



(21)申請案號：113118634

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 10 月 11 日

(51)Int. Cl. :

C07K16/28 (2006.01)A61K39/395 (2006.01)

C12N15/13 (2006.01)C12N15/63 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2016/10/11美國62/406,766

2016/11/10美國62/420,280

(71)申請人：美商艾吉納斯公司 (美國) AGENUS INC. (US)

美國

(72)發明人：威爾森 尼可拉斯 WILSON, NICHOLAS S. (NZ) ；沙維斯基 大衛 SAVITSKY, DAVID A. (US) ；詹寧斯 尚恩 JENNINGS, SHAWN MICHAEL (US) ；德克 馬克 VAN DIJK, MARC (NL) ；蒙特 可娜里亞 MUNDT, CORNELIA ANNE (DE)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：27 項 圖式數：10 共 238 頁

(54)名稱

抗 L A G－3 抗體及其使用方法

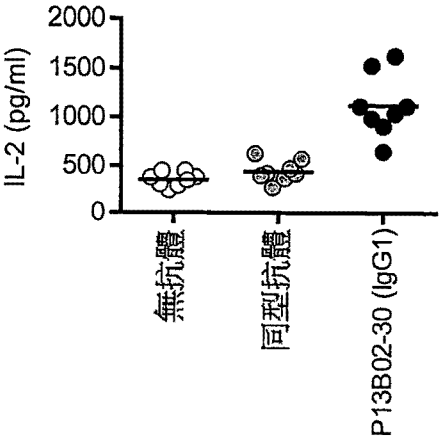
(57)摘要

本發明提供特異性結合至 LAG-3(例如人類 LAG-3)且拮抗 LAG-3 功能之抗體。亦提供包含該等抗體之醫藥組成物、編碼該等抗體之核酸、用於製備該等抗體之表現載體及宿主細胞，以及使用該等抗體治療受試者之方法。

The instant disclosure provides antibodies that specifically bind to LAG-3 (e.g., human LAG-3) and antagonize LAG-3 function. Also provided are pharmaceutical compositions comprising these antibodies, nucleic acids encoding these antibodies, expression vectors and host cells for making these antibodies, and methods of treating a subject using these antibodies.

指定代表圖：

圖 8A



【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗 L A G - 3 抗體及其使用方法

【英文發明名稱】

ANTI-LAG-3 ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF

【中文】

本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)且拮抗LAG-3功能之抗體。亦提供包含該等抗體之醫藥組成物、編碼該等抗體之核酸、用於製備該等抗體之表現載體及宿主細胞，以及使用該等抗體治療受試者之方法。

【英文】

The instant disclosure provides antibodies that specifically bind to LAG-3 (*e.g.*, human LAG-3) and antagonize LAG-3 function. Also provided are pharmaceutical compositions comprising these antibodies, nucleic acids encoding these antibodies, expression vectors and host cells for making these antibodies, and methods of treating a subject using these antibodies.

【指定代表圖】圖 8A

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗LAG-3抗體及其使用方法

【英文發明名稱】

ANTI-LAG-3 ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF

【技術領域】

[0001] 本申請案主張2016年10月11日申請之美國臨時申請案第62/406,766號；及2016年11月10日申請之第62/420,280號之權益，各案以引用之方式整體併入本文中。

[0002] 本發明係關於特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體及其使用方法。

【先前技術】

[0003] 淋巴細胞活化基因3(LAG-3)，又稱為CD223，係免疫球蛋白(Ig)超家族中之I型膜蛋白，由四個細胞外Ig結構域以及一個含有保守重複EP基元及單個保守KIEELE基元之細胞質結構域構成(Triebel等人，(1990) J Exp Med, 171: 1393-405；Workman等人，(2002) J Immunol, 169: 5392-5)。LAG-3係在活化之效應T淋巴細胞(Teff)、活化之調控T淋巴細胞(Treg)、活化之B淋巴細胞、一小組休眠自然殺傷(NK)細胞，以及休眠漿細胞樣樹突狀細胞(PDC)上

表現(Huang等人, (2004) *Immunity*, 21: 503-13 ; Workman等人, (2009) *J Immunol*, 182: 1885-91 ; Kisielow等人(2005) *Eur J Immunol*, 35: 2081-8 ; Baixeras等人(1992) *J Exp Med*, 176: 327-37 ; Workman等人(2002) *Eur J Immunol*, 32: 2255-63)。在持久暴露於抗原之條件下，諸如在慢性致病性感染中或在腫瘤微環境(TME)內，LAG-3在1型T調控細胞(Tr1)及所謂的耗竭之抗原特異性T細胞上持續表現(Park等人, (2012) *Cell Immunol*, 278: 76-83 ; Gagliani等人(2013) *Nat Med*, 19: 739-46 ; Blackburn等人(2009) *Nat Immunol*, 10: 29-37)。

[0004] LAG-3用於負調控活化之T細胞。LAG-3之配體係在抗原呈現細胞(APC)及活化T細胞上表現之II類MHC(Roche及Furuta (2015) *Nat Rev Immunol*, 15: 203-16)。LAG-3與其配體之間之相互作用抑制CD4⁺及CD8⁺Teff細胞之增殖及細胞因子分泌(Macon-Lemaitre及Triebel (2005) *Immunology*, 115: 170-8 ; Huard等人 (1997) *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94: 5744-9)。Treg及PDC中之LAG-3促成對T細胞功能之負調控(Huang等人(2004) *Immunity*, 21: 503-13 ; Workman等人(2009) *J Immunol*, 182: 1885-91)。與LAG-3在維持免疫動態平衡方面之作用相符，其缺乏在亦遺傳性缺乏PD-1之小鼠中誘導致死性心肌炎(Okazaki等人(2011) *J Exp Med*, 208: 395-407)。此外，在同基因小鼠腫瘤模型中，在活體內用針對小鼠LAG-3之單株抗體阻斷與PD-1阻斷協同作用而加強抗腫瘤免疫性

(Woo等人 (2012) *Cancer Res*, 72: 917-27)。

[0005] 鑒於LAG-3在調節免疫反應方面之作用，設計用於拮抗LAG-3信號傳導之治療劑在治療涉及LAG-3介導之免疫抑制的疾病方面具有廣闊前景。

【發明內容】

[0006] 本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)且拮抗LAG-3功能，例如LAG-3介導之免疫抑制的抗體。亦提供包含該等抗體之醫藥組成物、編碼該等抗體之核酸、用於製備該等抗體之表現載體及宿主細胞，以及使用該等抗體治療受試者之方法。本文所揭示之抗體特別適用於響應抗原(例如腫瘤抗原或感染性疾病抗原)來增進T細胞活化及/或減少Treg介導之免疫抑制，且因此可用於治療受試者之癌症或者治療或預防受試者之感染性疾病。

[0007] 因此，在一個態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包括含互補決定區CDRH1、CDRH2及CDRH3之重鏈可變區及含互補決定區CDRL1、CDRL2及CDRL3之輕鏈可變區，其中：

(a) CDRH1包含胺基酸序列DX₁YX₂X₃ (SEQ ID NO: 140)，其中

X₁係T或N，

X₂係I或M，且

X₃係H、Y或D；

(b) CDRH2包含胺基酸序列

X₁IDPANX₂X₃X₄X₅X₆X₇PX₈X₉QX₁₀ (SEQ ID NO: 142)，其中

- X₁係 E、R、S 或 K，
- X₂係 D 或 G，
- X₃係 N 或 H，
- X₄係 T 或 S，
- X₅係 K 或 H，
- X₆係 Y 或 F，
- X₇係 D 或 A，
- X₈係 K 或 R，
- X₉係 F 或 L，且
- X₁₀係 G 或 D；

(c) CDRH3 包含胺基酸序列 YX₁X₂X₃YX₄VGGX₅DY (SEQ ID NO: 144)，其中

- X₁係 Y、F 或 S，
- X₂係 Y 或 D，
- X₃係 K 或 R，
- X₄係 D 或 E，且
- X₅係 F 或 C；

(d) CDRL1 包含胺基酸序列 SVSSX₁ISSSX₂LX₃ (SEQ ID NO: 147)，其中

- X₁係 S 或 G，
- X₂係 N 或 T，且
- X₃係 H 或 Y；

(e) CDRL2包含胺基酸序列GTSNLAS (SEQ ID NO: 104)，且

(f) CDRL3包含胺基酸序列QQWX₁X₂YPX₃T (SEQ ID NO: 149)，其中

X₁係S、N或R，

X₂係S、T或R，且

X₃係F、L、H或W。

[0008] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包括含互補決定區CDRH1、CDRH2及CDRH3之重鏈可變區及含互補決定區CDRL1、CDRL2及CDRL3之輕鏈可變區，其中：

(a) CDRH1包含胺基酸序列DX₁YX₂X₃ (SEQ ID NO: 140)，其中

X₁係T或N，

X₂係I或M，且

X₃係H、Y或D；

(b) CDRH2包含胺基酸序列

X₁IDPANX₂X₃X₄X₅X₆X₇PX₈X₉QX₁₀ (SEQ ID NO: 142)，其中

X₁係E、R、S或K，

X₂係D或G，

X₃係N或H，

X₄係T或S，

X₅係K或H，

X_6 係Y或F，

X_7 係D或A，

X_8 係K或R，

X_9 係F或L，且

X_{10} 係G或D；

(c) CDRH3包含胺基酸序列 $YX_1X_2X_3YX_4VGGX_5DY$ (SEQ ID NO: 144)，其中

X_1 係Y、F或S，

X_2 係Y或D，

X_3 係K或R，

X_4 係D或E，且

X_5 係F或C；

(d) CDRL1包含胺基酸序列 $SVSSX_1ISSSX_2LX_3$ (SEQ ID NO: 147)，其中

X_1 係S或G，

X_2 係N或T，且

X_3 係H或Y；

(e) CDRL2包含胺基酸序列GTSNLAS (SEQ ID NO: 104)；且

(f) CDRL3包含胺基酸序列 $QQWX_1X_2YPX_3T$ (SEQ ID NO: 149)，其中

X_1 係S、N或R，

X_2 係S、T或R，且

X_3 係F、L、H或W。

[0009] 在某些實施例中，CDRH1包含胺基酸序列DX₁YX₂X₃(SEQ ID NO: 141)，其中：X₁係T或N；X₂係I或M；且X₃係H或Y。在某些實施例中，CDRH2包含胺基酸序列X₁IDPANX₂X₃X₄KX₅X₆PX₇FQX₈ (SEQ ID NO: 143)，其中：X₁係E、R或S；X₂係D或G；X₃係N或H；X₄係T或S；X₅係Y或F；X₆係D或A；X₇係K或R；且X₈係G或D。在某些實施例中，CDRH3包含胺基酸序列YX₁X₂X₃YDVGGX₄DY (SEQ ID NO: 145)，其中：X₁係Y、F或S；X₂係Y或D；X₃係K或R；且X₄係F或C。在某些實施例中，CDRH3包含胺基酸序列YYYX₁YX₂VGGFDY (SEQ ID NO: 146)，其中：X₁係K或R；且X₂係D或E。在某些實施例中，CDRL1包含胺基酸序列SVSSSISSSNLX₁ (SEQ ID NO: 148)，其中：X₁係H或Y。在某些實施例中，CDRL3包含胺基酸序列QQWX₁SYPX₂T (SEQ ID NO: 150)，其中：X₁係S、N或R；且X₂係F、L或H。

[0010] 在某些實施例中：

- (a) CDRH1包含胺基酸序列DTYIH (SEQ ID NO: 79)；
- (b) CDRH2包含胺基酸序列EIDPANDNTKYDPKFQG (SEQ ID NO: 90)；
- (c) CDRH3包含胺基酸序列YYYX₁YX₂VGGFDY (SEQ ID NO: 146)，其中：X₁係K或R；且X₂係D或E；
- (d) CDRL1包含胺基酸序列SVSSSISSSNLH (SEQ ID NO: 100)；
- (e) CDRL2包含胺基酸序列GTSNLAS (SEQ ID NO: 101)；

104)；且

(f) CDRL3包含胺基酸序列QQWSSYPFT (SEQ ID NO: 105)。

[0011] 在某些實施例中，CDRH1、CDRH2及CDRH3分別包含SEQ ID NO: 79、90及98中所陳述之胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 65或220至少75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%一致的胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 65或220至少98%一致的胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 220。在某些實施例中，重鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 65。在某些實施例中，重鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 220。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 226之重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 169之重鏈。

[0012] 在某些實施例中，CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含SEQ ID NO: 100、104及105中所陳述之胺基酸序列。在某些實施例中，輕鏈可變區包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 73或221至少75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%一致的胺基酸序列。在某些實施例中，輕鏈可變區包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 73或221至少98%一致的胺基酸序列。在某些實施例中，輕鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 221。在某些實施例中，輕鏈可

變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 73。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 228之輕鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。

[0013] 在某些實施例中，CDRH1包含選自由SEQ ID NO: 78-82組成之群之胺基酸序列。在某些實施例中，CDRH2包含選自由SEQ ID NO: 83-93組成之群之胺基酸序列。在某些實施例中，CDRH3包含選自由SEQ ID NO: 94-99組成之群之胺基酸序列。在某些實施例中，CDRL1包含選自由SEQ ID NO: 100-103組成之群之胺基酸序列。在某些實施例中，CDRL3包含選自由SEQ ID NO: 105-112組成之群之胺基酸序列。

[0014] 在某些實施例中，CDRH1、CDRH2及CDRH3分別包含SEQ ID NO: 78、83及94；78、85及95；78、86及96；78、86及97；78、91及94；78、92及96；79、84及95；79、88及95；79、89及95；79、90及95；79、90及98；79、90及99；80、85及96；81、87及96；或82、93及95中所陳述之CDRH1、CDRH2及CDRH3胺基酸序列。

[0015] 在某些實施例中，CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含SEQ ID NO: 100、104及105；100、104及106；100、104及107；100、104及109；100、104及110；101、104及108；102、104及105；102、104及112；或103、104及111中所陳述之CDRL1、CDRL2及CDRL3胺基酸序列。

[0016] 在某些實施例中，CDRH1、CDRH2、

CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含SEQ ID NO: 78、83、94、100、104及105；78、85、95、100、104及105；78、86、96、100、104及105；78、86、96、100、104及109；78、86、96、100、104及110；78、86、96、101、104及108；78、86、96、103、104及111；78、86、97、102、104及112；78、91、94、100、104及107；78、92、96、100、104及105；78、92、96、100、104及109；79、84、95、100、104及105；79、84、95、100、104及106；79、84、95、102、104及105；79、88、95、100、104及105；79、89、95、100、104及105；79、90、95、100、104及105；79、90、98、100、104及105；79、90、99、100、104及105；80、85、96、100、104及105；81、87、96、100、104及105；81、87、96、100、104及107；或82、93、95、100、104及105中所陳述之胺基酸序列。

[0017] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包括含互補決定區CDRH1、CDRH2及CDRH3之重鏈可變區及含互補決定區CDRL1、CDRL2及CDRL3之輕鏈可變區，其中CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含SEQ ID NO: 79、90、95、100、104及105中所陳述之胺基酸序列。

[0018] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，其包括含互補決定區CDRH1、CDRH2及CDRH3之重鏈可變區及含互補決定區CDRL1、CDRL2及CDRL3之輕鏈可變區，其中CDRH1、

CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含SEQ ID NO: 79、90、95、100、104及105中所陳述之胺基酸序列。

[0019] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包括含互補決定區CDRH1、CDRH2及CDRH3之重鏈可變區及含互補決定區CDRL1、CDRL2及CDRL3之輕鏈可變區，其中CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含SEQ ID NO: 79、90、98、100、104及105中所陳述之胺基酸序列。

[0020] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，其包括含互補決定區CDRH1、CDRH2及CDRH3之重鏈可變區及含互補決定區CDRL1、CDRL2及CDRL3之輕鏈可變區，其中CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含SEQ ID NO: 79、90、98、100、104及105中所陳述之胺基酸序列。

[0021] 在某些實施例中，重鏈可變區包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 65或220至少75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%一致的胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 65或220至少98%一致的胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 220。在某些實施例中，重鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 65。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 226之重鏈。在

某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 169之重鏈。

[0022] 在某些實施例中，輕鏈可變區包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 73或221至少75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%一致的胺基酸序列。在某些實施例中，輕鏈可變區包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 73或221至少98%一致的胺基酸序列。在某些實施例中，輕鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 221。在某些實施例中，輕鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 73。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 228之輕鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 228之輕鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。

[0023] 在某些實施例中，重鏈可變區包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 65或220至少75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%一致的胺基酸序列，且輕鏈可變區包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 73或221至少75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%一致的胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 65或220至少98%一致的胺基酸序列，且輕鏈可變區包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 73或221至少98%一致的胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 220。在某些實施例中，重鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 65。在某些實施例中，輕鏈可變區包

含胺基酸序列SEQ ID NO: 73或221。在某些實施例中，輕鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 73。

[0024] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之分離之抗體，其包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 65或220之重鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包括含與胺基酸序列SEQ ID NO: 73或221至少75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包括含與胺基酸序列SEQ ID NO: 73或221至少98%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。

[0025] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之分離之抗體，其包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 73或221之輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包括含與胺基酸序列SEQ ID NO: 65或220至少75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包括含與胺基酸序列SEQ ID NO: 65或220至少98%一致之胺基酸序列的重鏈可變區。

[0026] 在某些實施例中，該抗體包括含重鏈可變區序列SEQ ID NO: 151或222之構架區的重鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 151或222之重鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包括含重鏈可變區序列SEQ ID NO: 218或223之構架區的重鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID

NO: 218或223之重鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包括含與選自由SEQ ID NO: 56-72及220組成之群之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%或100%一致之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，該重鏈可變區包含選自由SEQ ID NO: 56-72及220組成之群之胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 220。在某些實施例中，該重鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 65。在某些實施例中，該抗體包括含選自由SEQ ID NO: 168-186及225-227組成之群之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包含具有人類源性構架區的重鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含重鏈可變構架區，其係或來源於由人類基因編碼之胺基酸序列，其中該胺基酸序列係選自由以下組成之群：IGHV1-46*01 (SEQ ID NO: 153)、IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO: 154)、IGHV1-3*01 (SEQ ID NO: 155)、IGHV1-24*01 (SEQ ID NO: 156)、IGHV1-2*01 (SEQ ID NO: 157)、IGHV1-45*01 (SEQ ID NO: 158)及IGHV1-18*01 (SEQ ID NO: 159)。在某些實施例中，該抗體包含來源於胺基酸序列IGHV1-46*01 (SEQ ID NO: 153)之重鏈可變構架區，其中該胺基酸序列IGHV1-46*01 (SEQ ID NO: 153)中至少一個胺基酸經相應非人類重鏈可變構架區中類似位置之胺基酸取代。在某些實施例中，胺基酸取代係在選自由以下組成之群之胺基酸位置處：4、5、12、23、27、28、29、30、48、69、71、75、76、80、81及94，其中該胺基酸位置係根據

Kabat編號系統指示。在某些實施例中，胺基酸取代係選自由以下組成之群：4M、5K、12V、23T、27F、28N、29I、30K、48I、69I、71A、75S、76N、80L、81Q及94T，其中該胺基酸取代之位置係根據Kabat編號系統指示。在某些實施例中，胺基酸取代係在選自由以下組成之群之胺基酸位置處：4、27、28、29、30、69、71及94，其中該胺基酸位置係根據Kabat編號系統指示。在某些實施例中，胺基酸取代係選自由以下組成之群：4M、27F、28N、29I、30K、69I、71A及94T，其中該胺基酸取代之位置係根據Kabat編號系統指示。

[0027] 在某些實施例中，該抗體包括含輕鏈可變區序列SEQ ID NO: 152或224之構架區的輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 152或224之輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包括含與選自由SEQ ID NO: 73-77及221組成之群之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%或100%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，該輕鏈可變區包含選自由SEQ ID NO: 73-77及221組成之群之胺基酸序列。在某些實施例中，輕鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 221。在某些實施例中，該輕鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 73。在某些實施例中，該抗體包括含選自由SEQ ID NO: 187-191組成之群之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，該抗體包含具有人類源性構架區的輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含輕鏈可變構架區，其係或來源

於由人類基因編碼之胺基酸序列，其中該胺基酸序列係選自由以下組成之群：IGKV3-20*01 (SEQ ID NO: 160)、IGKV3D-15*01 (SEQ ID NO: 161)、IGKV3-15*01 (SEQ ID NO: 161)、IGKV3D-20*01 (SEQ ID NO: 162)、IGKV3D-7*01 (SEQ ID NO: 163)、IGKV1-9*01 (SEQ ID NO: 164)及IGKV3-11*01 (SEQ ID NO: 165)。在某些實施例中，該抗體包括來自胺基酸序列IGKV3-20*01 (SEQ ID NO: 160)之輕鏈可變構架區。在某些實施例中，該抗體包含來源於胺基酸序列IGKV3-20*01 (SEQ ID NO: 160)之輕鏈可變構架區，其中該胺基酸序列IGKV3-20*01 (SEQ ID NO: 160)中至少一個胺基酸經相應非人類輕鏈可變構架區中類似位置之胺基酸取代。在某些實施例中，胺基酸取代係在選自由以下組成之群之胺基酸位置處：3、22、36、43、47、58、70及71，其中該胺基酸位置係根據Kabat編號系統指示。在某些實施例中，胺基酸取代係選自由以下組成之群：3L、22T、36F、43S、47W、58V、70S及71Y，其中該胺基酸取代之位置係根據Kabat編號系統指示。

[0028] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包括含選自由SEQ ID NO: 56-72及220組成之群之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，該重鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 220。在某些實施例中，該重鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 65。在某些實施例中，該抗體包括含選自由SEQ ID NO: 168-186及225-227組成之群之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例

中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 225之重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 168之重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 226之重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 169之重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 227之重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 170之重鏈。

[0029] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包括含選自由SEQ ID NO: 56-72及220組成之群之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，該重鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 220。在某些實施例中，該重鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 65。在某些實施例中，該抗體包括含選自由SEQ ID NO: 168-186及225-227組成之群之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 225之重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 168之重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 226之重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 169之重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 227之重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 170之重鏈。

[0030] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包括含選自由SEQ ID NO: 73-77及221組成之

群之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，該輕鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 221。在某些實施例中，該輕鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 73。在某些實施例中，該抗體包括含選自由SEQ ID NO: 187-191及228組成之群之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 228之輕鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。

[0031] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包括含選自由SEQ ID NO: 73-77及221組成之群之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，該輕鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 221。在某些實施例中，該輕鏈可變區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 73。在某些實施例中，該抗體包括含選自由SEQ ID NO: 187-191及228組成之群之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 228之輕鏈。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。

[0032] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區及該輕鏈可變區分別包含SEQ ID NO: 56及73；56及74；56及75；56及76；56及77；57及73；57及74；57及75；57及76；57及77；58及73；58及74；58及75；58及76；58及77；59及73；59及74；59及75；59及76；59及

77；60及73；60及74；60及75；60及76；60及77；61及77；62及77；63及73；64及73；65及73；220及73；65及221；220及221；66及73；67及73；68及73；69及73；70及73；71及73；或72及73中所陳述之胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區分別包含SEQ ID NO: 65及73中所陳述之胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區分別包含SEQ ID NO: 220及73；65及221；或220及221中所陳述之胺基酸序列。

[0033] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區及該輕鏈可變區之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 56及73；56及74；56及75；56及76；56及77；57及73；57及74；57及75；57及76；57及77；58及73；58及74；58及75；58及76；58及77；59及73；59及74；59及75；59及76；59及77；60及73；60及74；60及75；60及76；60及77；61及77；62及77；63及73；64及73；65及73；220及73；65及221；220及221；66及73；67及73；68及73；69及73；70及73；71及73；或72及73中所陳述之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 65及73中所陳述之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 220及73；65及221；或220及221中所陳述之胺基酸序列組成。

[0034] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合

至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區及該輕鏈可變區分別包含SEQ ID NO: 56及73；56及74；56及75；56及76；56及77；57及73；57及74；57及75；57及76；57及77；58及73；58及74；58及75；58及76；58及77；59及73；59及74；59及75；59及76；59及77；60及73；60及74；60及75；60及76；60及77；61及77；62及77；63及73；64及73；65及73；220及73；65及221；220及221；66及73；67及73；68及73；69及73；70及73；71及73；或72及73中所陳述之胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區分別包含SEQ ID NO: 65及73中所陳述之胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區分別包含SEQ ID NO: 220及73；65及221；或220及221中所陳述之胺基酸序列。

[0035] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區及該輕鏈可變區之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 56及73；56及74；56及75；56及76；56及77；57及73；57及74；57及75；57及76；57及77；58及73；58及74；58及75；58及76；58及77；59及73；59及74；59及75；59及76；59及77；60及73；60及74；60及75；60及76；60及77；61及77；62及77；63及73；64及73；65及73；220及73；65及221；220及221；66及73；67及73；68及73；69及73；70及73；71及73；或72

及73中所陳述之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 65及73中所陳述之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 220及73；65及221；或220及221中所陳述之胺基酸序列組成。

[0036] 在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 220中之X係Q。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 220中之X係焦麩胺酸。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 221中之X係E。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 221中之X係焦麩胺酸。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 220中之X係Q，且SEQ ID NO: 221中之X係E。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 220中之X係Q，且SEQ ID NO: 221中之X係焦麩胺酸。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 220中之X係焦麩胺酸，且SEQ ID NO: 221中之X係E。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 220中之X係焦麩胺酸，且SEQ ID NO: 221中之X係焦麩胺酸。

[0037] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 168或225之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187或228之輕鏈。

[0038] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離

之抗體，其包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 168之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。

[0039] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 168或225之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187或228之輕鏈。

[0040] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 168之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。

[0041] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 169或226之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187或228之輕鏈。

[0042] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 169之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。

[0043] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 169或226之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187或228之輕鏈。

[0044] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 169之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。

[0045] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 170或227之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187或228之輕鏈。

[0046] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 170之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。

[0047] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 170或227之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187或228之輕鏈。

[0048] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 170之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。

[0049] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 168或225中所陳述之胺基酸序列組成，且該輕鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 187或228中所陳述之胺基酸序列組成。

[0050] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈及該輕鏈之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 168及187中所陳述之胺基酸序列組成。

[0051] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合

至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 168或225中所陳述之胺基酸序列組成，且該輕鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 187或228中所陳述之胺基酸序列組成。

[0052] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈及該輕鏈之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 168及187中所陳述之胺基酸序列組成。

[0053] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 169或226中所陳述之胺基酸序列組成，且該輕鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 187或228中所陳述之胺基酸序列組成。

[0054] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈及該輕鏈之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 169及187中所陳述之胺基酸序列組成。

[0055] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 169或226中所陳述之胺基酸序列組成，且該輕鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 187或228中所陳述之胺基酸序列組成。

[0056] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包含重鏈及輕

鏈，其中該重鏈及該輕鏈之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 169及187中所陳述之胺基酸序列組成。

[0057] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 170或227中所陳述之胺基酸序列組成，且該輕鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 187或228中所陳述之胺基酸序列組成。

[0058] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈及該輕鏈之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 170及187中所陳述之胺基酸序列組成。

[0059] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 170或227中所陳述之胺基酸序列組成，且該輕鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 187或228中所陳述之胺基酸序列組成。

[0060] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體，該抗體包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈及該輕鏈之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 170及187中所陳述之胺基酸序列組成。

[0061] 在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 225中之X係Q。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 225中之X係焦麩胺酸。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ

ID NO: 228中之X係E。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 225中之X係Q，且SEQ ID NO: 228中之X係E。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 225中之X係Q，且SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 225中之X係焦麩胺酸，且SEQ ID NO: 228中之X係E。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 225中之X係焦麩胺酸，且SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。

[0062] 在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 226中之X係Q。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 226中之X係焦麩胺酸。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 228中之X係E。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 226中之X係Q，且SEQ ID NO: 228中之X係E。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 226中之X係Q，且SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 226中之X係焦麩胺酸，且SEQ ID NO: 228中之X係E。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 226中之X係焦麩胺酸，且SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。

[0063] 在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 227中之X係Q。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 227中之X係焦麩胺酸。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 228中之X係E。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 227中之X係Q，且SEQ ID NO: 228中之X係E。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 227中之X係Q，且SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 227中之X係焦麩胺酸，且SEQ ID NO: 228中之X係E。在前述態樣中任一個之某些實施例中，適當時，SEQ ID NO: 227中之X係焦麩胺酸，且SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。

[0064] 在某些實施例中，該抗體包含選自由人類IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及IgA₂組成之群的重鏈恆定區。在某些實施例中，重鏈恆定區係IgG₁。在某些實施例中，IgG₁之胺基酸序列包含根據EU編號系統編號之N297A突變。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 194之重鏈恆定區。在某些實施例中，IgG₁之胺基酸序列包含根據EU編號系統編號之N297Q突變。在某些實施例中，IgG₁係無海藻糖基化之IgG₁。在某些實施例中，重鏈恆定區係IgG₄。在某些實施例中，IgG₄之胺基酸序列包含根據EU編號系統編號之S228P突變。在某些實施

例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 196之重鏈恆定區。

[0065] 在某些實施例中，抗體包含選自由人類IgGκ及IgGλ組成之群之輕鏈恆定區。在某些實施例中，輕鏈恆定區係IgGκ。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 198之輕鏈恆定區。在某些實施例中，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 219之輕鏈恆定區。在某些實施例中，輕鏈恆定區係IgGλ。

[0066] 在另一態樣中，本發明提供一種與本文所揭示之抗體交叉競爭結合至人類LAG-3之抗體或分離之抗體。在某些實施例中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其與包含SEQ ID NO: 15及16中分別陳述之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列的抗體交叉競爭結合至人類LAG-3。在某些實施例中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其與包含SEQ ID NO: 65及73；220及73；65及221；或220及221中分別陳述之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列的抗體交叉競爭結合至人類LAG-3。

[0067] 在另一態樣中，本發明提供一種與本文所揭示之抗體結合至相同之人類LAG-3抗原決定基的抗體或分離之抗體。在某些實施例中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其與包含SEQ ID NO: 15及16中分別陳述之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列的抗體結合至相同之人類LAG-3抗原決定基。在某些實施例中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其與包含SEQ ID NO: 65及73；220及73；65及

221；或220及221中分別陳述之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列的抗體結合至相同之人類LAG-3抗原決定基。

[0068] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體或分離之抗體，其結合，例如特異性結合至人類LAG-3之抗原決定基。在某些實施例中，該抗體結合至位於人類LAG-3的由胺基酸序列SEQ ID NO: 216組成之區域內的抗原決定基。在某些實施例中，該抗體結合至位於人類LAG-3的由胺基酸序列SEQ ID NO: 215組成之區域內的抗原決定基。在某些實施例中，該抗體結合至位於人類LAG-3的由胺基酸序列SEQ ID NO: 214組成之區域內的抗原決定基。在某些實施例中，該抗體結合至位於人類LAG-3的由胺基酸序列SEQ ID NO: 213組成之區域內的抗原決定基。在某些實施例中，該抗體結合至位於人類LAG-3的由胺基酸序列SEQ ID NO: 212組成之區域內的抗原決定基。在某些實施例中，該抗體結合至位於人類LAG-3的由胺基酸序列SEQ ID NO: 211組成之區域內的抗原決定基。

[0069] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至與任何本發明之抗體相同之人類LAG-3抗原決定基的抗體或分離之抗體。在某些實施例中，該抗體結合至位於人類LAG-3的由胺基酸序列SEQ ID NO: 216組成之區域內的抗原決定基。在某些實施例中，該抗體結合至位於人類LAG-3的由胺基酸序列SEQ ID NO: 215組成之區域內的抗原決定基。在某些實施例中，該抗體結合至位於人類LAG-3的由胺基酸序列SEQ ID NO: 214組成之區域內的抗

原決定基。在某些實施例中，該抗體結合至位於人類LAG-3的由胺基酸序列SEQ ID NO: 213組成之區域內的抗原決定基。在某些實施例中，該抗體結合至位於人類LAG-3的由胺基酸序列SEQ ID NO: 212組成之區域內的抗原決定基。在某些實施例中，該抗體結合至位於人類LAG-3的由胺基酸序列SEQ ID NO: 211組成之區域內的抗原決定基。

[0070] 在另一態樣中，本發明提供一種抗體，如藉由氫/氘檢定所測定，該抗體當結合至人類LAG-3蛋白或其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之片段時，使得由SEQ ID NO: 216中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下由SEQ ID NO: 216中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換減少。在另一態樣中，本發明提供一種抗體，如藉由氫/氘檢定所測定，該抗體當結合至人類LAG-3蛋白或其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之片段時，使得由SEQ ID NO: 215中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下由SEQ ID NO: 215中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換減少。在另一態樣中，本發明提供一種抗體，如藉由氫/氘檢定所測定，該抗體當結合至人類LAG-3蛋白或其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之片段時，使得由SEQ ID NO: 214中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下由SEQ ID NO: 214中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換減少。在

另一態樣中，本發明提供一種抗體，如藉由氫/氘檢定所測定，該抗體當結合至人類LAG-3蛋白或其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之片段時，使得由SEQ ID NO: 213中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下由SEQ ID NO: 213中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換減少。在另一態樣中，本發明提供一種抗體，如藉由氫/氘檢定所測定，該抗體當結合至人類LAG-3蛋白或其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之片段時，使得由SEQ ID NO: 212中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下由SEQ ID NO: 212中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換減少。在另一態樣中，本發明提供一種抗體，如藉由氫/氘檢定所測定，該抗體當結合至人類LAG-3蛋白或其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之片段時，使得由SEQ ID NO: 211中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下由SEQ ID NO: 211中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換減少。在一些實施例中，氫/氘交換減少係使用氫-氘交換(HDX)，例如，如本文在實例中所描述量測。

[0071] 在另一態樣中，本發明提供一種特異性結合至與任何本發明之抗體相同的人類LAG-3抗原決定基的抗體或分離之抗體。在某些實施例中，如藉由氫/氘檢定所測定，該抗體當結合至人類LAG-3蛋白或其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之片段時，使得由SEQ ID NO: 216中所

陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下由SEQ ID NO: 216中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換減少。在某些實施例中，如藉由氫/氘檢定所測定，該抗體當結合至人類LAG-3蛋白或其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之片段時，使得由SEQ ID NO: 215中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下由SEQ ID NO: 215中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換減少。在某些實施例中，如藉由氫/氘檢定所測定，該抗體當結合至人類LAG-3蛋白或其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之片段時，使得由SEQ ID NO: 214中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下由SEQ ID NO: 214中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換減少。在某些實施例中，如藉由氫/氘檢定所測定，該抗體當結合至人類LAG-3蛋白或其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之片段時，使得由SEQ ID NO: 213中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下由SEQ ID NO: 213中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換減少。在某些實施例中，如藉由氫/氘檢定所測定，該抗體當結合至人類LAG-3蛋白或其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之片段時，使得由SEQ ID NO: 212中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下由SEQ ID NO: 212中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換減少。在某些實施例中，如藉由氫/氘檢定

所測定，該抗體當結合至人類LAG-3蛋白或其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之片段時，使得由SEQ ID NO: 211中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下由SEQ ID NO: 211中所陳述之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換減少。在一些實施例中，氫/氘交換減少係使用氫-氘交換(HDX)，例如，如本文在實例中所描述量測。

[0072] 在某些實施例中，該抗體係人類化抗體。在某些實施例中，該抗體係鼠類抗體。在某些實施例中，該抗體係嵌合抗體。在某些實施例中，該抗體對人類LAG-3具有拮抗性。在某些實施例中，該抗體使人類LAG-3減活，降低或抑制其活性。在某些實施例中，該抗體抑制人類LAG-3與II類MHC之結合。在某些實施例中，該抗體誘導經葡萄球菌腸毒素A (SEA)刺激之外周血單核細胞(PBMC)產生IL-2。在某些實施例中，該抗體誘導經抗CD3及抗CD28抗體刺激之腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)產生TNF α 。

[0073] 在另一態樣中，本發明提供與細胞毒性劑偶聯的如本文所揭示之抗體或分離之抗體。

[0074] 在另一態樣中，本發明提供與細胞抑制劑偶聯的如本文所揭示之抗體或分離之抗體。

[0075] 在另一態樣中，本發明提供與毒素偶聯的如本文所揭示之抗體或分離之抗體。

[0076] 在另一態樣中，本發明提供與放射性核種偶聯的如本文所揭示之抗體或分離之抗體。

[0077] 在另一態樣中，本發明提供與可偵測標記偶聯的如本文所揭示之抗體或分離之抗體。

[0078] 在另一態樣中，本發明提供如本文所揭示之抗體或分離之抗體，其中重鏈可變區之N末端胺基酸殘基係焦麩胺酸(例如，由重鏈可變區N末端E或Q殘基之游離胺基轉譯後環化所產生)。在另一態樣中，本發明提供如本文所揭示之抗體或分離之抗體，其中重鏈之N末端胺基酸殘基係焦麩胺酸(例如，由重鏈N末端E或Q殘基之游離胺基轉譯後環化所產生)。

[0079] 在另一態樣中，本發明提供如本文所揭示之抗體或分離之抗體，其中輕鏈可變區之N末端胺基酸殘基係焦麩胺酸(例如，由輕鏈可變區N末端E或Q殘基之游離胺基轉譯後環化所產生)。在另一態樣中，本發明提供如本文所揭示之抗體或分離之抗體，其中輕鏈之N末端胺基酸殘基係焦麩胺酸(例如，由輕鏈N末端E或Q殘基之游離胺基轉譯後環化所產生)。

[0080] 在另一態樣中，本發明提供如本文所揭示之抗體或分離之抗體，其中該重鏈係無糖基化的。

[0081] 在另一態樣中，本發明提供一種醫藥組合物，其包含如本文所揭示之抗體及醫藥學上可接受之載劑。

[0082] 在另一態樣中，本發明提供一種多核苷酸或分離之多核苷酸，其編碼如本文所揭示之抗體之重鏈及/或輕鏈。在另一態樣中，本發明提供一種包含該多核苷酸

之載體。在另一態樣中，本發明提供一種包含該多核苷酸之重組宿主細胞。在另一態樣中，本發明提供一種包含該載體之重組宿主細胞。在另一態樣中，本發明提供一種產生如本文所揭示之抗體的方法，該方法包括培養該宿主細胞，由此表現該多核苷酸並產生該抗體。在一個實施例中，該方法係一種活體外方法。

[0083] 在一個實施例中，本發明係關於用作藥物的本發明之抗體，或本發明之醫藥組成物，或本發明之多核苷酸，或本發明之載體，或本發明之重組宿主細胞。

[0084] 在一個實施例中，本發明係關於用作診斷劑的本發明之抗體，或本發明之醫藥組成物，或本發明之多核苷酸，或本發明之載體，或本發明之重組宿主細胞。

[0085] 在另一態樣中，本發明提供一種在受試者中響應抗原來增進T細胞活化的方法，該方法包括向該受試者投予有效量的如本文所揭示之抗體或醫藥組成物。在另一態樣中，本發明提供一種治療受試者之癌症的方法，該方法包括向該受試者投予有效量的如本文所揭示之抗體或醫藥組成物。在前述方法之某些實施例中，該抗體或醫藥組成物係經皮下投予。在前述方法之某些實施例中，該抗體或醫藥組成物係經靜脈內投予。在前述方法之某些實施例中，該抗體或醫藥組成物係在腫瘤內投予。在前述方法之某些實施例中，該抗體或醫藥組成物係遞送至腫瘤引流淋巴結。在前述方法之某些實施例中，該抗體或醫藥組成物係經動脈內投予。在前述方法之某些實施例中，該抗體

或醫藥組成物係經鼻內投予。

[0086] 在一個態樣中，本發明係關於用於響應抗原而增進T細胞活化之方法中的本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物。

[0087] 在一個態樣中，本發明係關於用於在受試者中響應抗原來增進T細胞活化之方法中的本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物。

[0088] 在一個態樣中，本發明係關於用於在受試者中響應抗原來增進T細胞活化之方法中的本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物，該方法包括向該受試者投予有效量的本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物。

[0089] 在一個態樣中，本發明係關於用於治療癌症之方法中的本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物。

[0090] 在一個態樣中，本發明係關於用於治療受試者癌症之方法中的本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物。

[0091] 在一個態樣中，本發明係關於用於治療受試者癌症之方法中的本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物，該方法包括向該受試者投予有效量的本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物。

[0092] 在用於本發明之抗體、多核苷酸、載體、重

組宿主細胞及/或醫藥組成物的一個實施例中，該抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物係經皮下或靜脈內投予。在用於本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物的一個實施例中，該抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物係經腫瘤內或動脈內投予。在用於本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物的一個實施例中，該抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物係經鼻內投予。

[0093] 在某些實施例中，前述方法另外包括向受試者投予額外治療劑。因此，在用於本發明之方法中的抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物之一個實施例中，該方法另外包括向受試者投予額外治療劑。

[0094] 在一個態樣中，本發明係關於用作藥物的(a)本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物，以及(b)額外治療劑。

[0095] 在一個態樣中，本發明係關於用於治療癌症之方法中的(a)本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物，以及(b)額外治療劑。

[0096] 在一個態樣中，本發明係關於醫藥組成物、套組或分裝部分之套組，其包含(a)本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物，以及(b)額外治療劑。

[0097] 在某些實施例中，該額外治療劑係化學治療劑。在某些實施例中，該額外治療劑係放射性治療劑。

[0098] 在某些實施例中，該額外治療劑係檢查點靶向劑。在某些實施例中，該檢查點靶向劑係選自由以下組成之群：拮抗劑抗PD-1抗體、拮抗劑抗PD-L1抗體、拮抗劑抗PD-L2抗體、拮抗劑抗CTLA-4抗體、拮抗劑抗TIM-3抗體、拮抗劑抗LAG-3抗體、拮抗劑抗CEACAM1抗體、促效劑抗GITR抗體、促效劑抗OX40抗體、拮抗劑抗TIGIT抗體、促效劑抗CD137抗體、拮抗劑抗VISTA抗體、拮抗劑抗CD73抗體及拮抗劑抗CD96抗體。在某些實施例中，該額外治療劑係抗PD-1抗體。在某些實施例中，該抗PD-1抗體係派姆單抗(pembrolizumab)。在某些實施例中，該抗PD-1抗體係納武單抗(nivolumab)。在某些實施例中，該額外治療劑係抗PD-L1抗體。在某些實施例中，該額外治療劑係抗CTLA-4抗體。

