



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112638944 A

(43) 申请公布日 2021. 04. 09

(21) 申请号 201980053349.2

S • 彼德森 B • 普林兹 S • 加代

(22) 申请日 2019.08.22

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100

(30) 优先权数据

代理人 余颖 陶家蓉

62/722,063 2018.08.23 US

62/734,130 2018.09.20 US

62/822,674 2019.03.22 US

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2021.02.09

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/047607 2019.08.22

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/041541 EN 2020.02.27

(71) 申请人 西进公司

地址 美国华盛顿州

权利要求书18页 说明书104页
序列表117页 附图56页

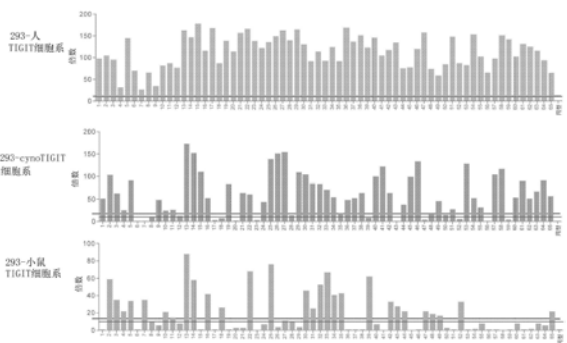
(72) 发明人 J • C • 皮亚瑟吉 C • 比尔斯

(54) 发明名称

抗TIGIT抗体

(57) 摘要

本发明提供结合人TIGIT (具有Ig及ITIM结构域的T细胞免疫受体) 的分离抗体。在一些实施方式中,该抗体对人TIGIT的结合亲和性(K_D) 小于5nM。在一些实施方式中,该抗TIGIT抗体阻断CD155和/或CD112与TIGIT的结合。在一些实施方式中,所述抗体是无岩藻糖基化的。



1. 一种组合物,其包含结合人TIGIT(具有Ig及ITIM结构域的T细胞免疫受体)的分离抗体,其中所述抗体对人TIGIT的结合亲和性(K_D)小于5nM,且其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的。

2. 如权利要求1所述的组合物,其中所述抗体对人TIGIT的 K_D 小于1nM。

3. 如权利要求1所述的组合物,其中所述抗体对人TIGIT的 K_D 小于100pM。

4. 如权利要求1至3中任一项所述的组合物,其中所述抗体表现出与食蟹猕猴TIGIT和/或小鼠TIGIT的交叉反应性。

5. 如权利要求4所述的组合物,其中所述抗体表现出与食蟹猕猴TIGIT及小鼠TIGIT两者的交叉反应性。

6. 如权利要求1至5中任一项所述的组合物,其中所述抗体阻断CD155与TIGIT的结合。

7. 如权利要求1至5中任一项所述的组合物,其中所述抗体阻断CD112与TIGIT的结合。

8. 如权利要求1至5中任一项所述的组合物,其中所述抗体阻断CD155及CD112两者与TIGIT的结合。

9. 如权利要求1至8中任一项所述的组合物,其中所述抗体与包括包含SEQ ID NO:55所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的轻链可变区的抗体竞争结合人TIGIT。

10. 如权利要求1至9中任一项所述的组合物,其中所述抗体在结合人TIGIT时结合氨基酸位置81及82中之一或两者。

11. 如权利要求10所述的组合物,其中所述抗体结合氨基酸位置81及82两者。

12. 如权利要求10或11所述的组合物,其中氨基酸位置81及82是Phe81和Lys82。

13. 如权利要求1至12中任一项所述的组合物,其中所述抗体结合人TIGIT上包含氨基酸位置81及82中之一或两者的表位。

14. 一种组合物,其包含结合人TIGIT的分离抗体,其中所述抗体在结合人TIGIT时结合氨基酸位置81及82中之一或两者,且其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的。

15. 如权利要求14所述的组合物,其中所述抗体结合氨基酸位置81及82两者。

16. 如权利要求14或15所述的组合物,其中氨基酸位置81及82是Phe81和Lys82。

17. 一种组合物,其包含结合人TIGIT的分离抗体,其中所述抗体结合人TIGIT上包含氨基酸位置81及82中之一或两者的表位,且其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的。

18. 如权利要求13或17所述的组合物,其中所述表位包含第81位的Phe。

19. 如权利要求13、17及18中任一项所述的组合物,其中所述表位包含第82位的Lys或Ser。

20. 如权利要求13及17至19中任一项所述的组合物,其中所述表位包含第81位的Phe及第82位的Lys或Ser。

21. 如权利要求20所述的组合物,其中所述表位包含Phe81和Lys82。

22. 如权利要求13及17至21中任一项所述的组合物,其中所述表位是不连续表位。

23. 如权利要求13及17至22中任一项所述的组合物,其中所述抗体结合人TIGIT上进一步包含氨基酸位置51、52、53、54、55、73、74、75、76、77、79、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92或93中之一或多者的表位。

24. 如权利要求23所述的组合物,其中所述表位进一步包含一个或多个选自下组的氨基酸残基:Thr51、Ala52、Gln53、Val54、Thr55、Leu73、Gly74、Trp75、His76、Ile77、Pro79、Asp83、Arg84、Val85、Ala86、Pro87、Gly88、Pro89、Gly90、Leu91、Gly92及Leu93。

25. 如权利要求24所述的组合物,其中所述表位包含氨基酸残基Thr51、Ala52、Gln53、Val54、Thr55、Gly74、Trp75、His76、Ile77、Phe81、Lys82、Pro87、Gly88、Pro89、Gly90、Leu91、Gly92及Leu93。

26. 如权利要求24所述的组合物,其中所述表位包含氨基酸残基Ala52、Gln53、Leu73、Gly74、Trp75、Pro79、Phe81、Lys82、Asp83、Arg84、Val85及Ala86。

27. 如权利要求13及17至26中任一项所述的组合物,其中所述表位包含序列ICNADLGWHISPSFK (SEQ ID NO:258)。

28. 如权利要求1至27中任一项所述的组合物,其中人TIGIT包含序列SEQ ID NO:218。

29. 如权利要求1至28中任一项所述的组合物,其中各抗体包含以下之一或多者:

(a) 重链CDR1,其包含选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:221、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:233、SEQ ID NO:239、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284、SEQ ID NO:293、SEQ ID NO:294、SEQ ID NO:289及SEQ ID NO:290的序列;

(b) 重链CDR2,其包含选自SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:186、SEQ ID NO:204、SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:297、SEQ ID NO:291及SEQ ID NO:295的序列;

(c) 重链CDR3,其包含选自SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:152、SEQ ID NO:170、SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:206、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:292及SEQ ID NO:296的序列;

(d) 轻链CDR1,其包含选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:211及SEQ ID NO:287的序列;

(e) 轻链CDR2,其包含选自SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:159、SEQ ID NO:177、SEQ ID NO:195、SEQ ID NO:213及SEQ ID NO:288的序列;或

(f) 轻链CDR3,其包含选自SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:161、SEQ

ID NO:179、SEQ ID NO:197及SEQ ID NO:215的序列。

30. 如权利要求29所述的组合物,其中各抗体包含:

(a) 重链CDR1序列,其包含选自SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:293、SEQ ID NO:294、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:289及SEQ ID NO:290的氨基酸序列;

(b) 重链CDR2序列,其包含选自SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:297、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:291、SEQ ID NO:229及SEQ ID NO:295的氨基酸序列;

(c) 重链CDR3序列,其包含选自SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:292、SEQ ID NO:230及SEQ ID NO:296的氨基酸序列;

(d) 轻链CDR1序列,其包含选自SEQ ID NO:67及SEQ ID NO:287的氨基酸序列;

(e) 轻链CDR2序列,其包含选自SEQ ID NO:69及SEQ ID NO:288的氨基酸序列;和/或

(f) 轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

31. 如权利要求29或30所述的组合物,其中各抗体包括包含以下序列的重链CDR1、CDR2及CDR3及轻链CDR1、CDR2及CDR3:

(a) 分别为SEQ ID NO:4、6、8、13、15及17;或

(b) 分别为SEQ ID NO:22、24、26、31、33及35;或

(c) 分别为SEQ ID NO:40、42、44、49、51及53;或

(d) 分别为SEQ ID NO:58、60、62、67、69及71;或

(e) 分别为SEQ ID NO:283、285、62、287、288及71;或

(f) 分别为SEQ ID NO:284、60、286、67、69及71;或

(g) 分别为SEQ ID NO:76、78、80、85、87及89;或

(h) 分别为SEQ ID NO:94、96、98、103、105及107;或

(i) 分别为SEQ ID NO:112、114、116、121、123及125;或

(j) 分别为SEQ ID NO:130、132、134、139、141及143;或

(k) 分别为SEQ ID NO:148、150、152、157、159及161;或

(l) 分别为SEQ ID NO:166、168、170、175、177及179;或

(m) 分别为SEQ ID NO:184、186、188、193、195及197;或

(n) 分别为SEQ ID NO:202、204、206、211、213及215;或

(o) 分别为SEQ ID NO:221、222、223、13、15及17;或

(p) 分别为SEQ ID NO:224、225、62、67、69及71;或

(q) 分别为SEQ ID NO:293、297、62、287、288及71;或

(r) 分别为SEQ ID NO:294、225、286、67、69及71;或

(s) 分别为SEQ ID NO:226、227、228、67、69及71;或

(t) 分别为SEQ ID NO:289、291、228、287、288及71;或

(u) 分别为SEQ ID NO:290、227、292、67、69及71;或

(v) 分别为SEQ ID NO:224、229、230、67、69及71;或

(w) 分别为SEQ ID NO:293、295、230、287、288及71;或

(x) 分别为SEQ ID NO:294、229、296、67、69及71;或

(y) 分别为SEQ ID NO:224、227、230、67、69及71;或

- (z) 分别为SEQ ID NO:293、290、230、287、288及71;或
- (aa) 分别为SEQ ID NO:294、290、230、67、69及71;或
- (bb) 分别为SEQ ID NO:231、232、235、103、105及107;或
- (cc) 分别为SEQ ID NO:233、234、236、103、105及107;或
- (dd) 分别为SEQ ID NO:233、234、237、103、105及107;或
- (ee) 分别为SEQ ID NO:166、238、170、175、177及179;或
- (ff) 分别为SEQ ID NO:239、240、170、175、177及179;或
- (gg) 分别为SEQ ID NO:239、240、241、175、177及179;或
- (hh) 分别为SEQ ID NO:239、240、242、175、177及179;或
- (ii) 分别为SEQ ID NO:243、168、244、175、177及179。

32. 如权利要求1至31中任一项所述的组合物,其中各抗体包括包含以下序列的重链CDR1、CDR2及CDR3及轻链CDR1、CDR2及CDR3:

- (a) 分别为SEQ ID NO:58、60、62、67、69及71;或
- (b) 分别为SEQ ID NO:283、285、62、287、288及71;或
- (c) 分别为SEQ ID NO:284、60、286、67、69及71。

33. 如权利要求1至32中任一项所述的组合物,其中各抗体包含:

- (a) 重链可变区,其包含与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:252、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257具有至少90%序列一致性的氨基酸序列;和/或
- (b) 轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:190或SEQ ID NO:208具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。

34. 如权利要求1至33中任一项所述的组合物,其中各抗体包含:

- (a) 包含与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:245具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:10具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或
- (b) 包含与SEQ ID NO:19具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:28具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或
- (c) 包含与SEQ ID NO:37具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:46具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或
- (d) 包含与SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248或SEQ ID NO:249中任一者具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:64具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或
- (e) 包含与SEQ ID NO:73具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:82具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或
- (f) 包含与SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252中任一者具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:100具有至少

90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(g) 包含与SEQ ID NO:109具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:118具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(h) 包含与SEQ ID NO:127具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:136具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(i) 包含与SEQ ID NO:145具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:154具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(j) 包含与SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257中任一者具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:172具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(k) 包含与SEQ ID NO:181具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:190具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(l) 包含与SEQ ID NO:199具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:208具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区。

35. 如权利要求34所述的组合物,其中各抗体包含:

(a) 包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:245所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(b) 包含SEQ ID NO:19所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:28所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(c) 包含SEQ ID NO:37所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:46所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(d) 包含SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248或SEQ ID NO:249中任一者所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(e) 包含SEQ ID NO:73所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:82所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(f) 包含SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252中任一者所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:100所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(g) 包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:118所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(h) 包含SEQ ID NO:127所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:136所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(i) 包含SEQ ID NO:145所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:154所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(j) 包含SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257中任一者所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:172所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(k) 包含SEQ ID NO:181所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:190所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(1) 包含SEQ ID NO:199所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:208所示氨基酸序列的轻链可变区。

36. 如权利要求1至35中任一项所述的组合物,其中各抗体包括包含SEQ ID NO:55所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的轻链可变区。

37. 如权利要求1至36中任一项所述的组合物,其中所述抗体是IgG抗体。

38. 如权利要求37所述的组合物,其中所述抗体是IgG1抗体或IgG3抗体。

39. 如权利要求1至38中任一项所述的组合物,其中各抗体包括包含选自SEQ ID NO:260、262、264、266、268、270及272的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

40. 如权利要求39所述的组合物,其中各抗体包括包含SEQ ID NO:260所示氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

41. 如权利要求39所述的组合物,其中各抗体包含由SEQ ID NO:260所示氨基酸序列组成的重链;及由SEQ ID NO:274所示氨基酸序列组成的轻链。

42. 一种组合物,其包含结合人TIGIT的分离抗体,其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的,且其中各抗体包括包含SEQ ID NO:260所示氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

43. 一种组合物,其包含结合人TIGIT的分离抗体,其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的,且其中各抗体包含由SEQ ID NO:260所示氨基酸序列组成的重链及由SEQ ID NO:274所示氨基酸序列组成的轻链。

44. 如权利要求1至43中任一项所述的组合物,其中所述抗体表现出与抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体的协同作用。

45. 如权利要求44所述的组合物,其中协同作用是使用包含以下所述内容的分析测定的:使包含:(i) 表达PD-1、TIGIT及CD226的Jurkat效应细胞,其中所述Jurkat效应细胞包含由IL-2启动子驱动的荧光素酶报导基因;及(ii) 表达TCR活化因子、PD-L1及CD155的CHO-K1人工抗原呈递细胞(aAPC)的共培养物与所述组合物及抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体接触。

46. 如权利要求1至45中任一项所述的组合物,其中调节性T(Treg)细胞从与所述组合物接触的人PBMC中清除。

47. 如权利要求1至46中任一项所述的组合物,MCP1、IL-8及MIP1 α 的表达在与所述组合物接触的人PBMC中增加。

48. 如权利要求1至47中任一项所述的组合物,其中单核细胞/巨噬细胞在与所述组合物接触时活化。

49. 如权利要求1至48中任一项所述的组合物,其中在CD14+单核细胞/巨噬细胞与所述组合物接触时,CD86及MHCII上调。

50. 如权利要求1至49中任一项所述的组合物,其中与所述组合物接触的CD14+单核细胞/巨噬细胞成熟为抗原呈递细胞。

51. 如权利要求1至50中任一项所述的组合物,其中与所述组合物接触的记忆T细胞响应抗原的IFN γ 产生增加。

52. 如权利要求1至51中任一项所述的组合物,其中与所述组合物接触的記憶T細胞对抗原的反应增强。

53. 如权利要求1至52中任一项所述的组合物,其中效应记忆CD8⁺T細胞和/或效应记忆CD4⁺T細胞在与所述组合物接触的肿瘤中增加。

54. 如权利要求1至53中任一项所述的组合物,其中所述组合物在给予了所述组合物的动物中增强Th1反应。

55. 如权利要求1至54中任一项所述的组合物,其中与未经无岩藻糖基化的相同抗TIGIT抗体相比,所述组合物的抗体对Fc γ RIIa和/或Fc γ RIIb具有较低结合亲和性。

56. 如权利要求1至55中任一项所述的组合物,其中所述组合物介导在单核细胞巨噬细胞存在下TIGIT表达细胞的抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)。

57. 如权利要求1至56中任一项所述的组合物,其中所述抗体是单克隆抗体。

58. 如权利要求1至57中任一项所述的组合物,其中所述抗体是完全人抗体。

59. 如权利要求1至58中任一项所述的组合物,其中所述抗体是嵌合抗体。

60. 如权利要求1至28及44至59中任一项所述的组合物,其中所述抗体是人源化抗体。

61. 如权利要求1至60中任一项所述的组合物,其中所述抗体是抗体片段。

62. 如权利要求61所述的组合物,其中所述抗体片段是Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv或双价抗体。

63. 如权利要求1至62中任一项所述的组合物,其中所述抗体是双特异性抗体。

64. 如权利要求1至63中任一项所述的组合物,其中所述抗体是抗体-药物偶联物。

65. 一种结合人TIGIT(具有Ig及ITIM结构域的T細胞免疫受体)的抗体,其中所述抗体对人TIGIT的结合亲和性(K_d)小于5nM,且其中所述抗体是无岩藻糖基化的。

66. 如权利要求65所述的抗体,其中所述抗体对人TIGIT的K_d小于1nM。

67. 如权利要求66所述的抗体,其中抗体对人TIGIT的K_d小于100pM。

68. 如权利要求65至67中任一项所述的抗体,其中抗体表现出与食蟹猕猴TIGIT和/或小鼠TIGIT的交叉反应性。

69. 如权利要求68所述的抗体,其中所述抗体表现出与食蟹猕猴TIGIT及小鼠TIGIT两者的交叉反应性。

70. 如权利要求65至69中任一项所述的抗体,其中所述抗体阻断CD155与TIGIT的结合。

71. 如权利要求65至70中任一项所述的抗体,其中所述抗体阻断CD112与TIGIT的结合。

72. 如权利要求65至71中任一项所述的抗体,其中所述抗体阻断CD155及CD112两者与TIGIT的结合。

73. 如权利要求65至72中任一项所述的抗体,其中所述抗体与包括包含SEQ ID NO:55所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的轻链可变区的抗体竞争结合人TIGIT。

74. 如权利要求65至73中任一项所述的抗体,其中所述抗体在结合人TIGIT时结合氨基酸位置81及82中之一或两者。

75. 如权利要求74所述的抗体,其中所述抗体结合氨基酸位置81及82两者。

76. 如权利要求74或75所述的抗体,其中氨基酸位置81及82是Phe81和Lys82。

77. 如权利要求65至76中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合人TIGIT上包含氨基酸

位置81及82中之一或两者的表位。

78. 一种结合人TIGIT的抗体,其中所述抗体在结合人TIGIT时结合氨基酸位置81及82中之一或两者,且其中所述抗体是无岩藻糖基化的。

79. 如权利要求78所述的抗体,其中所述抗体结合氨基酸位置81及82两者。

80. 如权利要求78或79所述的抗体,其中氨基酸位置81及82是Phe81和Lys82。

81. 一种结合人TIGIT的抗体,其中所述抗体结合人TIGIT上包含氨基酸位置81及82中之一或两者的表位,且其中所述抗体是无岩藻糖基化的。

82. 如权利要求77或81所述的抗体,其中所述表位包含第81位的Phe。

83. 如权利要求77、81及82中任一项所述的抗体,其中所述表位包含第82位的Lys或Ser。

84. 如权利要求77及81至83中任一项所述的抗体,其中所述表位包含第81位的Phe及第82位的Lys或Ser。

85. 如权利要求84所述的抗体,其中所述表位包含Phe81和Lys82。

86. 如权利要求77及81至85中任一项所述的抗体,其中所述表位是不连续表位。

87. 如权利要求77及81至86中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合人TIGIT上进一步包含氨基酸位置51、52、53、54、55、73、74、75、76、77、79、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92或93中之一或多者的表位。

88. 如权利要求87所述的抗体,其中所述表位进一步包含一个或多个选自下组的氨基酸残基: Thr51、Ala52、Gln53、Val54、Thr55、Leu73、Gly74、Trp75、His76、Ile77、Pro79、Asp83、Arg84、Val85、Ala86、Pro87、Gly88、Pro89、Gly90、Leu91、Gly92及Leu93。

89. 如权利要求88所述的抗体,其中所述表位包含氨基酸残基Thr51、Ala52、Gln53、Val54、Thr55、Gly74、Trp75、His76、Ile77、Phe81、Lys82、Pro87、Gly88、Pro89、Gly90、Leu91、Gly92及Leu93。

90. 如权利要求88所述的抗体,其中所述表位包含氨基酸残基Ala52、Gln53、Leu73、Gly74、Trp75、Pro79、Phe81、Lys82、Asp83、Arg84、Val85及Ala86。

91. 如权利要求77及81至90中任一项所述的抗体,其中所述表位包含序列ICNADLGWHISPSFK (SEQ ID NO:258)。

92. 如权利要求65至91中任一项所述的抗体,其中人TIGIT包含序列SEQ ID NO:218。

93. 如权利要求65至92中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含以下之一或多者:

(a) 重链CDR1,其包含选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:221、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:233、SEQ ID NO:239、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284、SEQ ID NO:293、SEQ ID NO:294、SEQ ID NO:289及SEQ ID NO:290的序列;

(b) 重链CDR2,其包含选自SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:186、SEQ ID NO:204、SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:297、SEQ ID NO:291及SEQ ID NO:295的序列;

(c) 重链CDR3,其包含选自SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:152、SEQ ID NO:170、SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:206、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:292及SEQ ID NO:296的序列;

(d) 轻链CDR1,其包含选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:211及SEQ ID NO:287的序列;

(e) 轻链CDR2,其包含选自SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:159、SEQ ID NO:177、SEQ ID NO:195、SEQ ID NO:213及SEQ ID NO:288的序列;或

(f) 轻链CDR3,其包含选自SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:161、SEQ ID NO:179、SEQ ID NO:197及SEQ ID NO:215的序列。

94. 如权利要求93所述的抗体,其中所述抗体包含:

(a) 重链CDR1序列,其包含选自SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:293、SEQ ID NO:294、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:289及SEQ ID NO:290的氨基酸序列;

(b) 重链CDR2序列,其包含选自SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:297、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:291、SEQ ID NO:229及SEQ ID NO:295的氨基酸序列;

(c) 重链CDR3序列,其包含选自SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:292、SEQ ID NO:230及SEQ ID NO:296的氨基酸序列;

(d) 轻链CDR1序列,其包含选自SEQ ID NO:67及SEQ ID NO:287的氨基酸序列;

(e) 轻链CDR2序列,其包含选自SEQ ID NO:69及SEQ ID NO:288的氨基酸序列;和/或

(f) 轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

95. 如权利要求94所述的抗体,其中所述抗体包括包含以下序列的重链CDR1、CDR2及CDR3及轻链CDR1、CDR2及CDR3:

(a) 分别为SEQ ID NO:4、6、8、13、15及17;或

(b) 分别为SEQ ID NO:22、24、26、31、33及35;或

(c) 分别为SEQ ID NO:40、42、44、49、51及53;或

(d) 分别为SEQ ID NO:58、60、62、67、69及71;或

(e) 分别为SEQ ID NO:76、78、80、85、87及89;或

(f) 分别为SEQ ID NO:94、96、98、103、105及107;或

(g) 分别为SEQ ID NO:112、114、116、121、123及125;或

(h) 分别为SEQ ID NO:130、132、134、139、141及143;或

(i) 分别为SEQ ID NO:148、150、152、157、159及161;或

(j) 分别为SEQ ID NO:166、168、170、175、177及179;或

(k) 分别为SEQ ID NO:184、186、188、193、195及197;或

(l) 分别为SEQ ID NO:202、204、206、211、213及215;或

- (m) 分别为SEQ ID NO:221、222、223、13、15及17;或
- (n) 分别为SEQ ID NO:224、225、62、67、69及71;或
- (o) 分别为SEQ ID NO:226、227、228、67、69及71;或
- (p) 分别为SEQ ID NO:224、229、230、67、69及71;或
- (q) 分别为SEQ ID NO:224、227、230、67、69及71;或
- (r) 分别为SEQ ID NO:231、232、235、103、105及107;或
- (s) 分别为SEQ ID NO:233、234、236、103、105及107;或
- (t) 分别为SEQ ID NO:233、234、237、103、105及107;或
- (u) 分别为SEQ ID NO:166、238、170、175、177及179;或
- (v) 分别为SEQ ID NO:239、240、170、175、177及179;或
- (w) 分别为SEQ ID NO:239、240、241、175、177及179;或
- (x) 分别为SEQ ID NO:239、240、242、175、177及179;或
- (y) 分别为SEQ ID NO:243、168、244、175、177及179。

96. 如权利要求65至95中任一项所述的抗体,其中所述抗体包括包含以下序列的重链CDR1、CDR2及CDR3及轻链CDR1、CDR2及CDR3:

- (a) 分别为SEQ ID NO:58、60、62、67、69及71;或
- (b) 分别为SEQ ID NO:283、285、62、287、288及71;或
- (c) 分别为SEQ ID NO:284、60、286、67、69及71。

97. 如权利要求65至96中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含:

(a) 重链可变区,其包含与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:252、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257具有至少90%序列一致性的氨基酸序列;和/或

(b) 轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:190或SEQ ID NO:208具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。

98. 如权利要求65至97中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含:

(a) 包含与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:245具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:10具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(b) 包含与SEQ ID NO:19具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:28具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(c) 包含与SEQ ID NO:37具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:46具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(d) 包含与SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248或SEQ ID NO:249中任一者具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:64具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(e) 包含与SEQ ID NO:73具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含

与SEQ ID NO:82具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(f) 包含与SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252中任一者具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:100具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(g) 包含与SEQ ID NO:109具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:118具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(h) 包含与SEQ ID NO:127具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:136具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(i) 包含与SEQ ID NO:145具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:154具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(j) 包含与SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257中任一者具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:172具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(k) 包含与SEQ ID NO:181具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:190具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(l) 包含与SEQ ID NO:199具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:208具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区。

99. 如权利要求98所述的抗体,其中所述抗体包含:

(a) 包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:245所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(b) 包含SEQ ID NO:19所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:28所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(c) 包含SEQ ID NO:37所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:46所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(d) 包含SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248或SEQ ID NO:249中任一者所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(e) 包含SEQ ID NO:73所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:82所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(f) 包含SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252中任一者所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:100所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(g) 包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:118所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(h) 包含SEQ ID NO:127所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:136所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(i) 包含SEQ ID NO:145所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:154所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(j) 包含SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257中任一者所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:172所示氨

基酸序列的轻链可变区;或

(k) 包含SEQ ID NO:181所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:190所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(l) 包含SEQ ID NO:199所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:208所示氨基酸序列的轻链可变区。

100. 如权利要求65至99中任一项所述的抗体,其中所述抗体包括包含SEQ ID NO:55所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的轻链可变区。

101. 如权利要求65至100中任一项所述的抗体,其中所述抗体是IgG抗体。

102. 如权利要求101所述的抗体,其中所述抗体是IgG1抗体或IgG3抗体。

103. 如权利要求65至102中任一项所述的抗体,其中所述抗体包括包含选自SEQ ID NO:260、262、264、266、268、270及272的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

104. 如权利要求103所述的抗体,其中所述抗体包括包含SEQ ID NO:260所示氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

105. 如权利要求103所述的抗体,其中所述抗体包含由SEQ ID NO:260所示氨基酸序列组成的重链及由SEQ ID NO:274所示氨基酸序列组成的轻链。

106. 一种结合人TIGIT的抗体,其中所述抗体包括包含选自SEQ ID NO:260、262、264、266、268、270及272的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

107. 一种结合人TIGIT的抗体,其中所述抗体包括包含SEQ ID NO:260所示氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

108. 一种结合人TIGIT的抗体,其中所述抗体包含由SEQ ID NO:260所示氨基酸序列组成的重链及由SEQ ID NO:274所示氨基酸序列组成的轻链。

109. 如权利要求65至108中任一项所述的抗体,其中所述抗体表现出与抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体的协同作用。

110. 如权利要求109所述的抗体,其中协同作用是使用包含以下所述内容的分析测定的:使包含:(i) 表达PD-1、TIGIT及CD226的Jurkat效应细胞,其中所述Jurkat效应细胞包含由IL-2启动子驱动的荧光素酶报导基因;及(ii) 表达TCR活化因子、PD-L1及CD155的CHO-K1人工抗原呈递细胞(aAPC)的共培养物与所述抗体及抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体接触。

111. 如权利要求65至110中任一项所述的抗体,其中调节性T(Treg)细胞从与所述抗体接触的人PBMC中清除。

112. 如权利要求65至111中任一项所述的抗体,MCP1、IL-8及MIP1 α 的表达在与所述抗体接触的人PBMC中增加。

113. 如权利要求65至112中任一项所述的抗体,其中单核细胞/巨噬细胞在与所述抗体接触时活化。

114. 如权利要求65至113中任一项所述的抗体,其中在CD14⁺单核细胞/巨噬细胞与所述抗体接触时,CD86及MHCII上调。

115. 如权利要求65至114中任一项所述的抗体,其中与所述抗体接触的CD14⁺单核细胞/巨噬细胞成熟为抗原呈递细胞。

116. 如权利要求65至115中任一项所述的抗体,其中与所述抗体接触的记忆T细胞响应

抗原的IFN γ 产生增加。

117. 如权利要求65至116中任一项所述的抗体,其中与所述抗体接触的記憶T细胞对抗原的反应增强。

118. 如权利要求65至117中任一项所述的抗体,其中效应记忆CD8+T细胞和/或效应记忆CD4+T细胞在与所述抗体接触的肿瘤中增加。

119. 如权利要求65至118中任一项所述的抗体,其中所述抗体增强给予了所述抗体的动物中的Th1反应。

120. 如权利要求65至119中任一项所述的抗体,其中与未经无岩藻糖基化的相同抗TIGIT抗体相比,所述抗体对Fc γ RIIa和/或Fc γ RIIb具有较低结合亲和性。

121. 如权利要求65至120中任一项所述的抗体,其中所述抗体介导在单核细胞巨噬细胞存在下TIGIT表达细胞的抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)。

122. 如权利要求65至121中任一项所述的抗体,其中所述抗体是单克隆抗体。

123. 如权利要求65至122中任一项所述的抗体,其中所述抗体是完全人抗体。

124. 如权利要求65至123中任一项所述的抗体,其中所述抗体是嵌合抗体。

125. 如权利要求65至92及109至124中任一项所述的抗体,其中所述抗体是人源化抗体。

126. 如权利要求65至125中任一项所述的抗体,其中所述抗体是抗体片段。

127. 如权利要求126所述的抗体,其中所述抗体片段是Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv或双价抗体。

128. 如权利要求65至127中任一项所述的抗体,其中所述抗体是双特异性抗体。

129. 如权利要求65至128中任一项所述的抗体,其中所述抗体是抗体-药物偶联物。

130. 一种药物制剂,其包含如权利要求1至64中任一项所述的组合物或如权利要求65至129中任一项所述的抗体及药学上可接受的载剂。

131. 一种经分离的多核苷酸,其编码(i) 如权利要求106至108中任一项所述抗体的重链; (ii) 如权利要求106至108中任一项所述抗体的轻链;或(iii) 如权利要求106至108中任一项所述抗体的重链及轻链。

132. 如权利要求131所述的经分离的多核苷酸,其中所述多核苷酸包含(i) 选自SEQ ID NO:259、261、163、265、267、269及271的核苷酸序列;或(ii) SEQ ID NO:273的核苷酸序列;或(iii) 选自SEQ ID NO:259、261、263、265、267、269及271的核苷酸序列,及SEQ ID NO:273的核苷酸序列。

133. 一种包含如权利要求131或132所述多核苷酸的载体。

134. 一种经分离的宿主细胞,其包含如权利要求131或132所述的经分离的多核苷酸或如权利要求133所述的载体。

135. 一种经分离的宿主细胞,其表达如权利要求106至108中任一项所述的抗体。

136. 如权利要求134或135所述的宿主细胞,其经工程改造以产生无岩藻糖基化抗体。

137. 一种产生结合人TIGIT的抗体的方法,其包含在适于产生所述抗体的条件下培育如权利要求134至136中任一项所述的宿主细胞。

138. 如权利要求137所述的方法,其中所述宿主细胞经工程改造以产生无岩藻糖基化抗体。

139. 如权利要求137所述的方法, 其中在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下在岩藻糖类似物存在下培养所述宿主细胞。

140. 如权利要求137至139中任一项所述的方法, 其进一步包含分离所述抗体。

141. 一种结合人TIGIT的分离抗体的组合物, 其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的, 其中所述抗体是藉由如权利要求138至140中任一项所述的方法产生。

142. 一种结合人TIGIT的分离抗体的组合物, 其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的, 其中所述抗体是藉由包含以下内容的方法产生: 在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下培育如权利要求134或135所述的宿主细胞, 及分离所述抗体以形成分离抗体的组合物。

143. 如权利要求142所述的组合物, 其中所述宿主细胞经工程改造以产生无岩藻糖基化抗体。

144. 如权利要求142所述的组合物, 其中在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下在岩藻糖类似物存在下培养所述宿主细胞。

145. 一种宿主细胞, 其包括包含编码 (i) 如权利要求1至63中任一项所述的组合物的抗体或 (ii) 如权利要求65至128中任一项所述抗体的核苷酸序列的多核苷酸, 其中所述宿主细胞经工程改造以产生无岩藻糖基化抗体。

146. 如权利要求145所述的宿主细胞, 其中所述多核苷酸是载体。

147. 一种宿主细胞, 其表达 (i) 如权利要求1至63中任一项所述的组合物的抗体, 或 (ii) 如权利要求65至128中任一项所述的抗体, 其中所述宿主细胞经工程改造以产生无岩藻糖基化抗体。

148. 如权利要求145至147中任一项所述的宿主细胞, 其中所述宿主细胞包含:

(a) SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:164、SEQ ID NO:182、SEQ ID NO:200、SEQ ID NO:259、SEQ ID NO:265、SEQ ID NO:267、SEQ ID NO:269或SEQ ID NO:271的核苷酸序列; 和/或

(b) SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:173、SEQ ID NO:191、SEQ ID NO:209或SEQ ID NO:273的核苷酸序列。

149. 一种产生结合TIGIT的无岩藻糖基化抗体的方法, 其包含在适于产生所述无岩藻糖基化抗体的条件下培养如权利要求145至148中任一项所述的宿主细胞。

150. 一种产生结合TIGIT的无岩藻糖基化抗体的方法, 其包含在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下在岩藻糖类似物存在下培养宿主细胞, 其中所述宿主细胞包括包含编码 (i) 如权利要求1至63中任一项所述的组合物的抗体或 (ii) 如权利要求65至128中任一项所述抗体的核苷酸序列的多核苷酸。

151. 如权利要求150所述的方法, 其中所述多核苷酸是载体。

152. 一种产生结合TIGIT的无岩藻糖基化抗体的方法, 其包含在适于产生无岩藻糖基

化抗体的条件下在岩藻糖类似物存在下培养宿主细胞,其中所述宿主细胞表达(i)如权利要求1至63中任一项所述的组合物的抗体,或(ii)如权利要求65至128中任一项所述的抗体。

153.如权利要求150至152中任一项所述的方法,其中所述宿主细胞包含:

(a) SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:164、SEQ ID NO:182、SEQ ID NO:200、SEQ ID NO:259、SEQ ID NO:265、SEQ ID NO:267、SEQ ID NO:269或SEQ ID NO:271的核苷酸序列;和/或

(b) SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:173、SEQ ID NO:191、SEQ ID NO:209或SEQ ID NO:273的核苷酸序列。

154.如权利要求150至153中任一项所述的方法,其中所述岩藻糖类似物是2-氟岩藻糖。

155.如权利要求149至154中任一项所述的方法,其进一步包含分离所述无岩藻糖基化抗体。

156.一种结合人TIGIT的分离抗体的组合物,其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的,其中所述抗体是藉由如权利要求149至155中任一项所述的方法产生。

157.一种结合人TIGIT的分离抗体的组合物,其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的,其中所述抗体是藉由包含以下内容的方法产生:在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下培育如权利要求145至147中任一项所述的宿主细胞,及分离所述抗体以形成分离抗体的组合物。

158.一种结合人TIGIT的分离抗体的组合物,其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的,其中所述抗体是藉由包含以下内容的方法产生:在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下在岩藻糖类似物存在下培养宿主细胞,其中所述宿主细胞包括包含编码(i)如权利要求1至63中任一项所述的组合物的抗体或(ii)如权利要求65至128中任一项所述抗体的核苷酸序列的多核苷酸。

159.一种结合人TIGIT的分离抗体的组合物,其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的,其中所述抗体是藉由包含以下内容的方法产生:在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下在岩藻糖类似物存在下培养宿主细胞,其中所述宿主细胞表达(i)如权利要求1至63中任一项所述的组合物的抗体,或(ii)如权利要求65至128中任一项所述的抗体。

160.一种试剂盒,其包含:

如权利要求1至64中任一项所述的组合物、如权利要求65至129中任一项所述的抗体或如权利要求130所述的药物组合物;及

其他治疗剂。

161. 如权利要求160所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂是抗癌剂。

162. 如权利要求160或161所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂是抗体。

163. 如权利要求160至162中任一项所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂是T细胞共抑制因子的拮抗剂或抑制剂;T细胞共活化因子的激动剂;免疫刺激性细胞因子;或SGN-2FF。

164. 如权利要求160至163中任一项所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂结合选自下组的蛋白质:CD25、PD-1、PD-L1、Tim3、Lag3、CTLA4、41BB、OX40、CD3、CD40、CD47M、GM-CSF、CSF1R、TLR、STING、RIGI、TAM受体激酶、NKG2A、NKG2D、GD2、HER2、EGFR、PDGFR α 、SLAMF7、VEGF、CTLA-4、CD20、cCLB8、KIR及CD52。

165. 如权利要求160至164中任一项所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂选自抗CD25抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗Tim3抗体、抗Lag3抗体、抗CTLA4抗体、抗41BB抗体、抗OX40抗体、抗CD3抗体、抗CD40抗体、抗CD47M抗体、抗CSF1R抗体、抗TLR抗体、抗STING抗体、抗RIGI抗体、抗TAM受体激酶抗体、抗NKG2A抗体、抗NKG2D抗体、抗GD2抗体、抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗PDGFR- α -抗体、抗SLAMF7抗体、抗VEGF抗体、抗CTLA-4抗体、抗CD20抗体、抗cCLB8抗体、抗KIR抗体及抗CD52抗体。

166. 如权利要求160至165中任一项所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂包含选自IL-15、IL-21、IL-2、GM-CSF、M-CSF、G-CSF、IL-1、IL-3、IL-12及IFN γ 的细胞因子。

167. 如权利要求160至165中任一项所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂选自SEA-CD40、阿维鲁单抗(avelumab)、德瓦鲁单抗(durvalumab)、尼沃鲁单抗(nivolumab)、派姆单抗(pembrolizumab)、匹利珠单抗(pidilizumab)、阿替珠单抗(atenzolizumab)、Hu14.18K322A、Hu3F8、达妥昔单抗(dinituximab)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、西妥昔单抗(cetuximab)、奥拉妥单抗(olaratumab)、奈昔木单抗(necitumumab)、埃罗妥珠单抗(elotuzumab)、雷莫芦单抗(ramucirumab)、帕妥珠单抗(pertuzumab)、伊匹单抗(ipilimumab)、贝伐珠单抗(bevacizumab)、利妥昔单抗(rituximab)、奥妥珠单抗(obinutuzumab)、司妥昔单抗(siltuximab)、奥法木单抗(ofatumumab)、利利单抗(lirilumab)及阿伦单抗(alemtuzumab)。

168. 如权利要求160或161所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂选自烷基化剂(例如环磷酰胺(cyclophosphamide)、异环磷酰胺(ifosfamide)、氮芥苯丁酸(chlorambucil)、白消安(busulfan)、美法仑(melphalan)、甲基二(氯乙基)胺(mechlorethamine)、乌拉莫司汀(uramustine)、噻替派(thiotepa)、亚硝基脲(nitrosoureas)或替莫唑胺(temozolomide))、蒽环(例如多柔比星(doxorubicin)、阿德力霉素(adriamycin)、道诺霉素(daunorubicin)、泛艾霉素(epirubicin)或米托蒽醌(mitoxantrone))、细胞骨架破坏剂(例如太平洋紫杉醇(paclitaxel)或多西他赛(docetaxel))、组织蛋白去乙酰酶抑制剂(例如伏立诺他(vorinostat)或罗米地辛(romidepsin))、拓朴异构酶抑制剂(例如伊立替康(irinotecan)、托泊替康(topotecan)、安吡啶(amsacrine)、依托泊苷(etoposide)或替尼泊苷(teniposide))、激酶抑制剂(例如硼替佐米(bortezomib)、厄洛替尼(erlotinib)、吉非替尼(gefitinib)、伊马替尼(imatinib)、威罗菲尼(vemurafenib)或维莫德吉(vismodegib))、核苷类似物或前体类似物(例如阿扎胞苷(azacitidine)、硫唑嘌呤(azathioprine)、卡培他滨(capecitabine)、阿糖胞苷(cytarabine)、氟尿嘧啶

(fluorouracil)、吉西他滨(gemcitabine)、羟基脲(hydroxyurea)、巯嘌呤(mercaptopurine)、胺甲喋呤(methotrexate)或硫鸟嘌呤(thioguanine)、肽抗生素(例如放线菌素(actinomycin)或博来霉素(bleomycin))、基于铂的药剂(例如顺铂(cisplatin)、奥沙利铂(oxaloplatin)或卡铂(carboplatin))、或植物碱(例如长春新碱(vincristine)、长春碱(vinblastine)、长春瑞滨(vinorelbine)、长春地辛(vindesine)、鬼臼毒素(podophyllotoxin)、太平洋紫杉醇或多西他赛)、加拉定(galardin)、沙利氮迈(thalidomide)、雷利氮迈(lenalidomide)及泊马氮迈(pomalidomide)。

169. 一种治疗对象癌症的方法,其包含给予所述对象治疗有效量的如权利要求1至64中任一项所述的组合物、如权利要求65至129中任一项所述的抗体或如权利要求130所述的药物组合物。

170. 如权利要求169所述的方法,其中所述癌症是CD112或CD155表达富集癌症。

171. 如权利要求169或170所述的方法,其中所述癌症是表达TIGIT的T细胞或天然杀手(NK)细胞富集癌症。

172. 如权利要求169至171中任一项所述的方法,其中所述癌症是膀胱癌、乳癌、子宫癌、子宫颈癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、食道癌、胃肠癌、胃癌(gastric cancer)、胰脏癌、结肠直肠癌、结肠癌、肾癌、透明细胞肾癌、头颈癌、肺癌、肺腺癌、胃癌(stomach cancer)、生殖细胞癌、骨癌、肝癌、甲状腺癌、皮肤癌、黑色素瘤、中枢神经系统赘瘤、间皮瘤、淋巴瘤、白血病、慢性淋巴细胞白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin lymphoma)、骨髓瘤或肉瘤。

173. 如权利要求172所述的方法,其中所述癌症是淋巴瘤、白血病、慢性淋巴细胞白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤或霍奇金氏淋巴瘤。

174. 如权利要求169至173中任一项所述的方法,其进一步包含给予所述对象治疗有效量的其他治疗剂。

175. 如权利要求174所述的方法,其中所述其他治疗剂是抗癌剂。

176. 如权利要求174或175所述的方法,其中所述其他治疗剂是抗体。

177. 如权利要求174至176中任一项所述的方法,其中所述其他治疗剂是T细胞共抑制因子的拮抗剂或抑制剂;T细胞共活化因子的激动剂;或免疫刺激性细胞因子;或SGN-2FF。

178. 如权利要求174至177中任一项所述的方法,其中所述其他治疗剂结合选自下组的蛋白质:CD25、PD-1、PD-L1、Tim3、Lag3、CTLA4、41BB、OX40、CD3、CD40、CD47M、GM-CSF、CSF1R、TLR、STING、RIGI、TAM受体激酶、NKG2A、NKG2D、GD2、HER2、EGFR、PDGFR α 、SLAMF7、VEGF、CTLA-4、CD20、cCLB8、KIR及CD52。

179. 如权利要求178所述的方法,其中所述其他治疗剂选自抗CD25抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗Tim3抗体、抗Lag3抗体、抗CTLA4抗体、抗41BB抗体、抗OX40抗体、抗CD3抗体、抗CD40抗体、抗CD47M抗体、抗CSF1R抗体、抗TLR抗体、抗STING抗体、抗RIGI抗体、抗TAM受体激酶抗体、抗NKG2A抗体、抗NKG2D抗体、抗GD2抗体、抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗PDGFR- α -抗体、抗SLAMF7抗体、抗VEGF抗体、抗CTLA-4抗体、抗CD20抗体、抗cCLB8抗体、抗KIR抗体及抗CD52抗体。

180. 如权利要求174或175所述的方法,其中所述其他治疗剂包含选自IL-15、IL-21、IL-2、GM-CSF、M-CSF、G-CSF、IL-1、IL-3、IL-12及IFN γ 的细胞因子。

181. 如权利要求174至179中任一项所述的方法,其中所述其他治疗剂选自SEA-CD40、阿维鲁单抗、德瓦鲁单抗、尼沃鲁单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、阿替珠单抗、Hu14.18K322A、Hu3F8、达妥昔单抗、曲妥珠单抗、西妥昔单抗、奥拉妥单抗、奈昔木单抗、埃罗妥珠单抗、雷莫芦单抗、帕妥珠单抗、伊匹单抗、贝伐珠单抗、利妥昔单抗、奥妥珠单抗、司妥昔单抗、奥法木单抗、利利单抗及阿伦单抗。

182. 如权利要求174或175所述的方法,其中所述其他治疗剂选自烷基化剂(例如环磷酰胺、异环磷酰胺、氮芥苯丁酸、白消安、美法仑、甲基二(氯乙基)胺、乌拉莫司汀、噻替派、亚硝基脲或替莫唑胺)、蒽环(例如多柔比星、阿德力霉素、道诺霉素、泛艾霉素或米托蒽醌)、细胞骨架破坏剂(例如太平洋紫杉醇或多西他赛)、组织蛋白去乙酰酶抑制剂(例如伏立诺他或罗米地辛)、拓扑异构酶抑制剂(例如伊立替康、托泊替康、安吡啶、依托泊苷或替尼泊苷)、激酶抑制剂(例如硼替佐米、厄洛替尼、吉非替尼、伊马替尼、威罗菲尼或维莫德吉)、核苷类似物或前体类似物(例如阿扎胞苷、硫唑嘌呤、卡培他滨、阿糖胞苷、氟尿嘧啶、吉西他滨、羟基脲、巯嘌呤、胺甲喋呤或硫鸟嘌呤)、肽抗生素(例如放线菌素或博来霉素)、基于铂的药剂(例如顺铂、奥沙利铂或卡铂)、或植物碱(例如长春新碱、长春碱、长春瑞滨、长春地辛、鬼臼毒素、太平洋紫杉醇或多西他赛)、加拉定、沙利窦迈、雷利窦迈及泊马窦迈。

183. 如权利要求174至182中任一项所述的方法,其中所述组合物、所述抗体或所述药物组合物与所述其他治疗剂同时给药。

184. 如权利要求174至183中任一项所述的方法,其中所述组合物、所述抗体或所述药物组合物与所述其他治疗剂依序给药。

抗TIGIT抗体

相关申请的交叉援引

[0001] 本申请主张于2018年8月23日提出申请的美国临时申请第62/722,063号、于2018年9月20日提出申请的美国临时申请第62/734,130号及于2019年3月22日提出申请的美国临时申请第62/822,674号的优先权的权益；每一案件出于任何目的以引用方式全文并入本文中。

技术领域

[0002] 本文提供结合人TIGIT (具有Ig及ITIM结构域的T细胞免疫受体) 的抗体及其用途。

背景技术

[0003] TIGIT (“具有Ig及ITIM结构域的T细胞免疫受体”) 是在T细胞 (例如活化、记忆及调节T细胞) 及天然杀手 (NK) 细胞上表达的免疫受体。TIGIT是Ig蛋白超家族内的CD28家族的成员,且用作限制T细胞增殖及活化及NK细胞功能的共抑制性分子。TIGIT藉由与CD226 (亦称为DNAX辅助分子-1或“DNAM-1”) 竞争相同组的配体:CD155 (亦称为脊髓灰白质炎病毒受体或“PVR”) 及CD112 (亦称为脊髓灰白质炎病毒受体相关2或“PVRL2”) 介导其免疫抑制效应。参见Levin等人, Eur. J. Immunol., 2011, 41:902-915。由于CD155对TIGIT的亲合性高于其对CD226的亲合性,故在TIGIT存在下,CD226信号传导受到抑制,藉此限制T细胞增殖及活化。

[0004] 在患有黑色素瘤的患者中,TIGIT表达在肿瘤抗原 (TA) 特异性CD8⁺T细胞及CD8⁺肿瘤浸润性淋巴细胞 (TIL) 上上调。在表达TIGIT配体 (CD155) 的细胞存在下阻断TIGIT可增加TA特异性CD8⁺T细胞及CD8⁺TIL两者的增殖、细胞因子产生及去粒。参见Chauvin等人, J Clin Invest., 2015, 125:2046-2058。因此,TIGIT代表用于刺激患者中的抗肿瘤T细胞反应的潜在治疗靶标,但仍然需要阻断TIGIT及促进抗肿瘤反应的改良方法。

发明内容

实施方式1. 一种包含经分离抗体的组合物,所述经分离抗体结合人TIGIT (具有Ig及ITIM结构域的T细胞免疫受体),其中所述抗体对人TIGIT的结合亲和性 (K_D) 小于5nM,且其中该组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的。

实施方式2. 如实施方式1所述的组合物,其中所述抗体对人TIGIT的 K_D 小于1nM。

实施方式3. 如实施方式1所述的组合物,其中所述抗体对人TIGIT的 K_D 小于100pM。

实施方式4. 如实施方式1至3中任一项所述的组合物,其中所述抗体表现出与食蟹猕猴 (cynomolgus monkey) TIGIT和/或小鼠TIGIT的交叉反应性。

实施方式5. 如实施方式4所述的组合物,其中所述抗体表现出与食蟹猕猴TIGIT及小鼠TIGIT两者的交叉反应性。

实施方式6. 如实施方式1至5中任一项所述的组合物,其中所述抗体阻断CD155与

TIGIT的结合。

实施方式7.如实施方式1至5中任一项所述的组合物,其中所述抗体阻断CD112与TIGIT的结合。

实施方式8.如实施方式1至5中任一项所述的组合物,其中所述抗体阻断CD155及CD112两者与TIGIT的结合。

实施方式9.如实施方式1至8中任一项所述的组合物,其中所述抗体与包括包含SEQ ID NO:55所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的轻链可变区的抗体竞争结合人TIGIT。

实施方式10.如实施方式1至9中任一项所述的组合物,其中所述抗体在结合人TIGIT时结合氨基酸位置81及82中之一或两者。

实施方式11.如实施方式10所述的组合物,其中所述抗体结合氨基酸位置81及82两者。

实施方式12.如实施方式10或实施方式11所述的组合物,其中氨基酸位置81及82是Phe81和Lys82。

实施方式13.如实施方式1至12中任一项所述的组合物,其中所述抗体结合人TIGIT上包含氨基酸位置81及82中之一或两者的表位。

实施方式14.一种包含结合人TIGIT的经分离抗体的组合物,其中所述抗体在结合人TIGIT时结合氨基酸位置81及82中之一或两者,且其中该组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的。

实施方式15.如实施方式14所述的组合物,其中所述抗体结合氨基酸位置81及82两者。

实施方式16.如实施方式14或实施方式15所述的组合物,其中氨基酸位置81及82是Phe81和Lys82。

实施方式17.一种包含结合人TIGIT的经分离抗体的组合物,其中所述抗体结合人TIGIT上包含氨基酸位置81及82中之一或两者的表位,且其中该组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的。

实施方式18.如实施方式13或实施方式17所述的组合物,其中所述表位包含第81位的Phe。

实施方式19.如实施方式13、17及18中任一项所述的组合物,其中所述表位包含第82位的Lys或Ser。

实施方式20.如实施方式13及17至19中任一项所述的组合物,其中所述表位包含第81位的Phe及第82位的Lys或Ser。

实施方式21.如实施方式20所述的组合物,其中所述表位包含Phe81和Lys82。

实施方式22.如实施方式13及17至21中任一项所述的组合物,其中所述表位是不连续表位。

实施方式23.如实施方式13及17至22中任一项所述的组合物,其中所述抗体结合人TIGIT上进一步包含氨基酸位置51、52、53、54、55、73、74、75、76、77、79、83、84、85、86、87、

88、89、90、91、92或93中之一或多者的表位。

实施方式24.如实施方式23所述的组合物,其中所述表位进一步包含一个或多个选自下组的氨基酸残基:Thr51、Ala52、Gln53、Val54、Thr55、Leu73、Gly74、Trp75、His76、Ile77、Pro79、Asp83、Arg84、Val85、Ala86、Pro87、Gly88、Pro89、Gly90、Leu91、Gly92及Leu93。

实施方式25.如实施方式24所述的组合物,其中所述表位包含所述氨基酸残基Thr51、Ala52、Gln53、Val54、Thr55、Gly74、Trp75、His76、Ile77、Phe81、Lys82、Pro87、Gly88、Pro89、Gly90、Leu91、Gly92及Leu93。

实施方式26.如实施方式24所述的组合物,其中所述表位包含所述氨基酸残基Ala52、Gln53、Leu73、Gly74、Trp75、Pro79、Phe81、Lys82、Asp83、Arg84、Val85及Ala86。

实施方式27.如实施方式13及17至26中任一项所述的组合物,其中所述表位包含序列ICNADLGWHISPSFK (SEQ ID NO:258)。

实施方式28.如实施方式1至27中任一项所述的组合物,其中人TIGIT包含序列SEQ ID NO:218。

实施方式29.如实施方式1至28中任一项所述的组合物,其中所述抗体中之每一者包含以下之一或多者:

(a) 重链CDR1,其包含选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:221、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:233、SEQ ID NO:239、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284、SEQ ID NO:293、SEQ ID NO:294、SEQ ID NO:289及SEQ ID NO:290的序列;

(b) 重链CDR2,其包含选自SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:186、SEQ ID NO:204、SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:297、SEQ ID NO:291及SEQ ID NO:295的序列;

(c) 重链CDR3,其包含选自SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:152、SEQ ID NO:170、SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:206、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:292及SEQ ID NO:296的序列;

(d) 轻链CDR1,其包含选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:211及SEQ ID NO:287的序列;

(e) 轻链CDR2,其包含选自SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:159、SEQ ID NO:177、SEQ ID NO:195、SEQ ID NO:213及SEQ ID NO:288的序列;或

(f) 轻链CDR3,其包含选自SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:161、

SEQ ID NO:179、SEQ ID NO:197及SEQ ID NO:215的序列。

实施方式30.如实施方式29所述的组合物,其中所述抗体中之每一者包含:

(a) 重链CDR1序列,其包含选自SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:293、SEQ ID NO:294、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:289及SEQ ID NO:290的氨基酸序列;

(b) 重链CDR2序列,其包含选自SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:297、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:291、SEQ ID NO:229及SEQ ID NO:295的氨基酸序列;

(c) 重链CDR3序列,其包含选自SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:292、SEQ ID NO:230及SEQ ID NO:296的氨基酸序列;

(d) 轻链CDR1序列,其包含选自SEQ ID NO:67及SEQ ID NO:287的氨基酸序列;

(e) 轻链CDR2序列,其包含选自SEQ ID NO:69及SEQ ID NO:288的氨基酸序列;和/

或

(f) 轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

实施方式31.如实施方式29或实施方式30所述的组合物,其中所述抗体中之每一者包括包含以下序列的重链CDR1、CDR2及CDR3及轻链CDR1、CDR2及CDR3:

(a) 分别为SEQ ID NO:4、6、8、13、15及17;或

(b) 分别为SEQ ID NO:22、24、26、31、33及35;或

(c) 分别为SEQ ID NO:40、42、44、49、51及53;或

(d) 分别为SEQ ID NO:58、60、62、67、69及71;或

(e) 分别为SEQ ID NO:283、285、62、287、288及71;或

(f) 分别为SEQ ID NO:284、60、286、67、69及71;或

(g) 分别为SEQ ID NO:76、78、80、85、87及89;或

(h) 分别为SEQ ID NO:94、96、98、103、105及107;或

(i) 分别为SEQ ID NO:112、114、116、121、123及125;或

(j) 分别为SEQ ID NO:130、132、134、139、141及143;或

(k) 分别为SEQ ID NO:148、150、152、157、159及161;或

(l) 分别为SEQ ID NO:166、168、170、175、177及179;或

(m) 分别为SEQ ID NO:184、186、188、193、195及197;或

(n) 分别为SEQ ID NO:202、204、206、211、213及215;或

(o) 分别为SEQ ID NO:221、222、223、13、15及17;或

(p) 分别为SEQ ID NO:224、225、62、67、69及71;或

(q) 分别为SEQ ID NO:293、297、62、287、288及71;或

(r) 分别为SEQ ID NO:294、225、286、67、69及71;或

(s) 分别为SEQ ID NO:226、227、228、67、69及71;或

(t) 分别为SEQ ID NO:289、291、228、287、288及71;或

(u) 分别为SEQ ID NO:290、227、292、67、69及71;或

(v) 分别为SEQ ID NO:224、229、230、67、69及71;或

(w) 分别为SEQ ID NO:293、295、230、287、288及71;或

- (x) 分别为SEQ ID NO:294、229、296、67、69及71;或
- (y) 分别为SEQ ID NO:224、227、230、67、69及71;或
- (z) 分别为SEQ ID NO:293、290、230、287、288及71;或
- (aa) 分别为SEQ ID NO:294、290、230、67、69及71;或
- (bb) 分别为SEQ ID NO:231、232、235、103、105及107;或
- (cc) 分别为SEQ ID NO:233、234、236、103、105及107;或
- (dd) 分别为SEQ ID NO:233、234、237、103、105及107;或
- (ee) 分别为SEQ ID NO:166、238、170、175、177及179;或
- (ff) 分别为SEQ ID NO:239、240、170、175、177及179;或
- (gg) 分别为SEQ ID NO:239、240、241、175、177及179;或
- (hh) 分别为SEQ ID NO:239、240、242、175、177及179;或
- (ii) 分别为SEQ ID NO:243、168、244、175、177及179。

实施方式32.如实施方式1至31中任一项所述的组合物,其中所述抗体中之每一者包括包含以下序列的重链CDR1、CDR2及CDR3及轻链CDR1、CDR2及CDR3:

- (a) 分别为SEQ ID NO:58、60、62、67、69及71;或
- (b) 分别为SEQ ID NO:283、285、62、287、288及71;或
- (c) 分别为SEQ ID NO:284、60、286、67、69及71。

实施方式33.如实施方式1至32中任一项所述的组合物,其中所述抗体中之每一者包含:

(a) 重链可变区,其包含与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:252、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257具有至少90%序列一致性的氨基酸序列;和/或

(b) 轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:190或SEQ ID NO:208具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。

实施方式34.如实施方式1至33中任一项所述的组合物,其中所述抗体中之每一者包含:

(a) 包含与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:245具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:10具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(b) 包含与SEQ ID NO:19具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:28具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(c) 包含与SEQ ID NO:37具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:46具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(d) 包含与SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248或SEQ ID NO:249中任一者具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID

N0:64具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(e) 包含与SEQ ID NO:73具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:82具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(f) 包含与SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252中任一者具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:100具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(g) 包含与SEQ ID NO:109具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:118具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(h) 包含与SEQ ID NO:127具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:136具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(i) 包含与SEQ ID NO:145具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:154具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(j) 包含与SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257中任一者具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:172具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(k) 包含与SEQ ID NO:181具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:190具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(l) 包含与SEQ ID NO:199具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:208具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区。

实施方式35.如实施方式34所述的组合物,其中所述抗体中之每一者包含:

(a) 包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:245所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(b) 包含SEQ ID NO:19所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:28所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(c) 包含SEQ ID NO:37所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:46所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(d) 包含SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248或SEQ ID NO:249中任一者所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(e) 包含SEQ ID NO:73所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:82所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(f) 包含SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252中任一者所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:100所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(g) 包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:118所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(h) 包含SEQ ID NO:127所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:136所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(i) 包含SEQ ID NO:145所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:154所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(j) 包含SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257中任一者所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:172所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(k) 包含SEQ ID NO:181所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:190所示氨基酸序列的轻链可变区;或

(l) 包含SEQ ID NO:199所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:208所示氨基酸序列的轻链可变区。

实施方式36.如实施方式1至35中任一项所述的组合物,其中所述抗体中之每一者包括包含SEQ ID NO:55所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的轻链可变区。

实施方式37.如实施方式1至36中任一项所述的组合物,其中所述抗体是IgG抗体。

实施方式38.如实施方式37所述的组合物,其中所述抗体是IgG1抗体或IgG3抗体。

实施方式39.如实施方式1至38中任一项所述的组合物,其中所述抗体中之每一者包括包含选自SEQ ID NO:260、262、264、266、268、270及272的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

实施方式40.如实施方式39所述的组合物,其中所述抗体中之每一者包括包含SEQ ID NO:260所示氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

实施方式41.如实施方式39所述的组合物,其中所述抗体中之每一者包含由SEQ ID NO:260所示氨基酸序列组成的重链;及由SEQ ID NO:274所示氨基酸序列组成的轻链。

实施方式42.一种包含结合人TIGIT的经分离抗体的组合物,其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的,且其中所述抗体中之每一者包括包含SEQ ID NO:260所示氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

实施方式43.一种包含结合人TIGIT的经分离抗体的组合物,其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的,且其中所述抗体中之每一者包含由SEQ ID NO:260所示氨基酸序列组成的重链及由SEQ ID NO:274所示氨基酸序列组成的轻链。

实施方式44.如实施方式1至43中任一项所述的组合物,其中所述抗体表现出与抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体的协同作用。

实施方式45.如实施方式44所述的组合物,其中协同作用是使用包含以下所述内容的分析测定的:使包含:(i) 表达PD-1、TIGIT及CD226的Jurkat效应细胞,其中所述Jurkat效应细胞包含由IL-2启动子驱动的荧光素酶报导基因;及(ii) 表达TCR活化因子、PD-L1及CD155的CHO-K1人工抗原呈递细胞(aAPC)的共培养物与该组合物及抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体接触。

实施方式46.如实施方式1至45中任一项所述的组合物,其中调节性T(Treg)细胞从与该组合物接触的人PBMC中清除(depleted)。

实施方式47.如实施方式1至46中任一项所述的组合物,MCP1、IL-8及MIP1 α 的表达在与该组合物接触的人PBMC中增加。

实施方式48.如实施方式1至47中任一项所述的组合物,其中单核细胞/巨噬细胞

在与该组合物接触时经活化。

实施方式49.如实施方式1至48中任一项所述的组合物,其中在CD14+单核细胞/巨噬细胞与该组合物接触时,CD86及MHCII上调。

实施方式50.如实施方式1至49中任一项所述的组合物,其中与所述组合物接触的CD14+单核细胞/巨噬细胞成熟为抗原呈递细胞。

实施方式51.如实施方式1至50中任一项所述的组合物,其中与所述组合物接触的记T细胞响应抗原的IFN γ 产生增加。

实施方式52.如实施方式1至51中任一项所述的组合物,其中与所述组合物接触的所述记忆T细胞对抗原的反应增强。

实施方式53.如实施方式1至52中任一项所述的组合物,其中效应记忆CD8+ T细胞和/或效应记忆CD4+ T细胞在与该组合物接触的肿瘤中增加。

实施方式54.如实施方式1至53中任一项所述的组合物,其中所述组合物增强给予了所述组合物的动物中的Th1反应。

实施方式55.如实施方式1至54中任一项所述的组合物,其中与未经无岩藻糖基化的相同抗TIGIT抗体相比,该组合物的所述抗体对Fc γ RIIa和/或Fc γ RIIb具有较低结合亲和性。

实施方式56.如实施方式1至55中任一项所述的组合物,其中所述组合物介导在单核细胞巨噬细胞存在下TIGIT表达细胞的抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)。

实施方式57.如实施方式1至56中任一项所述的组合物,其中所述抗体是单克隆抗体。

实施方式58.如实施方式1至57中任一项所述的组合物,其中所述抗体是完全人抗体。

实施方式59.如实施方式1至58中任一项所述的组合物,其中所述抗体是嵌合抗体。

实施方式60.如实施方式1至28及44至59中任一项所述的组合物,其中所述抗体是人源化抗体。

实施方式61.如实施方式1至60中任一项所述的组合物,其中所述抗体是抗体片段。

实施方式62.如实施方式61所述的组合物,其中所述抗体片段是Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv或双价抗体(diabodies)。

实施方式63.如实施方式1至62中任一项所述的组合物,其中所述抗体是双特异性抗体。

实施方式64.如实施方式1至63中任一项所述的组合物,其中所述抗体是抗体-药物偶联物。

实施方式65.一种结合人TIGIT(具有Ig及ITIM结构域的T细胞免疫受体)的抗体,其中所述抗体对人TIGIT的结合亲和性(K_D)小于5nM,且其中所述抗体是无岩藻糖基化的。

实施方式66.如实施方式65所述的抗体,其中所述抗体对人TIGIT的K_D小于1nM。

实施方式67.如实施方式66所述的抗体,其中抗体对人TIGIT的K_D小于100pM。

实施方式68.如实施方式65至67中任一项所述的抗体,其中抗体表现出与食蟹猴

猴TIGIT和/或小鼠TIGIT的交叉反应性。

实施方式69.如实施方式68所述的抗体,其中所述抗体表现出与食蟹猕猴TIGIT及小鼠TIGIT两者的交叉反应性。

实施方式70.如实施方式65至69中任一项所述的抗体,其中所述抗体阻断CD155与TIGIT的结合。

实施方式71.如实施方式65至70中任一项所述的抗体,其中所述抗体阻断CD112与TIGIT的结合。

实施方式72.如实施方式65至71中任一项所述的抗体,其中所述抗体阻断CD155及CD112两者与TIGIT的结合。

实施方式73.如实施方式65至72中任一项所述的抗体,其中所述抗体与包括包含SEQ ID NO:55所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的轻链可变区的抗体竞争结合人TIGIT。

实施方式74.如实施方式65至73中任一项所述的抗体,其中所述抗体在结合人TIGIT时结合氨基酸位置81及82中之一或两者。

实施方式75.如实施方式74所述的抗体,其中所述抗体结合氨基酸位置81及82两者。

实施方式76.如实施方式74或实施方式75所述的抗体,其中氨基酸位置81及82是Phe81和Lys82。

实施方式77.如实施方式65至76中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合人TIGIT上包含氨基酸位置81及82中之一或两者的表位。

实施方式78.一种结合人TIGIT的抗体,其中所述抗体在结合人TIGIT时结合氨基酸位置81及82中之一或两者,且其中所述抗体是无岩藻糖基化的。

实施方式79.如实施方式78所述的抗体,其中所述抗体结合氨基酸位置81及82两者。

实施方式80.如实施方式78或实施方式79所述的抗体,其中氨基酸位置81及82是Phe81和Lys82。

实施方式81.一种结合人TIGIT的抗体,其中所述抗体结合人TIGIT上包含氨基酸位置81及82中之一或两者的表位,且其中所述抗体是无岩藻糖基化的。

实施方式82.如实施方式77或实施方式81所述的抗体,其中所述表位包含第81位的Phe。

实施方式83.如实施方式77、81及82中任一项所述的抗体,其中所述表位包含第82位的Lys或Ser。

实施方式84.如实施方式77及81至83中任一项所述的抗体,其中所述表位包含第81位的Phe及第82位的Lys或Ser。

实施方式85.如实施方式84所述的抗体,其中所述表位包含Phe81和Lys82。

实施方式86.如实施方式77及81至85中任一项所述的抗体,其中所述表位是不连续表位。

实施方式87.如实施方式77及81至86中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合人TIGIT上进一步包含氨基酸位置51、52、53、54、55、73、74、75、76、77、79、83、84、85、86、87、

88、89、90、91、92或93中之一或多者的表位。

实施方式88.如实施方式87所述的抗体,其中所述表位进一步包含一个或多个选自下组的氨基酸残基:Thr51、Ala52、Gln53、Val54、Thr55、Leu73、Gly74、Trp75、His76、Ile77、Pro79、Asp83、Arg84、Val85、Ala86、Pro87、Gly88、Pro89、Gly90、Leu91、Gly92及Leu93。

实施方式89.如实施方式88所述的抗体,其中所述表位包含所述氨基酸残基Thr51、Ala52、Gln53、Val54、Thr55、Gly74、Trp75、His76、Ile77、Phe81、Lys82、Pro87、Gly88、Pro89、Gly90、Leu91、Gly92及Leu93。

实施方式90.如实施方式88所述的抗体,其中所述表位包含所述氨基酸残基Ala52、Gln53、Leu73、Gly74、Trp75、Pro79、Phe81、Lys82、Asp83、Arg84、Val85及Ala86。

实施方式91.如实施方式77及81至90中任一项所述的抗体,其中所述表位包含序列ICNADLGWHISPSFK (SEQ ID NO:258)。

实施方式92.如实施方式65至91中任一项所述的抗体,其中人TIGIT包含序列SEQ ID NO:218。

实施方式93.如实施方式65至92中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含以下之一或多者:

(a) 重链CDR1,其包含选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:221、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:233、SEQ ID NO:239、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284、SEQ ID NO:293、SEQ ID NO:294、SEQ ID NO:289及SEQ ID NO:290的序列;

(b) 重链CDR2,其包含选自SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:186、SEQ ID NO:204、SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:297、SEQ ID NO:291及SEQ ID NO:295的序列;

(c) 重链CDR3,其包含选自SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:152、SEQ ID NO:170、SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:206、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:292及SEQ ID NO:296的序列;

(d) 轻链CDR1,其包含选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:211及SEQ ID NO:287的序列;

(e) 轻链CDR2,其包含选自SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:159、SEQ ID NO:177、SEQ ID NO:195、SEQ ID NO:213及SEQ ID NO:288的序列;或

(f) 轻链CDR3,其包含选自SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:161、

SEQ ID NO:179、SEQ ID NO:197及SEQ ID NO:215的序列。

实施方式94.如实施方式93所述的抗体,其中所述抗体包含:

(d) 重链CDR1序列,其包含选自SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:293、SEQ ID NO:294、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:289及SEQ ID NO:290的氨基酸序列;

(e) 重链CDR2序列,其包含选自SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:297、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:291、SEQ ID NO:229及SEQ ID NO:295的氨基酸序列;

(f) 重链CDR3序列,其包含选自SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:292、SEQ ID NO:230及SEQ ID NO:296的氨基酸序列;

(g) 轻链CDR1序列,其包含选自SEQ ID NO:67及SEQ ID NO:287的氨基酸序列;

(h) 轻链CDR2序列,其包含选自SEQ ID NO:69及SEQ ID NO:288的氨基酸序列;和/

或

(i) 轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

实施方式95.如实施方式94所述的抗体,其中所述抗体包括包含以下序列的重链CDR1、CDR2及CDR3及轻链CDR1、CDR2及CDR3:

(a) 分别为SEQ ID NO:4、6、8、13、15及17;或

(b) 分别为SEQ ID NO:22、24、26、31、33及35;或

(c) 分别为SEQ ID NO:40、42、44、49、51及53;或

(d) 分别为SEQ ID NO:58、60、62、67、69及71;或

(e) 分别为SEQ ID NO:76、78、80、85、87及89;或

(f) 分别为SEQ ID NO:94、96、98、103、105及107;或

(g) 分别为SEQ ID NO:112、114、116、121、123及125;或

(h) 分别为SEQ ID NO:130、132、134、139、141及143;或

(i) 分别为SEQ ID NO:148、150、152、157、159及161;或

(j) 分别为SEQ ID NO:166、168、170、175、177及179;或

(k) 分别为SEQ ID NO:184、186、188、193、195及197;或

(l) 分别为SEQ ID NO:202、204、206、211、213及215;或

(m) 分别为SEQ ID NO:221、222、223、13、15及17;或

(n) 分别为SEQ ID NO:224、225、62、67、69及71;或

(o) 分别为SEQ ID NO:226、227、228、67、69及71;或

(p) 分别为SEQ ID NO:224、229、230、67、69及71;或

(q) 分别为SEQ ID NO:224、227、230、67、69及71;或

(r) 分别为SEQ ID NO:231、232、235、103、105及107;或

(s) 分别为SEQ ID NO:233、234、236、103、105及107;或

(t) 分别为SEQ ID NO:233、234、237、103、105及107;或

(u) 分别为SEQ ID NO:166、238、170、175、177及179;或

(v) 分别为SEQ ID NO:239、240、170、175、177及179;或

(w) 分别为SEQ ID NO:239、240、241、175、177及179;或

(x) 分别为SEQ ID NO:239、240、242、175、177及179;或

(y) 分别为SEQ ID NO:243、168、244、175、177及179。

实施方式96.如实施方式65至95中任一项所述的抗体,其中所述抗体包括包含以下序列的重链CDR1、CDR2及CDR3及轻链CDR1、CDR2及CDR3:

(j) 分别为SEQ ID NO:58、60、62、67、69及71;或

(k) 分别为SEQ ID NO:283、285、62、287、288及71;或

(l) 分别为SEQ ID NO:284、60、286、67、69及71。

实施方式97.如实施方式65至96中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含:

(a) 重链可变区,其包含与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:252、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257具有至少90%序列一致性的氨基酸序列;和/或

(b) 轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:190或SEQ ID NO:208具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。

实施方式98.如实施方式65至97中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含:

(a) 包含与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:245具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:10具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(b) 包含与SEQ ID NO:19具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:28具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(c) 包含与SEQ ID NO:37具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:46具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(d) 包含与SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248或SEQ ID NO:249中任一者具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:64具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(e) 包含与SEQ ID NO:73具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:82具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(f) 包含与SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252中任一者具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:100具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(g) 包含与SEQ ID NO:109具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:118具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(h) 包含与SEQ ID NO:127具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:136具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(i) 包含与SEQ ID NO:145具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:154具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区;或

(j) 包含与SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257中任一者具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:172具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区；或

(k) 包含与SEQ ID NO:181具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:190具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区；或

(l) 包含与SEQ ID NO:199具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区及包含与SEQ ID NO:208具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区。

实施方式99.如实施方式98所述的抗体,其中所述抗体包含:

(a) 包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:245所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的轻链可变区；或

(b) 包含SEQ ID NO:19所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:28所示氨基酸序列的轻链可变区；或

(c) 包含SEQ ID NO:37所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:46所示氨基酸序列的轻链可变区；或

(d) 包含SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248或SEQ ID NO:249中任一者所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的轻链可变区；或

(e) 包含SEQ ID NO:73所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:82所示氨基酸序列的轻链可变区；或

(f) 包含SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252中任一者所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:100所示氨基酸序列的轻链可变区；或

(g) 包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:118所示氨基酸序列的轻链可变区；或

(h) 包含SEQ ID NO:127所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:136所示氨基酸序列的轻链可变区；或

(i) 包含SEQ ID NO:145所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:154所示氨基酸序列的轻链可变区；或

(j) 包含SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257中任一者所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:172所示氨基酸序列的轻链可变区；或

(k) 包含SEQ ID NO:181所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:190所示氨基酸序列的轻链可变区；或

