgG(γ 受体)、IgE(ϵ 受体)、IgA(α 受体)和IgM(μ 受体)。抗体与细胞表面上的Fc受体的结合触发了一些重要和多样的生物反应,包括吞噬和破坏抗体包被的颗粒、清除免疫复合物、杀伤细胞溶解抗体包被的靶细胞(称为抗体依赖性细胞毒性或ADCC)、释放炎症介质、胎盘转移和控制免疫球蛋白产生。

[0212] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含变体Fc区。人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的Fc区的氨基酸序列是本领域普通技术人员已知的(例如,代表性的人IgG1区是SEQ

ID NO:129)。在一些情况下,在天然抗体中已经鉴定出具有氨基酸变异的Fc区。在一些实施方案中,与天然Fc区相比,变体Fc区被工程化为在特定氨基酸位置具有置换。变体Fc区是本领域熟知的,并且包括但不限于SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:133和SEQ ID NO:134。

[0213] 在一些实施方案中,经修饰的抗体(例如,包含经修饰的Fc区)提供改变的效应子功能,所述效应子功能进而影响抗体的生物特征。例如,在一些实施方案中,恒定区的缺失或失活(通过点突变或其他方式)降低了经修饰的抗体在其循环时的Fc受体结合。在一些实施方案中,恒定区修饰增加了抗体的血清半衰期。在一些实施方案中,恒定区修饰减少了抗体的血清半衰期。在一些实施方案中,恒定区修饰降低或去除了抗体的ADCC和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)。在一些实施方案中,人IgG1 Fc区中具有对应IgG2或IgG4残基的特定氨基酸置换降低了经修饰的抗体中的效应子功能(例如,ADCC和CDC)。在一些实施方案中,经修饰的抗体不具有一种或多种效应子功能。在一些实施方案中,经修饰的抗体不具有任何可检测的效应子功能(例如,“无效应子”抗体)。在一些实施方案中,经修饰的抗体没有ADCC活性和/或没有CDC活性。在一些实施方案中,经修饰的抗体不结合Fc受体和/或补体因子。在一些实施方案中,经修饰的抗体没有效应子功能。在一些实施方案中,恒定区修饰增加或增强了抗体的ADCC和/或CDC。在一些实施方案中,恒定区被修饰以消除二硫键或寡糖部分。在一些实施方案中,恒定区被修饰以添加/置换一个或多个氨基酸,从而提供一个或多个细胞毒素、寡糖或碳水化合物附着位点。

[0214] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含与SEQ ID NO:126的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%或至少95%同一性的重链。在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含与SEQ ID NO:128的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%或至少95%同一性的轻链。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:126的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%或至少95%同一性的重链和与SEQ ID NO:128的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%或至少95%同一性的轻链。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:126的氨基酸序列具有至少90%同一性的重链。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:128的氨基酸序列具有至少90%同一性的轻链。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含与SEQ ID NO:126的氨基酸序列具有至少90%同一性的重链和与SEQ ID NO:128的氨基酸序列具有至少90%同一性的轻链。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的重链。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含含有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,ILT3结合剂是包含SEQ ID NO:126的重链和/或SEQ ID NO:128的轻链的抗体。在一些实施方案中,ILT3结合剂是包含SEQ ID NO:126的重链的抗体。在一些实施方案中,ILT3结合剂是包含SEQ ID NO:128的轻链的抗体。在一些实施方案中,ILT3结合剂是包含SEQ ID NO:126的重链和SEQ ID NO:128的轻链的抗体。

[0215] 可以使用熟知的生物化学或分子工程化技术对本文所述抗体的恒定区进行修饰。在一些实施方案中,通过将适当的核苷酸变化引入编码DNA中,和/或通过合成所需的抗体或多肽来制备抗体变体。使用这些工程化技术来修饰抗体,有可能破坏由特定序列或区域提供的活性或效应子功能,同时基本上保持经修饰的抗体的结构、结合活性和其他所需特

征。

[0216] 本公开还包括与本文所述的重组、单克隆、嵌合、人源化和人抗体或其抗体片段基本同源的另外的变体和等同物。在一些实施方案中,期望改善抗体的结合亲和力。在一些实施方案中,期望调节抗体的生物特性,包括但不限于特异性、热稳定性、表达水平、效应子功能、糖基化、免疫原性和/或溶解性。本领域技术人员将会理解,氨基酸变化可以改变抗体的翻译后加工,诸如改变糖基化位点的数量或位置或改变膜锚定特征。

[0217] 变异可以是编码抗体或多肽的一种或多种核苷酸的置换、缺失或插入,其导致与天然抗体或多肽序列相比氨基酸序列变化。在一些实施方案中,氨基酸置换是将一个氨基酸置换成相似结构和/或化学性质的另一个氨基酸的结果,例如将亮氨酸置换成丝氨酸(即保守氨基酸置换)。在一些实施方案中,相对于亲本分子,置换、缺失或插入包括少于25个氨基酸置换、少于20个氨基酸置换、少于15个氨基酸置换、少于10个氨基酸置换、少于5个氨基酸置换、少于4个氨基酸置换、少于3个氨基酸置换或少于2个氨基酸置换。在一些实施方案中,通过系统地在序列中进行插入、缺失或置换并测试所得的变体蛋白质与亲本抗体相比的活性来确定生物学上有用和/或相关的氨基酸序列变异。

[0218] 在一些实施方案中,变体可以包括在抗体或多肽的氨基和/或羧基末端添加氨基酸残基。添加的氨基酸残基的长度可以为从一个残基到一百个或更多个残基的范围。在一些实施方案中,变体包含N末端甲硫氨酰残基。在一些实施方案中,变体包含添加的多肽/蛋白质以产生融合蛋白。在一些实施方案中,变体被工程化为可检测的,并且可以包含可检测的标记和/或蛋白质(例如,荧光标签、荧光蛋白质或酶)。

[0219] 在一些实施方案中,不参与维持抗体正确构象的半胱氨酸残基被置换或缺失,以调节抗体的特性,例如改善氧化稳定性和/或防止异常的二硫键交联。相反,在一些实施方案中,添加一个或多个半胱氨酸残基以产生二硫键来改善稳定性。

[0220] 在一些实施方案中,本公开的抗体被“去免疫化”。抗体的去免疫化通常包括引入特定的氨基酸突变(例如,置换、缺失、添加),导致T细胞表位(已知的或预测的)的去除,而不会显著降低抗体的结合亲和力或其他所需的活性。

[0221] 本文所述的变体抗体或多肽可以使用本领域已知的方法产生,所述方法包括但不限于定点诱变、丙氨酸扫描诱变和PCR诱变。

[0222] 在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂被化学修饰。在一些实施方案中,ILT3结合剂是通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、通过已知保护/封闭基团的衍生化、蛋白水解切割和/或与细胞配体或其他蛋白质的连接进行化学修饰的抗ILT3抗体。许多化学修饰中的任何一种都可以通过已知的技术进行。在一些实施方案中,ILT3结合剂是抗体片段(例如,scFv、Fv、Fab、F(ab')₂或F(ab'))₂,其中所述抗体片段附接(直接或间接)到半衰期延长部分,所述半衰期延长部分包括但不限于Fc区或其变体、人血清白蛋白、免疫球蛋白的CH3结构域、聚乙二醇(PEG)、PEG模拟物、XTEN®、血清白蛋白、聚唾液酸、N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺或葡聚糖。

[0223] 本公开涵盖建立在非免疫球蛋白主链上的ILT3结合剂,其中所述结合剂结合与本文所公开的抗ILT3抗体相同的表位或基本相同的表位。在一些实施方案中,非基于免疫球蛋白的结合剂是在竞争性结合测定中与本文所述的抗ILT3抗体竞争的剂。在一些实施方案中,替代性ILT3结合剂包含支架蛋白。一般来说,支架蛋白可以基于其主链的架构被分配到

三个组中的一个组：(1)由 α -螺旋组成的支架；(2)具有很少二级结构或 α -螺旋和 β -折叠的不规则架构的小支架；和(3)主要由 β -折叠组成的支架。支架蛋白质包括但不限于基于脂质运载蛋白支架的anticalin；基于人3型纤连蛋白的第10结构域的adnectin；基于金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 蛋白A的Ig结合区中的B结构域的亲合体 (affibody)；基于锚蛋白重复结构域蛋白的darpin；基于人Fyn蛋白激酶SH3结构域的fynomer；基于来自酸热硫化叶菌 (*Sulfolobus acidocaldarius*) 的Sac7d的affitin；基于人 γ -B-晶体蛋白或人泛素的affilin；基于膜受体蛋白的A结构域的avimer；基于稳定的30个氨基酸反平行 β 链蛋白质折叠的knottin (半胱氨酸打结小蛋白)；和基于含有三个二硫键和三个环的结构的Kunitz结构域抑制剂支架。

[0224] 在一些实施方案中，ILT3结合剂包含工程化支架蛋白，所述工程化支架蛋白包含如表1所示的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含工程化支架蛋白，所述工程化支架蛋白包含含有氨基酸序列GFSLTSYGVH (SEQ ID NO:11) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列VIWPGGTINYSALMS (SEQ ID NO:12) 的重链可变区CDR2、含有氨基酸序列DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13) 的重链可变区CDR3、含有氨基酸序列KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LASNRHT (SEQ ID NO:15) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列LQHLYNYPLT (SEQ ID NO:16) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含工程化支架蛋白，所述工程化支架蛋白包含来自抗体3A3的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0225] 在一些实施方案中，ILT3结合剂包含工程化支架蛋白，所述工程化支架蛋白包含如表2所示的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含工程化支架蛋白，所述工程化支架蛋白包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28) 的重链可变区CDR2、含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29) 的重链可变区CDR3、含有氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:30) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含工程化支架蛋白，所述工程化支架蛋白包含来自抗体5A7的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含工程化支架蛋白，所述工程化支架蛋白包含如表8所示的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含工程化支架蛋白，所述工程化支架蛋白包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28) 的重链可变区CDR2、含有氨基酸序列REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105) 的重链可变区CDR3、含有氨基酸序列RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中，ILT3结合剂包含工程化支架蛋白，所述工程化支架蛋白包含来自抗体Hz5A7.v5的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0226] 在一些实施方案中，ILT3结合剂包含工程化支架蛋白，所述工程化支架蛋白包含如表3所示的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施

方案中,ILT3结合剂包含工程化支架蛋白,所述工程化支架蛋白包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:43)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPNNGGTGYNQKFNS (SEQ ID NO:44)的重链可变区CDR2、含有氨基酸序列SPYYDYVGSYAMDY (SEQ ID NO:45)的重链可变区CDR3、含有氨基酸序列TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:46)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列STSNLAS (SEQ ID NO:47)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列HQYHRSPRT (SEQ ID NO:48)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含工程化支架蛋白,所述工程化支架蛋白包含来自抗体12A12的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0227] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含工程化支架蛋白,所述工程化支架蛋白包含如表4所示的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含工程化支架蛋白,所述工程化支架蛋白包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:43)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPSNGGTGYNQKFNS (SEQ ID NO:59)的重链可变区CDR2、含有氨基酸序列VPYYDYLYYYAMDY (SEQ ID NO:60)的重链可变区CDR3、含有氨基酸序列RASSSVSFMH (SEQ ID NO:61)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列ATSNLAS (SEQ ID NO:62)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQWSTNPYMYT (SEQ ID NO:63)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含工程化支架蛋白,所述工程化支架蛋白包含来自抗体16C5的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0228] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含工程化支架蛋白,所述工程化支架蛋白包含如表5所示的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含工程化支架蛋白,所述工程化支架蛋白包含含有氨基酸序列GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:71)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIFSGSSTIYYADTVKG (SEQ ID NO:72)的重链可变区CDR2、含有氨基酸序列ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73)的重链可变区CDR3、含有氨基酸序列RASQDISKFLN (SEQ ID NO:74)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS (SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含工程化支架蛋白,所述工程化支架蛋白包含来自抗体45G10的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0229] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含工程化支架蛋白,所述工程化支架蛋白包含如表6所示的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含工程化支架蛋白,所述工程化支架蛋白包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISSGGTYTFYPDSVKG (SEQ ID NO:87)的重链可变区CDR2、含有氨基酸序列RGWLLHYAMDY (SEQ ID NO:88)的重链可变区CDR3、含有氨基酸序列RPSESVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LSSKLES (SEQ ID NO:90)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91)的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含工程化支架蛋白,所述工程化支架蛋白包含来自抗体48A6的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0230] 在一些实施方案中,ILT3结合剂包含工程化支架蛋白,所述工程化支架蛋白包含

如表7所示的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含工程化支架蛋白,所述工程化支架蛋白包含含有氨基酸序列GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:71) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YISTGIITVYYADTVKG (SEQ ID NO:99) 的重链可变区CDR2、含有氨基酸序列ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73) 的重链可变区CDR3、含有氨基酸序列RASQDISNFLN (SEQ ID NO:100) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS (SEQ ID NO:75) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76) 的轻链可变区CDR3。在一些实施方案中,ILT3结合剂包含工程化支架蛋白,所述工程化支架蛋白包含来自抗体53F10的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0231] 在一些实施方案中,组合物包含本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,组合物包含本文所述的抗ILT3抗体。在一些实施方案中,组合物包含本文所述的单克隆抗ILT3抗体。

[0232] 在一些实施方案中,药物组合物包含本文所述的ILT3结合剂和药学上可接受的载剂。在一些实施方案中,药物组合物包含本文所述的抗ILT3抗体和药学上可接受的载剂。在一些实施方案中,组合物包含本文所述的单克隆抗ILT3抗体和药学上可接受的载剂。

[0233] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是分离的。在一些实施方案中,ILT3结合剂是基本上纯的。

[0234] 一般来说,抗原-抗体相互作用是非共价的和可逆的,由氢键、疏水相互作用、静电力和范德华力的组合形成。当描述抗原-抗体复合物的强度时,通常使用术语亲和力和/或亲合力。抗体与其抗原的结合是一个可逆的过程,并且结合的亲和力通常被报道为平衡解离常数(K_D)。 K_D 是抗体解离速率(k_{off}) (抗体与其抗原解离有多快)与抗体缔合速率(k_{on}) (抗体与其抗原缔合有多快)的比率。在一些实施方案中, K_D 值通过以下方式来确定:测量特定抗体/抗原相互作用的 k_{on} 和 k_{off} 速度,然后使用这些值的比率来计算 K_D 值。 K_D 值可以用于评估和排列单个抗体/抗原相互作用的强度。抗体的 K_D 越低,抗体对其靶标的亲和力越高。在一些实施方案中,在Biacore系统中使用SPR技术测量亲和力。亲合力给出了抗体-抗原复合物的整体强度的量度。它取决于三个主要参数:(i) 抗体对靶标的亲和力,(ii) 抗体和抗原两者的效价,和(iii) 相互作用的部分的结构排列。

[0235] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)以1 μ M或更小、100nM或更小、40nM或更小、20nM或更小、10nM或更小、1nM或更小、0.1nM或更小、50pM或更小、10pM或更小、或1pM或更小的解离常数(K_D)结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以约20nM或更小的 K_D 结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以10nM或更小的 K_D 结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以5nM或更小的 K_D 结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以3nM或更小的 K_D 结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以2nM或更小的 K_D 结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以1nM或更小的 K_D 结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以0.5nM或更小的 K_D 结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以0.1nM或更小的 K_D 结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以50pM或更小的 K_D 结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以25pM或更小的 K_D 结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以10pM或更小的 K_D 结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以1pM或更小的 K_D 结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以0.01nM至2.5nM的 K_D 结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以0.1nM至5nM的 K_D 结合ILT3。在一些实

实施方案中,ILT3结合剂以1nM至5nM的 K_D 结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3的结合剂的解离常数是使用固定在Biacore芯片上的ILT3蛋白和流过芯片的结合剂确定的解离常数。在一些实施方案中,ILT3的结合剂的解离常数是使用Biacore芯片上的抗人IgG抗体捕获的结合剂和流过芯片的可溶性ILT3确定的解离常数。

[0236] 在一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)以1 μ M或更小、100nM或更小、40nM或更小、20nM或更小、10nM或更小、1nM或更小、或0.1nM或更小的半最大有效浓度(EC50)结合ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以1 μ M或更小、100nM或更小、40nM或更小、20nM或更小、10nM或更小、1nM或更小、或0.1nM或更小的EC50结合人ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以40nM或更小、20nM或更小、10nM或更小、1nM或更小或0.1nM或更小的EC50结合cyno ILT3和/或人ILT3。在一些实施方案中,ILT3结合剂以0.1nM至约3nM、0.1nM至2nM、0.1nM至1nM、0.5nM至3nM、0.5nM至2nM、或0.5nM至1nM的EC50结合ILT3。

[0237] 在一些实施方案中,ILT3结合剂结合人ILT3,并且具有以下特性中的至少一种或多种:(i)结合cyno ILT3;(ii)结合人和cyno ILT3;(iii)不结合ILT2、ILT4、ILT5和LILRB5;(iv)不结合LILRA1、LILRA2、LILRA4、LILRA5和LILRA6;(v)是ILT3拮抗剂;(vi)抑制ILT3活性;(vii)抑制表达ILT3的细胞中的ILT3信号传导;(viii)抑制ILT3与APOE的结合;(ix)抑制ILT3与纤连蛋白的结合;(x)抑制ILT3与CNTFR的结合;(xi)抑制ILT3诱导的骨髓细胞抑制;(xii)抑制ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制;(xiii)恢复表达ILT3的骨髓细胞中的FcR活性;和(xiv)恢复表达ILT3的骨髓细胞响应于趋化因子和/或产生趋化因子的能力。

[0238] 本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)可以通过本领域已知的任何合适的方法产生。此类方法包括从直接蛋白质合成方法到构建编码多肽序列的DNA序列并在合适的宿主中表达这些序列。在一些实施方案中,通过分离或合成编码感兴趣的野生型蛋白质的DNA序列使用重组技术构建DNA序列。任选地,可以通过定点诱变对序列进行诱变,以提供其功能变体。在一些实施方案中,使用寡核苷酸合成仪通过化学合成构建编码感兴趣的多肽的DNA序列。可以基于所需多肽的氨基酸序列并且选择将在其中产生感兴趣的重组多肽的宿主细胞中有利的那些密码子来设计寡核苷酸。标准方法可以用于合成编码分离的感兴趣多肽的多核苷酸序列。例如,完整的氨基酸序列可以用于构建回译的基因。此外,可以合成含有编码特定分离的多肽的核苷酸序列的DNA寡聚体。例如,可以合成编码所需多肽的几个部分的几个小寡核苷酸,然后进行连接。单个寡核苷酸通常含有用于互补组装的5'或3'突出端。

[0239] 一旦组装(通过合成、定点诱变或另一种方法),就可以将编码特定感兴趣多肽的多核苷酸序列插入表达载体中并且可操作地连接到适合于在期望的宿主中表达蛋白质的表达控制序列上。可以通过核苷酸测序、限制性酶映射和/或生物活性多肽在合适宿主中的表达来确认正确的组装。

[0240] 在一些实施方案中,将重组表达载体用于扩增和表达编码本文所述的ILT3结合剂的DNA。例如,重组表达载体可以是可复制的DNA构建体,其具有与源自哺乳动物、微生物、病毒或昆虫基因的合适的转录和/或翻译调控元件可操作地连接的、编码ILT3结合剂(诸如抗ILT3抗体或其抗原结合片段)的一条或多条多肽链的合成的或cDNA衍生的DNA片段。转录单位通常包含以下组件:(1)在基因表达中具有调节作用的一个或多个遗传元件,例如转录启动子或增强子,(2)转录成mRNA并翻译成蛋白质的结构或编码序列,和(3)适当的转录和翻译起始和终止序列。调控元件可以包括控制转录的操纵子序列。可以另外掺入通常由复制

起点赋予的在宿主中复制的能力以及促进转化体识别的选择基因。当DNA区域在功能上彼此相关时,它们是“可操作地连接的”。例如,如果信号肽(分泌前导序列)的DNA被表达为参与多肽分泌的前体,则所述信号肽的DNA与多肽的DNA可操作地连接;如果启动子控制编码序列的转录,则所述启动子与所述编码序列可操作地连接;或者如果核糖体结合位点的定位成允许翻译,则所述核糖体结合位点与编码序列可操作地连接。在一些实施方案中,旨在用于酵母表达系统的结构元件包括使得宿主细胞能够胞外分泌所翻译的蛋白质的前导序列。在一些实施方案中,在没有前导序列或转运序列的情况下表达重组蛋白的情境中,多肽可以包括N末端甲硫氨酸残基。此残基可以任选地随后从表达的重组蛋白上切下提供最终产物。

[0241] 表达控制序列和表达载体的选择通常取决于宿主的选择。可以使用多种表达宿主/载体组合。用于真核宿主的有用表达载体包括例如包含来自SV40、牛乳头瘤病毒、腺病毒和巨细胞病毒的表达控制序列的载体。用于细菌宿主的有用表达载体包括已知的细菌质粒,诸如来自大肠杆菌的质粒(包括pCR1, pBR322, pMB9及它们的衍生物)以及更广泛宿主范围的质粒(诸如M13和其他丝状单链DNA噬菌体)。

[0242] 在一些实施方案中,本公开的ILT3结合剂(例如,抗体)从一种或多种载体中表达。在一些实施方案中,重链可变区由一种载体表达,并且轻链可变区由第一种载体表达。在一些实施方案中,重链可变区和轻链可变区由一种载体表达。在一些实施方案中,载体编码本文所述的ILT3结合剂的重链可变区。在一些实施方案中,载体编码本文所述的ILT3结合剂的轻链可变区。在一些实施方案中,载体编码本文所述的ILT3结合剂的重链可变区和轻链可变区。在一些实施方案中,重链多肽由一种载体表达,并且轻链多肽由第二种载体表达。在一些实施方案中,重链多肽和轻链多肽由一种载体表达。在一些实施方案中,载体编码本文所述的ILT3结合剂的重链多肽。在一些实施方案中,载体编码本文所述的ILT3结合剂的轻链多肽。在一些实施方案中,载体编码本文所述的ILT3结合剂的重链多肽和轻链多肽。

[0243] 用于表达用作抗原或免疫原的ILT3结合剂(例如,抗体)或ILT3蛋白或其片段的合适宿主细胞包括在适当启动子的控制下的原核生物、酵母细胞、昆虫细胞或高等真核细胞。原核生物包括革兰氏阴性或革兰氏阳性生物体,例如大肠杆菌或芽孢杆菌。高等真核细胞包括如本文所述的哺乳动物来源的已建立细胞系。也可以使用无细胞翻译系统。用于细菌、真菌、酵母和哺乳动物细胞宿主的适当的克隆载体和表达载体、以及蛋白质生产(包括抗体生产)方法在本领域是熟知的。

[0244] 各种哺乳动物培养系统都可以用于表达重组多肽。重组蛋白在哺乳动物细胞中的表达可能是合乎需要的,因为这些蛋白质通常被正确折叠、适当修饰并具有生物学功能。合适的哺乳动物宿主细胞系的实例包括但不限于COS-7(猴肾源性的)、L-929(鼠成纤维细胞源性的)、C127(鼠乳腺肿瘤源性的)、3T3(鼠成纤维细胞源性的)、CHO(中国仓鼠卵巢源性的)、HeLa(人宫颈癌源性的)、BHK(仓鼠肾成纤维细胞源性的)、HEK-293(人胚肾源性的)细胞系及它们的变体。哺乳动物表达载体可以包含非转录元件(诸如复制起点、与待表达基因连接的合适的启动子和增强子和其他5'或3'侧翼非转录序列)、以及5'或3'非翻译序列(诸如必需的核糖体结合位点、聚腺苷酸化位点、剪接供体和受体位点)和转录终止序列。

[0245] 重组蛋白在昆虫细胞培养系统(例如,杆状病毒)中的表达也提供了一种产生正确折叠且具有生物学功能的蛋白质的稳健方法。用于在昆虫细胞中产生异源蛋白质的杆状病

毒系统是本领域技术人员熟知的。

[0246] 因此,本公开提供了包含本文所述的ILT3结合剂的细胞。在一些实施方案中,细胞产生本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,细胞产生抗体。在一些实施方案中,细胞产生结合人ILT3的抗体。在一些实施方案中,细胞产生结合cyno ILT3的抗体。在一些实施方案中,细胞产生结合人ILT3和cyno ILT3的抗体。在一些实施方案中,细胞产生命名为5A7的抗体。在一些实施方案中,细胞产生抗体5A7的人源化版本,称为Hz5A7。在一些实施方案中,细胞产生Hz5A7的变体,例如Hz5A7.v5。在一些实施方案中,细胞产生命名为3A3的抗体。在一些实施方案中,细胞产生命名为12A12的抗体。在一些实施方案中,细胞产生命名为16C5的抗体。在一些实施方案中,细胞产生命名为45G10的抗体。在一些实施方案中,细胞产生抗体45G10的人源化版本,称为Hz45G10。在一些实施方案中,细胞产生命名为48A6的抗体。在一些实施方案中,细胞产生抗体48A6的人源化版本,称为Hz48A6。在一些实施方案中,细胞产生命名为53F10的抗体。在一些实施方案中,细胞是原核细胞(例如,大肠杆菌)。在一些实施方案中,细胞是真核细胞。在一些实施方案中,细胞是哺乳动物细胞。在一些实施方案中,细胞是杂交瘤细胞。

[0247] 可以根据任何合适的方法纯化由宿主细胞产生的蛋白质。标准方法包括色谱法(例如,离子交换色谱、亲和层析和尺寸柱色谱)、离心、差别溶解(differential solubility)或通过任何其他用于蛋白质纯化的标准技术。亲和标签诸如六组氨酸(His6; SEQ ID NO:154)、麦芽糖结合结构域、流感病毒外壳序列和谷胱甘肽-S-转移酶可以附接到蛋白质上,以允许通过合适的亲和柱容易地纯化。用于纯化免疫球蛋白的亲和层析方法可以包括但不限于蛋白A、蛋白G和蛋白L层析。分离的蛋白质可以使用包括但不限于蛋白质水解、尺寸排阻色谱(SEC)、质谱(MS)、核磁共振(NMR)、等电聚焦(IEF)、高效液相色谱(HPLC)和x射线晶体学的技术进行物理表征。可以使用本领域技术人员已知的技术来确定分离的蛋白质的纯度,所述技术包括但不限于SDS-PAGE、SEC、毛细管凝胶电泳、IEF和毛细管等电聚焦(cIEF)。

[0248] 在一些实施方案中,来自将重组蛋白分泌到培养基中的表达系统的上清液首先使用可商购获得的蛋白浓缩过滤器(例如,Amicon®或Millipore Pellicon®超滤部件)进行浓缩。在浓缩步骤之后,可以将浓缩物施加到合适的纯化基质上。在一些实施方案中,使用阴离子交换树脂,例如,具有二乙氨基乙基(DEAE)侧基的基质或基底。基质可以是丙烯酰胺、琼脂糖、葡聚糖、纤维素或蛋白质纯化中常用的其他类型。在一些实施方案中,采用阳离子交换步骤。合适的阳离子交换剂包括各种包含磺丙基或羧甲基基团的不溶性基质。在一些实施方案中,采用羟磷灰石介质,包括但不限于陶瓷羟磷灰石(CHT)。在一些实施方案中,将采用疏水性RP-HPLC介质(例如,具有甲基或其他脂肪族侧基的硅胶)的一个或多个反相HPLC步骤用于进一步纯化重组蛋白。在一些实施方案中,将疏水相互作用层析(HIC)用于基于重组蛋白的疏水性来分离重组蛋白。HIC是一种用于纯化蛋白质同时由于使用比其他一些技术在更少变性的条件下操作的条件和基质而保持生物活性的有用的分离技术。可以采用各种组合的一些或所有前述纯化步骤来提供均一的重组蛋白。

[0249] 可以通过本领域已知的各种测定来分析本公开的ILT3结合剂(例如,抗体)的物理/化学性质和/或生物活性。在一些实施方案中,测试抗ILT3抗体结合ILT3(例如,人ILT3和/或cyno ILT3)的能力。结合测定包括但不限于SPR(例如,Biacore)、ELISA和FACS。在一

些实施方案中,测试抗ILT3抗体抑制、减少或阻断与纤连蛋白、APOE和/或CNTFR结合的能力。此外,可以评估抗体的溶解性、稳定性、热稳定性、粘度、表达水平、表达质量和/或纯化效率。

[0250] 在一些实施方案中,基于每种单个抗体识别的表位对所产生的抗ILT3的单克隆抗体进行分组,这一过程被称为“表位分仓(epitope binning)”。通常,以成对组合的方式测试抗体,并且将彼此竞争的抗体被一起分组到仓中。例如,在预混分仓测定中,将第一抗体固定在表面上,并且第二抗体和抗原的预混溶液流过固定的第一抗体。抗原被纵排地固定在表面上,并且两种抗体流过固定的抗原并竞争结合。使用这些技术,可以鉴定出相互阻断的抗体。相对于其他抗体,为每种抗体创建了竞争性封闭特征。封闭结果决定了每种抗体被置于哪个仓中。表位分仓的高通量方法是本领域已知的,并且允许在短时期内筛选和表征大量抗体。结合相似表位的抗体通常共享相似的功能和/或能力。相反,结合不同表位的抗体可能具有不同的功能活性。

[0251] 在一些实施方案中,表位仓包含选自3A3、5A7、12A12、16C5、45G10、48A6和53F10的至少一种抗体。在一些实施方案中,表位仓至少包含抗体5A7和48A6。在一些实施方案中,表位仓至少包含抗体12A12和16C5。在一些实施方案中,表位仓至少包含抗体45G10和53F10。在一些实施方案中,表位仓至少包含抗体12A12和16C5。

[0252] 表位映射是鉴定结合位点或抗体(或其他结合剂)结合的靶蛋白/抗原上的表位的过程。本领域已知多种用于对靶蛋白上的表位进行映射的方法。这些方法包括(i) 诱变,包括但不限于鸟枪法诱变、定点诱变和丙氨酸扫描;(ii) 结构域或片段扫描;(iii) 肽扫描(例如,Pepscan技术);(iv) 展示法,包括但不限于噬菌体展示、微生物展示和核糖体/mRNA展示;(v) 涉及蛋白质水解和质谱的方法;(vi) 涉及酰胺氢/氘交换的方法;和(vii) 结构确定,包括但不限于x射线晶体学和NMR。

[0253] 在一些实施方案中,纯化的抗ILT3抗体通过包括但不限于N末端测序、氨基酸分析、HPLC、质谱、差示扫描荧光测定法(DSF)、nanoDSF、毛细管等电聚焦(cIEF)、离子交换色谱和木瓜蛋白酶消化的测定来表征。

[0254] 表征免疫细胞功能的体外测定包括但不限于细胞激活测定(例如,细胞增殖测定)、细胞毒性T细胞(CTL)测定、混合淋巴细胞反应(MLR)测定、细胞因子/趋化因子产生测定、FcR结合测定和细胞迁移测定。在一些实施方案中,提供了用于鉴定影响ILT3活性的抗ILT3抗体的测定。“影响(Affect或affecting)ILT3活性”可以包括例如抑制(inhibiting)、降低、阻断、拮抗、抑制(suppressing)和/或干扰ILT3活性。由于ILT3通常充当负性调节/抑制分子,在一些实施方案中,抑制(inhibiting)、减少、阻断、拮抗、抑制(suppressing)和/或干扰ILT3活性导致释放ILT3诱导的生物功能(例如,激活信号)抑制。如本文所述,ILT3在骨髓细胞(诸如单核细胞、巨噬细胞、树突细胞(DC)和骨髓APC)上表达。ILT3在抑制性骨髓细胞(诸如致耐受性树突细胞(to1DC)和骨髓衍生抑制细胞(MDSC))上高度表达。ILT3活性或ILT3信号传导活性包括但不限于骨髓细胞的抑制、骨髓细胞活性的抑制和肿瘤相关骨髓细胞的抑制。在一些实施方案中,抑制(inhibiting)、减少、阻断、拮抗、抑制(suppressing)和/或干扰ILT3活性导致释放ILT3诱导的激活信号抑制。在一些实施方案中,抗ILT3抗体抑制ILT3信号传导。在一些实施方案中,抗ILT3抗体抑制ILT3信号传导,从而逆转ILT3诱导的抑制效应。在一些实施方案中,抗ILT3抗体抑制ILT3诱导的消光信号。

[0255] 在一些实施方案中,抗ILT3抗体破坏ILT3信号传导途径。在一些实施方案中,抗ILT3抗体破坏ILT3信号传导途径并激活骨髓细胞。在一些实施方案中,抗ILT3抗体破坏ILT3信号传导途径并激活骨髓APC。在一些实施方案中,抗ILT3抗体破坏ILT3信号传导途径并激活树突细胞。在一些实施方案中,抗ILT3抗体破坏ILT3信号传导途径并激活或再激活to1DC。在一些实施方案中,抗ILT3抗体破坏ILT3信号传导途径并恢复to1DC对刺激(例如,LPS)作出响应的能力。在一些实施方案中,抗ILT3抗体破坏ILT3信号传导途径并激活原代树突细胞。

[0256] 在一些实施方案中,术语“抑制(inhibiting)”、“减少”、“阻断”、“拮抗”、“抑制(suppressing)”和“干扰”是相对于在没有用ILT3结合剂治疗情况下的水平和/或活性而言的。在一些实施方案中,术语“抑制(inhibiting)”、“减少”、“阻断”、“拮抗”、“抑制(suppressing)”和“干扰”是相对于在用ILT3结合剂治疗之前的水平和/或活性而言的。

[0257] 在一些实施方案中,抑制ILT3活性的抗ILT3抗体是抗体3A3。在一些实施方案中,抑制ILT3活性的抗ILT3抗体是抗体5A7。在一些实施方案中,抑制ILT3活性的抗ILT3抗体是抗体Hz5A7.v5。在一些实施方案中,抑制ILT3活性的抗ILT3抗体是抗体12A12。在一些实施方案中,抑制ILT3活性的抗ILT3抗体是抗体16C5。在一些实施方案中,抑制ILT3活性的抗ILT3抗体是抗体45G10。在一些实施方案中,抑制ILT3活性的抗ILT3抗体是抗体48A6。在一些实施方案中,抑制ILT3活性的抗ILT3抗体是抗体53F10。在一些实施方案中,抑制ILT3活性的抗ILT3抗体是抗体Hz45G10。在一些实施方案中,抑制ILT3活性的抗ILT3抗体是抗体Hz48A6。

[0258] 本公开还提供了包含本文所述的抗ILT3抗体的缀合物。在一些实施方案中,抗体附接至第二分子。在一些实施方案中,抗体与细胞毒性剂或部分缀合。在一些实施方案中,抗体与细胞毒性剂缀合形成ADC(抗体-药物缀合物)。在一些实施方案中,细胞毒性剂是化学治疗剂,包括但不限于甲氨蝶呤、阿霉素/多柔比星、美法仑、丝裂霉素C、苯丁酸氮芥、多卡米星、柔红霉素、吡咯苯并二氮杂卓(PBD)或其他嵌入剂。在一些实施方案中,细胞毒性剂是微管抑制剂,包括但不限于澳瑞他汀(auristatins)、美登木素生物碱类(maytansinoids)(例如,DM1和DM4)和微管溶素(tubulysins)。在一些实施方案中,细胞毒性剂是细菌、真菌、植物或动物来源的酶活性毒素或其片段,包括但不限于白喉毒素A链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A链、蓖麻毒素A链、相思子毒素A链、莨菪根毒素A链、 α -八叠球菌素(α -sarcin)、油桐(Aleurites fordii)蛋白、石竹素蛋白、美洲商陆(Phytolacca americana)蛋白(PAPI、PAPII和PAP-S)、苦瓜(Momordica charantia)抑制剂、麻疯树毒蛋白、巴豆毒蛋白、石碱草(Sapaonaria officinalis)抑制剂、白树毒素、有丝分裂素(mitogellin)、局限曲菌素、酚霉素、依诺霉素和单端孢霉烯类(tricothecenes)。在一些实施方案中,抗体与一种或多种小分子毒素(诸如刺孢霉素(calicheamicins)、美登素生物碱、trichothenes和CC1065)缀合。可以使用这些毒素中的任何一种的衍生物,只要该衍生物保留了母体分子的细胞毒性活性。

[0259] 可以使用本领域已知的任何合适的方法来制备包含本文所述的抗ILT3抗体的缀合物。在一些实施方案中,使用多种双功能蛋白质偶联剂来制备缀合物,所述双功能蛋白质偶联剂诸如N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶双硫醇)丙酸酯(SPDP)、亚氨基硫杂环戊烷(IT)、酰亚胺酯的双功能衍生物(诸如二甲基己二亚酰胺化物盐酸盐)、活性酯类(诸如辛二酸二琥

珀酰亚胺酯)、醛类(诸如戊二醛)、双叠氮基化合物(诸如双(对叠氮基苯甲酰基)己二胺)、双重氮基衍生物(诸如双-(对重氮基苯甲酰基)-乙二胺)、二异氰酸酯(诸如甲苯2,6-二异氰酸酯)和双活性氟化合物(诸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)