[0099] 在某些實施例中，該額外治療劑包含小分子。在某些實施例中，該額外治療劑係PD-1路徑之小分子抑制劑。在某些實施例中，該額外治療劑係PD-1或PD-L1之小分子抑制劑。

[0100] 在某些實施例中，該額外治療劑係吲哚胺-2,3-雙加氧酶(IDO)之抑制劑。在某些實施例中，該抑制劑係選自由以下組成之群：艾帕卡多(epacadostat)、F001287、吲哚莫德(indoximod)及NLG919。在某些實施例中，該抑制劑係艾帕卡多。在某些實施例中，該抑制劑係

F001287。在某些實施例中，該抑制劑係吲哚莫德。在某些實施例中，該抑制劑係NLG919。

[0101] 在某些實施例中，該額外治療劑係ARG、LSD1、CD112、CD112R或VEGF之抑制劑。在某些實施例中，該額外治療劑係干擾素基因刺激蛋白(STING)促效劑。在某些實施例中，該額外治療劑係CD80-Fc蛋白。

[0102] 在某些實施例中，該額外治療劑係疫苗。在某些實施例中，該疫苗包括熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)，其包含熱休克蛋白與抗原肽之複合物。在某些實施例中，該熱休克蛋白係hsc70且與腫瘤相關抗原肽形成複合物。在某些實施例中，該熱休克蛋白係gp96蛋白且與腫瘤相關抗原肽形成複合物，其中該HSPPC係來源於自受試者獲得的腫瘤。在某些實施例中，該熱休克蛋白係gp96蛋白且與腫瘤相關抗原肽形成複合物，其中該HSPPC係來源於自受試者獲得的腫瘤。在某些實施例中，該額外治療劑包含TCR。在某些實施例中，該額外治療劑係可溶性TCR。在某些實施例中，該額外治療劑係表現TCR之細胞。在某些實施例中，該額外治療劑係表現嵌合抗原受體之細胞。在某些實施例中，該額外治療劑係特異性結合至肽-MHC複合物的抗體。在某些實施例中，該額外治療劑係佐劑。在一個態樣中，本發明係關於用作藥物，例如用於治療癌症之方法中的(a)本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物，以及(b)疫苗，視情況其中該疫苗包含熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)，其包含

熱休克蛋白與抗原肽之複合物。在一個態樣中，本發明係關於醫藥組成物、套組或分裝部分之套組，其包含(a)本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組成物，以及(b)疫苗，視情況其中該疫苗包含熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)，其包含熱休克蛋白與抗原肽之複合物。

【圖式簡單說明】

[0103] 圖1A、1B及1C係一組柱形圖，顯示了如藉由流動式細胞測量術量測的抗LAG-3 Fab與野生型Jurkat細胞或經工程改造成表現人類LAG-3之Jurkat細胞的結合。本研究中測試的抗LAG-3 Fab包括P01A12、P01C09、P05E01、P13A04、P13A06、P13B01、P13B02、P13B03、P13B11、P13C06、P13C08、P13C10、P13D04、P13D05、P13E02、P13F01、P13F02、P13F06、P13F09、P13G01、P13G04、P13G05、P13H05、P14A04、P14B07、P14C04、P14F01、P14F06、P14G01、P14G03、P15B06、P15C02、P15E06、P15F06、P15G05、P16D04及P16H05。

[0104] 圖2A及2B係顯示由測試抗LAG-3 Fab或對LAG-3不具特異性之負對照Fab阻斷交聯之重組LAG-3-6His與II類MHC表現性Raji細胞之結合之能力的檢定得到之結果的圖。圖2A之條形圖顯示了由負對照Fab或者抗LAG-3 Fab P13B02、P13C08、P13C10、P13E02、P13F02、P01A12、P13B01、P05E01或P01C09介導之阻斷

的百分比。圖 2B 之線形圖顯示了在滴定劑量的抗 LAG-3 Fab P01A12、P13A06、P13B01、P13B02、P13C06、P13C08、P13C10、P13E02 或 P14C04，或者負對照 Fab 存在下 LAG-3 結合之百分比。

[0105] 圖 3 係與圖 2B 中所示類似的線形圖，其中以 LAG-3 之百分比對全長嵌合抗 LAG-3 抗體 P13A06、P13B01、P13B02、P13C06、P13C08 或 P13E02，或同型對照抗體之滴定劑量作圖。

[0106] 圖 4 之圖顯示了在無任何抗體存在下，或在同型對照抗體或嵌合抗 LAG-3 抗體 P13B02 存在下葡萄球菌內毒素 A (SEA) 刺激後人類外周血單核細胞 (PBMC) 中 IL-2 之產生。

[0107] 圖 5A 與 5B 係具有相應鼠類序列及人類生殖系序列之人類化可變區的序列比對。圖 5A 係比較人類化重鏈可變區 H0-H4 (分別為 SEQ ID NO: 56-60)、鼠類抗體 P13B02 重鏈可變區 (SEQ ID NO: 15)，以及人類生殖系序列 IGHV1-46*01 (SEQ ID NO: 153) 及 IGHJ1*01 (SEQ ID NO: 200) 的序列比對。圖 5B 係比較人類化輕鏈可變區 L0-L4 (分別為 SEQ ID NO: 73-77)、鼠類抗體 P13B02 輕鏈可變區 (SEQ ID NO: 16)，以及人類生殖系序列 IGKV3-20*01 (SEQ ID NO: 160) 及 IGKJ1*01 (SEQ ID NO: 201) 的序列比對。圓點表示與 H0 (圖 5A) 或 L0 (圖 5B) 中相應殘基一致之殘基。虛線表示與 H0 (圖 5A) 或 L0 (圖 5B) 相比較而缺乏之胺基酸殘基。

[0108] 圖6A及6B係顯示如藉由流動式細胞測量術所量測的抗LAG-3抗體與經葡萄球菌內毒素A(SEA)活化之人類T細胞之結合的圖。圖6A係測試嵌合抗體P13B02 (IgG₁)，以及人類化抗體P13B02-06 (IgG₁)、P13B02-07 (IgG₁)、P13B02-16 (IgG₁)、P13B02-25 (IgG₁)、P13B02-26 (IgG₁)、P13B02-27 (IgG₁)、P13B02-30 (IgG₁ G1m17 N297A)及P13B02-30 (IgG₄)的一組柱形圖。圖6B係顯示抗LAG-3抗體P13B02-16 (IgG₁)或同型對照抗體與活化之原代人類CD4⁺ T細胞之結合的圖。以中值螢光強度(MFI)值對抗體濃度作圖。

[0109] 圖7A及7B係與圖2B中所示類似的線形圖，其中以LAG-3結合之百分比對同型對照抗體、嵌合抗體P13B02 (IgG₁)、人類化抗體P13B02-06 (IgG₁)、P13B02-07 (IgG₁)、P13B02-16 (IgG₁)、P13B02-26 (IgG₁)或P13B02-27 (IgG₁) (圖7A)，或人類化抗體P13B02-30 (IgG₁ G1m17 N297A) (圖7B)之不同劑量作圖。

[0110] 圖8A及8B係顯示在葡萄球菌內毒素A(SEA)刺激後人類外周血單核細胞(PBMC)中由抗LAG-3抗體或同型對照抗體誘導產生IL-2的圖。在圖8A中，測試的抗LAG-3抗體係P13B02-30 (IgG₁)。在圖8B中，抗LAG-3抗體P13B02-16 (IgG₁)或同型對照抗體係在存在或不存在抗PD-1抗體派姆單抗(Pembro)或納武單抗(Nivo)；抗PD-L1抗體#1、#2或#3；或抗CTLA-4抗體伊匹單抗(ipilimumab)(Ipi)下測試。

[0111] 圖 9A 及 9B 係顯示由單獨或與抗 PD-1 抗體派姆單抗 (Pembro) 組合的抗 LAG-3 抗體 P13B02-30 (IgG₁ G1m3 N297A) 或同型對照抗體誘導原代腫瘤浸潤淋巴細胞 (TIL) 產生 TNF α 的圖。TIL 係自腎細胞癌 (圖 9A) 或結腸直腸癌 (圖 9B) 腫瘤分離且經抗 CD3/CD28 微珠活化。

[0112] 圖 10A 及 10B 之圖顯示在 LAG-3 介導之細胞抑制檢定中抗 LAG-3 抗體 P13B02-30 (IgG₁ G1m3 N297A) 增進 T 細胞活化。在一式六份滴定劑量之抗 LAG-3 抗體 (黑點) 或同型對照抗體 (白點)、固定濃度之 Raji 細胞及固定濃度之葡萄球菌內毒素 E (SEE) 肽存在下孵育 Jurkat-NFAT-螢光素酶-LAG-3 細胞。在第一個實驗中，測試的抗體濃度在 0.2-50 $\mu\text{g/mL}$ 之間 (圖 10A)。在第二個實驗中，測試的抗體濃度在 0.1-100 $\mu\text{g/mL}$ 之間 (圖 10B)。RLU=螢光素酶報告子之相對光單位。

【實施方式】

[0113] 本發明提供特異性結合至 LAG-3 (例如人類 LAG-3) 且拮抗 LAG-3 功能，例如 LAG-3 介導之免疫抑制的抗體。亦提供包含該等抗體之醫藥組成物、編碼該等抗體之核酸、用於製備該等抗體之表現載體及宿主細胞，以及使用該等抗體治療受試者之方法。本文所揭示之抗體特別適用於響應抗原 (例如腫瘤抗原或感染性疾病抗原) 來增進 T 細胞活化，且因此可用於治療受試者之癌症或者治療或預防受試者之感染性疾病。預期本文所描述之「分離之抗

體」的所有情形亦為可以但未必經分離之抗體。預期本文所描述之「分離之多核苷酸」的所有情形亦為可以但未必經分離之多核苷酸。預期本文所描述之「抗體」的所有情形亦為可以但未必經分離之抗體。預期本文所描述之「多核苷酸」的所有情形亦為可以但未必經分離之多核苷酸。

6.1 定義

[0114] 如本文所使用，術語「約」及「近似地」當用於修飾數字值或數字範圍時，指示在該值或範圍以上5%至10%(例如，至多高5%至10%)及以下5%至10%(例如至多低5%至10%)的偏差在所述值或範圍的預定含義內。

[0115] 如本文所使用，術語「LAG-3」係指淋巴細胞活化基因3(又稱為CD223)。如本文所使用，術語「人類LAG-3」係指由野生型人類LAG-3基因(例如GenBank™登錄號NM_002286.5)編碼的人類LAG-3蛋白。人類LAG-3之例示性不成熟胺基酸序列以SEQ ID NO: 166提供。人類LAG-3之例示性成熟胺基酸序列以SEQ ID NO: 167及SEQ ID NO: 210提供。

[0116] 如本文所使用，術語「抗體」包括全長抗體、全長抗體之抗原結合片段及包含抗體CDR、VH區或VL區之分子。抗體之實例包括單株抗體、重組產生之抗體、單特異性抗體、多特異性抗體(包括雙特異性抗體)、人類抗體、人類化抗體、嵌合抗體、鼠類抗體、免疫球蛋白、合成抗體、包含兩個重鏈及兩個輕鏈分子之四聚體抗

體、抗體輕鏈單體、抗體重鏈單體、抗體輕鏈二聚體、抗體重鏈二聚體、抗體輕鏈-抗體重鏈對、內抗體、異源偶聯物抗體、抗體-藥物偶聯物、單結構域抗體、單價抗體、單鏈抗體或單鏈Fv(scFv)、駱駝化抗體、affybody、Fab片段、F(ab')₂片段、二硫鍵連接的Fv(sdFv)、抗獨特型(肯那個Id)抗體(包含例如，抗-抗Id抗體)及以上任一種之抗原結合片段。在某些實施例中，本文所述之抗體係指多株抗體群。抗體可以為屬於任何類型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY)、任何類別(例如IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁或IgA₂)或任何亞類(例如IgG_{2a}或IgG_{2b})之免疫球蛋白分子。在某些實施例中，本文所述之抗體係IgG抗體，或其類別(例如人類IgG₁或IgG₄)或子類。在一具體實施例中，該抗體係人類化單株抗體。在另一具體實施例中，該抗體係人類單株抗體。

[0117] 如本文所使用，術語「VH區」及「VL區」分別係指包含FR(構架區)1、2、3及4以及CDR(互補決定區)1、2及3的單一抗體重鏈可變區及輕鏈可變區(參見Kabat等人 (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (NIH Publication No. 91-3242, Bethesda)，以引用的方式整體併入本文中)。

[0118] 如本文所使用，術語「CDR」或「互補決定區」意謂在重鏈多肽與輕鏈多肽的可變區內發現的非鄰接抗原組合位點。該等特定區域已描述於Kabat等人, *J. Biol. Chem.* 252, 6609-6616 (1977)，及Kabat等人, *Sequences of*

protein of immunological interest. (1991), 以及 Chothia 等人, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) 及 MacCallum 等人, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996) 中, 所有文獻以引用之方式整體併入本文中, 其中當彼此相比較時, 該等定義包括胺基酸殘基之重疊或亞組。在某些實施例中, 術語「CDR」係如 Kabat 等人, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) 及 Kabat 等人, Sequences of protein of immunological interest. (1991) 所定義之 CDR。在某些實施例中, 術語「CDR」係如 Chothia 等人, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) 所定義之 CDR。在某些實施例中, 術語「CDR」係如 MacCallum 等人, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996) 及 Martin A. 「Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains,」 *Antibody Engineering*, Kontermann 及 Dübel 編輯, 第 31 章, 第 422-439 頁, Springer-Verlag, Berlin (2001) 所定義之 CDR。

[0119] 如本文所使用, 術語「構架(FR)胺基酸殘基」係指在免疫球蛋白鏈之構架區中的胺基酸。如本文所使用, 「構架區」或「FR區」包括作為可變區之一部分但不為 CDR (例如, 使用 Kabat 或 Chothia 之 CDR 定義) 之一部分的胺基酸殘基。

[0120] 如本文所使用, 術語「可變區」與「可變結構域」可互換使用且係此項技術中常用的。可變區典型地係指抗體之一部分, 一般為輕鏈或重鏈之一部分, 典型地為成熟重鏈中之胺基末端 110 至 125 個胺基酸及成熟輕鏈中

約90至115個胺基酸，其序列隨抗體而明顯不同且用於特定抗體對其特定抗原之結合及特異性。序列變異集中在稱為互補決定區(CDR)之區域，而可變結構域中保守性較高之區域稱為構架區(FR)。不希望受任何特定機制或理論束縛，輕鏈及重鏈之CDR主要負責抗體與抗原之相互作用及特異性。在某些實施例中，可變區係人類可變區。在某些實施例中，可變區包含啮齒動物或鼠類CDR及人類構架區(FR)。在特定實施例中，可變區係靈長類動物(例如非人類靈長類動物)可變區。在某些實施例中，可變區包含啮齒動物或鼠類CDR及靈長類動物(例如非人類靈長類動物)構架區(FR)。

[0121] 術語「VL」與「VL結構域」可互換使用，指抗體之輕鏈可變區。

[0122] 術語「VH」與「VH結構域」可互換使用，指抗體之重鏈可變區。

[0123] 如本文所使用，術語「恆定區」與「恆定結構域」可互換使用且係此項技術中常用的。恆定區係不直接參與抗體與抗原之結合但能展現各種效應功能，如與Fc受體(例如Fc γ 受體)相互作用的抗體部分，例如輕鏈及/或重鏈之羧基末端部分。相對於免疫球蛋白可變結構域，免疫球蛋白分子之恆定區一般具有較為保守之胺基酸序列。

[0124] 如本文所使用，在提及抗體時使用的術語「重鏈」可以基於恆定結構域之胺基酸序列而指任何截然不同之類型，例如 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ ，由此分別得到IgA、

IgD、IgE、IgG及IgM抗體類別，包括IgG之亞類，例如IgG₁、IgG₂、IgG₃及IgG₄。

[0125] 如本文所使用，在提及抗體時使用的術語「輕鏈」可以基於恆定結構域之胺基酸序列而指任何截然不同的類型，例如 κ 或 λ 。輕鏈胺基酸序列係此項技術中熟知的。

[0126] 如本文所使用，術語「EU編號系統」係指針對抗體恆定區之EU編號慣例，如Edelman, G.M.等人, Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969)以及Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health and Human Services, 第5版, 1991中所描述，各文獻以引用之方式整體併入本文中。

[0127] 「結合親和力」一般係指一個分子(例如抗體)之單一結合位點與其結合搭配物(例如抗原)之間的非共價相互作用之總和的強度。除非另作指示，否則如本文所使用，「結合親和力」係指反映結合對成員(例如抗體與抗原)之間之1:1相互作用的固有結合親和力。分子X對其搭配物Y之親和力一般可由解離常數(K_D)表示。親和力可藉此項技術中已知之多種方式量測及/或表達，包括但不限於，平衡解離常數(K_D)及平衡締合常數(K_A)。 K_D 係由 k_{off}/k_{on} 之商計算，而 K_A 係由 k_{on}/k_{off} 之商計算。 k_{on} 係指例如抗體與抗原之締合速率常數，且 k_{off} 係指例如抗體與抗原之解離速率常數。 k_{on} 及 k_{off} 可以由普通熟習此項技術者已知之技術，諸如BIAcore®或KinExA測定。如本文所使

用，「較低親和力」係指較大 K_D 。

[0128] 如本文所使用，術語「特異性結合」、「特異性識別」、「免疫特異性結合」及「免疫特異性識別」在抗體之情況下係類似術語且指分子與抗原(例如抗原決定基或免疫複合物)之結合，此結合係熟習此項技術者所瞭解的。舉例而言，如藉由例如免疫檢定，BIAcore®、KinExA 3000儀器(Sapidyne Instruments, Boise, ID)或此項技術中已知之其他檢定所測定，特異性結合至抗原之分子一般可以較低之親和力結合至其他肽或多肽。在一具體實施例中，特異性結合至抗原之分子結合抗原之 K_A 比該等分子非特異性結合至另一抗原時之 K_A 高至少2 log (亦即，10倍)、2.5 log、3 log、4 log或更高。

[0129] 在另一具體實施例中，特異性結合至抗原之分子在類似結合條件下不與其他蛋白質交叉反應。在另一具體實施例中，特異性結合至LAG-3之分子不與其他非LAG-3蛋白交叉反應。在一具體實施例中，本文提供一種以比結合至另一不相關抗原高的親和力結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體。在某些實施例中，本文提供這樣一種抗體，如藉由例如放射免疫檢定、表面電漿共振或動力學排除檢定所量測，該抗體結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之親和力比結合至另一不相關抗原之親和力高20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高。在一具體實施例中，如藉由例如放射免疫檢定所量測，本文所描述之

抗LAG-3抗體與不相關的非LAG-3蛋白之結合程度比該抗體與LAG-3蛋白之結合低10%、15%或20%。

[0130] 就Fc而言，如本文所使用，術語「無海藻糖基化」或「無海藻糖基化的」係指大體上缺乏海藻糖直接或間接共價連接至根據EU編號系統編號的人類IgG₁ Fc區之殘基297，或非IgG₁或非人類IgG₁免疫球蛋白中之相應殘基。因此，在包含複數種無海藻糖基化抗體之組合物中，至少70%的抗體將在抗體Fc區之殘基297處係未直接或間接(例如經由插入糖)海藻糖基化的，並且在一些實施例中，至少80%、85%、90%、95%或99%將在Fc區之殘基297處係未直接或間接海藻糖基化的。

[0131] 如本文所使用，「抗原決定基」係此項技術中的一個術語且係指抗體可以特異性結合的抗原之局部區域。抗原決定基可以例如係多肽之相連胺基酸(線性或連續抗原決定基)，或抗原決定基可以例如係來自一或多個多肽之兩個或更多個不相連區域(構象、非線性、不連續或不相連抗原決定基)。在某些實施例中，可以藉由例如NMR波譜法、X射線繞射結晶學研究、ELISA檢定、氫/氘交換結合質譜法(例如液相層析電噴霧質譜法)、基於陣列之寡肽掃描檢定(例如使用支架上化學連接肽(Chemical Linkage of Peptides onto Scaffolds, CLIPS)定位不連續或構象抗原決定基的拘束肽)，及/或突變誘發定位(例如定點突變誘發定位)來測定抗體所結合之抗原決定基。對於X射線結晶法，結晶可以使用此項技術中已知之任何方法實現

(例如 Giegé R 等人 (1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50(第4部分): 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 , 皆以引用之方式整體併入本文中)。抗體:抗原晶體可以使用熟知之X射線繞射技術研究並且可以使用電腦軟體精修, 諸如 X-PLOR (Yale University, 1992, 由 Molecular Simulations, Inc. 發佈 ; 參見例如, *Meth Enzymol* (1985) 第114及115卷, Wyckoff HW等人編 ; U.S. 2004/0014194) , 及 BUSTER (Bricogne G (1993) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 49(第1部分): 37-60 ; Bricogne G (1997) *Meth Enzymol* 276A: 361-423, Carter CW編 ; Roversi P 等人 (2000) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 56(第10部分): 1316-1323) , 皆以引用之方式整體併入本文中。突變誘發定位研究可以使用熟習此項技術者已知之任何方法實現。有關突變誘發技術, 包括丙胺酸掃描突變誘發技術之描述, 參見例如, Champe M 等人 (1995) *J Biol Chem* 270: 1388-1394及 Cunningham BC & Wells JA (1989) *Science* 244: 1081-1085 , 其各自以引用之方式整體併入本文中。支架上化學連接肽(CLIPS)係以結構約束之構型呈現一或多個肽以用於複雜蛋白質結構域之功能模擬的一項技術。參見例如, 美國公開案第 US 2008/0139407 A1號及第 US 2007/099240 A1號, 以及美國專利第 7,972,993號, 其各自以引用之方式整體併入本文

中。在一具體實施例中，抗體之抗原決定基係使用丙胺酸掃描突變誘發研究測定。在一具體實施例中，抗體之抗原決定基係使用氫/氘交換結合質譜法測定。在一具體實施例中，抗體之抗原決定基係使用來自 Pepscan Therapeutics 之 CLIPS 抗原決定基定位技術測定。

[0132] 如本文所使用，術語「位於由特定胺基酸序列或一組胺基酸殘基組成的人類 LAG-3 之區域內的抗原決定基」係指包含該指定區域之一或多個胺基酸殘基的抗原決定基，其中該指定區域包括該人類 LAG-3 區域之第一個指定的胺基酸殘基及最後一個指定的胺基酸殘基。在某些實施例中，抗原決定基包含位於該指定區域中之每一個胺基酸殘基。在某些實施例中，在人類 LAG-3 中指定區域外的一或多個額外胺基酸殘基與位於該指定區域內之抗原決定基一起結合至抗體。

[0133] 如本文所使用，術語「T細胞受體」與「TCR」可互換使用且係指全長異二聚體 $\alpha\beta$ 或 $\gamma\delta$ TCR、全長 TCR 之抗原結合片段，及包含 TCR CDR 或可變區之分子。TCR 之實例包括但不限於，全長 TCR、全長 TCR 之抗原結合片段、缺乏跨膜及細胞質區之可溶性 TCR、含有藉由可撓性連接子附接之 TCR 可變區的單鏈 TCR、由工程改造之二硫鍵連接的 TCR 鏈、單特異性 TCR、多特異性 TCR (包括雙特異性 TCR)、TCR 融合物、人類 TCR、人類化 TCR、嵌合 TCR、重組產生的 TCR 及合成 TCR。該術語涵蓋野生型 TCR 及遺傳工程改造之 TCR (例如包含嵌合 TCR 鏈

之嵌合TCR，該嵌合TCR鏈包括來自第一物種之TCR的第一部分及來自第二物種之TCR的第二部分)。

[0134] 如本文所使用，術語「主要組織相容性複合物」與「MHC」可互換使用且係指I類MHC分子及/或II類MHC分子。

[0135] 如本文所使用，術語「肽-MHC複合物」係指具有肽結合於MHC之技術公認之肽結合袋中的MHC分子(I類MHC或II類MHC)。

[0136] 如本文所使用，術語「治療(treat/treating/treatment)」係指本文所描述之治療或預防措施。為了預防、治癒、延緩該疾病或病症或者復發疾病或病症，減輕其嚴重程度，或緩解其症狀，或者為了延長受試者之存活期超出在無此治療存在下所預期之存活期，「治療」方法採用了向患有疾病或病症，或易患此類疾病或病症之受試者投予抗體。

[0137] 如本文所使用，在向受試者投予療法之情況下，術語「有效量」係指實現所希望之預防或治療作用的療法之量。

[0138] 如本文所使用，術語「受試者」包括人類或非人類動物。在一個實施例中，受試者係人類或非人類哺乳動物。在一個實施例中，受試者係人類。

[0139] 兩個序列(例如胺基酸序列或核酸序列)之間之「一致性百分比」可以使用數學算法測定。用於比較兩個序列之數學算法的特定非限制性實例係如 Karlin S &

Altschul SF (1993) PNAS 90: 5873-5877中改良之Karlin S & Altschul SF (1990) PNAS 87: 2264-2268的算法，其各自以引用之方式整體併入本文中。此類算法被併入Altschul SF等人(1990) J Mol Biol 215: 403(以引用之方式整體併入本文中)之NBLAST及XBLAST程式中。BLAST核苷酸搜索可以用NBLAST核苷酸程式參數設置執行，例如對於評分=100，字長=12，由此獲得與本文所描述之核酸分子同源之核苷酸序列。BLAST蛋白質搜索可以用XBLAST程式參數設置執行，例如對於評分50，字長=3，由此獲得與本文所描述之蛋白質分子同源之胺基酸序列。為了獲得帶空位之比對以實現比較目的，可以利用如Altschul SF等人(1997) Nuc Acids Res 25: 3389-3402(以引用之方式整體併入本文中)中所描述的帶空位之BLAST。或者，可以使用PSI BLAST執行一種迭代搜索法，偵測各分子之間的遠近關係(同上文)。當利用BLAST、帶空位之BLAST及PSI Blast程式時，可以使用各別程式(例如對於XBLAST及NBLAST)之預設參數(參見例如，National Center for Biotechnology Information (NCBI)，見萬維網ncbi.nlm.nih.gov)。用於序列比較之數學算法的另一特定非限制性實例係Myers及Miller, 1988, CABIOS 4:11-17(以引用之方式整體併入本文中)之算法。此類算法被併入ALIGN程式(2.0版)中，該程式係GCG序列比對軟體包之一部分。當利用ALIGN程式比較胺基酸序列時，可以使用PAM120權重殘基表、12分之空位長度罰分及4分之空位罰

分。

[0140] 兩個序列之間的一致性百分比可以在允許或不允許有空位情況下，使用與上文所述類似的技術測定。在計算一致性百分比時，典型地僅計算精確的匹配。

6.2 抗LAG-3抗體

[0141] 在一個態樣中，本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)且拮抗LAG-3功能之抗體。例示性抗體之胺基酸序列陳述於本文之表1-7中。

[0142] 熟練技術人員應理解，N末端E或Q胺基酸殘基在某些情況下可以藉由游離胺基轉譯後環化形成內醯胺而自發轉化成焦麩胺酸。因此，在某些實施例中，本發明提供包含本文所揭示之抗體重鏈可變區或輕鏈可變區(例如分別為SEQ ID NO: 56-72及73-77)或本文所揭示之全長重鏈或輕鏈(例如分別為SEQ ID NO: 168-186及187-191)的抗體，其中N末端E或Q胺基酸殘基已轉化成焦麩胺酸(例如由N末端E或Q殘基之游離胺基之轉譯後環化引起)。

表 1. 例示性抗 LAG-3 抗體之胺基酸序列。

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
1	P01C09 VH	QVQLKQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYM YWVKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTKYDPKLQGK ATITADTSSNTVYLQLSSLTSEDTAVFYCVIYSYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
2	P01C09 VL、P13F01 VL、P13G05 VL、P05E03 VL	EIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSNLHW YQQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTKLE IK
3	P05E01 VH	DVQLVESGAELVKPGASVKLSCTASGFTIKDTYIH WVKQRPEQGLEWIGEIDPANGNTKYDPKFQGKA TITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCATYYYRY DVGGFDYWGQGTTLTVS
4	P05E01 VL	DIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSNLHW FQQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISNMEAEDAATYYCQQWNSYPLTFGAGTKL ELK
5	P01A12 VH	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYM YWVKQRPEQGLDWIGRIDPANGNTKFDPKFQGK ATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCSTYYYYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
6	P01A12 VL	DIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSNLHW YQQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTKLE IK
7	P13B01 VH	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYIY WVKQRPERGLEWIGRIDPANGNTKFDPKFQGTAT ITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTTYFYRYD VGGFDYWGQGTTLTVS
8	P13B01 VL、P14C04 VL、P14B07 VL	ENVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSNLH WYQQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSG TSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTK LEIK
9	P13C10 VH、P15C02 VH、P16D04 VH、P13G05 VH、P13F06 VH、P14F01 VH、P16H01 VH	QVQLQQSGAELVKPGASVELSCTASGFNIRDITYM YWVKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTKFDPKFQDR ATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTTYFY RYDVGGFDYWGQGTTLTVS
10	P13C10 VL、P13E02 VL、P13F02 VL、P13B03 VL、P13H05 VL、P13G04 VL	ENVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSNLH WFQQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSG TSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTK LEIK
11	P13C08 VH	QVQLKQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDNYI HWVKQRPEQGLEWIGSIDPANGNTKYDPKFQGK ASITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCASYFYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS

SEQ ID NO:	説明	胺基酸序列
12	P13C08 VL	DVVMQTQTPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLH WFQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSG TSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTK LEIK
13	P13E02 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCTVSGFNIKDTYI HWVKQRPEQGLEWIGEIDPANGNSKYAPRFQGK ATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVYYCATYYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
14	P13F02 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYI HWVKQRPEQGLDWGEIDPANGHTKYDPKFQGK ATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVYYCATYYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
15	P13B02 VH	QVQMKQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYI HWVKQRPEQGLEWIGEIDPANDNTKYDPKFQGK ATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVYYCATYYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
16	P13B02 VL	EILLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLHW FQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTKLE IK
17	P13A06 VH	QVQLKQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYM YWVKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTKYDPKFQGK ATITADTSSNTVYLQLSSLTSEDNAVFYCVIYSYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
18	P13A06 VL	ENVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLH WYQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSG TSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPHTFGGGT KLEIK
19	P14C04 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYM YWVKQRPEQGLDWIGRIDPANGNTHFDPKFQGK ATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVYYCSTYFYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
20	P14A04 VH、P13F01 VH、P15E06 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVELSCTASGFNIRDTYM YWVKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTKFDPKFQDR ATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVYYCTTYFY RYDVGGFDYWGQGTTLTVS
21	P14A04 VL、P14G01 VL	DIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLHW FQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTKLE IK
22	P15F06 VH	QVQLKQSGAELVKPGASVELSCTASGFNIRDTYM YWVKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTKFDPKFQDR ATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVYYCTTYFY RYDVGGFDYWGQGTTLTVS
23	P15F06 VL	ENVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSTLH WFQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSG TSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPWTFGGGT KLEIK

SEQ ID NO:	説明	胺基酸序列
24	P13B03 VH	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYIH WVKQRPEQGLEWIGEIDPANGNTKYDPKFQGKA TITADTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVYYCATYYRY DVGGFDYWGQGTTLTVS
25	P15C02 VL	DVVMTQTPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLH WYQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSG TSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTK LEIK
26	P16D04 VL、P16H01 VL	ENVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLH WYQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSG TSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGAGT KLELK
27	P13A04 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVELSCTASGFNIRD TYM YWVKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTKFDPKFQDR ATMTADTSSNTAYLQLSSLTADTAVYYCTTYFY RYDVGGFDYWGQGTTLTVS
28	P13A04 VL	DIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLHW YQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISNMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTKL EIK
29	P16H05 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDNYI HWVKQRPEQGLEWIGSIDPANGNTKYDPKFQGK ASITADTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVYYCASYFYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
30	P16H05 VL	EIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLHW YQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPHTFGGGTKL EIK
31	P13F09 VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDNYI HWVKQRPEQGLEWIGSIDPANGNTKYDPKFQGK ASITADTSSNTAYLQLSSLTSEGTAVYYCASYFYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
32	P13F09 VL、P14F06 VL	EIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLHW FQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTKLE IK
33	P13G01 VH、P15G05 VH	EVQLQQSGAELVKPGASVELSCTASGFNIRD TYM YWVKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTKFDPKFQDR ATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVYYCTTYFY RYDVGGFDYWGQGTTLTVS
34	P13G01 VL	QIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLHW YQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTKLE IK
35	P13H05 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYI HWVKQRPEQGLEWIGEIDPANDNTKYDPKFQGK ATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVYYCATYYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS

SEQ ID NO:	説明	胺基酸序列
36	P13D04 VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDNYM DWVKQRPEQGLEWIGKIDPANGNTKYDPKFQ GK ATITADTSSNTAYLQLSSLTSED TAVYYCATYYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
37	P13D04 VL	DIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSNLHW FQQKSGTPPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTKLE IK
38	P14G01 VH・P05E03 VH	QVQLKESGAELVKPGASVELSCTASGFNIRD TYM YWVKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTKFDPKFQDR ATMTADTSSNTAYLQLSSLTSED TAVYYCTTYFY RYDVGGFDYWGQGTTLTVS
39	P14G03 VH	QVQMKQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYI HWVKQRPGQGLEWIGEIDPANGNTKYDPKFQ GK ATITADTSSNTAYLQLSSLTSED TAVYYCATYYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
40	P14G03 VL	DIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSNL YW FQQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTKLE IK
41	P13F06 VL	EILLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSNLHW YQQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTKLE IK
42	P13B11 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDN YM DWVKQRPEQGLEWIGKIDPANGNTKYDPKFQ GK ATITADTSSNTAYLQLSSLTSED TAVYYCATYYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
43	P13B11 VL	QIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSNLHW FQQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTKLE IK
44	P14F01 VL	ENVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSNLH WYQQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSG TSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSTYPFTFGSGTK LEIK
45	P14F06 VH	QVQMKQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDN YI HWVKQRPEQGLEWIGSIDPANGNTKYDPKFQ GK ASITADTSSNTAYLQLSSLTSED TAVYYCASYFYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
46	P13D05 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVELSCTASGFNIRD TYM YWVKQRPEQGLGWIGRIDPANGNTKFDPKFQDR ATMTADTSSNTAYLQLSSLTSED TAVYYCTTYFY RYDVGGFDYWGQGTTLTVS
47	P13D05 VL	EIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSNLHW FRQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPFTFGSGTKLE IK

SEQ ID NO:	説明	胺基酸序列
48	P13G04 VH	EVKLMESGAELVKPGASAELSCTASGFNIRDTYM YWVKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTKFDPKFQDR ATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVYYCTTYFY RYDVGGFDYWGQGTTLTVS
49	P15E06 VL	ENVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSGISSSNLH WYQQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSG TSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSRYPWTFGGGT KLEIK
50	P15G05 VL	EIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLHW YQQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPLTFGAGTKL ELK
51	P15B06 VH	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYM YWVKQRPEQGLDWIGRIDPANGNTHFDPKFQGK ATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVYYCSTYFYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
52	P15B06 VL	QILLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLHW YQQKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPLTFGAGTKL ELK
53	P14B07 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDNYY HWVKQRPEQGLEWIGSIDPANGNTKYDPKFQGK ASITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTTVYYCASYFYR YDVGGFDYWGQGTTLTVS
54	P13C06 VH	QVQMKQSGAELVKPGASVELSCTASGFNITDTYM YWVKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTKFDPKFQDR ATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVYYCTTYFD KYDVGGCDYWGQGTTLTVS
55	P13C06 VL	EIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLYW FQHKSGTSPKLWIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISSMDAENAATYYCQQWRSYPFTFGSGTKL EIK
56	H0	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDNAVYYCARYY YRYDVGGFDYWGQGLTVTVSS
57	H1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSTSTVYMESSLRSEDNAVYYCATYY YRYDVGGFDYWGQGLTVTVSS
58	H2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSSNTVYMESSLRSEDNAVYYCATYY YRYDVGGFDYWGQGLTVTVSS
59	H3	QVQMKQSGAEVKKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSSNTVYMESSLRSEDNAVYYCATYY YRYDVGGFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
60	H4	QVQMKQSGAEVVKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWIGIEDPANDNTKYDPKFQGR VTITADTSSNTVYLQLSSLRSEDVAVYYCATYYY RYDVGGFDYWGQGTLLTVSS
61	H4_R98K	QVQMKQSGAEVVKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWIGIEDPANDNTKYDPKFQGR VTITADTSSNTVYLQLSSLRSEDVAVYYCATYYY KYDVGGFDYWGQGTLLTVSS
62	H4_D100E	QVQMKQSGAEVVKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWIGIEDPANDNTKYDPKFQGR VTITADTSSNTVYLQLSSLRSEDVAVYYCATYYY RYEVGGFDYWGQGTLLTVSS
63	H1_R98K	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQGR RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGTLLTVSS
64	H1_R98K_K23T	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQGR RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGTLLTVSS
65	H1_R98K_L4M	QVQMVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQGR RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGTLLTVSS
220	H1_R98K_L4M	XVQMVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQGR RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGTLLTVSS, 其中 X = 麩醯胺酸(Q)或焦麩胺酸(pE)
66	H1_R98K_L4M_K23T	QVQMVQSGAEVKKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQGR RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGTLLTVSS
67	H1_R98K_L4M_V5K	QVQMKQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQGR RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGTLLTVSS
68	H1_R98K_L4M_V5K_K23T	QVQMKQSGAEVKKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQGR RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGTLLTVSS
69	H1_R98K_V5K	QVQLKQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQGR RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGTLLTVSS
70	H1_R98K_V5K_K23T	QVQLKQSGAEVKKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQGR RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
71	H2_R98K	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSSNTVYMELSSLRSEDNAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGTLLTVSS
72	H3_R98K	QVQMKQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSSNTVYMELSSLRSEDNAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGTLLTVSS
73	L0	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSSNLHW YQQKPGQAPRLLIYGTSNLAGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPFTFGQGTKVE IK
221	L0	XIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSSNLHW YQQKPGQAPRLLIYGTSNLAGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPFTFGQGTKVE IK，其中 X = 麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)
74	L1	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSSNLHW YQQKPGQAPRLLIYGTSNLAGIPDRFSGSGSGTS YTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPFTFGQGTKVE IK
75	L2	EILLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSSNLHWF QQKPGQAPRLLIYGTSNLAGIPDRFSGSGSGTSY TLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPFTFGQGTKVEI K
76	L3	EILLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSSNLHWF QQKPGQAPRLWIYGTSNLAGVPDRFSGSGSGTS YTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPFTFGQGTKVE IK
77	L4	EILLTQSPGTLSPGERATLTCSVSSSISSSNLHWF QQKPGQSPRLWIYGTSNLAGVPDRFSGSGSGTS YTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPFTFGQGTKVE IK
78	CDRH1	DTYMY
79	CDRH1	DTYIH
80	CDRH1	DTYIY
81	CDRH1	DNYIH
82	CDRH1	DNYMD
83	CDRH2	RIDPANGNTKYDPKLQG
84	CDRH2	EIDPANGNTKYDPKFQG
85	CDRH2	RIDPANGNTKFDPKFQG
86	CDRH2	RIDPANGNTKFDPKFQD
87	CDRH2	SIDPANGNTKYDPKFQG
88	CDRH2	EIDPANGNSKYAPRFQG
89	CDRH2	EIDPANGHTKYDPKFQG
90	CDRH2	EIDPANDNTKYDPKFQG
91	CDRH2	RIDPANGNTKYDPKFQG
92	CDRH2	RIDPANGNTHFDPKFQG
93	CDRH2	KIDPANGNTKYDPKFQG
94	CDRH3	YSRYDVGGFDY

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
95	CDRH3	YYYRYDVGGFDY
96	CDRH3	YFYRYDVGGFDY
97	CDRH3	YFDKYDVGGCDY
98	CDRH3	YYYKYDVGGFDY
99	CDRH3	YYYRYEVGGFDY
100	CDRL1	SVSSSISSSNLH
101	CDRL1	SVSSSISSSTLH
102	CDRL1	SVSSSISSSNLY
103	CDRL1	SVSSGISSSNLH
104	CDRL2	GTSNLAS
105	CDRL3	QQWSSYPFT
106	CDRL3	QQWNSYPLT
107	CDRL3	QQWSSYPHT
108	CDRL3	QQWSSYPWT
109	CDRL3	QQWSSYPLT
110	CDRL3	QQWSTYPFT
111	CDRL3	QQWSRYPWT
112	CDRL3	QQWRSYPFT
113	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNIK
114	VH FR1	QVQMKQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNIK
115	VH FR1	QVQMKQSGAEVVKPGASVKVSCASGFNIK
116	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNIK
117	VH FR1	QVQMVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNIK
118	VH FR1	QVQMVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNIK
119	VH FR1	QVQMKQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNIK
120	VH FR1	QVQLKQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNIK
121	VH FR1	QVQLKQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNIK
122	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
123	VH FR2	WVRQAPGQGLEWIG
124	VH FR3	RVTMTDSTSTVYMESSLRSEDFAVYYCAR
125	VH FR3	RVTITADTSTSTVYMESSLRSEDFAVYYCAT
126	VH FR3	RVTITADTSSNTVYMESSLRSEDFAVYYCAT
127	VH FR3	RVTITADTSSNTVYLQLSSLRSEDFAVYYCAT
128	VH FR4	WGQGTLVTVSS
129	VL FR1	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC
130	VL FR1	EILLTQSPGTLSPGERATLSC
131	VL FR1	EILLTQSPGTLSPGERATLTC
132	VL FR2	WYQQKPGQAPRLIY
133	VL FR2	WFQQKPGQAPRLIY
134	VL FR2	WFQQKPGQAPRLWIY
135	VL FR2	WFQQKPGQSPRLWIY
136	VL FR3	GIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYC
137	VL FR3	GIPDRFSGSGGTSYTLTISRLEPEDFAVYYC
138	VL FR3	GVPDRFSGSGGTSYTLTISRLEPEDFAVYYC
139	VL FR4	FGQGTKVEIK

