

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7027401号
(P7027401)

(45)発行日 令和4年3月1日(2022.3.1)

(24)登録日 令和4年2月18日(2022.2.18)

(51)国際特許分類

C 1 2 N	15/13 (2006.01)	F I	C 1 2 N	15/13	Z N A
C 0 7 K	16/28 (2006.01)		C 0 7 K	16/28	
C 0 7 K	16/46 (2006.01)		C 0 7 K	16/46	
C 1 2 N	15/63 (2006.01)		C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	1/19 (2006.01)		C 1 2 N	1/19	

請求項の数 18 (全208頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-501658(P2019-501658)
 (86)(22)出願日 平成29年7月13日(2017.7.13)
 (65)公表番号 特表2019-533981(P2019-533981
 A)
 (43)公表日 令和1年11月28日(2019.11.28)
 (86)国際出願番号 PCT/US2017/041946
 (87)国際公開番号 WO2018/013818
 (87)国際公開日 平成30年1月18日(2018.1.18)
 審査請求日 令和2年7月13日(2020.7.13)
 (31)優先権主張番号 62/362,541
 (32)優先日 平成28年7月14日(2016.7.14)
 (33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)
 (31)優先権主張番号 62/459,499
 (32)優先日 平成29年2月15日(2017.2.15)
 最終頁に続く

(73)特許権者 391015708
 ブリストル -マイヤーズ スクイブ カン
 パニー
 B R I S T O L - M Y E R S S Q U I
 B B C O M P A N Y
 アメリカ合衆国 0 8 5 4 3 ニュージャー
 ジー州 プリンストン、ルート 2 0 6 ア
 ンド・プロビンス・ライン・ロード
 (74)代理人 100145403
 弁理士 山尾 憲人
 (74)代理人 100122301
 弁理士 富田 憲史
 (74)代理人 100157956
 弁理士 稲井 史生
 (74)代理人 100170520

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 T I M 3 に対する抗体およびその使用

(57)【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

ヒト T I M 3 と結合する単離された抗体であって、配列番号 4 1 に示すアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1、配列番号 1 2 2 に示すアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2、配列番号 1 2 6 に示すアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3、配列番号 6 4 に示すアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1、配列番号 6 6 に示すアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2、および配列番号 6 8 に示すアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 を含む抗体。

【請求項 2】

重鎖可変領域 (H V) および軽鎖可変領域 (L V) を含む請求項 1 に記載の抗体であって、 H V が配列番号 3 6 4 に示すアミノ酸配列を含み、 L V が配列番号 6 0 に示すアミノ酸配列を含むものである、抗体。

【請求項 3】

請求項 1 または 2 に記載の抗体であって、 I g G 1、 I g G 2、 I g G 3、 I g G 4 およびそれらの変異体からなる群から選択される、抗体。

【請求項 4】

エフェクターレス I g G 1 F c を含む、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 5】

重鎖および軽鎖を含む請求項 1 に記載の抗体であって、重鎖が配列番号 3 4 9 に示すアミノ酸配列を含み、軽鎖が配列番号 2 9 に示すアミノ酸配列を含む、抗体。

【請求項 6】

重鎖および軽鎖を含む請求項 1 に記載の抗体であって、重鎖が配列番号 351 に示すアミノ酸配列を含み、軽鎖が配列番号 29 に示すアミノ酸配列を含む、抗体。

【請求項 7】

重鎖および軽鎖を含む請求項 1 に記載の抗体であって、重鎖が配列番号 353 に示すアミノ酸配列を含み、軽鎖が配列番号 29 に示すアミノ酸配列を含む、抗体。

【請求項 8】

重鎖および軽鎖を含む請求項 1 に記載の抗体であって、重鎖が配列番号 350 に示すアミノ酸配列を含み、軽鎖が配列番号 29 に示すアミノ酸配列を含む、抗体。

【請求項 9】

重鎖および軽鎖を含む請求項 1 に記載の抗体であって、重鎖が配列番号 352 に示すアミノ酸配列を含み、軽鎖が配列番号 29 に示すアミノ酸配列を含む、抗体。

10

【請求項 10】

重鎖および軽鎖を含む請求項 1 に記載の抗体であって、重鎖が配列番号 354 に示すアミノ酸配列を含み、軽鎖が配列番号 29 に示すアミノ酸配列を含む、抗体。

【請求項 11】

請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の抗体をコードする、核酸。

【請求項 12】

請求項 11 に記載の核酸分子を含む、発現ベクター。

【請求項 13】

請求項 12 に記載の発現ベクターを用いて形質転換された、細胞。

20

【請求項 14】

がんの処置を必要とする対象におけるがんの処置のための、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 15】

がんが、膀胱がん、乳がん、子宮がん／子宮頸がん、卵巣がん、前立腺がん、精巣がん、食道がん、胃腸がん、膵臓がん、結腸直腸がん、結腸がん、腎臓がん、頭頸部がん、肺がん、胃がん、生殖細胞がん、骨がん、肝臓がん、甲状腺がん、皮膚がん、中枢神経系の新生物、リンパ腫、白血病、骨髄腫、肉腫およびウイルス関連のがんからなる群から選択される、請求項 14 に記載の抗体。

【請求項 16】

がんが、扁平上皮がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、扁平非小細胞肺がん (NSCLC) および非扁平 NSCLC、神経膠腫、胃腸がん、腎がん (例えば、明細胞がん)、卵巣がん、肝臓がん、結腸直腸がん、子宮内膜がん、腎臓がん (例えば、腎細胞がん (RCC))、前立腺がん (例えば、ホルモン難治性前立腺がん)、甲状腺がん、神経芽細胞腫、膵臓がん、神経膠芽腫 (神経膠芽腫多形)、子宮頸がん、胃がん、膀胱がん、肝細胞腫、乳がん、結腸がん腫および頭頸部がん (またはがん腫)、胃がん (gastric cancer)、生殖細胞腫瘍、小児肉腫、副鼻腔ナチュラルキラー、黒色腫 (例えば、皮膚または眼球内悪性黒色腫などの転移性悪性黒色腫)、骨がん、皮膚がん、子宮がん、肛門領域のがん、精巣がん、卵管のがん腫、子宮内膜のがん腫、子宮頸部のがん腫、膵のがん腫、外陰部のがん腫、食道のがん、小腸のがん、内分泌系のがん、上皮小体腺のがん、副腎のがん、柔組織の肉腫、尿道のがん、陰茎のがん、小児の固形腫瘍、尿管のがん、腎孟のがん腫、中枢神経系 (CNS) の新生物、原発性 CNS リンパ腫、腫瘍血管新生、脊髄の軸の腫瘍、脳のがん、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、カポジ肉腫、類表皮がん、扁平上皮がん、T 細胞リンパ腫、アスペストによって誘導されるものを含めた環境誘導性がん、ウイルス関連がんまたはウイルス起源のがん (例えば、ヒトパピローマウイルス (HPV) 関連もしくは起源の腫瘍)) および 2 種の主要な血液細胞系統のいずれか、すなわち、骨髄系細胞株 (顆粒球、赤血球、血小板、マクロファージおよび肥満細胞を産生する) またはリンパ球系細胞株 (B、T、NK および形質細胞を産生する) に由来する血液悪性腫瘍、例えば、全ての種類の白血病、リンパ腫および骨髄腫、例えば、急性白血病 (ALL)、急性骨髓性白血病 (AML)、慢性リンパ性白血病 (CLL) および慢性骨髓性白血病 (CML)、

30

40

50

未分化 A M L (M 0) 、骨髓芽球性白血病 (M 1) 、骨髓芽球性白血病 (M 2 ; 細胞成熟を伴う) 、前骨髓球性白血病 (M 3 または M 3 变異体 [M 3 V]) 、骨髓单球性白血病 (M 4 または好酸球增加症を伴う M 4 变異体 [M 4 E]) 、单球性白血病 (M 5) 、赤白血病 (M 6) 、巨核芽球性白血病 (M 7) 、单離された顆粒球性肉腫および緑色腫などの急性、慢性、リンパ性および / または骨髓性白血病；ホジキンリンパ腫 (H L) 、非ホジキンリンパ腫 (N H L) 、 B 細胞血液悪性腫瘍、例えば、 B 細胞リンパ腫、 T 細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、单球様 B 細胞リンパ腫、粘膜関連リンパ球系組織 (M A L T) リンパ腫、未分化 (例えば、 K i - 1 +) 大細胞型リンパ腫、成人 T 細胞リンパ腫 / 白血病、マントル細胞リンパ腫、血管免疫芽細胞性 T 細胞リンパ腫、血管中心性リンパ腫、腸管 T 細胞リンパ腫、原発性縦隔 B 細胞リンパ腫、前駆体 T リンパ芽球性リンパ腫、 T リンパ芽球性およびリンパ腫 / 白血病 (T - L b l y / T - A L L) 、末梢 T 細胞リンパ腫、リンパ芽球性リンパ腫、移植後リンパ増殖性障害、真性組織球性リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、 B 細胞リンパ腫、リンパ芽球性リンパ腫 (L B L) 、リンパ球系統の造血器腫瘍、急性リンパ性白血病、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫、濾胞性リンパ腫、びまん性組織球性リンパ腫 (D H L) 、免疫芽球性大細胞型リンパ腫、前駆体 B リンパ芽球性リンパ腫、皮膚 T 細胞リンパ腫 (C T L C) (菌状息肉症またはセザリー症候群とも呼ばれる) およびワルデンストレーム高ガンマグロブリン血症を伴うリンパ形質細胞性リンパ腫 (L P L) などのリンパ腫； I g G 骨髓腫、軽鎖骨髓腫、非分泌性骨髓腫、くすぶり型骨髓腫 (低悪性度骨髓腫とも呼ばれる) 、孤立性形質細胞腫および多発性骨髓腫、慢性リンパ性白血病 (C L L) 、ヘアリー細胞リンパ腫などの骨髓腫；骨髓系統の造血器腫瘍、線維肉腫および横紋筋肉腫 (rhabdomyoscaroma) を含めた間葉系起源の腫瘍；セミノーマ、奇形がん腫、星状細胞腫、シュワン腫を含めた中枢および末梢神経の腫瘍；線維肉腫、横紋筋肉腫 (rhabdomyoscaroma) および骨肉腫を含めた間葉系起源の腫瘍；ならびに黑色腫、色素性乾皮症、ケラトアカントーマ、セミノーマ、甲状腺濾胞性がんおよび奇形がん腫を含めたその他の腫瘍、リンパ球系統の造血器腫瘍、例えば、それだけには限らないが、小細胞および大脳様細胞型を含めた T 前リンパ球性白血病 (T - P L L) などの T 細胞障害を含めた T 細胞および B 細胞腫瘍； T 細胞型の大顆粒リンパ球性白血病 (L G L) ； a / d T - N H L 肝脾リンパ腫；末梢 / 成熟 T 細胞リンパ腫 (多形性および免疫芽球性亜種) ；血管中心性 (鼻腔の) T 細胞リンパ腫；頭頸部のがん、腎がん、直腸がん、甲状腺のがん；急性骨髓系リンパ腫ならびに前記のがんの任意の組合せからなる群から選択される、請求項 1 4 または 1 5 に記載の抗体。

【請求項 1 7】

1 以上の追加の治療薬との組み合わせ投与に適したものである、請求項 1 4 から 1 6 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 1 8】

1 以上の追加の治療薬が、抗 P D - 1 抗体、抗 L A G - 3 抗体、抗 C T L A - 4 抗体、抗 G I T R 抗体、または抗 P D - L 1 抗体である、請求項 1 7 に記載の抗体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【 0 0 0 1 】

関連出願の相互参照

本出願は、2016年7月14日に出願された米国仮出願第 6 2 / 3 6 2 , 5 4 1 号および 2017年2月15日に出願された同第 6 2 / 4 5 9 , 4 9 9 号の優先権を主張し、これらのそれぞれは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 0 0 2 】

E F S - W E B を介して電子的に提出された配列表の参照

本出願とともに出願された、電子的に提出された A S C I I テキストファイルの配列表 (名称 : 3338_052PC02_SeqListing.txt 、サイズ : 7 7 9 , 8 3 7 バイト、および作成日 : 2017 年 7 月 10 日) の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

10

20

30

40

50

【背景技術】**【0003】**

A型肝炎ウイルス細胞受容体2(HAVCR2)としても知られているT細胞免疫グロブリンおよびムチンドメイン含有3(TIM3)は、免疫応答の重要な制御因子としての機能を果たす、I型膜貫通タンパク質である。TIM3は、当初、活性化されたINF-産生T細胞(例えば、1型ヘルパーCD4⁺T細胞および細胞傷害性CD8⁺T細胞)において同定され、ガレクチン-9と結合した後に、T細胞の死または疲弊を誘導することが示されていた。より最近の研究では、TIM3の発現が、多くの先天的免疫細胞(例えば、マクロファージ、単球、樹状細胞、肥満細胞およびナチュラルキラー細胞)の活性を制御することにも重要であることが示されている。Han G et al., *Front Immunol.* 4: 449 (2013)を参照のこと。

10

【0004】

多くの阻害性受容体(例えば、PD-1およびCTLA-4)と同様に、TIM3の発現は、がんを含む、多数の種類の慢性疾患と関連付けられている。TIM3⁺T細胞は、進行性黒色腫、非小細胞肺がん、または濾胞性B細胞非ホジキンリンパ腫を有する患者において検出されている。そして、TIM3⁺制御性T細胞の存在は、肺がん進行の有効な指標としても示されている。Anderson AC. *Cancer Immunol Res.* 2: 393-8 (2014)を参照のこと。

20

【0005】

TIM3のいくつかの潜在的なリガンドが同定されている:ガレクチン-9、HMGB1、セマフォリン-4A、CEACAM-1、ILT-4、およびホスファチジルセリン(PtdSerまたはPS)。PSは、重要な細胞膜成分であり、通常、細胞膜の内葉に局在化している。しかしながら、細胞がアポトーシスを受けると、PSは、再分配され、外側の膜に露出される。この再分配は、多数の腫瘍細胞株においても観察されている。Riedl S et al., *Biochim Biophys Acta.* 1808: 2638-2645 (2011)を参照のこと。TIM3のPSとの結合は、ファゴサイトーシスおよび交差提示に極めて重要であり得る。Nakayama M et al., *Blood.* 113: 3821-30 (2009)を参照のこと。

20

【0006】

研究により、TIM3と阻害性受容体PD-1との間の緊密な関係性が示されている。例えば、多くの腫瘍特異的T細胞は、PD-1およびTIM3の両方を発現し、これらのT細胞は、PD-1のみまたはTIM3のみを発現するT細胞と比較して、より機能不全であることが示されている。Fourcade J et al., *J Exp Med.* 207: 2175-2186 (2010)を参照のこと。

30

【発明の概要】**【発明が解決しようとする課題】****【0007】**

したがって、TIM3を標的とする薬剤およびそのような薬剤を使用する方法は、新しいがんの免疫療法を設計し、従来的ながんの免疫療法を改善するために高度に望ましい。

【課題を解決するための手段】**【0008】**

TIM3と特異的に結合し、望ましい機能的特性を有する、単離された抗体、例えば、モノクローナル抗体、特に、ヒト(例えば、モノクローナル)抗体が、本明細書において提供される。これらの特性としては、例えば、ヒトTIM3と高親和性で結合すること、サルTIM3(例えば、カニクイザルTIM3)と結合すること、および免疫応答、例えば、抗原特異的T細胞応答を、例えば、腫瘍担持またはウイルス担持(ウイルス感染)対象において刺激する能力、ならびにサンプルにおけるTIM3タンパク質を検出することが挙げられる。

40

【0009】

一態様では、TIM3と結合する、単離された抗体またはその抗原結合部分は、以下の特性:

50

- (a) 可溶性および／もしくは膜結合型ヒトT I M 3と結合すること、
 (b) 可溶性および／もしくは膜結合型カニクイザルT I M 3と結合すること、
 (c) 免疫応答を誘導もしくは刺激すること、
 (d) T細胞活性化、例えば、T h 1細胞活性化（例えば、サイトカイン分泌および／もしくは増殖の増強によって明らかに）を誘導もしくは刺激すること、
 (e) 例えば、共培養アッセイ、例えば、実施例に記載されるものにおいて、T細胞増殖（例えば、C D 4 +、C D 8 + T細胞、T h 1細胞もしくはT I L）を誘導もしくは刺激すること、
 (f) 例えば、実施例に記載されるアッセイにおいて判定される場合、T細胞、例えば、T h 1細胞もしくは腫瘍浸潤リンパ球（T I L）、例えば、ヒト腎臓、肺、膵臓もしくは乳がん腫瘍からのT I LによるI F N - 産生を誘導もしくは刺激すること、
 (g) 例えば、実施例に記載されるアッセイにおいて判定される場合、ヒトT I M 3のP t d S e rとの結合を遮断もしくは阻害すること、
 (h) 細胞上のT I M 3と結合したときに、細胞表面T I M 3を内部移行もしくは下方制御しないこと、
 (i) ヒトT I M 3細胞外ドメイン（a）CPVFECG（配列番号296）、（b）RIQIPGIMND（配列番号298）、（c）CPVFECGおよびRIQIPGIMND（それぞれ配列番号296および298）、もしくは（d）WTSRYWLNGDFR（配列番号297）と結合すること、
 (j) 例えば、実施例に記載されるアッセイにおいて判定される場合、本明細書に記載されるT I M 3と結合する抗体（例えば、13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、もしくはT I M 3.2からT I M 3.18のいずれか）のヒトT I M 3との結合と、競合するかまたはそれを交差遮断すること、
 (k) ヒトT I M 3と結合するが、配列番号286（図20）において番号付けされる場合、以下のアミノ酸残基：L 4 8、C 5 8、P 5 9、V 6 0、F 6 1、E 6 2、C 6 3、G 6 4、W 7 8、S 8 0、R 8 1、W 8 3、L 8 4、G 8 6、D 8 7、R 8 9、D 1 0 4、R 1 1 1、Q 1 1 3、G 1 1 6、M 1 1 8およびD 1 2 0の1つもしくは複数のアミノ酸置換を有するヒトT I M 3とは結合しないこと、
 (l) H D X - M Sによって判定される場合、ヒトT I M 3領域49VPVCWGKGACPVFE62（配列番号367）、111RIQIPGIMNDEKFLKL127（配列番号368）、および119NDEKFLKL127（配列番号373）と結合すること、
 (m) X線結晶構造解析によって判定される場合、ヒトT I M 3の以下のアミノ酸：P 5 0、V 5 1、C 5 2、P 5 9、V 6 0、F 6 1、E 6 2、C 6 3、G 6 4、N 6 5、V 6 6、V 6 7、L 6 8、R 6 9、D 7 1、E 7 2、D 7 4、R 1 1 1、Q 1 1 3、G 1 1 6、I 1 1 7、M 1 1 8、D 1 2 0、ならびに適宜T 7 0および／もしくはI 1 1 2のうちの少なくとも5個、10個、15個、20個もしくは全てと相互作用する、重鎖および／もしくは軽鎖可変領域を有すること、ならびに／または
 (n) 例えば、実施例に記載されるように、13A3もしくはT I M 3.18.I g G 1.3のヒトT I M 3との結合と競合するかもしくはそれを交差遮断すること、の少なくとも1つを示す。

【0010】

特定の実施形態では、抗T I M 3抗体またはその抗原結合部分は、抗腫瘍免疫応答、例えば、抗原特異的T細胞応答を刺激する。他の実施形態では、抗T I M 3抗体またはその抗原結合部分は、T I M 3を発現するT細胞におけるサイトカイン産生（例えば、I F N - ）を増大させる、および／またはT細胞増殖を増大させる。いくつかの実施形態では、抗T I M 3抗体またはその抗原結合部分は、F c受容体と結合しない。

【0011】

特定の実施形態では、抗T I M 3抗体またはその抗原結合部分は、B i a c o r eによって測定される場合、10nM以下のK Dで、可溶性ヒトT I M 3と結合し、スキヤッチャード法によって測定される場合、1nM以下のK Dで、膜結合型ヒトT I M 3と結合し、

10

20

30

40

50

B i a c o r eによって測定される場合、100nM以下のK_Dで、可溶性カニクイザルT I M 3と結合し、フローサイトメトリーによって測定される場合、1μg / mL以下のE C 5 0で、膜結合型ヒトT I M 3と結合し、フローサイトメトリーによって測定される場合、0.1μg / mL以下のE C 5 0で、膜結合型ヒトT I M 3と結合し、フローサイトメトリーによって測定される場合、1μg / mL以下のE C 5 0で、膜結合型カニクイザルT I M 3と結合し、スキヤッチャード法によって測定される場合、1nM以下のK_Dで、膜結合型カニクイザルT I M - 3と結合する。

【 0 0 1 2 】

ヒトT I M 3と結合し、重鎖C D R 1、C D R 2およびC D R 3ならびに軽鎖C D R 1、C D R 2およびC D R 3を含む、単離された抗体またはその抗原結合部分であって、重鎖C D R 3が、配列番号53、配列番号54、配列番号55、配列番号56、配列番号57、配列番号58、配列番号59、配列番号126、配列番号127、配列番号128および配列番号129からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、単離された抗体またはその抗原結合部分が、本明細書において提供される。10

【 0 0 1 3 】

特定の実施形態では、重鎖C D R 1は、X 1、X 2、X 3、X 4、Y、X 5およびX 6を含み、ここで、X 1は、Sまたは不在であり、X 2は、Rまたは不在であり、X 3は、S、RまたはDであり、X 4は、YまたはHであり、X 5は、WまたはMであり、X 6は、G、N、SまたはHである。他の実施形態では、重鎖C D R 1は、X 1、Y、Y、MおよびX 2を含み、ここで、X 1は、SまたはDであり、X 2は、HまたはSである。いくつかの実施形態では、重鎖C D R 1は、R、X 1、Y、WおよびX 2を含み、ここで、X 1は、HまたはYであり、X 2は、NまたはSである。20

【 0 0 1 4 】

一実施形態では、重鎖C D R 2は、X 1、I、X 2、X 3、X 4、G、X 5、X 6、X 7、X 8、Y、X 9、X 10、X 11、X 12、X 13およびX 14を含み、ここで、X 1は、S、Y、IまたはFであり、X 2は、Y、H、NまたはSであり、X 3は、Y、P、G、TまたはSであり、X 4は、S、T、RまたはGであり、X 5は、F、SまたはDであり、X 6は、S、TまたはIであり、X 7は、Iまたは不在であり、X 8は、Y、NまたはIであり、X 9は、N、Q、SまたはAであり、X 10は、P、S、QまたはDであり、X 11は、SまたはKであり、X 12は、L、FまたはVであり、X 13は、KまたはQであり、X 14は、SまたはGである。別の実施形態では、重鎖C D R 2は、Y、I、H、Y、X 1、G、S、T、N、Y、N、X 2、S、L、KおよびSを含み、ここで、X 1は、SまたはTであり、X 2は、SまたはPである。いくつかの実施形態では、重鎖C D R 2は、F、I、S、X 1、X 2、G、S、X 3、I、Y、Y、A、D、S、V、KおよびGを含み、ここで、X 1は、G、TまたはSであり、X 2は、GまたはSであり、X 3は、TまたはIである。他の実施形態では、重鎖C D R 2は、I、I、N、P、R、G、D、S、I、I、Y、A、Q、K、F、QおよびGを含む。30

【 0 0 1 5 】

特定の実施形態では、抗T I M 3抗体またはその抗原結合部分は、配列番号64もしくは配列番号65を含む軽鎖C D R 1、配列番号66もしくは配列番号67を含む軽鎖C D R 2および/または配列番号68、配列番号69、配列番号70もしくは配列番号71を含む軽鎖C D R 3を含む。40

【 0 0 1 6 】

ヒトT I M 3と結合し、重鎖C D R 1、C D R 2およびC D R 3ならびに軽鎖C D R 1、C D R 2およびC D R 3を含む、単離された抗体またはその抗原結合部分であって、
 (a) 重鎖C D R 1が、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44および配列番号45からなる群から選択され、
 (b) 重鎖C D R 2が、配列番号46、配列番号47、配列番号48、配列番号49、配列番号50、配列番号51、配列番号52、配列番号122、配列番号123、配列番号124および配列番号125からなる群から選択され、50

(c) 重鎖 CDR 3 が、配列番号 53、配列番号 54、配列番号 55、配列番号 56、配列番号 57、配列番号 58、配列番号 59、配列番号 126、配列番号 127、配列番号 128 および配列番号 129 からなる群から選択され、

(d) 軽鎖 CDR 1 が、配列番号 64 または配列番号 65 を含み、

(e) 軽鎖 CDR 2 が、配列番号 66 または配列番号 67 を含み、

(f) 軽鎖 CDR 3 が、配列番号 68、配列番号 69、配列番号 70 または配列番号 71 を含む、

単離された抗体またはその抗原結合部分が、本明細書において提供される。

【0017】

ヒトTIM3と結合し、

(a1) 重鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 41、46、53 を含み、軽鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 64、66、68 を含む、

(a2) 重鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 41、122、53 を含み、軽鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 64、66、68 を含む、

(a3) 重鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 41、123、53 を含み、軽鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 64、66、68 を含む、

(a4) 重鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 41、124、53 を含み、軽鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 64、66、68 を含む、

(a5) 重鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 41、46、126 を含み、軽鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 64、66、68 を含む、

(a6) 重鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 41、46、127 を含み、軽鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 64、66、68 を含む、

(a7) 重鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 41、46、128 を含み、軽鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 64、66、68 を含む、

(a8) 重鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 41、46、129 を含み、軽鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 64、66、68 を含む、

(a9) 重鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 41、122、128 を含み、軽鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 64、66、68 を含む、

(a10) 重鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 41、122、126 を含み、軽鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 64、66、68 を含む、

(b1) 重鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 42、47、54 を含み、軽鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 64、66、69 を含む、

(b2) 重鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 42、125、54 を含み、軽鎖可変領域 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、それぞれ配列番号 64、66、69 を含む、

(c) それぞれ配列番号 43、48 および 55 を含む重鎖 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 配列ならびに / またはそれぞれ配列番号 64、66 および 69 を含む軽鎖 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 配列、

(d) それぞれ配列番号 44、49 および 56 を含む重鎖 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 配列、

10

20

30

40

50

R 3 配列ならびに / またはそれぞれ配列番号 6 4、 6 6 および 6 8 を含む軽鎖 C D R 1、 C D R 2 および C D R 3 配列、

(e) それぞれ配列番号 4 5、 5 0 および 5 7 を含む重鎖 C D R 1、 C D R 2 および C D R 3 配列ならびに / またはそれぞれ配列番号 6 4、 6 6 および 6 9 を含む軽鎖 C D R 1、 C D R 2 および C D R 3 配列、

(f) それぞれ配列番号 4 5、 5 0 および 5 7 を含む重鎖 C D R 1、 C D R 2 および C D R 3 配列ならびに / またはそれぞれ配列番号 6 4、 6 6 および 7 1 を含む軽鎖 C D R 1、 C D R 2 および C D R 3 配列、

(g) それぞれ配列番号 4 5、 5 0 および 5 7 を含む重鎖 C D R 1、 C D R 2 および C D R 3 配列ならびに / またはそれぞれ配列番号 6 5、 6 7 および 7 0 を含む軽鎖 C D R 1、 C D R 2 および C D R 3 配列、

(h) それぞれ配列番号 4 5、 5 1 および 5 8 を含む重鎖 C D R 1、 C D R 2 および C D R 3 配列ならびに / またはそれぞれ配列番号 6 4、 6 6 および 6 8 を含む軽鎖 C D R 1、 C D R 2 および C D R 3 配列、

(i) それぞれ配列番号 4 5、 5 2 および 5 9 を含む重鎖 C D R 1、 C D R 2 および C D R 3 配列ならびに / またはそれぞれ配列番号 6 4、 6 6 および 6 9 を含む軽鎖 C D R 1、 C D R 2 および C D R 3 配列を含む、

単離された抗体またはその抗原結合部分が、本明細書において提供される。

【 0 0 1 8 】

ヒト T I M 3 と結合し、重鎖および軽鎖可変領域を含む、単離された抗体またはその抗原結合部分であって、重鎖可変領域が、配列番号 3 4、 3 5、 3 6、 3 7、 3 8、 3 9、 4 0、 1 1 2、 1 1 3、 1 1 4、 1 1 5、 1 1 6、 1 1 7、 1 1 8、 1 1 9、 1 2 0、 1 2 1 および 3 6 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 % もしくは約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、ならびに / または軽鎖可変領域が、配列番号 6 0、 6 1、 6 2 および 6 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 % もしくは約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、単離された抗体またはその抗原結合部分が、本明細書において提供される。

【 0 0 1 9 】

ヒト T I M 3 と結合し、ヒト T I M 3 との結合について、V H および V L を含む参照抗体と交差競合する、単離された抗体またはその抗原結合部分であって、V H および V L が、

(a) 配列番号 3 4 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および 配列番号 6 0 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(b) 配列番号 3 5 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および 配列番号 6 1 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(c) 配列番号 3 6 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および 配列番号 6 1 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(d) 配列番号 3 7 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および 配列番号 6 0 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(e) 配列番号 3 8 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および 配列番号 6 1 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(f) 配列番号 3 8 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および 配列番号 6 2 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(g) 配列番号 3 8 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および 配列番号 6 3 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(h) 配列番号 3 9 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および 配列番号 6 0 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(i) 配列番号 4 0 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および 配列番号 6 1 に記載され

10

20

30

40

50

るアミノ酸配列を含む V L、

(j) それぞれ配列番号 121 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 63 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(k) それぞれ配列番号 120 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 61 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(l) それぞれ配列番号 112 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 60 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(m) それぞれ配列番号 113 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 60 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(n) それぞれ配列番号 114 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 60 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(o) それぞれ配列番号 115 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 60 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(p) それぞれ配列番号 116 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 60 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(q) それぞれ配列番号 117 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 60 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(r) それぞれ配列番号 118 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 60 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(s) それぞれ配列番号 119 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 60 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、ならびに

(t) それぞれ配列番号 364 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 60 に記載されるアミノ酸配列を含む V L

からなる群から選択される、単離された抗体またはその抗原結合部分が、本明細書において提供される。

【 0020 】

一実施形態では、単離された抗 T I M 3 抗体またはその抗原結合部分は、参照抗体と同一のエピトープにおいて、 T I M 3 と結合する。

【 0021 】

他の実施形態では、単離された抗 T I M 3 抗体またはその抗原結合部分は、

(a) 配列番号 34 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 60 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(b) 配列番号 35 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 61 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(c) 配列番号 36 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 61 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(d) 配列番号 37 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 60 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(e) 配列番号 38 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 61 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(f) 配列番号 38 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 62 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(g) 配列番号 38 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 63 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(h) 配列番号 39 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 60 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(i) 配列番号 40 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 61 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

(j) それぞれ配列番号 121 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 63 に記載されるアミノ酸配列を含む V L、

10

20

30

40

50

(k) それぞれ配列番号 1 2 0 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 6 1 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(l) それぞれ配列番号 1 1 2 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 6 0 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(m) それぞれ配列番号 1 1 3 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 6 0 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(n) それぞれ配列番号 1 1 4 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 6 0 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(o) それぞれ配列番号 1 1 5 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 6 0 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(p) それぞれ配列番号 1 1 6 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 6 0 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(q) それぞれ配列番号 1 1 7 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 6 0 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(r) それぞれ配列番号 1 1 8 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 6 0 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、

(s) それぞれ配列番号 1 1 9 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 6 0 に記載されるアミノ酸配列を含む V L 、ならびに

(t) それぞれ配列番号 3 6 4 に記載されるアミノ酸配列を含む V H および配列番号 6 0 に記載されるアミノ酸配列を含む V L

からなる群から選択される、 V H および V L を含む。

【 0 0 2 2 】

特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体またはその抗原結合部分は、 I g G 1 、 I g G 2 、 I g G 3 、 I g G 4 またはそれらの変異体からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、抗 T I M 3 抗体またはその抗原結合部分は、以下の突然変異 : L 2 3 4 A 、 L 2 3 5 E 、 G 2 3 7 A 、ならびに適宜 A 3 3 0 S および P 3 3 1 S を含む、エフェクターレス I g G 1 F c を含む。他の実施形態では、抗 T I M 3 抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 1 3 0 ~ 1 3 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、重鎖定常領域を含む。特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体またはその抗原結合部分は、ヒトまたはヒト化抗体である。

【 0 0 2 3 】

特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体またはその抗原結合部分は、ヒト T I M 3 と特異的に結合し、

(a 1) それぞれ配列番号 3 0 1 (もしくは 3 0 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2) それぞれ配列番号 1 (もしくは 8) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 3) それぞれ配列番号 1 5 (もしくは 2 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 4) それぞれ配列番号 3 0 3 (もしくは 3 0 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 5) それぞれ配列番号 7 2 (もしくは 8 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 6) それぞれ配列番号 9 2 (もしくは 1 0 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 7) それぞれ配列番号 3 0 5 (もしくは 3 0 6) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 8) それぞれ配列番号 7 3 (もしくは 8 3) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 9) それぞれ配列番号 9 3 (もしくは 1 0 3) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 1 0) それぞれ配列番号 3 0 7 (もしくは 3 0 8) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 1 1) それぞれ配列番号 7 4 (もしくは 8 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 1 2) それぞれ配列番号 9 4 (もしくは 1 0 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

10

20

30

40

50

(a 1 3) それぞれ配列番号 3 0 9 (もしくは 3 1 0) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 1 4) それぞれ配列番号 7 5 (もしくは 8 5) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 1 5) それぞれ配列番号 9 5 (もしくは 1 0 5) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 1 6) それぞれ配列番号 3 1 1 (もしくは 3 1 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 1 7) それぞれ配列番号 7 6 (もしくは 8 6) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 1 8) それぞれ配列番号 9 6 (もしくは 1 0 6) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 1 9) それぞれ配列番号 3 1 3 (もしくは 3 1 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 0) それぞれ配列番号 7 7 (もしくは 8 7) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 1) それぞれ配列番号 9 7 (もしくは 1 0 7) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 2) それぞれ配列番号 3 1 5 (もしくは 3 1 6) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 3) それぞれ配列番号 7 8 (もしくは 8 8) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 4) それぞれ配列番号 9 8 (もしくは 1 0 8) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 5) それぞれ配列番号 3 1 7 (もしくは 3 1 8) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 6) それぞれ配列番号 7 9 (もしくは 8 9) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 7) それぞれ配列番号 9 9 (もしくは 1 0 9) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 8) それぞれ配列番号 3 1 9 (もしくは 3 2 0) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 9) それぞれ配列番号 3 4 9 (もしくは 3 5 0) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 3 0) それぞれ配列番号 3 5 1 (もしくは 3 5 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 3 1) それぞれ配列番号 3 5 3 (もしくは 3 5 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(b 1) それぞれ配列番号 3 2 1 (もしくは 3 2 2) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(b 2) それぞれ配列番号 2 (もしくは 9) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(b 3) それぞれ配列番号 1 6 (もしくは 2 3) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(b 4) それぞれ配列番号 3 2 3 (もしくは 3 2 4) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(b 5) それぞれ配列番号 8 0 (もしくは 9 0) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(b 6) それぞれ配列番号 1 0 0 (もしくは 1 1 0) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(b 7) それぞれ配列番号 3 2 5 (もしくは 3 2 6) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(c 1) それぞれ配列番号 3 2 7 (もしくは 3 2 8) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(c 2) それぞれ配列番号 3 (もしくは 1 0) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(c 3) それぞれ配列番号 1 7 (もしくは 2 4) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(c 4) それぞれ配列番号 3 2 9 (もしくは 3 3 0) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

10

20

30

40

50

(d 1) それぞれ配列番号 3 3 1 (もしくは 3 3 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(d 2) それぞれ配列番号 4 (もしくは 1 1) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(d 3) それぞれ配列番号 1 8 (もしくは 2 5) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(d 4) それぞれ配列番号 3 3 3 (もしくは 3 3 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 1 1) それぞれ配列番号 3 3 5 (もしくは 3 3 6) および 3 2 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 1 2) それぞれ配列番号 3 3 5 (もしくは 3 3 6) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 1 3) それぞれ配列番号 3 3 5 (もしくは 3 3 6) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 2) それぞれ配列番号 5 (もしくは 1 2) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 3) それぞれ配列番号 1 9 (もしくは 2 6) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 4) それぞれ配列番号 3 3 7 (もしくは 3 3 8) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 5) それぞれ配列番号 8 1 (もしくは 9 1) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 6) それぞれ配列番号 1 0 1 (もしくは 1 1 1) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 7) それぞれ配列番号 3 3 9 (もしくは 3 4 0) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、

(f 1) それぞれ配列番号 3 4 1 (もしくは 3 4 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(f 2) それぞれ配列番号 6 (もしくは 1 3) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(f 3) それぞれ配列番号 2 0 (もしくは 2 7) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(f 4) それぞれ配列番号 3 4 3 (もしくは 3 4 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(g 1) それぞれ配列番号 3 4 5 (もしくは 3 4 6) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(g 2) それぞれ配列番号 7 (もしくは 4 3) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(g 3) それぞれ配列番号 2 1 (もしくは 2 8) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、または

(g 4) それぞれ配列番号 3 4 7 (もしくは 3 4 8) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列を含む。

【 0 0 2 4 】

他の実施形態では、抗 T I M 3 抗体またはその抗原結合部分は、以下の特性：

(1) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、B i a c o r e によって測定される場合、例えば、1 0 n M 以下 (例えば、0 . 0 1 n M ~ 1 0 n M) の K D で、可溶性ヒト T I M 3 と結合すること、

(2) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、B i a c o r e によって測定される場合、例えば、1 0 0 n M 以下 (例えば、0 . 0 1 n M ~ 1 0 0 n M) の K D で、可溶性力ニクイザル T I M 3 と結合すること、

(3) 例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合 (例えば、実施例に記載されるように) 、例えば、1 μ g / m L 以下 (例えば、0 . 0 1 μ g / m L ~ 1 μ g / m L) の E C 5 0 で、膜結合型ヒト T I M 3 と結合すること、

(4) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1 n M 以下 (例えば、0 . 0 1 n M ~ 1 0 n M) の K D で、膜結合型ヒト T I M 3 と結合すること、

(5) 例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合 (例えば、実施例に記載されるように) 、例えば、2 0 μ g / m L 以下 (例えば、0 . 0 1 μ g / m L ~ 2 0 μ g / m L)

10

20

30

40

50

L) の E C 5 0 で、膜結合型カニクイザル T I M 3 と結合すること、

(6) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1 n M 以下(例えば、0 . 0 1 n M ~ 1 0 n M) の K D で、膜結合型カニクイザル T I M 3 と結合すること、

(7) 例えば、実施例に記載されるように、(i) T I M 3 を発現する T 細胞(例えば、T h 1 細胞もしくは T I L) における I F N - γ 産生の増大および/または(ii) T I M 3 を発現する T 細胞(例えば、T h 1 細胞もしくは T I L) の増殖の増強によって明らかのように、T 細胞活性化を誘導または増強すること(例えば、T I M 3 の阻害性作用を遮断もしくは低減することによって)、

(8) 例えば、実施例に記載されるように、混合リンパ球反応(M L R) アッセイにおいて、T 細胞増殖を刺激すること、

(9) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、P S - h T I M 3 「イン・タンデム」遮断アッセイによって測定される場合、ホスファチジルセリンの T I M 3 との結合を阻害すること、

(1 0) 細胞上の T I M 3 と結合したときに、細胞表面 T I M 3 を内部移行または下方制御しないこと、

(1 1) 例えば、実施例に記載されるように、ヒト T I M 3 細胞外ドメイン(配列番号 2 9 0)の以下の領域：(a) CPVFECG(配列番号 2 9 6)、(b) RIQIPGIMND(配列番号 2 9 8)、(c) CPVFECG および RIQIPGIMND(それぞれ配列番号 2 9 6 および 2 9 8)、ならびに(d) WTSRYWLNGDFR(配列番号 2 9 7)の 1 つと結合すること、

(1 2) 例えば、実施例に記載されるように、アミノ酸 L 4 8 、 C 5 8 、 P 5 9 、 V 6 0 、 F 6 1 、 E 6 2 、 C 6 3 、 G 6 4 、 W 7 8 、 S 8 0 、 R 8 1 、 W 8 3 、 L 8 4 、 G 8 6 、 D 8 7 、 R 8 9 、 D 1 0 4 、 R 1 1 1 、 Q 1 1 3 、 G 1 1 6 、 M 1 1 8 および D 1 2 0 [配列番号 2 8 6 (図 2 0) において番号付けされる] の 1 以上が、別のアミノ酸と置換されているヒト T I M 3 に対して、野生型ヒト T I M 3 との結合と比べて、低減された結合を有すること、

(1 3) 例えば、実施例に記載されるように、ヒト T I M 3 との結合について、1 3 A 3 、 3 G 4 、 1 7 C 3 、 1 7 C 8 、 9 F 6 、 8 B 9 、 8 C 4 または T I M 3 . 7 、 T I M 3 . 8 、 T I M 3 . 1 0 、 T I M 3 . 1 1 、 T I M 3 . 1 2 、 T I M 3 . 1 3 、 T I M 3 . 1 4 、 T I M 3 . 1 5 、 T I M 3 . 1 6 、 T I M 3 . 1 7 および T I M 3 . 1 8 のいずれか 1 つの V H および V L ドメインを含む抗体と、いずれかの方向または両方の方向で、競合すること、

(1 4) 例えば、実施例に記載されるように、H D X - M S によって判定される場合、ヒト T I M 3 領域 49 V P V C W G K G A C P V F E 6 2 (配列番号 3 6 7) および 1 1 1 R I Q I P G I M N D E K F N L K L 1 2 7 (配列番号 3 6 8) と結合すること、

(1 5) X 線結晶構造解析によって判定される場合、ヒト T I M 3 の以下のアミノ酸：P 5 0 、 V 5 1 、 C 5 2 、 P 5 9 、 V 6 0 、 F 6 1 、 E 6 2 、 C 6 3 、 G 6 4 、 N 6 5 、 V 6 6 、 V 6 7 、 L 6 8 、 R 6 9 、 D 7 1 、 E 7 2 、 D 7 4 、 R 1 1 1 、 Q 1 1 3 、 G 1 1 6 、 I 1 1 7 、 M 1 1 8 、 D 1 2 0 、ならびに適宜 T 7 0 および/もしくは I 1 1 2 のうちの少なくとも 5 個、 1 0 個、 1 5 個、 2 0 個または全てと相互作用する、重鎖および/または軽鎖可変領域を有すること[例えば、実施例に記載され、配列番号 2 8 6 (図 2 0) に従って番号付けされる] 、ならびに / あるいは

(1 6) 例えば、実施例に記載されるように、(a) アミノ酸 C 5 8 、 P 5 9 、 F 6 1 、 E 6 2 、 C 6 3 、 R 1 1 1 、 D 1 2 0 、ならびに適宜 D 1 0 4 および Q 1 1 3 [配列番号 2 8 6 (図 2 0) に従って番号付けされる] のうちの 1 個、 2 個、 3 個、 4 個、 5 個、 6 個、 7 個、 8 個もしくは 9 個が、別のアミノ酸と置換されている、ヒト T I M 3 に対して、野生型ヒト T I M 3 への結合と比べて、低減された結合を有し、(b) 実施例に記載されるように、H D X - M S によって判定される場合、49 V P V C W G K G A C P V F E 6 2 (配列番号 3 6 7) 、 1 1 1 R I Q I P G I M N D E K F N L K L 1 2 7 (配列番号 3 6 8) および 1 1 9 N D E K F N L K L 1 2 7 (配列番号 3 7 3) と結合し、ならびに / または(c) 例えば、実施例に記載されるように、1 3 A 3 もしくは T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 のヒト T I M 3 との結合と競合す

10

20

30

40

50

るかもしくはそれを交差遮断すること、
の1つ以上を有する。

【0025】

第2の結合特異性を有する分子に連結された抗T I M 3抗体を含む、二重特異性分子が、本明細書において提供される。

【0026】

抗T I M 3抗体またはその抗原結合部分の重鎖および/または軽鎖可変領域をコードする核酸、核酸分子を含む発現ベクター、ならびに発現ベクターを用いて形質転換された細胞が、本明細書において提供される。

【0027】

薬剤に連結された、本明細書に記載される抗T I M 3抗体を含む、イムノコンジュゲートが、本明細書において提供される。

【0028】

本明細書に記載される抗T I M 3抗体もしくはその抗原結合部分、二重特異性分子またはイムノコンジュゲートと、担体とを含む、組成物が、本明細書において提供される。本明細書に記載される抗T I M 3抗体もしくはその抗原結合部分、二重特異性分子またはイムノコンジュゲートと、使用のための説明書とを含む、キットもまた、本明細書において提供される。

【0029】

抗T I M 3抗体またはその抗原結合部分を調製する方法であって、細胞において、抗T I M 3抗体またはその抗原結合部分を発現させることと、細胞から、抗体またはその抗原結合部分を単離することとを含む、方法が、本明細書において提供される。

【0030】

抗原特異的T細胞応答を刺激する方法であって、抗原特異的T細胞応答が刺激されるよう(例えは、細胞、例えは、T細胞上のT I M 3の負の作用を阻害することによって)、T細胞を、本明細書に記載される抗T I M 3抗体もしくはその抗原結合部分、二重特異性分子またはイムノコンジュゲートと接触させることを含む、方法が、本明細書において提供される。

【0031】

T細胞、例えは、エフェクターT細胞(例えは、T h 1細胞)を活性化または共刺激する方法であって、細胞、例えは、エフェクターT細胞を、本明細書に記載される抗T I M 3抗体もしくはその抗原結合部分、二重特異性分子またはイムノコンジュゲート、ならびにC D 3と接触させ、エフェクターT細胞が活性化または共刺激される(例えは、細胞、例えは、T細胞上のT I M 3の負の作用を阻害することによって)ことを含む、方法が、本明細書において提供される。

【0032】

T細胞、例えは、T h 1細胞またはT I LにおけるI F N - 産生および/またはT細胞、例えは、T h 1細胞またはT I Lの増殖を増大させる方法であって、T細胞を、有効量の、本明細書に記載される抗T I M 3抗体もしくはその抗原結合部分、二重特異性分子またはイムノコンジュゲートと接触させることを含む、方法が、本明細書において提供される。

【0033】

対象のT細胞におけるI F N - 産生を増大させる方法であって、T細胞からのI F N - 産生を増大させるために、対象に、有効量の、本明細書に記載される抗T I M 3抗体もしくはその抗原結合部分、二重特異性分子またはイムノコンジュゲートを投与することを含む、方法が、本明細書において提供される。

【0034】

対象においてT I L活性を刺激する方法であって、T I Lが、サイトカイン、例えは、I F N - を増殖または分泌するように、対象に、治療有効量の、本明細書に記載される抗T I M 3抗体またはその抗原結合部分を投与することを含む、方法が、本明細書において

10

20

30

40

50

提供される。

【 0 0 3 5 】

対象においてNK細胞（例えば、NK細胞の細胞傷害性活性を増大させることによって）および／またはマクロファージもしくは他の抗原提示細胞を刺激するための方法であって、対象に、治療有効量の、本明細書に記載される抗T I M 3抗体もしくはその抗原結合部分、二重特異性分子またはイムノコンジュゲートを投与することを含む、方法が、本明細書において提供される。例えば、本明細書に記載される抗T I M 3抗体は、T I M 3抗体と接触した抗原提示細胞によるIL - 12分泌を増大させることができる。

【 0 0 3 6 】

対象において免疫応答を刺激する方法であって、対象において免疫応答が刺激されるように、対象に、本明細書に記載される抗T I M 3抗体もしくはその抗原結合部分、二重特異性分子またはイムノコンジュゲートを投与することを含む、方法が、本明細書において提供される。特定の実施形態では、対象は、腫瘍を有し、腫瘍に対する免疫応答が、刺激される。

10

【 0 0 3 7 】

対象において腫瘍の成長を阻害するか、または腫瘍のサイズを低減するための方法であって、対象において腫瘍の成長が阻害されるように、対象に、本明細書に記載される抗T I M 3抗体もしくはその抗原結合部分、二重特異性分子またはイムノコンジュゲートを投与することを含む、方法が、本明細書において提供される。

【 0 0 3 8 】

がんを、例えば、免疫療法によって、処置する方法であって、それを必要とする対象に、治療有効量の、本明細書に記載される抗T I M 3抗体もしくはその抗原結合部分、二重特異性分子またはイムノコンジュゲートを投与して、がんを処置することを含む、方法が、本明細書において提供される。特定の実施形態では、がんは、膀胱がん、乳がん、子宮がん／子宮頸がん、卵巣がん、前立腺がん、精巣がん、食道がん、胃腸がん、膵臓がん、結腸直腸がん、結腸がん、腎臓がん、頭頸部がん、肺がん、胃がん、生殖細胞がん、骨がん、肝臓がん、甲状腺がん、皮膚がん、中枢神経系の新生物、リンパ腫、白血病、骨髄腫、肉腫、ウイルス関連のがんおよびこれらの任意の組合せからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、がんは、転移性がん、難治性がんまたは再発性がんである。いくつかの実施形態では、がんは、冷たいがん(cold tumor)である。

20

【 0 0 3 9 】

特定の実施形態では、本明細書に記載される方法は、抗T I M 3抗体とともに、1以上の追加の治療薬、例えば、抗P D - 1抗体、抗L A G - 3抗体、抗C T L A - 4抗体、抗G I T R抗体および／または抗P D - L 1抗体をさらに含む。

30

【 0 0 4 0 】

サンプルにおけるT I M 3タンパク質の存在を検出する方法であって、サンプルを、抗体またはその抗原結合部分とT I M 3との間で複合体の形成を可能にする条件下で、抗T I M 3抗体またはその抗原結合部分と接触させることと、複合体の形成を検出することとを含む、方法が、本明細書において提供される。

【 0 0 4 1 】

40

実施形態

実施形態1.ヒトT細胞免疫グロブリンおよびムチンドメイン含有3(T I M 3)と結合し、重鎖CD R 1、CD R 2およびCD R 3ならびに軽鎖CD R 1、CD R 2およびCD R 3を含む、単離された抗体（例えば、ヒト抗体）またはその抗原結合部分であって、(a)重鎖CD R 1が、配列番号4 1、配列番号4 2、配列番号4 3、配列番号4 4および配列番号4 5からなる群から選択され、

(b)重鎖CD R 2が、配列番号4 6、配列番号4 7、配列番号4 8、配列番号4 9、配列番号5 0、配列番号5 1、配列番号5 2、配列番号1 2 2、配列番号1 2 3、配列番号1 2 4および配列番号1 2 5からなる群から選択され、

(c)重鎖CD R 3が、配列番号5 3、配列番号5 4、配列番号5 5、配列番号5 6、配

50

列番号 5 7、配列番号 5 8、配列番号 5 9、配列番号 1 2 6、配列番号 1 2 7、配列番号 1 2 8 および配列番号 1 2 9 からなる群から選択され、

(d) 軽鎖 C D R 1 が、配列番号 6 4 または配列番号 6 5 を含み、

(e) 軽鎖 C D R 2 が、配列番号 6 6 または配列番号 6 7 を含み、

(f) 軽鎖 C D R 3 が、配列番号 6 8、配列番号 6 9、配列番号 7 0 または配列番号 7 1 を含む、

単離された抗体またはその抗原結合部分。

【 0 0 4 2 】

実施形態 2. ヒト T I M 3 と結合する単離された抗体またはその抗原結合部分であって、

(a 1) 重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 4 1、4 6、5 3 を含み、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 6 4、6 6、6 8 を含む、

(a 2) 重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 4 1、1 2 2、5 3 を含み、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 6 4、6 6、6 8 を含む、

(a 3) 重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 4 1、1 2 3、5 3 を含み、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 6 4、6 6、6 8 を含む、

(a 4) 重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 4 1、1 2 4、5 3 を含み、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 6 4、6 6、6 8 を含む、

(a 5) 重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 4 1、4 6、1 2 6 を含み、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 6 4、6 6、6 8 を含む、

(a 6) 重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 4 1、4 6、1 2 7 を含み、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 6 4、6 6、6 8 を含む、

(a 7) 重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 4 1、4 6、1 2 8 を含み、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 6 4、6 6、6 8 を含む、

(a 8) 重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 4 1、4 6、1 2 9 を含み、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 6 4、6 6、6 8 を含む、

(a 9) 重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 4 1、1 2 2、1 2 8 を含み、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 6 4、6 6、6 8 を含む、

(a 1 0) 重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 4 1、1 2 2、1 2 6 を含み、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 6 4、6 6、6 8 を含む、

(b 1) 重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 4 2、4 7、5 4 を含み、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 6 4、6 6、6 9 を含む、

(b 2) 重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 4 2、1 2 5、5 4 を含み、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 6 4、6 6、6 9 を含む、

(c) それぞれ配列番号 4 3、4 8 および 5 5 を含む重鎖 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 配列ならびに / またはそれぞれ配列番号 6 4、6 6 および 6 9 を含む軽鎖 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 配列、

(d) それぞれ配列番号 4 4、4 9 および 5 6 を含む重鎖 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 配列ならびに / またはそれぞれ配列番号 6 4、6 6 および 6 8 を含む軽鎖 C D R 1、

10

20

30

40

50

C D R 2 および C D R 3 配列、

(e) それぞれ配列番号 4 5、5 0 および 5 7 を含む重鎖 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 配列ならびに / またはそれぞれ配列番号 6 4、6 6 および 6 9 を含む軽鎖 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 配列、

(f) それぞれ配列番号 4 5、5 0 および 5 7 を含む重鎖 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 配列ならびに / またはそれぞれ配列番号 6 4、6 6 および 7 1 を含む軽鎖 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 配列、

(g 1) それぞれ配列番号 4 5、5 0 および 5 7 を含む重鎖 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 配列ならびに / またはそれぞれ配列番号 6 5、6 7 および 7 0 を含む軽鎖 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 配列、

(g 2) 重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 4 5、5 0、5 7 を含み、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 6 4、6 6、7 1 を含む、

(g 3) 重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 4 5、5 0、5 7 を含み、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、それぞれ配列番号 6 4、6 6、6 9 を含む、

(h) それぞれ配列番号 4 5、5 1 および 5 8 を含む重鎖 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 配列ならびに / またはそれぞれ配列番号 6 4、6 6 および 6 8 を含む軽鎖 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 配列、

(i) それぞれ配列番号 4 5、5 2 および 5 9 を含む重鎖 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 配列ならびに / またはそれぞれ配列番号 6 4、6 6 および 6 9 を含む軽鎖 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 配列

を含む、単離された抗体またはその抗原結合部分。

【 0 0 4 3 】

実施形態 3. 重鎖可変領域が、配列番号 3 4、3 5、3 6、3 7、3 8、3 9、4 0、1 1 2、1 1 3、1 1 4、1 1 5、1 1 6、1 1 7、1 1 8、1 1 9、1 2 0、1 2 1 および 3 6 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 % もしくは約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含み、ならびに / または軽鎖可変領域が、配列番号 6 0、6 1、6 2 および 6 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列と、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 % もしくは約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 1 または 2 に記載の抗体またはその抗原結合部分。

【 0 0 4 4 】

実施形態 4. 抗体またはその抗原結合部分が、以下の突然変異：L 2 3 4 A、L 2 3 5 E、G 2 3 7 A、ならびに適宜 A 3 3 0 S および P 3 3 1 S を含む、エフェクターレス Ig G 1 F c を含む、実施形態 1 から 3 のいずれか 1 つに記載の抗体またはその抗原結合部分。

【 0 0 4 5 】

実施形態 5. 配列番号 2 6 3 ~ 2 6 6 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、重鎖定常領域を含む、実施形態 1 から 4 のいずれか 1 つに記載の抗体またはその抗原結合部分。

【 0 0 4 6 】

実施形態 6. 抗体またはその抗原結合部分が、ヒトまたはヒト化抗体である、実施形態 1 から 5 のいずれか 1 つに記載の抗体またはその抗原結合部分。

【 0 0 4 7 】

実施形態 7. 抗体が、

(a 1) それぞれ配列番号 3 0 1 (もしくは 3 0 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

10

20

30

40

50

- (a 2) それぞれ配列番号 1 (もしくは 8) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 3) それぞれ配列番号 1 5 (もしくは 2 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 4) それぞれ配列番号 3 0 3 (もしくは 3 0 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 5) それぞれ配列番号 7 2 (もしくは 8 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 6) それぞれ配列番号 9 2 (もしくは 1 0 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 7) それぞれ配列番号 3 0 5 (もしくは 3 0 6) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 8) それぞれ配列番号 7 3 (もしくは 8 3) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 9) それぞれ配列番号 9 3 (もしくは 1 0 3) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 1 0) それぞれ配列番号 3 0 7 (もしくは 3 0 8) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 1 1) それぞれ配列番号 7 4 (もしくは 8 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 1 2) それぞれ配列番号 9 4 (もしくは 1 0 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 1 3) それぞれ配列番号 3 0 9 (もしくは 3 1 0) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 1 4) それぞれ配列番号 7 5 (もしくは 8 5) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 1 5) それぞれ配列番号 9 5 (もしくは 1 0 5) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 1 6) それぞれ配列番号 3 1 1 (もしくは 3 1 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 1 7) それぞれ配列番号 7 6 (もしくは 8 6) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 1 8) それぞれ配列番号 9 6 (もしくは 1 0 6) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 1 9) それぞれ配列番号 3 1 3 (もしくは 3 1 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 2 0) それぞれ配列番号 7 7 (もしくは 8 7) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 2 1) それぞれ配列番号 9 7 (もしくは 1 0 7) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 2 2) それぞれ配列番号 3 1 5 (もしくは 3 1 6) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 2 3) それぞれ配列番号 7 8 (もしくは 8 8) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 2 4) それぞれ配列番号 9 8 (もしくは 1 0 8) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 2 5) それぞれ配列番号 3 1 7 (もしくは 3 1 8) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 2 6) それぞれ配列番号 7 9 (もしくは 8 9) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 2 7) それぞれ配列番号 9 9 (もしくは 1 0 9) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 2 8) それぞれ配列番号 3 1 9 (もしくは 3 2 0) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 2 9) それぞれ配列番号 3 4 9 (もしくは 3 5 0) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 3 0) それぞれ配列番号 3 5 1 (もしくは 3 5 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(a 3 1) それぞれ配列番号 3 5 3 (もしくは 3 5 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
(b 1) それぞれ配列番号 3 2 1 (もしくは 3 2 2) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

- (b 2) それぞれ配列番号 2 (もしくは 9) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (b 3) それぞれ配列番号 1 6 (もしくは 2 3) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (b 4) それぞれ配列番号 3 2 3 (もしくは 3 2 4) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (b 5) それぞれ配列番号 8 0 (もしくは 9 0) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (b 6) それぞれ配列番号 1 0 0 (もしくは 1 1 0) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (b 7) それぞれ配列番号 3 2 5 (もしくは 3 2 6) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (c 1) それぞれ配列番号 3 2 7 (もしくは 3 2 8) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (c 2) それぞれ配列番号 3 (もしくは 1 0) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (c 3) それぞれ配列番号 1 7 (もしくは 2 4) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (c 4) それぞれ配列番号 3 2 9 (もしくは 3 3 0) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (d 1) それぞれ配列番号 3 3 1 (もしくは 3 3 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (d 2) それぞれ配列番号 4 (もしくは 1 1) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (d 3) それぞれ配列番号 1 8 (もしくは 2 5) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (d 4) それぞれ配列番号 3 3 3 (もしくは 3 3 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (e 1.1) それぞれ配列番号 3 3 5 (もしくは 3 3 6) および 3 2 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (e 1.2) それぞれ配列番号 3 3 5 (もしくは 3 3 6) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (e 1.3) それぞれ配列番号 3 3 5 (もしくは 3 3 6) および 3 1 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (e 2) それぞれ配列番号 5 (もしくは 1 2) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (e 3) それぞれ配列番号 1 9 (もしくは 2 6) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (e 4) それぞれ配列番号 3 3 7 (もしくは 3 3 8) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (e 5) それぞれ配列番号 8 1 (もしくは 9 1) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (e 6) それぞれ配列番号 1 0 1 (もしくは 1 1 1) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (e 7) それぞれ配列番号 3 3 9 (もしくは 3 4 0) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (f 1) それぞれ配列番号 3 4 1 (もしくは 3 4 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (f 2) それぞれ配列番号 6 (もしくは 1 3) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (f 3) それぞれ配列番号 2 0 (もしくは 2 7) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (f 4) それぞれ配列番号 3 4 3 (もしくは 3 4 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (g 1) それぞれ配列番号 3 4 5 (もしくは 3 4 6) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (g 2) それぞれ配列番号 7 (もしくは 4 3) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、
 (g 3) それぞれ配列番号 2 1 (もしくは 2 8) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、
 または
 (g 4) それぞれ配列番号 3 4 7 (もしくは 3 4 8) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列を含み、抗体が、ヒト T I M 3 と特異的に結合する、実施形態 1 から 6 のいずれか 1 つに記載の抗体。

10

20

30

40

50

【0048】

実施形態8. 抗体またはその抗原結合部分が、以下の特性：

- (1) 例えば、Biacoreによって測定される場合、例えば、10nM以下(例えば、0.01nM~10nM)のKDで、可溶性ヒトTIM3と結合すること、
- (2) 例えば、Biacoreによって測定される場合、例えば、100nM以下(例えば、0.01nM~100nM)のKDで、可溶性カニクイザルTIM3と結合すること、
- (3) 例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合、例えば、1μg/mL以下(例えば、0.01μg/mL~1μg/mL)のEC₅₀で、膜結合型ヒトTIM3と結合すること、
- (4) 例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1nM以下(例えば、0.01nM~10nM)のKDで、膜結合型ヒトTIM3と結合すること、
- (5) 例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合、例えば、20μg/mL以下(例えば、0.01μg/mL~20μg/mL)のEC₅₀で、膜結合型カニクイザルTIM3と結合すること、
- (6) 例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1nM以下(例えば、0.01nM~10nM)のKDで、膜結合型カニクイザルTIM3と結合すること、
- (7) (i) TIM3を発現するT細胞(例えば、Th1細胞もしくはTIL)におけるIFN-産生の増大および/または(ii) TIM3を発現するT細胞(例えば、Th1細胞もしくはTIL)の増殖の増強によって明らかのように、T細胞活性化を誘導または増強すること(例えば、TIM3の阻害性作用を遮断もしくは低減することによって)、
- (8) 混合リンパ球反応(MLR)アッセイにおいて、T細胞増殖を刺激すること、
- (9) 例えば、PS-hTIM3「イン・タンデム」遮断アッセイによって測定される場合、ホスファチジルセリンのTIM3との結合を阻害すること、
- (10) 細胞上のTIM3と結合したときに、細胞表面TIM3を内部移行または下方制御しないこと、
- (11) ヒトTIM3細胞外ドメイン(配列番号290)の以下の領域：(a)CPVFECG(配列番号296)、(b)RIQIPGIMND(配列番号298)、(c)CPVFECGおよびRIQIPGIMND(それぞれ配列番号296および298)ならびに(d)WTSRYWLNGDFR(配列番号297)の1つと結合すること、
- (12) アミノ酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118およびD120の1以上が、別のアミノ酸と置換されているヒトTIM3に対して、野生型ヒトTIM3との結合と比べて、低減された結合を有すること、
- (13) ヒトTIM3との結合について、13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4またはTIM3.7、TIM3.8、TIM3.10、TIM3.11、TIM3.12、TIM3.13、TIM3.14、TIM3.15、TIM3.16、TIM3.17およびTIM3.18のいずれか1つのVHおよびVLドメインを含む抗体と、いずれかの方向または両方の方向で、競合すること、
- (14) HDX-MSによって判定される場合、ヒトTIM3領域49VPVCWGKGACPVFE62(配列番号367)および111RIQIPGIMNDEKFLKL127(配列番号368)と結合すること、
- (15) X線結晶構造解析によって判定される場合、ヒトTIM3の以下のアミノ酸：P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120ならびに適宜T70および/もしくはI112のうちの少なくとも5個、10個、15個、20個または全てと相互作用する、重鎖および/または軽鎖可変領域を有すること[例えば、実施例に記載され、配列番号286(図20)に従って番号付けされる]、ならびに/あるいは

10

20

30

40

50

(16)(a) アミノ酸 C 5 8、P 5 9、F 6 1、E 6 2、C 6 3、R 1 1 1、D 1 2 0 ならびに適宜 D 1 0 4 および Q 1 1 3 [配列番号 2 8 6 (図 2 0) に従って番号付けされる]のうちの 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個もしくは 9 個が、別のアミノ酸と置換されている、ヒト T I M 3 に対して、野生型ヒト T I M 3 との結合と比べて、低減された結合を有し、(b) 実施例に記載されるように、H D X - M S によって判定される場合、49VPVCWGKGACPVFE62 (配列番号 3 6 7)、111RIQIPGIMNDEKFNLKL127 (配列番号 3 6 8) および 119NDEKFNLKL127 (配列番号 3 7 3) と結合し、ならびに / または (c) 1 3 A 3 もしくは T I M 3.1 8.I g G 1.3 のヒト T I M 3 との結合と競合するかもしくはそれを交差遮断すること、

の 1 つ以上を有する、実施形態 1 から 7 のいずれか 1 つに記載の抗体またはその抗原結合部分。

10

【0049】

実施形態 9. 第 2 の結合特異性を有する分子に連結された実施形態 1 から 8 のいずれか 1 つに記載の抗体を含む、二重特異性分子。

【0050】

実施形態 10. 実施形態 1 から 8 のいずれか 1 つに記載の抗体またはその抗原結合部分の重鎖および / または 軽鎖可変領域をコードする、核酸。

【0051】

実施形態 11. 実施形態 10 に記載の核酸を用いて形質転換された、細胞。

【0052】

実施形態 12. 薬剤に連結された実施形態 1 から 8 のいずれか 1 つに記載の抗体を含む、イムノコンジュゲート。

20

【0053】

実施形態 13. 実施形態 1 から 9 および 1 2 のいずれか 1 つに記載の抗体もしくはその抗原結合部分、二重特異性分子またはイムノコンジュゲートと、担体とを含む組成物。

【0054】

実施形態 14. 実施形態 1 から 9 および 1 2 のいずれか 1 つに記載の抗体もしくはその抗原結合部分、二重特異性分子またはイムノコンジュゲートと、使用のための説明書とを含む、キット。

30

【0055】

実施形態 15. 対象における免疫応答の刺激、増大もしくは調節を、それを必要とする対象において行うか、またはがんの処置を、それを必要とする対象において行うための方法であって、実施形態 1 から 9 および 1 2 のいずれか 1 つに記載の抗体もしくはその抗原結合部分、二重特異性分子またはイムノコンジュゲートを投与することを含み、投与の後に、抗原特異的 T 細胞応答が刺激されるか、エフェクター T 細胞が活性化もしくは共刺激されるか、T 細胞における I F N - γ 産生が増大されるか、T 細胞の数が増大されるか、T I L 活性が刺激されるか、対象における腫瘍のサイズが低減されるか、対象における腫瘍の成長が阻害されるか、またはこれらの任意の組合せが行われる、方法。

【0056】

本開示のその他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および実施例から明らかとなるが、これらは、限定とみなされるべきである。

40

【図面の簡単な説明】

【0057】

【図 1】図 1 A は、抗 T I M 3 モノクローナル抗体 1 3 A 3 の成熟重鎖可変 (V H) 領域のヌクレオチド配列 (配列番号 1 6 7) およびアミノ酸配列 (配列番号 3 4) を示す。C D R 1 (配列番号 4 1)、C D R 2 (配列番号 4 6) および C D R 3 (配列番号 5 3) を線で示し、V、D および J 生殖系列起源を示す。図 1 B は、抗 T I M 3 モノクローナル抗体 1 3 A 3 の成熟軽鎖可変 (V L) 領域のヌクレオチド配列 (配列番号 1 9 3) およびアミノ酸配列 (配列番号 6 0) を示す。C D R 1 (配列番号 6 4)、C D R 2 (配列番号 6 6) および C D R 3 (配列番号 6 8) を線で示し、V および J 生殖系列起源を示す。図 1

50

Cは、シグナル配列（それぞれ配列番号274および269）を有する抗TIM3モノクローナル抗体13A3の重鎖VH領域のスクレオチド配列（配列番号167）およびアミノ酸配列（配列番号34）、ならびにシグナル配列（それぞれ配列番号273および268）を有する抗TIM3モノクローナル抗体13A3の軽鎖VL領域のスクレオチド配列（配列番号193）およびアミノ酸配列（配列番号60）を示す。

【0058】

【図2】図2Aは、抗TIM3モノクローナル抗体8B9の成熟重鎖可変（VH）領域のスクレオチド配列（配列番号168）およびアミノ酸配列（配列番号35）を示す。CDR1（配列番号42）、CDR2（配列番号47）およびCDR3（配列番号54）を線で示し、V、DおよびJ生殖系列起源を示す。図2Bは、抗TIM3モノクローナル抗体8B9の成熟軽鎖可変（VL）領域のスクレオチド配列（配列番号194）およびアミノ酸配列（配列番号61）を示す。CDR1（配列番号64）、CDR2（配列番号66）およびCDR3（配列番号69）を線で示し、VおよびJ生殖系列起源を示す。図2Cは、シグナル配列（それぞれ配列番号274および269）を有する抗TIM3モノクローナル抗体8B9の重鎖VH領域のスクレオチド配列（配列番号168）およびアミノ酸配列（配列番号35）、ならびにシグナル配列（それぞれ配列番号273および268）を有する抗TIM3モノクローナル抗体8B9の軽鎖VL領域のスクレオチド配列（配列番号194）およびアミノ酸配列（配列番号61）を示す。

10

【0059】

【図3】図3Aは、抗TIM3モノクローナル抗体8C4の成熟重鎖可変（VH）領域のスクレオチド配列（配列番号169）およびアミノ酸配列（配列番号36）を示す。CDR1（配列番号43）、CDR2（配列番号48）およびCDR3（配列番号55）を線で示し、V、DおよびJ生殖系列起源を示す。図3Bは、抗TIM3モノクローナル抗体8C4の成熟軽鎖可変（VL）領域のスクレオチド配列（配列番号194）およびアミノ酸配列（配列番号61）を示す。CDR1（配列番号64）、CDR2（配列番号66）およびCDR3（配列番号69）を線で示し、VおよびJ生殖系列起源を示す。図3Cは、シグナル配列（それぞれ配列番号274および269）を有する抗TIM3モノクローナル抗体8C4の重鎖VH領域のスクレオチド配列（配列番号169）およびアミノ酸配列（配列番号36）、ならびにシグナル配列（それぞれ配列番号273および268）を有する抗TIM3モノクローナル抗体8C4の軽鎖VL領域のスクレオチド配列（配列番号194）およびアミノ酸配列（配列番号61）を示す。

20

30

【0060】

【図4】図4Aは、抗TIM3モノクローナル抗体17C3の成熟重鎖可変（VH）領域のスクレオチド配列（配列番号170）およびアミノ酸配列（配列番号37）を示す。CDR1（配列番号44）、CDR2（配列番号49）およびCDR3（配列番号56）を線で示し、V、DおよびJ生殖系列起源を示す。図4Bは、抗TIM3モノクローナル抗体17C3の成熟軽鎖可変（VL）領域のスクレオチド配列（配列番号193）およびアミノ酸配列（配列番号60）を示す。CDR1（配列番号64）、CDR2（配列番号66）およびCDR3（配列番号68）を線で示し、VおよびJ生殖系列起源を示す。図4Cは、シグナル配列（それぞれ配列番号272および267）を有する抗TIM3モノクローナル抗体17C3の重鎖VH領域のスクレオチド配列（配列番号170）およびアミノ酸配列（配列番号37）、ならびにシグナル配列（それぞれ配列番号273および268）を有する抗TIM3モノクローナル抗体17C3の軽鎖VL領域のスクレオチド配列（配列番号193）およびアミノ酸配列（配列番号60）を示す。

40

【0061】

【図5】図5Aは、抗TIM3モノクローナル抗体9F6の成熟重鎖可変（VH）領域のスクレオチド配列（配列番号171）およびアミノ酸配列（配列番号38）を示す。CDR1（配列番号45）、CDR2（配列番号50）およびCDR3（配列番号57）を線で示し、V、DおよびJ生殖系列起源を示す。図5Bは、抗TIM3モノクローナル抗体9F6のVK1の成熟軽鎖可変（VL）領域のスクレオチド配列（配列番号195）およ

50

びアミノ酸配列（配列番号 62）を示す。CDR1（配列番号 65）、CDR2（配列番号 67）およびCDR3（配列番号 70）を線で示し、VおよびJ生殖系列起源を示す。図5Cは、抗TIM3モノクローナル抗体9F6のVK2の成熟軽鎖可変（VL）領域のヌクレオチド配列（配列番号 196）およびアミノ酸配列（配列番号 63）を示す。CDR1（配列番号 64）、CDR2（配列番号 66）およびCDR3（配列番号 71）を線で示し、VおよびJ生殖系列起源を示す。図5Dは、抗TIM3モノクローナル抗体9F6のVK3の成熟軽鎖可変（VL）領域のヌクレオチド配列（配列番号 194）およびアミノ酸配列（配列番号 61）を示す。CDR1（配列番号 64）、CDR2（配列番号 66）およびCDR3（配列番号 69）を線で示し、VおよびJ生殖系列起源を示す。図5Eは、シグナル配列（それぞれ配列番号 275 および 270）を有する抗TIM3モノクローナル抗体9F6の重鎖 VH 領域のヌクレオチド配列（配列番号 171）およびアミノ酸配列（配列番号 38）、ならびにシグナル配列（それぞれ配列番号 276 および 271）を有する抗TIM3モノクローナル抗体9F6のVK1、VK2およびVK3の軽鎖 VL 領域のヌクレオチド配列（それぞれ配列番号 195、196 および 194）およびアミノ酸配列（それぞれ配列番号 62、63 および 61）を示す。

【0062】

【図6】図6Aは、抗TIM3モノクローナル抗体3G4の成熟重鎖可変（VH）領域のヌクレオチド配列（配列番号 172）およびアミノ酸配列（配列番号 39）を示す。CDR1（配列番号 45）、CDR2（配列番号 51）およびCDR3（配列番号 58）を線で示し、V、DおよびJ生殖系列起源を示す。図6Bは、抗TIM3モノクローナル抗体3G4の成熟軽鎖可変（VL）領域のヌクレオチド配列（配列番号 193）およびアミノ酸配列（配列番号 60）を示す。CDR1（配列番号 64）、CDR2（配列番号 66）およびCDR3（配列番号 68）を線で示し、VおよびJ生殖系列起源を示す。図6Cは、シグナル配列（それぞれ配列番号 275 および 270）を有する抗TIM3モノクローナル抗体3G4の重鎖 VH 領域のヌクレオチド配列（配列番号 172）およびアミノ酸配列（配列番号 39）、ならびにシグナル配列（それぞれ配列番号 273 および 268）を有する抗TIM3モノクローナル抗体3G4の軽鎖 VL 領域のヌクレオチド配列（配列番号 193）およびアミノ酸配列（配列番号 60）を示す。

【0063】

【図7】図7Aは、抗TIM3モノクローナル抗体17C8の成熟重鎖可変（VH）領域のヌクレオチド配列（配列番号 173）およびアミノ酸配列（配列番号 40）を示す。CDR1（配列番号 45）、CDR2（配列番号 52）およびCDR3（配列番号 59）を線で示し、V、DおよびJ生殖系列起源を示す。図7Bは、抗TIM3モノクローナル抗体17C8の成熟軽鎖可変（VL）領域のヌクレオチド配列（配列番号 194）およびアミノ酸配列（配列番号 61）を示す。CDR1（配列番号 64）、CDR2（配列番号 66）およびCDR3（配列番号 69）を線で示し、VおよびJ生殖系列起源を示す。図7Cは、シグナル配列（それぞれ配列番号 275 および 270）を有する抗TIM3モノクローナル抗体17C8の重鎖 VH 領域のヌクレオチド配列（配列番号 173）およびアミノ酸配列（配列番号 40）、ならびにシグナル配列（それぞれ配列番号 273 および 268）を有する抗TIM3モノクローナル抗体17C8の軽鎖 VL 領域のヌクレオチド配列（配列番号 194）およびアミノ酸配列（配列番号 61）を示す。

【0064】

【図8】図8Aは、モノクローナル抗体13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4および17C8の重鎖可変（VH）領域の配列アライメントを示す。相補性決定領域（CDR）を、枠で囲んで示す。図8Bは、抗体のVH領域、CDRのそれぞれおよびそれらの突然変異体の配列番号を列挙する。

【0065】

【図9】図9Aは、モノクローナル抗体13A3、8B9、8C4、17C3、9F6_VK1、9F6_VK2、9F6_VK3、3G4および17C8の軽鎖可変（VL）領域の配列アライメントを示す。相補性決定領域（CDR）を、枠で囲んで示す。図9Bは

、抗体のV L領域およびC D Rのそれぞれの配列番号を列挙する。

【0066】

【図10】図10は、モノクローナル抗体TIM3.5(13A3)ならびにその例示的な変異体：TIM3.13(D101E)、TIM3.14(P102V)、TIM3.15(P102Y)、TIM3.16(P102L)、TIM3.17(N60Q/P102Y)、TIM3.18(N60Q/D101E)、TIM3.10(N60Q)、TIM3.11(N60S)およびTIM3.12(N60A)の成熟全長重鎖(HC)の配列アライメントを示す。重鎖のそれぞれのV H領域を、下線で示す。

【0067】

【図11】図11は、モノクローナル抗体9F6およびその例示的な変異体TIM3.7(A108T)の成熟全長HCの配列アライメントを示す。それぞれの重鎖のV H領域を、下線で示す。

10

【0068】

【図12】図12は、モノクローナル8B9およびその例示的な変異体TIM3.8(S61P)の成熟全長HCの配列アライメントを示す。それぞれの重鎖のV H領域を、下線で示す。

【0069】

【図13】図13は、ハイブリドーマに由来する抗体(13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4および17C8)ならびに組換え(TIM3.2～TIM3.18)抗ヒトTIM3抗体の全長重鎖および軽鎖、可変領域およびCDRの配列番号を列挙する。重鎖および軽鎖のアイソタイプもまた、示される。「H.n.」は、ハイブリドーマ名を指す。図13において参照される重鎖および軽鎖は、そのエレメント、例えば、本明細書において開示される可変領域および定常領域に由来し得る。配列番号が、表の2ページ目または3ページ目で所与の列に表示されていない場合、その前のページの列またはそれよりも前のページの列に提供されている。

20

【0070】

【図14】図14A～14Bは、抗TIM3抗体の、ヒトTIM-3をトランスフェクトしたCHO細胞(図14A)および活性化ヒトT細胞(図14B)との結合の結合曲線およびEC₅₀を示す。

30

【0071】

【図15】図15A～15Bは、抗TIM3抗体の、カニクイザルTIM3をトランスフェクトしたCHO細胞株(図15A)および活性化カニクイザルT細胞(図15B)との結合の結合曲線およびEC₅₀を示す。

【0072】

【図16】図16は、腎細胞がん(RCC)において、腫瘍浸潤白血球(TIL)からのIFN- γ 産生を促進することにおける抗TIM3活性(種々の抗体濃度での)を示す。それぞれの抗体について、8つのバーは、示される通りの、抗体の様々な濃度を表す。

【0073】

【図17】図17A～17Bは、肺がんTILからのIFN- γ 産生を促進することにおける抗TIM3活性(種々の抗体濃度での)を示す(図17A、IFN- γ ELISA；図17B、細胞内IFN- γ 染色)。図17Aでは、それぞれの抗体の個々のバーは、示される通りの、抗体の様々な濃度を表す。図17Bでは、上部のパネルは、CD4 $^{+}$ 細胞を示し、下部のパネルは、CD8 $^{+}$ 細胞を示す。TIM3のレベルを、8B9を用いて測定した(x軸)。

40

【0074】

【図18】図18は、CHO-OKT3細胞の存在下において、様々な組織から単離されたTILからのIFN- γ 分泌を促進することにおける、抗TIM-3抗体(すなわち、抗体13A3および3G4)を示す。

【0075】

【図19】図19は、活性化ヒトT細胞におけるTIM-3抗体の抗TIM-3交差遮断

50

を示す。

【 0 0 7 6 】

【図20】図20は、抗T_{IM}3モノクローナル抗体13A3、3G4、17C3および8B9の、ヒトT_{IM}3との結合に必要であるアミノ酸残基を示す。シグナル配列および膜貫通ドメインを、下線で示す。

【 0 0 7 7 】

【図21】図21A～21Bは、特定の抗T_{IM}3抗体が、ヒトT_{IM}3とPS-リポソームとの間の相互作用を遮断することを示す。図21Aは、「イン・タンデム」遮断アッセイにおけるホスファチジルセリン(PS)-hT_{IM}3の概略図である。図21Bは、図21Aに示されるPS-hT_{IM}3「イン・タンデム」遮断アッセイによって測定される場合の、特定の抗T_{IM}3抗体によるhT_{IM}3-FcのPS-リポソームとの結合の遮断を示す。

10

【 0 0 7 8 】

【図22】図22は、様々な抗T_{IM}3抗体(例えば、T_{IM}3.5、T_{IM}3.4、T_{IM}3.2、T_{IM}3.9、9F6、T_{IM}3.8およびT_{IM}3.6)の機能的活性の概要を示す。結合アッセイ、T細胞アッセイ、TILアッセイおよびPS-T_{IM}3遮断アッセイのデータを、提供する。

20

【 0 0 7 9 】

【図23】図23は、配列番号で表される配列の説明とともに、全配列番号の一覧を提供する。

【 0 0 8 0 】

【図24】図24A～24Bは、CT26結腸直腸腫瘍マウスモデルにおける、抗PD1抗体と抗T_{IM}3抗体との組合せ投与の抗腫瘍活性を示す。図24Aは、(i)対照IgG(左上のパネル)、(ii)RMT3-23抗T_{IM}3抗体単独(右上のパネル)、(iii)RMP1-14抗PD1抗体単独(左下のパネル)ならびに(iv)RMT3-23抗T_{IM}3抗体およびRMP1-14抗PD1抗体の組合せ(右下のパネル)で処置したマウス(n=10匹/群)における、腫瘍移植後の様々な時点での腫瘍体積を示す。図24Bは、(i)RMT3-23抗T_{IM}3抗体単独、(ii)AbM抗T_{IM}3抗体単独、(iii)RMP1-14抗PD1抗体単独、(iv)RMT3-23抗T_{IM}3抗体およびRMP1-14抗PD1抗体の組合せ、(v)AbM抗T_{IM}3抗体およびRMP1-14抗PD1抗体の組合せならびに(vi)アイソタイプ対照抗体で処置したマウスにおける、時間の関数(腫瘍移植後の日数)としての平均腫瘍体積を示す。

30

【 0 0 8 1 】

【図25】図25は、水素/重水素交換質量分析法(HDX-MS)を使用して抗T_{IM}3抗体(13A3および3G4)のエピトープをマッピングするために使用したhT_{IM}-3の一般的なペプチドの一覧を示す。それぞれのバーは、消化性ペプチドを示す。丸で囲んだ残基(すなわち、N99、T145およびN172)は、グリコシリ化部位を示す。

【 0 0 8 2 】

【図26】図26は、HDX-MXを使用して同定された抗T_{IM}3抗体(13A3および3G4)のヒトT_{IM}-3結合領域を示す。上部のパネルは、13A3抗T_{IM}3抗体の結合領域を示す。下部のパネルは、3G4抗T_{IM}3抗体の結合領域を示す。

40

【 0 0 8 3 】

【図27】図27A～27Bは、異所的にヒトまたはカニクイザルT_{IM}3を発現するCHO細胞に対するT_{IM}3.18.IgG1.3のスキヤッチャード解析の結果を示す。図27Aは、125I-T_{IM}3抗体の標準曲線を示す。図27Bは、ヒト(左のパネル)およびカニクイザル(右のパネル)T_{IM}3を発現するCHO細胞に結合したT_{IM}3.18.IgG1.3抗体の量を示す。

【 0 0 8 4 】

【図28】図28は、2人のドナーに由来する活性化Th1細胞に対するT_{IM}3.18.IgG1.3のスキヤッチャード解析の結果を示す(左および右のパネル)。

50

【0085】

【図29】図29Aおよび29Bは、T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 およびT I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 F a b が、分極化T h 1 (polarized Th1) / 照射C H O - O K T 3 の共培養アッセイにおいて、T h 1 T 細胞の増殖を増強したことを示す。図29Aは、様々な濃度のT I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 、1 3 A 3 (「 1 3 A 3 - g 4 」) または抗体なしもしくはアイソタイプ対照抗体 (h I g G 1 . 1 およびh I g G 4) で観察された、T h 1 細胞の増殖を示す。図29Bは、様々な濃度のT I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 F a b または抗体なしもしくはアイソタイプ対照抗体 I g G 1 . 3 で観察された、T h 1 細胞の増殖を示す。

【0086】

【図30】図30は、抗T I M 3 抗体T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 が、分極化T h 1 / 照射C H O - O K T 3 - P D - L 1 の共培養アッセイにおいて、ニポルマブとの組合せで、T h 1 T 細胞の増殖を増強したことを示す。

10

【0087】

【図31】図31は、抗T I M 3 抗体T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 が、照射されたC H O - O K T 3 細胞で刺激した腎細胞がん腫瘍浸潤リンパ球 (T I L) のインターフェロン - 分泌を増強したことを示す。

【0088】

【図32】図32は、抗T I M 3 抗体T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 が、照射C H O - O K T 3 細胞で刺激した乳がんT I L のインターフェロン - 分泌を増強したことを示す。

20

【0089】

【図33】図33は、A l l o M L R (混合リンパ球反応) アッセイにおいて使用したM 0マクロファージにおけるC D 1 6 3 、C D 2 0 6 およびT I M 3 の発現を示し、このアッセイの結果は、図34に示される。

【0090】

【図34】図34は、抗T I M 3 抗体T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 、アイソタイプ対照の存在下、または抗体の不在下において行われたA l l o M L R アッセイにおける細胞の増殖を示す。

【0091】

【図35】図35は、結晶構造解析によって判定された、T I M 3 : T I M 3 . 1 8 F a b 複合体の構造のリボン図である。F a b 断片を、薄い灰色で示し、T I M 3 を、濃い灰色で示す。

30

【0092】

【図36】図36は、結晶構造解析によって判定された、T I M 3 : T I M 3 . 1 8 F a b 複合体の構造を示す。F a b 断片を、リボン図として示す。T I M 3 を、白色の表面で表し、F a b 接触残基を、濃い灰色で示す。

【0093】

【図37】図37は、抗T I M 3 抗体による内部移行能力を測定するために使用したアッセイの図である。

【0094】

【図38】図38は、抗T I M 3 抗体1 3 A 3 (左下のパネル) およびその特定の変異体 (D 1 0 1 E - 左上のパネル、N 6 0 Q - 右上のパネル) が、受容体 (すなわち、T I M 3) に媒介される内部移行をトリガーしないことを示す。

40

【0095】

【図39】図39Aおよび39Bは、抗T I M 3 抗体1 3 A 3 (図39A) および3 G 4 (図39B) のエピトープを示すリボン図である。抗体のそれぞれのエピトープのアミノ酸配列を、リボン図の下に提供する。異なるパターンにより、特定のエピトープに対応する抗T I M 3 抗体の特定の領域が同定される。

【発明を実施するための形態】**【0096】**

本明細書において説明がより容易に理解され得るために、特定の用語をまず定義する。さ

50

らなる定義は詳細な説明を通じて示されている。

【 0 0 9 7 】

「1つの(a)」または「1つの(an)」実体という用語は、その実体の1以上を指すことに留意されたく、例えば、「1つのヌクレオチド配列」は、1以上のヌクレオチド配列を表すことが理解される。したがって、「1つの(a)」(または「1つの(an)」)、「1以上の」、および「少なくとも1つの」という用語は、本明細書において同義的に使用することができる。

【 0 0 9 8 】

さらに、「および／または」は、本明細書において使用されている場合、2つの指定された特徴または構成要素のそれぞれが、互いを伴う場合も伴わない場合もあるという具体的な開示として解釈されるものとする。したがって、用語「および／または」は、本明細書において「Aおよび／またはB」といった語句において使用されるとき、「AおよびB」、「AまたはB」、「A(単独)」、ならびに「B(単独)」を含むことが意図される。同様に、用語「および／または」は、「A、B、および／またはC」といった語句において使用されるとき、以下の態様：A、BおよびC；A、BまたはC；AまたはC；AまたはB；BまたはC；AおよびC；AおよびB；BおよびC；A(単独)；B(単独)；ならびにC(単独)のそれぞれを包含することが意図される。

10

【 0 0 9 9 】

態様が、「含む(comprising)」という言葉を用いて本明細書に記載されている場合、別途「からなる」および／または「から本質的になる」という用語で記載される類似の態様もまた提供されることが理解される。

20

【 0 1 0 0 】

別途定義されない限り、本明細書に使用される全ての技術用語および科学用語は、本開示が関連する技術分野の当業者によって広く理解されているものと同じ意味を有する。例えば、the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press、The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Pressおよびthe Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Pressは、当業者に、本開示において使用される用語の多くについての一般的な辞書を提供する。

30

【 0 1 0 1 】

単位、接頭辞、および記号は、国際単位系(SI)に認められた形式で示される。数値範囲は、その範囲を定める数を含む。別途示されない限り、ヌクレオチド配列は、左から右に、5'から3'の方向で記述される。アミノ酸配列は、左から右に、アミノからカルボキシの方向で記述される。本明細書において提供される見出しへ、全体として本明細書への参照によって得ることができる、本開示の様々な態様を制限するものではない。したがって、すぐ下に定義されている用語は、本明細書を全体として参照することによってより完全に定義される。

【 0 1 0 2 】

用語「約」は、およそ、大体、前後、またはその範囲を意味して本明細書において使用される。用語「約」が、数値範囲とともに使用されている場合、この用語は、境界を、記載されている数値の上下に拡大することにより、その範囲を修飾する。一般に、用語「約」は、数値を、記述された値の上下、例えば、10パーセント上または下(高いかまたは低い)に修飾し得る。

40

【 0 1 0 3 】

本明細書において、用語「T細胞免疫グロブリンおよびムチンドメイン含有3」または「TIM3」は、タンパク質のT細胞免疫グロブリンおよびムチンドメイン(TIM)ファミリーのメンバーである受容体を指す。TIM3の主要なリガンドとしては、ホスファチジルセリン(TIM3-L)が挙げられる。TIM3はまた、A型肝炎ウイルス細胞受容体2(HAVCR2)、T細胞免疫グロブリンムチン受容体3、TIM-3、TIMD3、TIMD-3、腎臓損傷分子3、KIM-3、およびCD366とも称される。用語「

50

「T I M 3」は、細胞によって天然に発現される、T I M 3の任意の変異体またはアイソフォームを含む。したがって、本明細書に記載される抗体は、ヒト以外の種に由来するT I M 3（例えば、カニクイザルT I M 3）と交差反応し得る。あるいは、抗体は、ヒトT I M 3に特異的であり得、他の種とのいずれの交差反応性も示さない可能性がある。T I M 3またはその任意の変異体およびアイソフォームは、それらを天然に発現する細胞もしくは組織から単離され得るか、または当技術分野で周知の技術および／もしくは本明細書に記載されるものを使用して組換えにより產生され得るかのいずれであってもよい。

【0104】

ヒトT I M 3の2つのアイソフォームが同定されている。アイソフォーム1（受託番号N P_116171、配列番号286）は、301個のアミノ酸からなり、カノニカル配列を表す。アイソフォーム2（受託番号A A H 20843、配列番号287）は、142個のアミノ酸からなり、可溶性である。これは、T I M 3の膜貫通ドメイン、細胞質ドメインおよび細胞外ドメインの一部をコードするアミノ酸残基143～301を欠いている。アミノ酸残基132～142もまた、上述のカノニカル配列とは異なる。

10

【0105】

2つの公知のヒトT I M 3アイソフォームのアミノ酸配列を、以下に示す。

(A) ヒトT I M 3アイソフォーム1（受託番号N P_116171；配列番号286；受託番号N M_032782.4を有するヌクレオチド配列によってコードされる；配列番号288；図20）。