[0260] 在一些实施方案中,本文所述的抗ILT3抗体与可检测物质或分子缀合,所述可检测物质或分子允许所述抗体被用于诊断和/或检测。在一些实施方案中,标记的抗ILT3抗体用于监测肿瘤中或肿瘤微环境中的免疫细胞。在一些实施方案中,标记的抗ILT3抗体用于监测治疗后的肿瘤中或肿瘤微环境中的免疫细胞。可检测物质可以包括但不限于酶,诸如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β 半乳糖苷酶和乙酰胆碱酯酶;辅基,诸如生物素和黄素;荧光物质,诸如伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素(FITC)、罗丹明、四甲基罗丹明异硫氰酸酯(TRITC)、二氯三嗪氨基荧光素、丹磺酰氯、花青(Cy3)和藻红蛋白;生物发光材料,诸如荧光素酶;放射性物质,诸如 ^{212}Bi 、 ^{14}C 、 ^{57}Co 、 ^{51}Cr 、 ^{67}Cu 、 ^{18}F 、 ^{68}Ga 、 ^{67}Ga 、 ^{153}Gd 、 ^{159}Gd 、 ^{68}Ge 、 ^3H 、 ^{166}Ho 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{121}I 、 ^{115}In 、 ^{113}In 、 ^{112}In 、 ^{111}In 、 ^{140}La 、 ^{177}Lu 、 ^{54}Mn 、 ^{99}Mo 、 ^{32}P 、 ^{103}Pd 、 ^{149}Pm 、 ^{142}Pr 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{105}Rh 、 ^{97}Ru 、 ^{35}S 、 ^{47}Sc 、 ^{75}Se 、 ^{153}Sm 、 ^{113}Sn 、 ^{117}Sn 、 ^{85}Sr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{201}Ti 、 ^{133}Xe 、 ^{90}Y 、 ^{69}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{65}Zn ;发射正电子的金属;和磁性金属离子。

[0261] 在一些实施方案中,将本文所述的抗ILT3抗体用于免疫测定。免疫测定是本领域技术人员已知的,并且包括但不限于ELISA、SPR(例如,Biacore)、FACS和免疫组织化学(IHC)。在一些实施方案中,将本文所述的抗ILT3抗体用于组织样品或肿瘤样品。

[0262] 本文所述的抗ILT3抗体也可以与第二抗体缀合形成抗体异源缀合物(heteroconjugate)。

[0263] 如本文所述的抗ILT3抗体可以附接至固体支持物上。此类固体支持物包括但不限于玻璃、纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。在一些实施方案中,将固定的抗ILT3抗体用于免疫测定。在一些实施方案中,将固定的抗ILT3抗体用于纯化靶抗原。

[0264] III多核苷酸

[0265] 在一些实施方案中,本公开涵盖包含编码本文所述的多肽(例如,ILT3结合剂)的多核苷酸的多核苷酸。术语“编码多肽的多核苷酸”涵盖仅包含多肽编码序列的多核苷酸以及包含另外的编码和/或非编码序列的多核苷酸。本公开的多核苷酸可以是RNA形式或DNA形式。DNA包括cDNA、基因组DNA和合成DNA;并且可以是双链或单链,并且如果单链可以是编码链或非编码(反义)链。

[0266] 在一些实施方案中,多核苷酸包含编码本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)的重链可变区和/或轻链可变区的多核苷酸。在一些实施方案中,多核苷酸包含编码本文所述的ILT3结合剂的重链可变区的多核苷酸。在一些实施方案中,多核苷酸包含编码本文所述的ILT3结合剂的轻链可变区的多核苷酸。在一些实施方案中,多核苷酸包含编码本文所述的ILT3结合剂的重链可变区的多核苷酸和编码所述ILT3结合剂的轻链可变区的多核苷酸。

[0267] 在一些实施方案中,多核苷酸包含编码本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)的重链和/或轻链的多核苷酸。在一些实施方案中,多核苷酸包含编码本文所述的ILT3结合剂的重链的多核苷酸。在一些实施方案中,多核苷酸包含编码本文所述的ILT3结合剂的轻链的多核苷酸。在一些实施方案中,多核苷酸包含编码本文所述的ILT3结合剂的重链的多核苷酸和编码所述ILT3结合剂的轻链的多核苷酸。

[0268] 在一些实施方案中,多核苷酸包含编码多肽的多核苷酸,所述多肽包含选自由SEQ

[0270] 本公开还提供了本文所述的多核苷酸的变体,其中所述变体编码例如多肽的片段、类似物和/或衍生物。在一些实施方案中,本公开提供了多核苷酸,其包含与编码本文所述的多肽的多核苷酸至少80%相同、至少85%相同、至少90%相同、至少95%相同、以及在一些实施方案中至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的核苷酸序列的多核苷酸。

[0271] 在一些实施方案中,多核苷酸包含具有如下核苷酸序列的多核苷酸,所述核苷酸序列与编码选自SEQ ID NO:109-128组成的组的氨基酸序列的多核苷酸至少80%相同、至少85%相同、至少90%相同、至少95%相同、以及在一些实施方案中至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同。还提供了多核苷酸,其包含与编码选自SEQ ID NO:109-128组成的组的氨基酸序列的多核苷酸杂交的多核苷酸。在一些实施方案中,杂交是在本领域技术人员已知的高严格条件下进行的。

[0272] 如本文所用,短语“具有与多核苷酸序列至少95%相同的核苷酸序列的多核苷酸”旨在表示多核苷酸的核苷酸序列与参考序列相同,除了所述多核苷酸序列可以包括每100个参考核苷酸序列核苷酸至多5个点突变。换句话说,为了获得具有与参考核苷酸序列至少95%相同的核苷酸序列的多核苷酸,参考序列中最多5%的核苷酸可以被缺失或被另一种核苷酸置换,或者参考序列中最多5%总核苷酸的核苷酸数目可以被插入到参考序列中。本领域技术人员应理解,对于其他“%相同”的陈述,例如90%相同或85%相同,可以进行适当的计算。参考序列的这些突变可以发生在参考核苷酸序列的5'或3'末端位置或这些末端位置之间的任何地方,或者单独散布在参考序列的核苷酸之中,或者散布在参考序列内的一个或多个连续组中。

[0273] 多核苷酸变体可以包含编码区、非编码区或两者的改变。在一些实施方案中,多核苷酸变体包含产生沉默置换、添加或缺失的改变,但不改变所编码多肽的性质或活性。在一些实施方案中,多核苷酸变体包含不导致多肽氨基酸序列改变的沉默置换(由于遗传密码的简并性)。在一些实施方案中,多核苷酸变体包含一个或多个突变的密码子,所述一个或多个突变的密码子包含对密码子的一个或多个(例如,1个、2个或3个)置换,所述置换改变由该密码子编码的氨基酸。将一个或多个置换引入密码子中的方法是本领域已知的,包括但不限于PCR诱变和定点诱变。可以出于多种原因产生多核苷酸变体,例如,为了优化特定宿主的密码子表达(例如,将人mRNA中的密码子改变为细菌宿主诸如大肠杆菌偏好的密码子)。在一些实施方案中,多核苷酸变体在序列的非编码区或编码区中包含至少一个沉默突变。

[0274] 在一些实施方案中,产生多核苷酸变体来调节或改变所编码多肽的表达(或表达水平)。在一些实施方案中,产生多核苷酸变体以增加所编码多肽的表达。在一些实施方案中,产生多核苷酸变体以降低所编码多肽的表达。在一些实施方案中,与母体多核苷酸序列相比,多核苷酸变体具有增加的所编码多肽的表达。在一些实施方案中,与母体多核苷酸序列相比,多核苷酸变体具有降低的所编码多肽的表达。

[0275] 在一些实施方案中,多核苷酸包含在同一的阅读框中与辅助多肽从宿主细胞表达和分泌的多核苷酸融合的多肽(例如,抗体)编码序列。在一些实施方案中,辅助表达和分泌的多核苷酸是作为控制多肽转运的分泌序列发挥功能的前导序列。在一些实施方案中,多肽具有被宿主细胞切割以形成多肽“成熟”形式的前导序列。

[0276] 在一些实施方案中,多核苷酸包含在同一阅读框中与标记或标签序列融合的多肽

(例如,抗体)编码序列。例如,在一些实施方案中,标记序列是允许与标记融合的多肽的有效纯化的六组氨酸标签(HIS标签;SEQ ID NO:154)。在一些实施方案中,当使用哺乳动物宿主时,标记序列是来源于流感血凝素蛋白的血凝素(HA)标签。在一些实施方案中,标记序列是FLAG™标签。在一些实施方案中,标记可以与其他标记或标签结合使用。

[0277] 在一些实施方案中,多核苷酸是分离的。在一些实施方案中,多核苷酸是基本上纯的。

[0278] 还提供了包含本文所述的多核苷酸中的每个和每一种多核苷酸的载体和细胞。在一些实施方案中,载体(例如,表达载体)包含编码本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)的多核苷酸分子。在一些实施方案中,载体包含编码多肽的多核苷酸分子,所述多肽是本文所述的ILT3结合剂的一部分。在一些实施方案中,细胞包含载体,所述载体包含编码本文所述的ILT3结合剂的多核苷酸分子。在一些实施方案中,细胞包含含有编码多肽的多核苷酸分子的载体,所述多肽是本文所述的ILT3结合剂的一部分。在一些实施方案中,细胞包含编码本文所述的ILT3结合剂的多核苷酸分子。在一些实施方案中,细胞包含编码本文所述的ILT3结合剂的一种或多种多核苷酸。在一些实施方案中,细胞包含编码本文所述的ILT3结合剂的单个多核苷酸。在一些实施方案中,细胞包含编码本文所述的ILT3结合剂的重链可变区的第一多核苷酸和编码本文所述的ILT3结合剂的轻链可变区的第二多核苷酸。在一些实施方案中,细胞包含编码本文所述ILT3结合剂的重链可变区和轻链可变区的多核苷酸。在一些实施方案中,细胞包含编码本文所述ILT3结合剂的重链的第一多核苷酸和编码本文所述的ILT3结合剂的轻链的第二多核苷酸。在一些实施方案中,细胞包含编码本文所述的ILT3结合剂的重链和轻链的多核苷酸。在一些实施方案中,细胞包含一种或多种编码本文所述的ILT3结合剂的载体。在一些实施方案中,细胞包含编码本文所述的ILT3结合剂的载体。在一些实施方案中,细胞包含编码本文所述的ILT3结合剂的重链可变区的第一载体和编码本文所述的ILT3结合剂的轻链可变区的第二载体。在一些实施方案中,细胞包含编码本文所述ILT3结合剂的重链可变区和轻链可变区的单个载体。在一些实施方案中,细胞包含编码本文所述的ILT3结合剂的重链的第一载体和编码本文所述的ILT3结合剂的轻链的第二载体。在一些实施方案中,细胞包含编码本文所述的ILT3结合剂的重链和轻链的单个载体。

[0279] IV. 制备结合剂的方法

[0280] 本公开提供了制备本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)的方法。在一些实施方案中,方法包括提供包含ILT3结合剂的重链和/或轻链的细胞,在允许所述结合剂表达的条件下培养所述细胞,并且分离所述结合剂。在一些实施方案中,方法还包括纯化所述结合剂。在一些实施方案中,方法还包括将所述结合剂配制成药物组合物。在一些实施方案中,细胞包含一种或多种编码本文所述ILT3结合剂的重链可变区和轻链可变区的载体。在一些实施方案中,细胞包含编码ILT3结合剂的重链可变区的第一载体和编码ILT3结合剂的轻链可变区的第二载体。在其他实施方案中,细胞包含编码ILT3结合剂的重链可变区和轻链可变区的载体。在一些实施方案中,细胞包含一种或多种编码本文所述的ILT3结合剂的重链和轻链的载体。在一些实施方案中,细胞包含编码ILT3结合剂的重链的第一载体和编码ILT3结合剂的轻链的第二载体。在其他实施方案中,细胞包含编码ILT3结合剂的重链和轻链的载体。在一些实施方案中,细胞包含一种或多种编码ILT3结合剂的重链和轻链的多核苷酸。在

一些实施方案中,细胞包含编码ILT3结合剂的重链的第一多核苷酸和编码ILT3结合剂的轻链的第二多核苷酸。在其他实施方案中,细胞包含编码ILT3结合剂的重链和轻链的多核苷酸。在一些实施方案中,将编码本文所述的ILT3结合剂的多核苷酸瞬时转染到细胞中。在一些实施方案中,将编码本文所述的ILT3结合剂的多核苷酸稳定转染到细胞中。

[0281] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是包含至少一个抗原结合位点的抗体片段,并且所述方法包括提供包含抗ILT3抗体片段的细胞,在允许所述抗体片段表达的条件下孵育所述细胞,并且分离所述抗体片段。在某些实施方案中,细胞包含编码本文所述的抗体片段的载体。在某些实施方案中,细胞包含编码本文所述的抗体片段的多核苷酸。在一些实施方案中,方法包括纯化抗体片段。在某些实施方案中,抗体片段是Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、(scFv)₂、单链抗体、双可变区抗体、双抗体或纳米抗体。

[0282] 在一些实施方案中,ILT3结合剂是scFv,并且所述方法包括提供包含所述scFv的细胞,在允许所述scFv表达的条件下孵育所述细胞,并且分离所述scFv。在某些实施方案中,细胞包含编码所述scFv的本文所述的载体。在某些实施方案中,细胞包含编码所述scFv的本文所述的多核苷酸。在一些实施方案中,方法包括纯化scFv。

[0283] 在一些实施方案中,用于制备ILT3结合剂的细胞是细菌细胞(例如,大肠杆菌)。在一些实施方案中,用于制备ILT3结合剂的细胞是酵母细胞(例如,巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*))。在一些实施方案中,用于制备ILT3结合剂的细胞是哺乳动物细胞,诸如CHO细胞或HEK-293细胞。

[0284] 在一些实施方案中,使用信号序列(例如,通过将信号序列与待表达的肽融合)从细胞中表达本文所述的ILT3结合剂。为此目的,可以使用任何合适的信号序列。例如,为了表达抗体重链和轻链,可以将IgGκ轻链信号肽序列或天然抗体信号肽与重链和轻链序列融合。

[0285] V. ILT3配体

[0286] 本公开提供了纤连蛋白作为新鉴定的人ILT3配体。睫状神经营养因子受体(CNTFR)也被发现是ILT3的结合配偶体(binding partner)。最近,已经鉴定出几个ILT3配体,并且其包括CD166(也称为激活的白细胞粘附分子;ALCAM)、载脂蛋白E(APOE)和肽酶抑制剂16(PI16)(Xu等人,2018,*J. Immunol.*,200:1207-1219;Deng等人,2018,*Nature*,562:605-609;国际公开号W0 2018/089300)。目前,对于是否所有这些蛋白质都具有ILT3配体的生物学功能,似乎还没有一致的意见,并且研究正在进行中以进一步了解这些不同相互作用中每一种的相关性。

[0287] 人纤连蛋白(UniProtKB号P02751)和人CNTFR-α(UniProtKB号P26992)的氨基酸(aa)序列在本文中分别以SEQ ID NO:138和SEQ ID NO:148提供。人纤连蛋白至少有17种不同的亚型,UniProtKB将SEQ ID NO:138列为其经典序列。如本文所用,提及这些蛋白质的氨基酸位置是指对包括信号序列的氨基酸序列的编号。

[0288] 纤连蛋白(FN)通常作为二聚体存在,所述二聚体由通过一对二硫键在它们的C末端附近共价连接的两个几乎相同的大约250kDa亚基构成。每种单体包含三种类型的重复单元(称为FN重复序列):I型、II型和III型。FN包含12个I型重复序列、2个II型重复序列和15-17个III型重复序列,它们合起来占纤连蛋白序列的大约90%。纤连蛋白的结构图示参见图8。I型和II型重复序列由于结构域内二硫键的存在而变得稳定,而III型结构域在结构上

更不稳定并且易遭受机械解折叠。纤连蛋白可以以多种形式存在,所述形式起因于单个前体mRNA的选择性剪接,其可以产生多达20种变体。

[0289] 纤连蛋白是一种由肝脏合成的血浆蛋白质,其在大多数组织中经历细胞依赖性聚合成纤维状细胞外基质。血浆来源的合成和通过常驻基质细胞的局部合成两者都有助于构成组织基质的纤连蛋白。

[0290] 纤连蛋白是整联蛋白受体家族中至少12个成员的配体。纤连蛋白除了通过整联蛋白与细胞表面结合外,还具有多种功能活性。其结合许多其他蛋白质,包括肝素、胶原/明胶和纤维蛋白。这些相互作用由纤连蛋白和纤连蛋白重复序列组内的几个不同的结构和功能结构域介导。许多其他纤连蛋白结构域的生物作用没有被表征和/或很好地理解。

[0291] 如本文所公开的,纤连蛋白被鉴定为ILT3的配体。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与纤连蛋白的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂阻断ILT3与纤连蛋白的相互作用。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制ILT3与纤连蛋白的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂阻断或抑制ILT3与纤连蛋白之间的功能性相互作用。

[0292] 在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与SEQ ID NO:138或139的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与纤连蛋白的N末端区域(没有信号序列/肽)的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与纤连蛋白的肝素结合结构域和胶原结合结构域的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与纤连蛋白的肝素结合结构域的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与纤连蛋白的I型重复序列1-5的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与纤连蛋白的I型重复序列1-4的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与纤连蛋白的I型重复序列1-3的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与纤连蛋白的I型重复序列1-2的结合。任何结构域的边界都不是确切已知的,并且本文中用于定义FN的结构域和/或重复序列的氨基酸是基于来自UniProtKB的信息。因此,任何结构域和/或重复序列的边界都可以与本文所述的那些不同。

[0293] 在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与SEQ ID NO:138的氨基酸32-608的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与SEQ ID NO:138的氨基酸32-280的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与SEQ ID NO:138的氨基酸32-300的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与SEQ ID NO:138的氨基酸32-228的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与SEQ ID NO:138的氨基酸32-182的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与SEQ ID NO:138的氨基酸32-138的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制、破坏或阻断ILT3与SEQ ID NO:138的氨基酸32-290的结合。

[0294] 在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)抑制纤连蛋白诱导的

ILT3活性。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制纤连蛋白诱导的ILT3抑制活性。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制纤连蛋白诱导的ILT3对骨髓细胞的抑制。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制纤连蛋白诱导的ILT3对骨髓细胞活性的抑制。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制纤连蛋白诱导的ILT3对APC的抑制。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制纤连蛋白诱导的ILT3对APC活性的抑制。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制纤连蛋白诱导的ILT3对树突细胞的抑制。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制纤连蛋白诱导的ILT3对树突细胞活性的抑制。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制纤连蛋白诱导的ILT3对巨噬细胞的抑制。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制纤连蛋白诱导的ILT3对巨噬细胞活性的抑制。在一些实施方案中,骨髓细胞(包括但不限于树突细胞、APC、单核细胞和巨噬细胞)是肿瘤相关细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞(包括但不限于树突细胞、APC、单核细胞和巨噬细胞)驻留在肿瘤微环境中。在一些实施方案中,骨髓细胞(包括但不限于树突细胞、APC、单核细胞和巨噬细胞)驻留在肿瘤内。

[0295] 如本文所公开的,CNTFR- α 被鉴定为ILT3配体。CNTFR- α 是已知结合睫状神经营养因子的三深裂(tripartite)CNTFR复合物的一部分。CNTFR- α 亚基是一种膜结合蛋白,并且通过糖基-磷脂酰肌醇(GPI)键锚定在细胞膜上。没有复合物的共受体组分,这种受体没有信号转导能力。另外两种组分是gp130和白血病抑制因子受体(LIFR) β ,它们提供复合物的信号转导能力(Stahl等人,1994,J.Neurobiol.,25:1454-1466)。ILT3与CNTFR结合的生物相关性仍在研究中。

[0296] 在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制、破坏或阻断ILT3与CNTFR- α 的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂阻断ILT3与CNTFR- α 的相互作用。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制ILT3与CNTFR- α 的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制、破坏或阻断ILT3与CNTFR- α 的结合,并且调节CNTFR复合物信号传导。

[0297] 在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制、破坏或阻断ILT3与成熟形式的CNTFR- α 的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制、破坏或阻断ILT3与CNTFR- α 的Ig样C2型结构域的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制、破坏或阻断ILT3与CNTFR- α 的一个或两个FN III型结构域(即,FN III型结构域1、FN III型结构域2或FN III型结构域1和2)的结合。

[0298] 在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制、破坏或阻断ILT3与SEQ ID NO:149或SEQ ID NO:150的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制、破坏或阻断ILT3与SEQ ID NO:148的氨基酸23-342的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制、破坏或阻断ILT3与SEQ ID NO:148的氨基酸23-104的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制、破坏或阻断ILT3与SEQ ID NO:148的氨基酸105-205的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制、破坏或阻断ILT3与SEQ ID NO:148的氨基酸206-306的结合。在一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂抑制、破坏或阻断ILT3与SEQ ID NO:148的氨基酸23-306的结合。

[0299] VI.使用方法和药物组合物

[0300] 本公开的ILT3结合剂(例如,抗体)可用于多种应用,包括但不限于治疗性治疗方法,诸如癌症治疗。在一些实施方案中,治疗性治疗方法包括癌症的免疫疗法。在一些实施

方案中,ILT3结合剂可用于激活、促进、增加和/或增强对癌症或癌细胞的免疫应答。在一些实施方案中,ILT3结合剂可用于激活、促进、增加和/或增强对肿瘤或肿瘤细胞的免疫应答。使用方法可以是体外、离体或体内方法。

[0301] 本公开提供了破坏、抑制或阻断ILT3与纤连蛋白结合的方法。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断ILT3与纤连蛋白结合的方法包括使细胞与本文所述的ILT3结合剂接触。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断ILT3与纤连蛋白结合的方法包括使细胞与本文所述的ILT3结合剂接触,其中所述方法导致破坏、抑制或阻断纤连蛋白诱导的ILT3活性。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断ILT3与纤连蛋白结合的方法包括使细胞与本文所述的ILT3结合剂接触,其中所述方法导致破坏、抑制或阻断ILT3诱导的骨髓细胞抑制。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断ILT3与纤连蛋白结合的方法包括使细胞与本文所述的ILT3结合剂接触,其中所述方法导致破坏、抑制或阻断ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断ILT3与纤连蛋白结合的方法(i)恢复骨髓细胞中的FcR信号传导活性;(ii)恢复骨髓细胞的趋化因子产生;和/或(iii)恢复免疫细胞(例如,T细胞)增殖和/或活性。在一些实施方案中,骨髓细胞是单核细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是巨噬细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是树突细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是to1DC。在一些实施方案中,骨髓细胞是APC。

[0302] 本公开提供了破坏、抑制或阻断受试者中ILT3与纤连蛋白结合的方法。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断受试者中的ILT3与纤连蛋白结合的方法包括向所述受试者施用有效量的本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断受试者中的纤连蛋白诱导的ILT3活性的方法包括向所述受试者施用有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断受试者中的ILT3诱导的骨髓细胞抑制的方法包括向所述受试者施用有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断受试者中的ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制的方法包括向所述受试者施用有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,破坏、抑制或阻断受试者中的ILT3诱导的抗原呈递细胞活性抑制的方法(i)恢复骨髓细胞中的FcR活性;(ii)恢复骨髓细胞的趋化因子产生;和/或(iii)恢复免疫细胞(例如,T细胞)增殖和/或活性。在一些实施方案中,骨髓细胞是单核细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是巨噬细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是树突细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是to1DC。在一些实施方案中,骨髓细胞是APC。

[0303] 本公开提供了使用本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)激活受试者的免疫应答的方法。在一些实施方案中,本公开提供了使用本文所述的ILT3结合剂促进受试者的免疫应答的方法。在一些实施方案中,本公开提供了使用本文所述的ILT3结合剂增加受试者的免疫应答的方法。在一些实施方案中,本公开提供了使用本文所述的ILT3结合剂增强受试者的免疫应答的方法。在一些实施方案中,激活、促进、增加和/或增强免疫应答包括刺激骨髓细胞。在一些实施方案中,激活、促进、增加和/或增强免疫应答包括刺激单核细胞。在一些实施方案中,激活、促进、增加和/或增强免疫应答包括刺激巨噬细胞。在一些实施方案中,激活、促进、增加和/或增强免疫应答包括刺激树突细胞。在一些实施方案中,激活、促进、增加和/或增强免疫应答包括刺激APC。在一些实施方案中,激活、促进、增加和/或增强免疫应答包括刺激to1DC。在一些实施方案中,激活、促进、增加和/或增强免疫应答包括再激活to1DC。在一些实施方案中,激活、促进、增加和/或增强免疫应答包括增加细胞介导的免疫。

在一些实施方案中,激活、促进、增加和/或增强免疫应答包括增加效应T细胞活性。在一些实施方案中,激活、促进、增加和/或增强免疫应答包括增加CTL活性。在一些实施方案中,激活、促进、增加和/或增强免疫应答包括抑制或降低Treg的抑制活性。在一些实施方案中,激活、促进、增加和/或增强免疫应答包括抑制或降低MDSC的抑制活性。在一些实施方案中,免疫应答是抗原刺激的结果。在一些实施方案中,抗原性刺激是肿瘤细胞。在一些实施方案中,抗原性刺激是癌症。

[0304] 本公开还提供了破坏和/或抑制细胞中的ILT3信号传导的方法,所述方法包括使所述细胞与有效量的本文所述的ILT3结合剂接触。在一些实施方案中,破坏和/或抑制细胞中的ILT3信号传导的方法包括使所述细胞与有效量的抗体3A3、抗体5A7、抗体12A12、抗体16C5、抗体45G10、抗体48A6或抗体53F10或它们的人源化版本接触。在一些实施方案中,破坏和/或抑制细胞中的ILT3信号传导的方法包括使所述细胞与有效量的抗体Hz5A7.v5接触。在一些实施方案中,破坏和/或抑制细胞中的ILT3信号传导的方法包括使所述细胞与有效量的抗体Hz45G10接触。在一些实施方案中,破坏和/或抑制细胞中的ILT3信号传导的方法包括使所述细胞与有效量的抗体Hz48A6接触。在一些实施方案中,本公开提供了本文所述的ILT3结合剂在制造或制备用于破坏和/或抑制细胞中的ILT3信号传导的药物中的用途。在某些实施方案中,细胞是骨髓细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是单核细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是巨噬细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是树突细胞。在一些实施方案中,骨髓细胞是to1DC。在一些实施方案中,骨髓细胞是抗原呈递细胞。在某些实施方案中,方法是体内方法,其中使细胞与剂接触的步骤包括向受试者施用治疗有效量的ILT3结合剂。在一些实施方案中,方法是体外或离体方法。

[0305] 本公开还提供了使用本文所述的ILT3结合剂抑制肿瘤生长的方法。在一些实施方案中,抑制肿瘤生长的方法包括使用抗体3A3、抗体5A7、抗体12A12、抗体16C5、抗体45G10、抗体48A6或抗体53F10或它们的人源化版本。在一些实施方案中,抑制肿瘤生长的方法包括使用抗体Hz5A7.v5。在一些实施方案中,抑制肿瘤生长的方法包括使用抗体Hz45G10。在一些实施方案中,抑制肿瘤生长的方法包括使用抗体Hz48A6。在某些实施方案中,抑制肿瘤生长的方法包括在体外将细胞混合物与ILT3结合剂接触。例如,在添加了结合ILT3的测试剂的培养基中培养永生化细胞系或与免疫细胞(例如,致耐受性树突细胞)混合的癌症细胞系。在一些实施方案中,从患者样品(例如组织活检、胸膜渗出液或血液样品)中分离肿瘤细胞,将其与免疫细胞(例如,to1DC)混合,并且在添加了结合ILT3的测试剂的培养基中培养。在一些实施方案中,本公开提供了本文所述的ILT3结合剂在制造或制备用于抑制肿瘤或肿瘤细胞生长的药物中的用途。在一些实施方案中,ILT3结合剂增加、促进和/或增强效应免疫细胞的活性。在一些实施方案中,ILT3结合剂抑制肿瘤细胞生长。

[0306] 在一些实施方案中,抑制肿瘤生长的方法包括在体内使肿瘤和/或肿瘤微环境与本文所述的ILT3结合剂接触。在某些实施方案中,在动物模型中进行肿瘤和/或肿瘤微环境与ILT3结合剂的接触。例如,可以向患有肿瘤的小鼠施用测试剂。在一些实施方案中,ILT3结合剂增加、促进和/或增强小鼠中免疫细胞的活性。在一些实施方案中,ILT3结合剂抑制肿瘤生长。在一些实施方案中,ILT3结合剂导致肿瘤消退。在一些实施方案中,在将肿瘤细胞引入动物中的同时或之后不久施用ILT3结合剂以防止肿瘤生长(“预防性模型”)。在一些实施方案中,在肿瘤已经生长至特定大小或已经“确立”进行治疗之后施用ILT3结合剂(“治

疗性模型”)。在一些实施方案中,向表达人ILT3的转基因动物(例如,转基因小鼠)施用ILT3结合剂,其中所述转基因动物具有源自人细胞的肿瘤。

[0307] 在某些实施方案中,抑制肿瘤生长的方法包括向受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)。在某些实施方案中,受试者是人。在一些实施方案中,增加或增强对受试者中的肿瘤或肿瘤细胞的免疫应答的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,激活或增强对受试者中的肿瘤或肿瘤细胞的持续或长期免疫应答的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,抑制受试者中的肿瘤复发或肿瘤再生的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,诱导抑制受试者中的肿瘤复发或肿瘤再生的持久或长期免疫的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在本文所述的方法的一些实施方案中,肿瘤是实体瘤。在一些实施方案中,肿瘤是胰腺肿瘤、乳腺肿瘤、肺部肿瘤、头颈部肿瘤、结肠直肠肿瘤、前列腺肿瘤、皮肤肿瘤、黑素瘤肿瘤、胃肿瘤、胃部肿瘤、肠肿瘤、卵巢肿瘤、宫颈肿瘤、子宫肿瘤、子宫内膜肿瘤、膀胱肿瘤、脑部肿瘤、食管肿瘤、肝肿瘤、肾肿瘤或睾丸肿瘤。在一些实施方案中,肿瘤是胰腺肿瘤。在一些实施方案中,肿瘤是卵巢肿瘤。在一些实施方案中,肿瘤是乳腺肿瘤。在一些实施方案中,肿瘤是子宫肿瘤。在某些实施方案中,受试者患有肿瘤或受试者的肿瘤被至少部分去除。

[0308] 在一些实施方案中,本公开提供了本文所述的ILT3结合剂在制造或制备用于抑制肿瘤或肿瘤细胞生长的药物中的用途。在一些实施方案中,抑制肿瘤生长的方法包括向受试者施用治疗有效量的抗体3A3、抗体5A7、抗体12A12、抗体16C5、抗体45G10、抗体48A6或抗体53F10或它们的人源化版本。在一些实施方案中,抑制肿瘤生长的方法包括向受试者施用治疗有效量的抗体Hz5A7.v5。在一些实施方案中,抑制肿瘤生长的方法包括向受试者施用治疗有效量的抗体Hz48A6。在一些实施方案中,抑制肿瘤生长的方法包括向受试者施用治疗有效量的抗体Hz45G10。

[0309] 本公开提供了治疗癌症的方法。在一些实施方案中,治疗癌症的方法包括向受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合ILT3并且抑制或减少癌症的生长。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合表达人ILT3的细胞,增强对癌症的免疫应答,并且抑制或减少癌症的生长。在一些实施方案中,ILT3结合剂结合表达人ILT3的细胞,再激活to1DC,增强对癌症的免疫应答,并且抑制或减少癌症的生长。在某些实施方案中,受试者是人。在某些实施方案中,受试者患有癌性肿瘤。在某些实施方案中,受试者的肿瘤已经至少部分去除。

[0310] 在一些实施方案中,本公开提供了本文所述的ILT3结合剂在制造或制备用于治疗癌症的药物中的用途。

[0311] 在本文所述的方法的一些实施方案中,癌症是胰腺癌、乳腺癌、肺癌、头颈癌、结肠直肠癌、前列腺癌、皮肤癌、黑素瘤、胃癌、胃部癌、肠癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、子宫内膜癌、膀胱癌、脑癌、食管癌、肝癌、肾癌或睾丸癌。在一些实施方案中,癌症是肉瘤。在一些实施方案中,癌症表达ILT3。

[0312] 在一些实施方案中,癌症是血液病。在一些实施方案中,癌症是骨髓性白血病。在一些实施方案中,骨髓性癌症是急性髓样白血病(AML)。在一些实施方案中,骨髓性癌症是

慢性髓样白血病。在一些实施方案中，癌症是表达ILT3的某种类型的B细胞白血病或淋巴瘤。在一些实施方案中，癌症是骨髓增生异常综合征。骨髓增生异常综合征 (MDS) 是其中骨髓中的未成熟血细胞不成熟并因此无法成为健康的血细胞的一组癌症。在一些实施方案中，骨髓增生异常综合征会发展成AML。

[0313] 在一些实施方案中，治疗受试者中的癌症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的抗体3A3、抗体5A7、抗体12A12、抗体16C5、抗体45G10、抗体48A6或抗体53F10或它们的人源化版本。在一些实施方案中，治疗受试者中的癌症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的抗体Hz5A7.v5。在一些实施方案中，治疗受试者中的癌症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的抗体Hz48A6。在一些实施方案中，治疗受试者中的癌症的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的抗体Hz45G10。

[0314] 在一些实施方案中，本公开提供了激活在肿瘤微环境中的骨髓细胞的方法。在一些实施方案中，激活肿瘤受试者中的肿瘤微环境中的骨髓细胞的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中，骨髓细胞是原代树突细胞或to1DC。在一些实施方案中，骨髓细胞是单核细胞。在一些实施方案中，骨髓细胞是巨噬细胞。在一些实施方案中，骨髓细胞是APC。在一些实施方案中，本公开提供了再激活受试者中的to1DC的方法，所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述的ILT3结合剂。在一些实施方案中，在肿瘤微环境中发现了to1DC。

[0315] 在本文所述的方法的一些实施方案中，ILT3结合剂(例如，抗体)包含抗体5A7的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。在本文所述的方法的一些实施方案中，ILT3结合剂包含抗体Hz5A7.v5的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0316] 在本文所述的方法的一些实施方案中，抗ILT3抗体包含：(a) 重链可变区，所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29) 或REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105) 的重链可变区CDR3，和(b) 轻链可变区，所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:30) 或RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32) 的轻链可变区CDR3。在本文所述的方法的一些实施方案中，抗ILT3抗体包含：(a) 重链可变区，所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29) 的重链可变区CDR3，和(b) 轻链可变区，所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:30) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31) 的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNNEDPFT (SEQ ID NO:32) 的轻链可变区CDR3。在本文所述的方法的一些实施方案中，抗ILT3抗体包含：(a) 重链可变区，所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28) 的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105) 的重链可变区CDR3，和(b) 轻链可变区，所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106) 的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LTSNLES (SEQ

ID NO:31)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQNNEPFT (SEQ ID NO:32)的轻链可变区CDR3。

[0317] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含:(a) SEQ ID NO:111的重链可变区和(b) SEQ ID NO:112的轻链可变区。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含:(a) SEQ ID NO:123的重链可变区和(b) SEQ ID NO:124的轻链可变区。

[0318] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:126的重链。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:128的轻链。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:126的重链和SEQ ID NO:128的轻链。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是5A7的人源化版本。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是Hz5A7.v5。

[0319] 在本文所述的方法的一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含抗体3A3或3A3的人源化版本的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0320] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFSLTSYGVH (SEQ ID NO:11)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列VIWPGGTINYSALMS (SEQ ID NO:12)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13)的重链可变区CDR3,和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LASNRHT (SEQ ID NO:15)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列LQHLNYPLT (SEQ ID NO:16)的轻链可变区CDR3。

[0321] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:109的重链可变区和SEQ ID NO:110的轻链可变区。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:109的多肽。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:110的多肽。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:109的多肽和SEQ ID NO:110的多肽。

[0322] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体3A3。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体3A3的人源化版本。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体3A3的变体或人源化3A3的变体。

[0323] 在本文所述的方法的一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含抗体12A12或12A12的人源化版本的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0324] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:43)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPNNGGTGYNQKFNS (SEQ ID NO:44)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列SPYYDYVGSYAMDY (SEQ ID NO:45)的重链可变区CDR3;和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:46)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列STSNLAS (SEQ ID NO:47)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列HQYHRSPRT (SEQ ID NO:48)的轻链可变区CDR3。

[0325] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:113的重链可变区和SEQ ID NO:114的轻链可变区。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:113的多肽。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:114的多肽。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:113的多

肽和SEQ ID NO:114的多肽。

[0326] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体12A12。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体12A12的人源化版本。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体12A12的变体或人源化12A12的变体。

[0327] 在本文所述的方法的一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含抗体16C5或16C5的人源化版本的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0328] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GYTFTDYNMD(SEQ ID NO:43)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIYPSNGGTGYNQKFKS(SEQ ID NO:59)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列VPYYDYLYYYAMDY(SEQ ID NO:60)的重链可变区CDR3;和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASSSVSFMH(SEQ ID NO:61)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列ATSNLAS(SEQ ID NO:62)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQWSTNPYMYT(SEQ ID NO:63)的轻链可变区CDR3。

