



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116693685 A

(43) 申请公布日 2023. 09. 05

(21) 申请号 202310660864.5

(22) 申请日 2017.04.11

(30) 优先权数据  
62/321,476 2016.04.12 US

(62) 分案原申请数据  
201780023412.9 2017.04.11

(71) 申请人 法国施维雅药厂  
地址 法国苏雷斯内

(72) 发明人 T. 林德斯特德 T. 格杰廷格  
G.R. 加勒 M. 盖德 M.M. 格兰达尔  
K. 科佛德 M. 克拉格 I.D. 霍拉克  
T. 鲍奎恩 M.W. 佩德森

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所  
11247

专利代理师 胡志君 黄革生

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)  
C07K 16/46 (2006.01)  
C12N 15/13 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01)  
A61K 45/06 (2006.01)  
A61P 37/04 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)  
A61P 35/02 (2006.01)  
A61P 43/00 (2006.01)

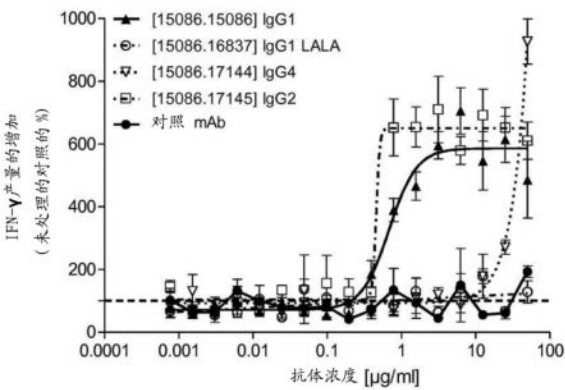
权利要求书6页 说明书88页  
序列表(电子公布) 附图12页

(54) 发明名称

抗TIM-3抗体及组合物

(57) 摘要

本发明涉及抗TIM-3抗体和抗体组合物和其在患者中增强免疫力(例如以治疗癌症)的用途。



1. 抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其中该抗体与其重链和轻链可变域分别包含以下氨基酸序列的抗体竞争对人TIM-3的结合或与其重链和轻链可变域分别包含以下氨基酸序列的抗体结合人TIM-3的相同表位:

- a) 分别为SEQ ID NO:15和4;
- b) 分别为SEQ ID NO:3和4;
- c) 分别为SEQ ID NO:28和29;
- d) 分别为SEQ ID NO:38和39;
- e) 分别为SEQ ID NO:48和49;
- f) 分别为SEQ ID NO:58和59;
- g) 分别为SEQ ID NO:68和69;
- h) 分别为SEQ ID NO:78和79;
- i) 分别为SEQ ID NO:88和89;
- j) 分别为SEQ ID NO:98和99;
- k) 分别为SEQ ID NO:108和109;
- l) 分别为SEQ ID NO:118和119;
- m) 分别为SEQ ID NO:128和129;
- n) 分别为SEQ ID NO:138和139;
- o) 分别为SEQ ID NO:148和149;
- p) 分别为SEQ ID NO:158和159;
- q) 分别为SEQ ID NO:168和169;
- r) 分别为SEQ ID NO:178和179;
- s) 分别为SEQ ID NO:188和189;
- t) 分别为SEQ ID NO:198和199;
- u) 分别为SEQ ID NO:208和209;
- v) 分别为SEQ ID NO:218和219;或
- w) 分别为SEQ ID NO:228和229。

2. 权利要求1的抗TIM-3抗体或抗原结合部分,其中该抗TIM-3抗体是:

a) 其重链互补决定区(H-CDR)1-3和轻链互补决定区(L-CDR)1-3分别包含SEQ ID NO:7-12的氨基酸序列的抗体;

b) 其重链可变域(VH)包含SEQ ID NO:15或3的氨基酸序列的抗体;

c) 其重链(HC)包含(i) SEQ ID NO:15的氨基酸序列和SEQ ID NO:25、23、或24的氨基酸序列、或(ii) SEQ ID NO:3和5的氨基酸序列的抗体;

d) 其轻链可变域(VL)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的抗体;

e) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:4和6的氨基酸序列的抗体;

f) 其VH在序列上与SEQ ID NO:15或3的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

g) 其VH包含SEQ ID NO:15或3的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的抗体;或

h) 其HC包含(i) SEQ ID NO:15的氨基酸序列和SEQ ID NO:25、23、或24的氨基酸序列、

或(ii)SEQ ID NO:3和5的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:4和6的氨基酸序列的抗体。

3.抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含以下的H-CDR1-3和L-CDR1-3氨基酸序列:

- a) 分别为SEQ ID NO:7-12;
- b) 分别为SEQ ID NO:30-35;
- c) 分别为SEQ ID NO:40-45;
- d) 分别为SEQ ID NO:50-55;
- e) 分别为SEQ ID NO:60-65;
- f) 分别为SEQ ID NO:70-75;
- g) 分别为SEQ ID NO:80-85;
- h) 分别为SEQ ID NO:90-95;
- i) 分别为SEQ ID NO:100-105;
- j) 分别为SEQ ID NO:110-115;
- k) 分别为SEQ ID NO:120-125;
- l) 分别为SEQ ID NO:130-135;
- m) 分别为SEQ ID NO:140-145;
- n) 分别为SEQ ID NO:150-155;
- o) 分别为SEQ ID NO:160-165;
- p) 分别为SEQ ID NO:170-175;
- q) 分别为SEQ ID NO:180-185;
- r) 分别为SEQ ID NO:190-195;
- s) 分别为SEQ ID NO:200-205;
- t) 分别为SEQ ID NO:210-215;
- u) 分别为SEQ ID NO:220-225;或
- v) 分别为SEQ ID NO:230-235。

4.抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含具有与以下氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的VH和VL:

- a) 分别为SEQ ID NO:15和4;
- b) 分别为SEQ ID NO:3和4;
- c) 分别为SEQ ID NO:28和29;
- d) 分别为SEQ ID NO:38和39;
- e) 分别为SEQ ID NO:48和49;
- f) 分别为SEQ ID NO:58和59;
- g) 分别为SEQ ID NO:68和69;
- h) 分别为SEQ ID NO:78和79;
- i) 分别为SEQ ID NO:88和89;
- j) 分别为SEQ ID NO:98和99;
- k) 分别为SEQ ID NO:108和109;
- l) 分别为SEQ ID NO:118和119;

- m) 分别为SEQ ID NO:128和129;
- n) 分别为SEQ ID NO:138和139;
- o) 分别为SEQ ID NO:148和149;
- p) 分别为SEQ ID NO:158和159;
- q) 分别为SEQ ID NO:168和169;
- r) 分别为SEQ ID NO:178和179;
- s) 分别为SEQ ID NO:188和189;
- t) 分别为SEQ ID NO:198和199;
- u) 分别为SEQ ID NO:208和209;
- v) 分别为SEQ ID NO:218和219;或
- w) 分别为SEQ ID NO:228和229。

5. 抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含其可变域具有以下氨基酸序列的HC和LC:

- a) 分别为SEQ ID NO:15和4;
- b) 分别为SEQ ID NO:3和4;
- c) 分别为SEQ ID NO:28和29;
- d) 分别为SEQ ID NO:38和39;
- e) 分别为SEQ ID NO:48和49;
- f) 分别为SEQ ID NO:58和59;
- g) 分别为SEQ ID NO:68和69;
- h) 分别为SEQ ID NO:78和79;
- i) 分别为SEQ ID NO:88和89;
- j) 分别为SEQ ID NO:98和99;
- k) 分别为SEQ ID NO:108和109;
- l) 分别为SEQ ID NO:118和119;
- m) 分别为SEQ ID NO:128和129;
- n) 分别为SEQ ID NO:138和139;
- o) 分别为SEQ ID NO:148和149;
- p) 分别为SEQ ID NO:158和159;
- q) 分别为SEQ ID NO:168和169;
- r) 分别为SEQ ID NO:178和179;
- s) 分别为SEQ ID NO:188和189;
- t) 分别为SEQ ID NO:198和199;
- u) 分别为SEQ ID NO:208和209;
- v) 分别为SEQ ID NO:218和219;或
- w) 分别为SEQ ID NO:228和229。

6. 权利要求5的抗TIM-3抗体,其中所述HC和所述LC进一步包含以下氨基酸序列:

- a) 分别为SEQ ID NO:5和6;
- b) 分别为SEQ ID NO:25和6;

- c) 分别为SEQ ID NO:23和6;或
- d) 分别为SEQ ID NO:24和6。
7. 抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含分别包含SEQ ID NO:7-12的氨基酸序列的H-CDR1-3和L-CDR1-3。
8. 抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含包括SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VH和包括SEQ ID NO:4的氨基酸序列的VL。
9. 抗TIM-3抗体,其包含包括SEQ ID NO:15和25的氨基酸序列的HC和包括SEQ ID NO:4和6的氨基酸序列的LC。
10. 抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其与在人TIM-3上的包含氨基酸残基F61和I117的表位结合。
11. 权利要求10的抗TIM-3抗体或抗原结合部分,其中所述表位进一步包含TIM-3氨基酸残基R69。
12. 权利要求10的抗TIM-3抗体或抗原结合部分,其中所述表位进一步包含TIM-3氨基酸残基P50、E62、M118、和D120。
13. 权利要求12的抗TIM-3抗体或抗原结合部分,其中所述表位进一步包含TIM-3氨基酸残基V60和G64。
14. 抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其与在人TIM-3上的包含氨基酸残基P50、V60、F61、E62、G64、R69、I117、M118、和D120的表位结合。
15. 抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其与在人TIM-3上的包含氨基酸残基F61、R69、和I117的表位结合。
16. 抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其与在人TIM-3上的包含氨基酸残基P50、F61、E62、I117、M118、和D120的表位结合。
17. 抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其与在人TIM-3上的包含氨基酸残基62-67的表位结合。
18. 抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其与在人TIM-3上的包含氨基酸残基114-117的表位结合。
19. 权利要求1-5、7、8、和10-18中任一项的抗TIM-3抗体,其中所述抗体是人IgG抗体。
20. 权利要求19的抗TIM-3抗体,其中所述抗体在FC区中包含至少一个突变。
21. 权利要求20的抗TIM-3抗体,其中所述抗体在根据IMGT编号方案编号的重链氨基酸位置228、233、234和235的一个或多个中包含突变。
22. 权利要求21的抗TIM-3抗体,其中位于位置234和235的氨基酸残基之一或两者突变成Ala,和/或其中位于位置228的氨基酸残基突变成Pro。
23. 权利要求1-22中任一项的抗TIM-3抗体或抗原结合部分,其中所述抗体或部分具有以下特性的至少一种:
- a) 如由表面等离子共振测量,以23nM或更低的KD与人TIM-3结合;
- b) 如由表面等离子共振测量,以22nM或更低的KD与猕猴TIM-3结合;
- c) 如由ELISA测量,以1.2nM或更低的EC50与人TIM-3结合;
- d) 如由ELISA测量,以46nM或更低的EC50与猕猴TIM-3结合;
- e) 在单向混合淋巴细胞反应测定法中增加IFN- $\gamma$ 分泌;

- f) 在双向混合淋巴细胞反应测定法中增加IFN- $\gamma$ 分泌;
- g) 在单向混合淋巴细胞反应测定法中增加TNF- $\alpha$ 分泌;
- h) 增加来自树突细胞的TNF- $\alpha$ 分泌;和
- i) 抑制TIM-3与磷脂酰丝氨酸的相互作用。

24. 药物组合物,其包含权利要求1-23中任一项的抗TIM-3抗体或抗原结合部分以及药学可接受的赋形剂。

25. 权利要求24的药物组合物,其进一步包含化学治疗剂、抗赘生物剂(anti-neoplastic agent)、抗血管生成剂、酪氨酸激酶抑制剂、或TIM-3途径抑制剂。

26. 分离的核酸分子,其包含编码权利要求1-23中任一项的抗TIM-3抗体的重链或其抗原结合部分的核苷酸序列、或编码权利要求1-23中任一项的抗TIM-3抗体的轻链或其抗原结合部分的核苷酸序列、或两者。

27. 载体,其包含权利要求26的分离的核酸分子,其中所述载体进一步包含表达控制序列。

28. 宿主细胞,其包含编码权利要求1-23中任一项的抗TIM-3抗体的重链或其抗原结合部分的核苷酸序列、以及编码根据权利要求1-23中任一项的抗TIM-3抗体的轻链或其抗原结合部分的核苷酸序列。

29. 用于生产抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的方法,其包括提供根据权利要求28的宿主细胞,在适合表达所述抗体或部分条件下培养所述宿主细胞,并且分离所得的抗体或部分。

30. 双特异性结合分子,其具有根据权利要求1-23中任一项的抗TIM-3抗体的抗原结合部分和另一个不同的抗体的抗原结合部分。

31. 用于在有此需要的患者中增强免疫力的方法,其包括对所述患者施用根据权利要求1-23中任一项的抗TIM-3抗体或抗原结合部分、根据权利要求24或25的药物组合物、或根据权利要求30的双特异性结合分子。

32. 用于在患者中治疗癌症的方法,其包括对所述患者施用根据权利要求1-23中任一项的抗TIM-3抗体或抗原结合部分、根据权利要求24或25的药物组合物、或根据权利要求30的双特异性结合分子。

33. 权利要求31或32的方法,其进一步包括对所述患者施用化学治疗剂、抗赘生物剂、抗血管生成剂、酪氨酸激酶抑制剂、或TIM-3途径抑制剂。

34. 根据权利要求1-23中任一项的抗TIM-3抗体或抗原结合部分、或根据权利要求30的双特异性结合分子用于制备药物的用途,所述药物用于在有此需要的患者中增强免疫力。

35. 根据权利要求1-23中任一项的抗TIM-3抗体或抗原结合部分、或根据权利要求30的双特异性结合分子用于制备药物的用途,所述药物用于在患者中治疗癌症。

36. 根据权利要求34或35的用途,其中所述药物进一步包含化学治疗剂、抗赘生物剂、抗血管生成剂、酪氨酸激酶抑制剂、或TIM-3途径抑制剂。

37. 根据权利要求1-23中任一项的抗TIM-3抗体或抗原结合部分、或根据权利要求30的双特异性结合分子,用于在有此需要的患者中增强免疫力。

38. 根据权利要求1-23中任一项的抗TIM-3抗体或抗原结合部分、或根据权利要求30的双特异性结合分子,用于在患者中治疗癌症。

39. 根据权利要求37或38所使用的抗体、抗原结合部分、或双特异性结合分子,其中所述抗体、抗原结合部分、或双特异性结合分子与化学治疗剂、抗赘生物剂、抗血管生成剂、酪氨酸激酶抑制剂、或TIM-3途径抑制剂一起施用。

40. 权利要求32或33的方法;权利要求35或36的用途;或权利要求38或39的抗体、部分、或双特异性结合分子,其中所述癌症发源于皮肤、肺、肠、卵巢、脑、前列腺、肾脏、软组织、造血系统、头和颈、肝脏、膀胱、乳房、胃、子宫、或胰腺中。

41. 权利要求40的方法;用途;或抗体、部分、或双特异性结合分子,其中所述患者具有白血病、何杰金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)、或非何杰金氏淋巴瘤。

42. 权利要求40的方法;用途;或抗体、部分、或双特异性结合分子,其中所述患者具有实体瘤。

43. 权利要求40的方法;用途;或抗体、部分、或双特异性结合分子,其中所述患者具有黑素瘤、非小细胞肺癌、结肠直肠癌、或肾细胞癌。

## 抗TIM-3抗体及组合物

[0001] 本申请是中国专利申请201780023412.9的分案申请,原申请的申请日是2017年4月11日,发明名称是“抗TIM-3抗体及组合物”。

[0002] 对相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求来自2016年4月12日提交的美国专利申请62/321,476的优先权,其公开内容通过引用完整并入本文。

[0004] 序列表

[0005] 本申请含有序列表,其已以ASCII格式电子呈送且特此通过引用完整并入。该ASCII副本(其于2017年3月28日创建)命名为022675W0053.txt且大小是150,698字节。

[0006] 发明背景

[0007] TIM-3(含T细胞免疫球蛋白和粘蛋白域3)(也以HAVCR2(甲型肝炎病毒细胞受体2)或CD366为人所知)是T细胞免疫球蛋白和粘蛋白域蛋白家族的成员。TIM-3在人中由Havcr2基因编码且是一个具有膜远端IgV域和膜近端粘蛋白域的33kDa I型糖蛋白。它含有在细胞内域中的五个Tyr残基的保守性区域,其在配体结合后被磷酸化。TIM-3由一批源自免疫系统的适应性和先天性分组两者的不同细胞(包括T细胞、树突细胞、巨噬细胞、和天然杀伤(NK)细胞)表达。TIM-3表达在幼稚T细胞上是低的,但在T细胞活化后被高度上调。与T细胞相反,先天细胞(诸如树突细胞、NK细胞和单核细胞)具有高基础TIM-3表达。已将TIM-3与数种(大部分为杂乱的)配体(包括半乳凝素-9(galectin-9)、磷脂酰丝氨酸、CEACAM-1和HMGB-1)联系起来,但这些配体的确切作用目前是未知的。

[0008] 虽然已提出TIM-3为检查点抑制剂,但是仅有相对稀少的证据支持以下见解:TIM-3以类似于例如PD-1的方式直接介导T细胞活化或细胞因子分泌的抑制。此外,且与PD-1相反,TIM-3似乎在先天系统的细胞且特别是树突细胞的调节中扮演某种作用。与TIM-3和其在肿瘤免疫学中的作用相关的功能性数据中的大部分来自使用各种抗体的体内研究。在这些研究的大多数中,由于差的抗体确认,不清楚TIM-3抗体的效应是否由配体结合的抑制或由对靶物的激动效应介导。

[0009] 鉴于其免疫应答调节特性,已研究TIM-3作为用于免疫疗法(包括用于治疗癌症和自体免疫疾病)的潜在靶物。单一抗TIM-3抗体目前正在临床开发中,但目前并无得到批准的抗TIM-3抗体。

[0010] 鉴于TIM-3作为免疫调节物的关键作用,存在有对于新颖且改善的靶向TIM-3以治疗癌症和某些免疫系统病症的免疫疗法的需求。

[0011] 发明概述

[0012] 本发明涉及靶向TIM-3的新颖重组抗体、以及包含这些抗体(例如经由对TIM-3的活性活化诸如专门的抗原呈递细胞(例如树突细胞和巨噬细胞)和T细胞(例如辅助性T细胞和细胞毒性T细胞)的各种免疫细胞的抗TIM-3抗体)中的一种或多种的药物组合物。本发明也涉及抗体和药物组合物用于在患者中增强免疫力的用途、和用于治疗源自诸如皮肤、肺、肠、卵巢、脑、前列腺、肾脏、软组织、造血系统、头和颈、肝脏、膀胱、乳房、胃、子宫和胰腺的组织的癌症的用途。相较于目前可用于此类癌症的治疗(包括抗体治疗),考虑本发明的抗

体无论是单独或是与另一种癌症治疗(诸如靶向另一种免疫检查点蛋白的抗体)组合可以提供优越的临床响应。

[0013] 在一些实施方案中,本发明提供抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其中抗TIM-3抗体在本文中称作抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、15086.17144、20131、20293、15105、15107、15109、15174、15175、15260、15284、15299、15353、15354、17244、17245、19324、19416、19568、20185、20300、20362、或20621的抗体或这些中任一者的变体,其中变体可以例如相对于所述抗体含有某些最小氨基酸改变(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个氨基酸改变,其可以例如位于框架区)而不丧失抗体的抗原结合特异性。

[0014] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体与以下的任一种竞争对人TIM-3的结合、或与以下的任一种结合人TIM-3的相同表位:抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、15086.17144、20131、20293、15105、15107、15109、15174、15175、15260、15284、15299、15353、15354、17244、17245、19324、19416、19568、20185、20300、20362、和20621。

[0015] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体包含包括SEQ ID NO:9、32、42、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、152、162、172、182、192、202、212、222、或232的H-CDR3氨基酸序列的H-CDR3。

[0016] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体包含分别包含SEQ ID NO:7-9、30-32、40-42、50-52、60-62、70-72、80-82、90-92、100-102、110-112、120-122、130-132、140-142、150-152、160-162、170-172、180-182、190-192、200-202、210-212、220-222、或230-232的H-CDR1-3序列的H-CDR1-3。

[0017] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有在氨基酸序列上与SEQ ID NO:3、15、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158、168、178、188、198、208、218、或228至少90%(例如至少92%、至少95%、至少98%、或至少99%)相同的重链可变域(VH)。

[0018] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有包含SEQ ID NO:3、15、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158、168、178、188、198、208、218、或228的VH。

[0019] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有包含SEQ ID NO:3、15、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158、168、178、188、198、208、218、或228的VH氨基酸序列和SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:23、24或25的重链恒定区(CH)氨基酸序列的重链(HC)。

[0020] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体包含包括SEQ ID NO:12、35、45、55、65、75、85、95、105、115、125、135、145、155、165、175、185、195、205、215、225、或235的L-CDR3氨基酸序列的L-CDR3。

[0021] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体包含分别包含SEQ ID NO:10-12、33-35、43-45、53-55、63-65、73-75、83-85、93-95、103-105、113-115、123-125、133-135、143-145、153-155、163-165、173-175、183-185、193-195、203-205、213-215、223-225、或233-235的L-CDR1-3序列的L-CDR1-3。

[0022] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有在序列上与SEQ ID NO:4、29、39、49、59、69、79、89、99、109、119、129、139、149、159、169、179、189、199、209、219、或229的VL氨基酸序列至少90%(例如至少92%、至少95%、至少98%、或至少99%)相同的轻链可变域(VL)。

[0023] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有包含SEQ ID NO:4、29、39、49、59、69、79、89、99、109、119、129、139、149、159、169、179、189、199、209、219、或229的VL氨基酸序列的VL。

[0024] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有包含SEQ ID NO:4、29、39、49、59、69、79、89、99、109、119、129、139、149、159、169、179、189、199、209、219、或229的VL氨基酸序列和SEQ ID NO:6的轻链恒定区氨基酸序列的轻链(LC)。

[0025] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体包含以上重链序列的任一种和以上轻链序列的任一种。

[0026] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体包含分别包含SEQ ID NO:9和12、32和35、42和45、52和55、62和65、72和75、82和85、92和95、102和105、112和115、122和125、132和135、142和145、152和155、162和165、172和175、182和185、192和195、202和205、212和215、222和225、及232和235的H-CDR3和L-CDR3氨基酸序列的H-CDR3和L-CDR3。

[0027] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体包含分别包含SEQ ID NO:7-12、30-35、40-45、50-55、60-65、70-75、80-85、90-95、100-105、110-115、120-125、130-135、140-145、150-155、160-165、170-175、180-185、190-195、200-205、210-215、220-225、或230-235的H-CDR1-3和L-CDR1-3序列的H-CDR1-3和L-CDR1-3。

[0028] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有在序列上与SEQ ID NO:3、15、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158、168、178、188、198、208、218、或228的氨基酸序列至少90% (例如至少92%、至少95%、至少98%、或至少99%) 相同的VH和在序列上与SEQ ID NO:4、29、39、49、59、69、79、89、99、109、119、129、139、149、159、169、179、189、199、209、219、或229的氨基酸序列至少90% (例如至少92%、至少95%、至少98%、或至少99%) 相同的VL。

[0029] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有包含SEQ ID NO:3、15、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158、168、178、188、198、208、218、或228的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:4、29、39、49、59、69、79、89、99、109、119、129、139、149、159、169、179、189、199、209、219、或229的氨基酸序列的VL。

[0030] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有包含SEQ ID NO:4、29、39、49、59、69、79、89、99、109、119、129、139、149、159、169、179、189、199、209、219、或229的氨基酸序列和SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LC;和包含(i) SEQ ID NO:3、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158、168、178、188、198、208、218、或228的氨基酸序列和SEQ ID NO:5的氨基酸序列、或(ii) SEQ ID NO:15、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158、168、178、188、198、208、218、或228的氨基酸序列和SEQ ID NO:23、24或25的氨基酸序列的HC。

[0031] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或抗原结合部分包含以下各项的H-CDR1-3和L-CDR1-3氨基酸序列:

[0032] a) 分别为SEQ ID NO:7-12;

[0033] b) 分别为SEQ ID NO:30-35;

[0034] c) 分别为SEQ ID NO:40-45;

[0035] d) 分别为SEQ ID NO:50-55;

[0036] e) 分别为SEQ ID NO:60-65;

[0037] f) 分别为SEQ ID NO:70-75;

[0038] g) 分别为SEQ ID NO:80-85;

[0039] h) 分别为SEQ ID NO:90-95;

- [0040] i) 分别为SEQ ID NO:100-105;
- [0041] j) 分别为SEQ ID NO:110-115;
- [0042] k) 分别为SEQ ID NO:120-125;
- [0043] l) 分别为SEQ ID NO:130-135;
- [0044] m) 分别为SEQ ID NO:140-145;
- [0045] n) 分别为SEQ ID NO:150-155;
- [0046] o) 分别为SEQ ID NO:160-165;
- [0047] p) 分别为SEQ ID NO:170-175;
- [0048] q) 分别为SEQ ID NO:180-185;
- [0049] r) 分别为SEQ ID NO:190-195;
- [0050] s) 分别为SEQ ID NO:200-205;
- [0051] t) 分别为SEQ ID NO:210-215;
- [0052] u) 分别为SEQ ID NO:220-225;或
- [0053] v) 分别为SEQ ID NO:230-235。

[0054] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或抗原结合部分与其重链和轻链可变域包含以下氨基酸序列的抗体竞争对人TIM-3的结合或与其重链和轻链可变域包含以下氨基酸序列的抗体结合人TIM-3的相同表位:

- [0055] a) 分别为SEQ ID NO:3和4;
- [0056] b) 分别为SEQ ID NO:15和4;
- [0057] c) 分别为SEQ ID NO:28和29;
- [0058] d) 分别为SEQ ID NO:38和39;
- [0059] e) 分别为SEQ ID NO:48和49;
- [0060] f) 分别为SEQ ID NO:58和59;
- [0061] g) 分别为SEQ ID NO:68和69;
- [0062] h) 分别为SEQ ID NO:78和79;
- [0063] i) 分别为SEQ ID NO:88和89;
- [0064] j) 分别为SEQ ID NO:98和99;
- [0065] k) 分别为SEQ ID NO:108和109;
- [0066] l) 分别为SEQ ID NO:118和119;
- [0067] m) 分别为SEQ ID NO:128和129;
- [0068] n) 分别为SEQ ID NO:138和139;
- [0069] o) 分别为SEQ ID NO:148和149;
- [0070] p) 分别为SEQ ID NO:158和159;
- [0071] q) 分别为SEQ ID NO:168和169;
- [0072] r) 分别为SEQ ID NO:178和179;
- [0073] s) 分别为SEQ ID NO:188和189;
- [0074] t) 分别为SEQ ID NO:198和199;
- [0075] u) 分别为SEQ ID NO:208和209;
- [0076] v) 分别为SEQ ID NO:218和219;或

[0077] w) 分别为SEQ ID NO:228和229。

[0078] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或抗原结合部分包含具有与以下氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的重链可变域和轻链可变域:

[0079] a) 分别为SEQ ID NO:3和4;

[0080] b) 分别为SEQ ID NO:15和4;

[0081] c) 分别为SEQ ID NO:28和29;

[0082] d) 分别为SEQ ID NO:38和39;

[0083] e) 分别为SEQ ID NO:48和49;

[0084] f) 分别为SEQ ID NO:58和59;

[0085] g) 分别为SEQ ID NO:68和69;

[0086] h) 分别为SEQ ID NO:78和79;

[0087] i) 分别为SEQ ID NO:88和89;

[0088] j) 分别为SEQ ID NO:98和99;

[0089] k) 分别为SEQ ID NO:108和109;

[0090] l) 分别为SEQ ID NO:118和119;

[0091] m) 分别为SEQ ID NO:128和129;

[0092] n) 分别为SEQ ID NO:138和139;

[0093] o) 分别为SEQ ID NO:148和149;

[0094] p) 分别为SEQ ID NO:158和159;

[0095] q) 分别为SEQ ID NO:168和169;

[0096] r) 分别为SEQ ID NO:178和179;

[0097] s) 分别为SEQ ID NO:188和189;

[0098] t) 分别为SEQ ID NO:198和199;

[0099] u) 分别为SEQ ID NO:208和209;

[0100] v) 分别为SEQ ID NO:218和219;或

[0101] w) 分别为SEQ ID NO:228和229。

[0102] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或抗原结合部分包含其可变域具有以下氨基酸序列的重链和轻链:

[0103] a) 分别为SEQ ID NO:3和4;

[0104] b) 分别为SEQ ID NO:15和4;

[0105] c) 分别为SEQ ID NO:28和29;

[0106] d) 分别为SEQ ID NO:38和39;

[0107] e) 分别为SEQ ID NO:48和49;

[0108] f) 分别为SEQ ID NO:58和59;

[0109] g) 分别为SEQ ID NO:68和69;

[0110] h) 分别为SEQ ID NO:78和79;

[0111] i) 分别为SEQ ID NO:88和89;

[0112] j) 分别为SEQ ID NO:98和99;

[0113] k) 分别为SEQ ID NO:108和109;

- [0114] 1) 分别为SEQ ID NO:118和119;
- [0115] m) 分别为SEQ ID NO:128和129;
- [0116] n) 分别为SEQ ID NO:138和139;
- [0117] o) 分别为SEQ ID NO:148和149;
- [0118] p) 分别为SEQ ID NO:158和159;
- [0119] q) 分别为SEQ ID NO:168和169;
- [0120] r) 分别为SEQ ID NO:178和179;
- [0121] s) 分别为SEQ ID NO:188和189;
- [0122] t) 分别为SEQ ID NO:198和199;
- [0123] u) 分别为SEQ ID NO:208和209;
- [0124] v) 分别为SEQ ID NO:218和219;或
- [0125] w) 分别为SEQ ID NO:228和229。
- [0126] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体包含:
- [0127] a) 包含SEQ ID NO:3和5的氨基酸序列的重链(HC)和包含SEQ ID NO:4和6的氨基酸序列的轻链(LC);
- [0128] b) 包含SEQ ID NO:28和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:29和6的氨基酸序列的LC;
- [0129] c) 包含SEQ ID NO:38和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:39和6的氨基酸序列的LC;
- [0130] d) 包含SEQ ID NO:48和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:49和6的氨基酸序列的LC;
- [0131] e) 包含SEQ ID NO:58和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:59和6的氨基酸序列的LC;
- [0132] f) 包含SEQ ID NO:68和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:69和6的氨基酸序列的LC;
- [0133] g) 包含SEQ ID NO:78和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:79和6的氨基酸序列的LC;
- [0134] h) 包含SEQ ID NO:88和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:89和6的氨基酸序列的LC;
- [0135] i) 包含SEQ ID NO:98和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:99和6的氨基酸序列的LC;
- [0136] j) 包含SEQ ID NO:108和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:109和6的氨基酸序列的LC;
- [0137] k) 包含SEQ ID NO:118和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:119和6的氨基酸序列的LC;
- [0138] l) 包含SEQ ID NO:128和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:129和6的氨基酸序列的LC;
- [0139] m) 包含SEQ ID NO:138和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:139和6的氨基酸序列的LC;

[0140] n) 包含SEQ ID NO:148和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:149和6的氨基酸序列的LC;

[0141] o) 包含SEQ ID NO:158和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:159和6的氨基酸序列的LC;

[0142] p) 包含SEQ ID NO:168和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:169和6的氨基酸序列的LC;

[0143] q) 包含SEQ ID NO:178和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:179和6的氨基酸序列的LC;

[0144] r) 包含SEQ ID NO:188和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:189和6的氨基酸序列的LC;

[0145] s) 包含SEQ ID NO:198和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:199和6的氨基酸序列的LC;

[0146] t) 包含SEQ ID NO:208和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:209和6的氨基酸序列的LC;

[0147] u) 包含SEQ ID NO:218和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:219和6的氨基酸序列的LC;或

[0148] v) 包含SEQ ID NO:228和5的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:229和6的氨基酸序列的LC。

[0149] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体包含:

[0150] a) 包含SEQ ID NO:15和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:4和6的氨基酸序列的LC;

[0151] b) 包含SEQ ID NO:28和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:29和6的氨基酸序列的LC;

[0152] c) 包含SEQ ID NO:38和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:39和6的氨基酸序列的LC;

[0153] d) 包含SEQ ID NO:48和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:49和6的氨基酸序列的LC;

[0154] e) 包含SEQ ID NO:58和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:59和6的氨基酸序列的LC;

[0155] f) 包含SEQ ID NO:68和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:69和6的氨基酸序列的LC;

[0156] g) 包含SEQ ID NO:78和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:79和6的氨基酸序列的LC;

[0157] h) 包含SEQ ID NO:88和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:89和6的氨基酸序列的LC;

[0158] i) 包含SEQ ID NO:98和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:99和6的氨基酸序列的LC;

[0159] j) 包含SEQ ID NO:108和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:109和6的氨基酸序列的LC;

[0160] k) 包含SEQ ID NO:118和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:119和6的氨基酸序列的LC;

[0161] l) 包含SEQ ID NO:128和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:129和6的氨基酸序列的LC;

[0162] m) 包含SEQ ID NO:138和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:139和6的氨基酸序列的LC;

[0163] n) 包含SEQ ID NO:148和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:149和6的氨基酸序列的LC;

[0164] o) 包含SEQ ID NO:158和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:159和6的氨基酸序列的LC;

[0165] p) 包含SEQ ID NO:168和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:169和6的氨基酸序列的LC;

[0166] q) 包含SEQ ID NO:178和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:179和6的氨基酸序列的LC;

[0167] r) 包含SEQ ID NO:188和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:189和6的氨基酸序列的LC;

[0168] s) 包含SEQ ID NO:198和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:199和6的氨基酸序列的LC;

[0169] t) 包含SEQ ID NO:208和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:209和6的氨基酸序列的LC;

[0170] u) 包含SEQ ID NO:218和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:219和6的氨基酸序列的LC;或

[0171] v) 包含SEQ ID NO:228和23的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:229和6的氨基酸序列的LC。

[0172] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体包含:

[0173] a) 包含SEQ ID NO:15和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:4和6的氨基酸序列的LC;

[0174] b) 包含SEQ ID NO:28和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:29和6的氨基酸序列的LC;

[0175] c) 包含SEQ ID NO:38和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:39和6的氨基酸序列的LC;