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
140	CDRH1 共同序列	DX ₁ YX ₂ X ₃ ，其中： X ₁ 係 T 或 N； X ₂ 係 I 或 M；且 X ₃ 係 H、Y 或 D
141	CDRH1 共同序列	DX ₁ YX ₂ X ₃ ，其中： X ₁ 係 T 或 N； X ₂ 係 I 或 M；且 X ₃ 係 H 或 Y
142	CDRH2 共同序列	X ₁ IDPANX ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ PX ₈ X ₉ QX ₁₀ ，其中： X ₁ 係 E、R、S 或 K； X ₂ 係 D 或 G； X ₃ 係 N 或 H； X ₄ 係 T 或 S； X ₅ 係 K 或 H； X ₆ 係 Y 或 F； X ₇ 係 D 或 A； X ₈ 係 K 或 R； X ₉ 係 F 或 L；且 X ₁₀ 係 G 或 D
143	CDRH2 共同序列	X ₁ IDPANX ₂ X ₃ X ₄ KX ₅ X ₆ PX ₇ FQX ₈ ，其中： X ₁ 係 E、R 或 S； X ₂ 係 D 或 G； X ₃ 係 N 或 H； X ₄ 係 T 或 S； X ₅ 係 Y 或 F； X ₆ 係 D 或 A； X ₇ 係 K 或 R；且 X ₈ 係 G 或 D
144	CDRH3 共同序列	YX ₁ X ₂ X ₃ YX ₄ VGGX ₅ DY，其中： X ₁ 係 Y、F 或 S； X ₂ 係 Y 或 D； X ₃ 係 K 或 R； X ₄ 係 D 或 E；且 X ₅ 係 F 或 C
145	CDRH3 共同序列	YX ₁ X ₂ X ₃ YDVGGX ₄ DY，其中： X ₁ 係 Y、F 或 S； X ₂ 係 Y 或 D； X ₃ 係 K 或 R；且 X ₄ 係 F 或 C
146	CDRH3 共同序列	YYYX ₁ YX ₂ VGGFDY，其中： X ₁ 係 K 或 R；且 X ₂ 係 D 或 E

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
147	CDRL1 共同序列	SVSSX ₁ ISSSX ₂ LX ₃ ，其中： X ₁ 係 S 或 G； X ₂ 係 N 或 T；且 X ₃ 係 H 或 Y
148	CDRL1 共同序列	SVSSSISSSNLX ₁ ，其中： X ₁ 係 H 或 Y
149	CDRL3 共同序列	QQWX ₁ X ₂ YPX ₃ T，其中： X ₁ 係 S、N 或 R； X ₂ 係 S、T 或 R；且 X ₃ 係 F、L、H 或 W
150	CDRL3 共同序列	QQWX ₁ SYPX ₂ T，其中： X ₁ 係 S、N 或 R；且 X ₂ 係 F、L 或 H
151	人類化 VH 共同序列	QVQX ₁ X ₂ QSGAEVX ₃ KPGASVKVSCKASGFNIKDTYIHWVRQAPGQGLEWX ₅ GEIDPANDNTKYDPKFQGRVTX ₆ TX ₇ DTSX ₈ X ₉ TVYX ₁₀ X ₁₁ LSSLRSED ₁₂ AVYYCAX ₁₂ YYX ₁₃ YX ₁₄ VGGFDYWGQGLTVTVSS，其中： X ₁ 係 M 或 L； X ₂ 係 V 或 K； X ₃ 係 K 或 V； X ₄ 係 K 或 T； X ₅ 係 M 或 I； X ₆ 係 I 或 M； X ₇ 係 A 或 R； X ₈ 係 T 或 S； X ₉ 係 S 或 N； X ₁₀ 係 M 或 L； X ₁₁ 係 E 或 Q； X ₁₂ 係 T 或 R； X ₁₃ 係 K 或 R；且 X ₁₄ 係 D 或 E

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
218	人類化 VH 共同序列	QVQX ₁ X ₂ QSGAEVX ₃ KPGASVKVSCX ₄ ASGFNIKDTYIHWVRQAPGQGLEWX ₅ GEIDPANDNTKYDPKFQGRVTX ₆ TX ₇ DTSX ₈ X ₉ TVYX ₁₀ X ₁₁ LSSLRSEDТАVY YCAX ₁₂ YYYX ₁₃ YX ₁₄ VGGFDYWGGQGLTVTVSS，其中： X ₁ 係 M 或 L； X ₂ 係 V 或 K； X ₃ 係 K 或 V； X ₄ 係 K 或 T； X ₅ 係 M 或 I； X ₆ 係 I 或 M； X ₇ 係 A 或 R； X ₈ 係 T 或 S； X ₉ 係 S 或 N； X ₁₀ 係 M 或 L； X ₁₁ 係 E 或 Q； X ₁₂ 係 T 或 R； X ₁₃ 係 K 或 R；且 X ₁₄ 係 D 或 E
222	人類化 VH 共同序列	X ₁ VQX ₂ X ₃ QSGAEVX ₄ KPGASVKVSCKASGFNIKDTYIHWVRQAPGQGLEWX ₅ GEIDPANDNTKYDPKFQGRVTX ₆ TX ₇ DTSX ₈ X ₉ TVYX ₁₀ X ₁₁ LSSLRSEDТАVY YCAX ₁₂ YYYX ₁₃ YX ₁₄ VGGFDYWGGQGLTVTVSS，其中： X ₁ 係 Q 或 pE (焦麩胺酸) X ₂ 係 M 或 L； X ₃ 係 V 或 K； X ₄ 係 K 或 V； X ₅ 係 M 或 I； X ₆ 係 I 或 M； X ₇ 係 A 或 R； X ₈ 係 T 或 S； X ₉ 係 S 或 N； X ₁₀ 係 M 或 L； X ₁₁ 係 E 或 Q； X ₁₂ 係 T 或 R； X ₁₃ 係 K 或 R；且 X ₁₄ 係 D 或 E

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
223	人類化 VH 共同序列	X ₁ VQX ₂ X ₃ QSGAEVX ₄ KPGASVKVSCX ₅ ASGFNIKDTYIHWVRQAPGQGLEWX ₆ GEIDPANDNTKYDPKFQGRVTX ₇ TX ₈ DTSX ₉ X ₁₀ TVYX ₁₁ X ₁₂ LSSLRSED TAVYYCAX ₁₃ YYYX ₁₄ YX ₁₅ VGGFDYWGQGTLVTVSS，其中： X ₁ 係 Q 或 pE (焦麩胺酸) X ₂ 係 M 或 L； X ₃ 係 V 或 K； X ₄ 係 K 或 V； X ₅ 係 K 或 T； X ₆ 係 M 或 I； X ₇ 係 I 或 M； X ₈ 係 A 或 R； X ₉ 係 T 或 S； X ₁₀ 係 S 或 N； X ₁₁ 係 M 或 L； X ₁₂ 係 E 或 Q； X ₁₃ 係 T 或 R； X ₁₄ 係 K 或 R；且 X ₁₅ 係 D 或 E
152	人類化 VL 共同序列	EIX ₁ LTQSPGTL SLSPGERATLX ₂ CSVSSSISSSNLHWX ₃ QQKPGQX ₄ PRLX ₅ IYGTSN LASGX ₆ PDRFSGSGSGTX ₇ X ₈ TLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPFTFGQGTKVEIK，其中： X ₁ 係 V 或 L； X ₂ 係 S 或 T； X ₃ 係 Y 或 F； X ₄ 係 A 或 S； X ₅ 係 L 或 W； X ₆ 係 I 或 V； X ₇ 係 D 或 S；且 X ₈ 係 F 或 Y
224	人類化 VL 共同序列	X ₁ IX ₂ LTQSPGTL SLSPGERATLX ₃ CSVSSSISSSNLHWX ₄ QQKPGQX ₅ PRLX ₆ IYGTSN LASGX ₇ PDRFSGSGSGTX ₈ X ₉ TLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPFTFGQGTKVEIK，其中： X ₁ 係 E 或 pE (焦麩胺酸) X ₂ 係 V 或 L； X ₃ 係 S 或 T； X ₄ 係 Y 或 F； X ₅ 係 A 或 S； X ₆ 係 L 或 W； X ₇ 係 I 或 V； X ₈ 係 D 或 S；且 X ₉ 係 F 或 Y

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
168	H1_R98K_L4M 全長 IgG ₁ 重鏈	QVQMVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSTSTVYMELSSLRSED T AVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGT L TVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT V SWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV V TPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTK V DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV V VDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLT V LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV M HEALHNHYTQ KSLSLSPG
225	H1_R98K_L4M 全長 IgG ₁ 重鏈	XVQMVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSTSTVYMELSSLRSED T AVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGT L TVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT V SWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV V TPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTK V DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV V VDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLT V LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV M HEALHNHYTQ KSLSLSPG, 其中 X = 麩醯胺酸(Q)或焦麩胺酸(pE)
169	H1_R98K_L4M 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQMVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSTSTVYMELSSLRSED T AVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGT L TVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT V SWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV V TPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTK V DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV V VDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLT V LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV M HEALHNHYTQ KSLSLSPG

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
226	H1_R98K_L4M 全 長 IgG ₁ N297A 重鏈	XVQMVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCATYY YKYDVGGFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPG, 其中 X = 麩醯胺酸(Q)或焦麩胺酸(pE)
170	H1_R98K_L4M 全 長 IgG ₄ S228P 重鏈	QVQMVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCATYY YKYDVGGFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSLG
227	H1_R98K_L4M 全 長 IgG ₄ S228P 重鏈	XVQMVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCATYY YKYDVGGFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSLG, 其中 X = 麩醯胺酸(Q)或焦麩胺酸(pE)

SEQ ID NO:	説明	胺基酸序列
171	H0 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDNAVYYCARYY YRYDVGGFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG
172	H1 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSTSTVYMESSLRSEDNAVYYCATYY YRYDVGGFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG
173	H2 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSSNTVYMESSLRSEDNAVYYCATYY YRYDVGGFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG

SEQ ID NO:	説明	胺基酸序列
174	H3 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQMKQSGAEVVKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSSNTVYMELSSLRSEDTAVYYCATYY YRYDVGGFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG
175	H4 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQMKQSGAEVVKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWIGEIDPANDNTKYDPKFQGR VTITADTSSNTVYLQLSSLRSEDTAVYYCATYYY RYDVGGFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG
176	H4_R98K 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQMKQSGAEVVKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWIGEIDPANDNTKYDPKFQGR VTITADTSSNTVYLQLSSLRSEDTAVYYCATYYY KYDVGGFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG

SEQ ID NO:	説明	胺基酸序列
177	H4_D100E 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQMKQSGAEVVKPGASVKVSC TASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWIGEIDPANDNTKYDPKFQGR VTITADTSSNTVYLQLSSLRSEDTAVYYCATYYY RYEVGGFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLT VLVHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPG
178	H1_R98K 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTTITADTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLT VLVHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPG
179	H1_R98K_K23T 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC TASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTTITADTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLT VLVHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPG

SEQ ID NO:	説明	胺基酸序列
180	H1_R98K_L4M_K23T 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQMVQSGAEVKKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPG
181	H1_R98K_L4M_V5K 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQMKQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPG
182	H1_R98K_L4M_V5K_K23T 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQMKQSGAEVKKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPG

SEQ ID NO:	説明	胺基酸序列
183	H1_R98K_V5K 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQLKQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTTTADTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCATYY YKYDVGGFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG
184	H1_R98K_V5K_K23T 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQLKQSGAEVKKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTTTADTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCATYY YKYDVGGFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG
185	H2_R98K 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTTTADTSSNTVYMELSSLRSEDТАVYYCATYY YKYDVGGFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
186	H3_R98K 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	QVQMKQSGAEVKKPGASVKVSCTASGFNIKDTYI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPANDNTKYDPKFQG RVTITADTSSNTVYMELSSLRSEDFAVYYCATYY YKYDVGGFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQ KSLSLSPG
187	L0 全長輕鏈	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSSNLHW YQQKPGQAPRLLIYGTSNLAGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPFTFGQGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
228	L0 全長輕鏈	XIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSSNLHW YQQKPGQAPRLLIYGTSNLAGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPFTFGQGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC, 其中 X = 麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)
188	L1 全長輕鏈	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSSNLHW YQQKPGQAPRLLIYGTSNLAGIPDRFSGSGSGTS YTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPFTFGQGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
189	L2 全長輕鏈	EILLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSSNLHWF QQKPGQAPRLLIYGTSNLAGIPDRFSGSGSGTSY TLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPFTFGQGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
190	L3 全長輕鏈	EILLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSSNLHWF QQKPGQAPRLWIYGTSNLAGVPPDRFSGSGSGTS YTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPFTFGQGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
191	L4 全長輕鏈	EILLTQSPGTLSPGERATLTCSVSSSISSSNLHWF QQKPGQSPRLWIYGTSNLASGVPDRFSGSGSGTS YTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPFTFGQGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPY REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKS FNRGEC
192	人類 IgG ₁ G1m3 異型(不含 C 末端離胺酸)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
193	人類 IgG ₁ G1m3 異型	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
208	人類 IgG ₁ G1m17 異型(不含 C 末端離胺酸)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
209	人類 IgG ₁ G1m17 異型	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
194	IgG ₁ N297A (不含 C 末端離胺酸)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
195	IgG ₁ N297A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
196	IgG ₄ S228P (不含 C 末端離胺酸)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
197	IgG ₄ S228P	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
198	人類 κ 輕鏈恆定區 IGKC*01 Km3 異型	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
219	人類 κ 輕鏈恆定區 IGKC*01 Km3 異型	GTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

表 2. 例示性抗 LAG-3 抗體之重鏈 CDR 胺基酸序列。*

VH	CDRH1 (SEQ ID NO:)	CDRH2 (SEQ ID NO:)	CDRH3 (SEQ ID NO:)
P01C09 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKYDPKLGQ (83)	YSYRYDVGGFDY (94)
P05E01 VH	DTYIH (79)	EIDPANGNTKYDPKFQG (84)	YYYRYDVGGFDY (95)
P01A12 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQG (85)	YYYRYDVGGFDY (95)
P13B01 VH	DTYIY (80)	RIDPANGNTKFDPKFQG (85)	YFYRYDVGGFDY (96)
P13C10 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P13C08 VH	DNYIH (81)	SIDPANGNTKYDPKFQG (87)	YFYRYDVGGFDY (96)
P13E02 VH	DTYIH (79)	EIDPANGNSKYAPRFQG (88)	YYYRYDVGGFDY (95)
P13F02 VH	DTYIH (79)	EIDPANGHTKYDPKFQG (89)	YYYRYDVGGFDY (95)
P13B02 VH	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYRYDVGGFDY (95)
P13A06 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKYDPKFQG (91)	YSYRYDVGGFDY (94)
P14C04 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTHFDPKFQG (92)	YFYRYDVGGFDY (96)
P14A04 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P15F06 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P13B03 VH	DTYIH (79)	EIDPANGNTKYDPKFQG (84)	YYYRYDVGGFDY (95)
P15C02 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P16D04 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P13F01 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P13A04 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P16H05 VH	DNYIH (81)	SIDPANGNTKYDPKFQG (87)	YFYRYDVGGFDY (96)
P13F09 VH	DNYIH (81)	SIDPANGNTKYDPKFQG (87)	YFYRYDVGGFDY (96)
P13G01 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P13H05 VH	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYRYDVGGFDY (95)
P13D04 VH	DNYMD (82)	KIDPANGNTKYDPKFQG (93)	YYYRYDVGGFDY (95)
P14G01 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P14G03 VH	DTYIH (79)	EIDPANGNTKYDPKFQG (84)	YYYRYDVGGFDY (95)
P13G05 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P13F06 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P13B11 VH	DNYMD (82)	KIDPANGNTKYDPKFQG (93)	YYYRYDVGGFDY (95)
P14F01 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P14F06 VH	DNYIH (81)	SIDPANGNTKYDPKFQG (87)	YFYRYDVGGFDY (96)
P13D05 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P13G04 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P15E06 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P15G05 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P15B06 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTHFDPKFQG (92)	YFYRYDVGGFDY (96)
P14B07 VH	DNYIH (81)	SIDPANGNTKYDPKFQG (87)	YFYRYDVGGFDY (96)
P05E03 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFYRYDVGGFDY (96)
P13C06 VH	DTYMY (78)	RIDPANGNTKFDPKFQD (86)	YFDKYDVGGCDY (97)
H0	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYRYDVGGFDY (95)
H1	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYRYDVGGFDY (95)
H2	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYRYDVGGFDY (95)
H3	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYRYDVGGFDY (95)
H4	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYRYDVGGFDY (95)
H4_R98K	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYKYDVGGFDY (98)
H4_D100E	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYRYEVGGFDY (99)
H1_R98K	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYKYDVGGFDY (98)

VH	CDRH1 (SEQ ID NO:)	CDRH2 (SEQ ID NO:)	CDRH3 (SEQ ID NO:)
H1_R98K_K23T	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYKYDVGGFDY (98)
H1_R98K_L4M	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYKYDVGGFDY (98)
H1_R98K_L4M_K23T	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYKYDVGGFDY (98)
H1_R98K_L4M_V5K	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYKYDVGGFDY (98)
H1_R98K_L4M_V5K_K23T	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYKYDVGGFDY (98)
H1_R98K_V5K	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYKYDVGGFDY (98)
H1_R98K_V5K_K23T	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYKYDVGGFDY (98)
H2_R98K	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYKYDVGGFDY (98)
H3_R98K	DTYIH (79)	EIDPANDNTKYDPKFQG (90)	YYYKYDVGGFDY (98)

*根據 Kabat 編號系統定義。

表 3. 例示性抗 LAG-3 抗體之輕鏈 CDR 胺基酸序列。*

VL	CDRL1 (SEQ ID NO:)	CDRL2 (SEQ ID NO:)	CDRL3 (SEQ ID NO:)
P01C09 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P05E01 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWNSYPLT (106)
P01A12 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13B01 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13C10 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13C08 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13E02 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13F02 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13B02 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13A06 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPHT (107)
P14C04 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P14A04 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P15F06 VL	SVSSSISSSTLH (101)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPWT (108)
P13B03 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P15C02 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P16D04 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPLT (109)
P13F01 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13A04 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P16H05 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPHT (107)
P13F09 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13G01 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13H05 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13D04 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P14G01 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P14G03 VL	SVSSSISSSNLY (102)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13G05 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13F06 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13B11 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P14F01 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSTYPFT (110)
P14F06 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13D05 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13G04 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P15E06 VL	SVSSGISSSNLH (103)	GTSNLAS (104)	QQWSRYPWT (111)
P15G05 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPLT (109)
P15B06 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPLT (109)
P14B07 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P05E03 VL	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
P13C06 VL	SVSSSISSSNLY (102)	GTSNLAS (104)	QQWRSYPFT (112)
L0	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
L1	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
L2	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
L3	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)
L4	SVSSSISSSNLH (100)	GTSNLAS (104)	QQWSSYPFT (105)

*根據 Kabat 編號系統定義。

表 4. 例示性抗 LAG-3 抗體之重鏈構架(FR)胺基酸序列。*

VH	VH FR1 (SEQ ID NO:)	VH FR2 (SEQ ID NO:)	VH FR3 (SEQ ID NO:)	VH FR4 (SEQ ID NO:)
H0	QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKA SGFNIK (113)	WVRQAP GQGLEW MG (122)	RVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSED TAVYCAR (124)	WGQGT LVTVSS (128)
H1	QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKA SGFNIK (113)	WVRQAP GQGLEW MG (122)	RVTITADTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCAT (125)	WGQGT LVTVSS (128)
H2	QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKA SGFNIK (113)	WVRQAP GQGLEW MG (122)	RVTITADTSSNTVY MELSSLRSED TAVYYCAT (126)	WGQGT LVTVSS (128)
H3	QVQMKQSGAEV KKPGASVKVSC TASGFNIK (114)	WVRQAP GQGLEW MG (122)	RVTITADTSSNTVY MELSSLRSED TAVYYCAT (126)	WGQGT LVTVSS (128)
H4	QVQMKQSGAEV VKPGASVKVSC TASGFNIK (115)	WVRQAP GQGLEW G (123)	RVTITADTSSNTVY LQLSSLRSED TAVYYCAT (127)	WGQGT LVTVSS (128)
H4_R98K	QVQMKQSGAEV VKPGASVKVSC TASGFNIK (115)	WVRQAP GQGLEW G (123)	RVTITADTSSNTVY LQLSSLRSED TAVYYCAT (127)	WGQGT LVTVSS (128)
H4_D100E	QVQMKQSGAEV VKPGASVKVSC TASGFNIK (115)	WVRQAP GQGLEW G (123)	RVTITADTSSNTVY LQLSSLRSED TAVYYCAT (127)	WGQGT LVTVSS (128)
H1_R98K	QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKA SGFNIK (113)	WVRQAP GQGLEW MG (122)	RVTITADTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCAT (125)	WGQGT LVTVSS (128)
H1_R98K_K23T	QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSC TASGFNIK (116)	WVRQAP GQGLEW MG (122)	RVTITADTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCAT (125)	WGQGT LVTVSS (128)
H1_R98K_L4M	QVQMVQSGAEV KKPGASVKVSC KASGFNIK (117)	WVRQAP GQGLEW MG (122)	RVTITADTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCAT (125)	WGQGT LVTVSS (128)
H1_R98K_L4M_K23T	QVQMVQSGAEV KKPGASVKVSC TASGFNIK (118)	WVRQAP GQGLEW MG (122)	RVTITADTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCAT (125)	WGQGT LVTVSS (128)
H1_R98K_L4M_V5K	QVQMKQSGAEV KKPGASVKVSC KASGFNIK (119)	WVRQAP GQGLEW MG (122)	RVTITADTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCAT (125)	WGQGT LVTVSS (128)
H1_R98K_L4M_V5K_K23T	QVQMKQSGAEV KKPGASVKVSC TASGFNIK (114)	WVRQAP GQGLEW MG (122)	RVTITADTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCAT (125)	WGQGT LVTVSS (128)
H1_R98K_V5K	QVQLKQSGAEVK KPGASVKVSCKA SGFNIK (120)	WVRQAP GQGLEW MG (122)	RVTITADTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCAT (125)	WGQGT LVTVSS (128)
H1_R98K_V5K_K23T	QVQLKQSGAEVK KPGASVKVSC TASGFNIK (121)	WVRQAP GQGLEW MG (122)	RVTITADTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCAT (125)	WGQGT LVTVSS (128)

VH	VH FR1 (SEQ ID NO:)	VH FR2 (SEQ ID NO:)	VH FR3 (SEQ ID NO:)	VH FR4 (SEQ ID NO:)
H2_R98K	QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKA SGFNIK (113)	WVRQAP GQGLEW MG (122)	RVTITADTSSNTVY MELSSLRSEDYAV YYCAT (126)	WGQGT LVTVSS (128)
H3_R98K	QVQMKQSGAEV KKPGASVKVSCY ASGFNIK (114)	WVRQAP GQGLEW MG (122)	RVTITADTSSNTVY MELSSLRSEDYAV YYCAT (126)	WGQGT LVTVSS (128)

*表 4 中所述之重鏈構架區係基於 Kabat 編號系統針對 CDR 之邊界確定。換言之，VH CDR 係藉由 Kabat 確定且構架區係形式 FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3 及 FR4 中之可變區中包圍 CDR 之胺基酸殘基。

表 5. 例示性抗 LAG-3 抗體之輕鏈構架(FR)胺基酸序列。*

VL	VL FR1 (SEQ ID NO:)	VL FR2 (SEQ ID NO:)	VL FR3 (SEQ ID NO:)	VL FR4 (SEQ ID NO:)
L0	EIVLTQSPGTLTSL PGERATLSC (129)	WYQQKPGQA PRLIY (132)	GIPDRFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAVY C (136)	FGQGTKVEI K (139)
L1	EIVLTQSPGTLTSL PGERATLSC (129)	WYQQKPGQA PRLIY (132)	GIPDRFSGSGSGTSY LTISRLEPEDFAVY C (137)	FGQGTKVEI K (139)
L2	EIVLTQSPGTLTSL PGERATLSC (130)	WFQQKPGQA PRLIY (133)	GIPDRFSGSGSGTSY LTISRLEPEDFAVY C (137)	FGQGTKVEI K (139)
L3	EIVLTQSPGTLTSL PGERATLSC (130)	WFQQKPGQA PRLWIY (134)	GVPDRFSGSGSGTSY TLISRLEPEDFAVY YC (138)	FGQGTKVEI K (139)
L4	EIVLTQSPGTLTSL PGERATLTC (131)	WFQQKPGQSP RLWIY (135)	GVPDRFSGSGSGTSY TLISRLEPEDFAVY YC (138)	FGQGTKVEI K (139)

* 表 5 中所述之輕鏈構架區係基於 Kabat 編號系統針對 CDR 之邊界確定。換言之，VL CDR 係藉由 Kabat 確定且構架區係形式 FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3 及 FR4 中之可變區中包圍 CDR 之胺基酸殘基。

表 6. 例示性鼠類抗 LAG-3 抗體。

抗體	重鏈可變區 SEQ ID NO:	輕鏈可變區 SEQ ID NO:
P01C09	1	2
P05E01	3	4
P01A12	5	6
P13B01	7	8
P13C10	9	10
P13C08	11	12
P13E02	13	10
P13F02	14	10
P13B02	15	16
P13A06	17	18
P14C04	19	8
P14A04	20	21
P15F06	22	23
P13B03	24	10
P15C02	9	25
P16D04	9	26
P13F01	20	2
P13A04	27	28
P16H05	29	30
P13F09	31	32
P13G01	33	34
P13H05	35	10
P13D04	36	37
P14G01	38	21
P14G03	39	40
P13G05	9	2
P13F06	9	41
P13B11	42	43
P14F01	9	44
P14F06	45	32
P13D05	46	47
P13G04	48	10
P15E06	20	49
P15G05	33	50
P15B06	51	52
P14B07	53	8
P05E03	38	2
P13C06	54	55

表 7. 例示性人類化抗 LAG-3 抗體。*

抗體	重鏈可變區(SEQ ID NO:)	輕鏈可變區(SEQ ID NO:)
P13B02-01	H0 (56)	L0 (73)
P13B02-02	H0 (56)	L1 (74)
P13B02-03	H0 (56)	L2 (75)
P13B02-04	H0 (56)	L3 (76)
P13B02-05	H0 (56)	L4 (77)
P13B02-06	H1 (57)	L0 (73)
P13B02-07	H1 (57)	L1 (74)
P13B02-08	H1 (57)	L2 (75)
P13B02-09	H1 (57)	L3 (76)
P13B02-10	H1 (57)	L4 (77)
P13B02-11	H2 (58)	L0 (73)
P13B02-12	H2 (58)	L1 (74)
P13B02-13	H2 (58)	L2 (75)
P13B02-14	H2 (58)	L3 (76)
P13B02-15	H2 (58)	L4 (77)
P13B02-16	H3 (59)	L0 (73)
P13B02-17	H3 (59)	L1 (74)
P13B02-18	H3 (59)	L2 (75)
P13B02-19	H3 (59)	L3 (76)
P13B02-20	H3 (59)	L4 (77)
P13B02-21	H4 (60)	L0 (73)
P13B02-22	H4 (60)	L1 (74)
P13B02-23	H4 (60)	L2 (75)
P13B02-24	H4 (60)	L3 (76)
P13B02-25	H4 (60)	L4 (77)
P13B02-26	H4_R98K (61)	L4 (77)
P13B02-27	H4_D100E (62)	L4 (77)
P13B02-28	H1_R98K (63)	L0 (73)
P13B02-29	H1_R98K_K23T (64)	L0 (73)
P13B02-30	H1_R98K_L4M (65)	L0 (73)
P13B02-31	H1_R98K_L4M_K23T (66)	L0 (73)
P13B02-32	H1_R98K_L4M_V5K (67)	L0 (73)
P13B02-33	H1_R98K_L4M_V5K_K23T (68)	L0 (73)
P13B02-34	H1_R98K_V5K (69)	L0 (73)
P13B02-35	H1_R98K_V5K_K23T (70)	L0 (73)
P13B02-36	H2_R98K (71)	L0 (73)
P13B02-37	H3_R98K (72)	L0 (73)

表 8. 人類生殖系序列。

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
153	IGHV1-46*01	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYY MHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCAR
154	IGHV1-69-2*01	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYY MHWVQQAPGKGLEWMGLVDPEDGETIYAEKFQ GRVTITADTSTDATYMESSLRSEDTAVYYCAT
155	IGHV1-3*01	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYA MHWVRQAPGQRLWGMWINAGNGNTKYSQKF QGRVTITRDTASTAYMESSLRSEDTAVYYCAR
156	IGHV1-24*01	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSQYTLTSL MHWVRQAPGKGLEWMGGFDPEDGETIYAEKFQ GRVTMTEDTSTDATYMESSLRSEDTAVYYCAT
157	IGHV1-2*01	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGY MHWVRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTNYAQKFQ GRVTSTRDTSTASTAYMELSLRSDDTVYYCAR
158	IGHV1-45*01	QMQLVQSGAEVKKTGSSVKVSCKASGYTFTYRY LHWVRQAPGQALEWMGWITPFNGNTNYAQKFQ DRVITITRDRSMSTAYMESSLRSEDTAMYYCAR
159	IGHV1-18*01	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGI SWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQG RVTMTTDTSTSTAYMELSLRSDDTAVYYCAR
200	IGHJ1*01	AEYFQHWGQGLTVTVSS
160	IGKV3-20*01	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSP
161	IGKV3D-15*01 或 IGKV3-15*01	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE FTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWP
162	IGKV3D-20*01	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCGASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSP
163	IGKV3D-7*01	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLS WYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFAVYYCQQDYNLPP
164	IGKV1-9*01	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWY QQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTEF TLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYP
165	IGKV3-11*01	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFAVYYCQQRSNWP
201	IGKJ1*01	WTFGQGTKVEIK

表 9. 例示性 LAG-3 序列。

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
166	人類 LAG-3 不成熟蛋白質(P18627-1)	MWEAQFLGLLFLQPLWVAPVKPLQPGA EVPVWV AQEGAP AQLPCSPTIPLQDLSLLRRAGVTWQHQP DSGPPAAAPGHPLAPGPHPAAPSSWGPRPRRYTV LSVGPGGLRSGRLPLQPRVQLDERGRQRGDFSLW LRPARRADAGEYRAAVHLRDRALSCRLRLRLGQ ASMTASPPGSLRASDWVILNCSFSRPDRPASVHW FRNRGQGRVPVRESPPHHHLAESFLFLPQVSPMDS GPWGCILTYRDGFNVSIMYNLTVLGLEPPTPLTVY AGAGSRVGLPCRLPAGVGTRSFLTAKWTPPGGGP DLLVTGDNGDFTLRLEDVSQAQAGTYTCHHLQE QQLNATVTLAIITVTPKSFGSPGSLGKLLCEVTPVS GQERFVWSSLDTPSQRFSFGPWLEAQEAQLLSQP WQCQLYQGERLLGAAVYFTELSSPGAQRSGRAP GALPAGHLLLFLILGVLSLLLVTGAFGFHLWRRQ WRPRRFSALEQGIHPPQAQSKIEELEQEPEPEPEPE PEPEPEPEPEQL
167	人類 LAG-3 成熟蛋白質	VPVWVAQEGAP AQLPCSPTIPLQDLSLLRRAGVT WQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGPHPAAPSSWGPRP RRYTVLSVGPGGLRSGRLPLQPRVQLDERGRQRG DFSLWLRPARRADAGEYRAAVHLRDRALSCRLR LRLGQASMTASPPGSLRASDWVILNCSFSRPDRPA SVHWFRNRGQGRVPVRESPPHHHLAESFLFLPQVS PMDSGPWGCILTYRDGFNVSIMYNLTVLGLEPPTP LTVYAGAGSRVGLPCRLPAGVGTRSFLTAKWTPP GGPDLLVTGDNGDFTLRLEDVSQAQAGTYTCHI HLQEQQLNATVTLAIITVTPKSFGSPGSLGKLLCE VTPVSGQERFVWSSLDTPSQRFSFGPWLEAQEAQ LLSQPWQCQLYQGERLLGAAVYFTELSSPGAQRS GRAPGALPAGHLLLFLILGVLSLLLVTGAFGFHL WRRQWRPRRFSALEQGIHPPQAQSKIEELEQEPEP EPEPEPEPEPEPEPEQL
210	人類 LAG-3 成熟蛋白質	LQPGA EVPVWVAQEGAP AQLPCSPTIPLQDLSLLR RAGVTWQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGPHPAAPSS WGPRPRRYTVLSVGPGGLRSGRLPLQPRVQLDER GRQRGDFSLWLRPARRADAGEYRAAVHLRDRAL SCRLRLRLGQASMTASPPGSLRASDWVILNCSFSR PDRPASVHWFRNRGQGRVPVRESPPHHHLAESFLF LPQVSPMDSGPWGCILTYRDGFNVSIMYNLTVLG LEPPTPLTVYAGAGSRVGLPCRLPAGVGTRSFLTA KWTPPGGGPDLLVTGDNGDFTLRLEDVSQAQAG TYTCHHLQEQQLNATVTLAIITVTPKSFGSPGSLG KLLCEVTPVSGQERFVWSSLDTPSQRFSFGPWLE AQEAQLLSQPWQCQLYQGERLLGAAVYFTELSSP GAQRSGRAPGALPAGHLLLFLILGVLSLLLVTGA FGFHLWRRQWRPRRFSALEQGIHPPQAQSKIEELE QEPEPEPEPEPEPEPEPEQL

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
217	人類 LAG-3 片段	LQPGAIEVPVWVAQEGAPAQLPCSPTIPLQDLSLLR RAGVTWQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGPHPAAPSS WGPRPRRYTVLSVGPGLRSGRLPLQPRVQLDER GRQRGDFSLWLRPARRADAGEYRAAVHLRDRAL SCRLRLRLGQASMTASPPGSLRASDWVILNCSFSR PDRPASVHWERNRGQGRVPVRESPPHHLAESFLF LPQVSPMDSGPWGCILTYRDGFNVSMYNLTVLG LEPPTPLTVYAGAGSRVGLPCRLPAGVGTRSFLTA KWTPPGGGPDLLVTGDNGDFTLRLEDVSQAQAG TYTCHIHLEQQLNATVTLAHTVTPKSFSGPSGLG KLLCEVTPVSGQERFVWSSLDTPSQRSFSGPWLE AQEAQLLSQPWQCQLYQGERLLGAAVYFTELSSP GAQRSGRAPGALPAGHL
199	人類 LAG-3 30 個胺基酸之環	GPPAAAPGHPLAPGPHPAAPSSWGPRPRRY
211	LAG-3 抗原決定基	PTIPLQD
212	LAG-3 抗原決定基	SPTIPLQD
213	LAG-3 抗原決定基	SPTIPLQDL
214	LAG-3 抗原決定基	SPTIPLQDLS
215	LAG-3 抗原決定基	SPTIPLQDLSL
216	LAG-3 抗原決定基	SPTIPLQDLSLL

[0143] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含本文表1、2、6及7中所陳述的VH結構之一個、兩個或全部三個CDR的VH結構域。在某些實施例中，該抗體包含表1、2、6及7中所陳述之VH結構域之一的CDRH1。在某些實施例中，該抗體包含表1、2、6及7中所陳述之VH結構域之一的CDRH2。在某些實施例中，該抗體包含表1、2、6及7中所陳述之VH結構域之一的CDRH3。

[0144] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含本文表1、3、6及7中所陳述的VL結構之一個、兩個或全部三個CDR的VL結構域。在某些實施例中，該抗體包含

表1、3、6及7中所陳述之VL結構域之一的CDRL1。在某些實施例中，該抗體包含表1、3、6及7中所陳述之VL結構域之一的CDRL2。在某些實施例中，該抗體包含表1、3、6及7中所陳述之VL結構域之一的CDRL3。

[0145] 在某些實施例中，抗體之CDR可以根據Kabat等人, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977)及Kabat等人, Sequences of protein of immunological interest (1991)測定，該等文獻各自以引用之方式整體併入本文中。

[0146] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包含本文表1、6及7中所揭示之VH的Kabat VH CDR。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包含本文表1、6及7中所揭示之VL的Kabat VL CDR。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包含本文表1、6及7中所揭示之抗體的Kabat VH CDR及Kabat VL CDR。

[0147] 在某些實施例中，抗體之CDR可以根據Chothia編號方案確定，該方案係指免疫球蛋白結構環之位置(參見例如，Chothia C及Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917；Al-Lazikani B等人 (1997) J Mol Biol 273: 927-948；Chothia C等人(1992) J Mol Biol 227: 799-817；Tramontano A等人(1990) J Mol Biol 215(1): 175-82；及美國專利第7,709,226號，全部以引用之方式整體併入本文

中)。典型地，當使用Kabat編號慣例時，Chothia CDRH1環出現在重鏈胺基酸26至32、33或34處，Chothia CDRH2環出現在重鏈胺基酸52至56處，且Chothia CDRH3環出現在重鏈胺基酸95至102處，而Chothia CDRL1環出現在輕鏈胺基酸24至34處，Chothia CDRL2環出現在輕鏈胺基酸50至56處，且Chothia CDRL3環出現在輕鏈胺基酸89至97處。當使用Kabat編號慣例編號時，Chothia CDRH1環之末端依據環的長度在H32與H34之間變化(此係因為Kabat編號方案在H35A及H35B處有插入；若不存在35A及35B，則該環在32處結束；若僅存在35A，則該環在33處結束；若同時存在35A及35B，則該環在34處結束)。

[0148] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包含本文表1、6及7中所揭示之VH的Chothia VH CDR。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包含本文表1、6及7中所揭示之VL的Chothia VL CDR。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包含本文表1、6及7中所揭示之抗體的Chothia VH CDR及Chothia VL CDR。在某些實施例中，特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體包含一或多個CDR，其中Chothia與Kabat CDR具有相同胺基酸序列。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)且包含Kabat CDR與Chothia CDR之組合的分離之

抗體。

[0149] 在某些實施例中，抗體之CDR可以根據如 Lefranc M-P, (1999) *The Immunologist* 7: 132-136 及 Lefranc M-P等人 (1999) *Nucleic Acids Res* 27: 209-212(各自以引用之方式整體併入本文中)中所描述的IMGT編號系統確定。根據IMGT編號方案，CDRH1係在26至35位處，CDRH2係在51至57位處，CDRH3係在93至102位處，CDRL1係在27至32位處，CDRL2係在50至52位處，且CDRL3係在89至97位處。

[0150] 在某些實施例中，本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體，該等抗體包含如藉由IMGT編號系統(例如Lefranc M-P (1999)，同上文及Lefranc M-P等人 (1999)，同上文所描述)所確定的本文表1、6及7中所揭示之抗體的CDR。

[0151] 在某些實施例中，抗體之CDR可以根據針對AbM高變區之AbM編號方案確定，其代表著Kabat CDR與Chothia結構環之間之折中，且用於Oxford Molecular之AbM抗體建模軟體(Oxford Molecular Group, Inc.)。在特定實施例中，本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體，該等抗體包含如藉由AbM編號方案確定的本文表1、6及7中所揭示之抗體的CDR。

[0152] 在某些實施例中，抗體之CDR可以根據MacCallum RM等人 (1996) *J Mol Biol* 262: 732-745(以引用之方式整體併入本文中)確定。亦參見例如，Martin A.

「Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains,」*Antibody Engineering*, Kontermann及Dübel編, 第31章, 第422-439頁, Springer-Verlag, Berlin (2001), 以引用之方式整體併入本文中。在特定實施例中, 本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體, 該等抗體包含如MacCallum RM等人(1996), 同上文所描述的本文表1、6及7中所揭示之抗體的CDR。

[0153] 在某些實施例中, 本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體, 其中該抗體包括含以下陳述之VH結構域之CDRH1、CDRH2及CDRH3區胺基酸序列的重鏈可變區: SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11、13、14、15、17、19、20、22、24、27、29、31、33、35、36、38、39、42、45、46、48、51、53、54、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71或72; 以及含以下陳述之VL結構域之CDRL1、CDRL2及CDRL3區胺基酸序列的輕鏈可變區: SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25、26、28、30、32、34、37、40、41、43、44、47、49、50、52、55、73、74、75、76或77, 其中各CDR係根據CDR之Kabat定義、Chothia定義、Kabat定義與Chothia定義之組合、IMGT編號系統、AbM定義或MacCallum定義進行界定。

[0154] 在某些實施例中, 本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體, 該抗體包

含：

(a) CDRH1包含胺基酸序列 $DX_1YX_2X_3$ (SEQ ID NO: 140)，其中

X_1 係 T或 N，

X_2 係 I或 M，且

X_3 係 H、Y或 D；及/或

(b) CDRH2包含胺基酸序列

$X_1IDPANX_2X_3X_4X_5X_6X_7PX_8X_9QX_{10}$ (SEQ ID NO: 142)，其中

X_1 係 E、R、S或 K，

X_2 係 D或 G，

X_3 係 N或 H，

X_4 係 T或 S，

X_5 係 K或 H，

X_6 係 Y或 F，

X_7 係 D或 A，

X_8 係 K或 R，

X_9 係 F或 L，且

X_{10} 係 G或 D；及/或

(c) CDRH3包含胺基酸序列 $YX_1X_2X_3YX_4VGGX_5DY$ (SEQ ID NO: 144)，其中

X_1 係 Y、F或 S，

X_2 係 Y或 D，

X_3 係 K或 R，

X_4 係D或E，且

X_5 係F或C；及/或

(d) CDRL1包含胺基酸序列SVSS X_1 ISSS X_2 L X_3 (SEQ ID NO: 147)，其中

X_1 係S或G，

X_2 係N或T，且

X_3 係H或Y；及/或

(e) CDRL2包含胺基酸序列GTSNLAS (SEQ ID NO: 104)；及/或

(f) CDRL3包含胺基酸序列QQW X_1 X_2 YP X_3 T (SEQ ID NO: 149)，其中

X_1 係S、N或R，

X_2 係S、T或R，且

X_3 係F、L、H或W。

[0155] 在某些實施例中，CDRH1包含胺基酸序列DX₁YX₂X₃ (SEQ ID NO: 141)，其中： X_1 係T或N； X_2 係I或M；且 X_3 係H或Y。在某些實施例中，CDRH2包含胺基酸序列X₁IDPANX₂X₃X₄KX₅X₆PX₇FQX₈ (SEQ ID NO: 143)，其中： X_1 係E、R或S； X_2 係D或G； X_3 係N或H； X_4 係T或S； X_5 係Y或F； X_6 係D或A； X_7 係K或R；且 X_8 係G或D。在某些實施例中，CDRH3包含胺基酸序列YX₁X₂X₃YDVGGX₄DY (SEQ ID NO: 145)，其中： X_1 係Y、F或S； X_2 係Y或D； X_3 係K或R；且 X_4 係F或C。在某些實施例中，CDRH3包含胺基酸序列YYYX₁YX₂VGGFDY (SEQ ID NO: 146)，其中：

X_1 係K或R；且 X_2 係D或E。在某些實施例中，CDRL1包含胺基酸序列SVSSSISSSNL X_1 (SEQ ID NO: 148)，其中： X_1 係H或Y。在某些實施例中，CDRL3包含胺基酸序列QQW X_1 SY PX_2 T (SEQ ID NO: 150)，其中： X_1 係S、N或R；且 X_2 係F、L或H。

[0156] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包含：

(a) CDRH1包含胺基酸序列DTYIH (SEQ ID NO: 79)；及/或

(b) CDRH2包含胺基酸序列EIDPANDNTKYDPKFQG (SEQ ID NO: 90)；及/或

(c) CDRH3包含胺基酸序列YY X_1 Y X_2 VGGFDY (SEQ ID NO: 146)，其中： X_1 係K或R；且 X_2 係D或E；及/或

(d) CDRL1包含胺基酸序列SVSSSISSSNLH (SEQ ID NO: 100)；及/或

(e) CDRL2包含胺基酸序列GTSNLAS (SEQ ID NO: 104)；及/或

(f) CDRL3包含胺基酸序列QQWSSYPFT (SEQ ID NO: 105)。

[0157] 在某些實施例中，CDRH1包含選自由SEQ ID NO: 78-82組成之群之胺基酸序列。在某些實施例中，CDRH2包含選自由SEQ ID NO: 83-93組成之群之胺基酸序列。在某些實施例中，CDRH3包含選自由SEQ ID NO: 94-

99組成之群之胺基酸序列。在某些實施例中，CDRL1包含選自由SEQ ID NO: 100-103組成之群之胺基酸序列。在某些實施例中，CDRL3包含選自由SEQ ID NO: 105-112組成之群之胺基酸序列。

[0158] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其中該抗體包括含以下中分別陳述之CDRH1、CDRH2及CDRH3胺基酸序列的VH結構域：SEQ ID NO: 78、83及94；78、85及95；78、86及96；78、86及97；78、91及94；78、92及96；79、84及95；79、88及95；79、89及95；79、90及95；79、90及98；79、90及99；80、85及96；81、87及96；或82、93及95。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其中該抗體包括含SEQ ID NO: 79、90及95中分別陳述之CDRH1、CDRH2及CDRH3胺基酸序列的VH結構域。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其中該抗體包括含SEQ ID NO: 79、90及98中分別陳述之CDRH1、CDRH2及CDRH3胺基酸序列的VH結構域。

[0159] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其中該抗體包括含以下中分別陳述之CDRL1、CDRL2及CDRL3胺基酸序列的VL結構域：SEQ ID NO: 100、104及105；100、104及106；100、104及107；100、104及109；100、104及

110；101、104及108；102、104及105；102、104及112；或103、104及111。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其中該抗體包括含SEQ ID NO: 100、104及105中分別陳述之CDRL1、CDRL2及CDRL3胺基酸序列的VL結構域。

[0160] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其中該抗體包括含CDRH1、CDRH2及CDRH3區之重鏈可變區，及含CDRL1、CDRL2及CDRL3區之輕鏈可變區，其中該CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3區包含以下中分別陳述之胺基酸序列：SEQ ID NO: 78、83、94、100、104及105；78、85、95、100、104及105；78、86、96、100、104及105；78、86、96、100、104及109；78、86、96、100、104及110；78、86、96、101、104及108；78、86、96、103、104及111；78、86、97、102、104及112；78、91、94、100、104及107；78、92、96、100、104及105；78、92、96、100、104及109；79、84、95、100、104及105；79、84、95、100、104及106；79、84、95、102、104及105；79、88、95、100、104及105；79、89、95、100、104及105；79、90、95、100、104及105；79、90、98、100、104及105；79、90、99、100、104及105；80、85、96、100、104及105；81、87、96、100、104及105；81、87、96、100、104及107；或82、93、95、100、104及105。在某些實施例中，本發明

提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其中該抗體包括含CDRH1、CDRH2及CDRH3區之重鏈可變區及含CDRL1、CDRL2及CDRL3區之輕鏈可變區，其中該CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含SEQ ID NO: 79、90、95、100、104及105中所陳述之胺基酸序列。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其中該抗體包括含CDRH1、CDRH2及CDRH3區之重鏈可變區及含CDRL1、CDRL2及CDRL3區之輕鏈可變區，其中該CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含SEQ ID NO: 79、90、98、100、104及105中陳述之胺基酸序列。

[0161] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其中該抗體包括含表1、2、6及7中所陳述的抗體之一個、兩個或全部三個重鏈可變區(VH) CDR的VH。在一些實施例中，該抗體包含本文所描述之VH構架區中的一個、兩個、三個或全部四個。在具體實施例中，該抗體包含表4中所陳述之VH構架區(FR)中的一個、兩個、三個或全部四個(例如，表4中一列中之一個、兩個、三個或四個構架區)。在某些實施例中，該抗體包含重鏈可變區序列SEQ ID NO: 151或222之一個、兩個、三個或全部四個構架區。在某些實施例中，該抗體包含重鏈可變區序列SEQ ID NO: 218或223之一個、兩個、三個或全部四個構架區。在某些實施例

中，該抗體包含與選自由SEQ ID NO: 56-72及220組成之群的重鏈可變區序列之一個、兩個、三個或四個構架區至少75%、80%、85%、90%、95%或100%（例如至少86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%）一致的一個、兩個、三個或四個重鏈可變區序列構架區。在某些實施例中，該抗體包含重鏈可變構架區，其係或來源於由人類基因編碼之胺基酸序列，其中該胺基酸序列係選自由以下組成之群：IGHV1-46（例如IGHV1-46*01，例如具有胺基酸序列SEQ ID NO: 153）、IGHV1-69-2（例如IGHV1-69-2*01，例如具有胺基酸序列SEQ ID NO: 154）、IGHV1-3（例如IGHV1-3*01，例如具有胺基酸序列SEQ ID NO: 155）、IGHV1-24（例如IGHV1-24*01，例如具有胺基酸序列SEQ ID NO: 156）、IGHV1-2（例如IGHV1-2*01，例如具有胺基酸序列SEQ ID NO: 157）、IGHV1-45（例如IGHV1-45*01，例如具有胺基酸序列SEQ ID NO: 158）及IGHV1-18（例如IGHV1-18*01，例如具有胺基酸序列SEQ ID NO: 159）。在具體實施例中，來源於該胺基酸序列之重鏈可變構架區由該胺基酸序列組成但存在至多20個胺基酸取代、缺失及/或插入，較佳至多20個胺基酸取代。在一特定實施例中，來源於該胺基酸序列之重鏈可變構架區由該胺基酸序列組成，且1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個胺基酸殘基經相應非人類重鏈可變構架區中類似位置所見之胺基酸取代。在一些實施例中，

該抗體包含來源於胺基酸序列SEQ ID NO: 153之重鏈可變構架區，其中胺基酸序列SEQ ID NO: 153中至少一個胺基酸經相應非人類重鏈可變構架區中類似位置之胺基酸取代。在一具體實施例中，胺基酸取代係在選自由以下組成之群之胺基酸位置處：4、5、12、23、27、28、29、30、48、69、71、75、76、80、81及94，其中該胺基酸位置係根據Kabat編號系統指示。在特定實施例中，胺基酸取代係選自由以下組成之群：4M、5K、12V、23T、27F、28N、29I、30K、48I、69I、71A、75S、76N、80L、81Q及94T，其中該胺基酸取代之位置係根據Kabat編號系統指示。在另一具體實施例中，胺基酸取代係在選自由以下組成之群之胺基酸位置處：4、27、28、29、30、69、71及94，其中該胺基酸位置係根據Kabat編號系統指示。在特定實施例中，胺基酸取代係選自由以下組成之群：4M、27F、28N、29I、30K、69I、71A及94T，其中該胺基酸取代之位置係根據Kabat編號系統指示。

[0162] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其中該抗體包括含表1、3、6及7中所陳述的抗體之一個、兩個或全部三個輕鏈可變區(VL) CDR的VL。在一些實施例中，該抗體包含本文所描述之VL構架區中的一個、兩個、三個或全部四個。在具體實施例中，該抗體包含表5中所陳述之VL構架區(FR)中的一個、兩個、三個或全部四個(例如，表5中一系列中之一個、兩個、三個或四個構架區)。在某些

實施例中，該抗體包含輕鏈可變區序列SEQ ID NO: 152或224之一個、兩個、三個或全部四個構架區。在某些實施例中，該抗體包含與選自由SEQ ID NO: 73-77組成之群的輕鏈可變區序列之一個、兩個、三個或四個構架區至少75%、80%、85%、90%、95%或100%（例如至少86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%）一致的一個、兩個、三個或四個輕鏈可變區序列構架區。在某些實施例中，該抗體包含輕鏈可變構架區，其係或來源於由人類基因編碼之胺基酸序列，其中該胺基酸序列係選自由以下組成之群：IGKV3-20（例如IGKV3-20*01，例如具有胺基酸序列SEQ ID NO: 160）、IGKV3D-15（例如IGKV3D-15*01，例如具有胺基酸序列SEQ ID NO: 161）、IGKV3-15（例如IGKV3-15*01，例如具有胺基酸序列SEQ ID NO: 161）、IGKV3D-20（例如IGKV3D-20*01，例如具有胺基酸序列SEQ ID NO: 162）、IGKV3D-7（例如IGKV3D-7*01，例如具有胺基酸序列SEQ ID NO: 163）、IGKV1-9（例如IGKV1-9*01，例如具有胺基酸序列SEQ ID NO: 164）及IGKV3-11（例如IGKV3-11*01，例如具有胺基酸序列SEQ ID NO: 165）。在具體實施例中，來源於該胺基酸序列之輕鏈可變構架區由該胺基酸序列組成但存在至多20個胺基酸取代、缺失及/或插入，較佳至多20個胺基酸取代。在一特定實施例中，來源於該胺基酸序列之輕鏈可變構架區由該胺基酸序列組成，且1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、

16、17、18、19或20個胺基酸殘基經相應非人類輕鏈可變構架區中類似位置所見之胺基酸取代。在一些實施例中，該抗體包含來源於胺基酸序列SEQ ID NO: 160之輕鏈可變構架區，其中胺基酸序列SEQ ID NO: 160中至少一個胺基酸經相應非人類輕鏈可變構架區中類似位置之胺基酸取代。在一具體實施例中，胺基酸取代係在選自由以下組成之群之胺基酸位置處：3、22、36、43、47、58、70及71，其中該胺基酸位置係根據Kabat編號系統指示。在特定實施例中，胺基酸取代係選自由以下組成之群：3L、22T、36F、43S、47W、58V、70S及71Y，其中該胺基酸取代之位置係根據Kabat編號系統指示。

[0163] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其中該抗體包括含表1、2、6及7中的抗體之一個、兩個或全部三個重鏈可變區(VH) CDR(例如，表2第一列中之VH CDR)的VH，及含表1、3、6及7中的抗體之一個、兩個或全部三個輕鏈可變區(VL) CDR(例如表3第一列之VL CDR)的VL。在一些實施例中，該抗體包含本文所描述的VH構架區及VL構架區。在具體實施例中，該抗體包含表4中所陳述之VH構架區(FR)(例如表4中第一列中之一個、兩個、三個或四個構架區)及表5中所陳述之VL構架區(FR)(例如表5中第一列中之一個、兩個、三個或四個構架區)。

[0164] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其中該抗體

包括含 SEQ ID NO: 79、90及95；或79、90及98中分別陳述之CDRH1、CDRH2及CDRH3胺基酸序列的VH結構域。在某些實施例中，該抗體包含來源於人類或靈長類動物抗體之VH的一個、兩個、三個或全部四個VH構架區。在一些實施例中，該抗體包含表4中所陳述之抗體之VH構架區。

[0165] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其中該抗體包括含SEQ ID NO: 100、104及105中分別陳述之CDRL1、CDRL2及CDRL3胺基酸序列的VL結構域。在某些實施例中，該抗體包含來源於人類或靈長類動物抗體之VL的一個、兩個、三個或全部四個VL構架區。在一些實施例中，該抗體包含表5中所陳述之抗體之VL構架區。

[0166] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其中該抗體包括含CDRH1、CDRH2及CDRH3區之重鏈可變區及含CDRL1、CDRL2及CDRL3區之輕鏈可變區，其中該CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含SEQ ID NO: 79、90、95、100、104及105；或79、90、98、100、104及105中所陳述之胺基酸序列。在某些實施例中，該抗體包含來源於人類或靈長類動物抗體之VH的一個、兩個、三個或全部四個VH構架區，及來源於人類或靈長類動物抗體之VL的一個、兩個、三個或全部四個VL構架區。在一些實施例中，該抗體包含表4和表5

中分別陳述的抗體之VH構架區及VL構架區。

[0167] 在某些實施例中，本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 151或222之重鏈可變區。在某些實施例中，本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 218或223之重鏈可變區。在某些實施例中，本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其包括含與以下中所陳述之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%或100% (例如至少86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)一致之胺基酸序列的重鏈可變區：SEQ ID NO: 56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、220、66、67、68、69、70、71或72。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、220、66、67、68、69、70、71或72中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區，視情況其中在重鏈可變區1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 65中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 220中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，SEQ ID NO: 220中之X係Q。在某些實施例中，SEQ ID NO: 220中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包含具有以下中所陳述之胺基酸序列的重鏈：SEQ ID NO: 168、225、

169、226、170、227、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185或186，視情況其中重鏈1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 168中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 225中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，SEQ ID NO: 225中之X係Q。在某些實施例中，SEQ ID NO: 225中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 169中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 226中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，SEQ ID NO: 226中之X係Q。在某些實施例中，SEQ ID NO: 226中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 170中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 227中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，SEQ ID NO: 227中之X係Q。在某些實施例中，SEQ ID NO: 227中之X係焦麩胺酸。

[0168] 在某些實施例中，本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 152或224的輕鏈可變區。在某些實施例中，本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其包括含與SEQ ID NO: 73、74、75、76或77中所陳述之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、

95%或100% (例如至少86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 73、74、75、76或77中所陳述之胺基酸序列的輕鏈可變區，視情況其中輕鏈可變區1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 73中所陳述之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 221中所陳述之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，SEQ ID NO: 221中之X係E。在某些實施例中，SEQ ID NO: 221中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 187、188、189、190或191中所陳述之胺基酸序列的輕鏈可變區，視情況其中輕鏈1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 187中所陳述之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含具有SEQ ID NO: 228中所陳述之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，SEQ ID NO: 228中之X係E。在某些實施例中，SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。

[0169] 在某些實施例中，本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 151或222之重鏈可變區，及含胺基酸序列SEQ ID NO: 152或224之輕鏈可變區。在某些實施例中，本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的

分離之抗體，其包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 218或223之重鏈可變區，及含胺基酸序列SEQ ID NO: 152或224之輕鏈可變區。在某些實施例中，本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，其包括含與以下中所陳述之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%或100% (例如至少86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)一致之胺基酸序列的重鏈可變區：SEQ ID NO: 56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、220、66、67、68、69、70、71或72，及含與以下中所陳述之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%或100% (例如至少86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)一致之胺基酸序列的輕鏈可變區：SEQ ID NO: 73、221、74、75、76或77。在某些實施例中，該抗體包含具有以下中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區：SEQ ID NO: 56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、220、66、67、68、69、70、71或72，及具有以下中所陳述之胺基酸序列的輕鏈可變區：SEQ ID NO: 73、221、74、75、76或77。在某些實施例中，該抗體包含分別具有以下中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區：SEQ ID NO: 56及73；56及74；56及75；56及76；56及77；57及73；57及74；57及75；57及76；57及77；58及73；58及74；58及75；58及76；58及77；59及73；59及74；59及75；59及76；59及77；60及73；60及

74；60及75；60及76；60及77；61及77；62及77；63及73；64及73；65及73；220及73；65及221；220及221；66及73；67及73；68及73；69及73；70及73；71及73；或72及73。在某些實施例中，該抗體包含該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 56及73中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 220及221中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，SEQ ID NO: 220中之X係Q。在某些實施例中，SEQ ID NO: 220中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 221中之X係E。在某些實施例中，SEQ ID NO: 221中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 220中之X係Q，且SEQ ID NO: 221中之X係E。在某些實施例中，SEQ ID NO: 220中之X係Q，且SEQ ID NO: 221中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 220中之X係焦麩胺酸，且XSEQ ID NO: 221中之係E。在某些實施例中，SEQ ID NO: 220中之X係焦麩胺酸，且SEQ ID NO: 221中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 56及74中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 56及75中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 56及76中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 56及77中所陳述之

胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 57及73中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 57及74中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 57及75中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 57及76中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 57及77中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 58及73中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 58及74中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 58及75中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 58及76中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 58及77中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 59及73中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 59及74中所陳述之

胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 59及75中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 59及76中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 59及77中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 60及73中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 60及74中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 60及75中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 60及76中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 60及77中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 61及77中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 62及77中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 63及73中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 64及73中所陳述之

胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 65及73中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 66及73中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 67及73中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 68及73中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 69及73中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 70及73中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 71及73中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，該抗體包含分別具有SEQ ID NO: 72及73中所陳述之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，重鏈可變區1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。在某些實施例中，輕鏈可變區1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。在某些實施例中，重鏈可變區1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸，且輕鏈可變區1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。

[0170] 在某些實施例中，本發明提供一種與包含以下中分別陳述之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列之抗體交叉

競爭結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體：SEQ ID NO: 1及2；3及4；5及6；7及8；9及10；11及12；13及10；14及10；15及16；17及18；19及8；20及21；22及23；24及10；9及25；9及26；20及2；27及28；29及30；31及32；33及34；35及10；36及37；38及21；39及40；9及2；9及41；42及43；9及44；45及32；46及47；48及10；20及49；33及50；51及52；53及8；38及2；或54及55。在某些實施例中，本發明提供一種與包含以下中分別陳述之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列之抗體交叉競爭結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體：SEQ ID NO: 56及73；56及74；56及75；56及76；56及77；57及73；57及74；57及75；57及76；57及77；58及73；58及74；58及75；58及76；58及77；59及73；59及74；59及75；59及76；59及77；60及73；60及74；60及75；60及76；60及77；61及77；62及77；63及73；64及73；65及73；220及73；65及221；220及221；66及73；67及73；68及73；69及73；70及73；71及73；或72及73。

[0171] 在某些實施例中，本發明提供一種與本文所描述之抗體，例如包含以下中分別陳述之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列之抗體結合至相同或重疊之LAG-3抗原決定基(例如人類LAG-3之抗原決定基)的分離之抗體：SEQ ID NO: 1及2；3及4；5及6；7及8；9及10；11及12；13及10；14及10；15及16；17及18；19及8；20及21；22及23；24及10；9及25；9及26；20及2；27及28；29及30；

31及32；33及34；35及10；36及37；38及21；39及40；9及2；9及41；42及43；9及44；45及32；46及47；48及10；20及49；33及50；51及52；53及8；38及2；或54及55。在某些實施例中，本發明提供一種與本文所描述之抗體，例如包含以下中分別陳述之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列之抗體結合至相同或重疊之LAG-3抗原決定基(例如人類LAG-3之抗原決定基)的分離之抗體：SEQ ID NO: 56及73；56及74；56及75；56及76；56及77；57及73；57及74；57及75；57及76；57及77；58及73；58及74；58及75；58及76；58及77；59及73；59及74；59及75；59及76；59及77；60及73；60及74；60及75；60及76；60及77；61及77；62及77；63及73；64及73；65及73；220及73；65及221；220及221；66及73；67及73；68及73；69及73；70及73；71及73；或72及73。在某些實施例中，抗體之抗原決定基可以藉由例如NMR波譜法、表面電漿共振(BIAcore®)、X射線繞射結晶學研究、ELISA檢定、氫/氘交換結合質譜法(例如液相層析電噴霧質譜法)、基於陣列之寡肽掃描檢定及/或突變誘發定位(例如定點突變誘發定位)測定。對於X射線結晶法，結晶可以使用此項技術中已知之任何方法實現(例如 Giegé R 等人 (1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50(第4部分): 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，皆以引用之方式整體併入本文

中)。抗體:抗原晶體可以使用熟知之X射線繞射技術研究並且可以使用電腦軟體精修, 諸如X-PLOR (Yale University, 1992, 由Molecular Simulations, Inc.發佈; 參見例如, Meth Enzymol (1985) 第114及115卷, Wyckoff HW等人編; 美國專利申請案第2004/0014194號), 及BUSTER (Bricogne G (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(第1部分): 37-60; Bricogne G (1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, Carter CW編; Roversi P等人 (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56(第10部分): 1316-1323, 皆以引用之方式整體併入本文中)。突變誘發定位研究可以使用熟習此項技術者已知之任何方法實現。有關突變誘發技術, 包括丙胺酸掃描突變誘發技術之說明, 參見例如Champe M等人(1995), 同上文及Cunningham BC & Wells JA (1989), 同上文。在一具體實施例中, 抗體之抗原決定基係使用丙胺酸掃描突變誘發研究測定。此外, 識別並結合至相同或重疊的LAG-3(例如人類LAG-3)之抗原決定基的抗體可以使用常規技術, 諸如免疫檢定, 例如藉由顯示一種抗體阻斷另一種抗體結合至靶抗原之能力, 亦即, 競爭性結合檢定鑑別。競爭結合檢定亦可用於確定兩種抗體對於一抗原決定基是否具有類似的結合特異性。競爭結合可以使用這樣一種檢定測定, 在該檢定中, 待測試之免疫球蛋白抑制參考抗體與共同抗原, 諸如LAG-3(例如人類LAG-3)之特異性結合。已知多種類型之競爭性結合檢定, 例如: 直接或間接固相放射免疫檢定

(RIA)、直接或間接固相酶免疫檢定(EIA)、夾心競爭檢定(參見Stahli C等人(1983) *Methods Enzymol* 9: 242-253)；直接固相生物素-抗生物蛋白EIA(參見Kirkland TN等人(1986) *J Immunol* 137: 3614-9)；直接固相標記之EIA、直接固相標記之夾心檢定(參見Harlow E及Lane D, (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press)；使用I-125標記的直接固相標記之RIA(參見Morel GA等人(1988) *Mol Immunol* 25(1): 7-15)；直接固相生物素-抗生物素蛋白EIA(參見Cheung RC等人, (1990) *Virology* 176: 546-52)；及直接標記之RIA(參見Moldenhauer G等人(1990) *Scand J Immunol* 32: 77-82)，皆以引用之方式整體併入本文中。典型地，此類檢定涉及使用結合至固體表面或帶有未標記之測試免疫球蛋白及標記之參考免疫球蛋白中之任一種之細胞的純化抗原(例如，LAG-3，諸如人類LAG-3)。競爭性抑制可以藉由在測試免疫球蛋白存在下，測定結合至固體表面或細胞之標記的量來量測。通常，測試免疫球蛋白係過量存在。通常，當競爭抗體過量存在時，其將使參考抗體與共同抗原之特異性結合抑制至少50-55%、55-60%、60-65%、65-70%、70-75%或更高。競爭結合檢定可以使用標記之抗原或標記之抗體，配置成眾多不同形式。在此檢定之一種常見形式中，抗原係固定於96孔盤上。接著，使用放射性標記或酶標記量測未標記抗體阻斷經標記抗體結合至抗原的能力。更多細節，參見例如Wagener C 等人(1983) *J Immunol*

130: 2308-2315 ; Wagener C 等人 (1984) J Immunol Methods 68: 269-274 ; Kuroki M等人(1990) Cancer Res 50: 4872-4879 ; Kuroki M等人(1992) Immunol Invest 21: 523-538 ; Kuroki M等人(1992) Hybridoma 11: 391-407 ; 及 Antibodies: A Laboratory Manual, Ed Harlow E & Lane D 編輯，同上文，第386-389頁，皆以引用之方式整體併入本文中。

[0172] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含以下中所陳述之胺基酸序列的重鏈：SEQ ID NO: 168、225、169、226、170、227、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185或186，視情況其中該重鏈1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 168中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 225中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，SEQ ID NO: 225中之X係Q。在某些實施例中，SEQ ID NO: 225中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 169中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 226中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，SEQ ID NO: 226中之X係Q。在某些實施例中，SEQ ID NO: 226中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 170中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例

中，該抗體包括含SEQ ID NO: 227中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，SEQ ID NO: 227中之X係Q。在某些實施例中，SEQ ID NO: 227中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 171中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 172中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 173中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 174中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 175中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 176中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 177中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 178中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 179中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 180中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 181中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 182中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 183中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 184中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 185中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在

某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 186中所陳述之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，該重鏈1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。

[0173] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含以下中所陳述之胺基酸序列的輕鏈：SEQ ID NO: 187、228、188、189、190或191，視情況其中該輕鏈1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 187中所陳述之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 228中所陳述之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，SEQ ID NO: 228中之X係E。在某些實施例中，SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 188中所陳述之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 189中所陳述之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 190中所陳述之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，該抗體包括含SEQ ID NO: 191中所陳述之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，該輕鏈1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。

[0174] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 168之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗

體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 225之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 228之輕鏈。在某些實施例中，SEQ ID NO: 225中之X係Q，且在SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 225中之X係焦麩胺酸，且在SEQ ID NO: 228中之X係E。在某些實施例中，SEQ ID NO: 225中之X係焦麩胺酸，且在SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。

[0175] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 169之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 226之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 228之輕鏈。在某些實施例中，SEQ ID NO: 226中之X係Q，且SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 226中之X係焦麩胺酸，且在SEQ ID NO: 228中之X係E。在某些實施例中，SEQ ID NO: 226中之X係焦麩胺酸，且在SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。

[0176] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 170之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗

體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 227之重鏈及含胺基酸序列SEQ ID NO: 228之輕鏈。在某些實施例中，SEQ ID NO: 227中之X係Q，且SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 227中之X係焦麩胺酸，且在SEQ ID NO: 228中之X係E。在某些實施例中，SEQ ID NO: 227中之X係焦麩胺酸，且在SEQ ID NO: 228中之X係焦麩胺酸。

[0177] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 171之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 172之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 173之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 174之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 175之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異

性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 176之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 177之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 178之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 179之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 180之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 181之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 182之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 183之

重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 184之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 185之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 186之重鏈；及含胺基酸序列SEQ ID NO: 187之輕鏈。在某些實施例中，該重鏈1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。在某些實施例中，輕鏈1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。在某些實施例中，該重鏈1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸，且輕鏈1位之胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。

[0178] 任何Ig恆定區均可用於本文所揭示之抗體中。在某些實施例中，Ig區係人類IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY免疫球蛋白分子，屬於免疫球蛋白分子之任何類別(例如IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及IgA₂)或任何亞類(例如IgG_{2a}及IgG_{2b})。

[0179] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含以下胺基酸序列之重鏈恆定區：SEQ ID NO: 192、193、194、195、196、197、208或209。在某些實施例

中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 194之重鏈恆定區。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 195之重鏈恆定區。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 198之輕鏈恆定區。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 219之輕鏈恆定區。

[0180] 在某些實施例中，將一個、兩個或更多個突變(例如胺基酸取代)引入本文所述抗體之Fc區(例如，CH2結構域(人類IgG₁之殘基231-340)及/或CH3結構域(人類IgG₁之殘基341-447)及/或鉸鏈區，根據EU編號系統編號)中，以改變該抗體之一或多種功能特性，諸如血清半衰期、補體固定、Fc受體結合及/或抗原依賴性細胞毒性。

[0181] 在某些實施例中，將一個、兩個或更多個突變(例如胺基酸取代)引入Fc區(CH1結構域)之鉸鏈區中，由此使鉸鏈區中半胱胺酸殘基之數量改變(例如增加或減小)，如例如美國專利第5,677,425號中所述。CH1結構域之鉸鏈區中半胱胺酸殘基之數量可以經改變以例如有利於輕鏈及重鏈之組裝，或改變(例如增加或降低)抗體之穩定性。

[0182] 在一具體實施例中，將一個、兩個或更多個胺基酸突變(例如取代、缺失或插入)引入IgG恆定結構域或其FcRn結合片段(較佳為Fc或鉸鏈區-Fc結構域片段)中以改變(例如減小或增加)抗體之活體內半衰期。有關改變(例如減小或增加)抗體之活體內半衰期的實例，參見例如，國際公開案第WO 02/060919號、第WO 98/23289號及第WO 97/34631號；以及美國專利第5,869,046號、第6,121,022號、第6,277,375號及第6,165,745號，皆以引用之方式整體併入本文中。在一些實施例中，將一個、兩個或更多個胺基酸突變(例如取代、缺失或插入)引入IgG恆定結構域或其FcRn結合片段(較佳為Fc或鉸鏈區-Fc結構域片段)中以減小抗體之活體內半衰期。在其他實施例中，將一個、兩個或更多個胺基酸突變(例如取代、缺失或插入)引入IgG恆定結構域或其FcRn結合片段(較佳為Fc或鉸鏈區-Fc結構域片段)中以增加抗體之活體內半衰期。在一具體實施例中，根據EU編號系統編號，該抗體可以在第二恆定(CH2)結構域(人類IgG₁之殘基231-340)及/或第三恆定(CH3)結構域(人類IgG₁之殘基341-447)中具有一或多個胺基酸突變(例如取代)。在一具體實施例中，根據EU編號系統編號，本文所述之抗體IgG₁之恆定區包含252位中甲硫胺酸(M)變為酪胺酸(Y)之取代、254位中絲胺酸(S)變為蘇胺酸(T)之取代；及256位中蘇胺酸(T)變為麩胺酸(E)之取代。參見美國專利號7,658,921，其以引用之方式整體併入本文中。經顯示，此類突變IgG，稱為「YTE突變體」

之半衰期相較於同種抗體之野生型形式增加四倍(參見 Dall'Acqua WF等人 (2006) J Biol Chem 281: 23514-24, 以引用之方式整體併入本文中)。在某些實施例中, 根據 EU 編號系統編號, 抗體包括在位置 251-257、285-290、308-314、385-389及 428-436 處含一個、兩個、三個或更多個胺基酸殘基之胺基酸取代的 IgG 恆定結構域。

[0183] 在一些實施例中, 將一個、兩個或更多個突變(例如胺基酸取代)引入本文所述抗體之 Fc 區(例如, CH2 結構域(人類 IgG₁之殘基 231-340)及/或 CH3 結構域(人類 IgG₁之殘基 341-447)及/或鉸鏈區, 根據 EU 編號系統編號)中, 以增加或減小該抗體對效應細胞表面上之 Fc 受體(例如活化之 Fc 受體)的親和力。抗體 Fc 區中減小或增加抗體對 Fc 受體之親和力的突變及用於將此類突變引入 Fc 受體或其片段中的技術係熟習此項技術者已知的。可以改變抗體對 Fc 受體之親和力的抗體 Fc 受體中突變之實例描述於例如 Smith P 等人(2012) PNAS 109: 6181-6186; 美國專利第 6,737,056 號, 以及國際公開案第 WO 02/060919 號、第 WO 98/23289 號及第 WO 97/34631 號中, 皆以引用之方式整體併入本文中。

[0184] 在另一實施例中, 將一個、兩個或更多個胺基酸取代引入 IgG 恆定結構域 Fc 區中以改變抗體之效應功能。舉例而言, 根據 EU 編號系統編號的選自胺基酸殘基 234、235、236、237、297、318、320 及 322 之一或多個胺基酸可以用不同胺基酸殘基置換以該抗體對效應配體之親

和力改變但保持親本抗體之抗原結合能力。對其之親和力改變之效應配體可為例如Fc受體或補體之C1組分。此方法更詳細地描述於美國專利第5,624,821號及第5,648,260號中，其各自以引用之方式整體併入本文中。在一些實施例中，恆定區結構域之缺失或失活(經由點突變或其他手段引起)可以降低循環抗體之Fc受體結合，由此增進腫瘤定位。有關使恆定結構域缺失或失活並由此增進腫瘤定位之突變的說明，參見例如美國專利號5,585,097及8,591,886，其各自以引用之方式整體併入本文中。在某些實施例中，可以將一或多個胺基酸取代引入本文所述抗體之Fc區中以移除Fc區上之潛在糖基化位點，由此可減少Fc受體結合(參見例如，Shields RL等人 (2001) J Biol Chem 276: 6591-604，以引用之方式整體併入本文中)。在各種實施例中，根據EU編號系統編號，可以在本文所述抗體之恆定區中進行以下突變中之一或多個：N297A取代、N297Q取代、L235A取代及L237A取代、L234A取代及L235A取代、E233P取代、L234V取代、L235A取代、C236缺失、P238A取代、D265A取代、A327Q取代，或P329A取代。在某些實施例中，可以在本文所述抗體之恆定區中進行選自由D265A、P329A及其組合組成之群的突變。

[0185] 在一具體實施例中，本文所述之抗體包括含根據EU編號系統編號的N297Q或N297A胺基酸取代的IgG₁之恆定結構域。在一個實施例中，本文所述之抗體包括含根據EU編號系統編號的選自由D265A、P329A及其組合組

成之群之突變的IgG₁之恆定結構域。在另一實施例中，本文所述之抗體包括含根據EU編號系統編號的選自由L234A、L235A及其組合組成之群之突變的IgG₁之恆定結構域。在某些實施例中，根據EU編號索引編號，本文所述之抗體之恆定區中對應於人類IgG₁重鏈中位置L234、L235及D265的胺基酸殘基分別不為L、L及D。此方法詳細描述於國際公開案第WO 14/108483號中，其以引用之方式整體併入本文中。在一特定實施例中，對應於人類IgG₁重鏈中位置L234、L235及D265的胺基酸分別不為F、E及A；或A、A及A。

[0186] 在某些實施例中，根據EU編號系統編號，本文所述抗體之恆定區中選自胺基酸殘基329、331及322的一或多個胺基酸殘基可以經不同胺基酸殘基置換，由此該抗體具有改變的C1q結合及/或降低或消除之補體依賴性細胞毒性(CDC)。此方法更詳細地描述於美國專利第6,194,551號(Idusogie等人)中，其各自以引用之方式整體併入本文中。在一些實施例中，本文所述抗體之CH₂結構域的N末端區中胺基酸位置231至238內的一或多個胺基酸殘基經改變以改變抗體固定補體之能力。此方法詳細描述於國際公開案第WO 94/29351號中，其以引用之方式整體併入本文中。在某些實施例中，本文所述抗體之Fc區藉由在根據EU編號系統編號的以下位置處一或多個胺基酸突變(例如引入胺基酸取代)進行修飾以增加抗體介導抗體依賴性細胞之細胞毒性(ADCC)的能力及/或增加抗體對Fcγ受

體之親和力：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或439。此方法詳細描述於國際公開案第WO 00/42072號中，其以引用之方式整體併入本文中。

[0187] 在某些實施例中，本文所述之抗體包含IgG₄抗體之恆定區且根據EU編號系統編號，在重鏈之胺基酸殘基228處的絲胺酸經脯胺酸取代。在某些實施例中，本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 196之重鏈恆定區。在某些實施例中，本發明提供特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，該抗體包括含胺基酸序列SEQ ID NO: 197之重鏈恆定區。

[0188] 在某些實施例中，可以將本文所述之恆定區突變或修飾中的任一種引入具有兩個重鏈恆定區之本文所述抗體的一個或兩個重鏈恆定區中。

[0189] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)且充當拮抗劑的分離之抗體。

[0190] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結

合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，如藉由本文所述及/或熟習此項技術者已知之方法所評估，相對於在無任何抗體存在下或在不相關抗體(例如不特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的抗體)存在下LAG-3(例如人類LAG-3)之活性，該抗體使LAG-3(例如人類LAG-3)活性降低至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，如藉由本文所述及/或熟習此項技術者已知之方法所評估，相對於在無任何抗體存在下或在不相關抗體(例如不特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的抗體)存在下LAG-3(例如人類LAG-3)之活性，該抗體使LAG-3(例如人類LAG-3)活性降低至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。LAG-3(例如人類LAG-3)活性之非限制性實例可以包括LAG-3(例如人類LAG-3)信號傳導、LAG-3(例如人類LAG-3)與LAG-3(例如人類LAG-3)配體(例如II類MHC)之結合，及細胞因子產生(例如IL-2及/或TNF- α)之抑制。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)且減活、降低或抑制LAG-3(例如人類LAG-3)活性的分離之抗體。在具體實施例中，LAG-3(例如人類LAG-3)活性降低係如以下實例

中所描述進行評估。

[0191] 在具體實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，如藉由本文所述(參見以下實例)或熟習此項技術者已知之方法所評估，相對於在無任何抗體存在下或在不相關抗體(例如不特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的抗體)存在下LAG-3(例如人類LAG-3)與其配體(例如II類MHC)之結合，該抗體使LAG-3(例如人類LAG-3)與其配體(例如II類MHC)之結合減少至少約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，如藉由本文所述(參見以下實例)或熟習此項技術者已知之方法所評估，相對於在無任何抗體存在下或在不相關抗體(例如不特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的抗體)存在下LAG-3(例如人類LAG-3)與其配體(例如II類MHC)之結合，該抗體使LAG-3(例如人類LAG-3)與其配體(例如II類MHC)之結合降低至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。

[0192] 在具體實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，如藉由本文所述(參見以下實例)或熟習此項技術者已知之方法所評

估，相對於在無任何抗體存在下或在不相關抗體(例如不特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的抗體)存在下細胞因子之產生，該抗體使細胞因子之產生(例如IL-2及/或TNF- α)增加至少約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%。在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，如藉由本文所述(參見以下實例)或熟習此項技術者已知之方法所評估，相對於在無任何抗體存在下或在不相關抗體(例如不特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的抗體)存在下細胞因子之產生，該抗體使細胞因子之產生(例如IL-2及/或TNF- α)增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。

[0193] 在具體實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，如藉由本文所述(參見以下實例)或熟習此項技術者已知之方法所評估，相對於在無任何抗體存在下或在不相關抗體(例如不特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的抗體)存在下IL-2之產生，該抗體單獨或與抗PD-1抗體(例如帕博珠單抗或納武單抗)、抗PD-L1抗體(例如阿維魯單抗(avelumab)、度伐魯單抗(durvalumab)或阿特珠單抗(atezolizumab))或抗CTLA-4抗體(例如伊匹單抗)之組合使響應葡萄球菌內毒素

A(SEA)刺激之人類外周血單核細胞(PBMC)中IL-2產生增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。

[0194] 在某些實施例中，如藉由本文所述(參見以下實例)或熟習此項技術者已知之方法所評估，相對於在無任何抗體存在下或在不相關抗體(例如不特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的抗體)存在下僅經葡萄球菌內毒素A(SEA)刺激之外周血單核細胞(PBMC)，在本文所描述的特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體存在下，經SEA刺激之PBMC中IL-2之產生增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。

[0195] 在某些實施例中，本發明提供一種特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的分離之抗體，如藉由本文所述(參見以下實例)或熟習此項技術者已知之方法所評估，相對於在無特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的抗體存在下TNF α 之產生，該抗體單獨或與抗PD-1抗體(例如帕博珠單抗或納武單抗)之組合使響應抗CD3抗體及抗CD28抗體刺激的腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)中TNF α 之產生增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10

倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。在一個實施例中，TIL係來自腎細胞癌腫瘤。在另一實施例中，TIL係來自結腸直腸癌腫瘤。

[0196] 在某些實施例中，如藉由本文所述(參見以下實例)或熟習此項技術者已知之方法所評估，相對於在無特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的抗體存在下僅經抗CD3抗體及抗CD28抗體刺激之腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)，在本文所描述的特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體存在下，經抗CD3抗體及抗CD28抗體刺激之TIL中TNF α 之產生增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。在一個實施例中，TIL係來自腎細胞癌腫瘤。在另一實施例中，TIL係來自結腸直腸癌腫瘤。