[0329] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:115的重链可变区和SEQ ID NO:116的轻链可变区。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:115的多肽。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:116的多肽。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:115的多肽和SEQ ID NO:116的多肽。

[0330] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体16C5。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体16C5的人源化版本。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体16C5的变体或人源化16C5的变体。

[0331] 在本文所述的方法的一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含抗体45G10或45G10的人源化版本的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0332] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSYDGMH(SEQ ID NO:71)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YIFSGSSTIYYADTVKG(SEQ ID NO:72)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY(SEQ ID NO:73)的重链可变区CDR3,和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISKFLN(SEQ ID NO:74)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS(SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT(SEQ ID NO:76)的轻链可变区CDR3。

[0333] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:117的重链可变区和SEQ ID NO:118的轻链可变区。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:117的多肽。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:118的多肽。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:117的多肽和SEQ ID NO:118的多肽。

[0334] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体45G10。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体45G10的人源化版本。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体45G10的变体或人源化45G10的变体。

[0335] 在本文所述的方法的一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含抗体48A6或48A6的人源化版本的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0336] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列TISSGGTYTFYPDSVKG (SEQ ID NO:87)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列RGWLLHYYAMDY (SEQ ID NO:88)的重链可变区CDR3,和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RPSESVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列LSSKLES (SEQ ID NO:90)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91)的轻链可变区CDR3。

[0337] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:119的重链可变区和SEQ ID NO:120的轻链可变区。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:119的多肽。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:120的多肽。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:119的多肽和SEQ ID NO:120的多肽。

[0338] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体48A6。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体48A6的人源化版本。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体48A6的变体或人源化48A6的变体。

[0339] 在本文所述的方法的一些实施方案中,ILT3结合剂(例如,抗体)包含抗体53F10或53F10的人源化版本的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3以及轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3。

[0340] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有氨基酸序列GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:71)的重链可变区CDR1、含有氨基酸序列YISTGIITVYYADTVKG (SEQ ID NO:99)的重链可变区CDR2和含有氨基酸序列ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73)的重链可变区CDR3,和(b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有氨基酸序列RASQDISNFLN (SEQ ID NO:100)的轻链可变区CDR1、含有氨基酸序列YTSRLHS (SEQ ID NO:75)的轻链可变区CDR2和含有氨基酸序列QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76)的轻链可变区CDR3。

[0341] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:121的重链可变区和SEQ ID NO:122的轻链可变区。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:121的多肽。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:122的多肽。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体包含SEQ ID NO:121的多肽和SEQ ID NO:122的多肽。

[0342] 在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体53F10。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体53F10的人源化版本。在本文所述的方法的一些实施方案中,抗ILT3抗体是抗体53F10的变体或人源化53F10的变体。

[0343] 在本文所述的方法的一些实施方案中,方法包括与至少一种另外的治疗剂或治疗性疗法组合施用本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)。用两种或更多种治疗剂进行治疗通常使用通过不同作用机制起作用的剂,尽管这不是必需的。使用具有不同作用机制的剂进行组合疗法可能会产生加合效应或协同效应。组合疗法可以允许每种剂的剂量低于单一疗法所使用的剂量,从而降低毒性副作用和/或增加剂的治疗指数。组合疗法可以降低将对剂发展出抗性的可能性。

[0344] 在所描述的方法的一些实施方案中,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)和至少一种另外的治疗剂的组合导致加合或协同结果。在一些实施方案中,组合疗法导致ILT3结

合剂的治疗指数增加。在一些实施方案中,组合疗法导致另外的治疗剂的治疗指数增加。在一些实施方案中,组合疗法导致ILT3结合剂的毒性和/或副作用降低。在一些实施方案中,组合疗法导致另外的治疗剂的毒性和/或副作用降低。在一些实施方案中,组合疗法包含影响免疫应答(例如,增强或激活应答)的治疗剂和影响(例如,抑制或杀伤)肿瘤/癌症细胞的治疗剂。

[0345] 在本文所述的方法的一些实施方案中,组合疗法包含一种另外的治疗剂或两种或更多种另外的治疗剂。

[0346] 有用的治疗剂种类包括但不限于抗微管蛋白剂、澳瑞他汀、DNA小沟结合剂、DNA复制抑制剂、烷化剂(例如,铂络合物,诸如顺铂、单(铂)、双(铂)和三核铂络合物和卡铂)、蒽环类、抗生素类、抗叶酸、抗代谢剂、化疗增敏剂、多卡米星、依托泊苷、氟化嘧啶(fthiorinated pyrimidines)、离子载体、lexitropsins、亚硝基脲、铂醇、嘌呤抗代谢剂、嘌呤霉素、放射增敏剂、甙类、紫杉烷类、拓扑异构酶抑制剂、长春花生物碱类等。在一些实施方案中,第二治疗剂是烷化剂、抗代谢剂、抗有丝分裂剂、拓扑异构酶抑制剂或血管生成抑制剂。

[0347] 可以与本文所述的ILT3结合剂组合施用的治疗剂包括化学治疗剂。因此,在一些实施方案中,方法或治疗包括将本公开的ILT3结合剂与化学治疗剂组合或与化学治疗剂的混合物组合施用。

[0348] 可用于本公开的化学治疗剂包括但不限于烷化剂,诸如噻替派和环磷酰胺(CYTOXAN);烷基磺酸酯,诸如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡;氮丙啶类,诸如苯佐替派(benzodopa)、卡巴醌、美妥替哌(meturedopa)和乌瑞替派(uredopa);乙烯亚胺和甲基蜜胺(methylamelamines),包括六甲蜜胺、三乙撑蜜胺、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰胺和三羟甲基蜜胺(trimethylolomelamime);氮芥,诸如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷酰胺(cholophosphamide)、雌莫司汀、异环磷酰胺、氮芥、氧化氮芥盐酸盐、美法仑、新氮芥、苯乙酸氮芥胆甾醇、泼尼氮芥、曲磷胺、尿嘧啶氮芥;亚硝基脲类,诸如卡莫司汀、氯脲菌素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀、雷莫司汀;抗生素类,诸如阿克拉霉素、放线菌素、安曲霉素(authramycin)、重氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素C、卡奇霉素、卡柔比星(carabycin)、洋红霉素(caminomycin)、嗜癌霉素、色霉素、更生霉素、柔红霉素、地托比星、6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸、多柔比星、表柔比星、依索比星、伊达比星、麻西罗霉素、丝裂霉素、霉酚酸、诺拉霉素、橄榄霉素、培洛霉素、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑菌素、链脲菌素、杀结核菌素、乌苯美司、净司他汀、佐柔比星;抗代谢剂,诸如甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶(5-FU);叶酸类似物,诸如二甲叶酸、甲氨蝶呤、蝶罗呤、三甲曲沙;嘌呤类似物,诸如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤;嘧啶类似物,诸如安西他滨、阿扎胞苷、6-阿扎尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷、5-FU;雄激素类,诸如卡普睾酮、丙酸屈他雄酮、环硫雄醇、美雄烷、睾内脂;抗肾上腺素类,诸如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦;叶酸补充剂,诸如亚叶酸;醋葡醛内酯;醛磷酰胺糖苷;氨基酮戊酸;安吡啶;bestrabucil;比生群;依达曲沙(edatraxate);defofamine;地美可辛;地吡醌;elformithine;依利醋铵;依托格鲁;硝酸镓;羟基脲;香菇多糖;氯尼达明;米托胍脞;米托蒽醌;莫哌达醇;硝氮丙吡啶;喷司他丁;蛋氨酸;吡柔比星;鬼臼酸;2-乙基酰肼;丙卡巴肼;PSK;雷佐生;西佐喃(sizofuran);锆螺胺;替奴佐酸;三亚胺脞;2,2',2''-三氯三乙胺;

乌拉坦;长春地辛;达卡巴嗪;甘露莫司汀;二溴甘露醇;二溴卫矛醇;哌泊溴烷;gacytosine;阿拉伯糖苷(Ara-C);紫杉烷类,例如紫杉醇(TAXOL)和多西紫杉醇(TAXOTERE);苯丁酸氮芥;吉西他滨;6-硫鸟嘌呤;巯基嘌呤;铂类似物,诸如顺铂和卡铂;长春碱;铂;依托泊苷(VP-16);异环磷酰胺;丝裂霉素C;米托蒽醌;长春新碱;长春瑞滨;诺维本;诺消灵;替尼泊苷;道诺霉素;氨基蝶呤;伊班膦酸盐;CPT 11;拓扑异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟氨酸(DMFO);视黄酸;埃斯波霉素;卡培他滨(XELODA);以及任何上述物质的药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[0349] 化学治疗剂还包括用于调节或抑制激素对肿瘤作用的抗激素剂,诸如抗雌激素类,包括例如他莫昔芬、雷洛昔芬、抑制芳香酶的4(5)-咪唑、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、雷洛昔芬盐酸盐(keoxifene)、LY117018、奥那司酮和托瑞米芬(FARESTON);和抗雄激素类,诸如氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、亮丙瑞林和戈舍瑞林;以及任何上述物质的药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[0350] 在本文所述的方法的某些实施方案中,化学治疗剂是拓扑异构酶抑制剂。拓扑异构酶抑制剂是干扰拓扑异构酶(例如,拓扑异构酶I或II)作用的化学治疗剂。拓扑异构酶抑制剂包括但不限于盐酸多柔比星、柠檬酸柔红霉素、盐酸米托蒽醌、放线菌素D、依托泊苷、盐酸托泊替康、替尼泊苷(VM-26)和伊立替康、以及任何这些物质的药学上可接受的盐、酸或衍生物。在一些实施方案中,另外的治疗剂是伊立替康。

[0351] 在某些实施方案中,化学治疗剂是抗代谢剂。抗代谢剂是结构与正常生物化学反应所需的代谢物类似、但又不同使得足以干扰细胞的一种或多种正常功能(诸如细胞分裂)的一种化学物质。抗代谢剂包括但不限于吉西他滨、氟尿嘧啶、卡培他滨、甲氨蝶呤钠、雷替曲塞(ralitrexed)、培美曲塞、替加氟、阿糖胞苷、硫鸟嘌呤、5-氮杂胞苷、6-巯基嘌呤、硫唑嘌呤、6-硫鸟嘌呤、喷司他丁、氟达拉滨磷酸盐和克拉屈滨、以及任何这些药物的药学上可接受的盐、酸或衍生物。在某些实施方案中,另外的治疗剂是吉西他滨。

[0352] 在本文所述的方法的某些实施方案中,化学治疗剂是抗有丝分裂剂,包括但不限于结合微管蛋白的剂。在一些实施方案中,剂是紫杉烷。在某些实施方案中,剂是紫杉醇或多西紫杉醇、或紫杉醇或多西紫杉醇的药学上可接受的盐、酸或衍生物。在某些实施方案中,剂是紫杉醇(TAXOL)、多西紫杉醇(TAXOTERE)、白蛋白结合型紫杉醇(nab-紫杉醇;ABRAXANE)、DHA-紫杉醇或PG-紫杉醇。在某些替代实施方案中,抗有丝分裂剂包括长春花生物碱,诸如长春新碱、长春碱、长春瑞滨或长春地辛、或它们的药学上可接受的盐、酸或衍生物。在一些实施方案中,抗有丝分裂剂是驱动蛋白Eg5的抑制剂或有丝分裂激酶诸如Aurora A或Plk1的抑制剂。在某些实施方案中,另外的治疗剂是紫杉醇。在某些实施方案中,另外的治疗剂是nab-紫杉醇。

[0353] 在本文所述的方法的一些实施方案中,另外的治疗剂包括诸如小分子之类的剂。例如,治疗可以包括将本公开的ILT3结合剂与用作针对肿瘤相关抗原的抑制剂的小分子组合施用,所述肿瘤相关抗原包括但不限于EGFR、HER2(ErbB2)和/或VEGF。在一些实施方案中,本公开的ILT3结合剂与选自由以下组成的组的蛋白激酶抑制剂组合施用:吉非替尼(IRESSA)、埃罗替尼(TARCEVA)、舒尼替尼(SUTENT)、拉帕替尼、凡德他尼(ZACTIMA)、AEE788、CI-1033、西地尼布(RECENTIN)、索拉非尼(NEXAVAR)和帕唑帕尼(GW786034B)。在一些实施方案中,另外的治疗剂包含mTOR抑制剂。

[0354] 在本文所述的方法的一些实施方案中,另外的治疗剂包括生物分子,诸如抗体。例如,治疗可以包括将本公开的ILT3结合剂与针对肿瘤相关抗原的抗体组合施用,所述针对肿瘤相关抗原的抗体包括但不限于结合EGFR、HER2/ErbB2和/或VEGF的抗体。

[0355] 在某些实施方案中,另外的治疗剂是作为血管生成抑制剂的抗体(例如,抗VEGF或VEGF受体抗体)。在某些实施方案中,另外的治疗剂是贝伐单抗(AVASTIN)、雷莫芦单抗、曲妥珠单抗(HERCEPTIN)、培妥珠单抗(OMNITARG)、帕木单抗(VECTIBIX)、尼妥珠单抗、扎芦木单抗或西妥昔单抗(ERBITUX)。

[0356] 在本文所述的方法的一些实施方案中,另外的治疗剂是调节免疫应答的抗体。在一些实施方案中,另外的治疗剂是抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗PD-L2抗体、抗CTLA-4抗体或抗TIGIT抗体。

[0357] 此外,用本文所述的ILT3结合剂进行的治疗可以包括与其他生物分子诸如一种或多种细胞因子(例如,淋巴因子、白介素、肿瘤坏死因子和/或生长因子)的组合治疗,或者可以伴有肿瘤的手术去除、癌细胞的去除或治疗医师认为必要的任何其他疗法。在一些实施方案中,另外的治疗剂是免疫治疗剂。

[0358] 在本文所述的方法的一些实施方案中,将ILT3结合剂与选自由以下组成的组的生长因子组合:肾上腺髓质素(AM)、血管生成素(Ang)、BMP、BDNF、EGF、红细胞生成素(EPO)、FGF、GDNF、G-CSF、GM-CSF、GDF9、HGF、HDGF、IGF、迁移刺激因子、肌生长抑制素(GDF-8)、NGF、神经营养因子、PDGF、血小板生成素、TGF- α 、TGF- β 、TNF- α 、VEGF、PIGF、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-12、IL-15和IL-18。

[0359] 在本文所述的方法的一些实施方案中,另外的治疗剂是免疫治疗剂。在一些实施方案中,免疫治疗剂选自由以下组成的组:粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、白介素3(IL-3)、白介素12(IL-12)、白介素1(IL-1)、白介素2(IL-2)、B7-1(CD80)、B7-2(CD86)、4-1BB配体、抗CD3抗体、抗CTLA-4抗体、抗TIGIT抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗LAG-3抗体和抗TIM-3抗体。

[0360] 在本文所述的方法的一些实施方案中,免疫治疗剂选自由以下组成的组:PD-1活性调节剂、PD-L1活性调节剂、PD-L2活性调节剂、CTLA-4活性调节剂、CD28活性调节剂、CD80活性调节剂、CD86活性调节剂、4-1BB活性调节剂、OX40活性调节剂、KIR活性调节剂、Tim-3活性调节剂、LAG3活性调节剂、CD27活性调节剂、CD40活性调节剂、GITR活性调节剂、TIGIT活性调节剂、CD20活性调节剂、CD96活性调节剂、IDO1活性调节剂、细胞因子、趋化因子、干扰素、白介素、淋巴因子、肿瘤坏死因子(TNF)家族成员和免疫刺激性寡核苷酸。

[0361] 在本文所述的方法的一些实施方案中,免疫治疗剂选自由以下组成的组:PD-1拮抗剂、PD-L1拮抗剂、PD-L2拮抗剂、CTLA-4拮抗剂、CD80拮抗剂、CD86拮抗剂、KIR拮抗剂、Tim-3拮抗剂、LAG3拮抗剂、TIGIT拮抗剂、CD20拮抗剂、CD96拮抗剂和/或IDO1拮抗剂。

[0362] 在本文所述的方法的一些实施方案中,PD-1拮抗剂是特异性地结合PD-1的抗体。在一些实施方案中,结合PD-1的抗体是派姆单抗(KEYTRUDA、MK-3475)、匹地利珠单抗(CT-011)、纳武单抗(OPDIVO、BMS-936558、MDX-1106)、MEDI0680(AMP-514)、REGN2810、BGB-A317、PDR-001或STI-A1110。在一些实施方案中,结合PD-1的抗体在PCT公开号WO 2014/179664中进行了描述,例如,鉴定为APE2058、APE1922、APE1923、APE1924、APE 1950或APE1963的抗体,或含有任何这些抗体的CDR区的抗体。在其他实施方案中,PD-1拮抗剂是包

含PD-L2的融合蛋白,例如AMP-224。在其他实施方案中,PD-1拮抗剂是肽抑制剂,例如AU P-12。

[0363] 在一些实施方案中,PD-L1拮抗剂是特异性地结合PD-L1的抗体。在一些实施方案中,结合PD-L1的抗体是阿特珠单抗(atezolizumab)(TECENTRIQ, RG7446, MPDL3280A)、MEDI4736, BMS-936559 (MDX-1105)、阿维鲁单抗(avelumab)(BAVENCIO, MSB0010718C)、德瓦鲁单抗(durvalumab)(IMFINZI)、KD033、KD033的抗体部分或STI-A1014。在一些实施方案中,结合PD-L1的抗体在PCT公开号WO 2014/055897中进行了描述,例如,Ab-14、Ab-16、Ab-30、Ab-31、Ab-42、Ab-50、Ab-52或Ab-55、或包含任何这些抗体的CDR区的抗体。

[0364] 在一些实施方案中,CTLA-4拮抗剂是特异性地结合CTLA-4的抗体。在一些实施方案中,结合CTLA-4的抗体是伊匹木单抗(YERVOY)或曲美木单抗(CP-675,206)。在一些实施方案中,CTLA-4拮抗剂是CTLA-4融合蛋白,例如KAHR-102。

[0365] 在一些实施方案中,LAG3拮抗剂是特异性地结合LAG3的抗体。在一些实施方案中,结合LAG3的抗体是IMP701、IMP731、BMS-986016、LAG525和GSK2831781。在一些实施方案中,LAG3拮抗剂包括可溶性LAG3受体,例如IMP321。

[0366] 在一些实施方案中,KIR拮抗剂是特异性地结合KIR的抗体。在一些实施方案中,结合KIR的抗体是利瑞鲁单抗(lirilumab)。

[0367] 在一些实施方案中,免疫治疗剂选自由以下组成的组:CD28激动剂、4-1BB激动剂、OX40激动剂、CD27激动剂、CD80激动剂、CD86激动剂、CD40激动剂和GITR激动剂。

[0368] 在一些实施方案中,OX40激动剂包括OX40配体或其OX40结合部分。例如,OX40激动剂可以是MEDI6383。在一些实施方案中,OX40激动剂是特异性地结合OX40的抗体。在一些实施方案中,结合OX40的抗体是MEDI6469、MEDI0562或MOXR0916(RG7888)。在一些实施方案中,OX40激动剂是能够表达OX40配体的载体(例如,表达载体或病毒,诸如腺病毒)。在一些实施方案中,表达OX40的载体是Delta-24-RGDOX或DNX2401。

[0369] 在一些实施方案中,4-1BB(CD137)激动剂是结合分子,诸如anticalin。在一些实施方案中,anticalin是PRS-343。在一些实施方案中,4-1BB激动剂是特异性地结合4-1BB的抗体。在一些实施方案中,结合4-1BB的抗体是PF-2566(PF-05082566)或乌瑞鲁单抗(urelumab)(BMS-663513)。

[0370] 在一些实施方案中,CD27激动剂是特异性地结合CD27的抗体。在一些实施方案中,结合CD27的抗体是伐立鲁单抗(varlilumab)(CDX-1127)。

[0371] 在一些实施方案中,GITR激动剂包含GITR配体或其GITR结合部分。在一些实施方案中,GITR激动剂是特异性地结合GITR的抗体。在一些实施方案中,结合GITR的抗体是TRX518、MK-4166或INBRX-110。

[0372] 在一些实施方案中,免疫治疗剂包括但不限于细胞因子,诸如趋化因子、干扰素、白介素、淋巴因子和肿瘤坏死因子(TNF)家族成员。在一些实施方案中,免疫治疗剂包括免疫刺激性寡核苷酸,诸如CpG二核苷酸。

[0373] 在一些实施方案中,免疫治疗剂包括但不限于抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗PD-L2抗体、抗CTLA-4抗体、抗CD28抗体、抗CD80抗体、抗CD86抗体、抗4-1BB抗体、抗OX40抗体、抗KIR抗体、抗Tim-3抗体、抗LAG3抗体、抗CD27抗体、抗CD40抗体、抗GITR抗体、抗TIGIT抗体、抗CD20抗体、抗CD96抗体或抗IDO1抗体。

[0374] 在一些实施方案中,用ILT3结合剂进行治疗可以在施用另外的治疗剂之前、同时或之后进行。在一些实施方案中,组合施用包括在单一药物配制品中或使用单独配制品进行共同施用,或以任一顺序但通常在一段时间内连续施用使得所有活性剂都能发挥它们的生物活性。在一些实施方案中,剂的制备和/或另外治疗剂的给药方案是根据制造商的说明书或由熟练的从业者凭经验确定的。

[0375] 在本文所述的方法的一些实施方案中,作为组合疗法的一部分,向受试者(例如,人)施用ILT3结合剂(例如,抗体)。

[0376] 应当理解,本文所述的ILT3结合剂(例如,抗体)和至少一种另外的治疗剂的组合可以以任何顺序或同时施用。在一些实施方案中,将ILT3结合剂施用于先前已经历治疗剂治疗的受试者。在一些实施方案中,ILT3结合剂和第二治疗剂基本上同时或并发施用。例如,可以向受试者给予ILT3结合剂,同时经历第二治疗剂(例如,化学治疗剂)治疗的过程。在一些实施方案中,在用第二治疗剂治疗的1年内施用ILT3结合剂。在一些实施方案中,在用第二治疗剂进行任何治疗的10个月、8个月、6个月、4个月或2个月内施用ILT3结合剂。在一些实施方案中,在用第二治疗剂进行任何治疗的4周、3周、2周或1周内施用ILT3结合剂。在一些实施方案中,在用第二治疗剂进行任何治疗的5天、4天、3天、2天或1天内施用ILT3结合剂。还应当理解,两种(或更多种)剂或治疗可以在几小时或几分钟上下内(即基本上同时)施用于受试者。

[0377] 对于疾病的治疗,本公开的ILT3结合剂(例如,抗体)的适当剂量取决于待治疗的病症或疾病、病症或疾病的严重程度和病程、病症或疾病的反应性、施用所述剂是用于治疗目的还是预防目的、先前疗法、患者的临床病史等。可以一次或在持续几天至几个月的一系列治疗中施用ILT3结合剂,或直到实现治愈或实现疾病状态的减轻。

[0378] 本公开提供了包含本文所述的ILT3结合剂的组合物。本公开还提供了包含本文所述的ILT3结合剂和药学上可接受的媒介物的药物组合物。

[0379] 通过将本公开的纯化抗体或剂与药学上可接受的媒介物(例如,载剂或赋形剂)组合来制备用于储存和使用的配制品。本领域技术人员通常认为药学上可接受的载剂、赋形剂和/或稳定剂是配制品或药物组合物的非活性成分。

[0380] 合适的药学上可接受的媒介物包括但不限于无毒缓冲剂,诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;盐,诸如氯化钠;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂,诸如十八烷基二甲基苄基氯化铵、六甲季铵氯化物、苄扎氯铵、苄索氯铵、苯酚、丁醇或苯甲醇、对羟基苯甲酸烷基酯(诸如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯)、儿茶酚、间苯二酚、环己醇、3-戊醇和间甲酚;低分子量多肽(例如,少于约10个氨基酸残基);蛋白质,诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;碳水化合物,诸如单糖、二糖、葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,诸如EDTA;糖类,诸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨糖醇;成盐抗衡离子,诸如钠;金属络合物,诸如Zn-蛋白质络合物;和非离子表面活性剂诸如TWEEN或聚乙二醇(Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第22版, 2012, Pharmaceutical Press, London.)。在一些实施方案中,配制品呈水溶液的形式。在一些实施方案中,配制品以冻干或以替代的干燥形式储存。

[0381] 可以将本公开的结合剂配制成任何合适的形式,用于递送至靶细胞/组织。在一些

实施方案中,可以将ILT3结合剂(例如,抗体)配制为脂质体、微粒、微胶囊、白蛋白微球体、微乳剂、纳米颗粒、纳米胶囊或粗滴乳状液(macroemulsion)。

[0382] 在一些实施方案中,用脂质体制配ILT3结合剂(例如,抗体)。生产脂质体的方法是本领域技术人员已知的。例如,一些脂质体可以通过用包含磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG衍生的磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂质组合物进行反相蒸发来产生。

[0383] 在一些实施方案中,将ILT3结合剂(例如,抗体)配制成持续释放制剂。持续释放制剂的合适实例包括含有剂的固体疏水性聚合物的半透性基质,其中所述基质呈成型制品(例如,薄膜或微胶囊)的形式。持续释放基质包括但不限于聚酯、水凝胶诸如聚(2-羟乙基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇)、聚交酯、L-谷氨酸和7-乙基-L-谷氨酸的共聚物、不可降解的乙烯-醋酸乙烯酯、可降解的乳酸-乙醇酸共聚物诸如LUPRON DEPOT™(由乳酸-乙醇酸共聚物和醋酸亮丙瑞林构成的可注射微球体)、蔗糖醋酸异丁酸酯和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。

[0384] 本公开的药物组合物或配制品可以以任何数量的方式施用进行局部或全身治疗。施用可以通过表皮或透皮贴剂、软膏、洗液、乳膏、凝胶、滴剂、栓剂、喷雾剂、液体和粉末;肺部通过吸入或吹入粉末或气溶胶,包括通过喷雾器、气管内和鼻内;口服;或肠胃外,包括静脉内、动脉内、肿瘤内、皮下、腹膜内、肌肉内(例如注射或输注)或颅内(例如,鞘内或心室内)进行局部施用。

[0385] 以下是本发明的一些具体实施方案:

[0386] 1.一种特异性地结合人免疫球蛋白样转录物3(ILT3)的结合剂,其包含:

[0387] (a)重链可变区,所述重链可变区包含含有与GFTFSSYGMS(SEQ ID NO:27)相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1,含有与TISGGGSYTNYPDSVKG(SEQ ID NO:28)相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR2和含有与REWRMTLYAMDY(SEQ ID NO:29)或REWRYTLYAMDY(SEQ ID NO:105)相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR3,以及

[0388] (b)轻链可变区,所述轻链可变区包含含有与RASESVDSYGNSFMH(SEQ ID NO:30)或RASESVESYGSSFMH(SEQ ID NO:106)相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、含有与LTSNLES(SEQ ID NO:31)相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR2和含有与QQNNEDPFT(SEQ ID NO:32)相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR3。

[0389] 2.如实施方案1所述的结合剂,其中:

[0390] (a)所述重链可变区包含含有所述氨基酸序列GFTFSSYGMS(SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、含有所述氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG(SEQ ID NO:28)的重链可变区CDR2和含有所述氨基酸序列REWRMTLYAMDY(SEQ ID NO:29)的重链可变区CDR3,并且

[0391] (b)所述轻链可变区包含含有所述氨基酸序列RASESVDSYGNSFMH(SEQ ID NO:30)的轻链可变区CDR1、含有所述氨基酸序列LTSNLES(SEQ ID NO:31)的轻链可变区CDR2和含有所述氨基酸序列QQNNEDPFT(SEQ ID NO:32)的轻链可变区CDR3。

[0392] 3.根据实施方案1-2中任一项所述的结合剂,其中所述重链可变区与SEQ ID NO:111具有至少80%的序列同一性。

[0393] 4.根据实施方案1-3中任一项所述的结合剂,其中所述轻链可变区与SEQ ID NO:112具有至少80%的序列同一性。

[0394] 5.如实施方案1-4中任一项所述的结合剂,其中:

[0395] 所述重链可变区与SEQ ID NO:111具有至少80%的序列同一性,并且所述轻链可

变区与SEQ ID NO:112具有至少80%的序列同一性。

[0396] 6.如实施方案1-5中任一项所述的结合剂,其中所述重链可变区与SEQ ID NO:111具有至少90%的序列同一性。

[0397] 7.如实施方案1-6中任一项所述的结合剂,其中所述轻链可变区与SEQ ID NO:112具有至少90%的序列同一性。

[0398] 8.如实施方案1-7中任一项所述的结合剂,其中:

[0399] 所述重链可变区与SEQ ID NO:111具有至少90%的序列同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:112具有至少90%的序列同一性。

[0400] 9.如实施方案1-8中任一项所述的结合剂,其中所述重链可变区包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列。

[0401] 10.如实施方案1-9中任一项所述的结合剂,其中所述轻链可变区包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列。

[0402] 11.如实施方案1-10中任一项所述的结合剂,其中所述重链可变区包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列。

[0403] 12.如实施方案1所述的结合剂,其中:

[0404] (a)所述重链可变区包含含有所述氨基酸序列GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27)的重链可变区CDR1、所述重链可变区CDR2包含所述氨基酸序列TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28)和所述重链可变区CDR3包含所述氨基酸序列REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105),并且

[0405] (b)所述轻链可变区包含所述轻链可变区CDR1包含所述氨基酸序列RASESVESYGSSFMH (SEQ ID NO:106)、所述轻链可变区CDR2包含所述氨基酸序列LTSNLES (SEQ ID NO:31)和所述轻链可变区CDR3包含所述氨基酸序列QQNNEPFT (SEQ ID NO:32)。

[0406] 13.根据实施方案1或12所述的结合剂,其中所述重链可变区与SEQ ID NO:123具有至少80%的序列同一性。

[0407] 14.根据实施方案1、12和13中任一项所述的结合剂,其中轻链可变区与SEQ ID NO:124具有至少80%的序列同一性。

[0408] 15.如实施方案1和12-14中任一项所述的结合剂,其中:

[0409] 所述重链可变区与SEQ ID NO:123具有至少80%的序列同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:124具有至少80%的序列同一性。

[0410] 16.如实施方案1和11-15中任一项所述的结合剂,其中重链可变区与SEQ ID NO:123具有至少90%的序列同一性。

[0411] 17.如实施方案1和11-16中任一项所述的结合剂,其中所述轻链可变区与SEQ ID NO:124具有至少90%的序列同一性。

[0412] 18.如实施方案1和11-17中任一项所述的结合剂,其中:

[0413] 所述重链可变区与SEQ ID NO:123具有至少90%的序列同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:124具有至少90%的序列同一性。

[0414] 19.如实施方案1和11-18中任一项所述的结合剂,其中所述重链可变区包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列。

[0415] 20.如实施方案1和11-19中任一项所述的结合剂,其中所述轻链可变区包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列。

- [0416] 21. 如实施方案1和11-20中任一项所述的结合剂,其中所述重链可变区包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列。
- [0417] 22. 一种特异性地结合人ILT3的结合剂,其中所述结合剂包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:111的氨基酸序列的VH-CDR1、VH-CDR2和VH-CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:112的氨基酸序列的VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。
- [0418] 23. 一种特异性地结合人ILT3的结合剂,其中所述结合剂包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:123的氨基酸序列的VH-CDR1、VH-CDR2和VH-CDR3,所述轻链可变区包含来自具有SEQ ID NO:124的氨基酸序列的轻链可变区的VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。
- [0419] 24. 如实施方案1-23中任一项所述的结合剂,其为抗体。
- [0420] 25. 如实施方案1-24中任一项所述的结合剂,其为单克隆抗体。
- [0421] 26. 如实施方案1-25中任一项所述的结合剂,其为嵌合抗体。
- [0422] 27. 如实施方案1-25中任一项所述的结合剂,其为人源化抗体。
- [0423] 28. 如实施方案1-27中任一项所述的结合剂,其为双特异性抗体或多特异性抗体。
- [0424] 29. 如实施方案1-23中任一项所述的结合剂,其为包含至少一个抗原结合位点的抗体片段。
- [0425] 30. 如实施方案29所述的结合剂,其中所述抗体片段是Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、(scFv)₂、单链抗体、双可变区抗体、双抗体或纳米抗体。
- [0426] 31. 如实施方案1-28中任一项所述的结合剂,其为IgG1抗体、任选地人IgG1抗体以及还任选地具有降低的效应子功能或无效应子功能的人IgG1抗体。
- [0427] 32. 如实施方案1-28中任一项所述的结合剂,其为IgG2抗体、任选地人IgG2抗体。
- [0428] 33. 如实施方案1-28中任一项所述的结合剂,其为IgG4抗体、任选地人IgG4抗体。
- [0429] 34. 如实施方案1-28或31-33中任一项所述的结合剂,其包含κ轻链恒定区、任选地人κ轻链恒定区。
- [0430] 35. 如实施方案1-28或31-33中任一项所述的结合剂,其包含λ轻链恒定区、任选地人λ轻链恒定区。
- [0431] 36. 一种特异性地结合人ILT3的抗体,其包含含有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的轻链。
- [0432] 37. 一种特异性地结合人免疫球蛋白样转录物3 (ILT3) 的结合剂,其包含:
- [0433] (a) 重链可变区,所述重链可变区包含含有与GFSLTSYGVH (SEQ ID NO:11) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、含有与VIWPGGTINYNLSALMS (SEQ ID NO:12) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR2和含有与DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:13) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR3,以及
- [0434] (b) 轻链可变区,所述轻链可变区包含含有与KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:14) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、含有与LASNRHT (SEQ ID NO:15) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR2和含有与LQHLYNYPLT (SEQ ID NO:16) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR3。
- [0435] 38. 如实施方案37所述的结合剂,其中所述重链可变区与SEQ ID NO:109具有至少

80%的同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:110具有至少80%的同一性。

[0436] 39.如实施方案38所述的结合剂,其中所述重链可变区具有SEQ ID NO:109的氨基酸序列,并且所述轻链可变区具有氨基酸序列SEQ ID NO:110。

[0437] 40.一种特异性地结合ILT3的结合剂,其包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:109的氨基酸序列的VH-CDR1、VH-CDR2和VH-CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:110的氨基酸序列的VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

[0438] 41.一种特异性地结合人免疫球蛋白样转录物3 (ILT3) 的结合剂,其包含:

[0439] (a) 重链可变区,所述重链可变区包含含有与GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:43) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、含有与YIYPNNGGTGYNQKFNS (SEQ ID NO:44) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR2和含有与SPYYDYVGSYAMDY (SEQ ID NO:45) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR3,以及

[0440] (b) 轻链可变区,所述轻链可变区包含含有与TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:46) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、含有与STSNLAS (SEQ ID NO:47) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR2和含有与HQYHRSPRT (SEQ ID NO:48) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR3。

[0441] 42.如实施方案41所述的结合剂,其中所述重链可变区与SEQ ID NO:113具有至少80%的同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:114具有至少80%的同一性。

[0442] 43.如实施方案42所述的结合剂,其中所述重链可变区包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:114。

[0443] 44.一种特异性地结合ILT3的结合剂,其包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH-CDR1、VH-CDR2和VH-CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:114的氨基酸序列的VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

[0444] 45.一种特异性地结合人免疫球蛋白样转录物3 (ILT3) 的结合剂,其包含:

[0445] (a) 重链可变区,所述重链可变区包含含有与GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:43) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、含有与YIYPSNNGGTGYNQKFNS (SEQ ID NO:59) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR2和含有与VPYYDYLYYYAMDY (SEQ ID NO:60) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR3,以及

[0446] (b) 轻链可变区,所述轻链可变区包含含有与RASSSVSFMH (SEQ ID NO:61) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、含有与ATSNLAS (SEQ ID NO:62) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR2和含有与QQWSTNPYMYT (SEQ ID NO:63) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR3。

[0447] 46.如实施方案45所述的结合剂,其中所述重链可变区与SEQ ID NO:115具有至少80%的同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:116具有至少80%的同一性。

[0448] 47.如实施方案46所述的结合剂,其中所述重链可变区包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:116。

[0449] 48.一种特异性地结合人ILT3的结合剂,其包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:115的氨基酸序列的VH-CDR1、VH-CDR2和VH-CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:116的氨基酸序列的VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

[0450] 49.一种特异性地结合人免疫球蛋白样转录物3 (ILT3) 的结合剂,其包含:

[0451] (a) 重链可变区,所述重链可变区包含含有与GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:71) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、含有与YIFSGSSTIYYADTVKG (SEQ ID NO:72) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR2和含有与ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR3,以及

[0452] (b) 轻链可变区,所述轻链可变区包含含有与RASQDISKFLN (SEQ ID NO:74) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、含有与YT SRLHS (SEQ ID NO:75) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR2和含有与QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR3。

[0453] 50. 如实施方案49所述的结合剂,其中所述重链可变区与SEQ ID NO:117具有至少80%的同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:118具有至少80%的同一性,所述重链可变区与SEQ ID NO:162具有至少80%的同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:164具有至少80%的同一性,或者所述重链可变区与SEQ ID NO:163具有至少80%的同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:164具有至少80%的同一性。