20

【化1】

MFSHLPFDCVLLLLLRLTRSSEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDV
NYWTSRYWLNGDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNLKLVIKPAKVTAPTRQRDFTAAFP
MLTTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRIGIYIGAGICAGLALALIFGALIFK
WYSHSKEKIQNLSLISLANLPPSGLANAVAEGRSEENIYTIEENVYEVEEPNEYCYVSSRQQPSQPLGCRFAM
P

(B) ヒトT I M 3アイソフォーム2（受託番号A A H 20843；配列番号287；受託番号B C 020843.1を有するヌクレオチド配列によってコードされる；配列番号289）。

30

【化2】

MFSHLPFDCVLLLLLRLTRSSEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDV
NYWTSRYWLNGDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNLKLVIKPGEWTFACHLYE

【0106】

アイソフォーム1および2のシグナル配列は、アミノ酸1～21（下線）に対応する。したがって、成熟アイソフォーム1および2は、それぞれアミノ酸22～301または142からなる。成熟ヒトT I M 3の細胞外ドメインは、配列番号286のアミノ酸22～202からなり、アミノ酸配列：

40

【化3】

SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNGDFRKGDVSLT
IENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNLKLVIKPAKVTAPTRQRDFTAAFPRLTTRGHGPAETQTLGSLPD
NLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRIG

（配列番号290）を有する。

【0107】

カニクイザルT I M 3タンパク質は、以下のアミノ酸配列（シグナル配列を含む）からなる：

50

【化4】

MFSHLPFDCVLLLLLLLRLTRSSVEYIAEVGQNAYLPCSYTPAPPGLVPVCWGKGACPVFDCSVLRTENRDV
 NDRTSGRYWLKGDFHKGDVSLTIENVTLADSGVYCCRIQIPGIMNDEKHNLKLVVIKPAKVTAPTLQRDLTSAF
 PRMLTTGEHGPETQTPGSLPDVNLTQIFTLTNELRDGGATIRTAIYIAAGISAGLALALIFGALIFKWYSHSKE
 KTQNLSSLANIPPSGLANAVAEGRSEENIYTIEEDVYEVEEPNEYCYVSSGQQPSQPLGCRFAMP

(配列番号 360)

【0108】

「抗体」とは、一実施形態では、ジスルフィド結合によって相互接続している少なくとも2つの重(H)鎖および2つの軽(L)鎖を含むタンパク質を指す。各重鎖は、重鎖可変領域(本明細書において、VHと略される)および重鎖定常領域(本明細書において、CHと略される)からなる。特定の抗体、例えば、天然に存在するIgG抗体では、重鎖定常領域は、ヒンジと3つのドメイン、CH1、CH2およびCH3からなる。特定の抗体、例えば、天然に存在するIgG抗体では、各軽鎖は、軽鎖可変領域(本明細書において、VLと略される)および軽鎖定常領域からなる。軽鎖定常領域は、1つのドメイン(本明細書に置いて、CLと略される)からなる。VHおよびVL領域は、相補性決定領域(CDR)と呼ばれ、フレームワーク領域(FR)と呼ばれるより保存されている領域と散在している超可変性の領域にさらに細分され得る。各VHおよびVLは、以下の順序:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4でアミノ末端からカルボキシ末端に配置される、3つのCDRおよび4つのFRから構成される。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体の定常領域は、免疫グロブリンの、宿主組織または因子、例えば、免疫系の種々の細胞(例えば、エフェクター細胞)および伝統的な補体系の第1の成分(C1q)との結合を媒介し得る。重鎖は、C末端リシンを有してもよくまたは有さなくてもよい。本明細書において別途指定されない限り、可変領域のアミノ酸は、カバットの番号付けシステムを使用して番号付けされ、定常領域のアミノ酸は、EUシステムを使用して番号付けされている。

10

【0109】

「IgG抗体」、例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3およびIgG4抗体は、本明細書において、特定の実施形態では、天然に存在するIgG抗体の構造を有する、すなわち、これは、同一のサブクラスの天然に存在するIgG抗体と同一の数の重鎖および軽鎖ならびにジスルフィド結合を有する。例えば、抗TIM3 IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4抗体は、2つの重鎖(HC)および2つの軽鎖(LC)からなり、ここで、これらの2つの重鎖および軽鎖は、それぞれ天然に存在するIgG1、IgG2、IgG3およびIgG4抗体において生じるものと同一の数および位置のジスルフィド架橋によって連結されている(抗体が、ジスルフィド架橋を修飾するように突然変異している場合を除く)。

20

【0110】

抗体は、通常、そのコグネイト抗原と、10-5~10-11M以下の解離定数(KD)によって反映される高親和性で特異的に結合する。約10-4Mより大きい任意のKDは、一般に、非特異的結合を示すと考えられる。本明細書において、抗原と「特異的に結合する」抗体とは、抗原および実質的に同一の抗原と、10-7M以下、10-8M以下、5×10-9M以下、または10-8Mから10-10M以下の間のKDを有することを意味する高親和性で結合するが、無関係の抗原とは高親和性で結合しない抗体である。抗原は、所与の抗原に対して高度の配列同一性を示す場合には、例えば、所与の抗原の配列に対して、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%または少なくとも99%の配列同一性を示す場合に、所与の抗原と「実質的に同一」である。例として、ヒトTIM3と特異的に結合する抗体は、特定の実施形態では、特定の靈長類種に由来するTIM3抗原(例えば、カニクイザルTIM3)との交差反応性を有するが、その他の種に由来するTIM3抗原と、またはTIM3以外の抗原とは、交差反応し得ない。

30

40

50

【0111】

免疫グロブリンは、それだけには限らないが IgA、分泌型 IgA、IgG および IgM を含めた、よく知られているアイソタイプのいずれかに由来し得る。IgG アイソタイプは、特定の種ではサブクラスに分けられる：ヒトでは、IgG1、IgG2、IgG3 および IgG4 ならびにマウスでは、IgG1、IgG2a、IgG2b および IgG3。特定の実施形態では、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体は、IgG1 サブタイプのものである。免疫グロブリン、例えば、IgG1 は、多くても 2、3 個のアミノ酸で互いに異なるいくつかのアロタイプで存在する。「抗体」は、例として、天然に存在する抗体および天然に存在しない抗体の両方、モノクローナルおよびポリクローナル抗体、キメラおよびヒト化抗体、ヒトおよび非ヒト抗体、ならびに完全合成抗体を含む。

10

【0112】

本明細書において、用語、抗体の「抗原結合部分」は、抗原（例えば、ヒト T I M 3）と特異的に結合する能力を保持する抗体の 1 以上の断片を指す。抗体の抗原結合機能は、全長抗体の断片によって実施され得ることが示されている。抗体、例えば、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体の「抗原結合部分」という用語に包含される結合断片の例は、(i) VL、VH、CL および CH1 ドメインからなる Fab 断片（パパイン切断に由来する断片）または同様の一価の断片、(ii) ヒンジ領域におけるジスルフィド架橋によって連結された 2 つの Fab 断片を含む F(ab')2 断片（ペプシン切断に由来する断片）または同様の二価の断片、(iii) VH および CH1 ドメインからなる Fd 断片、(iv) 抗体の一本のアームの VL および VH ドメインからなる Fv 断片、(v) VH ドメインからなる DA b 断片 (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546)、(vi) 単離された相補性決定領域 (CDR)、ならびに(vii) 適宜合成リンカーによって接続され得る 2 つ以上の単離された CDR の組合せを含む。さらに、Fv 断片の 2 つのドメイン、VL および VH は別個の遺伝子によってコードされるが、それらは、VL および VH 領域対が一価の分子（一本鎖 Fv (scFv)）として知られる；例えば、Bird et al. (1988) Science 242:423-426; および Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 を参照のこと）を形成する单一のタンパク質鎖として作製されることを可能にする合成リンカーによる組換え方法を使用して接続され得る。このような一本鎖抗体はまた、用語、抗体の「抗原結合部分」内に包含されるものとする。これらの抗体断片は、当業者に公知の従来の技術を使用して得られ、断片は、無傷の抗体と同様の方法で有用性についてスクリーニングされる。抗原結合部分は、組換え DNA 技術によって、または無傷の免疫グロブリンの酵素的もしくは化学的切断によって生産され得る。

20

【0113】

「二重特異性」または「二機能性抗体」は、2 つの異なる重鎖 / 軽鎖対と、2 つの異なる結合部位を有する人工ハイブリッド抗体である。二重特異性抗体は、ハイブリドーマの融合または Fab' 断片の連結を含めた種々の方法によって生産できる。例えば、Songselvilia & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990); Kostelnik et al., J. Immunol. 148:1547-1553 (1992) を参照のこと。

30

【0114】

用語「モノクローナル抗体」は、本明細書において、実質的に同種の抗体の集団に由来する抗体を指す、すなわち、集団内に含まれる個々の抗体は、モノクローナル抗体の產生中に生じ得る可能性のある変異体（そのような変異体は、一般に、少量で存在している）を除き、実質的に類似であり、同一のエピトープに結合する（例えば、抗体は、单一の結合特異性および親和性を示す）。「モノクローナル」という修飾語は、抗体が、実質的に同種の抗体集団から得られているという特徴を示すものであり、任意の特定の方法による抗体の產生を必要とするものと解釈されるものではない。用語「ヒトモノクローナル抗体」は、单一の結合特異性を示し、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する可変領域および適宜定常領域を有する、実質的に同種の抗体集団に由来する抗体を指す。一実施形態では、ヒトモノクローナル抗体は、トランスジェニック非ヒト動物、例えば、ヒト重鎖導入遺伝子および不死化された細胞と融合された軽鎖導入遺伝子を含むゲノムを有するトラン

40

50

ンスジェニックマウスから得られたB細胞を含むハイブリドーマによって產生される。

【0115】

本明細書において、用語「組換えヒト抗体」は、組換え手段によって調製され、発現され、作製されるか、または単離された全てのヒト抗体、例えば、(a)ヒト免疫グロブリン遺伝子のトランスジェニックまたは導入染色体またはそれから調製されたハイブリドーマである動物(例えば、マウス)から単離された抗体、(b)抗体を発現するよう形質転換された宿主細胞から、例えば、トランスフェクトーマから単離された抗体、(c)組換え、コンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された抗体および(d)ヒト免疫グロブリン遺伝子配列のその他のDNA配列へのスプライシングを含む任意のその他の手段によって調製され、発現され、作製されるか、または単離された抗体を含む。このような組換えヒト抗体は、特定のヒト生殖系列免疫グロブリン配列を利用し、生殖系列遺伝子によってコードされる可変および定常領域を含むが、その後の再編成および例えば、抗体成熟の間に起こる突然変異を含む。当技術分野で公知のように(例えば、Lonberg (2005) Nature Biotech. 23(9):1117-1125を参照のこと)、可変領域は、外来抗原に対して特異的な抗体を形成するよう再編成する種々の遺伝子によってコードされる抗原結合ドメインを含有する。可変領域は、再配列に加えて、外来抗原に対する抗体の親和性を増大するよう、複数の單一アミノ酸変更(体細胞突然変異または高頻度突然変異とも呼ばれる)によってさらに修飾され得る。定常領域は、抗原にさらに応じて変化する(すなわち、アイソタイプスイッチ)。したがって、抗原に応じた、軽鎖および重鎖免疫グロブリンポリペプチドをコードする、再編成され、体細胞突然変異された核酸分子は、元の核酸分子との配列同一性を有し得ないが、その代わりに、実質的に同一または同様となる(すなわち、少なくとも80%の同一性を有する)。

10

【0116】

「ヒト」抗体(HuMab)とは、フレームワークおよびCDR領域の両方が、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域を有する抗体を指す。さらに、抗体が定常領域を含有する場合には、定常領域はまた、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する。本明細書に記載される抗TIM3抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基(例えば、インビトロでのランダムもしくは部位特異的突然変異誘発によって、またはインビオでの体細胞突然変異によって導入された突然変異)を含み得る。しかし、本明細書において、用語「ヒト抗体」はマウスなどの別の哺乳類種の生殖系列に由来するCDR配列が、ヒトフレームワーク配列にグラフトされている抗体を含むよう意図されない。用語「ヒト」抗体および「完全ヒト」抗体は、同義的に使用される。

20

【0117】

「ヒト化」抗体とは、非ヒト抗体のCDRドメインの外側のアミノ酸の一部、ほとんどまたは全てが、ヒト免疫グロブリンに由来する対応するアミノ酸で置換されている抗体を指す。抗体のヒト化形態の一実施形態では、CDRドメインの外側のアミノ酸の一部、ほとんどまたは全てが、ヒト免疫グロブリンに由来するアミノ酸で置換されているが、1以上のCDR領域内の一部、ほとんどまたは全てのアミノ酸は変更されていない。アミノ酸の小さい付加、欠失、挿入または置換または修飾は、抗体の特定の抗原と結合する能力を抑制しない限り許容される。「ヒト化」抗体は、元の抗体のものと同様の抗原特異性を保持する。

30

【0118】

「キメラ抗体」とは、可変領域がマウス抗体に由来し、定常領域がヒト抗体に由来する抗体などの、可変領域がある種に由来し、定常領域が別の種に由来する抗体を指す。

40

【0119】

本明細書において、「アイソタイプ」とは、重鎖定常領域遺伝子によってコードされる抗体クラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgDおよびIgE抗体)を指す。

【0120】

「アロタイプ」とは、特定のアイソタイプ群内の天然に存在する変異体を指し、これらの

50

変異体は、2、3個のアミノ酸で異なる（例えば、Jefferis et al. (2009) mAbs 1:1を参照のこと）。本明細書に記載される抗T I M 3抗体は、任意のアロタイプのものであり得る。本明細書において、「I g G 1 f」、「I g G 1.1 f」または「I g G 1.3 f」アイソタイプと称される抗体は、それぞれアロタイプ「f」、すなわち、例えば、配列番号3に示されるように、カバットにおけるEU指数による214R、356Eおよび358Mを有する、I g G 1、エフェクターレスI g G 1.1およびエフェクターレスI g G 1.3抗体である。

【0121】

語句「抗原を認識する抗体」および「抗原に対して特異的な抗体」は、本明細書において、用語「抗原と特異的に結合する抗体」と同義的に使用される。

10

【0122】

「単離された抗体」は、本明細書において、他のタンパク質および細胞材料を実質的に含まない抗体を指すことが意図される。

【0123】

本明細書において、「T I M 3 - LのT I M 3との結合を阻害する」抗体は、T I M 3のそのリガンド、例えば、ホスファチジルセリンとの結合を、例えば、ヒトT I M 3をトランسفェクトしたC H O細胞またはT I M 3を発現する活性化T細胞を使用した結合アッセイにおいて、当技術分野において認識されている方法、例えば、本明細書に記載されるF A C Sに基づく結合アッセイで、約1 μg / mL以下、例えば、約0.9 μg / mL以下、約0.85 μg / mL以下、約0.8 μg / mL以下、約0.75 μg / mL以下、約0.7 μg / mL以下、約0.65 μg / mL以下、約0.6 μg / mL以下、約0.55 μg / mL以下、約0.5 μg / mL以下、約0.45 μg / mL以下、約0.4 μg / mL以下、約0.35 μg / mL以下、約0.3 μg / mL以下、約0.25 μg / mL以下、約0.2 μg / mL以下、約0.15 μg / mL以下、約0.1 μg / mL以下または約0.05 μg / mL以下のE C 50で阻害する、抗体を指すことが意図される。

20

【0124】

「エフェクター機能」とは、抗体のF c領域とF c受容体もしくはリガンドとの相互作用、またはそれにより生じる生化学的事象を指す。例示的「エフェクター機能」は、C l q結合、補体依存性細胞傷害性(C D C)、F c受容体結合、A D C Cおよび抗体依存性細胞媒介性食作用(A D C P)などのF c R媒介性エフェクター機能ならびに細胞表面受容体(例えば、B細胞受容体；B C R)の下方制御を含む。このようなエフェクター機能は、一般に、結合ドメイン(例えば、抗体可変ドメイン)と組み合わされるF c領域を必要とする。

30

【0125】

「F c受容体」または「F c R」は、免疫グロブリンのF c領域と結合する受容体である。I g G抗体と結合するF c Rは、対立遺伝子変異体およびこれらの受容体の別法としてスプライシングされた形態を含めたF c Rファミリーの受容体を含む。F c Rファミリーは、3種の活性化(マウスではF c R I、F c R I I I I およびF c R I V；ヒトではF c R I A、F c R I I AおよびF c R I I I A)および1種の阻害性(F c R I I B)受容体からなる。ヒトF c Rの種々の特性は、当技術分野で公知である。先天性エフェクター細胞種の大部分は、1以上の活性化F c Rおよび阻害性F c R I I Bを同時に発現するが、ナチュラルキラー(N K)細胞は、1種の活性化F c受容体(マウスではF c R I I I およびヒトではF c R I I I A)を選択的に発現するが、マウスおよびヒトにおいて阻害性F c R I I Bを発現しない。ヒトI g G 1は、ほとんどのヒトF c受容体と結合し、結合する活性化F c受容体の種類に関してマウスI g G 2 aと同等と考えられる。

40

【0126】

「F c領域」(結晶性断片領域)または「F cドメイン」または「F c」は、免疫系の様々な細胞(例えば、エフェクター細胞)に位置するF c受容体または古典的な補体系の第1の成分(C 1 q)との結合を含め、免疫グロブリンと宿主組織または因子との結合を媒

50

介する、抗体の重鎖の C 末端領域を指す。したがって、F c 領域は、第 1 の定常領域免疫グロブリンドメイン（例えば、C H 1 または C L）を除いた、抗体の定常領域を含む。I g G、I g A および I g D の抗体アイソタイプにおいて、F c 領域は、抗体の 2 つの重鎖の第 2 (C H 2) および第 3 (C H 3) の定常ドメインに由来する 2 つの同一なタンパク質断片を含み、I g M および I g E F c 領域は、それぞれのポリペプチド鎖に、3 つの重鎖定常ドメイン (C H ドメイン 2 ~ 4) を含む。I g G については、F c 領域は、免疫グロブリンドメイン C H 2 および C H 3 ならびに C H 1 ドメインと C H 2 ドメインとの間のヒンジを含む。免疫グロブリン重鎖の F c 領域の境界の定義は、本明細書に定義されるように、多様であり得るが、ヒト I g G 重鎖 F c 領域は、I g G 1 についてはアミノ酸残基 D 2 2 1 から、I g G 2 については V 2 2 2 から、I g G 3 については L 2 2 1 から、I g G 4 については P 2 2 4 から、重鎖のカルボキシ末端までの伸びると定義され、この番号付けは、カバットにおける EU 指数によるものである。ヒト I g G F c 領域の C H 2 ドメインは、アミノ酸 2 3 7 からアミノ酸 3 4 0 にわたり、C H 3 ドメインは、F c 領域の C H 2 ドメインの C 末端側に位置する、すなわち、C H 3 ドメインは、I g G のアミノ酸 3 4 1 から、アミノ酸 4 4 7 または 4 4 6 (C 末端リシン残基が不在の場合) または 4 4 5 (C 末端グリシンおよびリシン残基が不在の場合) にわたる。本明細書において、F c 領域は、任意のアロタイプ変異体を含む天然の配列の F c 、または変異体 F c (例えば、非天然の F c) であり得る。F c はまた、「F c 融合タンパク質」(例えば、抗体またはイムノアドヘシン) とも称される、「F c 領域を含む結合タンパク質」など、F c を含むタンパク質ポリペプチドの単離またはその文脈において、この領域を指し得る。

10

20

【 0 1 2 7 】

「天然配列 F c 領域」または「天然配列 F c 」は、自然界において見られる F c 領域のアミノ酸配列と同一であるアミノ酸配列を含む。天然配列ヒト F c 領域は、天然配列ヒト I g G 1 F c 領域、天然配列ヒト I g G 2 F c 領域、天然配列ヒト I g G 3 F c 領域および天然配列ヒト I g G 4 F c 領域ならびにそれらの天然に存在する変異体を含む。天然配列 F c は、F c の種々のアロタイプを含む (例えば、Jefferis et al. (2009) mAbs 1:1 を参照のこと) 。

【 0 1 2 8 】

用語「エピトープ」または「抗原決定基」とは、例えば、それを同定するために使用される特定の方法によって定義される場合、免疫グロブリンまたは抗体が特異的に結合する抗原 (例えば、T I M 3) 上の部位を指す。エピトープは、連続アミノ酸 (普通、直鎖エピトープ) またはタンパク質の三次元フォールディングによって並置された非連続アミノ酸 (普通、コンホーメーションエピトープ) の両方から形成され得る。連続アミノ酸から形成されるエピトープは、通常、必ずではないが、変性溶媒に対する曝露の際に保持されるが、三次元フォールディングから形成されるエピトープは、通常、変性溶媒を用いる処理の際に失われる。エピトープは、通常、独特の空間コンホーメーション中に少なくとも 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 1 0 、 1 1 、 1 2 、 1 3 、 1 4 または 1 5 個のアミノ酸を含む。所与の抗体 (すなわち、エピトープマッピング) によって結合されるエピトープを決定する方法は、当技術分野で周知であり、例えば、(例えば、T I M 3 に由来する) 重複ペプチドまたは連続ペプチドが、所与の抗体 (例えば、抗 T I M 3 抗体) との反応性について試験される、免疫プロット法および免疫沈降アッセイが挙げられる。エピトープの空間コンホーメーションを決定する方法として、当技術分野における技術および本明細書に記載される技術、例えば、X 線結晶学、抗原変異解析、2 次元核磁気共鳴および H D X - M S (例えば、Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996) を参照のこと) が挙げられる。

30

40

【 0 1 2 9 】

用語「エピトープマッピング」とは、抗体抗原認識の分子決定基の同定のプロセスを指す。

【 0 1 3 0 】

2 種以上の抗体に関して、用語「同一エピトープと結合する」は、所与の方法によって決定されるように、抗体がアミノ酸残基の同一セグメントと結合することを意味する。本明

50

細書に記載される抗体を用いて、抗体が「T I M 3 上の同一エピトープ」と結合するか否かを調べる技術として、例えば、エピトープの原子分解を提供する抗原：抗体複合体の結晶のX線分析および水素／重水素交換質量分析(HDX-MS)などのエピトープマッピング方法が挙げられる。その他の方法は、抗体の抗原断片との、または抗原の突然変異された変動との結合をモニタリングし、これでは、抗原配列内のアミノ酸残基の修飾による結合の喪失が、エピトープ成分の指標と考えられることが多い。さらに、エピトープマッピングのための計算コンビナトリアル法を使用してもよい。これら的方法は、対象の抗体の、コンビナトリアルファージディスプレイベチドライブラリーから特異的な短いペプチドを親和性単離する能力に依存する。同一のV HおよびV Lまたは同一のCDR 1、2および3配列を有する抗体は、同一のエピトープと結合することが予測される。

10

【0131】

「標的との結合について別の抗体と競合する」抗体とは、その他の抗体の標的との結合を阻害する（部分的にまたは完全に）抗体を指す。2種の抗体が、標的との結合について互いに競合するか否か、すなわち、ある抗体が、その他の抗体の標的との結合を阻害するか否か、およびどの程度阻害するかは、公知の競合実験、例えば、BIA CORE（登録商標）表面プラズモン共鳴(SPR)解析などを使用して調べてもよい。特定の実施形態では、抗体は、別の抗体の標的との結合と、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%または100%競合する、阻害する。阻害または競合のレベルは、どの抗体が「ブロッキング抗体」であるか（すなわち、標的とともに最初にインキュベートされるコールド抗体）に応じて異なり得る。競合アッセイは、例えば、Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harb Protoc; 2006; doi:10.1101/pdb.prot4277 or in Chapter 11 of "Using Antibodies" by Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA 1999に記載されるように実施できる。2つの抗体は、一方の抗体が、競合実験において抗原と最初に接触するかまたは他方の抗体が最初に接触するかにかかわらず、互いに、両方の方向で少なくとも50%遮断する場合に、「交差競合する」。

20

【0132】

2つの抗体が、結合に関して競合または交差競合するかどうかを判定するための競合的結合アッセイには、例えば、フローサイトメトリー、例えば、実施例に記載されるものによる、T I M 3 を発現するT細胞との結合についての競合が含まれる。その他の方法として、SPR（例えば、BIA CORE（登録商標））、固相直接または間接ラジオイムノアッセイ(RIA)、固相直接または間接酵素イムノアッセイ(EIA)、サンドイッチ競合アッセイ(Stahli et al., Methods in Enzymology 9:242 (1983)を参照のこと)；固相直接ビオチン-アビシンE I A (Kirkland et al., J. Immunol. 137:3614 (1986)を参照のこと)；固相直接標識化アッセイ、固相直接標識化サンドイッチアッセイ(Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press (1988)を参照のこと)；1-125 標識を使用する固相直接標識RIA (Morel et al., Mol. Immunol. 25(1):7 (1988)を参照のこと)；固相直接ビオチン-アビシンE I A (Cheung et al., Virology 176:546 (1990))；および直接標識化RIA (Moldenhauer et al., Scand. J. Immunol. 32:77 (1990))が挙げられる。

30

【0133】

本明細書において、用語「特異的結合」、「選択的結合」、「選択的に結合する」および「特異的に結合する」とは、所定の抗原上のエピトープとの抗体結合を指す。通常、抗体は、(i) 例えば、分析物として所定の抗原、例えば、組換えヒトT I M 3 およびリガンドとして抗体を使用したBIA CORE（登録商標）2000における表面プラズモン共鳴(SPR)技術または抗体の抗原陽性細胞との結合のスキヤッチャード解析法によって決定される場合に、およそ10-7 M未満、例えば、およそ10-8 M、10-9 Mまたは10-10 M未満またはさらにそれより小さい平衡解離定数(KD)で結合し、(ii) 所定の抗原または密接に関連する抗原以外の非特異的抗原（例えば、BSA、カゼイン）との結合に対するその親和性よりも、少なくとも2倍大きい親和性で所定の抗原と結合

40

50

する。したがって、「ヒトT I M 3と特異的に結合する」抗体とは、10 - 7 M以下、例えば、およそ10 - 8 M、10 - 9 Mまたは10 - 10 M未満またはさらにそれより小さいK_Dで、可溶性または細胞結合型ヒトT I M 3と結合する抗体を指す。「カニクイザルT I M 3と交差反応する」抗体とは、10 - 7 M以下、例えば、およそ10 - 8 M、10 - 9 Mまたは10 - 10 M未満またはさらにそれより低いK_DでカニクイザルT I M 3と結合する抗体を指す。特定の実施形態では、非ヒト種由来のT I M 3と交差反応しないこのような抗体は、標準結合アッセイにおいて、これらのタンパク質に対して本質的に検出不可能な結合を示す。

【0134】

本明細書において、用語「k_{a s s o c}」または「k_a」とは、特定の抗体抗原相互作用の会合速度を指すものとするのに対し、本明細書において、用語「k_{d i s}」または「k_d」は、特定の抗体抗原相互作用の解離速度を指すものとする。用語「K_D」は、本明細書において、解離定数を指すものとし、これはk_aに対するk_dの割合（すなわち、k_d/k_a）から得られ、モル濃度（M）として表される。抗体のK_D値は、当技術分野で十分に確立された方法を使用して決定できる。抗体のK_Dを決定する利用可能な方法は、表面プラズモン共鳴、B I A C O R E（登録商標）システム、またはフローサイトメトリーおよびスキヤッチャード解析法を含む。

10

【0135】

本明細書において、IgG抗体に関する用語「高親和性」は、抗体が、標的抗原に対して、10 - 8 M以下、10 - 9 M以下または10 - 10 M以下のK_Dを有することを指す。しかしながら、「高親和性」結合は、他の抗体アイソタイプについては変動し得る。例えば、IgMアイソタイプに関する「高親和性」結合は、抗体が、10 - 10 M以下または10 - 8 M以下のK_Dを有することを指す。

20

【0136】

用語、抗体またはその抗原結合断片を使用するインピトロまたはインピボアッセイに関連して「E C 5 0」とは、最大応答の50%、すなわち、最大応答とベースラインの間の中間である応答を誘導する抗体またはその抗原結合部分の濃度を指す。

【0137】

用語、本明細書において対象に適用されるような「天然に存在する」とは、対象が自然界において見出され得るという事実を指す。例えば、実験室において人によって意図的に修飾されていない、自然界における供給源から単離され得る生物（ウイルスを含む）中に存在するポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列が天然に存在する。

30

【0138】

「ポリペプチド」とは、少なくとも2個の連続して連結しているアミノ酸残基を含む鎖を指し、鎖の長さに上限はない。タンパク質中の1個または複数のアミノ酸残基は、それだけには限らないが、グリコシル化、リン酸化またはジスルフィド結合形成などの修飾を含み得る。「タンパク質」は、1以上のポリペプチドを含み得る。

【0139】

用語「核酸分子」とは、本明細書において、DNA分子およびRNA分子を含むものとする。核酸分子は、一本鎖であっても、二本鎖であってもよく、cDNAであり得る。

40

【0140】

「保存的アミノ酸置換」は、同様の側鎖を有するアミノ酸残基とのアミノ酸残基の置換を指す。同様の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当技術分野で規定されている。これらのファミリーとして、塩基性側鎖（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、分枝側鎖（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）および芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を有するアミノ酸が挙げられる。特定の実施形態では、抗T I M 3抗体中の予

50

想される非必須アミノ酸残基は、同一側鎖ファミリーに由来する別のアミノ酸残基と置換される。抗原結合を排除しないヌクレオチドおよびアミノ酸保存的置換を同定する方法は、当技術分野で周知である（例えば、Brummel et al., Biochem. 32:1180-1187 (1993); Kobayashi et al. Protein Eng. 12(10):879-884 (1999); およびBurks et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:412-417 (1997)を参照のこと）。

【0141】

核酸については、用語「実質的な相同性」は、2種の核酸またはその指定された配列は、最適にアラインされ、比較される場合に、ヌクレオチドの少なくとも約80%、少なくとも約90%～95%、またはヌクレオチドの少なくとも約98%～99.5%において適当なヌクレオチド挿入または欠失を用いて同一であることを示す。あるいは、セグメントが選択的ハイブリダイゼーション条件下で、鎖の相補体とハイブリダイズする場合に、実質的な相同性が存在する。

10

【0142】

ポリペプチドについては、用語「実質的な相同性」は、2種のポリペプチドまたはその指定された配列が、最適にアラインされ、比較される場合に、アミノ酸の少なくとも約80%、少なくとも約90%～95%、またはアミノ酸の少なくとも約98%～99.5%において適当なアミノ酸挿入または欠失を用いて同一であることを示す。

【0143】

2種の配列間の同一性パーセントは、配列によって共有される同一位置の数の関数であり（すなわち、相同性% = 同一位置の数 / 位置の総数 × 100）、2種の配列の最適アラインメントのために導入される必要があるギャップの数、各ギャップの長さを考慮する。2種の配列間の配列の比較および同一性パーセントの決定は、以下の限定されない例に記載されるように、数学的アルゴリズムを使用して達成され得る。

20

【0144】

2種のヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、GCGソフトウェアパッケージ（worldwideweb.gcg.comで入手可能）中のGAPプログラムを使用して、NWSgapDNA.CMPマトリックスおよび40、50、60、70または80のギャップ加重および1、2、3、4、5または6の長さ加重を使用して決定できる。2種のヌクレオチドまたはアミノ酸配列間の同一性パーセントはまた、ALIGNプログラム（バージョン2.0）に組み込まれているE. MeyersおよびW. Millerのアルゴリズム（CABIOS, 4:11-17 (1989)）を使用し、PAM120加重残基表、12のギャップ長ペナルティーおよび4のギャップペナルティーを使用して決定できる。さらに、2種のアミノ酸配列間の同一性パーセントは、GCGソフトウェアパッケージ（http://www.gcg.comで入手可能）中のGAPプログラム中に組み込まれたNeedlemanおよびWunsch（J. Mol. Biol. (48):444-453 (1970)）アルゴリズムを使用し、Blossum62マトリックスまたはPAM250マトリックスのいずれかおよび16、14、12、10、8、6または4のギャップ加重および1、2、3、4、5または6の長さ加重を使用して決定できる。

30

【0145】

本明細書に記載される核酸およびタンパク質配列は、例えば、関連配列を同定するための公開データベースに対する検索を実施するための「クエリー配列」としてさらに使用され得る。このような検索は、Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10のNBLASTおよびXBLASTプログラム（バージョン2.0）を使用して実施され得る。本明細書に記載された核酸分子と相同的ヌクレオチド配列を得るために、BLASTヌクレオチド検索を、NBLASTプログラム、スコア=100、ワード長=12を用いて実施できる。本明細書に記載されたタンパク質分子と相同的アミノ酸配列を得るために、BLASTタンパク質検索を、XBLASTプログラム、スコア=50、ワード長（wordlength）=3を用いて実施できる。比較目的でギャップ付きアラインメント得るために、Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402に記載されるようなギャップ付きBLASTを利用できる。BLASTおよびGapped BLASTプログラムを利用する場合には、それぞれのプログラムのデフォルトパラメーター（例えば、X

40

50

B L A S T および N B L A S T) を使用できる。worldwideweb.ncbi.nlm.nih.gov を参照のこと。

【 0 1 4 6 】

核酸は、全細胞中に、細胞溶解物中に、または部分精製されたかもしくは実質的に純粋な形態で存在し得る。核酸は、アルカリ / SDS 处理、CsCl バンド形成、カラムクロマトグラフィー、アガロースゲル電気泳動および当技術分野で周知のその他のものを含めた標準技術によって、その他の細胞成分またはその他の夾雑物、例えば、その他の細胞性核酸（例えば、染色体のその他の部分）またはタンパク質から精製された場合に「単離される」かまたは「実質的に純粋にされる」。F. Ausubel, et al., ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987) を参照のこと。

10

【 0 1 4 7 】

核酸、例えば、cDNA は、遺伝子配列を提供するための標準技術に従って突然変異してもよい。コード配列については、これらの突然変異は、所望されるアミノ酸配列に影響を及ぼし得る。特に、天然の V、D、J、定常、スイッチおよび本明細書に記載される他のそのような配列と実質的に相同であるか、またはそれらに由来する、DNA 配列が考慮される（ここで、「由来する」とは、配列が、別の配列と同一であるか、またはそれから修飾されていることを示す）。

【 0 1 4 8 】

本明細書において、用語「ベクター」は、それに連結している別の核酸を輸送可能な核酸分子を指すものとする。ある種のベクターは、「プラスミド」であり、これは、さらなる DNA セグメントがライゲーションされ得る環状二本鎖 DNA ループを指す。別の種類のベクターは、ウイルスベクターであり、これでは、さらなる DNA セグメントがウイルスゲノム中にライゲーションされ得る。特定のベクターは、それらが導入される宿主細胞において自己複製可能である（例えば、細菌複製起点を有する細菌ベクターおよびエピソーム哺乳動物ベクター）。その他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞への導入の際に宿主細胞のゲノム中に組み込まれ、それによって、宿主ゲノムとともに複製され得る。さらに、特定のベクターは、作動可能に連結されている遺伝子の発現を指示可能である。このようなベクターは、本明細書において、「組換え発現ベクター」（または単に「発現ベクター」）と呼ばれる。一般に、組換え DNA 技術において有用な発現ベクターは、プラスミドの形態であることが多い。プラスミドは、ベクターの最もよく使用される形態であるので、本明細書では、「プラスミド」および「ベクター」は、同義的に使用され得る。しかし、同等の機能を果たす、ウイルスベクター（例えば、複製欠損レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ随伴ウイルス）などのその他の形態の発現ベクターもまた含まれる。

20

30

【 0 1 4 9 】

用語「組換え宿主細胞」（または単に「宿主細胞」）は、本明細書において、細胞中に天然に存在しない核酸を含み、組換え発現ベクターが導入されている細胞であり得る細胞を指すものとする。このような用語は、特定の対象細胞を指すだけではなく、このような細胞の後代も指すということは理解されなければならない。特定の修飾は、突然変異または環境的影響のいずれかによって後世において起こり得るので、このような後代は実際、親の細胞と同一ではない場合もあるが、本明細書において、用語「宿主細胞」の範囲内に依然として含まれる。

40

【 0 1 5 0 】

「免疫応答」とは、当技術分野において理解される通りであり、一般に、外来物質または異常な、例えば、がん性細胞に対する脊椎動物内の生物学的応答を指し、この応答が、これらの物質およびそれらによって引き起こされる疾患から生物を保護する。免疫応答は、免疫系の 1 以上の細胞（例えば、T リンパ球、B リンパ球、ナチュラルキラー (NK) 細胞、マクロファージ、好酸球、肥満細胞、樹状細胞または好中球）およびこれらの細胞のいずれかまたは肝臓によって産生される可溶性高分子（抗体、サイトカインおよび補体を

50

含む)の作用によって媒介され、これは、進入する病原体、病原体に感染した細胞もしくは組織、がん性もしくはその他の異常な細胞、または自己免疫もしくは病的炎症の場合には、正常なヒト細胞もしくは組織との選択的標的化、結合、損傷、破壊および/またはそれらの脊椎動物の身体からの排除をもたらす。免疫反応には、例えば、T細胞、例えば、エフェクターT細胞、Th細胞、CD4+細胞、CD8+T細胞もしくはTrég細胞の活性化もしくは阻害、または免疫系の任意の他の細胞、例えば、NK細胞の活性化もしくは阻害が含まれる。

【0151】

「免疫調節物質(immunomodulator)」または「免疫制御物質(immunoregulator)」とは、免疫応答の調節、制御または修飾に関与し得る物質、例えば、シグナル伝達経路の成分を標的とする物質を指す。免疫応答の「調節」、「制御」または「修飾」とは、免疫系の細胞における、またはこのような細胞(例えば、Th1細胞などのエフェクターT細胞)の活性における任意の変更を指す。このような調節は、免疫系の刺激または抑制を含み、種々の細胞型の数の増大もしくは減少、これらの細胞の活性の増大もしくは減少または免疫系内で起こり得る任意のその他の変化によって示され得る。阻害的および刺激的免疫調節物質の両方とも同定されており、その一部は、腫瘍微小環境において増強された機能を有し得る。いくつかの実施形態では、免疫調節物質は、T細胞の表面上の分子を標的とする。「免疫調節性標的」または「免疫制御性標的」は、物質、作用物質、部分、化合物または分子による結合に対して標的化される分子、例えば細胞表面分子であり、その活性は、物質、作用物質、部分、化合物または分子の結合によって変更される。免疫調節性標的は、例えば、細胞の表面の受容体(「免疫調節性受容体」)および受容体リガンド(「免疫調節性リガンド」)を含む。

10

【0152】

「免疫療法」とは、免疫系または免疫応答を誘導、増強、抑制またはそれ以外に修飾することを含む方法によって、疾患の再発に苦しむまたは、それを起こすまたは患有危険にある対象の治療を指す。

20

【0153】

「免疫賦活性(immunostimulating)療法」または「免疫賦活性(immunostimulatory)療法」とは、例えば、がんを治療するための、対象における免疫応答の増大(誘導または増強)をもたらす療法を指す。

30

【0154】

「内因性免疫応答を増強する」とは、対象における既存の免疫応答の有効性または効力を増大することを意味する。この有効性および効力の増大は、例えば、内因性宿主免疫応答を抑制する機序を克服することによって、または内因性宿主免疫応答を増強する機序を刺激することによって達成され得る。

【0155】

「Tエフェクター」(「Teff」)細胞とは、細胞がサイトカインを分泌し、他の免疫細胞を活性化し、指示する、細胞溶解活性を有するT細胞(例えば、CD4+およびCD8+T細胞)ならびにThヘルパー(Th)細胞、例えばTh1細胞を指すが、調節T細胞(Trég細胞)を含まない。本明細書に記載される特定の抗TIM3抗体は、Teff細胞、例えば、CD4+およびCD8+Teff細胞ならびにTh1細胞を活性化する。

40

【0156】

免疫応答または免疫系を刺激する能力の増大は、T細胞共刺激受容体の増強されたアゴニスト活性および/または阻害性受容体の増強されたアンタゴニスト活性に起因し得る。免疫応答または免疫系を刺激する能力の増大は、免疫応答を測定するアッセイ、例えば、サイトカインまたはケモカイン放出、細胞溶解活性(標的細胞上で直接的にまたはCD107aもしくはグランザイムの検出を介して間接的に決定される)および増殖における変化を測定するアッセイにおける、EC50または最大活性レベルの倍増が反映され得る。免疫応答または免疫系の活性を刺激する能力は、少なくとも10%、30%、50%、75%

50

%、2倍、3倍、5倍またはそれ以上増強され得る。

【0157】

本明細書において、用語「連結している」とは、2つ以上の分子の会合を指す。連結は、共有結合である場合も、非共有結合である場合もある。連結はまた、遺伝的であり（すなわち、組換えによって融合され）得る。このような連結は、化学的コンジュゲーションおよび組換えタンパク質生産などの様々な当技術分野において認識される技術を使用して達成され得る。

【0158】

本明細書において、「投与すること」は、当業者に公知の種々の方法および送達システムのいずれかを使用して、治療薬を含む組成物の対象への物理的導入を指す。本明細書に記載される抗TIM3抗体の別の投与経路は、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、脊髄または例えば、注射もしくは注入によるその他の非経口投与経路を含む。本明細書において、語句「非経口投与」とは、経腸および局所投与以外の、普通、注射による投与様式を意味し、制限するものではないが、静脈内、腹腔内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔内、リンパ内、病巣内、関節内、眼窩内、心臓内、皮内、経気管、皮下、表皮下、関節内、囊下、くも膜下、脊髄内、硬膜外および胸骨内注射および注入ならびにインビボエレクトロポレーションを含む。あるいは、本明細書に記載される抗体は、局所、上皮または粘膜投与経路などの非経口ではない経路によって、例えば、鼻腔内に、経口的に、経膣的に、直腸性に、舌下にまたは局所的に投与され得る。投与することは、例えば、1回、複数回および/または1回もしくは複数回の長期間にわたって実施され得る。

10

【0159】

本明細書において、用語「T細胞媒介性応答」とは、エフェクターT細胞（例えば、CD⁸⁺細胞）およびヘルパーT細胞（例えば、CD⁴⁺細胞）を含めたT細胞によって媒介される応答を指す。T細胞媒介性応答は、例えば、T細胞細胞傷害性および増殖を含む。

20

【0160】

本明細書において、用語「細胞傷害性Tリンパ球（CTL）応答」とは、細胞傷害性T細胞によって誘導される免疫応答を指す。CTL応答は、CD⁸⁺T細胞によって主に媒介される。

【0161】

本明細書において、用語「阻害する」または「遮断する」（例えば、TIM3-Lの、細胞上のTIM3との結合の阻害/遮断を指す）は、同義的に使用され、部分的および完全阻害/遮断の両方を包含する。いくつかの実施形態では、抗TIM3抗体は、例えば、本明細書においてさらに記載されるように判定される場合、TIM3-LのTIM3との結合を、少なくとも約50%、例えば、約60%、70%、80%、90%、95%、99%または100%阻害する。いくつかの実施形態では、抗TIM3抗体は、例えば、本明細書においてさらに記載されるように判定される場合、TIM3-LのTIM3との結合を、50%以下、例えば、約40%、30%、20%、10%、5%または1%阻害する。

30

【0162】

本明細書において、語句「腫瘍の成長を阻害する」には、腫瘍の成長における任意の測定可能な減少、例えば、腫瘍の成長の、少なくとも約10%、例えば、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約99%または100%の阻害が含まれる。

40

【0163】

本明細書において、「がん」は、身体中での異常な細胞の制御されない成長を特徴とする疾患の広い群を指す。未制御細胞分裂は、隣接する組織へ浸潤し、リンパ系または血流によって身体の遠隔部位へ転移し得る悪性腫瘍または細胞の形成をもたらし得る。

【0164】

用語「処置する」、「処置すること」および「処置」とは、本明細書において、症状の進行、発生、重症度もしくは再発、合併症、疾病と関連している状態または生化学的兆候を

50

逆転させ、軽減し、寛解し、阻害し、または減速し、または予防すること、または全般的な生存を増強することを目的とした、対象で実施される任意の種類の介入もしくはプロセスまたは対象へ活性薬剤を投与することを指す。処置は、疾患を有する対象または疾患有さない対象（例えば、予防のため）のものであってもよい。

【0165】

「血液悪性腫瘍」は、リンパ腫、白血病、骨髄腫またはリンパ系悪性腫瘍ならびに脾臓およびリンパ節のがんを含む。例示的リンパ腫として、B細胞リンパ腫（B細胞血液がん）およびT細胞リンパ腫の両方が挙げられる。B細胞リンパ腫は、ホジキンリンパ腫およびほとんどの非ホジキンリンパ腫の両方を含む。B細胞リンパ腫の限定されない例として、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫、小細胞リンパ性リンパ腫（慢性リンパ性白血病と重複する）、マントル細胞リンパ腫（MCL）、バーキットリンパ腫、縦隔大細胞型B細胞リンパ腫、ワルデンシュトロームマクログローブリン血症、結節性辺縁帯B細胞リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、原発性滲出リンパ腫、リンパ腫様肉芽腫症が挙げられる。T細胞リンパ腫の限定されない例として、節外性T細胞リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫および血管免疫芽球性T細胞リンパ腫が挙げられる。血液悪性腫瘍としてまた、それだけには限らないが、続発性白血病、慢性リンパ性白血病、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病および急性リンパ性白血病などの白血病も挙げられる。血液悪性腫瘍として、さらにそれだけには限らないが、多発性骨髄腫およびくすぶり型多発性骨髄腫などの骨髄腫も挙げられる。その他の血液系および/またはB細胞もしくはT細胞関連がんが、用語血液悪性腫瘍によって包含される。

10

20

【0166】

用語「有効用量」または「有効投与量」は、所望の効果を達成または少なくとも部分的に達成するのに十分な量と定義される。薬物または治療薬の「治療上有効な量」または「治療上有効な投与量」は、単独で、または別の治療薬と組み合わせて使用される場合に、疾患症状の重症度の低減、疾患症状のない期間の頻度および期間の増大または疾患苦痛による機能不全もしくは能力障害の防止によって証明される疾患退縮を促進する薬物の任意の量である。薬物の治療上有効な量または投与量は、単独で、または別の治療薬と組み合わせて、疾患を発生するか、または疾患の再発を患う危険性にある対象に投与される場合に、疾患の発生または再発を阻害する薬物の量である、「予防的有効量」または「予防的有効投与量」を含む。治療薬の疾患退縮を促進する能力または疾患の発生もしくは再発を阻害する能力は、臨床治験の際にヒト対象において、ヒトにおける有効性を予測する動物モデル系において、インビトロアッセイにおいて薬剤の活性をアッセイすることによってなど、当業者に公知の種々の方法を使用して評価できる。

30

【0167】

例として、抗がん剤は、対象において、がん退縮を促進する薬物である。いくつかの実施形態では、治療上有効な量の薬物は、がんを排除するところまでがん退縮を促進する。「がん退縮を促進すること」とは、有効量の薬物を、単独でまたは抗新生物剤と組み合わせて投与することが、患者において、腫瘍成長または大きさの低減、腫瘍の壊死、少なくとも1種の疾患症状の重症度の低下、疾患症状のない期間の頻度および期間の増大、疾患苦痛による機能不全もしくは能力障害の防止またはそうでなければ疾患症状の寛解をもたらすことを意味する。さらに、処置に関する用語「有効」および「有効性」には、薬理学的有効性および生理学的安全性の両方が含まれる。薬理学的有効性とは、薬物の患者においてがん退縮を促進する能力を指す。生理学的安全性とは、薬物の投与に起因する、毒性のレベルまたは細胞、臓器および/または生物レベルでのその他の有害な生理学的效果（有害効果）を指す。

40

【0168】

腫瘍の治療の例として、薬物の治療上有効な量または投与量は、未治療の対象と比較して、細胞成長または腫瘍成長を少なくとも約20%、少なくとも約40%、少なくとも約60%、または少なくとも約80%阻害する。いくつかの実施形態では、薬物の治療上有効

50

な量または投与量は、細胞成長または腫瘍成長を完全に阻害し、すなわち、細胞成長または腫瘍成長を 100 % 阻害する。化合物の腫瘍成長を阻害する能力は、以下に記載されるアッセイを使用して評価できる。あるいは、この組成物の特性は、化合物の細胞成長を阻害する能力を調べることによって評価でき、このような阻害は、当業者に公知のアッセイによってインビトロで測定され得る。本明細書に記載されるその他の実施形態では、腫瘍退縮が観察され得、少なくとも約 20 日、少なくとも約 40 日、または少なくとも約 60 日の期間継続し得る。

【 0169 】

用語「患者」は、予防的または治療的処置のいずれかを受けるヒトおよび他の哺乳動物対象を含む。

10

【 0170 】

本明細書において、用語「対象」には、任意のヒトまたは非ヒト動物が含まれる。例えば、本明細書に記載される方法および組成物は、がんを有する対象を治療するために使用され得る。用語「非ヒト動物」は、全ての脊椎動物、例えば、非ヒト靈長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ニワトリなどの哺乳動物および非哺乳動物、両生類、爬虫類などを含む。

【 0171 】

本明細書において言及される用語「体重に基づく」用量または投薬とは、患者に投与される用量が、患者の体重に基づいて計算されることを意味する。例えば、体重が 60 kg である患者が、3 mg / kg の抗 T I M 3 抗体を必要とする場合、投与に適切な量の抗 T I M 3 抗体（すなわち、180 mg）を計算し、使用することができる。

20

【 0172 】

本開示の方法に関する用語「固定用量 (fixed dose)」の使用は、単一の組成物中の 2 つ以上の異なる抗体（例えば、抗 T I M 3 抗体および第 2 の抗体、例えば、P D - 1 または P D - L 1 抗体）が、互いに、特定の（固定）比で、組成物中に存在することを意味する。いくつかの実施形態では、固定用量は、抗体の重量（例えば、mg）に基づく。特定の実施形態では、固定用量は、抗体の濃度（例えば、mg / ml）に基づく。いくつかの実施形態では、2 つの抗体（例えば、抗 T I M 3 および抗 P D 1 または抗 P D - L 1）の比は、少なくとも約 1 : 1、約 1 : 2、約 1 : 3、約 1 : 4、約 1 : 5、約 1 : 6、約 1 : 7、約 1 : 8、約 1 : 9、約 1 : 10、約 1 : 15、約 1 : 20、約 1 : 30、約 1 : 40、約 1 : 50、約 1 : 60、約 1 : 70、約 1 : 80、約 1 : 90、約 1 : 100、約 1 : 120、約 1 : 140、約 1 : 160、約 1 : 180、約 1 : 200、約 200 : 1、約 180 : 1、約 160 : 1、約 140 : 1、約 120 : 1、約 100 : 1、約 90 : 1、約 80 : 1、約 70 : 1、約 60 : 1、約 50 : 1、約 40 : 1、約 30 : 1、約 20 : 1、約 15 : 1、約 10 : 1、約 9 : 1、約 8 : 1、約 7 : 1、約 6 : 1、約 5 : 1、約 4 : 1、約 3 : 1 または約 2 : 1 の、第 1 の抗体の mg（例えば、抗 T I M 3 抗体）対第 2 の抗体の mg である。例えば、2 : 1 の比の抗 T I M 3 抗体および P D - 1 抗体、例えば、ニボルマブは、バイアルまたは注射が、約 480 mg の抗 T I M 3 抗体および 240 mg の抗 P D - 1 抗体、または約 2 mg / ml の抗 T I M 3 抗体および 1 mg / ml の抗 P D - 1 抗体を含有し得ることを意味し得る。

30

【 0173 】

本明細書に記載される方法および投与量に関する用語「一定用量 (flat dose)」の使用は、患者の体重または体表面積 (B S A) に関係なく、患者に投与される用量を意味する。一定用量は、したがって、mg / kg 用量ではなく、薬剤（例えば、抗 T I M 3 抗体）の絶対量として提供される。例えば、60 kg の人物および 100 kg の人物が、同一の用量の抗体（例えば、480 mg の抗 T I M 3 抗体）を受容することになる。

40

【 0174 】

本明細書において、用語「ug」および「uM」は、それぞれ「μg」および「μM」と同義的に使用される。

【 0175 】

本明細書に記載される種々の態様は、以下のサブセクションにおいてさらに詳細に記載さ

50

れる。

【0176】

I. 抗ヒトTIM3抗体

特定の機能的特徴または特性を特徴とする抗体、例えば、完全ヒト抗体が、本明細書に記載される。例えば、抗体は、ヒトTIM3と特異的に結合し、より具体的には、ヒトTIM3の細胞外ドメイン内の特定のドメイン（例えば、機能的ドメイン）と特異的に結合する。特定の実施形態では、抗体は、TIM3-Lが結合するTIM3上の部位と特異的に結合する。特定の実施形態では、抗体は、アンタゴニスト抗体である、すなわち、抗体は、細胞、例えば、T細胞上のTIM3のT細胞阻害活性を阻害または抑制する。特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、1以上の非ヒト靈長類に由来するTIM3、例えば、力ニクイザルTIM3と交差反応する。特定の実施形態では、抗体は、ヒトTIM3の細胞外領域およびカニクイザルTIM3の細胞外領域と特異的に結合する。一実施形態では、抗体は、高い親和性で、ヒトTIM3と結合する。

10

【0177】

本明細書に記載される抗TIM3抗体は、以下の機能的特性：

- (a) 可溶性および／もしくは膜結合型ヒトTIM3と結合すること、
- (b) 可溶性および／もしくは膜結合型カニクイザルTIM3と結合すること、
- (c) 免疫応答を誘導もしくは刺激すること、
- (d) T細胞活性化、例えば、Th1細胞活性化（例えば、サイトカイン分泌および／もしくは増殖の増強によって明らかのように）を誘導もしくは刺激すること、
- (e) 例えば、共培養アッセイ、例えば、実施例に記載されるものにおいて、T細胞増殖（例えば、CD4+、CD8+T細胞、Th1細胞もしくはTIL）を誘導もしくは刺激すること、
- (f) 例えば、実施例に記載されるアッセイにおいて判定される場合、T細胞、例えば、Th1細胞もしくは腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、例えば、ヒト腎臓、肺、膵臓もしくは乳がん腫瘍からのTILによるIFN- γ 産生を誘導もしくは刺激すること、
- (g) 例えば、実施例に記載されるアッセイにおいて判定される場合、ヒトTIM3のPtdSerとの結合を遮断もしくは阻害すること、
- (h) 細胞上のTIM3と結合したときに、細胞表面TIM3を内部移行もしくは下方制御しないこと、
- (i) ヒトTIM3細胞外ドメイン(i)CPVFECG（配列番号296）、(ii)RIQIPGIMND（配列番号298）、(iii)CPVFECGおよびRIQIPGIMND（それぞれ配列番号296および298）、もしくは(iv)WTSRYWLNGDFR（配列番号297）と結合すること、
- (j) 例えば、実施例に記載されるアッセイにおいて判定される場合、本明細書に記載されるTIM3と結合する抗体（例えば、13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、もしくはTIM3.2からTIM3.18のいずれか）のヒトTIM3との結合と、競合するかまたはそれを交差遮断すること、
- (k) ヒトTIM3と結合するが、配列番号286（図20）において番号付けされる場合、以下のアミノ酸残基：L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118およびD120の1つもしくは複数のアミノ酸置換を有するヒトTIM3とは結合しないこと、
- (l) HDX-MSによって判定される場合、ヒトTIM3領域49VPVCWGKGACPVFE62（配列番号367）および111RIQIPGIMNDEKFLKL127（配列番号368）と結合すること、
- (m) X線結晶構造解析によって判定される場合、ヒトTIM3の以下のアミノ酸：P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120、ならびに適宜T70および／もしくはI112のうち

20

30

40

50

の少なくとも 5 個、 10 個、 15 個、 20 個もしくは全てと相互作用する、重鎖および／もしくは軽鎖可変領域を有すること、ならびに／または
(n) 例えれば、実施例に記載されるように、 13A3 もしくは TIM3.18.IgG1.3 のヒト TIM3 との結合と競合するかもしくはそれを交差遮断すること、の 1 つ以上を示す。

【0178】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗 TIM3 抗体は、高い親和性、例えれば、 10 - 7 M 以下、 10 - 8 M 以下、 10 - 9 M 以下、 10 - 10 M 以下、 10 - 11 M 以下、 10 - 12 M 以下、 10 - 12 M ~ 10 - 7 M 、 10 - 11 M ~ 10 - 7 M 、 10 - 10 M ~ 10 - 7 M 、または 10 - 9 M ~ 10 - 7 M の K_D で、ヒト TIM3 と結合する。
特定の実施形態では、抗 TIM3 抗体は、例えれば、 BiACORE (商標) (例えれば、実施例に記載されているように) によって判定される場合、 10 - 7 M 以下、 10 - 8 M 以下、 10 - 9 M (1 nM) 以下、 10 - 10 M 以下、 10 - 12 M ~ 10 - 7 M 、 10 - 11 M ~ 10 - 7 M 、 10 - 10 M ~ 10 - 7 M 、 10 - 9 M ~ 10 - 7 M 、または 10 - 8 M ~ 10 - 7 M の K_D で、可溶性ヒト TIM3 と結合する。特定の実施形態では、抗 TIM3 抗体は、例えれば、フローサイトメトリーおよびスキヤッチャードプロットによって判定される場合、 10 - 7 M 以下、 10 - 8 M 以下、 10 - 9 M (1 nM) 以下、 5 × 10 - 10 M 以下、 10 - 12 M ~ 10 - 7 M 、 10 - 11 M ~ 10 - 8 M 、 10 - 10 M ~ 10 - 8 M 、 10 - 9 M ~ 10 - 8 M 、 10 - 11 M ~ 10 - 9 M 、または 10 - 10 M ~ 10 - 9 M の K_D で、活性化ヒト T 細胞上のものなど、結合型 (例えれば、細胞膜結合型) ヒト TIM3 と結合する。特定の実施形態では、抗 TIM3 抗体は、例えれば、フローサイトメトリーによって判定される場合、 10 μg / mL 以下、 5 μg / mL 以下、 1 μg / mL 以下、 0.9 μg / mL 以下、 0.8 μg / mL 以下、 0.7 μg / mL 以下、 0.6 μg / mL 以下、 0.5 μg / mL 以下、 0.4 μg / mL 以下、 0.3 μg / mL 以下、 0.2 μg / mL 以下、 0.1 μg / mL 以下、 0.05 μg / mL 以下または 0.01 μg / mL 以下の EC₅₀ で、活性化ヒト T 細胞上のものなど、結合型 (例えれば、細胞膜結合型) ヒト TIM3 と結合する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗 TIM3 抗体は、例えれば、 10 - 7 M 以下、 10 - 8 M 以下、 10 - 9 M 以下、 10 - 10 M 以下、 10 - 11 M 以下、 10 - 12 M 以下、 10 - 12 M ~ 10 - 7 M 、 10 - 11 M ~ 10 - 7 M 、 10 - 10 M ~ 10 - 7 M または 10 - 9 M ~ 10 - 7 M の K_D で、カニクイザル TIM3 と結合する。特定の実施形態では、抗 TIM3 抗体は、例えれば、 Biacore (商標) (例えれば、実施例に記載される) によって判定される場合、 10 - 7 M 以下、 10 - 8 M 以下、 10 - 9 M (1 nM) 以下、 10 - 10 M 以下、 10 - 12 M ~ 10 - 7 M 、 10 - 11 M ~ 10 - 7 M 、 10 - 10 M ~ 10 - 7 M 、 10 - 9 M ~ 10 - 7 M または 10 - 8 M ~ 10 - 7 M の K_D で、可溶性カニクイザル TIM3 と結合する。
抗 TIM3 抗体は、例えれば、フローサイトメトリー (例えれば、実施例に記載される) によって測定される場合、例えれば、 100 nM 以下、 10 nM 以下、 100 nM ~ 0.01 nM 、 100 nM ~ 0.1 nM 、 100 nM ~ 1 nM または 10 nM ~ 1 nM の EC₅₀ で、膜結合型カニクイザル TIM3 と結合し得る。特定の実施形態では、抗 TIM3 抗体は、例えれば、フローサイトメトリーおよびスキヤッチャードプロットによって判定される場合、 10 - 7 M 以下、 10 - 8 M 以下、 10 - 9 M (1 nM) 以下、 5 × 10 - 10 M 以下、 10 - 10 M 以下、 10 - 12 M ~ 10 - 7 M 、 10 - 11 M ~ 10 - 8 M 、 10 - 10 M ~ 10 - 8 M 、 10 - 9 M ~ 10 - 8 M 、 10 - 11 M ~ 10 - 9 M または 10 - 10 M ~ 10 - 9 M の K_D で、活性化ヒト T 細胞上のものなど、結合型 (例えれば、細胞膜結合型) カニクイザル TIM3 と結合する。

【0179】

特定の実施形態では、本明細書に記載される抗 TIM3 抗体は、例えれば、腫瘍において、例えれば、T 細胞を活性化することによって、免疫応答を刺激または増強する。例えれば、抗 TIM3 抗体は、例えれば、TIM3 によって媒介される T 細胞阻害性活性の阻害により生じ得る、サイトカイン (例えれば、IFN-) 分泌の増強および／または増殖の増強によ

10

20

30

40

50

つて明らかなように、細胞を活性化または共刺激し得る。特定の実施形態では、T I M 3抗体によるT細胞活性化または共刺激は、C D 3 刺激の存在下において生じる。特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、例えば、初代ヒトT細胞および／またはヒトT I M 3 を発現するT細胞、例えば、腫瘍浸潤リンパ球（T I L）において測定される場合、I F N - 分泌を、50%、100%（すなわち、2倍）、3倍、4倍、5倍またはそれ以上増大させ、最大10倍、30倍、100倍増大させてもよい。

【0180】

特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、細胞、例えば、C H O 細胞またはヒトT I M 3 を発現する活性化T細胞において、例えば、 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以下、 $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以下、 $0.01 \mu\text{g}/\text{mL} \sim 10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $0.1 \mu\text{g}/\text{mL} \sim 10 \mu\text{g}/\text{mL}$ または $0.1 \mu\text{g}/\text{mL} \sim 1 \mu\text{g}/\text{mL}$ のE C 50で、ホスファチジルセリンのヒトT I M 3との結合を阻害する。

【0181】

特定の実施形態では、本明細書に記載される抗T I M 3 抗体は、ヒトT I M 3 の細胞外部分、例えば、細胞外領域のI g 様ドメイン、すなわち、配列番号286（図20）のアミノ酸22～202内のエピトープ、例えば、コンホメーションエピトープと結合する。特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、ヒトT I M 3 細胞外ドメイン（配列番号286）のアミノ酸22～120または成熟ヒトT I M 3（配列番号290）の1～99内に位置するエピトープと結合する（実施例を参照のこと）。特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、成熟ヒトT I M 3のアミノ酸残基37～43（CPVFECG、配列番号296；図20を参照のこと）に対応する、配列番号286を有するヒトT I M 3のアミノ酸58～64からなる領域と結合するか、またはその中のエピトープと結合する。特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、成熟ヒトT I M 3のアミノ酸残基90～99（RIQIPGIMND、配列番号298；図20を参照のこと）に対応する、配列番号286を有するヒトT I M 3のアミノ酸111～120からなる領域と結合するか、またはその中のエピトープと結合する。特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、配列番号286を有するヒトT I M 3のアミノ酸58～64（CPVFECG、配列番号296）からなる領域からなる領域もしくはその中のエピトープと結合するか、または配列番号286を有するヒトT I M 3のアミノ酸111～120（RIQIPGIMND、配列番号298；図20を参照のこと）からなる領域もしくはその中のエピトープと結合する。特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、成熟ヒトT I M 3のアミノ酸残基57～83（WTSRYWLNGDFR、配列番号297；図20を参照のこと）に対応する、配列番号286を有するヒトT I M 3のアミノ酸78～89からなる領域と結合するか、またはその中のエピトープと結合する。

【0182】

一実施形態では、抗T I M 3 抗体は、13A3のものと実質的に同一のエピトープ、すなわち、配列番号286（図20）のアミノ酸残基C58、P59、F61、E62、C63、R111およびD120の1以上を含むエピトープ（またはヒトT I M 3の領域）と結合する。いくつかの実施形態では、抗T I M 3 抗体は、配列番号286（図20）のアミノ酸残基C58、P59、F61、E62、C63、D104、R111、Q113およびD120の1以上を含む、エピトープ（またはヒトT I M 3の領域）と結合する。特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、配列番号286のアミノ酸残基C58、P59、F61、E62、C63、R111およびD120の1以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒトT I M 3タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、配列番号286のアミノ酸残基C58、P59、F61、E62、C63、D104、R111、Q113およびD120の1以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒトT I M 3タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。

【0183】

いくつかの実施形態では、抗T I M 3 抗体は、3G4のものと実質的に同一のエピトープ

10

20

30

40

50

、すなわち、配列番号 286(図20)のアミノ酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G116およびM118の1以上を含むエピトープ(またはヒトTIM3の領域)と結合する。いくつかの実施形態では、抗TIM3抗体は、配列番号286(図20)のアミノ酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、D104、G116およびM118の1以上を含む、エピトープ(またはヒトTIM3の領域)と結合する。特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、配列番号286のアミノ酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G116およびM118の1以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒトTIM3タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、配列番号286のアミノ酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、D104、G116およびM118の1以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒトTIM3タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。

【0184】

いくつかの実施形態では、抗TIM3抗体は、17C3のものと実質的に同一のエピトープ、すなわち、配列番号286(図20)のアミノ酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64およびG116の1以上を含むエピトープ(またはヒトTIM3の領域)と結合する。いくつかの実施形態では、抗TIM3抗体は、配列番号286(図20)のアミノ酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、D104およびG116の1以上を含む、エピトープ(またはヒトTIM3の領域)と結合する。特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、配列番号286のアミノ酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64およびG116の1以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒトTIM3タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、配列番号286のアミノ酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、D104およびG116の1以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒトTIM3タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。

【0185】

いくつかの実施形態では、抗TIM3抗体は、8B9のものと実質的に同一のエピトープ、すなわち、配列番号286(図20)のアミノ酸残基L48、W78、S80、R81、W83、G86、D87およびR89の1以上を含むエピトープ(またはヒトTIM3の領域)と結合する。いくつかの実施形態では、抗TIM3抗体は、配列番号286(図20)のアミノ酸残基L48、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87およびR89の1以上を含む、エピトープ(またはヒトTIM3の領域)と結合する。いくつかの実施形態では、抗TIM3抗体は、8B9のものと実質的に同一のエピトープ、すなわち、配列番号286(図20)のアミノ酸残基L48、W78、S80、R81、W83、G86、D87およびR89の1以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒトTIM3タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、配列番号286(図20)のアミノ酸残基L48、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87およびR89の1以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒトTIM3タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。いくつかの実施形態では、抗TIM3抗体は、配列番号286(図20)のアミノ酸残基L48、W78、S80、R81、W83、G86、D87、R89およびD104の1以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒトTIM3タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。

10

20

30

40

50

に低減された結合親和性でしか結合しない。

【 0 1 8 6 】

特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、ヒトT I M 3との結合について、本明細書に記載されるC D R または可変領域、例えば、抗体1 3 A 3、3 G 4、1 7 C 3、1 7 C 8、9 F 6、8 B 9、8 C 4、およびT I M 3 . 2 ~ T I M 3 . 1 8 のいずれかのものを含む抗T I M 3 抗体と競合する（またその結合を阻害する）。特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、抗体1 3 A 3、3 G 4、1 7 C 3、1 7 C 8、9 F 6、8 B 9、8 C 4、またはT I M 3 . 2 ~ T I M 3 . 1 8 のいずれかの、ヒトT I M 3との結合を、少なくとも5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %または1 0 0 %阻害する。特定の実施形態では、1 3 A 3、3 G 4、1 7 C 3、1 7 C 8、9 F 6、8 B 9、8 C 4、またはT I M 3 . 2 ~ T I M 3 . 1 8 のいずれかは、抗T I M 3 抗体のヒトT I M 3との結合を、少なくとも5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %または1 0 0 %阻害する。特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、1 3 A 3、3 G 4、1 7 C 3、1 7 C 8、9 F 6、8 B 9、8 C 4、またはT I M 3 . 2 ~ T I M 3 . 1 8 のいずれかの、ヒトT I M 3との結合を、少なくとも5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %または1 0 0 %阻害し、1 3 A 3、3 G 4、1 7 C 3、1 7 C 8、9 F 6、8 B 9、8 C 4、またはT I M 3 . 2 ~ T I M 3 . 1 8 のいずれかは、抗T I M 3 抗体のヒトT I M 3との結合を、少なくとも5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %または1 0 0 %阻害する（例えば、両方の方向で競合する）。

【 0 1 8 7 】

特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、以下の特性：

(1) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、B i a c o r e によって測定される場合、例えば、1 0 n M以下（例えば、0 . 0 1 n M ~ 1 0 n M）のK Dで、可溶性ヒトT I M 3と結合すること、

(2) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、B i a c o r e によって測定される場合、例えば、1 0 0 n M以下（例えば、0 . 0 1 n M ~ 1 0 0 n M）のK Dで、可溶性カニクイザルT I M 3と結合すること、

(3) 例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合（例えば、実施例に記載されるように）、例えば、1 μ g / m L以下（例えば、0 . 0 1 μ g / m L ~ 1 μ g / m L）のE C 5 0で、膜結合型ヒトT I M 3と結合すること、

(4) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1 n M以下（例えば、0 . 0 1 n M ~ 1 0 n M）のK Dで、膜結合型ヒトT I M 3と結合すること、

(5) 例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合（例えば、実施例に記載されるように）、例えば、2 0 μ g / m L以下（例えば、0 . 0 1 μ g / m L ~ 2 0 μ g / m L）のE C 5 0で、膜結合型カニクイザルT I M 3と結合すること、

(6) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1 n M以下（例えば、0 . 0 1 n M ~ 1 0 n M）のK Dで、膜結合型カニクイザルT I M 3と結合すること、

(7) 例えば、実施例に記載されるように、(i) T I M 3を発現するT細胞（例えば、T h 1 細胞もしくはT I L）におけるI F N - 産生の増大および/または(i i) T I M 3を発現するT細胞（例えば、T h 1 細胞もしくはT I L）の増殖の増強によって明らかのように、T細胞活性化を誘導または増強すること（例えば、T I M 3の阻害性作用を遮断もしくは低減することによって）、

(8) 例えば、実施例に記載されるように、混合リンパ球反応（M L R）アッセイにおいて、T細胞増殖を刺激すること、

(9) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、P S - h T I M 3「イン・タンデム」遮断アッセイによって測定される場合、ホスファチジルセリンのT I M 3との結合を阻害すること、

(1 0) 細胞上のT I M 3と結合したときに、細胞表面T I M 3を内部移行または下方制御しないこと、

10

20

30

40

50

(11) 例えば、実施例に記載されるように、ヒトT M 3細胞外ドメイン(配列番号290)の以下の領域：(a)CPVFECG(配列番号296)、(b)RIQIPGIMND(配列番号298)、(c)CPVFECGおよびRIQIPGIMND(それぞれ配列番号296および298)、ならびに(d)WTSRYWLNGDFR(配列番号297)の1つと結合すること、
 (12) 例えば、実施例に記載されるように、アミノ酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118およびD120[配列番号286(図20)において番号付けされる]の1以上が、別のアミノ酸と置換されているヒトT M 3に対して、野生型ヒトT M 3との結合と比べて、低減された結合を有すること、

10

(13) 例えば、実施例に記載されるように、ヒトT M 3との結合について、13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4またはT M 3.7、T M 3.8、T M 3.10、T M 3.11、T M 3.12、T M 3.13、T M 3.14、T M 3.15、T M 3.16およびT M 3.18のいずれか1つのV HおよびV Lドメインを含む抗体と、いずれかの方向または両方の方向で、競合すること、

(14) 例えば、実施例に記載されるように、HDX-MSによって判定される場合、ヒトT M 3領域49VPVCWGKGACPVFE62(配列番号367)および111RIQIPGIMNDEKFNKL127(配列番号368)と結合すること、

(15) X線結晶構造解析によって判定される場合、ヒトT M 3の以下のアミノ酸：P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120、ならびに適宜T70および／もしくはI112のうちの少なくとも5個、10個、15個、20個または全てと相互作用する、重鎖および／または軽鎖可変領域を有すること[例えば、実施例に記載され、配列番号286(図20)に従って番号付けされる]、ならびに／あるいは

20

(16) 例えば、実施例に記載されるように、(a)アミノ酸C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120、ならびに適宜D104およびQ113(配列番号286(図20)に従って番号付けされる)のうちの1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個もしくは9個が、別のアミノ酸と置換されている、ヒトT M 3に対して、野生型ヒトT M 3との結合と比べて、低減された結合を有し、(b)実施例に記載されるように、HDX-MSによって判定される場合、49VPVCWGKGACPVFE62(配列番号367)、111RIQIPGIMNDEKFNKL127(配列番号368)および119NDEKFNKL127(配列番号373)と結合し、ならびに／または(c)例えば、実施例に記載されるように、13A3もしくはT M 3.18.IgG1.3のヒトT M 3との結合と競合するかもしくはそれを交差遮断すること、

30

の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、または全てを有する。

【0188】

したがって、当技術分野で公知および本明細書に記載される手法に従って判定されるこれらの機能的特性(例えば、生化学活性、免疫化学活性、細胞活性、生理学活性または他の生物活性など)の1つ以上を示す抗体は、特定の活性において、抗体の不在時(または例えば、無関係な特異性の対照抗体が存在する場合)に見られるものと比べた統計学的に有意な相違を示すことが理解される。いくつかの実施形態では、抗T M 3抗体に誘導される、所与のアッセイにおいて測定されるパラメーター(例えば、T細胞増殖、サイトカイン産生)の増大は、統計学的に有意な、測定されるパラメーターの少なくとも10%、例えば、少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、100%(すなわち、2倍)、3倍、5倍または10倍の増大を達成し、特定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、測定されるパラメーターを、抗体の不在下において行われる同一のアッセイと比べて、例えば、92%超、94%超、95%超、97%超、98%超、99%超、100%(すなわち、2倍)、3倍、5倍または10倍増

40

50

大させ得る。対照的に、抗T I M 3 抗体に誘導される、所与のアッセイにおいて測定されるパラメーター（例えば、腫瘍体積、T I M 3 - L のヒトT I M 3との結合）の減少は、統計学的に有意な、測定されるパラメーターの少なくとも10%、例えば、少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%または90%の減少を達成し、特定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、測定されるパラメーターを、抗体の不在下において行われる同一のアッセイと比べて、例えば、92%超、94%超、95%超、97%超、98%超または99%超で減少させ得る。

【0189】

例えば、E L I S A、ウエスタンプロットおよびR I Aを含む、種々の種のT I M 3に対する抗体の結合能力を評価するための標準アッセイは、当技術分野で公知である。好適なアッセイは、実施例において詳細に記載されている。抗体の結合動態（例えば、結合親和性）もまた、B i a c o r e 分析などの当技術分野で公知の標準アッセイによって評価することができる。T I M 3の機能的特性（例えば、リガンドの結合、T細胞の増殖、サイトカインの産生）に対する抗体の効果を評価するためのアッセイは、以下および実施例においてさらに詳細に記載されている。

10

【0190】

特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、天然の抗体ではない、または天然に存在する抗体ではない。例えば、抗T I M 3 抗体は、より多い、より少ないもしくは異なる種類の翻訳後修飾を有するなど、天然に存在する抗体のものとは異なる翻訳後修飾を有する。

20

【0191】

特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、例えば、C H O - O K T 3 - C D 3 2 : T細胞の共培養実験における抗T I M 3 抗体の交差結合において判定される場合、そのような抗体は、抗T I M 3 単独を上回って活性を増強せず、アゴニスト活性を有さない。特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、アゴニスト活性を促進することなく、T I M 3 とそのリガンドとの相互作用を遮断する。

【0192】

特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、L P S で処置した単球または樹状細胞からのI L - 1 2 産生を増強する。

【0193】

特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、P D - 1 およびT I M 3 を共発現する腫瘍浸潤C D 8 + T細胞を併用処置によって復活させ、したがって、C D 8 + T細胞の枯渇を回避する。

30

【0194】

I I . 例示的な抗T I M 3 抗体

本明細書に記載される特定の抗T I M 3 抗体は、抗体1 3 A 3、3 G 4、1 7 C 3、1 7 C 8、9 F 6、8 B 9、8 C 4、またはT I M 3.2 ~ T I M 3.1 8 のいずれかのC D R および/または可変領域配列を有し、本明細書に記載されるように単離され構造的に特徴付けられた、抗体、例えば、モノクローナル抗体、組換え抗体および/またはヒト抗体、ならびにそれらの可変領域またはC D R 配列との少なくとも80%の同一性（例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも99%の同一性）を有する抗体である。1 3 A 3、8 B 9、8 C 4、1 7 C 3、9 F 6、3 G 4 および1 7 C 8 のV H アミノ酸配列は、それぞれ配列番号3 4 ~ 4 0 に記載されている。1 3 A 3、8 B 9 および9 F 6 の突然変異バージョンのV H アミノ酸配列は、配列番号1 1 2 ~ 1 2 1 および3 6 4 に記載されている。1 3 A 3、1 7 C 3 および3 G 4 のV L アミノ酸配列は、配列番号6 0 に記載されている。8 B 9、8 C 4 および1 7 C 8 のV L アミノ酸配列は、配列番号6 1 に記載されている。9 F 6 のV L アミノ酸配列は、配列番号6 1、6 2 および6 3 に記載されている。1 3 A 3、8 B 9 および9 F 6 の突然変異バージョンのV L アミノ酸配列は、対応する非突然変異型抗体のものである。配列番号の同一性の概要是、図1 3 に提供される。

40

【0195】

50

したがって、重鎖可変領域が配列番号 34～40、112～121および364からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖可変領域を含む、単離された抗体またはその抗原結合部分が、本明細書において提供される。

【0196】

また、軽鎖可変領域が配列番号 60～63からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖可変領域を含む、単離された抗体またはその抗原結合部分が、提供される。

【0197】

- (a) それぞれ配列番号 34 および 60 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (b) それぞれ配列番号 35 および 61 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (c) それぞれ配列番号 36 および 61 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (d) それぞれ配列番号 37 および 60 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (e) それぞれ配列番号 38 および 61 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (f) それぞれ配列番号 38 および 62 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (g) それぞれ配列番号 38 および 63 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (h) それぞれ配列番号 39 および 60 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (i) それぞれ配列番号 40 および 61 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (j) それぞれ配列番号 121 および 63 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (k) それぞれ配列番号 120 および 61 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (l) それぞれ配列番号 112 および 60 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (m) それぞれ配列番号 113 および 60 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (n) それぞれ配列番号 114 および 60 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (o) それぞれ配列番号 115 および 60 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (p) それぞれ配列番号 116 および 60 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (q) それぞれ配列番号 117 および 60 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (r) それぞれ配列番号 118 および 60 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、
- (s) それぞれ配列番号 119 および 60 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列、または
- (t) それぞれ配列番号 364 および 60 を含む重鎖および軽鎖可変領域配列

を含む、単離された抗ヒト TIM3 抗体またはその抗原結合部分が、本明細書において提供される。

【0198】

抗 TIM3 抗体は、13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4 および 17C8、もしくは TIM3.2～TIM3.18 のいずれか 1 つ、またはこれらの組合せの重鎖および軽鎖 CDR1、CDR2 および CDR3 を含み得る。13A3、8B9、8C4 および 17C3 の VH CDR1 のアミノ酸配列は、それぞれ配列番号 41～44 に記載されている。9F6、3G4 および 17C8 の VH CDR1 のアミノ酸配列は、配列番号 45 に記載されている。突然変異型 13A3 抗体（すなわち、TIM3.10～TIM3.18）の VH CDR1 のアミノ酸配列は、非突然変異型 13A3 抗体、すなわち、配列番号 41 のものと同一である。突然変異型 8B9 抗体（すなわち、TIM3.8）の VH CDR1 のアミノ酸配列は、非突然変異型 8B9 抗体、すなわち、配列番号 42 のものと同一である。突然変異型 9F6 抗体（すなわち、TIM3.7）の VH CDR1 のアミノ酸配列は、非突然変異型 9F6 抗体、すなわち、配列番号 45 のものと同一である。13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4 および 17C8 の VH CDR2 のアミノ酸配列は、それぞれ配列番号 46～52 に記載されている。突然変異型 13A3 抗体 TIM3.10、TIM3.17 および TIM3.18 の VH CDR2 のアミノ酸配列は、配列番号 122 に記載されている。突然変異型 13A3 抗体 TIM3.11 および TIM3.12 の VH CDR2 のアミノ酸配列は、それぞれ配列番号 123 および 124 に記載されている。突然変異型 13A3 抗体 TIM3.13 および TIM3.16 の VH CDR2 のアミノ酸配列は、非突然変異型 13A3 抗体、すなわち、配列番号 46 のものである。突然変異型 8B9 抗体（すなわち、TIM3.8）の VH CDR2 のアミノ酸配列は、配列番号 125 に記載されている。突然変異型 9F6 抗体（すなわち、TIM3.7）の VH

10

20

30

40

50

C D R 2 のアミノ酸配列は、非突然変異型 9 F 6 抗体、すなわち、配列番号 4 5 のものと同一である。1 3 A 3 、8 B 9 、8 C 4 、1 7 C 3 、9 F 6 、3 G 4 および 1 7 C 8 の V H C D R 3 のアミノ酸配列は、それぞれ配列番号 5 3 ~ 5 9 に記載されている。

【 0 1 9 9 】

突然変異型 1 3 A 3 抗体（すなわち、T I M 3.1 0 ~ T I M 3.1 2 の V H C D R 3 のアミノ酸配列は、非突然変異型 1 3 A 3 抗体、すなわち、配列番号 5 3 のものである。突然変異型 1 3 A 3 抗体 T I M 3.1 3 および T I M 3.1 8 の V H C D R 3 のアミノ酸配列は、配列番号 1 2 6 に記載されている。突然変異型 1 3 A 3 抗体 T I M 3.1 5 および T I M 3.1 7 の V H C D R 3 のアミノ酸配列は、配列番号 1 2 8 に記載されている。突然変異型 1 3 A 3 抗体 T I M 3.1 4 および T I M 3.1 6 の V H C D R 3 のアミノ酸配列は、それぞれ配列番号 1 2 7 および 1 2 9 に記載されている。突然変異型 8 B 9 抗体（すなわち、T I M 3.8 ）の V H C D R 3 のアミノ酸配列は、非突然変異型 8 B 9 抗体、すなわち、配列番号 5 4 のものである。突然変異型 9 F 6 抗体（すなわち、T I M 3.7 ）の V H C D R 3 のアミノ酸配列は、非突然変異型 9 F 6 抗体、すなわち、配列番号 5 7 のものと同一である。1 3 A 3 、8 B 9 、8 C 4 、1 7 C 3 、9 F 6 、3 G 4 および 1 7 C 8 の V H C D R 3 のアミノ酸配列は、それぞれ配列番号 5 3 ~ 5 9 に記載されている。1 3 A 3 、8 B 9 、8 C 4 、1 7 C 3 、3 G 4 および 1 7 C 8 の V L C D R 1 のアミノ酸配列は、配列番号 6 4 に記載されている。9 F 6 の V L C D R 1 のアミノ酸配列は、配列番号 6 4 および 6 5 に記載されている。1 3 A 3 、8 B 9 、8 C 4 、1 7 C 3 、3 G 4 および 1 7 C 8 の V L C D R 2 のアミノ酸配列は、配列番号 6 6 に記載されている。9 F 6 の V L C D R 2 のアミノ酸配列は、配列番号 6 6 および 6 7 に記載されている。1 3 A 3 、1 7 C 3 および 3 G 4 の V L C D R 3 のアミノ酸配列は、配列番号 6 8 に記載されている。8 B 9 、8 C 4 および 1 7 C 8 の V L C D R 3 のアミノ酸配列は、配列番号 6 9 に記載されている。9 F 6 の V L C D R 3 のアミノ酸配列は、配列番号 6 9 、7 0 および 7 1 に記載されている。突然変異型 1 3 A 3 、8 B 9 および 9 F 6 の V L C D R のアミノ酸配列は、対応する非突然変異型抗体のものである。図 1 3 は、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体の C D R の配列番号の一覧を提供する。

【 0 2 0 0 】

C D R 領域は、カバットシステム (Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242) を使用して表記される。カバットシステムは、E U 指数または E U 番号付けシステムと称されるスキームの最も一般的な番号付けシステムであり、シーケンシングされた最初の I g G (E U 抗体、Edelman et al. 1969) の順次の番号付けに基づく。本明細書において開示されるカバットの番号付けスキームに基づいて、抗体の番号付けを、当技術分野において公知の他のシステム、例えば、Chothia、IMGT、Martin (強化型 Chothia) または AHo 番号付けスキームに変換することができる。

【 0 2 0 1 】

これらの抗体のそれぞれがヒト T I M 3 と結合すること、および抗原結合特異性が、主に、C D R 1 、2 および 3 領域によって提供されることを考慮すると、V H C D R 1 、2 および 3 配列ならびに V L C D R 1 、2 および 3 配列、例えば、図 1 3 のものは、本明細書に記載される他の抗 T I M 3 結合分子を作製するために、「混合および対応させる」ことができる（すなわち、異なる抗体に由来する C D R を、混合および対応させることができるが、それぞれの抗体は、V H C D R 1 、2 および 3 ならびに V L C D R 1 、2 および 3 を含有しなければならない）。このような「混合および対応させた」抗体の T I M 3 結合は、上記および実施例に記載の結合アッセイ（例えば、ELISA ）を使用して試験することができる。いくつかの実施形態では、V H C D R 配列を混合および対応させる場合、特定の V H 配列に由来する C D R 1 、C D R 2 および / または C D R 3 配列が、構造的に類似の C D R 配列と置換されている。同様に、V L C D R 配列を混合および対応させる場合、特定の V L 配列に由来する C D R 1 、C D R 2 および / または C D R 3 配

10

20

30

40

50

列が、構造的に類似の C D R 配列と置換されている。新規な V H および V L 配列を、1 以上の V H および / または V L C D R 領域配列をモノクローナル抗体 1 3 A 3、8 B 9、8 C 4、1 7 C 3、9 F 6、3 G 4、1 7 C 8、および T I M 3.2 ~ T I M 3.1 8 のいずれか 1 つに関して本明細書に開示される C D R 配列に由来する構造的に類似の配列と置換することによって作製できることが、当業者には容易に明らかであると予想される。

【 0 2 0 2 】

- (a) 配列番号 4 1 ~ 4 5 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 1、
- (b) 配列番号 4 6 ~ 5 2 および 1 2 2 ~ 1 2 5 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 2、
- (c) 配列番号 5 3 ~ 5 9 および 1 2 6 ~ 1 2 9 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 3、
- (d) 配列番号 6 4 ~ 6 5 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 1、
- (e) 配列番号 6 6 ~ 6 7 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 2、ならびに
- (f) 配列番号 6 8 ~ 7 1 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 3

を含む、単離された抗ヒト T I M 3 抗体またはその抗原結合部分が、本明細書において提供され、ここで、抗体は、ヒト T I M 3 と特異的に結合する。

【 0 2 0 3 】

一実施形態では、抗ヒト T I M 3 抗体は、重鎖および軽鎖可変領域を含み、ここで、重鎖可変領域 C D R 1、C D R 2、および C D R 3 領域は、

- (a) 配列番号 4 1、4 6、5 3、
- (b) 配列番号 4 2、4 7、5 4、
- (c) 配列番号 4 3、4 8、5 5、
- (d) 配列番号 4 4、4 9、5 6、
- (e) 配列番号 4 5、5 0、5 7、
- (f) 配列番号 4 5、5 1、5 8、
- (g) 配列番号 4 5、5 2、5 9、
- (h) 配列番号 4 1、1 2 2、5 3、
- (i) 配列番号 4 1、1 2 3、5 3、
- (j) 配列番号 4 1、1 2 4、5 3、
- (k) 配列番号 4 1、4 6、1 2 6、
- (l) 配列番号 4 1、4 6、1 2 7、
- (m) 配列番号 4 1、4 6、1 2 8、
- (n) 配列番号 4 1、4 6、1 2 9、
- (o) 配列番号 4 1、1 2 2、1 2 8、または
- (p) 配列番号 4 1、1 2 2、1 2 6

を含み、ここで、抗体は、ヒト T I M 3 と特異的に結合する。

【 0 2 0 4 】

いくつかの実施形態では、抗ヒト T I M 3 抗体は、重鎖および軽鎖可変領域を含み、ここで、軽鎖可変領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 領域は、

- (a) 配列番号 6 4、6 6、6 8、
- (b) 配列番号 6 4、6 6、6 9、
- (c) 配列番号 6 5、6 7、7 0、または
- (d) 配列番号 6 4、6 6、7 1

を含み、ここで、抗体は、ヒト T I M 3 と特異的に結合する。

【 0 2 0 5 】

特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、重鎖および軽鎖可変領域を含み、ここで、

10

20

30

40

50

65、67、70を含み、

(g2)重鎖可変領域CDR1、CDR2およびCDR3は、それぞれ配列番号45、50、57を含み、軽鎖可変領域CDR1、CDR2およびCDR3は、それぞれ配列番号64、66、71を含み、

(g3)重鎖可変領域CDR1、CDR2およびCDR3は、それぞれ配列番号45、50、57を含み、軽鎖可変領域CDR1、CDR2およびCDR3は、それぞれ配列番号64、66、69を含み、

(h)重鎖可変領域CDR1、CDR2およびCDR3は、それぞれ配列番号45、51、58を含み、軽鎖可変領域CDR1、CDR2およびCDR3は、それぞれ配列番号64、66、68を含み、または

(i)重鎖可変領域CDR1、CDR2およびCDR3は、それぞれ配列番号45、52、59を含み、軽鎖可変領域CDR1、CDR2およびCDR3は、それぞれ配列番号64、66、69を含み、

ここで、抗体は、ヒトTIM3と特異的に結合する。

【0206】

本明細書に記載されるVHドメインまたはその1つもしくは複数のCDRは、重鎖、例えば、全長重鎖を形成するために、定常ドメインと連結され得る。同様に、本明細書に記載されるVLドメインまたはその1つもしくは複数のCDRは、軽鎖、例えば、全長軽鎖を形成するために、定常ドメインと連結され得る。全長重鎖[C末端リシン(K)またはC末端グリシンおよびリシン(GK)は、不在であってもよいため、除外する]ならびに全長軽鎖が、組み合わさって、全長抗体が形成される。

【0207】

本明細書に記載されるVHドメインは、天然に存在するか、または例えば、本明細書にさらに記載されるように修飾されているかのいずれかである、ヒトIgG、例えば、IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4の定常ドメインに融合され得る。例えば、VHドメインは、ヒトIgG、例えば、IgG1、定常領域、例えば、以下の野生型ヒトIgG1定常ドメインのアミノ酸配列：

【化5】

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFP  
AVLQSSGLYSLSVVTVPS  
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM  
ISRTPEVTCVVVDVS  
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
KALPAPIEKTISKAKGQ  
PREPQVYTLPPSDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT  
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

(配列番号291)

または配列番号291のアロタイプ変異体のものに融合された、本明細書に記載される任意のVHドメインのアミノ酸配列を含み得、以下のアミノ酸配列：

【化6】

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFP  
AVLQSSGLYSLSVVTVPS  
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM  
ISRTPEVTCVVVDVS  
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
KALPAPIEKTISKAKGQ  
PREPQVYTLPPSREEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT  
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

(配列番号277、アロタイプ特異的アミノ酸残基は、太字および下線で示す)を有し得る。

【0208】

抗TIM3抗体のVHドメインは、エフェクターレス定常領域、例えば、以下のエフェク

10

20

30

40

50

ターレスヒト Ig G 1 定常ドメインアミノ酸配列：

【化 7】

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAEGAPSVFLFPPPKDTLMSRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

(配列番号 294、「Ig G 1.1 f」、下線で示される置換 L 234A、L 235E、G 237A、A 330S および P 331S を含む)

10

または

【化 8】

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAEGAPSVFLFPPPKDTLMSRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

20

(配列番号 295、「Ig G 1.3 f」、下線で示される置換 L 234A、L 235E および G 237A を含む) に融合された、本明細書に記載される任意の VH ドメインのアミノ酸配列を含み得る。