[0176] d) 包含SEQ ID NO:48和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:49和6的氨基酸序列的LC;

[0177] e) 包含SEQ ID NO:58和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:59和6的氨基酸序列的LC;

[0178] f) 包含SEQ ID NO:68和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:69和6的氨基酸序列的LC;

[0179] g) 包含SEQ ID NO:78和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:79和6的氨基酸序列的LC;

[0180] h) 包含SEQ ID NO:88和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:89和6的氨基酸序列的LC;

[0181] i) 包含SEQ ID NO:98和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:99和6的氨基酸序列的LC;

[0182] j) 包含SEQ ID NO:108和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:109和6的氨基酸序列的LC;

[0183] k) 包含SEQ ID NO:118和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:119和6的氨基酸序列的LC;

[0184] l) 包含SEQ ID NO:128和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:129和6的氨基酸序列的LC;

[0185] m) 包含SEQ ID NO:138和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:139和6的氨基酸序列的LC;

[0186] n) 包含SEQ ID NO:148和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:149和6的氨基酸序列的LC;

[0187] o) 包含SEQ ID NO:158和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:159和6的氨基酸序列的LC;

[0188] p) 包含SEQ ID NO:168和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:169和6的氨基酸序列的LC;

[0189] q) 包含SEQ ID NO:178和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:179和6的氨基酸序列的LC;

[0190] r) 包含SEQ ID NO:188和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:189和6的氨基酸序列的LC;

[0191] s) 包含SEQ ID NO:198和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:199和6的氨基酸序列的LC;

[0192] t) 包含SEQ ID NO:208和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:209和6的氨基酸序列的LC;

[0193] u) 包含SEQ ID NO:218和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:219和6的氨基酸序列的LC;或

[0194] v) 包含SEQ ID NO:228和24的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:229和6的氨基酸序列的LC。

[0195] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体包含:

[0196] a) 包含SEQ ID NO:15和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:4和6的氨基酸序列的LC;

[0197] b) 包含SEQ ID NO:28和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:29和6的氨基酸序列的LC;

[0198] c) 包含SEQ ID NO:38和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:39和6的氨基酸序列的LC;

[0199] d) 包含SEQ ID NO:48和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:49和6的氨基酸序列的LC;

[0200] e) 包含SEQ ID NO:58和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:59和6的氨基酸序列的LC;

[0201] f) 包含SEQ ID NO:68和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:69和6的氨基酸序列的LC;

[0202] g) 包含SEQ ID NO:78和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:79和6的氨基酸序列的LC;

[0203] h) 包含SEQ ID NO:88和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:89和6的氨基酸序列的LC;

[0204] i) 包含SEQ ID NO:98和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:99和6的氨基酸序列的LC;

[0205] j) 包含SEQ ID NO:108和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:109和6的氨基酸序列的LC;

[0206] k) 包含SEQ ID NO:118和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:119和6的氨基酸序列的LC;

[0207] l) 包含SEQ ID NO:128和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:129和6的氨基酸序列的LC;

[0208] m) 包含SEQ ID NO:138和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:139和6的氨基酸序列的LC;

[0209] n) 包含SEQ ID NO:148和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:149和6的氨基酸序列的LC;

[0210] o) 包含SEQ ID NO:158和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:159和6的氨基酸序列的LC;

[0211] p) 包含SEQ ID NO:168和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:169和6的氨基酸序列的LC;

[0212] q) 包含SEQ ID NO:178和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:179和6的氨基酸序列的LC;

[0213] r) 包含SEQ ID NO:188和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:189和6的氨基酸序列的LC;

[0214] s) 包含SEQ ID NO:198和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:199和6的氨基酸序列的LC;

[0215] t) 包含SEQ ID NO:208和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:209和6的氨基酸序列的LC;

[0216] u) 包含SEQ ID NO:218和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:219和6的氨基酸序列的LC;或

[0217] v) 包含SEQ ID NO:228和25的氨基酸序列的HC和包含SEQ ID NO:229和6的氨基酸序列的LC。

[0218] 在某些实施方案中,本发明提供抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含分别包含SEQ ID NO:7-12的氨基酸序列的H-CDR1-3和L-CDR1-3。

[0219] 在某些实施方案中,本发明提供抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其中该抗体包含

包括SEQ ID NO:15的氨基酸序列的VH和包括SEQ ID NO:4的氨基酸序列的VL。

[0220] 在具体的实施方案中,本发明提供抗TIM-3抗体,其包含包括SEQ ID NO:15和25的氨基酸序列的重链和包括SEQ ID NO:4和6的氨基酸序列的轻链。

[0221] 本发明也提供抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,其与包含SEQ ID NO:236的氨基酸残基F61和I117的TIM-3的表位结合(例如抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、15086.17144、20293、或20131)。在一些实施方案中,表位进一步包含氨基酸残基R69(例如抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、15086.17144、或20293)。在其他实施方案中,表位进一步包含P50、E62、M118、和D120(例如抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、15086.17144、或20131)且可以另外包含氨基酸残基R69、V60、和G64(例如抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、或15086.17144)。

[0222] 在具体的实施方案中,抗体或部分与包含SEQ ID NO:236的氨基酸残基P50、V60、F61、E62、G64、R69、I117、M118、和D120的TIM-3的表位结合(例如抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、或15086.17144)、与包含SEQ ID NO:236的氨基酸残基F61、R69、和I117的TIM-3的表位结合(例如抗体20293)、或与包含SEQ ID NO:236的氨基酸残基P50、F61、E62、I117、M118、和D120的TIM-3的表位结合(例如抗体20131)。

[0223] 本发明也提供单克隆抗体或其抗原结合部分,其与包含SEQ ID NO:236的氨基酸残基62-67的TIM-3的表位结合(例如抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、15086.17144、或20293)。此外,本发明提供单克隆抗体或其抗原结合部分,其与包含SEQ ID NO:236的氨基酸残基114-117的TIM-3的表位结合(例如抗体20131)。

[0224] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体是IgG抗体,例如人IgG抗体。在某些实施方案中,抗体在F<sub>c</sub>区域中包含至少一个突变。在具体的实施方案中,抗体包含在重链氨基酸位置228、233、234和235(根据IMGT编号方案编号)的一个或多个中的突变。例如,位于位置234和235的氨基酸残基之一或两者可以突变成Ala,和/或位于位置228的氨基酸残基可以突变成Pro。

[0225] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或抗原结合部分具有以下特性的至少一种:

[0226] a) 以23nM或更低的K<sub>D</sub>与人TIM-3结合,如由表面等离子共振测量的;

[0227] b) 以22nM或更低的K<sub>D</sub>与猕猴TIM-3结合,如由表面等离子共振测量的;

[0228] c) 以1.2nM或更低的EC<sub>50</sub>与人TIM-3结合,如由ELISA测量的;

[0229] d) 以46nM或更低的EC<sub>50</sub>与猕猴TIM-3结合,如由ELISA测量的;

[0230] e) 在单向混合淋巴细胞反应测定法中增加IFN-γ分泌;

[0231] f) 在双向混合淋巴细胞反应测定法中增加IFN-γ分泌;

[0232] g) 在单向混合淋巴细胞反应测定法中增加TNF-α分泌;

[0233] h) 增加来自树突细胞的TNF-α分泌;和

[0234] i) 抑制TIM-3与磷脂酰丝氨酸的相互作用。

[0235] 此类抗体的实例包括但不限于抗体15086.15086(具有至少特性a、c、d、e、g、和h);抗体15086.17145(具有至少特性a、c、d、e、g、h、和i)、抗体15086.16837或15086.17144(具有至少特性a、c、和d)、抗体20293或20131(具有至少特性a、b、c、d、e、f、和h)、抗体20362(具有至少特性c、e、f、和h)、和抗体19324、19416、19568、20185、20300、或20621(具有至少特性

c、d、e、f、和h)。在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或抗原结合部分具有所有所述特性。在一些实施方案中,抗TIM-3抗体或抗原结合部分具有至少特性a、c、d、e、g、和h。在一些实施方案中,抗TIM-3抗体或抗原结合部分具有至少特性a、c、d、e、g、h、和i。在一些实施方案中,抗TIM-3抗体或抗原结合部分具有至少特性a、c、和d。在一些实施方案中,抗TIM-3抗体或抗原结合部分具有至少特性a、b、c、d、e、f、和h。在一些实施方案中,抗TIM-3抗体或抗原结合部分具有至少特性c、e、f、和h。在一些实施方案中,抗TIM-3抗体或抗原结合部分具有至少特性c、d、e、f、和h。

[0236] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或抗原结合部分增加NK细胞的活性。在一些实施方案中,此活性可以介导ADCC。

[0237] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或抗原结合部分不与ABTIM3(来自PCT公开文本W0 2015/117002)和/或mAb15(来自PCT公开文本W0 2016/111947)竞争对TIM-3的结合。在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或抗原结合部分不与ABTIM3和/或mAb15结合相同表位;例如,本发明的抗体或部分结合一或多个在TIM-3上不被ABTIM3和/或mAb15结合的残基。

[0238] 在其他方面,本发明提供药物组合物,其包含至少一种如本文中描述的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分以及药学可接受的赋形剂,任选地具有另外的治疗剂,诸如化学治疗剂、抗赘生物剂、抗血管生成剂、酪氨酸激酶抑制剂、或TIM-3途径抑制剂。

[0239] 本发明进一步提供分离的核酸分子,其包含编码如本文中描述的抗TIM-3抗体或抗原结合部分的重链或其抗原结合部分的核苷酸序列、编码如本文中描述的抗TIM-3抗体或抗原结合部分的轻链或其抗原结合部分的核苷酸序列、或两者。

[0240] 本发明也提供载体,其包含此类分离的核酸分子,其中所述载体任选进一步包含表达控制序列。

[0241] 本发明也提供宿主细胞,其包含编码如本文中描述的抗TIM-3抗体的重链或其抗原结合部分的核苷酸序列、编码如本文中描述的抗TIM-3抗体的轻链或其抗原结合部分的核苷酸序列、或两者。

[0242] 本发明也提供用于生产如本文中描述的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的方法,其包括提供包含编码如本文中描述的抗TIM-3抗体或抗原结合部分的重链或其抗原结合部分的核苷酸序列和编码如本文中描述的抗TIM-3抗体或抗原结合部分的轻链或其抗原结合部分的核苷酸序列的宿主细胞,在适合表达抗体或部分条件下培养宿主细胞,并且分离所得的抗体或部分。

[0243] 本发明也提供多特异性(例如双特异性)结合分子,其具有本文中描述的抗TIM-3抗体的抗原结合部分和另一种不同的抗体,诸如另一种抗TIM-3抗体(例如另一种本文中描述的抗TIM-3抗体)或靶向不同蛋白质(诸如另一种免疫检查点蛋白、癌症抗原、或另一种其活性介导疾病状况诸如癌症的细胞表面分子)的抗体的抗原结合部分。

[0244] 本发明也提供用于在患者(例如人患者)中增强免疫力的方法,其包括对所述患者施用如本文中描述的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分或多特异性(例如双特异性)结合分子。

[0245] 本发明进一步提供用于在患者(例如人患者)中治疗癌症的方法,其包括对所述患者施用如本文中描述的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分或多特异性(例如双特异性)结合分

子施用。在一些实施方案中,该癌症源于选自由以下组成的组的组织:皮肤、肺、肠、卵巢、脑、前列腺、肾脏、软组织、造血系统、头和颈、肝脏、膀胱、乳房、胃、子宫和胰腺。在一些实施方案中,患者具有白血病(例如急性髓样白血病)、何杰金氏淋巴瘤、或非何杰金氏淋巴瘤。在一些实施方案中,患者具有实体瘤(例如晚期或转移性实体瘤)。在一些实施方案中,患者具有黑色素瘤、非小细胞肺癌、结肠直肠癌、或肾细胞癌。在某些实施方案中,方法进一步包括施用化学治疗剂、抗赘生物剂、抗血管生成剂、酪氨酸激酶抑制剂、和/或TIM-3途径抑制剂。

[0246] 本发明进一步提供如本文中描述的抗TIM-3抗体或抗原结合部分或多特异性(例如双特异性)结合分子,用于上述治疗;所述抗体、抗原结合部分、或多特异性结合分子作为用于上述治疗的药物的用途;和此类抗体、抗原结合部分、或多特异性结合分子用于制备用于上述治疗(即治疗有此需要的人患者增强其免疫系统和治疗患有癌症诸如上述癌症之一的人患者)的药物的用途。本发明也提供包含本文中描述的抗TIM-3抗体或抗原结合部分或多特异性(例如双特异性)结合分子的制品、以及用于生产所述制品的方法。

[0247] 附图简述

[0248] 图1显示抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、和15086.17144在单向混合淋巴细胞反应(MLR)测定法中对于IFN- $\gamma$ 产量的剂量响应曲线。

[0249] 图2显示抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、和15086.17144在单向MLR测定法中对于TNF- $\alpha$ 产量的剂量响应曲线。

[0250] 图3显示抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、和15086.17144对经纯化的树突细胞亚组的影响,其使用Meso Scale电致化学发光细胞因子测定法以TNF- $\alpha$ 水平测量。

[0251] 图4显示在存在本发明的抗TIM-3抗体以及阳性对照组抗TIM-3抗体和两种阴性对照组抗体下TIM-3-Fc与磷脂酰丝氨酸(PtdS)阳性(凋亡性)细胞的结合。A:本发明的抗TIM-3抗体[15086.17145];B:阴性对照组非阻断性抗TIM-3抗体[15338.15338];C:参考抗TIM-3抗体[18571.18571];D:阴性对照组抗PD-1抗体**Keytruda**<sup>®</sup>(派姆单抗(pembrolizumab))。

[0252] 图5显示九种抗TIM-3抗体在单向MLR测定法中对于IFN- $\gamma$ 产量的剂量响应曲线。

[0253] 图6显示十种抗TIM-3抗体在双向MLR测定法中对于IFN- $\gamma$ 产量的剂量响应曲线。抗体15086.17145以“15086”显示。

[0254] 图7显示九种抗TIM-3抗体在来自两个独立供体的单核细胞衍生的树突细胞中对于TNF- $\alpha$ 产量的剂量响应曲线。

[0255] 图8显示由一组18种抗TIM-3抗体的结合竞争分析鉴定的表位组(表位仓(epitope bin))的概观。以黑线连接的以圆圈圈起的抗体指示双向交叉阻断活性。以正方形框起的抗体指示仅当抗体在溶液中测试时的单向阻断。虚线指示仅当抗体被固定时的单向阻断。抗体根据与其他抗TIM-3抗体的竞争模式分组。抗体15086.17145系以“15086”显示。

[0256] 图9显示抗体表位在人TIM-3IgV域(PDB 5F71)的结构上的位置。人TIM-3IgV域的草图以三个不同的方向显示且指出磷脂酰丝氨酸结合位置的位置。对于每种抗体,定位的表位的位置在TIM-3空间填充模型上以暗色表示。Fab片段15086以“15086”显示且Fab片段20293以“20293”显示。

[0257] 发明详述

[0258] 本发明提供新颖的抗人TIM-3抗体,其可以用于在人患者诸如癌症患者中增强免

疫系统。除非另加叙述,如本文中所用,“TIM-3”指人TIM-3。人TIM-3多肽序列可以Uniprot登录号Q8TDQ0(HAVR2\_HUMAN)获得,于本文以SEQ ID NO:236显示。

[0259] 如本文中所用,术语“抗体”(Ab)或“免疫球蛋白”(Ig)指包含经由二硫键互相连接的两个重(H)链(约50-70kDa)和两个轻(L)链(约25kDa)的四聚体。每条重链由重链可变域(VH)和重链恒定区(CH)构成。每条轻链由轻链可变域(VL)和轻链恒定区(CL)构成。VH和VL域可以进一步细分成称为“互补决定区”(CDR)的高变性区域,其散布着较保守的称为“框架区”(FR)的区域。每个VH和VL由三个CDR(在本文中H-CDR称为来自重链的CDR;且在本文中L-CDR称为来自轻链的CDR)和四个FR构成,它们按以下顺序从氨基端至羧基端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链或轻链中氨基酸编号的指定可以根据IMGT®定义(Lefranc等人,Dev Comp Immunol 27(1):55-77(2003));或Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest(国家卫生研究院,Bethesda,MD(1987和1991));Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987);或Chothia等人,Nature 342:878-883(1989)的定义。

[0260] 术语“重组抗体”指下述抗体,其自包含编码抗体的核苷酸序列的细胞或细胞系表达,其中所述核苷酸序列不天然与该细胞关联。

[0261] 术语“分离的蛋白质”、“分离的多肽”或“分离的抗体”指蛋白质、多肽或抗体,其由于其衍生的起源或来源(1)不与在其天然状态下伴随其的天然关联组分关联,(2)不含来自相同物种的其他蛋白质,(3)由来自不同物种的细胞表达,和/或(4)不在自然中存在。因此,化学合成的或在与其所天然源自的细胞不同的细胞系统中合成的多肽会是自其天然关联的组分“分离的”。蛋白质也可以通过分离使用本领域公知的蛋白质纯化技术而变得基本上不含天然关联的组分。

[0262] 如本文中所用,术语“种系”指抗体基因和基因区段的核苷酸和氨基酸序列,当它们经由生殖细胞从亲本传递给后代时。种系序列与成熟B细胞中编码抗体的核苷酸序列(其已在B细胞成熟的过程期间被重组和超突变事件改变)有区别。“利用”特定种系序列的抗体具有与该种系核苷酸序列比对或相较于与任何其他种系核苷酸或氨基酸序列与其规定的氨基酸序列更密切地比对的核苷酸或氨基酸序列。

[0263] 术语“亲和力”指抗原与抗体间的吸引的度量。抗体对抗原的固有吸引力典型表示成特定抗体-抗原相互作用的结合亲和力平衡常数( $K_D$ )。当 $K_D \leq 1\text{Mm}$ ,优选 $\leq 100\text{Nm}$ 时,抗体被认为特异性与抗原结合。 $K_D$ 结合亲和力常数可以例如通过表面等离子共振(BIAcore™)或生物层干涉测量法(Bio-Layer Interferometry)(例如使用来自Bio-Rad的ProteOn™ XPR36 SPR系统或Octet™系统)测量。

[0264] 术语“ $k_{\text{off}}$ ”指特定抗体-抗原相互作用的解离速率常数。 $k_{\text{off}}$ 解离速率常数可以通过生物层干涉测量法(例如使用Octet™系统)测量。

[0265] 如本文中所用,术语“表位”指与抗体或相关分子诸如双特异性结合分子特异性结合的抗原的部分(决定簇)。表位决定簇一般由诸如氨基酸或碳水化合物或糖侧链的分子的化学活性表面分组组成且一般具有特定的三维空间结构特征,以及特定的电荷特征。表位可以为“线性”或“构型性”。在线性表位中,蛋白质(例如抗原)和相互作用分子(诸如抗体)间的所有相互作用的点沿着该蛋白质的一级氨基酸序列线性发生。在构型性表位中,相互作用的点横跨在蛋白质上在一级氨基酸序列方面彼此分开的氨基酸残基发生。一旦测定出

抗原上期望的表位,就有可能使用本领域公知的技术来产生针对该表位的抗体。例如,针对线性表位的抗体可以例如通过使用具有该线性表位的氨基酸残基的肽免疫动物来产生。针对构型性表位的抗体可以例如通过使用含有该构型性表位的相关氨基酸残基的微型域免疫动物来产生。针对特定表位的抗体也可以例如通过使用感兴趣的靶分子或其相关部分(例如TIM-3的ECD)免疫动物,接着筛选对该表位的结合来产生。

[0266] 可以通过使用本领域已知的方法(包括但不限于竞争测定法、表位框并(epitope binning)、和丙氨酸扫描)测定抗体是否与本发明的抗TIM-3抗体结合相同表位或竞争结合。在一些实施方案中,测试抗体和本发明的抗TIM-3抗体与TIM-3上的至少一个共同残基(例如至少二、三、四、五、六、七、八、或九个共同残基)结合。在进一步的实施方案中,在TIM-3上的接触残基在测试抗体和本发明的抗TIM-3抗体间是完全相同的。在一个实施方案中,允许本发明的抗TIM-3抗体在饱和条件下与TIM-3结合并接着测量测试抗体与TIM-3结合的能力。若该测试抗体和参考抗TIM-3抗体能够同时与TIM-3结合,则该测试抗体与参考抗TIM-3抗体结合不同表位。然而,若该测试抗体无法同时与TIM-3结合,则该测试抗体与相同的表位、重叠的表位、或极接近本发明的抗TIM-3抗体所结合的表位的表位结合。此实验可以使用例如ELISA、RIA、BIAcore™、生物层干涉测量法或流式细胞术进行。为测试抗TIM-3抗体是否与另一种抗TIM-3抗体交叉竞争,可以以双向使用以上描述的竞争方法,即测定已知抗体是否阻断测试抗体且反之亦然。此类交叉竞争实验可以例如使用IBIS MX96 SPR仪器或Octet™系统进行。

[0267] 在某些例子中,改变一或多个CDR氨基酸残基以改善对靶表位的结合亲和力可以是期望的。这称为“亲和力成熟”。各种亲和力成熟方法是本领域已知的(例如由Burks等人,Proc Natl Acad Sci USA,94:412-417(1997)描述的体外扫描饱和突变诱导方法和Wu等人,Proc Natl Acad Sci USA95:6037-6042(1998)的逐步体外亲和力成熟方法。

[0268] 如本文中所用,术语抗体的“抗原结合部分”(或简称“抗体部分”)指抗体的一或多个部分或片段,其保留与抗原(例如人TIM-3或其部分)特异性结合的能力。已显示全长抗体的某些片段可以进行该抗体的抗原结合功能。术语“抗原结合部分”内包含的结合片段的实例包括(i)Fab片段:由V<sub>L</sub>、V<sub>H</sub>、C<sub>L</sub>和C<sub>H</sub>1域所组成的单价片段;(ii)F(ab')<sub>2</sub>片段:包含通过铰链区处的二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段;(iii)由V<sub>H</sub>和C<sub>H</sub>1域所组成的Fd片段;(iv)由抗体的单一臂的V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>域所组成的Fv片段,(v)dAb片段,其由V<sub>H</sub>域组成;和(vi)能够与抗原特异性结合的分离的互补决定区(CDR)。此外,虽然Fv片段的两个域(V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>)由分开的基因编码,但是它们可以使用重组方法通过合成性接头连接在一起,该接头使它们能够作为单一蛋白质链生成,其中V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>域配对以形成单价分子(称为单链Fv(scFv))。也于本发明内的是包含V<sub>H</sub>和/或V<sub>L</sub>的抗原结合分子。在VH的情况下,分子也可以包含CH1、铰链、CH2、或CH3区的一个或多个。此类单链抗体也意图被术语抗体的“抗原结合部分”涵盖。也涵盖单链抗体的其他形式诸如双抗体(diabody)。双抗体是二价双特异性抗体,其中V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>域在单一多肽链上表达,但使用过短而无法允许在相同链上的两个域间的配对的接头,从而迫使域与另一条链的互补域配对并创建两个抗原结合位点。

[0269] 抗体部分诸如Fab和F(ab')<sub>2</sub>片段可以自完整抗体使用常规技术诸如完整抗体的木瓜蛋白酶或胃蛋白酶消化制备。此外,抗体、抗体部分和免疫粘附分子可以使用标准重组DNA技术(例如如本文中描述)获得。

[0270] 可以通过任何本领域已知的方法测定抗TIM-3抗体的类(同种型)和亚类。一般而言,可以使用对抗体的特定类和亚类特异性的抗体测定抗体的类和亚类。此类抗体是商品化的。可以通过ELISA、Western印迹以及其他技术测定类和亚类。或者,可以通过对抗体的重链和/或轻链的整个或部分恒定区测序,比较其氨基酸序列与免疫球蛋白的各种类和亚类的已知氨基酸序列,并且确定抗体的类和亚类来测定类和亚类。

[0271] 当提及位于抗体序列的给定位置的特定氨基酸残基时,例如“35S”的指示指位置和残基,即于此情况中指示丝氨酸残基(S)存在于该序列的位置35。类似地,例如“13Q+35S”的指示指位于各自位置的两个残基。

[0272] 除非另有指出,本公开内容中提及的所有抗体氨基酸残基编号是按照IMGT®编号方案的编号。

[0273] 抗TIM-3抗体

[0274] 本发明提供针对TIM-3的抗体和其抗原结合部分。在具体的实施方案中,本文中公开的抗体是自能够产生具有人独特型的抗体的转基因大鼠产生的人抗体。

[0275] 本发明的新颖抗TIM-3抗体的优点在于他们可以有力地活化树突细胞(参见例如实施例4)。虽然不希望受限于任何特定理论,认为本发明的抗TIM-3抗体能够经由树突细胞的活化刺激T细胞(例如肿瘤特异性T细胞)。此外,本申请第一次证明同种型IgG1或IgG2的抗TIM-3抗体具有高活性水平而同种型IgG4或IgG1-LALA的抗体是无功能或功能差的(参见例如实施例3和4)。不希望受限于任何特定理论,发明人的数据提出可以经由Fc受体交联TIM-3的抗TIM-3抗体是免疫系统的特别有力的活化剂。例如,本发明的抗TIM-3IgG2抗体可以与在树突细胞上找到的FcγR2A结合,且认为其会通过交联树突细胞上的TIM-3分子来活化树突细胞。

[0276] 本文中公开的抗TIM-3抗体可以以5位数编号(例如“20131”)或以10位数编号(例如“15086.16837”)来提及。具有相同前五位数的10位数编号衍生自相同的亲本抗体,如抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、15086.17144的情况中。预期此类抗体(其共享相同的六个CDR)具有相同的或基本上相同的靶物结合特性。如从本文中提供的蛋白质和DNA序列会明显的,15086.16837、15086.17145、和15086.17144变体相较于亲本15086抗体(“15086.15086”)仅仅具有单一在VH序列中的氨基酸差异,即在位置6为E而非Q,而VL氨基酸序列是相同的。也将明显的是这些变体差异主要在其抗体形式/亚类,即:

[0277] 15086.15086:IgG1

[0278] 15086.16837:IgG1 LALA

[0279] 15086.17145:IgG2

[0280] 15086.17144:IgG4

[0281] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:

[0282] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:7-9的氨基酸序列的抗体;

[0283] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0284] c) 其VH包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的抗体;

[0285] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:3和5的氨基酸序列的抗体;

[0286] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:10-12的氨基酸序列的抗体;

- [0287] f) 其轻链可变域 (VL) 在序列上与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0288] g) 其VL包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的抗体;
- [0289] h) 其轻链 (LC) 包含SEQ ID NO:4和6的氨基酸序列的抗体;
- [0290] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:7-12的氨基酸序列的抗体;
- [0291] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0292] k) 其VH包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的抗体;和
- [0293] l) 其HC包含SEQ ID NO:3和5的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:4和6的氨基酸序列的抗体。
- [0294] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:
- [0295] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:7-9的氨基酸序列的抗体;
- [0296] b) 其重链可变域 (VH) 在序列上与SEQ ID NO:15的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0297] c) 其VH包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的抗体;
- [0298] d) 其重链 (HC) 包含SEQ ID NO:15和25的氨基酸序列的抗体;
- [0299] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:10-12的氨基酸序列的抗体;
- [0300] f) 其轻链可变域 (VL) 在序列上与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0301] g) 其VL包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的抗体;
- [0302] h) 其轻链 (LC) 包含SEQ ID NO:4和6的氨基酸序列的抗体;
- [0303] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:7-12的氨基酸序列的抗体;
- [0304] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:15的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0305] k) 其VH包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的抗体;和
- [0306] l) 其HC包含SEQ ID NO:15和25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:4和6的氨基酸序列的抗体。
- [0307] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:
- [0308] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:7-9的氨基酸序列的抗体;
- [0309] b) 其重链可变域 (VH) 在序列上与SEQ ID NO:15的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0310] c) 其VH包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的抗体;
- [0311] d) 其重链 (HC) 包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列和SEQ ID NO:23或24的氨基酸序列的抗体;
- [0312] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:10-12的氨基酸序列的抗体;
- [0313] f) 其轻链可变域 (VL) 在序列上与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

- [0314] g) 其VL包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的抗体;
- [0315] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:4和6的氨基酸序列的抗体;
- [0316] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:7-12的氨基酸序列的抗体;
- [0317] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:15的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0318] k) 其VH包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的抗体;和
- [0319] l) 其HC包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列和SEQ ID NO:23或24的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:4和6的氨基酸序列的抗体。
- [0320] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:
- [0321] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:30-32的氨基酸序列的抗体;
- [0322] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:28的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0323] c) 其VH包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的抗体;
- [0324] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:28和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;
- [0325] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:33-35的氨基酸序列的抗体;
- [0326] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:29的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0327] g) 其VL包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的抗体;
- [0328] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:29和6的氨基酸序列抗体;
- [0329] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:30-35的氨基酸序列的抗体;
- [0330] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:28的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:29的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0331] k) 其VH包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的抗体;和
- [0332] l) 其HC包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:29和6的氨基酸序列的抗体。
- [0333] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:
- [0334] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:40-42的氨基酸序列的抗体;
- [0335] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:38的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0336] c) 其VH包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的抗体;
- [0337] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:38和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;
- [0338] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:43-45的氨基酸序列的抗体;
- [0339] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0340] g) 其VL包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的抗体;

- [0341] h) 其轻链(LC) 包含SEQ ID NO:39和6的氨基酸序列的抗体;
- [0342] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:40-45的氨基酸序列的抗体;
- [0343] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:38的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0344] k) 其VH包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的抗体;和
- [0345] 1) 其HC包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:39和6的氨基酸序列的抗体。
- [0346] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:
- [0347] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列的抗体;
- [0348] b) 其重链可变域(VH) 在序列上与SEQ ID NO:48的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0349] c) 其VH包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的抗体;
- [0350] d) 其重链(HC) 包含SEQ ID NO:48和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;
- [0351] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:53-55的氨基酸序列的抗体;
- [0352] f) 其轻链可变域(VL) 在序列上与SEQ ID NO:49的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0353] g) 其VL包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的抗体;
- [0354] h) 其轻链(LC) 包含SEQ ID NO:49和6的氨基酸序列的抗体;
- [0355] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:50-55的氨基酸序列的抗体;
- [0356] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:48的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:49的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0357] k) 其VH包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的抗体;和
- [0358] 1) 其HC包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:49和6的氨基酸序列的抗体。
- [0359] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:
- [0360] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:60-62的氨基酸序列的抗体;
- [0361] b) 其重链可变域(VH) 在序列上与SEQ ID NO:58的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0362] c) 其VH包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的抗体;
- [0363] d) 其重链(HC) 包含SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;
- [0364] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:63-65的氨基酸序列的抗体;
- [0365] f) 其轻链可变域(VL) 在序列上与SEQ ID NO:59的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0366] g) 其VL包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的抗体;
- [0367] h) 其轻链(LC) 包含SEQ ID NO:59和6的氨基酸序列的抗体;

- [0368] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:60-65的氨基酸序列的抗体;
- [0369] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:58的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:59的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0370] k) 其VH包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的抗体;和
- [0371] l) 其HC包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:59和6的氨基酸序列的抗体。
- [0372] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:
- [0373] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:70-72的氨基酸序列的抗体;
- [0374] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:68的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0375] c) 其VH包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的抗体;
- [0376] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:68和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;
- [0377] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:73-75的氨基酸序列的抗体;
- [0378] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:69的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0379] g) 其VL包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的抗体;
- [0380] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:69和6的氨基酸序列的抗体;
- [0381] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:70-75的氨基酸序列的抗体;
- [0382] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:68的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:69的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0383] k) 其VH包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的抗体;和
- [0384] l) 其HC包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:69和6的氨基酸序列的抗体。
- [0385] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:
- [0386] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:80-82的氨基酸序列的抗体;
- [0387] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:78的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0388] c) 其VH包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的抗体;
- [0389] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:78和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;
- [0390] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:83-85的氨基酸序列的抗体;
- [0391] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:79的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0392] g) 其VL包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的抗体;
- [0393] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:79和6的氨基酸序列的抗体;
- [0394] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:80-85的氨基酸序列的抗体;

[0395] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:78的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:79的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0396] k) 其VH包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的抗体;和

[0397] 1) 其HC包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:79和6的氨基酸序列的抗体。

[0398] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:

[0399] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:90-92的氨基酸序列的抗体;

[0400] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:88的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0401] c) 其VH包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的抗体;

[0402] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:88和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;

[0403] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:93-95的氨基酸序列的抗体;

[0404] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:89的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0405] g) 其VL包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列的抗体;

[0406] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:89和6的氨基酸序列的抗体;

[0407] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:90-95的氨基酸序列的抗体;

[0408] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:88的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:89的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0409] k) 其VH包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列的抗体;和

[0410] 1) 其HC包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:89和6的氨基酸序列的抗体。

[0411] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:

[0412] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:100-102的氨基酸序列的抗体;

[0413] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:98的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0414] c) 其VH包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的抗体;

[0415] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:98和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;

[0416] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:103-105的氨基酸序列的抗体;

[0417] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:99的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0418] g) 其VL包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的抗体;

[0419] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:99和6的氨基酸序列的抗体;

[0420] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:100-105的氨基酸序列的抗体;

[0421] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:98的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与

SEQ ID NO:99的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0422] k) 其VH包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的抗体;和

[0423] l) 其HC包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:99和6的氨基酸序列的抗体。

[0424] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:

[0425] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:110-112的氨基酸序列的抗体;

[0426] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:108的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0427] c) 其VH包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列的抗体;

[0428] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;

[0429] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:113-115的氨基酸序列的抗体;

[0430] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:109的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0431] g) 其VL包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的抗体;

[0432] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:109和6的氨基酸序列的抗体;

[0433] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:110-115的氨基酸序列的抗体;

[0434] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:108的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:109的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0435] k) 其VH包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的抗体;和

[0436] l) 其HC包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:109和6的氨基酸序列的抗体。

[0437] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:

[0438] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:120-122的氨基酸序列的抗体;

[0439] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:118的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0440] c) 其VH包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列的抗体;

[0441] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:118和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;

[0442] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:123-125的氨基酸序列的抗体;

[0443] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:119的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0444] g) 其VL包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的抗体;

[0445] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:119和6的氨基酸序列的抗体;

[0446] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:120-125的氨基酸序列的抗体;

[0447] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:118的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:119的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0448] k) 其VH包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的抗体;和

