I805582

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I805582 B**

(45)公告日： 中華民國 112 (2023) 年 06 月 21 日

(21)申請案號：107114788 (22)申請日： 中華民國 107 (2018) 年 05 月 01 日

(51)Int. Cl.： ***C07K16/28 (2006.01)*** ***A61K39/395 (2006.01)***

(30)優先權：2017/05/01 美國 62/492,829

2017/05/02 美國 62/500,345

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

美國

(72)發明人：錢德 丹 CHAND, DHAN SIDHARTHA (CA) ；威爾森 尼可拉斯 WILSON, NICHOLAS S. (NZ) ；安德伍 丹尼斯 UNDERWOOD, DENNIS J. (AU) ；莫林 班傑明 MORIN, BENJAMIN MAXIME (FR)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

WO 2016191643A2 WO 2017030823A2

審查人員：張維纓

申請專利範圍項數：17 項 圖式數：28 共 357 頁

(54)名稱

抗ＴＩＧＩＴ抗體類和使用彼等之方法

(57)摘要

本揭示案提供特異性結合於具有 Ig 及 ITIM 結構域之 T 細胞免疫受體(TIGIT) (例如人類 TIGIT)且拮抗 TIGIT 功能的抗體。亦提供包含此等抗體之醫藥組合物、編碼此等抗體之核酸、用於製造此等抗體之表現載體及宿主細胞以及使用此等抗體治療受試者之方法。

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

指定代表圖：

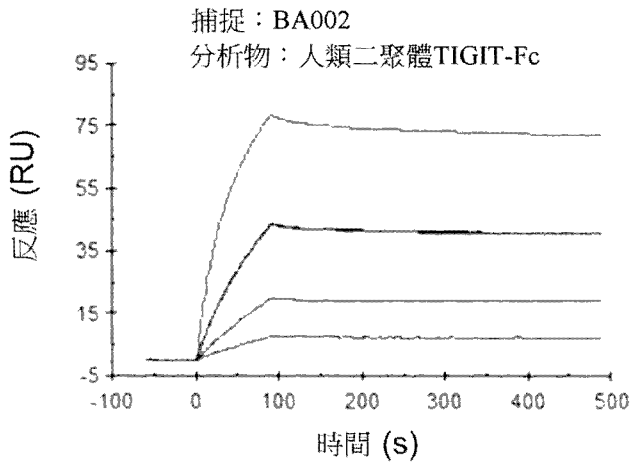

捕捉：BA002
分析物：人類二聚體TIGIT-Fc
反應 (RU)
95
75
55
35
15
-5
-100
0
100
200
300
400
500
時間 (s)

圖 1A

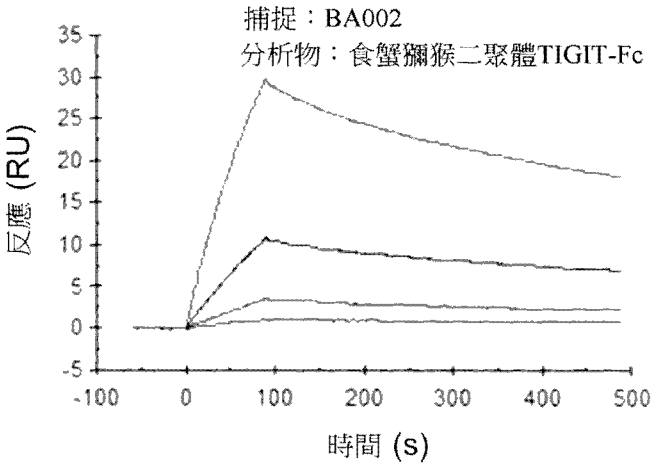

捕捉：BA002
分析物：食蟹獼猴二聚體TIGIT-Fc
反應 (RU)
35
30
25
20
15
10
5
0
-5
-100
0
100
200
300
400
500
時間 (s)

圖 1B

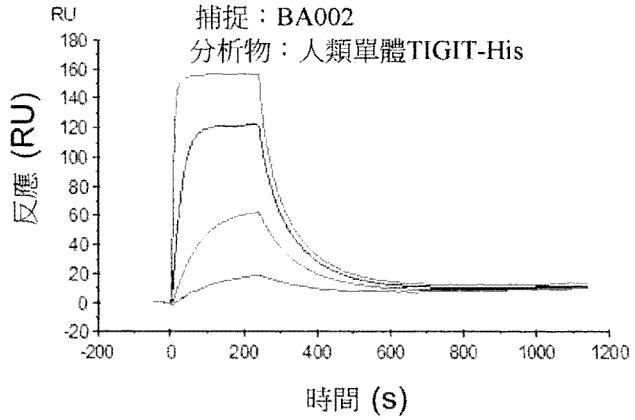

RU
捕捉：BA002
分析物：人類單體TIGIT-His
反應 (RU)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-200
0
200
400
600
800
1000
1200
時間 (s)

圖 1C

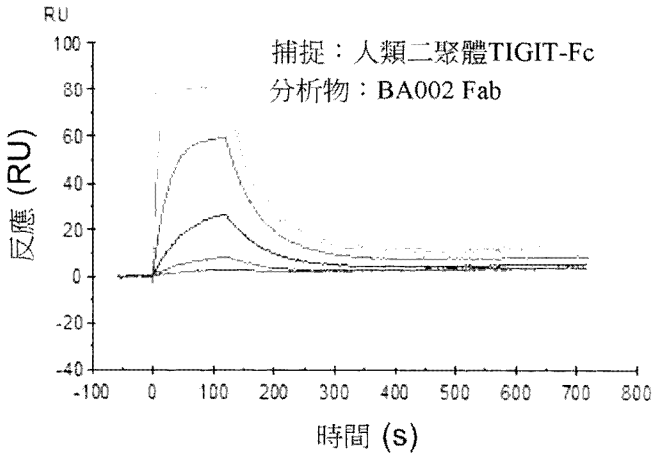

RU
100
80
60
40
20
0
-20
-40
反應 (RU)
捕捉：人類二聚體TIGIT-Fc
分析物：BA002 Fab
-100
0
100
200
300
400
500
600
700
800
時間 (s)

圖 1D

專利案號：107114788

I805582

公告本

【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗ＴＩＧＩＴ抗體類和使用彼等之方法

【英文發明名稱】

ANTI-TIGIT ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF

【中文】

本揭示案提供特異性結合於具有Ig及ITIM結構域之T細胞免疫受體(TIGIT)（例如人類TIGIT)且拮抗TIGIT功能的抗體。亦提供包含此等抗體之醫藥組合物、編碼此等抗體之核酸、用於製造此等抗體之表現載體及宿主細胞以及使用此等抗體治療受試者之方法。

【英文】

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

【指定代表圖】第(1A、1B、1C、1D)圖。
【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗ＴＩＧＩＴ抗體類和使用彼等之方法

【英文發明名稱】

ANTI-TIGIT ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF

【技術領域】

相關申請案

【0001】本申請案主張2017年5月1日提交的美國臨時申請案第62/492,829號及2017年5月2日提交的美國臨時申請案第62/500,345號的權益，其各自以全文引用之方式併入本文中。

【0002】本揭示案係關於特異性結合於TIGIT(例如人類TIGIT)之抗體及其使用方法。

【先前技術】

【0003】具有Ig及ITIM結構域之蛋白質T細胞免疫受體(TIGIT)，亦稱為VSIG9或VSTM3，為免疫球蛋白(Ig)超家族中之I型跨膜蛋白。其具有單個Ig結構域、I型跨膜結構域、單個細胞內基於免疫受體酪胺酸之抑制基元(ITIM)及單個免疫球蛋白尾端酪胺酸(ITT)樣磷酸化基元，且在活化的CD4陽性/CD25陽性調節T細胞(Treg)、記憶CD45RO陽性T細胞及自然殺手(NK)細胞上表現，但不在

初始T細胞上表現。

【0004】脊髓灰質炎病毒受體(PVR，亦稱為CD155)在單核球及樹突狀細胞上高度表現，且能夠經由結合於其兩種受體CD226及CD96來活化效應T細胞及NK細胞以及減弱Treg之活性。TIGIT結合於PVR且顯示拮抗PVR與CD226及CD96之相互作用，由此抑止T細胞及NK細胞介導之免疫活性。

【0005】鑒於人類TIGIT在調節免疫反應中之明顯作用，經設計以拮抗TIGIT信號傳導之治療劑具有用於治療涉及免疫抑制之疾病的極大前景。

【發明內容】

【0006】本揭示案提供特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT)且拮抗TIGIT功能，例如TIGIT介導之免疫抑制的抗體。亦提供包含此等抗體之醫藥組合物、編碼此等抗體之核酸、用於製造此等抗體之表現載體及宿主細胞以及使用此等抗體治療受試者之方法。本文所揭示之抗體對於增加響應於抗原(例如腫瘤抗原或感染性疾病抗原)之T細胞及NK細胞活化及/或降低Treg介導之免疫抑制特別有用，且因此可用於治療受試者之癌症或治療或預防受試者之感染性疾病。

【0007】因此，在一個態樣中，本揭示案提供一種抗體或經分離之抗體，其包含有包含互補決定區(CDR) CDRH1、CDRH2及CDRH3之重鏈可變區(VH)及包含互補

決定區CDRL1、CDRL2及CDRL3之輕鏈可變區(VL)，其中：

(a) CDRH1包含SYGIS (SEQ ID NO: 1)或GYTFASY (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；

(b) CDRH2包含GITPFFNRVDVAEKFQG (SEQ ID NO: 3)或TPFFNR (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；

(c) CDRH3包含DLRRGGVGDAFDI (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；

(d) CDRL1包含TGTSSDVGSHNYVS (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列；

(e) CDRL2包含EVSYRPS (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；及/或

(f) CDRL3包含SSYTPSSATV (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列。

【0008】在某些實施例中，CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含SEQ ID NO: 1、3、5、6、7及8中所示之胺基酸序列。在某些實施例中，CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含SEQ ID NO: 2、4、5、6、7及8中所示之胺基酸序列。

【0009】在某些實施例中，抗體包含有包含與SEQ ID NO: 9之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，重鏈可變區包含SEQ ID NO: 9

之胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區之胺基酸序列由SEQ ID NO: 9之胺基酸序列組成。在某些實施例中，SEQ ID NO: 9中之X為麩胺酸(E)。在某些實施例中，SEQ ID NO: 9中之X為焦麩胺酸(pE)。

【0010】在某些實施例中，抗體包含有包含與SEQ ID NO: 10之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列。在某些實施例中，輕鏈可變區之胺基酸序列由SEQ ID NO: 10之胺基酸序列組成。在某些實施例中，SEQ ID NO: 10中之X為麩醯胺酸(Q)。在某些實施例中，SEQ ID NO: 10中之X為焦麩胺酸(pE)。

【0011】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，重鏈可變區之胺基酸序列由SEQ ID NO: 9之胺基酸序列組成。在某些實施例中，SEQ ID NO: 9中之X為麩胺酸(E)。在某些實施例中，SEQ ID NO: 9中之X為焦麩胺酸(pE)。

【0012】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，輕鏈可變區之胺基酸序列由SEQ ID NO: 10之胺基酸序列組成。在某些實施例中，SEQ ID NO: 10中之X為麩醯胺酸(Q)。在某些實施例中，SEQ ID NO: 10中之X為焦麩

胺酸(pE)。

【0013】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，重鏈可變區之胺基酸序列由SEQ ID NO: 9之胺基酸序列組成，輕鏈可變區之胺基酸序列由SEQ ID NO: 10之胺基酸序列組成。在某些實施例中，SEQ ID NO: 9中之X為麩胺酸(E)。在某些實施例中，SEQ ID NO: 9中之X為焦麩胺酸(pE)。在某些實施例中，SEQ ID NO: 10中之X為麩醯胺酸(Q)。在某些實施例中，SEQ ID NO: 10中之X為焦麩胺酸(pE)。

【0014】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，該抗體包含具有來源於人類IGHV1-69*01生殖系序列之胺基酸序列的重鏈可變區。在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，該抗體包含具有來源於人類IGHV1-69*06生殖系序列之胺基酸序列的重鏈可變區。在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，該抗體包含具有來源於人類IGHV1-69*12生殖系序列之胺基酸序列的重鏈可變區。

【0015】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，該抗體包含具有來源於人類IGLV2-14*01生殖系序列之胺基酸序列的輕鏈可變區。在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類

TIGIT之經分離之抗體，該抗體包含具有來源於人類IGLV2-23*02生殖系序列之胺基酸序列的輕鏈可變區。在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，該抗體包含具有來源於人類IGLV2-11*01生殖系序列之胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0016】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，該抗體包含之重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 34或35之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸區。在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，該抗體包含之輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 37-39及60中任一者之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸區。

【0017】在某些實施例中，抗體與包含有包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的輕鏈可變區的抗體結合於人類TIGIT之相同抗原決定基。

【0018】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體與包含有包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的輕鏈可變區的抗體結合於人類TIGIT之相同抗原決定基。

【0019】在某些實施例中，抗體結合於位於人類

TIGIT區內之抗原決定基，該區之胺基酸序列由SEQ ID NO: 31-33中任一者之胺基酸序列組成。

【0020】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體結合於位於人類TIGIT區內之抗原決定基，其中該區之胺基酸序列由SEQ ID NO: 31-33中任一者之胺基酸序列組成。

【0021】在某些實施例中，抗體結合於人類TIGIT之一或多個胺基酸殘基，該等胺基酸殘基選自由根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的Q35、I47、N49、H90及T96組成之群。在某些實施例中，抗體結合於人類TIGIT之一或多個胺基酸殘基，該等胺基酸殘基選自由根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的Q35、I47及T96組成之群。在某些實施例中，抗體結合於人類TIGIT之胺基酸殘基T96，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 52之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。在某些實施例中，抗體結合於人類TIGIT之胺基酸殘基Q35，其根據

SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 44之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。在某些實施例中，抗體結合於人類TIGIT之胺基酸殘基I47，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 45之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。在某些實施例中，抗體結合於人類TIGIT之胺基酸殘基N49，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。在某些實施例中，抗體結合於人類TIGIT之胺基酸殘基H90，其根據SEQ ID

NO: 40之胺基酸序列編號。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 51之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 59之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 48之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0022】在某些實施例中，抗體不結合於人類TIGIT之一或多個胺基酸殘基，該等胺基酸殘基選自由根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的T34、L52、H55、I56、S57、P58、S59、T98、R100及F102組成之群。在某些實施例中，抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基T34，其根

據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 43之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上未被削弱(例如降低大於30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。在某些實施例中，抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基L52，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 47之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上未被削弱(例如降低大於30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。在某些實施例中，抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基H55，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上未被削弱(例如降低大於30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。在某些實施例中，抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基I56，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。在某些實施例中，抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基S57，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。在某些實施例中，抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基P58，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。在某些實施例中，抗體不結合

於人類TIGIT之胺基酸殘基S59，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 58之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上未被削弱(例如降低大於30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。在某些實施例中，抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基T98，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上未被削弱(例如降低大於30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。在某些實施例中，抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基R100，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。在某些實施例中，相對於抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，抗體與包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上未被削弱(例如降低大於30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0023】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體結合於人類TIGIT之一或多個胺基酸殘基，該等胺基酸殘基選自由根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的Q35、I47、N49、H90及T96組成之群。

【0024】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體結合於人類TIGIT之一或多個胺基酸殘基，該等胺基酸殘基選自由根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的Q35、I47及T96組成之群。

【0025】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體結合於人類TIGIT之胺基酸殘基T96，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。

【0026】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 52之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0027】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0028】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結

合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體結合於人類TIGIT之胺基酸殘基Q35，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。

【0029】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 44之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0030】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體結合於人類TIGIT之胺基酸殘基I47，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。

【0031】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 45之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0032】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體結合於人類TIGIT之胺基酸殘基N49，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸

序列編號。

【0033】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0034】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0035】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體結合於人類TIGIT之胺基酸殘基H90，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。

【0036】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 51之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、

50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0037】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0038】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 59之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0039】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 48之胺基酸序列之蛋白質之間的結合實質上被削弱(例如降低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0040】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結

合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體不結合於人類TIGIT之一或多個胺基酸殘基，該等胺基酸殘基選自由根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的T34、L52、H55、I56、S57、P58、S59、T98、R100及F102組成之群。

【0041】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基T34，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。

【0042】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 43之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上未被削弱(例如降低大於30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0043】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基L52，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。

【0044】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 47之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上未被削弱(例如降低大於30%、35%、40%、45%、50%、

55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0045】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基H55，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。

【0046】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上未被削弱(例如降低大於30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0047】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基I56，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。

【0048】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基S57，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。

【0049】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基P58，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。

【0050】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結

合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基S59，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。

【0051】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 58之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上未被削弱(例如降低大於30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0052】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基T98，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。

【0053】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上未被削弱(例如降低大於30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0054】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基R100，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。

【0055】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結

合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上未被削弱(例如降低大於30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0056】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體不結合於人類TIGIT之胺基酸殘基F102，其根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號。

【0057】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中相對於該抗體與包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列之蛋白質的結合，該抗體與包含SEQ ID NO: 56之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上未被削弱(例如降低大於30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%)。

【0058】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，其中該抗體不結合根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的人類TIGIT之胺基酸殘基T34、L52、H55、I56、S57、P58、S59、T98、R100及F102中之任一者。

【0059】在某些實施例中，抗體進一步包含選自由以下組成之群的重鏈恆定區：人類IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1及IgA_2。

【0060】在某些實施例中，抗體包含IgG_1重鏈恆定

區。

【0061】在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列的重鏈恆定區。在某些實施例中，IgG_1重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據EU編號系統編號的N297A突變。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列的重鏈恆定區。

【0062】在某些實施例中，IgG_1重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據EU編號系統編號之L234F、L235F及N297A突變。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈恆定區。

【0063】在某些實施例中，IgG_1重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據EU編號系統編號之S239D及I332E突變。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的重鏈恆定區。

【0064】在某些實施例中，IgG_1重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據EU編號系統編號之S239D、A330L及I332E突變。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈恆定區。

【0065】在某些實施例中，IgG_1重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據EU編號系統編號之L235V、F243L、R292P、Y300L及P396L突變。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的重鏈恆定區。

【0066】在某些實施例中，IgG_1重鏈恆定區為去海藻糖基化的。

【0067】在某些實施例中，IgG_1重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據EU編號系統編號之S267E及L328F突變。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 25之胺基酸序列的重鏈恆定區。

【0068】在某些實施例中，與抗體接觸的第一細胞毒性細胞中FcγRIIIA及/或FcγRIIA活性的增加大於與參考抗體接觸的第二細胞毒性細胞中FcγRIIIA及/或FcγRIIA活性的增加，該參考抗體包含與抗體相同的重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列的重鏈恆定區。在某些實施例中，細胞毒性細胞為自然殺手細胞。

【0069】在某些實施例中，抗體包含IgG_4重鏈恆定區。在某些實施例中，IgG_4重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據EU編號系統編號之S228P突變。

【0070】在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 26之胺基酸序列的重鏈恆定區。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列的輕鏈恆定區。

【0071】在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，該抗體包含：

(a)包含選自由SEQ ID NO: 11-18組成之群之胺基酸序列的重鏈；及/或

(b)包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列的輕鏈。

【0072】在某些實施例中，重鏈之胺基酸序列由選自由SEQ ID NO: 11-18組成之群的胺基酸序列組成；及/或輕

鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 27之胺基酸序列組成。

【0073】在某些實施例中，抗體為人類抗體。在某些實施例中，抗體為雙特異性抗體。在某些實施例中，抗體對人類TIGIT具有拮抗性。

【0074】在某些實施例中，抗體優先在活體外在外周血液單核細胞(PBMC)群體中殺傷調節T細胞而非效應T細胞。在某些實施例中，相對於不存在抗體時的結合水準，抗體降低或抑制人類TIGIT與PVR或PVRL2的結合。在某些實施例中，抗體誘導由葡萄球菌腸毒素A (SEA)刺激的PBMC產生IL-2及/或IFNγ。

【0075】在某些實施例中，抗體與細胞毒性劑、細胞生長抑制劑、毒素、放射性核種或可偵測標記綴合。在某些實施例中，抗體與第二抗體或其片段交聯。

【0076】在另一態樣中，本揭示案提供本文所揭示之抗體的經分離之抗原結合片段，其中該抗原結合片段特異性結合於人類TIGIT。

【0077】在另一態樣中，本揭示案提供一種醫藥組合物，其包含如本文所揭示之抗體或抗原結合片段及醫藥學上可接受之載劑或賦形劑。

【0078】在另一態樣中，本揭示案提供一種經分離之多核苷酸，其編碼如本文所揭示之抗體或抗原結合片段的重鏈及/或輕鏈。

【0079】在另一態樣中，本揭示案提供一種包含如本文所揭示之多核苷酸的載體。

【0080】在另一態樣中，本揭示案提供一種包含如本文所揭示之多核苷酸或載體的重組宿主細胞。

【0081】在另一態樣中，本揭示案提供一種產生特異性結合於人類TIGIT之抗體或其抗原結合片段的方法，該方法包含培養如本文所揭示之宿主細胞以表現多核苷酸且產生抗體或抗原結合片段。

【0082】在另一態樣中，本揭示案提供一種在受試者中增加響應於抗原之T細胞活化的方法，該方法包含向該受試者投與有效量之如本文所揭示之抗體、抗原結合片段或醫藥組合物。在另一態樣中，本揭示案提供一種在受試者中降低或抑制響應於抗原之Treg活性的方法，該方法包含向該受試者投與有效量之如本文所揭示之抗體、抗原結合片段或醫藥組合物。在另一態樣中，本揭示案提供一種在受試者中增加響應於抗原之NK細胞活化的方法，該方法包含向該受試者投與有效量之如本文所揭示之抗體、抗原結合片段或醫藥組合物。在另一態樣中，本揭示案提供一種治療受試者之癌症的方法，該方法包含向該受試者投與有效量之如本文所揭示之抗體、抗原結合片段或醫藥組合物。

【0083】在某些實施例中，靜脈內投與抗體、抗原結合片段或醫藥組合物。在某些實施例中，視情況在每三週一次的間隔下，靜脈內投與0.1 mg/kg、0.3 mg/kg、1 mg/kg、3 mg/kg、6 mg/kg、10 mg/kg、15 mg/kg、20 mg/kg或更多的抗體、抗原結合片段或醫藥組合物。

【0084】在某些實施例中，瘤內投與抗體、抗原結合片段或醫藥組合物。在某些實施例中，視情況在每三週一次的間隔下，瘤內投與0.03 mg/kg、0.1 mg/kg、0.3 mg/kg、1 mg/kg、3 mg/kg、6 mg/kg、10 mg/kg、15 mg/kg、20 mg/kg或更多的抗體、抗原結合片段或醫藥組合物。

【0085】在某些實施例中，皮下投與抗體、抗原結合片段或醫藥組合物。在某些實施例中，將抗體、抗原結合片段或醫藥組合物遞送至腫瘤引流淋巴結。

【0086】在某些實施例中，本文所揭示之方法進一步包含向該受試者投與額外治療劑。在某些實施例中，全身性投與額外治療劑。

【0087】在某些實施例中，受試者患有實體腫瘤且額外治療劑包含抗PD-1抗體，視情況其中該抗PD-1抗體為派立珠單抗(pembrolizumab)或納武單抗(nivolumab)。

【0088】在某些實施例中，受試者患有頭頸部鱗狀細胞癌且其中額外治療劑為抗EGFR抗體，視情況其中該抗EGFR抗體為西妥昔單抗(cetuximab)，視情況其中該方法進一步包含向該受試者投與化學治療劑，視情況其中該化學治療劑為全身性投與的，且視情況其中該化學治療劑為吉西他濱(gemcitabine)。

【0089】在某些實施例中，受試者患有HER2+乳癌且其中額外治療劑為抗HER2抗體，視情況其中該抗HER2抗體為曲妥珠單抗(trastuzumab)，視情況其中該方法進一步

包含向該受試者投與化學治療劑，視情況其中該化學治療劑為全身性投與的，視情況其中該化學治療劑為吉西他濱。

【0090】在某些實施例中，額外治療劑為化學治療劑或檢查點靶向劑。在某些實施例中，檢查點靶向劑係選自由以下組成之群：拮抗性抗PD-1抗體、拮抗性抗PD-L1抗體、拮抗性抗PD-L2抗體、拮抗性抗CTLA-4抗體、拮抗性抗TIM-3抗體、拮抗性抗LAG-3抗體、拮抗性VISTA抗體、拮抗性CD96抗體、拮抗性抗CEACAM1抗體、促效性抗CD137抗體、促效性抗GITR抗體及促效性抗OX40抗體。

【0091】在某些實施例中，額外治療劑為吲哚胺-2,3-雙加氧酶(IDO)之抑制劑。在某些實施例中，抑制劑係選自由以下組成之群：艾帕斯塔(epacadostat)、F001287、因多莫得(indoximod)及NLG919。

【0092】在某些實施例中，額外治療劑為疫苗。在某些實施例中，疫苗包含有包含與抗原肽複合之熱休克蛋白的熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)。在某些實施例中，熱休克蛋白為hsc70且與腫瘤相關抗原肽複合。在某些實施例中，熱休克蛋白為gp96蛋白且與腫瘤相關抗原肽複合，其中HSPPC來源於自受試者獲得之腫瘤。

【0093】在另一態樣中，本揭示案提供一種治療受試者之感染性疾病的方法，該方法包含向該受試者投與有效量之如本文所揭示之抗體、抗原結合片段或醫藥組合物。

【圖式簡單說明】

【0094】

圖1A-1D為一系列表面電漿子共振(SPR)感測器圖譜，展示抗TIGIT抗體BA002與經純化之TIGIT蛋白質的結合。圖1A、1B及1C分別展示人類二聚體TIGIT-Fc、食蟹獼猴二聚體TIGIT-Fc及人類單體TIGIT-His與所捕捉之BA002的結合。圖1D展示BA002 (Fab型式)與所捕捉之人類二聚體TIGIT-Fc蛋白質的結合。在各感測器圖譜中，在蛋白質注射之後相對於時間標繪反應單位(RU)。

圖2A-2D為展示抗TIGIT抗體BA002或IgG1同型對照抗體與表現細胞表面人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT之細胞的結合的一系列圖式。如藉由中值螢光強度(MFI)所評定，BA002或IgG1同型對照抗體與經工程改造以表現人類TIGIT之Jurkat細胞(圖2A)、活化的初級CD4+CD25+ T細胞(圖2B)、活化的初級CD8+CD25+ T細胞(圖2C)或經工程改造以表現食蟹獼猴TIGIT之CHO細胞(圖2D)的結合水準係相對於與該等細胞一起培育之BA002的濃度來加以標繪。

圖3A-3B為展示BA002顯現不與TIGIT相關家族成員CD96及CD226結合之一系列直方圖及圖式。如藉由中值螢光強度(MFI)所評定，BA002或IgG1同型對照抗體與經工程改造以表現人類TIGIT、CD96及CD226 (圖3A)或僅表現CD96及CD226 (圖3B)之Jurkat細胞的結合水準係相對於與該等細胞一起培育之BA002的濃度來加以標繪。

圖4A-4F為展示BA002以與一組參考抗TIGIT抗體相當或更高的水準破壞TIGIT與其配體CD155/PVR之間的結合的一系列圖式。

圖5A-5F為展示BA002以與一組參考抗TIGIT抗體相當或更高的水準破壞TIGIT與其配體CD112/PVRL2之間的結合的一系列圖式。

圖6為展示BA002增強SEA刺激之PBMC分泌干擾素-γ(IFNγ)達到與參考抗TIGIT抗體相比更大的程度及BA002及抗PD-1抗體之組合進一步增強SEA刺激之PBMC分泌IFNγ超過單獨BA002所觀察到的結果的圖式。BA002在抗PD-1組合中所觀察到的增強程度亦大於參考抗TIGIT抗體。

圖7A-7B為展示與同型對照相比，BA002與抗CTLA-4抗體之組合增強來自兩個不同供體之SEA刺激之PBMC的介白素-2 (IL-2)分泌的一系列圖形。

圖8A-8D為展示BA006結合於表現人類TIGIT及食蟹獼猴TIGIT之細胞且BA006不結合於相關家族成員CD96及CD226的一系列圖式。BA006結合於活化的初級人類$CD4^+$ T細胞(圖8A)及經工程改造以表現食蟹獼猴TIGIT之CHO細胞(圖8B)。BA006結合於表現TIGIT、CD96及CD226之Jurkat細胞(圖8C)，但不結合於僅表現CD96及CD226之Jurkat細胞(圖8D)。在各圖式中，相對於抗體濃度標繪中值螢光強度(MFI)。

圖9A-9D為展示BA002之Fc變異體進一步增強PBMC細胞介素分泌(圖9A-9B)及如藉由CD25上調所量測之T細胞

活化(圖9C-9D)的一系列圖式。當與抗PD-1抗體組合時，BA002之Fc變異體亦展示細胞介素分泌及T細胞活化的進一步增強。

圖10A-10E為展示BA002及其Fc變異體以劑量依賴性方式增強來自五個獨立供體之SEA刺激之PBMC分泌IL-2的一系列圖式。在一個供體中，BA002、Fc變異體BA006及BA005以及BA002之去海藻糖基化形式(BA002_AF)增強SEA刺激之PBMC的IL-2分泌(圖10A)。在第二供體中，BA002或其變異體與抗PD-1抗體之組合亦增強SEA刺激之PBMC的IL-2分泌(圖10B)。在CD155-Fc存在下，BA006及BA002增強來自第三供體之SEA刺激之PBMC的IL-2分泌(圖10C)。圖10D及10E展示在低濃度(10 ng/mL)之SEA存在下，來自兩個不同供體之PBMC的BA006的劑量依賴性活化。

圖11A-11B為展示BA002及其變異體相對於同型對照抗體增強來自兩個不同供體之SEA刺激之PBMC分泌IFNγ的一系列圖式。

圖12A-12B為展示抗TIGIT抗體BA002之各種Fc變異體在與表現TIGIT之靶細胞(經工程改造以表現人類TIGIT之Jurkat細胞)共同接合時經由FcγRIIA (圖12A)或FcγRIIIA (圖12B)發出信號之能力的一系列圖式。在圖12A中，BA002 (亦即同型002)及各變異體(亦即同型003、同型005、同型006及同型007)之同型對照僅在最高抗體濃度(亦即1000 ng/mL)下加以測試。在圖12B中，同型對照僅

在兩個最高抗體濃度(亦即30及10 ng/mL)下加以測試。

圖13A-13B為展示BA002及其變異體促進表現TIGIT之細胞的抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)的兩個系列的圖式。表現TIGIT之Jurkat細胞在與三種不同濃度(0.1 μg/mL、1 μg/mL及10 μg/mL)之抗體一起培育後的四個時間點(0小時、1小時、2小時及3小時)的細胞殺傷百分比展示於圖13A中。如與活化的效應T細胞相比，用於NK細胞介導之ADCC的BA002及BA006在共培養環境中優先靶向調節T細胞展示於圖13B中。

圖14為展示抗TIGIT抗體BA002及BA006增強SEA刺激之PBMC分泌IL-2的圖式，其中BA006顯示與參考抗TIGIT抗體相比實質上更大地增強IL-2分泌。

圖15A-15I為展示抗TIGIT抗體BA002及BA006可有效地與拮抗性抗PD-1抗體(圖15A)、拮抗性抗PD-L1抗體(圖15B及15C)、促效性抗CD137抗體(圖15D)、拮抗性抗CTLA-4抗體(圖15E)、拮抗性抗LAG-3抗體(圖15F及15G)或促效性抗OX40抗體(圖15H及15I)組合以促進SEA刺激之PBMC分泌IL-2的一系列圖式。

圖16A-16B為展示在抗PD-1抗體存在或不存在下，在與BA002或BA006一起培育後，食蟹獼猴PBMC產生IL-2(圖16A)及IFNγ (圖16B)的一系列圖式。BA002及BA006之同型對照抗體分別為「同型.G1」及「同型.3M」。抗PD-1抗體之同型對照抗體為「同型.G4」。

圖17A-17F為展示抗TIGIT抗體對MHC I類介導之記憶

T細胞回憶之效應的一系列圖式及直方圖。圖17A為展示用CMV pp65肽及BA002或BA006刺激之CMV反應性PBMC隨時間推移產生干擾素γ (IFNγ)的圖式。圖17B為展示TIGIT、CD226及CD96在活化的CD8效應記憶T細胞上之表現的一組代表性直方圖(灰色區域；具有白色填充之黑線指示細胞用同型對照抗體染色)。圖17C及17D分別展示由受刺激之PBMC產生IFNγ及TNFα。圖17E及17F展示來自受刺激之PBMC的CD8效應記憶T細胞群體及CD4效應記憶T細胞群體中增殖細胞的百分比，如由Ki67陽性染色指示。

圖18A-18D為展示抗TIGIT抗體對MHC II類介導之記憶T細胞回憶之效應的一系列圖式。圖18A及18B為來自三個CMV血清反應陽性供體之代表性圖式，展示來自經CMV全抗原刺激之CMV反應性PBMC之CD4 T細胞及CD8 T細胞亞群上的TIGIT表現量，已知CMV全抗原主要經加工且呈遞於MHC II類上。圖18C及18D展示在BA002、BA006、抗TIGIT參考抗體及/或抗PD-1抗體存在或不存在下，來自兩個不同供體之PBMC產生IFNγ。

圖19為展示如藉由活細胞成像所量測，在單獨或組合之BA002或其同型對照抗體(「IgG1同型」)、BA006或其同型對照抗體(「IgG1-3M同型」或抗PD-1抗體或其同型對照抗體(「IgG4同型」)存在或不存在下，相對於在添加T細胞時腫瘤細胞之數量，隨時間推移由共培養表現NY-ESO-1 TCR之初級人類T細胞殺傷表現NY-ESO-1之腫瘤細胞的百分比的圖式。

圖20A-20G展示抗TIGIT抗體對NK細胞活化之效應。圖20A為展示用於鑑別來自PBMC群體之NK細胞之選通參數的一系列圖式及展示CD107a活化標記物分佈的直方圖。圖20B-20G為展示在PBMC群體與單獨(圖20B-20D)或與K562細胞共培養(圖20E-20G)之指定抗體一起培育後，PBMC群體之所有NK細胞中CD107a (圖20B及20E)、IFNγ (圖20C及20F)及TNFα (圖20D及20G)陽性細胞之百分比的一系列圖式。「Ref. 1 IgG1」係指IgG1型式之參考抗體#1，且「Ref. 1-FcE」係指在Fc區中包含S239D/A330L/I332E取代之參考抗體#1的變異體。

圖21為人類TIGIT及食蟹獼猴TIGIT之序列比對。藉由氫-氘交換(HDX)-質譜法所鑑別之BA002抗原決定基區以粗體及下劃線指示，此等區中人類序列與食蟹獼猴序列之間的差異未顯示下劃線。用盒指示TIGIT之信號肽及跨膜結構域。

圖22A-22B為展示具有突出顯示之特異性胺基酸殘基之人類TIGIT蛋白質結構的帶狀圖。圖22A展示如藉由HDX所鑑別之面向蛋白質之PVR結合表面之TIGIT的BA002抗原決定基區中的胺基酸殘基。圖22B展示Q35、I47、H90、T96及N49，其可構成與BA006結合之構形抗原決定基。

圖23A-23F為展示異種移植小鼠模型中抗TIGIT抗體抑制腫瘤進展的一系列圖式，其中測試抗體在腫瘤進展之早期投與。在圖23A中相對於時間標繪中值腫瘤體積，且

在圖23B-23F中相對於時間標繪每隻個體小鼠的腫瘤體積(每一處理組n=5)。

圖24A-24G為展示在異種移植小鼠模型中藉由各種替代抗TIGIT抗體與抗PD-1抗體之組合抑制腫瘤進展的一系列圖式，其中測試抗體在腫瘤進展之早期投與。在圖24A及24B (具有不同y軸標度)中相對於時間標繪中值腫瘤體積，且在圖24C-24G中相對於時間標繪每隻個體小鼠的腫瘤體積(每一處理組n=5)。替代抗體「抗TIGIT mIgG2a」、「抗TIGIT mIgG2a-N297Q」、「抗TIGIT mIgG1」及「抗TIGIT mIgG2 (Fc增強)」根據其名稱僅在其Fc區中存在差異。

圖25A-25E為展示在異種移植小鼠模型中藉由抗TIGIT替代抗體mIgG2a (「抗TIGIT mIgG2a」或其同型對照抗體(「同型對照1」)、或替代抗體mIgG2a (Fc增強)(「抗TIGIT mIgG2 (Fc增強)」或其同型對照抗體(「同型對照2」)抑制腫瘤進展的一系列圖式，其中測試抗體在腫瘤進展之晚期投與。在圖25A中相對於時間標繪平均腫瘤體積，且在圖25B-25E中相對於時間標繪每隻個體小鼠的腫瘤體積(每一處理組n=10)。圖25B-25E中之點線表示對腫瘤體積超過2000 mm^3之小鼠進行安樂死的標準。

圖26A-26B為展示在異種移植小鼠模型中藉由抗TIGIT替代抗體mIgG2a (「抗TIGIT mIgG2a」)或其同型對照抗體(「同型對照1」)、或替代抗體mIgG2a (Fc增強)(「抗TIGIT mIgG2 (Fc增強)」)或其同型對照抗體(「同型

對照2」)與另一種檢查點調節抗體之組合抑制腫瘤進展的一系列圖式，其中測試抗體在腫瘤進展之晚期投與。相對於時間標繪用抗TIGIT抗體及抗PD-1抗體(圖26A)或抗CTLA-4抗體(圖26B)處理之小鼠的平均腫瘤體積(對於每幅圖，每一處理組n=10)。

圖27A-27F為展示研究設計及在投與抗TIGIT替代抗體mIgG2a (「抗TIGIT mIgG2a」)或其同型對照抗體(「同型對照1」)、或替代抗體mIgG2a (Fc增強) (「抗TIGIT mIgG2 (Fc增強)」)或其同型對照抗體(「同型對照2」)之後，小鼠異種移植模型之腫瘤及腫瘤引流淋巴結(TDLN)中T細胞亞群之量的比較的一系列圖式。促效性抗GITR抗體(「DTA-1 (mIgG2a)」)用作調節T細胞消除之陽性對照。圖27A說明研究設計。相對於抗TIGIT抗體注射後之時間標繪瘤內FoxP3$^+$調節T細胞(Treg) (圖27B)、瘤內CD4$^+$非Treg (圖27C)、腫瘤引流淋巴結(TDLN)中之FoxP3$^+$ Treg (圖27D)及瘤內CD8$^+$ T細胞(圖27E)之量的相對變化。瘤內CD8$^+$ T細胞與瘤內Treg之比率展示於圖27F中(每一處理組及時間點n=4)。

圖28A-28C為展示FcγRIV參與抗TIGIT抗體介導之T細胞活化的一系列圖式。圖28A展示基於細胞之螢光素酶報導體分析的結果，該等分析檢查各種濃度之抗TIGIT替代抗體mIgG2a (「抗TIGIT mIgG2a」)或其同型對照抗體(「同型對照1」)、或替代抗體mIgG2a (Fc增強) (「抗TIGIT mIgG2 (Fc增強)」)或其同型對照抗體(「同型對照

2」)對表現FcγRIV之效應T細胞及表現鼠類TIGIT之CHO細胞的共培養物中效應T細胞活化的效應。相對於抗體濃度標繪相對螢光素酶活性(RLU)。圖28B及28C展示鼠類活體內免疫活化分析之結果，該分析檢查在抗FcγRIV抗體存在或不存在下，抗TIGIT mIgG2a或mIgG2抗CTLA-4抗體(「抗CLTA-4 mIgG2a」)對響應於SEB超抗原之$CD4^+$ (圖28B)及$CD8^+$ (圖28C) T細胞增殖的效應(每組n=4隻小鼠，資料代表至少兩個獨立實驗)。增殖係藉由使用流式細胞測量術分析$Ki67^+$ T細胞之百分比來加以確定。

【實施方式】

【0095】本揭示案提供特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且拮抗TIGIT功能，例如TIGIT介導之免疫抑制的抗體。亦提供包含此等抗體之醫藥組合物、編碼此等抗體之核酸、用於製造此等抗體之表現載體及宿主細胞以及使用此等抗體治療受試者之方法。本文所揭示之抗體對於增加響應於抗原(例如腫瘤抗原或感染性疾病抗原)之T細胞及NK細胞活化特別有用，且因此可用於治療受試者之癌症或治療或預防受試者之感染性疾病。本文所述之「經分離之抗體」的所有實例另外作為可但不必經分離之抗體涵蓋。本文所述之「經分離之多核苷酸」的所有實例另外作為可但不必經分離之多核苷酸涵蓋。本文所述之「抗體」的所有實例另外作為可但不必經分離之抗體涵蓋。本文所述之「多核苷酸」的所有實例另外作為

可但不必經分離之多核苷酸涵蓋。

1.1 定義

【0096】如本文所用，當用於修飾數值或數值範圍時，術語「約」及「大致」指示比該值或範圍高5%至10%(例如高至多5%至10%)及低5%至10% (例如低至多5%至10%)之偏差保持在所敍述之值或範圍的預期含義內。

【0097】如本文所用，術語「TIGIT」係指在人類中由TIGIT基因編碼之具有Ig及ITIM結構域(亦稱為VSIG9或VSTM3)的T細胞免疫受體。如本文所用，術語「人類TIGIT」係指由野生型人類TIGIT基因(例如GenBank™寄存編號NM_173799.3)編碼之TIGIT蛋白或此類蛋白之細胞外結構域。未成熟人類TIGIT蛋白之例示性胺基酸序列以SEQ ID NO: 29提供。成熟人類TIGIT蛋白之例示性胺基酸序列以SEQ ID NO: 40提供。成熟人類TIGIT蛋白之細胞外結構域的例示性胺基酸序列以SEQ ID NO: 30、41及42提供。

【0098】如本文所用，術語「抗體」包括全長抗體、全長抗體之抗原結合片段以及包含抗體CDR、VH區及/或VL區之分子。抗體之實例包括(但不限於)單株抗體、以重組方式產生之抗體、單特異性抗體、多特異性抗體(包括雙特異性抗體)、人類抗體、人類化抗體、嵌合抗體、免疫球蛋白、合成抗體、包含兩個重鏈及兩個輕鏈分子之四聚抗體、抗體輕鏈單體、抗體重鏈單體、抗體輕鏈二聚

體、抗體重鏈二聚體、抗體輕鏈-抗體重鏈對、胞內抗體、異綴合抗體、抗體-藥物綴合物、單域抗體、單價抗體、單鏈抗體或單鏈Fv (scFv)、駱駝化抗體、親和抗體、Fab片段、$F(ab')_2$片段、二硫鍵連接之Fv (sdFv)、抗個體基因型(抗Id)抗體(包括例如抗抗Id抗體)以及以上中之任一者的抗原結合片段。在某些實施例中，本文所述之抗體係指多株抗體群體。抗體可為任何類型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY)、任何類別(例如IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1或IgA_2)或任何子類別(例如IgG_{2a}或IgG_{2b})之免疫球蛋白分子。在某些實施例中，本文所述之抗體為IgG抗體或其類別(例如人類IgG_1或IgG_4)或子類別。在一個具體實施例中，抗體為人類化單株抗體。在另一個具體實施例中，抗體為人類單株抗體。

【0099】如本文所用，術語「VH區」及「VL區」分別係指單個抗體重鏈及輕鏈可變區，包含FR (構架區) 1、2、3及4以及CDR (互補決定區) 1、2及3 (參見Kabat等人, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest (NIH出版物第91-3242號, Bethesda)，該文獻以全文引用之方式併入本文中)。

【0100】如本文所用，術語「CDR」或「互補決定區」意謂在重鏈及輕鏈多肽兩者之可變區內發現的非相鄰抗原組合位點。此等特定區已由Kabat等人, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977)及Kabat等人, Sequences of protein of immunological interest. (1991)，由Chothia等人, J. Mol.