[0454] 51. 如实施方案50所述的结合剂,其中所述重链可变区包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:118;所述重链可变区包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:164;或者所述重链可变区包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:164。

[0455] 52. 一种特异性地结合人ILT3的结合剂,其包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VH-CDR1、VH-CDR2和VH-CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:118的氨基酸序列的VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

[0456] 53. 一种特异性地结合人免疫球蛋白样转录物3 (ILT3) 的结合剂,其包含:

[0457] (a) 重链可变区,所述重链可变区包含含有与GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、含有与TISSGGTYTFYPDSVKG (SEQ ID NO:87) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR2和含有与RGWLLHYAMDY (SEQ ID NO:88) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR3,以及

[0458] (b) 轻链可变区,所述轻链可变区包含含有与RPSESVDSFGNSFMH (SEQ ID NO:89) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、含有与LSSKLES (SEQ ID NO:90) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR2和含有与QQHNEDPFT (SEQ ID NO:91) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR3。

[0459] 54. 如实施方案53所述的结合剂,其中所述重链可变区与SEQ ID NO:119具有至少80%的同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:120具有至少80%的同一性;所述重链可变区与SEQ ID NO:156具有至少80%的同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:161具有至少80%的同一性;所述重链可变区与SEQ ID NO:157具有至少80%的同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:161具有至少80%的同一性;所述重链可变区与SEQ ID NO:158具有至少80%的同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:161具有至少80%的同一性;所述重链可变区与SEQ ID NO:159具有至少80%的同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:161具有至少80%的同一性;或者所述重链可变区与SEQ ID NO:160具有至少80%的同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:161具有至少80%的同一性。

[0460] 55.如实施方案54所述的结合剂,其中所述重链可变区包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:120;所述重链可变区包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列;所述重链可变区包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列;所述重链可变区包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列;所述重链可变区包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列;或者所述重链可变区包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列。

[0461] 56.一种特异性地结合人ILT3的结合剂,其包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:119的氨基酸序列的VH-CDR1、VH-CDR2和VH-CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:120的氨基酸序列的VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

[0462] 57.一种特异性地结合人免疫球蛋白样转录物3 (ILT3) 的结合剂,其包含:

[0463] (a) 重链可变区,所述重链可变区包含含有与GFTFSYDGMH (SEQ ID NO:71) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、含有与YISTGIITVYYADTVKG (SEQ ID NO:99) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR2和含有与ADGRGAMDY (SEQ ID NO:73) 相同或基本相同的氨基酸序列的重链可变区CDR3,以及

[0464] (b) 轻链可变区,所述轻链可变区包含含有与RASQDISNFLN (SEQ ID NO:100) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、含有与YTSRLHS (SEQ ID NO:75) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR2和含有与QQGNTLPWT (SEQ ID NO:76) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR3。

[0465] 58.如实施方案57所述的结合剂,其中所述重链可变区与SEQ ID NO:121具有至少80%的同一性,并且所述轻链可变区与SEQ ID NO:122具有至少80%的同一性。

[0466] 59.如实施方案58所述的结合剂,其中所述重链可变区包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含氨基酸序列SEQ ID NO:122。

[0467] 60.一种特异性地结合人ILT3的结合剂,其包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含来自SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH-CDR1、VH-CDR2和VH-CDR3,所述轻链可变区包含来自SEQ ID NO:122的氨基酸序列的VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

[0468] 61.如实施方案37-60中任一项所述的结合剂,其为抗体。

[0469] 62.如实施方案37-61中任一项所述的结合剂,其为单克隆抗体。

[0470] 63.如实施方案37-62中任一项所述的结合剂,其为嵌合抗体。

[0471] 64.如实施方案37-62中任一项所述的结合剂,其为人源化抗体。

[0472] 65.如实施方案37-64中任一项所述的结合剂,其为双特异性抗体或多特异性抗体。

[0473] 66.如实施方案37-60中任一项所述的结合剂,其为包含至少一个抗原结合位点的抗体片段。

[0474] 67.如实施方案66所述的结合剂,其中所述抗体片段是Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、(scFv)₂、单链抗体、双可变区抗体、双抗体或纳米抗体。

[0475] 68.如实施方案37-65中任一项所述的结合剂,其为IgG1抗体、任选地人IgG1抗体以及还任选地具有降低的效应子功能或无效应子功能的人IgG1抗体。

- [0476] 69. 如实施方案37-65中任一项所述的结合剂,其为IgG2抗体、任选地人IgG2抗体。
- [0477] 70. 如实施方案37-65中任一项所述的结合剂,其为IgG4抗体、任选地人IgG4抗体。
- [0478] 71. 如实施方案37-65或68-70中任一项所述的结合剂,其包含 κ 轻链恒定区、任选地人 κ 轻链恒定区。
- [0479] 72. 如实施方案37-65或68-70中任一项所述的结合剂,其包含 λ 轻链恒定区、任选地人 λ 轻链恒定区。
- [0480] 73. 如实施方案1-72中任一项所述的结合剂或抗体,其结合人ILT3的胞外结构域。
- [0481] 74. 如实施方案1-72中任一项所述的结合剂或抗体,其结合人ILT3的D2结构域或者D1结构域和D2结构域的连接处。
- [0482] 75. 如实施方案1-74中任一项所述的结合剂或抗体,其具有以下特性中的一种或多种:
- [0483] (i) 结合cyno ILT3;
- [0484] (ii) 结合人和cyno ILT3;
- [0485] (iii) 不结合ILT2、ILT4、ILT5和LILRB5;
- [0486] (iv) 不结合LILRA1、LILRA2、LILRA4、LILRA5和LILRA6;
- [0487] (v) 是ILT3拮抗剂;
- [0488] (vi) 抑制ILT3活性;
- [0489] (vii) 抑制表达ILT3的细胞中的ILT3信号传导;
- [0490] (viii) 抑制ILT3与APOE的结合;
- [0491] (ix) 抑制ILT3与纤连蛋白的结合;
- [0492] (x) 抑制ILT3与CNTFR的结合;
- [0493] (xi) 抑制ILT3诱导的骨髓细胞抑制;
- [0494] (xii) 抑制ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制;
- [0495] (xiii) 恢复表达ILT3的骨髓细胞中的FcR活性;以及
- [0496] (xiv) 恢复表达ILT3的骨髓细胞中的趋化因子产生。
- [0497] 76. 如实施方案1-75中任一项所述的结合剂或抗体,其中所述结合剂与半衰期延长部分衔接。
- [0498] 77. 一种抗体,其与实施方案1-76中任一项所述的结合剂竞争结合人ILT3。
- [0499] 78. 一种药物组合物,其包含实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体以及药学上可接受的载剂。
- [0500] 79. 一种药物组合物,其包含实施方案36所述的抗体和药学上可接受的载剂。
- [0501] 80. 一种或多种分离的多核苷酸,其编码实施方案1-76中任一项所述的结合剂。
- [0502] 81. 一种或多种分离的多核苷酸,其编码实施方案36所述的抗体。
- [0503] 82. 一种或多种载体,其包含实施方案80或实施方案81所述的一种或多种多核苷酸。
- [0504] 83. 一种分离的细胞,其包含实施方案80或实施方案81所述的多核苷酸。
- [0505] 84. 一种分离的细胞,其包含实施方案82所述的一种或多种载体。
- [0506] 85. 一种分离的细胞,其产生实施方案1-76中任一项所述的结合剂。
- [0507] 86. 一种特异性地结合人免疫球蛋白样转录物3(ILT3)的抗体,其中所述抗体包

含：

[0508] (a) 重链可变区,所述重链可变区包含含有与GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:27) 相同的氨基酸序列的重链可变区CDR1、含有与TISGGGSYTNYPDSVKG (SEQ ID NO:28) 相同的氨基酸序列的重链可变区CDR2和含有除了1个氨基酸置换之外与REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29) 相同的氨基酸序列的重链可变区CDR3,任选地其中所述置换是在SEQ ID NO:29的位置5处的甲硫氨酸的置换;以及

[0509] (b) 轻链可变区,所述轻链可变区包含含有除了1个或2个氨基酸置换之外与RASESVDSYGNSFMH (SEQ ID NO:30) 相同或基本相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR1、含有与LTSNLES (SEQ ID NO:31) 相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR2和含有与QQNEDPFT (SEQ ID NO:32) 相同的氨基酸序列的轻链可变区CDR3,任选地其中所述置换是在SEQ ID NO:30的位置7处的天冬氨酸和/或位置11处的天冬酰胺的置换。

[0510] 87. 一种破坏、抑制或阻断细胞混合物中的ILT3与纤连蛋白结合的方法,其包括使所述细胞与实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体接触。

[0511] 88. 一种破坏、抑制或阻断细胞混合物中的纤连蛋白诱导的ILT3活性的方法,其包括使所述细胞与实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体接触。

[0512] 89. 一种破坏、抑制或阻断ILT3诱导的骨髓细胞抑制的方法,其包括使所述骨髓细胞与实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体接触。

[0513] 90. 一种破坏、抑制或阻断ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制的方法,其包括使所述骨髓细胞与实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体接触。

[0514] 91. 如实施方案90所述的方法,其

[0515] (i) 恢复表达ILT3的骨髓细胞中的FcR活性;

[0516] (ii) 恢复表达ILT3的骨髓细胞的趋化因子产生;和/或

[0517] (iii) 恢复免疫细胞(例如,T细胞)增殖和/或活性。

[0518] 92. 一种破坏、抑制或阻断受试者中ILT3与纤连蛋白的结合的方法,其包括向所述受试者施用有效量的实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体。

[0519] 93. 一种破坏、抑制或阻断受试者中纤连蛋白诱导的ILT3活性的方法,其包括向所述受试者施用有效量的实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体。

[0520] 94. 一种破坏、抑制或阻断受试者中ILT3诱导的骨髓细胞抑制的方法,其包括向所述受试者施用有效量的实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体。

[0521] 95. 一种破坏、抑制或阻断受试者中ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制的方法,其包括向所述受试者施用有效量的实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体。

[0522] 96. 如实施方案95所述的方法,其

[0523] (i) 恢复表达ILT3的骨髓细胞中的FcR活性,和/或

[0524] (ii) 恢复表达ILT3的骨髓细胞中的趋化因子/细胞因子产生。

[0525] 97. 一种治疗受试者中的癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体。

[0526] 98. 如实施方案97所述的方法,其中所述癌症是胰腺癌、乳腺癌、肺癌、头颈癌、结肠直肠癌、前列腺癌、皮肤癌、黑素瘤、胃癌、胃部癌、肠癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、子宫内膜癌、膀胱癌、脑癌、食管癌、肝癌、肾癌、肉瘤或睾丸癌。

- [0527] 99. 如实施方案97所述的方法,其中所述癌症是血液癌。
- [0528] 100. 如实施方案97所述的方法,其中所述癌症是骨髓性白血病、急性髓样白血病(AML)、慢性髓样白血病或骨髓增生异常综合征。
- [0529] 101. 一种抑制受试者中的肿瘤生长的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体。
- [0530] 102. 一种增加或增强对受试者中的肿瘤或肿瘤细胞的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体。
- [0531] 103. 一种激活或增强对受试者中的肿瘤或肿瘤细胞的持续或长期免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体。
- [0532] 104. 一种抑制受试者中的肿瘤复发或肿瘤再生长的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体。
- [0533] 105. 一种诱导抑制受试者中的肿瘤复发或肿瘤再生长的持久或长期免疫的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体。
- [0534] 106. 如实施方案101-105中任一项所述的方法,其中所述肿瘤是胰腺肿瘤、乳腺肿瘤、肺部肿瘤、头颈部肿瘤、结肠直肠肿瘤、前列腺肿瘤、皮肤肿瘤、黑素瘤肿瘤、胃肿瘤、胃部肿瘤、肠肿瘤、卵巢肿瘤、宫颈肿瘤、子宫肿瘤、子宫内膜肿瘤、膀胱肿瘤、脑部肿瘤、食管肿瘤、肝肿瘤、肾肿瘤、肉瘤或睾丸肿瘤。
- [0535] 107. 一种激活患有肿瘤的受试者的肿瘤微环境中的骨髓细胞的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体。
- [0536] 108. 如实施方案107所述的方法,其中所述骨髓细胞是原代树突细胞或致耐受性树突细胞。
- [0537] 109. 如实施方案107所述的方法,其中所述骨髓细胞是单核细胞或巨噬细胞。
- [0538] 110. 一种再激活受试者中的致耐受性树突细胞的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体。
- [0539] 111. 如实施方案110所述的方法,其中在肿瘤微环境中发现了所述致耐受性树突细胞。
- [0540] 112. 如实施方案92-111中任一项所述的方法,其中所述结合剂或抗体作为组合疗法的一部分施用,任选地其中所述组合疗法包含抗PD-1抗体。
- [0541] 113. 如实施方案112所述的方法,其中所述组合疗法包含至少一种另外的治疗剂。
- [0542] 114. 如实施方案92-113中任一项所述的方法,其中所述患者是人。
- [0543] 115. 实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体用于治疗癌症的用途。
- [0544] 116. 实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体在制造用于治疗癌症的药物中的用途。
- [0545] 117. 一种制备实施方案1-77中任一项所述的结合剂或抗体的方法,其包括:
- [0546] (a) 培养实施方案83-86中任一项所述的细胞,以及
- [0547] (b) 分离所述结合剂或抗体。
- [0548] 118. 如实施方案117所述的方法,其还包括纯化所述结合剂或抗体。

[0549] 119. 如实施方案117或实施方案118所述的方法, 其还包括将所述结合剂或抗体配制成药物组合物。

[0550] 120. 一种结合人ILT3并抑制人ILT3与纤连蛋白结合的抗体, 任选地其中所述抗体具有以下特性中的一种或多种:

[0551] (i) 也结合cyno ILT3;

[0552] (ii) 不结合或仅弱结合(相对于ILT3) ILT2、ILT4、ILT5和LILRB5;

[0553] (iii) 不结合或仅弱结合(相对于ILT3) LILRA1、LILRA2、LILRA4、LILRA5和LILRA6;

[0554] (iv) 是ILT3拮抗剂;

[0555] (v) 抑制ILT3活性;

[0556] (vi) 抑制表达ILT3的细胞中的ILT3信号传导;

[0557] (vii) 抑制ILT3与APOE的结合;

[0558] (viii) 抑制ILT3与CNTFR的结合;

[0559] (ix) 抑制ILT3诱导的骨髓细胞抑制;

[0560] (x) 抑制ILT3诱导的骨髓细胞活性抑制;

[0561] (xi) 恢复表达ILT3的骨髓细胞中的FcR活性; 以及

[0562] (xii) 恢复表达ILT3的骨髓细胞中的趋化因子产生。

[0563] 121. 如实施方案120所述的抗体, 其对人ILT3具有如通过Biacore评估的 $1\mu\text{M}$ 至 1pM 的 K_D 。

[0564] 122. 如实施方案120所述的抗体, 其包含人IgG1恒定区和人 κ 轻链恒定区。

[0565] 123. 如实施方案122所述的抗体, 其中所述人IgG1恒定区包含一个或多个降低或消除效应子功能的突变。

[0566] 124. 一种药物组合物, 其包含实施方案120-123中任一项所述的抗体和药学上可接受的载剂。

[0567] 125. 一种治疗人受试者中的癌症的方法, 所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的实施方案120-123中任一项所述的抗体或实施方案124所述的药物组合物, 任选地其中所述癌症是: 表达高水平的纤连蛋白的癌症、表达ILT3的癌症、胰腺癌、乳腺癌、肺癌、头颈癌、结肠直肠癌、前列腺癌、皮肤癌、黑素瘤、胃癌、胃部癌、肠癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、子宫内膜癌、膀胱癌、脑癌、食管癌、肝癌、肾癌、肉瘤或睾丸癌、血液癌、骨髓性白血病、急性髓样白血病(AML)、慢性髓样白血病或骨髓增生异常综合征。

[0568] 126. 一种药物组合物, 其包含:

[0569] (a) 用于抑制人ILT3与纤连蛋白之间的相互作用的剂; 和

[0570] (b) 药学上可接受的载剂。

[0571] 127. 如实施方案126所述的药物组合物, 其中所述用于抑制人ILT3与纤连蛋白之间的相互作用的剂是抗人ILT3抗体。

[0572] 128. 如实施方案127所述的药物组合物, 其中所述抗体包含重链可变区的VH-CDR1、VH-CDR2和VH-CDR3以及轻链可变区的VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3, 其中所述重链可变区和所述轻链可变区分别包含以下中的氨基酸序列:

[0573] (i) SEQ ID NO:123和124;

[0574] (ii) SEQ ID NO:156和161

[0575] (iii) SEQ ID NO:157和161;

[0576] (iv) SEQ ID NO:158和161;

[0577] (v) SEQ ID NO:159和161;

[0578] (vi) SEQ ID NO:160和161;

[0579] (vii) SEQ ID NO:162和164;或

[0580] (vii) SEQ ID NO:163和164。

[0581] 129.如实施方案128所述的药物组合物,其中所述抗体包含分别含有以下中的氨基酸序列的重链可变区和轻链可变区:

[0582] (i) SEQ ID NO:123和124;

[0583] (ii) SEQ ID NO:156和161

[0584] (iii) SEQ ID NO:157和161;

[0585] (iv) SEQ ID NO:158和161;

[0586] (v) SEQ ID NO:159和161;

[0587] (vi) SEQ ID NO:160和161;

[0588] (vii) SEQ ID NO:162和164;或

[0589] (vii) SEQ ID NO:163和164。

[0590] 130.一种组合,其包含实施方案1-77或120-123中任一项所述的结合剂或抗体以及抗PD-1抗体。

[0591] 131.一种组合,其包含用于抑制人ILT3与纤连蛋白之间的相互作用的剂和抗PD-1抗体。

[0592] 实施例

[0593] 实施例1

[0594] 抗体的产生

[0595] 使用人ILT3 (huILT3-ECD) 和/或cyno ILT3 (cynoILT3-ECD) 的胞外结构域作为免疫原产生抗ILT3抗体。产生包含人ILT3的胞外区 (SEQ ID NO:1的aa 22-259) 或cyno ILT3的胞外区 (SEQ ID NO:6的aa 22-259) 的重组构建体,并且将其在哺乳动物细胞中表达。用huILT3-ECD和/或cynoILT3-ECD蛋白使小鼠免疫,并加强几次以诱导高滴度。从免疫的小鼠中抽取血液,并且通过ELISA和FACS确定抗体滴度。从已被确定具有适当高的抗体滴度的免疫小鼠的脾和淋巴结中获得淋巴细胞的单细胞悬液。通过标准方法(例如,电融合)将淋巴细胞与鼠骨髓瘤细胞融合。将细胞分散在96孔板的含HAT的选择培养基中。

[0596] 实施例2

[0597] 抗体的筛选

[0598] 将ELISA测定用于筛选针对人ILT3和人LILRA1,2,4-6的抗体。选择与人ILT3结合但不与人LILRA1,2,4-6蛋白结合的抗体。通过FACS针对与HEK-293T细胞上表达的人ILT3和cyno ILT3的结合重新筛选这些抗体。选择与人和cyno ILT3两者都结合的抗体。针对人LILRB1-5(分别为ILT2、ILT4、ILT5、ILT3和LILRB5)、cyno LILRB5和人LILRA1,2,4-6通过FACS筛选此抗体亚组。对于FACS筛选,将每种抗体与表达人ILT3、cyno ILT3、LILRA蛋白之一或LILRB蛋白之一的细胞一起在4°C下孵育30分钟。洗涤后,将细胞与标记的抗小鼠Fc抗体一起在4°C下孵育30分钟。洗涤后,在流式细胞仪上分析细胞。代表性抗体的结果如图1A-

1F和2A-2E所示。根据与人ILT3、cyno ILT3结合、与其他LILRB蛋白不结合或结合有限以及与人LILRA蛋白不结合或结合有限的标准来选择抗体。例如，观察到抗体11A1结合人LILRB2、LILRA1、LILRA2、LILRA4和LILRA5，并且因此没有被选择用于另外的研究。

[0599] 实施例3

[0600] 抗人ILT3抗体的结合特征

[0601] 使用Biacore系统 (GE Healthcare LifeSciences) 测量抗ILT3抗体与人ILT3和cyno ILT3的结合亲和力。简而言之，使用胺偶联试剂 (GE Healthcare LifeSciences) 将抗Fc抗体 (Sigma-Aldrich) 固定在CM5芯片的所有四个流通池上。使用流动池1作为参照，在流动池2、3和4上捕获抗体。在37°C下，以50 μ L/min的流速注射浓度范围为3.3-10nM的人或cyno ILT3-ECD。收集随时间推移的动力学数据，并且使用联立全局拟合方程 (simultaneous global fit equation) 进行拟合以产生每种抗体的亲和常数 (K_D 值)。

[0602] 结合数据如表9所示。

[0603] 表9

抗体	人 ILT3			Cyno ILT3		
	K_{on} [1/Ms]	K_{off} [s ⁻¹]	K_D M	K_{on} [1/Ms]	K_{off} [s ⁻¹]	K_D M
3A3	3.3×10^5	6.5×10^{-4}	2.0×10^{-9}	3.4×10^6	2.1×10^{-2}	6.3×10^{-9}
5A7	3.8×10^6	1.1×10^{-4}	2.8×10^{-11}	3.3×10^6	2.2×10^{-3}	6.6×10^{-10}
12A12	1.1×10^5	9.4×10^{-4}	8.5×10^{-9}	1.5×10^5	2.8×10^{-4}	1.9×10^{-9}
16C5	1.1×10^5	2.0×10^{-4}	1.8×10^{-9}	2.9×10^5	9.0×10^{-5}	3.1×10^{-10}
45G10	3.9×10^5	5.1×10^{-5}	1.3×10^{-10}	1.5×10^5	7.6×10^{-4}	5.0×10^{-9}
48A6	7.0×10^6	1.8×10^{-7}	<100pM	1.4×10^7	2.4×10^{-2}	1.7×10^{-9}
53F10	3.3×10^5	8.0×10^{-5}	2.4×10^{-10}	5.9×10^5	5.5×10^{-3}	9.4×10^{-9}

[0604] 还评估了抗ILT3抗体在人ILT3的胞外结构域上的结合位点 (数据未示出)。3A3与ILT3的D2结构域内或在D1与D2结构域之间的连接处内的构象表位结合。16C5与ILT3的D1结构域内的构象表位结合。12A12与ILT3的D2结构域或在D1与D2结构域之间的连接处内的构象表位结合。5A7与ILT3的D2结构域或在D1与D2结构域之间的连接处内的构象表位结合。48A6与ILT3的D2结构域或在D1与D2结构域之间的连接处内的构象表位结合。45G10与ILT3的D2结构域或在D1与D2结构域之间的连接处内的构象表位结合。53F10与ILT3的D2结构域或在D1与D2结构域之间的连接处内的构象表位结合。

[0605] 还进行了抗ILT3抗体对人ILT3胞外结构域的竞争性结合。表10显示，一些抗ILT3抗体与ILT3上的重叠或部分重叠的表位结合，并且一些抗ILT3抗体与ILT3上的不同表位结合。“是”表示在两种抗体之间与ILT3胞外结构域的竞争性结合。“部分”表示在两种抗体之间与ILT3胞外结构域的部分竞争性结合。“否”表示在两种抗体之间没有与ILT3胞外结构域的竞争性结合。“ND”表示没有数据可用。

[0606] 表10

	5A7	3A3	12A12	16C5	45G10	48A6	53F10
[0608]	5A7	是					
	3A3	否	是				
	12A12	否	否	是			
	16C5	否	否	部分	是		
	45G10	否	ND	ND	否	是	
	48A6	是	ND	ND	否	否	是
[0609]	53F10	否	ND	ND	否	是	否
							是

[0610] 实施例4

[0611] 抗ILT3抗体的序列分析

[0612] 对代表性抗体3A3、5A7、12A12、16C5、45G10、48A6和53F10进行测序,并且本文公开了重链可变区和轻链可变区氨基酸序列并将其总结在表11中。

[0613] 表11

[0614]	抗体	重链可变区	轻链可变区
	3A3	SEQ ID NO:109	SEQ ID NO:110
	5A7	SEQ ID NO:111	SEQ ID NO:112
	12A12	SEQ ID NO:113	SEQ ID NO:114
	16C5	SEQ ID NO:115	SEQ ID NO:116
	45G10	SEQ ID NO:117	SEQ ID NO:118
	48A6	SEQ ID NO:119	SEQ ID NO:120

[0615] 表11续表

[0616]	53F10	SEQ ID NO:121	SEQ ID NO:122
--------	-------	---------------	---------------

[0617] 单个抗体的重链和轻链可变区CDR在表1-7中并且作为SEQ ID NO:11-104公开。

[0618] 实施例5

[0619] 针对ILT3配体进行筛选

[0620] 在鉴定一种或多种ILT3配体的过程中筛选了大约100个细胞系。产生了包含与免疫球蛋白Fc区融合的ILT3胞外结构域(SEQ ID NO:1的氨基酸22-259)的构建体(ILT3ECD-Fc)。将ILT3ECD-Fc构建体用于评估与细胞系的结合。先前的内部研究表明,CNTFR是ILT3的结合配偶体,并且将LX-2包括在细胞系小组中以跟进这一早期观察。LX-2是一种保留了关键生物学特征的粘附人肝脏星状细胞系。以下是对使用LX-2作为示例性细胞系进行筛选测定的简要描述。将LX-2细胞接种到384孔聚-D-赖氨酸包被的板(Grenier)的含有10%FBS和1%青霉素/链霉素的DMEM中。向部分孔中添加10ng/mL的TGF- β (Peprotech)以激活LX-2细胞。两天后,将细胞用含有Mg²⁺和Ca²⁺的Hank氏缓冲盐水溶液(HBSS)洗涤三次,每孔留下大约10 μ L缓冲液。接下来,将细胞(未处理的和TGF- β 处理的)与ILT3ECD-Fc(每孔10 μ L,浓度为10 μ g/mL)一起在DMEM中在室温下孵育30分钟。将AlexaFluor 647缀合的山羊抗人Fc抗体(1:500稀释;Jackson ImmunoResearch Laboratories)和Hoechst染色剂(2.5 μ M; ThermoFisher Scientific)添加到孔中。孵育30分钟后,将细胞洗涤并用3.7%福尔马林固

定,然后再次洗涤,并且在CellInsight仪器(ThermoFisher Scientific)上以10X成像。

[0621] 结果显示,ILT3ECD-Fc与激活的LX-2细胞结合,而不与基础/未处理的LX-2细胞结合。在基础细胞和激活细胞中,细胞活力相当。这些结果表明,激活的LX-2细胞表达ILT3配体。

[0622] 实施例6

[0623] 报告细胞通过与LX-2细胞相互作用而激活

[0624] 为了研究ILT3与LX-2细胞的结合是否是功能性相互作用,将LX-2细胞与表达稳定报告系统和感兴趣的细胞表面受体的细胞(“报告细胞”)一起共培养。在这种嵌合受体系统中,感兴趣的受体(例如ILT3)的胞外结构域跟与衔接蛋白DAP12缔合的PILRB的跨膜/胞内结构域融合。当嵌合受体通过与配体结合而被激活时,DAP12被磷酸化并且激活驱动GFP表达的NFAT响应启动子(参见例如,Deng等人,2014,Blood,124:924-935)。将LX-2细胞的大批培养物在基础培养基(如上文所述的DMEM)或激活培养基(如上文所述的DMEM加TGF- β)中培养三天。收获并洗涤经处理的和未经处理的LX-2细胞。将 2×10^5 个LX-2细胞与 4×10^5 个报告细胞一起共培养,所述报告细胞含有(i)非受体;(ii)B7-H4胞外结构域;或(iii)ILT3胞外结构域。将细胞在含有10%FBS的RPMI 1640中于37°C孵育过夜。将报告细胞用CellTracker深红色(ThermoFisher)预染色,以便在分析时将它们与LX-2细胞区分开来。第二天,通过FACS测定报告细胞的GFP表达。

[0625] 如图3所示,只有当ILT3在报告细胞表面上表达并且只有在存在激活的LX-2细胞的情况下才诱导GFP表达。这些结果表明,ILT3不仅与激活的LX-2细胞的细胞表面上的潜在配体结合,而且该相互作用具有生物学功能。

[0626] 实施例7

[0627] 鉴定作为ILT3配体的纤连蛋白

[0628] 免疫沉淀和质谱方法用于鉴定ILT3的结合配偶体。简而言之,在150mm³组织培养皿中将LX-2细胞接种在具有 2.5×10^6 个细胞的基础培养基或激活培养基中,并孵育3天。去除培养基,并且将细胞溶解在补充有HALTTM蛋白酶和抑制剂混合物(ThermoFisher)的100 μ l细胞溶解缓冲液(Cell Signaling Technologies)中。通过在4°C下以 $>16,000$ RCF离心10分钟来清除裂解物,并且将上清液转移到新的微量离心管中。使用二辛可宁酸(BCA)测定(Pierce Biotechnology)对澄清裂解物的蛋白质浓度进行定量。

[0629] 根据制造商的说明书,使用蛋白G dynabead (Invitrogen/ThermoFisher Scientific)进行免疫沉淀。简而言之,将10 μ g ILT3ECD-Fc或对照人Fc与50 μ l磁性Dynabead在4°C下结合30分钟。除去上清液,并且添加来自未经处理或激活的LX-2细胞的蛋白质裂解物。对于每种处理条件,将含有大约615 μ g蛋白质的裂解物添加到Dynabead复合物(ILT3ECD-Fc Dynabead或Fc Dynabead)中,并且在4°C下伴随温和旋转孵育过夜。去除蛋白质裂解物,并且将Dynabead用200 μ l裂解缓冲液洗涤三次,每次洗涤5分钟。向Dynabead中添加50 μ l的由比率为15:4:1的蛋白质加载缓冲液、还原剂和裂解缓冲液构成的洗脱缓冲液。将蛋白质在95°C下洗脱5分钟,并且将样品(每种蛋白质洗脱液10 μ l)在聚丙烯酰胺电泳凝胶上运行。为了鉴定感兴趣的条带,根据制造商的说明书,使用PlusOne银染试剂盒(GE Healthcare)进行银染分析。使用Gel DocTM EZ系统(Bio-Rad)对凝胶进行成像。

[0630] 如图4所示,在从ILT3ECD-Fc和激活的LX-2细胞裂解物的Dynabead复合物中洗脱

的蛋白质样品中观察到独特的条带(在260MW标记附近的框内)。

[0631] 对剩余的40 μ l洗脱液进行凝胶电泳,并且用生物安全的考马斯染色剂(Bio-Safe Coomassie Stain)(Bio-Rad)对凝胶进行染色。在生物安全柜中切下与相同大小的其他样品的独特条带和对照条带对应的凝胶条带,并将凝胶片切成小的片段。将凝胶片在50%乙腈和200mM碳酸氢铵中洗涤,在100%乙腈中孵育10分钟,并在SpeedVac真空浓缩器中干燥。通过与25mM三(2-羧乙基)膦(TCEP)和50mM碘乙酰胺连续孵育,凝胶片中的蛋白质被还原和被烷基化。洗涤凝胶片,并且再次与乙腈一起孵育,并且用胰蛋白酶(20 μ g/ml,在50mM碳酸氢铵中,pH 8.0)在37 $^{\circ}$ C下消化过夜。

[0632] 通过质谱分析消化的样品。简而言之,将肽通过与UltiMateTM RSLCnano LC系统(ThermoFisher Scientific)连接的EASY-SprayTM PepMap C18柱进行分离。在135分钟内用2%至32%乙腈梯度从柱上洗脱肽,并注射到Orbitrap Velos ProTM质谱仪中。使用top10方法收集液相色谱与串联质谱(LC-MS/MS)数据,以60,000分辨率从200-2000m/z收集MS数据。MS/MS数据通过离子阱上启用的动态排除、单同位素前体选择和电荷状态筛选来收集。将单电荷肽被排除在外。用PEAKS X蛋白质组学软件(Bioinformatics Solutions)分析原始文件,对照人蛋白质数据库进行搜索。在PEAKS程序中,使用-10logp设置20和不高于1.5%的错误发现率(FDR)来鉴定蛋白质。通过总肽计数对命中进行分类,并筛选在实验样品中发现但在对照中未发现的命中。另外还对命中进行了胞外和跨膜蛋白的筛选。令人惊讶的是,独特的条带被鉴定为纤连蛋白。与来自(1)ILT3ECD-Fc和基础LX-2细胞(其为111);(2)对照-Fc和激活的LX-2细胞(其为15);和(3)对照-Fc和基础LX-2细胞(其为1)的样品中的纤连蛋白的肽相比,来自ILT3ECD-Fc和激活的LX-2细胞的样品中的纤连蛋白的鉴定的肽数目为306。这清楚地证明了在ILT3ECD-Fc加激活的LX-2细胞样品中纤连蛋白肽的富集。

[0633] 另外的研究表明,无论细胞是否被激活,在纤连蛋白敲除LX-2细胞系中都检测不到ILT3ECD-Fc结合。这些结果还支持纤连蛋白是ILT3配体的结论。

[0634] 通过Biacore评估ILT3与纤连蛋白的结合。使用标准胺偶联化学将人血浆纤连蛋白固定在CM5传感器芯片表面(流动池2)上。将IV型胶原固定在流动池3上并用作对照。在37 $^{\circ}$ C下以50 μ L/min的流速在两个表面上注射不同浓度(125-4000nM)的人ILT3ECD-Fc或人LAIR1ECD-Fc。收集随时间推移的动力学数据,并且使用联立全局拟合方程进行拟合以产生每种抗体的亲和常数(K_D 值)。

[0635] ILT3以至少5 μ M的 K_D 与纤连蛋白结合,而不以可检测的水平与胶原IV结合。相比之下,LAIR1以至少5 μ M的 K_D 结合胶原IV,而不结合纤连蛋白。

[0636] 实施例8

[0637] 通过ILT3和纤连蛋白的相互作用激活报告细胞

[0638] 为了研究ILT3与纤连蛋白的结合是否是一种功能性相互作用,将表达ILT3ECD的报告细胞与纤连蛋白一起孵育。在室温下用PBS中的5 μ g/mL的人Fc蛋白(R&D Systems)、血浆来源的纤连蛋白(Millipore)或重组纤连蛋白(R&D Systems)包被96孔Maxisorp(Nunc)板2小时。将板用PBS洗涤两次,然后用含有10%FBS的RPMI 1640封闭。将表达B7-H4胞外结构域、LAIR1胞外结构域或ILT3胞外结构域的NFAT-GFP报告细胞(如本文实施例5中所述)(1×10^5 个细胞/孔)添加到包被的孔中,并且将板在37 $^{\circ}$ C下孵育过夜。通过FACS测定细胞的GFP表达并且将其与非激活的报告细胞进行比较。

[0639] 如图5所示,只有与纤连蛋白(血浆来源的或重组的)一起培养的表达ILT3的细胞能够激活报告系统,如通过GFP表达所证明的。这些结果表明,与纤连蛋白的相互作用对ILT3具有特异性,因为没有响应于与纤连蛋白一起培养的表达B7-H4或LAIR1的细胞的GFP表达。

[0640] 在后续研究中,将96孔Maxisorp (Nunc) 板在室温下用PBS中的5 μ g/mL血浆来源的纤连蛋白(Millipore) 包被1小时。包被后,将同种型对照抗体、抗ILT3抗体16C5、抗纤连蛋白抗体F14(来自Abcam的兔单克隆抗体)或抗纤连蛋白抗体PA5(来自ThermoFisher Scientific的兔多克隆抗体)以5或20 μ g/mL的终浓度添加到孔中。接下来,将表达ILT3胞外结构域的NFAT-GFP报告细胞(1×10^5 个细胞/孔)添加到孔中,并且将板在37 $^{\circ}$ C下孵育过夜。通过FACS测定细胞的GFP表达并且将其与非激活的报告细胞进行比较。

[0641] 如图6所示,抗ILT3抗体16C5以及抗纤连蛋白抗体F14和PA5降低了报告细胞中GFP的表达。两种不同浓度的对照抗体不抑制由ILT3与纤连蛋白之间的相互作用导致的GFP表达。

[0642] 使用抗ILT3抗体16C5和ch5A7(包含小鼠重链可变区和轻链可变区以及人Fc结构域的嵌合5A7)进行了另一项研究。如上文所述,在室温下用5 μ g/mL血浆来源的纤连蛋白包被96孔Maxisorp板1小时。包被后,将同种型对照抗体、抗ILT3抗体16C5或抗ILT3抗体ch5A7以66nM至0.0002nM范围内的6倍稀释液添加到孔中。接下来,将表达ILT3胞外结构域的NFAT-GFP报告细胞(1×10^5 个细胞/孔)添加到孔中,并且将板在37 $^{\circ}$ C下孵育过夜。通过FACS测定细胞的GFP表达并且将其与非激活的报告细胞进行比较。

[0643] 如图7所示,抗ILT3抗体16C5和ch5A7抑制了ILT3和纤连蛋白的相互作用,如通过GFP表达的减少所评估。相比之下,对照抗体对GFP表达没有影响。