6.3 醫藥組成物

[0197] 本文提供了包含具有所需純度的本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體於生理學上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑(Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA)中的組成物(例如醫藥組成物)。可接受之載劑、賦形劑或穩定劑在所用劑量及濃度下對接受者無毒，且包括：緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及

甲硫氨酸；防腐劑(諸如十八烷基二甲基苯甲基氯化銨；氯化六羥季銨(hexamethonium chloride)；氯化苯甲烴銨(benzalkonium chloride)；苄索氯銨(benzethonium chloride)；苯酚；丁醇或苯甲醇；對羥基苯甲酸烷酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(少於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啉酮；胺基酸，如甘氨酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精氨酸或離氨酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇；成鹽平衡離子，諸如鈉；金屬錯合物(例如Zn-蛋白質錯合物)；及/或非離子型界面活性劑，諸如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。

[0198] 在某些實施例中，該組成物包含一或多種如本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體，其中在該等抗體之一部分中，重鏈及/或輕鏈之N末端胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸(例如，由N末端E或Q殘基之游離胺基轉譯後環化產生)。在某些實施例中，該組成物中重鏈至少50% (例如至少60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)的N末端胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。在某些實施例中，該組成物中輕鏈不超過50% (例如不超過1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%或40%)的N末端胺基酸殘基已轉變成焦麩

胺酸。在某些實施例中，該組成物中重鏈至少50%（例如至少60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%）的N末端胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸，且該組成物中輕鏈不超過50%（例如不超過1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%或40%）的N末端胺基酸殘基已轉變成焦麩胺酸。

[0199] 在一具體實施例中，醫藥組成物包含於醫藥學上可接受之載劑中的本文所述之抗LAG-3（例如人類LAG-3）抗體，及視情況之一或多種額外預防或治療劑。在一具體實施例中，醫藥組成物包含於醫藥學上可接受之載劑中的有效量之本文所述抗體，及視情況之一或多種額外預防或治療劑。在一些實施例中，該抗體係該醫藥組成物中所包括的唯一活性劑。本文所述之醫藥組成物可用於抑制LAG-3（例如人類LAG-3）活性且治療病況，諸如癌症或感染性疾病。

[0200] 用於非經腸製劑中的醫藥學上可接受之載劑包括水性媒劑、非水性媒劑、抗微生物劑、等張劑、緩衝劑、抗氧化劑、局麻劑、懸浮劑及分散劑、乳化劑、錯隔劑或螯合劑，及其他醫藥學上可接受之物質。水性媒劑之實例包括氯化鈉注射液、林格氏注射液、等張右旋糖注射液、無菌水注射液、右旋糖及乳酸化林格氏注射液。非水性非經腸媒劑包括植物源性非揮發性油，棉籽油、玉米油、芝麻油及花生油。可以將包裝於多劑量容器中之非經腸製劑中添加細菌抑制或真菌抑制濃度的抗微生物劑，包

括酚類或甲酚類、汞製劑、苯甲醇、氯丁醇、對羥基苯甲酸甲酯及對羥基苯甲酸丙酯、硫柳汞鈉(thimerosal)、苯紫氯胺及苄索氯胺。等張劑包括氯化鈉及右旋糖。緩衝劑包括磷酸鹽及檸檬酸鹽。抗氧化劑包括硫酸氫鈉。局麻劑包括鹽酸普魯卡因。懸浮劑及分散劑包括羧甲基纖維素鈉、羥丙基甲基纖維素及聚乙烯吡咯啉酮。乳化劑包括聚山梨酸酯 80(TWEEN® 80)。金屬離子錯隔劑或螯合劑包括 EDTA。醫藥載劑亦包括用於水混溶性媒劑之乙醇、聚乙二醇、及丙二醇；及用於 pH 調節之氫氧化鈉、鹽酸、檸檬酸或乳酸。

[0201] 醫藥組成物可調配成用於向受試者投藥之任何途徑。投予途徑之具體實例包括鼻內、口服、肺、經皮、皮內及非經腸。本文亦涵蓋以皮下、肌肉內或靜脈內注射為特徵之非經腸投藥。可注射劑可以製備成習知形式，如液體溶液或懸浮液、適於在注射之前於液體中形成溶液或懸浮液之固體形式，或乳液。可注射劑、溶液及乳液亦含有一或多種賦形劑。適合賦形劑係例如水、生理食鹽水、右旋糖、甘油或乙醇。此外，必要時，待投予之醫藥組成物亦可含有微量的無毒輔助物質，諸如潤濕劑或乳化劑、pH 緩衝劑、穩定劑、增溶劑，及其他此類試劑，諸如乙酸鈉、脫水山梨醇單月桂酸酯、三乙醇胺油酸酯及環糊精。

[0202] 用於非經腸投予抗體之製劑包括供注射之無菌溶液；準備好在即將使用前與溶劑組合之無菌乾燥可溶

性產品，諸如凍乾粉，包括皮下錠劑；用於注射之無菌懸浮液；準備好在即將使用前與媒劑組合之無菌乾燥不溶性產品；及無菌乳液。該等溶液可為水性或非水性的。

[0203] 若靜脈內投予，則適合載劑包括生理食鹽水或磷酸鹽緩衝生理食鹽水(PBS)，以及含有增稠劑及增溶劑，諸如葡萄糖、聚乙二醇及聚丙二醇以及其混合物之溶液。

[0204] 包含抗體之表面用混合物係如關於局部及全身投藥所描述製備。所得混合物可以為溶液、懸浮液、乳液或類似物，且可以調配為乳膏、凝膠、油膏、乳液、溶液、酞劑、洗液、懸浮液、酞劑、糊劑、泡沫劑、氣霧劑、沖洗劑、噴霧劑、栓劑、繃帶、皮膚貼片或任何其他適於表面投藥之調配物形式。

[0205] 本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體可以調配成供表面施用，諸如藉由吸入施用之氣霧劑形式(參見例如，美國專利第4,044,126號、第4,414,209號及第4,364,923號，其描述了用於遞送類固醇以用於治療發炎性疾病，特別是哮喘之氣霧劑且以引用之方式整體併入本文中)。此等供投予呼吸道之調配物可以單獨或與諸如乳糖之惰性載劑組合而呈用於噴霧器之氣霧劑或溶液之形式，或呈供吹入之微細粉末形式。在此類情形中，該調配物顆粒之直徑在一個實施例中小於50微米，在一個實施例中小於10微米。

[0206] 本文所描述的抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體

可以經調配用於局部或表面施用，諸如用於表面施用至皮膚及黏膜，諸如眼中之黏膜，呈凝膠、乳膏及洗液形式；及用於施用至眼睛或用於池內或脊髓內施用。預期表面投予適於經皮遞送以及投予眼睛或黏膜，或用於吸入療法。亦可投予單獨或與其他醫藥學上可接受之賦形劑組合之抗體的鼻用溶液。

[0207] 經皮貼片，包括離子電滲及電泳裝置，係熟習此項技術者熟知的且可以用於投予抗體。舉例而言，此類貼片揭示於美國專利第6,267,983號、第6,261,595號、第6,256,533號、第6,167,301號、第6,024,975號、第6,010,715號、第5,985,317號、第5,983,134號、第5,948,433號及第5,860,957號中，皆以引用之方式整體併入本文中。

[0208] 在某些實施例中，包含本文所述之抗體的醫藥組成物係凍乾粉，其可以復原成溶液、乳液及其他混合物形式供投予。其亦可經復原且調配為固體或凝膠形式。凍乾粉係藉由將本文所述之抗體，或其醫藥學上可接受之衍生物溶解於適合溶劑中來製備。在一些實施例中，凍乾粉係無菌的。溶劑可以含有改善粉末或由該粉末製備之復原溶液之穩定性或其他藥理學組分的賦形劑。可以使用之賦形劑包括但不限於，右旋糖、山梨糖醇、果糖、玉米糖漿、木糖醇、甘油、葡萄糖、蔗糖或其他適合的試劑。溶劑亦可含有緩衝劑，諸如檸檬酸鹽、磷酸鈉或磷酸鉀，或熟習此項技術者已知的在一個實施例中呈大致中性pH的其

他此類緩衝劑。隨後對該溶液無菌過濾，接著在熟習此項技術者已知之標準條件下凍乾，得到所需調配物。在一個實施例中，所得溶液將分配至小瓶中用於凍乾。每個小瓶將含有單劑量或多劑量的化合物。凍乾粉可以在適當條件下，諸如在約4°C或室溫下儲存。用注射用水使此凍乾粉復原，得到用於非經腸投予之調配物。對於復原，將凍乾粉添加至無菌水或其他適合載劑中。精確量取決於所選化合物。該量可以憑經驗確定。

[0209] 本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體及本文所述之其他組成物亦可經調配以靶向待治療受試者之特定組織、受體或其他身體區域。許多此類靶向方法係熟習此項技術者熟知的。預期所有此類靶向方法在本文中均可用於本發明組成物中。對於靶向方法之非限制性實例，參見例如美國專利第6,316,652號、第6,274,552號、第6,271,359號、第6,253,872號、第6,139,865號、第6,131,570號、第6,120,751號、第6,071,495號、第6,060,082號、第6,048,736號、第6,039,975號、第6,004,534號、第5,985,307號、第5,972,366號、第5,900,252號、第5,840,674號、第5,759,542號及第5,709,874號，皆以引用之方式整體併入本文中。在一個具體實施例中，使本文所述之抗體靶向腫瘤。

[0210] 欲用於活體內投予之組成物可以為無菌的。此易於藉由濾過例如無菌濾膜來實現。

6.4 使用方法及用途

[0211] 在另一方面，本發明提供一種使用本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體治療受試者的方法。將得益於LAG-3(例如人類LAG-3)功能抑制的受試者之任何疾病或病狀可以使用本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體治療。本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體特別適用於抑制免疫系統對腫瘤之耐受性且因此可用作患有癌症之受試者的免疫療法。舉例而言，在某些實施例中，本發明提供一種響應抗原來增進受試者體內之T細胞活化的方法，該方法包括向該受試者投予有效量的如本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其醫藥組成物。在某些實施例中，本發明提供一種治療受試者之癌症的方法，該方法包括向該受試者投予有效量的如本文所揭示之抗體或醫藥組成物。

[0212] 可以用本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或醫藥組成物治療的癌症包括但不限於，實體腫瘤、血液癌症、白血病、淋巴瘤、骨肉瘤、橫紋肌肉瘤、神經母細胞瘤、腎癌、腎移行細胞癌、膀胱癌、威爾姆氏癌(Wilm's cancer)、卵巢癌、胰臟癌、乳癌(例如，以BRCA1及/或BRCA2突變為特徵)、前列腺癌、骨癌、肺癌(例如非小細胞肺癌或小細胞肺癌)、胃癌、結腸直腸癌、子宮頸癌、滑膜肉瘤、頭頸癌、鱗狀細胞癌、多發性骨髓瘤、腎細胞癌、視網膜母細胞瘤、肝母細胞瘤、肝細胞癌、黑素瘤、腎橫紋肌樣瘤、尤文氏肉瘤(Ewing's

sarcoma)、軟骨肉瘤、腦癌、膠質母細胞瘤、腦膜瘤、垂體腺瘤、前庭神經鞘瘤、原始神經外胚層瘤、髓母細胞瘤、星形細胞瘤、間變性星形細胞瘤、少突神經膠質瘤、室管膜瘤、脈絡叢乳頭狀瘤、真性紅血球增多症、血小板增多症、特發性骨髓纖維化、軟組織肉瘤、甲狀腺癌、子宮內膜癌、類癌、肝癌、上皮癌及腹膜癌。在某些實施例中，癌症係例如以上所述種類之轉移性癌症。

[0213] 在某些實施例中，癌症係實體腫瘤、血液癌症(例如白血病、淋巴瘤、骨髓瘤)及其轉移性病變。在一個實施例中，癌症係實體腫瘤。實體腫瘤之實例包括惡性疾病，例如各種器官系統之肉瘤及癌瘤(例如腺癌)，諸如影響肺、乳房、淋巴、胃腸或結腸直腸、生殖器及泌尿生殖道(例如腎、尿道上皮、膀胱細胞)、咽、CNS(例如腦、神經或膠質細胞)、皮膚(例如黑素瘤)、頭頸部(例如頭頸鱗狀細胞癌(HNCC))及胰臟的該等惡性疾病。例如，黑素瘤、胃癌、直腸癌、腎細胞癌、乳癌(例如不表現一種、兩種或全部三種雌激素受體、孕酮受體或Her2/neu的乳癌，例如三陰性乳癌)、肝癌、肺癌(例如非小細胞肺癌(NSCLC)(例如具有鱗狀及/或非鱗狀組織學之NSCLC)或小細胞肺癌)、前列腺癌、頭頸癌(例如HPV+鱗狀細胞癌)、小腸癌及食道癌。

[0214] 在一個實施例中，癌症係血液癌症，例如白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一個實施例中，癌症係白血病，例如急性淋巴母細胞白血病(ALL)、急性髓性白血病

(AML)、急性髓母細胞白血病(AML)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、慢性髓細胞白血病(CML)、慢性髓單核細胞白血病(CMML)、慢性淋巴細胞白血病(CLL)或毛細胞白血病。在一個實施例中，癌症係淋巴瘤，例如B細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、活化B細胞樣(ABC)瀰漫性大B細胞淋巴瘤、生殖中心B細胞(GCB)瀰漫性大B細胞淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、復發性非霍奇金氏淋巴瘤、難治性非霍奇金氏淋巴瘤、再發濾泡性非霍奇金氏淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt lymphoma)、小淋巴細胞性淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、淋巴漿細胞性淋巴瘤或結外邊緣區淋巴瘤。在一個實施例中，癌症係骨髓瘤，例如多發性骨髓瘤。

[0215] 在某些實施例中，本發明提供一種預防或治療受試者之感染性疾病的方法，該方法包括向該受試者投予有效量的如本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其醫藥組成物。在一個實施例中，本文提供用於預防及/或治療感染(例如病毒感染、細菌感染、真菌感染、原蟲感染或寄生蟲感染)之方法。根據該等方法預防及/或治療之感染可以由本文所標識之感染源引起。在一具體實施例中，本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其組成物係投予受試者之唯一活性劑。在一些實施例中，本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其組成物係與抗感染干預措施(例如抗病毒劑、抗細菌劑、抗真菌劑或抗

蟲劑)組合使用以治療感染性疾病。

[0216] 可以用本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其醫藥組成物治療及/或預防的感染性疾病係由包括但不限於細菌、寄生蟲、真菌、原蟲及病毒之感染源引起。在一具體實施例中，用本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其醫藥組成物治療及/或預防的感染性疾病係由病毒引起。可以根據本文所述之方法預防及/或治療的病毒性疾病或病毒感染包括但不限於，由A型肝炎病毒、B型肝炎病毒、C型肝炎病毒、流感病毒(例如A型流感病毒或B型流感病毒)、水痘病毒、腺病毒、I型單純疱疹病毒(HSV-I)、II型單純疱疹病毒(HSV-II)、牛瘟病毒、鼻病毒、埃可病毒(echovirus)、輪狀病毒、呼吸道合胞病毒、乳頭瘤病毒、乳突病毒、巨細胞病毒、棘狀病毒、蟲媒病毒、漢坦病毒(huntavirus)、柯薩奇病毒(coxsackie virus)、腮腺炎病毒、麻疹病毒、風疹病毒、脊髓灰質炎病毒、天花病毒、愛-巴二氏病毒(Epstein Barr virus)、I型人類免疫缺陷病毒(HIV-I)、II型人類免疫缺陷病毒(HIV-II)，及諸如病毒性腦膜炎、腦炎、登革熱或天花之病毒性疾病之致病源引起的感染。

[0217] 可以預防及/或治療之細菌感染包括由大腸桿菌(*Escherichia coli*)、克雷伯氏肺炎菌(*Klebsiella pneumoniae*)、金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、糞腸球菌(*Enterococcus faecalis*)、普通變形菌(*Proteus vulgaris*)、草綠色葡萄球菌(*Staphylococcus viridans*)及銅

綠假單胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)引起的感染。可以根據本文所述之方法預防及/或治療的由細菌(例如大腸桿菌、克雷伯氏肺炎菌、金黃色葡萄球菌、糞腸球菌、普通變形菌、草綠色葡萄球菌及銅綠假單胞菌)引起之細菌性疾病包括但不限於，分枝桿菌立克次氏體(*Mycobacteria rickettsia*)、支原體(*Mycoplasma*)、奈瑟菌屬(*Neisseria*)、肺炎鏈球菌(*S. pneumonia*)、伯氏疏螺旋體(*Borrelia burgdorferi*)(萊姆病(*Lyme disease*))、炭疽菌(*Bacillus anthracis*)(炭疽)、破傷風、鏈球菌(*Streptococcus*)、葡萄球菌(*Staphylococcus*)、分枝桿菌(*mycobacterium*)、百日咳(*pertissus*)、霍亂、瘟疫、白喉、衣原體病、金黃色葡萄球菌及軍團桿菌。

[0218] 可以根據本文所述之方法預防及/或治療的由原蟲引起之原蟲疾病或原蟲感染包括但不限於，利什曼原蟲病(*leishmania*)、球蟲病、錐體蟲病、血吸蟲病或瘧疾。可以根據本文所述之方法預防及/或治療的由寄生蟲引起之寄生蟲疾病或寄生蟲感染包括但不限於，衣原體病及立克次氏體。

[0219] 可以根據本文所述之方法預防及/或治療的真菌疾病或真菌感染包括但不限於，由念珠菌(*Candida*)感染、接合菌病、念珠菌乳腺炎、伴隨潛伏性毛孢子血症(*trichosporonemia*)之進行性播散性毛孢子菌病、播散性念珠菌病、肺副球孢子菌病、肺麴菌病、卡氏肺孢子蟲(*Pneumocystis carinii*)肺炎、隱球菌性腦膜炎、球孢子菌

腦膜腦炎(*coccidioid*al meningoencephalitis)及腦脊髓血管炎、黑麴黴(*Aspergillus niger*)感染、鐮胞菌(*Fusarium keratitis*)、副鼻竇真菌病、菸麴黴(*Aspergillus fumigatus*)心內膜炎、脛骨軟骨發育不良、光滑念珠菌(*Candida glabrata*)陰道炎、口咽念珠菌病、X聯鎖慢性肉芽腫病、足癬、皮膚念珠菌病、黴菌性胎盤炎、播散性毛孢子菌病、變應性支氣管肺麴黴病、黴菌性角膜炎、新型隱球菌(*Cryptococcus neoformans*)感染、真菌性腹膜炎、曲彎孢黴(*Curvularia geniculata*)感染、葡萄球菌眼內炎、孢子絲菌病及皮膚真菌病。

[0220] 在某些實施例中，本發明提供一種預防或治療受試者之神經系統疾病或病症的方法，該方法包括向該受試者投予有效量的如本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其醫藥組成物。在一些實施例中，該神經系統疾病或病症係突觸核蛋白病。在一些實施例中，該神經系統疾病或病症係帕金森氏病。

[0221] 在某些實施例中，該等方法還包括向受試者投予額外治療劑。在某些實施例中，該額外治療劑係化學治療劑、放射性治療劑或檢查點靶向劑。在某些實施例中，該化學治療劑係去甲基化劑(例如阿紫胞苷(*azacitidine*))。在某些實施例中，該檢查點靶向劑係選自由以下組成之群：拮抗劑抗CTLA-4抗體、拮抗劑抗PD-L1抗體、拮抗劑抗PD-L2抗體、拮抗劑抗PD-1抗體、拮抗劑抗TIM-3抗體、拮抗劑抗LAG-3抗體、拮抗劑抗CEACAM1

抗體、促效劑抗GITR抗體、促效劑抗OX40抗體、拮抗劑抗TIGIT抗體、促效劑抗CD137抗體、拮抗劑抗VISTA抗體、拮抗劑抗CD73抗體及拮抗劑抗CD96抗體。

[0222] 在一個實施例中，本發明係關於用於本發明方法中之抗體及/或醫藥組成物，其中該方法另外包括向受試者投予額外治療劑。在一個實施例中，本發明係關於用作藥物的(a)本發明之抗體及/或醫藥組成物，以及(b)額外治療劑。在一個實施例中，本發明係關於用於治療癌症之方法中的(a)本發明之抗體及/或醫藥組成物，以及(b)額外治療劑。在另一實施例中，本發明係關於醫藥組成物、套組或分裝部分之套組，其包含(a)本發明之抗體及/或醫藥組成物，以及(b)額外治療劑。在一個實施例中，該額外治療劑係化學治療劑、放射性治療劑或檢查點靶向劑。

[0223] 在某些實施例中，將抗PD-1抗體用於本文所揭示之方法中。在某些實施例中，該抗PD-1抗體係Bristol-Myers Squibb開發的納武單抗，又稱BMS-936558或MDX1106。在某些實施例中，該抗PD-1抗體係Merck & Co.開發的帕博珠單抗，又稱蘭博珠單抗(lambrolizumab)或MK-3475。在某些實施例中，該抗PD-1抗體係CureTech開發的匹迪珠單抗(pidilizumab)，又稱CT-011。在某些實施例中，該抗PD-1抗體係Medimmune開發的MEDI0680，又稱AMP-514。在某些實施例中，該抗PD-1抗體係Novartis Pharmaceuticals開發的PDR001。在某些實施例中，該抗PD-1抗體係Regeneron Pharmaceuticals開發的

REGN2810。在某些實施例中，該抗PD-1抗體係Pfizer開發的PF-06801591。在某些實施例中，該抗PD-1抗體係BeiGene開發的BGB-A317。在某些實施例中，該抗PD-1抗體係AnaptysBio及Tesaro開發的TSR-042。在某些實施例中，該抗PD-1抗體係Hengrui開發的SHR-1210。

[0224] 可以用於本文所揭示之治療方法中的抗PD-1抗體的其他非限制性實例揭示於以下專利及專利申請案中，其皆以引用之方式整體併入本文中：美國專利第6,808,710號；美國專利第7,332,582號；美國專利第7,488,802號；美國專利第8,008,449號；美國專利第8,114,845號；美國專利第8,168,757號；美國專利第8,354,509號；美國專利第8,686,119號；美國專利第8,735,553號；美國專利第8,747,847號；美國專利第8,779,105號；美國專利第8,927,697號；美國專利第8,993,731號；美國專利第9,102,727號；美國專利第9,205,148號；美國公開案第US 2013/0202623 A1號；美國公開案第US 2013/0291136 A1號；美國公開案第US 2014/0044738 A1號；美國公開案第US 2014/0356363 A1號；美國公開案第US 2016/0075783 A1號；以及PCT公開案第WO 2013/033091 A1號；PCT公開案第WO 2015/036394 A1號；PCT公開案第WO 2014/179664 A2號；PCT公開案第WO 2014/209804 A1號；PCT公開案第WO 2014/206107 A1號；PCT公開案第WO 2015/058573 A1號；PCT公開案第WO 2015/085847 A1號；PCT公開案第WO

2015/200119 A1號；PCT公開案第WO 2016/015685 A1號；及PCT公開案第WO 2016/020856 A1號。

[0225] 在某些實施例中，將抗PD-L1抗體用於本文所揭示之方法中。在某些實施例中，該抗PD-L1抗體係Genentech開發的阿特珠單抗。在某些實施例中，該抗PD-L1抗體係AstraZeneca、Celgene及Medimmune開發的度伐魯單抗。在某些實施例中，該抗PD-L1抗體係Merck Serono及Pfizer開發的阿維魯單抗，又稱MSB0010718C。在某些實施例中，該抗PD-L1抗體係Bristol-Myers Squibb開發的MDX-1105。在某些實施例中，該抗PD-L1抗體係Amplimmune及GSK開發的AMP-224。

[0226] 可以用於本文所揭示之治療方法中的抗PD-L1抗體的非限制性實例揭示於以下專利及專利申請案中，其皆以引用之方式整體併入本文中：美國專利第7,943,743號；美國專利第8,168,179號；美國專利第8,217,149號；美國專利第8,552,154號；美國專利第8,779,108號；美國專利第8,981,063號；美國專利第9,175,082號；美國公開案第US 2010/0203056 A1號；美國公開案第US 2003/0232323 A1號；美國公開案第US 2013/0323249 A1號；美國公開案第US 2014/0341917 A1號；美國公開案第US 2014/0044738 A1號；美國公開案第US 2015/0203580 A1號；美國公開案第US 2015/0225483 A1號；美國公開案第US 2015/0346208 A1號；美國公開案第US 2015/0355184 A1號；以及PCT公開案第WO 2014/100079 A1號；PCT公

開案第 WO 2014/022758 A1 號；PCT 公開案第 WO 2014/055897 A2 號；PCT 公開案第 WO 2015/061668 A1 號；PCT 公開案第 WO 2015/109124 A1 號；PCT 公開案第 WO 2015/195163 A1 號；PCT 公開案第 WO 2016/000619 A1 號；及 PCT 公開案第 WO 2016/030350 A1 號。

[0227] 在某些實施例中，將抗 CTLA-4 抗體用於本文所揭示之方法中。在某些實施例中，該抗 CTLA-4 抗體係 Bristol-Myers Squibb 開發的伊匹單抗。在某些實施例中，該抗 CTLA-4 抗體係 Bristol-Myers Squibb 開發的伊匹單抗。在某些實施例中，該抗 CTLA-4 抗體係 Pfizer 及 Medimmune 開發的曲美目單抗 (tremelimumab)。

[0228] 可以用於本文所揭示之治療方法中的抗 CTLA-4 抗體的非限制性實例揭示於以下專利及專利申請案中，其皆以引用之方式整體併入本文中：美國專利第 6,984,720 號；美國專利第 7,411,057 號；美國專利第 7,034,121 號；美國專利第 8,697,845 號；美國公開案第 US 2009/0123477 A1 號；美國公開案第 US 2014/0105914 A1 號；美國公開案第 US 2013/0267688 A1 號；美國公開案第 US 2016/0145355 A1 號；PCT 公開案第 WO 2014/207064 A1 號；及 PCT 公開案第 WO 2016/015675 A1 號。

[0229] 在某些實施例中，本文所揭示之抗 LAG-3 (例如人類 LAG-3) 抗體係與靶向免疫調節酶，諸如 IDO (吡咯胺-(2,3)-雙加氧酶) 及 / 或 TDO (色胺酸 2,3-雙加氧酶) 之化合物組合投予。在某些實施例中，此類化合物係選自由以下

組成之群：艾帕卡多 (Incyte Corp；參見例如 WO 2010/005958，以引用之方式整體併入本文中)、F001287 (Flexus Biosciences/Bristol-Myers Squibb)、吲哚莫德 (NewLink Genetics)及NLG919 (NewLink Genetics)。在一個實施例中，該化合物係艾帕卡多。在另一實施例中，該化合物係F001287。在另一實施例中，該化合物係吲哚莫德。在另一實施例中，該化合物係NLG919。在一具體實施例中，本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體係與用於治療癌症之IDO抑制劑組合投予受試者。本文所描述的用於治療癌症之IDO抑制劑係以固體醫藥組成物劑型提供，諸如錠劑、丸劑或膠囊，其中該醫藥組成物包括IDO抑制劑及醫藥學上可接受之賦形劑。因此，本文所述之抗體及本文所述之IDO抑制劑可以呈獨立劑型分開、連續或同時投予。在一個實施例中，該抗體係非經腸投予，且IDO抑制劑係經口投予。在特定實施例中，該抑制劑係選自由以下組成之群：艾帕卡多 (Incyte Corporation)、F001287 (Flexus Biosciences/Bristol-Myers Squibb)、吲哚莫德 (NewLink Genetics)及NLG919 (NewLink Genetics)。艾帕卡多描述於國PCT公開案第WO 2010/005958號中，其以引用之方式整體併入本文中。在一個實施例中，該抑制劑係艾帕卡多。在另一實施例中，該抑制劑係F001287。在另一實施例中，該抑制劑係吲哚莫德。在另一實施例中，該抑制劑係NLG919。

[0230] 在某些實施例中，本文所揭示之抗LAG-3(例

如人類LAG-3)抗體係與另一抗癌劑組合投予受試者。例示性抗癌劑包括抗體治療劑，諸如曲妥珠單抗(trastuzumab)(Herceptin)、針對諸如CTLA-4、CD137及PD-1之共刺激或共抑制分子的抗體，以及針對諸如IL-10及TGF- β 之細胞因子的抗體。

[0231] 抗癌劑的其他實例包括阻止免疫細胞遷移的藥劑，諸如針對包括CCR2及CCR4在內之趨化因子受體的拮抗劑，以及增強免疫系統，諸如助劑或過繼T細胞轉移之藥劑。

[0232] 一或多種額外免疫檢查點調節劑可以與本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體組合用於治療本文所述之任何疾病、病症或病況，例如TAM相關疾病、病症或病況。例示性免疫檢查點調節劑包括針對免疫檢查點分子，諸如CD27、CD28、CD40、CD122、CD96、CD73、CD47、CD96、CD137、OX40、GITR、CSF1R、JAK、PI3K δ 、PI3K γ 、TAM、精胺酸酶、CD137(又稱為4-1BB)、ICOS、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、LAG-3、TIM-3、TIGIT、VISTA、PD-1、PD-L1及PD-L2之調節劑。在一些實施例中，該免疫檢查點分子係選自CD27、CD28、CD40、ICOS、OX40、GITR及CD137之共刺激檢查點分子。在一些實施例中，免疫檢查點分子係選自A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、IDO、KIR、PD-1、TIM-3及VISTA之共抑制檢查點分子。在一些實施例中，本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體可以

與一或多種選自以下之藥劑組合使用：KIR抑制劑、TIGIT抑制劑、LAIR1抑制劑、CD160抑制劑、2B4抑制劑及TGFR β 抑制劑。

[0233] 在一些實施例中，針對免疫檢查點分子之調節劑係拮抗性抗PD1抗體、拮抗性抗PD-L1抗體或拮抗性抗CTLA-4抗體。

[0234] 在一些實施例中，針對免疫檢查點分子之調節劑係GITR促效劑，例如促效性抗GITR抗體。在一些實施例中，促效性抗GITR抗體係TRX518或MK-4166。

[0235] 在一些實施例中，針對免疫檢查點分子之調節劑係OX40促效劑，例如促效性抗OX40抗體或OX40L融合蛋白。在一些實施例中，促效性抗OX40抗體係MEDI0562。在一些實施例中，OX40L融合蛋白係MEDI6383。

[0236] 本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體可以與一或多種用於治療諸如癌症之疾病的藥劑組合使用。在一些實施例中，該藥劑係烷基化劑、蛋白酶體抑制劑、皮質類固醇或免疫調節劑。烷基化劑之實例包括環磷醯胺(CY)、美法侖(melphalan, MEL)及苯達莫斯汀(bendamustine)。在一些實施例中，蛋白酶體抑制劑是卡非佐米(carfilzomib)。在一些實施例中，皮質類固醇係地塞米松(dexamethasone, DEX)。在一些實施例中，免疫調節劑係來那度胺(lenalidomide, LEN)或泊馬度胺(pomalidomide, POM)。

[0237] 在某些實施例中，本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體係與疫苗組合投予受試者。該疫苗可以為例如肽疫苗、DNA疫苗或RNA疫苗。在某些實施例中，該疫苗係基於熱休克蛋白之腫瘤疫苗或基於熱休克蛋白之病原體疫苗。在一具體實施例中，本文所揭示之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體係與基於熱休克蛋白之腫瘤疫苗組合投予受試者。熱休克蛋白(HSP)係在所有物種中普遍存在的一類高度保守之蛋白質。在熱休克或其他形式應激，包括暴露於毒素、氧化應激或葡萄糖剝奪下，可以有效誘導其表現達到明顯較高水準。根據分子量，將其分成五個家族：HSP-110、HSP-90、HSP-70、HSP-60及HSP-28。HSP經抗原提呈細胞(APC)，諸如巨噬細胞及樹突狀細胞(DC)中之交叉提呈路徑遞送免疫原性肽，引起T細胞活化。HSP充當腫瘤相關抗原肽之伴侶載體，形成能夠誘導腫瘤特異性免疫性之複合物。在自瀕死之腫瘤細胞釋放之後，HSP-抗原複合物經抗原提呈細胞(APC)吸收，在其中抗原經加工成肽，該等肽結合I類及II類MHC分子，由此引起抗腫瘤CD8⁺及CD4⁺ T細胞之活化。由來源於腫瘤製劑之HSP複合物引起的免疫性特異性針對由每位受試者之癌症所表現的獨特抗原肽譜系。因此，在一個實施例中，本發明係關於用作藥物，例如用於治療癌症之方法中的(a)本發明之抗體及/或醫藥組成物，以及(b)疫苗。在一個實施例中，本發明係關於醫藥組成物、套組或分裝部分之套組，其包含(a)本發明之抗體及/或醫藥組成物，以及(b)疫

苗。在一個實施例中，該疫苗係基於熱休克蛋白之腫瘤疫苗。在一個實施例中，該疫苗係基於熱休克蛋白之病原體疫苗。

[0238] 熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)係由熱休克蛋白與抗原肽之非共價複合物形成的蛋白質肽複合物。HSPPC引起先天性及獲得性免疫反應兩種。在一具體實施例中，抗原肽呈現所治療癌症之抗原性。HSPPC係經由膜受體(主要為CD91)或藉由結合至Toll樣受體而被APC有效攝取。HSPPC內化引起APC之功能成熟，並產生趨化因子及細胞因子，由此引起自然殺手細胞(NK)、單核細胞以及Th1與Th-2介導之免疫反應之活化。在某些實施例中，本文所揭示之方法中使用的HSPPC包含一或多種選自hsp60、hsp70或hsp90家族應激蛋白之熱休克蛋白與抗原肽之複合物。在某些實施例中，HSPPC包含hsc70、hsp70、hsp90、hsp110、grp170、gp96、鈣網蛋白，或其中兩種或兩種以上之組合。

[0239] 在一具體實施例中，熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)包含重組熱休克蛋白(例如hsp70或hsc70)或其肽結合結構域與重組抗原肽之複合物。重組熱休克蛋白可以藉由重組DNA技術，例如，使用如Dworniczak及Mirault, *Nucleic Acids Res.* 15:5181-5197 (1987)以及GenBank登錄號P11142及/或Y00371(各自以引用之方式整體併入本文中)中所描述之人類hsc70序列製備。在某些實施例中，Hsp70序列係如Hunt及Morimoto *Proc. Natl. Acad. Sci.*

U.S.A. 82 (19), 6455-6459 (1985), 以及 GenBank 登錄號 P0DMV8 及 / 或 M11717 中所描述, 其各自以引用之方式整體併入本文中。抗原肽亦可藉由此項技術中已知之重組 DNA 技術製備。

[0240] 在某些實施例中, 抗原肽包含經修飾胺基酸。在某些實施例中, 經修飾胺基酸包含轉譯後修飾。在某些實施例中, 經修飾胺基酸包含轉譯後修飾之模擬物。在某些實施例中, 經修飾胺基酸係側鏈羥基或胺經磷酸化之 Tyr、Ser、Thr、Arg、Lys 或 His。在某些實施例中, 經修飾胺基酸係側鏈羥基或胺經磷酸化之 Tyr、Ser、Thr、Arg、Lys 或 His 胺基酸之模擬物。

[0241] 在一具體實施例中, 本文所揭示之抗 LAG-3 (例如人類 LAG-3) 抗體係與熱休克蛋白肽複合物 (HSPPC), 例如熱休克蛋白肽複合物-96 (HSPPC-96) 組合投予受試者, 以治療癌症。HSPPC-96 包含 96 kDa 熱休克蛋白 (Hsp), 即 gp96, 與抗原肽之複合物。HSPPC-96 係由受試者之腫瘤製造的癌症免疫療法, 且含有癌症之抗原「指紋」。在某些實施例中, 該指紋含有僅出現在該特定受試者之特定癌細胞中的獨特抗原且預期注射疫苗可刺激受試者之免疫系統識別並攻擊具有該特異性癌症指紋的任何細胞。因此, 在一個實施例中, 本發明係關於用作藥物及 / 或用於治療癌症之方法中的本發明之抗體及 / 或醫藥組成物以及熱休克蛋白肽複合物 (HSPPC)。

[0242] 在某些實施例中, HSPPC, 例如 HSPPC-96 係

由受試者之腫瘤組織產生。在一具體實施例中，HSPPC(例如HSPPC-96)係由所治療癌症類型或其轉移的腫瘤產生。在另一具體實施例中，HSPPC(例如HSPPC-96)係所治療受試者自體固有的。在某些實施例中，腫瘤組織係非壞死性腫瘤組織。在某些實施例中，使用至少1公克(例如至少1公克、至少2公克、至少3公克、至少4公克、至少5公克、至少6公克、至少7公克、至少8公克、至少9公克或至少10公克)非壞死性腫瘤組織來產生疫苗方案。在某些實施例中，在手術切除之後，將非壞死性腫瘤組織冷凍，隨後用於疫苗製備。在一些實施例中，HSPPC，例如HSPPC-96係藉由純化技術自腫瘤組織分離，經歷過濾並製備用於可注射疫苗。在某些實施例中，向受試者投予6-12劑HSPPC，例如HSPPC-96。在此類實施例中，可每週投予前4劑的HSPPC，例如HSPPC-96劑量且接著每兩週投予2-8次額外劑量。

[0243] 可以根據本文所述之方法使用的HSPPC之其他實例揭示於以下專利及專利申請案中，其全部以引用之方式整體併入本文中：美國專利第6,391,306號、第6,383,492號、第6,403,095號、第6,410,026號、第6,436,404號、第6,447,780號、第6,447,781號及第6,610,659號，其全部以引用之方式整體併入本文中。

[0244] 在某些實施例中，本文所揭示之抗LAG-3抗體係與佐劑組合投予受試者。取決於治療情況，可以使用各種佐劑。適當佐劑之非限制性實例包括但不限於，完全弗

氏佐劑(CFA)、不完全弗氏佐劑(IFA)、montanide不完全 Seppic佐劑(incomplete Seppic adjuvant, ISA)、Ribi佐劑系統(RAS)、Titer Max、胞壁醯肽、Syntex佐劑調配物(SAF)、氫氧化鋁及/或磷酸鋁(aluminum hydroxide and/or aluminum phosphate, alum)、鋁鹽佐劑、Gerbu[®]佐劑、硝基纖維素吸收之抗原、囊封或截留之抗原、3脫-O-醯基化單磷脂醯脂質A(3 D-MPL)、免疫刺激性寡核苷酸、toll樣受體(TLR)配體、甘露聚糖結合凝集素(MBL)配體、STING促效劑、免疫刺激性複合物，諸如皂素、Quil A、QS-21、QS-7、ISCOMATRIX等。其他佐劑包括CpG寡核苷酸及雙股RNA分子，諸如聚(A)及聚(U)。亦可使用以上佐劑之組合。參見例如，美國專利第6,645,495號、第7,029,678號及第7,858,589號，其全部以引用之方式整體併入本文中。在一個實施例中，本文所使用之佐劑係QS-21 STIMULON。

[0245] 在某些實施例中，本文所揭示之抗LAG-3抗體係與包含TCR之額外治療劑組合投予受試者。在某些實施例中，該額外治療劑係可溶性TCR。在某些實施例中，該額外治療劑係表現TCR之細胞。因此，在一個實施例中，本發明係關於用作藥物及/或用於治療癌症之方法中的本發明之抗體及/或醫藥組成物以及包含TCR之額外治療劑。

[0246] 在某些實施例中，本文所揭示之抗LAG-3抗體係與表現嵌合抗原受體(CAR)之細胞組合投予受試者。在某些實施例中，該細胞係T細胞。

[0247] 在某些實施例中，本文所揭示之抗LAG-3抗體係與TCR模擬抗體組合投予受試者。在某些實施例中，TCR模擬抗體係特異性結合至肽-MHC複合物的抗體。有關TCR模擬抗體之非限制性實例，參見例如美國專利第9,074,000號及美國公開案第US 2009/0304679 A1號及第US 2014/0134191 A1號，其全部以引用之方式整體併入本文中。

[0248] 抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體及額外治療劑(例如化學治療劑、放射性治療劑、檢查點靶向劑、IDO抑制劑、疫苗、佐劑、可溶性TCR、表現TCR之細胞、表現嵌合抗原受體之細胞及/或TCR模擬抗體)可以呈獨立劑型分開、連續或同時投予。在一個實施例中，抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體係非經腸投予，且IDO抑制劑係經口投予。

[0249] 本文所述之抗體或醫藥組成物可藉由多種途徑遞送給受試者。該等途徑包括但不限於，非經腸、鼻內、氣管內、經口、皮內、表面、肌肉內、腹膜內、經皮、靜脈內、腫瘤內、經結膜、動脈內及皮下途徑。亦可採用肺投予，例如藉由使用吸入器或霧化器並與氣霧劑一起調配以噴霧劑形式使用。在某些實施例中，本文所述之抗體或醫藥組成物係經皮下或靜脈內遞送。在某些實施例中，本文所述之抗體或醫藥組成物係經腫瘤內遞送。在某些實施例中，本文所述之抗體或醫藥組成物係經動脈內遞送。在某些實施例中，本文所述之抗體或醫藥組成物係遞

送至腫瘤引流淋巴結中。在某些實施例中，本文所述之抗體或醫藥組成物係經鼻內遞送。

[0250] 有效治療及/或預防病況的抗體或組成物之量將取決於疾病之性質，且可以由標準臨床技術確定。

[0251] 組成物中採用之精確劑量還將取決於投藥途徑，以及感染或由其引起之疾病之嚴重性，且應當根據從業人員之判斷及每位受試者之情況決定。舉例而言，有效劑量亦可取決於投藥手段、靶部位、患者之生理狀態(包括年齡、體重及健康狀況)、患者係人類抑或動物、投予之其他藥物，或治療係預防性抑或治療性而變化。通常，患者係人類，但亦可治療非人類哺乳動物，包括轉殖基因哺乳動物。宜滴定治療劑量以使安全及功效最佳化。