【0209】

例えば、Ig G 1 のアロタイプ変異体は、K 97R、D 239E および / または L 241M (上記において下線および太字で示される) を含み、配列番号 277、294 および 295 におけるものに従って番号付けされる。全長重鎖領域内、例えば、8C4 (配列番号 3) で、EU 番号付けによると、これらのアミノ酸置換は、K 214R、D 356E および L 358M と番号付けされる。いくつかの実施形態では、抗 TIM3 抗体の定常領域は、配列番号 277、294 および 295 における番号付けでアミノ酸 L 117、A 118、G 120、A 213 および P 214 (上記において下線で示される)、または EU 番号付けによる L 234、A 235、G 237、A 330 および P 331 に、1 以上の突然変異または置換をさらに含み得る。さらなる実施形態では、抗 TIM3 抗体の定常領域は、配列番号 291 のアミノ酸 L 117A、A 118E、G 120A、A 213S および P 214S、または EU 番号付けによる L 234A、L 235E、G 237A、A 330S および P 331S に、1 以上の突然変異または置換を含む。抗 TIM3 抗体の定常領域はまた、配列番号 291 の L 117A、A 118E および G 120A、または EU 番号付けによる L 234A、L 235E および G 237A に、1 以上の突然変異または置換を含んでもよい。

30

【0210】

あるいは、抗 TIM3 抗体の VH ドメインは、ヒト Ig G 4 定常領域、例えば、以下のヒト Ig G 4 アミノ酸配列またはその変異体：

40

【化 9】

```
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSQED
PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR
PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSGK
```

50

(配列番号 292、S228Pを含む)に融合した、本明細書に記載される任意のVHドメインのアミノ酸配列を含み得る。

【0211】

本明細書に記載されるVLドメインは、ヒトカッパまたはラムダ軽鎖の定常ドメインに融合され得る。例えば、抗TIM3抗体のVLドメインは、以下のヒトIgG1カッパ軽鎖アミノ酸配列：

【化10】

```
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
```

10

(配列番号 278)に融合した、本明細書に記載される任意のVLドメインのアミノ酸配列を含み得る。

【0212】

特定の実施形態では、重鎖定常領域は、C末端にリシンまたは別のアミノ酸を含み、例えば、それは、重鎖において、以下の最後のアミノ酸：LSPGK(配列番号 279)を含む。特定の実施形態では、重鎖定常領域は、C末端における1以上のアミノ酸が欠如しており、例えば、C末端配列LSPG(配列番号 280)またはLSP(配列番号 281)を有する。

【0213】

例示的な重鎖および軽鎖のアミノ酸配列は、重鎖については配列番号 1~28、72~111、301~354に対応し、軽鎖については配列番号 29~30および32~33に対応する。

20

【0214】

(a1) それぞれ配列番号 301(もしくは 302)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a2) それぞれ配列番号 1(もしくは 8)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a3) それぞれ配列番号 15(もしくは 22)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a4) それぞれ配列番号 303(もしくは 304)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

30

(a5) それぞれ配列番号 72(もしくは 82)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a6) それぞれ配列番号 92(もしくは 102)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a7) それぞれ配列番号 305(もしくは 306)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a8) それぞれ配列番号 73(もしくは 83)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a9) それぞれ配列番号 93(もしくは 103)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a10) それぞれ配列番号 307(もしくは 308)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a11) それぞれ配列番号 74(もしくは 84)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a12) それぞれ配列番号 94(もしくは 104)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

40

(a13) それぞれ配列番号 309(もしくは 310)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a14) それぞれ配列番号 75(もしくは 85)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a15) それぞれ配列番号 95(もしくは 105)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a16) それぞれ配列番号 311(もしくは 312)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a17) それぞれ配列番号 76(もしくは 86)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a18) それぞれ配列番号 96(もしくは 106)および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

50

(a 1 9) それぞれ配列番号 3 1 3 (もしくは 3 1 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 0) それぞれ配列番号 7 7 (もしくは 8 7) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 1) それぞれ配列番号 9 7 (もしくは 1 0 7) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 2) それぞれ配列番号 3 1 5 (もしくは 3 1 6) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 3) それぞれ配列番号 7 8 (もしくは 8 8) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 4) それぞれ配列番号 9 8 (もしくは 1 0 8) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 5) それぞれ配列番号 3 1 7 (もしくは 3 1 8) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 6) それぞれ配列番号 7 9 (もしくは 8 9) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 7) それぞれ配列番号 9 9 (もしくは 1 0 9) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 8) それぞれ配列番号 3 1 9 (もしくは 3 2 0) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 2 9) それぞれ配列番号 3 4 9 (もしくは 3 5 0) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 3 0) それぞれ配列番号 3 5 1 (もしくは 3 5 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(a 3 1) それぞれ配列番号 3 5 3 (もしくは 3 5 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(b 1) それぞれ配列番号 3 2 1 (もしくは 3 2 2) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(b 2) それぞれ配列番号 2 (もしくは 9) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(b 3) それぞれ配列番号 1 6 (もしくは 2 3) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(b 4) それぞれ配列番号 3 2 3 (もしくは 3 2 4) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(b 5) それぞれ配列番号 8 0 (もしくは 9 0) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(b 6) それぞれ配列番号 1 0 0 (もしくは 1 1 0) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(b 7) それぞれ配列番号 3 2 5 (もしくは 3 2 6) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(c 1) それぞれ配列番号 3 2 7 (もしくは 3 2 8) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(c 2) それぞれ配列番号 3 (もしくは 1 0) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(c 3) それぞれ配列番号 1 7 (もしくは 2 4) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(c 4) それぞれ配列番号 3 2 9 (もしくは 3 3 0) および 3 0 を含む重鎖および軽鎖配列、

(d 1) それぞれ配列番号 3 3 1 (もしくは 3 3 2) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(d 2) それぞれ配列番号 4 (もしくは 1 1) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(d 3) それぞれ配列番号 1 8 (もしくは 2 5) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(d 4) それぞれ配列番号 3 3 3 (もしくは 3 3 4) および 2 9 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 1 . 1) それぞれ配列番号 3 3 5 (もしくは 3 3 6) および 3 2 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 1 . 2) それぞれ配列番号 3 3 5 (もしくは 3 3 6) および 3 3 を含む重鎖および軽鎖配列、

10

20

30

40

50

(e 1.3) それぞれ配列番号 335 (もしくは 336) および 31 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 2) それぞれ配列番号 5 (もしくは 12) および 33 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 3) それぞれ配列番号 19 (もしくは 26) および 33 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 4) それぞれ配列番号 337 (もしくは 338) および 33 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 5) それぞれ配列番号 81 (もしくは 91) および 33 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 6) それぞれ配列番号 101 (もしくは 111) および 33 を含む重鎖および軽鎖配列、

(e 7) それぞれ配列番号 339 (もしくは 340) および 33 を含む重鎖および軽鎖配列、

(f 1) それぞれ配列番号 341 (もしくは 342) および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(f 2) それぞれ配列番号 6 (もしくは 13) および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(f 3) それぞれ配列番号 20 (もしくは 27) および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(f 4) それぞれ配列番号 343 (もしくは 344) および 29 を含む重鎖および軽鎖配列、

(g 1) それぞれ配列番号 345 (もしくは 346) および 30 を含む重鎖および軽鎖配列、

(g 2) それぞれ配列番号 7 (もしくは 14) および 30 を含む重鎖および軽鎖配列、

(g 3) それぞれ配列番号 21 (もしくは 28) および 30 を含む重鎖および軽鎖配列、または

(g 4) それぞれ配列番号 347 (もしくは 348) および 30 を含む重鎖および軽鎖配列を含む、単離された抗ヒト T I M 3 抗体またはその抗原結合部分が、本明細書において提供され、ここで、抗体は、ヒト T I M 3 と特異的に結合する。

【0215】

特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、本明細書において、例えば、前の段落において記載される重鎖および軽鎖配列の組合せを含み、ここで、抗体は、2つの重鎖および2つの軽鎖を含み、さらに、2つの重鎖を一緒に連結する少なくとも1つのジスルフィド結合を含み得る。抗体はまた、軽鎖のそれを、重鎖のそれと連結するジスルフィド結合も含み得る。

【0216】

本明細書に記載される重鎖または軽鎖（またはそれらの可変領域）のいずれかと少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、80%、75% または 70% 同一であるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖、例えば配列番号 1 ~ 33、72 ~ 111、および 301 ~ 354 は、所望される特徴、例えば、本明細書にさらに記載されるものを有する抗ヒト T I M 3 抗体を形成するために使用され得る。例示的な変異体は、例えば、定常ドメインにアロタイプ変異を含むもの、および / または可変領域もしくは定常領域に突然変異、例えば、本明細書において開示される突然変異を含むものである。本明細書に記載される重鎖または軽鎖（またはそれらの可変領域）のいずれかと多くとも 1 ~ 30 個、1 ~ 25 個、1 ~ 20 個、1 ~ 15 個、1 ~ 10 個、1 ~ 5 個、1 ~ 4 個、1 ~ 3 個、1 ~ 2 個または 1 個のアミノ酸が（置換、付加または欠失により）異なるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖は、所望される特徴、例えば、本明細書にさらに記載されるものを有する抗ヒト T I M 3 抗体を形成するために使用され得る。

【0217】

種々の実施形態では、上記の抗体は、以下の機能的特性：

(1) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、B i a c o r e によって測定される場合、例えば、10 nM 以下（例えば、0.01 nM ~ 10 nM）の K D で、可溶性ヒト T I M 3 と結合すること、

(2) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、B i a c o r e によって測定される

10

20

30

40

50

場合、例えば、100nM以下(例えば、0.01nM~100nM)のKDで、可溶性力ニクイザルTIM3と結合すること。

(3) 例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合(例えば、実施例に記載されるように)、例えば、1μg/mL以下(例えば、0.01μg/mL~1μg/mL)のEC50で、膜結合型ヒトTIM3と結合すること。

(4) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1nM以下(例えば、0.01nM~10nM)のKDで、膜結合型ヒトTIM3と結合すること。

(5) 例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合(例えば、実施例に記載されるように)、例えば、20μg/mL以下(例えば、0.01μg/mL~20μg/mL)のEC50で、膜結合型力ニクイザルTIM3と結合すること。 10

(6) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1nM以下(例えば、0.01nM~10nM)のKDで、膜結合型力ニクイザルTIM3と結合すること。

(7) 例えば、実施例に記載されるように、(i) TIM3を発現するT細胞(例えば、Th1細胞もしくはTIL)におけるIFN- γ 産生の増大および/または(ii) TIM3を発現するT細胞(例えば、Th1細胞もしくはTIL)の増殖の増強によって明らかのように、T細胞活性化を誘導または増強すること(例えば、TIM3の阻害性作用を遮断もしくは低減することによって)。

(8) 例えば、実施例に記載されるように、混合リンパ球反応(MLR)アッセイにおいて、T細胞増殖を刺激すること。 20

(9) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、PS-hTIM3「イン・タンデム」遮断アッセイによって測定される場合、ホスファチジルセリンのTIM3との結合を阻害すること。

(10) 細胞上のTIM3と結合したときに、細胞表面TIM3を内部移行または下方制御しないこと。

(11) 例えば、実施例に記載されるように、ヒトTIM3細胞外ドメイン(配列番号290)以下の領域:(a)CPVFECG(配列番号296)、(b)RIQIPGIMND(配列番号298)、(c)CPVFECGおよびRIQIPGIMND(それぞれ配列番号296および298)、ならびに(d)WTSRYWLNGDFR(配列番号297)の1つと結合すること。 30

(12) 例えば、実施例に記載されるように、アミノ酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118およびD120[配列番号286(図20)において番号付けされる]の1以上が、別のアミノ酸と置換されているヒトTIM3に対して、野生型ヒトTIM3との結合と比べて、低減された結合を有すること。

(13) 例えば、実施例に記載されるように、ヒトTIM3との結合について、13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4またはTIM3.7、TIM3.8、TIM3.10、TIM3.11、TIM3.12、TIM3.13、TIM3.14、TIM3.15、TIM3.16、TIM3.17およびTIM3.18のいずれか1つのVHおよびVLドメインを含む抗体と、いずれかの方向または両方の方向で、競合すること。 40

(14) 例えば、実施例に記載されるように、HDX-MSによって判定される場合、ヒトTIM3領域49VPVCWGKGACPVFE62(配列番号367)および111RIQIPGIMNDEKFNLLKL127(配列番号368)と結合すること。

(15) X線結晶構造解析によって判定される場合、ヒトTIM3の以下のアミノ酸:P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120、ならびに適宜T70および/もしくはI112のうちの少なくとも5個、10個、15個、20個または全てと相互作用する、重鎖および/または軽鎖可変領域を有すること[例えば、実施例に記載され、配列番号286(図20) 50

)に従って番号付けされる]、ならびに / あるいは

(16) 例えば、実施例に記載されるように、(a) アミノ酸 C 5 8、P 5 9、F 6 1、E 6 2、C 6 3、R 1 1 1、D 1 2 0、ならびに適宜 D 1 0 4 および Q 1 1 3 [配列番号 2 8 6 (図 2 0)に従って番号付けされる]のうちの 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個もしくは 9 個が、別のアミノ酸と置換されている、ヒト T I M 3 に対して、野生型ヒト T I M 3 との結合と比べて、低減された結合を有し、(b) 実施例に記載されるように、H D X - M S によって判定される場合、49VPVCWGKGACPVFE62 (配列番号 3 6 7)、111RIQIPGIMNDEKFNKL127 (配列番号 3 6 8) および 119NDEKFNKL127 (配列番号 3 7 3) と結合し、ならびに / または (c) 例えば、実施例に記載されるように、13A 3 もしくは T I M 3.18.I g G 1.3 のヒト T I M 3 との結合と競合するかもしくはそれを交差遮断すること、

の 1 以上、2 以上、3 以上、4 以上、5 以上、6 以上、7 以上、8 以上、9 以上、10 以上、11 以上、12 以上、13 以上、14 以上、15 以上または全てを示す。

【0218】

このような抗体には、例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体が含まれる。

【0219】

一実施形態では、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体は、コンホメーションエピトープと結合する。

【0220】

一実施形態では、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体は、成熟ヒト T I M 3 細胞外ドメイン (配列番号 2 9 0) の以下の領域 :

SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWT SRYWLNGDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMND (配列番号 2 9 9) 内のアミノ酸残基と結合し、これは、成熟ヒト T I M 3 細胞外ドメイン (配列番号 2 9 0) のアミノ酸残基 1 ~ 9 9 または配列番号 2 8 6 を有するヒト T I M 3 のアミノ酸 2 2 ~ 1 2 0 に対応する、

【0221】

一実施形態では、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体は、成熟ヒト T I M 3 細胞外ドメイン (配列番号 2 9 0) の以下の領域 : CPVFECG (配列番号 2 9 6) 内のアミノ酸残基と結合し、これは、成熟ヒト T I M 3 細胞外ドメイン (配列番号 2 9 0) のアミノ酸残基 3 7 ~ 4 3 に対応する。

【0222】

一実施形態では、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体は、成熟ヒト T I M 3 細胞外ドメイン (配列番号 2 9 0) の以下の領域 : WTSRYWLNGDFR (配列番号 2 9 7) 内のアミノ酸残基と結合し、これは、成熟ヒト T I M 3 細胞外ドメイン (配列番号 2 9 0) のアミノ酸残基 5 7 ~ 8 3 に対応する。

【0223】

一実施形態では、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体は、成熟ヒト T I M 3 細胞外ドメイン (配列番号 2 9 0) の以下の領域 : RIQIPGIMND (配列番号 2 9 8) 内のアミノ酸残基と結合し、これは、成熟ヒト T I M 3 細胞外ドメイン (配列番号 2 9 0) のアミノ酸残基 9 0 ~ 9 9 に対応する。

【0224】

一実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、抗体 13A 3、3G 4、17C 3、17C 8、9F 6、8B 9、8C 4 および T I M 3.2 ~ T I M 3.18 の 1 以上のものと同一の、野生型および突然変異型ヒト T I M 3 との結合パターンを有する。一実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、成熟ヒト T I M 3 細胞外ドメイン (配列番号 2 9 0) の以下の領域 : CPVFECG (配列番号 2 9 6)、WTSRYWLNGDFRKGDVSLTIENVTLAD (配列番号 2 9 7) および / または RIQIPGIMND (配列番号 2 9 8) 内のアミノ酸残基と結合する。

【0225】

特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、例えば、実施例に記載されるように、H D X -

10

20

30

40

50

M Sによって判定される場合、(1)49VPVCWGKGACPVFE62(配列番号367)および111RIQIPGIMNDEKFNKL127(配列番号368)または(2)40YTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFE62(配列番号369)、66VVLRTDERDVNY77(配列番号370)、78WTSRYWLNGDFRKGDVSL95(配列番号371)、110CRIQIPGIMNDEKFNKL127(配列番号372)および119NDEKFNKL127(配列番号373)と結合する。特定の実施形態では、抗T I M 3抗体は、例えば、実施例に記載されるように、H D X - M Sによって判定される場合、h T I M 3のアミノ酸残基40～62および111～127の領域と相互作用するが、他の領域、例えば、アミノ酸残基Y40に対してN末端側である領域、アミノ酸残基E62とR111との間に位置する領域、およびアミノ酸残基L127に対してC末端側である領域とは有意に相互作用しない。

10

【0226】

特定の実施形態では、抗T I M 3抗体は、例えば、実施例に記載されるように、H D X - M Sによって判定される場合、アミノ酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118およびD120[配列番号286(図20)において番号付けされる]の1以上が、別のアミノ酸と置換されているヒトT I M 3に対して、野生型ヒトT I M 3との結合と比べて、低減された結合を有し、抗体は、(1)49VPVCWGKGACPVFE62(配列番号367)および111RIQIPGIMNDEKFNKL127(配列番号368)または(2)40YTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFE62(配列番号369)、66VVLRTDERDVNY77(配列番号370)、78WTSRYWLNGDFRKGDVSL95(配列番号371)、110CRIQIPGIMNDEKFNKL127(配列番号372)および119NDEKFNKL127(配列番号373)と結合する。

20

【0227】

特定の実施形態では、抗T I M 3抗体は、T I M 3.18.IgG1.3または13A3のものと同様の、野生型および突然変異型ヒトT I M 3との結合パターンを有する、すなわち抗体は、

(i) H D X - M Sによって判定される場合(例えば、実施例に記載されるように)、(1)49VPVCWGKGACPVFE62(配列番号367)、111RIQIPGIMNDEKFNKL127(配列番号368)および119NDEKFNKL127(配列番号373)と結合するが、例えば、(a)アミノ酸残基49のN末端側に位置する配列を有するペプチド、(b)アミノ酸残基62と111との間に位置する配列[例えば、78WTSRYWLNGDFRKGDVSL95(配列番号371)]を有するペプチドおよび(c)アミノ酸残基127のC末端側に位置する配列を有するペプチドとは有意に結合しない、

30

(ii) 例えば、酵母表面提示法によって判定される場合(例えば、実施例に記載されるように)、以下のアミノ酸突然変異:C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120、ならびに適宜D104およびQ113[配列番号286(図20)による番号付け]の1つもしくは複数を有するヒトT I M 3と結合することができないかもしれませんヒトT I M 3との有意に低減された結合を有する、ならびに/または

(iii) X線結晶構造解析によって判定される場合、ヒトT I M 3の以下のアミノ酸:P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120、ならびに適宜T70および/もしくはI112のうちの少なくとも5、10、15、20個もしくは全てと相互作用する、重鎖および/もしくは軽鎖可変領域を有する[例えば、実施例に記載され、配列番号286(図20)に従って番号付けされる]。

40

【0228】

特定の実施形態では、抗T I M 3抗体は、重鎖および軽鎖を含み、ここで、重鎖は、配列番号72～111、305～354、325～326および339～340からなる群から選択され、ならびに/または軽鎖は、配列番号29～33からなる群から選択される。

【0229】

50

本明細書においてさらに考察されるように、本明細書に記載される抗T I M 3抗体の重鎖定常領域は、任意のアイソタイプ、例えば、IgG1、IgG2、IgG3およびIgG4、またはそれらの組合せおよび／もしくはそれらの修飾形のものであり得る。抗T I M 3抗体は、エフェクター機能を有してもよく、または低減されたエフェクター機能を有するかもしくはエフェクター機能を有さなくてもよい。特定の実施形態では、抗T I M 3抗体は、増強された特性を抗体に提供する修飾された重鎖定常領域を含む。

【0230】

特定の実施形態では、抗T I M 3抗体は、重鎖および軽鎖を含み、ここで、重鎖は、配列番号72～111および349～352からなる群から選択され、ならびに／または軽鎖は、配列番号29～33からなる群から選択される。

10

【0231】

I II I. 特定の生殖系列配列を有する抗体

特定の実施形態では、本明細書に記載される抗T I M 3抗体は、特定の生殖系列重鎖免疫グロブリン遺伝子に由来する重鎖可変領域および／または特定の生殖系列軽鎖免疫グロブリン遺伝子に由来する軽鎖可変領域を含む。

【0232】

本明細書に示されるように、ヒト生殖系列VH 4-39遺伝子、VH 4-59遺伝子、VH 1-46遺伝子、VH 3-11遺伝子、VH 4-17遺伝子、VH 3-10遺伝子、VH 6-19遺伝子、VH 6-13遺伝子、VH JH5b遺伝子および／またはVH JH6b遺伝子の産物であるかまたはそれらに由来する重鎖可変領域を含む、T I M 3に特異的なヒト抗体を調製した。したがって、VH 4-39、VH 4-59、VH 1-46、VH 3-11、VH 4-17、VH 3-10、VH 6-19、VH 6-13、VH JH5b、VH JH6b、およびこれらの任意の組合せからなる群から選択されるヒトVH生殖系列遺伝子の産物であるかまたはそれらに由来する重鎖可変領域を含む、単離されたモノクローナル抗体、またはその抗原結合部分が、本明細書において提供される。

20

【0233】

ヒト生殖系列VK A27遺伝子、VK JK5遺伝子、VK JK4遺伝子、VK L18遺伝子、および／またはVK JK1遺伝子の産物であるかまたはそれらに由来する軽鎖可変領域を含む、T I M 3に特異的なヒト抗体を、調製した。したがって、VK A27、VK JK5、VK JK4、VK L18、VK JK1およびこれらの任意の組み合わせからなる群から選択されるヒトVK生殖系列遺伝子の産物であるかまたはそれらに由来する軽鎖可変領域を含む、単離されたモノクローナル抗体またはその抗原結合部分が、本明細書において提供される。

30

【0234】

本明細書に記載される抗T I M 3抗体は、図に示されるように、上記に列挙されたヒト生殖系列VH遺伝子の1つの産物であるかまたはそれに由来する重鎖可変領域を含み、上記に列挙されたヒト生殖系列VK遺伝子の1つの産物であるかまたはそれに由来する軽鎖可変領域も含むものを含む。

40

【0235】

抗体の可変領域が、ヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子を使用する系から得られる場合には、本明細書において、ヒト抗体は、特定の生殖系列配列「の産物」であるまたはそれに「由来する」重鎖および軽鎖可変領域を含む。このような系は、ヒト免疫グロブリン遺伝子を保持するトランスジェニックマウスを、対象の抗原を用いて免疫処置することまたは対象の抗原を用いてファージ上にディスプレイされたヒト免疫グロブリン遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることを含む。ヒト生殖系列免疫グロブリン配列の「産物である」またはそれに「由来する」ヒト抗体は、ヒト抗体のアミノ酸配列をヒト生殖系列免疫グロブリンのアミノ酸配列と比較することおよびヒト抗体の配列に対して配列が最も近い（すなわち、最大同一性パーセント）ヒト生殖系列免疫グロブリン配列を選択することなどによって同定できる。特定のヒト生殖系列免疫グロブリン配列の「産物である」またはそ

50

れに「由来する」ヒト抗体は、生殖系列配列と比較した場合に、例えば、天然に存在する体細胞突然変異または部位特異的突然変異の意図的な誘導によるアミノ酸の相違を含有し得る。しかし、選択されたヒト抗体は、通常、ヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列に対してアミノ酸配列において少なくとも 90 % 同一であり、その他の種の生殖系列免疫グロブリンアミノ酸配列（例えば、マウス生殖系列配列）と比較した場合に、ヒト抗体をヒトであると同定するアミノ酸残基を含有する。特定の場合には、ヒト抗体は、生殖系列免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列に対して、アミノ酸配列において少なくとも 95 %、またはさらに少なくとも 96 %、97 %、98 % または 99 % 同一であり得る。通常、特定のヒト生殖系列配列に由来するヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列から 10 個以下のアミノ酸の相違を示す。特定の場合には、ヒト抗体は、生殖系列免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列から 5 個以下、またはさらに 4、3、2 もしくは 1 個以下のアミノ酸の相違を示し得る。

【 0 2 3 6 】

I V. 相同な抗体

本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体のアミノ酸配列と相同であるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖可変領域を有する抗体が、本明細書において包含され、ここで、この抗体は、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体の所望される機能的特性を保持する。

【 0 2 3 7 】

例えば、単離された抗 T I M 3 抗体またはその抗原結合部分は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み得、ここで、

(a) 重鎖可変領域は、それぞれ配列番号 34 ~ 40、112 ~ 121 および 364 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 % もしくは 99 % 同一であるか、または配列番号 34 ~ 40、112 ~ 121、および 364 からなる群から選択されるアミノ酸配列と比べて 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、1 ~ 2 個、1 ~ 3 個、1 ~ 4 個、1 ~ 5 個、1 ~ 10 個、1 ~ 15 個、1 ~ 20 個、1 ~ 25 個もしくは 1 ~ 50 個のアミノ酸の変更（すなわち、アミノ酸置換、付加もしくは欠失）を含む、アミノ酸配列を含み、ここで、重鎖可変領域は、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体の 1 つの C D R 配列を含んでもよく、

(b) 軽鎖可変領域は、それぞれ配列番号 60 ~ 63 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 % もしくは 99 % 同一であるか、または配列番号 60 ~ 63 からなる群から選択されるアミノ酸配列と比べて、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、1 ~ 2 個、1 ~ 3 個、1 ~ 4 個、1 ~ 5 個、1 ~ 10 個、1 ~ 15 個、1 ~ 20 個、1 ~ 25 個もしくは 1 ~ 50 個のアミノ酸の変更（すなわち、アミノ酸置換、付加もしくは欠失）を含む、アミノ酸配列を含み、ここで、軽鎖可変領域は、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体の 1 つの C D R 配列を含んでもよく、

(c) 抗体は、ヒト T I M 3 と特異的に結合し、

(d) 抗体は、以下の機能的特性：

(1) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、B i a c o r e によって測定される場合、例えば、10 nM 以下（例えば、0.01 nM ~ 10 nM）の K D で、可溶性ヒト T I M 3 と結合すること、

(2) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、B i a c o r e によって測定される場合、例えば、100 nM 以下（例えば、0.01 nM ~ 100 nM）の K D で、可溶性ヒトニクイザル T I M 3 と結合すること、

(3) 例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合（例えば、実施例に記載されるように）、例えば、1 μg / mL 以下（例えば、0.01 μg / mL ~ 1 μg / mL）の E C 50 で、膜結合型ヒト T I M 3 と結合すること、

(4) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1 nM 以下（例えば、0.01 nM ~ 10 nM）の K D で、膜結合型ヒト T I M 3 と結合すること、

10

20

30

40

50

(5) 例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合（例えば、実施例に記載されるように）、例えば、 $20\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下（例えば、 $0.01\text{ }\mu\text{g}/\text{mL} \sim 20\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ ）のEC50で、膜結合型カニクイザルTIM3と結合すること、

(6) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、 1 nM 以下（例えば、 $0.01\text{ nM} \sim 10\text{ nM}$ ）のKDで、膜結合型カニクイザルTIM3と結合すること、

(7) 例えば、実施例に記載されるように、(i) TIM3を発現するT細胞（例えば、Th1細胞もしくはTIL）におけるIFN- γ 産生の増大および／または(ii) TIM3を発現するT細胞（例えば、Th1細胞もしくはTIL）の増殖の増強によって明らかのように、T細胞活性化を誘導または増強すること（例えば、TIM3の阻害性作用を遮断もしくは低減することによって）、

(8) 例えば、実施例に記載されるように、混合リンパ球反応（MLR）アッセイにおいて、T細胞増殖を刺激すること、

(9) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、PS-hTIM3「イン・タンデム」遮断アッセイによって測定される場合、ホスファチジルセリンのTIM3との結合を阻害すること、

(10) 細胞上のTIM3と結合したときに、細胞表面TIM3を内部移行または下方制御しないこと、

(11) 例えば、実施例に記載されるように、ヒトTIM3細胞外ドメイン（配列番号290）の以下の領域：(a) CPVFECG（配列番号296）、(b) RIQIPGIMND（配列番号298）、(c) CPVFECGおよびRIQIPGIMND（それぞれ配列番号296および298）、ならびに(d) WTSRYWLNGDFR（配列番号297）の1つと結合すること、

(12) 例えば、実施例に記載されるように、アミノ酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118およびD120[配列番号286（図20）において番号付けされる]の1以上が、別のアミノ酸と置換されているヒトTIM3に対して、野生型ヒトTIM3との結合と比べて、低減された結合を有すること、

(13) 例えば、実施例に記載されるように、ヒトTIM3との結合について、13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4またはTIM3.7、TIM3.8、TIM3.10、TIM3.11、TIM3.12、TIM3.13、TIM3.14、TIM3.15、TIM3.16、TIM3.17およびTIM3.18のいずれか1つのVHおよびVLドメインを含む抗体と、いずれかの方向または両方の方向で、競合すること、

(14) 例えば、実施例に記載されるように、HDX-MSによって判定される場合、ヒトTIM3領域49VPVCWGKGACPVFE62（配列番号367）および111RIQIPGIMNDEKFNKL127（配列番号368）と結合すること、

(15) X線結晶構造解析によって判定される場合、ヒトTIM3の以下のアミノ酸：P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120、ならびに適宜T70および／もしくはI112のうちの少なくとも5個、10個、15個、20個または全てと相互作用する、重鎖および／または軽鎖可変領域を有すること[例えば、実施例に記載され、配列番号286（図20）に従って番号付けされる]、ならびに／あるいは

(16) 例えば、実施例に記載されるように、(a) アミノ酸C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120、ならびに適宜D104およびQ113[配列番号286（図20）に従って番号付けされる]のうちの1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個もしくは9個が、別のアミノ酸と置換されている、ヒトTIM3に対して、野生型ヒトTIM3との結合と比べて、低減された結合を有し、(b) 実施例に記載されるように、HDX-MSによって判定される場合、49VPVCWGKGACPVFE62（配列番号367）、111RIQIPGIMNDEKFNKL127（配列番号368）および119NDEKFNKL

10

20

30

40

50

127(配列番号373)と結合し、ならびに／または(c)例えば、実施例に記載されるように、13A3もしくはT1M3.18.IgG1.3のヒトT1M3との結合と競合するかもしくはそれを交差遮断すること、

の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15または全てを示す。

【0238】

種々の実施形態では、抗体は、上記の(1)から(16)として列挙された機能的特性の1以上、2以上、3以上、4以上、5以上、6以上、7以上、8以上、9以上または全てを示し得る。抗体は、例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体であり得る。

【0239】

単離された抗T1M3抗体またはその抗原結合部分は、重鎖および軽鎖を含み得、ここで、(a)重鎖は、配列番号1～28、72～111および349～352からなる群から選択されるアミノ酸配列に対して、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%もしくは99%同一であるか、または配列番号1～28、72～111および349～352からなる群から選択されるアミノ酸配列と比べて1個、2個、3個、4個、5個、1～2個、1～3個、1～4個、1～5個、1～10個、1～15個、1～20個、1～25個もしくは1～50個のアミノ酸の変更(すなわち、アミノ酸置換、付加もしくは欠失)を含む、アミノ酸配列を含むが、ただし、特定の実施形態では、配列が、エフェクターレス重鎖のものである場合、重鎖をエフェクターレスにしている突然変異は、IgG1.1定常領域については修飾されず(例えば、R214、A234、E235、A237、S330およびS331に対して修飾は行われない)、IgG1.3定常領域についてはR214、A234およびE235に対して修飾は行われないことを条件とし、ここで、重鎖可変領域は、本明細書に記載される抗T1M3抗体の1つのCDR配列を含んでもよく、

(b)軽鎖は、配列番号29～31からなる群から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%もしくは99%同一であるか、または配列番号29～31からなる群から選択されるアミノ酸配列と比べて、1個、2個、3個、4個、5個、1～2個、1～3個、1～4個、1～5個、1～10個、1～15個、1～20個、1～25個もしくは1～50個のアミノ酸の変更(すなわち、アミノ酸置換、付加もしくは欠失)を含む、アミノ酸配列を含み、ここで、軽鎖可変領域は、本明細書に記載される抗T1M3抗体の1つのCDR配列を含んでもよく、

(c)抗体は、ヒトT1M3と特異的に結合し、

(d)抗体は、以下の機能的特性：

(1)例えば、実施例に記載されるように、例えば、Biacoreによって測定される場合、例えば、10nM以下(例えば、0.01nM～10nM)のKDで、可溶性ヒトT1M3と結合すること、

(2)例えば、実施例に記載されるように、例えば、Biacoreによって測定される場合、例えば、100nM以下(例えば、0.01nM～100nM)のKDで、可溶性カニクイザルT1M3と結合すること、

(3)例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合(例えば、実施例に記載されるように)、例えば、1μg/mL以下(例えば、0.01μg/mL～1μg/mL)のEC50で、膜結合型ヒトT1M3と結合すること、

(4)例えば、実施例に記載されるように、例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1nM以下(例えば、0.01nM～10nM)のKDで、膜結合型ヒトT1M3と結合すること、

(5)例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合(例えば、実施例に記載されるように)、例えば、20μg/mL以下(例えば、0.01μg/mL～20μg/mL)のEC50で、膜結合型カニクイザルT1M3と結合すること、

(6)例えば、実施例に記載されるように、例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1nM以下(例えば、0.01nM～10nM)のKDで、膜結合型

10

20

30

40

50

カニクイザルT I M 3と結合すること、

(7) 例えば、実施例に記載されるように、(i) T I M 3を発現するT細胞(例えば、T h 1細胞もしくはT I L)におけるI F N - 産生の増大および/または(ii) T I M 3を発現するT細胞(例えば、T h 1細胞もしくはT I L)の増殖の増強によって明らかのように、T細胞活性化を誘導または増強すること(例えば、T I M 3の阻害性作用を遮断もしくは低減することによって)、

(8) 例えば、実施例に記載されるように、混合リンパ球反応(M L R)アッセイにおいて、T細胞増殖を刺激すること、

(9) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、P S - h T I M 3「イン・タンデム」遮断アッセイによって測定される場合、ホスファチジルセリンのT I M 3との結合を阻害すること、

(10) 細胞上のT I M 3と結合したときに、細胞表面T I M 3を内部移行または下方制御しないこと、

(11) 例えば、実施例に記載されるように、ヒトT I M 3細胞外ドメイン(配列番号290)の以下の領域:(a)CPVFECG(配列番号296)、(b)RIQIPGIMND(配列番号298)、(c)CPVFECGおよびRIQIPGIMND(それぞれ配列番号296および298)、ならびに(d)WTSRYWLNGDFR(配列番号297)の1つと結合すること、

(12) 例えば、実施例に記載されるように、アミノ酸L 48、C 58、P 59、V 60、F 61、E 62、C 63、G 64、W 78、S 80、R 81、W 83、L 84、G 86、D 87、R 89、D 104、R 111、Q 113、G 116、M 118およびD 120[配列番号286(図20)において番号付けされる]の1以上が、別のアミノ酸と置換されているヒトT I M 3に対して、野生型ヒトT I M 3との結合と比べて、低減された結合を有すること、

(13) 例えば、実施例に記載されるように、ヒトT I M 3との結合について、13A 3、3G 4、17C 3、17C 8、9F 6、8B 9、8C 4またはT I M 3.7、T I M 3.8、T I M 3.10、T I M 3.11、T I M 3.12、T I M 3.13、T I M 3.14、T I M 3.15、T I M 3.16、T I M 3.17およびT I M 3.18のいずれか1つのV HおよびV Lドメインを含む抗体と、いずれかの方向または両方の方向で、競合すること、

(14) 例えば、実施例に記載されるように、H D X - M Sによって判定される場合、ヒトT I M 3領域49VPVCWGKGACPVFE62(配列番号367)および111RIQIPGIMNDE KFNLKL127(配列番号368)と結合すること、

(15) X線結晶構造解析によって判定される場合、ヒトT I M 3の以下のアミノ酸:P 50、V 51、C 52、P 59、V 60、F 61、E 62、C 63、G 64、N 65、V 66、V 67、L 68、R 69、D 71、E 72、D 74、R 111、Q 113、G 116、I 117、M 118、D 120、ならびに適宜T 70および/もしくはI 112のうちの少なくとも5個、10個、15個、20個または全てと相互作用する、重鎖および/または軽鎖可変領域を有すること[例えば、実施例に記載され、配列番号286(図20)に従って番号付けされる]、ならびに/あるいは

(16) 例えば、実施例に記載されるように、(a)アミノ酸C 58、P 59、F 61、E 62、C 63、R 111、D 120、ならびに適宜D 104およびQ 113(配列番号286(図20)に従って番号付けされる)のうちの1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個もしくは9個が、別のアミノ酸と置換されている、ヒトT I M 3に対して、野生型ヒトT I M 3との結合と比べて、低減された結合を有し、(b)実施例に記載されるように、H D X - M Sによって判定される場合、49VPVCWGKGACPVFE62(配列番号367)、111RIQIPGIMNDEKFNLKL127(配列番号368)および119NDEKFNLK L127(配列番号373)と結合し、ならびに/または(c)例えば、実施例に記載されるように、13A 3もしくはT I M 3.18.I g G 1.3のヒトT I M 3との結合と競合するかもしくはそれを交差遮断すること、

の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15または全てを示す。

10

20

30

40

50

【0240】

13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4、またはTIM3.2～TIM3.18のいずれかの対応するCDRとは、1個、2個、3個、4個、5個、1～2個、1～3個、1～4個または1～5個のアミノ酸の変更（すなわち、アミノ酸置換、付加もしくは欠失）が異なるVHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2および/またはVLCDR3を含む抗TIM3抗体もまた、提供される。特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4、またはTIM3.2～TIM3.18のいずれかにおける対応する配列と比べて、CDRの1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたは6つのそれぞれに、1～5個のアミノ酸の変更を含む。特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4またはTIM3.2～TIM3.18におけるCDRと比べて、全てのCDRにわたり、合計で1～5個のアミノ酸の変更を含む。10

【0241】

特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、13A3のものからなるVHおよびVL CDRを含み、ここで、1以上のCDRにおけるアミノ酸の1以上は、本明細書に開示される他の抗TIM3抗体の1つのものである。

【0242】

例えば、特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、SRSYYWG（配列番号41）と比べて1以上のアミノ酸修飾を含むVH CDR1を含み、例えば、以下の縮重配列（degenerate sequence）：X₁X₂X₃X₄YX₅X₆（配列番号282）を含み得、ここで、X₁は、任意のアミノ酸、例えば、Sまたは不在であり、X₂は、任意のアミノ酸、例えば、Rまたは不在であり、X₃は、任意のアミノ酸、例えば、S、RまたはDであり、X₄は、任意のアミノ酸、例えば、YまたはHであり、X₅は、任意のアミノ酸、例えば、WまたはMであり、X₆は、任意のアミノ酸、例えば、G、N、SまたはHである。20

【0243】

特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、SIYYSGFTYYNPSLKS（配列番号46）と比べて1以上のアミノ酸修飾を含むVH CDR2を含み、例えば、以下の縮重配列：X₁I₂X₃X₄G₅X₆X₇X₈Y₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄（配列番号283）を含み得、ここで、X₁は、任意のアミノ酸、例えば、S、Y、IまたはFであり、X₂は、任意のアミノ酸、例えば、Y、H、NまたはSであり、X₃は、任意のアミノ酸、例えば、Y、P、G、TまたはSであり、X₄は、任意のアミノ酸、例えば、S、T、RまたはGであり、X₅は、任意のアミノ酸、例えば、F、SまたはDであり、X₆は、任意のアミノ酸、例えば、S、TまたはIであり、X₇は、任意のアミノ酸、例えば、Iまたは不在であり、X₈は、任意のアミノ酸、例えば、Y、NまたはIであり、X₉は、任意のアミノ酸、例えば、N、Q、SまたはAであり、X₁₀は、任意のアミノ酸、例えば、P、S、QまたはDであり、X₁₁は、任意のアミノ酸、例えば、SまたはKであり、X₁₂は、任意のアミノ酸、例えば、L、FまたはVであり、X₁₃は、任意のアミノ酸、例えば、KまたはQであり、X₁₄は、任意のアミノ酸、例えば、SまたはGである。30

【0244】

特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、GGPYGDYAHWFDP（配列番号53）と比べて1以上のアミノ酸修飾を含むVH CDR3を含み、例えば、以下の縮重配列：X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀YG₁₁X₁₂X₁₃X₁₄X₁₅X₁₆X₁₇X₁₈（配列番号284）を含み得、ここで、X₁は、任意のアミノ酸、例えば、D、Eまたは不在であり、X₂は、任意のアミノ酸、例えば、F、Gまたは不在であり、X₃は、任意のアミノ酸、例えば、Yまたは不在であり、X₄は、任意のアミノ酸、例えば、G、Sまたは不在であり、X₅は、任意のアミノ酸、例えば、G、TまたはSであり、X₆は、任意のアミノ酸、例えば、GまたはSであり、X₇は、任意のアミノ酸、例えば、N、Wまたは不在であり、X₈は、任意のアミノ酸、例えば、Y、S、Eまたは不在であり、X₉は、任意のアミノ酸、例えば、Yまたは不在であり、X₁₀は、任意のアミノ酸、例えば、PまたはYであり、X₁₁は、任意のアミノ酸、例えば、Dまたは不在であり、X40

10

20

30

40

50

12は、任意のアミノ酸、例えば、Yまたは不在であり、X13は、任意のアミノ酸、例えば、Aまたは不在であり、X14は、任意のアミノ酸、例えば、Hまたは不在であり、X15は、任意のアミノ酸、例えば、Wまたは不在であり、X16は、任意のアミノ酸、例えば、FまたはMであり、X17は、任意のアミノ酸、例えば、DまたはEであり、X18は、任意のアミノ酸、例えば、P、I、V、YまたはLである。

【0245】

特定の実施形態では、抗T₁M₃抗体は、配列番号53～59および126～129からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むVH CDR3を含む。

【0246】

特定の実施形態では、抗T₁M₃抗体は、配列番号64または配列番号65に記載されるアミノ酸配列を含むVL CDR1を含む。 10

【0247】

特定の実施形態では、抗T₁M₃抗体は、配列番号66または配列番号67に記載されるアミノ酸配列を含むVL CDR2を含む。

【0248】

特定の実施形態では、抗T₁M₃抗体は、QQYGSSPIT(配列番号68)と比べて1以上のアミノ酸修飾を含むVL CDR3を含み、例えば、以下の縮重配列：Q Q X₁ X₂ S X₃ X₄ X₅ T(配列番号285)を含み得、ここで、X₁は、任意のアミノ酸、例えば、FまたはYであり、X₂は、任意のアミノ酸、例えば、NまたはGであり、X₃は、任意のアミノ酸、例えば、YまたはSであり、X₄は、任意のアミノ酸、例えば、Pまたは不在であり、X₅は、任意のアミノ酸、例えば、I、RまたはLである。 20

【0249】

13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4、8C4、またはT₁M_{3.2}～T₁M_{3.18}のいずれかのもの、例えば、それぞれ配列番号34～40、112～121もしくは364、および配列番号60～63のVHおよびVL領域、またはそれぞれ配列番号1～28、72～111、もしくは349～352、および配列番号29～33の重鎖および軽鎖、またはCDRと相同性を有する配列を有する抗体は、配列番号167～173および/もしくは配列番号193～196または配列番号134～161および/もしくは配列番号162～166をコードする核酸分子の突然変異誘発(例えば、部位特異的突然変異誘発またはPCR媒介突然変異誘発)、続いて、本明細書に記載される機能性アッセイを使用して、コードされた変更された抗体を保持機能(すなわち、上述の(1)から(16)に記載される機能)に関して試験することによって、得ることができる。 30

【0250】

V. 保存的修飾を有する抗体

抗T₁M₃抗体は、CDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域ならびにCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域を含み得、ここで、これらのCDR配列の1以上は、本明細書に記載される抗T₁M₃抗体(例えば、13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4またはT₁M_{3.2}～T₁M_{3.18}のいずれか)に基づく指定のアミノ酸配列またはそれらの保存的修飾形態を含み、抗体は、本明細書に記載される抗T₁M₃抗体の所望される機能的特性を保持する。したがって、単離された抗T₁M₃抗体またはその抗原結合部分は、CDR1、CDR2およびCDR3配列を含む重鎖可変領域ならびにCDR1、CDR2およびCDR3配列を含む軽鎖可変領域を含み得、ここで、

(a)重鎖可変領域CDR3配列は、配列番号53～59および126～129のアミノ酸配列ならびにそれらの保存的修飾、例えば、1個、2個、3個、4個、5個、1～2個、1～3個、1～4個もしくは1～5個の保存的アミノ酸置換からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、ここで、重鎖可変領域は、本明細書に記載される抗T₁M₃抗体の1つのCDR配列を含んでもよく、

(b)軽鎖可変領域CDR3配列は、配列番号68～71のアミノ酸配列ならびにそれらの保存的修飾、例えば、1個、2個、3個、4個、5個、1～2個、1～3個、1～4個

10

20

30

40

50

もしくは1～5個の保存的アミノ酸置換からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、ここで、軽鎖可変領域は、本明細書に記載される抗T₁M₃抗体の1つのCDR配列を含んでもよく、

(c) 抗体は、ヒトT₁M₃と特異的に結合する、ならびに

(d) 抗体は、以下の特徴：

(1) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、Biacoreによって測定される場合、例えば、10nM以下(例えば、0.01nM～10nM)のK_Dで、可溶性ヒトT₁M₃と結合すること、

(2) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、Biacoreによって測定される場合、例えば、100nM以下(例えば、0.01nM～100nM)のK_Dで、可溶性ヒトT₁M₃と結合すること、

(3) 例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合(例えば、実施例に記載されるように)、例えば、1μg/mL以下(例えば、0.01μg/mL～1μg/mL)のEC₅₀で、膜結合型ヒトT₁M₃と結合すること、

(4) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1nM以下(例えば、0.01nM～10nM)のK_Dで、膜結合型ヒトT₁M₃と結合すること、

(5) 例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合(例えば、実施例に記載されるように)、例えば、20μg/mL以下(例えば、0.01μg/mL～20μg/mL)のEC₅₀で、膜結合型ヒトT₁M₃と結合すること、

(6) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1nM以下(例えば、0.01nM～10nM)のK_Dで、膜結合型ヒトT₁M₃と結合すること、

(7) 例えば、実施例に記載されるように、(i) T₁M₃を発現するT細胞(例えば、T_h1細胞もしくはT₁L)におけるIFN- γ 産生の増大および/または(ii) T₁M₃を発現するT細胞(例えば、T_h1細胞もしくはT₁L)の増殖の増強によって明らかのように、T細胞活性化を誘導または増強すること(例えば、T₁M₃の阻害性作用を遮断もしくは低減することによって)、

(8) 例えば、実施例に記載されるように、混合リンパ球反応(MLR)アッセイにおいて、T細胞増殖を刺激すること、

(9) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、PS-hT₁M₃「イン・タンデム」遮断アッセイによって測定される場合、ホスファチジルセリンのT₁M₃との結合を阻害すること、

(10) 細胞上のT₁M₃と結合したときに、細胞表面T₁M₃を内部移行または下方制御しないこと、

(11) 例えば、実施例に記載されるように、ヒトT₁M₃細胞外ドメイン(配列番号290)以下の領域：(a) CPVFECG(配列番号296)、(b) RIQIPGIMND(配列番号298)、(c) CPVFECGおよびRIQIPGIMND(それぞれ配列番号296および298)、ならびに(d) WTSRYWLNGDFR(配列番号297)の1つと結合すること、

(12) 例えば、実施例に記載されるように、アミノ酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118およびD120[配列番号286(図20)において番号付けされる]の1以上が、別のアミノ酸と置換されているヒトT₁M₃に対して、野生型ヒトT₁M₃との結合と比べて、低減された結合を有すること、

(13) 例えば、実施例に記載されるように、ヒトT₁M₃との結合について、13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4またはT₁M3.7、T₁M3.8、T₁M3.10、T₁M3.11、T₁M3.12、T₁M3.13、T₁M3.14、T₁M3.15、T₁M3.16、T₁M3.17およびT₁M3.18のいずれか1つのVHおよびVLドメインを含む抗体と、いずれかの方向または両方の方向で、競合すること、

10

20

30

40

50

(14) 例えば、実施例に記載されるように、HDX-MSによって判定される場合、ヒトTIM3領域49VPVCWGKGACPVFE62(配列番号367)および111RIQIPGIMNDEKFNKL127(配列番号368)と結合すること、

(15) X線結晶構造解析によって判定される場合、ヒトTIM3の以下のアミノ酸：P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120、ならびに適宜T70および／もしくはI112のうちの少なくとも5個、10個、15個、20個または全てと相互作用する、重鎖および／または軽鎖可変領域を有すること[例えば、実施例に記載され、配列番号286(図20)に従って番号付けされる]、ならびに／あるいは

10

(16) 例えば、実施例に記載されるように、(a)アミノ酸C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120、ならびに適宜D104およびQ113[配列番号286(図20)に従って番号付けされる]のうちの1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個もしくは9個が、別のアミノ酸と置換されている、ヒトTIM3に対して、野生型ヒトTIM3との結合と比べて、低減された結合を有し、(b)実施例に記載されるように、HDX-MSによって判定される場合、49VPVCWGKGACPVFE62(配列番号367)、111RIQIPGIMNDEKFNKL127(配列番号368)および119NDEKFNKL127(配列番号373)と結合し、ならびに／または(c)例えば、実施例に記載されるように、13A3もしくはTIM3.18.IgG1.3のヒトTIM3との結合と競合するかもしくはそれを交差遮断すること、

20

の1、2、3、4、5、6、7、8、9または全てを示す。

【0251】

一実施形態では、重鎖可変領域CDR2配列は、配列番号46～52および122～125のアミノ酸配列ならびにそれらの保存的修飾、例えば、1個、2個、3個、4個、5個、1～2個、1～3個、1～4個もしくは1～5個の保存的アミノ酸置換からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域CDR2配列は、配列番号66～67のアミノ酸配列ならびにそれらの保存的修飾、例えば、1個、2個、3個、4個、5個、1～2個、1～3個、1～4個もしくは1～5個の保存的アミノ酸置換からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

30

【0252】

別の実施形態では、重鎖可変領域CDR1配列は、配列番号41～45のアミノ酸配列ならびにそれらの保存的修飾、例えば、1個、2個、3個、4個、5個、1～2個、1～3個、1～4個または1～5個の保存的アミノ酸置換からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域CDR1配列は、配列番号64～65のアミノ酸配列ならびにそれらの保存的置換、例えば、1個、2個、3個、4個、5個、1～2個、1～3個、1～4個または1～5個の保存的アミノ酸置換からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【0253】

種々の実施形態では、抗体は、上記の(1)から(16)として列挙された機能的特性の1以上、2以上、3以上、4以上、5以上、6以上、7以上、8以上、9以上または全てを示し得る。このような抗体は、例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体であり得る。

40

【0254】

保存的アミノ酸置換は、CDR以外の抗体の部分に行われてもよく、またはCDRに加えて行われてもよい。例えば、保存的アミノ酸修飾は、フレームワーク領域またはFc領域に行われてもよい。可変領域または重鎖もしくは軽鎖は、本明細書に提供される抗TIM3抗体配列と比べて、1個、2個、3個、4個、5個、1～2個、1～3個、1～4個、1～5個、1～10個、1～15個、1～20個、1～25個または1～50個の保存的アミノ酸置換を含み得る。特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、保存的アミノ酸修飾および非保存的アミノ修飾の組合せを含む。

【0255】

50

V I . 同一のエピトープと結合するかまたは結合に関して競合する抗体

ヒトT I M 3との結合について、本明細書に記載される特定の抗T I M 3抗体の1種または複数（例えば、抗体1 3 A 3、3 G 4、1 7 C 3、1 7 C 8、9 F 6、8 B 9、8 C 4および／またはT I M 3.2～T I M 3.18）と競合する抗体もまた、本明細書において提供される。このような競合抗体は、標準T I M 3結合アッセイにおいて、モノクローナル抗体1 3 A 3、3 G 4、1 7 C 3、1 7 C 8、9 F 6、8 B 9、8 C 4および／またはT I M 3.2～T I M 3.18の1つ以上のヒトT I M 3との結合を競合的に阻害するそれらの能力に基づいて、同定することができる。例えば、標準E L I S Aアッセイまたは競合的E L I S Aアッセイを使用でき、これでは、組換えヒトT I M 3タンパク質を、プレート上に固定化し、種々の濃度の非標識試験抗体を添加し、プレートを洗浄し、標識された参照抗体を添加し、標識の量を測定する。増大する濃度の非標識（第1の）抗体（「遮断抗体」とも呼ばれる）が、標識された（第2の）抗体の結合を阻害する場合には、第1の抗体は、第2の抗体のプレート上の標的との結合を阻害するといわれるか、または第2の抗体の結合と競合するといわれる。さらに、またはあるいは、B i a c o r e分析を実施して、抗体の競合する能力を評価してもよい。試験抗体の、本明細書に記載される抗T I M 3抗体のT I M 3との結合を阻害する能力は、試験抗体がヒトT I M 3との結合について抗体と競合し得ることを実証する。

【0 2 5 6】

したがって、例えば、E L I S AまたはF A C Sによって、例えば、以下の段落に記載されるアッセイを使用して、測定される場合、本明細書に記載される抗T I M 3抗体の、細胞、例えば、活性化T細胞上のヒトT I M 3との結合を、少なくとも5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %もしくは1 0 0 %阻害する、および／または細胞、例えば、活性化T細胞上のヒトT I M 3とのその結合が、少なくとも5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %もしくは1 0 0 %阻害される、抗T I M 3抗体もまた、本明細書において提供される。

【0 2 5 7】

例えば、第1の抗体が、第2の抗体の結合を遮断する（すなわち、「それと競合する」）かどうかを判定するための例示的な競合実験は、実施例に記載されるように、または以下のように、行うことができる：活性化ヒトT細胞を、次のように調製する：末梢血単核細胞（P B M C）を、F i c o l l勾配を使用してヒト全血から単離し、1 0 μ g / m Lのフィトヘマグルチニン（P H A - L）（U S B i o l 番号P 3 3 7 0 - 3 0）および2 0 0 I U / m Lの組換えI L - 2（Peprotech番号2 0 0 - 0 2）で、3日間活性化させる。活性化T細胞を、F A C S緩衝液（5 %ウシ胎児血清を含むP B S）中に再懸濁し、サンプルウェル1つにつき1 0 5 個の細胞で、9 6 ウェルプレートに播種する。プレートを、氷上に設置した後、コンジュゲートしていない第1の抗体を、0～5 0 μ g / m lの範囲の濃度（3倍滴定を最も高い濃度5 0 μ g / m lから開始）で、添加する。無関係のI g Gを、第1の抗体のアイソタイプ対照として使用し、同じ濃度（3倍滴定を最も高い濃度5 0 μ g / m Lから開始）で添加してもよい。5 0 μ g / m Lの未標識の第2の抗体とともに予備インキュベートしたサンプルを、競合遮断（1 0 0 %阻害）の陽性対照として含めてよく、一次インキュベート時に抗体を含まないサンプルを、陰性対照（競合なし、0 %阻害）として使用してもよい。3 0 分間のインキュベーションの後に、標識した、例えば、ビオチン標識した第2の抗体を、1 ウェル当たり2 μ g / m Lの濃度で、洗浄なしで添加する。サンプルを、氷上で、さらに3 0 分間インキュベートする。未結合の抗体を、細胞をF A C S緩衝液で洗浄することによって、除去する。細胞に結合した標識された第2の抗体を、標識を検出する薬剤、例えば、ビオチンを検出するためのP Eコンジュゲート型ストレプトアビシン（Invitrogen、カタログ番号S 2 1 3 8 8）を用いて検出す。サンプルを、F A C S Calibur Flow Cytometer（B D、S a n Jose）で取得し、F L O W J O（登録商標）ソフトウェア（T r e e S t a r，

I n c 、 A s h l a n d 、 O R) で分析する。結果は、阻害%として表すことができる(すなわち、それぞれの濃度における標識の量をブロッキング抗体なしで得られた標識の量で除し、100%から差し引く)。典型的には、次いで、同じ実験を、逆で行う、すなわち、第1の抗体を第2の抗体にし、第2の抗体を第1の抗体にする。

【0258】

特定の実施形態では、抗体は、他の抗体の、標的、例えば、ヒトT I M 3またはその部分との結合を、少なくとも部分的に(例えば、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%もしくは90%)または完全に(100%)遮断し、これは、阻害が、一方の抗体が第1の抗体である場合に生じるかまたは他方の抗体が第1の抗体である場合に生じるかは関係ない。第1の抗体および第2の抗体は、両方の方向で、すなわち、第1の抗体が最初に添加される競合実験および第2の抗体が最初に添加される競合実験において、互いに競合する場合に、互いの、標的との結合を「交差遮断する」。

10

【0259】

特定の実施形態では、抗T I M 3抗体は、例えば、所与のエピトープマッピング技法によって判定される場合、本明細書に記載される抗T I M 3抗体(例えば、13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4および/またはT I M 3.2 ~ T I M 3.18)のものと同じエピトープと結合する。本明細書に記載される抗T I M 3抗体を用いて「T I M 3上の同一エピトープ」と結合する抗体を調べる技術として、例えば、エピトープマッピング方法、例えば、抗原：抗体複合体の結晶のX線解析が挙げられ、これは、エピトープの原子分解を提供する。その他の方は、抗体の抗原断片または抗原の突然変異された変動との結合をモニタリングし、この場合、抗原配列内のアミノ酸残基の修飾による結合の喪失は、エピトープ成分を示すと考えられることが多い(図20を参照のこと)。さらに、エピトープマッピングのための計算コンビナトリアル法を使用してもよい。方法はまた、対象の抗体の、コンビナトリアルファージディスプレイペプチドライブラーから、特異的な短いペプチド(天然の三次元形態または変性された形態のいずれか)を親和性単離する能力に頼る可能性がある。そこで、ペプチドは、ペプチドライブラーをスクリーニングするために使用される抗体に対応するエピトープの定義のためのリードと見なされる。エピトープマッピングのために、コンホメーション的に不連続なエピトープをマッピングするために示してきた計算アルゴリズムも開発された。

20

【0260】

本明細書に記載される抗T I M 3抗体との結合について競合するか、またはそれと同じエピトープと結合する抗体は、当技術分野で公知の方法を使用して同定され得る。例えば、本明細書に記載されるヒトT I M 3を用いてマウスを免疫処置し、ハイブリドーマを產生し、得られたモノクローナル抗体を、ヒトT I M 3との結合について本明細書に記載される抗体と競合する能力についてスクリーニングしてもよい。マウスは、抗体が結合するエピトープを含有するT I M 3の小断片を用いることによっても免疫処置され得る。エピトープまたはエピトープを含む領域は、例えば、T I M 3に広がる一連の重複するペプチドとの結合についてスクリーニングすることによって位置特定され得る。あるいは、Jespers et al., Biotechnology 12:899, 1994の方法を使用して、同一エピトープを有する、したがって、本明細書に記載される抗T I M 3抗体に対して同様の特性を有する抗体の選択を導いてもよい。ファージディスプレイを使用して、まず、抗T I M 3抗体の重鎖を、(ヒト)軽鎖のレパートリーと対形成して、T I M 3結合性抗体を選択し、次いで、新規軽鎖を(ヒト)重鎖のレパートリーと対形成して、本明細書に記載される抗T I M 3抗体と同一エピトープまたはエピトープ領域を有する(ヒト)T I M 3結合性抗体を選択する。あるいは、抗体の重鎖および軽鎖をコードするc D N Aの突然変異誘発によって、本明細書に記載される抗体の変異体を得ることができる。

30

【0261】

Cunningham and Wells (1989) Science 244: 1081-1085によって記載されるようなアラニンスキャニング突然変異誘発またはT I M 3中のアミノ酸残基の点突然変異誘発のいくつかのその他の形態を使用して、T I M 3抗体の結合特徴を得ることもできる。

40

50

【0262】

特定の抗体の結合特徴はまた、抗体の、T I M 3 の断片、例えば、非変性断片または変性断片を含むペプチドとの結合を評価することによって、決定することもできる。T I M 3 (例えば、ヒト T I M 3) の配列を包含する一連の重複するペプチドは、合成し、例えば、直接 E L I S A 、競合的 E L I S A 法 (ペプチドが、抗体の、マイクロタイタープレートのウェルと結合している T I M 3 との結合を防ぐその能力について評価される) においてまたはチップ上で結合についてスクリーニングしてもよい。

【0263】

抗 T I M 3 抗体の結合特徴はまた、水素 / 重水素交換質量分析 (H D X - M S) およびタンパク質の迅速光化学酸化 (Fast Photochemical Oxidation of Proteins) (F P O P) などの M S ベースのタンパク質フットプリント法によって得ることもできる。H D X - M S は、例えば、W O 2 0 1 5 / 1 8 7 3 5 および Wei et al. (2014) Drug Discovery Today 19:95 で記載されるように実施でき、その方法は、参照によって本明細書に具体的に組み込まれる。F P O P は、例えば、Hambley and Gross (2005) J. American Soc. Mass Spectrometry 16:2057 に記載されるように実施でき、その方法は、参照により本明細書に具体的に組み込まれる。

10

【0264】

抗 T I M 3 抗体の結合特徴はまた、X 線結晶構造決定 (例えば、W O 2 0 0 5 / 0 4 4 8 5 3) 、分子モデリングおよび遊離している場合および対象の抗体との複合体中に結合されている場合には、T I M 3 中の不安定なアミド水素の H - D 交換速度の N M R 決定を含めた核磁気共鳴 (N M R) 分光法などの構造的方法によって得ることもできる (Zinn-Justin et al. (1992) Biochemistry 31:11335-11347 、 Zinn-Justin et al. (1993) Bioc hemistry 32:6884-6891) 。

20

【0265】

X 線結晶学に関して、結晶化は、マイクロバッヂ (例えば、Chayen (1997) Structure 5:1269-1274) 、懸滴蒸気拡散 (例えば、McPherson (1976) J. Biol. Chem. 251:630 0-6303) 、シーディングおよび透析を含めた当技術分野で公知の方法のいずれかを使用して達成され得る (例えば、Giege et al. (1994) Acta Crystallogr. D50:339-350; Mc Pherson (1990) Eur. J. Biochem. 189:1-23) 。少なくとも約 1 m g / m L 、または約 1 0 m g / m L ~ 約 2 0 m g / m L の濃度を有するタンパク質調製物を使用することが望ましい。結晶化は、約 1 0 % ~ 約 3 0 % (w / v) の範囲の濃度を有する、ポリエチレンゲリコール 1 0 0 0 ~ 2 0 , 0 0 0 (P E G ; 約 1 0 0 0 ~ 約 2 0 , 0 0 0 D a の範囲の平均分子量) 、約 5 0 0 0 ~ 約 7 0 0 0 D a 、または約 6 0 0 0 D a を含有する沈殿剤溶液中で最良に達成され得る。タンパク質分解防止剤、例えば、グリセロールを約 0 . 5 % ~ 約 2 0 % の範囲の濃度で含むことが望ましいものであり得る。塩化ナトリウム、塩化リチウムまたはクエン酸ナトリウムなどの適した塩はまた、約 1 m M ~ 約 1 0 0 0 m M の範囲の濃度の沈殿剤溶液中にあることが望ましいものであり得る。沈殿剤は、約 3 . 0 ~ 約 5 . 0 の p H に緩衝される。沈殿剤溶液において有用な特定のバッファーは、変わり得、当技術分野で周知である (Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, Third ed., (1994) Springer-Verlag, New York) 。有用なバッファーの例として、それだけには限らないが、H E P E S 、 T r i s 、 M E S および酢酸が挙げられる。結晶は 2 、 4 、 8 および 2 6 を含めた様々な温度で成長させてもよい。

30

【0266】

抗体 : 抗原結晶は、周知の X 線回折技術を使用して研究され得、X - P L O R (Yale University, 1992, Molecular Simulations, Inc. によって配布された; 例えば、Blundell & Johnson (1985) Meth. Enzymol. 114 & 115, H. W. Wyckoff et al., eds., Academic Press ; 米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 0 1 4 1 9 4 号を参照のこと) および B U S T E R (Bricogne (1993) Acta Cryst. D49:37-60; Bricogne (1997) Meth Enzy mol. 276A:361-423; Carter & Sweet, eds.; Roversi et al. (2000) Acta Cryst. D5 6:1313-1323) 、これらの開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

40

50

【0267】

抗T_{IM3}抗体は、エピトープマッピング技法、例えば、本明細書に記載される技法によって判定される場合、本明細書に記載されるアミノ酸配列を有する抗T_{IM3}抗体のいずれかと同一のエピトープと結合し得る。

【0268】

本明細書において記載され、実施例において使用される方法の1つによって判定される、抗T_{IM3}抗体と同様の結合特徴を有する、ヒトT_{IM3}および適宜カニクイザルT_{IM3}と結合する抗体は、本明細書に包含される。

【0269】

特定の実施形態では、本明細書に記載される抗T_{IM3}抗体は、ヒトT_{IM3}の細胞外部分、例えば、細胞外領域のIg様ドメインまたはIgVドメイン、すなわち、配列番号286(図20)のアミノ酸22~130内のエピトープ、例えば、コンホメーションエピトープと結合する。特定の実施形態では、抗T_{IM3}抗体は、ヒトT_{IM3}細胞外ドメイン(配列番号286)のアミノ酸22~120または成熟ヒトT_{IM3}(配列番号290)の1~99内に位置するエピトープと結合する(実施例を参照のこと)。特定の実施形態では、抗T_{IM3}抗体は、成熟ヒトT_{IM3}のアミノ酸残基37~43(CPVFECG、配列番号296;図20を参照のこと)に対応する、配列番号286を有するヒトT_{IM3}のアミノ酸58~64からなる領域と結合するか、またはその中のエピトープと結合する。特定の実施形態では、抗T_{IM3}抗体は、配列番号286を有するヒトT_{IM3}のアミノ酸58~64(CPVFECG、配列番号296)からなる領域および配列番号286を有するヒトT_{IM3}のアミノ酸111~120(RIQIPGIMND、配列番号298;図20を参照のこと)からなる領域と結合するか、またはその中のエピトープと結合する。特定の実施形態では、抗T_{IM3}抗体は、成熟ヒトT_{IM3}のアミノ酸残基57~83(WTSRYWLNGDFR、配列番号297;図20を参照のこと)に対応する、配列番号286を有するヒトT_{IM3}のアミノ酸78~89からなる領域と結合するか、またはその中のエピトープと結合する。

10

20

30

【0270】

一実施形態では、抗T_{IM3}抗体は、13A3のものと実質的に同一のエピトープと結合する。特定の実施形態では、抗T_{IM3}抗体は、配列番号286(図20)のアミノ酸残基C58、P59、F61、E62、C63、R111およびD120の1以上を含む、エピトープ(またはヒトT_{IM3}の領域)と結合する。いくつかの実施形態では、抗T_{IM3}抗体は、配列番号286(図20)のアミノ酸残基C58、P59、F61、E62、C63、D104、R111、Q113およびD120の1以上を含む、エピトープ(またはヒトT_{IM3}の領域)と結合する。特定の実施形態では、抗T_{IM3}抗体は、配列番号286のアミノ酸残基C58、P59、F61、E62、C63、R111およびD120の1以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒトT_{IM3}タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。特定の実施形態では、抗T_{IM3}抗体は、配列番号286のアミノ酸残基C58、P59、F61、E62、C63、D104、R111、Q113およびD120の1以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒトT_{IM3}タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。

40

【0271】

いくつかの実施形態では、抗T_{IM3}抗体は、3G4のものと実質的に同一のエピトープと結合する。いくつかの実施形態では、抗T_{IM3}抗体は、配列番号286(図20)のアミノ酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G116およびM118の1以上を含む、エピトープ(またはヒトT_{IM3}の領域)と結合する。いくつかの実

50

施形態では、抗T I M 3 抗体は、配列番号 2 8 6 (図 2 0)のアミノ酸残基 C 5 8 、 P 5 9 、 V 6 0 、 F 6 1 、 E 6 2 、 C 6 3 、 D 1 0 4 、 G 1 1 6 および M 1 1 8 の 1 以上を含む、エピトープ(またはヒト T I M 3 の領域)と結合する。特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、配列番号 2 8 6 のアミノ酸残基 C 5 8 、 P 5 9 、 V 6 0 、 F 6 1 、 E 6 2 、 C 6 3 、 G 1 1 6 および M 1 1 8 の 1 以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒト T I M 3 タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、配列番号 2 8 6 のアミノ酸残基 C 5 8 、 P 5 9 、 V 6 0 、 F 6 1 、 E 6 2 、 C 6 3 、 D 1 0 4 、 G 1 1 6 および M 1 1 8 の 1 以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒト T I M 3 タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。

【 0 2 7 2 】

いくつかの実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、 1 7 C 3 のものと実質的に同一のエピトープと結合する。特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、配列番号 2 8 6 (図 2 0)のアミノ酸残基 C 5 8 、 P 5 9 、 V 6 0 、 F 6 1 、 E 6 2 、 C 6 3 、 G 6 4 および G 1 1 6 の 1 以上を含む、エピトープ(またはヒト T I M 3 の領域)と結合する。いくつかの実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、配列番号 2 8 6 (図 2 0)のアミノ酸残基 C 5 8 、 P 5 9 、 V 6 0 、 F 6 1 、 E 6 2 、 C 6 3 、 G 6 4 および G 1 1 6 の 1 以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒト T I M 3 タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、配列番号 2 8 6 のアミノ酸残基 C 5 8 、 P 5 9 、 V 6 0 、 F 6 1 、 E 6 2 、 C 6 3 、 G 6 4 および G 1 1 6 の 1 以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒト T I M 3 タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。

【 0 2 7 3 】

いくつかの実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、 8 B 9 のものと実質的に同一のエピトープと結合する。特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、配列番号 2 8 6 (図 2 0)のアミノ酸残基 L 4 8 、 W 7 8 、 S 8 0 、 R 8 1 、 W 8 3 、 G 8 6 、 D 8 7 および R 8 9 の 1 以上を含む、エピトープ(またはヒト T I M 3 の領域)と結合する。いくつかの実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、配列番号 2 8 6 (図 2 0)のアミノ酸残基 L 4 8 、 W 7 8 、 S 8 0 、 R 8 1 、 W 8 3 、 L 8 4 、 G 8 6 、 D 8 7 および R 8 9 の 1 以上を含む、エピトープ(またはヒト T I M 3 の領域)と結合する。いくつかの実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、 8 B 9 のものと実質的に同一のエピトープと結合する。特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、配列番号 2 8 6 (図 2 0)のアミノ酸残基 L 4 8 、 W 7 8 、 S 8 0 、 R 8 1 、 W 8 3 、 G 8 6 、 D 8 7 および R 8 9 の 1 以上を含む、エピトープ(またはヒト T I M 3 の領域)と結合する。特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、配列番号 2 8 6 のアミノ酸残基 L 4 8 、 W 7 8 、 S 8 0 、 R 8 1 、 W 8 3 、 G 8 6 、 D 8 7 および R 8 9 の 1 以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒト T I M 3 タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、配列番号 2 8 6 のアミノ酸残基 L 4 8 、 W 7 8 、 S 8 0 、 R 8 1 、 W 8 3 、 L 8 4 、 G 8 6 、 D 8 7 および R 8 9 の 1 以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒト T I M 3 タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、配列番号 2 8 6 (図 2 0)のアミノ酸残基 L 4 8 、 W 7 8 、 S 8 0 、 R 8 1 、 W 8 3 、 G 8 6 、 D 8 7 および R 8 9 の 1 以上が、例えば、非保存的アミノ酸置換において、別のアミノ酸に変更されているヒト T I M 3 タンパク質とは、有意に結合しないかまたは有意に低減された結合親和性でしか結合しない。

10

20

30

40

50

しか結合しない。

【0274】

特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、ヒトT I M 3との結合について、本明細書に記載されるC D R または可変領域、例えば、抗体1 3 A 3、3 G 4、1 7 C 3、1 7 C 8、9 F 6、8 B 9、8 C 4、およびT I M 3.2～T I M 3.1 8のいずれかのものを含む抗T I M 3 抗体と競合する（またその結合を阻害する）。特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、抗体1 3 A 3、3 G 4、1 7 C 3、1 7 C 8、9 F 6、8 B 9、8 C 4、またはT I M 3.2～T I M 3.1 8のいずれかの、ヒトT I M 3との結合を、少なくとも5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %または1 0 0 %阻害する。特定の実施形態では、1 3 A 3、3 G 4、1 7 C 3、1 7 C 8、9 F 6、8 B 9、8 C 4、またはT I M 3.2～T I M 3.1 8のいずれかは、抗T I M 3 抗体のヒトT I M 3との結合を、少なくとも5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %または1 0 0 %阻害する。特定の実施形態では、抗T I M 3 抗体は、1 3 A 3、3 G 4、1 7 C 3、1 7 C 8、9 F 6、8 B 9、8 C 4、またはT I M 3.2～T I M 3.1 8のいずれかの、ヒトT I M 3との結合を、少なくとも5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %または1 0 0 %阻害し、1 3 A 3、3 G 4、1 7 C 3、1 7 C 8、9 F 6、8 B 9、8 C 4、またはT I M 3.2～T I M 3.1 8のいずれかは、抗T I M 3 抗体のヒトT I M 3との結合を、少なくとも5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %または1 0 0 %阻害する（例えば、両方の方向で競合する）。

10

【0275】

V I I . 遺伝子操作された、および修飾された抗体

20

修飾された抗体を遺伝子操作するために、出発材料として本明細書において開示されるV Hおよび／またはV L配列のうち1種または複数を有する抗体を使用して調製され得る、遺伝子操作された、および修飾された抗体もまた提供され、この修飾された抗体は、出発抗体から変更された特性を有し得る。抗体は、一方または両方の可変領域（すなわち、V Hおよび／またはV L）内の、例えば、1以上のC D R 領域内の、および／または1以上のフレームワーク領域内の1個または複数の残基を修飾することによって、遺伝子操作され得る。さらに、またはあるいは、抗体は、例えば、抗体のエフェクター機能（単数または複数）を変更するために、定常領域（単数または複数）内の残基を修飾することによって遺伝子操作され得る。

【0276】

30

実施され得る1種の可変領域遺伝子操作として、C D R グラフティングがある。抗体は、主に6つの重鎖および軽鎖相補性決定領域（C D R ）中に位置するアミノ酸残基を介して標的抗原と相互作用する。このため、C D R 内のアミノ酸配列は、C D R の外側の配列よりも個々の抗体間でより多様である。C D R 配列は、ほとんどの抗体抗原相互作用に関与しているので、異なる特性を有する異なる抗体に由来するフレームワーク配列上にグラフトされた特定の天然に存在する抗体に由来するC D R 配列を含む発現ベクターを構築することによって、特定の天然に存在する抗体の特性を模倣する組換え抗体を発現させることができ（例えば、Riechmann, L. et al. (1998) Nature 332:323-327; Jones, P. et al. (1986) Nature 321:522-525; Queen, C. et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:10029-10033; Winterの米国特許第5,225,539号およびQueen et alの米国特許第5,530,101号；同5,585,089号；同5,693,762号および同6,180,370号を参照のこと）。

40

【0277】

したがって、本明細書において記載される別の実施形態は、それぞれ配列番号4 1～4 5、配列番号4 6～5 2、1 2 2～1 2 5、および配列番号5 3～5 9、1 2 6～1 2 9からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2およびC D R 3を含む、重鎖可変領域、ならびに配列番号6 4～6 5、配列番号6 6～6 7、および配列番号6 8～7 1からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2およびC D R 3を含む、軽鎖可変領域を含む、単離されたモノクローナル抗体またはその抗原結合部分に関する。したがって、このような抗体は、モノクローナル抗体1 3 A 3、3 G 4、1 7 C

50

3、17C8、9F6、8B9、8C4またはT I M 3.18～T I M 3.2のいずれか1つのV HおよびV L C D R配列を含み、異なるフレームワーク配列をさらに含み得る。

【0278】

このようなフレームワーク配列は、生殖系列抗体遺伝子配列を含む公開D N Aデータベースまたは公開参考文献から得ることができる。例えば、ヒト重鎖および軽鎖可変領域遺伝子の生殖系列D N A配列は、「V B a s e」ヒト生殖系列配列データベース（インターネット上でwww.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbaseにおいて利用可能）に、ならびにKabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Tomlinson, I. M., et al. (1992) "The Repertoire of Human Germline V H Sequences Reveals about Fifty Groups of V H Segments with Different Hypervariable Loops" I. Mol. Biol. 227:776-798; and Cox, J. P. L. et al. (1994) "A Directory of Human Germ-line V H Segments Reveals a Strong Bias in their Usage" Eur. J. Immunol. 24:827-836に見出すことができ、それらの各々の内容は、参照により本明細書に明確に組み込まれる。

【0279】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載される抗T I M 3抗体において使用するためのフレームワーク配列は、本明細書に記載される抗T I M 3抗体によって使用されるフレームワーク配列と構造的に同様であるものである。V H C D R 1、2および3配列ならびにV L C D R 1、2および3配列は、フレームワーク配列が由来する生殖系列免疫グロブリン遺伝子において見られるものと同一配列を有するフレームワーク領域上にグラフトされ得るか、またはC D R配列は、生殖系列配列と比較した場合に1以上の突然変異を含有するフレームワーク領域上にグラフトされ得る。例えば、特定の場合には、抗体の抗原結合能力を維持または増強するために、フレームワーク領域内の残基を突然変異させることができることが有益であることがわかっている（例えば、Queen et alの米国特許第5,530,101号；同5,585,089号；同5,693,762号および同6,180,370号を参照のこと）。

【0280】

本明細書に記載される遺伝子操作された抗T I M 3抗体は、例えば、抗体の特性を改善するために、V Hおよび/またはV L内のフレームワーク残基に修飾が行われているもの、例えば、9F6のアミノ酸107に突然変異が行われているものを含む。通常、このようなフレームワーク修飾は、抗体の免疫原性を低下させるよう行われる。例えば、1つのアプローチとして、1個または複数のフレームワーク残基を、対応する生殖系列配列に「復帰突然変異」することがある。より詳しくは、体細胞突然変異を起こしている抗体は、抗体が由来する生殖系列配列とは異なるフレームワーク残基を含有し得る。このような残基は、抗体フレームワーク配列を、抗体が由来する生殖系列配列に対して比較することによって同定できる。フレームワーク領域配列をその生殖系列立体配置に戻すために、例えば、部位特異的突然変異誘発またはP C R媒介突然変異誘発によって、体細胞突然変異を生殖系列配列に「復帰突然変異する」ことができる。このような「復帰突然変異された」抗体も包含されるものとする。別の種類のフレームワーク修飾は、T細胞エピトープを除去し、それによって、抗体の免疫原性の可能性を低減するために、フレームワーク領域内の、またはさらには1つもしくは複数のC D R領域内の1個または複数の残基を突然変異することを含む。このアプローチはまた、「脱免疫化」と呼ばれ、Carr et alによる米国特許公開第20030153043号にさらに詳細に記載されている。

【0281】

別の種類の可変領域修飾は、それにより対象の抗体の1以上の結合特性（例えば、親和性）を改善するためにV Hならびに/またはV L C D R 1、C D R 2および/もしくはC D R 3領域内のアミノ酸残基を突然変異することである。部位特異的突然変異誘発またはP C R媒介突然変異誘発を実施して、抗体結合または対象のその他の機能的特性に対して突然変異（単数または複数）および効果を導入でき、本明細書に記載され実施例において

10

20

30

40

50

提供されるインビトロまたはインビボでのアッセイにおいて評価することができる。いくつかの実施形態では、保存的修飾（上記で論じられるような）が導入される。突然変異は、アミノ酸置換、付加、または欠失であり得る。さらに、通常、CDR領域内の1、2、3、4または5個以下の残基が変更される。

【0282】

したがって、

(a) 配列番号41～45からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号41～45と比較して1個、2個、3個、4個もしくは5個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を含む、VH CDR1領域、

(b) 配列番号46～52および122～125からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号46～52および122～125と比較して1個、2個、3個、4個もしくは5個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を含む、VH CDR2領域、10

(c) 配列番号53～59および126～129からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号53～59および126～129

と比較して1個、2個、3個、4個もしくは5個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を含む、VH CDR3領域、

(d) 配列番号64～65からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号64～65と比較して1個、2個、3個、4個もしくは5個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を含む、VL CDR1領域、20

(e) 配列番号66～67からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号66～67と比較して1個、2個、3個、4個もしくは5個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を含む、VL CDR2領域、ならびに

(f) 配列番号68～71からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号68～71と比較して、1個、2個、3個、4個もしくは5個のアミノ酸配列、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を含む、VL CDR3領域

を含む、重鎖可変領域を含む、単離された抗TIM3モノクローナル抗体またはその抗原結合部分もまた、提供される。

【0283】

抗体のCDR中のメチオニン残基は、酸化され、その結果、化学的分解の可能性および結果としての抗体の効力の低減をもたらし得る。したがって、重鎖および/または軽鎖CDR中の1個または複数のメチオニン残基は、酸化分解を受けないアミノ酸残基と置換されている抗TIM3抗体もまた、提供される。一実施形態では、抗体13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4、またはTIM3.2～TIM3.18のいずれかのCDRにおけるメチオニン残基は、酸化分解を受けないアミノ酸残基と置換される。30

【0284】

同様に、抗TIM3抗体から、特に、CDR中の脱アミド化部位も除去され得る。

【0285】

本明細書に記載される抗TIM3可変領域は、Fc、例えば、IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4 Fcと連結され得（例えば、共有結合によって連結されるか、または融合される）、これは、例えば、IgG1の任意のアロタイプまたはイソアロタイプ：G1m、G1m1(a)、G1m2(x)、G1m3(f)、G1m17(z)；IgG2の任意のアロタイプまたはイソアロタイプ：G2m、G2m23(n)；IgG3の任意のアロタイプまたはイソアロタイプ：G3m、G3m21(g1)、G3m28(g5)、G3m11(b0)、G3m5(b1)、G3m13(b3)、G3m14(b4)、G3m10(b5)、G3m15(s)、G3m16(t)、G3m6(c3)、G3m24(c5)、G3m26(u)、G3m27(v)およびK：Km、Km1、Km2、Km3であり得る（例えば、Jefferis et al. (2009) mAbs 1:1を参照のこと）。

【0286】

特定の実施形態では、本明細書に記載される抗TIM3可変領域は、エフェクターレスま40

10

20

30

40

50

たは大部分がエフェクターレスの Fc、例えば、IgG1 と連結される。

【0287】

一般に、本明細書に記載される可変領域は、通常、血清半減期、補体結合、Fc受容体結合および／または抗原依存性細胞性細胞傷害性などの、抗体の 1 以上の機能的特性を変更するために、1 以上の修飾を含む Fc と連結され得る。さらに、本明細書に記載される抗体は、化学的に修飾され得る（例えば、1 以上の化学部分は、抗体と結合され得る）か、またはそのグリコシル化を変更するよう、抗体の 1 以上の機能的特性を変更するよう修飾され得る。これらの実施形態の各々は、以下に詳細に記載される。Fc 領域中の残基の番号付けは、カバットの EU 指数のものである。

【0288】

Fc 領域は、定常領域の断片、類似体、変異体、突然変異体または誘導体を含む、免疫グロブリンの定常領域に由来するドメインを包含する。好適な免疫グロブリンとしては、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、ならびに IgA、IgD、IgE および IgM などのその他のクラスが挙げられる。免疫グロブリンの定常領域は、免疫グロブリン C 末端領域と相同な天然に存在するポリペプチドまたは合成により產生されたポリペプチドとして定義され、これには、CH1 ドメイン、ヒンジ、CH2 ドメイン、CH3 ドメインまたは CH4 ドメインが、別個または組合せで含まれ得る。

10

【0289】

Ig 分子は、複数のクラスの細胞受容体と相互作用する。例えば、IgG 分子は、IgG クラスの抗体に特異的な 3 つのクラスの Fc 受容体 (FcR)、すなわち、FcR I、FcR II および FcR III と相互作用する。IgG の FcR 受容体との結合に重要な配列は、CH2 および CH3 ドメインに位置することが報告されている。抗体の血清半減期は、その抗体が Fc 受容体 (FcR) と結合する能力によって影響を受ける。

20

【0290】

特定の実施形態では、Fc 領域は、変異体 Fc 領域、例えば、親 Fc 配列（例えば、未修飾の Fc ポリペプチドであり、これが、後で修飾されて変異体が生成される）と比べて、望ましい構造的特性および／または生物学的活性を提供するように修飾されている（例えば、アミノ酸置換、欠失および／または挿入によって）Fc 配列である。

【0291】

一般に、定常領域またはその部分、例えば、CH1、CL、ヒンジ、CH2 または CH3 ドメインの変異体は、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個もしくはそれ以上の突然変異ならびに／または多くとも 10 個、9 個、8 個、7 個、6 個、5 個、4 個、3 個、2 個もしくは 1 個の突然変異または 1 ~ 10 個もしくは 1 ~ 5 個の突然変異を含み得るか、あるいは対応する野生型領域またはドメイン（それぞれ CH1、CL、ヒンジ、CH2 または CH3 ドメイン）のものと少なくとも約 75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% または 99% 同一であるアミノ酸配列を含み得るが、ただし、特定の変異体を含む重鎖定常領域が、必要な生物活性を保持することを条件とする。

30

【0292】

例えば、親の Fc に対して、(a) 抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性 (ADCC) が増大もしくは減少した、(b) 補体媒介性細胞傷害性 (CDC) が増大もしくは減少した、(c) C1q に対する親和性が増大もしくは減少した、および／または (d) Fc 受容体に対する親和性が増大もしくは減少した Fc 変異体を作製するために、Fc 領域中に修飾を行ってもよい。このような Fc 領域変異体は、一般に、Fc 領域中に少なくとも 1 つのアミノ酸修飾を含む。アミノ酸修飾を組み合わせることは、特に望ましいと考えられる。例えば、変異体 Fc 領域は、中に、本明細書において同定される特定の Fc 領域位置の 2 つ、3 つ、4 つ、5 つなどの置換を含み得る。

40

【0293】

変異体 Fc 領域はまた、ジスルフィド結合の形成に関するアミノ酸が、除去されるかまたはその他のアミノ酸と置換される、配列の変更も含み得る。そのような除去により、本

50

明細書に記載される抗 T I M 3 抗体を産生するために使用される宿主細胞に存在するその他のシステイン含有タンパク質との反応を回避することができる。システイン残基を除去した場合であっても、一本鎖 F c ドメインは、依然として、二量体 F c ドメインを形成することができ、これは、非共有結合的に一緒に保持される。他の実施形態では、F c 領域は、選択された宿主細胞との適合性が高くなるように修飾され得る。例えば、典型的な天然の F c 領域の N 末端の近傍の P A 配列を除去してもよく、これは、プロリンイミノペプチダーゼなど、大腸菌における消化酵素によって認識され得る。他の実施形態では、F c ドメイン内の 1 以上のグリコシル化部位が、除去され得る。典型的にはグリコシル化されている残基（例えば、アスパラギン）は、細胞溶解性応答をもたらし得る。そのような残基は、欠失させてもよく、または非グリコシル化残基（例えば、アラニン）と置換してもよい。他の実施形態では、C 1 q 結合部位など、補体との相互作用に関与する部位が、F c 領域から除去され得る。例えば、ヒト I g G 1 の E K K 配列を、欠失または置換してもよい。特定の実施形態では、F c 受容体との結合に影響を及ぼす部位、好ましくは、サルベージ受容体結合部位以外の部位が除去され得る。その他の実施形態では、F c 領域は、A D C C 部位を除去するよう修飾され得る。A D C C 部位は、当技術分野で公知である、例えば、I g G 1 中の A D C C 部位に関しては、Molec. Immunol. 29 (5): 633-9 (1992) を参照のこと。変異体 F c ドメインの具体的な例は、例えば、WO 97 / 34631 および WO 96 / 32478 に開示されている。

【 0 2 9 4 】

一実施形態では、F c のヒンジ領域は、ヒンジ領域内のシステイン残基の数が変更されるように、例えば、増大または減少されるように、修飾される。このアプローチは、B o d m e r らによる米国特許第 5,677,425 号にさらに記載されている。F c のヒンジ領域内のシステイン残基の数は、例えば、軽鎖および重鎖のアセンブリーを容易にするように、または抗体の安定性を増大もしくは減少させるように、変更されている。一実施形態では、抗体の F c ヒンジ領域は、抗体の生物学的半減期を減少させるように突然変異される。より具体的には、抗体が、天然の F c - ヒンジドメインのブドウ球菌タンパク質 A (S p A) 結合と比べて、損傷された S p A 結合を有するように、1 以上のアミノ酸突然変異が、F c - ヒンジ断片の C H 2 - C H 3 ドメインの界面領域に導入される。このアプローチは、W a r d らによる米国特許第 6,165,745 号にさらに詳細に記載されている。

【 0 2 9 5 】

さらに他の実施形態では、F c 領域は、抗体のエフェクター機能を変更するよう、少なくとも 1 個のアミノ酸残基を異なるアミノ酸残基と置換することによって変更される。例えば、抗体が、エフェクターリガンドに対して低減した親和性を有するが、親抗体の抗原結合能力は保持するよう、アミノ酸残基 234、235、236、237、297、318、320、322、330、および／または 331 から選択される 1 個または複数のアミノ酸が、異なるアミノ酸残基と置換され得る。それに対する親和性が変更されるエフェクターリガンドは、例えば、F c 受容体または補体の C 1 成分であり得る。このアプローチは、いざれも W i n t e r らによる米国特許第 5,624,821 号および同第 5,648,260 号にさらに詳細に記載されている。

【 0 2 9 6 】

別の例において、アミノ酸残基 329、331 および 322 から選択される 1 個または複数のアミノ酸は、抗体が、変更された C 1 q 結合および／または低減もしくは消失された補体依存性細胞傷害性 (C D C) を有するように、異なるアミノ酸残基と置き換えられ得る。このアプローチは、I d u s o g i e らによる米国特許第 6,194,551 号にさらに詳細に記載されている。

【 0 2 9 7 】

別の例では、アミノ酸位置 231 ~ 239 内の 1 個または複数のアミノ酸残基が変更され、それによって、抗体が補体と結合する能力を変更する。このアプローチは、B o d m e r らによる P C T 公開 WO 94 / 29351 にさらに記載されている。

【 0 2 9 8 】

10

20

30

40

50

さらに別の実施例では、Fc領域は、以下の位置：234、235、236、238、239、240、241、243、244、245、247、248、249、252、254、255、256、258、262、263、264、265、267、268、269、270、272、276、278、280、283、285、286、289、290、292、293、294、295、296、298、299、301、303、305、307、309、312、313、315、320、322、324、325、326、327、329、330、331、332、333、334、335、337、338、340、360、373、376、378、382、388、389、398、414、416、419、430、433、434、435、436、437、438または439で1個または複数のアミノ酸を修飾することによって、抗体依存性細胞性細胞傷害性(ADCC)を低減するよう、および/またはFc受容体に対する親和性を低減するよう修飾され得る。例示的置換として、236A、239D、239E、268D、267E、268E、268F、324T、332Dおよび332Eが挙げられる。例示的変異体として、239D/332E、236A/332E、236A/239D/332E、268F/324T、267E/268F、267E/324Tおよび267E/268F/324Tが挙げられる。FcRおよび補体相互作用を増強するための他の修飾として、それだけには限らないが、置換298A、333A、334A、326A、247I、339D、339Q、280H、290S、298D、298V、243L、292P、300L、396L、305Iおよび396Lが挙げられる。これらおよびその他の修飾は、Strohl (2009) Current Opinion in Biotechnology 20:685-691に概説されている。