[0644] 这些结果证明,抗ILT3抗体可以阻断ILT3与纤连蛋白之间的相互作用,并且重要的是,阻断由该相互作用导致的生物活性。

[0645] 实施例9

[0646] 鉴定纤连蛋白上的ILT3结合位点

[0647] 图8显示了人纤连蛋白的代表图示。进行研究以鉴定ILT3结合纤连蛋白的位置。用5 μ g/mL人Fc蛋白(R&D Systems)、血浆来源的纤连蛋白(Millipore)、重组纤连蛋白(R&D Systems)或以下纤连蛋白片段包被96孔Maxisorp (Nunc) 板:70kDa纤连蛋白片段(Sigma-Aldrich)、30kDa纤连蛋白片段(Sigma-Aldrich)、45kDa纤连蛋白片段(Sigma-Aldrich)、片段2(SEQ ID NO:138的aa 607-1265;R&D Systems)、片段3(SEQ ID NO:138的aa 1266-1908;R&D Systems)或片段4(SEQ ID NO:138的aa 1913-2477;R&D Systems)。将板在室温下孵育2小时。将板用PBS洗涤两次,然后用含有10%FBS的RPMI 1640封闭。将表达ILT3胞外结构域的NFAT-GFP报告细胞(1×10^5 个细胞/孔)添加到孔中,并且将板在37 $^{\circ}$ C下孵育过夜。通过FACS测定细胞的GFP表达并且将其与非激活的报告细胞进行比较。

[0648] 如图9所示,只有70kDa和30kDa纤连蛋白片段(以及全长纤连蛋白)能够激活ILT3表达细胞中的报告系统,如通过GFP表达所证明。用片段比用等摩尔浓度的全长纤连蛋白情况下的激活水平更高。涵盖肝素/纤维蛋白结合结构域的N末端区域(30kDa片段;I型FN模块1-5)引发了最高水平的GFP活性。

[0649] 进行了另外的研究以观察是否可以更详细地定义纤连蛋白上的ILT3结合位点。制

备由以下组成的纤连蛋白片段：(i) I型FN模块1-4 (SEQ ID NO:138的aa32-228)、(ii) I型FN模块2-5 (SEQ ID NO:138的aa 93-290)、(iii) I型FN模块1-3 (SEQ ID NO:138的aa 32-182)、(iv) I型FN模块2-4 (SEQ ID NO:138的aa 93-228)、(v) I型FN模块3-5 (SEQ ID NO:138的aa 139-290)、(vi) I型FN模块1-2 (SEQ ID NO:138的aa 32-138)、(vii) I型FN模块2-3 (SEQ ID NO:138的aa 93-182)、(viii) I型FN模块3-4 (SEQ ID NO:138的aa 139-228)、(ix) I型FN模块4-5 (SEQ ID NO:138的aa 183-290)、70kDa片段 (SEQ ID NO:138的aa 32-608)、30kDa片段 (SEQ ID NO:138的aa 32-290) 和45kDa片段 (SEQ ID NO:138的aa 291-608)。如上文所述,用40nM的纤连蛋白片段以及全长纤连蛋白包被96孔Maxisorp (Nunc) 板。将板在室温下孵育2小时。将板用PBS洗涤两次,然后用含有10%FBS的RPMI1640封闭。将表达ILT3胞外结构域的NFAT-GFP报告细胞 (1×10^5 个细胞/孔) 添加到孔中,并且将板在37°C下孵育过夜。通过FACS测定细胞的GFP表达并且将其与非激活的报告细胞进行比较。

[0650] 这些研究表明,I型FN模块1对于此报告测定中的活性是必需的(图10)。我们认为I型FN模块1是ILT3与纤连蛋白结合和所产生的活性所必需的,但其他模块也对ILT3/纤连蛋白相互作用有影响。

[0651] 实施例10

[0652] ILT3和纤连蛋白相互作用的体外测定

[0653] THP-1是从急性单核细胞白血病细胞建立的人单核细胞系,并且从ATCC获得。这些细胞已被用于研究在通过Fc受体激活的单核细胞中由ILT3调节的信号传导途径(Lu等人,2009,JBC,284:34839-34848)。单核细胞的激活可以通过细胞表面上FcR的交联来实现,并且交联导致细胞因子产生,例如TNF- α 和/或IL-8。研究表明,ILT3是单核细胞中FcR介导的细胞因子产生的有效抑制剂。THP-1细胞被用作测定的一部分,以研究骨髓细胞中ILT3和纤连蛋白的相互作用。除了野生型THP-1细胞(THP-1)以外,还产生了ILT3敲除的THP-1细胞系(THP-1ILT3-KO)。

[0654] 用5 μ g/mL的纤连蛋白(Millipore)和0、1、5和10 μ g/mL的无效应物抗KLH抗体共同包被96孔Maxisorp(Nunc)板。将板在室温下孵育2小时,用PBS洗涤两次,并且用含有10%FBS的RPMI 1640封闭。将THP-1或THP-1ILT3-KO细胞(2×10^5 个细胞/孔)添加到孔中,并且将板在37°C下孵育过夜。抗KLH抗体将结合FcR并激活THP-1和THP-1ILT3-KO细胞以产生细胞因子。纤连蛋白的存在与否及其与ILT3的相互作用能够在此测定中进行评估。收集无细胞培养物上清液,并且通过Luminex测定(ProcartaPlex系统;ThermoFisher Scientific)测量IL-8。在一些情形中,将IL-8归一化为在没有FcR刺激的情况下的THP-1细胞的IL-8。

[0655] 如图11所示,抗KLH抗体在THP-1细胞和缺乏ILT3的THP-1细胞(THP-1ILT3-KO细胞)两者中均能够以剂量依赖性方式激活单核细胞。相比之下,如通过IL-8产生所评估的抗KLH抗体对THP-1细胞的激活被细胞表面上的纤连蛋白和ILT3相互作用抑制。只有当纤连蛋白和ILT3两者都存在并且能够发生相互作用时,如通过IL-8产生所评估的抗KLH抗体对THP-1细胞的激活才受到抑制(即,在用THP-1ILT3-KO细胞和纤连蛋白的情况下没有抑制作用)。

[0656] 这些结果证明,在存在纤连蛋白的情况下,ILT3诱导骨髓细胞中FcR激活的抑制。

[0657] 在存在抗ILT3抗体的情况下进行了后续研究。用5 μ g/mL的纤连蛋白(Millipore)和5 μ g/mL的无效应物抗KLH抗体共同包被96孔Maxisorp(Nunc)板。将板在室温下孵育2小

时,用PBS洗涤两次,并且用含有10%FBS的RPMI 1640封闭。在存在以下抗体的情况下将THP-1或THP-1ILT3K0细胞(2×10^5 个细胞/孔)添加到孔中:抗ILT3抗体16C5(无效应物;5 μ g/mL)或抗KLH抗体(无效应物;5 μ g/mL)。将板在37 $^{\circ}$ C下孵育过夜,并且收集无细胞培养上清液并通过Luminex测定测量IL-8。

[0658] 如图12A所示,抗ILT3抗体16C5抑制或阻断了ILT3/纤连蛋白诱导的对THP-1细胞FcR激活的抑制。换句话说,抗ILT3抗体能够逆转对ILT3和纤连蛋白相互作用的抑制。

[0659] 用人原代树突细胞建立了类似的实验。根据制造商的说明书,使用Miltenyi单核细胞分离试剂盒通过阴性选择从冷冻保存的外周血单核细胞中分离人单核细胞。为了产生树突细胞,将单核细胞以 2×10^6 个细胞/mL铺板于含有50ng/mL重组人GM-CSF和50ng/mL重组人IL-4(两者均来自Peprotech)的X-VIVOTM 15培养基(Lonza)中,并培养5-7天。如上文所述,用5 μ g/mL的纤连蛋白(Millipore)和5 μ g/mL的无效应物抗KLH抗体共同包被96孔Maxisorp(Nunc)板。将板在室温下孵育2小时,用PBS洗涤两次,并且用含有10%FBS的RPMI 1640封闭。在存在以下抗体的情况下将树突细胞(2×10^5 个细胞/孔)添加到孔中:抗ILT3抗体16C5(无效应物;5 μ g/mL)或抗KLH抗体(无效应物;5 μ g/mL)。将板在37 $^{\circ}$ C下孵育过夜,并且收集无细胞培养上清液并通过Luminex测定测量TNF- α 。

[0660] 图12B显示在原代树突细胞中观察到ILT3/纤连蛋白诱导的对FcR激活的抑制。重要的是,这些结果表明示例性抗ILT3抗体(例如,抗体16C5)能够抑制该抑制。

[0661] 用抗ILT3抗体16C5和ch5A7进行了另外的研究。如先前的测定所观察到的,抗ILT3抗体16C5和ch5A7逆转了纤连蛋白介导的对通过FcR信号传导激活的树突细胞的TNF- α 产生的抑制(图12C)。

[0662] 在含有NF κ B-SEAP报告子(InvivoGen)的THP-1 DualTM KI-mSTING细胞中进行了类似的研究。在室温下用人纤连蛋白和无效应物抗KLH抗体(各自5 μ g/mL)共同包被Nunc Maxisorp板2小时。在添加细胞和测试抗体之前,将板用X-VIVOTM 15培养基(Lonza)封闭30分钟。将X-VIVOTM 15培养基中的THP-1报告细胞(2×10^6 个细胞/mL)与对照抗体、抗ILT3抗体16C5或抗ILT3抗体ch5A7以1:1的比率混合。将混合物孵育30分钟,以100 μ L/孔接种到板上,将板孵育过夜。通过以下方式测量报告子活性:将25 μ L培养物上清液与100 μ L Quanti-Blue SEAP底物(InvivoGen)组合,在37 $^{\circ}$ C下孵育样品2小时并读取620nm处的吸光度。

[0663] 通过抗KLH抗体和THP-1细胞表面上的FcR的相互作用激活报告子,导致FcR信号传导途径的激活和分泌的胚胎碱性磷酸盐(SEAP)的产生。当THP-1细胞表面上的ILT3与纤连蛋白相互作用时,FcR信号传导被抑制并且SEAP产生减少。抗ILT3抗体16C5和ch5A7阻断了ILT3/纤连蛋白相互作用并逆转了抑制作用(图13)。

[0664] Detroit 551细胞系由从正常胎儿组织建立的人皮肤成纤维细胞构成。这些细胞内源性地产生了与其表面上的受体结合的纤连蛋白。Detroit 551细胞允许进行体外测定,其中纤连蛋白天然地存在于细胞表面上,而不附着于测定板上。将Detroit 551细胞以 6×10^3 个细胞/孔(Greiner)铺板到聚-D-赖氨酸包被的384孔板中,并且孵育两天。将单层用含有Mg²⁺和Ca²⁺的HBSS漂洗,留下大约10 μ L/孔。在存在抗ILT3抗体16C5、抗ILT3抗体ch5A7或对照抗KLH抗体的情况下,将ILT3-ECD-Fc添加到孔中(终浓度为1 μ g/mL)。将抗体在含有ILT3-ECD-Fc(范围为66nM至0.27nM)的培养基中连续稀释3倍。将细胞在室温下孵育1小时,然后用HBSS洗涤三次,并且用3.7%福尔马林固定10分钟。将单层用PBS冲洗,并且在用

Hoechst染色剂 (2.5 μ M) 和可商购获得的多克隆抗ILT3抗体 (R&D Systems) 染色之前用PBS中的1%BSA封闭。添加AlexaFluor 647缀合的兔抗山羊Fc二抗 (Jackson ImmunoResearch Labs), 对细胞进行成像, 并且使用CellInsight成像系统对荧光水平进行定量。

[0665] 如图14所示, 抗ILT3抗体阻断了ILT3-ECD与表达纤连蛋白的细胞的结合。

[0666] 实施例11

[0667] 抗ILT3抗体对树突细胞的趋化因子产生的影响。

[0668] 根据制造商的说明书, 使用Miltenyi单核细胞分离试剂盒通过阴性选择从冷冻保存的外周血单核细胞中分离原代人单核细胞。对于巨噬细胞的分化, 将单核细胞以 2×10^6 个细胞/mL铺板于含有100ng/mL重组人M-CSF (PeproTech) 的X-VIVO™ 15培养基 (Lonza) 中。2-3天后, 向培养基中添加新鲜的M-CSF。再过2-3天后, 洗涤巨噬细胞, 并且通过刮擦收获。

[0669] 如下所述产生树突细胞条件培养基 (用作化学引诱物)。为了产生树突细胞, 将人单核细胞以 2×10^6 个细胞/mL铺板于含有50ng/mL重组人GM-CSF和50ng/mL重组人IL-4 (两者均来自PeproTech) 的X-VIVO™ 15培养基 (Lonza) 中, 并培养5-7天。收获这些单核细胞源性的树突细胞, 并且在存在抗KLH抗体或抗ILT3抗体 (10 μ g/mL) 的情况下以 1×10^6 个细胞/mL铺板在纤连蛋白包被的Maxisorp板 (10 μ g/mL) 上, 并孵育2天。收获条件培养基并用于本文所述的迁移测定。

[0670] 使用Incucyte® Zoom活细胞分析系统 (Sartorius) 进行巨噬细胞迁移测定。在37°C下用50 μ g/mL的Matrigel® (在X-VIVO™ 15培养基中用10%FBS稀释) 预包被Incucyte Clear-View 96孔趋化性板 (Sartorius) 的膜30分钟, 然后在室温下包被30分钟。将巨噬细胞 (5×10^3 个细胞/孔) 添加到趋化性板的顶部室中, 并用来源于树突细胞的条件培养基 (如上文所述) 填充底部室。24小时内每小时捕获相差图像, 并使用Incucyte分析软件分析数据。

[0671] 如图15所示, 巨噬细胞不会响应于来自纤连蛋白处理的树突细胞的条件培养基迁移。相比之下, 在存在抗ILT3抗体的情况下, 高百分比的巨噬细胞响应于来自用纤连蛋白处理的树突细胞的条件培养基而迁移。

[0672] 这些结果表明, 通过抗ILT3抗体抑制或阻断树突细胞上的纤连蛋白/ILT3相互作用增加了树突细胞的趋化因子/化学引诱物产生。趋化因子产生的增加导致巨噬细胞迁移的增加。这表明, 抗ILT3抗体可以通过帮助增加巨噬细胞和其他免疫细胞在免疫应答部位的募集来有效增强免疫应答。

[0673] 实施例12

[0674] 同种异体混合淋巴细胞反应 (MLR) 测定

[0675] 如本文所述产生致耐受性DC, 并以 4×10^5 个细胞/mL重悬。简而言之, 为了产生致耐受性DC (tolDC), 用GM-CSF和IL-4处理单核细胞5天, 然后通过用10nM地塞米松和100nM维生素D3 (1 α , 25-二羟基维生素D3) (两者均来自Sigma-Aldrich) 再处理2天使其耐受。用25 μ g/mL丝裂霉素C (Sigma-Aldrich) 在37°C下处理LX-2细胞 (野生型或纤连蛋白敲除型) 1小时, 洗涤, 并以 1×10^5 个细胞/mL重悬。使用Miltenyi T细胞分离试剂盒通过阴性选择从外周血单核细胞中纯化同种异体T细胞, 并以 2×10^6 个细胞/mL重悬。将抗ILT3抗体16C5、抗ILT3抗体ch5A7或对照抗体 (50 μ L) 添加到96孔圆底板的孔中。通过添加50 μ L每种细胞类型 (T细胞、tolDC和LX-2细胞) 建立混合淋巴细胞反应 (MLR) 测定, 最终T细胞: tolDC: LX-2细胞比率为

20:2:1。将板孵育5天,然后收获无细胞培养上清液。使用Luminex测定(ProcartaPlex系统; ThermoFisher Scientific)确定细胞因子水平。用含有氚化胸苷(³H-胸苷;Perkin-Elmer)以1 μ Ci/mL的浓度替换培养基。再孵育18小时后,使用Tomtec细胞收获器将细胞收获到过滤器上,并在MicroBeta2微板读数器上对³H-胸苷掺入进行计数。

[0676] 在此测定中,丝裂霉素C处理的LX-2细胞充当纤连蛋白的来源,并且不能增殖。在缺乏LX-2细胞(即没有纤连蛋白)的情况下,T细胞被树突细胞激活并增殖。在存在LX-2细胞的情况下,T细胞的激活受到抑制,并且增殖减少或消除。

[0677] 如图16A和16B所示,抗ILT3抗体16C5和ch5A7以剂量依赖性方式逆转纤连蛋白介导的同种异体MLR抑制。抗ILT3抗体的活性依赖于纤连蛋白的存在,即如果纤连蛋白不存在,则对MLR活性的抑制在存在抗ILT3抗体的情况下不被逆转(数据未示出)。

[0678] 实施例13

[0679] 抗ILT3抗体对树突细胞的影响

[0680] 如本文所述产生树突细胞。用纤连蛋白(5 μ g/mL)包被96孔Maxisorp板(Nunc),在室温下孵育1小时,用PBS洗涤,并且用X-VIVOTM 15培养基(Lonza)封闭30分钟。在存在抗ILT3抗体ch5A7、抗ILT3抗体Hz5A7.v5、抗ILT3抗体45G10或对照抗体的情况下,将树突细胞以2 \times 10⁵个细胞/孔铺板,并孵育过夜。抗体浓度是从10 μ g/mL到0.128ng/mL的5倍稀释液。48小时后收获培养基用于通过Luminex测定(ProcartaPlex系统;ThermoFisher Scientific)确定MIP-1 α 。

[0681] 如图17A所示,抗ILT3抗体ch5A7和Hz5A7.v5增加了树突细胞的MIP-1 α 产生水平。图17B显示了包含抗体45G10的类似结果。

[0682] 如本文所述产生树突细胞。通过用20ng/mL重组人IL-10(Peprotech)处理使树突细胞耐受化。在含有IL-10和LPS(2 μ g/mL;Sigma-Aldrich)培养基中以及还在存在抗ILT3抗体16C5、抗ILT3抗体ch5A7、抗ILT3抗体45G10或对照抗KLH抗体的情况下,将细胞以2 \times 10⁵个细胞/孔铺板到96孔平底板中,并孵育48小时。抗体浓度是从5 μ g/mL到1.6ng/mL的5倍稀释液。收获培养基用于通过Luminex测定(ProcartaPlex系统;ThermoFisher Scientific)测量TNF- α 。

[0683] 如图18A所示,抗ILT3抗体16C5和ch5A7能够恢复IL-10耐受化的树突细胞对LPS应答能力,如通过TNF- α 的产生所评估。这些结果表明,抗体ch5A7可能是比16C5更有效的抗体。图18B显示了用抗ILT3抗体ch5A7和45G10进行的类似研究的结果。其他研究表明,抗ILT3抗体ch5A7也能够恢复IL-10耐受化的树突细胞对第二刺激分子CD40L应答的能力(数据未示出)。

[0684] 实施例14

[0685] 在存在抗ILT3抗体与抗PD-1抗体的组合的情况下的同种异体MLR

[0686] 如本文所述,由外周血单核细胞产生单核细胞来源的树突细胞。收获这些细胞,并且在存在抗KLH抗体或抗ILT3抗体的情况下用重组人IL-10(50ng/mL)耐受化48小时。使用Miltenyi T细胞分离试剂盒通过阴性选择从外周血单核细胞中纯化同种异体T细胞。对于MLR测定,在存在抗KLH抗体、抗ILT3抗体ch5A7、抗PD-1抗体(派姆单抗)或抗ILT3抗体ch5A7与抗PD-1的组合(所有抗体各自均为1 μ g/mL)的情况下,将T细胞和耐受化的树突细胞以5:1的T细胞与1DC之比混合。5天后收获培养基用于通过Luminex测定(ProcartaPlex系统;

ThermoFisher Scientific) 测量IFN- γ 。

[0687] 如图19所示,抗ILT3抗体ch5A7逆转了在IL-10耐受化的树突细胞中的应答的抑制,如通过T细胞中IFN- γ 产生的增加所证明。当抗ILT3抗体与抗PD-1抗体组合使用时,这种作用增加了超过2倍。

[0688] 实施例15

[0689] 人源化抗体的产生

[0690] 基于本文所述的抗体特征数据以及另外的研究,选择抗体5A7、48A6、45G10进行人源化。通过本领域技术人员已知的方法将抗体人源化,并且人源化抗体在本文中被称为Hz5A7、Hz48A6和Hz45G10。

[0691] 抗体5A7在重链可变区CDR3中具有一个不需要的甲硫氨酸(REWRMTLYAMDY (SEQ ID NO:29))。在人源化过程期间,重链可变区CDR3被重新工程化以去除甲硫氨酸并插入一个酪氨酸,导致重链可变区CDR3包含REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:105)。此外,发现抗体5A7在轻链可变区的CDR1中具有潜在的异构化位点RASESVDSYGN^SFMH (SEQ ID NO:30)以及在轻链可变区的CDR1中具有潜在的脱酰胺化位点RASESVDSYGN^SFMH (SEQ ID NO:30)。在人源化过程期间,轻链可变区CDR1被重新工程化以去除异构化位点和脱酰胺化位点,产生包含RASESVESYGS^SFMH (SEQ ID NO:106)的轻链可变区CDR1。包含所有这些修饰的Hz5A7变体被称为Hz5A7.v5。Hz5A7.v5的重链可变序列包含氨基酸序列SEQ ID NO:123,并且Hz5A7.v5的轻链可变序列包含氨基酸序列SEQ ID NO:124;CDR如表8所公开。

[0692] 抗体Hz5A7.v5的重链序列包含在恒定区中的消除Fc效应子功能的N297G突变。抗体Hz5A7.v5的重链序列如SEQ ID NO:125和SEQ ID NO:126(分别有和没有信号序列)所示,并且抗体Hz5A7.v5的轻链序列如SEQ ID NO:127和SEQ ID NO:128(分别有和没有信号序列)所示。

[0693] 产生了48A6的几种人源化变体。这些包括B0/C2、B1/C2、C0/C2、C1/C2和C2/C2 Hz48A6抗体。抗体Hz48A6 B0/C2包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:156的重链可变区(B0)和具有氨基酸序列SEQ ID NO:161的轻链可变区(C2);抗体Hz48A6 B1/C2包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:157的重链可变区(B1)和具有氨基酸序列SEQ ID NO:161的轻链可变区(C2);抗体Hz48A6 C0/C2包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:158的重链可变区(C0)和具有氨基酸序列SEQ ID NO:161的轻链可变区(C2);抗体Hz48A6 C1/C2包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:159的重链可变区(C1)和具有氨基酸序列SEQ ID NO:161的轻链可变区(C2);并且抗体Hz48A6 C2/C2包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:160的重链可变区(C2)和具有氨基酸序列SEQ ID NO:161的轻链可变区(C2)。抗体Hz48A6的CDR与48A6的六个CDR相同,并且它们显示在表6中。

[0694] 产生了45G10的两种人源化变体。这些包括A2/A4和B1/A4 Hz45G10抗体。抗体Hz45G10 A2/A4包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:162的重链可变区(A2)和具有氨基酸序列SEQ ID NO:164的轻链可变区(A4);并且抗体Hz45G10 B1/A4包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:163的重链可变区(B1)和具有氨基酸序列SEQ ID NO:164的轻链可变区(A4)。抗体Hz45G10的CDR与45G10的六个CDR相同,并且它们显示在表5中。

[0695] 实施例16

[0696] 人源化抗体的表征

[0697] 使用如本文所述的Biacore系统确定Hz5A7.v5与人ILT3和cyno ILT3的结合亲和力,并且将其与亲本嵌合5A7(ch5A7)抗体和没有任何CDR修饰的人源化5A7(Hz5A7.v1)的结合亲和力进行比较(参见表12)。

[0698] 表12

抗体	人 ILT3			Cyno ILT3		
	K_{on} [1/Ms]	K_{off} [s ⁻¹]	K_D M	K_{on} [1/Ms]	K_{off} [s ⁻¹]	K_D M
ch5A7	2.9×10^6	1.7×10^{-3}	5.7×10^{-10}	7.5×10^6	1.8×10^{-2}	2.4×10^{-9}

[0700] 表12续表

Hz5A7.v1	2.5×10^6	1.2×10^{-3}	4.8×10^{-10}	1.2×10^7	7.7×10^{-3}	6.5×10^{-10}
Hz5A7.v5	2.8×10^6	8.1×10^{-4}	2.8×10^{-10}	1.1×10^7	7.1×10^{-3}	7.0×10^{-10}

[0702] 与亲本抗体ch5A7的结合亲和力为 5.7×10^{-10} M相比,抗体Hz5A7.v5在37°C下对人ILT3的结合亲和力为 2.8×10^{-10} M。此外,与亲本抗体ch5A7的结合亲和力为 2.4×10^{-9} M相比,抗体Hz5A7.v5在37°C下对cyno ILT3的结合亲和力为 7.0×10^{-10} M。

[0703] 这些结果证明,抗体5A7的人源化过程以及重链可变区CDR3内甲硫氨酸、轻链可变区CDR1内潜在的异构化位点和轻链可变区CDR1内潜在的脱酰胺化位点的去除对人ILT3或cyno ILT3的结合亲和力没有显著影响。

[0704] 各种Hz48A6和Hz45G10抗体与人ILT3和cyno ILT3的结合亲和力也使用如本文所述的Biacore系统来确定。测试了包含重链可变区和轻链可变区以及人Fc结构域的各种组合的人源化抗体,并且将它们与亲本嵌合抗体(包含小鼠48A6重链和轻链可变区以及人Fc结构域的48A6嵌合体、或者包含小鼠45G10重链和轻链可变区以及人Fc结构域的45G10嵌合体)的结合亲和力进行了比较。

[0705] 包含选自B0(SEQ ID NO:156)、B1(SEQ ID NO:157)、C0(SEQ ID NO:158)、C1(SEQ ID NO:159)和C2(SEQ ID NO:160)的重链可变区和轻链可变区C2(SEQ ID NO:161)的人源化48A6(Hz48A6)抗体的结合亲和力如表13中所示。

[0706] 表13

抗体	人 ILT3			Cyno ILT3		
	K_{on} [1/Ms]	K_{off} [s ⁻¹]	K_D M	K_{on} [1/Ms]	K_{off} [s ⁻¹]	K_D M
48A6 嵌合体	1.31 x 10 ⁷	8.68 x 10 ⁻⁴	0.66 x 10 ⁻¹⁰	1.99 x 10 ⁶	11 x 10 ⁻²	54 x 10 ⁻⁹
B0-C2	2.80 x 10 ⁶	7.84 x 10 ⁻⁴	2.8 x 10 ⁻¹⁰	2.13 x 10 ⁵	9.7 x 10 ⁻²	455 x 10 ⁻⁹
B1-C2	3.05 x 10 ⁶	7.64 x 10 ⁻⁴	2.5 x 10 ⁻¹⁰	1.74 x 10 ⁵	9.2 x 10 ⁻²	531 x 10 ⁻⁹
C0-C2	3.45 x 10 ⁶	5.41 x 10 ⁻⁴	1.6 x 10 ⁻¹⁰	3.27 x 10 ⁵	5.8 x 10 ⁻²	177 x 10 ⁻⁹
C1-C2	2.72 x 10 ⁶	7.05 x 10 ⁻⁴	2.6 x 10 ⁻¹⁰	1.14 x 10 ⁵	8.8 x 10 ⁻²	770 x 10 ⁻⁹
C2-C2	3.06 x 10 ⁶	7.52 x 10 ⁻⁴	2.4 x 10 ⁻¹⁰	2.17 x 10 ⁵	8.2 x 10 ⁻²	377 x 10 ⁻⁹

[0708] 包含选自A2 (SEQ ID NO:162) 和B1 (SEQ ID NO:163) 的重链可变区和轻链可变区A4 (SEQ ID NO:164) 的人源化45G10 (Hz45G10) 抗体的结合亲和力如表14中所示。

[0709] 表14

抗体	人 ILT3			Cyno ILT3		
	K_{on} [1/Ms]	K_{off} [s ⁻¹]	K_D M	K_{on} [1/Ms]	K_{off} [s ⁻¹]	K_D M
45G10 嵌合体	2.3 x 10 ⁶	3.4 x 10 ⁻⁴	1.4 x 10 ⁻¹⁰	4.1 x 10 ⁵	1.5 x 10 ⁻²	37 x 10 ⁻⁹
A2-A4	1.4 x 10 ⁶	2.8 x 10 ⁻⁴	2 x 10 ⁻¹⁰	1.9 x 10 ⁵	2 x 10 ⁻²	113 x 10 ⁻⁹
B1-A4	1.3 x 10 ⁶	2.6 x 10 ⁻⁴	2 x 10 ⁻¹⁰	1.2 x 10 ⁶	9 x 10 ⁻²	76 x 10 ⁻⁹

[0711] 实施例17

[0712] 抗ILT3抗体对巨噬细胞的影响

[0713] 巨噬细胞由原代人单核细胞产生,并且如所描述进行极化。在室温下用抗KLH和人纤连蛋白(FC0101, Millipore) (各为5μg/mL) 包被Maxisorp板(Nunc) 1小时,然后用PBS洗涤并且用X-Vivo 15培养基封闭30分钟。为了测定抗ILT3抗体对巨噬细胞的作用,将细胞洗涤,重悬于X-Vivo 15培养基中,并且与指定的抗体在室温下孵育20分钟,然后铺板在包被的孔上(100μL体积中7x10⁴个细胞/孔)并孵育过夜。24小时后收获培养基用于通过Luminex测定(ProcartaPlex系统; ThermoFisher Scientific) 评估细胞因子分泌。

[0714] 如图20A和20B所示,非极化(M0) 巨噬细胞通过Fc受体(FcR) 用抗KLH进行刺激并分泌TNF-α。在存在纤连蛋白的情况下,巨噬细胞的TNF-α分泌受到抑制。对巨噬细胞中纤连蛋白诱导的TNF-α产生的抑制被抗ILT3抗体(例如,hz5A7.v5) 阻断,所述抗ILT3抗体阻断了ILT3与纤连蛋白之间的相互作用并且恢复了TNF-α分泌。因此,本文所述的抗ILT3抗体阻断纤连蛋白介导的对巨噬细胞中FcR信号传导的抑制,并且在存在纤连蛋白的情况下增加巨

噬细胞的FcR驱动的信号因子产生。

[0715] 如图21A和21B所示,IL-10极化的(M2c)巨噬细胞通过Fc受体(FcR)用抗KLH进行刺激并分泌少量IL-6。在存在纤连蛋白的情况下,巨噬细胞的IL-6分泌增加。巨噬细胞中纤连蛋白诱导的IL-6产生的增加被抗ILT3抗体(例如,hz5A7.v5)阻断,所述抗ILT3抗体阻断了ILT3与纤连蛋白之间的相互作用并且抑制了IL-6产生。因此,本文所述的抗ILT3抗体会阻断纤连蛋白介导的对巨噬细胞中FcR信号传导的抑制。

[0716] 实施例18

[0717] 抗ILT3抗体对表达食蟹猴ILT3的细胞的影响

[0718] 产生报告细胞系以表达食蟹猴ILT3。使用通过基于CRISPR/Cas9的基因编辑从其中缺失人ILT3的THP-1双KI-mSTING报告细胞(Invivogen)。然后用含有在pBABEpuro载体中的食蟹猴ILT3的逆转录病毒稳定地感染细胞。在室温下用人纤连蛋白和抗KLH抗体共同包被Nunc Maxisorp板2小时,然后在室温下用X-Vivo 15培养基封闭30分钟。将表达食蟹猴ILT3的报告细胞重悬于X-Vivo 15培养基(1.5×10^6 个细胞/mL)中,并与含有对照抗体或抗ILT3抗体ch5A7系列稀释液的培养基以1:1的比率混合。在以100 μ L/孔接种到板上之前,将混合物孵育30分钟。然后,在测量来自细胞的NF- κ B报告子活性之前将混合物在板上孵育过夜。为了测量报告子活性,将25 μ L培养上清液与100 μ L Quanti-Blue SEAP底物组合,并在37 $^{\circ}$ C下孵育2小时。在620nm处读取吸光度。

[0719] 如图22所示,通过阻断cyno ILT3与纤连蛋白之间的相互作用,抗ILT3抗体(例如,hz5A7.v5)逆转了纤连蛋白介导的对THP-1中NF- κ B报告子活性的抑制。

[0720] 实施例19

[0721] 抗ILT3抗体对原代食蟹猴树突细胞的影响

[0722] 通过使用非人灵长类CD14微珠(Miltenyi Biotec)进行阳性选择从冷冻保存的食蟹猴PBMC中分离出单核细胞,并且通过用人GM-CSF和IL-4处理5天分化成单核细胞来源的树突细胞(DC),如对人单核细胞来源的DC所描述。在室温下用PBS或纤连蛋白(5 μ g/mL)包被Maxisorp板(Nunc)1小时,然后用PBS洗涤并用X-Vivo 15培养基(Lonza)在室温下封闭30分钟。在存在2 μ g/mL抗KLH(对照抗体)或抗ILT3抗体ch5A7的情况下,将树突细胞以 2×10^5 个细胞/孔铺板,并培养过夜。24小时后收获细胞培养基,使用ProcartaPlex系统(ThermoFisher Scientific)通过Luminex测定来确定MIP-1 α 浓度。如图23所示,纤连蛋白减少了食蟹猴单核细胞来源的DC中的MIP-1 α 分泌,并且阻断食蟹猴ILT3与纤连蛋白之间的相互作用的ch5A7挽救了这种减少。

[0723] 在单独的实验中,如本文所述从原代食蟹猴单核细胞产生DC。在室温下用抗KLH和人纤连蛋白(FC0101,Millipore)(各为5 μ g/mL)包被Maxisorp板(Nunc)1小时,然后用PBS洗涤并且用X-Vivo 15培养基封闭30分钟。将DC重悬于X-Vivo 15培养基中,与抗KLH或抗ILT3 ch5A7一起在室温下孵育20分钟,然后铺板在包被的孔上(100 μ L体积中 7×10^4 个细胞/孔)培养过夜。培养24小时后,收获培养物上清液用于使用Luminex测定(ProcartaPlex系统;ThermoFisher Scientific)评估DC的IL-8分泌。如图24所示,纤连蛋白减少了食蟹猴单核细胞来源的树突细胞的IL-8分泌,并且阻断食蟹猴ILT3与纤连蛋白之间的相互作用的ch5A7挽救了这种减少。

[0724] 实施例20

[0725] 抗ILT3抗体在人源化小鼠模型中的抗肿瘤活性。

[0726] 所有动物程序均在机构动物护理和使用委员会 (Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC) 批准的动物使用协议 (NGM-27-2017) 下进行。将NCI-H2009肺腺癌细胞 (ATCC) 在含有10% FBS和1% 青霉素/链霉素的RPMI 1640中生长。向NSG小鼠的左肋腹中皮下注射 3×10^6 个NCI-H2009肿瘤细胞。植入肿瘤细胞后7至10天, 通过尾静脉向每只小鼠注射 4×10^6 个原代人PBMC。使用卡尺每周两次测量肿瘤生长。一旦肿瘤达到大约 50mm^3 的体积, 就通过腹膜内注射用 10mg/kg 对照抗KLH抗体或抗ILT3抗体48A6每周两次治疗小鼠 (总共3个剂量)。每周两次监测和测量肿瘤。一旦肿瘤达到大约 2000mm^3 的体积, 就将小鼠处死。

[0727] 如图25所示, 在此小鼠模型中抗ILT3抗体48A6显著抑制了肿瘤生长。

[0728] 虽然出于清楚理解的目的已通过说明和实施例相当详细地描述了上述公开, 但这些描述和实施例不应当被解释为限制本公开的范围。本文所述的本公开的实施方案旨在仅仅是示例性的, 并且本领域技术人员将会识别出对本文所述的具体程序的许多等同物。所有此类等同物都被认为是在本公开的范围, 并且被实施方案所覆盖。

[0729] 本文引用的所有出版物、专利、专利申请、互联网网站和登录号/数据库序列 (包括多核苷酸序列和多肽序列两者) 出于所有目的据此通过引入整体并入, 其程度如同每个单独的出版物、专利、专利申请、互联网网站或登录号/数据库序列被具体和单独地指明以引用的方式并入一样。

[0730] 以下是本申请中公开的序列。表1-4中列出了CDR序列。

[0731] 具有加下划线的预测信号序列的人ILT3氨基酸序列 (SEQ ID NO:1)

[0732] MIPTFTALLCLGLSLGPRTHMQAGPLPKPTLWAEPGSVISWGN SVTIWCQGTLEAREYRLDKEESPAPWDRQNP
LEPKNKARFSPSMTEYAGRYRCYRSPV GWSQPSDPLELVMTGAYSKPTLSALPSPLVTS GKSVTLLCQSRSPMDTFL
LIKERAAHPLLHLRSEHGAQQHQAEFPMSPVTSVHGGTYRCFSSHGF SHYLLSHPSDPLELIVSGSLEDPRPSPT
RSVSTAAGPEDQPLMPTG SVPHSGLRRHWEVLIGVLVVSILLLSLLL FLLLQHW RQGKHRTLAQRQADFQRPPGAAE
PEPKDGGLQRRSSPAADVQGENFCAAVKNTQPEDGVEMDTRQSPHDEDPQAVTYAKVKHSRPRREMASPPSPLSGEFL
DTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSFTLRQKATEPPPSQEGASPAEPSVYATLAIH

