



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년02월24일
(11) 등록번호 10-2366813
(24) 등록일자 2022년02월18일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 31/4245 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
A61K 31/4245 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7035190
- (22) 출원일자(국제) 2017년05월26일
심사청구일자 2020년05월25일
- (85) 번역문제출일자 2018년12월04일
- (65) 공개번호 10-2019-0021224
- (43) 공개일자 2019년03월05일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/034645
- (87) 국제공개번호 WO 2017/205721
국제공개일자 2017년11월30일
- (30) 우선권주장
62/342,610 2016년05월27일 미국(US)
62/420,276 2016년11월10일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
W02015117002 A1*
KR1020130132695 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
아게누스 인코포레이티드
미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 포브스 로드 3
- (72) 발명자
반 다이크 마크
네덜란드, 3722제트에이치 빌토번, 가아일란 16
브레우스-니스트롬 예카테리나 블라디미르보나
스위스, 4052 바젤, 왈든버거스트라세 15
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인한일

전체 청구항 수 : 총 15 항

심사관 : 박정민

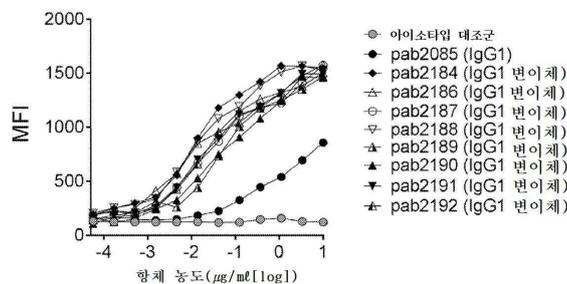
(54) 발명의 명칭 항-TIM-3 항체 및 이의 사용 방법

(57) 요약

본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고 TIM-3 기능에 길항작용하는 항체를 제공한다. 또한, 이러한 항체를 포함하는 약제학적 조성물, 이러한 항체를 암호화하는 핵산, 이러한 항체를 제조하기 위한 발현 벡터 및 숙주 세포, 및 이러한 항체를 사용하여 대상체를 치료하는 방법을 제공한다.

대표도 - 도4

인간 CD8+ T 세포에 대한 결합



(52) CPC특허분류

A61K 39/0005 (2013.01)
A61K 39/3955 (2013.01)
A61P 31/00 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/2818 (2013.01)
C07K 2317/34 (2013.01)
C07K 2317/52 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/71 (2013.01)

(72) 발명자

윌슨 니콜라스 스튜어트

미국, 매사추세츠 02144, 서머빌, 아파트먼트 1,
68 일렉트릭 애비뉴

웨이트 제레미 데일

미국, 매사추세츠 02149, 에버렛, 아파트 403, 25
찰턴 스트리트

언더우드 테니스 존

미국, 매사추세츠 02130, 보스톤, 28 존 에이 앤드
류 스트리트

명세서

청구범위

청구항 1

인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서

CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDRL3이 각각 서열번호 5, 2, 3, 14, 21, 및 22; 서열번호 1, 2, 3, 14, 21, 및 22; 서열번호 4, 2, 3, 14, 21, 및 22; 서열번호 6, 2, 3, 14, 21, 및 22; 서열번호 7, 2, 3, 14, 21, 및 22; 서열번호 8, 2, 3, 14, 21, 및 22; 서열번호 9, 2, 3, 14, 21, 및 22; 서열번호 10, 2, 3, 14, 21, 및 22; 서열번호 11, 2, 3, 14, 21, 및 22; 또는 서열번호 12, 2, 3, 14, 21, 및 22로 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDRL3이 각각 서열번호 5, 2, 3, 14, 21, 및 22로 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

- (a) 항체가 인간 TIM-3을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되거나, 또는
- (b) 항체가 인간 TIM-3을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 여기서 더 낮은 백분율의 인간 TIM-3을 발현하는 세포가, 하기 단계를 포함하는 검정에서, pab1944w(IgG₁ N297A) 또는 Hum11(IgG₄ S228P)의 존재 하에서보다 상기 항체의 존재 하에서 생존하는, 단리된 항체:
 - (i) 조직 배양판에서 인간 TIM-3을 발현하는 세포를 웰당 2×10^4 개 세포로 플레이팅하는 단계;
 - (ii) 1111 ng/ml의 α HFc-NC-DM1 및 1111 ng/ml의 상기 항체 또는 pab1944w(IgG₁ N297A) 또는 Hum11(IgG₄ S228P)를 100 μ l/웰의 최종 용적으로 첨가하는 단계;
 - (iii) 37°C 및 5% CO₂에서 72시간 동안 항온처리하는 단계;
 - (iv) 상기 인간 TIM-3을 발현하는 세포의 생존율을 측정하는 단계; 및
 - (v) 미처리된 인간 TIM-3을 발현하는 세포에 대한 세포 생존율의 백분율을 계산하는 단계.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 항체가

- (a) 서열번호 55의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 또는 상기 CDRH1, CDRH2, 및 CDRH3의 아미노산 서열에 대한 변형 없이, 서열번호 24 내지 35로 이루어진 균으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해서 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하거나;
- (b) 서열번호 56의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 또는 상기 CDRL1, CDRL2, 및 CDRL3의 아미노산 서열에 대한 변형 없이, 서열번호 42, 43, 45 및 46으로 이루어진 균으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해서 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하거나; 또는
- (c) 상기 (a) 및 (b) 둘 다를 포함하는, 단리된 항체.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 항체가

(a) 서열번호 24 내지 35로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 또는 서열번호 42, 43, 45, 및 46으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하거나;

(b) 서열번호 61, 58, 또는 65의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 또는 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하거나;

(c) 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 상기 중쇄 가변 영역 및 상기 경쇄 가변 영역이 서열번호 28 및 46; 서열번호 26 및 42; 서열번호 24 및 42; 서열번호 24 및 46; 서열번호 24 및 43; 서열번호 26 및 43; 서열번호 26 및 46; 서열번호 25 및 45; 서열번호 25 및 46; 서열번호 25 및 42; 서열번호 25 및 43; 서열번호 27 및 46; 서열번호 29 및 46; 서열번호 30 및 46; 서열번호 31 및 46; 서열번호 32 및 46; 서열번호 33 및 46; 서열번호 34 및 46; 또는 서열번호 35 및 46에 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(d) 중쇄 및 경쇄를 포함하되, 상기 중쇄 및 경쇄가 서열번호 61 및 69; 서열번호 58 및 69; 또는 서열번호 65 및 69에 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는,

단리된 항체.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 항체가 인간 IGHV3-23 생식세포계열 서열로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 IGKV1-27, IGKV3-11, IGKV3-20 및 IGKV3D-20으로 이루어진 군으로부터 선택된 인간 생식세포계열 서열로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 항체가

(a) 중쇄 불변 영역으로서,

(i) 인간 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂로 이루어진 군으로부터 선택되거나;

(ii) 야생형 인간 IgG 중쇄 불변 영역의 변이체로서, 상기 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역이, 야생형 인간 IgG 중쇄 불변 영역이 인간 Fc 감마 수용체에 결합하는 것보다 낮은 친화도로 인간 Fc 감마 수용체에 결합하는, 야생형 인간 IgG 중쇄 불변 영역의 변이체이거나;

(iii) 야생형 인간 IgG 중쇄 불변 영역의 변이체로서, 상기 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역이, 야생형 인간 IgG 중쇄 불변 영역이 인간 Fc 감마 수용체에 결합하는 것보다 낮은 친화도로 인간 Fc 감마 수용체에 결합하고, 상기 인간 Fc 감마 수용체가 FcγRI, FcγRII, 및 FcγRIII로 이루어진 군에서 선택되는, 야생형 인간 IgG 중쇄 불변 영역의 변이체이거나;

(iv) EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, N297A 돌연변이를 포함하는 IgG₁이거나;

(v) 서열번호 72의 아미노산 서열을 포함하거나;

(vi) EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, N297Q 돌연변이를 포함하는 IgG₁이거나;

(vii) 비-푸코실화된 IgG₁이거나;

(viii) EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, S228P 돌연변이를 포함하는 IgG₄이거나; 또는

(ix) 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는,

중쇄 불변 영역을 포함하거나;

(b) 경쇄 불변 영역으로서,

(i) 인간 IgGκ 및 IgGλ로 이루어진 군으로부터 선택되거나; 또는

(ii) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는,

경쇄 불변 영역을 포함하거나; 또는

(c) 상기 (a) 및 (b) 둘 다를 포함하는, 단리된 항체.

청구항 8

제1항 또는 제2항의 항체와 인간 TIM-3에 대한 결합에 대해서 교차-경쟁하는, 단리된 항체.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서, 항체가 하기 특징 중 적어도 하나를 나타내는, 단리된 항체:

- (a) 항체가 서열번호 79의 아미노산 서열을 가진 야생형 TIM-3 단백질에 대한 것보다 낮은 친화도로 서열번호 101의 아미노산 서열을 가진 변이체 TIM-3 단백질과 특이적으로 결합함;
- (b) 항체가 서열번호 101의 아미노산 서열을 가진 변이체 TIM-3 단백질에 특이적으로 결합하지 않음;
- (c) 항체가 서열번호 79의 40번 잔기에 결합함;
- (d) 항체가 서열번호 93의 아미노산 서열로 이루어진 인간 TIM-3의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합함;
- (e) 항체가 서열번호 94의 아미노산 서열로 이루어진 인간 TIM-3의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합함;
- (f) 항체가 서열번호 95의 아미노산 서열로 이루어진 인간 TIM-3의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합함;
- (g) 항체가 서열번호 96의 아미노산 서열로 이루어진 인간 TIM-3의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합함;
- (h) 항체가 서열번호 97의 아미노산 서열로 이루어진 인간 TIM-3의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합함;
- (i) 항체가 서열번호 98의 아미노산 서열로 이루어진 인간 TIM-3의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합함;
- (j) 항체가 서열번호 99의 아미노산 서열로 이루어진 인간 TIM-3의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합함;
- (k) 항체가 서열번호 100의 아미노산 서열로 이루어진 인간 TIM-3의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합함;
- (l) 항체가 인간 항체임;
- (m) 항체가 인간 TIM-3에 대해서 길항성임;
- (n) 항체가 인간 TIM-3의 활성을 비활성화, 저감 또는 저해시킴;
- (o) 항체가 포스포티달세린에 대한 인간 TIM-3의 결합을 저해시킴;
- (p) 항체가 포도상구균 장내독소 A(SEA)로 자극된 말초 혈액 단핵세포(PBMC)에 의한 IFN γ 생산을 유도함;
- (q) 항체가 항-CD3 및 항-CD28 항체로 자극된 종양 침윤 림프구(TIL)에 의한 IFN γ 또는 TNF α 생산을 유도함; 또는
- (r) 항체가 세포독성제, 세포정지제, 독소, 방사성 핵종, 또는 검출 가능한 표지에 접합됨.

청구항 10

제1항 또는 제2항의 항체 및 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 포함하는, 암 또는 감염성 질환을 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 11

하기를 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오타이드:

- (a) 제1항 또는 제2항에 따른 항체의 중쇄 가변 영역 또는 경쇄 가변 영역;
- (b) 제1항 또는 제2항에 따른 항체의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역;
- (c) 제1항 또는 제2항에 따른 항체의 중쇄 또는 경쇄;
- (d) 제1항 또는 제2항에 따른 항체의 중쇄 및 경쇄; 또는

(e) 서열번호 24 내지 35, 42, 43, 45, 46, 58, 61, 65, 또는 69 중 어느 하나의 아미노산 서열.

청구항 12

제11항의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터.

청구항 13

다음을 포함하는 단리된 제조법 숙주 세포:

(a) 하기를 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오타이드:

- (i) 제1항 또는 제2항에 따른 항체의 중쇄 가변 영역 또는 경쇄 가변 영역;
- (ii) 제1항 또는 제2항에 따른 항체의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역;
- (iii) 제1항 또는 제2항에 따른 항체의 중쇄 또는 경쇄;
- (iv) 제1항 또는 제2항에 따른 항체의 중쇄 및 경쇄; 또는
- (v) 서열번호 24 내지 35, 42, 43, 45, 46, 58, 61, 65, 또는 69 중 어느 하나의 아미노산 서열;

(b) 상기 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터;

(c) 제1항 또는 제2항에 따른 항체의 중쇄 가변 영역 또는 중쇄를 암호화하는 제1 폴리뉴클레오타이드, 및 제1항 또는 제2항에 따른 항체의 경쇄 가변 영역 또는 경쇄를 암호화하는 제2 폴리뉴클레오타이드; 또는

(d) 제1항 또는 제2항에 따른 항체의 중쇄 가변 영역 또는 중쇄를 암호화하는 제1 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제1 벡터, 및 제1항 또는 제2항에 따른 항체의 경쇄 가변 영역 또는 경쇄를 암호화하는 제2 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제2 벡터.

청구항 14

인간 TIM-3에 결합하는 항체를 생산하는 방법으로서, 폴리뉴클레오타이드가 발현되고 상기 항체가 생산되도록 제13항의 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 15

제1항 또는 제2항에 있어서,

- (a) 대상체에서 항원에 반응하여 T 세포 활성화를 증가시키기 위한 방법,
- (b) 대상체에서 암을 치료하기 위한 방법, 또는
- (c) 대상체에서 감염성 질환을 치료하기 위한 방법에 사용하기 위한, 단리된 항체.

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

- 청구항 20
- 삭제
- 청구항 21
- 삭제
- 청구항 22
- 삭제
- 청구항 23
- 삭제
- 청구항 24
- 삭제
- 청구항 25
- 삭제
- 청구항 26
- 삭제
- 청구항 27
- 삭제
- 청구항 28
- 삭제
- 청구항 29
- 삭제
- 청구항 30
- 삭제
- 청구항 31
- 삭제
- 청구항 32
- 삭제
- 청구항 33
- 삭제
- 청구항 34
- 삭제
- 청구항 35
- 삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

- 청구항 68
- 삭제
- 청구항 69
- 삭제
- 청구항 70
- 삭제
- 청구항 71
- 삭제
- 청구항 72
- 삭제
- 청구항 73
- 삭제
- 청구항 74
- 삭제
- 청구항 75
- 삭제
- 청구항 76
- 삭제
- 청구항 77
- 삭제
- 청구항 78
- 삭제
- 청구항 79
- 삭제
- 청구항 80
- 삭제
- 청구항 81
- 삭제
- 청구항 82
- 삭제
- 청구항 83
- 삭제

- 청구항 84
- 삭제
- 청구항 85
- 삭제
- 청구항 86
- 삭제
- 청구항 87
- 삭제
- 청구항 88
- 삭제
- 청구항 89
- 삭제
- 청구항 90
- 삭제
- 청구항 91
- 삭제
- 청구항 92
- 삭제
- 청구항 93
- 삭제
- 청구항 94
- 삭제
- 청구항 95
- 삭제
- 청구항 96
- 삭제
- 청구항 97
- 삭제
- 청구항 98
- 삭제
- 청구항 99
- 삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 1. 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2016년 5월 27일자로 출원된 미국 가출원 제62/342,610호; 및 2016년 11월 10일자로 출원된 미국 가출원 제62/420,276호의 유익을 주장하며, 이들 기초출원의 각각은 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 인용된다.

[0003] 2. 분야

[0004] 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 항체 및 이를 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 3. 배경기술

[0006] 단백질 T 세포 면역글로불린 및 뮤신(mucin) 도메인-3(TIM-3)은 면역글로불린(Ig) 슈퍼패밀리 내 I형 막단백질이다. 이것은 세포의 Ig 가변-유사(IgV) 도메인, 세포의 뮤신-유사 도메인, 및 6개의 보존된 티로신 잔기를 가진 세포질 도메인을 갖는다(Monney et al. (2002) Nature 415:536-41). TIM-3은 활성화된 T-헬퍼형 1(Th1) 및 CD8⁺ T(Tc1) 림프구, 몇몇 대식세포(Monney et al. (2002) Nature 415:536-41), 활성화된 자연 살해(NK) 세포(Ndhlovu et al. (2012) Blood 119(16):3734-43), 및 IL-17-생산 Th17 세포(Nakae et al. (2007) J Leukoc Biol 81: 1258-68) 상에 발현된다.

[0007] 연구는 TIM-3이 T 세포, 골수성 세포, 및 NK 세포-매개 반응을 저해하고 그리고 면역학적 내성을 촉진시키도록 기능하는 것을 제시하였다. 예를 들어, TIM-3 리간드에 결합되어 해당 리간드를 중화시키는, 면역글로불린 도메인과 융합된 TIM-3 IgV 캡타이드는, 면역화된 마우스에서 Th1 세포의 과잉 증식 및 Th1 사이토카인 방출을 초래하였다(Sabatos et al. (2003) Nat Immunol 4:1102-10). 실제로, 항-TIM-3 항체의 생체내 투여는 다발성 경화증의 동물 모델에서 실험적 자가면역 뇌척수염의 병적 증증도를 증대시켰다(Monney et al. (2002) Nature 415:536-41). 게다가, TIM-3 발현은 암환자의 CD8⁺ T 세포에서 상향 조절된다. 예를 들어, 진행된 흑색종을 지닌 환자에서 NY-ESO-1-특이적 CD8⁺ T 세포의 대략 30%가 TIM-3 발현의 상향조절을 발휘한다(Fourcade et al. (2010) J Exp Med 207:2175-86).

[0008] 면역 반응을 조절함에 있어서 인간 TIM-3의 명백한 역할을 고려하면, TIM-3 신호전달에 대해 길항작용하도록 설계된 치료제는 TIM-3-매개 면역 억제를 수반하는 질환의 치료에 대해서 매우 유망하다.

발명의 내용

[0009] 4. 발명의 내용

[0010] 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고 TIM-3 기능, 예컨대, TIM-3-매개 면역 억제에 길항작용하는 항체를 제공한다. 또한, 이들 항체를 포함하는 약제학적 조성물, 이들 항체를 암호화하는 핵산, 이들 항체를 제조하기 위한 발현 벡터 및 숙주 세포, 및 이들 항체를 사용하여 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 본 명세서에서 개시된 항체는 특히 항원(예컨대, 종양 항원 또는 감염성 질환 항원)에 반응하여 T 세포 활성화를 증가시키고/시키거나, Treg-매개 면역 억제를 감소시키고, 따라서 대상체에서 암을 치료하거나 또는 대상체에서 감염성 질환을 치료 또는 예방하는데 유용하다.

[0011] 따라서, 일 양상에 있어서, 본 개시내용은 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하며, 여기서:

[0012] (a) CDRH1은 X₁X₂X₃X₄X₅S(서열번호 48)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서

[0013] X₁은 R, S, A, G, K, M, 또는 T이고,

[0014] X₂는 Q, S, A, G, R, 또는 T이며,

[0015] X₃은 N, Y, G, 또는 Q이고,

[0016] X₄는 A 또는 Q이며, 그리고

[0017] X₅는 W, M, A, S, 또는 T이고;

[0018] (b) CDRH2는 WWSAISGGGGSTY(서열번호 2)의 아미노산 서열을 포함하고;

[0019] (c) CDRH3은 AKGGDYGGNYFD(서열번호 3)의 아미노산 서열을 포함하고;

- [0020] (d) CDRL1은 $X_1ASQSVX_2SSYLA$ (서열번호 52)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서
- [0021] X_1 은 R 또는 G이고, 그리고
- [0022] X_2 는 존재하지 않거나, 또는 S이고;
- [0023] (e) CDRL2는 X_1ASX_2RAT (서열번호 53)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서
- [0024] X_1 은 D 또는 G이고, 그리고
- [0025] X_2 는 N, S, 또는 T이며; 그리고
- [0026] (f) CDRL3은 $QQYGSSPX_1T$ (서열번호 54)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 X_1 은 L 또는 I이다.
- [0027] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서:
- [0028] (a) CDRH1은 $X_1X_2X_3X_4X_5S$ (서열번호 48)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서
- [0029] X_1 은 R, S, A, G, K, M, 또는 T이고,
- [0030] X_2 는 Q, S, A, G, R, 또는 T이며,
- [0031] X_3 은 N, Y, G, 또는 Q이고,
- [0032] X_4 는 A 또는 Q이며, 그리고
- [0033] X_5 는 W, M, A, S, 또는 T이고;
- [0034] (b) CDRH2는 $WVSAISGGSTY$ (서열번호 2)의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0035] (c) CDRH3은 $AKGGDYGGNYFD$ (서열번호 3)의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0036] (d) CDRL1은 $X_1ASQSVX_2SSYLA$ (서열번호 52)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서
- [0037] X_1 은 R 또는 G이고, 그리고
- [0038] X_2 는 존재하지 않거나, 또는 S이고;
- [0039] (e) CDRL2는 X_1ASX_2RAT (서열번호 53)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서
- [0040] X_1 은 D 또는 G이고, 그리고
- [0041] X_2 는 N, S, 또는 T이며; 그리고
- [0042] (f) CDRL3은 $QQYGSSPX_1T$ (서열번호 54)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 X_1 은 L 또는 I이다.
- [0043] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 갖는 중쇄 가변 영역 및 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 여기서 항체는 인간 TIM-3을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 그리고 CDRH3은 $AKGGDYGGNYFD$ (서열번호 3)의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0044] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 갖는 중쇄 가변 영역 및 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 항체는 인간 TIM-3을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 그리고 CDRH3은 $AKGGDYGGNYFD$ (서열번호 3)의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0045] 소정의 실시형태에 있어서:

- [0046] (a) CDRH1은 $X_1X_2X_3X_4X_5S$ (서열번호 48)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서
- [0047] X_1 은 R, S, A, G, K, M, 또는 T이고,
- [0048] X_2 는 Q, S, A, G, R, 또는 T이며,
- [0049] X_3 은 N, Y, G, 또는 Q이고,
- [0050] X_4 는 A 또는 Q이며, 그리고
- [0051] X_5 는 W, M, A, S, 또는 T이고;
- [0052] (b) CDRH2는 WVSAISGGSTY(서열번호 2)의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0053] (c) CDRL1은 $X_1ASQSVX_2SSYLA$ (서열번호 52)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서
- [0054] X_1 은 R 또는 G이고, 그리고
- [0055] X_2 는 존재하지 않거나, 또는 S이고;
- [0056] (d) CDRL2는 X_1ASX_2RAT (서열번호 53)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서
- [0057] X_1 은 D 또는 G이고, 그리고
- [0058] X_2 는 N, S 또는 T이며; 그리고
- [0059] (e) CDRL3은 QQYGSXPX₁T(서열번호 54)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 X_1 은 L 또는 I이다.
- [0060] 소정의 실시형태에 있어서, CDRH1은 X_1X_2NAWS (서열번호 49)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서: X_1 은 R 또는 A이고; 그리고 X_2 는 Q 또는 R이다. 소정의 실시형태에 있어서, CDRH1은 $X_1X_2GQX_3S$ (서열번호 50)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서: X_1 은 K, M 또는 G이고; X_2 는 A 또는 S이며; 그리고 X_3 은 S 또는 T이다. 소정의 실시형태에 있어서, CDRH1은 X_1X_2QQAS (서열번호 51)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 X_1 은 S, R, T 또는 G이고; 그리고 X_2 는 A, S, T, 또는 G이다. 소정의 실시형태에 있어서, CDRH1은 서열번호: 1 및 4 내지 12로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0061] 소정의 실시형태에 있어서, CDRL1은 서열번호 13 내지 16으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, CDRL2는 서열번호 17 내지 21로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, CDRL3은 서열번호 22 및 23으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0062] 소정의 실시형태에 있어서, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3은, 각각, 서열번호 1, 2 및 3; 4, 2 및 3; 5, 2 및 3; 6, 2 및 3; 7, 2 및 3; 8, 2, 및 3; 9, 2, 및 3; 10, 2 및 3; 11, 2 및 3; 또는 12, 2 및 3에 제시된, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열을 포함한다.
- [0063] 소정의 실시형태에 있어서, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은, 각각, 서열번호 13, 17, 및 22; 14, 17, 및 22; 15, 18, 및 22; 14, 19, 및 22; 14, 20, 및 22; 14, 21, 및 22; 16, 20, 및 22; 또는 14, 17 및 23에 제시된, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함한다.
- [0064] 소정의 실시형태에 있어서, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은, 각각, 서열번호 1, 2, 3, 14, 21 및 22; 4, 2, 3, 14, 21 및 22; 5, 2, 3, 14, 21 및 22; 6, 2, 3, 14, 21 및 22; 7, 2, 3, 14, 21 및 22; 8, 2, 3, 14, 21 및 22; 9, 2, 3, 14, 21 및 22; 10, 2, 3, 14, 21 및 22; 11, 2, 3, 14, 21 및 22; 또는 12, 2, 3, 14, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0065] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은, 각각, 서열번호 1, 2, 3, 14, 21 및 22에 제시된 아미

노산 서열을 포함한다.

- [0066] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하며, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은, 각각, 서열번호 1, 2, 3, 14, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0067] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은, 각각, 서열번호 5, 2, 3, 14, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0068] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은, 각각, 서열번호 5, 2, 3, 14, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0069] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은, 각각, 서열번호 9, 2, 3, 14, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0070] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은, 각각, 서열번호 9, 2, 3, 14, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0071] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은, 각각, 서열번호 1, 2, 3, 15, 18 및 22에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0072] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은, 각각, 서열번호 1, 2, 3, 15, 18 및 22에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0073] 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 인간 TIM-3을 발현하는 세포에 결합 시 내재화된다.
- [0074] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 인간 TIM-3을 발현하는 세포에 결합 시 내재화된다.
- [0075] 소정의 실시형태에 있어서, 더 낮은 백분율의 인간 TIM-3을 발현하는 세포가 하기 단계들을 포함하는 검정에서 pab1944w(IgG₁N297A)의 존재에서보다 항체의 존재에서 생존한다: (a) 조직 배양판에서 인간 TIM-3을 발현하는 세포를 웰당 2 x 10⁴ 개 세포로 평판 배양하는 단계; (b) 1111 ng/ml의 αHFc-NC-DM1 및 1111 ng/ml의 항체 또는 pab1944w(IgG₁ N297A)를 100μl/웰의 최종 용적으로 첨가하는 단계; (c) 37°C 및 5% CO₂에서 72시간 동안 항온처리하는 단계; (d) 인간 TIM-3을 발현하는 세포의 생존율을 측정하는 단계; 및 (e) 미처리된 인간 TIM-3을 발현하는 세포에 대한 세포 생존율의 백분율을 계산하는 단계. 소정의 실시형태에 있어서, 항체의 존재에서의 세포 생존 백분율은 pab1944w(IgG₁ N297A)의 존재 시의 세포 생존 백분율보다 적어도 50% 더 낮다. 소정의 실시형태에 있어서, 인간 TIM-3을 발현하는 세포는 카스미-3(Kasumi-3) 세포이다. 소정의 실시형태에 있어서, 인간 TIM-3을 발현하는 세포는 카스미-3 세포(ATCC® CRL-2725™)이다. 소정의 실시형태에 있어서, 인간 TIM-3을 발현하는 세포는 인간 TIM-3을 발현하도록 조작된 주르카트(Jurkat) 세포이다.
- [0076] 소정의 실시형태에 있어서, 더 낮은 백분율의 인간 TIM-3을 발현하는 세포가 하기 단계들을 포함하는 검정에서 Hum11(IgG₄ S228P)의 존재에서보다 항체의 존재에서 생존한다: (a) 조직 배양판에서 인간 TIM-3을 발현하는 세

포를 웰당 2×10^4 개 세포로 평균 배양하는 단계; (b) 1111 ng/ml의 aHFc-NC-DM1 및 1111 ng/ml의 항체 또는 Hum11 (IgG₄ S228P)를 100 μ l/웰의 최종 용적으로 첨가하는 단계; (c) 37 $^{\circ}$ C 및 5% CO₂에서 72시간 동안 항온처리하는 단계; (d) 인간 TIM-3을 발현하는 세포의 생존율을 측정하는 단계; 및 (e) 미처리된 인간 TIM-3을 발현하는 세포에 대한 세포 생존율의 백분율을 계산하는 단계. 소정의 실시형태에 있어서, 항체의 존재에서의 세포 생존 백분율은 Hum11 (IgG₄ S228P)의 존재 시의 세포 생존 백분율보다 적어도 50% 더 낮다. 소정의 실시형태에 있어서, 인간 TIM-3을 발현하는 세포는 카스미-3 세포이다. 소정의 실시형태에 있어서, 인간 TIM-3을 발현하는 세포는 카스미-3 세포(ATCC® CRL-2725™)이다. 소정의 실시형태에 있어서, 인간 TIM-3을 발현하는 세포는 인간 TIM-3을 발현하도록 조작된 주르카트 세포이다.

[0077] 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 55의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 24 내지 35로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해서 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 24 내지 35로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체의 중쇄 가변 영역의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체된다.

[0078] 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 56의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 36 내지 47로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해서 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 경쇄 가변 영역은 서열번호 36 내지 47로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 경쇄 가변 영역은 서열번호 46의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 경쇄 가변 영역의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체된다.

[0079] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 서열번호 24 내지 35로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 70, 71, 72, 73, 74 또는 75의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체의 중쇄의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체된다.

[0080] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 24 내지 35로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 70, 71, 72, 73, 74 또는 75의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다.

[0081] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 서열번호 36 내지 47로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 경쇄 가변 영역은 서열번호 46의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 76 또는 77의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체의 경쇄의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체된다.

- [0082] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 36 내지 47로 이루어진 균으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 경쇄 가변 영역은 서열번호 46의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 76 또는 77의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0083] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은, 각각, 서열번호 24 및 36; 24 및 38; 26 및 42; 24 및 42; 24 및 46; 24 및 43; 26 및 43; 26 및 46; 26 및 41; 24 및 41; 25 및 39; 24 및 47; 25 및 40; 26 및 47; 25 및 37; 25 및 45; 25 및 44; 25 및 46; 25 및 42; 25 및 41; 25 및 43; 25 및 47; 27 및 46; 28 및 46; 29 및 46; 30 및 46; 31 및 46; 32 및 46; 33 및 46; 34 및 46; 또는 35 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은, 각각, 서열번호 25 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은, 각각, 서열번호 28 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은, 각각, 서열번호 32 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체의 중쇄 가변 영역의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체되고/되거나 항체의 경쇄 가변 영역의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체된다.
- [0084] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열은, 각각, 서열번호 24 및 36; 24 및 38; 26 및 42; 24 및 42; 24 및 46; 24 및 43; 26 및 43; 26 및 46; 26 및 41; 24 및 41; 25 및 39; 24 및 47; 25 및 40; 26 및 47; 25 및 37; 25 및 45; 25 및 44; 25 및 46; 25 및 42; 25 및 41; 25 및 43; 25 및 47; 27 및 46; 28 및 46; 29 및 46; 30 및 46; 31 및 46; 32 및 46; 33 및 46; 34 및 46; 또는 35 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열은, 각각, 서열번호 25 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열은, 각각, 서열번호 28 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은, 각각, 서열번호 32 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0085] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은, 각각, 서열번호 24 및 36; 24 및 38; 26 및 42; 24 및 42; 24 및 46; 24 및 43; 26 및 43; 26 및 46; 26 및 41; 24 및 41; 25 및 39; 24 및 47; 25 및 40; 26 및 47; 25 및 37; 25 및 45; 25 및 44; 25 및 46; 25 및 42; 25 및 41; 25 및 43; 25 및 47; 27 및 46; 28 및 46; 29 및 46; 30 및 46; 31 및 46; 32 및 46; 33 및 46; 34 및 46; 또는 35 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은, 각각, 서열번호 25 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은, 각각, 서열번호 28 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은, 각각, 서열번호 32 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0086] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열은, 각각, 서열번호 24 및 36; 24 및 38; 26 및 42; 24 및 42; 24 및 46; 24 및 43; 26 및 43; 26 및 46; 26 및 41; 24 및 41; 25 및 39; 24 및 47; 25 및 40; 26 및 47; 25 및 37; 25 및 45; 25 및 44; 25 및 46; 25 및 42; 25 및 41; 25 및 43; 25 및 47; 27 및 46; 28 및 46; 29 및 46; 30 및 46; 31 및 46; 32 및 46; 33 및 46; 34 및 46; 또는 35 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열은, 각각, 서열번호 25 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열은, 각각, 서열번호 28 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은, 각각, 서열번호 32 및 46에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0087] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 서열번호 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다.
- [0088] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.

- [0089] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다.
- [0090] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0091] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 서열번호 65, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 또는 단리된 항체를 제공한다.
- [0092] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0093] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체의 중쇄의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체되고/되거나 항체의 경쇄의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체된다.
- [0094] 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 인간 IGHV3-23 생식세포계열 서열로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 IGKV1-27, IGKV3-11, IGKV3-20 및 IGKV3D-20으로 이루어진 군으로부터 선택된 생식세포계열 서열로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0095] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 인간 IGHV3-23 생식세포계열 서열로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 IGKV1-27, IGKV3-11, IGKV3-20 및 IGKV3D-20으로 이루어진 군으로부터 선택된 인간 생식세포계열 서열로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0096] 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 인간 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 불변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 불변 영역은 IgG₁이다. 소정의 실시형태에 있어서, IgG₁의 아미노산 서열은, EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된 N297A 돌연변이를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 72의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, IgG₁의 아미노산 서열은, EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된 N297Q 돌연변이를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, IgG₁은 비-푸코실화된 IgG₁이다. 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 불변 영역은 IgG₄이다. 소정의 실시형태에 있어서, IgG₄의 아미노산 서열은, EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된 S228P 돌연변이를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0097] 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 인간 IgG_κ 및 IgG_λ로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄 불변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 경쇄 불변 영역은 IgG_κ이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 불변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 경쇄 불변 영역은 IgG_λ이다.
- [0098] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 항체와 인간 TIM-3에 결합하기 위하여 교차-경쟁하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 각각 서열번호 55 및 56에 제시된 바와 같은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 항체와 인간 TIM-3에 결합하기 위하여 교차-경쟁하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 각각 서열번호 25 및 46에 제시된 바와 같은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 항체와 인간 TIM-3에 결합하기 위하여 교차-경쟁하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 각각 서열번호 28 및 46에 제시된 바와 같은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 항체와 인간 TIM-3에 결합하기 위하여 교차-경쟁하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 각각 서열번호 32 및 46에 제시된 바와 같은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 항체와 인간 TIM-3에 결합하기 위하여 교차-경쟁하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다.
- [0099] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 본 명세서에서 개시된 항체와 동일한 인간 TIM-3의 에피토프에 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 각각, 서열번호 55 및 56에 제시된 바와 같은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 항체와 동일한 인간 TIM-3의 에피토프에 결합

하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 각각, 서열번호 25 및 46에 제시된 바와 같은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 항체와 동일한 인간 TIM-3의 에피토프에 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 각각, 서열번호 28 및 46에 제시된 바와 같은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 항체와 동일한 인간 TIM-3의 에피토프에 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 각각, 서열번호 32 및 46에 제시된 바와 같은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 항체와 동일한 인간 TIM-3의 에피토프에 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다.

- [0100] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 79의 아미노산 서열을 가진 야생형 TIM-3 단백질에 대한 것보다 낮은 친화도로 서열번호 101의 아미노산 서열을 가진 변이체 TIM-3 단백질과 특이적으로 결합한다.
- [0101] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 본 발명의 임의의 항체와 동일한 인간 TIM-3의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 일 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 79의 아미노산 서열을 가진 야생형 TIM-3 단백질에 대한 것보다 낮은 친화도로 서열번호 101의 아미노산 서열을 가진 변이체 TIM-3 단백질과 특이적으로 결합한다.
- [0102] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 101의 아미노산 서열을 가진 변이체 TIM-3 단백질에 특이적으로 결합하지 않는다.
- [0103] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 본 발명의 임의의 항체와 동일한 인간 TIM-3의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 일 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 101의 아미노산 서열을 가진 변이체 TIM-3 단백질에 특이적으로 결합하지 않는다.
- [0104] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체와 서열번호 101의 아미노산 서열을 가진 변이체 TIM-3 단백질 간의 결합이 항체와 서열번호 79의 아미노산 서열을 가진 야생형 TIM-3 단백질 간의 결합에 비해서 실질적으로 약해진다.
- [0105] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 본 발명의 임의의 항체와 동일한 인간 TIM-3의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 일 실시형태에 있어서, 항체와 서열번호 101의 아미노산 서열을 가진 변이체 TIM-3 단백질 간의 결합이 항체 및 서열번호 79의 아미노산 서열을 가진 야생형 TIM-3 단백질 간의 결합에 비해서 실질적으로 약해진다.
- [0106] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는, 서열번호 79의 아미노산 서열을 가진 야생형 TIM-3 단백질에 대한 결합과 비교할 때, 서열번호 101의 아미노산 서열을 가진 변이체 TIM-3 단백질에 대한 저감된 또는 없는 결합을 나타낸다.
- [0107] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 본 발명의 임의의 항체와 동일한 인간 TIM-3의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 일 실시형태에 있어서, 항체는, 서열번호 79의 아미노산 서열을 가진 야생형 TIM-3 단백질에 대한 결합과 비교할 때, 서열번호 101의 아미노산 서열을 가진 변이체 TIM-3 단백질에 대한 저감된 또는 없는 결합을 나타낸다.
- [0108] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은, 예컨대, 인간 TIM-3의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 79의 잔기 40번에 결합한다.
- [0109] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 본 발명의 임의의 항체와 동일한 인간 TIM-3의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 79의 잔기 40번에 결합한다.
- [0110] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은, 예컨대, 인간 TIM-3의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 93의 아미노산 서열로 이루어진 인간 TIM-3의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 94의 아미노산 서열로 이루어진 인간 TIM-3의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 95의 아미노산 서열로 이루어진 인간 TIM-3의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 96의 아미노산 서열로 이루어진 인간 TIM-3의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 97의 아미노산 서열로 이루어진 인간 TIM-3의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 98의 아미노산 서열로 이루어진 인간 TIM-3의 영역 내에

에서 서열번호 96에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소 /중수소 교환에 비해서 서열번호 96에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환을 저감시킨다. 다른 양상에 있어서, 항체는, 서열번호 102의 아미노산 서열을 포함하는 인간 TIM-3 단백질 또는 이의 단편에 결합된 경우, 수소/중수소 검정에 의해 결정된 바와 같은, 항체의 부재에서 서열번호 97에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소 /중수소 교환에 비해서 서열번호 97에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환을 저감시킨다. 다른 양상에 있어서, 항체는, 서열번호 102의 아미노산 서열을 포함하는 인간 TIM-3 단백질 또는 이의 단편에 결합된 경우, 수소/중수소 검정에 의해 결정된 바와 같은, 항체의 부재에서 서열번호 98에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소 /중수소 교환에 비해서 서열번호 98에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환을 저감시킨다. 몇몇 실시형태에 있어서, 수소/중수소 교환의 저감은, 예를 들어, 실시예에서 본 명세서에 기재된 바와 같이, 수소-중수소 교환(HDX)을 이용해서 측정된다.

- [0114] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은, 예컨대, 본 발명의 임의의 항체와 동일한 인간 TIM-3의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 에피토프는 수소-중수소 교환(HDX)에 의해, 예를 들어, 실시예에 기재된 바와 같은 펩스칸 분석(Pepsican analysis)에 의해, 또는 예를 들어, 실시예에 기재된 바와 같은 알려진 스캐닝에 의해 결정된다.
- [0115] 소정의 실시형태에 있어서, 야생형 인간 IgG 중쇄 불변 영역의 변이체인 인간 IgG 중쇄 불변 영역을 포함하되, 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG 중쇄 불변 영역이 인간 Fc 감마 수용체에 결합하는 것보다 낮은 친화도로 인간 Fc 감마 수용체에 결합한다. 소정의 실시형태에 있어서, 인간 Fc 감마 수용체는 Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII로 이루어진 군으로부터 선택된다. 소정의 실시형태에 있어서, 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 N297A 돌연변이를 포함하는 IgG₁ 불변 영역이다.
- [0116] 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 인간 항체이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 인간 TIM-3에 대해서 길항작용적이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 인간 TIM-3의 활성도를 비활성화시키거나, 저감시키거나 또는 저해시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 포스파티딜세린에 대한 인간 TIM-3의 결합을 저해시킨다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 포도상구균 장내독소 A(SEA)로 자극된 말초 혈액 단핵세포(PBMC)에 의한 IFN γ 생산을 유도한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 항-CD3 및 항-CD28 항체로 자극된 중앙 침윤 림프구(TIL)에 의한 IFN γ 또는 TNF α 생산을 유도한다.
- [0117] 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 인간 TIM-3을 발현하는 세포에 결합 시 내재화된다.
- [0118] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 세포독성제에 접합된 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 단리된 항체를 제공한다.
- [0119] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 세포정지제에 접합된 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 단리된 항체를 제공한다.
- [0120] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 독소에 접합된 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 단리된 항체를 제공한다.
- [0121] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 방사성 핵종에 접합된 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 단리된 항체를 제공한다.
- [0122] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 검출 가능한 표지에 접합된 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 단리된 항체를 제공한다.
- [0123] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 및 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0124] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체의 중쇄 및/또는 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 단리된 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터를 제공한다. 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포를 제공한다. 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포를 제공한다. 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체를 생산하는 방법을 제공하되, 해당 방법은 폴리뉴클레오타이드가 발현되고 항체가 생산되도록 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 방법은 시험관 내 방법이다.

- [0125] 일 실시형태에 있어서, 본 발명은, 약제로서 사용하기 위한, 본 발명의 항체, 또는 본 발명의약제학적 조성물, 또는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드, 또는 본 발명의백터, 또는 본 발명의 재조합 숙주 세포에 관한 것이다.
- [0126] 일 실시형태에 있어서, 본 발명은, 잔다진체로서 사용하기 위한, 본 발명의 항체, 또는 본 발명의약제학적 조성물, 또는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드, 또는 본 발명의 백터, 또는 본 발명의 재조합 숙주 세포에 관한 것이다.
- [0127] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 대상체에서 항원에 반응하여 T 세포 활성화를 증가시키는 방법을 제공하되, 해당 방법은 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하되, 해당 방법은 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 전술한 방법의 소정의 실시형태에 있어서, 항체 또는 약제학적 조성물은 피하 투여된다. 전술한 방법의 소정의 실시형태에 있어서, 항체 또는 약제학적 조성물은 정맥내 투여된다. 전술한 방법의 소정의 실시형태에 있어서, 항체 또는 약제학적 조성물은 종양내 투여된다. 전술한 방법의 소정의 실시형태에 있어서, 항체 또는 약제학적 조성물은 림프절은 종양 배수 림프절(tumor draining lymph node)로 전달된다. 전술한 방법의 소정의 실시형태에 있어서, 항체 또는 약제학적 조성물은 동맥내 투여된다.
- [0128] 일 양상에 있어서, 본 발명은 항원에 반응하여 T 세포 활성화를 증가시키는 방법에서 사용하기 위한 본 발명의 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [0129] 일 양상에 있어서, 본 발명은 대상체에서 항원에 반응하여 T 세포 활성화를 증가시키는 방법에서 사용하기 위한 본 발명의 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [0130] 일 양상에 있어서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 항원에 반응하여 T 세포 활성화를 증가시키는 방법에서 사용하기 위한 본 발명의 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [0131] 일 양상에 있어서, 본 발명은 암을 치료하기 위한 방법에서 사용하기 위한 본 발명의 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [0132] 일 양상에 있어서, 본 발명은 대상체에서 암을 치료하기 위한 방법에서 사용하기 위한 본 발명의 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [0133] 일 양상에 있어서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 대상체에서 암을 치료하기 위한 방법에서 사용하기 위한 본 발명의 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [0134] 본 발명의 용도를 위한 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물의 일 실시형태에서, 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물은 피하 또는 정맥내 투여된다. 본 발명의 용도를 위한 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물의 다른 실시형태에서, 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물은 종양내 또는 동맥내 투여된다.
- [0135] 소정의 실시형태에 있어서, 전술한 방법은 대상체에게 추가의 치료제를 투여하는 단계를 더 포함한다. 따라서, 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물의 일 실시형태에서, 상기 방법은 대상체에게 추가의 치료제를 투여하는 단계를 더 포함한다.
- [0136] 일 양상에 있어서, 본 발명은 (a) 본 발명의 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물 및 (b) 약제로서 사용하기 위한 추가의 치료제에 관한 것이다.
- [0137] 일 양상에 있어서, 본 발명은 (a) 본 발명의 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물 및 (b) 암을 치료하는 방법에서 사용하기 위한 추가의 치료제에 관한 것이다.
- [0138] 일 양상에 있어서, 본 발명은 (a) 본 발명의 항체, 폴리뉴클레오타이드, 백터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물 및 (b) 추가의 치료제를 포함하는 약제학적 조성물, 키트 또는 부품 키트(kit-of-parts)에 관한 것이다.
- [0139] 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 화학요법제이다. 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 방사

능 치료제이다.

[0140] 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 관문 표적제이다. 소정의 실시형태에 있어서, 관문 표적제는 길항제 항-PD-1 항체, 길항제 항-PD-L1 항체, 길항제 항-PD-L2 항체, 길항제 항-CTLA-4 항체, 길항제 항-TIM-3 항체, 길항제 항-LAG-3 항체, 길항제 항-CEACAM1 항체, 작용제 항-CD137 항체, 길항제 항-TIGIT 항체, 길항제 항-VISTA 항체, 작용제 항-GITR 항체 및 작용제 항-OX40 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다. 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 항-PD-1 항체이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-1 항체는 펌브롤리주맙(pembrolizumab)이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙(nivolumab)이다.

[0141] 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 인돌아민-2,3-다이옥시게나제(IDO)의 저해제이다. 소정의 실시형태에 있어서, 저해제는 에파카도스타트(epacadostat), F001287, 인독시모드(indoximod) 및 NLG919로 이루어진 군으로부터 선택된다. 소정의 실시형태에 있어서, 저해제는 에파카도스타트이다. 소정의 실시형태에 있어서, 저해제는 F001287이다. 소정의 실시형태에 있어서, 저해제는 인독시모드이다. 소정의 실시형태에 있어서, 저해제는 NLG919이다.

[0142] 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 백신이다. 소정의 실시형태에 있어서, 백신은 항원성 펩타이드로 복합화된 열충격 단백질을 포함하는 열 충격 단백질 펩타이드 복합체(HSPPC)를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 열 충격 단백질은 hsc70이고 중앙-연관된 항원성 펩타이드와 복합체화된다. 소정의 실시형태에 있어서, 열 충격 단백질은 gp96 단백질이고 중앙-연관된 항원성 펩타이드와 복합체화되며, 여기서 HSPPC는 대상체로부터 얻어진 중앙으로부터 유래된다. 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 TCR을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 가용성 TCR이다. 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 TCR을 발현하는 세포이다. 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 키메라 항원 수용체를 발현하는 세포이다. 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 펩타이드-MHC 복합체에 특이적으로 결합하는 항체이다. 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 애주번트(adjuvant)이다. 일 양상에 있어서, 본 발명은 (a) 본 발명의 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물 및 (b) 선택적으로 약제로서 사용하기 위한, 예를 들어, 암을 치료하기 위한 방법에서 사용하기 위한 백신에 관한 것이며, 여기서 백신은 항원성 펩타이드로 복합화된 열충격 단백질을 포함하는 열 충격 단백질 펩타이드 복합체(HSPPC)를 포함한다. 일 양상에 있어서, 본 발명은 (a) 본 발명의 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 재조합 숙주 세포, 및/또는 약제학적 조성물 및 (b) 선택적으로 백신을 포함하는 약제학적 조성물, 키트 또는 부품 키트에 관한 것이며, 여기서 백신은 항원성 펩타이드로 복합화된 열충격 단백질을 포함하는 열 충격 단백질 펩타이드 복합체(HSPPC)를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0143] 5. **도면의 간단한 설명**

도 1은, 유세포 분석법에 의해 측정된 바와 같이, 인간 TIM-3을 발현하도록 조작된 야생형 쥐과 1624-5 세포 또는 1624-5 세포에 대한 항-TIM-3 항체 pab2085(IgG₁) 및 pab2088(IgG₁) 또는 아이소타입 대조군 항체의 결합을 도시한 막대그래프의 세트이다.