Biol. 196:901-917 (1987)及由MacCallum等人, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)描述，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中，其中定義包括對照彼此比較時的胺基酸殘基之重疊或子組。在某些實施例中，術語「CDR」為如由MacCallum等人, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)及Martin A.「Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains」, *Antibody Engineering*, Kontermann及Dübel編, 第31章, 第422-439頁, Springer-Verlag, Berlin (2001)所定義之CDR。在某些實施例中，術語「CDR」為如由Kabat等人, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977)及Kabat等人, Sequences of protein of immunological interest. (1991)所定義之CDR。在某些實施例中，抗體之重鏈CDR及輕鏈CDR使用不同規約來加以定義。在某些實施例中，重鏈CDR及/或輕鏈CDR係藉由對抗體進行結構分析且鑑別經預測與靶分子(例如人類及/或食蟹獼猴TIGIT)之抗原決定基區接觸的可變區中的殘基來定義。CDRH1、CDRH2及CDRH3表示重鏈CDR，而CDRL1、CDRL2及CDRL3表示輕鏈CDR。

【0101】如本文所用，術語「構架(FR)胺基酸殘基」係指免疫球蛋白鏈構架區中之彼等胺基酸。如本文所用之術語「構架區」或「FR區」包括本身為可變區之一部分但不為CDR (例如使用Kabat或MacCallum之CDR定義)之一部分的胺基酸殘基。

【0102】如本文所用，術語「可變區」及「可變結構

域」可互換地使用且在此項技術中具有共性。可變區通常係指抗體之一部分，一般係指輕鏈或重鏈之一部分，通常係指成熟重鏈中胺基端約110至120個胺基酸或110至125個胺基酸以及成熟輕鏈中約90至115個胺基酸，其序列在抗體間廣泛不同且用於特定抗體對其特定抗原之結合及特異性。序列中之可變性集中於稱為互補決定區(CDR)之彼等區中，而可變結構域中更高度保守之區稱為構架區(FR)。在不希望受任何特定機制或理論束縛的情況下，咸信輕鏈及重鏈之CDR為引起抗體與抗原之相互作用及特異性的主要原因。在某些實施例中，可變區為人類可變區。在某些實施例中，可變區包含嚙齒類或鼠類CDR及人類構架區(FR)。在特定實施例中，可變區為靈長類(例如非人類靈長類)可變區。在某些實施例中，可變區包含嚙齒類或鼠類CDR及靈長類(例如非人類靈長類)構架區(FR)。

【0103】術語「VL」及「VL結構域」可互換地用於指抗體之輕鏈可變區。

【0104】術語「VH」及「VH結構域」可互換地用於指抗體之重鏈可變區。

【0105】如本文所用，術語「恆定區」及「恆定結構域」為可互換的且在此項技術中具有共性。恆定區為抗體部分，例如輕鏈及/或重鏈之羧基端部分，其不直接參與抗體與抗原之結合但可展現各種效應功能，諸如與Fc受體(例如Fcγ受體)相互作用。免疫球蛋白分子之恆定區之胺基酸序列一般比免疫球蛋白可變結構域更保守。

【0106】如本文所用，當參照抗體使用時，術語「重鏈」可指任何獨特類型，例如基於恆定結構域之胺基酸序列的α、δ、ε、γ及μ，其分別得到IgA、IgD、IgE、IgG及IgM類別之抗體，包括IgG之子類別，例如IgG_1、IgG_2、IgG_3及IgG_4。

【0107】如本文所用，當參照抗體使用時，術語「輕鏈」可指任何獨特類型，例如基於恆定結構域之胺基酸序列的κ或λ。輕鏈胺基酸序列為此項技術中熟知的。在具體實施例中，輕鏈為人類輕鏈。

【0108】如本文所用，術語「EU編號系統」係指用於抗體之恆定區的EU編號規約，如Edelman, G.M.等人, Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969)及Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health and Human Services, 第5版, 1991中所述，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中。

【0109】「結合親和力」一般係指在分子(例如抗體)之單個結合位點與其結合搭配物(例如抗原)之間非共價相互作用的總和強度。除非另外指明，否則如本文所用，「結合親和力」係指反映結合對成員(例如抗體與抗原)之間1:1相互作用之固有結合親和力。分子X對其搭配物Y之親和力一般可由解離常數(K_D)表示。親和力可以此項技術中已知之多種方式加以量測及/或表示，包括(但不限於)平衡解離常數(K_D)及平衡締合常數(K_A)。K_D由$k_{離}/k_{合}$之商計算，而K_A由$k_{合}/k_{離}$之商計算。$k_{合}$係指例如抗體與抗原之結

合速率常數，而$k_{離}$係指例如抗體與抗原之解離速率常數。$k_{合}$及$k_{離}$可藉由一般熟習此項技術者已知之技術，諸如BIAcore®或KinExA來加以測定。如本文所用，「較低親和力」係指較大K_D。

【0110】如本文所用，術語「特異性結合」、「特異性識別」、「免疫特異性結合」及「免疫特異性識別」在抗體之情形下為類似術語，且係指分子以由熟習此項技術者所理解之結合的方式結合於抗原(例如抗原決定基或免疫複合體)。舉例而言，如藉由例如免疫分析、BIAcore®、KinExA 3000儀器(Sapidyne Instruments，Boise，ID)或此項技術中已知之其他分析所測定，特異性結合於抗原之分子可一般以較低親和力結合於其他肽或多肽。在一個具體實施例中，特異性結合於抗原之分子結合於該抗原之K_A的對數(例如以10為係數之對數)為該分子非特異性結合於另一種抗原時之K_A的對數的至少2、2.5、3、4或大於4倍。

【0111】在另一個具體實施例中，特異性結合於抗原之分子在類似結合條件下不與其他蛋白質交叉反應。在另一個具體實施例中，特異性結合於TIGIT之分子不與其他非TIGIT蛋白質交叉反應。在一個具體實施例中，本文提供一種抗體，其與TIGIT (例如人類TIGIT)結合之親和力比與另一種無關抗原結合之親和力更高。在某些實施例中，本文提供一種抗體，如藉由例如放射免疫分析、表面電漿子共振或動力學排除分析所量測，該抗體與TIGIT

(例如人類TIGIT)結合之親和力比與另一種無關抗原結合之親和力高20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或高於95%。在一個具體實施例中，如藉由例如放射免疫分析所量測，本文所述之抗TIGIT抗體與無關非TIGIT蛋白質結合之程度為該抗體與TIGIT蛋白質結合之程度的小於10%、15%或20%。

【0112】如本文所用，「抗原決定基」為此項技術中之術語且係指抗原中抗體可特異性結合之局部區。抗原決定基可為例如多肽之相鄰胺基酸(線性或相鄰抗原決定基)，或抗原決定基可例如由一或多個多肽之兩個或更多個非相鄰區聚集在一起得到(構形、非線性、不連續或非相鄰抗原決定基)。在某些實施例中，抗體結合之抗原決定基可藉由例如以下來加以確定：NMR光譜法、X射線繞射晶體學研究、ELISA分析、氫/氘交換與質譜(例如液相層析電噴霧質譜)聯合、基於陣列之寡肽掃描分析(例如使用CLIPS (肽與骨架之化學鍵)約束肽以定位不連續或構形抗原決定基)及/或突變誘發定位(例如定點突變誘發定位)。對於X射線晶體學，結晶可使用此項技術中已知之任何方法來實現(例如Giegé R等人, (1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(第4部分): 339-350；McPherson A (1990) Eur J Biochem 189: 1-23；Chayen NE (1997) Structure 5: 1269-1274；McPherson A (1976) J Biol Chem 251: 6300-6303，該等文獻中之每一者均以全文引用之方

式併入本文中)。抗體:抗原晶體可使用熟知X射線繞射技術來加以研究，且可使用電腦軟體來加以優化，諸如X-PLOR (耶魯大學(Yale University), 1992, 由Molecular Simulations, Inc.分銷；參見例如Meth Enzymol (1985) 第114 & 115卷, Wyckoff HW等人編；U.S. 2004/0014194)及BUSTER (Bricogne G (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(第1部分): 37-60；Bricogne G (1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, Carter CW編；Roversi P等人, (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56(第10部分): 1316-1323)，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中。突變誘發定位研究可使用熟習此項技術者已知之任何方法來實現。關於突變誘發技術之描述，包括丙胺酸掃描突變誘發技術，參見例如Champe M等人, (1995) J Biol Chem 270: 1388-1394及Cunningham BC & Wells JA (1989) Science 244: 1081-1085，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中。CLIPS (肽與骨架之化學鍵)為以結構上受約束之組態呈遞一或多個肽以表現為複雜蛋白結構域之功能模擬物的技術。參見例如美國公開案第US 2008/0139407 A1號及第US 2007/099240 A1號以及美國專利第7,972,993號，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中。在一個具體實施例中，抗體之抗原決定基使用丙胺酸掃描突變誘發研究來加以確定。在一個具體實施例中，抗體之抗原決定基使用氫/氘交換與質譜聯合來加以確定。在一個具體實施例中，抗體之抗原決定基使

用來自Pepscan Therapeutics之CLIPS抗原決定基定位技術來加以確定。在一個具體實施例中，抗體之抗原決定基藉由蛋白質突變誘發來加以確定，例如藉由產生抗原中直系同源物之部分來自另一種物種的抗原交換突變體，且隨後測試該交換突變體中抗體結合之損失(例如，如本文所述，藉由基於FACS之細胞結合分析)來加以確定。

【0113】如本文所用，術語「位於」人類TIGIT之區「內的抗原決定基」係指包含指定區中之一或多個胺基酸殘基的抗原決定基。在某些實施例中，抗原決定基包含位於指定區內之每一個胺基酸殘基。在某些實施例中，抗原決定基由位於指定區內之每一個胺基酸殘基組成。在某些實施例中，人類TIGIT中處於指定區外之一或多個額外胺基酸殘基與位於該指定區內之抗原決定基一起結合於抗體。

【0114】如本文所用，例如在給定實驗中或使用來自多個實驗之平均值，如藉由例如本文所揭示之結合分析所評定，若測試抗體與第一抗原之間的結合相對於測試抗體與第二抗原之間的結合降低至少30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%，則測試抗體與第一抗原之間的結合相對於測試抗體與第二抗原之間的結合「實質上被削弱」。

【0115】如本文所用，術語「T細胞受體」及「TCR」可互換地使用且係指全長異二聚αβ或γδ TCR、全長TCR之抗原結合片段及包含TCR CDR或可變區之分子。TCR之實例包括(但不限於)全長TCR、全長TCR之抗原結

合片段、不具有跨膜及細胞質區之可溶性TCR、含有由柔性連接子附接之TCR可變區的單鏈TCR、藉由經工程改造之二硫鍵連接的TCR鏈、單特異性TCR、多特異性TCR(包括雙特異性TCR)、TCR融合體、人類TCR、人類化TCR、嵌合TCR、以重組方式產生之TCR及合成TCR。術語涵蓋野生型TCR及經基因工程改造之TCR(例如，包含嵌合TCR鏈之嵌合TCR，該嵌合TCR鏈包括來自第一物種之TCR的第一部分及來自第二物種之TCR的第二部分)。

【0116】如本文所用，術語「主要組織相容性複合體」及「MHC」可互換地使用且係指MHC I類分子及/或MHC II類分子。

【0117】如本文所用，術語「肽-MHC複合物」係指在MHC之此項技術中公認之肽結合袋中結合有肽的MHC分子(MHC I類或MHC II類)。

【0118】如本文所用，術語「治療(treat/treating/treatment)」係指本文所述之治療或預防性措施。「治療」方法採用向患有疾病或病症或傾向於患有此類疾病或病症之受試者投與抗體以便預防、治癒、延遲疾病或病症或復發性疾病或病症、減輕其嚴重程度或改善其一或多種症狀，或以便使受試者之存活期延長超出在無此類治療存在下預期之存活期。

【0119】如本文所用，在向受試者投與療法之情形下，術語「有效量」係指達成所要預防或治療作用的療法之量。

【0120】如本文所用，術語「受試者」包括任何人類或非人類動物。在一個實施例中，受試者為人類或非人類哺乳動物。在一個實施例中，受試者為人類。

【0121】確定兩個序列(例如胺基酸序列或核酸序列)之間的「一致性百分比」可使用數學演算法來實現。用於比較兩個序列之數學演算法的一個具體非限制性實例為Karlin S & Altschul SF (1990) PNAS 87: 2264-2268之演算法，如在Karlin S & Altschul SF (1993) PNAS 90: 5873-5877中所修改，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中。將此類演算法併入至Altschul SF等人, (1990) J Mol Biol 215: 403之NBLAST及XBLAST程式中，該文獻以全文引用之方式併入本文中。可用NBLAST核苷酸程式參數設定(例如對於評分=100，字長=12)進行BLAST核苷酸檢索，以獲得與本文所述之核酸分子同源的核苷酸序列。可用XBLAST程式參數設定(例如對於評分50，字長=3)進行BLAST蛋白質檢索，以獲得與本文所述之蛋白質分子同源的胺基酸序列。為了出於比較目的獲得間隙比對，可如Altschul SF等人, (1997) Nuc Acids Res 25: 3389-3402中所述利用間隙式BLAST (Gapped BLAST)，該文獻以全文引用之方式併入本文中。或者，PSI BLAST可用於進行迭代檢索，其偵測分子間之遠距離關係(*Id.*)。當利用BLAST、間隙式BLAST及PSI Blast程式時，可使用相應程式(例如XBLAST及NBLAST)之默認參數(參見例如，全球資訊網上之國家生物技術資訊中心

(NCBI)，ncbi.nlm.nih.gov)。用於比較序列之數學演算法的另一個具體非限制性實例為Myers及Miller, 1988, CABIOS 4:11-17之演算法，該文獻以全文引用之方式併入本文中。將此類演算法併入於ALIGN程式(2.0版)中，該ALIGN程式為GCG序列比對軟體套件之一部分。當利用ALIGN程式來比較胺基酸序列時，可使用PAM120權重殘基表、空隙長度罰分12及空隙罰分4。

【0122】兩個序列之間的一致性百分比可在允許有空隙或不允許有空隙的情況下，使用與上文所述類似的技術來確定。在計算一致性百分比時，通常僅對精確匹配進行計數。

1.2 抗TIGIT抗體

【0123】在一個態樣中，本揭示案提供特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且拮抗TIGIT功能之抗體。例示性抗體之胺基酸序列闡述於本文表1中。

表1. 例示性抗TIGIT抗體之胺基酸序列.

描述	胺基酸序列	SEQ ID NO:
BA002 Kabat CDRH1	SYGIS	1
BA002 替代性CDRH1	GYTFASY	2
BA002 Kabat CDRH2	GITPFFNRVDVAEKFQG	3
BA002 替代性CDRH2	TPFFNR	4
BA002 Kabat CDRH3	DLRRGGVGDAFDI	5
BA002 Kabat CDRL1	TGTSSDVGSHNYVS	6
BA002 Kabat CDRL2	EVSYRPS	7
BA002 Kabat CDRL3	SSYTPSSATV	8
BA002 VH	XVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFASYGIS WVRQAPGQGLEWMGGITPFFNRVDVAEKFQGRVTI TADTSTNTVYIELSSLTSEDTAVYYCARDLRRGGVG DAFDIWGRGTLVTVSS，其中X為麩胺酸(E)或焦麩胺	9

描述	胺基酸序列	SEQ ID NO:
	酸(pE)	
BA002 VL	XSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGSHNYVS WYQQHPGKAPQLMIYEVSYRPSEISNRFSGSKSGNT ASLTISGLQPEDEADYYCSSYTPSSATVFGAGTKLTV L，其中 X 為麩醯胺酸(Q)或焦麩胺酸(pE)	10
BA002 全長重鏈 (IgG1)	XVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFASYGIS WVRQAPGQGLEWMGGITPFFNRVDVAEKFQGRVTI TADTSTNTVYIELSSLTSEDTAVYYCARDLRRGGVG DAFDIWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG，其中 X 為麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)	11
BA003 全長重鏈 (BA002 之 N297A 變異體，根據 EU 編號系統編號)	XVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFASYGIS WVRQAPGQGLEWMGGITPFFNRVDVAEKFQGRVTI TADTSTNTVYIELSSLTSEDTAVYYCARDLRRGGVG DAFDIWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG，其中 X 為麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)	12
BA004 全長重鏈 (BA002 之 L234F/L235F/N297A 變異體，根據 EU 編號系統編號)	XVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFASYGIS WVRQAPGQGLEWMGGITPFFNRVDVAEKFQGRVTI TADTSTNTVYIELSSLTSEDTAVYYCARDLRRGGVG DAFDIWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFFGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG，其中 X 為麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)	13
BA005 全長重鏈	XVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFASYGIS WVRQAPGQGLEWMGGITPFFNRVDVAEKFQGRVTI	14

描述	胺基酸序列	SEQ ID NO:
(BA002 之 S239D/I332E 變異體，根據 EU 編號系統編號)	TADTSTNTVYIELSSLTSEDTAVYYCARDLRRGGVG DAFDIWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG，其中 X 為麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)	
BA006 全長重鏈 (BA002 之 S239D/A330L/I332E 變異體，根據 EU 編號系統編號)	XVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFASYGIS WVRQAPGQGLEWMGGITPFFNRVDVAEKFQGRVTI TADTSTNTVYIELSSLTSEDTAVYYCARDLRRGGVG DAFDIWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG，其中 X 為麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)	15
BA007 全長重鏈 (BA002 之 L235V/F243L/ R292P/Y300L/P396L 變異體，根據 EU 編號系統編號)	XVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFASYGIS WVRQAPGQGLEWMGGITPFFNRVDVAEKFQGRVTI TADTSTNTVYIELSSLTSEDTAVYYCARDLRRGGVG DAFDIWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELVGGPSVFLLPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPPEEQYNSTLRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPLVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG，其中 X 為麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)	16
BA008 全長重鏈 (BA002 之 S267E/L328F 變異體，根據 EU 編號系統編號)	XVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFASYGIS WVRQAPGQGLEWMGGITPFFNRVDVAEKFQGRVTI TADTSTNTVYIELSSLTSEDTAVYYCARDLRRGGVG DAFDIWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG	17

描述	胺基酸序列	SEQ ID NO:
	KEYKCKVSNKAFPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG，其中 X 為麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)	
BA009 全長重鏈(BA002 之 IgG4 S228P 變異體，根據 EU 編號系統編號)	XVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFASYGIS WVRQAPGQGLEWMGGITPFFNRVDVAEKFQGRVTI TADTSTNTVYIELSSLTSEDTAVYYCARDLRRGGVG DAFDIWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLG，其中 X 為麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)	18
BA002 重鏈恆定區	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG	19
BA003 重鏈恆定區	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG	20
BA004 重鏈恆定區	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPEFFGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYAS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	21

描述	胺基酸序列	SEQ ID NO:
BA005 重鏈恆定區	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPE EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG	22
BA006 重鏈恆定區	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPE EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG	23
BA007 重鏈恆定區	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELVGGPSVFLLPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPPEEQYN STLRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPLVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG	24
BA008 重鏈恆定區	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG	25
BA009 重鏈恆定區	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPC PAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SLG	26

描述	胺基酸序列	SEQ ID NO:
BA002 全長輕鏈	XSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGSHNYVS WYQQHPGKAPQLMIYEVSYRPSEISNRFSGSKSGNT ASLTISGLQPEDEADYYCSSYTPSSATVFGAGTKLTV LGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPG AVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSY LSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS，其中 X 為麩醯胺酸(Q)或焦麩胺酸(pE)	27
BA002 輕鏈恆定區	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYL SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	28

表 2. 與例示性抗 TIGIT 抗體之最接近之生殖系基因.

最接近之生殖系基因	胺基酸序列	SEQ ID NO:
IGHV1-69*01 重鏈可變區	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR	34
IGHV1-69*06 重鏈可變區	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR	35
IGLV2-14*01 輕鏈可變區	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQ HPGKAPKLMIYEVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQ AEDEADYYCSSYTSSSTL	37
IGLV2-14*02 輕鏈可變區	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLVSWYQQH PGKAPKLMIYEGSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCSSYTSSSTL	60
IGLV2-23*02 輕鏈可變區	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLVSWYQQH PGKAPKLMIYEVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCCSYAGSSTF	38
IGLV2-11*01 輕鏈可變區	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQ HPGKAPKLMIYDVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQ AEDEADYYCCSYAGSYTF	39

表 3. TIGIT 之例示性序列.

描述	胺基酸序列	SEQ ID NO:
例示性未成熟 TIGIT 全長序列	MRWCLLLIWAQGLRQAPLASGMMTGTIETTGNISAEK GGSIILQCHLSSTTAQVTQVNWEQQDQLLAICNADLG WHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQSLTVNDTGEYFCIYHT YPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHGARFQIPLLGAMAATL VVICTAVIVVVALTRKKKALRIHSVEGDLRRKSAGQEE WSPSAPSPPGSCVQAEAAPAGLCGEQRGEDCAELHDY FNVLSYRSLGNCSFFTETG	29
例示性 TIGIT 細胞外結構域序列(抗原決定基序列以粗體指示)	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQ**VTQV**NW EQQDQLLA**ICNADLGWHISPSF**KDRVAPGPGLGLTLQ SLTVNDTGEYFCI**YHTYPDGTYTGRIFLE**VLESSVAEH GARF	30
TIGIT 抗原決定基	YHTYPDGTYTGRIFLE	31

描述	胺基酸序列	SEQ ID NO:
序列 #1（成熟 TIGIT 序列之殘基 89-104)		
TIGIT 抗原決定基序列 #2（成熟 TIGIT 序列之殘基 33-36)	VTQV	32
TIGIT 抗原決定基序列 #3（成熟 TIGIT 序列之殘基 47-60)	ICNADLGWHISPSF	33
例示性成熟 TIGIT 全長序列	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQIPLLGAMAATLVVICTAVIVVVALTRKKKALRIH SVEGDLRRKSAGQEEWSPSAPSPPGSCVQAEAAPAGLC GEQRGEDCAELHDYFNVLSYRSLGNCSFFTETG	40
例示性 TIGIT 細胞外結構域序列	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQIP	41
例示性 TIGIT 細胞外結構域序列	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	42
例示性 TIGIT 細胞外結構域 T34A	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQV**A**QVNW EQQDQLLAICNADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	43
例示性 TIGIT 細胞外結構域 Q35A	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVT**A**VNW EQQDQLLAICNADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	44
例示性 TIGIT 細胞外結構域 I47E	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLA**E**CNADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQ SLTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	45
例示性 TIGIT 細胞外結構域 N49A	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAIC**A**ADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	46
例示性 TIGIT 細胞外結構域 L52A	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNAD**A**GWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	47
例示性 TIGIT 細胞外結構域 L52E	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNAD**E**GWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG	48

描述	胺基酸序列	SEQ ID NO:
	ARFQ	
例示性 TIGIT 細胞外結構域 H55A	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNADLGW**A**ISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	49
例示性 TIGIT 細胞外結構域 P58A	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNADLGWHIS**A**SFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	50
例示性 TIGIT 細胞外結構域 H90A	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIY**A**TYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	51
例示性 TIGIT 細胞外結構域 T96A	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDG**A**YTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	52
例示性 TIGIT 細胞外結構域 T96I	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDG**I**YTGRIFLEVLESSVAEHGA RFQ	53
例示性 TIGIT 細胞外結構域 T98A	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTY**A**GRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	54
例示性 TIGIT 細胞外結構域 R100A	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTG**A**IFLEVLESSVAEHG ARFQ	55
例示性 TIGIT 細胞外結構域 F102A	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRI**A**LEVLESSVAEHG ARFQ	56
例示性 TIGIT 細胞外結構域 C48Y、N49S、A50V	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAI**YSV**DLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	57
例示性 TIGIT 細胞外結構域 N49S	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAIC**S**ADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	36
例示性 TIGIT 細胞外結構域 I56V、S57A、P58S、S59V	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNADLGWH**VASV**FKDRVAPGPGLGLTLQ SLTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	58
例示性 TIGIT 細胞外結構域 T96I、T98K	MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNW EQQDQLLAICNADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQS LTVNDTGEYFCIYHTYPDG**I**Y**K**GRIFLEVLESSVAEHG ARFQ	59

【0124】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有包含本文表1中所示之VH結構域之CDR中之一者、兩者或全部三者的VH結構域。在某些實施例中，抗體包含表1中所示之VH結構域的CDRH1。在某些實施例中，抗體包含表1中所示之VH結構域的CDRH2。在某些實施例中，抗體包含表1中所示之VH結構域的CDRH3。

【0125】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有包含本文表1中所揭示之VL結構域之CDR中之一者、兩者或全部三者的VL結構域。在某些實施例中，抗體包含表1中所示之VL結構域的CDRL1。在某些實施例中，抗體包含表1中所示之VL結構域的CDRL2。在某些實施例中，抗體包含表1中所示之VL結構域的CDRL3。

【0126】在某些實施例中，抗體之CDR可根據Kabat等人, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977)及Kabat等人, Sequences of protein of immunological interest (1991)來加以確定，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中。在某些實施例中，抗體之輕鏈CDR根據Kabat來加以確定，而抗體之重鏈CDR根據MacCallum (同前文獻)來加以確定。在某些實施例中，重鏈CDR及/或輕鏈CDR係藉由對抗體進行結構分析且鑑別經預測與靶分子(例如人類

及/或食蟹獼猴TIGIT)之抗原決定基區接觸的可變區中的殘基來定義。

【0127】在某些實施例中，抗體之CDR可根據Chothia編號方案來加以確定，其係指對免疫球蛋白結構環進行定位(參見例如Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917；Al-Lazikani B等人, (1997) J Mol Biol 273: 927-948；Chothia C等人, (1992) J Mol Biol 227: 799-817；Tramontano A等人, (1990) J Mol Biol 215(1): 175-82；及美國專利第7,709,226號，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中)。通常，當使用Kabat編號規約時，Chothia CDRH1環存在於重鏈胺基酸26至32、33或34處，Chothia CDRH2環存在於重鏈胺基酸52至56處，且Chothia CDRH3環存在於重鏈胺基酸95至102處，而Chothia CDRL1環存在於輕鏈胺基酸24至34處，Chothia CDRL2環存在於輕鏈胺基酸50至56處，且Chothia CDRL3環存在於輕鏈胺基酸89至97處。當使用Kabat編號規約加以編號時，視環的長度而定，Chothia CDRH1環末端在H32與H34之間變化(此係因為Kabat編號方案將插入置於H35A及H35B；若既不存在35A，亦不存在35B，則環末端位於32；若僅存在35A，則環末端位於33；若35A及35B兩者均存在，則環末端位於34)。

【0128】在某些實施例中，抗體之CDR可根據MacCallum RM等人, (1996) J Mol Biol 262: 732-745來加以確定，該文獻以全文引用之方式併入本文中。另外，參

見例如Martin A.「Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains」，*Antibody Engineering*，Kontermann及Dübel編，第31章，第422-439頁，Springer-Verlag, Berlin (2001)，該文獻以全文引用之方式併入本文中。

【0129】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含本文表1中所揭示之VH的Chothia VH CDR。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含本文表1中所揭示之VL的Chothia VL CDR。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含本文表1中所揭示之抗體的Chothia VH CDR及Chothia VL CDR。在某些實施例中，特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體包含一或多個CDR，其中Chothia及Kabat CDR具有相同胺基酸序列。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且包含Kabat CDR與Chothia CDR之組合的經分離之抗體。

【0130】在某些實施例中，抗體之CDR可根據如Lefranc M-P, (1999) The Immunologist 7: 132-136及Lefranc M-P等人, (1999) Nucleic Acids Res 27: 209-212中所述之IMGT編號系統來加以確定，該等文獻中之每一者

均以全文引用之方式併入本文中。根據IMGT編號方案，CDRH1處於位置26至35處，CDRH2處於位置51至57處，CDRH3處於位置93至102處，CDRL1處於位置27至32處，CDRL2處於位置50至52處，且CDRL3處於位置89至97處。

【0131】在某些實施例中，本揭示案提供特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且包含本文表1中所揭示之抗體之CDR的抗體，如藉由例如如Lefranc M-P (1999)同前文獻及Lefranc M-P等人, (1999)同前文獻中所述之IMGT編號系統所確定。

【0132】在某些實施例中，抗體之CDR可根據AbM編號方案來加以確定，其係指AbM高變區，該等AbM高變區表示在Kabat CDR與Chothia結構環之間的折衷，且由Oxford Molecular's AbM抗體模型化軟體(Oxford Molecular Group, Inc.)使用，其以全文引用之方式併入本文中。在一個特定實施例中，本揭示案提供特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且包含本文表1中所揭示之抗體之CDR的抗體，如藉由AbM編號方案所確定。

【0133】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其中該抗體包含有包含SEQ ID NO: 9中所示之VH結構域之CDRH1、CDRH2及CDRH3區胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 10中所示之VL結構域之CDRL1、CDRL2及CDRL3區胺基酸序列的輕鏈可變區，其中各CDR根據CDR之MacCallum定義、Kabat定義、Chothia

定義、IMGT編號系統、AbM定義、結構分析或其組合來加以定義，其中該結構分析鑑別經預測與TIGIT (例如人類TIGIT及/或食蟹獼猴TIGIT)之抗原決定基區接觸的可變區中的殘基。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且包含由Kabat定義所定義之CDR及由抗體結構分析所定義之CDR的組合的經分離之抗體，其中該結構分析鑑別經預測與TIGIT (例如人類TIGIT及/或食蟹獼猴TIGIT)之抗原決定基區接觸的可變區中的殘基。

【0134】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含：

(a) CDRH1包含SYGIS (SEQ ID NO: 1)或GYTFASY (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；

(b) CDRH2包含GITPFFNRVDVAEKFQG (SEQ ID NO: 3)或TPFFNR (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；

(c) CDRH3包含DLRRGGVGDAFDI (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；

(d) CDRL1包含TGTSSDVGSHNYVS (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列；

(e) CDRL2包含EVSYRPS (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；及/或

(f) CDRL3包含SSYTPSSATV (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列。

【0135】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含：

(a) CDRH1包含SYGIS (SEQ ID NO: 1)或GYTFASY (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；

(b) CDRH2包含GITPFFNRVDVAEKFQG (SEQ ID NO: 3)或TPFFNR (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列；

(c) CDRH3包含DLRRGGVGDAFDI (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；

(d) CDRL1包含TGTSSDVGSHNYVS (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列；

(e) CDRL2包含EVSYRPS (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；及

(f) CDRL3包含SSYTPSSATV (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列。

【0136】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其中該抗體包含有包含SEQ ID NO: 1、3及5中分別所示之CDRH1、CDRH2及CDRH3胺基酸序列的VH結構域。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其中該抗體包含有包含SEQ ID NO: 2、4及5中分別所示之CDRH1、CDRH2及CDRH3胺基酸序列的VH結構域。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT

(例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其中該抗體包含有包含SEQ ID NO: 6、7及8中分別所示之CDRL1、CDRL2及CDRL3胺基酸序列的VL結構域。

【0137】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其中該抗體包含有包含CDRH1、CDRH2及CDRH3區之重鏈可變區及包含CDRL1、CDRL2及CDRL3區之輕鏈可變區，其中該等CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3區包含SEQ ID NO: 1、3、5、6、7及8中分別所示之胺基酸序列。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其中該抗體包含有包含CDRH1、CDRH2及CDRH3區之重鏈可變區及包含CDRL1、CDRL2及CDRL3區之輕鏈可變區，其中該等CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3區包含SEQ ID NO: 2、4、5、6、7及8中分別所示之胺基酸序列。

【0138】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其包含有包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其包含有包含與SEQ ID NO: 9中所示之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%或100% (例如至少86%、

87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)一致的胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其包含有包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其包含有包含與SEQ ID NO: 10中所示之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%或100% (例如至少86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)一致的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0139】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其包含有包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其包含有包含與SEQ ID NO: 9中所示之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%或100% (例如至少86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)一致的胺基酸序列的重鏈可變區及包含與SEQ ID NO: 10中所示之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%或100% (例如至少86%、87%、

88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)一致的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0140】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其包含胺基酸序列來源於人類IGHV1-69生殖系序列之重鏈可變區。在某些實施例中，人類IGHV1-69生殖系序列係選自由以下組成之群：人類IGHV1-69*01生殖系序列(例如具有SEQ ID NO: 34之胺基酸序列)、人類IGHV1-69*06生殖系序列(例如具有SEQ ID NO: 35之胺基酸序列)及人類IGHV1-69*12生殖系序列。選自構架1、構架2、構架3、CDRH1及CDRH2之一或多個區(例如此等區中之兩者、三者、四者或五者)可來源於人類IGHV1-69生殖系序列。在一個實施例中，構架1、構架2、構架3、CDRH1及CDRH2全部來源於人類IGHV1-69生殖系序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含有包含SEQ ID NO: 5中所示之胺基酸序列的CDRH3。

【0141】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其包含胺基酸序列來源於選自由以下組成之群之人類生殖系序列的輕鏈可變區：IGLV2-14 (例如IGLV2-14*01，例如具有SEQ ID NO: 37之胺基酸序列，或IGLV2-14*02，例如具有SEQ ID NO: 60之胺基酸序列)、IGLV2-23 (例如IGLV2-23*02，例如具有SEQ ID NO: 38之胺基酸序列)及IGLV2-11 (例如IGLV2-11*01，例如具有SEQ ID

NO: 39之胺基酸序列)。選自構架1、構架2、構架3、CDRL1及CDRL2之一或多個區(例如此等區中之兩者、三者、四者或五者)可來源於選自由以下組成之群的人類生殖系序列：IGLV2-14 (例如IGLV2-14*01，例如具有SEQ ID NO: 37之胺基酸序列，或IGLV2-14*02，例如具有SEQ ID NO: 60之胺基酸序列)、IGLV2-23 (例如IGLV2-23*02，例如具有SEQ ID NO: 38之胺基酸序列)及IGLV2-11 (例如IGLV2-11*01，例如具有SEQ ID NO: 39之胺基酸序列)。在一個實施例中，構架1、構架2、構架3、CDRL1及CDRL2全部來源於選自由以下組成之群的人類生殖系序列：IGLV2-14 (例如IGLV2-14*01，例如具有SEQ ID NO: 37之胺基酸序列，或IGLV2-14*02，例如具有SEQ ID NO: 60之胺基酸序列)、IGLV2-23 (例如IGLV2-23*02，例如具有SEQ ID NO: 38之胺基酸序列)及IGLV2-11 (例如IGLV2-11*01，例如具有SEQ ID NO: 39之胺基酸序列)。在某些實施例中，輕鏈可變區包含有包含SEQ ID NO: 8中所示之胺基酸序列的CDRL3。

【0142】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其包含胺基酸序列來源於人類IGHV1-69生殖系序列(例如人類IGHV1-69*01生殖系序列(例如具有SEQ ID NO: 34之胺基酸序列)、人類IGHV1-69*06生殖系序列(例如具有SEQ ID NO: 35之胺基酸序列)或人類IGHV1-69*12生殖系序列)的重鏈可變區；及胺基酸序列來源於選自由

以下組成之群之人類生殖系序列的輕鏈可變區：IGLV2-14(例如IGLV2-14*01，例如具有SEQ ID NO: 37之胺基酸序列，或IGLV2-14*02，例如具有SEQ ID NO: 60之胺基酸序列)、IGLV2-23 (例如IGLV2-23*02，例如具有SEQ ID NO: 38之胺基酸序列)及IGLV2-11 (例如IGLV2-11*01，例如具有SEQ ID NO: 39之胺基酸序列)。在某些實施例中，重鏈可變區包含有包含SEQ ID NO: 5中所示之胺基酸序列的CDRH3，且輕鏈可變區包含有包含SEQ ID NO: 8中所示之胺基酸序列的CDRL3。

【0143】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，該抗體包含有包含與SEQ ID NO: 34或35之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸區的重鏈可變區。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於人類TIGIT之經分離之抗體，該抗體包含有包含與SEQ ID NO: 37-39及60中任一者之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸區的輕鏈可變區。

【0144】在某些實施例中，本揭示案提供一種經分離之抗體，其與包含SEQ ID NO: 9及10中分別所示之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列的抗體交叉競爭結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)。

【0145】在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體或經分離之抗體，其與本發明抗體結合於、例如特異性結合於

人類TIGIT之相同抗原決定基。在某些實施例中，抗原決定基藉由例如實例中所述之氫-氘交換(HDX)，或藉由例如實例中所述之蛋白質突變誘發來加以確定。

【0146】在某些實施例中，本揭示案提供一種經分離之抗體，其與本文所述之抗體，例如包含SEQ ID NO: 9及10中分別所示之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列的抗體結合於TIGIT之相同或重疊抗原決定基(例如人類TIGIT之抗原決定基或食蟹獼猴TIGIT之抗原決定基)。在某些實施例中，抗體之抗原決定基可藉由例如以下來加以確定：NMR光譜法、表面電漿子共振(BIAcore®)、X射線繞射晶體學研究、ELISA分析、氫/氘交換與質譜(例如液相層析電噴霧質譜)聯合、基於陣列之寡肽掃描分析及/或突變誘發定位(例如定點突變誘發定位)。對於X射線晶體學，結晶可使用此項技術中已知之任何方法來實現(例如Giegé R等人, (1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(第4部分): 339-350；McPherson A (1990) Eur J Biochem 189: 1-23；Chayen NE (1997) Structure 5: 1269-1274；McPherson A (1976) J Biol Chem 251: 6300-6303，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中)。抗體:抗原晶體可使用熟知X射線繞射技術來加以研究，且可使用電腦軟體來加以優化，諸如X-PLOR（耶魯大學(Yale University), 1992, 由Molecular Simulations, Inc.分銷；參見例如Meth Enzymol (1985) 第114 & 115卷, Wyckoff HW等人編；美國專利申請案第2004/0014194號)及BUSTER (Bricogne G (1993)

Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(第1部分): 37-60；Bricogne G (1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, Carter CW編；Roversi P等人, (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56(第10部分): 1316-1323，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中)。突變誘發定位研究可使用熟習此項技術者已知之任何方法來實現。關於突變誘發技術之描述，包括丙胺酸掃描突變誘發技術，參見例如Champe M等人, (1995)同前文獻及Cunningham BC & Wells JA (1989)同前文獻。在一個具體實施例中，抗體之抗原決定基使用丙胺酸掃描突變誘發研究來加以確定。另外，識別且結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之相同或重疊抗原決定基的抗體可使用例行技術來加以鑑別，諸如免疫分析，例如藉由展示一種抗體阻斷另一種抗體與靶抗原之結合的能力，亦即競爭性結合分析。競爭結合分析亦可用於確定兩種抗體是否具有對一種抗原決定基之類似結合特異性。競爭性結合可在其中受測試免疫球蛋白抑制參考抗體與共同抗原(諸如TIGIT，例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之特異性結合的分析中加以確定。已知許多類型之競爭性結合分析，例如：固相直接或間接放射免疫分析(RIA)、固相直接或間接酶免疫分析(EIA)、夾心競爭分析(參見Stahli C等人, (1983) Methods Enzymol 9: 242-253)；固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA (參見Kirkland TN等人, (1986) J Immunol 137: 3614-9)；固相直接標記分析、固相直接標記夾心分析(參見Harlow E & Lane D,

(1988) Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press)；使用I-125標記之固相直接標記RIA (參見Morel GA等人, (1988) Mol Immunol 25(1): 7-15)；固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA (參見Cheung RC等人, (1990) Virology 176: 546-52)；及直接標記RIA (參見Moldenhauer G等人, (1990) Scand J Immunol 32: 77-82)，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。通常，此類分析涉及使用結合於固體表面的經純化之抗原(例如TIGIT，諸如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)或攜有此等抗原中之任一者的細胞、未經標記之測試免疫球蛋白及經標記之參考免疫球蛋白。可藉由測定在測試免疫球蛋白存在下結合於固體表面或細胞之標記的量來量測競爭性抑制。測試免疫球蛋白通常過量存在。通常，當競爭抗體過量存在時，其將使參考抗體與共同抗原之特異性結合抑制至少50%-55%、55%-60%、60%-65%、65%-70%、70%-75%或超過75%。競爭結合分析可使用經標記之抗原或經標記之抗體以大量不同形式組態。在此分析之常見型式中，將抗原固定化在96孔培養盤上。隨後使用放射性標記或酶標記來量測未經標記之抗體阻斷經標記之抗體與抗原之結合的能力。其他細節參見例如Wagener C等人, (1983) J Immunol 130: 2308-2315；Wagener C等人, (1984) J Immunol Methods 68: 269-274；Kuroki M等人, (1990) Cancer Res 50: 4872-4879；Kuroki M等人, (1992) Immunol Invest 21: 523-538；Kuroki M等人, (1992) Hybridoma 11: 391-407及

Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow E & Lane D編同前文獻，第386-389頁，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0147】在某些實施例中，本揭示案提供一種經分離之抗體，其結合於位於包含SEQ ID NO: 31、32或33中所示之胺基酸序列之人類TIGIT區內的抗原決定基。在某些實施例中，經分離之抗體結合於位於基本上由SEQ ID NO: 31、32或33中所示之胺基酸序列組成之人類TIGIT區內的抗原決定基。在某些實施例中，經分離之抗體結合於位於人類TIGIT區內之抗原決定基，該區之胺基酸序列由SEQ ID NO: 31、32或33中所示之胺基酸序列組成。在某些實施例中，經分離之抗體結合於位於包含複數個胺基酸序列之人類TIGIT區內的不連續抗原決定基，該複數個胺基酸序列中之每一者由SEQ ID NO: 31、32或33 (例如SEQ ID NO: 31及32、SEQ ID NO: 31及33、SEQ ID NO: 32及33或SEQ ID NO: 31、32及33)中所示之胺基酸序列組成、基本上由該胺基酸序列組成或包含該胺基酸序列。

【0148】在某些實施例中，經分離之抗體結合於位於包含SEQ ID NO: 31中所示之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成之人類TIGIT區內的抗原決定基。在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體，如藉由氫/氘交換分析所確定，當結合於人類TIGIT蛋白質或其片段時，該抗體使在由SEQ ID NO: 31中所示之胺基酸序列組成之區中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下在

由SEQ ID NO: 31中所示之胺基酸序列組成之區中的氫/氘交換減少。在某些實施例中，氫/氘交換之減少使用氫-氘交換(HDX)，例如如本文實例中所述來加以量測。

【0149】在某些實施例中，經分離之抗體結合於位於包含SEQ ID NO: 32中所示之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成之人類TIGIT區內的抗原決定基。在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體，如藉由氫/氘交換分析所確定，當結合於人類TIGIT蛋白質或其片段時，該抗體使在由SEQ ID NO: 32中所示之胺基酸序列組成之區中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下在由SEQ ID NO: 32中所示之胺基酸序列組成之區中的氫/氘交換減少。在某些實施例中，氫/氘交換之減少使用氫-氘交換(HDX)，例如如本文實例中所述來加以量測。

【0150】在某些實施例中，經分離之抗體結合於位於包含SEQ ID NO: 33中所示之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成之人類TIGIT區內的抗原決定基。在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體，如藉由氫/氘交換分析所確定，當結合於人類TIGIT蛋白質或其片段時，該抗體使在由SEQ ID NO: 33中所示之胺基酸序列組成之區中的氫/氘交換相對於在無該抗體存在下在由SEQ ID NO: 33中所示之胺基酸序列組成之區中的氫/氘交換減少。在某些實施例中，氫/氘交換之減少使用氫-氘交換(HDX)，例如如本文實例中所述來加以量測。

【0151】在某些實施例中，抗體結合於位於SEQ ID

NO: 31及32；31及33；或32及33之胺基酸序列內的構形抗原決定基。在某些實施例中，抗體結合於位於31、32及33之胺基酸序列內的構形抗原決定基。

【0152】在某些實施例中，抗體結合於包含選自由以下組成之群之一或多個胺基酸殘基的抗原決定基(例如構形抗原決定基)：根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的Q35、I47、N49、H90及T96。在某些實施例中，抗體結合於包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基Q35的抗原決定基(例如構形抗原決定基)。在某些實施例中，抗體結合於包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基I47的抗原決定基(例如構形抗原決定基)。在某些實施例中，抗體結合於包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基N49的抗原決定基(例如構形抗原決定基)。在某些實施例中，抗體結合於包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基H90的抗原決定基(例如構形抗原決定基)。在某些實施例中，抗體結合於包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基T96的抗原決定基(例如構形抗原決定基)。在某些實施例中，抗體結合於包含選自由以下組成之群之兩個或更多個、三個或更多個或四個或更多個胺基酸殘基的抗原決定基(例如構形抗原決定基)：根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的Q35、I47、N49、H90及T96。在某些實施例中，抗體結合於包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基Q35、I47、N49、H90及T96的抗原決定基

(例如構形抗原決定基)。

【0153】在某些實施例中，抗體結合於包含選自由以下組成之群之一或多個胺基酸殘基的抗原決定基(例如構形抗原決定基)：根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的Q35、I47及T96。在某些實施例中，抗體結合於包含選自由以下組成之群之兩個或更多個胺基酸殘基的抗原決定基(例如構形抗原決定基)：根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的Q35、I47及T96。在某些實施例中，抗體結合於包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基Q35、I47及T96的抗原決定基(例如構形抗原決定基)。

【0154】在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含選自由以下組成之群之胺基酸殘基中之至少一者：根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的T34、L52、H55、I56、S57、P58、S59、T98、R100及F102。在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基T34。在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基L52。在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基H55。在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基I56。在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含根

據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基S57。在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基P58。在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基S59。在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基T98。在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基R100。在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基F102。在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含選自由以下組成之群之至少兩個、至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個或至少九個胺基酸殘基：根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的T34、L52、H55、I56、S57、P58、S59、T98、R100及F102。在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基T34、L52、H55、I56、S57、P58、S59、T98、R100及F102中之任一者。

【0155】在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含選自由以下組成之群之胺基酸殘基中之至少一者：根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號

的L52、H55、I56、S57、P58、S59及F102。在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含選自由以下組成之群之至少兩個、至少三個、至少四個、至少五個或至少六個胺基酸殘基：根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的L52、H55、I56、S57、P58、S59及F102。在某些實施例中，抗體之抗原決定基不包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基L52、H55、I56、S57、P58、S59及F102中之任一者。

【0156】在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含選自由以下組成之群之胺基酸殘基中之至少一者：根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的L52、H55及F102。在某些實施例中，抗體之抗原決定基(例如構形抗原決定基)不包含選自由以下組成之群之胺基酸殘基中之至少兩者：根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的L52、H55及F102。在某些實施例中，抗體之抗原決定基不包含根據SEQ ID NO: 40之胺基酸序列編號的胺基酸殘基L52、H55及F102中之任一者。

【0157】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，其中該抗體實質上不結合於包含選自由以下組成之群之胺基酸突變的TIGIT蛋白質或其細胞外結構域：Q35A、I47E、N49A、L52E、H90A、T96A、T96I、C48Y/N49S/A50V及T96I/T98K。結合親和力可藉由此項技術中已知之任何方法(例如本文實例5中所揭示之方法)來

評定。在某些實施例中，抗體實質上不結合於包含Q35A突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域。在某些實施例中，抗體對包含Q35A突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力比抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。在某些實施例中，包含Q35A突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 44之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體實質上不結合於包含I47E突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含I47E突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力比抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。在某些實施例中，包含I47E突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 45之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體實質上不結合於包含N49A突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含N49A突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和

力比抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。在某些實施例中，包含N49A突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 46之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體實質上不結合於包含L52E突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含L52E突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力比抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。在某些實施例中，包含L52E突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 48之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體實質上不結合於包含H90A突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含H90A突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力比抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、

80%、85%或90%。在某些實施例中，包含H90A突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 51之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體實質上不結合於包含T96A突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含T96A突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力比抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。在某些實施例中，包含T96A突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 52之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體實質上不結合於包含T96I突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含T96I突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力比抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。在某些實施例中，包含T96I突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 53之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞

外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體實質上不結合於包含C48Y/N49S/A50V突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含C48Y/N49S/A50V突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力比抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。在某些實施例中，包含C48Y/N49S/A50V突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 57之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體實質上不結合於包含T96I/T98K突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含T96I/T98K突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力比抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力低至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。在某些實施例中，包含T96I/T98K突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 59之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，包含T96I/T98K突變之TIGIT蛋白質的胺基酸序

列由或基本上由SEQ ID NO: 59之胺基酸序列組成。

【0158】在某些實施例中，抗體特異性及/或實質上結合於包含選自由以下組成之群之胺基酸突變的TIGIT蛋白質：T34A、L52A、H55A、P58A、T98A、R100A、F102A及I56V/S57A/P58S/S59V。結合親和力可藉由此項技術中已知之任何方法(例如本文實例5中所揭示之方法)來評定。在某些實施例中，抗體特異性及/或實質上結合於包含T34A突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含T34A突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力大於或等於抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力的70%、75%、80%、85%、90%或95%。在某些實施例中，包含T34A突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 43之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體特異性及/或實質上結合於包含L52A突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含L52A突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力大於或等於抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力的70%、75%、80%、85%、90%或95%。在某些實施例中，包含L52A突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 47之胺基酸序列組成，

且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體特異性及/或實質上結合於包含H55A突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含H55A突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力大於或等於抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力的70%、75%、80%、85%、90%或95%。在某些實施例中，包含H55A突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 49之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體特異性及/或實質上結合於包含P58A突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含P58A突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力大於或等於抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力的70%、75%、80%、85%、90%或95%。在某些實施例中，包含P58A突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 50之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體特異性及/或實質上結合於包含T98A突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含T98A突變之TIGIT蛋白質或其

細胞外結構域的結合親和力大於或等於抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力的70%、75%、80%、85%、90%或95%。在某些實施例中，包含T98A突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 54之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體特異性及/或實質上結合於包含R100A突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含R100A突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力大於或等於抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力的70%、75%、80%、85%、90%或95%。在某些實施例中，包含R100A突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 55之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體特異性及/或實質上結合於包含F102A突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含F102A突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力大於或等於抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力的70%、75%、80%、85%、90%或95%。在某些實施例中，包含F102A突變之

TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 56之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。在某些實施例中，抗體特異性及/或實質上結合於包含I56V/S57A/P58S/S59V突變之TIGIT蛋白質。在某些實施例中，抗體對包含I56V/S57A/P58S/S59V突變之TIGIT蛋白質或其細胞外結構域的結合親和力大於或等於抗體對野生型TIGIT蛋白質(例如包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列)或其相應細胞外結構域的結合親和力的70%、75%、80%、85%、90%或95%。在某些實施例中，包含I56V/S57A/P58S/S59V突變之TIGIT蛋白質之細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 58之胺基酸序列組成，且野生型TIGIT蛋白質之相應細胞外結構域的胺基酸序列由或基本上由SEQ ID NO: 42之胺基酸序列組成。

【0159】在某些實施例中，抗體抑制人類TIGIT與人類PVR、PVRL2及/或PVRL3之結合。在某些實施例中，人類TIGIT與人類PVR在抗體存在下之結合相對於人類TIGIT與人類PVR在抗體不存在下之結合減少超過50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。在某些實施例中，人類TIGIT與人類PVRL2在抗體存在下之結合相對於人類TIGIT與人類PVRL2在抗體不存在下之結合減少超過50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、

97%、98%或99%。

【0160】在某些實施例中，抗體抑制人類TIGIT之可溶性片段結合於人類PVR、PVRL2及/或PVRL3之可溶性片段。在某些實施例中，人類TIGIT之可溶性片段與人類PVR之可溶性片段在抗體存在下之結合相對於人類TIGIT之可溶性片段與人類PVR之可溶性片段在抗體不存在下之結合減少超過50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。在某些實施例中，人類TIGIT之可溶性片段與人類PVRL2之可溶性片段在抗體存在下之結合相對於人類TIGIT之可溶性片段與人類PVRL2之可溶性片段在抗體不存在下之結合減少超過50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。