[0449] 1) 其HC包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:119和6的氨基酸序列的抗体。

[0450] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:

[0451] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:130-132的氨基酸序列的抗体;

[0452] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:128的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0453] c) 其VH包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的抗体;

[0454] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;

[0455] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:133-135的氨基酸序列的抗体;

[0456] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:129的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0457] g) 其VL包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的抗体;

[0458] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:129和6的氨基酸序列的抗体;

[0459] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:130-135的氨基酸序列的抗体;

[0460] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:128的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:129的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0461] k) 其VH包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的抗体;和

[0462] 1) 其HC包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:129和6的氨基酸序列的抗体。

[0463] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:

[0464] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:140-142的氨基酸序列的抗体;

[0465] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:138的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0466] c) 其VH包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的抗体;

[0467] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:138和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;

[0468] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:143-145的氨基酸序列的抗体;

[0469] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:139的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0470] g) 其VL包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的抗体;

[0471] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:139和6的氨基酸序列的抗体;

[0472] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:140-145的氨基酸序列的抗体;

[0473] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:138的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:139的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0474] k) 其VH包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:139的氨基酸序

列的抗体;和

[0475] 1) 其HC包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:139和6的氨基酸序列的抗体。

[0476] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:

[0477] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:150-152的氨基酸序列的抗体;

[0478] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:148的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0479] c) 其VH包含SEQ ID NO:148的氨基酸序列的抗体;

[0480] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:148和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;

[0481] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:153-155的氨基酸序列的抗体;

[0482] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:149的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0483] g) 其VL包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的抗体;

[0484] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:149和6的氨基酸序列的抗体;

[0485] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:150-155的氨基酸序列的抗体;

[0486] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:148的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:149的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0487] k) 其VH包含SEQ ID NO:148的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的抗体;和

[0488] 1) 其HC包含SEQ ID NO:148的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:149和6的氨基酸序列的抗体。

[0489] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:

[0490] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:160-162的氨基酸序列的抗体;

[0491] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:158的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0492] c) 其VH包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列的抗体;

[0493] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:158和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;

[0494] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:163-165的氨基酸序列的抗体;

[0495] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:159的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0496] g) 其VL包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列的抗体;

[0497] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:159和6的氨基酸序列的抗体;

[0498] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:160-165的氨基酸序列的抗体;

[0499] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:158的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:159的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0500] k) 其VH包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列的抗体;和

[0501] 1) 其HC包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:159和6的氨基酸序列的抗体。

[0502] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:

[0503] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:170-172的氨基酸序列的抗体;

[0504] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:168的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0505] c) 其VH包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列的抗体;

[0506] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:168和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;

[0507] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:173-175的氨基酸序列的抗体;

[0508] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:169的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0509] g) 其VL包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列的抗体;

[0510] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:169和6的氨基酸序列的抗体;

[0511] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:170-175的氨基酸序列的抗体;

[0512] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:168的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:169的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0513] k) 其VH包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列的抗体;和

[0514] 1) 其HC包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:169和6的氨基酸序列的抗体。

[0515] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:

[0516] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:180-182的氨基酸序列的抗体;

[0517] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:178的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0518] c) 其VH包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的抗体;

[0519] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:178和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;

[0520] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:183-185的氨基酸序列的抗体;

[0521] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:179的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0522] g) 其VL包含SEQ ID NO:179的氨基酸序列的抗体;

[0523] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:179和6的氨基酸序列的抗体;

[0524] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:180-185的氨基酸序列的抗体;

[0525] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:178的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:179的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0526] k) 其VH包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:179的氨基酸序列的抗体;和

[0527] 1) 其HC包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序

列;且其LC包含SEQ ID NO:179和6的氨基酸序列的抗体。

[0528] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:

[0529] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:190-192的氨基酸序列的抗体;

[0530] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:188的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0531] c) 其VH包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列的抗体;

[0532] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:188和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;

[0533] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:193-195的氨基酸序列的抗体;

[0534] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:189的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0535] g) 其VL包含SEQ ID NO:189的氨基酸序列的抗体;

[0536] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:189和6的氨基酸序列的抗体;

[0537] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:190-195的氨基酸序列的抗体;

[0538] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:188的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:189的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0539] k) 其VH包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:189的氨基酸序列的抗体;和

[0540] 1) 其HC包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:189和6的氨基酸序列的抗体。

[0541] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:

[0542] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:200-202的氨基酸序列的抗体;

[0543] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:198的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0544] c) 其VH包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的抗体;

[0545] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:198和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;

[0546] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:203-205的氨基酸序列的抗体;

[0547] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:199的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0548] g) 其VL包含SEQ ID NO:199的氨基酸序列的抗体;

[0549] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:199和6的氨基酸序列的抗体;

[0550] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:200-205的氨基酸序列的抗体;

[0551] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:198的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:199的氨基酸序列至少90%相同的抗体;

[0552] k) 其VH包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:199的氨基酸序列的抗体;和

[0553] 1) 其HC包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:199和6的氨基酸序列的抗体。

- [0554] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:
- [0555] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:210-212的氨基酸序列的抗体;
- [0556] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:208的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0557] c) 其VH包含SEQ ID NO:208的氨基酸序列的抗体;
- [0558] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:208和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;
- [0559] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:213-215的氨基酸序列的抗体;
- [0560] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:209的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0561] g) 其VL包含SEQ ID NO:209的氨基酸序列的抗体;
- [0562] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:209和6的氨基酸序列的抗体;
- [0563] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:210-215的氨基酸序列的抗体;
- [0564] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:208的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:209的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0565] k) 其VH包含SEQ ID NO:208的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:209的氨基酸序列的抗体;和
- [0566] l) 其HC包含SEQ ID NO:208的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:209和6的氨基酸序列的抗体。
- [0567] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:
- [0568] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:220-222的氨基酸序列的抗体;
- [0569] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:218的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0570] c) 其VH包含SEQ ID NO:218的氨基酸序列的抗体;
- [0571] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:218和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;
- [0572] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:223-225的氨基酸序列的抗体;
- [0573] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:219的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0574] g) 其VL包含SEQ ID NO:219的氨基酸序列的抗体;
- [0575] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:219和6的氨基酸序列的抗体;
- [0576] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:220-225的氨基酸序列的抗体;
- [0577] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:218的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:219的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0578] k) 其VH包含SEQ ID NO:218的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:219的氨基酸序列的抗体;和
- [0579] l) 其HC包含SEQ ID NO:218的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:219和6的氨基酸序列的抗体。
- [0580] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体选自由以下组成的组:

- [0581] a) 其H-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:230-232的氨基酸序列的抗体;
- [0582] b) 其重链可变域(VH)在序列上与SEQ ID NO:228的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0583] c) 其VH包含SEQ ID NO:228的氨基酸序列的抗体;
- [0584] d) 其重链(HC)包含SEQ ID NO:228和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列的抗体;
- [0585] e) 其L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:233-235的氨基酸序列的抗体;
- [0586] f) 其轻链可变域(VL)在序列上与SEQ ID NO:229的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0587] g) 其VL包含SEQ ID NO:229的氨基酸序列的抗体;
- [0588] h) 其轻链(LC)包含SEQ ID NO:229和6的氨基酸序列的抗体;
- [0589] i) 其H-CDR1-3和L-CDR1-3分别包含SEQ ID NO:230-235的氨基酸序列的抗体;
- [0590] j) 其VH在序列上与SEQ ID NO:228的氨基酸序列至少90%相同且其VL在序列上与SEQ ID NO:229的氨基酸序列至少90%相同的抗体;
- [0591] k) 其VH包含SEQ ID NO:228的氨基酸序列且其VL包含SEQ ID NO:229的氨基酸序列的抗体;和
- [0592] l) 其HC包含SEQ ID NO:228的氨基酸序列和SEQ ID NO:5、23、24、或25的氨基酸序列;且其LC包含SEQ ID NO:229和6的氨基酸序列的抗体。
- [0593] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体或其抗原结合部分与以下各项竞争对人TIM-3的结合或与以下各项结合人TIM-3的相同表位:具有IgG1形式的抗体15086.15086、具有IgG1 LALA形式的抗体15086.16837、具有IgG2形式的抗体15086.17145、或具有IgG4形式的抗体15086.17144。在一些实施方案中,本发明的抗体是IgG。在一些实施方案中,本发明的抗体具有IgG1、IgG2、IgG3、或IgG4形式。
- [0594] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体或其抗原结合部分与以下各项竞争对人TIM-3的结合或与以下各项结合人TIM-3的相同表位:抗体20131、20293、15105、15107、15109、15174、15175、15260、15284、15299、15353、15354、17244、17245、19324、19416、19568、20185、20300、20362、或20621。在一些实施方案中,本发明的抗体具有IgG1、IgG2、IgG3、或IgG4形式。
- [0595] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分不与以下各项竞争对人TIM-3的结合或与以下各项结合人TIM-3的相同表位:来自表位仓1的抗体(参考抗体mAb 15)、仓2的抗体(例如抗体15105和15107)、和仓8的抗体(例如抗体15174和15175)的任一或所有,如以下实施例12中定义的。
- [0596] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分不与以下各项竞争对人TIM-3的结合或与以下各项结合人TIM-3的相同表位:来自表位仓2的抗体(例如抗体15105和15107)和仓8的抗体(例如抗体15174和15175)的任一或所有,如以下实施例12中定义的。
- [0597] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分不与以下各项竞争对人TIM-3的结合或与以下各项结合人TIM-3的相同表位:来自表位仓2的抗体(例如抗体15105和15107)的任一或所有,如以下实施例12中定义的。

[0598] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体与其重链(H)CDR1-3和轻链(L)CDR1-3分别包含以下各项的抗体竞争对人TIM-3的结合或与其重链(H)CDR1-3和轻链(L)CDR1-3分别包含以下各项的抗体结合人TIM-3的相同表位:SEQ ID NO:7-12、30-35、40-45、50-55、60-65、70-75、80-85、90-95、100-105、110-115、120-125、130-135、140-145、150-155、160-165、170-175、180-185、190-195、200-205、210-215、220-225、或230-235。

[0599] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体或抗原结合部分具有在序列上与SEQ ID NO:3、15、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158、168、178、188、198、208、218、或228至少90%相同,例如与所述序列至少95%相同,诸如至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的重链可变域(VH)。

[0600] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有在序列上与SEQ ID NO:3、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158、168、178、188、198、208、218、或228至少90%相同,例如与所述序列至少95%相同,诸如至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的重链可变域(VH);和在序列上与SEQ ID NO:5至少90%相同,例如与SEQ ID NO:5至少95%相同,诸如至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的重链恒定区(CH)。

[0601] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有包含SEQ ID NO:3、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158、168、178、188、198、208、218、或228的VH氨基酸序列和SEQ ID NO:5的CH氨基酸序列的重链(HC)

[0602] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有在序列上与SEQ ID NO:15、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158、168、178、188、198、208、218、或228至少90%相同,例如与所述序列至少95%相同,诸如至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的重链可变域(VH);和在序列上与SEQ ID NO:23、24或25至少90%相同,例如与SEQ ID NO:23、24或25至少95%相同,诸如至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的重链恒定区(CH)。在具体的实施方案中,CH在序列上与SEQ ID NO:25至少90%相同,例如与SEQ ID NO:25至少95%相同,诸如至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同。

[0603] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有包含SEQ ID NO:15、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158、168、178、188、198、208、218、或228的VH氨基酸序列和SEQ ID NO:23、24或25的CH氨基酸序列的重链(HC)。在具体的实施方案中,重链包含SEQ ID NO:25的CH氨基酸序列。

[0604] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有在序列上与SEQ ID NO:4、29、39、49、59、69、79、89、99、109、119、129、139、149、159、169、179、189、199、209、219、或229的VL氨基酸序列至少90%相同,例如与该序列至少95%相同,诸如至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的轻链可变域(VL)。

[0605] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有在序列上与SEQ ID NO:4、29、39、49、59、69、79、89、99、109、119、129、139、149、159、169、179、189、199、209、219、或229的VL氨基酸序列至少90%相同,例如与所述序列至少95%相同,诸如至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的轻链可变域(VL);和在序列上与SEQ ID NO:6至少90%相同,例如与SEQ ID NO:6至少95%相同,诸如至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的轻链恒定区(CL)。

[0606] 在一些实施方案中,抗TIM-3抗体具有包含SEQ ID NO:4、29、39、49、59、69、79、89、99、109、119、129、139、149、159、169、179、189、199、209、219、或229的VL氨基酸序列和SEQ

ID NO:6的CL氨基酸序列的轻链(LC)。

[0607] 在某些实施方案中,抗TIM-3抗体包含以上描述的重链中的任一种和以上描述的轻链中的任一种。

[0608] 在一些实施方案中,本文中描述的任何抗TIM-3抗体或抗原结合部分可以抑制配体诸如半乳凝素-9、CEACAM1、HMGB-1、和磷脂酰丝氨酸与TIM-3的结合。

[0609] 在一个实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的施用可以活化树突细胞,引起其成熟以及从而引起其刺激T细胞的能力。虽然不希望受限于特定理论,认为本发明的抗TIM-3抗体以TIM-3树突细胞活化剂的形式发挥功能,因此其对树突细胞的效应用来刺激T细胞。在肿瘤相关的背景中,抗TIM-3抗体因此可以引起与肿瘤相关的树突细胞的成熟和活化,导致肿瘤特异性T细胞的活化。

[0610] 在一些实施方案中,本文中描述的任何抗TIM-3抗体或抗原结合部分可以以至少100、至少50、至少40、至少30、至少25、至少20、至少15、至少10、至少9、至少8、至少7、或至少6nM的 $K_D$ 与人TIM-3结合。在某些实施方案中,使用表面等离子共振测定 $K_D$ 。

[0611] 在一些实施方案中,本文中描述的任何抗TIM-3抗体或抗原结合部分可以以至少100、至少50、至少40、至少30、至少25、至少24、至少23、至少22、至少21、或至少20nM的 $K_D$ 与猕猴TIM-3结合。在某些实施方案中,使用表面等离子共振测定 $K_D$ 。

[0612] 在一些实施方案中,本文中描述的任何抗TIM-3抗体或抗原结合部分可以具有 $EC_{50} \leq 2$ 、1.5、1、0.5、0.4、0.3、0.2、或0.15nM的对人TIM-3的亲合力。在一些实施方案中,本文中描述的任何抗TIM-3抗体或抗原结合部分可以具有 $EC_{50} \leq 80$ 、70、60、50、40、30、25、20、15、10、5、4、3、2、1.5、1、0.5、0.4、0.3、0.2、或0.15nM的对猕猴TIM-3的亲合力。

[0613] 在一个实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的施用可以直接活化T细胞。

[0614] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分与包括SEQ ID NO:236的以下残基的至少一种(例如至少一种、至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种、至少七种、至少八种、或至少九种)的TIM-3的表位结合:P50、V60、F61、E62、G64、R69、I117、M118、和D120。设想到具有以上残基的任何组合的表位。

[0615] 在一些实施方案中,本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分与包含SEQ ID NO:236的残基62-67和/或114-117的TIM-3的表位结合。在一些实施方案中,抗体或部分与SEQ ID NO:236的残基62-67(或其片段,诸如一、二、三、四、或五个残基的片段)结合(例如抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、15086.17144、和20293)。在一些实施方案中,抗体或部分与SEQ ID NO:236的残基114-117(或其片段,诸如一、二、或三个残基的片段)结合(例如抗体20131)。也设想到具有以上残基的任何组合的表位。

[0616] 通过本文中描述的方法获得的抗TIM-3抗体的类可以改变或转换为另一个类或亚类。在本发明的一个方面,使用本领域公知的方法分离编码VL或VH的核酸分子,使得它不包含编码CL或CH的核酸序列。然后,将编码VL或VH的核酸分子可操作连接到分别编码来自不同类的免疫球蛋白分子的CL或CH的核酸序列。这可以使用包含如以上描述的CL或CH链的载体或核酸分子实现。例如,可以将最初作为IgM的抗TIM-3抗体类别转换成IgG。此外,可以使用类别转换将一种IgG亚类变换成另一种,例如从IgG1变换成IgG2。可以将 $\kappa$ 轻链恒定区改变成 $\lambda$ 轻链恒定区。用于生产具有期望的Ig同种型的本发明的抗体的优选方法包含以下步

骤:分离编码抗TIM-3抗体的重链的核酸分子和编码抗TIM-3抗体的轻链的核酸分子,获得重链的可变域,将重链的可变域与期望同种型的重链的恒定区连接在一起,在细胞中表达轻链和经连接的重链,并收集具有期望的同种型的抗TIM-3抗体。

[0617] 本发明的抗TIM-3抗体可以是IgG、IgM、IgE、IgA、或IgD分子,但典型是IgG同种型,例如IgG亚类IgG1、IgG2a或IgG2b、IgG3或IgG4。在一个实施方案中,抗体是IgG1。在另一个实施方案中,抗体是IgG2。

[0618] 在一个实施方案中,抗TIM-3抗体可以在Fc区域中包含至少一个突变。许多不同的Fc突变是已知的,其中这些突变提供经改变的效应器功能。例如,在许多情况中,例如在配体/受体相互作用是非期望的情况下或在抗体-药物缀合物的情况下,减少或排除效应器功能将是期望的。可以有利于突变以降低效应器功能的Fc区域氨基酸位置包括位置228、233、234和235的一个或多个,其中氨基酸位置根据IMGT®编号方案编号。

[0619] 在一个实施方案中,可以将位于位置234和235的氨基酸残基之一或两者突变,例如自Leu至Ala (L234A/L235A)。这些突变降低IgG1抗体的Fc区域的效应器功能。另外/或者,可以将位于位置228的氨基酸残基突变,例如突变成Pro。在另一个实施方案中,可以将位于位置233的氨基酸残基突变,例如突变成Pro,可以将位于位置234的氨基酸残基突变,例如突变成Val,和/或可以将位于位置235的氨基酸残基突变,例如突变成Ala。氨基酸位置根据IMGT®编号方案编号。

[0620] 在另一个实施方案中,在抗体是IgG4亚类的情况下,它可以包含突变S228P,即在位置228中具有脯氨酸,其中氨基酸位置根据EuIMGT®编号方案编码。已知此突变减少非期望的Fab臂交换(Angal等人,Mol Immunol.30:105-8(1993))。

[0621] 在某些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合部分可以是较大的免疫粘附分子的部分,其通过抗体或抗体部分与一个或多个其他蛋白质或肽的共价或非共价联结形成。此类免疫粘附分子的实例包括使用链霉抗生物素蛋白核心区域以生产四聚体scFv分子(Kipriyanov等人,Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101(1995))和使用半胱氨酸残基、标志物肽和C端聚组氨酸标签以产生二价且生物素化scFv分子(Kipriyanov等人,Mol.Immunol.31:1047-1058(1994))。其他实例包括其中将来自抗体的一或多个CDR共价或非共价掺入分子中以使其变成特异性与感兴趣的抗原结合的免疫粘附素。在此类实施方案中,可以将CDR作为较大的多肽链的部分掺入,可以共价连接至另一个多肽链,或可以非共价掺入。

[0622] 在另一个实施方案中,可以生成融合抗体或免疫粘附素,其包含与另一个多肽连接的整个或部分的本发明的抗TIM-3抗体。在某些实施方案中,仅将抗TIM-3抗体的可变域连接至多肽。在某些实施方案中,将抗TIM-3抗体的VH域连接至第一多肽,而将抗TIM-3抗体的VL域连接至第二多肽,该第二多肽以下述方式与第一多肽连接,使得VH和VL域可以彼此相互作用以形成抗原结合位点。在另一个优选的实施方案中,通过接头将VH域与VL域分开,使得VH和VL域可以彼此相互作用(例如单链抗体)。然后,将VH-接头-VL抗体连接至感兴趣的多肽。此外,可以创建融合抗体,其中将两个(或更多个)单链抗体彼此连接。若想要在单一多肽链上创建二价或多价抗体或若想要创建双特异性抗体,则这是有用的。

[0623] 为创建单链抗体(scFv),将编码VH和VL的DNA片段系可操作性连接至编码柔性接头(例如编码氨基酸序列(Gly4-Ser)3(SEQ ID NO:240))的另一个片段,使得VH和VL序列可

以以邻接单链蛋白质的形式表达,其中通过柔性接头连接VL和VH域。参见例如Bird等人, Science 242:423-426 (1988);Huston等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA85:5879-5883 (1988);和McCafferty等人,Nature 348:552-554 (1990)。单链抗体可以是单价的,若仅使用单一VH和VL;二价,若使用两个VH和VL;或多价,若使用超过两个VH和VL。例如,可以产生双特异性或多价抗体,其与人TIM-3以及与另一个分子特异性结合。

[0624] 在其他实施方案中,可以使用编码抗TIM-3抗体的核酸分子制备其他经修饰的抗体。例如,可以使用标准分子生物技术根据本说明书的教导制备“κ体”(Ill等人,Protein Eng.10:949-57 (1997))、“微型抗体(minibody)”(Martin等人,EMBO J.13:5303-9 (1994))、“双抗体”(Holliger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448 (1993))、或“Janusin”(Traunecker等人,EMBO J.10:3655-3659 (1991)和Traunecker等人,Int.J.Cancer (补充) 7:51-52 (1992))。

[0625] 可以将本发明的抗TIM-3抗体或抗原结合部分衍生化或连接至另一个分子(例如另一个肽或蛋白质)。一般而言,将抗体或其部分衍生化,使得TIM-3结合不被衍生化或标记不利影响。因而,本发明的抗体和抗体部分意图包括本文中描述的人抗TIM-3抗体的完整和经修饰的形式两者。例如,可以将本发明的抗体或抗体部分功能性连接(通过化学偶联、基因融合、非共价联结或其他方式)至一或多个其他分子实体,诸如另一个抗体(例如双特异性抗体或双抗体)、检测剂、药剂、和/或可以介导该抗体或抗体部分与另一个分子关联的蛋白质或肽(诸如链霉抗生物素蛋白核心区域或聚组氨酸标签)。

[0626] 通过交联两种或更多种抗体(相同类型的或不同类型的,例如以创建双特异性抗体)产生一种类型的衍生化抗体。合适的交联剂包括异双官能性交联剂,其具有两个通过适当的间隔物(例如间-马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯)分开的独特反应性的基团或同双官能性交联剂(例如辛二酸二琥珀酰亚胺酯)。此类接头可以购自例如Pierce Chemical Company,Rockford,IL。

[0627] 也可以用化学基团诸如聚乙二醇(PEG)、甲基或乙基基团、或碳水化合物基团衍生化抗TIM-3抗体。这些基团可以用于改善抗体的生物特征,例如以增加血清半衰期。

[0628] 也可以标记根据本发明的抗体。如本文中所用,术语“标记物”或“经标记的”指在抗体中掺入另一个分子。在一个实施方案中,标记物是可检测的标志物,例如掺入经放射性标记的氨基酸或附着至可通过经标志的抗生物素蛋白(例如含有可通过光学或比色方法检测的荧光标志物或酶活性的链霉抗生物素蛋白)检测的生物素基部分的多肽。在另一个实施方案中,标记物或标志物可以是治疗性的,例如药物缀合物或毒素。各种标记多肽和糖蛋白的方法是本领域已知的并且是可以使用的。用于多肽的标记物的实例包括但不限于以下:放射性同位素或放射性核素(例如<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C、<sup>15</sup>N、<sup>35</sup>S、<sup>90</sup>Y、<sup>99</sup>Tc、<sup>111</sup>In、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I)、荧光标记物(例如FITC、罗丹明、镧系元素磷光体(phosphor))、酶促标记物(例如辣根过氧化物酶、β-半乳糖苷酶、萤光素酶、碱性磷酸酶)、化学发光标志物、生物素基基团、被第二报告物(例如亮氨酸拉链对序列、第二抗体的结合位置、金属结合域、表位标签)识别的预决定的多肽表位、磁性剂,诸如钆螯合物、毒素,诸如百日咳毒素、紫杉醇、松胞菌素B、短杆菌肽D、溴化乙啶、依米丁、丝裂霉素、依托泊苷、替尼泊苷(tenoposide)、长春新碱、长春碱、秋水仙素、多柔比星(doxorubicin)、道诺霉素、二羟基炭疽菌素二酮、米托蒽醌(mitoxantrone)、光辉霉素(mithramycin)、放线菌素D、1-脱氢鞣酮、糖皮质激素、普鲁卡因(procaine)、丁卡因

(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、普萘洛尔(propranolol)、和嘌呤霉素和其类似物或同源物。在一些实施方案中,标记物通过各种长度的间隔物臂附着以减少潜在的立体阻碍。

[0629] 在某些实施方案中,本发明的抗体可以以中性形式(包括两性离子形式)存在或呈带正电或带负电物种。在一些实施方案中,抗体可以与抗衡离子复合以形成药学可接受的盐。

[0630] 术语“药学可接受的盐”指包含一或多个抗体和一或多个抗衡离子的复合物,其中抗衡离子衍生自药学可接受的无机和有机酸和碱。

[0631] 双特异性结合分子

[0632] 在进一步的方面,本发明提供双特异性结合分子,其具有本文中描述的抗TIM-3抗体的结合特异性和另一种抗TIM-3抗体(例如另一种本文中描述的抗TIM-3抗体)或靶向不同蛋白质的抗体诸如另一种免疫检查点蛋白质、癌症抗原、或其活性介导诸如癌症的疾病状况的另一种细胞表面分子的结合特异性。此类双特异性结合分子是本领域已知的,并且不同类型的双特异性结合分子的实例在本文中别处给出。

[0633] 核酸分子和载体

[0634] 本发明也提供编码本文中描述的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的核酸分子和序列。在一些实施方案中,不同核酸分子编码抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的重链和轻链氨基酸序列。在其他实施方案中,相同的核酸分子编码抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的重链和轻链氨基酸序列。

[0635] 除非另外规定,提及核苷酸序列涵盖其互补物。因此,提及具有特测序列的核酸应当理解成涵盖其具有其互补序列的互补链。如本文中提及,术语“多核苷酸”意指长度上至少10个碱基的核苷酸的聚合形式,无论是核糖核苷酸或脱氧核苷酸或任一类型的核苷酸的经修饰的形式。术语包括单链和双链形式。

[0636] 本发明也提供与一个或多个在本文中叙述的核苷酸序列,例如与编码选自由以下组成的组的氨基酸序列的核苷酸序列:SEQ ID NO:3、4、7-12、15、28-35、38-45、48-55、58-65、68-75、78-85、88-95、98-105、108-115、118-125、128-135、138-145、148-155、158-165、168-175、178-185、188-195、198-205、208-215、218-225、和228-235)至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%相同的核苷酸序列。在核酸序列的上下文中,术语“百分比序列同一性”指在两个序列中当为了最大对应性而比对时相同的残基。序列同一性比较的长度可以在至少约九个核苷酸、通常至少约18个核苷酸、更常至少约24个核苷酸、典型至少约28个核苷酸、更典型至少约32个核苷酸、且较佳至少约36、48或更多个核苷酸的区段内。存在有本领域已知的许多可用于测量核苷酸序列同一性的不同算法。例如,多核苷酸序列可以使用FASTA、Gap或Bestfit比较,它们是Wisconsin Package版本10.0,Genetics Computer Group(GCG),Madison,Wisconsin中的程序。FASTA(其包括例如程序FASTA2和FASTA3)提供询问和搜寻序列间的最佳重叠区域的比对和百分比序列同一性(参见例如Pearson,Methods Enzymol.183:63-98(1990);Pearson,Methods Mol.Biol.132:185-219(2000);Pearson,Methods Enzymol.266:227-258(1996);和Pearson,J.Mol.Biol.276:71-84(1998);其通过引用并入本文)。除非另有规定,使用特定程序或算法的默认参数。例如,核酸序列间的百分比序列同一性可以使用FASTA以其默认参数(6的字长度和用于评分矩阵的NOPAM因子)测定或使用Gap以其默认参数测定(如于GCG版本6.1中提供的,其通过引用并

入本文)。

[0637] 在一个方面,本发明提供包含选自由以下所组成的组的核苷酸序列的核酸分子: SEQ ID NO:1、2、13、14、26、27、36、37、46、47、56、57、66、67、76、77、86、87、96、97、106、107、116、117、126、127、136、137、146、147、156、157、166、167、176、177、186、187、196、197、206、207、216、217、226、和227。本发明也提供包含与所述核苷酸序列中的任一种至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%相同的核苷酸序列的核酸分子。

[0638] 在任何上述实施方案中,核酸分子可以是分离的。编码本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的重链和/或轻链的核酸分子可以自任何产生此类抗体或部分的来源分离。在各种实施方案中,核酸分子自表达从用人TIM-3抗原免疫的动物分离的抗TIM-3抗体的B细胞分离或从自此类B细胞产生的永生化细胞分离。分离编码抗体的核酸的方法是本领域公知的。可以分离mRNA并将其用于产生cDNA,以用于抗体基因的聚合酶链式反应(PCR)或cDNA克隆中。在某些实施方案中,可以合成而非分离本发明的核酸分子。

[0639] 在一些实施方案中,本发明的核酸分子可以包含以符合读码框的方式与编码来自任何来源的重链恒定区的核苷酸序列连接的、编码来自本发明的抗TIM-3抗体或抗原结合部分的VH域的核苷酸序列。类似地,本发明的核酸分子可以包含以符合读码框的方式与编码来自任何来源的轻链恒定区的核苷酸序列连接的、编码来自本发明的抗TIM-3抗体或抗原结合部分的VL域的核苷酸序列。

[0640] 在本发明的进一步方面中,可以将编码重(VH)和/或轻(VL)链的可变域的核酸分子“转化”成全长抗体基因。在一个实施方案中,可以将编码VH或VL域的核酸分子转化成长抗体基因,其通过插入已分别编码重链恒定(CH)或轻链恒定(CL)域的表达载体中,使得VH区段在载体内可操作性连接至CH区段、和/或VL区段在载体内可操作连接至CL区段。在另一个实施方案中,可以将编码VH和/或VL域的核酸分子转化成长抗体基因,其通过使用标准分子生物技术将编码VH和/或VL域的核酸分子连结(例如连接)至编码CH和/或CL域的核酸分子。然后,可以将编码全长重链和/或轻链的核酸分子从已经接受其导入的细胞表达,并且分离抗TIM-3抗体。

[0641] 可以使用核酸分子以重组表达大量的抗TIM-3抗体。也可以使用核酸分子以产生例如嵌合抗体、双特异性抗体、单链抗体、免疫粘附素、双抗体、突变抗体和抗体衍生物,如本文中描述的。

[0642] 在另一个实施方案中,本发明的核酸分子用作作用于特定抗体序列的探针或PCR引物。例如,核酸可以在诊断方法中用作探针或用作PCR引物以扩增可以使用的DNA区域以特别分离编码抗TIM-3抗体的可变域的另外的核酸分子。在一些实施方案中,核酸分子是寡核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸来自感兴趣的抗体的重链和轻链的高度可变域。在一些实施方案中,寡核苷酸编码如本文中描述的本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的一个或多个CDR的全部或部分。

[0643] 在另一个实施方案中,可以使用核酸分子和载体以生成突变抗TIM-3抗体。可以在重链和/或轻链的可变域中突变抗体,例如以改变抗体的结合特性。例如,可以在CDR的一个或多个中做出突变以增加或减少抗TIM-3抗体的 $K_D$ 、以增加或减少 $k_{off}$ 、或以改变抗体的结合特异性。在另一个实施方案中,在本发明的单克隆抗体中,在已知相较于种系被改变的氨基酸残基上做出一个或多个突变。可以在可变域的CDR或框架区中、或在恒定区中做出突

变。在优选的实施方案中,在可变域中做出突变。在一些实施方案中,在本发明的抗体或其抗原结合部分的可变域的CDR或框架区中,在已知相较于种系被改变的氨基酸残基做出一个或多个突变。

[0644] 在另一个实施方案中,将框架区突变以使得所得的框架区具有相对应种系基因的氨基酸序列。可以在框架区或恒定区中做出突变以增加抗TIM-3抗体的半衰期。参见例如PCT公开文本W0 00/09560。也可以在框架区或恒定区中做出突变以改变抗体的免疫原性和/或以提供用于与另一个分子共价或非共价结合的位点。根据本发明,单一抗体可以在可变域的CDR或框架区的任一个或多个或其恒定区中具有突变。

[0645] 在进一步的方面,本发明提供适用于表达如本文中描述的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的链之一或两者的载体。如本文中所用,术语“载体”意指核酸分子,其能够运送与其连接的另一种核酸。在一些实施方案中,载体是质粒,即可以与另外的DNA区段连接的DNA的环状双链段。在一些实施方案中,载体是病毒载体,其中可以将另外的DNA区段连接至病毒基因组中。在一些实施方案中,载体能够在接受其导入的宿主细胞内自我复制(例如具有细菌复制起点的细菌载体和附加体哺乳动物载体)。在其他实施方案中,可以将载体(例如非附加体哺乳动物载体)在导入宿主细胞后掺入宿主细胞的基因组中,并从而随着宿主基因组一起复制。此外,某些载体能够指导与其可操作连接的基因的表达。此类载体在本文中称作“重组表达载体”(或简称“表达载体”)。

[0646] 本发明提供包含编码本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的重链、本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的轻链、或本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的重链和轻链两者的核酸分子的载体。本发明进一步提供包含编码融合蛋白质、经修饰的抗体、其抗体片段、和探针的核酸分子的载体。

[0647] 在一些实施方案中,通过如下表达本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分:将编码部分或全长轻链和重链的DNA(如以上描述地获得的)插入表达载体中,使得将基因可操作连接至必要的表达控制序列,诸如转录和翻译控制序列。表达载体包括质粒、逆转录病毒、腺病毒、腺伴随病毒(AAV)、植物病毒,诸如花椰菜蚀刻病毒、烟草蚀刻病毒、粘粒、YAC、衍生自EBV的附加体等等。可以将抗体编码序列连接至载体中,使得载体内的转录和翻译控制序列发挥其调节抗体编码序列的转录和翻译的期望功能。可以选择表达载体和表达控制序列以与所使用的表达宿主细胞兼容。可以将抗体轻链编码序列和抗体重链编码序列插入分开的载体中,并且可以可操作连接至相同的或不同表达控制序列(例如启动子)。在一个实施方案中,将编码序列两者插入相同的表达载体中,并且可以可操作连接至相同的表达控制序列(例如共同启动子)、分开的相同的表达控制序列(例如启动子)、或不同表达控制序列(例如启动子)。可以通过标准方法(例如抗体基因片段和载体上的互补限制位的连接、或平端连接,如不存在限制性位点)将抗体编码序列插入表达载体中。