(l) 包含SEQ ID NO:199所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:208所示氨基酸序列的轻链可变区。

实施方式100.如实施方式65至99中任一项所述的抗体,其中所述抗体包括包含SEQ ID NO:55所示氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的轻链可变区。

实施方式101.如实施方式65至100中任一项所述的抗体,其中所述抗体是IgG抗体。

实施方式102.如实施方式101所述的抗体,其中所述抗体是IgG1抗体或IgG3抗体。

实施方式103.如实施方式65至102中任一项所述的抗体,其中所述抗体包括包含选自SEQ ID NO:260、262、264、266、268、270及272的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

实施方式104.如实施方式103所述的抗体,其中所述抗体包括包含SEQ ID NO:260所示氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

实施方式105.如实施方式103所述的抗体,其中所述抗体包含由SEQ ID NO:260所示氨基酸序列组成的重链及由SEQ ID NO:274所示氨基酸序列组成的轻链。

实施方式106.一种结合人TIGIT的抗体,其中所述抗体包括包含选自SEQ ID NO:260、262、264、266、268、270及272的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

实施方式107.一种结合人TIGIT的抗体,其中所述抗体包括包含SEQ ID NO:260所示氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

实施方式108.一种结合人TIGIT的抗体,其中所述抗体包含由SEQ ID NO:260所示氨基酸序列组成的重链及由SEQ ID NO:274所示氨基酸序列组成的轻链。

实施方式109.如实施方式65至108中任一项所述的抗体,其中所述抗体表现出与抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体的协同作用。

实施方式110.如实施方式109所述的抗体,其中协同作用是使用包含以下所述内容的分析测定的:使:(i)表达PD-1、TIGIT及CD226的Jurkat效应细胞,其中所述Jurkat效应细胞包含由IL-2启动子驱动的荧光素酶报导基因;及(ii)表达TCR活化因子、PD-L1及CD155的CHO-K1人工抗原呈递细胞(aAPC)的共培养物与所述抗体及抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体接触。

实施方式111.如实施方式65至110中任一项所述的抗体,其中调节性T(Treg)细胞从与该抗体接触的人PBMC中清除。

实施方式112.如实施方式65至111中任一项所述的抗体,MCP1、IL-8及MIP1 α 的表达在与该抗体接触的人PBMC中增加。

实施方式113.如实施方式65至112中任一项所述的抗体,其中单核细胞/巨噬细胞在与该抗体接触时经活化。

实施方式114.如实施方式65至113中任一项所述的抗体,其中在CD14+单核细胞/巨噬细胞与该抗体接触时,CD86及MHCII上调。

实施方式115.如实施方式65至114中任一项所述的抗体,其中与该抗体接触的CD14+单核细胞/巨噬细胞成熟为抗原呈递细胞。

实施方式116.如实施方式65至115中任一项所述的抗体,其中与该抗体接触的记忆T细胞响应抗原的IFN γ 产生增加。

实施方式117.如实施方式65至116中任一项所述的抗体,其中与该抗体接触的所述记忆T细胞对抗原的反应增强。

实施方式118.如实施方式65至117中任一项所述的抗体,其中效应记忆CD8+ T细胞和/或效应记忆CD4+ T细胞在与该抗体接触的肿瘤中增加。

实施方式119.如实施方式65至118中任一项所述的抗体,其中所述抗体增强给予

了该抗体的动物中的Th1反应。

实施方式120.如实施方式65至119中任一项所述的抗体,其中与未经无岩藻糖基化的相同抗TIGIT抗体相比,该抗体对Fc γ RIIa和/或Fc γ RIIb具有较低结合亲和性。

实施方式121.如实施方式65至120中任一项所述的抗体,其中所述抗体介导在单核细胞巨噬细胞存在下TIGIT表达细胞的抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)。

实施方式122.如实施方式65至121中任一项所述的抗体,其中所述抗体是单克隆抗体。

实施方式123.如实施方式65至122中任一项所述的抗体,其中所述抗体是完全人抗体。

实施方式124.如实施方式65至123中任一项所述的抗体,其中所述抗体是嵌合抗体。

实施方式125.如实施方式65至92及109至124中任一项所述的抗体,其中所述抗体是人源化抗体。

实施方式126.如实施方式65至125中任一项所述的抗体,其中所述抗体是抗体片段。

实施方式127.如实施方式126所述的抗体,其中所述抗体片段是Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv或双价抗体。

实施方式128.如实施方式65至127中任一项所述的抗体,其中所述抗体是双特异性抗体。

实施方式129.如实施方式65至128中任一项所述的抗体,其中所述抗体是抗体-药物偶联物。

实施方式130.一种药物制剂,其包含如实施方式1至64中任一项所述的组合物或如实施方式65至129中任一项所述的抗体及药学上可接受的载剂。

实施方式131.一种经分离多核苷酸,其编码(i)如实施方式106至108中任一项所述抗体的重链;(ii)如实施方式106至108中任一项所述抗体的轻链;或(iii)如实施方式106至108中任一项所述抗体的重链及轻链。

实施方式132.如实施方式131所述的经分离多核苷酸,其中该多核苷酸包含(i)选自SEQ ID NO:259、261、163、265、267、269及271的核苷酸序列;或(ii)SEQ ID NO:273的核苷酸序列;或(iii)选自SEQ ID NO:259、261、263、265、267、269及271的核苷酸序列,及SEQ ID NO:273的核苷酸序列。

实施方式133.一种包含如实施方式131或实施方式132所述多核苷酸的载体。

实施方式134.一种经分离宿主细胞,其包含如实施方式131或实施方式132所述的经分离多核苷酸或如实施方式133所述的载体。

实施方式135.一种经分离宿主细胞,其表达如实施方式106至108中任一项所述的抗体。

实施方式136.如实施方式134或实施方式135所述的宿主细胞,其经工程改造以产生无岩藻糖基化抗体。

实施方式137.一种产生结合人TIGIT的抗体的方法,其包含在适于产生该抗体的条件下培育如实施方式134至136中任一项所述的宿主细胞。

实施方式138.如实施方式137所述的方法,其中该宿主细胞经工程改造以产生无岩藻糖基化抗体。

实施方式139.如实施方式137所述的方法,其中在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下在岩藻糖类似物存在下培养该宿主细胞。

实施方式140.如权利要求137至139中任一项所述的方法,其进一步包含分离所述抗体。

实施方式141.一种结合人TIGIT的经分离抗体的组合物,其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的,其中所述抗体是藉由如实施方式138至140中任一项所述的方法产生。

实施方式142.一种结合人TIGIT的经分离抗体的组合物,其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的,其中所述抗体是藉由包含以下内容的方法产生:在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下培育如实施方式134或实施方式135所述的宿主细胞,及分离所述抗体以形成经分离抗体的组合物。

实施方式143.如实施方式142所述的组合物,其中该宿主细胞经工程改造以产生无岩藻糖基化抗体。

实施方式144.如实施方式142所述的组合物,其中在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下在岩藻糖类似物存在下培养该宿主细胞。

实施方式145.一种包含多核苷酸的宿主细胞,该多核苷酸包含编码(i)如实施方式1至63中任一项所述的组合物的抗体,或(ii)如实施方式65至128中任一项所述抗体的核苷酸序列,其中该宿主细胞经工程改造以产生无岩藻糖基化抗体。

实施方式146.如实施方式145所述的宿主细胞,其中该多核苷酸是载体。

实施方式147.一种宿主细胞,其表达(i)如实施方式1至63中任一项所述的组合物的抗体,或(ii)如实施方式65至128中任一项所述的抗体,其中该宿主细胞经工程改造以产生无岩藻糖基化抗体。

实施方式148.如实施方式145至147中任一项所述的宿主细胞,其中该宿主细胞包含:

(a) SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:164、SEQ ID NO:182、SEQ ID NO:200、SEQ ID NO:259、SEQ ID NO:265、SEQ ID NO:267、SEQ ID NO:269或SEQ ID NO:271的核苷酸序列;和/或

(b) SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:173、SEQ ID NO:191、SEQ ID NO:209或SEQ ID NO:273的核苷酸序列。

实施方式149.一种产生结合TIGIT的无岩藻糖基化抗体的方法,其包含在适于产生所述无岩藻糖基化抗体的条件下培养如实施方式145至148中任一项所述的宿主细胞。

实施方式150.一种产生结合TIGIT的无岩藻糖基化抗体的方法,其包含在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下在岩藻糖类似物存在下培养宿主细胞,其中该宿主细胞包含

多核苷酸,该多核苷酸包含编码(i)如实施方式1至63中任一项所述的组合物的抗体或(ii)如实施方式65至128中任一项所述抗体的核苷酸序列。

实施方式151.如实施方式150所述的方法,其中该多核苷酸是载体。

实施方式152.一种产生结合TIGIT的无岩藻糖基化抗体的方法,其包含在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下在岩藻糖类似物存在下培养宿主细胞,其中该宿主细胞表达(i)如实施方式1至63中任一项所述的组合物的抗体,或(ii)如实施方式65至128中任一项所述的抗体。

实施方式153.如实施方式150至152中任一项所述的方法,其中该宿主细胞包含:

(a) SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:164、SEQ ID NO:182、SEQ ID NO:200、SEQ ID NO:259、SEQ ID NO:265、SEQ ID NO:267、SEQ ID NO:269或SEQ ID NO:271的核苷酸序列;和/或

(b) SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:173、SEQ ID NO:191、SEQ ID NO:209或SEQ ID NO:273的核苷酸序列。

实施方式154.如实施方式150至153中任一项所述的方法,其中所述岩藻糖类似物是2-氟岩藻糖。

实施方式155.如权利要求149至154中任一项所述的方法,其进一步包含分离所述无岩藻糖基化抗体。

实施方式156.一种结合人TIGIT的经分离抗体的组合物,其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的,其中所述抗体是藉由如实施方式149至155中任一项所述的方法产生。

实施方式157.一种结合人TIGIT的经分离抗体的组合物,其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的,其中所述抗体是藉由包含以下内容的方法产生:在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下培育如实施方式145至147中任一项所述的宿主细胞,及分离所述抗体以形成经分离抗体的组合物。

实施方式158.一种结合人TIGIT的经分离抗体的组合物,其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的,其中所述抗体是藉由包含以下内容的方法产生:在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下在岩藻糖类似物存在下培养宿主细胞,其中该宿主细胞包含多核苷酸,该多核苷酸包含编码(i)如实施方式1至63中任一项所述的组合物的抗体或(ii)如实施方式65至128中任一项所述抗体的核苷酸序列。

实施方式159.一种结合人TIGIT的经分离抗体的组合物,其中所述组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的所述抗体是无岩藻糖基化的,其中所述抗体是藉由包含以下内容的方法产生:在适于产生无岩藻糖基化抗体的条件下在岩藻糖类似物存在下培养宿主细胞,其中该宿主细胞表达(i)如实施方式1至63中任一项所述的组合物的抗体,或(ii)如实施方式65至

128中任一项所述的抗体。

实施方式160.一种试剂盒,其包含:

如实施方式1至64中任一项所述的组合物、如实施方式65至129中任一项所述的抗体或如实施方式130所述的药物组合物;及

其他治疗剂。

实施方式161.如实施方式160所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂是抗癌剂。

实施方式162.如实施方式160或实施方式161所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂是抗体。

实施方式163.如实施方式160至162中任一项所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂是T细胞共抑制因子的拮抗剂或抑制剂;T细胞共活化因子的激动剂;免疫刺激性细胞因子;或SGN-2FF。

实施方式164.如实施方式160至163中任一项所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂结合选自下组的蛋白质:CD25、PD-1、PD-L1、Tim3、Lag3、CTLA4、41BB、OX40、CD3、CD40、CD47M、GM-CSF、CSF1R、TLR、STING、RIGI、TAM受体激酶、NKG2A、NKG2D、GD2、HER2、EGFR、PDGFR α 、SLAMF7、VEGF、CTLA-4、CD20、cCLB8、KIR及CD52。

实施方式165.如实施方式160至164中任一项所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂选自抗CD25抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗Tim3抗体、抗Lag3抗体、抗CTLA4抗体、抗41BB抗体、抗OX40抗体、抗CD3抗体、抗CD40抗体、抗CD47M抗体、抗CSF1R抗体、抗TLR抗体、抗STING抗体、抗RIGI抗体、抗TAM受体激酶抗体、抗NKG2A抗体、抗NKG2D抗体、抗GD2抗体、抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗PDGFR- α 抗体、抗SLAMF7抗体、抗VEGF抗体、抗CTLA-4抗体、抗CD20抗体、抗cCLB8抗体、抗KIR抗体及抗CD52抗体。

实施方式166.如实施方式160至165中任一项所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂包含选自IL-15、IL-21、IL-2、GM-CSF、M-CSF、G-CSF、IL-1、IL-3、IL-12及IFN γ 的细胞因子。

实施方式167.如实施方式160至165中任一项所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂选自SEA-CD40、阿维鲁单抗(avelumab)、德瓦鲁单抗(durvalumab)、尼沃鲁单抗(nivolumab)、派姆单抗(pembrolizumab)、匹利珠单抗(pidilizumab)、阿替珠单抗(atezolizumab)、Hul4.18K322A、Hu3F8、达妥昔单抗(dinituximab)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、西妥昔单抗(cetuximab)、奥拉妥单抗(olaratumab)、奈昔木单抗(necitumumab)、埃罗妥珠单抗(elotuzumab)、雷莫芦单抗(ramucirumab)、帕妥珠单抗(pertuzumab)、伊匹单抗(ipilimumab)、贝伐珠单抗(bevacizumab)、利妥昔单抗(rituximab)、奥妥珠单抗(obinutuzumab)、司妥昔单抗(siltuximab)、奥法木单抗(ofatumumab)、利利单抗(lirilumab)及阿伦单抗(alemtuzumab)。

实施方式168.如实施方式160或实施方式161所述的试剂盒,其中所述其他治疗剂选自烷基化剂(例如环磷酰胺(cyclophosphamide)、异环磷酰胺(ifosfamide)、氮芥苯丁酸(chlorambucil)、白消安(busulfan)、美法仑(melphalan)、甲基二(氯乙基)胺(mechlorethamine)、乌拉莫司汀(uramustine)、噻替派(thiotepa)、亚硝基脲(nitrosoureas)或替莫唑胺(temozolomide))、蒽环(例如多柔比星(doxorubicin)、阿德力霉素(adriamycin)、道诺霉素(daunorubicin)、泛艾霉素(epirubicin)或米托蒽醌(mitoxantrone))、细胞骨架破坏剂(例如太平洋紫杉醇(paclitaxel)或多西他赛

(docetaxel))、组织蛋白去乙酰酶抑制剂(例如伏立诺他(vorinostat)或罗米地辛(romidepsin))、拓朴异构酶抑制剂(例如伊立替康(irinotecan)、托泊替康(topotecan)、安吡啶(amsacrine)、依托泊苷(etoposide)或替尼泊苷(teniposide))、激酶抑制剂(例如硼替佐米(bortezomib)、厄洛替尼(erlotinib)、吉非替尼(gefitinib)、伊马替尼(imatinib)、威罗菲尼(vemurafenib)或维莫德吉(vismodegib))、核苷类似物或前体类似物(例如阿扎胞苷(azacitidine)、硫唑嘌呤(azathioprine)、卡培他滨(capecitabine)、阿糖胞苷(cytarabine)、氟尿嘧啶(flourouracil)、吉西他滨(gemcitabine)、羟基脲(hydroxyurea)、巯嘌呤(mercaptapurine)、胺甲喋呤(methotrexate)或硫鸟嘌呤(thioguanine))、肽抗生素(例如放线菌素(actinomycin)或博来霉素(bleomycin))、基于铂的药剂(例如顺铂(cisplatin)、奥沙利铂(oxaloplatin)或卡铂(carboplatin))、或植物碱(例如长春新碱(vincristine)、长春碱(vinblastine)、长春瑞滨(vinorelbine)、长春地辛(vindesine)、鬼臼毒素(podophyllotoxin)、太平洋紫杉醇或多西他赛)、加拉定(galardin)、沙利氮迈(thalidomide)、雷利氮迈(lenalidomide)及泊马氮迈(pomalidomide)。

实施方式169.一种治疗对象癌症的方法,其包含给予所述对象治疗有效量的如实施方式1至64中任一项所述的组合物、如实施方式65至129中任一项所述的抗体或如实施方式130所述的药物组合物。

实施方式170.如实施方式169所述的方法,其中所述癌症是CD112或CD155表达富集的癌症。

实施方式171.如实施方式169或实施方式170所述的方法,其中所述癌症是表达TIGIT的T细胞或天然杀手(NK)细胞富集的癌症。

实施方式172.如实施方式169至171中任一项所述的方法,其中所述癌症是膀胱癌、乳癌、子宫癌、子宫颈癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、食道癌、胃肠癌、胃癌(gastric cancer)、胰脏癌、结肠直肠癌、结肠癌、肾癌、透明细胞肾癌、头颈癌、肺癌、肺腺癌、胃癌(stomach cancer)、生殖细胞癌、骨癌、肝癌、甲状腺癌、皮肤癌、黑色素瘤、中枢神经系统赘瘤、间皮瘤、淋巴瘤、白血病、慢性淋巴细胞白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin lymphoma)、骨髓瘤或肉瘤。

实施方式173.如实施方式172所述的方法,其中所述癌症是淋巴瘤、白血病、慢性淋巴细胞白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤或霍奇金氏淋巴瘤。

实施方式174.如实施方式169至173中任一项所述的方法,其进一步包含给予所述对象治疗有效量的其他治疗剂。

实施方式175.如实施方式174所述的方法,其中所述其他治疗剂是抗癌剂。

实施方式176.如实施方式174或实施方式175所述的方法,其中所述其他治疗剂是抗体。

实施方式177.如实施方式174至176中任一项所述的方法,其中所述其他治疗剂是T细胞共抑制因子的拮抗剂或抑制剂;T细胞共活化因子的激动剂;或免疫刺激性细胞因子;或SGN-2FF。

实施方式178.如实施方式174至177中任一项所述的方法,其中所述其他治疗剂结合选自下组的蛋白质:CD25、PD-1、PD-L1、Tim3、Lag3、CTLA4、41BB、OX40、CD3、CD40、CD47M、

GM-CSF、CSF1R、TLR、STING、RIGI、TAM受体激酶、NKG2A、NKG2D、GD2、HER2、EGFR、PDGFR α 、SLAMF7、VEGF、CTLA-4、CD20、cCLB8、KIR及CD52。

实施方式179.如实施方式178所述的方法,其中所述其他治疗剂选自抗CD25抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗Tim3抗体、抗Lag3抗体、抗CTLA4抗体、抗41BB抗体、抗OX40抗体、抗CD3抗体、抗CD40抗体、抗CD47M抗体、抗CSF1R抗体、抗TLR抗体、抗STING抗体、抗RIGI抗体、抗TAM受体激酶抗体、抗NKG2A抗体、抗NKG2D抗体、抗GD2抗体、抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗PDGFR- α 抗体、抗SLAMF7抗体、抗VEGF抗体、抗CTLA-4抗体、抗CD20抗体、抗cCLB8抗体、抗KIR抗体及抗CD52抗体。

实施方式180.如实施方式174或实施方式175所述的方法,其中所述其他治疗剂包含选自IL-15、IL-21、IL-2、GM-CSF、M-CSF、G-CSF、IL-1、IL-3、IL-12及IFN γ 的细胞因子。

实施方式181.如实施方式174至179中任一项所述的方法,其中所述其他治疗剂选自SEA-CD40、阿维鲁单抗、德瓦鲁单抗、尼沃鲁单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、阿替珠单抗、Hu14.18K322A、Hu3F8、达妥昔单抗、曲妥珠单抗、西妥昔单抗、奥拉妥单抗、奈昔木单抗、埃罗妥珠单抗、雷莫芦单抗、帕妥珠单抗、伊匹单抗、贝伐珠单抗、利妥昔单抗、奥妥珠单抗、司妥昔单抗、奥法木单抗、利利单抗及阿伦单抗。

实施方式182.如实施方式174或实施方式175所述的方法,其中所述其他治疗剂选自烷基化剂(例如环磷酰胺、异环磷酰胺、氮芥苯丁酸、白消安、美法仑、甲基二(氯乙基)胺、乌拉莫司汀、噻替派、亚硝基脲或替莫唑胺)、蒽环(例如多柔比星、阿德力霉素、道诺霉素、泛艾霉素或米托蒽醌)、细胞骨架破坏剂(例如太平洋紫杉醇或多西他赛)、组织蛋白去乙酰酶抑制剂(例如伏立诺他或罗米地辛)、拓扑异构酶抑制剂(例如伊立替康、托泊替康、安吡啶、依托泊苷或替尼泊苷)、激酶抑制剂(例如硼替佐米、厄洛替尼、吉非替尼、伊马替尼、威罗菲尼或维莫德吉)、核苷类似物或前体类似物(例如阿扎胞苷、硫唑嘌呤、卡培他滨、阿糖胞苷、氟尿嘧啶、吉西他滨、羟基脲、巯嘌呤、胺甲喋呤或硫鸟嘌呤)、肽抗生素(例如放线菌素或博来霉素)、基于铂的药剂(例如顺铂、奥沙利铂或卡铂)、或植物碱(例如长春新碱、长春碱、长春瑞滨、长春地辛、鬼臼毒素、太平洋紫杉醇或多西他赛)、加拉定、沙利奈迈、雷利奈迈及泊马奈迈。

实施方式183.如实施方式174至182中任一项所述的方法,其中所述组合物、所述抗体或所述药物组合物与所述其他治疗剂同时给药。

实施方式184.如实施方式174至183中任一项所述的方法,其中所述组合物、所述抗体或所述药物组合物与所述其他治疗剂依序给药。

附图说明

[0005] 图1.65个抗TIGIT抗体克隆及无关同型对照抗体与经工程改造以表达人TIGIT(顶部图)、食蟹猴TIGIT(中间图)及小鼠TIGIT(底部图)的HEK 293细胞的结合。

[0006] 图2.65个抗TIGIT抗体克隆及无关同型对照抗体与原代人T细胞(顶部图)、食蟹猴T细胞(中间图)及小鼠T细胞(底部图)的结合。对于底部图,评估65个克隆中的35个。在评估的35个克隆中,35个中的5个不结合mTIGIT-Fc蛋白(克隆20、27、55、56及60),如由浅绿色柱所指示。

[0007] 图3A-3D. (A-C) 8个抗TIGIT抗体克隆(克隆2、5、13、16、17、20、25及54)与在HEK

293细胞上表达的人(A)、小鼠(B)及食蟹猕猴(C)TIGIT的结合滴定值。显示单个孔的结果。(D)8个抗TIGIT抗体克隆(克隆2、5、13、16、17、20、25及54)与在HEK 293细胞上表达的人、小鼠及食蟹猕猴TIGIT的EC50值。

[0008] 图4.抗TIGIT抗体克隆13及25与活化小鼠脾T细胞的结合滴定。显示单个孔的结果。克隆13的EC50为0.24 μ g/mL。克隆25的EC50为2.28 μ g/mL。

[0009] 图5A-5B.对于与表达人TIGIT的HEK 293细胞结合的人CD155(A)及与表达小鼠TIGIT的HEK 293细胞结合的小鼠CD155(B)两者,抗TIGIT抗体阻断CD155与在HEK 293细胞上表达的TIGIT的相互作用。显示单个孔的结果。

[0010] 图6.抗TIGIT抗体阻断人CD112与在HEK 293细胞上表达的人TIGIT的相互作用。显示单个孔的结果。

[0011] 图7A-7B.(A)上图:所选抗TIGIT抗体有效地阻断TIGIT-CD155接合,从而引起T细胞活化,如据荧光素酶活性的>1.5诱导所量测。约12个克隆在生物分析中显示>1.5倍诱导。在ForteBio分析中,两个克隆不阻断TIGIT-CD155相互作用(粉色柱)。相对于无抗体对照量测倍数诱导。平均值及SD是一式两份实验的平均值及SD;抗体是20 μ g/mL。灰色柱=hIgG1同型对照。黑色柱=无抗体对照(定义为基线)。下图:TIGIT/CD155阻断生物分析对TIGIT-Fc亲和性的相关性图。生物分析中的活性与对重组蛋白的亲和性相关。(B)TIGIT/CD155阻断生物分析中12个所选抗TIGIT克隆的剂量反应。克隆13及25显示与所有三个物种的强结合,在生物分析中显示良好活性。平均值及SD是一式三份孔的平均值及SD。

[0012] 图8.所选抗TIGIT抗体与抗PD-1协同作用,从而引起T细胞活化。平均值及SD是一式三份孔的平均值及SD。克隆13及克隆25两者在组合生物分析中皆显示与抗PD-1的协同作用。

[0013] 图9A-9H.克隆13的完全人抗TIGIT克隆13(“c13 hIgG1”)及小鼠IgG1(“c13 mIgG1”)及小鼠IgG2a(“c13 mIgG2a”)嵌合体的与在HEK 293细胞上表达的人(A)、小鼠(B)及食蟹猕猴(C)TIGIT的结合的(A-D)结合滴定(A-C)及EC50值(D)。平均值及SD是一式两份孔的平均值及SD。(E-F)对于与表达人TIGIT的HEK 293细胞结合的人CD155(E)及与表达小鼠TIGIT的HEK 293细胞结合的小鼠CD155(F)两者,抗体c13 hIgG1、c13 mIgG1及c13 mIgG2a阻断CD155与在HEK 293细胞上表达的TIGIT的相互作用。结果是单个孔的结果。(G)抗体c13 hIgG1、c13mIgG1及c13 mIgG2a阻断人CD112与在HEK 293细胞上表达的人TIGIT的相互作用。结果是单个孔的结果。(H)TIGIT/CD155阻断生物分析中亲代及嵌合抗TIGIT抗体克隆c13 hIgG1、c13 mIgG1及c13 mIgG2a的剂量反应。平均值及SD是一式三份孔的平均值及SD。

[0014] 图10A-10K.可接合活化Fc γ 受体的抗TIGIT抗体在小鼠中的CT26同系肿瘤模型中介导抗肿瘤效能。(A)组平均肿瘤体积。(B-K)组1至10的个别动物肿瘤体积。PR=部分反应(对于三个连续量测结果,肿瘤体积是其第1天体积的50%或更小,且对于该三个量测结果中之一或多者等于或大于13.5mm³)。CR=完全反应(对于三个连续量测结果,肿瘤体积小于13.5mm³)。

[0015] 图11.藉由BLI的人Fc γ RIIIa 158V结合滴定的抗TIGIT抗体的感测图。显示抗TIGIT克隆13 hIgG1野生型、无岩藻糖基化及LALA-PG(左图)、抗TIGIT克隆13 mIgG2a野生型、无岩藻糖基化及LALA-PG(中心图)及抗TIGIT克隆13C hIgG1野生型(右图)的结果。

[0016] 图12.抗TIGIT mIgG2a抗体与表达mCD16 (Fc γ RIVa之鼠类形式)的CHO细胞的结合。与野生型mIgG2a (黑色圆圈)或mIgG2a LALA-PG (黑色三角形)相比,无岩藻糖基化克隆13 mIgG2a (黑色正方形)以显著更大亲和性结合。结合数据概述于下表中。

[0017] 图13.来自健康供体的T细胞亚组的TIGIT (顶部图)、CD226 (中间图)及CD155 (底部图)表达。Treg表达最高量的TIGIT,而测试的所有T细胞亚组皆表达活化受体CD226。大部分缺乏CD155表达。

[0018] 图14.TIGIT阳性Treg细胞被不同浓度的克隆13 IgG1野生型 (黑色圆圈)、无岩藻糖基化克隆13 IgG1 (黑色正方形)、克隆13 IgG1 LALA-PG (黑色三角形)及人IgG1同型对照 (灰色倒三角形)的清除。

[0019] 图15.同种异体NK/Treg共培养物实验中Treg被克隆13 IgG1野生型 (黑色圆圈)、无岩藻糖基化克隆13 IgG1 (黑色正方形)及克隆13 IgG1 LALA-PG (黑色三角形)的清除。包括无岩藻糖基化OKT9抗体 (空心圆圈)作为阳性对照。

[0020] 图16.在用克隆13 IgG1野生型抗体 (黑色正方形)、克隆13 IgG1无岩藻糖基化抗体 (黑色菱形)或克隆13 IgG1 LALA-PG抗体 (黑色圆圈)治疗后的PBMC的炎性细胞因子MCP-1 (顶部图)、IL-8 (中间图)及MIP1 α (底部图)产生。

[0021] 图17.在用克隆13 IgG1野生型抗体 (灰色圆圈)、克隆13 IgG1无岩藻糖基化抗体 (灰色正方形)及克隆13 IgG1 LALA-PG抗体 (黑色三角形)治疗后CD14⁺单核细胞上CD86 (左图)及MHC II类 (右图)表达的剂量依赖性上调。

[0022] 图18A-18C.三个不同同系肿瘤模型中抗TIGIT抗体的体内活性。图8A显示A20同系淋巴瘤模型中克隆13 IgG2a野生型、无岩藻糖基化克隆13 IgG2a及克隆13 IgG2a LALA-PG对肿瘤体积的效应。图8B显示CT26同系结肠癌模型中克隆13 IgG2a野生型、无岩藻糖基化克隆13 IgG2a及克隆13 IgG2a LALA-PG对肿瘤体积的效应。图8C显示MC38同系结肠癌模型中克隆13 IgG2a野生型、无岩藻糖基化克隆13 IgG2a及克隆13 IgG2a LALA-PG对肿瘤体积的效应。在所有3个模型中,在与克隆13 IgG2a LALPG (黑色正方形)或未治疗动物 (灰色三角形)相比时,克隆13 mIgG2a野生型 (黑色圆圈)及无岩藻糖基化克隆13 mIgG2a (黑色菱形)在控制肿瘤大小方面更有效。

[0023] 图19.针对与单独西妥昔单抗 (空心正方形)、西妥昔单抗与抗TIGIT抗体克隆13 IgG1的组合 (黑色正方形)及IgG1同型对照抗体 (空心三角形)接触的A549细胞的ADCC活性。

[0024] 图20.暴露于CMV回忆抗原且经抗PD-1抗体 (派姆单抗治疗以灰色正方形显示,尼沃鲁单抗治疗以灰色菱形显示)及递增浓度的抗TIGIT抗体克隆13 IgG1处理的PBMC中CMV诱导的IFN γ 表达。亦显示用单独抗TIGIT抗体克隆13 IgG1的治疗 (黑色正方形)。

[0025] 图21.暴露于CMB回忆抗原且经递增浓度的抗TIGIT抗体克隆13 IgG1野生型 (“克隆13 IgG1”)、无岩藻糖基化克隆13 IgG1 (“克隆13 SEA IgG1”)及克隆13 IgG1 LALA-PG (“克隆13 LALA IgG1”)处理的PBMC中CMV诱导的IFN γ 表达。

[0026] 图22.经递增浓度的抗TIGIT抗体克隆13 IgG1野生型 (“克隆13 IgG1”)、无岩藻糖基化克隆13 IgG1 (“克隆13 SEA IgG1”)及克隆13 IgG1 LALA-PG (“克隆13 LALA IgG1”)处理的HLA错配的共培养的PBMC中的IL2表达。

[0027] 图23.响应抗TIGIT抗体的CT26结肠癌异种移植小鼠的血浆及组织中的细胞因子诱导。将植入CT26结肠癌细胞的小鼠用1mg/kg克隆13 IgG2a野生型 (“WT”)、无岩藻糖基

化克隆13 IgG1 (“SEA”)或克隆13 IgG2a LALA-PG (“LALA”)治疗,且在血浆、脾及肿瘤溶解物中量测细胞因子含量。

[0028] 图24.在用抗TIGIT抗体克隆13 IgG2a野生型 (“WT TIGIT”)、无岩藻糖基化克隆13 IgG2a (“SEA TIGIT”)或克隆13 IgG2a LALA-PG (“LALA TIGIT”)治疗后CT26结肠癌异种移植小鼠中的肿瘤内及外周CD8⁺ T细胞亚组的变化。

[0029] 图25.经抗TIGIT抗体克隆13 IgG2a野生型 (“WT TIGIT”)、无岩藻糖基化克隆13 IgG2a (“SEA TIGIT”)或克隆13 IgG2a LALA-PG (“LALA TIGIT”)治疗的CT26结肠癌异种移植小鼠中的肿瘤内及外周CD4⁺ T细胞亚组的变化。

[0030] 图26A-B.在六个剂量的抗TIGIT抗体克隆13 IgG2a野生型 (“WT TIGIT”)、无岩藻糖基化克隆13 IgG2a (“SEA TIGIT”)或克隆13 IgG2a LALA-PG (“LALA TIGIT”)后CT26结肠癌异种移植小鼠中的脾CD8⁺ (A) 及CD4⁺ (B) T细胞亚组的变化。显示在CD8⁺或CD4⁺上调控的活CD45⁺细胞的结果。

[0031] 图27.经抗TIGIT抗体克隆13 IgG2a野生型 (“WT TIGIT”)、无岩藻糖基化克隆13 IgG2a (“SEA TIGIT”)或克隆13 IgG2a LALA-PG (“LALA TIGIT”)治疗的CT26结肠癌异种移植小鼠的血浆及脾中的细胞因子诱导。

[0032] 图28.经抗TIGIT抗体克隆13 IgG2a野生型 (“WT TIGIT”)、无岩藻糖基化克隆13 IgG2a (“SEA TIGIT”)或克隆13 IgG2a LALA-PG (“LALA TIGIT”)治疗的小鼠中抗原特异性T细胞反应的诱导。

[0033] 图29A-C.三个不同同系肿瘤模型中抗TIGIT抗体的体内活性。图29A显示EMT6同系乳癌模型中5mg/kg克隆13 IgG2a野生型 (“TIGIT”)及0.1mg/kg、1mg/kg及5mg/kg无岩藻糖基化克隆13 IgG2a (“SEA TIGIT”)对肿瘤体积的效应。图29B显示E0771同系乳癌模型中5mg/kg克隆13 IgG2a野生型 (“TIGIT”)及0.1mg/kg、1mg/kg及5mg/kg无岩藻糖基化克隆13 IgG2a (“SEA TIGIT”)对肿瘤体积的效应。图29C显示外部保持的CT26同系结肠癌模型中1mg/ml克隆13 IgG2a野生型对肿瘤体积的效应。

[0034] 图30.NK细胞 (左) 及活化CD8⁺ T细胞 (右) 分子印记 (signature) 与对抗TIGIT抗体治疗的同系肿瘤模型反应的相关性。

[0035] 图31.TIGIT (左) 及CD155 (右) 表达与对抗TIGIT抗体治疗的同系肿瘤模型反应的相关性。

[0036] 图32.在经OVA疫苗接种及用1mg/kg克隆13 IgG2a野生型 (“WT TIGIT”)、克隆13 mIgG2a无岩藻糖基化 (“SEA TIGIT”)或克隆13 mIgG2a LALA-PG (“LALA TIGIT”)抗体治疗后小鼠中的抗OVA IgG1 (左图) 及IgG2a (右图) 含量。

[0037] 图33.在重新刺激经OVA疫苗接种后1mg/kg克隆13 IgG2a野生型 (“WT TIGIT”)、克隆13 mIgG2a无岩藻糖基化 (“SEA TIGIT”)或克隆13 mIgG2a LALA-PG (“LALA TIGIT”)抗体治疗的小鼠离体脾细胞后的细胞因子表达。

[0038] 图34.在用克隆13 mIgG2a无岩藻糖基化抗体治疗后在CT26同系肿瘤模型中显示完全反应的小鼠的再攻击。

[0039] 图35.抗TIGIT抗体克隆13 IgG1野生型 (“WT”)、无岩藻糖基化克隆13 IgG1 (“SEA 克隆13 IgG1”)或克隆13 IgG1 DLE (“DLE”)所致Treg清除。

[0040] 图36.抗TIGIT抗体克隆13 IgG1野生型 (“WT克隆13”)、无岩藻糖基化克隆13 IgG1

(“SEA克隆13 IgG1”)或克隆H5/L4 IgG1所致Treg清除。

[0041] 图37. MC38小鼠肿瘤模型中抗TIGIT抗体克隆13 IgG1野生型(“WT克隆13”或“WT TIGIT”)、无岩藻糖基化克隆13 IgG1(“SEA克隆13”或“SGN-TGT”)、抗PD-1抗体以及抗PD-1抗体与克隆13 IgG1野生型或无岩藻糖基化克隆13 IgG1之组合的效能。

[0042] 图38A-38B. 图38A在与超抗原葡萄球菌肠毒素B肽及抗TIGIT抗体克隆13 IgG1野生型(“WT克隆13”)、无岩藻糖基化克隆13 IgG1(“SEA克隆13”)、克隆13 IgG1 DLE(“DLE”)或克隆H5/L4 IgG1接触后的IL-2表达(图38A)或IL-10表达(图38B)。

[0043] 图39A-39D. 抗TIGIT抗体克隆13 IgG1野生型(“克隆13 IgG1”)、无岩藻糖基化克隆13 IgG1(“SEA克隆13”)、克隆13 LALA-PG(“克隆13 LALA”)、克隆13 IgG1 DLE(“克隆13 DLE”)或克隆H5/L4 IgG1与在CHO细胞表面上表达的Fc γ RI(图39A)、Fc γ RIIIa V/V(图39B)、Fc γ RIIb(图39C)或Fc γ RIIa(图39D)的结合。

[0044] 图40. 由抗TIGIT抗体克隆13 IgG1野生型(“克隆13”)、无岩藻糖基化克隆13 IgG1(“SEA克隆13”)及克隆13 IgG1 DLE(“克隆13 DLE”)介导的TIGIT阳性Jurkat细胞的吞噬作用。

[0045] 图41. 由抗TIGIT抗体克隆13 IgG1野生型(“克隆13 IgG1”)、无岩藻糖基化克隆13 IgG1(“SEA克隆13”)、克隆13 LALA-PG(“克隆13 LALA-PG”)、克隆13 IgG1 DLE(“克隆13 DLE”)或克隆H5/L4 IgG1以及由抗CD47抗体hB6h12.3介导的TIGIT阳性Jurkat细胞的CDC。

具体实施方式

I. 导论

[0046] 本文提供对人TIGIT(具有Ig及ITIM结构域的T细胞免疫受体)具有高亲和性且进一步与小鼠TIGIT及食蟹猕猴TIGIT中任一者或两者具有交叉反应性的抗体,已鉴定为抑制TIGIT与CD155之间相互作用的抗体。所述抗体亦表现出与抗PD-1抗体的协同作用。因此,本文所述抗TIGIT抗体可作为单一药剂或与另一治疗剂的组合用于多种治疗应用,例如用于治疗各种癌症。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体是无岩藻糖基化的。

[0047] 因此,在一些实施方式中,本发明提供包含结合人TIGIT的抗体的组合物、试剂盒及治疗方法,其中所述抗体是无岩藻糖基化的。

II. 定义

[0048] 除非另有定义,否则本文中所用技术及科学术语具有与本领域普通技术人员通常所了解相同的含义。参见(例如)Lackie, DICTIONARY OF CELL AND MOLECULAR BIOLOGY, Elsevier(第4版,2007); Sambrook等人, MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL, Cold Springs Harbor Press(Cold Springs Harbor, NY 1989)。与本文所述内容类似或等效的任何方法、装置及材料可用于本发明的实践中。

[0049] 除非上下文另外明确指出,否则本文所用单数形式“一(a, an)”及“该”包括复数个指示物。因此,例如,对“抗体”的提及可选性包括两个或更多个所述分子的组合,及诸如此类。

[0050] 本文所用术语“约”指本领域技术人员容易了解的对应值的常见误差范围。

[0051] 如本文所用术语“TIGIT”指“具有Ig及ITIM结构域的T细胞免疫受体”。由TIGIT基因编码的蛋白质的蛋白质Ig超家族内的CD28家族的成员。TIGIT在若干类别的T细胞上及在

天然杀手(NK)细胞上表达且藉由与CD226竞争配体CD155及CD112介导其免疫抑制效应。参见Levin等人, Eur. J. Immunol., 2011, 41:902-915。TIGIT在业内亦称作WUCAM (Washington University Cell Adhesion Molecule) 及VSTM3 (HUGO名称)。参见Levin等人, Eur J Immunol, 2011, 41:902-915。因此, 除非另有说明或自上下文明了, 否则贯穿本申请的对“TIGIT”的提及亦包括对WUCAM和/或VSTM3的提及。人TIGIT核苷酸及蛋白质序列分别记载于(例如)GenBank登录号NM173799 (SEQ ID NO:217) 及NP776160 (SEQ ID NO:218) 中。

[0052] 术语“抗体”包括完整抗体及其抗原结合片段, 其中抗原结合片段包含抗原结合区及包含位于CH2中的天冬酰胺(N) 297的重链恒定区的至少一部分。通常, “可变区”含有抗体的抗原结合区且参与结合的特异性及亲和性。参见Fundamental Immunology第7版, Paul编辑, Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams&Wilkins (2013)。轻链通常分类为 κ 或 λ 。重链通常分类为 γ 、 μ 、 α 、 δ 或 ϵ , 其进而定义免疫球蛋白类别, 分别为IgG、IgM、IgA、IgD及IgE。

[0053] 术语“抗体”亦包括二价或双特异性分子、双价抗体、三价抗体及四价抗体。二价及双特异性分子记载于以下中: 例如Kostelny等人(1992) J. Immunol. 148:1547, Pack及Pluckthun(1992) Biochemistry 31:1579, Hollinger等人(1993), PNAS. USA 90:6444, Gruber等人(1994) J Immunol. 152:5368, Zhu等人(1997) Protein Sci. 6:781, Hu等人(1996) Cancer Res. 56:3055, Adams等人(1993) Cancer Res. 53:4026及McCartney, 等人(1995) Protein Eng. 8:301。

[0054] 术语“抗体”包括抗体自身(裸抗体)或偶联至细胞毒性或细胞生长抑制药物的抗体。

[0055] “单克隆抗体”指自实质上同源的抗体群获得的抗体, 即, 除可能存在极少量天然存在的突变外, 构成该群体的个别抗体皆相同。修饰词“单克隆”指示抗体特征是自实质上同源的抗体群获得, 不应理解为需要藉由任一特定方法来产生该抗体。举例而言, 欲按本发明使用的单克隆抗体可藉由首次由Kohler等人(1975) Nature 256:495阐述的杂交瘤方法来制备, 或可藉由重组DNA方法来制备(例如参见美国专利第4816567号)。“单克隆抗体”亦可使用以下所述的技术自噬菌体抗体文库分离: 例如, Clackson等人(1991) Nature 352:624-628及Marks等人(1991) J. Mol. Biol., 222:581-597, 或可藉由其他方法制备。本文所述抗体是单克隆抗体。

[0056] 单克隆抗体与其靶抗原的特异性结合意指亲和性为至少 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 或 10^{10}M^{-1} 。特异性结合在量值上可检测地高于至少一个无关靶标发生的非特异性结合且可与该非特异性结合区分。特异性结合可以是在特定官能团或特定空间配合(例如锁钥型)之间成键的结果, 而非特异性结合通常是范德华力(van der Waals force)的结果。

[0057] 基本抗体结构单元是亚单元的四聚体。每一四聚物包括两对相同多肽链, 每一对具有一条“轻”链(约25kDa)及一条“重”链(约50-70kDa)。每一链的氨基末端部分包括主要负责抗原识别的约100个至110个或更多氨基酸的可变区。此可变区初始表达为连接至可裂解信号肽。无信号肽的可变区有时称作成熟可变区。因此, 例如, 轻链成熟可变区意指无轻链信号肽的轻链可变区。每一链的羧基末端部分界定主要负责效应功能的恒定区。

[0058] 轻链分类为 κ 或 λ 。重链分类为 γ 、 μ 、 α 、 δ 或 ϵ , 且将抗体的同型分别定义为IgG、IgM、IgA、IgD及IgE。在轻链及重链内, 可变区及恒定区藉由约包含12个或更多个氨基酸的“J”区

接合,其中该重链亦包括约10个或更多个氨基酸的“D”区。(通常参见Fundamental Immunology (Paul, W. 编辑,第2版Raven Press, N.Y., 1989, 第7章, 引用方式全文并入用于所有目的)。

[0059] 每一轻链/重链对的成熟可变区形成抗体结合位点。因此,完整抗体具有两个结合位点。除在双功能或双特异性抗体中之外,两个结合位点是相同的。链皆呈现由三个超变区(亦称为互补决定区或CDR)接合的相对保守框架区(FR)的相同通用结构。每一对的两条链的CDR由框架区对准,从而能够结合特异性表位。轻链及重链两者自N末端至C末端包含结构域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。氨基酸至各结构域中的指配按照以下定义:Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1987及1991)、或Chothia及Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); Chothia等人, Nature 342:878-883 (1989)、或Kabat及Chothia之复合体、或IMGT (ImMunoGeneTics资讯系统)、AbM或Contact或CDR的其他常用定义。Kabat亦提供广泛使用的编号惯例(Kabat编号),其中不同重链之间或不同轻链之间的相应残基指配相同编号。除非自上下文另外明了,否则Kabat编号用于命名可变区中氨基酸的位置。除非自上下文另外明了,否则EU编号用于命名恒定区中的位置。

[0060] “人源化”抗体是保留非人抗体的反应性、但在人中免疫原性较小的抗体。此可(例如)藉由保留非人CDR区及用其人对对应体置换抗体其余部分来达成。参见(例如)Morrison等人, PNAS USA, 81:6851-6855 (1984); Morrison及Oi, Adv. Immunol., 44:65-92 (1988); Verhoeyen等人, Science, 239:1534-1536 (1988); Padlan, Molec. Immun., 28:489-498 (1991); Padlan, Molec. Immun., 31 (3):169-217 (1994)。

[0061] 如本文所用术语“嵌合抗体”指如下抗体分子:其中(a)恒定区或其部分被置换使得抗原结合位点(可变区、CDR或其部分)连接至不同物种的恒定区。

[0062] 术语“表位”指抗原上抗体所结合的位点。表位可由一种或多种蛋白质三级折叠并置的连续氨基酸或非连续氨基酸形成。自连续氨基酸形成的表位在暴露于变性溶剂时通常保留,而在用变性溶剂处理时通常损失由三级折叠形成的表位。表位通常包括至少3个、且更通常至少5个或8-10个呈独特空间构象的氨基酸。确定表位的空间构象的方法包括(例如)x-射线晶体测量术及2-维核磁共振。参见(例如)Epitope Mapping Protocols, in Methods in Molecular Biology, 第66卷, Glenn E. Morris编辑(1996)。

[0063] 可在简单免疫分析中鉴定识别相同或重迭表位的抗体,该免疫分析显示一种抗体与另一抗体竞争结合靶抗原的能力。抗体的表位亦可由结合其抗原的抗体的X射线结晶测量术来界定以鉴定接触残基。或者,若降低或消除一种抗体的结合的抗原的所有氨基酸突变皆降低或消除另一抗体的结合,则两个抗体具有相同表位。若降低或消除一种抗体的结合的一些氨基酸突变降低或消除另一抗体的结合,则两个抗体具有重迭表位。

[0064] 藉由如下分析测定抗体之间的竞争:其中测试抗体抑制参考抗体与共用抗原的特异性结合(例如,参见Junghans等人, Cancer Res. 50:1495, 1990)。若过量测试抗体(例如至少2x、5x、10x、20x或100x)将参考抗体的结合抑制至少50%、但较佳75%、90%或99%,如竞争性结合分析中所量测,则测试抗体与参考抗体竞争。藉由竞争分析鉴定的抗体(竞争抗体)包括与参考抗体结合相同表位的抗体及结合与由参考抗体结合的表位足够靠近以进行立体阻碍的毗邻表位的抗体。

[0065] 片语“特异性结合”指相比分子(例如抗体或抗体片段)与非靶标化合物的结合,其以更大亲和性、亲合力、更容易和/或以更大持续时间结合样品中的靶标。在一些实施方式中,特异性结合靶标的抗体是以非靶标化合物的至少2倍的亲和性、例如至少4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、25倍、50倍或100倍的亲和性结合靶标的抗体。举例而言,特异性结合TIGIT的抗体通常将以非TIGIT靶标的至少2倍亲和性结合TIGIT。本领域普通技术人员阅读此定义应理解,例如,特异性或优先结合第一靶标的抗体(或部分或表位)可或可不特异性或优先结合第二靶标。因此,“特异性结合”不一定需要(但其可包括)排他性结合。

[0066] 术语“结合亲和性”在本文中用作两个分子(例如抗体或其片段与抗原)之间的非共价相互作用的强度的量度。术语“结合亲和性”用于描述单价相互作用(固有活性)。

[0067] 经由单价相互作用的两个分子(例如抗体或其片段与抗原)之间的结合亲和性可藉由测定解离常数(K_D)来量化。 K_D 进而可藉由使用(作为非限制性实例)表面等离子体共振(SPR)方法(BiacoreTM)量测复合体形式及解离的动力学来测定。对应于单价复合体的解离及缔合的速率常数分别称为缔合速率常数 k_a (或 k_{on})及解离速率常数 k_d (或 k_{off})。经由等式 $K_D = k_d/k_a$, K_D 与 k_a 及 k_d 相关。解离常数的值可藉由熟知方法直接测定,且可甚至针对复杂混合物藉由(例如)以下文献中所述的那些方法来计算:例如Caceci等人(1984, Byte 9:340-362)。举例而言, K_D 可使用双过滤器硝化纤维素过滤器结合分析、例如由Wong及Lohman(1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5428-5432)所揭示的分析来确认。用以评估配体(例如抗体)对靶抗原的结合能力的其他标准分析为业内已知,包括(例如)ELISA、Western印迹、RIA及流式细胞术分析及本文中别处例举的其他分析。抗体的结合动力学及结合亲和性亦可藉由业内已知或如以下实施例部分中所述的标准分析来评价,例如表面等离子体共振(SPR),例如藉由使用BiacoreTM系统;动力学排除分析,例如KinExA[®];及生物层干涉术(例如使用ForteBio[®] Octet平台)。在一些实施方式中,使用生物层干涉分析测定结合亲和性。参见(例如)Wilson等人, Biochemistry and Molecular Biology Education, 38:400-407 (2010); Dysinger等人, J. Immunol. Methods, 379:30-41 (2012); 及Estep等人, Mabs, 2013, 5:270-278。

[0068] 如本文所用术语“交叉反应”指抗体结合除抗体所针对的抗原之外的抗原的能力。在一些实施方式中,交叉反应性指抗体结合不同于抗体所针对的抗原的另一物种的抗原的能力。作为非限制性实例,针对人TIGIT抗原的如本文所述抗TIGIT抗体可表现出与来自不同物种(例如小鼠或猴)的TIGIT的交叉反应性。

[0069] “经分离”抗体是指已自其天然环境鉴定及分离和/或回收的抗体和/或重组产生的抗体。“纯化抗体”是通常去除干扰蛋白及来自其生产或纯化的其他污染物达至少50%w/w纯的抗体,但不排除单克隆抗体与过量药学上可接受的载剂或意欲促进其使用的其他载剂组合的可能性。干扰蛋白及其他污染物可包括(例如)抗体从中分离或由其重组产生的细胞的细胞组分。有时,单克隆抗体去干扰蛋白及来自其生产或纯化的污染物达至少60%、70%、80%、90%、95或99%w/w纯。本文所述抗体(包括大鼠、嵌合、胶合及人源化抗体)可以分离和/或纯化形式提供。

[0070] 术语“免疫抗肿瘤剂”指增强、刺激或上调针对对象癌症的免疫反应(例如刺激免疫反应以抑制肿瘤生长)的药剂。在一些实施方式中,免疫抗肿瘤剂是小分子、抗体、肽、蛋白质、环状肽、肽模拟物、多核苷酸、抑制性RNA、适配体、药物化合物或其他化合物。在一些

实施方式中,免疫抗肿瘤剂是PD-1或PD-1路径的拮抗剂或抑制剂。

[0071] “对象 (Subject)”、“患者”、“个体 (individual)”及类似术语可互换使用且除非另有指示,否则指哺乳动物,例如人类及非人类灵长类动物、以及兔、大鼠、小鼠、山羊、猪及其他哺乳动物物种。该术语不一定指示个体已经诊断患有特定疾病,但通常指在医学监护下的个体。

[0072] 术语“疗法”、“治疗”及“改善”指症状的严重程度的任何降低。在治疗癌症的情形下,治疗可指降低(例如)肿瘤大小、癌细胞数目、生长速率、转移活性、非癌细胞的细胞死亡等。如本文所用术语“治疗”及“预防”并不意欲作为绝对术语。治疗及预防可指发作的任何延迟、症状的改善、患者存活的改良、存活时间或存活率增加等。治疗及预防可为完全(无剩余可检测症状)或部分,使得症状比在无本文所述治疗的患者中较不频繁或较不严重。治疗效应可与未接受治疗的个体或个体集或在治疗之前或在治疗期间不同时间的相同患者进行比较。在一些情形中,与(例如)给药之前的个体或未经治疗的对照个体相比,疾病严重程度降低至少10%。在一些态样中,疾病严重程度降低至少25%、50%、75%、80%或90%,或在一些情形下,使用标准诊断技术不再可检测到。

[0073] 如本文所用,药剂(例如如本文所述的抗体)的“治疗量”或“治疗有效量”是药剂预防、缓和、减少、改善或降低对象疾病(例如癌症)的症状严重程度的量。

[0074] 术语“给药”和“给予”(administer、administered或administering)指向生物作用的期望位点递送药剂、化合物或组合物的方法。所述方法包括(但不限于)局部递送、胃肠外递送、静脉内递送、真皮内递送、肌内递送、结肠递送、直肠递送或腹膜内递送。可选性采用本文所述药剂及方法的给药技术包括例如如Goodman及Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 当前版本; Pergamon; 及Remington's, Pharmaceutical Sciences (当前版本), Mack Publishing Co., Easton, PA中所论述。

III. 针对TIGIT的抗体

[0075] 内容之一,提供结合人TIGIT(具有Ig及ITIM结构域的T细胞免疫受体)的抗体。如本文所述,在一些实施方式中,抗TIGIT抗体抑制TIGIT与配体CD155及CD112中之一或两者之间的相互作用。在一些实施方式中,在功能生物分析中,抗TIGIT抗体抑制TIGIT与CD155之间的相互作用,从而容许发生CD155-CD226信号传导。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体表现出与抗PD-1剂(例如抗PD-1抗体)或抗PD-L1剂(例如抗PD-L1抗体)的协同作用。

[0076] 本发明者发现,出人意料地,具有增强效应功能的抗TIGIT抗体,例如可利用无岩藻糖基化IgG1抗体获得的那些,清除Treg细胞且显示改良的体内效能。因此,在各种实施方式中,提供无岩藻糖基化抗TIGIT抗体。

抗TIGIT抗体之示例性特征

[0077] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体(例如无岩藻糖基化抗TIGIT抗体)以高亲和性结合人TIGIT蛋白(SEQ ID NO:218)或其部分。在一些实施方式中,抗体对人TIGIT的结合亲和性(K_D)小于5nM、小于1nM、小于500pM、小于250pM、小于150pM、小于100pM、小于50pM、小于40pM、小于30pM、小于20pM或小于约10pM。在一些实施方式中,抗体对人TIGIT的结合亲和性(K_D)小于50pM。在一些实施方式中,抗体对人TIGIT的 K_D 在约1pM至约5nM、例如约1pM至约1nM、约1pM至约500pM、约5pM至约250pM或约10pM至约100pM范围内。

[0078] 在一些实施方式中,除了以高亲和性结合人TIGIT外,无岩藻糖基化抗TIGIT抗体

亦表现出与食蟹猕猴(“cyno”)TIGIT(例如具有序列SEQ ID NO:219的cyno TIGIT蛋白)和/或小鼠TIGIT(例如具有序列SEQ ID NO:220的小鼠TIGIT蛋白)的交叉反应性。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体以100nM或更低的结合亲和性(K_D)结合小鼠TIGIT(例如具有序列SEQ ID NO:220的小鼠TIGIT)。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体以5nM或更低的 K_D 结合人TIGIT,且以100nM或更低的 K_D 与小鼠TIGIT交叉反应。在一些实施方式中,结合人TIGIT的抗TIGIT抗体亦表现出与食蟹猕猴TIGIT及小鼠TIGIT两者的交叉反应性。

[0079] 在一些实施方式中,藉由检测抗TIGIT抗体与在细胞(例如表达人TIGIT、cyno TIGIT或小鼠TIGIT的细胞系;或内源表达TIGIT的原代细胞,例如内源表达人TIGIT、cyno TIGIT或小鼠TIGIT的原代T细胞)上表达的TIGIT的特异性结合测定抗体交叉反应性。在一些实施方式中,藉由检测抗TIGIT抗体与纯化或重组TIGIT(例如纯化或重组人TIGIT、纯化或重组cyno TIGIT或纯化或重组小鼠TIGIT)或包含TIGIT的嵌合蛋白(例如包含人TIGIT、cyno TIGIT或小鼠TIGIT的Fc-融合蛋白、或包含人TIGIT、cyno TIGIT或小鼠TIGIT之His标记的蛋白质)的特异性结合测定抗体结合及抗体交叉反应性。

[0080] 用于分析结合亲和性、结合动力学及交叉反应性的方法为业内已知。参见(例如)Ernst等人,Determination of Equilibrium Dissociation Constants,Therapeutic Monoclonal Antibodies (Wiley&Sons编辑,2009)。所述方法包括(但不限于)固相结合分析(例如ELISA分析)、免疫沉淀、表面等离子体共振(SPR,例如Biacore™(GE Healthcare, Piscataway,NJ))、动力学排除分析(例如KinExA®)、流式细胞术、荧光活化细胞分选(FACS)、生物层干涉术(例如Octet™(FortéBio, Inc., Menlo Park, CA))及Western印迹分析。SPR技术综述于(例如)Hahnfeld等人Determination of Kinetic Data Using SPR Biosensors,Molecular Diagnosis of Infectious Diseases (2004)中。在典型SPR实验中,一种相互作用剂(靶标或靶向剂)固定于流动槽中的SPR活性金涂布的载玻片上,且引入含有另一相互作用剂的样品以横跨表面流动。当给定波长的光照射在表面上时,金的光反射率变化指示结合及结合动力学。在一些实施方式中,使用动力学排除分析来测定亲和性。此技术可见(例如)Darling等人,Assay and Drug Development Technologies第2卷,第6期647-657 (2004)中。在一些实施方式中,使用生物层干涉分析来测定亲和性。此技术可见(例如)Wilson等人,Biochemistry and Molecular Biology Education,38:400-407 (2010);Dysinger等人,J.Immunol.Methods,379:30-41 (2012)中。

[0081] 在一些实施方式中,本文提供的抗TIGIT抗体抑制TIGIT与配体CD155之间的相互作用。在一些实施方式中,本文提供的抗TIGIT抗体抑制TIGIT与配体CD112之间的相互作用。在一些实施方式中,本文提供的抗TIGIT抗体抑制TIGIT与配体CD155及CD112两者之间的相互作用。

[0082] 在一些实施方式中,藉由量测结合分析中TIGIT与CD155或CD112之间的物理相互作用是否降低来评估抗TIGIT抗体抑制TIGIT与CD155和/或CD112之间相互作用的能力。在一些实施方式中,结合分析是竞争性结合分析。该分析可以各种方式,例如(但不限于)ELISA分析、流式细胞术、表面等离子体共振(SPR)分析(例如Biacore™)或生物层干涉术(例如ForteBio Octet™)实施。参见例如Duff等人,Biochem J.,2009,419:577-584;Dysinger等人,J.Immunol.Methods,379:30-41 (2012);及Estep等人,Mabs,2013,5:270-278。

[0083] 在一些实施方式中,在功能生物分析例如藉由量测细胞中CD155-CD226信号传导

活化(例如经由下游报导基因的活化)评估TIGIT/CD155相互作用抑制的功能细胞分析中,抗TIGIT抗体抑制TIGIT与CD155之间的相互作用。非限制性示例性功能细胞分析可见以下实施例部分中的描述。在此示例性功能分析中,荧光素酶表达需要TCR接合及来自CD155-CD226的共刺激信号。第一细胞(亦称为“T效应细胞”)在细胞表面上表达TCR复合体、TIGIT及CD226且含有荧光素酶基因。第二细胞(亦称为“人工抗原呈递细胞”)表达TCR活化因子及CD155。细胞在抗TIGIT抗体不存在下共培养造成TIGIT-CD155相互作用,抑制效应细胞被CD155-CD226共刺激,防止效应细胞表达荧光素酶。在抑制TIGIT与CD155之间相互作用的抗TIGIT抗体存在下,CD155及CD226能够相互作用且产生驱动第一细胞中荧光素酶表达的共刺激信号。所述功能细胞分析可见业内记载,例如Cong等人,Genetic Engineering and Biotechnology News,2015,35(10):16-17,亦有市售(例如TIGIT/CD155阻断生物分析试剂盒,Promega Corp.,Madison,WI)。在一些实施方式中,与抗TIGIT抗体不存在下CD155-CD226信号传导的程度或量相比,抑制TIGIT与CD155之间相互作用的抗TIGIT抗体使CD155-CD226信号传导的活化程度或量增加(例如于细胞分析例如TIGIT/CD155阻断生物分析试剂盒中所量测)至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或更多。在一些实施方式中,与抗TIGIT抗体不存在下CD155-CD226信号传导的程度或量相比,抑制TIGIT与CD155之间相互作用的抗TIGIT抗体使CD155-CD226信号传导的活化程度或量增加(例如于细胞分析例如TIGIT/CD155阻断生物分析试剂盒中所量测)至少约1.2倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约6倍、至少约7倍、至少约8倍、至少约9倍、至少约10倍或更多倍。

[0084] 在一些实施方式中,结合人TIGIT(且可选性地表现出与食蟹猕猴和/或小鼠TIGIT的交叉反应性和/或可选性抑制TIGIT与CD155和/或CD112之间相互作用)的抗TIGIT抗体表现出与抗PD-1剂(例如抗PD-1抗体)的协同作用。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体将抗PD-1剂(例如抗PD-1抗体)的效应增强至少约1.2倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约6倍、至少约7倍、至少约8倍、至少约9倍、至少约10倍或更多倍。

[0085] 在一些实施方式中,在功能生物分析、例如藉由量测效应细胞中信号传导活化评估TIGIT信号传导抑制及PD-1信号传导抑制的功能细胞分析中,抗TIGIT抗体表现出与抗PD-1剂(例如抗PD-1抗体)的协同作用。非限制性示例性功能细胞分析可见以下实施例部分中的描述。在此示例性功能细胞分析中,第一细胞(亦称为“T效应细胞”)在细胞表面上表达TCR复合体、TIGIT、CD226及PD-1且含有荧光素酶基因。第二细胞(亦称为“人工抗原呈递细胞”)表达TCR活化因子、CD155及PD-L1。藉由以下之任一者或两者活化效应细胞的荧光素酶基因表达:(1) TIGIT-CD155相互作用的阻断,藉此容许CD155-CD226相互作用,及随后共刺激效应细胞表达荧光素酶,或(2) PD-1/PD-L1相互作用的阻断,藉此减轻效应细胞的荧光素酶表达抑制。可量测且量化在不存在或存在抗TIGIT抗体及抗PD-1剂或抗PD-L1剂下荧光素酶表达程度用于确定抗TIGIT抗体是否表现出与抗PD-1剂或抗PD-L1剂的协同作用。所述功能细胞分析可见业内记载(例如Cong等人,Genetic Engineering and Biotechnology News,2015,35(10):16-17),亦有市售(例如PD-1/TIGIT组合生物分析试剂盒,Promega Corp.,Madison,WI)。

[0086] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体之效能以及抗TIGIT抗体是否与抗PD-1剂(例如抗PD-1抗体)或抗PD-L1剂(例如抗PD-L1抗体)协同抑制可使用体内模型、例如体内肿瘤模

型来量测。举例而言,本文所述抗TIGIT抗体的效能或本文所述抗TIGIT抗体在与抗PD-1剂或抗PD-L1剂联合给药时的效能可使用同系小鼠肿瘤模型来评估。适宜同系肿瘤模型可见业内记载。参见(例如,Rios-Doria等人,Neoplasia,2015,17:661-670;及Moynihan等人,Nature Medicine,2016,doi:10.1038/nm.4200。在一些实施方式中,与对照或参照值相比(例如与未治疗对照中的肿瘤大小或肿瘤总数目相比),抗TIGIT抗体将体内模型中肿瘤大小或肿瘤总数目减少至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或更多。

[0087] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别人TIGIT的包含参照SEQ ID NO:218编号的氨基酸位置81及82中之一或两者的表位。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别包含第81位的Phe的表位。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别包含第82位的Lys或Ser的表位。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别包含第81位的Phe及第82位的Lys的表位。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别包含第81位的Phe及第82位的Ser的表位。

[0088] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别包含氨基酸位置81及82中之一或两者的线性表位(例如包含第81位的Phe及第82位的Lys或Ser的线性表位)。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别包含氨基酸位置81及82中之一或两者的不连续表位(例如包含第81位的Phe及第82位的Lys或Ser的不连续表位)。

[0089] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体结合人TIGIT上进一步包含氨基酸位置51、52、53、54、55、73、74、75、76、77、79、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92或93中之一或多者(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、13、14、15或更多者)的表位。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体结合人TIGIT上进一步包含以下之一或多者(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、13、14、15或更多者)的表位:第51位的Thr、第52位的Ala、第53位的Glu或Gln、第54位的Val、第55位的Thr、第73位的Leu、第74位的Gly、第75位的Trp、第76位的His、第77位的Val或Ile、第79位的Ser或Pro、第83位的Asp、第84位的Arg、第85位的Val、第86位的Val或Ala、第87位的Pro、第88位的Gly、第89位的Pro、第90位的Ser或Gly、第91位的Leu、第92位的Gly或第93位的Leu。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体结合人TIGIT上进一步包含氨基酸残基Thr51、Ala52、Gln53、Val54、Thr55、Leu73、Gly74、Trp75、His76、Ile77、Pro79、Asp83、Arg84、Val85、Ala86、Pro87、Gly88、Pro89、Gly90、Leu91、Gly92及Leu93中之一或多者(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、13、14、15或更多者)的表位。

[0090] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别包含第81位的Phe及第82位的Lys或Ser且进一步包含第51位的Thr、第52位的Ala、第53位的Glu或Gln、第54位的Val和/或第55位的Thr的表位。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别包含第81位的Phe及第82位的Lys或Ser且进一步包含第74位的Gly、第75位的Trp、第76位的His和/或第77位的Val或Ile的表位。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别包含第81位的Phe及第82位的Lys或Ser且进一步包含第87位的Pro、第88位的Gly、第89位的Pro、第90位的Ser或Gly、第91位的Leu、第92位的Gly和/或第93位的Leu的表位。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别包含氨基酸残基Thr51、Ala52、Gln53、Val54、Thr55、Gly74、Trp75、His76、Ile77、Phe81、Lys82、Pro87、Gly88、Pro89、Gly90、Leu91、Gly92及Leu93的表位。

[0091] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别包含第81位的Phe及第82位的Lys或Ser且进一步包含第52位的Ala和/或第53位的Glu或Gln的表位。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识

别包含第81位的Phe及第82位的Lys或Ser且进一步包含第73位的Leu、第74位的Gly和/或第75位的Trp的表位。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别包含第81位的Phe及第82位的Lys或Ser且进一步包含第83位的Asp、第84位的Arg、第85位的Val和/或第86位的Val或Ala的表位。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别包含氨基酸残基Ala52、Gln53、Leu73、Gly74、Trp75、Pro79、Phe81、Lys82、Asp83、Arg84、Val85及Ala86的表位。

[0092] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别包含序列ICNADLGWHISPSFK (SEQ ID NO: 258) 的人TIGIT的表位,其对应于人TIGIT的残基68-82 (SEQ ID NO:218)。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体识别由序列ICNADLGWHISPSFK (SEQ ID NO:258) 组成的人TIGIT的表位。

某些抗TIGIT抗体序列

[0093] 在一些实施方式中,结合人TIGIT且可选性表现出与食蟹猕猴TIGIT和/或小鼠TIGIT的交叉反应性的抗TIGIT抗体包含衍生自本文所述以下抗体中任一者的轻链可变区序列或其部分、和/或重链可变区序列或其部分:克隆2、克隆2C、克隆3、克隆5、克隆13、克隆13A、克隆13B、克隆13C、克隆13D、克隆14、克隆16、克隆16C、克隆16D、克隆16E、克隆18、克隆21、克隆22、克隆25、克隆25A、克隆25B、克隆25C、克隆25D、克隆25E、克隆27或克隆54。抗TIGIT抗体克隆2、克隆2C、克隆3、克隆5、克隆13、克隆13A、克隆13B、克隆13C、克隆13D、克隆14、克隆16、克隆16C、克隆16D、克隆16E、克隆18、克隆21、克隆22、克隆25、克隆25A、克隆25B、克隆25C、克隆25D、克隆25E、克隆27及克隆54的CDR、轻链可变结构域(VL)及重链可变结构域(VH)的氨基酸序列如后文序列表中所示。

[0094] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含重链可变区(VH),其包含与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:252、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含VH,其包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:252、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257的氨基酸序列。在一些实施方式中,与参照序列(例如SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:252、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257)具有至少90%序列一致性的VH序列相对于参照序列含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或更多个取代(例如保守取代)、插入或缺失,但保留结合人TIGIT的能力且可选性保留阻断CD155和/或CD112与TIGIT结合的能力。

[0095] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含轻链可变区(VL),其包含与SEQ ID NO:10、

SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:190或SEQ ID NO:208具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含VL,其包含SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:190或SEQ ID NO:208的氨基酸序列。在一些实施方式中,与参照序列(例如SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:190或SEQ ID NO:208)具有至少90%序列一致性的VL序列相对于参照序列含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或更多个取代(例如保守取代)、插入或缺失,但保留结合人TIGIT的能力且可选性保留阻断CD155和/或CD112与TIGIT结合的能力。

[0096] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含重链可变区,其包含与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:252、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列;且进一步包含轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:190或SEQ ID NO:208具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:252、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257的氨基酸序列;且进一步包含轻链可变区,其包含SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:190或SEQ ID NO:208的氨基酸序列。

[0097] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含:

(a) 包含与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:245具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VH及包含与SEQ ID NO:10具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VL;

(b) 包含与SEQ ID NO:19具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至

少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VH及包含与SEQ ID NO:28具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VL;

(c) 包含与SEQ ID NO:37具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VH及包含与SEQ ID NO:46具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VL;

(d) 包含与SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248或SEQ ID NO:249中任一者具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VH及包含与SEQ ID NO:64具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VL;

(e) 包含与SEQ ID NO:73具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VH及包含与SEQ ID NO:82具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VL;

(f) 包含与SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252中任一者具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VH及包含与SEQ ID NO:100具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VL;

(g) 包含与SEQ ID NO:109具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VH及包含与SEQ ID NO:118具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VL;

(h) 包含与SEQ ID NO:127具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VH及包含与SEQ ID NO:136具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VL;

(i) 包含与SEQ ID NO:145具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VH及包含与SEQ ID NO:154具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致

性)的氨基酸序列的VL;

(j) 包含与SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257中任一者具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VH及包含与SEQ ID NO:172具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VL;

(k) 包含与SEQ ID NO:181具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VH及包含与SEQ ID NO:190具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VL;或

(l) 包含与SEQ ID NO:199具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VH及包含与SEQ ID NO:208具有至少90%序列一致性(例如至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的VL。

[0098] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含:

(a) 包含SEQ ID NO:1所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的VL;

(b) 包含SEQ ID NO:19所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:28所示氨基酸序列的VL;

(c) 包含SEQ ID NO:37所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:46所示氨基酸序列的VL;

(d) 包含SEQ ID NO:55所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的VL;

(e) 包含SEQ ID NO:73所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:82所示氨基酸序列的VL;

(f) 包含SEQ ID NO:91所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:100所示氨基酸序列的VL;

(g) 包含SEQ ID NO:109所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:118所示氨基酸序列的VL;

(h) 包含SEQ ID NO:127所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:136所示氨基酸序列的VL;

(i) 包含SEQ ID NO:145所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:154所示氨基酸序列的VL;

(j) 包含SEQ ID NO:163所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:172所示氨基酸序列的VL;

(k) 包含SEQ ID NO:181所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:190所示氨基酸序

列的VL;

(l) 包含SEQ ID NO:199所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:208所示氨基酸序列的VL;或

(m) 包含SEQ ID NO:245所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的VL;或

(n) 包含SEQ ID NO:246所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的VL;或

(o) 包含SEQ ID NO:247所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的VL;或

(p) 包含SEQ ID NO:248所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的VL;

(q) 包含SEQ ID NO:249所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的VL;或

(r) 包含SEQ ID NO:250所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:100所示氨基酸序列的VL;或

(s) 包含SEQ ID NO:251所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:100所示氨基酸序列的VL;或

(t) 包含SEQ ID NO:252所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:100所示氨基酸序列的VL;或

(u) 包含SEQ ID NO:253所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:172所示氨基酸序列的VL;或

(v) 包含SEQ ID NO:254所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:172所示氨基酸序列的VL;或

(w) 包含SEQ ID NO:255所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:172所示氨基酸序列的VL;或

(x) 包含SEQ ID NO:256所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:172所示氨基酸序列的VL;或

(y) 包含SEQ ID NO:257所示氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:172所示氨基酸序列的VL。

[0099] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含重链CDR1、CDR2及CDR3及轻链CDR1、CDR2及CDR3,其中CDR中之一或多者(例如一者、两者、三者、四者、五者或六者)是选自表A、B、C、D及E中所示之重链CDR1、CDR2及CDR3及轻链CDR1、CDR2及CDR3。

表A:克隆13替代CDR定义

CDR定义	重 链 (HC) CDR1	SEQ ID NO	HC CDR2	SEQ ID NO	HC CDR3	SEQ ID NO
复合体	GTFSYYAIS	58	SIIPFGTANYAQKFQG	60	ARGPSEVGAILGYVWFDP	62
IMGT	GGTFSSYA	283	IIPIFGTA	285	ARGPSEVGAILGYVWFDP	62
Kabat	SYAIS	284	SIIPFGTANYAQKFQG	60	GPSEVGAILGYVWFDP	286
CDR定义	轻链(LC) CDR1	SEQ ID NO	LC CDR2	SEQ ID NO	LC CDR3	SEQ ID NO
复合体	RSSQSLHLSNGYNYLD	67	LGSNRAS	69	MQARRIPIT	71
IMGT	QSLHLSNGYNY	287	LGS	288	MQARRIPIT	71
Kabat	RSSQSLHLSNGYNYLD	67	LGSNRAS	69	MQARRIPIT	71