【0161】在某些實施例中，抗體抑制表現TIGIT之細胞結合於人類PVR、PVRL2及/或PVRL3之可溶性片段。在某些實施例中，表現TIGIT之細胞與人類PVR之可溶性片段在抗體存在下之結合相對於表現TIGIT之細胞與人類PVR之可溶性片段在抗體不存在下之結合減少超過50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。在某些實施例中，表現TIGIT之細胞與人類PVRL2之可溶性片段在抗體存在下之結合相對於表現TIGIT之細胞與人類PVRL2之可溶性片段在抗體不存在下之結合減少超過50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。

【0162】在某些實施例中，抗體抑制表現TIGIT之細胞結合於表現人類PVR、PVRL2及/或PVRL3之細胞。在某些實施例中，表現TIGIT之細胞與表現PVR之細胞在抗體存在下之結合相對於表現TIGIT之細胞與表現PVR之細胞在抗體不存在下之結合減少超過50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。在某些實施例中，表現TIGIT之細胞與表現PVRL2之細胞在抗體存在下之結合相對於表現TIGIT之細胞與表現PVRL2之細胞在抗體不存在下之結合減少超過50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。

【0163】在某些實施例中，抗體不特異性結合於CD226（例如人類CD226）。在某些實施例中，抗體對TIGIT之結合親和力比抗體對CD226之結合親和力強至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%，如藉由本文所述及/或熟習此項技術者已知的方法評定。在某些實施例中，抗體對TIGIT之結合親和力比抗體對CD226之結合親和力強至少1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍或更多，如藉由本文所述及/或熟習此項技術者已知的方法評定。在某些實施例中，表示抗體對CD226之親和力的K_D高

於1、2、5、10、20、50或100 μg/ml。

【0164】在某些實施例中，抗體不特異性結合於CD96 (例如人類CD96)。在某些實施例中，抗體對TIGIT之結合親和力比抗體對CD96之結合親和力強至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%，如藉由本文所述及/或熟習此項技術者已知的方法評定。在某些實施例中，抗體對TIGIT之結合親和力比抗體對CD96之結合親和力強至少1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍或更多，如藉由本文所述及/或熟習此項技術者已知的方法評定。在某些實施例中，表示抗體對CD96之親和力的K_D高於1、2、5、10、20、50或100 μg/mL。

【0165】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 11、12、13、14、15、16、17或18中所示之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 11中所示之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 13中所示之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 14中

所示之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 15中所示之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 16中所示之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 17中所示之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含有包含SEQ ID NO: 18中所示之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，重鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 11中所示之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 13中所示之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 14中所示之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 15中所示之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 16中所示之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 17中所示之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 18中所示之胺基酸序列組成。

【0166】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 27中所示之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，輕鏈之胺基酸序列由SEQ ID NO: 27中所示之胺基酸序列組成。

【0167】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性

結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列的重鏈；及包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列的重鏈；及包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列的重鏈；及包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列的重鏈；及包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列的重鏈；及包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列的重鏈；及包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有

包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列的重鏈；及包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列的重鏈；及包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列的輕鏈。

【0168】在某些實施例中，重鏈及輕鏈之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 11及27之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈及輕鏈之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 12及27之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈及輕鏈之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 13及27之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈及輕鏈之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 14及27之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈及輕鏈之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 15及27之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈及輕鏈之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 16及27之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈及輕鏈之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 17及27之胺基酸序列組成。在某些實施例中，重鏈及輕鏈之胺基酸序列分別由SEQ ID NO: 18及27之胺基酸序列組成。

【0169】任何抗體型式均可用於本文所揭示之抗體。在某些實施例中，抗體為單鏈抗體或單鏈Fv (scFv)。在某些實施例中，抗體為與Fc區融合之scFv (scFv-Fc)。在某些實施例中，抗體為Fab片段。在某些實施例中，抗體為

$F(ab')_2$片段。

【0170】在某些實施例中，本文所揭示之抗體為特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)及第二抗原之多特異性抗體(例如雙特異性抗體)。

【0171】在某些實施例中，本文所揭示之抗體與特異性結合於第二抗原之第二抗體綴合。在某些實施例中，本文所揭示之抗體與第二抗體共價綴合。在某些實施例中，本文所揭示之抗體與第二抗體非共價綴合。在某些實施例中，本文所揭示之抗體與第二抗體交聯。在某些實施例中，第二抗原為腫瘤相關抗原(例如在腫瘤中過度表現之多肽、來源於腫瘤病毒之多肽、包含對腫瘤具有特異性之轉譯後修飾的多肽、在腫瘤中特異性突變之多肽)。在某些實施例中，腫瘤相關抗原為EGFR (例如人類EGFR)，視情況其中第二抗體為西妥昔單抗。在某些實施例中，腫瘤相關抗原為Her2 (例如人類Her2)，視情況其中該第二抗體為曲妥珠單抗。在某些實施例中，腫瘤相關抗原為CD20 (例如人類CD20)。

【0172】在某些實施例中，本文所揭示之抗體與細胞毒性劑、細胞生長抑制劑、毒素、放射性核種或可偵測標記綴合。在某些實施例中，細胞毒性劑能夠誘導與其接觸之細胞的死亡或破壞。在某些實施例中，細胞生長抑制劑能夠阻止或實質上減少與其接觸之細胞的增殖及/或抑制該細胞之活性或功能。在某些實施例中，細胞毒性劑或細胞生長抑制劑為化學治療劑。在某些實施例中，放射性核

種係選自由以下同位素組成之群：^{3}H、^{14}C、^{32}P、^{35}S、^{36}Cl、^{51}Cr、^{57}Co、^{58}Co、^{59}Fe、^{67}Cu、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{117}Lu、^{121}I、^{124}I、^{125}I、^{131}I、^{198}Au、^{211}At、^{213}Bi、^{225}Ac及^{186}Re。在某些實施例中，可偵測標記包含螢光部分或點擊化學控點(click chemistry handle)。

【0173】任何免疫球蛋白(Ig)恆定區均可用於本文所揭示之抗體。在某些實施例中，Ig區為人類IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY免疫球蛋白分子，任何類別(例如IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1及IgA_2)或任何子類別(例如IgG_{2a}及IgG_{2b})之免疫球蛋白分子。

【0174】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 19、20、21、22、23、24、25或26之胺基酸序列的重鏈恆定區。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列的輕鏈恆定區。

【0175】在某些實施例中，根據EU編號系統編號，將一個、兩個或更多個突變(例如胺基酸取代)引入至本文所述之抗體的Fc區(例如CH2結構域(人類IgG_1之殘基231-340)及/或CH3結構域(人類IgG_1之殘基341-447)及/或鉸鏈區中，以改變抗體之一或多種功能特性，諸如血清半衰期、補體結合(complement fixation)、Fc受體結合(binding)及/或抗原依賴性細胞毒性。

【0176】在某些實施例中，將一個、兩個或更多個突變(例如胺基酸取代)引入至Fc區(CH1結構域)之鉸鏈區中以使得該鉸鏈區中半胱胺酸殘基之數目得到改變(例如增加或減少)，如例如美國專利第5,677,425號中所述，該專利以全文引用之方式併入本文中。可改變CH1結構域之鉸鏈區中半胱胺酸殘基之數目以例如促進輕鏈與重鏈之組裝或改變(例如增加或降低)抗體之穩定性。

【0177】在一個具體實施例中，將一個、兩個或更多個胺基酸突變(例如取代、插入或缺失)引入至IgG恆定結構域或其FcRn結合片段(較佳為Fc或鉸鏈-Fc結構域片段)中以改變(例如減短或增加)抗體在活體內之半衰期。將改變(例如減短或增加)抗體在活體內之半衰期的突變之實例參見例如國際公開案第WO 02/060919號；第WO 98/23289號；及第WO 97/34631；以及美國專利第5,869,046號、第6,121,022號、第6,277,375號及第6,165,745號，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。在某些實施例中，將一個、兩個或更多個胺基酸突變(例如取代、插入或缺失)引入至IgG恆定結構域或其FcRn結合片段(較佳為Fc或鉸鏈-Fc結構域片段)中以減短抗體在活體內之半衰期。在其他實施例中，將一個、兩個或更多個胺基酸突變(例如取代、插入或缺失)引入至IgG恆定結構域或其FcRn結合片段(較佳為Fc或鉸鏈-Fc結構域片段)中以增加抗體在活體內之半衰期。在一個具體實施例中，根據EU編號系統編號，抗體可在第二恆定(CH2)結構域(人類IgG_1之殘基231-340)

及/或第三恆定(CH3)結構域(人類IgG$_1$之殘基341-447)中具有一或多個胺基酸突變(例如取代)。在一個具體實施例中，根據EU編號系統編號，本文所述之抗體的IgG$_1$之恆定區在位置252處包含甲硫胺酸(M)變為酪胺酸(Y)之取代，在位置254處包含絲胺酸(S)變為蘇胺酸(T)之取代，且在位置256處包含蘇胺酸(T)變為麩胺酸(E)之取代。參見美國專利第7,658,921號，其以全文引用之方式併入本文中。已展示此類型之突變型IgG(稱為「YTE突變體」)顯示半衰期相較於野生型型式之相同抗體四倍增加(參見Dall'Acqua WF等人, (2006) J Biol Chem 281: 23514-24，其以全文引用之方式併入本文中)。在某些實施例中，根據EU編號系統編號，抗體包含IgG恆定結構域，該IgG恆定結構域包含一個、兩個、三個或更多個對位置251-257、285-290、308-314、385-389及428-436處之胺基酸殘基的胺基酸取代。

【0178】在某些實施例中，根據EU編號系統編號，將一個、兩個或更多個突變(例如胺基酸取代)引入至本文所述之抗體的Fc區(例如CH2結構域(人類IgG$_1$之殘基231-340)及/或CH3結構域(人類IgG$_1$之殘基341-447)及/或鉸鏈區中，以使該抗體對效應細胞表面上之Fc受體(例如活化Fc受體)的親和力增加或減小。在抗體之Fc區中減小或增加抗體對Fc受體之親和力的突變及將此類突變引入至該Fc受體或其片段中的技術為熟習此項技術者已知的。可在抗體之Fc受體中進行以改變該抗體對Fc受體之親和力的突變之實例描述於例如Smith P等人, (2012) PNAS 109: 6181-

6186，美國專利第6,737,056號及國際公開案第WO 02/060919號；第WO 98/23289號；及第WO 97/34631號中，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0179】在某些實施例中，抗體包含本身為野生型重鏈恆定區之變異體的重鏈恆定區，其中該變異型重鏈恆定區與FcγRIIB結合之親和力比該野生型重鏈恆定區與FcγRIIB結合之親和力更高。在某些實施例中，變異型重鏈恆定區為變異型人類重鏈恆定區，例如變異型人類IgG1、變異型人類IgG2或變異型人類IgG4重鏈恆定區。在某些實施例中，根據EU編號系統，變異型人類IgG重鏈恆定區包含以下胺基酸突變中之一或多者：G236D、P238D、S239D、S267E、L328F及L328E。在某些實施例中，根據EU編號系統，變異型人類IgG重鏈恆定區包含選自由以下組成之群的一組胺基酸突變：S267E及L328F；P238D及L328E；P238D及選自由E233D、G237D、H268D、P271G及A330R組成之群的一或多個取代；P238D、E233D、G237D、H268D、P271G及A330R；G236D及S267E；S239D及S267E；V262E、S267E及L328F；以及V264E、S267E及L328F。在某些實施例中，FcyRIIB在選自由以下組成之群的細胞上進行表現：巨噬細胞、單核球、B細胞、樹突狀細胞、內皮細胞及活化T細胞。

【0180】在另一個實施例中，將一個、兩個或更多個胺基酸取代引入至IgG恆定結構域Fc區中以改變抗體之效

應功能。舉例而言，根據EU編號系統編號，選自胺基酸殘基234、235、236、237、239、243、267、292、297、300、318、320、322、328、330、332及396之一或多個胺基酸可由不同胺基酸殘基置換，以使得抗體對效應配體之親和力改變但保留親本抗體之抗原結合能力。親和力改變之效應配體可為例如Fc受體或補體之C1組分。此方法進一步詳細描述於美國專利第5,624,821號及第5,648,260號中，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中。在某些實施例中，恆定區結構域之缺失或失活(經由點突變或其他手段)可減少Fc受體與循環抗體之結合，藉此增加腫瘤定位。對使恆定結構域缺失或失活且藉此增加腫瘤定位之突變的描述參見例如美國專利第5,585,097號及第8,591,886號，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中。在某些實施例中，可將一或多個胺基酸取代引入至本文所述之抗體的Fc區中以移除該Fc區上之潛在糖基化位點，其可以減少Fc受體結合(參見例如Shields RL等人, (2001) J Biol Chem 276: 6591-604，該文獻以全文引用之方式併入本文中)。在各種實施例中，根據EU編號系統編號，可在本文所述之抗體的恆定區中進行以下突變中之一或多者：N297A取代；N297Q取代；L234A取代；L234F取代；L235A取代；L235F取代；L235V取代；L237A取代；S239D取代；E233P取代；L234V取代；L235A取代；C236缺失；P238A取代；S239D取代；F243L取代；D265A取代；S267E取代；L328F取代；R292P取代；Y300L取

代；A327Q取代；P329A取代；A332L取代；I332E取代；或P396L取代。

【0181】在某些實施例中，根據EU編號系統編號，可在本文所述之抗體的恆定區中進行選自由D265A、P329A及其組合組成之群的突變。在某些實施例中，根據EU編號系統編號，可在本文所述之抗體的恆定區中進行選自由L235A、L237A及其組合組成之群的突變。在某些實施例中，根據EU編號系統編號，可在本文所述之抗體的恆定區中進行選自由S267E、L328F及其組合組成之群的突變。在某些實施例中，根據EU編號系統編號，可在本文所述之抗體的恆定區中進行選自由S239D、I332E、視情況存在之A330L及其組合組成之群的突變。在某些實施例中，根據EU編號系統編號，可在本文所述之抗體的恆定區中進行選自由L235V、F243L、R292P、Y300L、P396L及其組合組成之群的突變。在某些實施例中，根據EU編號系統編號，可在本文所述之抗體的恆定區中進行選自由S267E、L328F及其組合組成之群的突變。

【0182】在一個具體實施例中，根據EU編號系統編號，本文所述之抗體包含具有N297Q或N297A胺基酸取代的IgG_1之恆定結構域。在一個實施例中，根據EU編號系統編號，本文所述之抗體包含具有選自由D265A、P329A及其組合組成之群之突變的IgG_1之恆定結構域。在另一實施例中，根據EU編號系統編號，本文所述之抗體包含具有選自由L234A、L235A及其組合組成之群之突變的IgG_1之

恆定結構域。在另一實施例中，根據EU編號系統編號，本文所述之抗體包含具有選自由L234F、L235F、N297A及其組合組成之群之突變的IgG_1之恆定結構域。在某些實施例中，根據EU編號系統編號，在本文所述之抗體的恆定區中處於對應於人類IgG_1重鏈中位置L234、L235及D265之位置處的胺基酸殘基分別不為L、L及D。此方法詳細描述於國際公開案第WO 14/108483號中，該文獻以全文引用之方式併入本文中。在一個特定實施例中，根據EU編號系統編號，對應於人類IgG_1重鏈中位置L234、L235及D265之胺基酸分別為F、E及A；或A、A及A。

【0183】在某些實施例中，根據EU編號系統編號，選自本文所述之抗體之恆定區中胺基酸殘基329、331及322的一或多個胺基酸可由不同胺基酸殘基置換以使得該抗體之C1q結合改變及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)減小或消除。此方法進一步詳細描述於美國專利第6,194,551號(Idusogie等人)中，該文獻以全文引用之方式併入本文中。在某些實施例中，根據EU編號系統編號，改變處於本文所述之抗體之CH2結構域N端區中胺基酸位置231至238內的一或多個胺基酸殘基以藉此改變該抗體結合補體之能力。此方法進一步描述於國際公開案第WO 94/29351號中，該文獻以全文引用之方式併入本文中。在某些實施例中，根據EU編號系統編號，藉由在以下位置處使一或多個胺基酸突變(例如引入胺基酸取代)來修飾本文所述之抗體的Fc區以增加該抗體介導抗體依賴性細胞毒性

(ADCC)之能力及/或增加該抗體對Fcγ受體之親和力：238、239、248、249、252、254、255、256、258、265、267、268、269、270、272、276、278、280、283、285、286、289、290、292、293、294、295、296、298、301、303、305、307、309、312、315、320、322、324、326、327、328、329、330、331、333、334、335、337、338、340、360、373、376、378、382、388、389、398、414、416、419、430、434、435、437、438或439。此方法進一步描述於國際公開案第WO 00/42072號中，該文獻以全文引用之方式併入本文中。

【0184】在某些實施例中，本文所述之抗體包含IgG_1之經修飾之恆定結構域，其中該修飾增加抗體介導抗體依賴性細胞毒性(ADCC)之能力。在某些實施例中，0.1、1或10 μg/mL抗體能夠在1、2或3小時內誘導至少20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%或60%表現TIGIT之細胞的細胞死亡，如藉由本文所述及/或熟習此項技術者已知的方法所評定。在某些實施例中，根據EU編號系統編號，IgG_1之經修飾之恆定結構域包含S239D及I332E取代。在某些實施例中，根據EU編號系統編號，IgG_1之經修飾之恆定結構域包含S239D、A330L及I332E取代。在某些實施例中，根據EU編號系統編號，IgG_1之經修飾之恆定結構域包含L235V、F243L、R292P、Y300L及P396L取代。在某些實施例中，抗體能夠誘導效應T細胞及Treg之細胞死亡，其中經歷細胞死亡之Treg的百分比高於經歷細胞死亡

之效應T細胞的百分比至少1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍或5倍。

【0185】在某些實施例中，本文所述之抗體包含IgG_4抗體之恆定區，且根據EU編號系統編號，處於重鏈之胺基酸殘基228處的絲胺酸取代脯胺酸。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之經分離之抗體，該抗體包含有包含SEQ ID NO: 26之胺基酸序列的重鏈恆定區。

【0186】在某些實施例中，可將本文所述之恆定區突變或修飾中的任一者引入至本文所述之具有兩個重鏈恆定區之抗體的一個或兩個重鏈恆定區中。

【0187】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且充當拮抗劑(例如降低或抑制TIGIT活性)的經分離之抗體。

【0188】在某些實施例中，本揭示案提供一種經分離之抗體，其特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且如藉由本文所述及/或熟習此項技術者已知的方法所評定，使TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)活性相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下之TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)活性降低或抑制至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、

80%、85%、90%、95%、98%或99%。在某些實施例中，本揭示案提供一種經分離之抗體，其特異性結合於TIGIT(例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且如藉由本文所述及/或熟習此項技術者已知的方法所評定，使TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)活性相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT)之抗體)的情況下之TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)活性降低或抑制至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍或更多。TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)活性之非限制性實例可包括TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)信號傳導；TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)結合於其配體(例如PVR (例如人類或食蟹獼猴PVR)、PVRL2 (例如人類或食蟹獼猴PVRL2)、PVRL3 (例如人類或食蟹獼猴PVRL3)或其片段及/或融合蛋白)；T細胞(例如表現人類TIGIT之T細胞)活化；自然殺手(NK)細胞活化；減少或抑制Treg；增加細胞介素(例如IL-2、IFN-γ及/或TNF-α)產生；提高PVR (例如人類PVR)、PVRL2 (例如人類PVRL2)及/或PVRL3 (例如人類PVRL3)之活性；及活化表現PVR (例如人類PVR)、PVRL2 (例如人類PVRL2)及/或PVRL3 (例如人類PVRL3)之抗原呈遞細胞(APC)。在具體實施例中，如下文實例中所述來評定TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴

TIGIT)活性之增加。

【0189】在具體實施例中，本揭示案提供一種經分離之抗體，其特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，使TIGIT (例如人類或食蟹獼猴TIGIT)與其配體(例如PVR (例如人類或食蟹獼猴PVR)、PVRL2 (例如人類或食蟹獼猴PVRL2)、PVRL3 (例如人類或食蟹獼猴PVRL3)或其片段及/或融合蛋白)之結合相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)與此配體之結合減少或抑制至少約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%。在具體實施例中，本揭示案提供一種經分離之抗體，其特異性結合於TIGIT (例如人類或食蟹獼猴TIGIT)且如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，使TIGIT (例如人類或食蟹獼猴TIGIT)與其配體(例如PVR (例如人類或食蟹獼猴PVR)、PVRL2 (例如人類或食蟹獼猴PVRL2)、PVRL3 (例如人類或食蟹獼猴PVRL3)或其片段及/或融合蛋白)之結合相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下TIGIT (例如人類TIGIT)與此配體之結合增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、

4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。

【0190】在具體實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且活化T細胞(例如表現人類TIGIT之T細胞)的經分離之抗體。在某些實施例中，T細胞為記憶T細胞。在某些實施例中，T細胞為表現TIGIT之Jurkat細胞。在某些實施例中，如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，本文所揭示之抗體使活化的T細胞之核因子(NFAT)的活性相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下之NFAT活性增加至少約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%。在某些實施例中，如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，本文所揭示之抗體使NFAT活性相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下之NFAT活性增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍或更多。在某些實施例中，抗體在TIGIT配體(例如PVR (例如人類或食蟹獼猴

PVR)、PVRL2 (例如人類或食蟹獼猴PVRL2)、PVRL3 (例如人類或食蟹獼猴PVRL3)、其片段及/或融合蛋白)及/或表現TIGIT配體之細胞(例如單核球、樹突狀細胞)存在下增加NFAT活性。

【0191】在具體實施例中，本揭示案提供一種經分離之抗體，其特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，使細胞介素產生(例如IL-2、IFN-γ及/或TNF-α)相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下之細胞介素產生增加至少約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%。在具體實施例中，本揭示案提供一種經分離之抗體，其特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，使細胞介素產生(例如IL-2、IFN-γ及/或TNF-α)相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下之細胞介素產生增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍或更多。在某些實施例中，抗體在TIGIT配體(例如PVR

(例如人類或食蟹獼猴PVR)、PVRL2 (例如人類或食蟹獼猴PVRL2)、PVRL3 (例如人類或食蟹獼猴PVRL3)、其片段及/或融合蛋白)及/或表現TIGIT配體之細胞(例如單核球、樹突狀細胞)存在下增加細胞介素產生(例如IL-2、IFN-γ及/或TNF-α)。在某些實施例中，與抗體使IFN-γ產生相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下之IFN-γ產生增加相比，抗體使IL-2產生相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下之IL-2產生增加達到更大程度。

【0192】在某些實施例中，本揭示案提供一種經分離之抗體，其特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且在單獨或與抗PD-1抗體(例如派立珠單抗或納武單抗)組合的情況下，如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，使在人類外周血液單核細胞(PBMC)中響應於葡萄球菌腸毒素A (SEA)刺激之IFNγ及/或IL-2產生相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下之IFNγ及/或IL-2產生增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。

【0193】在某些實施例中，本揭示案提供一種經分離之抗體，其特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且在單獨或與抗CTLA-4抗體(例如伊匹單抗(ipilimumab))組合的情況下，如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，使在人類外周血液單核細胞(PBMC)中響應於葡萄球菌腸毒素A (SEA)刺激之IFNγ及/或IL-2產生相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下之IFNγ及/或IL-2產生增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。

【0194】在某些實施例中，如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，在特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)的本文所述之抗體存在下，用葡萄球菌腸毒素A (SEA)刺激之人類外周血液單核細胞(PBMC)的IFNγ及/或IL-2產生相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下僅用SEA刺激之PBMC的IFNγ及/或IL-2產生增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。

【0195】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且增加或促進記憶T細胞之記憶回憶的經分離之抗體。在某些實施例中，記憶T細胞為CD8效應記憶T細胞。在某些實施例中，記憶T細胞為CD4效應記憶T細胞。在某些實施例中，如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，抗體使當記憶T細胞與其同源抗原接觸時增殖的記憶T細胞之數目相對於在不存在任何抗體或在存在無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下當記憶T細胞與其同源抗原接觸時增殖的記憶T細胞之數目增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。在某些實施例中，如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，抗體使當記憶T細胞與其同源抗原接觸時記憶T細胞之細胞介素(例如IFNγ、TNFα)產生相對於在不存在任何抗體或在存在無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下當記憶T細胞與其同源抗原接觸時記憶T細胞之細胞介素產生增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。

【0196】在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且活化NK細胞之經分離之抗體。在某些實施例中，NK細胞係經分離。在某些實施例中，NK細胞處於PBMC之混合培養物中。在某些實施例中，如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，本文所揭示之抗體使NK細胞中CD107a之表現量相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下NK細胞中CD107a之表現量增加至少約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%。在某些實施例中，如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，本文所揭示之抗體使NK細胞中CD107a之表現量相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下NK細胞中CD107a之表現量增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍或更多。在某些實施例中，如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，本文所揭示之抗體使NK細胞之細胞介素產生(例如IFNγ及/或TNFα)相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如

人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下NK細胞之細胞介素產生(例如IFNγ及/或TNFα)增加至少約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%。在某些實施例中，如藉由本文所述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法所評定，本文所揭示之抗體使NK細胞之細胞介素產生(例如IFNγ及/或TNFα)相對於在無任何抗體或在具有無關抗體(例如不特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體)的情況下NK細胞之細胞介素產生(例如IFNγ及/或TNFα)增加至少約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍或更多。

1.3 醫藥組合物

【0197】本文提供在生理學上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑中包含具有所要純度的本文所揭示之抗TIGIT(例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體的組合物(參見例如 Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA)。可接受之載劑、賦形劑或穩定劑在所採用之劑量及濃度下對接受者無毒性，且包括緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如氯化十八烷基二

甲基苯甲基銨；氯化六羥季銨；苯紮氯銨，苄索氯銨；苯酚，丁醇或苯甲醇；對羥基苯甲酸烷基酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(少於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺酸、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇；成鹽相對離子，諸如鈉；金屬錯合物(例如Zn-蛋白質錯合物)；及/或非離子型界面活性劑，諸如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。

【0198】在一個具體實施例中，醫藥組合物在醫藥學上可接受之載劑中包含本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體，且視情況包含一或多種額外預防劑或治療劑。在一個具體實施例中，醫藥組合物在醫藥學上可接受之載劑中包含有效量的本文所述之抗體，且視情況包含一或多種額外預防劑或治療劑。在某些實施例中，抗體為醫藥組合物中所包括之僅有的活性成分。本文所述之醫藥組合物可用於增加或提昇TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)活性及治療諸如癌症或感染性疾病之病況。在一個實施例中，本發明係關於包含本發明之抗TIGIT抗體的本發明之醫藥組合物，其用作藥劑。在另一實施例中，本發明係關於本發明之醫藥組合物，其用於

一種用於治療癌症或感染性疾病之方法中。

【0199】用於非經腸製劑中的醫藥學上可接受之載劑包括水性媒劑、非水性媒劑、抗微生物劑、等張劑、緩衝劑、抗氧化劑、局部麻醉劑、懸浮劑及分散劑、乳化劑、鉗合劑或螯合劑及其他醫藥學上可接受之物質。水性媒劑之實例包括氯化鈉注射液、林格氏注射液(Ringers Injection)、等張右旋糖注射液、無菌水注射液、右旋糖及乳酸林格氏注射液。非水性非經腸媒劑包括植物來源之不揮發性油，棉籽油、玉米油、芝麻油及花生油。可將呈抑制細菌或抑制真菌濃度之抗微生物劑添加至封裝於多劑量容器中之非經腸製劑中，該等抗微生物劑包括苯酚或甲酚、汞劑、苯甲醇、氯丁醇、甲基對羥基苯甲酸酯及丙基對羥基苯甲酸酯、硫柳汞、苯紮氯銨及苄索氯銨。等張劑包括氯化鈉及右旋糖。緩衝劑包括磷酸鹽及檸檬酸鹽。抗氧化劑包括硫酸氫鈉。局部麻醉劑包括鹽酸普魯卡因(procaine hydrochloride)。懸浮劑及分散劑包括羧甲基纖維素鈉、羥丙基甲基纖維素及聚乙烯吡咯啶酮。乳化劑包括聚山梨醇酯80 (TWEEN® 80)。金屬離子之鉗合劑或螯合劑包括EDTA。醫藥載劑亦包括作為與水可混溶之媒劑的乙醇、聚乙二醇及丙二醇，及用於pH調節之氫氧化鈉、鹽酸、檸檬酸或乳酸。

【0200】醫藥組合物可經調配以用於任何向受試者投藥之途徑。投藥途徑之具體實例包括鼻內、經口、肺部、透皮、皮內及非經腸。本文亦涵蓋非經腸投藥，其特徵在

於皮下、肌肉內或靜脈內注射。可注射劑可呈習知形式，以液體溶液或懸浮液形式，以適用於在注射之前在液體中溶解或懸浮之固體形式或以乳液形式製備。可注射劑、溶液及乳液亦含有一或多種賦形劑。適合之賦形劑為例如水、鹽水、右旋糖、甘油(glycerol)或乙醇。此外，必要時，待投與之醫藥組合物亦可含有少量無毒輔助物質，諸如潤濕劑或乳化劑、pH緩衝劑、穩定劑、溶解增強劑及其他此類試劑，諸如乙酸鈉、脫水山梨糖醇單月桂酸酯、三乙醇胺油酸酯及環糊精。

【0201】用於非經腸投與抗體之製劑包括可立即用於注射之無菌溶液、在臨用之前可立即與溶劑組合的無菌乾燥可溶產品(諸如凍乾粉末)(包括皮下錠劑)、可立即用於注射之無菌懸浮液、在臨用之前可立即與媒劑組合的無菌乾燥不可溶產品、以及無菌乳液。溶液可為水溶液或非水溶液。

【0202】若靜脈內投與，則適合之載劑包括生理鹽水或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)，及含有增稠劑及增溶劑(諸如葡萄糖、聚乙二醇及聚丙二醇及其混合物)之溶液。

【0203】如關於局部及全身性投藥所述來製備包含抗體之表面混合物。所得混合物可為溶液、懸浮液、乳液或其類似物，且可調配為乳膏、凝膠、軟膏、乳液、溶液、酏劑、洗劑、懸浮液、酊劑、糊劑、泡沫、氣霧劑、沖洗劑、噴霧劑、栓劑、繃帶、經皮貼片或適合於表面投藥之任何其他調配物。

【0204】本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體可調配為用於表面施用之氣霧劑，諸如藉由吸入來施用(參見例如美國專利第4,044,126號、第4,414,209號及第4,364,923號，該等文獻描述用於遞送可用於治療發炎性疾病，尤其哮喘之類固醇的氣霧劑，且以全文引用之方式併入本文中)。用於向呼吸道投與之此等調配物可單獨或與諸如乳糖之惰性載劑組合而呈用於霧化器之氣霧劑或溶液形式，或呈用於吹入之微細粉末形式。在此類情況下，調配物之粒子的直徑在一個實施例中將小於50微米，在一個實施例中小於10微米。

【0205】本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體可經調配以用於以凝膠、乳膏及洗劑形式局部或表面施用，諸如用於表面施用至皮膚及黏膜，諸如眼睛中；及經調配以用於施用至眼睛或用於腦池內或脊柱內施用。涵蓋表面投藥以用於經皮遞送以及向眼睛或黏膜投與，或用於吸入療法。亦可投與單獨或與其他醫藥學上可接受之賦形劑組合的抗體之鼻用溶液。

【0206】包括離子導入及電泳裝置之經皮貼片為熟習此項技術者熟知的，且可用以投與抗體。舉例而言，此類貼片揭示於美國專利第6,267,983號、第6,261,595號、第6,256,533號、第6,167,301號、第6,024,975號、第6,010715號、第5,985,317號、第5,983,134號、第5,948,433號及第5,860,957號中，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0207】在某些實施例中，包含本文所述之抗體的醫藥組合物為凍乾粉末，其可經復原以用於以溶液、乳液及其他混合物形式投與。其亦可經復原且調配為固體或凝膠。凍乾粉末藉由將本文所述之抗體或其醫藥學上可接受之衍生物溶解於適合之溶劑中來加以製備。在某些實施例中，凍乾粉末為無菌的。溶劑可含有改良粉末或由該粉末製備之復原溶液的穩定性或其他藥理學組分的賦形劑。可使用之賦形劑包括(但不限於)右旋糖、山梨糖醇、果糖、玉米糖漿、木糖醇、甘油(glycerin)、葡萄糖、蔗糖或其他適合之試劑。溶劑亦可含有緩衝劑，諸如檸檬酸鹽、磷酸鈉或磷酸鉀，或熟習此項技術者已知之其他此類緩衝劑，在一個實施例中，其處於約中性pH。隨後無菌過濾溶液，繼而在熟習此項技術者已知之標準條件下凍乾，以提供所要調配物。在一個實施例中，所得溶液將分配至小瓶中用於凍乾。各小瓶將含有單劑量或多劑量之化合物。凍乾粉末可儲存在適當條件下，諸如在約4℃至室溫下。用注射用水復原此凍乾粉末得到用於非經腸投藥之調配物。對於復原，將凍乾粉末添加至無菌水或其他適合之載劑中。精確量視所選化合物而定。此類量可以憑經驗確定。

【0208】本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體及本文所提供之其他組合物亦可經調配以靶向待治療之受試者的特定組織、受體或身體其他區域。許多此類靶向方法為熟習此項技術者熟知的。本文涵蓋所有此類靶向方法以用於本發明之組合物中。靶向方法

之非限制性實例參見例如美國專利第6,316,652號、第6,274,552號、第6,271,359號、第6,253,872號、第6,139,865號、第6,131,570號、第6,120,751號、第6,071,495號、第6,060,082號、第6,048,736號、第6,039,975號、第6,004,534號、第5,985,307號、第5,972,366號、第5,900,252號、第5,840,674號、第5,759,542號及第5,709,874號，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。在一個具體實施例中，將本文所述之抗體靶向腫瘤。

【0209】待用於活體內投藥之組合物可為無菌的。此容易藉由經由例如無菌過濾膜過濾來實現。

1.4 使用方法及用途

【0210】在另一態樣中，本揭示案提供一種使用本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體來治療受試者的方法。在受試者中將受益於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)功能降低之任何疾病或病症均可使用本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體來加以治療。在某些實施例中，該疾病或病症對檢查點靶向劑(例如拮抗性抗CTLA-4抗體、拮抗性抗PD-L1抗體、拮抗性抗PD-L2抗體或拮抗性抗PD-1抗體)具有抗性。在某些實施例中，該疾病或病症在用檢查點靶向劑(例如拮抗性抗CTLA-4抗體、拮抗性抗PD-L1抗體、拮抗性抗PD-L2抗體或拮抗性抗PD-1抗體)治療後復發。

【0211】本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT)抗體尤其可用於抑制免疫系統對腫瘤之耐受性，且因此可用作用於患有癌症之受試者的免疫療法。舉例而言，在某些實施例中，本揭示案提供一種在受試者中響應於抗原而增加T細胞(例如$CD8^+$細胞毒性T細胞、$CD4^+$輔助T細胞、NKT細胞、效應T細胞或記憶T細胞)活化的方法，該方法包含向該受試者投與有效量之如本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或其醫藥組合物。在某些實施例中，本揭示案提供一種在受試者中降低或抑制調節T細胞(Treg)活性之方法，該方法包含向該受試者投與有效量之如本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或其醫藥組合物。在某些實施例中，本揭示案提供一種在受試者中響應於抗原而增加NK細胞活化之方法，該方法包含向該受試者投與有效量之如本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或其醫藥組合物。在某些實施例中，本揭示案提供一種在受試者中治療癌症之方法，該方法包含向該受試者投與有效量之如本文所揭示之抗體或醫藥組合物。

【0212】可用本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或醫藥組合物治療的癌症包括(但不限於)實體腫瘤、血液癌症(例如白血病、淋巴瘤、骨髓瘤，例如多發性骨髓瘤)及轉移性病灶。在一個實施例中，癌症為實體腫瘤。實體腫瘤之實例包括惡性疾病，例如各種器官系統之肉瘤及癌瘤(例如腺癌)，諸如影響肺、

乳房、卵巢、淋巴、胃腸(例如結腸)、肛門、生殖器及泌尿生殖道(例如腎、尿道上皮、膀胱細胞、前列腺)、咽、CNS(例如大腦、神經或神經膠質細胞)、頭頸部、皮膚(例如黑素瘤)及胰臟之彼等實體腫瘤，以及包括惡性疾病之腺癌，諸如結腸癌、直腸癌、腎細胞癌、肝癌、肺癌(例如非小細胞肺癌或小細胞肺癌)、小腸癌及食道癌。癌症可處於早期、中期、晚期或為轉移性癌症。在某些實施例中，癌症對檢查點靶向劑(例如拮抗性抗CTLA-4抗體、拮抗性抗PD-L1抗體、拮抗性抗PD-L2抗體或拮抗性抗PD-1抗體)具有抗性。在某些實施例中，癌症在用檢查點靶向劑(例如拮抗性抗CTLA-4抗體、拮抗性抗PD-L1抗體、拮抗性抗PD-L2抗體或拮抗性抗PD-1抗體)治療後復發。

【0213】在一個實施例中，癌症係選自肺癌(例如肺腺癌或非小細胞肺癌(NSCLC)(例如，具有鱗狀及/或非鱗狀組織學之NSCLC，或NSCLC腺癌))、黑素瘤(例如晚期黑素瘤)、腎癌(例如腎細胞癌)、肝癌(例如肝細胞癌)、骨髓瘤(例如多發性骨髓瘤)、前列腺癌、乳癌(例如不表現雌激素受體、孕酮受體或Her2/neu中之一者、兩者或全部的乳癌，例如三陰性乳癌)、卵巢癌、結腸直腸癌、胰臟癌、頭頸癌(例如頭頸鱗狀細胞癌(HNSCC)、肛門癌、胃食道癌(例如食道鱗狀細胞癌)、間皮瘤、鼻咽癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、上皮癌、腹膜癌或淋巴組織增生性疾病(例如移植後淋巴組織增生性疾病)。在一個具體實施例中，癌症為子宮頸癌。

【0214】在一個實施例中，癌症為血液癌症，例如白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一個實施例中，癌症為白血病，例如急性淋巴母細胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、急性骨髓母細胞性白血病(AML)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性骨髓單核球性白血病(CMML)、慢性淋巴球性白血病(CLL)或毛細胞白血病。在一個實施例中，癌症為淋巴瘤，例如B細胞淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、活化B細胞樣(ABC)彌漫性大B細胞淋巴瘤、生發中心B細胞(GCB)彌漫性大B細胞淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤(Hodgkin lymphoma)、非霍奇金淋巴瘤、復發性非霍奇金淋巴瘤、難治性非霍奇金淋巴瘤、復發性濾泡性非霍奇金淋巴瘤、伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma)、小淋巴球性淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、淋巴漿細胞淋巴瘤或結外邊緣區淋巴瘤。在一個實施例中，癌症為骨髓瘤，例如多發性骨髓瘤。

【0215】在另一實施例中，癌症係選自癌瘤(例如晚期或轉移性癌瘤)、黑素瘤或肺癌，例如非小細胞肺癌。

【0216】在一個實施例中，癌症為肺癌，例如肺腺癌、非小細胞肺癌或小細胞肺癌。

【0217】在一個實施例中，癌症為黑素瘤，例如晚期黑素瘤。在一個實施例中，癌症為對其他療法無反應之晚期或不可切除性黑素瘤。在其他實施例中，癌症為具有BRAF突變(例如BRAF V600突變)之黑素瘤。在又其他實施

例中，本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或醫藥組合物在用抗CTLA-4抗體(例如伊匹單抗)在使用或不使用BRAF抑制劑(例如維羅非尼(vemurafenib)或達拉非尼(dabrafenib))的情況下治療之後進行投與。

【0218】在另一實施例中，癌症為肝癌，例如晚期肝癌，伴有或不伴有病毒感染，例如慢性病毒性肝炎。

【0219】在另一實施例中，癌症為前列腺癌，例如晚期前列腺癌。

【0220】在又另一實施例中，癌症為骨髓瘤，例如多發性骨髓瘤。

【0221】在又另一實施例中，癌症為腎癌，例如腎細胞癌(RCC) (例如轉移性RCC、透明細胞腎細胞癌(CCRCC)或腎乳突狀細胞癌)。

【0222】在又另一實施例中，癌症係選自肺癌、黑素瘤、腎癌、乳癌、結腸直腸癌、白血病或轉移性癌症病灶。

【0223】在某些實施例中，本揭示案提供一種在受試者中預防或治療感染性疾病之方法，該方法包含向該受試者投與有效量之如本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或其醫藥組合物。在一個實施例中，本文提供用於預防及/或治療感染(例如病毒感染、細菌感染、真菌感染、原蟲感染或寄生蟲感染)之方法。根據該等方法預防及/或治療之感染可由本文所鑑別之感染

物引起。在一個具體實施例中，本文所述之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或其組合物為向受試者投與之僅有的活性劑。在某些實施例中，將本文所述之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或其組合物與用於治療感染性疾病之抗感染干預(例如抗病毒劑、抗細菌劑、抗真菌劑或抗蠕蟲劑(anti-helminthics)組合使用。因此，在一個實施例中，本發明係關於用於預防及/或治療感染性疾病之方法中的本發明之抗體及/或醫藥組合物，視情況其中該抗體或醫藥組合物為向受試者投與之僅有的活性劑，或其中該抗體或醫藥組合物與抗感染干預組合使用。

【0224】可藉由本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或醫藥組合物治療及/或預防的感染性疾病由包括(但不限於)細菌、寄生蟲、真菌、原蟲及病毒之感染物引起。在一個具體實施例中，藉由本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或醫藥組合物治療及/或預防的感染性疾病由病毒引起。可根據本文所述之方法預防及/或治療的病毒性疾病或病毒感染包括(但不限於)由A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、流感(例如A型流感或B型流感)、水痘、腺病毒、I型單純性疱疹(HSV-I)、II型單純性疱疹(HSV-II)、牛瘟、鼻病毒、埃可病毒(echovirus)、輪狀病毒、呼吸道融合性病毒、乳頭瘤、乳多泡病毒、巨細胞病毒、埃克諾病毒(echinovirus)、蟲媒病毒、漢坦病毒(huntavirus)、科沙奇

病毒(coxsackie virus)、腮腺炎病毒、麻疹病毒、風疹病毒、脊髓灰質炎病毒、天花、埃-巴二氏病毒(Epstein Barr virus)、I型人類免疫缺陷病毒(HIV-I)、II型人類免疫缺陷病毒(HIV-II)以及諸如病毒性腦膜炎、腦炎、登革熱或天花之病毒性疾病媒介物引起的彼等病毒性疾病或病毒感染。

【0225】可預防及/或治療之細菌感染包括由大腸桿菌(Escherichia coli)、肺炎克雷伯氏桿菌(Klebsiella pneumoniae)、金黃色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)、糞腸球菌(Enterococcus faecalis)、普通變形桿菌(Proteus vulgaris)、草綠色葡萄球菌(Staphylococcus viridans)及綠膿假單胞菌(Pseudomonas aeruginosa)引起之感染。可根據本文所述之方法預防及/或治療的由細菌(例如大腸桿菌、肺炎克雷伯氏桿菌、金黃色葡萄球菌、糞腸球菌、普通變形桿菌、草綠色葡萄球菌及綠膿假單胞菌)引起之細菌性疾病包括(但不限於)立克次體分枝桿菌(Mycobacteria rickettsia)、支原體(Mycoplasma)、奈瑟氏菌(Neisseria)、肺炎鏈球菌(S. pneumonia)、伯氏疏螺旋體(Borrelia burgdorferi)(萊姆病(Lyme disease))、炭疽芽孢桿菌(Bacillus antracis)(炭疽病)、破傷風、鏈球菌、葡萄球菌、分枝桿菌、百日咳(pertissus)、霍亂(cholera)、瘟疫(plague)、白喉(diptheria)、披衣菌(chlamydia)、金黃色葡萄球菌及軍團桿菌(legionella)。

【0226】可根據本文所述之方法預防及/或治療的由

原蟲引起之原蟲性疾病或原蟲感染包括(但不限於)利什曼原蟲(leishmania)、球蟲病(coccidiosis)、錐蟲(trypanosoma)住血吸蟲(schistosoma)或瘧疾。可根據本文所述之方法預防及/或治療的由寄生蟲引起之寄生蟲性疾病或寄生蟲感染包括(但不限於)披衣菌及立克次體。

【0227】可根據本文所述之方法預防及/或治療的真菌性疾病或真菌感染包括(但不限於)由以下引起之彼等真菌性疾病或真菌感染：念珠菌(*Candida*)感染、接合菌病(zygomycosis)、念珠菌乳腺炎、伴有潛在毛孢子菌性血液病(trichosporonemia)之進行性散播性毛孢子菌病(trichosporonosis)、散播性念珠菌病、肺部巴西副球黴菌病(paracoccidioidomycosis)、肺部麴黴病(aspergillosis)、肺炎肺囊蟲(*Pneumocystis carinii*)肺炎、隱球菌腦膜炎、球黴菌腦膜腦炎(*coccidioidal* meningoencephalitis)及腦脊髓脈管炎、黑麴黴(*Aspergillus niger*)感染、鐮刀菌角膜炎(*Fusarium keratitis*)、副鼻竇黴菌病、熏煙色麴菌(*Aspergillus fumigatus*)心內膜炎、脛骨軟骨發育不良、平滑念珠菌(*Candida glabrata*)陰道炎、口咽念珠菌病、X連鎖慢性肉芽腫性疾病、足癬(tinea pedis)、皮膚念珠菌病、黴菌性胎盤炎(mycotic placentitis)、散播性毛孢子菌病、過敏性支氣管肺部麴黴病、真菌性角膜炎、新型隱球菌(*Cryptococcus neoformans*)感染、真菌性腹膜炎、膝曲彎孢菌(*Curvularia geniculata*)感染、葡萄球菌內眼炎、孢子絲菌病及皮癬菌病(dermatophytosis)。

【0228】在某些實施例中，此等方法進一步包含向受試者投與一種額外治療劑。在某些實施例中，額外治療劑為化學治療劑、放射性治療劑或檢查點靶向劑。在某些實施例中，化學治療劑為低甲基化劑(例如阿紮胞苷(azacitidine))。在某些實施例中，化學治療劑為DNA損傷誘導劑(例如吉西他濱)。在某些實施例中，檢查點靶向劑係選自由以下組成之群：拮抗性抗CTLA-4抗體、拮抗性抗PD-L1抗體、拮抗性抗PD-L2抗體、拮抗性抗PD-1抗體、拮抗性抗TIM-3抗體、拮抗性抗LAG-3抗體、拮抗性抗VISTA抗體、拮抗性抗CD96抗體、拮抗性抗CEACAM1抗體、促效性抗CD137抗體、促效性抗GITR抗體及促效性抗OX40抗體。在某些實施例中，檢查點靶向劑係選自由拮抗性抗CTLA-4抗體、拮抗性抗PD-L1抗體、拮抗性抗PD-L2抗體及拮抗性抗PD-1抗體組成之群，其中本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或醫藥組合物與檢查點靶向劑協同作用。

【0229】在一個實施例中，本發明係關於用於本發明之方法中的本發明之抗體及/或醫藥組合物，其中該方法進一步包含向受試者投與一種額外治療劑。在一個實施例中，本發明係關於(a)本發明之抗體及/或醫藥組合物及(b)一種額外治療劑，其用作藥劑。在一個實施例中，本發明係關於(a)本發明之抗體及/或醫藥組合物及(b)一種額外治療劑，其用於一種用於治療癌症之方法中。在另一個實施例中，本發明係關於一種醫藥組合物、套組或分裝部分之