[0733] 没有预测信号序列的人ILT3氨基酸序列 (SEQ ID NO:2)

[0734] QAGPLPKPTLWAEPGSVISWGN SVTIWCQGTLEAREYRLDKEESPAPWDRQNP
LEPKNKARFSPSMTEYAGRYRCYRSPV GWSQPSDPLELVMTGAYSKPTLSALPSPLVTS GKSVTLLCQSRSPMDTFL
LIKERAAHPLLHLRSEHGAQQHQAEFPMSPVTSVHGGTYRCFSSHGF SHYLLSHPSDPLELIVSGSLEDPRPSPT
RSVSTAAGPEDQPLMPTG SVPHSGLRRHWEVLIGVLVVSILLLSLLL FLLLQHW RQGKHRTLAQRQADFQRPPGAAE
PEPKDGGLQRRSSPAADVQGENFCAAVKNTQPEDGVEMDTRQSPHDEDPQAVTYAKVKHSRPRREMASPPSPLSGEFL
DTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSFTLRQKATEPPPSQEGASPAEPSVYATLAIH

[0735] 人ILT3胞外结构域 (aa 22-259) (SEQ ID NO:3)

[0736] QAGPLPKPTLWAEPGSVISWGN SVTIWCQGTLEAREYRLDKEESPAPWDRQNP
LEPKNKARFSPSMTEYAGRYRCYRSPV GWSQPSDPLELVMTGAYSKPTLSALPSPLVTS GKSVTLLCQSRSPMDTFL
LIKERAAHPLLHLRSEHGAQQHQAEFPMSPVTSVHGGTYRCFSSHGF SHYLLSHPSDPLELIVSGSLEDPRPSPT
RSVSTAAGPEDQPLMPTG SVPHSGLRRHWE

[0737] 没有N末端结构域的人ILT3 Ig样C2型结构域1氨基酸序列 (aa 27-118) (SEQ ID NO:4)

- [0738] PKPTLWAEPGSVISWGNVSVTIWCQGTLEAREYRLDKEESPAPWDRQNPLE PKNKARFSIPSMTEYDYG
GRYRCYYRSPVGSQPSDPLELVMT
- [0739] 人ILT3 Ig样C2型结构域2氨基酸序列(aa 124-218) (SEQ ID NO:5)
- [0740] PTLALPSPVTSQSGSVTLLCQSRSPMDTFLLIKERAAHPLLHLRSEHGAQQ HQAEFPMSPVTSVHG
GTYRCFSSHGFSHYLLSHPDPLELIVS
- [0741] 具有加下划线的预测信号序列的cyno ILT3氨基酸序列 (SEQ ID NO:6)
- [0742] MTPPLTVLFLCLGSLGPRTCVQAGPLPKPTVWAEPGSVISWGSPTIWCQGTLDAEYHLDKEGSPAPW
DTQNPLEPRNKAKFSIPSMQHYAGRYRCYYHSHPDWSESDPLDLVMTGAYSKPILSVLPSPVTSGESVTLLCQS
QSPMDTFLLFKEGAAHPLPRLRSQHGAQLHWAEFPMGPVTSVHGGTYRCISSRSFSHYLLSRPSDPVELTVLGSLES
PSPSPTRISIAAAGPEDQSLMPTGSDPQSGLRHWEVLIGVLVVSILLLSLVFFLLQHWQKHRQSAQRQADFQR
PPGAAEPEPKDGLQRRSRPAADVQGENPNAAMKDTQPEDGVELDSRQRPHDEDPAVYARVKHSGPRREMASPPS
PLSEEFLDTKDTQAEEDRQMDTQAATSEAPQDVTYAQLQSLTLRREATEPPPPQKREPSAEPSVYATLAIH
- [0743] 没有预测信号序列的cyno ILT3氨基酸序列 (SEQ ID NO:7)
- [0744] QAGPLPKPTVWAEPGSVISWGSPTIWCQGTLDAEYHLDKEGSPAPWDTQNPLEPRNKAKFSIPSMQ
HYAGRYRCYYHSHPDWSESDPLDLVMTGAYSKPILSVLPSPVTSGESVTLLCQSQSPMDTFLLFKEGAAHPLPRL
RSQHGAQLHWAEFPMGPVTSVHGGTYRCISSRSFSHYLLSRPSDPVELTVLGSLESPPSPTRISIAAAGPEDQSLM
PTGSDPQSGLRHWEVLIGVLVVSILLLSLVFFLLQHWQKHRQSAQRQADFQRPPGAAEPEPKDGLQRRSRPA
ADVQGENPNAAMKDTQPEDGVELDSRQRPHDEDPAVYARVKHSGPRREMASPPSPLSEEFLDTKDTQAEEDRQMD
TQAATSEAPQDVTYAQLQSLTLRREATEPPPPQKREPSAEPSVYATLAIH
- [0745] Cyno ILT3胞外结构域 (aa 22-259) (SEQ ID NO:8)
- [0746] QAGPLPKPTVWAEPGSVISWGSPTIWCQGTLDAEYHLDKEGSPAPWDTQNPLEPRNKAKFSIPSMQ
HYAGRYRCYYHSHPDWSESDPLDLVMTGAYSKPILSVLPSPVTSGESVTLLCQSQSPMDTFLLFKEGAAHPLPRL
RSQHGAQLHWAEFPMGPVTSVHGGTYRCISSRSFSHYLLSRPSDPVELTVLGSLESPPSPTRISIAAAGPEDQSLM
PTGSDPQSGLRHWE
- [0747] 没有N末端结构域的cyno ILT3 Ig样C2型结构域1氨基酸序列 (aa 27-118) (SEQ
ID NO:9)
- [0748] PKPTVWAEPGSVISWGSPTIWCQGTLDAEYHLDKEGSPAPWDTQNPLEPRNKAKFSIPSMQHYA
GRYRCYYHSHPDWSESDPLDLVMT
- [0749] 没有N末端结构域的cyno ILT3 Ig样C2型结构域2氨基酸序列 (aa 124-218) (SEQ
ID NO:10)
- [0750] PILSVLPSPVTSGESVTLLCQSQSPMDTFLLFKEGAAHPLPRLRSQHGAQL HWAEFPMGPVTSVHG
GTYRCISSRSFSHYLLSRPSDPVELTVL
- [0751] 3A3重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:109)
- [0752] QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGKGLEWLGVI WPGGTINYSALMSRL
SISKDNSKQVFLKLNLSLQTDAMYYCASDKYDGGWFAYWGQGLVTVSA
- [0753] 3A3轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:110)
- [0754] DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTAVAWYQQKPGQSPEALIIYLASNRHTGVPDRFTGSGSGT
DFLSISINVQSEDLADYFCLQHLNYPLTFGSGTKLEIK
- [0755] 5A7重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:111)

- [0756] EVKLVESGGGLVKPGSLKLSAASGFTFSSYGMSWVRQTPEKRLEWVATISGGGSYTNYPDSVKGRLT
ISRDNACKNLYLEMSSLRSEDALYYCARREWRTLYAMDYWGQTSVTVSS
- [0757] 5A7轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:112)
- [0758] NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNSFMHWYQQKPGQAPKLLIYLTSNLESGVPARFSGS
GSRTDFTLTIDPVEADDAATYYCQQNEDPFTFGSGTKLEIK
- [0759] 12A12重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:113)
- [0760] EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGYIYPNNGGTGYNQKFNKAT
LTVDKSSSTAYMELHSLTSEDSAVYYCASSPYDYVGSYAMDYWGQTSVTVSS
- [0761] 12A12轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:114)
- [0762] QIVLTQSPAIMASLGERVTMTCTASSVSSSYLHWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSG
TSYSLTISMEADAATYYCHQYHRSPRTFGGGTKLEIK
- [0763] 16C5重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:115)
- [0764] EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGYIYPSNGGTGYNQKFKSKAT
LTVDKSSNTAYMELHSLTSEDSAVYYCARVPYYDYLYYYAMDYWGQTSVTVSS
- [0765] 16C5轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:116)
- [0766] QIVLSQSPAILSASPGEKVTMACRASSSVFMHWYQQKPGSSPQPIYATSNLASGVPARFSGSGSGTS
YSLTISRVEADAATYYCQQWSTNPYMYTFGGGTKLEIK
- [0767] 45G10重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:117)
- [0768] EVQLVESGGGLVKPGSLKLSAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAYIFSGSSTIYYADTVKGRFT
ISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCARADGRGAMDYWGQTSVTVSS
- [0769] 45G10轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:118)
- [0770] DVQMTQTSSLSASLGDRTVISCRAQDISKFLNWIYQQKPDGTVTLIIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGT
DYSLTISNLDQEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGTKLEIK
- [0771] 48A6重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:119)
- [0772] EVQLVESGGDLMPGGSLKLSAASGFTFSSYGMSWVRQTPDKRLEWVATISSGGTYTFYPDSVKGRFT
ISRDNAKNTLYLQMSLKSSEDAMYYCARRGWLHYYAMDYWGQTSVTVSS
- [0773] 48A6轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:120)
- [0774] NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRPSESVDSFGNSFMHWFQQKPGQPPKLLIYLSSKLESGVPARFSGS
GSRTDFTLTIDPVEADDAATYYCQQHNEDPFTFGSGTKLEIK
- [0775] 53F10重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:121)
- [0776] EVQVVESGGGLVKPGSLKLSAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAYISTGIITVYYADTVKGRFT
MSRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAIYYCARADGRGAMDYWGQTSVIVSS
- [0777] 53F10轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:122)
- [0778] DIQMTQTSSLSASLGDRTVISCRAQDISNFLNWIYQQKPDGTVTLIIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGT
DYSLTISNLEQEDFATYFCQQGNTLPWTFGGGTKLEIK
- [0779] H5A7.v5重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:123)
- [0780] EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKLEWVATISGGGSYTNYPDSVKGRFT
ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARREWRYTLYAMDYWGQTTVTVSS
- [0781] H5A7.v5轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO:124)

[0782] DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASESVESYGSSFMHWYQQKPGKAPKLLIYLTSNLESGVPSRFSGS
GSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQNNEDPFTFGQGTKLEIK

[0783] 具有加下划线的信号序列的Hz5A7.v5重链氨基酸序列(SEQ ID NO:125)

[0784] MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW
VATISGGGSYTNYPDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARREWRYTYAMDYWGQTTVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0785] 没有信号序列的Hz5A7.v5重链氨基酸序列(SEQ ID NO:126)

[0786] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSYTNYPDSVKGRF
TISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARREWRYTYAMDYWGQTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKE
PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
K

[0787] 具有加下划线的信号序列的Hz5A7.v5轻链氨基酸序列(SEQ ID NO:127)

[0788] MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCDIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASESVESYGSSFMHWYQQKPGKA
PKLLIYLTSNLESGVPSRFSGS GSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQNNEDPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVT
HQGLSSPVTKSFNRGEC

[0789] 没有信号序列的Hz5A7.v5轻链氨基酸序列(SEQ ID NO:128)

[0790] DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASESVESYGSSFMHWYQQKPGKAPKLLIYLTSNLESGVPSRFSGS
GSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQNNEDPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0791] 人IgG1恒定区(SEQ ID NO:129)

[0792] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH

[0793] TFPAVLQSS

[0794] GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPP

[0795] CPAPELLGG

[0796] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0797] 人IgG1恒定区E233A/L235A(SEQ ID NO:130)

[0798] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0799] 人IgG1恒定区L234A/L235A (SEQ ID NO:131)

[0800] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0801] 人IgG1恒定区L234A/L235A/P329G (SEQ ID NO:132)

[0802] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0803] 人IgG1恒定区N297G (SEQ ID NO:133)

[0804] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH

[0805] TFPAVLQSS

[0806] GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP

[0807] CPAPELLGG

[0808] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0809] 人IgG1恒定区N297G/H310A (SEQ ID NO:134)

[0810] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH

[0811] TFPAVLQSS

[0812] GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP

[0813] CPAPELLGG

[0814] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVL
TVLAQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0815] 人κ轻链恒定区 (SEQ ID NO:135)

[0816] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0817] 人λ轻链恒定区 (SEQ ID NO:136)

[0818] GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAA
SSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS

[0819] 没有N末端结构域的人ILT3 Ig样C2型D1和D2氨基酸序列 (aa 27-218) (SEQ ID
NO:137)

[0820] QAGPLPKPTLWAEPGSVISWNSVTIWCQGTLEAREYRLDKEESPAPWDRQNPLEPKNKARFSIPSMTE

DYAGRYRCYYRSPVGSQPSDPLELVMGTGAYSKPTLSALPSPLVTSKGKSVTLLCQSRSPMDTFLLIKERAAHPLLHL
RSEHGAQQHQAEFPMSPVTSVHGGTYRCFSSHGFSHYLLSHPSDPLELIVS

[0821] 具有加下划线的预测信号序列的人纤连蛋白 (SEQ ID NO:138)

[0822] MLRGPGPGLLLLAVQCLGTAVPSTGASKSKRQAQQMVQPQSPVAVSQSKPGCYDNGKHYQINQQWERT
YLGNALVCTCYGGSRGFNCSKPEAEETCFDKYTGNTRYRVGDTYERPKDSMIWDCTCIGAGRGRISCTIANRCHEG
GQSYKIGDTWRRPHETGGYMLECVCLGNGKGEWTKPIAEKCFDHAAGTSYVVGETWEKPYQGWMMVDCTCLGEGS
GRITCTSRNRCNDQDTRTSYRIGDTSKKNRGNLLQCICTGNRGEWK CERHTSVQTTSSGSGPFTDVRAAVYQP
QPHPQPPPYGHCVTDSGVVYSVGMQWLKTQGNKQMLCTCLGNGVSCQETAVTQTYGGNSNGEPCVLPFTYNGRTFY
SCTTEGRQDGHLCSTTSNYEQDKYSFCTDHTVLVQTRGGNSNGALCHFPFLYNNHNYTDCCTSEGRDNMKGCGT
TQNYDADQKFGFCPMAAHEEICTTNEGVMYRIGDQWDKQHDMGHMMRCTCVGNRGEWTCIAYSQLRDQCIVDDIT
YVNDTFHKRHEEGHMLNCTCFGQGRGRWKCDPVDQCQDSETGTFYQIGDSWEKYVHGVRYQCYCYGRGIGEWHCQ
PLQTYPSSSGPVEVFITETPSQPNSHPIQWNAQPSHISKYILRWRPKNSVGRWKEATIPGHLNSYTIKGLKPGVV
YEQQLISIQQYGHQEVTRFDFTTSTSTPVTSTNTVTGETTFFSPLVATSESVTEITASSFVVSWSASDTVSGFRV
EYELSEEGDEPQYLDLPSTATSVNIPDLLPGRKYIVNVYQISEDGEQSLILSTSQTAPDAPPDTTVDQVDDTSIV
VRWSRPQAPITGYRIVYSPSVEGSSTELNLPETANSVTLSDLQPGVQYNITIIYAVEENQESTPVVIQQUETTGTPRS
DTVPSRDLQFVEVTDVKVTIMWTPPESAVTGYRVDVIPVNLPGEHGQRLPISRNTFAEVTGLSPGVTYFVKVFAV
SHGRESKPLTAQQTKLDAPTNLQFVNETDSTVLVRWTPPRAQITGYRLTVGLTRRGQPRQYNVGPSVSKYPLRNL
QPASEYTVSLVAIKGNQESPKATGVFTTLQPGSSIPPYNTEVTETTIVITWTPAPRIGFKLGVRSQGGAPREVT
SDSGSIVVSGLTPGVEYVYTIQVLRDQGERDAPIVNKVVTPLSPPTNLHLEANPDTGVLTVSWERSTTPDITGYRI
TTTPTNGQQGNSLEEVVHADQSSCTFDNLSPGLEYNVSVYTVKDDKESVPISDTI IPEVPQLTDL SFVDITDSSIG
LRWTPLNSSTIIGYRITVVAAGEGPIFEDFVDSVGYTVTGLEPGIDYDISVITLINGGESAPTTLTQQTAVPP
PTDLRFTNIGPDTMRVTWAPPPSIDLTNFLVRYSPVKNEEDVAELSI SPSDNAVVLNLLPGTEYVVS SVSSVYEQH
ESTPLRGRQKTGLDSPTGIDFSDITANSFTVHWIAPRATITGYRIRHHPEHFSGRPREDRVPHSRNSITLNLTPG
TEYVVSIVALNGREESPLLIGQQSTVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGETGGNSPVQEFTVP
GSKSTATISGLKPGVDYTIIVYAVTGRGDSPASSKPI SINYRTEIDKPSQM QVTDVQD NSISVKWLPSSSPVTGY
RVTTTTPKNGPGPTKKTAGPDQTEMTIEGLQPTVEYVVSVAQNPAGESQPLVQTAVTNIDRPKGLAFTDVDVDSIK
IAWESPQQVSRRYVYSSPEDGIHELFPAPDGEEDTAELQGLRPGSEYTVSVVALHDDMESQPLIGTQSTAI PAPT
DLKFTQVTPTSLSAQWTPPNVQLTGYRVRVTPKEKTGPMKEINLAPDSSSVVSGLMVATKYEVSVYALKDTLTSRP
AQGVVTTLENSPPRRARVTDATETTITISWRKTETITGFQVDAVPANGQTPIQRTIKPDVRSYTIITGLQPGTDYK
IYLYTLNDNARSSPVVIDASTAIDAPSNLRF LATTPNLLVSWQPPRARITGYIIKYEKPGSPREVVP RPRPGVTE
ATITGLEPGTEYTIYVIALKNNQKSEPLIGRKKTDELPQLVTLPHPNLHGPEILDVPSTVQKTPFVTHPGYDTGNGI
QLPGTSGQQPSVGGQMI FEEHGFRRTPPTTATPIRHRPRYPNVGEEIQIGHIPREDVDYHLYPHGPGLNPNAST
GQEALSQTTISWAPFQDTSEYIISCHPVGTDDEPLQFRVPGTSTSATLTGLTRGATYNVIVEALKDQQRHKVREEVV
TVGNSVNEGLNQPTDDSCFDPYTVSHYAVGDEWERMESGFKLLCQCLGFGSGHFRCDSSRWCHDNGVNYKIGEKWD
RQGENGQMMSCTCLGNGKGEFKCDPHEATCYDDGKTYHVGEQWQKEYLGAICSCTCFGGQGRWRCDCNRRPGGEPSP
EGTTGQSYNQYSQRYHQRTNTNVNCP IECFMPLDVQADREDSRE

[0823] 具有预测信号序列的人纤连蛋白 (SEQ ID NO:139)

[0824] QAQQMVQPQSPVAVSQSKPGCYDNGKHYQINQQWERTYLGNALVCTCYGGSRGFNCSKPEAEETCFD
KYTGNTYRVGDTYERPKDSMIWDCTCIGAGRGRISCTIANRCHEGGQSYKIGDTWRRPHETGGYMLECVCLGNGK

EWTCKPIAEKCFDHAAGTSYVVGETWEKPYQGMMVDCCLGEGSGRITCTSRNRCNDQDTRTSYRIGDTWSKKDN
 RGNLLQCICTGNRGEWK CERHTSVQTTSSSGSPFTDVRAAVYQPQPHPQPPPYGHCVTDSGVVYSVGMQWLKTQG
 NKQMLCTCLGNGVSCQETA VQT YGGNSNGEPCVLPFTYNGRTFYSC TTEGRQDGHLWCSTTSNYEQDQKYSFCTD
 HTVLVQTRGGNSNGALCHFPFLYNNHNYTDCTSEGRRDNMKWC GTTQNYDADQKFGFCPMAAHEEICTTNEGVMYR
 IGDQWDKQHDMGHMMRCTCVGNRGEWTCIAYSQLRDQCI VDDITYNVNDTFHKRHEEGHMLNCTCFGQGRGRWKC
 DPVDQCQDSETGTFYQIGDSWEKYVHGVRYQCYCYGRGIGEWHCQPLQTYPSSSGPVEVFITETPSQPNSHPIQWN
 APQPISHISKYILRWRPKNSVGRWKEATIPGHLNSYTIKGLKPGVVYEGQLISIQQYGHQEVTRFDFTTTSTSTPVT
 SNTVTGETTPFSPLVATSESVTEITASSFVVSWSASDTVSGFRVEYELSEEGDEPQYLDLPSTATSVNIPDLLPG
 RKYIVNVYQISEDGEQSLILSTSQT TAPDAPPD TTVDQVDDTSIVVRWSRPQAPITGYRIVYSPSVEGSSTELNLP
 ETANSVTLSDLQPGVQYNI TIYAVEENQESTPVVIQQUETTGT PRSDTVPSRDLQFVEVTDVKVTIMWTPPESAVT
 GYRVDVIPVNLPGEHGQRLPISRNTFAEVTGLSPGVTYFVKFVAVSHGRESKPLTAQQTTKLDAPTNLQFVNETDS
 TVLVRWTPPRAQITGYRLTVGLTRRGQPRQYNVGPSVSKYPLRNLQPA SEYTVSLVAIKGNQESPKATGVFTTLQP
 GSSIPPYNTTEVTETTIVITWTPAPRIGFKLGVRPSQGG EAPREVTSDSGSIVVSGLTPGVEYVYTIQVLRDQGERD
 APIVNKVVTPLSPTNLHLE ANPDTGVLTVSWERSTTPDITGYRITTTPTNGQQGNSLEEVHADQSSCTFDNLS
 PGLEYNVSVYTVKDDKESVPI SDTI IPEVPQLTDL SFVDITDSSIGLRWTP LNSSTIIGYRITVVAAGEGIPIFEDF
 VDSSVGYT VTGLEPGIDYDISVITLINGGESAPTTLTQQTAVPPPTDLRFTNIGPDTMRVTWAPPPSIDLTNFLVR
 YSPVKNEEDVAELSI SPSDNAVVLTNLLPGTEYVVS SVSSVYEQHESTPLRGRQKTGLD SPTGIDFSDITANSFTVHW
 IAPRATITGYRIRHHPEHFSGRPREDRVPHSRNSITLNLTPGTEYVVSIVALNGREESPLLIGQQSTVSDVPRDLE
 VVAATPTSL LISWDAPAVTVRYYRITYGETGGNSPVQEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGRGDSPASSK
 PISINYRTEIDKPSQM QVTDVQDNSISVKWLPSSSPVTGYRVTTTPKNGPGPTKTKTAGPDQTEMTIEGLQPTVEYV
 VSVY AQNPSGESQPLVQTAVTNIDRPKGLAFTD VD VDSIKIAWESPQQQVSR YRVTYSSPEDGIHELFPAPDGEEDT
 AELQGLRPGSEYTVSVVALHDDMESQPLIGTQSTAIPAP TDLKFTQVTPTSLSAQWTPPNVQLTGYRVRVTPKEKTG
 PMKEINLAPDSSSVVVSGLMVATKYEVSVYALKD TLTSRPAQGVVTTLE NVSPRRARVTDATETTITISWRKTET
 ITGFQVDAVPANGQTPIQRTIKPDVRSYTI TGLQPGTDYKIYLYTLNDNARSSPVVIDASTAIDAPSNLRF LATT PN
 SLLVSWQPPRARITGYI IKYEKPGSPREV VPRPRPGVTEATITGLEPGTEYTIYVIALKNNQKSEPLIGRKKTDEL
 PQLVTLPHPNLHGPEILDVPSTVQKTPFVTHPGYDTGNGIQLPGTSGQQPSVGQQMIFEEHGFRRTPPTTATPIRH
 RPRPYPPNVGEEIQIGHIPREDVDYHLYPHG PGLNPNASTGQEALSQTTISWAPFQDTSEYIISCHPVGTDEEPLQF
 RVPGTSTSATLTGLTRGATYNVIVEALKDQQRHKVREEVTVGNVNEGLNQPTDDSCFPYTVSHYAVGDEWERMS
 ESGFKLLCQCLGFGSGHFRCDSSRWCHDNGVNYKIGEKWDRQGENGQMMSCTCLGNGKGEFKCDPHEATCYDDGKTY
 HVGEQWQKEYLGAIC SCTCFGGQRGWRC DNCRPPGGEPSPEGTTGQSYNQYSQRYHQRTNTNVNCP IECFMPLDVQA
 DREDSRE

[0825] 含有肝素结合结构域和胶原结合结构域的人纤连蛋白片段(约70kDa片段)(SEQ ID NO:140)

[0826] QAQQMVQPQSPVAVSQSKPGCYDNGKHYQINQQWERTYLGNALVCTCYGSSRGFNCE SKPEAEETCFDK
 YTGNTYRVGDTYERPKDSMIWDCTCIGAGRGRISCTIANRCHEGGQSYKIGDTWRRPHETGGYMLECVCLGNGKGEW
 TCKPIAEKCFDHAAGTSYVVGETWEKPYQGMMVDCCLGEGSGRITCTSRNRCNDQDTRTSYRIGDTWSKKDN RGN
 LLQCICTGNRGEWK CERHTSVQTTSSSGSPFTDVRAAVYQPQPHPQPPPYGHCVTDSGVVYSVGMQWLKTQGNKQM
 LCTCLGNGVSCQETA VQT YGGNSNGEPCVLPFTYNGRTFYSC TTEGRQDGHLWCSTTSNYEQDQKYSFCTDHTVLV
 QTRGGNSNGALCHFPFLYNNHNYTDCTSEGRRDNMKWC GTTQNYDADQKFGFCPMAAHEEICTTNEGVMYRIGDQWD

KQHDMGHMMRCTCVGNRGEWTCIAYSQLRDQCIVDDITYNVNDTFHKRHEEGHMLNCTCFGQGRGRWKCDPVDQCQ
DSETGTFYQIGDSWEKYVHGVRYQCICYGRGIGEWHCQPLQTYPSS

[0827] 含有肝素结合结构域的人纤连蛋白片段(约30kDa片段)(SEQ ID NO:141)

[0828] QAAQMVQPQSPVAVSQSKPGCYDNGKHYQINQQWERTYLGNALVCTCYGGSRGFNCEKPEAEETCFDK
YTGNTYRVGDTYERPKDSMIWDCTCIGAGRGRISCTIANRCHEGGQSYKIGDTWRRPHETGGYMLECVCLGNGKGEW
TCKPIAEKCFDHAAGTSYVVGETWEKPYQGMMVDCTCLGEGSGRITCTSRNRCNDQDTRTSYRIGDTWSKKDNRGN
LLQCICTGNRGEWK CER

[0829] 含有胶原结合结构域的人纤连蛋白片段(约45kDa片段)(SEQ ID NO:142)

[0830] HTSVQTTSSSGSPFTDVRAAVYQPQPHPQPPPYGHCVTDSGVVYVGMQWLKTQGNKQMLCTCLGNGVS
CQETA VTQTYGGNSNGEPCVLPFTYNGRTFYSC TTEGRQDGHLWCSTTSNYEQDQKYSFCTDHTVLVQTRGGNSNGA
LCHFPFLYNNHNYTDCTSEGRDNMKWCGTTQNYDADQKFGFCPMAAHEEICTTNEGVMYRIGDQWDKQHDMMR
CTCVGNRGEWTCIAYSQLRDQCIVDDITYNVNDTFHKRHEEGHMLNCTCFGQGRGRWKCDPVDQCQDSETGTFYQI
GDSWEKYVHGVRYQCICYGRGIGEWHCQPLQTYPSS

[0831] 含有I型重复序列1的人纤连蛋白片段(SEQ ID NO:143)

[0832] PGCYDNGKHYQINQQWERTYLGNALVCTCYGGSRGFNCEKPEA

[0833] 含有I型重复序列2的人纤连蛋白片段(SEQ ID NO:144)

[0834] ETCFDKYTGNTYRVGDTYERPKDSMIWDCTCIGAGRGRISCTIA

[0835] 含有I型重复序列3的人纤连蛋白片段(SEQ ID NO:145)

[0836] NRCHEGGQSYKIGDTWRRPHETGGYMLECVCLGNGKGEWTKPI

[0837] 含有I型重复序列4的人纤连蛋白片段(SEQ ID NO:146)

[0838] AEKCFDHAAGTSYVVGETWEKPYQGMMVDCTCLGEGSGRITCTSR

[0839] 含有I型重复序列5的人纤连蛋白片段(SEQ ID NO:147)

[0840] NRCNDQDTRTSYRIGDTWSKKDNRGNLLQCICTGNRGEWK CERH

[0841] 具有加下划线的预测信号序列的人CNTFR- α (SEQ ID NO:148)

[0842] MAAPVPWACCAVLAAAAAVVYAQRHSPQEAPHVQYERLGSDVTLPCGTANWDAAVTWRVNGTDLAPDLL
NGSQLVLHGLELGHSGLYACFHRDSWHLRHQVLLHVGLPPREPVLSCRSNTYPKGFYCSWHLPTPTYIPNTFNVTVL
HGSKIMVCEKDPALKNRCHIRYMHLFSTIKYKVISVSNALGHNATAITFDEFTIVKPDPPENVVARPVPSNPRRLE
VTWQTPSTWPDPEFPLKFFLRYPRLILDQWQHVELSDGTAHTITDAYAGKEYIIQVAAKDNEIGTWSWVAHAHAT
PWTEEPRHLTTEAQA AETTTSTTSSLAPPPTTKICDPGELGSGGGPSAPFLVSVPI TLALAAAAATASSLLI

[0843] 没有预测信号序列的人CNTFR- α (SEQ ID NO:149)

[0844] QRHSPQEAPHVQYERL GSDVTLPCGTANWDAAVTWRVNGTDLAPDLLNGSQLVLHGLELGHSGLYACF
HRDSWHLRHQVLLHVGLPPREPVLSCRSNTYPKGFYCSWHLPTPTYIPNTFNVTVLHGSKIMVCEKDPALKNRCHI
RYMHLFSTIKYKVISVSNALGHNATAITFDEFTIVKPDPPENVVARPVPSNPRRLEVTWQTPSTWPDPEFPLK
FLRYPRLILDQWQHVELSDGTAHTITDAYAGKEYIIQVA AKD NEIGTWSWVAHAHATPWTEEPRHLTTEAQA A
TTTSTTSSLAPPPTTKICDPGELGSGGGPSAPFLVSVPI TLALAAAAATASSLLI

[0845] 人CNTFR- α -成熟形式(SEQ ID NO:150)

[0846] QRHSPQEAPHVQYERL GSDVTLPCGTANWDAAVTWRVNGTDLAPDLLNGSQLVLHGLELGHSGLYACF
HRDSWHLRHQVLLHVGLPPREPVLSCRSNTYPKGFYCSWHLPTPTYIPNTFNVTVLHGSKIMVCEKDPALKNRCHI
RYMHLFSTIKYKVISVSNALGHNATAITFDEFTIVKPDPPENVVARPVPSNPRRLEVTWQTPSTWPDPEFPLKFFLR

YRPLILDQWQHVELSDGTAHTITDAYAGKEYIIQVAAKDNEIGTWSWVAHAHATPWTEEPRLHTTEAQAETTST
TSSLAPPPTTKICDPGELGS

[0847] 含有Ig样C2型结构域的人CNTFR- α 片段 (SEQ ID NO:151)

[0848] QRHSPQEAPHVQYERLGSVTLPCGTANWDAAVTWRVNGTDLAPDLLN GSQVLVHGLELGHSGLYAC
FHRDSWHLRHQVLLH

[0849] 含有FN III型结构域1的人CNTFR- α 片段 (SEQ ID NO:152)

[0850] PPREPVLSCRSNTYPKGFYCSWHLPTPTYIPNTFNVTVLHGSKIMVCEKDPALKNRCHIRYMHLFSTIK
YKVSISVSNALGHNATAITFDEFTIVKPDPPENVVARPVPSNPRRLEVT

[0851] 含有FN III型结构域2的人CNTFR- α 片段 (SEQ ID NO:153)

[0852] WQTPSTWPDPESEFPLKFFLRYRPLILDQWQHVELSDGTAHTITDAYAGKE
YIIQVAAKDNEIGTWSWVAHAHATPWTEEP

[0853] 六组氨酸肽标签 (SEQ ID NO:154)

[0854] HHHHHH

[0855] 具有茎氨基酸序列的人ILT3结构域2 (aa 124-259) (SEQ ID NO:155)

[0856] PTLALPSPLVTSKSVTLLCQSRSPMDTFLLIKERAHPLLHLRSEHGAQQHQAEPMPSPVTSVHGGT
YRCFSSHGFSHYLLSHPSDPLELIVSGSLEDPRPSPTRSVSTAAGPEDQPLMPTGSPHSGLRHWE

[0857] Hz48A6重链可变区氨基酸序列

[0858] HC-B0 (SEQ ID NO:156)

[0859] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVATISSGGTYTFYPDSVKGRFT
ISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGWLLHYYAMDYWGQGTSTVTVSS

[0860] HC-B1 (SEQ ID NO:157)

[0861] EVQLVESGGGLMVPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVATISSGGTYTFYPDSVKGRFT
ISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGWLLHYYAMDYWGQGTSTVTVSS

[0862] HC-C0 (SEQ ID NO:158)

[0863] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVGTISSGGTYTFYPDSVKGRFT
ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGWLLHYYAMDYWGQGTTLVTVSS

[0864] HC-C1 (SEQ ID NO:159)

[0865] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVA TISSGGTYTFYPDSVKGR
FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGWLL HYYAMDYWGQGTTLVTVSSH

[0866] EVQLVESGGGLMVPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVATISSGGTYTFYPDSVKGRFT

ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGWLLHYYAMDYWGQGTTLVTVSS

[0867] Hz48A6轻链可变区氨基酸序列

[0868] LC-C2 (SEQ ID NO:161)

[0869] DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRPSESVDSEFGNSFMHWFQQKPGKAPKLLIYLSSKLESGVPSRFSGS
GSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQHNEDPFTFGQGTKVEIK

[0870] Hz45G10重链可变区氨基酸序列

[0871] HC-A2 (SEQ ID NO:162)

[0872] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAYIFSGSSTIYYADTVKGRFT
ISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARADGRGAMDYWGQGTTVTVSS

[0873] HC-B1 (SEQ ID NO:163)

[0874] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVSYIFSGSSTIYYADTVKGRFT
ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARADGRGAMDYWGQGTLVTVSS

[0875] Hz45G10轻链可变区氨基酸序列

[0876] LC-A4 (SEQ ID NO:164)

[0877] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISKFLNWYQQKPGKAPKLLIYYT SRLHSGVPSRFSGSGS
GTDFTFTISSSLQPEDATYFCQQGNTLPWTFGGGTKLEI K。