도 2A 및 도 2B는 루미넥스 검정(Luminex assay)에 의해 측정된 바와 같이, 재조합 인간 TIM-1 His(rhTIM-1 His), 재조합 인간 TIM-4 His(rhTIM-4 His), 재조합 인간 TIM-3 His(rhTIM-3 His), 재조합 인간 TIM-3 Fc(rhTIM-3 Fc), 및 재조합 시노몰구스(cynomolgus) TIM-3 Fc(rcmTIM-3 Fc)에 대한 항-TIM-3 항체 pab2085(IgG₁)(도 2A) 및 pab2088(IgG₁)(도 2B)의 결합을 도시한 그래프의 쌍이다. 중앙 형광 강도(median fluorescence intensity: MFI)값은 항체 농도에 대해서 플롯팅되어 있다.

도 3a, 도 3b, 도 3c 및 도 3d는, 유세포 분석법에 의해 측정된 바와 같이, 인간 TIM-3(도 3a 및 도 3b) 또는 시노몰구스 TIM-3(도 3c 및 도 3d)을 발현하도록 조작된 쥐과 1624-5 세포에 대한 항-TIM-3 항체 또는 아이소타입 대조군 항체의 결합을 도시한 막대그래프의 세트이다. 이 연구에서 시험된 항-TIM-3 항체는 pab2173, pab2174, pab2175, pab2176, pab2177, pab2178, pab2179, pab2180, pab2181, pab2182, pab2183, pab2184, pab2185, pab2186, pab2187, pab2188, pab2189, pab2190, pab2191, 및 pab2192를 포함하며, 이들은 모두 IgG₁ Fc 영역을 함유한다.

도 4는, 유세포 분석법에 의해 측정된, 항-CD3 및 항-CD28 항체에 의해 활성화된 일차 인간 CD8+ T 세포에 대한 항-TIM-3 항체 pab2085, 경쇄 최적화된 변이체(pab2184, pab2186, pab2187, pab2188, pab2189, pab2190, pab2191, 및 pab2192), 또는 아이소타입 대조군 항체의 결합을 도시한 그래프이다. 경쇄 최적화된 변이체는

IgG₁ 변이체 Fc 영역을 함유한다. MFI값은 시험된 일련의 항체 농도에 대해서 플롯팅되어 있다.

도 5는, 유세포 분석법에 의해 측정된, 일차 시노물구스 CD11b⁺ 골수성 세포에 대한 항-TIM-3 항체 pab2188(IgG₁ 변이체) 또는 아이소타입 대조군 항체의 결합을 도시한 그래프이다. MFI값은 항체 농도에 대해서 플롯팅되어 있다.

도 6A 및 도 6B는 항-TIM-3 항체 또는 IgG₁ 아이소타입 대조군 항체의 존재 중에서 조사된 포스파티딜세린-발현 WR19L 췌과 림프종 세포와 재조합 인간 TIM-3 Fc(도 6A) 또는 재조합 시노물구스 TIM-3 Fc(도 6B) 간의 결합 퍼센트를 도시한 그래프이다. 이 연구에서 시험된 항-TIM-3 항체는 pab2085(IgG₁) 및 pab2188(IgG₁ 변이체)이다.

도 7은 포도상구균 장내독소 A(*Staphylococcus Enterotoxin A*: SEA) 자극 시 인간 말초 혈액 단핵세포(PBMC)에서 항-PD-1 항체 펙브롤리주맵과 병용하여 항-TIM-3 항체 또는 IgG₁ 아이소타입 대조군 항체에 의해 유도된 IFN γ 의 생산을 도시한 막대 그래프이다. 이 연구에서 시험된 항-TIM-3 항체는 경쇄 최적화된 변이체 pab2175(IgG₁), pab2176(IgG₁), pab2180(IgG₁), pab2182(IgG₁), pab2183(IgG₁ 변이체), pab2184(IgG₁ 변이체), pab2186(IgG₁ 변이체), pab2187(IgG₁ 변이체), pab2188(IgG₁ 변이체), pab2189(IgG₁ 변이체), pab2190(IgG₁ 변이체), pab2191(IgG₁ 변이체) 및 pab2192(IgG₁ 변이체)를 포함한다.

도 8A, 도 8B, 도 8C, 도 8D, 도 8E 및 도 8F는 SEA 자극 시 6개의 상이한 공여체로부터의 인간 PBMC에서 단독으로 또는 항-PD-1 항체 펙브롤리주맵과 병용하여 항-TIM-3 항체 pab2188w(IgG₁ N297A) 또는 IgG₁ N297A 아이소타입 대조군 항체에 의해 유도된 IFN γ 의 생산을 도시한 막대 그래프의 세트이다. 도 8A 내지 도 8F에 묘사된 연구에서 사용된 프로토콜은 도 7에 묘사된 연구에서 사용된 프로토콜로부터 변형되었다.

도 9A, 도 9B, 도 9C, 도 9D, 도 9E 및 도 9F는 TIM-3을 발현하는 세포에 대한 항-TIM-3 항체의 결합을 도시한 그래프 또는 막대그래프이다. 도 9A, 도 9B, 도 9E 및 도 9F에서, MFI값은 시험된 일련의 항체 농도에 대해서 플롯팅되어 있다. 도 9C 및 도 9D는 TIM-3-발현 세포에 대한 항-TIM-3 항체의 결합을 도시한 막대그래프의 세트이다. 시험된 항-TIM-3 항체는 pab2188w(IgG₁ N297A), AM-1(IgG₁ N297A), AM-2(IgG₁ N297A), AM-3(IgG₁ N297A), AM-4(IgG₁ N297A), AM-5(IgG₁ N297A), AM-6(IgG₁ N297A), AM-7(IgG₁ N297A), AM-8(IgG₁ N297A) 및 AM-9(IgG₁ N297A)를 포함한다. 시험된 세포는 인간 TIM-3을 이소성으로 발현하는 주르카트 세포(도 9A), 카스미-3, TIM-3을 내인성으로 발현하는 인간 급성 골수성 백혈병 세포(도 9B), 포도상구균 장내독소 A(SEA)로 자극된 인간 CD8⁺ T 세포(도 9C), SEA로 자극된 시노물구스 CD8⁺ T 세포(도 9D), 및 일차 인간 (도 9E) 및 시노물구스(도 9F) CD14⁺ 골수성 세포였다.

도 10A, 도 10B, 도 10C 및 도 10D는, 루미넥스 검정에 의해 측정된, 재조합 인간 TIM-3 His(rhTIM-3 His), 재조합 시노물구스 TIM-3 Fc(rcmTIM-3 Fc), 재조합 마우스 TIM-3 Fc(rmTIM-3 Fc), 재조합 인간 TIM-1 His(rhTIM-1 His), 재조합 인간 TIM-4 His(rhTIM-4 His), 재조합 인간 OX40 His(rhOX40 His), 재조합 인간 GITR Fc(rhGITR Fc), 재조합 인간 DR3 Fc(rhDR3 Fc), 및 재조합 인간 CD137 Fc(rhCD137 Fc)에 대한 항-TIM-3 항체 또는 IgG₁ N297A 아이소타입 대조군 항체의 결합을 도시한 그래프이다. MFI값은 항체 농도에 대해서 플롯팅되어 있다. 이 연구에서 시험된 항-TIM-3 항체는 pab2188w(IgG₁ N297A)(도 10B), AM-2(IgG₁ N297A)(도 10C) 및 AM-6(IgG₁ N297A)(도 10D)을 포함한다.

도 11A 및 도 11B는 항-TIM-3 항체 또는 IgG₁ N297A 아이소타입 대조군 항체의 용량 적정의 존재 하에 포스파티딜세린-발현 WR19L 세포에 대한 재조합 인간 TIM-3 Fc(도 11A) 또는 재조합 시노물구스 TIM-3 Fc(도 11B)의 결합 퍼센트를 도시한 그래프이다. 이 연구에서 시험된 항-TIM-3 항체는 pab2188w(IgG₁ N297A), AM-2(IgG₁ N297A) 및 AM-6(IgG₁ N297A)을 포함한다.

도 12a 및 도 12b는, SEA 자극 시 두 상이한 공여체로부터의 인간 PBMC에서, 단독으로 또는 항-PD-1 항체 펙브롤리주맵과 병용해서 항-TIM-3 항체 또는 IgG₁ N297A 아이소타입 대조군 항체에 의해 유도된 IFN γ 의 생산을 도시한 막대 그래프이다. 시험된 항-TIM-3 항체는 pab2188w(IgG₁ N297A), AM-1(IgG₁ N297A), AM-2(IgG₁ N297A), AM-3(IgG₁ N297A), AM-4(IgG₁ N297A), AM-5(IgG₁ N297A), AM-6(IgG₁ N297A), AM-7(IgG₁ N297A) 및 AM-8(IgG₁ N297A)을 포함한다.

도 13A, 도 13B, 도 13C, 도 13D, 도 13E 및 도 13F는 단독으로 또는 항-PD-1 항체 펩브롤리주맙과 병용하여 항-TIM-3 항체 또는 IgG₁ N297A 아이소타입 대조군 항체에 의해 유도된 일차 종양 침윤 림프구(TIL)에 의한 IFN γ 또는 TNF α 생산을 도시한 그래프이다. TIL은비소세포 폐암(NSCLC)(도 13A 및 도 13B), 담낭 선암종(도 13C 및 도 13D) 또는 유방암(도 13E 및 도 13F) 종양으로부터 단리되고 항-CD3/CD28 마이크로비드로 활성화되었다. 이 연구에서 시험된 항-TIM-3 항체는 pab2188w(IgG₁ N297A), AM-2(IgG₁ N297A) 및 AM-6(IgG₁ N297A)을 포함한다.

도 14a, 도 14b 및 도 14c는, 항-TIM-3 항체 또는 IgG₁ N297A 아이소타입 대조군 항체에 의한 항온처리 후, 미처리 대조군에 비해서 세포 생존율의 퍼센트를 도시한 그래프이다. 도 14a 및 도 14b는 이차 항체 약물 접합체 α HFc-NC-DM1과 병용하여 지시된 항체에 의한 치료를 도시한다. 시험된 세포는 TIM-3을 과발현하도록 조작된 주르카트 세포(도 14a) 또는 카스미-3 세포, TIM-3을 내인성으로 발현하는 급성 골수성 백혈병 세포주(도 14b)였다. 도 14c는 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE)와의 접합체로서 지시된 항체에 의한 치료를 도시한다. 이 연구에서 시험된 항-TIM-3 항체는 pab2188w(IgG₁ N297A), AM-2(IgG₁ N297A), AM-6(IgG₁ N297A), 및 참조 항체 Hum11(IgG₄ S228P) 및 pab1944w(IgG₁ N297A)를 포함한다.

도 15는, 다양한 시점에서(즉, 0 내지 3.5시간에서), 생세포 공초점 형광 현미경법에 의해 결정된 바와 같이, 10 μ g/ml의 항-TIM-3 항체 AM-2 또는 아이소타입 대조군 항체로 항온처리된 경우, 할로 태그(HaloTag)-TIM-3 융합 단백질을 발현하는 주르카트 세포에서의 TIM-3 내재화를 도시한 일련의 그래프이다. 흑색 점은 주어진 시점에서 각 조건에 대해서 관찰된 평균 형광 수준을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0144] 6. 상세한 설명

[0145] 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고 TIM-3 기능, 예컨대, TIM-3-매개 면역 억제에 길항작용하는 항체를 제공한다. 또한, 이들 항체를 포함하는 약제학적 조성물, 이들 항체를 암호화하는 핵산, 이들 항체를 제조하기 위한 발현 벡터 및 숙주 세포, 및 이들 항체를 사용하여 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 본 명세서에서 개시된 항체는 특히 항원(예컨대, 종양 항원 또는 감염성 질환 항원)에 반응하여 T 세포 활성화를 증가시키고, 따라서 대상체에서 암을 치료하거나 또는 대상체에서 감염성 질환을 치료 또는 예방하는데 유용하다. 본 명세서에 기재된 "단리된 항체"의 모든 예는 단리될 수 있으나 반드시 단리될 필요는 없는 항체로서 추가로 상정된다. 본 명세서에 기재된 "단리된 폴리뉴클레오타이드"의 모든 예는 단리될 수 있으나 반드시 단리될 필요는 없는 폴리뉴클레오타이드로서 추가로 상정된다. 본 명세서에 기재된 "항체"의 모든 예는 단리될 수 있으나 반드시 단리될 필요는 없는 항체로서 추가로 상정된다. 본 명세서에 기재된 "폴리뉴클레오타이드"의 모든 예는 단리될 수 있으나 반드시 단리될 필요는 없는 폴리뉴클레오타이드로서 추가로 상정된다.

[0146] 6.1 정의

[0147] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약" 및 "대량"은, 수치 또는 수치 범위를 변경하기 위해 사용되는 경우, 상기 수치 또는 범위의 5% 내지 10% 이상(예컨대, 5% 내지 최대 10% 이상 및 5% 내지 10% 이하(예컨대, 최대 5% 내지 10%의 이하)의 편차가 상기 인용된 수치 또는 범위의 의도된 의미 내에서 유지되는 것을 나타낸다.

[0148] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "TIM-3"은 인간에서 A형 간염 바이러스 세포 수용체 2(HAVCR2)에 의해 암호화되는 T-세포 면역글로불린 및 뮤신 도메인-3(T 세포 면역글로불린 및 뮤신-도메인 함유-3 단백질 또는 HAVCR2로도 공지됨)을 지칭한다. 스위스-프로트(Swiss-Prot) 수탁 번호 Q8TDQ0-1은 예시적인 인간 TIM-3 아미노산 서열을 제공한다. 인간 TIM-3의 미성숙 아미노산 서열은 서열번호 78로서 제공된다. 인간 TIM-3의 성숙 아미노산 서열은 서열번호 79로서 제공된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "인간 TIM-3"은 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 TIM-3을 지칭한다.

[0149] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항체" 및 "항체들"은 전장 항체, 전장 항체의 항원-결합 단편, 및 항체 CDR, VH 영역 또는 VL 영역을 포함하는 분자를 포함한다. 항체의 예는, 단클론성 항체, 재조합 방법으로 생산된 항체, 단일 특이적 항체, 다중 특이적 항체(이중 특이적 항체 포함), 인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 면역글로불린, 합성 항체, 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄 분자를 포함하는 테트라 메릭 항체, 항체 경쇄 단량체, 항체 중쇄 단량체, 항체 경쇄 2량체, 항체 중쇄 2량체, 항체 경쇄-항체 중쇄 쌍, 인트라 바디 (intrabody), 이중접합체(heteroconjugate) 항체, 항체-약물 접합체(conjugate), 단일 도메인 항체, 1가 항체,

단일쇄 항체 또는 단일쇄 Fvs(scFv), 카멜화(camelized) 항체, 아피바디(affybody), Fab 단편, F(ab')₂ 단편, 다이설파이드-결합 Fvs(sdFv), 항-이디오타입(anti-Id) 항체(예를 들어, 항-항-Id 항체 포함) 및 전술한 임의의 항원-결합 단편을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체는 다클론성 항체 집단을 의미한다. 항체는 면역 글로불린 분자의 임의의 유형(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY), 임의의 클래스(예컨대, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 또는 IgA₂) 또는 임의의 서브클래스(예컨대, IgG_{2a} 또는 IgG_{2b})일 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체 IgG 항체, 또는 이의 클래스(예컨대, 인간 IgG₁ 또는 IgG₄) 또는 서브클래스이다. 특정 실시형태에 있어서, 항체는 인간화된 단클론성 항체이다. 다른 특정 실시형태에 있어서, 항체는 인간 단클론성 항체이다.

[0150] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "VH 영역" 및 "VL 영역"은, 각각, FR(프레임워크 영역) 1, 2, 3 및 4, 및 CDR(상보성 결정 영역) 1, 2 및 3을 포함하는 단일 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 지칭한다(문헌[Kabat *et al.*, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest (NIH Publication No. 91-3242, Bethesda)] 참조, 이 문헌은 그의 전문이 참고로 본 명세서에 인용됨).

[0151] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "CDR" 또는 "상보성 결정 영역"은 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드 둘 다의 가변 영역 내에서 발견되는 비인접 항원 결합 부위를 의미한다. 이들 특정 영역은 문헌[Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) 및 Kabat *et al.*, Sequences of protein of immunological interest. (1991), Chothia *et al.*, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987), 및 MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)]에 기재되고, 이들 문헌은 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용되며, 상기 정의는 서로 비교될 때 아미노산 잔기의 중첩 또는 부분 집합을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 용어 "CDR"은 문헌[MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745(1996) 및 Martin A. "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," in *Antibody Engineering*, Kontermann and **Dübel**, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001)]에 의해 정의된 바와 같은 CDR이다. 소정의 실시형태에 있어서, 용어 "CDR"은 문헌[Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) 및 Kabat *et al.*, Sequences of protein of immunological interest. (1991)]에 의해 정의된 바와 같은 CDR이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체의 중쇄 CDR 및 경쇄 CDR은 상이한 관례를 이용해서 정의된다. 예를 들어, 소정의 실시형태에 있어서, 중쇄 CDR은 맥캘럼(MacCallum)(상기 참조)에 따라서 정의되고, 그리고 경쇄 CDR은 카바트(Kabat)(상기 참조)에 따라서 정의된다. CDRH1, CDRH2 및 CDRH3은 중쇄 CDR을 나타내고, 그리고 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은 경쇄 CDR을 나타낸다.

[0152] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "프레임워크(FR) 아미노산 잔기"는 면역글로불린 사슬의 프레임워크 영역 내의 아미노산을 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "프레임워크 영역" 또는 "FR 영역"은, 가변 영역의 일부이지만 CDR의 일부가 아닌(예컨대, CDR의 카바트 또는 맥캘럼 정의를 이용하여) 아미노산 잔기를 포함한다.

[0153] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "가변 영역" 및 "가변 도메인"은 상호 호환 가능하게 사용되고 당업계에서 통상적이다. 가변 영역은 전형적으로 항체의 일부, 일반적으로 경쇄 또는 중쇄의 일부, 전형적으로 성숙한 중쇄에서 약 아미노-말단 110 내지 120 또는 110 내지 125번 아미노산 및 성숙한 경쇄에서 약 90 내지 115번 아미노산을 의미하는데, 이들은 항체 간 서열에서 폭넓게 상이하고, 특정 항원을 위한 특정 항체의 결합 및 특이성에서 사용된다. 서열의 가변성은 상보성 결정 영역(CDR)이라 불리는 영역에 집중되어 있는 반면, 가변 도메인에서 보다 고도로 보존된 영역은 프레임워크 영역(FR)으로 불린다. 어떠한 특정 기전 또는 이론에 의해 얽매어 길 원치 않지만, 경쇄 및 중쇄의 CDR은 항원과의 항체의 상호작용 및 특이성을 주로 담당한다. 소정의 실시형태에 있어서, 가변 영역은 인간의 가변 영역이다. 소정의 실시형태에 있어서, 가변 영역은 설치류 또는 쥐과 CDR 및 인간의 프레임워크 영역(FR)을 포함한다. 특별한 실시형태에 있어서, 가변 영역은 영장류(예컨대, 비-인간 영장류)의 가변 영역이다. 소정의 실시형태에 있어서, 가변 영역은 설치류 또는 쥐과 CDR 및 영장류(예컨대, 비-인간 영장류)의 프레임워크 영역(FR)을 포함한다.

[0154] 용어 "VL" 및 "VL 도메인"은 항체의 경쇄 가변 영역을 지칭하도록 호환 가능하게 사용된다.

[0155] 용어 "VH" 및 "VH 도메인"은 항체의 중쇄 가변 영역을 지칭하도록 호환 가능하게 사용된다.

[0156] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "불변 영역" 및 "불변 도메인"은 상호 호환 가능하게 사용되고 당업계에서 통상적이다. 불변 영역은 항체 부분, 예컨대, 항체와 항원의 결합에는 직접 관여하지 않지만, Fc 수용체

(예컨대, Fc 감마 수용체)와의 반응과 같은 다양한 효과기 기능을 나타낼 수 있는 경쇄 및/또는 중쇄의 카복시 말단 부분이다. 면역글로불린 분자의 불변 영역은 일반적으로 면역글로불린 가변 도메인에 비해서 보다 보존된 아미노산 서열을 갖는다.

- [0157] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "중쇄"는 항체와 관련하여 사용될 때 임의의 별개의 유형, 예를 들어, 불변 도메인의 아미노산 서열을 기준으로 알파(α), 델타(δ), 엡실론(ϵ), 감마(γ) 및 뮤(μ)를 의미할 수 있는데, 이들은 IgG의 서브클래스, 예컨대, IgG₁, IgG₂, IgG₃ 및 IgG₄를 포함하는 항체의 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM 클래스를 각각 생성한다.
- [0158] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "경쇄"는 항체와 관련하여 사용될 때 임의의 별개의 유형, 예를 들어, 불변 도메인의 아미노산 서열을 기준으로 카파(κ) 또는 람다(λ)를 지칭할 수 있다. 경쇄 아미노산 서열은 당 업계에 공지되어 있다. 특정 실시형태에 있어서, 경쇄는 인간의 경쇄이다.
- [0159] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "EU 넘버링 체계"는 문헌[Edelman, G.M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969) 및 Kabat et al, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health and Human Services, 5th edition, 1991]에 기재된 바와 같이, 항체의 불변 영역에 대한 EU 넘버링 협약을 지칭하며, 이들 문헌의 각각은 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다.
- [0160] "결합 친화도"는 일반적으로 분자(예컨대, 항체)의 단일 결합 부위와 그의 결합 파트너(예컨대, 항원) 간의 비 공유 결합의 총합의 강도를 지칭한다. 달리 명시하지 않는 한, 본 명세서에 사용된 바와 같이, "결합 친화도"는 결합 쌍(예컨대, 항체 및 항원)의 구성원 간의 1:1 결합을 반영하는 내인성 결합 친화도를 지칭한다. 분자 X의 이의 파트너 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수(K_D)로 표현된다. 친화도는 평형 해리 상수(K_D) 및 평형 결합 상수(K_A)를 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니고, 당업계에 공지된 다양한 방법으로 측정 및/또는 표현될 수 있다. K_D는 k_{off}/k_{on}의 지수로부터 계산되는 반면, K_A는 k_{on}/k_{off}의 지수로부터 계산된다. k_{on}은, 예컨대, 항원에 대한 항체의 결합 속도 상수를 지칭하고, k_{off}는, 예컨대, 항원에 대한 항체의 해리 속도 상수를 지칭한다. k_{on} 및 k_{off}는 BIAcore[®] 또는 KinExA와 같은 당업계에 공지된 기술에 의해 결정될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "더 낮은 친화도"는 더 큰 K_D를 지칭한다.
- [0161] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "특이적으로 결합하는", "특이적으로 인식하는", "면역특이적으로 결합하는" 및 "면역특이적으로 인식하는"은 이러한 결합이 당업자에 의해 이해되는 바와 같은 항원에 결합하는 분자(예컨대, 에피토프 또는 면역 복합체)를 지칭한다. 예를 들어, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는, 일반적으로, 예컨대, 면역검정, BIAcore[®], KinExA 3000 기기(사피다인 인스트루먼트사(Sapidyne Instruments), 아이다 호주 보이시 소재), 또는 당업계에 공지된 다른 검정에 의해 결정되는 바와 같이 낮은 친화도로 다른 펩타이드 또는 폴리펩타이드에 결합한다. 특정 실시형태에 있어서, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 해당 분자가 다른 항원에 비특이적으로 결합할 때 K_A보다 적어도 2 로그(예컨대, 10배), 2.5 로그, 3 로그, 4 로그 또는 그 이상 인 K_A를 가지는 항원에 결합한다.
- [0162] 다른 특정 실시형태에 있어서, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 유사한 결합 조건하에서 다른 단백질과 교차 반응하지 않는다. 다른 특정 실시형태에 있어서, TIM-3에 특이적으로 결합하는 분자는 다른 비-TIM-3 단백질과 교차반응하지 않는다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에서는 다른 비관련 항원에 대한 것보다 높은 친화도로 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 결합하는 항체가 제공된다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서는, 예컨대, 방사면역검정(radioimmunoassay), 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance) 또는 키네틱 배제 검정(kinetic exclusion assay)에 의해 측정된 바와 같이, 다른 비관련 항원에 대한 것보다 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 그 이상의 친화도로 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시형태에 있어서, 비관련 비-TIM-3 단백질에 대한 본 명세서에 기재된 항-TIM-3 항체의 결합 범위는, 예컨대, 방사면역검정에 의해 측정된 바와 같이, TIM-3 단백질에 대한 항체 결합의 10%, 15%, 또는 20% 미만이다.
- [0163] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, Fc의 맥락에서 용어 "탈푸코실화"(afucosylation) 또는 "탈푸코실화된"은, EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된 인간 IgG₁ Fc 영역의 297번 잔기, 또는 비-IgG₁ 또는 비-인간 IgG₁ 면역글로불린에서의 대응하는 잔기에 직접 또는 간접적으로 공유 부착된 푸코스의 실질적인 결여를 지칭한다. 따라서, 복

수개의 탈푸코실화된 항체를 포함하는 조성물에서, 항체의 적어도 70%는 해당 항체의 Fc 영역의 297번 잔기에서 직접 또는 (예컨대, 당의 개입을 통해서) 간접적으로 푸코실화되지 않을 것이고, 몇몇 실시형태에서는, 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99%가 Fc 영역의 297번 잔기에서 직접 또는 간접적으로 푸코실화되지 않을 것이다.

[0164] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "에피토프"는 당업계의 용어이며, 항체가 특이적으로 결합할 수 있는 항원의 국제화된 영역을 지칭한다. 에피토프는, 예를 들어, 폴리펩타이드의 연속적인 아미노산(선형 또는 연속 에피토프)일 수 있거나, 또는 에피토프는, 예를 들어, 하나의 폴리펩타이드의 2개 이상의 인접하지 않은 영역 또는 다수의 폴리펩타이드(구조, 비선형, 불연속 또는 인접하지 않은 에피토프)로부터 함께 유래될 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체가 결합하는 에피토프는, 예를 들어, NMR 분광법, X-선 회절 결정법 연구, ELISA 검정, 질량분석법(예컨대, 액체 크로마토그래피 전기 분무 질량 분석법)과 결합된 수소/중수소 교환, 어레이-기반 올리고-펩타이드 스캐닝 검정법(예컨대, CLIPS(CheMical Linkage of Peptides onto Scaffolds)를 이용하여 펩타이드를 제약하여, 불연속 또는 구조적 에피토프를 매핑) 및/또는 돌연변이유발 매핑(예컨대, 부위-지정 돌연변이유발 매핑)에 의해 결정될 수 있다. X-선 결정법을 위해, 결정화는 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용하여 수행될 수 있다(예컨대, 문헌[Giegler *et al.*, (1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) *Eur J Biochem* 189: 1-23; Chayen NE (1997) *Structure* 5: 1269-1274; McPherson A (1976) *J Biol Chem* 251: 6300-6303], 이들의 각각은 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다). 항체:항원 결정은 공지된 X-선 회절 기술을 사용하여 연구할 수 있고, X-PLOR와 같은 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 정제될 수 있다(Yale University, 1992, distributed by Molecular Simulations, Inc.; 예컨대, 문헌[Meth Enzymol (1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff HW *et al.*; 미국 특허 공개 제2004/0014194호), 및 BUSTER (Bricogne G (1993) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) *Meth Enzymol* 276A: 361-423, ed Carter CW; Roversi P *et al.*, (2000) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 56(Pt 10): 1316-1323] 참조, 이들은 모두 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다). 돌연변이유발 매핑 연구는 당업자에게 공지된 임의의 방법을 사용하여 수행될 수 있다. 예컨대, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 기술을 비롯한 돌연변이유발 기술을 설명하기 위하여, 예컨대, 문헌[Champe M *et al.*, (1995) *J Biol Chem* 270: 1388-1394 및 Cunningham BC & Wells JA (1989) *Science* 244: 1081-1085]을 참조하며, 이들의 각각은 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. CLIPS (Chemical Linkage of Peptides onto Scaffolds)는 복합 단백질 도메인의 기능적 모방체로서 거동하도록 구조적으로 제한된 형태로 하나 이상의 펩타이드를 제공하는 기술이다. 예컨대, 미국 특허 공개 제US 2008/0139407 A1호 및 제US 2007/099240 A1호 및 미국 특허 제7,972,993호 참조하고, 이들의 각각은 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. 특정 실시형태에 있어서, 항체의 에피토프는 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 연구를 사용하여 결정된다. 특정 실시형태에 있어서, 항체의 에피토프는 질량분석법과 결합된 수소/중수소 교환을 사용하여 결정된다. 특정 실시형태에 있어서, 항체의 에피토프는 펩스칸 테라퓨틱스사(Pepscan Therapeutics)의 CLIPS 에피토프 매핑 기술(Epitope Mapping 기술)을 사용하여 결정된다.

[0165] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 특정 아미노산 서열 또는 아미노산 잔기의 세트에 이루어진 용어 "인간 TIM-3의 영역 내에 위치한 에피토프"는 특정된 영역의 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함하는 에피토프를 지칭하며, 여기서 특정된 영역은 인간 TIM-3의 영역의 첫 번째 아미노산 잔기와 마지막 특정된 아미노산 잔기를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 에피토프는 특정된 영역 내에 위치한 아미노산 잔기들 중 각각을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 특정된 영역 바깥의 인간 TIM-3의 하나 이상의 추가의 아미노산 잔기가 특정된 영역 내에 위치한 에피토프와 함께 항체에 결합한다.

[0166] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "T 세포 수용체" 및 "TCR"은 상호호환되고, 전장의 이종이량체(heterodimeric) $\alpha\beta$ 또는 $\gamma\delta$ TCR, 전장 TCR의 항원-결합 단편, 및 TCR CDR 또는 가변 영역을 포함하는 분자를 지칭한다. TCR의 예는, 전장 TCR, 전장 TCR의 항원-결합 단편, 막관통 영역 및 세포질 영역이 결여된 가용성 TCR, 가요성(flexible) 링커에 의해 부착된 TCR의 가변영역을 포함하는 단일쇄 TCR, 조작된 다이설파이드 결합으로 연결된 TCR 사슬, 단일특이적 TCR, 다중특이적 TCR(이중특이적 TCR 포함), TCR 융합체, 인간 TCR, 인간화된 TCR, 키메라 TCR, 재조합 방법으로 생산된 TCR, 및 합성 TCR을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다. 상기 용어는 야생형 TCR 및 유전자 조작된 TCR(예컨대, 제1 종의 TCR로부터의 제1 부분 및 제2 종의 TCR로부터의 제2 부분을 포함하는 키메라 TCR 사슬을 포함하는 키메라 TCR)을 포함한다.

[0167] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "주요 조직 적합성(major histocompatibility) 복합체" 및 "MHC"는 상호호환적으로 사용되고, MHC 클래스 I 분자 및/또는 MHC 클래스 II 분자를 지칭한다.

[0168] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "펩타이드-MHC 복합체"는 MHC의 당해 분야에 공지된 펩타이드 결합 포

켓에 결합된 펩타이드를 갖는 MHC 분자(MHC 클래스 I 또는 MHC 클래스 II)를 지칭한다.

- [0169] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료하다", "치료하는" 및 "치료"는 본 명세서에 기재된 치료 또는 예방 조치를 지칭한다. "치료" 방법은, 질병 또는 장애 또는 반복되는 질병 또는 장애의 하나 이상의 증상을 예방, 치료, 지연, 중증도의 감소 또는 완화시키기 위하여, 또는 이러한 치료의 부재 하에서 기대했던 것 이상으로 대상체의 생존을 연장시키기 위하여, 질병 또는 장애를 지니거나 그러한 질병 또는 장애를 갖는 경향이 있는 대상체에 항체의 투여를 허용하는 것이다.
- [0170] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 대상체에게 치료제를 투여하는 것과 관련된 상기 용어 "유효량"은, 목적하는 예방 또는 치료 효과를 달성하는 치료제의 용량을 지칭한다.
- [0171] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "대상체"는 임의의 인간 또는 비-인간 동물을 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 대상체는 인간 또는 비-인간 포유동물이다. 일 실시형태에 있어서, 대상체는 인간이다.
- [0172] 2개의 서열(예컨대, 아미노산 서열 또는 핵산 서열) 간의 "동일성 퍼센트(percent identity)"의 결정은 수학적 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다. 2개 서열의 비교를 위해 사용되는 수학적 알고리즘의 특이적이고 비-제한적인 예시는 문헌[Karlin S & Altschul SF (1993) PNAS 90: 5873-5877]에서와 같이 변형된 문헌[Karlin S & Altschul SF (1990) PNAS 87: 2264-2268]의 알고리즘이며, 이들의 각각은 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. 이러한 알고리즘은 문헌[Altschul SF *et al.*, (1990) J Mol Biol 215: 403]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램이며, 이 문헌은 그의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. BLAST 뉴클레오타이드 검색은 본 명세서에 기재된 핵산 분자에 상동인 뉴클레오타이드 서열을 얻기 위하여, 예를 들어, 스코어=100, 단어 길이=12로 설정된 NBLAST 뉴클레오타이드 프로그램 파라미터로 수행될 수 있다. BLAST 단백질 검색은, 본 명세서에 기재된 단백질 분자에 상동인 아미노산 서열을 얻기 위하여, 예를 들어, 스코어 50, 단어 길이=3으로 설정된 XBLAST 프로그램 파라미터로 수행될 수 있다. 비교 목적으로 한 갭 정렬(gapped alignment)을 얻기 위해, Gapped BLAST는 문헌[Altschul SF *et al.*, (1997) Nuc Acids Res 25: 3389-3402]에 기재된 바와 같이 사용될 수 있으며, 이 문헌은 그의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. 대안적으로, PSI BLAST는 분자 간의 먼 연관성을 검출하는 반복 검색을 수행하는데 사용될 수 있다(바로 앞서 언급된 문헌 참조). BLAST, Gapped BLAST 및 PSI Blast 프로그램을 사용할 때, 각각의 프로그램(예컨대, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 파라미터를 사용할 수 있다(예컨대, [National Center for Biotechnology Information (NCBI) on the worldwide web, ncbi.nlm.nih.gov] 참조). 서열 비교에 사용되는 수학적 알고리즘의 다른 특이적이고 비-제한적인 예는 문헌[Myers and Miller, 1988, CABIOS 4:11-17]의 알고리즘이며, 이 문헌은 그의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. 이러한 알고리즘은 GCG 서열 정렬 소프트웨어 패키지의 일부인 ALIGN 프로그램(버전 2.0)에 통합된다. 아미노산 서열을 비교하기 위해 ALIGN 프로그램을 사용할 때, PAM120 중량 잔기 도표(PAM120 weight residue table), 12의 갭 길이 페널티, 및 4의 갭 패널티가 사용될 수 있다.
- [0173] 2개 서열 간의 동일성 퍼센트는, 갭 허용 여부에 관계없이, 전술한 것과 유사한 기술을 사용하여 결정될 수 있다. 동일성 퍼센트의 계산에서, 전형적으로 정확하게 일치된 것만 계수된다.
- [0174] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "내재화" 또는 "내재화된"은 세포의 표면에서 발현된 항원에 대한 항체의 결합 시 세포의 세포내 구간 내로의 항체의 흡수를 지칭한다.
- [0175] **6.2 항-TIM-3 항체**
- [0176] 일 양상에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고 TIM-3 기능에 길항작용하는 항체를 제공한다. 예시적인 항체의 아미노산 서열은 본 명세서에서 표 1 내지 표 4에 제시된다.

표 1

예시적인 항-TIM-3 항체의 아미노산 서열.

서열번호	설명*	아미노산 서열
1	BADD456-2919 CDRH1	SSYAMS
2	BADD456-2919 CDRH2	WVSAISGSGGSTY
3	BADD456-2919 CDRH3	AKGGDYGGNYFD
4	AM-1 CDRH1	KAGQSS
5	AM-2 CDRH1	RQNAWS
6	AM-3 CDRH1	MSGQTS
7	AM-4 CDRH1	GAGQSS
8	AM-5 CDRH1	SAQQAS

[0177]

서열번호	설명*	아미노산 서열
9	AM-6 CDRH1	ARNAWS
10	AM-7 CDRH1	RSQQAS
11	AM-8 CDRH1	TTQQAS
12	AM-9 CDRH1	GGQQAS
13	BADD197-1181 CDRL1	RASQSVSSSYLA
14	BADD412-2513 CDRL1	RASQSVSSSYLA
15	BADD456-2928 CDRL1	RASQGISNYLA
16	BADD466-3169 CDRL1	GASQSVSSSYLA
17	BADD197-1181 CDRL2	GASSRAT
18	BADD456-2928 CDRL2	AASTLQS
19	BADD466-3165 CDRL2	GASTRAT
20	BADD466-3166 CDRL2	DASSRAT
21	BADD466-3167 CDRL2	DASN RAT
22	BADD197-1181 CDRL3	QQYGSSPLT
23	BADD392-2234 CDRL3	QQYGSSPIT
24	BADD456-2919 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGLVTVSS
25	BADD466-3162 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGLVTVSS
26	BADD466-3163 VH	EVQLVESGGGLVQPRGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGLVTVSS
27	AM-1-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKAGQSSWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGLVTVSS
28	AM-2-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRQNAWSWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGLVTVSS
29	AM-3-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFMSGQTSWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGLVTVSS

[0178]

서열번호	설명*	아미노산 서열
30	AM-4-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGAGQSSWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGGTLVTVSS
31	AM-5-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAQQASWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGGTLVTVSS
32	AM-6-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFARNASWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGGTLVTVSS
33	AM-7-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSQQASWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGGTLVTVSS
34	AM-8-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTTQQASWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGGTLVTVSS
35	AM-9-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGGQQASWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGGTLVTVSS
36	BADD197-1181 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QYGSPLTFGGGTKVEIK
37	BADD412-2513 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ YGSSPLTFGGGTKVEIK
38	BADD456-2928 VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNYLAWYQQKPKGKVPK LLIYAATLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ YGSSPLTFGGGTKVEIK
39	BADD466-3164 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ YGSSPLTFGGGTKV KIK
40	BADD466-3165 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ YGSSPLTFGGGTKVEIK
41	BADD466-3166 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ YGSSPLTFGGGTKVEIK
42	BADD466-3167 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ YGSSPLTFGGGTKVEIK
43	BADD466-3168 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ YGSSPLTFGGGTKVEIK

[0179]

서열번호	설명*	아미노산 서열
44	BADD466-3169 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCGASQSVSSSYLAWYQQKPG LAP RLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQ QYSSPLTFGGGTKVEIK
45	BADD466-3170 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQ YGSSPLTFGGGTKVEIK
46	BADD466-3171 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGIPASFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQ YGSSPLTFGGGTKVEIK
47	BADD466-3172 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPARFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQ YGSSPITFGGGTKVEIK
48	CDRH1 공통 서열 1	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ S, 여기서: X ₁ 은 R, S, A, G, K, M, 또는 T 이고; X ₂ 는 Q, S, A, G, R, 또는 T 이며; X ₃ 은 N, Y, G, 또는 Q 이고; X ₄ 는 A 또는 Q 이며; 그리고 X ₅ 는 W, M, A, S, 또는 T 이다
49	CDRH1 공통 서열 2	X ₁ X ₂ NAWS, 여기서: X ₁ 은 R 또는 A 이고; 그리고 X ₂ 는 Q 또는 R 이다
50	CDRH1 공통 서열 3	X ₁ X ₂ GQX ₃ S, 여기서: X ₁ 은 K, M, 또는 G 이고; X ₂ 는 A 또는 S 이며; 그리고 X ₃ 은 S 또는 T 이다
51	CDRH1 공통 서열 4	X ₁ X ₂ QQAS, 여기서: X ₁ 은 S, R, T, 또는 G 이고; 그리고 X ₂ 는 A, S, T, 또는 G 이다
52	CDRL1 공통 서열	X ₁ ASQSVX ₂ SSYLA, 여기서 X ₁ 은 R 또는 G 이고; 그리고 X ₂ 는 존재하지 않거나 또는 S 이다
53	CDRL2 공통 서열	X ₁ ASX ₂ RAT, 여기서: X ₁ 은 D 또는 G 이고; 그리고 X ₂ 는 N, S, 또는 T 이다
54	CDRL3 공통 서열	QQYGSSPX ₁ T, 여기서 X ₁ 은 L 또는 I 이다

[0180]

서열번호	설명*	아미노산 서열
55	VH 공통 서열	EVQLVESGGGLVQPX ₁ GSLRLSCAASGFTF X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ SWVRX ₇ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGGTL VTVSS, 여기서: X ₁ 은 G 또는 R 이고; X ₂ 는 R, S, A, G, K, M, 또는 T 이며; X ₃ 은 Q, S, A, G, R, 또는 T 이고; X ₄ 은 N, Y, G, 또는 Q 이며; X ₅ 는 A 또는 Q 이고; X ₆ 은 W, M, A, S, 또는 T 이며; 그리고 X ₇ 은 R 또는 Q 이다
56	VL 공통 서열	EIVLTQSPX ₁ TLSPGERATLSCX ₂ ASQSVX ₃ SSYLAWYQQKPGX ₄ APRLLIYX ₅ ASX ₆ RATGIPX ₇ X ₈ FSGSGSGTDFLTISX ₉ LEPEDF AVYYCQYGGSSPX ₁₀ TFGGGTKVX ₁₁ IK, 여기서: X ₁ 은 A 또는 G 이고; X ₂ 는 R 또는 G 이며; X ₃ 은 존재하지 않거나 또는 S 이고; X ₄ 는 Q 또는 L 이며; X ₅ 는 D 또는 G 이고; X ₆ 은 N, S, 또는 T 이며; X ₇ 은 A 또는 D 이고; X ₈ 은 S 또는 R 이며; X ₉ 는 R 또는 S 이고; X ₁₀ 은 L 또는 I 이며; 그리고 X ₁₁ 은 E 또는 K 이다.
57	pab2188 전장 IgG ₁ 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

[0181]

서열번호	설명*	아미노산 서열
58	pab2188 전장 IgG ₁ N297 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPVAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
59	pab2188 전장 IgG ₄ S228P 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPVAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVKRVEPKYGGP CPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG
60	AM-1 전장 IgG ₁ N297 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKAGQSSWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPVAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
61	AM-2 전장 IgG ₁ N297 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRQNAWSWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPVAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

[0182]

서열번호	설명*	아미노산 서열
62	AM-3 전장 IgG ₁ N297 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFMMSGQTSWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSPG
63	AM-4 전장 IgG ₁ N297 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGAGQSSWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSPG
64	AM-5 전장 IgG ₁ N297 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAQQASWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSPG
65	AM-6 전장 IgG ₁ N297 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFARNAWSWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSPG

[0183]

서열번호	설명*	아미노산 서열
66	AM-7 전장 IgG ₁ N297 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSQQASWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
67	AM-8 전장 IgG ₁ N297 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTTQQASWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
68	AM-9 전장 IgG ₁ N297 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGGQQASWVRRAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGGDYGGNYFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
69	BADD466-3171 전장 경쇄 서열	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGIPASFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQ YGSSPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSILT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0184]

서열번호	설명*	아미노산 서열
70	인간 IgG ₁ G1m3 알로타입(C-말단 라이 없음)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEAL HNHYTQKLSLSLSPG
71	인간 IgG ₁ G1m3 알로타입	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEAL HNHYTQKLSLSLSPGK
72	IgG ₁ N297A(C-말단 라이신 없음)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEAL HNHYTQKLSLSLSPG
73	IgG ₁ N297A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEAL HNHYTQKLSLSLSPGK
74	IgG ₄ S228P(C-말단 라이신 없음)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SR TPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVSCSVMHEALHNH YTQKLSLSLGLG

[0185]

서열번호	설명*	아미노산 서열
75	IgG ₄ S228P	ASTKGPSVFPLAPCSRSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISTRPEVTCVVVDVSDQEDPEVFQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNYTQKLSLSLGLK
76	인간 카파 경쇄 불변 영역 IGKC*01 Km3 알로타입	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
77	인간 카파 경쇄 불변 영역 IGKC*01 Km3 알로타입 (T109S 돌연변이 지님)	RSVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
84	IGHV3-23*04	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK
85	IGKV1-27*01	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNYLAWYQQKPKGKVPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDVATYYCQKYN SAP
86	IGKV3-11*01	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQRSNWP
87	IGKV3-20*01	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSSP
88	IGKV3D-20*01	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCGASQSVSSYLAWYQQKPLAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSSP

*중쇄 CDR 은 맥클렘 넘버링 체계에 따라서 정의되고 및 경쇄 CDR 은 카바트 넘버링 체계에 따라서 정의된다.

[0186]

표 2

예시적인 항-TIM-3 항체의 중쇄 CDR 아미노산 서열.

VH	CDRH1*	서열번호	CDRH2*	서열번호	CDRH3*	서열번호
BADD456-2919	SSYAMS	1	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
BADD466-3162	SSYAMS	1	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
BADD466-3163	SSYAMS	1	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-1	KAGQSS	4	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-2	RQNAWS	5	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-3	MSGQTS	6	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-4	GAGQSS	7	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-5	SAQQAS	8	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-6	ARNAWS	9	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-7	RSQQAS	10	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-8	TTQQAS	11	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-9	GGQQAS	12	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3

*맥클렘 넘버링 체계에 따라서 정의됨.

[0187]

표 3

예시적인 항-TIM-3 항체의 경쇄 CDR 아미노산 서열.

VL	CDRL1*	서열번호	CDRL2*	서열번호	CDRL3*	서열번호
BADD197-1181	RASQSVSSSYLA	13	GASSRAT	17	QQYGSSPLT	22
BADD412-2513	RASQSVSSSYLA	14	GASSRAT	17	QQYGSSPLT	22
BADD456-2928	RASQGISNYLA	15	AASTLQS	18	QQYGSSPLT	22
BADD466-3164	RASQSVSSSYLA	14	GASSRAT	17	QQYGSSPLT	22
BADD466-3165	RASQSVSSSYLA	14	GASTRAT	19	QQYGSSPLT	22
BADD466-3166	RASQSVSSSYLA	14	DASSRAT	20	QQYGSSPLT	22
BADD466-3167	RASQSVSSSYLA	14	DASNRAT	21	QQYGSSPLT	22
BADD466-3168	RASQSVSSSYLA	14	DASNRAT	21	QQYGSSPLT	22
BADD466-3169	GASQSVSSSYLA	16	DASSRAT	20	QQYGSSPLT	22
BADD466-3170	RASQSVSSSYLA	14	DASNRAT	21	QQYGSSPLT	22
BADD466-3171	RASQSVSSSYLA	14	DASNRAT	21	QQYGSSPLT	22
BADD466-3172	RASQSVSSSYLA	14	GASSRAT	17	QQYGSSPIT	23

*카바트 넘버링 체계에 따라서 정의됨.

[0188]

표 4

예시적인 항-TIM-3 항체.

항체	중쇄 가변 영역	서열번호	경쇄 가변 영역	서열번호
pab2085	BADD456-2919	24	BADD197-1181	36
pab2088	BADD456-2919	24	BADD456-2928	38
pab2173	BADD466-3163	26	BADD466-3167	42
pab2174	BADD456-2919	24	BADD466-3167	42
pab2175	BADD456-2919	24	BADD466-3171	46
pab2176	BADD456-2919	24	BADD466-3168	43
pab2177	BADD466-3163	26	BADD466-3168	43
pab2178	BADD466-3163	26	BADD466-3171	46
pab2179	BADD466-3163	26	BADD466-3166	41

[0189]

항체	중쇄 가변 영역	서열번호	경쇄 가변 영역	서열번호
pab2180	BADD456-2919	24	BADD466-3166	41
pab2181	BADD466-3162	25	BADD466-3164	39
pab2182	BADD456-2919	24	BADD466-3172	47
pab2183	BADD466-3162	25	BADD466-3165	40
pab2184	BADD466-3163	26	BADD466-3172	47
pab2185	BADD466-3162	25	BADD412-2513	37
pab2186	BADD466-3162	25	BADD466-3170	45
pab2187	BADD466-3162	25	BADD466-3169	44
pab2188	BADD466-3162	25	BADD466-3171	46
pab2189	BADD466-3162	25	BADD466-3167	42
pab2190	BADD466-3162	25	BADD466-3166	41
pab2191	BADD466-3162	25	BADD466-3168	43
pab2192	BADD466-3162	25	BADD466-3172	47
AM-1	AM-1-VH	27	BADD466-3171	46
AM-2	AM-2-VH	28	BADD466-3171	46
AM-3	AM-3-VH	29	BADD466-3171	46
AM-4	AM-4-VH	30	BADD466-3171	46
AM-5	AM-5-VH	31	BADD466-3171	46
AM-6	AM-6-VH	32	BADD466-3171	46
AM-7	AM-7-VH	33	BADD466-3171	46
AM-8	AM-8-VH	34	BADD466-3171	46
AM-9	AM-9-VH	35	BADD466-3171	46

[0190]

표 5

최근접 생식세포계열 유전자.