套組，其包含(a)本發明之抗體及/或醫藥組合物及(b)一種額外治療劑。在一個實施例中，額外治療劑為化學治療劑、放射性治療劑或檢查點靶向劑。

【0230】在某些實施例中，抗PD-1抗體用於本文所揭示之方法中。在某些實施例中，抗PD-1抗體為由Bristol-Myers Squibb研發之納武單抗，亦稱為BMS-936558或MDX1106。在某些實施例中，抗PD-1抗體為由Merck & Co研發之派立珠單抗，亦稱為拉立珠單抗(lambrolizumab)或MK-3475。在某些實施例中，抗PD-1抗體為由CureTech研發之皮立珠單抗(pidilizumab)，亦稱為CT-011。在某些實施例中，抗PD-1抗體為由Medimmune研發之MEDI0680，亦稱為AMP-514。在某些實施例中，抗PD-1抗體為由Novartis Pharmaceuticals研發之PDR001。在某些實施例中，抗PD-1抗體為由Regeneron Pharmaceuticals研發之REGN2810。在某些實施例中，抗PD-1抗體為由Pfizer研發之PF-06801591。在某些實施例中，抗PD-1抗體為由BeiGene研發之BGB-A317。在某些實施例中，抗PD-1抗體為由AnaptysBio及Tesaro研發之TSR-042。在某些實施例中，抗PD-1抗體為由Hengrui研發之SHR-1210。

【0231】可用於本文所揭示之治療方法中之抗PD-1抗體的其他非限制性實例揭示於以下專利及專利申請案中，該等文獻均出於所有目的以全文引用之方式併入本文中：美國專利第6,808,710號；美國專利第7,332,582號；美國專利第7,488,802號；美國專利第8,008,449號；美國專利

第8,114,845號；美國專利第8,168,757號；美國專利第8,354,509號；美國專利第8,686,119號；美國專利第8,735,553號；美國專利第8,747,847號；美國專利第8,779,105號；美國專利第8,927,697號；美國專利第8,993,731號；美國專利第9,102,727號；美國專利第9,205,148號；美國公開案第US 2013/0202623 A1號；美國公開案第US 2013/0291136 A1號；美國公開案第US 2014/0044738 A1號；美國公開案第US 2014/0356363 A1號；美國公開案第US 2016/0075783 A1號；以及PCT公開案第WO 2013/033091 A1號；PCT公開案第WO 2015/036394 A1號；PCT公開案第WO 2014/179664 A2號；PCT公開案第WO 2014/209804 A1號；PCT公開案第WO 2014/206107 A1號；PCT公開案第WO 2015/058573 A1號；PCT公開案第WO 2015/085847 A1號；PCT公開案第WO 2015/200119 A1號；PCT公開案第WO 2016/015685 A1號；及PCT公開案第WO 2016/020856 A1號。

【0232】在某些實施例中，抗PD-L1抗體用於本文所揭示之方法中。在某些實施例中，抗PD-L1抗體為由Genentech研發之阿特珠單抗(atezolizumab)。在某些實施例中，抗PD-L1抗體為由AstraZeneca、Celgene及Medimmune研發之德瓦魯單抗(durvalumab)。在某些實施例中，抗PD-L1抗體為由Merck Serono及Pfizer研發之艾維路單抗(avelumab)，亦稱為MSB0010718C。在某些實施例中，抗PD-L1抗體為由Bristol-Myers Squibb研發之MDX-

1105。在某些實施例中，抗PD-L1抗體為由Amplimmune及GSK研發之AMP-224。

【0233】可用於本文所揭示之治療方法中之抗PD-L1抗體的非限制性實例揭示於以下專利及專利申請案中，該等文獻均出於所有目的以全文引用之方式併入本文中：美國專利第7,943,743號；美國專利第8,168,179號；美國專利第8,217,149號；美國專利第8,552,154號；美國專利第8,779,108號；美國專利第8,981,063號；美國專利第9,175,082號；美國公開案第US 2010/0203056 A1號；美國公開案第US 2003/0232323 A1號；美國公開案第US 2013/0323249 A1號；美國公開案第US 2014/0341917 A1號；美國公開案第US 2014/0044738 A1號；美國公開案第US 2015/0203580 A1號；美國公開案第US 2015/0225483 A1號；美國公開案第US 2015/0346208 A1號；美國公開案第US 2015/0355184 A1號；以及PCT公開案第WO 2014/100079 A1號；PCT公開案第WO 2014/022758 A1號；PCT公開案第WO 2014/055897 A2號；PCT公開案第WO 2015/061668 A1號；PCT公開案第WO 2015/109124 A1號；PCT公開案第WO 2015/195163 A1號；PCT公開案第WO 2016/000619 A1號；及PCT公開案第WO 2016/030350 A1號。

【0234】在某些實施例中抗CTLA-4抗體用於本文所揭示之方法中。在某些實施例中，抗CTLA-4抗體為由Bristol-Myers Squibb研發之伊匹單抗。

【0235】在某些實施例中，本文所揭示之抗TIGIT(例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體與靶向諸如IDO(吲哚胺-(2,3)-雙加氧酶)及/或TDO（色胺酸2,3-雙加氧酶)之免疫調節酶的化合物組合向受試者進行投與。因此，在一個實施例中，額外治療劑為靶向免疫調節酶之化合物，諸如吲哚胺-(2,3)-雙加氧酶(IDO)之抑制劑。在某些實施例中，此類化合物係選自由以下組成之群：艾帕斯塔(epacadostat) (Incyte Corp；參見例如WO 2010/005958，該文獻以全文引用之方式併入本文中)、F001287 (Flexus Biosciences/Bristol-Myers Squibb)、因多莫得(NewLink Genetics)及NLG919 (NewLink Genetics)。在一個實施例中，化合物為艾帕斯塔。在另一實施例中，化合物為F001287。在另一實施例中，化合物為因多莫得。在另一實施例中，化合物為NLG919。在一個具體實施例中，本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT)抗體與用於治療癌症之IDO抑制劑組合向受試者進行投與。如本文所述的用於治療癌症之IDO抑制劑以醫藥組合物之固體劑型(諸如錠劑、丸劑或膠囊)存在，其中該醫藥組合物包括IDO抑制劑及醫藥學上可接受之賦形劑。由此，如本文所述之抗體及如本文所述之IDO抑制劑可以單獨劑型分開、依序或同時進行投與。在一個實施例中，抗體非經腸進行投與，而IDO抑制劑經口進行投與。在特定實施例中，抑制劑係選自由以下組成之群：艾帕斯塔(Incyte Corporation)、F001287 (Flexus Biosciences/Bristol-Myers Squibb)、因多

莫得(NewLink Genetics)及NLG919 (NewLink Genetics)。艾帕斯塔已描述於PCT公開案第WO 2010/005958號中，該文獻出於所有目的以全文引用之方式併入本文中。在一個實施例中，抑制劑為艾帕斯塔。在另一實施例中，抑制劑為F001287。在另一實施例中，抑制劑為因多莫得。在另一實施例中，抑制劑為NLG919。

【0236】在某些實施例中，本文所揭示之抗TIGIT(例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體與疫苗組合向受試者進行投與。疫苗可為例如肽疫苗、DNA疫苗或RNA疫苗。在某些實施例中，疫苗為基於熱休克蛋白之腫瘤疫苗或基於熱休克蛋白之病原體疫苗。在一個具體實施例中，本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體與基於熱休克蛋白之腫瘤疫苗組合向受試者進行投與。熱休克蛋白(HSP)為跨所有物種廣泛發現的高度保守蛋白質之家族。其表現可由於熱休克或其他形式之應激(包括暴露於毒素、氧化應激或葡萄糖去除)而被強有力地誘導達到高得多的水準。已根據分子量分類為五個家族：HSP-110、HSP-90、HSP-70、HSP-60及HSP-28。HSP經由抗原呈遞細胞(APC) (諸如巨噬細胞及樹突狀細胞(DC))中之交叉呈遞路徑遞送免疫原性肽，從而引起T細胞活化。HSP充當腫瘤相關抗原肽之伴隨蛋白載體，從而形成能夠誘導腫瘤特異性免疫性之複合物。在自將死亡之腫瘤細胞釋放時，HSP-抗原複合物由抗原呈遞細胞(APC)吸收，其中該等抗原經加工成結合MHC I類及II類分子之肽，從而

引起抗腫瘤CD8+及CD4+ T細胞之活化。由來源於腫瘤製劑之HSP複合物引發的免疫性特異性針對由各受試者之癌症表現的獨特抗原肽譜系。因此，在一個實施例中，本發明係關於(a)本發明之抗體及/或醫藥組合物及(b)疫苗，其用作藥劑，例如用於一種用於治療癌症之方法。在一個實施例中，本發明係關於一種醫藥組合物、套組或分裝部分之套組，其包含(a)本發明之抗體及/或醫藥組合物及(b)疫苗。在一個實施例中，疫苗為基於熱休克蛋白之腫瘤疫苗。在一個實施例中，疫苗為基於熱休克蛋白之病原體疫苗。在某些實施例中，疫苗如WO 2016/183486中所述，該文獻以全文引用之方式併入本文中。

【0237】熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)為由熱休克蛋白與抗原肽非共價複合而組成之蛋白質肽複合物。HSPPC引發先天性及適應性免疫反應。在一個具體實施例中，抗原肽顯示對所治療之癌症的抗原性。HSPPC由APC經由膜受體(主要CD91)或藉由與類鐸受體結合來高效地捕獲。HSPPC內化引起APC功能成熟以及趨化介素及細胞介素產生，從而引起自然殺手細胞(NK)、單核球及Th1及Th-2介導之免疫反應活化。在某些實施例中，在本文所揭示之方法中所用的HSPPC包含一或多種來自應激蛋白與抗原肽複合之hsp60、hsp70或hsp90家族的熱休克蛋白。在某些實施例中，HSPPC包含hsc70、hsp70、hsp90、hsp110、grp170、gp96、鈣網蛋白或其兩者或更多者之組合。

【0238】在一個具體實施例中，熱休克蛋白肽複合物

(HSPPC)包含重組熱休克蛋白(例如hsp70或hsc70)或其肽結合結構域與重組抗原肽複合。重組熱休克蛋白可藉由重組DNA技術，例如使用如Dworniczak及Mirault, Nucleic Acids Res. 15:5181-5197 (1987)及GenBank寄存編號P11142及/或Y00371中所述之人類hsc70序列來產生，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中。在某些實施例中，Hsp70序列如Hunt及Morimoto Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82 (19), 6455-6459 (1985)及GenBank寄存編號P0DMV8及/或M11717中所述，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中。抗原肽亦可藉由此項技術中已知之重組DNA方法來加以製備。

【0239】在某些實施例中，抗原肽包含經修飾之胺基酸。在某些實施例中，經修飾之胺基酸包含轉譯後修飾。在某些實施例中，經修飾之胺基酸包含轉譯後修飾之模擬物。在某些實施例中，經修飾之胺基酸為已在側鏈羥基或胺上磷酸化之Tyr、Ser、Thr、Arg、Lys或His。在某些實施例中，經修飾之胺基酸為已在側鏈羥基或胺上磷酸化之Tyr、Ser、Thr、Arg、Lys或His胺基酸的模擬物。

【0240】在一個具體實施例中，本文所揭示之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體與熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)，例如熱休克蛋白肽複合物-96 (HSPPC-96)組合向受試者進行投與以治療癌症。HSPPC-96包含96 kDa熱休克蛋白(Hsp) gp96與抗原肽複合。HSPPC-96為由受試者之腫瘤製造的癌症免疫療法且含有

該癌症之抗原「指紋」。在某些實施例中，此指紋含有僅存在於特定(particular)受試者之特定(specific)癌細胞中的獨特抗原，且注射疫苗意欲刺激該受試者之免疫系統以識別及攻擊具有該特定癌症指紋之任何細胞。因此，在一個實施例中，本發明係關於本發明之抗體及/或醫藥組合物與熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)組合，其用作藥劑及/或用於一種用於治療癌症之方法中。

【0241】在某些實施例中，HSPPC (例如HSPPC-96)由受試者之腫瘤組織產生。在一個具體實施例中，HSPPC (例如HSPPC-96)由所治療之癌症類型或其癌轉移的腫瘤產生。在另一個具體實施例中，HSPPC (例如HSPPC-96)為所治療之受試者自體的。在某些實施例中，腫瘤組織為非壞死腫瘤組織。在某些實施例中，至少1公克(例如至少1、至少2、至少3、至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9或至少10公克)非壞死腫瘤組織用於產生疫苗方案。在某些實施例中，在手術切除之後，在用於疫苗製備之前冷凍非壞死腫瘤組織。在某些實施例中，藉由純化技術將HSPPC (例如HSPPC-96)自腫瘤組織分離，過濾且製備為可注射疫苗。在某些實施例中，向受試者投與6-12個劑量之HSPPC (例如HSPCC-96)。在此類實施例中，HSPPC (例如HSPPC-96)劑量可每週進行投與持續前4個劑量，且隨後每兩週進行投與持續2-8個額外劑量。

【0242】可根據本文所述之方法使用的HSPPC之其他實例揭示於以下專利及專利申請案中，該等文獻均以全文

引用之方式併入本文中：美國專利第6,391,306號、第6,383,492號、第6,403,095號、第6,410,026號、第6,436,404號、第6,447,780號、第6,447,781號及第6,610,659號。

【0243】在某些實施例中，本文所揭示之抗TIGIT(例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體與佐劑組合向受試者進行投與。各種佐劑可視治療情形而加以使用。適當佐劑之非限制性實例包括(但不限於)弗氏完全佐劑(Complete Freund's Adjuvant，CFA)、弗氏不完全佐劑(IFA)、montanide ISA(不完全Seppic佐劑)、Ribi佐劑系統(RAS)、Titer Max、胞壁醯基肽、Syntex佐劑調配物(SAF)、明礬(氫氧化鋁及/或磷酸鋁)、鋁鹽佐劑、Gerbu®佐劑、硝化纖維素吸收之抗原、囊封或截留之抗原、3脫氧-醯基化單磷醯基脂質A (3 D-MPL)、免疫刺激寡核苷酸、類鐸受體(TLR)配體、甘露聚糖結合性凝集素(MBL)配體、STING促效劑、免疫刺激性複合物(諸如皂素)、Quil A、QS-21、QS-7、ISCOMATRIX及其他。其他佐劑包括CpG寡核苷酸及雙鏈RNA分子，諸如poly(A)及poly(U)。亦可使用上文佐劑之組合。參見例如美國專利第6,645,495號；第7,029,678號；及第7,858,589號，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。在一個實施例中，本文所用之佐劑為QS-21 STIMULON。

【0244】在某些實施例中，本文所揭示之抗TIGIT(例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體與包含TCR之額外

治療劑組合向受試者進行投與。在某些實施例中，額外治療劑為可溶性TCR。在某些實施例中，額外治療劑為表現TCR之細胞。因此，在一個實施例中，本發明係關於本發明之抗體及/或醫藥組合物與包含TCR之額外治療劑組合，其用作藥劑及/或用於一種用於治療癌症之方法中。

【0245】在某些實施例中，本文所揭示之抗TIGIT(例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體與表現嵌合抗原受體(CAR)之細胞組合向受試者進行投與。在某些實施例中，細胞為T細胞。

【0246】在某些實施例中，本文所揭示之抗TIGIT(例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體與TCR模擬抗體組合向受試者進行投與。在某些實施例中，TCR模擬抗體為特異性結合於肽-MHC複合物之抗體。TCR模擬抗體之非限制性實例參見例如美國專利第9,074,000號及美國公開案第US 2009/0304679 A1號及第US 2014/0134191 A1號，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0247】在某些實施例中，本文所揭示之抗TIGIT(例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體與雙特異性T細胞接合分子(BiTE)(例如如WO2005061547A2中所述，該文獻以全文引用之方式併入本文中)及/或雙親和力再靶向抗體(DART)(例如如WO2012162067A2中所述，該文獻以全文引用之方式併入本文中)組合向受試者進行投與。在某些實施例中，BiTE及/或DART特異性結合於腫瘤相關抗原(例如，在腫瘤中過度表現之多肽、來源於腫瘤病毒之多

肽、包含對腫瘤具有特異性之轉譯後修飾的多肽、在腫瘤中特異性突變之多肽)及效應細胞上之分子(例如CD3或CD16)。在某些實施例中，腫瘤相關抗原為EGFR (例如人類EGFR)，視情況其中BiTE及/或DART包含西妥昔單抗之VH及VL序列。在某些實施例中，腫瘤相關抗原為Her2(例如人類Her2)，視情況其中BiTE及/或DART包含曲妥珠單抗之VH及VL序列。在某些實施例中，腫瘤相關抗原為CD20 (例如人類CD20)。

【0248】抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體及額外治療劑(例如化學治療劑、放射性治療劑、檢查點靶向劑、IDO抑制劑、疫苗、佐劑、可溶性TCR、表現TCR之細胞、表現嵌合抗原受體之細胞及/或TCR模擬抗體)可以單獨劑型分開、依序或同時進行投與。在一個實施例中，抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體非經腸進行投與，而IDO抑制劑經口進行投與。

【0249】本文所述之抗體或醫藥組合物可藉由多種途徑向受試者進行遞送。此等途徑包括(但不限於)非經腸、鼻內、氣管內、經口、皮內、表面、肌肉內、腹膜內、透皮、靜脈內、瘤內、結膜、動脈內及皮下途徑。亦可採用肺部投與，例如藉由使用吸入器或霧化器及具有用作噴霧之氣霧劑的調配物。在某些實施例中，本文所述之抗體或醫藥組合物皮下或靜脈內進行遞送。在某些實施例中，本文所述之抗體或醫藥組合物動脈內進行遞送。在某些實施例中，本文所述之抗體或醫藥組合物瘤內進行遞送。在某

些實施例中，將本文所述之抗體或醫藥組合物遞送至腫瘤引流淋巴結中。

【0250】將在治療及/或預防病況中有效的抗體或組合物之量將視疾病性質而定，且可藉由標準臨床技術來加以確定。

【0251】待用於組合物中之精確劑量亦將視投藥途徑及感染或由其引起之疾病的嚴重性而定，且應根據醫師之判斷及各受試者之情況來決定。舉例而言，有效劑量亦可視投藥手段、靶位點、患者之生理學狀態(包括年齡、體重及健康狀況)、患者是人類還是動物、所投與之其他藥劑或治療是預防性還是治療性而變化。通常，患者為人類，但亦可治療非人類哺乳動物，包括轉殖基因哺乳動物。最佳地對治療劑量進行滴定以使安全性及功效最佳化。

【0252】本文所述之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體亦可用於在生物樣品中使用熟習此項技術者已知之傳統免疫組織化學方法來分析TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)蛋白質含量，該等方法包括免疫分析，諸如酶聯免疫吸附分析(ELISA)、免疫沈澱或西方墨點法(Western blotting)。適合之抗體分析標記為此項技術中已知的，且包括酶標記，諸如葡萄糖氧化酶；放射性同位素，諸如碘(^{125}I、^{121}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氚(^{3}H)、銦(^{121}In)及鎝(^{99}Tc)；發光標記，諸如魯米諾；及螢光標記，諸如螢光素及若丹明，及生物素。此類標記可用於標

記本文所述之抗體。或者，識別本文所述之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體的第二抗體可經標記且與抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體組合使用以偵測TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)蛋白質含量。因此，在一個實施例中，本發明係關於本發明之抗體的用途，其用於在生物樣品中活體外偵測TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)蛋白質。在另一個實施例中，本發明係關於本發明之抗TIGIT抗體的用途，其用於在生物樣品中活體外分析及/或偵測TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)蛋白質含量，視情況其中該抗TIGIT抗體與放射性核種或可偵測標記綴合及/或攜載本文所述之標記，及/或其中使用免疫組織化學方法。

【0253】對TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)蛋白質之表現量的分析意欲包括定性或定量地直接(例如藉由測定或估計絕對蛋白質含量)或相對(例如藉由與第二生物樣品中之疾病相關蛋白質含量相比)量測或估計TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)蛋白質在第一生物樣品中之含量。可量測或估計第一生物樣品中之TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)多肽表現量且將其與標準TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)蛋白質含量相比，該標準品例如自獲自未患有病症之個體的第二生物樣品取得或藉由對來自未患有病症之個體群體的含量進行平均來加以確定。如在此項技術中應瞭解，一旦已知「標準」TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)多肽含量，

其可作為標準品重複用於比較。因此，在另一個實施例中，本發明係關於一種用於在生物樣品中分析及/或偵測TIGIT蛋白質含量(例如人類TIGIT蛋白質含量)之活體外方法，其包含定性或定量地藉由免疫組織化學方法來量測或估計TIGIT蛋白質(例如人類TIGIT蛋白質)在生物樣品中之含量。

【0254】如本文所用，術語「生物樣品」係指自潛在地表現TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之受試者、細胞株、組織或其他細胞源獲得的任何生物樣品。用於自動物(例如人類或食蟹獼猴)獲得組織活體切片及體液之方法為此項技術中熟知的。生物樣品包括外周單核血細胞(PBMC)。

【0255】本文所述之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體可用於預後、診斷、監測及篩查應用，包括熟練技術人員熟知且視為標準且基於本發明描述的活體外及活體內應用。用於活體外評定及評估免疫系統狀態及/或免疫反應之預後、診斷、監測及篩選分析及套組可用於預測、診斷及監測以評估患者樣品，包括評估已知具有或疑似具有免疫系統功能異常之彼等患者樣品或關於預期或所要免疫系統反應、抗原反應或疫苗反應對該等患者樣品進行評估。對免疫系統狀態及/或免疫反應之評定及評估亦可用於確定患者對於藥物臨床試驗或對於與不同藥劑或抗體對比投與特定化學治療劑、放射性治療劑或抗體(包括其組合)的適合性。此類型之預後及診斷監測及評定

已在實踐中利用針對乳癌HER2蛋白質之抗體(HercepTest™，Dako)進行，其中該分析亦用於對於使用Herceptin®之抗體療法評估患者。活體內應用包括定向細胞療法及免疫系統調節及免疫反應放射性成像。因此，在一個實施例中，本發明係關於本發明之抗TIGIT抗體及/或醫藥組合物，其用作診斷劑。在一個實施例中，本發明係關於本發明之抗TIGIT抗體及/或醫藥組合物，其用於一種用於預測、診斷及/或監測具有或疑似具有免疫系統功能異常之受試者或關於預期或所要免疫系統反應、抗原反應或疫苗反應對該受試者進行預測、診斷及/或監測的方法。在另一實施例中，本發明係關於本發明之抗TIGIT抗體的用途，其用於預測、診斷及/或監測具有或疑似具有免疫系統功能異常之受試者或關於預期或所要免疫系統反應、抗原反應或疫苗反應對該受試者進行預測、診斷及/或監測，該預測、診斷及/或監測藉由在該受試者之生物樣品中活體外分析及/或偵測人類TIGIT蛋白質含量來進行。

【0256】在一個實施例中，抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體可用於活體檢查樣品之免疫組織化學中。在一個實施例中，該方法為活體外方法。在另一實施例中，抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體可用於偵測TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之含量或在膜表面上含有TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之細胞的含量，該等含量可隨後與某些疾病症狀相

聯。本文所述之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體可攜載可偵測或功能性標記及/或可與放射性核種或可偵測標記綴合。當使用螢光標記時，目前可獲得的此項技術中已知之顯微法及螢光活化細胞分類器分析或兩種方法程序之組合可用以鑑別特異性結合成員及對其進行定量。本文所述之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體可攜載螢光標記或可與其綴合。例示性螢光標記包括例如反應性及綴合探針，例如胺基香豆素(Aminocoumarin)、螢光素及Texas red、Alexa Fluor染料、Cy染料及DyLight染料。抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體可攜載放射性標記或放射性核種或可與其綴合，該放射性標記或放射性核種諸如同位素^{3}H、^{14}C、^{32}P、^{35}S、^{36}Cl、^{51}Cr、^{57}Co、^{58}Co、^{59}Fe、^{67}Cu、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{117}Lu、^{121}I、^{124}I、^{125}I、^{131}I、^{198}Au、^{211}At、^{213}Bi、^{225}Ac及^{186}Re。當使用放射性標記時，目前可獲得的此項技術中已知之計數程序可用以鑑別抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體與TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之特異性結合及對其進行定量。在其中標記為酶之例子中，偵測可藉由本發明所利用的如此項技術中已知之比色、分光光度、氟分光光度、電流測定或氣體定量技術中的任一者來實現。此可藉由使樣品或對照樣品與抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體在允許在該抗體與TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之間形成複合物的條件下接觸來達成。偵測在抗體

與TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之間形成的任何複合物，且在樣品與對照物中進行比較。鑒於本文所述之抗體對TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)的特異性結合，該等抗體可用於特異性偵測細胞表面上之TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)表現。本文所述之抗體亦可用於經由免疫親和力純化來純化TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)。本文亦包括一種分析系統，其可以測試套組、套組或分裝部分之套組的形式製備以用於對例如TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)或TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)/TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)配體複合物之存在的程度進行定量分析。系統、測試套組、套組或分裝部分之套組可包含經標記之組分(例如經標記之抗體)及一或多種額外免疫化學試劑。

1.5 產生抗TIGIT抗體之多核苷酸、載體及方法

【0257】在另一態樣中，本文提供以下多核苷酸，其包含編碼特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗原的本文所述之抗體或其片段(例如輕鏈可變區及/或重鏈可變區)的核苷酸序列；以及載體，例如包含此類多核苷酸以用於在宿主細胞(例如大腸桿菌(*E. coli*)及哺乳動物細胞)中重組表現之載體。本文提供以下多核苷酸，其包含編碼本文所提供抗體中之任一者之重鏈及/或輕鏈的核苷酸序列；以及包含此類多核苷酸序列之載體，

例如用於在宿主細胞(例如哺乳動物細胞)中使該等多核苷酸有效表現的表現載體。

【0258】如本文所用，「經分離」之多核苷酸或核酸分子為與存在於核酸分子天然來源中(例如在小鼠或人類中)之其他核酸分子分離的多核苷酸或核酸分子。此外，「經分離」之核酸分子(諸如cDNA分子)可在藉由重組技術產生時基本上不含其他細胞材料或培養基，或在化學合成時基本上不含化學前驅物或其他化學物質。舉例而言，語言「基本上不含」包括多核苷酸或核酸分子製劑具有少於約15%、10%、5%、2%、1%、0.5%或0.1% (尤其少於約10%)之其他材料，例如細胞材料、培養基、其他核酸分子、化學前驅物及/或其他化學物質。在一個具體實施例中，分離或純化編碼本文所述之抗體的核酸分子。

【0259】在特定態樣中，本文提供以下多核苷酸，其包含編碼特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)多肽且包含如本文所述之胺基酸序列的抗體以及與此類抗體競爭結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)多肽(例如以劑量依賴性方式)或與此類抗體結合於相同抗原決定基之抗體的核苷酸序列。

【0260】在某些態樣中，本文提供以下多核苷酸，其包含編碼本文所述之抗體之輕鏈或重鏈的核苷酸序列。多核苷酸可包含編碼包含本文所述之抗體之VL FR及CDR (參見例如表1)之輕鏈的核苷酸序列或編碼包含本文所述之抗體之VH FR及CDR (參見例如表1)之重鏈的核苷酸序

列。

【0261】本文亦提供以下多核苷酸，其編碼例如藉由密碼子/RNA最佳化、用異源信號序列置換及消除mRNA不穩定性元件而最佳化的抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體。藉由引入密碼子變化及/或消除mRNA中抑制區而產生經最佳化以用於重組表現的編碼抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或其片段(例如輕鏈、重鏈、VH結構域或VL結構域)之核酸的方法可藉由採用例如美國專利第5,965,726號；第6,174,666號；第6,291,664號；第6,414,132號；及第6,794,498號中所述之最佳化方法來實行，相應地，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。舉例而言，RNA內之潛在剪接位點及不穩定性元件(例如富含A/T或A/U之元件)可經突變而不改變由該等核酸序列編碼之胺基酸以增加該RNA用於重組表現之穩定性。改變利用遺傳密碼之簡併，例如對相同胺基酸使用替代性密碼子。在某些實施例中，可能期望改變一或多個密碼子以編碼保守性突變，例如具有與原始胺基酸類似之化學結構及特性及/或功能的類似胺基酸。此類方法可將抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或其片段之表現相對於由尚未經最佳化之多核苷酸編碼的抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體之表現增加至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍或更多倍。

【0262】在某些實施例中，經最佳化的編碼本文所述

之抗TIGIT（例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或其片段(例如VL結構域及/或VH結構域)之多核苷酸序列可與未最佳化的編碼本文所述之抗TIGIT（例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或其片段(例如VL結構域及/或VH結構域)之多核苷酸序列的反義(例如互補)多核苷酸雜交。在具體實施例中，經最佳化的編碼本文所述之抗TIGIT（例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或片段之核苷酸序列在高嚴格度條件下與未最佳化的編碼本文所述之抗TIGIT（例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或其片段之多核苷酸序列的反義多核苷酸雜交。在一個具體實施例中，經最佳化的編碼本文所述之抗TIGIT（例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或其片段之核苷酸序列在高嚴格度、中等或較低嚴格度雜交條件下與未最佳化的編碼本文所述之抗TIGIT（例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或其片段之核苷酸序列的反義多核苷酸雜交。已描述關於雜交條件之資訊，參見例如美國專利申請公開案第2005/0048549號(例如第72-73段)，該文獻以全文引用之方式併入本文中。

【0263】可藉由此項技術中已知之任何方法獲得多核苷酸及確定該等多核苷酸之核苷酸序列。編碼本文所述之抗體(例如表1中所述之抗體)及此等抗體之經修飾型式的核苷酸序列可使用此項技術中熟知之方法來加以確定，亦即，將已知編碼特定胺基酸之核苷酸密碼子以產生編碼該抗體之核酸的方式進行組裝。此類編碼抗體之多核苷酸可自化學合成之寡核苷酸組裝(例如如Kutmeier G等人，

(1994), BioTechniques 17: 242-6中所述，該文獻以全文引用之方式併入本文中)，簡言之，其涉及合成含有編碼抗體之序列部分的重疊寡核苷酸，對彼等寡核苷酸進行黏接及接合，且隨後藉由PCR使經接合之寡核苷酸擴增。

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

【0265】若含有編碼特定抗體之核酸的純系不可獲得，但已知該抗體分子之序列，則編碼免疫球蛋白之核酸可經化學合成，或藉由使用可與序列之3'及5'端雜交之合成引子的PCR擴增或藉由使用對特定基因序列具有特異性之寡核苷酸探針選殖來鑑別例如來自編碼該抗體之cDNA庫的cDNA純系而自適合之來源(例如抗體cDNA庫、或由表現該抗體之任何組織或細胞(諸如經選擇以表現本文所述之抗體的融合瘤細胞)產生之cDNA庫、或自該等組織或細胞分離之核酸(較佳為polyA+RNA))獲得。可隨後使用此項技術中熟知之任何方法將藉由PCR產生之經擴增核酸選

殖至可複製之選殖載體中。

【0266】編碼本文所述之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體的DNA可使用習知程序(例如藉由使用能夠特異性結合於編碼抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體重鏈及輕鏈之基因的寡核苷酸探針)來容易地進行分離及定序。融合瘤細胞可充當此類DNA之來源。一旦分離，可將DNA置放於表現載體中，隨後將該等表現載體轉染至宿主細胞，諸如大腸桿菌細胞、猴COS細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞(例如來自CHO GS System™ (Lonza)之CHO細胞)或在其他情況下不產生免疫球蛋白蛋白質之骨髓瘤細胞中，以在重組宿主細胞中獲得抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體之合成。

【0267】為了產生完整抗體，包括VH或VL核苷酸序列、限制位點及保護該限制位點之側接序列的PCR引子可用於使scFv純系中之VH或VL序列擴增。利用熟習此項技術者已知之選殖技術，可將經PCR擴增之VH結構域選殖至表現重鏈恆定區(例如人類γ1或人類γ4恆定區)之載體中，且可將經PCR擴增之VL結構域選殖至表現輕鏈恆定區(例如人類κ或λ恆定區)之載體中。在某些實施例中，用於表現VH或VL結構域之載體包含EF-1α啟動子、分泌信號、用於可變區之選殖位點、恆定結構域及諸如新黴素之選擇標記物。亦可將VH及VL結構域選殖至一個表現必要恆定區之載體中。隨後使用熟習此項技術者已知之技術將重鏈轉化載體及輕鏈轉化載體共轉染至細胞株中以產生表現全長

抗體(例如IgG)之穩定或瞬時細胞株。

【0268】DNA亦可例如藉由將鼠類序列取代為用於人類重鏈及輕鏈恆定結構域之編碼序列，或藉由將用於非免疫球蛋白多肽之編碼序列的全部或部分共價接合於免疫球蛋白編碼序列來加以修飾。

【0269】亦提供以下多核苷酸，其在高嚴格度、中等或較低嚴格度雜交條件下與編碼本文所述之抗體的多核苷酸雜交。在具體實施例中，本文所述之多核苷酸在高嚴格度、中等或較低嚴格度雜交條件下與編碼本文所提供之VH結構域及/或VL結構域的多核苷酸雜交。

【0270】雜交條件已描述於此項技術中且為熟習此項技術者已知的。舉例而言，在嚴格條件下雜交可涉及在6×氯化鈉/檸檬酸鈉(SSC)中在約45℃下與濾紙結合之DNA雜交，後接在0.2×SSC/0.1% SDS中在約50℃-65℃下洗滌一或多次；在高度嚴格條件下雜交可涉及在6×SSC中在約45℃下與濾紙結合之核酸雜交，後接在0.1×SSC/0.2% SDS中在約68℃下洗滌一或多次。在其他嚴格雜交條件下雜交為熟習此項技術者已知的且已加以描述，參見例如Ausubel FM等人編, (1989) Current Protocols in Molecular Biology, 第I卷, Green Publishing Associates, Inc.及John Wiley & Sons, Inc., New York，第6.3.1-6.3.6及2.10.3頁，該等文獻以全文引用之方式併入本文中。

【0271】在某些態樣中，本文提供以下細胞(例如宿主細胞)，其表現(例如以重組方式表現)特異性結合於

TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)的本文所述之抗體以及相關多核苷酸及表現載體。本文提供以下載體(例如表現載體)，其包含有包含編碼抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或片段之核苷酸序列的多核苷酸以用於在宿主細胞中，較佳地在哺乳動物細胞(例如CHO細胞)中重組表現。本文亦提供以下宿主細胞，其包含此類載體以用於以重組方式表現本文所述之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體(例如人類或人類化抗體)。在一個特定態樣中，本文提供用於產生本文所述之抗體的方法，其包含由宿主細胞表現此類抗體。

【0272】對特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)的本文所述之抗體(例如全長抗體、抗體之重鏈及/或輕鏈或本文所述之單鏈抗體)的重組表現一般涉及構築含有編碼該抗體之多核苷酸的表現載體。一旦已獲得編碼本文所述之抗體分子、抗體之重鏈及/或輕鏈或其片段(例如重鏈及/或輕鏈可變區)的多核苷酸，用於產生抗體分子之載體可藉由重組DNA技術使用此項技術中熟知之技術來產生。因此，本文描述用於製備蛋白質的方法，其藉由表現含有編碼抗體或抗體片段(例如輕鏈或重鏈)之核苷酸序列的多核苷酸來進行。熟習此項技術者熟知之方法可用於構築含有抗體或抗體片段(例如輕鏈或重鏈)編碼序列及適當轉錄及轉譯控制信號的表現載體。此等方法包括例如活體外重組DNA技術、合成技術及活體內基因重組。亦提供以下可複製載體，其包含編碼本文所述之抗體分

子、抗體之重鏈或輕鏈、抗體之重鏈或輕鏈可變區或其片段、或重鏈或輕鏈CDR的核苷酸序列，該核苷酸序列可操作地連接於啟動子。此類載體可例如包括編碼抗體分子之恆定區的核苷酸序列(參見例如國際公開案第WO 86/05807號及第WO 89/01036號；以及美國專利第5,122,464號，該等文獻以全文引用之方式併入本文中)，且可將抗體之可變區選殖至此類載體中以用於表現整個重鏈、整個輕鏈或整個重鏈及輕鏈兩者。

【0273】可藉由習知技術將表現載體轉移至細胞(例如宿主細胞)中，且可隨後藉由習知技術培養所得細胞以產生本文所述之抗體或其片段。因此，本文提供以下宿主細胞，其含有編碼本文所述之抗體或其片段、或其重鏈或輕鏈、或其片段、或本文所述之單鏈抗體的多核苷酸，該多核苷酸可操作地連接於啟動子以用於在宿主細胞中表現此類序列。在某些實施例中，如下文所詳述，為表現雙鏈抗體，個別地編碼重鏈及輕鏈兩者之載體可在宿主細胞中共表現以用於表現整個免疫球蛋白分子。在某些實施例中，宿主細胞含有載體，該載體包含編碼本文所述之抗體之重鏈及輕鏈兩者或其片段的多核苷酸。在具體實施例中，宿主細胞含有兩種不同載體，第一載體包含編碼本文所述之抗體之重鏈或重鏈可變區或其片段的多核苷酸，而第二載體包含編碼本文所述之抗體之輕鏈或輕鏈可變區或其片段的多核苷酸。在其他實施例中，第一宿主細胞包含第一載體，該第一載體包含編碼本文所述之抗體之重鏈或

重鏈可變區或其片段的多核苷酸，而第二宿主細胞包含第二載體，該第二載體包含編碼本文所述之抗體之輕鏈或輕鏈可變區的多核苷酸。在具體實施例中，由第一細胞表現之重鏈/重鏈可變區與第二細胞之輕鏈/輕鏈可變區締合以形成本文所述之抗TIGIT（例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體。在某些實施例中，本文提供以下宿主細胞群體，其包含此類第一宿主細胞及此類第二宿主細胞。

【0274】在一個特定實施例中，本文提供以下載體群體，其包含第一載體及第二載體，該第一載體包含編碼本文所述之抗TIGIT（例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體之輕鏈/輕鏈可變區的多核苷酸，該第二載體包含編碼本文所述之抗TIGIT（例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體之重鏈/重鏈可變區的多核苷酸。

【0275】多種宿主-表現載體系統可用於表現本文所述之抗體分子(參見例如美國專利第5,807,715號，該文獻以全文引用之方式併入本文中)。此類宿主-表現系統表示可產生且隨後純化所關注之編碼序列的載具，且亦表示可在經適當核苷酸編碼序列轉型或轉染時原位表現本文所述之抗體分子的細胞。此等系統包括(但不限於)微生物，諸如經例如含有抗體編碼序列之重組噬菌體DNA、質體DNA或黏質體DNA表現載體轉型的細菌(例如大腸桿菌及枯草桿菌(*B. subtilis*))；經例如含有抗體編碼序列之重組酵母表現載體轉型的酵母(例如畢赤酵母(*Saccharomyces Pichia*))；經例如含有抗體編碼序列之重組病毒表現載體

(例如桿狀病毒(baculovirus))感染的昆蟲細胞系統；經例如含有抗體編碼序列之重組病毒表現載體(例如花椰菜嵌紋病毒(cauliflower mosaic virus)，CaMV；菸草嵌紋病毒(tobacco mosaic virus)，TMV)感染或經例如含有抗體編碼序列之重組質體表現載體(例如Ti質體)轉型的植物細胞系統(例如綠藻，諸如萊茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*))；或具有例如含有來源於哺乳動物細胞基因組之啟動子(例如金屬硫蛋白啟動子)或來源於哺乳動物病毒之啟動子(例如腺病毒晚期啟動子；痘瘡病毒7.5K啟動子)之重組表現構築體的哺乳動物細胞系統(例如COS (例如COS1或COS)、CHO、BHK、MDCK、HEK 293、NS0、PER.C6、VERO、CRL7O3O、HsS78Bst、HeLa及NIH 3T3、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20及BMT10細胞)。在一個具體實施例中，用於表現本文所述之抗體的細胞為中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，例如來自CHO GS System™ (Lonza)之CHO細胞。在某些實施例中，由CHO細胞產生的抗體之重鏈及/或輕鏈的N端麩醯胺酸或麩胺酸殘基可經焦麩胺酸置換。在一個特定實施例中，用於表現本文所述之抗體的細胞為人類細胞，例如人類細胞株。在一個具體實施例中，哺乳動物表現載體為pOptiVEC™或pcDNA3.3。在一個特定實施例中，尤其用於表現完整重組抗體分子的細菌細胞(諸如大腸桿菌)或真核細胞(例如哺乳動物細胞)用於表現重組抗體分子。舉例而言，諸如CHO細胞之哺乳動物細胞與諸

如來自人類巨細胞病毒之主要中早期基因啟動子元件的載體結合為用於抗體之有效表現系統(Foecking MK & Hofstetter H (1986) Gene 45: 101-5；及Cockett MI等人, (1990) Biotechnology 8(7): 662-7，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中)。在某些實施例中，本文所述之抗體由CHO細胞或NS0細胞產生。在一個具體實施例中，編碼本文所述之特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體的核苷酸序列的表現由組成性啟動子、誘導性啟動子或組織特異性啟動子加以調控。

【0276】在細菌系統中，多個表現載體可有利地視所表現之抗體分子的預期用途而加以選擇。舉例而言，當待產生大量此類抗體時，為產生抗體分子之醫藥組合物，可能期望的是容易純化的導引高含量之融合蛋白產物之表現的載體。此類載體包括(但不限於)大腸桿菌表現載體pUR278 (Ruether U & Mueller-Hill B (1983) EMBO J 2: 1791-1794)，其中抗體編碼序列可個別地接合至與lac Z編碼區同框之載體中以產生融合蛋白；pIN載體(Inouye S & Inouye M (1985) Nuc Acids Res 13: 3101-3109；Van Heeke G & Schuster SM (1989) J Biol Chem 24: 5503-5509)；及其類似物，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。舉例而言，pGEX載體亦可用於將外源多肽表現為具有麩胱甘肽5-轉移酶(GST)之融合蛋白。一般而言，此類融合蛋白為可溶的，且可藉由吸附及結合於麩胱甘肽瓊脂糖珠粒

基質，繼而在游離麩胱甘肽存在下溶離而容易地自溶解細胞純化。pGEX載體經設計以包括凝血酶或因子Xa蛋白酶裂解位點，以使得可自GST部分釋放所選殖之靶基因產物。

【0277】在昆蟲系統中，舉例而言，苜蓿銀紋夜蛾(*Autographa californica*)核型多角體病毒(AcNPV)可用作載體來表現外源基因。病毒生長於草地黏蟲(*Spodoptera frugiperda*)細胞中。可將抗體編碼序列個別地選殖至病毒之非必需區(例如多角體蛋白基因)中，且置放於AcNPV啟動子(例如多角體蛋白啟動子)之控制下。

【0278】在哺乳動物宿主細胞中，可利用多種基於病毒之表現系統。在其中使用腺病毒作為表現載體的情況下，所關注之抗體編碼序列可接合至腺病毒轉錄/轉譯控制複合物，例如晚期啟動子及三聯前導序列。此嵌合基因可隨後藉由活體外或活體內重組而插入在腺病毒基因組中。插入在病毒基因組之非必需區(例如區E1或E3)中將產生在所感染之宿主中可存活且能夠表現抗體分子之重組病毒(例如參見Logan J & Shenk T (1984) PNAS 81(12): 3655-9，該文獻以全文引用之方式併入本文中)。為高效轉譯所插入之抗體編碼序列亦可需要特定起始信號。此等信號包括ATG起始密碼子及相鄰序列。此外，起始密碼子必須與所要編碼序列之閱讀框架同相，以確保整個插入物之轉譯。此等外源性轉譯控制信號及起始密碼子可為多種來源，天然及合成兩者。可藉由包括適當轉錄強化子元件、

轉錄終止子等來提高表現效率(參見例如Bitter G等人,(1987) Methods Enzymol. 153: 516-544，該文獻以全文引用之方式併入本文中)。

【0279】另外，可選擇以所要特定方式調節插入序列之表現或修飾及處理基因產物的宿主細胞品系。蛋白質產物之此類修飾(例如糖基化)及處理(例如裂解)對該蛋白質之功能可為至關重要的。不同宿主細胞具有蛋白質及基因產物之轉譯後處理及修飾的特徵及特定機制。可選擇適當細胞株或宿主系統以確保所表現之外源蛋白質的正確修飾及處理。為此目的，可使用具有用於恰當處理初級轉錄物、使基因產物糖基化及磷酸化之細胞機制的真核宿主細胞。此類哺乳動物宿主細胞包括(但不限於) CHO、VERO、BHK、Hela、MDCK、HEK 293、NIH 3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT2O及T47D、NS0 (不內源性產生任何免疫球蛋白鏈之鼠類骨髓瘤細胞株)、CRL7O3O、COS (例如COS1或COS)、PER.C6、VERO、HsS78Bst、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20、BMT10及HsS78Bst細胞。在某些實施例中，本文所述之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體在哺乳動物細胞(諸如CHO細胞)中產生。

【0280】在一個具體實施例中，本文所述之抗體的海藻糖含量減少或無海藻糖含量。此類抗體可使用熟習此項技術者已知之技術來產生。舉例而言，抗體可在缺乏或不

具有海藻糖化之能力的細胞中進行表現。在一個具體實例中，α1,6-海藻糖基轉移酶之兩個等位基因均基因剔除的細胞株可用於產生海藻糖含量減少之抗體。Potelligent®系統(Lonza)為可用於產生海藻糖含量減少之抗體的此類系統之一個實例。

【0281】為長期高產率產生重組蛋白質，可產生穩定表現細胞。舉例而言，穩定表現本文所述之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體的細胞株可經工程改造。在具體實施例中，本文所提供之細胞穩定表現締合以形成本文所述之抗體的輕鏈/輕鏈可變區及重鏈/重鏈可變區。

【0282】在某些態樣中，宿主細胞可用由適當表現控制元件(例如啟動子、強化子、序列、轉錄終止子、聚腺苷酸化位點等)控制之DNA及可選標記物轉型，而非使用含有病毒複製起點之表現載體。在引入外源DNA/多核苷酸後，可使經工程改造之細胞在豐富培養基(enriched media)中生長1-2天，且隨後交換至選擇性培養基中。重組質體中之可選標記物賦予選擇抗性，且允許細胞將質體穩定地整合至其染色體中且生長形成變異區(foci)，該等變異區繼而可選殖及擴增至細胞株中。此方法可有利地用於對表現本文所述之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體或其片段的細胞株進行工程改造。此類經工程改造之細胞株可尤其適用於篩選及評估與抗體分子直接或間接相互作用之組合物。

【0283】可使用多種選擇系統，包括(但不限於)分別處於tk、hgprt或aprt細胞中之單純疱疹病毒(herpes simplex virus)胸苷激酶(Wigler M等人, (1977) Cell 11(1): 223-32)、次黃嘌呤鳥嘌呤磷酸核糖基轉移酶(Szybalska EH & Szybalski W (1962) PNAS 48(12): 2026-2034)及腺嘌呤磷酸核糖基轉移酶(Lowy I等人, (1980) Cell 22(3): 817-23)基因，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。另外，抗代謝物抗性可用作選擇以下基因之基礎：賦予甲胺喋呤抗性之*dhfr* (Wigler M等人, (1980) PNAS 77(6): 3567-70；O'Hare K等人, (1981) PNAS 78: 1527-31)；賦予黴酚酸抗性之*gpt* (Mulligan RC & Berg P (1981) PNAS 78(4): 2072-6)；賦予胺基醣苷G-418抗性之neo (Wu GY & Wu CH (1991) Biotherapy 3: 87-95；Tolstoshev P (1993) Ann Rev Pharmacol Toxicol 32: 573-596；Mulligan RC (1993) Science 260: 926-932；及Morgan RA & Anderson WF (1993) Ann Rev Biochem 62: 191-217；Nabel GJ & Felgner PL (1993) Trends Biotechnol 11(5): 211-5)；及賦予濕黴素抗性之*hygro* (Santerre RF等人, (1984) Gene 30(1-3): 147-56)，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。重組DNA技術領域中通常已知之方法可常規地應用於選擇所要之重組純系，且此類方法描述於例如Ausubel FM等人(編), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993)；Kriegler M, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY

(1990)；及在Dracopoli NC等人(編), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994)第12及13章中；Colbère-Garapin F等人, (1981) J Mol Biol 150: 1-14中，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0284】抗體分子之表現量可藉由載體擴增來增加(綜述參見Bebbington CR & Hentschel CCG, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, 第3卷(Academic Press, New York, 1987)，該文獻以全文引用之方式併入本文中)。當表現抗體之載體系統中的標記物可擴增時，存在於宿主細胞培養物中之抑制劑的含量增加將增加標記基因複本之數目。因為擴增區與抗體基因締合，所以抗體之產生亦將增加(Crouse GF等人, (1983) Mol Cell Biol 3: 257-66，該文獻以全文引用之方式併入本文中)。

【0285】宿主細胞可經兩種或更多種本文所述之表現載體共轉染，第一載體編碼重鏈源性多肽且第二載體編碼輕鏈源性多肽。兩種載體可含有相同之可選標記物，其使得能夠等量表現重鏈及輕鏈多肽。宿主細胞可經不同量的兩種或更多種表現載體共轉染。舉例而言，宿主細胞可以下列第一表現載體與第二表現載體比率中之任一者進行轉染：約1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:12、1:15、1:20、1:25、1:30、1:35、1:40、1:45或1:50。

【0286】或者，可使用編碼且能夠表現重鏈及輕鏈多

肽兩者之單個載體。在此類情形下，應將輕鏈置放在重鏈之前以避免有毒自由重鏈過量(Proudfoot NJ (1986) Nature 322: 562-565；及Köhler G (1980) PNAS 77: 2197-2199，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中)。重鏈及輕鏈之編碼序列可包含cDNA或基因組DNA。表現載體可為單順反子或多順反子。多順反子核酸構築體可編碼2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多個基因/核苷酸序列，或介於2-5、5-10或10-20個範圍內之基因/核苷酸序列。舉例而言，雙順反子核酸構築體可按以下次序包含啟動子、第一基因(例如本文所述之抗體的重鏈)及第二基因及(例如本文所述之抗體的輕鏈)。在此類表現載體中，兩種基因之轉錄均可由啟動子驅動，而來自第一基因之mRNA的轉譯可藉由帽依賴性掃描機制進行，且來自第二基因之mRNA的轉譯可藉由非帽依賴性機制(例如藉由IRES)來進行。

【0287】一旦已藉由重組表現產生本文所述之抗體分子，則其可藉由此項技術中已知用於免疫球蛋白分子純化之任何方法來加以純化，例如藉由層析(例如離子交換、親和力，尤其藉由對蛋白質A之後特定抗原的親和力，及篩分管柱層析)、離心、溶解度差異或藉由任何其他用於蛋白質純化之標準技術。此外，本文所述之抗體可融合於本文所述或此項技術中另外已知之異源多肽序列以便於純化。

【0288】在具體實施例中，本文所述之抗體經分離或

經純化。一般而言，經分離之抗體為基本上不含抗原特異性與經分離之抗體不同之其他抗體的抗體。舉例而言，在一個特定實施例中，本文所述之抗體的製劑基本上不含細胞材料及/或化學前驅物。語言「基本上不含細胞材料」包括其中抗體與自其中分離或重組地產生該抗體之細胞的細胞組分分離的抗體製劑。因此，基本上不含細胞材料之抗體包括具有少於約30%、20%、10%、5%、2%、1%、0.5%或0.1% (以乾重計)之異源蛋白質(在本文中亦稱為「污染性蛋白質」)及/或抗體變異體(例如抗體之不同轉譯後修飾形式或抗體之其他不同型式，例如抗體片段)的抗體製劑。當以重組方式產生抗體時，其一般亦基本上不含培養基，亦即培養基佔蛋白質製劑體積之小於約20%、10%、2%、1%、0.5%或0.1%。當藉由化學合成產生抗體時，其一般基本上不含化學前驅物或其他化學品，亦即，其與參與該蛋白質之合成的化學前驅物或其他化學品分離。因此，此類抗體製劑具有少於約30%、20%、10%或5% (以乾重計)的除所關注抗體以外之化學前驅物或化合物。在一個具體實施例中，本文所述之抗體經分離或經純化。

【0289】特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體或其片段可藉由此項技術中已知用於抗體合成之任何方法來產生，例如藉由化學合成或藉由重組表現技術。除非另有指示，否則本文所述之方法採用分子生物學、微生物學、遺傳分析、重組DNA、有機化學、生

物化學、PCR、寡核苷酸合成及修飾、核酸雜交及此項技術內相關領域中的習知技術。此等技術描述於例如本文所引用之參考文獻中，且充分解釋於文獻中。參見例如Maniatis T等人, (1982) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press；Sambrook J等人, (1989), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第二版, Cold Spring Harbor Laboratory Press；Sambrook J等人, (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY；Ausubel FM等人, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987及每年更新)；Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons (1987及每年更新) Gait (編) (1984) Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press；Eckstein (編) (1991) Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, IRL Press；Birren B等人(編) (1999) Genome Analysis: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0290】在一個具體實施例中，本文所述之抗體為藉由涉及產生之任何手段，例如經由合成、DNA序列基因工程改造來製備、表現、產生或分離的抗體(例如重組抗體)。在某些實施例中，此類抗體包含不天然存在於動物或哺乳動物(例如人類)活體內之抗體生殖系譜系內的序列(例如DNA序列或胺基酸序列)。

【0291】在一個態樣中，本文提供一種製造特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體的方法，其包含培養本文所述之細胞或宿主細胞。在一個實施例中，該方法活體外進行。在某一態樣中，本文提供一種製造特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之抗體的方法，其包含使用本文所述之細胞或宿主細胞(例如，包含編碼本文所述之抗體之多核苷酸的細胞或宿主細胞)來表現(例如以重組方式表現)該抗體。在一個特定實施例中，細胞為經分離之細胞。在一個特定實施例中，已將外源性多核苷酸引入至細胞中。在一個特定實施例中，該方法進一步包含使自細胞或宿主細胞獲得之抗體純化的步驟。

【0292】用於產生多株抗體之方法為此項技術中已知的(參見例如Short Protocols in Molecular Biology, (2002)第5版, Ausubel FM等人編, John Wiley and Sons, New York中第11章，該文獻以全文引用之方式併入本文中)。

【0293】單株抗體可使用此項技術中已知之多種技術來加以製備，該等技術包括使用融合瘤、重組及噬菌體呈現技術或其組合。舉例而言，單株抗體可使用融合瘤技術來產生，該等融合瘤技術包括此項技術中已知且如在Harlow E & Lane D, Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第2版 1988)中；Hammerling GJ等人, 在Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563 681 (Elsevier, N.Y., 1981)中教示之彼等技

術，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中。如本文所用之術語「單株抗體」不限於經由融合瘤技術產生之抗體。舉例而言，單株抗體可自外源地表現本文所述之抗體或其片段(例如此類抗體之輕鏈及/或重鏈)的宿主細胞以重組方式產生。

【0294】在具體實施例中，如本文所用之「單株抗體」為由單一細胞(例如，產生重組抗體之融合瘤或宿主細胞)產生之抗體，其中如例如由ELISA或在此項技術中或本文所提供之實例中已知的其他抗原結合或競爭性結合分析所確定，該抗體特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)。在特定實施例中，單株抗體可為嵌合抗體或人類化抗體。在某些實施例中，單株抗體為單價抗體或多價(例如二價)抗體。在特定實施例中，單株抗體為單特異性或多特異性抗體(例如雙特異性抗體)。本文所述之單株抗體可例如藉由如Kohler G & Milstein C (1975) Nature 256: 495(其以全文引用之方式併入本文中)中所述之融合瘤方法來加以製造，或舉例而言，可例如使用如本文所述之技術而自噬菌體庫中分離。用於製備純系細胞株及由其表現之單株抗體的其他方法為此項技術中熟知的(參見例如Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 第5版, Ausubel FM等人, 同前文獻中第11章)。

【0295】如本文所用，當抗體包含至少兩個(例如兩個或更多個)單價結合結構域，各單價結合結構域均能夠結合於抗原上之抗原決定基時，該抗體多價(例如二價)結

合於該抗原。各單價結合結構域可結合於抗原上之相同或不同抗原決定基。

【0296】用於使用融合瘤技術產生及篩選特異性抗體之方法為此項技術中常規且熟知的。舉例而言，在融合瘤方法中，對小鼠或其他適當宿主動物(諸如綿羊、山羊、兔、大鼠、倉鼠或獼猴)進行免疫以引發產生或能夠產生將特異性結合於免疫所用蛋白質(例如TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT))之抗體的淋巴球。或者，淋巴球可在活體外經免疫。隨後使用適合之融合劑(諸如聚乙二醇)使淋巴球與骨髓瘤細胞融合以形成融合瘤細胞(Goding JW (編), Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 第59-103頁 (Academic Press, 1986)，該文獻以全文引用之方式併入本文中)。另外，RIMMS (重複免疫多個位點)技術可用於對動物進行免疫(Kilpatrick KE等人, (1997) Hybridoma 16:381-9，該文獻以全文引用之方式併入本文中)。

【0297】在某些實施例中，可用抗原(例如TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT))對小鼠(或其他動物，諸如大鼠、猴、驢、豬、綿羊、倉鼠或犬)進行免疫，且一旦偵測到免疫反應，例如在小鼠血清中偵測到對該抗原具有特異性之抗體，則採集小鼠脾臟且分離脾細胞。隨後藉由熟知之技術將脾細胞融合於任何適合之骨髓瘤細胞，例如來自可購自美國典型培養物保藏中心(American Type Culture Collection，ATCC®) (Manassas, VA)之細胞株SP20

的細胞，以形成融合瘤。選擇融合瘤且藉由極限稀釋法來對其進行選殖。在某些實施例中，採集經免疫之小鼠的淋巴結且將其與NS0骨髓瘤細胞融合。

【0298】由此製備之融合瘤接種且生長於適合培養基中，該培養基較佳含有一或多種抑制未融合之親本骨髓瘤細胞生長或存活的物質。舉例而言，若親本骨髓瘤細胞不具有酶次黃嘌呤鳥嘌呤磷酸核糖基轉移酶(HGPRT或HPRT)，則用於融合瘤之培養基通常將包括次黃嘌呤、胺基蝶呤及胸苷(HAT培養基)，該等物質會阻止缺乏HGPRT之細胞生長。

【0299】具體實施例採用高效融合、支持所選產抗體細胞穩定高量產生抗體且對諸如HAT培養基之培養基敏感的骨髓瘤細胞。在此等骨髓瘤細胞株當中為鼠類骨髓瘤細胞株，諸如可購自沙克研究所細胞分配中心(Salk Institute Cell Distribution Center), San Diego, CA, USA的NS0細胞株或來源於MOPC-21及MPC-11小鼠腫瘤之彼等細胞株，及可購自美國典型培養物保藏中心, Rockville, MD, USA的SP-2或X63-Ag8.653細胞。對於人類單株抗體之產生，亦已描述人類骨髓瘤及小鼠-人類融合骨髓瘤細胞株(Kozbor D (1984) J Immunol 133: 3001-5；Brodeur等人, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, 第51-63頁 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中)。

【0300】對於針對TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之單株抗體的產生，分析其中生長融合瘤細胞之培養基。由融合瘤細胞產生之單株抗體的結合特異性藉由此項技術中已知之方法(例如免疫沈澱)或藉由活體外結合分析(諸如放射免疫分析(RIA)或酶聯免疫吸附分析(ELISA))來加以確定。

【0301】在鑑別出產生具有所要特異性、親和力及/或活性之抗體的融合瘤細胞之後，可藉由限制稀釋法程序對純系進行次選殖且藉由標準方法使其生長(Goding JW (編), Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 同前文獻)。用於此目的之適合的培養基包括例如D-MEM或RPMI 1640培養基。另外，融合瘤細胞可在動物中活體內生長為腹水腫瘤。

【0302】由次純系所分泌之單株抗體適合藉由習知免疫球蛋白純化程序，諸如蛋白質A-瓊脂糖、羥磷灰石層析、凝膠電泳、透析或親和層析而自培養基、腹水液或血清中分離。

【0303】本文所述之抗體包括例如識別特定TIGIT(例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)且可藉由熟習此項技術者已知之任何技術來產生的抗體片段。舉例而言，本文所述之Fab及$F(ab')_2$片段可藉由使用酶，諸如番木瓜蛋白酶(用於產生Fab片段)或胃蛋白酶(用於產生$F(ab')_2$片段)對免疫球蛋白分子進行蛋白水解裂解來產生。Fab片段對應於抗體分子之兩個相同臂中之一者，且含有與重鏈之VH及

CH1結構域配對的完整輕鏈。$F(ab')_2$片段含有抗體分子中的在鉸鏈區中由二硫鍵連接之兩個抗原結合臂。

【0304】此外，本文所述之抗體亦可使用此項技術中已知之各種噬菌體呈現方法來產生。在噬菌體呈現方法中，功能抗體結構域呈現於攜載編碼其之多核苷酸序列之噬菌體粒子的表面上。特定而言，編碼VH及VL結構域之DNA序列自動物cDNA庫(例如，受感染組織之人類或鼠類cDNA庫)擴增。藉由PCR用scFv連接子將編碼VH及VL結構域之DNA重組在一起，且將其選殖至噬菌粒載體中。載體在大腸桿菌中電穿孔，且該大腸桿菌經輔助噬菌體感染。此等方法中所用之噬菌體通常為絲狀噬菌體，包括fd及M13，且VH及VL結構域通常以重組方式融合於噬菌體基因III或基因VIII。表現結合於特定抗原之抗原結合結構域的噬菌體可用抗原，例如使用經標記之抗原或結合或捕獲於固體表面或珠粒之抗原來加以選擇或鑑別。可用於製造本文所述之抗體的噬菌體呈現方法之實例包括以下中所揭示之彼等方法：Brinkman U等人，(1995) J Immunol Methods 182: 41-50；Ames RS等人，(1995) J Immunol Methods 184: 177-186；Kettleborough CA等人，(1994) Eur J Immunol 24: 952-958；Persic L等人，(1997) Gene 187: 9-18；Burton DR & Barbas CF (1994) Advan Immunol 57: 191-280；PCT申請案第PCT/GB91/001134號；國際公開案第WO 90/02809號、第WO 91/10737號、第WO 92/01047號、第WO 92/18619號、第WO 93/1 1236號、第WO

95/15982號、第WO 95/20401號及第WO 97/13844號；以及美國專利第5,698,426號、第5,223,409號、第5,403,484號、第5,580,717號、第5,427,908號、第5,750,753號、第5,821,047號、第5,571,698號、第5,427,908號、第5,516,637號、第5,780,225號、第5,658,727號、第5,733,743號及第5,969,108號，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0305】如上文參考文獻中所述，在噬菌體選擇之後，可分離來自該噬菌體之抗體編碼區且將其用於產生完整抗體(包括人類抗體)或任何其他所要抗原結合片段，且在任何所要宿主(包括例如如下文所述之哺乳動物細胞、昆蟲細胞、植物細胞、酵母及細菌)中進行表現。以重組方式產生諸如Fab、Fab'及$F(ab')_2$片段之抗體片段的技術亦可使用此項技術中已知之方法來加以採用，諸如使用PCT公開案第WO 92/22324號；Mullinax RL等人，(1992) BioTechniques 12(6): 864-9；Sawai H等人，(1995) Am J Reprod Immunol 34: 26-34；及Better M等人，(1988) Science 240: 1041-1043中所揭示之彼等方法，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0306】在某些實施例中，為了產生完整抗體，包括VH或VL核苷酸序列、限制位點及保護該限制位點之側接序列的PCR引子可用於使來自模板(例如scFv純系)之VH或VL序列擴增。利用熟習此項技術者已知之選殖技術，可將經PCR擴增之VH結構域選殖至表現VH恆定區之載體

中，且可將經PCR擴增之VL結構域選殖至表現VL恆定區(例如人類κ或λ恆定區)之載體中。亦可將VH及VL結構域選殖至一個表現必要恆定區之載體中。隨後使用熟習此項技術者已知之技術將重鏈轉化載體及輕鏈轉化載體共轉染至細胞株中以產生表現全長抗體(例如IgG)之穩定或瞬時細胞株。

【0307】嵌合抗體為其中抗體之不同部分來源於不同免疫球蛋白分子的分子。舉例而言，嵌合抗體可含有小鼠或大鼠單株抗體之可變區融合於人類抗體之恆定區。用於產生嵌合抗體之方法為此項技術中已知的。參見例如Morrison SL (1985) Science 229: 1202-7；Oi VT & Morrison SL (1986) BioTechniques 4: 214-221；Gillies SD et al., (1989) J Immunol Methods 125: 191-202；及美國專利第5,807,715號、第4,816,567號、第4,816,397號及第6,331,415號，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0308】人類化抗體能夠結合於預定抗原，且其包含基本上具有人類免疫球蛋白之胺基酸序列的構架區及基本上具有非人類免疫球蛋白(例如鼠類免疫球蛋白)之胺基酸序列的CDR。在特定實施例中，人類化抗體亦包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，通常人類免疫球蛋白恆定區之至少一部分。抗體亦可包括重鏈之CH1、鉸鏈、CH2、CH3、及CH4區。人類化抗體可選自任何類別之免疫球蛋白，包括IgM、IgG、IgD、IgA及IgE，以及任何同型，包括IgG_1、IgG_2、IgG_3及IgG_4。人類化抗體可使用此

項技術中已知之多種技術來產生，包括(但不限於) CDR移植(歐洲專利第EP 239400號；國際公開案第WO 91/09967號；及美國專利第5,225,539號、第5,530,101號及第5,585,089號)、鑲飾或表面重修(歐洲專利第EP 592106號及第EP 519596號；Padlan EA (1991) Mol Immunol 28(4/5): 489-498；Studnicka GM等人, (1994) Prot Engineering 7(6): 805-814；及Roguska MA等人, (1994) PNAS 91: 969-973)、鏈改組(美國專利第5,565,332號)及例如以下中所揭示之技術：美國專利第6,407,213號、美國專利第5,766,886號、國際公開案第WO 93/17105號；Tan P等人, (2002) J Immunol 169: 1119-25；Caldas C等人, (2000) Protein Eng. 13(5): 353-60；Morea V等人, (2000) Methods 20(3): 267-79；Baca M等人, (1997) J Biol Chem 272(16): 10678-84；Roguska MA等人, (1996) Protein Eng 9(10): 895 904；Couto JR等人, (1995) Cancer Res. 55 (23增刊): 5973s-5977s；Couto JR等人, (1995) Cancer Res 55(8): 1717-22；Sandhu JS (1994) Gene 150(2): 409-10及Pedersen JT等人, (1994) J Mol Biol 235(3): 959-73，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。亦參見美國申請公開案第US 2005/0042664 A1號(2005年2月24日)，該文獻以全文引用之方式併入本文中。

【0309】已描述用於製造多特異性(例如雙特異性抗體)之方法，參見例如美國專利第7,951,917號；第7,183,076號；第8,227,577號；第5,837,242號；第

5,989,830號；第5,869,620號；第6,132,992號及第8,586,713號，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0310】單結構域抗體(例如不具有輕鏈之抗體)可藉由此項技術中熟知之方法產生。參見Riechmann L & Muyldermans S (1999) J Immunol 231: 25-38；Nuttall SD等人, (2000) Curr Pharm Biotechnol 1(3): 253-263；Muyldermans S, (2001) J Biotechnol 74(4): 277-302；美國專利第6,005,079號；及國際公開案第WO 94/04678號、第WO 94/25591號及第WO 01/44301號，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0311】此外，特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗原之抗體繼而可用於使用熟習此項技術者熟知之技術來產生「模擬」抗原之抗個體基因型抗體。參見例如Greenspan NS & Bona CA (1989) FASEB J 7(5): 437-444；及Nissinoff A (1991) J Immunol 147(8): 2429-2438，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中。

【0312】在特定實施例中，與本文所述之抗TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗體結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之相同抗原決定基的本文所述之抗體為人類抗體。在特定實施例中，競爭性地阻斷(例如以劑量依賴性方式)本文所述之任一抗體與TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)結合的本文所述之抗體為人類抗體。人類抗體可使用此項技術中已知之任何方法來

產生。舉例而言，可使用不能表現功能性內源性免疫球蛋白但可表現人類免疫球蛋白基因之轉殖基因小鼠。特定而言，可將人類重鏈及輕鏈免疫球蛋白基因複合物隨機或藉由同源重組而引入至小鼠胚胎幹細胞中。或者，除人類重鏈及輕鏈基因以外，亦可將人類可變區、恆定區及多樣性區引入至小鼠胚胎幹細胞中。可在藉由同源重組引入人類免疫球蛋白基因座的情況下使小鼠重鏈及輕鏈免疫球蛋白基因分開或同時變為非功能性的。特定而言，J_H區之同型接合子缺失阻止內源性抗體產生。使經修飾之胚胎幹細胞擴增且將其顯微注射入囊胚中以產生嵌合小鼠。隨後飼養嵌合小鼠以產生表現人類抗體之同型接合子後代。以普通方式用所選抗原，例如抗原(例如TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT))之全部或一部分對轉殖基因小鼠進行免疫。針對該抗原之單株抗體可使用習知融合瘤技術而自經免疫之轉殖基因小鼠獲得。轉殖基因小鼠具有之人類免疫球蛋白轉殖基因在B細胞分化期間重排，且隨後進行類別轉換及體細胞突變。因此，使用此類技術，有可能產生治療學上可用之IgG、IgA、IgM及IgE抗體。用於產生人類抗體之此技術的概述參見Lonberg N & Huszar D (1995) Int Rev Immunol 13:65-93，該文獻以全文引用之方式併入本文中。用於產生人類抗體及人類單株抗體之此技術及用於產生此類抗體之方案的詳細討論參見例如國際公開案第WO 98/24893號、第WO 96/34096號及第WO 96/33735號；及美國專利第5,413,923號、第5,625,126號、第5,633,425

號、第5,569,825號、第5,661,016號、第5,545,806號、第5,814,318號及第5,939,598號，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。能夠產生人類抗體之小鼠的實例包括Xenomouse™ (Abgenix, Inc.；美國專利第6,075,181號及第6,150,184號)、HuAb-Mouse™ (Mederex, Inc./Gen Pharm；美國專利第5,545,806號及第5,569, 825號)、Trans Chromo Mouse™ (Kirin)及KM Mouse™ (Medarex/Kirin)，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0313】特異性結合於TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)之人類抗體可藉由此項技術中已知之多種方法(包括上文所述之噬菌體呈現方法)使用來源於人類免疫球蛋白序列之抗體庫來製造。亦參見美國專利第4,444,887號、第4,716,111號及第5,885,793號；以及國際公開案第WO 98/46645號、第WO 98/50433號、第WO 98/24893號、第WO 98/16654號、第WO 96/34096號、第WO 96/33735號及第WO 91/10741號，該等文獻均以全文引用之方式併入本文中。

【0314】在某些實施例中，人類抗體可使用小鼠-人類融合瘤來產生。舉例而言，可將用埃-巴二氏病毒(EBV)轉型之人類外周血液淋巴球與小鼠骨髓瘤細胞融合以產生分泌人類單株抗體之小鼠-人類融合瘤，且可篩選此等小鼠-人類融合瘤以確定分泌特異性結合於靶抗原(例如TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT))之人類單株抗體的融合瘤。此類方法為已知的且描述於此項技術中，參見

例如Shinmoto H等人, (2004) Cytotechnology 46: 19-23；Naganawa Y等人, (2005) Human Antibodies 14: 27-31，該等文獻中之每一者均以全文引用之方式併入本文中。

1.6 套組

【0315】亦提供包含本文所述之一或多種抗體或其醫藥組合物或綴合物的套組。在一個具體實施例中，本文提供一種醫藥封裝或套組，其包含一或多個填充有本文所述之醫藥組合物成分中之一或多者，諸如一或多種本文所提供之抗體的容器。在某些實施例中，套組含有本文所述之醫藥組合物及任何預防劑或治療劑，諸如本文所述之彼等預防劑或治療劑。在某些實施例中，套組可含有T細胞有絲分裂原，諸如例如植物凝血素(PHA)及/或佛波醇肉豆蔻酸酯乙酸酯(phorbol myristate acetate；PMA)，或TCR複合物刺激性抗體，諸如抗CD3抗體及抗CD28抗體。視情況與此類容器相關聯的可為呈由管理醫藥或生物產品之製造、使用或銷售的政府機構所規定之形式的注意事項，該注意事項反映由製造、使用或銷售機構批准用於人類投藥。

【0316】亦提供可用於上文方法中之套組。在一個實施例中，套組在一或多個容器中包含本文所述之抗體，較佳地包含經純化之抗體。在一個具體實施例中，本文所述之套組含有基本上經分離之TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗原作為對照物。在另一個具體實施例中，本

文所述之套組進一步包含不與TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗原反應之對照抗體。在另一個具體實施例中，本文所述之套組含有一或多個用於偵測抗體與TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗原之結合的元件(例如該抗體可與可偵測受質綴合，該可偵測受質諸如螢光化合物、酶受質、放射性化合物或發光化合物；或識別第一抗體之第二抗體可與可偵測受質綴合)。在具體實施例中，本文所提供之套組可包括以重組方式產生或化學合成之TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗原。套組中所提供之TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗原亦可附接於固體支撐物。在一個更具體實施例中，上文所述之套組的偵測手段包括其上附接TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗原之固體支撐物。此類套組亦可包括未附接的經報導體標記之抗人類抗體或抗小鼠/大鼠抗體。在此實施例中，抗體與TIGIT (例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)抗原之結合可藉由該經報導體標記之抗體的結合來加以偵測。在一個實施例中，本發明係關於本發明之套組的用途，其用於在生物樣品中活體外分析及/或偵測TIGIT抗原(例如人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT)。

2. 實例

【0317】此部分(亦即部分6)中之實例作為說明而非作為限制提供。

2.1 實例1：抗TIGIT抗體BA002之表徵

【0318】此實例描述特異性結合於人類TIGIT之抗體BA002之表徵。BA002之重鏈及輕鏈的胺基酸序列提供於表1中。

2.1.1 抗人類TIGIT抗體BA002結合於經純化之人類及食蟹獼猴TIGIT蛋白質

【0319】藉由表面電漿子共振(SPR)評定BA002抗體結合於經純化之TIGIT蛋白質的能力。

【0320】簡言之，使用Biacore T200儀器進行表面電漿子共振實驗，且使用1:1結合模型與Biacore T200評估軟體自各實驗計算締合速率(K_a)、解離速率(K_d)及解離常數(K_D)。

【0321】為量測人類及食蟹獼猴TIGIT對所捕捉之BA002的結合親和力，在上面藉由胺偶合固定抗人類Fab抗體之CM5晶片上，保持流動池1作為參考，在流動池2上以10 μL/min之流動速率捕捉BA002。與Fc融合之人類及食蟹獼猴TIGIT（「TIGIT-Fc」），亦即二聚體形式之TIGIT，獨立地以20、6.66、2.22及0.74 nM之濃度以50 μl/min流經所有流動池90秒，隨後為400秒之解離階段。各測試濃度之蛋白質注射後反應單位對時間的跡線分別展示於圖1A(人類TIGIT-Fc)及1B（食蟹獼猴TIGIT-Fc)中。基於此等資料，所捕捉之BA002以1.29×10^6 $M^{-1}s^{-1}$之計算K_a、1.60×10^{-4} s^{-1}之計算K_d及0.12 nM之計算K_D結合於人類TIGIT-

Fc。所捕捉之BA002以4.28 × 10^6 $M^{-1}s^{-1}$之計算K_a、3.02 × 10^{-3} s^{-1}之計算K_d及0.70 nM之計算K_D結合於食蟹獼猴TIGIT-Fc。

【0322】在評定與聚組胺酸標籤融合之單體形式的人類TIGIT(「TIGIT-His」)與BA002之結合的類似實驗中，在10 μL/min之流動速率下在蛋白質A晶片之流動池2上捕捉BA002，保持流動池1作為參考。TIGIT-His以125、25、5及1 nM之濃度以30 μL/min流經兩個流動池240秒，隨後為900秒之解離階段。各測試濃度之反應單位對時間的跡線展示於圖1C中。基於此等資料，所捕捉之BA002以4.1 × 10^6 $M^{-1}s^{-1}$之計算K_a、3.6 × 10^{-2} s^{-1}之計算K_d及8.6 nM之計算K_D結合於人類TIGIT-His。相對於上述二聚體人類TIGIT(TIGIT-Fc)與BA002之間的計算解離速率，單體人類TIGIT(TIGIT-His)與BA002之間較高的計算解離速率與二聚體形式之TIGIT存在親合力效應相符。

【0323】在量測單價形式之BA002與人類TIGIT-Fc之結合的類似實驗中，在5 μL/min之流動速率下在CM5晶片之流動池2上捕捉人類TIGIT-Fc，保持流動池1作為參考。Fab型式之BA002以200、50、12.5、3.125、0.78及0.195之濃度以20 μL/min流經兩個流動池120秒，隨後為600秒之解離階段。各測試濃度之反應單位對時間的跡線展示於圖1D中。基於此等資料，固定化人類TIGIT-Fc以2.8 × 10^6 $M^{-1}s^{-1}$之計算K_a、1.9 × 10^{-2} s^{-1}之計算K_d及6.8 nM之計算K_D結合於BA002 Fab。相對於上述人類TIGIT-Fc與全長

BA002之間的計算解離速率，人類TIGIT-Fc與BA002 Fab之間較高的計算解離速率與二價形式之BA002存在親合力效應相符。

2.1.2 抗人類TIGIT抗體BA002結合於表現人類及食蟹獼猴TIGIT之細胞

【0324】在各種細胞類型中測試人類抗TIGIT IgG1抗體BA002結合於表現人類TIGIT或食蟹獼猴TIGIT之細胞的能力。

表現人類TIGIT之Jurkat細胞

【0325】評定BA002結合於Jurkat細胞表面上表現之人類TIGIT的能力。簡言之，Jurkat細胞用編碼人類TIGIT之載體轉染，且選擇穩定表現高含量TIGIT之純系。此穩定細胞株在補充有10%熱滅活FBS及2% Normocin (Invivogen，目錄號ANT-NR-1)之RPMI 1640培養基中培養。對於抗體結合分析，將細胞以每孔1×10^5個細胞之密度接種於96孔U型底組織培養盤中，且在4℃下與1:50稀釋於補充有2%熱滅活FBS之PBS (FACS緩衝液)中之Human TruStain FcX™ (Fc受體阻斷溶液，Biolegend，目錄號422302)一起培育10分鐘。細胞隨後在4℃下與稀釋於FACS緩衝液中之濃度為50 μg/mL至0.64 ng/mL的BA002或同型對照抗體之系列稀釋液一起培育30分鐘。為了抗體染色，細胞用冷FACS緩衝液洗滌兩次且再懸浮於含有1:200

稀釋之R-藻紅素AffiniPure F(ab')$_2$片段驢抗人類IgG (H+L) (Jackson，目錄號09-116-149)及LIVE/DEAD®可固定近紅外死細胞染料(Life Technologies，目錄號L10119)之FACS緩衝液中。在冰上培育10分鐘後，細胞用冷FACS緩衝液洗滌兩次，且藉由流式細胞測量術(BD LSR Fortessa流式細胞儀)分析細胞。藉由FlowJo軟體藉由依序選通FSC-A對SSC-A、FSC-H對FSC-A、SSC-A對死細胞染色及SSC-A對PE來分析資料。計算平均螢光強度(MFI)值且藉由GraphPad Prism軟體標繪資料。

【0326】如圖2A中所示，BA002以劑量依賴性方式結合於表現人類TIGIT之Jurkat細胞。

活化的初級人類T細胞

【0327】在類似實驗中，測試BA002結合於活化的人類CD4+或CD8+ T細胞的能力。簡言之，自液氮取回冷凍的人類外周血液單核細胞(PBMC)等分試樣且立即在37℃水中融化直至觀察到浮冰。隨後將細胞轉移至9 mL預溫熱的R10培養基中。移出10 μL且添加至390 μL活力染料中，使用Muse設備計數細胞且檢查活力。樣品以2000 rpm離心兩分鐘且隨後用R10培養基懸浮至0.1×10^{6}個細胞/毫升的最終濃度。將1 μg/mL儲備溶液SEA添加至如上所述製備之PBMC細胞中，達到100 ng/mL之最終濃度。將100 μL受刺激之細胞移液至96孔U型底組織培養盤之各孔中，且在37℃，5% CO_2之組織培養恆溫箱中培育五天。

【0328】在96孔圓底盤中製備一定劑量範圍之抗體。首先，在緩衝液中製備600 μL之50 μg/mL之各抗體。隨後藉由將200 μL先前的稀釋液移液至400 μL樣品緩衝液中而將抗體1:3連續稀釋。製備總共12種範圍介於50 μg/mL至0.0002 μg/mL之稀釋液。5天後，將樣品盤以2000 rpm離心兩分鐘且棄去清液層。樣品用以5 μL/100 μL測試(550 μL Fc受體阻斷劑稀釋於10.45 mL FAC緩衝液中)製備於FAC緩衝液中之FcγR阻斷劑阻斷10分鐘。樣品盤隨後以2000 rpm離心兩分鐘，且棄去清液層。細胞隨後以圖2B-2C中所示之濃度再懸浮於100 μL抗TIGIT抗體或相關同型對照中。樣品盤在4℃下培育20分鐘。細胞藉由添加冷樣品緩衝液洗滌且以2000 rpm離心兩分鐘，棄去清液層。此洗滌重複一次。

【0329】細胞隨後再懸浮於經螢光標記之抗體的混合液中。在FAC緩衝液中製備足以用於所有樣品之經螢光標記之抗體的混合液。隨後將每孔100 μL抗體添加至圓底96孔盤中。樣品盤在冰上培育20分鐘。細胞藉由添加冷樣品緩衝液洗滌，以2000 rpm離心兩分鐘，且棄去清液層。此洗滌重複一次。在11 mL FAC緩衝液中製備經PE標記之二級抗人類IgG抗體的最終混合液。每孔添加100 μL二級抗體至圓底96孔盤中。樣品盤在冰上培育5分鐘。細胞藉由添加冷樣品緩衝液洗滌，以2000 rpm離心兩分鐘，且棄去清液層。此洗滌重複一次。

【0330】使用BD LSR Fortessa流式細胞儀藉由流式細

胞測量術量測抗體結合。未染色的對照細胞用於使用前向散射面積(FSC-A)對側向散射面積(SSC-A)之繪圖及FSC-A對FSC-高度(FSC-H)之另一繪圖對淋巴球群體進行選通以選擇單細胞。用各單獨抗體染色之細胞管用於計算實驗中使用之各種顏色的補償。各樣品記錄100,000個事件。藉由依序選通以下群體來分析樣品：FSC-A對SSC-A、FSC-H對FSC-A、SSC-A對LIVE/DEAD、CD4對CD8以及SSC對CD25。計算平均螢光強度(MFI)。

【0331】如圖2B及2C中所示，BA002以劑量依賴性方式結合於活化的初級人類$CD4^+$ T細胞(圖2B)及活化的初級人類CD8+ T細胞(圖2C)。

表現食蟹獼猴TIGIT之CHO細胞

【0332】在類似實驗中，測試BA002結合於經工程改造以在細胞表面上表現食蟹獼猴TIGIT之中國倉鼠卵巢(CHO)細胞(食蟹獼猴TIGIT-CHO細胞)的能力。簡言之，冷凍的食蟹獼猴TIGIT-CHO細胞等分試樣在37℃水中融化且隨後轉移至含有9 mL預溫熱的R10培養基的管中。細胞以2000 rpm離心兩分鐘。棄去清液層且將細胞再懸浮於20 mL R10培養基中。細胞隨後轉移至T75燒瓶中且在37℃及8% CO_2下之組織培養恆溫箱中培育1天。細胞隨後自恆溫箱移出且用5 mL TrypLE表現處理。釋放的細胞隨後用10 mL R10培養基稀釋且以2000 RPM離心兩分鐘。棄去清液層且將細胞再懸浮於10 mL R10培養基中並評定計數及活

力。細胞樣品隨後以2000 rpm離心兩分鐘且用R10培養基再懸浮至1×10^{6}個細胞/毫升的最終濃度。100 μL細胞隨後移液至96孔U型底組織培養盤之各孔中，最終濃度為每孔100,000個細胞。

【0333】在1.2 mL子彈管中製備一定劑量範圍之抗體。首先，在FAC緩衝液中製備600 μL之50 μg/mL之各抗體。隨後藉由將120 μL先前的稀釋液移液至600 μL樣品緩衝液中而將抗體1:5連續稀釋。製備總共12種範圍介於50 μg/mL至0.000001024 μg/mL之稀釋液。樣品盤以2000 rpm離心兩分鐘，且棄去清液層。樣品用FAC緩衝液洗滌兩次。細胞隨後以圖2D中所示之濃度再懸浮於100 μL抗TIGIT抗體BA002或同型對照中。樣品盤隨後在4℃下培育30分鐘。細胞藉由添加冷樣品緩衝液洗滌且以2000 rpm離心兩分鐘，棄去清液層。此洗滌重複一次。細胞隨後再懸浮於活/死染料及經PE標記之二級抗人類IgG抗體的混合液中。樣品盤在冰上培育10分鐘。洗滌細胞且以2000 rpm離心兩分鐘，棄去清液層。此洗滌重複一次。

【0334】 使用BD LSR Fortessa流式細胞儀藉由流式細胞測量術量測抗體結合。未染色的對照細胞用於使用前向散射面積(FSC-A)對側向散射面積(SSC-A)之繪圖及FSC-A對FSC-高度(FSC-H)之另一繪圖對淋巴球群體進行選通以選擇單細胞。用各單獨抗體染色之細胞管用於計算實驗中使用之各種顏色的補償。各樣品記錄100,000個事件。藉由依序選通以下群體來分析樣品：FSC-A對SSC-A、

FSC-H對FSC-A、SSC-A對LIVE/DEAD及SSC-A對PE。計算平均螢光強度(MFI)。

【0335】如圖2D中所示，BA002以劑量依賴性方式結合於表現食蟹獼猴TIGIT之CHO細胞。

2.1.3 抗TIGIT抗體選擇性結合於TIGIT

【0336】在此實例中，測試BA002對TIGIT與其相關家族成員CD96及CD226相比之選擇性。具體而言，測試BA002與兩種經工程改造之Jurkat細胞株之結合，一種在其細胞表面上表現人類TIGIT、CD96及CD226 ($TIGIT^+$ $CD96^+$ $CD226^+$)，且一種表現CD96及CD226但不表現TIGIT ($TIGIT^-$ $CD96^+$ $CD226^+$)。

【0337】簡言之，自液氮取回冷凍的TIGIT-Jurkat純系D3細胞及野生型Jurkat細胞之等分試樣且在37℃水中融化。將各純系轉移至另一含有9 mL預溫熱的R10培養基之管中。細胞以2000 rpm離心兩分鐘。棄去清液層且將細胞再懸浮於20 mL R10培養基中。細胞隨後轉移至T75燒瓶中且在37℃及5% CO_2下之組織培養恆溫箱中培育1天。培育後，評定細胞之計數及活力。細胞樣品隨後以2000 rpm離心兩分鐘且用R10培養基再懸浮至1×10^6個細胞/毫升的最終濃度。接著，將100 μL細胞移液至96孔U型底組織培養盤之各孔中，最終濃度為每孔100,000個細胞。

【0338】在1.2 mL子彈管中製備一定劑量範圍之各抗體(亦即BA002或同型對照)。首先，在FAC緩衝液中製備

400 μL之50 μg/mL之各抗體。隨後藉由將80 μL先前的稀釋液移液至320 μL樣品緩衝液中而將抗體1:5連續稀釋。製備總共8種範圍介於50 μg/mL至0.00064 μg/mL之稀釋液。

【0339】樣品盤以2000 rpm離心兩分鐘，且棄去清液層。樣品用製備於FAC緩衝液中之FcγR阻斷劑(550 μL Fc受體阻斷劑稀釋於10.45 mL FAC緩衝液中)阻斷十分鐘。樣品盤隨後以2000 rpm離心兩分鐘，且棄去清液層。細胞隨後以圖3A-3B中所示之濃度再懸浮於100 μL BA002或同型對照中。樣品盤在4℃下與抗體一起培育30分鐘。細胞隨後藉由添加冷樣品緩衝液洗滌且以2000 rpm離心兩分鐘，棄去清液層。此洗滌重複一次。細胞隨後再懸浮於活/死染料之混合液中且在20 mL FAC緩衝液中製備經PE標記之二級抗人類IgG抗體。樣品盤在冰上培育10分鐘。細胞藉由添加冷FAC緩衝液洗滌，以2000 rpm離心兩分鐘，且棄去清液層。此洗滌重複一次。

【0340】使用BD LSR Fortessa流式細胞儀藉由流式細胞測量術量測抗體結合。未染色的對照細胞用於使用前向散射面積(FSC-A)對側向散射面積(SSC-A)之繪圖及FSC-A對FSC-高度(FSC-H)之另一繪圖對淋巴球群體進行選通以選擇單細胞。用各單獨抗體染色之細胞管用於計算實驗中使用之各種顏色的補償。各樣品記錄100,000個事件。藉由依序選通以下群體來分析樣品：FSC-A對SSC-A、FSC-H對FSC-A、SSC-A對LIVE/DEAD及SSC-A對PE。計算平

均螢光強度(MFI)。

【0341】如圖3A及圖3B中所示，BA002強烈結合於表現人類TIGIT之Jurkat細胞，但顯示與相關家族成員CD96及CD226無交叉反應性。

2.1.4 抗TIGIT抗體阻斷配體結合於TIGIT

TIGIT結合於CD155/PVR

【0342】在此實例中，測試BA002阻斷TIGIT與其配體CD155 (亦稱為PVR)之間結合的能力。具體而言，測試BA002、一系列參考抗TIGIT抗體及同型對照活體外阻斷可溶性TIGIT與CD155之間結合的能力。

【0343】簡言之，在1.2 mL子彈管中製備足夠兩次複製之各抗體(亦即BA002，參考抗TIGIT抗體#1、2、3、4、5及6，以及相應同型對照)的5×濃縮中間原料。首先，在PBS中製備60 μL之250 μg/mL之各抗體。隨後藉由將20 μL先前的稀釋液移液至40 μL樣品緩衝液中而將抗體1:3連續稀釋。製備總共12種範圍介於50 μg/mL至0.00028 μg/mL之工作稀釋液。製備在分析緩衝液中包含4 ng/μL CD155-His之溶液。將2 μL 3×TIGIT分析緩衝液、2 μL CD155-His溶液及2 μL蒸餾水組合以產生主混合物，且隨後將6 μL主混合物添加至分析盤之各孔中。亦製備在分析緩衝液中包含2 ng/μL生物素化TIGIT (TIGIT-生物素)之溶液，其中每孔添加2 μL且培育60分鐘。另外，Ni螯合劑受體珠粒(PerkinElmer #AL108C)用1×分析緩衝液稀釋250

倍，且每孔添加10 μL經稀釋之受體珠粒溶液。短暫震盪後，混合物在室溫下培育30分鐘。抗生蛋白鏈菌素綴合之供體珠粒(PE #6760002S)隨後用1×分析緩衝液稀釋125倍，且每孔添加10 μL經稀釋之供體珠粒溶液。混合物在室溫下培育30分鐘。獲得α計數且計算相對光單位值並根據標準方法歸一化以確定在各測試抗體存在下TIGIT與CD155之間的結合百分比。

【0344】如圖4A-4F中所示，BA002展示TIGIT與CD155結合之實質阻斷。BA002對CD155之配體阻斷活性與對一系列參考抗TIGIT抗體所觀察到的相當或更高。為了易於觀察，BA002及同型對照之相同資料展示於圖4A-4F中之每一者中，而不同參考抗體之資料展示於各圖中。

TIGIT結合於CD112/PVRL2

【0345】在此實例中，測試BA002阻斷TIGIT與其配體CD112 (亦稱為PVRL2)之間結合的能力。具體而言，測試BA002、一系列參考抗TIGIT抗體及同型對照活體外阻斷可溶性TIGIT與CD112之間結合的能力。

【0346】簡言之，在1.2 mL子彈管中製備足夠兩次複製之各抗體(亦即BA002，參考抗TIGIT抗體#1、2、3、4、5及6，以及相應同型對照)的5×濃縮中間原料。首先，在PBS中製備60 μL之250 μg/mL之各抗體。隨後藉由將20 μL先前的稀釋液移液至40 μL樣品緩衝液中而將抗體1:3連續稀釋。製備總共12種範圍介於50 μg/mL至0.00028

μg/mL之工作稀釋液。製備在分析緩衝液中包含4 ng/μL CD112-組胺酸之溶液。將2 μL 3×TIGIT分析緩衝液、2 μL CD112-His溶液及2 μL蒸餾水組合以產生主混合物，且隨後將6 μL主混合物添加至分析盤之各孔中。亦製備在分析緩衝液中包含2 ng/μL生物素化TIGIT (TIGIT-生物素)之溶液，其中每孔添加2 μL且培育60分鐘。另外，Ni螯合劑受體珠粒(PerkinElmer #AL108C)用1×分析緩衝液稀釋250倍，且每孔添加10 μL經稀釋之受體珠粒溶液。短暫震盪後，混合物在室溫下培育30分鐘。抗生蛋白鏈菌素綴合之供體珠粒(PE #6760002S)隨後用1×分析緩衝液稀釋125倍，且每孔添加10 μL經稀釋之供體珠粒溶液。混合物在室溫下培育30分鐘。獲得α計數且計算相對光單位值並根據標準方法歸一化以確定在各測試抗體存在下TIGIT與CD112之間的結合百分比。

【0347】如圖5A-5F中所示，BA002展示TIGIT與CD112結合之實質阻斷。BA002對CD112之配體阻斷活性與對一系列參考抗TIGIT抗體所觀察到的相當或更高。為了易於觀察，BA002及同型對照之相同資料展示於圖5A-5F中之每一者中，而不同參考抗體之資料展示於各圖中。

2.2 實例2：抗TIGIT抗體之功能及組合療法

2.2.1 抗TIGIT抗體增強初級細胞之T_H1細胞介素分泌

抗TIGIT抗體增強受刺激之PBMC的IFNγ分泌

【0348】在此實例中，測試BA002及一系列參考抗

TIGIT抗體促進由葡萄球菌腸毒素A (SEA)刺激之PBMC分泌IFNγ的能力。在此分析中亦測試抗TIGIT抗體與抗PD-1抗體之協同性。

【0349】在1.2 mL子彈管中製備各抗體(亦即BA002，參考抗TIGIT抗體#1、3、5或6，或同型對照)之5×濃縮中間原料。一組試管亦接收25 μg/mL抗PD-1抗體，而另一組試管亦接收25 μg/mL IgG4同型抗體，各自代表抗PD-1或IgG4同型抗體之5×濃縮中間原料。首先，在R10培養基中製備400 μL之補充有25 μg/mL抗PD-1或IgG4同型抗體之50 μg/mL各抗TIGIT抗體。隨後每孔添加20 μL抗體至圓底96孔盤中。自液氮取回冷凍的人類PBMC之等分試樣且立即在37℃水中融化，直至觀察到浮冰。將細胞轉移至9 mL預溫熱的R10培養基中且立即以2000 rpm離心兩分鐘。為了計數細胞及檢查活力，移出10 μL樣品且添加至390 μL活力染料中，混合且使用Muse設備讀取。

【0350】樣品以2000 rpm離心兩分鐘且再懸浮至中間濃度。SEA之中間原料濃度係藉由將10 μL之1000 μg/mL SEA添加至90 μL R10以使得中間濃度為100 μg/mL而得到。為了刺激細胞，將12 μL 100 μg/mL SEA之中間原料添加至上文所製備之9.60 mL細胞中。將80 μL細胞及SEA混合物添加至相應孔中且在37℃及5% CO_2下之組織培養恆溫箱中在濕潤腔室內培育四天。使用總共0.1×10^6個細胞/孔及100 ng/mL最終濃度之SEA。

【0351】培育四天後，自恆溫箱移出各盤且用手輕輕

攪動。各盤隨後以2000 rpm離心兩分鐘。將5 μL清液層轉移至384孔AlphaLISA盤用於細胞介素分析。AlphaLISA套組(Perkin Elmer)用於量測IFNγ分泌。簡言之，藉由將2.5 mL 10×AlphaLISA HiBlock緩衝液移液至22.5 mL水中來製備分析緩衝液。根據製造商說明書使用人類IFNγ分析物製備標準稀釋液。在分析緩衝液中製備1.6×AlphaLISA抗IFNγ受體珠粒及生物素化抗IFNγ抗體之混合物。向各孔中添加8 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉90分鐘。在分析緩衝液中製備2.3X抗生蛋白鏈菌素供體珠粒中間原料。向各孔中添加10 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉20分鐘。AlphaLISA盤在2000 rpm下短暫離心。在EnVision盤讀取器上使用AlphaScreen方案量測相對光單位(RLU)。

【0352】如圖6中所示，與參考抗體或同型對照相比，BA002在較大程度上增強SEA刺激之PBMC的IFNγ分泌。另外，與僅用BA002處理相比，BA002與抗PD-1抗體之組合導致IFNγ分泌顯著增加。此增加大於參考抗TIGIT抗體所見之增加。

抗TIGIT抗體增強受刺激之PBMC的IL-2分泌

【0353】在此實例中，測試BA002及參考抗TIGIT抗體促進由SEA刺激之PBMC分泌細胞介素介白素-2 (IL-2)的能力。在此分析中亦測試抗TIGIT抗體與抗CTLA-4抗體之協同性。

【0354】在1.2 mL子彈管中製備各抗體(亦即BA002，參考抗TIGIT抗體#1、3、5或6，或同型對照)之5×濃縮中間原料。一組試管亦接收25 μg/mL抗CTLA-4抗體，而另一組試管亦接收25 μg/mL IgG1同型抗體，各自代表抗CTLA-4或抗IgG1同型抗體之5×濃縮中間原料。首先，在R10培養基中製備400 μL之補充有25 μg/mL抗CTLA-4或IgG1同型抗體之50 μg/mL各抗TIGIT抗體。隨後每孔添加20 μL抗體至圓底96孔盤中。自液氮取回冷凍的人類PBMC之等分試樣且立即在37℃水中融化，直至觀察到浮冰。將細胞轉移至9 mL預溫熱的R10培養基中且立即以2000 rpm離心兩分鐘。為了計數細胞及檢查活力，移出10 μL樣品且添加至390 μL活力染料中，混合且使用Muse設備讀取。

【0355】樣品以2000 rpm離心兩分鐘且再懸浮至中間濃度。SEA之中間原料濃度係藉由將10 μL之1000 μg/mL SEA添加至90 μL R10以使得中間濃度為100 μg/mL而得到。為了刺激細胞，將12 μL 100 μg/mL SEA之中間原料添加至上文所製備之9.60 mL細胞中。將80 μL細胞及SEA混合物添加至相應孔中且在37℃及5% CO_2下之組織培養恆溫箱中在濕潤腔室內培育四天。使用總共0.1×10^6個細胞/孔及100 ng/mL最終濃度之SEA。

【0356】培育四天後，自恆溫箱移出各盤且用手輕輕攪動。各盤隨後以2000 rpm離心兩分鐘。將5 μL清液層轉移至384孔AlphaLISA盤用於細胞介素分析。AlphaLISA套組(Perkin Elmer)用於量測IL-2分泌。簡言之，藉由將2.5

mL 10×AlphaLISA免疫分析緩衝液移液至22.5 mL水中來製備分析緩衝液。使用人類IL-2分析物來製備標準稀釋液。在分析緩衝液中製備1.6×AlphaLISA抗IL-2受體珠粒及生物素化抗IL-2抗體之混合物。向各孔中添加8 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉90分鐘。在分析緩衝液中製備2.3×抗生蛋白鏈菌素供體珠粒中間原料。向各孔中添加10 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉20分鐘。AlphaLISA盤在2000 rpm下短暫離心。在EnVision盤讀取器上使用AlphaScreen方案量測相對光單位(RLU)。

【0357】如圖7A-7B中所示，與僅用BA002或抗CTLA-4抗體處理相比，BA002與抗CTLA-4抗體之組合導致IL-2分泌顯著增加。此增加大於在此實驗中測試之參考抗TIGIT抗體參考抗體#4所見之增加。

2.3 實例3：抗TIGIT抗體之Fc變異體

2.3.1 具有不同Fc區之抗TIGIT抗體變異體的表徵

【0358】在此實例中，分析Fc區/FcγR相互作用對BA002之結合及功能活性的影響。具體而言，如表4中所彙總，BA002之VH區用各種Fc主鏈表現。

表 4.BA002 之 Fc 變異體.