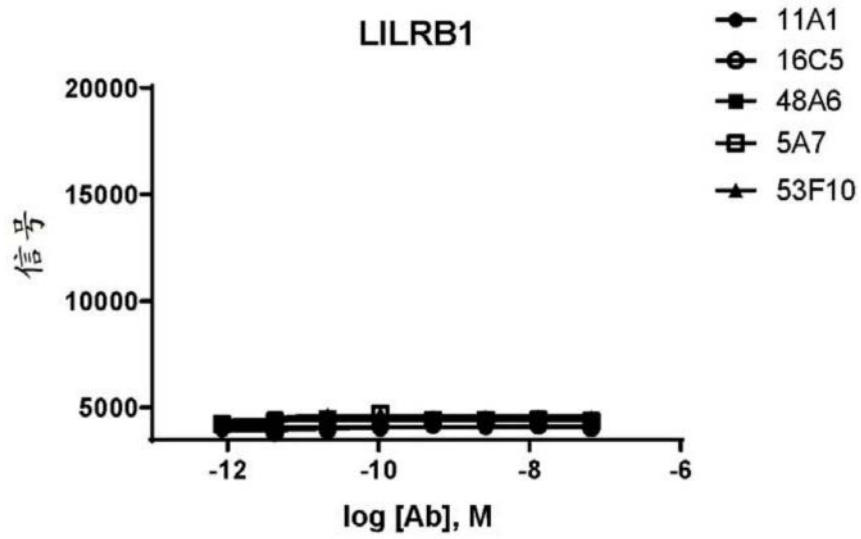


图1A

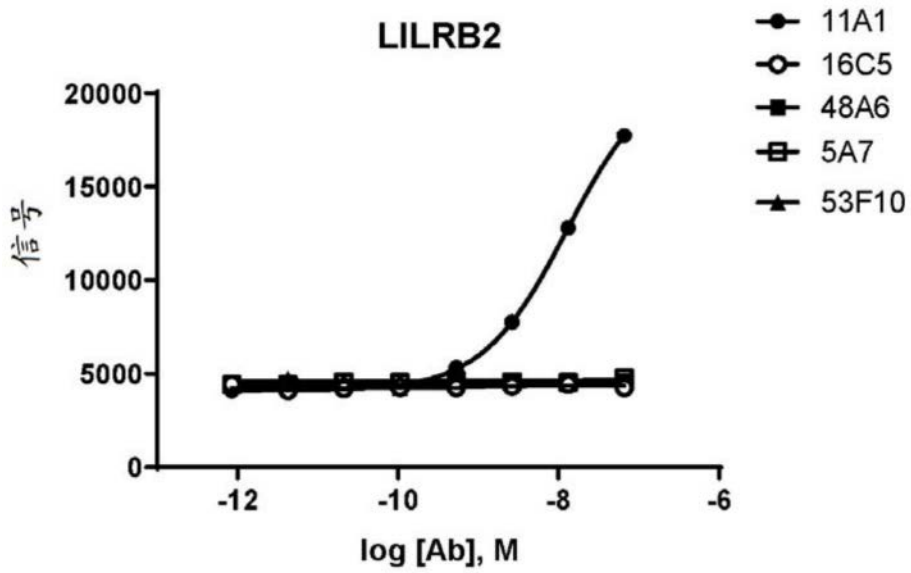


图1B

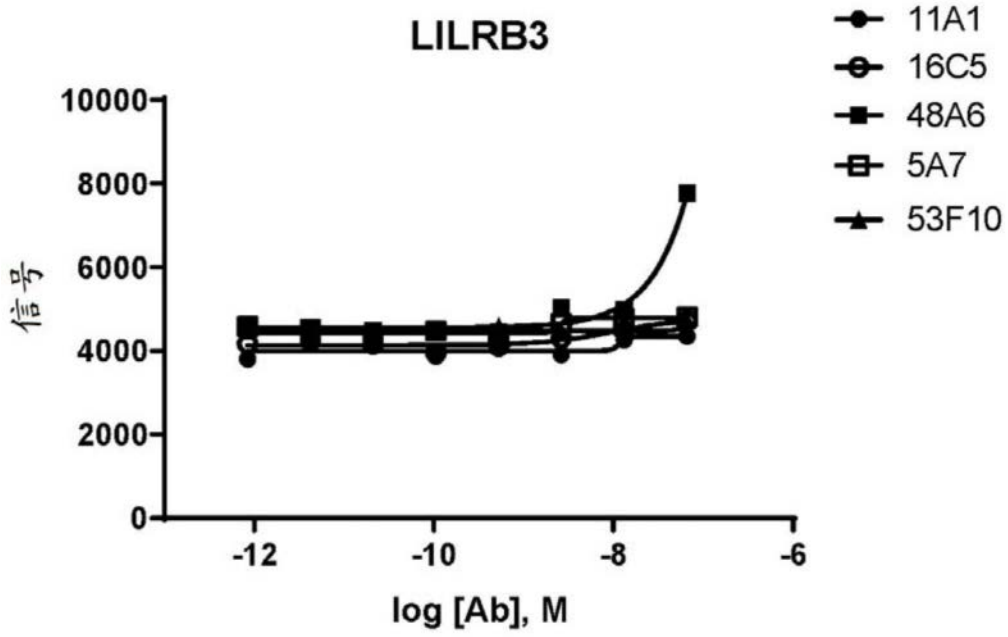


图1C

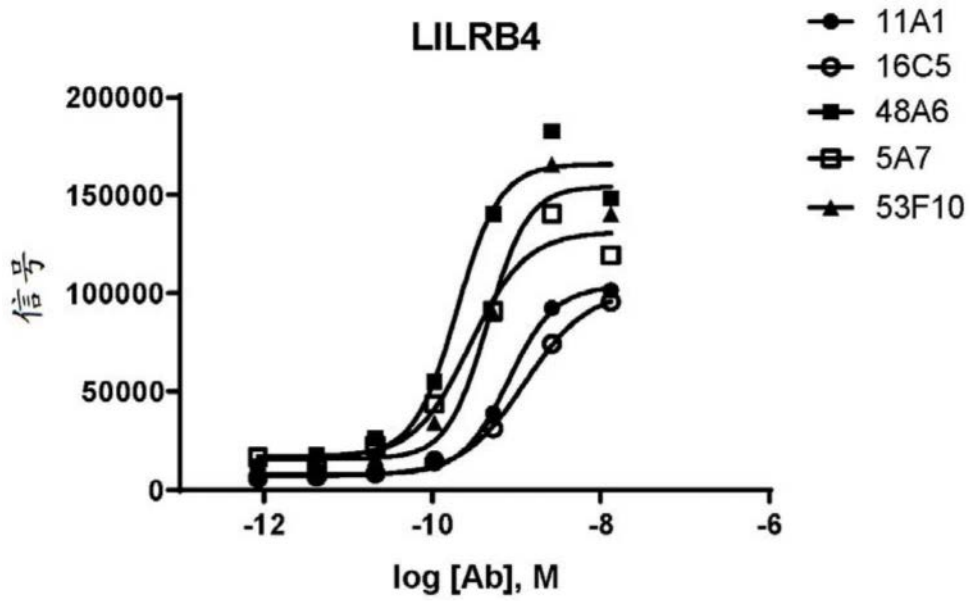


图1D

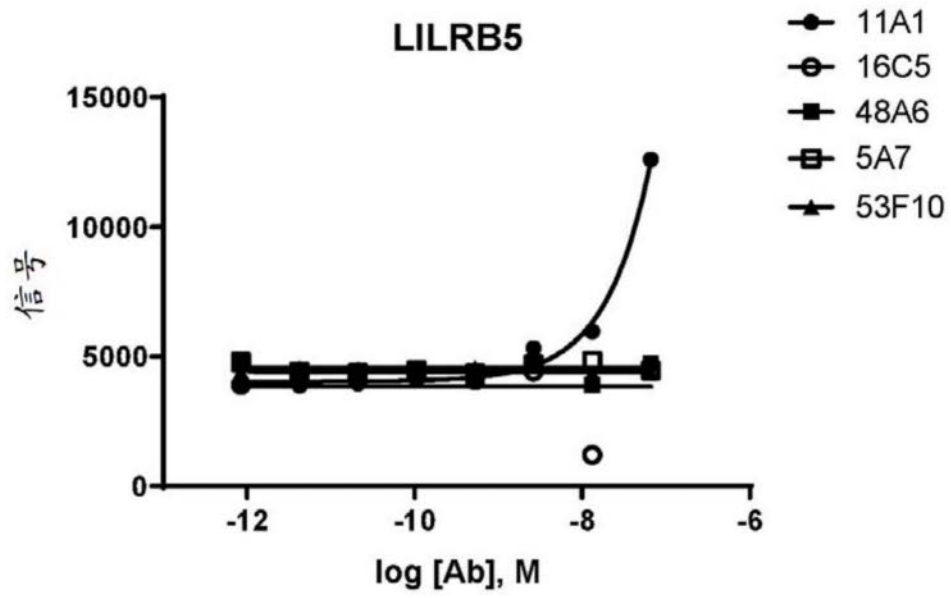


图1E

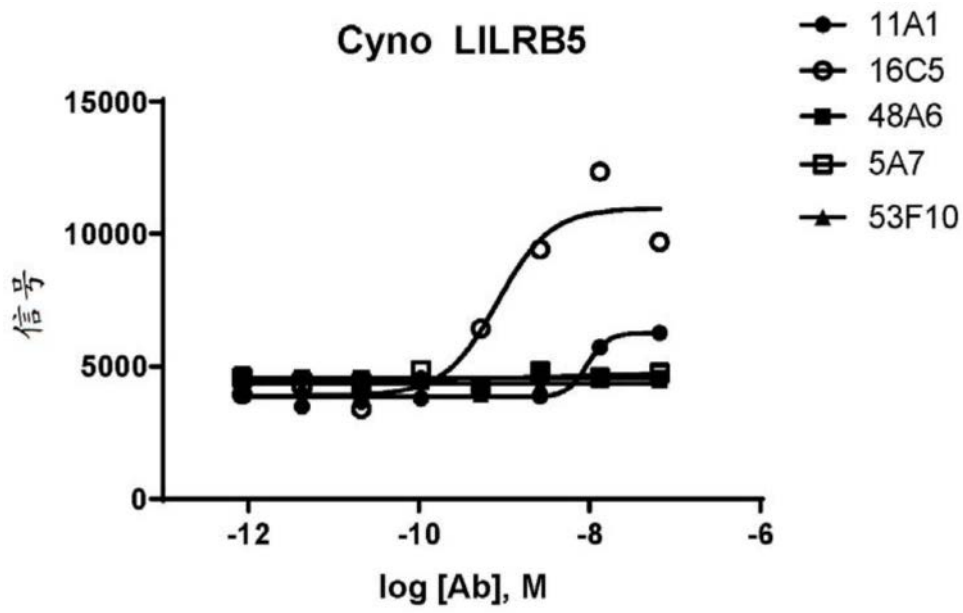


图1F

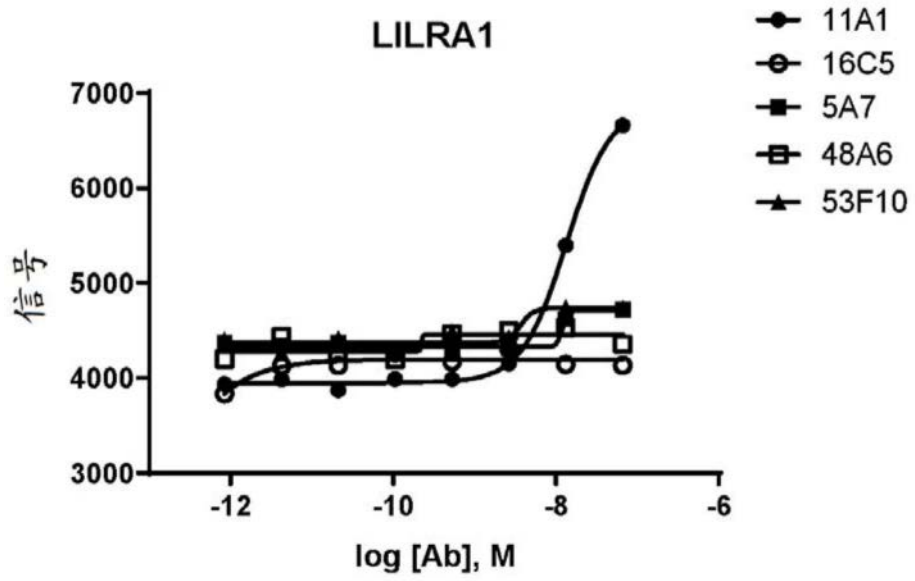


图2A

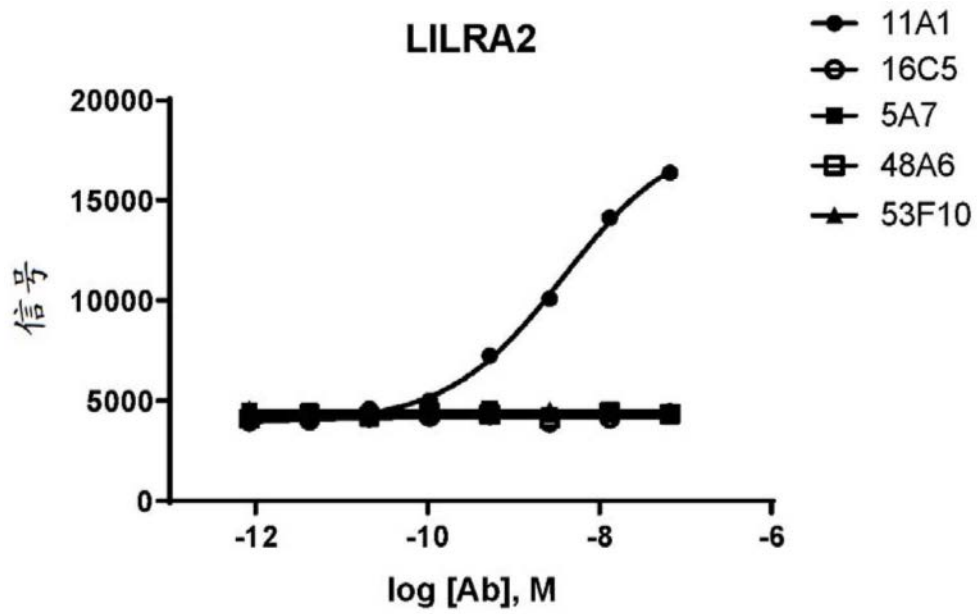


图2B

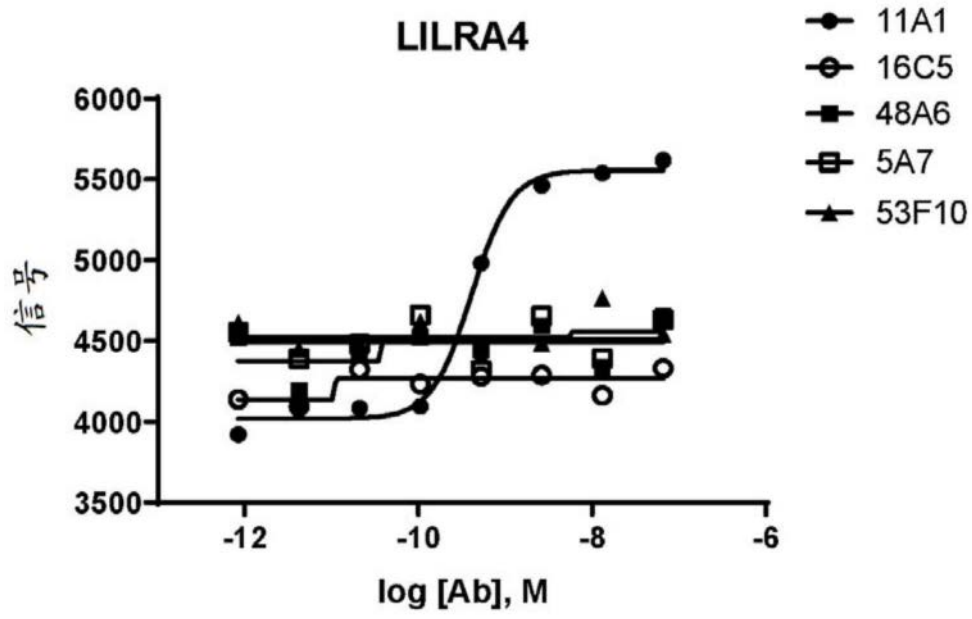


图2C

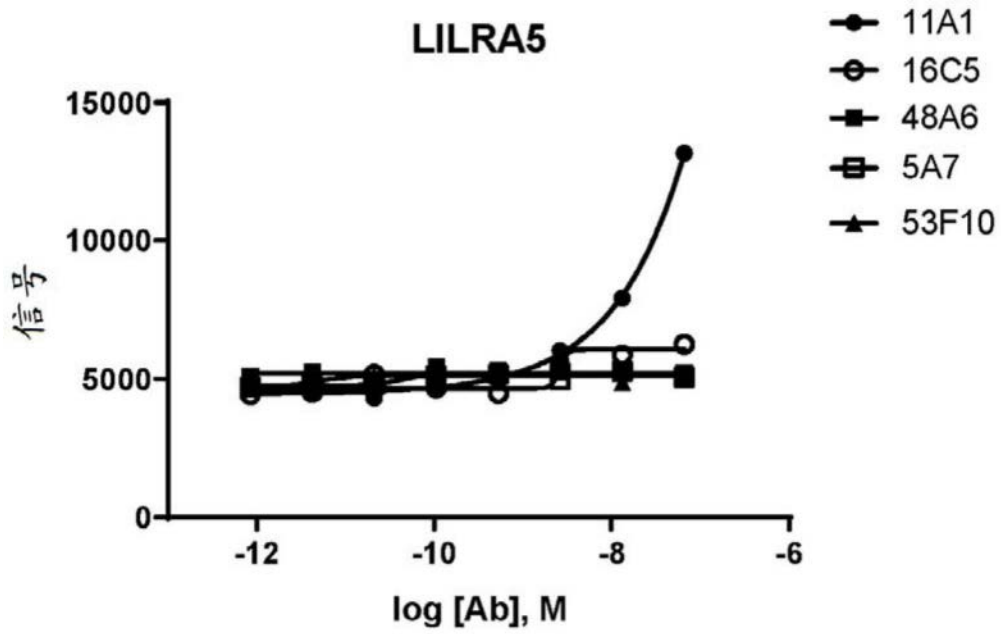


图2D

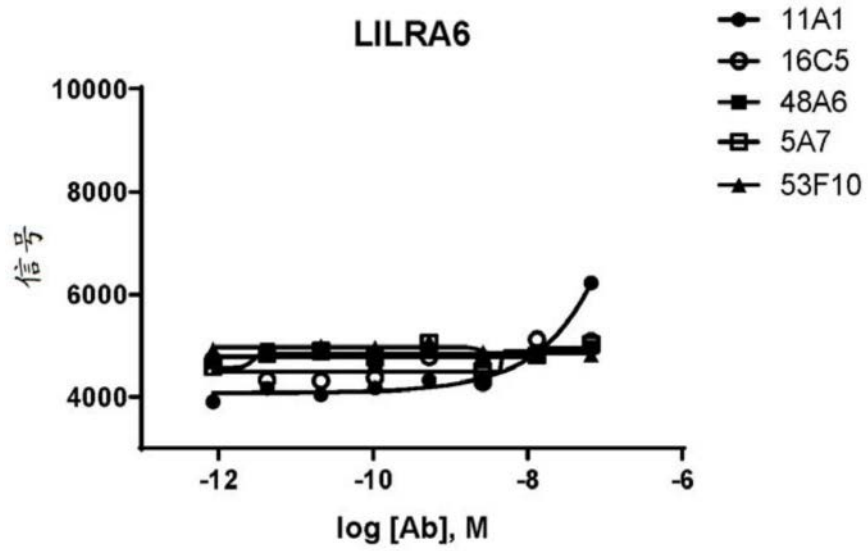


图2E

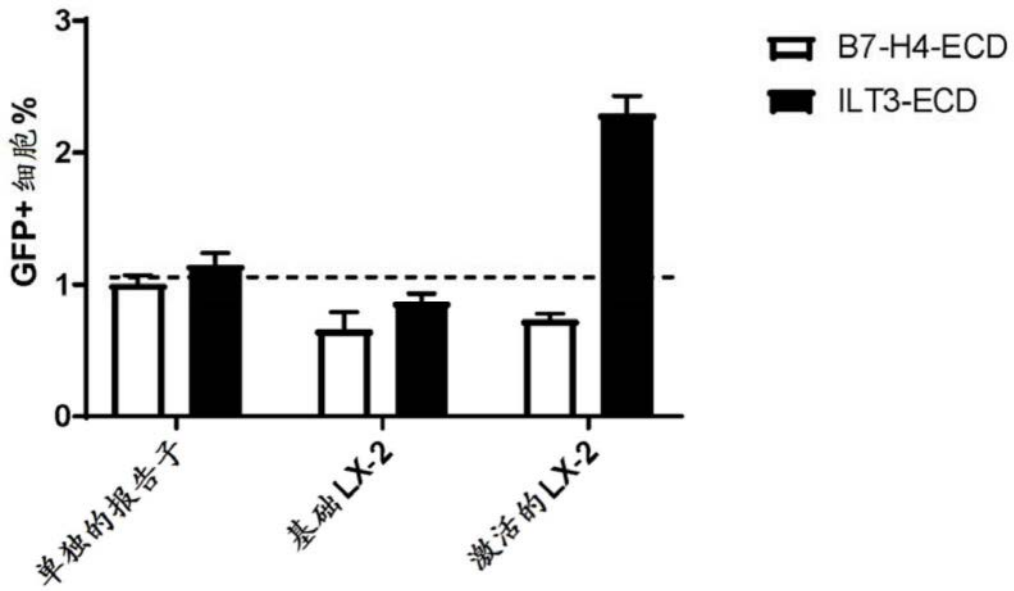


图3

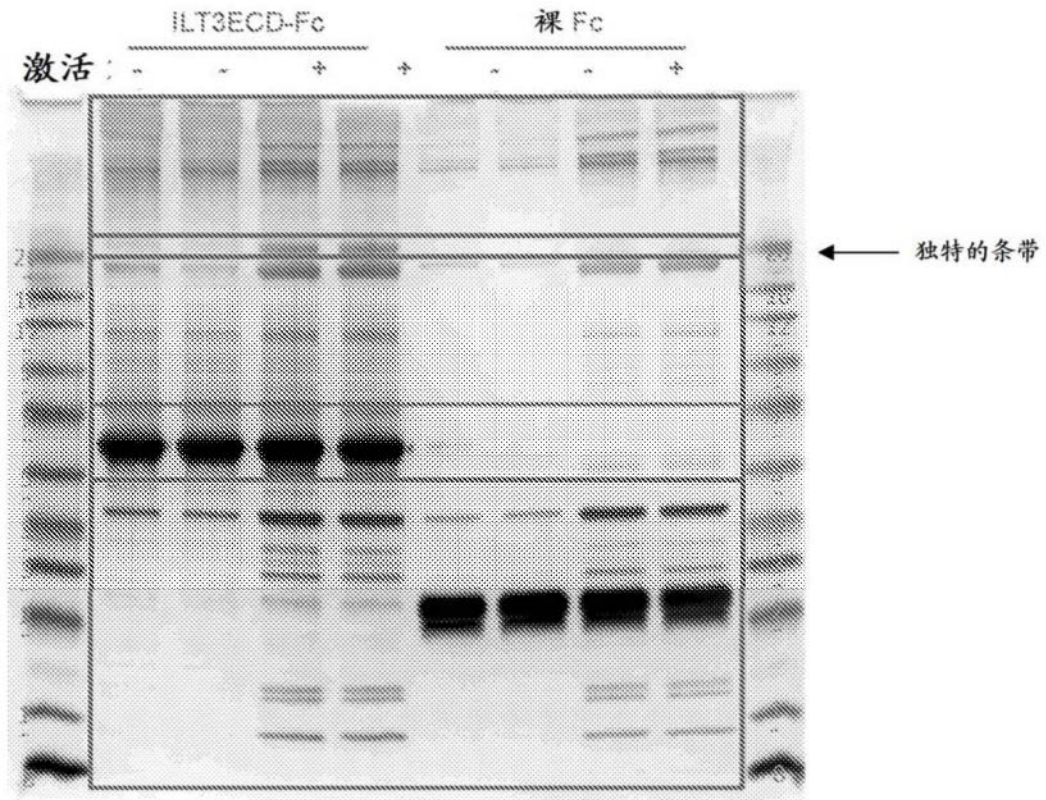


图4

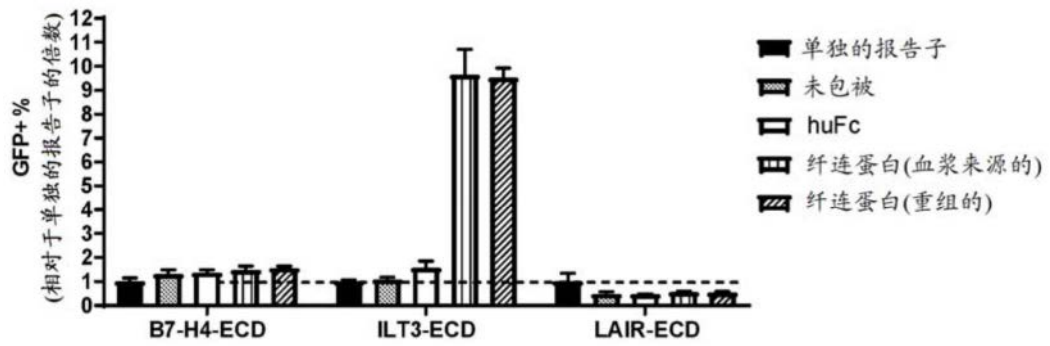


图5

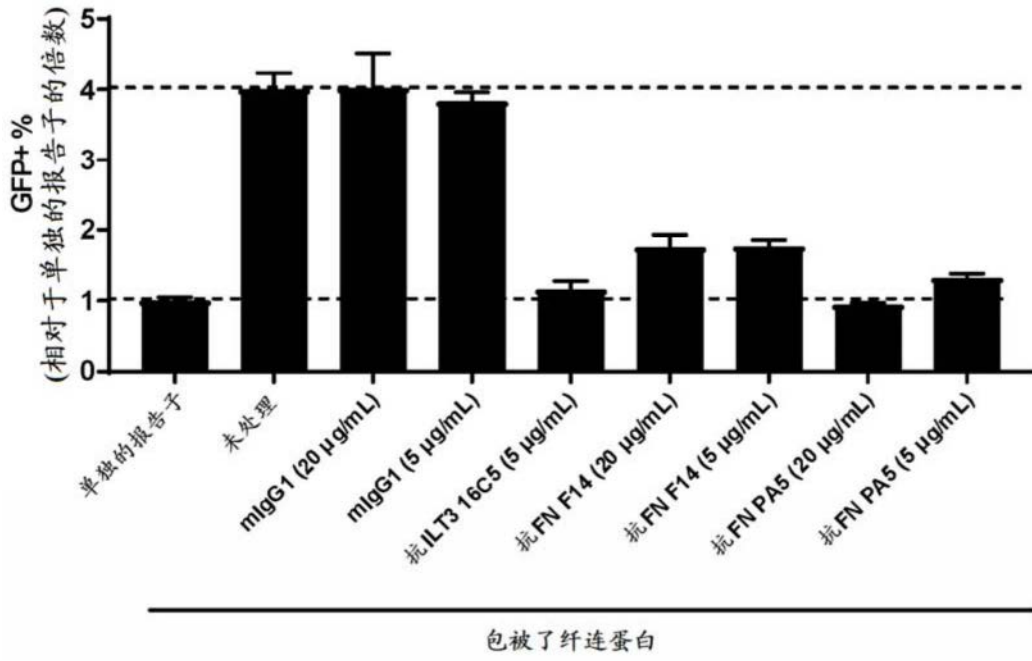


图6

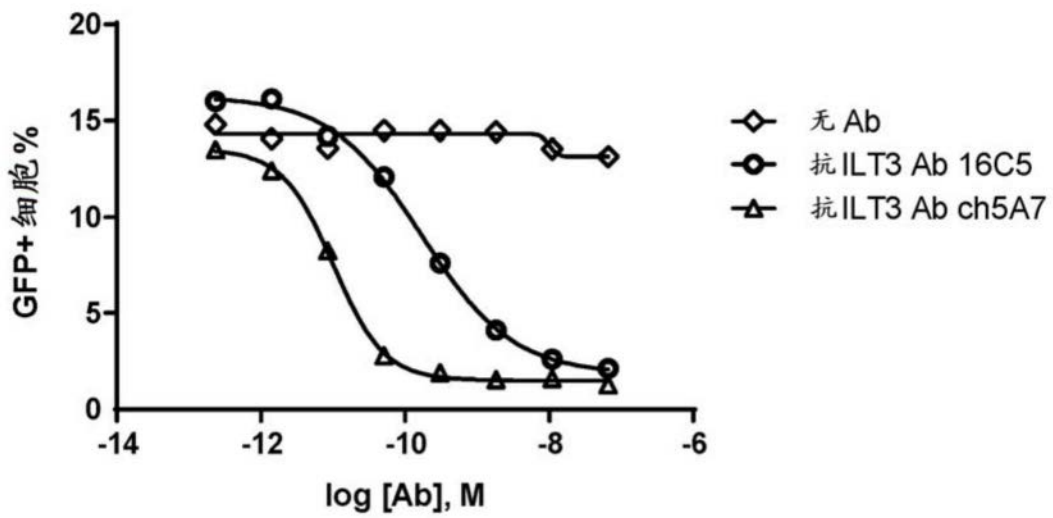


图7

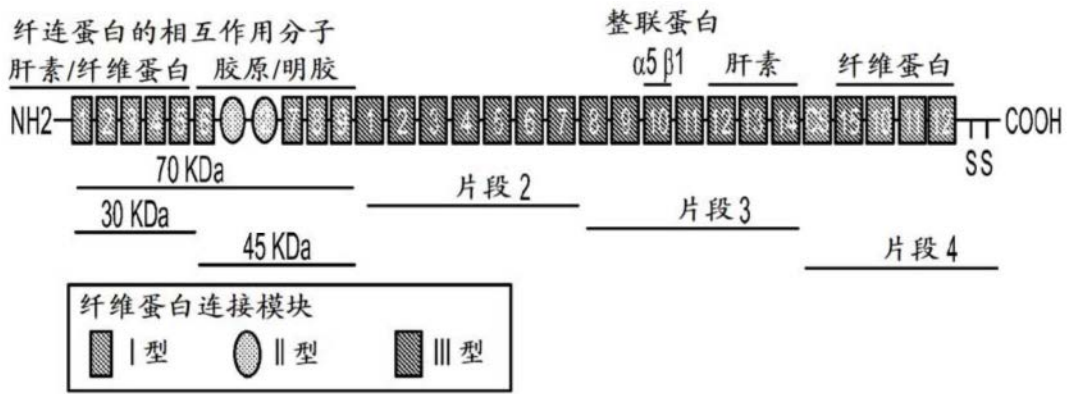


图8

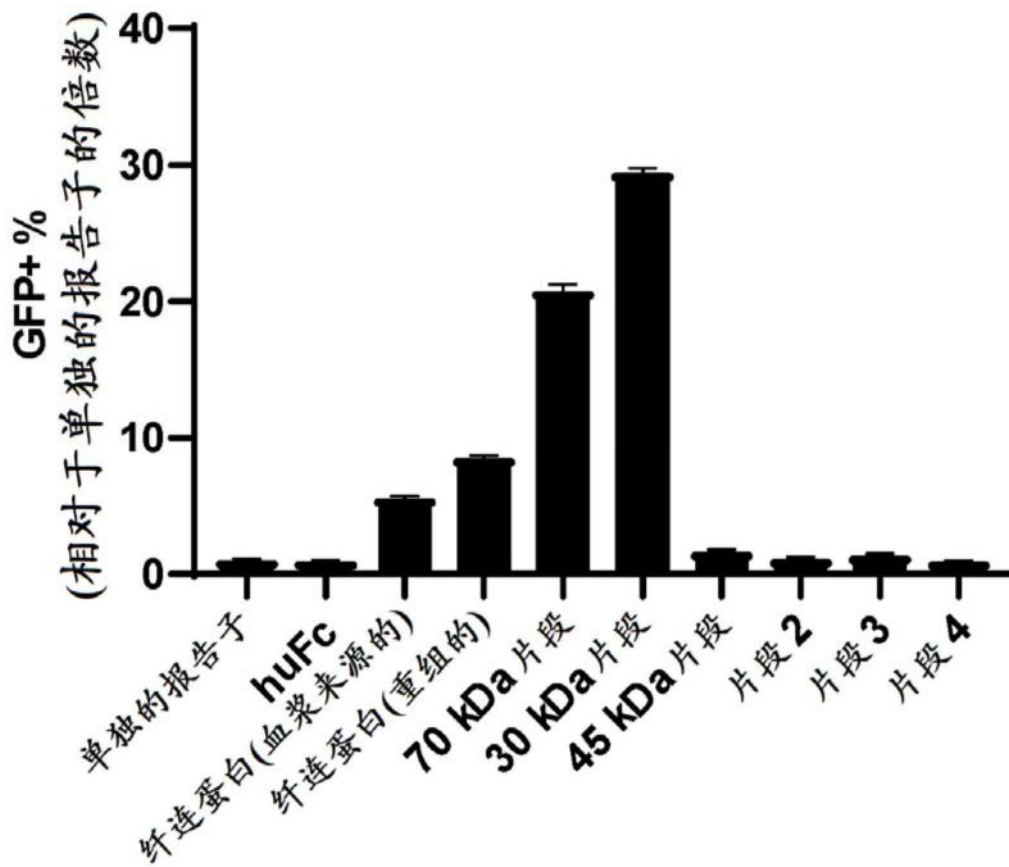


图9

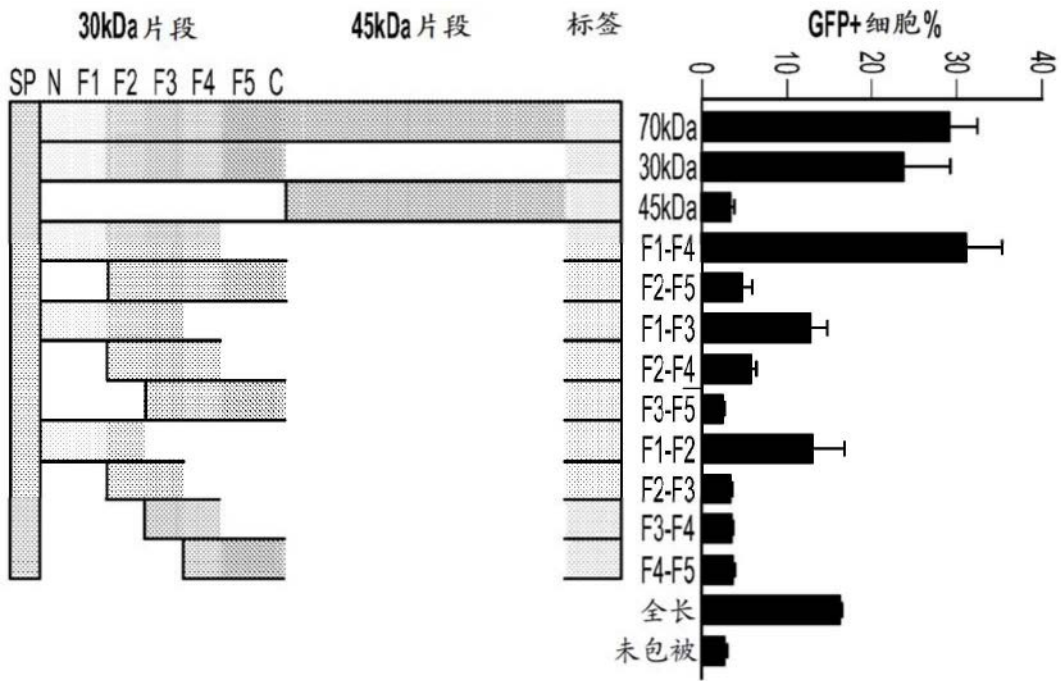


图10

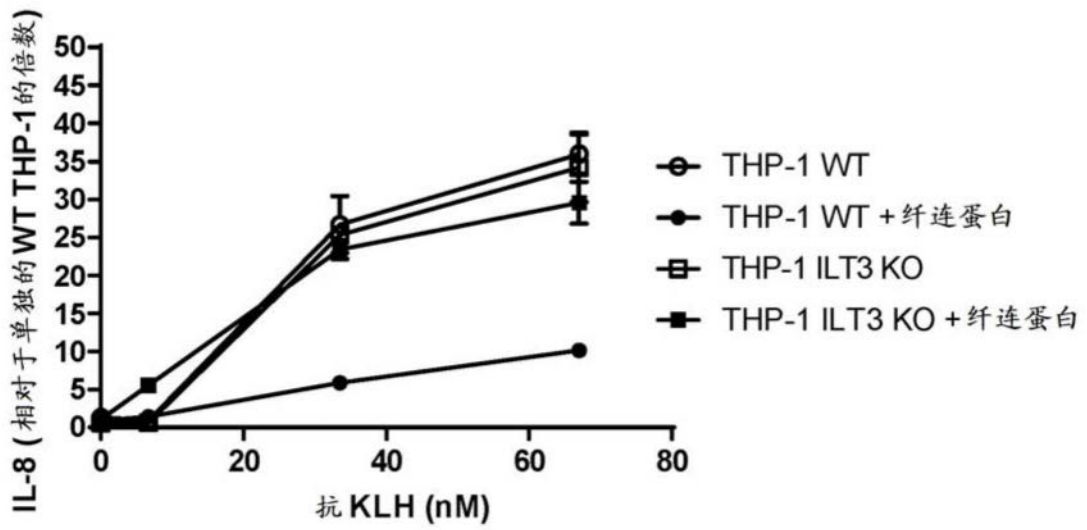


图11

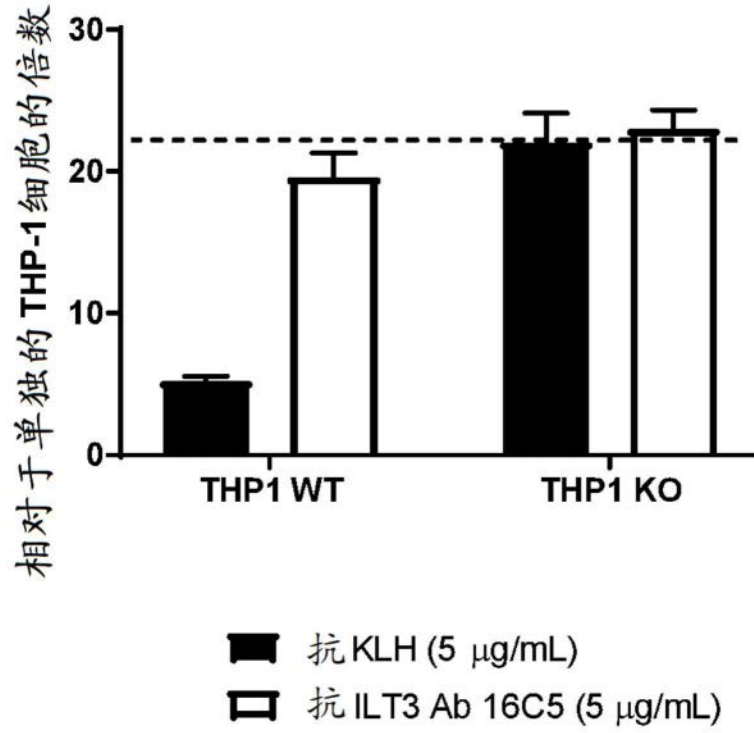


图12A

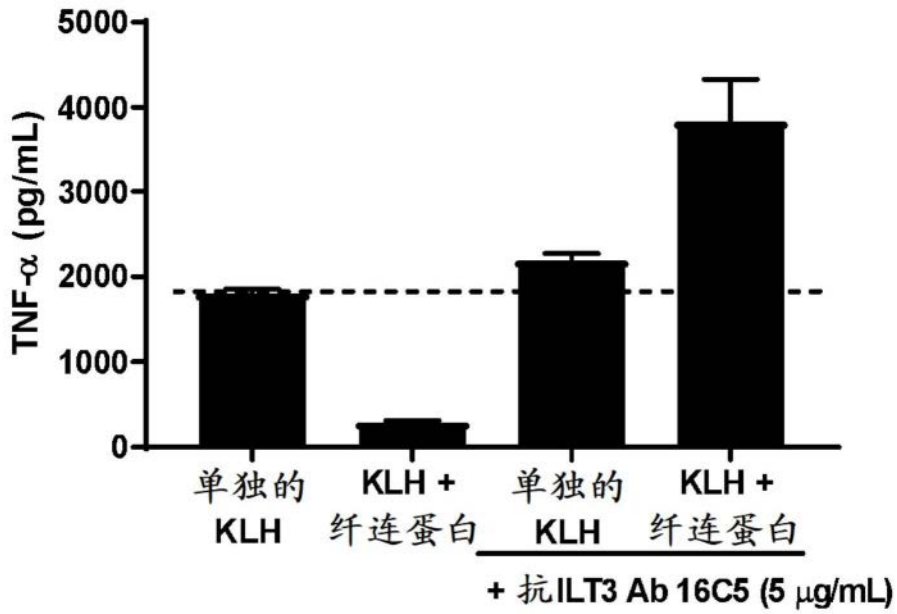