[0648] 方便的载体是下述载体,其编码功能性上完全人CH或CL免疫球蛋白序列、加上经工程化改造以使得可以将任何VH或VL序列容易插入和表达(如以上描述的)的适当的限制性位点。此类载体中的编码HC的基因和编码LC的基因可以含有内含子序列,其会通过稳定化相关mRNA来导致整体抗体蛋白质产量的增加。内含子序列侧翼有剪接供体和剪接受体位点,其决定RNA剪接会发生的地方。内含子序列的位置可以位于抗体链的可变或恒定区中、或当使用多个内含子时位于可变和恒定区两者中。多腺苷酸化和转录终止可以在编码区域

下游的天然染色体位置发生。重组表达载体也可以编码促进抗体链自宿主细胞分泌的信号肽。可以将抗体链基因克隆入载体中,使得将信号肽以符合读码框的方式连接至免疫球蛋白链的氨基端。信号肽可以是免疫球蛋白信号肽或异源信号肽(即来自非免疫球蛋白蛋白质的信号肽)。

[0649] 除了抗体链基因外,本发明的重组表达载体可以携带调节序列,其控制抗体链基因在宿主细胞中的表达。本领域技术人员会领会到表达载体的设计(包括调节序列的选择)可以取决于诸如以下的因素:要转化的宿主细胞的选择、期望的蛋白质的表达水平、等等。用于哺乳动物宿主细胞表达的优选的调节序列包括指导在哺乳动物细胞中的蛋白质的高水平表达的病毒元件,诸如衍生自以下的启动子和/或增强子:逆转录病毒LTR、巨细胞病毒(CMV)(诸如CMV启动子/增强子)、猿猴病毒40(SV40)(诸如SV40启动子/增强子)、腺病毒(例如腺病毒主要晚期启动子(AdMLP))、多瘤和强哺乳动物启动子,诸如天然免疫球蛋白和肌动蛋白启动子。关于病毒调节元件和其序列的进一步描述,参见例如US专利5,168,062、4,510,245和4,968,615。用于在植物中表达抗体的方法(包括启动子和载体的描述、以及植物的转化)是本领域已知的。参见例如US专利6,517,529。在细菌细胞或真菌细胞(例如酵母菌细胞)中表达多肽的方法也是本领域公知的。

[0650] 除了抗体链基因和调节性序列外,本发明的重组表达载体可以携带另外的序列,诸如调节载体在宿主细胞中的复制的序列(例如复制起点)和可选择标志物基因。可选择标志物基因促进已经接受载体导入的宿主细胞的选择(参见例如US专利4,399,216、4,634,665和5,179,017)。例如,典型地,可选择标志物基因将对药物,诸如G418、潮霉素或甲氨蝶呤的抗性赋予已经接受载体导入的宿主细胞。例如,可选择标志物基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR)基因(用于利用甲氨蝶呤选择/扩增的dhfr-宿主细胞)、neo基因(用于G418选择)、和谷氨酸合成酶基因。

[0651] 如本文中所用,术语“表达控制序列”意指对于实现与其连接的编码序列的表达和加工而言必需的多核苷酸序列。表达控制序列包括适当的转录起始、终止、启动子和增强子序列;有效的RNA加工信号,诸如剪接和多腺苷酸化信号;稳定细胞质mRNA的序列;增强翻译效率的序列(即Kozak共有序列);增强蛋白质稳定性的序列;和当期望时,增强蛋白质分泌的序列。此类控制序列的性质随宿主生物体而变化;在原核生物中,此类控制序列一般包括启动子、核糖体结合位置、和转录终止序列;在真核生物中,一般,此类控制序列包括启动子和转录终止序列。术语“控制序列”意图最少包括其存在对于表达和加工而言必需的所有组分,并且也可以包括其存在是有利的其他组分,例如前导序列和融合配偶序列。

[0652] 宿主细胞和抗体和抗体组合物生产的方法

[0653] 本发明的另外的方面涉及用于生产本发明的抗体组合物和抗体和其抗原结合部分的方法。本发明的此方面的一个实施方案涉及用于生产如在本文中定义的抗体的方法,其包括提供能够表达抗体的重组宿主细胞,在适用于抗体表达的条件下培养所述宿主细胞,并且分离所得的抗体。通过在此类重组宿主细胞中的此类表达生产的抗体在本文中称为“重组抗体”。本发明也提供此类宿主细胞的后代细胞、和由其生产的抗体。

[0654] 如本文中所用,术语“重组宿主细胞”(或简称“宿主细胞”)意指已经接受重组表达载体导入的细胞。本发明提供可以包含例如以上描述的根据本发明的载体的宿主细胞。本发明也提供包含例如编码本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的重链或其抗原结合部

分的核苷酸序列、编码本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分的轻链或其抗原结合部分的核苷酸序列、或两者的宿主细胞。应当理解“重组宿主细胞”和“宿主细胞”不仅意指特定的主题细胞而且也意指此类细胞的后代。因为某些修饰可以由于突变或环境影响而在随后的世代中发生,所以此类后代可能实际上与亲本细胞不完全相同,但仍被包括在如本文中所述的术语“宿主细胞”的范围内。

[0655] 可以将编码抗TIM-3抗体的核酸分子和包含这些核酸分子的载体用于转染合适的哺乳动物、植物、细菌或酵母菌宿主细胞。转化可以通过任何已知用于将多核苷酸导入宿主细胞中的方法进行。将异源多核苷酸导入哺乳动物细胞中的方法是本领域公知的且包括葡聚糖介导的转染、磷酸钙沉淀、聚凝胺(Polybrene)介导的转染、原生质体融合、电穿孔、将多核苷酸包裹于脂质粒中、和将DNA直接微注射至细胞核中。此外,可以通过病毒载体将核酸分子导入哺乳动物细胞中。转化细胞的方法是本领域公知的。参见例如US专利4,399,216、4,912,040、4,740,461、和4,959,455。转化植物细胞的方法是本领域公知的,包括例如土壤杆菌介导的转化、生物射弹转化(biolistic transformation)、直接注射、电穿孔和病毒转化。转化细菌和酵母菌细胞的方法也是本领域公知的。

[0656] 作为表达宿主可获得的哺乳动物细胞系是本领域公知的并且包括许多可得自美国典型培养物保藏中心(ATCC)的永生化细胞系。这些特别包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、NS0细胞、SP2细胞、HEK-293T细胞、293Freestyle细胞(Invitrogen)、NIH-3T3细胞、HeLa细胞、幼仓鼠肾脏(BHK)细胞、非洲绿猴肾脏细胞(COS)、人肝细胞癌细胞(例如Hep G2)、A549细胞、和许多其他细胞系。通过测定哪个细胞系具有高表达水平选择特别优选的细胞系。可以使用的其他细胞系是昆虫细胞系(诸如Sf9或Sf21细胞)。当将编码抗体基因的重组表达载体导入哺乳动物宿主细胞中时,通过培养宿主细胞一段时间生产抗体,该时间段足以允许抗体在宿主细胞中的表达或更优选将抗体分泌至培养宿主细胞的培养基。可以自培养基使用标准蛋白质纯化方法回收抗体。植物宿主细胞包括例如烟草属(Nicotiana)、拟南芥属(Arabidopsis)、浮萍、玉米、小麦、马铃薯、等等。细菌宿主细胞包括大肠杆菌(E.coli)和链霉菌属(Streptomyces)物种。酵母宿主细胞包括粟酒裂殖酵母(Schizosaccharomyces pombe)、酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)和巴斯德毕赤酵母(Pichia pastoris)。

[0657] 此外,可以使用许多已知技术增强本发明的抗体或其抗原结合部分自生产细胞系的表达。例如,谷氨酰胺合成酶基因表达系统(GS系统)是用于在某些条件下增强表达的常见方法。GS系统结合EP专利0 216 846、0 256 055、0 323 997和0 338 841完整或部分讨论。

[0658] 有可能的是由不同细胞系或转基因动物中表达的抗体会具有彼此不同的糖基化模式。然而,由本文提供的核酸分子编码或包含本文提供的氨基酸序列的所有抗体都是本发明的部分,无论抗体的糖基化状态,且更一般而言,无论翻译后修饰存在或不存在。

[0659] 药物组合物

[0660] 本发明的另一个方面是药物组合物,其包含本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分、双特异性结合分子、或抗TIM-3抗体组合物作为活性成分(或作为唯一的活性成分)。药物组合物可以包含任何如本文中描述的抗TIM-3抗体组合物、双特异性结合分子、或抗体或其抗原结合部分。在一些实施方案中,组合物系意图用于改善、预防、和/或治疗TIM-3相关的病症(例如特征在于TIM-3或其任何配体的过表达或过度活性的病症)和/或癌症。在一

些实施方案中,组合物意图用于活化免疫系统。在某些实施方案中,组合物意图用于改善、预防、和/或治疗源于诸如皮肤、肺、肠、卵巢、脑、前列腺、肾脏、软组织、造血系统、头和颈、肝脏、膀胱、乳房、胃、子宫和胰腺的组织的癌症。

[0661] 一般而言,本发明的抗体或其抗原结合部分或本发明的双特异性结合分子适用于以配制剂的形式结合一或多个药学可接受的赋形剂(例如如以下描述者)施用。

[0662] 本发明的药物组合物会包含一种或多种本发明的抗TIM-3抗体或结合部分、或双特异性结合分子,例如一种或两种抗TIM-3抗体或结合部分或双特异性结合分子。在一个实施方案中,组合物包含本发明的单一抗TIM-3抗体或其结合部分。

[0663] 在另一个实施方案中,药物组合物可以包含至少一种抗TIM-3抗体或其抗原结合部分,例如一种抗TIM-3抗体或部分、或一种双特异性结合分子、和一或多种靶向一或多种相关细胞表面受体(例如一或多种癌症相关的受体)的另外的抗体。

[0664] 如本文中所用,术语“赋形剂”描述本发明的化合物以外的任何成分。赋形剂的选择在很大程度上会取决于诸如以下的因素:特定的施用模式、赋形剂对溶解度和稳定性的效果、和剂量形式的特性。如本文中所用,“药学可接受的赋形剂”包括生理上相容的任何及所有溶剂、分散基质、涂层、抗菌剂和抗真菌剂、等张剂和吸收延迟剂等等。药学可接受的赋形剂的一些实例是水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、右旋糖、甘油、乙醇等等、以及其组合。在许多情况中,在组合物中包括等张剂,例如糖、多元醇,诸如甘露醇、山梨醇、或氯化钠会是优选的。药学可接受的物质的另外的实例是湿润剂或微量的辅助物质,诸如湿润剂或乳化剂、防腐剂或缓冲剂,其增加抗体的货架期或有效性。

[0665] 本发明的药物组合物和其制备方法对本领域技术人员而言会是容易明显的。此类组合物和其制备方法可以在例如Remington's Pharmaceutical Sciences,第19版(Mack Publishing Company,1995)中找到。优选地,在GMP(良好制造实践)条件下生产药物组合物。

[0666] 可以散装、呈单一单位剂量、或呈多个单一单位剂量制备、包装、或出售本发明的药物组合物。如本文中所用,“单位剂量”是离散量的药物组合物,其包含预确定量的活性成分。活性成分的量一般等于会对受试者施用的活性成分的剂量或此类剂量的方便的分,诸如例如此类剂量的一半或三分之一。

[0667] 可以对本发明的抗体和抗原结合部分适当采用本领域公认的任何用于施用肽、蛋白质或抗体的方法。

[0668] 本发明的药物组合物典型地适用于胃肠外施用。如本文中所用,药物组合物的“胃肠外施用”包括任何特征在于以下的施用途径:物理突破受试者的组织并经由组织中的突破口施用药物组合物,因此一般导致直接施用至血流中、至肌肉中、或至内部器官中。因此,胃肠外施用包括但不限于通过注射组合物、通过经由手术切口施用组合物、通过经由穿透组织的非手术伤口施用组合物等来施用药物组合物。特别地,设想到胃肠外施用包括但不限于皮下、腹膜内、肌肉内、胸骨内、静脉内、动脉内、鞘内、室内、尿道内、颅内、和滑膜内注射或输注;和肾透析输注技术。也设想到区域性灌注。特别的实施方案包括静脉内和皮下途径。

[0669] 典型地,适用于胃肠外施用的药物组合物的配制剂包含活性成分组合药学可接受的载剂诸如无菌水或无菌等张盐水。可以适用于推注施用(bolus administration)或连续

施用的形式制备、包装、或出售此类配制剂。可以单位剂量形式,诸如在含有防腐剂的安瓿或多剂容器中制备、包装、或出售可注射配制剂。用于胃肠外施用的配制剂包括但不限于悬浮液、溶液、在油性或水性媒介物中的乳剂、糊剂等。此类配制剂可以进一步包含一种或多种另外的成分,包括但不限于悬浮剂、稳定剂、或分散体。在用于胃肠外施用的配制剂的一个实施方案中,活性成分以干燥(即粉末或颗粒状)形式提供以用于在胃肠外施用重建组合前以适合的媒介物(例如无菌无热原水)重建。胃肠外配制剂也包括水溶液,其可以含有赋形剂,诸如盐、碳水化合物和缓冲剂(优选至3至9的pH),但对于一些应用它们可以更合适配制成无菌非水溶液或成干燥形式以结合适合的媒介物诸如无菌无热原水使用。例示性胃肠外施用形式包括在无菌水溶液,例如丙二醇或右旋糖水溶液中的溶液或悬浮液。若期望的话,可以适当缓冲此类剂量形式。其他有用的胃肠外施用的配制剂包括包含呈微晶体形式、或呈脂质粒制剂的活性成分的配制剂。可以配制用于胃肠外施用的配制剂以变为立即和/或修饰释放。修饰释放配制剂包括延迟、持续、脉冲、控制、靶向和程序化释放。

[0670] 例如,在一个方面,可以通过如下制备无菌可注射溶液:将需要量的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分、双特异性结合分子、或抗TIM-3抗体组合物及以上列举的成分之一或组合(按需要)掺入适当的溶剂中,接着过滤灭菌。一般而言,通过将活性化合物掺入含有基础分散介质和所需要的来自以上列举的那些的其他成分的无菌媒介物中制备分散体。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥,其产生来自其先前经无菌过滤的溶液的活性成分加上任何其他期望成分的粉末。可以通过例如使用涂层,诸如卵磷脂、维持需要的粒度(在分散体的情况下)及使用表面活性剂维持溶液的适当的流动性。可以通过在组合物中包括延迟吸收的剂,例如单硬脂酸盐和明胶、和/或使用修饰释放涂层(例如缓释涂层)得到可注射组合物的延长吸收。

[0671] 也可以鼻内施用或通过吸入施用本发明的抗体,典型地以来自干燥粉末吸入器的干燥粉末(单独、呈混合物、或呈混合的组分颗粒,例如与适合的药学可接受的赋形剂混合)的形式、有或无合适的推进剂使用的来自加压容器、泵、喷雾、雾化器(优选为使用电流体动力学以生产细雾的雾化器)、或喷雾器的气溶胶喷雾、或呈鼻滴剂。

[0672] 加压容器、泵、喷雾、雾化器、或喷雾器一般含有本发明的抗体的溶液或悬浮液,其包含例如适用于分散、溶解、或延长释放活性物的试剂、推进剂,作为溶剂。

[0673] 在以干燥粉末或悬浮液配制剂使用前,一般将药物产品微粉化至适用于通过吸入递送的大小(典型地小于5微米)。这可以通过任何适当的粉碎方法,诸如螺旋喷射研磨、流体床喷射研磨、超临界流体加工以形成纳米颗粒、高压均质化、或喷雾干燥实现。

[0674] 可以将用于吸入器或吹入器的胶囊、泡壳(b blister)和药筒配制成含有本发明的化合物的粉末混合物、适合的粉末基底和性能修饰剂。

[0675] 用于雾化器使用电流体动力学以生产细雾的适合的溶液配制剂可以每次致动含有适合剂量的本发明的抗体,并且致动体积可以例如从1 $\mu$ L至100 $\mu$ L变化。

[0676] 可以将合适的风味诸如薄荷脑和左薄荷脑或甜味剂诸如糖精或糖精钠加至意图用于吸入/鼻内施用的本发明的那些配制剂。

[0677] 可以将用于吸入/鼻内施用的配制剂配制成立即和/或修饰释放。修饰释放配制剂包括延迟、持续、脉冲、控制、靶向和程序化释放。

[0678] 在干燥粉末吸入器和气溶胶的情况下,通过递送计量量的阀确认剂量单位。典型

安排根据本发明的单位以施用定量剂量或“喷烟(puff)”的本发明的抗体。每日总剂量典型会以单剂施用或(更通常)于一整天以分开的剂量施用。

[0679] 也可以配制本发明的抗体和抗体部分以用于口服途径施用。口服施用可以涉及吞咽,使得化合物进入胃肠道、和/或颊部、舌部、或舌下施用,藉其该化合物直接自口部进入血流。

[0680] 适用于口服施用的配制剂包括固体、半固体和液体系统,诸如锭剂;含有多微粒(multiple-particulate)或纳米微粒、液体、或粉末的软或硬胶囊;锭剂(包括填充液体的);咀嚼物;凝胶;快速分散剂量形式;薄膜;卵形剂(ovule);喷雾;和颊部/粘膜粘着贴片。

[0681] 液体配制剂包括悬浮液、溶液、糖浆剂和酏剂。可以利用此类配制剂作为软或硬胶囊(例如从明胶或羟丙基甲基纤维素生成)中的填充物,并且典型包含载体,例如水、乙醇、聚乙二醇、丙二醇、甲基纤维素、或适合的油、和一或多种乳化剂和/或悬浮剂。也可以通过重建固体(例如从囊剂(sachet))制备液体配制剂。

[0682] 本发明的抗体和组合物的治疗用途

[0683] 在一个方面,本发明的抗TIM-3抗体和其抗原结合部分、抗TIM-3组合物、和双特异性结合分子可以用于在有此需要的人中增强或活化免疫系统。在一些实施方案中,患者具有特征在于TIM-3或其任何配体的过表达或过度活性的状况。在一些实施方案中,患者是免疫抑制的。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合部分、组合物、或双特异性结合分子用于治疗癌症,例如源于诸如皮肤、肺、肠、卵巢、脑、前列腺、肾脏、软组织、造血系统、头和颈、肝脏、膀胱、乳房、胃、子宫和胰腺的组织的癌症、和任何依赖TIM-3活性和/或其中患者表达或过表达半乳凝素-9、磷脂酰丝氨酸、CEACAM-1和/或HMGB-1的癌症或其他状况。通过本发明的抗TIM-3抗体、其抗原结合部分、抗TIM-3抗体组合物、和/或双特异性结合分子治疗的癌症可以包括例如黑素瘤、非小细胞肺癌、结肠直肠癌、肾细胞癌、白血病(例如急性髓样白血病)、和实体瘤(例如晚期或转移性实体瘤)。

[0684] 在一些实施方案中,通过本发明的抗TIM-3抗体、抗原结合部分、抗TIM-3组合物、和/或双特异性结合分子治疗的癌症可以包括例如黑素瘤(例如晚期或转移性黑素瘤)、非小细胞肺癌、头和颈鳞状细胞癌、肾细胞癌、何杰金氏淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤、胶质母细胞瘤、胶质瘤、鳞状细胞肺癌、小细胞肺癌、肝细胞癌、膀胱癌、上尿道癌、食道癌、胃食道接合癌(gastroesophageal junction cancer)、胃癌、肝癌、结肠癌、结肠直肠癌、多发性骨髓瘤、肉瘤、急性髓样白血病、慢性髓样白血病、骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome)、鼻咽癌、慢性淋巴细胞性白血病、急性成淋巴细胞性白血病(acute lymphoblastic leukemia)、小淋巴细胞性淋巴瘤、卵巢癌、胃肠癌、原发性腹膜癌、输卵管癌、泌尿上皮癌、与HTLV有关的T细胞白血病/淋巴瘤、前列腺癌、生殖泌尿癌、脑膜瘤、肾上腺皮质癌、神经胶质肉瘤、纤维肉瘤、肾癌、乳腺癌、胰腺癌、子宫内膜癌、皮肤基底细胞癌、阑尾癌症、胆道癌、唾液腺癌、晚期Merkel细胞癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡淋巴瘤、间皮瘤、和实体瘤。

[0685] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合部分、组合物、或双特异性结合分子用于治疗病毒和/或寄生性感染,例如在病原体抑制宿主免疫反应的情况下。

[0686] “治疗”和“处理”指减轻或消除生物病症和/或其至少一种伴随症状的方法。如本文中所用,“减轻”疾病、病症或状况意指减少疾病、病症、或状况的症状的严重性和/或发生

频率。此外,本文中提及“治疗”时包括提及治愈性、缓和性和预防性治疗。

[0687] “治疗有效量”指会在一定程度上减轻所治疗的病症的一个或多个症状的所施用的治疗剂的量。抗癌症治疗剂的治疗有效量例如可以导致肿瘤缩小、增加的存活、癌细胞的消除、减少的疾病进展、转移的逆转、或健康护理专业人员期望的其它临床终点。

[0688] 本发明的抗体组合物或抗体或其抗原结合部分可以单独施用或与一种或多种其他药物或抗体(或为其任何组合)组合施用。因此,本发明的药物组合物、方法和用途也涵盖与其他活性剂的组合(共施用)的实施方案,如以下详细叙述的。

[0689] 如本文中所用,当提及本发明的抗体组合物、抗体和其抗原结合部分、和双特异性结合分子以及一或多种其他治疗剂时,术语“共施用”和“组合”意图意指且确实指并包括以下各项:

[0690] -将本发明的抗体组合物/抗体/抗原结合部分/双特异性结合分子及治疗剂的此类组合同时施用至需要治疗的患者,当将此类组分配制成基本上同时将所述组分释放至该患者的单一剂量形式时,

[0691] -将本发明的抗体组合物/抗体/抗原结合部分/双特异性结合分子及治疗剂的此类组合基本上同时施用至需要治疗的患者,当将此类组分彼此分开配制成基本上同时被所述患者摄取的分开的剂量形式,因此将所述组分基本上同时释放至所述患者时,

[0692] -将本发明的抗体组合物/抗体/抗原结合部分/双特异性结合分子及治疗剂的如此组合相继施用至需要治疗的患者,当将此类组分彼此分开配制成被该患者在连续的时间摄取且在每次施用之间有相当长的时间间隔的分开的剂量形式,因此将所述组分于基本上不同的时间释放至所述患者时;和

[0693] -将本发明的抗体组合物/抗体/抗原结合部分/双特异性结合分子及治疗剂的如此组合相继施用至需要治疗的患者,当将此类组分配制成以控制方式释放组分的单一剂量形式,因此其以相同和/或不同的时间同时、连续、和/或重叠释放至该患者时,其中每个部分可以通过相同或不同的途径施用。

[0694] 可以在无另外的治疗性治疗下(即作为单独的治疗)施用本发明的抗体组合物、抗体和其抗原结合部分、和双特异性结合分子。或者,使用本发明的抗体组合物和抗体和其抗原结合部分的治疗可以包括至少一种另外的治疗性治疗(组合法)。在一些实施方案中,抗体组合物或抗体或其抗原结合部分可以与另一种药/药物共施用或配制以用于治疗癌症。另外的治疗性治疗可以包含例如化学治疗剂、抗赘生物剂、或抗血管生成剂、不同抗癌抗体、和/或放射性疗法。

[0695] 通过组合本发明的抗体组合物、抗体或抗原结合部分、或双特异性结合分子与已知诱导癌细胞的终末分化的试剂,可以进一步改善效果。此类化合物可以例如选自自由以下组成的组:视黄酸、反式-视黄酸、顺式-视黄酸、苯丁酸盐、神经生长因子、二甲亚砜、活性形式维生素D3、过氧化物酶体增殖物活化性受体 $\gamma$ 、12-O-十四酰基佛波醇13-醋酸酯、六亚甲基-双-乙酰胺、转化生长因子 $\beta$ 、丁酸、环AMP、和维司力农(vesnarinone)。在一些实施方案中,化合物选自自由视黄酸、苯丁酸盐、全反式-视黄酸和活性形式维生素D所组成的组。

[0696] 包含本发明的抗TIM-3抗体组合物、抗TIM-3抗体或其抗原结合部分、或双特异性结合分子与至少一种其他试剂(例如化学治疗剂、抗赘生物剂、或抗血管生成剂)的药物制品可以用作用于癌症疗法中同时、分开或相继施用的组合治疗。其他试剂可以是适合于治

疗所讨论的特定癌症的任何试剂,例如选自以下组成的组的试剂:烷化剂,例如铂衍生物,诸如顺铂、卡铂和/或奥沙利铂(oxaliplatin);植物生物碱(plant alkoids),例如紫杉醇(paclitaxel)、多西他赛(docetaxel)和/或伊立替康(irinotecan);抗肿瘤抗生素,例如多柔比星(阿霉素)、道诺霉素、表柔比星(epirubicin)、伊达比星(idarubicin)米托蒽醌(mitoxantrone)、更生霉素、博来霉素、放线菌素、藤黄霉素(luteomycin)、和/或丝裂霉素;拓扑异构酶抑制剂,诸如托泊替康(topotecan);和/或抗代谢物,例如氟尿嘧啶和/或其他氟嘧啶。

[0697] 本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分、双特异性结合分子、或抗TIM-3抗体组合物也与诸如疫苗、细胞因子、酶抑制剂和T细胞疗法的其他抗癌疗法组合使用。在疫苗的情况下,它可以例如是含有一或多种与所治疗的癌症相关的抗原的蛋白质、肽或DNA疫苗、或包含树突细胞以及抗原的疫苗。合适的细胞因子包括例如IL-2、IFN- $\gamma$ 和GM-CSF。一类具有抗癌活性的酶抑制剂的实例是吡哆胺-2,3-加双氧酶(IDO)抑制剂,例如1-甲基-D-色氨酸(1-D-MT)。过继性T细胞疗法指各种涉及扩展或工程化改造患者自身的T细胞以识别并攻击其肿瘤的免疫疗法技术。

[0698] 也设想到本发明的抗TIM-3抗体或其抗原结合部分、双特异性结合分子、或抗TIM-3抗体组合物可以用于与酪氨酸激酶抑制剂结合的辅助疗法中。这些是合成性且主要衍生自喹唑啉的低分子量分子,其与受体的细胞内酪氨酸激酶域相互作用并通过竞争细胞内Mg-ATP结合位置而抑制配体诱导性受体磷酸化。

[0699] 在一些实施方案中,抗体组合物、双特异性结合分子、或抗体或其抗原结合部分可以与包括但不限于介导下列各项的表达或活性的试剂的另一种介导免疫系统活化的药/药物组合使用:A2AR、BLTA、B7-H3、B7-H4、CTLA-4、CD27、CD28、CD39、CD40、CD55、CD73、CD122、CD137、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、CTLA-3、CEACAM(例如CEACAM-1和/或CEACAM-5)、半乳凝素-9、GITR、HVEM、ICOS、IDO、KIR、LAIR1、LAG-3、NKG2A、OX40、PD-1/PD-L1/PD-L2、TIGIT、TGFR- $\beta$ 、TNFR2、VISTA和/或2B4。在某些实施方案中,试剂是与以上分子之一结合的抗体或其抗原结合片段。

[0700] 在某些方面,本发明的抗体和抗原结合部分、组合物、和双特异性结合分子可以与另一种TIM-3途径抑制剂组合施用,所述抑制剂可以靶向TIM-3或其一种或多种配体。此类抑制剂的实例包括其他抗TIM-3抗体和靶向TIM-3配体和/或共受体(诸如半乳凝素-9、HMGB-1、磷脂酰丝氨酸脂质、CEACAM1、LILRA1-6、或LILRB1-5)的抗体。

[0701] 应当理解本发明的抗体组合物、双特异性结合分子、和抗体和其抗原结合部分可以用于如本文中描述的治疗方法、可用于如本文中描述的治疗、和/或可用于生产用于如本文中描述的治疗的药物。

[0702] 剂量和施用途径

[0703] 本发明的抗体组合物会以对于治疗所讨论的状况有效的量(即以期望的结果所必需的剂量和时段)施用。治疗有效量可以随诸如以下的因素变化:所治疗的特定状况、患者的年龄、性别和重量、和抗体是否作为单独的治疗施用或与一种或多种另外的抗癌治疗组合施用。

[0704] 可以调整剂量方案以提供最佳的期望响应。例如,可以施用单一推注,可以随时间施用数个分开的剂量或可以按治疗状况的紧迫性所指示的成比例地减少或增加剂量。特别

有利的是为了施用的容易性和剂量的同一性以剂量单位形式配制胃肠外组合物。如本文中所示,剂量单位形式指物理上离散的单位,其适合作为用于治疗的患者/受试者的单位剂量;每个单位含有经计算以产生期望治疗功效的预确定量的活性化合物结合所期望的药用载体。本发明的剂量单位形式的规格一般通过以下各项支配且直接取决于以下各项:(a)化学治疗剂的独特特征和要实现的特定治疗或预防效果和(b)复合此类活性化合物以用于处理个体敏感性的本领域固有的限制。

[0705] 因此,基于本文中提供的公开内容,熟练技术人员会领会到根据治疗领域中公知的方法调整剂量和给药方案。也就是说,可以容易建立最大可容忍剂量,并且也可以测定对患者提供可检测的治疗益处的有效量,也可以测定施用每种试剂以对患者提供可检测的治疗益处的时间需求。因此,虽然本文中例示了某些剂量和施用方案,但是这些实例绝不限制可以在实施本发明中给患者提供的剂量和施用方案。

[0706] 应当注意剂量值可以随要减轻的状况的类型和严重性而变化,并且可以包括单剂或多剂。应当进一步理解对于特定的受试者,应当根据个体的需求和施用组合物或监督组合物的施用的人员的专业判断随时间调节特定的剂量方案,并且本文中提出的剂量范围仅是例示性且非意图限制体现的组合物的范围或实施。此外,使用本发明的组合物的剂量方案可以基于极其多种因素,包括疾病的类型、患者的年龄、重量、性别、医疗状况、状况的严重性、施用途径、和所利用的特定抗体。因此,剂量方案可以广泛变化,但是可以使用标准方法常规测定。例如,可以基于药动学或药效学参数调节剂量,所述参数可以包括临床效果,诸如毒性效果和/或实验室值。因此,本发明涵盖如由熟练技术人员测定的患者内剂量升高。测定合适的剂量和方案是相关领域中公知的,并且一旦提供本文中公开的教导后熟练技术人员会理解是涵盖在内的。

[0707] 本发明的抗体组合物的合适剂量会于以下范围内:0.1-100mg/kg,诸如约0.5-50mg/kg,例如约1-20mg/kg。该抗体组合物可例如以以下剂量施用:至少0.25mg/kg,例如至少0.5mg/kg,诸如至少1mg/kg,例如至少1.5mg/kg,诸如至少2mg/kg,例如至少3mg/kg,诸如至少4mg/kg,例如至少5mg/kg;和例如至多达50mg/kg,诸如至多达30mg/kg,例如至多达20mg/kg,诸如至多达15mg/kg。施用通常会以适合的间隔重复,例如每周一次、每两周一次、每三周一次、或每四周一次,且会持续负责的医生认为适当的时间,该医生任选可视需要增加或减少剂量。

[0708] 用于肿瘤疗法的有效量可以通过其在患者中稳定化疾病进展和/或改善症状,且优选逆转疾病进展,例如通过减小肿瘤大小的能力测量。本发明的抗体、抗原结合部分、双特异性结合分子、或组合物抑制癌症的能力可以通过体外测定法(例如如实施例中描述)以及对人肿瘤中的效力有预测性的合适的动物模型评估。选择合适的剂量方案以在每个特定的情况下提供最佳的治疗响应,例如以单一推注或以连续输注施用,并且可能调整剂量,如由每个情况的紧迫性指示的。

[0709] 诊断用途和组合物

[0710] 本发明的抗体和抗原结合部分也可用于诊断过程(例如体外、体内)。例如,抗体和部分可以用于检测和/或测量来自患者的样品(例如组织样品、或体液样品,诸如炎性渗出物、血液、血清、肠液、唾液、或尿液)中的TIM-3水平。合适的检测和测量方法包括免疫学方法,诸如流式细胞术、酶联免疫吸附测定法(ELISA)、化学发光测定法、放射性免疫测定法、

和免疫组织学。本发明进一步涵盖试剂盒(例如诊断试剂盒),其包含本文中描述的抗体和抗原结合部分。

[0711] 除非在本文中另有定义,结合本发明使用的科学和技术术语应当具有本领域技术人员通常理解的含义。虽然在实现或测试本发明时也可以使用与本文中描述的方法和材料类似或等同的方法和材料,但是以下描述例示性方法和材料。在矛盾的情况下,应当以本说明书(包括定义)为准。

[0712] 一般而言,结合本文中描述的细胞和组织培养、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学、分析化学、合成有机化学、医学和药物化学、及蛋白质和核酸化学和杂交使用的命名法和其技术是本领域公知且一般使用的。酶促反应和纯化技术根据生产商的说明书进行,如通常在本领域中实现或如本文中描述的。

[0713] 此外,除非上下文另外要求,单数术语应当包括复数,并且复数术语应当包括单数。贯穿本说明书和实施方案,词语“具有”和“包含”或变体应当理解成意指含有所陈述的整数或整数的组但不排除任何其他整数或整数的组。

[0714] 本文中提及的所有出版物和其他参考文献通过引用整体并入。虽然本文中引用许多文件,但是此引用并不构成承认这些文件的任一篇形成本领域中的常见公知常识。

[0715] 为了使本发明可以得到更好理解,提出以下实施例。这些实施例仅用于阐明的目的且不应解释成以任何方式限制本发明的范围。

## 实施例

[0716] 实施例1:自大鼠B细胞克隆抗TIM-3抗体。

[0717] 此实施例描述用于产生本发明的抗人TIM-3抗体的方法。也提供抗体的DNA和氨基酸序列。

[0718] 材料和方法

[0719] 自衍生自OmniRat®大鼠(Osborn等人,J Immunol.190(4):1481-90(2013))(一种来自OMT(Open Monoclonal Technology,Inc)的大鼠品系,其生成具有完全人独特型的抗体)的抗体全集(antibody repertoire)分离本发明的抗TIM-3抗体。通过Symplex™抗体发现技术(Meijer等人,J Mol Biol 358(3):764-72(2006))进行自经单细胞分选的抗体分泌性B细胞(ASC)克隆衍生自大鼠的抗体基因。