중쇄 또는 경쇄 가변 영역	최근접 생식세포계열 유전자	생식세포계열 유전자에 대한 서열번호:
BADD456-2919 VH	IGHV3-23*04	84
BADD466-3162 VH	IGHV3-23*04	84
BADD466-3163 VH	IGHV3-23*04	84
AM-1-VH	IGHV3-23*04	84
AM-2-VH	IGHV3-23*04	84
AM-3-VH	IGHV3-23*04	84
AM-4-VH	IGHV3-23*04	84
AM-5-VH	IGHV3-23*04	84
AM-6-VH	IGHV3-23*04	84
AM-7-VH	IGHV3-23*04	84
AM-8-VH	IGHV3-23*04	84
AM-9-VH	IGHV3-23*04	84
BADD197-1181 VL	IGKV3-20*01	87
BADD412-2513 VL	IGKV3-20*01	87
BADD456-2928 VL	IGKV1-27*01	85
BADD466-3164 VL	IGKV3-20*01	87
BADD466-3165 VL	IGKV3-20*01	87
BADD466-3166 VL	IGKV3-20*01	87
BADD466-3167 VL	IGKV3-11*01	86
BADD466-3168 VL	IGKV3-20*01	87
BADD466-3169 VL	IGKV3D-20*01	88
BADD466-3170 VL	IGKV3-11*01	86
BADD466-3171 VL	IGKV3-11*01	86
BADD466-3172 VL	IGKV3-20*01	87

[0191]

표 6

TIM-3 의 예시적인 서열.

서열 번호	설명*	아미노산 서열
78	인간 TIM-3 미성숙 단백질(Q8TDQ0-1)	MFSHLPFDCVLLLLLLLLLRSSEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAP GNLVPVCWKGACPVFECGNVLRDTERDVNYWTSRYWLNDFRKG GDVSLTIENVTLADSGIYCCR IQIPGIMNDEKFNLKLVIKPAKVT PAPTRQRDFTAAPRMLTTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLA NELRDSRLANDLRDSGATIRIGIYIGAGICAGLALALIFGALIFK WYSHSKEKIQNLSLISLANLPSSGLANAVAEGIRSEENIYTIEN VYEVEEPNEYCYVSSRQQPSQPLGCRFAMP
79	인간 TIM-3 성숙 단백질	SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWKGACPVFECGNV VRDTERDVNYWTSRYWLNDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCR IQIPGIMNDEKFNLKLVIKPAKVTPAPTRQRDFTAAPRMLTTRG HGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRI GIYIGAGICAGLALALIFGALIFKWYSHSKEKIQNLSLISLANLP PSGLANAVAEGIRSEENIYTIENNVYEVEEPNEYCYVSSRQQPS QPLGCRFAMP
101	인간 TIM-3 F40A	SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWKGACPVAECEGNV VRDTERDVNYWTSRYWLNDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCR IQIPGIMNDEKFNLKLVIKPAKVTPAPTRQRDFTAAPRMLTTRG HGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRI GIYIGAGICAGLALALIFGALIFKWYSHSKEKIQNLSLISLANLP PSGLANAVAEGIRSEENIYTIENNVYEVEEPNEYCYVSSRQQPS QPLGCRFAMP
102	인간 TIM-3 단편	SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWKGACPVFECGNV VRDTERDVNYWTSRYWLNDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCR IQIPGIMNDEKFNLKLVIKPAKVTPAPTRQRDFTAAPRMLTTRG HGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIR
93	TIM-3 에피토프	PVFECGN
94	TIM-3 에피토프	VCWKGACPVFECGNVVL
95	TIM-3 에피토프	RIQIPGIMND
96	TIM-3 에피토프	RIQIPGIMNDEKFNLKL
97	TIM-3 에피토프	EKFNLKL
98	TIM-3 에피토프	PAAPGNLVP
99	TIM-3 에피토프	GKGACPVFE
100	TIM-3 에피토프	DFTAAFP

[0192]

[0193]

소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 항체는 본 명세서에서 표 1에 제시된 VH 도메인의 CDR 중 1개, 2개, 또는 3개 전부를 포함하는 VH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 표 1에 제시된 VH 도메인 중 1개의 CDRH1을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 표 1에 제시된 VH 도메인 중 1개의 CDRH2를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 표 1에 제시된 VH 도메인 중 1개의 CDRH3을 포함한다.

[0194]

소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 항체는 본 명세서에서 표 1에 개시된 VL 도메인의 CDR 중 1개, 2개 또는 3개 전부를 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 표 1에 제시된 VL 도메인 중 1개의 CDRL1을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 표 1에 제시된 VL 도메인 중 1개의 CDRL2를 포함한다. 소정의 실시형태에

있어서, 항체는 표 1에 제시된 VL 도메인 중 1개의 CDRL3을 포함한다.

- [0195] 소정의 실시형태에 있어서, 항체의 CDR은 문헌[MacCallum RM *et al.*, (1996) J Mol Biol 262: 732-745]에 따라서 결정될 수 있으며, 이 문헌은 그의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. 또한, 예컨대, 문헌[Martin A. "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," in *Antibody Engineering*, Kontermann and **Dübel**, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001)] 참조, 이들 문헌은 그의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체의 중쇄 CDR은 맥캘럼에 따라서 결정되고 항체의 경쇄 CDR은 상이한 방법에 따라서 결정된다.
- [0196] 소정의 실시형태에 있어서, 항체의 CDR은 문헌[Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616(1977) 및 Kabat *et al.*, Sequences of protein of immunological interest (1991)]에 따라 결정될 수 있으며, 이들의 각각은 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체의 경쇄 CDR은 카바트에 따라서 결정되고, 항체의 중쇄 CDR은 맥캘럼(상기 참조)에 따라서 결정된다.
- [0197] 소정의 실시형태에 있어서, 항체의 CDR은 초티아 넘버링 체계(Chothia numbering scheme)에 따라서 결정되며, 이는 면역글로불린 구조 루프의 위치를 지칭한다(예컨대, 문헌[Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917; Al-Lazikani B *et al.*, (1997) J Mol Biol 273: 927-948; Chothia C *et al.*, (1992) J Mol Biol 227: 799-817; Tramontano A *et al.*, (1990) J Mol Biol 215(1): 175-82]; 및 미국 특허 제7,709,226호 참조, 이들은 모두 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용됨). 전형적으로, 카바트 넘버링 협약을 사용할 경우, 초티아 CDRH1 루프가 중쇄 아미노산 26 내지 32, 33 또는 34에 존재하고, 초티아 CDRH2 루프가 중쇄 아미노산 52 내지 56에 존재하며, 초티아 CDRH3 루프가 중쇄 아미노산 95 내지 102에 존재하는 한편, 초티아 CDRL1 루프는 경쇄 아미노산 24 내지 34에 존재하고, 초티아 CDRL2 루프는 경쇄 아미노산 50 내지 56에 존재하며, 초티아 CDRL3 루프는 경쇄 아미노산 89 내지 97에 존재한다. 카바트 넘버링 협약을 이용해서 넘버링된 경우 초티아 CDRH1 루프의 종료는 이 루프의 길이에 따라서 H32와 H34 사이에서 가변한다(이것은 카바트 넘버링 체계가 H35A 및 H35B에 삽입을 배치하기 때문인데; 35A도 35B도 존재하지 않을 경우, 루프는 32번에서 종료되고; 35A만 존재할 경우, 루프는 33번에서 종료되며; 35A 및 35B 둘 다 존재할 경우, 루프는 34번에서 종료된다).
- [0198] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 본 명세서에서 표 1에 개시된 VH의 초티아 VH CDR을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 본 명세서에서 표 1에 개시된 VL의 초티아 VL CDR을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 본 명세서에서 표 1에 개시된 항체의 초티아 VL CDR을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 항체는 1개 이상의 CDR을 포함하는데, 여기서 초티아 및 카바트 CDR은 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고 카바트 CDR 및 초티아 CDR의 조합을 포함하는 단리된 항체를 제공한다.
- [0199] 소정의 실시형태에 있어서, 항체의 CDR은 문헌[Lefranc M-P, (1999) The Immunologist 7: 132-136 및 Lefranc M-P *et al.*, (1999) Nucleic Acids Res 27: 209-212]에 기재된 바와 같은 IMGT 넘버링 체계에 따라서 결정될 수 있으며, 이들의 각각은 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. IMGT 넘버링 체계에 따르면, CDRH1은 26 내지 35번 위치에 있고, CDRH2는 51 내지 57번 위치에 있으며, CDRH3은 93 내지 102번 위치에 있고, CDRL1은 27 내지 32, CDRL2는 50 내지 52번 위치에 있으며, 그리고 CDRL3은 89 내지 97번 위치에 있다.
- [0200] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고, 예를 들어, 문헌[Lefranc M-P (1999)](상기 참조) 및 문헌[Lefranc M-P *et al.*, (1999)](상기 참조)에 기재된 바와 같은, IMGT 넘버링 체계에 의거 결정된 바와 같이, 본 명세서에서 표 1에 개시된 항체의 CDR을 포함하는 항체를 제공한다.
- [0201] 소정의 실시형태에 있어서, 항체의 CDR은 AbM 넘버링 체계에 따라서 결정될 수 있으며, 이는 AbM 초가변 영역을 참고하며, 이는 카바트 CDR과 초티아 구조 루프 사이의 절충안을 나타내며, 옥스포드 몰레큘러의 AbM 항체 모델링 소프트웨어(Oxford Molecular's AbM antibody modeling software)(옥스포드 몰레큘러 그룹사(Oxford Molecular Group, Inc.))에 의해 사용되며, 이는 그의 전체가 참고로 본 명세서에 인용된다. 특별한 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고 그리고 AbM 넘버링 체계에 의거 결정된 바와 같은 본 명세서에서의 표 1에 개시된 항체의 CDR을 포함하는 항체를 제공한다.

- [0202] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 여기서 항체는 서열번호 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 또는 35에 제시된 VH 도메인의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 영역 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열번호 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46 또는 47에 제시된 VL 도메인의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 각각의 CDR은 CDR의 맥켈럼 정의, 카바트 정의, 초티아 정의, 카바트 정의와 초티아 정의의 조합, MGT 넘버링 체계, 또는 AbM 정의에 따라서 정의된다.
- [0203] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 항체는,
- [0204] (a) CDRH1은 $X_1X_2X_3X_4X_5S$ (서열번호 48)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서
- [0205] X_1 은 R, S, A, G, K, M, 또는 T이고,
- [0206] X_2 는 Q, S, A, G, R, 또는 T이며,
- [0207] X_3 은 N, Y, G, 또는 Q이고,
- [0208] X_4 는 A 또는 Q이며, 그리고
- [0209] X_5 는 W, M, A, S 또는 T이고; 그리고/또는
- [0210] (b) CDRH2는 WWSAISGSGGSTY(서열번호 2)의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는
- [0211] (c) CDRH3은 AKGGDYGGNYFD(서열번호 3)의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는
- [0212] (d) CDRL1은 $X_1ASQSVX_2SSYLA$ (서열번호 52)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서
- [0213] X_1 은 R 또는 G이고, 그리고
- [0214] X_2 는 존재하지 않거나 또는 S이고; 그리고/또는
- [0215] (e) CDRL2는 X_1ASX_2RAT (서열번호 53)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서
- [0216] X_1 은 D 또는 G이고, 그리고
- [0217] X_2 는 N, S, 또는 T이며; 그리고/또는
- [0218] (f) CDRL3은 QQYGSSPX₁T(서열번호 54)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 X_1 은 L 또는 I이다.
- [0219] 소정의 실시형태에 있어서, CDRH1은 X_1X_2NAWS (서열번호 49)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서: X_1 은 R 또는 A 이고; 그리고 X_2 는 Q 또는 R이다. 소정의 실시형태에 있어서, CDRH1은 $X_1X_2GQX_3S$ (서열번호 50)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서: X_1 은 K, M 또는 G이고; X_2 는 A 또는 S이며; 그리고 X_3 은 S 또는 T이다. 소정의 실시형태에 있어서, CDRH1은 X_1X_2QQAS (서열번호 51)의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서: X_1 은 S, R, T 또는 G이고; 그리고 X_2 는 A, S, T, 또는 G이다. 소정의 실시형태에 있어서, CDRH1은 서열번호: 1 및 4 내지 12로 이루어진 균으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, CDRL1은 서열번호 13 내지 16으로 이루어진 균으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, CDRL1은 서열번호 17 내지 21로 이루어진 균으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, CDRL3은 서열번호 22 및 23으로 이루어진 균으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0220] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 항체는, 각각, 서열번호 1, 2 및 3; 4, 2 및 3; 5, 2 및 3; 6, 2 및 3; 7, 2 및 3; 8, 2 및 3; 9, 2 및 3; 10, 2 및 3; 11, 2 및 3; 또는 12, 2 및 3에 제시된 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 항체는, 각각, 서열번호 1, 2 및 3에 제시된 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-

3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는, 각각, 서열번호 5, 2 및 3에 제시된 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는, 각각, 서열번호 9, 2 및 3에 제시된 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함한다.

[0221] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는, 각각, 서열번호 13, 17, 및 22; 14, 17 및 22; 15, 18 및 22; 14, 19 및 22; 14, 20 및 22; 14, 21 및 22; 16, 20 및 22; 또는 14, 17 및 23에 제시된, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는, 각각, 서열번호 14, 21 및 22에 제시된 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0222] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 영역을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역은, 각각, 서열번호 1, 2, 3, 14, 21 및 22; 4, 2, 3, 14, 21 및 22; 5, 2, 3, 14, 21 및 22; 6, 2, 3, 14, 21 및 22; 7, 2, 3, 14, 21 및 22; 8, 2, 3, 14, 21 및 22; 9, 2, 3, 14, 21 및 22; 10, 2, 3, 14, 21 및 22; 11, 2, 3, 14, 21 및 22; 또는 12, 2, 3, 14, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역은 서열번호 1, 2, 3, 14, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역은 서열번호 5, 2, 3, 14, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역은 서열번호 9, 2, 3, 14, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0223] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 서열번호 55의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 서열번호 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 또는 35에 제시된 아미노산 서열에 대해서 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%(예컨대, 적어도 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 또는 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 26에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 27에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 28에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 30에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 31에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 32에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 33에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 34에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체의 중쇄 가변 영역의 N-말단 글루탐이트(E) 잔기는 피로글루탐이트(pE) 잔기로 대체된다.

[0224] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 서열번호 56의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하

는, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 서열번호 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 또는 47에 제시된 아미노산 서열에 대해서 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% (예컨대, 적어도 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46 또는 47에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 36에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 37에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 38에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 39에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 40에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 41에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 43에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 44에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 45에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 46에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 47에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 경쇄 가변 영역의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체된다.

[0225]

소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 55의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열번호 56의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 서열번호 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 또는 35에 제시된 아미노산 서열에 대해서 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% (예컨대, 적어도 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99%)동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열번호 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46 또는 47에 제시된 아미노산 서열에 대해서 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% (예컨대, 적어도 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 또는 35에 제시된 아미노산 서열을 가진 중쇄 가변 영역, 및 서열번호 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 또는 47에 제시된 아미노산 서열을 가진 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 24 및 36; 24 및 38; 26 및 42; 24 및 42; 24 및 46; 24 및 43; 26 및 43; 26 및 46; 26 및 41; 24 및 41; 25 및 39; 24 및 47; 25 및 40; 26 및 47; 25 및 37; 25 및 45; 25 및 44; 25 및 46; 25 및 42; 25 및 41; 25 및 43; 25 및 47; 27 및 46; 28 및 46; 29 및 46; 30 및 46; 31 및 46; 32 및 46; 33 및 46; 34 및 46; 또는 35 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 24 및 36에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 24 및 38에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 26 및 42에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 24 및 42에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 24 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 24 및 43에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 26 및 43에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 26 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 26 및 41에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 24 및 41에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 25 및 39에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열

번호 24 및 47에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 25 및 40에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 26 및 47에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 25 및 37에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 25 및 45에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 25 및 44에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 25 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 25 및 42에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 25 및 41에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 25 및 43에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 25 및 47에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 27 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 28 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 29 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 30 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 31 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 32 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 33 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 34 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, 각각, 서열번호 35 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체의 중쇄 가변 영역의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체되고/되거나 항체의 경쇄 가변 영역의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체된다.

[0226] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 인간 IGHV3-23 생식세포계열 서열(예컨대, IGHV3-23*04, 예컨대, 서열번호 84의 아미노산 서열을 지님)로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함하는, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 프레임워크 1, 프레임워크 2, 프레임워크 3, CDRH1, 및 CDRH2(예컨대, 이들 영역 중 2, 3, 4 또는 5개)로부터 선택된 1개 이상의 영역은 인간 IGHV3-23 생식세포계열 서열(예컨대, IGHV3-23*04, 예컨대, 서열번호 84의 아미노산 서열을 지님)으로부터 유래될 수 있다. 일 실시형태에 있어서, 프레임워크 1, 프레임워크 2, 프레임워크 3, CDRH1, 및 CDRH2는 모두 인간 IGHV3-23 생식세포계열 서열(IGHV3-23*04, 예컨대, 서열번호 84의 아미노산 서열을 지님)로부터 유래된다.

[0227] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, IGKV1-27(예컨대, IGKV1-27*01, 예컨대, 서열번호 85의 아미노산 서열을 지님), IGKV3-11(예컨대, IGKV3-11*01, 예컨대, 서열번호 86의 아미노산 서열을 지님), IGKV3-20(예컨대, IGKV3-20*01, 예컨대, 서열번호 87의 아미노산 서열을 지님), 및 IGKV3D-20(예컨대, IGKV3D-20*01, 예컨대, 서열번호 88의 아미노산 서열을 지님)으로 이루어진 군으로부터 선택된 인간 생식세포계열 서열로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 프레임워크 1, 프레임워크 2, 프레임워크 3, CDRL1, 및 CDRL2로부터 선택된 1개 이상의 영역(예컨대, 영역 중 2, 3, 4, 또는 5개)은 IGKV1-27(예컨대, IGKV1-27*01, 예컨대, 서열번호 85의 아미노산 서열을 지님), IGKV3-11(예컨대, IGKV3-11*01, 예컨대, 서열번호 86의 아미노산 서열을 지님), IGKV3-20(예컨대, IGKV3-20*01, 예컨대, 서열번호 87의 아미노산 서열을 지님), 및 IGKV3D-20(예컨대, IGKV3D-20*01, 예컨대, 서열번호 88의 아미노산 서열을 지님)로 이루어진 군으로부터 선택된 인간 생식세포계열 서열로부터 유래될 수 있다. 일 실시형태에 있어서, 프레임워크 1, 프레임워크 2, 프레임워크 3, CDRL1, 및 CDRL2는 모두 IGKV1-27(예컨대, IGKV1-27*01, 예컨대, 서열번호 85의 아미노산 서열을 지님), IGKV3-11(예컨대, IGKV3-11*01, 예컨대, 서열번호 86의 아미노산 서열을 지님), IGKV3-20(예컨대, IGKV3-20*01, 예컨대, 서열번호 87의 아미노산 서열을 지님), 및 IGKV3D-20(예컨대, IGKV3D-20*01, 예컨대, 서열번호 88의 아미노산 서열을 지님)로 이루어진 군으로부터 선택된 인간 생식세포계열 서열로부터 유래된다.

- [0228] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 인간 IGHV3-23 생식세포계열 서열(예컨대, IGHV3-23*04, 예컨대, 서열번호 84의 아미노산 서열을 지님)로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 IGKV1-27(예컨대, IGKV1-27*01, 예컨대, 서열번호 85의 아미노산 서열을 지님), IGKV3-11(예컨대, IGKV3-11*01, 예컨대, 서열번호 86의 아미노산 서열을 지님), IGKV3-20(예컨대, IGKV3-20*01, 예컨대, 서열번호 87의 아미노산 서열을 지님), 및 IGKV3D-20(예컨대, IGKV3D-20*01, 예컨대, 서열번호 88의 아미노산 서열을 지님)로 이루어진 군으로부터 선택된 인간 생식세포계열 서열로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다.
- [0229] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 각각, 서열번호 24 및 36; 24 및 38; 26 및 42; 24 및 42; 24 및 46; 24 및 43; 26 및 43; 26 및 46; 26 및 41; 24 및 41; 25 및 39; 24 및 47; 25 및 40; 26 및 47; 25 및 37; 25 및 45; 25 및 44; 25 및 46; 25 및 42; 25 및 41; 25 및 43; 25 및 47; 27 및 46; 28 및 46; 29 및 46; 30 및 46; 31 및 46; 32 및 46; 33 및 46; 34 및 46; 또는 35 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 대한 결합을 경쟁하는 단리된 항체를 제공한다.
- [0230] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은, 본 명세서에 기재된 항체, 예컨대, 각각, 서열번호 24 및 36; 24 및 38; 26 및 42; 24 및 42; 24 및 46; 24 및 43; 26 및 43; 26 및 46; 26 및 41; 24 및 41; 25 및 39; 24 및 47; 25 및 40; 26 및 47; 25 및 37; 25 및 45; 25 및 44; 25 및 46; 25 및 42; 25 및 41; 25 및 43; 25 및 47; 27 및 46; 28 및 46; 29 및 46; 30 및 46; 31 및 46; 32 및 46; 33 및 46; 34 및 46; 또는 35 및 46에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 동일한 또는 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3의 에피토프)의 중첩하는 에피토프에 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체의 에피토프는, 예컨대, NMR 분광법, 표면 플라즈몬 공명(BIAcore[®]), X-선 회절 결정법(X-ray diffraction crystallography) 연구, ELISA 검정, 질량분석법(예컨대, 액체 크로마토 그래피 전기 분무 질량 분석법)과 결합된 수소/중수소 교환, 어레이-기반 올리고-펩타이드 스캐닝 검정법, 및/또는 매핑(예컨대, 부위-지정 돌연변이 유발 매핑)에 의해 결정될 수 있다. X-선 결정법을 위해, 결정화는 당업계에서 공지된 임의의 방법을 사용하여 수행될 수 있다(예컨대, 문헌[Giegler R *et al.*, (1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) *Eur J Biochem* 189: 1-23; Chayen NE (1997) *Structure* 5: 1269-1274; McPherson A (1976) *J Biol Chem* 251: 6300-6303], 이들은 모두 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다). 항체:항원 결정(crystal)은 공지된 X-선 회절 기술을 사용하여 연구할 수 있고, X-PLOR(Yale University, 1992, distributed by Molecular Simulations, Inc.; 예컨대, 문헌[Meth Enzymol (1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff HW *et al.*; 미국 특허 출원 공개 제2004/0014194호], 및 BUSTER (Bricogne G (1993) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) *Meth Enzymol* 276A: 361-423, ed Carter CW; Roversi P *et al.*, (2000) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 56(Pt 10): 1316-1323] 참조, 이들은 모두 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용됨)와 같은 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 개선될 수 있다. 돌연변이유발 매핑 연구는 당업자에게 공지된 임의의 방법을 사용하여 수행될 수 있다. 예컨대, 알려진 스캐닝 돌연변이유발 기술을 비롯한 돌연변이유발 기술을 설명하기 위하여 문헌[Champe M *et al.*, (1995)(상기 참조) 및 Cunningham BC & Wells JA (1989)(상기 참조)] 참조. 특정 실시형태에 있어서, 항체의 에피토프는 알려진 스캐닝 돌연변이유발 기술을 이용해서 결정된다. 또한, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)의 동일 또는 중첩 에피토프에 결합하거나 인식되는 항체는, 예를 들어, 다른 항체의 표적 항원에의 결합을 차단하는 하나의 항체의 능력을 나타냄으로써, 면역검정, 즉, 경쟁적 결합 검정과 같은 통상의 기술을 이용해서 동정될 수 있다. 경쟁적 결합 검정은 또한 2개의 항체가 에피토프에 대한 유사한 결합 특이성을 갖는지의 여부를 결정하는데 사용될 수 있다. 경쟁적 결합은 시험 하의 면역글로불린이 공통 항원, 예컨대 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 대한 참조 항체의 특이적 결합을 저해하는 검정에서 결정될 수 있다. 많은 유형의 경쟁적 결합 검정이 예를 들어 공지되어 있다: 고상 직접 또는 간접 방사면역검정(RIA), 고상 직접 또는 간접 효소 면역검정(EIA), 샌드위치 경쟁 검정(문헌[Stahli C *et al.*, (1983) *Methods Enzymol* 9: 242-253] 참조; 고상 직접 바이오틴-아비딘 EIA(문헌[Kirkland TN *et al.*, (1986) *J Immunol* 137: 3614-9] 참조); 고상 직접 표지화 검정, 고상 직접 표지화 샌드위치 검정(문헌[Harlow E & Lane D, (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press); I-125 표지를 사용하는 고상 직접 표지 RIA(문헌[Morel GA *et al.*, (1988) *Mol Immunol* 25(1): 7-15] 참조); 고상 직접 바이오틴-아비딘 EIA (문헌[Cheung RC *et al.*, (1990) *Virology* 176: 546-52] 참조); 및 직접 표지화 RIA(문헌[Moldenhauer G *et al.*, (1990) *Scand J Immunol* 32: 77-82] 참조), 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용됨. 전형적으로, 이러한 검정은 고체 표면에 결합된 정제된 항원(예컨대, TIM-3, 예컨대, 인간 TIM-

3) 또는 이들 중 하나를 보유하는 세포, 미표지된 시험 면역글로불린 및 표지된 참조 면역글로불린의 사용을 수반한다. 경쟁적 저해는 시험 면역글로불린의 존재 하에 고체 표면 또는 세포에 결합된 표지의 양을 결정함으로써 측정될 수 있다. 통상, 시험 면역글로불린은 과잉으로 존재한다. 통상, 경쟁하는 항체가 과잉으로 존재할 경우, 이것은 공통 항원에 대한 참조 항체의 특이적 결합을 적어도 50 내지 55%, 55 내지 60%, 60 내지 65%, 65 내지 70%, 70 내지 75% 이상만큼 저해시킬 것이다. 경쟁 결합 검정은 표지된 항원 또는 표지된 항체 중 어느 하나를 사용해서 다수의 상이한 형식으로 구성될 수 있다. 이 검정의 통상의 버전에서, 항원은 96-웰 플레이트 상에 고정화된다. 항원에 대한 표지된 항체의 결합을 차단하는 미표지된 항체의 능력은 이어서 방사능 또는 효소 표지를 사용해서 측정된다. 추가의 상세에 대해서는, 예를 들어, 문헌[Wagener C *et al.*, (1983) *J Immunol* 130: 2308-2315; Wagener C *et al.*, (1984) *J Immunol Methods* 68: 269-274; Kuroki M *et al.*, (1990) *Cancer Res* 50: 4872-4879; Kuroki M *et al.*, (1992) *Immunol Invest* 21: 523-538; Kuroki M *et al.*, (1992) *Hybridoma* 11: 391-407 및 *Antibodies: A Laboratory Manual*, Ed Harlow E & Lane D editors (상기 참조), pp. 386-389]을 참조하며, 이들은 모두 이들의 전문가 참고로 본 명세서에 인용된다.

[0231] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다, 항체는 서열번호 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67 또는 68에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 61에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 62에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 63에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 65에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 66에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 67에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체는 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체의 중쇄의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체된다.

[0232] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다, 항체는 서열번호 69에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체의 경쇄의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체된다.

[0233] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다, 항체는 서열번호 57의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다, 항체는 서열번호 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다, 항체는 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다, 항체는 서열번호 60의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다, 항체는 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다, 항체는 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다, 항체는 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다, 항체는 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다, 항체는 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다, 항체는 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다, 항체는 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다, 항체는 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체의 중쇄의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체되고/되거나 항체의 경쇄의 N-말단 글루타메이트(E) 잔기는 피로글루타메이트(pE) 잔기로 대체된다.

[0234] 임의의 Ig 불변 영역이 본 명세서에서 개시된 항체에서 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, Ig 영역은 인간 IgG, IgE, IgM, IgD, IgA, 또는 IgY 면역글로불린 분자, 면역글로불린 분자의 임의의 클래스(예컨대, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, 및 IgA₂), 또는 임의의 서브클래스(예컨대, IgG_{2a} 및 IgG_{2b})이다.

[0235] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 70, 71, 72, 73, 74 또는 75의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 불변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 76 또는 77의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 불변 영역을 포함한다.

[0236] 소정의 실시형태에서, 하나, 둘 또는 그 이상의 돌연변이(예컨대, 아미노산 치환)가 본 명세서에 기재된 EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, 항체의 Fc 영역(예컨대, CH2 도메인(인간 IgG₁의 231 내지 340 잔기) 및/또는 CH3 도메인(인간 IgG₁의 341 내지 447 잔기)) 및/또는 힌지 영역에 삽입되어, 혈청 반감기(serum half-life), 보체 고정(complement fixation), Fc 수용체 결합(Fc receptor binding) 및/또는 항원-의존성 세포독성(antigen-dependent cellular cytotoxicity)과 같은 항체의 하나 이상의 기능적 특성을 변화시킨다.

[0237] 소정의 실시형태에서, 하나, 둘 또는 그 이상의 돌연변이(예컨대, 아미노산 치환)가, 그 전체가 본 명세서에 참고로 인용된 미국 특허 제5,677,425호에 기재된 바와 같이, 힌지 영역의 시스테인 잔기의 개수가 변화되는(예컨대, 증가되거나 또는 감소되는) 것처럼, Fc 영역(CH1 도메인)의 힌지 영역에 삽입된다. CH1 도메인의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수는, 예를 들어, 경쇄 및 중쇄의 조립을 용이하게 하거나 또는 항체의 안정성을 변화(예컨대, 증가 또는 감소)시키기 위하여, 변화될 수 있다.

[0238] 특정 실시형태에 있어서, 하나, 둘 또는 그 이상의 아미노산 돌연변이(예컨대, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인, 또는 그의 FcRn-결합 단편(바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편)에 도입되어, 생체 내에서 항체의 반감기를 변화(예컨대, 감소 또는 증가)시킨다. 생체 내에서 항체의 반감기를 변화(예컨대, 감소 또는 증가)시킬 돌연변이의 예로서, 예컨대, 국제 공개 번호 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631; 및 미국 특허 제5,869,046호, 제 6,121,022호, 제6,277,375호 및 제6,165,745호 참조하며, 이들 모두는 그들의 전문가 본 명세서에 참고로 인용된다. 몇몇 실시형태에 있어서, 하나, 둘 또는 그 이상의 아미노산 돌연변이(예컨대, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인, 또는 그의 FcRn-결합 단편(바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편)에 도입되어, 생체 내에서 항체의 반감기를 감소시킨다. 다른 실시형태에 있어서, 하나, 둘 또는 그 이상의 아미노산 돌연변이(예컨대, 치환, 삽입 또는 결실)가 IgG 불변 도메인, 또는 그의 FcRn-결합 단편(바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편)에 도입되어, 생체 내에서 항체의 반감기를 증가시킨다. 특정 실시형태에 있어서, 항체는 EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, 제2 불변(CH2) 도메인(인간 IgG₁의 231 내지 340 잔기) 및/또는 제3 불변(CH3) 도메인(인간 IgG₁의 341 내지 447 잔기)에 하나 또는 그 이상의 아미노산 돌연변이(예컨대, 치환)를 가질 수 있다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체의 IgG₁의 불변 영역은 EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, 252번 위치에서 메티오닌(M)의 타이로신(Y)으로의 치환, 254번 위치에서 세린(S)의 트레오닌(T)으로의 치환, 및 256번 위치에서 트레오닌(T)의 글루탐산(E)으로의 치환을 포함한다. 미국 특허 제7,658,921호를 참조하며, 이 문헌은 그의 전문가 참고로 본 명세서에 인용된다. "YTE 돌연변이체"라고 하는, 이러한 유형의 돌연변이 IgG는 동일한 항체의 야생형과 비교하여 4배 증가된 반감기를 보여주는 것으로 확인되었다(문헌 [Dall'Acqua WF *et al.*, (2006) J Biol Chem 281: 23514-24] 참조, 이 문헌은 그의 전문가 참고로 본 명세서에 인용된다). 소정의 실시형태에 있어서, 항체는, EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, 251 내지 257번, 285 내지 290번, 308 내지 314번, 385 내지 389번, 및 428 내지 436번 위치에서 아미노산 잔기의 하나, 둘, 셋 또는 그

이상의 아미노산 치환을 포함하는 IgG 불변 도메인을 포함한다.

[0239] 몇몇 실시형태에 있어서, 하나, 둘 또는 그 이상의 돌연변이(예컨대, 아미노산 치환)는 작용기 세포의 표면상의 Fc 수용체(예컨대, 활성화된 Fc 수용체)에 대한 항체의 친화도를 증가 또는 감소시키기 위하여, EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, 명세서에 기재된 Fc 영역(예컨대, CH2 도메인(인간 IgG₁의 231 내지 340 잔기) 및/또는 CH3 도메인(인간 IgG₁의 341 내지 447 잔기)) 및/또는 힌지 영역에 도입된다. Fc 수용체에 대한 항체의 친화도를 감소 또는 증가시키는 항체의 Fc 영역에서의 돌연변이 및 Fc 수용체 또는 그의 단편에 이러한 돌연변이를 도입하는 기술은 당업계에 공지되어 있다. Fc 수용체에 대한 항체의 친화도를 변화시키도록 제조될 수 있는 항체의 Fc 수용체에서의 돌연변이의 예는, 예컨대, 문헌[Smith P *et al.*, (2012) PNAS 109: 6181-6186], 미국 특허 제 6,737,056호, 및 공제 공개 번호 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631를 참조하며, 이들 모두는 그들의 전문가 본 명세서에 참고로 인용된다.

[0240] 추가의 실시형태에 있어서, 하나, 둘 또는 그 이상의 아미노산 치환이 항체의 효과기 기능(들)을 변화시키기 위해 IgG 불변 도메인 Fc 영역에 도입된다. 예를 들어, EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, 아미노산 잔기 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320 및 322로부터 선택된 하나 이상의 아미노산은 작용기 리간드에 대한 변형된 친화력을 가지나, 모(parent) 항체의 항원-결합능은 유지하는, 상이한 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 친화도가 변화될 수 있는 효과기 리간드는, 예를 들어, Fc 수용체 또는 보체의 C1 구성요소일 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 제5,624,821호 및 제5,648,260호에 보다 상세히 기재되어 있으며, 이들의 각각은 이들의 전문가 참고로 본 명세서에 인용된다. 몇몇 실시형태에 있어서, 불변 영역 도메인의 (점 돌연변이 또는 다른 수단을 통한) 결실 또는 불활성화는 순환되는 항체의 Fc 수용체 결합을 감소시켜서, 종양 국재화(tumor localization)를 증가시킬 수 있다. 예컨대, 불변 도메인을 결실 또는 불활성화시켜서, 종양 국재화를 증가시키는 돌연변이에 대한 설명을 위하여, 미국 특허 제5,585,097호 및 제8,591,886호를 참조하며, 이들의 각각은 이들의 전문가 참고로 본 명세서에 인용된다. 소정의 실시형태에 있어서, 하나 이상의 아미노산 치환이 본 명세서에 기재된 항체의 Fc 영역에 도입되어, Fc 수용체의 결합을 감소시킬 수 있는 Fc 영역 상의 잠재적인 글리코실화 부위를 제거할 수 있다(예컨대, 문헌[Shields RL *et al.*, (2001) J Biol Chem 276: 6591-604] 참조, 이 문헌은 그의 전문가 참고로 본 명세서에 인용된다). 각종 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체의 불변 영역에서 다음 돌연변이 중 하나 이상이 제작될 수 있다: EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, N297A 치환; N297Q 치환; L235A 치환 및 L237A 치환; L234A 치환 및 L235A 치환; E233P 치환; L234V 치환; L235A 치환; C236 deletion; P238A 치환; D265A 치환; A327Q 치환; 또는 P329A 치환. 소정의 실시형태에 있어서, EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, D265A, P329A 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 돌연변이는 본 명세서에 기재된 항체의 불변 영역에서 제조될 수 있다.

[0241] 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체는 EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, N297Q 또는 N297A 아미노산 치환을 갖는 IgG₁의 불변 도메인을 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체는 EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, D265A, P329A 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 돌연변이를 갖는 IgG₁의 불변 도메인을 포함한다. 다른 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체는 EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, L234A, L235A 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 돌연변이를 갖는 IgG₁의 불변 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, 인간 IgG₁ 중쇄의 L234, L235 및 D265 위치에 상응하는 위치의 본 명세서에 기재된 항체의 불변 영역 내의 아미노산 잔기는 각각 L, L 및 D가 아니다. 이러한 접근법은 그 전체가 본 명세서에 참고로 인용된 국제 공개 번호 WO 14/108483에 상세히 기재되어 있다. 특별한 실시형태에 있어서, EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, 인간 IgG₁ 중쇄의 L234, L235 및 D265 위치에 상응하는 아미노산은 각각 F, E 및 A; 또는 A, A 및 A이다.

[0242] 소정의 실시형태에 있어서, EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, 본 명세서에 기재된 항체의 불변 영역의 아미노산 잔기 329, 331 및 322로부터 선택된 하나 이상의 아미노산은, 항체가 변화된 C1q 결합을 갖거나 및/또는 보체 의존적 세포독성(complement dependent cytotoxicity: CDC)을 감소시키거나 또는 폐지시키도록, 다른 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 제6,194,551(Idsogie *et al.*)에 더 상세하게 기재되어 있으며, 이 문헌은 그의 전문가 참고로 본 명세서에 인용된다. 몇몇 실시형태에 있어서, EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, 본 명세서에 기재된 항체의 CH2 도메인의 N-말단 영역의 아미노산 231 내지 238번 내의 하나 이상의 아미노산 잔기는 변화되어, 보체를 고정하는 항체의 능력을 변화시킨다. 이러한 접근법은 국제 공개 번호 WO 94/29351에 추가로 기재되어 있으며, 이 문헌은 그의 전문가 참고로 본 명세서에 인용된다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체의 Fc 영역은 항체 의존적 세포독성(antibody dependent cellular

cytotoxicity: ADCC)을 매개하는 항체의 능력, 및/또는, 예를 들어, EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, 하기의 위치: 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 또는 439에서 하나 이상의 아미노산 돌연변이(예컨대, 아미노산 치환을 도입하는 것과 같은)에 의한 Fc γ 수용체에 대한 항체의 친화도를 증가시키는 항체의 능력을 증가시키도록 변화된다. 이러한 접근법은 국제 공개 번호 WO 00/42072에 추가로 기재되어 있으며, 이 문헌은 그의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다.

[0243] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체는 IgG₄ 항체의 불변 영역을 포함하고, EU 넘버링 체계에 따라 넘버링된, 중쇄의 228번 아미노산 잔기인 세린이 프롤린으로 치환된다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다.

[0244] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 임의의 불변 영역 돌연변이 또는 변형은 2개의 중쇄 불변 영역을 갖는 본 명세서에 기재된 항체의 중쇄 불변 영역 중 하나 또는 모두에 도입될 수 있다.

[0245] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고 길항제로서 기능하는 단리된 항체를 제공한다.

[0246] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고, 임의의 항체 부재 하 또는 비-관련 항체(예컨대, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 하의 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 활성도에 비하여, 본 명세서에 기재되고/되거나 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%만큼 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 활성도를 감소시키는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고, 임의의 항체 부재 하 또는 비-관련 항체(예컨대, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하지 않는 항체) 하의 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 활성도에 비하여, 본 명세서에 기재되고/되거나 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, 약 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 활성도를 감소시키는 단리된 항체를 제공한다. TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 활성도의 비-제한적인 예는 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 신호전달, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 리간드(예컨대, 포스파티딜세린)에 대한 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 결합, 및 사이토카인(예컨대, IFN- γ 및/또는 TNF- α) 생산의 저해를 포함할 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 활성도를 불활성화시키거나, 저감시키거나 또는 저해시키는 단리된 항체를 제공한다. 특정 실시형태에 있어서, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 활성도의 감소는 하기의 실시예에 기재된 바와 같이 평가된다.

[0247] 특정 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고, 임의의 항체 부재 하 또는 비-관련 항체(예컨대, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하지 않는 항체) 하의 그의 리간드에 대한 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 결합에 비하여, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%만큼 그의 리간드(예컨대, 포스파티딜세린)에 대한 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 결합을 저감시키는 단리된 항체를 제공한다. 특정 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고, 임의의 항체 부재 하 또는 비-관련 항체(예컨대, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하지 않는 항체) 하의 그의 리간드에 대한 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 결합에 비하여, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, 적어도 약 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 그의 리간드(예컨대, 포스파티딜세린)에 대한 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 결합을 저감시키는 단리된 항체를 제공한다.

[0248] 특정 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고, 임의의 항체 부재 하 또는 비-관련 항체(예컨대, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하지 않는 항체) 하의 사이토카인

생산에 비하여, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%만큼 사이토카인(예컨대, IFN- γ 및/또는 TNF- α) 생산을 증가시키는 단리된 항체를 제공한다. 특정 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고, 임의의 항체 부재 하 또는 비-관련 항체(예컨대, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하지 않는 항체) 하의 사이토카인 생산에 비하여, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, 적어도 약 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 사이토카인(예컨대, IFN- γ 및/또는 TNF- α) 생산을 증가시키는 단리된 항체를 제공한다.

[0249] 특정 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고, 임의의 항체 부재 하 또는 비-관련 항체(예컨대, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하지 않는 항체) 하의 IFN- γ 생산에 비하여, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, 단독으로 또는 항-PD-1 항체(예컨대, 펩브롤리주맙 또는 니블루맙)와 조합하여, 적어도 약 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 포도상구균 장내독소 A(SEA) 자극에 반응하여 인간 말초 혈액 단핵세포(PBMC)에서 IFN- γ 생산을 증가시키는 단리된 항체를 제공한다.

[0250] 소정의 실시형태에 있어서, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는, 본 명세서에 기재된 항체의 존재 하에 포도상구균 장내독소 A(SEA)로 자극된 인간 말초 혈액 단핵세포(PBMC)는, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, 임의의 항체 부재 하 또는 비관련 항체(예컨대, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하지 않는 항체) 하의 SEA만으로 자극된 PBMC에 비해서 적어도 약 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 증가된 IFN- γ 생산을 갖는다.

[0251] 특정 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하지 않는 항체의 부재 하의 IFN- γ 및/또는 TNF α 생산에 비해서, 단독으로 또는 항-PD-1 항체(예컨대, 펩브롤리주맙 또는 니블루맙)와 조합하여, 적어도 약 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체 자극에 반응하여 종양 침윤 림프구(TIL)에서의 IFN- γ 및/또는 TNF α 생산을 증가시키는 단리된 항체를 제공한다. 일 실시형태에 있어서, TIL은 비소세포 폐암(NSCLC) 종양으로부터 유래된다. 다른 실시형태에 있어서, TIL은 담낭 선암종 종양으로부터 유래된다. 다른 실시형태에 있어서, TIL은 유방암 종양으로부터 유래된다.

[0252] 소정의 실시형태에 있어서, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는, 본 명세서에 기재된 항체의 존재 하에 항-CD3 및 항-CD28 항체로 자극된 종양 침윤 림프구(TIL)는, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 항체 부재 하에 항-CD3 및 항-CD28 항체로만 자극된 TIL에 비해서, 적어도 약 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, have 증가된 IFN- γ 및/또는 TNF α 생산을 갖는다. 일 실시형태에 있어서, TIL은 비소세포 폐암(NSCLC) 종양으로부터 유래된다. 다른 실시형태에 있어서, TIL은 담낭 선암종 종양으로부터 유래된다. 다른 실시형태에 있어서, TIL은 유방암 종양으로부터 유래된다.

[0253] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하고 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되는 단리된 항체를 제공한다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체의 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%가, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3을 발현하는 세포(예컨대, 인간 TIM-3)에 결합 시 내재화된다. 소정의 실시형태에 있어서, 더 낮은 백분율의 인간 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포가 하기 단계들을 포함하는 검정에서 참조 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체의 존재에서보다 본 명세서에 기재된 항체의 존재에서 생존한다:

- [0254] (a) 조직 배양관에서 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포를 웰당 2×10^4 개 세포로 평균 배양하는 단계;
- [0255] (b) 동일 농도의 α HFc-NC-DM1 및 본 명세서에 기재된 항체 또는 참조 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체(예컨대, 1.5 ng/ml, 4.6 ng/ml, 13.7 ng/ml, 41.2 ng/ml, 123.5 ng/ml, 370 ng/ml, 1111 ng/ml, 또는 3333 ng/ml)를 100 μ l/웰의 최종 용적으로 첨가하는 단계;
- [0256] (c) 37°C 및 5% CO₂에서 72시간 동안 항온처리하는 단계;
- [0257] (d) TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포의 생존율을 측정하는 단계; 및
- [0258] (e) 미처리된 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 대한 세포 생존율의 백분율을 계산하는 단계.
- [0259] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체의 존재에서의 세포 생존 백분율은 참조 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체의 존재에서의 세포 생존 백분율보다 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 더 낮다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체의 존재에서의 세포 생존 백분율은 참조 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체의 존재에서의 세포 생존 백분율보다 적어도 약 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배, 또는 100배 더 낮다. 소정의 실시형태에 있어서, 참조 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 pab1944w(IgG₁ N297A)이다. 소정의 실시형태에 있어서, 참조 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 Hum11(IgG₄ S228P)이다. 소정의 실시형태에 있어서, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포는 카스미-3 세포이다. 소정의 실시형태에 있어서, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포는 카스미-3 세포(ATCC® CRL-2725™)이다. 소정의 실시형태에 있어서, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포는 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하도록 조작된 주르카트 세포이다.
- [0260] 소정의 실시형태에 있어서, 최대 50%의 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포가 하기 단계를 포함하는 검정에서 미처리 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 비해서 본 명세서에 기재된 항체의 존재에서 생존한다:
- [0261] (a) 조직 배양관에서 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포를 웰당 2×10^4 개 세포로 평균 배양하는 단계;
- [0262] (b) 동일 농도의 α HFc-NC-DM1 및 본 명세서에 기재된 항체(예컨대, 1.5 ng/ml, 4.6 ng/ml, 13.7 ng/ml, 41.2 ng/ml, 123.5 ng/ml, 370 ng/ml, 1111 ng/ml, 또는 3333 ng/ml)를 100 μ l/웰의 최종 용적으로 첨가하는 단계;
- [0263] (c) 37°C 및 5% CO₂에서 72시간 동안 항온처리하는 단계;
- [0264] (d) TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포의 생존율을 측정하는 단계; 및
- [0265] (e) 미처리된 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 대한 세포 생존율의 백분율을 계산하는 단계.
- [0266] 소정의 실시형태에 있어서, 최대 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 또는 50%의 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포가 미처리 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 비해서 본 명세서에 기재된 항체의 존재에서 생존한다. 소정의 실시형태에 있어서, α HFc-NC-DM1 및 본 명세서에 기재된 항체가 1111 ng/ml의 농도로 첨가되고, 최대 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 또는 50%의 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포가 미처리 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 비해서 본 명세서에 기재된 항체의 존재에서 생존한다. 소정의 실시형태에 있어서, α HFc-NC-DM1 및 본 명세서에 기재된 항체가 1111 ng/ml의 농도로 첨가되고, 최대 50%의 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포가 미처리 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 비해서 본 명세서에 기재된 항체의 존재에서 생존한다.
- [0267] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 항체가, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 항체는 X₁X₂X₃X₄X₅S(서열번호 48)의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1을 포함하며, 여기서

- [0268] X_1 은 R, S, A, G, K, M, 또는 T이고,
- [0269] X_2 는 Q, S, A, G, R, 또는 T이며,
- [0270] X_3 은 N, Y, G, 또는 Q이고,
- [0271] X_4 는 A 또는 Q이며, 그리고
- [0272] X_5 는 W, M, A, S, 또는 T이다.
- [0273] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 항체가, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 항체는 X_1X_2NAWS (서열번호 49)의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1을 포함하며, 여기서
- [0274] X_1 은 R 또는 A이고; 그리고
- [0275] X_2 는 Q 또는 R이다.
- [0276] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 항체가, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 항체는 $X_1X_2GQX_3S$ (서열번호 50)의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1을 포함하며, 여기서
- [0277] X_1 은 K, M, 또는 G이고;
- [0278] X_2 는 A 또는 S이며; 그리고
- [0279] X_3 은 S 또는 T이다.
- [0280] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 항체가, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 항체는 X_1X_2QQAS (서열번호 51)의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1을 포함하며, 여기서
- [0281] X_1 은 S, R, T, 또는 G이고; 그리고
- [0282] X_2 는 A, S, T, 또는 G이다.
- [0283] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 항체가, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 항체는 $WVSAISGSGGSTY$ (서열번호 2)의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH2을 포함한다.
- [0284] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 항체가, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 항체는 $AKGGDYGGNYFD$ (서열번호 3)의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH3을 포함한다.
- [0285] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%,

90%, 95%, 98% 또는 99%의 항체가, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 항체는 X₁ASQSVX₂SSYLA(서열번호 52)의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL1을 포함하며, 여기서

[0286]

X₁은 R 또는 G이고, 그리고

[0287]

X₂는 존재하지 않거나 또는 S이다.