表B:克隆13A替代CDR定义

CDR定义	重 链 (HC) CDR1	SEQ ID NO	HC CDR2	SEQ ID NO	HC CDR3	SEQ ID NO
复合体	GTFLSSAIS	224	SLIPYFGTANYAQKFQG	225	ARGPSEVGAILGYVWFDP	62
IMGT	GGTFLSSA	293	LIPYFGTA	297	ARGPSEVGAILGYVWFDP	62
Kabat	SSAIS	294	SLIPYFGTANYAQKFQG	225	GPSEVGAILGYVWFDP	286
CDR定义	轻链(LC) CDR1	SEQ ID NO	LC CDR2	SEQ ID NO	LC CDR3	SEQ ID NO
复合体	RSSQSLHLSNGYNYLD	67	LGSNRAS	69	MQARRIPIT	71
IMGT	QSLHLSNGYNY	287	LGS	288	MQARRIPIT	71
Kabat	RSSQSLHLSNGYNYLD	67	LGSNRAS	69	MQARRIPIT	71

表C:克隆13B替代CDR定义

CDR定义	重 链 (HC) CDR1	SEQ ID NO	HC CDR2	SEQ ID NO	HC CDR3	SEQ ID NO
复合体	GTFSAWAIS	226	SIIPYFGKANYAQKFQG	227	ARGPSEVSGILGYVWFDP	228
IMGT	GGTFSAWA	289	IIPYFGKA	291	ARGPSEVSGILGYVWFDP	228
Kabat	AWAIS	290	SIIPYFGKANYAQKFQG	227	GPSEVSGILGYVWFDP	292
CDR定义	轻链(LC) CDR1	SEQ ID NO	LC CDR2	SEQ ID NO	LC CDR3	SEQ ID NO
复合体	RSSQSLHLSNGYNYLD	67	LGSNRAS	69	MQARRIPIT	71
IMGT	QSLHLSNGYNY	287	LGS	288	MQARRIPIT	71
Kabat	RSSQSLHLSNGYNYLD	67	LGSNRAS	69	MQARRIPIT	71

表D:克隆13C替代CDR定义

CDR定义	重 链 (HC) CDR1	SEQ ID NO	HC CDR2	SEQ ID NO	HC CDR3	SEQ ID NO
复合体	GTFLSSAIS	224	SIIPLFGKANYAQKFQG	229	ARGPSEVKGILGYVWFDP	230
IMGT	GGTFLSSA	293	IIPLFGKA	295	ARGPSEVKGILGYVWFDP	230
Kabat	SSAIS	294	SIIPLFGKANYAQKFQG	229	GPSEVKGILGYVWFDP	296
CDR定义	轻链(LC) CDR1	SEQ ID NO	LC CDR2	SEQ ID NO	LC CDR3	SEQ ID NO
复合体	RSSQSLHLSNGYNYLD	67	LGSNRAS	69	MQARRIPIT	71
IMGT	QSLHLSNGYNY	287	LGS	288	MQARRIPIT	71
Kabat	RSSQSLHLSNGYNYLD	67	LGSNRAS	69	MQARRIPIT	71

表E:克隆13D替代CDR定义

CDR定义	重 链 (HC) CDR1	SEQ ID NO	HC CDR2	SEQ ID NO	HC CDR3	SEQ ID NO
复合体	GTFLSSAIS	224	SIIPYFGKANYAQKFQG	227	ARGPSEVKGILGYVWFDP	230
IMGT	GGTFLSSA	293	IIPYFGKA	290	ARGPSEVKGILGYVWFDP	230
Kabat	SSAIS	294	SIIPYFGKANYAQKFQG	227	GPSEVKGILGYVWFDP	296
CDR定义	轻链(LC) CDR1	SEQ ID NO	LC CDR2	SEQ ID NO	LC CDR3	SEQ ID NO
复合体	RSSQSLHLSNGYNYLD	67	LGSNRAS	69	MQARRIPIT	71
IMGT	QSLHLSNGYNY	287	LGS	288	MQARRIPIT	71
Kabat	RSSQSLHLSNGYNYLD	67	LGSNRAS	69	MQARRIPIT	71

[0100] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含以下之一或多者(例如一者、两者、三者、四者、五者或六者):

重链CDR1序列,其包含选自SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:293、SEQ ID NO:294、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:289及SEQ ID NO:290的氨基酸序列;

重链CDR2序列,其包含选自SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:297、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:291、SEQ ID NO:229及SEQ ID NO:295的氨基酸序列;

重链CDR3序列,其包含选自SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:292、SEQ ID NO:230及SEQ ID NO:296的氨基酸序列;

轻链CDR1序列,其包含选自SEQ ID NO:67及SEQ ID NO:287的氨基酸序列;

轻链CDR2序列,其包含选自SEQ ID NO:69及SEQ ID NO:288的氨基酸序列;和/或

轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

[0101] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含重链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:293、SEQ ID NO:294、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:289或SEQ ID NO:290中任一者的氨基酸序列;重链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:297、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:291、SEQ ID NO:229或SEQ ID NO:295中任一者的氨基酸序列;重链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:292、SEQ ID NO:230或SEQ ID NO:296中任一者的氨基酸序列;轻链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:287中任一者的氨基酸序列;轻链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:288中任一者的氨基酸序列;及轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

[0102] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含重链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:293、SEQ ID NO:294、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:289或SEQ ID NO:290中任一者的氨基酸序列;重链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:297、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:291、SEQ ID NO:229或SEQ ID NO:295中任一者的氨基酸序列;及重链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:292、SEQ ID NO:230或SEQ ID NO:296中任一者的氨基酸序列。

[0103] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含轻链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:287中任一者的氨基酸序列;轻链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:288中任一者的氨基酸序列;及轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

[0104] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含:(i)重链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:283或SEQ ID NO:284的氨基酸序列;(ii)重链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:60或SEQ ID NO:285的氨基酸序列;(iii)重链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:62或SEQ ID NO:286的氨基酸序列;(iv)轻链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:287的氨基酸序列;(v)轻链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:288的氨基酸序列;及(vi)轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

[0105] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含:(i)重链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:293或SEQ ID NO:294的氨基酸序列;(ii)重链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:225或SEQ ID NO:297的氨基酸序列;(iii)重链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:62或SEQ ID NO:286的氨基酸序列;(iv)轻链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:287的氨基酸序列;(v)轻链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:288的氨基酸序列;及(vi)轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

[0106] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含:(i)重链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:289或SEQ ID NO:290的氨基酸序列;(ii)重链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:227或SEQ ID NO:291的氨基酸序列;(iii)重链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:228或SEQ ID NO:292的氨基酸序列;(iv)轻链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:287的氨基酸序列;(v)轻链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:288的氨基酸序列;及(vi)轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

[0107] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含:(i)重链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:293或SEQ ID NO:294的氨基酸序列;(ii)重链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:229或SEQ ID NO:295的氨基酸序列;(iii)重链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:230或SEQ ID NO:296的氨基酸序列;(iv)轻链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:287的氨基酸序列;(v)轻链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:288的氨基酸序列;及(vi)轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

[0108] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含:(i)重链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:293或SEQ ID NO:294的氨基酸序列;(ii)重链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:227或SEQ ID NO:290的氨基酸序列;(iii)重链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:230或SEQ ID NO:296的氨基酸序列;(iv)轻链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:287的氨基酸序列;(v)轻链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:288的氨基酸序列;及(vi)轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

[0109] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含以下之一或多者(例如一者、两者、三者、四者、五者或六者):

重链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:221、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:233、SEQ ID NO:239、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:283、SEQ ID

NO:284、SEQ ID NO:293、SEQ ID NO:294、SEQ ID NO:289或SEQ ID NO:290中任一者的氨基酸序列；

重链CDR2序列，其包含SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:186、SEQ ID NO:204、SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:297、SEQ ID NO:291或SEQ ID NO:295中任一者的氨基酸序列；

重链CDR3序列，其包含SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:152、SEQ ID NO:170、SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:206、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:292或SEQ ID NO:296中任一者的氨基酸序列；

轻链CDR1序列，其包含SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:211或SEQ ID NO:287中任一者的氨基酸序列；

轻链CDR2序列，其包含SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:159、SEQ ID NO:177、SEQ ID NO:195、SEQ ID NO:213或SEQ ID NO:288中任一者的氨基酸序列；和/或

轻链CDR3序列，其包含SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:161、SEQ ID NO:179、SEQ ID NO:197或SEQ ID NO:215中任一者的氨基酸序列。

[0110] 在一些实施方式中，抗TIGIT抗体包含重链CDR1序列，其包含SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:221、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:233、SEQ ID NO:239、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284、SEQ ID NO:293、SEQ ID NO:294、SEQ ID NO:289或SEQ ID NO:290中任一者的氨基酸序列；重链CDR2序列，其包含SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:186、SEQ ID NO:204、SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:297、SEQ ID NO:291或SEQ ID NO:295中任一者的氨基酸序列；及重链CDR3序列，其包含SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:152、SEQ ID NO:170、SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:206、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:292或SEQ ID NO:296中任一者的氨基酸序列。

[0111] 在一些实施方式中，抗TIGIT抗体包含轻链CDR1序列，其包含SEQ ID NO:13、SEQ

ID NO:31、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:211或SEQ ID NO:287中任一者的氨基酸序列；轻链CDR2序列，其包含SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:159、SEQ ID NO:177、SEQ ID NO:195、SEQ ID NO:213或SEQ ID NO:288中任一者的氨基酸序列；及轻链CDR3序列，其包含SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:161、SEQ ID NO:179、SEQ ID NO:197或SEQ ID NO:215中任一者的氨基酸序列。

[0112] 在一些实施方式中，抗TIGIT抗体包含：

(i) 重链CDR1序列，其包含SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:221、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:233、SEQ ID NO:239、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284、SEQ ID NO:293、SEQ ID NO:294、SEQ ID NO:289或SEQ ID NO:290中任一者的氨基酸序列；及

(ii) 重链CDR2序列，其包含SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:186、SEQ ID NO:204、SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:285、SEQ ID NO:297、SEQ ID NO:291或SEQ ID NO:295中任一者的氨基酸序列；及

(iii) 重链CDR3序列，其包含SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:152、SEQ ID NO:170、SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:206、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:292或SEQ ID NO:296中任一者的氨基酸序列；及

(iv) 轻链CDR1序列，其包含SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:211或SEQ ID NO:287中任一者的氨基酸序列；及

(v) 轻链CDR2序列，其包含SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:159、SEQ ID NO:177、SEQ ID NO:195、SEQ ID NO:213或SEQ ID NO:288中任一者的氨基酸序列；及

(vi) 轻链CDR3序列，其包含SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:161、SEQ ID NO:179、SEQ ID NO:197或SEQ ID NO:215中任一者的氨基酸序列。

[0113] 在一些实施方式中，抗TIGIT抗体包含：(i) 重链CDR1序列，其包含SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:221的氨基酸序列；(ii) 重链CDR2序列，其包含SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:222的氨基酸序列；(iii) 重链CDR3序列，其包含SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:223的氨基酸序列；

(iv) 轻链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列;(v) 轻链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;及(vi) 轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

[0114] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含:(i) 重链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:224或SEQ ID NO:226中任一者的氨基酸序列;(ii) 重链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:227或SEQ ID NO:229中任一者的氨基酸序列;(iii) 重链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:228或SEQ ID NO:230中任一者的氨基酸序列;(iv) 轻链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列;(v) 轻链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列;及(vi) 轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

[0115] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含:(i) 重链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:231或SEQ ID NO:233中任一者的氨基酸序列;(ii) 重链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:232或SEQ ID NO:234中任一者的氨基酸序列;(iii) 重链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236或SEQ ID NO:237中任一者的氨基酸序列;(iv) 轻链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列;(v) 轻链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列;及(vi) 轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列。

[0116] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含:(i) 重链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:239或SEQ ID NO:243中任一者的氨基酸序列;(ii) 重链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:238或SEQ ID NO:240中任一者的氨基酸序列;(iii) 重链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:170、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242或SEQ ID NO:244中任一者的氨基酸序列;(iv) 轻链CDR1序列,其包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列;(v) 轻链CDR2序列,其包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列;及(vi) 轻链CDR3序列,其包含SEQ ID NO:179的氨基酸序列。

[0117] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含重链CDR1-3及轻链CDR1-3,其包含以下氨基酸序列:

- (a) 分别为SEQ ID NO:4、6、8、13、15及17;
- (b) 分别为SEQ ID NO:22、24、26、31、33及35;
- (c) 分别为SEQ ID NO:40、42、44、49、51及53;
- (d) 分别为SEQ ID NO:58、60、62、67、69及71;
- (e) 分别为SEQ ID NO:76、78、80、85、87及89;
- (f) 分别为SEQ ID NO:94、96、98、103、105及107;
- (g) 分别为SEQ ID NO:112、114、116、121、123及125;
- (h) 分别为SEQ ID NO:130、132、134、139、141及143;
- (i) 分别为SEQ ID NO:148、150、152、157、159及161;
- (j) 分别为SEQ ID NO:166、168、170、175、177及179;
- (k) 分别为SEQ ID NO:184、186、188、193、195及197;
- (l) 分别为SEQ ID NO:202、204、206、211、213及215;或
- (m) 分别为SEQ ID NO:221、222、223、13、15及17;或
- (n) 分别为SEQ ID NO:224、225、62、67、69及71;或
- (o) 分别为SEQ ID NO:226、227、228、67、69及71;或
- (p) 分别为SEQ ID NO:224、229、230、67、69及71;或

- (q) 分别为SEQ ID NO:224、227、230、67、69及71;或
- (r) 分别为SEQ ID NO:231、232、235、103、105及107;或
- (s) 分别为SEQ ID NO:233、234、236、103、105及107;或
- (t) 分别为SEQ ID NO:233、234、237、103、105及107;或
- (u) 分别为SEQ ID NO:166、238、170、175、177及179;或
- (v) 分别为SEQ ID NO:239、240、170、175、177及179;或
- (w) 分别为SEQ ID NO:239、240、241、175、177及179;或
- (x) 分别为SEQ ID NO:239、240、242、175、177及179;或
- (y) 分别为SEQ ID NO:243、168、244、175、177及179。

[0118] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含一个或多个重链框架区(FR1、FR2、FR3和/或FR4),其包含SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:147、SEQ ID NO:149、SEQ ID NO:151、SEQ ID NO:153、SEQ ID NO:165、SEQ ID NO:167、SEQ ID NO:169、SEQ ID NO:171、SEQ ID NO:183、SEQ ID NO:185、SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:189、SEQ ID NO:201、SEQ ID NO:203、SEQ ID NO:205或SEQ ID NO:207的氨基酸序列。

[0119] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包含一个或多个轻链框架区(FR1、FR2、FR3和/或FR4),其包含SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:138、SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:144、SEQ ID NO:156、SEQ ID NO:158、SEQ ID NO:160、SEQ ID NO:162、SEQ ID NO:174、SEQ ID NO:176、SEQ ID NO:178、SEQ ID NO:180、SEQ ID NO:192、SEQ ID NO:194、SEQ ID NO:196、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:210、SEQ ID NO:212、SEQ ID NO:214或SEQ ID NO:216的氨基酸序列。

[0120] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体包括包含选自SEQ ID NO:260、266、268、270及272的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:274所示氨基酸序列的轻链。

[0121] 在一些实施方式中,本发明的抗TIGIT抗体不与US 2009/0258013、US 2016/0176963、US 2016/0376365或WO 2016/028656中所述的抗体竞争结合。在一些实施方式中,本发明的抗TIGIT抗体不与US 2009/0258013、US 2016/0176963、US 2016/0376365或WO 2016/028656中所述的抗体结合相同的表位。

抗体的制备

[0122] 为了制备结合TIGIT的抗体,可使用业内所知的诸多技术。参见(例如)Kohler及Milstein,Nature 256:495-497 (1975);Kozbor等人,Immunology Today 4:72 (1983);Cole等人,第77-96页,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,Inc.

(1985); Coligan, Current Protocols in Immunology (1991); Harlow及Lane, Antibodies, A Laboratory Manual (1988); 及Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice (第2版, 1986))。

[0123] 编码所关注抗体重链及轻链的基因可自细胞克隆, 例如, 编码单克隆抗体的基因可自表达抗体的杂交瘤克隆且用于产生重组单克隆抗体。编码单克隆抗体重链及轻链基因文库亦可自杂交瘤或浆细胞制得。另外, 可使用噬菌体或酵母展示技术以鉴定特异性结合所选抗原抗体及异聚Fab片段(例如, 参见McCafferty等人, Nature 348:552-554 (1990); Marks等人, Biotechnology 10:779-783 (1992); Lou等人 (2010) PEDS 23:311; 及Chao等人, Nature Protocols, 1:755-768 (2006))。或者, 可使用(例如) 以下文献中所揭示的基于酵母的抗体呈递系统分离和/或鉴定抗体及抗体序列: 例如Xu等人, Protein Eng Des Sel, 2013, 26:663-670; WO 2009/036379; WO 2010/105256; 及WO 2012/009568。重链及轻链基因产物的随机组合产生具有不同抗原特异性的大量抗体(例如, 参见Kuby, Immunology (第3版, 1997))。用于产生单链抗体或重组抗体的技术(美国专利4,946,778、美国专利第4,816,567号) 亦可适于产生抗体。亦可使得抗体具有双特异性, 亦即能够识别两种不同抗原(例如, 参见WO 93/08829, Traunecker等人, EMBO J. 10:3655-3659 (1991); 及Suresh等人, Methods in Enzymology 121:210 (1986))。抗体亦可为异质偶联物, 例如, 两个共价接合的抗体或共价结合至免疫毒素的抗体(例如, 参见美国专利第4,676,980号、WO 91/00360; 及WO 92/200373)。

[0124] 抗体可使用任何数目的表达系统(包括原核及真核表达系统) 来产生。在一些实施方式中, 表达系统是哺乳动物细胞, 例如杂交瘤或CHO细胞。许多所述系统可自商业供应商广泛获得。在抗体包含重链及轻链两者的实施方式中, 重链及轻链可使用单一载体、例如在二顺反子表达单位中、或在不同启动子控制下表达。在其他实施例中, 重链及轻链区可使用单独载体表达。如本文所述的重链及轻链可可选性在N-末端包含甲硫氨酸。

[0125] 在一些实施方式中, 生成抗体片段(例如Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv或双价抗体)。已研发各种技术用于产生抗体片段。传统上, 所述片段由完整抗体经蛋白水解降解得到(例如, 参见Morimoto等人, J. Biochem. Biophys. Meth., 24:107-117 (1992); 及Brennan等人, Science, 229:81 (1985))。然而, 所述片段现可使用重组宿主细胞直接产生。举例而言, 抗体片段可分离自抗体噬菌体文库。或者, Fab'-SH片段可直接自大肠杆菌细胞回收且化学偶合以形成F(ab')₂片段(例如, 参见Carter等人, BioTechnology, 10:163-167 (1992))。根据另一方法, F(ab')₂片段可直接分离自重组宿主细胞培养物。用于产生抗体片段的其他技术为本领域普通技术人员所明了。在其他实施例中, 所选抗体是单链Fv片段(scFv)。参见(例如) PCT公开第WO 93/16185号; 及美国专利第5,571,894号及第5,587,458号。抗体片段亦可为线性抗体, 如例如美国专利第5,641,870号中所述。

[0126] 在一些实施方式中, 抗体或抗体片段可偶联至另一分子(例如聚乙二醇(聚乙二醇化)或血清白蛋白), 以延长体内半衰期。抗体片段聚乙二醇化的实例提供于以下文献中: Knight等人 Platelets 15:409, 2004 (对于阿昔单抗); Pedley等人, Br. J. Cancer 70:1126, 1994 (对于抗CEA抗体); Chapman等人, Nature Biotech. 17:780, 1999; 及Humphreys, 等人, Protein Eng. Des. 20:227, 2007)。

[0127] 在一些实施方式中, 提供包含如本文所述抗TIGIT抗体的多特异性抗体, 例如双特

异性抗体。多特异性抗体是对至少两个不同位点具有结合特异性的抗体。在一些实施方式中,多特异性抗体对TIGIT(例如人TIGIT)具有结合特异性且对至少一种其他抗原具有结合特异性。制备多特异性抗体的方法包括(但不限于)两对重链及轻链在宿主细胞中重组共表达(例如,参见Zuo等人,Protein Eng Des Sel,2000,13:361-367);“杆臼结构”工程改造(例如,参见Ridgway等人,Protein Eng Des Sel,1996,9:617-721);“双价抗体”技术(例如,参见Hollinger等人,PNAS (USA),1993,90:6444-6448);及分子内三聚化(例如,参见Alvarez-Cienfuegos等人,Scientific Reports,2016,doi:/10.1038/srep28643);亦参见Spiess等人,Molecular Immunology,2015,67 (2),部分A:95-106。

[0128] 在一些实施方式中,提供包含本文所述抗TIGIT抗体的抗体-药物偶联物。在抗体-药物偶联物中,对抗原(例如TIGIT)具有结合特异性的单克隆抗体共价连接细胞毒性药物。用于制备抗体-药物偶联物的方法可见(例如)Chudasama等人,Nature Chemistry,2016,8:114-119;WO 2013/068874;及US 8,535,678中。

恒定区的选择

[0129] 本文所述抗TIGIT抗体的重链及轻链可变区可连接至人恒定区的至少一部分。恒定区的选择部分取决于是否期望抗体依赖性细胞介导的细胞毒性、抗体依赖性细胞吞噬作用和/或补体依赖性细胞毒性。举例而言,人同型IgG1及IgG3具有强补体依赖性细胞毒性、人同型IgG2具有弱补体依赖性细胞毒性且人IgG4无补体依赖性细胞毒性。人IgG1及IgG3亦比人IgG2及IgG4诱导较强的细胞介导的效应功能。轻链恒定区可为 λ 或 κ 。抗体可表达为含有两条轻链及两条重链的四聚体;表达为单独重链、轻链;表达为Fab、Fab'、F(ab')₂及Fv;或表达为单链抗体,其中重链及轻链可变结构域经由间隔体连接。

[0130] 人恒定区在不同个体之间显示同种异型变异和同族同种异型变异,亦即不同个体之间的恒定区可在一个或多个多态性位置有差异。同族同种异型与同种异型的区别在于识别同族同种异型的血清结合一个或多个其他同型的非多态区。

[0131] 轻链和/或重链氨基或羧基末端的一个或若干个氨基酸、例如重链C-末端的赖氨酸可在一定比例或全部分子中丢失或衍生化。可在恒定区中进行取代以降低或增加效应功能,例如补体介导的细胞毒性或ADCC(例如,参见Winter等人,美国专利第5,624,821号;Tso等人,美国专利第5,834,597号;及Lazar等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 103:4005,2006),或延长人体类中的半衰期(例如,参见Hinton等人,J.Biol.Chem.279:6213,2004)。

[0132] 示例性取代包括在人IgG1同型中在氨基酸位置234、235、237、239、267、298、299、326、330或332处引入天然氨基酸至半胱氨酸残基的氨基酸取代、优选S239C突变(根据EU索引编号(Kabat,Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health,Bethesda,MD,1987及1991);参见US20100158909,其以引用方式并入本文中)。额外半胱氨酸残基的存在可容许链间二硫键形成。该链间二硫键形成可引起立体阻碍,藉此降低Fc区-Fc γ R结合相互作用的亲和性。引入IgG恒定区的Fc区中或邻近IgG恒定区的Fc区的半胱氨酸残基亦可用作偶联至治疗剂的位点(即,使用硫醇特异性试剂(例如药物的马来酰亚胺衍生物)偶联细胞毒性药物)。治疗剂的存在引起立体阻碍,藉此进一步降低Fc区-Fc γ R结合相互作用的亲和性。位置234、235、236和/或237中任一者的其他取代降低对Fc γ 受体、具体而言Fc γ RI受体的亲和性(例如,参见US 6,624,821、US 5,624,821)。突变的优选组合是S239D、A330L及I332E,其增加Fc结构域对Fc γ RIIIA的亲和性且因

此增加ADCC。

[0133] 抗体的体内半衰期亦可影响其效应功能。可增加或减少抗体的半衰期以修饰其治疗活性。FcRn是结构上类似于与 $\beta 2$ -微球蛋白非共价缔合的MHC I类抗原的受体。FcRn调控IgG的分解代谢及其跨组织的转胞吞作用(Ghetie及Ward,2000,Annu.Rev.Immunol.18:739-766;Ghetie及Ward,2002,Immunol.Res.25:97-113)。IgG-FcRn相互作用发生在pH 6.0(细胞内囊泡之pH)下,而不发生在pH 7.4(血液之pH)下;此相互作用使得IgG能够循环回循环(Ghetie及Ward,2000,Ann.Rev.Immunol.18:739-766;Ghetie及Ward,2002,Immunol.Res.25:97-113)。已定位人IgG1上参与FcRn结合的区(Shields等人,2001,J.Biol.Chem.276:6591-604)。人IgG1的Pro238、Thr256、Thr307、Gln311、Asp312、Glu380、Glu382或Asn434位处的丙氨酸取代增强FcRn结合(Shields等人,2001,J.Biol.Chem.276:6591-604)。带有所述取代的IgG1分子具有更长血清半衰期。因此,所述经修饰的IgG1分子与未经修饰的IgG1相比能够更长时间地发挥其效应功能,并由此发挥其治疗效能。用于增加与FcRn结合的其他示例性取代包括250位处的Gln和/或428位处的Leu。EU编号用于恒定区中的所有位置。

[0134] 共价衔接至保守Asn297的寡糖参与IgG的Fc区结合Fc γ R的能力(Lund等人,1996,J.Immunol.157:4963-69;Wright及Morrison,1997,Trends Biotechnol.15:26-31)。IgG上此糖型的工程改造可显著改良IgG介导的ADCC。向此糖型中添加平分型N-乙酰基葡萄糖胺修饰(Umana等人,1999,Nat.Biotechnol.17:176-180;Davies等人,2001,Biotech.Bioeng.74:288-94)或自此糖型去除岩藻糖(Shields等人,2002,J.Biol.Chem.277:26733-40;Shinkawa等人,2003,J.Biol.Chem.278:6591-604;Niwa等人,2004,Cancer Res.64:2127-33)是IgG Fc工程改造的两个实例,其改良IgG Fc与Fc γ R之间的结合,藉此增强Ig介导的ADCC活性。

[0135] 人IgG1 Fc区的溶剂暴露氨基酸的系统性取代生成具有Fc γ R结合亲和性改变的IgG变体(Shields等人,2001,J.Biol.Chem.276:6591-604)。在与亲代IgG1比较时,涉及Thr256/Ser298、Ser298/Glu333、Ser298/Lys334或Ser298/Glu333/Lys334处至Ala取代的所述变体亚组展现对Fc γ R的结合亲和性及ADCC活性两者皆增加(Shields等人,2001,J.Biol.Chem.276:6591-604;Okazaki等人,2004,J.Mol.Biol.336:1239-49)。

[0136] 抗体补体结合活性(C1q结合及CDC活性两者)可由Lys326及Glu333的取代得以改良(Idusogie等人,2001,J.Immunol.166:2571-2575)。人IgG2主链上的相同取代可将与C1q较弱结合且补体活化活性严重缺乏的抗体同型转化为既可结合C1q亦可介导CDC者(Idusogie等人,2001,J.Immunol.166:2571-75)。亦可应用若干其他方法以改良抗体的补体结合活性。举例而言,IgM的18-氨基酸羧基-末端尾片接枝至IgG的羧基末端大大增强其CDC活性。此甚至利用IgG4可观察到,该IgG4通常无可检测CDC活性(Smith等人,1995,J.Immunol.154:2226-36)。而且,用Cys取代位于IgG1重链羧基末端附近的Ser444诱导IgG1的尾对尾二聚化,且CDC活性相对于单体IgG1增加200倍(Shopes等人,1992,J.Immunol.148:2918-22)。另外,对C1q具有特异性的双特异性双价抗体构筑体亦赋予CDC活性(Kontermann等人,1997,Nat.Biotech.15:629-31)。

[0137] 可藉由将重链氨基酸残基318、320及322中至少一者突变成具有不同侧链的残基(例如Ala)来降低补体活性。用其他烷基取代的非离子残基(例如Gly、Ile、Leu或Val)、或诸

如Phe、Tyr、Trp及Pro等芳香族非极性残基代替三个残基中任一者亦降低或消除C1q结合。Ser、Thr、Cys及Met可在残基320及322、而非318处用于降低或消除C1q结合活性。由极性残基置换318 (Glu) 残基可修饰而非消除C1q结合活性。用Ala置换残基297 (Asn) 可去除溶解活性,但仅稍微降低对C1q的亲合性(弱约三倍)。此改变破坏糖基化位点及补体活化所需碳水化合物化合物的存在。此位点任何其他取代亦破坏糖基化位点。以下突变及其任何组合亦降低C1q结合:D270A、K322A、P329A及P311S(参见WO 06/036291)。

[0138] 提及人恒定区时包括具有任何天然同种异型或占据天然同种异型中多形体位置之残基的任何排列的恒定区。相对于天然人恒定区,亦可存在高达1、2、5或10个突变,例如上文指示降低Fc γ 受体结合或增加与FcRN的结合的那些。

核酸、载体及宿主细胞

[0139] 在一些实施方式中,使用重组方法产生本文所述抗TIGIT抗体。因此,在一些态样中,本发明提供包含编码本文所述抗TIGIT抗体中任一者(例如本文所述CDR中任一者)的核酸序列的经分离核酸;包含所述核酸的载体;及其中引入核酸的宿主细胞,其用于复制编码抗体的核酸和/或表达抗体。在一些实施方式中,宿主细胞是真核细胞,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞;或人细胞。

[0140] 在一些实施方式中,多核苷酸(例如经分离多核苷酸)包含编码本文所述抗体的核苷酸序列。在一些实施方式中,多核苷酸包含编码序列中所揭示的一个或多个氨基酸序列(例如CDR、重链、轻链和/或框架区)的核苷酸序列。在一些实施方式中,多核苷酸包含编码与以下序列中所揭示的序列(例如CDR、重链、轻链或框架区序列)具有至少85%序列一致性(例如至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性)的氨基酸序列的核苷酸序列。

[0141] 在一些实施方式中,多核苷酸(例如经分离多核苷酸)包含编码本文所述的重链可变区的核苷酸序列。在一些实施方式中,多核苷酸包含编码包含与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:252、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区的核苷酸序列。在一些实施方式中,多核苷酸包含与SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:164、SEQ ID NO:182、SEQ ID NO:200、SEQ ID NO:259、SEQ ID NO:265、SEQ ID NO:267、SEQ ID NO:269或SEQ ID NO:271具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性的核苷酸序列。

[0142] 在一些实施方式中,多核苷酸(例如经分离多核苷酸)包含编码本文所述的轻链可变区的核苷酸序列。在一些实施方式中,多核苷酸包含编码包含与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:190或SEQ ID NO:208具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区的核苷酸序列。在一些实施方式中,多核苷酸包含与SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:83、SEQ ID

NO:101、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:173、SEQ ID NO:191、SEQ ID NO:209或SEQ ID NO:273具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性的核苷酸序列。

[0143] 在一些实施方式中,多核苷酸包含编码本文所述的重链可变区及轻链可变区的核苷酸序列。在一些实施方式中,多核苷酸包含核苷酸序列,其编码包含与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:252、SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254、SEQ ID NO:255、SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:257具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的重链可变区,且编码包含与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:190或SEQ ID NO:208具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方式中,多核苷酸包含与SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:164、SEQ ID NO:182、SEQ ID NO:200、SEQ ID NO:259、SEQ ID NO:265、SEQ ID NO:267、SEQ ID NO:269或SEQ ID NO:271具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性的核苷酸序列,且进一步包含与SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:173、SEQ ID NO:191、SEQ ID NO:209或SEQ ID NO:273具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性的核苷酸序列。

[0144] 在另一方面,提供制备本文所述抗TIGIT抗体的方法。在一些实施方式中,该方法包括在适于抗体表达的条件下培养本文所述的宿主细胞(例如表达本文所述多核苷酸或载体的宿主细胞)。在一些实施方式中,随后自宿主细胞(或宿主细胞培养基)回收抗体。

[0145] 含有编码本发明抗体或其片段的多核苷酸的适宜载体包括克隆载体及表达载体。尽管所选克隆载体可根据预期使用的宿主细胞而变化,但有用的克隆载体通常具有自我复制能力,可具有特定限制性核酸内切酶的单一靶标,和/或可携带可用于选择含有载体的克隆的标记物的基因。实例包括质粒及细菌病毒,例如pUC18、pUC19、Bluescript(例如pBS SK+)及其衍生物、mp18、mp19、pBR322、pMB9、ColE1、pCR1、RP4、噬菌体DNA及穿梭载体(例如pSA3及pAT28)。克隆载体可自商业供应商(例如BioRad、Stratagene及Invitrogen)获得。

[0146] 表达载体通常是含有本发明核酸的可复制多核苷酸构筑体。表达载体可在宿主细胞中作为游离基因体或作为染色体DNA的整合部分而复制。适宜表达载体包括(但不限于)质粒、病毒载体(包括腺病毒、腺相关病毒、反转录病毒)及任何其他载体。

重组抗体的表达

[0147] 抗体通常是重组表达产生。重组多核苷酸构筑体通常包括可操作性连接至抗体链编码序列的表达控制序列,包括天然缔合或异源启动子区。较佳地,表达控制序列是载体中能够转化或转染真核宿主细胞的真核启动子系统。一旦将载体纳入适当宿主中,宿主即维持于适于核苷酸序列高量表达、及交叉反应抗体收集及纯化的条件下。

[0148] 哺乳动物细胞是用于表达编码免疫球蛋白或其片段的核苷酸区段的较佳宿主。参见Winnacker, *From Genes to Clones*, (VCH出版商, NY, 1987)。业内已研发多种能够分泌完整异源蛋白质的适宜宿主细胞系, 且包括CHO细胞系(例如DG44)、各种COS细胞系、HeLa细胞、HEK293细胞、L细胞及非抗体产生骨髓瘤(包括Sp2/0及NS0)。较佳地, 细胞是非人细胞。所述细胞的表达载体可包括表达控制序列, 例如复制起点、启动子、增强子(Queen等人, *Immunol. Rev.* 89:49 (1986)); 及必需处理资讯位点, 例如核糖体结合位点、RNA剪接位点、多聚腺苷酸化位点及转录终止子序列。较佳表达控制序列衍生自内源基因、巨细胞病毒、SV40、腺病毒、牛乳头瘤病毒及诸如此类的启动子。参见Co等人, *J. Immunol.* 148:1149 (1992)。

[0149] 一旦表达, 抗体即可根据业内的标准程序(包括HPLC纯化、管柱层析、凝胶电泳及诸如此类)纯化(通常参见Scopes, *Protein Purification* (Springer-Verlag, NY, 1982))。

糖基化变体

[0150] 抗体可在其恒定区中之保守位置糖基化(Jefferis及Lund, (1997) *Chem. Immunol.* 65:111-128; Wright及Morrison, (1997) *TibTECH* 15:26-32)。免疫球蛋白的寡糖侧链影响蛋白质的功能(Boyd等人, (1996) *Mol. Immunol.* 32:1311-1318; Wittwe及Howard, (1990) *Biochem.* 29:4175-4180), 及糖蛋白各部分之间可影响构形且呈现糖蛋白三维表面的分子内相互作用(Heffers及Lund, 上文文献; Wyss及Wagner, (1996) *Current Opin. Biotech.* 7:409-416)。寡糖亦可用于将给定糖蛋白靶向基于特定识别结构的某些分子。举例而言, 已报导, 在无半乳糖基化IgG中, 寡糖部分自CH2间空间“翻转出”, 且末端N-乙酰基葡萄糖胺残基可用于结合甘露糖结合蛋白(Malhotra等人, (1995) *Nature Med.* 1:237-243)。用糖肽酶去除中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中产生的CAMPATH-1H(一种重组人源化鼠类单克隆IgG1抗体, 其识别人淋巴细胞的CDw52抗原)的寡糖可引起补体介导的溶解的完全降低(CMCL)(Boyd等人, (1996) *Mol. Immunol.* 32:1311-1318), 而使用神经氨酸酶选择性去除唾液酸残基不引起DMCL损失。亦已报导抗体的糖基化可影响抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。具体而言, 据报导, 具有四环素调控的 $\beta(1,4)$ -N-乙酰基葡萄糖氨基转移酶III(GnTIII)(一种催化平分型GlcNAc形成的糖基转移酶)表达的CHO细胞具有改良的ADCC活性(Umana等人(1999) *Mature Biotech.* 17:176-180)。

[0151] 抗体的糖基化通常是N-连接的或O-连接的。N-连接指碳水化合物部分与天冬酰胺残基的侧链附接。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸及天冬酰胺-X-苏氨酸(其中X是除脯氨酸外的任何氨基酸)是碳水化合物部分与天冬酰胺侧链酶促附接的识别序列。因此, 多肽中存在所述三肽序列中任一者均可产生潜在糖基化位点。O-连接的糖基化指糖N-乙酰基半乳糖胺、半乳糖或木糖中之一与羟基氨基酸(最常见为丝氨酸或苏氨酸, 但亦可使用5-羟基脯氨酸或5-羟基赖氨酸)附接。

[0152] 抗体的糖基化变体是抗体的糖基化型式改变之变体。改变意指缺失抗体中发现之一或多个碳水化合物部分、向抗体添加一个或多个碳水化合物部分、改变糖基化之组成(糖基化型式)、糖基化程度等。

[0153] 可藉由改变氨基酸序列以使其含有上述三肽序列中之一或多者(对于N连接的糖基化位点)向抗体添加糖基化位点。亦可藉由向初始抗体序列中添加一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基或用一或多个丝氨酸或苏氨酸残基实施取代(对于O-连接的糖基化位点)来

达成该改变。类似地,可藉由抗体的天然糖基化位点内的氨基酸改变去除糖基化位点。

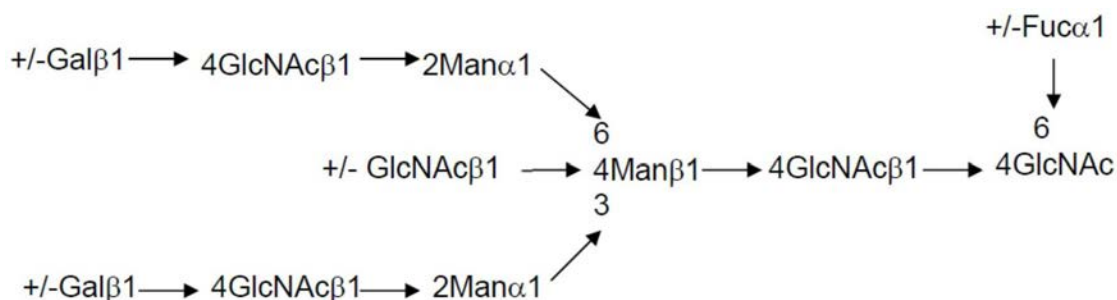
[0154] 通常藉由改变基本核酸序列改变氨基酸序列。所述方法包括(但不限于)自天然来源分离(在天然氨基酸序列变体的情形下)或藉由先前制备的变体或非变体形式抗体的寡核苷酸介导(或定向)的诱变、PCR诱变或盒式诱变来制备。

[0155] 亦可改变抗体的糖基化(包括糖基化型式),而不改变氨基酸序列或基本核苷酸序列。糖基化在很大程度上取决于用于表达抗体的宿主细胞。由于用于表达作为潜在治疗剂的重组糖蛋白(例如抗体)的细胞类型很少为天然细胞,故可预计抗体的糖基化型式的显著变化。参见(例如)Hse等人,(1997) J. Biol. Chem. 272:9062-9070。除宿主细胞的选择外,在抗体重组产生期间影响糖基化的因素包括生长模式、培养基配方、培养密度、氧合、pH、纯化方案及诸如此类。已提出改变特定宿主生物体中所得糖基化型式的各种方法(包括引入参与寡糖产生的某些酶或使其过表达)(美国专利第5047335号;第5510261号;第5278299号)。可使用(例如)内切糖苷酶H(Endo H)以酶促方式去除糖蛋白的糖基化或某些类型的糖基化。另外,可遗传改造重组宿主细胞,例如,使某些类型多糖的处理产生缺陷。所述及类似技术为业内已知。

[0156] 可藉由常用碳水化合物分析技术(包括凝集素层析、NMR、质谱法、HPLC、GPC、单糖组成分析、依序酶消化、及基于电荷使用高pH阴离子交换层析分离寡糖之HPAEC-PAD)容易地分析抗体的糖基化结构。出于分析目的释放寡糖的方法亦已知,且包括(但不限于)酶处理(通常使用肽-N-糖苷酶F/内-β-半乳糖苷酶实施)、使用苛刻碱性环境以主要释放O-连接结构的消除及使用无水肼释放N-连接及O-连接寡糖之化学方法。

[0157] 抗体糖基化修饰的较佳形式是降低核心岩藻糖基化。“核心岩藻糖基化”指在N连接聚糖的还原末端向N-乙酰基葡萄糖胺(“GlcNAc”)添加岩藻糖(“岩藻糖基化”)。

[0158] “复杂N-糖苷连接糖链”通常结合至天冬酰胺297(根据Kabat之编号)。如本文所用,复杂N-糖苷连接的糖链具有二天线复合糖链,其主要具有以下结构:



其中±表示糖分子可存在或不存在,且数字指示糖分子之间的链接位置。在上述结构中,结合天冬酰胺的糖链末端称为还原末端(在右侧),且相对链称为非还原末端。岩藻糖通常藉由(通常)α1,6键结合至还原末端的N-乙酰基葡萄糖胺(“GlcNAc”) (GlcNAc之6位连接至岩藻糖之1位)。“Gal”指半乳糖,且“Man”指甘露糖。

[0159] “复杂N-糖苷连接糖链”包括1) 复杂类型,其中核心结构的非还原末端侧具有0个、一个或更多个半乳糖-N-乙酰基葡萄糖胺(亦称为gal-GlcNAc”)分支,且gal-GlcNAc的非还原末端侧可选性具有唾液酸、平分型N-乙酰基葡萄糖胺或诸如此类;及2) 杂合类型,其中核心结构的非还原末端侧具有高甘露糖N-糖苷连接的糖链及复杂N-糖苷连接的糖链这样两个分支。

[0160] 根据本发明方法,通常仅微量岩藻糖纳入抗TIGIT抗体的复杂N-糖苷连接糖链中。举例而言,在各个实施例中,组合物中小于约60%、小于约50%、小于约40%、小于约30%、小于约20%、小于约15%、小于约10%、小于约5%或小于约3%的抗体被岩藻糖核心岩藻糖基化。在一些实施方式中,组合物中约2%的抗体被岩藻糖核心岩藻糖基化。在各个实施例中,当组合物中小于60%的抗体被岩藻糖核心岩藻糖基化时,组合物的抗体可称为“非岩藻糖基化”或“无岩藻糖基化”。在一些实施方式中,组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的抗体是无岩藻糖基化的。

[0161] 在某些实施例中,仅微量岩藻糖类似物(或岩藻糖类似物的代谢物或产物)纳入复杂N-糖苷连接糖链中。举例而言,在各个实施例中,小于约60%、小于约50%、小于约40%、小于约30%、小于约20%、小于约15%、小于约10%、小于约5%或小于约3%的抗TIGIT抗体被岩藻糖类似物或岩藻糖类似物的代谢物或产物核心岩藻糖基化。在一些实施方式中,约2%的抗TIGIT抗体被岩藻糖类似物或岩藻糖类似物的代谢物或产物核心岩藻糖基化。

[0162] 在一些实施方式中,组合物中小于约60%、小于约50%、小于约40%、小于约30%、小于约20%、小于约15%、小于约10%、小于约5%、或小于约3%的抗体在G0、G1或G2聚糖结构上具有岩藻糖残基。(例如,参见Raju等人,2012,MAbs4:385-391,图3)。在一些实施方式中,组合物中约2%的抗体在G0、G1或G2聚糖结构上具有岩藻糖残基。在各个实施例中,当组合物中小于60%的抗体在G0、G1或G2聚糖结构上具有岩藻糖残基时,组合物的抗体可称为“无岩藻糖基化的”。在一些实施方式中,组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的抗体在G0、G1或G2聚糖结构上无岩藻糖。应注意,G0聚糖包括G0-GN聚糖。G0-GN聚糖是具有一个末端G1cNAc残基的单天线聚糖。G1聚糖包括G1-GN聚糖。G1-GN聚糖是具有一个末端半乳糖残基的单天线聚糖。G0-GN及G1-GN聚糖可为岩藻糖基化的或非岩藻糖基化的。

[0163] 用岩藻糖类似物培育产生抗体的细胞来制备无岩藻糖基化抗体的方法记载于(例如)W02009/135181中。简言之,在岩藻糖类似物或岩藻糖类似物的细胞内代谢物或产物存在下培育经工程改造以表达抗TIGIT抗体的细胞。细胞内代谢物可为(例如)GDP修饰的类似物或完全或部分去酯化类似物。产物可为(例如)完全或部分去酯化类似物。在一些实施方式中,岩藻糖类似物可抑制岩藻糖再利用路径中的酶。举例而言,岩藻糖类似物(或岩藻糖类似物的细胞内代谢物或产物)可抑制岩藻糖激酶或GDP-岩藻糖-焦磷酸化酶的活性。在一些实施方式中,岩藻糖类似物(或岩藻糖类似物的细胞内代谢物或产物)抑制岩藻糖基转移酶(较佳1,6-岩藻糖基转移酶,例如FUT8蛋白)。在一些实施方式中,岩藻糖类似物(或岩藻糖类似物的细胞内代谢物或产物)可抑制重新合成路径中酶对岩藻糖的活性。举例而言,岩藻糖类似物(或岩藻糖类似物的细胞内代谢物或产物)可抑制GDP-甘露糖4,6-去水酶和/或GDP-岩藻糖合成酶的活性。在一些实施方式中,岩藻糖类似物(或岩藻糖类似物的细胞内代谢物或产物)可抑制岩藻糖转运蛋白(例如GDP-岩藻糖转运蛋白)。

[0164] 在一个实施例中,岩藻糖类似物是2-氟岩藻糖。使用生长培养基中的岩藻糖类似物及其他岩藻糖类似物的方法记载于(例如)W0 2009/135181中,该公开文本以引用方式并入本文中。

[0165] 工程改造细胞系以减少核心岩藻糖基化的其他方法包括基因剔除、基因敲入及

RNA干扰(RNAi)。在基因剔除中,使编码FUT8(α 1,6-岩藻糖基转移酶)的基因灭活。FUT8催化岩藻糖基残基自GDP-岩藻糖转移至N-聚糖的Asn连接(N连接)GlcNAc的6位。据报导FUT8是负责将岩藻糖添加至Asn297处N-连接二天线碳水化合物的唯一酶。基因敲入添加编码酶(例如GNTIII或高尔基 α 甘露糖苷酶II)的基因。细胞中所述酶含量的增加将单克隆抗体自岩藻糖基化路径转向(导致核心岩藻糖基化降低),且平分型N-乙酰基葡萄糖胺的量增加。RNAi通常亦靶向FUT8基因表达,从而导致mRNA转录本含量降低或完全敲除基因表达。所述方法中任一者可用于生成能够产生无岩藻糖基化抗体(例如抗TIGIT抗体)的细胞系。

[0166] 许多方法可用于测定抗体上岩藻糖基化的量。方法包括(例如)经由PLRP-S层析的LC-MS、电喷雾离子化四极TOF MS、利用雷射诱导的荧光毛细管电泳(CE-LIF)及利用荧光检测的亲水相互作用层析(HILIC)。

IV. 使用抗TIGIT抗体的治疗方法

[0167] 在一些实施方式中,提供治疗或预防个体癌症的方法。在一些实施方式中,方法包含向个体给予治疗量的抗TIGIT抗体。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体是无岩藻糖基化的。在一些实施方式中,方法包含向个体给予治疗量的包含抗TIGIT抗体的药物组合物,其中组合物中至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的抗体是无岩藻糖基化的。在某些实施例中,个体是人。

[0168] 在一些实施方式中,癌症是CD112和/或CD155表达富集癌症或癌细胞。在一些实施方式中,使用对CD112或CD155具有特异性的抗体对肿瘤样品进行免疫组织化学评价来鉴别CD112-和/或CD155富集癌症。在一些实施方式中,CD112或CD155表达在肿瘤细胞或肿瘤浸润白血球中富集或增加。在一些实施方式中,基于肿瘤样品中CD112和/或CD155 mRNA含量的评价(例如藉由业内已知的方法,例如定量RT-PCR)鉴别癌症。在一些实施方式中,自癌症患者获得的血样中可溶性CD112或CD155的量测可用于鉴别CD112和/或CD155表达富集癌症。在一些实施方式中,方法包含自个体获得样品(例如肿瘤样品或血样)、量测个体样品中CD112和/或CD155的含量及比较个体样品中CD112和/或CD155的含量与对照值(例如健康对照个体的样品或针对健康对照群体测定的CD112和/或CD155表达量)。在一些实施方式中,方法包含确定个体样品中CD112和/或CD155的含量是否高于对照值,且随后向个体给予本文所述抗TIGIT抗体。

[0169] 在一些实施方式中,癌症是表达TIGIT的T细胞或天然杀手(NK)细胞富集癌症或癌细胞。在一些实施方式中,使用对TIGIT具有特异性的抗体对肿瘤样品进行免疫组织化学评价来鉴别TIGIT富集癌症。在一些实施方式中,对T细胞或NK细胞具有特异性的抗体(例如抗CD3、抗CD4、抗CD8、抗CD25或抗CD56)用于测定表达TIGIT的肿瘤浸润细胞的一个或多个亚组。在一些实施方式中,藉由肿瘤样品中TIGIT mRNA含量的评价来鉴别癌症。在一些实施方式中,自癌症患者获得的血样中可溶性TIGIT的量测可用于(可选性与对T细胞或NK细胞具有特异性的抗体组合)鉴别表达TIGIT的T细胞或NK细胞富集癌症。在一些实施方式中,方法包含自个体获得样品(例如肿瘤样品或血样)、量测个体样品中TIGIT的含量、可选性检测T细胞或NK细胞的存在(例如使用对T细胞或NK细胞具有特异性的抗体,例如抗CD3、抗CD4、抗CD8、抗CD25或抗CD56)及比较个体样品中TIGIT的含量与对照值(例如健康对照个体的样品或针对健康对照群体测定的TIGIT表达量)。在一些实施方式中,方法包含确定个体样品中TIGIT的含量是否高于对照值,且随后向个体给予本文所述抗TIGIT抗体。

[0170] 在一些实施方式中,癌症是膀胱癌、乳癌、子宫癌、子宫颈癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、食道癌、胃肠癌、胃癌(gastric cancer)、胰脏癌、结肠直肠癌、结肠癌、肾癌、透明细胞肾癌、头颈癌、肺癌、肺腺癌、胃癌(stomach cancer)、生殖细胞癌、骨癌、肝癌、甲状腺癌、皮肤癌、黑色素瘤、中枢神经系统赘瘤、间皮瘤、淋巴瘤、白血病、慢性淋巴细胞白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤、骨髓瘤或肉瘤。在一些实施方式中,癌症是选自胃癌、睾丸癌、胰脏癌、肺腺癌、膀胱癌、头颈癌、前列腺癌、乳癌、间皮瘤及透明细胞肾癌。在一些实施方式中,癌症是淋巴瘤或白血病,包括(但不限于)急性骨髓性、慢性骨髓性、急性淋巴细胞性或慢性淋巴细胞白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、外套细胞淋巴瘤、小淋巴细胞性淋巴瘤、原发性纵膈大B细胞淋巴瘤、脾边缘区B细胞淋巴瘤或结节外边缘区B细胞淋巴瘤。在一些实施方式中,癌症是选自慢性淋巴细胞白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤及霍奇金氏淋巴瘤。在一些实施方式中,癌症是转移癌。

[0171] 在一些实施方式中,方法进一步包含向个体给予治疗量的其他治疗剂。在一些实施方式中,其他治疗剂是免疫抗肿瘤剂。在一些实施方式中,免疫抗肿瘤剂是拮抗或抑制免疫检查点路径(例如PD-1路径、CTLA-4路径、Lag3路径或TIM-3路径)的组份的试剂(例如抗体、小分子或肽)。在一些实施方式中,免疫抗肿瘤剂是藉由靶向OX-40路径、4-1BB(CD137)路径、CD27路径、ICOS路径或GITR路径的T细胞共活化因子的激动剂(即,刺激T细胞活化的蛋白质的激动剂)。

[0172] 在一些实施方式中,免疫抗肿瘤剂是PD-1路径抑制剂。在一些实施方式中,PD-1路径抑制剂是抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体,例如但不限于派姆单抗、尼沃鲁单抗、德瓦鲁单抗、匹利珠单抗、阿维鲁单抗或阿替珠单抗。业内阐述PD-1路径抑制剂。参见(例如)Dolan等人,Cancer Control,2014,21:231-237;Luke等人,Oncotarget,2014,6:3479-3492;US 2016/0222113;US 2016/0272708;US 016/0272712;及US 2016/0319019。

[0173] 在一些实施方式中,免疫抗肿瘤剂是T细胞共活化因子的激动剂。在一些实施方式中,免疫抗肿瘤剂是CD28、CD28H、CD3、4-1BB(CD137)、ICOS、OX40、GITR、CD27或CD40的激动剂。在一些实施方式中,免疫抗肿瘤剂是免疫刺激性细胞因子。在一些实施方式中,免疫刺激性细胞因子是粒细胞-巨噬细胞群落刺激因子(GM-CSF)、巨噬细胞群落刺激因子(M-CSF)、粒细胞群落刺激因子(G-CSF)、白介素1(IL-1)、白介素2(IL-2)、白介素3(IL-3)、白介素12(IL-12)、白介素15(IL-15)或干扰素 γ (IFN- γ)。在一些实施方式中,免疫抗肿瘤剂是SGN-2FF(Seattle Genetics;参见(例如)WO 2009/135181 A2、WO 2012/019165 A2及WO 2017/096274 A1)。

[0174] 在一些实施方式中,其他治疗剂选自抗CD25抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗Tim3抗体、抗Lag3抗体、抗CTLA4抗体、抗41BB抗体、抗OX40抗体、抗CD3抗体、抗CD40抗体、抗CD47M抗体、抗CSF1R抗体、抗TLR抗体、抗STING抗体、抗RIGI抗体、抗TAM受体激酶抗体、抗NKG2A抗体、抗NKG2D抗体、抗GD2抗体、抗HER2抗体、抗EGFR抗体、抗PDGFR- α 抗体、抗SLAMF7抗体、抗VEGF抗体、抗CTLA-4抗体、抗CD20抗体、抗cCLB8抗体、抗KIR抗体及抗CD52抗体。在一些实施方式中,其他治疗剂选自SEA-CD40(Seattle Genetics;参见(例如)WO 2006/128103 A2及WO 2016/069919 A1)、阿维鲁单抗、德瓦鲁单抗、尼沃鲁单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、阿替珠单抗、Hu14.18K322A(抗GD2抗体,St. Jude)、Hu3F8(抗GD2抗体,MSKCC)、达妥昔单抗、曲妥珠单抗、西妥昔单抗、奥拉妥单抗、奈昔木单抗、埃罗妥珠单抗、雷莫芦单抗、帕

妥珠单抗、伊匹单抗、贝伐珠单抗、利妥昔单抗、奥妥珠单抗、司妥昔单抗、奥法木单抗及阿伦单抗。

[0175] 在一些实施方式中,用如本文所述抗TIGIT抗体的治疗与一种或多种其他抗癌治疗(例如手术或辐射)组合。用如本文所述抗TIGIT抗体的治疗与一种或多种其他抗癌剂(例如化学治疗剂)组合。非限制性示例性化学治疗剂包括烷基化剂(例如环磷酰胺、异环磷酰胺、氮芥苯丁酸、白消安、美法仑、甲基二(氯乙基)胺、乌拉莫司汀、噻替派、亚硝基脲或替莫唑胺)、蒽环(例如多柔比星、阿德里霉素、道诺霉素、泛艾霉素或米托蒽醌)、细胞骨架破坏剂(例如太平洋紫杉醇或多西他赛)、组织蛋白去乙酰酶抑制剂(例如伏立诺他或罗米地辛)、拓扑异构酶抑制剂(例如伊立替康、托泊替康、安吡啶、依托泊苷或替尼泊苷)、激酶抑制剂(例如硼替佐米、厄洛替尼、吉非替尼、伊马替尼、威罗菲尼或维莫德吉)、核苷类似物或前体类似物(例如阿扎胞苷、硫唑嘌呤、卡培他滨、阿糖胞苷、氟尿嘧啶、吉西他滨、羟基脲、巯嘌呤、胺甲喋呤或硫鸟嘌呤)、肽抗生素(例如放线菌素或博来霉素)、基于铂的药剂(例如顺铂、奥沙利铂或卡铂)或植物碱(例如长春新碱、长春碱、长春瑞滨、长春地辛、鬼臼毒素、太平洋紫杉醇或多西他赛)、加拉定、沙利奈迈、雷利奈迈及泊马奈迈。

[0176] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体(及可选性其他治疗剂)以治疗有效量或剂量给药。可使用约0.01mg/kg至约500mg/kg、或约0.1mg/kg至约200mg/kg、或约1mg/kg至约100mg/kg、或约10mg/kg至约50mg/kg的日剂量范围。然而,剂量可根据若干因素变化,所述因素包括所选给药途径、组合物配方、患者反应、病况严重程度、个体重量及开处医师的判断。剂量可随时间增加或减少,视个别患者所需要。在某些情况下,最初给予患者低剂量,随后增加至患者可耐受的有效剂量。有效量的测定一定在本领域普通技术人员的能力范围内。

[0177] 抗TIGIT抗体或包含抗TIGIT抗体(及可选性免疫抗肿瘤剂或其他治疗性治疗)的药物组合物的给药途径可为经口、腹膜内、经皮、皮下、静脉内、肌内、吸入、局部、病灶内、直肠、支气管内、经鼻、经粘膜、经肠、经眼或经耳递送或业内已知的任何其他方法。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体(及可选性免疫抗肿瘤剂)经口、静脉内或腹膜内给药。

[0178] 共同给药的治疗剂(例如抗TIGIT抗体及其他治疗剂)可一起或分开、同时或在不同时间给予。在给药时,治疗剂可独立地每日给药一次、两次、三次、四次或视需要更多次或更少次。在一些实施方式中,给予的治疗剂每日给药一次。在一些实施方式中,给予的治疗剂是在一个或多个相同时间、例如作为混合物给药。在一些实施方式中,治疗剂中之一或多个者以持续释放制剂给药。

[0179] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体及其他治疗剂同时给药。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体及其他治疗剂依序给药。举例而言,在一些实施方式中,首先给予抗TIGIT抗体达(例如)约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100天或更多天,之后给予其他治疗剂。在一些实施方式中,首先给予其他治疗剂达(例如)约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100天或更多天,之后给予抗TIGIT抗体。

[0180] 在一些实施方式中,在延长时间段内、例如持续至少30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350天或更长时间,向个体给予抗TIGIT抗体(及可选性的其他治疗剂)。

V. 组合物及试剂盒

[0181] 在另一方面,提供包含用于治疗个体癌症的抗TIGIT抗体组合物及试剂盒。

药物组合物

[0182] 在一些实施方式中,提供用于向患有癌症的个体给药的包含抗TIGIT抗体的药物组合物。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体如本文所述,例如具有本文所述结合亲和性、活性、交叉反应性、表位识别和/或CDR、VH和/或VL序列中之一或多者的抗TIGIT抗体。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体是无岩藻糖基化的。

[0183] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体及其他治疗剂如本文所述一起或分开调配成药物组合物。在一些实施方式中,其他治疗剂是免疫抗肿瘤剂,例如PD-1路径抑制剂或CTLA-4路径抑制剂。在一些实施方式中,免疫抗肿瘤剂是T细胞共活化因子的激动剂。在一些实施方式中,PD-1路径抑制剂是抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体,例如但不限于派姆单抗、尼沃鲁单抗、德瓦鲁单抗、匹利珠单抗或阿替珠单抗。

[0184] 制备用于本发明制剂的指南参见(例如)Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第21版,2006,上文文献;Martindale:The Complete Drug Reference, Sweetman,2005,London:Pharmaceutical Press;Niazi,Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations,2004,CRC Press;及Gibson,Pharmaceutical Preformulation and Formulation:A Practical Guide from Candidate Drug Selection to Commercial Dosage Form,2001,Interpharm Press,其以引用方式并入本文中。本文所述药物组合物可以本领域普通技术人员已知的方式制造,例如,藉助常用混合、溶解、颗粒化、制糖衣、乳化、囊封、包裹或冻干制程。以下方法及赋形剂仅具有例示性且决不具有限制性。

[0185] 在一些实施方式中,制备抗TIGIT抗体(及可选性其他治疗剂)以持续释放、控制释放、延长释放、定时释放或延迟释放制剂、例如以含有治疗剂的固体疏水聚合物的半渗透基质来递送。各种类型的持续释放材料已确立且为本领域普通技术人员所熟知。当前延长释放制剂包括膜包衣的锭剂、多微粒或团粒系统、使用亲水或亲脂性材料及基质技术、及具有孔形成赋形剂的基于蜡的锭剂(参见(例如)Huang等人Drug Dev.Ind.Pharm.29:79(2003); Pearnchob等人Drug Dev.Ind.Pharm.29:925(2003); Maggi等人Eur.J.Pharm.Biopharm.55:99(2003);Khanvilkar等人,Drug Dev.Ind.Pharm.228:601(2002);及Schmidt,等人,Int.J.Pharm.216:9(2001))。持续释放递送系统根据其设计可在数小时或数天的过程中、例如在4、6、8、10、12、16、20、24小时或更多小时内释放化合物。通常,持续释放制剂可使用天然或合成聚合物(例如聚合乙烷基吡咯啉酮,例如聚乙烯吡咯啉酮(PVP);羧基乙烷基亲水聚合物;疏水和/或亲水性水胶体,例如甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基纤维素及羟丙基甲基纤维素;及羧基聚亚甲基)来制备。

[0186] 对于经口给药,抗TIGIT抗体(及可选性其他治疗剂)可藉由与业内熟知的药学上可接受的载剂组合容易地调配成制剂。所述载剂使得能够将化合物配制为锭剂、丸剂、糖衣锭、胶囊、乳液、亲脂性及亲水性悬浮液、液体、凝胶、糖浆、浆液、悬浮液及诸如此类,用于待治疗患者经口摄取。用于经口使用的医药制剂可藉由混合化合物与固体赋形剂、可选性研磨所得混合物及在添加适宜辅助剂(若期望)后处理颗粒的混合物以获得锭剂或糖衣锭核来获得。适宜赋形剂包括(例如)填充剂,例如糖,包括乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇;纤维素制剂,例如玉米淀粉、小麦淀粉、水稻淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯基吡咯啉酮(PVP)。若期望,可添加崩解剂,例如

交联聚乙烯吡咯啉酮、琼脂或海藻酸或其盐(例如海藻酸钠)。

[0187] 抗TIGIT抗体(及可选性其他治疗剂)可配制用于藉由注射、例如藉由浓注注射或连续输注来胃肠外给药。对于注射,一种或多种化合物可藉由将其溶解、悬浮或乳化于水性或非水性溶剂(例如植物油或其他类似油、合成脂肪酸甘油酯、高级脂肪酸或丙二醇之酯)及(若期望)与常用添加剂(例如增溶剂、等渗剂、悬浮剂、乳化剂、稳定剂及防腐剂)一起调配成制剂。在一些实施例,化合物可配制于水溶液、较佳生理上相容的缓冲液(例如汉克氏溶液(Hanks' s solution)、林格氏溶液(Ringer' s solution)或生理盐水缓冲液)中。用于注射的制剂可以单位剂型存在,例如存于安瓿瓶或存于多剂量容器中,同时添加有防腐剂。所述组合物可呈诸如于油性或水性载剂中的悬浮液、溶液或乳液等形式,且可含有诸如悬乳剂、稳定剂和/或分散剂等调配剂。

[0188] 抗TIGIT抗体(及可选性其他治疗剂)可藉由经粘膜或经皮方式全身给药。对于经粘膜或经皮给药,在制剂中使用适于透过障壁的渗透剂。对于局部给药,将试剂配制成软膏剂、乳霜、油膏、粉剂及凝胶。在一个实施例中,经皮递送剂可为DMSO。经皮递送系统可包括(例如)贴剂。对于经粘膜给药,在制剂中使用适于透过障壁的渗透剂。所述渗透剂通常为业内已知。示例性经皮递送制剂包括以下中所述的那些:美国专利第6,589,549号;第6,544,548号;第6,517,864号;第6,512,010号;第6,465,006号;第6,379,696号;第6,312,717号及第6,310,177号,其各自以引用方式并入本文中。

[0189] 在一些实施方式中,药物组合物包含可接受的载剂和/或赋形剂。药学上可接受的载剂包括生理上相容且较佳不干扰或以其他方式抑制治疗剂活性的任何溶剂、分散介质或包衣。在一些实施方式中,载剂适于静脉内、肌内、经口、腹膜内、经皮、局部或皮下给药。药学上可接受的载剂可含有一种或多种生理上可接受的化合物,其用于(例如)稳定组合物或增加或减少活性剂的吸收。生理上可接受的化合物可包括(例如)碳水化合物,例如葡萄糖、蔗糖或聚葡萄糖;抗氧化剂,例如抗坏血酸或麸胱甘肽;螯合剂;低分子量蛋白;减少活性剂或赋形剂或其他稳定剂和/或缓冲剂的清除或水解的组合物。其他药学上可接受的载剂及其制剂众所周知且通常记载于以下中:例如Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第21版,Philadelphia,PA.Lippincott Williams&Wilkins,2005。各种药学上可接受的赋形剂为业内所熟知且可参见(例如)Handbook of Pharmaceutical Excipients(第5版,Ed.Rowe等人,Pharmaceutical Press,Washington,D.C.)。

[0190] 本发明药物组合物的剂量及期望药物浓度可根据所设想的特定用途而变。适当剂量或给药途径的确定一定在本领域普通技术人员的能力范围内。本文亦阐述适宜剂量。

试剂盒

[0191] 在一些实施方式中,提供用于治疗患有癌症的个体的试剂盒。在一些实施方式中,试剂盒包含:

抗TIGIT抗体;及
其他治疗剂。

[0192] 在一些实施方式中,抗TIGIT抗体如本文所述,例如具有结合亲和性、活性、交叉反应性、表位识别和/或如本文揭示的CDR、VH和/或VL序列中之一或多者的抗TIGIT抗体。在一些实施方式中,抗TIGIT抗体是无岩藻糖基化的。在一些实施方式中,其他治疗剂是免疫抗肿瘤剂,例如PD-1路径抑制剂或CTLA-4路径抑制剂。在一些实施方式中,免疫抗肿瘤剂是T

细胞共活化因子的激动剂。在一些实施方式中,PD-1路径抑制剂是抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体。在一些实施方式中,免疫抗肿瘤剂是派姆单抗、尼沃鲁单抗、德瓦鲁单抗、匹利珠单抗或阿替珠单抗。

[0193] 在一些实施方式中,试剂盒可进一步包含含有实践本发明方法的指导(即方案)的说明材料(例如,使用试剂盒治疗癌症的说明书)。尽管说明材料通常包含书面或印刷材料,但其不限于此。本发明涵盖能够储存所述说明并将其传达给最终使用的任何介质。所述介质包括(但不限于)电子储存介质(例如磁盘、磁带、盒带、晶片)、光学介质(例如CD ROM)及诸如此类。所述介质可包括提供所述说明材料的网际网路站点地址。

VI. 实施例

[0194] 下文论述的实施例仅对本发明具有示例性,不应认为以任何方式限制本发明。所述实施例不欲表示下文实验是所有实验或唯一实验。已努力确保关于所用数字(例如量、温度等)的准确度,但应虑及一些实验误差及偏差。除非另外指明,否则份数是重量份数,分子量是平均分子量,温度以℃表示,且压力为大气压力或接近大气压力。

实施例1:抗TIGIT抗体的生成

[0195] 使用基于酵母的抗体呈递系统生成完全人抗TIGIT单克隆抗体(例如,参见Xu等人,“Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system:a FACS-based,high-throughput selection and analytical tool,”PDS,2013,26:663-670;WO 2009/036379;WO 2010/105256;及WO 2012/009568)。筛选八个初始人合成酵母文库,各自为约 10^9 多样性。对于前两轮选择,实施利用Miltenyi MACS系统的磁珠分选技术,如先前所述(例如,参见Siegel等人,“High efficiency recovery and epitope-specific sorting of an scFv yeast display library,”J Immunol Methods,2004,286:141-153)。简言之,将酵母细胞(约 10^{10} 个细胞/文库)与5mL 10nM生物素化Fc-融合抗原于30℃下在洗涤缓冲液(磷酸盐缓冲盐水(PBS)/0.1%牛血清白蛋白(BSA))中一起培育30分钟。用40mL冰冷洗涤缓冲液洗涤一次后,将细胞团粒再悬浮于20mL洗涤缓冲液中,且向酵母中添加链霉抗生物素蛋白微珠粒(500μL)且于4℃下培育15分钟。接下来,使酵母成团粒,再悬浮于20mL洗涤缓冲液中,且装载至Miltenyi LS管柱上。装载20mL后,将管柱用3mL洗涤缓冲液洗涤3次。随后自磁场移出管柱,且将酵母用5mL生长培养基洗脱且随后生长过夜。使用流式细胞术实施以下轮的选择。使约 2×10^7 个酵母成团粒,用洗涤缓冲液洗涤三次,且于30℃下与10nM Fc-融合抗原及递减浓度的生物素化单体抗原(100至1nM)在平衡条件下培育、与10nM生物素化Fc-融合抗原或100nM不同物种的单体抗原一起培育以获得物种交叉反应性、或与多特异性清除试剂(depletion agent)(PSR)一起培育从而由选择去除非特异性抗体。对于PSR清除,将文库与生物素化PSR试剂的1:10稀释物一起培育,如先前所述(例如,参见Xu等人,上文文献)。随后将酵母用洗涤缓冲液洗涤两次且于4℃下用LC-FITC(1:100稀释)及SA-633(1:500稀释)或EA-PE(extravidin-R-PE,1:50稀释)第二试剂染色15分钟。在用洗涤缓冲液洗涤两次后,将细胞团粒再悬浮于0.3mL洗涤缓冲液中且转移至粗滤器封盖的分选管中。分选是使用FACS ARIA分选仪(BD Biosciences)实施且确定分选门以选择具有期望特征的抗体。重复选择轮直至获得具有所有期望特征的群体。在最后一轮分选后,接种酵母且挑选各个群落进行表征。

[0196] 抗原包括重组二聚体人TIGIT-Fc(Acro Biosystems TIT-H5254)、单体人TIGIT

(Sino Biological 10917-H08H)、二聚体小鼠TIGIT-Fc (R&D Systems, 7267-TG) 及单体小鼠TIGIT (Sino Biologics 50939-M08H)。

[0197] 初始活动:对744个克隆进行测序,从而产生345个独特克隆(独特CDRH3)。在克隆中呈现了18个VH种系。

[0198] 轻链分批多样化活动:经由粉碎及抓取自酵母中提取来自第六轮初始发现选择富集的结合者池(binder pool)的重链(VH)质粒,在大肠杆菌中繁殖,且随后自大肠杆菌中纯化,且然后转化至具有 10^7 多样性的轻链文库中。

[0199] 选择是在与初始发现基本相同的条件下实施。简言之,进行一轮磁珠富集,之后藉由流式细胞术进行三轮选择。在磁珠富集轮中,使用10nM生物素化Fc-融合抗原。利用流式细胞计数器的第一轮由使用100nM生物素化单价抗原的正向选择轮组成。接下来是第二轮,由用于PSR清除的负向选择轮组成。最后一轮(第三轮)由正向选择轮组成,其中以100nM、10nM、1nM滴定单价抗原。对于所有文库,接种来自第三轮的1nM分选物的酵母,挑选并表征各个群落。总共对728个克隆进行测序,从而产生350个独特HC/LC组合(93个独特CDRH3)。

[0200] 在初始及轻链分批混洗活动之间鉴定了总共695个独特克隆。

实施例2:抗TIGIT抗体的表征

[0201] 选择65个克隆进行生产及进一步评估,代表12个VH种系及9个VL种系。

抗体产生及纯化

[0202] 使酵母克隆生长至饱和,然后在振荡下于30℃下诱导48h。诱导后,使酵母细胞成团粒并收获上清液用于纯化。使用蛋白质A管柱纯化IgG,并用pH 2.0的乙酸洗脱。藉由木瓜酶消化生成Fab片段且在KappaSelect (GE Healthcare LifeSciences)上纯化。

抗TIGIT抗体与重组人及小鼠蛋白的结合

[0203] 如先前所述,对Octet RED384实施ForteBio亲和性量测(参见(例如)Estep等人,“High throughput solution-based measurement of antibody-antigen affinity and epitope binning,”Mabs,2013,5:270-278)。简言之,藉由将IgG在线装载至AHQ感测器上来实施ForteBio亲和性量测。将感测器在分析缓冲液中离线平衡30分钟,然后在线监测60秒用于基线确立。将装载有IgG的感测器暴露于100nM抗原(二聚体Fc-融合抗原或单体抗原)中3分钟,然后转移至分析缓冲液中3分钟以进行解离率量测。使用1:1结合模型分析所有结合及解离动力学。

[0204] 在65个IgG克隆中,有43个对TIGIT单体的亲和性<100nM。在65个IgG克隆中,有34个与小鼠TIGIT-Fc交叉反应。后文表1中显示所选克隆的结合亲和性。

表位分仓/配体竞争分析

[0205] 在ForteBio Octet RED384系统上使用标准夹心方式交叉阻断分析实施表位分仓(epitope binning)/配体阻断。将对照抗靶标IgG装载至AHQ感测器上,且用无关人IgG1抗体阻断感测器上未占用的Fc结合位点。然后将感测器暴露于100nM靶抗原,之后暴露于第二抗靶抗体或配体(人CD155-Fc (Sino Biological,10109-H02H))。抗原缔合后由第二抗体或配体的其他结合指示未占用的表位(非竞争者),而无结合指示表位阻断(竞争者或配体阻断)。

[0206] 使用四个分仓抗体(非互斥)进行分仓评价,且鉴别五个重迭特性。65个抗TIGIT抗体中有63个与配体竞争结合hTIGIT-Fc。下表1中显示所选克隆的分仓特性及配体竞争结

果。

表1.所选抗TIGIT克隆的表位结合、配体竞争及亲和性数据

克隆	仓代码	CD155竞争	IgG KD 人 TIGIT-Fc (M)	IgG KD 人 TIGIT单体(M)	IgG KD 小鼠 TIGIT-Fc (M)
2	1、2、3、4	是	9.56E-10	1.01E-08	2.03E-09
3	1、2、3、4	是	2.77E-09	7.36E-08	5.64E-09
5	1、2、3、4	是	9.85E-10	1.41E-08	3.25E-09
13	1、2、3	是	5.43E-10	2.56E-09	1.16E-10
14	1、2、3	是	2.01E-09	5.87E-08	2.43E-09

克隆	仓代码	CD155竞争	IgG KD 人 TIGIT-Fc (M)	IgG KD 人 TIGIT单体(M)	IgG KD 小鼠 TIGIT-Fc (M)
16	1、2、3	是	6.90E-10	2.06E-09	1.05E-08
18	1、2、3	是	2.39E-09	5.08E-08	8.82E-09
21	1、2、3	是	5.85E-10	2.18E-09	N.B.
22	1、2、3	是	7.90E-10	1.38E-08	1.05E-08
25	1、2、3	是	6.20E-10	6.18E-10	1.10E-09
27	1、2、3	是	5.58E-10	2.32E-09	N.B.
54	1、2、3	是	6.89E-10	3.49E-09	N.B.