抗體名稱	抗體描述(根據 EU 編號系統編號)	重鏈 SEQ ID NO:	輕鏈 SEQ ID NO:
BA002	IgG1	11	27
BA003	BA002 之 N297A 變異體	12	27
BA004	BA002 之 L234F/L235F/N297A 變異體	13	27
BA005	BA002 之 S239D/I332E 變異體	14	27
BA006	BA002 之 S239D/A330L/I332E 變異體	15	27
BA007	BA002 之 L235V/F243L/ R292P/Y300L/P396L 變異體	16	27
BA008	BA002 之 S267E/L328F 變異體	17	27
BA009	BA002 之 IgG4 S228P 變異體	18	27

【0359】另外，表現具有相同重鏈及輕鏈序列之BA002的去海藻糖基化形式BA002_AF。

【0360】隨後如下所述在結合及功能分析中測試BA002之此等變異體。

結合於活化的初級人類T細胞

【0361】使用與部分6.1.2中針對BA002所述相同的實驗設計及條件，測試BA006結合於活化的初級$CD4^+$ T細胞的能力。如圖8A中所示，BA006以劑量依賴性方式結合於活化的初級$CD4^+$ T細胞。

結合於表現食蟹獼猴TIGIT之CHO細胞

【0362】使用與部分6.1.2中針對BA002所述相同的實驗設計及條件，測試BA006結合於經工程改造之CHO細胞表面上表現之食蟹獼猴TIGIT的能力。如圖8B中所示，BA006以劑量依賴性方式結合於表現食蟹獼猴TIGIT之CHO細胞。

對人類TIGIT之細胞結合及選擇性

【0363】測試Fc變異型抗TIGIT抗體BA006結合於人類TIGIT之能力，以及其對人類TIGIT之選擇性超過其相關家族成員CD96及CD226。具體而言，使用與部分6.1.3中針對BA002所述相同的實驗設計及條件，測試BA006或同型對照與(i) $TIGIT^+$ $CD96^+$ $CD226^+$ Jurkat細胞或(ii) $TIGIT^-$ $CD96^+$ $CD226^+$ Jurkat細胞之結合。在此等實驗中，BA006強烈結合於表現人類TIGIT之Jurkat細胞(圖8C)，但顯示與相關家族成員CD96及CD226無交叉反應性(圖8D)。

BA002之Fc變異體單獨及與抗PD-1抗體組合進一步增強受刺激之PBMC的IL-2分泌

【0364】在此實例中，測試BA002之Fc變異體促進SEA刺激之PBMC分泌IL-2的能力。在此分析中亦測試抗TIGIT抗體與抗PD-1抗體之協同性。

【0365】在1.2 mL子彈管中製備各抗體(亦即BA002、BA002_AF、BA003、BA005、BA006、BA007、BA008、BA009或IgG1及IgG4之同型對照)的5×濃縮中間原料。一組試管亦接收25 μg/mL抗PD-1抗體，而另一組試管亦接收25 μg/mL IgG4同型對照抗體，各自代表抗PD-1或IgG4同型對照抗體之5×濃縮中間原料。首先，在R10培養基中製備400 μL之補充有25 μg/mL抗PD-1或IgG4同型抗體之50 μg/mL各抗TIGIT抗體。隨後每孔添加20 μL抗體至圓底96

孔盤中。自液氮取回冷凍的人類PBMC之等分試樣且立即在37℃水中融化，直至觀察到浮冰。將細胞轉移至9 mL預溫熱的R10培養基中且立即以2000 rpm離心兩分鐘。計數細胞且檢驗活力。

【0366】樣品以2000 rpm離心兩分鐘且再懸浮至中間濃度。SEA之中間原料濃度係藉由將10 μL之1000 μg/mL SEA添加至90 μL R10以使得中間濃度為100 μg/mL而得到。為了刺激細胞，將12 μL 100 μg/mL SEA之中間原料添加至上文所製備之9.60 mL細胞中。將80 μL細胞及SEA混合物添加至相應孔中且在37℃及5% CO_2下之組織培養恆溫箱中在濕潤腔室內培育四天。使用總共0.1×10^6個細胞/孔及100 ng/mL最終濃度之SEA。

【0367】培育四天後，自恆溫箱移出各盤且用手輕輕攪動。各盤隨後以2000 rpm離心兩分鐘。將5 μL清液層轉移至384孔AlphaLISA盤用於細胞介素分析。AlphaLISA套組(Perkin Elmer)用於量測IL-2分泌。簡言之，藉由將2.5 mL 10×AlphaLISA免疫分析緩衝液移液至22.5 mL水中來製備分析緩衝液。使用人類IL-2分析物來製備標準稀釋液。在分析緩衝液中製備1.6×AlphaLISA抗IL-2受體珠粒及生物素化抗IL-2抗體之混合物。向各孔中添加8 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉90分鐘。在分析緩衝液中製備2.3×抗生蛋白鏈菌素供體珠粒中間原料。向各孔中添加10 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉20分鐘。AlphaLISA盤在2000 rpm下短暫離心。在EnVision盤

讀取器上使用AlphaScreen方案量測相對光單位(RLU)。使用由兩個不同供體獲得之PBMC對此實驗進行四次重複。

【0368】如圖9A及圖9B中所示，BA002之Fc變異體進一步增強SEA刺激之PBMC的IL-2分泌，超出對BA002所觀察到的效應。具體而言，BA002_AF、BA005、BA006及BA007各自比BA002誘導更大的IL-2分泌，其繼而比BA003、BA008、BA009或同型對照誘導更大的IL-2分泌。BA002之Fc變異體與抗PD-1抗體組合亦產生SEA刺激之PBMC的IL-2分泌的進一步改良。

BA002之Fc變異體單獨及與抗PD-1抗體組合進一步增強CD4⁺及CD8⁺ T細胞之活化

【0369】在此實例中，測試BA002之Fc變異體促進T細胞活化的能力。在此分析中亦測試抗TIGIT抗體與抗PD-1抗體之協同性。

【0370】在1.2 mL子彈管中製備足以兩個供體重複四次之抗體(亦即BA002、BA002_AF、BA003、BA005、BA006、BA007、BA008、BA009、同型IgG1對照或同型IgG4對照，各自具有匹配量之抗PD-1抗體或同型IgG4對照)的5×濃縮中間原料。首先，在R10培養基中製備400 μL之50 μg/mL各抗體。隨後將每孔20 μL抗體溶液添加至圓底96孔盤中。自液氮取回冷凍的指定人類PBMC供體之等分試樣且在37℃水中融化。將細胞轉移至9 mL預溫熱的R10培養基中且立即以2000 rpm離心兩分鐘。隨後計數細

胞且評定活力。細胞樣品隨後以2000 rpm離心兩分鐘且再懸浮至中間濃度。SEA之中間原料濃度係藉由將10 μL之1000 μg/mL SEA稀釋於90 μL之R10培養基中以使得中間濃度為100 μg/mL而得到。為了刺激細胞，將12 μL 100 μg/mL SEA之中間原料添加至上文所製備之7.20 mL細胞中。將60 μL細胞及SEA混合物添加至相應孔中且在37℃及5% CO_2下之濕潤腔室中培育五天。使用總共0.1×10^6個細胞/孔及100 ng/mL最終濃度之SEA。

【0371】5天後，將樣品盤以2000 rpm離心兩分鐘且棄去清液層。將樣品洗滌兩次且用每100 μL測試5 μL FcγR阻斷劑(亦即550 μL Fc受體阻斷劑稀釋於10.45 mL FAC緩衝液中)阻斷10分鐘。樣品盤隨後以2000 rpm離心兩分鐘，且棄去清液層。在11 mL FAC緩衝液中製備足以用於所有樣品之經螢光標記之抗體的混合液。隨後使用多通道移液管每孔添加100 μL螢光抗體混合液至圓底96孔盤中。樣品盤在冰上培育20分鐘。細胞藉由添加冷樣品緩衝液洗滌，以2000 rpm離心兩分鐘，且棄去清液層。在進行流式細胞測量術分析之前重複此洗滌一次。藉由依序選通以下群體來分析樣品：FSC-A對SSC-A、FSC-H對FSC-A、SSC-A對LIVE/DEAD、CD4對CD8以及SSC對CD25。計算CD4+ CD25+ T細胞或CD8+ CD25+ T細胞之平均螢光強度(MFI)且導出至Excel用於分析。使用GraphPad Prism繪製資料。

【0372】如圖9C及9D中所示，與同型對照相比，Fc

變異體BA005、BA006及BA007以及BA002之去海藻糖基化形式(BA002_AF)在實質上較大程度上增強CD4+及CD8+T細胞活化。當此等抗體與抗PD-1抗體組合時，此增強作用進一步增加。

抗TIGIT抗體單獨及與抗PD-1抗體組合展示SEA刺激之PBMC的IL-2分泌的劑量依賴性增強

【0373】在另一個實例中，分別測試BA002及其數種Fc變異體(亦即BA005、BA006及BA002_AF)在各種抗體濃度下促進來自不同供體之SEA刺激之PBMC分泌IL-2的能力。在一個實驗中，分別單獨對抗體BA002、BA002_AF、BA005、BA006及同型對照進行劑量滴定(圖10A)。在第二實驗中，分別對抗體BA002、BA002_AF、BA006及同型對照與抗PD-1抗體之組合進行劑量滴定(圖10B)。在第三實驗中，分別單獨對在CD155-Fc存在下由第三供體獲得之PBMC中之抗體BA002、BA006及同型對照進行劑量滴定(圖10C)。

【0374】對於在此部分上文所述之前兩個實驗中之每一者，在1.2 mL子彈管中製備足以每個供體重複三次的5×濃縮的抗體中間原料。首先，在R10培養基中製備400 µL之250 µg/mL各抗體。隨後藉由將100 µL先前的稀釋液移液至300 µL樣品緩衝液中而將抗體1:4連續稀釋。製備總共8種範圍介於50-0.003052 µg/mL之稀釋液(參見圖10A至10C中所示之濃度)。隨後每孔添加20 µl各抗體混合物至圓

底96孔盤。對於第二實驗(亦即抗TIGIT抗體與抗PD-1抗體之組合)，將抗PD-1抗體或同型IgG4對照抗體製備為5×濃縮中間原料。隨後每孔添加20 μl抗PD-1抗體或同型IgG4對照混合物至圓底96孔盤中。

【0375】自液氮取回冷凍的指定人類PBMC之等分試樣且立即在37℃水中融化。將細胞轉移至9 mL預溫熱的R10培養基且以2000 rpm離心兩分鐘。計數細胞且評定活力。將樣品以2000 rpm離心兩分鐘且再懸浮。SEA之中間原料濃度係藉由將10 μL之1000 μg/mL SEA稀釋於90 μL之R10中以使得中間濃度為100 μg/mL而得到。為了刺激細胞，將50 μL 100 μg/mL SEA之中間原料添加至上文所製備之30 mL細胞中。將60 μL細胞及SEA混合物添加至相應孔中且在37℃及5% CO_2下之濕潤腔室中培育四天。使用總共0.1×10^6個細胞/孔及100 ng/mL最終濃度之SEA。

【0376】在培育四天後，將各盤自恆溫箱移出，用手輕輕攪動，且以2000 rpm離心兩分鐘。將5 μL清液層轉移至384孔AlphaLISA盤(Perkin Elmer)用於細胞介素分析。根據製造商說明書，使用AlphaLISA套組測量IL-2。簡言之，藉由將2.5 mL 10×AlphaLISA免疫分析緩衝液移液至22.5 mL水中來製備分析緩衝液。使用人類IL-2分析物來製備標準稀釋液。在分析緩衝液中製備1.6×AlphaLISA抗IL-2受體珠粒及生物素化抗IL-2抗體之混合物。向各孔中添加8 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉90分鐘。在分析緩衝液中製備2.3×抗生蛋白鏈菌素供體珠粒中

間原料。向各孔中添加10 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉20分鐘。AlphaLISA盤在2000 rpm下短暫離心。在EnVision盤讀取器上使用AlphaScreen方案量測相對光單位(RLU)。

【0377】如圖10A中所示，當單獨投與時，BA006顯示SEA刺激之PBMC的IL-2分泌增強最高。BA005、BA002_AF及BA002在單獨投與時亦顯示IL-2分泌增強。如圖10B中所示，當與抗PD-1抗體組合時，BA006、BA002及BA002_AF亦各自顯示SEA刺激之PBMC的IL-2分泌增強，其中BA006誘導最強的IL-2分泌含量。

【0378】對於在此部分上文所述之第三實驗，在一系列抗體濃度中評定BA006及BA002在盤塗佈之CD155-Fc存在下增強PBMC分泌IL-2的能力。

【0379】為製備用CD155-Fc塗佈之盤，將50 μg重組人類CD155-Fc蛋白質在100 μL PBS中復原以使得原料濃度為500 μg/mL。隨後藉由將24 μL之500 μg/mL CD155-Fc儲備溶液添加至11.976 mL PBS中而將復原蛋白質稀釋至1 μg/mL之工作濃度。隨後藉由將100 μL工作濃度之CD155-Fc蛋白溶液添加至96孔盤之各孔中而用CD155-Fc蛋白質塗佈96孔高結合盤。各盤隨後用黏合劑密封且在4℃下培育隔夜。次日，各盤以2000 rpm離心兩分鐘。棄去清液層且如下所述添加抗體。

【0380】在1.2 mL子彈管中製備足以每個供體重複三次的5×濃縮的抗體中間原料。首先，在R10培養基中製備

420 μL之500 μg/mL各抗體。隨後藉由將140 μL先前的稀釋液轉移至280 μL R10培養基中而將抗體1:3連續稀釋。製備總共八種範圍介於100-0.045725 μg/mL之稀釋液。隨後將20 μl抗體混合物添加至圓底96孔盤之相應孔中。

【0381】自液氮取回冷凍的人類PBMC之等分試樣且立即在37℃水中融化。將細胞轉移至9 mL預溫熱的R10培養基中且立即以2000 rpm離心兩分鐘。隨後計數細胞且評定活力。將細胞以2000 rpm離心兩分鐘且再懸浮。SEA之中間原料濃度係藉由將10 μL之1000 μg/mL SEA稀釋於90 μL之R10中以使得中間濃度為100 μg/mL而得到。為了刺激細胞，將12 μL 100 μg/mL SEA之中間原料添加至9.60 mL細胞中。將80 μL細胞及SEA混合物添加至相應孔中且在37℃及5% CO_2下之濕潤腔室中培育四天。使用總共0.1×10^6個細胞/孔及100 ng/mL最終濃度之SEA。

【0382】在培育四天後，將各盤自恆溫箱移出，用手輕輕攪動，且隨後以2000 rpm離心兩分鐘。將5 μL清液層轉移至384孔AlphaLISA盤(Perkin Elmer)用於細胞介素分析。根據製造商說明書，使用AlphaLISA套組測量IL-2。簡言之，藉由將2.5 mL 10×AlphaLISA免疫分析緩衝液添加至22.5 mL水中來製備分析緩衝液。根據製造商說明書，使用人類IL-2分析物製備標準稀釋液。在分析緩衝液中製備1.6×AlphaLISA抗IL-2受體珠粒及生物素化抗IL-2抗體之混合物。向各孔中添加8 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉90分鐘。在分析緩衝液中製備2.3×抗

生蛋白鏈菌素供體珠粒中間原料。向各孔中添加10 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉20分鐘。AlphaLISA盤在2000 rpm下短暫離心。在EnVision盤讀取器上使用AlphaScreen方案量測相對光單位(RLU)。

【0383】如圖10C中所示，BA006及BA002以劑量依賴性方式增強與盤結合之CD155-Fc共培養的SEA刺激之PBMC的IL-2分泌。BA006增強IL-2分泌之程度高於BA002，其繼而相對於同型對照增加IL-2分泌。

【0384】在其他實驗中，測試在較低濃度之SEA存在下藉由BA006活化PBMC。除使用10 μg/mL之SEA中間原料之外，與部分6.2.1中所提供類似地設置該實驗。最終的細胞培養物含有總共1.2×10^5個細胞/孔及最終濃度為10 ng/mL之SEA肽。在培育四天後，藉由AlphaLISA套組(Perkin Elmer)量測細胞之IL-2產生。

【0385】如圖10D及10E中所示，BA006在10 ng/mL SEA存在下以劑量依賴性方式增強來自兩個不同供體之PBMC的IL-2分泌。自此兩個實驗量測之EC_{50}值分別為68 ng/mL及56 ng/mL。因此，BA006有效地提高PBMC對SEA抗原之敏感性。

抗TIGIT抗體之Fc變異體藉由受刺激之PBMC刺激IFNγ分泌

【0386】在此實例中，測試BA002之Fc變異體促進SEA刺激之PBMC分泌IFNγ的能力。

【0387】在1.2 mL子彈管中製備各抗體(亦即BA002、

BA002_AF、BA003、BA005、BA006、BA007、BA008、BA009或IgG1及IgG4之同型對照)的5×濃縮中間原料。首先，在R10培養基中製備400 μL之50 μg/mL各抗體。隨後每孔添加20 μL抗體至圓底96孔盤中。自液氮取回冷凍的人類PBMC之等分試樣且立即在37℃水中融化，直至觀察到浮冰。將細胞轉移至9 mL預溫熱的R10培養基中且立即以2000 rpm離心兩分鐘。為了計數細胞及檢查活力，移出10 μL樣品且添加至390 μL活力染料中，混合且使用Muse設備讀取。

【0388】樣品以2000 rpm離心兩分鐘且再懸浮至中間濃度。SEA之中間原料濃度係藉由將10 μL之1000 μg/mL SEA添加至90 μL R10以使得中間濃度為100 μg/mL而得到。為了刺激細胞，將12 μL 100 μg/mL SEA之中間原料添加至上文所製備之7.20 mL細胞中。將60 μL細胞及SEA混合物添加至相應孔中且在37℃及5% CO_2下之組織培養恆溫箱中在濕潤腔室內培育四天。使用總共0.1×10^6個細胞/孔及100 ng/mL最終濃度之SEA。

【0389】培育四天後，自恆溫箱移出各盤且用手輕輕攪動。各盤隨後以2000 rpm離心兩分鐘。將5 μL清液層轉移至384孔AlphaLISA盤用於細胞介素分析。AlphaLISA套組(Perkin Elmer)用於量測IFNγ分泌。簡言之，藉由將2.5 mL 10×AlphaLISA HiBlock緩衝液移液至22.5 mL水中來製備分析緩衝液。根據製造商說明書使用人類IFNγ分析物製備標準稀釋液。在分析緩衝液中製備1.6×AlphaLISA抗

IFNγ受體珠粒及生物素化抗IFNγ抗體之混合物。向各孔中添加8 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉90分鐘。在分析緩衝液中製備2.3×抗生蛋白鏈菌素供體珠粒中間原料。向各孔中添加10 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉20分鐘。AlphaLISA盤在2000 rpm下短暫離心。在EnVision盤讀取器上使用AlphaScreen方案量測相對光單位(RLU)。

【0390】如圖11A-11B中所示，BA002及其Fc變異體增強來自兩個不同供體之SEA刺激之PBMC的IFNγ分泌。

2.3.2 抗TIGIT抗體Fc變異體顯示經由FcγRIIA及FcγRIIIA發信號之不同能力

FcγRIIA信號傳導

【0391】在一個實例中，測試BA002 Fc變異體活化表現$Fc\gamma RIIA^{H131}$之報導細胞的能力。簡言之，將靶細胞(亦即經工程改造以表現人類TIGIT之Jurkat細胞)添加至ADCP分析盤之孔(2.4×10^6個細胞/毫升)中。將抗體之連續稀釋液(亦即抗TIGIT抗體BA002或其Fc變異體，或適當同型對照(Evitria)；每孔一個抗體)添加至具有ADCP分析緩衝液之分析盤孔中。將150,000個效應細胞(亦即過度表現具有高親和力131 H/H多形現象之FcγRIIA CD32A的Jurkat NFAT-螢光素酶報導細胞，培養少於六週；Promega)添加至各孔中，且混合物隨後在37℃下培育20小時。靶細胞表面上之抗體/抗原複合物與效應細胞表面上之CD32A的結

合將導致信號傳導至報導基因構築體及螢光素酶之表現。

【0392】次日，將各盤平衡至室溫持續15分鐘，且隨後每孔添加75 μL Bio-Glo螢光素酶分析試劑(Promega目錄號G7940)。混合物隨後在室溫下培育5-10分鐘，且使用盤讀取器(Envision)來量測發光。相對光單位(RLU)計算為誘導的RLU-背景RLU。

【0393】如圖12A中所示，對於FcγRIIA結合及信號傳導，BA005展現最高水準之信號傳導，隨後依次為BA008、BA006、BA007、BA002及BA002_AF。BA003及同型對照顯示實質上沒有信號傳導。

FcγRIIIA信號傳導

【0394】在另一個實例中，測試BA002 Fc變異體活化表現FcγRIIIA^{V158}之報導細胞的能力。簡言之，將靶細胞(亦即經工程改造以表現人類TIGIT之Jurkat細胞)添加至ADCC分析盤之孔(2.4×10^{6}個細胞/毫升)中。將抗體之連續稀釋液(亦即抗TIGIT抗體BA002或其Fc變異體，或適當同型對照(Evitria)；每孔一個抗體)添加至具有ADCC分析緩衝液之分析盤孔中。將150,000個效應細胞(亦即過度表現具有高親和力158 V/V多形現象之FcγRIIIA CD16A的Jurkat NFAT-螢光素酶報導細胞，培養少於六週；Promega)添加至各孔中，且混合物隨後在37℃下培育20小時。靶細胞表面上之抗體/抗原複合物與效應細胞表面上之CD16A的結合將導致信號傳導至報導基因構築體及螢光素酶之表現。

【0395】次日，將各盤平衡至室溫持續15分鐘，且隨後每孔添加75 μL Bio-Glo螢光素酶分析試劑(Promega目錄號G7940)。混合物隨後在室溫下培育5-10分鐘，且使用盤讀取器(Envision)來量測發光。RLU計算為誘導的RLU-背景RLU。

【0396】如圖12B中所示，對於FcγRIIIA結合及信號傳導，BA006展現最高水準之信號傳導，隨後依次為BA002_AF、BA005、BA007及BA002。BA003及同型對照顯示實質上沒有信號傳導。

2.3.3 BA002之Fc變異體在與CD16+ NK細胞共培養時增強TIGIT$^+$ Jurkat細胞之殺傷

【0397】檢查BA002之Fc變異體在表現TIGIT之Jurkat細胞及表現CD16之自然殺手(NK)細胞之共培養物中誘導抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)活性的能力。簡言之，在補充有10%胎牛血清(Benchmark目錄號100-106，批次A69E00F)及1%青黴素鏈黴素麩醯胺酸(Gibco目錄號10378-016，批次1835954)之RPMI 1640 (Corning目錄號10-040-CM，批次35316005)中培養Jurkat細胞。在補充有2% NK MACS培養基補充物(MACS目錄號130-107-210，批次5160804070)、5%人類血清(Sigma目錄號H4522，批次SLBQ9160V)、1%青黴素鏈黴素麩醯胺酸(Gibco目錄號10378-016，批次1835954)、100 U/mL IL-2 (R&D Systems目錄號202-16，批次AE6016102)及100 U/mL IL-15 (R&D

Systems目錄號247-ILB，批次TLM1016102)之NK MACS基礎培養基(MACS目錄號130-107-209)中培養NK細胞。藉由在1200 rpm下離心5分鐘使200萬個Jurkat細胞集結。藉由使離心塊再懸浮於1 mL含0.5 μM CellTrace Far Red (Invitrogen目錄號C34565，批次1764050)之PBS (Corning目錄號21-040-CV，批次00217005)中且在37℃及5% CO_2下培育30分鐘來對細胞進行染色。培育後，添加9 mL PBS且藉由在1200 rpm下離心5分鐘而使細胞集結。細胞集結粒隨後再懸浮於Jurkat培養基中。抗體以其最終濃度之六倍稀釋於含有1 μM CellEvent卡斯蛋白酶-3/7綠色偵測試劑(Invitrogen目錄號C10423，批次1849709)之Jurkat培養基中。將染色的Jurkat細胞稀釋至每毫升0.5百萬個細胞且將NK細胞稀釋至每毫升0.75百萬個細胞。藉由每孔移液10 μL抗體(最終濃度：0.1、1及10 μg/mL)、30 μL染色的Jurkat細胞(15000個細胞)及20 μL NK細胞(15000個細胞)在384孔顯微鏡盤(Greiner，目錄號781936，批次E161233K)中進行分析。

【0398】然後立即在環境控制(37℃，5% CO_2)下使用ImageXpress Micro Confocal High-Content顯微鏡(Molecular Devices)進行實時成像，且經三小時之過程每小時分別自Cy5 (CellTrace Far Red)及FITC (卡斯蛋白酶3/7)通道獲取Jurkat細胞及卡斯蛋白酶3/7陽性Jurkat細胞的影像。使用MetaXpress分析軟體(Molecular Devices)進行影像分析。自Cy5通道鑑定Jurkat細胞且自FITC通道量化

每個細胞之卡斯蛋白酶3/7信號之量。具有高於背景之卡斯蛋白酶3/7強度的細胞指定為凋亡。將凋亡細胞之數目相對於每種條件下之總細胞計數進行歸一化以確定殺傷百分比量測值。

【0399】如圖13A中所示，表現出與FcγRIIIA之結合改良的Fc變異體(BA006、BA007、BA005及BA002_AF)促進表現TIGIT之Jurkat細胞的殺傷程度大於BA002，其繼而促進表現TIGIT之Jurkat細胞的殺傷程度大於含有「Fc靜默」N297A突變之BA003及同型對照。

2.3.4 與效應T細胞相比，BA002及BA006優先殺傷調節T細胞

【0400】在一個實例中，檢查BA002及BA006在初級調節T細胞(Treg)及效應T細胞(Teff)中誘導ADCC的能力。簡言之，檢查抗體BA002、抗體BA006及IgG1同型對照抗體在表現CD16之NK細胞與(i)初級效應T細胞或(ii)初級調節T細胞之共培養物中的ADCC活性。根據此項技術中已知之方法自PBMC分離初級T細胞且經10天擴增。效應T細胞及調節T細胞之標識係藉由適當標記物之流動式細胞量測分析來確認。在ADCC分析之前，將效應T細胞及調節T細胞靜置於補充有50 U/mL IL-2 (R&D Systems目錄號202-16，批次AE6016102)之X-VIVO 15培養基(Lonza目錄號04-418Q，批次0000542070)中，或在補充有50 U/mL IL-2及25 μL/mL CD3/CD28 T細胞活化劑(Stemcell目錄號10971，

批次16L75402)之X-VIVO 15培養基中刺激16小時。在補充有2% NK MACS培養基補充物(MACS目錄號130-107-210，批次5160804070)、5%人類血清(Sigma目錄號H4522，批次SLBQ9160V)、1%青黴素鏈黴素麩醯胺酸(Gibco目錄號10378-016，批次1835954)、100 U/mL IL-2 (R&D Systems目錄號202-16，批次AE6016102)及100 U/mL IL-15 (R&D Systems目錄號247-ILB，批次TLM1016102)之NK MACS基礎培養基(MACS目錄號130-107-209)中培養NK細胞。藉由在1200 rpm下離心5分鐘使T細胞集結。藉由使離心塊再懸浮於1 mL含0.5 μM CellTrace Far Red (Invitrogen目錄號C34565，批次1764050)之PBS (Corning目錄號21-040-CV，批次00217005)中且在37℃及5% CO_2下培育30分鐘來對細胞進行染色。培育後，添加9 mL PBS且藉由在1200 rpm下離心5分鐘而使細胞集結。使細胞集結粒再懸浮於X-VIVO 15培養基中。抗體以其最終濃度之六倍稀釋於含有1 μM CellEvent卡斯蛋白酶-3/7綠色偵測試劑(Invitrogen目錄號C10423，批次1849709)之X-VIVO 15培養基中。將染色的T細胞稀釋至每毫升0.5百萬個細胞且將NK細胞稀釋至每毫升0.75百萬個細胞。藉由每孔移液10 μL抗體(最終濃度：1及10 μg/mL)、30 μL染色的Jurkat細胞(15,000個細胞)及20 μL NK細胞(15,000個細胞)在384孔顯微鏡盤(Greiner目錄號781936，批次E161233K)中進行分析。

【0401】然後立即在環境控制(37℃，5% CO_2)下使用ImageXpress Micro Confocal High-Content 顯微鏡

(Molecular Devices)進行實時成像，且經三小時之過程每小時分別自Cy5 (CellTrace Far Red)及FITC (卡斯蛋白酶3/7)通道獲取T細胞及卡斯蛋白酶3/7陽性T細胞的影像。使用MetaXpress分析軟體(Molecular Devices)進行影像分析。自Cy5通道鑑定T細胞且自FITC通道量化每個細胞之卡斯蛋白酶3/7信號之量。具有高於背景之卡斯蛋白酶3/7強度的細胞指定為凋亡。將凋亡細胞之數目相對於每種條件下之總細胞計數進行歸一化以確定殺傷百分比量測值。

【0402】如圖13B中所示，抗TIGIT抗體BA002及其Fc變異體BA006與效應T細胞相比在1 μg/mL及10 μg/mL之抗體濃度下優先殺死調節T細胞。與BA002相比，BA006一般表現出較高水準的T細胞殺傷及優先調節T細胞殺傷。

【0403】不希望受任何特定機制或理論束縛，預期BA002阻斷TIGIT與PVR之間的相互作用，由此抑制TIGIT介導之T細胞及NK細胞抑制機制且促進CD226介導之共刺激信號傳導。此可導致T細胞效應功能及TH1細胞介素分泌增強。亦預期BA006進一步增強結合及經由FcyRIIIA之信號傳導，且由此促進T細胞與APC之間較強的相互作用。此繼而可增強T細胞信號傳導，同時保持TIGIT之有效拮抗作用。因此，預期藉由加強T細胞與APC之間的免疫突觸，BA006可能能夠進一步增強T細胞效應功能及細胞介素分泌。

2.4 實例4：Fc變異型抗人類TIGIT抗體之表徵

【0404】此實例描述BA006之進一步表徵。

2.4.1 BA006促進來自人類供體之SEA刺激之PBMC分泌IL-2

【0405】測試BA006藉由來自人類供體之SEA刺激之PBMC促進IL-2分泌的能力。

【0406】在1.2 mL子彈管中製備抗體BA006、抗體BA002或BA002之同型對照抗體的5×濃縮中間原料。亦製備一組參考抗TIGIT抗體及BA006之同型對照抗體的中間原料。首先，在R10培養基中製備400 μL之50 μg/mL各抗體。隨後每孔添加20 μL抗體至圓底96孔盤中。自液氮取回冷凍的人類PBMC之等分試樣且立即在37℃水中融化，直至觀察到浮冰。將細胞轉移至9 mL預溫熱的R10培養基中且立即以2000 rpm離心兩分鐘。計數細胞且檢驗活力。

【0407】樣品以2000 rpm離心兩分鐘且再懸浮至中間濃度。SEA之中間原料濃度係藉由將10 μL之1000 μg/mL SEA添加至90 μL R10以使得中間濃度為100 μg/mL而得到。為了刺激細胞，將12 μL 100 μg/mL SEA之中間原料添加至上文所製備之7.20 mL細胞中。將60 μL細胞及SEA混合物添加至相應孔中且在37℃及5% CO_2下之組織培養恆溫箱中在濕潤腔室內培育四天。使用總共0.1×10^6個細胞/孔及100 ng/mL最終濃度之SEA。

【0408】培育四天後，自恆溫箱移出各盤且用手輕輕攪動。各盤隨後以2000 rpm離心兩分鐘。將5 μL清液層轉

移至384孔AlphaLISA盤用於細胞介素分析。AlphaLISA套組(Perkin Elmer)用於量測IL-2分泌。簡言之，藉由將2.5 mL 10×AlphaLISA免疫分析緩衝液移液至22.5 mL水中來製備分析緩衝液。使用人類IL-2分析物來製備標準稀釋液。在分析緩衝液中製備1.6×AlphaLISA抗IL-2受體珠粒及生物素化抗IL-2抗體之混合物。向各孔中添加8 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉90分鐘。在分析緩衝液中製備2.3×抗生蛋白鏈菌素供體珠粒中間原料。向各孔中添加10 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉20分鐘。AlphaLISA盤在2000 rpm下短暫離心。在EnVision盤讀取器上使用AlphaScreen方案量測相對光單位(RLU)。使用由兩個不同供體獲得之PBMC對此實驗進行四次重複。

【0409】如圖14中所示，抗TIGIT抗體BA002及BA006與同型對照及參考抗體相比各自增強SEA刺激之PBMC的IL-2分泌，其中BA006與其他測試的抗TIGIT抗體相比誘導實質上更大的IL-2分泌。

2.4.2 抗TIGIT抗體與調節其他免疫檢查點分子之抗體的組合

【0410】在此實例中，測試BA002及其Fc變異體BA006在單獨或與靶向各種免疫檢查點分子之抗體(抗PD-1、抗PD-L1、抗CTLA-4及抗LAG-3拮抗性抗體及抗CD137及抗OX40促效性抗體)組合投與時促進SEA刺激之PBMC分泌IL-2的能力。

【0411】在1.2 mL子彈管中製備足以兩個供體重複八次的各抗體的5×濃縮中間原料。首先，在R10培養基中製備600 μL之50 μg/mL各抗體。對於將接受兩種抗體之組合(亦即(i)BA002或BA006與(ii)抗PD-1拮抗性抗體、抗PD-L1拮抗性抗體、抗CD137促效性抗體或抗OX40促效性抗體之成對組合)的樣品，在相同的1.2 mL子彈管中製備兩種抗體。隨後向圓底96孔盤中每孔添加20 μl抗體混合物以達到10 μg/mL BA002或BA006與5 μg/mL抗PD-1抗體、抗PD-L1抗體或抗OX40抗體組合或5 μg/mL BA002或BA006與10 μg/mL抗CTLA-4抗體、抗LAG-3抗體或抗CD137抗體組合之最終濃度。

【0412】自液氮取回冷凍的人類PBMC之等分試樣且立即在37℃水中融化。將細胞轉移至9 mL預溫熱的R10培養基中且立即以2000 rpm離心兩分鐘。計數細胞且評定活力。樣品以2000 rpm離心兩分鐘且再懸浮至中間濃度。SEA之中間原料濃度係藉由將10 μL之1000 μg/mL SEA稀釋於90 μL之R10中以使得中間濃度為100 μg/mL而得到。為了刺激細胞，將40 μL 100 μg/mL SEA之中間原料添加至如上所述製備之32 mL細胞中。將80 μL細胞及SEA混合物添加至相應孔中且在37℃及5% CO_2下之濕潤腔室中培育四天。使用總共0.1×10^6個細胞/孔及100 ng/mL最終濃度之SEA。

【0413】培育四天後，自恆溫箱移出各盤且用手輕輕攪動。各盤隨後以2000 rpm離心兩分鐘。將5 μL清液層添

加至384孔AlphaLISA盤(Perkin Elmer)用於細胞介素分析。根據製造商說明書，使用AlphaLISA套組測量IL-2。簡言之，藉由將2.5 mL 10×AlphaLISA免疫分析緩衝液移液至22.5 mL水中來製備分析緩衝液。使用人類IL-2分析物來製備標準稀釋液。在分析緩衝液中製備1.6×AlphaLISA抗IL-2受體珠粒+生物素化抗IL-2抗體之混合物。向各孔中添加8 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉90分鐘。在分析緩衝液中製備2.3×抗生蛋白鏈菌素供體珠粒中間原料。向各孔中添加10 μL且在室溫下在黑暗中培育，以500 rpm旋轉20分鐘。AlphaLISA盤在2000 rpm下短暫離心。隨後在EnVision盤讀取器上使用AlphaScreen方案量測相對光單位(RLU)。

【0414】如圖15A-15I中所示，抗TIGIT抗體BA002及BA006在單獨提供時增強SEA刺激之PBMC的IL-2分泌。當抗體BA002或BA006與抗PD-1拮抗性抗體(圖15A)、兩種抗PD-L1拮抗性抗體中之任一者(圖15B-15C)、抗CD137促效性抗體(圖15D)、抗CTLA-4拮抗性抗體(圖15E)、用來自兩個不同供體之細胞測試的抗LAG3拮抗性抗體(圖15F及15G)或用來自兩個不同供體之細胞測試的抗OX40促效性抗體(圖15H及15I)組合投與時，IL-2分泌進一步增強。

【0415】藉由類似方法檢查BA002及BA006活化食蟹獼猴PBMC之能力。簡言之，在10 μg/mL BA002或BA006及10 μg/mL抗PD-1抗體或同型對照抗體存在下，用100 ng/mL葡萄球菌腸毒素A(SEA)超級抗原刺激來自供體12及

13之初級食蟹獼猴PBMC 4天。使用AlphaLISA套組來量測培養上清液中IL-2及IFNγ之量。

【0416】如圖16A中所示，BA002及BA006單獨或與抗PD-1抗體組合增強食蟹獼猴PBMC之IL-2分泌。類似地，如圖16B中所示，BA002及BA006單獨或與抗PD-1抗體組合增強食蟹獼猴PBMC之IFNγ分泌。

2.4.3 抗TIGIT抗體增強T細胞記憶回憶

【0417】在此實例中，在I型及II型T細胞記憶回憶分析中測試BA002及BA006之功能。

I型T細胞記憶回憶

【0418】在I型T細胞記憶回憶分析中，自液氮取回來自人類供體之初級細胞巨大病毒(CMV)反應性HLA-A*02:01 PBMC的冷凍等分試樣，且立即在37℃水中融化直至觀察到浮冰。將細胞轉移至9 mL預溫熱的X-Vivo 15培養基中且立即在1500 rpm下離心5分鐘。隨後將細胞再懸浮於10 mL預溫熱的R10培養基中。為了計數細胞及檢查活力，移出20 μL樣品且添加至380 μL活力染料中，混合且使用Muse設備讀取。隨後將細胞再懸浮至2×中間濃度且總體積為10 mL。

【0419】初級PBMC用最終濃度為1.75 μg/mL之CMV pp65肽(NLVPMVATV；SEQ ID NO: 61)刺激，且用10 μg/mL BA002、BA006、抗TIGIT參考抗體#7或同型對照抗

體處理。具體而言，將35 μL 1000 μg/mL CMVpp65肽原料添加至上文所製備之10 mL細胞中。藉由翻轉輕輕混合細胞，且將100 μL混合物移液至相應孔中。將抗TIGIT抗體類似地製備成2×中間原料，且將100 μL各抗體添加至孔中。在37℃及5% CO_2之組織培養恆溫箱中在濕潤腔室內培育最終密度為2.5×10^5個細胞/孔的細胞。

【0420】每日添加新鮮的CMVpp65肽及抗TIGIT抗體持續5天。具體而言，細胞在1500 rpm下離心2分鐘，移除20 μL清液層，且將10 μL CMV pp65肽及10 μL抗TIGIT抗體添加至細胞。CMV pp65肽及抗TIGIT抗體之最終濃度分別為1.75 μg/mL及10 μg/mL。根據製造商的方案，藉由AlphaLISA套組(Perkin Elmer)每日評定IFNγ分泌，持續六天。

【0421】如圖17A中所示，相對於參考抗體#7或同型對照，BA002及BA006在I型記憶回憶分析中隨時間推移誘導增加的IFNγ分泌，且BA006誘導比BA002更高水準的IFNγ。

【0422】為了表徵TIGIT在記憶T細胞上之表現，如上所述用1.75 μg/mL CMV pp65肽刺激CMV反應性HLA-A*02:01 PBMC 5天。CD8效應記憶T細胞係藉由依序選通FSC-A對SSC-A、FSC-H對FSC-A、SSC-A對SSC-H、CD3對SSC-A、CD4對CD8及CD45RO對CD197來富集。CD8效應記憶T細胞鑑別為$CD8^+$ $CD4^-$ $CD45RO^+$ $CD197^-$。藉由流式細胞測量術測定CD8效應記憶T細胞上TIGIT、CD226及

CD96之表現量。

【0423】如圖17B中所示，TIGIT、CD226及CD96均在CD8效應記憶T細胞上表現。此結果表明抗TIGIT抗體可能對CD8效應記憶T細胞具有直接作用。

【0424】為了進一步表徵抗TIGIT抗體在T細胞記憶回憶中之功能，如上所述在10 μg/mL BA002、BA006、抗TIGIT參考抗體#7及/或抗PD-1抗體存在下，用1.75 μg/mL CMV pp65肽刺激CMV反應性HLA-A*02:01 PBMC 5天。根據製造商的方案，藉由AlphaLISA套組(Perkin Elmer)評定IFNγ及TNFα之分泌。在類似的實驗中，如上所述在10 μg/mL BA002、BA006、抗TIGIT參考抗體#7及/或抗PD-1抗體存在下，用1.75 μg/mL CMV pp65肽刺激CMV反應性HLA-A*02:01 PBMC 6天。CD8效應記憶T細胞鑑別為$CD8^+$ $CD45RO^+$ $CD197^-$，且CD4效應記憶T細胞鑑別為$CD4^+$ $CD45RO^+$ $CD197^-$，且藉由流式細胞測量術藉由Ki67表現評定T細胞增殖。

【0425】如圖17C及17D中所示，BA002及BA006均在I型記憶回憶分析中增強IFNγ及TNFα分泌，且BA006比BA002更有效。添加抗PD-1抗體進一步增加IFNγ及TNFα分泌。BA002及BA006亦在I型記憶回憶分析中增強CD8效應記憶T細胞增殖，且BA006比BA002更有效(圖17E)。添加抗PD-1抗體實質上未增加BA006處理組中之CD8效應記憶T細胞增殖。CD4效應記憶T細胞之增殖基本上不受BA002、BA006或抗PD-1抗體影響(圖17F)。

II型T細胞記憶回憶

【0426】在II型T細胞記憶回憶分析中，使用1 μg/mL已知主要在MHC II類分子上加工且呈遞之CMV全抗原(Astarte Biologics，目錄號1004)(儘管此等抗原亦可交叉呈遞於MHC I類分子上)刺激CMV反應性PBMC。具體而言，將200 μL 100 μg/mL CMV全抗原原料添加至10 mL含供體PBMC之R10培養基中。藉由翻轉輕輕混合細胞，且將100 μL混合物移液至相應孔中。將10 μg/mL抗PD-1抗體添加至一些孔中。細胞以220,000個細胞/孔(供體11)或250,000個細胞/孔(供體10)之密度在37℃及5% CO2之組織培養恆溫箱中在濕潤腔室內培育4天。藉由依序選通FSC-A對SSC-A、FSC-H對FSC-A、SSC-A對SSC-H、CD3對SSC-A及CD4對CD8來分析細胞樣品。$CD4^+$ T細胞亞群鑑別為$CD4^+$ $CD8^-$，且$CD8^+$ T細胞亞群鑑別為$CD8^+$ $CD4^-$。在各亞群內，初始T細胞、效應T細胞(T_{Eff})、效應記憶T細胞(T_{EM})及中央記憶T細胞(T_{CM})分別鑑別為$CD45RO^-CD197^+$、$CD45RO^-CD197^-$、$CD45RO^+CD197^-$及$CD45RO^+CD197^+$。分析各亞群之TIGIT表現，如藉由APC綴合之抗TIGIT抗體所偵測。