[0288]

소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 항체가, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 항체는 X₁ASX₂RAT(서열번호 53)의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL2를 포함하며, 여기서

[0289]

X₁은 D 또는 G이고, 그리고

[0290]

X₂는 N, S, 또는 T이다.

[0291]

소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 항체가, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 항체는 QQYGSXPX₁T(서열번호 54)의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL3을 포함하며, 여기서

[0292]

X₁은 L 또는 I이다.

[0293]

소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 항체가, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 항체는, 각각, 서열번호 24 및 36; 24 및 38; 26 및 42; 24 및 42; 24 및 46; 24 및 43; 26 및 43; 26 및 46; 26 및 41; 24 및 41; 25 및 39; 24 및 47; 25 및 40; 26 및 47; 25 및 37; 25 및 45; 25 및 44; 25 및 46; 25 및 42; 25 및 41; 25 및 43; 25 및 47; 27 및 46; 28 및 46; 29 및 46; 30 및 46; 31 및 46; 32 및 46; 33 및 46; 34 및 46; 또는 35 및 46에 제시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 항체와 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 대한 결합을 교차-경쟁한다.

[0294]

소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 항체가, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 항체는, 본 명세서에 기재된 항체, 예컨대, 각각, 서열번호 24 및 36; 24 및 38; 26 및 42; 24 및 42; 24 및 46; 24 및 43; 26 및 43; 26 및 46; 26 및 41; 24 및 41; 25 및 39; 24 및 47; 25 및 40; 26 및 47; 25 및 37; 25 및 45; 25 및 44; 25 및 46; 25 및 42; 25 및 41; 25 및 43; 25 및 47; 27 및 46; 28 및 46; 29 및 46; 30 및 46; 31 및 46; 32 및 46; 33 및 46; 34 및 46; 또는 35 및 46에 제시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 항체와 동일 또는 중첩하는 TIM-3의 에피토프(인간 TIM-3의 에피토프)에 결합한다.

[0295]

소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 항체가, 본 명세서에 기재(하기의 실시예 참조)되거나 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 발현하는 세포에 결합 시 내재화되고, 항체는 야생형 인간 IgG 중쇄 불변 영역의 변이체인 인간 IgG 중쇄 불변 영역을 포함하고, 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG 중쇄 불변 영역이 인간 Fc 감마 수용체에 결합하는 것보다 더 낮은 친화도로 인간 Fc 감마 수용체에 결합한다. 소정의 실시형태에 있어서, 인간 Fc 감마 수용체는 FcγRI, FcγRII 및 FcγRIII로 이루어진 군으로부터 선택된다. 소정의 실시형태에 있어서, 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은, EU 넘버링 체계에 따라서

넘버링된 N297A 돌연변이를 포함하는 IgG₁ 불변 영역이다.

6.3 약제학적 조성물

[0296]

[0297] 본 명세서에서는 생리학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정화제(Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA) 중에 원하는 정도의 순도를 갖는 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체를 포함하는 조성물이 제공된다. 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정제는 사용된 용량 및 농도에서 수혜자에게 비독성이고, 인산염, 시트르산염, 및 기타 유기산과 같은 완충제; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제(옥타데실다이메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레졸시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸 등); 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩타이드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 고분자; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신과 같은 아미노산; 단당류, 이당류 및 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 포함하는 다른 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트제; 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 솔비톨과 같은 당류; 나트륨과 같은 염-형성 반대-이온; 금속 복합체(예컨대, Zn-단백질 복합체); 및/또는 TWEEN™, PLURONICS™ 또는 PEG(폴리에틸렌 글리콜)와 같은 비이온성 계면활성제를 포함한다.

[0298]

특정 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체 내에, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 및 선택적으로 1종 이상의 추가의 예방제 또는 치료제를 포함한다. 특정 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체 내에, 유효량의 본 명세서에 기재된 항체 및 선택적으로 1종 이상의 추가의 예방제 또는 치료제를 포함한다. 몇몇 실시형태에 있어서, 항체는 약제학적 조성물에 포함된 유일한 유효성분이다. 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 활성도를 저해시키고 암 또는 감염성 질환과 같은 병태를 치료하는데 유용할 수 있다. 일 실시형태에 있어서, 본 발명은 약제로서 사용하기 위한 본 발명의 항 TIM-3 항체를 포함하는 본 발명의 약제학적 조성물에 관한 것이다. 다른 바람직한 실시형태에 있어서, 본 발명은 암 또는 감염성 질환의 치료 방법에 사용하기 위한 본 발명의 약제학적 조성물에 관한 것이다. 다른 바람직한 실시형태에 있어서, 본 발명은 암 또는 감염성 질환을 치료하기 위한 약제의 제조를 위한 본 발명의 약제학적 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0299]

비경구 제제에 사용되는 약제학적으로 허용 가능한 담체는, 수용성 비히클, 비수용성 비히클, 항균제, 등장성 제제, 완충제, 항산화제, 국소 마취제, 현탁 및 분산제, 유화제, 격리제 또는 킬레이트제 및 기타 약제학적으로 허용 가능한 물질을 포함한다. 수용성 비히클의 예는 염화나트륨 주사, 링거 주사, 등장성 텍스트로스 주사, 멸균수 주사, 텍스트로스 및 락테이트 링거 주사를 포함한다. 비수용성 비경구 제제는 식물 유래의 고정유, 면실유, 옥수수 기름, 참기름 및 땅콩 기름을 포함한다. 정균성 또는 진균성 농도의 항균제는, 페놀 또는 크레졸, 수은, 벤질 알코올, 클로로부탄올, 메틸 및 프로필 p-하이드록시 벤조산 에스터, 티메로살, 벤즈알코늄 클로라이드 및 벤즈에토늄 클로라이드를 포함하는 다회 용량으로 포장된 비경구 제제에 첨가될 수 있다. 등장성 제제는 염화나트륨 및 텍스트로스를 포함한다. 완충제는 인산염과 시트르산염을 포함한다. 항산화제는 황산수소나트륨을 포함한다. 국소 마취제는 프로카인 염산염을 포함한다. 현탁제 및 분산제는 나트륨 카복시메틸셀룰로스, 히드록시프로필 메틸셀룰로스 및 폴리비닐피롤리돈을 포함한다. 유화제는 폴리소르베이트(Polysorbate) 80(TWEEN® 80)을 포함한다. 금속 이온의 격리제 또는 킬레이트제는 EDTA를 포함한다. 약제학적 담체는 수분 혼화성(water miscible) 비히클용 에틸 알코올, 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌 글리콜; 및 pH 조정용 수산화나트륨, 염산, 시트르산 또는 락트산을 포함한다.

[0300]

약제학적 조성물은 대상체에게 임의의 투여 경로용으로 제형화될 수 있다. 투여 경로의 특정 예는 비강내, 경구, 폐, 경피, 피부내 및 비경구를 포함한다. 피하, 근육내 또는 정맥내 주사를 특징으로 하는 비경구 투여 또한 본 명세서에서 상정된다. 주사제는, 액체 용액 또는 현탁액, 주사전 액체 중의 용액 또는 현탁액에 적합한 고체 형태로서, 또는 유화액으로서, 통상의 형태로 제조될 수 있다. 주사제, 용액 및 유화액 역시 1종 이상의 부형제를 포함한다. 적합한 부형제는, 예를 들어, 물, 식염수, 텍스트로스, 글리세롤 또는 에탄올이다. 추가로, 원한다면, 투여될 약제학적 조성물은 습윤제 또는 유화제, pH 완충제, 안정화제, 용해도 증강제와 같은 비독성 보조물질 및, 예를 들어, 아세트산나트륨, 솔비탄 모노라우레이트, 트라이에탄올아민 올레레이트 및 사이클로텍스트린과 같은 다른 성분을 소량 포함할 수 있다.

[0301]

항체의 비경구 투여용 제제는 주사준비된 멸균 용액, 동결 건조 분말과 같은 피하정제를 포함하는 사용 직전에 용매에 조합 준비된 멸균 건조 가용성 제제, 주사준비된 멸균 현탁액, 사용 직전에 비히클과 조합 준비된 멸균

건조 비수용성 제제 및 멸균 유화액을 포함한다. 용액은 수용성 또는 비수용성 중 어느 하나일 수 있다.

[0302] 정맥 내 투여되는 경우, 적합한 담체는 생리 식염수 또는 인산염 완충된 식염수(PBS), 및 글루코스, 폴리에틸렌 글리콜 및 폴리 프로필렌 글리콜 및 이들의 혼합물과 같은 증점제 및 가용화제를 포함하는 용액을 포함한다.

[0303] 항체를 포함하는 국소 혼합물은 국소 및 전신 투여용으로 기재된 바와 같이 제조된다. 생성된 혼합물은 용액, 현탁액, 유화액 등이 될 수 있고, 크림, 젤, 연고, 유화액, 용액, 엘릭서, 로션, 현탁액, 팅크, 페이스트, 거품, 에어로졸, 관류, 스프레이, 좌제, 붕대, 피부 패취 또는 국소 투여에 적합한 임의의 기타 제제로서 제형화될 수 있다.

[0304] 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 흡입과 같은 국소 적용을 위한 에어로졸로서 제형화될 수 있다(예컨대, 미국 특허 제4,044,126호, 제4,414,209호 및 제4,364,923호를 참조하고, 이들은 염증성 질환 특히 천식의 치료에 유용한 스테로이드의 전달을 위한 에어로졸을 기재하며, 이들은 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다). 호흡관으로 투여하기 위한 이들 제형은 분무기용 에어로졸 또는 용액의 형태이거나, 또는 단독으로 또는 락토스와 같은 불활성 담체와 조합하여 주입용 미세 분말의 형태가 될 수 있다. 이러한 경우, 제형의 입자는 일 실시예에서 50 마이크로론 미만, 일 실시예에서는 10 마이크로론 미만의 직경을 가질 것이다.

[0305] 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 젤, 크림 및 로션 형태의 눈과 같이 피부 및 점막으로의 국소 도포와 같은 국소 또는 국소 적용 및 안구내 적용 또는 대장내 또는 척추내 적용을 위해 제형화될 수 있다. 국소 투여는 경피 전달을 위하여, 그리고 또한 눈 또는 점막 투여를 위하여, 또는 흡입 요법을 위하여 상정된다. 또한, 항체의 단독 또는 다른 약제학적으로 허용 가능한 부형제와의 조합의 비강 용액이 투여될 수 있다.

[0306] 이온 삼투 요법 및 전기 영동 장치를 포함하는 경피 패취는 당업자에게 잘 알려져 있으며, 항체를 투여하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 이러한 패취는 미국 특허 제6,267,983호, 제6,261,595, 6,256,533호, 제6,167,301호, 제6,024,975호, 제6,010715호, 제5,985,317호, 제5,983,134호, 제5,948,433호 및 제5,860,957호에 개시되어 있으며, 이들 모두는 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 인용된다.

[0307] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체를 포함하는 약제학적 조성물은 동결건조 분말이고, 이는 용액, 유화액 및 다른 혼합물로서 투여하기 위해 재구성될 수 있다. 이것은 또한 고체 또는 젤로 재구성 및 제형화될 수 있다. 동결건조 분말은 적합한 용매에 본 명세서에 기재된 항체 또는 그의 약제학적으로 허용 가능한 유도체를 용해시켜서 제조된다. 몇몇 실시형태에 있어서, 동결건조 분말은 멸균되어 있다. 용매는 분말로부터 제조된 분말 또는 재생성된 용액의 안정성 또는 다른 약리학적 성분을 개선시키는 부형제를 포함할 수 있다. 사용될 수 있는 부형제는, 텍스트로스, 솔비톨, 프럭토스, 옥수수 시럽, 자일리톨, 글리세린, 글루코스, 수크로스 또는 다른 적합한 제제를 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다. 용매는 또한 중성 pH에서 시트르산염, 인산 나트륨 또는 인산칼륨과 같은 완충제 또는 당업자에게 공지된 다른 완충제를 포함할 수 있다. 당업자에게 공지된 표준조건 하에서, 동결 건조시킨 후 용액을 멸균 여과하여 목적하는 제형을 제공한다. 일 실시형태에 있어서, 생성된 용액은 동결건조용 바이알(vial)에 분배될 것이다. 각각의 바이알은 화합물의 단일 용량 또는 다회 용량을 함유할 것이다. 동결건조 분말은 약 4°C 내지 실온과 같은 적절한 조건하에 저장될 수 있다. 주사용수를 사용한 이러한 동결건조 분말의 재구성은 비경구 투여에 사용하기 위한 제형을 제공한다. 재구성을 위해, 동결건조 분말이 멸균수 또는 다른 적합한 담체에 첨가된다. 정확한 양은 선택된 화합물에 좌우된다. 이러한 양은 경험적으로 결정될 수 있다.

[0308] 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 및 본 명세서에서 제공되는 다른 조성물은 또한 치료하고자 하는 대상체의 신체의 특정 조직, 수용체 또는 다른 영역을 표적으로 하도록 제형화될 수 있다. 많은 그러한 표적화 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 모든 그러한 표적화 방법이 본 발명의 조성물에 사용하기 위해 본 명세서에서 상정된다. 표적화 방법의 비 제한적인 예에 대해서는, 예컨대, 미국 특허 제6,316,652호, 제6,274,552호, 제6,271,359호, 제6,253,872호, 제6,139,865호, 제6,131,570호, 제6,120,751호, 제6,071,495호, 제6,060,082호, 제6,048,736호, 제6,039,975호, 제6,004,534호, 제5,985,307호, 제5,972,366호, 제5,900,252호, 제5,840,674호, 제5,759,542호 및 제5,709,874호를 참조하며, 이들 모두는 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 인용된다. 특정 실시형태에 있어서, 명세서에 기재된 항체는 종양에 대해서 표적화되어 있다.

[0309] 생체내 투여에 사용되는 조성물은 멸균된 것일 수 있다. 이것은, 예를 들어, 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다.

[0310] **6.4 사용 방법 및 용도**

- [0311] 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체를 사용하여 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 기능의 저해로부터 이익을 얻을 수 있는 임의의 질환 또는 장애는 본 명세서에 개시된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체를 사용하여 치료될 수 있다. 본 명세서에서 개시된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 종양에 대한 면역계 내성을 억제하는데 특히 유용하며, 이에 따라 암을 가진 대상체에 대한 면역요법으로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 대상체의 항원에 반응하여 T 세포 활성화를 증가시키는 방법을 제공하는데, 해당 방법은 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 이의 약제학적 조성물을 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 대상체의 암을 치료하는 방법을 제공하는데, 해당 방법은 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 약제학적 조성물을 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 암 또는 감염성 질환을 치료하기 위한 방법에서 사용하기 위한 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 약제학적 조성물을 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 약제로서 사용하기 위한 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 약제학적 조성물을 제공한다. 다른 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 암 또는 감염성 질환을 치료하기 위한 약제를 제조하기 위한 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 약제학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0312] 본 명세서에 개시된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 약제학적 조성물로 치료될 수 있는 암은, 제한 없이, 고형 종양, 혈액학적 암(예컨대, 백혈병, 림프종, 골수종, 예컨대, 다발성 골수종), 및 전이성 병변을 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 암은 고형 종양이다. 고형 종양의 예는 악성 종양, 예컨대, 육종 및 암종, 예컨대, 각종 장기 계통의 선암종, 예컨대, 폐, 유방, 난소, 림프구, 위장(예컨대, 결장), 항문, 생식기 및 비뇨생식관(예컨대, 신장, 요로, 방광 세포, 전립선), 인두, CNS(예컨대, 뇌, 신경 또는 교질 세포), 두경부, 피부(예컨대, 흑색종), 및 체장에 영양을 미치는 것들뿐만 아니라, 결장암, 직장암, 신장-세포 암종, 간암, 폐암(예컨대, 비소세포 폐암 또는 소세포 폐암), 소장의 암 및 식도의 암과 같은 악성 종양을 포함하는 선암종을 포함한다. 암은 조기, 중기, 말기 또는 전이성 암일 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 암은 상승된 PD-1 활성화도(예컨대, 상승된 PD-1 발현)와 연관된다.
- [0313] 일 실시형태에 있어서, 암은 폐암(예컨대, 폐 선암종 또는 비소세포 폐암(NSCLC)(예컨대, 편평 및/또는 비-편평 조직학을 가진 NSCLC, 또는 NSCLC 선암종)), 흑색종(예컨대, 진행된 흑색종), 신장암(예컨대, 신장 세포 암종), 간암(예컨대, 간세포 암종), 골수종(예컨대, 다발성 골수종), 전립선암, 유방암(예컨대, 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체, 또는 Her2/neu 중 1, 2, 또는 전부를 발현하지 않는 유방암, 예컨대, 삼중 음성 유방암), 소암, 결장직장암, 췌장암, 두경부암(예컨대, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 항문암, 위-식도암(예컨대, 식도 편평 세포 암종), 중피종, 비인두암, 갑상선암, 자궁경부암, 상피암, 복막암, 또는 림프증식성 질환(예컨대, 이식후 림프증식성 질환)으로부터 선택된다. 일 실시형태에 있어서, 암은 NSCLC이다. 일 실시형태에 있어서, 암은 신장 세포 암종이다. 일 실시형태에 있어서, 암은 난소암이다. 특정 실시형태에 있어서, 난소암은 백금-난치성 난소암이다.
- [0314] 일 실시형태에 있어서, 암은 혈액학적 암, 예를 들어, 백혈병, 림프종, 또는 골수종이다. 일 실시형태에 있어서, 암은 백혈병, 예를 들어, 급성 림프모구 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(AML), 급성 골수모구 백혈병(AML), 만성 림프성 백혈병(CLL), 만성 골수구성 백혈병(CML), 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 골수단핵구 백혈병(CMML), 만성 림프성 백혈병(CLL), 또는 모발세포 백혈병. 일 실시형태에 있어서, 암은 림프종, 예를 들어, B 세포 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL), 활성화된 B-세포 유사(ABC) 미만성 거대 B 세포 림프종, 배중심 B 세포(GCB) 미만성 거대 B 세포 림프종, 외투세포 림프종, 호지킨 림프종, 비호지킨 림프종, 재발성 비호지킨 림프종, 난치성 비호지킨 림프종, 재발성 여포성 비호지킨 림프종, 버킷 림프종, 소형 림프성 림프종, 여포성 림프종, 림프형질세포성 림프종, 또는 외부결정성 가장자리 구역 림프종이다. 일 실시형태에 있어서 암은 골수종, 예를 들어, 다발성 골수종이다.
- [0315] 다른 실시형태에 있어서, 암은 암종(예컨대, 진행된 또는 전이성 암종), 흑색종 또는 폐 암종, 예컨대, 비소세포 폐 암종으로부터 선택된다.
- [0316] 일 실시형태에 있어서, 암은 폐암, 예컨대, 폐 선암종, 비소세포 폐암 또는 소세포 폐암이다.
- [0317] 일 실시형태에 있어서, 암은 흑색종, 예컨대, 진행된 흑색종이다. 일 실시형태에 있어서, 암은 기타 요법에 반응하지 않는 진행된 또는 절제 불가능 흑색종이다. 또 다른 실시형태에 있어서, 암은 BRAF 돌연변이(예컨대, BRAF V600 돌연변이)를 가진 흑색종이다. 더욱 다른 실시형태에 있어서, 본 명세서에 개시된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 약제학적 조성물은 BRAF 저해제(예컨대, 베무라페닙 또는 다브라페닙)의 존재 하 또는

부제 하에 항-CTLA-4 항체(예컨대, 이필리무맙)에 의한 치료 후에 투여된다.

- [0318] 다른 실시형태에 있어서, 암은, 바이러스 감염, 예컨대, 만성 바이러스성 간염을 가진 또는 없는, 간세포암종, 예컨대, 진행된 간세포암종이다.
- [0319] 다른 실시형태에 있어서, 암은 전립선암, 예컨대, 진행된 전립선암이다.
- [0320] 더욱 또 다른 실시형태에 있어서, 암은 골수종, 예컨대, 다발성 골수종이다.
- [0321] 더욱 또 다른 실시형태에 있어서, 암은 신장암, 예컨대, 신장 세포 암종(RCC)(예컨대, 전이성 RCC, 투명세포 신장 세포 암종(CCRCC) 또는 신장 유두상 세포 암종)이다.
- [0322] 더욱 또 다른 실시형태에 있어서, 암은 폐암, 흑색종, 신장암, 유방암, 결장직장암, 백혈병, 또는 암의 전이성 병변으로부터 선택된다.
- [0323] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 대상체에서 감염성 질환을 예방 또는 치료하는 방법을 제공하되, 해당 방법은 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 이의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 본 명세서에서는, 감염(예컨대, 바이러스 감염, 세균 감염, 진균 감염, 원충 감염 또는 기생충 감염)을 예방 및/또는 치료하는 방법이 제공된다. 상기 방법에 따라 예방 및/또는 치료된 감염은 본 명세서에서 확인된 감염 인자(infectious agent)에 의해 유발될 수 있다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 이의 조성물은 대상체에게 투여되는 유일한 활성제이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 이의 조성물은 감염성 질환의 치료를 위한 항-감염 개입제(예컨대, 항바이러스제, 항균제, 항진균제 또는 항기생충제)와 병용하여 사용된다. 따라서, 일 실시형태에 있어서, 본 발명은 감염성 질환을 예방 및/또는 치료하는 방법에서 사용하기 위한 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이고, 선택적으로 항체 또는 약제학적 조성물이 대상체에서 투여되는 유일한 활성제이거나, 또는 항체 또는 약제학적 조성물이 항-감염 개입제와 병용하여 사용된다.
- [0324] 본 명세서에 개시된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 약제학적 조성물에 의해 치료 및/또는 예방될 수 있는 감염성 질환은 세균, 기생충, 진균, 원생 동물 및 바이러스를 포함하는 감염 인자에 의해 유발되나, 이들로 제한되지 않는다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 개시된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 약제학적 조성물에 의해 치료 및/또는 예방되는 감염성 질환은 바이러스에 의해 유발된다. 본 명세서에 기재된 방법에 따라 예방 및/또는 치료될 수 있는 바이러스성 질환 또는 바이러스성 감염은, A형 간염, B형 간염, C형 간염, 인플루엔자(예컨대, A형 인플루엔자 또는 B형 인플루엔자), 수두(varicella), 아데노 바이러스, HSV-I(herpes simplex type I), HSV-II(herpes simplex type II), 우역(rinderpest), 라이노 바이러스, 에코 바이러스, 로타 바이러스, 호흡기 세포 융합 바이러스(respiratory syncytial virus), 유두종 바이러스(papilloma virus), 파포바 바이러스, 사이토 메갈로 바이러스, 에키노 바이러스(echinovirus), 아보 바이러스, 헌터 바이러스, 코크사키 바이러스, 유행성 이하선염 바이러스(mumps virus), 홍역 바이러스(measles virus), 풍진 바이러스(rubella virus), 소아마비 바이러스(polio virus), 천연두(small pox), 엡스타인 바 바이러스(Epstein Barr virus), 인간 면역결핍 바이러스 제I형(HIV-I), 인간 면역결핍 바이러스 제II형(HIV-II), 및 바이러스성 수막염(meningitis), 뇌염(encephalitis), 뎅기열(dengue) 또는 천연두와 같은 바이러스성 질환의 인자에 의해 유발된 것을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다.
- [0325] 예방 및/또는 치료될 수 있는 세균성 감염은 대장균, 폐렴간균(*Klebsiella pneumoniae*), 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*), 엔테로코커스 패칼리스(*Enterococcus faecalis*), 프로테우스 불가리스(*Proteus vulgaris*), 녹색연쇄상구균(*Staphylococcus viridans*), 및 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)에 의한 감염을 포함한다. 본 명세서에 기재된 방법에 따라 예방 및/또는 치료될 수 있는 세균(예를 들면, 대장균, 폐렴간균, 황색포도상구균, 엔테로코커스 패칼리스, 프로테우스 불가리스, 녹색연쇄상 구균 및 녹농균)에 의해 유발된 세균성 질환은 이에 제한되지 않으나, 마이코박테리아 리케치아(*Mycobacteria rickettsia*), 마이코플라즈마(*Mycoplasma*), 나이세리아(*Neisseria*), 폐렴 원인균(*S. pneumonia*), 보렐리아 부르그도르페리(라이밍 병)(*Borrelia burgdorferi*(Lyme disease)), 바실러스 안트라키스(탄저병)(*Bacillus anthracis*(anthrax)), 파상풍(tetanus), 연쇄상구균(*Streptococcus*), 포도상구균(*Staphylococcus*), 마이코박테리움(mycobacterium), 페르티수스(pertussis), 콜레라(cholera), 흑사병(plague), 디프테리아(diphtheria), 클라미디아(chlamydia), 황색포도상구균(*S. aureus*), 및 레지오넬라(*legionella*)를 포함한다.
- [0326] 본 명세서에 기재된 방법에 따라 예방 및/또는 치료될 수 있는 원생 동물에 의해 유발되는 원생 질환 또는 원충

감염은 리슈만(leishmania), 콕시듐증(coccidiosis), 트리파소노마(trypanosoma) 주름증 또는 말라리아를 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다. 본 명세서에 기재된 방법에 따라 예방 및/또는 치료될 수 있는 기생충에 의해 유발되는 기생충 질환 또는 기생충 감염은 클라미디아 및 리케치아를 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0327] 본 명세서에 기재된 방법에 따라 예방 및/또는 치료될 수 있는 진균성 질환 또는 진균 감염은 칸디다 감염(*Candida* infections), 접합자 유선염(zygomycosis), 칸디다 유방염(*Candida* mastitis), 잠복성 트리코스포론 혈증을 동반한 진행성 전파포진(progressive disseminated trichosporonosis with latent trichosporonemia), 파종성 칸디다증(disseminated candidiasis), 폐 파라코시디오이데스 진균증(pulmonary paracoccidioidomycosis), 폐 아스퍼질러스 증(pulmonary aspergillosis), 주폐 포자충 폐렴(*Pneumocystis carinii* pneumonia), 크립토 뇌막염(cryptococcal meningitis), 코시디오이달 수막뇌염 및 뇌척수액 혈관염(*coccidioidal* meningoencephalitis and cerebrospinal vasculitis), 아스퍼질러스 니제르 감염(*Aspergillus niger* infection), 푸사리움 각막염(*Fusarium keratitis*), 부비동 진균증(paranasal sinus mycoses), 아스퍼질러스 푸미가투스 심내막염(*Aspergillus fumigatus* endocarditis), 경골 연골이형성(tibial dyschondroplasia), 칸디다 글라브라 질염(*Candida glabrata* vaginitis), 구강인두 칸디다증(oropharyngeal candidiasis), X 연관 만성 육아 종성 질환(X-linked chronic granulomatous disease), 무좀(tinea pedis), 피부 칸디다증(cutaneous candidiasis), 진균성 태반염(mycotic placentitis), 전파된 트리코스포라눔시스(disseminated trichosporonosis), 알레르기성 기관지 폐 아스퍼질러스증(allergic bronchopulmonary aspergillosis), 진균 각막염(mycotic keratitis), 크립토크커스 네오포르만스 감염(*Cryptococcus neoformans* infection), 곰팡이성 복막염(fungal peritonitis), 커볼라리아 제니쿨라타 감염(*Curvularia geniculata* infection), 포도상구균 안내염(staphylococcal endophthalmitis), 포자증(sporotrichosis) 및 진피증(dermatophytosis)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0328] 소정의 실시형태에 있어서, 이들 방법은 대상체에게 추가의 치료제를 투여하는 단계를 더 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 화학요법제, 방사능 치료제, 또는 관문 표적제이다. 소정의 실시형태에 있어서, 화학요법제는 저메틸화제(예컨대, 아자시티딘)이다. 소정의 실시형태에 있어서, 관문 표적제는 길항제 항-CTLA-4 항체, 길항제 항-PD-L1 항체, 길항제 항-PD-L2 항체, 길항제 항-PD-1 항체, 길항제 항-TIM-3 항체, 길항제 항-LAG-3 항체, 길항제 항-CEACAM1 항체, 작용제 항-CD137 항체, 길항제 항-TIGIT 항체, 길항제 항-VISTA 항체, 작용제 항-GITR 항체, 및 작용제 항-OX40 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0329] 일 실시형태에 있어서, 본 발명은 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이며, 여기서 방법은 대상체에게 추가의 치료제를 투여하는 단계를 더 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 본 발명은 (a) 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물 및 (b) 약제로서 사용하기 위한 추가의 치료제에 관한 것이다. 일 실시형태에 있어서, 본 발명은 (a) 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물, 및 (b) 암을 치료하는 방법에서 사용하기 위한 추가의 치료제에 관한 것이다. 추가의 실시형태에 있어서, 본 발명은 (a) 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물 및 (b) 추가의 치료제를 포함하는 약제학적 조성물, 키트 또는 부품 키트에 관한 것이다. 일 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 화학요법제, 방사능 치료제, 또는 관문 표적제이다.

[0330] 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-1 항체는 본 명세서에 개시된 방법에서 사용된다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-1 항체는 브리스톨-마이어스 스쿼브사(Bristol-Myers Squibb)에 의해 개발된BMS-936558 또는 MDX1106으로서도 알려진 니볼루맙이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-1 항체는 머크사(Merck & Co.)에 의해 개발된 람브롤리주맙 또는 MK-3475로도 알려진 페브롤리주맙이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-1 항체는 큐어 테크사(CureTech.)에 의해 개발된 CT-011로도 알려진 피딜리주맙이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-1 항체는 메디문사(Medimmune)에 의해 개발된 AMP-514로도 알려진 MEDI0680이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-1 항체는 노바티스 파마슈티컬즈사(Novartis Pharmaceuticals)에 의해 개발된 PDR001이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-1 항체는 레제네론 파마슈티컬즈사(Regeneron Pharmaceuticals)에 의해 개발된 REGN2810이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-1 항체는 화이자사(Pfizer)에 의해 개발된 PF-06801591이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-1 항체는 베이제네사(BeiGene)에 의해 개발된 BGB-A317이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-1 항체는 아냅티스바이오 앤드 테사로사(AnaptysBio and Tesaro)에 의해 개발된 TSR-042이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-1 항체는 헨그루이사(Hengrui)에 의해 개발된 SHR-1210이다.

[0331] 본 명세서에 개시된 치료 방법에서 사용될 수 있는 항-PD-1 항체의 추가의 비제한적인 예는 이하의 특허 및 특허 출원에 개시되어 있으며, 이들 모두는 모든 목적을 위하여 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다: 미국 특허 제6,808,710호; 미국 특허 제7,332,582호; 미국 특허 제7,488,802호; 미국 특허 제8,008,449호; 미국

특허 제8,114,845호; 미국 특허 제8,168,757호; 미국 특허 제8,354,509호; 미국 특허 제8,686,119호; 미국 특허 제8,735,553호; 미국 특허 제8,747,847호; 미국 특허 제8,779,105호; 미국 특허 제8,927,697호; 미국 특허 제8,993,731호; 미국 특허 제9,102,727호; 미국 특허 제9,205,148호; 미국 특허 공개 제US 2013/0202623 A1호; 미국 특허 공개 제US 2013/0291136 A1호; 미국 특허 공개 제US 2014/0044738 A1호; 미국 특허 공개 제US 2014/0356363 A1호; 미국 특허 공개 제US 2016/0075783 A1호; 및 PCT 공개 번호 WO 2013/033091 A1; PCT 공개 번호 WO 2015/036394 A1; PCT 공개 번호 WO 2014/179664 A2; PCT 공개 번호 WO 2014/209804 A1; PCT 공개 번호 WO 2014/206107 A1; PCT 공개 번호 WO 2015/058573 A1; PCT 공개 번호 WO 2015/085847 A1; PCT 공개 번호 WO 2015/200119 A1; PCT 공개 번호 WO 2016/015685 A1; 및 PCT 공개 번호 WO 2016/020856 A1.

[0332] 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-L1 항체는 본 명세서에 개시된 방법에서 사용된다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-L1 항체는 제넨테크사(Genentech)에 의해 개발된 아테졸리주맙이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-L1 항체는 아스트라제네카사(AstraZeneca), 셀젠사(Celgene) 및 메디문사에 의해 개발된 두르블루맙이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-L1 항체는 머크 세로노사(Merck Serono) 및 화이자사에 의해 개발된 MSB0010718C로도 알려진 아벨루맙이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-L1 항체는 브리스톨-마이어스 스쿼브사에 의해 개발된 MDX-1105이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항-PD-L1 항체는 앰플림문사(Amplimmune) 및 GSK에 의해 개발된 AMP-224이다.

[0333] 본 명세서에 개시된 치료 방법에서 사용될 수 있는 항-PD-L1 항체의 비제한적인 예는 이하의 특허 및 특허 출원에 개시되어 있으며, 이들 모두는 모든 목적을 위하여 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다: 미국 특허 제7,943,743호; 미국 특허 제8,168,179호; 미국 특허 제8,217,149호; 미국 특허 제8,552,154호; 미국 특허 제8,779,108호; 미국 특허 제8,981,063호; 미국 특허 제9,175,082호; 미국 특허 공개 제US 2010/0203056 A1호; 미국 특허 공개 제US 2003/0232323 A1호; 미국 특허 공개 제US 2013/0323249 A1호; 미국 특허 공개 제US 2014/0341917 A1호; 미국 특허 공개 제US 2014/0044738 A1호; 미국 특허 공개 제US 2015/0203580 A1호; 미국 특허 공개 제US 2015/0225483 A1호; 미국 특허 공개 제US 2015/0346208 A1호; 미국 특허 공개 제US 2015/0355184 A1호; 및 PCT 공개 번호 WO 2014/100079 A1; PCT 공개 번호 WO 2014/022758 A1; PCT 공개 번호 WO 2014/055897 A2; PCT 공개 번호 WO 2015/061668 A1; PCT 공개 번호 WO 2015/109124 A1; PCT 공개 번호 WO 2015/195163 A1; PCT 공개 번호 WO 2016/000619 A1; 및 PCT 공개 번호 WO 2016/030350 A1.

[0334] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 개시된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 IDO (인돌아민-(2,3)-다이옥시게나제) 및/또는 TDO(트립토판 2,3-다이옥시게나제)와 같은 면역조절 효소(들)를 표적으로 하는 화합물과 병용하여 대상체에게 투여된다. 따라서, 일 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 인돌아민-(2,3)-다이옥시게나제(IDO)의 저해제와 같은 면역조절 효소(들)를 표적으로 하는 화합물이다. 소정의 실시형태에 있어서, 이러한 화합물은 에파카도스타트(epacadostat)(인사이트 코포레이션(Incyte Corp); 예컨대, WO 2010/005958를 참조하며, 이 문헌은 그의 전문이 참고로 본 명세서에 인용됨), F001287(플렉서스 바이오사이언시즈사(Flexus Biosciences)/브리스톨-마이어스 스쿼브사), 인독시모드(뉴링크 제네틱스사(NewLink Genetics)), 및 NLG919(뉴링크 제네틱스사)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일 실시형태에 있어서, 화합물은 에파카도스타트이다. 다른 실시형태에 있어서, 화합물은 F001287이다. 다른 실시형태에 있어서, 화합물은 인독시모드이다. 다른 실시형태에 있어서, 화합물은 NLG919이다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 개시된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 암을 치료하기 위한 IDO 저해제와 병용하여 대상체에게 투여된다. 암을 치료하는데 사용하기 위하여 본 명세서에 기재된 바와 같은 IDO 저해제는 정제, 알약 또는 캡슐과 같은 고형 투약 형태로 존재하며, 약제학적 조성물은 IDO 저해제 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함한다. 이와 같이, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체 및 본 명세서에 기재된 바와 같은 IDO 저해제는 개별의 투약 형태로서 개별적으로, 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있다. 일 실시형태에 있어서, 항체는 비경구 투여되고, IDO 저해제는 경구 투여된다. 특별한 실시형태에 있어서, 저해제는 에파카도스타트(인사이트 코포레이션), F001287(플렉서스 바이오사이언시즈사/브리스톨-마이어스 스쿼브), 인독시모드(뉴링크 제네틱스사), 및 NLG919(뉴링크 제네틱스사)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 에파카도스타트는 PCT 공개 번호 WO 2010/005958에 기재되어 있으며, 이 문헌은 그의 전문이 모든 목적을 참고로 본 명세서에 인용된다. 일 실시형태에 있어서, 저해제는 에파카도스타트이다. 다른 실시형태에 있어서, 저해제는 F001287이다. 다른 실시형태에 있어서, 저해제는 인독시모드이다. 다른 실시형태에 있어서, 저해제는 NLG919이다.

[0335] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 개시된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 백신과 병용하여 대상체에게 투여된다. 백신은, 예컨대, 랩타이드 백신, DN백신, 또는 RN백신일 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 백신은 열 충격 단백질 기반 종양 백신 또는 열 충격 단백질 기반 병원체 백신이다. 소정의 실시형태에 있어서,

본 명세서에서 개시된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는, 전문이 본 명세서에 참고로 인용된 WO 2016/183486에 기재된 바와 같은 백신(예컨대, 대상체로부터의 암에 존재하는 암-특이적 돌연변이를 포함하는 적어도 1종의 합성 펩타이드를 포함하는 백신)과 병용하여 대상체에게 투여된다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 개시된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 열 충격 단백질 기반 종양-백신과 병용하여 대상체에게 투여된다. 열 충격 단백질(HSP)은 모든 종에 편재하는 고도로 보존된 단백질 패밀리아이다. 그들의 발현은 열 충격, 또는 독소에 노출, 산화 스트레스 또는 포도당 결핍을 포함하는 다른 형태의 스트레스의 결과로서, 훨씬 더 높은 수준으로 강력하게 유도될 수 있다. 5가지 분류군이 분자량에 따라 분류되었다: HSP-110, -90, -70, -60 및 -28. HSP는 T 세포 활성화를 인도하여, 대식세포 및 수지상 세포(DC)와 같은 항원 제시 세포(APC)의 교차 제시 경로를 통해 면역 원성 펩타이드를 전달한다. HSP는 종양-특이적 면역을 유도할 수 있는 복합체를 형성하는 종양-관련 항원성 펩타이드의 샤페론 담체(chaperone carrier)로서 역할을 수행한다. HSP-항원 복합체는, 죽어가는 종양 세포에서 방출되면, 항원 제시 세포(APCs)에 의해 흡수되고, 항원은 항-종양 CD8+ 및 CD4+ T 세포의 활성화를 인도하는 MHC 클래스 I 및 클래스 II 분자에 결합하는 펩타이드로 가공된다. 종양 세포로부터 유래된 HSP 복합체에 의해 유도된 면역은 특이적으로 각 개체의 암에 의해 발현되는 독특한 항원성 펩타이드 레퍼토리에 대한 것이다. 따라서, 일 실시형태에 있어서, 본 발명은, 약제로서 사용하기 위한, 예를 들어 암을 치료하기 위한 방법에서 사용하기 위한, (a) 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물 및 (b) 백신에 관한 것이다. 일 실시형태에 있어서, 본 발명은 (a) 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물 및 (b) 백신을 포함하는 약제학적 조성물, 키트 또는 부품 키트에 관한 것이다. 일 실시형태에 있어서, 백신은 열 충격 단백질 기반 종양 백신이다. 일 실시형태에 있어서, 백신은 열 충격 단백질 기반 병원체 백신이다.

[0336] 열 충격 단백질 펩타이드 복합체(HSPPC)는 항원성 펩타이드로 비-공유 복합체화된 열충격 단백질로 이루어진 단백질 펩타이드 복합체이다. HSPPC는 태생적 면역 반응과 적응성 면역 반응 둘 다를 유도한다. 특정 실시형태에 있어서, 항원성 펩타이드(들)는 치료 중인 암에 대해서 항원성을 나타낸다. HSPPC는 막 수용체(주로 CD91)를 통한 APC 또는 톨(Toll)-유사 수용체에 대한 결합에 의해 효과적으로 결합된다. HSPPC 내재화는 자연 살해 세포(NK), 단핵구 및 Th1 및 Th-2-매개성 면역 반응의 활성화를 인도하는 케모카인 및 사이토카인 생산과 함께 APC의 기능적 성숙을 초래한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 방법에서 사용되는 HSPPC는 항원성 펩타이드와 복합체화된 스트레스 단백질의 hsp60, hsp70 또는 hsp90 패밀리로 부터의 하나 이상의 열충격 단백질을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, HSPPC는 hsc70, hsp70, hsp90, hsp110, grp170, gp96, 칼레티큘린(calreticulin) 또는 이들의 둘 이상의 조합을 포함한다.

[0337] 특정 실시형태에 있어서, 열 충격 단백질 펩타이드 복합체(HSPPC)는 재조합 항원성 펩타이드와 복합체를 이루는 재조합 열충격 단백질(예컨대, hsp70 또는 hsc70) 또는 이의 펩타이드 결합 도메인을 포함한다. 재조합 열 충격 단백질은, 예를 들어, 문헌[Dworniczak and Mirault, Nucleic Acids Res. 15:5181-5197 (1987)] 및 젠뱅크(GenBank) 수탁번호 P11142 및/또는 Y00371에 기재된 간 hsc70 서열을 사용하여, 재조합 DNA 기술에 의해 제조될 수 있으며, 이들의 각각은 그 전체가 본 명세서에 참고로 인용된다. 소정의 실시형태에 있어서, Hsp70 서열은 문헌[Hunt and Morimoto Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82 (19), 6455-6459 (1985)] 및 젠뱅크 수탁번호 PODMV8 및/또는 M11717에 기재된 바와 같으며, 이들의 각각은 그 전체가 본 명세서에 참고로 인용된다. 항원성 펩타이드는 또한 당업계에 공지된 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0338] 소정의 실시형태에 있어서, 항원성 펩타이드는 변형된 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 아미노산은 번역후 변형을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 아미노산은 번역후 변형의 모방체를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 아미노산은 결사슬 하이드록실 또는 아민 상에서 인산화된 Tyr, Ser, Thr, Arg, Lys 또는 His이다. 소정의 실시형태에 있어서, 변형된 아미노산은 결사슬 하이드록실 또는 아민 상에서 인산화된 Tyr, Ser, Thr, Arg, Lys 또는 His 아미노산의 모방체이다.

[0339] 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 개시된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는, 암을 치료하기 위하여, 열 충격 단백질 펩타이드 복합체(HSPPC), 예컨대, 열 충격 단백질 펩타이드 복합체-96(HSPPC-96)과 병용하여 대상체에게 투여된다. HSPPC-96은 항원성 펩타이드와 복합체화된 96 kDa 열 충격 단백질(Hsp), gp96을 포함한다. HSPPC-96은 대상체의 종양으로부터 제작된 암 면역 요법이고, 암의 항원성 "지문"을 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 이 지문은 특정 대상체의 특정 암세포에만 존재하는 독특한 항원을 함유하고, 백신의 주사는 대상체의 면역계가 특정 암 지문을 가진 모든 세포를 인식하고 공격하도록 자극하기 위한 것이다. 따라서, 일 실시형태에 있어서, 본 발명은 약제로서 사용하기 위한 그리고/또는 암을 치료하기 위한 방법에서 사용하기 위한, 열 충격 단백질 펩타이드 복합체(HSPPC)와 병용한 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0340] 소정의 실시형태에 있어서, HSPPC, 예컨대, HSPPC-96은 대상체의 종양 조직으로부터 생산된다. 특정 실시형태에

있어서, HSPPC(예컨대, HSPPC-96)는 치료 중인 암 또는 이의 전이 형태의 종양으로부터 생산된다. 다른 특정 실시형태에 있어서, HSPPC(예컨대, HSPPC-96)는 치료 중인 대상체에 대한 자가유래이다. 소정의 실시형태에 있어서, 종양 조직은 비-괴사성 종양 조직이다. 소정의 실시형태에 있어서, 적어도 1 그램(예컨대, 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 또는 적어도 10 그램)의 비-괴사성 종양 조직이 백신 요법을 생산하는데 사용된다. 소정의 실시형태에 있어서, 외과적 절제술 후, 비-괴사성 종양 조직은 백신 제조에 사용되기 전에 냉동된다. 몇몇 실시형태에 있어서, HSPPC, 예컨대, HSPPC-96은, 정제 기술에 의해 종양 조직으로부터 단리되고, 여과되며, 주사 가능한 백신으로 제조된다. 소정의 실시형태에 있어서, 대상체에게 HSPPC, 예컨대, HSPPC-96을 6 내지 12 용량으로 투여된다. 이러한 실시형태에 있어서, HSPPC, 예컨대, HSPPC-96 용량은 처음 4회 용량으로 매주 투여될 수 있고, 이후 2 내지 8회 추가 용량으로 격주로 투여될 수 있다.

[0341] 본 명세서에 기재된 방법에 따라 사용될 수 있는 HSPPC의 추가의 예는 이하 특허 및 특허출원에 개시되어 있으며, 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 원용된다: 미국 특허 제6,391,306호, 제6,383,492호, 제6,403,095호, 제6,410,026호, 제6,436,404호, 제6,447,780호, 제6,447,781호 및 제6,610,659호.

[0342] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3 항체는 애주번트와 병용하여 대상체에게 투여된다. 다양한 애주번트가 치료 상황에 따라 사용될 수 있다. 적절한 애주번트의 비제한적 예는, 완전 프로인트 애주번트(CFA), 불완전 프로인트 애주번트(IFA), 몬타나이드(montanide) ISA(incomplete Seppic adjuvant), 리비 애주번트 시스템(the Ribi adjuvant system)(RAS), 타이터 맥스(Titer Max), 무라밀 펩타이드(muramyl peptide), SAF(Syntex Adjuvant Formulation), 명반(alum)(수산화알루미늄 및/또는 인산알루미늄), 알루미늄염 애주번트, Gerbu[®] 애주번트, 나이트로셀룰로스 흡착 항원, 캡슐화되거나 포집된 항원, 3 데-O-아세틸화 모노포스포릴 지질 A(3 D-MPL), 면역자극성 올리고펩타이드, TLR(toll-like receptor) 리간드, 만-결합 레시틴(MBL) 리간드, STING 작용제, 사포닌과 같은 면역자극성 복합체, Quil A, QS-21, QS-7, ISCOMATRIX, 및 기타를 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다. 다른 애주번트는 CpG 올리고뉴클레오타이드 및 폴리(A) 및 폴리(U)와 같은 이중가닥 RNA 분자를 포함한다. 상기 애주번트의 조합 또한 사용될 수 있다. 예컨대, 미국 특허 제6,645,495호; 제7,029,678호; 및 제7,858,589호를 참조하며, 이들 모두는 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 원용된다. 일 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 사용된 애주번트는 QS-21 STIMULON이다.