注释：

N.B. = 该试验分析条件下的非结合者

使用如实施例2中所述的标准夹心方式交叉阻断分析在ForteBio Octet RED384系统上生成仓代码及CD155竞争数据。

如实施例2中所述在ForteBio Octet RED384系统上生成KD亲和性数据。

抗TIGIT抗体与HEK 293细胞中过表达的人、小鼠及食蟹猕猴TIGIT的结合

[0207] HEK 293细胞藉由慢病毒转导经工程改造以稳定表达高水平的人、小鼠或食蟹猕猴TIGIT。于室温下将约100,000个亲代HEK 293 (TIGIT阴性) 细胞或过表达人、小鼠或食蟹猕猴的HEK 293细胞用100nM每一抗TIGIT抗体染色5分钟。然后将细胞用洗涤缓冲液洗涤两次，且与偶联至PE的抗人IgG一起在冰上培育15分钟。然后将细胞用洗涤缓冲液洗涤两次，且在FACS Canto II仪器 (BD Biosciences) 上藉由流式细胞术进行分析。将超过背景的倍数 (FOB) 计算为与靶阳性细胞结合的抗TIGIT克隆的中值荧光强度 (MFI) 除以与靶阴性细胞结合的抗TIGIT克隆之MFI。

[0208] 如图1中所示，所有65个抗体皆显示与293-hTIGIT系特异性结合 (FOB>10，如图中水平黑线所指示)。53个克隆特异性结合293-cyTIGIT系，而31个克隆特异性结合293-mTIGIT系。

多特异性试剂 (PSR) 分析

[0209] 如先前所述实施与多特异性试剂的结合的评价以确定对TIGIT的特异性 (例如，参见Xu等人，上文文献)。简言之，将自原液1:10稀释的生物素化PSR试剂与IgG呈递酵母在冰上一起培育20分钟。洗涤细胞并用EA-PE (extravidin-R-PE) 标记，并在FACS分析仪上读取。

多特异性结合的评分在0至1的量表内,且与具有低、中及高非特异性结合的对照IgG相关,其中评分为0指示无结合,评分为1指示极高的非特异性结合。

[0210] 65个克隆中有62个被评定为PSR评分<0.10的非多特异性结合者。三个克隆被评定为低多特异性结合者(PSR评分为0.10-0.33)。

疏水性相互作用层析分析

[0211] 如先前所述实施疏水相互作用层析(HIC)(Estep等人,上文文献)。简言之,在5 μ g IgG样品中加入移动相A溶液(1.8M硫酸铵及0.1M磷酸钠,pH 6.6),以在分析前达到约1M的最终硫酸铵浓度。使用Sepax Proteomix HIC butyl-NP5管柱,在20分钟内以移动相A及移动相B溶液(0.1M磷酸钠,pH 6.5)之线性梯度、1mL/分钟的流速且在280nm下UV吸光度监测。

[0212] 抗体在疏水性管柱上的滞留增加与纯化期间疏水性增加及表达不佳、聚集或沉淀倾向相关。65个克隆中有5个具有>11.5分钟的高HIC滞留时间,10个克隆具有10.5-11.5分钟的中等HIC滞留时间,且其余克隆具有低HIC滞留时间。

实施例3:抗TIGIT抗体与在原代T细胞上内源表达的人、小鼠及食蟹猕猴TIGIT的结合

[0213] 评估显示对人TIGIT重组蛋白及在HEK 293细胞上表达的人TIGIT具有特异性的65个抗体结合人原代人外周血T细胞上的内源TIGIT的能力。亦评估抗体与外周血T细胞上的食蟹猕猴TIGIT的交叉反应性,且评估65个克隆中35个与活化脾T细胞上的小鼠TIGIT的交叉反应性。

[0214] 自白血球分离产物中负向分离人泛T细胞至99%纯度。用20 μ g/mL的各抗TIGIT抗体将100,000个细胞在4 $^{\circ}$ C染色30分钟。用偶联至PE的多克隆山羊抗人IgG(Jackson ImmunoResearch 109-116-098)检测抗TIGIT抗体。在CytoFLEX流式细胞计数器上分析样品。仅使用抗人IgG-PE染色测定对各抗体的FSC/SSC门控淋巴细胞群体的TIGIT+百分比,以确定阳性的临限值。

[0215] 藉由红血球溶解(eBioscience 00-4300)自全血中分离食蟹猕猴白血球。用20 μ g/mL的各抗TIGIT抗体将200,000个细胞在4 $^{\circ}$ C染色30分钟。用针对偶联至AlexaFluor647的猴免疫球蛋白吸附的多克隆山羊抗人IgG(SouthernBiotech 2049-31)检测抗TIGIT抗体且藉由用FITC偶联的抗CD3克隆SP34(BD Pharmingen 556611)复染鉴别T细胞。在CytoFLEX流式细胞计数器上分析样品。仅使用抗人IgG-PE染色测定对各抗体的CD3+群体的TIGIT+百分比,以确定阳性的临限值。

[0216] 藉由负向选择(Stem Cell Technologies 19851A)自脾中分离BALB/c小鼠T细胞至>99%纯度。用板结合的抗CD3克隆145-2C11(BioLegend 100302)将细胞活化24小时,以上调TIGIT。用20 μ g/mL的各抗TIGIT抗体(测试之65个克隆中的35个)将200,000个活化细胞在4 $^{\circ}$ C染色30分钟。用偶联至PE的多克隆山羊抗人IgG(Jackson Immuno Research 109-116-098)检测抗TIGIT抗体。在FACSCalibur流式细胞计数器上分析样品。测定对各抗体的FSC/SSC门控淋巴细胞群体的中值荧光强度。

[0217] 图2显示65个抗TIGIT抗体克隆及无关同型对照抗体与原代人、食蟹猕猴及小鼠T细胞的结合。克隆13及25两者皆显示与所有三种T细胞强结合。

抗TIGIT抗体与细胞表面表达的TIGIT的可滴定结合

[0218] HEK 293细胞由慢病毒转导工程改造的稳定表达高水平的人、小鼠或食蟹猕猴

TIGIT。用各抗TIGIT抗体的10点3倍滴定(30至0.002 $\mu\text{g}/\text{mL}$)将200,000个293-TIGIT细胞在4 $^{\circ}\text{C}$ 染色30分钟。用偶联至PE的多克隆山羊抗人IgG(Jackson ImmunoResearch 109-116-098)检测抗TIGIT抗体。在CytoFLEX流式细胞计数器上分析样品。测定对各抗体浓度的FSC/SSC门控群体的中值荧光强度。使用Log(X)转变数据的非线性回归在GraphPad Prism 6中产生EC50值。所有抗TIGIT抗体皆不显示结合亲代HEK 293细胞(TIGIT-) (数据未显示)。图3A-C显示结合滴定,且图3D显示8个抗TIGIT抗体克隆(克隆2、克隆5、克隆13、克隆16、克隆17、克隆20、克隆25及克隆54)与HEK 293细胞上表达的人、食蟹猕猴及小鼠TIGIT结合的EC50。

[0219] 藉由负向选择(Stem Cell Technologies 19851A)自脾中分离C57BL/6小鼠T细胞至>99%纯度。用板结合的抗CD3克隆145-2C11(BioLegend 100302)将细胞活化24小时,以上调TIGIT。用每一抗TIGIT抗体的8点3倍滴定物(30至0.014 $\mu\text{g}/\text{mL}$)将200,000个细胞在4 $^{\circ}\text{C}$ 下染色30分钟。用偶联至PE的多克隆山羊抗人IgG(Jackson ImmunoResearch 109-116-098)检测抗TIGIT抗体。在FACSCalibur流式细胞计数器上分析样品。测定每一抗体的FSC/SSC门控淋巴细胞群体的中值荧光强度。使用Log(X)转变数据的非线性回归在GraphPad Prism 6中生成EC50值。图4显示抗TIGIT克隆13及25与活化的小鼠脾T细胞的结合滴定及EC50。

实施例4:抗TIGIT抗体阻断CD155及CD112配体与细胞表面表达的TIGIT的结合

[0220] HEK 293细胞藉由慢病毒转导经工程改造以稳定表达高水平的人或小鼠TIGIT。将hCD155-Fc(Sino Biological 10109-H02H)、hCD112-Fc(Sino Biological 10005-H02H)及mCD155-Fc(Sino Biological 50259-M03H)偶联至AlexaFluor647(ThermoFisher A30009)。将200,000个293-hTIGIT或293-mTIGIT细胞与1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CD155-Fc-AlexaFluor647或5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CD112-Fc-AlexaFluor647及每一抗TIGIT抗体或同型对照抗体的12点2倍滴定物(10至0.005 $\mu\text{g}/\text{mL}$)共培育。在CytoFLEX流式细胞计数器上分析样品。测定每一抗体浓度的FSC/SSC门控群体的中值荧光强度。相对于无抗体对照的MFI计算阻断百分比。在GraphPad Prism 6中实施Log(X)转化数据的非线性回归。

[0221] 如图5A-B中所示,测试6个抗TIGIT抗体克隆(克隆2、克隆5、克隆13、克隆17、克隆25及克隆55),其中对于人CD155/人TIGIT及对于小鼠CD155/小鼠TIGIT两者,6个克隆中的5个(克隆2、克隆5、克隆13、克隆17及克隆25)显著阻断CD155与在HEK 293细胞上表达的TIGIT相互作用。在ForteBio Octet配体竞争分析中,克隆55特异性结合人TIGIT,但不与hCD155-Fc竞争结合hTIGIT-Fc。类似地,克隆55未有效地阻断hCD155与293-hTIGIT细胞系的相互作用。克隆2、克隆5、克隆13、克隆17及克隆25亦能够中断人CD112与人TIGIT的结合。正如对CD155所观察,克隆55在阻断CD112-TIGIT相互作用方面低效得多。参见图6。

实施例5:TIGIT/CD155阻断生物分析中抗TIGIT抗体的体外(in vitro)活性

[0222] 抗TIGIT抗体的活性可使用TIGIT/CD155间接生物分析(例如TIGIT/CD155阻断生物分析试剂盒,Promega Corp.,Madison,WI)来功能化表征,其中当抗体阻断TIGIT/CD155相互作用时,诱导或增强报导基因的表达。TIGIT/CD155阻断生物分析包含两种细胞类型:在细胞表面上表达TIGIT、CD226及TCR复合体且含有荧光素酶报导基因的效应细胞;及在细胞表面上表达CD155及TCR活化因子的人工抗原呈递细胞。在此生物分析中,荧光素酶表达需要TCR接合加上共刺激信号。CD155-TIGIT相互作用具有比CD155-CD226相互作用更高的

亲和性,从而产生净抑制性信号途径,且无荧光素酶表达。CD155-TIGIT相互作用的阻断使CD155-CD226共刺激驱动荧光素酶表达。

[0223] 将表达TIGIT及CD226两者的Jurkat效应细胞与表达TCR活化因子及CD155的CHO-K1人工抗原呈递细胞(aAPC)共培养。Jurkat效应细胞含有由IL-2启动子驱动的荧光素酶报导基因。在缺乏抗TIGIT抗体阻断的情况下,CD155-TIGIT接合会导致T细胞共抑制,而无IL-2启动子活性。在添加抗TIGIT抗体时,中断CD155-TIGIT相互作用,使CD155与CD226缔合以发送共刺激信号并驱动荧光素酶表达。

[0224] 将aAPC接种于96孔板中并使其粘附过夜。次日,将20 μ g/mL的每一抗TIGIT抗体或同型对照抗体及Jurkat效应细胞添加至板中。在37 $^{\circ}$ C下培育6小时后,使细胞溶解并添加荧光素酶受质。在读板仪上量化荧光素酶活性。荧光素酶活性计算为相对于无抗体对照中信号的倍数。

[0225] 如图7A-7B中所示,12个抗TIGIT抗体克隆在此生物分析中展现功能性阻断。

实施例6:TIGIT/PD-1组合生物分析中抗TIGIT抗体的体外活性

[0226] 抗TIGIT抗体与抗PD-1剂(例如抗PD-1抗体)的组合的协同活性可使用TIGIT/PD-1组合生物分析功能地表征,其中当抗体阻断TIGIT/CD155相互作用及PD-1/PD-L1相互作用两者时,增强报导基因的表达。生物分析包含两种细胞类型:在细胞表面上表达TIGIT、CD226、PD-1及TCR复合体且含有荧光素酶报导基因的效应细胞;及在细胞表面上表达CD155、PD-L1及TCR活化因子的人工抗原呈递细胞。在此生物分析中,荧光素酶表达需要TCR接合加上共刺激信号。CD155-TIGIT相互作用具有比CD155-CD226相互作用更高的亲和性,从而产生净抑制性信号途径,且无荧光素酶表达。另外,PD-L1与PD-1的结合抑制荧光素酶表达。CD155-TIGIT相互作用及PD-1/PD-L1相互作用两者皆减轻抑制且允许CD155-CD226共刺激荧光素酶表达。

[0227] 将表达PD-1、TIGIT及CD226的Jurkat效应细胞与表达TCR活化因子、PD-L1及CD155的CHO-K1人工抗原呈递细胞(aAPC)共培养。Jurkat效应细胞含有由IL-2启动子驱动的荧光素酶报导基因。在缺乏抗TIGIT抗体阻断的情况下,PD-L1-PD-1及CD155-TIGIT接合会导致T细胞共抑制,而无IL-2启动子活性。在添加抗PD-1及抗TIGIT抗体时,阻断PD-L1-PD-1相互作用,从而释放一个共抑制信号,并中断CD155-TIGIT相互作用,从而允许CD155与CD226缔合以发送共刺激信号并驱动荧光素酶产生。

[0228] 将aAPC接种于96孔板中并使其粘附过夜。次日,向板中单独添加各抗TIGIT抗体、或抗PD-1抗体(克隆EH12.2H7,BioLegend, San Diego, CA)、或各抗TIGIT抗体+抗PD-1抗体(1:1比率)及Jurkat效应细胞的10点2.5倍滴定(100至0.03 μ g/mL)。在37 $^{\circ}$ C下培育6小时后,使细胞溶解并添加荧光素酶受质。在读板仪上量化荧光素酶活性。荧光素酶活性计算为相对于无抗体对照中信号的倍数。如图8中所示,单独抗TIGIT及抗PD-1皆不导致显著Jurkat活化,然而,抗TIGIT克隆13或克隆25与抗PD-1的组合产生强活化。

实施例7: BALB/c小鼠中CT26同系肿瘤模型中抗TIGIT抗体的体内活性

[0229] 基于对鼠类TIGIT的亲和性,选择抗TIGIT克隆13在鼠类同系肿瘤模型中进行评估。生成亲代完全人抗TIGIT克隆13的小鼠IgG1及小鼠IgG2a嵌合体进行体内实验以确定Fc同型是否对拮抗性TIGIT抗体的体内效能具有效应。在体外,嵌合抗体显示与亲代hIgG1抗体类似的以相关活性:(1)与人、小鼠及食蟹猕猴TIGIT的结合,(2)CD155及CD112配体与细

胞表面表达的TIGIT的结合的阻断,及(3)CD155-TIGIT阻断生物分析中的活性。参见图9A-9H。

[0230] 自Charles River Laboratories获得平均体重为19g的8周龄BALB/c小鼠。在小鼠右肋腹皮下植入300,000个CT26结肠癌细胞。使肿瘤进展,直至接种肿瘤后第7天,组平均肿瘤体积为72mm³(范围为48-88mm³)。藉由配对将动物指配为n=10的10个治疗组,使得该组的平均肿瘤体积在所有治疗组中皆类似。量测肿瘤长度及宽度且使用下式计算肿瘤体积:体积(mm³)=0.5*长度*宽度²,其中长度是最长尺寸。将抗TIGIT克隆13 mIgG1、抗TIGIT克隆13 mIgG2a及抗PD-1克隆RMP1-14 (BioXCell) 稀释至适当浓度,以在无菌PBS中给药。使用无菌PBS作为载剂对照。每周两次经由腹膜内注射给予5或20mg/kg的TIGIT抗体,持续3周(总共6个剂量)。每周两次经由腹膜内注射给予5mg/kg的抗PD-1抗体,持续2周(总共4个剂量)。在指配当天(研究第1天)开始给药。每周两次收集肿瘤体积及体重量测值,直至小鼠达到2000mm³的肿瘤体积截止值为止。相对于给药前的体重,没有动物体重减轻,指示所有测试剂的超常耐受性。

[0231] 如图10A中所示,单独抗mPD-1对肿瘤进展无任何效应。克隆13的mIgG1抗TIGIT嵌合体(“13-1”) (其不能有效地接合活化Fc γ 受体)作为单一试剂或与抗PD-1组合皆不会介导任何抗肿瘤活性,相比之下,克隆13的mIgG2a嵌合体(“13-2”) (其能结合活化Fc γ 受体)显示肿瘤进展(在第18天86.5% (5mg/kg) 或74.4% (20mg/kg) 肿瘤生长抑制)。5mg/kg 13-2单一试剂组中的十只动物中有三只显示完全肿瘤消退,其稳定直至研究结束(研究第46天)。在20mg/kg 13-2单一试剂组中,十只动物中有两只显示部分肿瘤消退(定义为连续三次量测的肿瘤体积<初始体积的50%)。图10A显示,相对于单独13-2,向mIgG2a克隆13嵌合体(13-2)中添加抗PD-1不增加效能(第18天的肿瘤生长抑制为53.8% (5mg/kg抗TIGIT+5mg/kg抗PD-1) 对86.5% (5mg/kg单独抗TIGIT) 及89.6% (20mg/kg抗TIGIT+5mg/kg抗PD-1) 对74.4% (20mg/kg单独抗TIGIT)。在组合组中观察到相似数量的完全及部分反应者。参见(例如)图10B-10K。

实施例8:抗体优化及优化抗体的表征

[0232] 自主要发现输出中选择抗体克隆2、13、16及25用于进一步亲和力成熟。经由向重链可变区中引入多样性来实施抗体的优化。将两个循环的优化应用于上述谱系。第一循环包括CDRH1及CDRH2多样化方法,而在第二循环中,应用CDRH3诱变方法。

[0233] CDRH1及CDRH2方法:将单一抗体的CDRH3重组至具有多样性为 1×10^8 的CDRH1及CDRH2变体的预制文库中。然后利用一轮MACS及四轮FACS实施选择,如针对初始发现所述。

[0234] 在第一轮FACS中,针对1nM单体TIGIT结合分选文库。第二轮FACS是PSR清除轮以减少多特异性。最后两轮是使用亲代Fab或IgG加压以获得高亲和性的正向选择轮。如下实施Fab/IgG加压:将抗原与10倍亲代Fab或IgG一起培育,然后与酵母文库一起培育。选择富集于比亲代Fab或IgG具有更好亲和性的IgG。在最后两轮FACS中检查物种交叉反应性。

[0235] CDRH3诱变:藉由使CDRH3中的位置随机化而产生具有CDRH3多样性的文库。如先前所述,使用一轮MACS及三轮FACS进行选择。进行PSR负向选择、物种交叉反应性、亲和性压力及分选以获得具有期望特征的群体。

MSD-SET K_d量测

[0236] 通常如先前所述进行平衡亲和性量测(Estep等人,上文文献)。简言之,在PBS+

0.1% 不含IgG的BSA (PBSF) 中利用于50pM下保持恒定的生物素化人TIGIT-His单体进行溶液平衡滴定 (SET), 并与以约5nM开始的抗体的3至5倍系列稀释物一起培育。将抗体 (20nM, 于PBS中) 在标准结合的MSD-ECL板上于4℃下涂覆过夜或在室温下涂覆30min。然后将板用1%BSA在700rpm振荡下封阻30min, 之后用洗涤缓冲液 (PBSF+0.05%Tween 20) 洗涤3次。施加SET样品, 且在700rpm振荡下在板上培育150s, 之后洗涤一次。藉由在板上培育3min, 用PBSF中250ng/ml sulfotag标记的链霉抗生物素蛋白检测板上捕获的抗原。将板用洗涤缓冲液洗涤3次, 然后在MSD扇形成像仪2400仪器上使用具有表面活性剂的1倍读取缓冲液T读取。在Prism中绘制游离抗原的百分比随着滴定的抗体变化的图, 并拟合至二次方程以提取 K_D 。为了提高通量, 在整个MSD-SET实验 (包括SET样品制备) 中使用液体处理机器人。

[0237] 如上所述使用ForteBio系统量测优化抗体与His标记的人TIGIT、cyno TIGIT-Fc及小鼠TIGIT-Fc的结合。如上所述, 测试优化抗体在CD155配体竞争分析中的配体阻断、以及与人TIGIT HEK、cyno TIGIT HEK、小鼠TIGIT HEK及亲代HEK细胞系的结合。

[0238] 亲和性优化抗体的亲和性数据及细胞结合数据示于下表2中。

表 2. 亲和性优化抗体的亲和性及细胞结合数据

克隆索引	ForteBio IgG K _D 人 TIGIT-His (nM) 单价	ForteBio K _D TIGIT-Fc Avid	IgG Cyno (nM)	ForteBio K _D 鼠 TIGIT-Fc (nM) Avid	IgG TIGIT-Fc Avid	MSD IgG (nM) TIGIT-His	IgG K _D 人	细胞结合 人 TIGIT HEK 细胞(FOB, 超过 背景的倍数)	细胞结合 Cyno TIGIT HEK细 胞(FOB, 超过背景的 倍数)	细胞结合 小鼠 TIGIT HEK细 胞(FOB, 超过背景的 倍数)
2	8.18E-09	1.34E-09		1.76E-09		NA		158	162	73
2C	5.18E-10	9.84E-10		3.92E-10		1.60E-11		193	224	100
13	2.63E-09	1.04E-09		3.41E-10		NA		212	224	119
13A	6.27E-10	1.12E-09		3.70E-10		2.50E-11		206	240	115
13B	6.10E-10	1.05E-09		3.30E-10		5.30E-12		201	235	102
13C	5.63E-10	1.07E-09		3.29E-10		8.60E-12		194	281	116
13D	5.71E-10	1.16E-09		3.64E-10		5.00E-12		190	245	116
16	2.52E-09	4.67E-09		9.07E-09		NA		192	27	19
16C	9.11E-10	4.25E-09		8.01E-10		6.30E-12		208	157	99
16D	5.96E-10	1.15E-09		2.63E-09		1.30E-11		199	241	63
16E	7.78E-10	1.36E-09		3.70E-09		1.10E-11		195	186	56
25	1.27E-09	1.50E-09		9.67E-10		NA		205	247	117
25A	1.10E-09	1.64E-09		8.23E-10		1.80E-11		207	238	119
25B	1.16E-09	1.40E-09		7.19E-10		2.20E-11		222	291	129
25C	6.97E-10	1.24E-09		4.94E-10		5.60E-12		216	286	124
25D	8.46E-10	1.18E-09		5.80E-10		2.70E-11		225	272	137
25E	8.51E-10	1.18E-09		5.66E-10		1.30E-11		204	252	116

实施例9:表位定位

[0239] 由肽阵列表征本文所述单克隆抗体中两者、即克隆13及克隆25的表位。为了重新

构筑靶分子的表位,使用固相Fmoc合成来合成基于肽的表位模拟物文库。氨基官能化聚丙烯载体通过以下所述获得:与专有的亲水聚合物制剂接枝、之后使用二环己基碳二亚胺(DCC)及N羟基苯并三唑(HOBt)与第三丁基氧基羰基-六亚甲基二胺(BocHMDA)反应且随后使用三氟乙酸(TFA)使Boc-基团裂解。由定制的改进JANUS液体处理站(Perkin Elmer)使用标准Fmoc-肽合成在氨基官能化固体载体上合成肽。

[0240] 使用支架上的专有化学连接肽(CLIPS)技术(Pepscan)进行结构模拟物的合成。CLIPS技术允许将肽结构化为单环、双环、三环、片状折叠、螺旋状折叠及其组合。将CLIPS模板与半胱氨酸残基偶合。使肽中多个半胱氨酸的侧链与一个或两个CLIPS模板偶合。举例而言,将0.5mM P2 CLIPS(2,6-双(溴甲基)吡啶)溶液溶解于碳酸氢铵(20mM, pH 7.8)/乙腈(1:3(v/v))中。将此溶液添加至肽阵列上。CLIPS模板将结合至肽阵列(455孔板,具有3 μ l孔)的固相结合肽中存在的两个半胱氨酸的侧链。在溶液中完全覆盖的同时,将肽阵列在溶液中轻轻振荡30至60分钟。最后,将肽阵列用过量H₂O充分洗涤且于70℃下在PBS(pH 7.2)中的1%SDS/0.1% β -巯基乙醇的破坏缓冲液中超音波处理30分钟,之后在H₂O中再超音波处理45分钟。携带T3 CLIPS的肽以类似方法制备,但具有三个半胱氨酸。

[0241] 根据以下设计合成不同组的肽。组1包含一组长度为15个氨基酸的衍生自人TIGIT的靶序列的线性肽,具有一个残基偏移。组2包含组1的一组线性肽,但10及11位上的残基由Ala置换。当天然Ala将在任一位置上出现时,其由Gly置换。组3包含组1的一组线性肽,其含有Cys残基。在此组中,天然Cys由Cys-乙酰氨基甲基(“Cys-acm”)置换。组4包含一组长度为17个氨基酸的衍生自人TIGIT的靶序列的线性肽,具有一个残基偏移。在1及17位上是用于藉助mP2 CLIPS生成成环模拟物的Cys残基。天然Cys经Cys-acm置换。组6包含一组长度为22个氨基酸的衍生自人TIGIT的靶序列的线性肽,具有一个残基偏移。11及12位上的残基经“PG”基序置换,而Cys残基放置于1及22位上以生成具有mP2的受限模拟物。天然Cys残基经Cys-acm置换。组7含有一组长度为27个氨基酸的线性肽。在1-11及17-27位上是11聚体肽序列,其衍生自靶序列且经由“GGSGG”(SEQ ID NO:309)连接体接合。基于UniProt info在人TIGIT的二硫键桥接上进行组合。组8包含一组长度为33个氨基酸的组合肽。在2-16及18-32位上是衍生自人TIGIT的靶序列的15聚体肽。在1、17及33位上是用于藉助T3 CLIPS生成中断模拟物的Cys残基。

[0242] 在基于肽扫描的ELISA中测试抗体与每一合成肽的结合。将肽阵列与一级抗体溶液一起培育(于4℃下过夜)。洗涤后,于25℃下将肽阵列与山羊抗人HRP偶联物(Southern Biotech)的1/1000稀释物一起培育1小时。洗涤后,添加过氧化酶受质2,2'-连氨基-二-3-乙基苯并噻唑啉磺酸盐(ABTS)及20 μ l/ml 3%H₂O₂。1小时后,量测显色。用电荷耦合装置(CCD)-照相机及影像处理系统对显色进行量化。与标准96孔板ELISA读数器相似,自CCD照相机获得的值范围为0至3000mAU。

[0243] 为了验证合成肽的品质,平行合成一个单独的阳性及阴性对照肽。用市售抗体3C9及57.9筛选所述肽(Posthumus等人,J.Virol.,1990,64:3304-3309)。

[0244] 对于克隆13,当在高严谨条件下测试时,克隆13弱结合不连续表位模拟物。亦在中等严谨条件下测试抗体,并观察到该抗体的可检测结合。用含有核心延伸片段₆₈ICNADLGWHISPSFK₈₂(SEQ ID NO:258)、₄₂ILQCHLSSTTAQV₅₄(SEQ ID NO:298)、₁₀₈CIYHTYPDGTYT GRI₁₂₂(SEQ ID NO:299)的不连续表位模拟物记录最高信号强度。用含有

肽延伸片段₈₀SFKDRVAPGPG₉₀(SEQ ID NO:300)的肽观察到额外较弱的结合。抗体与线性及简单构形表位模拟物的结合通常较低,且仅在基序基序₆₈ICNADLGWHISPSFK₈₂(SEQ ID NO:258)、₁₀₈CIYHTYPDG TYTGRI₁₂₂(SEQ ID NO:299)及₈₀SFKDRVAPGPG₉₀(SEQ ID NO:300)中观察到。

[0245] 对于克隆25,当在高严谨条件下测试时,克隆25可检测地结合所有组的肽。用不连续表位模拟物观察到最强结合。尽管在其他组中亦观察到与在延伸片段₆₈ICNADLGWHISPSFK₈₂(SEQ ID NO:258)内含有残基的肽的结合,但仅在与₆₈ICNADLGWHISPSFK₈₂(SEQ ID NO:258)的组合中观察到与肽延伸片段₅₀TTAQVTQ₅₆(SEQ ID NO:301)的结合。用含有肽延伸片段₈₀SFKDRVAPGPGLGL₉₃(SEQ ID NO:300)的肽亦观察到额外较弱的结合。

[0246] 基于克隆13及克隆25的所述表位定位结果,使用上述方法使用以下肽组对克隆13及克隆25的表位进行精确定位。组1包含基于序列CILQ2HLSSTTAQVTQCI2NADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:302) 的单一残基表位突变体的文库。残基ADHIQRY (SEQ ID NO:304) 经受置换。位置1、17、19、30及33未经置换。天然Cys残基由Cys-acm置换(贯穿全文表示“2”)。组2包含衍生自序列CILQ2HLSSTTAQVTQCI2N ADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:302) 的双向行走的A1a突变体的文库。1、17及33位未经置换。天然Cys残基由Cys-acm置换。组3包含基于序列CKDRVAPGPGGLGLTLQCI2NADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:303) 的单一残基表位突变体的文库。使用残基ADHIQRY (SEQ ID NO:304) 进行置换。1、2、17、19、30及33位未经置换。组4包含衍生自序列CKDRVAPGPGGLGLTLQCI2NADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:303) 的双向行走的A1a突变体的文库。1、17及33位未经置换。

[0247] 在高及中等严谨条件下利用衍生自肽CILQ2HLSSTTAQVTQCI2NADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:302) 及CKDRVAPGPGGLTLQCI2NADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:303) 的不连续表位突变体的四个系列测试克隆13。数据分析指示,在所有情况下,残基₈₁FK₈₂经单个残基或双Ala置换会损害克隆13的结合。不连续表位模拟物中其他残基的单一突变对结合无明显效应。相反,在与相应不连续模拟物一系列单一残基突变体相比时,双Ala表位突变体对结合展示更明显的效应。亦发现CILQ2HLSSTTAQVTQCI2NADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:302) 内残基₅₁TAQVT₅₅ (SEQ ID NO:305) 的双Ala置换显著影响克隆13的结合。对于克隆13,用衍生自序列CKDRVAPGPGGLTLQCI2NADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:303) 的表位模拟物记录的信号强度低于用CILQ2HLSSTTAQVTQCI2NADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:302) 记录的那些信号强度。进一步发现,除₈₁FK₈₂外,₇₄GWHI₇₇ (SEQ ID NO:306) 的双Ala置换显著降低克隆13的结合。另外,延伸片段₈₇PGPGLGL₉₃ (SEQ ID NO:307) 内的双Ala突变在某种程度上减弱结合。

[0248] 在高及中等严谨条件下对衍生自肽CILQ2HLSSTTAQVTQCI2NADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:302) 及CKDRVAPGPGGLTLQCI2NADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:303) 的不连续表位突变体的四个系列测试克隆25。对自表位突变体各组收集的数据分析指示,残基₈₁FK₈₂的单置换或双置换极大地影响结合。CILQ2HLSSTTA QVTQCI2NADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:302) 及CKDRVAPGPGGL LTLQCI2NADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:303) 内其他残基的单残基取代不会导致信号强度显著减少。一系列双向行走A1a突变体对克隆25与模拟物的结合展示更明显的效应。除₈₁FK₈₂外,残基₅₂AQ₅₃及P79的双A1a置换亦轻度影响抗体与表位模拟物CILQ2HLSSTTAQVTQCI2NADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:302) 的结合。分析克隆25与衍生自CKDRVAPGPGGLTL

LQCI2NADLGWHISPSFKC (SEQ ID NO:303) 的双Ala突变体系列的结合再次确认₈₁FK₈₂的重要性,但亦指示残基₇₃LGW₇₅及₈₂KDRVA₈₆ (SEQ ID NO:308) 的双Ala置换中度影响结合。

[0249] 总而言之,对于单克隆抗体克隆13及克隆25,发现残基₈₁FK₈₂对于两种抗体与TIGIT表位模拟物的结合是至关重要的。对于克隆13,亦发现残基₅₁TAQVT₅₅ (SEQ ID NO:305)、₇₄GWHI₇₇ (SEQ ID NO:306) 及₈₇PGPGLGL₉₃ (SEQ ID NO:307) 有助于结合。对于克隆25,亦发现残基₅₂AQ₅₃、₇₃LGW₇₅、P79及₈₂KDRVA₈₆ (SEQ ID NO:308) 有助于结合。

实施例10:主链改变的抗TIGIT抗体

[0250] 为了潜在地改良当前一代抗TIGIT抗体,研发具有降低的效应功能的无岩藻糖基化抗TIGIT抗体及抗TIGIT抗体的Fc突变形式(IgG1 LALA-PG)。预计无岩藻糖基化及LALA-PG抗体仍将阻断CD155及CD112与TIGIT的相互作用。不受任何特定理论限制,假设无岩藻糖基化抗TIGIT抗体可直接结合至肿瘤浸润的Treg,且导致更大的Fc介导的ADCC和/或ADCP,且最终引发更大的抗肿瘤免疫反应,或者假设,效应功能可导致效应T细胞清除,因此无效应抗体可允许保留活化的CD8 T细胞。

DNA及载体生成 (Genewiz):

[0251] 使用非模板PCR合成抗体可变及恒定结构域序列。使用Genewiz的生物资讯学工具将虚拟基因序列转化为寡核苷酸序列。使用PCR合成、汇集并扩增寡核苷酸。将PCR反应的全长扩增子克隆至载体中,然后将产物转化至大肠杆菌并分离出独特群落。使群落在液体培养基中生长过夜,且分离质粒DNA、纯化,并使用Sanger测序验证序列。将轻链及重链克隆至pcDNA3.4载体中。

抗体表达 (Seattle Genetics):

[0252] 将1:1比率的抗体重链及轻链载体用ExpiFectamine CHO转染试剂稀释至ThermoFisher OptiPRO SFM培养基中。然后将DNA/转染试剂添加至ThermoFisher ExpiCHO表达培养基中的ExpiCHO培养物中且培养9天,第一天添加ExpiCHO增强子,且第一天及第二天添加ExpiCHO进料。为了制备在N297聚糖上具有降低的核心岩藻糖基化的抗体(无岩藻糖基化抗体),在转染的前一天及转染当天将岩藻糖类似物2-氟岩藻糖添加至ExpiCHO培养物中。藉由离心及0.2μm过滤收获培养物。

抗体纯化 (Seattle Genetics):

[0253] GE HiTrap mAb Select SuRe管柱用于每一IgG的纯化。洗脱之前,用5CV PBS+0.1%Triton、5CV PBS+0.5M NaCl及7.5CV PBS洗涤树脂。使用25mM乙酸pH3缓冲液洗脱IgG。使用26/60HiPrep脱盐管柱将样品缓冲液更换为PBS。然后将样品过滤灭菌,之后取样用于表征。表征包括A280浓度、aSEC HPLC、aHIC HPLC及降低糖基化及去糖基化PLRP-MS (QToF)。

实施例11:主链改变的抗体表征

[0254] 在体内,单核细胞、巨噬细胞、嗜中性细胞、树突细胞及NK细胞可经由Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RI及Fc γ RIIIa介导ADCP (抗体依赖性细胞介导的吞噬作用) 及ADCC (抗体依赖性细胞介导的细胞毒性)。尽管所有三个受体皆可参与ADCP,但据信Fc γ RIIIa是参与ADCC的主要Fc γ 受体。IgG₁抗体抗体的无岩藻糖基化会导致更高的与Fc γ RIIIa及b的亲合性结合,且因此可增加ADCC及ADCP活性。

[0255] 利用生物层共振 (BLI) 评价人Fc γ RIIIa 158V与各种抗TIGIT抗体的结合动力学,

以了解在30℃下无岩藻糖基化抗体及LALA-PG突变的效应。在300秒感测器检查后,将N-羧基琥珀酰亚胺(NHS)-酯生物素化人Fc γ RIIIa 158V-单Fc N297A融合蛋白(在Seattle Genetics表达)以3 μ g/mL装载至高精密度链霉抗生物素蛋白生物感测器(Pall ForteBio)上达300秒。在200秒的基线后,使滴定的抗TIGIT抗体缔合50秒且解离200秒。在分析之前,在每一分析中减去参考值。在缔合开始时用Y轴对准、步骤间解离校正及Savitzky-Golay过滤对数据进行校正。使用1:1Langmuir等温线全域拟合模型拟合曲线。

[0256] 代表性数据示于图10中。TIGIT hIgG1变体的感测图类似于藉由BLI针对hFc γ RIIIa结合通常所观察到的感测图:野生型IgG1在100-200nM范围内,且由于hFc γ RIIIa与hIgG1之间的焓增加或相互作用增加导致 k_{on} 增加10倍,无岩藻糖基化IgG1为约10-20nM。hIgG1 LALA-PG即使在5000nM的最高浓度下亦没有可定量的结合。结果概述于表3中。

[0257] 表3. 使用1:1Langmuir等温线模型藉由BLI对结合人Fc γ RIIIa 158V的抗TIGIT抗体进行全域拟合分析。

Ab	K_D (M)	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	RMax	Req/ Rmax (%)	全X ²	全R ²
抗TIGIT克隆13C hIgG1	2.53E-07	1.46E+05	3.71E-02	0.57	89-67	0.18	0.9931
抗TIGIT克隆13 hIgG1	3.7E-07	1.29E+05	4.80E-02	0.47	84-5	0.16	0.9900
抗TIGIT克隆13无 岩藻糖基化hIgG1	1.35E-08	7.31E+05	9.85E-03	0.62	88-6	0.024	0.9993
抗TIGIT克隆13 hIgG1 LALA-PG	NB*	-	-	-	-	-	-

*NB(未结合)。在20 μ M之浓度下,未观察到hFc γ RIIIa 158V与抗TIGIT克隆13hIgG1 LALA-PG的结合

[0258] 为了评估抗TIGIT抗体的Fc修饰对抗肿瘤活性的影响,制备包括野生型中人CDR及鼠类IgG2a主链、或具有无岩藻糖基化或LALA-PG修饰的嵌合抗体。鼠IgG2a抗体的无岩藻糖基化类似于无岩藻糖基化人IgG1主链的产生,并导致与鼠Fc γ RIV、即人Fc γ RIV之同系受体的结合增加。为了评价改变的Fc γ RIV结合的程度,使用抗小鼠IgG FITC藉由FACS测定与CHO细胞上表达的Fc γ RIV的抗体亲和性。如图12中所示,未岩藻糖基化克隆13 mIgG2a的结合程度明显高于野生型或LALA-PG修饰的主链两者。与以33.4的 K_D 结合的野生型克隆13 mIgG2a相比,无岩藻糖基化克隆13 mIgG2a以 K_D 为2.37nM的亲和性结合。

实施例12:健康供体T细胞中T细胞亚组上之TIGIT表达.

[0259] 藉由流式细胞术评估健康供体中T细胞亚组上的TIGIT表达。来自12名健康供体的冷冻PBMC购自Astarte Biologics (Bothell, Washington) 及Folio Conversant (Huntsville, Alabama)。供体年龄在21至74岁范围内,中值年龄为48岁。在Fc受体阻断后,将细胞用存活性染料及以下抗人抗体染色:CD3、CD96、CD226、CCR7、CD25、CD127、CD45RA、CD8、CD4、CD226、CD155 (Biolegend) 及TIGIT (eBioscience)。然后在Attune Nxt流式细胞计数器 (Life Technologies) 上分析染色的细胞。Treg亚组藉由CD4、CD25及CD127 (CD4⁺CD25⁺CD127^{lo}) 的适当表达来定义。CD4⁺及CD8⁺效应记忆 (T_{EM}; CD45RA⁻CCR7⁻)、CD45RA⁺效应记忆

($T_{EMRA}; CD45RA^+CCR7^-$)、中枢记忆($T_{CM}; CD45RA^+CCR7^+$)及初始($T_N; CD45RA^+CCR7^+$)细胞亚组根据CD45RA及CCR7表达定义。如图3中所示,TIGIT表达在Treg上最高,而活化受体CD226表达在记忆及初始CD8⁺T细胞亚组上皆较低,且显示与初始CD4T细胞亚组类似的程度。T细胞中大部分不存在CD155表达,但在抗原呈递细胞中可见。

实施例13:抗TIGIT抗体克隆13驱动Treg的清除

[0260] 为了评估抗TIGIT抗体对正常PBMC中Treg及其他T细胞亚组的绝对数目的效应,分离来自表达Fc γ RIII受体V/F等位基因的供体的健康供体PBMC(Astarte Biologics)。在存在各种浓度的野生型、LALA-PG或无岩藻糖基化型式的克隆13抗TIGIT抗体或人IgG1同型对照(Biolegend)下培养细胞。将冷冻保存的PBMC(Astarte Biologics)在具有10%FBS的RPMI 1640中于96孔圆底板中于37℃下培育。将每孔接种 2.5×10^5 个PBMC,以一式三份孔,滴定抗TIGIT或对照抗体。24小时后,洗涤细胞,进行Fc受体阻断,并将细胞用存活性染色剂及以下抗人抗体染色:CD3、CD4、CD8、CD25、CD127及CD45RA(Biolegend)。在Attune NxT流式细胞计数器上分析染色的细胞,并如上所述表征T细胞亚组。如图14中所示,在分析开始时,Treg对TIGIT呈73%阳性。培养24小时后,野生型型式的克隆13 IgG1抗体(黑色实心圆圈)引发TIGIT阳性Treg的剂量依赖性减少,且最大清除发生在1 μ g/ml下。无岩藻糖基化型式的克隆13(黑色实心正方形)赋予更大的活性,且最大Treg清除发生在200pg/ml下。LALA-PG型式的克隆13(黑色实心三角形)及人IgG1同型对照(灰色倒三角形)在此分析中未显示明显活性。

[0261] 除了评估野生型、无岩藻糖基化及LALA-PG型式的克隆13抗TIGIT抗体外,亦制备包含具有S293D/A330L/I332E(“DLE”)突变的IgG1恒定区的型式,所述涂布先前曾报导可增强对Fc γ 受体的亲和性。参见Lazar, 2006, PNAS 103:4005-4010。基本上如上文就来自表达Fc γ RIII受体高亲和性V/V等位基因供体的健康供体PBMC中所述,评价野生型、无岩藻糖基化、LALA-PG及DLE型式的克隆13之Treg清除。

[0262] 如图35中所示,克隆13 IgG1野生型抗体(三角形)以约0.024 μ g/ml的IC50清除Treg,而克隆13 IgG1 DLE抗体(正方形)及克隆13 IgG1无岩藻糖基化抗体(圆圈)两者以大多数的功效清除Treg,IC50分别为0.0006 μ g/ml及0.0005 μ g/ml。(在图35中,IgG1野生型数据来自使用同一供体的PBMC的先前实验。)

[0263] 亦测试另一抗TIGIT抗体H5/L4 IgG1(参见W0 2016/028656A1)清除来自表达Fc γ RIII受体高亲和性V/V等位基因供体的健康供体PBMC中Treg的能力。如图36中所示,克隆13 IgG1无岩藻糖基化抗体在诱导Treg清除方面最有效,而两种IgG1野生型抗体显示极为类似的功效及清除曲线。(在图36中,克隆13 IgG1野生型数据来自使用同一供体的PBMC的先前实验。)

实施例14:同种异体NK/Treg共培养物中Treg清除之评价

[0264] 为了在Treg/NK细胞共培养物中寻找潜在的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC),将冷冻保存的人CD4⁺CD25⁺T细胞(Stem Cell Technologies)解冻并用CD3/CD28 MACS iBead粒子(Miltenyi Biotec)以1:2珠粒:细胞比率在补充有20ng/ml重组人IL-2(R&D systems)的RPMI 10%FBS培养基中刺激3天,以增加TIGIT表达。3天后,经由流式细胞术评价Treg的细胞表面TIGIT表达,发现约40%阳性。然后洗涤Treg,并用CFSE(Life Technologies)标记,以将其与共培养后的NK细胞区分开。同一天,将纯化的人NK细胞

(Astarte Biologics)解冻并在存在200ng/ml IL-2下预活化2小时。将NK:Treg比率为2.5:1的NK细胞及Treg的共培养物设置于存在100ng/ml IL-2的96孔板中的具有10%FBS的RPMI 1640中。于37℃下将细胞与一式三份孔中的野生型、LALA-PG或无岩藻糖基化型式的克隆13抗TIGIT抗体或人IgG1同型对照(Biolegend)、或无岩藻糖基化抗OKT9抗体(其用作阳性对照)一起培育。24小时后,洗涤细胞,用存活性染料染色,并在Attune Nxt流式细胞计数器上经由FACS进行分析。根据存活性染料及CFSE染色对Treg进行鉴别及列举。

[0265] 结果示于图15中。利用克隆13 IgG1野生型处理(黑色实心圆圈),Treg含量降低,展现清除可能部分是由于直接NK介导的ADCC。克隆13 IgG1野生型清除T细胞的能力似乎在1μg/ml处理下最大。克隆13 IgG1无岩藻糖基化型式(黑色实心正方形)的Treg清除比例更大,且最大活性出现在40ng/ml下。无效应LALA-PG型式的克隆13 IgG1(黑色实心三角形)及人IgG1同型对照(灰色倒三角形)显示对Treg数目无明显影响,而阳性对照SEA OKT9抗体(空心圆圈)显示最大清除。结果与TIGIT表达数据(图4)一致,显示Treg表达高水平的TIGIT。

实施例15:抗TIGIT抗体诱导细胞因子产生

[0266] 无岩藻糖基化抗体除了与NK细胞上的Fc γ RIIIa以更高的亲和性结合并驱动ADCC外,亦与抗原呈递细胞及嗜中性细胞上的Fc γ RIIIa及Fc γ RIIIb以更高的亲和性结合且可增强ADCP及抗原呈递细胞活化。

[0267] 为了研究抗TIGIT抗体及Fc变体对抗原呈递细胞的影响,如下分离PBMC。将来自3个独特人供体的血液收集至肝素管中,且在收集约四小时内将其等分至50ml锥形管(Falcon)中,并在25℃下于Eppendorf 5810R(A-4-62转子)中在无制动情况下以200g离心20分钟,以分离富含血小板的部分。离心后,形成三个不同层:底层,红血球(占总体积的50-80%);中间层,非常细的白血球带(亦称为“血沉棕黄层法(buffy coat)”);顶层,稻草色之富含血小板之血浆(PRP)。用1ml移液管移除富含血小板之稻草色上层并丢弃。一旦移除富含血小板的血浆,即将剩余部分用等体积的无菌PBS(Gibco)稀释。将15ml加热至室温的Histopaque-1077(Sigma)置于稀释部分之下。将样品在25℃下在无制动情况下以1500rpm离心25分钟。离心后,再次形成三层:底层,红血球(占总体积的50-80%);中间层,粗白血球带;顶层,PBS及剩余的血小板。用1ml移液管移除PBS/血小板上层并丢弃。轻轻移除粗白血球带,并放入洁净50ml无菌锥形管中。将管填充至50ml,且将细胞以800g离心10分钟。移除洗涤溶液,并将沉淀物重新悬浮于10ml ACK红血球溶解缓冲液(Gibco)中达10分钟。添加35ml无菌PBS,且将细胞以800g离心10分钟。移除洗涤溶液,并将沉淀重新悬浮于50ml PBS中。移出500μl样品,并用Vi-cell-XR(Beckman Coulter)对PBMC进行计数。将细胞再次以800g离心10分钟。

[0268] 将细胞以100万细胞/ml重新悬浮于含有10%热灭活FBS(Atlantica Biologics)及1X青霉素/strepA及1X麸酰氨酸的完全DMEM中,且以100,000细胞/孔接种在96孔板中。将PBMC暴露于递增浓度(10、1.0、0.1、0.01、0.001、0.0001或0μg/ml)的克隆13 IgG1野生型、无岩藻糖基化克隆13 IgG1或克隆13 IgG1 LALA-PG中24小时。收集组织培养上清液并根据制造商的说明使用Luminex Multiplex(Millipore)进行处理用于细胞因子产生。

[0269] 结果示于图16中。用克隆13 IgG1野生型抗体(黑色实心正方形)及克隆13 IgG1无岩藻糖基化抗体(黑色实心菱形)处理PBMC导致炎性细胞因子产生,包括与单核细胞/巨噬

细胞活化相关的那些,例如MCP1、IL-8及MIP1 α 。将细胞暴露于无岩藻糖基化克隆13 IgG1引发的细胞因子反应更强,而LALA-PG Fc无效应形式导致细胞因子的产生极少。

实施例16:抗TIGIT抗体诱导APC上的活化标记物

[0270] 为了评估抗TIGIT抗体对PBMC中存在的抗原呈递细胞的效应,对上述细胞因子分析中剩余细胞团粒的共刺激分子的表达进行评价。将细胞团粒重新悬浮于50ml BD FACS缓冲液中并转移至96孔圆底微量滴定板中。将Fc受体在冰上用100 μ g/ml Fc片段(Millipore)封阻30分钟。在含有100mg/ml人Fc片段的BD FACS缓冲液中制备以1:100稀释的由抗CD14抗体(BD)、抗CD86抗体(BD)及抗MHCII抗体(泛抗DR、DP、DQ抗体, BD)构成的混合母液。将5 μ l混合母液添加至含有90 μ l重新悬浮细胞的每一孔中,并将样品在冰上培育1小时。然后将细胞在预冷却的Eppendorf 5810R离心机中以400g离心5分钟。移除上清液,并用200 μ l BD FACS缓冲液洗涤细胞。将细胞洗涤两次,然后重新悬浮于200 μ l FACS缓冲液中。在具有DIVA软体(BD biosciences)的LSRII流式细胞计数器(BD Biosciences)上收集样品。使用FlowJo软体分析CD14⁺单核细胞/巨噬细胞上的CD86及MHCII的平均荧光强度(MFI)。

[0271] 该实验的结果示于图17中。用抗TIGIT抗体克隆13 IgG1野生型或无岩藻糖基化克隆13 IgG1处理CD14⁺单核细胞/巨噬细胞导致活化标记物CD86(左图)及MHCII(右图)上调,指示抗原呈递细胞成熟。用克隆13 IgG1 LALA-PG处理不会增加CD14⁺细胞的CD86或MHCII表达。

实施例17:同系肿瘤模型中具有差异Fc亲和性的抗TIGIT抗体的体内评价.

[0272] 研究无岩藻糖基化抗TIGIT抗体对包含LALA-PG突变的无效应功能的抗TIGIT抗体的抗肿瘤效能。此实验经设计以确定抗TIGIT抗体的效应功能(在无岩藻糖基化型式中增强,而在LALA-PG型式中消除)是否参与抗肿瘤作用机制。生成具有三个不同Fc结构域的抗TIGIT抗体克隆13的鼠类型式:1)野生型mIgG2a;2)无岩藻糖基化mIgG2a;3)mIgG2a LALA-PG(降低的效应功能)。在CT26(结肠)、A20(B细胞淋巴瘤)及MC38(结肠)同系肿瘤模型中评估抗体,每个肿瘤模型每个抗体组有六只小鼠。一旦肿瘤达到100mm³,以每三天给予5mg/kg的剂量经腹膜内(i.p.)给予各抗体,共六个剂量。使用数位卡尺量测皮下肿瘤的长度及宽度,且使用式 $V = (L \times W^2) / 2$ 计算肿瘤体积。

[0273] 该实验的结果显示在图18中。每行代表中值肿瘤体积(mm³)(每组N=6)。图18A显示,用抗TIGIT抗体无岩藻糖基化克隆13 mIgG2a、克隆13 mIgG2a野生型及克隆13 mIgG2a LALA-PG处理A20(同系淋巴瘤模型)模型分别导致4/6、2/6及0/6完全反应。图18B显示,用抗TIGIT抗体无岩藻糖基化克隆13 mIgG2a、克隆13 mIgG2a野生型及克隆13 mIgG2a LALA-PG处理CT26WT(鼠类结肠癌)模型分别导致4/6、3/6及0/6完全反应。图18C显示,用抗TIGIT抗体无岩藻糖基化克隆13mIgG2a、克隆13 mIgG2a野生型及克隆13 mIgG2a LALA-PG处理MC38(鼠类结肠癌)模型分别导致1/6、1/6及0/6完全反应。

[0274] 在不同的同系模型中诱导的反应中的两分性鉴于其报导的不同免疫状况是值得关注的。据报导,CT26及A20肿瘤模型被NK及T细胞浸润的程度更高,而已知MC38模型被髓样源抑制细胞浸润的程度更高(Mosely等人,2017,Canc.Immunol.Res.5(1):29-41)。A20及CT26肿瘤模型中抗TIGIT抗体的增加活性支持所述抗体的T细胞调节活性,且表明浸润的T细胞可用作此疗法的阳性预测生物标记。此数据共同展现,鼠抗TIGIT抗体的体内抗肿瘤活

性依赖于Fc效应功能,且与野生型相比,无岩藻糖基化IgG2a具有增强的效能。

实施例18:抗TIGIT抗体的组合活性。

[0275] TIGIT不仅在T细胞上表达,并且还在NK及抗原呈递细胞上表达。鉴于多向性表达,TIGIT功能可潜在地驱动多因素活性,且抗TIGIT抗体可能对多种细胞功能(包括例如NK细胞ADCC活性、T细胞活化及最佳抗原回忆反应)产生影响。除单一药剂活性外,抗TIGIT抗体亦可与其他疗法组合放大T细胞、NK或抗原呈递细胞的活性。TIGIT及CD226在NK细胞上表达,且TIGIT表达不仅可主动抑制最佳NK活性及ADCC效力,且亦可阻止CD226介导的活化。因此,TIGIT阻断可能会扩大NK介导的人IgG1靶向剂的ADCC,且ADCC定向的治疗剂在与抗TIGIT抗体组合时可显示增强的活性。

[0276] 为了研究此可能性,将非小细胞肺癌细胞系A549用 $\text{Na}_2[^{51}\text{Cr}]O_4$ (100 μCi ,添加至细胞中)放射标记,洗涤并与单独西妥昔单抗、或西妥昔单抗与10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 抗TIGIT抗体克隆13 hIgG1野生型的组合的滴定物混合。实验中亦包括10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的同型对照。使用EasySep人NK细胞富集试剂盒(Stem Cell Technologies)自冷冻保存的正常供体PBMC中分离出效应细胞。供体细胞为Fc γ RIIIa 158V/V基因型。效应细胞系以10:1 (50,000:5000)的效应物-对-靶细胞比率添加。培育4小时后,量测释放至培养清液中的放射性,且特异性细胞溶解百分比计算为(测样品cpm-自发cpm)/(总cpm-自发cpm) $\times$ 100。分别自在单独培养基中培育的靶细胞的上清液及自用1%Triton X-100溶解的靶细胞测定自发及总cpm值。

[0277] 如图19中所示,仅用抗TIGIT抗体克隆13 IgG1抗体处理A549靶细胞未驱动ADCC活性,但当A549靶细胞与西妥昔单抗及抗TIGIT抗体克隆13 IgG1的组合接触时,最大溶解活性相对于单独利用西妥昔单抗观察到的活性增加。

[0278] 除了调节NK活性外,TIGIT阻断亦可增加T细胞中的抗原特异性记忆反应。因此,靶向T细胞上存在的检查点蛋白的抗体在与抗TIGIT抗体组合时可显示增强的活性。

[0279] 为了研究此可能性,实施响应巨细胞病毒(CMV)的抗原回忆分析。来自CMV反应性供体的人PBMC购自Astarte Bio。可利用CMV抗原在体外重新活化来自此供体的记忆T细胞,以评估其抗原特异性反应。将PBMC重新悬浮于含有10%FBS (Atlanta Biologics)的X-vivo 10 (Lonza)中,且将100,000个细胞接种至圆底96孔板中。在存在或不存在抗TIGIT抗体和/或抗PD-1定向抗体下,将细胞暴露于10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的CMV抗原。为了评价组合活性,将PBMC用1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的次最佳剂量的抗PD-1抗体(派姆单抗或尼沃鲁单抗)处理且添加递增浓度的抗TIGIT抗体克隆13IgG1野生型(1pg/mL至1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。使对CMV抗原的记忆回忆反应进行5天,之后收获组织培养上清液,且根据制造商的说明由Luminex分析评价(Millipore)测定细胞因子反应。

[0280] 如图20中所示,抗TIGIT抗体克隆13 IgG1以剂量依赖性方式加强用抗PD-1抗体处理且暴露于CMV抗原的PBMC的IFN γ 分泌。

[0281] 为了研究体内组合活性,使用同系小鼠肿瘤模型。向C57BL/6小鼠(每组8只)的肋腹皮下植入 1×10^6 个MC38肿瘤细胞。当肿瘤达到约100mm³时,将动物随机分为三组,且用0.3mg/kg抗TIGIT抗体克隆13 hIgG1野生型、无岩藻糖基化克隆13 IgG1、1mg/kg抗PD-1抗体(抗小鼠PD-1抗体克隆29F.1A12)、克隆13 hIgG1野生型/抗PD-1抗体的组合、或无岩藻糖基化克隆13 IgG1/抗PD-1抗体的组合治疗,每三天一次共3个剂量(Q3dx3)。随着时间流逝监测肿瘤体积,且当肿瘤负荷达到>1000mm³时,将动物安乐死。

[0282] 在此实验中,克隆13 hIgG1野生型及无岩藻糖基化克隆13 IgG1两者皆展现良好肿瘤生长延迟,野生型及无岩藻糖基化抗体分别为4/8及3/8完全反应。参见图37,左上图。抗PD-1抗体在此实验中亦显示良好效能。组合疗法显示比单独的单一药剂更快的肿瘤消退,如由第15天量测之肿瘤体积所证明。图37,右上图及底部图。

实施例19:体外抗TIGIT抗体对人T细胞反应的活性。

[0283] 为了研究记忆T细胞重新活化,进行抗原回忆实验。将先前显示对CMV肽有反应的HLA-A2供体的人PBMC(100,000个细胞)重新悬浮于含有10%FBS、1X青霉素及1X麸酰氨酸的RPMI中,并接种至96孔板的圆底孔中。在存在或不存在递增浓度的抗TIGIT抗体克隆13 hIgG1野生型、无岩藻糖基化克隆13 IgG1或克隆13 hIgG1 LALA-PG下,用CMV肽刺激细胞五天。收集组织培养上清液,并根据制造商的说明藉由Luminex多工分析评价细胞因子产生。

[0284] 如图21中所示,抗TIGIT抗体刺激的培养物显示增加的对CMV抗原的反应,如藉由IFN γ 产生的增加所见。低至1pg/ml的无岩藻糖基化克隆13 IgG1导致扩大的抗原特异性T细胞反应,且此活性比与克隆13 IgG1野生型相关的反应更稳健。无效应克隆13 IgG1 LALA-PG抗体在驱动记忆T细胞反应方面无效。

[0285] 为了研究初始效应T细胞反应的诱导,进行单向混合淋巴细胞反应(MLR)。将来自HLA-A2供体的人PBMC(100,000个细胞)重新悬浮于含有10%FBS、1X青霉素及1X麸酰氨酸的RPMI中,且与辐照的HLA错配同种异体PBMC以1:1比率在圆底96孔板中培养。用递增浓度的克隆13 hIgG1野生型、无岩藻糖基化克隆13 hIgG1或克隆13 IgG1 LALA-PG刺激细胞五天。收集组织培养上清液,并根据制造商的说明藉由Luminex多工分析评价细胞因子产生。

[0286] 如图22中所示,用抗TIGIT抗体刺激的培养物显示增加的同种异体效应T细胞反应,如IL2产生的增加所见。低至100pg/ml的无岩藻糖基化克隆13 IgG1导致扩大的抗原特异性T细胞反应,且此活性比与克隆13 IgG1野生型相关的反应更稳健。无效应克隆13 IgG1 LALA-PG抗体在驱动记忆T细胞反应方面无效。

[0287] 除了研究抗原初始及记忆分析中T细胞的活化外,亦使用葡萄球菌肠毒素B肽与克隆13 hIgG1野生型、无岩藻糖基化克隆13 hIgG1、克隆13 IgG1 DLE及另一抗TIGIT抗体H5/L4 IgG1的组合作为超抗原。无岩藻糖基化克隆13 hIgG1能够诱导T细胞的活化,如藉由IL-2的诱导所测定的,比克隆13 hIgG1野生型或H5/L4更稳健。图38A。克隆13 IgG1 DLE能够诱导IL-2产生,与克隆13 hIgG1野生型及无岩藻糖基化克隆13 hIgG1两者大致相当。与其他抗体相比,发现克隆13 IgG1 DLE同时诱导IL-10产生。图38B。此结果与Fc γ RIIb受体接合导致IL-10诱导的报导一致。预计IgG1 DLE接合Fc γ RIIb。

实施例20:鼠类肿瘤模型中抗TIGIT抗体的活性。

[0288] 用各种形式的抗TIGIT抗体野生型IgG2a、无效应IgG2a LALA-PG或无岩藻糖基化IgG2a治疗带有肿瘤(CT26结肠癌)的小鼠,导致系统性及组织特异性细胞因子诱导两者。为了检查用抗TIGIT抗体治疗的潜在系统性及组织效应,向6只Balb/c小鼠的肋侧植入CT26结肠癌细胞,并用1mg/kg抗TIGIT抗体克隆13 IgG2a野生型、无岩藻糖基化克隆13 IgG2a、克隆13 IgG2a LALA-PG治疗,每三天一次共六个剂量,或在肿瘤达到100mm³后,不再治疗。在第3剂量的抗TIGIT抗体后24小时,处死半数小鼠,且收集血浆、脾及肿瘤组织。将各脾脏及肿瘤的一半在RIPA缓冲液中溶解,且进行机械破坏。然后使用Milipore 25预混合Luminex多工试剂盒分析血浆及组织溶解物的细胞因子,该试剂盒容许分析25种不同炎性细胞因

子。经由BCA(二辛可宁酸分析)-测定的蛋白质含量将组织细胞因子含量彼此归一化。

[0289] 如图23中所示,细胞因子分析未显示响应任何抗体治疗的血浆中细胞因子的急剧增加(此将指示系统反应)或组织中细胞因子的急剧增加。在未经治疗的小鼠血浆及肿瘤中观察到有限的细胞因子,且在以下抗TIGIT治疗后仅观察到中度变化,指示即使利用无岩藻糖基化抗体,TIGIT治疗亦未引发整体炎性反应。

[0290] 除了分析抗TIGIT诱导的细胞因子含量外,亦藉由流式细胞术分析在第三剂量的抗TIGIT抗体后24小时收集的肿瘤及外周样品的各种T细胞亚组比例的总体变化。如上文针对图23所述,将来自同一Balb/c小鼠的肿瘤及脾单细胞悬液及PBMC进行多种细胞表面标记染色,以描绘初始/记忆T细胞的CD8⁺、CD4⁺亚组(CD62L⁺CD44⁻初始、CD62L⁻CD44⁻效应物、CD44⁺CD62L⁺中枢记忆及CD44⁺CD62L⁻效应记忆)及Treg(CD25⁺CD127⁻)。样品在Attune声学聚焦细胞计数器上运行,并使用FlowJo进行分析。将门控设置在CD45⁺活细胞上。

[0291] 如图24中所示,在与未治疗的动物比较时,观察到响应抗TIGIT抗体克隆13 mIgG2a野生型及无岩藻糖基化克隆13 mIgG2a抗体、而非无效应克隆13 mIgG2a LALA-PG的肿瘤中CD8⁺ T细胞增加(图24顶部图)。在抗TIGIT抗体治疗后,在PBMC及脾中观察到CD8⁺细胞百分比更适度增加。亦注意到初始、效应物及记忆T细胞的肿瘤内变化。具体而言,在用克隆13 mIgG2a野生型及无岩藻糖基化克隆13 mIgG2a处理后,肿瘤内初始CD8⁺ T细胞的含量降低,而用克隆13 mIgG2a LALA-PG处理则降低较少(图24,左下图)。在肿瘤中响应克隆13 mIgG2a野生型及无岩藻糖基化抗体、而非响应克隆13 mIgG2a LALA-PG抗体观察到CD8⁺CD44⁺CD62L⁻效应记忆细胞(图24,右上图)及CD8⁺CD44⁺CD62L⁺中枢记忆细胞(图24,左上角图)比例增加。在脾或PBMC中未注意到所述变化,但在所述组织中确实发生了一些轻度变化。

[0292] 亦藉由流式细胞术分析CD4⁺ T细胞亚组的变化,所述变化是使用与如上文针对CD8⁺细胞所述类似的策略由抗TIGIT抗体处理诱导。如图25(左上图)中所示,与用克隆13 mIgG2a LALA-PG抗体治疗或未经治疗的动物相比,克隆13 mIgG2a野生型及无岩藻糖基化抗体治疗诱导肿瘤内CD4⁺细胞轻度减少。在PBMC或脾中未观察到此效应。亦在CD4⁺ Treg群体中观察到响应克隆13 mIgG2a野生型及无岩藻糖基化抗体、而非克隆13 LALA-PG抗体的肿瘤内减少至小的程度,表明抗TIGIT抗体治疗正减少肿瘤而非正常组织中的免疫抑制性Treg群体。与CD8⁺ T细胞的结果相似,与未经处理的相比,用克隆13 mIgG2a野生型及无岩藻糖基化抗体处理后,肿瘤内CD4⁺初始T细胞减少(图25,左下图),且此发现与肿瘤中效应记忆CD4⁺ T细胞的比例增加同时发生(图25,中间右图)。效应记忆CD4⁺及CD8⁺ T细胞参与引发抗肿瘤反应,且TIGIT定向抗体的升高可有助于抗肿瘤反应。所述显著肿瘤内T细胞群体变化中的许多并没有伴随外周中所述群体大的变化。

[0293] 在六个剂量的抗TIGIT抗体后,在开始治疗后约20天,肿瘤减少并且几乎无法检测。自所述小鼠中收获脾及血浆,且如上所述制备用于流式细胞术的细胞。如图26A-B中所示,来自所述小鼠脾的各种T细胞亚组的分析展现,各组之间的CD8⁺或CD4⁺亚组无急剧变化。

[0294] 使用多工分析评价用抗TIGIT抗体治疗的小鼠脾及血浆中细胞因子的诱导,且结果示于图27中。在与未经治疗的动物相比时,在经治疗的动物脾中未观察到细胞因子产生升高,且通常在血浆中检测到低含量的细胞因子,趋化因子LIX(鼠类IL8同系物)及伊红趋

素除外,其在未经治疗及经某些抗TIGIT抗体治疗的动物中升高。

[0295] 使用经抗TIGIT抗体开始治疗后约20天收集的脾细胞评估所述动物中针对肿瘤的抗原特异性记忆细胞生成。将上述用抗TIGIT抗体治疗的小鼠脾细胞重新悬浮于培养基中,且一式两份接种于96孔板的孔中。使细胞未经刺激或用1 μ g/ml AH1肽重新刺激,AH1肽是针对CT26结肠癌肿瘤的CD8⁺ T细胞反应的主要靶标。48小时后,收集培养上清液并藉由多工分析来分析细胞因子产生。

[0296] 如图28中所示,在不存在肽下产生极少细胞因子。有趣的例外是观察到来自无岩藻糖基化克隆13 mIgG2a治疗的动物的未刺激脾细胞所产生的IL5及IL4含量升高(图28,下图)。然而,用CT-26特异性肽刺激脾细胞会在克隆13 mIgG2a野生型及无岩藻糖基化抗体治疗的动物中、而非在克隆13 mIgG2a LALA-PG抗体治疗的动物中产生稳健的IFN γ 及TNF α 产生(图28,顶部图),指示克隆13 mIgG2a野生型及无岩藻糖基化抗体治疗能够刺激持久的抗原特异性记忆CD8⁺ T细胞反应。记忆T细胞反应的产生参与驱动长期抗肿瘤反应。亦观察到在用肽重新刺激克隆13 mIgG2a野生型及无岩藻糖基化抗体处理的脾细胞之后IL4产生增加(图28,右下图)。在未重新刺激情况下无岩藻糖基化克隆13 mIgG2a组中未刺激脾细胞中IL4及IL5的产生可表明该抗体诱导TH2反应。

实施例21:其他鼠类肿瘤模型中抗TIGIT抗体的活性

[0297] 用5mg/kg包含野生型mIgG2a抗TIGIT克隆13抗体或0.1mg/kg,1mg/kg或5mg/kg包含无岩藻糖基化mIgG2a抗TIGIT克隆13抗体处理两个鼠类同系肿瘤模型,即EMT6及E0771乳癌。给药时间表为q4dx4(每四天一剂;总共四个剂量)。量测肿瘤长度及宽度且使用下式计算肿瘤体积:体积(mm³)=0.5*长度*宽度²,其中长度是最长尺寸。

[0298] 如图29A-29B中所示,乳癌模型中的抗肿瘤反应显示肿瘤生长延迟,但治愈性反应最小。在EMT6模型中,5mg/kg的克隆13 mIgG2a野生型及无岩藻糖基化抗体两者皆显示良好肿瘤生长延迟,平均存活期自30.5天分别增加至37天及39天(图29A)。克隆13 mIgG2a无岩藻糖基化抗体的其他剂量组展现在较低剂量下活性损失,且利用1及0.1mg/kg剂量观察到仅35.2及36.8天的平均总体存活期,但与未经处理的对照相比,肿瘤生长仍延迟(图29A)。

[0299] 在E0771模型中,针对5mg/kg的克隆13 mIgG2a野生型及无岩藻糖基化抗体两者皆观察到更适度的肿瘤生长延迟,平均存活期自38.6天分别增加至44及42天(图29B)。此外,用1mg/kg及5mg/kg剂量的克隆13 mIgG2a无岩藻糖基化抗体似乎治愈六只小鼠中的一只。1mg/kg及0.1mg/kg的克隆13 mIgG2a无岩藻糖基化抗体的较低剂量组产生39天的平均总体存活期(图29B)。

[0300] 另外,在第二CT26结肠癌模型中评估1mg/kg克隆13 mIgG2a野生型抗体,该模型是自外部实验室(MI BioResearch)获得。如图29C中所示,在此CT26结肠癌模型中,克隆13 mIgG2a野生型抗体展现在治疗情况下平均总体存活期自30天增加至40天,但仅诱导一个完全消退(16%)。如图18B中所示,Seattle Genetics所维护的CT26结肠癌模型显示利用1mg/kg克隆13 IgG2a野生型抗体具有50%(3/6)的完全消退。

实施例22:RNA-Seq分析及体内反应与分子印记之相关性

[0301] 为了评估两个CT26结肠癌模型以及其他同系癌症模型的反应差异,使用RNA-seq分析来鉴别模型之间转录体中潜在的基础变化。获得每一模型的代表性未治疗肿瘤的RNA-seq原始读数(fastq格式),如下所示。

A20 (于Seattle Genetics维持), 2个复制物
 CT26 (于Seattle Genetics维持), 2个复制物
 CT26 (自MIBio获得), 1个复制物
 E0771 (自MIBio获得), 1个复制物
 EMT-6 (自MIBio获得), 1个复制物
 MC38 (于Seattle Genetics维持), 1个复制物

[0302] 在由适配体修整 (cutadapt)、与小鼠基因组/转录体比对 (STAR) 及转录本量化 (RSEM) 组成的标准管线上处理样品的RNA-seq读数。使用归一化至FPKM (片段/千碱基/百万读数) 的基因表达值进行随后分析。基于体内反应曲线的检查, 按照对WT TIGIT处理的整体反应, 将模型分类如下: 完全反应者=A20 (Seattle Genetics; 图18A)、CT26 (Seattle Genetics; 图18B) 及部分反应=CT26 (MIBio; 图29C)、EMT-6 (MIBio; 图29A)、E0771 (MIBio; 图29B)、MC38 (Seattle Genetics; 图18C)。在转录水准上观察到两个CT26结肠癌模型之间的差异, 表明对用于效能研究的模型进行表征可能是重要的。

[0303] 亦藉由编译来自两个公开来源的与免疫系统及免疫反应有关的基因印记来确定与可能与反应相关的肿瘤微环境 (TME) 有关的分子印记: Mosely等人, “Rational selection of syngeneic preclinical tumor models for immunotherapeutic drug discovery,” Cancer Immunol Res 2017; 5:29-41; 及TCIA, The Cancer Immunome Atlas (tcia.at/home), 其中印记取自Charoentong等人, “Pan-cancer Immunogenomic Analyses Reveal Genotype-Immunophenotype Relationships and Predictors of Response to Checkpoint Blockade,” Cell Rep 2017年1月3日; 18 (1): 248-262。来自所述来源的基因印记由一系列在特定生物学背景下、例如在CD8⁺ T细胞中表达较高的基因组成。TCIA基因印记是源自人的, 因此使用R文库biomaRt将这些印迹中每一个的基因映射至小鼠直向同系物。总共考虑约50个基因印记, 且藉由对印记中基因的样品FPKM值求和, 针对50个印记中的每一个对8个RNA-seq未处理的肿瘤样品中的每一个进行评分。

[0304] 为了定量评估哪个基因印记评分将强反应者与弱反应者分开, 将所有样品中印记评分的向量与反应向量相关联 (Pearson相关性, 弱反应者为0, 强反应者为1)。与反应尤其高度相关的印记包括NK细胞及活化CD8⁺ T细胞 (图30)。在两种情形下, 与较弱的反应者相比, 较强反应者对免疫亚组评分较高。表4显示某些免疫细胞亚组之间的相关性及肿瘤细胞对抗TIGIT抗体的反应。

表4:

基因印记	相关性	P值
γ δ T细胞	0.9262	0.0009
NK细胞	0.9200	0.0012
活化CD8 ⁺ T细胞	0.8535	0.0070
活化DC	-0.8437	0.0085
不成熟B细胞	0.7875	0.0203
CD96	0.7569	0.0297
CD8 ⁺ T细胞	0.7569	0.0297
CD56 ^亮 天然杀手细胞	0.7319	0.0390

T辅助17细胞	0.7139	0.0467
活化CD4 T细胞	0.7092	0.0488

[0305] 不受任何特定理论限制,由于TIGIT阻断可刺激NK细胞及CD8 T细胞介导的肿瘤杀死,因此TME中所述免疫细胞群体的更大可用池可解释那些亚组中评分更高的模型中的较强反应。

[0306] 有趣的是,TIGIT表达并非此评估中反应的有力区分者,CD155表达也不是(图31)。举例而言,Seattle Genetics CT26结肠癌模型显示所有模型的最高CD155表达,而A20淋巴瘤模型具有最低表达,但两者皆是强反应者。