【0299】

Fc受容体との結合を増大させるFc修飾は、Fc領域のアミノ酸238位、239位、248位、249位、252位、254位、255位、256位、258位、265位、267位、268位、269位、270位、272位、279位、280位、283位、285位、298位、289位、290位、292位、293位、294位、295位、296位、298位、301位、303位、305位、307位、312位、315位、324位、327位、329位、330位、335位、337位、338位、340位、360位、373位、376位、379位、382位、388位、389位、398位、414位、416位、419位、430位、434位、435位、437位、438位または439位のうちの任意の1以上におけるアミノ酸修飾を含み、ここで、Fc領域における残基の番号付けは、カバット(abat)におけるEU指数のものである(WO00/42072)。

【0300】

Fcに対して行われ得るその他のFc修飾は、FcRおよび/または補体タンパク質との結合を低減または除去し、それによって、Fc媒介性エフェクター機能、例えば、ADCC、ADCPおよびCDCを低減または除去するためのものである。例示的な修飾としては、234位、235位、236位、237位、267位、269位、325位、328位、330位および/または331位(例えば、330位および331位)における置換、挿入および欠失が挙げられるがこれらに限定されず、ここで、番号付けは、EU指数に従う。例示的な置換としては、234A、235E、236R、237A、267R、269R、325L、328R、330Sおよび331S(例えば、330Sおよび331S)が挙げられるがこれらに限定されず、ここで、番号付けは、EU指数に従う。Fc変異体は、236R/328Rを含み得る。FcRおよび補体の相互作用を低減するための他の修飾としては、置換297A、234A、235A、237A、318A、228P、236E、268Q、309L、330S、331S、220S、226S、229S、238S、233Pおよび234V、ならびに突然変異誘発もしくは酵素的手段またはタンパク質をグリコシル化しない細菌などの生物における産生による297位におけるグリコシル化の除去が挙げられる。これらおよびその他の修飾は、Strohl, 2009, Current Opinion in Biotechnology 20:685-691に概説されている。

10

20

30

40

50

【0301】

適宜、Fc領域は、当業者に公知の追加および／または代替的な位置に、非天然のアミノ酸残基を含み得る（例えば、米国特許第5,624,821号、同第6,277,375号、同第6,737,056号、同第6,194,551号、同第7,317,091号、同第8,101,720号、PCT特許公開第WO00/42072、WO01/58957、WO02/06919、WO04/016750、WO04/029207、WO04/035752、WO04/074455、WO04/099249、WO04/063351、WO05/070963、WO05/040217、WO05/092925およびWO06/020114を参照のこと）。

【0302】

阻害性受容体Fc-R_II_bに対する親和性を増強するFc変異体も使用され得る。このような変異体は、例えば、B細胞および単球を含めたFc-R_II_b細胞と関連する免疫調節性活性を有するFc融合タンパク質を提供し得る。一実施形態では、Fc変異体は、1以上の活性化受容体と相対的に、Fc-R_II_bに対する選択的に増強された親和性を提供する。Fc-R_II_bに対する結合を変更するための修飾として、EU指数に従って、234、235、236、237、239、266、267、268、325、326、327、328、330、331、および332からなる群から選択される位置での1以上の修飾が挙げられる。Fc-R_II_b親和性を増強するための例示的置換として、それだけには限らないが、234A、234D、234E、234F、234W、235D、235E、235F、235R、235Y、236D、236N、237A、237D、237N、239D、239E、266M、267D、267E、268D、268E、327D、327E、328F、328W、328Y、330S、331S、および332Eが挙げられる。例示的置換として、235Y、236D、239D、266M、267E、268D、268E、328F、328Wおよび328Yが挙げられる。Fc-R_II_bとの結合を増強するための他のFc変異体として、235Y/267E、236D/267E、239D/268D、239D/267E、267E/268D、267E/268Eおよび267E/328Fが挙げられる。

【0303】

Fc領域のそのリガンドに対する親和性および結合特性は、それだけには限らないが、平衡方法（例えば、酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）またはラジオイムノアッセイ（RIA））または速度論（例えば、BIA CORE分析）および間接結合アッセイ、競合阻害アッセイ、蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）、ゲル電気泳動およびクロマトグラフィー（例えば、ゲル濾過）などの他の方法を含めた、当技術分野で公知の種々のインビトロアッセイ法（生化学または免疫学ベースのアッセイ）によって決定され得る。これらおよびその他の方法は、調べられている1種もしくは複数の成分上の標識を利用してよく、および／またはそれだけには限らないが、クロマトグラフィー、蛍光、発光もしくは同位体標識を含めた種々の検出方法を使用してもよい。結合親和性および速度論の詳細な説明は、抗体免疫原相互作用に焦点を当てる、Paul, W. E., ed., *Fundamental Immunology*, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)に見出すことができる。

【0304】

特定の実施形態では、抗体は、その生物学的半減期を増大するよう修飾される。種々のアプローチが可能である。例えば、これは、Fc領域のFcRnに対する結合親和性を増大することによって行うことができる。例えば、米国特許第6,277,375号に記載されるように、以下の残基のうちの1個または複数が、突然変異され得る：252、254、256、433、435、436。特定の例示的な置換としては、以下の1以上が挙げられる：T252L、T254Sおよび／またはT256F。あるいは、生物学的半減期を増大させるために、抗体は、Prestaらによる米国特許第5,869,046号および同第6,121,022号に記載されているように、IgGのFc領域のCH2ドメインの2つのループから得られたサルベージ受容体結合エピトープを含むように、CH1またはCL領域内で変更され得る。FcRnとの結合を増大し、および／または薬物動態特性を

10

20

30

40

50

改善するその他の例示的変異体は、位置 259、308、428、および 434 での置換を含み、例えば、259I、308F、428L、428M、434S、434I 1、434F、434Y および 434X1 が挙げられる。FcRn との Fc 結合を増大するその他の変異体として、250E、250Q、428L、428F、250Q / 428L (Hinton et al. 2004, J. Biol. Chem. 279(8): 6213-6216, Hinton et al. 2006 Journal of Immunology 176:346-356)、256A、272A、286A、305A、307A、307Q、311A、312A、376A、378Q、380A、382A、434A (Shields et al, Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(9):6591-604)、252F、252T 252Y、252W、254T、256S、256R、256Q、256E、256D、256T、309P、311S、433R、433S、4331、433P、433Q、434H、434F、434Y、252Y / 254T / 256E、433K / 434F / 436H、308T / 309P / 311S (Dall'Acqua et al. Journal of Immunology, 2002, 169:5171-5180, Dall'Acqua et al., 2006, Journal of Biological Chemistry 281:23514-23524) が挙げられる。FcRn 結合を調節するためのその他の修飾は、Yeung et al., 2010, J Immunol, 182:7663-7671 に記載されている。

【0305】

特定の実施形態では、特定の生物学的特徴を有するハイブリッド IgG アイソタイプを、使用することができる。例えば、IgG1 / IgG3 ハイブリッド変異体は、CH2 および / または CH3 領域中の IgG1 位置を、2種のアイソタイプが異なる位置で IgG3 に由来するアミノ酸と置換することによって構築され得る。このようにして、1以上の置換、例えば、274Q、276K、300F、339T、356E、358M、384S、392N、397M、422I、435R および 436F を含むハイブリッド変異体 IgG 抗体が、構築され得る。本明細書に記載されるその他の実施形態では、CH2 および / または CH3 領域中の IgG2 位置を、2種のアイソタイプが異なる位置で IgG1 に由来するアミノ酸と置換することによって、IgG1 / IgG2 ハイブリッド変異体が構築され得る。このようにして、1以上の置換、例えば、以下のアミノ酸置換：233E、234L、235L、-236G (236 位でのグリシンの挿入を指す) および 327A のうち 1以上を含むハイブリッド変異体 IgG 抗体が構築され得る。

【0306】

さらに、ヒト IgG1 における Fc RII、Fc RI Ⅱ、Fc RIIII、および Fc Rn に対する結合部位が、マッピングされており、改善された結合を有する変異体が、説明されている (Shields, R.L. et al., (2001) J. Biol. Chem. 276:6591-6604 を参照のこと)。256 位、290 位、298 位、333 位、334 位および 339 位における特定の突然変異は、Fc RIIII との結合を改善することが示された。加えて、組合せ突然変異体 T256A / S298A、S298A / E333A、S298A / K224A および S298A / E333A / K334A は、Fc RIIII 結合を改善することが示されており、これらは、増強された Fc RIIIIa 結合および ADC C 活性を示すことが示されている (Shields et al., 2001)。S239D / I332E および S239D / I332E / A330L 突然変異を有する変異体を含めた、Fc RIIIIa との結合が強力に増強されたその他の IgG1 変異体が同定されており、これは、Fc RIIIIa に対する親和性の最大の増大、Fc RIIIB 結合の減少およびカニクイザルにおける強力な細胞傷害性活性を示した (Lazar et al., 2006)。アレムツズマブ (CD52 特異的)、トラスツズマブ (HER2/neu 特異的)、リツキシマブ (CD20 特異的) およびセツキシマブ (EGFR 特異的) などの抗体中への三重突然変異の導入は、インビトロで大きく増強された ADC C 活性に変換され、S239D / I332E 変異体は、サルにおいて B 細胞を枯渇させる増強された能力を示した (Lazar et al., 2006)。さらに、B 細胞悪性腫瘍および乳がんのモデルにおいてヒト Fc RIIIIa を発現するトランスジェニックマウスにおいて、Fc RIIIIa との増強された結合および同時に増強された ADC C 活性を示した、L235V、F243L、R292P、Y300L および P39

10

20

30

40

50

6 L 突然変異を含有する Ig G 1 突然変異体が同定された (Stavenhagen et al., 2007、Nordstrom et al., 2011)。使用することができるその他のFc 突然変異体としては、以下のものが挙げられる：S 298A / E 333A / L 334A、S 239D / I 332E、S 239D / I 332E / A 330L、L 235V / F 243L / R 292P / Y 300L / P 396L および M 428L / N 434S。

【0307】

特定の実施形態では、Fc Rとの結合が低減されたFcが、選択される。Fc R結合が低減された例示的なFc、例えば、Ig G 1 Fcは、以下の3つのアミノ酸置換を含む：L 234A、L 235E および G 237A。

【0308】

特定の実施形態では、補体結合が低減されたFcが、選択される。補体結合が低減された例示的なFc、例えば、Ig G 1 Fcは、以下の2つのアミノ酸置換を有する：A 330S および P 331S。

【0309】

特定の実施形態では、本質的にエフェクター機能を有さない、すなわち、Fc Rとの結合が低減され、補体結合が低減されたFcが、選択される。エフェクターレスである例示的なFc、例えば、Ig G 1 Fcは、以下の5つの突然変異を含む：L 234A、L 235E、G 237A、A 330S および P 331S。

【0310】

Ig G 4 定常ドメインを使用する場合、これは、置換 S 228P を含み得、この置換は、Ig G 1 におけるヒンジ配列を模倣し、それによって、Ig G 4 分子を安定化させる。

【0311】

さらに別の実施形態では、抗体のグリコシル化が、修飾される。例えば、非グリコシル化抗体を、作製することができる（すなわち、抗体は、グリコシル化を欠いている）。グリコシル化は、例えば、抗体の抗原に対する親和性を増大させるように変更され得る。そのような炭水化物修飾は、例えば、抗体配列内の1以上のグリコシル化部位を変更することによって達成することができる。例えば、1以上の可変領域フレームワークグリコシル化部位の排除をもたらし、それによって、その部位におけるグリコシル化を排除する、1以上のアミノ酸置換を行うことができる。そのような非グリコシル化により、抗原に対する抗体の親和性を増大させることができる。そのようなアプローチは、C o らによる米国特許第5,714,350号および同第6,350,861号にさらに詳細に記載されている。

【0312】

N 297 における定常領域のグリコシル化は、N 297 残基を、別の残基、例えば、N 297A に突然変異すること、および／または隣接するアミノ酸、例えば、298を突然変異し、それによって、N 297 におけるグリコシル化を低減することによって、予防することができる。

【0313】

さらに、またはあるいは、変更型のグリコシル化を有する抗体、例えば、フコシル残基の量が低減された低フコシル化抗体、または二分枝型G1cNac構造が増大した抗体を、作製することができる。このような変更されたグリコシル化パターンは、抗体のADC C能力を増大させることができると実証されている。そのような炭水化物修飾は、例えば、変更されたグリコシル化機序を有する宿主細胞において抗体を発現させることによって、達成することができる。変更されたグリコシル化機序を有する細胞は、当技術分野において説明されており、本明細書に記載される組換え抗TIM3抗体を発現させる宿主細胞として使用して、それによって変更されたグリコシル化を有する抗体を産生することができる。例えば、H a n a i らによる欧州特許第1,176,195号は、フコシルトランスフェラーゼをコードする機能的に破壊されたFUT8遺伝子を有する細胞株について記載しており、結果として、そのような細胞株において発現される抗体は、低フコシル化を呈することになる。PrestaによるPCT公開WO 03/035835は、フコースの、Asn(297)が連結した炭化水素と結合する能力が低下した変異体CHO細胞系統、L e d 3

10

20

30

40

50

細胞について記載しており、また、宿主細胞において発現された抗体の低フコシル化をもたらした (Shields, R.L. et al. (2002) J. Biol. Chem. 277:26733-26740も参照のこと)。Umana et al.によるPCT公開WO 99/54342は、糖タンパク質修飾性グリコシルトランスフェラーゼ(例えば、(1,4)-N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼIII(GnT III))を発現するよう遺伝子操作された細胞系統を記載し、その結果、遺伝子操作された細胞系統において発現された抗体は、二分GlcNAc構造の増大を示し、これは、抗体のADC活性の増大をもたらす(Umana et al. (1999) Nat. Biotech. 17:176-180も参照のこと)。

【0314】

本明細書に記載される抗TIM3抗体の別の修飾は、ペグ化である。抗体を、例えば、抗体の生物学的(例えば、血清)半減期を増大するようペグ化してもよい。抗体をペグ化するためには、通常、抗体またはその断片を、1以上のPEG基が、抗体または抗体断片と結合するようになる条件下で、PEGの反応性エステルまたはアルデヒド誘導体などのポリエチレングリコール(PEG)と反応させる。いくつかの実施形態では、ペグ化は、反応性PEG分子(または類似の反応性水溶性ポリマー)とのアシル化反応またはアルキル化反応によって実施される。本明細書において、用語「ポリエチレングリコール」は、モノ(CIO~CIO)アルコキシ-またはアリールオキシ-ポリエチレングリコールまたはポリエチレングリコール-マレイミドなどの、他のタンパク質を誘導体化するために使用されたPEGの任意の形態を包含するものとする。特定の実施形態では、ペグ化されるべき抗体は、非グリコシル化抗体である。タンパク質をペグ化するための方法は、技術分野で公知であり、本明細書に記載される抗TIM3抗体に適用され得る。例えば、Nishimura et al.によるEP0154316およびIshikawa et al.によるEP0401384を参照のこと。

10

【0315】

いくつかの実施形態では、抗TIM3抗体は、重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含み、ここで、重鎖定常領域は、配列番号263~266からなる群から選択される。

20

【0316】

VIII. 抗体物理的特性

抗TIM3抗体、例えば、本明細書に記載されるものは、本明細書に記載される特定の抗TIM3抗体の物理的特徴、例えば、実施例に記載される特徴のうちのいくつかまたは全てを有する。

30

【0317】

本明細書に記載される抗TIM3抗体は、軽鎖または重鎖可変領域のいずれかに1以上のグリコシル化部位を含有し得る。このようなグリコシル化部位は、抗体の免疫原性の増大または変更された抗原結合による抗体のpKの変更をもたらし得る(Marshall et al (1972) Annu. Rev Biochem 41:673-702; Gala and Morrison (2004) J. Immunol. 172:5489-94; Wallick et al., (1988) J Exp Med 168:1099-109; Spiro (2002) Glycobiology 12:43R-56R; Parekh et al., (1985) Nature 316:452-7; Mimura et al., (2000) Mol Immunol 37:697-706)。グリコシル化は、N-X-S/T配列を含有するモチーフで起こると知られている。いくつかの場合には、抗TIM3抗体は可変領域グリコシル化を含有しない。これは、可変領域中にグリコシル化モチーフを含有しない抗体を選択することによってか、またはグリコシル化領域内の残基を突然変異させることによって達成され得る。

40

【0318】

特定の実施形態では、本明細書に記載される抗TIM3抗体は、アスパラギン異性部位を含有しない。アスパラギンの脱アミド化は、N-GまたはD-G配列で起こり得、その結果、ポリペプチド鎖中にねじれを導入し、その安定性を低減し得る(イソアスパラギン酸効果)イソアスパラギン酸残基を生成し得る。

【0319】

各抗体は、独特の等電点(pI)を有し、これは、一般に、6から9.5の間のpH範囲に

50

入る。IgG1抗体の p_i は、通常、7～9.5のpH範囲内に入り、IgG4抗体の p_i は、通常、6～8のpH範囲内に入る。正常範囲の外側の p_i を有する抗体は、インビボ条件下で幾つかのアンフォールディングおよび不安定性を有し得るという推測がある。したがって、抗TIM3抗体は正常範囲内に入る p_i 値を含有し得る。これは、正常範囲の p_i を有する抗体を選択することによってか、または電荷を有する表面残基を突然変異させることによって達成され得る。

【0320】

各抗体は、特徴的な融解温度を有し、融解温度が高いほど、インビボで全体的な安定性が大きいことを示す(Krishnamurthy R and Manning M C (2002) *Curr Pharm Biotechnol* 3:361-71)。一般に、 T_{Mi} (最初のアンフォールディングの温度)は、60超、65超、または70超であり得る。抗体の融点は、示差走査熱量測定(Chen et al (2003) *Pharm Res* 20:1952-60; Ghirlando et al (1999) *Immunol Lett* 68:47-52)または円偏光二色性(Murray et al. (2002) *J. Chromatogr Sci* 40:343-9)を使用して測定できる。10

【0321】

一実施形態では、迅速に分解しない抗体が選択される。抗体の分解は、キャピラリー電気泳動(CE)およびMALDI-MS(Alexander A J and Hughes D E (1995) *Anal Chem* 67:3626-32)を使用して測定できる。

【0322】

別の実施形態では、最小の凝集効果を有する抗体が選択され、凝集効果は、不要な免疫応答および/または変更されたか、もしくは不都合な薬物動態特性の誘発につながり得る。一般に、抗体は、25%以下、20%以下、15%以下、10%以下または5%以下の凝集を有しても許容される。凝集は、サイズ排除カラム(SEC)、高性能液体クロマトグラフィー(HPLC)および光散乱を含めた、いくつかの技術によって測定できる。20

【0323】

特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、上述の節(I)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI)、(VII)、(VIII)および(X)に記載されている構造および特性の組合せを有する。一実施形態では、抗TIM3抗体は、節Iおよび/もしくはVに記載されるように、抗体13A3、17C3、8B9、8C4、3G4、17C8および9F6と交差競合し、節IIIに記載されるように、生殖細胞系配列に由来し、節Vに記載されるように保存的突然変異を有し、ならびに/または本明細書の任意の箇所に記載される1以上の機能的特性と組み合わせて、節IVに記載されるように、節IおよびIIの抗TIM3抗体との相同性を有する。30

【0324】

I X. 抗体を遺伝子操作する方法

上記のとおり、本明細書に開示されるVHおよびVL配列を有する抗TIM3抗体を使用して、VHおよび/もしくはVL配列またはそこに結合した定常領域を修飾することによって、新しい抗TIM3抗体を作製することができる。したがって、本明細書に記載される別の態様では、本明細書に記載される抗TIM3抗体の構造的特徴を使用して、ヒトTIM3およびカニクイザルTIM3との結合など、本明細書に記載される抗TIM3抗体の少なくとも1つの機能的特徴を保持する、構造的に関連する抗TIM3抗体を作製する。例えば、17C3、8B9、8C4、3G4、17C8、9F6、13A3、もしくはTIM3.2～TIM3.18のいずれか1つの1以上のCDR領域は、公知のフレームワーク領域および/または他のCDRと組換えにより組み合わされて、上記のとおり、本明細書に記載される、組換えにより遺伝子操作されたさらなる抗TIM3抗体が作製される。他の種類の修飾として、前述の節に記載されているものが挙げられる。遺伝子操作方法の出発材料は、本明細書に提供されるVHおよび/またはVL配列の1つもしくは複数またはそれらの1つもしくは複数のCDR領域である。遺伝子操作された抗体を作製するために、必ずしも、本明細書に提供されるVHおよび/またはVL配列の1つもしくは複数またはそれらの1つもしくは複数のCDR領域を有する抗体を実際に調製する(すなわち40

10

20

30

40

50

、タンパク質を発現させる)必要はない。むしろ、配列に含まれる情報は、元の配列に由来する「第2世代」の配列を作製するために出発材料として使用され、次に、この「第2世代」の配列が、調製され、タンパク質として発現される。

【0325】

したがって、抗T I M 3抗体を調製するための方法であって、

(a) (i) 配列番号41～45からなる群から選択されるCDR1配列、配列番号46～52および122～125からなる群から選択されるCDR2配列ならびに/または配列番号53～59および126～129からなる群から選択されるCDR3配列を含む、重鎖可変領域抗体配列、ならびに(ii)配列番号64および65からなる群から選択されるCDR1配列、配列番号66および67からなる群から選択されるCDR2配列ならびに/または配列番号68および71からなる群から選択されるCDR3配列を含む、軽鎖可変領域抗体配列を提供すること、

(b) 重鎖可変領域抗体配列および/または軽鎖可変領域抗体配列内の少なくとも1つのアミノ酸残基を変更して、少なくとも1つの変更された抗体配列を作製すること、ならびに

(c) 変更された抗体配列をタンパク質として発現させること

を含む、方法が本明細書において提供される。

【0326】

標準分子生物学技術を使用して、変更された抗体配列を調製し、発現することができる。いくつかの実施形態では、変更された抗体配列によってコードされる抗体は、本明細書に記載される抗T I M 3抗体の機能的特性のうちの1種、いくつかまたは全てを保持するものであり、この特性としては、

(1) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、Biacoreによって測定される場合、例えば、10nM以下(例えば、0.01nM～10nM)のKDで、可溶性ヒトT I M 3と結合すること、

(2) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、Biacoreによって測定される場合、例えば、100nM以下(例えば、0.01nM～100nM)のKDで、可溶性カニクイザルT I M 3と結合すること、

(3) 例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合(例えば、実施例に記載されるように)、例えば、1μg/mL以下(例えば、0.01μg/mL～1μg/mL)のEC50で、膜結合型ヒトT I M 3と結合すること、

(4) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1nM以下(例えば、0.01nM～10nM)のKDで、膜結合型ヒトT I M 3と結合すること、

(5) 例えば、フローサイトメトリーによって測定される場合(例えば、実施例に記載されるように)、例えば、20μg/mL以下(例えば、0.01μg/mL～20μg/mL)のEC50で、膜結合型カニクイザルT I M 3と結合すること、

(6) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、スキヤッチャード解析によって測定される場合、例えば、1nM以下(例えば、0.01nM～10nM)のKDで、膜結合型カニクイザルT I M 3と結合すること、

(7) 例えば、実施例に記載されるように、(i) T I M 3を発現するT細胞(例えば、T h 1細胞もしくはT I L)におけるIFN- γ 産生の増大および/または(ii) T I M 3を発現するT細胞(例えば、T h 1細胞もしくはT I L)の増殖の増強によって明らかのように、T細胞活性化を誘導または増強すること(例えば、T I M 3の阻害性作用を遮断もしくは低減することによって)、

(8) 例えば、実施例に記載されるように、混合リンパ球反応(MLR)アッセイにおいて、T細胞増殖を刺激すること、

(9) 例えば、実施例に記載されるように、例えば、PS-hT I M 3「イン・タンデム」遮断アッセイによって測定される場合、ホスファチジルセリンのT I M 3との結合を阻害すること、

(10) 細胞上のT I M 3と結合したときに、細胞表面T I M 3を内部移行または下方制

10

20

30

40

50

御ないこと、

(11) 例えば、実施例に記載されるように、ヒトT M 3細胞外ドメイン(配列番号290)の以下の領域：(a) CPVFECG(配列番号296)、(b) RIQIPGIMND(配列番号298)、(c) CPVFECGおよびRIQIPGIMND(それぞれ配列番号296および298)、ならびに(d) WTSRYWLNGDFR(配列番号297)の1つと結合すること、
 (12) 例えば、実施例に記載されるように、アミノ酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118およびD120[配列番号286(図20)において番号付けされる]の1以上が、別のアミノ酸と置換されているヒトT M 3に対して、野生型ヒトT M 3との結合と比べて、低減された結合を有すること、

(13) 例えば、実施例に記載されるように、ヒトT M 3との結合について、13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4またはT M 3.7、T M 3.8、T M 3.10、T M 3.11、T M 3.12、T M 3.13、T M 3.14、T M 3.15、T M 3.16、T M 3.17およびT M 3.18のいずれか1つのV HおよびV Lドメインを含む抗体と、いずれかの方向または両方の方向で、競合すること、
 (14) 例えば、実施例に記載されるように、HDX-MSによって判定される場合、ヒトT M 3領域49VPVCWGKGACPVFE62(配列番号367)および111RIQIPGIMNDEKFNLKL127(配列番号368)と結合すること、

(15) X線結晶構造解析によって判定される場合、ヒトT M 3の以下のアミノ酸：P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120、ならびに適宜T70および／もしくはI112のうちの少なくとも5個、10個、15個、20個または全てと相互作用する、重鎖および／または軽鎖可変領域を有すること[例えば、実施例に記載され、配列番号286(図20)に従って番号付けされる]、ならびに／あるいは

(16) 例えば、実施例に記載されるように、(a)アミノ酸C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120、ならびに適宜D104およびQ113[配列番号286(図20)に従って番号付けされる]のうちの1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個もしくは9個が、別のアミノ酸と置換されている、ヒトT M 3に対して、野生型ヒトT M 3との結合と比べて、低減された結合を有し、(b)実施例に記載されるように、HDX-MSによって判定される場合、49VPVCWGKGACPVFE62(配列番号367)、111RIQIPGIMNDEKFNLKL127(配列番号368)および119NDEKFNLKL127(配列番号373)と結合し、ならびに／または(c)例えば、実施例に記載されるように、13A3もしくはT M 3.18.Ig G 1.3の結合と競合するかもしくはそれを交差遮断すること、

が挙げられる。

【0327】

変更された抗体は、上記の(1)から(16)として記載される機能的特性の1以上、2以上、3以上、4以上、5以上、6以上、7以上、8以上、9以上または全てを示し得る。変更された抗体の機能的特性は、当技術分野で利用可能であるおよび／または本明細書に記載される標準アッセイ、例えば実施例に記載されるもの(例えば、ELISA、FACS)を使用して評価することができる。

【0328】

本明細書に記載される抗T M 3抗体を遺伝子操作する方法の特定の実施形態では、突然変異を、抗T M 3抗体コード配列の全てまたは一部に沿って無作為または選択的に導入することができ、得られた修飾された抗T M 3抗体を、結合活性および／または本明細書に記載される他の機能的特性についてスクリーニングすることができる。突然変異の方法は、当技術分野で説明されている。例えば、ShortによるPCT公開WO 02/092780は、飽和突然変異誘発、合成ライゲーションアセンブリまたはこれらの組合せを使

10

20

30

40

50

用した抗体突然変異体の作製およびスクリーニング方法について記載している。あるいは、Lazar et al.によるPCT公開WO 03/074679は、コンピュータによるスクリーニング方法を使用して抗体の生理化学特性を最適化する方法について記載している。

【0329】

X.核酸分子

本明細書に記載される別の態様は、本明細書に記載される抗TIM3抗体をコードする核酸分子に関するものである。核酸は、アルカリ/SDS処理、CSC1バンド形成、カラムクロマトグラフィー、制限酵素、アガロースゲル電気泳動および当技術分野で周知のその他のものを含めた標準技術によって、その他の細胞成分またはその他の夾雑物、例えば、その他の細胞性核酸（例えば、その他の染色体DNA、例えば、自然界では単離されたDNAと連結している染色体DNA）またはタンパク質から精製された場合に、全細胞中に、細胞溶解物中に、または部分精製されたかもしくは実質的に純粋な形態で存在し得る。核酸は、「単離される」かまたは「実質的に純粋にされる」。F. Ausubel, et al., ed. (1987) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New Yorkを参照のこと。本明細書に記載される核酸は、例えば、DNAまたはRNAであり得、インtron配列を含有する場合も、含有しない場合もある。特定の実施形態では、核酸は、cDNA分子である。

10

【0330】

本明細書に記載される核酸は、標準分子生物学技術を使用して得ることができる。ハイブリドーマ（例えば、以下にさらに記載されるようなヒト免疫グロブリン遺伝子を保持するトランスジェニックマウスから調製されたハイブリドーマ）によって発現される抗体については、ハイブリドーマによって作製された抗体の軽鎖および重鎖をコードするcDNAは、標準PCR增幅またはcDNAクローニング技術によって得ることができる。免疫グロブリン遺伝子ライブラリーから（例えば、ファージディスプレイ技術を使用して）から得られる抗体については、抗体をコードする核酸は、ライブラリーから回収され得る。

20

【0331】

本明細書に記載されるいくつかの核酸分子は、13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4、17C8、またはTIM3.2～TIM3.18抗体のいずれかのVHおよびVL配列をコードするものである。13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4および17C8のVH配列をコードする例示的なDNA配列は、配列番号167～173、245～254および359に記載されている。13A3、17C3および3G4のVL配列をコードする例示的なDNA配列は、配列番号193に記載されている。8B9、8C4および17C8のVL配列をコードする例示的なDNA配列は、配列番号194に記載されている。9F6のVL配列をコードする例示的なDNA配列は、配列番号194～196に記載されている。13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4および17C8の重鎖配列をコードする例示的なDNA配列は、配列番号134～161、205～244および355～358に記載されている。13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4および17C8の軽鎖配列をコードする例示的なDNA配列は、配列番号162～166に記載されている。

30

【0332】

13A3.IgG1.1および13A3.IgG1.3（同一の可変領域）抗体の成熟VHおよびVLドメインをコードする例示的な核酸は、それぞれ配列番号167および193に記載されている。13A3.IgG1.1および13A3.IgG1.3抗体の成熟重鎖をコードする例示的な核酸は、それぞれ配列番号134および148に記載されており、13A3.IgG1.1および13A3.IgG1.3抗体の成熟軽鎖をコードする例示的な核酸は、配列番号162に記載されている。

40

【0333】

8B9.IgG1.1および8B9.IgG1.3（同一の可変領域）抗体の成熟VHおよびVLドメインをコードする例示的な核酸は、それぞれ配列番号168および194に記載されている。8B9.IgG1.1および8B9.IgG1.3抗体の成熟重鎖をコードする例示

50

的な核酸は、それぞれ配列番号 135 および 149 に記載されており、8B9.IgG1.1 および 8B9.IgG1.3 抗体の成熟軽鎖をコードする例示的な核酸は、配列番号 163 に記載されている。

【0334】

8C4.IgG1.1 および 8C4.IgG1.3 (同一の可変領域) 抗体の成熟 VH および VL ドメインをコードする例示的な核酸は、それぞれ配列番号 169 および 194 に記載されている。8C4.IgG1.1 および 8C4.IgG1.3 抗体の成熟重鎖をコードする例示的な核酸は、それぞれ配列番号 136 および 150 に記載されており、8C4.IgG1.1 および 8C4.IgG1.3 抗体の成熟軽鎖をコードする例示的な核酸は、配列番号 163 に記載されている。

10

【0335】

17C3.IgG1.1 および 17C3.IgG1.3 (同一の可変領域) 抗体の成熟 VH および VL ドメインをコードする例示的な核酸は、それぞれ配列番号 170 および 193 に記載されている。17C3.IgG1.1 および 17C3.IgG1.3 抗体の成熟重鎖をコードする例示的な核酸は、それぞれ配列番号 137 および 151 に記載されており、17C3.IgG1.1 および 17C3.IgG1.3 抗体の成熟軽鎖をコードする例示的な核酸は、配列番号 162 に記載されている。

【0336】

9F6.IgG1.1 および 9F6.IgG1.3 (同一の可変領域) 抗体の成熟 VH および VL ドメインをコードする例示的な核酸は、それぞれ配列番号 171 および 197 に記載されている。9F6.IgG1.1 および 9F6.IgG1.3 抗体の成熟重鎖をコードする例示的な核酸は、それぞれ配列番号 138 および 152 に記載されており、9F6.IgG1.1 および 9F6.IgG1.3 抗体の成熟軽鎖をコードする例示的な核酸は、配列番号 166 に記載されている。

20

【0337】

3G4.IgG1.1 および 3G4.IgG1.3 (同一の可変領域) 抗体の成熟 VH および VL ドメインをコードする例示的な核酸は、それぞれ配列番号 172 および 193 に記載されている。3G4.IgG1.1 および 3G4.IgG1.3 抗体の成熟重鎖をコードする例示的な核酸は、それぞれ配列番号 139 および 153 に記載されており、3G4.IgG1.1 および 3G4.IgG1.3 抗体の成熟軽鎖をコードする例示的な核酸は、配列番号 162 に記載されている。

30

【0338】

17C8.IgG1.1 および 17C8.IgG1.3 (同一の可変領域) 抗体の成熟 VH および VL ドメインをコードする例示的な核酸は、それぞれ配列番号 173 および 194 に記載されている。17C8.IgG1.1 および 17C8.IgG1.3 抗体の成熟重鎖をコードする例示的な核酸は、それぞれ配列番号 140 および 154 に記載されており、17C8.IgG1.1 および 17C8.IgG1.3 抗体の成熟軽鎖をコードする例示的な核酸は、配列番号 163 に記載されている。

【0339】

上述の例示的な核酸は、配列番号 267 ~ 271 および 361 に記載されるシグナルペプチドをさらに含み得る。これらのシグナルペプチドをコードするヌクレオチド配列は、配列番号 272 ~ 276、362 および 363 に記載されている。

40

【0340】

本明細書に記載される核酸分子は、特定の配列、例えば、制限酵素認識配列を欠失するように、またはコドンを最適化するように、修飾されていてもよい。

【0341】

13A3 IgG1.1、8B9 IgG1.1、8C4 IgG1.1、17C3 IgG1.1、9F6 IgG1.1、3G4 IgG1.1、17C8 IgG1.1 および / または TIM3.2 ~ TIM3.18 IgG1.1 を作製するための方法は、シグナルペプチド、例えば、13A3 IgG1.1 については、それぞれ配列番号 269 および 268 を有する

50

重鎖および軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む細胞株において、重鎖および軽鎖を発現させることを含むことができる。13A3 IgG1.3、8B9 IgG1.3、8C4 IgG1.3、17C3 IgG1.3、9F6 IgG1.3、3G4 IgG1.3および／または17C8 IgG1.3を作製するための方法は、シグナルペプチド、例えば、13A3 IgG1.3については、それぞれ配列番号274および273を有する重鎖および軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む細胞株において、重鎖および軽鎖を発現させることを含むことができる。これらのヌクレオチド配列を含む宿主細胞は、本明細書に包含される。

【0342】

VHおよびVLセグメントをコードするDNA断片が得られると、例えば、可変領域遺伝子を全長抗体鎖遺伝子に、Fab断片遺伝子に、またはscFv遺伝子に変換するよう、標準組換えDNA技術によってこれらのDNA断片をさらに操作できる。これらの操作では、VLまたはVHをコードするDNA断片は、抗体定常領域または可動性リンカーなどの別のタンパク質をコードする別のDNA断片と作動可能に連結している。この文脈において使用されるような、用語「作動可能に連結された」は、2種のDNA断片によってコードされるアミノ酸配列がインフレームのままであるよう、2種のDNA断片が接続されることを意味するものとする。

10

【0343】

VH領域をコードする単離されたDNAは、VHをコードするDNAを、重鎖定常領域（ヒンジ、CH1、CH2、および／またはCH3）をコードする別のDNA分子と作動可能に連結することによって、全長重鎖遺伝子に変換され得る。ヒト重鎖定常領域遺伝子の配列は、当技術分野で公知であり（例えば、Kabat, E. A., et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242*を参照のこと）、これらの領域を包含するDNA断片は、標準PCR增幅によって得ることができる。重鎖定常領域は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgMまたはIgD定常領域、例えば、IgG1領域であり得る。Fab断片重鎖遺伝子については、VHをコードするDNAは、重鎖CH1定常領域のみをコードする別のDNA分子と作動可能に連結され得る。

20

【0344】

VL領域をコードする単離されたDNAは、VLをコードするDNAを、軽鎖定常領域、CLをコードする別のDNA分子と作動可能に連結することによって、全長軽鎖遺伝子（ならびにFab軽鎖遺伝子）に変換され得る。ヒト軽鎖定常領域遺伝子の配列は、当技術分野で公知であり（例えば、Kabat, E. A., et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242*を参照のこと）、これらの領域を包含するDNA断片は、標準PCR增幅によって得ることができる。軽鎖定常領域は、または定常領域であり得る。

30

【0345】

scFv遺伝子を作製するために、VHおよびVLをコードするDNA断片を、例えば、アミノ酸配列(Gly4-Ser)3をコードする可動性リンカーをコードする別の断片に作動可能に連結し、その結果、VHおよびVL配列が、可動性リンカーによって接続されたVLおよびVH領域を有する連続一本鎖タンパク質として発現され得る（例えば、Bird et al., (1988) *Science* 242:423-426; Huston et al., (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; McCafferty et al., (1990) *Nature* 348:552-554を参照のこと）。

40

【0346】

さらに、17C3、8B9、8C4、3G4、17C8、9F6、13A3およびTIM3.2～TIM3.18のいずれか1つの抗体のものに相同であるVHおよびVL配列をコードする核酸分子が、本明細書において提供される。例示的核酸分子は、17C3、8B

50

9、8 C 4、3 G 4、17 C 8、9 F 6、13 A 3またはT I M 3.2～T I M 3.18の少なくとも1つの抗体のV HおよびV L配列をコードする核酸分子と少なくとも70%同一である、例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも99%同一である、V HおよびV L配列をコードする。さらに、例えば、コドン最適化のために、保存的置換（すなわち、核酸分子の翻訳時に得られるアミノ酸配列を変更しない置換）を有する核酸分子が、本明細書において提供される。

【0347】

抗T I M 3抗体、例えば、本明細書に記載される抗T I M 3抗体のV Hおよび/またはV L領域をコードする核酸もまた、提供され、この核酸は、本明細書に記載される抗T I M 3抗体のV Hおよび/またはV L領域をコードするヌクレオチド配列のいずれかと少なくとも約75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるヌクレオチド配列を含む。10

【0348】

抗T I M 3抗体、例えば、本明細書に記載される抗T I M 3抗体の重鎖および/または軽鎖をコードする核酸もまた、提供され、この核酸は、本明細書に記載される抗T I M 3抗体の重鎖および/または軽鎖をコードするヌクレオチド配列のいずれかと少なくとも約75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるヌクレオチド配列を含む。20

【0349】

X I. 抗体作製

本明細書に記載される抗T I M 3抗体は、Kohler and Milstein, Nature 256: 495 (1975)によって記載される標準体細胞ハイブリダイゼーション技術などの種々の公知の技術を使用して産生できる。体細胞ハイブリダイゼーション手順は好ましいが、原理上、モノクローナル抗体を産生するためのその他の技術、例えば、Bリンパ球のウイルス性または発がん性形質転換、ヒト抗体遺伝子のライブラリーを使用するファージディスプレイ技術も使用できる。20

【0350】

ハイブリドーマを調製するため的好ましい動物系として、マウス系がある。マウスにおけるハイブリドーマ産生は、極めて十分に確立された手順である。免疫処置プロトコールおよび技術および融合のために免疫処置された脾細胞を単離するための技術は、当技術分野で公知である。融合パートナー（例えば、マウス骨髄腫細胞）および融合手順も公知である。30

【0351】

本明細書に記載されるキメラまたはヒト化抗T I M 3抗体は、上記のように調製したマウスモノクローナル抗体の配列に基づいて調製できる。標準分子生物学技術を使用して、重鎖および軽鎖免疫グロブリンをコードするD N Aを、対象のマウスハイブリドーマから得、非マウス（例えば、ヒト）免疫グロブリン配列を含有するよう遺伝子操作できる。例えば、当技術分野で公知の方法を使用して、キメラ抗体を作製するために、マウス可変領域をヒト定常領域に連結できる（例えば、Cabilly et al.の米国特許第4,816,567号を参照のこと）。ヒト化抗体を作製するために、当技術分野で公知の方法を使用して、ヒトフレームワーク中にマウスC D R領域を挿入できる（例えば、Winterの米国特許第5,225,539号およびQueen et alの米国特許第5,530,101号；同5,585,089号；同5,693,762号および同6,180,370号を参照のこと）。40

【0352】

一実施形態では、本明細書に記載される抗T I M 3抗体は、ヒトモノクローナル抗体である。このようなT I M 3に対して向けられたヒトモノクローナル抗体は、マウス系ではなくヒト免疫系の部分を保持する、トランスクロモソニックまたはトランスクロモソミック(transchromosomal)マウスを使用して作製できる。これらのトランスクロモソニックおよびトランスクロモソミック(transchromosomal)マウスは、本明細書において、それぞれH50

u M A b マウスおよびK M マウスと呼ばれるマウスを含み、本明細書において、まとめて「ヒト I g マウス」と呼ばれる。

【 0 3 5 3 】

H U M A B マウス（登録商標）（Medarex, Inc.）は、再編成されていないヒト重鎖（ μ および γ ）および 軽鎖免疫グロブリン配列をコードするヒト免疫グロブリン遺伝子ミニ遺伝子座（miniloci）を、内因性 μ および 鎖遺伝子座を不活性化する標的化された突然変異とともに含有する（例えば、Lonberg, et al., (1994) Nature 368(6474): 856-8 59を参照のこと）。したがって、マウスは、マウス I g M または の発現の低下を示し、免疫処置に応じて、導入されたヒト重鎖および軽鎖 導入遺伝子は、クラススイッチおよび体細胞突然変異を受けて、高親和性ヒト I g G K モノクローナルを生成する（Lonberg, N. et al. (1994)、前掲；Lonberg, N. (1994) Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101；Lonberg, N. and Huszar, D. (1995) Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93およびHarding, F. and Lonberg, N. (1995) Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:53 6-546に概説されている）。Hu M a b マウスの調製および使用ならびにこのようなマウスによって保持されるゲノム修飾は、Taylor, L. et al. (1992) Nucleic Acids Research 20:6287-6295;Chen, J. et al., (1993) International Immunology 5: 647-65 6; Tuailon et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:3720-3724; Choi et al. (1993) Nature Genetics 4:117-123; Chen, J. et al. (1993) EMBO J. 12: 821-83 0; Tuailon et al. (1994) Immunol. 152:2912-2920; Taylor, L. et al. (1994) International Immunology 6: 579-591;およびFishwild, D. et al. (1996) Nature Biotechnology 14: 845-851にさらに記載されている。さらに、全てLonbergおよびKay の米国特許第 5,545,806 号；同 5,569,825 号；同 5,625,126 号；同 5,633,425 号；同 5,789,650 号；同 5,877,397 号；同 5,661,016 号；同 5,814,318 号；同 5,874,299 号；および同 5,770,429 号；Surani et al. の米国特許第 5,545,807 号；全てLonbergおよびKay の P C T 公開番号 WO 92 / 03918、WO 93 / 12227、WO 94 / 25585、WO 97 / 13852、W O 98 / 24884 および WO 99 / 45962 ならびにKorman et al. の P C T 公開番号 WO 01 / 14424 を参照のこと。

【 0 3 5 4 】

特定の実施形態では、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体は、導入遺伝子および導入染色体上にヒト免疫グロブリン配列を保持するマウス、例えば、ヒト重鎖導入遺伝子およびヒト軽鎖導入染色体を保持するマウスを使用して作製される。本明細書において「K M マウス」と呼ばれるこのようなマウスは、Ishida et al. の P C T 公開 WO 02 / 43478 に詳細に記載されている。

【 0 3 5 5 】

さらに、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する代替トランスジェニック動物系が、当技術分野で利用可能であり、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体を作製するために使用できる。例えば、Xenomouse (Abgenix, Inc.) と呼ばれる代替トランスジェニック系を使用でき、このようなマウスは、例えば、Kucherlapati et al. の米国特許第 5,939,59 8 号；同 6,075,181 号；同 6,114,598 号；同 6,150,584 号および同 6,162,963 号に記載されている。

【 0 3 5 6 】

さらに、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する代替トランスクロモソミック (transchromosomal) 動物系は、当技術分野で利用可能であり、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体を作製するために使用できる。例えば、「T C マウス」と呼ばれる、ヒト重鎖導入染色体 (transchromosome) およびヒト軽鎖導入染色体 (tranchromosome) の両方を保持するマウスを使用でき、このようなマウスは、Tomizuka et al. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:722-727に記載されている。さらに、ヒト重鎖および軽鎖導入染色体 (transchromosome) を保持するウシが、当技術分野で記載されており (Kuroiwa et al. (2002) Nature Biotechnology 20:889-894)、本明細書に記載される抗 T I M 3

10

20

30

40

50

抗体を作製するために使用できる。

【0357】

ヒト抗体、例えば、ヒト抗T_{IM}3抗体を作製するための当技術分野において記載されるさらなるマウス系として、(i)内因性マウス重鎖および軽鎖可変領域が、相同組換えによって、内因性マウス定常領域に作動可能に連結された、ヒト重鎖および軽鎖可変領域と置換されており、その結果、マウスにおいてキメラ抗体(ヒトV/マウスC)が作製され、次いで、その後、標準組換えDNA技術を使用して完全ヒト抗体に変換される、VELCOLMMUNE(登録商標)マウス(Regeneron Pharmaceuticals, Inc.)ならびに(ii)マウスが再編成されていないヒト重鎖可変領域、しかし単一の再変性されたヒト共通軽鎖可変領域を含有するMEMO(登録商標)マウス(Merus Biopharmaceuticals, Inc.)が挙げられる。このようなマウスおよび抗体を作製するためのその使用は、例えば、WO 2009/15777、US 2010/0069614、WO 2011/072204、WO 2011/097603、WO 2011/163311、WO 2011/163314、WO 2012/148873、US 2012/0070861およびUS 2012/0073004に記載されている。10

【0358】

本明細書に記載されるヒトモノクローナル抗T_{IM}3抗体はまた、ヒト免疫グロブリン遺伝子のライブラリーをスクリーニングするためのファージディスプレイ法を使用して調製できる。ヒト抗体を単離するためのこのようなファージディスプレイ法は、当技術分野で確立されている。例えば、Ladner et al.の米国特許第5,223,409号；同5,403,484号；および同5,571,698号；Dower et al.の米国特許第5,427,908号および同5,580,717号；McCafferty et al.の米国特許第5,969,108号および同6,172,197号；ならびにGriffiths et al.の米国特許第5,885,793号；同6,521,404号；同6,544,731号；同6,555,313号；同6,582,915号および同6,593,081号を参照のこと。20

【0359】

本明細書に記載されるヒトモノクローナル抗T_{IM}3抗体はまた、免疫処置の際にヒト抗体応答が生じ得るようヒト免疫細胞が再構成されているSCIDマウスを使用して調製できる。このようなマウスは、例えば、Wilson et al.の米国特許第5,476,996号および同5,698,767号に記載されている。30

【0360】

X I.A. 免疫処置

T_{IM}3に対する完全ヒト抗体を作製するために、例えば、Lonberg et al., (1994) Nature 368(6474): 856-859; Fishwild et al., (1996) Nature Biotechnology 14: 845-851およびWO 98/24884によって、他の抗原について記載されるように、ヒト免疫グロブリン遺伝子を含有するトランスジェニックまたはトランスクロモソーマルマウス(例えば、HC012、HC07またはKMマウス)を、T_{IM}3抗原および/またはT_{IM}3を発現する細胞もしくはその断片の精製または濃縮された調製物を用いて免疫処置できる。あるいは、マウスをヒトT_{IM}3またはその断片をコードするDNAを用いて免疫処置できる。いくつかの実施形態では、マウスは、第1の注入の際に6~16週齢とする。例えば、HuMAbマウスを腹膜内に免疫処置するために、組換えT_{IM}3抗原の精製または濃縮された調製物(5~50μg)を使用できる。T_{IM}3抗原の精製または濃縮された調製物を使用する免疫処置が抗体をもたらさない事象では、T_{IM}3を発現する細胞、例えば、細胞系統を用いてマウスを免疫処置して、免疫応答を促進することもできる。例示的細胞系統として、T_{IM}3過剰発現性安定CHOおよびRaji細胞系統が挙げられる。40

【0361】

種々の抗原を用いる累積的経験は、HuMAbトランスジェニックマウスは、Ribiアジュバント中の抗原を用いる最初に腹膜内(IP)または皮下(SC)免疫処置と、それに続く、Ribiアジュバント中の抗原を用いる隔週でのIP/SC免疫処置(最大合計50

100) の際に最もよく応答することを示した。免疫応答は、後眼窩出血によって得られる血漿サンプルを用いて、免疫処置プロトコールの過程にわたってモニタリングできる。血漿は、ELISA および FACS によってスクリーニングでき（以下に記載されるように）、抗 TIM3 ヒト免疫グロブリンの十分な力価を有するマウスを融合のために使用できる。マウスを、抗原を用いて静脈内に追加免疫し、3日後に、殺し、脾臓およびリンパ節を採取できる。各免疫処置のために2～3回の融合が実施されることが必要であり得ると予測される。各抗原について、6から24匹の間のマウスが、通常免疫処置される。普通、HC07、HC012 および KM 系統が使用される。さらに、HC07 および HC012 導入遺伝子は両方とも、2種の異なるヒト重鎖導入遺伝子を有する（HC07/HC012）単一マウスと一緒に育種され得る。

10

【0362】

X.I.B. TIM3 に対するモノクローナル抗体を产生するハイブリドーマの作製

本明細書に記載されるヒトモノクローナル抗 TIM3 抗体を产生するハイブリドーマを作製するために、免疫処置されたマウスから脾細胞および／またはリンパ節細胞を単離し、マウス骨髄腫細胞系統などの適当な不死化細胞系統と融合できる。得られたハイブリドーマを抗原特異的抗体の產生についてスクリーニングできる。例えば、PEG を用いて、免疫処置マウス由来の脾臓リンパ球の単細胞懸濁液を、Sp2/0 非分泌性マウス骨髄腫細胞（ATCC、CRL 1581）と融合できる。細胞を、平底マイクロタイタープレートにプレーティングし、続いて、選択培地でインキュベートできる。数週間後、細胞を培地で培養できる。次いで、個々のウェルを、ヒトモノクローナル IgM および IgG 抗体について ELISA によってスクリーニングできる。広範なハイブリドーマ成長が起こると、10～14日後に普通に培地を観察できる。抗体を分泌するハイブリドーマを再プレーティングし、再度スクリーニングでき、ヒト IgG について依然として陽性である場合に、制限希釈によってモノクローナル抗体を少なくとも2回サブクローニングできる。次いで、安定なサブクローンをインピトロで培養して、特性決定のために組織培養培地において少量の抗体を作製できる。

20

【0363】

ヒトモノクローナル抗体を精製するために、選択されたハイブリドーマを、モノクローナル抗体精製のために2リットルのスピナーフラスコ中で成長させることができる。プロテイン A - セファロース（Pharmacia, Piscataway, N.J.）を用いるアフィニティクロマトグラフィーの前に、上清を濾過し、濃縮できる。溶出された IgG を、ゲル電気泳動および高性能液体クロマトグラフィーによって調べ、純度を確実にすることができます。バッファー溶液は、PBS に交換でき、1.43 吸光係数を使用して OD 280 によって濃度を決定できる。次いで、モノクローナル抗体をアリコートにし保存できる。

30

【0364】

X.I.C. TIM3 に対するモノクローナル抗体を产生するトランスフェクトーマの作製
抗体を、当技術分野で周知であるように、例えば、組換え DNA 技術および遺伝子トランセクション法の組合せを使用して宿主細胞トランスフェクトーマにおいて产生できる（Morrison, S. (1985) Science 229:1202）。

40

【0365】

例えば、抗体またはその抗体断片を発現させるために、部分または全長軽鎖および重鎖をコードする DNA を、標準分子生物学技術（例えば、PCR 増幅または対象の抗体を発現するハイブリドーマを使用する cDNA クローニング）によって得ることができ、遺伝子が、転写および翻訳制御配列に作動可能に連結されるように、DNA を発現ベクター中に挿入することができる。これに関連して、用語「作動可能に連結された」は、ベクター内の転写および翻訳制御配列が、抗体遺伝子の転写および翻訳を調節するというその意図される機能を果たすよう、抗体遺伝子がベクター中にライゲーションされることを意味するものとする。発現ベクターおよび発現制御配列は、使用される発現宿主細胞と適合するよう選択される。抗体軽鎖遺伝子および抗体重鎖遺伝子は、別個のベクター中に挿入されてもよく、または両遺伝子は、同一発現ベクター中に挿入される。抗体遺伝子は、標準方法

50

(例えば、抗体遺伝子断片上の相補的制限部位およびベクターの連結または制限部位が存在しない場合には平滑末端連結)によって、発現ベクター(単数または複数)中に挿入される。本明細書に記載される抗T I M 3抗体の軽鎖および重鎖可変領域を使用し、V_Hセグメントがベクター内のC_Hセグメント(単数または複数)と作動可能に連結され、V_Lセグメントが、ベクター内のC_Lセグメントと作動可能に連結されるように、それらを所望のアイソタイプの重鎖定常および軽鎖定常領域をすでにコードする発現ベクター中に挿入することによって任意の抗体アイソタイプの全長抗体遺伝子を作製できる。

【0366】

さらに、またはあるいは、組換え発現ベクターは、宿主細胞からの抗体鎖の分泌を促進するシグナルペプチドをコードし得る。抗体鎖遺伝子は、シグナルペプチドが、抗体鎖遺伝子のアミノ末端とインフレームで連結されるように、ベクター中にクローニングできる。シグナルペプチドは、免疫グロブリンシグナルペプチドまたは異種シグナルペプチド(すなわち、非免疫グロブリンタンパク質由来のシグナルペプチド)であり得る。

【0367】

例示的な実施形態では、ヒト抗体の重鎖および軽鎖に由来する、以下のシグナルペプチドが、使用され得る: MDWTWRFCLLAVAPGAHS(配列番号267)、METPAQLLFLL LLWLPLDTTG(配列番号268)、MKHLWFFLLLVAAPRWVLS(配列番号269)、MEFGGLSWVFLVAIKGVQC(配列番号270)、MDMRVPQAQLLGLLLWLPGARC(配列番号271)またはMRAWIFFLLCLAGRALA(配列番号361)。具体的な実施形態では、本明細書に記載される抗T I M 3抗体のいずれか1つの発現に使用されるシグナル配列は、配列番号361である。抗T I M 3抗体の重鎖および軽鎖は、それらがクローニングされたハイブリドーマにおいて、それぞれの鎖に連結されたそれぞれのシグナル配列を用いて発現させることができる。抗T I M 3抗体がクローニングされたハイブリドーマに存在する、種々の抗T I M 3抗体のシグナル配列を、以下に示し、これらのシグナル配列は、同一の抗体または別の抗体を発現させるために使用することができる。

(i) 13A3 V_Hシグナル配列のアミノ酸配列: MKHLWFFLLLVAAPRWVLS(配列番号269)

(ii) 13A3 V_Hシグナル配列の核酸配列:

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCGGGCTCCAGATGGGTCTGTCC(配列番号274)

(iii) 13A3 V_Lシグナル配列のアミノ酸配列: METPAQLLFLLLWLPLDTTG(配列番号268)

(iv) 13A3 V_Lシグナル配列の核酸配列:

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATAACCACGG A(配列番号273)

(v) 8B9 V_Hシグナル配列のアミノ酸配列: MKHLWFFLLLVAAPRWVLS(配列番号269)

(vi) 8B9 V_Hシグナル配列の核酸配列:

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCGGGCTCCAGATGGGTCTGTCC(配列番号274)

(vii) 8B9 V_Lシグナル配列のアミノ酸配列: METPAQLLFLLLWLPLDTTG(配列番号268)

(viii) 8B9 V_Lシグナル配列の核酸配列:

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATAACCACGG A(配列番号273)

(ix) 8C4 V_Hシグナル配列のアミノ酸配列: MKHLWFFLLLVAAPRWVLS(配列番号269)

(x) 8C4 V_Hシグナル配列の核酸配列:

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCGGGCTCCAGATGGGTCTGTCC(配列番号274)

10

20

30

40

50

(x i) 8 C 4 VLシグナル配列のアミノ酸配列：METPAQLLFLLLLWLPDTTG (配列番号 268)

(x i i) 8 C 4 VLシグナル配列の核酸配列：

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTCTCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATAACCACCGG
A (配列番号 273)

(x i i i) 17 C 3 VHシグナル配列のアミノ酸配列：MDWTWRVFCLLAVAPGAHS
(配列番号 267)

(x i v) 17 C 3 VHシグナル配列の核酸配列：

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTCTCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATAACCACCGG
A (配列番号 272)

(x v) 17 C 3 VLシグナル配列のアミノ酸配列：METPAQLLFLLLLWLPDTTG (配列番号 268)

(x v i) 17 C 3 VLシグナル配列の核酸配列：

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTCTCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATAACCACCGG
A (配列番号 273)

(x v i i) 9 F 6 VHシグナル配列のアミノ酸配列：MEFGLSWVFLVAIKGVQC (配列番号 270)

(x v i i i) 9 F 6 VHシグナル配列の核酸配列：

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTCTCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATAACCACCGG
A (配列番号 275)

(x i x) 9 F 6 VL1シグナル配列のアミノ酸配列：MDMRVPAQLLGLLLLWLPGA
RC (配列番号 271)

(x x) 9 F 6 VL1シグナル配列の核酸配列：

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCAGGTGC
CAGATGT (配列番号 276)

(x x i) 9 F 6 VL2およびVL3シグナル配列のアミノ酸配列：METPAQLLFLLLL
WLPDTTG (配列番号 268)

(x x i i) 9 F 6 VL2およびVL3シグナル配列の核酸配列：

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTCTCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATAACCACCGG
A (配列番号 273)

(x x i i i) 3 G 4 VHシグナル配列のアミノ酸配列：MEFGLSWVFLVAIKGVQC (配列番号 270)

(x x i v) 3 G 4 VHシグナル配列の核酸配列：

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTCTCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATAACCACCGG
A (配列番号 275)

(x x v) 3 G 4 VLシグナル配列のアミノ酸配列：METPAQLLFLLLLWLPDTTG (配列番号 268)

(x x v i) 3 G 4 VLシグナル配列の核酸配列：

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTCTCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATAACCACCGG
A (配列番号 273)

(x x v i i) 17 C 8 VHシグナル配列のアミノ酸配列：MEFGLSWVFLVAIKGVQC (配列番号 270)

(x x v i i i) 17 C 8 VHシグナル配列の核酸配列：

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTCTCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATAACCACCGG
A (配列番号 275)

(x x i x) 17 C 8 VLシグナル配列のアミノ酸配列：METPAQLLFLLLLWLPDTTG (配列番号 268)

(x x x) 17 C 8 VLシグナル配列の核酸配列：

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTCTCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATAACCACCGG
A (配列番号 273)

10

20

30

40

50

【0368】

別の実施形態では、抗T I M 3 抗体（例えば、T I M 3 . 2 ~ T I M 3 . 1 8 ）の重鎖および軽鎖は、これらの抗体がクローニングされたハイブリドーマに存在するものとは異なるシグナル配列を用いて遺伝子操作されてもよい。そのような配列の例としては、以下のものが挙げられるがこれらに限定されない。

(i) 重鎖のシグナル配列の核酸配列：

ATGAGGGCTTGGATCTTCTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGAGAGCGCTCGCA (配列番号 362)

(i i) 軽鎖のシグナル配列の核酸配列：

ATGAGGGCTTGGATCTTCTTCTGCTCTGCCTGGCCGGCGCGCCTGGCC (配列番号 363) 10

(i i i) 重鎖および軽鎖のシグナル配列のアミノ酸配列：MRAWIFFLLCLAGRALA (配列番号 361)

【0369】

組換え発現ベクターは、抗体鎖遺伝子に加えて、宿主細胞における抗体鎖遺伝子の発現を制御する調節配列を保持し得る。用語「調節配列」とは、プロモーター、エンハンサーおよび抗体鎖遺伝子の転写または翻訳を制御する他の発現制御エレメント（例えば、ポリアデニル化シグナル）を含むものとする。このような調節配列は、例えば、G o e d d e 1 (Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990)) に記載されている。調節配列の選択を含めた発現ベクターの設計は、形質転換されるべき宿主細胞の選択、所望のタンパク質の発現のレベルなどの因子に応じて変わり得る当業者には明らかである。哺乳動物宿主細胞発現のための好ましい調節配列として、サイトメガロウイルス (C M V) 、サルウイルス 40 (S V 40) 、アデノウイルス（例えば、アデノウイルス主要後期プロモーター (A d M L P) およびポリオーマ由来のプロモーターおよび / またはエンハンサーなどの、哺乳動物細胞における高レベルのタンパク質発現を指示するウイルスエレメントが挙げられる。あるいは、ユビキチンプロモーターまたは - グロビンプロモーターなどの非ウイルス調節配列を使用してもよい。なおさらに、S V 40 初期プロモーター由来の配列およびヒトT細胞白血病ウイルス 1 型の長い末端反復配列を含有する、S R a プロモーター系などの異なる供給源に由来する配列からなる調節エレメント (Takebe, Y. et al. (1988) Mol. Cell. Biol. 8:466-472) 。

20

【0370】

組換え発現ベクターは、抗体鎖遺伝子および調節配列に加えて、宿主細胞におけるベクターの複製を調節する配列（例えば、複製の起点）などのさらなる配列および選択マーカー遺伝子を保持し得る。選択マーカー遺伝子は、ベクターが導入されている宿主細胞の選択を促進する（例えば、全てAxel et alによる米国特許第4,399,216号、同4,634,665号および同5,179,017号を参照のこと）。例えば、通常、選択マーカー遺伝子は、G 4 1 8 、ハイグロマイシンまたはメトトレキサートなどの薬物に対する耐性を、ベクターが導入されている宿主細胞に付与する。好ましい選択マーカー遺伝子として、ジヒドロホレートレダクターゼ (D H F R) 遺伝子（メトトレキサート選択 / 増幅とともに、d h f r - 宿主細胞において使用するための）およびn e o 遺伝子（G 4 1 8 選択のための）が挙げられる。

30

【0371】

軽鎖および重鎖の発現のために、重鎖および軽鎖をコードする発現ベクター（単数または複数）を、標準技術によって宿主細胞にトランスフェクトする。用語「トランスフェクション」の種々の形態は、原核生物または真核生物宿主細胞への外因性D N A の導入のためによく使用される様々な技術、例えば、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈殿、D E A E - デキストラントランスクレベクションなどを包含するものとする。

40

【0372】

原核生物または真核生物宿主細胞のいずれかにおいて本明細書に記載される抗T I M 3 抗

50

体を発現させることは理論上可能であるが、真核細胞、最も好ましくは、哺乳動物宿主細胞における抗体の発現が、最も好ましいが、これは、このような真核細胞、特に、哺乳動物細胞は、適切にフォールディングされ、免疫学的に活性な抗体を組み立て、分泌する可能性が原核細胞よりも高いからである。抗体遺伝子の原核生物発現は、活性な抗体の高効率の產生にとって有効ではないと報告されている (Boss, M. A. and Wood, C. R. (1985) *Immunology Today* 6:12-13)。

【0373】

本明細書に記載される組換え抗T I M 3 抗体を発現させるための特定の哺乳動物宿主細胞として、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO細胞) (例えば、R. J. Kaufman and P. A. Sharp (1982) *Mol. Biol.* 159:601-621に記載されるように、D H F R選択マーカーとともに使用される、Urlaub and Chasin, (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220に記載されたd h f r - CHO細胞を含む)、N S O骨髄腫細胞、C O S細胞およびS P 2細胞が挙げられる。特に、N S O骨髄腫細胞とともに使用するためには、別の発現系として、W O 8 7 / 0 4 4 6 2、W O 8 9 / 0 1 0 3 6 およびE P 3 3 8 , 8 4 1に開示されるG S 遺伝子発現系がある。抗体遺伝子をコードする組換え発現ベクターは、哺乳動物宿主細胞中に導入され、抗体は、宿主細胞を、宿主細胞における抗体の発現、またはより好ましくは、宿主細胞が成長した培養培地への抗体の分泌を可能にするのに十分な期間培養することによって產生される。抗体は、標準タンパク質精製法を使用して培養培地から回収できる。

【0374】

X I I . アッセイ

本明細書に記載される抗T I M 3 抗体は、ヒトT I M 3との結合について、例えば、標準E L I S Aによって試験できる。手短には、マイクロタイタープレートを精製されたT I M 3を用いてコーティングし、次いで、ウシ血清アルブミンを用いてブロッキングする。各ウェルに抗体の希釈物 (例えば、T I M 3免疫処置マウスから得た血漿の希釈物) を添加し、インキュベートする。プレートを洗浄し、西洋ワサビペルオキシダーゼ (H R P) とコンジュゲートしている二次試薬 (例えば、ヒト抗体、ヤギ抗ヒトI g G F c特異的ポリクローナル試薬) とともにインキュベートする。洗浄した後、プレートを発色させ、分光光度計によって分析できる。次いで、免疫処置されたマウスから得た血清を、T I M 3を発現しない対照細胞株とではなく、ヒトT I M 3を発現する細胞株との結合についてフローサイトメトリーによってさらにスクリーニングできる。手短には、抗T I M 3抗体の結合を、T I M 3発現性CHO細胞を抗T I M 3抗体とともにインキュベートすることによって評価できる。細胞を洗浄でき、結合を、抗ヒトI g G A bを用いて検出することができる。F A C S c a nフローサイトメトリー (Becton Dickinson, San Jose, CA) を使用してフローサイトメトリー分析を実施できる。最高の力値を発生するマウスが、融合に使用できる。

【0375】

上記のようなE L I S Aアッセイを使用して、抗体、ひいては、T I M 3免疫原と陽性の反応性を示す抗体を產生するハイブリドーマについてスクリーニングできる。高親和性でT I M 3と結合する抗体を產生するハイブリドーマを、サブクローニングし、さらに特性決定できる。細胞バンクを作製するために、抗体精製のために、親細胞の反応性を保持する (E L I S Aによって) 各ハイブリドーマから1つのクローンを選択できる。

【0376】

抗T I M 3抗体を精製するために、モノクローナル抗体精製のために選択されたハイブリドーマを成長させることができる。アフィニティーコロマトグラフィーの前に、上清を濾過し、濃縮できる。溶出されたI g Gを、ゲル電気泳動および高性能液体クロマトグラフィーによって調べ、純度を確実にすることができます。バッファー溶液は交換でき、濃度を決定できる。モノクローナル抗体をアリコートにし、保存できる。

【0377】

選択された抗T I M 3モノクローナル抗体が独特のエピトープと結合するか否かを調べる

10

20

30

40

50

ために、市販の試薬（Pierce, Rockford, IL）を使用して各抗体をビオチン化できる。ビオチン化M A b 結合は、ストレプトアビジン標識されたプローブを用いて検出できる。上記のように、T I M 3 コーティングされたE L I S A プレートを使用して、非標識モノクローナル抗体およびビオチン化モノクローナル抗体を使用する競合研究を実施できる。

【0378】

精製された抗体のアイソタイプを調べるために、特定のアイソタイプの抗体に対して特異的な試薬を使用してアイソタイプE L I S A を実施できる。例えば、ヒトモノクローナル抗体のアイソタイプを調べるために、1 μg / mL の抗ヒト免疫グロブリンを用いてマイクロタイプレートのウェルを、4 ℃で一晩コーティングできる。1 % B S A を用いてプロッキングした後、プレートを、1 μg / mL 以下の試験モノクローナル抗体または精製されたアイソタイプ対照と周囲温度で1 ~ 2 時間反応させる。次いで、ウェルをヒトI g G 1 またはヒトI g M 特異的アルカリホスファターゼがコンジュゲートしているプローブのいずれかと反応させる。プレートを上記のように発色させ、分析する。

10

【0379】

モノクローナル抗体の、T I M 3 を発現する生存細胞との結合を調べるために、実施例に記載されるようにフローサイトメトリーを使用できる。手短には、膜結合性T I M 3 を発現する細胞株（標準成長条件下で成長させた）を、0.1 % B S A を含有するP B S 中、種々の濃度のモノクローナル抗体と4 ℃で1時間混合する。洗浄した後、細胞を、一次抗体染色と同一条件下でフルオレセイン標識された抗I g G 抗体と反応させる。サンプルを光および側方散乱特性を使用するF A C S c a n 機器によって分析して、単細胞でゲート開閉し、標識された抗体の結合を調べる。フローサイトメトリー・アッセイ（に加えて、または代わりに）、蛍光顕微鏡を使用する代替アッセイを使用してもよい。上記のように細胞を正確に染色し、蛍光顕微鏡によって調べることができる。この方法によって、個々の細胞の可視化が可能となるが、抗原の密度に応じて減少した感受性を有し得る。

20

【0380】

抗T I M 3 抗体は、ウエスタンプロッティングによってT I M 3 抗原との反応性についてさらに試験できる。手短には、T I M 3 を発現する細胞から細胞抽出物を調製し、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動に付すことができる。電気泳動後、分離された抗原をニトロセルロースメンブランにトランスファーし、20 %マウス血清を用いてプロッキングし、試験されるべきモノクローナル抗体を用いてプローピングする。抗I g G アルカリホスファターゼを使用してI g G 結合を検出し、B C I P / N B T 基質錠剤を用いて発色させることができる（Sigma Chem.Co., St.Louis, MO）。

30

【0381】

種々の抗T I M 3 抗体の結合親和性、交差反応性および結合動態を解析する方法は、当技術分野で公知の標準アッセイ、例えば、B I A C O R E (商標) 2 0 0 0 S P R 機器 (Bia core AB, Uppsala, Sweden) を使用するB I A C O R E (商標) 表面プラズモン共鳴 (S P R) 分析を含む。

【0382】

種々のアッセイを使用して、抗T I M 3 抗体の生物学的活性（例えば、異なる抗T I M 3 抗体を比較するために使用することができる）、例えば、本明細書に記載されるものを特徴付けることができる。

40

(1) T 細胞活性化アッセイ、例えば、ヒトドナーのP B M C から得られた精製T 細胞を使用するアッセイ。アッセイは、全T 細胞またはその部分集団、例えば、T h 1 細胞、細胞傷害性T 細胞、T r e g 細胞、C D 4 + T 細胞、C D 8 + T 細胞を用いて行うことができるが、ただし、それらがT I M 3 を発現することを条件とする。活性化は、特定のサイトカイン、例えば、インターフェロン - γ もしくはI L - 2 の分泌レベル、またはT 細胞の増殖レベルを判定することによって測定することができる。特定の作用機序に限定されることを望むものではないが、T I M 3 抗体の、T 細胞上のT I M 3 との結合は、T I M 3 のT I M 3 リガンド（T I M 3 の推定上のリガンドとしては、ガレクチン - 9、H M G B 1 、セマフォリン - 4 A 、C E A C A M - 1 、I L T - 4 およびホスファチジルセリン

50

が挙げられる)との結合を防止し、それによって、T細胞におけるTIM3に媒介されるシグナル伝達を防止し、それによって、TIM3によるT細胞の負の制御を防止することができる。Th1アッセイ、TILアッセイおよび混合リンパ球反応(MLR)を含む、例示的なアッセイが、実施例において提供される。

(2)マクロファージ、例えば、M1またはM2マクロファージの刺激を測定するアッセイ、ならびに

(3)TIM3陽性骨髄系細胞からの骨髄関連サイトカイン、例えば、TNF、IL-1、GM-CSF、IL-6、IL-2、IL-10、CCL2、CCL3、CCL4またはCCL5の分泌を測定するアッセイ。特定の実施形態では、抗TIM3抗体は、TIM3陽性骨髄系細胞からのTNF、IL-1、GM-CSF、IL-6およびIL-2の分泌を刺激する、ならびに/またはIL-10、CCL2、CCL3、CCL4またはCCL5の分泌を阻害する。10

【0383】

一般に、免疫応答を阻害する薬剤の生物学的活性を試験するための任意の方法を使用して、抗TIM3抗体の生物学的活性、例えば、TIM3に関連する文献(特許および特許出願を含む)に記載されるものを特徴付けることができる。

【0384】

XIII. イムノコンジュゲート、抗体誘導体および診断

本明細書に記載される抗TIM3抗体は、サンプルの試験およびインビオ撮像を含む診断目的で使用することができ、この目的で、抗体(またはその結合断片)は、適当な検出可能な薬剤とコンジュゲートして、イムノコンジュゲートを形成することができる。診断目的では、適当な薬剤は、全身撮像のための放射性同位体ならびにサンプルの試験のための放射性同位体、酵素、蛍光標識および他の好適な抗体タグを含む、検出可能な標識である。20

【0385】

本明細書に記載される任意のTIM3抗体と連結させることができる検出可能な標識は、コロイド金などの金属ゾルを含む粒子標識、例えばN₂S₂、N₃SもしくはN₄型のペプチド性キレート剤とともに提示されるI¹²⁵またはTc⁹⁹などの同位体、蛍光マーカー、発光マーカー、リン光マーカーなどを含む発色団ならびに所与の基質を検出可能なマーカーに変換する酵素標識およびポリメラーゼ連鎖反応などの増幅後に示されるポリヌクレオチドタグを含め、インビトロ診断の分野において現在使用されている様々な種類のいずれかであり得る。好適な酵素標識として、西洋ワサビペルオキシダーゼおよびアルカリホスファターゼなどが挙げられる。例えば、標識は、アダマンチルメトキシホスホリルオキシフェニルジオキセタン(AMPD)、ジナトリウム3-(4-(メトキシスピロ{1,2-ジオキセタン-3,2'}-(5'-クロロ)トリシクロ{3.3.1.1_3,7}デカン)-4-イル)フェニルホスフェート(CSPD)などの1,2ジオキセタン基質ならびにCDPおよびCDP-STAR(登録商標)または当業者に周知の他の発光性基質、例えば、テルビウム(III)およびヨーロピウム(III)などの好適なランタニドのキレートの変換後の化学発光の存在または形成を測定することによって検出される、酵素アルカリホスファターゼであり得る。検出手段は、選択された標識によって決定される。標識またはその反応産物の出現は、標識が粒子であり、適当なレベルで蓄積する場合には、裸眼で、または分光光度計、ルミノメーター、蛍光光度計などの機器を使用して、達成され得るが、全て標準的な慣例に従う。30

【0386】

いくつかの実施形態では、コンジュゲーション法は、実質的に(またはほぼ)非免疫原性である結合、例えば、ペプチド(すなわち、アミド)結合、スルフィド結合(立体障害)、ジスルフィド結合、ヒドラゾン結合およびエーテル結合を生じる。これらの結合は、ほぼ非免疫原性であり、血清内で妥当な安定性を示す(例えば、Senter, P. D., Curr. Opin. Chem. Biol. 13 (2009) 235-244、WO 2009/059278、WO 95/17886を参照のこと)。

【0387】

部分および抗体の生化学的性質に応じて、異なるコンジュゲーション戦略を用いることができる。部分が、50～500個のアミノ酸の天然に存在するまたは組換えである場合、標準的な手順は、タンパク質コンジュゲートの合成のための化学反応について記載した教則本にあり、当業者であれば容易に従うことができる（例えば、Hackenberger, C. P. R., and Schwarzer, D., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 47 (2008) 10030-10074を参考のこと）。一実施形態では、抗体または部分内のマレイミド部分とシステイン残基との反応が使用される。これは、例えば、抗体のF(ab)またはF(ab')断片が使用される場合に、特に好適なカップリング化学反応である。あるいは、一実施形態では、抗体または部分のC末端へのカップリングが行われる。タンパク質、例えば、F(ab)断片のC末端修飾は、記載されるように行われ得る（Sunbul, M. and Yin, J., *Org. Biomol. Chem.* 7 (2009) 3361-3371）。

【0388】

一般に、部位特異的反応および共有結合カップリングは、天然のアミノ酸を、存在する他の官能基の反応性に直交性である反応性を有するアミノ酸に変換することに基づく。例えば、稀な配列構成内の特定のシステインは、アルデヒドに酵素変換され得る（Frese, M. A., and Dierks, T., *ChemBioChem.* 10 (2009) 425-427を参考のこと）。所与の配列構成における特定の酵素の、天然のアミノ酸との特異的酵素反応性を利用することによって、所望されるアミノ酸修飾を得ることもまた可能である（例えば、Taki, M. et al., *Prot. Eng. Des. Sel.* 17 (2004) 119-126、Gautier, A. et al. *Chem. Biol.* 15 (2008) 128-136を参考のこと。プロテアーゼに触媒されるC---N結合の形成は、Bordus a, F., *Highlights in Bioorganic Chemistry* (2004) 389-403で使用される）。部位特異的反応および共有結合カップリングはまた、末端アミノ酸の、適当な修飾試薬との選択的反応によっても達成され得る。

【0389】

N末端システインの、ベンゾニトリルとの反応性（Ren, H. et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 48 (2009) 9658-9662を参考のこと）を使用して、部位特異的共有結合カップリングを達成することができる。

【0390】

天然の化学的ライゲーションはまた、C末端システイン残基に依存し得る（Taylor, E. V ogel; Imperiali, B., *Nucleic Acids and Molecular Biology* (2009), 22 (Protein Engineering), 65-96）。

【0391】

U S 6 4 3 7 0 9 5 は、負に荷電したアミノ酸のストレッチ内のシステインの、正に荷電したアミノ酸のストレッチ内に位置するシステインを用いて早い反応に基づくコンジュゲーション法について記載している。

【0392】

部分はまた、合成ペプチドまたはペプチド模倣体であってもよい。ポリペプチドが化学合成される場合、直交性化学反応性を有するアミノ酸は、このような合成中に組み込まれ得る（例えば、de Graaf, A. J. et al., *Bioconjug. Chem.* 20 (2009) 1281-1295を参考のこと）。多種多様な直交性官能基が問題となっており、合成ペプチドに導入され得るため、このようなペプチドの、リンカーとのコンジュゲーションは、標準化学反応である。

【0393】

単一標識ポリペプチドを得るために、1:1の化学量論のコンジュゲートを、他のコンジュゲーション副産物からクロマトグラフィーによって分離してもよい。この手順は、色素標識した結合対メンバーおよび荷電リンカーを使用することにより容易となり得る。この種類の標識および高度に負に荷電した結合対メンバーを使用することにより、モノコンジュゲートしたポリペプチドは、非標識ポリペプチドおよび1種を上回るリンカーを有するポリペプチドから容易に分離されるが、これは、電荷および分子量における相違を分離に使用できるためである。蛍光色素は、標識した一価結合剤などの未結合成分から複合体を精製するのに有用であり得る。

10

20

30

40

50

【 0 3 9 4 】

一実施形態では、抗T I M 3抗体と結合する部分は、結合部分、標識部分および生物学的に活性な部分からなる群から選択される。

【 0 3 9 5 】

本明細書に記載される抗T I M 3抗体はまた、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)などのイムノコンジュゲートを形成するように、治療剤とコンジュゲートされ得る。好適な治療剤として、抗代謝剤、アルキル化剤、DNA副溝結合剤、DNAインターラーカレーター、DNA架橋剤、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、核外輸送阻害剤、プロテアソーム阻害剤、トポイソメラーゼIまたはII阻害剤、熱ショックタンパク質阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、抗生物質および抗有糸分裂剤が挙げられる。ADCにおいて、抗体および治療剤は、好ましくは、ペプチジル、ジスルフィドまたはヒドラゾンリンカーなどの切断可能なリンカーを介してコンジュゲートされる。他の実施形態では、リンカーは、Val-Cit、Ala-Val、Val-Ala-Val、Lys-Lys、Pro-Val-Gly-Val-Val(配列番号300)、Ala-Asn-Val、Val-Leu-Lys、Ala-Ala-Asn、Cit-Cit、Val-Lys、Lys、Cit、SerまたはGluなどのペプチジルリンカーである。ADCは、米国特許第7,087,600号、同第6,989,452号および同第7,129,261号、PCT公開WO02/096910、WO07/038658、WO07/051081、WO07/059404、WO08/083312およびWO08/103693、米国特許公開第20060024317号、同第20060004081号および同第20060247295号に記載されるように調製することができる。10

【 0 3 9 6 】

抗T I M 3抗体、例えば、本明細書に記載されるものはまた、T I M 3、例えば、ヒトT I M 3、例えば、組織または組織サンプルにおけるヒトT I M 3を検出するためにも使用することができる。抗体は、例えば、ELISAアッセイまたはフローサイトメトリーにおいて、使用することができる。特定の実施形態では、抗T I M 3抗体を、特異的な結合が生じるのに適した時間、細胞、例えば、組織における細胞と接触させ、次いで、試薬、例えば、抗T I M 3抗体を検出する抗体を、添加する。例示的なアッセイは、実施例において提供されている。抗T I M 3抗体は、完全ヒト抗体であってもよく、またはそれは、キメラ抗体、例えば、ヒト可変領域およびマウス定常領域もしくはその部分を有する抗体であってもよい。サンプル(細胞または組織サンプル)においてT I M 3、例えば、ヒトT I M 3を検出するための例示的な方法は、(1)抗T I M 3抗体の、サンプルにおけるT I M 3との特異的な結合を可能にするのに十分な時間、サンプルを、抗T I M 3抗体と接触させること、ならびに(2)サンプルを、検出試薬、例えば、抗T I M 3抗体、例えば、抗T I M 3抗体のFc領域と特異的に結合する抗体と接触させて、それによって、抗T I M 3抗体によって結合されたT I M 3を検出することを含む。洗浄工程が、抗体および/または検出試薬とのインキュベーションの後に含まれてもよい。これらの方法において使用するための抗T I M 3抗体は、別個の検出剤が使用され得るため、必ずしも標識または検出剤と連結させる必要はない。20

【 0 3 9 7 】

例えば、単剤療法または併用療法としての抗T I M 3抗体の他の使用は、本明細書の他の箇所、例えば、併用治療に関する節において提供される。30

【 0 3 9 8 】**X I V . 二重特異性分子**

本明細書に記載される抗T I M 3抗体は、二重特異性分子の形成のために使用され得る。抗T I M 3抗体またはその抗原結合部分は、誘導体化されるか、または別の機能的分子、例えば、別のペプチドまたはタンパク質(例えば、別の抗体または受容体のリガンド)と連結されて、少なくとも2つの異なる結合部位または標的分子と結合する二重特異性分子を生成し得る。例えば、抗T I M 3抗体は、併用処置の潜在的な標的として使用することができる任意のタンパク質、例えば、本明細書に記載されるタンパク質に特異的に結合す40

る抗体（例えば、P D - 1、P D - L 1、G I T R またはL A G - 3に対する抗体）またはs c F v と連結させてもよい。本明細書に記載される抗体は、実際、誘導されるか、2種以上のその他の機能的分子と連結されて、3種以上の異なる結合部位および／または標的分子と結合する多重特異性分子を生成し得；このような多重特異性分子もまた、本明細書において、用語「二重特異性分子」に包含されるものとする。本明細書に記載される二重特異性分子を作製するために、本明細書に記載される抗体を、二重特異性分子が結果として生じるような別の抗体、抗体断片、ペプチドまたは結合模倣物などの1以上のその他の結合分子と機能的に連結することができる（例えば、化学的カップリング、遺伝子融合、非共有結合による結合または別の方で）。

【0399】

10

したがって、少なくとも1つのT I M 3に対する第1の結合特異性および第2の標的エピトープに対する第2の結合特異性を含む二重特異性分子が本明細書において提供される。二重特異性分子が多重特異性である本明細書に記載される一実施形態では、分子は、第3の結合特異性をさらに含み得る。

【0400】

一実施形態では、本明細書に記載される二重特異性分子は、結合特異性として少なくとも1種の抗体または例えば、F a b、F a b'、F (a b') 2、F v もしくは一本鎖F v (s c F V) を含めたその抗体断片を含む。Ladner et al.米国特許第4,946,778号に記載されるように、抗体はまた、軽鎖または重鎖二量体またはF v もしくは一本鎖コンストラクトなどのその任意の最小断片であり得る。

20

【0401】

ヒトモノクローナル抗体が好ましいが、本明細書に記載される二重特異性分子において利用することができるその他の抗体には、マウスモノクローナル抗体、キメラモノクローナル抗体およびヒト化モノクローナル抗体がある。

【0402】

本明細書に記載される二重特異性分子は、当技術分野において公知の方法を使用して、構成要素としての結合特異性をコンジュゲートすることによって調製することができる。例えば、二重特異性分子のそれぞれの結合特異性を、別個に生成し、次いで、互いにコンジュゲートすることができる。結合特異性が、タンパク質またはペプチドである場合、様々なカップリング剤または架橋剤を、共有結合によるコンジュゲーションに使用することができる。架橋剤の例としては、プロテインA、カルボジイミド、N - スクシンイミジル-S - アセチル - チオアセテート (S A T A) 、5,5' - ジチオビス (2 - ニトロ安息香酸) (D T N B) 、o - フェニレンジマレイミド (o P D M) 、N - スクシンイミジル - 3 - (2 - ピリジルジチオ) プロピオネート (S P D P) 、およびスルホスクシンイミジル4 - (N - マレイミドメチル) シクロヘキサン - 1 - カルボキシレート (スルホ - S M C C) が挙げられる（例えば、Karpovsky et al. (1984) J. Exp. Med. 160: 1686、Liu, MA et al. (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:8648を参照のこと）。他の方法としては、Paulus (1985) Behring Ins. Mitt. No. 78, 118-132、Brennan et al. (1985) Science 229:81-83)およびGlennie et al. (1987) J. Immunol. 139: 2367-2375)に記載されているものが挙げられる。いくつかのコンジュゲーション剤としては、S A T A およびスルホ - S M C C があり、いずれも、Pierce Chemical Co. (Rockford, IL) から入手可能である。

30

【0403】

結合特異性が抗体である場合、これらは、2つの重鎖のC末端ヒンジ領域のスルフヒドリル結合によってコンジュゲートされ得る。特定の実施形態では、ヒンジ領域は、コンジュゲーションの前に、奇数、好ましくは、1つのスルフヒドロリ残基を含むように修飾される。

40

【0404】

あるいは、両方の結合特異性が、同じベクターにおいてコードされて、同じ宿主細胞において発現され、アセンブリーされてもよい。この方法は、二重特異性分子が、m A b × m

50

A b 融合タンパク質、m A b × F a b 融合タンパク質、m A b × (s c F v)₂ 融合タンパク質、F a b × F (a b ')₂ 融合タンパク質またはリガンド×F a b 融合タンパク質である場合に、特に有用である。二重特異性抗体は、それぞれの重鎖のC末端にs c F v を含む抗体を含み得る。本明細書に記載される二重特異性分子は、1つの一本鎖抗体および結合性決定基を含む一本鎖分子であってもよく、または2つの結合性決定基を含む一本鎖二重特異性分子であってもよい。二重特異性分子は、少なくとも2つの一本鎖分子を含み得る。二重特異性分子を調製するための方法は、例えば、米国特許第5,260,203号、米国特許第5,455,030号、米国特許第4,881,175号、米国特許第5,132,405号、米国特許第5,091,513号、米国特許第5,476,786号、米国特許第5,013,653号、米国特許第5,258,498号および米国特許第5,482,858号に記載されている。

【0405】

二重特異性分子の、その特異的標的との結合は、酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)、ラジオイムノアッセイ(RIA)、FACS分析、生物検定法(例えば、成長阻害)またはウエスタンプロットアッセイなどの当技術分野で認識される方法を使用して確認され得る。これらのアッセイは各々、一般に、対象の複合体に対して特異的な標識試薬(例えば、抗体)を使用することによって、特に対象とされるタンパク質-抗体複合体の存在を検出する。

【0406】

X V. 組成物

医薬上許容される担体と一緒に製剤化された、本明細書に記載される抗TIM3抗体、または他の標的に対する抗体との組合せ、またはその抗原結合部分(単数または複数)のうちの1種または組合せを含有する組成物、例えば、医薬組成物がさらに提供される。このような組成物は、(例えば、2種以上の異なる)本明細書に記載される抗体またはイムノコンジュゲートまたは二重特異性分子のうち1種または組合せを含み得る。例えば、本明細書に記載される医薬組成物は、標的抗原上の異なるエピトープと結合するか、または補完的活性を有する抗体(またはイムノコンジュゲートまたは二重特異性)の組合せを含み得る。

【0407】

特定の実施形態では、組成物は、少なくとも1mg/ml、5mg/ml、10mg/ml、50mg/ml、100mg/ml、150mg/ml、200mg/ml、1~300mg/mlもしくは100~300mg/mlの濃度で抗TIM3抗体を含む。

【0408】

本明細書に記載される医薬組成物はまた、併用療法において、すなわち、その他の薬剤と組み合わせて投与できる。例えば、併用療法は、少なくとも1種の他の抗がん剤および/または例えば、T細胞刺激(例えば、活性化)剤などの免疫調節物質と組み合わせた、本明細書に記載される抗TIM3抗体を含み得る。併用療法において使用され得る治療薬の例は、本明細書に記載される抗TIM3抗体の使用に関する節において以下により詳細に記載される。

【0409】

いくつかの実施形態では、本明細書において開示される治療用組成物は、がんの治療のために使用されるその他の化合物、薬物および/または薬剤を含み得る。このような化合物、薬物および/または薬剤として、例えば、所与のがんに対する免疫応答を刺激する化学療法薬、小分子薬または抗体が挙げられる。いくつかの事例では、治療用組成物は、例えば、抗CTLA-4抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗OX40(CD134)、TNFRSF4、ACT35および/またはTXGPILとしても知られる)抗体、抗CD137抗体、抗LAG-3抗体、抗GITR抗体、またはそれらの併用の1つ以上を含み得る。

【0410】

本明細書において、「医薬上許容される担体」として、生理学的に適合する、ありとあら

10

20

30

40

50

ゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などが挙げられる。いくつかの実施形態では、担体は、静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄または上皮投与（例えば、注射または注入による）に適している。投与経路に応じて、化合物を、酸および化合物を不活性化し得るその他の天然条件作用から保護するために、材料において、活性化合物、すなわち、抗体、免疫複合体または二重特異性分子をコーティングしてもよい。

【0411】

本明細書に記載される医薬化合物は、1以上の医薬上許容される塩を含み得る。「医薬上許容される塩」とは、親化合物の所望の生物活性を保持し、何らかの望ましくない毒物学的影響を付与しない塩を指す（例えば、Berge, S.M., et al. (1977) J. Pharm. Sci. 66: 1-19を参照のこと）。このような塩の例として、酸付加塩および塩基付加塩が挙げられる。酸付加塩として、塩酸、硝酸、リン酸、硫酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、亜リン酸などといった非毒性無機酸に由来するものならびに脂肪族モノおよびジカルボン酸、フェニル置換アルカン酸、ヒドロキシアルカン酸、芳香族酸、脂肪族および芳香族スルホン酸などといった非毒性有機酸に由来するものが挙げられる。塩基付加塩として、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムなどといったアルカリ土類金属に由来するものならびにN,N'-ジベンジルエチレンジアミン、N-メチルグルカミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、プロカインなどといった非毒性有機アミンに由来するものが挙げられる。

10

【0412】

本明細書に記載される医薬組成物はまた、医薬上許容される抗酸化物質を含み得る。医薬上許容される抗酸化物質の例として、(1)アスコルビン酸、システイン塩酸塩、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウムなどといった水溶性抗酸化物質、(2)パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール(BHA)、ブチル化ヒドロキシトルエン(BHT)、レシチン、没食子酸プロピル、-トコフェロールなどといった油溶性抗酸化物質および(3)クエン酸、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、ソルビトール、酒石酸、リン酸などといった金属キレート化剤が挙げられる。