【0427】如圖18A中所示，CMV全抗原增加TIGIT在$CD4^+$ T_{Eff}、T_{EM}及T_{CM}細胞上之表現量，且抗PD-1抗體進一步增強T_{EM}及T_{CM}細胞上之TIGIT表現。$CD8^+$ T_{Eff}、T_{EM}及T_{CM}細胞上亦觀察到TIGIT表現增加(圖18B)，其可能歸

因於抗原在MHC I類分子上之交叉呈遞。

【0428】為了進一步表徵抗TIGIT抗體在II型T細胞記憶回憶中之功能，在存在或不存在10 μg/mL BA002、BA006、抗TIGIT參考抗體#7及/或抗PD-1抗體之情況下，將CMV反應性PBMC與1 μg/mL CMV全抗原一起培育4天。根據製造商的方案，藉由AlphaLISA套組(Perkin Elmer)分析培養基中之IFNγ分泌。

【0429】如圖18C及18D中所示，BA002及BA006在與抗PD-1抗體組合時均增強PBMC之IFNγ分泌，且BA006比BA002更有效。

2.4.4 抗TIGIT抗體增強抗原特異性T細胞的細胞毒性

【0430】在此實例中，測試BA002及BA006對T細胞的細胞毒性的效應。具體而言，將異位表現NY-ESO-1 TCR之初級人類T細胞與表現NY-ESO-1之U251MG腫瘤細胞一起共培養13天以模擬T細胞耗竭。為了實時成像，異位表現NY-ESO-1之KARPAS 299細胞首先與含1 μM CellTrace Far Red細胞增殖染料(Life Technologies)之PBS在37℃及5% CO_2下培育30分鐘以標記細胞體。將經標記之細胞再懸浮於新鮮培養基中且以每孔15,000個細胞之密度接種於384孔顯微鏡盤中。隨後以每孔30,000個細胞之密度添加耗竭T細胞。將BA002、BA006或相應同型對照抗體以10 μg/mL之濃度與10 μg/mL抗PD-1抗體或同型對照抗體組合添加至共培養物中。

【0431】經24小時之過程，每隔兩小時在37℃及5% CO_2下在Cy5通道(CellTrace Far Red細胞增殖染料)中使用ImageXpress Micro Confocal High-Content顯微鏡(Molecular Devices)收集實時影像。在每一時間點對於每一條件，獲得總共八個影像(20×放大倍率)，平均值為1,211個細胞(±88個細胞，標準差)。使用MetaXpress分析軟體(Molecular Devices)進行定量殺死的KARPAS 299細胞之量的影像分析。

【0432】如圖19中所示，BA002及BA006單獨或與抗PD-1抗體組合增強T細胞對表現抗原之腫瘤細胞的細胞毒性。

2.4.5 抗TIGIT抗體增強NK細胞活性

【0433】在此實例中，研究BA002及BA006對NK細胞活化之效應。

【0434】簡言之，新鮮融化之PBMC在補充有10%胎牛血清及100UI IL-2及IL-15之RPMI培養基中培養。將細胞用20 μg/mL BA002、BA006、參考抗體#1 (人類IgG1)、參考抗體#1 Fc增強變異體(在Fc區具有S239D/A330L/I332E取代之人類IgG1)或相應同型對照抗體處理5小時。在10%之量的PBMC下視情況添加K562細胞作為靶細胞以進行共培養。

【0435】為了染色NK細胞活化標記物CD107a，將與APC (Biolegend)綴合之抗CD107a抗體以1:400稀釋度添加

至細胞培養物中。亦添加莫能菌素(Monensin) (eBiosciences)以防止內飲囊泡酸化，由此避免自細胞表面再次內化之CD107a降解。另外，將布雷菲爾德菌素A (Brefeldin A) (eBiosciences)添加至細胞培養物中以防止含有細胞介素之囊泡的胞外分泌，由此允許在刺激後觀測細胞介素產生。

【0436】在處理後，使用與BUV737 (BD Biosciences)綴合之抗CD56抗體及與BV421 (Biolegend)綴合之抗CD3抗體將PBMC之細胞表面標記物染色30分鐘。洗滌後，將細胞在BD Cytofix/Cytoperm溶液中在4℃下培育20分鐘以進行固定及滲透。隨後將細胞洗滌兩次且在4℃下用含與AlexaFluor700綴合之抗IFNγ抗體及與PECy7 (BD Biosciences)綴合之抗TNFα抗體在BD滲透/洗滌溶液中培育30分鐘。藉由流式細胞測量術分析染色細胞。

【0437】如圖20A中所示，藉由選通前向散射面積(FSC-A)對側向散射面積(SSC-A)之第一繪圖及選通FSC-A對FSC-高度(FSC-H)之第二繪圖來鑑別淋巴球群體以便選擇單細胞。NK細胞自淋巴球群體進一步鑑別為$CD3^-$ $CD56^+$。活化的NK細胞鑑別為$CD107a^+$。

【0438】如圖20B中所示，抗TIGIT抗體增強來自PBMC之NK細胞上的CD107a活化標記物。抗TIGIT抗體亦增加NK細胞中IFNγ (圖20C)及TNFα (圖20D)之產生。與K562靶細胞共培養之PBMC中的NK細胞觀察到類似效應(圖20E-20G)。BA006展示比BA002更有效的對NK細胞活

化之效應。類似地，在Fc區中包含S239D/A330L/I332E取代之參考抗體#1變異體比包含野生型IgG1 Fc區之參考抗體#1在NK細胞活化中更有效。

2.5 實例5：抗原決定基定位

【0439】藉由氫-氘交換(HDX)質譜分析及抗原突變誘發研究BA002及BA006之抗原決定基。

2.5.1 抗TIGIT抗體藉由HDX之抗原決定基定位

【0440】使用下文所述方法評估TIGIT與BA002之$F(ab')_2$片段(BA002-$F(ab')_2$)的相互作用。

TIGIT與抗人類TIGIT $F(ab')_2$之相互作用

【0441】將10 μL人類TIGIT (6.16 μg)或20 μL人類TIGIT及$F(ab')_2$混合物(6.16 μg:30.8 μg)與110 μL氧化氘標記緩衝液(50 mM磷酸鈉、100 mM氯化鈉，pD 7.4)在24℃下一起培育0秒、60秒、300秒、1800秒、7200秒及14400秒。藉由添加125 μL 4 M鹽酸胍、0.85 M TCEP緩衝液(最終pH 2.5)淬滅氫/氘交換。隨後，如下所述對淬滅的樣品進行管柱上胃蛋白酶/蛋白酶XIII消化及LC-MS分析。以僅MS模式記錄質譜。

HDX資料分析

【0442】使用HDX WorkBench軟體處理原始MS資料

以用於對H/D交換MS資料之分析。使用氘化肽與其原生形式(t_0)之間的平均質量差來計算氘含量。對於氘併入之計算，跨所抽取之離子層析圖峰組合給定肽之質譜，且計算加權平均m/z。原生肽(0分鐘)之質量變至加權平均質量的質量增加對應於氘併入之量。

胃蛋白酶/蛋白酶XIII消化及LC-MS

【0443】含5 μg天然或人類TIGIT之120 μL對照緩衝液(50 mM磷酸鹽、100 mM氯化鈉，pH 7.4)係藉由添加120 μL 4 M鹽酸胍、0.85 M TCEP緩衝液(最終pH為2.5)且在24℃下培育混合物三分鐘而變性。隨後使用經填充之胃蛋白酶/蛋白酶XIII (w/w，1:1)管柱對混合物進行管柱上胃蛋白酶/蛋白酶XIII消化，且使用包含Waters Acquity UPLC與Q Exactive™混合四極桿-軌道阱質譜儀(Thermo)耦接之UPLC-MS系統分析所得肽。在50 mm×1 mm C8管柱上用2-28%溶劑B (含0.2%甲酸之乙腈)的20.5分鐘梯度分離肽。肽鑑別藉由用Mascot針對人類TIGIT序列檢索MS/MS資料來進行。前驅物及產物離子之質量公差分別為10 ppm及0.05 Da。

抗人類TIGIT F(ab')2之抗原決定基結合

【0444】在存在及不存在BA002-F(ab')$_2$的情況下，大多數TIGIT肽顯示相同或類似之氘含量。然而，發現若干肽區段在BA002-F(ab')$_2$結合後氘併入顯著減少。此段落中

之所有殘基均根據SEQ ID NO: 29中所示之全長TIGIT序列編號。當人類TIGIT結合於BA002-F(ab')$_2$時，由殘基110-125 (YHTYPDGTYTGRIFLE，SEQ ID NO: 31)及殘基54-57 (VTQV，SEQ ID NO: 32)組成之兩個區表現出實質性氘保護。當人類TIGIT結合於BA002-F(ab')$_2$時，由殘基68-81 (ICNADLGWHISPSF，SEQ ID NO: 33)組成之額外區亦顯示出氘保護。因此，此等區對應於人類TIGIT上BA002之一或多個抗原決定基或其部分，如圖21中所示。

2.5.2 抗TIGIT抗體藉由抗原突變誘發之抗原決定基定位

【0445】在此實例中，藉由表面電漿子共振(SPR)表徵BA006以及六種參考抗體與人類TIGIT及突變蛋白之結合。簡言之，人類TIGIT之細胞外結構域的結構自PDB資料庫(參考號3UDW)獲得且自TIGIT-PVR複合物之結構分離。在位於自部分6.5.1鑑別之抗原決定基區內的胺基酸殘基當中，發現T34、Q35、I47、N49、L52、H55、P58、H90、T96、T98、R100及F102具有面向PVR結合表面之側鏈(圖22A)。選擇此等殘基進行抗原突變誘發分析。突變人類TIGIT蛋白質之胺基酸序列提供於表3中。

【0446】在SPR實驗中，在上面藉由胺偶合固定抗人類Fab抗體之CM5晶片上，保持流動池1作為參考，在流動池2、3及4上以10 μl/min之流動速率分別捕捉抗TIGIT抗體。野生型及突變型TIGIT蛋白質獨立地以100 nM之濃度

以50 μl/min流經所有流動池90秒，隨後為400秒之解離階段。基於感測器圖譜量測最大結合反應，且各抗體相對於對野生型TIGIT蛋白質之親和力的結合百分比展示於表5中。

表 5.抗 TIGIT 抗體與野生型及突變型 TIGIT 之結合.

TIGIT	SEQ ID NO	BA006	Ref. 1	Ref. 2	Ref. 3	Ref. 4	Ref. 5	Ref. 6
WT	42	+	+	+	+	+	+	+
T34A	43	+	+	+	+	+	+	+
Q35A	44	-	+/-	+/-	+*	+	+	+/-
I47E	45	-	+	+	-	+	+*	-
N49A	46	+/-	+	+	+	+	+	+/-
L52A	47	+	-	+	+*	+	+/-*	-
L52E	48	+/-	-	+	+/-*	+*	-	-
H55A	49	+	-	+	+*	+*	+	+*
P58A	50	+	+	+	+	+	+	+
H90A	51	+/-	+/-	+/-	+	+	+	+/-
T96A	52	-	+	+	+	+	+	+
T96I	53	-	+	+	+	+	+	+
T98A	54	+	+	+	+	+	+	+
R100A	55	+	+	+	+	+	+	+
F102A	56	+	+	+/-	+	+	+	+
C48Y, N49S, A50V	57	+/-	+	+	+	+	+	+*
I56V, S57A, P58S, S59V	58	+	+	+/-	+	+	+*	+/-*
T96I, T98K	59	-	+	+	+	+	+	+

+：相對於對野生型 TIGIT 蛋白質之結合親和力為至少 70%
+/-：相對於對野生型 TIGIT 蛋白質之結合親和力小於 70%且至少為 20%
-：相對於對野生型 TIGIT 蛋白質之結合親和力小於 20%
*：觀察到較快解離速率

【0447】如表5中所示，Q35A、I47E、N49A、H90A、T96A及T96I之單突變減少BA006與人類TIGIT之結合，表明BA006可能經由包含Q35、I47、N49、H90及/或T96之一或多個構形抗原決定基結合於TIGIT（圖22B）。BA006對此等實驗中之L52A、H55A、F102A及I56V/S57A/P58S/S59V突變不敏感，表明BA006可能不直接結合於人類TIGIT之L52、H55、I56、S57、P58、S59或

F102。此組抗原決定基為獨特的且與參考抗體之抗原決定基定位結果不同。

2.6 實例6：小鼠模型中抗TIGIT抗體之活體內藥理學

【0448】如上所述，BA002及BA006活體外穩固地增強T細胞活性。然而，此等抗體不結合於鼠類TIGIT蛋白質。為了研究BA002及BA006在小鼠模型中之活體內功能，產生與鼠類TIGIT結合之替代抗體。簡言之，TIGIT參考抗體之VH及VL區分別連接於鼠類重鏈及輕鏈恆定區。替代抗體mIgG2a、替代抗體mIgG2a-N297Q、替代抗體mIgG1及替代抗體mIgG2 (Fc增強)具有不同的Fc區，但共享相同的輕鏈序列。此項技術中普遍認識到，mIgG2a在功能上與人類IgG1類似。此等抗體之胺基酸序列展示於表6中。

表 6.小鼠替代抗 TIGIT 抗體之胺基酸序列.

描述	胺基酸序列	SEQ ID NO:
替代抗體 VH	XVQLVESGGGLTQPGKSLKLSCEASGFTFSSFTMHWV RQSPGKGLEWVAFIRSGSGIVFYADAVRGRFTISRDNA KNLLFLQMNDLKSEDTAMYYCARRPLGHNTFDSWGQ GTLVTVSS，其中 X 為麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)	62
替代抗體 VL	DIVMTQSPSSLAVSPGEKVTMTCKSSQSLYYSGVKENL LAWYQQKPGQSPKLLIYYASIRFTGVPDRFTGSGSGTD YTLTITSVQAEDMGQYFCQQGINNPLTFGDGTKLEIK	63
無 C 端離胺酸之替代抗體 mIgG2a 全長重鏈(用於部分 6.6.2、6.6.3 及 6.6.4 之實驗中)	XVQLVESGGGLTQPGKSLKLSCEASGFTFSSFTMHWV RQSPGKGLEWVAFIRSGSGIVFYADAVRGRFTISRDNA KNLLFLQMNDLKSEDTAMYYCARRPLGHNTFDSWGQ GTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSV TVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPC PPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVV DVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPED IYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG，其中 X 為麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)	64
具有 C 端離胺酸之替代抗體 mIgG2a 全長重鏈(用於部分 6.6.1 之實驗中)	XVQLVESGGGLTQPGKSLKLSCEASGFTFSSFTMHWV RQSPGKGLEWVAFIRSGSGIVFYADAVRGRFTISRDNA KNLLFLQMNDLKSEDTAMYYCARRPLGHNTFDSWGQ GTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSV TVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPC PPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVV DVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPED IYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK，其中 X 為麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)	65
具有 C 端離胺酸之替代抗體 mIgG2a-N297Q 全	XVQLVESGGGLTQPGKSLKLSCEASGFTFSSFTMHWV RQSPGKGLEWVAFIRSGSGIVFYADAVRGRFTISRDNA KNLLFLQMNDLKSEDTAMYYCARRPLGHNTFDSWGQ	66

描述	胺基酸序列	SEQ ID NO:
長重鏈(用於部分6.6.1之實驗中)	GTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSV TVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPC PPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVV DVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYQSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPED IYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK，其中X為麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)	
具有C端離胺酸之替代抗體mIgG1全長重鏈(用於部分6.6.1之實驗中)	XVQLVESGGGLTQPGKSLKLSCEASGFTFSSFTMHWV RQSPGKGLEWVAFIRSGSGIVFYADAVRGRFTISRDNA KNLLFLQMNDLKSEDTAMYYCARRPLGHNTFDSWGQ GTLVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLV KGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCK PCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSEL PIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPK APQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQ WNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWE AGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK，其中X為麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)	67
無C端離胺酸之替代抗體 mIgG2 (Fc增強)全長重鏈(用於部分6.6.2、6.6.3及6.6.4之實驗中)	XVQLVESGGGLTQPGKSLKLSCEASGFTFSSFTMHWV RQSPGKGLEWVAFIRSGSGIVFYADAVRGRFTISRDNA KNLLFLQMNDLKSEDTAMYYCARRPLGHNTFDSWGQ GTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSV TVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPC PPCKCPAPNLLGGPDVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVV DVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPLPEERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPED IYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG，其中X為麩胺酸(E)或焦麩胺酸(pE)	68
替代抗體 Igκ 全長輕鏈	DIVMTQSPSSLAVSPGEKVTMTCKSSQSLYYSGVKENL LAWYQQKPGQSPKLLIYYASIRFTGVPDRFTGSGSGTD YTLTITSVQAEDMGQYFCQQGINNPLTFGDGTKLEIKR ADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVK WKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKD EYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	69

2.6.1 抗TIGIT抗體抑制早期介入模型之腫瘤生長

【0449】在早期介入小鼠模型中測試小鼠替代抗體。具體而言，使6-8週齡之Balb/c小鼠(Jackson Labs #000651)

首先適應兩週且刮毛並加標籤。CT26小鼠結腸直腸癌細胞(ATCC® CRL-2638™)在補充有10%熱滅活FBS及諾莫辛(normocin)之RPMI培養基的組織培養物中擴增1週。向小鼠皮下注射懸浮於100 μL PBS中之1×10^5個CT26細胞。使移植的腫瘤細胞建立7天以達到大致35-40 mm^3之尺寸。隨後將小鼠隨機分組且一週兩次，經由腹膜內投與用200 μg替代抗體mIgG2a、替代抗體mIgG2a-N297Q、替代抗體mIgG1或同型對照抗體(mIgG2a)處理。為了比較，一週兩次向小鼠腹膜內投與200 μg抗PD-1抗體。每兩週藉由測徑規量測腫瘤體積且以長度×寬度^2×0.5計算。

【0450】如圖23A-23F中所示，替代抗體mIgG2a使得五隻小鼠中的一隻產生完全反應且實質上抑制五隻小鼠中的三隻的腫瘤生長。抗PD-1抗體亦降低腫瘤生長的速率。相比之下，替代抗體mIgG2a-N297Q及替代抗體mIgG1對腫瘤生長幾乎沒有效應。此結果證實Fc之效應功能增強抗TIGIT抗體活化T細胞免疫性之能力的活體外觀察結果。

【0451】接下來測試的為在早期介入模型中抗TIGIT抗體及抗PD-1抗體之組合處理。如上所述產生含有CT26腫瘤之小鼠，且一週兩次經由腹膜內投與用200 μg替代抗體mIgG2a、替代抗體mIgG2a-N297Q、替代抗體mIgG1或同型對照抗體(mIgG2a)與200 μg抗PD-1抗體組合處理。

【0452】如圖24A-24G中所示，替代抗體mIgG2a及抗PD-1抗體之組合處理導致五隻小鼠中的三隻產生完全反應。相比之下，替代抗體mIgG2a-N297Q及抗PD-1抗體之

組合相對於單獨的抗PD-1抗體對腫瘤生長幾乎沒有效應。

2.6.2 抗TIGIT抗體抑制晚期介入模型之腫瘤生長

【0453】亦在晚期介入小鼠模型中檢查抗TIGIT抗體及組合。具體而言，使6-8週齡之Balb/c小鼠(Jackson Labs #000651)首先適應兩週且刮毛並加標籤。CT26小鼠結腸直腸癌細胞(ATCC® CRL-2638™)在補充有10%熱滅活FBS及諾莫辛之RPMI培養基的組織培養物中擴增1週。向小鼠皮下注射含5×10^4個CT26細胞之100 μL PBS。使移植的腫瘤細胞建立12天，此時平均腫瘤尺寸為85 mm^3。自研究排除無可偵測之腫瘤或腫瘤體積大於300 mm^3之小鼠。在腫瘤植入後12、16及20天，向小鼠腹膜內注射100 μg替代抗體mIgG2a或替代抗體mIgG2a (Fc增強)或相應同型對照抗體。每兩週藉由測徑規量測腫瘤體積且以長度×寬度$^2\times0.5$計算。

【0454】如圖25A-25E中所示，替代抗體mIgG2a及替代抗體mIgG2a (Fc增強)均降低腫瘤生長，且替代抗體mIgG2a (Fc增強)比替代抗體mIgG2a更有效。

【0455】亦在晚期介入模型中測試抗TIGIT抗體與另一種檢查點靶向分子組合對腫瘤抑制之效應。具體而言，如上所述接種小鼠，且在接種後12天之平均腫瘤尺寸為70-120 mm^3。小鼠在腫瘤植入後12、16及20天用100 μg替代抗體mIgG2a (Fc增強)、100 μg抗PD-1抗體或抗CTLA-4抗體或其組合處理。使用數位測徑規每兩週監測腫瘤生

長。

【0456】如圖26A及26B中所示，替代抗體mIgG2a (Fc增強)與抗PD-1抗體或抗CTLA-4抗體之組合實質上降低此動物模型之腫瘤生長。

2.6.3 抗TIGIT抗體促進CD8+ T細胞浸潤至腫瘤中

【0457】藉由抗TIGIT抗體抑制腫瘤生長可能歸因於效應T細胞之活化或調節T細胞(Treg)之抑制。為了理解此調節機制，BALB/c小鼠皮下接種以5×10^4個CT26細胞。當腫瘤在12-14天後達到大致50-80 mm^3時，將小鼠隨機分組且經由腹膜內投與用單次劑量之100 μg替代抗體mIgG2a、替代抗體mIgG2a (Fc增強)或相應同型對照抗體處理。已知耗盡Treg之mIgG2a型式(「DTA-1 (mIgG2a)」)的抗GITR抗體用作陽性對照。小鼠在處理後0、24、72或120小時處死以用於收集腫瘤及腫瘤引流淋巴結(TDLN)樣品(圖27A)。

【0458】如圖27B-27F中所示，投與替代抗體mIgG2a或替代抗體mIgG2a (Fc增強)實質上不影響瘤內FoxP3+ Treg、瘤內CD4+非Treg或TDLN FoxP3+ Treg之量，但顯著增加瘤內CD8+ T細胞之量。因此，雖然不希望受理論束縛，但假設替代抗體mIgG2a或替代抗體mIgG2a (Fc增強)藉由促進CD8+ T細胞浸潤至腫瘤中來抑制腫瘤生長。

2.6.4 抗TIGIT抗體以FcγRIV依賴性方式活化效應T細

胞

【0459】如上所述，替代抗體mIgG2a (Fc增強)在腫瘤抑制方面比替代抗體mIgG2a更有效，表明Fc結合於Fcγ受體之能力可在抗TIGIT抗體之功能中起作用。鼠類FcγRIV稱為mIgG2a之初級受體，且已知替代抗體mIgG2a (Fc增強)之Fc區以高於替代抗體mIgG2a之Fc區的親和力結合於鼠類FcγRIV。因此，檢查替代抗體mIgG2a (Fc增強)增強FcγRIV信號傳導之能力。簡言之，在補充有10% FBS、10 mM HEPES、1×青黴素/鏈黴素-麩醯胺酸及1 μg/mL嘌呤黴素之RPMI 1640培養基中培養經工程改造以表現鼠類TIGIT之CHO細胞。細胞以2.4×10^6個細胞/毫升再懸浮於新鮮培養基中，且向白色96孔分析盤之各孔中添加25 μL細胞。在培養基中製備替代抗體mIgG2a或其同型對照抗體、或替代抗體mIgG2a (Fc增強)或其同型對照抗體之連續稀釋液，且將25 μl抗體添加至細胞。將在活化的T細胞之核因子(NFAT)反應性啟動子(ADCC V變異體，Promega)的控制下穩定表現鼠類FcγRIV且具有螢火蟲螢光素酶報導體之效應T細胞(Jurkat細胞)融化且以6×10^6個細胞/毫升再懸浮於補充有4% FBS之RPMI 1640中，且向各孔中添加25 μl效應細胞。共培養物在37℃、5% CO2下培育20小時。向各孔中添加75 μl Bio-Glo螢光素酶分析試劑，且在室溫下培育5-10分鐘後，用盤讀取器(Envision)量測發光值。

【0460】如圖28A中所示，替代抗體mIgG2a (Fc增強)

與替代抗體mIgG2a相比誘導效應T細胞之更強NFAT活性，指示替代抗體mIgG2a (Fc增強)具有更大效應功能。

【0461】為了進一步闡明FcγRIV在由抗TIGIT抗體介導之T細胞活化中的功能，C57BL/6小鼠藉由腹膜內注射用100 μg抗FcγRIV抗體(Biolegend，目錄號149502)或媒劑對照預處理。30分鐘後，向小鼠腹膜內注射100 μg SEB超級抗原連同100 μg替代抗體mIgG2a、抗CTLA-4抗體(mIgG2a)或同型對照抗體。在3天後自外周血分離T細胞，且藉由流式細胞測量術量化SEB特異性($V\beta8^+$) $CD4^+$或$CD8^+$效應T細胞($CD44^+CD62L^-$)以便增殖(% Ki67陽性)。

【0462】如圖28B及28C中所示，抗FcγRIV抗體顯著降低由替代抗體mIgG2a或抗CTLA-4抗體介導之抗原特異性$CD4^+$及$CD8^+$效應T細胞的增殖。因此，FcγR協同參與增強此T細胞激活鼠類模型中由抗TIGIT及抗CTLA-4抗體介導之T細胞協同刺激。

*　　*　　*

【0463】本發明之範疇不受本文所述之具體實施例限制。實際上，根據前文描述及附圖，除所述之修改之外，本發明之各種修改對熟習此項技術者而言將變得顯而易見。此類修改意欲處於隨附申請專利範圍之範疇內。

【0464】本文所引用之所有參考文獻(例如公開案或專利或專利申請案)均以全文引用之方式且出於所有目的併入本文中，其併入程度如同各個別參考文獻(例如公開案或專利或專利申請案)具體且個別地指示為出於所有目

的以全文引用之方式併入一般。

【0465】其他實施例在以下申請專利範圍內。

第 107114788 號 民國 111 年 12 月 12 日修正

【序列表】

<110> 美商艾吉納斯公司(AGENUS INC.)

<120> 抗TIGIT抗體類和使用彼等之方法

<140> TW 107114788
<141> 2018-05-01

<150> US 62/500,345
<151> 2017-05-02

<150> US 62/492,829
<151> 2017-05-01

<160> 70

<170> PatentIn版本3.5

<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 1
Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5

<210> 2
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 2
Gly Tyr Thr Phe Ala Ser Tyr
1 5

<210> 3
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 3
Gly Ile Thr Pro Phe Phe Asn Arg Val Asp Val Ala Glu Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 4
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 4
Thr Pro Phe Phe Asn Arg
1 5

<210> 5
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 5
Asp Leu Arg Arg Gly Gly Val Gly Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 6
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 6
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser His Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 7

Glu Val Ser Tyr Arg Pro Ser
1 5

<210> 8
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 8
Ser Ser Tyr Thr Pro Ser Ser Ala Thr Val
1 5 10

<210> 9
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 9
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Gly Ile Thr Pro Phe Phe Asn Arg Val Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Ile Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Arg Gly Gly Val Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 10
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 10
Glu Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser His
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Glu Val Ser Tyr Arg Pro Ser Glu Ile Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Pro Ser
85 90 95

Ser Ala Thr Val Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 11
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 11
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Gly Ile Thr Pro Phe Phe Asn Arg Val Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Ile Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Arg Gly Gly Val Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

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

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

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

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

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

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly
450

<210> 12
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 12

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Gly Ile Thr Pro Phe Phe Asn Arg Val Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Ile Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Arg Gly Gly Val Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

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

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

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

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro Gly
450

<210> 13
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 13
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Gly Ile Thr Pro Phe Phe Asn Arg Val Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Ile Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Arg Gly Gly Val Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

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

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Phe
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

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

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly
450

<210> 14
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 14

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Gly Ile Thr Pro Phe Phe Asn Arg Val Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Ile Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Arg Gly Gly Val Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

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

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

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

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly
450

<210> 15
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 15
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Gly Ile Thr Pro Phe Phe Asn Arg Val Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Ile Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Arg Gly Gly Val Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

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

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

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

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Leu Pro
325 330 335

Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly
450

<210> 16
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 16
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Glu Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Gly Ile Thr Pro Phe Phe Asn Arg Val Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Ile Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Arg Gly Gly Val Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

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

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Val
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Leu Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

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

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

Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly
450

<210> 17
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 17
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Gly Ile Thr Pro Phe Phe Asn Arg Val Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Ile Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Arg Gly Gly Val Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

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

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

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

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Glu
260 265 270

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

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Phe Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly
450

<210> 18
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 18
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Gly Ile Thr Pro Phe Phe Asn Arg Val Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Ile Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Arg Gly Gly Val Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