[0343] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 개시된 항-TIM-3 항체는 TCR을 포함하는 추가의 치료제와 조합하여 대상체에게 투여된다. 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 가용성 TCR이다. 소정의 실시형태에 있어서, 추가의 치료제는 TCR을 발현하는 세포이다. 따라서, 일 실시형태에 있어서, 본 발명은, 약제로서 사용하기 위한 및/또는 암을 치료하기 위한 방법에서 사용하기 위한, TCR을 포함하는 추가의 치료제와 병용하는 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0344] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3 항체는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 세포와 조합하여 대상체에게 투여된다. 소정의 실시형태에 있어서, 세포는 T 세포이다.

[0345] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3 항체는 TCR 모방 항체와 병용하여 대상체에게 투여된다. 소정의 실시형태에 있어서, TCR 모방 항체는 펩타이드-MHC 복합체에 특이적으로 결합하는 항체이다. TCR 모방 항체의 비제한적 예에 대해서는, 예를 들어, 미국 특허 제9,074,000호 및, 미국 특허 공개 제2009/0304679 A1호 및 제2014/0134191 A1호를 참조하며, 이들 모두는 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 원용된다.

[0346] 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 및 추가의 치료제(예컨대, 화학요법제, 방사능요법제, 관문 표적제, IDO 저해제, 백신, 면역 보조제, 가용성 TCR, TCR을 발현하는 세포, 키메라 항원 수용체를 발현하는 세포, 및/또는 TCR 모방 항체)는 별도의 투여 형태로서 개별적으로, 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있다. 일 실시형태에서, 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 비경구로 투여되고, IDO 저해제는 경구 투여된다.

[0347] 본 명세서에 기재된 항체 또는 약제학적 조성물은 다양한 경로에 의해 대상체에게 전달될 수 있다. 이들은 비경구, 비강내, 기관내, 경구, 피내, 국소, 근육내, 복강내, 경피, 정맥내, 종양내, 결막내, 동맥내 및 피하 경로를 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다. 소정의 실시형태에 있어서, 항체 또는 약제학적 조성물은 정맥내 투여된다. 폐 투여는 또한, 예컨대, 흡입기 또는 분무기의 사용 및 스프레이로서 사용하기 위한 에어로졸 화제를 포함하는 제형에 의해 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 약제학적 조성물은 피하 또는 정맥내로 전달된다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 약제학적 조성물은 동맥내로 전달된다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 약제학적 조성물은 종양내로 전달된다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 약제학적 조성물은 종양 배수 림프절

(tumor draining lymph node)로 전달된다.

- [0348] 증상의 치료 및/또는 예방에 효과적인 항체 또는 조성물의 함량은 질환의 성질에 의존적일 것이고, 표준 임상 기술에 의해 결정될 수 있다.
- [0349] 조성물에 사용되는 정확한 용량은 역시 투여 경로 및 이로 인한 감염 또는 질병의 심각성에 의존적일 것이며, 의사의 판단 및 각 대상체의 상황에 따라 결정되어야 한다. 조성물에 사용되는 정확한 용량은 역시 투여 경로 및 이로 인한 감염 또는 질병의 심각성에 의존적일 것이며, 의사의 판단 및 각 대상체의 상황에 따라 결정되어야 한다. 예를 들어, 유효량은 또한 투여 수단, 표적 부위, 환자의 생리학적 상태(연령, 체중 및 건강수준 포함), 환자가 사람인지 동물인지, 투여된 다른 약물 또는 치료가 예방인지 여부에 따라 달라질 수 있다. 통상, 환자는 인간이지만, 형질도입 포유동물을 포함하는 비인간 포유동물도 치료될 수 있다. 치료 용량은 안전성과 효능을 최적화하기 위해 최적으로 적정된다.
- [0350] 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 또한 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA), 면역침전 또는 웨스턴 블롯과 같은 면역분석법을 포함하는 당업자에게 공지된 고전적인 면역조직학적 방법을 사용하여 생물학적 시료에서 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 단백질 수준을 분석하는데 사용될 수 있다. 적합한 항체 분석 표지는 당업계에 공지되어 있으며, 글루코스 옥시다제와 같은 효소 표지; 요오드(¹²⁵I, ¹²¹I), 탄소(¹⁴C), 황(³⁵S), 삼중 수소(³H), 인듐(¹²¹In) 및 테크네튬(⁹⁹Tc)과 같은 방사성 동위 원소; 루미놀과 같은 발광 표지; 및 플루오레신 및 로다민과 같은 형광 표지 및 바이오틴을 포함한다. 이러한 표지는 본 명세서에 기재된 항체를 표지하는데 사용될 수 있다. 대안적으로, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체를 인식하는 2차 항체가, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 단백질 수준을 검출하기 위하여 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체와 조합하여 표시되고 사용될 수 있다. 따라서, 일 실시형태에서, 본 발명은 생물학적 시료에서 인간 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 단백질의 시험관내에서 검출하기 위한 본 발명의 항체의 용도에 관한 것이다. 추가의 실시형태에 있어서, 본 발명은 시험관내에서 생물학적 시료에서 인간 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 단백질 수준을 분석 및/또는 검출하기 위한, 본 발명의 항-TIM-3 항체의 용도에 관한 것이고, 선택적으로 항-TIM-3 항체는 방사성 핵종 또는 검출 가능한 표지에 접합되고, 그리고/또는 본 명세서에 기재된 표지를 지니고, 그리고/또는 면역조직학적 방법이 사용된다.
- [0351] TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 단백질의 발현 수준을 분석하는 것은, 첫 번째 생물학적 시료에서 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 단백질의 수준을 직접적으로(예컨대, 절대적인 단백질 수준을 결정 또는 추정함에 의해) 또는 상대적으로(예컨대, 두 번째 생물학적 시료에서 질병 관련 단백질 수준과 비교함에 의해), 정성적으로 또는 정량적으로 측정 또는 추정하는 단계를 포함하기 위한 것이다. 첫 번째 생물학적 시료에서의 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 폴리 펩타이드 발현 수준은 측정하거나 또는 추정하고, 표준 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 단백질 수준과 비교할 수 있는데, 상기 표준은 장애를 가지지 않은 대상체로부터 얻어진 두 번째 생물학적 시료로부터 획득하거나 또는 장애를 가지지 않은 대상체의 집단의 평균 수준에 의해 결정된다. 당업계에서 인식되는 바와 같이, 일단 "표준" TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 폴리 펩타이드 수준이 알려지면, 이는 비교를 위한 표준으로서 반복적으로 사용될 수 있다. 따라서, 추가의 실시형태에 있어서, 본 발명은 생물학적 시료에서 TIM-3 단백질 수준, 특히 인간 TIM-3 단백질 수준을 분석 및/또는 검출하기 위한 시험관 내에서의 방법에 관한 것으로, 면역조직학적 방법에 의해 생물학적 시료에서, TIM-3 단백질 특히 인간 TIM-3 단백질의 수준을 정성적 또는 정량적으로 측정 또는 추정하는 단계를 포함한다.
- [0352] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "생물학적 시료"는 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 잠재적으로 발현하는 대상체, 세포주, 조직 또는 다른 세포의 원천으로부터 획득한 임의의 생물학적 시료를 의미한다. 동물(예컨대, 사람)로부터 조직 생검 및 체액을 획득하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 생물학적 시료는 말초 단핵 혈구 세포를 포함한다.
- [0353] 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 당업자에게 공지되고 표준이며, 본 명세서에 기초한 시험관 내 및 생체내 적용을 포함하는, 예후, 진단, 모니터링 및 스크리닝을 위해 사용될 수 있다. 면역계 상태 및/또는 면역반응의 시험관 내에서의 평가 및 감정을 위한 예후, 진단, 모니터링 및 스크리닝 분석과 키트는, 면역계 장애를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되거나 또는 예상되거나 또는 원하는 면역계 반응, 항원 반응 또는 백신 반응과 관련된 것으로 알려진 것을 포함하는, 환자의 시료를 평가하기 위하여 예측, 진단 및 모니터링하는데 사용될 수 있다. 또한, 면역계 상태 및/또는 면역반응의 시험관 내에서의 평가 및 감정은 약물의 임상시험 또는 특히 화학치료제, 방사선치료제 또는 항체(다른 제제 또는 항체와 비교하여 이들의 조합을 포함하는)의 투여를 위한, 환자의 적합성을 결정하는데 유용하다. 이러한 유형의 예후 및 진단 모니터링과, 평가는 유효한

(HerceptTest™, 다코사(Dako))에서 HER2 단백질에 대한 항체를 활용하여 이미 실시되고 있는데, 검정은 Herceptin®을 사용하는 항체 치료를 위하여 환자를 평가하는 데에도 사용된다. 생체내 적용에는 직접 세포치료 및 면역계 조절 및 면역 반응의 전과상(radio imaging)을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명은 진단용으로 사용하기 위한 본 발명의 항-TIM-3 항체, 약제학적 조성물을 제조하기 위한 항체의 용도 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 바람직한 실시형태에서, 본 발명은, 면역계 장애를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되거나, 그리고/또는 예상되거나 또는 원하는 면역계 반응, 항원 반응 또는 백신 반응과 관련된, 대상체의 예측, 진단 및/또는 모니터링용 방법에 사용하기 위한, 본 발명의 항-TIM-3 항체, 약제학적 조성물을 제조하기 위한 항체의 용도 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 다른 실시형태에 있어서, 본 발명은, 시험관 내에서 대상체의 생물학적 시료에서 인간 TIM-3 단백질 수준을 분석 및/또는 검출함에 의하여, 면역계 장애를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되거나, 그리고/또는 예상되거나 또는 원하는 면역계 반응, 항원 반응 또는 백신 반응과 관련된, 대상체의 예측, 진단 및/또는 모니터링을 위한, 본 발명의 항 TIM-3 항체의 용도에 관한 것이다.

[0354] 일 실시형태에서, 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 생검 시료의 면역조직화학분석에 사용될 수 있다. 일 실시형태에 있어서, 방법은 시험관내에서의 방법이다. 다른 실시형태에 있어서, 항 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)의 수준 또는 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 그의 막 표면에 포함하는 세포의 수준을 검출하는데 사용될 수 있는데, 수준은 특정 질병의 증상과 연관될 수 있다. 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 검출 가능하거나 또는 기능적 표지를 지닐 수 있고 그리고/또는 방사성 핵종 또는 검출 가능한 표지에 접합될 수 있다. 형광 표지가 사용될 때, 현재 이용 가능한 현미경 및 형광-활성화 유세포 분석기(FACS) 또는 당업계에 공지된 두 방법의 조합이 특정 결합 구성원을 동정하고 정량하는데 이용될 수 있다. 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 형광 표지를 지니거나 또는 이에 접합될 수 있다. 예시적인 형광 표지는, 예를 들어, 반응성 및 접합된 프로브, 예를 들어, 아미노쿠마린(Aminocoumarin), 플루오레신 및 텍사스 레드(Fluorescein and Texas red), 알렉사 플루오 염료(Alexa Fluor dye), Cy 염료(Cy dye) 및 DyLight 염료(DyLight dye)를 포함한다. 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 방사성 동위원소 ³H, ¹⁴C, ³²P, ³⁵S, ³⁶Cl, ⁵¹Cr, ⁵⁷Co, ⁵⁸Co, ⁵⁹Fe, ⁶⁷Cu, ⁹⁰Y, ⁹⁹Tc, ¹¹¹In, ¹¹⁷Lu, ¹²¹I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I, ¹⁹⁸Au, ²¹¹At, ²¹³Bi, ²²⁵Ac 및 ¹⁸⁶Re과 같은, 방사성 표지 또는 방사성 핵종을 지니거나 또는 이에 접합될 수 있다. 방사성 표지가 사용될 때, 당업계에 공지된 현재 이용 가능한 카운팅 방법이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 대한 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체의 특이적 결합을 확인하고 정량화하기 위해, 사용될 수 있다. 표지가 효소인 경우, 검출은 당업계에 공지된 현재 이용되는 비색분석(colorimetric) 기술, 분광 광도 측정(spectrophotometric) 기술, 형광 분광 측정(fluorospectrophotometric) 기술, 전류 측정(amprometric) 기술 또는 가스 측정(gasometric) 기술 중 임의의 기술에 의해 수행될 수 있다. 이는, 항체와 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 사이에 복합체의 형성을 허용하는 조건에서, 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체로 시료 또는 대조군 시료에 접촉함으로써, 달성될 수 있다. 항체와 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 간에 형성된 임의의 복합체는 시료 및 대조군에서 검출 및 비교된다. TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 대한 본 명세서에 기재된 항체의 특이적 결합에 비추어, 항체는 세포 표면에서의 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 발현을 특이적으로 검출하는데 사용될 수 있다. 본 명세서에 기재된 항체는 또한 면역친화성 정제를 통해 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 정제하는데 사용될 수 있다. 또한, 본 명세서에는, 예를 들어, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 또는 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)/TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 리간드 복합체의 존재수준을 정량 분석하기 위한 시험 키트, 키트 또는 부품 키트의 형태로 제조될 수 있는 분석 시스템이 포함된다. 시스템, 시험 키트, 키트 또는 부품 키트는 표지된 성분, 예를 들어, 표지된 항체 및 하나 이상의 추가적 면역화학 시약을 포함할 수 있다.

[0355] **6.5 폴리뉴클레오타이드, 벡터 및 항-TIM-3 항체의 생산 방법**

[0356] 다른 양상에 있어서, 본 명세서에서는 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항원에 특이적으로 결합하는 본 명세서에 기재된 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드, 또는 그(예컨대, 경쇄 가변 영역 및/또는 중쇄 가변 영역)의 단편, 및 벡터, 예를 들어, 숙주세포(예컨대, 대장균(*E. coli*) 및 포유동물 세포)에서 재조합 발현을 위한 그러한 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터가 제공된다. 본 명세서에서는, 본 명세서에서 제공된 임의의 항체의 중쇄 및/또는 경쇄를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 뿐만 아니라, 그러한 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터, 예를 들어, 숙주 세포, 예를 들어, 포유동물 세포에서 그의 효과적인 발현을 위한 발현 벡터가 제공된다.

[0357] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "단리된" 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산 분자는 핵산 분자의 천연 공급원(예컨대, 마우스 또는 인간)에 존재하는 다른 핵산 분자로부터 분리된 것이다. 또한, cDNA 분자와 같은 "단리된"

핵산 분자는 제조합 기술에 의해 제조될 때 다른 세포 물질 또는 배양 배지가 실질적으로 존재하지 않거나, 또는 화학적으로 합성될 때 화학 전구 물질 또는 다른 화학 물질이 실질적으로 존재하지 않을 수 있다. 예를 들어, "실질적으로 존재하지 않는다"라는 용어는, 다른 물질, 예를 들어, 세포 물질, 배양 배지, 다른 핵산 분자, 화학 전구 물질, 및/또는 다른 화학 물질을 약 15%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0.5% 또는 0.1% 미만(특히 약 10% 미만)으로 가지는 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산 분자의 생산물을 포함한다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체를 암호화하는 핵산 분자(들)는 단리되거나 정제된다.

[0358] 특정 양상에 있어서, 본 명세서에서는 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 폴리펩타이드에 특이적으로 결합하고 본 명세서에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 뿐만 아니라, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 폴리펩타이드에 대한 결합(예컨대, 용량 의존적인 방식으로)을 위한 이러한 항체와 경쟁하고, 이러한 항체의 것과 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다.

[0359] 소정의 양상에 있어서, 본 명세서에서는, 본 명세서에 기재된 항체의 경쇄 또는 중쇄를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. 폴리뉴클레오타이드는, 본 명세서에 기재된 항체(예컨대, 표 1 참조)의 VL FR 및 CDR을 포함하는 경쇄를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 또는 본 명세서에 기재된 항체(예컨대, 표 1 참조)의 VH FR 및 CDR을 포함하는 중쇄를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.

[0360] 또한, 본 명세서에서는, 예를 들어, 코돈/RNA 최적화, 이중 신호서열로의 대체 및 mRNA 불안정성 요소의 제거에 의해 최적화된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. 코돈 변화를 도입하거나 및/또는 mRNA에서 억제 영역을 제거함에 의한 제조합 발현을 위한 항 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 이의 단편(예컨대, 경쇄, 중쇄, VH 도메인 또는 VL 도메인)을 암호화하는 최적화된 핵산을 생성하는 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제5,965,726호; 제6,174,666호; 제6,291,664호; 제6,414,132호; 및 제6,794,498호에 기재된 최적화 방법을 적용함으로써 수행될 수 있는데, 이들 모두는 그들의 전문가 본 명세서에 참고로 인용된다. RNA 내의 잠재적 절단 부위 및 불안정성 요소(예컨대, A/T 또는 A/U 풍부 요소)는 제조합 발현을 위한 RNA의 안정성을 증가시키기 위해 핵산 서열에 의해 암호화되는 아미노산을 변화하지 않고 돌연변이될 수 있다. 변화는, 예를 들어, 동일한 아미노산에 대한 대체 코돈을 사용한 유전 코드의 축퇴(degeneracy)를 이용한다. 몇몇 실시형태에 있어서, 보존적 돌연변이체, 예를 들어, 유사한 화학적 구조 및 원래의 아미노산과 같은 특성 및/또는 기능을 갖는 유사한 아미노산을 암호화하는 하나 이상의 코돈을 변화시키는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 방법은, 최적화되지 않은 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화되는 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체의 발현에 비하여, 항 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 그의 단편의 발현을 적어도 1배, 2배, 3배, 4배, 5배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배, 또는 100배 또는 그 이상으로 증가시킬 수 있다.

[0361] 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3 항체(예컨대, 인간 TIM-3) 또는 이의 단편(예컨대, VL 도메인 및/또는 VH 도메인)을 암호화하는 최적화된 폴리뉴클레오타이드 서열은 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 그의 단편(예컨대, VL 도메인 및/또는 VH 도메인)을 암호화하는 최적화되지 않은 폴리뉴클레오타이드 서열의 안티센스(예컨대, 상보적인) 폴리뉴클레오타이드에 혼성화될 수 있다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 최적화된 뉴클레오타이드 서열은, 높은 수준의 엄격한 조건하에서, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 그의 단편을 암호화하는 최적화되지 않은 폴리뉴클레오타이드 서열의 안티센스 폴리뉴클레오타이드와 혼성화된다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 최적화된 뉴클레오타이드 서열은, 높은 수준, 중간수준 또는 낮은 수준의 엄격한 혼성화 조건하에서, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 그의 단편을 암호화하는 최적화되지 않은 뉴클레오타이드 서열의 안티센스 폴리뉴클레오타이드와 혼성화된다. 혼성화 조건에 관한 정보는, 예를 들어, 미국 특허 공개 제2005/0048549호(예컨대, 72 내지 73 문단)에 기재되었는데, 이는 그의 전문가 본 명세서에 참고로 인용된다.

[0362] 당업계에서 공지된 임의의 방법에 의해, 폴리뉴클레오타이드를 수득할 수 있고, 폴리뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 서열을 결정할 수 있다. 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어, 표 1에 기재된 항체 및 이들 항체의 변형된 버전을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은, 당업계에 널리 공지된 방법을 사용하여 결정할 수 있는데, 즉, 특정 아미노산을 암호화하는 것으로 알려진 뉴클레오타이드 코돈은 항체를 암호화하는 핵산을 생성시키는 방식으로 조립된다. 항체를 암호화하는 이러한 폴리뉴클레오타이드는 화학적으로 합성된 올리고뉴클레오타이드(예컨대, 그 전체가 본 명세서에 참고로 인용된, 문헌[Kutmeier G et al., (1994), BioTechniques 17: 242-6]에 기재된 바와 같이)로부터 조립될 수 있는데, 대략적으로 이는 항체를 암호화하는 서열 부분을 포함하는 중첩 올리고뉴

클레오타이드의 합성, 이들 올리고뉴클레오타이드의 어닐링 및 연결, 및 이후의 PCR에 의한 연결된 올리고뉴클레오타이드의 증폭을 포함한다.

- [0363] 대안적으로, 본 명세서에 기재된 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 당업계에 공지된 방법(예컨대, PCR 및 다른 분자 클로닝방법)을 사용하여 적합한 공급원(예컨대, 하이브리도마)의 핵산으로부터 생성될 수 있다. 예를 들어, 공지된 서열의 3' 및 5' 말단에 혼성화될 수 있는 합성 프라이머를 사용하는 PCR 증폭은 관심 항체를 생산하는 하이브리도마 세포로부터 수득한 게놈 DNA를 사용하여 수행될 수 있다. 이러한 PCR 증폭방법은 항체의 경쇄 및/또는 중쇄를 암호화하는 서열을 포함하는 핵산을 수득하는데 사용될 수 있다. 이러한 PCR 증폭방법은 항체의 경쇄 가변 영역 및/또는 중쇄 가변 영역을 암호화하는 서열을 포함하는 핵산을 수득하는데 사용될 수 있다. 증폭된 핵산은 숙주세포 내 발현 및 추가적 클로닝, 예를 들어, 키메라 및 인간화 항체를 생성하기 위한 벡터 내로 클로닝될 수 있다.
- [0364] 특정 항체를 암호화하는 핵산을 포함하는 클론이 이용 가능하지 않지만, 항체 분자의 서열이 알려져 있다면, 서열의 3' 및 5'에 혼성화될 수 있는 합성 프라이머를 사용한 PCR 증폭 또는 식별하기 위한 특정 유전자 서열, 예를 들어, 항체를 암호화하는 cDNA 라이브러리로부터의 cDNA 클론에 특이적인 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용한 클로닝에 의해, 면역 글로불린을 암호화하는 핵산은 화학적으로 합성되거나 또는 적절한 공급원(예컨대, 항체 cDNA 라이브러리 또는 본 명세서에 기재된 항체를 발현하도록 선택된 하이브리도마 세포와 같은 항체를 발현하는 임의의 조직 또는 세포로부터 단리된 핵산, 바람직하게는 폴리 A+ RNA 또는 이로부터 생성된 cDNA 라이브러리)로부터 수득할 수 있다. 그 후, PCR에 의해 생성된 증폭된 핵산은 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용하여 복제 가능한 클로닝 벡터내로 클로닝될 수 있다.
- [0365] 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체를 암호화하는 DNA는 통상적인 절차(예컨대, 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고 뉴클레오타이드 프로브를 사용함에 의하여)를 사용하여 용이하게 단리되고, 서열이 결정될 수 있다. 하이브리도마 세포는 그러한 DNA의 원천으로서 제공할 수 있다. 일단 단리된 DNA는 발현 벡터 내에 위치될 수 있는데, 이어 달리 면역 글로불린 단백질을 생산하지 않는 대장균 세포, 시미언 COS 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포(예컨대, CHO GS System™(론자사(Lonz))로부터 얻어진 CHO 세포), 또는 골수종 세포와 같은 숙주세포 내로 전달되어, 재조합 숙주세포 내에서 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체의 합성을 수득한다.
- [0366] 전장 항체를 생성하기 위해, VH 또는 VL 뉴클레오타이드 서열, 제한 부위 및 제한 부위를 보호하기 위한 인접 서열을 포함하는 PCR 프라이머는 scFv 클론에서 VH 또는 VL 서열을 증폭시키는데 사용될 수 있다. 당업자에게 공지된 클로닝 기술을 이용하여, PCR 증폭된 VH 도메인은 중쇄 불변 영역, 예를 들어, 인간 감마 4 불변 영역을 발현하는 벡터에 클로닝될 수 있고, PCR 증폭된 VL 도메인은 경쇄 불변 영역, 예를 들어, 인간 카파 또는 람다 불변 영역을 발현하는 벡터에 클로닝될 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, VH 또는 VL 도메인을 발현하기 위한 벡터는 EF-1 α 프로모터, 분비 신호, 가변 영역을 위한 클로닝 부위, 불변 도메인 및 네오마이신과 같은 선택 마커를 포함한다. 또한, VH 및 VL 도메인은 필수적인 불변 영역을 발현하는 하나의 벡터내로 클로닝될 수 있다. 이어서, 중쇄 전환 벡터 및 경쇄 전환 벡터는 세포주 내로 공동 형질 도입되어, 당업자에게 공지된 기술을 사용하여 전장 항체, 예를 들어, IgG를 발현하는 안정하거나 또는 일시적인 세포주를 생성한다.
- [0367] 또한, DNA는, 예를 들어, 마우스의 서열 대신에 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인을 위한 암호화 서열을 치환하거나 또는 비-면역 글로불린 폴리펩타이드용 암호화 서열의 전체 또는 일부를 면역 글로불린 암호화 서열에 공유 결합시킴으로써 변형될 수 있다.
- [0368] 또한, 높은 수준, 중간수준 또는 낮은 수준의 엄격한 혼성화 조건 하에서 본 명세서에 기재된 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 혼성화하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오타이드는 높은 수준, 중간수준 또는 낮은 수준의 엄격한 혼성화 조건하에서 본 명세서에 제공된 VH 도메인 및/또는 VL 도메인을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 혼성화된다.
- [0369] 혼성화 조건은 당업계에 기재되어 있고 당업자에게 공지되어 있다. 혼성화 조건은 당업계에 기재되어 있고 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 엄격한 조건에서의 혼성화는 약 45°C에서 6x 염화나트륨/시트르산나트륨(SSC)에서 필터-결합된 DNA에 혼성화된 후, 약 50 내지 65°C에서 0.2x SSC/0.1% SDS로 1회 이상 세척하는 단계를 포함할 수 있고; 고도로 엄격한 조건에서의 혼성화는 약 45°C에서 6x SSC에서 필터-결합된 핵산에 혼성화된 후, 약 68°C에서 0.1x SSC/0.2% SDS로 1회 이상 세척하는 단계를 포함할 수 있다. 다른 엄격한 혼성화 조건에서의 혼성화는 당업자에게 공지되어 있고, 예를 들어, 문헌[Ausubel FM *et al.*, eds., (1989) Current Protocols in Molecular Biology, Vol. I, Green Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., New York

at pages 6.3.1-6.3.6 and 2.10.3]에 기재되어 있는데, 이는 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 인용된다.

[0370] 소정의 양상에 있어서, 본 명세서에서는 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 본 명세서에 기재된 항체를 (예컨대, 재조합적으로) 발현하는 세포(예컨대, 숙주 세포), 및 관련 폴리뉴클레오타이드 및 발현 벡터가 제공된다. 본 명세서에서는 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 또는 숙주 세포, 바람직하게는 포유동물 세포에서 재조합 발현을 위한 단편을 포함하는 벡터(예컨대, 발현 벡터)가 제공된다. 또한, 본 명세서에서는 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체(예컨대, 인간 또는 인간화 항체)를 재조합적으로 발현시키기 위한 벡터를 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 특정 양상에 있어서, 본 명세서에서는 숙주 세포로부터 이러한 항체를 발현시키는 단계를 포함하는, 본 명세서에 기재된 항체를 생산하는 방법이 제공된다.

[0371] TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 본 명세서에 기재된 항체(예컨대, 전장 항체, 항체의 중쇄 및/또는 경쇄 또는 본 명세서에 기재된 단일 사슬 항체)의 재조합 발현은, 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 발현 벡터의 제작을 포함한다. 일단, 본 명세서에 기재된 항체 분자, 항체의 중쇄 및/또는 경쇄 또는 이의 단편(예컨대, 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역)을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 수득되면, 항체 분자 생산용 벡터는 당업계에 공지된 기술을 사용한 재조합 DNA 기술에 의해 생산될 수 있다. 따라서, 뉴클레오타이드 서열을 암호화하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, 경쇄 또는 중쇄)을 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 발현함으로써 단백질을 제조하는 방법이 본 명세서에 기재되어 있다. 당업자에게 공지된 방법은 항체 또는 항체 단편(예컨대, 경쇄 또는 중쇄) 암호화 서열 및 적절한 전사 및 번역 조절 신호를 포함하는 발현 벡터를 제작하는데 사용될 수 있다. 이들 방법은, 예를 들어, 시험관 내에서 재조합 DNA 기술, 합성 기술 및 생체내 유전자 재조합을 포함한다. 또한, 본 명세서에서는, 프로모터에 작동 가능하게 연결된, 본 명세서에 기재된 항체 분자, 항체의 중쇄 또는 경쇄, 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역 또는 이의 단편, 또는 중쇄 또는 경쇄 CDR을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 복제가능한 벡터가 제공된다. 이러한 벡터는, 예를 들어, 항체 분자의 불변 영역(예컨대, 그 전체가 본 명세서에 참고로 인용된 국제 특허 공개 WO 86/05807 및 WO 89/01036; 및 미국 특허 제5,122,464호 참조)을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있고, 항체의 가변 영역은 전체 중쇄, 전체 경쇄, 또는 전체 중쇄 및 경쇄의 발현을 위하여 이러한 벡터 내로 클로닝될 수 있다.

[0372] 발현 벡터는 통상적인 기술에 의해 세포(예컨대, 숙주 세포)에 도입될 수 있고, 이후 생성된 세포는 통상적인 기술에 의해 배양되어 본 명세서에 기재된 항체 또는 그의 단편을 생산할 수 있다. 따라서, 본 명세서에서는, 숙주세포에서 발현하기 위하여 프로모터에 작동 가능하게 연결된, 본 명세서에 기재된 항체 또는 그의 단편, 또는 이의 중쇄 또는 경쇄 또는 이의 단편, 또는 본 명세서에 기재된 단일 사슬 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 숙주세포가 제공된다. 소정의 실시형태에 있어서, 이중 사슬 항체의 발현을 위해, 중쇄 및 경쇄 둘 다를 개별적으로 암호화하는 벡터는, 이하에서 설명되는 바와 같이 전체 면역글로불린 분자의 발현을 위해 숙주세포에서 공동 발현될 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 숙주 세포는 본 명세서에 기재된 항체의 중쇄 및 경쇄 또는 그의 단편 모두를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터를 포함한다. 특정 실시형태에 있어서, 숙주 세포는 두 개의 상이한 벡터인, 본 명세서에 기재된 항체의 중쇄 또는 중쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 이의 단편을 포함하는 제1 벡터 및 본 명세서에 기재된 항체의 경쇄 또는 경쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 이의 단편을 포함하는 제2 벡터를 포함한다. 다른 실시형태에 있어서, 제1 숙주세포는 본 명세서에 기재된 항체의 중쇄 또는 중쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편을 포함하는 제1 벡터를 포함하고, 제2 숙주세포는 본 명세서에 기재된 항체의 경쇄 또는 경쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제2 벡터를 포함한다. 특정 실시형태에 있어서, 제1 세포에 의해 발현되는 중쇄/중쇄 가변 영역은 제2 세포의 경쇄/경쇄 가변 영역과 연관되어, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체를 형성한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에서는 이러한 제1 숙주세포 및 이러한 제2 숙주세포를 포함하는 숙주세포의 군집이 제공된다.

[0373] 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에서는, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체의 경쇄/경쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제1 벡터 및 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체의 중쇄/중쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제2 벡터를 포함하는 벡터의 군집이다.

[0374] 다양한 숙주-발현벡터 시스템은 본 명세서에 기재된 항체 분자를 발현시키는데 사용될 수 있다(예컨대, 미국 특허 제5,807,715호 참조, 이 문헌은 그의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다). 이러한 숙주-발현 시스템은 관심대상 암호화 서열이 생성되어 순차적으로 정제될 수 있는 운반체를 나타내지만, 적절한 뉴클레오타이드 암호화 서열로 형질전환되거나 또는 형질도입될 때, 본래의 위치에서 본 명세서에 기재된 항체 분자를 발현할 수 있

는 세포를 나타낸다. 이러한 숙주-발현 시스템은 관심대상 암호화 서열이 생성되어 순차적으로 정제될 수 있는 운반체를 나타내지만, 적절한 뉴클레오타이드 암호화 서열로 형질전환되거나 또는 형질도입될 때, 본래의 위치에서 본 명세서에 기재된 항체 분자를 발현할 수 있는 세포를 나타낸다. 이들은 항체 암호화 서열을 포함하는 재조합 박테리오파지 DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현벡터로 형질전환된 박테리아(예컨대, 대장균 및 바실러스); 항체 암호화 서열을 포함하는 재조합 효모 발현벡터로 형질전환된 효모(예컨대, 사카로마이세스 피치아); 항체 암호화 서열을 포함하는 재조합 바이러스 발현벡터(예컨대, 배클로 바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 재조합 바이러스 발현벡터(예컨대, 콜리플라워 모자이크 바이러스, CaMV; 담배 모자이크 바이러스, TMV)로 감염되거나 또는 항체 암호화 서열을 포함하는 재조합 플라스미드 발현벡터(예컨대, Ti 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템(예컨대, 클라미도모나스 레인하르트티(*Chlamydomonas reinhardtii*)와 같은 녹조류); 또는, 포유동물 세포의 게놈(예컨대, 메탈로티오네인 프로모터)으로부터 유래되거나 또는 포유동물 바이러스(예컨대, 아데노바이러스 후기 프로모터; 백시니아 바이러스 7.5K 프로모터)로부터 유래된 프로모터를 포함하는 재조합 발현 구조물을 보유하는 포유동물 세포 시스템(예컨대, COS(예컨대, COS1 또는 COS), CHO, BHK, MDCK, HEK 293, NSO, PER.C6, VERO, CRL7030, HsS78Bst, HeLa 및 NIH 3T3, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, B-W, L-M, BSC1, BSC40, YB/20 및 BMT10 세포)와 같은 미생물을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체를 발현시키기 위한 세포는 CHO 세포, 예를 들어, CHO GS System™(론자사)의 CHO 세포이다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체를 발현하기 위한 세포는 인간 세포, 예를 들어, 인간 세포주이다. 특정 실시형태에 있어서, 포유류 발현벡터는 pOptiVEC™ 또는 pcDNA3.3이다. 특정 실시형태에 있어서, 특히 전체 재조합 항체 분자의 발현을 위한 대장균(*Escherichia coli*) 또는 진핵 세포(예컨대, 포유류 세포)와 같은 박테리아 세포가 재조합 항체 분자의 발현에 사용된다. 예를 들어, 인간의 사이토메갈로 바이러스로부터의 주요 중간 초기 유전자 프로모터 요소와 같은 벡터와 함께, CHO(Chinese hamster ovary) 세포와 같은 포유동물 세포는 항체를 위한 효과적인 발현 시스템이다(Foeking MK & Hofstetter H (1986) Gene 45: 101-5; 및 Cockett MI *et al.*, (1990) Biotechnology 8(7): 662-7, 이들의 각각은 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다). 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체는 CHO 세포 또는 NSO 세포에 의해 생산된다. 특정 실시형태에 있어서, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 본 명세서에 기재된 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 발현은 구성성 프로모터, 유도성 프로모터 또는 조직특이적 프로모터에 의해 조절된다.

[0375] 박테리아 시스템에서, 다수의 발현벡터는 발현되는 항체 분자를 위해 의도된 용도에 따라 유리하게 선택될 수 있다. 예를 들어, 항체 분자의 약제학적 조성물의 생성을 위해 이러한 항체가 대량으로 생성될 때, 용이하게 정제된 높은 수준의 융합 단백질 생산물의 발현을 지시하는 벡터가 바람직할 수 있다. 이러한 벡터는, 이에 제한되지 않으나, 항체 암호화 서열이 lacZ 암호화 영역의 프레임 내에서 벡터에 개별적으로 연결되어 융합 단백질이 생산될 수 있는 대장균 발현벡터 pUR278(Ruether U & Mueller-Hill B (1983) EMBO J 2: 1791-1794); pIN 벡터(Inouye S & Inouye M (1985) Nuc Acids Res 13: 3101-3109; Van Heeke G & Schuster SM (1989) J Biol Chem 24: 5503-5509) 등을 포함하는데, 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. 예를 들어, pGEX 벡터는 또한 글루타티온 S-전이효소(GST)와의 융합 단백질로서, 외래 폴리 펩타이드를 발현하는데 사용될 수 있다. 일반적으로, 이러한 융합 단백질은 가용성이며, 매트릭스 글루타티온 아가로스 비드에 흡착 및 결합한 후, 유리된 글루타티온의 존재 하에서 용출됨에 의하여 과제된 세포로부터 용이하게 정제될 수 있다. pGEX 벡터는 트롬빈 또는 인자 Xa 프로테아제 절단 부위를 포함하도록 설계되어, 복제된 표적 유전자 산물이 GST 모이어티로부터 해리될 수 있다.

[0376] 곤충 시스템에서, AcNPV(*Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus)는 외래 유전자를 발현하는 벡터로 사용될 수 있다. 바이러스는 스포도테라 프루지페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포에서 성장한다. 항체 암호화 서열은 바이러스의 비-필수 영역(예컨대, 폴리헤드린 유전자)에 개별적으로 클로닝되고, AcNPV 프로모터(예컨대, 폴리헤드린 프로모터)하에 위치할 수 있다.

[0377] 포유류 숙주세포에서, 다수의 바이러스-기반 발현 시스템이 이용될 수 있다. 아데노바이러스가 발현벡터로 사용되는 경우, 관심대상 항체 암호화 서열은 아데노바이러스 전사/번역 조절 복합체, 예를 들어, 후기 프로모터 및 3가지로 이루어진 리더 서열에 연결될 수 있다. 이어서, 이러한 키메라 유전자는 시험관 내 또는 생체내 재조합에 의해 아데노바이러스 게놈에 삽입될 수 있다. I 바이러스 게놈의 비-필수 영역(예컨대, E1 또는 E3 영역)으로의 삽입은 감염된 숙주에서 생존하고, 항체 분자를 발현 할 수 있는 재조합 바이러스를 생성할 것이다(예컨대, 문헌[Logan J & Shenk T (1984) PNAS 81(12): 3655-9] 참조, 이 문헌은 그의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다). 특이적인 개시 신호 역시 삽입된 항체 암호화 서열의 효율적인 번역을 위해 요구될 수 있다. 이들 신호는 ATG 개시코돈 및 인접서열을 포함한다. 또한, 개시 코돈은 전체 삽입물의 번역을 보장하기 위해 원하는 암호

화 서열의 관독 프레임과 동등해야 한다. 이러한 외인성 번역 조절 신호 및 개시 코돈은 천연 및 합성의 다양한 원천이 될 수 있다. 발현 효율은 적절한 전사 인핸서 요소, 전사 종결자 등을 포함시킴으로써 향상될 수 있다 (예컨대, 문헌[Bitter G *et al.*, (1987) *Methods Enzymol.* 153: 516-544] 참조, 이 문헌은 그의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다).

[0378] 부가적으로, 숙주세포는 삽입된 서열의 발현을 조절하거나 또는 원하는 특정 방식으로 유전자 산물을 변형 및 가공하도록 선택될 수 있다. 단백질 산물의 그러한 변형(예컨대, 당화) 및 가공(예컨대, 절단)은 단백질의 기능에 중요할 수 있다. 상이한 숙주세포는 단백질 및 유전자 산물의 번역 후 가공 및 변형을 위한 특성 및 특이적 기전을 갖는다. 적절한 세포주 또는 숙주 시스템이 발현된 외래 단백질의 정확한 변형 및 가공을 보장하기 위해 선택될 수 있다. 이를 위해서, 유전자 산물의 일차 전사, 당화 및 인산화의 적절한 가공을 위한 세포질 성분 (cellular machinery)을 보유하는 진핵생물 숙주세포가 사용될 수 있다. 이러한 포유동물 숙주세포는, CHO, VERO, BHK, Hela, MDCK, HEK 293, NIH 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 및 T47D, NS0(어떠한 면역글로불린 사슬도 내재적으로 생산하지 않는 마우스의 골수종 세포주), CRL7030, COS(예컨대, COS1 또는 COS), PER.C6, VERO, HsS78Bst, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, B-W, L-M, BSC1, BSC40, YB/20, BMT10 및 HsS78Bst 세포를 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체는 포유동물 세포, 예를 들어, CHO 세포에서 생산된다.

[0379] 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체는 푸코스 함량을 감소시키거나 또는 푸코스를 포함하지 않는다. 이러한 항체는 당업자에게 공지된 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 예를 들어, 항체는 푸코실레이트 능력이 불완전하거나 또는 결핍된 세포에서 발현될 수 있다. 특정 실시예에서, α 1,6-푸코실전이효소의 대립 유전자 모두가 결실된 세포주는 감소된 푸코스 함량을 갖는 항체를 생산하는데 사용될 수 있다. Potelligent[®] 시스템 (론자사)은 푸코스 함량이 감소된 항체를 생산하는 데 사용할 수 있는 시스템의 예이다.

[0380] 재조합 단백질의 장기간, 고-수율 생산을 위해, 안정한 발현 세포를 생성할 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체를 안정하게 발현하는 세포주가 조작될 수 있다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에서 제공된 세포는, 본 명세서에 기재된 항체를 형성하기 위해 연관되는 경쇄/경쇄 가변 영역 및 중쇄/중쇄 가변 영역을 안정하게 발현한다.

[0381] 소정의 양상에 있어서, 바이러스 복제 기원을 포함하는 발현백터를 사용하기 보다는, 숙주세포가 적절한 발현 조절 요소(예컨대, 프로모터, 인핸서, 서열, 전사 종결자, 폴리아데닐화 부위 등)에 의해 조절된 DNA 및 선택 가능한 마커로 형질 전환될 수 있다. 외래 DNA/폴리뉴클레오타이드를 도입한 후, 조작된 세포는 농축 배지에서 1 내지 2일 동안 성장시킨 다음, 선택 배지로 전환시킬 수 있다. 재조합 플라스미드의 선택 마커는 선택에 대한 내성을 부여하고, 세포가 플라스미드를 염색체에 안정적으로 도입하고, 성장하여 차례로 클로닝되어 세포주로 확대될 수 있는 초점(foci)을 형성하게 한다. 이러한 방법은 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체 또는 이의 단편을 발현하는 세포주를 조작하는데 유리하게 사용될 수 있다. 이러한 조작된 세포주는 항체 분자와 직접적 또는 간접적으로 반응하는 조성물의 스크리닝 및 평가에 특히 유용할 수 있다.

[0382] tk-, hgppt- 또는 aprt-세포에서 각각 허피스 심플렉스 바이러스 티미딘 키나제(Wigler M *et al.*, (1977) *세포* 11(1): 223-32), 하이포잔틴구아닌 포스포리보실전이효소(Szybalska EH & Szybalski W (1962) *PNAS* 48(12): 2026-2034) 및 아테닌 포스포리보실전이효소(Lowy I *et al.*, (1980) *세포* 22(3): 817-23) 유전자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 다수의 선택 시스템이 에 사용될 수 있는데, 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. 또한, 대사 길항물질(antimetabolite) 저항성은 하기 유전자의 선택기반으로서 사용될 수 있다: 메토타렉세이트에 대한 내성을 부여하는 *dhfr*(Wigler M *et al.*, (1980) *PNAS* 77(6): 3567-70; O'Hare K *et al.*, (1981) *PNAS* 78: 1527-31); 마이코페놀산에 대한 내성을 부여하는 *gpt*(Mulligan RC & Berg P (1981) *PNAS* 78(4): 2072-6); 아미노글리코시드 G-418에 대한 내성을 부여하는 *neo*(Wu GY & Wu CH (1991) *Biotherapy* 3: 87-95; Tolstoshev P (1993) *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 32: 573-596; Mulligan RC (1993) *Science* 260: 926-932; 및 Morgan RA & Anderson WF (1993) *Ann Rev Biochem* 62: 191-217; Nabel GJ & Felgner PL (1993) *Trends Biotechnol* 11(5): 211-5); 및 하이그로마이신에 대한 내성을 부여하는 *hygro*(Santerre RF *et al.*, (1984) *Gene* 30(1-3): 147-56), 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. 재조합 DNA 기술의 분야에서 일반적으로 공지된 방법은 원하는 재조합 클론을 선택하기 위해 일상적으로 적용될 수 있으며, 그러한 방법은, 예를 들어, 문헌[Ausubel FM *et al.*, (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY (1993); Kriegler M, *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, Stockton Press, NY (1990); 및 Chapters 12 and 13, Dracopoli NC *et al.*, (eds.),

Current Protocols in 인간 Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994); Colbère-Garapin F *et al.*, (1981) J Mol Biol 150: 1-14]에 기재되어 있고, 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다.

- [0383] 항체 분자의 발현 수준은 벡터 증폭에 의해 증가될 수 있다(검토를 위하여, 문헌[Bebbington CR & Hentschel CCG, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3(Academic Press, New York, 1987] 참조), 이 문헌은 그의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다). 항체를 발현하는 벡터 시스템에서 마커가 증폭될 수 있을 때, 숙주세포의 배양물에 존재하는 저해제 수준의 증가는 마커 유전자의 복제수를 증가시킬 것이다. 증폭된 영역이 항체 유전자와 관련되기 때문에, 항체의 생산 또한 증가할 것이다(Crouse GF *et al.*, (1983) Mol Cell Biol 3: 257-66, 이 문헌은 그의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다).
- [0384] 숙주세포는 본 명세서에 기재된 2개 이상의 발현벡터, 중쇄 유래된 폴리펩타이드를 암호화하는 제1 벡터 및 경쇄 유래된 폴리펩타이드를 암호화하는 제2 벡터로 동시-형질 도입될 수 있다. 2개의 벡터는 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드의 동일한 발현을 가능하게 하는 동일한 선택 가능한 마커를 포함할 수 있다. 숙주세포는 둘 이상의 발현벡터의 서로 다른 양으로 동시-형질 도입될 수 있다. 예를 들어, 숙주세포는 제1 벡터 및 제2 벡터의 하기 비율 중의 어느 하나로 형질도입될 수 있다: 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:12, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:35, 1:40, 1:45, 또는 1:50.
- [0385] 대안적으로, 단일 벡터가 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드 모두를 암호화하는데 사용될 수 있고, 이들을 발현할 수 있다. 이러한 경우, 경쇄는 독성을 갖는 자유 중쇄가 과도하게 발현되는 것을 방지하기 위하여, 중쇄 앞쪽에 위치되어야 한다(Proudfoot NJ (1986) Nature 322: 562-565; 및 Köhler G (1980) PNAS 77: 2197-2199, 이들의 각각은 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다). 중쇄 및 경쇄용 암호화 서열은 cDNA 또는 게놈 DNA를 포함할 수 있다. 발현 벡터는 모노시스트로닉(monocistronic) 또는 멀티시스트로닉(multicistronic)일 수 있다. 멀티시스트론 핵산 구조물은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 이상, 또는 2 내지 5, 5 내지 10 또는 10 내지 20 범위의 유전자/뉴클레오타이드 서열을 암호화할 수 있다. 예를 들어, 바이시스트론 핵산 구조물은 프로모터, 제1 유전자(예컨대, 본 명세서에 기재된 항체의 중쇄) 및 제2 유전자 및(예컨대, 본 명세서에 기재된 항체의 경쇄)를 순서대로 포함할 수 있다. 이러한 발현벡터에서, 두 유전자의 전사는 프로모터에 의해 유도될 수 있는 반면, 제1 유전자로부터의 mRNA의 번역은 캡-의존적 스캐닝 기전에 의해 이루어질 수 있고, 제2 유전자로부터의 mRNA의 번역은, 예를 들어, IRES에 의한 캡-비의존적 기전에 의해 이루어질 수 있다.
- [0386] 일단 본 명세서에 기재된 항체 분자가 재조합 발현에 의해 생산되면, 이는, 번역글로불린 분자의 정제를 위한 당업계의 공지된 임의의 방법, 예를 들어, 크로마토그래피(예컨대, 이온 교환, 친화성, 특히 특이적 항원과 단백질 A에 대한 친화성에 의해 및 크기 칼럼 크로마토그래피), 원심분리, 용해도 차이 또는 단백질 정제를 위한 임의의 다른 표준 기술에 의해 정제될 수 있다. 또한, 본 명세서에 기재된 항체는, 정제를 촉진하기 위해 본 명세서에 기재되거나 또는 당업계에 공지된 이중 폴리펩타이드 서열에 융합될 수 있다.
- [0387] 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체는 단리되거나 정제된다. 일반적으로, 단리된 항체는 단리된 항체와 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 존재하지 않는 항체이다. 예를 들어, 특별한 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체의 제작물은 세포 물질 및/또는 화학적 전구 물질을 실질적으로 포함하지 않는다. "세포 물질이 실질적으로 존재하지 않는다"는 용어는 항체가 단리되거나 재조합적으로 생산된 세포의 세포성분으로부터 분리된 항체의 제작물을 포함한다. 따라서, 세포 물질이 실질적으로 존재하지 않는 항체는 이중 단백질(또는 본 명세서에서 "오염 단백질"이라고도 함)을 약 30%, 20%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0.5% 또는 0.1% (건조 중량 기준) 미만으로 가지는 항체 제작물 및/또는 항체 변이체, 예를 들어, 항체의 상이한 번역 후 변형된 형태 또는 항체의 다른 상이한 버전(예컨대, 항체 단편)을 포함한다. 항체가 재조합적으로 생산될 때, 또한, 일반적으로 배양 배지가 실질적으로 없는, 즉, 배양 배지는 단백질 제작물 부피의 약 20%, 10%, 2%, 1%, 0.5% 또는 0.1% 미만을 나타낸다. 항체가 화학합성에 의해 생산될 때, 일반적으로 화학 전구물질 또는 다른 화학물질이 실질적으로 없는, 즉, 단백질의 합성에 관여하는 화학 전구물질 또는 다른 화학물질로부터 분리된다. 따라서, 항체의 그러한 제작물은 관심대상 항체가 아닌 화학 전구물질 또는 화합물의 약 30%, 20%, 10% 또는 5%(건조 중량 기준) 미만을 갖는다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체는 단리되거나 정제된다.
- [0388] TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 단편은, 예를 들어, 화학적 합성 또는 재조합 발현 기술에 의해 항체의 합성을 위한 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 본 명세서에 기재된 방법은, 달리 명시되지 않는 한, 분자 생물학, 미생물학, 유전 분석, 재조합 DNA, 유기 화학, 생화학,

PCR, 올리고뉴클레오타이드 합성 및 변형, 핵산 혼성화 및 당해 기술 분야의 관련 분야에서 통상적인 기술을 사용한다. 이들 기술은, 예를 들어, 본 명세서에 인용된 참고 문헌에 기재되어 있고, 상기 문헌에서 충분히 설명되어 있다. 예컨대, 문헌[Maniatis T *et al.*, (1982) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J *et al.*, (1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J *et al.*, (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel FM *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1987 and annual updates); *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons (1987 and annual updates) Gait (ed.) (1984) *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press; Eckstein (ed.) (1991) *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, IRL Press; Birren B *et al.*, (eds.) (1999) *Genome Analysis: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press] 참조, 이들은 모두 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 인용됨.