[0720] 从来自经免疫的OmniRat®大鼠(含有每个分选的B细胞的关联VH和VL编码对的文库)的经单细胞分选的B细胞制备Symplex™抗体文库。将编码呈IgG1或IgG2形式的完全人免疫球蛋白的抗体全集构建体转染至Expi293细胞中,并以高通量形式针对结合特性筛选细胞上清液。通过DNA测序分析筛选命中,并且提取编码抗体的DNA序列。表达选择的抗体克隆,并如以下描述功能测试。表1显示抗体克隆15086.15086的重链和轻链可变域核酸序列。表2显示所述抗体克隆的重链和轻链氨基酸序列,并且表4显示重链和轻链CDR氨基酸序列。表3显示IgG1重链恒定区和κ轻链恒定区的氨基酸序列。

[0721] 由于在编码抗体的cDNA片段的Symplex™克隆中使用简并引物,对某些抗体(例如抗体15086.16837、15086.17145、和15086.17144)校正重链和轻链的氨基端中的无义突变的数目。表5显示来自称为15086.16837、15086.17145、或15086.17144的经优化的抗体(这三个变体在同种型亚类上不同但具有相同的重链和轻链可变域序列)的DNA水平上的重链

和轻链可变域序列。优化过程包括匹配氨基端校正与种系以及密码子选择优化。用于与人种系序列匹配的靶物是用于重链可变域的IGHV4-31和用于轻链可变域的IGKV3-11。

[0722] 鉴定出限定不同表位仓的另外的抗体。在表9和表10中显示这些抗体的重链和轻链可变域序列。鉴定出另外的功能性抗体,并且表12和表13中显示这些的重链和轻链可变域序列。

[0723] 结果

[0724] 表1显示编码Symplex™-克隆的抗体15086.15086的DNA序列。

[0725] 表1:Symplex™-克隆的抗体15086.15086的可变域的DNA序列

	序列(5'至3')
VH DNA 序列 (SEQ ID NO:1)	CAGGTGCAGCTACAGCAGTCGGGCCCAGGACTGGTGA AGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCT GGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGTT GGACCCGTCAGCACCCAGGGATGGGCCTGGAGTGGAT TGGATACATCTCTTACAGTGGGAGTATCTATTACACTCC GTCCCTCAAGAGTCGACTTACCATATCAGTGGACACGT CTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGAC TGCCGCGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAGTTTGG ATTCCTGGGGATCTAACCGTGACTACTGGGGCCAGGG AACCTGGTCACCGTCTCGAGT
VL DNA 序列 (SEQ ID NO:2)	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTT GTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCC AGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAAC AGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGAT GCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCAT CAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACT GTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCGCTCACTTTCGGCGG AGGGACCAAGGTGGAGATTAAG

[0726] 表2显示初始的Symplex™-克隆的抗体15086.15086的经推导的蛋白质序列。CDR以粗体和斜体显示。

[0727] 表2:Symplex™-克隆的抗体15086.15086的可变域的蛋白质序列

	序列(N端至C端)
VH蛋白 质序列 (SEQ ID NO:3)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCTVSGGS <b><i>ISSGGYY</i></b> WSW TRQHPGMGLEWIGY <b><i>ISYSGSI</i></b> YYTPSLKSRLTISVDTSK NQFSLKLSSVTAADTAVYY <b><i>CASLDSWGSNRDY</i></b> WGQGT LVTVSS
VL蛋白 质序列 (SEQ ID NO:4)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS <b><i>QSVSS</i></b> YLAWYQQKP GQAPRLLIY <b><i>DASN</i></b> RATGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPE DFAVYY <b><i>CQQRSNWPL</i></b> TFGGGTKVEIK

[0728] 表3显示重链和轻链恒定区。

[0729] 表3:恒定区的蛋白质序列

[0730]	IgG1 重链 恒定区 (SEQ ID NO:5)	序列(N端至C端) ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
		κ轻链恒 定区 (SEQ ID NO:6) RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0731] 表4显示抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、和15086.17144共享的重链和轻链互补决定区(CDR)。本文的CDR序列根据针对CDR1和CDR2的IMGT®定义确定。对于重链和轻链CDR3,本文的定义包括IMGT-CDR3上游的一个额外的氨基酸残基(Cys)和下游的一个额外的氨基酸残基(对于VH CDR3是Trp,对于VL CDR3是Phe)。

[0732] 表4:抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、和15086.17144的CDR的蛋白质序列

[0733]	区域	序列(N端至C端)
[0734]	HCDR1 (SEQ ID NO:7)	GGSISSGGYY
	HCDR2 (SEQ ID NO:8)	ISYSGSI
	HCDR3 (SEQ ID NO:9)	CASLDSWGSNRDYW
	LCDR1 (SEQ ID NO:10)	QSVSSY
	LCDR2 (SEQ ID NO:11)	DAS
	LCDR3 (SEQ ID NO:12)	CQQRSNWPLTF

[0735] 表5显示编码抗体15086.16837、15086.17145、和15086.17144共享的重链和轻链可变域的经优化的DNA序列。

[0736] 表5:编码抗体15086.16837、15086.17145、和15086.17144的可变域的经优化的DNA序列

	序列(5'至3')
[0737] VH DNA 序列 (SEQ ID NO:13)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGAGTGGCCCCGGACTGGTC AAGCCTTCACAGACTCTGAGCCTGACCTGCACAGTGT CTGGCGGAAGTATCAGCTCCGGGGGTTACTATTGGAGC TGGACCCGACAGCACCCAGGAATGGGTCTGGAATGGA TCGGGTACATTTTCATATAGCGGCTCCATCTACTATACAC CCTCACTGAAAAGCAGGCTGACCATTTCGGTGGACAC ATCTAAGAACCAGTTCAGCCTGAAACTGTCTAGTGTG ACAGCCGCTGATACTGCAGTCTACTATTGTGCCTCCCT GGACTCTTGGGGCAGTAATAGAGATTACTGGGGCCAG GGA ACTCTGGTCACCGTCTCGAGT
VL DNA 序列 (SEQ ID NO:14)	GAGATCGTGCTGACTCAGTCCCCAGCCACCCTGTCAC TGAGCCCAGGAGAACGAGCAACCCTGTCTTGCAAGGC CTCCCAGTCTGTCAGTCTCCTACCTGGCTTGGTATCAGC AGAAGCCCCGGGCAGGCACCTCGACTGCTGATCTACGA CGCCAGTAACAGAGCTACCGGTATTCCCGCCCGCTTCA GTGGTTCAGGCAGCGGAACAGACTTTACCCTGACAAT CTCTAGTCTGGAGCCTGAAGATTTCCCGTGTACTATT GTCAGCAGAGGTCTAATTGGCCACTGACATTGGCGG AGGGACTAAGGTCGAGATCAAG

[0738] 表6显示抗体15086.16837、15086.17145、和15086.17144共享的经推导的重链和轻链可变域蛋白质序列。CDR以粗体和斜体显示。注意VL蛋白质序列与未经优化的VL蛋白质序列相同。

[0739] 表6:经优化的抗体15086.16837、15086.17145、和15086.17144的可变域的蛋白质序列

	序列(N端至C端)
[0740] VH蛋白 质序列 (SEQ ID NO:15)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISGGYYWSWT RQHPGMGLEWIGYISYSGSIYYTPSLKSRLTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCASLDSWGSNRDYWGQGLVT VSS
VL蛋白 质序列 (SEQ ID NO:4)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPE DFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK

[0741] 表7显示编码不同同种型形式的抗体恒定区的DNA序列。

[0742] 表7:编码不同同种型形式的抗体恒定区的DNA序列

	描述	序列(5'至3')
[0743]	IgG1-L ALA 重 链 恒 定 区 (SEQ ID NO:16)	IgG1-LAL A重链恒定 区，排除内 含子  GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC CTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA GGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCG TGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCT CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGA CCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAG CCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGC CCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGCCGG GGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCCTAAA ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC CCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGT GAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATA ATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG TACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC CTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAA CAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCC CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAG CCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACC

[0744]

		ACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTT CTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT GTCCCCGGGTAAA
IgG1-L ALA 重 链 恒 定 区 (SEQ ID NO:17)	IgG1-LAL A重链恒定 区，包括内 含子	GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC CTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA GGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC GTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCG TGCACACCTTCCCCGGCTGTCCTACAGTCCT CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGA CCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGGT GAGAGGCCAGCACAGGGAGGGAGGGTGTC TGCTGGAAGCCAGGCTCAGCGCTCCTGCCT GGACGCATCCCGGCTATGCAGTCCCAGTCC AGGGCAGCAAGGCAGGCCCGTCTGCCTC TTCACCCGGAGGCCTCTGCCCCGCCCACTC ATGCTCAGGGAGAGGGTCTTCTGGCTTTTT CCCCAGGCTCTGGGCAGGCACAGGCTAGG TGCCCCTAACCCAGGCCCTGCACACAAAG GGGCAGGTGCTGGGCTCAGACCTGCCAAG AGCCATATCCGGGAGGACCCTGCCCCTGAC CTAAGCCCACCCCAAAGGCCAACTCTCCA CTCCCTCAGCTCGGACACCTTCTCTCCTCC CAGATTCCAGTAACTCCCAATCTTCTCTCTG CAGAGCCCCAAATCTTGTGACAAA ACTCACA CATGCCACCCGTGCCAGGTAAGCCAGCCC AGGCCTCGCCCTCCAGCTCAAGGCGGGAC AGGTGCCCTAGAGTAGCCTGCATCCAGGGA CAGGCCCCAGCCGGGTGCTGACACGTCCA CCTCCATCTCTTCCTCAGCACCTGAAGccgcc GGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCA AAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGAC GTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTT CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC GTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTG AATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTC

[0745]

		CAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAAGCCAAAGGTGGGACC CGTGGGGTGGGAGGGGCCACATGGACAGAG GCCGGCTCGGCCCACCCTCTGCCCTGAGAG TGACCGCTGTACCAACCTCTGTCCCTACAG GGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACC CTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAG AACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGA GTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT CCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCT CACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATG AGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAG AGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAA
IgG4 (S228P) 重链恒定区 (SEQ ID NO:18)	IgG4 (S228P) 重 链恒定区, 排除内含子	GCTTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCC CTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAG AGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA GGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCG TGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCT CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAG ACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCC AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGA GTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCAcCATGC CCAGCACCTGAGTTCCTGGGGGGGACCATCA GTCTTCCTGTTCCCCC AAAACCCAAGGAC ACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGA AGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGT GGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCA CGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTCC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAG TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCT CCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAA AGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGG TGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGA TGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGC CTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATC GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCC GGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCG

[0746]

		TGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCT ACAGCAGGCTCACCGTGGACAAGAGCAGG TGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT AAA
IgG4 (S228P) 重链恒定区 (SEQ ID NO:19)	IgG4 (S228P) 重 链恒定区, 包括内含子	GCTTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC CTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAG AGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA GGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC GTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCG TGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCT CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAG ACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCC AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGG TGAGAGGCCAGCACAGGGAGGGAGGGTGT CTGCTGGAAGCCAGGCTCAGCCCTCCTGCC TGGACGCACCCCGGCTGTGCAGCCCCAGC CCAGGGCAGCAAGGCAGGCCCCATCTGTCT CCTCACCCGGAGGCCTCTGACCACCCACT CATGCTCAGGGAGAGGGTCTTCTGGATTTT TCCACCAGGCTCCGGGCAGCCACAGGCTG GATGCCCCTACCCAGGCCCTGaGCATACA GGGGCAGGTGCTGCGCTCAGACCTGCCAA GAGCCATATCCGGGAGGACCCTGCCCTGA CCTAAGCCCACCCCAAAGGCCAAACTCTCC ACTCCCTCAGCTCAGACACCTTCTCTCTC CCAGATCTGAGTAACTCCCAATCTTCTCTCT GCAGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCA eCATGCCCAGGTAAGCCAACCCAGGCCTCG CCCTCCAGCTCAAGGCGGGACAGGTGCCCT AGAGTAGCCTGCATCCAGGGACAGGCCCC AGCCGGGTGCTGACGCATCCACCTCCATCT CTTCCTCAGCACCTGAGTTCCTGGGGGGAC CATCAGTCTTCCTGTTCCCCC AAAACCCA AGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTG AGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTG GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCA ACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA CCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGC AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAA

[0747]

		AGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCAT CTCCAAAGCCAAAGGTGGGACCCACGGGG TGCGAGGGCCACATGGACAGAGGTCAGCT CGGCCCACCCTCTGCCCTGGGAGTGACCGC TGTGCCAACCTCTGTCCCTACAGGGCAGCC CCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCC ATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT ACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAA GACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGG CTCCTTCTTCCCTCTACAGCAGGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATG TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT GCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCT CCCTGTCTCTGGGTAAA
IgG2 重 链恒定 区 (SEQ ID NO:20)	IgG2 重链 恒定区，排 除内含子	GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC CTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAG AGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA GGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC GTGGAACCTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCG TGCACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCCT CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGA CCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAG CGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGC CCAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGT CTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAC GTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAG ACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA AAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCAC GTTCCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTTGT GCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGT ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTC CCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA ACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGT GTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGAT GACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCC TGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG GAGAACAACCTACAAGACCACACCTCCCAT

[0748]

		GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTA CAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT GGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACA CGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTA AA
IgG2 重 链恒定 区 (SEQ ID NO:21)	IgG2 重链 恒定区, 包 括内含子	GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC CTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAG AGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA GGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC GTGGA ACTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCG TGCACACCTTCCCAGCTGTCTTACAGTCCT CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGA CCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGGT GAGAGGCCAGCTCAGGGAGGGAGGGTGTC TGCTGGAAGCCAGGCTCAGCCCTCCTGCCT GGACGCACCCCGGCTGTGCAGCCCCAGCC CAGGGCAGCAAGGCAGGCCCCCATCTGTCTC CTCACCCGGAGGCCTCTGCCCCGCCCACTC ATGCTCAGGGAGAGGGTCTTCTGGCTTTTT CCACCAGGCTCCAGGCAGGCACAGGCTGG GTGCCCTACCCAGGCCCTTACACACAG GGGCAGGTGCTTGGCTCAGACCTGCCAAA AGCCATATCCGGGAGGACCCTGCCCCTGAC CTAAGCCGACCCCAAAGGCCAAACTGTCC ACTCCCTCAGCTCGGACACCTTCTCTCCTC CCAGATCCGAGTAACTCCCAATCTTCTCTCT GCAGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCCA CCGTGCCCAGGTAAGCCAGCCCAGGCCTC GCCCTCCAGCTCAAGGCGGGACAGGTGCC CTAGAGTAGCCTGCATCCAGGGACAGGCC CAGCTGGGTGCTGACACGTCCACCTCCATC TCTTCCTCAGCACCACTGTGGCAGGACCG TCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAG GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG GTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA CGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGT ACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA AGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAAC AGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCCTCACC GTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAA GGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAG

[0749]

		GCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCT CCAAAACCAAAGGTGGGACCCGCGGGGTA TGAGGGCCACATGGACAGAGGCCGGCTCG GCCACCCCTCTGCCCTGGGAGTGACCGCTG TGCCAACCTCTGTCCCTACAGGGCAGCCCC GAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTC AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAC CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG CAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGA CCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTC TTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGC ACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCC CTGTCTCCGGGTAAA
κ轻链恒 定区 (SEQ ID NO:22)		CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCT TCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTG GAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATA ACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGT GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGAC AGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAG CACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACG AGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACA AAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

[0750] 表8显示不同同种型形式的抗体恒定区的蛋白质序列。

[0751] 表8:不同同种型形式的抗体恒定区的蛋白质序列

[0752]

	序列(N端至C端)
IgG1-LALA 重链恒定区 (SEQ ID NO:23)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVHLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
IgG4 (S228P) 重	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEFL

[0753]

链恒定区 (SEQ ID NO:24)	GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
IgG2重链恒 定区 (SEQ ID NO:25)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFG TQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVV HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAIEKTISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0754] 表9显示编码用于表位框并的抗TIM-3抗体的重链和轻链可变域的DNA序列。

[0755] 表9:抗TIM-3框并抗体的可变域的DNA序列

[0756]

Ab	SEQ ID NO	序列(5'至3')
20131 VH	26	CAGGTGCAGCTACAGCAGTCTGGGGGAGGCTTGG TACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGC AGCCTCTGGATTACCTTAAGCAGCTATGCCATGA GCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGA GTGGGTCTCAGGTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCA CATACAACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTTAC CATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTTTC TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGC CGTATATTACTGTGCGAAAATTTTGGGTCCTACTA CTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACA GTCTCGAGT
20131 VL	27	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGGC TGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGC AAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCAACAA TAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCA GGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGACATC TACCCGGGAATCCGGGGTCCCTAACCGATTCAAGTG GCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATC AGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTA CTGTCAGCAATATTATAGTGGTCCTCCGACGTTTCG

[0757]

Ab	SEQ ID NO :	序列(5'至3')
		GCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
20293 VH	36	ACGTGACAGGGCGCGCCCAGGTCCAGCTGCAGGA GAGCGGTCCCGGACTGGTGAAGCCATCCCAGACA CTGAGCCTGACTTGTACTGTGAGCGGCGGTAGCAT CTCCAGCGGCGGCTACTATTGGTCCTGGATCAGGC AGCACCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCTA CATCTACTATAGCGGCTCTATCTACTATAACCCTTC CCTGAAGAGCCGGGTGACCATCTCTGTGGACACA TCCAAGAATCAGTTCTATCTGAAGCTGTCTCCGT GACCGCCGCTGATACAGCCGTGTACTATTGCGCCT CACTGATGGTCTGGGGGGTTCATGGGCGATTACTGG GGGCAGGGCACACTGGTTCACAGTCTCGAGT
20293 VL	37	GAGATTGTGCTGACCCAGTCTCCCGCCACCCTGTC TCTGAGTCCTGGCGAGAGAGCCACCCTGAGCTGC AGAGCCTCTCAGTCCGTGTCCAGCTATCTGGCCTG GTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTG CTGATCTACGATGCCTCCAATAGAGCCACCGGCAT CCCTGCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCG ACTTTACCCTGACCATCTCCAGCCTGGAACCCGAG GACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGCGGTCCG ACTGGCCTCCTACATTTGGCCAAGGCACCAAGGT GGAAATCAAG
15105 VH	46	CAGGTCACCTTGAAGGAGTGGGGCGCAGGACTGT TGAGGCCCTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCGC TGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGGTTACTACTGGA GCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGA GTGGATAGGGGAAATCAATCATAGTGGAAGCACC AACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCAT ATCAGTAGACGCGACCAAGAAACAATTCTCCCTG AAGCTGACCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTG TGTATTACTGTGCGAGATATTGGGAGCTCCCTGACT ACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCGAG T
15105 VL	47	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTC TGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCC GGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTG GTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCGC CTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGT CCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACA

[0758]

Ab	SEQ ID NO :	序列(5'至3')
		GAATTCACCTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGA AGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAG TTACCCTCCGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTG GAAATCAAG
15107 VH	56	CAGATGCAGCTGGTGCAGTGGGGCGCAGGACTGT TGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCGCT GTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGGTTACTACTGGAG CTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGATTGGGGAAATCAATCATAGTGGAAGCACCA ACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCAT GTCAGTTGACACGTCCAAGCACCAAGTTCTCCCTG AAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTG TGTATTACTGTGCGAGATGGTGGGAGCTTCCTGAC TACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGA GT
15107 VL	57	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCATCCTCCCTGTC TGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCC GGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTG GTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCGC CTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGT CCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACA GAATTCACCTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGA AGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAG TTACCCGTGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTG GAAATCAAG
15109 VH	66	CAGATGCAGCTGGTGCATGGGGCGCAGGACTGT TGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCGCT GTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGGTTACTACTGGAG CTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGATTGGGGAAATCAATCATAGTGGAAGCACCA ACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCAT TCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGA AGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGT GTATTACTGTGCGAGGTTTTACTATGCTCCGAAGTT TGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTC TCGAGT
15109 VL	67	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCTTCCACCCTGTC TGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCC GGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTTGGCCTGG

[0759]

Ab	SEQ ID NO :	序列(5'至3')
		TATCAGCAGAAACCAGGGACAGCCCCCTAAGCTCC TGATCTATAAGGCGTCTAGTTTAGAAAGTGGGGTC CCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG AATTCACCTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAT GATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGT TATTCCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGA TCAAA
15174 VH	76	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCGGGCCCAGGACTGG TGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACT GTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGTAATTACTA CTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGG CTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGAA CACCTACTACAACCCGTCCTCAAGAGTCGAGTC ACCATATCCGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACG GCTGTGTATTACTGTGCGAGACAGACAGTGGCTG GCCCCCTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCT GGTCACCGTCTCGAGT
15174 VL	77	GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCTTCCACCCTGTC TGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCC GGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTTGGCCTGG TATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGGTCC TGATCTATAAGGCGTCTAGTTTAGAAAGTGGGGTC CCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG AACTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAT GATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGT TATTCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAG
15175 VH	86	CAGGTCCAGCTGGTGCAATCTGGGGCTGAGGTGA AGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAA GGCTGCTGGATACACCTTAACCGGCTACTATATGC ACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGCCTTGA GTGGATGGGACGGATCAACCCTAACAGTGGTGGC TCAAACAATGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCA CCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCCTA CATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACG GCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAGGGTCCCCTGTA TAGCAGTGGCTGGTACGAGGGTGCTTTTGATATCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCGAGT

[0760]

Ab	SEQ ID NO :	序列(5'至3')
15175 VL	87	GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCTTCCACCCTGTC TGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCC GGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGTTGGTTGGCCTGG TATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCC TGATCTATAAGGCGTCTAGTTTAGAAAGTGGGGTC CCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG AATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAT GATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGT TATTCTCCGGGGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAA GGTGGAGATCAAG
15260 VH	96	CAGATGCAGCTACAGCAGTCAGGTCCAGGACTGG TGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCACTCACCTGTGCC ATCTCCGGGGACAGTGTCTCTAGCAACAGTGCTGC TTGGAAGTGGATCAGGCAGTCCCCATCGAGAGGC CTTGAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCA AGTGGTATTCTGCTTTTGCAGTATCTGTGAAAAGT CGAATAACCATCAACCCAGACACATCCAAGAACC AGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGACTCCCGAG GACACGGCTGTGTATTACTGTGCAAGAGAGGGTA GCAGTGGCTGGTACGGATACGTCCACCACTGGGG CCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCGAGT
15260 VL	97	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCTTCCCTGTC TGTATCTCTGGGAGAAACTGTCACCATCGAATGTC GAGCAAGTGAGGACATTTACAATGGTTTAGCATGG TATCAGCAGAAGCCAGGGAAATCTCCTCAGCTCCT GATCTATAATGCAAATAGCTTGCATACTGGGGTCCC ATCACGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGTACACAGT ATTCTCTCAAGATAAACAGCCTGCAATCTGAAGAT GTCGCAAGTTATTTCTGTCAACAGTATTACGATTAT CCTCCGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAA TCAAA
15284 VH	106	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCCAGGACTGG TGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACT GTCTCTGGTGGCTCCTTCAGCAGTAGTAGTTACTA CTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCTGGGAAGGGG CTGGAGTGGATTGGGATCTTCTATTATAGTGGGAC CACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTC ACCATATCCGCACACACGTCCAAGAGCCAGTTCTC CCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCAGACACG

[0761]

Ab	SEQ ID NO :	序列(5'至3')
		GCTGTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGAGAATATTT TGACCGGTTACTCCCCCTTTGACTACTGGGGCCAGG GAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT
15284 VL	107	GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCATCCTTCCTGTC TGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCC GGGCCAGTCAGGGCATTAGCAGTTATTTAGCCTGG TATCAGCAAAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCC TGATCTATGCTGCATCCACTTTGGAAAGTGGGGTC CCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG AATTCATCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAA GATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGCTTAATAGT TACCCATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
15299 VH	116	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGG TACAGCCGGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTAC AGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGA GCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGA GTGGGTCTCAGCTATTGGTGGTAGTGGTGGTAGCA CATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCAC CATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATC TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGC CGTATATTACTGTGTGAAAGATGGGGCAGGAGGCT TTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT CTCGAGT
15299 VL	117	GATATTGTGATGACGCAGTCTTCATCCTCCCTGTCT GCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCG GGCAAGTCAGGGCATTATAAATCATTTAGGCTGGT ATCAGCATAAACCAGGGAAAGCCCCCTAATCGCCTA ATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCC ATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAA TTCATCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGA TTTTGCAACTTATTACTGTCTACGGCATAATAGTTA CCCTCCGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA ATCAAG
15353 VH	126	CAGGTGCAGCTACAGCAGTCGGGCCCAGGACTGG TGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTGCACT GTCTCTGGTGGCTCCATCAACAGTGGTGGTCACTA CTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAGGGGC CTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAG

[0762]

Ab	SEQ ID NO :	序列(5'至3')
		CATCTACTACAACCCGTCCTCAAGAGTCGACTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGTTATTACTATGCCAGTAGTGGTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCGAGT
15353 VL	127	GAAACGACACTCACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCCGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
15354 VH	136	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCGGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTACAGCCTCTGGATTACCTTTAGTAATTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTTCGTGGTGGTAGCACATTCTTCGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAGCACGCTGTATCTGCAAACGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGGGGGCCCGTTGTATAA CTGGAACGACGGTGATGGTTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACAGTCTCGAGT
15354 VL	137	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCCTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGTATGATACTGGCCTCCGTGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
17244 VH	146	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGC

[0763]

Ab	SEQ ID NO :	序列(5'至3')
		AGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGACCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTTCATACATTAGTGGTGGTGGTGGTTCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCACTCTCCAGGGACAACGCCAAGAAGTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTTTATTTCTGTGCGAGAGGGAACTGGGGATCGGCGGCTCTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCAACGGTCTCGAGT
17244 VL	147	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCATCCTCACTGTC TGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTC GGGCGAGTCAGGGCATTAAACAATTATTTAGCCTGG TTTCAGCAGAAACCAGGGAGAGCCCCCTAAGTCCC TGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTC CCATCGAAGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAA GATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGT TACCCTCCAACCTCTCGGCCCTGGGACCAACGTGGA TATCAAA
17245 VH	156	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGG TACAGCCGGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTAC AGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGA GCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTGGTGGTAGTGGTGGTAGCG CATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCAC CATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATC TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGC CGTATATTACTGTGTGAAAGATGGGGCAGGAGGCT TTGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTCACCGT CTCGAGT
17245 VL	157	GACATCCAGTTGACCCAGTCCCCATCCTCCCTGTC TGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCC GGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATCATTTAGGCTGG TATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCGCC TAATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTC CCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG AATTCCTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAA GATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGT TACCCTCCGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGG

[0764]

Ab	SEQ ID NO :	序列(5'至3')
		AAATCAAG

[0765] 表10显示用于表位框并(epitope binning)的抗TIM-3抗体的经推导的重链和轻链可变域蛋白质序列。CDR以粗体和斜体显示。

[0766] 表10:抗TIM-3框并抗体的可变域的蛋白质序列

[0767]

Ab	SEQ ID NO:	序列(N端至C端)
20131 VH	28	QVQLQQSGGGLVQPGGSLRLSCAAS <b>GFTLSS</b> YAMS WVRQAPGKGLEWVSG <b>ISGSGGST</b> YNADSVKGRFTI SRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYY <b>CAKIFGSYYF</b> <b>DYWGQGTLVTVSS</b>
20131 VL	29	EIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS <b>QSVLYSSNKN</b> <b>Y</b> LAWYQQKPGQPPLLIY <b>WT</b> STRESGVPNRFSGSG SGTDFTLTISLQAEDVAVYY <b>CQQYSGPPTFG</b> QGT KVEIK
20293 VH	38	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVS <b>GGSISSGGYYW</b> SWIRQHPGKGLEWIGY <b>IYYSGSI</b> YYNPSLKSRVTISV DTSKNQFYLLKSSVTAADTAVYY <b>CASLMVWGVMG</b> <b>DYWGQGTLVTVSS</b>
20293 VL	39	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS <b>QSVSSY</b> LAWYQ QKPGQAPRLLIY <b>DASN</b> RATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYY <b>CQQRSDWPPTFG</b> QGTKVEIK
15105 VH	48	QVTLKEWGAGLLRPSETLSLTCAVY <b>GGSFSGYYWS</b> WIRQPPGKGLEWIGE <b>INHSGST</b> NYNPSLKSRVTISV DATKKQFSLKLTSVTAADTAVYY <b>CARYWELPDYWG</b> <b>QGTLVTVSS</b>
15105 VL	49	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS <b>QGIRND</b> LGWY QQKPGKAPKRLIY <b>AASSLQ</b> SGVPSRFSGSGSGTEFT LTISSLQPEDFATYY <b>CLQHNSYPPTFG</b> QGTKVEIK
15107 VH	58	QMQLVQWGAGLLKPSETLSLTCAVY <b>GGSFSGYYW</b> SWIRQPPGKGLEWIGE <b>INHSGST</b> NYNPSLKSRVTMS VDTSKHQFSLKLSSVTAADTAVYY <b>CARWWELPDY</b> <b>WGQGTLVTVSS</b>
15107 VL	59	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS <b>QGIRND</b> LGWY QQKPGKAPKRLIY <b>AASSLQ</b> SGVPSRFSGSGSGTEFT

[0768]

Ab	SE Q ID NO:	序列(N端至C端)
		LTISLQPEDFATYY <b>CLQHNSYPWTF</b> GQGGTKVEIK
15109 VH	68	QMQLVQWGAGLLKPSETLSLTCAVY <b>GGSFSGYYW</b> SWIRQPPGKGLEWIGE <b>INHSGST</b> NYNPSLKSRTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY <b>CARFYYAPNFD</b> <b>YW</b> GQGGLTVTVSS
15109 VL	69	EIVLTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS <b>QSISSW</b> LAWYQ QKPGTAPKLLIY <b>KASS</b> LESGVPSRFSGSGSGTEFTLI SSLQPDDFATYY <b>CQQYNSYSTF</b> GGGGTKVEIK
15174 VH	78	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVS <b>GGSISSSNYYW</b> GWIRQPPGKGLEWIGS <b>IYYS</b> GNTYYNPSLKSRTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY <b>CARQTVAGPLF</b> <b>DY</b> WGQGLTVTVSS
15174 VL	79	EIVMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS <b>QSISSW</b> LAWY QQKPGKAPKVLIIY <b>KASS</b> LESGVPSRFSGSGSGTEFTL TISLQPDDEFATYY <b>CQQYNSYSFTF</b> GPGTKVDIK
15175 VH	88	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAA <b>GYTLTGYYM</b> HWVRQAPGGGLEWMGR <b>INPNSGG</b> SNNAQKFQGR VTMTRDTSISTAYMELSRLSDDTAVYY <b>CAREGPLY</b> <b>SSGWYEGAFDIW</b> GQGTMTVTVSS
15175 VL	89	EIVMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS <b>QSISSW</b> LAWY QQKPGKAPKLLIY <b>KASS</b> LESGVPSRFSGSGSGTEFTL TISLQPDDEFATYY <b>CQQYNSYSPGLTF</b> GGGGTKVEIK
15260 VH	98	QMQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAIS <b>GDSVSSNSAAW</b> NWIRQSPSRGLEWLGR <b>TYYSR</b> SKWYSAFAVSVKSRIT INPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY <b>CAREGSSGWY</b> <b>GYVHHW</b> GQGLTVTVSS
15260 VL	99	EIVLTQSPASLSVSLGETVTIECRASE <b>DIYNG</b> LAWYQ QKPGKSPQLLIYN <b>ANSL</b> HTGVPSRFSGSGSGTQYSL KINSLQSEDVASYF <b>CQQYYDYPPTF</b> GQGTKVEIK
15284 VH	108	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS <b>GGSFSSSSYYW</b> GWIRQPPGKGLEWIGI <b>FYYSGT</b> YYNPSLKSRTISA HTSKSQFSLKLSSVTAADTAVYY <b>CARGGEYFDRLL</b> <b>PF</b> DYWGQGLTVTVSS
15284 VL	109	EIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRAS <b>QGISSY</b> LAWY QQKPGKAPKLLIY <b>AAST</b> LESGVPSRFSGSGSGTEFTL TISLQPEDFATYY <b>CQQLNSYPFTF</b> GPGTKVDIK
15299 VH	118	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTAS <b>GFTFSSYAMS</b> WVRQAPGKGLEWVSA <b>IGGSGG</b> STYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY <b>CVKDGAGGF</b> <b>DY</b> WGQGLTVTVSS

[0769]

Ab	SEQ ID NO:	序列(N端至C端)
15299 VL	119	DIVMTQSSSSLSASVGDRVITITCRAS <b>QGIINHLGWY</b> QHKPGKAPNRLIY <b>AASSLQSGVPSRFS</b> SGSGSGTEFT LTISSLQPEDFATYYCLRHNS <b>YPPTFGQGTKVEIK</b>
15353 VH	128	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCTVSGGS <b>INSGGHY</b> WSWIRQHPGRGLEWIGY <b>IYYSGSIYYNPSLKSRLTIS</b> VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY <b>CASYYYASSGDA</b> <b>FDIWGQGTMTVTVSS</b>
15353 VL	129	ETTLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS <b>QSVSSYLAWYQ</b> QKPGQAPRLLIY <b>DASN</b> RATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYY <b>CQQRSNWPPTFGQGTKVEIK</b>
15354 VH	138	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCTAS <b>GFTFSNYAMS</b> WVRQAPGKGLEWVSA <b>ISGRGGSTFFADSVKGRFTI</b> SRDNSKSTLYLQTNLRAEDTAVYY <b>CAKGGPLYNW</b> <b>NDGDGFDIWGQGTMTVTVSS</b>
15354 VL	139	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRAS <b>QSVSSNLAWYQ</b> QKPGQAPRLLIY <b>GASTRATGIPARFSGTGSGTEFTLT</b> SSLQSEDFALYY <b>CQQYDNWPPWTFGQGTKVEIK</b>
17244 VH	148	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAAS <b>GFTFSDYYMT</b> WVRQAPGKGLEW <b>ISYISGGGGSIYYADSVKGRFTIS</b> RDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYF <b>CARGNWGSAA</b> <b>LDIWGQGTMTVTVSS</b>
17244 VL	149	EIVLTQSPSSLSASVGDRVITITCRAS <b>QGINNYLAWFQ</b> QKPGRAPKSLIY <b>AASSLQSGVPSKFS</b> SGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYY <b>CQQYNSYPPTLGPGTNVDIK</b>
17245 VH	158	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTAS <b>GFTFSSYAMS</b> WVRQAPGKGLEWVSA <b>IGGSGGSAYYADSVKGRFT</b> ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY <b>CVKDGAGGF</b> <b>DYWGQGTMTVTVSS</b>
17245 VL	159	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRAS <b>QGIRNHLGWY</b> QQKPGKAPKRLIY <b>AASSLQSGVPSRFS</b> SGSGSGTEFT LTISSLQPEDFATYY <b>CLQHNSYPPTFGQGTKVEIK</b>