20

【0413】

本明細書に記載される医薬組成物において使用され得る、適した水性および非水性担体の例として、水、エタノール、ポリオール（グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレン glycolなどといった）およびそれらの適した混合物、オリーブオイルなどの植物油およびオレイン酸エチルなどの注射用有機エステルが挙げられる。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティング材料の使用によって、分散物の場合には必要な粒径の維持によって、また界面活性剤の使用によって維持できる。

30

【0414】

これらの組成物はまた、保存料、湿潤剤、乳化剤および分散剤などのアジュバントを含有し得る。微生物の存在の防止は、滅菌法手順、前掲によって、また種々の抗菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノールソルビン酸などを含めることの両方によって確実にできる。糖、塩化ナトリウムなどといった等張剤を組成物中に含めることが望ましい場合もある。さらに、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンなどの吸収を遅延する薬剤を含めることによって、注射用医薬品形態の長期の吸収を引き起こすことができる。

40

【0415】

医薬上許容される担体として、滅菌水溶液または分散物および滅菌注射用溶液または分散物の即時調製のための滅菌散剤が挙げられる。医薬上活性な物質のためのこのような媒体および薬剤の使用は、当技術分野で公知である。任意の従来の媒体または薬剤が、活性化合物と不適合である場合を除いて、本明細書に記載される医薬組成物におけるその使用が考慮される。医薬組成物は、保存剤を含んでもよく、または保存剤を含まなくてもよい。補足活性化合物は、組成物中に組み込まれ得る。

【0416】

50

治療用組成物は、通常、製造および貯蔵の条件下で無菌で、安定でなくてはならない。組成物は、溶液、マイクロエマルジョン、リポソームまたは高薬物濃度に適したその他の秩序構造として製剤化できる。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコールおよび液体ポリエチレングリコールなど）およびそれらの適した混合物を含有する、溶媒または分散媒であり得る。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用によって、分散物の場合には必要な粒径の維持によって、また界面活性剤の使用によって維持できる。多くの場合、組成物は、等張剤、例えば、糖、マンニトール、ソルビトールまたは塩化ナトリウムなどのポリアルコールを含むことができる。組成物中に吸収を遅延する薬剤、例えば、モノステアリン酸塩およびゼラチンを含めることによって、注射用組成物の長期吸収を引き起こすことができる。

10

【0417】

滅菌注射用溶液は、必要に応じて、上記で列挙された成分のうち1種または組合せとともに、適当な溶媒中に必要な量の活性化合物を組み込むことと、それに続く、滅菌精密濾過によって調製できる。一般に、分散物は、基本分散媒および本明細書で列挙されたものから必要なその他の成分を含有する滅菌ビヒクル中に活性化合物を組み込むことによって調製される。滅菌注射用溶液を調製するための滅菌散剤の場合には、調製の方法として、その前もって滅菌濾過された溶液から有効成分および任意のさらなる所望の成分の粉末が得られる、真空乾燥およびフリーズドライ（凍結乾燥）がある。

20

【0418】

单一投与形を生産するための担体材料と組み合わされ得る有効成分の量は、治療されている対象および特定の投与様式に応じて変わる。单一投与形を生産するための担体材料と組み合わされ得る有効成分の量は、一般に、治療効果を生産する組成物の量となる。一般に、医薬上許容される担体との組合せにおいて、この量は、100パーセントのうち、有効成分の約0.01パーセント～約99パーセント、約0.1パーセント～約70パーセント、または有効成分の約1パーセント～約30パーセントの範囲となる。

【0419】

投与計画は、最適の所望の応答（例えば、治療的応答）を提供するよう調整される。例えば、単回ボーラスを投与してもよく、いくつかの分割用量を経時に投与してもよく、または治療状況の緊急事態によって示されるように、用量を比例的に低減または増大してもよい。投与の容易性および投与形の均一性のための投与単位形に非経口組成物を製剤化することは特に有利である。本明細書において、投与単位形とは、治療されている対象の単位投与量として適している物理的に別個の単位を指し、各単位は、必要な医薬担体と関連して所望の治療効果を生産するよう算出された所定の量の活性化合物を含有する。本明細書に記載される投与単位形の仕様は、（a）活性化合物の独特的の特徴および達成されるべき特定の治療効果ならびに（b）個体における感受性の治療のためのこのような活性化合物の配合の技術分野に固有の制限によって決定され、それらに直接左右される。

30

【0420】

例えば、本明細書に記載される抗TUM3抗体の投与のために、投与量は、約0.0001～100mg / 宿主体重1kg、より通常は、0.01～5mg / 宿主体重1kgの範囲である。例えば、投与量は、0.3mg / 体重1kg、0.3mg / 体重1kg、0.5mg / 体重1kg、1mg / 体重1kg、3mg / 体重1kg、5mg / 体重1kgまたは10mg / 体重1kgまたは1～10mg / kgの範囲内であり得る。例示的治療計画は、週に1回、2週に1回、3週に1回、4週に1回、月に1回、3～6カ月に1回の投与を必要とする。本明細書に記載される抗TUM3抗体の例示的な投与計画としては、静脈内投与を介した1mg / 体重1kgまたは3mg / 体重1kgが挙げられ、抗体は、以下の投与スケジュールの1つを使用して与えられる：（i）4週間に1回で、6回の投与、次いで、3カ月に1回、（ii）3週間に1回、（iii）3mg / 体重1kgを1回、続いて、1mg / 体重1kgを3週間に1回。

40

【0421】

抗TUM3抗体は、一定用量で投与され得る（一定用量計画）。他の実施形態では、抗T

50

I M 3 抗体は、固定用量で、別の抗体とともに投与され得る。特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、体重に基づく用量で投与される。

【 0 4 2 2 】

いくつかの方法では、異なる結合特異性を有する 2 種以上のモノクローナル抗体が同時に投与され、この場合には、投与される各抗体の投与量は、示される範囲内に入る。抗体は、通常、複数の機会で投与される。単一投与量の間隔は、例えば、毎週、毎月、 3 ヶ月毎または毎年であり得る。間隔はまた、患者における標的抗原に対する抗体の血液レベルを測定することによって示されるように、不規則である場合もある。いくつかの方法において、投与量は、約 1 ~ 1 0 0 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、いくつかの方法では、約 2 5 ~ 3 0 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の血漿抗体濃度を達成するよう調整される。

10

【 0 4 2 3 】

抗 T I M 3 抗体は、他の抗体の投与計画で、別の抗体とともに投与され得る。例えば、抗 T I M 3 抗体は、疾患の進行または許容できないほどの毒性が生じるまで、抗 P D - 1 抗体、例えば、ニボルマブ (O P D I V O (登録商標)) とともに、60 分間にわたる静脈内注入として、2 週間に 1 回投与され得る。抗 T I M 3 抗体は、疾患の進行または許容できないほどの毒性が生じるまで、ペンブロリズマブ (K E Y T R U D A (登録商標)) とともに、30 分間にわたる静脈内注入として、3 週間に 1 回投与され得る。抗 T I M 3 抗体は、疾患の進行または許容できないほどの毒性が生じるまで、アテゾリズマブ (T E C E N T R I Q (商標)) とともに、60 分間または 30 分間にわたる静脈内注入として、3 週間に 1 回投与され得る。

20

【 0 4 2 4 】

抗体は、持続放出製剤として投与でき、この場合には、あまり頻繁ではない投与が必要とされる。投与量および頻度は、患者における抗体の半減期に応じて変わる。一般に、ヒト抗体は、最長の半減期を示し、ヒト化抗体、キメラ抗体および非ヒト抗体が続く。投与の投与量および頻度は、治療が予防的であるか、治療的であるかに応じて変わり得る。予防的適用では、比較的少ない投与量が、比較的頻繁ではない間隔で長期間にわたって投与される。一部の患者は、生涯治療を受け続ける。治療的適用では、疾患の進行が低減または終結されるまで、患者が疾患の症状の部分的または完全寛解を示すまで、比較的短い間隔の比較的多い投与量が時には必要である。その後、患者は、予防的投与計画を投与されることがある。

30

【 0 4 2 5 】

本明細書に記載される医薬組成物中の有効成分の実際の投与量レベルは、患者にとって毒性ではなく、特定の患者、組成物および投与様式について所望の治療応答を達成するのに有効である有効成分の量を得るよう変えてよい。選択される投与量レベルは、使用される本明細書に記載される特定の組成物またはそのエステル、塩もしくはアミドの活性、投与経路、投与の時間、使用されている特定の化合物の排出速度、治療期間、使用される特定の組成物と組み合わせて使用されるその他の薬物、化合物および / または材料、治療されている患者の年齢、性別、体重、状態、全身の健康および先の病歴および医薬の技術分野において周知の同様の因子を含めた種々の薬物動態因子に応じて変わる。

【 0 4 2 6 】

本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体の「治療上有効な投与量」は、疾患症状の重症度の低減、疾患症状のない期間の頻度および期間の増大または疾患苦痛による機能不全もしくは能力障害の防止をもたらし得る。がんに関連して、治療上有効な用量は、生存、例えば、全生存期間の増大、および / またはがんと関連する身体症状のさらなる増悪の予防をもたらし得る。がんの症状は、当技術分野で周知であり、例えば、普通ではない黒子の特徴、非対称、境界、色および / または直径を含めた黒子の外観の変化、新規に着色した皮膚領域、異常な黒子、爪の下の黒くなった領域、乳房のしこり、乳頭の変化、乳房囊胞、乳房疼痛、死亡、体重減少、脱力感、過度の疲労、摂食障害、食欲の喪失、慢性の咳、息切れの悪化、喀血、血尿、血便、恶心、嘔吐、肝臓転移、肺転移、骨転移、腹部膨満、鼓腸、腹部腔中の流体、腫瘍出血、便秘、腹部膨隆、結腸の穿孔、急性腹膜炎（感染、発熱、疼

40

50

痛)、疼痛、吐血、多量の発汗、発熱、高血圧症、貧血、下痢、黄疸、めまい、悪寒、筋痙攣、結腸転移、肺転移、膀胱転移、肝臓転移、骨転移、腎臓転移および膵臓転移、嚥下困難などが挙げられる。

【0427】

疾患の早期または先行する徵候が存在する場合に望まれ得るような治療上有効な用量は、がんの発生を防ぐかまたは遅延し得る。がんの診断において使用される実験室試験は、化学(TIM3レベルの測定を含む)、血液学、血清学および放射線学を含む。したがって、前記のうちいずれかをモニタリングする任意の臨床または生化学アッセイを使用して、特定の治療が、がんを治療するための治療上有効な用量であるか否かを調べてもよい。当業者ならば、対象の大きさ、対象の症状の重症度および特定の組成物または選択された投与経路のような因子に基づいてこのような量を決定できるであろう。

10

【0428】

本明細書に記載される組成物は、当技術分野で公知の1以上の種々の方法を使用して、1以上の投与経路によって投与できる。当業者には明らかであろうが、投与経路および/または投与様式は、所望の結果に応じて変わる。本明細書に記載される抗TIM3抗体の投与経路として、静脈内、筋肉内、皮内、腹腔内、皮下、脊髄または例えば、注射もしくは注入によるその他の非経口投与経路が挙げられる。本明細書において、語句「非経口投与」とは、経腸および局所投与以外の、普通、注射による投与様式を意味し、制限するものではないが、静脈内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔内、関節内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、囊下、くも膜下、脊髄内、硬膜外および胸骨内注射および注入が挙げられる。

20

【0429】

あるいは、本明細書に記載される抗体は潜在的に、局所、上皮または粘膜投与経路、例えば、鼻腔内、経口、経膣、直腸性、舌下にまたは局所になど、非経口ではない経路によって投与できる。

【0430】

留置用剤、経皮パッチおよびマイクロカプセル化送達系を含めた徐放性製剤など、活性化合物を、化合物を迅速な放出から保護する担体を用いて調製できる。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステルおよびポリ乳酸などの生分解性、生体適合性ポリマーを使用できる。このような製剤を調製するための多数の方法が、特許権をとられているか、または一般的に、当業者に公知である。例えば、*Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978を参照のこと。

30

【0431】

治療用組成物は、当技術分野で公知の医療装置を用いて投与できる。例えば、特定の実施形態では、本明細書に記載される治療用組成物は、米国特許第5,399,163号；同5,383,851号；同5,312,335号；同5,064,413号；同4,941,880号；同4,790,824号；または同4,596,556号に開示される装置などの注射針無し皮下注射装置を用いて投与できる。本明細書に記載される抗TIM3抗体とともに使用するための周知の留置用剤およびモジュールの例として、制御された速度で医薬を分配するための埋め込み可能な微量注入ポンプを開示する米国特許第4,487,603号；皮膚を通じて医薬を投与するための治療用装置を開示する同4,486,194号；正確な注入速度で医薬を送達するための医薬注入ポンプを開示する同4,447,233号；連続薬物送達のための可変流動埋め込み可能注入器具を開示する同4,447,224号；マルチチャンバー・コンパートメントを有する浸透圧薬物送達システムを開示する同4,439,196号；および浸透圧薬物送達システムを開示する同4,475,196号が挙げられる。これらの特許は、参照により本明細書に組み込まれる。多数のその他のこのような留置用剤、送達系およびモジュールが、当業者に公知である。

40

【0432】

特定の実施形態では、本明細書に記載される抗TIM3抗体は、インピボでの適切な分布

50

を確実にするよう製剤化できる。例えば、血液脳関門（B B B）は、多数の高親水性化合物を排除する。本明細書に記載される治療用化合物が、B B Bを通過することを確実にするために（所望される場合、例えば、脳のがんについて）、それらを例えれば、リポソーム中に製剤化できる。リポソームを作製する方法については、例えば、米国特許第4,522,811号；同5,374,548号；および同5,399,331号を参照のこと。リポソームは、特定の細胞または臓器中に選択的に輸送され、したがって、標的化された薬物送達を増強する1以上の部分を含み得る（例えば、V.V. Ranade (1989) J. Clin. Pharmacol. 29:685を参照のこと）。例示的標的化部分として、葉酸またはビオチン（例えば、Low et al. の米国特許第5,416,016号を参照のこと）；マンノシド (Umezawa et al., (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038)；抗体 (P.G. Bloeman et al. (1995) FEBS Lett. 357:140; M. Owais et al. (1995) Antimicrob. Agents Chemother. 39:180)；界面活性剤プロテインA受容体 (Briscoe et al. (1995) Am. J. Physiol. I. 263:134)；p120 (Schreier et al. (1994) J. Biol. Chem. 269:9090) が挙げられ、K. Keinanen; M.L. Laukkonen (1994) FEBS Lett. 346:123; J.J. Killion; I.J. Fidler (1994) Immunomethods 4:273も参照のこと。

【0433】

X V I. 使用および方法

本明細書に記載される抗体、抗体組成物および方法は、例えば、例として、T I M 3（例えば、シグナル伝達）の阻害（もしくはアンタゴナイズ）による免疫応答の増強またはT I M 3の検出に関する、多数のインビトロおよびインビボでの有用性を有する。一実施形態では、本明細書に記載される抗T I M 3抗体は、ヒト抗体である。例えば、本明細書に記載される抗T I M 3抗体は、インビトロもしくはエキソビオで培養下の細胞に、または種々の疾患において免疫性を増強するために、例えば、インビボでヒト対象に、投与することができる。したがって、対象において免疫応答を修飾する方法であって、対象において免疫応答が修飾されるように、対象に、本明細書に記載される抗T I M 3抗体またはその抗原結合部分を投与することを含む、方法が、本明細書において提供される。いくつかの実施形態では、応答は、増強、刺激または上方制御される。

【0434】

本方法に好適な対象としては、免疫応答の増強が望ましいであろうヒト患者が挙げられる。本方法は、免疫応答（例えば、T細胞に媒介される免疫応答、例えば、抗原特異的T細胞応答）を増大させることによって処置することができる障害を有するヒト患者を処置するために、特に好適である。特定の実施形態では、本方法は、インビボでのがんの処置のために特に好適である。免疫性の抗原特異的な増強を達成するために、本明細書に記載される抗T I M 3抗体を、目的とされる抗原と一緒に投与してもよく、または抗原が、処置されるべき対象においてすでに存在していてもよい（例えば、腫瘍担持対象またはウイルス担持対象）。T I M 3に対する抗体を、別の薬剤と一緒に投与する場合には、2種は、別個に投与することも、同時に投与することもできる。

【0435】

また、サンプルおよび対照サンプルを、ヒトT I M 3と特異的に結合するモノクローナル抗体、例えばヒトモノクローナル抗体またはその抗原結合部分と、抗体またはその部分とヒトT I M 3との複合体の形成を可能にする条件下で接触させることを含む、サンプルにおけるヒトT I M 3抗原の存在を検出するか、またはヒトT I M 3抗原の量を測定するための方法も包含される。次いで、複合体の形成を検出し、この場合、対照サンプルと比較した、サンプル間の複合体形成の相違が、サンプルにおけるヒトT I M 3抗原の存在を示す。さらに、本明細書に記載される抗T I M 3抗体は、イムノアフィニティー精製によってヒトT I M 3を精製するために使用できる。

【0436】

本明細書に記載される抗T I M 3抗体が、例えば、T I M 3の負の作用を阻害することによって、T細胞応答、例えば、抗原特異的T細胞応答を刺激または共刺激する能力を踏まえて、本明細書に記載される抗T I M 3抗体を使用して、抗原特異的T細胞応答、例えば

10

20

30

40

50

、抗腫瘍 T 細胞応答を刺激、増強または上方制御するインビトロおよびインビボ方法が、本明細書において提供される。特定の実施形態では、CD3 刺激もまた、提供され（例えば、膜 CD3 を発現する細胞とともに共インキュベートすることによって）、この刺激は、抗 TIM3 抗体での刺激と同時、その前または後に提供され得る。例えば、抗原特異的 T 細胞応答を刺激する方法であって、抗原特異的 T 細胞応答が刺激されるように、前記 T 細胞を、本明細書に記載される抗 TIM3 抗体と接触させ、適宜、抗 CD3 抗体と接触させることを含む、方法が、本明細書において提供される。

【 0 4 3 7 】

抗原特異的 T 細胞応答の任意の好適な指標を使用して、抗原特異的 T 細胞応答を測定することができる。そのような好適な指標の非限定的な例としては、抗体の存在下における T 細胞増殖の増大および / または抗体の存在下におけるサイトカイン産生の増大が挙げられる。いくつかの実施形態では、抗原特異的 T 細胞によるインターロイキン - 2 および / またはインターフェロン - 産生が、刺激される。

10

【 0 4 3 8 】

抗 TIM3 抗体により増強または共刺激することができる T 細胞としては、CD4 + T 細胞および CD8 + T 細胞が挙げられる。T 細胞は、Teff 細胞、例えば、CD4 + Tef f 細胞、CD8 + Tef f 細胞、ヘルパー T (Th) 細胞（例えば、Th1 細胞）または細胞傷害性 T (Tc) 細胞であり得る。

【 0 4 3 9 】

対象における免疫応答（例えば、抗原特異的 T 細胞応答）が刺激されるように、本明細書に記載される抗 TIM3 抗体を対象に投与することを含む、対象において免疫応答（例えば、抗原特異的 T 細胞応答）を刺激する方法が、さらに包含される。いくつかの実施形態では、対象は、腫瘍担持対象であり、腫瘍に対する免疫応答が刺激される。腫瘍は、固体腫瘍または液性腫瘍、例えば、血液悪性腫瘍であり得る。特定の実施形態では、腫瘍は、免疫原性腫瘍である。特定の実施形態では、腫瘍は、非免疫原性である。特定の実施形態では、腫瘍は、PD-L1 陽性である。特定の実施形態では、腫瘍は、PD-L1 陰性である。対象は、ウイルス担持対象であってもよく、そのウイルスに対する免疫応答が刺激される。

20

【 0 4 4 0 】

対象において腫瘍細胞の成長を阻害するための方法であって、対象において腫瘍の成長が阻害されるように、対象に、本明細書に記載される抗 TIM3 抗体を投与することを含む、方法が、さらに提供される。対象におけるウイルス感染を処置する方法であって、ウイルス感染が、対象において処置されるように、対象に、本明細書に記載される抗 TIM3 抗体を投与することを含む、方法もまた、提供される。

30

【 0 4 4 1 】

特定の実施形態では、抗 TIM3 抗体は、補助療法として対象に提供される。がんを有する対象の、抗 TIM3 抗体による処置は、生存期間の延長、例えば、現在の標準的な治療法と比べて長期永続的な応答、少なくとも 3 ヶ月間、6 ヶ月間、9 ヶ月間、1 年間、2 年間、3 年間、4 年間、5 年間、10 年間もしくはそれ以上の長期生存、または少なくとも 3 ヶ月間、6 ヶ月間、9 ヶ月間、1 年間、2 年間、3 年間、4 年間、5 年間もしくは 10 年間もしくはそれ以上の再発のない生存期間をもたらし得る。特定の実施形態では、がんを有する対象の、抗 TIM3 抗体での処置は、例えば、3 ヶ月間、6 ヶ月間、9 ヶ月間、1 年間、2 年間、3 年間、4 年間、5 年間もしくは 10 年間またはそれ以上、がんの再発を予防するか、またはがんの再発を遅延させる。抗 TIM3 処置は、第 1 選択肢、第 2 選択肢または第 3 選択肢の処置として使用することができる。

40

【 0 4 4 2 】

がんを有する対象の、本明細書に記載される抗 TIM3 抗体、例えば、TIM3.18.IgG1 での処置は、例えば、疾患の安定、部分的応答、全生存期間の増大、無疾患生存期間の増大、無増悪生存期間の増強をもたらし得る。

【 0 4 4 3 】

50

特定の実施形態では、本明細書に記載される抗T I M 3抗体は、著しく毒性ではない。例えば、T I M 3抗体は、例えば、臨床試験において判定される場合、ヒトの臓器、例えば、肝臓、腎臓、脳、肺および心臓の1つ以上に対して、著しく毒性ではない。特定の実施形態では、抗T I M 3抗体は、望ましくない免疫応答、例えば、自己免疫性または炎症を著しく引き起こすことはない。

【0444】

特定の実施形態では、対象の、抗T I M 3アンタゴニスト（例えば、本明細書に記載される抗T I M 3抗体）での処置は、対象の免疫系が、対象自身を攻撃する（例えば、自己免疫応答）か、または例えば、アナフィラキシーを引き起こすほどに、免疫系の過剰刺激をもたらすことはない。したがって、いくつかの実施形態では、抗T I M 3抗体は、アナフィラキシーを引き起こさない。

10

【0445】

特定の実施形態では、対象の、本明細書に記載される抗T I M 3抗体、例えば、13A3もしくはその変異体（例えば、本明細書に記載される）または本明細書に記載される他の抗T I M 3抗体のCDRもしくは可変領域を含む抗体での処置は、有意な炎症性反応、例えば、免疫媒介性肺炎、免疫媒介性大腸炎、免疫媒介性肝炎、免疫媒介性腎炎もしくは腎不全、免疫媒介性下垂体炎、免疫媒介性甲状腺機能低下症および甲状腺機能亢進症またはその他の免疫媒介性悪性反応を引き起こさない。特定の実施形態では、13A3もしくはその変異体（例えば、本明細書に記載される）のCDRまたは可変領域を含む抗T I M 3抗体は、他の抗T I M 3抗体よりも少ない炎症性反応、例えば、免疫媒介性肺炎、免疫媒介性大腸炎、免疫媒介性肝炎、免疫媒介性腎炎もしくは腎不全、免疫媒介性下垂体炎、免疫媒介性甲状腺機能低下症および甲状腺機能亢進症、アナフィラキシーまたは他の免疫媒介性悪性反応を引き起こす。特定の実施形態では、対象の、本明細書に記載される抗T I M 3抗体、例えば、13A3もしくはその変異体（例えば、本明細書に記載される）または他の抗T I M 3抗体のCDRまたは可変領域を含む抗体での処置は、有意な心臓の障害、例えば、心室性不整脈；眼の障害、例えば、虹彩毛様体炎；注入関連反応；アミラーゼの増加、リバーゼの増加；神経系の障害、例えば、めまい、末梢性および感覚性ニューロパチー；皮膚および皮下組織の障害、例えば、発疹、搔痒、剥離性皮膚炎、多形性紅斑、白斑もしくは乾癬；呼吸器、胸部および縦隔の障害、例えば、咳；疲労；吐き気；食欲低下；便秘；関節痛；または下痢を引き起こさない。

20

【0446】

特定の実施形態では、抗T I M 3抗体は、別のがん療法、例えば、免疫系を刺激する化合物（例えば、免疫・腫瘍学薬剤）、例えば、本明細書に記載される化合物または本明細書に記載される標的を調節する化合物との組合せで、相乗的抗腫瘍作用を提供する。

30

【0447】

キメラまたはヒト化抗体とは対照的に、ヒト抗体を使用することで、より低い抗薬物抗体（ADA）レベルがもたらされ得る。したがって、本明細書に記載されるヒト抗T I M 3抗体、例えば、T I M 3.18.IgG1.3は、ヒト抗体ではない抗T I M 3抗体と比べて（例えば、ヒト化またはキメラ抗T I M 3抗体と比べて）、より低いADAを有し得る。

40

【0448】

本明細書に記載されるこれらおよびその他の方法は、以下にさらに詳述される。

【0449】

X V I . がん

抗T I M 3抗体によるT I M 3の阻害は、がんを有する患者におけるがん性細胞に対する免疫応答を増強し得る。がんを有する対象を処置するための方法であって、対象が処置される、例えば、その結果、がん性腫瘍の成長が阻害もしくは低減される、および／または腫瘍が退縮する、および／または生存期間が延長されるように、対象に、本明細書に記載される抗T I M 3抗体を投与することを含む、方法が、本明細書において提供される。抗T I M 3抗体を単独で使用して、がん性腫瘍の成長を阻害することができる。あるいは、抗T I M 3抗体は、以下に記載されるように、別の薬剤、例えば、別の免疫原性剤、標準

50

がん処置または別の抗体とともに使用することができる。

【 0 4 5 0 】

したがって、対象において、例えば、腫瘍細胞の成長を阻害することによって、がんを処置する方法であって、対象に、治療上有効な量の、本明細書に記載される抗T I M 3 抗体、例えば、野生型I g G 定常領域または低減されたエフェクター機能を有する定常領域、例えば、I g G 1.1 またはI g G 1.3 を有するT I M 3.2、T I M 3.4、T I M 3.5、T I M 3.6、9 F 6、8 B 9、T I M 3.9、T I M 3.1 0、T I M 3.1 1、T I M 3.1 2、T I M 3.1 3、T I M 3.1 4、T I M 3.1 5、T I M 3.1 6、T I M 3.1 7、T I M 3.1 8、T I M 3.7 およびT I M 3.8、またはその抗原結合部分を投与することを含む、方法が、本明細書において提供される。抗体は、ヒト抗T I M 3 抗体（例えば、本明細書に記載されるヒト抗ヒトT I M 3 抗体のいずれか）であり得る。本開示の抗体を使用して成長を阻害することができるがんには、典型的に免疫療法に応答性であるがんおよび典型的に免疫療法に応答性でないものが含まれる。処置することができるがんにはまた、T I M 3 陽性がんも含まれる。がんは、 固形腫瘍または血液の悪性腫瘍（液性腫瘍）を伴うがんであってもよい。治療のためのがんの限定されない例として、扁平上皮がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、扁平非小細胞肺がん（N S C L C ）および非扁平N S C L C 、神経膠腫、胃腸がん、腎がん（例えば、明細胞がん）、卵巣がん、肝臓がん、結腸直腸がん、子宮内膜がん、腎臓がん（例えば、腎細胞がん（R C C ））、前立腺がん（例えば、ホルモン難治性前立腺腺がん）、甲状腺がん、神経芽細胞腫、膵臓がん、神経膠芽腫（神経膠芽腫多形）、子宮頸がん、胃がん、膀胱がん、肝細胞腫、乳がん、結腸がん腫および頭頸部がん（またはがん腫）、胃がん（gastric cancer）、生殖細胞腫瘍、小児肉腫、副鼻腔ナチュラルキラー、黒色腫（例えば、皮膚または眼球内悪性黒色腫などの転移性悪性黒色腫）、骨がん、皮膚がん、子宮がん、肛門領域のがん、精巣がん、卵管のがん腫、子宮内膜のがん腫、子宮頸部のがん腫、腫のがん腫、外陰部のがん腫、食道のがん、小腸のがん、内分泌系のがん、上皮小体腺のがん、副腎のがん、柔組織の肉腫、尿道のがん、陰茎のがん、小児の 固形腫瘍、尿管のがん、腎孟のがん腫、中枢神経系（C N S ）の新生物、原発性C N S リンパ腫、腫瘍血管新生、脊髄の軸の腫瘍、脳のがん、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、カポジ肉腫、類表皮がん、扁平上皮がん、T 細胞リンパ腫、アスペストによって誘導されるものを含めた環境誘導性がん、ウイルス関連がんまたはウイルス起源のがん（例えば、ヒトパピローマウイルス（H P V 関連もしくは起源の腫瘍））および2種の主要な血液細胞系統のいずれか、すなわち、骨髄系細胞株（顆粒球、赤血球、血小板、マクロファージおよび肥満細胞を産生する）またはリンパ球系細胞株（B、T、N K および形質細胞を産生する）に由来する血液悪性腫瘍、例えば、全ての種類の白血病、リンパ腫および骨髄腫、例えば、急性白血病（A L L ）、急性骨髓性白血病（A M L ）、慢性リンパ性白血病（C L L ）および慢性骨髓性白血病（C M L ）、未分化A M L （M O ）、骨髓芽球性白血病（M 1 ）、骨髓芽球性白血病（M 2 ; 細胞成熟を伴う）、前骨髓球性白血病（M 3 またはM 3 変異体〔M 3 V 〕）、骨髓单球性白血病（M 4 または好酸球増加症を伴うM 4 変異体〔M 4 E 〕）、单球性白血病（M 5 ）、赤白血病（M 6 ）、巨核芽球性白血病（M 7 ）、单離された顆粒球性肉腫および緑色腫などの急性、慢性、リンパ性および／または骨髓性白血病；ホジキンリンパ腫（H L ）、非ホジキンリンパ腫（N H L ）、B 細胞血液悪性腫瘍、B 細胞リンパ腫、T 細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、单球様B 細胞リンパ腫、粘膜関連リンパ球系組織（M A L T ）リンパ腫、未分化（例えば、K i 1+ ）大細胞型リンパ腫、成人T 細胞リンパ腫／白血病、マントル細胞リンパ腫、血管免疫芽細胞性T 細胞リンパ腫、血管中心性リンパ腫、腸管T 細胞リンパ腫、原発性縦隔B 細胞リンパ腫、前駆体T 細胞リンパ腫、T 細胞リンパ腫およびリンパ腫／白血病（T - L b l y / T - A L L ）、末梢T 細胞リンパ腫、リンパ芽球性リンパ腫、移植後リンパ増殖性障害、真性組織球性リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、B 細胞リンパ腫、リンパ芽球性リンパ腫（L B L ）、リンパ球系統の造血器腫瘍、急性リンパ性白血病、びまん性大細胞型B 細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫、濾胞性リンパ腫、びまん性組織球性リンパ腫（D H L ）、免疫芽球性大細胞型リンパ腫、前駆

10

20

30

40

50

体 B リンパ芽球性リンパ腫、皮膚 T 細胞リンパ腫（ C T L C ）（菌状息肉症またはセザリー症候群とも呼ばれる）およびワルデンストレーム高ガンマグロブリン血症を伴うリンパ形質細胞性リンパ腫（ L P L ）などのリンパ腫； I g G 骨髄腫、軽鎖骨髄腫、非分泌性骨髄腫、くすぶり型骨髄腫（低悪性度骨髄腫とも呼ばれる）、孤立性形質細胞腫および多発性骨髄腫、慢性リンパ性白血病（ C L L ）、ヘアリー細胞リンパ腫などの骨髄腫；骨髄系統の造血器腫瘍、線維肉腫および横紋筋肉腫（ rhabdomyoscarcoma ）を含めた間葉系起源の腫瘍；セミノーマ、奇形がん腫、星状細胞腫、シュワン腫を含めた中枢および末梢神経の腫瘍；線維肉腫、横紋筋肉腫（ rhabdomyoscaroma ）および骨肉腫を含めた間葉系起源の腫瘍；ならびに黑色腫、色素性乾皮症、ケラトアカントーマ、セミノーマ、甲状腺濾胞性がんおよび奇形がん腫を含めたその他の腫瘍、リンパ球系統の造血器腫瘍、例えば、それだけには限らないが、小細胞および大脳様細胞型を含めた T 前リンパ球性白血病（ T - P L L ）などの T 細胞障害を含めた T 細胞および B 細胞腫瘍； T 細胞型の大顆粒リンパ球性白血病（ L G L ）； a / d T - N H L 肝脾リンパ腫；末梢 / 成熟 T 細胞リンパ腫（多形性および免疫芽球性亜種）；血管中心性（鼻腔の） T 細胞リンパ腫；頭頸部のがん、腎がん、直腸がん、甲状腺のがん；急性骨髄系リンパ腫ならびに前記のがんの任意の組合せが挙げられる。本明細書に記載される方法はまた、転移性がん、切除不能な難治性がん（例えば、遮断性 C T L A - 4 または P D - 1 抗体を用いる、例えば、これまでの免疫療法に対して難治性のがん）および / または再発性がんの治療のために使用してもよい。

【 0 4 5 1 】

特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、以前の処置、例えば、免疫 - 腫瘍学薬物もしくは免疫療法薬を用いた以前の処置に対して不適切な応答を示したかもしくはその後進行したがんを有する患者に、または不応性もしくは耐性、本質的に不応性もしくは耐性のいずれかである（例えば、 P D - 1 経路アンタゴニストに対して不応性である）がんを有する患者に、または耐性もしくは不応性状態が獲得された場合に、投与される。例えば、第 1 の治療法に対して応答性でないかもしくは十分に応答性でない対象、または処置後、例えば、抗 P D - 1 での処置後に、疾患の進行が見られる対象を、抗 T I M 3 抗体の、単独または別の治療法（例えば、抗 P D - 1 治療法）と組み合わせた投与によって、処置することができる。

【 0 4 5 2 】

特定の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、これまでに免疫 - 腫瘍学薬剤、例えば、 P D - 1 経路アンタゴニストを受容していない（すなわち、それを用いた処置を受けていない）患者に、投与される。

【 0 4 5 3 】

特定の実施形態では、対象におけるがんを処置する方法は、まず、対象が、 T I M 3 陽性である、例えば、 T I M 3 を発現する腫瘍細胞または T I L を有するかどうかを判定すること、ならびに対象が T I M 3 陽性がん細胞または T I L 細胞を有する場合、対象に、例えば、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体を投与することを含む。がんを有する対象を、抗 T I M 3 抗体で処置する方法は、 T I M 3 を発現するがん細胞または T I L 細胞を有する対象に、治療上有効な量の T I M 3 抗体を投与することを含み得る。対象が、抗 T I M 3 抗体での処置に応答するかどうかを予測するための方法であって、患者のがんまたは T I L 細胞における T I M 3 のレベルを判定することを含み、ならびに対象のがんまたは T I L 細胞が、 T I M 3 陽性である場合、対象は、 T I M 3 抗体での処置に応答する可能性が高い、方法もまた、本明細書において提供される。

【 0 4 5 4 】

特定の実施形態では、対象におけるがんを処置する方法は、まず、対象が、 P D - L 1 または P D - 1 陽性である、例えば、 P D - L 1 または P D - 1 を発現する腫瘍細胞または T I L を有するかどうかを判定すること、ならびに対象が P D - L 1 または P D - 1 陽性がん細胞または T I L 細胞を有する場合、対象に、例えば、本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体（および適宜 P D - 1 または P D - L 1 アンタゴニスト）を投与することを含む。がんを有する対象を、抗 T I M 3 抗体（および適宜 P D - 1 または P D - L 1 アンタゴ

10

20

30

40

50

ニスト)で処置する方法は、PD-1またはPD-L1を発現するがん細胞またはTIL細胞を有する対象に、治療上有効な量のTIM3抗体(および適宜PD-L1またはPD-1アンタゴニスト)を投与することを含み得る。対象が、抗TIM3抗体(および適宜PD-1またはPD-L1アンタゴニスト)での処置に応答するかどうかを予測するための方法であって、患者のがんまたはTIL細胞におけるPD-L1またはPD-1のレベルを判定することを含み、ならびに対象のがんまたはTIL細胞が、PD-L1またはPD-1陽性である場合、対象は、TIM3抗体(および適宜PD-1またはPD-L1アンタゴニスト)での処置に応答する可能性が高い、方法もまた、本明細書において提供される。

【0455】

10

抗TIM3抗体は、標準治療処置とともに投与され得る。抗TIM3抗体は、維持療法、例えば、腫瘍の発生または再発を予防することを意図する治療法として、投与されてもよい。

【0456】

抗TIM3抗体は、別の処置、例えば、放射線、外科手術または化学療法とともに、投与され得る。例えば、抗TIM3抗体の補助療法は、微小転移が存在し得る危険性がある場合、および/または再発の危険性を低減するために、投与され得る。

【0457】

20

抗TIM3抗体は、単剤療法として投与されてもよく、唯一の免疫刺激療法として投与されてもよい。TIM3に対する抗体、例えば、抗TIM3抗体はまた、免疫原性剤、例えば、がん性細胞、精製された腫瘍抗原(組換えタンパク質、ペプチドおよび炭水化物分子を含む)、細胞ならびに免疫刺激性サイトカインをコードする遺伝子をトランスフェクトした細胞と組み合わせることができる(He et al (2004) J. Immunol. 173:4919-28)。使用できる腫瘍ワクチンの限定されない例として、gp100、MAGE抗原、Trp-2、MART1および/もしくはチロシナーゼのペプチドなどの黒色腫抗原のペプチドまたはサイトカインGM-CSFを発現するようトランスフェクトされた腫瘍細胞が挙げられる。(以下にさらに論じられる)。

【0458】

30

ヒトにおいて、黒色腫などの一部の腫瘍は、免疫原性であることが示されている。TIM3の阻害を通じてT細胞活性化の閾値を低下させることにより、宿主における腫瘍応答が活性化され、非免疫原性腫瘍または限定された免疫原性を有するものの治療が可能となり得る。

【0459】

40

抗TIM3抗体、例えば、本明細書に記載される抗TIM3抗体は、ワクチン接種プロトコールと組み合わせることができる。腫瘍に対するワクチン接種のための多数の実験戦略が考案されている(Rosenberg, S., 2000, Development of Cancer Vaccines, ASCO Educational Book Spring: 60-62; Logothetis, C., 2000, ASCO Educational Book Spring: 300-302; Khayat, D. 2000, ASCO Educational Book Spring: 414-428; Foon, K. 2000, ASCO Educational Book Spring: 730-738を参照のこと; DeVita et al. (eds.), 1997, Cancer: Principles and Practice of Oncology, Fifth Edition中のRestifo, N. and Sznol, M., Cancer Vaccines, Ch. 61, pp. 3023-3043も参照のこと)。これらの戦略の1つでは、ワクチンは、自己または同種腫瘍細胞を使用して調製される。これらの細胞性ワクチンは、腫瘍細胞がGM-CSFを発現するよう形質導入される場合に最も有効であるとわかっている。GM-CSFは、腫瘍ワクチン接種のための抗原提示の強力なアシチベーターであるとわかっている(Dranoff et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90: 3539-43)。

【0460】

種々の腫瘍における遺伝子発現および大規模遺伝子発現パターンの研究は、いわゆる腫瘍特異的抗原の定義につながった(Rosenberg, S A (1999) Immunity 10: 281-7)。多くの場合には、これらの腫瘍特異的抗原は、腫瘍において、また腫瘍が生じた細胞におい

50

て発現される分化抗原、例えば、メラノサイト抗原 g p 1 0 0 、 M A G E 抗原および T r p - 2 である。より重要なことに、これらの抗原の多くは、宿主における腫瘍特異的 T 細胞の標的であると示され得る。これらのタンパク質に対する免疫応答を生じさせるために、 T I M 3 阻害は、腫瘍において発現される組換えタンパク質および / またはペプチドの収集物とともに使用できる。これらのタンパク質は、正常には、自己抗原として免疫系によって見なされ、したがって、それらに対して寛容である。腫瘍抗原は、染色体のテロメアの合成に必要であり、ヒトがんの 8 5 % 超において、および限定された数の体細胞組織のみにおいて発現されるタンパク質テロメラーゼを含み得る (Kim et al. (1994) Science 266: 2011-2013) 。腫瘍抗原はまた、タンパク質配列を変更するか、または 2 種の無関係の配列間の融合タンパク質 (すなわち、フィラデルフィア染色体中の b c r - a b l) もしくは B 細胞腫瘍からのイディオタイプを作製する体細胞突然変異のためにがん細胞において発現される「ネオ抗原」であり得る。

【 0 4 6 1 】

その他の腫瘍ワクチンは、ヒトパピローマウイルス (H P V) 、肝炎ウイルス (H B V および H C V) およびカポジヘルペス肉腫ウイルス (K H S V) のようなヒトがんに関わるウイルスに由来するタンパク質を含み得る。 T I M 3 阻害とともに使用できる腫瘍特異的抗原の別の形態として、腫瘍組織自体から単離された精製された熱ショックタンパク質 (H S P) がある。これらの熱ショックタンパク質は、腫瘍細胞に由来するタンパク質の断片を含有し、これらの H S P は、腫瘍免疫を誘発するための抗原提示細胞への送達で高度に効率的である (Suot & Srivastava (1995) Science 269:1585-1588; Tamura et al. (1997) Science 278:117-120) 。

【 0 4 6 2 】

樹状細胞 (D C) は、抗原特異的応答をプライムするために使用できる強力な抗原提示細胞である。 D C は、エキソビオで生産され、種々のタンパク質およびペプチド抗原ならびに腫瘍細胞抽出物を搭載させることができる (Nestle et al. (1998) Nature Medicine 4: 328-332) 。 D C はまた、同様にこれらの腫瘍抗原を発現するよう遺伝的手段によって形質導入できる。 D C はまた、免疫処置を目的として腫瘍細胞と直接融合されている (Kugler et al. (2000) Nature Medicine 6:332-336) 。ワクチン化の方法として、より強力な抗腫瘍応答を活性化するよう、 D C 免疫処置を、 T I M 3 阻害と効率的に組み合わせることができる。

【 0 4 6 3 】

T I M 3 阻害はまた、標準がん治療 (例えば、外科手術、放射線および化学療法) と組み合わせることができる。 T I M 3 阻害は、化学療法治療計画と効率的に組み合わせができる。これらの場合には、投与される化学療法試薬の用量を低減することが可能であり得る (Mokyr et al. (1998) Cancer Research 58: 5301-5304) 。このような組合せの一例として、黒色腫の治療のためのデカルバジン (decarbazine) と組み合わせた抗 T I M 3 抗体がある。このような組合せの別の例として、黒色腫の治療のためのインターロイキン - 2 (I L - 2) と組み合わせた抗 T I M 3 抗体がある。 T I M 3 阻害および化学療法の組合せ使用の背後の科学的論拠は、ほとんどの化学療法薬化合物の細胞傷害性作用の結果である細胞死が、抗原提示経路における腫瘍抗原のレベルの増大をもたらすはずであるということである。細胞死による、 T I M 3 阻害との相乗作用をもたらし得るその他の併用治療として、放射線照射、手術およびホルモン欠乏がある。これらのプロトコールの各々は、宿主において腫瘍抗原の供給源を作製する。血管新生阻害剤もまた、 T I M 3 阻害と組み合わせることができる。血管新生の阻害は、腫瘍細胞死につながり、これが、腫瘍抗原を宿主抗原提示経路に供給し得る。

【 0 4 6 4 】

本明細書に記載される抗 T I M 3 抗体はまた、適宜免疫 - 肿瘍学薬剤 (例えば、抗 P D - 1 抗体) とともに、腫瘍細胞に対する F c または F c 受容体を発現するエフェクター細胞を標的とする二重特異性抗体と組み合わせて使用できる (例えば、米国特許第 5,922,845 号および同第 5,837,243 号を参照のこと) 。 2 種の別個の抗原を標的とす

10

20

30

40

50

るよう二重特異性抗体を使用できる。例えば、抗 Fc 受容体 / 抗腫瘍抗原（例えば、Her-2/neu）二重特異性抗体が、腫瘍の部位に対するマクロファージを標的とするために使用されている。この標的化は、腫瘍特異的応答を効率的に活性化し得る。これらの応答の T 細胞アームは、TIM-3 の阻害によって増大される。あるいは、抗原は、腫瘍抗原および樹状細胞特異的細胞表面マーカーと結合する二重特異性抗体の使用によって DC に直接送達され得る。

【0465】

腫瘍は、多種多様な機序によって宿主免疫監視を回避する。これらの機序のうち多くは、腫瘍によって発現され、免疫抑制であるタンパク質の不活性化によって克服され得る。これらは、中でも、TGF- β (Kehrl et al. (1986) J. Exp. Med. 163: 1037-1050) 10 および IL-10 (Howard & O'Garra (1992) Immunology Today 13: 198-200) および Fas リガンド (Hahne et al. (1996) Science 274: 1363-1365) を含む。これらの実体の各々に対する抗体は、免疫抑制剤の効果に対抗し、宿主による腫瘍免疫応答に有利に働くよう、抗 TIM-3 抗体と組み合わせて使用できる。

【0466】

宿主免疫応答性を活性化するその他の抗体を、抗 TIM-3 抗体と組み合わせて使用できる。これらは、DC 機能および抗原提示を活性化する樹状細胞の表面上の分子を含む。抗 CD40 抗体は、効率的に、T 細胞ヘルパー活性の代わりとなることができ (Ridge et al. (1998) Nature 393: 474-478) 、抗 TIM-3 抗体とともに使用できる。CTLA-4 (例えば、米国特許第 5,811,097) 、OX-40 (Weinberg et al. (2000) Immuno 20 unol 164: 2160-2169) 、4-1BB (Melero et al. (1997) Nature Medicine 3: 682-685 (1997) および ICOS (Hutloff et al. (1999) Nature 397: 262-266) などの T 細胞共刺激分子に対する抗体を活性化することはまた、T 細胞活性化のレベルの増大を提供し得る。PD-1 または PD-L1 の阻害剤もまた、抗 TIM-3 抗体とともに使用してもよい。その他の組合せは、本明細書の別の箇所に提供される。

【0467】

骨髄移植は現在、造血起源の種々の腫瘍を処置するために使用されている。この処置の結果として、移植片対宿主病があるが、治療的利点が、移植片対腫瘍の応答から得ることができる。TIM-3 阻害を使用して、ドナーから移植された腫瘍特異的 T 細胞の有効性を増大することができる。

【0468】

抗原特異的 T 細胞のエキソビオ活性化および拡大、および腫瘍に対する抗原特異的 T 細胞を刺激するための、これらの細胞のレシピエントへの養子移植を含むいくつかの実験治療プロトコールも存在する (Greenberg & Riddell Science 285: 546-51)。これらの方法はまた、CMV などの感染性病原体に対する T 細胞応答を活性化するよう使用できる。抗 TIM-3 の存在下でのエキソビオ活性化は、養子導入された T 細胞の頻度および活性を増大することができる。

【0469】

XV. 感染性疾患

本明細書に記載される方法は、特定の毒素または病原体に曝露された患者を治療するためにも使用され得る。したがって、本明細書に記載される別の態様は、対象が感染性疾患について治療されるように、対象に抗 TIM-3 抗体またはその抗原結合部分を投与することを含む、対象において感染性疾患を治療する方法を提供する。さらに、またはあるいは、抗体は、キメラ抗体またはヒト化抗体であり得る。

【0470】

上述のような腫瘍へのその適用と同様に、抗体媒介性 TIM-3 阻害を、単独で、またはアジュバントとして、ワクチンと組み合わせて使用して、病原体、毒素および自己抗原に対する免疫応答を刺激することができる。この治療的アプローチが特に有用であり得る病原体の例としては、現在有効なワクチンが存在しない病原体、または従来的なワクチンが、完全な有効性に満たない病原体が挙げられる。これらには、HIV、肝炎 (A、B および

10

20

30

40

50

C)、インフルエンザ、ヘルペス、ジアルジア症、マラリア、リーシュマニア症、黄色ブドウ球菌、シードモナス・エルギノーザが挙げられるが、これらに限定されない。TIM3阻害は、感染の過程にわたって変更された抗原を提示する、HIVなどの作用因子による確立された感染症に対して有用であり得る。これらの新規なエピトープは、抗ヒトTIM3抗体の投与の時点では外来として認識され、したがって、強力なT細胞応答を誘起する。

【0471】

本明細書に記載される方法によって処置可能な感染症を引き起こす病原性ウイルスのいくつかの例としては、HIV、肝炎(A、BまたはC)、ヘルペスウイルス(例えば、VZV、HSV-1、HAV-6、HSV-IIおよびCMV、エプスタイン・バーウイルス)、アデノウイルス、インフルエンザウイルス、ラビウイルス、エコーウイルス、ライノウイルス、コクサッキーウイルス、コロナウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、ムンブスウイルス、ロタウイルス、麻疹ウイルス、風疹ウイルス、パルボウイルス、ワクシニアウイルス、HTLVウイルス、デングウイルス、パピローマウイルス、軟疣ウイルス、ポリオウイルス、狂犬病ウイルス、JCウイルスおよびアルボウイルス脳炎ウイルスが挙げられる。

10

【0472】

本明細書に記載される方法によって処置可能な感染症を引き起こす病原性細菌のいくつかの例としては、クラミジア、リケッチア菌、マイコバクテリウム、ブドウ球菌、レンサ球菌、肺炎球菌(*pneumonococci*)、髄膜炎菌および淋菌、クレブシエラ、プロテウス、セラチア、シードモナス、レジオネラ、ジフテリア、サルモネラ、桿菌、コレラ、破傷風、ボツリヌス毒、炭疽菌、疫病、レプトスピラならびにライム病菌が挙げられる。

20

【0473】

本明細書に記載される方法によって処置可能な感染症を引き起こす病原性真菌のいくつかの例としては、カンジダ(アルビカанс、クルセイ、グラプラタ、トロピカリスなど)、クリプトコッカス・ネオフォルマンス、アスペルギルス(フミガーツス、ニガーなど)、ケカビ属(ムコール、アブシジア、リゾpus)、スプロロスリックス・シェンキー(*Sporothrix schenkii*)、ブラストマイセス・デルマチチジス(*Blastomyces dermatitidis*)、パラコクシジオイデス・ブラジリエンシス(*Paracoccidioides brasiliensis*)、コクシジオイデス・イミチス(*Coccidioides immitis*)およびヒストプラズマ・カプスラツム(*Histoplasma capsulatum*)が挙げられる。

30

【0474】

本明細書に記載される方法によって処置可能な感染症を引き起こす病原性寄生生物のいくつかの例としては、エントアメーバ・ヒストリティカ(*Entamoeba histolytica*)、大腸バランチジウム(*Balantidium coli*)、ネグレリア・フォーレリ(*Naegleria fowleri*)、アカントアメーバ種(*Acanthamoeba sp.*)、ジアルジア・ランブリア(*Giardia lamblia*)、クリプトスボリジウム種(*Cryptosporidium sp.*)、ニューモシスチス・カリニ(*Pneumocystis carinii*)、プラスモディウム・ビバックス(*Plasmodium vivax*)、バベシア・ミクロチ(*Babesia microti*)、トリパノソーマ・ブルセイ(*Trypanosoma brucei*)、トリパノソーマ・クルージ(*Trypanosoma cruzi*)、リーシュマニア・ドノバン(*Leishmania donovani*)、トキソプラズマ・ゴンヂ(*Toxoplasma gondii*)およびニッポストロンジラス・ブラジリエンシス(*Nippostrongylus brasiliensis*)が挙げられる。

40

【0475】

上記の方法の全てにおいて、TIM3阻害を、サイトカイン治療(例えば、インターフェロン、GM-CSF、G-CSF、IL-2)または腫瘍抗原の提示の増強を提供する二重特異性抗体療法(例えば、Holliger(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448、Poljak(1994) Structure 2:1121-1123を参照のこと)などの、例えば本明細書に記載される、その他の形態の免疫療法と組み合わせることができる。

【0476】

50

X V I . C . 自己免疫反応

抗T I M 3抗体は、自己免疫応答を誘起し、増幅し得る。実際に、腫瘍細胞およびペプチドワクチンを使用した抗腫瘍応答の誘導により、多数の抗腫瘍応答には、抗自己反応性が関与することが明らかとなっている (van Elsas et al. (2001) J. Exp. Med. 194:481-489、Overwijk, et al. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96: 2982-2987、Hurvitz, (2000) 上記、Rosenberg & White (1996) J. Immunother Emphasis Tumor Immunol 19 (1): 81-4)。したがって、疾患の処置に様々な自己タンパク質に対する免疫応答を効率的に生成するワクチン接種プロトコールを考え出すために、抗T I M 3抗体を、これらの自己タンパク質とともに使用することを検討することが可能である。例えば、アルツハイマー病には、脳のアミロイド沈着におけるペプチドの不適切な蓄積が関与し、アミロイドに対する抗体応答は、これらのアミロイド沈着を取り除くことができる (Schenk et al., (1999) Nature 400: 173-177)。

【 0 4 7 7 】

アレルギーおよび喘息の処置のためのI g Eならびにリウマチ性関節炎のためのT N F -など、他の自己タンパク質もまた、標的として使用することができる。最終的に、種々のホルモンに対する抗体応答を、抗T I M 3抗体の使用によって誘導することができる。生殖ホルモンに対する抗体応答の中和は、避妊として使用することができる。特定の腫瘍の成長に必要なホルモンおよび他の可溶性因子に対する抗体応答の中和はまた、可能性のあるワクチン接種標的と考えることができる。

【 0 4 7 8 】

抗T I M 3抗体の使用に関して上述のものと類似の方法を、他の自己抗原、例えば、アルツハイマー病における を含む、アミロイド沈着、サイトカイン、例えば、T N F -、およびI g Eの不適切な蓄積を有する患者を治療するために、治療的自己免疫応答の誘導に使用することができる。

【 0 4 7 9 】

X V I . D . ワクチン

本明細書に記載される抗T I M 3抗体は、抗T I M 3抗体と目的の抗原（例えば、ワクチン）との共投与によって、抗原特異的免疫応答を刺激するために使用することができる。したがって、対象において抗原に対する免疫応答を増強する方法であって、対象において抗原に対する免疫応答が増強されるように、対象に、(i) 抗原、および(i i) 抗T I M 3抗体またはその抗原結合部分を投与することを含む、方法が、本明細書において提供される。抗体は、ヒト抗ヒトT I M 3抗体（例えば、本明細書に記載されるヒト抗T I M 3抗体のいずれか）であり得る。さらに、またはあるいは、抗体は、キメラ抗体またはヒト化抗体であり得る。抗原は、例えば、腫瘍抗原、ウイルス抗原、細菌抗原または病原体由来の抗原であり得る。そのような抗原の非限定的な例としては、上述の節において考察されたもの、例えば、上述の腫瘍抗原（もしくは腫瘍ワクチン）、または上述のウイルス、細菌もしくはその他の病原体に由来する抗原が挙げられる。

【 0 4 8 0 】

特定の実施形態では、抗T I M 3抗体が結合するエピトープを含むペプチドまたは融合タンパク質が、抗T I M 3抗体の代わりにまたはそれに加えて、ワクチンとして使用される。

【 0 4 8 1 】

本明細書に記載される抗体組成物（例えば、ヒトモノクローナル抗体、多重特異性および二重特異性分子ならびにイムノコンジュゲート）をインビボおよびインビトロで投与する好適な経路は、当技術分野において周知であり、当業者によって選択され得る。例えば、抗体組成物は、注射（例えば、静脈内または皮下）によって投与され得る。使用される分子の好適な投与量は、対象の年齢および体重ならびに抗体組成物の濃度および／もしくは製剤に依存するであろう。

【 0 4 8 2 】

前述のように、本明細書に記載される抗T I M 3抗体は、1つまたはその他の複数の治療剤、例えば、細胞傷害性薬剤、放射線毒性薬剤または免疫抑制剤と共に投与され得る。抗体

10

20

30

40

50

は、薬剤と連結されてもよく（免疫複合体として）、または薬剤とは別個に投与されてもよい。後者の事例（別個の投与）では、抗体は、薬剤の前、後もしくは同時に投与されてもよく、または他の公知の治療法、例えば、抗がん療法、例えば、放射線と共に投与されてもよい。そのような治療剤としては、とりわけ、抗新生物剤、例えば、ドキソルビシン（アドリアマイシン）、シスプラチン、硫酸ブレオマイシン、カルムスチン、クロラムブシリル、ダカルバジンおよびシクロホスファミドヒドロキシ尿素が挙げられ、これらは、それ自体では、患者に対して毒性または準毒性のレベルでのみ有効である。シスプラチンは、100 mg / ml の用量として、4週間に1回静脈内投与され、アドリアマイシンは、60 ~ 75 mg / ml の用量として、21日に1回静脈内投与される。本明細書に記載される抗T M 3 抗体またはその抗原結合断片の、化学療法剤との共投与により、異なる機序で作動する2つの抗がん剤が提供され、これによりヒト腫瘍細胞に対して細胞傷害性作用が生じる。そのような共投与により、腫瘍細胞を抗体に非反応性にするであろう薬物に対する耐性の発生または腫瘍細胞の抗原性における変化に起因する問題が解決され得る。

【0483】

本明細書に記載される抗体組成物（例えば、ヒト抗体、二重特異性もしくは多重特異性分子またはイムノコンジュゲート）および使用のための説明書を含む、キットもまた、本明細書に記載される範囲内である。キットは、少なくとも1つの追加の試薬、または1つもしくは複数の追加の本明細書に記載されるヒト抗T M 3 抗体（例えば、第1のヒト抗体とは異なるT M 3 抗原のエピトープに結合する相補性活性を有するヒト抗体）をさらに含んでもよい。キットは、典型的に、キットの内容物の意図される使用を示すラベルを含む。ラベルという用語は、キットの上にもしくはキットとともに提供されるかまたはキットに付随する、任意の記述または記録材料を含む。

【0484】

X V I . E . 併用療法

上記に提供される併用療法に加えて、抗T M 3 抗体、例えば、本明細書に記載されるものはまた、例えば、以下に記載されるように、がんを処置するための併用療法において使用できる。

【0485】

抗T M 3 抗体を、1以上のさらなる薬剤、例えば、免疫応答を刺激するのに有効である小分子薬、抗体またはその抗原結合部分と同時投与し、それによって、対象において免疫応答をさらに増強、刺激または上方制御する併用療法の方法が、本明細書において提供される。

【0486】

一般に、例えば、本明細書に記載される、抗T M 3 抗体は、(i) 刺激性（例えば、共刺激性）分子（例えば、受容体もしくはリガンド）のアゴニストならびに／または(ii) 免疫細胞、例えば、T細胞上の阻害性シグナルもしくは分子（例えば、受容体もしくはリガンド）のアンタゴニストと組み合わせることができ、これらのいずれも、免疫応答、例えば、抗原特異的T細胞応答の増幅をもたらす。特定の態様では、免疫・腫瘍学薬剤は、(i) 刺激性（共刺激性を含む）分子（例えば、受容体もしくはリガンド）のアゴニスト、または(ii) 細胞、例えば、T細胞活性化を阻害するものまたは自然免疫に関与するもの、例えば、NK細胞上の阻害性（共阻害性を含む）分子（例えば、受容体もしくはリガンド）のアンタゴニストであり、ここで、免疫・腫瘍学薬剤は、自然免疫を増強する。そのような免疫・腫瘍学薬剤は、しばしば、免疫チェックポイント制御因子、例えば、免疫チェックポイント阻害剤または免疫チェックポイント刺激剤と称される。

【0487】

特定の実施形態では、抗T M 3 抗体は、免疫グロブリンスーパーファミリー（IgSF）のメンバーである、刺激性分子または阻害性分子を標的とする薬剤とともに投与される。例えば、抗T M 3 抗体、例えば、本明細書に記載されるものは、免疫応答を増大させるために、IgSFファミリーのメンバーを標的とする薬剤とともに、対象に投与され得る。例えば、抗T M 3 抗体は、B7-1、B7-2、B7-H1（PD-L1）、B7

- D C (P D - L 2)、B 7 - H 2 (I C O S - L)、B 7 - H 3、B 7 - H 4、B 7 - H 5 (V I S T A)およびB 7 - H 6 を含む、膜結合型リガンドのB 7 ファミリーのメンバー、またはB 7 ファミリーメンバーと特異的に結合する共刺激性もしくは共阻害性受容体もしくはリガンドを標的とする(もしくはそれと特異的に結合する)、薬剤とともに、投与され得る。

【 0 4 8 8 】

抗T I M 3 抗体はまた、分子のT N F およびT N F R ファミリーのメンバー(リガンドまたは受容体)、例えば、C D 4 0 およびC D 4 0 L、O X - 4 0 、O X - 4 0 L、C D 7 0 、C D 2 7 L、C D 3 0 、C D 3 0 L、4 - 1 B B L、C D 1 3 7 、T R A I L / A p o 2 - L、T R A I L R 1 / D R 4 、T R A I L R 2 / D R 5 、T R A I L R 3 、T R A I L R 4 、O P G 、R A N K 、R A N K L 、T W E A K R / F n 1 4 、T W E A K 、B A F F R 、E D A R 、X E D A R 、T A C I 、A P R I L 、B C M A 、L T p R 、L I G H T 、D c R 3 、H V E M 、V E G I / T L 1 A 、T R A M P / D R 3 、E D A 1 、E D A 2 、T N F R 1 、リンホトキシンa / T N F p 、T N F R 2 、T N F a 、L T p R 、リンホトキシンa 1 ~ 2 、F A S 、F A S L 、R E L T 、D R 6 、T R O Y ならびにN G F R を標的とする薬剤とともに、投与され得る(例えば、Tansey (2009) Drug Discovery Today 00: 1を参照のこと)。

10

【 0 4 8 9 】

T 細胞応答は、例えば、T I M 3 . 2 、T I M 3 . 4 、T I M 3 . 5 、T I M 3 . 6 、9 F 6 、8 B 9 、T I M 3 . 9 、T I M 3 . 1 0 、T I M 3 . 1 1 、T I M 3 . 1 2 、T I M 3 . 1 3 、T I M 3 . 1 4 、T I M 3 . 1 5 、T I M 3 . 1 6 、T I M 3 . 1 7 、T I M 3 . 1 8 、T I M 3 . 7 およびT I M 3 . 8 の可変領域を有する抗T I M 3 抗体と、以下の薬剤の1つ以上との組合せによって、刺激され得る。

20

(1) C T L A - 4 、P D - 1 、P D - L 1 、P D - L 2 、G I T R 、およびL A G - 3 、ガレクチン9、C E A C A M - 1 、B T L A 、C D 6 9 、ガレクチン- 1 、T I G I T 、C D 1 1 3 、G P R 5 6 、V I S T A 、B 7 - H 3 、B 7 - H 4 、2 B 4 、C D 4 8 、G A R P 、P D 1 H 、L A I R 1 、T I M - 1 、およびT I M - 4 など、T 細胞活性化を阻害するタンパク質(例えば、免疫チェックポイント阻害因子)のアンタゴニスト(阻害剤もしくは遮断剤)、ならびに/または

(2) B 7 - 1 、B 7 - 2 、C D 2 8 、4 - 1 B B (C D 1 3 7) 、4 - 1 B B L 、G I T R 、I C O S 、I C O S - L 、O X 4 0 、O X 4 0 L 、C D 7 0 、C D 2 7 、C D 4 0 、D R 3 およびC D 2 8 H など、T 細胞活性化を刺激するタンパク質のアゴニスト。

30

【 0 4 9 0 】

上記のタンパク質の1つを調節し、がんを治療するために抗T I M 3 抗体、例えば、本明細書に記載されるものと組み合わせができる例示的薬剤として、Y E R V O Y (登録商標)(イピリムマブ)またはトレメリムマブ(C T L A - 4 に対する)、ガリキシマブ(B 7 . 1 に対する)、B M S - 9 3 6 5 5 8 (P D - 1 に対する)、M K - 3 4 7 5 (P D - 1 に対する)、アテゾリズマブ(T E C E C T R I Q (登録商標))、A M P 2 2 4 (B 7 D C に対する)、B M S - 9 3 6 5 5 9 (B 7 - H 1 に対する)、M P D L 3 2 8 0 A (B 7 - H 1 に対する)、M E D I - 5 7 0 (I C O S に対する)、A M G 5 5 7 (B 7 H 2 に対する)、M G A 2 7 1 (B 7 H 3 に対する)、I M P 3 2 1 (L A G - 3 に対する)、B M S - 6 6 3 5 1 3 (C D 1 3 7 に対する)、P F - 0 5 0 8 2 5 6 6 (C D 1 3 7 に対する)、C D X - 1 1 2 7 (C D 2 7 に対する)、抗O X - 4 0 (P r o v i d e n c e Health Services)、h u M A b O X 4 0 L (O X 4 0 L に対する)、アタシセプト(T A C I に対する)、C P - 8 7 0 8 9 3 (C D 4 0 に対する)、ルカツムマブ(C D 4 0 に対する)、ダセツズマブ(C D 4 0 に対する)、ムロモナブ-C D 3 (C D 3 に対する)、抗G I T R 抗体M K 4 1 6 6 、T R X 5 1 8 、M e d i 1 8 7 3 、I N B R X - 1 1 0 、L K 2 - 1 4 5 、G W N - 3 2 3 、G I T R L - F c 、またはこれらの任意の組合せが挙げられる。

40

【 0 4 9 1 】

50

がんの治療のために抗TIM3抗体と組み合わせることができるその他の分子として、NK細胞上の阻害性受容体のアンタゴニストまたはNK細胞上の活性化受容体のアゴニストが挙げられる。例えば、抗TIM3抗体を、KIRのアンタゴニスト（例えば、リリルマブ（lirilumab））と組み合わせることができる。

【0492】

T細胞活性化は、可溶性サイトカインによっても制御され、抗TIM3抗体は、T細胞活性化を阻害するサイトカインのアンタゴニストまたはT細胞活性化を刺激するサイトカインのアゴニストとともに、例えばがんを有する対象に投与され得る。

【0493】

特定の実施形態では、抗TIM3抗体を、(i) T細胞活性化を阻害する、IgSFファミリーもしくはB7ファミリーもしくはTNFファミリーのタンパク質のアンタゴニスト（または阻害剤もしくは遮断剤）またはT細胞活性化を阻害するサイトカイン（例えば、IL-6、IL-10、TGF-、VEGF「免疫抑制サイトカイン」）のアンタゴニストおよび/または(ii) 免疫応答を刺激するための、例えば、がんなどの増殖性疾患を治療するためのIgSFファミリー、B7ファミリーもしくはTNFファミリーの、またはT細胞活性化を刺激するサイトカインの刺激性受容体のアゴニストと組み合わせて使用できる。10

【0494】

併用療法のためのさらにその他の薬剤として、マクロファージまたは単球を阻害または枯渇させる薬剤、それだけには限らないが、RG7155 (WO11/70024、WO11/107553、WO11/131407、WO13/87699、WO13/119716、WO13/132044) またはFPA-008 (WO11/140249、WO13/169264、WO14/036357) を含めたCSF-1Rアンタゴニスト抗体などのCSF-1Rアンタゴニストが挙げられる。20

【0495】

抗TIM3抗体はまた、TGF-シグナル伝達を阻害する薬剤とともに投与してもよい。

【0496】

抗TIM3抗体と組み合わせができるさらなる薬剤として、腫瘍抗原提示を増強する薬剤、例えば、樹状細胞ワクチン、GM-CSF分泌細胞性ワクチン、CpGオリゴヌクレオチドおよびイミキモド、または腫瘍細胞の免疫原性を増強する治療法（例えば、アントラサイクリン）が挙げられる。30

【0497】

抗TIM3抗体と組み合わせができるさらなる他の治療法として、Treg細胞を枯渇または遮断する治療法、例えば、CD25に特異的に結合する薬剤が挙げられる。

【0498】

抗TIM3抗体と組み合わせができる別の治療法は、インドールアミンジオキシゲナーゼ (IDO)、ジオキシゲナーゼ、アルギナーゼまたは一酸化窒素シンテターゼなどの代謝酵素を阻害する治療法である。

【0499】

抗TIM3抗体とともに使用され得る別のクラスの薬剤として、アデノシンの形成を阻害する薬剤、例えばCD73阻害剤またはアデノシンA2A受容体を阻害する薬剤が挙げられる。40

【0500】

がんを治療するために抗TIM3抗体と組み合わせができる他の治療法として、T細胞アネルギーまたはT細胞消耗を逆転/防止する治療法ならびに腫瘍部位における先天免疫活性化および/または炎症を引き起こす治療法が挙げられる。

【0501】

がんを治療するために抗TIM3抗体と組み合わせができるその他の治療法は、IL-8を遮断する治療法、例えば、HuMax-IL8を用いるものが挙げられる。

【0502】

10

20

30

40

50

抗T I M 3抗体は、1種を上回る免疫・腫瘍学薬剤と組み合わせてもよく、例えば、次の腫瘍抗原の提示を増強する治療法（例えば、樹状細胞ワクチン、G M - C S F 分泌細胞性ワクチン、C p Gオリゴヌクレオチド、イミキモド）；例えば、C T L A - 4および／もしくはP D 1 / P D - L 1 / P D - L 2 経路を阻害するならびに／またはT r e gもししくは他の免疫抑制細胞を枯渇もしくは遮断することによって、負の免疫制御を阻害する治療法；例えば、C D - 1 3 7、O X - 4 0 および／もしくはC D 4 0もしくはG I T R 経路を刺激するアゴニストならびに／またはT細胞エフェクター機能を刺激するアゴニストを用いて、正の免疫調節を刺激する治療法；抗腫瘍T細胞の頻度を全身的に増大させる治療法；例えば、C D 2 5のアンタゴニスト（例えば、ダクリズマブ）を使用してまたはエキソビボでの抗C D 2 5ビーズ枯渇によって腫瘍におけるT r e gなどのT r e gを枯渇または阻害する治療法；腫瘍における抑制骨髄系細胞の機能に影響を及ぼす治療法；腫瘍細胞の免疫原性を増強する治療法（例えば、アントラサイクリン）；遺伝子修飾された細胞、例えば、キメラ抗原受容体によって修飾された細胞（C A R - T療法）を含む、養子T細胞またはN K細胞移入；インドールアミンジオキシゲナーゼ（I D O）、ジオキシゲナーゼ、アルギナーゼまたは一酸化窒素シンテターゼなどの代謝酵素を阻害する治療法；T細胞アネルギーまたはT細胞消耗を逆転／防止する治療法；腫瘍部位における先天免疫活性化および／または炎症を引き起こす治療法；免疫刺激サイトカインの投与；あるいは免疫抑制サイトカインの遮断の1つ以上など、免疫経路の複数の要素を標的とするコンビナトリアルアプローチと組み合わせてもよい。

10

【0503】

20

本明細書に記載される抗T I M 3抗体は、1以上の、陽性共刺激性受容体をライゲーションするアゴニスト剤、阻害性受容体によるシグナル伝達を減弱する遮断薬、アンタゴニストならびに1以上の、抗腫瘍T細胞の頻度を全身性に増大する薬剤、腫瘍微小環境内のそれぞれの免疫抑制経路に克服する（例えば阻害性受容体の関与（例えば、P D - L 1 / P D - 1相互作用）を遮断しT r e gを枯渇または阻害し（例えば、抗C D 2 5モノクローナル抗体（例えば、ダクリズマブ）を使用して、またはエキソビボ抗C D 2 5ビーズ枯渇によって）、I D Oなどの代謝酵素を阻害するか、またはT細胞アネルギーもしくは消耗を逆転させる／防ぐ）薬剤および先天性免疫活性化および／または腫瘍部位での炎症の引き金を引く薬剤と一緒に使用できる。

【0504】

30

特定の実施形態では、抗T I M 3抗体は、対象が、B R A F V 6 0 0突然変異に関して陽性である場合、B R A F阻害剤と一緒に対象に投与される。

【0505】

本明細書に記載される併用療法において使用するための適したP D - 1アンタゴニストとして、制限するものではないが、リガンド、抗体（例えば、モノクローナル抗体および二重特異性抗体）および多価薬剤が挙げられる。一実施形態では、P D - 1アンタゴニストは、融合タンパク質、例えば、A M P - 2 4 4などのF c融合タンパク質である。一実施形態では、P D - 1アンタゴニストは、抗P D - 1または抗P D - L 1抗体である。

【0506】

例示的抗P D - 1抗体として、ニボルマブ（B M S - 9 3 6 5 5 8）またはW O 2 0 0 6 / 1 2 1 1 6 8に記載される抗体1 7 D 8、2 D 3、4 H 1、5 C 4、7 D 3、5 F 4および4 A 1 1のうち1種のC D Rもしくは可変領域を含む抗体がある。特定の実施形態では、抗P D - 1抗体は、W O 2 0 1 2 / 1 4 5 4 9 3に記載されるM K - 3 4 7 5（ランプロリズマブ）；W O 2 0 1 2 / 1 4 5 4 9 3に記載されるA M P - 5 1 4；またはP D R 0 0 1；である。さらに公知のP D - 1抗体およびその他のP D - 1阻害剤として、W O 2 0 0 9 / 0 1 4 7 0 8、W O 0 3 / 0 9 9 1 9 6、W O 2 0 0 9 / 1 1 4 3 3 5、W O 2 0 1 1 / 0 6 6 3 8 9、W O 2 0 1 1 / 1 6 1 6 9 9、W O 2 0 1 2 / 1 4 5 4 9 3、米国特許第7,635,757号および同8,217,149号ならびに米国特許公開第2009/0317368号に記載されるものが挙げられる。W O 2 0 1 3 / 1 7 3 2 2 3に開示される抗P D - 1抗体のいずれかも使用してもよい。これらの抗体のうち1種と同様

40

50

に、結合について P D - 1 上の同一エピトープと競合する、および／または P D - 1 上の同一エピトープと結合する抗 P D - 1 抗体も、併用治療において使用してもよい。

【 0 5 0 7 】

いくつかの実施形態では、併用療法に有用な抗 P D - L 1 抗体は、B M S - 9 3 6 5 5 9 (W O 2 0 0 7 / 0 0 5 8 7 4 および米国特許第 7,9 4 3,7 4 3 号では 1 2 A 4 と呼ばれる) または P C T 公開 W O 0 7 / 0 0 5 8 7 4 および米国特許第 7,9 4 3,7 4 3 号に記載される 3 G 1 0 、 1 2 A 4 、 1 0 A 5 、 5 F 8 、 1 0 H 1 0 、 1 B 1 2 、 7 H 1 、 1 1 E 6 、 1 2 B 7 および 1 3 G 4 の C D R もしくは可変領域を含む抗体である。特定の実施形態では、抗 P D - L 1 抗体は、M E D I 4 7 3 6 (デュルバルマブおよび抗 B 7 - H 1 としても知られている) 、M P D L 3 2 8 0 A (アテゾリズマブおよび R G 7 4 4 6 としても知られている) 、M S B 0 0 1 0 7 1 8 C (アベルマブとしても知られている、W O 2 0 1 3 / 7 9 1 7 4) または r H i g M 1 2 B 7 である。W O 2 0 1 3 / 1 7 3 2 2 3 、W O 2 0 1 1 / 0 6 6 3 8 9 、W O 2 0 1 2 / 1 4 5 4 9 3 、米国特許第 7,6 3 5,7 5 7 号および同 8,2 1 7,1 4 9 号および米国特許公開第 2 0 0 9 / 1 4 5 4 9 3 号において開示される抗 P D - L 1 抗体のいずれも使用してもよい。これらの抗体のいずれかのものと同一のエピトープと競合する、および／またはそれと結合する抗 P D - L 1 抗体も、併用治療において使用してもよい。

【 0 5 0 8 】

特定の実施形態では、本開示の抗 T I M 3 抗体は、C T L A - 4 アンタゴニスト、例えば、抗 C T L A - 4 抗体とともに使用することができる。一実施形態では、対象は、ヒトである。特定の実施形態では、抗 C T L A - 4 抗体は、Y E R V O Y (登録商標) (P C T 公開 W O 0 1 / 1 4 4 2 4 に記載されるイピリムマブまたは抗体 1 0 D 1) 、トレメリムマブ (以前は、チシリムマブ、C P - 6 7 5,2 0 6) 、モノクローナルまたは以下の刊行物 : W O 9 8 / 4 2 7 5 2 ; W O 0 0 / 3 7 5 0 4 ; 米国特許第 6,2 0 7,1 5 6 ; Hurwitz et al. (1998) Pro. Natl. Acad. Sci. USA 95(17):10067-10071; Camacho et al. (2004) J. Clin. Oncology 22(145):Abstract No. 2505(抗体 CP-675206) ; および Mokyr et al. (1998) Cancer Res. 58:5301-5304 のいずれかに記載される抗 C T L A - 4 抗体の群から選択される抗体である。W O 2 0 1 3 / 1 7 3 2 2 3 に開示される抗 C T L A - 4 抗体のいずれも、使用してよい。

【 0 5 0 9 】

他の実施形態では、本開示の抗 T I M 3 抗体は、L A G 3 アンタゴニストと組み合わせて使用される。抗 L A G 3 抗体の例として、米国特許公開 U S 2 0 1 1 / 0 1 5 0 8 9 2 、W O 1 0 / 1 9 5 7 0 および W O 2 0 1 4 / 0 0 8 2 1 8 に記載されている、抗体 2 5 F 7 、2 6 H 1 0 、2 5 E 3 、8 B 7 、1 1 F 2 または 1 7 E 5 の C D R もしくは可変領域を含む抗体が挙げられる。一実施形態では、抗 L A G - 3 抗体は、B M S - 9 8 6 0 1 6 である。使用できる、その他の当技術分野で認識される抗 L A G - 3 抗体として、U S 2 0 1 1 / 0 0 7 0 2 3 、W O 0 8 / 1 3 2 6 0 1 および W O 0 9 / 4 4 2 7 3 に記載される I M P 7 3 1 および I M P - 3 2 1 が挙げられる。I M P - 3 2 1 もまた、使用され得る。これらの抗体のいずれかのものと同一のエピトープと競合する、および／またはそれと結合する抗 L A G - 3 抗体も、併用治療において使用してもよい。

【 0 5 1 0 】

いくつかの実施形態では、本開示の抗 T I M 3 抗体は、C D 1 3 7 (4 - 1 B B) アゴニスト、例えば、アゴニスト C D 1 3 7 抗体と組み合わせて投与され得る。好適な C D 1 3 7 抗体としては、例えば、ウレルマブまたは P F - 0 5 0 8 2 5 6 6 (W O 1 2 / 3 2 4 3 3) が挙げられる。

【 0 5 1 1 】

他の実施形態では、抗 T I M 3 抗体は、O X 4 0 アゴニスト、例えば、アゴニスト O X 4 0 抗体と組み合わせて投与され得る。好適な O X 4 0 抗体としては、例えば、M E D I - 6 3 8 3 、M E D I - 6 4 6 9 または M O X R 0 9 1 6 (R G 7 8 8 8 、W O 0 6 / 0 2 9 8 7 9) が挙げられる。

10

20

30

40

50

【 0 5 1 2 】

一実施形態では、抗T I M 3抗体は、C D 4 0アゴニスト、例えば、アゴニストC D 4 0抗体と組み合わせて投与され得る。特定の実施形態では、免疫・腫瘍学薬剤は、C D 4 0アンタゴニスト、例えば、アンタゴニストC D 4 0抗体である。好適なC D 4 0抗体として、例えば、ルカツムマブ(H C D 1 2 2)、ダセツズマブ(S G N - 4 0)、C P - 8 7 0, 8 9 3またはC h i L o b 7 / 4が挙げられる。

【 0 5 1 3 】

一実施形態では、抗T I M 3抗体は、C D 2 7アゴニスト、例えば、アゴニストC D 2 7抗体と組み合わせて投与され得る。好適なC D 2 7抗体として、例えば、バルリルマブ(v arlilumab)(C D X - 1 1 2 7)が挙げられる。

10

【 0 5 1 4 】

特定の実施形態では、抗T I M 3抗体は、抗G I T R抗体、例えば、6 C 8のC D R配列を有する抗体、例えば、例として、W O 2 0 0 6 / 1 0 5 0 2 1に記載される6 C 8のC D Rを有するヒト化抗体；W O 2 0 1 1 / 0 2 8 6 8 3に記載される抗G I T R抗体のC D Rを含む抗体；J P 2 0 0 8 2 7 8 8 1 4に記載される抗G I T R抗体のC D Rを含む抗体；W O 2 0 1 5 / 0 3 1 6 6 7、W O 2 0 1 5 / 1 8 7 8 3 5、W O 2 0 1 5 / 1 8 4 0 9 9、W O 2 0 1 6 / 0 5 4 6 3 8、W O 2 0 1 6 / 0 5 7 8 4 1もしくはW O 2 0 1 6 / 0 5 7 8 4 6に記載される抗G I T R抗体または本明細書に記載される、もしくは参照される他の抗G I T R抗体のC D Rを含む抗体と一緒に投与される。

【 0 5 1 5 】

他の実施形態では、抗T I M 3抗体は、M G A 2 7 1(B 7 H 3に対する)(W O 1 1 / 1 0 9 4 0 0)と組み合わせて投与される。

20

【 0 5 1 6 】

いくつかの実施形態では、抗T I M 3抗体は、K I Rアンタゴニスト、例えば、リリルマブと組み合わせて投与される。

【 0 5 1 7 】

他の実施形態では、抗T I M 3抗体は、I D Oアンタゴニストと組み合わせて投与される。好適なI D Oアンタゴニストとして、例えば、I N C B - 0 2 4 3 6 0(W O 2 0 0 6 / 1 2 2 1 5 0)、W O 0 7 / 7 5 5 9 8、W O 0 8 / 3 6 6 5 3、W O 0 8 / 3 6 6 4 2)、インドキシモド(indoximod)、N L G - 9 1 9(W O 0 9 / 7 3 6 2 0、W O 0 9 / 1 1 5 6 6 5 2、W O 1 1 / 5 6 6 5 2、W O 1 2 / 1 4 2 2 3 7)またはF 0 0 1 2 8 7が挙げられる。

30

【 0 5 1 8 】

さらに他の実施形態では、抗T I M 3抗体は、T o l 1様受容体アゴニスト、例えば、T L R 2 / 4アゴニスト(例えば、カルメット・ゲラン桿菌(Bacillus Calmette-Guerin))；T L R 7アゴニスト(例えば、ヒルトノール(Hiltonol)またはイミキモド)；T L R 7 / 8アゴニスト(例えば、レシキモド)；またはT L R 9アゴニスト(例えば、C p G 7 9 0 9)と組み合わせて投与される。

【 0 5 1 9 】

一実施形態では、抗T I M 3抗体は、T G F - 阻害剤、例えば、G C 1 0 0 8、L Y 2 1 5 7 2 9 9、T E W 7 1 9 7またはI M C - T R 1と組み合わせて投与される。

40

【 0 5 2 0 】

本明細書に記載される抗T I M 3抗体および組合せ療法を、治療されている適応症(例えば、がん)に対するその特定の有用性について選択されるその他の周知の療法とともに使用してもよい。本明細書に記載される抗T I M 3抗体の組合せを、公知の医薬上許容される薬剤(単数または複数)と逐次使用してもよい。

【 0 5 2 1 】

例えば、本明細書に記載される抗T I M 3抗体および組合せ療法は、放射線照射および/または化学療法、(例えば、カンプトテシン(C P T - 1 1)、5 - フルオロウラシル(5 - F U)、シスプラチン、ドキソルビシン、イリノテカン、パクリタキセル、ゲムシタ

50

ビン、シスプラチン、パクリタキセル、カルボプラチン - パクリタキセル（タキソール）、ドキソルビシン、5 - FUまたはカントテシン + ap o 2 l / T R A I L (6 X c o m b o)を使用する）、1以上のプロテアソーム阻害剤（例えば、ボルテゾミブまたはM G 1 3 2 ）、1以上のB c l - 2 阻害剤（例えば、B H 3 I - 2 ' (b c l - x 1 阻害剤）、インドールアミンジオキシゲナーゼ - 1 (I D O 1) 阻害剤（例えば、I N C B 2 4 3 6 0 、インドキシモド、N L G - 9 1 9 、またはF 0 0 1 2 8 7 ）、A T - 1 0 1 (R - (-) - ゴシポール誘導体）、A B T - 2 6 3 (小分子) 、G X - 1 5 - 0 7 0 (オバトクラックス (obatoclax)) またはM C L - 1 (骨髄系白血病細胞分化タンパク質 - 1) アンタゴニスト）、i A P (アポトーシスタンパク質の阻害剤) アンタゴニスト（例えば、s m a c 7 、s m a c 4 、小分子s m a c ミメティック、合成s m a c ペプチド (Fulda et al., Nat Med 2002;8:808-15) ）、I S I S 2 3 7 2 2 (L Y 2 1 8 1 3 0 8) またはA E G - 3 5 1 5 6 (G E M - 6 4 0) ）、H D A C (ヒストンデアセチラーゼ) 阻害剤、抗C D 2 0 抗体（例えば、リツキシマブ）、血管新生阻害剤（例えば、ペバシズマブ）、V E G F およびV E G F R を標的化する抗血管新生剤（例えば、アバスチン）、合成トリテルペノイド (Hyer et al, Cancer Research 2005;65:4799-808を参照のこと）、c - F L I P (細胞性F L I C E 阻害性タンパク質) モジュレーター（例えば、P P A R y (ベルオキシソーム増殖因子活性化受容体) の天然および合成リガンド、5 8 0 9 3 5 4 または5 5 6 9 1 0 0 ）、キナーゼ阻害剤（例えば、ソラフェニブ）、トラスツズマブ、セツキシマブ、テムシロリムス、ラパマイシンおよびテムシロリムスなどのm T O R 阻害剤、ボルテゾミブ、J A K 2 阻害剤、H S P 9 0 阻害剤、P I 3 K - A K T 阻害剤、レナリドマイド (Lenalidomide) 、G S K 3 P 阻害剤、I A P 阻害剤および／または遺伝毒性薬物などのさらなる治療と組み合わせて（例えば、同時または別個に）使用できる。10
20

【 0 5 2 2 】

本明細書に記載される抗T I M 3 抗体および組合せ療法は、1以上の抗増殖性細胞傷害性薬剤と組み合わせてさらに使用できる。抗増殖性細胞傷害性薬剤として使用してもよい化合物のクラスとして、それだけには限らないが、以下が挙げられる：

【 0 5 2 3 】

アルキル化剤（制限するものではないが、ナイトロジエンマスター、エチレンイミン誘導体、アルキルスルホネート、ニトロソ尿素およびトリアゼンを含む）：ウラシルマスター、クロルメチル、シクロホスファミド (CYTOXAN (登録商標)) ホスファミド、メルファラン、クロラムブシル、ピポブロマン、トリエチレンメラミン、トリエチレンチオホスホラミン、ブスルファン、カルムスチン、ロムスチン、ストレプトゾシン、ダカルバジンおよびテモゾロミド。30

【 0 5 2 4 】

代謝拮抗剤（制限するものではないが、葉酸アンタゴニスト、ピリミジン類似体、プリン類似体およびアデノシンデアミナーゼ阻害剤を含む）：メトトレキサート、5 - フルオロウラシル、フロクスウリジン、シタラビン、6 - メルカブプリン、6 - チオグアニン、フルダラビンホスフェート、ペントスタチンおよびゲムシタбин。

【 0 5 2 5 】

当技術分野で公知のその他のマイクロチューブリン分解防止剤に加えて、抗T I M 3 抗体、制限するものではないが、タキサン、パクリタキセル（パクリタキセルは、T A X O L T M として市販されている）、ドセタキセル、ディスコデルモリド (D D M) 、ジクチオスタチン (D C T) 、ペロルシド (Peloruside) A 、エポチロン、エポチロンA、エポチロンB、エポチロンC、エポチロンD、エポチロンE、エポチロンF、フラノエポチロンD、デスオキシエポチロンB 1 、[1 7] - デヒドロデスオキシエポチロンB、[1 8] デヒドロデスオキシエポチロンB、C 1 2 , 1 3 - シクロプロピル - エポチロンA、C 6 - C 8 架橋エポチロンA、トランス - 9 , 1 0 - デヒドロエポチロンD、シス - 9 , 1 0 - デヒドロエポチロンD、1 6 - デスマチルエポチロンB、エポチロンB I O 、ディスコデルモリド (discoderomolide) 、パツピロン (patupilone) (E P O - 9 0 6) 、K O S
40
50

- 8 6 2、K O S - 1 5 8 4、Z K - E P O、A B J - 7 8 9、X A A 2 9 6 A (ディスコデルモリド (discoderomolide))、T Z T - 1 0 2 7 (ソブリドチン)、I L X - 6 5 1 (タシドチン塩酸塩 (tasidotin hydrochloride))、ハリコンドリンB、エリブリシンメシリ酸塩 (Eribulin mesylate) (E - 7 3 8 9)、ヘミアステリン (H T I - 2 8 6)、E - 7 9 7 4、クリプトフィシン、L Y - 3 5 5 7 0 3、マイタンシノイドイムノコンジュゲート (D M - 1)、M K C - 1、A B T - 7 5 1、T 1 - 3 8 0 6 7、T - 9 0 0 6 0 7、S B - 7 1 5 9 9 2 (イスピネシブ (ispinesib))、S B - 7 4 3 9 2 1、M K - 0 7 3 1、S T A - 5 3 1 2、エリュテロビン、1 7 - アセトキシ - 2 - エトキシ - 6 - オキソ - B - ホモ - エストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 3 - オール、シクロストレプチン、イソラウリマリド、ラウリマリド、4 - エピ - 7 - デヒドロキシ - 1 4, 1 6 - ジデメチル - (+) - ディスコデルモリドおよびクリプトチロン (cryptothilone) 1と組み合わせるための適した抗増殖性薬剤。

【0526】

本明細書に記載される抗T I M 3抗体を用いる治療とともに、またはそれに先立って異常に増殖性の細胞を静止状態にすることが望ましい場合には、1 7 a - エチニルエストラジオール、ジエチルスチルベストロール、テストステロン、プレドニゾン、フルオキシメステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、テストラクトン、メgestロールアセテート、メチルプレドニゾロン、メチル - テストステロン、プレドニゾロン、トリアムシノロン、クロロトリアニセン、ヒドロキシプログステロン、アミノグルテチミド、エストラムスチン、メドロキシプログステロンアセテート、リュープロリド、フルタミド、トレミフェン、ZOLADEXTM (登録商標)などのホルモンおよびステロイド (合成類似体を含む)も、患者に投与できる。本明細書に記載される方法または組成物を使用する場合には、鎮吐剤などの、臨床設定において腫瘍成長または転移の調節において使用されるその他の薬剤も、望まれるように投与できる。

【0527】

特定の実施形態では、本明細書において論じられる抗T I M 3抗体および第2の薬剤の組合せを、医薬上許容される担体中の単一組成物として同時に、または医薬上許容される担体中の抗T I M 3抗体および第2の薬剤を有する別個の組成物として同時に、投与できる。別の実施形態では、抗T I M 3抗体および第2の薬剤の組合せは、逐次的に投与され得る。2つの薬剤の投与は、例えば、3 0 分間、6 0 分間、9 0 分間、1 2 0 分間、3 時間、6 時間、1 2 時間、2 4 時間、3 6 時間、4 8 時間、3 日間、5 日間、7 日間、または1週間もしくは数週間離れた時点で開始してもよく、または第2の薬剤の投与は、例えば、第1の薬剤を投与した3 0 分後、6 0 分後、9 0 分後、1 2 0 分後、3 時間後、6 時間後、1 2 時間後、2 4 時間後、3 6 時間後、4 8 時間後、3 日後、5 日後、7 日後、または1週間後もしくは数週間後に開始してもよい。

【0528】

いくつかの実施形態では、抗T I M 3抗体および / または第2の薬剤と組み合わせることができる抗新生物抗体としては、リツキサン (登録商標) (リツキシマブ)、ハーセプチン (登録商標) (トラスツズマブ)、ベキサール (登録商標) (トシツモマブ)、ゼヴァリン (登録商標) (イブリツモマブ)、キャンパス (登録商標) (アレムツズマブ)、リンホサイド (Lymphocide) (登録商標) (エプルツズマブ (eprtuzumab))、アバスチン (登録商標) (ベバシズマブ) およびタルセバ (登録商標) (エルロチニブ) またはこれらの任意の組合せが挙げられる。他の実施形態では、抗T I M 3抗体との併用療法に有用な第2の抗体は、抗体薬物コンジュゲートであり得る。

【0529】

他の実施形態では、抗T I M 3抗体は、単独または別の薬剤と組み合わせて、造血起源の様々な腫瘍を処置するために、骨髄移植と同時にまたは逐次的に使用される。

【0530】

抗T I M 3抗体を、第2の薬剤を伴って、または伴わずに対象に投与することを含む、免疫賦活性薬剤を用いる過剰増殖性疾患 (例えば、がん) の治療と関連する有害事象を変更

10

20

30

40

50

するための方法が、本明細書において提供される。例えば、本明細書に記載される方法は、患者に非吸収性ステロイドを投与することによって、免疫賦活性治療用抗体誘導性大腸炎または下痢の罹患率を低減する方法を提供する。本明細書において、「非吸収性ステロイド」は、広範な初回通過代謝を示し、その結果、肝臓における代謝後に、ステロイドのバイオアベイラビリティが低い、すなわち、約 20 % 未満であるグルココルチコイドである。本明細書に記載される一実施形態では、非吸収性ステロイドは、ブデソニドである。ブデソニドは、経口投与後に広範に、主に肝臓によって代謝される局所活性糖質コルチコイドである。ENTOCORT EC (登録商標) (Astra-Zeneca) は、回腸および結腸全体への薬物送達を最適化するために開発されたブデソニドの pH および時間依存性経口製剤である。ENTOCORT EC (登録商標) は、回腸および / または上行結腸が関与する軽度から中程度のクローン病の治療のために米国において承認されている。なおもさらなる実施形態では、非吸収性ステロイドを伴う抗 T I M 3 抗体を、サリチル酸とさらに組み合わせることができる。サリチル酸として、例えば、スルファサラジン (AZULFIDINE (登録商標) 、Pharmacia & UpJohn) ; オルサラジン (DJPENTUM (登録商標) 、Pharmacia & UpJohn) ; バルサラジド (COLAZAL (登録商標) 、Salix Pharmaceuticals, Inc.) ; およびメサラミン (ASACOL (登録商標) 、Procter & Gamble Pharmaceuticals ; PENTASA (登録商標) 、Shire US ; CANASA (登録商標) 、Axcan Scandipharm, Inc. ; ROWASA (登録商標) 、Solvay) などの 5 - ASA 薬剤が挙げられる。

【 0 5 3 1 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表 1.