[0389] 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항체는 생성, 예를 들어, DNA 서열의 유전 공학을 통한 합성을 포함하는 임의의 수단에 의해, 제조(예컨대, 재조합 항체), 발현, 생성 또는 단리된 항체이다. 소정의 실시형태에 있어서, 이러한 항체는 생체내에서 동물 또는 포유류(예컨대, 인간)의 항체 생식선 레퍼토리 내에 자연적으로 존재하지 않는 서열(예컨대, DNA 서열 또는 아미노산 서열)을 포함한다.

[0390] 일 양상에 있어서, 본 명세서에서는, 본 명세서에 기재된 세포 또는 숙주세포를 배양하는 단계를 포함하는, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 항체를 제조하는 방법이 제공된다. 일 실시형태에 있어서, 방법은 시험관 내에서 수행된다. 소정의 양상에 있어서, 본 명세서에서는, 본 명세서에 기재된 세포 또는 숙주세포(예컨대, 본 명세서에 기재된 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 세포 또는 숙주세포)를 사용하여 항체를 발현(예컨대, 재조합적으로 발현)시키는 단계를 포함하는, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 항체를 제조하는 방법이 제공된다. 특별한 실시형태에 있어서, 세포는 단리된 세포이다. 특별한 실시형태에 있어서, 외인성 폴리뉴클레오타이드는 세포 내로 도입되었다. 특별한 실시형태에 있어서, 방법은 세포 또는 숙주세포로부터 수득한 항체를 정제하는 단계를 추가로 포함한다.

[0391] 다클론성 항체를 생산하는 방법은 당업계에서 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Chapter 11 in: *Short Protocols in Molecular Biology*, (2002) 5th Ed., Ausubel FM *et al.*, eds., John Wiley and Sons, New York] 참조, 이 문헌은 그의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다).

[0392] 단클론성 항체는 하이브리도마, 재조합 및 파지 디스플레이 기술 또는 이들의 조합의 사용을 포함하는 당업계에서 공지된 다양한 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 단클론성 항체는, 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, 문헌[Harlow E & Lane D, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling GJ *et al.*, in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)]에 기재되어 있는 것을 포함하는 하이브리도마 기술을 이용하여 생산될 수 있는데, 이들의 각각은 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "단클론성 항체"는 하이브리도마 기술을 통해 생산된 항체에 제한되지 않는다. 예를 들어, 단클론성 항체는 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 단편, 예를 들어, 이러한 항체의 경쇄 및/또는 중쇄를 외인성으로 발현시키는 숙주세포로부터 재조합적으로 생산될 수 있다.

[0393] 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "단클론성 항체"는, 단일 세포(예컨대, 재조합 항체를 생산하는 하이브리도마 또는 숙주세포)에 의해 생산되는 항체인데, 항체는, 예를 들어, 당업계에 공지되거나 또는 본 명세서에서 제공된 실시예의 ELISA 또는 다른 항원-결합 또는 경쟁적 결합 분석법에 의해 결정된 바와 같이, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합한다. 특별한 실시형태에 있어서, 단클론성 항체는 키메라 항체 또는 인간화 항체일 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 단클론성 항체는 1가(monovalent) 항체 또는 다가(예컨대, 2가) 항체이다. 특별한 실시형태에 있어서, 단클론성 항체는 단일특이적 또는 다중특이적 항체(예컨대, 이중특이적 항체)이다. 본 명세서에 기재된 단클론성 항체는, 예를 들어, 그 전체가 본 명세서에 참고로 인용된 문헌[Kohler G & Milstein C (1975) *Nature* 256: 495]에 기재된 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있거나, 또는, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 기술을 이용한 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 클론 세포주 및 이에 의해 발현된 단클론성 항체의 생산을 위한 다른 방법은 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, 문헌 [Chapter 11 in: *Short Protocols in Molecular Biology*, (2002) 5th Ed., Ausubel FM *et al.*](상기 참조) 참조).

[0394] 하이브리도마 기술을 사용하여 특이적 항체를 생산하고 스크리닝하는 방법은 일상적이고 당업계에 공지되어 있

다. 예를 들어, 하이브리도마 방법에서, 마우스 또는 양, 염소, 토끼, 래트, 햄스터 또는 원숭이와 같은 다른 적절한 숙주동물은, 면역화를 위해 사용된 상기 단백질(예컨대, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3))에 특이적으로 결합할 항체를 생산하거나 또는 생산할 수 있는 림프구를 유도하도록 면역화된다. 대안적으로, 림프구는 시험관 내에서 면역화될 수 있다. 이어서, 림프구는 폴리에틸렌 글리콜과 같은 적절한 용합제를 사용하여 골수종 세포와 용합되어, 하이브리도마 세포를 형성한다(그 전체가 본 명세서에 참고로 인용된 문헌[Goding JW (Ed), *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)]). 또한, RIMMS(repetitive immunization multiple sites) 기술은 동물을 면역화하는데 사용될 수 있다(그 전체가 본 명세서에 참고로 인용된 문헌[Kilpatrick KE *et al.*, (1997) *Hybridoma* 16:381-9]).

[0395] 몇몇 실시형태에 있어서, 마우스(또는 래트, 원숭이, 당나귀, 돼지, 양, 햄스터 또는 개와 같은 다른 동물)는 항원(예컨대, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3))으로 면역화될 수 있고, 면역반응이 검출되는데, 예를 들어, 항원에 특이적인 항체가 마우스 혈청에서 검출되고, 상기 마우스 비장을 적출하며, 비장세포는 단리된다. 이어서, 비장 세포는 공지된 방법에 의해, 임의의 적합한 골수종 세포, 예를 들어, ATCC®(American Type Culture Collection)(버지니아주 머내서스 소재)로부터 입수 가능한 세포주 SP20로부터의 세포에 하이브리도마를 형성하도록 용합된다. 하이브리도마는 제한 희석(limited 희석)에 의해 선택되고 클로닝된다. 소정의 실시형태에 있어서, 면역화된 마우스의 림프절이 적출되고, NSO 골수종 세포와 용합된다.

[0396] 이렇게 제조된 하이브리도마 세포는 바람직하게는 용합되지 않은, 모체 골수종 세포의 성장 및 생존을 저해하는 하나 이상의 물질을 포함하는 적절한 배지에 접종되고 성장된다. 예를 들어, 모체 골수종 세포에 효소인 하이포잔틴 구아닌 포스포리보실 전이효소(HGPRT 또는 HPRT)가 결핍되면, 상기 하이브리도마용 배양 배지는 HGPRT 결핍 세포의 성장을 예방하는 하이포잔틴, 아미노프테린 및 티미딘을 포함할 것이다(HAT 배지).

[0397] 특정 실시형태는 효율적으로 용합하고, 선택된 항체-생산 세포에 의한 항체의 안정한 고-수준 생산을 지원하며 및 HAT 배지와 같은 배지에 민감한 골수종 세포를 사용한다. 이들 골수종 세포주 중에서 NSO 세포주와 같은 마우스의 골수종 세포주 또는 미국 캘리포니아주 샌디에고 소재의 사크 인스티튜트 셀 디스트리뷰션 센터(Sark Institute Cell Distribution Center)로부터 입수 가능한 MOPC-21 및 MPC-11 마우스 종양으로부터 유래된 것 및 미국 메릴랜드주 록빌 소재의 ATCC에서 입수 가능한 SP-2 또는 X63-Ag8.653 세포이다. 또한, 인간 골수종 및 마우스-인간 헤테로 골수종 세포주는 인간 단클론성 항체의 생산을 위해 기재되어 있다((Kozbor D (1984) *J Immunol* 133: 3001-5; Brodeur *et al.*, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987), 이들의 각각은 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다).

[0398] 하이브리도마 세포가 성장하는 배양 배지가 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 대한 단클론성 항체의 생산을 위해 결정된다. 하이브리도마 세포에 의해 생산된 단클론성 항체의 결합 특이성은 당업계에 공지된 방법, 예를 들어, 면역침전 또는 방사면역검정(RIA) 또는 효소-결합 면역흡착 검정(ELISA)과 같은 시험관 내에서의 결합 분석법에 의해 결정된다.

[0399] 하이브리도마 세포가 원하는 특이성, 친화도 및/또는 활성의 항체를 생산하는 것으로 확인한 후, 상기 클론은 한계 희석 과정에 의해 서브클로닝될 수 있고, 표준 방법으로 성장할 수 있다(Goding JW (Ed), *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, (상기 참조)). 이러한 목적을 위한 적절한 배양 배지는, 예를 들어, D-MEM 또는 RPMI 1640 배지를 포함한다. 또한, 상기 하이브리도마 세포는 동물에서 복수 종양으로서 생체내에서 성장될 수 있다.

[0400] 서브클론에 의해 분비된 상기 단클론성 항체는, 예를 들어, 단백질 A-세파로스, 히드록시아파타이트 크로마토그래피, 겔전기영동, 투석 또는 친화도 크로마토그래피와 같은 통상적인 면역글로불린 정제과정에 의해 배양배지, 복수액 또는 혈청으로부터 적절하게 분리된다.

[0401] 본 명세서에 기재된 항체는 특정 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)을 인식하고, 당업자에게 공지된 임의의 기술에 의해 생성될 수 있는 항체 단편을 포함한다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 Fab 및 F(ab')₂ 단편은 (Fab 단편을 생성하기 위한) 파파인 또는 (F(ab')₂ 단편을 생성하기 위한) 펩신과 같은 효소를 사용하여 면역글로불린 분자의 단백질분해 절단에 의해 생산될 수 있다. Fab 단편은 항체 분자의 두 개의 동일한 암(arm) 중 하나에 상응하고, 중쇄의 VH 및 CH1 도메인과 쌍을 이루는 완전한 경쇄를 포함한다. F(ab')₂ 단편은 힌지 영역에서 다이설파이드 결합에 의해 연결된 항체 분자의 2 개의 항원-결합 암을 포함한다.

[0402] 추가로, 본 명세서에 기재된 항체는 또한 당업계에 공지된 다양한 파지 디스플레이 방법을 사용하여 생성될 수

있다. 파지 디스플레이 방법에서, 기능성 항체 도메인은 그들을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 갖는 파지 입자의 표면 상에 나타난다. 특히, VH 및 VL 도메인을 암호화하는 DNA 서열은 동물의 cDNA 라이브러리(예컨대, 감염된 조직의 인간 또는 마우스의 cDNA 라이브러리)로부터 증폭된다. VH 및 VL 도메인을 암호화하는 상기 DNA는 PCR에 의해 scFv 링커와 함께 재조합되고 파지미드 벡터에 클로닝된다. 상기 벡터는 대장균에 전기충격법으로 도입되고 대장균은 헬퍼 파지로 감염된다. 이러한 방법에 사용되는 파지는 전형적으로 fd 및 M13을 포함하는 섬유상의 파지이고, VH 및 VL 도메인은 통상적으로 파지 유전자 III 또는 유전자 VIII 중 어느 하나에 재조합적으로 융합된다. 특정 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 발현하는 파지는 항원, 예를 들어, 표지 항원 또는 고체 표면 또는 비드에 결합되거나 포획된 항원을 사용하여 항원으로 선택되거나 동정될 수 있다. 본 명세서에 기재된 항체의 제조방법에 사용될 수 있는 파지 디스플레이 방법의 예는 문헌[Brinkman U *et al.*, (1995) *J Immunol Methods* 182: 41-50; Ames RS *et al.*, (1995) *J Immunol Methods* 184: 177-186; Kettleborough CA *et al.*, (1994) *Eur J Immunol* 24: 952-958; Persic L *et al.*, (1997) *Gene* 187: 9-18; Burton DR & Barbas CF (1994) *Advan Immunol* 57: 191-280; PCT Application No. PCT/GB91/001134; 공제 공개 번호 WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/1 1236, WO 95/15982, WO 95/20401, 및 WO 97/13844; 및 미국 특허 제5,698,426호, 제 5,223,409호, 제5,403,484호, 제5,580,717호, 제5,427,908호, 제5,750,753호, 제 5,821,047호, 제5,571,698호, 제5,427,908호, 제5,516,637호, 제5,780,225호, 제5,658,727호, 제5,733,743호 및 제5,969,108호, 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용됨]에 기재된 것들을 포함한다.

[0403] 상기 참고 문헌에 기재된 바와 같이, 파지 선택 후, 상기 파지의 항체 암호화 영역은 분리되고, 인간 항체 또는 임의의 다른 원하는 항원 결합 단편을 포함하는 전체 항체를 생성하기 위해 사용될 수 있고, 포유동물 세포, 곤충세포, 식물세포, 효모 및 세균, 예를 들어, 하기에 기재된 것을 포함하는 임의의 원하는 숙주에서 발현될 수 있다. Fab, Fab' 및 F(ab')₂ 단편과 같이 항체 단편을 재조합적으로 생산하는 기술은, PCT 공개 번호 WO 92/22324; 문헌[Mullinax RL *et al.*, (1992) *BioTechniques* 12(6): 864-9; Sawai H *et al.*, (1995) *Am J Reprod Immunol* 34: 26-34; 및 Better M *et al.*, (1988) *Science* 240: 1041-1043]에 기재된 것과 같이, 당업계에 공지된 방법을 사용하는 것이 사용될 수 있으며, 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다.

[0404] 소정의 실시형태에 있어서, 전체 항체를 생성하기 위해, VH 또는 VL 뉴클레오타이드 서열, 제한효소 부위 및 상기 제한효소 부위를 보호하기 위한 플랭킹 서열을 포함하는 PCR 프라이머가 주형, 예를 들어, scFv 클론으로부터 VH 또는 VL 서열을 증폭시키기 위해 사용될 수 있다. 당업자에게 공지된 클로닝 기술을 이용하여, 상기 PCR 증폭된 VH 도메인은 VH 불변 영역을 발현하는 벡터에 클로닝될 수 있고, 상기 PCR 증폭된 VL 도메인은 VL 불변 영역, 예를 들어, 인간 카파 또는 람다 불변 영역을 발현하는 벡터에 클로닝될 수 있다. 또한, VH 및 VL 도메인은 필수적인 불변 영역을 발현하는 하나의 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 이어서, 중쇄 전환 벡터 및 경쇄 전환 벡터는, 당업자에게 공지된 기술을 사용하여 전장 항체, 예를 들어, IgG를 발현하는 안정적 또는 일시적 세포주를 생성하기 위해 세포주에 공통 형질도입될 수 있다.

[0405] 키메라 항체는 항체의 상이한 부분이 상이한 면역 글로불린 분자로부터 유래된 분자이다. 예를 들어, 키메라 항체는 인간 항체의 불변 영역에 융합된 마우스 또는 래트 단클론성 항체의 가변 영역을 포함할 수 있다. 키메라 항체를 생산하는 방법은 당업계에 공지되어있다. 예컨대, 문헌[Morrison SL (1985) *Science* 229: 1202-7; Oi VT & Morrison SL (1986) *BioTechniques* 4: 214-221; Gillies SD *et al.*, (1989) *J Immunol Methods* 125: 191-202]; 및 미국 특허 제5,807,715호, 4,816,567호, 제4,816,397호 및 제6,331,415호 참조, 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다.

[0406] 인간화 항체는 미리 결정된 항원에 결합할 수 있고, 인간 면역글로불린의 아미노산 서열을 실질적으로 가지는 프레임워크 영역 및 비-인간 면역글로불린(예컨대, 쥐와 면역글로불린)의 아미노산 서열을 실질적으로 가지는 CDR을 포함한다. 특정 실시형태에 있어서, 인간화 항체는 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc), 전형적으로 인간 면역글로불린의 적어도 일부를 포함한다. 항체는 또한 중쇄의 CH1, 힌지, CH2, CH3 및 CH4 영역을 포함할 수 있다. 인간화된 항체는 IgM, IgG, IgD, IgA 및 IgE, 및 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 및 IgG₄를 포함하는 임의의 이소타입을 포함하는, 를 포함하는 면역글로불린의 임의의 클래스로부터 선택될 수 있다. 인간화 항체는, CDR-이식(유럽 특허 제EP 239400호; 국제 공개 번호 WO 91/09967; 및 미국 특허 제5,225,539호, 제5,530,101호 및 제5,585,089호), 축성(veneering) 또는 표면치환(resurfacing)(유럽 특허 제EP 592106호 및 제EP 519596호; Padlan EA (1991) *Mol Immunol* 28(4/5): 489-498; Studnicka GM *et al.*, (1994) *Prot Engineering* 7(6): 805-814; 및 Roguska MA *et al.*, (1994) *PNAS* 91: 969-973), 사슬 셔플링(chain shuffling)(미국 특허 제5,565,332호), 및 예컨대, 미국 특허 제6,407,213호, 미국 특허 제5,766,886호, 국제 공개 번호 WO 93/17105; 문헌[Tan P *et al.*, (2002) *J Immunol* 169: 1119-25; Caldas C *et al.*, (2000) *Protein Eng.* 13(5): 353-60; Morea V *et*

al., (2000) *Methods* 20(3): 267-79; Baca M *et al.*, (1997) *J Biol Chem* 272(16): 10678-84; Roguska MA *et al.*, (1996) *Protein Eng* 9(10): 895-904; Couto JR *et al.*, (1995) *Cancer Res.* 55 (23 Supp): 5973s-5977s; Couto JR *et al.*, (1995) *Cancer Res* 55(8): 1717-22; Sandhu JS (1994) *Gene* 150(2): 409-10 및 Pedersen JT *et al.*, (1994) *J Mol Biol* 235(3): 959-73]에 개시된 기술을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아닌, 당업계의 다양한 공지된 방법을 사용하여 생산될 수 있는데, 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. 또한, 그 전체가 본 명세서에 참고로 인용된 미국 특허공개 제2005/0042664 A1호(2005년 2월 24일)를 참조한다.

[0407] 다중 특이성(예컨대, 이중특이적 항체)을 제작하는 방법이 기재되어 있는데, 예를 들어, 미국 특허 제7,951,917호; 제7,183,076호; 제8,227,577호; 제5,837,242호; 제5,989,830호; 제5,869,620호; 제6,132,992호 및 제8,586,713호를 참조하며, 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다.

[0408] 단일 도메인 항체, 예를 들어, 경쇄가 결여된 항체는 당업계에 널리 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 문헌 [Riechmann L & Muyldermans S (1999) *J Immunol* 231: 25-38; Nuttall SD *et al.*, (2000) *Curr Pharm Biotechnol* 1(3): 253-263; Muyldermans S, (2001) *J Biotechnol* 74(4): 277-302]; 미국 특허 제6,005,079호; 및 공개 공개 번호 WO 94/04678, WO 94/25591 및 WO 01/44301을 참조하며, 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다.

[0409] 추가로, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항원에 특이적으로 결합하는 항체는, 결과적으로, 당업자에게 공지된 기술을 사용하여 항원을 "모방(mimic)"하는 항-이디오타입 항체를 생성하는데 이용될 수 있다. 예컨대, 문헌 [Greenspan NS & Bona CA (1989) *FASEB J* 7(5): 437-444; 및 Nissinoff A (1991) *J Immunol* 147(8): 2429-2438]을 참조하며, 이들의 각각은 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다.

[0410] 특별한 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 항-TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항체처럼, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)의 동일한 에피토프에 결합하는 본 명세서에 기재된 항체는 인간 항체이다. 특별한 실시형태에 있어서, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 대한 결합으로부터 본 명세서에 기재된 항체 중 어느 하나를 (예컨대, 용량 의존적 방식으로) 경쟁적으로 차단하는 본 명세서에 기재된 항체는 인간 항체이다. 인간 항체는 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용하여 생산될 수 있다. 예를 들어, 기능적 내인성 면역글로불린을 발현할 수는 없으나, 인간 면역글로불린 유전자는 발현할 수 있는, 트랜스제닉 마우스가 사용될 수 있다. 특히, 인간 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 유전자 복합체는 무작위로 또는 상동재조합에 의해 마우스 배아줄기세포에 도입될 수 있다. 대안적으로, 인간 중쇄 및 경쇄 유전자 이외에, 상기 인간 가변 영역, 불변 영역 및 다양성 영역이 마우스 배아줄기세포에 도입될 수 있다. 마우스 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 유전자는, 상동 재조합에 의한 인간 면역글로불린 유전자좌로의 도입과는 별도로 또는 동시에 비-기능적으로 표현될 수 있다. 특히, 상기 J_H 영역의 동형 접합체 결실은 내인성 항체 생산을 방해한다. 상기 변형된 배아줄기세포는 증식되고, 배반포에 미세주입되어, 키메라 마우스를 생산한다. 이어서, 키메라 마우스는 사육되어, 인간 항체를 발현하는 동형 접합체 자손을 생산한다. 트랜스제닉 마우스는 선택된 항원, 예를 들어, 항원(예컨대, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3))의 전부 또는 일부로 정상적인 방식으로 면역화된다. 항원에 대한 단클론성 항체는 통상적인 하이브리도마 기술을 사용하여 면역화된 트랜스제닉 마우스로부터 수득할 수 있다. 트랜스제닉 마우스에 의해 보유된 인간 면역글로불린 형질전환 유전자(transgene)는 B 세포 분화 동안 재배열하고, 이어 클래스 전환 및 체세포 돌연변이를 경험한다. 따라서, 이러한 기술을 사용하여, 치료에 유용한 IgG, IgA, IgM 및 IgE 항체를 생산하는 것이 가능하다. 인간 항체를 생산하기 위한 이러한 기술의 개요에 대해서는, 본 명세서에 참고로 인용된 문헌[Lonberg N & Huszar D (1995) *Int Rev Immunol* 13:65-93]을 참조한다. 인간 항체 및 인간 단클론성 항체를 생산하는 이러한 기술 및 그러한 항체를 생산하기 위한 프로토콜에 대한 상세한 설명은, 예컨대, 공개 공개 번호 WO 98/24893, WO 96/34096 및 WO 96/33735; 및 미국 특허 제5,413,923호, 제5,625,126호, 제5,633,425호, 제5,569,825호, 제5,661,016호, 제5,545,806호, 제5,814,318호 및 제5,939,598호를 참조하며, 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다. 인간 항체를 생산할 수 있는 마우스의 예는, Xenomouse™(아브제닉스사(Abgenix, Inc.)); 미국 특허 제6,075,181호 및 제6,150,184호), HuAb-마우스™(메데렉스사(Mederex, Inc.)/젠팜사(Gen Pharm)); 미국 특허 제5,545,806호 및 제5,569,825호), Trans Chromo Mouse™(키린사(Kirin)) 및 KM Mouse™(메데렉스사/키린사)을 포함하며, 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 인용된다.

[0411] TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3)에 특이적으로 결합하는 인간 항체는 인간 면역 글로불린 서열로부터 유래된 항체 라이브러리를 사용하는 상기 기재된 파지 디스플레이 방법을 포함하는 당업계에 공지된 다양한 방법에 의해 제조

될 수 있다. 또한, 미국 특허 제4,444,887호, 제4,716,111호, 및 제5,885,793호; 및 공제 공개 번호 WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735, 및 WO 91/10741을 참조하며, 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 원용된다.

[0412] 몇몇 실시형태에 있어서, 인간 항체는 마우스-인간 하이브리도마를 사용하여 생산될 수 있다. 예를 들어, Epstein-바 바이러스(EBV)로 형질전환된 사람 말초혈액 림프구는 마우스 골수종 세포와 융합되어, 인간 단클론성 항체를 분비하는 마우스-인간 하이브리도마를 생산할 수 있고, 이들 마우스-인간 하이브리도마는 표적 항원(예컨대, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3))에 특이적으로 결합하는 인간 단클론성 항체를 분비하는 것으로 결정하도록 스크리닝될 수 있다. 이러한 방법은 당업계에 공지되어 있고 기술되어 있고, 예컨대, 문헌[Shinmoto H *et al.*, (2004) *Cytotechnology* 46: 19-23; Naganawa Y *et al.*, (2005) *Human Antibodies* 14: 27-31]을 참조하며, 이들의 각각은 이들의 전문이 참고로 본 명세서에 원용된다.

[0413] **6.6 키트**

[0414] 또한, 본 명세서에서는, 본 명세서에 기재된 하나 이상의 항체 또는 약제학적 조성물 또는 이의 접합체를 포함하는 키트가 제공된다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에서는, 본 명세서에서 제공된 하나 이상의 항체와 같은, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물의 유효성분 중 하나 이상으로 채워진 하나 이상의 용기를 포함하는 약제 팩 또는 키트가 제공된다. 몇몇 실시형태에 있어서, 상기 키트는 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물 및 본 명세서에 기재된 것과 같은 임의의 예방 또는 치료용 제제를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 상기 키트는, 예컨대, 피토헤마글루티닌(PHA) 및/또는 포르볼 미리스테이트 아세테이트(phorbol myristate acetate: PMA)와 같은 T 세포 유사분열물(mitogen) 또는 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체와 같은 TCR 복합체 자극 항체를 포함할 수 있다. 이들 용기와 선택적으로 관련된 것은, 의약품 또는 생물 의약품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 기관이 정한 양식의 고지가 될 수 있는데, 상기 고지는 인간 투여를 위한 제조, 사용 또는 판매에 관한 기관의 승인을 반영한다.

[0415] 또한, 본 명세서에서는, 전술한 방법에 사용될 수 있는 키트가 제공된다. 일 실시형태에 있어서, 키트는 하나 이상의 용기에 담긴, 본 명세서에 기재된 항체, 바람직하게는 정제된 항체를 포함한다. 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 키트는 대조군으로서 실질적으로 분리된 TIM-3 항원(예컨대, 인간 TIM-3)을 포함한다. 다른 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 키트는 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항원과 반응하지 않는 대조 항체를 추가로 포함한다. 다른 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 키트는 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항원에 대한 항체의 결합을 검출하는 하나 이상의 구성요소를 포함한다(예컨대, 항체는 형광 화합물, 효소 기질, 방사성 화합물 또는 발광 화합물과 같은 검출 가능한 기질에 접합될 수 있거나 또는 상기 제1 항체를 인식하는 제2 항체는 검출 가능한 기질에 접합될 수 있다). 특정 실시형태에 있어서, 본 명세서에 제공된 키트는 재조합적으로 생산되거나 화학적으로 합성된 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항원을 포함할 수 있다. 또한, 상기 키트에 제공된 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항원은 고체 지지체에 부착될 수 있다. 보다 구체적인 실시형태에 있어서, 앞서 기재된 키트의 검출 수단은 TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항원이 부착된 고체 지지체를 포함한다. 이러한 키트는 또한 비-부착된 레포터-표지된 항-인간 항체 또는 항-마우스/랫 항체를 포함할 수 있다. 본 실시형태에서, TIM-3(예컨대, 인간 TIM-3) 항원에 대한 항체의 결합은 상기 레포터-표지된 항체의 결합에 의해 검출될 수 있다. 일 실시형태에 있어서, 본 발명은 생물학적 샘플에서 IM-3 항원(예컨대, 인간 TIM-3)을 시험관내 검정 및/또는 검출하기 위한 본 발명의 키트의 용도에 관한 것이다.

[0416] **7. 실시예**

[0417] 본 부분(즉, 부분 7)의 실시예는 제한으로써가 아니라 예시의 목적으로 제공된다.

[0418] **7.1 실시예 1: 인간 TIM-3에 대한 신규한 항체의 생성 및 특성규명**

[0419] 본 실시예는 인간 T 세포 면역글로불린 및 뮤신 도메인-3(TIM-3)에 결합하는 항체의 생성 및 특성규명을 기재한다. 특히, 본 실시예는 인간 TIM-3에 특이적으로 결합하고 인간 TIM-3의 기능을 저해하는 인간 항체의 생성을 기재한다.

[0420] 이하에 기재된 연구의 몇몇에 있어서, 본 발명의 항-TIM-3 항체의 활성도는 참조 항-TIM-3 항체 pab1944w 또는 Hum11의 활성도와 비교하였다. 항체 pab1944w는 미국 특허 제8,552,156호(전문이 참고로 본 명세서에 원용됨)에서 제공된 항체 8213 HVOLV0의 가변 영역에 기초하여 생성하였다. pab1944w의 서열은 표 7에 나타난다. 항체 pab1944w는, EU 넘버링 체계에 따라서 넘버링된, Fc 영역에서 N297A 돌연변이를 포함하는 IgG₁로서 발현되었다. 항체 Hum11은 미국 특허 공개 제US 2015/0218274호(전문이 참고로 본 명세서에 원용됨)에서 제공된 항체

ABTIM3-hum11의 가변 영역에 기초하여 생성되었다. Hum11의 서열은 표 7에 나타낸다. 항체 Hum11는, EU 넘버링 체계에 따라서 넘버링된, Fc 영역에서 S228P 돌연변이를 포함하는 IgG₄로서 발현되었다.

표 7

참조 항-TIM-3 항체의 서열.

서열 번호	설명	아미노산 서열
80	pab1944w VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGEIN PSNGRTNYNEKFKTRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGYYLYF DYWGQGLTVTVSS
81	pab1944w VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCHASQGIRINIGWYQQKPKGKAPKLLIYHGT NLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVQYGGFPWTFGGTKL EIK
89	pab1944w(IgG ₁ N297A) 전장 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGEIN PSNGRTNYNEKFKTRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGYYLYF DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVKPKCDKHTHTCPPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
90	pab1944w(IgG ₁ N297A) 전장 경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCHASQGIRINIGWYQQKPKGKAPKLLIYHGT NLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVQYGGFPWTFGGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
82	Hum11 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGNGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFP MDYWGQGTITVTVSS

[0421]

서열 번호	설명	아미노산 서열
83	Hum11 VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPKGKAPKLLI YAASNVEGVPFSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK
91	Hum11(IgG ₄ S228P) 전장 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGNGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFP MDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
92	Hum11(IgG ₄ S228P) 전장 경쇄	AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPKGKAPKLLI YAASNVEGVPFSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC

[0422]

[0423]

7.1.1 Retrocyte Display™ 기술을 이용한 항-TIM-3 항체의 생성

[0424] Retrocyte Display™ 라이브러리의 생성이 여기에 기재된다. 라이브러리 삽입물의 생성을 위하여, FACS 선별된 CD19 양성 인간 B 림프구로부터 페놀/클로포름을 통해서 전체 RNA를 추출하였다. 전체 RNA는 퍼멘타스사(Fermentas)로부터의 RevertAid 제1 가닥 cDNA 합성 키트(카탈로그 번호(Cat#) K1621 및 K1622)를 사용해서 제1-가닥 cDNA 합성을 위하여 사용하였다. 항체 가변 영역을 PCR에 의해 cDNA로부터 증폭시키고 레트로바이러스 발현 벡터(pCMA)에 클로닝시켰다. 이들 작제물을 이어서 젓과 preB 세포에 형질도입하여 Retrocyte Display™ 기술을 이용해서 표면 상에 항체를 발현시키기 위하여 사용하였다.

[0425] 위에서 기재된 바와 같이 생성된 Retrocyte Display™ 라이브러리를 재조합 인간 TIM-3 및 재조합 시노몰구스 TIM-3에 대해서 스크리닝하여, pab2085 및 pab2088로 표기된 두 항체의 동정을 유도하였다. pab2085 및 pab2088의 가변 영역의 서열 정보는 표 4에 요약되어 있다. 항체 pab2085 및 pab2088은 IgG₁ 항체로서 발현되었고 이하에 기재된 검정에서 분석되었다.

[0426] **7.1.2 TIM-3-발현 세포에 대한 항-TIM-3 항체의 결합**

[0427] 항체 pab2085 및 pab2088은 유세포 분석법을 이용해서 TIM-3-발현 세포에 대한 결합에 대해서 시험되었다. 요약하면, 인간 TIM-3을 발현하도록 조작된 야생형 젓과 1624-5 세포 또는 1624-5 세포를 마우스 Fc-수용체 블록(BD 파밍겐사(BD Pharmingen), Cat# 553142)과 항온처리하여 비-특이적 결합을 저감시켰다. 세척 후, 세포를 항-TIM-3 항체 또는 아이소타입 대조군 항체로 염색하고, FACSCalibur(BD 바이오사이언시즈사)를 이용해서 분석하였다. pab2085와 pab2088 둘 다는 야생형 1624-5 세포가 아니라 인간 TIM-3을 발현하는 1624-5 세포에 대한 결합을 나타내었다(도 1).

[0428] **7.1.3 항-TIM-3 항체에 대한 선택성 검정**

[0429] TIM-3에 대한 pab2085 및 pab2088의 선택성은 서스펜션 어레이 기술(suspension array technology)을 사용하여 TIM-1 및 TIM-4 패밀리를 구성원에 대해 평가되었다. Luminex® 미소구체는 COOH 비드 표면과의 아민 커플링을 통해서 재조합 인간 TIM-3 Fc(R&D 시스템즈사(R&D Systems), Cat# 2365-TM), 재조합 인간 TIM-3 His(시노 바이올로지컬사(Sino Biological), Cat# 10390-H08H), 재조합 시노몰구스 TIM-3 Fc(R&D 시스템즈사, Cat# 7914-TM), 재조합 인간 TIM-1 His(R&D 시스템즈사, Cat# 1750-TM), 또는 재조합 인간 TIM-4 His(R&D, Cat# 2929-TM)와 커플링되었다. 정제된 pab2085, pab2088, 및 IgG₁ 아이소타입 대조군 항체를 검정 완충액(로슈사, Cat# 11112589001) 중에서 10 ng/ml, 100 ng/ml, 및 1000 ng/ml로 희석시켰다. 각 희석액(25µl)을 96 하프-웰 필터 플레이트(밀리포어사(Millipore), Cat# MABVN1250)에서 1시간 동안 5µl의 검정 완충액 중에서 1500 Luminex® 미소구체와 함께 암소(dark)(20° C, 650 rpm)에서 항온처리하였다. 표준 곡선은 두 별의 25µl의 인간 IgG₁ 카파 표준(시그마사(Sigma), Cat# I5154)를 1:3 희석계열(0.08-540 ng/ml)과 함께 이용해서 생성하였다. 검출은 R-PE(2.5 µg/ml; 잭슨 이뮤노리서치사(Jackson ImmunoResearch), Cat# 109-116-097)로 표지된 60µl의 염소 항-인간 IgG F(ab)₂를 이용해서 또 다른 시간의 항온처리 시간(20° C, 650 rpm)에 수행하였다. 플레이트는 Luminex® 200 시스템(밀리포어사)을 이용해서 분석하였다. 48µl 샘플 용적에서 웰당 총 100비드가 계수되었다. PE MFI 값은 위에서 언급된 재조합 단백질에 대한 특이적 또는 비-특이적 결합을 결정하는데 사용하였다.

[0430] pab2085(도 2A)와 pab2088(도 2B)은 둘 다 인간 및 시노몰구스 TIM-3에의 특이적 결합을 나타내었고, TIM-1 또는 TIM-4에 대한 유의한 결합은 시험된 농도에서 관찰되지 않았다.

[0431] **7.1.4 Retrocyte Display™ 기술을 이용한 항-TIM-3 항체의 최적화**

[0432] 항체 pab2085 및 pab2088은 동일한 중쇄를 공유한다. 추가의 항-TIM-3 항체를 얻기 위하여, 중쇄 Retrocyte Display™ 서브-라이브러리는 pab2085 및 pab2088의 중쇄에 기초하여 생성되었고 더욱 다양한 경쇄 라이브러리와 조합되었다. 이 새로운 Retrocyte Display™ 라이브러리는 재조합 인간 TIM-3 및 재조합 시노몰구스 TIM-3에 대해서 더욱 스크리닝되어, 경쇄 최적화된 변이체의 동정을 초래하였다: pab2173, pab2174, pab2175, pab2176, pab2177, pab2178, pab2179, pab2180, pab2181, pab2182, pab2183, pab2184, pab2185, pab2186, pab2187, pab2188, pab2189, pab2190, pab2191 및 pab2192. 이들 경쇄 최적화된 변이체의 가변 영역의 서열 정보는 표 4에 나열되어 있다. 경쇄 최적화된 변이체는 야생형 IgG₁ Fc 영역 또는 IgG₁ 변이체 Fc 영역을 함유하는 항체로서

발현되었다. 이 IgG₁ 변이체 Fc 영역은 Fc 영역의 효과기 기능에 영향을 미치지 않는다.

[0433] 경쇄 최적화된 항체 pab2188는 경쇄 불변 도메인내, 카바트에 따라 넘버링된 T109S 치환(즉, 야생형 서열에 비해서 109번 위치에서 트레오닌의 세린으로의 치환)을 함유하는 항체이며, 이는 불변 영역의 프레임 내 가변 영역의 클로닝을 용이하게 한다. 이 돌연변이는 항체 결합 또는 기능에 영향을 미치지 않는 보존적 변형이다. 카바트에 따라서 넘버링된 경쇄의 109번 위치에 트레오닌을 함유하는 pab2188w로서 표시된 야생형 상대방이 또한 생성되었다. 항체 pab2188w는 IgG₁ N297A Fc 영역을 함유하는 항체로서 발현되었다.

[0434] **7.1.5 TIM-3-발현 세포에 대한 항-TIM-3 항체의 결합**

[0435] 경쇄 최적화된 변이체는 위에서 기재된 것과 유사한 유세포 분석 검정에서 인간 또는 시노몰구스 TIM-3을 발현하는 세포에 대한 결합에 대해서 평가되었다. 모든 변이체는 인간 TIM-3(도 3a 및 도 3b) 또는 시노몰구스 TIM-3(도 3c 및 도 3d)을 발현하도록 조작된 쥐과 1624-5 세포에 대한 결합을 나타내었지만, 야생형 쥐과 1624-5 세포는 그렇지 않았다(데시터 제시 생략).

[0436] 일차 인간 T 세포에 대한 경쇄 최적화된 변이체의 결합은 모 항체 pab2085의 것과 비교하였다. 요약하면, 건강한 공여체 버피 코트(buffy coat)(리서치 블러드 컴포넌츠, LLC(Research Blood Components, LLC))로부터의 피콜 구배(ficoll gradient)를 통해서 단리된 말초 혈액 단핵세포(PBMC)는 자성-기반 분리(밀테니이 바이오테크사(Miltenyi Biotec))를 사용해서 미접촉 범(pan)-T 세포가 농축되었다. 이어서 농축된 T 림프구의 모집단을, 37 °C 및 5% CO₂에서, 10% 열-불활성화된 FBS가 보충된 RPMI 배지에서 3일 동안 플레이트-결합된 항-CD3 항체(SP34, 3 µg/ml) 및 가용성 항-CD28 항체(CD28.1, 2 µg/ml)로 활성화시켰다. 활성화 후에, 세포를 15분 동안 실온에서 인간 Fc-수용체 블로킹으로 항온처리하여, 비-특이적 결합(FcR 블로킹, 바이오레전트사)을 저감시켰다. 항-TIM-3 또는 IgG 아이소타입 대조군 항체(12-포인트 용량 적정, 10,000 ng/ml 내지 0.06 ng/ml)를 개별의 샘플에 첨가하고, 30분 동안 4°C에서 항온처리하였다. 샘플을 2회 세척하고, FITC-접합된 항-카파 항체뿐만 아니라 항-CD3(BV711, OKT3), 항-CD4(BV605, OKT4) 및 항-CD8a(PE, RPA-T8)를 모두 2.5 µg/ml에서 함유하는 항체 각테일을 완충액(PBS, 2mM EDTA, 0.5% BSA, pH 7.2) 중에서 희석시키고, 각 샘플에 첨가하여, 30분 동안 4°C에서 항온처리하였다. 샘플을 2회 세척하고, LSRFortessa 유세포 분석기(BD 바이오사이언시즈사)를 사용해서 분석하였다. 유세포 분석법 플랫폼은 FACS DIVA와 WEHI Weasel 소프트웨어의 조합을 사용해서 분석하였다.

[0437] 도 4에 도시된 바와 같이, 이 연구에서 시험된 경쇄 최적화된 변이체는 모두 모 항체 pab2085보다 활성화된 인간 CD8+ T 세포에 대해서 더 강한 결합을 나타내었다.

[0438] 다음에, 항-TIM-3 항체 pab2188은 일차 시노몰구스 세포에 대한 그의 결합에 대해서 조사하였다. 시노몰구스 원숭이(월드와이드 프리메이즈사(Worldwide Primates, Inc.))로부터 단리된 냉동보존된 PBMC를 해동시키고, 세척하고, 이어서 유세포 분석을 시행하였다. 항체 항온처리 전에, 세포를 10% 시노몰구스 원숭이 혈청(압캠사(Abcam))으로 15분 동안 실온에서 처리하여 비-특이적 결합을 저감시켰다. 항-TIM-3 또는 IgG 아이소타입 대조군 항체(10-포인트 용량 적정, 20,000 ng/ml 내지 0.6 ng/ml)를 개별의 샘플에 첨가하고, 30분 동안 4°C에서 항온처리하였다. 샘플을 2회 세척하고, 완충액(PBS, 2mM EDTA, 0.5% BSA, pH 7.2)에 희석된 2.5 µg/ml의 FITC-접합된 항-카파 항체뿐만 아니라 항-CD11b(BV785, M1/70)를 함유하는 항체 각테일을 각 샘플에 첨가하고, 및 30분 동안 4°C에서 항온처리하였다. 샘플을 2회 세척하고 LSRFortessa 유세포 분석기(BD 바이오사이언시즈사)를 사용해서 분석하였다. 유세포 분석법 플랫폼은 FACS DIVA와 WEHI Weasel 소프트웨어의 조합을 사용해서 분석하였다.

[0439] 도 5에 나타난 바와 같이, 항-TIM-3 항체 pab2188은 용량-의존적 방식으로 일차 시노몰구스 골수성 세포에 결합하였다.

[0440] **7.1.6 항-TIM-3 항체의 리간드 차단 활성화도**

[0441] 항-TIM-3 항체는 조사된(irradiated) WR19L 쥐과 림프종 세포에 의해 발현된 포스파티딜세린에 대한 재조합 인간 또는 시노몰구스 TIM-3의 결합을 차단하는 능력에 대해서 시험되었다. 항-TIM-3 또는 IgG 아이소타입 대조군 항체(9-포인트 용량 적정, 인간에 대해서 20,000 ng/ml 내지 70 ng/ml; 또는 6-포인트 용량 적정, 시노몰구스 원숭이에 대해서 20,000 ng/ml 내지 625 ng/ml 시노몰구스 원숭이)를, 1X Annexin-V 결합 완충액(pH 7.4로 조절된 10mM HEPES, 140mM NaCl 및 2.5mM CaCl₂)에 30분 동안 실온에서 제조된 재조합 인간 TIM-3 Fc(R&D 시스템즈사, # 2365-TM) 또는 재조합 시노몰구스 TIM-3 Fc(R&D 시스템즈사, # 7914-TM)(10,000 ng/ml)로 항원처리하였다. 20 Gy에서 조사되고 1X Annexin-V 결합 완충액에 재현탁된 WR19L 세포를 1 x 10⁶ 개 세포/ml의 최종 밀도로 항-TIM-3: TIM-3-Fc 각테일에 첨가하고, 실온에서 45분 동안 항온처리하였다. 샘플을 1회 세척하고, 1X

Annexin-V 결합 완충액에 희석된 PE-접합된 항-Fc 항체(1:100 희석)뿐만 아니라 생존 균주(바이오레전트사, NIR 채널; 1:1000 희석)를 함유하는 항체 각테일을 각 샘플에 첨가하고, 20분 동안 실온에서 항온처리하였다. 이어서, 샘플을 1X Annexin-V 결합 완충액으로 1회 세척하고, 150 μ l 완충액(PBS, 2mM EDTA, 0.5% BSA, pH 7.2)에 재현탁시키고, LSRFortessa 유세포 분석기(BD 바이오사이언시즈사)를 사용해서 분석하였다. 유세포 분석법 플랫폼은 FACS DIVA를 사용해서 분석하였다.

[0442] 항-TIM-3 항체 pab2085 및 pab2188은 포스포티딜세린에 대한 제조합 인간 TIM-3(도 6A) 및 제조합 시노물구스 TIM-3(도 6B)의 결합을 차단하였다.

[0443] **7.1.7 포도상구균 장내독소 A(SEA) 자극 시 인간 PBMC에 대한 항-TIM-3 항체의 효과**

[0444] 일차 인간 PBMC에 대한 경쇄 최적화된 변이체의 기능성 활성도는 포도상구균 장내독소 A(SEA) 자극 후에 평가되었다. 요약하면, 냉동보존된 인간 PBMC(리서치 블러드 컴포넌츠)를 96-웰 NUNCLON 델타 표면 플레이트(delta surface plate)(NUNC™)에 Normocin™(인비트로젠사 #ant-nr) 및 10% 열-불활성화된 FBS(깁코사(Gibco), 인비트로젠 코포레이션(Invitrogen Corporation))가 보충된 RPMI1640에서 1 x 10⁵ 개 세포/웰에서 평판배양하였다. 세포를 5 μ g/ml의 항-PD-1 항체 펨브롤리주맙(로트 7002688300, 마이오덤사(Myoderm)), 항-TIM-3 항체(10 μ g/ml), 및 SEA 초항원(superantigen)(100 ng/ml, 독신 테크놀로지스사(Toxin Technologies))의 존재 하에 6일 동안 37°C 및 5% CO₂에서 배양하였다, 세포-무함유 상청액을 수집하고, 분석할 때까지 -80°C에서 저장하였다. IFN γ 수준은 AlphaLISA(퍼킨 엘머사(Perkin Elmer))를 사용해서 결정하였다.

[0445] 항-PD-1 항체 펨브롤리주맙과 병용되는 경우, 경쇄 최적화된 변이체는 이 일차 인간 PBMC 검정에서 IFN γ 생산을 증대시켰다(도 7).