[0770] 表11显示抗TIM-3框并抗体的CDR。CDR的SEQ ID NO在每个序列下显示。本文的CDR序列根据针对CDR1和CDR2的IMGT®定义确定。对于重链和轻链CDR3, 本文的定义包括IMGT-CDR3上游的一个额外的氨基酸残基(Cys)和下游的一个额外的氨基酸残基(对于VH CDR3是Trp, 对于VL CDR3是Phe)。

[0771] 表11: 抗TIM-3框并抗体的CDR的蛋白质序列

[0772]

抗体	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
20131	GFTLSS YA	ISGSGG ST	CAKIFG SYYFDY W	QSVLYS SNNKN Y	WTS	CQQYYS GPPTF
	30	31	32	33	34	35
20293	GGSISS GGYY	IYYSGSI	CASLM VWGVM GDYW	QSVSSY	DAS	CQQRSD WPPTF
	40	41	42	43	44	45
15105	GGSFSG YY	INHSGS T	CARYW ELPDY W	QGIRND	AAS	CLQHNS YPPTF
	50	51	52	53	54	55
15107	GGSFSG YY	INHSGS T	CARWW ELPDY W	QGIRND	AAS	CLQHNS YPWTF
	60	61	62	63	64	65
15109	GGSFSG YY	INHSGS T	CARFYY APNFDY W	QSISSW	KAS	CQQYNS YSTF
	70	71	72	73	74	75
15174	GGSISSS NYY	IYYSGN T	CARQTV AGPLFD YW	QSISSW	KAS	CQQYNS YSFTF
	80	81	82	83	84	85
15175	GYTLTG YY	INPNSG GS	CAREGP LYSSGW YEGAFD IW	QSISSW	KAS	CQQYNS YSPGLT F
	90	91	92	93	94	95
15260	GDSVSS NSAA	TYYRSK WYS	CAREGS SGWYG YVHHW	EDIYNG	NAN	CQQYY DYPPTF
	100	101	102	103	104	105
15284	GGSFSS SSYY	FYYSGT T	CARGGE YFDRLL PFDYW	QGISSY	AAS	CQQLNS YPPTF
	110	111	112	113	114	115
15299	GFTFSS YA	IGGSGG ST	CVKDG AGGFD YW	QGIINH	AAS	CLRHNS YPPTF
	120	121	122	123	124	125

[0773]

15353	GGSSINS GGHY	IYYSGSI	CASYYY ASSGDA FDIW	QSVSSY	DAS	CQQRSN WPPTF
	130	131	132	133	134	135
15354	GFTFSN YA	ISGRGG ST	CAKGGP LYNWN DGDGF DIW	QSVSSN	GAS	CQQYD NWPPW TF
	140	141	142	143	144	145
17244	GFTFSD YY	ISGGGG SI	CARGN WGSAA LDIW	QGINNY	AAS	CQQYNS YPPTL
	150	151	152	153	154	155
17245	GFTFSS YA	IGGSGG SA	CVKDG AGGFD YW	QGIRNH	AAS	CLQHNS YPPTF
	160	161	162	163	164	165

[0774] 表12显示编码被鉴定为功能性抗体的另外的抗TIM-3抗体的重链和轻链可变域的DNA序列。在以上表9中显示功能性抗体20131和20293的序列。

[0775] 表12: 另外的功能性抗TIM-3抗体的可变域的DNA序列

[0776]

Ab	SEQ ID NO:	序列(5'至3')
19324 VH	166	CAGATGCAGCTACAGCAGTCTGGGGGAGGCTTGG TACAGCCGGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGC AGCCTCTGGATTCACCGTTAGCAGCTATGCCATGA GCTGGGTCCGCCAGGCTCTAGGGAAGGGGCTGG AGTGGGTCTCAGGTATTAGTGGTAGTGGTGGTAG CACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAATACGCTGT ATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACA CGGCCGTATATTACTGTGCGAAGATAGTGGGAGCT ACCCACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGG TCACGGTCTCGAGT
19324 VL	167	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGG CTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTG CAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCAAC AATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAAC CAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTACTGGGC ATCTACCCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTC

[0777]

Ab	SEQ ID NO:	序列(5'至3')
		AGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCA CCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGT TTATTACTGTCAGCAATATTATAGTGGTCCGATCAC CTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAG
19416 VH	176	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCGGGCCCAGGACTG GTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAACAGTGGTGGTTA CTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAG GGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGG GAGCATCTACTACAACCCGTCCCTCAGGAGTCGA CTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTT CTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGAC ACGGCCGTTTATTACTGTGCGACTCCTTATTACTAT GGTTCGGGGAGTTATGGGGACTACTGGGGCCAGG GCACCCTGGTCACTGTCTCGAGT
19416 VL	177	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAACAACACTTAGCC TGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGG CATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGC CTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGT AGCAACTGGCCCATCACCTTCGGCCAAGGGACAC GACTGGAGATTAAA
19568 VH	186	CAGATGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTG GTGAAGCCTTCTCAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTGTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGTTGGTTAC TACTGGAACCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAG GGCCTGGAGTTCATTGGGTACATCTATTACAGTGG GAGCATCTACTACAATCCGTCCCTCAAGAGTCGA GTTACCATATCCGTAGACACGTCTAAGAACCAGTT CTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGAC ACGGCCCTATATTACTGTGCGAGCGTCGGTATAGT GGGAGCCTCCTACTTTGAGTACTGGGGCCAGGGA ACCCTGGTCACTGTCGAGT
19568 VL	187	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGCCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCC TGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG

[0778]

Ab	SEQ ID NO:	序列(5'至3')
		CTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGG CATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGC CTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGT AGCAACTGGCCTATCACCTTCGGCCAAGGGACAC GACTGGAGATCAAG
20185 VH	196	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTTTCGGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGTCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATG AGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTG GAGTGGGTCTCAGGTATTAGTGGTAGTGGTGGTA GCACATAACAACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTT CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACA CGGCCGTATATTACTGTGCGAAAATTTTGGGTCC TACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGG TCACCGTCTCGAGT
20185 VL	197	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGG CTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTG CAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCAATA ATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAATC AGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTACTGGGCA TCTACCCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCA GTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCAC CATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTT TATTACTGTCAGCAATATTATAGTGGTCCACCGAC GTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
20300 VH	206	CAGGTCCAGCTACAGCAGTCTGGGGGAGGCTTG GTTTCATCCTGGGGGGTCCCTAAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCGTTGACACCTATGCCATG ACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTG GAGTGGGTCTCAGGTATTAGCGGTAGTGGTGGTA GCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTT CACCATCTCCAGAGACAACCTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGGACA CGGCCGTATATTACTGTGCGAAGATAGTGGGAGTT ACCCACTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGG TCACGGTCTCGAGT
20300 VL	207	GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCAGACTCCCTGG CTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTG

[0779]

Ab	SEQ ID NO:	序列(5'至3')
		CAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAGGTCCAAC AATAAGAACTATTTAGCTTGGTACCAGCAGAAAC CAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGC ATCTACCCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTC AGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCA CCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGT TTATTACTGTCAGCAATATTATAGTGGTCCGATCAC CTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAG
20362 VH	216	CAGGTACCTTGAAGGAGTCGGGCCCAGGACTG GTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGTCAT TACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAG GGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTCTTACAGTG GGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCG ACTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAG TTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGG ACACGGCCGTGTATTACTGTGCGACCGCGTATTAC GATATTTTGACTGGTTACCCTTTTGACTACTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCACGGTCTCGAGT
20362 VL	217	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGCCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCC TGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGATGCATCCGACAGGGCCACTGG CATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGC CTGAAGATTTTGAGTTTATTACTGTCAGCAGCGT AGCAACTGGCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACAC GACTGGAGATCAAG
20621 VH	226	CAGGTGCAGCTACAGCAGTCGGGCCCAGGACTG GTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGTTA CTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAG GGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTCTTATAGTGG GAGTATCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGA GTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTT CTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCACGGAC ACGGCCGTGTATTACTGTGCGACCGCGTATTACGA TCTTTTGACTGGTTACCCTTTTGACTACTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACGGTCTCGAGT

Ab	SEQ ID NO:	序列(5'至3')
[0780] 20621 VL	227	GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCC TGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAG

[0781] 表13显示鉴定为功能性抗体的另外的抗TIM-3抗体的重链和轻链可变域的经推导的蛋白质序列。CDR以粗体和斜体显示。以上表10中显示功能性抗体20131和20293的序列。

[0782] 表13: 另外的功能性抗TIM-3抗体的可变域的蛋白质序列

Ab	SEQ ID NO:	序列(N端至C端)
[0783] 19324 VH	168	QMLQQSGGGLVQPGGSLRLSCAAS <b><i>GFTVSSYAMS</i></b> WVRQALGKGLEWVSG <b><i>ISGSGGSTYY</i></b> ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY <b><i>CAKIVGATHF DYWGQGT</i></b> LVTVSS
19324 VL	169	EIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS <b><i>QSVLYSSNNKN</i></b> YLA WYQQKPGQP PKLLIY <b><i>WAST</i></b> RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SLQAEDVAVYY <b><i>CQQYYSGPIT</i></b> FGQGT RLEIK
19416 VH	178	QVQLVESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGS <b><i>INS</i></b> GGYYW SWIRQH PGKGLEWIGY <b><i>IYYSGSI</i></b> YYNP SLRSRLTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY <b><i>CATPYYYGSGSYG DYWGQGT</i></b> LVTVSS
19416 VL	179	DIQMTQSPATLSLSPGERATLSCRAS <b><i>QSV</i></b> NNYLA WYQQKPGQAPRL LIY <b><i>DASN</i></b> RATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDEFAVYY <b><i>CQQRSNWPIT</i></b> FGQGTRLEIK
19568 VH	188	QMLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGS <b><i>ISSV</i></b> GYYW NWIRQH PGKGLEFIGY <b><i>IYYSGSI</i></b> YYNP SLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTALYY <b><i>CASVGIVGASYFE YWGQGT</i></b> LVTVSS

[0784]

Ab	SEQ ID NO:	序列(N端至C端)
19568 VL	189	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRAS <b>QSVSS</b> YLAWYQ QKPGQAPRLLIY <b>DASN</b> RATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYY <b>CQQRSNWPITFG</b> QGTRLEIK
20185 VH	198	QVQLVESGGGLVLRPGGSLRLSCAVS <b>GFTFSS</b> YAMS WVRQAPGKGLEWVSG <b>ISGSGGST</b> YNADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY <b>CAKIFGSYYF</b> <b>DYWG</b> QGTLTVTVSS
20185 VL	199	EIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS <b>QSVLYSSNKN</b> YLAWYQQKSGQPPKLLIY <b>WAST</b> RESGVPDRFSGSG SGTDFTLTISLQAEDVAVYY <b>CQQYSGPPTFG</b> QGT KVEIK
20300 VH	208	QVQLQQSGGGLVHPGGSLRLSCAAS <b>GFTVD</b> TYAMT WVRQAPGKGLEWVSG <b>ISGSGGST</b> YYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRDEDTAVYY <b>CAKIVGVTHF</b> <b>DYWG</b> QGTLTVTVSS
20300 VL	209	EIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS <b>QSVLYRSNNK</b> NYLAWYQQKPGQPPKLLIY <b>WAST</b> RESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISLQAEDVAVYY <b>CQQYSGPITFG</b> QG TRLEIK
20362 VH	218	QVTLKESGPGLVKPSQTLSTCTVS <b>GGSISSGGHYW</b> SWIRQHPGKGLEWIGY <b>ISYSGST</b> YYNPSLKSRLTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY <b>CATAYDILTGYP</b> <b>FDYWG</b> QGTLTVTVSS
20362 VL	219	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRAS <b>QSVSS</b> YLAWYQ QKPGQAPRLLIY <b>DASD</b> RATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYY <b>CQQRSNWPITFG</b> QGTRLEIK
20621 VH	228	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCTVS <b>GGSISSGGYYW</b> SWIRQHPGKGLEWIGY <b>ISYSGSI</b> YYNPSLKSRTISV DTSKNQFSLKLSSVTATDTAVYY <b>CATAYDLLTGYP</b> <b>FDYWG</b> QGTLTVTVSS
20621_V L	229	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRAS <b>QSVSS</b> YLAWYQ QKPGQAPRLLIY <b>DASN</b> RATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYY <b>CQQRSNWPITFG</b> QGTRLEIK

[0785] 表14显示另外的功能性抗TIM-3抗体的CDR。CDR的SEQ ID NO在每个序列下显示。本文的CDR序列根据针对CDR1和CDR2的IMGT®定义确定。对于重链和轻链CDR3,本文的定义包括IMGT-CDR3上游的一个额外的氨基酸残基(Cys)和下游的一个额外的氨基酸残基(对于VH CDR3是Trp,对于VL CDR3是Phe)。以上表11中显示功能性抗体20131和20293的序列。

[0786] 表14:另外的功能性抗TIM-3抗体的CDR的蛋白质序列

Ab	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
19324	GFTVSS	ISGSG	CAKIVGATH	QSVLYSSN	WAS	CQQYYS
	YA	GST	FDYW	NKNY		GPITF
	170	171	172	173	174	175
19416	GGSINS	IYYS	CATPYYYGS	QSVNNY	DAS	CQQRSN
	GGYY	SI	GSYGDYW			WPITF
	180	181	182	183	184	185
19568	GGSISSV	IYYS	CASVGIVGA	QSVSSY	DAS	CQQRSN
	GY	SI	SYFEYW			WPITF
	190	191	192	193	194	195
20185	GFTFSSY	ISGSG	CAKIFGSYY	QSVLYSSN	WAS	CQQYYS
	A	GST	FDYW	NKNY		GPPTF
	200	201	202	203	204	205
20300	GFTVDT	ISGSG	CAKIVGVTH	QSVLYRSN	WAS	CQQYYS
	YA	GST	FDYW	NKNY		GPITF
	210	211	212	213	214	215
20362	GGSISSG	ISYSG	CATAYYDILT	QSVSSY	DAS	CQQRSN
	GHY	ST	GYPFDYW			WPITF
	220	221	222	223	224	225
20621	GGSISSG	ISYSG	CATAYYDLL	QSVSSY	DAS	CQQRSN
	GY	SI	TGYPFDYW			WPITF
	230	231	232	233	234	235

[0788] 实施例2:抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、和15086.17144的动力学结合分析

[0789] 此实施例证明抗体15086.15086(IgG1)、15086.16837(IgG1 LALA)、15086.17145(IgG2)、和15086.17144(IgG4(S228P))的结合亲和力,显示非常类似的结合亲和力, $K_D$ 值大约19-23nM。“IgG1 LALA”指在重链中“LALA”突变(L234A/L235A,根据Eu编号方案编号(Edelman等人,Proc.Natl.Acad.USA63:78-85(1969))的存在,且已知其会降低IgG1抗体的Fc区域的效应器功能(Armour等人,Eur J Immunol.29(8):2613-24(1999);Hezareh等人,J Virol.75(24):12161-68(2001);和Hessel等人,Nature 449(7158):101-104(2007))。

[0790] 材料和方法

[0791] 通过表面等离子共振(SPR)使用与Ibis MX96 SPR仪器(IBIS Technologies,荷兰)组合的连续流式微点样器(CFM,Wasatch Microfluidics,Salt Lake City,US)进行动力学结合分析。在G-a-hu-IgG Fc SensEye®SPR传感器(Ssens BV,荷兰)上进行表面等离子共振成像分析。在PBS-T(具有0.05% Tween 20的1x PBS,pH 7.4)中将抗TIM-3抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、和15086.17144稀释至0.15μg/ml。使用连续流式微点样器将抗体点样至G-a-hu-IgG Fc SensEye®上达15分钟。点样后,将SensEye®放置在

IBIS MX96生物传感器中,并通过施加所谓的动力学滴定系列进行动力学分析(Karlsson等人,Anal Biochem.349(1):136-47(2006)),其中以2nM至100nM的渐增浓度注射单体人TIM-3ECD抗原(Acro Bio Systems)而在每次抗原注射后不施加表面再生步骤。进行抗原结合达5分钟并进行抗原解离达45分钟。使用Scrubber 2软件将所记录的结合应答拟合至简单Langmuir 1:1结合模式以计算结合速率(kon或ka)、解离速率(koff或kd)和亲和力(KD)常数。

#### [0792] 结果

[0793] 在IBIS系统上进行的动力学测量显示抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、和15086.17144(以四种不同的同种型形式)都具有非常类似的结合动力学,KD值范围在19-23nM(表15)。

[0794] 表15:抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、和15086.17144对人TIM-3ECD的结合动力学,如由表面等离子共振(SPR)测量的

	形式/ 亚类	kon (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	kon误 差	koff (s <sup>-1</sup> )	koff误 差	KD (nM)	KD误 差
[0795]	15086. 15086	5.06E+05	± 6.E+0 2	1.17E-02	± 8.E-06	23	± 3.0E-11
	15086. 16837	5.83E+05	± 4.E+0	1.11E-02	± 4.E-06	19	± 1.0E-11
[0796]			2				
	15086. 17145	5.56E+05	± 4.E+0 2	1.03E-02	± 4.E-06	19	± 1.0E-11
	15086. 17144	4.96E+05	± 3.E+0 2	9.85E-03	± 4.E-06	20	± 2.0E-11

[0797] 实施例3:抗TIM-3抗体的体外功能评估

[0798] 如以上(实施例1)描述地克隆一组呈IgG1亚类的独特mAb,并在单向混合淋巴细胞反应(MLR)测定法中以单一浓度(25ug/ml)针对功能活性进行筛选。将功能最强的抗TIM-3抗体(15086.15086)再转换成IgG1LALA(15086.16837)、IgG2(15086.17145)和IgG4(15086.17144)亚类。

[0799] 此实施例通过在单向MLR测定法中诱导剂量依赖性细胞因子分泌来表明抗TIM-3抗体的各种IgG亚类的体外功能活性。

#### [0800] 材料和方法

[0801] 在单向MLR测定法中,共培养自两个不同的健康供体分离的树突细胞(DC)和CD4-阳性(CD4+)T细胞以诱导异型抗原特异性反应,导致细胞因子产生和T细胞活化/增殖。通过以20ng/ml粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和20ng/ml白介素4(IL-4)培养6天从CD14+单核细胞分化树突细胞并以1:10比率与从来自健康供体材料的外周血单个核细胞(PBMC)分离的CD4+T细胞混合。培养5天后,收获上清液,并使用Meso Scale电致化学发光细胞因子测定法测定IFN-γ和TNF-α水平。此测定法使用与检测抗体缀合的电致化学发光标记物(SULFO-TAG)。当将电流施加至盘电极时,SULFO-TAG标记物放光,并测量光强度以定量样

品中的细胞因子。

[0802] 结果

[0803] 图1和2中显示抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、和15086.17144在单向MLR测定法中的剂量响应曲线。通过以起始浓度50ug/ml的抗体二倍滴定产生剂量响应曲线。图上的每个点代表三个重复的平均值，而误差棒代表SEM。

[0804] 抗体15086.15086和15086.17145 (IgG1和IgG2变体) 在单向MLR测定法中显示类似的功能性且诱导IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ 两者的剂量依赖性增加。抗体15086.17144 (IgG4变体) 仅在两个最高的浓度时诱导响应，并且未观察到抗体15086.16837 (IgG1 LALA变体) 的功能性。

[0805] 实施例4:抗TIM-3抗体对纯化的细胞亚组的效果

[0806] 最初报告TIM-3是由IFN- $\gamma$ 生产性CD4<sup>+</sup>T辅助细胞和CD8<sup>+</sup> (CD8<sup>-</sup>阳性) T细胞毒性细胞选择性表达，并且证明是T细胞应答的负性调节物。随后，发现TIM-3在树突细胞、单核细胞和天然杀伤 (NK) 细胞上被内源性高度表达 (Freeman等人, Immunol Rev 235:172-89 (2010); Kuchroo等人, Nat Rev Immunol 8:577-580 (2008); Anderson等人, Science 318:1141-1143 (2007); 和Da Silva等人, Cancer Immunol Res 2:410-422 (2014))。此实施例显示TIM-3与抗TIM-3抗体的连接如何对树突细胞有直接效果，导致TNF- $\alpha$ 分泌增加。

[0807] 材料和方法

[0808] 自健康的供体材料分离PBMC、幼稚 (naive) CD4<sup>+</sup>T细胞和幼稚CD8<sup>+</sup>细胞。如先前于实施例3中描述地产生来自三个个别健康供体的树突细胞。将所分离的细胞亚组与10ug/ml的所指出的抗体一起温育5天，并使用Meso Scale电致化学发光细胞因子测定法测定TNF- $\alpha$ 水平。

[0809] 结果

[0810] 图3中显示了抗体15086.15086、15086.16837、15086.17145、和15086.17144对纯化的细胞亚组的直接效果，其中每个长条代表五个重复的平均值并且误差棒代表SEM。结果证明了抗TIM-3抗体的IgG1变体 (15086.15086) 或IgG2变体 (15086.17145) 的存在导致来自三个供体的树突细胞的TNF- $\alpha$ 分泌增加。在含有多个TIM-3表达性细胞亚组 (例如单核细胞和NK细胞) 的PBMC群体中观察到类似的功效。IgG1 LALA变体 (15086.16837) 和IgG4变体 (15086.17144) 对TNF- $\alpha$ 分泌仅具有最小的功效。所测试的抗体无一对幼稚CD4<sup>+</sup>T细胞或幼稚CD8<sup>+</sup>T细胞具有效果。

[0811] 实施例5:针对磷脂酰丝氨酸阻断活性的抗TIM-3抗体的流式细胞测量分析

[0812] 此实施例阐明如何通过使用表面磷脂酰丝氨酸阳性凋亡细胞和经荧光染料标记的可溶性TIM-3的流式细胞测量竞争测定法针对磷脂酰丝氨酸 (PtdS) 阻断活性测试本发明的抗TIM-3抗体 [15086.17145]。

[0813] 材料和方法

[0814] 在基于细胞的测定法中研究磷脂酰丝氨酸阻断活性，在该测定法中通过Staurosporine (来自链霉菌属物种, Sigma-Aldrich, USA) 处理诱导Jurkat T细胞经历凋亡。在凋亡期间，将PtdS自细胞膜的细胞质面转位至细胞表面并允许通过流式细胞术分析经R-PE-标记的人TIM-3-Fc嵌合蛋白的结合。使用Lightning-Link®R-藻红蛋白缀合试剂盒 (Innova Biosciences, UK) 缀合商品化重组TIM-3-Fc嵌合蛋白 (R&D Systems, USA) 与R-PE。对于每种要测试的抗体浓度，混合25 $\mu$ l TIM-3-PE稀释 (对应于约0.33 $\mu$ g TIM-3-Fc) 与25 $\mu$ l

在膜联蛋白V结合缓冲剂(BD Pharmingen™, USA)中的抗体(以最终20μg/ml起始)并于室温(RT)下温育20分钟,之后添加至细胞。在存在1μM Staurosporine下培养Jurkat T细胞达2h,在RT结合缓冲剂中洗涤一次,且对于每个测试,结合在50μl结合缓冲剂中的 $2 \times 10^5$ 个细胞与抗体/TIM-3-PE混合物。在于RT下温育15分钟后,添加100μl结合缓冲剂,通过离心将细胞旋下,并将团粒再悬浮在100μl结合缓冲剂中以供获取。通过检测PE荧光(MFI)的流式细胞术定量TIM-3-PE与凋亡细胞的结合。平行地,通过膜联蛋白V-PE染色(PE膜联蛋白V凋亡检测试剂盒I, BD Pharmingen™)确认在经Staurosporine处理的细胞上的PtdS的表面暴露。使用抗PD-1抗体**Keytruda®**(派姆单抗;Merck&Co., Inc.)作为TIM-3结合/PtdS阻断的阴性对照,并使用抗TIM-3参考抗体ABTIM3[18571.18571](WO 2015/117002 A1;Novartis AG)作为TIM-3结合/PtdS阻断的阳性对照。此外,也使用不同的抗TIM-3抗体[15338.15338](其先前已被鉴定为非阻断性抗体)作为PtdS阻断的阴性对照。

[0815] 结果

[0816] 图4中呈现竞争实验的结果。抗TIM-3抗体[15086.17145]能够以剂量依赖性方式抑制可溶性TIM-3-Fc与细胞展示的PtdS的相互作用(图4A)。于3.125μg/ml,其将TIM-3-Fc与PtdS-阳性细胞的结合阻断向下至在存在非阻断性抗TIM-3抗体[15338.15338]下检测到的结合的2%(图4B)。参考抗TIM-3抗体[18571.18571]于相同的浓度下能够阻断结合向下至3.2%(图4C)。图4D中显示阴性对照抗PD-1抗体**Keytruda®**的结果。

[0817] 实施例6:抗TIM-3参考抗体类似物的克隆

[0818] 在本文的数个实施例中,使用抗TIM-3抗体ABTIM3和mAb15的参考类似物。如以下描述地产生参考类似物系。

[0819] 自以下表16中显示的专利申请获得ABTIM3和mAb15的重链和轻链可变域氨基酸序列。使用人密码子选择将可变重链(VH)和可变轻链(VL)片段的氨基酸序列逆翻译成DNA序列。接着合成相对应DNA片段并将其克隆入含有恒定人重链恒定区(四种不同同种型形式中的任一种:IgG1、IgG1-LALA、IgG2、或IgG4)或人κ轻链恒定区的表达载体中,产生全长抗体重链和轻链序列。为防止IgG<sub>4</sub>变体中的Fab臂交换,以脯氨酸取代位于位置228(EU编号)的丝氨酸残基(Angal等人, Mol. Immunol. 30:105-108(1993))。使用标准蛋白质表达系统以所得的表达质粒转染CHO细胞。在抗体表达后,使用标准蛋白A纯化柱层析纯化相对应的抗体上清液。

[0820] 表16:经基因合成的抗体类似物和相对应的抗体形式

	抗体	类似物名称	参考专利文件	参考专利文件中的序列编号	所制造的不同人同型形式
[0821]	ABTIM3	18564 ABTIM3	WO 2015 117002 (A1)	SEQ ID NO: 1(VH)和2(VL)	IgG1、 IgG1-LALA、 IgG2、和 IgG4
	18571.18571	经人化 ABTIM3	WO 2015 117002 (A1)	SEQ ID NO: 131(VH) 和 132(VL)	IgG1、 IgG1-LALA、 IgG2、和 IgG4
	mAb15	21563 mAb15	WO 2016 111947 (A2)	SEQ ID NO: 12(VH) 和 14(VL)	IgG1、 IgG1-LALA、 IgG2、和 IgG4

[0822] 实施例7:在单向MLR测定法中的另外的抗TIM-3抗体的体外功能评估

[0823] 此实施例通过在单向混合淋巴细胞反应 (MLR) 测定法中诱导IFN- $\gamma$ 的剂量依赖性分泌来证明九种另外的抗TIM-3抗体的体外功能活性。

[0824] 材料和方法

[0825] 如以上于实施例3中描述地设置单向MLR测定法。简言之,在存在所指出的抗体下共培养树突细胞(DC)和CD4+T细胞达5天。在培养5天后,收获上清液并使用Meso Scale电致化学发光IFN- $\gamma$ 测定法测定IFN- $\gamma$ 水平。

[0826] 结果

[0827] 图5中显示九种另外的抗TIM-3抗体的剂量响应曲线。所有九种抗体在此测定法中都诱导IFN- $\gamma$ 水平的剂量依赖性增加。值得注意的是,未观察到参考抗体ABTIM3和mAb15的效果。通过起始浓度为100 $\mu$ g/ml的抗体的二倍滴定产生剂量响应曲线。图中每个点代表三个重复的平均值,并且误差棒代表SEM。

[0828] 实施例8:在双向MLR测定法中的另外的抗TIM-3抗体的体外功能评估

[0829] 此实施例通过在双向混合淋巴细胞反应 (MLR) 测定法中诱导IFN- $\gamma$ 的剂量依赖性分泌证明十种抗TIM-3抗体的体外功能活性。

[0830] 材料和方法

[0831] 在双向MLR测定法中,共培养来自两个不同的健康供体的外周血单个核细胞(PBMC)以诱导异型抗原特异性反应,其导致细胞因子产生和T细胞活化/增殖。以1:1比率混合来自该两个不同的供体的PBMC。在培养5天后,收获上清液并使用Meso Scale电致化学发光细胞因子分析测定IFN- $\gamma$ 水平。

[0832] 结果

[0833] 图6中针对一个供体对显示十种抗TIM-3抗体的剂量响应曲线。所有抗TIM-3抗体在此测定法中都诱导IFN- $\gamma$ 水平的剂量依赖性增加。值得注意的是,未观察到参考抗体ABTIM3和mAb15的效果。通过起始浓度为100 $\mu$ g/ml的抗体的二倍滴定产生剂量响应曲线。图中每个点代表三个重复的平均值,并且误差棒代表SEM。

[0834] 实施例9:在树突细胞测定法中的另外的抗TIM-3抗体的体外功能评估

[0835] 此实施例通过诱导来自单核细胞衍生的树突细胞的TNF- $\alpha$ 的剂量依赖性分泌证明

九种抗TIM-3抗体的体外功能活性。

[0836] 材料和方法

[0837] 从来自健康供体材料的外周血单个核细胞 (PBMC) 分离CD14+单核细胞。通过以20ng/ml粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 和20ng/ml白介素-4 (IL-4) 培养6天来从CD14+单核细胞分化树突细胞 (DC)。收获单核细胞衍生的树突细胞并在存在所指出的抗体下培养细胞达5天。培养5天后,收获上清液,并使用Meso Scale电致化学发光TNF- $\alpha$ 分析测定TNF- $\alpha$ 水平。

[0838] 结果

[0839] 图7中显示九种另外的抗TIM-3抗体的剂量响应曲线。所有九种抗TIM-3抗体在两个独立的供体中都诱导来自单核细胞衍生的树突细胞的TNF- $\alpha$ 水平的剂量依赖性增加。值得注意的是,未观察到参考抗体ABTIM3和mAb15的效果。通过起始浓度为100 $\mu$ g/ml的抗体的二倍滴定产生剂量响应曲线。图中每个点代表三个重复的平均值,并且误差棒代表SEM。

[0840] 实施例10:对人和猕猴TIM-3的抗体亲和力的测量

[0841] 此实施例证明抗TIM-3Fab片段对人和猕猴TIM-3胞外域的结合亲和力,如由表面等离子共振 (SPR) 测量的。

[0842] 材料和方法

[0843] 通过表面等离子共振 (SPR) 使用与IBIS MX96 SPR仪器 (IBIS Technologies, 荷兰) 组合的连续流式微点样器 (CFM, Wasatch Microfluidics, Salt Lake City, US) 进行动力学结合分析。

[0844] 使用标准酶促切割试剂盒 (Genovis, Sweden) 自IgG1 LALA形式的所选抗体的经校正的序列变体产生抗TIM-3Fab片段。将Fab片段标记成Fab[抗体编号]。用于Fab 15086的重链可变域氨基酸序列是SEQ ID NO:7中显示的经校正的序列。合成编码人和猕猴TIM-3的胞外域的TIM-3cDNA并将其克隆入含有CMV启动子和人IgG1 Fc序列 (AA P101-K330) 的载体中,使IgG1 Fc C端融合至所克隆的TIM-3ECD。通过标准PCR和工程化技术产生TIM-3Fc融合构建体并使用ExpiCHO<sup>TM</sup>表达系统在2ml培养物中瞬时表达蛋白质。在9天后收获人TIM-3Fc融合构建体并通过SPR针对对抗TIM-3Fab片段的结合亲和力测试上清液。使用标准程序纯化抗原并使用连续流式微点样器 (CFM, Wasatch Microfluidics, Salt Lake City, US) 捕捉至G-a-hu-IgG FcSensEye® (Ssens BV, 荷兰) 上达15分钟。点样后,将SensEye®放置在IBIS MX96生物传感器中,阻断剩余位点,并使用FixIT试剂盒 (Ssens BV, 荷兰) 将捕捉的蛋白质固定至表面。通过施用所谓的动力学滴定系列进行动力学分析 (Karlsson R. 2006), 其中以1nM至100nM的渐增浓度注射本发明的抗体的单体Fab片段而在每次Fab注射后不施加表面再生步骤。进行Fab结合达15分钟并进行抗原解离达15分钟。使用Scrubber 2软件将所记录的结合响应拟合至简单Langmuir 1:1结合模式以计算结合速率 (kon或ka)、解离速率 (koff或kd) 和亲和力 (KD) 常数。

[0845] 结果

[0846] 亲和力测量的结果证明Fab 15086、Fab 20293、和Fab 20131和两种参考抗体以不同的亲和力与人和猕猴TIM-3结合。以下表17中显示详细结合动力学。

[0847] 表17:如通过SPR测量的抗TIM-3Fab片段对人或猕猴TIM-3ECD的结合动力学。

[0848]	Fab片段	TIM-3ECD	$k_{on}$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_{off}$ (s <sup>-1</sup> )	$K_D$ (nM)
--------	-------	----------	---	------------------------------	------------

15086	人	2.3E+05	5.0E-03	22
15086	猕猴	1.3E+04	2.8E-02	2200
20293	人	2.9E+05	3.6E-03	13
20293	猕猴	1.7E+06	3.5E-03	21
20131	人	7.6E+04	4.1E-04	5.5
20131	猕猴	4.8E+06	3.9E-04	22
18564ABTIM3	人	2.7E+05	2.1E-04	0.77
18564ABTIM3	猕猴	1.5E+05	3.9E-03	25
21563mAb15	人	7.9E+05	6.3E-04	0.80
21563mAb15	猕猴	ND	ND	ND