[0252] 亦可使用本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體，使用熟習此項技術者已知之經典免疫組織學方法，包括免疫檢定，諸如酶聯免疫吸附劑檢定(ELISA)、免疫沈澱或西方墨點法(Western blotting)檢定生物樣品中LAG-3(例如人類LAG-3)的蛋白質含量。適合的抗體檢定標記係此項技術中已知的且包括酶標記，諸如葡萄糖氧化酶；放射性同位素，諸如碘(^{125}I 、 ^{121}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氫(^3H)、銦(^{121}In)及鎝(^{99}Tc)。此等標記亦可用於標記本文所述之抗體。或者，可以標記識別本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體的二次抗體並與抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體組合使用以偵測LAG-3(例如人類LAG-3)蛋白質含量。因此，在一個實施例中，本發明係關於使

用本發明之抗體在活體外偵測生物樣品中之LAG-3(例如人類LAG-3)蛋白質。在另一實施例中，本發明係關於使用本發明之抗LAG-3抗體在活體外檢定及/或偵測生物樣品中之LAG-3(例如人類LAG-3)蛋白質含量，視情況其中該抗LAG-3抗體與放射性核種或可偵測標記偶聯，及/或攜帶本文所述之標記，及/或其中使用免疫組織學方法。

[0253] 預期有關LAG-3(例如人類LAG-3)蛋白質表現之檢定包括直接(例如藉由測定或估計絕對蛋白質含量)或相對地(例如藉由與第二生物樣品中疾病相關蛋白質之含量相比較)定性或定量地量測或估計第一生物樣品中之LAG-3(例如人類LAG-3)蛋白質含量。可以量測或估計第一生物樣品中之LAG-3(例如人類LAG-3)多肽表現量並與標準LAG-3(例如人類LAG-3)蛋白質含量相比較，該標準係由自未患病症之個體獲得的第二生物樣品取得或藉由對來自一群未患病症之個體的含量求平均值測定。如此項技術中所瞭解，一旦已知「標準」LAG-3(例如人類LAG-3)多肽含量，即可將其反復用作比較標準。因此，在另一實施例中，本發明係關於一種用於檢定及/或偵測生物樣品中之LAG-3蛋白質含量，例如人類LAG-3蛋白質含量之活體外方法，該方法包括藉由免疫組織學方法定性地或定量地量測或估計生物樣品中LAG-3蛋白質，例如人類LAG-3蛋白質之含量。

[0254] 如本文所使用，術語「生物樣品」係指自受試者、細胞株、組織或潛在地表現LAG-3(例如人類LAG-

3)之細胞的其他來源。自動物(例如人類)獲得組織活檢樣品及體液之方法係此項技術中熟知的。生物樣品包括外周血單核細胞。

[0255] 本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體可以用於預測、診斷、監測及篩查應用，包括熟習此項技術者熟知且標準以及基於本說明之活體外及活體內應用。用於活體外評估及評價免疫系統狀態及/或免疫反應的預測、診斷、監測及篩查檢定以及套組可用於預測、診斷及監測以對患者樣品，包括已知具有或懷疑具有免疫系統功能異常之患者樣品，或針對預期或所需之免疫系統反應、抗原反應或疫苗反應進行評價。免疫系統狀態及/或免疫反應之評估及評價亦可用於確定患者進行臨床藥物試驗或投予特定化學治療劑、放射性治療劑或抗體，包括其組合，相對於不同藥劑或抗體之適應性。實際上，在利用針對乳癌中之HER2蛋白的抗體(HercepTest™, Dako)中已進行此類預測及診斷性監測及評估，其中該檢定亦用於評價進行使用Herceptin®之抗體療法的患者。活體內應用包括定向細胞療法及免疫系統調節，以及免疫反應之放射成像。因此，在一個實施例中，本發明係關於一種用作診斷劑的本發明之抗LAG-3抗體及/或醫藥組成物。在一個實施例中，本發明係關於本發明之抗LAG-3抗體及/或醫藥組成物，其係用於對具有或懷疑具有免疫系統功能異常之受試者及/或針對預期或所需免疫系統反應、抗原反應或疫苗反應進行預測、診斷及/或監測的方法中。在另一實施例

中，本發明係關於本發明之抗LAG-3抗體之用途，其係藉由在活體外檢定及/或偵測受試者之生物樣品中人類LAG-3蛋白質含量而用於對具有或懷疑具有免疫系統功能異常之受試者及/或針對預期或所需免疫系統反應、抗原反應或疫苗反應進行預測、診斷及/或監測。

[0256] 在一個實施例中，抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體可以用於活檢樣品之免疫組織化學分析中。在另一實施例中，抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體可以用於偵測LAG-3(例如人類LAG-3)之含量，或在膜表面上含有LAG-3(例如人類LAG-3)之細胞之含量，該等含量接著可以與某些疾病症狀相聯繫。本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體可以攜帶可偵測標記或功能性標記。當使用螢光標記時，可以利用此項技術中已知的當前可用顯微鏡檢術及螢光活化細胞分選儀分析(FACS)或兩種方法程序之組合鑑別並定量具體結合成員。本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體可以攜帶螢光標記。例示性螢光標記包括例如反應性及偶聯探針，例如胺基香豆素、螢光素以及Texas紅、Alexa Fluor染料、Cy染料及DyLight染料。抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體可以攜帶放射性標記，諸如同位素 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、 ^{51}Cr 、 ^{57}Co 、 ^{58}Co 、 ^{59}Fe 、 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{117}Lu 、 ^{121}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{198}Au 、 ^{211}At 、 ^{213}Bi 、 ^{225}Ac 及 ^{186}Re 。當使用放射性標記時，可以利用此項技術中已知的當前可用計數程序鑑別並定量抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體與LAG-3(例如人類

LAG-3)之特異性結合。在該標記係酶的情況下，可以藉由此項技術中所知的目前所用之比色技術、分光光度技術、螢光分光光度技術、安培偵測技術或氣體定量技術進行偵測。此可藉由使樣品或對照樣品與抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體在允許該抗體與LAG-3(例如人類LAG-3)之間形成複合物之條件下接觸來實現。偵測並比較樣品與對照樣品中抗體與LAG-3(例如人類LAG-3)之間形成的任何複合物。鑒於本文所述之抗體特異性結合LAG-3(例如人類LAG-3)，可以使用該等抗體特異性偵測細胞表面上之LAG-3(例如人類LAG-3)表現。亦可使用本文所述之抗體，經由免疫親和純化法純化LAG-3(例如人類LAG-3)。本文亦包括一種檢定系統，該系統可以製備呈測試套組形式以定量分析例如LAG-3(例如人類LAG-3)或LAG-3(例如人類LAG-3)/LAG-3(例如人類LAG-3)配體複合物之存在情況。該系統或測試套組、套組或分裝部分之套組包含經標記組分，例如經標記抗體，及一或多種額外免疫化學試劑。

6.5 多核苷酸載體及用於產生抗LAG-3抗體之方法

[0257] 在另一態樣中，本文提供包含編碼特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之本文所述抗體或其片段(例如輕鏈可變區及/或重鏈可變區)之核苷酸序列的多核苷酸，及用於在宿主細胞(例如大腸桿菌及哺乳動物細胞)中重組表現之載體，例如包含所述多核苷酸之載體。本文提

供了包含編碼任何本文所提供之抗體之重鏈及/或輕鏈之核苷酸序列的多核苷酸，以及包含該等多核苷酸序列之載體，例如用於在宿主細胞，例如哺乳動物細胞中高效表現該等序列之表現載體。

[0258] 如本文所使用，「分離之」多核苷酸或核酸分子係與該核酸分子之天然來源中存在之其他核酸分子分離的多核苷酸或核酸分子。此外，「分離之」核酸分子，諸如cDNA分子，當藉由重組技術產生時可以基本上不含其他細胞物質，或培養基，或當化學合成時基本上不含化學前驅物或其他化學物質。舉例而言，表述「基本上不含」包括具有低於約15%、10%、5%、2%、1%、0.5%或0.1%(特定言之，低於約10%)之其他材料，例如細胞物質、培養基、其他核酸分子、化學前驅物及/或其他化學物質的多核苷酸或核酸分子製劑。在一具體實施例中，編碼本文所述之抗體的核酸分子係經分離或純化的。

[0259] 在特定態樣中，本文提供包含編碼特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)多肽且包含本文所述之胺基酸序列的抗體，以及與該等抗體競爭結合至LAG-3(例如人類LAG-3)多肽(例如以劑量依賴性方式)或結合至與該等抗體相同之抗原決定基的抗體之核苷酸序列的多核苷酸。

[0260] 在某些態樣中，本文提供包含編碼本文所述抗體之輕鏈或重鏈之核苷酸序列的多核苷酸。該等多核苷酸可包含編碼含本文所述抗體之VL FR及CDR之輕鏈的核苷酸序列(參見例如，表1、3、5、6及7)，或編碼含本文

所述抗體之VH FR及CDR之重鏈的核苷酸序列(參見例如，表1、2、4、6及7)。

[0261] 本文亦提供編碼抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體之多核苷酸，該等多核苷酸例如藉由密碼子/RNA優化、用異源信號序列置換及消除mRNA不穩定元件進行優化。藉由在mRNA中引入密碼子變化及/或消除抑制性區域來產生編碼抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其片段(例如輕鏈、重鏈、VH結構域或VL結構域)之經優化核酸以進行重組表現的方法可藉由採用例如美國專利第5,965,726號、第6,174,666號、第6,291,664號、第6,414,132號及第6,794,498號(相應地，其全部以引用之方式整體併入本文中)中所描述之優化方法進行。舉例而言，RNA內之潛在剪接位點及不穩定元件(例如富含A/T或A/U之元件)可在不改變由核酸序列編碼之胺基酸的情況下經突變，由此增加用於重組表現之RNA的穩定性。該等改變利用遺傳密碼之簡併性，例如使用同一胺基酸之替代性密碼子。在一些實施例中，可能需要改變一或多個密碼子以編碼保守突變，例如與原始胺基酸具有類似化學結構及特性及/或功能的類似胺基酸。此等方法可以使抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其片段之表現相對於由未經優化之多核苷酸編碼之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體的表現增加至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。

[0262] 在某些實施例中，編碼本文所述之抗LAG-

3(例如人類LAG-3)抗體或其片段(例如VL結構域及/或VH結構域)的經優化多核苷酸序列可以與編碼本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其片段(例如VL結構域及/或VH結構域)之未優化多核苷酸序列的反義(例如互補)多核苷酸雜交。在具體實施例中，編碼本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其片段的經優化核苷酸序列在嚴格條件下與編碼本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其片段之未優化多核苷酸序列的反義多核苷酸雜交。在一具體實施例中，編碼本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其片段的經優化核苷酸序列在高嚴格度、中等或較低嚴格度雜交條件下與編碼本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其片段之未優化核苷酸序列的反義多核苷酸雜交。有關雜交條件之資訊已有描述，參見例如，美國專利申請公開案第US 2005/0048549號(例如第72-73段)，該案以引用之方式整體併入本文中。

[0263] 可以藉由此項技術中已知之任何方法獲得該等多核苷酸，並測定該等多核苷酸之核苷酸序列。編碼本文所述之抗體，例如表1、6及7中所述之抗體，及該等抗體之修飾形式的核苷酸序列可以使用此項技術中熟知之方法測定，亦即，以使得產生編碼該抗體之核酸的方式組裝已知可編碼特定胺基酸之核苷酸密碼子。此類編碼抗體之多核苷酸可以由化學合成之寡核苷酸組裝(例如，如Kutmeier G等人，(1994)，BioTechniques 17: 242-6所述，該文獻以引用之方式整體併入本文中)，簡言之，其涉及

合成含有編碼該抗體之序列之多個部分的重疊寡核苷酸，退火並連接該等寡核苷酸，且接著藉由PCR擴增連接之寡核苷酸。

[0264] 或者，可以使用此項技術中熟知之方法(例如PCR及其他分子選殖方法)，由來自適合來源(例如融合瘤)之核酸產生編碼本文所述之抗體的多核苷酸。舉例而言，可使用自產生所關注抗體之融合瘤細胞獲得的基因組DNA，使用可與已知序列之3'及5'端雜交之合成引子進行PCR擴增。此等PCR擴增方法可用於獲得包含編碼抗體輕鏈及/或重鏈之序列的核酸。此等PCR擴增方法可用於獲得包含編碼抗體可變輕鏈區及/或可變重鏈區之序列的核酸。擴增之核酸可經選殖至載體中以便在宿主細胞中表現及用於例如進一步選殖以產生嵌合及人類化抗體。

[0265] 若無法獲得含有編碼特定抗體之核酸的純系，但已知抗體分子之序列，則可以化學合成，或藉由使用可與該序列之3'及5'端雜交之合成引子進行PCR擴增，或藉由使用對特定基因序列具有特異性之寡核苷酸探針例如鑑別cDNA文庫中編碼該抗體之cDNA純系進行選殖，自適合來源(例如抗體cDNA文庫或由表現該抗體之任何組織或細胞，諸如經選擇以表現本文所述之抗體之融合瘤細胞產生的cDNA文庫，或自該等組織或細胞分離之核酸，較佳為多聚A⁺ RNA)獲得編碼該免疫球蛋白之核酸。接著可以使用此項技術中熟知之任何方法，將藉由PCR產生的擴增之核酸選殖至可複製選殖載體中。

[0266] 可以容易地分離編碼本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體的DNA並使用習知程序(例如藉由使用能夠特異性結合至編碼該等抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體之重鏈及輕鏈之基因的寡核苷酸探針)測序。融合瘤細胞可用作此類DNA之來源。分離後，即可將DNA放入表現載體中，接著將該等表現載體轉染至宿主細胞，諸如大腸桿菌細胞、猿COS細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞(例如來自CHO GS System™ (Lonza)之CHO細胞)或不會另外產生免疫球蛋白的骨髓瘤細胞中，以在該等重組宿主細胞中合成抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體。

[0267] 為了產生完全抗體，可以使用包括VH或VL核苷酸序列、限制性位點及用於保護該限制位點之側接序列的PCR引子在scFv純系中擴增VH或VL序列。利用熟習此項技術者已知之選殖技術，可以將PCR擴增之VH結構域選殖至表現重鏈恆定區，例如人類 $\gamma 4$ 恆定區之載體中，且可以將PCR擴增之VL結構域選殖至表現輕鏈恆定區，例如人類 κ 或 λ 恆定區之載體中。在某些實施例中，用於表現VH或VL結構域之載體包含EF-1 α 啟動子、分泌信號、可變區之選殖位點、結構域，及選擇標記物，諸如新黴素。亦可將VH及VL結構域選殖至一個表現必要恆定區之載體中。接著，使用熟習此項技術者已知之技術，將重鏈轉化載體及輕鏈轉化載體共轉染至細胞株中以產生穩定或短暫表現全長抗體，例如IgG的細胞株。

[0268] 亦可例如藉由用人類重鏈及輕鏈恆定結構域

之編碼序列替代鼠類序列，或藉由將全部或部分非免疫球蛋白多肽編碼序列共價接合至免疫球蛋白編碼序列來修飾DNA。

[0269] 亦提供在高嚴格度、中等或較低嚴格度雜交條件下與編碼本文所述抗體之多核苷酸雜交的多核苷酸。在具體實施例中，本文所述之多核苷酸在高嚴格度、中等或較低嚴格度雜交條件下與編碼本文所提供之VH結構域及/或VL結構域之多核苷酸雜交。

[0270] 雜交條件於此項技術中有描述且係熟習此項技術者已知的。舉例而言，在嚴格條件下雜交可涉及在約45℃下與濾膜結合之DNA在6x氯化鈉/檸檬酸鈉(SSC)中雜交，隨後在約50-65℃下以0.2xSSC/0.1% SDS洗滌一或多次；在高嚴格度條件下雜交可涉及在約45℃下與濾膜結合之核酸在6xSSC中雜交，隨後在約68℃下以0.1xSSC/0.2% SDS洗滌一或多次。在其他嚴格度雜交條件下雜交係熟習此項技術者已知的且已有描述，參見例如Ausubel FM等人編，(1989) *Current Protocols in Molecular Biology*，第I卷，Green Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., New York，第6.3.1-6.3.6及2.10.3頁，其以引用之方式整體併入本文中。

[0271] 在某些態樣中，本文提供了表現(例如重組表現)本文所描述的特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體的細胞(例如宿主細胞)以及相關多核苷酸及表現載體。本文提供用於在宿主細胞中，較佳在哺乳動物細胞中

重組表現的載體(例如表現載體)，該等載體包括含編碼抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其片段之核苷酸序列的多核苷酸。本文亦提供包含此類用於重組表現本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體(例如人類或人類化抗體)之載體的宿主細胞。在一特定態樣中，本文提供用於製備本文所述之抗體的方法，該等方法包括由宿主細胞表現該抗體。

[0272] 本文所述描述的特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體(例如全長抗體、抗體之重鏈及/或輕鏈，或本文所述單鏈抗體)的重組表現涉及構建含有編碼該抗體之多核苷酸之表現載體。一旦獲得編碼本文所述之抗體分子、抗體之重鏈及/或輕鏈，或其片段(例如重鏈及/或輕鏈可變區)的多核苷酸，即可藉由重組DNA技術，使用此項技術中熟知之技術製備用於產生該抗體分子之載體。因此，本文描述了藉由表現含抗體或抗體片段(例如輕鏈或重鏈)編碼核苷酸序列之多核苷酸來製備蛋白質的方法。可使用熟習此項技術者熟知之方法構建含抗體或抗體片段(例如輕鏈或重鏈)編碼序列以及適當轉錄及轉譯控制信號的表現載體。該等方法包括例如活體外重組DNA技術、合成技術及活體內基因重組。亦提供可複製載體，該等載體包含可操作地連接至啟動子的編碼本文所述之抗體分子、抗體之重鏈或輕鏈、抗體之重鏈或輕鏈可變區或其片段，或者重鏈或輕鏈CDR之核苷酸序列。該等載體可例如包括編碼抗體分子恆定區之核苷酸序列(參見例如，國際公開

案第 WO 86/05807 號及第 WO 89/01036 號；及美國專利第 5,122,464 號，以引用之方式整體併入本文中)且抗體可變區可選殖至此類載體中以表現完整重鏈、完整輕鏈或完整重鏈及輕鏈兩種。

[0273] 表現載體可藉由習知技術轉移至細胞(例如宿主細胞)中且所得細胞可接著藉由習知技術培養以產生本文所述之抗體或其片段。因此，本文提供含有編碼本文所述之抗體或其片段，或其重鏈或輕鏈，或其片段，或本文所述之單鏈抗體之多核苷酸的宿主細胞，該多核苷酸可操作地連接至用於在宿主細胞中表現該等序列之啟動子。在某些實施例中，對於表現雙鏈抗體，如以下詳述，可在宿主細胞中共表現獨立地編碼重鏈及輕鏈之載體以表現完整免疫球蛋白分子。在某些實施例中，宿主細胞含有一種載體，該載體包含編碼本文所述抗體之重鏈及輕鏈，或其片段的多核苷酸。在具體實施例中，宿主細胞含有兩個不同載體，第一載體包含編碼本文所述抗體之重鏈或重鏈可變區，或其片段的多核苷酸，且第二載體包含編碼本文所述抗體之輕鏈或輕鏈可變區，或其片段的多核苷酸。在其他實施例中，第一宿主細胞包含第一載體，該第一載體包含編碼本文所述抗體之重鏈或重鏈可變區，或其片段的多核苷酸，且第二宿主細胞包含第二載體，該第二載體包含編碼本文所述抗體之輕鏈或輕鏈可變區的多核苷酸。在具體實施例中，由第一細胞表現之重鏈/重鏈可變區與第二細胞之輕鏈/輕鏈可變區相連以形成本文所述之抗 LAG-3(例

如人類LAG-3)抗體。在某些實施例中，本文提供包含此第一宿主細胞及此第二宿主細胞的宿主細胞群。

[0274] 在一特定實施例中，本文提供一組載體，該等載體包括含編碼本文所述抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體之輕鏈/輕鏈可變區之多核苷酸的第一載體，及含編碼本文所述抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體之重鏈/重鏈可變區之多核苷酸的第二載體。

[0275] 可利用多種宿主表現載體系統來表現本文所述之抗體分子(參見例如美國專利第5,807,715號，以引用之方式整體併入本文中)。該等宿主表現系統表示多種運載工具，利用該等運載工具，可以產生所關注編碼序列且隨後進行純化，而且還表示多種細胞，該等細胞當用適當核苷酸編碼序列轉型或轉染時可以原位表現本文所述之抗體。該等表現系統包括但不限於，經含有抗體編碼序列之重組噬菌體DNA、質體DNA或黏接質體DNA表現載體轉型之微生物，諸如細菌(例如大腸桿菌及枯草芽孢桿菌)；經含有抗體編碼序列之重組酵母表現載體轉型的酵母(例如畢赤酵母(*Saccharomyces Pichia*))；經含有抗體編碼序列之重組病毒表現載體(例如桿狀病毒)感染的昆蟲細胞系統；經重組病毒表現載體(例如花椰菜花葉病毒，CaMV；菸草花葉病毒，TMV)感染或經含有抗體編碼序列之重組質體表現載體(例如Ti質體)轉型的植物細胞系統(例如綠藻，諸如萊茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*))；或帶有含來源於哺乳動物細胞基因組(例如金屬硫蛋白啟動子)或

哺乳動物病毒(例如腺病毒晚期啟動子；痘苗病毒7.5K啟動子)之啟動子之重組表現構築體的哺乳動物細胞系統(例如COS(例如COS1或COS)、CHO、BHK、MDCK、HEK293、NS0、PER.C6、VERO、CRL7030、HsS78Bst、HeLa、and NIH 3T3、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20及BMT10細胞)。在一具體實施例中，用於表現本文所述之抗體的細胞係CHO細胞，例如來自CHO GS System™ (Lonza)之CHO細胞。在某些實施例中，由CHO細胞產生之抗體的重鏈及/或輕鏈之N末端麩醯胺酸或麩胺酸殘基可被焦麩胺酸置換。在一特定實施例中，用於表現本文所述之抗體的細胞係人類細胞，例如人類細胞株。在一具體實施例中，哺乳動物表現載體係pOptiVEC™或pcDNA3.3。在一特定實施例中，使用細菌細胞(諸如大腸桿菌)；或特別適於表現完全重組抗體分子之真核細胞(例如哺乳動物細胞)表現重組抗體分子。舉例而言，哺乳動物細胞諸如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，與載體諸如來自人巨細胞病毒之主要即刻早期基因啟動子元件之組合係抗體之有效表現系統(Foecking MK及Hofstetter H (1986) Gene 45: 101-5；及Cockett MI等人(1990) Biotechnology 8(7): 662-7，各自以引用之方式整體併入本文中)。在某些實施例中，本文所述之抗體係由CHO細胞或NS0細胞產生。在一具體實施例中，編碼本文所述的特異性結合LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體之核苷酸序列的表現係由組成性啟動子、誘導性啟動子或組織特

異性啟動子調控。

[0276] 在細菌系統中，取決於預定用於所表現之抗體分子之應用，可有利地選擇多種表現載體。舉例而言，當意圖產生大量此類抗體，以產生抗體分子之醫藥組成物時，可能需要引導高水準表現易於純化之融合蛋白產物的載體。此類載體包括但不限於，大腸桿菌表現載體 pUR278 (Ruether U 及 Mueller-Hill B (1983) EMBO J 2: 1791-1794)，其中抗體編碼序列可獨立地連接至載體中與 lac Z 編碼區同框，由此產生融合蛋白；pIN載體(Inouye S 及 Inouye M (1985) Nuc Acids Res 13: 3101-3109；Van Heeke G 及 Schuster SM (1989) J Biol Chem 24: 5503-5509)，及類似載體，所有文獻以引用之方式整體併入本文中。舉例而言，亦可使用 pGEX 載體表現呈帶有麩胱甘肽 5-轉移酶 (GST) 之融合蛋白形式的外來多肽。一般而言，此類融合蛋白係可溶的且可藉由吸附及結合至基質麩胱甘肽瓊脂糖珠粒，隨後在游離麩胱甘肽存在下溶離，自溶解之細胞中容易地純化。pGEX 係設計成包括凝血酶或因子 Xa 蛋白酶裂解位點，由此使選殖之靶基因產物能偶自 GST 部分釋放。

[0277] 在昆蟲系統中，例如，銀紋夜蛾 (*Autographa californica*) 核型多角體病毒 (AcNPV) 可用作載體以表現外來基因。該病毒在草地夜蛾 (*Spodoptera frugiperda*) 細胞中生長。可將抗體編碼序列獨立地選殖至病毒之非必需區域 (例如多角體蛋白基因) 中並置放於 AcNPV 啟動子 (例如多角

體蛋白啟動子)控制下。

[0278] 在哺乳動物宿主細胞中，可利用多種基於病毒之表現系統。在使用腺病毒作為表現載體之情況下，可將所關注之抗體編碼序列連接至腺病毒轉錄/轉譯控制複合物，例如晚期啟動子及三聯前導序列。此嵌合基因接著可藉由活體外或活體內重組插入腺病毒基因組中。插入病毒基因組中之非必需區域(例如E1或E3區)將產生有活力且能夠在感染宿主中表現抗體分子之重組病毒(參見例如，Logan J及Shenk T (1984) PNAS 81(12): 3655-9，以引用之方式整體併入本文中)。高效轉譯插入之抗體編碼序列亦可能需要特定起始信號。該等信號包括ATG起始密碼子及相鄰序列。此外，該起始密碼子必須與所需編碼序列之閱讀框同相以確保轉譯整個插入序列。該等外源轉譯控制信號及起始密碼子可具有天然及合成的多種來源。藉由包括適當轉錄強化子元件、轉錄終止子等可增強表現效率(參見例如，Bitter G等人 (1987) Methods Enzymol. 153: 516-544，以引用之方式整體併入本文中)。

[0279] 此外，可選擇調節插入序列之表現，或以所需特定方式修飾及加工基因產物的宿主細胞株。針對蛋白質產物之該等修飾(例如糖基化)及加工(例如裂解)對於蛋白質功能極為重要。不同宿主細胞對於蛋白質及基因產物之轉譯後加工及修飾具有特有的特殊機制。可選擇適當細胞株或宿主系統以確保所表現之外來蛋白質的正確修飾及加工。為此，可使用具有用於適當加工初級轉錄物、糖基

化及基因產物磷酸化之細胞機制的真核宿主細胞。此類哺乳動物宿主細胞包括但不限於，CHO、VERO、BHK、Hela、MDCK、HEK 293、NIH 3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20及T47D、NS0 (不能內源性產生任何免疫球蛋白鏈的鼠類骨髓瘤細胞株)、CRL7030、COS (例如COS1或COS)、PER.C6、VERO、HsS78Bst、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20、BMT10及HsS78Bst細胞。在某些實施例中，本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體係在哺乳動物細胞，諸如CHO細胞中產生。

[0280] 在一具體實施例中，本文所述之抗體具有較低海藻糖含量或不含海藻糖。該等抗體可使用熟習此項技術者已知之技術產生。舉例而言，該等抗體可在海藻糖化缺陷型或缺乏海藻糖化能力之細胞中表現。在一具體實施例中，可使用敲除兩個 α 1,6-海藻糖基轉移酶等位基因之細胞株產生具有較低海藻糖含量之抗體。Potelligent[®]系統(Lonza)係可用於產生具有較低海藻糖含量之抗體的此類系統之一個實例。

[0281] 對於長期高產率生產重組蛋白而言，可以產生穩定表現細胞。舉例而言，可以對穩定表現本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體之細胞株進行工程改造。在具體實施例中，本文所提供之細胞穩定表現輕鏈/輕鏈可變區及重鏈/重鏈可變區，該等區域締合形成本文所述之抗體。

[0282] 在某些態樣中，除使用含有病毒複製起點之表現載體外，可以用受適當表現控制元件(例如啟動子、強化子、序列、轉錄終止子、聚腺苷酸化位點等)及選擇性標記物控制的DNA來對宿主細胞轉型。在引入外來DNA/多核苷酸之後，可使工程改造之細胞於加富培養基中生長1-2天，隨後將其轉入選擇性培養基中。選擇性標記物在重組質體中賦予對選擇之抗性且使細胞將該質體穩定整合至其染色體中並生長形成集落(foci)，其繼而可選殖至細胞株中並擴增。此方法適宜用於工程改造表現本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體或其片段的細胞株。該等工程改造之細胞株特別適用於篩選及評價與抗體分子直接或間接相互作用的組成物。

[0283] 可使用多種選擇系統，包括但不限於，分別在tk、hgp^{rt}或ap^{rt}細胞中之單純疱疹病毒胸苷激酶(Wigler M等人 (1977) Cell 11(1): 223-32)、次黃嘌呤鳥嘌呤磷酸核糖轉移酶(Szybalska EH及Szybalski W (1962) PNAS 48(12): 2026-2034)及腺嘌呤磷酸核糖轉移酶(Lowy I等人 (1980) Cell 22(3): 817-23)基因，所有該等文獻皆以引用之方式整體併入本文中。另外，可使用抗代謝物抗性作為以下基因選擇之基礎：*dhfr*，其賦予對甲胺喋呤之抗性(Wigler M等人 (1980) PNAS 77(6): 3567-70；O'Hare K等人 (1981) PNAS 78: 1527-31)；*gpt*，其賦予對黴芬酸之抗性(Mulligan RC及Berg P (1981) PNAS 78(4): 2072-6)；*neo*，其賦予對胺基糖苷G-418之抗性(Wu GY及Wu CH

(1991) *Biotherapy* 3: 87-95 ; Tolstoshev P (1993) *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 32: 573-596 ; Mulligan RC (1993) *Science* 260: 926-932 ; 及 Morgan RA 及 Anderson WF (1993) *Ann Rev Biochem* 62: 191-217 ; Nabel GJ 及 Felgner PL (1993) *Trends Biotechnol* 11(5): 211-5) ; 以及 *hygro* , 其賦予對潮黴素之抗性 (Santerre RF 等人 (1984) *Gene* 30(1-3): 147-56) , 所有該等文獻皆以引用之方式整體併入本文中。通常可使用重組DNA技術中通常已知的方法選擇所需重組純系且此類方法描述於例如 Ausubel FM 等人 (編), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY (1993) ; Kriegler M, *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, Stockton Press, NY (1990) ; 及第12及13章, Dracopoli NC 等人, (編), *Current Protocols in Human Genetics*, John Wiley & Sons, NY (1994) ; Colbère-Garapin F 等人 (1981) *J Mol Biol* 150: 1-14 , 皆以引用之方式整體併入本文中。

[0284] 可藉由載體擴增來增加抗體分子之表現量 (有關評述, 參見 Bebbington CR 及 Hentschel CCG, *The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning*, 第3卷 (Academic Press, New York, 1987) , 以引用之方式整體併入本文中) 。當表現抗體之載體系統中的標記物係可擴增的時, 增加宿主細胞培養物中存在之抑制劑的含量將增加標記物基因複本之數量。由於擴增之區域與抗體基因相

連，故抗體之產量亦將增加(Crouse GF等人 (1983) Mol Cell Biol 3: 257-66，以引用之方式整體併入本文中)。

[0285] 該宿主細胞可以用兩個或兩個以上本文所述之表現載體共轉染，第一載體編碼重鏈衍生之多肽並且第二載體編碼輕鏈衍生之多肽。該兩個載體可含有相同的選擇性標記物，其能夠同等地表現重鏈及輕鏈多肽。該等宿主細胞可用不同量的兩種或兩種以上表現載體共轉染。舉例而言，宿主細胞可以用以下比率中之任一種的第一表現載體及第二表現載體轉染：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或1:50。

[0286] 或者，可使用單一載體，該載體編碼且能夠表現重鏈及輕鏈多肽兩種。在此等情況下，輕鏈應置放在重鏈之前以避開過量的有毒游離重鏈(Proudfoot NJ (1986) Nature 322: 562-565；及Köhler G (1980) PNAS 77: 2197-2199，各自以引用之方式整體併入本文中)。重鏈及輕鏈之編碼序列可包含cDNA或基因組DNA。該表現載體可以為單順反子或多順反子的。多順反子核酸構築體可編碼2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多個，或在2-5個、5-10個或10-20個範圍內之基因/核苷酸序列。舉例而言，雙順反子核酸構築體按以下次序可包含啟動子、第一基因(例如本文所述抗體之重鏈)以及第二基因(例如本文所述抗體之輕鏈)。在此類表現載體中，兩個基因之轉錄可由啟動子驅動，而來自第一基因之mRNA的轉譯可遵循戴帽依

賴性掃描機制，且來自第二基因之mRNA的轉譯可遵循不依賴於戴帽之機制，例如遵循IRES。

[0287] 一旦藉由重組表現產生本文所述之抗體分子，即可藉由此項技術中已知用於純化免疫球蛋白分子之任何方法，例如藉由層析法(例如離子交換層析法、親和層析法，特別是在蛋白質A後藉由針對特定抗原之親和層析法，以及尺寸排阻層析法)、離心、差示溶解度法或藉由用於純化蛋白質之任何其他標準技術對其進行純化。另外，本文所述之抗體可以與本文所述或此項技術中另外已知有助於純化之異源多肽序列融合。

[0288] 在具體實施例中，本文所述之抗體經分離或純化。一般而言，分離之抗體係基本上不含具有與該分離之抗體不同之抗原特異性之其他抗體的抗體。舉例而言，在一特定實施例中，本文所述之抗體製劑基本上不含細胞物質及/或化學前驅物。表述「基本上不含細胞物質」包括將抗體與分離或重組產生該抗體之細胞的細胞組分分開的抗體製劑。因此，基本上不含細胞物質之抗體包括具有低於約30%、20%、10%、5%、2%、1%、0.5%或0.1%(以乾重計)異源蛋白(在本文中又稱為「污染蛋白」)及/或抗體變異體，例如抗體之不同轉譯後修飾形式或抗體之其他不同形式(例如抗體片段)的抗體製劑。當重組產生抗體時，其一般亦基本上不含培養基，亦即，培養基表示低於約20%、10%、2%、1%、0.5%或0.1%體積之蛋白質製劑。當藉由化學合成產生抗體時，其一般基本上不含化學前驅

物或其他化學物質，亦即，其與蛋白質合成中所涉及之化學前驅物或其他化學物質分離。因此，此類抗體製劑具有低於約30%、20%、10%或5%(以乾重計)之化學前驅物或除所關注抗體外之化合物。在一具體實施例中，本文所述之抗體經分離或純化。

[0289] 特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體或其片段可藉由此項技術中已知用於合成抗體之任何方法，例如藉由化學合成或藉由重組表現技術產生。除非另外指示，否則本文所述之方法採用分子生物學、微生物學、遺傳分析、重組DNA、有機化學、生物化學、PCR、寡核苷酸合成及修飾、核酸雜交中的習知技術及在此項技術技能範圍內之相關技術。此等技術例如描述於本文所引用之參考文獻中並於文獻中完整地闡明。參見例如，Maniatis T等人(1982) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J等人(1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第二版, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J等人(2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel FM等人, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1987及年度更新); *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons (1987及年度更新) Gait (編) (1984) *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press; Eckstein (編) (1991) *Oligonucleotides*

and Analogues: A Practical Approach, IRL Press ; Birren B 等人(編) (1999) Genome Analysis: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 全部以引用之方式整體併入本文中。

[0290] 在一具體實施例中，本文所述之抗體係藉由涉及產生，例如經由合成、DNA序列之遺傳工程改造產生的任何方式製備、表現、產生或分離的抗體(例如重組抗體)。在某些實施例中，此類抗體包含在活體內並非天然存在於動物或哺乳動物(例如人類)之抗體生殖系譜系內的序列(例如DNA序列或胺基酸序列)。

[0291] 在一個態樣中，本文提供一種製備特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體的方法，該方法包括培養本文所述之細胞或宿主細胞。在一個實施例中，該方法係在活體外進行。在某一態樣中，本文提供一種製備特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體的方法，該方法包括使用本文所述之細胞或宿主細胞(例如包含編碼本文所述之抗體之多核苷酸的細胞或宿主細胞)表現(例如重組表現)該抗體。在一特定實施例中，細胞係分離之細胞。在一特定實施例中，已將外源多核苷酸引入細胞中。在一特定實施例中，該方法還包括純化自該細胞或宿主細胞獲得的抗體之步驟。

[0292] 用於產生多株抗體之方法係此項技術中已知的(參見例如，Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 第5版，第11章，Ausubel FM等人編，John Wiley

and Sons, New York, 以引用之方式整體併入本文中)。

[0293] 單株抗體可以使用此項技術中已知之多種技術製備，包括使用融合瘤、重組技術及噬菌體顯示技術，或其組合。舉例而言，可使用融合瘤技術，包括此項技術中已知且例如於以下中教示之技術產生單株抗體：Harlow E 及 Lane D, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第 2 版, 1988)；Hammerling GJ 等人, *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563 681 (Elsevier, N.Y., 1981)，其各自以引用之方式整體併入本文中。如本文所使用，術語「單株抗體」不侷限於經由融合瘤技術產生之抗體。舉例而言，可由外源表現本文所述抗體或其片段，例如此抗體之輕鏈及/或重鏈的宿主細胞重組產生單株抗體。

[0294] 在具體實施例中，如本文所使用，「單株抗體」係由單一細胞(例如產生重組抗體之融合瘤或宿主細胞)產生之抗體，其中如例如藉由 ELISA 或此項技術中已知或本文提供之實例中的其他抗原結合或競爭性結合檢定所測定，該抗體特異性結合至 LAG-3(例如人類 LAG-3)。在特定實施例中，單株抗體可以為嵌合抗體或人類化抗體。在某些實施例中，單株抗體係單價抗體或多價(例如二價)抗體。在特定實施例中，單株抗體係單特異性或多特異性抗體(例如雙特異性抗體)。本文所述之單株抗體可例如藉由如 Kohler G 及 Milstein C (1975) *Nature* 256: 495(以引用之方式整體併入本文中)中所描述之融合瘤方法製備，或

者可以例如使用如例如本文所描述之技術，自噬菌體文庫分離。用於製備純系細胞株及由其表現之單株抗體的方法係此項技術中熟知的(參見例如，Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 第5版，第11章，Ausubel FM等人，同上文)。

[0295] 使用融合瘤技術產生並篩選特定抗體之方法係此項技術中常用且熟知的。舉例而言，在融合瘤方法中，對小鼠或其他適當的宿主動物，諸如綿羊、山羊、兔、大鼠、倉鼠或獼猴進行免疫接種以使淋巴細胞產生或能夠產生將特異性結合用於免疫接種之蛋白質(例如LAG-3(例如人類LAG-3))的抗體。或者，可以在活體外免疫接種淋巴細胞。接著，使用適合融合劑，諸如聚乙二醇，使淋巴細胞與骨髓瘤細胞融合，以形成融合瘤細胞(Goding JW (編), Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 第59-103頁 (Academic Press, 1986)，以引用之方式整體併入本文中)。另外，亦可使用多部位重複免疫(repetitive immunization multiple sites, RIMMS)技術對動物進行免疫接種(Kilpatrick KE等人, (1997) Hybridoma 16:381-9，以引用之方式整體併入本文中)。

[0296] 在一些實施例中，可以用抗原(例如LAG-3(例如人類LAG-3))對小鼠(或其他動物，諸如大鼠、猴、驢、豬、綿羊、倉鼠或犬)進行免疫接種且一旦偵測到免疫反應，例如在小鼠血清中偵測到抗原特異性抗體，即收集小鼠脾臟並分離脾細胞。接著，藉由熟知技術將脾細胞與任

何適合的骨髓瘤細胞，例如來自由美國典型培養物保藏中心(ATCC®) (Manassas, VA)獲得的細胞株SP20之細胞融合以形成融合瘤。藉由限制性稀釋選擇融合瘤並選殖。在某些實施例中，收集經免疫接種小鼠之淋巴結並與NS0骨髓瘤細胞融合。

[0297] 將由此製備的融合瘤細胞接種於適合培養基中並使其生長，該培養基較佳含有抑制未融合之親本骨髓瘤細胞生長或存活的一或多種物質。舉例而言，若親本骨髓瘤細胞缺乏酶次黃嘌呤鳥嘌呤磷酸核糖轉移酶(HGPRT或HPRT)，則融合瘤培養基典型地將包括次黃嘌呤、胺基嘌呤及胸苷(HAT培養基)，該等物質防止HGPRT缺陷型細胞生長。

[0298] 特定實施例採用高效融合，支持所選抗體產生細胞穩定高水準產生抗體且對諸如HAT培養基之培養基敏感的骨髓瘤細胞。在此等骨髓瘤細胞株中有鼠類骨髓瘤細胞株，諸如NS0細胞株或來源於自Salk Institute Cell Distribution Center(San Diego, CA, USA)得到之MOPC-21及MPC-11小鼠腫瘤的細胞株，以及自美國典型培養物保藏中心(Rockville, MD, USA)得到的SP-2或X63-Ag8.653細胞。亦已描述用於產生人類單株抗體之人類骨髓瘤及小鼠-人類雜合骨髓瘤細胞株(Kozbor D (1984) J Immunol 133: 3001-5; Brodeur等人, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, 第51-63頁(Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)，其各自以引用之方式整體併入本

文中)。

[0299] 檢定生長融合瘤細胞之培養基中針對LAG-3(例如人類LAG-3)之單株抗體的產生。藉由此項技術中已知之方法，例如免疫沈澱法或藉由活體外結合檢定，諸如放射免疫檢定(RIA)或酶聯免疫吸附劑檢定(ELISA)測定由融合瘤細胞產生的單株抗體之結合特異性。

[0300] 在鑑別出產生具有所需特異性、親和力及/或親合力之抗體的融合瘤細胞之後，可以藉由限制性稀釋程序次選殖該等純系並藉由標準方法使其生長(Goding JW(編), *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, 見上文)。適合此目的之培養基包括例如D-MEM或RPMI1640培養基。此外，融合瘤細胞亦可在哺乳動物中在活體內以腹水腫瘤形式生長。