配列番号	説明	配列
1	TIM3.5 (13A3) IgG1.1f 重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPMAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHPSPNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
2	8B9 IgG1.1f 重鎖	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRSYYWGWIRQPPGKLEWIGIHYSGSTNYNSSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSTAADTAVYYCARDTGYYGMDIWPQGTTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPMAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKT ISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTP SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
3	TIM3.6 (8C4) IgG1.1f 重鎖	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRSYYWWSIRQPPGKLEWIGIHYTGSTNYNPSLKS TISVDTSKNQFSLKLSSTAADTAVYYCATDTGYYGMDVWQGTTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPMAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKT ISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTP SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
4	TIM3.2 (17C3) IgG1.1f 重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYMMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRGDSIIYAQKFQGR VTMTRDTSTVYMEMLSLRSEDAVYYCARDFYGSGNYYGMDVWQGTTAVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPMAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHPSPNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
5	9F6 IgG1.1f 重鎖	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWIRQAPGKLEWVFSFISGGSTIYYADSVKGR FTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDDAVYYCARDGYSSGWWYGGMDVWQGTTAVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPMAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHPSPNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
6	TIM3.4 (3G4) IgG1.1f 重鎖	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWIRQAPGKLEWVFSFISTSGSIIYYADSVKGR FTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDDAVYYCARDGYSSGWWYGGMDVWQGTTAVTVSSASTKGPSVFPL LAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPMAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHPSPNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTC VVDVSHEDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PSSIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
7	TIM3.9 (17C8) IgG1.1f 重鎖	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWIRQAPGKLEWVFSFISGGSTIYYADSVKGR FTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDDAVYYCARDGYSSGWWYGGMDVWQGTTAVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPMAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHPSPNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
8	TIM3.5 (13A3) IgG1.1f 重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPMAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

配列番号	説明	配列
	(C 末端 K なし)	QTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVCVVVDVSHEPVEKFNFYVGDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
9	8B9 IgG1.1f 重鎖 (C 末端 K なし)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRHYWNWIRQPPGKLEWIGYIHYSGSTNYNSSLKSRVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCARDTGYGGMDIWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
10	TIM3.6 (8C4) IgG1.1f 重鎖 (C 末端 K なし)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRYYWSWIRQPPGKLEWIGYIHYSGSTNYNSSLKSRVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATDTGYGGMDIWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
11	TIM3.2 (17C3) IgG1.1f 重鎖 (C 末端 K なし)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRYYWSWIRQPPGKLEWIGYIHYSGSTNYNSSLKSRVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATDTGYGGMDIWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
12	9F6 IgG1.1f 重鎖 (C 末端 K なし)	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWIRQAPGKGLEWVFSISGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWWYGMWDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVCVVVDVSHEPVEKFNFYVGDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
13	TIM3.4 (3G4) IgG1.1f 重鎖 (C 末端 K なし)	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWIRQAPGKGLEWVFSISGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWWYGMWDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVCVVVDVSHEPVEKFNFYVGDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
14	TIM3.9 (17C8) IgG1.1f 重鎖 (C 末端 K なし)	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWIRQAPGKGLEWVFSISGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWWYGMWDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVCVVVDVSHEPVEKFNFYVGDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
15	TIM3.5 (13A3) IgG1.3f 重鎖	QQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGYAHWFDPWQGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVCVVVDVSHEPVEKFNFYVGDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG

【 0 5 3 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

配列番号	説明	配列
16	8B9 IgG1.3f 重鎖	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRHYNWNIQPPGKGLEWIGIYIHYSGSTNYNSSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTGYGMDIWGQGTTTVSSASTKGPSVFPLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
17	TIM3.6 (8C4) IgG1.3f 重鎖	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRYWWSWIRQAPPGKGLEWIGIYIHYTGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATDTGYGMDVWGQGTTTVSSASTKGPSVFPLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
18	TIM3.2 (17C3) IgG1.3f 重鎖	QVQLQSGAEEVKKPGASVKVSKCASGFTSYMMHWVRQAPPGKGLEWIGIINPRGDSIIYAQKFQGRVTMTRDTSTVYMEMLSLRSEDTAVYYCARDFYGSGNYYGMDVWGQGTTTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
19	9F6 IgG1.3f 重鎖	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWIRQAPGKGLEWVFSFISGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWGQGTTAVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
20	TIM3.4 (3G4) IgG1.3f 重鎖	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWIRQAPGKGLEWVFSFISTSGSIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRaedTAVYYCAREGYSSSWYYYGMDVWGQGTTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
21	TIM3.9 (17C8) IgG1.3f 重鎖	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWIRQAPGKGLEWVFSFISGGSIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRaedTAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWGQGTTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
22	TIM3.5 (13A3) IgG1.3f 重鎖 (C 末端 K なし)	QQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGFTYYNPSLKSRRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGYDIAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
23	8B9 IgG1.3f 重鎖 (C 末端 K なし)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRHYNWNIQPPGKGLEWIGIYIHYSGSTNYNSSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTGYGMDIWGQGTTTVSSASTKGPSVFPLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVHPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSH

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

配列番号	説明	配列
		EDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREGVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
24	TIM3.6 (8C4) IgG1.3f 重鎖 (C末端Kなし)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRYWWSIRQPPGKGLEWIGYIHYTGSTNPNPLKSRVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATDTGYYGMDWVGQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCTPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREGVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
25	TIM3.2 (17C3) IgG1.3f 重鎖 (C末端Kなし)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSKASGYTFTSYMHWRQAPGQGLEWMGIINPRGDSIIYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEMLSLRSEDTAVYYCARDFYGSNNYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCTPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREGVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
26	9F6 IgG1.3f 重鎖 (C末端Kなし)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWIRQAPGKGLEWVSFISGGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCTPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREGVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
27	TIM3.4 (3G4) IgG1.3f 重鎖 (C末端Kなし)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWIRQAPGKGLEWVSFISTSGSIYYADSVKGRFTISRDNAKNNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGYSSSSWSSYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCTPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREGVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
28	TIM3.9 (17C8) IgG1.3f 重鎖 (C末端Kなし)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWIRQAPGKGLEWVSFISSSGSIYYADSVKGRFTISRDNAKNNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGYSSSSWSSYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCTPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREGVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
72	TIM3.10 (13A3) IgG1.1f (N60Q)重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKSRTVTDTSKQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGYDIAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCTPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISAKGQPREGVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
73	TIM3.11 (13A3) IgG1.1f (N60S) 重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKSRTVTDTSKQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGYDIAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCTPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISAKGQPREGVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
74	TIM3.12	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS

10

20

30

40

【0533】

【表 1 - 5】

配列番号	説明	配列
	(13A3) IgG1.1f (N60A)重鎖	RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALTHNHYTQKSLSLSPGK*
75	TIM3.13 (13A3) IgG1.1f (D101E)重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYSGFTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALTHNHYTQKSLSLSPGK*
76	TIM3.14 (13A3) IgG1.1f (P102V)重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYSGFTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALTHNHYTQKSLSLSPGK*
77	TIM3.15 (13A3) IgG1.1f (P102Y)重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYSGFTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALTHNHYTQKSLSLSPGK*
78	TIM3.16 (13A3) IgG1.1f (P102L)重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYSGFTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALTHNHYTQKSLSLSPGK*
79	TIM3.17 (13A3) IgG1.1f (N60Q/P102Y) 重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYSGFTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALTHNHYTQKSLSLSPGK*
349	TIM3.18 (13A3) IgG1.1f (N60Q/D101E) 重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYSGFTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALTHNHYTQKSLSLSPGK*
80	TIM3.8 (8B9) IgG1.1f (S61P) 重鎖	QVQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGIHYSGSTNYPNLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKT

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

配列番号	説明	配列
		ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
81	TIM3.7 (9F6) IgG1.1f (A108T)重鎖	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVSPFISGGGSIYYADSVKGR FTISRDNAKNQSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSGWYYGMDVWQGQGTTVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPPTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
82	TIM3.10 (13A3) IgG1.1f (N60Q)重鎖 (C 末端 K なし)	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWQGQTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPPTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
83	TIM3.11 (13A3) IgG1.1f (N60S) 重鎖 (C 末端 K なし)	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWQGQTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPPTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
84	TIM3.12 (13A3) IgG1.1f (N60A)重鎖 (C 末端 K なし)	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWQGQTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPPTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
85	TIM3.13 (13A3) IgG1.1f (D101E)重鎖 (C 末端 K なし)	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWQGQTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPPTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
86	TIM3.14 (13A3) IgG1.1f (P102V)重鎖 (C 末端 K なし)	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWQGQTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPPTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
87	TIM3.15 (13A3) IgG1.1f (P102Y)重鎖 (C 末端 K なし)	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWQGQTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPPTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
88	TIM3.16 (13A3) IgG1.1f	QLQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWQGQTLTVSSASTKGPSVFPL

【0534】

10

20

30

40

50

【表 1 - 7】

配列番号	説明	配列
	(P102L)重鎖 (C末端Kなし)	APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSQLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
89	TIM3.17 (13A3) IgG1.1f (N60Q/P102Y) 重鎖 (C末端Kなし)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSQLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
350	TIM3.18 (13A3) IgG1.1f (N60Q/D101E) 重鎖 (C末端Kなし)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSQLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
90	TIM3.8 (8B9) IgG1.1f (S61P) 重鎖 (C末端Kなし)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCARDTGYGMDIWQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSQLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCV EDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
91	TIM3.7 (9F6) IgG1.1f (A108T)重鎖 (C末端Kなし)	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSYDYMWSIRQAPGKLEWVFSISGGSTIYYADSVKGR FTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWWYGMWDVWGGTTVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSQLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
92	TIM3.10 (13A3) IgG1.3f (N60Q)重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSQLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
93	TIM3.11 (13A3) IgG1.3f (N60S) 重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSQLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
94	TIM3.12 (13A3) IgG1.3f (N60A)重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSQLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP SSIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP

10

20

30

40

50

【表 1 - 8】

配列番号	説明	配列
		VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
95	TIM3.13 (13A3) IgG1.3f (D101E)重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGISSSRSYYWGWIROPPGKLEWIGSIYYSGFTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSTAADTAVVYCATGGPYGDYAHWFEPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
96	TIM3.14 (13A3) IgG1.3f (P102V)重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGISSSRSYYWGWIROPPGKLEWIGSIYYSGFTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSTAADTAVVYCATGGPYGDYAHWFDPWQGQGTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
97	TIM3.15 (13A3) IgG1.3f (P102Y)重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGISSSRSYYWGWIROPPGKLEWIGSIYYSGFTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSTAADTAVVYCATGGPYGDYAHWFDPWQGQGTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
98	TIM3.16 (13A3) IgG1.3f (P102L)重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGISSSRSYYWGWIROPPGKLEWIGSIYYSGFTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSTAADTAVVYCATGGPYGDYAHWFDPWQGQGTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
99	TIM3.17 (13A3) IgG1.3f (N60Q/P102Y) 重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGISSSRSYYWGWIROPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSTAADTAVVYCATGGPYGDYAHWFDPWQGQGTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
351	TIM3.18 (13A3) IgG1.3f (N60Q/D101E) 重鎖	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGISSSRSYYWGWIROPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSTAADTAVVYCATGGPYGDYAHWFEPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
100	TIM3.8 (8B9) IgG1.3f (S61P) 重鎖	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGISSSRSYYWGWIROPPGKLEWIGSIYYSGFTYYADSVKRT TISVDTSKNQFSLKLSSTAADTAVVYCARDTGYGMDIWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
101	TIM3.7 (9F6) IgG1.3f	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKLEWVSFISGGSTIYYADSVKRT FTISRDNAKNNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWYYYGMDWVGQGTTVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT

【0535】

10

20

30

40

50

【表 1 - 9】

配列番号	説明	配列
	(A108T)重鎖	QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
102	TIM3.10 (13A3) IgG1.3f (N60Q)重鎖(C末端Kなし)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
103	TIM3.11 (13A3) IgG1.3f (N60S) 重鎖(C末端Kなし)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
104	TIM3.12 (13A3) IgG1.3f (N60A)重鎖(C末端Kなし)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
105	TIM3.13 (13A3) IgG1.3f (D101E)重鎖(C末端Kなし)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
106	TIM3.14 (13A3) IgG1.3f (P102V)重鎖(C末端Kなし)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
107	TIM3.15 (13A3) IgG1.3f (P102Y)重鎖(C末端Kなし)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
108	TIM3.16 (13A3) IgG1.3f (P102L)重鎖(C末端Kなし)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*

10

20

30

40

50

【表 1 - 10】

配列番号	説明	配列
109	TIM3.17 (13A3) IgG1.3f (N60Q/P102Y) 重鎖 (C 末端 K なし)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGGSISRRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSTAADTAVYYCATGGPYGYAHWFWDYWGQGTIVTSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
352	TIM3.18 (13A3) IgG1.3f (N60Q/D101E) 重鎖 (C 末端 K なし)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGGSISRRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSTAADTAVYYCATGGPYGYAHWFWDYWGQGTIVTSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
110	TIM3.8 (8B9) IgG1.3f (S61P) 重鎖 (C 末端 K なし)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGGSISRRSRYHWNWIRQPPGKGLEWIGIHYSGSTNNPNSLKS TISVDTSKNQFSLKLSSTAADTAVYYCARDGYYGMDIWQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
111	TIM3.7 (9F6) IgG1.3f (A108T)重鎖 (C 末端 K なし)	QVQLVESGGGLVKGGSRLSCAASGFTSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSFISGGGSTIYYADSVKGR FTISRDNAKNSLFLQMNSLRFVTDAYYCARDFGGYWWYGMWDVWQGTTVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
29	TIM3.5 (13A3), TIM3.2 (17C3), TIM3.4 (3G4) IgG1 軽鎖	EIVLTQSPGTLSSLPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSG SGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQYGSPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDKDSTSLSSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC*
30	8B9, TIM3.6 (8C4), TIM3.9 (17C8) IgG1 軽 鎖	EIVLTQSPGTLSSLPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSG SGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQYGSPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDKDSTSLSSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC*
32	9F6 VK1 IgG1 軽鎖	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLIIYDASSLESGVPSRFGSGS GTDFTLTISLQSPEDFATYYCQQFNSYPRTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDKDSTSLSSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC*
134	TIM3.5 (13A3) IgG1.1f 重鎖	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGCTCTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTAGTGGTTACCTACTACAACCCGCTCCCAAGAGT CGAGTCACCATATCGTTGACACGTCAGAACCCAGTCTGGTCAAGCTGACTCTGACCCCG CAGACACGGCTGTATTAGTGGTCAAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCTCCCCCTG CTGGGCCAGGGAAACCTGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGACAGCGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGCGCCCTGACAGCGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGGACAAGAGAGTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCGTCAGT CTTCCCTCTCCCCAAAACCCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG

【0536】

10

20

30

40

50

【表 1 - 11】

配列番号	説明	配列
		GTGGTGGACGTGAGGCCACGAAGAACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACCCACAGGTGTACACCCCTGC CCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTCTGGCTGGTCAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGGGAGGAGCAATGGGAGCAGGGAGAACAACTACAAGACCAACGCCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTTCTCATGTCCTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGTAAATGA
135	8B9 IgG1.1f 重鎖	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGGCTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGTCCTCTGGTGGCTCATCAGTCGTCACTACTGGAACTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAAGGGACT GGAGTGGATTGGGTATATCATTACAGTGGAAAGCACCACACTAACATTCTCCCTCAAGAGTCGAGTC ACCATATCAGTAGACAGCTCAAGAACCCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCTGCGGACA CGGCCGTGATTACTGTGCGAGAGATACTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGCCAAGGGACAC GGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCTGGCACCCCTCTCAAGAGC ACCTCTGGGGCAGCGGGCCCTGGCTGGCTGAAGGACTACTTCCCGAACCCTGACGGTGT CGTGGAACTCAGGGCCCTGACCAGCGGGCTGACACCTCCCGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACT CTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTCCAGCAGCTGGGCCAGGACACTACATCTGAAAC GTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCAAATCTGTGACAAAACCTC ACACATGCCAACCGTGCCTCACGACCTGAAGCGAAGGGCCCGTCAGTCTCTCTTCCCTCC ACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGATAATGCCAAGAACAAAGC CGCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACCGTCTGCACCCAGGACT GCTGAATGCCAAGGAGTACAAGTGAAGGCTCAACAAAGCCTCCAGCAGCATCGAGAAAACC ATCTCCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACCCACAGGTGTACACCCCTGCCCATCCGGAGGAGA TGACCAAGAACCGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGATAATGCCAAGAACAAAGC GTGGGAGGAGCAATGGGAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGC TCCCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAACGTTCTCAT GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACGCAGAAGGCCTCCCTGTCCCCGGTAA ATGA
136	TIM3.6 (8C4) IgG1.1f 重鎖	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGGCTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGTCCTCTGGTGGCTCATCAGTCTTACTACTGGAACTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAAGGGACT GGAGTGGATTGGGTATATCATTACACTGGGAGCACCACACTAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTC ACCATATCAGTAGACAGCTCAAGAACCCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGACCCAGCGACA CGGCCGTGATTACTGTGCGACAGATACTGGCTACTACGGTATGGACGCTGTGGGCCAAGGGACAC GGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCTGGCACCCCTCTCAAGAGC ACCTCTGGGGCAGCGGGCCCTGGCTGGCTGAAGGACTACTTCCCGAACCCTGACGGTGT CGTGGAACTCAGGGCCCTGACCAGCGGGCTGACACCTCCCGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACT CTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTCCAGCAGCTGGGCCACCCAGACACTACATCTGAAAC GTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCAAATCTGTGACAAAACCTC ACACATGCCAACCGTGCCTCACGACCTGAAGCGAAGGGCCCGTCAGTCTCTCTTCCCTCC ACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGATAATGCCAAGAACAAAGC CGCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACCGTCTGCACCCAGGACT GCTGAATGCCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAACAAAGCCTCCAGCAGCATCGAGAAAACC ATCTCCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACCCACAGGTGTACACCCCTGCCCATCCGGAGGAGA TGACCAAGAACCGAGGTCAAGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATGCCGTGGA GTGGGAGGAGCAATGGGAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGC TCCCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAACGTTCTCAT GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACGCAGAAGGCCTCCCTGTCCCCGGTAA ATGA
137	TIM3.2 (17C3) IgG1.1f 重鎖	CAGGTGCAGTTGGTGCAGTCGGGCTGAGGTGAAGAACCTGGGCTCAGTGAAGGTCTCTGCA AGGCATCTGGATACTTCACCGACTACTATATGCACTGGTGCAGAGGCCCTGGACAAGGGCT

10

20

30

40

50

【表 1 - 12】

配列番号	説明	配列
		TGAGTGGATGGAATAATCAACCTAGGGGTATAGCATAATCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGA GTCACCAGCACGGACACGTCACAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCTGAGATCTGAGG ACACGGCCGTATTACTGTGCGAGAGATTCTATGGTCGGAAACTACTACTACGGTATGGACGT CTGGGCCAAGGGCACCGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACCTCAGGGGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCCTCAGCAGCTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCACACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCAACCGTGCACCTGAAGCGAAGGGCCCCGTCACT CTTCCCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGGTCTCAC CGTCTGCAACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACCCCTC CCCCATCCCCGAGGAGATGACCAAGAACCGTCAAGGCTGACCTGCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATCGCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCTCATGTCCTGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGAAATGA
138	9F6 IgG1.1f 重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTGGTCAAGGCTGGAGGGCCCTGAGACTCTCTGTG CAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAGGGCT GGAGTGGGTTTCATTCTATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACCGAGACTCTGTGAAGGGCGA TTCACCATCTCAGGGACAACGCCAGAACACTCGCTGTTCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGTCGAGG ACACGGCTGTATTACTGTGCGAGAGATGGTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACGGTATGGACGT CTGGGCCAAGGGACCGCGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCCTCAGCAGCTGGCAC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCAACCGTGCACCTGAAGCGAAGGGCCCCGTCACT CTTCCCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACCTGAGGCCAGAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGGTCTCAC CGTCTGCAACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACCCCTG CCCCATCCCCGAGGAGATGACCAAGAACCGTCAACCTGACCTGCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATCGCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCTCATGTCCTGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGAAATGA
139	TIM3.4 (3G4) IgG1.1f 重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTGGTCAAGGCTGGAGGGCCCTGAGACTCTCTGTG CAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAGGGCT GGAGTGGGTTTCATTCTATTAGTACTAGTGGTAGTATCATATACTACCGAGACTCTGTGAAGGGCGA TTCACCATCTCAGGGACAACGCCAGAACACTACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCGCAGG ACACGGCTGTATTACTGTGCGAGAGAAGGGTATAGCAGCAGTGGCTCTACTACTACGGTATGG CGTCTGGGCAAGGGACCGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGTCTTCCCC CTGGCACCCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTGGAACCTAGGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTCCCGGC TGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCCTCAGCAGCTGG ACCCAGACCTACATGCAAGTGAATCACAAGCCCAGCACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGC CCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCAACCGTGCCTCAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCCGTC AGTCTTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG

【0537】

10

20

30

40

50

【表 1 - 13】

配列番号	説明	配列
		TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTTGGTCAGCGTCCT CACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCAAACAAAGCCCTC CCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCC TGCCCCCATCCCAGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTA TCCCAGCGACATGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGAGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCC CCCAGCTGGACTGCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAGGCTCTGCACAAACCACTACACCGAGAAG AGCAGGGGAACGTCTTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCACTACACCGAGAAG CCTCTCCCTGCCCCGGGTAATGA
140	TIM3.9 (17C8) IgG1.1f 重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGGAGCTGGGGAGGCTTGGTCAAGGCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCGCCAGGCTCAGGGAAAGGGGCT GGAGTGGGTTTCATTCTATTAGTAGTGTAGTATCATATACTACCGAGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCAGGGACAACGCCAAGAACACTACTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCTGTGATTACTGTGAGAGATGGGATAGCAGTGGCTGGGAGTACTACGGTATGGACGT CTGGGGCAAGGGACACGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCAGGGCTGCACACCTTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGACACGTGAATCACAAGGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGGCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGGCCGTCAGT CTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGTGTGGTCAAGCCTC CGTCTGCACCAAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCCTG CCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTACGGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC CAGCAGCATGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAGGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCACTACACCGAGAAGAGCCT CTCCCTGCCCCGGGTAATGA
141	TIM3.5 (13A3) IgG1.1f 重鎖 (C末端Kなし)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGCTGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGCCCCCACCTGCA CTGTCCTCTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCGCCAGCCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGCTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACACCCGTCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCGCTGACACGTCCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCC CAGACAGGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCA CTGGGGCCAGGGAAACCTGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCAGCACCAAGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCAGGGCGTGCACACCTTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGACACGTGAATCACAAGGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGGCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGGCCGTCAGT CTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGTGTGGTCAAGCCTC CGTCTGCACCAAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCCTG CCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTACGGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC CAGCAGCATGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAGGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCACTACACCGAGAAGAGCCT CTCCCTGCCCCGGGTTGA
142	8B9 IgG1.1f 重鎖 (C末端Kな)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGCTGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGCCCCCACCTGCA CTGTCCTCTGGCTCCATCAGTCGTCACTACTGGAACTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGGGACT GGAGTGGATTGGGTATATCCATTACAGTGGAAAGCACCAACTACAATTCCCTCAAGAGTCGAGTC

10

20

30

40

50

【表 1 - 14】

配列番号	説明	配列
	し)	ACCATATCAGTAGACACGTCAAGAACCAAGCTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCTGCGGACA CGGCCGTGATTACTGTGGAGAGATACTGGGACTACGGTATGGACATCTGGGCCAAGGGACCAC GGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGCCATCGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCAAGAGAC ACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCCTGGTAAGGACTACTTCCCAGCCGTTGACGGTGT CGTGGAACTCAGGCCTGACCAGCGCGTGCACACCTCCCGCTGCTTACAGTCCTCAGGACT CTACTCCCTCAGCAGCTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGCACCAGACCTACATCTGCAAC GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCAAATCTTGACAAAAACTC ACACATGCCAACCGTGCCTCAGCACCCTGAAGGCCAAGGGCCCTGGCAGTCTTCCCTTCCCCCAA ACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTGGACGGCGTGGAGGTGATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTCACGTGTTGAGGTGACCGTCTCACCGTCTGACCCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACC ATCTCCAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACCAGGTGTACACCCCTGCCCTCATCCGGAGGAGA TGACCAAGAACCAAGGTGAGCTGACCTGCTGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCAGCATGCCGTGGA GTGGGAGAGCAATGGCAGCGGAGAACACTACAAGACACAGCCTCCGTGCTGGACTCCGACGCC TCCTCTCTCTCATAGCAACTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTCTCAT GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCGTCCCCGGTTG A
143	TIM3.6 (8C4) IgG1.1f 重鎖 (C 末端 K なし)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGGCCTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGTCCTGGTGGCTCATCAGCTTACTACTGGAGCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAGGGACT GGAGTGGATTGGTATATCATTACACTGGGAGCACCACACTAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTC ACCATATCAGTAGACACGTTCAAGAACCAAGCTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCAGCGGACA CGGCCGTGATTACTGTGCACAGATACTGGGACTACGGTATGGACGTCTGGGCCAAGGGACCAC GGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGCCATCGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCAAGAGC ACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCCTGAAGGACTACTTCCCAGCCGTTGACGGTGT CGTGGAACTCAGGCCTGACCAGCGCGTGCACACCTCCCGCTGCTTACAGTCCTCAGGACT CTACTCCCTCAGCAGCTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCAAATCTTGACAAAAACTC ACACATGCCAACCGTGCCTCAGCACCCTGAAGGCCAAGGGCCCTGGCAGTCTTCCCTTCCCCCAA ACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTCACGTGTTGAGGTGACCGTCTCACCGTCTGACCCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACC ATCTCCAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACCAGGTGTACACCCCTGCCCTCATCCGGAGGAGA TGACCAAGAACCAAGGTGAGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCAGCATGCCGTGGA GTGGGAGAGCAATGGCAGCGGAGAACACTACAAGACACGCCCTCCGTGCTGGACTCCGACGCC TCCTCTCTCTCATAGCAACTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTCTCAT GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCGTCCCCGGTTG A
144	TIM3.2 (17C3) IgG1.1f 重鎖 (C 末端 K なし)	CAGGTGCAGTTGGTGCAGTCTGGGCTGAGGTGAAGAACGCCTGGGCCCTAGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCATCTGGATACACTTCACCAAGCTACTATATGCACTGGTGCAGGCCCTGGACAAGGGCT TGAGTGGATGGAATAATCAACCCCTAGGGGTATAGCATATCTACGCAAGATTCAGGGCAGA GTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCTGAGATCTGAGG ACACGGCCGTGATTACTGTGCAGGAGATTCTATGGTTCGGAAACTACTACTACGGTATGGACGT CTGGGCCAGGGACACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTCCCGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTGTGACAAAAGTACACATGCCACCGTGCCTGAGGACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGT CTTCCCTCTCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG ATAATGCCAAGACAAAGCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGTGTGGTCAAGCAGCTC

【0538】

10

20

30

40

50

【表 1 - 15】

配列番号	説明	配列
		CGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCCAACAAAGCCCTCC AGCAGCATCGAGAAAACCCTCCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGTACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGCCAAGAACCCAGGTCAAGCTGCCCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATGCCGAGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCATGTCCTGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGAGAGCCT CTCCTGTCCCCGGTTGA
145	9F6 IgG1.1f 重鎖 (C末端Kなし)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGCTGGGGAGGCTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCTGTG CAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCAGGGAAGGGCT GGAGTGGGTTTCATTCTATTAGTGGTGGTAGTACCATATACTACCGAGACTCTGTGAAGGGCGA TTACCCATCTCAGGGACAACGCCAAGAACCTCGCTGTTCTGCAAATGAACAGCTGAGACTCGAGG ACACGGCTGTGATTACTGTGAGAGATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACGGTATGGACGT CTGGGCCAAGGGACCGCGTCACCGTCTCTCAGCTAGCAGCACCAAGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGACTCAGGCCCTGACCAACGGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCTGGTACCGTGCCCTCAGCAGCTGGCAC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGGCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGGCCGTCA CTTCTCTTCCCCCCTAACACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACCTGAGGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTG ATAATGCCAACAGAACAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCAGCTACCGTGTGGTCAAGCTC CGTCTGCACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCCAAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCCTCCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGTACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGCCAAGAACCCAGGTCAAGCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATGCCGAGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCATGTCCTGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGAGAGCCT CTCCTGTCCCCGGTTGA
146	TIM3.4 (3G4) IgG1.1f 重鎖 (C末端Kなし)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGCTGGGGAGGCTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCTGTG CAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCAGGGAAGGGCT GGAGTGGGTTTCATTCTATTAGTACTAGTGGTAGTACCATATACTACCGAGACTCTGTGAAGGGCGA TTACCCATCTCAGGGACAACGCCAAGAACACTACTGTATCTGCAAATGAACAGCTGAGAGCCGAGG ACACGGCTGTGATTACTGTGAGAGAAGGGTATAGCAGCAGCTGGCTACTACTACGGTATGG CGTCTGGGCCAAGGGACACGGTACCCGTCACCGTCACTAGCAGCACCAAGGGCCATCGTCTCCCC CTGGCACCCCTCTCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTGGACTCAGGCCCTGACCGCGGTGCACACCTCCCGC TGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGG ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGC CCAATCTTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCCG AGTCTTCTCTTCCCCCTAACACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGGCCAGAACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCATAATGCCAACAGAACAGCCGGAGGAGCAGTACAACACCGACGTACCGTGTGGTCAAGCT CACCGTCTCTCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCAACAAAGCCCTC CCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGTACACCC TGCCCCCATCCGGAGGAGATGCCAAGAACCCAGGTCAAGCTGCCCTGGTCAAAGGTTCTA TCCCAAGCGACATGCCGTTGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCT CCCGTCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGACAAGAGCAGGTGG AGCAGGGGAACGTCTCTCATGTCCTGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGAGAG CCTCTCCCTGTCCCCGGTTGA
147	TIM3.9 (17C8) IgG1.1f 重鎖 (C末端Kなし)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGCTGGGGAGGCTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCTGTG CAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCAGGGAAGGGCT GGAGTGGGTTTCATTCTATTAGTACTAGTGGTAGTACCATATACTACCGAGACTCTGTGAAGGGCGA TTACCCATCTCAGGGACAACGCCAAGAACACTACTGTATCTGCAAATGAACAGCTGAGAGCCGAGG

10

20

30

40

50

【表 1 - 16】

配列番号	説明	配列
		ACACGGCTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGTATAGCAGTGGCTGGGAGTACTACGGTATGGACGT CTGGGCCAAGGGACCACGGTACCGTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGGCTGGTCAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCAAGGGCGTGACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGGTACCGTGCCCTCAGCAGTTGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTAACTACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAATCACATGCCAACCGTGGCCACCTGAAAGCGAAGGGCCCCGTCACT CTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCACGAAGAGCTGGTCAAGTCAACTGGTACGGTGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGGTCTCAC CGTCTGCACCAAGGACTGGTGAATGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCAACAAAGCCTCCAC AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGGACATCGCGTGGAGGAGACATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTTCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCATGTCCTGATGCAAGGCTCTGCACAAACACTACACGCAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTTAAATGA
148	TIM3.5 (13A3) IgG1.3f 重鎖	CAGCTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTTATAGTGGTTACCTACTACAACCCGTCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACAGTCCAAGAACCAAGCTTCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCC CAGACACGGCTGTGATTAGTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACAGCCCACGGTGTGACCC CTGGGGCAGGGAACCTGGTACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCAAGGGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGGTACCGTGCCCTCAGCAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTAACTACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAATCACATGCCAACCGTGGCCACCTGAAAGCGAAGGGCCCCGTCACT CTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCCGTGTGGTCAGGTCTCAC CGTCTGCACCAAGGACTGGTGAATGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCAACAAAGCCTCCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGGACATCGCGTGGAGGAGACATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTTCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCATGTCCTGATGCAAGGCTCTGCACAAACACTACACGCAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTTAAATGA
149	8B9 IgG1.3f 重鎖	AGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA TGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTACTACTGGAACTGGATCCGGCACCCCCAGGGAGGGACTG GAGTGGATTGGTATATCATTACAGTGGAAAGCACCAACTACAATTCCCTCAAGAGTCAGTCA CCATATCAGTAGACAGTCCAAGAACCAAGCTTCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCTGGACAC GGCCGTGATTACTGTGCGAGAGATACTGGTACTACGGTATGGACATCTGGGCAAGGGACACG GTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATGGTCTTCCCGTGGCACCCCTCCAAGAGCA CCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTACGGTGT GTGGAACTCAGGCCCTGACCAAGCGCGTGCACACCTCCCGTGTCTCAGTCTCAGGACTC TAECTCCCTCAGCAGCGTGTGGTACCGTGGCCCTCAGCAGCTGGGACCCAGACATCTGCAACG TGAATCACAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCAAATCTGTGACAACAACTCA CACATGCCAACCGTGGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCCGTAGTCTCCTCTCCCCAAAA CCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTCACTGCGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTGGACGGCGTGGAGGTGCAATGCAAGACAAAGCC GCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGGTCTCACCCTGACCCAGGACTGG CTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGCTCTCAAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCA

【 0 5 3 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 17】

配列番号	説明	配列
		TCTCCAAAGCAAAGGCAGCCCCGAGAACCAACAGGTGTACACCCTGCCCATCCGGAGGAGAT GACCAAGAACAGGTACGCCGACCTGCCCTGGTCAAAGGTTCTATCCAGCGACATGCCGTGGAG TGGAGAGGAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTGGCTGGACTCCGACGCT CCTCTTCCTATAGCAAGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCATG CTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACAAACCACACCGAGAAGGCCTCCCTGTCCCCGGTAA TGA
150	TIM3.6 (8C4) IgG1.3f 重鎖	CAGGTGCACCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGGCCTCGGAGACCCCTGCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCATCAGTCGTTACTACTGGAGCTGGATCCGGCAGCCCCCAGGAAAGGGACT GGAGTGGATTGGTATATCATTACACTGGGAGCACCAACTACAACCCCTCCCAAGAGTCGAGTC ACCATATCAGTAGACAGCTTCAAAGAACAGCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCAGCGGACA CGGCCGTATACTGTGCGACAGATACGGCTACTACGGTATGGACGTCTGGGCCAAGGGACAC GGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGCTTCCCCCTGGCACCCCTCCAAGAGC ACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCCTGAAGGACTACTTCCCAGGGTGAACGGTGT CGTGAACCTAGCGGCCCTGACAGCGCGTGCACACCTCCCGCTGTCTACAGTCTCAGGACT CTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCAGCAGCTGGCACCCAGACCTACATGCAAC GTGAATCACAGCCCAGCAACCAAGGGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTGTGACAAAATC ACACATGCCAACCGTGCCTCACCGACCTGAAGCGAAGGGGCCCTCAGTCTCTCTCCCCCAA ACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGACCGAGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACC ATCTCCAAGCCAAGGGCAGCCCAGAACACAGGTGTACACCCCTGCCCATCCCCGGAGGAGA TGACCAAGAACCAAGGTGACCTGACCTGCTGTCAAAGGCTTATCCCAGGACATGCCGTGGA GTGGGAGAGCAATGGCAGCGGAGAACAACTACAAGACACGCCCTCCGTGCTGGACTCCGACGCC TCCCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCAT GCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACAAACCACACCGAGAAGGCCTCCCTGTCCCCGGTAA ATGA
151	TIM3.2 (17C3) IgG1.3f 重鎖	CAGGTGCAGTGGTGCAGTCTGGGCTGAGGTGAAGAACGCTGGGCCCTAGTGAAGGTCTCTGCA AGGCATCTGGATACTTACCTCACAGCTACTATATGCACTGGTGCAGCAGGCCCTGGACAAGGGCT TGAGTGGATGGAATAATCACCCCTAGGGTGTAGCATATCTACGCACAGAAGTTCAGGGCAGA GTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCTGAGATCTGAGG ACACGGCCCTGATTACTGTGAGAGATTCTATGTTGGAAACTACTACAGGTATGGACGT CTGGGCCAAGGGGACACGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTAAGGACTACTCC CGGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGCGCCCTGACAGCGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCAGGACTCTACCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTCCCTCAGCAGCTGGCACC CAGACACTACATGCAACGTGAATCACAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCA AATCTGTGACAAAATCACATGCCAACCGTGCCTCACCTGAAGCGAAGGGGCCCTGAGT CTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGTTACTGGACGGCGTGGAGGTG ATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGTGTGGCAGCGTCTCAC CGTCTGACCCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACACAGGTGTACACCCCTG CCCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTGACGCCCTGACCTGACCTGCCCTGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAAACGTCTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACAAACCACACCGAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGTAAATGA
152	9F6 IgG1.3f 重鎖	CAGGTGCAGTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTGGTCAAGGCCTGGAGGGCCCTGAGACTCTCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGAACACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCT GGAGTGGGTTTCATTCTAGTGGTGGTAGTACCATATAACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCAGGGACAAGCCAAGAACACTCGCTGTTCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGTCGAGG ACACGGCTGTGTTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACGGTATGGACGT

10

20

30

40

50

【表 1 - 18】

配列番号	説明	配列
		CTGGGGCCAAGGGACCGCGGTACCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGCGGCCCTGACCAGCGGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTTGACCGTGCCCTCCACAGCTGGGACCC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGGCCA AATCTGTGACAAAATCACACATGCCAACCGTGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGGCCCGTCAGT CTTCTCTTCCCCAAAACCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCACGAGACCCCTGGTCAACTGGTACGGTACGGTGGAGGTG ATAATGCCAACAGAACGGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGTGTGGTACGGTCCAC CGTCTGGACCCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTACACCCCTGC CCCCATCCCCGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTACGGTACCTGGTCAAGGTTCTATCC CAGGACATCGCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCTCATGCTCGTGTGATGCGTGGAGGCTCTGCACAAACACTACAGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGTAAATGA
153	TIM3.4 (3G4) IgG1.3f 重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTGGTCAAGGCTGGAGGGCCCTGAGACTCTCTGTG CAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAGGGGCT GGAGTGGGTTTCATTCAATTAGTAGTACTAGTGGTAGTATCATATACTACCGCAGACTCTGTGAAGGGCGA TTCACCATCTCAGGACAACGCCAAGAACACTACTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGAACGGGTATAGCAGCAGTGGTCTACTACTACGGTATGGA CGTCTGGGCAAGGGACCAAGGACACGGTACCGTCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCC CTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTGAACTCAGCGCCCTGACCAGCGGTGCACACCTCCCGGC TGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGG ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGC CCAATCTTGACAAAACCATCACACATGCCAACCGTGCACCTGAAGCGAAGGGCCCCGTC AGTCTCCCTTCCCCAAAACCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGGCCAGGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGGTGGAGG TGCATAATGCCAACAGAACGGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGTGTGGTACGGTCT CACCGTCTCGACCCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC CCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTACACCC TGCCCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTACGGTACCTGGTCAAGGCTTCTA TCCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGAGGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCT CCCGTGTGGACTCCGACGGCTTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGAACGTCTCTCATGCTCGTGTGATGCGTGGAGGCTCTGCACAAACACTACAGCAGAAGAG CCTCTCCCTGTCCCCGGTAAATGA
154	TIM3.9 (17C8) IgG1.3f 重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTGGTCAAGGCTGGAGGGCCCTGAGACTCTCTGTG CAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAGGGGCT GGAGTGGGTTTCATTCAATTAGTAGTACTAGTGGTAGTATCATATACTACCGCAGACTCTGTGAAGGGCGA TTCACCATCTCAGGACAACGCCAAGAACACTACTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGAACGGGTATAGCAGTGGTGGAGTACTACGGTATGGACGT CTGGGGCAAGGGACACGGTACCGTCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGCGCCCTGACCAGCGGTGCACACCTTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGGCCA AATCTGTGACAAAACCATCACACATGCCAACCGTGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCCGTCAGT CTTCTCTTCCCCAAAACCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGGTGGAGGTG ATAATGCCAACAGAACGGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGTGTGGTACGGTCTC CGTCTGCACCCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTACACCCCTGC

【0540】

10

20

30

40

50

【表 1 - 19】

配列番号	説明	配列
		CCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGGTCAAGCTGCCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGACAATGGGAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTCTTCTTCCTCATAGCAAGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGCTCTCATGTCCTGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACACGCGAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTAATGA
155	TIM3.5 (13A3) IgG1.3f 重鎖 (C末端Kなし)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGCCCCCACCTGCA CTGCTCTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACAACCCGCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGGTACACGTTCAAGAACAGCTTCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCCCG CAGACACGGCTGTGTATTATGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCAAC CTGGGGCAGGGAACCTGGTACCGTCTCTCAGCTAGCCAAGGGCCATCGGCTTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAAGCGCGTGACACCTTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTGCCCTCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCACCTGAAGCGAACGGGCCGTCAAGT CTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACGTGAGGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTGGACGGCGTGGAGGT ATAATGCCAACAGAACAGCCGGGAGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTCACCGTGTGGTCA CGTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTCAACCTGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGGAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCCTATAGCAAGCTACCGTGACCAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGCTCTCATGTCCTGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACACGCGAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTTGA
156	8B9 IgG1.3f 重鎖 (C末端Kなし)	AGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGCCCCCACCTGCA TGTCTCTGGCTCCATCAGTCGTCACTACTGGAACTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAAGGGACTG GAGTCGATTGGTATATCATTACAGTGGAAACCAACCTACAATTCCCTCCCTAAGAGTCGAGTC CCATATCAGTAGACACGTCAGAACCAACCTGCAGCTGAGCTGTGACCGCTCGGACAC GGCGTGTATTACTGTGCGAGAGATACTGGTACTACGGTATGGACATCTGGGCAAGGGACAC GTCAACCGTCTCTCAGTACGACCCAAGGGCCATCGTCTTCCCTGCCACCCCTCCCAAGACCA CCTCTGGGGCACAGCGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGT GTGGAACTCAGCGCCCTGACCGCAGCGCTGCACACCTTCCCGTGTCTACAGTCTCAGGACTC TACTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGACCCAGACCTACATGCAACG TGAATCACACCCAGCAACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCA CACATGCCACCGTGCACCTGAAGCGAACGGGCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTGAGCCACG CCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTGGACGGCTGGAGGTGCAATATGCCAACAGAAC GCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTCACCGTGTGGTACGGTCTCAGCGTCTGCCACAGGACTGG CTGAATGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCAACAAAGCCCTCCACCCCGTACGAGAAAACCA TCTCAAAGGAAAGGGCAGCCCGAGAACACCAGGTGACCCCTGCCACGGGAGAT GACCAAGAACAGGTGACCGTGCACCTGCCACGGTCAAAGGTTCTATCCAGCGACATGCCGTGG TGGGAGAGCAATGGGAGCCGAGAACAACTACAAGACCAAGCGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACACGCGAGAACGCCCTCCCTGTCCCCGGTTGA
157	TIM3.6 (8C4) IgG1.3f 重鎖 (C末端Kなし)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGCCCCCACCTGCA CTGCTCTGGCTCCATCAGTCGTTACTACTGGAGCTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAAGGGACT GGAGTGGATTGGTATATCATTACACTGGGAGCACAACCTACAACCCCTCCCTAAGAGTCGAGTC ACCATATCAGTAGACACGTCAGAACCCAGGTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCAGCGGACA CGGCCGTGTTACTGTGCGACAGATACTGGGACTACGGTATGGACGTGACGGTGGGGCAAGGGACAC GGTACCGTCTCTCAGCTACGACCAAGGGCCATCGTCTCCCGTGGCACCCCTCCCAAGAGC ACCTCTGGGGCACAGCGCCCTGGCTGCCTGGTCAAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGT

10

20

30

40

50

【表 1 - 20】

配列番号	説明	配列
		CGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGACACCTTCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACT CTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCCTCAGCAGCTTGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAATCACAGGCCAGCAACCCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGGCCAATCTTGTGACAAAAC ACACATGCCAACCGTGCCTCACCGACCTGAAGCGAAGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCAAA ACCCAAAGGACACCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCGTGACGGCTGAGGTGATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGAGCGTCCACCGTCTGCACAGGACTG GCTGAATGCCAAGGGAGTACAAGTCAAGGTCTCAACAAAGCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACC ATCTCAAAGGCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCCAGGTGACACCTGCCCCATCCCCGGAGGAGA TGACCAAGAACCAAGGAGTCAGCTGACCTGCTGGTCAAGGCTTATCCCAGCGACATGCCGTGGA GTGGGAGAGCAATGGCAGGGAGAACAAACTACAAGACACGCCCTCCGTGCTGGACTCGACGCC TCCTCTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAACGTCTCAT GCTCGTGATGAGGCTGACAACCAACTACAGCAGAAGAGCCTCCGTCCCCGGTTGA A
158	TIM3.2 (17C3) IgG1.3f 重鎖 (C末端Kなし)	CAGGTGCAGTTGGTCAAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAACGCTGGGGCTCAGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCATCTGGATACACTTCACCGACTACTATATGCACTGGGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCT TGAGTGGATGGAATAATCAACCTCAGGGTATAGCATAATCTACGCACAGAATTCCAGGGCAGA GTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGG ACACGGCCGTGATTACTGTGCGAGAGATTCTATGGTTCGGGAAACTACTACTACGGTATGGACGT CTGGGGCCAAGGGACACGGTCAACGGTCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGACTCAGGGCCCTGACCAGCGCGTGCACACTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCGTCAGT CTTCCCTCTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACCTGAGGACACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTG ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGGTACCTGGCCTC CGTCTGACCCAGGACTGGTGAATGCCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAAAGCCCTCC GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGAGCTGACCTGCTGGTCAAAGGTTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGGAGACATGGCAGCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCATGCTCCGTGATGAGGCTGACAACCAACTACAGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGGTTGA
159	9F6 IgG1.3f 重鎖 (C末端Kなし)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTGGTCAAGGCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTG CAGCCTCTGGATTTCACCTTCAGTGAACACTACATGAGCTGGATCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT GGAGTGGGTTTCATTCTAGTGGTGGTAGTACCATATACTACCGCAGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCAACCATCTCAGGGACAACGCCAAGAACACTCGCTGTTCTGCAATGAACAGCCTGAGAGTCGAGG ACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGTGGTACTACTACGGTATGGACGT CTGGGGCCAAGGGACCGCGGTACCGTCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGACTCAGGGCCCTGACCAGCGCGTGCACACTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCGTCAGT CTTCCCTCTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACCTGAGGACACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTG ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGGTCTCC CGTCTGACCCAGGACTGGTGAATGCCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAAACAAAGCCCTCC GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGCTGGTCAAAGGTTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCC

【0541】

【表 1 - 21】

配列番号	説明	配列
		GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTCTTCTCTATAGCAAGCTACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAACGTTCTCATGCTCCGTATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAAGAGGCCTCTCCTGTCGGGGTTGA
160	TIM3.4 (3G4) IgG1.3f 重鎖 (C末端Kなし)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGGCTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCAACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGCT GGAGTGGGTTTCATTCTAGTAGTAGTGAGTATCATATACTACCGCAGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCAGGACAAGGAACTACTGAGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAGGCCAG ACACGGCTGTATTACTGTGAGAGAAGGGTATAGCAGCTGGTCTACTACTACGGTATGG CGTCTGGGGCAAGGGACCGTCACCGTCTCAGTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCC CTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCTCTGACCGAGCGGTGACACCTTCCC TGTCTTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCTGGTGAACCGTCCAGCAGCTGG ACCCAGACTACATGCAAGTGAATCACAAGCCCAGAACACCAAGGGACAAGAGAGTTGAGC CCAATCTTGACAAAAGTACACACATGCCAACCGTGGCAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCC AGTCTTCTCTTCCCCAAAACCAAGGGACACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACATC GTGGTGGTGACGTAGGCCAGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGTAACGGTACGGTGG TGCATAATGCAAGAACAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGACGTGGTGGTCAAGC CACCGTCTCTGACCCAGGACTGGTGAATGGCAAGGGTACAAGTGAAGGTCTCAACAAAGCC CCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGGCCGAGAACACAGGTGTACAC TGCCCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTAGCCCTGACCTGACCTGGTCAAAGG TCCCAAGCGACATGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACACTACAAGACC CCCCTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTCATGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG AGCAGGGGAACGTCTCTCATGCTCCGTATGCATGAGGCTCTGCACAACCAACTACAC CCTCTCCCTGTCGGGGTTGA
161	TIM3.9 (17C8) IgG1.3f 重鎖 (C末端Kなし)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGGCTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCAACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGCT GGAGTGGGTTTCATTCTAGTAGTAGTGAGTATCATATACTACCGCAGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCAGGACAAGGAACTACTGAGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAGGCCAG ACACGGCTGTATTACTGTGAGAGATGGTATAGCAGCTGGGAGTACTACGGTATGGACGT CTGGGCCAGGGACACGGTCACCGTCTCCTCAGTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCC GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACT CCGAACCGCTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCAAGGCCCTGACACCTTCCC CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCTGGTGAACCGTGCCTCCAGCAGCTGG CAGACACTACATGCAACGTGAATCACAAGGCCAGAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAG AATCTTGACAAAAGTACACATGCCAACCGTGGCAGCACCTGAAGGGAGGGCCCC CTTCTCTTCCCCAAAACCAAGGGACACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACAT GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGTAACGGTACGG ATAATGCAAGAACAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGACGTACGGTGGTCA CGTCTGCAACAGGACTGGTGAATGGCAAGGGTACAAGTGAAGGTCTCAACAAAGCC GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGGCCGAGAACACAGGTGTAC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTGACCTGACCTGCTGGTCAAAGG CAGGACATGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACACTACAAGACC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCATGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG AGGGGAACGTCTCTCATGCTCCGTATGCATGAGGCTCTGCACAACCAACTACAC CTCCCTGTCGGGGTTGA
205	TIM3.10 (13A3) IgG1.1f (N60Q)重鎖	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGCTCCCTCACCTG CTGCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCC GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACAGTCAAGAACCGAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCG CAGACACGGCTGTGTATTAGTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGG CTGGGCCAGGGAAACCTGGTACCGTCTCCTCAGTAGCACCAAGGGCCATCGGTCT GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACT CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCGCGCTGACACCTTCCC GGT

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 2】

配列番号	説明	配列
		CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGGCCA AATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCAACCGTGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGGCCCGTCAGT CTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAACAGACAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCC CGTCTGCACCCAGGACTGGCTGAATGCCAACGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGGGAGGAGCATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCGCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAAACGTCTCTCATGCTCGTGTGACATGAGGCTCTGCACAAACCACTACACGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGTAAATGA
206	TIM3.11 (13A3) IgG1.1f (N60S) 重鎖	CAGCTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAAGCCTCGGAGACCCCTGCCCCACCTGCA CTGCTCTGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGAA GGGGCTGGAGTGGATGGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACTCACCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTGCACCC CTGGGGCCAGGGAAACCTGGTACCGTCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCCCTGACCAAGCGCGTGCACACTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACGGTGCCTCCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGGCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCAACCGTGGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGGCCCGTCAGT CTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAACAGACAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCC CGTCTGCACCCAGGACTGGCTGAATGCCAACGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGGGAGGAGCATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCGCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAAACGTCTCTCATGCTCGTGTGACATGAGGCTCTGCACAAACCACTACACGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGTAAATGA
207	TIM3.12 (13A3) IgG1.1f (N60A)重鎖	CAGCTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAAGCCTCGGAGACCCCTGCCCCACCTGCA CTGCTCTGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGAA GGGGCTGGAGTGGATGGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACGCACCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCTCCCCCTG CTGGGGCCAGGGAAACCTGGTACCGTCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCCCTGACCAAGGGCGTGCACACTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACGGTGCCTCCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGGCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCAACCGTGGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGGCCCGTCAGT CTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAACAGACAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCC CGTCTGCACCCAGGACTGGCTGAATGCCAACGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGGGAGGAGCATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCGCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC

【 0 5 4 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 3】

配列番号	説明	配列
		AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACCGCAGAAGAGCCTCTCCTGTCCCCTCACCTGCA CTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
208	TIM3.13 (13A3) IgG1.1f (D101E)重鎖	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCCCTCACCTGCA CTGCTCTGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGACCCGGCG CAGACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGGCTACGGTACTACGCCACTGGTCAAGGACTACTCC CTGGGCCAGGGAAACCTGGTCCCTCAGCTAGCAGGCCATGGGCTGGTCAAGGACTACTCC GCACCCCTCCCAAGAGCACCTGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGGCCCTGACCAAGCGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCAGCTGAAGCGAAGGGGCCGTCAAGT CTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGGTGAAGGACCGTGGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG ATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGTGTGGTCAGCGTCC CGTCTGCACCGAGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCTG CCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTGACCTGACCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACCGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
209	TIM3.14 (13A3) IgG1.1f (P102V)重鎖	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCCCTCACCTGCA CTGCTCTGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCG CAGACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCAAGGCT ATGGGCCAGGGAAACCTGGTACCCGTCTCCCTCAGCTAGCAGCCAAGGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGGCCCTGACCAAGCGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCAGCTGAAGCGAAGGGGCCGTCAAGT CTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGGTGAAGGACCGTGGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG ATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGTGTGGTCAGCGTCC CGTCTGCACCGAGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCTG CCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTGACCTGACCTGGCTGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACCGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
210	TIM3.15 (13A3) IgG1.1f (P102Y)重鎖	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCCCTCACCTGCA CTGCTCTGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCG CAGACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCAAGGCT CTGGGCCAGGGAAACCTGGTACCCGTCTCCCTCAGCTAGCAGCCAAGGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGGCCCTGACCAAGCGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTGGCACC

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 4】

配列番号	説明	配列
		CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGACAAA ACTCACACATGCCACCAGTGC CAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCCGT CAGT CTTCCTCTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTAC GTGGTGACGTGAGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGCCGTGGAGGTGC ATAATGCAAGAACAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACACGACAGTACCGTGTGGTACGCCCTCAC CGTCCCTCACCAAGGACTGGCTGAATGCAAGGAGTACAAGTGCAGGCTTCCAACAAGGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTACACCCCTGC CCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGGTCAAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTCTCATGCTCCGTGATGCACTGAGGCTCTGCACAACCAACTACACCGCAGAACAGGC CTCCCTGCCCCGGGTAATGA
211	TIM3.16 (13A3) IgG1.If (P102L)重鎖	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGCCCTCAC CTGCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATGCCACCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGCTCCCTAAGAGT CGAGTCACCATATCCGGTACACCTCCAAGAACCCAGGTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGATTATTGTCGACAGGGGGCCCTACGGTACACTACCCCCACTGGTTCGACCT ATGGGGCAGGGAACCTGGTACCGCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATGGTCTTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGCCCTGACCAGCGCGTGACACCTTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGGCCCTCAGCAGCTGGGACCC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGACAAA ACTCACACATGCCACCAGTGC CAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCCGT CAGT CTTCCTCTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTAC GTGGTGACGTGAGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGCCGTGGAGGTGC ATAATGCAAGAACAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACACGACAGTACCGTGTGGTACGCCCTCAC CGTCCCTCACCAAGGACTGGCTGAATGCAAGGAGTACAAGTGCAGGCTTCCAACAAGGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTACACCCCTGC CCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGGTCAAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTCTCATGCTCCGTGATGCACTGAGGCTCTGCACAACCAACTACACCCAGAACAGGC CTCCCTGCCCCGGGTAATGA
212	TIM3.17 (13A3) IgG1.If (N60Q/P102Y) 重鎖	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGCCCTCAC CTGCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATGCCACCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGCTCCCTAAGAGT CGAGTCACCATATCCGGTACACGTCAGAACCCAGGTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGATTATTGTCGACAGGGGGCCCTACGGTACACTACCCCCACTGGTTCGACTA CTGGGGCAGGGAACCTGGTACCGCTCCTCAGCTACGGCACAGGGCCATGGTCTTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGCCCTGACCAGCGCGTGACACCTTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGGCCCTCAGCAGCTGGGACCC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGACAAA ACTCACACATGCCACCAGTGC CAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCCGT CAGT CTTCCTCTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTAC GTGGTGACGTGAGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGCCGTGGAGGTGC ATAATGCAAGAACAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACACGACAGTACCGTGTGGTACGCCCTCAC CGTCCCTCACCAAGGACTGGCTGAATGCAAGGAGTACAAGTGCAGGCTTCCAACAAGGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTACACCCCTGC CCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGGTCAAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTCTCATGCTCCGTGATGCACTGAGGCTCTGCACAACCAACTACACCGCAGAACAGGC CTCCCTGCCCCGGGTAATGA

【 0 5 4 3 】

【表 1 - 25】

配列番号	説明	配列
		CTCCCTGTCCCCGGGTAATGA
355	TIM3.18 (13A3) IgG1.1f (N60Q/D101E) 重鎖	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGCCCTCACCTGCA CTGCTCTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACCAACCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCGTTGACACGTCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGATTATGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCAACC CTGGGCCAGGAACCTGGTACCGTCACCGTCAAGCTAGCAGCAAGGGCCATGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCAAGAGCACCTGGGACAGCAGGGCTGGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGCCCTGACCAAGCGCGTGACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCTGGTACCGTGCCCTCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCA AATCTTGTGACAAAAGTACACATGCCACCGTGGCCAGCAGCTGAAGCGAAGGGCCCCTGAGT CTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACTGAGCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACTCTGGACGGCTGGAGGTG ATAATGCCAAAGACAAAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGCTACCGTGTGGTCAAGG CGTCTGACCAAGGACTGGTGAATGCAAGGAGTACAAGTGAAGGCTCCAAGGCCCTCC AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCC CCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGCTGGTCAAAGGTTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAGAACGCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAAACGTCTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACAGCAGAAAGAGC CTCCCTGTCCCCGGGTAATGA
213	TIM3.8 (8B9) IgG1.1f (S61P) 重鎖	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGCCCTCACCTGCA CTGCTCTGGCTCATCAGCTGCACTACTGGAACTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAAGGGACT GGAGTGGATTGGTATATCATTACAGTGAAGCACCACATAATCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTC ACCATATCAGTAGACACGTTCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCTGCGGACA CGGCCGTGTTACTGTGCGAGAGATACTGGTACTACGGTATGGACATCTGGGCAAGGGAC GGTACCCGTCCTCAGTACGACCAAGGGCCATCGTCTCCCTGGCACCCCTCCAAGAGC ACCTCTGGGGCACCGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTCCCGAACCGGTGACGGTGT CGTGGAACTCAGGGCCCTGACCAAGCGGGCTGACACCTCCCGCTGCTACAGTCTCAGGACT CTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGGCCCTCAGCAGCTGGCACCCAGACCTACATCTG GTGAATCACAAGCCCAGCAACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCAATCTTGTGACAAA ACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGGCCAGGGGCCCGTCAGTCTCTCTTCCCCCAA ACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTGAGCC GAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGATAATGCCAAGAACAGC CCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGGTCTCAGCAGCTGGAGGACT GCTGAATGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCG ATCTCCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGCCCTATCCGGAGGAGA TGACCAAGAACCAAGGTGAGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTATCCAGCGACATGCC GTGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAGACACGCCCTGGCTGGACTCCGACGCC TCCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGAGCAGGGAAACGTCTCTCAT GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACAGCAGAAAGAGCCTCCCTGTCCCCGG ATGA
214	TIM3.7 (9F6) IgG1.1f (A108T)重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGGCTGGTCAAGCCTGGAGGGCCCTGAGACTCTCTGT CAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGAACACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGG GGAGTGGGTTTCATTCTAGTGGTGTGGTAGTACCATATACTACCGAGACTCTGTGAAGGGCGA TTCACCATCTCAGGACAACGCCAAGAACACTCGCTGTTCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGTCGAG ACACGGCTGTGTTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACGGTATGGAC CTGGGCCAGGGACACGGTACCGTCCCTCAGCTAGCAGCACCAAGGGCCATGGTCTCCCC GCACCCCTCCAAGAGCACCTCTGGGACAGCGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGCCCTGACCAAGCGCGTGACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCCTCAGCAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCA

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 6】

配列番号	説明	配列
		<pre> AATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCCGTAGT CTTCCTCTCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACCTGAGGCACGAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTG ATAATGCCAACAGACAAGCCGGGAGGGAGCAGTACAACAGCACGTACCCGTGAGGTACATGCGTG CGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCAGAGAACACAGGTACACCCCTGC CCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTCAAGGTGAGGTCTGCTGGTCAAAGGCTCTAC CAGCGACATGCCGTGGAGGGAGACATGGGAGCCCAGAACACTACAAGACCCAGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCCTGAGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCTCATGCTCCGTATGCATGAGGCTCTGCACAACCAACTACACGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGTTAAATGA </pre>
215	TIM3.10 (13A3) IgG1.1f (N60Q)重鎖（C 末端 K なし）	<pre> CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGGCTTCGGAGACCCCTGCCCCACCTGCA CTGCTCTGGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGACTGGATGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACCAACCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGGTACACGTCCAAGAACCGAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCAACCCCTG CTGGGCCAGGGAACCCCTGGTACCCGCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGGCCCTGACCGCGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCCTCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGGCCAGCAACACCAAGGTGAGAACAGAGGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCACCGTGGCAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCCGTAGT CTTCCTCTCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACCTGAGGCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTG ATAATGCCAACAGACAAGCCGGGAGGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGGTCTC CGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCAGAGAACACAGGTACACCCCTGC CCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTCAAGGTGAGGTCTGCTGGTCAAAGGCTCTAC CAGCGACATGCCGTGGAGGGAGACATGGGAGCCCAGAACACTACAAGACCCAGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCCTGAGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCTCATGCTCCGTATGCATGAGGCTCTGCACAACCAACTACACGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGTTGA </pre>
216	TIM3.11 (13A3) IgG1.1f(N60S) 重鎖（C 末端 K なし）	<pre> CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGGCTTCGGAGACCCCTGCCCCACCTGCA CTGCTCTGGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACTCACCCTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGGTACACGTCCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCAACCCCTG CTGGGCCAGGGAACCCCTGGTACCCGCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGGCCCTGACCGAGGGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCCTCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGGCCAGCAACACCAAGGTGAGAACAGAGGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCACCGTGGCAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCCGTAGT CTTCCTCTCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACCTGAGGCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTG ATAATGCCAACAGACAAGCCGGGAGGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGGTCTC CGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCAGAGAACACAGGTACACCCCTGC CCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTCAAGGTGAGGTCTGCTGGTCAAAGGCTCTAC CAGCGACATGCCGTGGAGGGAGACATGGGAGCCCAGAACACTACAAGACCCAGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCCTGAGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCTCATGCTCCGTATGCATGAGGCTCTGCACAACCAACTACACGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGTTGA </pre>

【 0 5 4 4 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 27】

配列番号	説明	配列
217	TIM3.12 (13A3) IgG1.1f (N60A)重鎖 (C 末端 K なし)	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGCCCTACCTGCA CTGTCCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACGGCTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGCTTCACCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCAAGGACTCTG CTGGGCCAGGAAACCTGGTACCCGTCCCTCAGCTAGCACCAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTGGGACAGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGCCCTGACCAGCGTGCACACCTTCCCAGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCTGGTGGTACGGTGCCTCCAGCAGCTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGGCCA AATCTTGTGACAAAACATCACATGCCACCGTCCAGCAGCTGAAGCGAAGGGGCCGTCAAGT CTTCCCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGGTGGACGGCTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCAGCTACCGTGTGGTCAAGGCTCTCAC CGTCTGCAACAGGACTGGTGAATGCCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAAAGGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACATCTCAAGGCCAAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGCTGGTCAAGGCTTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAAACTACAAGACCACGCCCTCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTCCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAAACGTCTCTCATGTCCTGATGCATGAGGCTCTGACAACCAACTACAGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTTGA</p>
218	TIM3.13 (13A3) IgG1.1f (D101E)重鎖 (C 末端 K なし)	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGCCCTACCTGCA CTGTCCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACACCCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGCTTCACCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCAAGC CTGGGCCAGGAAACCTGGTACCCGTCCCTCAGCTAGCACCAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTGGGACAGGCCCTGGCTGGTGCACACCTTCCCAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGCCCTGACCAGCGTGCACACCTTCCCAGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCTGGTGGTACGGTGCCTCCAGCAGCTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGGCCA AATCTTGTGACAAAACATCACATGCCACCGTCCAGCAGCTGAAGCGAAGGGGCCGTCAAGT CTTCCCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGGTGGACGGCTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCAGCTACCGTGTGGTCAAGGCTCTCAC CGTCTGCAACAGGACTGGTGAATGCCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGCTGGTCAAGGCTTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAAACTACAAGACCACGCCCTCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTCCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAAACGTCTCTCATGTCCTGATGCATGAGGCTCTGACAACCAACTACAGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTTGA</p>
219	TIM3.14 (13A3) IgG1.1f (P102V)重鎖 (C 末端 K なし)	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGCCCTACCTGCA CTGTCCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACACCCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGCTTCACCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCAAGC ATGGGCCAGGAAACCTGGTACCCGTCCCTCAGCTAGCACCAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTGGGACAGCGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCAGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCTGGTGGTACGGTGCCTCCAGCAGCTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGGCCA AATCTTGTGACAAAACATCACATGCCACCGTGGCCAGCAGCTGAAGCGAAGGGGCCGTCAAGT</p>

10

20

30

40

50

【表 1 - 28】

配列番号	説明	配列
		CTTCCTTCCCCCCTAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTACGGTCAAGGCTCCAAACAAAGCCCTCCA CGTCCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGCCAAGGAGTACAAGTCAAGGCTCCAAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTCAACGGTACCCGTGACCTGGTCAAAGGCTTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGGCAATGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTCATGCTCGTGTGACGAGGTCTGCACAACCACACCGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGTTGA
220	TIM3.15 (13A3) IgG1.1f (P102Y)重鎖 (C末端Kなし)	CAGCTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGCCCCCACCTGCA CTGCTCTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTAGTGGGTCACCTACTACAACCCGTCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCCAGGTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGATTAGTGTGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCACTA CTGGGGCCAGGGAAACCTGGTACCGTCTCCCTCAGCTAGCAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGGGCCCTGACCGAGCGCTGACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCGTCAGT CTTCCCTTCCCCCCTAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTCAATGCGT GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTACGGTGGAGGTG ATAATGCCAAGACAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGGTCTCC CGTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGCCAAGGAGTACAAGTCAAGGCTCCAAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTCAACGGTACCCGTGACCTGGTCAAAGGCTTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGGAGCAATGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTCATGCTCGTGTGACGAGGTCTGCACAACCACACCGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGTTGA
221	TIM3.16 (13A3) IgG1.1f (P102L)重鎖 (C末端Kなし)	CAGCTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGCCCCCACCTGCA CTGCTCTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTAGTGGGTCACCTACTACAACCCGTCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCCAGGTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGATTAGTGTGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCACT ATGGGGCCAGGGAAACCTGGTACCGTCTCCCTCAGCTAGCAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGGGCCCTGACCAAGGGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCGTCAGT CTTCCCTTCCCCCCTAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTCAATGCGT GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTACGGTGGAGGTG ATAATGCCAAGACAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGGTCTCC CGTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGCCAAGGAGTACAAGTCAAGGCTCCAAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTCAACGGTACCCGTGACCTGGTCAAAGGCTTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGGAGCAATGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTCATGCTCGTGTGACGAGGTCTGCACAACCACACCGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGTTGA
222	TIM3.17	CAGCTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGCCCCCACCTGCA

【0545】

10

20

30

40

50

【表 1 - 29】

配列番号	説明	配列
	(13A3) IgG1.1f (N60Q/P102Y) 重鎖 (C 末端 K なし)	CTGTCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACCAACCCTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGCTTCAGCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCAGACT CTGGGCCAGGAAACCTGGTCACCGTCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTTGCGACAGGGCCCTGGCTGGTCAGAGACTCTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAAGTCACTCAGGCCCTGAGCGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGAAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCA AATCTTGTGACAAAACATCACATGCCAACCTGCCCCAGCAGCTGAAGCGAAGGGCCCCGTCA CTTCTCTTCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCAC CGTCTGACCAAGGACTGGCTGAATGCCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAAACAAAGCCTCCCA AGCAGCATCGAGAAAACATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCAGAACACAGGTGACACCCCTC CCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGCGCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAAACTACAAGACCACGCCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTTCTCATGTCCTGATGCATGAGGCTTGACAAACCACTACAGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTTGA
356	TIM3.18 (13A3) IgG1.1f (N60Q/D101E) 重鎖 (C 末端 K なし)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGTCCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACCAACCCTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGCTTCAGCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCAGC CTGGGCCAGGAAACCTGGTCACCGTCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGCCACAGCGGCCCTGGCTGGTCAGGACTACTTC CCGAACCGGTGACGGTGTGGACTCAGGCCCTGACCGCCCTGACCGCGCGTGCACACCTTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCTCCACAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGAAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCA AATCTTGTGACAAAACATCACACATGCCAACCTGACCTGAAGCGAAGGGCCCCGTCA CTTCTCTTCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCAC CGTCTGACCAAGGACTGGCTGAATGCCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAAACAAAGCCTCCCA AGCAGCATCGAGAAAACATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCAGAACACAGGTGACACCCCTG CCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGCGCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTTCTCATGTCCTGATGCATGAGGCTTGACAAACCACTACAGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTTGA
223	TIM3.8 (8B9) IgG1.1f (S61P) 重鎖 (C 末端 K なし)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGTCCTGGTGGCTCATCAGTCGTCACTACTGGACTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAGGGACT GGAGTGGATTGGTATATCATTACAGTGGAAAGCACCAACTACAATCCCTCCCTCAAGAGTCAGTC ACCATATCAGTAGACAGCTCAAGAACCAAGCTTCAGCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCTGCGGACA CGGCCGTGATTACTGTGCGAGAGATACTGGTACTACGGTATGGACATCTGGGCCAGGGACAC GGTACCGCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTGGCACCCCTCCCAAGAGC ACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGGCTGAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGT CGTGGAACTCAGCGCCCTGACAGCGCCGTGACACCTCCCGCTGTCTACAGTCAGCAGACT CTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAATCACAAGCCCAGCAACCCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCAAATCTGTGACAAAAC ACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCCGTCAAGTCTTCCCTTCCCCCAA ACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTGAGCCAC

10

20

30

40

50

【表 1 - 30】

配列番号	説明	配列
		GAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGCCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAACAAAGCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACC ATCTCCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACCACAGGTGTACACCCTGCCCATCCGGGAGGAGA TGACCAAGAACAGGCTCAGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTCTATCCCAGCGACATGCCGTGGA GTGGGAGAGCAATGGGCAAGGGAGAACAACTACAAGACACGCCCTCCGTGACTCCGACGGC TCCCTCTCTCTATAGCAACTCACCGTGGACAAGAGCAGTGGCAGCAGGGAACGCTTCTCAT GCTCCGTGATGAGGCTGTCACAACCAACTACACGCAGAAGGCCTCCCTGTCCCCGGTTGA A
		CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTCAAGGCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGACTACTACATGACCTGGATCCGCCAGGCTCAGGGAAAGGGGCT GGAGTGGGTTTCATTCAATTAGTGGTGGTAGTACCATATACTACCGAGACTCTGTGAAGGGCGA TTCACCATCTCCAGGGACAAGCAGCAAGAACCTGCTGTTCTGCAATGAACAGCCTGAGAGTCAGG ACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGCTGACTACTACGCTATGGACGT CTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCGTGCAAGGACTACTCC CGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCGCCCTGACAGCGGTGACCGTGGCTCCAGCAGCTGGGACC CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGGCTCCAGCAGCTGGGACCC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACACTCACACATGCCAACCGTGGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGGCCCCGTCAGT CCTCTCTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGACAGCAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGGCTCTCAC CGTCTGCACCAAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGGCCAGGGCCGAGAACACACAGGTGTACACCCCTGC CCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACGGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGGCAAGGGAGAACAACTACAAGACACGCCCTCCC GTGGTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGCTCTCATGCTCCGTGATGAGGCTGTCACAACCAACTACACGCAGAAGGCCTCTCCCTGTGAA
224	TIM3.7 (9F6) IgG1.1f (A108T)重鎖 (C末端Kなし)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGGCTTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGTCCTCTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACCAACCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCAGGCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGATTATGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGTTGACCC CTGGGGCCAAGGGAAACCTGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCGTGCAAGGACTACTCC CGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACAGCGGTGACCGCCTGACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGGCCCTCCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACACTCACACATGCCAACCGTGGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGGCCCCGTCAGT CCTCTCTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGACAGCAAGACCCAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGGCTCTCAC CGTCTGCACCAAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA GCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGGCCAGGGCCGAGAACACACAGGTGTACACCCCTGC CCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACGGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGGCAAGGGAGAACAACTACAAGACACGCCCTCCC GTGGTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACCTCTCATGCTCCGTGATGAGGCTGTCACAACCAACTACACGCAGAAGGCCTCTCCCTGTAAATGA
225	TIM3.10 (13A3) IgG1.3f (N60Q)重鎖	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGGCTTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGTCCTCTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACCAACCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCAGGCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGATTATGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGTTGACCC CTGGGGCCAAGGGAAACCTGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCGTGCAAGGACTACTCC CGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACAGCGGTGACCGCCTGACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGGCCCTCCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACACTCACACATGCCAACCGTGGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGGCCCCGTCAGT CCTCTCTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGACAGCAAGACCCAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGGCTCTCAC CGTCTGCACCAAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA GCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGGCCAGGGCCGAGAACACACAGGTGTACACCCCTGC CCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACGGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGGCAAGGGAGAACAACTACAAGACACGCCCTCCC GTGGTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACCTCTCATGCTCCGTGATGAGGCTGTCACAACCAACTACACGCAGAAGGCCTCTCCCTGTAAATGA
226	TIM3.11 (13A3) IgG1.3f (N60S)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGGCTTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGTCCTCTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA

【0546】

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 1】

配列番号	説明	配列
	重鎖	<pre> GGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACTCACCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGCTTCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTATTATGGTGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTTCGACCC CTGGGCCAGGAAACCTGGTACCGTCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGCCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTCCACAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACATGCCAACCGTGGCACCTGAAGCGAAGGGGCCGTCAGT CTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGGTCCCTCAC CGTCTGCAACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACCCCTC CCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGGTGACGCTGACCTGCCGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCTCATGCTCGTGTGATGCATGAGGCTCTGACAACCACACGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTAATGA </pre>
227	TIM3.12 (13A3) IgG1.3f (N60A)重鎖	<pre> CAGCTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGGCTTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACGCACCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGCTTCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTATTATGGTGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTTCGACCC CTGGGCCAGGAAACCTGGTACCGTCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGCCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTCCACAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACATGCCAACCGTGGCACCTGAAGCGAAGGGGCCGTCAGT CTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGGTCCCTCAC CGTCTGCAACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACCCCTC CCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGGTGACCCGTACCTGCCCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCTCATGCTCGTGTGATGCATGAGGCTCTGACAACCACACGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTAATGA </pre>
228	TIM3.13 (13A3) IgG1.3f (D101E)重鎖	<pre> CAGCTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGGCTTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACACCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGCTTCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTATTATGGTGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTTCGACCC CTGGGCCAGGAAACCTGGTACCGTCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGCCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTGGCTCCACAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACATGCCAACCGTGGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGGCCGTCAGT CTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACGTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTGC </pre>

10

20

30

40

50

【表1 - 3 2】

配列番号	説明	配列
		ATAATGCCAAGACAAAGCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGCTCCAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACCCACAGGTGTACACCTGCC CCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTCAAGCTGACCTGACCTGGCTAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATCGCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCGAGAACAACTACAAGAACCGCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTTTCTCCCTATAGCAAGGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGCTTCTCATGTCCTGATGAGGCTCTGCACAACACTACACGAGAACGACCT CTCCCTGTCCCCGGTAAATGA
229	TIM3.14 (13A3) IgG1.3f (P102V)重鎖	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTGGGGCCAGGACTGGTGAAGGCTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGCTCTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCGTTGACACGTCCAAGAACAGGCTTCAGCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGTATTATGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTGCAGT ATGGGGCCAGGGAAACCTGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCCACCGTGCCAGCAGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCA AATTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCAAGGGGCCGTAGT CTTCTCTCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGTTGGACGTGAGCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGGCTCTCAC CGTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGCTCCAACAAAGCCCTCCC GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACCCACAGGTGTACACCTGCC CCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGGCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATCGCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCGAGAACAACTACAAGAACCGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCCCTATAGCAAGGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGCTTCTCATGTCCTGATGAGGCTCTGCACAACACTACACGAGAACGACCT CTCCCTGTCCCCGGTAAATGA
230	TIM3.15 (13A3) IgG1.3f (P102Y)重鎖	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTGGGGCCAGGACTGGTGAAGGCTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGCTCTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCGTTGACACGTCCAAGAACAGGCTTCAGCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGTATTATGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTGCAGTA CTGGGGCCAGGGAAACCTGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCCACCGTGCCAGCAGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCA AATTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCAAGGGGCCGTAGT CTTCTCTCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGTTGGACGTGAGCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGGCTCTCAC CGTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGCTCCAACAAAGCCCTCCC GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACCCACAGGTGTACACCTGCC CCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGGCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATCGCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCGAGAACAACTACAAGAACCGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCCCTATAGCAAGGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGCTTCTCATGTCCTGATGAGGCTCTGCACAACACTACACGAGAACGACCT CTCCCTGTCCCCGGTAAATGA
231	TIM3.16 (13A3) IgG1.3f (P102L)重鎖	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTGGGGCCAGGACTGGTGAAGGCTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGCTCTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCTCAAGAGT

10

20

30

40

【0547】

【表 1 - 3 3】

配列番号	説明	配列
		CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGCTTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTATTATTGTGCGCACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCACCT ATGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAGGACTACTCC CCGAACCGGGTACGGTGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCCTCAGCAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTAACTACAAGCCCAGAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAATCACATGCCAACCGTGCACCTGAAGCGAAGGGCCCGTCAAGT CTTCCCTCCCCAAAACCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACGTGAGGACAGGCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTGGTGTGGTCAGCGTCTCAC CGTCTGACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTGACCTGACCTGGCTGGTCAAAGGCTTATCC CAGCGACATGCCGTGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAAACGTCTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGTAAATGA
232	TIM3.17 (13A3) IgG1.3f (N60Q/P102Y) 重鎖	CAGCTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGTCCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTTATAGTGGGTCACCTACTACCAACCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGCTTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTATTATTGTGCGCACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCTGACTA CTGGGCCAGGGAACCCCTGGTACCGTCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCCTCAGCAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTAACTACAAGCCCAGAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAATCACACATGCCAACCGTGCACCTGAAGCGAAGGGCCCGTCAAGT CTTCCCTCCCCAAAACCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACGTGAGGACAGGCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCCGTGCTGGTCAGCGTCTCAC CGTCTGACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACACAGGTGACCTGACCTGGTCAAAGGCTTATCC CAGGGACATCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAAACGTCTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGTAAATGA
357	TIM3.18 (13A3) IgG1.3f (N60Q/D101E) 重鎖	CAGCTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGTCCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTTATAGTGGGTCACCTACTACCAACCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGCTTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTATTATTGTGCGCACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCTGAAAC CTGGGCCAGGGAACCCCTGGTACCGTCTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCCTCAGCAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTAACTACAAGCCCAGAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAATCACACATGCCAACCGTGCACCTGAAGCGAAGGGCCCGTCAAGT CTTCCCTCCCCAAAACCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACGTGAGGACAGGCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCAC

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 4】

【 0 5 4 8 】

【表 1 - 3 5】

配列番号	説明	配列
	末端 K なし)	CAGACACGGCTGTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCGACCC CTGGGCCAGGAACCTGGCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGCCATCGTCTCCCCCTG GCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGCACAGCGGCCCTGGCTGGCTGGCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCACGGCGTGACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGGTACCGTGCCCTCAGCAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGACACGTAACTACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTGTGACAAAATCACATGCCAACCGTGGCACCTGAAGCGAACGGGCCCGTCAGT CTTCTCTCCCCAAAACCCAAGGACACCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCACGAAGAGCTGGGTCAAGTCAACTGGTACGGTGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGTGTTGAGCAGCTCC CGTCTGCACCGAGCTGGTGAATGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCAACAAAGCCTCC GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGGACATCGCGTGGAGGAGGAGCAATGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCATGTCGTGATGCATGAGGCTTGACAAACCACTACACGAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTTGA
236	TIM3.11 (13A3) IgG1.3f (N60S) 重鎖 (C 末端 K なし)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTGGGCCAGGACTGGTGAAGGCTTGGAGACCCCTGCTCC CTGCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACTCACC CGAGTCACCATATCCGTTGACAGTCAAAGAACCAAGCTTCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCA CTGGGCCAGGGAAACCTGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGCCATGGTCTCCCCCTG GCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGCCACAGCGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCAGCGCGTGACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGACACGTAACTACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTGTGACAAAATCACATGCCAACCGTGGCACCTGAAGCGAACGGGCCCGTCAGT CTTCTCTCCCCAAAACCCAAGGACACCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCACGAAGAGCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGTGTTGAGCAGCTCC CGTCTGCACCGAGCTGGTGAATGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCAACAAAGCCTCC GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGGACATCGCGTGGAGGAGGAGCAATGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCATGTCGTGATGCATGAGGCTTGACAAACCACTACACGAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTTGA
237	TIM3.12 (13A3) IgG1.3f (N60A)重鎖 (C 末端 K なし)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTGGGCCAGGACTGGTGAAGGCTTGGAGACCCCTGCTCC CTGCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACGCACCGTCC CGAGTCACCATATCCGTTGACAGTCAAAGAACCAAGCTTCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCA CTGGGCCAGGGAAACCTGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGCCATGGTCTCCCCCTG GCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGCCACAGCGGCCCTGGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCAGCGCGTGACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGCACC CAGACCTACATCTGACACGTAACTACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTGTGACAAAATCACATGCCAACCGTGGCACCTGAAGCGAACGGGCCCGTCAGT CTTCTCTCCCCAAAACCCAAGGACACCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCACGAAGAGCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTGACGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGTGTTGAGCAGCTCC CGTCTGCACCGAGCTGGTGAATGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAACAAAGCCTCC

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 6】

配列番号	説明	配列
		GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGTACACCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGCCAAGAACCCAGGTCAACCTGCCTGGTCAAAGGCTTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGAGAGCAATGGCAGCCGAGAACACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTTGACAAACCACTACACGAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTGA
238	TIM3.13 (13A3) IgG1.3f (D101E)重鎖 (C末端Kなし)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGCCCTCACCTGCA CTGCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACAACCCGTCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTTCAAGAACCCAGGTTCACCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCC CAGACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTGAACAGCCCAGTGGTCAACC CTGGGGCAGGGAACCCCTGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCAGGACAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGACTCAGGCCCTGACCAAGGGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGGTACCCCTCAGCAGCTGGGACCC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCAGCTGAAGCGAAGGGGCCCTGAGT CTTCCCTCTCCCCCCTAACACCAAGAACCCAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGT CATGCGTGTGAGGCTGAGGACAGCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTG ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGGAGCTACACAGCAGTACCGTGTGGTACGGTCTC CGTCTGACCCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGTCAAGGTCCTCAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACCCCTG CCCCATCCGGAGGAGATGCCAAGAACCCAGGTCAACCTGCCTGGTCAAAGGCTTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGAGAACACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTTGACAAACCACTACACGAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTGA
239	TIM3.14 (13A3) IgG1.3f (P102V)重鎖 (C末端Kなし)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGCCCTCACCTGCA CTGCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACAACCCGTCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTTCAAGAACCCAGGTTCACCTGCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCC CAGACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTGAACAGCCCAGTGGTCAACC ATGGGGCAGGGAACCCCTGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCAGGACAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCAAGGGCGTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGGTACCCCTCCAGCAGCTGGGACCC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCAGCTGAAGCGAAGGGGCCCTGAGT CTTCCCTCTCCCCCCTAACACCAAGGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGT CATGCGTGTGAGGCTGAGGACAGCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCTGGACGGCGTGGAGGTG ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGGAGCTACACAGCAGTACCGTGTGGTACGGTCTC CGTCTGACCCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGTCAAGGTCCTCAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACCCCTG CCCCATCCGGAGGAGATGCCAAGAACCCAGGTCAACCTGCCTGGTCAAAGGCTTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGAGAACACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTTGACAAACCACTACACGAGAGCCT CTCCCTGTCCCCGGGTGA
240	TIM3.15 (13A3) IgG1.3f (P102Y)重鎖 (C末端Kなし)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGCCCTCACCTGCA CTGCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACAACCCGTCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTTCAAGAACCCAGGTTCACCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCC CAGACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTGAACAGCCCAGTGGTCAACT

【 0 5 4 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 7】

配列番号	説明	配列
		CTGGGGCCAGGAACCTGGTACCGTCCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCGGTCACACCTCCGGCTGT CCGAAACGGTGACGGTCTGGAACTCAGGCCCTGACCAGCGGCCCTGGCTGCCGGTCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGACCGTGACCGTGCCACACCTCCGGCTGT CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCA AATCTGTGACAAAATCACACATGCCAACCGTGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGGCCCGTCAGT CTTCTCTTCCCCAAAACCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGACAGGACTGGTCAACTGGTACGGTACGGTGAGGTG ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACACGACAGTACCGTGACGGTCAAGGCTCATCC CGTCTGCACCGAGCTGGTAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGGTCAAGGCTTCTATCC CAGGACATCGCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCATGCTCGTGTGATGCAAGGCTCTGACAAACACTACACGCAAGAGGCT CTCCCTGTCCCCGGTTGA
241	TIM3.16 (13A3) IgG1.3f (P102L)重鎖 (C末端Kなし)	CAGCTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGGCCTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGTTACCTACTACAACCCGTCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACAGTCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGTATTATGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACACTGCCACTGGTCACT ATGGGGCAGGGAACCTGGTACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCGGTCAAGGACTACTCC CCGAAACGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCAGCGCTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACGGTGCCTCCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCA AATCTGTGACAAAATCACACATGCCAACCGTGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGACAGGACTGGTCAACTGGTACGGTACGGTGAGGTG ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACACGACAGTACCGTGACGGTCAAGGCTCTC CGTCTGCACCGAGCTGGTAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC CCCCATCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGGTCAAGGCTTCTATCC CAGGACATCGCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGCTACCGTGACAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCATGCTCGTGTGATGCAAGGCTCTGACAAACACTACACGCAAGAGGCT CTCCCTGTCCCCGGTTGA
242	TIM3.17 (13A3) IgG1.3f (N60Q/P102Y) 重鎖 (C末端Kなし)	CAGCTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGGCCTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCA CTGCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGTTACCTACTACAACCCGTCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACAGTCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGTATTATGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACACTGCCACTGGTCACT CTGGGGCAGGGAACCTGGTACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATGGTCTGGTCAAGGACTACTCC GCACCCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCGGTCAAGGACTACTCC CCGAAACGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCAGCGCTGCACACCTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACGGTGCCTCCAGCAGCTGGGACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCA AATCTGTGACAAAATCACACATGCCAACCGTGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGCCCGTCAGT CTTCTCTTCCCCAAAACCAAGGACACCCCTGAGGTACATGCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGGACAGGACTGGTCAAGTCAACTGGTACGGTACGGTGAGGTG ATAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACACGACAGTACCGTGACGGTCAAGGCTCTC CGTCTGCACCGAGCTGGTAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTGC

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 8】

配列番号	説明	配列
		CCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGGTCAAGCTGCCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGACAATGGGAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCC GTGCTGGACTCGACGGCTCTCTCTCTCATAGCAAGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTCTCATGTCCTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACACGCAAGAGGCT CTCCCTGTCCCCGGGTTGA
358	TIM3.18 (13A3) IgG1.3f (N60Q/D101E) 重鎖 (C 末端 K なし)	CAGCTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGCCCCCACCTGCA CTGCTCTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACCAACCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCAAG CTGGGGCAGGGAACCTGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCAGGACAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCGAGCGCTGACACCTTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGGTACCGTGCACACCTTCCGGCTGT CAGACACTACATCTGCAACGTGAATACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCA AATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCACCTGAAGCGAACGGGCCATCGGTCTCCCCCTG CTTCCCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACCTGAGGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTGGACGGCTGGAGGTG ATAATGCCAAGACAAAGCCGGGGAGGAGGAGTACAACAGCAGTACGGTGTGGTCAAGGCTCTCAC CGTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAAACAAAGCCCTCCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACAGGTGACACCCCTG CCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTCAAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGGAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTCATAGCAAGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTCTCATGTCCTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACACGCAAGAGGCT CTCCCTGTCCCCGGGTTGA
374	TIM3.18 (13A3) IgG1.3f (N60Q/D101E) (T168C)重鎖 (C 末端 K なし)	CAGCTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGCCCCCACCTGCA CTGCTCTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTCACCTACTACCAACCGTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCAAGAACCCAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTCAAG CTGGGGCAGGGAACCTGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCAGGACAGGGCCATCGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCGAGCGCTGACACCTTCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGGTACGGTGCCTCCAGCAGCTGGCACC CAGACACTACATCTGCAACGTGAATACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGCCA AATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCACCTGAAGCGAACGGGCCCTGAGGTACATGCGT CTTCCCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GTGGTGGACCTGAGGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTGGACGGCTGGAGGTG ATAATGCCAAGACAAAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACGGTGTGGTCAAGGCTCTCAC CGTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAAACAAAGCCCTCCCA GCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACACAGGTGACACCCCTG CCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGGTCAAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGTTCTATCC CAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGGAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTCATAGCAAGCTACCGTGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTCTCATGTCCTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACACACGCAAGAGGCT CTCCCTGTCCCCGGGTTGA
243	TIM3.8 (8B9) IgG1.3f (S61P) 重鎖 (C 末端 K なし)	CAGGTGCAGTCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGCCCCCACCTGCA CTGCTCTGGCTCCATCAGTCGTCACTACTGGAACTGGATCCGGAGCCCCCAGGGAAGGGACT GGAGTGGATTGGGTATATCATTACAGTGGAAAGCACAACATACTCCCTCAAGAGTCAGTC ACCATATCAGTAGACACGTCAAGAACAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGCTGCGGACA CGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATACTGGGACTACGGTATGGACATCTGGGCCAAGGGACAC GGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTGGCACCCCTCCAAGAGC

【 0 5 5 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 39】

配列番号	説明	配列
		ACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCTGGTAAGGACTACTCCCCAACCGGTACGGTGT CGTGGAACTCAGCGCCCTGACCAGCGCGTACACCTCCCGCTGCTACAGTCCTCAGGACT CTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCAGCAGCTTGGCACCCAGACCTACATCTGAAC GTGAATCACAAGCCCAGCAACCAAGGTTGACAAGAGAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAAC ACACATGCCACCCTGCCCCAGCACCTGAAGCGAAGGGGCCCTGAGGTACATGCCTGGTGGACGTGAGCCAC ACCAAGGACACCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCCTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCTGAGGTCAAGTCACTGTACGGTACGGTGGAGGTGATAATGCCAAGACAAAGC CGCAGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGGTCAAGGTCTCCACCGTCTGCACCCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACC ATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCATGCCGGAGGAGA TGACCAAGAACCAAGGGTACGGTACGGTCAAGGCTCTATCCAGCAGATGCCGTGGA GTGGGAGAGCAATGGGAGCGGAGAACAACTACAAGACACGCCTCCGTGCTGGACTCCGACGGC TCCTCTCTCTATAGCAAGTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAACGTCTCTCAT GCTCGTGTGATGAGGTCTGCACAACCACTACACGAGAACGCTCCGTCCCCGGTTGA A
244	TIM3.7 (9F6) IgG1.3f (A108T)重鎖 (C末端 K なし)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTGGTCAAGGCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCTGTG CAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGACTIONTACATGAGCTGGATCCGGCAGGCTCCAGGGAGGGCT GGAGTGGGTTTCATTCTATTAGTGGTGGTAGTACCATATACTACCGAGACTCTGTGAAGGGCGA TTCACCATCTCAGGACAACGCCAAGAACACTCGCTGTTCTGCAATGAACAGCCTGAGAGTCAGG ACAGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGTGGTACTACTACGGTATGGACGT CTGGGCAAGGGACACGGTACCGTCTCTCAGCTAGCAGCACCAAGGGCCATGGTCTCCCCCTG GCACCCCTCTCAAGAGCACCTCTGGGACAGCGGCCCTGGTGGTCAAGGACTACTCC CCGAAACGGTACGGTGTGGAACTCAGGGCCCTGACCAGCGCGTGCACACTCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGGCCCTCAGCAGCTGGCAC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAGAGTTGAGGCCA AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCGAAGGGGCCGTAGT CTTCTCTTCCCCAAAACCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGT GTGGTGGACCTGAGGACAGGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACCTGGTGGACGGCGTGGAGGTG ATAATGCCAAGACAAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGGTGGTCAAGGCTCTCAC CGTCTGCAACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAAACAAAGCCCTCCA GCCCATCGAGAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCCTGC CCCCATCCCCGAGGAGATGACCAAGAACAGGTGACCTGCTGACCTGGTCAAAGGCTCTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGAGCGGGAGAACAACTACAAGACACGCCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTATAGCAAGTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGAACGTCTCATGCTCCGTGATGAGGTCTGCACAACCACTACACGAGAACGCT CTCCCTGTCGGGGTTGA
162	TIM3.5 (13A3), TIM3.2 (17C3), TIM3.4 (3G4) IgG1 軽鎖	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCGTCTTGTCTCCAGGGAAAGGCCACCCCTCTCT GCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCGAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCC CAGGCTCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTAGTGGCAGTGG TCTGGGACAGACTTCACTCTCACCACAGCAGACTGGACCTGAAGATTGCACTGTATTACTGTC AGCAGTATGGTAGCTACCGATCACCTGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGTACGGTGG TGACCATCTGTCTTCTATCTCCAGAGAGGCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT CGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACGCCCTCAGCAGC CCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACAGAGAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC CTGAGCTGCCCGTACAAGAGCTTACAACAGGGAGAGTGTAG
163	8B9, TIM3.6 (8C4), TIM3.9 (17C8) IgG1 軽 鎖	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCGTCTTGTCTCCAGGGAAAGGCCACCCCTCTCT GCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCGAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCC CAGGCTCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTAGTGGCAGTGG TCTGGGACAGACTTCACTCTCACCACAGCAGACTGGAGGCTGAAGATTGCACTGTATTACTGTC AGCAGTATGGTAGCTACCTCTCACTTCGGCGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACGGTGG TGCACCATCTGTCTTCTATCTCCAGGCAAAGTACAGTGAAGTGGATAACGCCCTCCAAT

10

20

30

40

50

【表1 - 40】

配列番号	説明	配列
		CGGGTAACCTCCCAGGGAGGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCAC CCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC CTGAGCTGCCCGTCACAAAGAGCTCAACAGGGAGAGTGTAG
165	9F6 VK1 IgG1 軽鎖	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTT GCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAA GCTCCTGATCTATGATGCCTCAGTTGAAAGTGGGGCCATCAAGGTTCAGCGGAGTGGACT GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCTGAAGATTGCAACTTATTACTGTCAAC AGTTTAATAGTTACCCCTCGGACGTTGGCCAAGGGACCAAGGTGAAATCAAACGTACGGTGGCTGC ACCATCTGCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTG CTGCTGAATAACTCTATCCCAGAGAGGCAAAGTACAGTGGAAAGTGGATAACGCCCTCCAATCG GTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCC GACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTCAACAGGGAGAGTGTAG
166	9F6 VK2 IgG1 軽鎖	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCCTGTCTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCCTCCT GCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGTACTTAGCCTGGTACCCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCC CAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGG TCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTGAGTATTACTGT AGCAGTATGGTAGCTCACTCACCTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTC ACCATCTGCTTCATCTTCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTG CTGCTGAATAACTCTATCCCAGAGAGGCAAAGTACAGTGGAAAGTGGATAACGCCCTCCAATCG GTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCC GACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTCAACAGGGAGAGTGTAG
164	9F6 VK3 IgG1 軽鎖	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCCTGTCTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCCTCCT GCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGTACTTAGCCTGGTACCCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCC CAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGG TCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTGAGTATTACTGT AGCAGTATGGTAGCTACCGCTCACCTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACGGTGG TGCACCATCTGCTTCATCTTCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGT TGCCTGCTGAATAACTCTATCCCAGAGAGGCAAAGTACAGTGGAAAGTGGATAACGCCCTCCAAT CGGGTAACCTCCCAGGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCAC CCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC CTGAGCTGCCCGTCACAAAGAGCTCAACAGGGAGAGTGTAG

【0551】

本開示の実施には、別途示されない限り、細胞生物学、細胞培養、分子生物学、トランジエニック生物学、微生物学、組換えDNAおよび免疫学の従来的な技法が用いられ、これらは、当業者の技能の範囲内である。そのような技法は、文献に完全に説明されている。例えば、Sambrook et al., ed. (1989) *Molecular Cloning A Laboratory Manual* (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press)、Sambrook et al., ed. (1992) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY)、D. N. Glover ed., (1985) *DNA Cloning, Volumes I and II*、Gait, ed. (1984) *Oligonucleotide Synthesis*、Mullis et al. U.S. Pat. No. 4,683,195、Hames and Higgins, eds. (1984) *Nucleic Acid Hybridization*、Hames and Higgins, eds. (1984) *Transcription And Translation*、Freshney (1987) *Culture Of Animal Cells* (Alan R. Liss, Inc.)、*Immobilized Cells And Enzymes* (IRL Press) (1986)、Perbal (1984) *A Practical Guide To Molecular Cloning, the treatise, Methods In Enzymology* (Academic Press, Inc., N.Y.)、Miller and Calos eds. (1987) *Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells*, (Cold Spring Harbor Laboratory)、Wu et al., eds., *Methods In Enzymology*, Vols. 154 and 155、Mayer and Walker, eds. (1987) *Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology* (Academic Press, London)、Weir and Blackwell, eds., (1986) *Handbook Of Experimental Immunology*, Volumes I-IV、*Manipulating the Mouse Embryo*, Cold Spring Harbor

10

20

30

40

50

Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986);)、Crooks, Antisense drug Technology: Principles, strategies and applications, 2nd Ed. CRC Press (2007)およびAusubel et al. (1989) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.)を参照のこと。

【0552】

上記に引用された参考文献の全て、ならびに本明細書において引用される全ての参考文献は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0553】

以下の実施例は、限定としてではなく、例示として提供されるものである。

【実施例】

【0554】

実施例1：ヒト抗TIM3抗体の同定

ヒトIgGトランスジェニック（KM）マウスを、ヒトTIM-3をトランスフェクトしたHEK-293ヒト細胞の原形質膜画分を用いて免疫処置した。免疫処置した全てのマウスからのリンパ節細胞を、SP2/0融合パートナーと融合させた。ハイブリドーマ上清を、まず、ハイスループットアッセイを使用して、ヒトIgG抗体の存在に関してスクリーニングした。次いで、抗原特異性を、ヒトTIM-3をトランスフェクトした細胞においてFACS結合によって判定した。簡単に述べると、47回の融合を行い、3935個のIgG陽性クローナンを同定し、そのうちの448個が、ELISAによって、hTIM3陽性であると同定され、このうち126個が、hTIM3 FACSによって陽性であることが見出された。これらのうち、117個のクローナン（または抗体）を、次のものを含む様々な方法によってさらに分析した：（1）Biacoreによって行われるエピトープビニング、（2）EC50を判定するための、TIM3の、TIM-3をトランスフェクトした細胞株（293-TIM3）との結合、（3）Th1アッセイ（以下にさらに記載される）および（4）TILアッセイ（以下にさらに記載される）。117個のうち、完全ヒト抗ヒトTIM3抗体を発現する7個のハイブリドーマ：13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4および17C8を、望ましい特徴を有するとして選択した。これらのハイブリドーマによって産生された抗体の可変ドメインのアミノ酸およびそれらをコードするヌクレオチド配列を、図1～7に提供し、CDR、可変領域ならびに重鎖および軽鎖、ならびにそれらのアイソタイプの配列番号を、図13に提供する（ハイブリドーマ名の行を参照のこと）。ハイブリドーマおよびそれによって分泌される抗体は、同じ名称を有する（例えば、13A3）。

10

20

30

30

【0555】

抗体13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4および17C8のCDRおよび/または可変ドメインを含む抗体はまた、宿主細胞において組換えで発現させた。組換え抗体は、本明細書では、「TIM3.2」から「TIM3.18」という名称で称される。これらの組換え抗体のいずれかに、それらの名称「TIM3.2」から「TIM3.18」で言及する場合、特定の定常領域には言及されない、すなわち、抗体TIM3.2～TIM3.18は、任意の所望される定常領域、例えば、図13に示されるものを有し得る。

【0556】

CDRおよび可変ドメインは、置換L234A、L235E、G237A、A330SおよびP331Sを含むエフェクターレスIgG1定常領域（アロタイプ「f」）の状況で発現させ（「IgG1.1f」）、また、IgG1.3f、すなわち、置換L234A、L235E、G237Aを含むエフェクターレスIgG1定常領域（アロタイプ「f」）の状況で発現させた。すなわち、これは、IgG1.1fとは、A330SおよびP331Sの置換を有さないことが異なる。CDRおよび可変領域はまた、IgG4、例えば、IgG4P（すなわち、「S228P」置換を有するIgG4）の状況で使用してもよい。これらの抗体の特定のCDRおよびフレームワーク領域はまた、突然変異されている。具体的には、13A3および8B9のVHCDR2、13A3のVHCDR3、ならびにVHFR4が、突然変異されている。産生されたIgG1.1fおよびIgG1.3f抗体

40

50

ならびに作製することができるその他の抗体の一覧は、図13、表1および配列表に提供されている。組換えで発現された抗体には、以下の実施例に記載されるもの、ならびに IgG1.1f 抗体として発現された抗体 3G4、8C4、9F6、8B9、17C8、5D6 が含まれる。

【0557】

抗体 13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4 および 17C8 の重鎖および軽鎖可変領域の配列アライメントは、それぞれ図 8A および 9A に提供されている。VH および VL 領域の配列表記は、それぞれ図 8B および 9B に提供されている。野生型および突然変異型 13A3 VH鎖の配列アライメントは、図 10 に提供されている。野生型および突然変異型 9F6 VH鎖の配列アライメントは、図 11 に提供されている。野生型および突然変異型 8B9 VH鎖の配列アライメントは、図 12 に提供されている。

10

【0558】

実施例 2：ヒト抗 TIM3 抗体の特徴付け

選択された抗 TIM3 抗体を、TIM3 を発現する細胞との結合に関してアッセイした。図 14A は、フローサイトメトリーによって判定した場合の、種々の抗 TIM3 抗体の、ヒト TIM3 をトランスフェクトした細胞との結合（図 14A）、および抗 CD3 / 抗 CD28 活性化ヒト T 細胞との結合（図 14B）を示す。抗体はまた、カニクイザル TIM3 をトランスフェクトした細胞（図 15A）および抗 CD3 / 抗 CD28 活性化カニクイザル細胞（図 15B）を使用することによって、カニクイザル TIM3 との結合に関しても試験した。図 15A は、13A3 が、カニクイザル TIM3 をトランスフェクトした細胞株については最も良好な結合 EC50 を有し、これが、活性化カニクイザル T 細胞と反応性である唯一の抗 TIM3 抗体であることを示す。

20

【0559】

実施例 3：表面プラズモン共鳴によって判定される、TIM3 抗体の、ヒトおよびカニクイザル TIM3 に対する結合親和性

抗 TIM3 13A3 Fab 断片の、ヒトおよびカニクイザル TIM3 に対する動態および親和性を、以下にさらに記載されるように、37、0.05% (v/v) Tween-20 を補充した PBS pH 7.4 において、Biacore T200 機器で判定した。使用したヒト TIM3 タンパク質は、マウス Fc に連結されたヒト TIM3 の細胞外ドメイン (ECD) からなり、したがって、二量体 hTIM3 ECD-Fc タンパク質（「hTIM3-mFc」）を形成していた。この融合タンパク質は、安定にトランスフェクトした CHO 細胞から発現させ、プロテイン A 親和性、続いて、サイズ排除クロマトグラフィーを使用して、培地から精製した。使用した組換えカニクイザル TIM3 タンパク質は、カニクイザル TIM3 の細胞外ドメイン、続いて、リンカーおよび親和性タグからなり、したがって、単量体力ニクイザル TIM3 ECD タンパク質（「カニクイザル TIM3 - MychisAvi」）を形成していた。この融合タンパク質は、一過的にトランスフェクトした Express 293 細胞 (Life Tech) から発現させ、このタンパク質を、親和性タグを使用して (6 x His)、続いて、サイズ排除クロマトグラフィーによって、培地から単離し、精製した。

30

【0560】

hTIM3-mFc のアミノ酸配列は、以下の通りである：

【化 11】

```
SEVEYRAEVGVQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNGDFRKGDVSLT
IENVTIADSGIYCCRIQIPGMNDEKFNLKLVKPAKVTAPTRQRDFTAAFPRMLTTRGHGPAETQTLGSLPDI
NLTQISTLANELRDSRLANDLRDGGATIRIGASVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPPKPDVLTTLTPKVTCV
VVAISKDDPEVQFSWFVDDDEVHTAQTPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTS
KTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNV
QKSNWEAGNTFTCSVHLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK
```

40

(配列番号 375)

【0561】

カニクイザル T I M 3 - M y c H i s A v i のアミノ酸配列は、以下の通りである：

【化12】

SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNGDFRKGDVSLT
IENVTLADSGIYCCRIQIPGMNDEKFLKLVIKPAKSPGGSGGGSEQKLISEEDLGHHHHHGLNDIFEAQKIEWHE

(配列番号 376)

【0562】

10

ヒスチジン尾部に連結された 13A3 および T I M 3.18.I g G 1.3 の F a b を、使用した。13A3 重鎖 (H C) F a b 6 × H i s のアミノ酸配列は、以下の通りである：

【化13】

QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSLKSRTVISVDT
SKNQFSLKLSVTAAADTAVYYCATGGPYG DYAHWFDPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS
CGGHHHHHH

(配列番号 365)

20

【0563】

13A3 重鎖 (H C) N 6 0 Q D 1 0 1 E F a b 6 × H i s のアミノ酸配列は、以下の通りである：

【化14】

QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKSRTVISVDT
SKNQFSLKLSVTAAADTAVYYCATGGPYG DYAHWFEPWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS
CGGHHHHHH

(配列番号 366)

30

【0564】

組換え 13A3 および T I M 3.18.I g G 1.3 F a b を、E x p i 2 9 3 (Life Tech) の一過的トランスフェクションを使用して作製した。発現された F a b は、重鎖可変領域、続いて、h I g G 1 の C H 1 、および軽鎖可変領域、続いて、h K a p p a の C L ドメインを含んだ。発現された F a b は、培地に分泌され、親和性タグ (6 × H i s) を使用して、精製した。

【0565】

抗マウス抗体捕捉チップを、Biacoreマウス抗体用捕捉キット（カタログ番号 B R - 1 0 0 8 - 3 8 ）を使用して、Biacore CM4シリーズ S チップ (GE Healthcare Life Sciencesカタログ番号 B R - 1 0 0 5 - 3 4) に準備した。ヒト T I M 3 - マウス F c 融合タンパク質を、フローセル 2 および 3 に、2 つの異なる表面密度で捕捉した。カニクイザル T I M 3 - マウス F c 融合タンパク質を、フローセル 4 に捕捉した。フローセル 1 (ブラック捕捉表面) は、参照としての機能を果たした。組換えで発現させた H i s タグ化抗体 F a b 断片を、検体として、上方濃度 1.0 μM および下方濃度 4.1 nM で、3 倍の 6 回希釈系列において、全ての表面に流した。結果として得られたセンサグラムを、二重参照し (フローセル 1 および緩衝液ブラックを使用して) 、質量移動を伴う 1 : 1 ラングミュア結合モデルに当てはめた。フローセル 2 および 3 からのデータを、全体に当てはめた。

【0566】

複合体の形成 (K a) および解離 (K D) の速度、ならびに全般的な解離定数 (K D) を

40

50

、表2に提供する。

【0567】

【表2】

表2: 抗TIM3抗体13A3およびTIM3.18.IgG1.3の、ヒトおよびカニクイザルTIM3タンパク質との結合の動態および親和性

リガンド	検体	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)
ヒトTIM3	hTIM3Fc/13A3 Fab	3.2×10^6	6.9×10^{-3}	2.2
カニクイザルTIM3	cynoTIM3Fc/13A3 Fab	2.4×10^6	5.3×10^{-2}	22
ヒトTIM3	hTIM3Fc/TIM3.18 Fab	3.2×10^6	5×10^{-3}	1.6
カニクイザルTIM3	cynoTIM3Fc/TIM3.18 Fab	3.4×10^6	5.9×10^{-2}	17

【0568】

13A3を用いた実験は、TIM3.18を用いた実験と同日には行わなかった。

【0569】

実施例4：スキャッチャード解析によるヒトおよびカニクイザルへのTIM3抗体の結合親和性

TIM3.18 IgG1.3抗体を、IODO-GEN（登録商標）固相ヨウ素化試薬（1,3,4,6-テトラクロロ-3a-6a-ジフェニルグリコウリル、Pierceカタログ28601）を使用して、125I-Na（1mCi、PerkinElmerカタログNEZ033H001MC）で放射ヨウ素標識した。過剰なヨウ素を、脱塩カラム（Pierceカタログ43243）を使用して、除去した。標識した抗体の画分を採取し、Wizard 1470ガンマカウンター（PerkinElmer）で放射活性について分析した。各画分における125I-TIM3.18.IgG1.3抗体濃度を、InvitrogenのQubitフルオロメーターを用いて計算した。放射性純度を、ピークタンパク質および放射活性画分（Pinestar Technologyカタログ151-005）の薄層クロマトグラフィーによって確立した。

【0570】

放射ヨウ素標識したTIM3.18.IgG1.3抗体の、ヒトまたはカニクイザルTIM3を発現するCHO細胞との結合を、ヒトまたはカニクイザルTIM3を発現するCHO細胞を、125I-TIM3.18.IgG1.3抗体の滴定物とともにインキュベートすることによって、示した。非特異的結合を、100倍モル過剰の未標識抗体の滴定物の存在下における結合によって決定し、これを、次いで、CPMの合計から差し引いて、特異的結合を計算した。CPMに対する125I-TIM3.18.IgG1.3抗体の濃度の線形標準曲線を使用して、特異的活性、最大のnMでの125I-TIM3.18.IgG1.3抗体の結合を外挿し、それによって細胞1個当たりの受容体数を計算した。

【0571】

結果を、図27Aおよび27Bに示す。125I-TIM3.18.IgG1.3抗体の標準曲線（図27A）は、1nMの125I標識化抗体が、81119.3cpmに等しいことを示す。細胞1個当たりの受容体数は、以下の等式によって計算される：(Bmax) × (アボガドロ数) × (アッセイ体積) / 1ウェル当たりの細胞数。結果は、TIM3.18.IgG1.3抗体が、CHO細胞上の過剰発現したヒトTIM3（細胞1個当たり414,720個の受容体を有する）に対して、0.26 ~ 0.48nMの親和性を有し、過剰発現したカニクイザルTIM3（細胞1個当たり235,944個の受容体を有する）に対して

10

20

30

40

50

、 $0.36 \sim 0.48 \text{ nM}$ の親和性を有することを示す。

【0572】

2人のドナーに由来する活性化ヒトT h 1細胞（細胞 $50,000$ 個／ウェル）において $125\text{I-TIM3.18.IgG1.3}$ 抗体を用いて行った同様の分析により、ドナー間で細胞1個当たりの受容体数がほぼ4倍異なるにもかかわらず、 $0.125 \sim 0.164 \text{ nM}$ の親和性が得られた（図28）。放射ヨウ素標識した TIM3.18.IgG1.3 の、ヒト TIM3 との結合を、活性化初代ヒトT h 1細胞（本明細書の他の実施例に記載されるように調製）を、 $125\text{I-TIM3.18.IgG1.3}$ の滴定物とともにインキュベートすることによって、示した。非特異的結合を、 100 倍モル過剰の未標識抗体の滴定物の存在下における結合によって決定し、これを、次いで、CPMの合計から差し引いて、特異的結合を計算した。CPMに対する $125\text{I-TIM3.18.IgG1.3}$ の濃度の線形標準曲線を使用して、最大の nM での $125\text{I-TIM3.18.IgG1.3}$ の結合を外挿し、それによって細胞1個当たりの受容体数を計算した。10

【0573】

実施例5： TIM3.18.IgG1.3 の、ヒト TIM1 、ヒト TIM4 およびマウス TIM3 との交差反応性の欠如

遺伝子バンク全体に対して TIM-3 IgV ドメインをblast検索すると、最も高い相同意の分子は、 TIM1 および TIM4 （45%同一性）であった。ヒト TIM1 または TIM4 をトランスフェクトした細胞株を使用したフローサイトメトリーによる TIM3.18.IgG1.3 の選択的なプロファイリングでは、 TIM1 または TIM4 に対する交差反応性は示されなかった。マウス TIM3 をトランスフェクトした細胞におけるフローサイトメトリーによって、 TIM3.18.IgG1.3 が、マウス TIM-3 をトランスフェクトした細胞と交差反応性ではないこともまた、示された。20

【0574】

実施例6：腫瘍浸潤リンパ球（TIL）によるIFN- γ 産生は、抗 TIM3 抗体によって増強される

抗 TIM3 抗体をさらに特徴付け、インビボで有意なT細胞刺激活性を有する可能性が高いものを同定するために、特定のT細胞アッセイを開発した。アッセイは、新しい腫瘍組織から単離され、CD3を発現する照射したCHO細胞（「CHO-OKT3細胞」）の存在下においてインキュベートした、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）から分泌されるIFN- γ の量を、 TIM3 抗体の存在下または不在下（または対照）において、測定する。特定の作用機序に限定されることを望むものではないが、所与の抗 TIM3 抗体の存在下におけるIFN- γ の分泌は、その抗体が、TIL上の TIM3 によって通常提供される負のシグナル伝達を阻害し、TILの活性化（すなわち、IFN- γ 産生）を刺激することを示す。30

【0575】

腎細胞がん患者に由来する新しい腫瘍組織[腫瘍浸潤リンパ球（TIL）を含む]を、酵素消化（Miltenyi、カタログ番号130-095-929）による単一細胞懸濁液に調製した。細胞生存率は、FACSによって判定した場合、80%を上回っていた。1.5-105個の細胞を、2.5-104個の照射した（1時間20分間で67,000RAD、Rad Source Irradiator, RS-2000 Biological System）CHO-OKT3細胞とともに、IL-2含有培地[IL-2（Peprotech、カタログ番号200-02）、20IU/ml]において、アイソタイプ対照抗体または異なる濃度の抗 TIM3 抗体のいずれかの存在下で、5日間共培養した。培養の5日目に、細胞上清を収集し、IFN- γ レベルを、ELISA（BD Opteia hIFN- γ ELISAキット、BD、カタログ番号555152）によって評価した。図16に示される結果は、抗 TIM3 抗体13A3、3G4、17C3、17C8および9F6が、腎細胞がんTILによるIFN- γ 産生を刺激することを示す。40

【0576】

肺がん患者に由来する新しい腫瘍組織を、Miltenyi酵素消化キット（Miltenyi、カタログ

番号 130 - 095 - 929) を用いて消化させた。単一細胞懸濁液を、照射した(1時間20分間で 67,000 RAD、Rad Source Irradiator、RS-2000 Biological System) CHO - OKT3 細胞とともに、IL - 2 含有培地 [IL - 2 (Peprotech、カタログ番号 200 - 02)、20 IU / ml] において、アイソタイプ対照抗体または異なる濃度の抗 TIM3 抗体の存在下で、5 日間共培養した。培養の 5 日目に、細胞上清を、IFN - ELISA (BD Opteia h IFN ELISA キット、BD、カタログ番号 555152) のために収集した。図 17 A に示される結果は、試験した抗 TIM3 抗体(すなわち、13A3 および 3G4) が、肺がん TIL による IFN - 産生を刺激することを示す。

【0577】

10

さらに、IL - 2 の存在下においてアイソタイプ対照抗体または抗 TIM3 抗体で処置した、肺がん腫瘍組織からの細胞懸濁液と照射した(1 時間 20 分で 67,000 RAD、Rad Source Irradiator、RS-2000 Biological System) CHO - OKT3 細胞との共培養の 3.5 日目に、細胞を、BD GolgiStop とともに一晩インキュベートした。続いて、細胞を、まず、細胞表面マーカー CD45、CD4、CD8、TIM3 および PD1 で染色し、次いで、BD Cytofix/Cytoperm キットによる固定化および透過処理を行った後、細胞内 IFN - 染色を行った。図 17 B に示される結果は、細胞内 IFN - 発現細胞の割合が、抗 TIM3 抗体で処置した場合、CD8⁺ 細胞(下のパネル)において増大されることを示す。

【0578】

20

図 18 は、抗 TIM - 3 抗体クローニング 13A3 または 3G4 に応じた複数回の腫瘍 TIL 実験(本実施例において上述のように実施した)から得られたプールされたデータを示す(すなわち、図におけるそれぞれの点は、13A3 または 3G4 のいずれかで処置した 1 つの患者腫瘍サンプルに由来する TIL を表す)。いくつかの腎細胞がん(RCC) および肺がん TIL は、IFN - 産生の促進において抗 TIM - 3 抗体に応答したが、甲状腺腫瘍に由来する単一 TIL 調製物はそれができなかった。

【0579】

30

実施例 7 : FACS に基づく抗 TIM3 抗体の交差遮断

全ヒト T 細胞を、Miltenyi T 細胞精製キットを使用して、PBM C から単離し、プレート結合型抗 CD3 (1 μg / ml、抗 CD3 クローニング OKT3、eBioscience、カタログ番号 16 - 0037 - 85) および可溶性抗 CD28 (1 μg / ml、抗 CD28 クローニング CD28.2、BD Biosciences、カタログ番号 555725) を用いて、4 日間活性化させた。TIM3 は、FACS によって判定した場合、T 細胞の 80% 超に発現していた。T 細胞を、種々の抗 TIM3 抗体とともに、30 分間インキュベートした後、選択されたビオチン標識化抗 TIM3 抗体とともに、30 分間インキュベートし、PE コンジュゲートしたストレプトアビジンによって検出した。図 19 に示される結果は、抗体 13A3、3G4、17C3、17C8 および 9F6 が、同一のビニング群(群 I)である、すなわち、互いに交差競合するが、一方で、抗体 8B9 および 8C4 は、別個のビニング群(群 II)である、すなわち、群 I の抗体とは交差競合しないが、互いには交差競合することを示す。ビニング群 I の抗体は、生物学的活性を有することが示されたが(実施例を参照のこと)、一方で、ビニング群 II のものは、それよりも弱い活性を有した。群 I または群 II のいずれとも交差競合しなかった 2 つの抗 TIM3 抗体は、いずれの生物学的活性も有すると見られなかった。ビニング群 I の抗体はまた、TIM3 の PS との結合を妨害したものであった(本明細書においてさらに記載される)。

40

【0580】

実施例 8 : 酵母表面提示法によるエピトープマッピング

ヒト TIM3 (NM_032782) の細胞外ドメインをコードするヌクレオチド配列、すなわち、

SEVEYRAEVGQNAVLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNGDFRKGDVSLTIENVTIADSGIYCCRIQPGIMNDEKFNLKLVPAKVTAPTR

50

QRDFTAAFPRMLTTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDGGATIRI
G (配列番号 290)

を、*Xho*I および *Not*I 制限酵素部位へのライゲーションによって、酵母提示プラスミド P D V 0 0 2 3 にクローニングした。Agilent TechnologiesからのGeneMorph II Random Mutagenesisキットを使用して、低い割合のランダム突然変異誘発を、この配列に行って、T I M 3 をコードする領域全体に単一点突然変異を生成した。9.8 × 10⁶ 個のクローンのライブラリーを、V W K 1 8 g a 1 出芽酵母細胞において生成した。2 × 10⁸ 個のライブラリー細胞を、継代させ、抗体標識および細胞分取のために誘導した。約 2 × 10⁷ 個の誘導された細胞を、100 nM の一次標的抗ヒト T I M 3 抗体および 100 nM の抗 c M y c (9 E 10) 抗体とともに、25 ℃ で 1 時間、インキュベートした。
10 細胞を洗浄し、次いで、蛍光標識化したヤギ抗ヒト Ig G - P E およびヤギ抗マウス Ig G - A 6 3 3 二次抗体で、4 ℃ で 45 分間検出を行って、細胞表面に結合した一次抗体を検出した。標識化された細胞を、BD FACSARIA II 機器で、酵母培養培地中に分取した。
細胞で正に標識化され、抗ヒト T I M 3 で負に標識化された細胞を、収集した。
20 APC + / P E - の細胞集団を増殖させ、継代し、2 回目の同一な標識化および分取のために誘導し、所望される集団を濃縮させた。酵母プラスミド DNA を、約 2 × 10⁷ 個の未選択ライブラリーに由来する細胞および 2 回との選択し分取された細胞から、精製した。それぞれの細胞集団について、T I M 3 標的配列を、回収し、ヒト T I M 3 配列に隣接するベクター特異的プライマーを使用して、P C R によって酵母プラスミド DNA から精製した。標的配列の P C R 産物を、Illuminaからの Illumina Sequencing 用の Next era XT DNA Library キットを使用して、N G S ライブラリー調製に供した。調製されたライブラリーを、Illuminaからの MiSeq プラットフォームにおける 300 サイクル / フローセルでのハイスループットシーケンシングのために、EA/Q2 Solutions に送った。
30 それぞれのライブラリーの 50 ~ 100 万個の配列リードを、野生型 T I M 3 配列と比較し、配列に沿ってそれぞれの位置における突然変異について、表を作成した。選択した場合と未選択のライブラリーとの間での、それぞれの残基位置における突然変異頻度の差異を、計算し、抗体結合に重要な残基を判定するために使用した。高い突然変異頻度を有する位置を、マウス T I M 3 の公知の結晶構造 (PDB : 2 O Y P および PDB : 3 B I B) に基づいて、ヒト T I M 3 構造モデルを使用して、表面露出に関して試験した。高い突然変異頻度の表面に露出した残基は、エピトープの一部と考えられるが、一方で、高い突然変異頻度の包埋した残基は、偽陽性と考えられる。偽陽性残基は、通常、タンパク質の局所的または中心的のいずれかのフォールディングを破壊し、抗体のその表面エピトープとの結合を間接的に変更するものである。

【 0 5 8 1 】

図 20 は、使用した抗体のそれぞれについて、ヒト T I M 3 におけるエピトープの一部と判定された残基を示す。加えて、D 1 0 4 は、全てのマッピングにおいて、正の突然変異スコアを示し、R 8 1 に対する構造的塩架橋であり得る。8 B 9 のエピトープについては、L 8 4 が、高い突然変異頻度を示すが、エピトープ残基を補助する構造に包埋されていると見られる。Q 1 1 3 は、1 3 A 3 について、低いが陽性のスコアを示す。これは、エピトープ領域の構造的補助の役割を果たす可能性が高いが、いくらかの表面露出を有する。

【 0 5 8 2 】

実施例 9 : T I M 3 抗体の T I M 3 - P t d S e r 相互作用の遮断

図 21 A に示される「タンデム遮断アッセイ」を使用して、抗 T I M 3 抗体が、ヒト T I M 3 とホスファチジルセリン (「 P t S e r 」 または 「 P S 」) との間の相互作用を阻害するかどうかを判定した。P S は、水溶性ではないため、P S - リポソームを、アッセイのために作製した。簡単に述べると、脂質を、メタノール / クロロホルムと混合し、次いで、クロロホルムを、窒素流および真空下において、一晩蒸発させた。続いて、脂質を、マイクロチップを用いて超音波処理し、脂質を完全に分散させて、リポソームを作製した。これらを、さらに、10 回よりも多く押出器を通過させて、確実に均一なサイズになるようにした。

10

20

30

40

50

【 0 5 8 3 】

P S リポソームを、クロロホルム中に懸濁した P S [L - - - ホスファチジルセリン(脳、ブタ) Avanti Polar Lipids カタログ番号 8 4 0 0 3 2 C] を用いて生成する。P S ストックを、まず、クロロホルム中に希釈して必要な量にし、クロロホルムを、液体が見えなくなるまで窒素流下において蒸発させる。微量のクロロホルムを除去するために、乾燥させた P S を、真空中に一晩おく。乾燥させた P S を、次いで、ボルテックスおよび短時間の超音波処理により、溶液が混濁するまで P B S 中に懸濁する。サイズが定まった P S リポソームを作製するために、100 nm のフィルターを備える押出器を使用する。懸濁した P S を、押出器に充填し、少なくとも 10 回、フィルターを通過させる。この時点で、P S リポソームを、必要とされる濃度まで P B S 中に希釈する。

10

【 0 5 8 4 】

「タンデムブロッキングアッセイ」において、T I M 3 (E C D) - F c を、O c t e t バイオセンサーで捕捉し、抗 T I M 3 抗体および P S - リポソームを、T I M 3 タンパク質に結合させる。抗 T I M 3 が、P S の結合を遮断する領域に結合する場合、P S - リポソームは、結合を示さない。

【 0 5 8 5 】

図 2 1 B に示される結果は、抗体 3 G 4 、 1 3 A 3 、 1 7 C 3 および 1 7 C 8 が、P t S e r のヒト T I M 3 との結合を阻害するが、2 つの他の抗 T I M 3 抗体、すなわち、A b A および A b B は、P t S e r のヒト T I M 3 との結合を阻害しないことを示す。実施例においてさらに記載されるように、P t S e r 結合を阻害する抗体は、最も強力な機能的活性を有するものもある (T h 1 および T I L アッセイにおいて判定される場合) 。

20

【 0 5 8 6 】

実施例 1 0 : T I M 3 抗体の H D X - M S エピトープマッピング

水素 / 重水素交換質量分析法 (H D X - M S) を利用して、抗体 1 3 A 3 および 3 G 4 と結合する h T I M - 3 のエピトープを調べた。

【 0 5 8 7 】

H D X - M S により、骨格アミドの水素原子の重水素交換の速度および程度をモニタリングすることによって、溶液中のタンパク質のコンホーメーションおよびコンホーメーション動態を調べる [1 、 2] 。H D X のレベルは、骨格アミドの水素原子の溶媒接触可能性およびタンパク質の水素結合に依存する。H D X 時のタンパク質の質量増大を、M S によって正確に測定することができる。この技術を酵素消化と組み合わせた場合、ペプチドレベルでの構造特性を分解することができ、表面に露出しているペプチドを、内部に折り畳まれているもの、またはタンパク質 - タンパク質複合体の接合部で封鎖されているものと、区別することが可能となる。通常、重水素標識および続いて反応停止処理の実験を行い、続いて、酵素消化、ペプチド分離および M S 分析を行った。

30

【 0 5 8 8 】

エピトープマッピング実験の前に、非重水素化実験を行って、組換えヒト T I M - 3 [(h T I M 3 - E C D (2 2 - 2 0 0) H i s - タグ化 (図 2 5 を参照のこと)) 、 1 0 μ M 、 Sino Biological Inc.] の一般的なペプチドならびに h T I M - 3 と抗体 1 3 A 3 および 3 G 4 の F a b とのタンパク質複合体 (1 : 1 のモル比) の一覧を生成した。サンプルを、Waters Enzymate BEHペプシン酵素カラム (2 . 1 × 3 0 m m) に注入し、2 0 0

40

で 3 分間消化させた。クロマトグラフィー要素を全て収容した U P L C システムの冷却チャンバを、測定の全時間の間、0 . 0 ± 0 . 1 °C で保持した。注入したペプチドを、1 0 0 μ L / 分で 3 分間、トラップし、脱塩した後、6 5 μ L / 分で 5 ~ 4 0 % のアセトニトリル - 水の勾配によって、6 分間で分離した。分離カラムは、1 . 0 m m × 5 0 . 0 m m の A CQUITY UPLC BEH C18 カラム (Waters) であった。消化性ペプチドの同定は、Waters HDX-MS システムにおいて ProteinLynx Global SERVER 2 . 5 (Waters) を使用して、厳密な質量分析および M S E の組合せによって達成した。

【 0 5 8 9 】

H D X - M S 実験では、5 μ L のそれぞれのサンプル (h T I M - 3 または抗体 1 3 A 3)

50

もしくは 3 G 4 の F a b を有する h T I M - 3) を、 5 5 μ L の D 2 O 緩衝液 (1 0 mM リン酸緩衝液、 D 2 O 、 pH 7.0) 中に希釈して、 標識反応を開始した。 反応は、 異なる期間 : 1 分間、 10 分間および 240 分間行った。 各標識反応期間の終わりに、 反応停止緩衝液 (4 M G d n C l および 0.4 M T C E P を含む 1 0 0 mM リン酸緩衝液、 pH 2.5 、 1 : 1 、 v / v) を添加することによって、 反応を停止させた。 5 0 μ L の反応停止処理したサンプルを、 非重水素化実験におけるものと同一の条件を使用して、 オンラインで消化させた。 全ての比較実験は、 同一の実験条件下で行った。 全ての実験は、 2 連に行った。 結果として得られた相対的な重水素レベルを、 ソフトウェアプログラム DynamX 3.0 (商標) (Waters) の使用により、 交換時間に対してプロットした。

【 0 5 9 0 】

10

図 25 に示されるように、 h T I M - 3 の 97.3 % の配列カバレッジが、 H D X - M S 実験において得られた。 図 26 に示されるように、 抗体 1 3 A 3 および 3 G 4 の F a b と結合した場合に、 h T I M - 3 の H D X - M S データ分析により、 以下の不連続なエピトープが同定された :

m A b 1 3 A 3 : 49 V P V C W G K G A C P V F E 6 2 (配列番号 3 6 7) 、 1 1 1 R I Q I P G I M N D E K F N L K L 1 2 7 (配列番号 3 6 8) およびその断片 1 1 9 N D E K F N L K L 1 2 7 、 ならびに
m A b 3 G 4 : 4 0 Y T P A A P G N L V P V C W G K G A C P V F E 6 2 (配列番号 3 6 9) 、 6 6 V V L R T D E R D V N Y 7 7 (配列番号 3 7 0) 、 7 8 W T S R Y W L N G D F R K G D V S L 9 5 (配列番号 3 7 1) および 1 1 0 C R I Q I P G I M N D E K F N L K L 1 2 7 (配列番号 3 7 2) 。

【 0 5 9 1 】

20

図 26 は、 本実施例に記載される H D X - M S プロトコールを使用して判定した場合に、 抗体 1 3 A 3 および 3 G 4 が結合する H D X - M S ペプチドを示す。

【 0 5 9 2 】

したがって、 抗体 1 3 A 3 は、 h T I M 3 のアミノ酸残基 4 9 ~ 6 2 および 1 1 1 ~ 1 2 7 の領域と相互作用するが、 他の領域、 例えば、 アミノ酸残基 Y 4 0 または V 4 9 に対して N 末端側である領域、 アミノ酸残基 E 6 2 と R 1 1 1 との間に位置する領域、 およびアミノ酸残基 L 1 2 7 に対して C 末端側である領域とは有意に相互作用しない。 1 3 A 3 は、 T I M - 3 Ig V ドメインのホスファチジルセリン結合ループと結合する。

【 0 5 9 3 】

実施例 1 1 : ヒト組織交差反応性における T I M 3 . 1 8 による標的を定めた I H C 染色免疫組織化学的検査 (I H C) を、 ヒトおよびカニクイザルの脾臓の凍結切片において、 1 3 A 3 を用いて行った。 いずれの種でも、 1 3 A 3 (0.5 μ g / m L) により、 静脈洞様血管の内皮が染色された。 予測した通り、 カニクイザル T I M - 3 と交差反応しない抗体 3 G 4 は、 ヒト脾臓は染色したが、 カニクイザル脾臓は染色しなかった。

30

【 0 5 9 4 】

予備的な組織交差反応性分析において、 F I T C がコンジュゲートした T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 を、 大脳、 小脳、 心臓、 肝臓、 肺、 腎臓、 P B M C スミア、 脾臓、 扁桃腺、 胸腺、 皮膚、 結腸、 小腸、 胃、 膵臓、 末梢神経、 下垂体、 甲状腺、 前立腺、 および胎盤 (それぞれ 1 人のドナー) を含む、 2 0 種類の正常なヒト組織に由来する凍結切片またはスミアに適用した。 特異的染色が、 P B M C 、 脾臓および扁桃腺の单核細胞 (M N C) ならびに胸腺の上皮網状細胞またはマクロファージのサブセットにおいて、 観察された。 最も顕著な染色は、 マクロファージ / D C 様細胞におけるものであり、 これは、 組織特異的マクロファージ (例えば、 肝臓におけるクッパー細胞、 皮膚における真皮マクロファージ / D C および胎盤におけるホーフバウワー細胞) を含め、 試験した全ての組織において観察された。 器官レベルでは、 最も強力な染色は、 脾臓において見出された。 M N C の小さなサブセット以外では、 強力な染色は、 赤脾臓における脾臓内皮細胞において非常に頻繁に見られた。 加えて、 陽性染色は、 腎皮質における皮質尿細管上皮細胞の小さなサブセットにおいて観察された。

40

【 0 5 9 5 】

実施例 1 2 : マウスにおける抗 T I M 3 および P D - 1 抗体の組合せの抗腫瘍活性

50

ラット抗マウスT IM - 3 (R M T 3 - 2 3) および P D - 1 (R M P 1 - 1 4) の市販の抗体 (B i o - X - C e l l) を、C T 2 6 結腸直腸腫瘍モデルにおいて評価した。実験の設計は、インビオでの研究 Ngiow et al. (2011) Cancer Res. 71:3540においてこれまでに説明されているものと同様であった。T IM - 3 は、この腫瘍モデルでは比較的後期 (15日目) に発現されるため、腫瘍成長が最小限となり、T IM - 3 発現の時間が得られるように、少量の腫瘍細胞 (2×10^5 個) を、それぞれのマウスの側腹部に移植した。8日目に、腫瘍が容易にわかるようになったときに、マウスを、10匹ずつのマウスで4つの処置群に、平均腫瘍体積は 40 mm^3 でランダム化した。R M T 3 - 2 3 (抗T IM - 3 抗体) および R M P 1 - 1 4 (抗P D - 1 抗体) を、単剤または組合せの薬剤 (それぞれの抗体の1回の注射当たり $250\mu\text{g}$) のいずれかとして、腹腔内注射によって投与し、アイソタイプ対照は、1回の注射当たり $500\mu\text{g}$ で投与した。それぞれの研究動物は、それぞれの注射で、 $250\mu\text{g}$ の1種類の抗体または $500\mu\text{g}$ の2種類の抗体の組合せを、合計3回の用量で受容させた。腫瘍サイズを、2週間に1回評価した。単剤または組合せの試験物品を受容したそれぞれの群のマウスは、抗腫瘍活性を示し、抗P D - 1 単剤療法群の10匹のマウスのうち2匹、ならびに組合せ抗P D - 1 および抗T IM - 3 群の10匹のマウスのうち6匹は、研究の終了時に、腫瘍なしのままであった (図24A)。同一の設計のこれまでのC T 2 6 研究で、同様の結果が得られており、抗P D - 1 単剤療法群の10匹のマウスのうち3匹、ならびに組合せ抗P D - 1 および抗T IM - 3 群の10匹のマウスのうち7匹が、腫瘍なしであった。単剤として投与した抗T IM - 3 による抗腫瘍活性は、ほとんどなかったか、またはまったくなかった。

【0596】

R M T 3 - 2 3 の活性化マウスT細胞との結合のE C ₅₀ 値は、 1.7 nM であり、これは、T I M 3.1 8 のヒトT I M - 3 との結合のE C ₅₀ よりも17倍弱いことに、留意すべきである。R M T 3 - 2 3 を交差遮断する別のラット抗マウスT I M - 3 抗体 (A b M) は、活性化マウスT細胞との結合について、 0.1 nM のE C ₅₀ を有するが、これは、T I M 3.1 8 のE C ₅₀ と同等である。R M T 3 - 2 3 と同様に、A b M は、マウスT I M - 3 のP S - 結合ループにマッピングする。C T 2 6 腫瘍モデルにおいて、m I g G 1 - D 2 6 5 A (F c 不活性アイソタイプ) 重鎖定常領域を有するこの抗体を使用することにより、これが、抗P D - 1 に対する抗腫瘍応答を増強したことが示された (図24B)。

【0597】

実施例13：T I M 3 抗体 (全長またはF a b) 遮断によるT h 1 細胞増殖アッセイ
抗T I M 3 抗体をさらに特徴付けるために、インビトロで分極化したT h 1 細胞を使用する特定のT細胞増殖アッセイを開発した。分極化T h 1 細胞を、ナイーブC D 4 + T細胞を反復的に再刺激することによって得た。これらの細胞を、次いで、抗T I M 3 抗体 (または対照) の存在下において、照射した (成長を停止させた) C H O - O K T 3 細胞とともにインキュベートし、T h 1 細胞増殖を測定した。

【0598】

ナイーブC D 4 T細胞を、以下のように、T h 1 メモリー様T細胞に分極化させた。ナイーブC D 4 T細胞を、MiltenyiからのナイーブC D 4 T細胞単離キットを使用して、P B M C から精製した。細胞を、細胞 3.6×10^5 個 / m l で、ビーズ1に対して細胞1の比率でC D 3 / C D 2 8 でコーティングした (それぞれ80% / 20%) ビーズ、 $10\text{ ng} / \text{m l}$ のヒトI L - 2、 $1\text{ ng} / \text{m l}$ のヒトI L - 1 2 および $10000\text{ ng} / \text{m l}$ の抗ヒトI L - 4 抗体の存在下において、I M D M / 10% F B S 中で3~4日間、培養した。インキュベーションの後に、細胞を、チューブに収集し、ビーズを、磁石を用いて除去し、細胞を、培養のために新しいフラスコに戻した。組換えヒトI L - 2 を添加して、最終濃度 $4\text{ ng} / \text{m l}$ にし、細胞を、さらに3日間インキュベートした。次いで、細胞を収集し、 $1 \times$ I M D M / 10% F B S で洗浄した。細胞を計数し、細胞 4.1×10^5 個 / m l で、I M D M / 10% F B S 中に再懸濁し、ビーズ1に対して細胞1の比率で、C D 3 / C D 2 8 でコーティングした (それぞれ80% / 20%) ビーズ、 $10\text{ ng} / \text{m l}$

10

20

30

40

50

1のヒトIL-2、1ng/mlのヒトIL-12および10000ng/mlの抗ヒトIL-4抗体の存在下において、3~4日間培養した。インキュベーションの後に、細胞を、チューブに収集し、ビーズを、磁石を用いて除去し、細胞を、培養のために新しいフラスコに戻した。組換えヒトIL-2を添加して、最終濃度4ng/mlにし、細胞を、さらに2~3日間インキュベートした。次いで、分極化したTh1細胞を、採取し、3回洗浄した。アッセイ構築の日に、分極化したTh1細胞を、完全培地中に再懸濁した。

【0599】

以下の試薬を使用した。

Dynabeads M-450 Epoxy、Dynal Biotech ASA 140.11

100mMリン酸ナトリウム緩衝液、pH 8.5、Teknova 0214-250

10

機能グレードの抗hCD3クローンUCHT-1、eBioscience 16-0038-85

機能グレードの抗hCD28クローンCD28.2、eBioscience 16-0289-85

組換えヒトIL-2、PeproTech, Inc. 200-02

組換えヒトIL-12、PeproTech, Inc. 200-12

抗ヒトIL-4、eBioscience 16-7048-85

Iscove's DMEM、Mediatech, Inc. 10-016-CM

ウシ胎児血清(熱不活性化)、Hyclone SH30071.03

【0600】

CHO-OKT3細胞株を、アッセイ構築の日に、振盪フラスコ中で成長させ、照射した(1時間20分で67,000RAD、Rad Source Irradiator、RS-2000 Biological System)。アネキシンV染色によって確認した場合、照射したCHO-OKT3細胞により、T細胞刺激およびホスファチジルセリン(phosphatidylserine)(PS)の露出がもたらされた。

20

【0601】

TIM3.18.IgG1.3またはアイソタイプ対照を、20μg/mlから4倍連続希釈によって滴定し、それぞれの条件を3連に構築した。TIM3.18.IgG1.3 Fabを、53μg/mlから、これも4倍連続希釈によって滴定した。TIM3.18.IgG1.3 Fab断片は、結晶構造解析実験において使用されたものと同一であった(実施例を参照のこと)。

30

【0602】

培養物を、平底TC処理96ウェルプレート(Costar)に、0.1μg/mlの抗CD28(クローンCD28.2、BD Biosciences、カタログ番号555725)の存在下において、ウェルごとに200μLの完全培地中の1×10⁵個の分極化したTh1細胞および2.5×10⁴個の照射したCHO-OKT3細胞(CHO:T細胞の比、1:4)を配置し、37および5%CO₂で、3日間インキュベートした。次いで、プレートを、ウェルごとに、1μCiのトリチウム化チミジン(Perkin Elmer、カタログ番号NET027001MC)で、16時間パルス処理した後、細胞を、増殖を評価するためのトリチウム化チミジンの組込みの分析のために、フィルタープレート(Perkin Elmer)に採取した。

40

【0603】

図29Aおよび29Bに示される結果は、抗TIM3抗体TIM3.18.IgG1.3が、CHO-OKT3/Th1共培養細胞アッセイにおいて、用量依存的様式で、Th1細胞増殖を増大させたことを示した。TIM3.18.IgG1.3の全体的な活性は、その親抗体13A3(IgG4アイソタイプ)のものと同等である(図29A)。TIM3.18.IgG1.3 Fab断片もまた、CHO-OKT3/Th1細胞アッセイにおいて、増殖の用量依存性誘導(図29B)を示した。

【0604】

したがって、TIM3.18.IgG1.3(全長およびFabの両方)が、照射したCHO-OKT3細胞との共培養物において、用量依存的様式で、Th1細胞活性を強化した。Fab断片による活性の存在により、TIM3.18.IgG1.3が、アンタゴニスト抗体

50

として機能すること、およびT I M - 3 が、T 細胞機能の阻害性受容体であることが示された。F c 架橋は、T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 生物学的アッセイには必要なかった。

【 0 6 0 5 】

実施例 1 4 : T I M 3 および P D 1 の共遮断による T h 1 細胞増殖アッセイ

このアッセイは、抗 C D 2 8 の存在下における、ヒト P D - L 1 (C H O - O K T 3 - P D - L 1) をトランスフェクトした照射した(成長を停止させたもの、1時間20分で、67,000 R A D、Rad Source Irradiator、RS-2000 Biological System) C H O - O K T 3 細胞と T h 1 細胞との間で、C H O : T 細胞の比 1 : 4 での共培養であった。C H O - O K T 3 - P D - L 1 細胞株を、アッセイ構築の日に、振盪フラスコにおいて成長させ、照射した。分極化した T h 1 細胞を、本明細書の他の実施例に記載されるように、調製した。アッセイ構築の日に、分極化した T h 1 細胞を、完全培地中に再懸濁した。

10

【 0 6 0 6 】

抗 P D - 1 抗体ニボルマブを、10 μ g / m L から 10 倍連続希釈によって滴定し、それぞれの条件を 3 連に構築した。T I M - 3 抗体 T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 またはアイソタイプ対照を、20 μ g / m L でスパイクした。

【 0 6 0 7 】

培養物を、平底 T C 処理 9 6 ウエルプレート (Costar) に、[0.1 μ g / m l の抗 C D 2 8 (クローン C D 2 8 . 2 、BD Biosciences、カタログ番号 5 5 5 7 2 5) の存在下において、ウェルごとに 2 0 0 μ L の完全培地中の 1 × 1 0 5 個の T h 1 細胞および 2.5 × 1 0 4 個の C H O - O K T 3 - P D - L 1 細胞を配置し、37 および 5 % C O 2 で、3 日間インキュベートした。次いで、プレートを、ウェルごとに、1 μ C i のトリチウム化チミジン (Perkin Elmer、カタログ番号 N E T 0 2 7 0 0 1 M C) で、16時間パルス処理した後、細胞を、増殖を評価するためのトリチウム化チミジンの組込みの分析のために、フィルタープレート (Perkin Elmer) に採取した。

20

【 0 6 0 8 】

図 3 0 に示される結果は、抗 P D - 1 抗体ニボルマブが、用量依存的様式で、C H O - O K T 3 - P D - L 1 で刺激した細胞により刺激された T h 1 T 細胞の増殖を増大させたこと、ならびに増殖が、T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 との組合せで大幅に増強されたことを示す。T I M - 3 および P D - 1 経路の共遮断により、このアッセイにおいて相加効果が示された。

30

【 0 6 0 9 】

実施例 1 5 : T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 遮断による腫瘍浸潤リンパ球 I F N - 放出アッセイ

このアッセイについては、新しい腫瘍組織を、外科手術により摘出されたヒト腎細胞がんサンプルまたは乳がんサンプルから得た。腫瘍浸潤リンパ球 (T I L) を、酵素的解離キット (Miltenyi、カタログ 1 3 0 - 0 9 5 - 9 2 9) を使用して単離した。T I L に、2 0 I U / m L I L - 2 (組換えヒト I L - 2 、Peprotech、カタログ 2 0 0 - 0 2) を補充し、照射した(成長を停止させたもの、1時間20分で 67,000 R A D、Rad Source Irradiator、RS-2000 Biological System) C H O - O K T 3 細胞とともに、C H O : T の比 1 : 6 で、共培養した。C H O - O K T 3 細胞株を、アッセイ構築の日に、振盪フラスコにおいて成長させ、照射した。

40

【 0 6 1 0 】

T I M 3 抗体 T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 またはアイソタイプ対照を、20 μ g / m L から 4 倍連続希釈によって滴定し、それぞれの条件を 3 連に構築した。培養物を、平底 T C 処理 9 6 ウエルプレート (Costar) に、I M D M + 5 % F B S および 5 % ヒト A B 血清 (G e m i n i 、カタログ番号 1 0 0 - 5 1 2) 中、ウェルごとに 2 0 0 μ L の 1.5 × 1 0 5 個の T 細胞および 2.5 × 1 0 4 個の照射した C H O - O K T 3 細胞を配置し、37 および 5 % C O 2 で、5日間インキュベートした。上清を、E L I S A (BD Opteia h I F N - E L I S A キット、BD、カタログ 5 5 5 1 5 2) によって、I F N - 測定のために、それぞれのサンプルから採取した。

50

【 0 6 1 1 】

腎細胞がん T I L については、図 3 1 に示され、乳がん T I L については、図 3 2 に示される結果は、T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 が、C H O - O K T 3 / T I L 共培養アッセイにおいて、用量依存的様式で、I F N - γ 産生を増大させたことを示し、腎細胞がん T I L アッセイにおける陰性対照でのより高い濃度のT I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 の比べて最大4倍の増大であった。

【 0 6 1 2 】

実施例 1 6 : T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 は、M 0 : T 同種 M L R アッセイにおいて、I F N - γ 分泌を促進する

健常なドナーから単離された C D 1 4 + 単球を、M - C S F を含有する培養培地において、M 0 期に分化させた。培養後 6 日目に、F A C S 染色によると、有意なマクロファージ集団が、C D 1 6 3 + および C D 2 0 6 + を細胞表面上に発現しており、抑制性マクロファージのシグネチャーと一致した。抗 T I M - 3 抗体を用いたフローサイトメトリーにより、T I M - 3 は、M 0 マクロファージに発現されることが示された（図 3 3）。次いで、これらのM 0 マクロファージに、照射を行い（7分間で 5 , 0 0 0 R A D、Rad Source Irradiator、RS-2000 Biological System）、同種ドナーの全 T 細胞とともに共培養し、共培養後 6 日目に、混合細胞を、T 細胞増殖を評価するために、 ^{3}H - チミジンで一晩パルス処理した。

10

【 0 6 1 3 】

図 3 4 に示される結果は、T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 が、アイソタイプ対照と比較して、T 細胞増殖を増大させたことを示す。

20

【 0 6 1 4 】

実施例 1 7 : h T I M 3 と相互作用する T I M 3 . 1 8 . I g G 1 . 3 _ F a b の結晶構造 h T I M 3 _ I g V 領域を、以下のように、T I M 3 . 1 8 の F a b 断片とともに共結晶化した。使用した配列は、以下の通りであった。

h T i m 3 _ I g V :

【 化 1 5 】

HHHHHHSAALEVLFQGPGSEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWKGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYW
TSRYWLNGDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNLKLVIKPA

30

（配列番号 3 7 7 ; T I M 3 配列に下線を引いてある）

T i m 3 . 1 8 _ F a b :

【 化 1 6 】

QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKSRTVISVDT
SKNQFSLKSSVTAAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFEPWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNWKPSNTKVDKRVEPKS
CGGHHHHHH

（配列番号 3 6 6 ）

T i m 3 . 1 8 _ カッパ :

40

【 化 1 7 】

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLT
ISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWK
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFRGEC

（配列番号 2 9 ）

【 0 6 1 5 】

発現および精製。ヒスチジンタグ化 h T i m 3 _ I g V ドメインを、p E T 4 7 b ベクターを用いて、大腸菌（B L 2 1 D E 3 ）において発現させた。精製およびリフォールディングは、m T i m 3 について、以下の公開されているプロトコールに従って行った（De

50

Kruyff et al. J. Immunology 2010)。Tim3.18 Fabを、HEK293細胞において一過的に発現させ、重鎖のC末端Hisタグにより精製した。

【0616】

複合体の結晶化および構造の判定。Tim3.18 Fabを有するhTim3 IgVドメインの結晶構造を、1.5に分解した。Fab:抗原複合体を、まず、Hampton Researchからの種々のスクリーニングで結晶化条件に関してスクリーニングし、結晶クラスターを、6.5~5.5の範囲のpHで、PEG 3350の条件下で観察した。結晶の成長条件を、単結晶の成長を可能にするようにさらに最適化した。単結晶を、グリセロールを凍結保護剤として用いて採取し、液体窒素中で瞬間凍結させた。データの収集を、APSにおいて、IMCA-CATでPilatus-6M検出器を使用して行った。回折画像を、Global Phasingソフトウェアで処理し、Tim3.18のFabモデルを使用してフェージングした。CCP4スイート、Coot、Phenix、およびGlobal Phasingスイートのソフトウェアを使用して、複数回の精査を行った。10

【0617】

分解されたhTim3 IgVドメインは、公開されているhTim3構造(PDB: 5F71、[worldwideweb.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?pdbId=5F71](http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?pdbId=5F71))、ならびにPSとの複合体において分解されたmTim3構造(PDB: 3KAA、[worldwideweb.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=3kaa](http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=3kaa)、Rosemarie et al. (2010) J Immunol 184:1918)のものと十分に一致する。hTim3におけるPS結合ポケットは、これらの構造的アライメントにより推測した。加えて、PS結合ポケットの位置は、ヒトおよびマウスにおいて、TIMメンバー間で保存されている(Freemen et al. (2010) Immunol Rev. 235: 172)。20

【0618】

hTim3タンパク質におけるTIM3.18の接触残基は、hTIM3:TIM3.18 Fab結晶構造とhTIM3構造単独との間の接触可能性表面積の差を計算することによって、同定した(「表面包埋法」)。TIM3.18 Fabと複合体を形成したときに包埋された表面積を示すhTIM3残基を、接触残基の一部であるとして定義した。タンパク質の溶媒接触可能表面は、プローブスフェア(半径1.4-の溶媒分子を表す)の中心の遺伝子座として定義されるが、これは、それが、タンパク質のファンデルワールス表面上を転がるためである。溶媒接触可能表面積は、プログラムAREAIMOL(http://www.ccp4.ac.uk/newsletters/newsletter38/03_surfarea.html)において実装されるように、それぞれの原子の周りに拡張したスフェア上に表面点を生成し(原子およびプローブの半径の和と等しい原子中心からの距離で)、隣接する原子と会合した等価のスフェア内にあるものを排除することによって、によって計算した。30

【0619】

図35および36に示される結果は、上述の表面包埋法によって同定した場合、以下のアミノ酸が、接触残基であることを提供する:P29、V30、C31、P38、V39、F40、E41、C42、G43、N44、V45、V46、L47、R48、T49、D50、E51、D53、R90、Q92、G95、I96、M97、D99(成熟hTIM3細胞外ドメインである配列番号290による番号付け)またはP50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、T70、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120(シグナルペプチドを有するhTIM3である配列番号286(図20)による番号付け)。これらの結果は、ヒトTIM3上のTIM3.18.IgG1.3の接触残基が、ヒトTIM3上のPS結合ポケットと重複することを示す。具体的には、TIM3.18の重鎖CDR2が、PS結合ポケットを占有する。PS結合ループとのさらなる接触は、重鎖CDR1およびCDR3によって行われる。ここで生成された構造データにより、PS遮断アッセイにおいて得られた結果が確認される(実施例を参照のこと)。40

【0620】

10

20

30

40

50

結晶構造解析の結果はまた、hTIM3の以下のアミノ酸残基が、TIM3.18 Fabのアミノ酸残基の原子の5以内に位置する原子を有することを示す（「5距離法」）：P29、V30、C31、P38、V39、F40、E41、C42、G43、N44、V45、V46、L47、R48、D50、E51、D53、R90、I91、Q92、G95、I96、M97、D99（成熟hTIM3細胞外ドメインである配列番号290による番号付け）またはP50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、I112、Q113、G116、I117、M118、D120（シグナルペプチドを有するhTIM3である配列番号286（図20）による番号付け）。FabおよびhTIM3タンパク質の相互作用する具体的な残基を、表3に記載する。

【0621】

表3. Fab残基と相互作用するヒトTIM3残基の一覧

10

20

30

40

50

【表3】

Tim3 残基	Tim3.18抗体 重／軽鎖	残基#	残基タイプ
29(PRO)	H/	56	(SER)
	H/	57	(GLY)
	H/	58	(PHE)
30(VAL)	H/	56	(SER)
	H/	58	(PHE)
31(CYS)	H/	58	(PHE)
	H/	55	(TYR)
38(PRO)	H/	106	(TYR)
39(VAL)	H/	60	(TYR)
	H/	106	(TYR)
	L/	92	(TYR)
	L/	93	(GLY)
	L/	94	(SER)
	L/	95	(SER)
40(PHE)	H/	49	(TRP)
	H/	54	(TYR)
	H/	60	(TYR)
	H/	106	(TYR)
	H/	108	(HIS)
	L/	95	(SER)
	L/	97	(ILE)
41(GLU)	H/	54	(TYR)
	H/	55	(TYR)
	H/	56	(SER)
	H/	58	(PHE)
	H/	60	(TYR)
	H/	103	(TYR)
42(CYS)	H/	103	(TYR)
	H/	104	(GLY)
43(GLY)	H/	103	(TYR)
	H/	104	(GLY)
	H/	105	(ASP)
	H/	106	(TYR)
44(ASN)	H/	103	(TYR)
	H/	104	(GLY)
	H/	105	(ASP)
45(VAL)	H/	32	(ARG)
	H/	33	(SER)
	H/	55	(TYR)
	H/	103	(TYR)
	H/	104	(GLY)
46(VAL)	H/	32	(ARG)
47(LEU)	H/	32	(ARG)
	H/	55	(TYR)
48(ARG)	H/	30	(SER)
	H/	31	(SER)
	H/	32	(ARG)
	H/	55	(TYR)
50(ASP)	H/	55	(TYR)
	H/	56	(SER)
51(GLU)	H/	30	(SER)
53(ASP)	H/	32	(ARG)
56(ARG)	H/	58	(PHE)
	H/	60	(TYR)
59(ILS)	H/	58	(PHE)
92(GLN)	H/	57	(GLY)
	H/	58	(PHE)
	H/	59	(THR)
	H/	60	(TYR)
95(GLY)	H/	66	(LYS)
96(ILS)	H/	66	(LYS)
97(MET)	H/	66	(LYS)
99(ASP)	H/	58	(PHE)
	H/	60	(TYR)

10

20

30

40

【0622】

両方の方法によって同定されたアミノ酸残基の比較により、表面包埋法によってのみ同定された残基T49および「5 距離法」によってのみ同定された残基I91を除き、残基が、本質的には同じであることが示される。

【0623】

実施例18：TIM3.18.1gG1.3の追加の特徴

CHO細胞において発現されるTIM3.18.1gG1.3の生物学的特徴を、表4に提供する。

50

【表4】

表4: TIM3.18.IgG1.3の生物物理学的特徴

特性	方法	結果	
同一性	LC-MS/MSペプチドマップ	脱グリコシル化分子量=145,619Da(予測通り) 脱グリコシル化され、還元されアルキル化された重鎖=50,068 Da 非グリコアシル化、還元されアルキル化された軽鎖=23,683Da ペプチドマッピングおよび質量分析によって確認された99%を上回る配列およびジスルフィド構造	
純度/均一性	CE-SDS SEC SE-MALS HIC-HPLC CE (Glycans) cIEF	95.1%モノマー、不純物には、2.9%HHL、0.9%HL、0.5%HH、0.6%LC、非グリコシル化重鎖2.1%が含まれる。 98.5%モノマー 99.94% (150 kDa), 0.06% (322 kDa) 92%が主ピーク、1%が主ピーク前、7%が主ピーク後 GOF (79.3%), G1F (12.2%), G2F (0.7%), Man5 (6.8%), G0 (0.9%). 主ピークpI=8.6、pI範囲8.17~8.66	10
化学的修飾	LC-MS/MSペプチドマップ	非常に低い	
熱安定性および可逆性	DSC (保管緩衝液中に希釈)	Tm1 = 68.1°C, Tm2 = 80.3°C, Tm3=82.6°C 74°Cでの可逆性=96%、80°C=26%	20

【0624】

単一のNグリコシル化部位が、重鎖のN297において確認され、グリカンプロファイルは、CHOにより発現されたIgG1モノクローナル抗体のグリカンプロファイルと一致した。TIM3.18.IgG1.3は、CD16、CD32またはCD64とは結合せず、これが、任意のFc-FcR媒介性エフェクター機能に対して不活性であることを示唆する。TIM3.18.IgG1.3は、良好な熱安定性 (Tm1 = 68.1, Tm2 = 80.3, Tm3 = 82.6) および熱可逆性 (74で95.6%、80で25.5%) を有し、これにより、この分子が、熱ストレス下において構造的完全性を保持し、ストレスが解放された場合には強力なリフォールディング特性を有することが示唆される。

【0625】

TIM3.18.IgG1.3の安定性特徴を、表5に提供する。

【表5】

表5: TIM3.18.IgG1.3の安定性

特性	方法	結果	
凍結/解凍 (-80°Cで1時間、室温で1時間を6回)	UV, SEC	凍結/解凍での安定性に関する危険性は判明しなかった	
可溶性/濃度プロファイル	UV, SEC	少なくとも60 mg/mL	
安定性の加速 プラットフォーム製剤では、50mg/mL で、4°C、25°C、および40°Cで12週間	SEC、DLS、HIC、cIEF、LC-MS/MSペプチドマッピング	40°Cで12週間=LMWにおいて2%/月の増大 40°Cで12週間、HMWにおいて1%未満の増大 40°Cで12週間=酸性変異体において18%/月の増大	40

【0626】

物理的な安定性の問題は、50 mg / mLにおいて凍結 - 解凍ストレス(6サイクル)中に観察されなかった。50 mg / mLでの強制分解研究を、4、25および40で構築した。CDR領域における化学修飾は、試験したいずれの条件下においても、12週間にわたって観察されなかった。

【0627】

TIM3.18.IgG1.3の潜在的な免疫原性の危険性を、コンピュータ方法によって評価した。TIM3.18.IgG1.3のコンピュータによるIDA B分析では、このmAbのCDRに、HLA結合配列の可能性がほとんど示されず、ヒト免疫応答の誘導の危険性が低いことが示された。

【0628】

実施例19：サルにおけるTIM3.18.IgG1.3のPK/PD
単回用量のPK/PDおよび寛容性研究において、全てのサルを、2.5 mgのサル免疫不全ウイルス(SIV)NefおよびGagタンパク質を発現するキーホールリンペットヘモシアニン(KLH)ベクターおよび非増殖性組換えアデノウイルス-5(Ad5)ベクター(3×10^9 個のそれぞれのベクター)を用いて、筋肉内に免疫処置した。免疫処置の後に、サルに、0(ビヒクル)、0.5、10または25 mg / kg(N=3匹/群、性別混合)の用量で、TIM3.18.IgG1.3を静脈内投与した。血清サンプルを、薬物動態(PK)および抗薬物抗体(ADA)の評価のために、最大42日間採取し、血液サンプルを、受容体占有率の評価のために、最大42日間採取した。追加の血清サンプルを、可溶性TIM-3のレベルを含む、その他の試験的エンドポイントのために、保管した。

10

【0629】

AUC_{0 - 168 h}は、0.5 ~ 25 mg / kgで、用量に比例した。TIM3.18.IgG1.3は、約2週間のT_{1/2}および0.18 mL / h / kgの総血清クリアランスを示した。定常状態での分布量は、6.8 ~ 8.4 mL / kgの範囲に及び、TIM3.18.IgG1.3が、主として、細胞外空間に存在することを示唆した(表6)。

20

【表6】

表6: カニクイザルにおける静脈内投与後のTIM3.18.IgG1.3の薬物動態パラメーター

研究	サルの数	用量 (mg/kg)	AUC _(0 - INF) (μ M × 時間)	T _{1/2} (時間)	CLT (mL/時間/kg)	V _{ss} (mL/kg)
	3	0.5	NC	NC	NC	NC
DT16095	3	10	358 ± 90*	337 ± 91	0.19 ± 0.047	84 ± 3.8
	3	25	1076 ± 324	321 ± 104	0.17 ± 0.053	68 ± 7.4

30

*外挿したAUCは、20%のカットオフを上回り、21%から55%の範囲に及んだ。

【0630】

カニクイザルにおけるPKおよび相対成長率に基づいて、概算されたヒト総血清クリアランスは、0.10 mL / h / kgであり、8.8 mL / kgのV_{ss}である。結果として、概算されたヒト半減期は、約26日である。

40

【0631】

実施例20：予備的なサイトカイン放出アッセイ

TIM3.18.IgG1.3での処置が、サイトカイン放出症候群の危険性を及ぼすかどうかを判定するために、16人のヒトドナーに由来する全血を、溶液中、20 μ g / mLのTIM3.18.IgG1.3または陽性対照とともにインキュベートした。75種類の血清サイトカインおよびケモカインのパネルを、それぞれのドナーについて試験した。T細胞に由来するサイトカインまたはケモカインの放出の増強の根拠は認められず、サイトカイン放出症候群の危険性は低いことが示唆された。数人のドナーからの全血アッセイでは、IL-1、IL-6、IL-10、TNF-αおよびG-CSFの上昇があり、TIM-3の遮断が、単球またはマクロファージに由来するサイトカインの産生を増大するとい

50

う上記に提示された証拠と一致した。

【0632】

実施例21：T I M 3.18.IgG1.3は、受容体の下方制御または内部移行を引き起こさない

13A3が、細胞膜上のヒトT I M 3と結合した場合に、それを下方制御または内部移行するかどうかを判定するために、図37に示される蛍光消光研究を行った。3時間の処置の後の結果は、図38に示されるが、13A3抗体も変異体D101EまたはN60Qも、活性化ドナーCD8+T細胞において、細胞内T I M 3抗体の用量依存性蓄積を引き起こさなかったことを示し、抗体が、内部移行されないことが示唆された。

【0633】

下方制御の可能性を判定するために、活性化ドナーCD8+T細胞を、様々な量の13A3、13A3.D101.Ig1.1f、13A3.D101E/N60Q.IgG1.1fもししくは対照抗体の存在下において、または抗体なしで、2時間インキュベートし、細胞表面上のT I M 3の量を、判定した。結果は、抗T I M 3抗体とのインキュベーションが、細胞表面T I M 3を下方制御しなかったことを示した。

10

20

30

40

50

【図面】

【図 1 A】

FIG. 1A

抗TIM-3 13A3 VH1

Vセグメント: 4-39

Dセグメント: 4-17

Jセグメント: JH5b

```

Q L Q L Q E S G P G L V K P S E T
1 CAG CTG CAG CTG CAG GAG TCG CGC CCA GGA CTG GTG AGG CCT TCG GAG ACC
L S L T C T V S G G S I S -CDR1-
52 CTG TCC CTC ACC TGC ACT GTC TCT GGT GCC TCC ATC AGC AGT AGA AGT TAC
Y W G W I R Q P P G K G L E W I G
103 TAC TGG GGC TGG ATC CGC CAG CCC CCA GGG AGG GGG CTG GAG TGG ATT GGG
-CDR2-
S I Y Y S G F T Y Y N P S L K S R
154 AGT ATC TAT TAT AGT GGG TTC ACC TAC AAC CCG TCC CTC AAG AGT CGA
V T I S V D T S K N Q F S L K L S
205 GTC ACC ATA TCC GTT GAC AGC TCC AAG AAC CAG TTC TCC CTG AAG CTG AGC
S V T A A D T A V Y Y C A T G G P
256 TCT GTG ACC GCC GCA GAC AGC GCT GTG TAT TAT TGT GCG ACA GGG GGG CCG
Y G D Y A H W F D P W G Q G T L V
307 TAC GGT GAC TAC GCC CAC TGG TTC GAC CCC TGG GGC CAG GGA ACC CTG GTC
T V S S
358 ACC GTC TCC TCA

```

【図 1 B】

FIG. 1B

抗TIM-3 13A3 VK1

Vセグメント: A27

Jセグメント: JK5

```

E I V L T Q S P G T L S P G E T
1 GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA
R A T L S C R A S Q S V S S S Y L
52 AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA
A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G
103 GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT
-CDR2-
A S S R A T G I P D R F S G S G S
154 GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT
G T D F T L T I S R L E P E D F A
205 GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA
V Y Y C -CDR3-
256 GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCG ATC ACC TTC GGC CAA GGG
T R L E I K
307 ACA CGA CTG GAG ATT AAA

```

10

20

【図 1 C】

FIG. 1C

13A3_NT_VH1
ATGAAAGCACCTGTGGTCTCTCTCTGCTGGTGGCGCTCCAGATGGGCTCTGCCAGCTGCAGCTGCAGGAAG
TGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCTGGAGACCCCTGTCCTCACCTGCACITGCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGT
AGAAAGTACTACTGGGCTGATCGCCAGCCCCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGT
GGGTCACTACTAACACCCTGTCAGAGTCAAGAGTCAACCATATCCGGTACACGTCAGAACAGCTTCTCC
CTGAGACTGACTCTGTGACCGCCGAGCACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTGAATAC
GCCCACTGGTGGACCCCTGGGGCCAGGGAAACCCCTGGTACCGCTC

13A3_AA_VH1
MKHLWFLLLVAAAPRWVLSQLQESGPGLVKSETLSTCTVSGGSISSRSYYWGWRQQPGKLEWISIYSS
GFTYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYDYAHWFDPWGGQTIVTVSS
13A3_AA_VK1
ATGGAAACCCCAGCGCAGCTCTCTCCCTCTGCTACTCTGGCTCCAGATAACCCGGAGAAATTGTGTTGAGC
CAGCTCTCAGGACCCCTGCTTTGCTCTCCAGGGAAAGGCCACCTCTCTGAGGGCCAGTCAGAGTGTAGC
AGCAGCTACTTGGCTGGTACCCAGAGAACAACTGGCCAGGGCTCCAGGGCTCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
GCCACTGGCATCCAGCAGGTTAGTGGCAGGTGGCTGGAGACAGCTTCACTTCACTCAGCAGACTGGAG
CTGAAAGATTTGGTGTATTACTGTGAGCAGTATGGTAGCTACCGCATCACCTGGCCAAGGGACACGGTAC
GAGATTAAA

13A3_NT_VK1
MTPAQLLFLLLLWLPPDTTGEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYCCQYGSPITFQQGTRLEIK

【図 2 A】

FIG. 2A

抗 TIM-3 8B9 VH1

Vセグメント: 4-59

Dセグメント: 4-17

Jセグメント: JH6b

```

Q V Q L Q E S G P G L V K P S E T
1 CAG GTG CAG CTG CAG GAG TCG GGC CCA GGA CTG GTG AAG CCT TCG GAG ACC
L S L T C T V S G G S I S -CDR1-
52 CTG TCC CTC ACC TGC ACT GTC TCT GGT GGC TCC ATC AGT CGT CAC TAC TGG
N W I R Q P P G K G L E W I G -Y I
103 AAC TGG ATC CGG CAG CCC CCA GGG AAG GGA CTG GAG TGG ATT GGG TAT ATC
H Y S G S T N Y N S S L K S R V T
154 CAT TAC AGT GGA AGC ACC AAC TAC AAT TCC TCC CTC AAC AGT CGA GTC ACC
I S V D T S K N Q F S L K L S S V
205 ATA TCA GTA GAC ACG TCC AAG AAC CAG TTC TCC CTG AAG CTG AGC TCT GTG
T A A D T A V Y Y C A R -CDR3-
256 ACC GCT GCG GAC ACG GCC GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAT ACT GGG TAC TAC
G M D I W G Q G T T V T V S S
307 GGT ATG GAC ATC TGG GGC CAA GGG ACC ACG GTC ACC GTC TCC TCA

```

30

40

50

【図 2 B】

FIG. 2B

抗TIM-3 8B9 VK1 (hカッバ)

Vセグメント: A27

Jセグメント: JK4

E I V L T Q S P G T L S L S P G E
 1 GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA CGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA CGG GAA
 R A T L S C R A S Q S V S S S Y L
 52 AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA
 CDR1
 A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G
 103 GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC ATC TAT GGT
 CDR2
 A S S R A T G I P D R F S G S G S
 154 GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT
 G T D F T L T I S R L E P E D F A
 205 GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA
 CDR3
 V Y Y C Q Q Y G S S P L T F G G G
 256 GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCT CTC ACT TTC GGC GGA GGG
 T K V E I K
 307 ACC AAG GTG GAG ATC AAA

【図 2 C】

FIG. 2C

8B9_NT_VH1
 ATGAAACATCTGGGTTCTCTTCTGGGAGCTCCCAGATGGCTCTGCCAGGGCAGCTGGAG
 TCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCCTGGAGACCCCTGCTCACCTGACTGTCCTGGCTCCATCAGTCGT
 CACTACTGGAACTGGATCCGGAGCCCCAGGGAAAGGAGCTGGAGTGATTGGGTATATCATTACAGTGGAG
 ACCAACTACAATCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGCTCAAAGAACAGTCTCCCTGAAG
 CTGAGCTCTGTGACCCTGGGACACGGCCCTGATTACTGTGCGAGAGATACTGGTACTACGGTATGGACAT
 TGGGGCCAAGGGACACGGTCACCGTCTCCCTCA

8B9_AA_VH1
 MKHLWFFLLILVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSETLISLTVSSGSISRHWNWIRQPPGKLEWIGYIHSGS
 TNYNSSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAAATAVYYCARDTGYGMDIWGQGTTVTS

10

8B9_NT_VK1
 ATGGAAACCCAGGGCAGCTTCTCTCCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCCGGAGAAATTGTTGACG
 CAGTCTCCAGGCACCCCTGCTTGTCTCCAGGGAAAGGCCACCCCTCTGGCAGGGCAGTCAGGTGTTAGC
 AGCAGCTACTTACGGCTGGTACCAAGCAGAAAACCTGGCAGGGCTCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
 GCGCACTGGCAATCCAGCAGGGCTGAGTCACTGGCAGTGGGCTGAGCAGACTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
 CCTGAAGATTTCAGTGTATTACTGTAGCAGTATGGTAGCTCACCTCTCACCTGG
 CGGAGGGACCAAGGGATGGAGATCAA

8B9_AA_VK1
 METPAQLFLILLWLDPDTGEIVLITQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSEYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSR
 ATGIPDRFSGSGSGDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPLTFGGGTKEIK

20

【図 3 A】

FIG. 3A

抗TIM-3 8C4 VH1

Vセグメント: 4-59

Dセグメント: 4-17

Jセグメント: JH6b

Q V Q L Q E S G P G L V K P S E T
 1 CAG GTG CAG CTG CAG GAG TCG GGC CCA GGA CTG GTG AGG CCT TCG GAG ACC
 L S L T C T V S G G S I S R Y Y W
 52 CTG TCC CTC ACC TGC ACT GTC TCT GGT GGC TCC ATC AGT CGT TAC TAC TGG
 S W I R Q P F G K G L E W I G Y I
 103 AGC TGG ATC CGG CAG CCC CCA GGG AAG GGA CTG GAG TGG ATT GGG TAT ATC
 H Y T G S T N Y N P S L K S R V T
 154 CAT TAC ACT GGG AGC ACC AAC TAC AAC CCC TCC CTC AAG AGT CGA GTC ACC
 I S V D T S K N Q F S L K L S S V
 205 ATA TCA GTA GAC AGC TCC AAC AGC CAG TTC TCC CTG AAG CTG AGC TCT GTG
 T A A D T A V Y Y C A T D T G Y
 256 ACC GCA CGG GAC AGC GCC GTG TAT TAC TGT GCG ACA GAT AGC GGC TAC
 Y G M D V W G Q G T T V T V S S
 307 TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACU GTC ACC GTC TCC TCA

【図 3 B】

FIG. 3B

抗TIM-3 8C4 VK1

Vセグメント: A27

Jセグメント: JK4

E I V L T Q S P G T L S L S P G E
 1 GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA CGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA CGG GAA
 R A T L S C R A S Q S V S S S Y L
 52 AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA
 CDR1
 A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G
 103 GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC ATC TAT GGT
 CDR2
 A S S R A T G I P D R F S G S G S
 154 GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT
 G T D F T L T I S R L E P E D F A
 205 GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA
 CDR3
 V Y Y C Q Q Y G S S P L T F G G G
 256 GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CGG CTC ACT TTC GGC GGA GGG
 T K V E I K
 307 ACC AAG GTG GAG ATC AAA

30

40

50

【図3C】

FIG. 3C

8C4_NT_VH1
ATGAAACATCTGTGGTCTCCCTCTGGCGAGCTCCCAGATGGGCTCTGCCCCAGGTGCAGCTGAGGAG
TCGGGCCAGGACTGTGAAAGCCTCGGAGACCCCTGCTCTCACCTGCAGTGTCTCTGGCTCCATCAGTCGT
TACTACTGGACTGGATCAGGCGAGGGAAGGGACTGGAGTGGATGGTATATCCATTACAGGGAC
ACGAGCTACACCCCTCCTCAAGAGTCAGTACCATATCAGTAGACACGTCAGAACACAGTTCTCCCTGAAG
CTGAGCTCTGTGACCGCAGCGACAGGGCTGTTACTGTGCGACAGATACGGGCTACTACGGTATGGACGTC
TGGGGCCAAGGGACACGGTACCGGCTCC
8C4_AA_VH1
MKHLWFEFLLLVAAPRNVLSQVQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGGISISRYWSWIRQPPKGLEWIGYIHYTGS
TNYNPSLKSRTVISDTSNQFSLKSSLSSVTAADTAVYYCATDTGYYGMDVWQGQTTVVS
8C4_NT_VK1
ATGGAAACCCAGGGCAGCTCTCTGGCTCCAGATACCCGGAGAATTGTGAGC
CAGTCTCAGGGCACCCCTGCTTGTCTCAGGGAAAGGCCACCCCTCTGGCAGGGCAGTCAGAGTGGTAGC
AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAAGCAGAACCTGGCCAGGGCTCCAGGCTCTCATCTATGGTCATCCAGG
GCCACTGGCATCCAGACAGGGTCACTGGCAGTGGGACAGACTTCACCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTGGTACAGTGTATTACTGTGAGCTCACCGCTCACITGGGGGAGGGACCAAGGG
GAGATCAA
8C4_AA_VK1
METPAQLLFLWLPLDPTTGEIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLPEDFAVYYCQYQGSSPLTFGGGTKEIK

【図4A】

FIG. 4A

抗TIM-3 17C3 VH1

Vセグメント: 1-46
Dセグメント: 3-10
Jセグメント: JH6b

1 Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S
 CAG GTG CAG TTG GTG CAG TCT GGG GCT GAG GTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA
52 V K V S C K A S G Y T F T S Y Y M
 GTG AAG GTC TCC TGC AAG GCA TCT GGA TAC ACT TTC ACC AGC TAC TAT ATG CDR1
103 H W V R Q A P G Q G L E W M G I I
 CAC TGG GTG CGA CAG GCC CCT GGA CAA GGG CTT GAG TGG ATG GGA ATA ATC CDR2
154 N P R G D S I I Y A Q K F Q G R V
 AAC CCT AGG GGT GAT AGC ATA ATC TAC GCA CAG AGG TTC CAG GCC AGA GTC CDR3
205 T M T R D T S T S T V Y M E L S S
 ACC ATG ACC AGG GAC ACG TCC ACG AGC ACA GCA TAC ATG GAG CTG AGC AGC AGC 10
256 L R S E D T A V Y Y C A R D F Y G
 CTG AGA TCT GAG GAC AGC GCC GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAT TTC TAT GGT
307 S G N Y Y Y G M D V W G Q G T T V
 TCG GGA AAC TAC TAC TAC GGT ATG GAC GTC TGG GCC CAA GGG ACC ACG GTC
358 T V S S
 ACC GTC TCC TCA 20

【図4B】

FIG. 4B

抗TIM-3 17C3 VK1
Vセグメント: A27
Jセグメント: JK5
1 E I V L T Q S P G T L S L S P G E
 GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGCC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA
52 R A T L S C R A S Q S V S S S Y L
 AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA CDR1
103 A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G
 GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC ATC ATC TAT GGT CDR2
154 A S S R A T G I P D R F S G S G S
 GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT CDR3
205 G T D F T L T I S R L E P E D F A
 GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA
256 V Y Y C Q Q Y G S S P I T F G Q G
 GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCG ATC ACC TTC GGC CAA GGG
307 T R L E I K
 ACA CGA CTG GAG ATT AAA 30

【図4C】

FIG. 4C

17C3_NT_VH1
ATGGACTGGACCTGGAGGGCTCTCTGCTGGCTGTAGCTCCAGGTGCTACTCCCAAGGTGCAGTTGGTGCAG
CTGGGGCTGAGGTGAAGAAGGCTGGGGCTCAGTGAAAGTCTCTGCAAGGCATCTGATACACTTACCCAGC
TACTATATGCATCTGGGTGCGACAGGGCCCTGAGCAAGGGCTGAGTGATGGATAATCAACCTAGGGTGT
AGCATATACTACCCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAAGGGACAGCTCACAGCACAGTCTACATG
GAGCTGAGCAGACCTGAGATCTGAGGGCACGGCCGTGTATTACTGTGAGAGATTTCTATGGTTGGGGAAACTC
TACTACGGTATGGACGTCTGGGCCAAGGGACCAAGGTACAGGTACCCGCTCTCA
17C3_AA_VH1
MDWTWRVFCILAVAPGAHSQQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYFTSYYMHVRQAPGQGLEWMGIINPRGD
SIIYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARDFYGSQNYYGMDVWQGQTTVVS
17C3_NT_VK1
ATGGAAACCCAGGGCAGCTCTCTGGCTCTGCTACTCTGGCTCCAGATACCCGGAGAATTGTGAGC
CAGTCTCAGGGCACCCCTGCTTGTCTCCAGGGAAAGGCCACCCCTCTCTGCAAGGGCAGTCAGAGTGGTAGC
AGCAGCTACTTACCTGGTACCGAGAACCTGGCAGGGCTCCAGGCTCTGATCTCATCTGAGTCATCCAGCAG
GCCACTGGCATCCAGACAGGTCACTGGCAGTGGGCTGAGGACAGACTTCACCTCACCATCAGCACAGTGGAG
CCTGAAGATTGGTACAGTGTATTACTGTGAGCTATGGTAGCTCACCGATCACCTGGCCAAGGGACACGACTG
GAGATTA
17C3_AA_VK1
METPAQLLFLWLPLDPTTGEIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLPEDFAVYYCQYQGSSPLTFQGTRLEIK
30

【図 5 A】

FIG. 5A

抗TIM-3 9F6 VH1

Vセグメント: 3-11

Dセグメント: 6-19

Jセグメント: JH6b

Q V Q L V E S G G G L V K P G G S
 1 CAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GCC TTG GTC AAG CCT GGA GGG TCC

L R L S C A A S G F T F S -CDR1- D Y M
 52 CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCC TCT GGA TTC ACC TTC AGT GAC TAC TAC ATG

S W I R Q A P G K G L E W V S F I -CDR2-
 103 AGC TGG ATC CGC CAG GCT CCA GGG AAG GGG CTG GAG TGG GTT TCA TTC ATT

S G G G S T I Y Y A D S V K G R F
 154 AGT GGT GGT GGT AGT ACC ATA TAC TAC GCA GAC TCT GTG AAG GGC CGA TTC

T I S R D N A K N S L F L Q M N S
 205 ACC ATC TCC AGG GAC AAC GCC AAG AAC TCG CTG TTT CTG CAA ATG AAC AGC

L R V E D T A V Y Y C A R D G Y S -CDR3-
 256 CTG AGA GTC GAG GAC AGC GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAT GGC TAT AGC