实施例23:抗TIGIT抗体增强Th1反应

[0307] 为了评价克隆13抗TIGIT抗体是否有助于驱动初始抗原特异性T细胞反应,在完全弗氏佐剂(CFA)存在下向balb/c小鼠(每组5只)皮下接种100 μ g的模型抗原卵白蛋白(OVA)一次。同时,向小鼠给予1mg/kg克隆13 IgG2a野生型、无岩藻糖基化克隆13 mIgG2a或克隆13 mIgG2a LALA-PG抗体,然后再三个剂量,间隔三天(q3dx4)。疫苗接种后14天,使用抗OVA IgG1及IgG2a ELISA诱导抗原特异性免疫性来分析小鼠。重新刺激脾细胞并评价细胞因子诱导。

[0308] 抗OVA ELISA显示,在小鼠经历疫苗诱导的抗原特异性引发的同时,共同给予克隆13 IgG2a野生型或克隆13 mIgG2a LALA-PG抗体将产生的IgG1抗体的含量提高约1.5倍。在该实验中,克隆13 mIgG2a无岩藻糖基化抗体未提高抗原特异性IgG1抗体含量(图32,右图)。所述数据表明TIGIT阻断能够增加CD4/Th2反应的引发,但增强的效应功能消除此效应。TIGIT阻断亦提高IgG2a抗原特异性抗体的含量(图32,右图),但在此情形下,克隆13 mIgG2a无岩藻糖基化抗体显示最大效应。总之,在IgG1含量与增强的效应功能之间观察到反向相关性,而IgG2a含量与增强的效应功能直接相关,克隆13 mIgG2a无岩藻糖基化抗体使抗OVA IgG2a含量增加9倍以上。克隆13 IgG2a野生型及克隆13 mIgG2a LALA-PG抗体亦提高IgG2a含量,但仅提高约4倍(图32,右图)。尽管在此实验中单独TIGIT阻断不足以使此高度Th2偏好的系统(由所用小鼠品系及佐剂驱动)偏向Th1,但TIGITB阻断显示可增强Th1反应,且反应与效应功能相关。

[0309] 除了分析抗原特异性抗体产生外,亦评估抗原特异性T细胞的诱导。用1 μ g全蛋白(OVA)将来自每一小鼠的相等数目的脾细胞重新离体刺激72小时,之后进行T效应细胞因子分析。如所预计,经活化T细胞的细胞因子IL-2响应抗原重新刺激("1 μ g/ml OVA")的产生在抗原/佐剂治疗组中相对于未治疗的动物有所增加,且这在引发期间在经效应功能启动(克隆13 IgG2a野生型)或增强(无岩藻糖基化克隆13 mIgG2a)抗TIGIT抗体治疗的动物的脾细胞中进一步增加(图33,右下图)。所述结果与TIGIT阻断增强初始抗原特异性T细胞反应产生的能力一致。Th2效应细胞因子IL-5及IL-4的分析显示,在抗原重新刺激后相对于仅抗原/佐剂的情形自经抗TIGIT抗体治疗的动物产生一些额外细胞因子诱导,但观察到效应功能与反应之间的较不明显相关性(图33,左图)。对于Th1/CD8 T细胞的细胞因子IFN γ ,抗原引发事件期间的TIGIT阻断更加显著地增强抗原特异性T细胞的产生(图33,右上图)。在经效应物增强的克隆13 mIgG2a无岩藻糖基化抗体治疗的动物的脾细胞中观察到最明显的加强。

实施例24:抗TIGIT抗体诱导持久的抗肿瘤记忆CD8 T细胞

[0310] 用无岩藻糖基化克隆13 mIgG2a或未经修饰的抗体治疗后在CT26结肠癌同系肿瘤模型中显示完全反应的小鼠及四只未经治疗的小鼠用CT26结肠癌细胞再攻击。如图34中所示,在用1mg/kg或5mg/kg无岩藻糖基化克隆13 mIgG2a或未经修饰的抗体治疗后显示完全反应的小鼠似乎具有持久的抗肿瘤记忆CD8⁺ T细胞,其能够排斥再攻击的肿瘤细胞。

[0311] 尽管为了清楚理解起见,藉助说明及实施例对上述发明进行了一些详细阐述,但本领域普通技术人员应明了,可在不脱离本发明的精神及范畴的情况下对本发明作出许多修改及变化。本文所述的具体实施例仅藉助实施例提供,且并不意指以任何方式进行限制。本说明书及实施例仅可视为示例性,且本发明的实际范围及精神如权利要求所述。

实施例25:结合至Fc γ 受体的抗TIGIT抗体

[0312] 在体内,单核细胞、巨噬细胞、嗜中性细胞、树突细胞及天然杀手细胞可经由Fc γ RI、Fc γ RII及Fc γ RIIIa介导ADCP、ADCC及CDC。为了评价细胞Fc γ R结合,用人Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIb或高亲和性Fc γ RIIIa V/V受体转染CHO细胞。将细胞暴露于递增浓度的野生型、无岩藻糖基化、LALA-PG或DLE型式的克隆13IgG1抗TIGIT抗体或另一抗TIGIT抗体H5L4。使用荧光标记的抗人Fc二抗及流式细胞术监测结合。

[0313] 如图39A中所示,除IgG1 LALA-PG灭活主链外,所有抗体皆与CHO细胞表面上的Fc γ RI实质上相等地结合。无岩藻糖基化IgG1及IgG1 DLE主链展现与CHO细胞表面上Fc γ RIIIa的结合增加。图39B。野生型IgG1主链及IgG1 DLE效应物增强的主链与CHO细胞表面的Fc γ RIIa及Fc γ RIIb的结合最高。图39C及图39D。在与IgG1野生型主链相比时,无岩藻糖基化IgG1主链与Fc γ RIIa及Fc γ RIIb的结合亲和性较低,但其结合亲和性大于IgG1 LALA-PG主链。图39C及图39D。与抑制性Fc γ RIIb受体的结合减少可影响由无岩藻糖基化IgG1主链介导的免疫反应。

实施例26:抗TIGIT抗体介导的吞噬作用

[0314] 术语“抗体依赖性细胞吞噬作用”或“ADCP”指由结合至抗体的Fc区的吞噬性免疫细胞(例如巨噬细胞、嗜中性细胞及或树突细胞)全部或部分内化抗体结合的细胞的过程。

[0315] 使用人单核细胞/巨噬细胞及TIGIT阳性Jurkat T细胞分析野生型、无岩藻糖基化及DLE型式的克隆13 IgG1抗TIGIT抗体的抗体介导的吞噬作用。用递增浓度的抗TIGIT抗体将经荧光红PKH染料标记的人TIGIT阳性Jurkat T细胞调理30分钟。洗涤细胞并与单核细胞巨噬细胞以10:1的比率一起培育18小时。将样品洗涤3次,并经受流式细胞术评价吞噬作用。

[0316] 如图40中所示,野生型及无岩藻糖基化IgG1克隆13抗TIGIT抗体介导的吞噬作用程度相近,而克隆13 IgG1 DLE抗体对介导吞噬活性效力较低。

[0317] 除了ADCC及ADCP外,细胞结合的抗体的Fc区亦可活化补体经典路径且引发CDC。当补体系统与抗原复合时,补体系统的C1q结合至抗体的Fc区。C1q与细胞结合抗体的结合可引发涉及C4及C2的蛋白水解活化以产生C3转化酶的事件级联。C3由C3转化酶裂解成C3b能够活化末端补体组分,包括C5b、C6、C7、C8及C9。所述蛋白质共同地在抗体包被的细胞上形成攻膜复合孔。所述孔破坏细胞膜的完整性,从而经由补体依赖性细胞毒性或“CDC”杀死靶细胞。

[0318] 使用TIGIT+Jurkat T细胞作为靶细胞分析的野生型、无岩藻糖基化、LALA-PG及DLE型式的克隆13 IgG1抗TIGIT抗体以及H5/L4的CDC活性。在人血清(未热灭活)存在于下

37℃下在含有SYTOX®绿(其自活细胞排除,但在活化CDC及溶解时吸收)的培养基中将Jurkat细胞与递增剂量的抗体一起培育2小时。培育后,在读板仪上分析样品,减去背景信号,并藉由确定用1%Triton X溶液杀死的细胞的最大信号来计算最大溶解%。

[0319] 如图41中所示,抗TIGIT抗体皆未测试到介导的CDC活性。相反地,在此系统中,抗CD47抗体hB6H12.3介导稳健的CDC活性。抗体对CDC的诱导具有构形依赖性,且通常取决于其结合的表位。所述结果表明,由抗体结合的TIGIT表位不允许适当C1q结合。

[0320] 本文引用的所有出版物、专利、专利申请或其他文献皆以引用方式全文并入本文用于所有目的,其并入程度如同出于所有目的将每一个别出版物、专利、专利申请或其他文件个别指明以引用方式并入一般。

序列表

名称	SEQ ID NO	序列
克隆2 VH蛋白	1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDHYMDWVRQAPGKGLEWV GRTRNKANSYTTEYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYC ARGQYYYGSSSRGYYYMDVWGQGTTVTVSS
克隆2 VH DNA	2	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGAGGG TCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACCACT ACATGGACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTG GCCGTACTAGAAACAAAGCTAACAGTTACACCACAGAATACGCCGCGT CTGTGAAAGGCAGATTACCATCTCAAGAGATGATTCAAAGAACTCAC TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACGGCGGTGTACT ACTGCGCCAGAGGCCAGTACTACTACGGCAGCAGCAGCAGAGGTTACT

名称	SEQ ID NO	序列
		ACTACATGGACGTATGGGGCCAGGGAACAACCGTCACCGTCTCCTCA
克隆2 VH FR1	3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
克隆2 VH CDR1	4	FTFSDHYMD
克隆2 VH FR2	5	WVRQAPGKGLEWVG
克隆2 VH CDR2	6	RTRNKANSYTTEYAASVKG
克隆2 VH FR3	7	RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYC
克隆2 VH CDR3	8	ARGQYYYGSSSRGYYYMDV
克隆2 VH FR4	9	WGQGTITVTVSS
克隆2及2C VL蛋白	10	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYGA SSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQAVPSPLTFGGGTK VEIK
克隆2 VL DNA	11	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGG AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCT ACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCA TCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTG GCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGC CTGAAGATTTGTCAGTGTATTACTGTCAGCAGGCCGTCCTCCTCTCT CACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
克隆2 VL FR1	12	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC
克隆2及2C VL CDR1	13	RASQSVSSSYLA
克隆2 VL FR2	14	WYQQKPGQAPRLIIY
克隆2及2C VL CDR2	15	GASSRAT
克隆2 VL FR3	16	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC
克隆2及2CVL CDR3	17	QQAVPSPLT
克隆2 VL FR4	18	FGGGTKVEIK
克隆3 VH蛋白	19	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDHYMDWVRQAPGKGLEWV GRTRNKANSYTTEYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYC ARGQYYYGSSSRGYYYMDVWGQGTITVTVSS
克隆3 VH DNA	20	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGAGGG TCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACCACT ACATGGACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTG GCCGTACTAGAAACAAAGCTAACAGTTACACCACAGAATACGCCGCGT CTGTGAAAGGCAGATTCAACATCTCAAGAGATGATTCAAAGAACTCAC TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACGGCGGTGTA CTGCGCCAGAGGCCAGTACTACTACGGCAGCAGCAGCAGAGGTTACT ACTACATGGACGTATGGGGCCAGGGAACAACCGTCACCGTCTCCTCA
克隆3 VH FR1	21	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG

名称	SEQ ID NO	序列
克隆3 VH CDR1	22	FTFSDHYMD
克隆3 VH FR2	23	WVRQAPGKGLEWVG
克隆3 VH CDR2	24	RTRNKANSYTTYEAASVKG
克隆3 VH FR3	25	RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYC
克隆3 VH CDR3	26	ARGQYYYGSSSRGYYYMDV
克隆3 VH FR4	27	WGQGTTVTVSS
克隆3 VL 蛋白	28	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVRSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYG ASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQVGPPLTFGGGTK VEIK
克隆3 VL DNA	29	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGG AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGGAGCAGCT ACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCA TCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTG GCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGC CTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGTCGGACCCCCCTCAC TTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
克隆3 VL FR1	30	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSC
克隆3 VL CDR1	31	RASQSVRSSYLA
克隆3 VL FR2	32	WYQQKPGQAPRLLIY
克隆3 VL CDR2	33	GASSRAT
克隆3 VL FR3	34	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC
克隆3 VL CDR3	35	QQVGPPLT
克隆3 VL FR4	36	FGGGTKVEIK
克隆5 VH 蛋白	37	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKG PRYQDRAGMDVWGQGTITVTVSS
克隆5 VH DNA	38	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGG TCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCACCTATG CCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCT CAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGA AGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATC TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCG CCAAGGGCCCCAGATACCAAGACAGGGCAGGAATGGACGTATGGGGC CAGGGAACAACCTGTCAACGTCTCCTCA
克隆5 VH FR1	39	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
克隆5 VH CDR1	40	FTFSTYAMS
克隆5 VH FR2	41	WVRQAPGKGLEWVS
克隆5 VH CDR2	42	AISGSGGSTYYADSVKG

名称	SEQ ID NO	序列
克隆5 VH FR3	43	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
克隆5 VH CDR3	44	AKGPRYQDRAGMDV
克隆5 VH FR4	45	WGQGTTVTVSS
克隆5 VL蛋白	46	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSLATPYTFGGGTKV EIK
克隆5 VL DNA	47	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG ACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATT TAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAGCCCTAAGCTCCTGATCT ATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCA GTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGA AGATTTTGCACTTACTACTGTCTCAGCAAAGCCTCGCCACTCCTTACACT TTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
克隆5 VL FR1	48	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIC
克隆5 VL CDR1	49	RASQSISSYLN
克隆5 VL FR2	50	WYQQKPGKAPKLLIY
克隆5 VL CDR2	51	AASSLQS
克隆5 VL FR3	52	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
克隆5 VL CDR3	53	QQSLATPYT
克隆5 VL FR4	54	FGGGTKVEIK
克隆13 VH蛋白	55	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMG SIIPFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGPS EVGAILGYVWFDPWGQGLTVTVSS
克隆13 VH DNA	56	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCC TCGGTGAAGGTCTCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGCTAT GCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATG GGAAGCATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAAACCTACGCACAGAAGTTC CAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCCACGAGCACAGCCTAC ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGC GCCAGAGGCCCTTCTGAAGTAGGAGCAATACTCGGATATGTATGGTTC GACCCATGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTCTCTCTCA
克隆13 VH FR1	57	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG
克隆13 VH CDR1	58	GTFSSYAIS
克隆13 VH FR2	59	WVRQAPGQGLEWMG
克隆13 VH CDR2	60	SIIPFGTANYAQKFQG
克隆13 VH FR3	61	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC
克隆s 13及13A VH CDR3	62	ARGPSEVGAILGYVWFDP
克隆13 VH FR4	63	WGQGLTVTVSS

名称	SEQ ID NO	序列
克隆13、13A、13B、13C及13D VL蛋白	64	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQL LIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQARRIPITF GGGTKVEIK
克隆13 VL DNA	65	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAG AGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAA TGGATACAACATTTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCC ACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGAC AGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGC AGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAGGCAAGA CGAATCCCTATCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
克隆13 VL FR1	66	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISC
克隆13、13A、13B、13C及13D VL CDR1	67	RSSQSLLSNGYNYLD
克隆13 VL FR2	68	WYLQKPGQSPQLLIY
克隆13、13A、13B、13C及13D VL CDR2	69	LGSNRAS
克隆13 VL FR3	70	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC
克隆13、13A、13B、13C及13D VL CDR3	71	MQARRIPIT
克隆13 VL FR4	72	FGGGTKVEIK
克隆14 VH蛋白	73	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMG SIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGPS EVGAILGYVWFDPWGQGTLVTVSS
克隆14 VH DNA	74	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCC TCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGCTAT GCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATG GGAAGCATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAAACACGCACAGAAGTTC CAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCCACGAGCACAGCCTAC ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGC GCCAGAGGCCCTTCTGAAGTAGGAGCAATACTCGGATATGTATGGTTC GACCCATGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTCTCTCTCA
克隆14 VH FR1	75	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG
克隆14 VH CDR1	76	GTFSSYAIS
克隆14 VH FR2	77	WVRQAPGQGLEWMG
克隆14 VH CDR2	78	SIPIFGTANYAQKFQG
克隆14 VH FR3	79	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC
克隆14 VH CDR3	80	ARGPSEVGAILGYVWFDP
克隆14 VH FR4	81	WGQGTTLVTVSS
克隆14 VL蛋白	82	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQL LIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQAKRLPLT

名称	SEQ ID NO	序列
		FGGGTKVEIK
克隆14 VL DNA	83	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCCGTCACCCCTGGAG AGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAA TGGATACAACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAAAGCCAGGGCAGTCTCC ACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGAC AGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGC AGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAGGCAAAA CGACTCCCTCTCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
克隆14 VL FR1	84	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAIS
克隆14 VL CDR1	85	RSSQSLHLSNGYNYLD
克隆14 VL FR2	86	WYLQKPGQSPQLLIY
克隆14 VL CDR2	87	LGSNRAS
克隆14 VL FR3	88	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC
克隆14 VL CDR3	89	MQAKRLPLT
克隆14 VL FR4	90	FGGGTKVEIK
克隆16 VH蛋白	91	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMG GIPIFGTASYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARQST WHKLYGTDVWGQGTITVTVSS
克隆16 VH DNA	92	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCC TCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGCTAT GCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATG GGAGGGATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAAGCTACGCACAGAAGTTC CAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCCACGAGCACAGCCTAC ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGC GCAAGACAGAGCACCTGGCACAAATTGTACGGAACGGACGTATGGGG CCAGGGAACAACCTGTCACCGTCTCCTCA
克隆16 VH FR1	93	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASG
克隆16 VH CDR1	94	GTFSSYAIS
克隆16 VH FR2	95	WVRQAPGQGLEWMG
克隆16 VH CDR2	96	GIPIFGTASYAQKFQG
克隆16 VH FR3	97	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC
克隆16 VH CDR3	98	ARQSTWHKLYGTDV
克隆16 VH FR4	99	WGQGTITVTVSS
克隆16、16C、16D 及16E VL蛋白	100	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGDSLPTFGGGTK VEIK
克隆16 VL DNA	101	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAG ACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGT TAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAGCCCTAAGCTCCTGATCT ATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACAGCGCA

名称	SEQ ID NO	序列
		GTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTG AAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAGCAGGGAGACAGTCTCCCTCCTAC TTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
克隆16 VL FR1	102	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITIC
克隆16、16C、16D 及16E VL CDR1	103	RASQGISSWLA
克隆16 VL FR2	104	WYQQKPGKAPKLLIY
克隆16、16C、16D 及16E VL CDR2	105	AASSLQS
克隆16 VL FR3	106	GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC
克隆16、16C、16D 及16E VL CDR3	107	QQGDSLPT
克隆16 VL FR4	108	FGGGTKVEIK
克隆18 VH蛋白	109	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMSWVRQAPGQGLEWM GIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDYAVYYCARV RYGYADGMDVWGQGTITVTVSS
克隆18 VH DNA	110	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCC TCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTACCAGCTACT ATATGTCATGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGG GAATAATCAACCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACAGAAGTTCC AGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACA TGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCG CCAGAGTGAGGTACGGATACGCAGACGGAATGGACGTATGGGGCCAG GGAACAACCTGTCACCGTCTCCTCA
克隆18 VH FR1	111	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG
克隆18 VH CDR1	112	YTFTSYMS
克隆18 VH FR2	113	WVRQAPGQGLEWMG
克隆18 VH CDR2	114	IINPSGGSTSYAQKFQG
克隆18 VH FR3	115	RVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDYAVYYC
克隆18 VH CDR3	116	ARVRYGYADGMDV
克隆18 VH FR4	117	WGQGTITVTVSS
克隆18 VL蛋白	118	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYGAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQVYHLPFTFGGGTKV EIK
克隆18 VL DNA	119	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG ACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATT TAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCT ATGGTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCA GTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGA AGATTTTGCAACTTACTACTGTGACAGCAAGTATACCACCTCCCTTCACT

名称	SEQ ID NO	序列
		TTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
克隆18 VL FR1	120	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIC
克隆18 VL CDR1	121	RASQSISSYLN
克隆18 VL FR2	122	WYQQKPGKAPKLLIY
克隆18 VL CDR2	123	GASSLQS
克隆18 VL FR3	124	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
克隆18 VL CDR3	125	QQVYHLPFT
克隆18 VL FR4	126	FGGGTKVEIK
克隆21 VH蛋白	127	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGISSSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGS IYYSGSTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDPLY QDAPFDYWGQGLTVTVSS
克隆21 VH DNA	128	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAG ACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGTA GTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCT CAAGAGTCGAGTCACCATATCCGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGTGTACTACTG CGCCAGAGATCCTTTGTACCAAGACGCTCCCTTCGACTATTGGGGACA GGGTACATTGGTCACCGTCTCCTCA
克隆21 VH FR1	129	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSG
克隆21 VH CDR1	130	GSISSSSYYWG
克隆21 VH FR2	131	WIRQPPGKGLEWIG
克隆21 VH CDR2	132	SIYYSGSTYYNPSLKS
克隆21 VH FR3	133	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC
克隆21 VH CDR3	134	ARDPLYQDAPFDY
克隆21 VH FR4	135	WGQGLTVTVSS
克隆21 VL蛋白	136	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAS NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRANFPTFGGGTKVE IK
克隆21 VL DNA	137	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGG AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACT TAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCT ATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCA GTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTG AAGATTTTGCAGTTTATTACTGTGTCAGCAGAGAGCCAACCTCCCTACTTT TGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
克隆21 VL FR1	138	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC
克隆21 VL CDR1	139	RASQSVSSYLA
克隆21 VL FR2	140	WYQQKPGQAPRLLIY

名称	SEQ ID NO	序列
克隆21 VL CDR2	141	DASNRAT
克隆21 VL FR3	142	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC
克隆21 VL CDR3	143	QQRANFPT
克隆21 VL FR4	144	FGGGTKVEIK
克隆22 VH蛋白	145	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWAWIRQPPGKGLEWIGS IYHSGSTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGY YGSSGSVDFDLWGRGTLVTSS
克隆22 VH DNA	146	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAG ACCCTGTCCCTCACCTGCGCTGTCTCTGGTTACTCCATCAGCAGTGGTT ACTACTGGGCTTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGA TTGGGAGTATCTATCATAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAA GAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGACAGACAGGCGGTGTACTACTGCGC CAGGCAGGGATACTACTACGGCAGCAGCGGCAGTGTAGACTTCGACCT ATGGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCGTCTCCTCA
克隆22 VH FR1	147	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSG
克隆22 VH CDR1	148	YISSGYYWA
克隆22 VH FR2	149	WIRQPPGKGLEWIG
克隆22 VH CDR2	150	SIYHSGSTYYNPSLKS
克隆22 VH FR3	151	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC
克隆22 VH CDR3	152	ARQGYYYGSSGSVDFDL
克隆22 VH FR4	153	WGRGTLVTSS
克隆22 VL蛋白	154	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAA SNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSLPPWTFGGGT KVEIK
克隆22 VL DNA	155	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAG ACAGAGTCACCATCACTTGTCTGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGT TAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCT ATGCTGCATCCAATTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACAGCGGCA GTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTG AAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGGCAAATAGTCTCCCTCCTTG GACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
克隆22 VL FR1	156	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITIC
克隆22 VL CDR1	157	RASQGISSWLA
克隆22 VL FR2	158	WYQQKPGKAPKLLIY
克隆22 VL CDR2	159	AASNLS
克隆22 VL FR3	160	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
克隆22 VL CDR3	161	QQANSLPPWT

名称	SEQ ID NO	序列
克隆22 VL FR4	162	FGGGTKVEIK
克隆25 VH蛋白	163	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAISWVRQAPGQGLEWM GWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCA RDLSSFWSGDVLGAFDIWGQGTMTVSS
克隆25 VH DNA	164	CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCC TCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATG CCATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGG GATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAACTATGCACAGAAGCTCC AGGGCAGAGTCAACATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTACA TGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCGGTGTACTACTGCG CAAGGGATTTGTCTAGCTTCTGGAGCGGAGACGTGTTAGGAGCCTTCG ACATATGGGGTCAGGGTACAATGGTCACCGTCTCCTCA
克隆25 VH FR1	165	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG
克隆 25 及 25A VH CDR1	166	YTFTSYAIS
克隆25 VH FR2	167	WVRQAPGQGLEWMG
克隆 25 及 25E VH CDR2	168	WISAYNGNTNYAQKLQG
克隆25 VH FR3	169	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC
克隆 25、25A 及 25B VH CDR3	170	ARDLSSFWSGDVLGAFDI
克隆25 VH FR4	171	WGQGTMTVSS
克隆25、25A、25B、25C、25D及25E VL 蛋白	172	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSVPRFTFGGGTKVEI K
克隆25 VL DNA	173	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG ACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATT TAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCT ATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCA GTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGA AGATTTTGCAACTTACTACTGTGTCAGCAAAGCGTCCCCCAGGACTTTT GGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
克隆25 VL FR1	174	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
克隆25、25A、25B、25C、25D及25E VL CDR1	175	RASQSISSYLN
克隆25 VL FR2	176	WYQKPGKAPKLLIY
克隆25、25A、25B、25C、25D及25E VL CDR2	177	AASSLQS
克隆25 VL FR3	178	GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC

名称	SEQ ID NO	序列
克隆25、25A、25B、25C、25D及25E VL CDR3	179	QQSVPPRT
克隆25 VL FR4	180	FGGGTKVEIK
克隆27 VH蛋白	181	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAISWVRQAPGQGLEWM GWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCA RDLSSFWSGDVLGAFDIWGQGMVTVSS
克隆27 VH DNA	182	CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCC TCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATG CCATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGG GATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAACTATGCACAGAAGCTCC AGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTACA TGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCGGTGTACTACTGCG CAAGGGATTTGTCTAGCTTCTGGAGCGGAGACGTGTTAGGAGCCTTCG ACATATGGGGTCAGGGTACAATGGTCACCGTCTCTCA
克隆27 VH FR1	183	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG
克隆27 VH CDR1	184	YTFTSYAIS
克隆27 VH FR2	185	WVRQAPGQGLEWMG
克隆27 VH CDR2	186	WISAYNGNTNYAQKLQG
克隆27 VH FR3	187	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC
克隆27 VH CDR3	188	ARDLSSFWSGDVLGAFDI
克隆27 VH FR4	189	WGQGMVTVSS
克隆27 VL蛋白	190	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLIYGA STRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLSQSEDFAVYYCQQHANHITFGGGTKV EIK
克隆27 VL DNA	191	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGG GAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAAC TTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCT ATGGTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCA GTGGGTCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTG AAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCACGCCAATCACATCACTTT TGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
克隆27 VL FR1	192	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC
克隆27 VL CDR1	193	RASQSVSSNLA
克隆27 VL FR2	194	WYQQKPGQAPRLIY
克隆27 VL CDR2	195	GASTRAT
克隆27 VL FR3	196	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLSQSEDFAVYYC
克隆27 VL CDR3	197	QQHANHIT
克隆27 VL FR4	198	FGGGTKVEIK

名称	SEQ ID NO	序列
克隆54 VH蛋白	199	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEW MGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA RASDSYGVGLYYGMDVWGQGTTVTVSS
克隆54 VH DNA	200	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCC TCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTACCAGCTACT ATATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGG GAATAATCAACCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACAGAAGTTCC AGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACA TGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCG CTAGGGCATCTGACTCCTACGGAGTGGGCCTCTACTACGGAATGGACG TATGGGGCCAGGGAACAACCTGTACCGTCTCCTCA
克隆54 VH FR1	201	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG
克隆54 VH CDR1	202	YTFTSYMH
克隆54 VH FR2	203	WVRQAPGQGLEWMG
克隆54 VH CDR2	204	IINPSGGSTSYAQKFQG
克隆54 VH FR3	205	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC
克隆54 VH CDR3	206	ARASDSYGVGLYYGMDV
克隆54 VH FR4	207	WGQGTTVTVSS
克隆54 VL蛋白	208	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYG ASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYYVSPLTFGGGT KVEIK
克隆54 VL DNA	209	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGG AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGGAGCAGCT ACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCA TCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTG GCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGC CTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTACTACGTCAGTCCTCT CACTTTTGGCGGAGGGACCAAGTTGAGATCAAA
克隆54 VL FR1	210	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC
克隆54 VL CDR1	211	RASQSVRSSYLA
克隆54 VL FR2	212	WYQQKPGQAPRLLIY
克隆54 VL CDR2	213	GASSRAT
克隆54 VL FR3	214	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC
克隆54 VL CDR3	215	QQYYVSPLT
克隆54 VL FR4	216	FGGGTKVEIK
人TIGIT cDNA序列 (GenBank 登录号 NM_173799.3)	217	CGTCCTATCTGCAGTCGGCTACTTTCACTGGCAGAAGAGGCCACATCTG CTTCCTGTAGGCCCTCTGGGCAGAAGCATGCGTGGTGTCTCCTCCTGA TCTGGGCCCAGGGGCTGAGGCAGGCTCCCCTCGCCTCAGGAATGATGA CAGGCACAATAGAAACAACGGGGAACATTCTGCAGAGAAAGGTGGC TCTATCATCTTACAATGTACCTCTCCTCCACCACGGCACAAGTGACCC

名称	SEQ ID NO	序列
		AGGTCAACTGGGAGCAGCAGGACCAGCTTCTGGCCATTTGTAATGCTG ACTTGGGGTGGCACATCTCCCATCCTTCAAGGATCGAGTGGCCCCAG GTCCCGGCCTGGGCCTCACCCTCCAGTCGCTGACCGTGAACGATACAG GGGAGTACTTCTGCATCTATCACACCTACCCTGATGGGACGTACACTGG GAGAATCTTCCTGGAGGTCCTAGAAAGCTCAGTGGCTGAGCACGGTGC CAGGTTCCAGATTCCATTGCTTGGAGCCATGGCCGCGACGCTGGTGGTC ATCTGCACAGCAGTCATCGTGGTGGTCGCGTTGACTAGAAAAGAAGAAA GCCCTCAGAATCCATTCTGTGGAAGGTGACCTCAGGAGAAAATCAGCT GGACAGGAGGAATGGAGCCCCAGTGCTCCCTCACCCCAGGAAGCTGT GTCCAGGCAGAAGCTGCACCTGCTGGGCTCTGTGGAGAGCAGCGGGGA GAGGACTGTGCCGAGCTGCATGACTACTTCAATGTCCTGAGTTACAGA AGCCTGGGTAACTGCAGCTTCTTCACAGAGACTGGTTAGCAACCAGAG GCATCTTCTGGAAGATACACTTTTGTCTTTGCTATTATAGATGAATATA TAAGCAGCTGTACTCTCCATCAGTGCTGCGTGTGTGTGTGTGTGTAT GTGTGTGTGTGTTCAAGTTGAGTGAATAAAATGTCATCCTCTTCTCCATCTT CATTTCTTGGCCTTTTCGTTCTATTCCATTTTGCAATTATGGCAGGCCTA GGGTGAGTAACGTGGATCTTGATCATAAATGCAAAATTAATAAATATC TTGACCTGGTTTTAAATCTGGCAGTTTGAGCAGATCCTATGTCTCTGAG AGACACATTCCTCATAATGGCCAGCATTTTGGGCTACAAGGTTTTGTGG TTGATGATGAGGATGGCATGACTGCAGAGCCATCCTCATCTCATTTTTT CACGTCATTTTCAAGTAACCTTCACTCATTCAAAGGCAGGTTATAAGTAA GTCCTGGTAGCAGCCTCTATGGGGAGATTGAGAGTGACTAAATCTTG GTATCTGCCCTCAAGAACTTACAGTTAAATGGGGAGACAATGTTGTCA TGAAAAGGTATTATAGTAAGGAGAGAAAGGAGACATACACAGGCCTTC AGGAAGAGACGACAGTTTGGGGTGAGGTAGTTGGCATAGGCTTATCTG TGATGAAGTGGCCTGGGAGCACCAAGGGGATGTTGAGGCTAGTCTGGG AGGAGCAGGAGTTTTGTCTAGGGAACCTGTAGGAAATCTTGGAGCTG AAAGTCCCACAAAGAAGGCCCTGGCACCAAGGGAGTCAGCAAACTTC AGATTTTATTCTCTGGGCAGGCATTTCAAGTTTCCTTTTGTGTGACATA CTCATCCATTAGACAGCCTGATACAGGCCTGTAGCCTCTTCCGGCCGTG TGTGCTGGGGAAGCCCCAGGAAACGCACATGCCACACAGGGAGCCA AGTCGTAGCATTTGGGCCTTGATCTACCTTTTCTGCATCAATACACTCTT GAGCCTTTGAAAAAAGAACGTTTCCCACTAAAAAGAAAATGTGGATTT TTAAATAGGGACTCTTCCTAGGGGAAAAAGGGGGGCTGGGAGTGATA GAGGGTTTAAAAAATAAACACCTTCAAACCTAATTCTTCGAACCCTTTT ATTCACCTCCCTGACGACTTTGTGCTGGGGTTGGGGTAACTGAACCGCTT ATTTCTGTTTAATTGCATTCAGGCTGGATCTTAGAAGACTTTTATCCTTC CACCATCTCTCTCAGAGGAATGAGCGGGGAGGTTGGATTTACTGGTGA CTGATTTTCTTTCATGGGCCAAGGAACTGAAAGAGAATGTGAAGCAAG GTTGTGTCTTGCGCATGGTTAAAAATAAAGCATTGTCCTGCTTCCTAAG ACTTAGACTGGGGTTGACAATTGTTTTAGCAACAAGACAATTCAACTAT TTCTCTAGGATTTTTATTATTATTATTTTTTCACTTTTCTACCAATGG GTTACATAGGAAGAATGAACTGAAATCTGTCCAGAGCTCCAAGTCCTT TGGAAGAAAGATTAGATGAACGTAAAAATGTTGTTGTTGCTGTGGCA GTTTACAGCATTTTCTTGCAAAATTAGTGCAAATCTGTTGAAATAGA ACACAATTCACAAATTGGAAGTGAACCTAAAATGTAATGACGAAAAGG GAGTAGTGTGTTGATTGAGGAGGTGTATATCGGCAGAGGTTGGAC TGAGAGTTGGGTGTTATTAAACATAATTATGGTAATTGGGAAACATTTA

名称	SEQ ID NO	序列
		TAAACACTATTGGGATGGTGATAAAATACAAAAGGGCCTATAGATGTT AGAAATGGGTCAGGTTACTGAAATGGGATTCAATTTGAAAAAATTTT TTTAAATAGAACTCACTGAACTAGATTCTCTCTGAGAACCAGAGAAG ACCATTTTCATAGTTGGATTCTGGAGACATGCGCTATCCACCACGTAGC CACTTTCCACATGTGGCCATCAACCACTTAAGATGGGGTTAGTTTAAAT CAAGATGTGCTGTTATAATTGGTATAAGCATAAAATCACACTAGATTCT GGAGATTTAA TATGAATAATAAGAATACTATTTTCAGTAGTTTGGTATATTGTGTGTCA AAAAATGATAATATTTTGGATGTATTGGGTGAAATAAAATATTAACATT AAAAAAAAAAAA
人 TIGIT 蛋白 (GenBank 登录号 NP_776160.2)	218	MRWCLLLIWAQGLRQAPLASGMMTGTIETTNISAEEKGSILQCHLSSTT AQVTQVNWEQQDQLLAICNADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQSLTVN DTGEYFCIYHTYPDGYTGRIFLEVLESSVAEHGARFQIPLLGAMAATLVVI CTAVIVVVALTRKKKALRIHSVEGDLRRKSAGQEWSAPSPPGSCVQAE AAPAGLCGEQRGEDCAELHDYFNVLSYRSLGNCSTFTETG
食蟹猕猴TIGIT蛋白	219	MAFLVAPPMQFVYLLKTLCVFNMVFAKPGFSETVFSHRLSFTVLSAVGYF RWQKRPHLLPVSPGRSMRWCLFLIWAQGLRQAPLASGMMTGTIETTNIS SAKKGGSVILQCHLSSTMAQVTQVNWEQHDHSLAIRNAELGWHIYPAFK DRVAPGPGLGLTLQSLTMNDTGEYFCTYHTYPDGYRGRIFLEVLESSVAE HSARFQIPLLGAMAMMLVVICIAVIVVVVLARKKSLRIHSVESGLQRKST GQEEQIPSAAPSPPGSCVQAEAAPAGLCGEQQGDDCAELHDYFNVLSYRSL GSCSTFTETG
小鼠TIGIT蛋白	220	MHGWLLLVWVQGLIQAFLATGATAGTIDTKRNISAEEGGSVILQCHFSS DTAEVTQVDWKQQDQLLAISVDLGWHVASVFSDRVVPGPSLGLTFQSL TMNDTGEYFCTYHTYPGGIYKGRIFLKVQESSVAQFQTAPLGGTMAAVLG LICLMVTGVTVLARKKSIRMHSIESGLGRTEAEPQEWNLRLSSPGSPVQT QTAPAGPCGEQAEDDYADPQEYFNVLSYRSLESFIAVSKTG
克隆2C VH CDR1	221	FTFTDYMD
克隆2C VH CDR2	222	RTRNKVNSYYTEYAASVKG
克隆2C VH CDR3	223	ARGQYYYGSDRRGYYYMDV
克隆13A、13C及13D VH CDR1	224	GTFLSSAIS
克隆13A VH CDR2	225	SLIPYFGTANYAQKFQG
克隆13B VH CDR1	226	GTFSAWAIS
克隆13B及13D VH CDR2	227	SIIPYFGKANYAQKFQG
克隆13B VH CDR3	228	ARGPSEVSGILGYVWFDP
克隆13C VH CDR2	229	SIPLFGKANYAQKFQG
克隆13C及13D VH CDR3	230	ARGPSEVKILGYVWFDP
克隆16C VH CDR1	231	GTFREY AIS

名称	SEQ ID NO	序列
克隆16C VH CDR2	232	GIHPIFGTARYAQKFQG
克隆16D及16E VH CDR1	233	GTFSDYPIS
克隆16B、16D及16E VH CDR2	234	GIPIVGGANYAQKFQG
克隆16C VH CDR3	235	TRQSTWHKLYGTDV
克隆16D VH CDR3	236	TRQSTWHKLFQTDV
克隆16E VH CDR3	237	ARQSTWHKVYGTDV
克隆25A VH CDR2	238	WISAYNGNTKYAQLQG
克隆25B、25C及25D VH CDR1	239	YTFTSYPIG
克隆25B、25C及25D VH CDR2	240	WISSYNGNTNYAQLQG
克隆25C VH CDR3	241	ARGASSFWSGDVLGAFDI
克隆25D VH CDR3	242	ARDLKSFWSGDVLGAFDI
克隆25E VH CDR1	243	YTFTSYAIA
克隆25E VH CDR3	244	ARSGSSFWSGDVLGAFDI
克隆2C VH	245	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYYMDWVRQAPGKGLEWV GRTRNKVNSYYTEYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYY CARGQYYYGSDRRGYYYMDVWGQGTTTVTVSS
克隆13A VH	246	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFLSSAISWVRQAPGQGLEWMG SLIPYFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGP SEVGAILGYVWFDPWGQGTLLTVTVSS
克隆13B VH	247	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSAWAISWVRQAPGQGLEWM GSIIPYFGKANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARG PSEVSGILGYVWFDPWGQGTLLTVTVSS
克隆13C VH	248	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFLSSAISWVRQAPGQGLEWMG SIIPYFGKANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGPS EVKGILGYVWFDPWGQGTLLTVTVSS
克隆13D VH	249	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFLSSAISWVRQAPGQGLEWMG SIIPYFGKANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGP SEVKGILGYVWFDPWGQGTLLTVTVSS
克隆16C VH	250	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFREYAIWVRQAPGQGLEWMG GIHPIFGTARYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRQS TWHKLYGTDVWGQGTTTVTVSS
克隆16D VH	251	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSYDYPISWVRQAPGQGLEWMG GIPIVGGANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRQST WHKLFQTDVWGQGTTTVTVSS
克隆16E VH	252	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSYDYPISWVRQAPGQGLEWMG

名称	SEQ ID NO	序列
		GIPIVGGANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARQSTWHKVYGTDVWGQGTITVTVSS
克隆25A VH	253	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTTSYAISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTKYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLSSFWSGDVVGAFDIWGQGTMTVTVSS
克隆25B VH	254	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTTSYPIGWVRQAPGQGLEWMGWISSYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLSSFWSGDVVGAFDIWGQGTMTVTVSS
克隆25C VH	255	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTTSYPIGWVRQAPGQGLEWMGWISSYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGASSFWSGDVVGAFDIWGQGTMTVTVSS
克隆25D VH	256	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTTSYPIGWVRQAPGQGLEWMGWISSYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLKSFWSGDVVGAFDIWGQGTMTVTVSS
克隆25E VH	257	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTTSYAIWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGSSFWSGDVVGAFDIWGQGTMTVTVSS
hTIGIT 68-82表位	258	ICNADLGWHISPSFK
克隆 13 重链 hIgG1 (及无岩藻糖基化 hIgG1)核苷酸序列; 粗体指示可变区 (VH)的核苷酸序列	259	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCTGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGCTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGCATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAAACCTACGCACAGAAGTCCAGGGCAGAGTCACCATTACTGCTGATGAATCCACCAAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACTGCTGTGTACTACTGTGCCAGAGGCCCTTCTGAAGTAGGAGCAATCTGGGATATGTATGGTTTGACCCATGGGGACAGGGTACATTGGTCAACGCTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCTGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCTGCCCTGGGCTGCCTGTCAAGGACTACTTCCCTGAACCTGTGACAGTGTCTGGAACCTCAGGAGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTGCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTTTACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAG

名称	SEQ ID NO	序列
		CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC CACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGCAAA
克隆 13 重链 hIgG1 (及无岩藻糖基化 hIgG1)氨基酸序列; 粗体指示VH	260	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEW MGSIIPIFGTANYA QKFQGRVTITADEST STAYMELSSLRSEDTAVYYC ARGPSEVGAILGYVWFDPWGQG TLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
克隆 13 重链 hIgG1 LALA-PG 核苷酸序 列;粗体指示VH的核 苷酸序列	261	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG TCCTCTGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCA GCTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTG AGTGGATGGGAAGCATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAA ACTACGC ACAGAA GTTCAGGGCAGAGTCACCATTACTGCTGATGAATCCACC AGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACT GCTGTGTACTACTGTGCCAGAGGCCCTTCTGAAGTAGGAGCAATA CTGGGATATGTATGGTTTGACCCATGGGGACAGGGTACATTGGTC ACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCTGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCTGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCTGAACCTGTGACAGTGTCTTGGAACTCAGGA GCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAG GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGG CACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA ACTCACACATG CCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCTGGGGGACCGTCAGTCTTCCTC TCCCCC CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG GTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTC ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCGGGGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTTTACACCCTGCCCCCATCC CGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAA GGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGC TCCTTCTCCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC CACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGCAAA
克隆 13 重链 hIgG1 LALA-PG 氨基酸序 列;粗体指示VH	262	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEW MGSIIPIFGTANYA QKFQGRVTITADEST STAYMELSSLRSEDTAVYYC ARGPSEVGAILGYVWFDPWGQG TLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK

名称	SEQ ID NO	序列
		TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
克隆 13 重链 hIgG4 S228P 核苷酸序列； 粗体指示 VH 的核苷酸序列	263	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCTGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGCTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGCATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAAACCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATTACTGCTGATGAATCCACAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACTGCTGTGTA CTACTGTGCCAGAGGCCCTTCTGAAGTAGGAGCAATACTGGGATATGTATGGTTTGACCCATGGGGACAGGGTACATTGGTCAACGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCTGTCTTCCCCCTGGCCCTTGCTCCAGAAGCACATCTGAGAGCACAGCGGCCCTGGGATGCCTGTCAAGGACTATTTCCCTGAGCCGTGACCGTAAGCTGGAACCTCGAGGCCCTGACCGCGTGACACCTTCCCAGCTGTCTGCAGTCTTCAGGGCTCTACTCCCTCAGCAGTGTGGTGACTGTACCCTCCAGCAGCTTGGGCACCAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCAGCACAGAGTTCCTGGGGGACCATCTGTCTTCTTCCCCCAAAACCAAGGATACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGTGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACCTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAATGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCATCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAACCCCGGAACACAGGTATACACCCTGCCTCCATCCCAAGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCTGACATTGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCAGAGAACAACTACAAGACCACACCTCCCGTGTGGACTCCGATGGCTCCTTCTTCCGTACTCCCGGCTCACAGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGAAATGTCTTCTCTGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGCAAA
克隆 13 重链 hIgG4 S228P 氨基酸序列； 粗体指示 VH	264	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGSIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGPSEVGAILGYVWFD PWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
克隆 13A 重链 hIgG1 (及无岩藻糖基化 hIgG1) 核苷酸序列； 粗体指示 VH 的核苷酸序列	265	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCTGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCCTTAGCTCTGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATCTCTCATCCCTATTTTGGTACAGCAAACCTACGC

名称	SEQ ID NO	序列
酸序列		ACAGAA GTTCCAGGGCAGAGTCACCATTACTGCTGATGAATCCACC AGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACT GCTGTGTACTACTGTGCCAGAGGCCCTTCTGAAGTAGGAGCAATA CTGGGATATGTATGGTTTGACCCATGGGGACAGGGTACATTGGTC ACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCCTGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCTGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCTGAACCTGTGACAGTGTCTGGAACCTCAGGA GCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAG GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGG CACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATG CCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTC TCCCCCCTCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG GTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCTC ACCGTCTGACACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTTTACACCCTGCCCCATCC CGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAA GGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGC TCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC CACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGCAAA
克隆 13A 重链 hIgG1 (及无岩藻糖基化 hIgG1)氨基酸序列; 粗体指示VH	266	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFLSSAISWVRQAPGQGLEW MGSLIPYFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CARGPSEVGAILGYVWFDPPWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
克隆 13B 重链 hIgG1 (及无岩藻糖基化 hIgG1)核苷酸序列; 粗体指示VH的核苷 酸序列	267	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG TCCTCTGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCTCTG CCTGGGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTG AGTGGATGGGATCCATCATCCCTTATTTTGGTAAAGCAAACCTACGC ACAGAA GTTCCAGGGCAGAGTCACCATTACTGCTGATGAATCCACC AGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACT GCTGTGTACTACTGTGCCAGAGGCCCTTCTGAAGTAAGTGGTATAC TGGGATATGTATGGTTTGACCCATGGGGACAGGGTACATTGGTCA CCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCCTGTCTTCCCCCTGGCAC CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCTGCCCTGGGCTGCCTGG TCAAGGACTACTTCCCTGAACCTGTGACAGTGTCTGGAACCTCAGGAG CCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGG ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGC

名称	SEQ ID NO	序列
		ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGC CCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCT TCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGT TCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA CCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAG CCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTTTACACCCTGCCCCATCCC GGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAATAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACC ACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGCAAA
克隆 13B 重链 hIgG1 (及无岩藻糖基化 hIgG1)氨基酸序列; 粗体指示VH	268	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSAWAISWVRQAPGQGLE WMGSIIPYFGKANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVY YCARGPSEVSGILGYVWFDPWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHY TQKSLSLSPGK
克隆 13C 重链 hIgG1 (及无岩藻糖基化 hIgG1)核苷酸序列; 粗体指示VH的核苷 酸序列	269	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG TCCTCTGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCCTTA GCTCTGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTG AGTGGATGGGAAGTATCATCCCTCTGTTTGGTAAGGCAAACTACGC ACAGAAGTTCAGGGCAGAGTCACCATTACTGCTGATGAATCCACC AGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACT GCTGTGTAATACTGTGCCAGAGGCCCTTCTGAAAGTAAAGGGTATAC TGGGATATGTATGGTTTGACCCATGGGGACAGGGTACATTGGTCA CCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCCTCTGTCTTCCCCCTGGCAC CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCTGCCCTGGGCTGCCTGG TCAAGGACTACTTCCCTGAACCTGTGACAGTGTCTGGAAGTACAGGAG CCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGG ACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGC ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGC CCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCT TCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGT TCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA CCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAG

名称	SEQ ID NO	序列
		CCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTTTACACCCTGCCCCATCCC GGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACC ACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGCAAA
克隆 13C 重链 hIgG1 (及无岩藻糖基化 hIgG1)氨基酸序列; 粗体指示VH	270	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFLSSAISWVRQAPGQGLEW MGSIIPLFGKANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARGPSEVKGILGYVWFDPWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
克隆 13D 重链 hIgG1 (及无岩藻糖基化 hIgG1)核苷酸序列; 粗体指示VH的核苷 酸序列	271	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG TCCTCTGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCCTTA GCTCTGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTG AGTGGATGGGATCCATCATCCCTTATTTTGGTAAGGCAAACTACGC ACAGAA GTTCCAGGGCAGAGTCACCATTACTGCTGATGAATCCACC AGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACT GCTGTGTACTACTGTGCCAGAGGCCCTTCTGAAGTAAAGGGTATAC TGGGATATGTATGGTTTGACCCATGGGGACAGGTACATTGGTCA CCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCTGTCTTCCCCCTGGCAC CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCTGCCCTGGGCTGCCTGG TCAAGGACTACTTCCCTGAACCTGTGACAGTGTCTGGAAGTCAAGGAG CCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGG ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGC ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGC CCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCT TCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGT TCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA CCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAG CCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTTTACACCCTGCCCCATCCC GGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACC ACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGCAAA
克隆 13D 重链 hIgG1	272	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFLSSAISWVRQAPGQGLEW

名称	SEQ ID NO	序列
(及无岩藻糖基化hIgG1)氨基酸序列；粗体指示VH		MGSII PFYFGKANYA QKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CARGPSEVKGILGYVWFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
克隆13、13A、13B、13C及13D轻链hc(及无岩藻糖基化)核苷酸序列；粗体指示VL的核苷酸序列	273	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTG GAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGC ATAGTAATGGATACA ACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCTCC GGGGTCCCTGACAGGTTCA GTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTT ACACTGAAAA TCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTAT TACTGCATGCAGGCAAGACGAATCCCTATCACTTTTGGCGGAGGG ACCAAGGTTGAGATCAA ACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
克隆13、13A、13B、13C及13D轻链hc(及无岩藻糖基化)氨基酸序列；粗体指示VL	274	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL LHNSGYNLDWYLQKP QSPQLLIY LGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQAR RIPITFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
克隆13重链mIgG2a(及无岩藻糖基化)核苷酸序列；粗体指示VH的核苷酸序列	275	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG TCCTCTGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCA GCTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTG AGTGGATGGGAAGCATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAA ACTACGCACAGAA GTTCAGGGCAGAGTCACCATTA CTGCTGATGAATCCAC AGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACT GCTGTGTA CTACTGTGCCAGAGGCCCTTCTGAAGTAGGAGCAATA CTGGGATATGTATGGTTTGACCCATGGGGACAGGGTACATTGGTC ACCGTCTCCTCAGCTAAAA CAACAGCCCCATCGGTCTATCCGCTAGCCCTGTGTGTGGAGATACAACTGGCTCCTCGGTGACTCTAGGATGCCTGGTCAAGGGTTATTTCCCTGAGCCAGTGACCTTGACCTGGAACCTCTGGATCCCTGTCCAGTGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCTGCAGTCTGACCTCTACACCTCAGCAGCTCAGTGACTGTAACTCTAGCACCTGGCCCAGCCAGTCCATCACCTGCAATGTGGCCCAACCGGCAAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATTGAGCCCAGAGGGCCCAATCAAGCCCTGTCTCCATGCAAATGCCCAGCACCTAACGCTGCTGGTGGACCATCCGTCTTCATCTTCCCTCCAAAGATCAAGGATGTACTCATGATCTCCCTGAGCCCCATAGTCACATGTGTGGTGGTGGATGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTCCAGATC

名称	SEQ ID NO	序列
		AGCTGGTTTGTGAACAACGTGGAAGTACACACAGCTCAGACACAAACC CATAGAGAGGATTACAACAGTACTCTCCGGGTGGTCAGTGCCTCCCC ATCCAGCACCAGGACTGGATGAGTGGCAAGGAGTTCAAATGCAAGGTC AACAACAAAGACCTCGGGGCGCCATCGAGAGAACCATCTCAAAACCC AAAGGCTCAGTAAGAGCTCCACAGGTATATGTCTTGCCTCCACCAGAA GAAGAGATGACTAAGAAACAGGTCACTCTGACCTGCATGGTCACAGAC TTCATGCCTGAAGACATTTACGTGGAGTGGACCAACAACGGGAAAACA GAGCTAACTACAAGAACACTGAACCAGTCCTGGACTCTGATGGTTCT TACTTCATGTACAGCAAGCTGAGAGTGGAAAAGAAGAACTGGGTGGA AAGAAATAGCTACTCTGTTCAGTGGTCCACGAGGGTCTGCACAATCA CCACACGACTAAGAGCTTCTCCCGGACTCCGGGCAAA
克隆 13 重链 mIgG2a (及无岩藻糖基化)氨 基酸序列；粗体指示 VH	276	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEW MGSIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARGPSEVGAILGYVWFDPWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDIT GSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTV TSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQT HREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMMSGKEFKCKVNKNDLGAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELN YKNTPEVLDSGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTK SFSRTPGK
克隆 13 重链 mIgG2a LALA-PG 核苷酸序列；粗体指 示VH的核苷酸序列	277	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG TCCTCTGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCA GCTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTG AGTGGATGGGAAGCATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAAACCTACGC ACAGAAGTTCAGGGCAGAGTCACCATTACTGCTGATGAATCCACC AGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACT GCTGTGTACTACTGTGCCAGAGGCCCTTCTGAAGTAGGAGCAATA CTGGGATATGTATGGTTTGACCCATGGGGACAGGGTACATTGGTC ACCGTCTCCTCAGCTAAAAACAACAGCCCCATCGGTCTATCCGCTAGCC CCTGTGTGTGGAGATACAACCTGGCTCCTCGGTGACTCTAGGATGCCTGG TCAAGGGTTATTTCCCTGAGCCAGTGACCTTGACCTGGAACCTCTGGATC CCTGTCCAGTGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCTGCAGTCTGACCTC TACACCCTCAGCAGCTCAGTGACTGTAACCTCTAGCACCTGGCCCAGCC AGTCCATCACCTGCAATGTGGCCCACCCGGCAAGCAGCACCAAGGTGG ACAAGAAAATTGAGCCCAGAGGGCCCACAATCAAGCCCTGTCTCCAT GCAAATGCCAGCACCTAACGCTGCTGGTGGACCATCCGTCTTCATCTT CCCTCCAAAGATCAAGGATGTACTCATGATCTCCCTGAGCCCCATAGTC ACATGTGTGGTGGTGGATGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTCCAGATC AGCTGGTTTGTGAACAACGTGGAAGTACACACAGCTCAGACACAAACC CATAGAGAGGATTACAACAGTACTCTCCGGGTGGTCAGTGCCTCCCC ATCCAGCACCAGGACTGGATGAGTGGCAAGGAGTTCAAATGCAAGGTC AACAACAAAGACCTCGGGGCGCCATCGAGAGAACCATCTCAAAACCC AAAGGCTCAGTAAGAGCTCCACAGGTATATGTCTTGCCTCCACCAGAA GAAGAGATGACTAAGAAACAGGTCACTCTGACCTGCATGGTCACAGAC TTCATGCCTGAAGACATTTACGTGGAGTGGACCAACAACGGGAAAACA GAGCTAACTACAAGAACACTGAACCAGTCCTGGACTCTGATGGTTCT TACTTCATGTACAGCAAGCTGAGAGTGGAAAAGAAGAACTGGGTGGA

名称	SEQ ID NO	序列
		AAGAAATAGCTACTCCTGTTCAAGTGGTCCACGAGGGTCTGCACAATCA CCACACGACTAAGAGCTTCTCCCGGACTCCGGGCAAA
克隆13重链mIgG2a LALA-PG 氨基酸序列；粗体指示VH	278	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEW MGSIIPIFGTANYA QKFQGRVTITADEST STAYMELSSLRSEDTAVYYC ARGPSEVGAILGYVWFD PWGQGT LVTVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDIT GSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTV TSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDDKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMIPLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQT HREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMMSGKEFKCKVNNDLGLAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIIYVEWTNNGKTELN YKNTPEVLDSGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTK SFSRTPGK
克隆13重链mIgG1核 苷酸序列；粗体指示 VH的核苷酸序列	279	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG TCCTCTGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCA GCTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTG AGTGGATGGGAAGCATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAA ACTACGC ACAGAA GTTCAGGGCAGAGTCACCATTACTGCTGATGAATCCACC AGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACT GCTGTGTACTACTGTGCCAGAGGCCCTTCTGAAGTAGGAGCAATA CTGGGATATGTATGGTTTGACCCATGGGGACAGGGTACATTGGTC ACCGTCTCCTCAGCCAAAACGACACCCCCATCTGTCTATCCGCTAGCC CCTGGATCTGCTGCCAAACTAACTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGG TCAAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGACCTGGAACCTGGAT CCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCTTCCAGCTGTCTGGAGTCTGACCT CTAACTCTGAGCAGCTCAGTGACTGTCCCTCCAGCCCTCGGCCAGC GAGACCGTCACCTGCAACGTTGCCACCCGGCCAGCAGCACCAAGGTG GACAAGAAAATTGTGCCAGGGATTGTGGTTGTAAGCCTTGCATCTGT ACAGTCCAGAAAGTATCATCTGTCTTCATCTTCCCCCAAAGCCCAAGG ATGTGCTCACCATTACTCTGACTCCTAAGGTCACGTGTGTTGTGGTAGA CATCAGCAAGGATGATCCCGAGGTCCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATGA TGTGGAGGTGCACACAGCTCAGACGCAACCCCGGGAGGAGCAGTTCAA CAGCACTTTCCGCTCAGTCAGTGAACTTCCCATCATGCACCAGGACTGG CTCAATGGCAAGGAGTTCAAATGCAGGGTCAACAGTGACGCTTTCCCT GCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGCAGACCGAAGGCT CCACAGGTGTACACCATTCACCTCCCAAGGAGCAGATGGCCAAGGAT AAAGTCAGTCTGACCTGCATGATAACAGACTTCTTCCCTGAAGACATTA CTGTGGAGTGGCAGTGGAATGGGCAGCCAGCGGAGAACTACAAGAAC ACTCAGCCCATCATGAACACGAATGGCTCTTACTTCGTCTACAGCAAGC TCAATGTGCAGAAGAGCAACTGGGAGGCAGGAAATACTTTACCTGCT CTGTGTTACATGAGGGCTGCACAACCACCATCTGAGAAGAGCCTCT CCCACTCTCTGGCAAA
克隆13重链mIgG1氨 基酸序列；粗体指示 VH	280	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEW MGSIIPIFGTANYA QKFQGRVTITADEST STAYMELSSLRSEDTAVYYC ARGPSEVGAILGYVWFD PWGQGT LVTVSSAKTTAPSVYPLAPG SAAQT NSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLESGLYTLSSSVTV PSSRPSETVTCNVAHPASSTKVDDKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPK PKDVLITITLTPKVTCTVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQF

名称	SEQ ID NO	序列
		NSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQ VYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPI MNTNGSYFVYSKLVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTTEKSLSHSPG K
克隆13轻链mk核苷酸序列；粗体指示VH的核苷酸序列	281	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTG GAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGC ATAGTAATGGATACAAC TATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCTCC GGGGTCCCTGACAGGTTCA GTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTT ACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTAT TACTGCATGCAGGCAAGACGAATCCCTATCACTTTTGGCGGAGGG ACCAAGGTTGAGATCAAACGTGCAGATGCGGCGCCAACTGTATCCAT CTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTG TGCTTCTTGAACAACTTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAG ATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGCGTCCTGAACAGTTGGACTGAT CAGGACAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGCACCCCTACGTTG ACCAAGGACGAGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACT CACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAG TGT
克隆13轻链mk氨基酸序列；粗体指示VL	282	DIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSP QLLIYLG SNRASGV PDRFSGSGSDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQAR RIPITFGGGTKVEIKRADAAPT VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLN FYPKDI NVKWKIDG SERQNGVLNSWTDQ SKDSTYSMS TLTLTKDEYERHNSYT CEATHK TSTSPIVK SFNRNEC

序列表

<110> 西进公司 (SEAGEN INC.)

<120> 抗TIGIT抗体

<130> 01218-0001-00PCT

<150> US 62/722,063

<151> 2018-08-23

<150> US 62/734,130

<151> 2018-09-20

<150> US 62/822,674

<151> 2019-03-22

<160> 309

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 128

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2 VH蛋白

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His

20 25 30

Tyr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Gly Gln Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Ser Arg Gly Tyr

100 105 110

Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 2

<211> 384

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2 VH DNA

<400> 2

```
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttgggtccagc ctggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gaccactaca tggactgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggttggccgt actagaaaca aagctaacag ttacaccaca 180
gaatacgccg cgtctgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaagaactca 240
ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacgg cgggtgtacta ctgcgccaga 300
ggccagtact actacggcag cagcagcaga ggttactact acatggacgt atggggccag 360
ggaacaaccg tcaccgtctc ctca 384
```

<210> 3

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2 VH FR1

<400> 3

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
           20           25
```

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2 VH CDR1

<400> 4

```
Phe Thr Phe Ser Asp His Tyr Met Asp
1           5
```

<210> 5

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2 VH FR2

<400> 5

```
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly
```

1 5 10
<210> 6
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成:克隆2 VH CDR2
<400> 6
Arg Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly
<210> 7
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成:克隆2 VH FR3
<400> 7
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15
Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30
<210> 8
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成:克隆2 VH CDR3
<400> 8
Ala Arg Gly Gln Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Ser Arg Gly Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15
Met Asp Val
<210> 9
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成:克隆2 VH FR4
<400> 9

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 10

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2及2C VL蛋白

<400> 10

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Val Pro Ser Pro

85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 11

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2 VL DNA

<400> 11

gaaatttgtg tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagggttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccagget cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggccgtcc ccagtctctc cacttttggc 300

ggagggacca aggttgagat caaa 324

<210> 12

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2 VL FR1

<400> 12

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys

20

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2及2C VL CDR1

<400> 13

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 14

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2 VL FR2

<400> 14

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2及2C VL CDR2

<400> 15

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 16

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2 VL FR3

<400> 16

Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	
Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2及2CVL CDR3

<400> 17

Gln	Gln	Ala	Val	Pro	Ser	Pro	Leu	Thr
1				5				

<210> 18

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2 VL FR4

<400> 18

Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
1				5				10	

<210> 19

<211> 128

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VH蛋白

<400> 19

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	His
			20					25					30		
Tyr	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Gly	Arg	Thr	Arg	Asn	Lys	Ala	Asn	Ser	Tyr	Thr	Thr	Glu	Tyr	Ala	Ala

50	55	60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser		
65	70	75
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
85	90	95
Tyr Cys Ala Arg Gly Gln Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Ser Arg Gly Tyr		
100	105	110
Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser		
115	120	125

<210> 20

<211> 384

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VH DNA

<400> 20

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggagggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gaccactaca tggactgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt actagaaaca aagctaacag ttacaccaca 180
 gaatacgccg cgtctgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaagaactca 240
 ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacgg cggtgtacta ctgcgccaga 300
 ggccagtact actacggcag cagcagcaga ggttactact acatggacgt atggggccag 360
 ggaacaaccg tcaccgtctc ctca 384

<210> 21

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VH FR1

<400> 21

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
20 25

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VH CDR1

<400> 22

Phe Thr Phe Ser Asp His Tyr Met Asp

1 5

<210> 23

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VH FR2

<400> 23

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly

1 5 10

<210> 24

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VH CDR2

<400> 24

Arg Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 25

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VH FR3

<400> 25

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 26

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VH CDR3

<400> 26

Ala Arg Gly Gln Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Ser Arg Gly Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 27

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VH FR4

<400> 27

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 28

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VL蛋白

<400> 28

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Gly Pro Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 29

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VL DNA

<400> 29

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagggttagg agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggtcggac cccccctcac ttttggcgga 300
gggaccaagg ttgagatcaa a 321

<210> 30

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VL FR1

<400> 30

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
20

<210> 31

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VL CDR1

<400> 31

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 32

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VL FR2

<400> 32

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 33

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VL CDR2

<400> 33

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 34

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VL FR3

<400> 34

Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 35

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VL CDR3

<400> 35

Gln Gln Val Gly Pro Pro Leu Thr

1 5

<210> 36

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆3 VL FR4

<400> 36

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 37

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆5 VH蛋白

<400> 37

```

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
           20           25           30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
           35           40           45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
           50           55           60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65           70           75           80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
           85           90           95
Ala Lys Gly Pro Arg Tyr Gln Asp Arg Ala Gly Met Asp Val Trp Gly
           100          105          110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
           115          120

```

<210> 38

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆5 VH DNA

<400> 38

```

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc acctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggcggtgt actactgcgc caagggcccc 300
agataccaag acagggcagg aatggacgta tggggccagg gaacaactgt caccgtctcc 360
tca 363

```

<210> 39

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆5 VH FR1

<400> 39

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly

20 25

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆5 VH CDR1

<400> 40

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 41

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆5 VH FR2

<400> 41

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser

1 5 10

<210> 42

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆5 VH CDR2

<400> 42

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 43

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆5 VH FR3

<400> 43

Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln
1				5					10					15	
Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
			20					25					30		

<210> 44

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆5 VH CDR3

<400> 44

Ala	Lys	Gly	Pro	Arg	Tyr	Gln	Asp	Arg	Ala	Gly	Met	Asp	Val
1				5					10				

<210> 45

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆5 VH FR4

<400> 45

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

<210> 46

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆5 VL蛋白

<400> 46

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Ser	Ser	Tyr
			20					25						30	
Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
			35				40					45			
Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly

50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65	70	75
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Leu Ala Thr Pro Tyr		
85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100	105	

<210> 47

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆5 VL DNA

<400> 47

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactetca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcagcaa agcctcgcca ctccttacac ttttggcgga 300
 gggaccaagg ttgagatcaa a 321

<210> 48

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆5 VL FR1

<400> 48

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 49

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆5 VL CDR1

<400> 49

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1	5	10
<210> 50		
<211> 15		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成:克隆5 VL FR2		
<400> 50		
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr		
1	5	10 15
<210> 51		
<211> 7		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成:克隆5 VL CDR2		
<400> 51		
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser		
1	5	
<210> 52		
<211> 32		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成:克隆5 VL FR3		
<400> 52		
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr		
1	5	10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys		
	20	25 30
<210> 53		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成:克隆5 VL CDR3		
<400> 53		
Gln Gln Ser Leu Ala Thr Pro Tyr Thr		
1	5	

<210> 54

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆5 VL FR4

<400> 54

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 55

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13 VH蛋白

<400> 55

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ser Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Pro Ser Glu Val Gly Ala Ile Leu Gly Tyr Val Trp Phe

100 105 110

Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 56

<211> 375

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13 VH DNA

<400> 56

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaagc atcatcccta tcttttgtac agcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcgggtg actactgcgc cagaggccct 300
tctgaagtag gagcaatact cggatatgta tggttcgacc catggggaca ggtacattg 360
gtcaccgctc cctca 375

<210> 57

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13 VH FR1

<400> 57

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly						
				20					25						

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13 VH CDR1

<400> 58

Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Ala	Ile	Ser
1				5				

<210> 59

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13 VH FR2

<400> 59

Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly
1				5					10				

<210> 60

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13 VH CDR2

<400> 60

Ser Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 61

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13 VH FR3

<400> 61

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu

1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 62

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13及13A VH CDR3

<400> 62

Ala Arg Gly Pro Ser Glu Val Gly Ala Ile Leu Gly Tyr Val Trp Phe

1 5 10 15

Asp Pro

<210> 63

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13 VH FR4

<400> 63

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 64

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13、13A、13B、13C及13D VL蛋白

<400> 64

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1           5           10           15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
           20           25           30
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
           35           40           45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
           50           55           60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65           70           75           80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
           85           90           95
Arg Arg Ile Pro Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           100          105          110

```

<210> 65

<211> 336

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13 VL DNA

<400> 65

```

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatctt atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaggcaag acgaatccct 300
atcacttttg gcggagggac caaggttgag atcaaa 336

```

<210> 66

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13 VL FR1

<400> 66

1	5	10	15
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys			
	20	25	30

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13、13A、13B、13C及13D VL CDR3

<400> 71

Met Gln Ala Arg Arg Ile Pro Ile Thr

1	5
---	---

<210> 72

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13 VL FR4

<400> 72

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1	5	10
---	---	----

<210> 73

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VH蛋白

<400> 73

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20	25	30
----	----	----

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35	40	45
----	----	----

Gly Ser Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50	55	60
----	----	----

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65	70	75	80
----	----	----	----

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

	85		90		95	
Ala Arg Gly Pro Ser Glu Val Gly	Ala Ile Leu Gly Tyr Val Trp Phe					
100	105		110			
Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser						
115	120		125			
<210> 74						
<211> 375						
<212> DNA						
<213> 人工序列						
<220>						
<223> 合成:克隆14 VH DNA						
<400> 74						
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc	60					
tcttgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc	120					
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaagc atcatcccta tcttttggtac agcaaactac	180					
gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac	240					
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcggtgt actactgcgc cagaggccct	300					
tctgaagtag gagcaatact cggatatgta tggttcgacc catggggaca gggtacattg	360					
gtcaccgtct cctca	375					
<210> 75						
<211> 26						
<212> PRT						
<213> 人工序列						
<220>						
<223> 合成:克隆14 VH FR1						
<400> 75						
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser						
1 5 10 15						
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly						
20 25						
<210> 76						
<211> 9						
<212> PRT						
<213> 人工序列						
<220>						
<223> 合成:克隆14 VH CDR1						
<400> 76						
Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser						
1 5						

<210> 77

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VH FR2

<400> 77

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

<210> 78

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VH CDR2

<400> 78

Ser Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 79

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VH FR3

<400> 79

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu

1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 80

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VH CDR3

<400> 80

Ala Arg Gly Pro Ser Glu Val Gly Ala Ile Leu Gly Tyr Val Trp Phe

1 5 10 15

Asp Pro

<210> 81

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VH FR4

<400> 81

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 82

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VL蛋白

<400> 82

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Lys Arg Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 83

<211> 336

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VL DNA

<400> 83

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60

atctcctgca ggtctagtca gaggctcctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacagggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaggcaaa acgactccct 300
ctcacttttg gcggaggggac caagggttgag atcaaa 336

<210> 84

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VL FR1

<400> 84

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 85

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VL CDR1

<400> 85

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp

1 5 10 15

<210> 86

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VL FR2

<400> 86

Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 87

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VL CDR2

<400> 87

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser

1 5

<210> 88

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VL FR3

<400> 88

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 89

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VL CDR3

<400> 89

Met Gln Ala Lys Arg Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 90

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆14 VL FR4

<400> 90

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 91

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16 VH蛋白

<400> 91

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gln Ser Thr Trp His Lys Leu Tyr Gly Thr Asp Val Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 92

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16 VH DNA

<400> 92

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatcccta tcttttgtac agcaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcggtgt actactgcgc aagacagagc 300
 acctggcaca aattgtacgg aacggacgta tggggccagg gaacaactgt caccgtctcc 360
 tca 363

<210> 93

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16 VH FR1

<400> 93

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly			
	20	25	

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16 VH CDR1

<400> 94

Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser

1	5
---	---

<210> 95

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16 VH FR2

<400> 95

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1	5	10
---	---	----

<210> 96

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16 VH CDR2

<400> 96

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 97

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16 VH FR3

<400> 97

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu

1	5	10	15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	20	25	30
<210> 98			
<211> 14			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成:克隆16 VH CDR3			
<400> 98			
Ala Arg Gln Ser Thr Trp His Lys Leu Tyr Gly Thr Asp Val			
1	5	10	
<210> 99			
<211> 11			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成:克隆16 VH FR4			
<400> 99			
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser			
1	5	10	
<210> 100			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成:克隆16、16C、16D及16E VL蛋白			
<400> 100			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp			
	20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
	35	40	45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Leu Pro Pro			

85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100	105	
<210> 101		
<211> 321		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成:克隆16 VL DNA		
<400> 101		
gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60		
atcacttgtc gggcgagtca ggggtattag agctggttag cctgggtatca gcagaaacca 120		
gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180		
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240		
gaagattttg caacttatta ctgtcagcag ggagacagtc tccctcctac ttttggcgga 300		
gggaccaagg ttgagatcaa a 321		
<210> 102		
<211> 23		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成:克隆16 VL FR1		
<400> 102		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly		
1 5 10 15		
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys		
20		
<210> 103		
<211> 11		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成:克隆16、16C、16D及16E VL CDR1		
<400> 103		
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala		
1 5 10		
<210> 104		
<211> 15		
<212> PRT		

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16 VL FR2

<400> 104

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 105

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16、16C、16D及16E VL CDR2

<400> 105

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 106

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16 VL FR3

<400> 106

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 107

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16、16C、16D及16E VL CDR3

<400> 107

Gln Gln Gly Asp Ser Leu Pro Pro Thr

1 5

<210> 108

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16 VL FR4

<400> 108

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 109

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VH蛋白

<400> 109

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Val Arg Tyr Gly Tyr Ala Asp Gly Met Asp Val Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 110

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VH DNA

<400> 110

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
tcttgcaagg catctggata caccttcacc agctactata tgtcatgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcgggtgt actactgcgc cagagtgagg 300
tacggatacg cagacggaat ggacgtatgg ggccagggaa caactgtcac cgtctcctca 360

<210> 111

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VH FR1

<400> 111

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly

20 25

<210> 112

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VH CDR1

<400> 112

Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met Ser

1 5

<210> 113

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VH FR2

<400> 113

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

<210> 114

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VH CDR2

<400> 114

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 115

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VH FR3

<400> 115

Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu

1	5	10	15
---	---	----	----

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20	25	30
----	----	----

<210> 116

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VH CDR3

<400> 116

Ala Arg Val Arg Tyr Gly Tyr Ala Asp Gly Met Asp Val

1	5	10
---	---	----

<210> 117

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VH FR4

<400> 117

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1	5	10
---	---	----

<210> 118

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VL蛋白

<400> 118

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1	5	10	15
Asp Arg Val Thr	Ile Thr Cys Arg	Ala Ser Gln Ser	Ile Ser Ser Tyr
20	25	30	
Leu Asn Trp Tyr	Gln Gln Lys Pro	Gly Lys Ala Pro	Lys Leu Leu Ile
35	40	45	
Tyr Gly Ala Ser	Ser Leu Gln Ser	Gly Val Pro Ser	Arg Phe Ser Gly
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly	Thr Asp Phe Thr	Leu Thr Ile Ser	Ser Leu Gln Pro
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala	Thr Tyr Tyr Cys	Gln Gln Val Tyr	His Leu Pro Phe
85	90	95	
Thr Phe Gly Gly	Gly Thr Lys Val	Glu Ile Lys	
100	105		