[0301] 由次純系分泌的單株抗體宜藉由習知免疫球蛋白純化程序，諸如蛋白質A-瓊脂糖層析法、羥磷灰石層析法、凝膠電泳、透析、親和層析法自培養基、腹水或血清分離。

[0302] 本文所述之抗體包括特異性識別LAG-3(例如人類LAG-3)之抗體片段且可藉由熟習此項技術者已知之任何技術產生。舉例而言，可藉由使用酶，諸如木瓜蛋白酶(用以產生Fab片段)或胃蛋白酶(用以產生F(ab')₂片段)蛋白水解裂解免疫球蛋白分子來產生本文所述之Fab及F(ab')₂片段。Fab片段對應於抗體分子之兩個相同臂之一，且含有與重鏈VH及CH1結構域配對的完整輕鏈。F(ab')₂片段含

有藉由鉸鏈區中之二硫鍵連接的抗體分子之兩個抗原結合臂。

[0303] 另外，亦可使用此項技術中已知之各種噬菌體顯示法產生本文所述之抗體。在噬菌體顯示法中，將功能性抗體結構域顯示於攜帶編碼該等結構域之多核苷酸的噬菌體粒子之表面上。詳言之，由動物cDNA文庫(例如受影響組織之人類或鼠類cDNA文庫)擴增編碼VH及VL結構域之DNA序列。藉由PCR將編碼VH及VL結構域之DNA用scFv連接子重組在一起並選殖至噬菌粒載體中。將該載體經電穿孔置入大腸桿菌中且用輔助噬菌體感染大腸桿菌。用於此等方法中的噬菌體典型地係絲狀噬菌體，包括fd及M13，且VH及VL結構域通常與噬菌體基因III或基因VIII重組融合。可用抗原，例如使用經標記抗原或者結合至或捕捉至固體表面或珠粒之抗原選擇或鑑別表現結合至特定抗原之抗原結合結構域的噬菌體。可用於製備本文所述之抗體的噬菌體顯示法之實例包括以下中所揭示之方法：Brinkman U等人 (1995) J Immunol Methods 182: 41-50；Ames RS等人(1995) J Immunol Methods 184: 177-186；Kettleborough CA等人(1994) Eur J Immunol 24: 952-958；Persic L等人，(1997) Gene 187: 9-18；Burton DR及Barbas CF (1994) Advan Immunol 57: 191-280；PCT申請案第PCT/GB91/001134號；國際公開案第WO 90/02809號、第WO 91/10737號、第WO 92/01047號、第WO 92/18619號、第WO 93/1 1236號、第WO 95/15982號、第WO 95/20401

號及第WO 97/13844號；以及美國專利第5,698,426號、第5,223,409號、第5,403,484號、第5,580,717號、第5,427,908號、第5,750,753號、第5,821,047號、第5,571,698號、第5,427,908號、第5,516,637號、第5,780,225號、第5,658,727號、第5,733,743號及第5,969,108號，全部以引用之方式整體併入本文中。

[0304] 如以上參考文獻中所描述，在噬菌體選擇之後，可以自噬菌體分離出抗體編碼區並用於產生全抗體，包括人類抗體，或任何其他所需之抗原結合片段，且在任何所需宿主，包括哺乳動物細胞、昆蟲細胞、植物細胞、酵母及細菌中表現，例如，如下文所描述。亦可使用此項技術中已知之技術，諸如PCT公開案第WO 92/22324號；Mullinax RL等人 (1992) BioTechniques 12(6): 864-9；Sawai H等人 (1995) Am J Reprod Immunol 34: 26-34；及Better M等人(1988) Science 240: 1041-1043(全部以引用之方式整體併入本文中)所述之方法，採用重組產生抗體片段，諸如Fab、Fab'及F(ab')₂片段之技術。

[0305] 在某些實施例中，為了產生全抗體，可使用包括VH或VL核苷酸序列、限制性地點及用以保護該限制性地點之側接序列的PCR引子，由模板，例如scFv純系擴增VH或VL序列。利用熟習此項技術者已知之選殖技術，可以將PCR擴增之VH結構域選殖至表現VH恆定區之載體中，且可以將PCR擴增之VL結構域選殖至表現VL恆定區，例如人類κ或λ恆定區之載體中。亦可將VH及VL結構

域選殖至一個表現所需恆定區之載體中。接著，使用熟習此項技術者已知之技術，將重鏈轉化載體及輕鏈轉化載體共轉染至細胞株中以產生穩定或短暫表現全長抗體，例如IgG的細胞株。

[0306] 嵌合抗體係抗體之不同部分來源於不同免疫球蛋白分子的一種分子。舉例而言，嵌合抗體可以含有小鼠或大鼠單株抗體之可變區與人類抗體恆定區之融合物。用於產生嵌合抗體之方法係此項技術中已知的。參見例如，Morrison SL (1985) *Science* 229: 1202-7；Oi VT及Morrison SL (1986) *BioTechniques* 4: 214-221；Gillies SD等人(1989) *J Immunol Methods* 125: 191-202；以及美國專利第5,807,715號、第4,816,567號、第4,816,397號及第6,331,415號，全部以引用之方式整體併入本文中。

[0307] 人類化抗體能夠結合至預定抗原且包含具有大體上人類免疫球蛋白胺基酸序列之構架區及具有大體上非人類免疫球蛋白(例如鼠類免疫球蛋白)胺基酸序列之CDR。在特定實施例中，人類化抗體還包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，典型地為人類免疫球蛋白恆定區之至少一部分。該抗體亦可包括重鏈之CH1、鉸鏈區、CH2、CH3及CH4區。人類化抗體可選自任何免疫球蛋白類別，包括IgM、IgG、IgD、IgA及IgE，及任何同型，包括IgG₁、IgG₂、IgG₃及IgG₄。人類化抗體可以使用此項技術中已知之多種技術產生，包括但不限於，CDR移植(歐洲專利第EP 239400號；國際公開案第WO 91/09967號；以

及美國專利第5,225,539號、第5,530,101號及第5,585,089號)、鑲飾或表面重塑(歐洲專利第EP 592106號及第EP 519596號; Padlan EA (1991) *Mol Immunol* 28(4/5): 489-498; Studnicka GM等人(1994) *Prot Engineering* 7(6): 805-814; 及Roguska MA等人 (1994) *PNAS* 91: 969-973)、鏈改組(美國專利第5,565,332號), 以及例如美國專利第6,407,213號、美國專利第5,766,886號、國際公開案第WO 93/17105號; Tan P等人 (2002) *J Immunol* 169: 1119-25; Caldas C等人(2000) *Protein Eng.* 13(5): 353-60; Morea V等人(2000) *Methods* 20(3): 267-79; Baca M等人(1997) *J Biol Chem* 272(16): 10678-84; Roguska MA等人(1996) *Protein Eng* 9(10): 895 904; Couto JR等人(1995) *Cancer Res.* 55 (23增刊): 5973s-5977s; Couto JR等人(1995) *Cancer Res* 55(8): 1717-22; Sandhu JS (1994) *Gene* 150(2): 409-10及Pedersen JT等人(1994) *J Mol Biol* 235(3): 959-73中所揭示之技術, 所有該等文獻皆以引用之方式整體併入本文中。亦參見美國申請公開案第US 2005/0042664 A1號(2005年2月24日), 以引用之方式整體併入本文中。

[0308] 用於製備多特異性抗體(例如雙特異性抗體)之方法已有描述, 參見例如美國專利第7,951,917號、第7,183,076號、第8,227,577號、第5,837,242號、第5,989,830號、第5,869,620號、第6,132,992號及第8,586,713號, 全部以引用之方式整體併入本文中。

[0309] 單結構域抗體，例如缺乏輕鏈之抗體，可藉由此項技術中熟知之方法製備。參見 Riechmann L 及 Muyldermans S (1999) *J Immunol* 231: 25-38；Nuttall SD 等人 (2000) *Curr Pharm Biotechnol* 1(3): 253-263；Muyldermans S, (2001) *J Biotechnol* 74(4): 277-302；美國專利第6,005,079號；及國際公開案第WO 94/04678號、第WO 94/25591號及第WO 01/44301號，全部以引用之方式整體併入本文中。

[0310] 另外，特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)抗原之抗體又可使用熟習此項技術者熟知之技術，而用於產生「模擬」抗原之抗獨特型抗體。參見例如，Greenspan NS及Bona CA (1989) *FASEB J* 7(5): 437-444；及Nissinoff A (1991) *J Immunol* 147(8): 2429-2438，各自以引用之方式整體併入本文中。

[0311] 在特定實施例中，與本文所述之抗LAG-3(例如人類LAG-3)抗體結合至相同LAG-3(例如人類LAG-3)抗原決定基的本文所述之抗體係人類抗體。在特定實施例中，競爭性阻斷(例如以劑量依賴性方式)本文所述抗體中之任一種結合至LAG-3(例如人類LAG-3)的本文所述之抗體係人類抗體。人類抗體可使用此項技術中已知之任何方法產生。舉例而言，可使用不能表現功能性內源免疫球蛋白但能表現人類免疫球蛋白基因的轉殖基因小鼠。詳言之，可隨機地或藉由在小鼠胚胎幹細胞中同源重組引入人類重鏈及輕鏈免疫球蛋白基因複合物。替代地，除人類重

鏈及輕鏈基因外，亦可將人類可變區、恆定區及多樣性區引入小鼠胚胎幹細胞中。可利用同源重組，藉由引入人類免疫球蛋白基因座分開地或同時使小鼠重鏈及輕鏈免疫球蛋白基因無功能。詳言之， J_H 區之純合缺失防止產生內源抗體。經修飾胚胎幹細胞經擴增且顯微注射至胚泡中以產生嵌合小鼠。接著繁殖嵌合小鼠以產生表現人類抗體之純合子代。用所選抗原，例如抗原(例如LAG-3(例如人類LAG-3))之全部或一部分，以標準方式對轉殖基因小鼠進行免疫接種。可使用習知融合瘤技術，由經免疫接種之轉殖基因小鼠獲得針對該抗原之單株抗體。轉殖基因小鼠所攜帶的人類免疫球蛋白轉殖基因在B細胞分化期間重排，且隨後經歷類別轉換及體細胞突變。因此，使用此類技術，可產生有治療用途之IgG、IgA、IgM及IgE抗體。有關此用於產生人類抗體之技術的綜述，參見Lonberg N及Huszar D (1995) Int Rev Immunol 13:65-93，以引用之方式整體併入本文中。有關此用於產生人類抗體及人類單株抗體之技術以及用於產生此類抗體之實驗方案的詳細論述，參見例如，國際公開案第WO 98/24893號、第WO 96/34096號及第WO 96/33735號；以及美國專利第5,413,923號、第5,625,126號、第5,633,425號、第5,569,825號、第5,661,016號、第5,545,806號、第5,814,318號及第5,939,598號；全部以引用之方式整體併入本文中。能夠產生人類抗體之小鼠的實例包括XenomouseTM (Abgenix, Inc.; 美國專利第6,075,181號及第

6,150,184號)、HuAb-MouseTM (Medarex, Inc./Gen Pharm ; 美國專利第5,545,806號及第5,569,825號)、Trans Chromo MouseTM (Kirin)以及KM MouseTM (Medarex/Kirin), 所有該等文獻皆以引用之方式整體併入本文中。

[0312] 特異性結合至LAG-3(例如人類LAG-3)之人類抗體可藉由此項技術中已知之多種方法製備, 包括以上所描述的使用衍生自人類免疫球蛋白序列之抗體文庫進行的噬菌體顯示方法。亦參見美國專利第4,444,887號、第4,716,111號及第5,885,793號; 以及國際公開案第WO 98/46645號、第WO 98/50433號、第WO 98/24893號、第WO 98/16654號、第WO 96/34096號、第WO 96/33735號及第WO 91/10741號, 全部以引用之方式整體併入本文中。

[0313] 在一些實施例中, 可使用小鼠-人類融合瘤產生人類抗體。舉例而言, 可將經愛-巴二氏病毒(EBV)轉型的人類外周血淋巴細胞與小鼠骨髓瘤細胞融合以產生分泌人類單株抗體之小鼠-人類融合瘤, 且該等小鼠-人類融合瘤可經篩選以確定分泌特異性結合至靶抗原(例如LAG-3(例如人類LAG-3))之人類單株抗體的融合瘤。此等方法係已知的且在此項技術中有描述, 參見例如Shinmoto H等人, (2004) Cytotechnology 46: 19-23; Naganawa Y等人, (2005) Human Antibodies 14: 27-31, 各自以引用之方式整體併入本文中。

6.6 套組

[0314] 亦提供包含一或多種本文所述之抗體，或其醫藥組成物或偶聯物之套組。在一具體實施例中，本文提供一種醫藥包裝或套組，其包含一或多個填充有本文所述之醫藥組成物之一或多種成分，諸如一或多種本文所提供之抗體的容器。在一些實施例中，該等套組含有本文所述之醫藥組成物，及任何預防或治療劑，諸如本文所述之預防或治療劑。在某些實施例中，該等套組可含有T細胞促分裂原，諸如植物凝集素(PHA)及/或佛波醇棕櫚酸酯乙酸酯(PMA)，或TCR複合物刺激抗體，諸如抗CD3抗體及抗CD28抗體。視情況此類容器附帶可為政府機構規定形式的規定醫藥或生物產品製造、使用或銷售之說明書，該說明書反映該機構批准製造、使用或銷售用於人類投藥。

[0315] 亦提供可用於以上方法中之套組。在一個實施例中，套組在一或多個容器中包含本文所述抗體，較佳為純化抗體。在一具體實施例中，本文所述之套組含有基本上分離之LAG-3(例如人類LAG-3)抗原作為對照物。在另一具體實施例中，本文所述之套組還包含不與LAG-3(例如人類LAG-3)抗原反應之對照抗體。在另一具體實施例中，本文所述之套組含有一或多種用於偵測抗體與LAG-3(例如人類LAG-3)抗原之結合的成分(例如，該抗體可與可偵測基質，諸如螢光化合物、酶受質、放射性化合物或發光化合物偶聯，或者識別第一抗體之二次抗體可與可偵測基質偶聯)。在具體實施例中，本文所提供之套組可包括重組產生或化學合成之LAG-3(例如人類LAG-3)抗原。

套組中所提供的LAG-3(例如人類LAG-3)抗原亦可附接至固體支撐物。在一更具體之實施例中，上述套組之偵測構件包括附接有LAG-3(例如人類LAG-3)抗原之固體支撐物。此類套組亦可包括未附接的報告子標記之抗人類抗體或抗小鼠/大鼠抗體。在此實施例中，可藉由該報告子標記之抗體之結合來偵測抗體與LAG-3(例如人類LAG-3)抗原之結合。在一個實施例中，本發明係關於本發明之套組在活體外檢定及/或偵測生物樣品中之LAG-3(例如人類LAG-3)抗原中的用途。

7. 實例

[0316] 本節(即第6節)中之實施例係出於說明目的而非限制目的提供。

7.1 實例1：針對人類LAG-3之新穎抗體的產生及表徵

[0317] 本實例描述結合至人類淋巴細胞活化基因3(LAG-3)，又稱CD223之抗體的產生及表徵。詳言之，本實例描述特異性結合至人類LAG-3並抑制人類LAG-3功能的鼠類抗體之產生。

7.1.1 抗LAG-3抗體之產生

[0318] 藉由產生及選擇經免疫Fab噬菌體顯示文庫來鑑別抗LAG-3抗體。首先，由來自預先用重組人類LAG-3-Fc蛋白(R&D Systems，目錄號2319-L3-050)及重組食蟹獼

猴LAG-3-Fc蛋白(Evitria, 客戶定製)免疫接種之三隻獨立小鼠之脾細胞的單細胞懸浮液純化出總RNA。接著, 對於每隻小鼠, 使用總RNA作為模板, 藉由隨機引子cDNA擴增來自小鼠抗體基因之可變區, 產生Fab文庫。將重鏈及κ鏈擴增子組合並選殖至噬菌粒載體中。針對重組LAG-3蛋白(人類LAG-3-Fc、人類LAG-3-6His及/或30個胺基酸之人類LAG-3肽)及/或表現食蟹獼猴LAG-3之細胞進行三輪選擇, 以鑑別LAG-3特異性Fab噬菌體純系。該30個胺基酸之人類LAG-3肽係包含胺基酸序列

GPPAAAPGHPLAPGPHPAAPSSWGPRPRRY (SEQ ID NO: 199)之生物素化肽。接著藉由ELISA或流動式細胞測量術篩選所選Fab純系之周質提取物。接著, 對抗LAG-3 Fab進行抗體測序及解離速率分析。

[0319] 鑑別出一組結合至人類LAG-3之鼠類抗體且命名為 P01A12、P01C09、P05E01、P05E03、P13A04、P13A06、P13B01、P13B02、P13B03、P13B11、P13C06、P13C08、P13C10、P13D04、P13D05、P13E02、P13F01、P13F02、P13F06、P13F09、P13G01、P13G04、P13G05、P13H05、P14A04、P14B07、P14C04、P14F01、P14F06、P14G01、P14G03、P15B06、P15C02、P15E06、P15F06、P15G05、P16D04及P16H05。該等抗體之可變區之序列資訊概述於表6中。

7.1.2 抗LAG-3 Fab與LAG-3表現細胞之結合

[0320] 使用流動式細胞測量術測試來自周質提取物之抗LAG-3 Fab與LAG-3表現細胞之結合。簡言之，將野生型及表現人類LAG-3之Jurkat細胞以 2×10^5 個細胞/孔塗鋪於U形底96孔盤(Sarstedt)中之樣品緩衝液(PBS (Gibco, 目錄號10010-015) + 0.5% FBS (Gibco, 目錄號10270-106))中。在室溫下，將22 μ l抗LAG-3 Fab周質提取物及83 μ l經稀釋之抗c-myc抗體(Gentaur, 純系編號9E10, 目錄號04-cmyc-9E10)一起孵育30分鐘。將100 μ l周質提取物/抗c-myc混合物添加至細胞中且接著在冰上孵育一小時。洗滌細胞三次且接著在冰上將其與山羊抗小鼠APC (BD Biosciences, 目錄號550826)一起孵育30分鐘。洗滌細胞三次且接著用FACS機器(BD Accuri6)進行分析。

[0321] 如圖1A-1C中所示，所有測試抗LAG-3 Fab均展現結合至表現人類LAG-3之Jurkat細胞。可能由於周質提取物中Fab濃度較低，P05E01之結合程度明顯較低。P05E01之結合在稍後的實驗中予以確定(資料未顯示)。

7.1.3 抗LAG-3 Fab或抗體之配體阻斷活性

[0322] 測試抗LAG-3 Fab阻斷重組人類LAG-3與II類MHC表現細胞之結合的能力。在4℃下，將10 μ g/ml之LAG-3-6His (Acro Biosystems, 目錄號LA3-H5222)與6 μ g/ml之抗His生物素(Genscript, 純系編號A00186, 目錄號A00613)一起預孵育10分鐘。接著在4℃下，將此混合物與10000 ng/ml (圖2A)，或抗LAG-3 Fab之連續稀釋液

(21170、7056.6、2352.2、784.0、261.3、87.1、29.0或9.7 ng/ml) (圖 2B)，或對LAG-3不具特異性之陰性對照Fab一起孵育60分鐘，且接著與50,000個Raji細胞一起在4℃下再孵育60分鐘。用樣品緩衝液(PBS + 2% FBS + 0.09%疊氮化鈉)洗滌培養物兩次且接著在4℃下，將該等培養物與抗生蛋白鏈菌素-PE (Biolegend, 目錄號405204)一起在樣品緩衝液中孵育30分鐘。洗滌細胞兩次，且接著用FACS Fortessa細胞計(Becton Dickinson)進行分析。

[0323] 如圖 2A及 2B中所示，所有測試抗LAG-3 Fab均阻斷交聯重組LAG-3-6His與II類MHC陽性Raji細胞之結合。

[0324] 將所選Fab之可變區選殖至人類重鏈(Ch1、Ch2及Ch3)及輕鏈(CL)恆定區中並表現為全長IgG₁嵌合抗體形式，且在與上文所述類似之配體阻斷檢定中以各種濃度(96360、48180、24090、12045、6022、3011、1505、753、376、188或94 ng/ml)進行測試。

[0325] 測試的全長嵌合抗LAG-3抗體皆阻斷重組LAG-3與II類MHC表現性Raji細胞之間的相互作用(圖3)。

7.1.4 抗LAG-3抗體對葡萄球菌腸毒素A (SEA)刺激後之人類PBMC之影響

[0326] 使用經葡萄球菌腸毒素A (SEA)刺激之原代人類外周血單核細胞(PBMC)測試嵌合抗LAG-3抗體P13B02之功能活性。簡言之，將低溫保存之人類PBMC (Research

Blood Components)以 10^5 個細胞/孔塗鋪於96孔NUNCLONS表面盤(NUNC™)中補充有Normocin™ (Invivogen, 目錄號ant-nr-1)及10%熱滅活FBS (Thermo Fisher Scientific, 目錄號26140079)之RPMI1640中。在37℃、5% CO₂及97%濕度下, 將細胞與100 ng/ml SEA (Toxin Technologies, 目錄號at101red)及10 µg/ml P13B02或同型對照抗體一起培養5天。收集澄清之上清液且在-80℃下儲存以待分析。使用AlphaLISA (Perkin Elmer, 目錄號AL221C)測定IL-2含量。

[0327] 如圖4中所示, 抗LAG-3抗體P13B02使經SEA超級抗原刺激之人類PBMC中的IL-2產量增加。

7.2 實例2：針對人類LAG-3之人類化抗體的產生及表徵

[0328] 本實例描述鼠類抗體P13B02之人類化及該等人類化抗體之表徵。

7.2.1 鼠類抗體P13B02之人類化

[0329] 使用同源匹配選擇人類受體構架區以移植鼠類抗體P13B02之CDR。資料庫, 例如來自人類及小鼠免疫球蛋白基因座之生殖系可變基因的資料庫(IMG T資料庫(international ImMunoGeneTics information system®; Lefranc MP等人(1999) Nucleic Acids Res 27(1): 209-12; Ruiz M等人(2000) Nucleic Acids Res 28(1): 219-21; Lefranc MP (2001) Nucleic Acids Res 29(1): 207-9;

Lefranc MP (2003) *Nucleic Acids Res* 31(1): 307-10 ;
 Lefranc MP等人(2005) *Dev Compo Immunol* 29(3): 185-203 ; Kaas Q等人(2007) *Briefings in Functional Genomics & Proteomics* 6(4): 253-64)或VBASE2 (Retter I等人(2005) *Nucleic Acids Res* 33, Database issue D671-D674)或Kabat資料庫(Johnson G等人(2000) *Nucleic Acids Res* 28: 214-218))或出版物(例如Kabat EA等人(1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第五版, U.S. Department of Health and Human Services, NIH出版號91-3242), 全部以引用之方式整體併入本文中, 可用於鑑別鼠類重鏈及輕鏈可變區所屬人類亞家族, 且確定最佳配合之人類生殖系構架以用作受體分子。可基於序列同源性及/或CDR1及CDR2區之結構匹配在該等亞家族內選擇重鏈及輕鏈可變區序列用作受體以幫助在移植後保持六個CDR之適當相對呈現。

[0330] 使用BioEdit序列比對編輯器(Hall, T.A. 1999. *BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT*. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95-98, 以引用之方式整體併入本文中), 搜索自IMGT.org下載之IMGT資料庫指示P13B02重鏈可變區構架與人類重鏈可變區亞群IGHV1各成員之間具有良好同源性。對於以下生殖系序列觀察到CDR及構架序列之最高同源性及其一致性: IGHV1-46*01 (SEQ ID NO: 153) (62%一致性; 98個胺基酸殘基中之61個); IGHV1-69-2*01

(SEQ ID NO: 154) (63%一致性 ; 62/98) ; IGHV1-3*01
(SEQ ID NO: 155) (64%一致性 ; 63/98) ; IGHV1-24*01
(SEQ ID NO: 156) (61%一致性 ; 60/98) ; IGHV1-2*01
(SEQ ID NO: 157) (60%一致性 ; 59/98) ; IGHV1-45*01
(SEQ ID NO: 158) (59%一致性 ; 58/98) ; 及IGHV1-18*01
(SEQ ID NO: 159) (60%一致性 ; 59/98)。

[0331] 使用相同方法，P13B02輕鏈可變區序列與人類輕鏈可變區κ亞群IGKV3及IGKV1各成員顯示良好同源性。對於以下生殖系序列觀察到CDR及構架序列之最高同源性及其一致性：IGKV3-20*01 (SEQ ID NO: 160) (59%一致性 ; 96個胺基酸殘基中之57個) ; IGKV3D-15*01及IGKV3-15*01 (SEQ ID NO: 161) (58%一致性 ; 56/96) ; IGKV3D-20*01 (SEQ ID NO: 162) (59%一致性 ; 57/96) ; IGKV3D-7*01 (SEQ ID NO: 163) (58%一致性 ; 56/96) ; IGKV1-9*01 (SEQ ID NO: 164) (63%一致性 ; 61/96) ; 以及IGKV3-11*01 (SEQ ID NO: 165) (60%一致性 ; 58/96)。

[0332] 作為人類化程序之起點，使用人類IGHV1-46*01 (SEQ ID NO: 153)之構架區1、2及3，以及人類IGHJ1*01 (SEQ ID NO: 200)之構架區4作為人類構架受體，產生小鼠P13B02 VH之CDR移植形式。在可能影響CDR構形或可變區間堆積且因此可能在結構上對於維持抗體(H0-H4；分別為SEQ ID NO: 56-60及220)之完整活性極為重要的位置處進行多次回復突變(圖5A)。類似地，使用人類IGKV3-20*01 (SEQ ID NO: 160)之構架區1、2及3，

以及人類 IGKJ1*01 (SEQ ID NO: 201)之構架4作為人類構架受體產生小鼠 P13B02 VL之CDR移植形式(L0；SEQ ID NO: 73)(圖5B)。在各種位置處產生回復突變(L1-L4；分別為SEQ ID NO: 74-77)(圖5B)。人類化VH H0-H4及人類化VL L0-L4之序列提供於表1中。表10顯示小鼠與人類抗體構架區之間不同且在至少一個上述人類化VH或VL中經歷回復突變的位置。表11顯示小鼠與人類抗體構架區之間不同且在H1_R98K_L4M中經歷回復突變的位置。

表 10. 在至少一個人類化 VH 或 VL 中構架回復突變之概述。

重鏈可變區		
Kabat 位置	P13B02 VH	IGHV1-46*01 (SEQ ID NO: 153)
H4	M	L
H5	K	V
H12	V	K
H23	T	K
H27	F	Y
H28	N	T
H29	I	F
H30	K	T
H48	I	M
H69	I	M
H71	A	R
H75	S	T
H76	N	S
H80	L	M
H81	Q	E
H94	T	R
輕鏈可變區		
Kabat 位置	P13B02 VL	IGKV3-20*01 (SEQ ID NO: 160)
L3	L	V
L22	T	S
L36	F	Y
L43	S	A
L47	W	L
L58	V	I
L70	S	D
L71	Y	F

表 11. 在 H1_R98K_L4M 中構架回復突變之概述。

Kabat 位置	P13B02 VH	IGHV1-46*01 (SEQ ID NO: 153)
H4	M	L
H27	F	Y
H28	N	T
H29	I	F
H30	K	T
H69	I	M
H71	A	R
H94	T	R

[0333] 此外，P13B02之HCDR3亦含有「RYD」基序，先前已展示該基序模擬整合素結合基序「RGD」。為了測試是否能移除「RYD」基序而不影響與LAG-3之結合，在重鏈中引入胺基酸取代R98K或D100E，根據Kabat定義編號。

[0334] 基於以上描述設計一組37種人類化抗體，命名為P13B02-01至P13B02-37且以全長IgG₁抗體形式產生。產生三種形式之P13B02-30：含有IgG₁ G1m17異型之全長抗體，稱為P13B02-30 (IgG₁)；含有IgG₁ G1m17異型及N297A突變之全長抗體，稱為P13B02-30 (IgG₁ G1m17 N297A)；及含有IgG₁ G1m3異型及N297A突變之全長抗體，稱為P13B02-30 (IgG₁ G1m3 N297A)。P13B02-01至P13B02-37之可變區的序列資訊概述於表7中。在生產細胞中檢查兩批P13B02-30 (IgG₁ G1m3 N297A)之轉譯後加工。該37種人類化抗體在表面電漿共振分析中皆保持與重組人類LAG-3之結合(資料未顯示)。

7.2.2 人類化抗LAG-3抗體與人類LAG-3之結合

[0335] 使用流動式細胞測量術測試抗LAG-3抗體與原代人類T細胞之結合。在37℃、5% CO₂及97%濕度下，在100 ng/ml SEA (Toxin Technologies, 目錄號at101red)存在下，將補充有NormocinTM (Invivogen, 目錄號ant-nr-1)及10% 熱滅活FBS (Thermo Fisher Scientific, 目錄號26140079)之RPMI1640中的低溫保存之人類PBMC

(Research Blood Components)以 10^6 個細胞/mL塗鋪於T-75燒瓶(Corning)中，保持5天。接著將培養之PBMC以 10^5 個細胞/孔塗鋪於U形底96孔盤(Nunc)中。在冰上將細胞與 $10\text{ }\mu\text{g/ml}$ 抗LAG-3抗體一起培養30分鐘。洗滌細胞三次且接著將其與抗CD4-PE/Cy7 (Biolegend, 純系編號OKT4, 目錄號317414)、抗CD8-FITC (Biolegend, 純系編號RPA-T8, 目錄號301060)、抗CD3-APC (BD Biosciences, 純系編號SP34-2, 目錄號557597)、LIVE/DEAD[®]固定化近紅外死細胞染色劑(Fixable Near-IR Dead Cell Stain) (Life Technologies, 目錄號L10119)、Fc嵌段(BD Biosciences, 目錄號422302)及山羊抗人類IgG-PE (ThermoFisher, 目錄號PA1-74408)一起孵育。將細胞在冰上孵育細胞30分鐘，洗滌並用FACS機器(BD Canto)進行分析。如圖6A中所示，嵌合抗體P13B02及所有測試人類化抗體均展現與經SEA超級抗原刺激之原代CD4+人類T細胞的結合。

[0336] 接下來，使用與上文所述類似之SEA超級抗原活化人類PBMC，並與連續稀釋(50000、15000、4500、1350、407、122、37或11 ng/ml)之P13B02-16或同型對照抗體一起孵育。用FACS Fortessa細胞計(Becton Dickinson)分析結合。人類化抗體P13B02-16以劑量依賴性方式結合至活化之原代人類CD4+ T細胞(圖6B)。

7.2.3 人類化抗LAG-3抗體之配體阻斷活性

[0337] 接下來，如上文所述檢查人類化抗LAG-3抗體

阻斷交聯重組LAG-3-6His與II類MHC表現性Raji細胞之間之相互作用的能力。測試57820、28910、14455、7228、3613、1807、903、452、226、113及56 ng/ml的人類化抗體P13B02-06、P13B02-07、P13B02-16、P13B02-26及P13B02-27，該等抗體全部包括人類IgG₁恆定區(圖7A)。測試96360、48180、24090、12045、6022、3011、1505、753、376、188及94 ng/ml之人類化抗體P13B02-30 (IgG₁G1m17 N297A)(圖7B)。

[0338] 如圖7A及7B中所示，所有測試人類化抗體均有效地阻斷LAG-3與II類MHC陽性Raji細胞之結合。

7.2.4 人類化抗LAG-3抗體對葡萄球菌腸毒素A (SEA)刺激後之人類PBMC之影響

[0339] 使用經葡萄球菌腸毒素A(SEA)刺激的原代人類PBMC評估人類化抗體P13B02-30 (IgG₁)之功能活性。將低溫保存之人類PBMC (Research Blood Components)以10⁵個細胞/孔塗鋪於96孔NUNC LONδ表面盤(NUNC™)中補充有Normocin™ (Invivogen, 目錄號ant-nr-1)及10%熱滅活FBS (Thermo Fisher Scientific, 目錄號26140079)之RPMI1640中。在37℃、5% CO₂及97%濕度下，將細胞與100 ng/ml SEA (Toxin Technologies, 目錄號at101red)及10 μg/ml P13B02-30 (IgG₁)或同型對照抗體一起培養5天。收集澄清之上清液且在-80℃下儲存以待分析。使用AlphaLISA (Perkin Elmer, 目錄號AL221C)測定IL-2含

量。

[0340] 如圖 8A 中所示，抗 LAG-3 抗體 P13B02-30 (IgG₁)使經 SEA超級抗原刺激之人類 PBMC 中的 IL-2 產量增加。

[0341] 在類似實驗中，在 37°C、5% CO₂及 97%濕度下，在存在或不存在 5 μg/ml 抗 PD-1 抗體帕博珠單抗 (Pembro)(Myoderm)、抗 PD-1 抗體納武單抗 (Nivo) (Myoderm)、三種不同之抗 PD-L1 抗體，或抗 CTLA-4 抗體伊匹單抗 (Ipi) (Myoderm)情況下，將低溫保存之人類 PBMC 與 100 ng/ml SEA (Toxin Technologies, 目錄號 at101red)及 10 μg/ml P13B02-16 (IgG₁)或同型對照抗體一起培養 5 天。收集澄清之上清液且在 -80°C 下儲存以待分析。使用 AlphaLISA (Perkin Elmer, 目錄號 AL221C)測定 IL-2 含量。基於美國申請公開案第 US2014/0341917 號(以引用之方式整體併入本文中)中所提供的抗體 A09-246-2 之可變區序列產生抗 PD-L1 抗體 #1。基於美國專利第 8,779,108 號(以引用之方式整體併入本文中)中所提供的抗體 2.14H9OPT 之可變區序列產生抗 PD-L1 抗體 #2。基於美國專利第 8,217,149 號(以引用之方式整體併入本文中)中所提供的序列產生抗 PD-L1 抗體 #3。該三種抗 PD-L1 抗體之序列於表 12 中列出。

表 12. 抗 PD-L1 抗體之序列

SEQ ID NO:	說明	胺基酸序列
202	抗 PD-L1 抗體#1 重鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGITFYADTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
203	抗 PD-L1 抗體#1 輕鏈	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAED EADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVLQPKANPTVTLFPPSSEE LQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
204	抗 PD-L1 抗體#2 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
205	抗 PD-L1 抗體#2 輕鏈	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYGSLPWTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
206	抗 PD-L1 抗體#3 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

207	抗 PD-L1 抗體#3 輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPG KAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEK
-----	-----------------	--

[0342] 如圖 8B 中所示，在 SEA 超級抗原存在下，單獨 P13B02-16 (IgG₁)或其與抗 PD-1 抗體帕博珠單抗或納武單抗、抗 PD-L1 抗體 #1、#2 或 #3，或抗 CTLA-4 抗體伊匹單抗之組合使人類 PBMC 中之 IL-2 產量增加。

7.2.5 人類化抗 LAG-3 抗體對腫瘤浸潤淋巴細胞細胞因子產生之影響

[0343] 進一步評估單獨抗 LAG-3 抗體 P13B02-30 (IgG₁ G1m3 N297A)或其與抗 PD-1 抗體之組合刺激活化之原代腫瘤浸潤淋巴細胞 (TIL) 中細胞因子產生的能力。經由機械顯微切割分離出新鮮腎細胞癌 (RCC) (I 期) 或結腸直腸癌 (CRC) (II 期) 腫瘤 (UMass Medical School, Worcester, MA) 之單細胞懸浮液。在一些情況下，取決於纖維化程度，需要酶消化 (釋放酶 (Liberase) 及 DNA 酶 I，Roche)。將細胞以 5×10^4 個細胞 / 孔在 96 孔 NUNC LONδ 表面盤 (NUNC™，目錄號 143761) 中補充有 Normocin™ (Invivogen, 目錄號 ant-nr-1)、重組人類 IL-2 (20 U/ml，R&D Systems，目錄號 202-IL-010) 及 10% 熱滅活 FBS (Thermo Fisher Scientific, 目錄號 26140079) 之 RPMI 1640 中保持 1 天。次日，對樣品離心且添加含有 20 μg/ml 所關注抗體 P13B02-

30 (IgG₁ G1m3 N297A)以及5 µg/ml抗PD-1抗體帕博珠單抗 (Pembro) (Myoderm)，及抗CD3/CD28微珠(1:1珠粒:細胞比率)，最終體積為100 µl，並將其於37°C及5% CO₂下孵育3天。收集無細胞上清液且在-80°C下儲存以待分析。使用AlphaLISA (Perkin Elmer, 目錄號AL208C)測定TNFα含量。

[0344] 如圖9A及9B中所示，抗LAG-3抗體P13B02-30 (IgG₁ G1m3 N297A)使來自RCC或CRC腫瘤的活化之原代TIL中TNFα產量增加。

7.2.6 在LAG-3介導之細胞抑制檢定中抗LAG-3抗體增進T細胞活化

[0345] 在本實例中，使用NFAT-螢光素酶報告子細胞株在細胞抑制檢定中評估抗LAG-3抗體P13B02-30 (IgG₁ G1m3 N297A)針對LAG-3之抑制作用。如下所述，進行兩個實驗。

[0346] 在該兩個實驗中的每一個中，將Jurkat-NFAT-LAG-3細胞懸浮於檢定培養基(RPMI + 10%熱滅活FBS + 1% Pen/Strep)中達到 1×10^6 個細胞/mL的2.5×工作濃度。將Raji細胞懸浮於檢定培養基中達到 1×10^6 個細胞/mL的3.33×工作濃度。在檢定培養基中製備0.04 ng/mL之10×工作濃度的葡萄球菌腸毒素E (Toxin Technology)。在檢定培養基中製備抗LAG-3抗體或同型抗體之連續稀釋液。在第一個實驗中，抗體濃度在0.2-50 µg/mL範圍內。在第二個實驗

中，抗體濃度在0.1-100 $\mu\text{g/mL}$ 範圍內。在製備抗體之連續稀釋液之後，在37°C及5% CO_2 下，在U形底96孔盤中將40 μL Jurkat-NFAT-LAG-3細胞與20 μL 抗體溶液一起預孵育30分鐘。將30 μL Raji細胞及10 μL 葡萄球菌腸毒素E添加至96孔盤中並孵育5-6小時。接著將100 μL Bio-Glo螢光素酶 (Promega) 添加至各孔中並在10-15分鐘後，使用EnVision盤讀取器記錄發光度。

[0347] 如圖10A及10B中所示，相對於同型對照抗體，抗LAG-3抗體以劑量依賴性方式使NFAT-螢光素酶報告子信號明顯增加。

7.3 實例3：抗LAG-3抗體之抗原決定基定位

[0348] 在本實例中，如下所述表徵抗LAG-3抗體P13B02-30之抗原決定基。

7.3.1 使用氫-氘交換(HDX)質譜法進行抗LAG-3抗體之抗原決定基定位

[0349] 使用FragIT套組 (Genovis, 目錄號A2-FR2-100)由P13B02-30 (IgG₄ S228P)產生抗LAG-3 F(ab')₂。使用氫-氘交換(HDX)質譜法研究抗LAG-3 F(ab')₂與人類LAG-3之相互作用。

[0350] 對於胃蛋白酶/蛋白酶XIII消化，在125 μl 控制緩衝液(50 mM磷酸鹽、100 mM氯化鈉，pH 7.4)中之7.9 μg 重組his標記之人類LAG-3(Sino Biological, 目錄號

16498-H08H)藉由添加125 μ l之4 M鹽酸胍、0.85 M TCEP緩衝液(最終pH 2.5)並在20°C下將該混合物孵育5分鐘進行變性。接著，使用室內填充之胃蛋白酶/蛋白酶XIII(w/w，1:1)管柱，使該混合物經歷管柱上胃蛋白酶/蛋白酶XIII消化，並使用包含耦接至Q ExactiveTM複合四極桿-軌道阱質譜儀(Hybrid Quadrupole-Orbitrap Mass Spectrometer)(Thermo)之Waters Acquity UPLC的UPLC-MS系統分析所得肽。在50 mm $\times$ 1 mm C8管柱上，用2-30%溶劑B(含0.2%甲酸之乙腈)之19分鐘梯度分離該等肽。藉由利用Mascot針對人類LAG-3序列搜索MS/MS資料來進行肽鑑別。前驅物及產物之質量容差分別為10 ppm及0.05 Da。

[0351] 在20°C下，將20 μ l人類LAG-3 (7.9 μ g)或20 μ l人類LAG-3/F(ab')₂混合物(7.9 μ g: 15.8 μ g)與105 μ l氧化氘標記緩衝液(50 mM磷酸鹽、100 mM氯化鈉，pD 7.4)一起孵育0秒、60秒、300秒、1800秒、7200秒及14400秒。藉由添加125 μ l之4 M鹽酸胍、0.85 M TCEP緩衝液(最終pH 2.5)淬滅氫/氘交換。隨後，如上文所述，對淬滅樣品進行管柱上胃蛋白酶/蛋白酶XIII消化和LC-MS分析。僅以MS模式記錄質譜。使用分析H/D交換MS資料之軟體HDX WorkBench(J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2012, 23 (9), 1512-1521，以引用之方式整體併入本文中)處理原始MS資料。使用氘化肽與其天然形式(t_0)之間之平均質量差異計算氘化程度。

[0352] 對於人類LAG-3，序列覆蓋率達到96.6%。儘

管在存在及不存在抗LAG-3 F(ab')₂下，大多數人類LAG-3肽展示相同或類似之氘化程度，但發現若干肽區段在結合F(ab')₂後具有明顯較低之氘併入量。在由胺基酸序列SEQ ID NO: 215 (SPTIPLQDLSL)組成之區域處觀察到氘攝取量之明顯降低。殘基係根據SEQ ID NO: 166編號。