[0849] \*ND: 未测定

[0850] 实施例11: 抗体对人和猕猴TIM-3ECD的结合的ELISA测定

[0851] 此实施例证明抗TIM-3抗体对人和猕猴TIM-3ECD的亲合力, 如由ELISA测量的。

[0852] 材料和方法

[0853] 通过使用1 $\mu$ g/ml的经包被的TIM-3Fc融合抗原的ELISA测量抗体-抗原结合。人和猕猴抗原自Sino Biologys获得。以2倍连续滴定以从150 $\mu$ g/ml (1000nM) 开始的不同浓度使用经包被的抗原培养抗TIM-3抗体。洗涤后, 通过缀合有HRP (辣根过氧化物酶) 的二抗检测结合的抗体。

[0854] 结果

[0855] ELISA证明了所有评估的抗体都能够与人和猕猴TIM-3ECD两者结合。报告产生半最大结合的抗TIM-3抗体的浓度 (EC50)。所有测试的抗体都以大约1nM或更低的EC50值结合人TIM-3, 而在对猕猴TIM-3的结合方面观察到多得多的变化 (表18)。一些抗体诸如20131、20185、20293和ABTIM3对人和猕猴TIM-3两者显示完全相同的结合。其他抗体诸如19324、19416、19568、和20300对猕猴TIM-3显示中等的结合, 而抗体20362、20621和15086.17145对猕猴TIM-3显示弱交叉反应性 (EC50减少超过100倍)。表现出最低的猕猴TIM-3交叉反应性的抗体的结合曲线在ELISA评估中以最高浓度测试时明显对抗原显示饱和的结合。

[0856] 表18: 抗TIM-3抗体对人或猕猴TIM-3的亲合力 (EC50), 如由ELISA测量的

抗体	EC50(nM)		比率 猕猴/人EC50
	人TIM-3	猕猴TIM-3	
19324	0.73	18.38	25
19416	0.20	9.42	47
19568	0.38	30.20	79
20131	0.13	0.13	1
20185	0.17	0.15	1
20293	0.31	0.32	1
20300	1.13	45.30	40
20362	0.26	124.80	481
20621	0.22	29.70	135
15086.17145	0.125	17.50	134
18564 ABTIM3	0.07	0.07	1

[0857] 实施例12:抗TIM-3抗体的表位框并

[0859] 此实施例证明了本发明的抗TIM-3抗体如何可以基于成对竞争模式分组为数个表位仓。属于不同表位仓的抗体识别TIM-3胞外域(ECD)上的不同表位。

[0860] 材料和方法

[0861] 通过使用与IBIS MX96 SPR仪器(IBIS Technologies,荷兰)组合的连续流式微点样器(CFM)(Wasatch Microfluidics,US)的表面等离子共振(SPR)分析进行成对抗体竞争的研究。在G-a-hu-IgG Fc SensEye®SPR传感器(Ssens BV,荷兰)上进行表面等离子共振成像分析。在含有0.05%Tween 20的PBS缓冲剂(PBS-T),pH 7.0中将总共16种人抗TIM-3IgG2抗体和两种IgG4参考抗体(ABTIM3和mAb15)稀释至15μg/ml。通过使用连续流式微点样器点样共15分钟使抗体捕捉至抗Fc传感器表面上。点样后,将SensEye®放置在IBIS MX96生物传感器中并通过注射30μg/ml非特异性人IgG1来阻断残留的抗Fc位点。使用FixIt试剂盒(Ssens BV,荷兰)使捕捉的抗体与表面缀合。传感器制备后,使用典型的三明治式测定法进行抗体竞争分析,其中固定的抗体结合200nM可溶性单价TIM-3抗原(Acro Biosystems,中国),接着探测与另一种抗TIM-3抗体的结合。接着,进行PBS-T缓冲剂将18种抗TIM-3抗体的每种的个别注射稀释至15μg/ml以建立抗体竞争模式。每个竞争循环后,以100mM H3PO4缓冲剂,pH 3.0再生传感器表面。

[0862] 结果

[0863] 图8中呈现18种抗TIM-3抗体的竞争模式。抗体mAb15(仓1)、15105和15107(仓2)、15260和ABTIM3(仓3)、17244(仓7)、和15174和15175(仓8)在本文中描述的基于细胞的MLR测定法中不显现功能活性,但由于其识别不同的表位而被包括。仓8抗体仅于溶液中测试,因为TIM-3结合在这些抗体被捕捉到传感器表面上时显著地降低(单向阻断)。因此,这些抗体是由正方形表示。发现功能性抗TIM-3抗体结合三种交叉竞争表位仓(仓4、5和6)。属于表位仓4的功能性抗体包括抗体20621、20293、19568、20362、15086.17145、和19416。这些抗体交叉阻断彼此和来自表位仓3、5、6和7的抗体。属于表位仓5的功能性抗体包括抗体20131和20185。这些抗体交叉阻断彼此和来自表位仓3、4、6和7的抗体。另外,20131和20185仅在将它们捕捉到传感器表面上时也防止mAb15结合(单向阻断,虚线)。最后,属于表位仓6的功能性抗体包括抗体19324和20300。这些抗体交叉阻断彼此和除了来自仓2的抗体外的所有其

他抗体。

[0864] 可以自以上呈现的结果推导出来自表位仓4、5和6的功能性抗体是与参考抗体ABTIM3(仓3)和mAb15(仓1)不同的结合表位(图1),因为每个框并组相较于组中的其他抗TIM-3抗体具有独特的竞争模式。

[0865] 实施例13:通过TIM-3诱变得到的抗TIM-3抗体的表位定位

[0866] 抗体表位一般可以表征为线性表位(也称为连续表位)或构型性表位(也称为不连续表位)。虽然线性表位由单一的连续氨基酸序列限定,但构型性表位可以由许多较小的不连续线性序列或单一接触残基组成。聚集在抗体和抗原间的分子间蛋白质接口的接触残基的集合也称为热点(Moreira等人,Proteins 68(4):803-12(2007))。现已广泛地认可大多数B细胞表位本质上是不连续的(Sivalingam和Shepherd,Mol Immunol.51(3-4):304-9(2012))、Kringelum等人,Mol Immunol.53(1-2):24-34(2013)),其平均表位跨越15-22个氨基酸残基,其中2-5个氨基酸对结合贡献最大(Sivalingam和Shepherd,如上)。

[0867] 通过排序对129种不同的TIM-3突变体的结合亲和力,此实施例阐明Fab15086、Fab 20293、和Fab 20131的结合表位如何可以分成与被参考抗体ABTIM3和mAb15识别的表位不同的线性表位和热点。

[0868] 材料和方法

[0869] 人TIM-3受体由181个氨基酸的胞外域(ECD)(残基22-202)接着是跨膜域(残基203-223)和胞质域(残基224-301)所组成。TIM-3属于免疫球蛋白超家族并且ECD由以下两个域构成:粘蛋白域和IgV域。IgV域含有一个双层 $\beta$ -三明治,其由排列成两个 $\beta$ -片层的7个反向平行的 $\beta$ -链(其中GFCC' $\beta$ 链在一侧且BED $\beta$ -链在相反侧)的相互作用形成。两个 $\beta$ -片层通过在残基C54-C123间的二硫键稳定化。人TIM-3IgV的晶体结构(PDB 5F71)是可得到的。TIM-3IgV域不像其他IgV域具有A链,但拥有两个另外的二硫键(C58-C63和C52-C110),其将CC'和FG环置于接近的位置,形成对于磷脂酰丝氨酸(PS)配体结合而言独特的裂口。存在与PS配体复合的鼠TIM-3的晶体结构(3KAA),其证明与CC'和FG环的配体结合接触。

[0870] 已鉴定出数种TIM-3的配体和/或共受体,包括HMGB-1、半乳凝素-9、CEACAM-1、和磷脂酰丝氨酸(Chiba等人,Nat.Immunology 13(9):832-42(2012)、Li等人,Hepatology 56(4):1342-51(2012)、DeKruyff等人,JImmunology 184(4):1918-30(2010)、Das等人,Immunol Rev.276(1):97-111(2017))。

[0871] 人TIM-3和直向同源物的蛋白质序列下载自UniProt;人(Q8TDQ0;SEQ ID NO:236)、猕猴(成束猴(Macaca fascicularis))(G7P6Q7;SEQ ID NO:237)、小鼠(小家鼠(Mus musculus))(Q8VIM0;SEQ ID NO:238)和大鼠(褐家鼠(Ratus norvegicus))(P0C0K5;SEQ ID NO:239)。表23中显示这些序列。以下表19中显示不同的胞外TIM-3氨基酸序列间的序列同一性。

[0872] 表19:与人TIM-3胞外域的氨基酸差异和序列同一性。

[0873]

	氨基酸差异	%序列一致性
猕猴TIM-3ECD	22	85.3
大鼠TIM-3ECD	54	64.0
小鼠TIM-3ECD	59	60.7

[0874] 基于晶体结构和氨基酸序列,鉴定出暴露于表面的氨基酸残基并在人TIM-3ECD上

设计了82个独立的丙氨酸取代(丙氨酸扫描)。

[0875] 为了在天然人TIM-3结构的背景下定位线性表位,产生47种嵌合蛋白,其中将在人TIM-3ECD序列中的10个氨基酸在以5个氨基酸重叠的区段中相继交换成小鼠序列,并在关键环中以大鼠和猕猴形式补充。在跨越氨基酸22-199的人TIM-3的胞外域中进行序列交换。

[0876] 合成编码人TIM-3的胞外域的cDNA并将其克隆入含有CMV启动子和人IgG1 Fc序列(AA P101-K330)的载体中,使IgG1 Fc C端融合至所克隆的TIM-3ECD。通过标准PCR和工程化技术产生突变人TIM-3Fc融合构建体并使用ExpiCHO<sup>TM</sup>表达系统在2ml培养物中瞬时表达蛋白质。收获人TIM-3Fc融合构建体,纯化并通过表面等离子共振(SPR)测试对抗TIM-3Fab片段的结合亲和力。使用连续流式微点样器(CFM,Wasatch Microfluidics,Salt Lake City,US)将TIM-3Fc融合蛋白质固定至G-a-hu-IgG FcSensEye®(Ssens BV,荷兰)上达15分钟。点样后,将SensEye®放置在IBIS MX96生物传感器中并使用FixIT试剂盒(Ssens BV,荷兰)将捕捉的蛋白质固定至表面。通过施加所谓的动力学滴定系列进行动力学分析(Karlsson R.2006),其中以1nM至100nM的渐增浓度注射本发明的抗体的单体Fab片段而在每次Fab注射后不施加表面再生步骤。进行Fab结合达15分钟并进行抗原解离达15分钟。使用Scrubber2软件将所记录的结合响应拟合至简单Langmuir 1:1结合模式以计算结合速率(kon或ka)、解离速率(koff或kd)和亲和力(KD)常数。

[0877] 结果

[0878] 就与TIM-3突变体构建体的结合的改变而言评估抗TIM-3Fab 15086、20293、20131和参考类似物ABTIM3和mAb15的结合亲和力。

[0879] 以KD突变体/KD野生型间的比率(经标准化的结合亲和力)表示Fab片段对突变TIM-3构建体的结合亲和力。表20和21显示给出有区别的结果的嵌合蛋白和丙氨酸突变体。将至少5倍的亲和力降低用作为检测到对突变TIM-3构建体的结合亲和力降低的阈值标准。在一些情况中,无法检测到与特定Fab的结合。这些构建体列成NB(未结合)。

[0880] 分析显示抗TIM-3Fab 15086、20293和20131的结合表位相较于参考抗体ABTIM3和mAb15是明显不同的。15086和20293不结合具有插入位置62-67(靠近配体结合环CC'和FG)的小鼠序列的嵌合蛋白,而参考ABTIM3确实结合(表20)。15086在TIM-3上的表位延伸超过此氨基酸段,包括P50、V60、F61、E62、G64、R69和FG环残基I117、M118、D120,如由丙氨酸扫描证明的(表21)。Fab 20293与15086具有非常类似的表位,只是残基M118和D120在被突变成丙氨酸时仅影响与15086的结合。发现Fab 20131在残基114-117结合FG环上存在的不同表位,并且这通过丙氨酸扫描延伸至包括残基118、120以及CC'残基F61和E62。对15086、20293、和20131而言共同的是对于位置F61的丙氨酸突变的敏感性,而两种参考抗体都未显示对该位置的丙氨酸突变的敏感性。虽然参考抗体mAb15不结合位于位置62-67的突变序列,与15086和20293类似,mAb15的表位是明显不同的,因为此抗体不与两种其中位置74-85的序列被交换成小鼠序列的另外的构建体结合。抗体ABTIM3明显表现出由在位置22-28、107-144和123-128突变的线性构建体限定的不同表位,如由对这些蛋白质的结合亲和力的改变证明的(表20)。在以下表22中显示表位定位发现的总结,并且图9中呈现表位在TIM-3IgV域的表面上位于何处的分子模型。

[0881] 总之,我们已经通过分析与一组129种TIM-3突变体的结合在分子水平上显示了三种Fab 15086、20293、和20131识别位于TIM-3IgV域的顶部的独特但部分重叠的表位。此发

现与表位框并分析(实施例12)一致,显示所有三种抗体都结合在一起构成TIM-3IgV域上的功能性表面的重叠的交叉竞争表位。这些表位明显与磷脂酰丝氨酸结合位置以及对于HMGB-1和CEACAM1结合而言必要的氨基酸E62重叠(Chiba等人,Nat.Immunology 13(9):832-42(2012),Das等人,Immunol Rev.276(1):97-111(2017)),而两种参考抗体具有较位于IgV域的中心部分(mAb15)和IgV域的另一侧(ABTIM3)的表位。结果与表位框并数据一致,其显示mAb15和ABTIM3可以同时结合TIM-3(实施例12)。基于15086、20293、和20131的表位位置,每个抗体能够阻断TIM3配体(磷脂酰丝氨酸、CEACAM-1和HMGB-1)的结合。

[0882]

表20: 结合具有经插入的小鼠、大鼠或猕猴序列区段的突变TIM-3 ECD构建体的Fab片段的结合亲和力分析的总结。以KD突变体/KD野生型表示的经标准化的结合。

嵌合构建体#	所扫描的 hu TIM-3 区域	hu TIM-3 突变区域	来自其他物种的所导入突变	15086	20293	20131	18564(ABTIM3)	mAb15
1	22-31	AA 22-28	S22L; V24N; E25S; R27V; A28F	1.0	1.4	1.0	5.4	ND
2	62-71	AA 62-67	E62Q; G64T; V66E; V67L	NB	NB	1.7	0.7	NB
3	72-81	AA 74-80	D74N; N76T; W78Q; T79K; 79S80	0.6	1.3	1.0	1.9	NB
4	77-85	AA 78-85	W78Q; T79K; 79S80; W83Q; N85K	1.0	1.4	1.0	2.0	NB
5	81-90	AA 83-89	W83Q; N85K; D87N; R89Y	3.0	0.7	2.7	1.7	19.3
6	106-115	AA 107-114	I107T; I114F	0.6	0.6	2.0	17.5	1.2
7	111-120	AA 114-117	I114F; I117L	0.7	3.1	8.4	1.1	2.2
8	121-130	AA 123-128	F123H; L125V; 127V128	0.9	1.2	1.1	31.0	0.8

<5倍KD变化嵌合突变体

>5倍KD变化嵌合突变体

NB无嵌合突变体的结合

ND未测定

[0883] 表21: 结合经丙氨酸扫描的人TIM-3ECD突变体的Fab抗体的结合亲和力分析的总结。以KD突变体/KD野生型表示的经标准化的结合。

[0884]

突变	15086	20293	20131	18564 (ABTIM3)	mAb15
P50A	82.7	4.9	53.5	4.2	308.8
V60A	11.3	1.7	1.0	1.6	1.4
F61A	NB	NB	N.B.	1.0	0.9
E62A	38.0	3.7	6.5	4.4	4.0
G64A	18.5	2.0	0.9	2.1	1.7
R69A	NB	NB	0.7	NB	NB
I114A	1.3	0.8	4.8	1.5	1.3
I117A	75.2	9.3	NB	0.9	1.2
M118A	14.4	0.4	NB	0.9	1.0
D120A	7.1	2.1	23.3	6.5	4.4
E121A	1.1	0.8	2.5	10.6	1.3
	< 5倍KD改变 丙氨酸突变体				
	> 5倍KD改变 丙氨酸突变体				
NB	无丙氨酸突变体的结合				

[0885] 表22:针对所测试的抗TIM-3抗体鉴定的结合表位的总结

[0886]

抗体	配体(PS) 封阻	表位 仓	线性表位	接触残基
15086	是	4	62 - 67	P50、V60、F61、E62、G64、 R69 I117、M118、D120
20293	是	4	62 - 67	F61、R69 I117
20131	是	5	114 - 117	P50、F61、E62、 I117、M118、D120
18654 (ABTIM3)	ND	3	22 - 28 107 - 114 123 - 128	R69、 D120、E121
21563 (mAb15)	ND	1	62 - 67 74 - 80、78 - 85 83 - 89	P50、R69

[0887] 表23:TIM-3蛋白质序列

[0888]

蛋白质	氨基酸序列
人TIM-3 UniProt Q8TDQ0 (SEQ ID NO: 236)	MFSHLPFDCVLLLLLLLLLRSSEVEYRAEVGQNAYLPCFYTP AAPGNLVPVCWGKGACPV FECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNDFRKGDVSLTIENVT LADSGIYCCRIQIPGIMND EKFNKLVIKPAKVTPAPTRQRDFTAAAFPRMLTTRGHGPAET QTLGSLPDINLTQISTLA NELRDSRLANDLRDSGATIRIGIYIGAGICAGLALALIFGALIF KWYSHSKEKIQNLSLI SLANLPPSGLANAVAEGIRSEENIYTIEENVYEEVEEPNEYCY VSSRQQPSQPLGCRFAM P
猕猴TIM-3 UniProt G7P6Q7 (SEQ ID NO: 237)	MFSHLPFDCVLLLLLLLLLRSSEVEYIAEVGQNAYLPCSYTPA PPGNLVPVCWGKGACPV FDCSNVVLRTDNRDVNDRTSGRYWLKGDFFHKGDVSLTIENV TLADSGVYCCRIQIPGIMN DEKHNVKLVIKPAKVTPAPTLQRDLTSAFPRMLTTGEHGA ETQTPGSLPDVNLTVSNF FCELQIFTLTNELRDSGATIRTAIYIAAGISAGLALALIFGALIF KWYSHSKEKTQNLSL ISLANIPPSGLANAVAEGIRSEENIYTIEEDVYEEVEEPNEYCY VSSGQQPSQPLGCRVA MP
小鼠TIM-3 UniProt Q8VIM0 SEQ ID NO: 238	MFSGLTLNCVLLLLQLLARSLENAYVFEVGKNAYLPCSYTL STPGALVPMCWGKGFCPW SQCTNELLRTDERNVTYQKSSRYQLKGDLNKGDVSLIKNVT LDDHGTCCRIQFPGLMN DKKLELKLDIKA AKVTPAQT AHGDSTTASPRTL TTERNGET QTLVTLHNNNGTKISTWA DEIKDSGETIRTAIHIGVGVSAGLTLALIIGVLILKWYSCKKKK LSSLSLITLANLP LANAGAVRIRSEENIYTIEENVYEEVENSNEYCYVNSQQPS
大鼠TIM-3 UniProt P0C0K5 SEQ ID NO: 239	MFSWLPFSCALLLQPLPARSLENAYTAEVGKNAYLPCSYTV PAPGTLVPICWGKGSCPL LQCASVVLRTDETNTYRKSRRYQLKGNFYKGDMSLTIKNV TLADSGTYCCRIQFP DEKLELKLSITEPAKVIPAGTAHGDSTTASPRTL TTEGSGSET QTLVTLHDNNGTKISTW ADEIKDSGETIRTAVHIGVGVSAGLALALILGVLILKWYSSKK KKLQDLSLITLANSPPG GLVNAGAGRIRSEENIYTIEENIYEMENSNEYCYVSSQQPS

[0889]

表24: 抗TIM-3抗体序列

Ab	DNA		蛋白质		H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
	VH	VL	VH	VL						
15086.15086	1	2	3	4	7	8	9	10	11	12
15086.16837/	13	14	15							
15086.17145/										
15086.17144										
20131	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
20293	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
15105	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55
15107	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
15109	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
15174	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85
15175	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
15260	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
15284	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115
15299	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125
15353	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135
15354	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145
17244	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155
17245	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165
19324	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175
19416	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185
19568	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195
20185	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205

[0890]

20300	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215
20362	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225
20621	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235

[0891] 表25: 恒定区和TIM-3序列

[0892]

SEQ NO	ID	序列
5		IgG1重链恒定区蛋白质序列
6		IgG1 $\kappa$ 轻链恒定区蛋白质序列
16		IgG1-LALA重链恒定区DNA序列，排除内含子
17		IgG1-LALA重链恒定区DNA序列，包括内含子
18		IgG4(S228P)重链恒定区DNA序列，排除内含子
19		IgG4(S228P)重链恒定区DNA序列，包括内含子
20		IgG2重链恒定区DNA序列，排除内含子
21		IgG2重链恒定区DNA序列，包括内含子
22		K轻链恒定区DNA序列
23		IgG1-LALA重链恒定区蛋白质序列
24		IgG4(S228P)重链恒定区蛋白质序列
25		IgG2重链恒定区蛋白质序列
236		人TIM-3
237		猕猴TIM-3
238		小鼠TIM-3
239		大鼠TIM-3

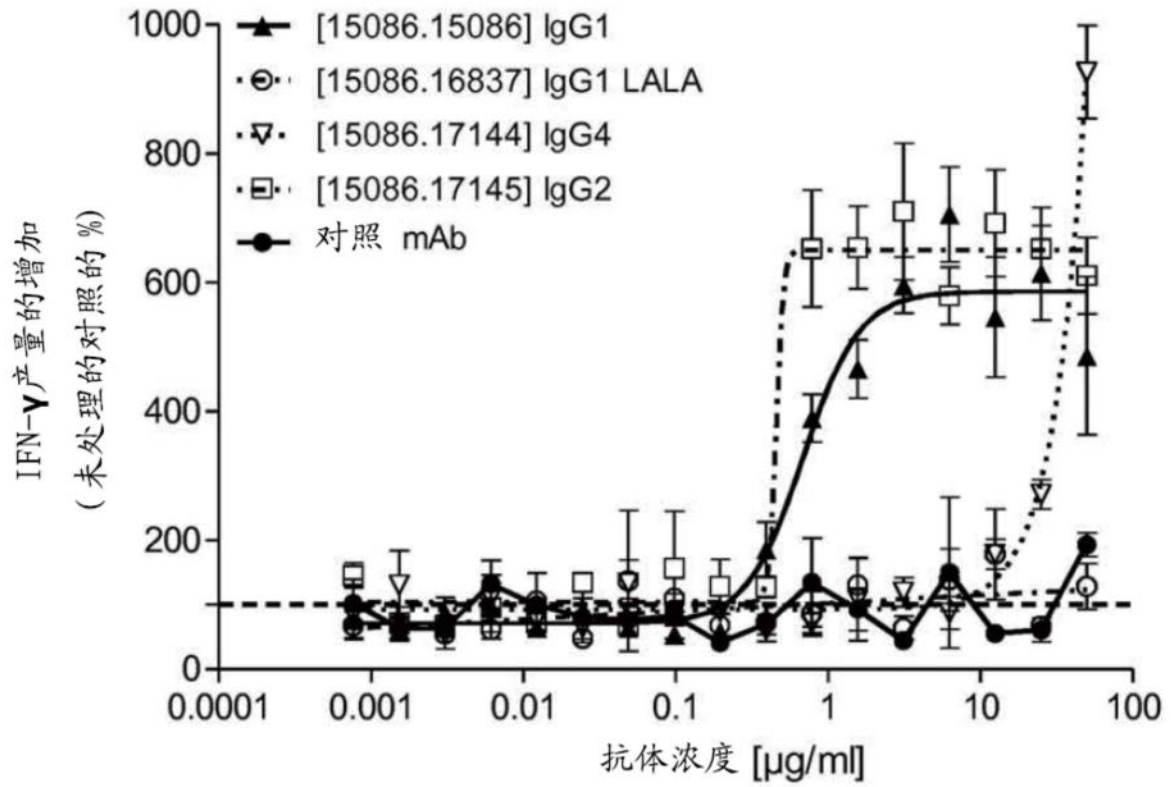


图1

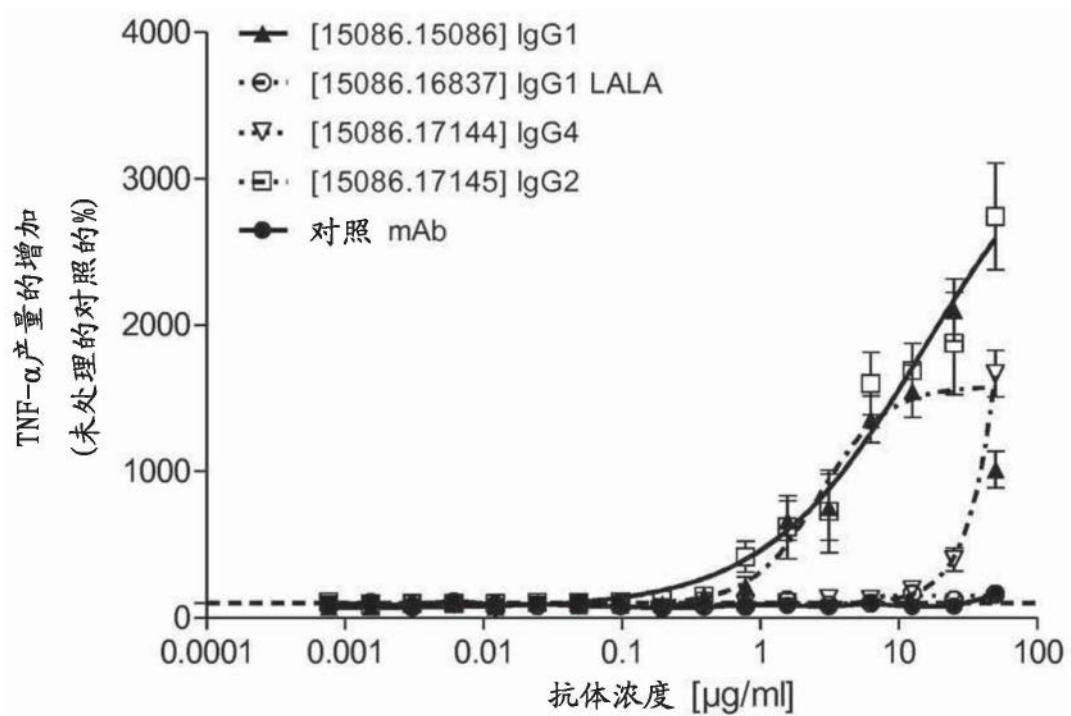


图2

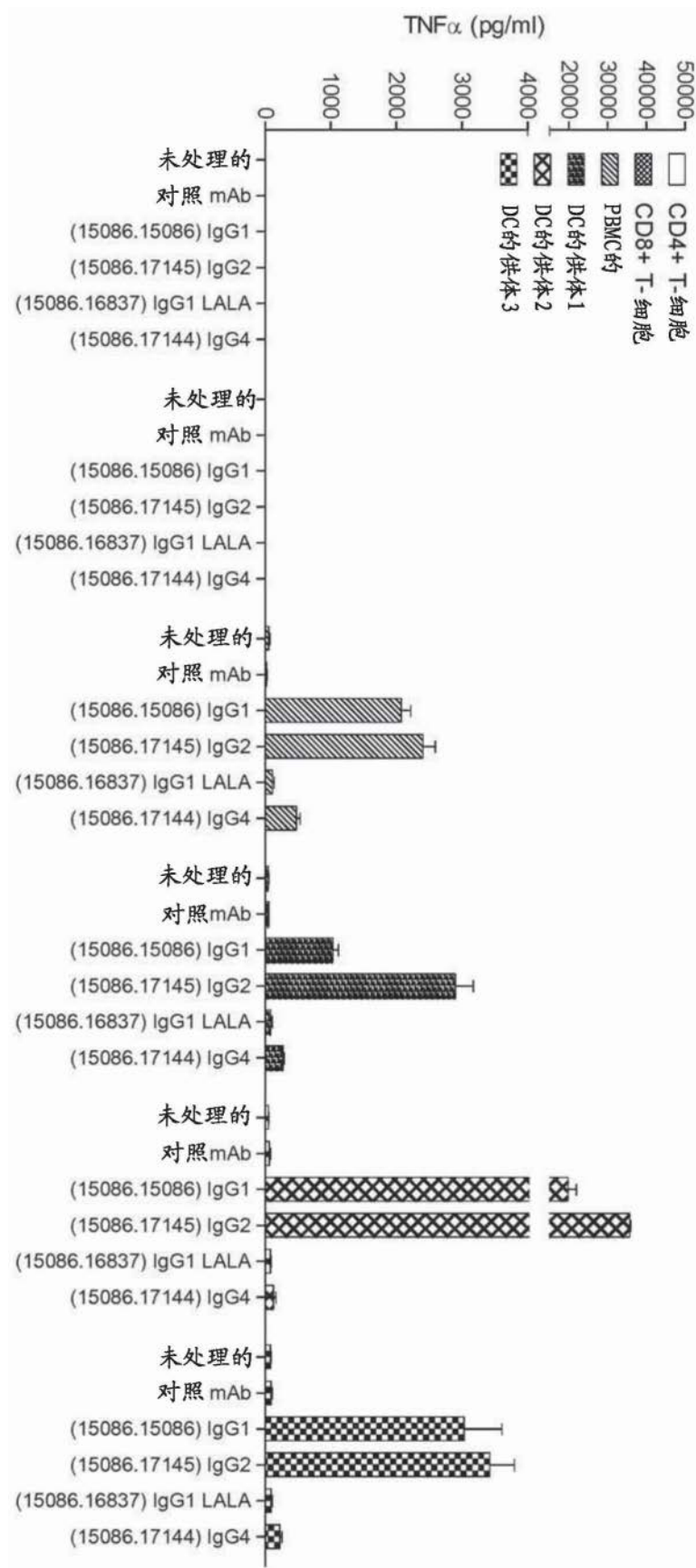
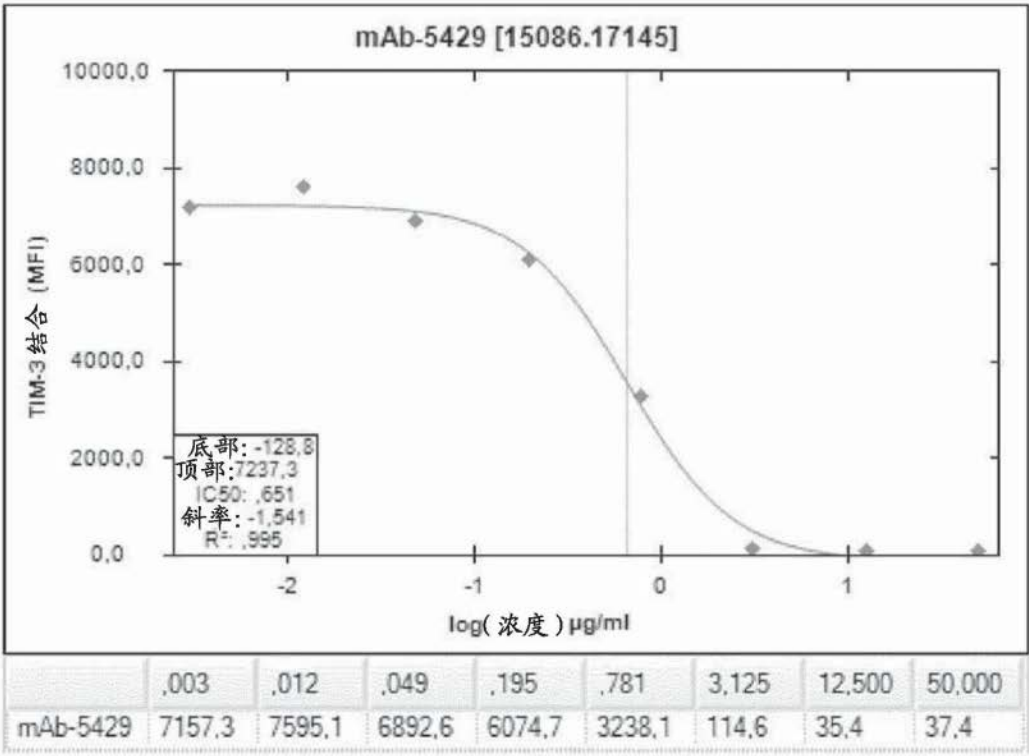