<210> 119

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VL DNA

<400> 119

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatggt gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcagcaa gtataccacc tccctttcac ttttggcgga 300
 gggaccaagg ttgagatcaa a 321

<210> 120

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VL FR1

<400> 120

Asp Ile Gln Met	Thr Gln Ser Pro	Ser Ser Leu Ser	Ala Ser Val Gly
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr	Ile Thr Cys		
20			

<210> 121

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VL CDR1

<400> 121

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 122

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VL FR2

<400> 122

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 123

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VL CDR2

<400> 123

Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 124

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VL FR3

<400> 124

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 125

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VL CDR3

<400> 125

Gln Gln Val Tyr His Leu Pro Phe Thr

1 5

<210> 126

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆18 VL FR4

<400> 126

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 127

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VH蛋白

<400> 127

Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Asp Pro Leu Tyr Gln Asp Ala Pro Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 128

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VH DNA

<400> 128

```
cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtagtagtt actactgggg ctggatccgc 120
cagccccccag ggaaggggct ggagtggatt gggagtatct attatagtgg gagcacctac 180
tacaacccgt ccctcaagag tcgagtcacc atatccgtag acacgtccaa gaaccagttc 240
tccttgaagc tgagttctgt gaccgccgca gacacggcgg tgtactactg cgccagagat 300
cctttgtacc aagacgctcc cttcgactat tggggacagg gtacattggt caccgtctcc 360
tca 363
```

<210> 129

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VH FR1

<400> 129

```
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1           5           10           15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly
           20           25
```

<210> 130

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VH CDR1

<400> 130

```
Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly
1           5           10
```

<210> 131

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VH FR2

<400> 131

Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly

1 5 10

<210> 132

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VH CDR2

<400> 132

Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 133

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VH FR3

<400> 133

Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys

1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 134

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VH CDR3

<400> 134

Ala Arg Asp Pro Leu Tyr Gln Asp Ala Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 135

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VH FR4

<400> 135

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 136

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VL蛋白

<400> 136

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ala Asn Phe Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 137

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VL DNA

<400> 137

gaaatttgtg tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagggttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag agagccaact tccctacttt tggcggaggg 300
accaaggttg agatcaaa 318

<210> 138

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VL FR1

<400> 138

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys

20

<210> 139

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VL CDR1

<400> 139

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 140

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VL FR2

<400> 140

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 141

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VL CDR2

<400> 141

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 142

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VL FR3

<400> 142

Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 143

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VL CDR3

<400> 143

Gln	Gln	Arg	Ala	Asn	Phe	Pro	Thr
1				5			

<210> 144

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆21 VL FR4

<400> 144

Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
1				5				10	

<210> 145

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VH蛋白

<400> 145

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Ser	Gly	Tyr	Ser	Ile	Ser	Ser	Gly
			20						25				30		
Tyr	Tyr	Trp	Ala	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
			35				40					45			
Ile	Gly	Ser	Ile	Tyr	His	Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu

50	55	60
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser		
65	70	75
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Gln Gly Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Gly Ser Val Asp Phe Asp		
100	105	110
Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115	120	

<210> 146

<211> 372

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VH DNA

<400> 146

```

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc agtgggttact actgggcttg gatccggcag 120
ccccagggga aggggctgga gtggattggg agtatctatc atagtgggag cacctactac 180
aaccgcgtccc tcaagagtcg agtcaccata tcagtagaca cgtccaagaa ccagttcttc 240
ctgaagctga gttctgtgac cgccgcagac acggcggtgt actactgcgc caggcaggga 300
tactactacg gcagcagcgg cagtgtagac ttcgacctat gggggagagg taccttggtc 360
accgtctcct ca 372

```

<210> 147

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VH FR1

<400> 147

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly
20 25

<210> 148

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VH CDR1

<400> 148

Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Tyr Tyr Trp Ala

1 5 10

<210> 149

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VH FR2

<400> 149

Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly

1 5 10

<210> 150

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VH CDR2

<400> 150

Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 151

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VH FR3

<400> 151

Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys

1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 152

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VH CDR3

<400> 152

Ala Arg Gln Gly Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Gly Ser Val Asp Phe Asp
1 5 10 15

Leu

<210> 153

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VH FR4

<400> 153

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 154

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VL蛋白

<400> 154

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Leu Pro Pro
85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 155

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VL DNA

<400> 155

```
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc agctggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccaatt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag gcaaatagtc tccctccttg gacttttggc 300
ggagggacca aggttgagat caaa 324
```

<210> 156

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VL FR1

<400> 156

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
                20
```

<210> 157

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VL CDR1

<400> 157

```
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1           5           10
```

<210> 158

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VL FR2

<400> 158

```
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1           5           10           15
```

<210> 159

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VL CDR2

<400> 159

Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser

1 5

<210> 160

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VL FR3

<400> 160

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 161

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VL CDR3

<400> 161

Gln Gln Ala Asn Ser Leu Pro Pro Trp Thr

1 5 10

<210> 162

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆22 VL FR4

<400> 162

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 163

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25 VH蛋白

<400> 163

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
          20          25          30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
          35          40          45
Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
          50          55          60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65          70          75          80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
          85          90          95
Ala Arg Asp Leu Ser Ser Phe Trp Ser Gly Asp Val Leu Gly Ala Phe
          100         105         110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
          115         120         125
```

<210> 164

<211> 375

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25 VH DNA

<400> 164

```
caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agctatgcca tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggcggtgt actactgcgc aagggatttg 300
tctagcttct ggagcggaga cgtgttagga gccttcgaca tatgggggtca ggggtacaatg 360
gtcaccgtct cctca 375
```

<210> 165

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25 VH FR1

<400> 165

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly

20 25

<210> 166

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25及25A VH CDR1

<400> 166

Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 167

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25 VH FR2

<400> 167

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

<210> 168

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25及25E VH CDR2

<400> 168

Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 169

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25 VH FR3

<400> 169

Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu

1 5 10 15

Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 170

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25、25A及25B VH CDR3

<400> 170

Ala Arg Asp Leu Ser Ser Phe Trp Ser Gly Asp Val Leu Gly Ala Phe

1 5 10 15

Asp Ile

<210> 171

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25 VH FR4

<400> 171

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 172

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25、25A、25B、25C、25D及25E VL蛋白

<400> 172

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Val Pro Pro Arg Thr			
	85	90	95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
	100	105	

<210> 173
 <211> 318
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成:克隆25 VL DNA
 <400> 173
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcagcaa agcgtccccc ccaggacttt tggcggaggg 300
 accaaggttg agatcaaa 318
 <210> 174
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成:克隆25 VL FR1
 <400> 174
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20
 <210> 175
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成:克隆25、25A、25B、25C、25D及25E VL CDR1
 <400> 175
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

176

<210> 180

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25 VL FR4

<400> 180

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 181

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VH蛋白

<400> 181

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Leu Ser Ser Phe Trp Ser Gly Asp Val Leu Gly Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 182

<211> 375

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VH DNA

<400> 182

caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agctatgcc a tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggcggtgt actactgcgc aagggatttg 300
tctagcttct ggagcggaga cgtgttagga gccttcgaca tatgggggtca ggtacaatg 360
gtcaccgctct cctca 375

<210> 183

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VH FR1

<400> 183

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly

20 25

<210> 184

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VH CDR1

<400> 184

Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 185

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VH FR2

<400> 185

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

<210> 186

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VH CDR2

<400> 186

Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 187

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VH FR3

<400> 187

Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu

1 5 10 15

Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 188

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VH CDR3

<400> 188

Ala Arg Asp Leu Ser Ser Phe Trp Ser Gly Asp Val Leu Gly Ala Phe

1 5 10 15

Asp Ile

<210> 189

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VH FR4

<400> 189

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 190

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VL蛋白

<400> 190

Glu	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly
1				5					10				15		
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Asn
			20					25				30			
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile
			35				40					45			
Tyr	Gly	Ala	Ser	Thr	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser
65				70				75					80		
Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	His	Ala	Asn	His	Ile	Thr
				85				90					95		
Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys						
			100					105							

<210> 191

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VL DNA

<400> 191

gaaatagtgatgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtcagtggttagc agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tatcccagcc 180
aggttcagtg gcagtggtgc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cagccaatc acatcacttt tggcggaggg 300
accaaggttg agatcaaaa 318

<210> 192

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VL FR1

<400> 192

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
20

<210> 193

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VL CDR1

<400> 193

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 194

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VL FR2

<400> 194

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 195

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VL CDR2

<400> 195

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr
1 5

<210> 196

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VL FR3

<400> 196

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr

1	5	10	15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys			
	20	25	30

<210> 197

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VL CDR3

<400> 197

Gln Gln His Ala Asn His Ile Thr

1	5
---	---

<210> 198

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆27 VL FR4

<400> 198

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1	5	10
---	---	----

<210> 199

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VH蛋白

<400> 199

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20	25	30
----	----	----

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35	40	45
----	----	----

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50	55	60
----	----	----

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65	70	75	80
----	----	----	----

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

	85		90		95
Ala Arg Ala Ser Asp Ser Tyr Gly Val Gly Leu Tyr Tyr Gly Met Asp					
100		105		110	
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser					
115		120			
<210> 200					
<211> 372					
<212> DNA					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成:克隆54 VH DNA					
<400> 200					
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60					
tcttgcaagg catctggata caccttcacc agctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120					
cctggacaag ggcttgagt gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180					
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240					
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcggtgt actactgcgc tagggcatct 300					
gactcctacg gagtgggcct ctactacgga atggacgtat ggggccaggg aacaactgtc 360					
accgtctcct ca 372					
<210> 201					
<211> 26					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成:克隆54 VH FR1					
<400> 201					
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala					
1 5 10 15					
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly					
20 25					
<210> 202					
<211> 9					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成:克隆54 VH CDR1					
<400> 202					
Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His					
1 5					

<210> 203

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VH FR2

<400> 203

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

<210> 204

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VH CDR2

<400> 204

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 205

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VH FR3

<400> 205

Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu

1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 206

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VH CDR3

<400> 206

Ala Arg Ala Ser Asp Ser Tyr Gly Val Gly Leu Tyr Tyr Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 207

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VH FR4

<400> 207

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 208

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VL蛋白

<400> 208

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Val Ser Pro

85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 209

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VL DNA

<400> 209

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagg agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtactacg tcagtcctct cacttttggc 300
ggagggacca aggttgagat caaa 324

<210> 210

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VL FR1

<400> 210

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys

20

<210> 211

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VL CDR1

<400> 211

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 212

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VL FR2

<400> 212

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 213

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VL CDR2

<400> 213

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 214

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VL FR3

<400> 214

Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 215

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VL CDR3

<400> 215

Gln Gln Tyr Tyr Val Ser Pro Leu Thr

1 5

<210> 216

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆54 VL FR4

<400> 216

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 217

<211> 2978

<212> DNA

<213> 智人(Homo sapiens)

<220>

<221> misc_feature

<223> 人TIGIT cDNA序列

<400> 217

```

cgctctatct gcagtcggct actttcagtg gcagaagagg ccacatctgc ttcctgtagg 60
ccctctgggc agaagcatgc gctggtgtct cctcctgata tgggcccagg ggctgaggca 120
ggctccccct gcctcaggaa tgatgacagg cacaatagaa acaacgggga acatttctgc 180
agagaaagggt ggctctatca tcttacaatg tcacctctcc tccaccacgg cacaagtgc 240
ccagggtcaac tgggagcagc aggaccagct tctggccatt tgtaatgctg acttgggggtg 300
gcacatctcc ccatccttca aggatcgagt ggccccagggt cccggcctgg gcctcacct 360
ccagtcgctg accgtgaacg atacagggga gtacttctgc atctatcaca cctaccctga 420
tgggacgtac actgggagaa tcttcttgga ggtcctagaa agctcagtggt ctgagcacgg 480
tgccaggttc cagattccat tgcttgagc catggccgag acgtgggtgg tcatctgcac 540
agcagtcata gtggtggtcg cgttgactag aaagaagaaa gccctcagaa tccattctgt 600
ggaagggtgac ctgaggagaa aatcagctgg acaggaggaa tggagcccca gtgctccctc 660
acccccagga agctgtgtcc aggcagaagc tgcacctgct gggctctgtg gagagcagcg 720
gggagaggac tgtgccgagc tgcataacta cttcaatgtc ctgagttaca gaagcctggg 780
taactgcagc ttcttcacag agactgggta gcaaccagag gcatcttctg gaagatacac 840
ttttgtcttt gctattatag atgaatatat aagcagctgt actctccatc agtgcctcgt 900
gtgtgtgtgt gtgtgtatgt gtgtgtgtgt tcagttgagt gaataaatgt catcctcttc 960
tccatcttca tttccttggc cttttcgttc tattccattt tgcattatgg caggcctagg 1020
gtgagtaacg tggatcttga tcataaatgc aaaattaaaa aatatcttga cctggtttta 1080
aatctggcag ttgagcaga tcctatgtct ctgagagaca cattcctcat aatggccagc 1140
atthttgggct acaaggtttt gtggttgatg atgaggatgg catgactgca gagccatcct 1200
catctcattht tttcacgtca ttttcagtaa ctttactca ttcaaaggca ggttataagt 1260
aagtcctgggt agcagcctct atggggagat ttgagagtga ctaaactctg gtatctgccc 1320
tcaagaactt acagttaaatt ggggagacaa tgttgtcatg aaaaggtatt atagtaagga 1380
gagaaggaga catacacagg ctttcaggaa gagacgacag tttgggggtga ggtagtggc 1440
ataggcttat ctgtgatgaa gtggcctggg agcaccaagg ggatgttgag gctagtctgg 1500
gaggagcagg agttttgtct agggaaactg taggaaattc ttggagctga aagtcccaca 1560
aagaaggccc tggcaccaag ggagtcagca aacttcagat tttattctct gggcaggcat 1620
ttcaagtttc cttttgtgtg gacatactca tccattagac agcctgatac aggcctgtag 1680
cctcttccgg ccgtgtgtgc tggggaagcc ccaggaaacg cacatgccc caccaggagc 1740
caagtcgtag catttgggcc ttgatctacc tttctgcat caataactc ttgagccttt 1800
gaaaaaagaa cgtttccac taaaaagaaa atgtggattt ttaaaatagg gactcttcct 1860
aggggaaaaa ggggggctgg gagtgataga gggtttaaaa aataaacacc ttcaaactaa 1920
cttcttcgaa cccttttatt cactccctga cgactttgtg ctgggggttg ggtaactgaa 1980
ccgcttattht ctgtttaatt gcattcaggc tggatcttag aagactttta tcttccacc 2040
atctctctca gaggaatgag cggggaggtt ggatttactg gtgactgatt tcttttcatg 2100
ggccaaggaa ctgaaagaga atgtgaagca aggttgtgtc ttgcgcatgg ttaaaaataa 2160
agcattgtcc tgcttcctaa gacttagact ggggttgaca attgttttag caacaagaca 2220

```


attcaactat ttctcctagg atttttatta ttattatittt ttcacttttc taccaaattg 2280
 gttacatagg aagaatgaac tgaaatctgt ccagagctcc aagtcctttg gaagaaagat 2340
 tagatgaacg taaaaatgtt gttgtttgct gtggcagttt acagcatttt tcttgcaaaa 2400
 ttagtgcaaa tctgttggaa atagaacaca attcacaaat tggaagtga ctaaaatgta 2460
 atgacgaaaa gggagtagtg ttttgatttg gaggaggtgt atattcggca gaggttggac 2520
 ttagagttgg gtgttattta acataattat ggtaattggg aaacatttat aaacactatt 2580
 gggatggtga taaaatacaa aagggcctat agatgttaga aatgggtcag gttactgaaa 2640
 tgggattcaa tttgaaaaaa atttttttaa atagaactca ctgaactaga ttctcctctg 2700
 agaaccagag aagaccattt catagttaga ttcttgaga catgcgctat ccaccacgta 2760
 gccactttcc acatgtggcc atcaaccact taagatgggg ttagttttaa tcaagatgtg 2820
 ctgttataat tgggtataagc ataaaatcac actagattct ggagatttaa tatgaataat 2880
 aagaatacta tttcagtagt tttggtatat tgtgtgtcaa aaatgataat attttggatg 2940
 tattgggtga aataaaatat taacattaaa aaaaaaaa 2978

<210> 218

<211> 244

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<220>

<221> misc_feature

<223> 人TIGIT蛋白

<400> 218

Met	Arg	Trp	Cys	Leu	Leu	Ile	Trp	Ala	Gln	Gly	Leu	Arg	Gln	Ala
1				5				10					15	
Pro	Leu	Ala	Ser	Gly	Met	Met	Thr	Gly	Thr	Ile	Glu	Thr	Thr	Gly
				20				25					30	Asn
Ile	Ser	Ala	Glu	Lys	Gly	Gly	Ser	Ile	Ile	Leu	Gln	Cys	His	Leu
				35				40					45	Ser
Ser	Thr	Thr	Ala	Gln	Val	Thr	Gln	Val	Asn	Trp	Glu	Gln	Gln	Asp
				50				55					60	Gln
Leu	Leu	Ala	Ile	Cys	Asn	Ala	Asp	Leu	Gly	Trp	His	Ile	Ser	Pro
65				70				75					80	Ser
Phe	Lys	Asp	Arg	Val	Ala	Pro	Gly	Pro	Gly	Leu	Gly	Leu	Thr	Leu
				85				90					95	Gln
Ser	Leu	Thr	Val	Asn	Asp	Thr	Gly	Glu	Tyr	Phe	Cys	Ile	Tyr	His
				100				105					110	Thr
Tyr	Pro	Asp	Gly	Thr	Tyr	Thr	Gly	Arg	Ile	Phe	Leu	Glu	Val	Leu
				115				120					125	Glu
Ser	Ser	Val	Ala	Glu	His	Gly	Ala	Arg	Phe	Gln	Ile	Pro	Leu	Leu
				130				135					140	Gly

Ala Met Ala Ala Thr Leu Val Val Ile Cys Thr Ala Val Ile Val Val
 145 150 155 160
 Val Ala Leu Thr Arg Lys Lys Lys Ala Leu Arg Ile His Ser Val Glu
 165 170 175
 Gly Asp Leu Arg Arg Lys Ser Ala Gly Gln Glu Glu Trp Ser Pro Ser
 180 185 190
 Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro Ala
 195 200 205
 Gly Leu Cys Gly Glu Gln Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp
 210 215 220
 Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe
 225 230 235 240
 Thr Glu Thr Gly

<210> 219

<211> 312

<212> PRT

<213> 长尾猕猴 (*Macaca fascicularis*)

<220>

<221> misc_feature

<223> 食蟹猕猴TIGIT蛋白

<400> 219

Met Ala Phe Leu Val Ala Pro Pro Met Gln Phe Val Tyr Leu Leu Lys
 1 5 10 15
 Thr Leu Cys Val Phe Asn Met Val Phe Ala Lys Pro Gly Phe Ser Glu
 20 25 30
 Thr Val Phe Ser His Arg Leu Ser Phe Thr Val Leu Ser Ala Val Gly
 35 40 45
 Tyr Phe Arg Trp Gln Lys Arg Pro His Leu Leu Pro Val Ser Pro Leu
 50 55 60
 Gly Arg Ser Met Arg Trp Cys Leu Phe Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu
 65 70 75 80
 Arg Gln Ala Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr
 85 90 95
 Thr Gly Asn Ile Ser Ala Lys Lys Gly Gly Ser Val Ile Leu Gln Cys
 100 105 110
 His Leu Ser Ser Thr Met Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln
 115 120 125
 His Asp His Ser Leu Leu Ala Ile Arg Asn Ala Glu Leu Gly Trp His
 130 135 140

Ile Tyr Pro Ala Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly			
145	150	155	160
Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Met Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys			
	165	170	175
Thr Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Arg Gly Arg Ile Phe Leu			
	180	185	190
Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu His Ser Ala Arg Phe Gln Ile			
	195	200	205
Pro Leu Leu Gly Ala Met Ala Met Met Leu Val Val Ile Cys Ile Ala			
	210	215	220
Val Ile Val Val Val Val Leu Ala Arg Lys Lys Lys Ser Leu Arg Ile			
225	230	235	240
His Ser Val Glu Ser Gly Leu Gln Arg Lys Ser Thr Gly Gln Glu Glu			
	245	250	255
Gln Ile Pro Ser Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu			
	260	265	270
Ala Ala Pro Ala Gly Leu Cys Gly Glu Gln Gln Gly Asp Asp Cys Ala			
	275	280	285
Glu Leu His Asp Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Ser			
	290	295	300
Cys Ser Phe Phe Thr Glu Thr Gly			
305	310		
<210> 220			
<211> 241			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<220>			
<221> misc_feature			
<223> 小鼠TIGIT蛋白			
<400> 220			
Met His Gly Trp Leu Leu Leu Val Trp Val Gln Gly Leu Ile Gln Ala			
1	5	10	15
Ala Phe Leu Ala Thr Gly Ala Thr Ala Gly Thr Ile Asp Thr Lys Arg			
	20	25	30
Asn Ile Ser Ala Glu Glu Gly Gly Ser Val Ile Leu Gln Cys His Phe			
	35	40	45
Ser Ser Asp Thr Ala Glu Val Thr Gln Val Asp Trp Lys Gln Gln Asp			
	50	55	60
Gln Leu Leu Ala Ile Tyr Ser Val Asp Leu Gly Trp His Val Ala Ser			

65	70	75	80
Val Phe Ser Asp Arg	Val Val Pro Gly	Pro Ser Leu Gly	Leu Thr Phe
	85	90	95
Gln Ser Leu Thr Met	Asn Asp Thr Gly	Glu Tyr Phe Cys	Thr Tyr His
	100	105	110
Thr Tyr Pro Gly Gly	Ile Tyr Lys Gly	Arg Ile Phe Leu	Lys Val Gln
	115	120	125
Glu Ser Ser Val Ala	Gln Phe Gln Thr	Ala Pro Leu Gly	Gly Thr Met
	130	135	140
Ala Ala Val Leu Gly	Leu Ile Cys Leu	Met Val Thr Gly	Val Thr Val
145	150	155	160
Leu Ala Arg Lys Lys	Ser Ile Arg Met	His Ser Ile Glu	Ser Gly Leu
	165	170	175
Gly Arg Thr Glu Ala	Glu Pro Gln Glu	Trp Asn Leu Arg	Ser Leu Ser
	180	185	190
Ser Pro Gly Ser Pro	Val Gln Thr Gln	Thr Ala Pro Ala	Gly Pro Cys
	195	200	205
Gly Glu Gln Ala Glu	Asp Asp Tyr Ala	Asp Pro Gln Glu	Tyr Phe Asn
	210	215	220
Val Leu Ser Tyr Arg	Ser Leu Glu Ser	Phe Ile Ala Val	Ser Lys Thr
225	230	235	240

Gly

<210> 221

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2C VH CDR1

<400> 221

Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asp

1

5

<210> 222

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2C VH CDR2

<400> 222

Arg Thr Arg Asn Lys Val Asn Ser Tyr Tyr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser

1	5	10	15
---	---	----	----

Val Lys Gly
<210> 223
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成:克隆2C VH CDR3
<400> 223
Ala Arg Gly Gln Tyr Tyr Tyr Gly Ser Asp Arg Arg Gly Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15
Met Asp Val
<210> 224
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成:克隆13A、13C及13D VH CDR1
<400> 224
Gly Thr Phe Leu Ser Ser Ala Ile Ser
1 5
<210> 225
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成:克隆13A VH CDR2
<400> 225
Ser Leu Ile Pro Tyr Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly
<210> 226
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成:克隆13B VH CDR1
<400> 226
Gly Thr Phe Ser Ala Trp Ala Ile Ser

1 5
<210> 227
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成:克隆13B及13D VH CDR2
<400> 227
Ser Ile Ile Pro Tyr Phe Gly Lys Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly
<210> 228
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成:克隆13B VH CDR3
<400> 228
Ala Arg Gly Pro Ser Glu Val Ser Gly Ile Leu Gly Tyr Val Trp Phe
1 5 10 15
Asp Pro
<210> 229
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成:克隆13C VH CDR2
<400> 229
Ser Ile Ile Pro Leu Phe Gly Lys Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly
<210> 230
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成:克隆13C及13D VH CDR3
<400> 230
Ala Arg Gly Pro Ser Glu Val Lys Gly Ile Leu Gly Tyr Val Trp Phe

1	5	10	15
Asp Pro			
<210> 231			
<211> 9			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成:克隆16C VH CDR1			
<400> 231			
Gly Thr Phe Arg Glu Tyr Ala Ile Ser			
1	5		
<210> 232			
<211> 17			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成:克隆16C VH CDR2			
<400> 232			
Gly Ile His Pro Ile Phe Gly Thr Ala Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln			
1	5	10	15
Gly			
<210> 233			
<211> 9			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成:克隆16D及16E VH CDR1			
<400> 233			
Gly Thr Phe Ser Asp Tyr Pro Ile Ser			
1	5		
<210> 234			
<211> 17			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成:克隆16B、16D及16E VH CDR2			
<400> 234			
Gly Ile Ile Pro Ile Val Gly Gly Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln			
1	5	10	15

Gly

<210> 235

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16C VH CDR3

<400> 235

Thr Arg Gln Ser Thr Trp His Lys Leu Tyr Gly Thr Asp Val

1 5 10

<210> 236

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16D VH CDR3

<400> 236

Thr Arg Gln Ser Thr Trp His Lys Leu Phe Gly Thr Asp Val

1 5 10

<210> 237

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16E VH CDR3

<400> 237

Ala Arg Gln Ser Thr Trp His Lys Val Tyr Gly Thr Asp Val

1 5 10

<210> 238

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25A VH CDR2

<400> 238

Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Leu Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 239

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25B、25C及25D VH CDR1

<400> 239

Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Pro Ile Gly

1 5

<210> 240

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25B、25C及25D VH CDR2

<400> 240

Trp Ile Ser Ser Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 241

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25C VH CDR3

<400> 241

Ala Arg Gly Ala Ser Ser Phe Trp Ser Gly Asp Val Leu Gly Ala Phe

1 5 10 15

Asp Ile

<210> 242

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25D VH CDR3

<400> 242

Ala Arg Asp Leu Lys Ser Phe Trp Ser Gly Asp Val Leu Gly Ala Phe

1 5 10 15

Asp Ile

<210> 243

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25E VH CDR1

<400> 243

Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Ala Ile Ala

1 5

<210> 244

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25E VH CDR3

<400> 244

Ala Arg Ser Gly Ser Ser Phe Trp Ser Gly Asp Val Leu Gly Ala Phe

1 5 10 15

Asp Ile

<210> 245

<211> 128

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆2C VH

<400> 245

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Tyr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Arg Thr Arg Asn Lys Val Asn Ser Tyr Tyr Thr Glu Tyr Ala Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Gly Gln Tyr Tyr Tyr Gly Ser Asp Arg Arg Gly Tyr

100 105 110

Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 246

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13A VH

<400> 246

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Leu Ser Ser
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ser Leu Ile Pro Tyr Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Pro Ser Glu Val Gly Ala Ile Leu Gly Tyr Val Trp Phe
 100 105 110
 Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 247

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13B VH

<400> 247

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ala Trp
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ser Ile Ile Pro Tyr Phe Gly Lys Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Gly Pro Ser Glu Val Ser Gly Ile Leu Gly Tyr Val Trp Phe		
100	105	110
Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115	120	125

<210> 248

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13C VH

<400> 248

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Leu Ser Ser
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ser Ile Ile Pro Leu Phe Gly Lys Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Pro Ser Glu Val Lys Gly Ile Leu Gly Tyr Val Trp Phe
100 105 110
Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 249

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13D VH

<400> 249

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Leu	Ser	Ser
			20					25					30		
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Ser	Ile	Ile	Pro	Tyr	Phe	Gly	Lys	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70				75					80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90				95		
Ala	Arg	Gly	Pro	Ser	Glu	Val	Lys	Gly	Ile	Leu	Gly	Tyr	Val	Trp	Phe
			100					105					110		
Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
		115					120					125			

<210> 250

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16C VH

<400> 250

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Arg	Glu	Tyr
			20					25					30		
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Gly	Ile	His	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Arg	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70				75					80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90				95		
Thr	Arg	Gln	Ser	Thr	Trp	His	Lys	Leu	Tyr	Gly	Thr	Asp	Val	Trp	Gly
			100					105					110		
Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser							
		115					120								

<210> 251

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16D VH

<400> 251

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Asp	Tyr
			20					25						30	
Pro	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40						45	
Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Ile	Val	Gly	Gly	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
			50					55						60	
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65						70					75				80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
						85								90	
Thr	Arg	Gln	Ser	Thr	Trp	His	Lys	Leu	Phe	Gly	Thr	Asp	Val	Trp	Gly
						100								110	
Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser							
						115								120	

<210> 252

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆16E VH

<400> 252

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Asp	Tyr
			20					25						30	
Pro	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40						45	
Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Ile	Val	Gly	Gly	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
			50					55						60	
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr

65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Gln Ser Thr Trp His Lys Val Tyr Gly Thr Asp Val Trp Gly			
	100	105	110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser			
	115	120	

<210> 253

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25A VH

<400> 253

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr			
	20	25	30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
	35	40	45
Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Leu			
	50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Asp Leu Ser Ser Phe Trp Ser Gly Asp Val Leu Gly Ala Phe			
	100	105	110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser			
	115	120	125

<210> 254

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25B VH

<400> 254

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15

Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
20				25				30							
Pro	Ile	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
35				40				45							
Gly	Trp	Ile	Ser	Ser	Tyr	Asn	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Leu
50				55				60							
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65				70				75				80			
Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
85				90				95							
Ala	Arg	Asp	Leu	Ser	Ser	Phe	Trp	Ser	Gly	Asp	Val	Leu	Gly	Ala	Phe
100				105				110							
Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
115				120				125							

<210> 255

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25C VH

<400> 255

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1		5		10		15									
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
20				25				30							
Pro	Ile	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
35				40				45							
Gly	Trp	Ile	Ser	Ser	Tyr	Asn	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Leu
50				55				60							
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65				70				75				80			
Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
85				90				95							
Ala	Arg	Gly	Ala	Ser	Ser	Phe	Trp	Ser	Gly	Asp	Val	Leu	Gly	Ala	Phe
100				105				110							
Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
115				120				125							

<210> 256

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25D VH

<400> 256

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
			20					25						30	
Pro	Ile	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40						45	
Gly	Trp	Ile	Ser	Ser	Tyr	Asn	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Leu
			50				55					60			
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90					95
Ala	Arg	Asp	Leu	Lys	Ser	Phe	Trp	Ser	Gly	Asp	Val	Leu	Gly	Ala	Phe
			100						105					110	
Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
			115					120					125		

<210> 257

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆25E VH

<400> 257

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
			20					25						30	
Ala	Ile	Ala	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40						45	
Gly	Trp	Ile	Ser	Ala	Tyr	Asn	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Leu
			50				55					60			
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys

	85		90		95										
Ala	Arg	Ser	Gly	Ser	Ser	Phe	Trp	Ser	Gly	Asp	Val	Leu	Gly	Ala	Phe
	100		105		110										
Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
	115		120		125										

<210> 258

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<221> misc_feature

<223> hTIGIT 68-82表位

<400> 258

Ile	Cys	Asn	Ala	Asp	Leu	Gly	Trp	His	Ile	Ser	Pro	Ser	Phe	Lys
1			5				10						15	

<210> 259

<211> 1365

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13重链hIgG1 (及无岩藻糖基化hIgG1) 核苷酸序列

<400> 259

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc tgtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaagc atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatt actgctgatg aatccaccag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac actgctgtgt actactgtgc cagaggccct 300
tctgaagtag gagcaatact gggatatgta tggtttgacc catggggaca gggtagattg 360
gtcaccgtct cctcagctag caccaagggc ccatctgtct tccccctggc accctcctcc 420
aagagcacct ctggggggcac agctgccttg ggctgcctgg tcaaggacta cttccctgaa 480
cctgtgacag tgtcctggaa ctcaggagcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct 540
gtcctacagt cctcaggact ctactcctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc 600
ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac 660
aagaaagttg agcccaaate ttgtgacaaa actcacacat gccaccgtg cccagcacct 720
gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc tccccccaa aaccaagga caccctcatg 780
atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccttag 840
gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 900
gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 960
tggtctgaatg gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca aagccctccc agcccccatc 1020

```

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggttta caccctgccc 1080
 ccatccccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc 1140
 tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1200
 accacgcctc cctgtctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg 1260
 gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1320
 cacaaccact acacacagaa gagcctctcc ctgtctccgg gcaaa 1365

<210> 260

<211> 455

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13重链hIgG1 (及无岩藻糖基化hIgG1)氨基酸序列

<400> 260

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser	1	5	10	15
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	20	25	30	
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	35	40	45	
Gly	Ser	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	50	55	60	
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	65	70	75	80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Ala	Arg	Gly	Pro	Ser	Glu	Val	Gly	Ala	Ile	Leu	Gly	Tyr	Val	Trp	Phe	100	105	110	
Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	115	120	125	
Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	130	135	140	
Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	145	150	155	160
Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	165	170	175	
Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	180	185	190	
Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	195	200	205	

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu		
210	215	220
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro		
225	230	235 240
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys		
245	250	255
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val		
260	265	270
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
275	280	285
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr		
290	295	300
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp		
305	310	315 320
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu		
325	330	335
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
340	345	350
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys		
355	360	365
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
370	375	380
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
385	390	395 400
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
405	410	415
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser		
420	425	430
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser		
435	440	445
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
450	455	

<210> 261

<211> 1365

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13重链hIgG1 LALA-PG核苷酸序列

<400> 261

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc tgtgaaggtc 60
 tcctgcaagg ctcttgagg caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagt gatgggaagc atcatcccta tctttgttac agcaaactac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatt actgctgatg aatccaccag cacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac actgctgtgt actactgtgc cagaggccct 300
 tctgaagtag gagcaatact gggatatgta tggtttgacc catggggaca ggttacattg 360
 gtcaccgtct cctcagctag caccaagggc ccatctgtct tccccctggc accctcctcc 420
 aagagcacct ctgggggcac agctgccttg ggctgcctgg tcaaggacta cttccctgaa 480
 cctgtgacag tgtcctggaa ctcaggagcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggt 540
 gtcctacagt cctcaggact ctactcctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc 600
 ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac 660
 aagaaagttg agcccaaate ttgtgacaaa actcacacat gcccaccgtg cccagcacct 720
 gaagctgctg ggggaccgtc agtcttctc tccccccaa aaccaagga caccctcatg 780
 atctcccga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag 840
 gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 900
 gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 960
 tggctgaatg gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca aagccctcgg ggccccatc 1020
 gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggttta caccctgccc 1080
 ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc 1140
 tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1200
 accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa gtcaccgtg 1260
 gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1320
 cacaaccact acacacagaa gagcctctcc ctgtctccgg gcaaa 1365

<210> 262

<211> 455

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13重链hIgG1 LALA-PG氨基酸序列

<400> 262

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1			5					10					15		
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40					45		
Gly	Ser	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
			50					55					60		
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr

65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90					95
Ala	Arg	Gly	Pro	Ser	Glu	Val	Gly	Ala	Ile	Leu	Gly	Tyr	Val	Trp	Phe
					100					105					110
Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr
					115					120					125
Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser
					130					135					140
Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu
145					150					155					160
Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His
					165					170					175
Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser
					180					185					190
Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys
					195					200					205
Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu
					210					215					220
Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
225					230					235					240
Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
					245					250					255
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
					260					265					270
Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
					275					280					285
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr
					290					295					300
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
305					310					315					320
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu
					325					330					335
Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
					340					345					350
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys
					355					360					365
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
					370					375					380

Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys
385							390				395				400
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser
				405					410					415	
Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser
			420					425					430		
Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser
		435					440					445			
Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys									
	450					455									

<210> 263

<211> 1356

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13重链hIgG4 S228P核苷酸序列

<400> 263

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc tgtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaagc atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatt actgctgatg aatccaccag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac actgctgtgt actactgtgc cagaggccct 300
tctgaagtag gagcaatact gggatatgta tggtttgacc catggggaca ggttacattg 360
gtcaccgtct cctcagctag caccaagggc ccatctgtct tccccctggc cccttgctcc 420
agaagcacat ctgagagcac agcggccctg ggatgcctgg tcaaggacta tttccctgag 480
ccggtgaccg taagctggaa ctctggagcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccagct 540
gtcctgcagt cttcagggct ctactccctc agcagtgtgg tgactgtacc ctccagcagc 600
ttgggcacca agacctacac ctgcaacgta gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac 660
aagagagttg agtccaaata tgggtcccca tgcccaccct gccagcacc agagttcctg 720
gggggaccat ctgtcttcct cttcccccca aaaccaagg ataccctcat gatctcccgg 780
acccttgagg tcacatgtgt ggtggtggac gtgagccagg aggaccccga ggtccagttc 840
aactggtatg tggatggcgt ggaagtgc atgctaaga caaagccacg ggaggagcag 900
ttcaacagca cctaccgtgt ggtcagcgtc ctcacagtgc tgcaccagga ctggctgaat 960
ggcaaggagt acaaagtcaa ggtctccaac aaaggcctcc catcctccat cgagaaaacc 1020
atctccaaag ccaaagggca accccgggaa ccacaggtat acaccctgcc tccatcccaa 1080
gaagagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctaccctctt 1140
gacattgccg tggagtggga gagcaatggg cagccagaga acaactacaa gaccacacct 1200
cccgtgctgg actccgatgg ctctctcttc ctgtactccc ggctcacagt ggacaagagc 1260
aggtggcagg agggaaatgt cttctcctgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1320

```

tacacacaga agagcctctc cctgtctctg ggcaaa 1356

<210> 264

<211> 452

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13重链hIgG4 S228P氨基酸序列

<400> 264

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35				40					45			
Gly	Ser	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50					55				60					
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70				75					80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85				90					95		
Ala	Arg	Gly	Pro	Ser	Glu	Val	Gly	Ala	Ile	Leu	Gly	Tyr	Val	Trp	Phe
			100					105					110		
Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr
			115				120						125		
Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser
	130					135					140				
Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu
145					150					155				160	
Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His
				165				170					175		
Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser
			180					185					190		
Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys
			195				200					205			
Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu
	210					215				220					
Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu
225					230				235				240		
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu

245	250	255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
260	265	270
Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
275	280	285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		
290	295	300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn		
305	310	315
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser		
325	330	335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
340	345	350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		
355	360	365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
370	375	380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
385	390	395
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr		
405	410	415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
420	425	430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
435	440	445
Ser Leu Gly Lys		
450		

<210> 265

<211> 1365

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13A重链hIgG1 (及无岩藻糖基化hIgG1) 核苷酸序列

<400> 265

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc tgtgaaggtc 60
tcttgcaagg cttctggagg cacccttcctt agctctgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatct ctcacccctt attttggtac agcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatt actgctgatg aatccaccag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac actgctgtgt actactgtgc cagaggccct 300

tctgaagtag gagcaatact gggatatgta tggtttgacc catggggaca gggtagattg 360
 gtcaccgtct cctcagctag caccaagggc ccatctgtct tccccctggc accctcctcc 420
 aagagcacct ctggggggcac agctgccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccctgaa 480
 cctgtgacag tgtcctggaa ctcaggagcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct 540
 gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc 600
 ttggggcacc agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac 660
 aagaaagtgt agcccaaattc ttgtgacaaa actcacacat gcccaccgtg cccagcacct 720
 gaactcctgg ggggaccgtc agtcttctc tttccccaa aaccaagga caccctcatg 780
 atctcccggg cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag 840
 gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgagg 900
 gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 960
 tggctgaatg gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca aagccctccc agcccccatc 1020
 gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggttta caccctgccc 1080
 ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc 1140
 tatccagcag acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1200
 accacgcctc cctgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg 1260
 gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1320
 cacaaccact acacacagaa gagcctctcc ctgtctccgg gcaaa 1365

<210> 266

<211> 455

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13A重链hIgG1 (及无岩藻糖基化hIgG1)氨基酸序列

<400> 266

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Leu	Ser	Ser
			20					25					30		
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35				40						45		
Gly	Ser	Leu	Ile	Pro	Tyr	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
		50				55				60					
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65				70					75					80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85				90					95		
Ala	Arg	Gly	Pro	Ser	Glu	Val	Gly	Ala	Ile	Leu	Gly	Tyr	Val	Trp	Phe
			100					105					110		

Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr
115							120					125			
Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser
130							135					140			
Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu
145							150				155				160
Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His
							165				170				175
Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser
							180				185				190
Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys
							195				200				205
Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu
210							215				220				
Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
225							230				235				240
Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
							245				250				255
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
							260				265				270
Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
							275				280				285
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr
290							295				300				
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
305							310				315				320
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu
							325				330				335
Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
							340				345				350
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys
							355				360				365
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
370							375				380				
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys
385							390				395				400
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser
							405				410				415
Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser

420	425	430
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser		
435	440	445
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
450	455	
<210> 267		
<211> 1365		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成:克隆13B重链hIgG1 (及无岩藻糖基化hIgG1) 核苷酸序列		
<400> 267		
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc tgtgaaggtc 60		
tcttgcaagg cttctggagg caccttctct gcctgggcta tcagctgggt gcgacaggcc 120		
cctggacaag ggcttgagt gatgggatcc atcatccctt attttggtta ggcaaactac 180		
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatt actgctgatg aatccaccag cacagcctac 240		
atggagctga gcagcctgag atctgaggac actgctgtgt actactgtgc cagaggccct 300		
tctgaagtaa gtggtatact gggatatgta tggtttgacc catggggaca gggtacattg 360		
gtcaccgtct cctcagctag caccaagggc ccatctgtct tccccctggc accctcctcc 420		
aagagcacct ctggggggcac agctgccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccctgaa 480		
cctgtgacag tgtcctggaa ctcaggagcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct 540		
gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc 600		
ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac 660		
aagaaagttg agcccaaadc ttgtgacaaa actcacacat gcccaccgtg cccagcacct 720		
gaactcctgg ggggaccgtc agtcttctc tttcccccaa aaccaagga caccctcatg 780		
atctccccga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag 840		
gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 900		
gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 960		
tggctgaatg gcaaggagta caagtgcag gtctccaaca aagccctccc agccccatc 1020		
gagaaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggttta caccctgccc 1080		
ccatccccgg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggg caaaggcttc 1140		
tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1200		
accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tctttcttc tctacagcaa gctcaccgtg 1260		
gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1320		
cacaaccact acacacagaa gagcctctcc ctgtctccgg gcaaa 1365		
<210> 268		
<211> 455		
<212> PRT		
<213> 人工序列		

<220>

<223> 合成:克隆13B重链hIgG1 (及无岩藻糖基化hIgG1)氨基酸序列

<400> 268

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Ala	Trp
			20					25						30	
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40						45	
Gly	Ser	Ile	Ile	Pro	Tyr	Phe	Gly	Lys	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
			50					55						60	
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70				75						80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85				90						95
Ala	Arg	Gly	Pro	Ser	Glu	Val	Ser	Gly	Ile	Leu	Gly	Tyr	Val	Trp	Phe
			100					105						110	
Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr
			115					120						125	
Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser
			130					135						140	
Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu
145					150				155						160
Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His
					165				170						175
Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser
			180						185						190
Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys
			195					200							205
Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu
			210					215							220
Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
225					230				235						240
Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
					245				250						255
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
			260					265							270
Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
			275					280							285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 290 295 300
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 305 310 315 320
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 325 330 335
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 340 345 350
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 355 360 365
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 370 375 380
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 385 390 395 400
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 405 410 415
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 420 425 430
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 435 440 445
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455

<210> 269

<211> 1365

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13C重链hIgG1 (及无岩藻糖基化hIgG1) 核苷酸序列

<400> 269

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc tgtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggagg caccttctt agctctgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagt gatgggaagt atcatectc tgttttgtaa ggcaaactac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatt actgctgatg aatccaccag cacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac actgctgtgt actactgtgc cagaggccct 300
 tctgaagtaa aggtatact gggatatgta tggtttgacc catggggaca gggtacattg 360
 gtcaccgtct cctcagctag caccaagggc ccactgtct tccccctggc accctctcc 420
 aagagcacct ctgggggcac agctgcctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccctgaa 480
 cctgtgacag tgtcctggaa ctcaggagcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct 540
 gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc 600

ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac 660
 aagaaagttg agcccaaadc ttgtgacaaa actcacacat gccaccgtg cccagcacct 720
 gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aaccaagga caccctcatg 780
 atctcccggg cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag 840
 gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 900
 gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 960
 tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag gtctccaaca aagccctccc agccccatc 1020
 gagaaaaacca tctccaaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggttta caccctgccc 1080
 ccatccccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc 1140
 tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1200
 accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tctttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg 1260
 gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1320
 cacaaccact acacacagaa gagcctctcc ctgtctccgg gcaaa 1365

<210> 270

<211> 455

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13C重链hIgG1 (及无岩藻糖基化hIgG1)氨基酸序列

<400> 270

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Leu	Ser	Ser
				20				25					30		
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
				35			40					45			
Gly	Ser	Ile	Ile	Pro	Leu	Phe	Gly	Lys	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
				50			55					60			
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65				70				75						80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85				90					95		
Ala	Arg	Gly	Pro	Ser	Glu	Val	Lys	Gly	Ile	Leu	Gly	Tyr	Val	Trp	Phe
				100				105				110			
Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr
				115			120					125			
Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser
				130			135					140			
Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu

145	150	155	160
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His			
	165	170	175
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser			
	180	185	190
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys			
	195	200	205
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu			
	210	215	220
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro			
225	230	235	240
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys			
	245	250	255
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val			
	260	265	270
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp			
	275	280	285
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr			
	290	295	300
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp			
305	310	315	320
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu			
	325	330	335
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg			
	340	345	350
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys			
	355	360	365
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp			
	370	375	380
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys			
385	390	395	400
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser			
	405	410	415
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser			
	420	425	430
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser			
	435	440	445
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
450	455		

<210> 271

<211> 1365

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13D重链hIgG1 (及无岩藻糖基化hIgG1) 核苷酸序列

<400> 271

```

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc tgtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccttctt agctctgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatcc atcatcctt attttggtta ggcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatt actgctgatg aatccaccag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac actgctgtgt actactgtgc cagaggccct 300
tctgaagtaa agggataact gggatatgta tggtttgacc catggggaca gggtagattg 360
gtcaccgtct cctcagctag caccaagggc ccatctgtct tccccctggc accctcctcc 420
aagagcacct ctgggggcac agctgccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccctgaa 480
cctgtgacag tgcctggaa ctcaggagcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct 540
gtcctacagt cctcaggact ctactcctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc 600
ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac 660
aagaaagttg agcccaaate ttgtgacaaa actcacacat gcccaccgtg cccagcacct 720
gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aaccaagga caccctcatg 780
atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag 840
gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 900
gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 960
tggtctgaatg gcaaggagta caagtgcaag gtctccaaca aagccctccc agcccccatc 1020
gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggttta caccctgccc 1080
ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggg caaaggcttc 1140
tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1200
accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg 1260
gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatget ccgtgatgca tgaggctctg 1320
cacaaccact acacacagaa gagcctctcc ctgtctccgg gcaaa 1365

```

<210> 272

<211> 455

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13D重链hIgG1 (及无岩藻糖基化hIgG1) 氨基酸序列

<400> 272

```

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1           5           10           15

```

Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Leu	Ser	Ser
20				25				30							
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
35				40				45							
Gly	Ser	Ile	Ile	Pro	Tyr	Phe	Gly	Lys	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
50				55				60							
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65				70				75				80			
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
85				90				95							
Ala	Arg	Gly	Pro	Ser	Glu	Val	Lys	Gly	Ile	Leu	Gly	Tyr	Val	Trp	Phe
100				105				110							
Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr
115				120				125							
Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser
130				135				140							
Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu
145				150				155				160			
Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His
165				170				175							
Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser
180				185				190							
Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys
195				200				205							
Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu
210				215				220							
Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
225				230				235				240			
Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
245				250				255							
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
260				265				270							
Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
275				280				285							
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr
290				295				300							
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
305				310				315				320			
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu

325	330	335
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
340	345	350
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys		
355	360	365
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
370	375	380
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
385	390	395
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
405	410	415
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser		
420	425	430
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser		
435	440	445
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
450	455	

<210> 273

<211> 657

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13、13A、13B、13C及13D轻链κ (及无岩藻糖基化) 核苷酸序列

<400> 273

```

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatctt atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaggcaag acgaatccct 300
atcacttttg gcggagggac caaggttgag atcaaagcta cgggtggctgc accatctgtc 360
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 480
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540
agcagcaccg tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa 600
gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt 657

```

<210> 274

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13、13A、13B、13C及13D轻链κ (及无岩藻糖基化)氨基酸序列

<400> 274

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1           5           10           15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
           20           25           30
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
           35           40           45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
           50           55           60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65           70           75           80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
           85           90           95
Arg Arg Ile Pro Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           100          105          110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
           115          120          125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
           130          135          140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
           145          150          155          160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
           165          170          175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
           180          185          190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
           195          200          205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
           210          215

```

<210> 275

<211> 1365

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13重链mIgG2a (及无岩藻糖基化)核苷酸序列

<400> 275

```

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc tgtgaaggtc 60

```

tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagt gatgggaagc atcatcccta tcttttgtac agcaaactac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatt actgctgatg aatccaccag cacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac actgctgtgt actactgtgc cagaggccct 300
 tctgaagtag gagcaatact gggatatgta tggtttgacc catggggaca gggtagattg 360
 gtcaccgtct cctcagctaa aacaacagcc ccatcggtct atccgctagc ccctgtgtgt 420
 ggagatacaa ctggctcctc ggtgactcta ggatgcctgg tcaagggtta tttccctgag 480
 ccagtgcact tgacctggaa ctctggatcc ctgtccagt gtgtgcacac cttcccagct 540
 gtcctgcagt ctgacctcta caccctcagc agctcagtga ctgtaacctc tagcacctgg 600
 cccagccagt ccatcacctg caatgtggcc caccgggcaa gcagcaccaa ggtggacaag 660
 aaaattgagc ccagagggcc cacaatcaag ccctgtctc catgcaaatg cccagcacct 720
 aacgctgctg gtggaccatc cgtcttcac ttcctccaa agatcaagga tgtactcatg 780
 atctccctga gccccatagt cacatgtgtg gtggtggatg tgagcgagga tgaccagat 840
 gtccagatca gctggtttgt gaacaacgtg gaagtacaca cagctcagac acaaaccat 900
 agagaggatt acaacagtac tctccgggtg gtcagtgcc tccccatcca gcaccaggac 960
 tggatgagtg gcaaggagtt caaatgcaag gtcaacaaca aagacctcg ggcgcccac 1020
 gagagaacca tctcaaaacc caaaggctca gtaagagctc cacaggtata tgtcttgctt 1080
 ccaccagaag aagagatgac taagaaacag gtcactctga cctgcatggt cacagacttc 1140
 atgcctgaag acatttacgt ggagtggacc aacaacggga aaacagagct aaactacaag 1200
 aacactgaac cagtcctgga ctctgatggt tcttacttca tgtacagcaa gctgagagt 1260
 gaaaagaaga actgggtgga aagaaatagc tactcctgtt cagtgtcca cgagggtctg 1320
 cacaatcacc acacgactaa gagcttctcc cggactccgg gcaaa 1365

<210> 276

<211> 455

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13重链mIgG2a (及无岩藻糖基化)氨基酸序列

<400> 276

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5						10				15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Ser	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50					55				60					
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65				70						75				80	

Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
85								90				95					
Ala	Arg	Gly	Pro	Ser	Glu	Val	Gly	Ala	Ile	Leu	Gly	Tyr	Val	Trp	Phe		
100								105				110					
Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr		
115								120				125					
Thr	Ala	Pro	Ser	Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	Pro	Val	Cys	Gly	Asp	Thr	Thr		
130								135				140					
Gly	Ser	Ser	Val	Thr	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu		
145								150				155				160	
Pro	Val	Thr	Leu	Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser	Leu	Ser	Ser	Gly	Val	His		
165								170				175					
Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Asp	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser		
180								185				190					
Val	Thr	Val	Thr	Ser	Ser	Thr	Trp	Pro	Ser	Gln	Ser	Ile	Thr	Cys	Asn		
195								200				205					
Val	Ala	His	Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Ile	Glu	Pro		
210								215				220					
Arg	Gly	Pro	Thr	Ile	Lys	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Lys	Cys	Pro	Ala	Pro		
225								230				235				240	
Asn	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Ile	Lys		
245								250				255					
Asp	Val	Leu	Met	Ile	Ser	Leu	Ser	Pro	Ile	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val		
260								265				270					
Asp	Val	Ser	Glu	Asp	Asp	Pro	Asp	Val	Gln	Ile	Ser	Trp	Phe	Val	Asn		
275								280				285					
Asn	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln	Thr	His	Arg	Glu	Asp	Tyr		
290								295				300					
Asn	Ser	Thr	Leu	Arg	Val	Val	Ser	Ala	Leu	Pro	Ile	Gln	His	Gln	Asp		
305								310				315				320	
Trp	Met	Ser	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys	Lys	Val	Asn	Asn	Lys	Asp	Leu		
325								330				335					
Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Arg	Thr	Ile	Ser	Lys	Pro	Lys	Gly	Ser	Val	Arg		
340								345				350					
Ala	Pro	Gln	Val	Tyr	Val	Leu	Pro	Pro	Pro	Glu	Glu	Glu	Met	Thr	Lys		
355								360				365					
Lys	Gln	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Met	Val	Thr	Asp	Phe	Met	Pro	Glu	Asp		
370								375				380					
Ile	Tyr	Val	Glu	Trp	Thr	Asn	Asn	Gly	Lys	Thr	Glu	Leu	Asn	Tyr	Lys		

385	390	395	400
Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser			
	405	410	415
Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser			
	420	425	430
Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser			
	435	440	445
Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys			
	450	455	

<210> 277

<211> 1365

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13重链mIgG2a LALA-PG核苷酸序列

<400> 277

```

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc tgtgaaggtc 60
tcttgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaagc atcatcccta tcttttgtac agcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatt actgctgatg aatccaccag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac actgctgtgt actactgtgc cagaggccct 300
tctgaagtag gagcaatact gggatatgta tggtttgacc catggggaca gggtagattg 360
gtcaccgtct cctcagctaa aacaacagcc ccatcggtct atccgctagc ccctgtgtgt 420
ggagatacaa ctggctcctc ggtgactcta ggatgcctgg tcaagggtta tttccctgag 480
ccagtgcact tgacctggaa ctctggatcc ctgtccagtg gtgtgcacac cttcccagct 540
gtcctgcagt ctgacctcta caccctcagc agctcagtga ctgtaacctc tagcacctgg 600
cccagccagt ccatcacctg caatgtggcc caccgggcaa gcagcaccaa ggtggacaag 660
aaaattgagc ccagagggcc cacaatcaag ccctgtcctc catgcaaattg cccagcacct 720
aacgctgctg gtggaccatc cgtcttcac ttcctccaa agatcaagga tgtactcatg 780
atctccctga gccccatagt cacatgtgtg gtgggtggatg tgagcgagga tgaccagat 840
gtccagatca gctggtttgt gaacaacgtg gaagtacaca cagctcagac acaaaccat 900
agagaggatt acaacagtac tctccgggtg gtcagtgcc tccccatcca gcaccaggac 960
tggatgagtg gcaaggagtt caaatgcaag gtcaacaaca aagacctcg ggcgccccatc 1020
gagagaacca tctcaaaacc caaaggetca gtaagagctc cacaggtata tgtcttgctt 1080
ccaccagaag aagagatgac taagaaacag gtcactctga cctgcatggt cacagacttc 1140
atgcctgaag acatttacgt ggagtggacc aacaacggga aaacagagct aaactacaag 1200
aacactgaac cagtcctgga ctctgatggt tcttacttca tgtacagcaa gctgagagtg 1260
gaaaagaaga actgggtgga aagaaatagc tactcctgtt cagtgttcca cgagggtctg 1320
cacaatcacc acacgactaa gagcttctcc cggactccgg gcaaa 1365

```

<210> 278

<211> 455

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13重链mIgG2a LALA-PG氨基酸序列

<400> 278

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35				40					45			
Gly	Ser	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
		50				55				60					
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70				75					80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90				95		
Ala	Arg	Gly	Pro	Ser	Glu	Val	Gly	Ala	Ile	Leu	Gly	Tyr	Val	Trp	Phe
			100					105					110		
Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr
			115				120						125		
Thr	Ala	Pro	Ser	Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	Pro	Val	Cys	Gly	Asp	Thr	Thr
			130				135					140			
Gly	Ser	Ser	Val	Thr	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu
145					150					155				160	
Pro	Val	Thr	Leu	Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser	Leu	Ser	Ser	Gly	Val	His
				165					170				175		
Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Asp	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser
			180					185					190		
Val	Thr	Val	Thr	Ser	Ser	Thr	Trp	Pro	Ser	Gln	Ser	Ile	Thr	Cys	Asn
			195				200					205			
Val	Ala	His	Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Ile	Glu	Pro
			210				215					220			
Arg	Gly	Pro	Thr	Ile	Lys	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Lys	Cys	Pro	Ala	Pro
225					230					235				240	
Asn	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Ile	Lys
				245					250					255	

Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val		
260	265	270
Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn		
275	280	285
Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr		
290	295	300
Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp		
305	310	315
Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu		
325	330	335
Gly Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg		
340	345	350
Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys		
355	360	365
Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp		
370	375	380
Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys		
385	390	395
Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser		
405	410	415
Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser		
420	425	430
Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser		
435	440	445
Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys		
450	455	

<210> 279

<211> 1347

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13重链mIgG1核苷酸序列

<400> 279

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc tgtgaaggtc 60
tcttgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaagc atcatccta tcttttggtac agcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatt actgctgatg aatccaccag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac actgctgtgt actactgtgc cagaggccct 300
tctgaagtag gagcaatact gggatatgta tggtttgacc catggggaca gggtacattg 360

```

gtcaccgtct cctcagccaa aacgacaccc ccatctgtct atccgctagc ccctggatct 420
 gctgccccaaa ctaactccat ggtgaccctg ggatgcctgg tcaagggcta tttccctgag 480
 ccagtgcagag tgacctggaa ctctggatcc ctgtccagcg gtgtgcacac cttcccagct 540
 gtcctggagt ctgacctcta cactctgagc agctcagtga ctgtcccctc cagccctcgg 600
 cccagcgaga ccgtcacctg caacgttgcc caccgggcca gcagcaccaa ggtggacaag 660
 aaaattgtgc ccagggattg tggttgtaag ccttgcattc gtacagtccc agaagtatca 720
 tctgtcttca tcttcccccc aaagcccaag gatgtgctca ccattactct gactcctaag 780
 gtcacgtgtg ttgtggtaga catcagcaag gatgatcccc aggtccagtt cagctggttt 840
 gtagatgatg tggaggtgca cacagctcag acgcaacccc gggaggagca gttcaacagc 900
 actttccgct cagtcagtga acttcccata atgcaccagg actggctcaa tggcaaggag 960
 ttcaaagtga gggtaaacag tgcagctttc cctgccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020
 accaaaggca gaccgaaggc tccacaggtg tacaccattc cacctcccaa ggagcagatg 1080
 gccaaaggata aagtcagtct gacctgcatg ataacagact tcttccctga agacattact 1140
 gtggagtggc agtggaatgg gcagccagcg gagaactaca agaactca gcccatcatg 1200
 aacacgaatg gctcttactt cgtctacagc aagctcaatg tgcagaagag caactgggag 1260
 gcaggaaata ctttcacctg ctctgtgtta catgagggcc tgcacaacca ccatactgag 1320
 aagagcctct cccactctcc tggcaaa 1347

<210> 280

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13重链mIgG1氨基酸序列

<400> 280

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
				20					25					30	
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
				35					40					45	
Gly	Ser	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
				50					55					60	
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90					95
Ala	Arg	Gly	Pro	Ser	Glu	Val	Gly	Ala	Ile	Leu	Gly	Tyr	Val	Trp	Phe
					100					105					110
Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr

115	120	125
Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro	Leu Ala Pro Gly Ser	Ala Ala Gln Thr
130	135	140
Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu		
145	150	155
Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His		
165	170	175
Thr Phe Pro Ala Val Leu Glu Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser		
180	185	190
Val Thr Val Pro Ser Ser Pro Arg Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn		
195	200	205
Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro		
210	215	220
Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser		
225	230	235
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr		
245	250	255
Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr		
275	280	285
Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser		
290	295	300
Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350
Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr		
355	360	365
Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln		
370	375	380
Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met		
385	390	395
Asn Thr Asn Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys		
405	410	415
Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu		
420	425	430

Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly
 435 440 445

Lys

<210> 281

<211> 657

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13轻链_{mk}核苷酸序列

<400> 281

```

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggtctagga tgttgggggtt tattactgca tgcaggcaag acgaatccct 300
atcacttttg gcggagggac caaggttgag atcaaactg cagatgcggc gccaaactgta 360
tccatcttcc caccatccag tgagcagtta acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc 420
ttgaacaact tctaccccaa agacatcaat gtcaagtga agattgatgg cagtgaacga 480
caaaatggcg tcctgaacag ttggactgat caggacagca aagacagcac ctacagcatg 540
agcagcacc tcacgttgac caaggacgag tatgaacgac ataacagcta tacctgtgag 600
gccactcaca agacatcaac ttcacccatt gtcaagagct tcaacaggaa tgagtgt 657