S G W Y Y Y G M D V W G Q G T A V
 307 AGT GGC TGG TAC TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC GCG TAT AGC

T V S S
 358 ACC GTC TCC TCA

【図 5 B】

FIG. 5B

抗TIM-3 9F6 VK1

Vセグメント: L18

Jセグメント: JK1

A I Q L T Q S P S S L S A S V G D
 1 GCC ATC CAG TTG ACC CAG TCT CCA TCC TCC CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC

R V T I T C R A S Q G I S S A L A -CDR1-
 52 AGA GTC ACC ATC ACT TGC CGG GCA AGT CAG GGC ATT AGC AGT GCT TTA GGC

W Y Q Q K P G K A P K L L I Y D A -CDR2-
 103 TGG TAT CAG CAG AAA CCA GGG AAA GCT CCT AGG CTC CTG ATC TAT GAT GGC

S S L E S G V P S R F S G S G S G
 154 TCC AGT TTG GAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG

T D F T L T I S S L Q P E D F A T -CDR3-
 205 ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC AGC CCT GAA GAT TTT GCA ACT

Y Y C Q Q F N S Y P R T F G Q G T -CDR3-
 256 TAT TAC TGT CAA CAG TTT AAT AGT TAC CCT CGG AGC TTC GGC CAA GGG ACC

K V E I K
 307 AAC GTG GAA ATC AAA

10

【図 5 C】

FIG. 5C

抗TIM-3 9F6 VK3

Vセグメント: A27

Jセグメント: JK4

E I V L T Q S P G T L S L S P G E
 1 GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

R A T L S C -CDR1- R A S Q S V S S S Y L
 52 AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA

A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G -CDR2-
 103 GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

A S S R A T G I P D R F S G S G S -CDR3-
 154 GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

G T D F T L T I S R L E P E D F A -CDR2-
 205 GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

V Y Y C Q Q Y G S S L T F G G G T -CDR3-
 256 GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CTC ACT TTC GGC GGA GGG ACC

K V E I K
 307 AAC GTG GAG ATC AAA

【図 5 D】

FIG. 5D

抗TIM-3 9F6 VK3

Vセグメント: A27

Jセグメント: JK4

E I V L T Q S P G T L S L S P G E
 1 GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

R A T L S C -CDR1- R A S Q S V S S S Y L
 52 AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA

A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G -CDR2-
 103 GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

A S S R A T G I P D R F S G S G S -CDR3-
 154 GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

G T D F T L T I S R L E P E D F A -CDR2-
 205 GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

V Y Y C Q Q Y G S S P L T F G G G -CDR3-
 256 GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCG CTC ACT TTC GGC GGA GGG

T K V E I K
 307 ACC AAG GTG GAG ATC AAA

30

40

50

【図 5 E】

FIG. 5E

9F6_NT_VH1
 TGAGATTTGGCTGAGCTGGGGTTTCCCTGGTGTATTATAAAAGGTGTCAGGTGCAAGCTGGTAGGTCTGGGGAGGCTGGGGAGGCTGGGGCTCTGGAGACTCTCTGTGCAAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGACT
 ACTACATGAGCTGGATGCCAGGGCTCCAGGGAAAGGGGCTGGAGTTTCAATTAGTGGTGGTAGTA
 CCATATGAGCTGGAGACTCTGTGAAGGGCAATCACCATCTCCAGGGACAAGCAAGACTGCGTGTGGTAGA
 AATAGACAGCTGGAGACTGGGGCTGTATTACTGTGCAAGAGATGGCTATAGCAGTGCTGGTAGTACT
 ACTACCGTATGGACCTCTGGGGCAAGGGACCACGGTCAACGGTCTCCCA
 9F6_AA_VH1
 MEFGLSWVFLVIAIKGVQCQVLVESGGGLVKPGGLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPKGLEWVFSIISGGGS
 TYYADSVKGRFTISRDNAKNSLPLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSWYYGMDVWGGTATVVS
 9F6_NT_VK1
 ATGGACATGAGGTCCCCCTCAAGCTCTGGGGCTCTGGCTCTGGCTCCCAGGTGCAAGATGTGCCATCCAG
 TTGACCCAGTCCATCCTCCCTGTGCATCTGTAGGAGACAGACTCACCATCTGGCGGCAAGTCAGGGC
 ATTAGCAGTCTTACGGCTGGTATCACGAGAAAACAGGGCTTAAGCTCTGATCATATGATGGCTCAGT
 TTGAAAGTGGGGTCCATCAAGGTTCAAGGGCTGGGACAGATTCTACCTCACCATCAGCAGGG
 CAGGCTGAGAGATTGCAACTTAACTGTCAACAGTTAACTGTTACCTCTGGCACGTTGGCAAGGGACAA
 GTGAAAGATCAA
 9F6_AA_VK1
 MDMRVAQQLLGLLLWLPGARCAIQLTSPSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLIIYDASS
 LESQVSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQFSYPRTFQGQTKVEIK
 9F6_NT_VK2
 ATGAAAACCCCAGGGCACTCTCTCCCTCTGTACTCTGGCTCCAGATACACCCGGAAAATTGTGTTGACG
 CAGCTGGCAGGGCCTCTGGTCTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCCTCTGGCGGCAAGTGGTAG
 AGCAGCTACTTACGGCTGGTACCCAGAGAAACTGGCCAGGGCTCCAGGGCTCTCATCTATGGTCATCAGCAGG
 GCACACTGGCAGGGCTGGAGCTGGGAGCTGGGAGACAGTCTACTTACCATCAGCAGACTGGAG
 CCTGAAAGATTTTCAGTGTATTACTGTCAACGATATGGTAGCTACTCATCTGGGGAGGACAAAGGGTAG
 ATCAAA
 9F6_AA_VK2
 METPAQQLLFLLLWLPPDTTGEIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
 ATGIPDRFSGSQSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSPLTFQGQTKVEIK

【図 6 A】

【図 6 A】

FIG. 6A

抗TIM-3 3G4 VH1
 Vセグメント: 3-11
 Dセグメント: 6-13
 Jセグメント: JH6b

1 Q V Q L V E S G G G L V K P G G S
 CAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GGC TTG GTC AAG CCT GGA GGG TCC
 52 L R L S C A A S G F T S D Y Y M
 CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCC TCT GGA TTC ACC TTC AGT GAC TAC TAC ATG
 103 S W I R Q A P G K G L E W V S F I
 AGC TGG ATC CGC CAG GCT CCA GGG AAG GGG CTG GAG TGG GTT CAO TCC ATT
 154 S T S G S I I Y Y A D S V K G R F
 AGT ACT AGT GGT AGT ATC ATA TAC TAC GCA GAC TCT GTG AAG GGC CGA TTC
 205 T I S R D N A K N S L Y L Q M N S
 ACC ATC TCC AGG GAC AAC GCC AAG AAC TCA CTG TAT CTG CAA ATG AAC AGC
 256 L R A E D T A V Y Y C A R E G Y S
 CTG AGA GCC GAG GAC AGC GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAA GGG TAT AGC
 307 S S W S Y Y G M D V W G Q G T T
 AGC AGC TGG TCC TAC TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG
 358 V T V S S
 GTC ACC GTC TCC TCA

10

20

30

【図 6 B】

FIG. 6B

抗 TIM-3 3G4 VK1
 Vセグメント: A27
 Jセグメント: JK5
 1 E I V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L I Y G A S S R
 GAA ATT CTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA
 52 R A T L S C R A S Q S V S S Y L
 AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TTA
 103 A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G
 GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT
 154 A S S R A T G I P D R F S G G S
 GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT
 205 G T D F T L T I S R L E P D F A
 GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA
 256 V Y Y C Q Y G S S P I T F G Q G
 GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CGG ATC ACC TTC GGC CAA GGG
 307 T R L E I K
 ACA CGA CTG GAG ATT AAA

【図 6 C】

FIG. 6C

3G4_NT_VH1
 ATGGAGTTGGGCTGAGCTGGGTTTCCCTGGTCTATTATAAAAGGTGTCAGGTGCAAGCTGGTAGGAG
 TCTGGGGAGGCTTGGTCAAGCTGGAGGGCTCTGGAGACTCTCTGTGCAAGCTTGGATTCACTTCACTGAC
 ATCATATACACCGAGACTCTGAGAGGGCTGATTCCAGGACAGTCTACCATCTGGAGAACACTGAGTATCTG
 CAAATGAAACAGCTGGGAGGGCAGGGCAGGGCTGGTGTATTACTGTGCAAGGAGATAGCAGCAGCTGGTCC
 TACTACAGGTATGGAGCTGGGGCAAGGGACACGGTCAACGGTCTCTCTGCA
 3G4_AA_VH1
 MEFGLSWVFLVIAIKGVQCQVLVESGGGLVKPGGLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPKGLEWVFSIISGGGS
 TYYADSVKGRFTISRDNAKNSLPLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSWYYGMDVWGGTATVVS
 3G4_NT_VK1
 ATGAAAACCCCAGGGCACTCTCTGGTACTCTGGCTCCAGATACACCCGGAAAATTGTGTTGACG
 CAGCTGGCAGGGCCTCTGGTCTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCCTCTGGCGGCAAGTGGTAG
 AGCAGCTACTTACGGCTGGTACCCAGAGAAACTGGCCAGGGCTCCAGGGCTCTCATCTATGGTCATCAGCAGG
 GCACACTGGCAGGGCTGGAGCTGGGAGCTGGGAGACAGTCTACTTACCATCAGCAGACTGGAG
 CCTGAAAGATTTTCAGTGTATTACTGTCAACGATATGGTAGCTACTCATCTGGGGAGGACAAAGGGTAG
 GAGATTTAA
 3G4_AA_VK1
 METPAQQLLFLLLWLPPDTTGEIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
 ATGIPDRFSGSQSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSPLTFQGQTRLEIK

40

50

【図 7 A】

FIG. 7A

抗TIM-3 17C8 VH1

Vセグメント: 3-11

Dセグメント: 6-19

Jセグメント: JH6b

1	Q V Q L V E S G G G L V K P G G S
	CAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GGC TTG GTC AAC CCT GGA GGG TCC
52	L R L S C A A S G F T F S D Y Y M CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCC TCT GGA TTC ACC TTC AGT GAC TAC TAC ATG
103	<u>S</u> W I R Q A P G K G L E W V V S F I AGC TGG ATC CGC CAG GCT CCA GGG AA GGG CTG GAG TGG GTT TCA TTC ATT
154	<u>S</u> S G S I I Y Y A D S V K G R F F AGT AGT AGT GGT AGT ATC ATA TAC TAC GCA GAC TCT GTG AAG GGC CGA TTC
205	T I S R D N A K N S L Y L Q M N S ACC ATC TCC AGG GAC AAC GCC AAG AAC TCA CTG TAT CTG CAA ATG AAC AGC
256	L R A E D T A V Y Y C A R D G Y S CTG AGA GCC GAG GAC ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAT GGG TAT AGC
307	<u>S</u> G W E Y Y G M D V W G Q G T T V AGT GGC TGG GAG TAC TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG GTC
358	T V S S ACC GTC TCC TCA

【図 7 B】

FIG. 7B

抗TIM-3 17C8 VKI

Vセグメント: A27

J. Incl. Sph. Phys.

10

20

【图7C】

FIG. 7C

17C8_NT_VH1
ATGGAGTTGGCTGAGCTGGGTTTCCCTGTGCTATTATAAAAGGTGTCAGGTGCAAGTGCTGGGGAC
TCTGGGGGAGGGCTTGTCAAGGCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCTGTGCAAGCTCTGGATTACCACTTCAGTGAC
TACTACATAGGCTGGCGGAGGGCTCAGGGGTCAGGTGGAGTTCATCATTTAGTAGTGGTAGT
ATCATATACAGGCAAGCTCTGTGAAAGGGGGATTACCATCTCAGGGGAAAGCCTGAAGAACACTCAGTGTAC
TACTACGGTATGGCTGAGCTGGGGCAAGGGCTGTATTAGCTGGAGAGATGGGTATAGCAGTGCTGGGAG
TACTACGGTATGGCTGAGCTGGGGCAAGGGACCTGCAGGTCTCTCA

17C8_AA_VH1
MEFGLSWVFLVIAI1KGVQCQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKLEWVFSIASSGS
IIYYADSVKGRFTISDRNAKNSLYQMNLSLRAEDETAVVYCARDGYSSGEWYGMWDVGQTTVTVSS

17C8_NT_VK1
ATGGAAACCCCGGCGAGCTCTCTCTCTCTCTGTACTCTGGCTCCAGATAACCACGGAGAAATTGTGTTGAC
CAGTCTCCAGGCCACTCTGTCTTGTCGAGGGAAAGGACCCCTCTCTCGAGGGCACTGAGTGTGTTGAC
AGAACGCTTAATGGCTTGACCAAGAGAACCTGGCCAGGCTCCAGGCCTCATCTATGGTCATCCAGCAGG
GCCATGGCTCATGGCAGGATGGCTAGTGCGAGCTGGCAGACAGTACTCTACCATCTGGCAGACAGTGG
CTCTGAAGATTGGCAGTGTACTCTGGTACAGCATGGTACCTGGCTCCAGGCCACTTCTGGCAGGAGGACCAAGT
GAGATCAA
17C8_AA_VK1
METPAQQLFLFLNLWLPLDTTGEIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSELYWQQKPGQAPRLLIYGA
ATGIDPGRFSSGSGTDFLTLSRLEPEDFAVYCCQYGSPLTFGGTKVEIK

〔 8 〕

FIG. 8A

重鎖可変領域の配列アライメント

	FR1	CDR1	FR2	CDR2	
13A3	QLQLQKESGPGLWKPSETLSLCTVSGSISI	SRSYWWYQWITLQRPQPGKLEWIGI	SIYYSGFT-		59
8B9	QVQLQESGPGLWKPSETLSLCTVSGSISI	-RHWNWYIQLRPQPGKLEWIGI	IHYHSGST-		57
8C4	QVQLQESGPGLWKPSETLSLCTVSGSISI	-SYMMWYIQLRPQPGKLEWIGI	IHYHSGST-		57
17C3	QVQLQSVGAEVKPKASVGKVSCKASGTYF-	-DYYMSWYIQLRPQPGKLEWIGI	LNPRGDSI		58
9F6	QVQLVESGGGLWPGGSLRLRAAAGFTFS-	-DYYMSWYIQLRPQPGKLEWIS	FISGGSGTT		58
3G4	QVQLVESGGGLWPGGSLRLRAAAGFTFS-	-DYYMSWYIQLRPQPGKLEWIS	FISTSGSII		58
17C8	QVQLVESGGGLWPGGSLRLRAAAGFTFS-	-DYYMSWYIQLRPQPGKLEWIS	FTSSSGSTT		58
	*** : * : *** : * : *** : *	* : * : *** : * : *** : *			

30

FIG. 8B

VH 領域の配列表記

配列番号									
	VH	CDR1	CDR2	CDR3	VH 異異体				
13A3.	34	41	46	53	112 (N60Q)	113 (N60S)	114 (N60A)	115 (D101E)	116 (P102V)
					117 (P102Y)	118 (P102L)	119 (N60Q, P102Y)	364 (N60Q, D101E)	
8B9.	35	42	47	54	120 (S61P)				
8C4.	36	43	48	55					
17C3.	37	44	49	56					
9F6.	38	45	50	57	121 (A108T)				
3G4.	39	45	51	58					
17C8.	40	45	52	59					

40

50

【図9】

FIG. 9A

軽鎖可変領域の配列アライメント

	FR1	CDR1	FR2	CDR2
13A3	EIVLTQSPCTLSLSPGERATLSCASQSVSSSLYWWQKPCQAPRLIIVGASSRATGIP			
17C3	EIVLTQSPCTLSLSPGERATLSCASQSVSSSLYWWQKPCQAPRLIIVGASSRATGIP			
3G4	EIVLTQSPCTLSLSPGERATLSCASQSVSSSLYWWQKPCQAPRLIIVGASSRATGIP			
8B9	EIVLTQSPCTLSLSPGERATLSCASQSVSSSLYWWQKPCQAPRLIIVGASSRATGIP			
8C4	EIVLTQSPCTLSLSPGERATLSCASQSVSSSLYWWQKPCQAPRLIIVGASSRATGIP			
F6_VK3	EIVLTQSPCTLSLSPGERATLSCASQSVSSSLYWWQKPCQAPRLIIVGASSRATGIP			
17C8	EIVLTQSPCTLSLSPGERATLSCASQSVSSSLYWWQKPCQAPRLIIVGASSRATGIP			
F6_VK2	EIVLTQSPCTLSLSPGERATLSCASQSVSSSLYWWQKPCQAPRLIIVGASSRATGIP			
F6_VK1	EIVLTQSPCTLSLSPGERATLSCASQSVSSSLYWWQKPCQAPRLIIVGASSRATGIP			
	* * * * : * * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *			
	FR3	CDR3	FR4	
13A3	DRFGSGCSGCTDTFLT1SLRLEPFDFAVYYQQGSPL**FQGTQTRLEIK	108		
17C3	DRFGSGCSGCTDTFLT1SLRLEPFDFAVYYQQGSPL**FQGTQTRLEIK	108		
3G4	DRFGSGCSGCTDTFLT1SLRLEPFDFAVYYQQGSPL**FQGTQTRLEIK	108		
8B9	DRFGSGCSGCTDTFLT1SLRLEPFDFAVYYQQGSPL**FQGTQTRLEIK	108		
8C4	DRFGSGCSGCTDTFLT1SLRLEPFDFAVYYQQGSPL**FQGTQTRLEIK	108		
F6_VK3	DRFGSGCSGCTDTFLT1SLRLEPFDFAVYYQQGSPL**FQGTQTRLEIK	108		
17C8	DRFGSGCSGCTDTFLT1SLRLEPFDFAVYYQQGSPL**FQGTQTRLEIK	108		
F6_VK2	DRFGSGCSGCTDTFLT1SLRLEPFDFAVYYQQGSPL**FQGTQTRLEIK	107		
F6_VK1	DRFGSGCSGCTDTFLT1SLRLEPFDFAVYYQQGSPL**FQGTQTRLEIK	107		
	* * * * : * * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *			

FIG. 9B

軽鎖の配列表記

	配列番号			
	VL	CDR1	CDR2	CDR3
13A3	60	64	66	68
8B9	61	64	66	69
8C4	61	64	66	69
17C3	60	64	66	68
9F6 (VK1)	62	65	67	70
9F6 (VK2)	63	64	66	71
9F6 (VK3)	61	64	66	69
3G4	60	64	66	68
17C8	61	64	66	69

〔図10-2〕

FIG. 10 (続き)

```

TIM3..5      QINSTYRVSVSLTILHQDWLNGKEYKCVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVTLPSPS
TIM3..11     QINSTYRVSVSLTILHQDWLNGKEYKCVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVTLPSPS
TIM3..12     QINSTYRVSVSLTILHQDWLNGKEYKCVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVTLPSPS
TIM3..13     QINSTYRVSVSLTILHQDWLNGKEYKCVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVTLPSPS
TIM3..10     QINSTYRVSVSLTILHQDWLNGKEYKCVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVTLPSPS
TIM3..18     QINSTYRVSVSLTILHQDWLNGKEYKCVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVTLPSPS
TIM3..14     QINSTYRVSVSLTILHQDWLNGKEYKCVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVTLPSPS
TIM3..16     QINSTYRVSVSLTILHQDWLNGKEYKCVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVTLPSPS
TIM3..15     QINSTYRVSVSLTILHQDWLNGKEYKCVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVTLPSPS
TIM3..17     QINSTYRVSVSLTILHQDWLNGKEYKCVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVTLPSPS
* * * * *

```

```

TIM3.5 REEMTKNOVS1LTC1/KGKFYPSDIAWEESNGQ/PENNYKTPVPLDSDGSFFL/SKLTVDR
TIM3.11 REEMTKNOVS1LTC1/KGKFYPSDIAWEESNGQ/PENNYKTPVPLDSDGSFFL/SKLTVDR
TIM3.12 REEMTKNOVS1LTC1/KGKFYPSDIAWEESNGQ/PENNYKTPVPLDSDGSFFL/SKLTVDR
TIM3.13 REEMTKNOVS1LTC1/KGKFYPSDIAWEESNGQ/PENNYKTPVPLDSDGSFFL/SKLTVDR
TIM3.10 REEMTKNOVS1LTC1/KGKFYPSDIAWEESNGQ/PENNYKTPVPLDSDGSFFL/SKLTVDR
TIM3.18 REEMTKNOVS1LTC1/KGKFYPSDIAWEESNGQ/PENNYKTPVPLDSDGSFFL/SKLTVDR
TIM3.14 REEMTKNOVS1LTC1/KGKFYPSDIAWEESNGQ/PENNYKTPVPLDSDGSFFL/SKLTVDR
TIM3.16 REEMTKNOVS1LTC1/KGKFYPSDIAWEESNGQ/PENNYKTPVPLDSDGSFFL/SKLTVDR
TIM3.15 REEMTKNOVS1LTC1/KGKFYPSDIAWEESNGQ/PENNYKTPVPLDSDGSFFL/SKLTVDR
TIM3.17 REEMTKNOVS1LTC1/KGKFYPSDIAWEESNGQ/PENNYKTPVPLDSDGSFFL/SKLTVDR

*****
*****
```

```

TIM3..5      SRWQGNVFSFCSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG
TIM3..11     SRWQGNVFSFCSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG
TIM3..12     SRWQGNVFSFCSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG
TIM3..13     SRWQGNVFSFCSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG
TIM3..10     SRWQGNVFSFCSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG
TIM3..18     SRWQGNVFSFCSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG
TIM3..14     SRWQGNVFSFCSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG
TIM3..16     SRWQGNVFSFCSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG
TIM3..15     SRWQGNVFSFCSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG
TIM3..17     SRWQGNVFSFCSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG
*****
```

【図 10 - 1】

FIG. 10

13A3.IgG1.3f および変異体の重鎖の配列アライメント

TIM3, 5	YNSLSKSRV7TISVDTSKNQFSKLSSLSTAADTAVYCATGGPYGDYHW#FDWPGGQTJLT
TIM3, 11	YNSLSKSRV7TISVDTSKNQFSKLSSLSTAADTAVYCATGGPYGDYHW#FDWPGGQTJLT
TIM3, 12	YASLSKSRV7TISVDTSKNQFSKLSSLSTAADTAVYCATGGPYGDYHW#FDWPGGQTJLT
TIM3, 13	YNBLSKSRV7TISVDTSKNQFSKLSSLSTAADTAVYCATGGPYGDYHW#FEFWPGGQTJLT
TIM3, 10	YQBLSKSRV7TISVDTSKNQFSKLSSLSTAADTAVYCATGGPYGDYHW#FDWPGGQTJLT
TIM3, 18	YQBLSKSRV7TISVDTSKNQFSKLSSLSTAADTAVYCATGGPYGDYHW#FEFWPGGQTJLT
TIM3, 14	YNBLSKSRV7TISVDTSKNQFSKLSSLSTAADTAVYCATGGPYGDYHW#FDWPGGQTJLT
TIM3, 16	YNBLSKSRV7TISVDTSKNQFSKLSSLSTAADTAVYCATGGPYGDYHW#FDLWPGGQTJLT
TIM3, 15	YNPLSKSRV7TISVDTSKNQFSKLSSLSTAADTAVYCATGGPYGDYHW#FDWPGGQTJLT
TIM3, 17	YQFBSKSRV7TISVDTSKNQFSKLSSLSTAADTAVYCATGGPYGDYHW#FDWPGGQTJLT

【図11】

FIG. 11

第15章 从1.5G到4.5G：未来的无线通信——无线、网络、云和AI

9F6.IgG1.3f および変異体 (A108T) の重鎖の配列アライメント
9F6 QVQLVESGGGLVPPGSSLRLSCAASGFTFSYDYMWSIRQAPGKLEWVSFISGGGSTIYY

```

TIM3.7 VSSA5TKGPSVFPLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPALV
*****  

9F6 QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNWHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCCPAEA  

TIM3.7 QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNWHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCCPAEA

```

9F6
TIM3.7

EGAPSVFLPPKPKDLMISRPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREE
EGAPSVFLPPKPKDLMISRPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREE

9F6 QYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAGQPREPVYTLPPS
TIM3./' QYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAGQPREPVYTLPPS

REEMTKNQVSITCLVRGFPYPSDIVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLYSKLTVK

SRWQOGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SRWQOGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSI SPGK

【図 1 2】

FIG. 12

8B9.IgG1.3f および変異体 (S61P) の重鎖の配列アライメント

8B9 TIM3.8	QVQLQESPGPLVKPSETLSLCTVSGGSISRHYNWIRQPPGKLEWIGIYIHYSGSTDNY QVQLQESPGPLVKFSETLSLCTVSGGSISRHYNWIRQPPGKLEWIGIYIHYSGSTDNY
8B9 TIM3.8	SSLKSRSVTISVDTSKQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTGYYGMDIWGGQTIVSASTL FSLKSRSVTISVDTSKQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTGYYGMDIWGGQTIVSASTL
8B9 TIM3.8	KGPFVFPPLAPSSKTSGGTAALGLCKVLDKFYDPEPVTVSNWSGALTSGVHTFPAVIQSGLVL KGPFVFPPLAPSSKTSGGTAALGLCKVLDKFYDPEPVTVSNWSGALTSGVHTFPAVIQSGLVL
8B9 TIM3.8	SLSSSVTVPPSSSLGTQTYCNVNHRPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPCPAPAEAGAPS SLSSSVTVPPSSSLGTQTYCNVNHRPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPCPAPAEAGAPS
8B9 TIM3.8	FLFLPPPKPKDTIM1SRTPETCVUVNSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAAKTKPREEQNSTY FLFLPPPKPKDTIM1SRTPETCVUVNSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAAKTKPREEQNSTY
8B9 TIM3.8	RVSVSLTVLHQWLNGKEYKCKVSKNKLAPAPIEKT1SKAKGQPREPQVTLPLPSREEMTR RVSVSLTVLHQWLNGKEYKCKVSKNKLAPAPIEKT1SKAKGQPREPQVTLPLPSREEMTR
8B9 TIM3.8	NQVSLLTCLVKGVGFYPSDI1AVEWESNGQPENNYKTTPPVPLSDGSFFFLYSLKLTVDKSRWRQQC NQVSLLTCLVKGVGFYPSDI1AVEWESNGQPENNYKTTPPVPLSDGSFFFLYSLKLTVDKSRWRQQC
8B9 TIM3.8	NVFSCSVMHEALNHHTYQKSLSLSPGK NVFSCSVMHEALNHHTYQKSLSLSPGK

【図 1-3-1】

H.n.*	組織・性格名	重複						規範					
		VH	HC	CDR1	CDR2	CDR3	VL	VH	HC	CDR1	CDR2	CDR3	VL
13A3	-	301, 302	34	41	46	53	hgg4	29	Vh1	60	64	66	68
-	TIM3.5:lg6G1.1f	13A3:lg6G1.1f	13A3:lg6G1.3f	13A3:lg6G1.3f	15.22		lgG1,1f		hgg4				h カツバ
	13A3:lg6G4P	13A3:lg6G1.1f	13A3:lg6G1.1f	13A3:lg6G1.3f	303, 304	72, 82	lgG1,1f	122	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f
	TIM3.10:lg6G1.1f	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	92, 102		lgG1,3f		lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f
	13A3:Vh+Ag6Q	TIM3.10:lg6G4P	TIM3.11:lg6G1.1f	TIM3.11:lg6G1.1f	305, 306	73, 83	lgG1,1f	123	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f
	(13A3:Vh+Ag6Q)	(13A3:Vh+Ag6Q)	(13A3:Vh+Ag6Q)	(13A3:Vh+Ag6Q)	93, 103		lgG1,3f		lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f
	TIM3.11:lg6G1.3f	TIM3.11:lg6G1.3f	TIM3.11:lg6G1.3f	TIM3.11:lg6G1.3f	307, 308	74, 84	lgG1,1f	124	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f
	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	94, 104		lgG1,3f		lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f
	TIM3.12:lg6G4P	TIM3.12:lg6G4P	TIM3.12:lg6G4P	TIM3.12:lg6G4P	309, 310		lgG1,4P		lgG1,4P	lgG1,4P	lgG1,4P	lgG1,4P	lgG1,4P
	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	75, 85	115	46	126	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f
	(13A3:Vh+Ag6Q)	(13A3:Vh+Ag6Q)	(13A3:Vh+Ag6Q)	(13A3:Vh+Ag6Q)	95, 105		lgG1,3f		lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f
	TIM3.13:lg6G4P	TIM3.13:lg6G4P	TIM3.13:lg6G4P	TIM3.13:lg6G4P	311, 312		lgG4P		lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f
	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	76, 86	116	lgG1,1f	127	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f
	TIM3.14:lg6G1.3f	TIM3.14:lg6G1.3f	TIM3.14:lg6G1.3f	TIM3.14:lg6G1.3f	96, 106		lgG1,3f		lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f
	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	313, 314		lgG4P		lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f
	TIM3.15:lg6G1.1f	TIM3.15:lg6G1.1f	TIM3.15:lg6G1.1f	TIM3.15:lg6G1.1f	77, 87	117		128	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f
	(13A3:Vh+Ag6Q)	(13A3:Vh+Ag6Q)	(13A3:Vh+Ag6Q)	(13A3:Vh+Ag6Q)	97, 107		lgG1,3f		lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f	lgG1,3f
	TIM3.15:lg6G4P	TIM3.15:lg6G4P	TIM3.15:lg6G4P	TIM3.15:lg6G4P	315, 316		lgG4P		lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f
	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	13A3:Vh+Ag6Q	78, 88	118		129	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f	lgG1,1f

〔図 13-2〕

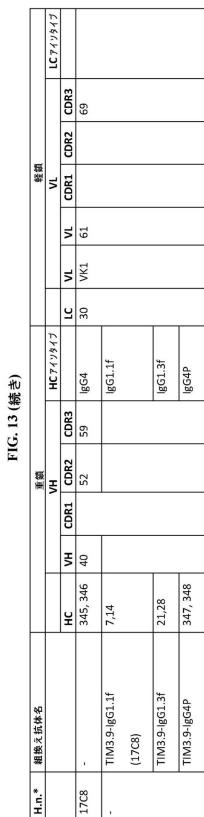
FIG. 13 (続)

H.n.*	細胞-抗原体名	重鎖						輕鎖					
		HC	VH	CDR1	CDR2	CDR3	LC	VL	CDR1	CDR2	CDR3	VL	LC
TIM3.16-[lgG4P]		317, 318											
TIM3.17-[lgG1, If]		79, 89	119		122	128	[gG1, If]						
(13A3-VH+NSQ, D101E)							[gG1, If]						
TIM3.17-[lgG1, If]		99, 109											
TIM3.17-[lgG4P]		319, 320											
TIM3.18-[lgG1, If]		349, 350	364										
(13A3-VH+NSQ, D101E)													
TIM3.18-[lgG1, If]		361, 352											
(13A3-VH+NSQ, D101E)													
TIM3.18-[lgG4P]		353, 354											
(13A3-VH+NSQ, D101E)													
889	-	321, 322	35	42	47	54	[gG1, 2a]	30	VK1	61			
889-[lgG1, If]		2.9					[gG1, If]						
889-[lgG4P]		16, 23					[gG1, If]						
TIM3.8-[lgG1, If]		323, 324					[gG4P]						
(889 VH+SG1P)		89, 90	120				[gG1, If]						
TIM3.8-[lgG3, If]		100, 110					[gG1, If]						
TIM3.8-[lgG4P]		325, 326					[gG4P]						
8C4	-	327, 328	36	43	48	55	[gG1, 2a]						
		3, 10					[gG1, If]						
							[gG1, If]						
TIM3.6-[lgG1, If]		17, 24											
(8C4)													
TIM3.6-[lgG4P]		329, 330					[gG4P]						
17C3	-	331, 332	37	44	49	56	[gG1, 2a]	29	VK1	60			

【図 13-3】

Fig. 13 (続)

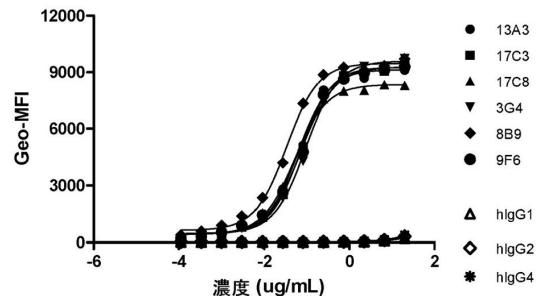
【図 13 - 4】



【図 14 A】

FIG. 14A

TIM-3抗体のCHO-huTIM3トランスフェクタントとの結合



10

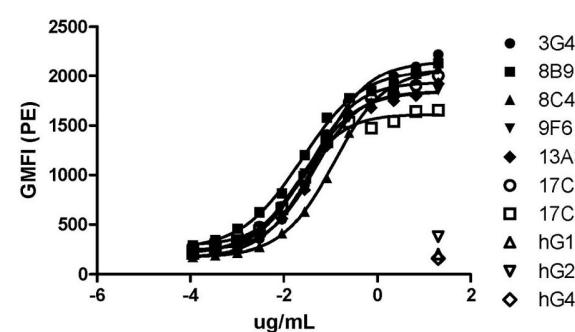
EC50	
13A3	0.06358
17C3	0.07208
17C8	0.05160
3G4	0.09602
8B9	0.03371
9F6	0.07401
hIgG1	39740
hIgG2	42256
hIgG4	29319

20

【図 14 B】

FIG. 14B

抗TIM-3の活性化ヒトT細胞への結合

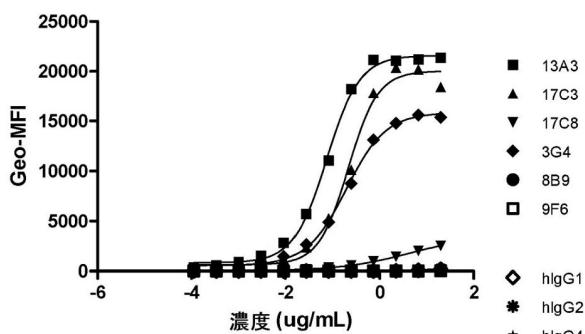


	EC50
3G4	0.05043
8B9	0.02392
8C4	0.1149
9F6	0.02660
13A3	0.04274
17C3	0.03621
17C8	0.02083

【図 15 A】

FIG. 15A

CHO-cynoTIM3トランスフェクタント



30

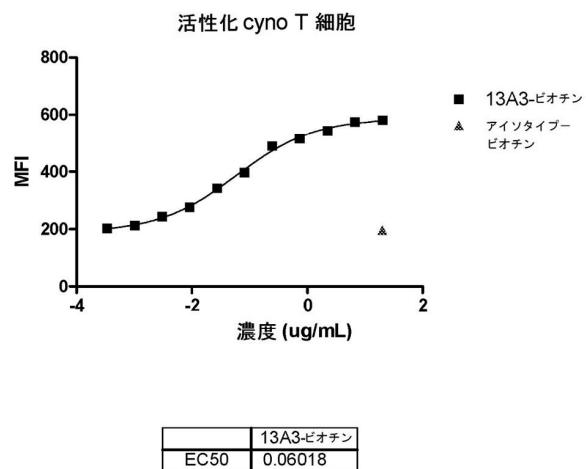
EC50	
13A3	0.07486
17C3	0.2159
17C8	4.709
3G4	0.1952
8B9	~ 2.532
9F6	~ 7.465
hIgG1	75731
hIgG2	44504
hIgG4	54134

40

50

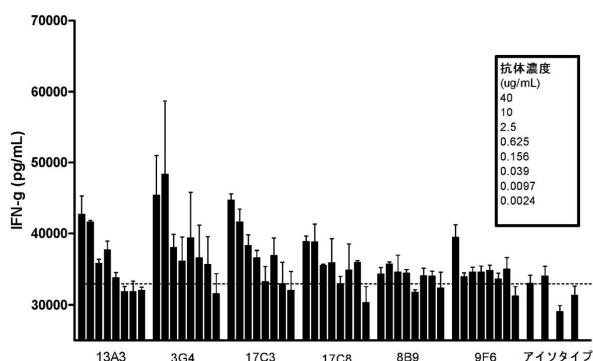
【図 15B】

FIG. 15B



【図 16】

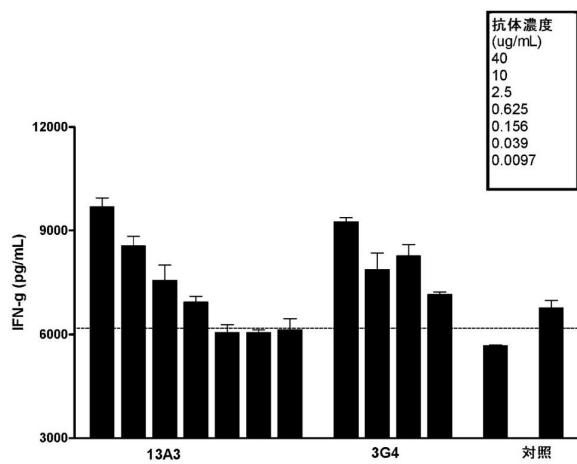
FIG. 16



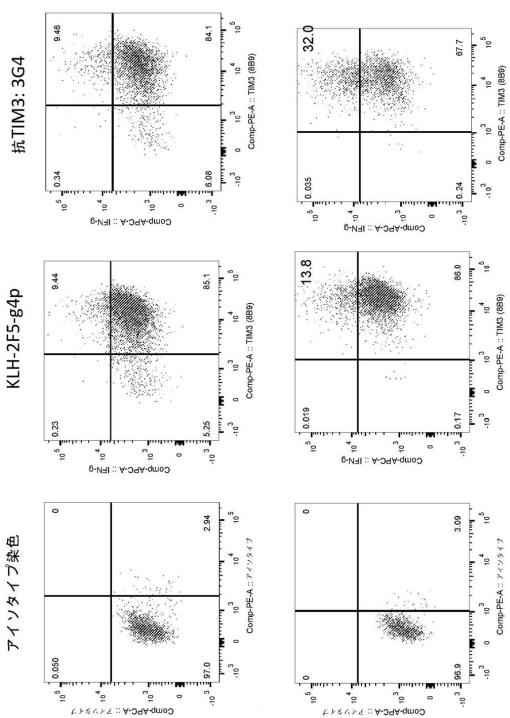
10

【図 17A】

FIG. 17A



【図 17B】

FIG. 17B
抗体処置

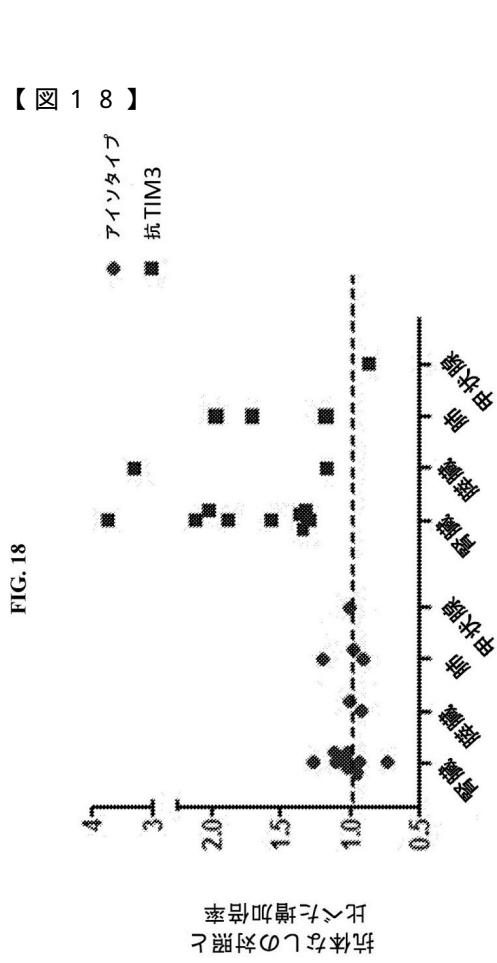
20

30

40

50

【図18】



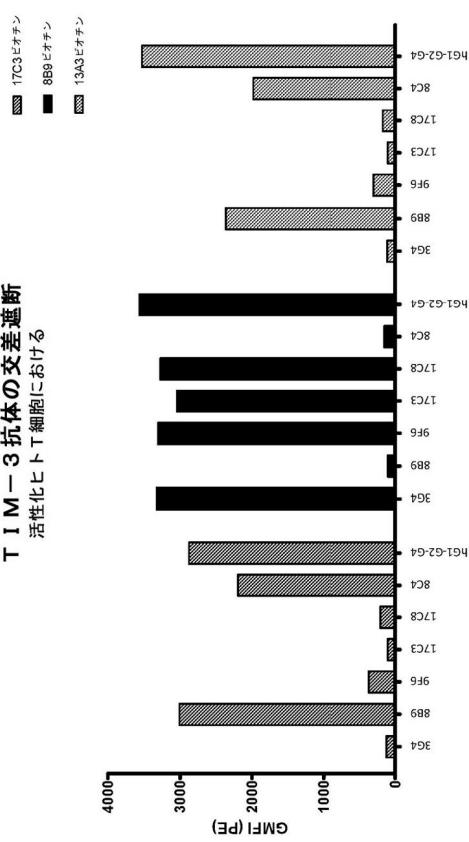
【図20】

FIG. 20

TIM3タンパク質におけるエピトープ残基

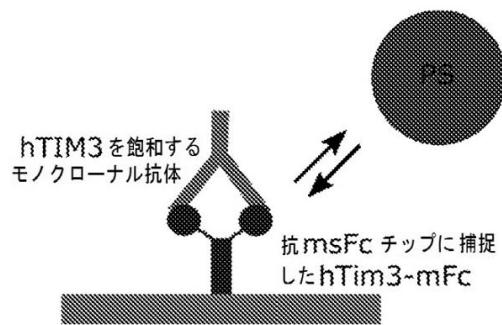
TIME3	<u>MFSHLLPFDVC</u>	<u>LLL.LLLTR</u>	<u>SSEVEYRAEV</u>	GQAYALPCFY	TPAAFGNLYV	VCGKGACFV
13A3						
3G4						
17C3						
8B9						
TIM3	70	80	90	100	110	120
13A3	FECGNVVLRT	DERDYNWTS	RYWLNGDFRK	GDVSLTIENV	TLADSGIYC	RIOQPGIMND
3G4	FEC				<u>D</u>	D
17C3	FEC				<u>D</u>	G M
8B9					<u>D</u>	G
TIM3	130	140	150	160	170	180
13A3	EKFNLKLVK	PAKVTPAPTR	QRDTAAFPR	MLTRGHGP	ETQTLGSLPD	INLTQISTLA
3G4						
17C3						
8B9						
TIM3	190	200	210	220	230	240
13A3	NELRDRRLAN	DLRDGGATIR	IGIYIGAGIC	AGLALALIFG	ALIFKRWYSIS	KERIONLISLI
3G4						
17C3						
8B9						
TIM3	250	260	270	280	290	300
13A3	STANI,PPSGI	ANAVAEAGRS	FENITYTEEN	VYEEFPNEY	YCYVSSROOP	SOP,GCGRFAMP
3G4						
17C3						
8B9						

【図19】

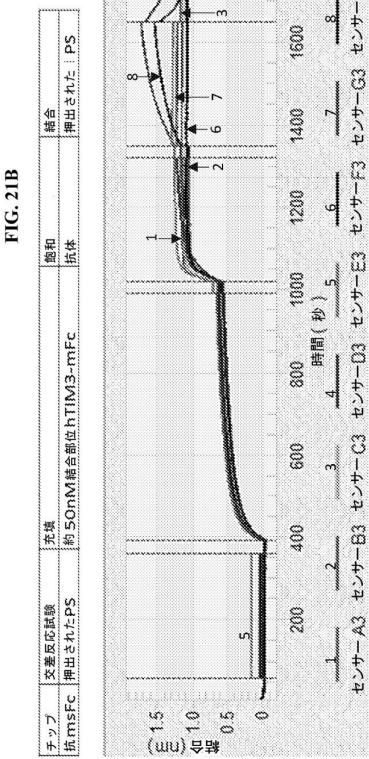


【図21A】

FIG. 21A

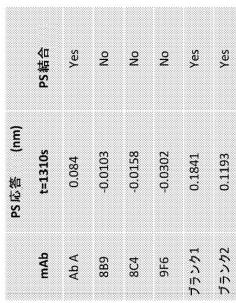
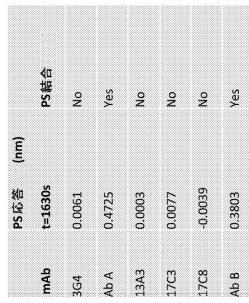


【図 22-1】



Octet HTX, 25°C, 1mg/ml BSAを含むPBS pH 7.4、hT1M3-mFc捕獲、結合した抗T1M3抗体のPS
キル、1/2希釈で試験した挿出PSの結合

【図 22-2】



【図 23】

FIG. 22

抗T1M3抗体の機能的活性の概要

クローン	結合アッセイ (EC50 nM)				T細胞アッセイ	TILアッセイ	PS-T1M3遮断
	ヒトT細胞 (nM)	Cyto T細胞 (nM)	CHO-huT1M (nM)	CHO-cytoT1M3 (nM)			
13A3 (IgG4)	0.27	0.4	0.4	0.47	N/A	用量依存	Yes
3G4 (IgG2)	0.3	非 C	0.67	1.3	用量依存	用量依存	Yes
17C3 (IgG1)	0.24	非 C	0.47	1.4	用量依存	用量依存	Yes
17C8 (IgG1)	0.13	非 C	0.33	非 C	用量依存	用量依存	Yes
9F6 (IgG1)	0.13	非 C	0.47	非 C	弱	活性なし	Yes
8B9 (IgG4)	0.13	非 C	0.2	非 C	弱	活性なし	Yes
8C4 (IgG1)	0.73	非 C	N/A	非 C	弱	活性なし	Yes

【図 24-1】

FIG. 23

配列番号により表される配列の説明

配列番号	抗体	説明	AA/NT
1	13A3	IgG1.1f HC	アミノ酸
2	8B9	IgG1.1f HC	アミノ酸
3	8C4	IgG1.1f HC	アミノ酸
4	17C3	IgG1.1f HC	アミノ酸
5	9F6	IgG1.1f HC	アミノ酸
6	3G4	IgG1.1f HC	アミノ酸
7	17C8	IgG1.1f HC	アミノ酸
8	13A3	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
9	8B9	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
10	8C4	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
11	17C3	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
12	9F6	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
13	3G4	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
14	17C8	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
15	13A3	IgG1.3f HC	アミノ酸
16	8B9	IgG1.3f HC	アミノ酸
17	8C4	IgG1.3f HC	アミノ酸
18	17C3	IgG1.3f HC	アミノ酸
19	9F6	IgG1.3f HC	アミノ酸
20	3G4	IgG1.3f HC	アミノ酸
21	17C8	IgG1.3f HC	アミノ酸
22	13A3	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
23	8B9	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
24	8C4	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
25	17C3	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
26	9F6	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
27	3G4	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
28	17C8	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
29	13A3, 17C3, 3G4	LC	アミノ酸
30	8B9, 8C4, 17C8	LC	アミノ酸
31	9F6 (VK3)	LC	アミノ酸
32	9F6 (VK1)	LC	アミノ酸
33	9F6 (VK2)	LC	アミノ酸
34	13A3	VH	アミノ酸
35	8B9	VH	アミノ酸

10

20

30

40

50

【図24-2】

【図24-3】

FIG. 23 (続き)

配列番号	抗体	説明	AA/NT
36	8C4	VH	アミノ酸
37	17C3	VH	アミノ酸
38	9F6	VH	アミノ酸
39	3G4	VH	アミノ酸
40	17C8	VH	アミノ酸
	13A3, 次の13A3 変異体を含む: N60Q; N60S; N60A; D101E; P102V; P102Y; P102L; N60Qおよび P102Y; N60Qおよび P102Y; N60Qおよび		
41	D101E	CDR1 (VH)	アミノ酸
42	8B9, 8B9(S61P) 変異体を含む	CDR1 (VH)	アミノ酸
43	8C4	CDR1 (VH)	アミノ酸
44	17C3	CDR1 (VH)	アミノ酸
	9F6, 9F6 (A108T) 変異体を含む; 3G4; 17C8	CDR1 (VH)	アミノ酸
	13A3, 次の13A3 変異体を含む: D101E; P102V; P102Y, および P102L		
46	P102L	CDR2 (VH)	アミノ酸
47	8B9	CDR2 (VH)	アミノ酸
48	8C4	CDR2 (VH)	アミノ酸
49	17C3	CDR2 (VH)	アミノ酸
50	9F6, 9F6 (A108T) 変異体を含む	CDR2 (VH)	アミノ酸
51	3G4	CDR2 (VH)	アミノ酸
52	17C8	CDR2 (VH)	アミノ酸
	13A3, 次の13A3 変異体を含む: N60Q; N60S, N60A		
53		CDR3 (VH)	アミノ酸
	8B9, 8B9(S61P) 変異体を含む	CDR3 (VH)	アミノ酸
54	8C4	CDR3 (VH)	アミノ酸
55	17C3	CDR3 (VH)	アミノ酸
56	9F6, 9F6 (A108T) 変異体を含む	CDR3 (VH)	アミノ酸
57		CDR3 (VH)	アミノ酸
58	3G4	CDR3 (VH)	アミノ酸

FIG. 23 (続き)

配列番号	抗体	説明	AA/NT
59	17C8	CDR3 (VH)	アミノ酸
60	13A3, 17C3, 3G4	VL	アミノ酸
61	889, 8C4, 17C8, 9F6 (VK3)	VL	アミノ酸
62	9F6 (VK1)	VL	アミノ酸
63	9F6 (VK2)	VL	アミノ酸
64	13A3, 889, 8C4, 17C3, 9F6 (VK2, VK3), 3G4, 17C8	CDR1 (VL)	アミノ酸
65	9F6 (VK1)	CDR1 (VL)	アミノ酸
66	13A3, 889, 8C4, 17C3, 9F6 (VK2, VK3), 3G4, 17C8	CDR2 (VL)	アミノ酸
67	9F6 (VK1)	CDR2 (VL)	アミノ酸
68	13A3, 17C3, 3G4	CDR3 (VL)	アミノ酸
69	889, 8C4, 9F6 (VK3), 17C8	CDR3 (VL)	アミノ酸
70	9F6 (VK1)	CDR3 (VL)	アミノ酸
71	9F6 (VK2)	CDR3 (VL)	アミノ酸
72	13A3 (N60Q)	IgG1.1f HC	アミノ酸
73	13A3 (N60S)	IgG1.1f HC	アミノ酸
74	13A3 (N60A)	IgG1.1f HC	アミノ酸
75	13A3 (D101E)	IgG1.1f HC	アミノ酸
76	13A3 (P102V)	IgG1.1f HC	アミノ酸
77	13A3 (P102Y)	IgG1.1f HC	アミノ酸
78	13A3 (P102L)	IgG1.1f HC	アミノ酸
79	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.1f HC	アミノ酸
349	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.1f HC	アミノ酸
80	889 (S61P)	IgG1.1f HC	アミノ酸
81	9F6 (A108T)	IgG1.1f HC	アミノ酸
82	13A3 (N60Q)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
83	13A3 (N60S)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
84	13A3 (N60A)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
85	13A3 (D101E)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
86	13A3 (P102V)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
87	13A3 (P102Y)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
88	13A3 (P102L)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
89	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
350	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸

【図2.4-4】

【図24-5】

FIG. 23 (続き)

配列番号	抗体	説明	AA/NT
90	8B9 (S61P)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
91	9F6 (A108T)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
92	13A3 (N6QQ)	IgG1.3f HC	アミノ酸
93	13A3 (N6OS)	IgG1.3f HC	アミノ酸
94	13A3 (N60A)	IgG1.3f HC	アミノ酸
95	13A3 (D101E)	IgG1.3f HC	アミノ酸
96	13A3 (P102V)	IgG1.3f HC	アミノ酸
97	13A3 (P102Y)	IgG1.3f HC	アミノ酸
98	13A3 (P102L)	IgG1.3f HC	アミノ酸
99	13A3 (N6QQ, P102Y)	IgG1.3f HC	アミノ酸
351	13A3 (N6QQ, D101E)	IgG1.3f HC	アミノ酸
100	8B9 (S61P)	IgG1.3f HC	アミノ酸
101	9F6 (A108T)	IgG1.3f HC	アミノ酸
102	13A3 (N6QQ)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
103	13A3 (N6OS)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
104	13A3 (N60A)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
105	13A3 (D101E)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
106	13A3 (P102V)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
107	13A3 (P102Y)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
108	13A3 (P102L)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
109	13A3 (N6QQ, P102Y)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
352	13A3 (N6QQ, D101E)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
110	8B9 (S61P)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
111	9F6 (A108T)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	アミノ酸
112	13A3 (N6QQ)	VH	アミノ酸
113	13A3 (N6OS)	VH	アミノ酸
114	13A3 (N60A)	VH	アミノ酸
115	13A3 (D101E)	VH	アミノ酸
116	13A3 (P102V)	VH	アミノ酸
117	13A3 (P102Y)	VH	アミノ酸
118	13A3 (P102L)	VH	アミノ酸
119	13A3 (N6QQ, P102Y)	VH	アミノ酸
364	13A3 (N6QQ, D101E)	VH	アミノ酸
120	8B9 (S61P)	VH	アミノ酸
121	9F6 (A108T)	VH	アミノ酸

FIG. 23 (続き)

配列番号	抗体	説明	AA/NT
122	13A3 (N6Q0); 13A3 (N6Q0, P102Y); 13A3 (N6Q0, D101E)	CDR2 (VH)	アミノ酸
123	13A3 (N6Q5)	CDR2 (VH)	アミノ酸
124	13A3 (N6Q0)	CDR2 (VH)	アミノ酸
125	8B9 (S61P)	CDR2 (VH)	アミノ酸
126	13A3 (D101E); 13A3 (N6Q0, D101E)	CDR3 (VH)	アミノ酸
127	13A3 (P102V)	CDR3 (VH)	アミノ酸
128	13A3 (P102Y); 13A3 (N6Q0, P102Y)	CDR3 (VH)	アミノ酸
129	13A3 (P102L)	CDR3 (VH)	アミノ酸
130	全ての抗体	HC 定常ドメイン ([lgG1.1f])	アミノ酸
131	全ての抗体	HC 定常ドメイン ([lgG1.1f] (C末端Kなし))	アミノ酸
132	全ての抗体	HC 定常ドメイン ([lgG1.3f])	アミノ酸
133	全ての抗体	HC 定常ドメイン ([lgG1.3f] (C末端Kなし))	アミノ酸
134	13A3	IgG1.1f HC	又クレオチド
135	8B9	IgG1.1f HC	又クレオチド
136	8C4	IgG1.1f HC	又クレオチド
137	17C3	IgG1.1f HC	又クレオチド
138	9F6	IgG1.1f HC	又クレオチド
139	3G4	IgG1.1f HC	又クレオチド
140	17C8	IgG1.1f HC	又クレオチド
141	13A3	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	又クレオチド
142	8B9	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	又クレオチド
143	8C4	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	又クレオチド
144	17C3	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	又クレオチド
145	9F6	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	又クレオチド
146	3G4	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	又クレオチド
147	17C8	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	又クレオチド
148	13A3	IgG1.3f HC	又クレオチド
149	8B9	IgG1.3f HC	又クレオチド
150	8C4	IgG1.3f HC	又クレオチド
151	17C3	IgG1.3f HC	又クレオチド
152	9F6	IgG1.3f HC	又クレオチド
153	3G4	IgG1.3f HC	又クレオチド
154	17C8	IgG1.3f HC	又クレオチド
155	13A3	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	又クレオチド
156	8B9	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	又クレオチド

【図 24-6】

FIG. 23 (続き)

配列番号	抗体	説明	AA/NT
157	8C4	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
158	17C3	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
159	9F6	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
160	3G4	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
161	17C8	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
162	13A3, 17C3, 3G4	LC	スクレオチド
163	8B9, 8C4, 17C8	LC	スクレオチド
164	9F6 (VK3)	LC	スクレオチド
165	9F6 (VK1)	LC	スクレオチド
166	9F6 (VK2)	LC	スクレオチド
167	13A3	VH	スクレオチド
168	8B9	VH	スクレオチド
169	8C4	VH	スクレオチド
170	17C3	VH	スクレオチド
171	9F6	VH	スクレオチド
172	3G4	VH	スクレオチド
173	17C8	VH	スクレオチド
174	13A3, 次の13A3 変異体を含む: N60Q; N60S; N60A; D101E; P102V; P102Y; P102L; N60Q および P102Y; 13A3 (N60Q, D101E)	CDR1 (VH)	スクレオチド
175	8B9, 8B9 (S61P) 変異体を含む	CDR1 (VH)	スクレオチド
176	8C4	CDR1 (VH)	スクレオチド
177	17C3	CDR1 (VH)	スクレオチド
178	9F6, 9F6 (A108T) 変異体; 3G4, 17C8 を含む	CDR1 (VH)	スクレオチド
179	13A3, 次の13A3 変異体を含む: D101E; P102V, P102Y および P102L	CDR2 (VH)	スクレオチド
180	8B9	CDR2 (VH)	スクレオチド
181	8C4	CDR2 (VH)	スクレオチド
182	17C3	CDR2 (VH)	スクレオチド
183	9F6, 9F6 (A108T) 変異体を含む	CDR2 (VH)	スクレオチド

【図 24-7】

FIG. 23 (続き)

配列番号	抗体	説明	AA/NT
184	3G4	CDR2 (VH)	スクレオチド
185	17C8	CDR2 (VH)	スクレオチド
186	13A3, 次の13A3 変異体を含む: N60Q, N60S, N60A	CDR3 (VH)	スクレオチド
187	8B9, 8B9 (S61P) 変異体を含む	CDR3 (VH)	スクレオチド
188	8C4	CDR3 (VH)	スクレオチド
189	17C3	CDR3 (VH)	スクレオチド
190	9F6, 9F6 (A108T) 変異体を含む	CDR3 (VH)	スクレオチド
191	3G4	CDR3 (VH)	スクレオチド
192	17C8	CDR3 (VH)	スクレオチド
193	13A3, 17C3, 3G4	VL	スクレオチド
194	8B9, 8C4, 17C8, 9F6 (VK3)	VL	スクレオチド
195	9F6 (VK1)	VL	スクレオチド
196	9F6 (VK2)	VL	スクレオチド
197	13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6 (VK2, VK3), 3G4, 17C8	CDR1 (VL)	スクレオチド
198	9F6 (VK1)	CDR1 (VL)	スクレオチド
199	13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6 (VK2, VK3), 3G4, 17C8	CDR2 (VL)	スクレオチド
200	9F6 (VK1)	CDR2 (VL)	スクレオチド
201	13A3, 17C3, 3G4	CDR3 (VL)	スクレオチド
202	8B9, 8C4, 9F6 (VK3), 17C8	CDR3 (VL)	スクレオチド
203	9F6 (VK1)	CDR3 (VL)	スクレオチド
204	9F6 (VK2)	CDR3 (VL)	スクレオチド
205	13A3 (N60Q)	IgG1.1f HC	スクレオチド
206	13A3 (N60S)	IgG1.1f HC	スクレオチド
207	13A3 (N60A)	IgG1.1f HC	スクレオチド
208	13A3 (D101E)	IgG1.1f HC	スクレオチド
209	13A3 (P102V)	IgG1.1f HC	スクレオチド
210	13A3 (P102Y)	IgG1.1f HC	スクレオチド
211	13A3 (P102L)	IgG1.1f HC	スクレオチド
212	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.1f HC	スクレオチド
355	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.1f HC	スクレオチド

【図 24-8】

FIG. 23 (続き)

配列番号	抗体	説明	AA/NT
213	8B9 (S61P)	IgG1.1f HC	スクレオチド
214	9F6 (A108T)	IgG1.1f HC	スクレオチド
215	13A3 (N60Q)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
216	13A3 (N60S)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
217	13A3 (N60A)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
218	13A3 (D101E)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
219	13A3 (P102V)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
220	13A3 (P102Y)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
221	13A3 (P102L)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
222	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
356	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
223	8B9 (S61P)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
224	9F6 (A108T)	IgG1.1f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
225	13A3 (N60Q)	IgG1.3f HC	スクレオチド
226	13A3 (N60S)	IgG1.3f HC	スクレオチド
227	13A3 (N60A)	IgG1.3f HC	スクレオチド
228	13A3 (D101E)	IgG1.3f HC	スクレオチド
229	13A3 (P102V)	IgG1.3f HC	スクレオチド
230	13A3 (P102Y)	IgG1.3f HC	スクレオチド
231	13A3 (P102L)	IgG1.3f HC	スクレオチド
232	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.3f HC	スクレオチド
357	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC	スクレオチド
233	8B9 (S61P)	IgG1.3f HC	スクレオチド
234	9F6 (A108T)	IgG1.3f HC	スクレオチド
235	13A3 (N60Q)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
236	13A3 (N60S)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
237	13A3 (N60A)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
238	13A3 (D101E)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
239	13A3 (P102V)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
240	13A3 (P102Y)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
241	13A3 (P102L)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
242	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
358	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
374	13A3 (N60Q, D101E) (TIM3.18) (T168C)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
243	8B9 (S61P)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド
244	9F6 (A108T)	IgG1.3f HC (C末端Kなし)	スクレオチド

【図 24-9】

FIG. 23 (続き)

配列番号	抗体	説明	AA/NT
245	13A3 (N60Q)	VH	スクレオチド
246	13A3 (N60S)	VH	スクレオチド
247	13A3 (N60A)	VH	スクレオチド
248	13A3 (D101E)	VH	スクレオチド
249	13A3 (P102V)	VH	スクレオチド
250	13A3 (P102Y)	VH	スクレオチド
251	13A3 (P102L)	VH	スクレオチド
252	13A3 (N60Q, P102Y)	VH	スクレオチド
359	13A3 (N60Q, D101E)	VH	スクレオチド
253	8B9 (S61P)	VH	スクレオチド
254	9F6 (A108T)	VH	スクレオチド
255	13A3 (N60Q); 13A3 (N60Q, P102Y); 13A3 (N60Q, D101E)	CDR2 (VH)	スクレオチド
256	13A3 (N60S)	CDR2 (VH)	スクレオチド
257	13A3 (N60A)	CDR2 (VH)	スクレオチド
258	8B9 (S61P)	CDR2 (VH)	スクレオチド
259	13A3 (D101E)	CDR3 (VH)	スクレオチド
260	13A3 (P102V)	CDR3 (VH)	スクレオチド
261	13A3 (P102Y); 13A3 (N60Q, P102Y); 13A3 (N60Q, D101E)	CDR3 (VH)	スクレオチド
262	13A3 (P102L)	CDR3 (VH)	スクレオチド
263	全ての抗体	HC定常ドメイン(IgG1.1f)	スクレオチド
264	全ての抗体	HC定常ドメイン(IgG1.1f) (C末端Kなし)	スクレオチド
265	全ての抗体	HC定常ドメイン(IgG1.3f)	スクレオチド
266	全ての抗体	HC定常ドメイン(IgG1.3f) (C末端Kなし)	スクレオチド
267		シグナルペプチド	アミノ酸
268		シグナルペプチド	アミノ酸
269		シグナルペプチド	アミノ酸
270		シグナルペプチド	アミノ酸
271		シグナルペプチド	アミノ酸
361		シグナルペプチド (TIM3.2-TIM3.18)	アミノ酸
272		シグナルペプチド	スクレオチド
273		シグナルペプチド	スクレオチド
274		シグナルペプチド	スクレオチド
275		シグナルペプチド	スクレオチド
276		シグナルペプチド	スクレオチド

10

20

40

50

【図 24-10】

FIG. 23 (続き)

配列番号	抗体	説明	AA/NT
362		シグナルペプチド (TIM3.2-TIM3.18 HC)	ヌクレオチド
363		シグナルペプチド (TIM3.2-TIM3.18 LC)	ヌクレオチド
277	ヒト IgG1 (アロタイプ変異体)	アミノ酸	
278	ヒト IgG1 カッパ軽鎖	アミノ酸	
279	LSPGK (重鎖のC末端)	アミノ酸	
280	LSPG (重鎖のC末端)	アミノ酸	
281	LSP (重鎖のC末端)	アミノ酸	
282	X1X2X3X4X5X6 (VH CDR1 総合)	アミノ酸	
283	X1X2X3X4X5X6X7X8YX9X10YX11X12X13X14 (VH CDR2 総合)	アミノ酸	
284	X1X2X3X4X5X6YGX7BX9X10YGX11X12X13X14X15X16 (VH CDR3 総合)	アミノ酸	
285	QQX1X2X3X4X5X7 (VL CDR1 総合)	アミノ酸	
286	TIM3アイソフォーム1 (aa)	アミノ酸	
287	TIM3アイソフォーム2 (aa)	アミノ酸	
288	TIM3P1アイソフォーム1 (nt)	ヌクレオチド	
289	TIM3アイソフォーム2 (nt)	ヌクレオチド	
290	TIM3の細胞外ドメイン	アミノ酸	
291	WT ヒト IgG1 定常ドメイン (IgG1zaと同一)	アミノ酸	
292	ヒト IgG4 定常ドメイン	アミノ酸	
293	9F6 VK2 IgG1軽鎖	アミノ酸	
294	IgG1.1 定常ドメイン (抗TIM3 抗体において使用)	アミノ酸	
295	IgG1.3 定常ドメイン (抗TIM3 抗体において使用)	アミノ酸	
296	成熟 TIM3 ECD の残基 37~43	アミノ酸	
297	成熟 TIM3 ECD の残基 57~83	アミノ酸	
298	成熟 TIM3 ECD の残基 90~99	アミノ酸	
299	成熟 TIM3 ECD の残基 1~99	アミノ酸	
300	リンクマー	アミノ酸	
360	カニゲイザル TIM3タンパク質	アミノ酸	
301	13A3	hIgG4 HC	アミノ酸
302	13A3	IgG4 HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
303	TIM3.5-13A3	IgG4P HC	アミノ酸
304	TIM3.5-13A3	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
305	TIM3.10-13A3 (N60Q)	IgG4P HC	アミノ酸
306	TIM3.10-13A3 (N60Q)	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
307	TIM3.11-13A3 (N60S)	IgG4P HC	アミノ酸

【図 24-11】

FIG. 23 (続き)

配列番号	抗体	説明	AA/NT
308	TIM3.11-13A3 (N60S)	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
309	TIM3.12-13A3 (N60A)	IgG4P HC	アミノ酸
310	TIM3.12-13A3 (N60A)	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
311	TIM3.13-13A3 (D101E)	IgG4P HC	アミノ酸
312	TIM3.13-13A3 (D101E)	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
313	TIM3.14-13A3 (P102V)	IgG4P HC	アミノ酸
314	TIM3.14-13A3 (P102V)	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
315	TIM3.15-13A3 (P102Y)	IgG4P HC	アミノ酸
316	TIM3.15-13A3 (P102Y)	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
317	TIM3.16-13A3 (P102L)	IgG4P HC	アミノ酸
318	TIM3.16-13A3 (P102L)	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
319	TIM3.17-13A3 (N60Q, P102Y)	IgG4P HC	アミノ酸
320	TIM3.17-13A3 (N60Q, P102Y)	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
353	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	IgG4P HC	アミノ酸
354	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
321	8B9	IgG1za HC	アミノ酸
322	8B9	IgG1za HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
323	8B9	IgG4P HC	アミノ酸
324	8B9	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
325	TIM3.8-8B9 (S61P)	IgG4P HC	アミノ酸
326	TIM3.8-8B9 (S61P)	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
327	8C4	IgG1za HC	アミノ酸
328	8C4	IgG1za HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
329	TIM3.6-8C4	IgG4P HC	アミノ酸
330	TIM3.6-8C4	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
331	17C3	IgG1za HC	アミノ酸
332	17C3	IgG1za HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
333	TIM3.2-17C3	IgG4P HC	アミノ酸
334	TIM3.2-17C3	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
335	9F6	IgG1za HC	アミノ酸

【図 24-12】

FIG. 23 (続き)

配列番号	抗体	説明	AA/NT
336	9F6	IgG1za HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
337	9F6	IgG4 HC	アミノ酸
338	9F6	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
339	TIM3.7-9F6 (A108T)	IgG4P HC	アミノ酸
340	TIM3.7-9F6 (A108T)	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
341	3G4	IgG1za HC	アミノ酸
342	3G4	IgG1za HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
343	TIM3.4-3G4	IgG4P HC	アミノ酸
344	TIM3.4-3G4	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
345	17C8	IgG4 HC	アミノ酸
346	17C8	IgG4 HC	アミノ酸
347	TIM3.9-17C8	IgG4P HC	アミノ酸
348	TIM3.9-17C8	IgG4P HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
365	13A3	重鎖 Fab 6X His	アミノ酸
366	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	重鎖 ab 6X His	アミノ酸
367		成熟ヒト TIM3細胞外ドメインの残基49~62	アミノ酸
368		成熟ヒト TIM3細胞外ドメインの残基111~127	アミノ酸
369		成熟ヒト TIM3細胞外ドメインの残基40~62	アミノ酸
370		成熟ヒト TIM3細胞外ドメインの残基66~77	アミノ酸
371		成熟ヒト TIM3細胞外ドメインの残基78~95	アミノ酸
372		成熟ヒト TIM3細胞外ドメインの残基110~127	アミノ酸
373		成熟ヒト TIM3細胞外ドメインの残基119~127	アミノ酸
375	hTIM3-mFc		アミノ酸
376	Cyto TIM3-MychisAvi		アミノ酸
377	hTIM3_lvV		アミノ酸
378	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	シグナルペプチドを有する IgG1.3f HC	アミノ酸
379	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	シグナルペプチドを有する IgG1.3f HC (C末端 Kなし)	アミノ酸
380	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	シグナル配列を有する IgG1.3f HC	ヌクレオチド
381	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	シグナル配列を有する IgG1.3f HC (C末端 Kなし)	ヌクレオチド
382	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	シグナル配列を有する IgG1.3f HC (T168C)	ヌクレオチド

【図 24-13】

FIG. 23 (続き)

配列番号	抗体	説明	AA/NT
383	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	シグナル配列を有する IgG1.3f HC (T168C) (C末端 Kなし)	ヌクレオチド
384	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	シグナルペプチドを有する LC	アミノ酸
385	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	シグナル配列を有する LC	ヌクレオチド

10

20

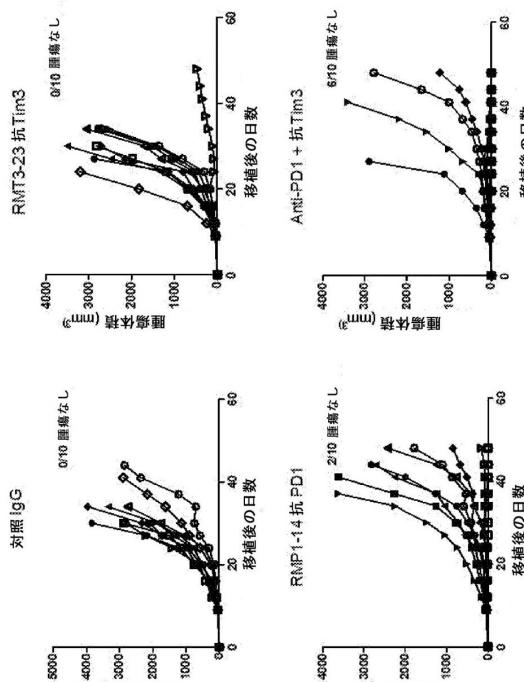
30

40

50

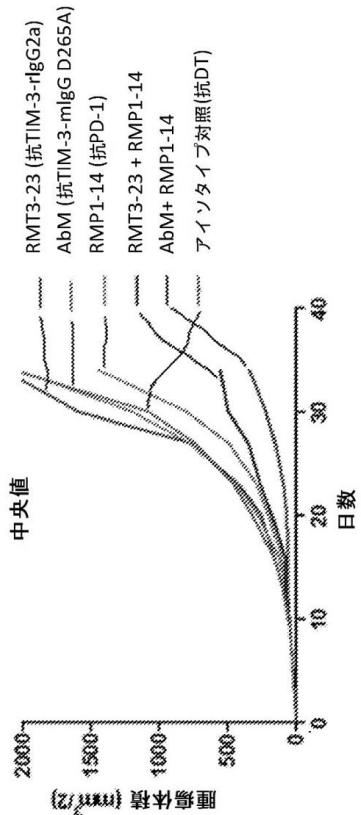
【図 25 A】

FIG. 24A



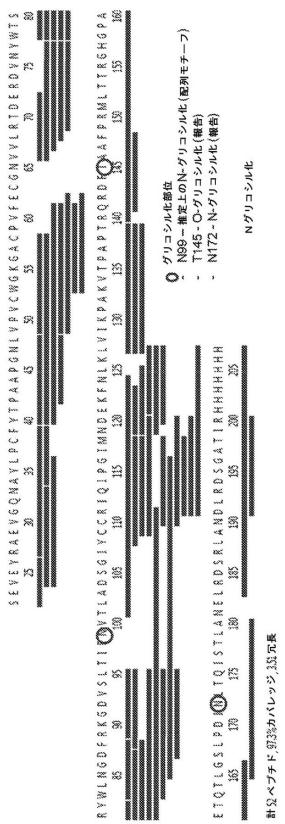
【図 25 B】

FIG. 24B



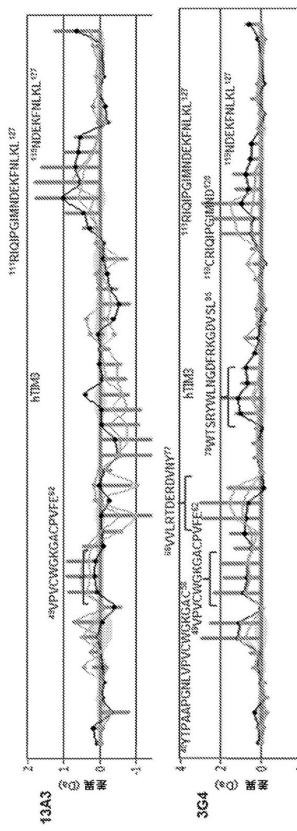
【図 26】

FIG. 25



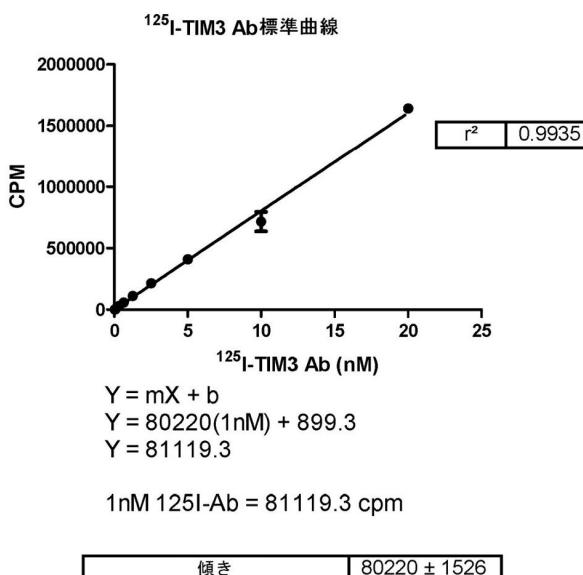
【図 27】

FIG. 26



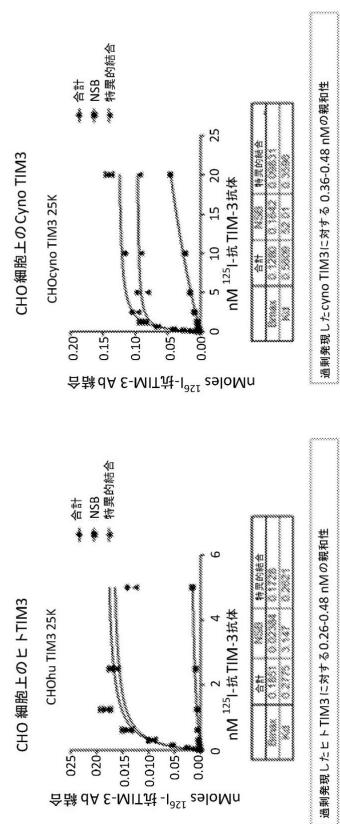
【図 28 A】

FIG. 27A



【図 28 B】

FIG. 27B



10

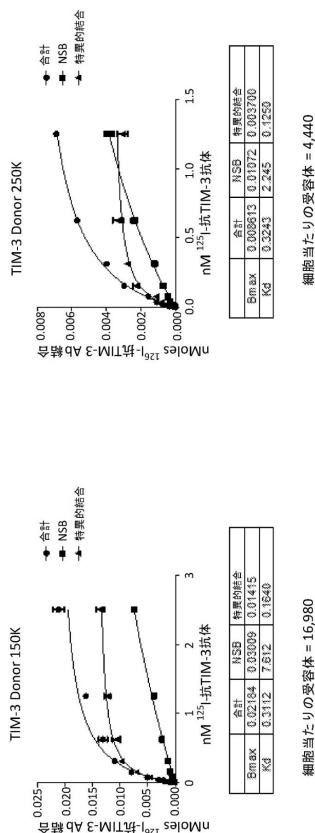
20

30

40

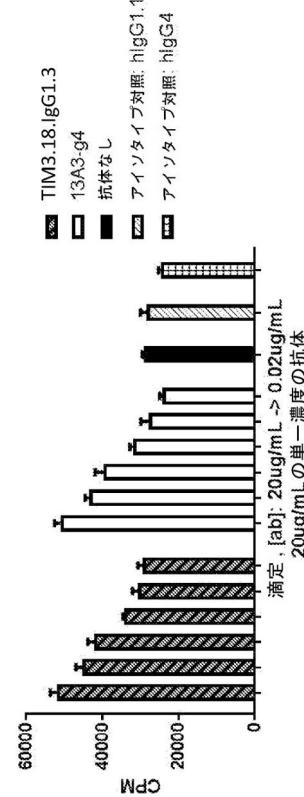
【図 29】

FIG. 28



【図 30 A】

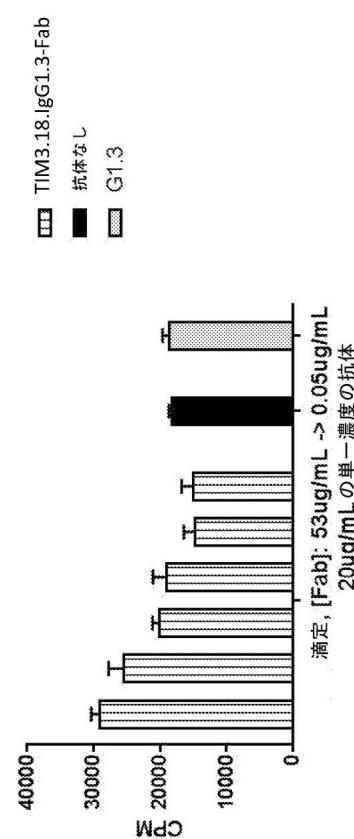
FIG. 29A



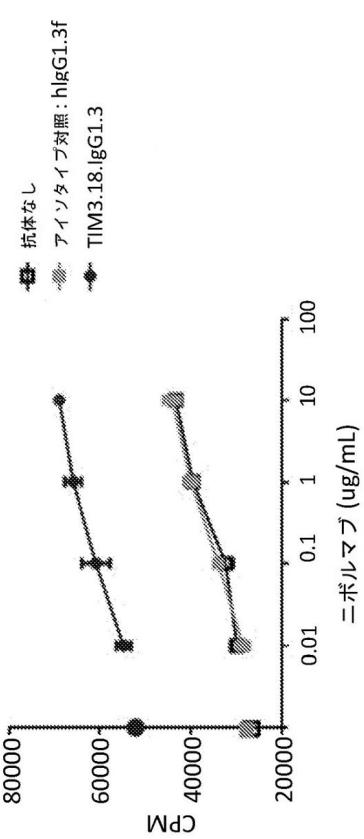
50

【図 3 0 B】

FIG. 29B

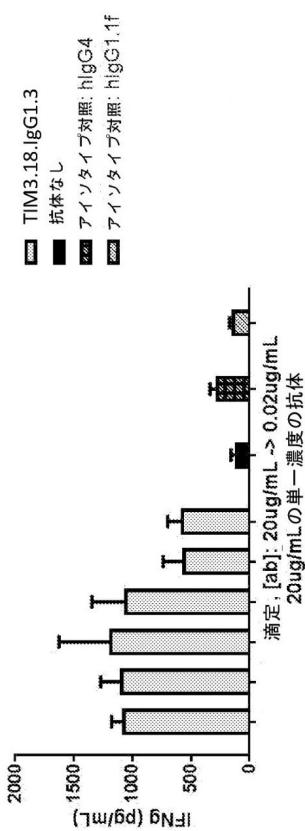


【図 3 1】



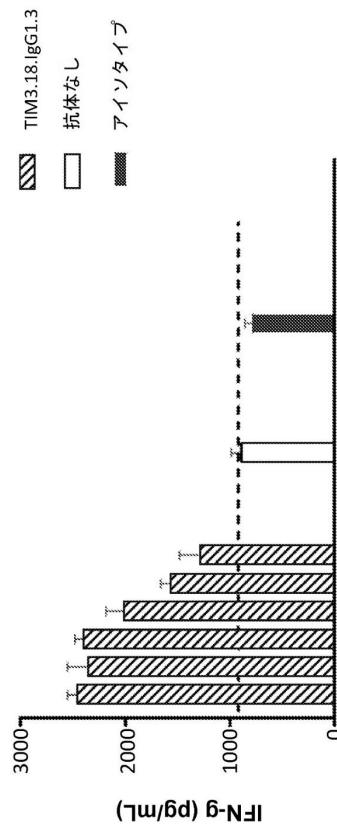
【図 3 2】

FIG. 31

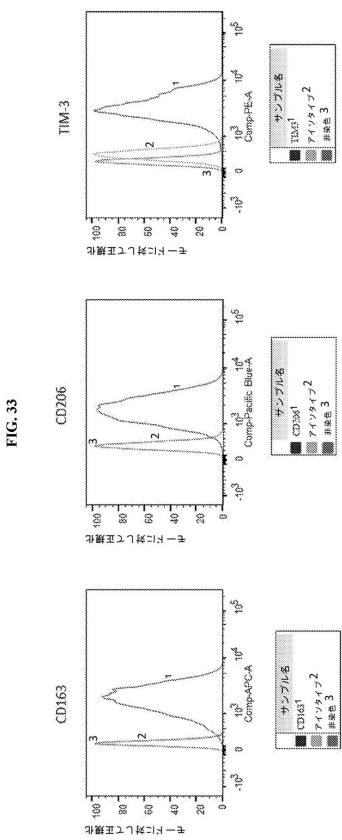


【図 3 3】

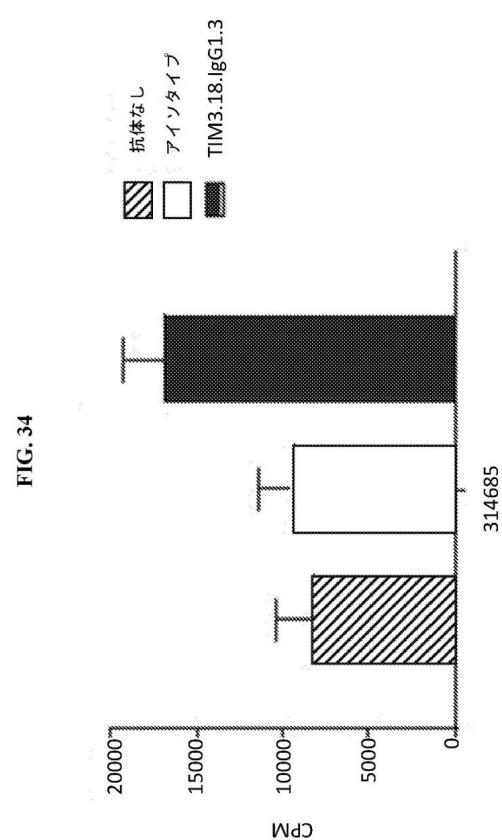
FIG. 30



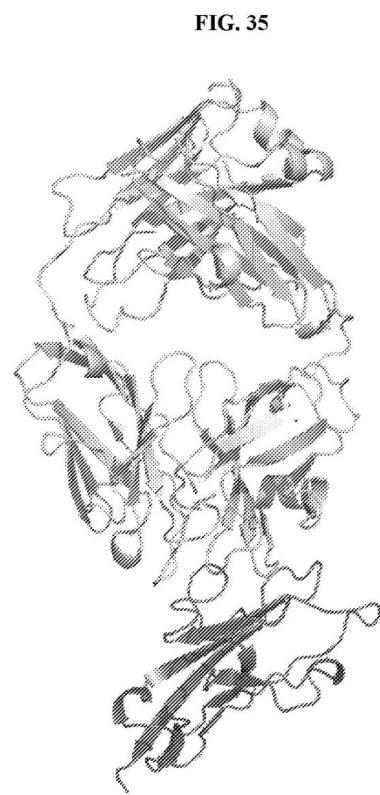
【図 3 4】



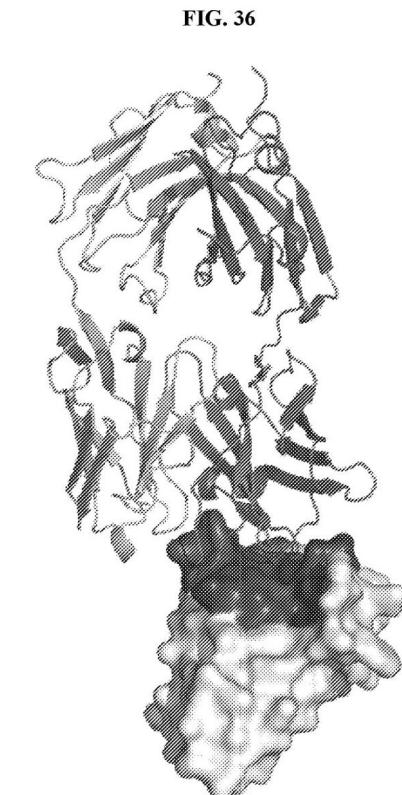
【図 3 5】



【図 3 6】

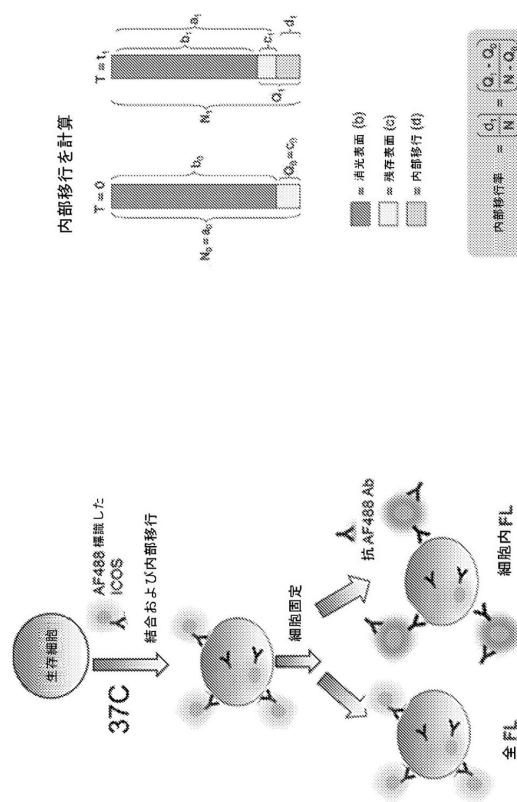


【図 3 7】



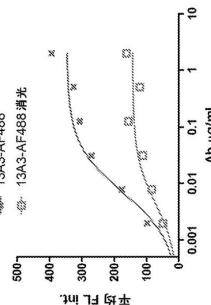
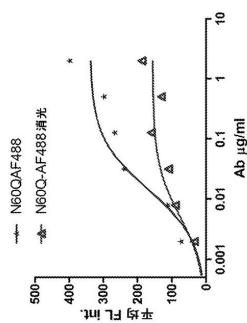
【図 38】

FIG. 37



【図 39】

FIG. 38

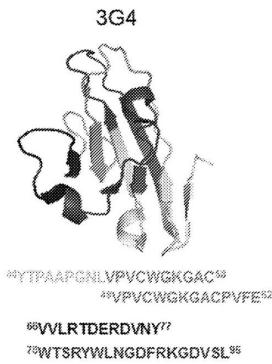


【図 40】

FIG. 39A



FIG. 39B



10

20

30

40

50

【配列表】

0007027401000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F	I
C 12 N 1/21 (2006.01)	C 12 N	1/21
C 12 N 1/15 (2006.01)	C 12 N	1/15
C 12 N 5/10 (2006.01)	C 12 N	5/10
C 12 P 21/08 (2006.01)	C 12 P	21/08
C 12 N 5/0783(2010.01)	C 12 N	5/0783
A 61 P 35/02 (2006.01)	A 61 P	35/02
A 61 P 35/04 (2006.01)	A 61 P	35/04
A 61 P 35/00 (2006.01)	A 61 P	35/00
A 61 P 37/04 (2006.01)	A 61 P	37/04
A 61 K 45/00 (2006.01)	A 61 K	45/00
A 61 K 39/395(2006.01)	A 61 K	39/395
G 01 N 33/53 (2006.01)	A 61 K	N
	A 61 K	T
	G 01 N	N
	G 01 N	D
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US) 弁理士 笹倉 真奈美		
(72)発明者 シャオ・ミン・シェバイ アメリカ合衆国9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード7 0 0 番		
(72)発明者 マーク・ジェイ・セルビー アメリカ合衆国9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード7 0 0 番		
(72)発明者 ミシェル・ミンホア・ハン アメリカ合衆国9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード7 0 0 番		
(72)発明者 クリストイン・ビー アメリカ合衆国9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード7 0 0 番		
(72)発明者 アンディ・エックス・デン アメリカ合衆国9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード7 0 0 番		
(72)発明者 アナン・チュンタラパイ アメリカ合衆国9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード7 0 0 番		
(72)発明者 ブリジット・ドゥボー アメリカ合衆国9 4 0 3 0 6 カリフォルニア州パロ・アルト、ダルース・サークル3 2 0 番		
(72)発明者 ホイミニン・リ アメリカ合衆国0 2 4 2 0 マサチューセッツ州レキシントン、グローブ・ストリート9 1 番		
(72)発明者 ポール・オー・シェバード アメリカ合衆国9 8 2 5 2 ワシントン州グラナイト・フォールズ、トゥーハンドレッドアンドセブンティエイス・ドライブ・ノースイースト1 3 5 3 2 番		
(72)発明者 アラン・ジェイ・コーマン アメリカ合衆国9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード7 0 0 番		
(72)発明者 ダニエル・エフ・アードウレル アメリカ合衆国9 8 0 7 7 ワシントン州ウッディンビル、トゥーハンドレッドアンドファースト・アベニュー・ノースイースト1 9 0 1 0 番		
(72)発明者 エカテリーナ・デヤノバ アメリカ合衆国0 8 5 4 3 ニュージャージー州プリンストン、ルート2 0 6 アンド・プロビンス・ライン・ロード		
(72)発明者 リチャード・ホアン アメリカ合衆国0 8 5 4 3 ニュージャージー州プリンストン、ルート2 0 6 アンド・プロビンス・ライン・ロード		
(72)発明者 ゲオドン・チェン アメリカ合衆国0 8 5 4 3 ニュージャージー州プリンストン、ルート2 0 6 アンド・プロビンス・ライン・ロード		

(72)発明者 ミシェル・キューネ
アメリカ合衆国94063カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード700番

(72)発明者 ホン - アン・ソン
アメリカ合衆国94063カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード700番

審査官 上村 直子

(56)参考文献
国際公開第2016/068803 (WO, A1)
国際公開第2015/117002 (WO, A1)
国際公開第2016/071448 (WO, A1)
国際公開第2011/155607 (WO, A1)
米国特許出願公開第2013/0022623 (US, A1)
国際公開第2016/081746 (WO, A2)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
C12N 15/13
C07K 16/00 - 16/46
C12P 21/08
JST Plus / JMED Plus / JST 7580 (JDreamIII)
Caplus / REGISTRY / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)
GenBank / EMBL / DDBJ / GeneSeq
UniProt / GeneSeq