图12B

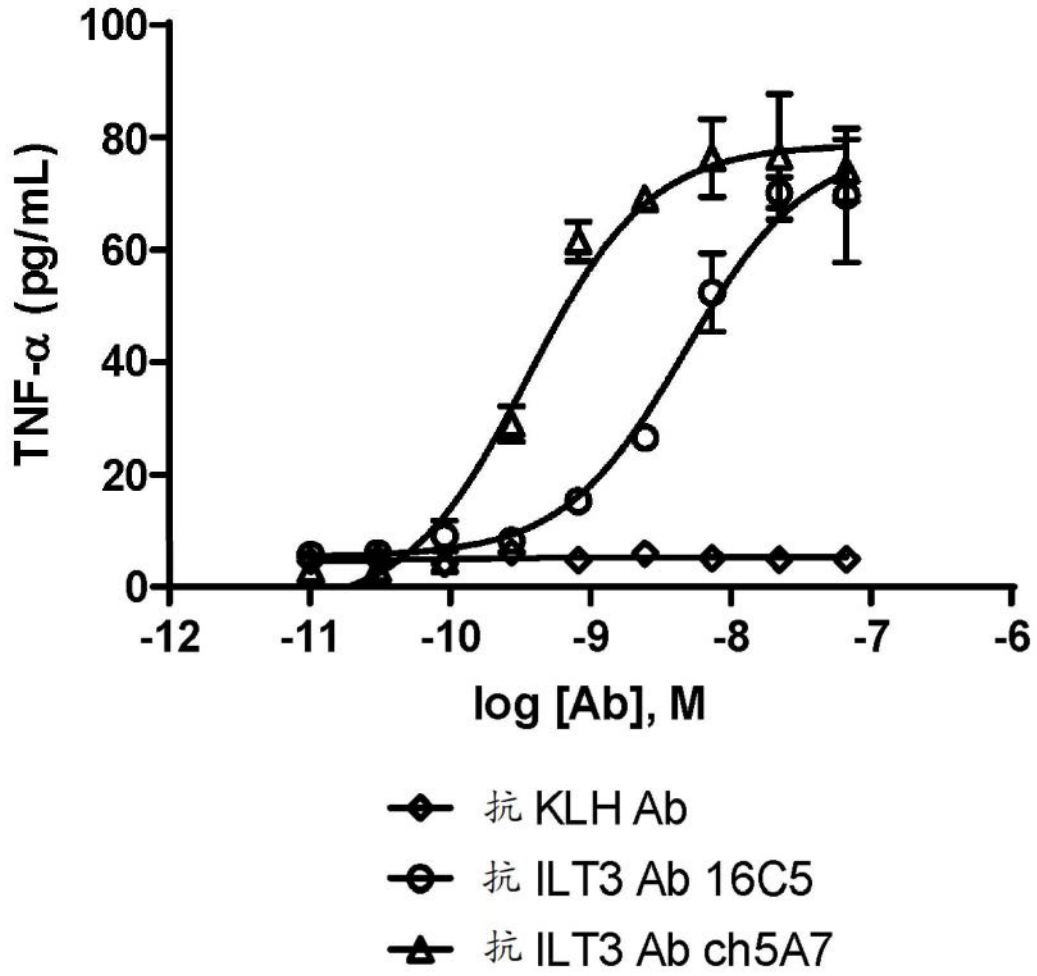


图12C

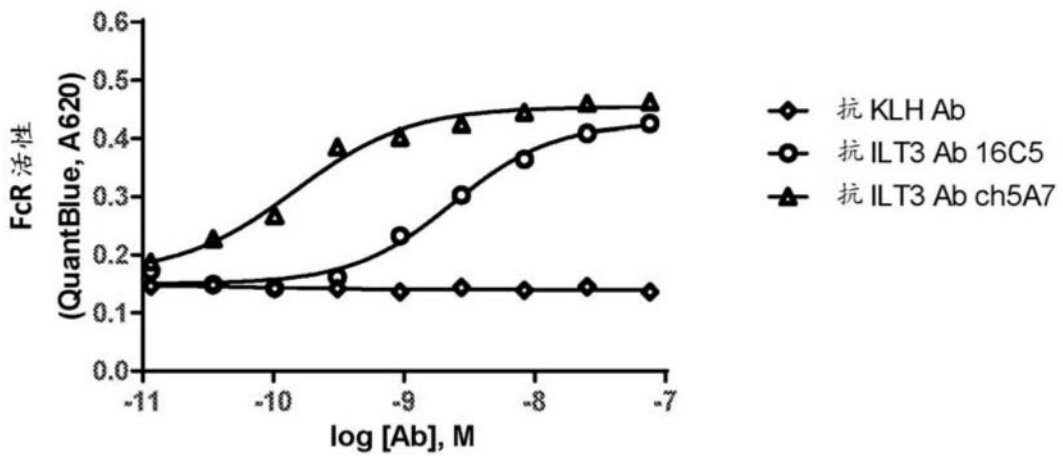


图13

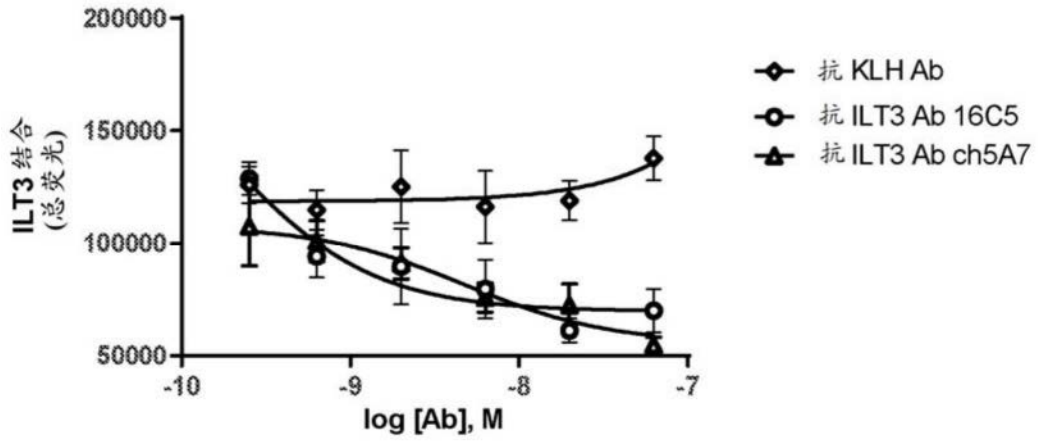


图14

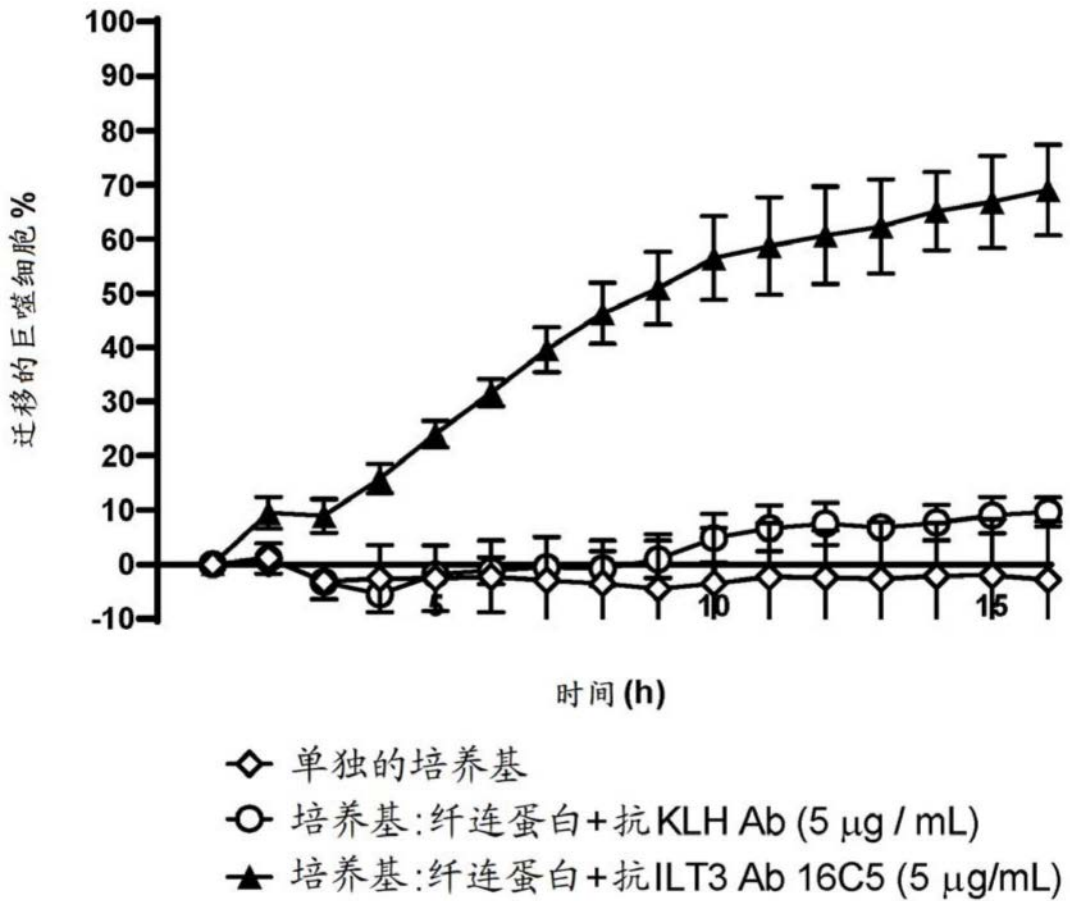


图15

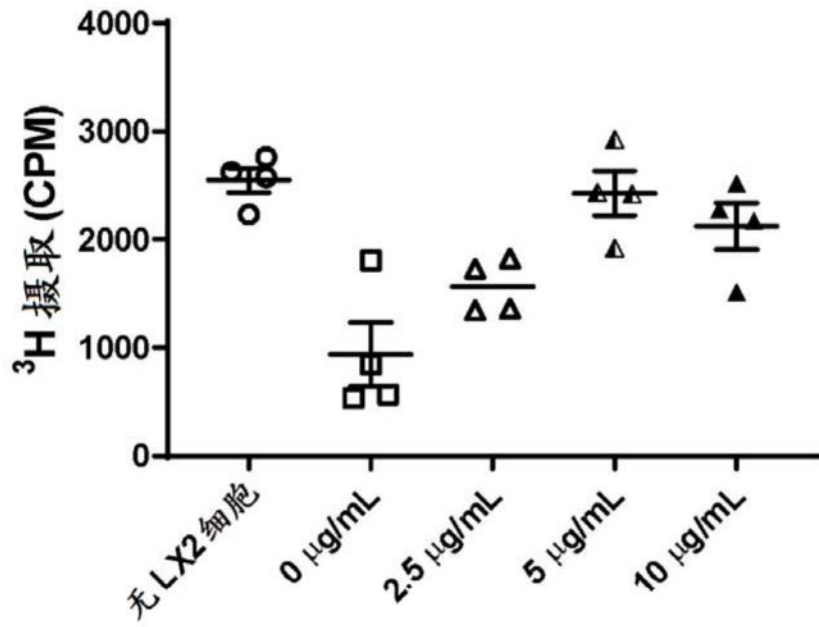


图16A

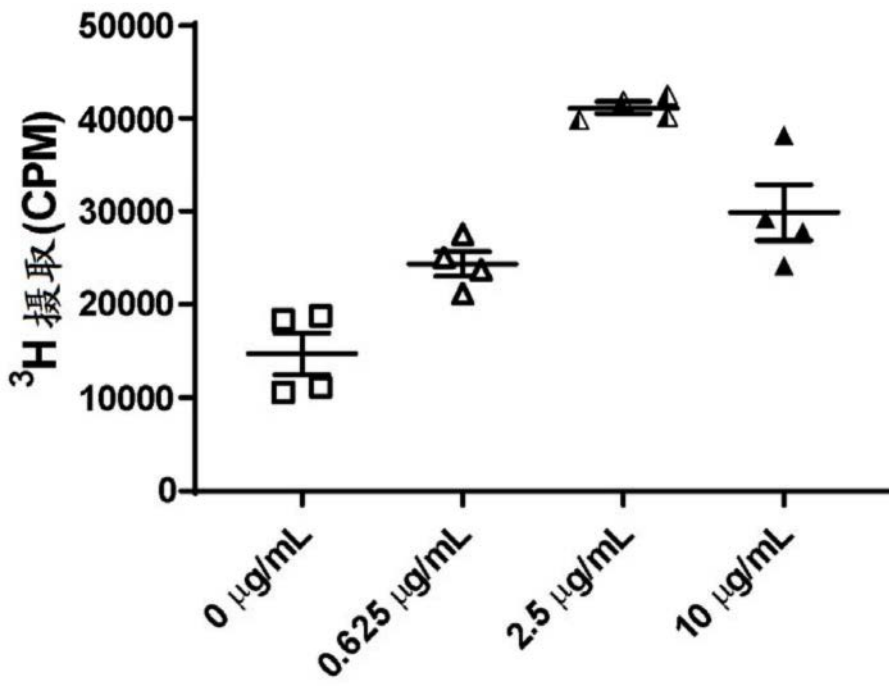


图16B

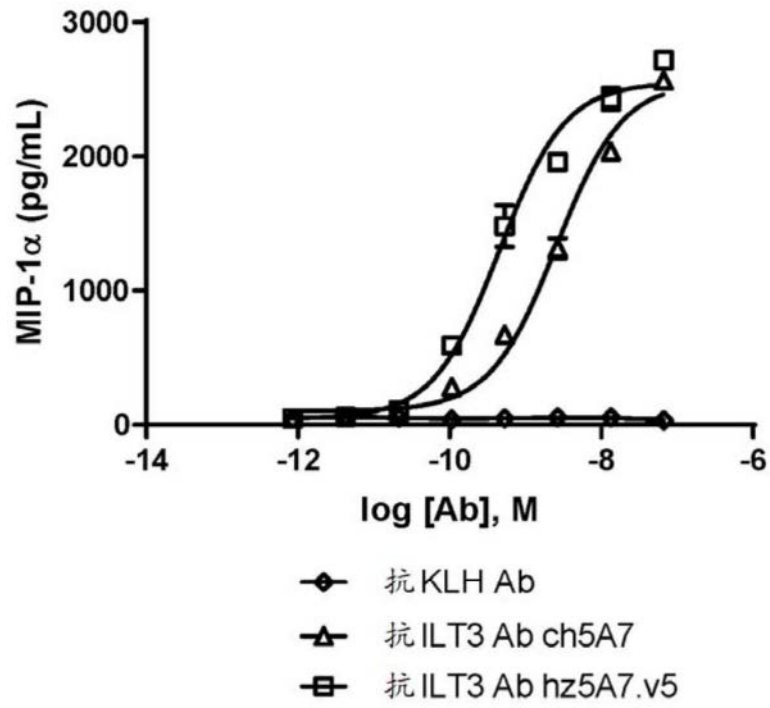


图17A

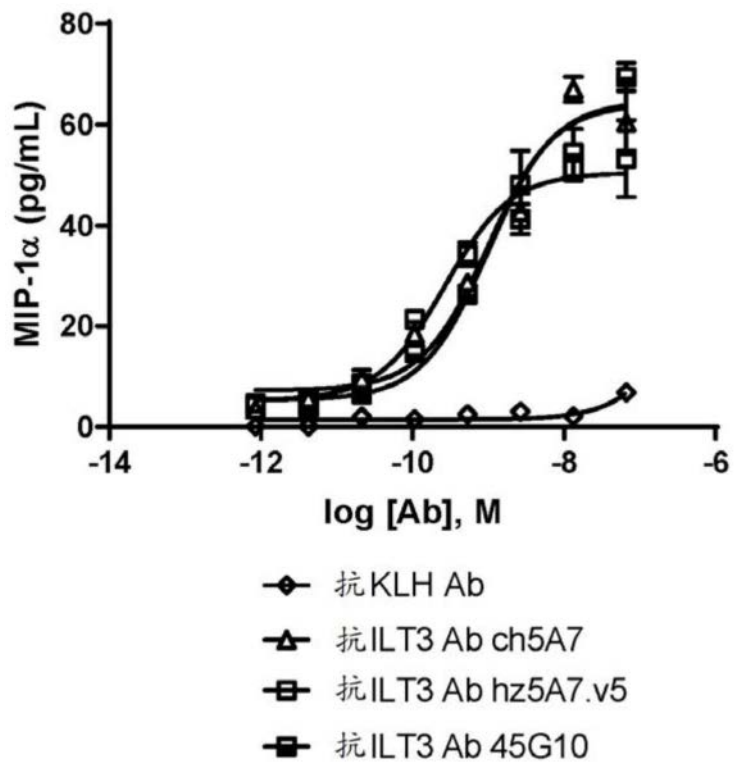


图17B

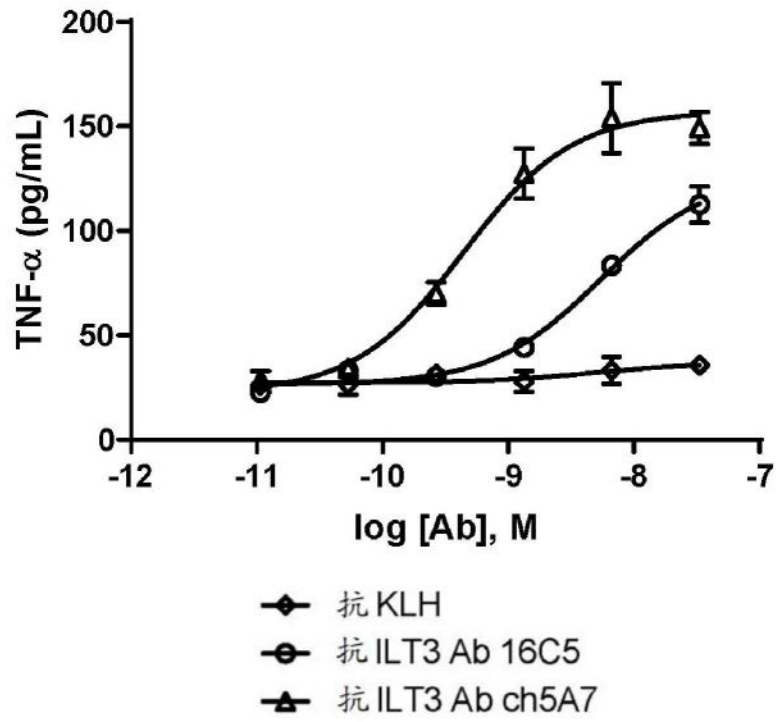


图18A

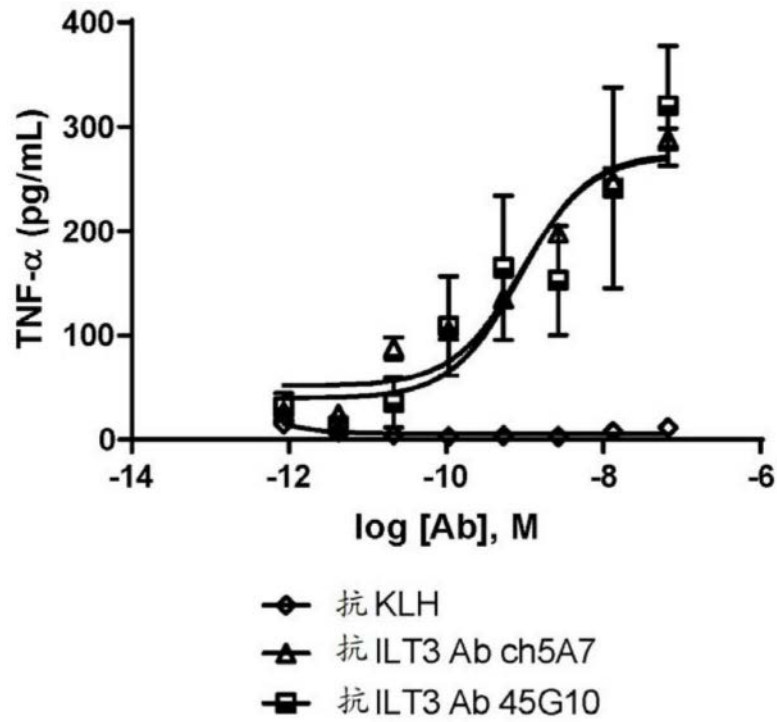
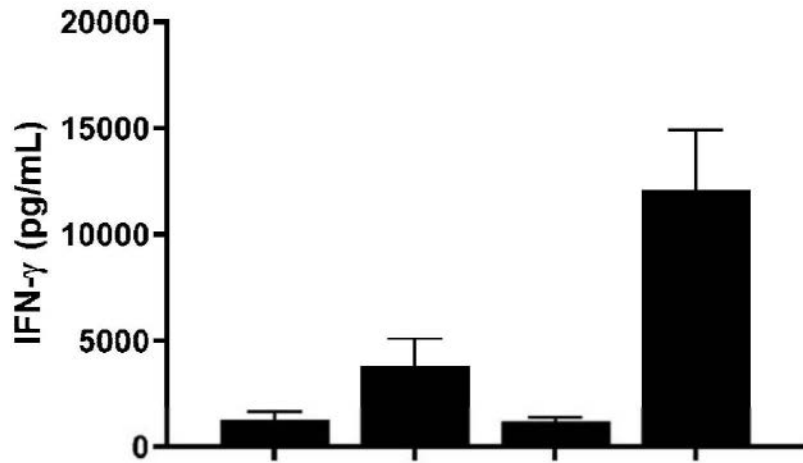


图18B



抗KLH Ab: +

抗ILT3 Ab ch5A7: +

抗PD-1 Ab: +

图19

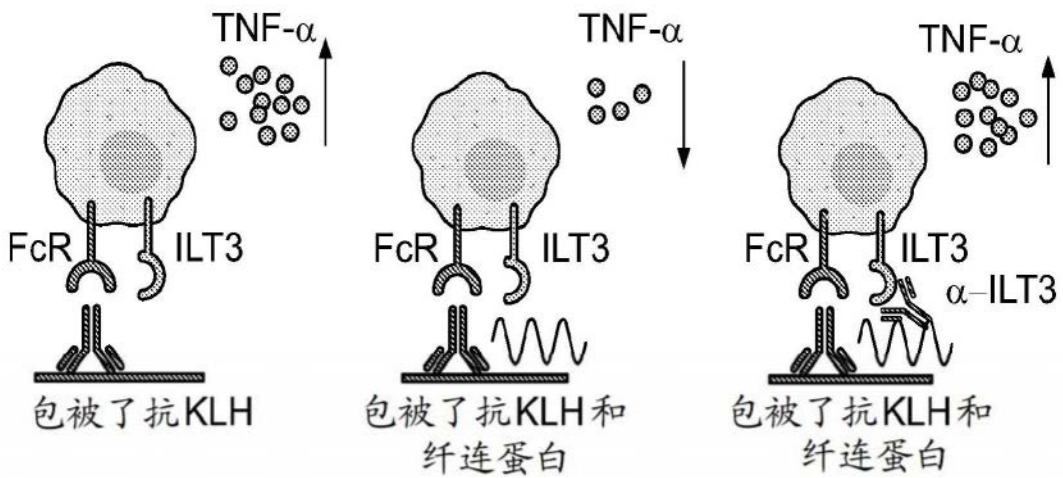


图20A

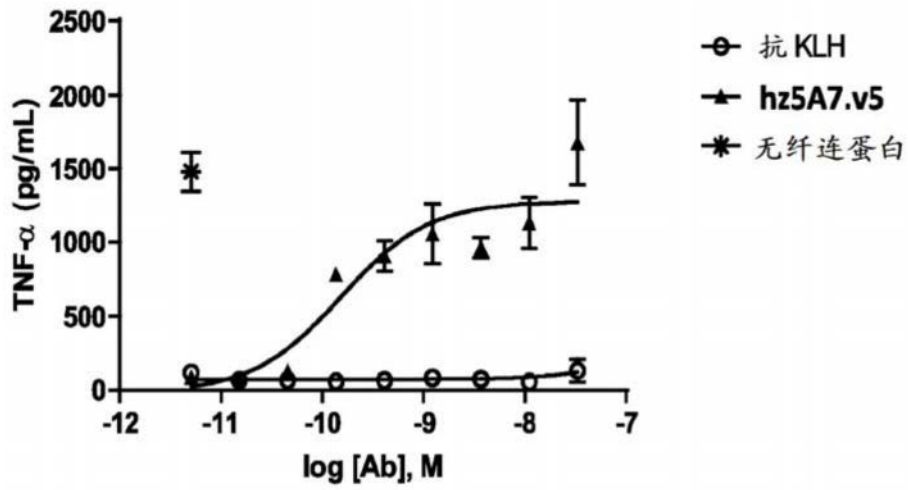


图20B

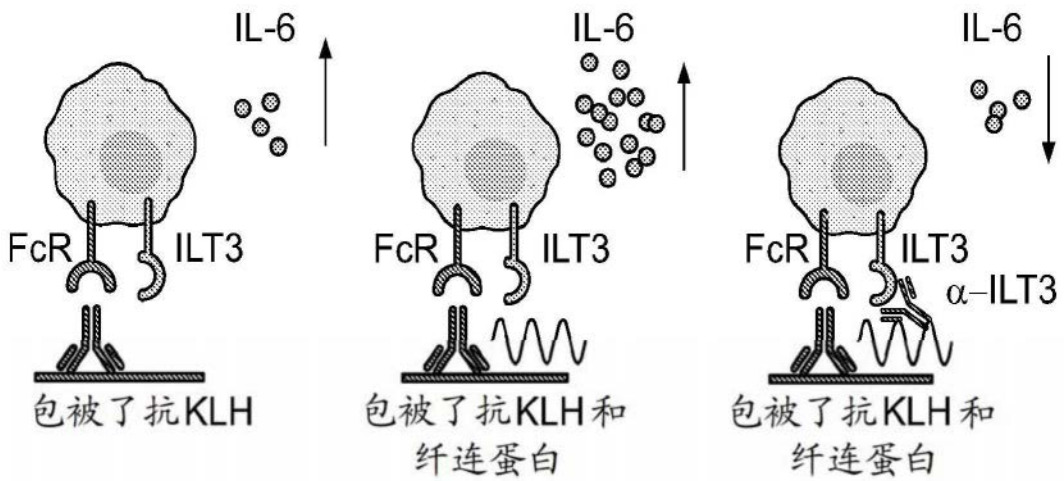


图21A

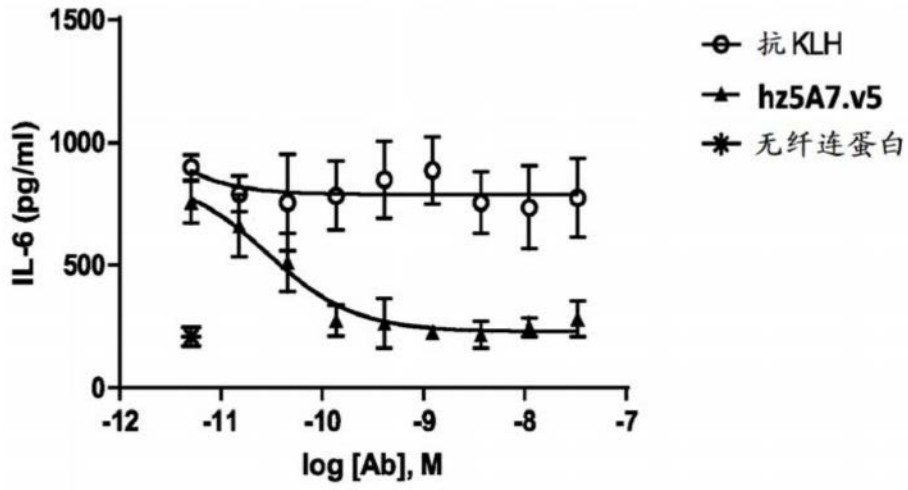


图21B

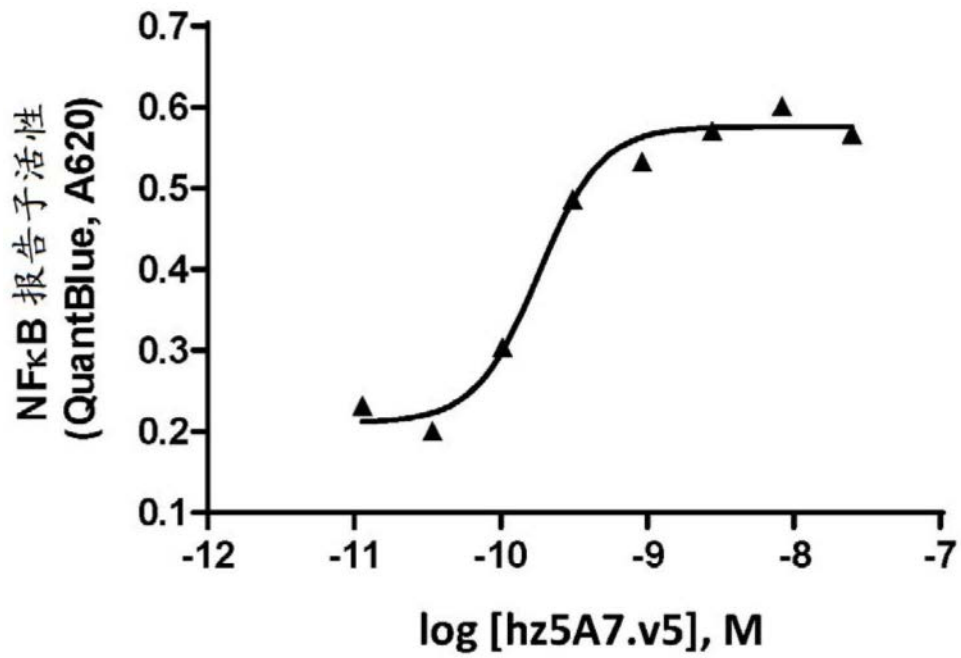


图22

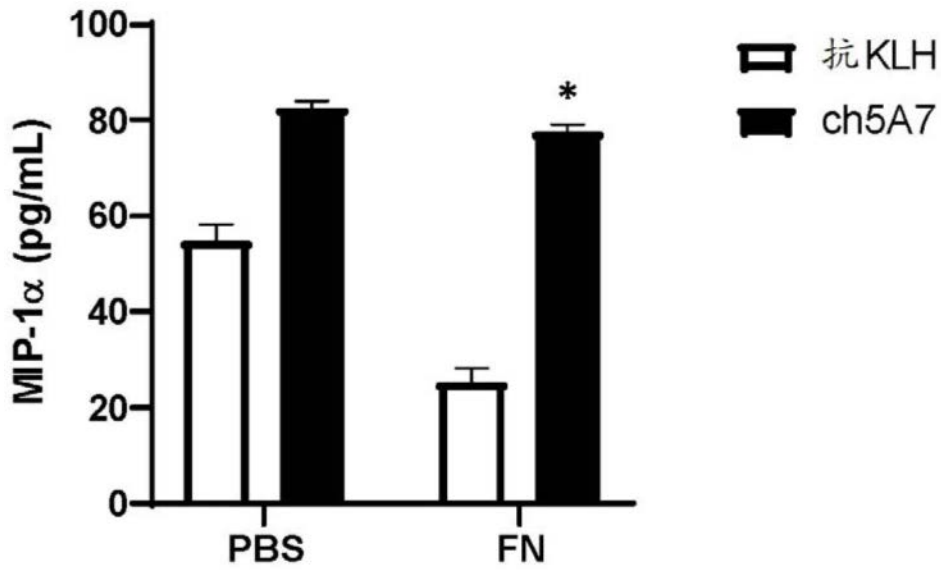
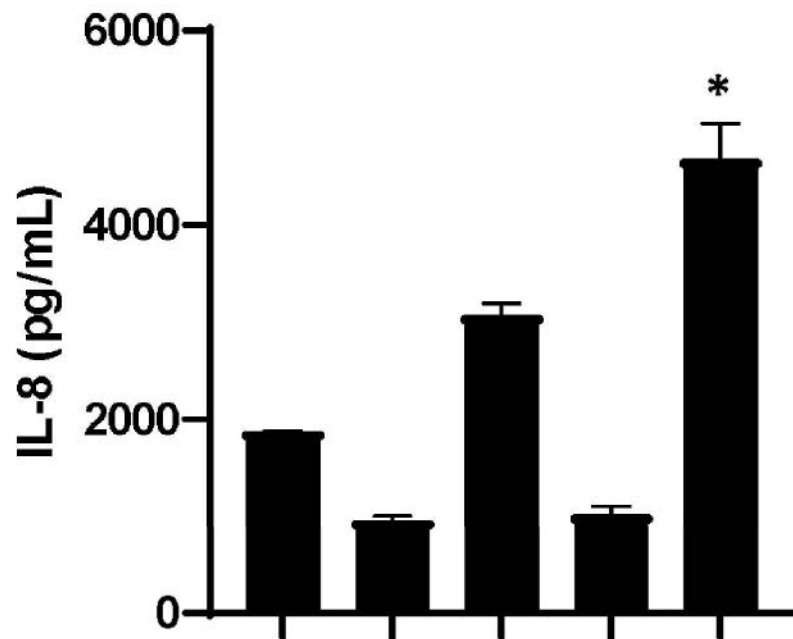


图23



包被了FN:

+

+

+

包被了α-KLH:

+

+

+

α-ILT3 (ch5A7):

+

图24

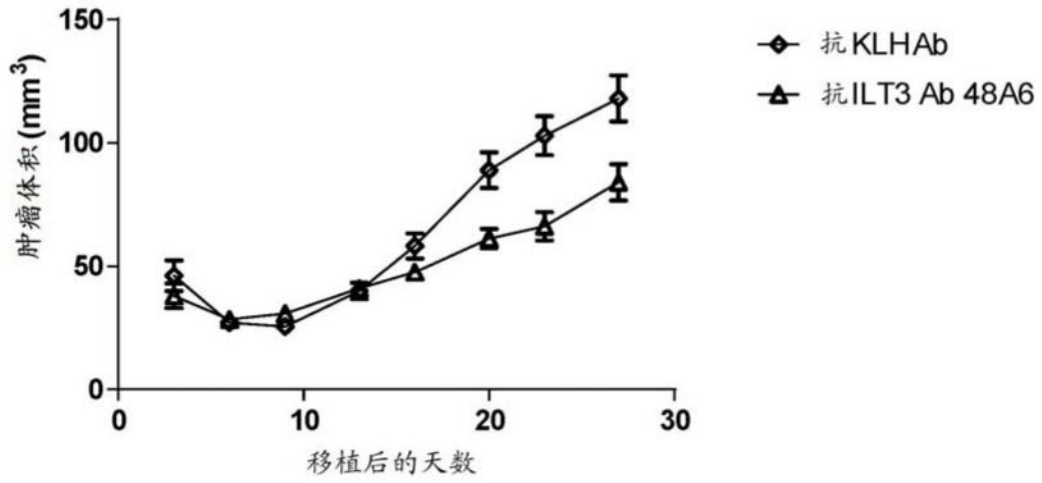


图25