[0446] pab2188w의 기능적 활성도는 변형된 프로토콜을 사용해서 SEA 자극 검정에서 분석하였다. 냉동보존된 인간 PBMC(리서치 블러드 컴포넌츠)는 96-웰 NUNCLON 델타 표면 플레이트(NUNC™)에서 Normocin™(인비트로젠사 #ant-nr) 및 10% 열-불활성화된 FBS(깁코사, 인비트로젠 코포레이션)가 보충된 RPMI1640에서 1 x 10⁵ 개 세포/웰에서 평판배양하였다. 세포를, 5 μ g/ml의 항-PD-1 항체 펨브롤리주맙(로트 7002688300, 마이오덤사), 항-TIM-3 항체(10 μ g/ml), 및 SEA 초항원(100 ng/ml, 독신 테크놀로지스사)의 존재 하에 9일 동안 37°C 및 5% CO₂에서 배양하였다. 이어서, 세포를 1회 세척하고 새로운 SEA 및 항체로 2일 동안 재자극시켰다. 세포-무함유 상청액을 수집하고, 분석할 때까지 -80°C에서 저장하였다. IFN γ 수준은 AlphaLISA(퍼킨 엘머사)를 사용해서 결정하였다.

[0447] 도 8A 내지 도 8F에 도시된 바와 같이, 항-TIM-3 항체 pab2188w(IgG₁ N297A)는, 단독으로 또는 항-PD-1 항체 펨브롤리주맙과 병용하여, 이 SEA 자극 검정에서 다수의 공여체로부터의 인간 PBMC 중에서 IFN γ 생산을 증대시켰다.

[0448] **7.2 실시예 2: CDR 돌연변이 유발을 이용한 항-TIM-3 항체의 최적화**

[0449] 결합 친화도를 향상시키기 위하여, 항-TIM-3 항체 pab2188w는 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 CDR 잔기의 지향된 돌연변이 유발을 이용해서 변형되었다. 요약하면, 6개의 Fab 파지 디스플레이 라이브러리는 모 항체 pab2188w에 기반하여 생성되었고, 각각은 NNK 축퇴 코돈 무작위화를 사용해서 변형된 CDRH 또는 CDRL 영역을 각각 함유한다. Fab 파지 라이브러리는 제조합 인간 및 시노물구스 TIM-3 항원에 대한 친화도-추진 선택을 시행하였다. AM-1, AM-2, AM-3, AM-4, AM-5, AM-6, AM-7, AM-8 및 AM-9로 표시된 9개의 클론을 결합 및 오프-레이트 측정(ff-rate measurement)에 기반하여 선택하였다. 이들 9개의 클론의 가변 영역의 서열 정보는 표 4에 요약되어 있다. 이들 변이체는 모두 pab2188w의 경쇄를 공유하지만 중쇄 CDR1에 돌연변이를 함유한다. AM-1 내지 AM-9는 IgG₁ N297A Fc 영역을 함유하는 전장 항체로서 표현되었고 이하에 기재된 실험에서 분석되었다.

[0450] **7.2.1 TIM-3-발현 세포에 대한 항-TIM-3 항체의 결합**

[0451] 인간 TIM-3을 이소성으로 발현하는 주르카트 세포에 대한 항체 AM-1 내지 AM-9의 결합은 유세포 분석에서 모 항체 pab2188w의 것과 비교하였다. 도 9A에 도시된 바와 같이, TIM-3-발현 주르카트 세포 및 AM-2 및 AM-6에 결합된 모든 변이체는 모 항체 pab2188w보다 더 강한 결합을 나타내었다. AM-2 및 AM-6의 결합은 카스미-3 (ATCC® CRL-2725™), TIM-3을 내생적으로 발현하는 인간 급성 골수성 백혈병 세포주(도 9B)뿐만 아니라, 포도상구균 장내독소 A(SEA)로 자극된 인간 CD8+ T 세포(도 9C) 및 SEA로 자극된 시노물구스 CD8+ T 세포(도 9D)를 이용해서 유세포 분석법에 의해 더욱 분석되었다. 인간 CD8+ T 세포에 대한 결합을 위하여, 건강한 공여체 버피 코트(리

서치 블러드 컴포넌츠, LLC)로부터의 피콜 구배를 이용해서 단리된 인간 PBMC를, 37°C 및 5% CO₂에서, 10% 열-불활성화된 FBS가 보충된 RPMI 배지에서 8일 동안 SEA (100 ng/ml)로 활성화시켰다. 활성화 후에, 세포를 15분 동안 실온에서 인간 Fc-수용체 블록으로 항온처리하여, 비-특이적 결합(FcR 블록, 바이오레전트사)을 저감시켰다. 항-TIM-3 또는 IgG 아이소타입 대조군 항체(12-포인트 용량 적정, 10,000 ng/ml 내지 0.06 ng/ml)를 개별의 샘플에 첨가하고, 30분 동안 4°C에서 항온처리하였다. 마찬가지로, 시노물구스 CD8+ T 세포에 대한 결합을 위하여, 단리된 시노물구스 PBMC를 냉동된 스톱(월드와이드 프리메이즈사)으로부터 해동시키고, 37°C 및 5% CO₂에서, 10% 열-불활성화된 FBS가 보충된 RPMI 배지에서 5일 동안 SEA (100 ng/ml)로 활성화시켰다. 활성화된 시노물구스 원숭이 PBMC를 인간 Fc-수용체 블록(FcR 블록, 바이오레전트사)과 시노물구스 원숭이 혈청(압캄사)의 조합과 함께 15분 동안 실온에서 항온처리하여 비-특이적 결합을 저감시켰다. 피코에리트린-접합된 AM-2 항체 또는 아이소타입 대조군 항체(바이오레전드 PE-접합, 6-포인트 용량 적정, 10,000 ng/ml 내지 41 ng/ml) 및 각각 2.5 µg/ml에서의 항-CD4 항체(BV605, OKT4) 및 항-CD8a 항체(PE, SK1)의 항체 각테일을 완충액(PBS, 2mM EDTA, 0.5% BSA, pH 7.2)에 희석시키고, 각 샘플에 첨가하고, 30분 동안 4°C에서 항온처리하였다. 샘플을 2회 세척하고, FITC-접합된 항-카파 항체뿐만 아니라, 항-CD3(BV711, OKT3), 항-CD4(BV605, OKT4), 및 항-CD8a(PE, RPA-T8)를 모두 2.5 µg/ml에서 함유하는 항체 각테일을, 완충액(PBS, 2mM EDTA, 0.5% BSA, pH 7.2)에 희석시키고, 각 샘플에 첨가하고, 30분 동안 4°C에서 항온처리하였다. 샘플을 2회 세척하고, LSRFortessa 유세포 분석기(BD 바이오사이언시즈사)를 사용해서 분석하였다. 유세포 분석법 플랫폼은 FACS DIVA와 WEHI Weasel 소프트웨어의 조합을 사용해서 분석하였다. Both AM-2 및 AM-6은 카스미-3 세포(도 9B) 및 활성화된 인간 CD8+ T 세포(도 9C)에 대한 결합을 나타내었다. AM-2는 또한 활성화된 시노물구스 CD8+ T 세포(도 9D)에 대한 결합을 나타내었다.

[0452] 다음에, 마찬가지로 검정에서, 일차 인간 및 시노물구스 CD14+ 골수성 세포에 대한 결합은 피코에리트린(PE)-접합된 pab2188w, AM-2, 또는 아이소타입 대조군 항체를 사용해서 유세포 분석법에 의해 분석하였다. 요약하면, 인간 또는 시노물구스 원숭이(월드와이드 프리메이즈사)로부터 단리된 냉동보존된 PBMC를 해동시키고, 세척하고, 이어서 유세포 분석을 시행하였다. 항체 항온처리 전에, 세포를 10% 시노물구스 원숭이 혈청(압캄사, Cat# ab155109)로 15분 동안 실온에서 처리하여 비-특이적 결합을 저감시켰다. PE-접합된 항-TIM-3 또는 IgG 아이소타입 대조군 항체(12-포인트 용량 적정, 인간 PBMC에 대해서 10,000 ng/ml 내지 0.05 ng/ml 및 시노물구스 원숭이 PBMC에 대해서 100,000 ng/ml 내지 0.5 ng/ml)를, 항-CD14 항체(APC, M5E2) 및 Zombie GreenTM 고정 가능한 생존능 마커를 함유하는 항체 각테일에서 개별의 샘플에 첨가하고, 이어서 30분 동안 4°C에서 항온처리하였다. 추가의 샘플을 단일 균주 보상 대조군(CD45-FITC, CD45-PE, 및 CD45-APC; 클론 MB4-6D6, 밀테니이사)을 위하여 따로 챙겨두었다. 샘플을 완충액에 2회 세척하고, LSRFortessa 유세포 분석기(BD 바이오사이언시즈사)를 사용해서 분석하였다. 유세포 분석법 플랫폼은 FACS DIVA와 WEHI Weasel 소프트웨어의 조합을 사용해서 분석하였다. AM-2는 모 항체 pab2188w보다 인간(도 9E) 및 시노물구스(도 9F) CD14+ 골수성 세포에서 더 강한 결합을 나타내었다.

[0453] **7.2.2 항-TIM-3 항체에 대한 선택성 검정**

[0454] TIM-3에 대한 AM-2 및 AM-6의 선택성은 현탁 검정 기술을 이용해서 평가되었다. Luminex[®] 미소구체는 COOH 비드 표면과의 아민 커플링을 통해서 재조합 인간 TIM-3 His(시노 바이올로지컬사, # 10390-H08H), 재조합 시노물구스 TIM-3 Fc(시노 바이올로지컬사, # 90312-C02H), 재조합 마우스 TIM-3 Fc(R&D 시스템즈사, # 1529-TM), 재조합 인간 TIM-1 His(R&D 시스템즈사, # 1750-TM), 재조합 인간 TIM-4 His(R&D, # 2929-TM), 재조합 인간 OX40 His(시노 바이올로지컬사, # 10481-H08H), 재조합 인간 GITR Fc(R&D 시스템즈사, # 689-GR), 재조합 인간 DR3 Fc(R&D 시스템즈사, # 943-D3), 및 재조합 인간 CD137 Fc(사내 제조된 재료)와 커플링시켰다. 정제된 pab2188w(IgG₁ N297A), AM-2(IgG₁ N297A), AM-6(IgG₁ N297A) 및 IgG₁ N297A 아이소타입 대조군 항체를 검정 완충액(로슈사 11112589001)에서 10000 ng/ml에서 0.1 ng/ml까지의 용량 적정으로 희석시켰다. 각 희석액(25µl)을 96 하프-웰 필터 플레이트(밀리포어사, MABVN1250)에서 1시간 동안 5µl 검정 완충액 중 1500 Luminex[®] 미소구체를 이용해서 암소(20° C, 650 rpm)에서 1시간 동안 항온처리하였다. 검출은 R-PE(2.5 µg/ml; JIR 109-116-097)로 표지된 60µl의 염소 항-인간 IgG F(ab)₂ 및 또 다른 항온처리 시간(20° C, 650 rpm)을 사용해서 수행하였다. 플레이트는 Luminex[®] 200 시스템(밀리포어사)을 이용해서 분석하였다. 48µl 샘플 용적에서 웰당 총 100비드가 계수되었다. PE MFI값은 재조합 단백질에 대한 특이적 또는 비-특이적 결합을 결정하는데 사용되었다.

[0455] 항-TIM-3 항체 pab2188w(도 10B), AM-2(도 10C), 및 AM-6(도 10D)은 인간 및 시노물구스 TIM-3에 대한 특이적

결합을 나타내었고, 시험된 농도에서 마우스 TIM-3, 인간 TIM-1, 인간 TIM-4, 인간 OX40, 인간 GITR, 인간 DR3, 또는 인간 CD137에 대한 유의한 결합이 검출되지 않았다.

[0456] **7.2.3 항-TIM-3 항체의 리간드 차단 활성도**

[0457] 항-TIM-3 항체 AM-2 및 AM-6은 인간 또는 시노몰구스 TIM-3에 대한 포스파티딜세린의 결합을 차단하는 그들의 능력에 대해서 더욱 분석되었다. 요약하면, 항-TIM-3 또는 IgG 아이소타입 대조군 항체(10-포인트 용량 적정, 40,000 ng/ml 내지 1000 ng/ml)를, 1X Annexin-V 결합 완충액(pH 7.4로 조정된 10mM Hepes, 140mM NaCl 및 2.5mM CaCl₂)에서 제조된 재조합 인간 TIM-3 Fc(R&D 시스템즈사, # 2365-TM) 또는 재조합 시노몰구스 TIM-3 Fc(R&D 시스템즈사, # 7914-TM) (10,000 ng/ml)와 함께 30분 동안 실온에서 항온처리하였다. 20 Gy에서 조사되고 1X Annexin-V 결합 완충액에 재현탁된 WR19L 세포를 1 x 10⁶개 세포/ml의 최종 밀도로 항-TIM-3: TIM-3-Fc 콕테일에 첨가하고, 실온에서 45분 동안 항온처리하였다. 샘플을 1회 세척하고, 1X Annexin-V 결합 완충액에 희석된 PE-접합된 항-Fc 항체(1:100 희석)뿐만 아니라 생존 균주(바이오레전드사, NIR 채널; 1:1000 희석)를 함유하는 항체 콕테일을 각 샘플에 첨가하고, 20분 동안 실온에서 항온처리하였다. 이어서, 샘플을 1X Annexin-V 결합 완충액으로 1회 세척하고, LSRFortessa 유세포 분석기(BD 바이오사이언시즈사)를 사용해서 분석하였다. 유세포 분석법 플랫폼은 FACS DIVA를 사용해서 분석하였다.

[0458] 도 11A 및 도 11B에 도시된 바와 같이, 항-TIM-3 항체 pab2188w, AM-2 및 AM-6은 포스파티딜세린-발현 세포에 대한 인간 또는 시노몰구스 TIM-3의 결합을 효율적으로 차단하였다.

[0459] **7.2.4 포도상구균 장내독소 A(SEA) 자극 시 인간 PBMC에 대한 항-TIM-3 항체의 효과**

[0460] pab2188w의 변이체의 기능적 활성도는 포도상구균 장내독소 A(SEA)에 의한 자극된 일차 인간 PBMC를 이용해서 분석하였다. 요약하면, 냉동보존된 인간 PBMC(리서치 블러드 컴포넌츠)를 96-웰 NUNCLON 델타 표면 플레이트(NUNC™)에서 Normocin™(인비트로젠사 #ant-nr) 및 10% 열-불활성화된 FBS(김코사, 인비트로젠 코포레이션)이 보충된 RPMI1640에서 1 x 10⁵개 세포/웰에서 평판배양하였다. 세포를, 5 µg/ml의 항-PD-1 항체 펌브롤리주맵(로트 7002688300, 마이오덱사), 항-TIM-3 항체(10 µg/ml), 및 SEA 초항원(100 ng/ml, 톡신 테크놀로지스사)의 존재 하에 9일 동안 37°C 및 5% CO₂에서 배양하였다. 이어서, 세포를 1회 세척하고 새로운 SEA 및 항체로 2일 동안 재자극시켰다. 세포-무함유 상청액을 수집하고, 분석할 때까지 -80°C에서 저장하였다. IFN γ 수준은 AlphaLISA(퍼킨 엘머사(Perkin Elmer))를 사용해서 결정하였다.

[0461] 도 12a 및 도 12b에 도시된 바와 같이, pab2188w의 다수의 변이체는, 단독으로 또는 항-PD-1 항체 펌브롤리주맵과 병용하여, 두 상이한 공여체로부터 인간 PBMC에서 IFN γ 생산을 증대시켰다.

[0462] **7.2.5 종양 침윤 림프구의 사이토카인 생산에 대한 항-TIM-3 항체의 효과**

[0463] 항-TIM-3 항체는, 활성화된 일차 종양 침윤 림프구(TIL)의 사이토카인 생산을 자극시키는 그의 능력에 대해서, 단독으로 또는 항-PD-1 항체와 병용해서 더욱 평가되었다. 새로운 비소세포 폐암(NSCLC)(제II기), 담낭 선암종(제IV기), 또는 유방암(제II기) 종양(매사추세츠 메디컬 스쿨 대학(UMass Medical School), 매사추세츠주 우스터 소재)으로부터의 단일-세포 현탁액을 기계적 현미해부를 통해서 단리시켰다. 몇몇 경우에, 섬유증에 따라서, 효소 소화(Liberase 및 DNaseI, 로슈사)가 필요하였다. 세포를 96-웰 NUNCLON 델타 표면 플레이트(NUNC™)에서 Normocin™ (인비트로젠사 #ant-nr), 재조합 인간 IL-2(20 U/ml, R&D 시스템즈사), 및 10% 열-불활성화된 FBS(김코사, 인비트로젠 코포레이션)가 보충된 RPMI1640에서 5 X 10⁴ 세포/웰로 1일 동안 체류시켰다. 다음 날, 샘플을 원심분리시키고, 관심대상 항체(20 µg/ml에서의 항-TIM-3 항체 및 5 µg/ml에서의 항-PD-1 항체 펌브롤리주맵) 및 항-CD3/CD28 마이크로비드(1:1 비드:세포비)를 함유하는 새로운 배양 배지를 100µl의 최종 용적으로 첨가하고 37°C 및 5% CO₂에서 3일 동안 항온처리하였다. 세포-무함유 상청액을 수집하고, 분석할 때까지 -80°C에서 저장하였다. IFN γ 및 TNF α 수준을 AlphaLISA(퍼킨 엘머사)를 사용해서 결정하였다.

[0464] 도 13A 내지 도 13F에 도시된 바와 같이, 항-TIM-3 항체는 NSCLC, 담낭 선암종, 또는 유방암 종양으로부터 유래된 활성화된 일차 TIL에 의해 IFN γ 및 TNF α 생산을 증대시켰다.

[0465] **7.2.6 결합 시 항-TIM-3 항체의 내재화**

[0466] 이 실시예에서, 세포 내로의 항-TIM-3 항체의 내재화를 분석하였다. 제1 세트의 실험에서, 항-TIM-3 항체 내재화는 α HFc-NC-DM1(비-절단성 링커, 모라텍 LLC(Moradec LLC)로 메이탄시노이드 DM1에 접합된 항-인간 IgG Fc

항체)을 이용해서 평가되었다. 이 이차 항체 약물 접합체 α HFc-NC-DM1은 시험 항체(예컨대, 항-TIM-3 항체)에 결합되고, 결과적으로 세포 내재화의 세포질에 세포독성 페이로드 DM1를 방출한다. 제2 세트의 실험에서, 내재화는 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE)에 직접 접합된 항-TIM-3 항체 pab2188w(IgG₁ N297A) 및 Hum11(IgG₄ S228P)을 사용해서 평가되었다. 각 항체는 유사한 약물-항체비(DAR; 아이소타입 대조군 = 3.5, pab2188w = 4.0, Hum11 = 3.0)를 나타내었고, 이는 내재화 시 동등한 수준의 항체-약물 접합체(ADC) 전달을 뒷받침하였다. 제3 세트의 실험에서, 내재화는 세포-붙임투성 형광 염료로 표지된 TIM-3 단백질의 세포이하 국재화에 의해 평가되었다.

[0467] 요약하면, 카스미-3(ATCC® CRL-2725™), TIM-3을 내생적으로 발현하는 급성 골수성 백혈병 세포주, 및 TIM-3을 발현하도록 조작된 주르카트 세포주를 웰당 2×10^4 의 밀도로 백색-바닥 조직 배양판에서 평판배양하였다. 이차 항체 약물 접합체 α HFc-NC-DM1을 이용한 제1 세트의 실험에 대해서, α HFc-NC-DM1(일차 항체와 1:1)와 협력하여 항-TIM-3 항체 또는 IgG 아이소타입 대조군 항체의 8-포인트 용량 적정(3,333ng/ml 내지 1ng/ml)을 100 μ l/웰의 최종 용적에서 세포에 첨가하였다. 세포를 일차 항체 및 이차 항체 약물 접합체와 함께 37°C 및 5% CO₂에서 72시간 동안 항온처리하였다.

[0468] 항-TIM-3 항체 pab2188w(IgG₁ N297A), AM-2(IgG₁ N297A), 및 AM-6(IgG₁ N297A) 내재화된 TIM-3은, 광범위한 항체 농도에 걸쳐서 더 큰 세포 생존율 저감에 의해 입증된 바와 같이, α HFc-NC-DM1 실험에서 참조 항-TIM-3 항체 Hum11(IgG₄ S228P) 및 pab1944w(IgG₁ N297A)보다 주르카트 세포(도 14a) 및 카스미-3 세포(도 14b) 상에서 더 효과적으로 발현되었다.

[0469] 제2 세트의 실험에 대해서, 항체 pab2188w(IgG₁ N297A) 및 Hum11(ref, IgG₄ S228P)는, 항체의 상이한 Fc 영역에 결합하는 이차 약물 접합체(α HFc-NC-DM1)의 성향에서 잠재적인 차이를 설명하기 위하여 유사한 농도의 MMAE에 직접 접합시켰다. MMAE-접합된 항-TIM-3 항체 또는 MMAE-접합된 IgG 아이소타입 대조군 항체의 9-포인트 용량 적정(6,666 ng/ml 내지 1 ng/ml)을 100 μ l/웰의 최종용적에서 세포에 첨가하였다. 세포를 접합된 항체와 함께 37°C 및 5% CO₂에서 72시간 동안 항온처리하였다. 항온처리 후에, 90 μ l의 재구성된 Cell Titer Glo(프로메가사(Promega))를 각 웰에 첨가하고, 세포를 실온에서 5분 동안 항온처리하였다. 얻어진 발광을 엔비전 기기(Envision instrument)(퍼킨 엘머사)를 이용해서 기록하였다.

[0470] 도 14c에 도시된 바와 같이, 항체 pab2188w(IgG₁ N297A)는 항체 Hum11(ref, IgG₄ S228P)보다 더 큰 세포 생존율의 저감을 유도하였고, 이것은 이차 항체 약물 접합체(예컨대, 도 14a에 도시된 바와 같음)에서 관찰된 효과가 각각의 TIM-3 항체의 내재화 전위에 기인하였음을 나타낸다.

[0471] 제3 세트의 실험에서, 항-TIM-3 항체의 내재화는 생세포의 공초점 형광 현미경법에 의해 분석하였다. 할로 태그-TIM-3 융합 단백질을 발현하는 주르카트 세포를 우선 1 μ M 바이올렛 프롤리페레이션 다이(Violet Proliferation Dye) 450(BD)와 함께 37°C 및 5% CO₂에서 30분 동안 항온처리하였다. 항온처리 후에, 세포를 PBS 중에서 세척하고 세포 배양 배지에 재현탁시켰다. TIM-3의 세포의 도메인을 검출하기 위하여, 주르카트 할로 태그-TIM-3 세포를 막-불투과성 할로 태그 Alexa Fluor 488 리간드(프로메가사, 1 μ M)로 15분 동안 37°C 및 5% CO₂에서 염색하였다. 이어서, 세포를 새로운 배양 배지에 재현탁시키고, 항-TIM-3 항체 AM-2(IgG₁ N297A) 또는 아이소타입 대조군(10 μ g/ml에서의 각 항체)에서 384-웰 현미경측정 플레이트(15,000 세포/웰)에 평판배양하였다. 라이프 영상은 환경 제어(37°C 및 5% CO₂) 하에 ImageXpress Micro Confocal High-Content 현미경(몰리콜라 디바이시즈사(Molecular Devices))을 이용해서 수집하고, 영상은 3.5시간의 과정에 걸쳐서 매 30분 획득하였다. 영상 분석은 MetaXpress 분석 소프트웨어(몰리콜라 디바이시즈사)를 사용해서 분석하였다. 주르카트 세포를 DAPI 채널(바이올렛 프롤리페레이션 다이 450)로부터 동정하고 내재화된 TIM-3 신호의 양을 FITC 채널(할로 태그 Alexa Fluor 488)로부터 세포당 정량하였다.

[0472] 도 15에 도시된 바와 같이, 시간 경과에 따른 TIM-3 내재화의 증가는 아이소타입 대조군 항체와 함께 항온처리된 세포에 비해서 항-TIM-3 항체 AM-2와 함께 항온처리된 세포에 대해서 관찰되었다. 특히, 3.5시간 후에, AM-2 항체 처리 결과, 아이소타입 대조군 항체로 처리된 TIM-3-양성 세포에 비해서TIM-3 내재화를 나타내는 TIM-3-양성 세포의 백분율이 2배였다(즉, 각각 15.1% 내재화 대 7.2% 내재화). 또한, AM-2 항체-처리된 세포에 대해서 관찰된 내재화 신호는 아이소타입 대조군 항체로 처리된 세포보다 3.5시간에 유의하게 더 높았다(p=0.00027, 단측 T 시험(one-tailed T test)). 0-시간 시점에서 통계학적으로 유의한 차이는 없었다(p=0.91, 단측 T 시험).

[0473] **7.3 실시예 3: 항-TIM-3 항체의 에피토프 매핑**

[0474] 이 실시예에서, 항-TIM-3 항체 pab2188(IgG₁ 변이체), pab2187(IgG₁ 변이체), 및 AM-2(IgG₁ N297A)의 에피토프가 특성 규명되었다.

[0475] **7.3.1 알라닌 스캐닝을 이용한 항-TIM-3 항체의 에피토프 매핑**

[0476] 항-TIM-3 항체 pab2188(IgG₁ 변이체) 및 pab2187(IgG₁ 변이체)의 결합 특성은 알라닌 스캐닝에 의해 평가되었다. 요약하면, 애질런트 테크놀로지스(Agilent Technologies)로부터의 퀵체인지 HT 단백질 엔지니어링 시스템(QuikChange HT Protein Engineering System)(Cat# G5901A)이 세포의 도메인에서 알라닌 치환을 가진 인간 TIM-3 돌연변이체를 생성하는데 사용되었다. 인간 TIM-3 돌연변이체는 레트로바이러스 형질도입을 이용해서 췌장 1624-5 pre-B 세포의 표면 상에 발현되었다. 인간 TIM-3을 발현하는 세포의 형질도입 효율(transduction efficiency) 및 백분율은 5% 미만으로 유지되어, 대부분의 세포가 2개 이상의 상이한 TIM-3 돌연변이체를 발현하지 않았음을 보장하였다.

[0477] 유세포 분석법에서 다클론성 항-TIM-3 항체(R&D 시스템즈사, Cat# AF2365)에 대한 결합에 의해 입증되는 바와 같이, 정확하게 접힌 인간 TIM-3 돌연변이체를 발현하는 세포가, 단클론성 항-TIM-3 항체 pab2188(IgG₁ 변이체) 또는 pab2187(IgG₁ 변이체)에 결합되지 않은 인간 TIM-3 돌연변이체를 발현한 하위-모집단에 대해서 더욱 선택되었다. 특이적 항체 결합을 발휘하는 세포가 조제용 고속 FACS(FACSAriaII, BD 바이오사이언시즈사)에 의해 비-결합 세포 모집단으로부터 분리되었다. 항체 반응성 또는 비반응성 세포 풀이 재차 조직 배양액에서 증대되었고, 항체-지향된 세포 선별 및 조직 배양 증대 사이클이, 명백하게 검출 가능한 항-TIM-3 항체(pab2188(IgG₁ 변이체) 또는 pab2187(IgG₁ 변이체)) 비-반응성 세포 모집단이 얻어질 때까지 반복되었다. 이 항-TIM-3 항체(pab2188(IgG₁ 변이체) 또는 pab2187(IgG₁ 변이체)) 비-반응성 세포 모집단이 최종의 단일-세포 또는 벌크 선별 단계를 거쳤다. 수일의 세포 증대 후에, 단일-세포 또는 벌크 선별된 세포가 재차 유세포 분석법을 이용해서 다클론성 항-TIM-3 항체에 대한 결합 및 단클론성 항체 pab2188(IgG₁ 변이체) 또는 pab2187(IgG₁ 변이체)에 대한 비-결합에 대해서 시험되었다.

[0478] 표현형을 유전자형과 연결시키기 위하여, NGS 서열분석이 인간 TIM-3 돌연변이체를 발현하는 벌크 선별된 세포에 대해서 수행되었다. 서열 분석은, 단클론성 항-TIM-3 항체 pab2188(IgG₁ 변이체) 또는 pab2187(IgG₁ 변이체)이 아니라 다클론성 항-TIM-3 항체에 대해서 반응성인 세포가 서열번호 79에 따라서 넘버링된 40번 위치가 Phe에서 Ala로 돌연변이된 인간 TIM-3 돌연변이체를 발현하는 것을 나타내었다.

[0479] **7.3.2 수소-중수소 교환(HDX) 질량분광분석을 이용한 항-TIM-3 항체의 에피토프 매핑**

[0480] 제1 연구에서, pab2188(IgG₁ 변이체)과 인간 TIM-3의 상호작용이 수소-중수소 교환(HDX) 질량 분광법을 이용해서 연구되었다.

[0481] 탈글리코실화 처리를 위하여, 250µg의 재조합 인간 TIM-3/Fc 키메라(R&D 시스템즈사, Cat# 2365-TM)를 4µl의 PNGase F와 함께 37°C에서 3시간 동안 항온처리하였다. 인간 TIM-3/Fc 키메라는 인간 IgG₁에 융합된 서열번호 102의 아미노산 서열을 포함한다.

[0482] 펩신 소화를 위하여, 115µl의 대조 완충액(50mM 인산염, 100mM 염화나트륨, pH 7.4) 중 6.9µg의 천연 또는 탈글리코실화된 인간 TIM-3/Fc 키메라는, 115µl의 4M 구아니딘 염산염, 0.85M TCEP 완충액(최종 pH 2.5)을 첨가하고, 이 혼합물을 10°C에서 3분 동안 항온처리함으로써 변성시켰다. 이어서, 이 혼합물을 사내 패킹된 펩신 칼럼을 이용해서 온-칼럼(on-column) 펩신 소화시키고, 얻어진 펩타이드를, Q Exactive™ 혼성 4중극-오비트랩 질량 분광계(Hybrid Quadrupole-Orbitrap Mass Spectrometer)(써모사(Thermo))에 결합된 워터스 액유티(Waters Acquity) UPLC로 구성된 UPLC-MS 시스템을 이용해서 분석하였다. 펩타이드를 2 내지 32% 용매 B(아세트나이트릴 중 0.1% 폼산)로부터의 20.5분 구배로 50mm x 1mm C8 칼럼 상에서 분리시켰다. 펩타이드 동정은 Mascot 소프트웨어로 인간 TIM-3 서열에 대해서MS/MS 데이터의 검색을 통해서 수행하였다. 전구체 및 생성물 이온의 질량 허용도(mass tolerance)는 각각 20 ppm 및 0.05 Da이었다.

[0483] 10µl의 천연 또는 탈글리코실화된 인간 TIM-3/Fc 키메라(6.9µg), 10µl 천연 인간 TIM-3/Fc 키메라 및 항체 혼합물(6.9µg: 12.9µg), 또는 10µl 탈글리코실화된 인간 TIM-3/Fc 키메라 및 항체 혼합물(6.9µg: 12.9µg)을 105

μl 산화중수소 표지화 완충액(50mM 인산염, 100mM 염화나트륨, pD 7.4)과 함께 0초, 60초, 300초, 1800초, 7200초, 14400초, 및 28800초 동안 항온처리하였다. 중수소 교환은 천연 인간 TIM-3/Fc 키메라 및 항체와 이의 복합체에 대해서 10°C에서 또는 탈글리코실화된 인간 TIM-3/Fc 키메라 및 이의 항체와의 복합체 항체에 대해서 4°C에서 수행하였다. 중수소 교환은 115 μl 의 4M 구아니딘 염산염, 0.85M TCEP 완충액(최종 pH 2.5)을 첨가함으로써 반응 중지시켰다. 이어서, 반응 중지된 샘플에 대해서, 위에서 기재된 바와 같이 온-칼럼 펩신 소화 및 LC-MS 분석을 수행하였다. 질량 스펙트럼은 MS 단독 모드에서 기록되었다. 중수소 혼입의 계산을 위하여, 주어진 펩타이드에 대한 질량 스펙트럼은 추출된 이온 크로마토그램 피크를 가로질러 조합되었고, 가중 평균 m/z가 계산되었다. 천연 펩타이드(0분)의 질량으로부터 가중 평균 질량까지의 질량 증가는 중수소 혼입의 수준에 대응한다.

[0484] 천연 및 탈글리코실화된 인간 TIM-3에 대해서 달성된 서열 커버리지는 각각 71.6% 및 98.4%였다. 대부분의 인간 TIM-3 펩타이드가 항-인간 TIM-3 항체의 존재 및 부재 하에 동일 또는 유사한 중수소 수준을 나타낸 반면, 몇 가지 펩타이드 분절은 항체 결합 시 유의하게 감소된 중수소 혼입을 갖는 것으로 판명되었다. 천연 및 탈글리코실화된 인간 TIM-3은 둘 다 서열번호 94(VCWGKACPVFECGNVVL)의 아미노산 서열로 이루어진 영역과 서열번호 95(RIQIPGIMND)의 아미노산 서열로 이루어진 영역에서 항-인간 TIM-3 항체 pab2188(IgG₁ 변이체)에 결합 시 상당한 중수소 흡수의 저감을 나타내었다. 중수소 흡수의 가장 강한 감소는 서열번호 93(PVFECGN)의 아미노산으로 이루어진 영역에서 관찰되었다.

[0485] 다음에, AM-2(IgG₁ N297A)와 인간 TIM-3의 상호작용은, 위에서 기재된 것과 유사한 HDX 질량 분광측정 연구에서 연구되었다. 요약하면, 탈글리코실화된 인간 TIM-3/Fc 키메라는 단독으로 또는 항-인간 TIM-3 항체 AM-2(IgG₁ N297A)와 복합시켜 산화중수소에서 항온처리시켰다. 중수소 교환은 10°C에서 0초, 60초, 300초, 1800초, 7200초 및 14400초 동안 수행되었다. 교환 반응은 낮은 pH에 의해 반응 중지되었고, 반응 중지된 샘플은 위에서 기재된 바와 같이 온-칼럼 펩신/프로테아제 XIII 또는 프로테아제 XVIII 소화 및 LC-MS 분석을 수행하였다. 원시 MS 데이터는 H/D 교환 MS 데이터의 분석을 위한 HDX WorkBench, 소프트웨어를 이용해서 처리하였다(문헌[J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2012, 23(9), 1512-1521], 전문이 참고로 본 명세서에 인용됨). 중수소 수준은 변성된 펩타이드와 이의 천연 형태(t₀) 간의 평균 질량 차이를 이용해서 계산되었다.

[0486] 백 퍼센트 서열 커버리지가 탈글리코실화된 인간 TIM-3에 대해서 달성되었다. 항-TIM-3 항체 AM-2(IgG₁ N297A)는 pab2188(IgG₁ 변이체)에 의해 발휘된 바와 같이 유사한 결합 패턴을 나타내었다. 서열번호 94(VCWGKACPVFECGNVVL)의 아미노산 서열로 이루어진 하나의 영역과 및 서열번호 96(RIQIPGIMNDEKFNKL)의 아미노산 서열로 이루어진 다른 하나의 영역의 두 영역은, 탈글리코실화된 인간 TIM-3이 항-TIM-3 항체 AM-2(IgG₁ N297A)에 결합될 경우 강력한 중수소 보호를 경험하였다. 가장 강력한 감소가 서열번호 93(PVFECGN)의 아미노산 서열로 이루어진 영역에서 관찰되었다.

[0487] **7.3.3 펩스캔 분석을 이용한 항-TIM-3 항체의 에피토프 매핑**

[0488] 항-TIM-3 항체 pab2188(IgG₁ 변이체)의 결합은 칩-결합된 펩타이드 어레이로서 제조된 합성 TIM-3-관련 펩타이드 단편에 대해서 측정되었다. 분석은 네덜란드의 펠리스트ार्ट에 소재한 펩스캔 프레스토 BV(Pepscan Presto BV)에 의해 수행되었다. 요약하면, 인간 TIM-3의 에피토프를 작제하기 위하여, 펩타이드의 라이브러리를 합성하였다. 아미노 작용화된 폴리프로필렌 지지체는, 전용의 친수성 중합체 제형과의 그래프팅에 이어서, N-하이드록시벤조트리아아졸(HOBt)과 다이사이클로헥실카보다이이미드(DCC)를 사용해서 t-부틸옥시카보닐-헥사메틸렌다이아민(BocHMDA)과의 반응에 이어서, 후속적으로 트라이플루오로아세트산(TFA)을 이용한 Boc-기의 절단에 의해 얻어졌다. 표준 Fmoc-펩타이드 합성은 주문 변형된 JANUS 액체 취급 스테이션(피킨 엘머사)에 의한 아미노-작용화된 고체 지지체 상에서 펩타이드를 합성하는데 사용되었다. 구조적 모방체의 합성은 펩스캔 전용의 CLIPS(Chemically Linked Peptides on Scaffolds) 기술을 이용해서 수행하였다. CLIPS 기술은 펩타이드를 단일 루프, 이중 루프, 삼중 루프, 시트-유사 접힘, 나선형-유사 접힘 및 이들의 조합으로 구조화하는 것을 허용한다. 합성된 펩타이드의 각각에 대한 항체의 결합은 PEPSCAN-기반 ELISA에서 시험되었다. 펩타이드 어레이는 4°C에서 하룻밤 일차 항체 용액으로 항온처리하였다. 세척 후, 펩타이드 어레이를 염소 항-인간 HRP 접합체(서던 바이오테크사(Southern Biotech), Cat# 2010-05)와 함께 1시간 동안 25°C에서 항온처리하였다. 세척 후, 퍼옥시다제 기질인 2,2'-아지노-다이-3-에틸벤즈티아졸린 설포네이트(ABTS) 및 2 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 의 3% H₂O₂를 첨가하였다. 1시간 후에, 발색이 측정되었고, 전하 결합 소자(CCD)-카메라 및 영상 처리 시스템으로 정량화되었다.

[0489] 펄스칸 연구는, 항-TIM-3 항체 pab2188(IgG₁ 변이체)가 서열번호 99(GKGACPVFE)의 아미노산 서열로 이루어진 영역과 및 서열번호 100(DFTAAFPR)의 아미노산 서열로 이루어진 영역을 포함하는 인간 TIM-3의 신장을 인식한 것을 나타내었다.

[0490] * * *

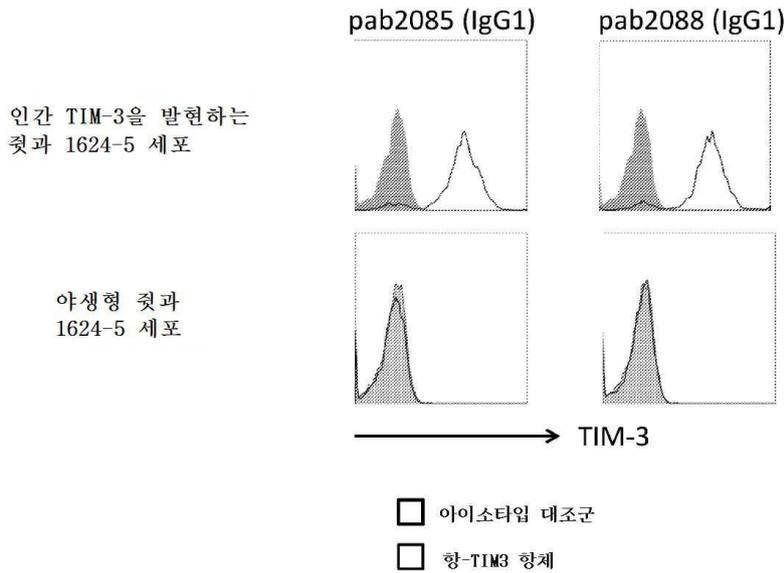
[0491] 본 발명은 본 명세서에 기재된 특정 실시형태에 의해 범위가 제한되지 않는다. 실제로, 이들 설명에 추가된 다양한 변형이, 전술한 설명 및 첨부된 도면으로부터 당업자에게 명백하게 될 것이다. 이러한 변형은 첨부된 청구 범위의 범위 내에 속한다.

[0492] 본 명세서에 인용된 모든 참조문헌(예컨대, 공보 또는 특허 또는 특허 출원)은, 각각의 개별적 참조문헌(예컨대, 공보 또는 특허 또는 특허 출원)이 전체로서 모든 목적을 위해 참고로 인용되는 것으로 구체적이고, 개별적으로 명시된 것과 동일한 정도로, 전체로서 모든 목적을 위해 본 명세서에서 참고로 인용된다.

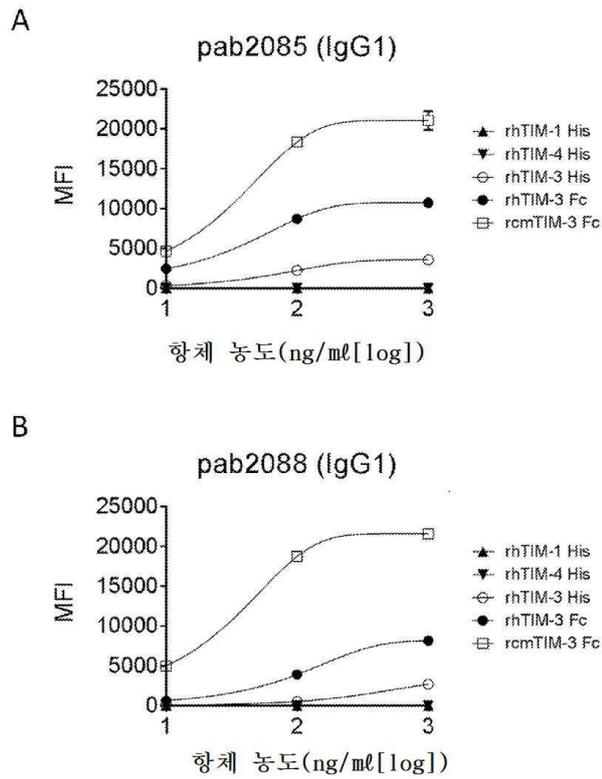
[0493] 다른 실시형태는 다음의 청구범위 내이다.