[0353] 本發明範圍不受本文所述具體實施例限制。事實上，熟習此項技術者自前述說明將對除所描述之修改外的本發明之各種修改顯而易見。該等修改意圖在所附申請專利範圍之範圍內。

[0354] 本文引用之所有參考文獻(例如出版物或者專利或專利申請案)均以引用之方式整體併入本文中且用於所有目的，其引用程度就如同具體地且個別地指示每一個別參考文獻(例如出版物或者專利或專利申請案)以引用之方式整體併入本文中用於所有目的一般。

[0355] 其他實施例在以下申請專利範圍之內。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種特異性結合人類LAG-3之分離之抗體，該抗體包含互補決定區CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3，其中該CDRH1、CDRH2及CDRH3之胺基酸序列係見於SEQ ID NO: 65之胺基酸序列，且該CDRL1、CDRL2及CDRL3之胺基酸序列係見於SEQ ID NO: 73之胺基酸序列。

【請求項2】如請求項1之分離之抗體，其中該CDRH1、CDRH2及CDRH3分別包含SEQ ID NO: 79、90及98之胺基酸序列，且其中該抗體包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列。

【請求項3】如請求項1之分離之抗體，其中該抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列，且其中該CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含SEQ ID NO: 100、104及105之胺基酸序列。

【請求項4】如請求項1之分離之抗體，其中該抗體包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列且該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列。

【請求項5】如請求項1之分離之抗體，其包含重鏈和輕鏈，其中該重鏈包含SEQ ID NO: 169之胺基酸序列且該輕鏈包含SEQ ID NO: 187之胺基酸序列。

【請求項6】如請求項1之分離之抗體，其中該抗體包含重鏈恆定區，其中該重鏈恆定區：

(a)係選自由人類 IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及 IgA₂組成之群；

(b)係IgG₁重鏈恆定區；

(c)係IgG₁重鏈恆定區，其包含N297A突變；

(d)包含SEQ ID NO: 194之胺基酸序列；

(e)係IgG₁重鏈恆定區，其包含N297Q突變；

(f)係非海藻糖基化之IgG₁重鏈恆定區；

(g)係IgG₄重鏈恆定區；

(h)係IgG₄重鏈恆定區，其包含S228P突變；或

(i)包含SEQ ID NO: 196之胺基酸序列，

其中該等胺基酸殘基係根據EU編號系統編號。

【請求項7】如請求項1之分離之抗體，其中該抗體包含輕鏈恆定區，其中該輕鏈恆定區：

(a)係選自由人類κ輕鏈恆定區和人類λ輕鏈恆定區組成之群；或

(b)係人類κ輕鏈恆定區，其包含SEQ ID NO: 198或219之胺基酸序列。

【請求項8】如請求項1之分離之抗體，其中該抗體：

(a)係人類化抗體、鼠類抗體或嵌合抗體；

(b)對人類LAG-3具有拮抗性；

(c)減活、降低或抑制人類LAG-3之活性；

(d)抑制人類LAG-3與II類MHC之結合；

(e)誘導經葡萄球菌腸毒素A(SEA)刺激之外周血單核細胞(PBMC)產生IL-2；及/或

(f)誘導經抗CD3抗體和抗CD28抗體刺激之腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)產生 $TNF\alpha$ 。

【請求項9】如請求項1之分離之抗體，其係與細胞毒性劑、細胞抑制劑、毒素、放射性核種或可偵測標記偶聯。

【請求項10】一種醫藥組成物，其包含如請求項1至9中任一項之抗體及醫藥學上可接受之載劑或賦形劑。

【請求項11】一種分離之多核苷酸，該多核苷酸編碼：

(a)如請求項1至9中任一項之抗體的重鏈可變區及/或輕鏈可變區；或

(b)如請求項1至9中任一項之抗體的重鏈及/或輕鏈。

【請求項12】一種載體，其包含如請求項11之多核苷酸。

【請求項13】一種重組宿主細胞，其包含：

(a)如請求項11之多核苷酸；

(b)如請求項12之載體；

(c)編碼如請求項1至9中任一項之抗體的重鏈可變區之分離之多核苷酸和編碼如請求項1至9中任一項之抗體的輕鏈可變區之分離之多核苷酸；或

(d)編碼如請求項1至9中任一項之抗體的重鏈之分離之多核苷酸和編碼如請求項1至9中任一項之抗體的輕鏈之分離之多核苷酸。

【請求項14】一種產生結合人類LAG-3之抗體的方

法，該方法包含培養重組宿主細胞，該重組宿主細胞包含：

(a)編碼如請求項1至9中任一項之抗體的重鏈可變區和輕鏈可變區或重鏈和輕鏈之多核苷酸；

(b)第一多核苷酸和第二多核苷酸，該第一多核苷酸編碼如請求項1至9中任一項之抗體的重鏈可變區或重鏈且該第二多核苷酸編碼如請求項1至9中任一項之抗體的輕鏈可變區或輕鏈；

(c)載體，其包含多核苷酸，該多核苷酸編碼如請求項1至9中任一項之抗體的重鏈可變區和輕鏈可變區或重鏈和輕鏈；或

(d)第一載體和第二載體，該第一載體包含第一多核苷酸且該第二載體包含第二多核苷酸，該第一多核苷酸編碼如請求項1至9中任一項之抗體的重鏈可變區或重鏈且該第二多核苷酸編碼如請求項1至9中任一項之抗體的輕鏈可變區或輕鏈；

由此產生該抗體。

【請求項15】一種特異性結合人類LAG-3之分離之抗體與額外治療劑之組合於製造藥物或套組之用途，該藥物或套組係用於治療個體之癌症，其中該抗體包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含互補決定區CDRH1、CDRH2及CDRH3且該輕鏈可變區包含互補決定區CDRL1、CDRL2及CDRL3，且其中：

(a) CDRH1包含SEQ ID NO: 79之胺基酸序列；

- (b) CDRH2包含SEQ ID NO: 90之胺基酸序列；
- (c) CDRH3包含SEQ ID NO: 95或98之胺基酸序列；
- (d) CDRL1包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列；
- (e) CDRL2包含SEQ ID NO: 104之胺基酸序列；且
- (f) CDRL3包含SEQ ID NO: 105之胺基酸序列。

【請求項16】一種特異性結合人類LAG-3之分離之抗體於製造藥物之用途，該藥物係用於治療個體之癌症，其中該抗體包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含互補決定區CDRH1、CDRH2及CDRH3且該輕鏈可變區包含互補決定區CDRL1、CDRL2及CDRL3，且其中：

- (a) CDRH1包含SEQ ID NO: 79之胺基酸序列；
- (b) CDRH2包含SEQ ID NO: 90之胺基酸序列；
- (c) CDRH3包含SEQ ID NO: 95或98之胺基酸序列；
- (d) CDRL1包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列；
- (e) CDRL2包含SEQ ID NO: 104之胺基酸序列；且
- (f) CDRL3包含SEQ ID NO: 105之胺基酸序列，

其中該藥物另包含額外治療劑。

【請求項17】如請求項15或16之用途，其中CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3包含SEQ ID NO: 79、90、98、100、104及105之胺基酸序列。

【請求項18】如請求項15或16之用途，其中該抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含選自由SEQ ID NO: 15、56至61、63至72及220組成之群之胺基酸序列。

【請求項19】如請求項15或16之用途，其中該抗體包

含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含選自由SEQ ID NO: 16、73至77及221組成之群之胺基酸序列。

【請求項20】如請求項15之用途，其中該抗體包含重鏈，該重鏈包含選自由SEQ ID NO: 168、169、170、176、178至186及225至227組成之群之胺基酸序列。

【請求項21】如請求項16之用途，其中該抗體包含重鏈，該重鏈包含選自由SEQ ID NO: 168、169、170、176、178至186及225至227組成之群之胺基酸序列。

【請求項22】如請求項15或16之用途，其中該抗體包含輕鏈，該輕鏈包含選自由SEQ ID NO: 187至191及228組成之群之胺基酸序列。

【請求項23】如請求項20或21之用途，其中該抗體包含輕鏈，該輕鏈包含選自由SEQ ID NO: 187至191及228組成之群之胺基酸序列。

【請求項24】如請求項15或16之用途，其中該重鏈可變區和該輕鏈可變區分別包含SEQ ID NO: 65和73；56和73；56和74；56和75；56和76；56和77；57和73；57和74；57和75；57和76；57和77；58和73；58和74；58和75；58和76；58和77；59和73；59和74；59和75；59和76；59和77；60和73；60和74；60和75；60和76；60和77；61和77；63和73；64和73；220和73；65和221；61和73；61和74；61和75；61和76；61和221；63和74；63和75；63和76；63和77；63和221；64和74；64和75；64和76；64和77；64和221；65和74；65和75；65和76；65和

77；65和221；66和74；66和75；66和76；66和77；66和221；67和74；67和75；67和76；67和77；67和221；68和74；68和75；68和76；68和77；68和221；69和74；69和75；69和76；69和77；69和221；70和74；70和75；70和76；70和77；70和221；71和74；71和75；71和76；71和77；71和221；72和74；72和75；72和76；72和77；72和221；220和74；220和75；220和76；220和77；220和221；66和73；67和73；68和73；69和73；70和73；71和73；或72和73之胺基酸序列。

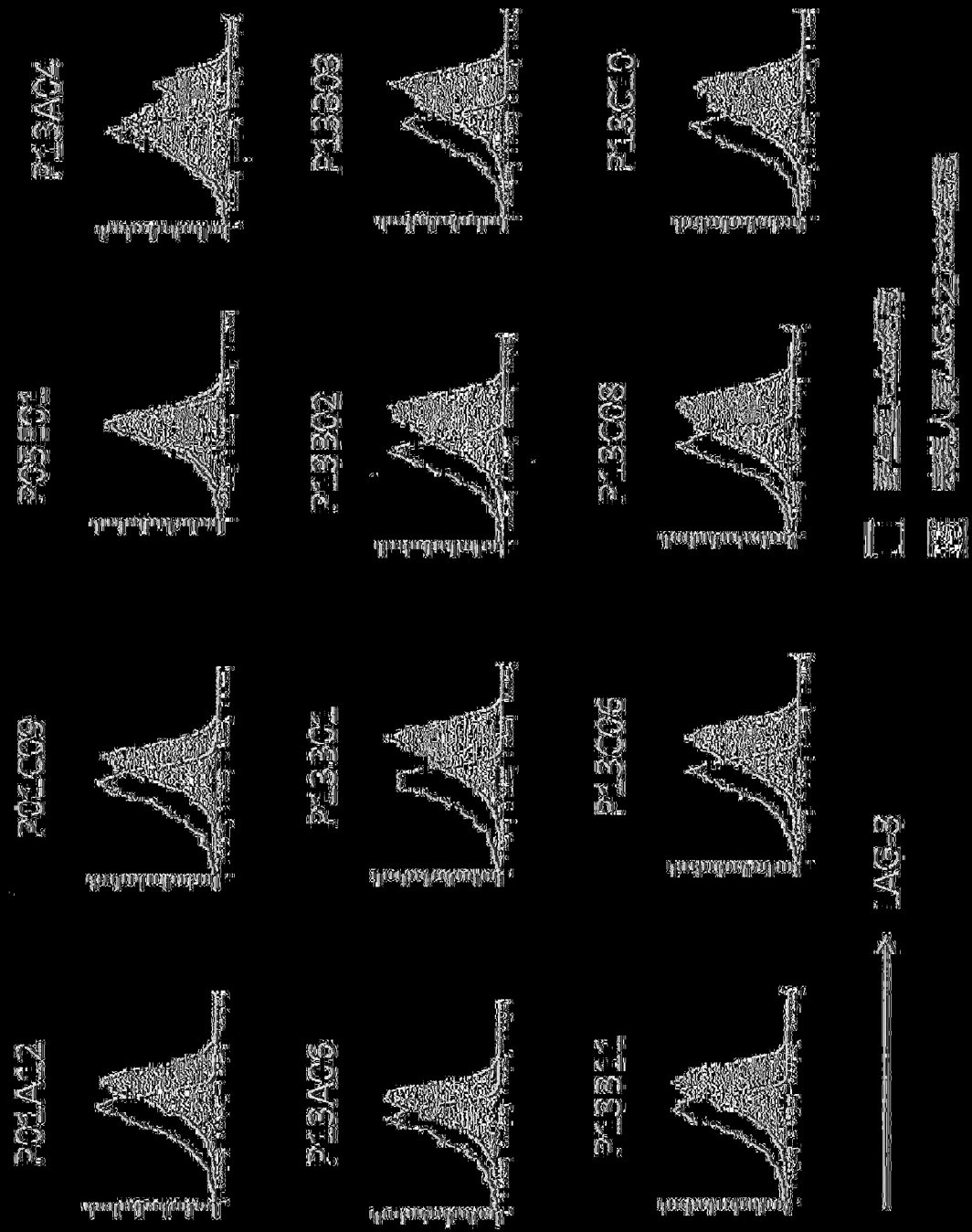
【請求項25】如請求項15或16之用途，其中該重鏈可變區和該輕鏈可變區分別包含SEQ ID NO: 65和73之胺基酸序列。

【請求項26】如請求項15或16之用途，其中該抗體包含重鏈和輕鏈，其中該重鏈和該輕鏈分別包含SEQ ID NO: 169和187；168和187；168和188；168和189；168和190；168和191；168和228；169和188；169和189；169和190；169和191；169和228；170和187；170和188；170和189；170和190；170和191；170和228；176和187；176和188；176和189；176和190；176和191；176和228；178和187；178和188；178和189；178和190；178和191；178和228；179和187；179和188；179和189；179和190；179和191；179和228；180和187；180和188；180和189；180和190；180和191；180和228；181和187；181和188；181和189；181和190；181和191；181和228；182和187；182和188；

182和189；182和190；182和191；182和228；183和187；
183和188；183和189；183和190；183和191；183和228；
184和187；184和188；184和189；184和190；184和191；
184和228；185和187；185和188；185和189；185和190；
185和191；185和228；186和187；186和188；186和189；
186和190；186和191；186和228；225和187；225和188；
225和189；225和190；225和191；225和228；226和187；
226和188；226和189；226和190；226和191；226和228；
227和187；227和188；227和189；227和190；227和191；
或227和228之胺基酸序列。

【請求項27】如請求項15或16之用途，其中該抗體包含重鏈和輕鏈，其中該重鏈和該輕鏈分別包含SEQ ID NO: 169和187之胺基酸序列。

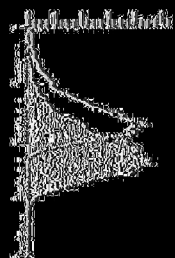
圖 1A



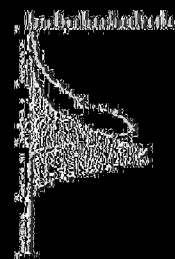
發明圖式

3

P13D04



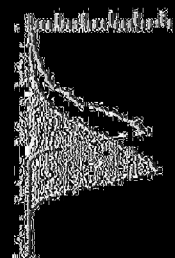
P13D05



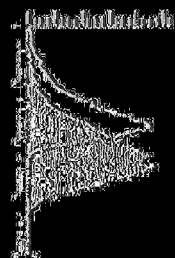
P13E02



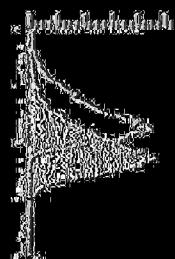
P13F01



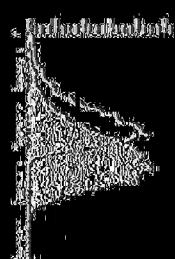
P13F02



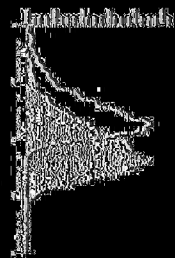
P13F06



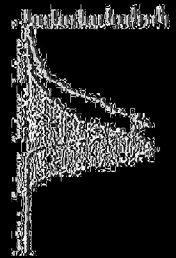
P13F09



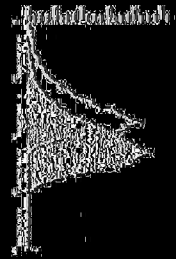
P13G01



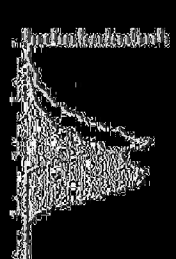
P13G04



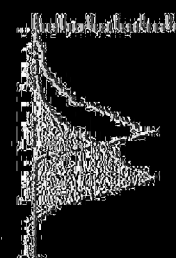
P13G05



P13H05



P14A04



AG-3

AG-3

0

0

0

圖 2A

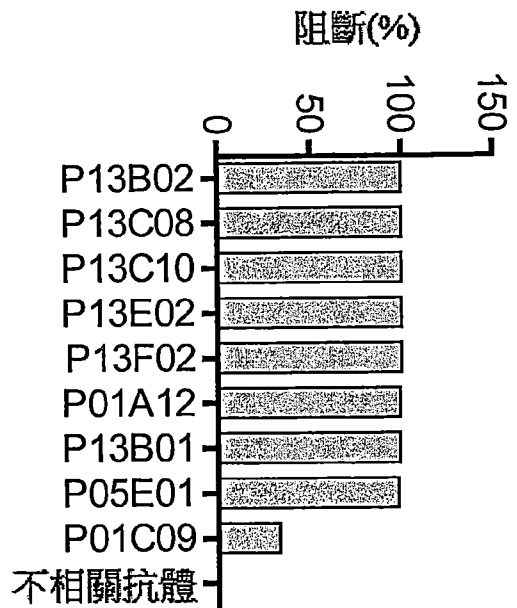


圖 2B

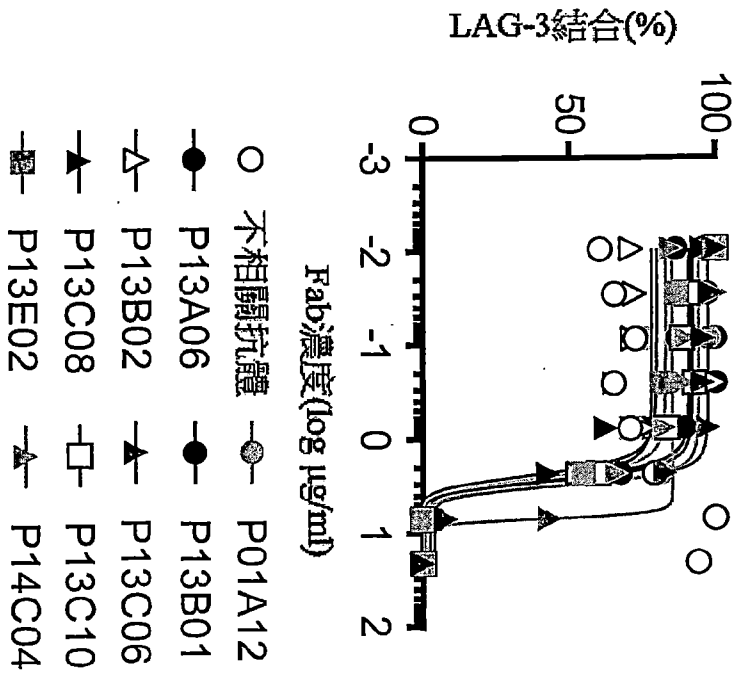


圖 3

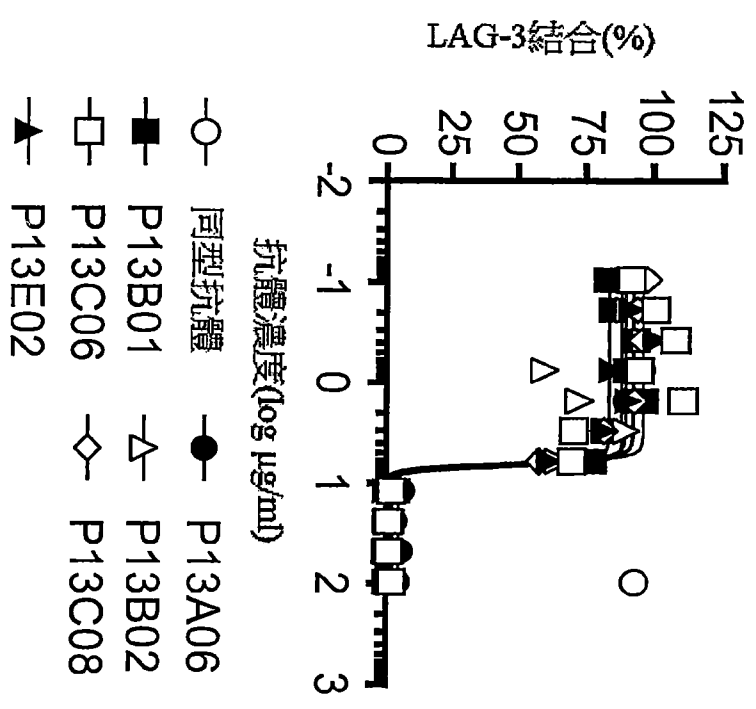
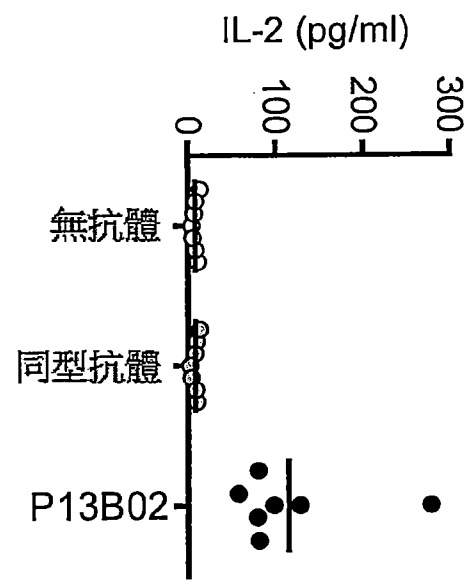


圖 4



	10	20	30	40	50	60	70
H0	.	.	.	.	.	.	.
H1	.	.	.	.	.	.	.
H2	.	.	.	.	.	.	.
H3	MK.	.	T.	.	.	.	I
H4	MK.	V.	T.	.	I.	.	I
P13B02 VH	MK.	LV.	L.T.	K.R.E.	I.	KA.I	.
IGHV1-46*01	.	.	YTFSTY.M.	.	I.N.SGGS.S.AQ.	.	.
IGHJ1*01	-	-	-	-	-	-	-

	80	90	100	110	120	
H0	TRDTSSTVYMEISSRSED	TAVYYCARYRRYDVGGED	YMGQGLTVTSS	(SEQ ID NO: 56)		
H1	A.....	T.....		(SEQ ID NO: 57)		
H2	A..SN.....	T.....		(SEQ ID NO: 58)		
H3	A..SN.....	T.....		(SEQ ID NO: 59)		
H4	A..SN..LQ.....	T.....		(SEQ ID NO: 60)		
P13B02 VH	A..SN.A.LQ....T.....	TL..-		(SEQ ID NO: 15)		
IGHV1-46*01		-----		(SEQ ID NO: 153)		
IGHJ1*01	-----	AEY.QH.....		(SEQ ID NO: 200)		

圖 5B

	10	20	30	40	50	60
L0	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSNLT HWYQOKPGAPRLITYGTSNLTASGIP					
L1						
L2	..L.....F.....					
L3	..L.....F.....W.....V.....					
L4	..L.....T.....F.....S.....W.....V.....					
P13B02 VL	..L.....ALMAA.....KV.IT.....F.....S.TS.K.W.....V.....					
IGKV3-20*01	RA.Q.V.....Y.A.....A.SR.T.....					
IGKJ1*01	-----					

	70	80	90	100	
L0					(SEQ ID NO: 73)
L1	DRFSGSGGTFDFTLTISRLEPEDFAVYYCQOMSSYPFTEGGQIKVEIK				(SEQ ID NO: 74)
L2	SY.....				(SEQ ID NO: 75)
L3	SY.....				(SEQ ID NO: 76)
L4	SY.....				(SEQ ID NO: 77)
P13B02 VL	V.....SYS.....SM.A.A.T.....S.....L.....				(SEQ ID NO: 16)
IGKV3-20*01	YG.S.....				(SEQ ID NO: 160)
IGKJ1*01	-----W.....				(SEQ ID NO: 201)

圖 6A

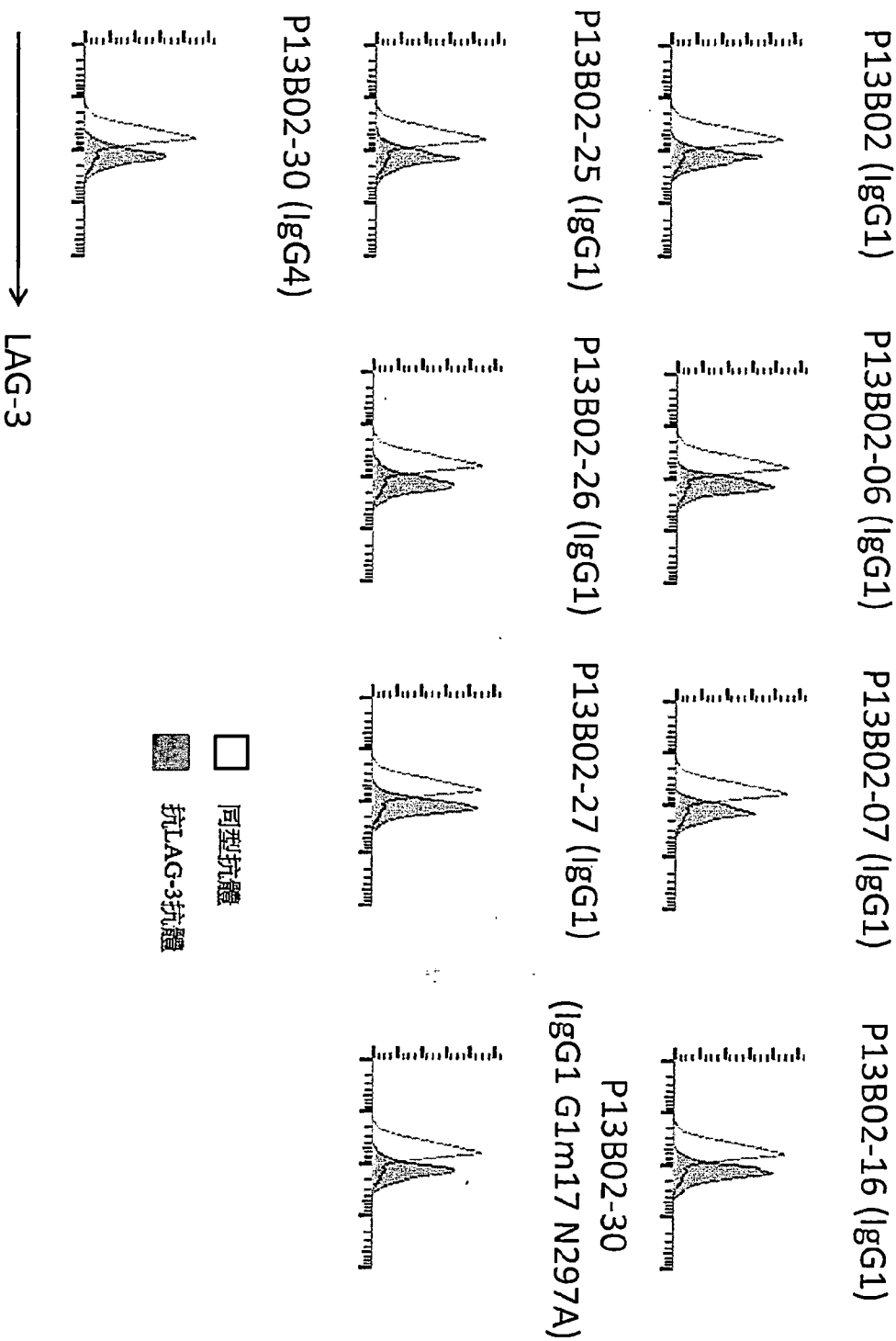


圖 6B

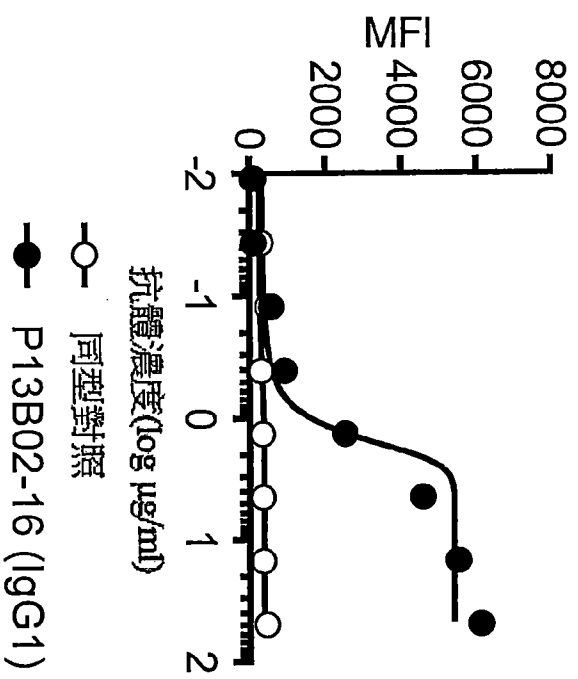


圖 7A

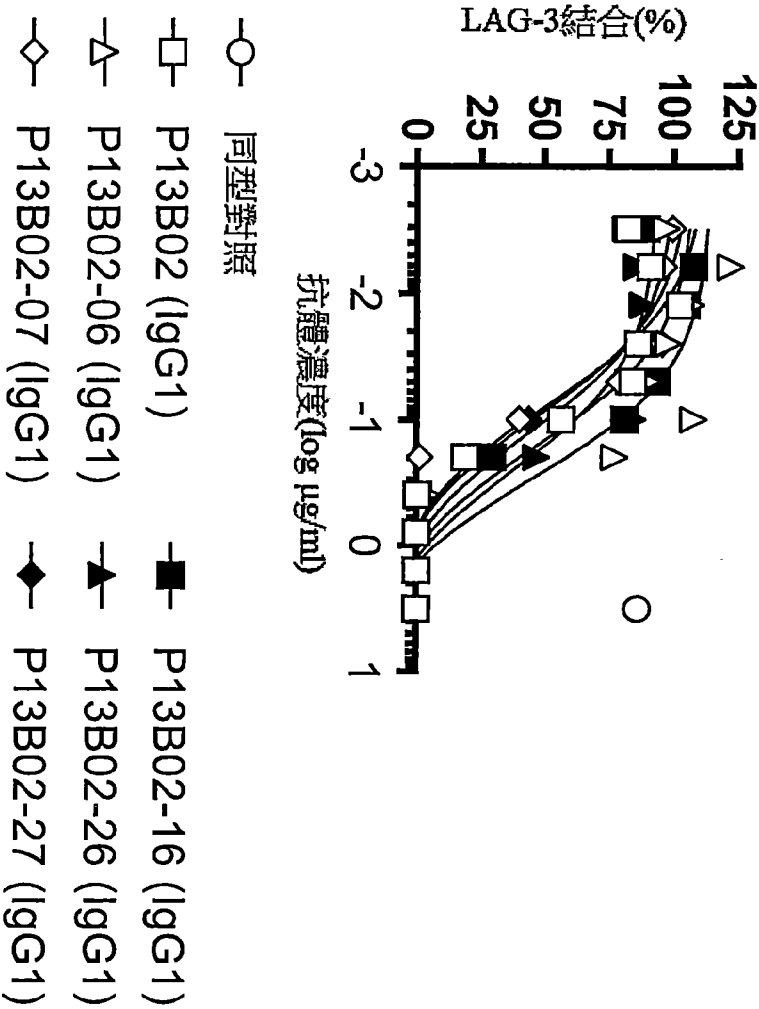


圖 7B

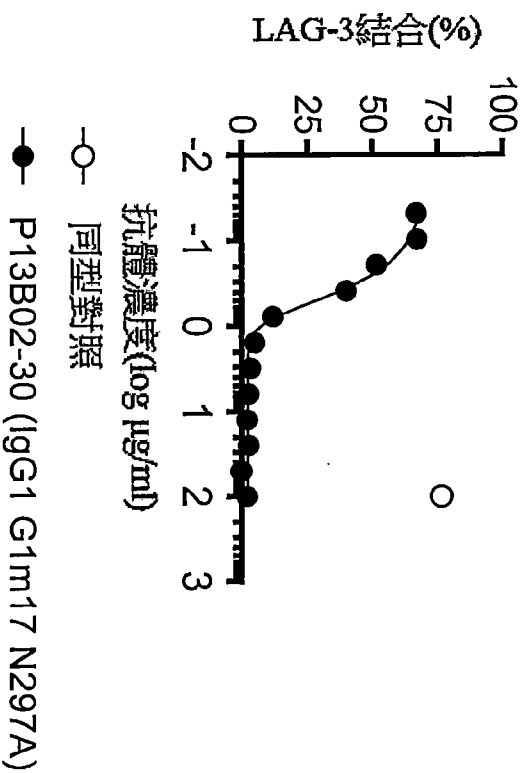
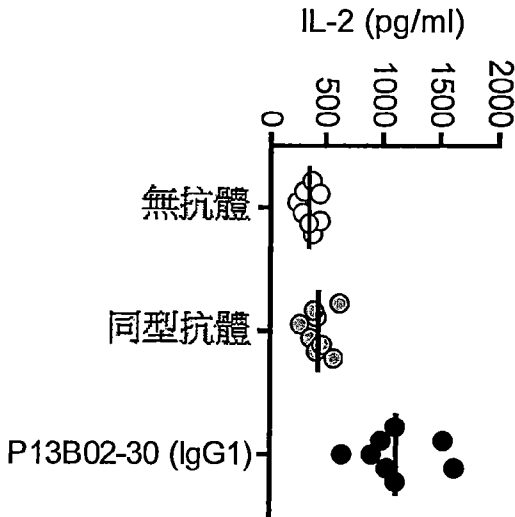


圖 8A



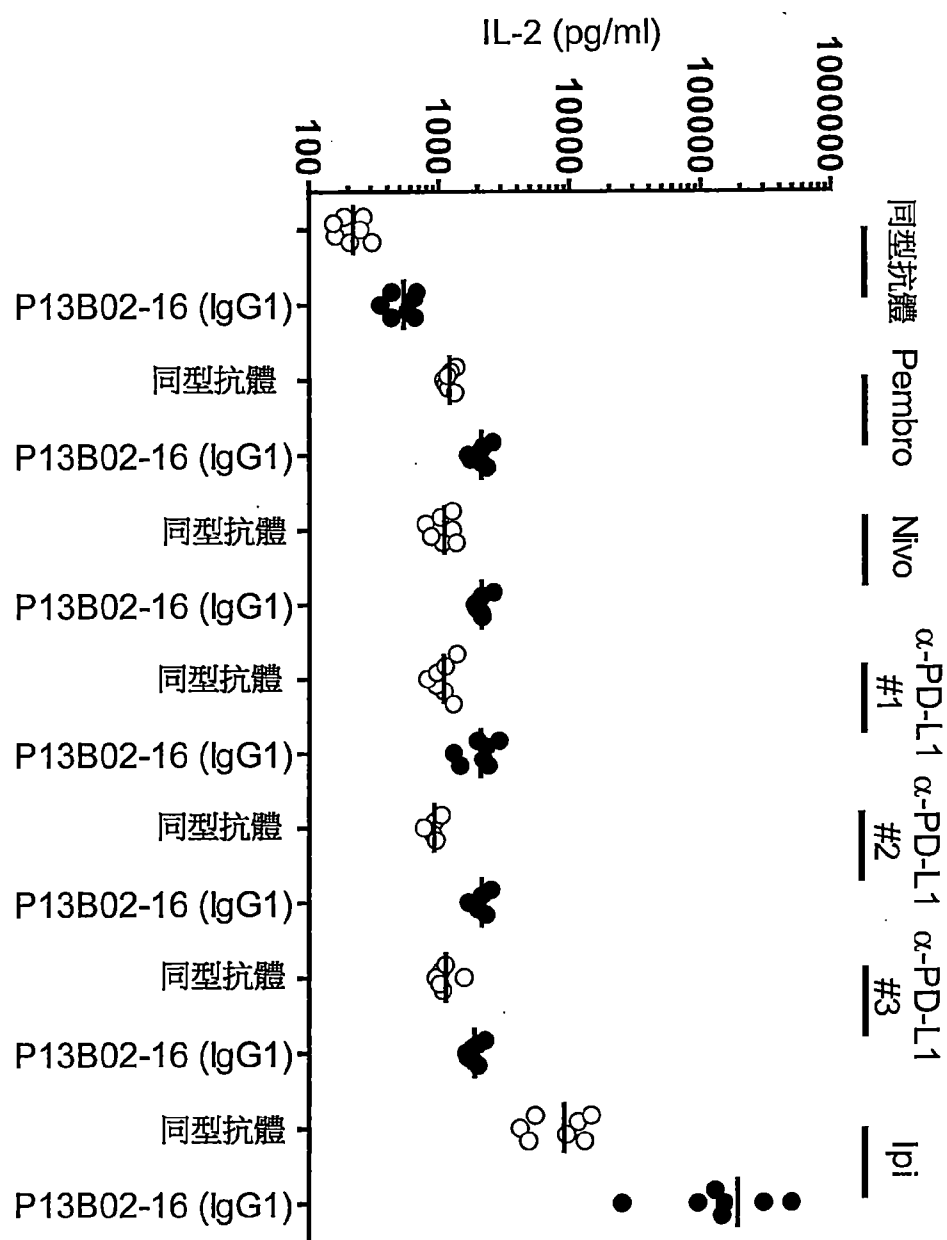


圖 9A

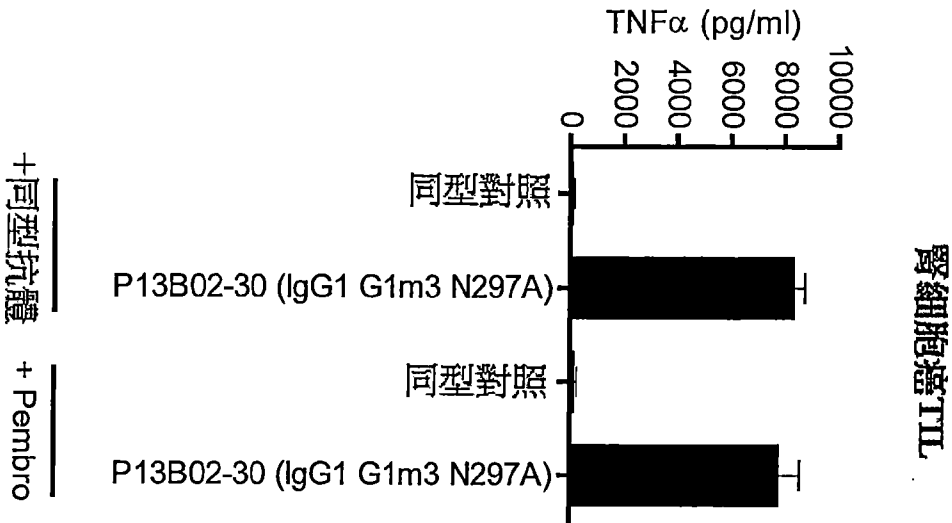


圖 9B

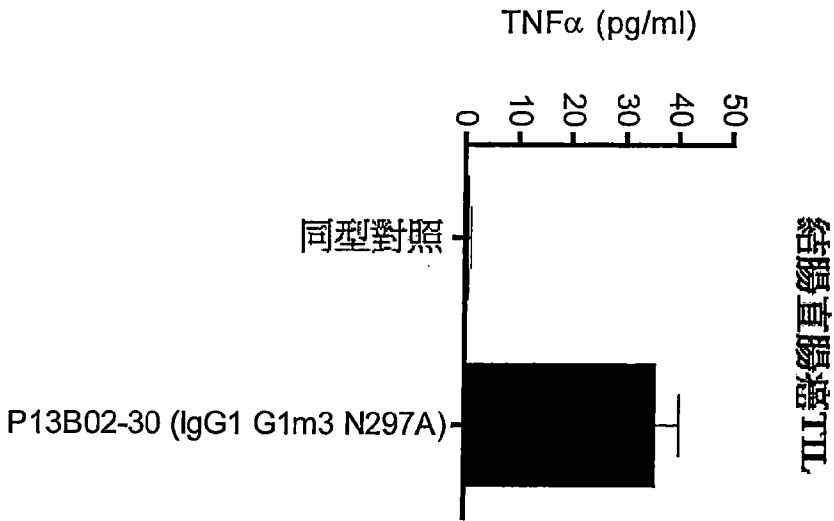


圖 10A

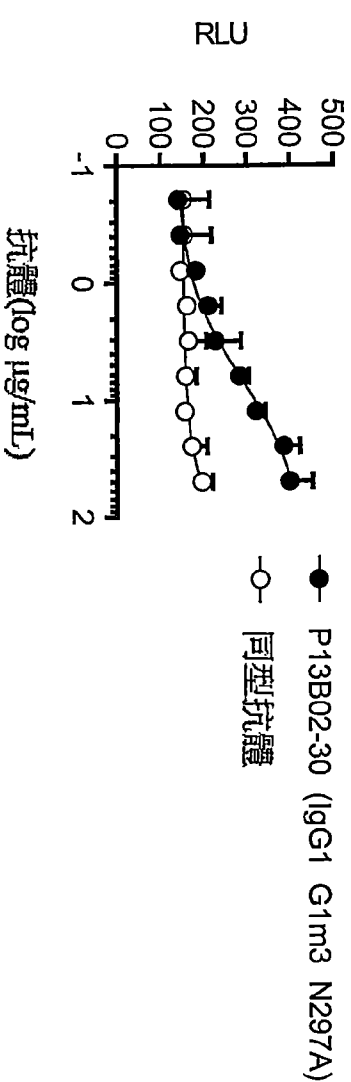


圖 10B