```

<210> 282

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成:克隆13轻链_{mk}氨基酸序列

<400> 282

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1           5           10           15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
          20           25           30
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
          35           40           45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
          50           55           60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65           70           75           80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

```

				85					90					95					
Arg	Arg	Ile	Pro	Ile	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys				
			100					105					110						
Arg	Ala	Asp	Ala	Ala	Pro	Thr	Val	Ser	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu				
		115					120					125							
Gln	Leu	Thr	Ser	Gly	Gly	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Phe	Leu	Asn	Asn	Phe				
	130					135				140									
Tyr	Pro	Lys	Asp	Ile	Asn	Val	Lys	Trp	Lys	Ile	Asp	Gly	Ser	Glu	Arg				
145					150				155					160					
Gln	Asn	Gly	Val	Leu	Asn	Ser	Trp	Thr	Asp	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser				
			165				170				175								
Thr	Tyr	Ser	Met	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Thr	Lys	Asp	Glu	Tyr	Glu				
		180					185				190								
Arg	His	Asn	Ser	Tyr	Thr	Cys	Glu	Ala	Thr	His	Lys	Thr	Ser	Thr	Ser				
		195					200				205								
Pro	Ile	Val	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Asn	Glu	Cys									
	210					215													

<210> 283

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 283

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 284

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 284

Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 285

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 285

Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala

1 5

<210> 286

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 286

Gly Pro Ser Glu Val Gly Ala Ile Leu Gly Tyr Val Trp Phe Asp Pro

1 5 10 15

<210> 287

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 287

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr

1 5 10

<210> 288

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 288

Leu Gly Ser

1

<210> 289

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 289

Gly Gly Thr Phe Ser Ala Trp Ala

1 5

<210> 290

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 290

Ala Trp Ala Ile Ser

1 5

<210> 291

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 291

Ile Ile Pro Tyr Phe Gly Lys Ala

1 5

<210> 292

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 292

Gly Pro Ser Glu Val Ser Gly Ile Leu Gly Tyr Val Trp Phe Asp Pro

1 5 10 15

<210> 293

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 293

Gly Gly Thr Phe Leu Ser Ser Ala

1 5

<210> 294

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 294

Ser Ser Ala Ile Ser

1 5

<210> 295

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 295

Ile Ile Pro Leu Phe Gly Lys Ala

1 5

<210> 296

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 296

Gly Pro Ser Glu Val Lys Gly Ile Leu Gly Tyr Val Trp Phe Asp Pro

1 5 10 15

<210> 297

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 297

Leu Ile Pro Tyr Phe Gly Thr Ala

1 5

<210> 298

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 298

Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln Val

1 5 10

<210> 299

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 299

Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Thr Gly Arg Ile

1 5 10 15

<210> 300

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 300

Ser Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly

1 5 10

<210> 301

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 301

Thr Thr Ala Gln Val Thr Gln

1 5

<210> 302

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (5) .. (5)

<223> Xaa是Cys-acm

<220>

<221> misc_feature

<222> (19) .. (19)

<223> Xaa是Cys-acm

<400> 302

Cys Ile Leu Gln Xaa His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln Val Thr Gln

1 5 10 15

Cys Ile Xaa Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys

20 25 30

Cys

<210> 303

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (19) .. (19)

<223> Xaa是Cys-acm

<400> 303

Cys Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln

1 5 10 15

Cys Ile Xaa Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys

20 25 30

Cys

<210> 304

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 304

Ala Asp His Ile Gln Arg Tyr

1 5

<210> 305

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 305