도면

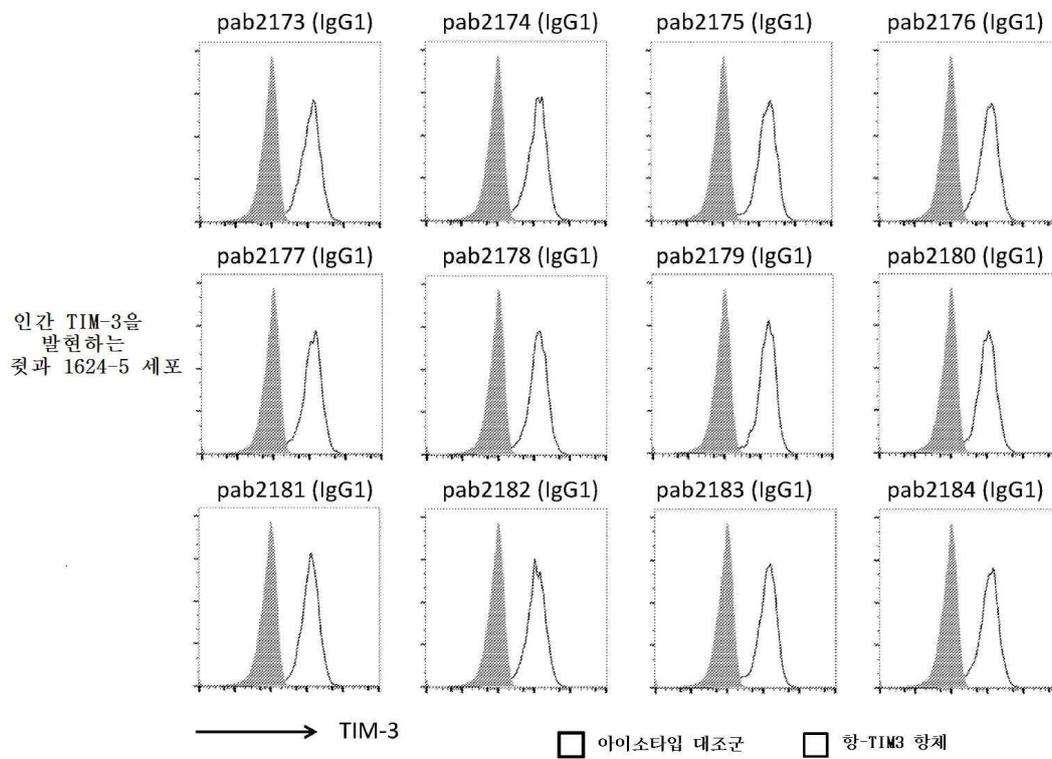
도면1



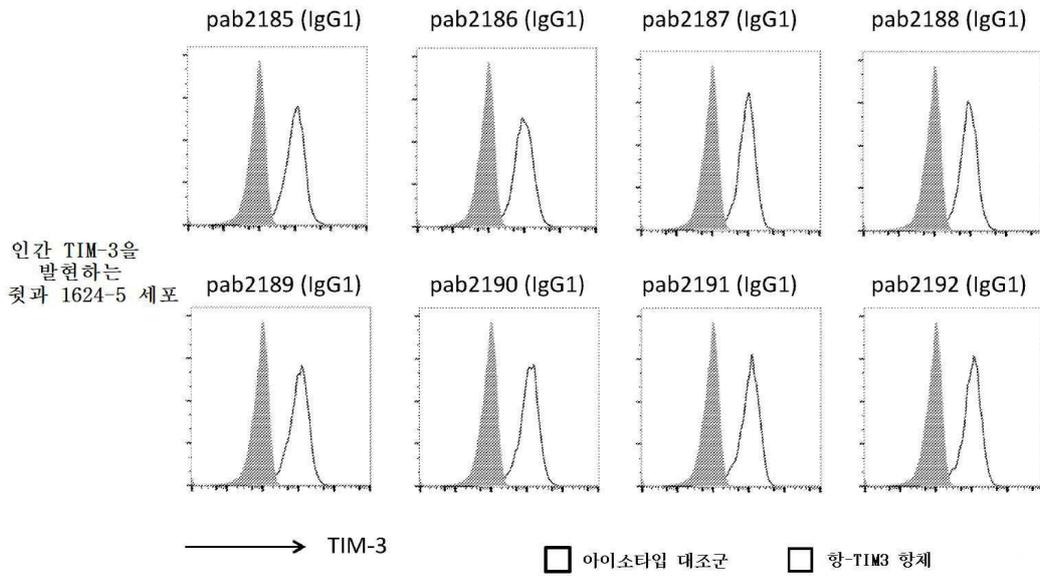
도면2



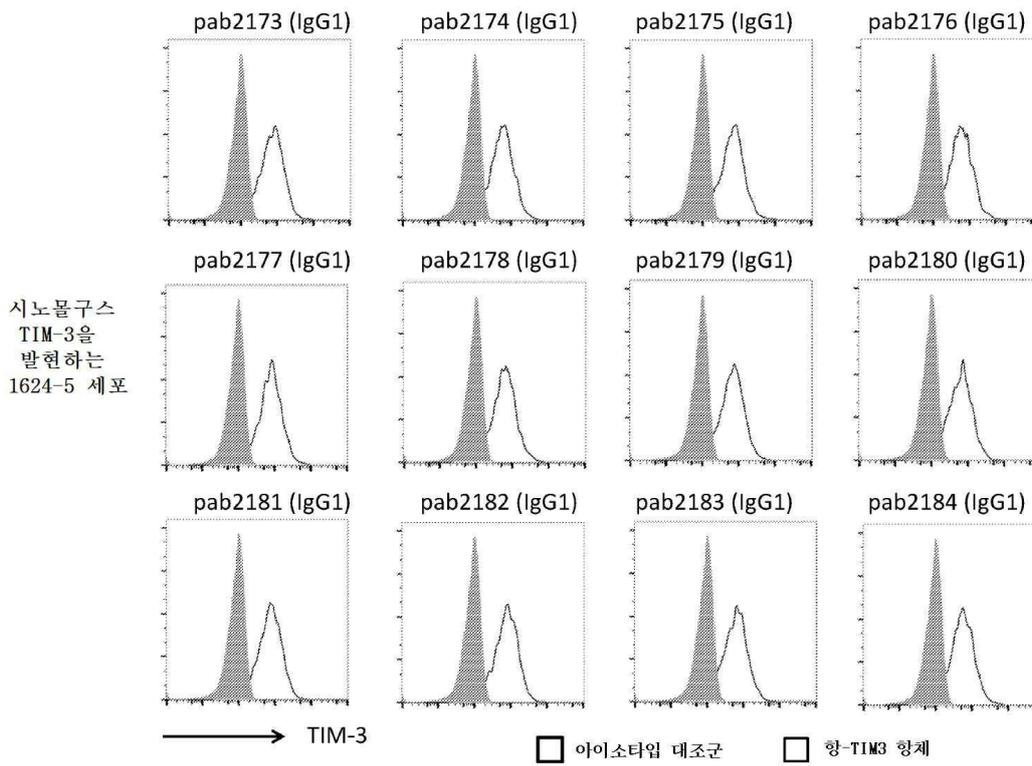
도면3a



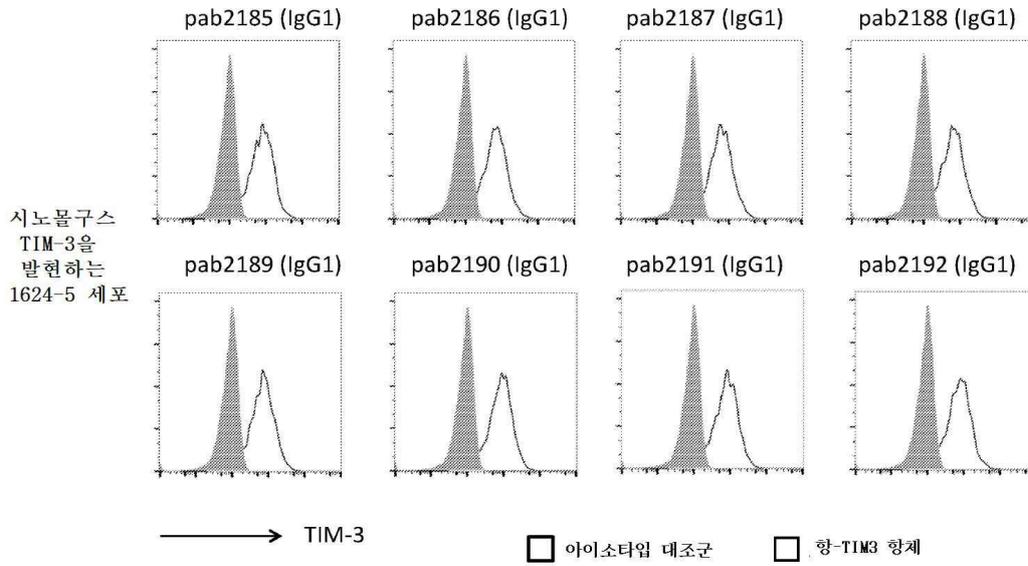
도면3b



도면3c

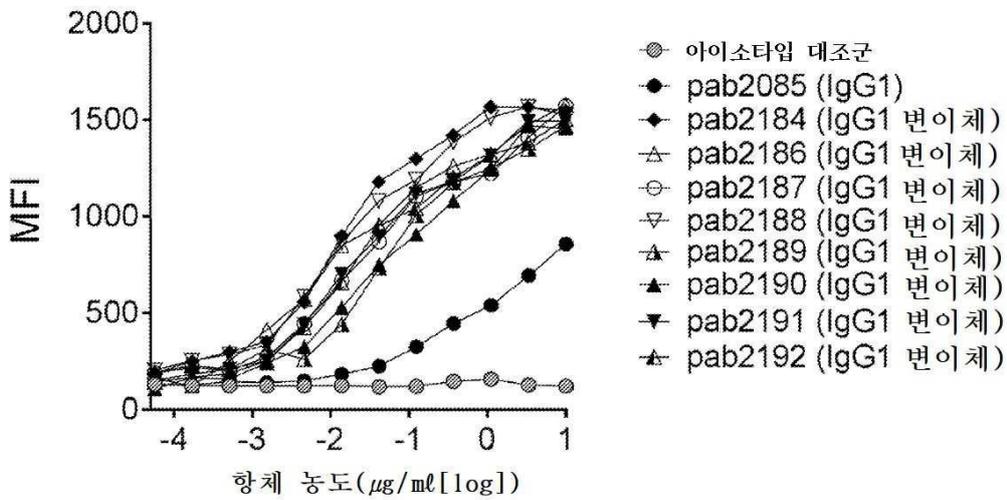


도면3d



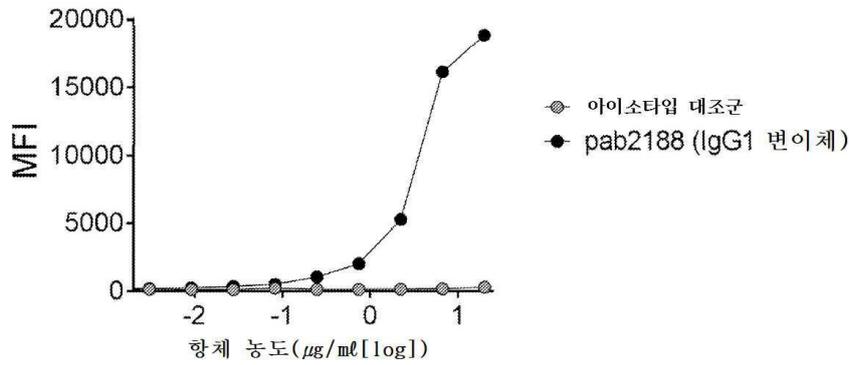
도면4

인간 CD8+ T 세포에 대한 결합



도면5

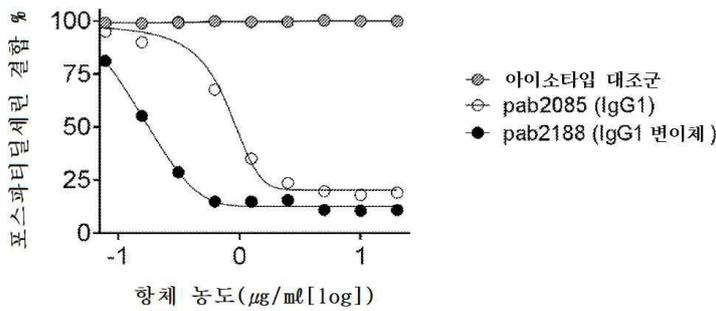
시노물구스 콜수성 세포에 대한 결합



도면6

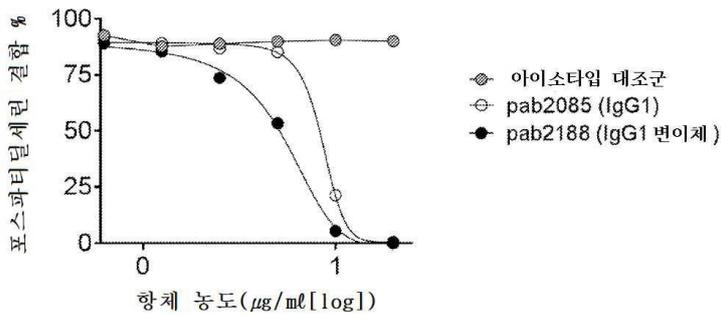
A

인간 TIM-3 Fc

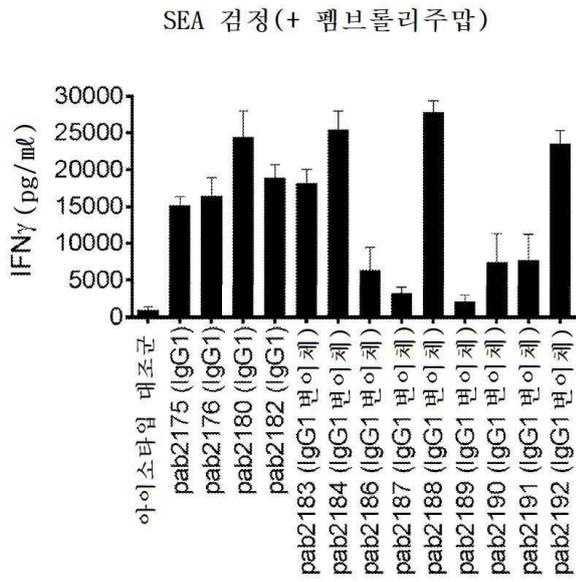


B

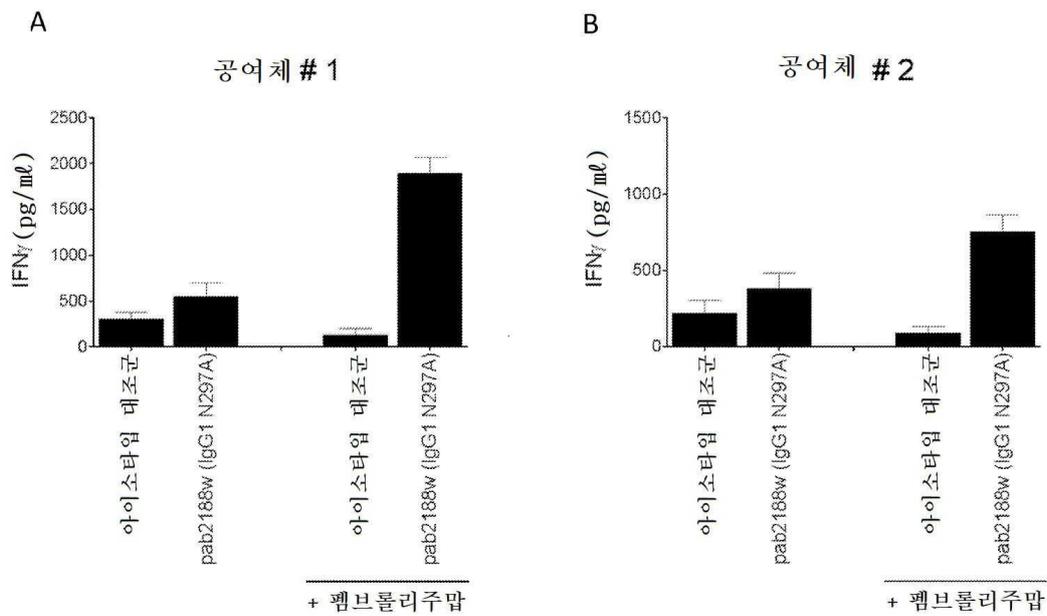
시노물구스 TIM-3 Fc



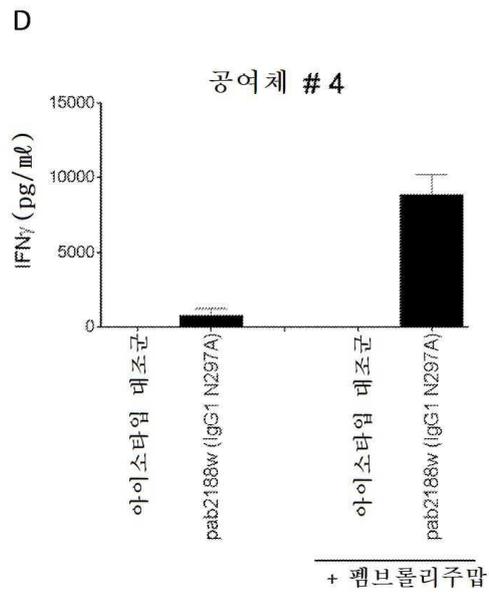
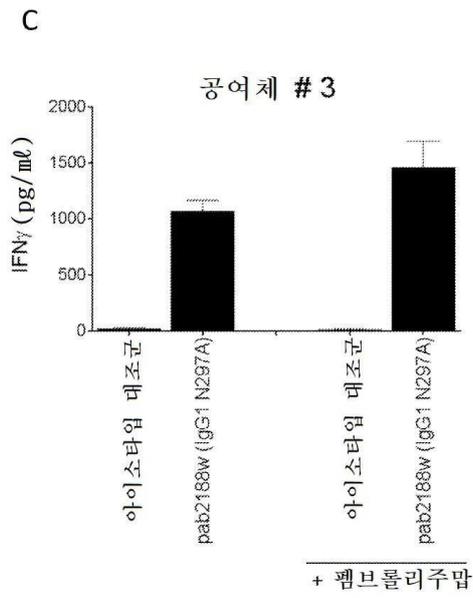
도면7



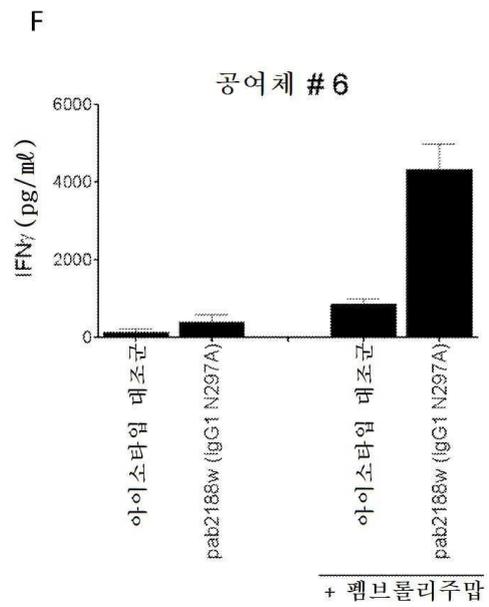
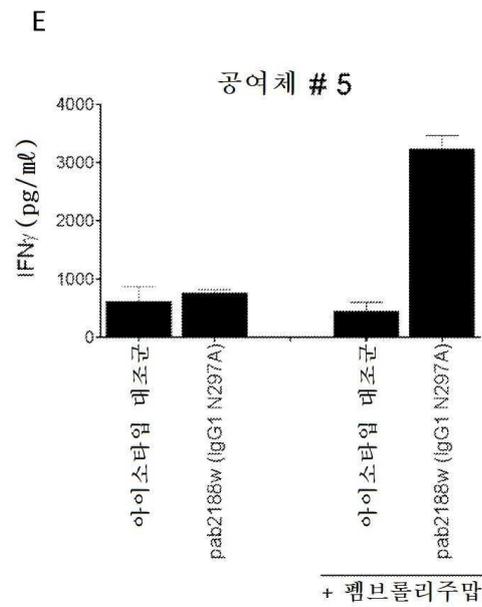
도면8ab



도면8cd

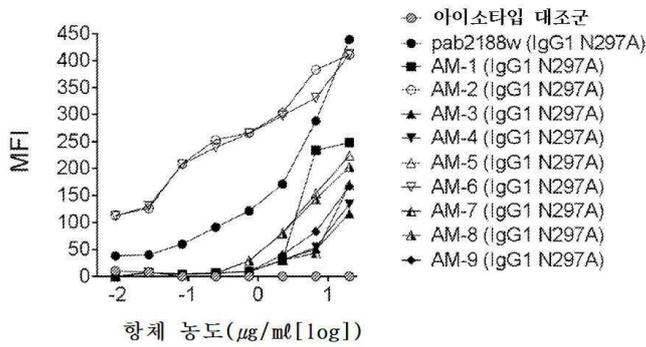


도면8ef

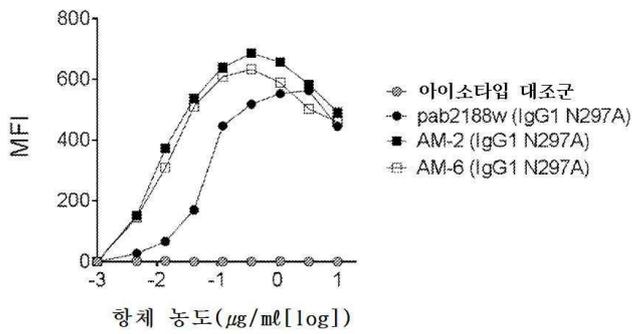


도면9ab

A TIM-3을 발현하는 주르카트 세포에 대한 결합

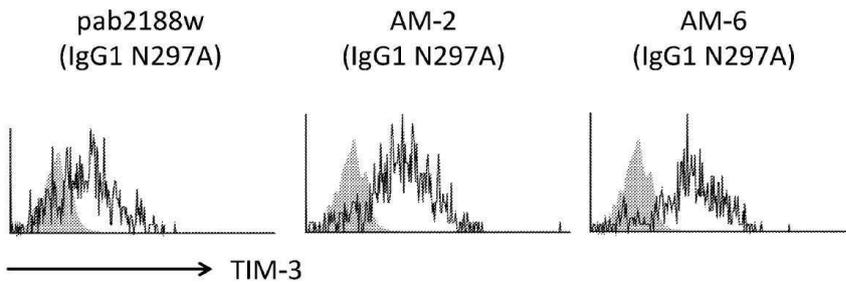


B 카스미-3 세포에 대한 결합

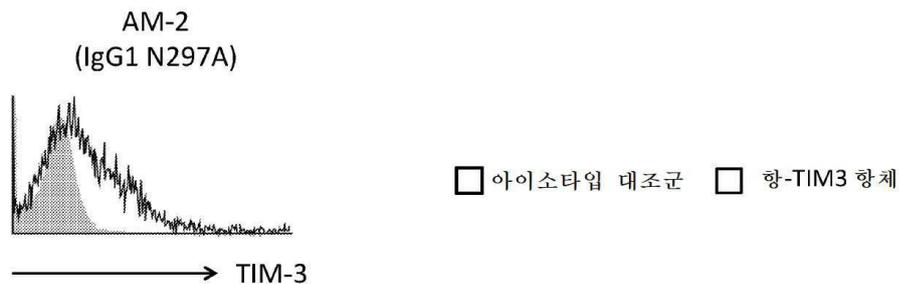


도면9cd

C SEA-자극된 인간 CD8+ T 세포에 대한 결합



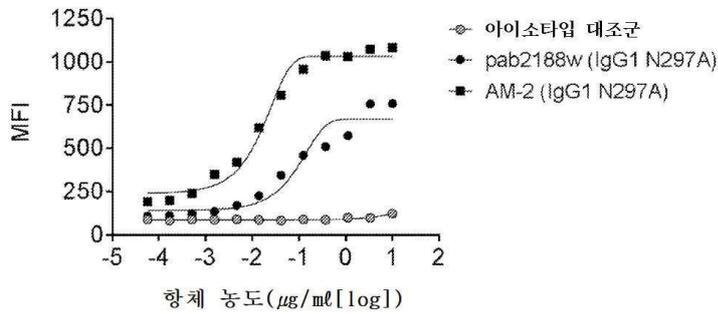
D SEA-자극된 시노몰구스 CD8+ T 세포에 대한 결합



도면9ef

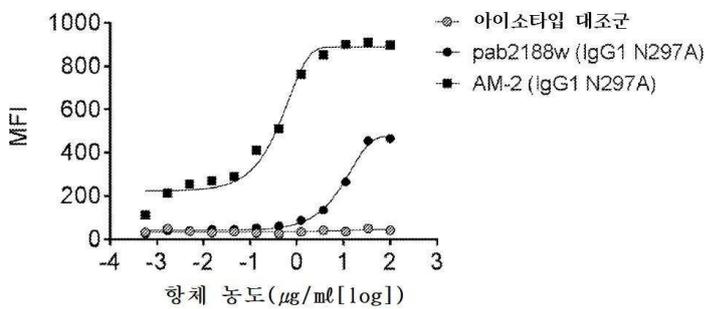
E

인간 골수성 세포에 대한 결합



F

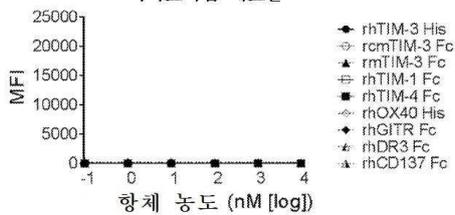
시모물구스 골수성 세포에 대한 결합



도면10

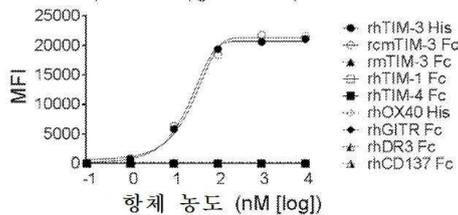
A

아이소타입 대조군



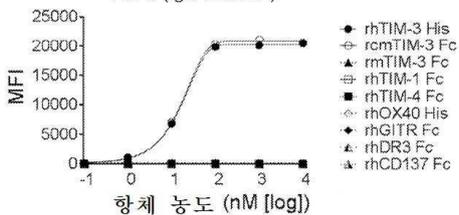
B

pab2188w (IgG1 N297A)



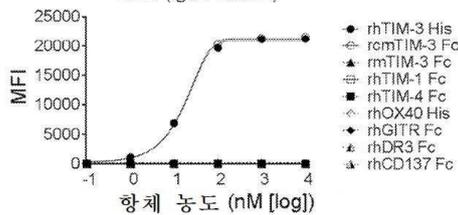
C

AM-2 (IgG1 N297A)

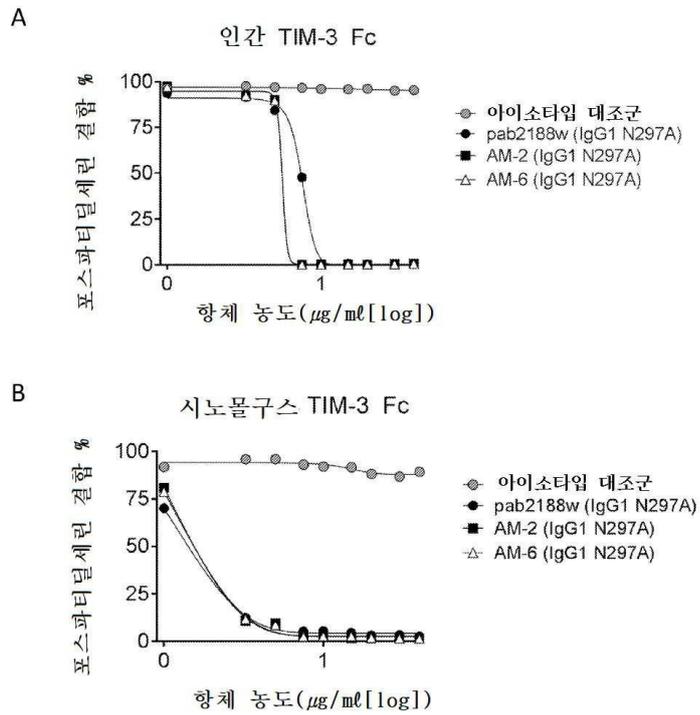


D

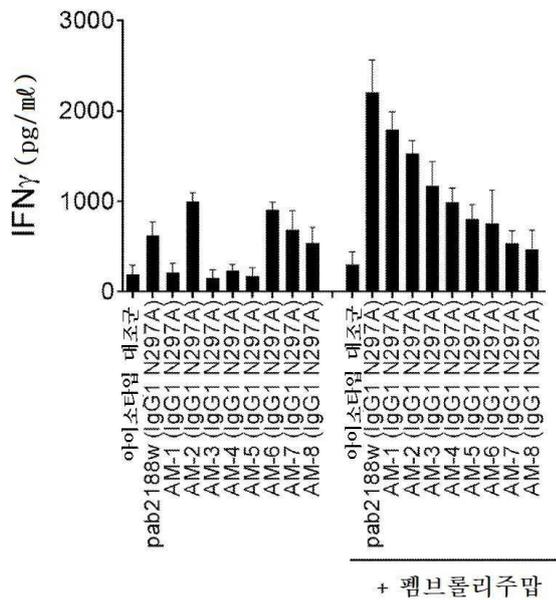
AM-6 (IgG1 N297A)



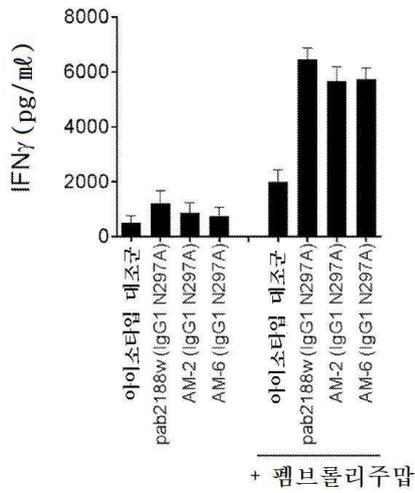
도면11



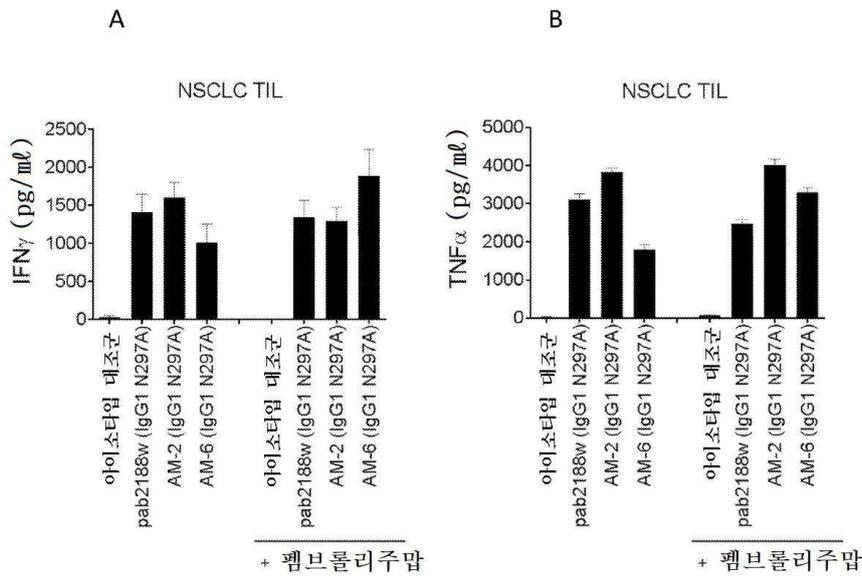
도면12a



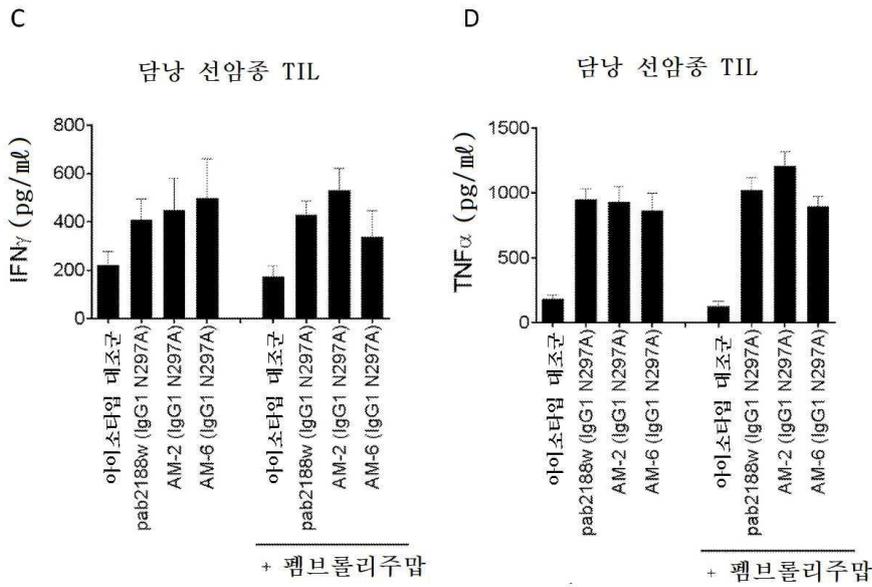
도면12b



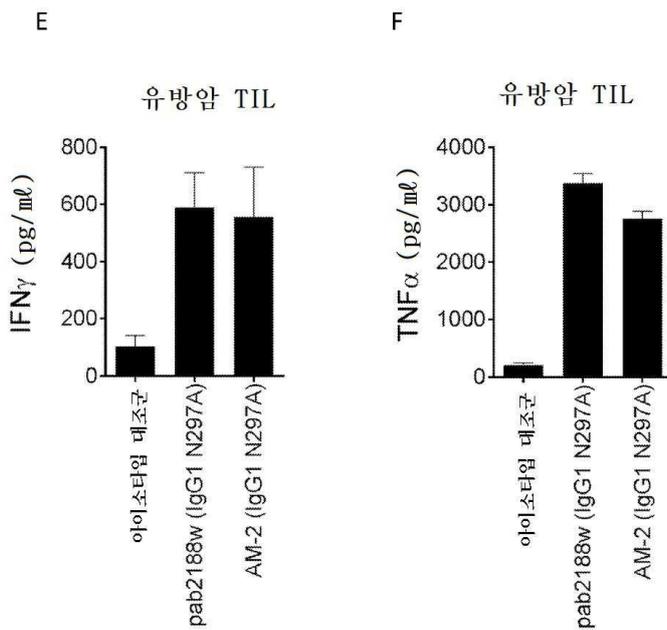
도면13ab



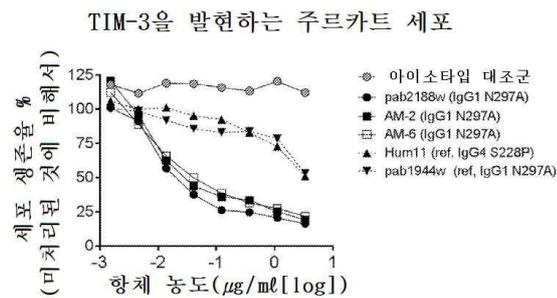
도면13cd



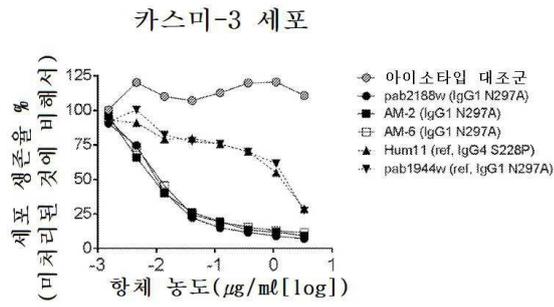
도면13ef



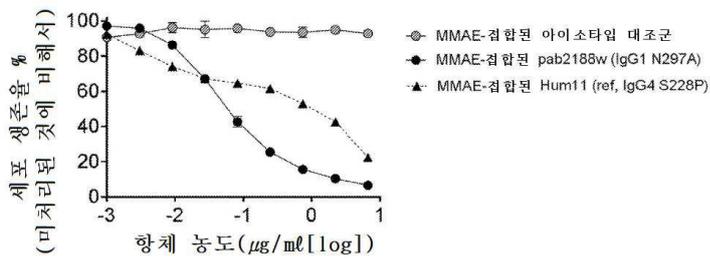
도면14a



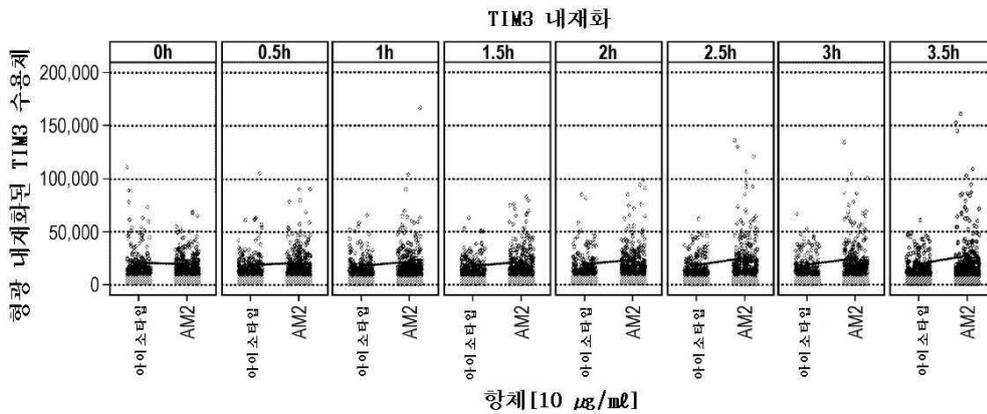
도면14b



도면14c



도면15



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> AGENUS INC.

<120> ANTI-TIM-3 ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF

<130> IPA181395-US

<140> PCT/US2017/034645

<141> 2017-05-26

<150> US 62/342,610

<151> 2016-05-27

<150> US 62/420,276

<151> 2016-11-10

<160> 102

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD456-2919 CDRH1

<400> 1

Ser Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 2

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD456-2919 CDRH2

<400> 2

Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr

1 5 10

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD456-2919 CDRH3

<400> 3

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp

1 5 10

<210> 4

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-1 CDRH1

<400> 4

Lys Ala Gly Gln Ser Ser

1 5

<210> 5

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-2 CDRH1

<400> 5

Arg Gln Asn Ala Trp Ser

1 5

<210> 6

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-3 CDRH1

<400> 6

Met Ser Gly Gln Thr Ser

1 5

<210> 7

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-4 CDRH1

<400> 7

Gly Ala Gly Gln Ser Ser

1 5

<210> 8

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-5 CDRH1

<400> 8

Ser Ala Gln Gln Ala Ser

1 5

<210> 9

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-6 CDRH1

<400> 9

Ala Arg Asn Ala Trp Ser

1 5

<210> 10

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-7 CDRH1

<400> 10

Arg Ser Gln Gln Ala Ser

1 5

<210> 11

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-8 CDRH1

<400> 11

Thr Thr Gln Gln Ala Ser

1 5

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-9 CDRH1

<400> 12

Gly Gly Gln Gln Ala Ser

1 5

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD197-1181 CDRL1

<400> 13

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD412-2513 CDRL1

<400> 14

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 15

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD456-2928 CDRL1

<400> 15

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 16

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD466-3169 CDRL1

<400> 16

Gly Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD197-1181 CDRL2

<400> 17

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD456-2928 CDRL2

<400> 18

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD466-3165 CDRL2

<400> 19

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr

1 5

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD466-3166 CDRL2

<400> 20

Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD466-3167 CDRL2

<400> 21

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD197-1181 CDRL3

<400> 22

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr

1 5

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD392-2234 CDRL3

<400> 23

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Ile Thr

1 5

<210> 24

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD456-2919 VH

<400> 24

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 Ser 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

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD466-3163 VH

<400> 26

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Arg Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 115 120

<210> 27

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-1-VH

<400> 27

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 Lys Ala Gly

 20 25 30

Gln Ser Ser Trp Val Arg Arg 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 28

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-2-VH

<400> 28

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 Arg Gln Asn
 20 25 30
 Ala Trp Ser Trp Val Arg Arg 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 29

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-3-VH

<400> 29

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 Met Ser Gly

20 25 30

Gln Thr Ser Trp Val Arg Arg 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 30

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-4-VH

<400> 30

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 Gly Ala Gly

20 25 30

Gln Ser Ser Trp Val Arg Arg 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 31

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-5-VH

<400> 31

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 Ala Gln

20 25 30

Gln Ala Ser Trp Val Arg Arg 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Gln
 20 25 30

Gln Ala Ser Trp Val Arg Arg 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 34

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-8-VH

<400> 34

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 Thr Gln

20 25 30

Gln Ala Ser Trp Val Arg Arg 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 35

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-9-VH

<400> 35

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 Gly Gly Gln

20 25 30

Gln Ala Ser Trp Val Arg Arg 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 36

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD197-1181 VL

<400> 36

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 Tyr Gly Ser Ser Pro
 85 90 95
 Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

 100 105

<210> 37

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD412-2513 VL

<400> 37

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 Tyr
 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 Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 38

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD456-2928 VL

<400> 38

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 Gly Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr 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 Arg Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 39

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD466-3164 VL

<400> 39

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 Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Lys Ile Lys
 100 105

<210> 40

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD466-3165 VL

<400> 40

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 Gly Ala Ser Thr 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 Arg Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 41

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD466-3166 VL

<400> 41

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 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 Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 42

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD466-3167 VL

<400> 42

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

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 Gly Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Leu Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Asp 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 Gly Ser Ser Pro
 85 90 95
 Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

 100 105

<210> 45

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD466-3170 VL

<400> 45

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 Tyr Gly Ser Ser Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 46

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD466-3171 VL

<400> 46

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 Ser Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 47

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD466-3172 VL

<400> 47

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 Tyr

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 Ser 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 Arg Leu Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Ile
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 48

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 consensus sequence 1

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> Arg, Ser, Ala, Gly, Lys, Met, or Thr

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> Gln, Ser, Ala, Gly, Arg, or Thr

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> Asn, Tyr, Gly, or Gln

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Ala or Gln

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> Trp, Met, Ala, Ser, or Thr

<400> 48

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser

1 5

<210> 49
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDRH1 consensus sequence 2
 <220><221> VARIANT
 <222> (1)..(1)
 <223> Arg or Ala

<220><221> VARIANT
 <222> (2)..(2)
 <223> Gln or Arg

<400> 49
 Xaa Xaa Asn Ala Trp Ser

1 5

<210> 50
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDRH1 consensus sequence 3
 <220><221> VARIANT
 <222> (1)..(1)
 <223> Lys, Met, or Gly

<220><221> VARIANT
 <222> (2)..(2)
 <223> Ala or Ser

<220><221> VARIANT
 <222> (5)..(5)
 <223> Ser or Thr

<400> 50
 Xaa Xaa Gly Gln Xaa Ser

1 5

<210> 51
 <211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 consensus sequence 4

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> Ser, Arg, Thr, or Gly

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> Ala, Ser, Thr, or Gly

<400> 51

Xaa Xaa Gln Gln Ala Ser

1 5

<210> 52

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XASQSVXSSYLA

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> Arg or Gly

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> absent or Ser

<400> 52

Xaa Ala Ser Gln Ser Val Xaa Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 53

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 consensus sequence

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> Asp or Gly
 <220><221> VARIANT
 <222> (4)..(4)
 <223> Asn, Ser, or Thr
 <400> 53
 Xaa Ala Ser Xaa Arg Ala Thr
 1 5
 <210> 54
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDRL3 consensus sequence
 <220><221> VARIANT
 <222> (8)..(8)
 <223> Leu or Ile

 <400> 54
 Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Xaa Thr
 1 5
 <210> 55
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH consensus sequence
 <220><221> VARIANT
 <222> (15)..(15)
 <223> Gly or Arg
 <220><221> VARIANT
 <222> (30)..(30)
 <223> Arg, Ser, Ala, Gly, Lys, Met, or Thr
 <220><221> VARIANT
 <222> (31)..(31)
 <223> Gln, Ser, Ala, Gly, Arg, or Thr
 <220><221> VARIANT
 <222> (32)..(32)

<223> Asn, Tyr, Gly, or Gln

<220><221> VARIANT

<222> (33)..(33)

<223> Ala or Gln

<220><221> VARIANT

<222> (34)..(34)

<223> Trp, Met, Ala, Ser, or Thr

<220><221> VARIANT

<222> (39)..(39)

<223> Arg or Gln

<400> 55

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Xaa Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Xaa Xaa Xaa

 20 25 30

Xaa Xaa Ser Trp Val Arg Xaa 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 115 120

<210> 56

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL consensus sequence

<220><221> VARIANT
 <222> (9)..(9)
 <223> Ala or Gly
 <220><221> VARIANT
 <222> (24)..(24)
 <223> Arg or Gly
 <220><221> VARIANT
 <222> (30)..(30)
 <223> absent or Ser
 <220><221> VARIANT
 <222> (43)..(43)
 <223> Gln or Leu
 <220><221> VARIANT
 <222>
 > (51)..(51)
 <223> Asp or Gly
 <220><221> VARIANT
 <222> (54)..(54)
 <223> Asn, Ser, or Thr
 <220><221> VARIANT
 <222> (61)..(61)
 <223> Ala or Asp
 <220><221> VARIANT
 <222> (62)..(62)
 <223> Ser or Arg
 <220><221> VARIANT
 <222> (78)..(78)
 <223> Arg or Ser
 <220><221> VARIANT
 <222> (97)..(97)
 <223> Leu or Ile
 <220><221> VARIANT
 <222> (106)..(106)
 <223> Glu or Lys
 <400> 56

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Xaa Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Xaa Ala Ser Gln Ser Val Xaa Ser Ser
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Xaa Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Xaa Ala Ser Xaa Arg Ala Thr Gly Ile Pro Xaa Xaa Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Xaa Leu Glu
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
 85 90 95

Xaa Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Xaa Ile Lys
 100 105

<210> 57

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> pab2188 full length IgG1 heavy chain

<400> 57

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 Ser Tyr

 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Arg 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

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly

<210> 58

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> pab2188 full length IgG1 N297A heavy chain

<400> 58

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 Ser Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Arg 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

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly

<210> 59

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> pab2188 full length IgG4 S228P heavy chain

<400> 59

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 Ser Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Arg 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

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly

435 440 445

<210> 60

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-1 full length IgG1 N297A heavy chain

<400> 60

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 Lys Ala Gly

20 25 30

Gln Ser Ser Trp Val Arg Arg 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

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly

<210> 61

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-2 full length IgG1 N297A heavy chain

<400> 61

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 Arg Gln Asn
 20 25 30
 Ala Trp Ser Trp Val Arg Arg 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg

290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly

<210> 62

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-3 full length IgG1 N297A heavy chain

<400> 62

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 Met Ser Gly
 20 25 30
 Gln Thr Ser Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly

<210> 63

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-4 full length IgG1 N297A heavy chain

<400> 63

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 Gly Ala Gly
 20 25 30

Gln Ser Ser Trp Val Arg Arg 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly
 <210> 65
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> AM-6 full length IgG1 N297A heavy chain
 <400> 65
 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 Ala Arg Asn
 20 25 30
 Ala Trp Ser Trp Val Arg Arg 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg

290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445
 Gly

<210> 66

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-7 full length IgG1 N297A heavy chain

<400> 66

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 Arg Ser Gln

 20 25 30

Gln Ala Ser Trp Val Arg Arg 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

 165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg

290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445
 Gly

<210> 67

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-8 full length IgG1 N297A heavy chain

<400> 67

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 Thr Gln
 20 25 30
 Gln Ala Ser Trp Val Arg Arg 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly

<210> 68

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AM-9 full length IgG1 N297A heavy chain

<400> 68

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 Gly Gly Gln

 20 25 30

Gln Ala Ser Trp Val Arg Arg 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 Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

 165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

 260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg

 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

 435 440 445

Gly

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BADD466-3171 full length light chain sequence

<400> 69

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 Ser Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 70

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human IgG1 G1m3 allotype (without C-terminal lysine)

<400> 70

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

 85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 325

<210> 71
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Human IgG1 G1m3 allotype
 <400> 71

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325

<210> 76

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human kappa light chain constant region IGKC*01 Km3 allotype

<400> 76

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 77

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human kappa light chain constant region IGKC*01 Km3 allotype

(with T109S mutation)

<400> 77

Arg Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 78

<211> 301

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln
 20 25 30
 Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu
 35 40 45
 Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly
 50 55 60
 Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser
 65 70 75 80
 Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr
 85 90 95

Ile Glu Asn Val Thr Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile
 100 105 110
 Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val
 115 120 125
 Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe
 130 135 140
 Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala
 145 150 155 160
 Glu Thr Gln Thr Leu Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile
 165 170 175
 Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu
 180 185 190
 Arg Asp Ser Gly Ala Thr Ile Arg Ile Gly Ile Tyr Ile Gly Ala Gly
 195 200 205
 Ile Cys Ala Gly Leu Ala Leu Ala Leu Ile Phe Gly Ala Leu Ile Phe
 210 215 220
 Lys Trp Tyr Ser His Ser Lys Glu Lys Ile Gln Asn Leu Ser Leu Ile
 225 230 235 240
 Ser Leu Ala Asn Leu Pro Pro Ser Gly Leu Ala Asn Ala Val Ala Glu
 245 250 255
 Gly Ile Arg Ser Glu Glu Asn Ile Tyr Thr Ile Glu Glu Asn Val Tyr
 260 265 270
 Glu Val Glu Glu Pro Asn Glu Tyr Tyr Cys Tyr Val Ser Ser Arg Gln
 275 280 285
 Gln Pro Ser Gln Pro Leu Gly Cys Arg Phe Ala Met Pro
 290 295 300
 <210> 79
 <211> 280
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 79

Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln Asn Ala Tyr Leu Pro
 1 5 10 15
 Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu Val Pro Val Cys Trp
 20 25 30
 Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly Asn Val Val Leu Arg
 35 40 45
 Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser Arg Tyr Trp Leu Asn
 50 55 60

 Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Val Thr
 65 70 75 80
 Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile
 85 90 95
 Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val Ile Lys Pro Ala Lys
 100 105 110
 Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe Thr Ala Ala Phe Pro
 115 120 125

 Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala Glu Thr Gln Thr Leu
 130 135 140
 Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile Ser Thr Leu Ala Asn
 145 150 155 160
 Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu Arg Asp Ser Gly Ala
 165 170 175
 Thr Ile Arg Ile Gly Ile Tyr Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Gly Leu
 180 185 190

 Ala Leu Ala Leu Ile Phe Gly Ala Leu Ile Phe Lys Trp Tyr Ser His
 195 200 205
 Ser Lys Glu Lys Ile Gln Asn Leu Ser Leu Ile Ser Leu Ala Asn Leu
 210 215 220
 Pro Pro Ser Gly Leu Ala Asn Ala Val Ala Glu Gly Ile Arg Ser Glu
 225 230 235 240
 Glu Asn Ile Tyr Thr Ile Glu Glu Asn Val Tyr Glu Val Glu Glu Pro

245 250 255

Asn Glu Tyr Tyr Cys Tyr Val Ser Ser Arg Gln Gln Pro Ser Gln Pro

260 265 270

Leu Gly Cys Arg Phe Ala Met Pro

275 280

<210> 80

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> pab1944w VH

<400> 80

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

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Ser Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Thr Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr 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 Tyr Tyr Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 81

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> pab1944w VL

<400> 81

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 His Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ile Asn
 20 25 30

 Ile Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp 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 Val Gln Tyr Gly Gln Phe Pro Trp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 82

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hum11 VH

<400> 82

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 Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

 35 40 45
 Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys 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 Gly Gly Ala Phe Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110
 Thr Val Thr Val Ser Ser

115
 <210> 83
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Hum11 VL
 <400> 83

Ala Ile Gln Leu 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 Glu Ser Val Glu Tyr Tyr
 20 25 30
 Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Val Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Arg
 85 90 95
 Lys Asp Pro Ser Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110
 <210> 84

<211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 84

Gln 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 Ser 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

<210> 85

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

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 Gly Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro
 85 90 95

<210> 86

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

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 Ser Asn Trp Pro
 85 90 95

<210> 87

<211> 96

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

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 Tyr Gly Ser Ser Pro
 85 90 95

<210> 88

<211> 96

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

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 Gly Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Leu Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Asp 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 Gly Ser Ser Pro
 85 90 95

<210> 89

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> pab1944w (IgG1 N297A) full length heavy chain

<400> 89

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

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Ser Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Thr Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr 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 Tyr Tyr Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

<210> 90

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> pab1944w (IgG1 N297A) full length light chain

<400> 90

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 His Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ile Asn
 20 25 30

Ile Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp 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 Val Gln Tyr Gly Gln Phe Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 91

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hum11 (IgG4 S228P) full length heavy chain

<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 Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

1 5 10 15
 Val Leu

<210> 95

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp

1 5 10

<210> 96

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys

1 5 10 15

Leu

<210> 97

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu

1 5

<210> 98

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu Val Pro

1 5

<210> 99

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu

1 5

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 100

Asp Phe Thr Ala Ala Phe Pro Arg

1 5

<210> 101

<211> 280

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human TIM-3 F40A

<400> 101

Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln Asn Ala Tyr Leu Pro

1 5 10 15

Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu Val Pro Val Cys Trp

20 25 30

Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Ala Glu Cys Gly Asn Val Val Leu Arg

35 40 45

Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser Arg Tyr Trp Leu Asn

50 55 60

Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Val Thr

65 70 75 80

Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile

85 90 95

Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val Ile Lys Pro Ala Lys

Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly Asn Val Val Leu Arg
 35 40 45
 Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser Arg Tyr Trp Leu Asn
 50 55 60
 Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Val Thr
 65 70 75 80
 Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile
 85 90 95
 Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val Ile Lys Pro Ala Lys
 100 105 110
 Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe Thr Ala Ala Phe Pro
 115 120 125
 Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala Glu Thr Gln Thr Leu
 130 135 140
 Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile Ser Thr Leu Ala Asn
 145 150 155 160
 Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu Arg Asp Ser Gly Ala
 165 170 175
 Thr Ile Arg