图3

A



B

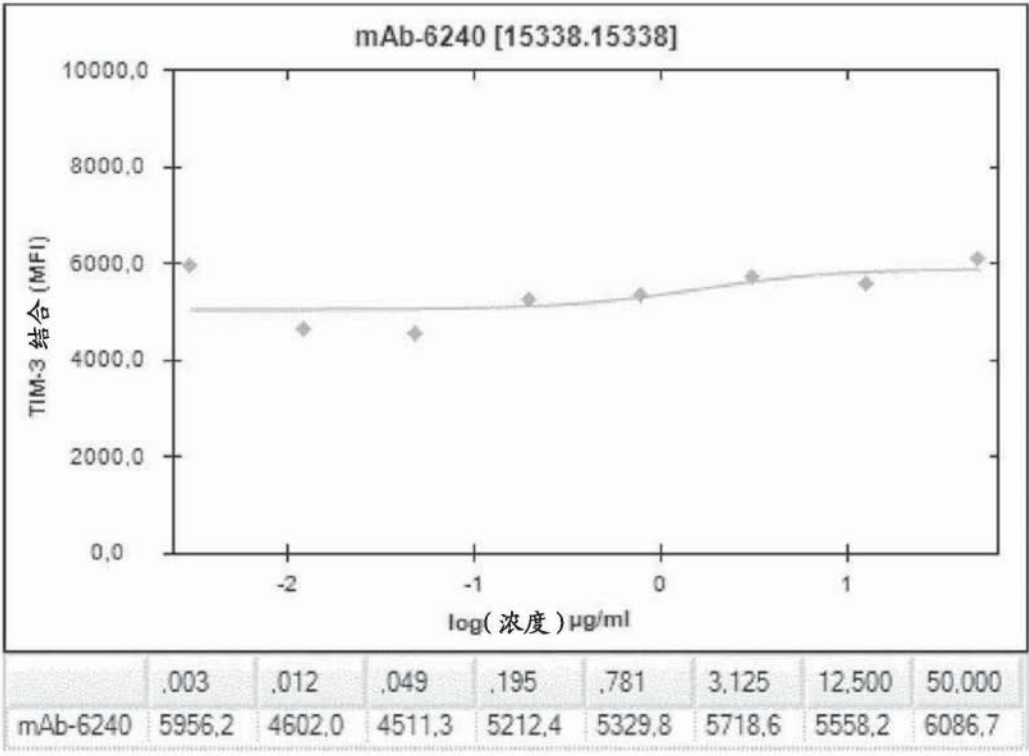
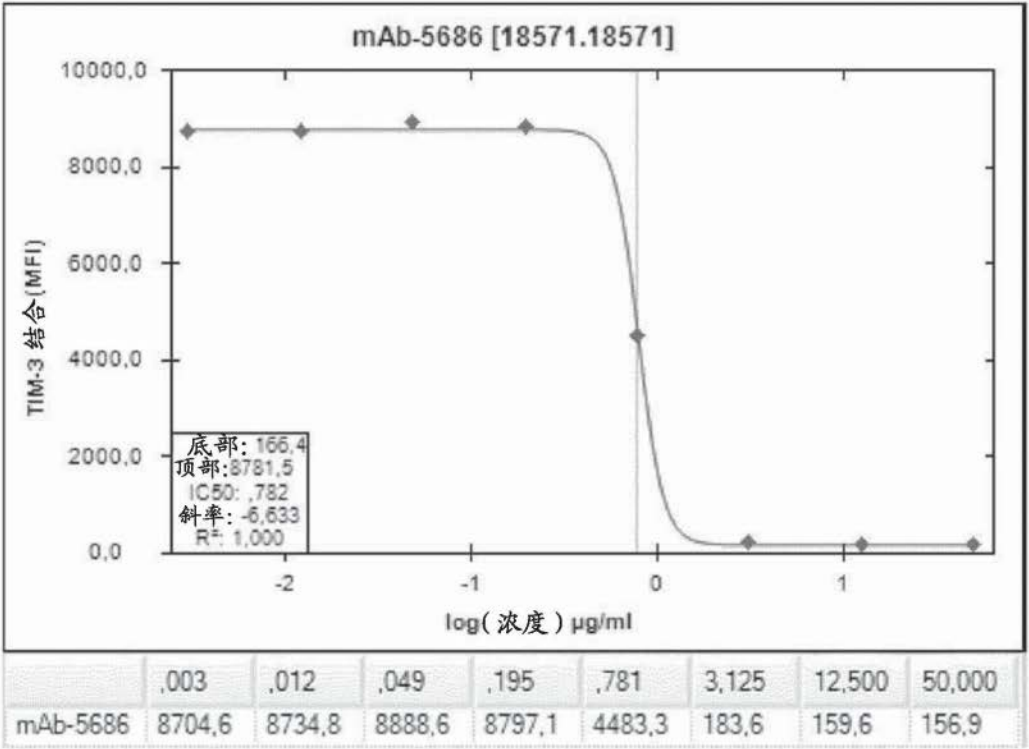


图4

C



D

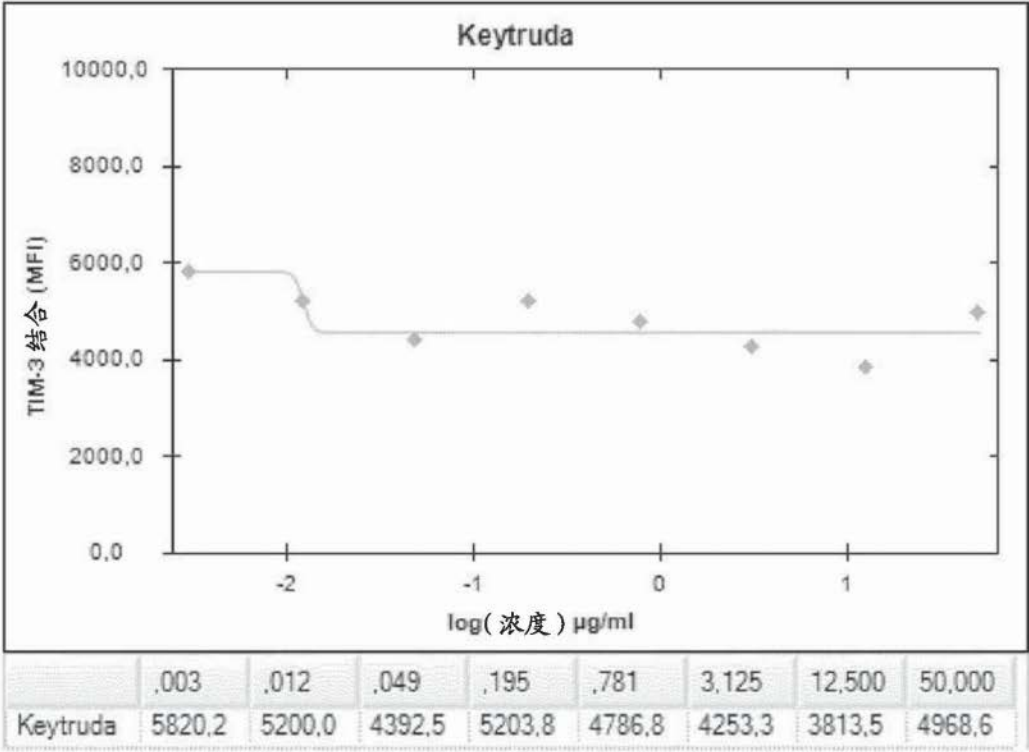


图4(续)

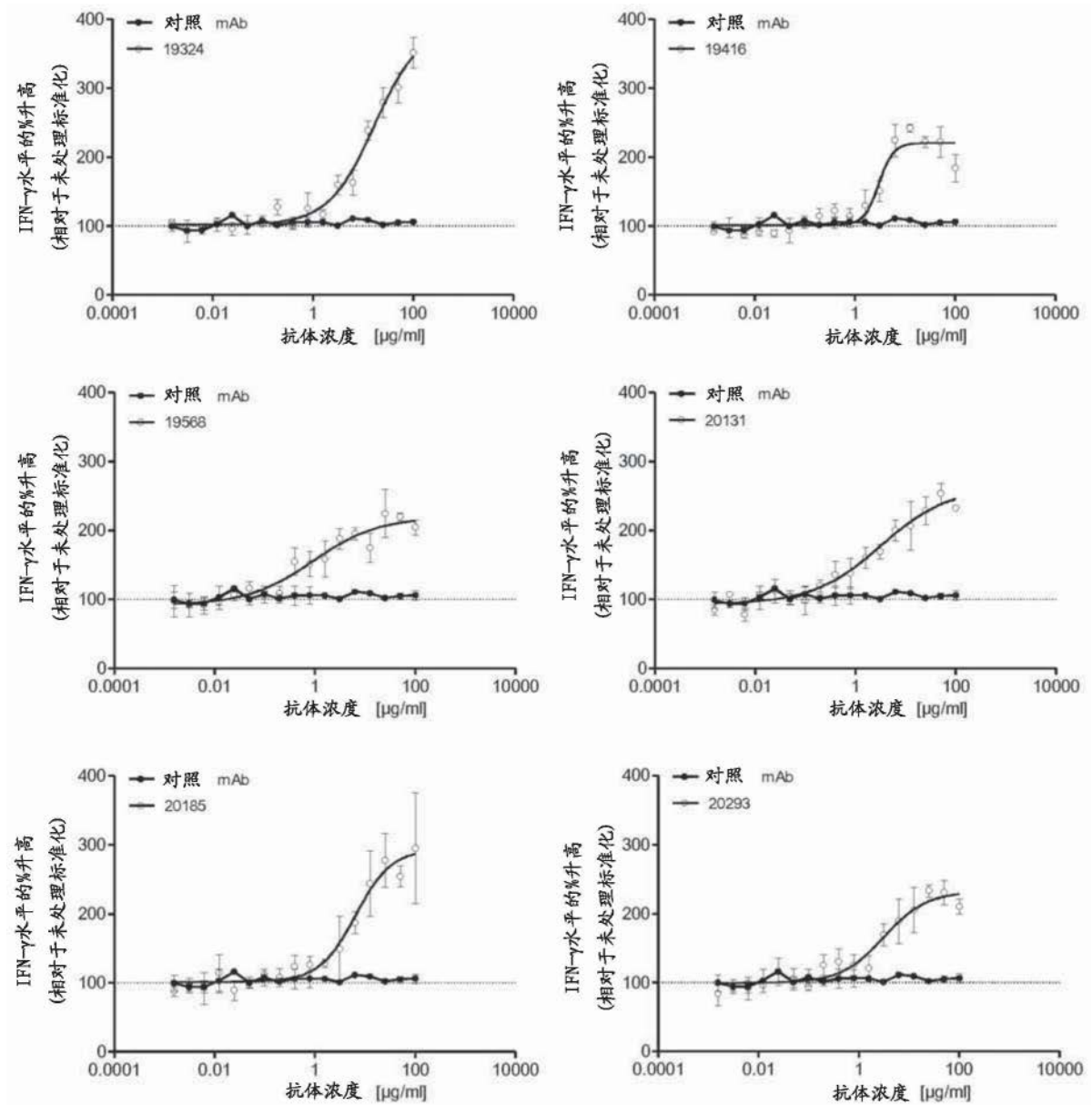


图5

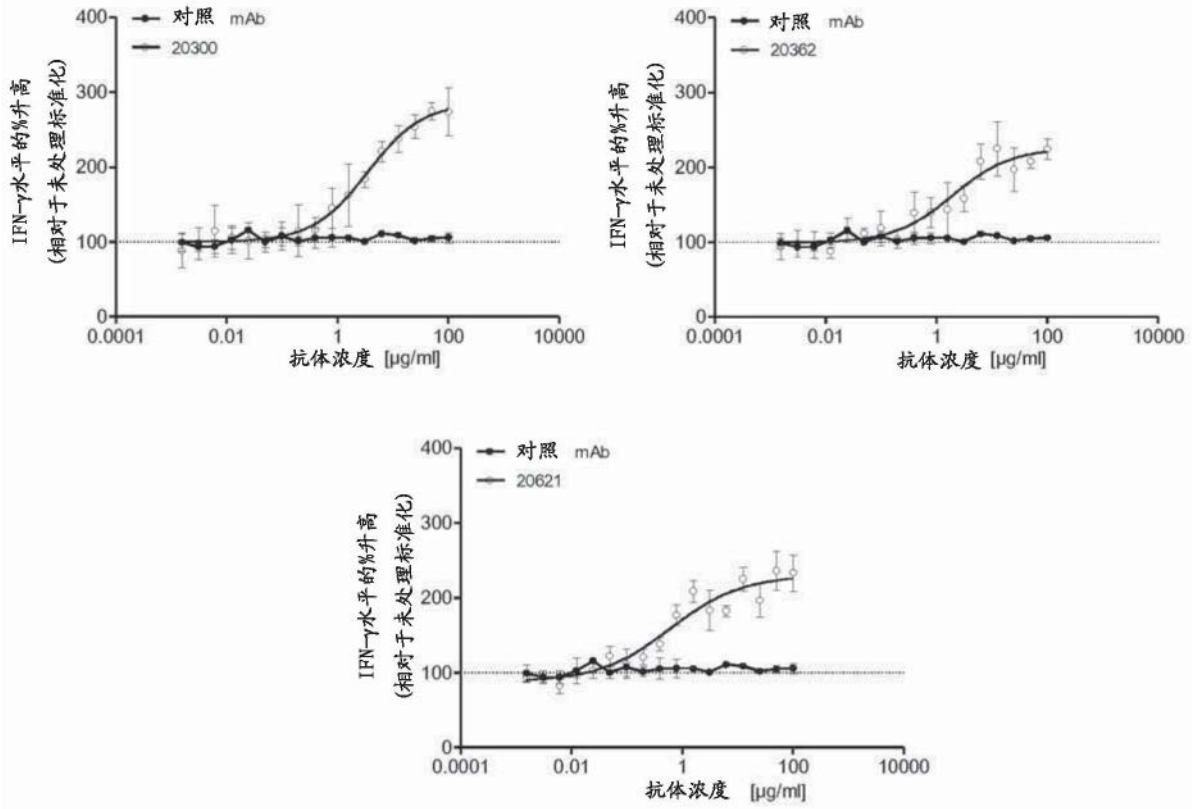


图5(续)

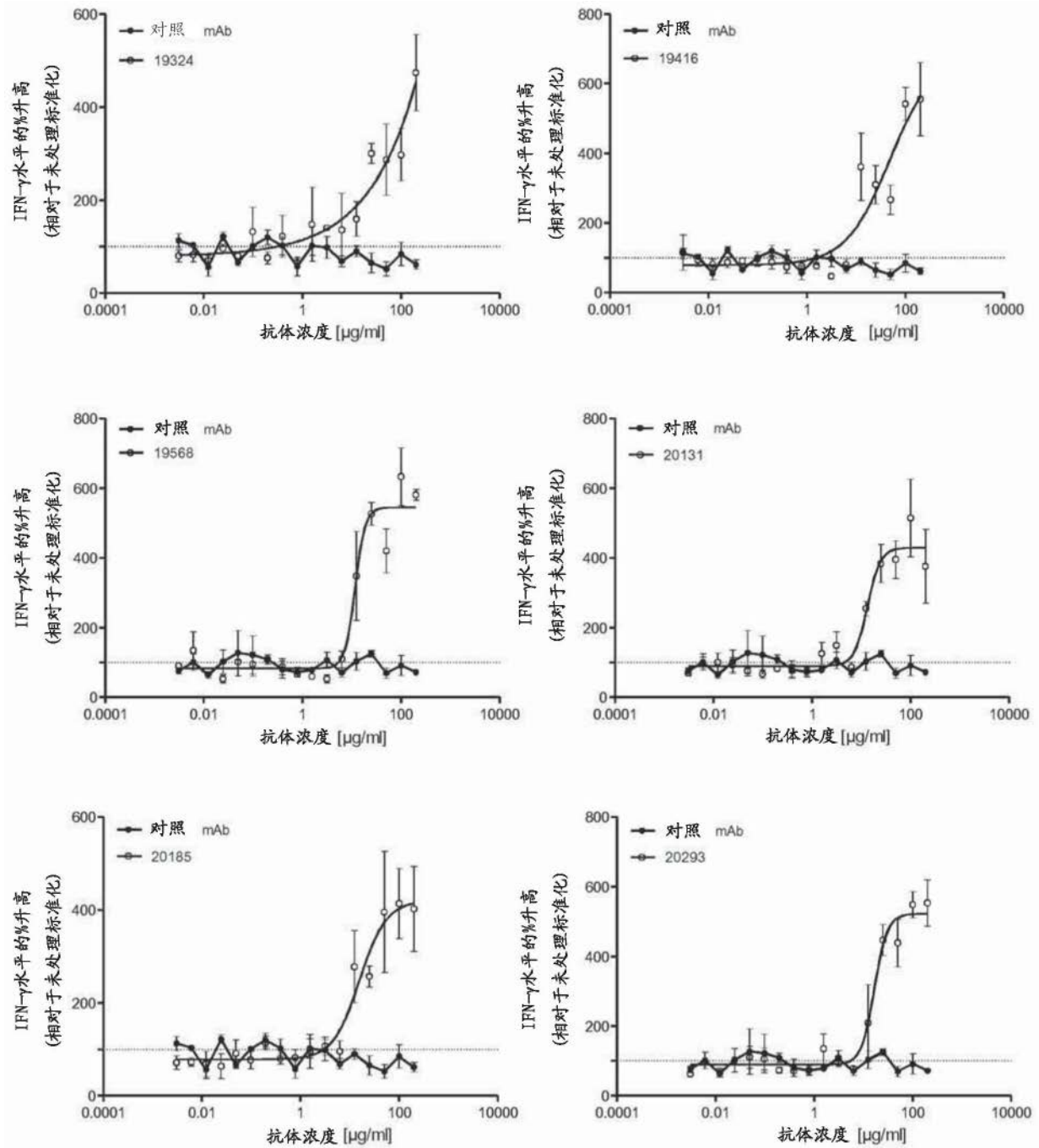


图6

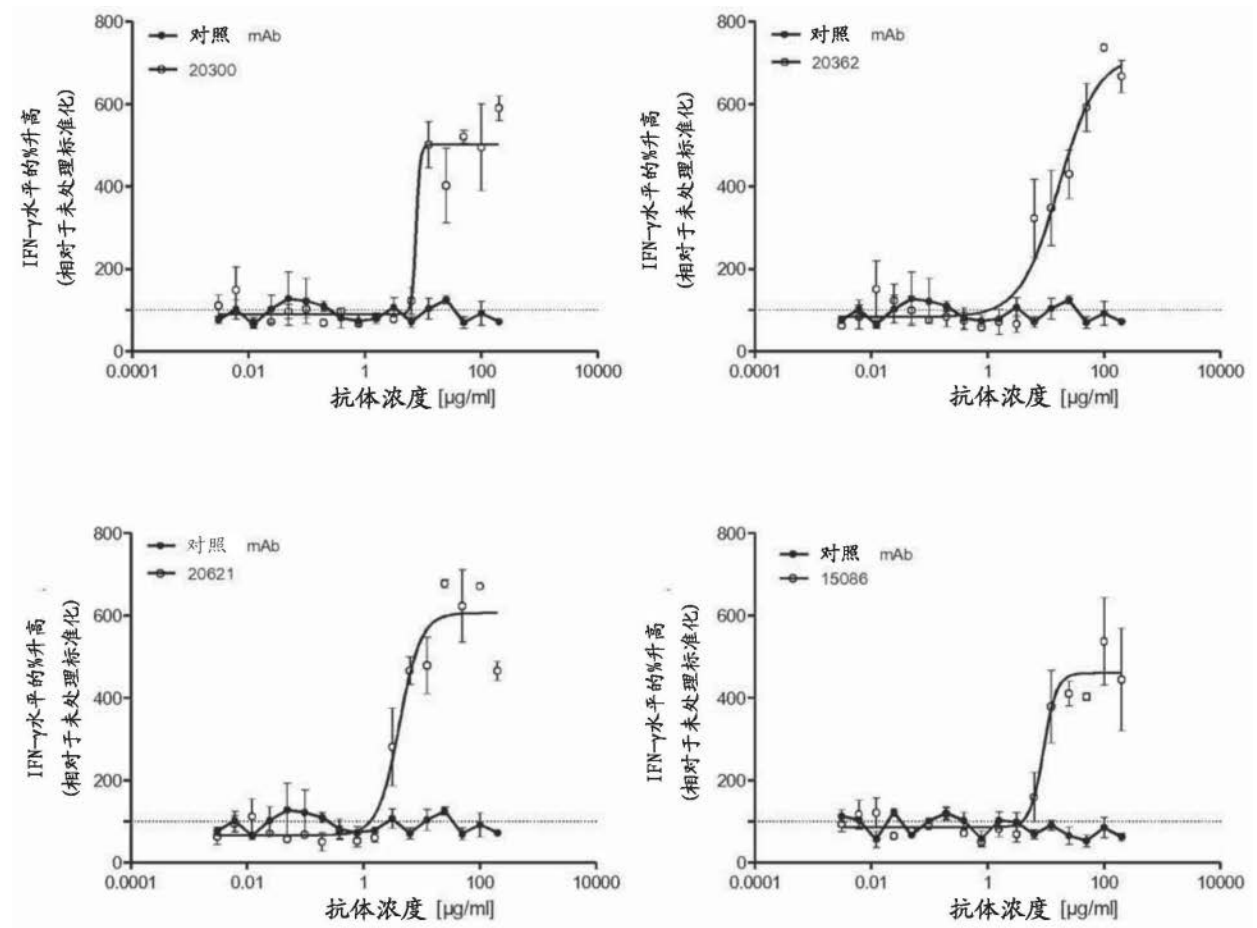


图6(续)

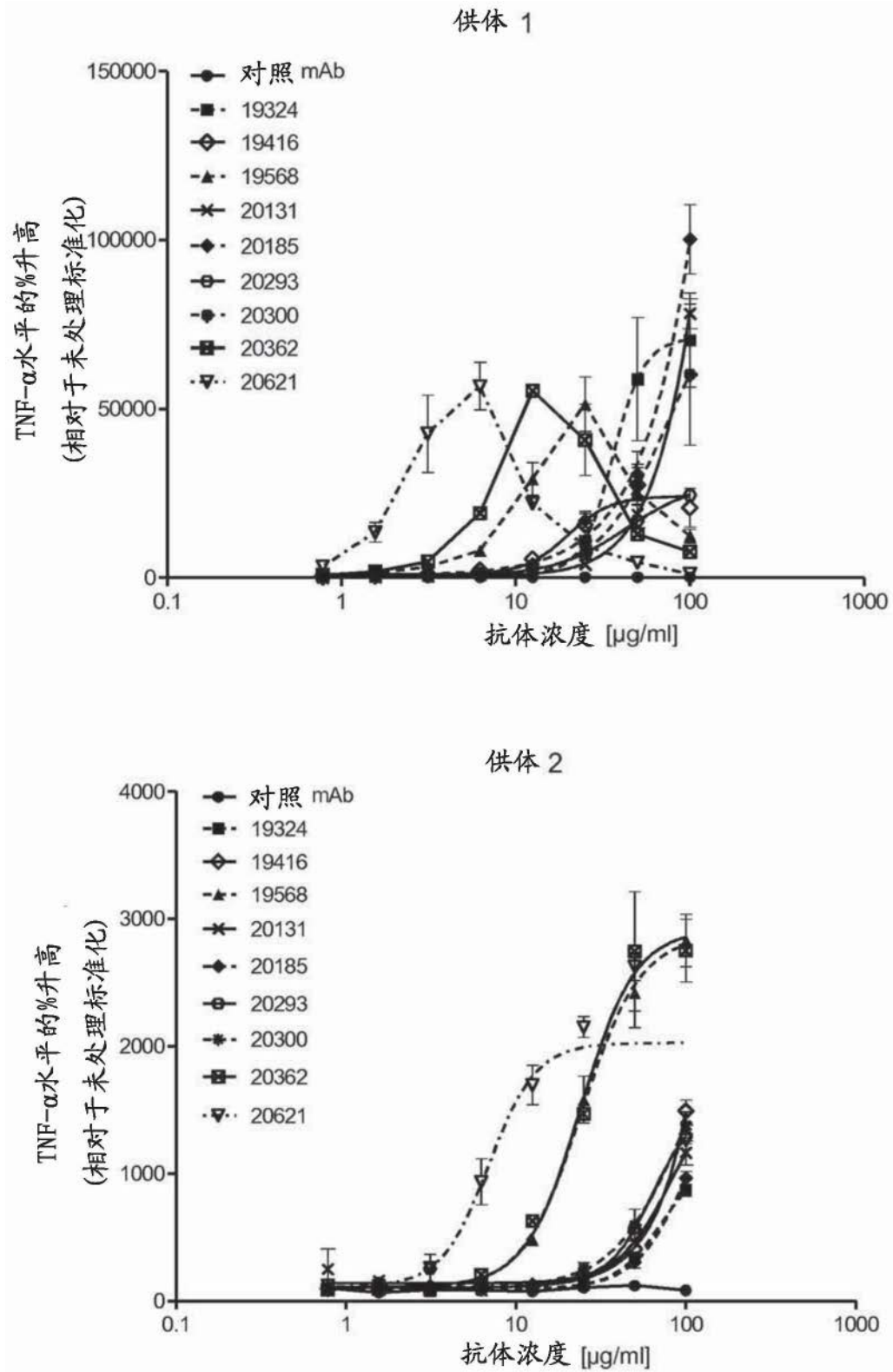


图7

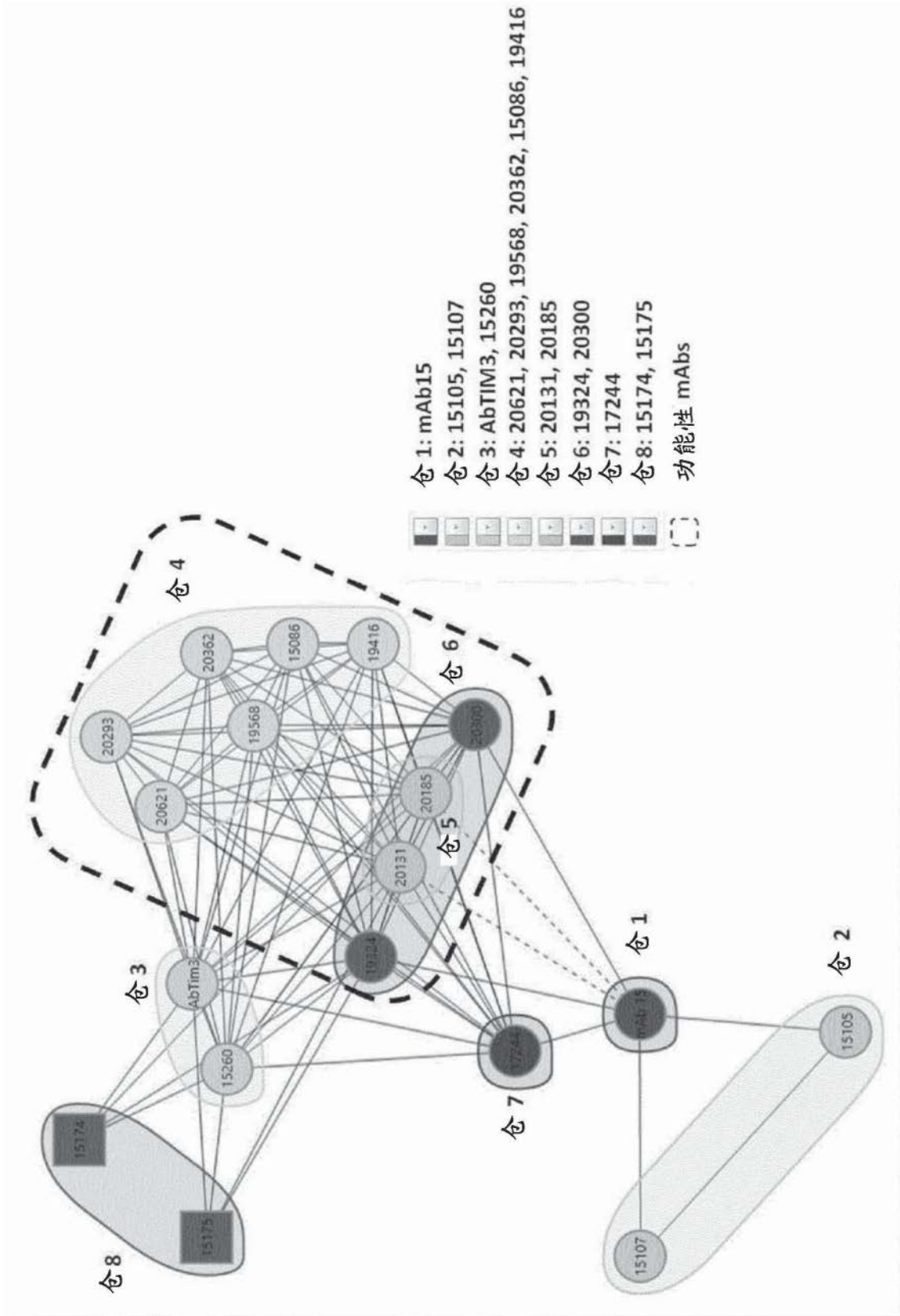


图8

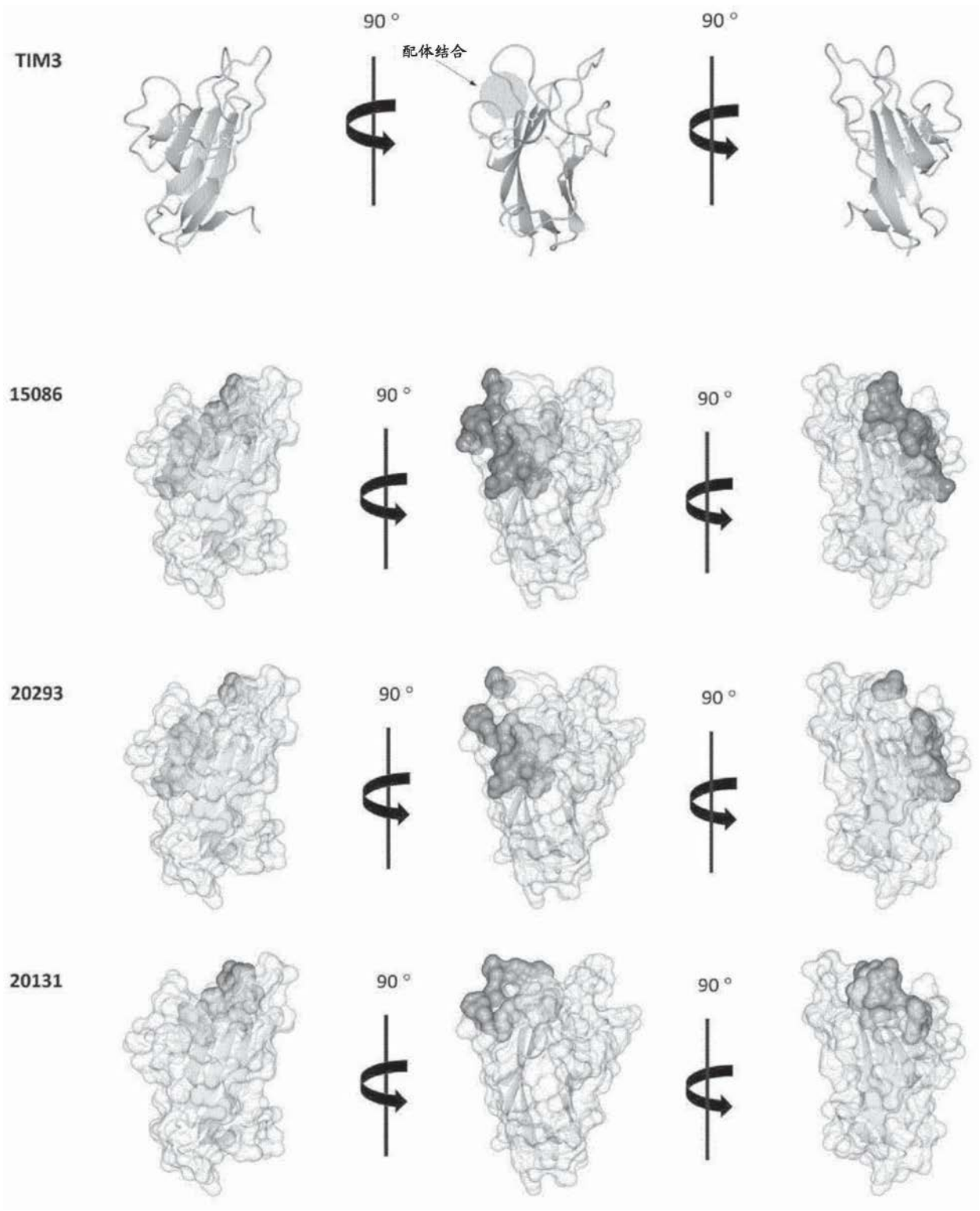


图9

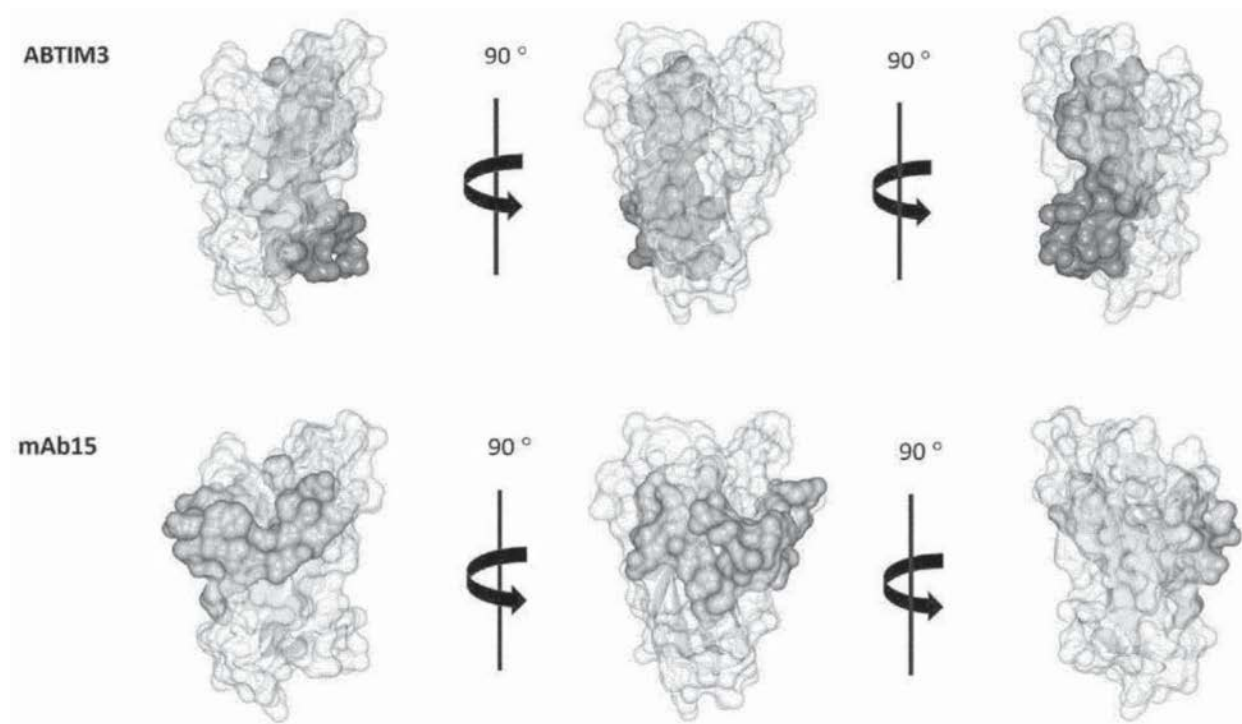


图9(续)