Thr Ala Gln Val Thr
1 5
<210> 306
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 306
Gly Trp His Ile
1
<210> 307
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 307
Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu
1 5
<210> 308
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 308
Lys Asp Arg Val Ala
1 5
<210> 309
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 309

Gly Gly Ser Gly Gly

1

5

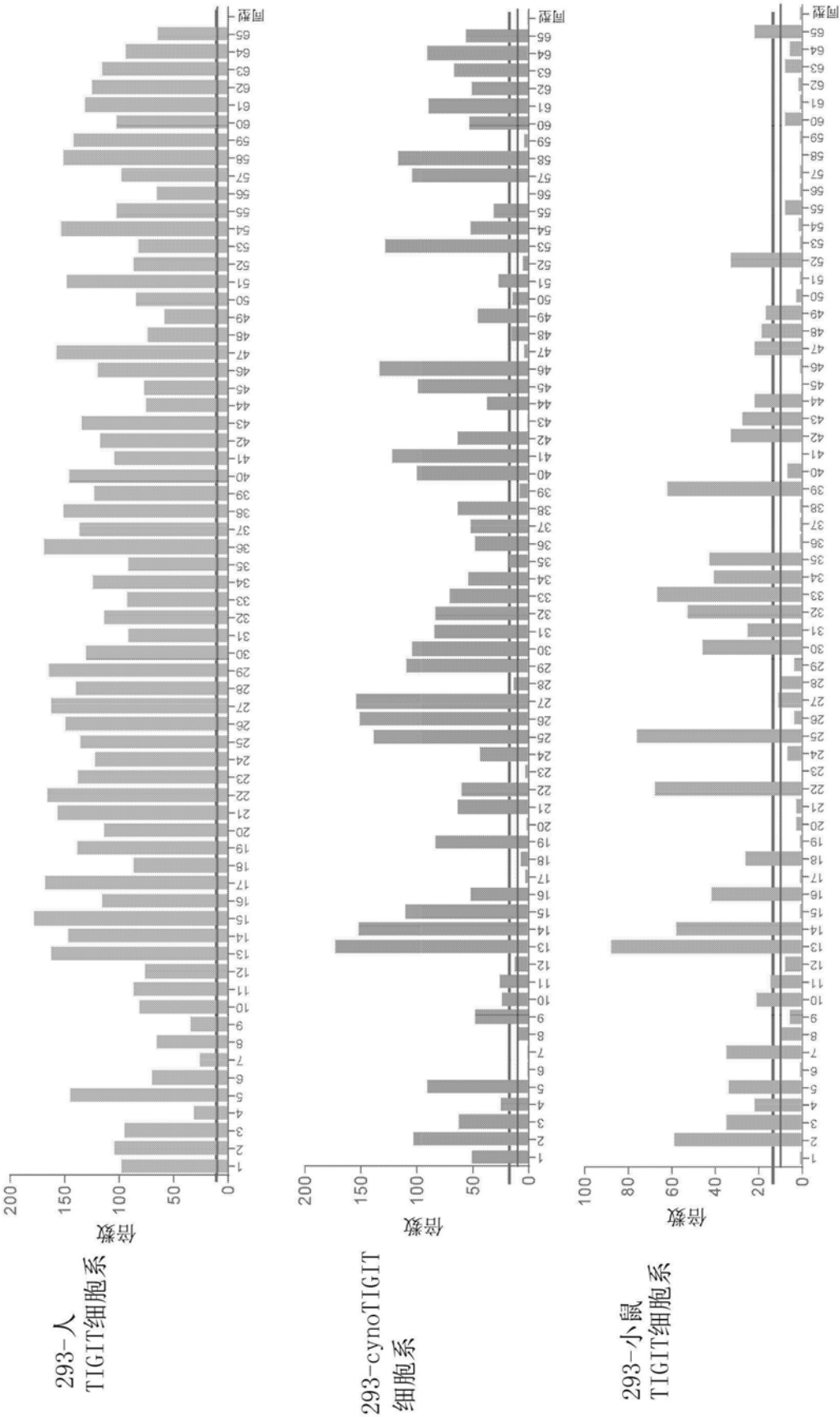


图1

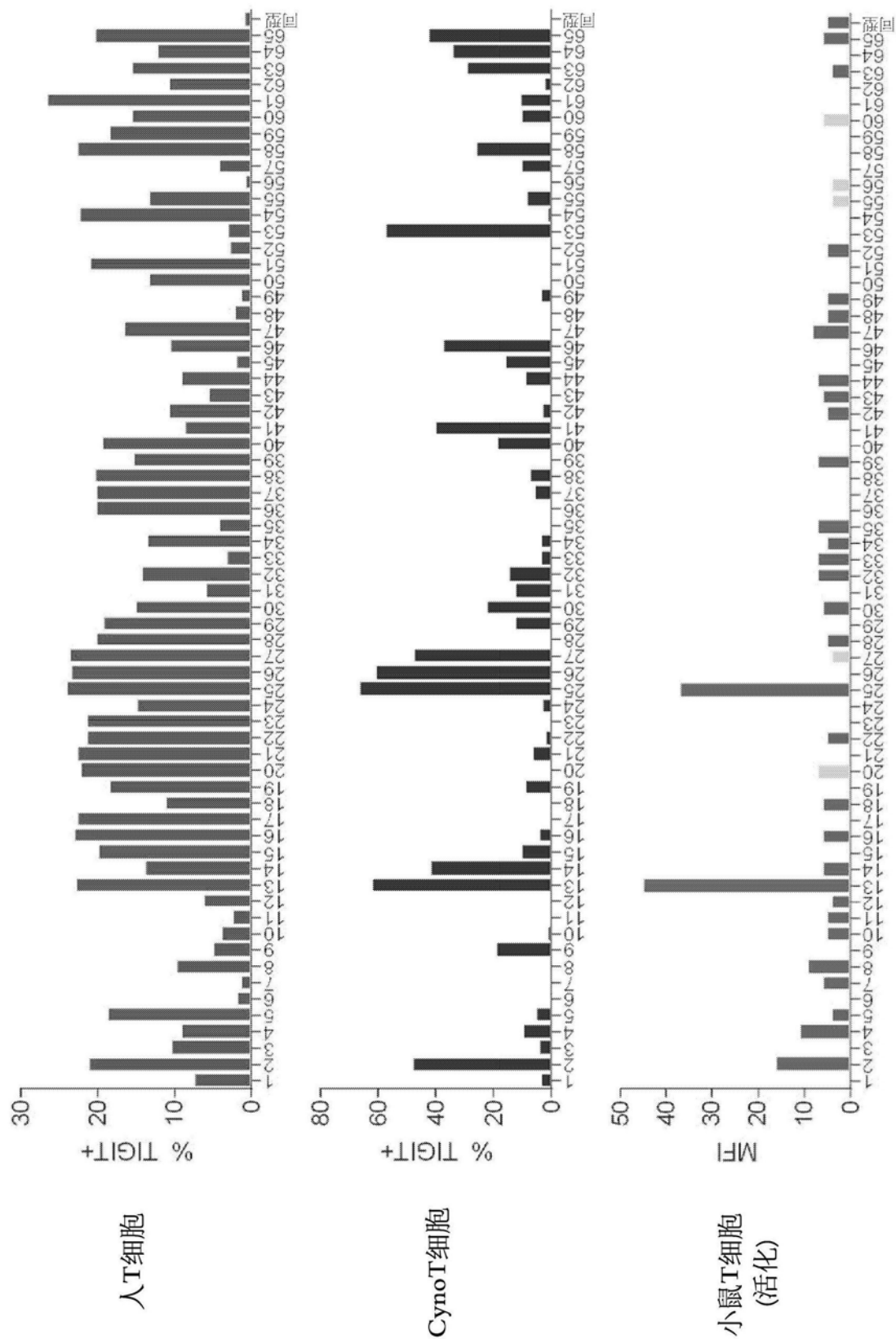


图2

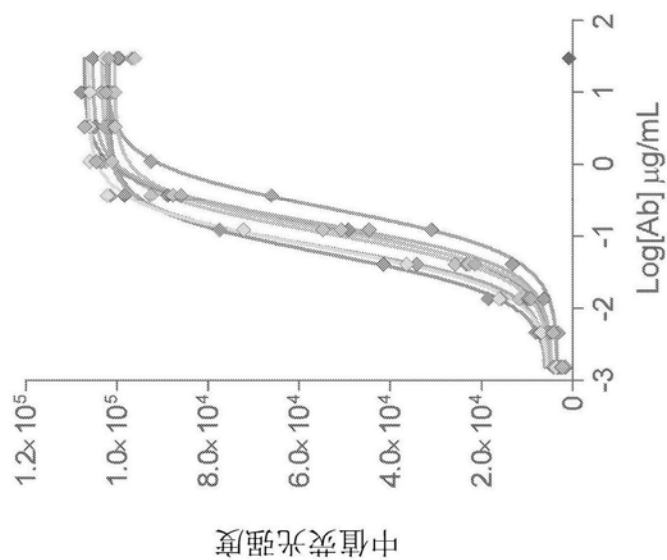


图3A

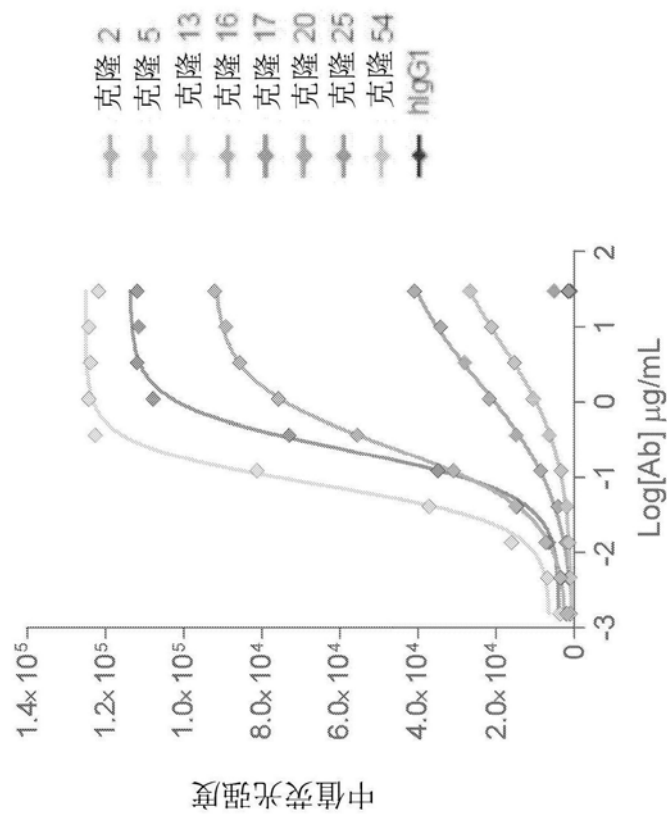


图3B

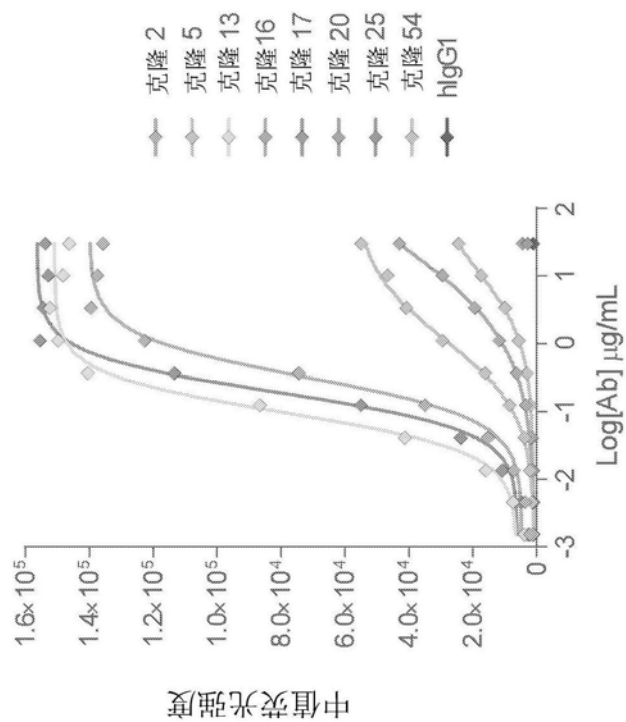


图3C

EC50 (µg/mL)

	克隆2	克隆5	克隆13	克隆16	克隆17	克隆20	克隆25	克隆54
人	0.15	0.12	0.07	0.07	0.06	0.24	0.14	0.11
小鼠	0.25	5.39	0.08	0.08			0.24	
cyno	0.32	1.17	0.10	0.10			0.19	11.44

图3D

活化原代小鼠脾T细胞

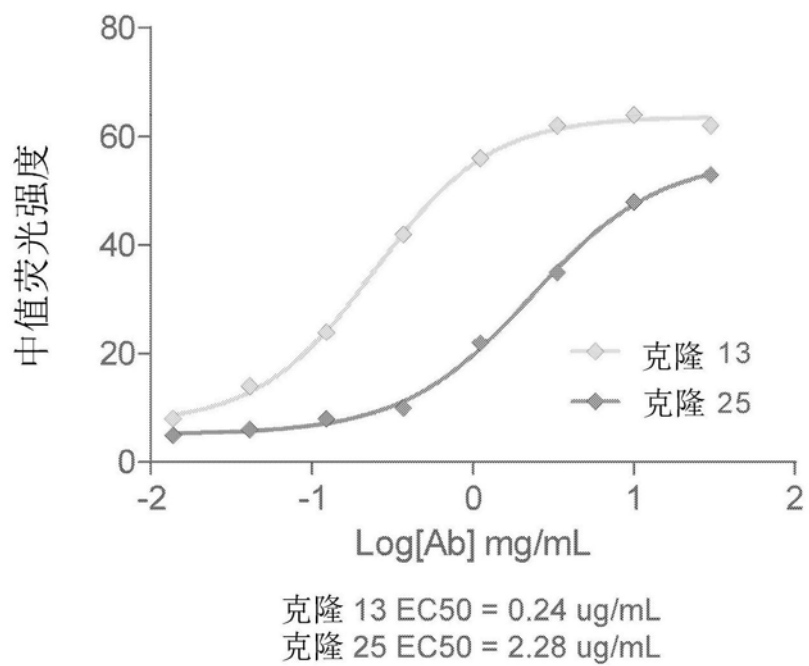


图4

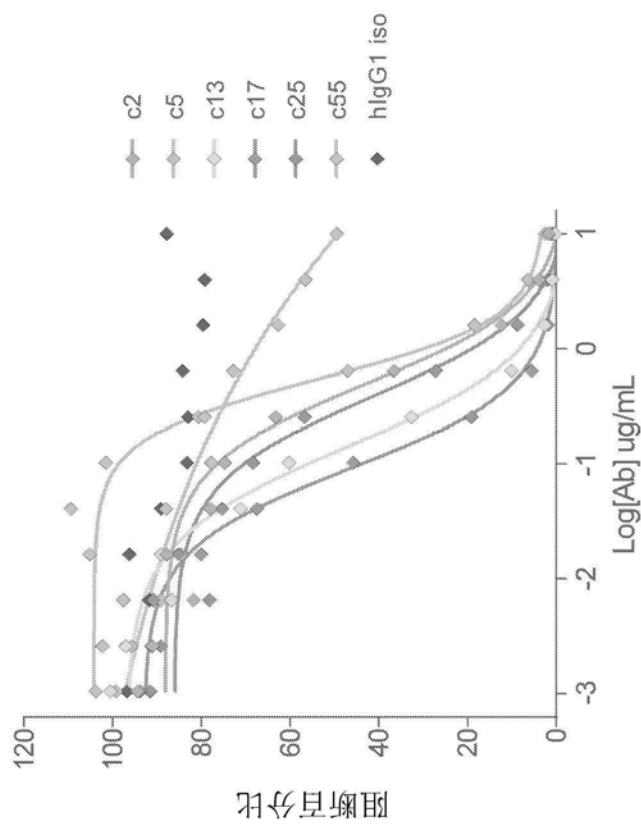


图5A

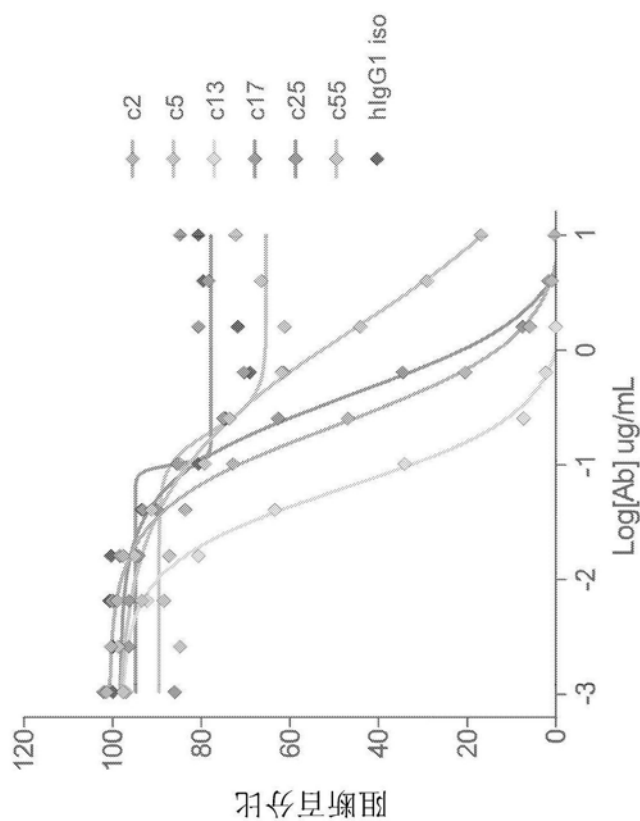


图5B

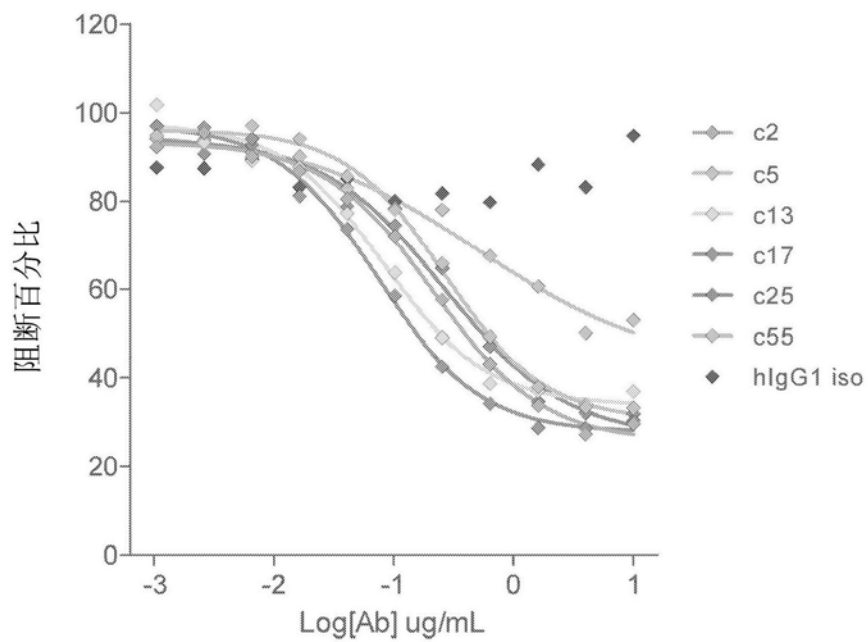


图6

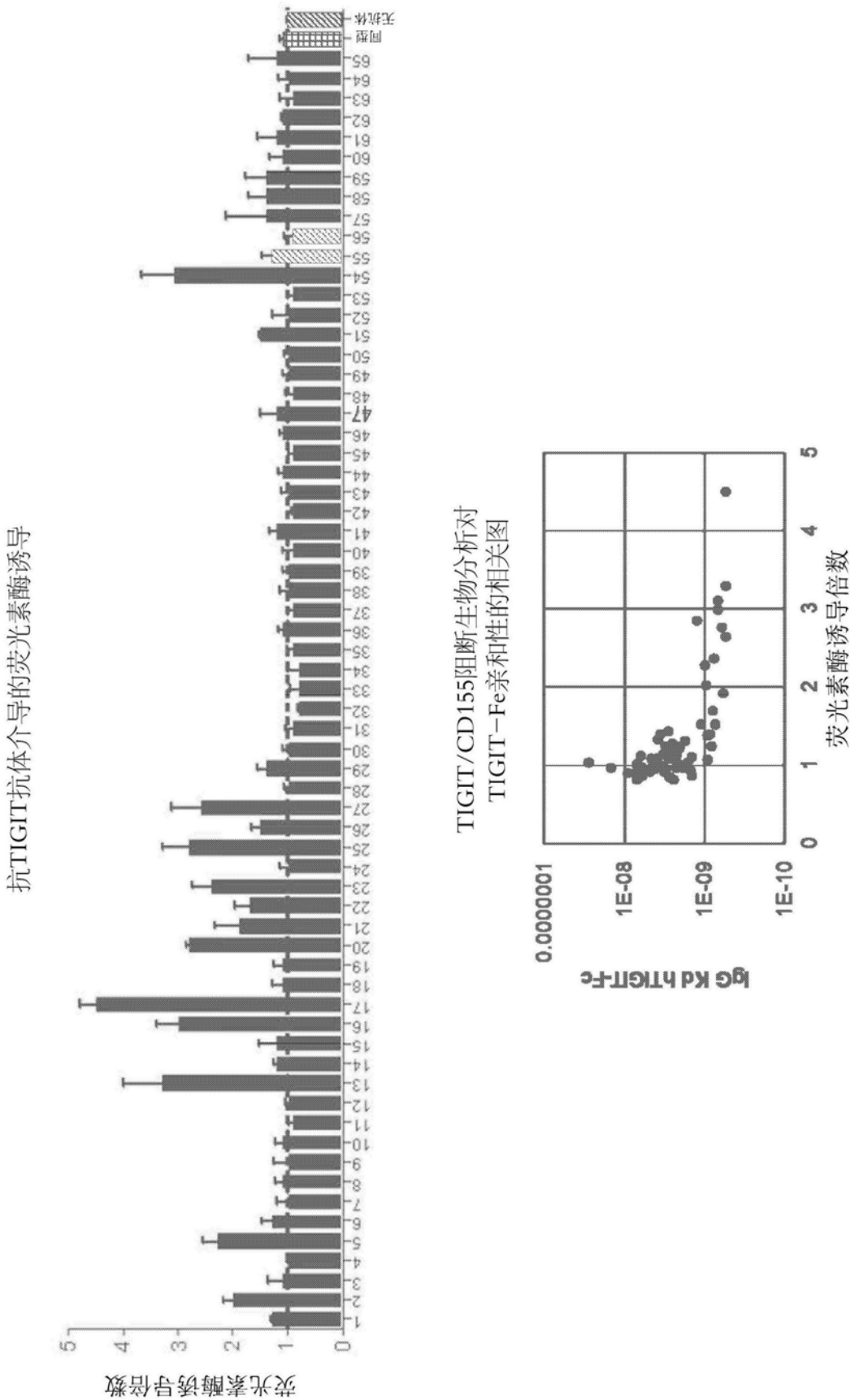


图7A

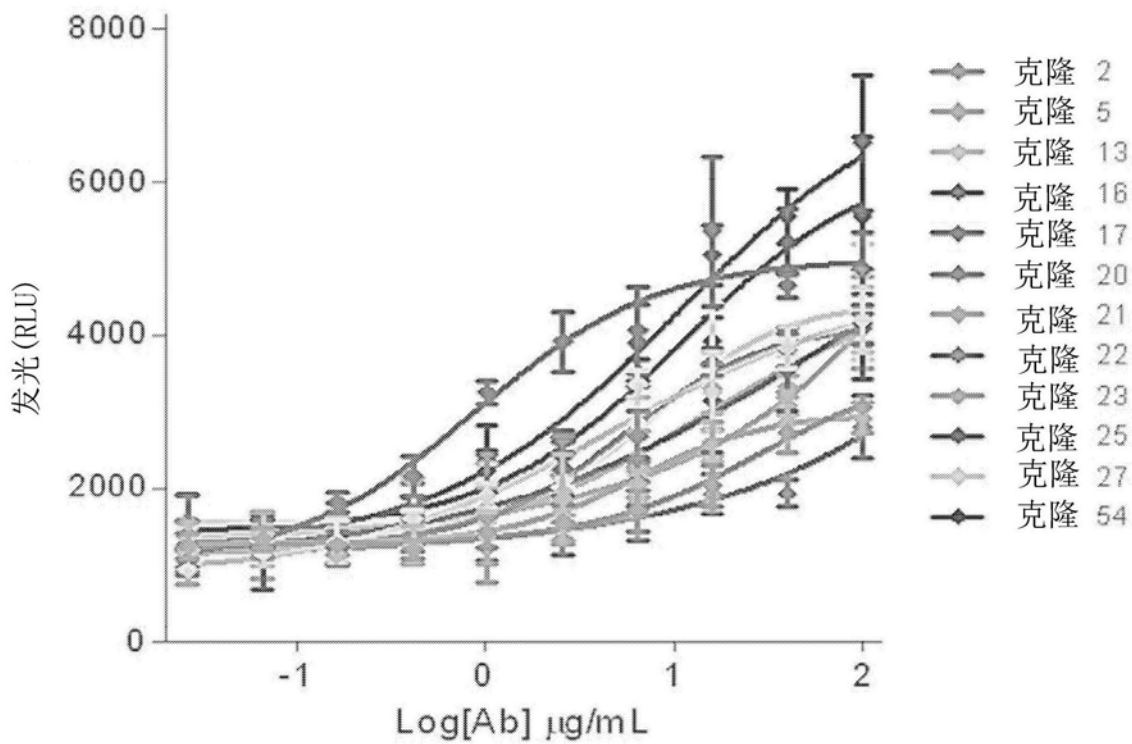


图7B

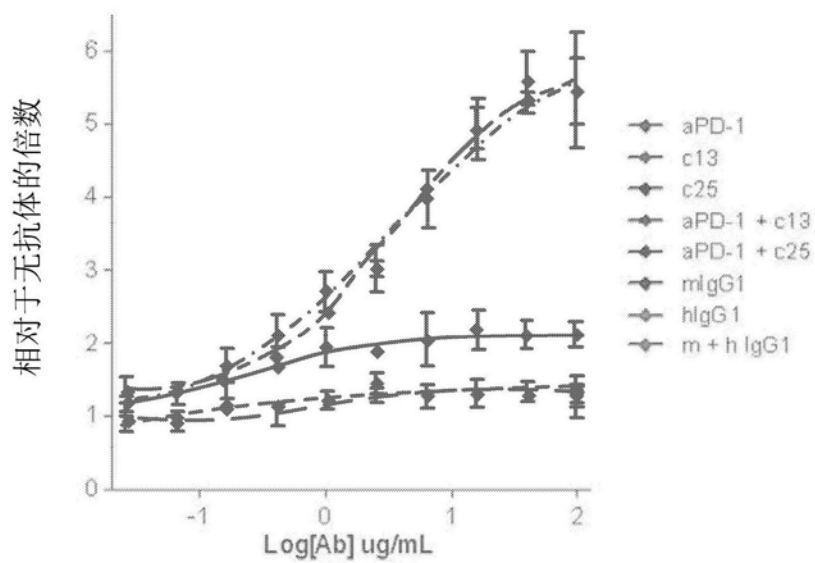


图8

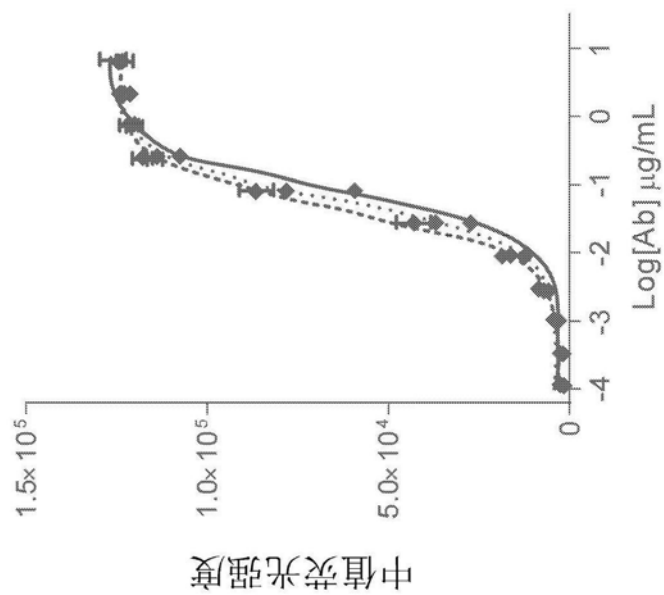


图9A

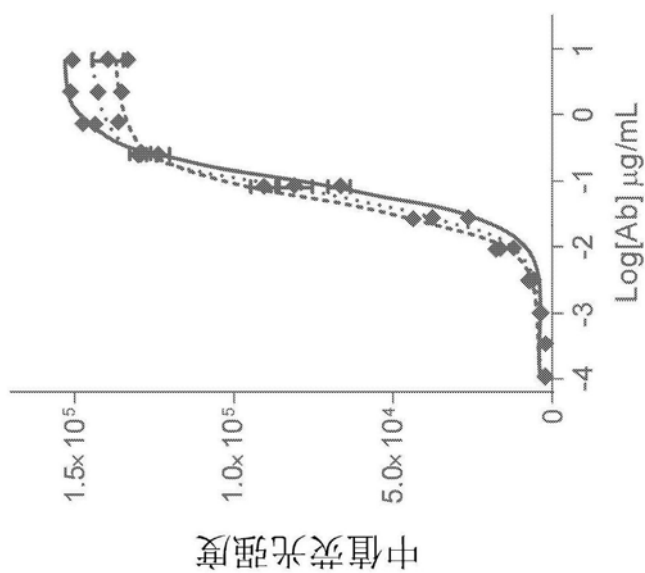


图9B

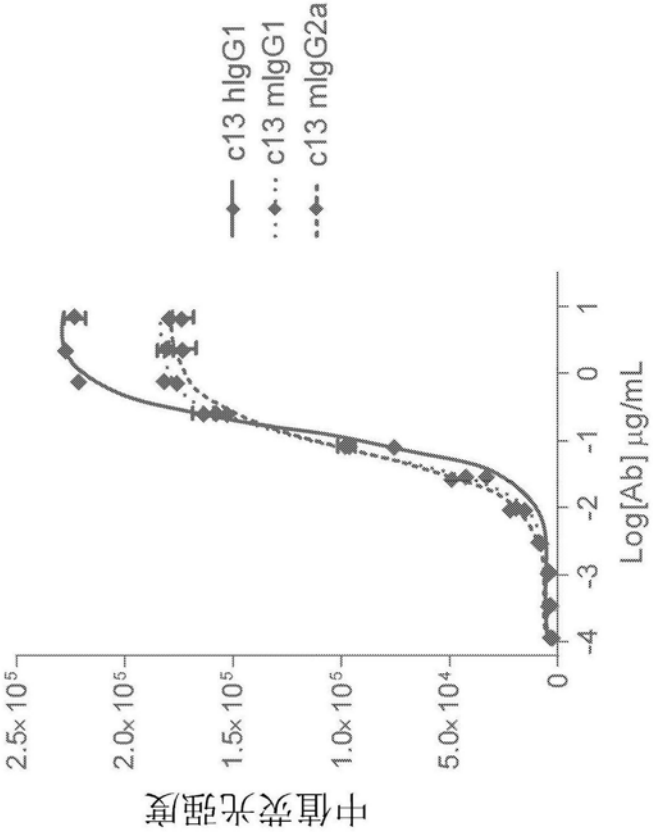


图9C

EC50 (μg/mL)			
	c13 hlgG1	c13 mlgG1	c13 mlgG2a
人	0.09	0.05	0.04
小鼠	0.10	0.06	0.05
cyno	0.13	0.07	0.07

图9D

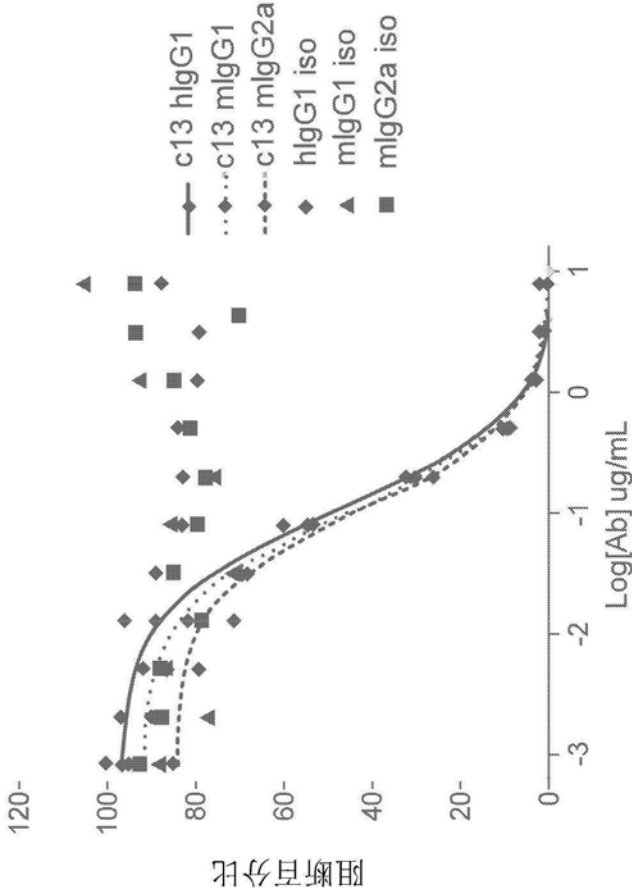


图9E

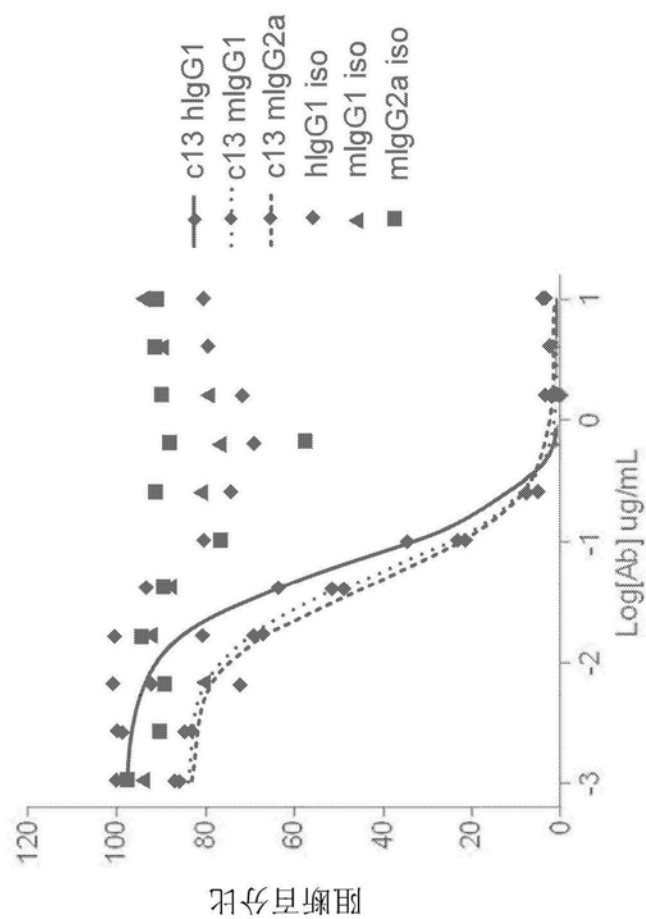


图9F

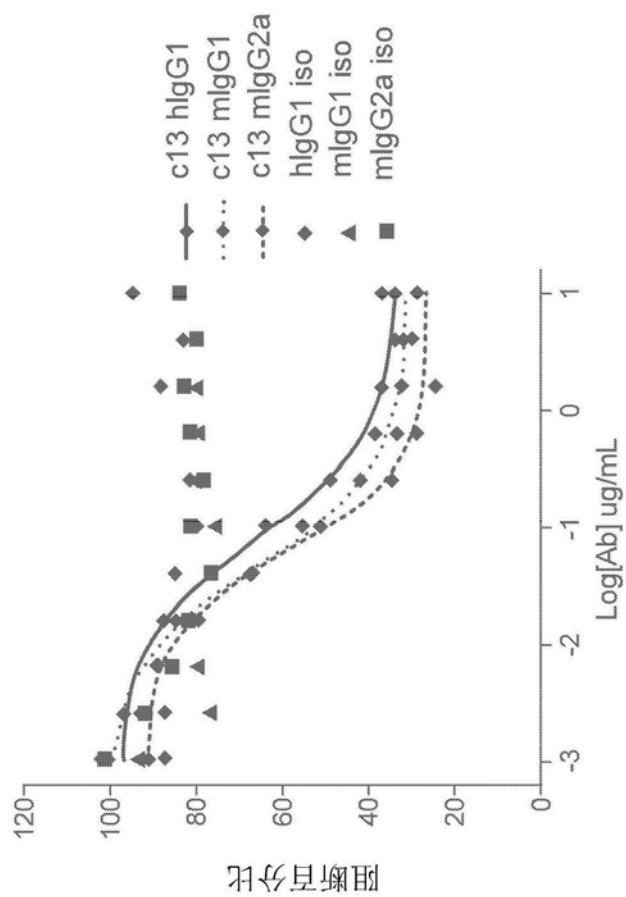


图9G

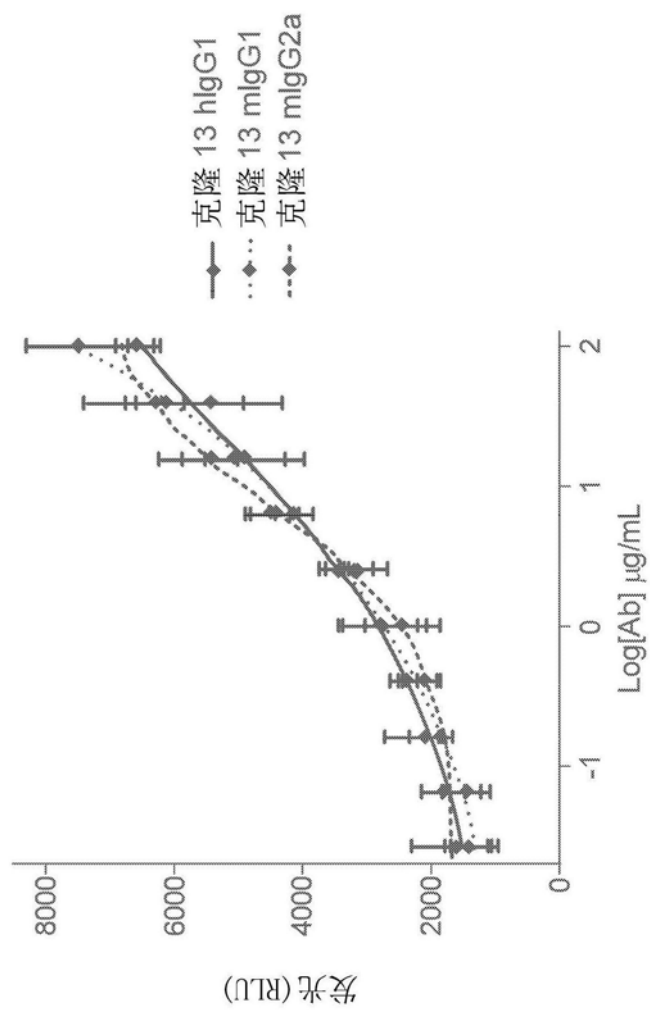


图9H

CT26同系模型中的aTIGIT+aPD-1肿瘤效能
组平均肿瘤体积

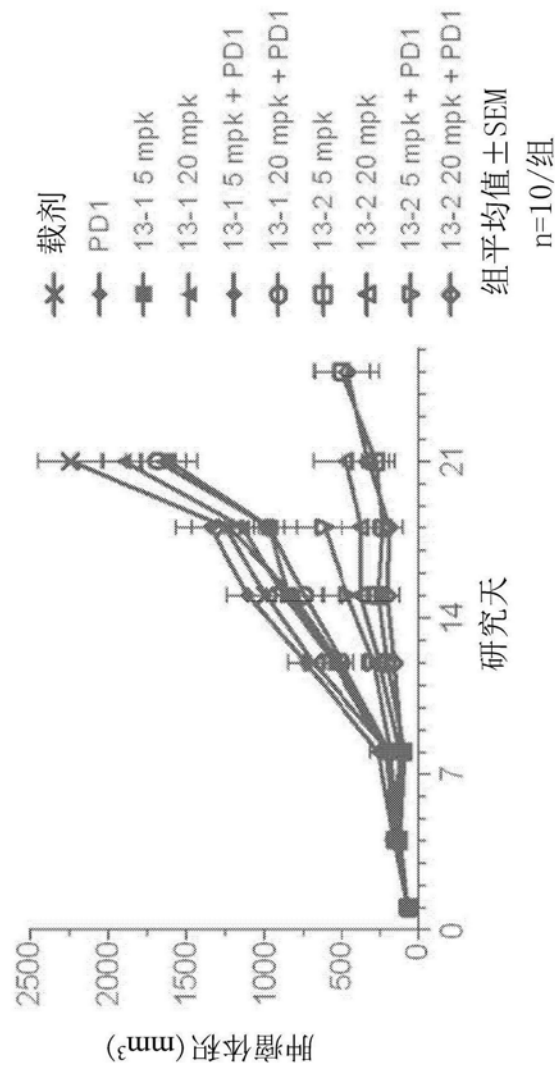


图10A

Balb/c雌性小鼠
CT26 (3E+05个细胞/小鼠) s. c. 接种, 2016年10月28日
aTIGIT:biwk×3IP, 自第1天开始给药
13-1=克隆13的mIgG1嵌合体
13-2=克隆13的mIgG2a嵌合体
aPD-1:biwk×2IP, 自第1天开始给药
研究第1天=肿瘤接种后第7天
Charles River Laboratories研究编号CT26-e323

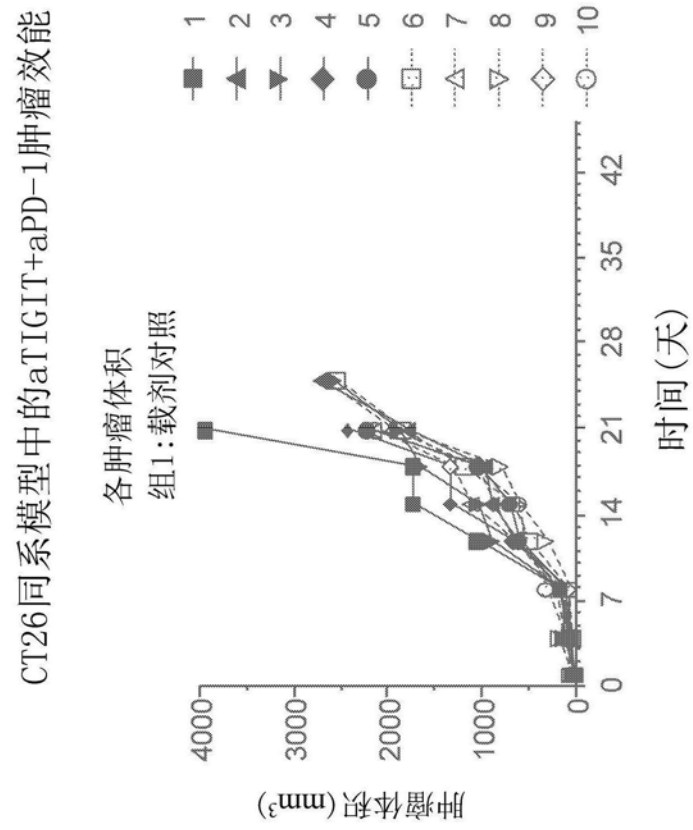


图10B

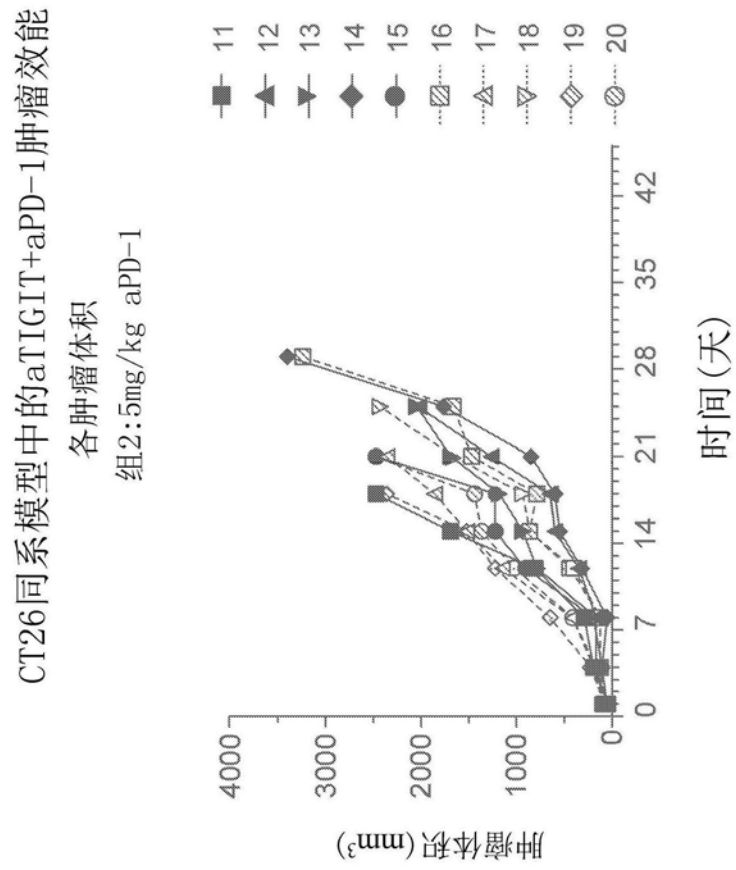


图10C

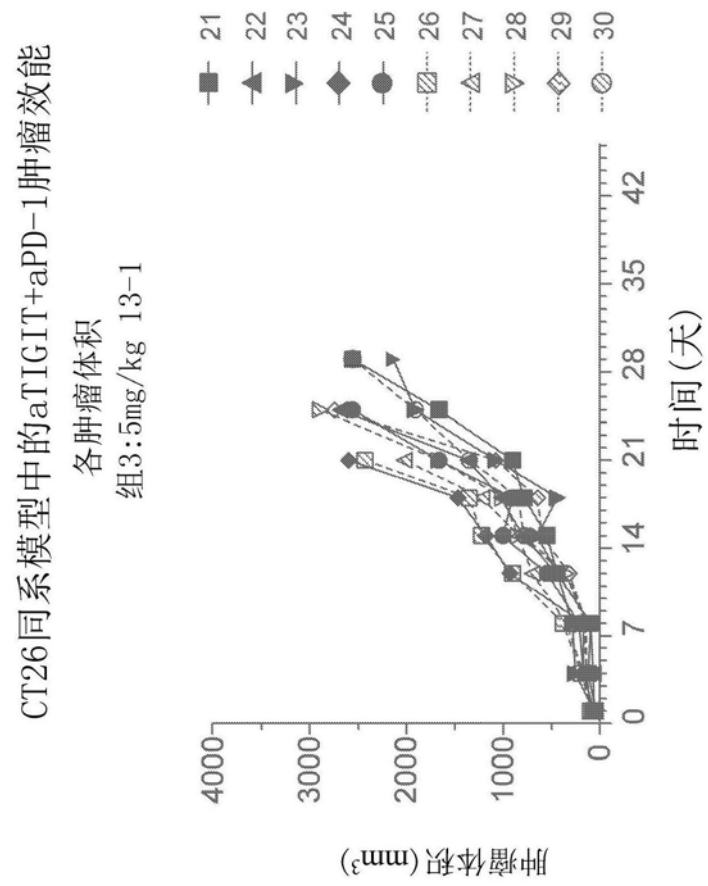


图10D

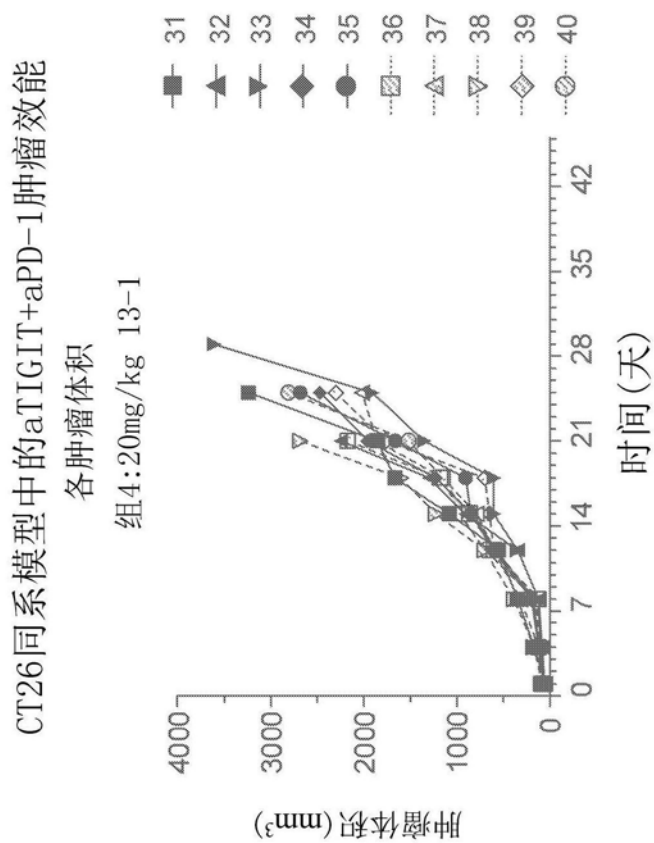


图10E

CT26同系模型中的aTIGIT+aPD-1肿瘤效能

各肿瘤体积

组5:5mg/kg 13-1+5mg/kg aPD-1

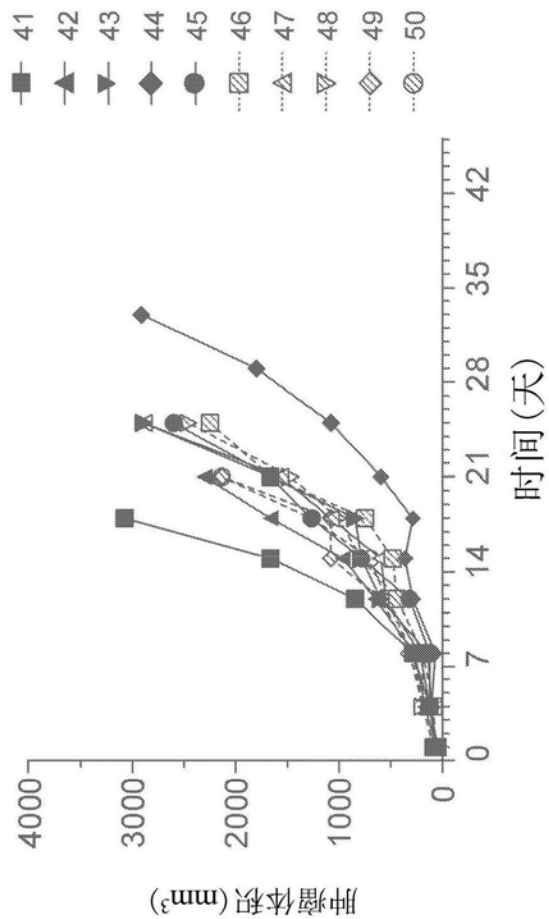


图10F

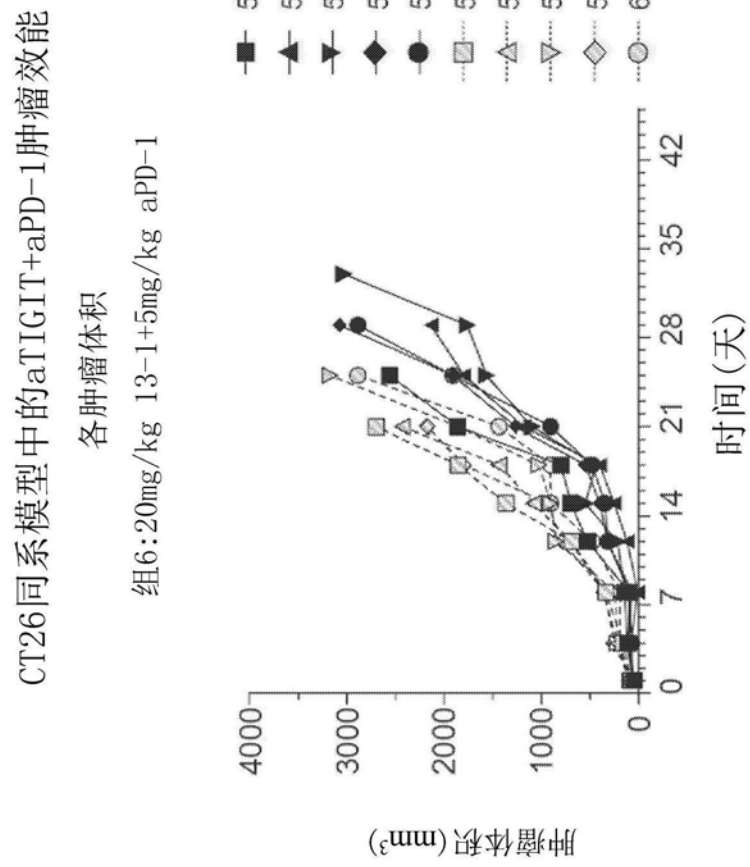


图10G

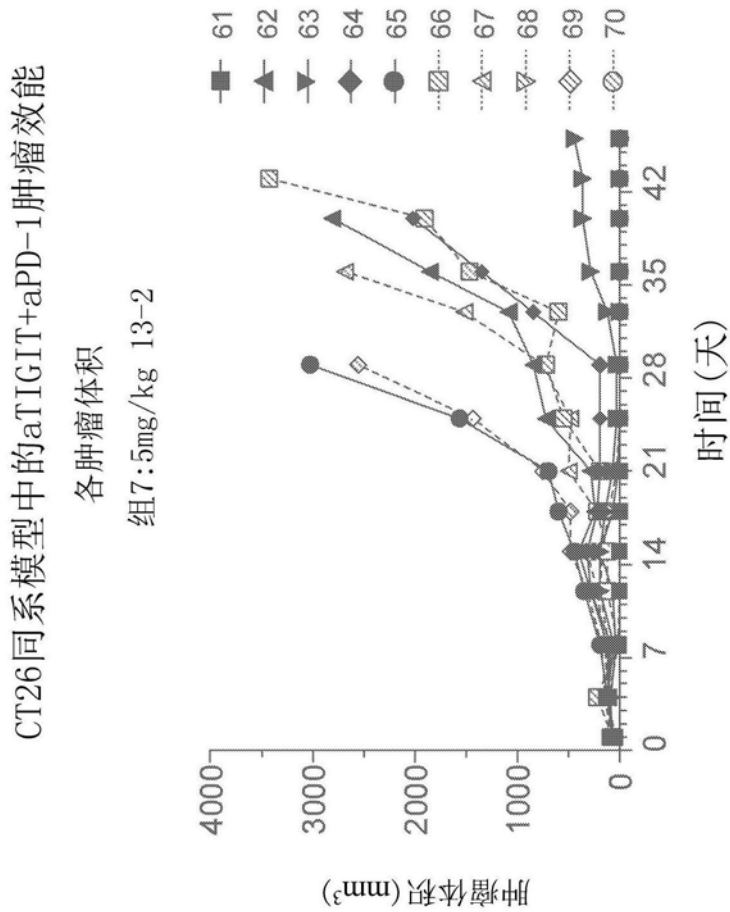


图10H

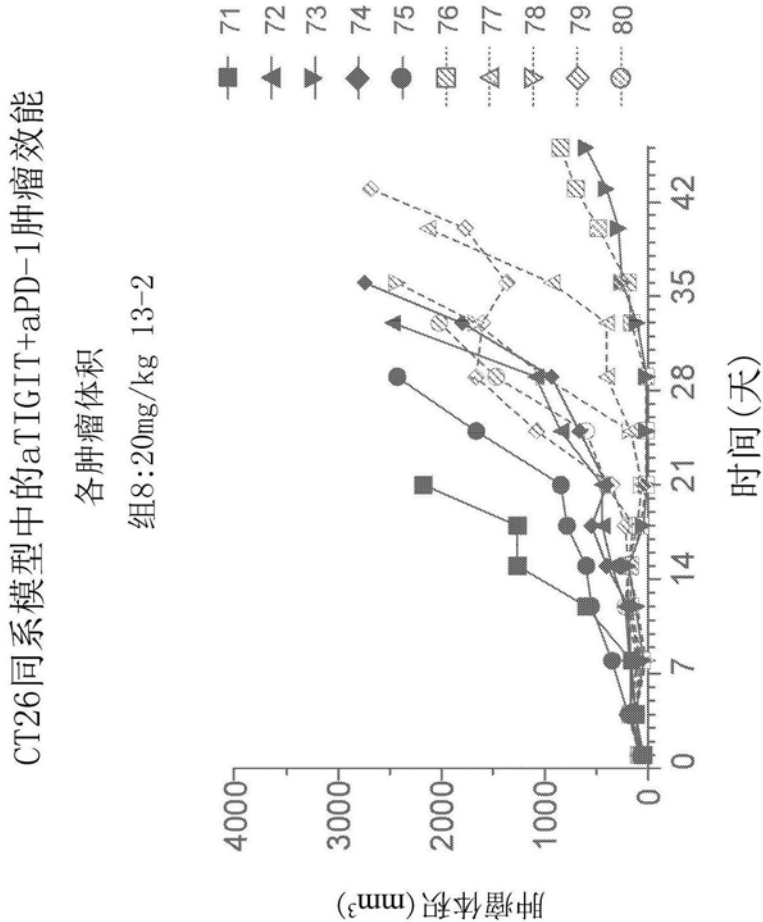


图10I

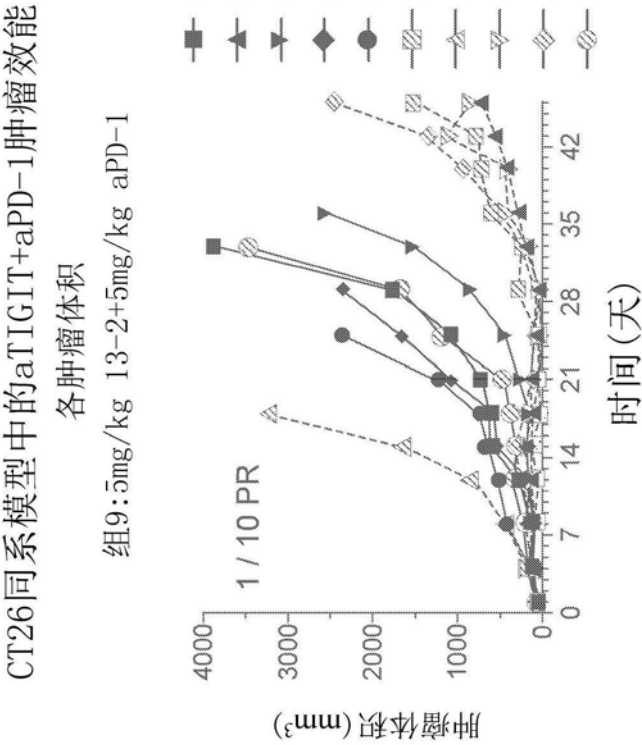


图10J

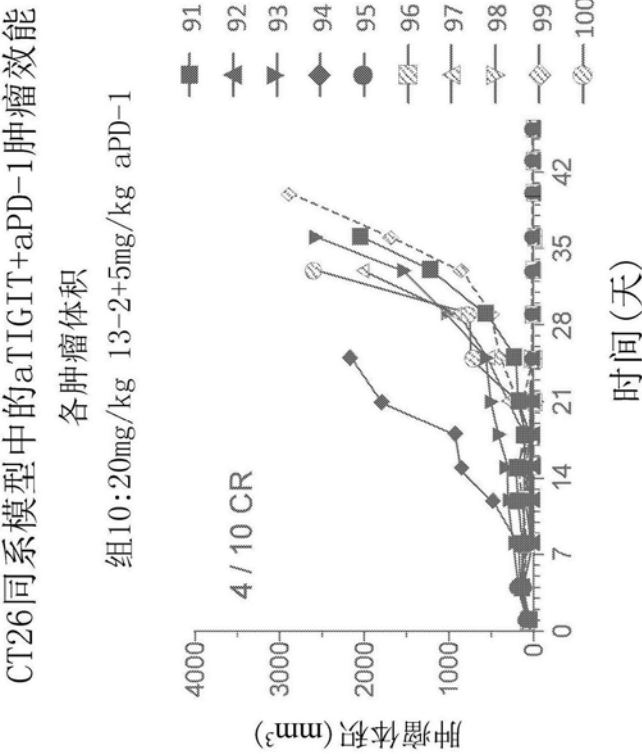


图10K

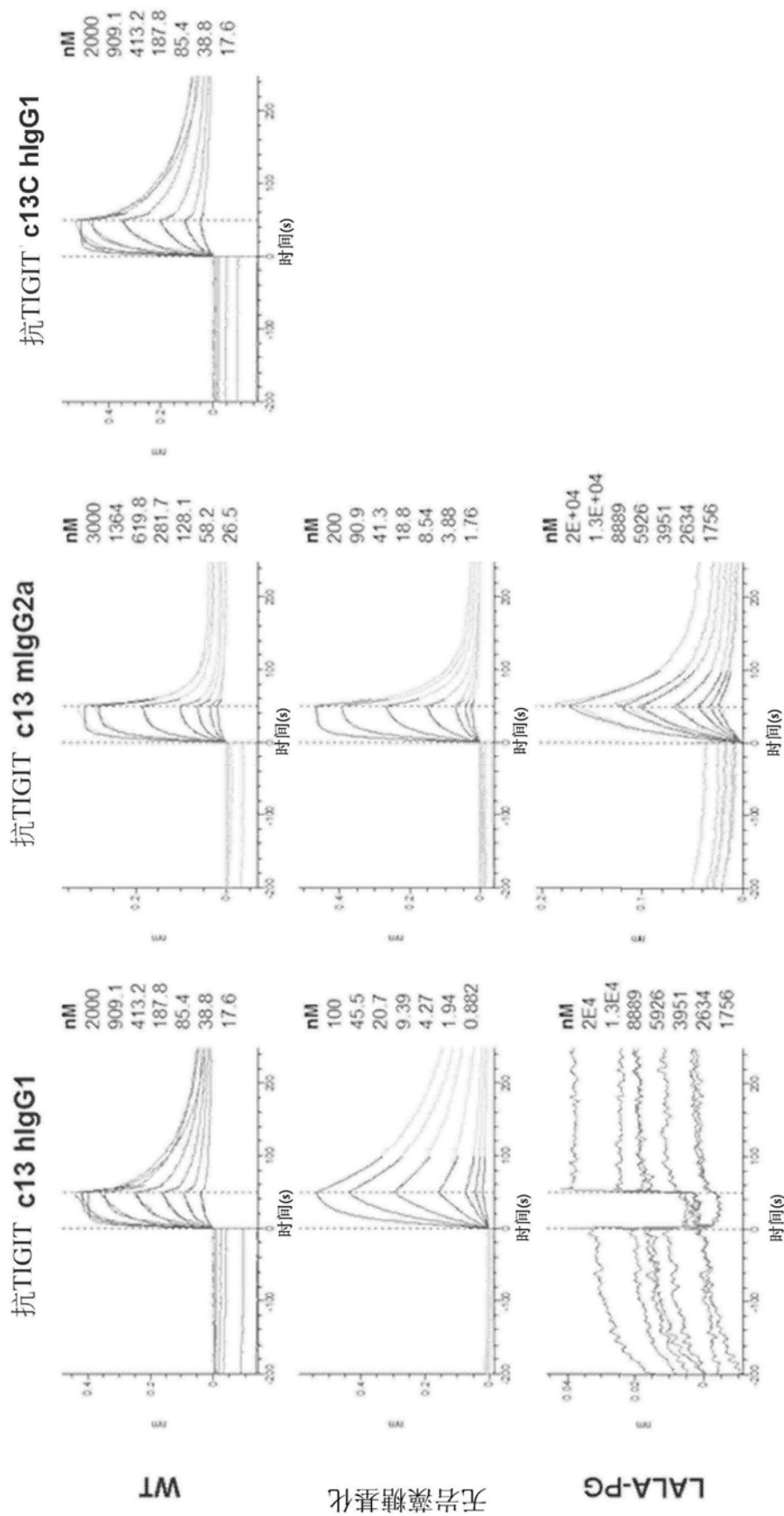
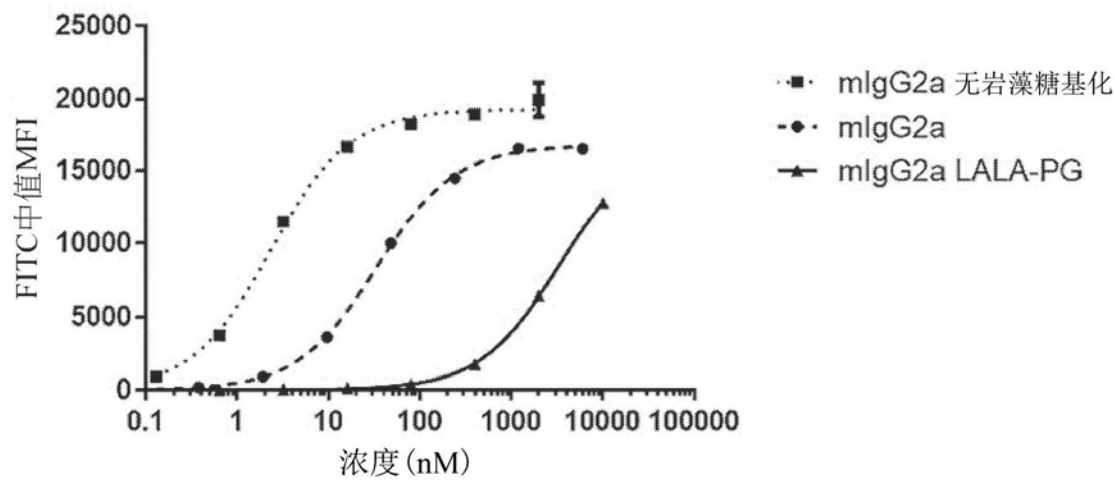


图11



	mIgG2a	mIgG2a 无岩藻糖基化	mIgG2a LALA-PG
KD (nM)	33.4	2.37	3330
KD标准误差	1.1	0.21	120
Bmax	16720	19270	17045

图12

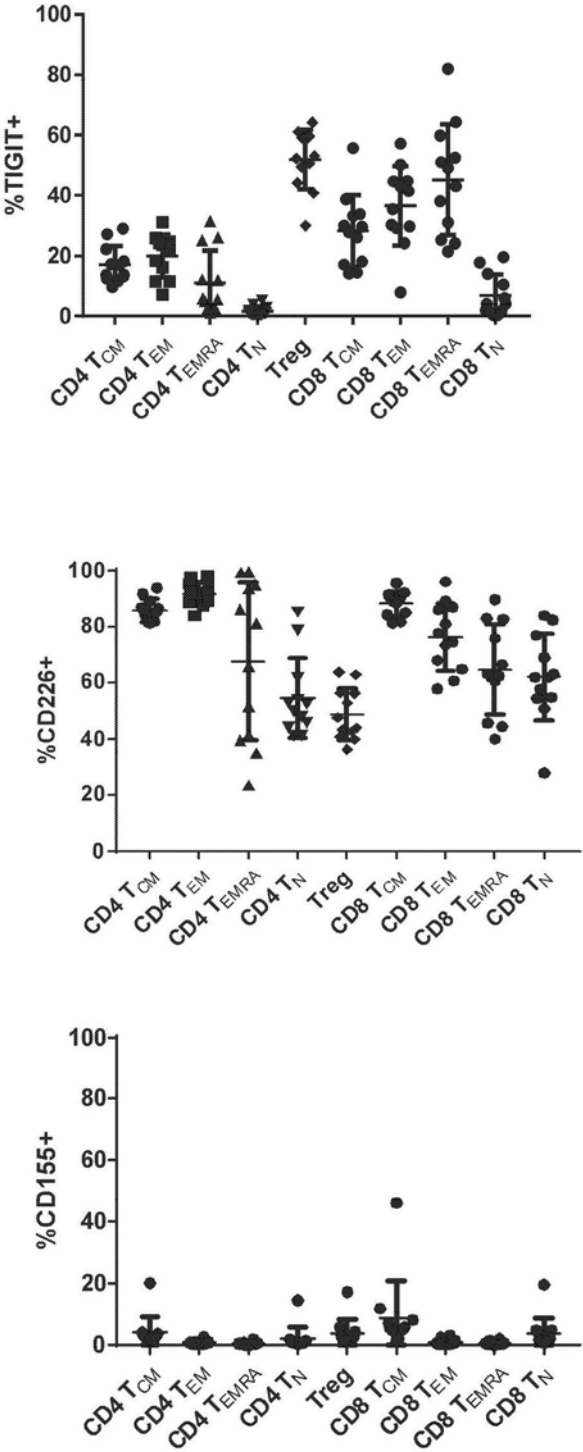


图13

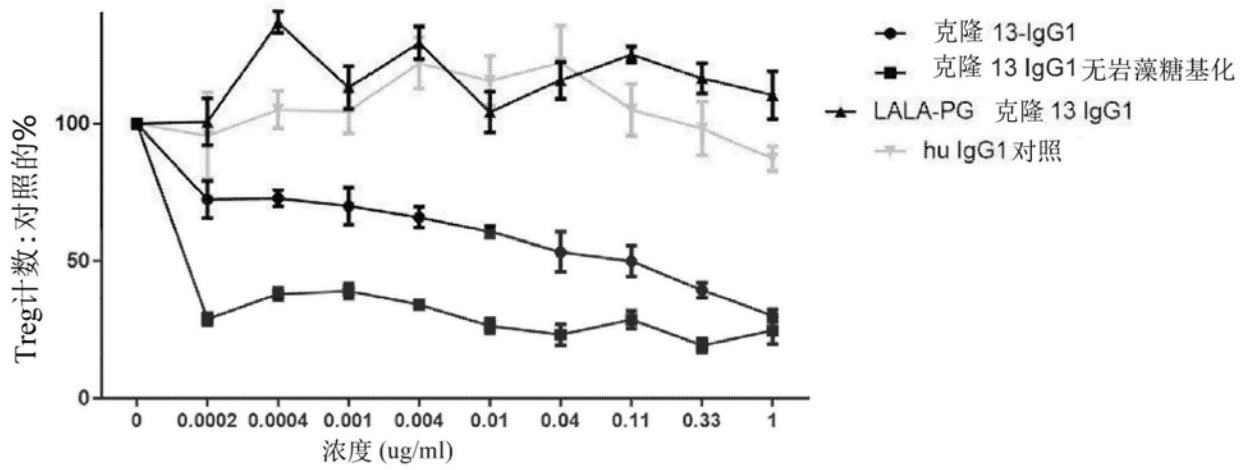


图14

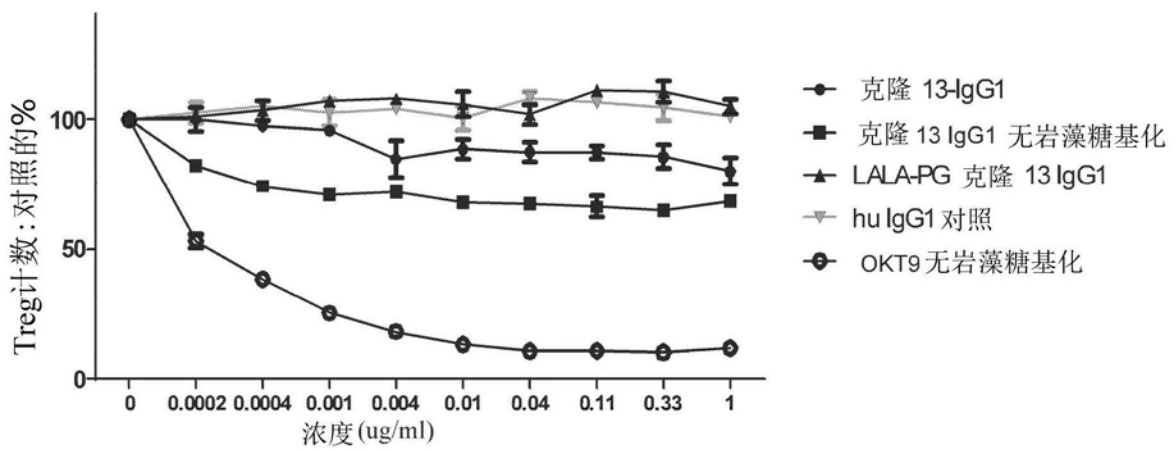


图15

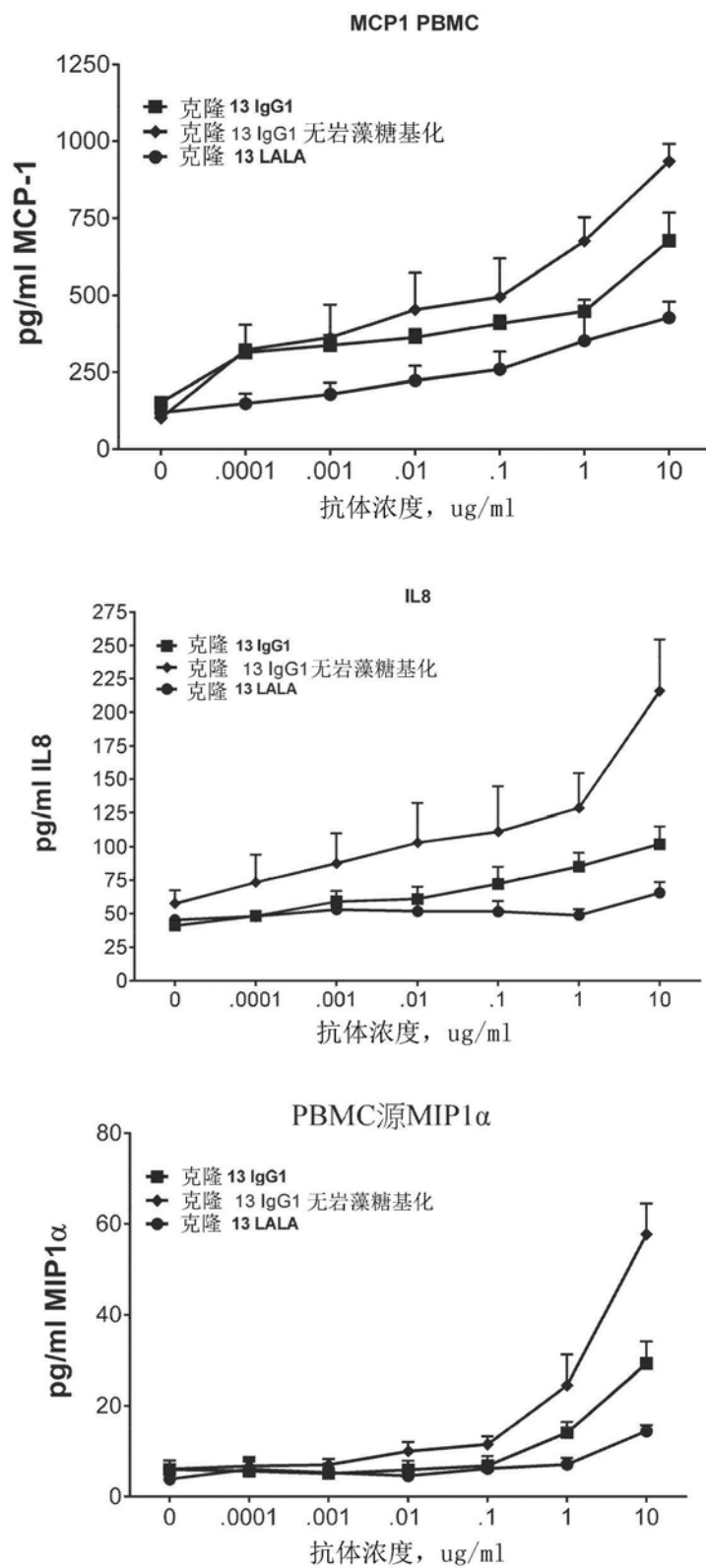


图16

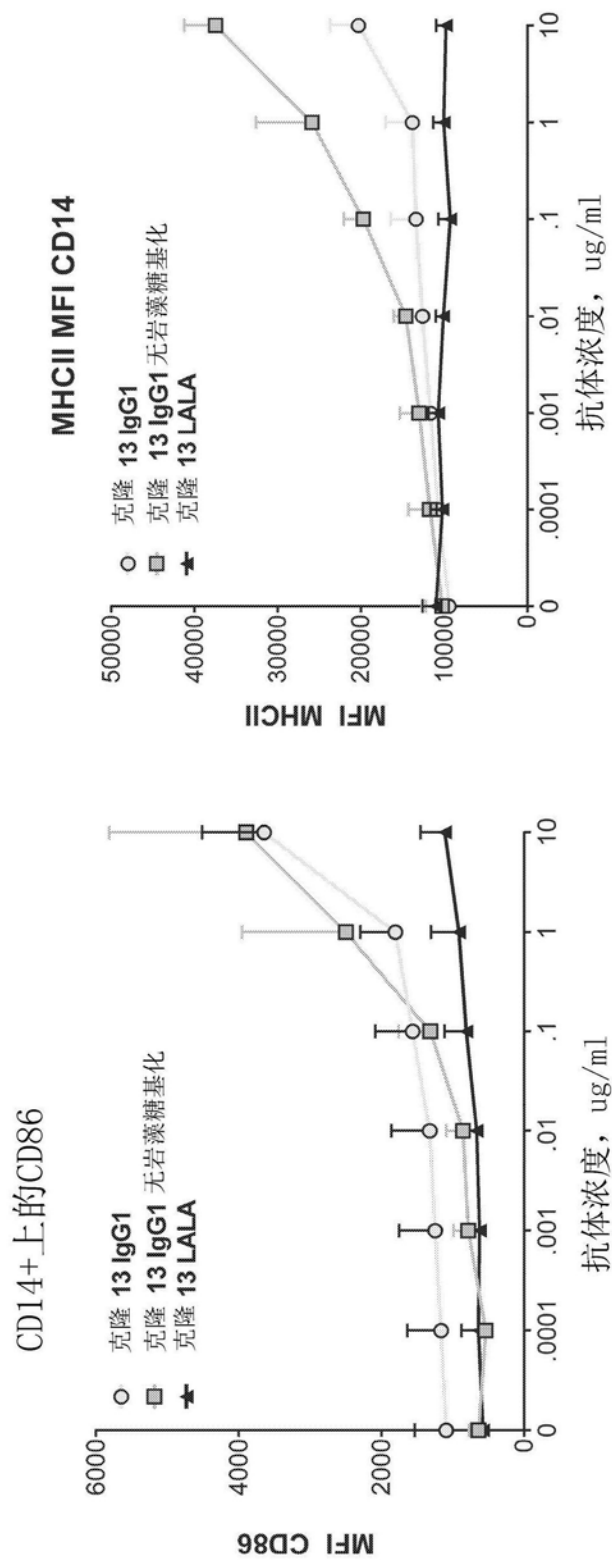


图17

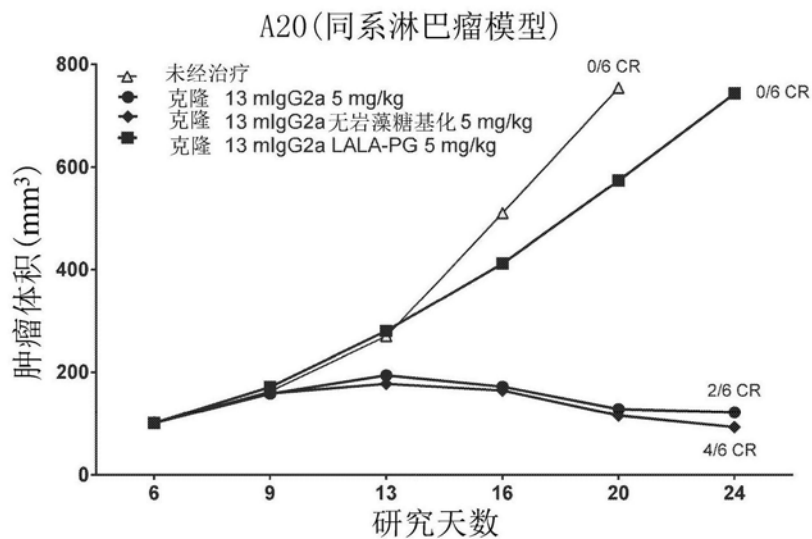


图18A

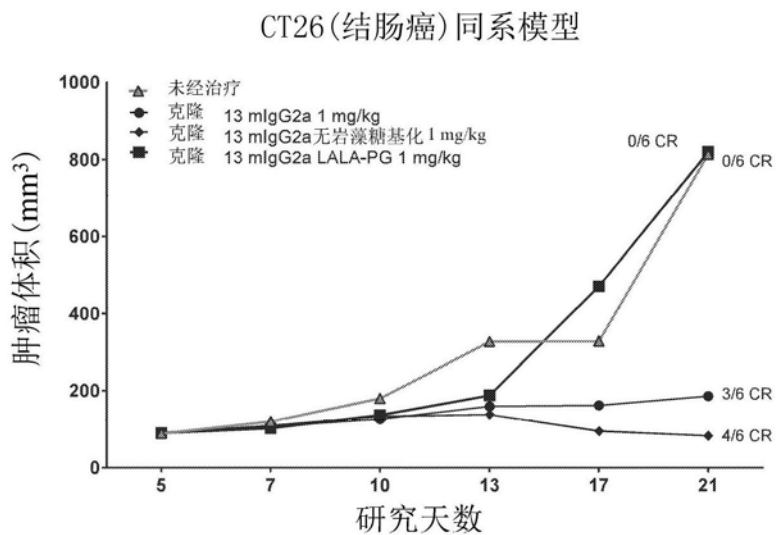


图18B

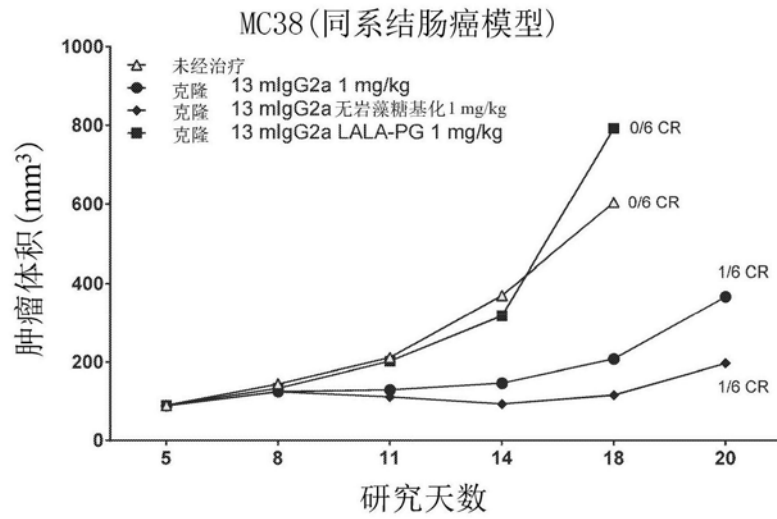


图18C

A549靶标的ADCC

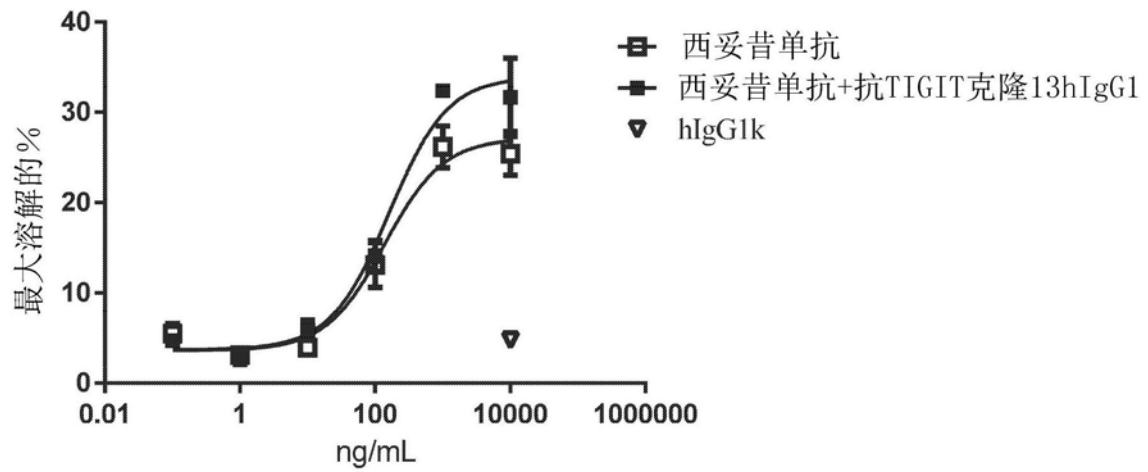


图19

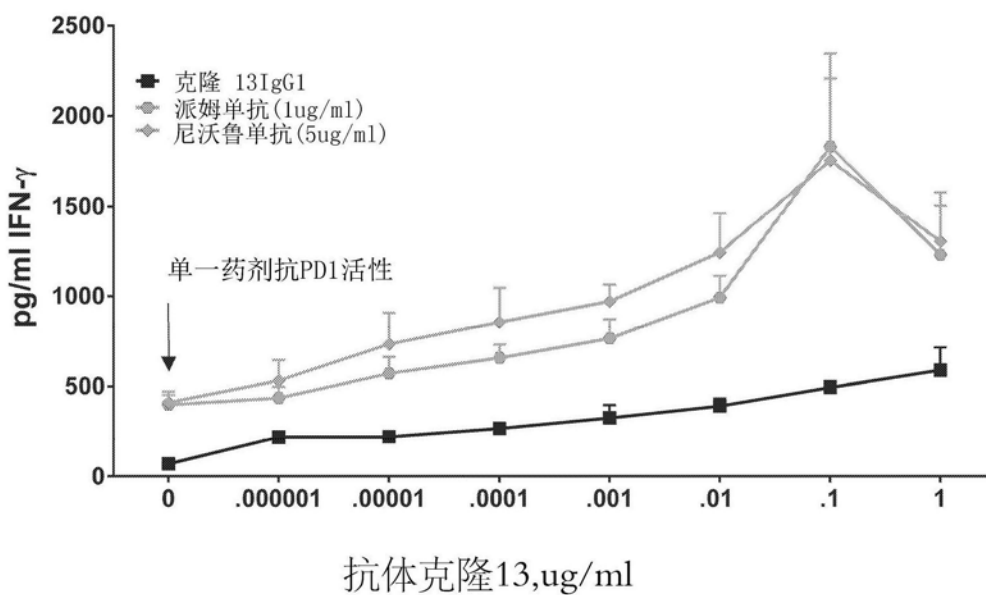
CMV诱导的IFN γ 产生

图20

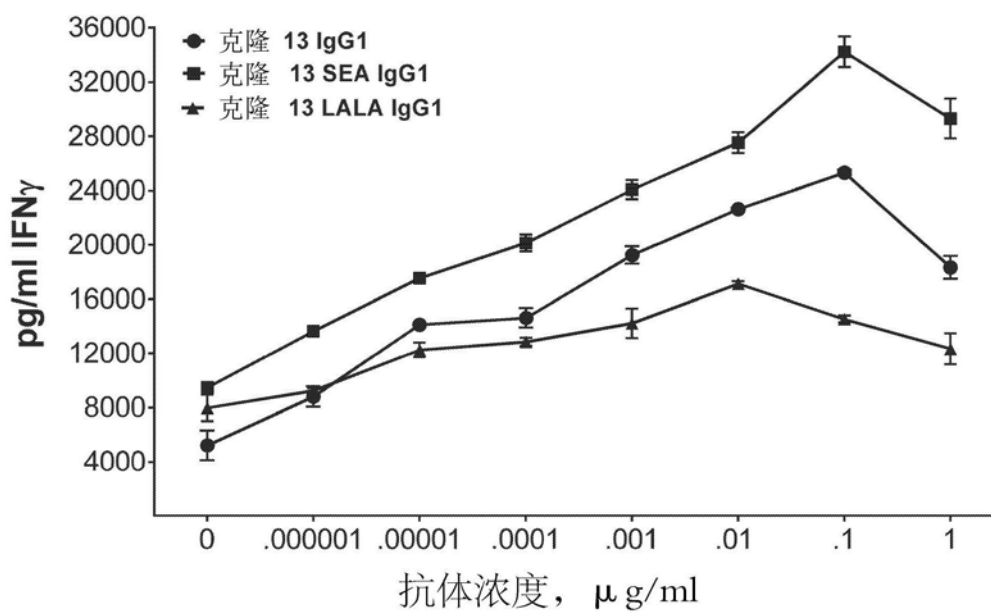
CMV诱导的IFN γ 产生

图21

混合淋巴细胞反应IL2产生

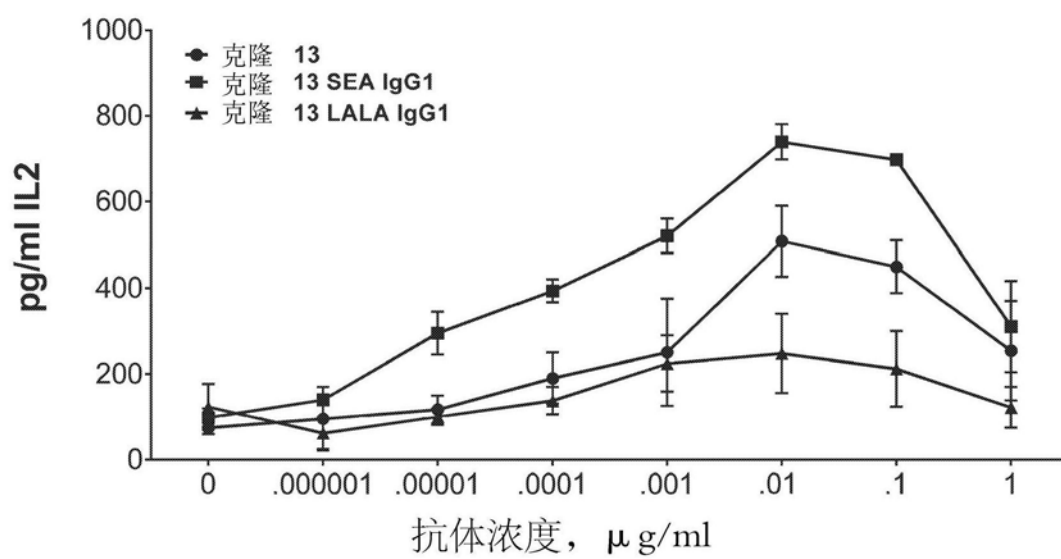


图22

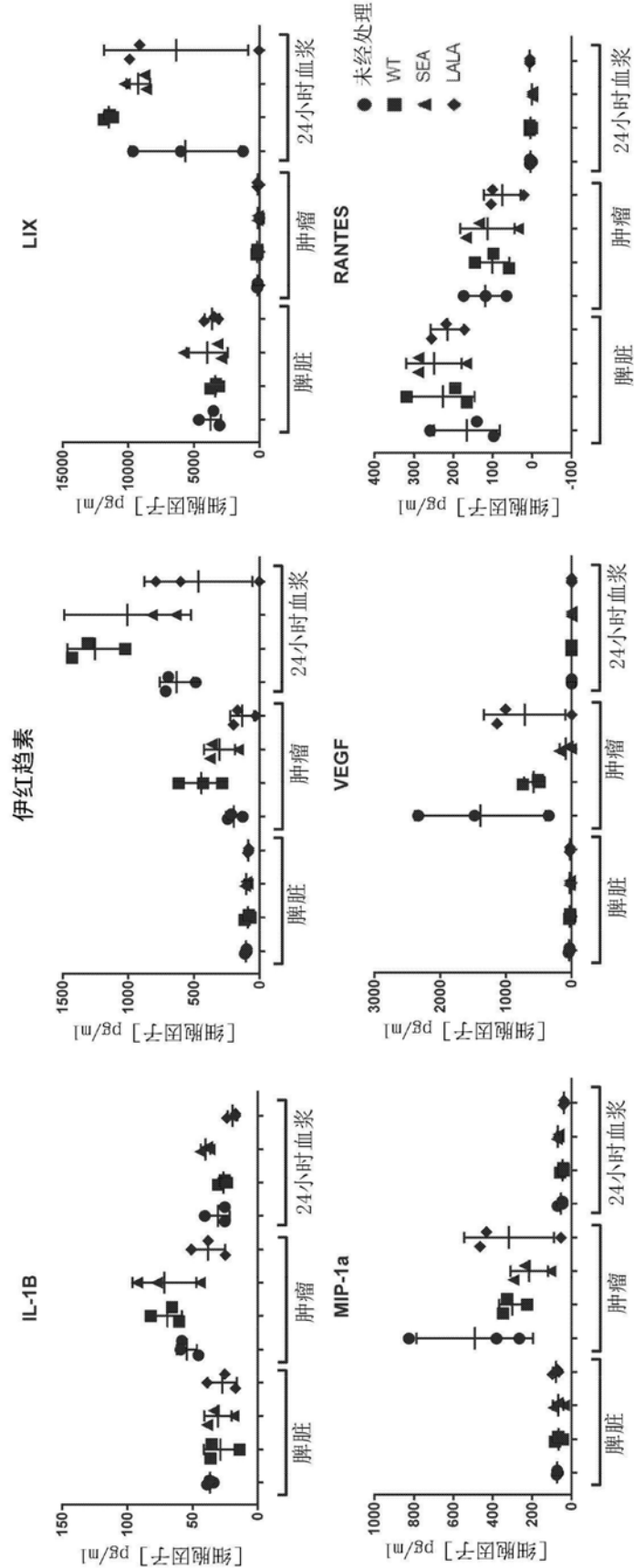


图23

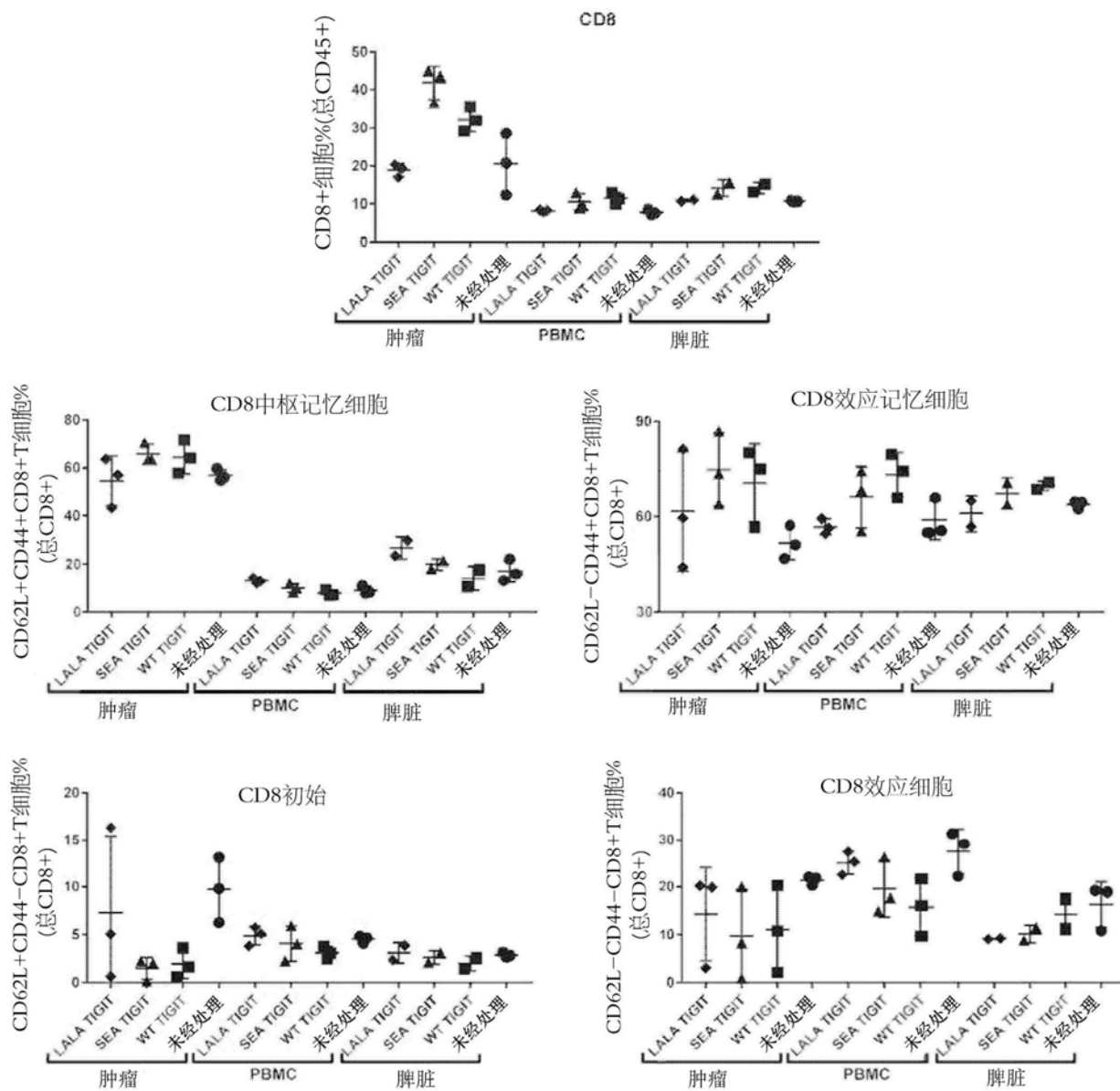


图24

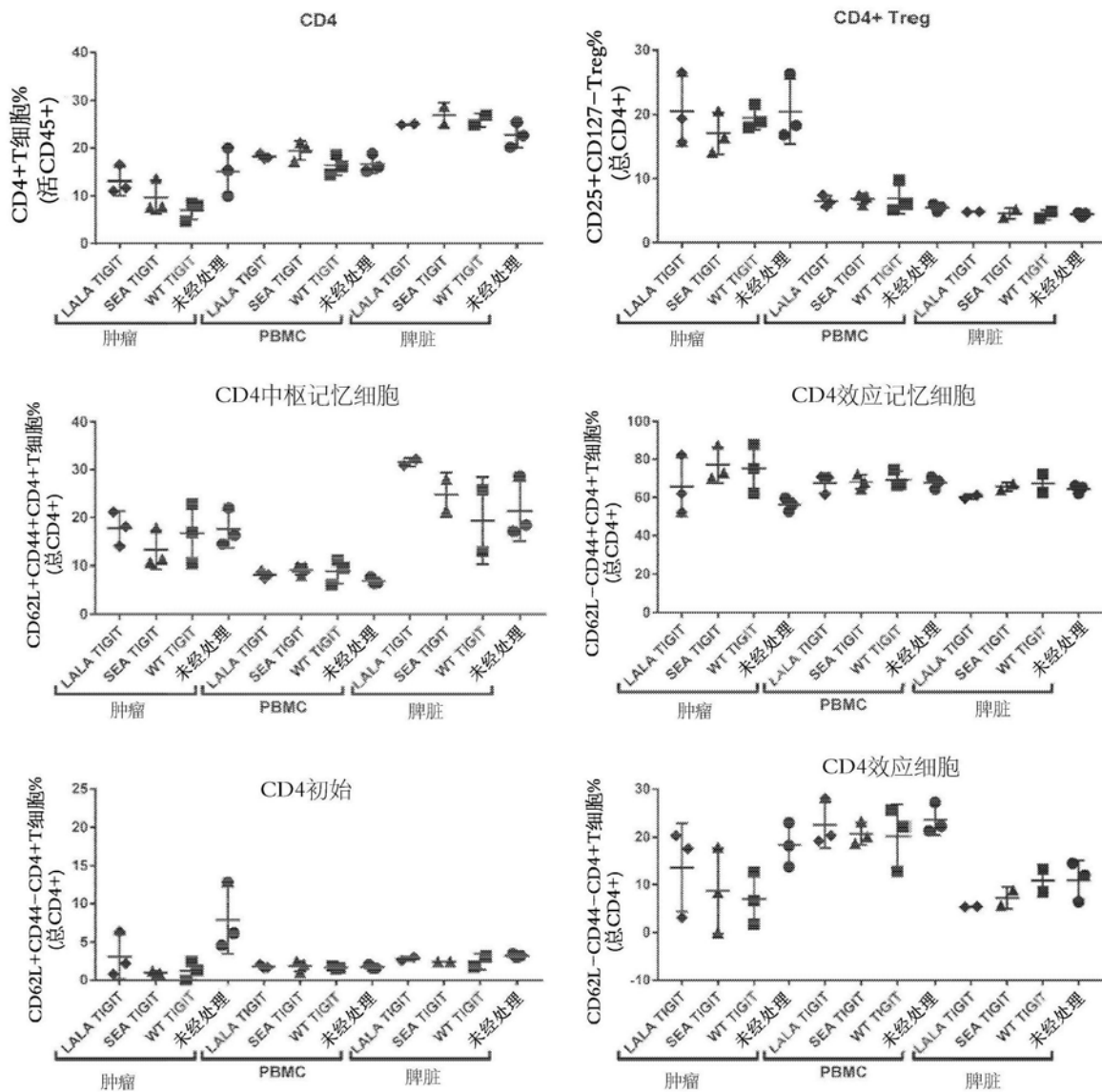


图25

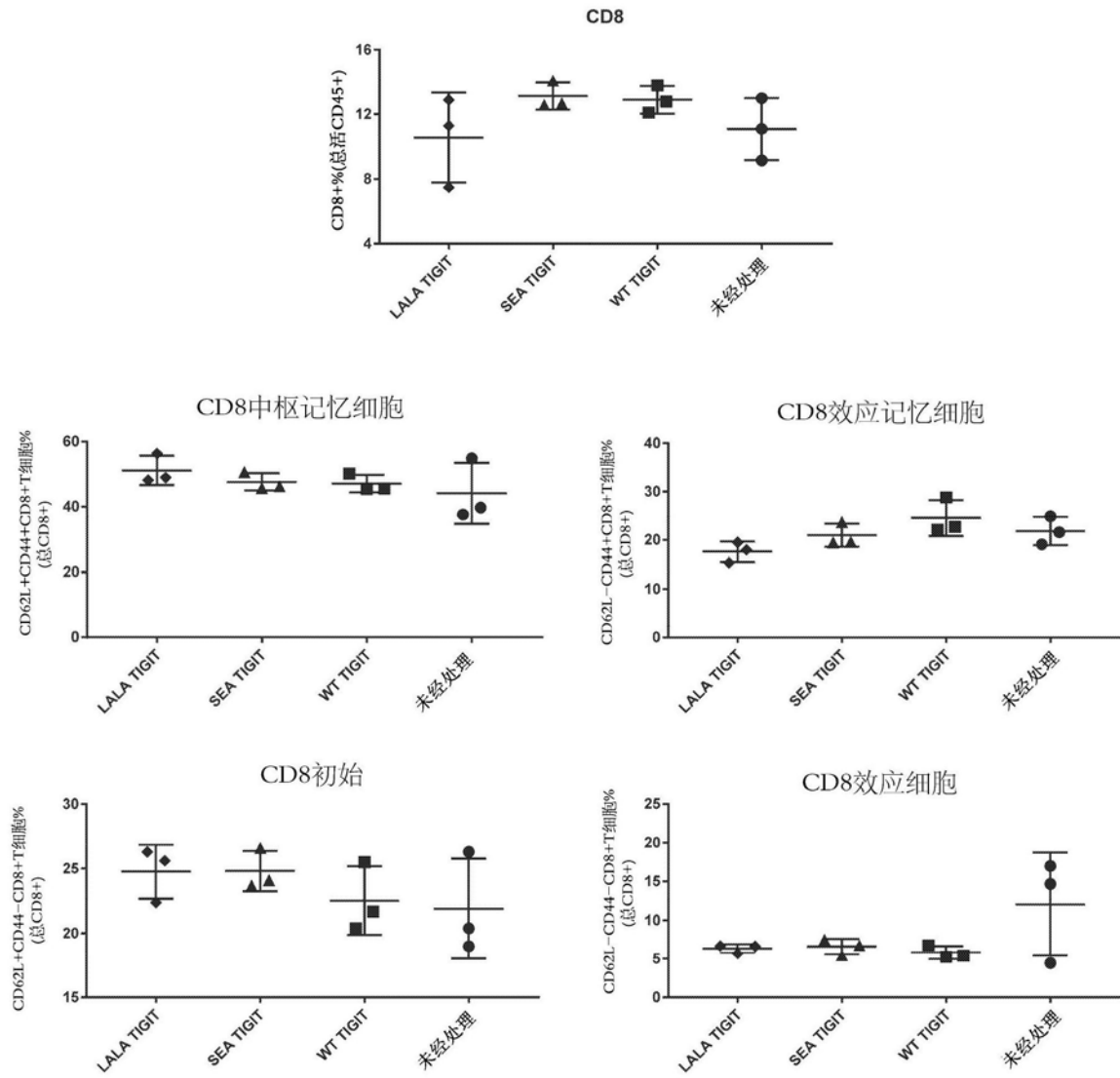


图26A

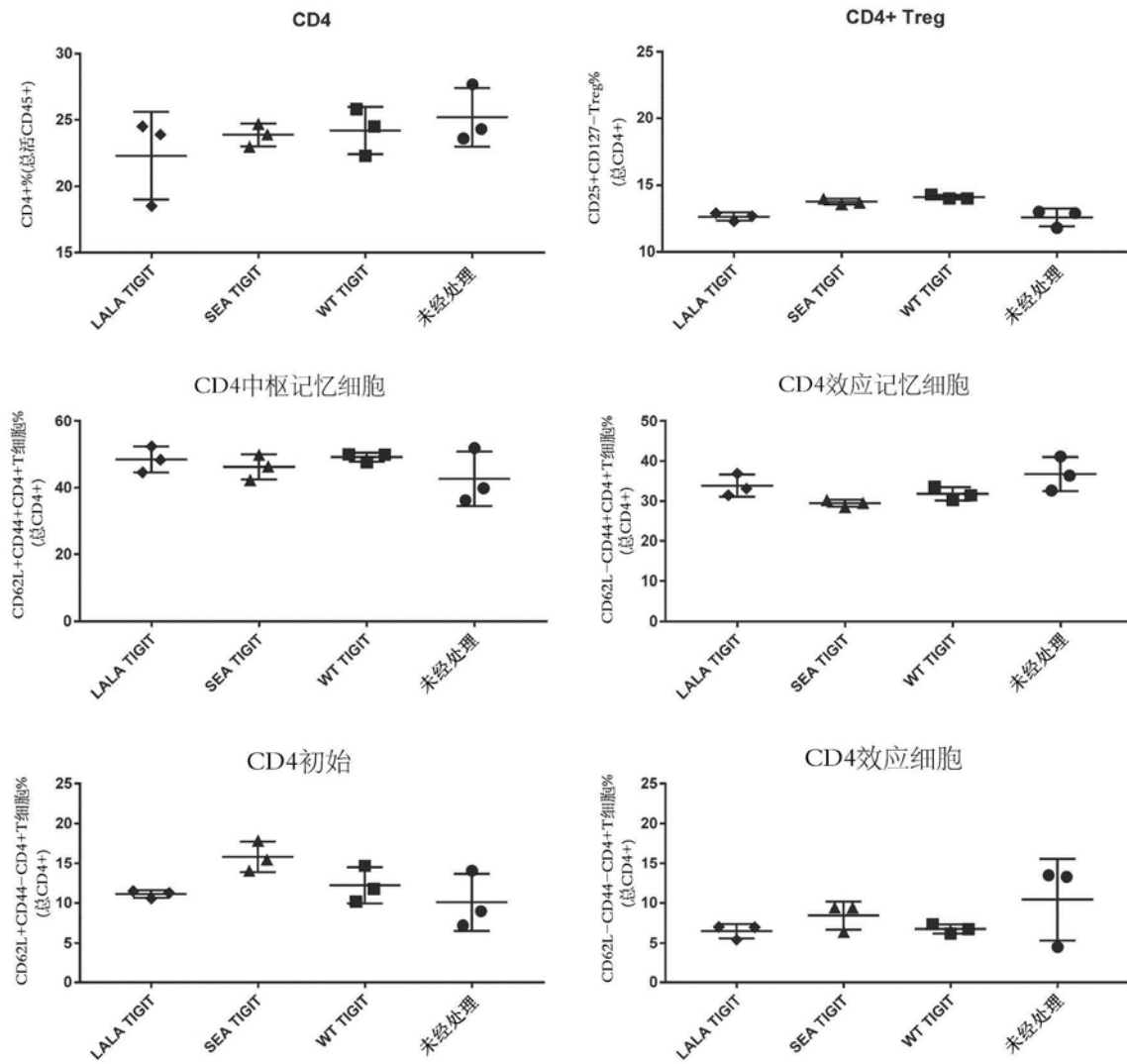


图26B

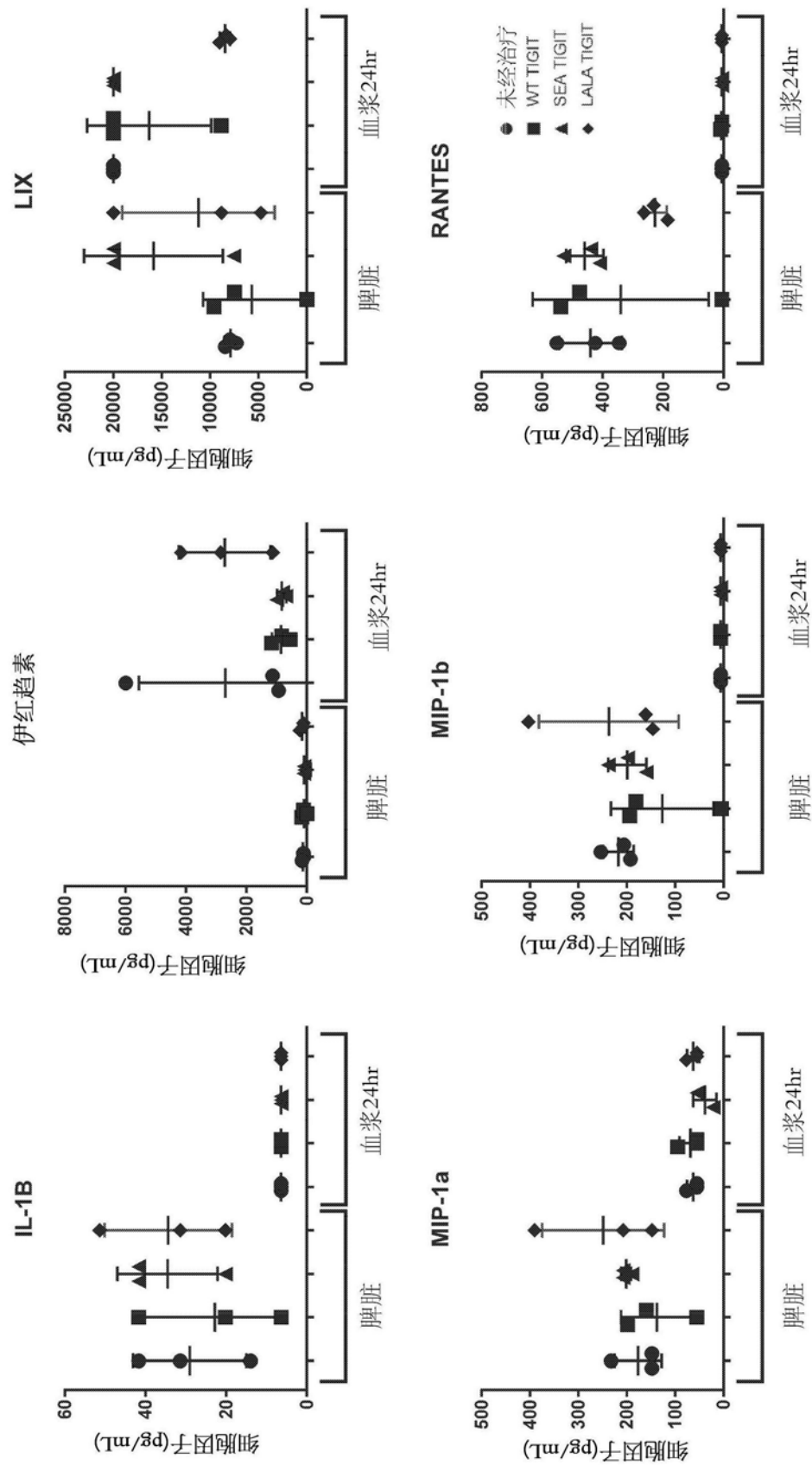


图27

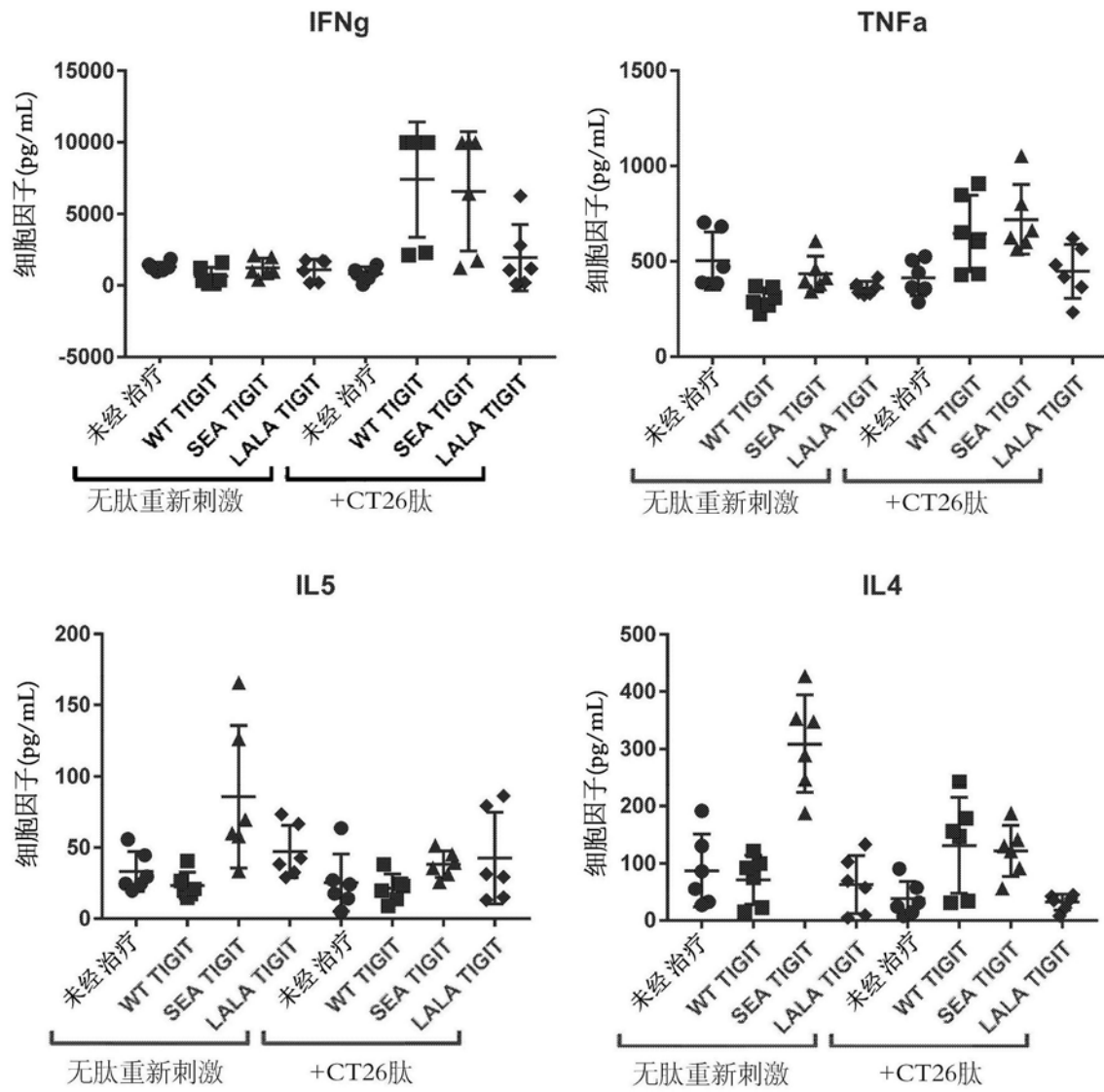


图28

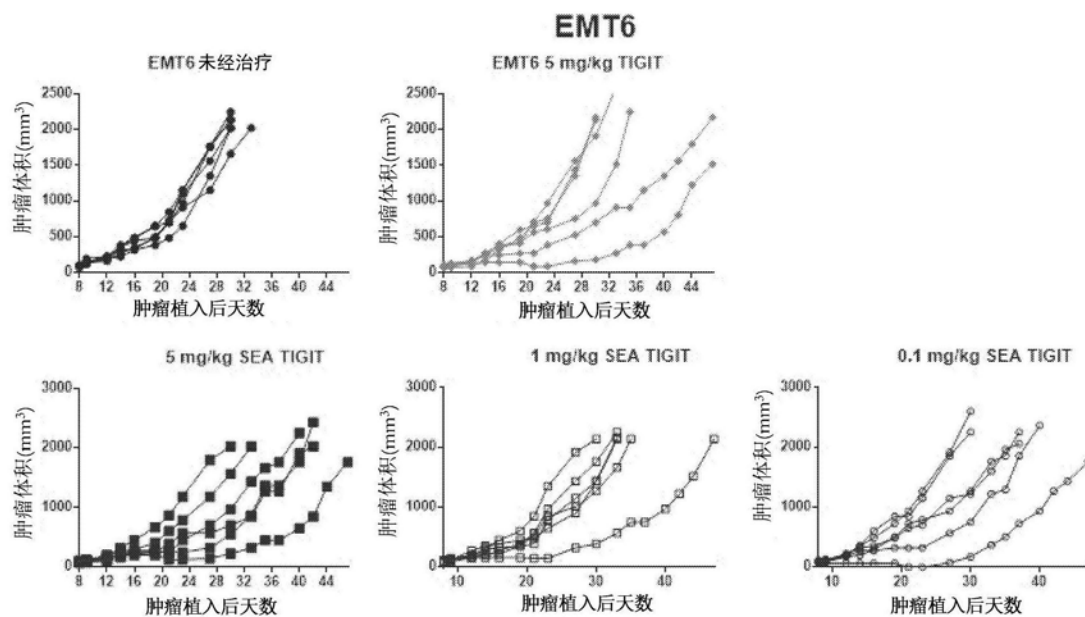


图29A

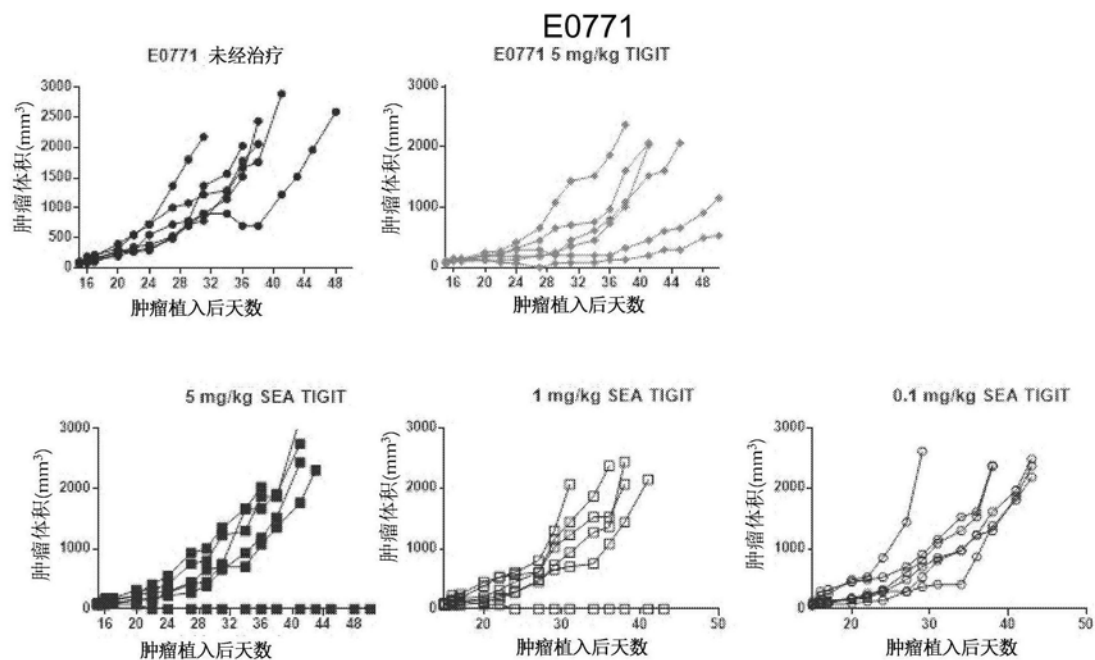


图29B

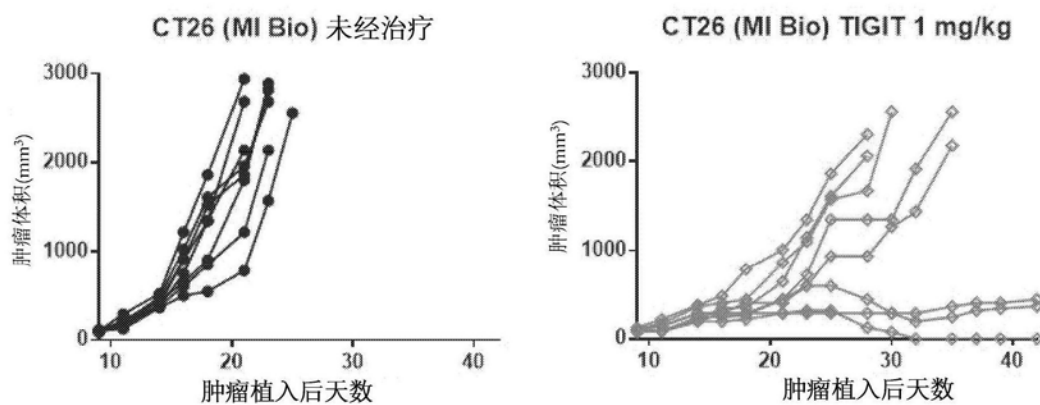


图29C

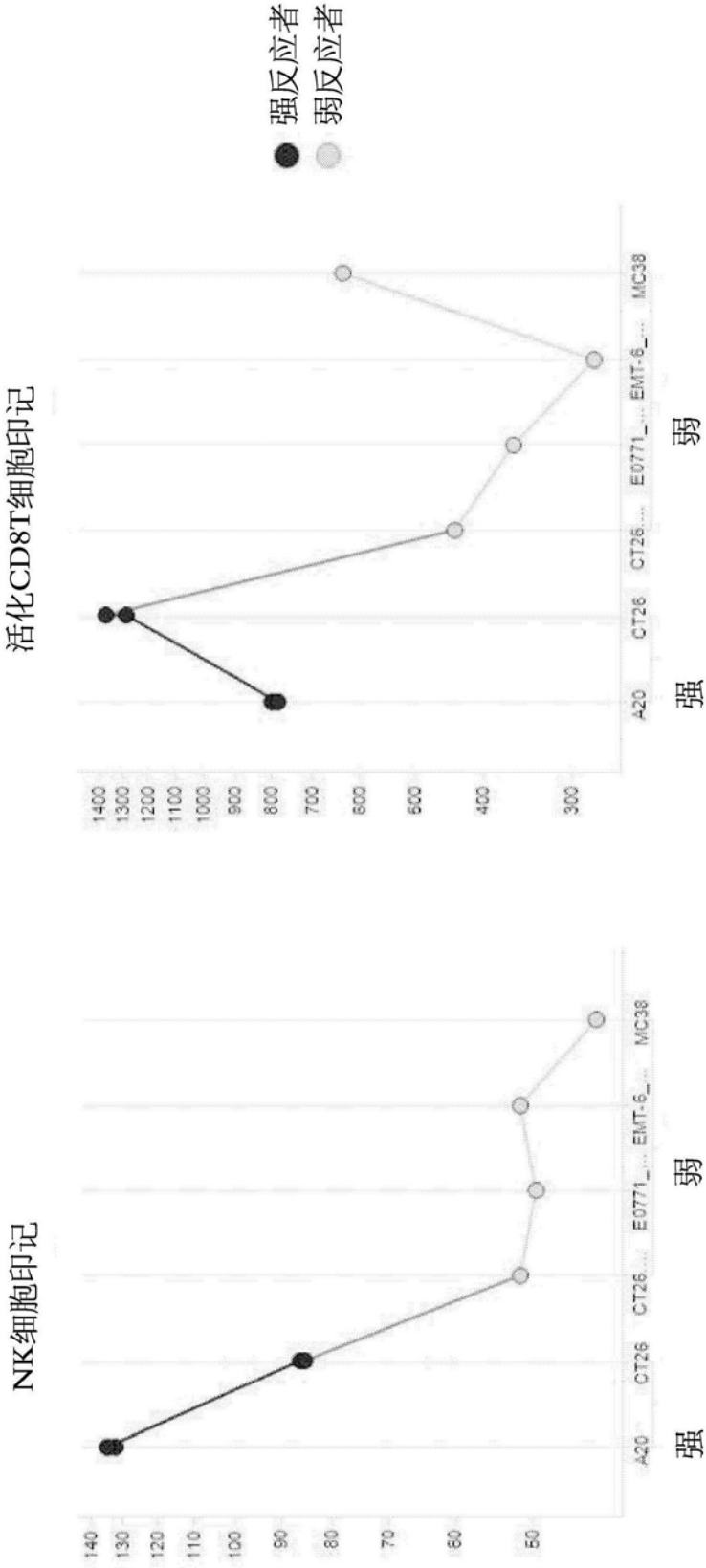


图30

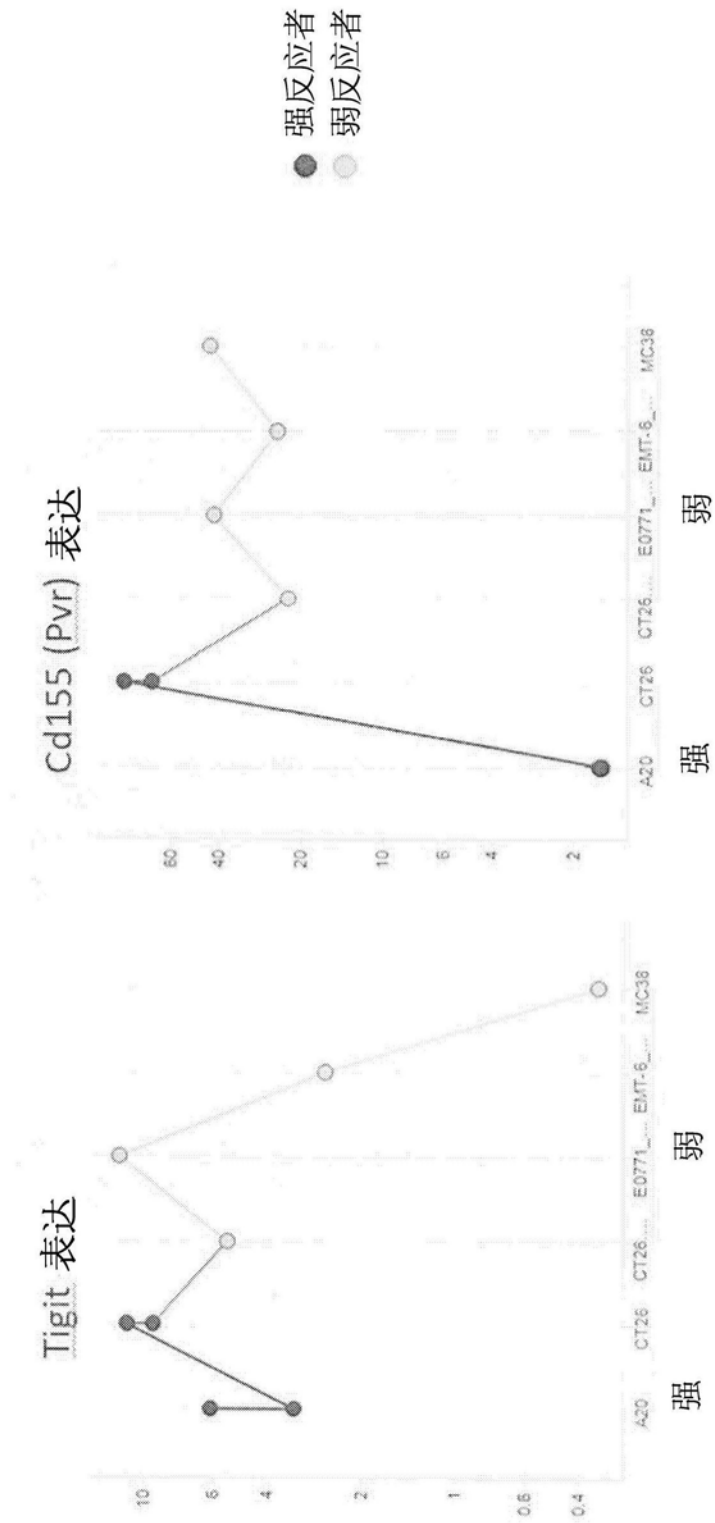


图31

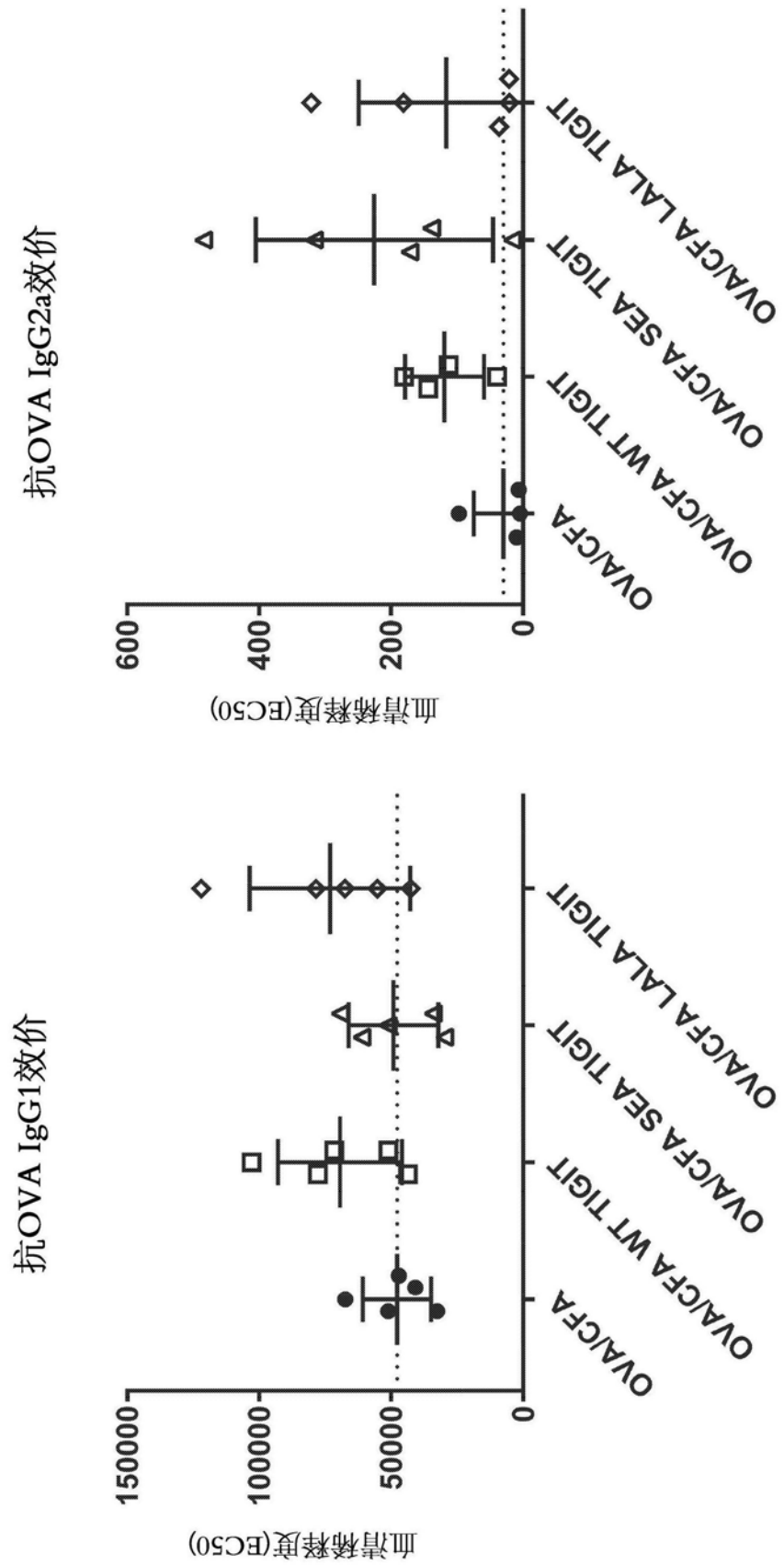


图32

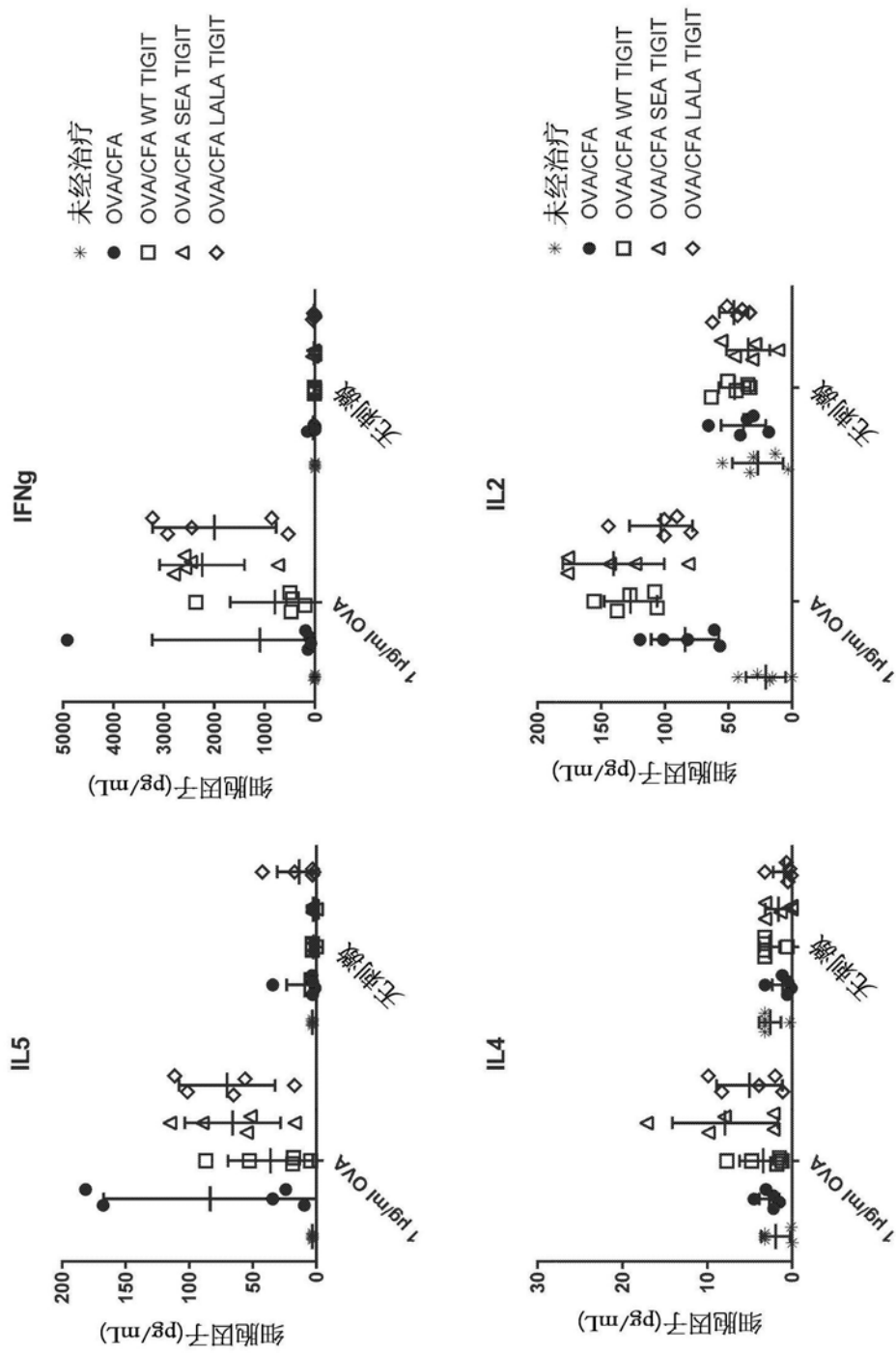


图33

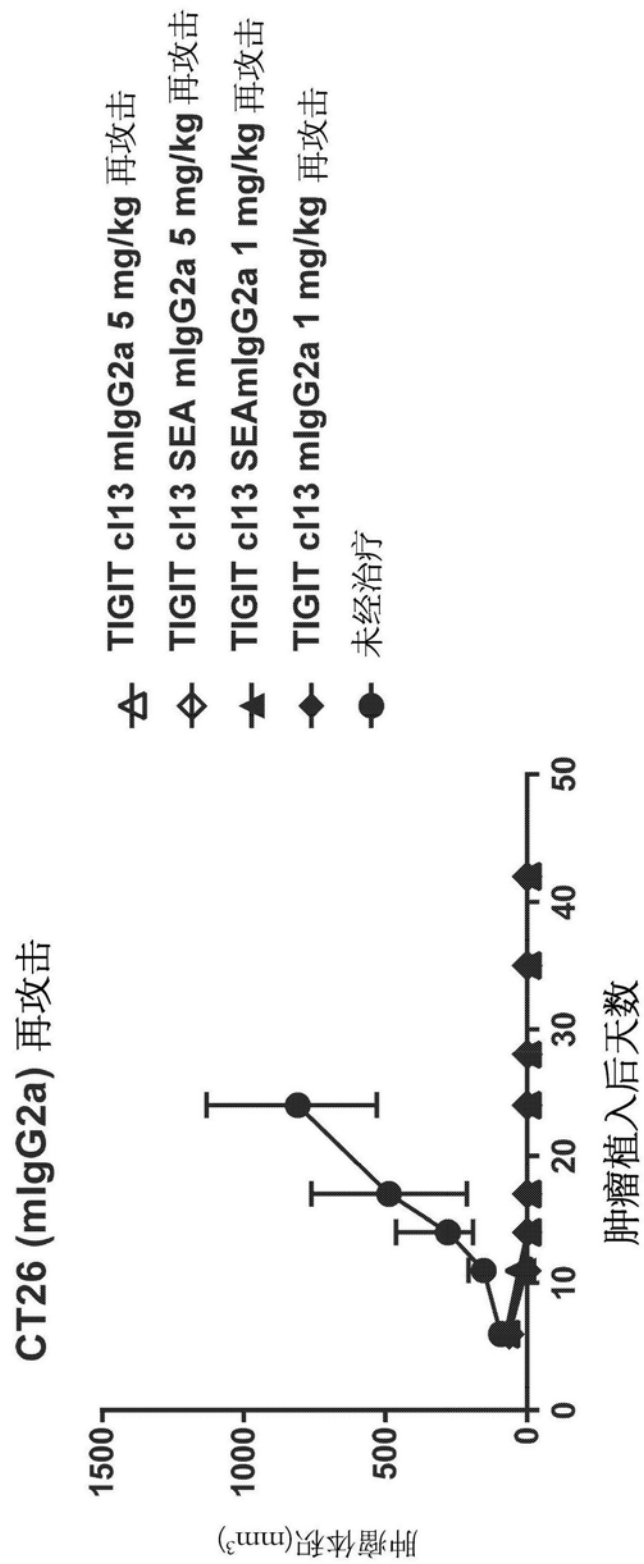


图34

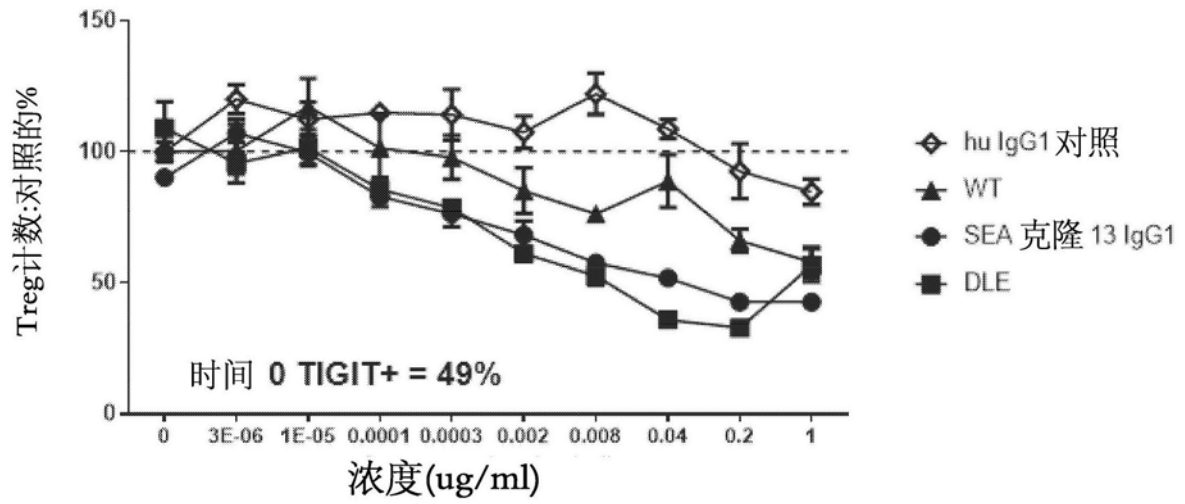


图35

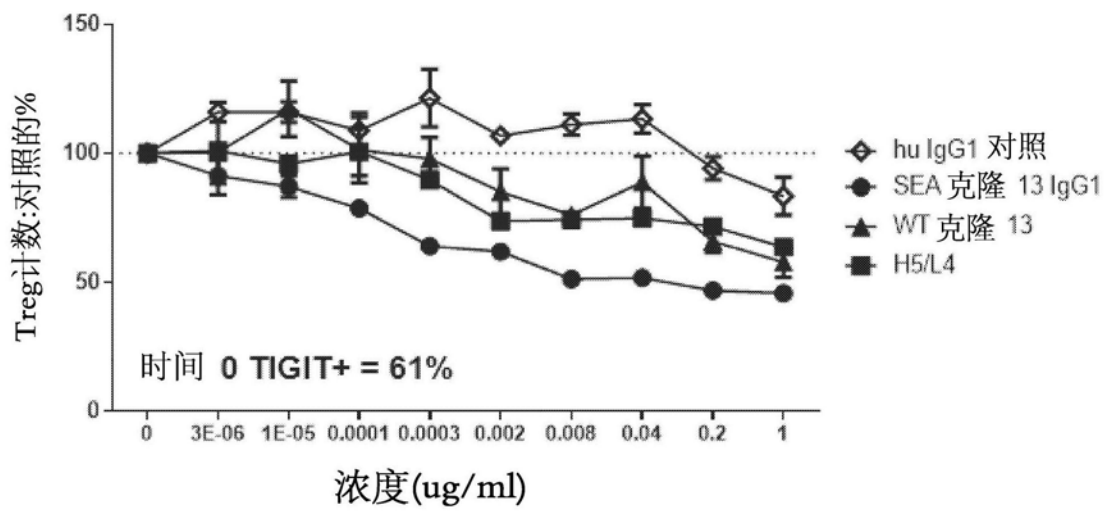


图36

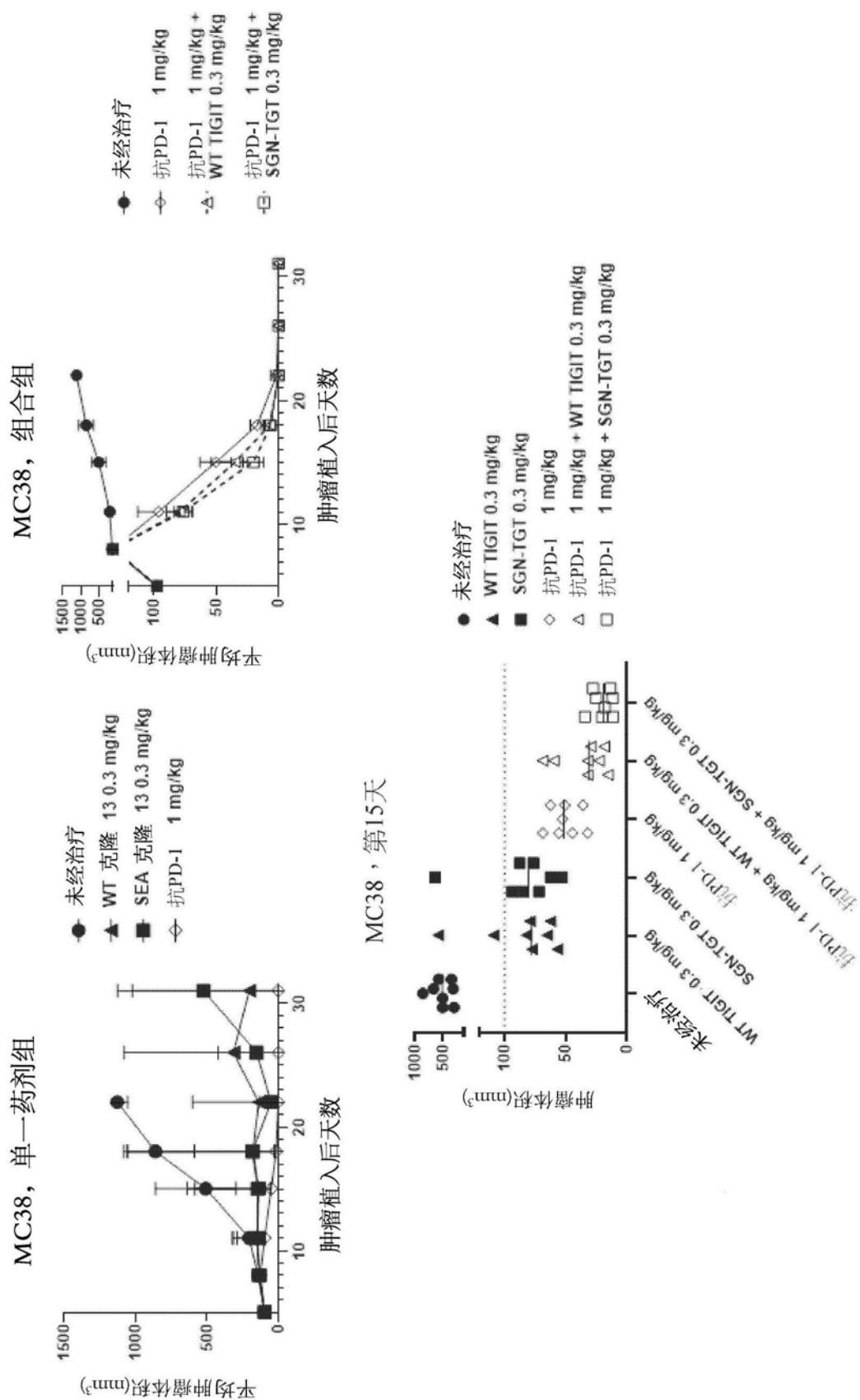


图37

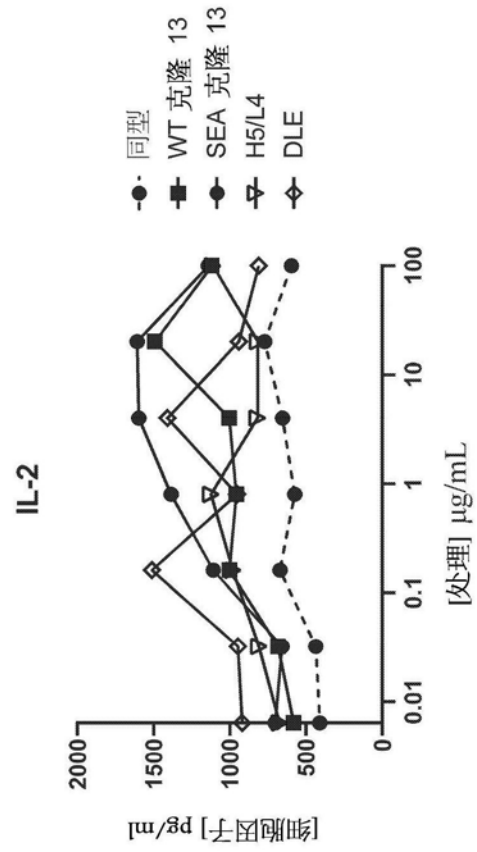


图38A

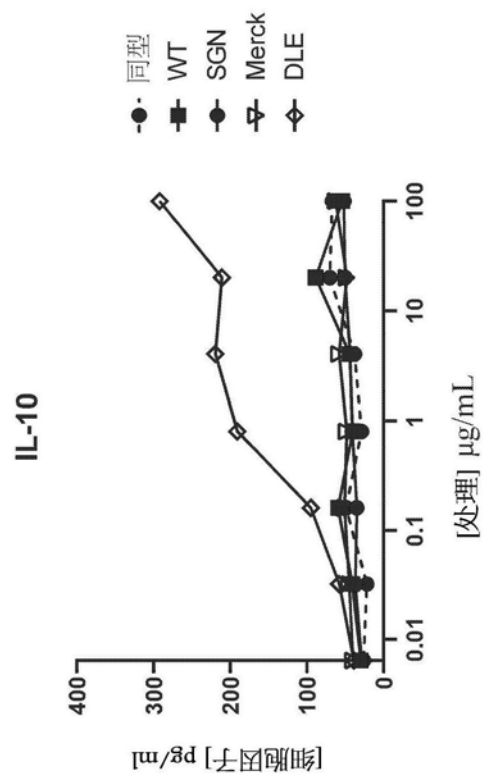


图38B

与CHO/hCD64(FcγRI)的结合

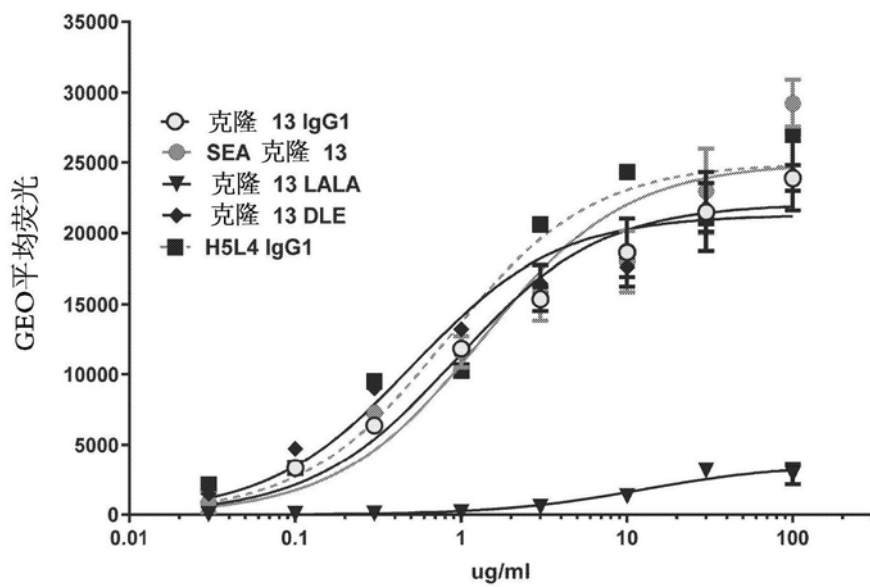


图39A

与CHO/hCD16(FcγRIII-158V)的结合

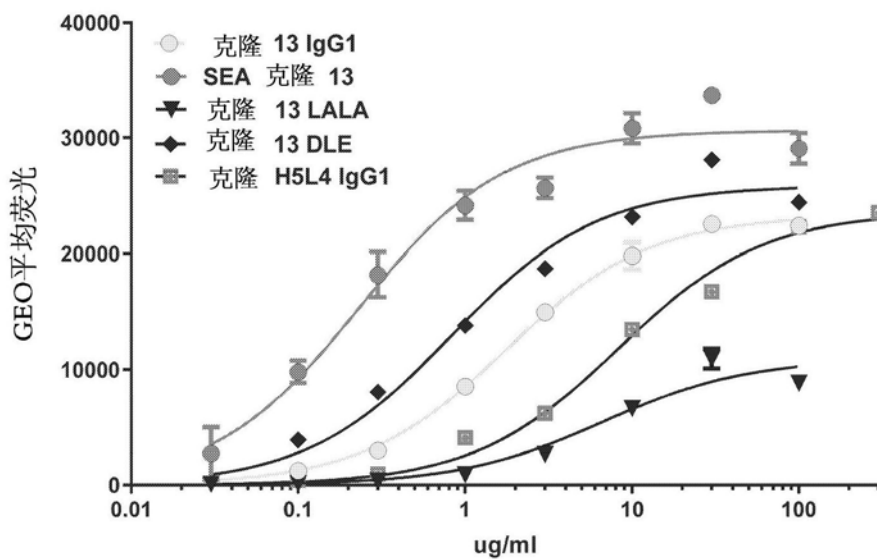


图39B

与CHO/hCD32b(FcγRIIb)的结合

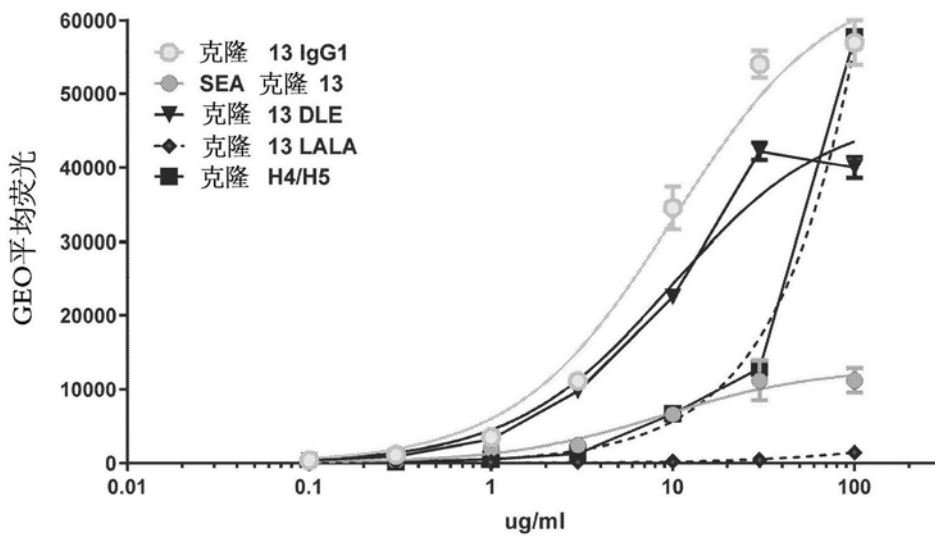


图39C

与CHO/hCD32a(FcγRIIa)的结合

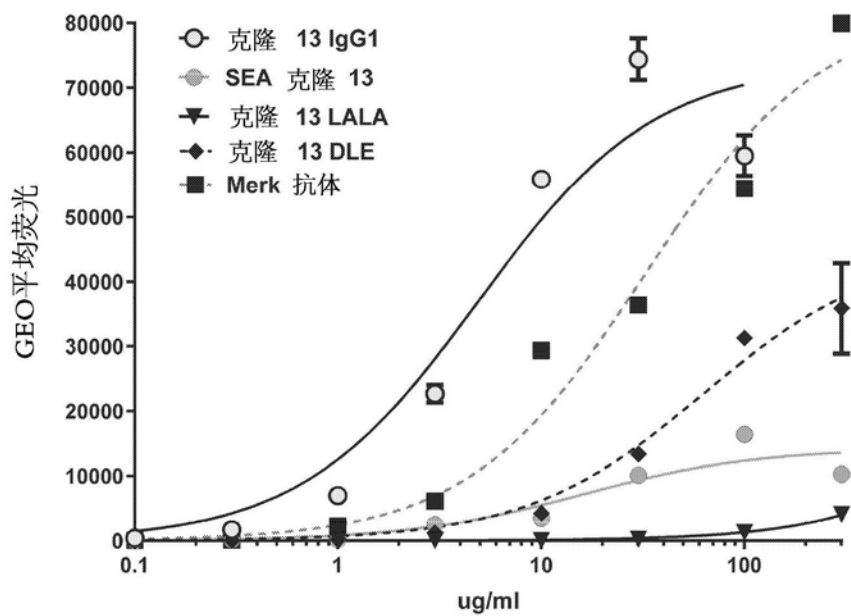


图39D

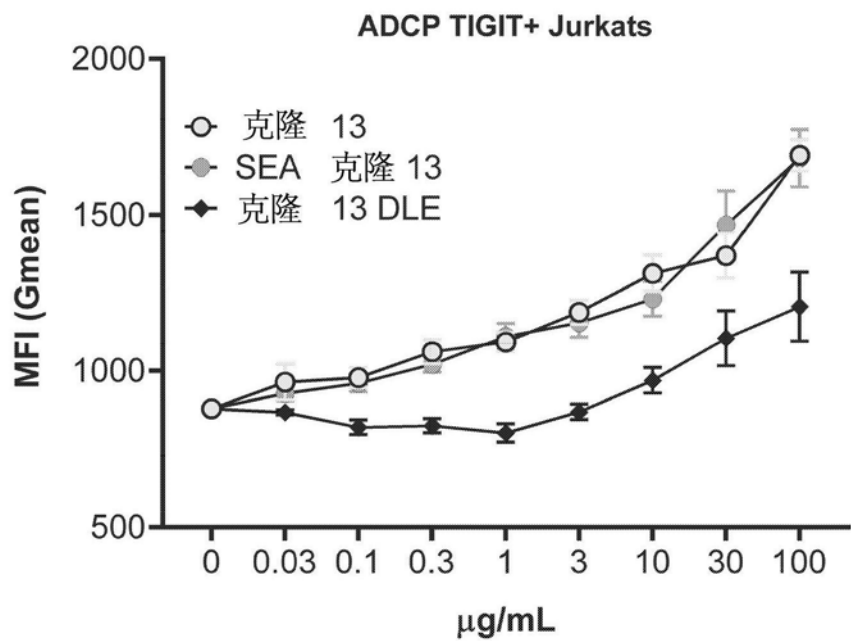


图40

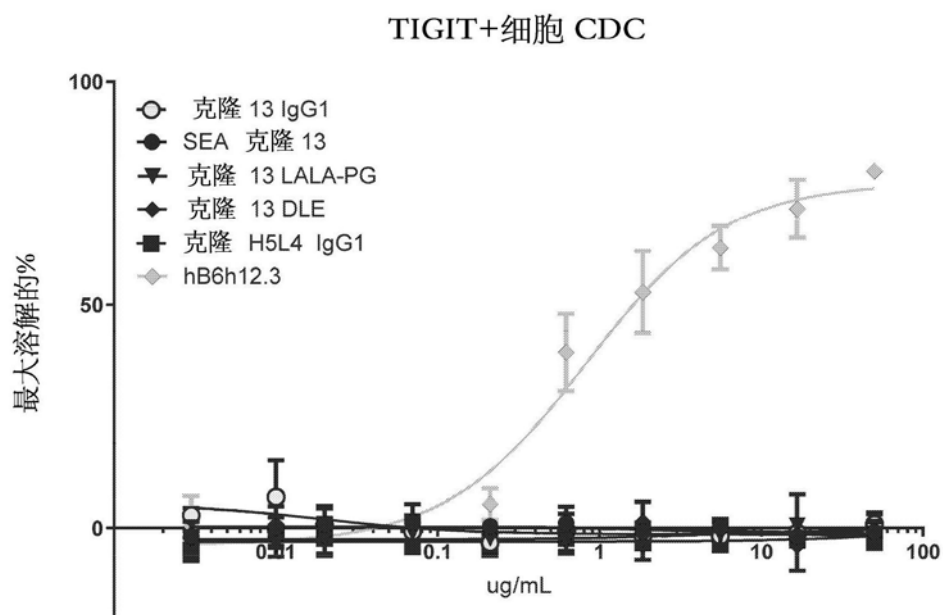


图41