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

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

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

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

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

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

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

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

<210> 19
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 19

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

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190
```

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 20
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 20
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 21
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 21
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

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

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Phe Phe Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 22
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 22
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 23
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 23
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 24
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 24
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Val Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Leu Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 25
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 25
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Glu His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 26
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 26

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

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

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

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Leu Ser Leu Gly
325

<210> 27
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 27
Glu Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser His

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Glu Val Ser Tyr Arg Pro Ser Glu Ile Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Pro Ser
85 90 95

Ser Ala Thr Val Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

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

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 28
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 28
Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 29
<211> 244
<212> PRT
<213> 智人

<400> 29
Met Arg Trp Cys Leu Leu Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala
1 5 10 15

Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn
20 25 30

Ile Ser Ala Glu Lys Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser
35 40 45

Ser Thr Thr Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln
50 55 60

Leu Leu Ala Ile Cys Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser
65 70 75 80

Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln
85 90 95

Ser Leu Thr Val Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr
100 105 110

Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu
115 120 125

Ser Ser Val Ala Glu His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly
130 135 140

Ala Met Ala Ala Thr Leu Val Val Ile Cys Thr Ala Val Ile Val Val
145 150 155 160

Val Ala Leu Thr Arg Lys Lys Lys Ala Leu Arg Ile His Ser Val Glu
165 170 175

Gly Asp Leu Arg Arg Lys Ser Ala Gly Gln Glu Glu Trp Ser Pro Ser
180 185 190

Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro Ala
195 200 205

Gly Leu Cys Gly Glu Gln Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp
210 215 220

Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe
225 230 235 240

Thr Glu Thr Gly

<210> 30
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 30
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe
115

<210> 31
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 31
Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu
1 5 10 15

<210> 32
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 32
Val Thr Gln Val
1

<210> 33
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 33
Ile Cys Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe
1 5 10

<210> 34
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 34
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg

<210> 35
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 35
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg

<210> 36
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 36
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys

35 40 45

Ser Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 37
<211> 99
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 37
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Leu

<210> 38
<211> 99
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 38
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr
20 25 30

Asn Leu Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

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

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95

Ser Thr Phe

<210> 39
<211> 99
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 39
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95

Tyr Thr Phe

<210> 40
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 40
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly Ala Met Ala Ala Thr
115 120 125

Leu Val Val Ile Cys Thr Ala Val Ile Val Val Val Ala Leu Thr Arg
130 135 140

Lys Lys Lys Ala Leu Arg Ile His Ser Val Glu Gly Asp Leu Arg Arg
145 150 155 160

Lys Ser Ala Gly Gln Glu Glu Trp Ser Pro Ser Ala Pro Ser Pro Pro
165 170 175

Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro Ala Gly Leu Cys Gly Glu
180 185 190

Gln Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp Tyr Phe Asn Val Leu
195 200 205

Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe Thr Glu Thr Gly
210 215 220

<210> 41
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 41
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro
115 120

<210> 42
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 42
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 43
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 43
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Ala Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 44
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 44
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Ala Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 45
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 45
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Glu Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val

50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 46
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 46
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Ala Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 47
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 47
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Ala Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 48
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 48

Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Glu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 49
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 49
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp Ala Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 50
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 50
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Ala Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 51
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 51
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr Ala Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 52
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 52
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys

1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Ala
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 53
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 53
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Ile
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 54
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 54
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Ala Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln

115

<210> 55
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 55
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Ala Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 56
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 56
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Ala Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 57
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 57
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Tyr
35 40 45

Ser Val Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 58
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 58
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Val Ala Ser Val Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 59
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 59
Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Ile
85 90 95

Tyr Lys Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln
115

<210> 60
<211> 99
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 60
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr
20 25 30

Asn Leu Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

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

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Leu

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> 巨細胞病毒

<400> 61
Asn Leu Val Pro Met Val Ala Thr Val
1 5

<210> 62
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 62
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Thr Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Phe Ile Arg Ser Gly Ser Gly Ile Val Phe Tyr Ala Asp Ala Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Leu Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Asp Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Pro Leu Gly His Asn Thr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 63
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 63
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Tyr Tyr Ser
20 25 30

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Ile Arg Phe Thr Gly Val

50 55 60

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

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

Gly Ile Asn Asn Pro Leu Thr Phe Gly Asp Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 64
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 64
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Thr Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Phe Ile Arg Ser Gly Ser Gly Ile Val Phe Tyr Ala Asp Ala Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Leu Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Asp Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Pro Leu Gly His Asn Thr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp
145 150 155 160

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

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser
245 250 255

Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp
260 265 270

Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr
275 280 285

Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val
290 295 300

Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu
305 310 315 320

Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val
340 345 350

Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr
355 360 365

Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr
370 375 380

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

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

Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu
420 425 430

Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly
435 440 445

<210> 65
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 65

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Thr	Gln	Pro	Gly	Lys
1				5				10						15	
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Glu	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Phe
			20					25					30		
Thr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Phe	Ile	Arg	Ser	Gly	Ser	Gly	Ile	Val	Phe	Tyr	Ala	Asp	Ala	Val
	50					55					60				
Arg	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Leu	Leu	Phe
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Asp	Leu	Lys	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Arg	Pro	Leu	Gly	His	Asn	Thr	Phe	Asp	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly
			100					105					110		
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Thr	Ala	Pro	Ser	Val	Tyr
		115					120					125			
Pro	Leu	Ala	Pro	Val	Cys	Gly	Asp	Thr	Thr	Gly	Ser	Ser	Val	Thr	Leu
	130					135					140				
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Leu	Thr	Trp
145					150					155					160
Asn	Ser	Gly	Ser	Leu	Ser	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
				165					170					175	
Gln	Ser	Asp	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser	Val	Thr	Val	Thr	Ser	Ser
			180					185					190		

Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser
245 250 255

Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp
260 265 270

Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr
275 280 285

Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val
290 295 300

Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu
305 310 315 320

Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val
340 345 350

Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr
355 360 365

Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr
370 375 380

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

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

Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu
420 425 430

Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 66
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 66
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Thr Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Phe Ile Arg Ser Gly Ser Gly Ile Val Phe Tyr Ala Asp Ala Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Leu Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Asp Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Pro Leu Gly His Asn Thr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp
145 150 155 160

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

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser
245 250 255

Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp
260 265 270

Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr
275 280 285

Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Gln Ser Thr Leu Arg Val
290 295 300

Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu
305 310 315 320

Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val
340 345 350

Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr
355 360 365

Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr
370 375 380

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

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

Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu
420 425 430

Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 67
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 67

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Thr	Gln	Pro	Gly	Lys
1				5				10						15	
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Glu	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Phe
			20					25					30		
Thr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Phe	Ile	Arg	Ser	Gly	Ser	Gly	Ile	Val	Phe	Tyr	Ala	Asp	Ala	Val
	50					55					60				
Arg	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Leu	Leu	Phe
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Asp	Leu	Lys	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Arg	Pro	Leu	Gly	His	Asn	Thr	Phe	Asp	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly
			100					105					110		
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Ser	Val	Tyr
		115					120					125			
Pro	Leu	Ala	Pro	Gly	Ser	Ala	Ala	Gln	Thr	Asn	Ser	Met	Val	Thr	Leu
	130					135					140				
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Thr	Trp
145					150					155					160
Asn	Ser	Gly	Ser	Leu	Ser	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
				165					170					175	
Gln	Ser	Asp	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
			180					185					190		

Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys
210 215 220

Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser
260 265 270

Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile
290 295 300

Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn
305 310 315 320

Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu
340 345 350

Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe
355 360 365

Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala
370 375 380

Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly
405 410 415

Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His
420 425 430

Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 68
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> /替代="焦麩胺酸"

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> /註記="關於變異體位置註解之殘基，該序列給定之變異體殘基無偏好"

<400> 68
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Thr Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Phe Ile Arg Ser Gly Ser Gly Ile Val Phe Tyr Ala Asp Ala Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Leu Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Asp Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Pro Leu Gly His Asn Thr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp
145 150 155 160

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

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Asp Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser
245 250 255

Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp
260 265 270

Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr
275 280 285

Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val
290 295 300

Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu
305 310 315 320

Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Leu Pro Glu Glu Arg
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val
340 345 350

Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr
355 360 365

Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr
370 375 380

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

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

Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu
420 425 430

Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly
435 440 445

<210> 69
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 69
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Tyr Tyr Ser
20 25 30

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Ile Arg Phe Thr Gly Val
50 55 60

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

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

Gly Ile Asn Asn Pro Leu Thr Phe Gly Asp Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser
115 120 125

Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu
145 150 155 160

Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr
180 185 190

Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr
195 200 205

Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215 220

<210> 70
<211> 245
<212> PRT
<213> 食蟹獼猴(Macaca fascicularis)

<400> 70
Met Arg Trp Cys Leu Phe Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala
1 5 10 15

Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn
20 25 30

Ile Ser Ala Lys Lys Gly Gly Ser Val Ile Leu Gln Cys His Leu Ser
35 40 45

Ser Thr Met Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln His Asp His
50 55 60

Ser Leu Leu Ala Ile Arg Asn Ala Glu Leu Gly Trp His Ile Tyr Pro
65 70 75 80

Ala Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu
85 90 95

Gln Ser Leu Thr Met Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Thr Tyr His
100 105 110

Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Arg Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu
115 120 125

Glu Ser Ser Val Ala Glu His Ser Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu
130 135 140

Gly Ala Met Ala Met Met Leu Val Val Ile Cys Ile Ala Val Ile Val
145 150 155 160

Val Val Val Leu Ala Arg Lys Lys Lys Ser Leu Arg Ile His Ser Val
165 170 175

Glu Ser Gly Leu Gln Arg Lys Ser Thr Gly Gln Glu Glu Gln Ile Pro
180 185 190

Ser Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro
195 200 205

Ala Gly Leu Cys Gly Glu Gln Gln Gly Asp Asp Cys Ala Glu Leu His
210 215 220

Asp Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Ser Cys Ser Phe
225 230 235 240

Phe Thr Glu Thr Gly
245

第 107114788 號 民國 111 年 12 月 12 日修正

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】

一種特異性結合於人類 TIGIT 之經分離之抗體，該抗體包含重鏈可變區(VH)和輕鏈可變區(VL)，該 VH 包含 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 且該 VL 包含 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3，其中該 CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 分別包含 SEQ ID NO: 1、3、5、6、7 及 8 或 SEQ ID NO: 2、4、5、6、7 及 8 所示之胺基酸序列。

【請求項 2】

如請求項 1 之經分離之抗體，其中該 VH 包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列及/或該 VL 包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列。

【請求項 3】

如請求項 1 之經分離之抗體，其中：

(a) 該 VH 包含來源於人類 IGHV1-69*01 生殖系序列、人類 IGHV1-69*06 生殖系序列或人類 IGHV1-69*12 生殖系序列之胺基酸序列及/或該 VL 包含來源於人類 IGLV2-14*01 生殖系序列、人類 IGLV2-23*02 生殖系序列或人類 IGLV2-11*01 生殖系序列之胺基酸序列；或

(b) 該 VH 包含與 SEQ ID NO: 34 或 35 之胺基酸序列至少 75%一致的胺基酸區及/或該 VL 包含與 SEQ ID NO: 37-39 及 60 中任一者之胺基酸序列

至少 75%一致的胺基酸區。

【請求項 4】

如請求項 1 至 3 中任一項之經分離之抗體，其中該抗體包含選自由人類 IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1 及 IgA_2 組成之群的重鏈恆定區。

【請求項 5】

如請求項 1 至 3 中任一項之經分離之抗體，其中該抗體包含：

(a) IgG_1 重鏈恆定區，其中

(i) 該 IgG_1 重鏈恆定區包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列；

(ii) 該 IgG_1 重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據 EU 編號系統編號的 N297A 突變；

(iii) 該 IgG_1 重鏈恆定區包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列；

(iv) 該 IgG_1 重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據 EU 編號系統編號的 L234F、L235F 及 N297A 突變；

(v) 該 IgG_1 重鏈恆定區包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列；

(vi) 該 IgG_1 重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據 EU 編號系統編號的 S239D 及 I332E 突變；

(vii) 該 IgG_1 重鏈恆定區包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列；

(viii) 該 IgG_1 重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據 EU 編號系統編號的 S239D、A330L 及 I332E 突變；

(ix) 該 IgG_1 重鏈恆定區包含 SEQ ID NO: 23 之胺基酸序列；

(x) 該 IgG_1 重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據 EU 編號系統編號的 L235V、F243L、R292P、Y300L 及 P396L 突變；

(xi) 該 IgG_1 重鏈恆定區包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列；

(xii) 該 IgG_1 重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據 EU 編號系統編號的 S267E 及 L328F 突變；

(xiii) 該 IgG_1 重鏈恆定區包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列；或

(xiv) 該 IgG_1 重鏈恆定區為去海藻糖基化的；或

(b) IgG_4 重鏈恆定區，其中

(i) 該 IgG_4 重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據 EU 編號系統編號的 S228P 突變；及/或

(ii) 該 IgG_4 重鏈恆定區包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列。

【請求項 6】

如請求項 1 至 3 中任一項之經分離之抗體，其中該抗體包含輕鏈恆定區，該輕鏈恆定區包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列。

【請求項 7】

如請求項 1 至 3 中任一項之經分離之抗體，其中該抗體包含重鏈及/或輕鏈，該重鏈包含選自由 SEQ ID NO: 11-18 組成之群之胺基酸序列且該輕鏈包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列。

【請求項 8】

如請求項 7 之經分離之抗體，其中該重鏈和輕鏈分別包含 SEQ ID NO: 11 和 27 之胺基酸序列。

【請求項 9】

如請求項 1 至 3 中任一項之經分離之抗體，其中：

(a) 該抗體為人類抗體；

(b) 該抗體為雙特異性抗體；

(c) 該抗體為拮抗性抗體；

(d) 該抗體在活體外優先殺傷外周血液單核細胞(PBMC)群體中之調節 T 細胞而非效應 T 細胞；

(e) 相對於在該抗體不存在下之結合水準，該抗體減少或抑制人類 TIGIT 與 PVR 或 PVRL2 之結合；

(f) 該抗體誘導由葡萄球菌腸毒素 A (SEA)刺激之 PBMC 產生 IL-2 及/或 IFNγ；

(g) 該抗體與細胞毒性劑、細胞生長抑制劑、毒素、放射性核種或可偵測標記綴合；及/或

(h) 該抗體與第二抗體或其片段交聯。

【請求項 10】

如請求項 1 至 3 中任一項之經分離之抗體，其中：

(a) 該抗體結合於位於人類 TIGIT 之區內的抗原決定基，其中該區之胺基酸序列由 SEQ ID NO: 31-33 中任一者之胺基酸序列組成；

(b) 該抗體結合於人類 TIGIT 之一或多個胺基酸殘基，該一或多個胺基酸殘基選自由根據 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列編號的 Q35、I47、N49、H90 及 T96 組成之群；

(c) 該抗體不結合於人類 TIGIT 之一或多個胺基酸殘基，該一或多個胺基酸殘基選自由根據 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列編號的 T34、L52、H55、I56、S57、P58、S59、T98、R100 及 F102 組成之群；

(d) 該抗體與包含選自由 SEQ ID NO: 36、44、45、46、48、51、52、53、57 及 59 組成之群之胺基酸序列之蛋白質的結合相對於該抗體與包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上被削弱；及/或

(e) 該抗體與包含選自由 SEQ ID NO: 43、47、49、54、55、56 及 58 組成之群之胺基酸序列之蛋白質的結合相對於該抗體與包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列之蛋白質的結合實質上未被削弱。

【請求項 11】

一種經分離之多核苷酸，其編碼如請求項 1 至 10 中任一項之經分離之抗體的 VH 及/或 VL 或重鏈及/或輕

鏈。

【請求項 12】

一種載體，其包含如請求項 11 之經分離之多核苷酸。

【請求項 13】

一種重組宿主細胞，其包含：

(a) 如請求項 11 之經分離之多核苷酸；

(b) 如請求項 12 之載體；或

(c) 第一多核苷酸及第二多核苷酸，該第一多核苷酸編碼如請求項 1 至 10 中任一項之經分離之抗體的 VH 或重鏈且該第二多核苷酸編碼如請求項 1 至 10 中任一項之經分離之抗體的 VL 或輕鏈。

【請求項 14】

一種醫藥組合物，其包含如請求項 1 至 10 中任一項之經分離之抗體、如請求項 11 之經分離之多核苷酸、如請求項 12 之載體或如請求項 13 之重組宿主細胞及醫藥學上可接受之載劑或賦形劑。

【請求項 15】

一種產生特異性結合於人類 TIGIT 之抗體或其抗原結合片段的方法，該方法包含培養如請求項 13 之重組宿主細胞以產生該抗體或其抗原結合片段。

【請求項 16】

一種如請求項 1 至 10 中任一項之經分離之抗體、如請求項 11 之經分離之多核苷酸、如請求項 12 之載體、如

請求項 13 之重組宿主細胞或如請求項 14 之醫藥組合物於製備藥劑之用途，該藥劑係用於增加 T 細胞活化、降低或抑制 Treg 活性、增加 NK 細胞活化、治療癌症或治療感染性疾病。

【請求項 17】

如請求項 16 之用途，其中

(a) 該抗體係

(i) 在每三週一次的間隔下以 0.1 mg/kg、0.3 mg/kg、1 mg/kg、3 mg/kg、6 mg/kg、10 mg/kg、15 mg/kg、20 mg/kg 或更多經靜脈內投與；

(ii) 經皮下投與；

(iii) 在每三週一次的間隔下以 0.03 mg/kg、0.1 mg/kg、0.3 mg/kg、1 mg/kg、3 mg/kg、6 mg/kg、10 mg/kg、15 mg/kg、20 mg/kg 或更多經瘤內投與；或

(iv) 經遞送至腫瘤引流淋巴結；及/或

(b) 投與額外治療劑，其中

(i) 該抗體係經投與以用於治療實體腫瘤且該額外治療劑包含抗 PD-1 抗體；

(ii) 該抗體係經投與以用於治療頭頸部鱗狀細胞癌且該額外治療劑為抗 EGFR 抗體；

(iii) 該抗體係經投與以用於治療 HER2+乳癌且該額外治療劑為抗 HER2 抗體；

(iv) 該額外治療劑為化學治療劑或檢查點靶向劑，其中該檢查點靶向劑係選自由以下組成之群：拮抗性抗 PD-1 抗體、拮抗性抗 PD-L1 抗體、拮抗性抗 PD-L2 抗體、拮抗性抗 CTLA-4 抗體、拮抗性抗 TIM-3 抗體、拮抗性抗 LAG-3 抗體、拮抗性 VISTA 抗體、拮抗性 CD96 抗體、拮抗性抗 CEACAM1 抗體、促效性抗 CD137 抗體、促效性抗 GITR 抗體及促效性抗 OX40 抗體；

(v) 該額外治療劑為吲哚胺-2,3-雙加氧酶(IDO)之抑制劑；或

(vi) 該額外治療劑為疫苗，其中該疫苗包含熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)，該 HSPPC 包含與抗原肽複合之熱休克蛋白。

【發明圖式】

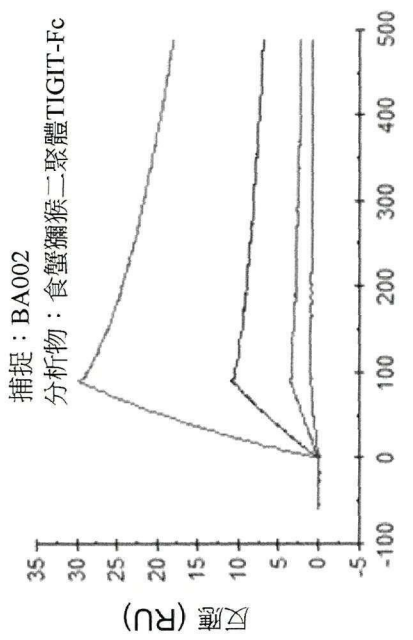


圖 1A

圖 1B

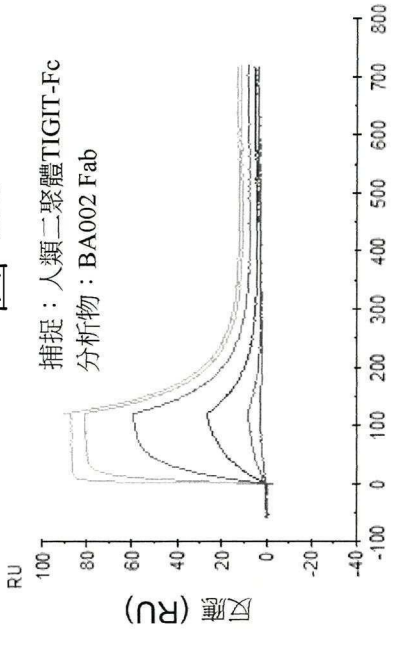


圖 1D

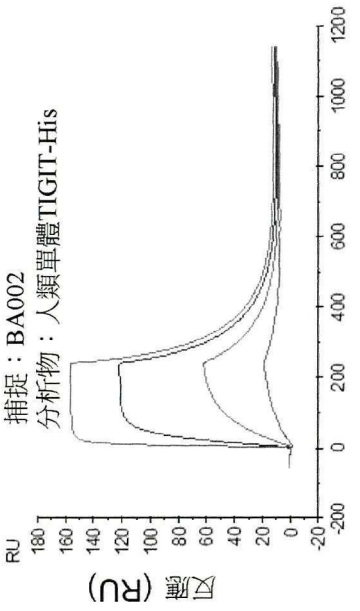


圖 1C

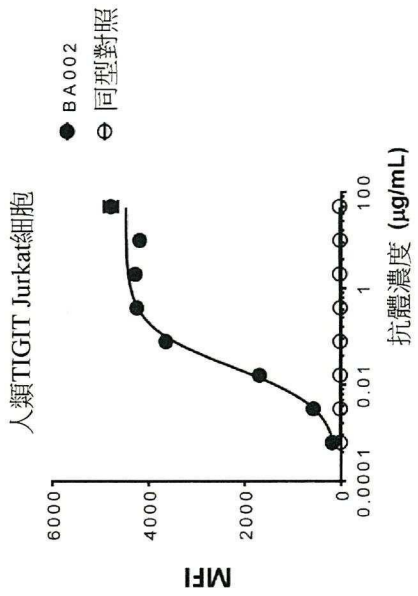


圖 2A

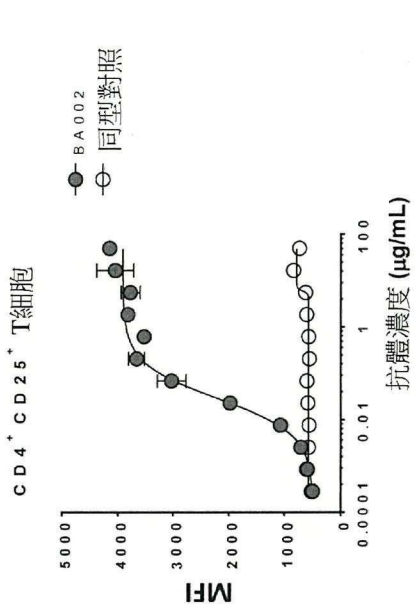


圖 2B

圖 2C

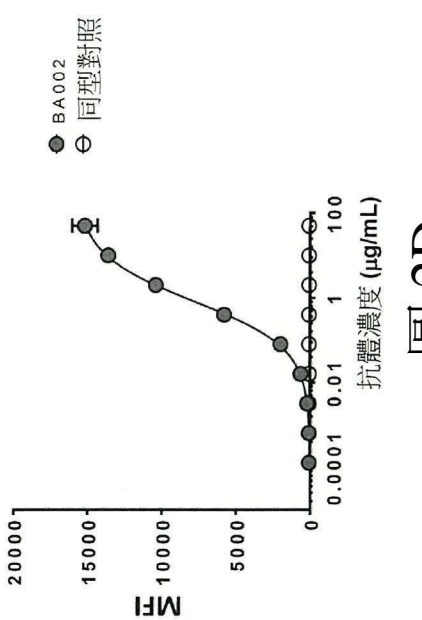


圖 2D

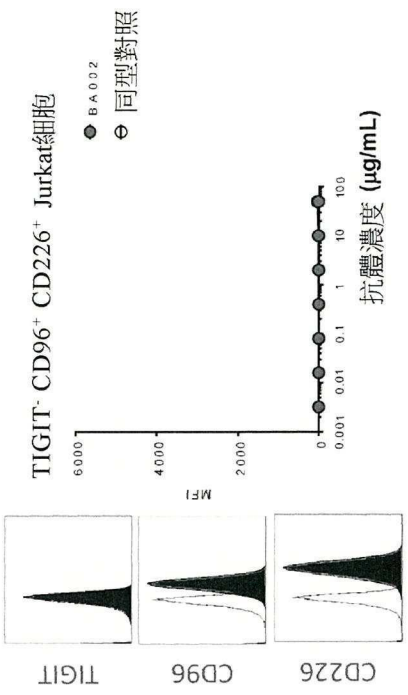

TIGIT+ CD96+ CD226+ Jurkat細胞
BA002
同型對照
MFI
6000
4000
2000
0
0.0001
0.01
1
100
抗體濃度 (μg/mL)
TIGIT
CD96
CD226

圖 3A

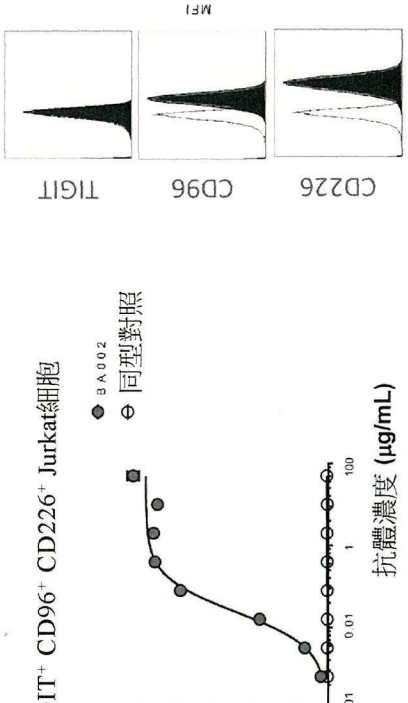

TIGIT- CD96+ CD226+ Jurkat細胞
BA002
同型對照
MFI
6000
4000
2000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
抗體濃度 (μg/mL)
TIGIT
CD96
CD226

圖 3B

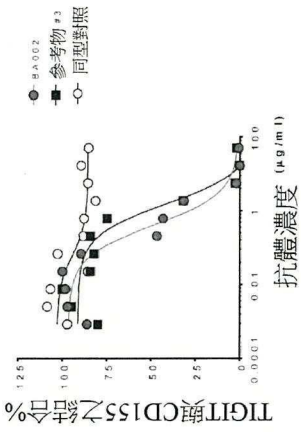


圖 4A

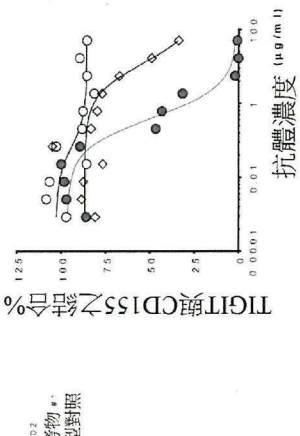


圖 4B

圖 4C

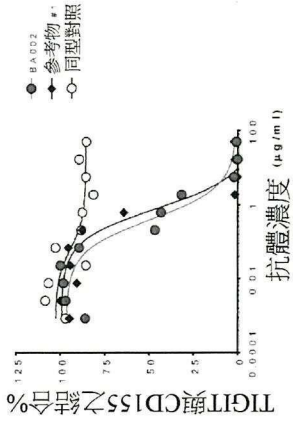


圖 4D

圖 4E

圖 4F

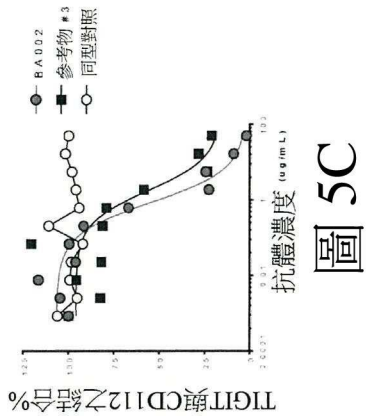


圖 5C

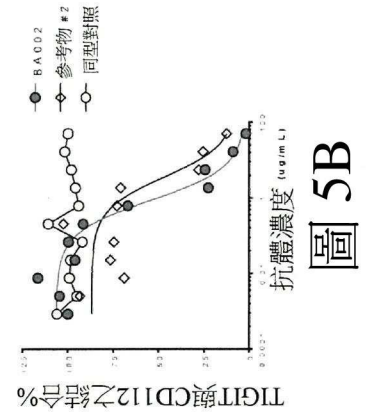


圖 5B

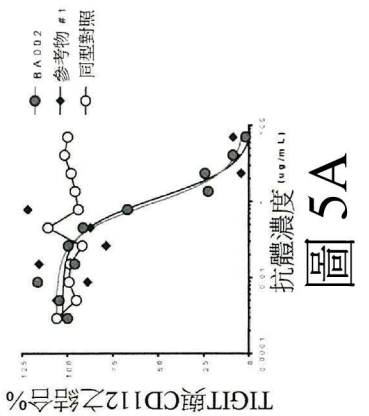


圖 5A

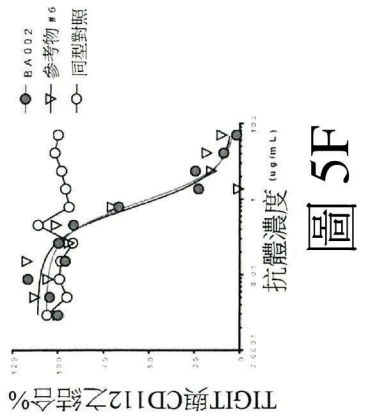


圖 5F

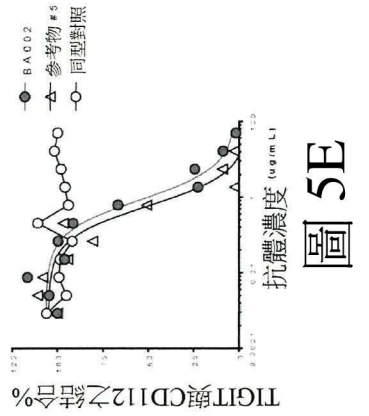


圖 5E

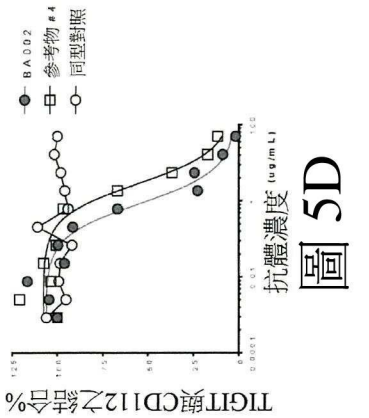


圖 5D

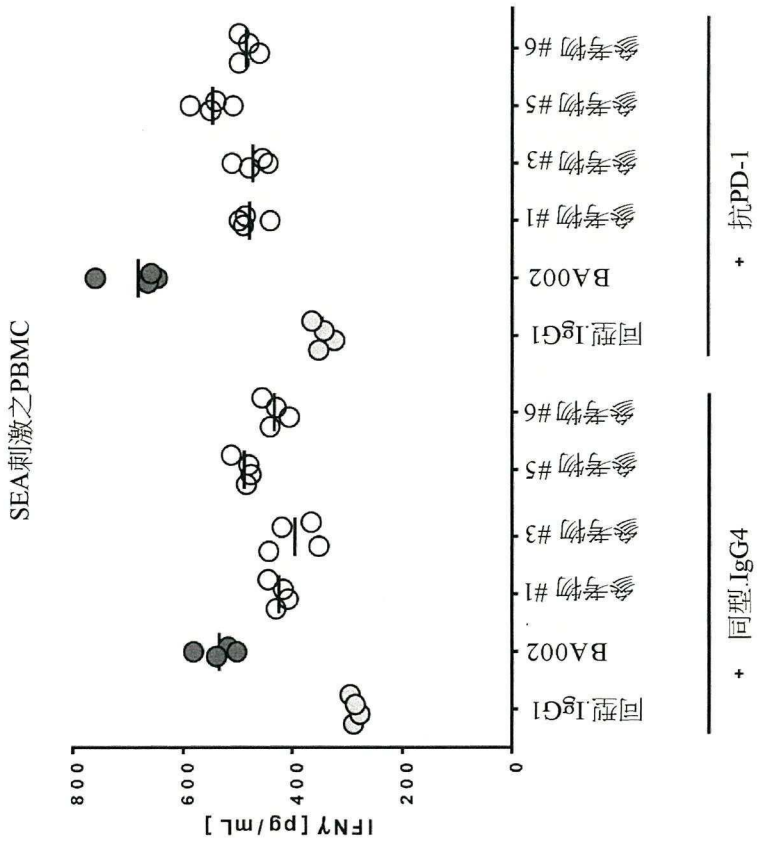

SEA刺激之PBMC
IFNγ [pg/mL]
800
600
400
200
0
同型.IgG1
BA002
參考物 #1
參考物 #3
參考物 #5
參考物 #6
同型.IgG1
BA002
參考物 #1
參考物 #3
參考物 #5
參考物 #6
+ 同型.IgG4
+ 抗PD-1

圖 6

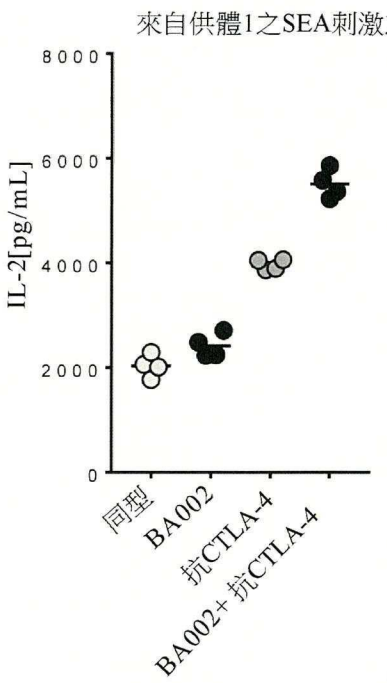

來自供體1之SEA刺激之PBMC
IL-2[pg/mL]
8000
6000
4000
2000
0
同型
BA002
抗CTLA-4
BA002+ 抗CTLA-4

圖 7A

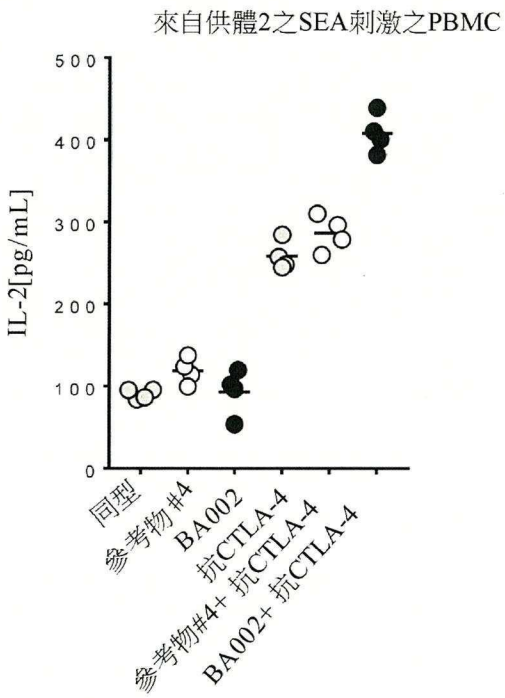

來自供體2之SEA刺激之PBMC
IL-2[pg/mL]
500
400
300
200
100
0
同型
參考物 #4
BA002
抗CTLA-4
參考物#4+ 抗CTLA-4
BA002+ 抗CTLA-4

圖 7B

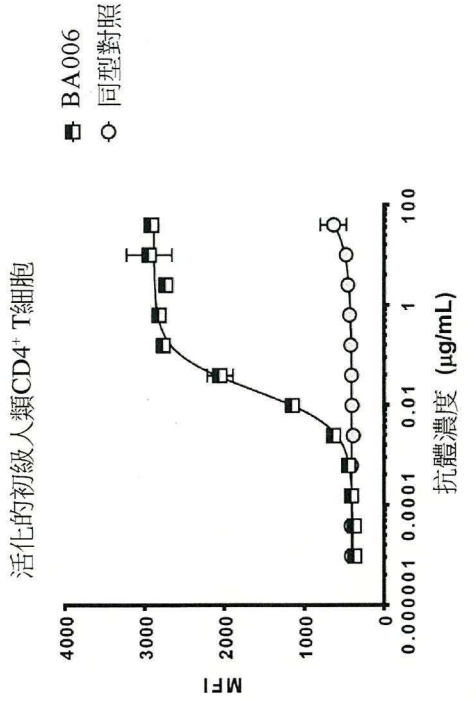

活化的初級人類CD4+ T細胞
BA006
同型對照
MFI
4000
3000
2000
1000
0
0.000001
0.0001
0.01
1
100
抗體濃度 (μg/mL)

圖 8A

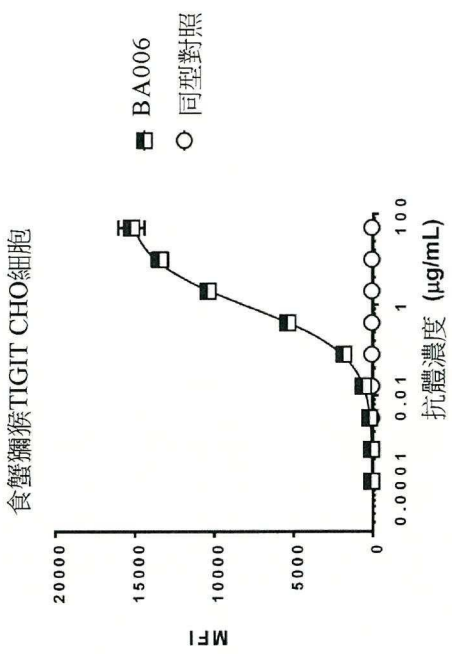

食蟹獼猴TIGIT CHO細胞
BA006
同型對照
MFI
20000
15000
10000
5000
0
0.0001
0.01
1
100
抗體濃度 (μg/mL)

圖 8B

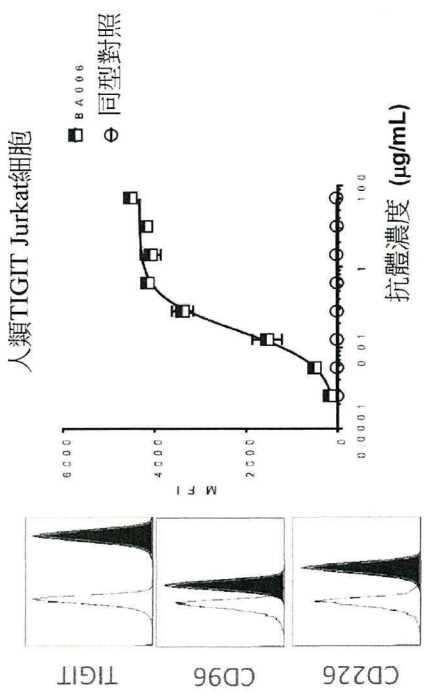

人類TIGIT Jurkat細胞
BA006
同型對照
MFI
抗體濃度 (μg/mL)
TIGIT
CD96
CD226

圖 8C

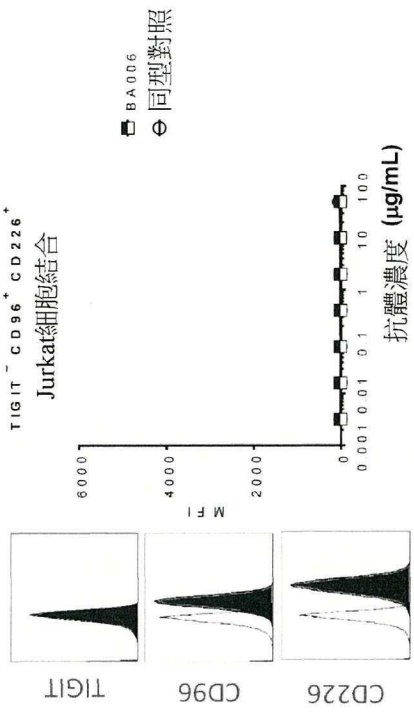

TIGIT⁻ CD96⁺ CD226⁺
Jurkat細胞結合
BA006
同型對照
MFI
抗體濃度 (μg/mL)
TIGIT
CD96
CD226

圖 8D

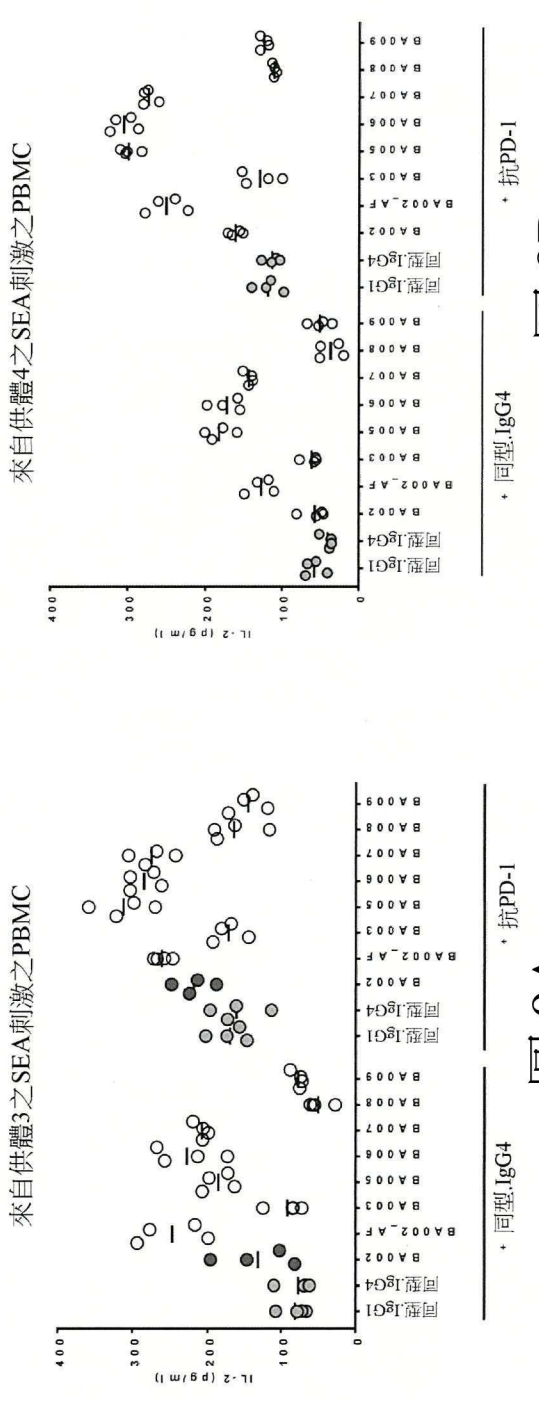


圖 9A

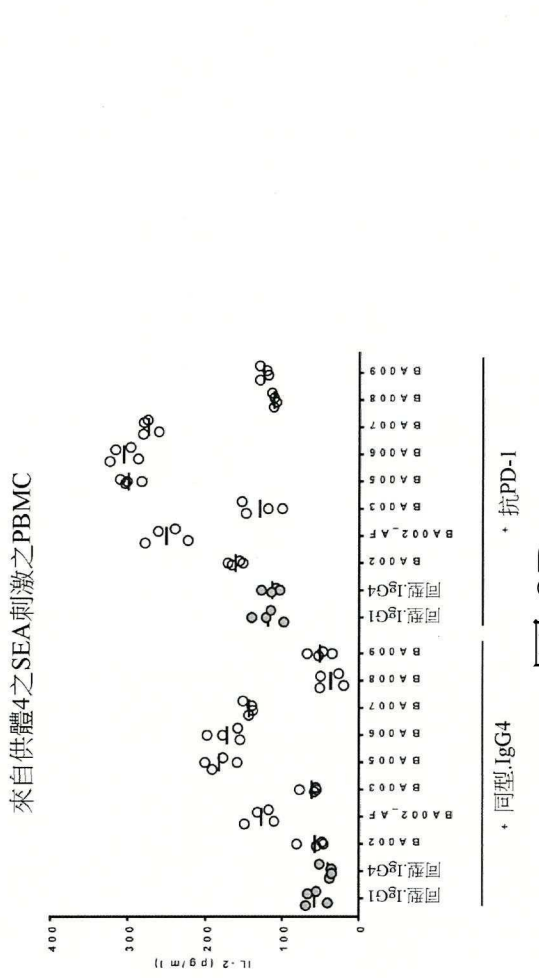


圖 9B

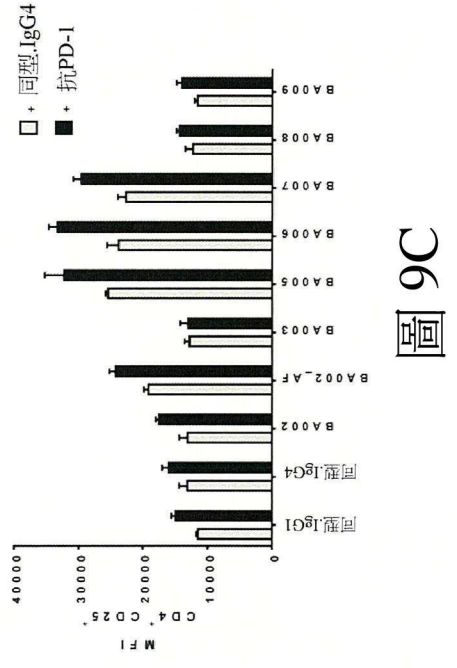


圖 9C

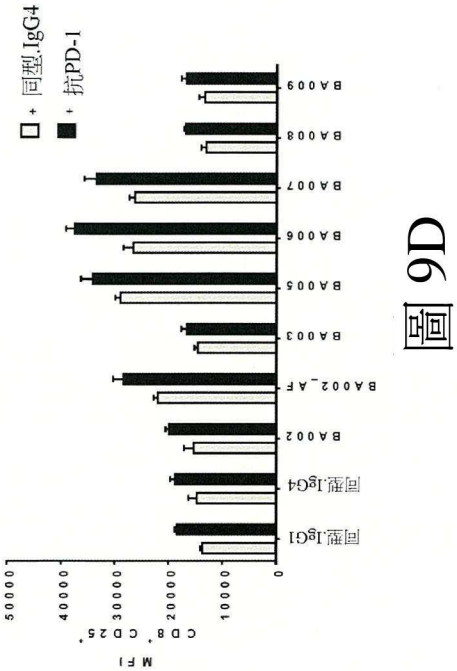


圖 9D

來自供體4之SEA刺激之PBMC

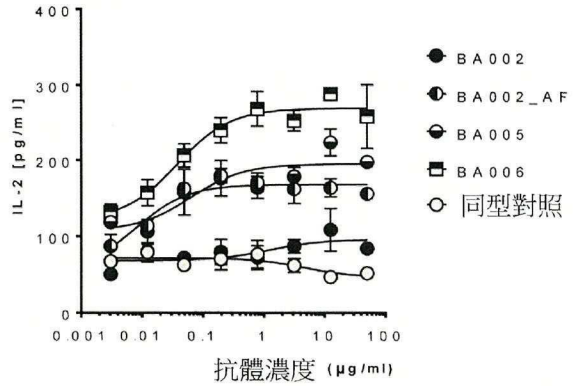


圖 10A

來自供體5之SEA刺激之PBMC

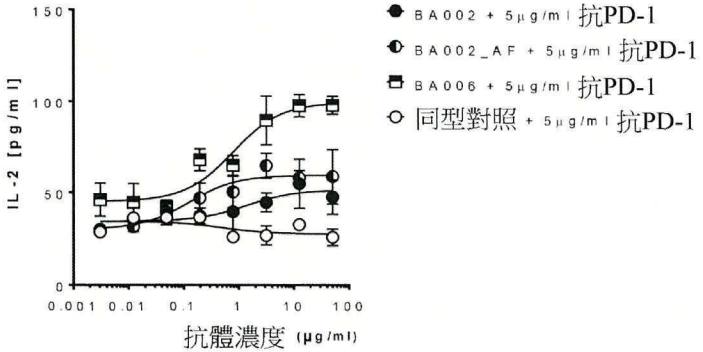


圖 10B

與盤結合之CD155-Fc共培養的
來自供體6之SEA刺激之PBMC

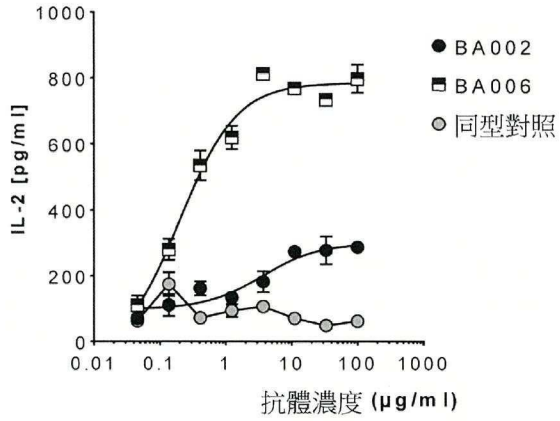


圖 10C

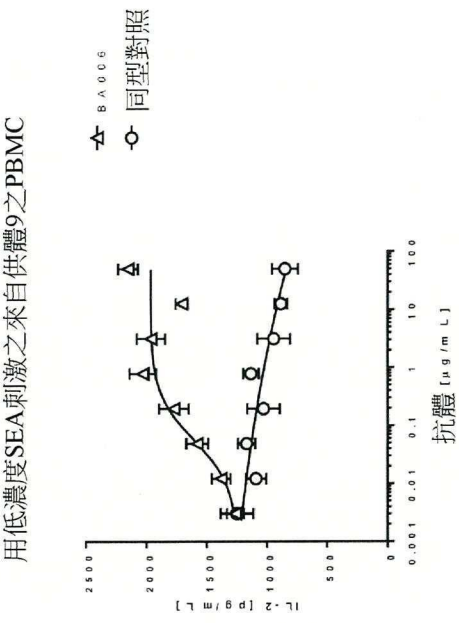

用低濃度SEA刺激之來自供體2之PBMC
BA006
同型對照
IL-2 [pg/mL]
抗體 [μg/mL]

圖 10D

用低濃度SEA刺激之來自供體9之PBMC
BA006
同型對照
IL-2 [pg/mL]
抗體 [μg/mL]

圖 10E

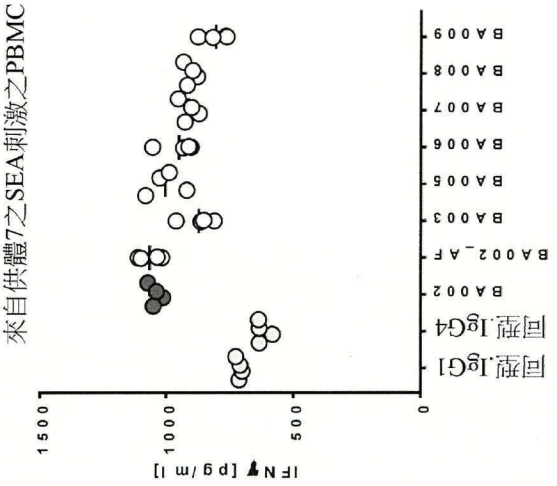

來自供體7之SEA刺激之PBMC
IFNγ [pg/ml]
1500
1000
500
0
同型.IgG1
同型.IgG4
BA002
BA002_AF
BA003
BA005
BA006
BA007
BA008
BA009

圖 11B

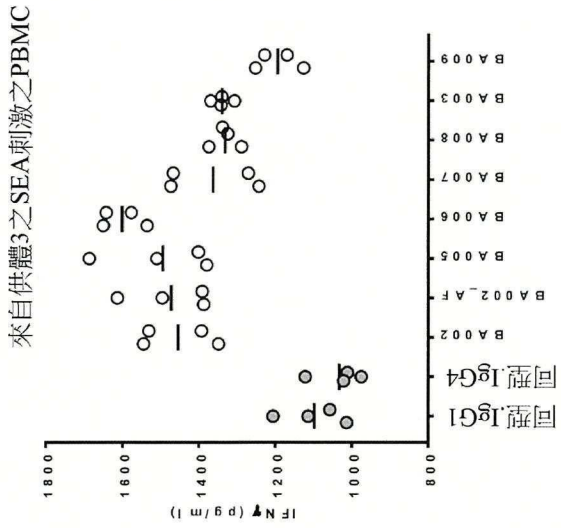
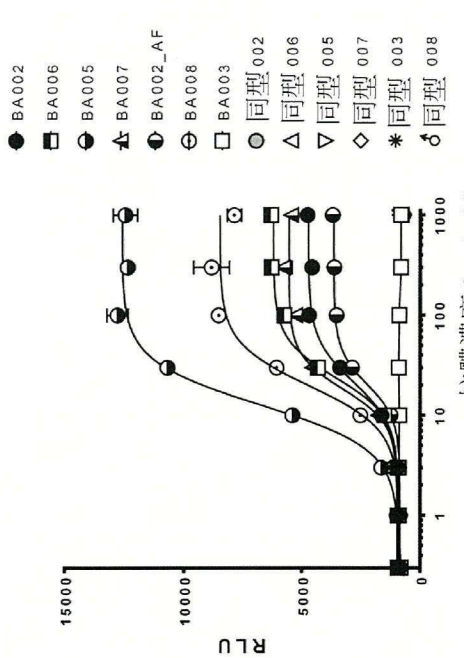
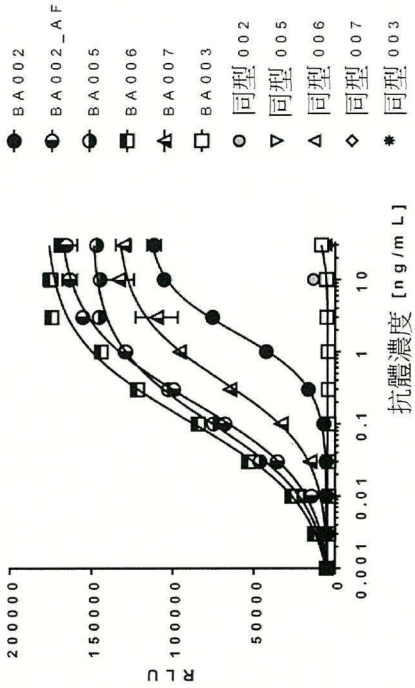

來自供體3之SEA刺激之PBMC
IFNγ (pg/ml)
1800
1600
1400
1200
1000
800
同型.IgG1
同型.IgG4
BA002
BA002_AF
BA005
BA006
BA007
BA008
BA003
BA009

圖 11A



靶細胞：表現人類TIGIT之Jurkat細胞
效應細胞：表現FcγRIIA之Jurkat報導細胞

圖 12A



靶細胞：表現人類TIGIT之Jurkat細胞
效應細胞：表現FcγRIIIA之Jurkat報導細胞

圖 12B

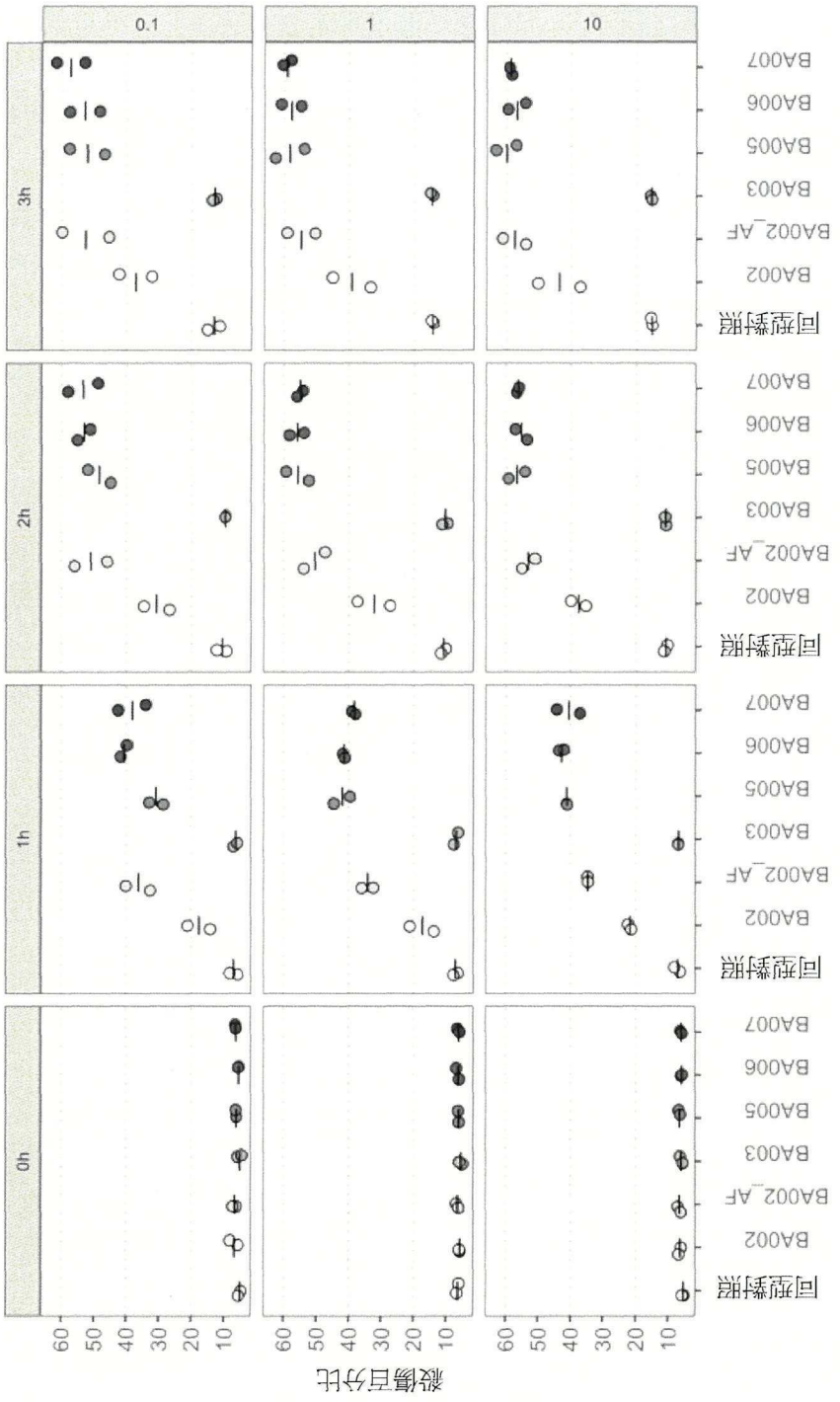

0.1
1
10
0h
1h
2h
3h
同型對照
BA002
BA002_AF
BA003
BA005
BA006
BA007
殺傷百分比
濃度 [ug/ml]

圖 13A

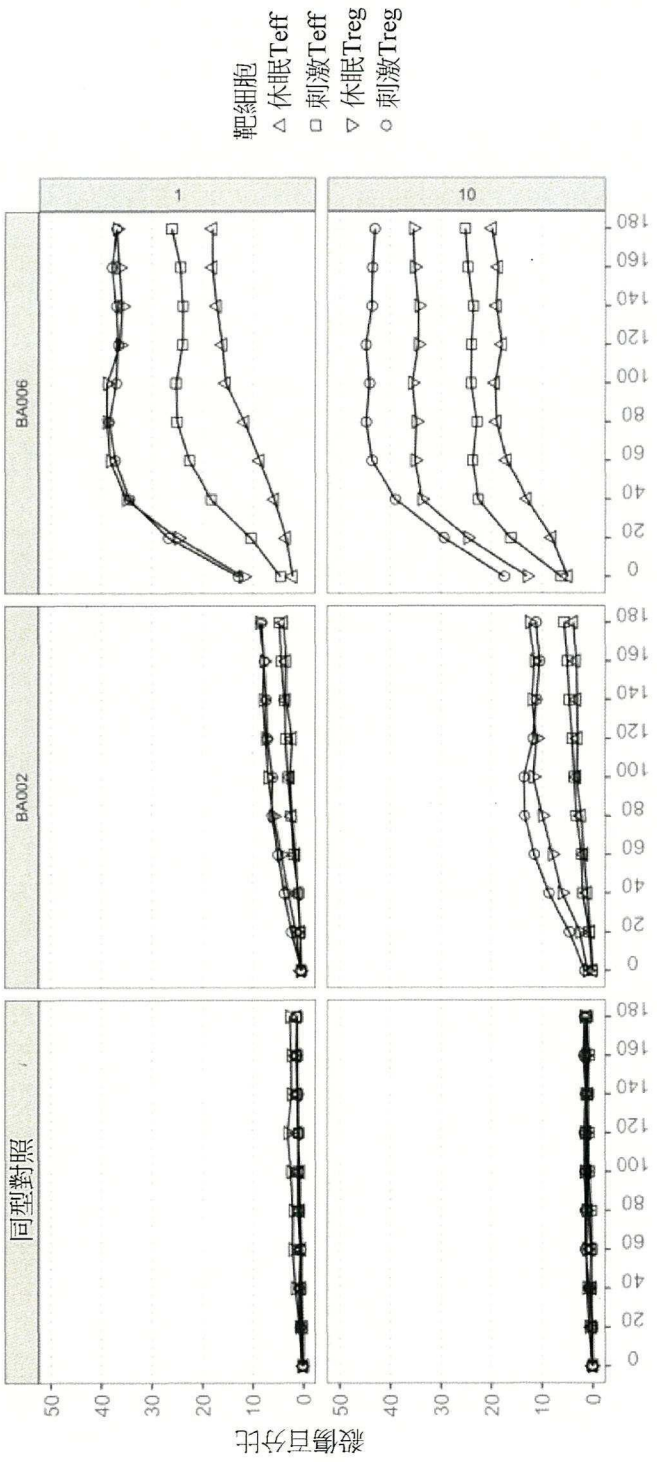

靶細胞
△ 休眠Teff
□ 刺激Teff
▽ 休眠Treg
○ 刺激Treg
同型對照
BA002
BA006
1
10
殺傷百分比
時間[min]

圖 13B

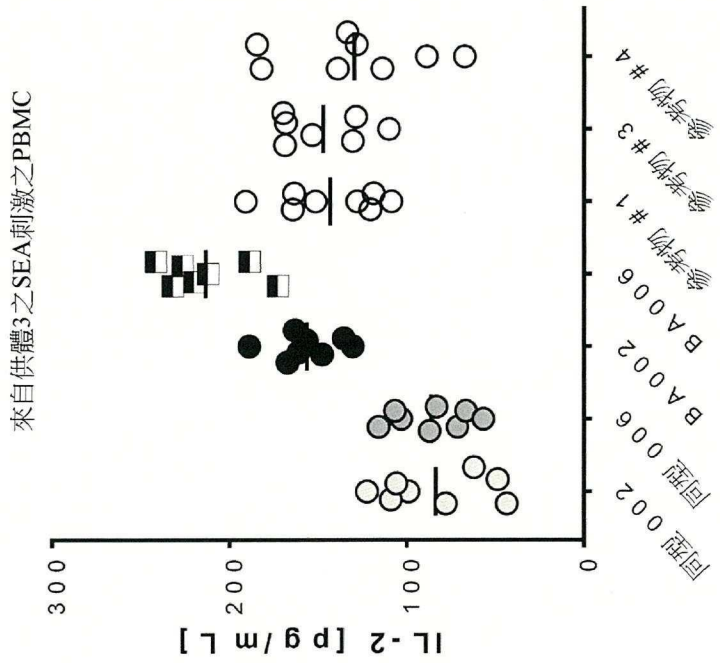

來自供體3之SEA刺激之PBMC
IL-2 [pg/mL]
300
200
100
0
同型 002
同型 006
BA002
BA006
參考物 #1
參考物 #3
參考物 #4

圖 14

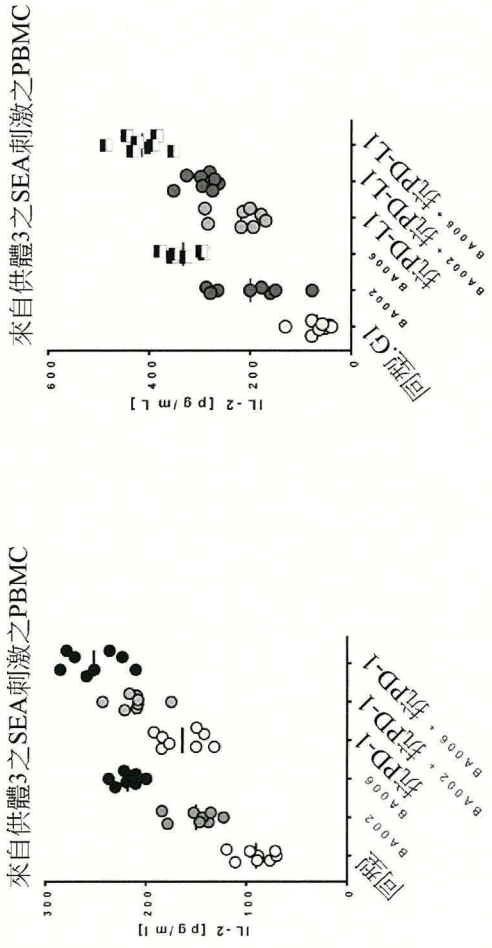


圖 15A

圖 15B

圖 15C

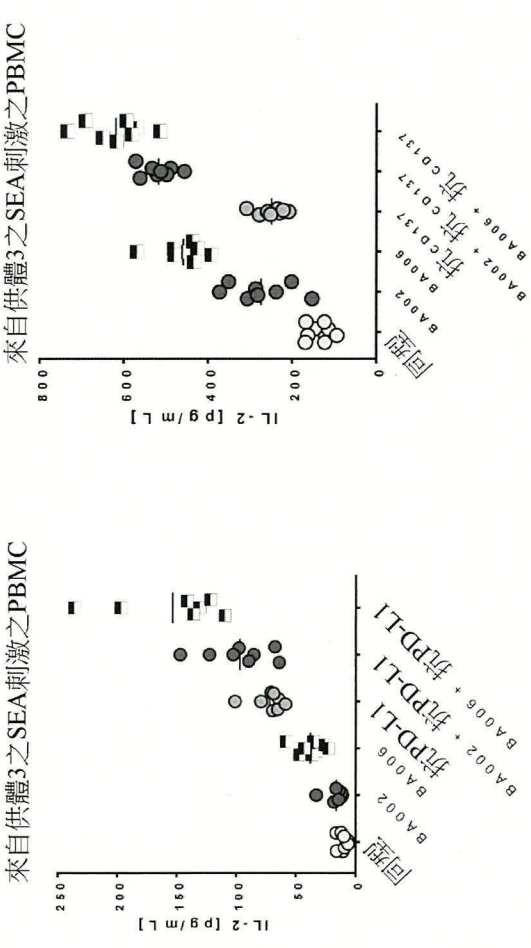


圖 15D

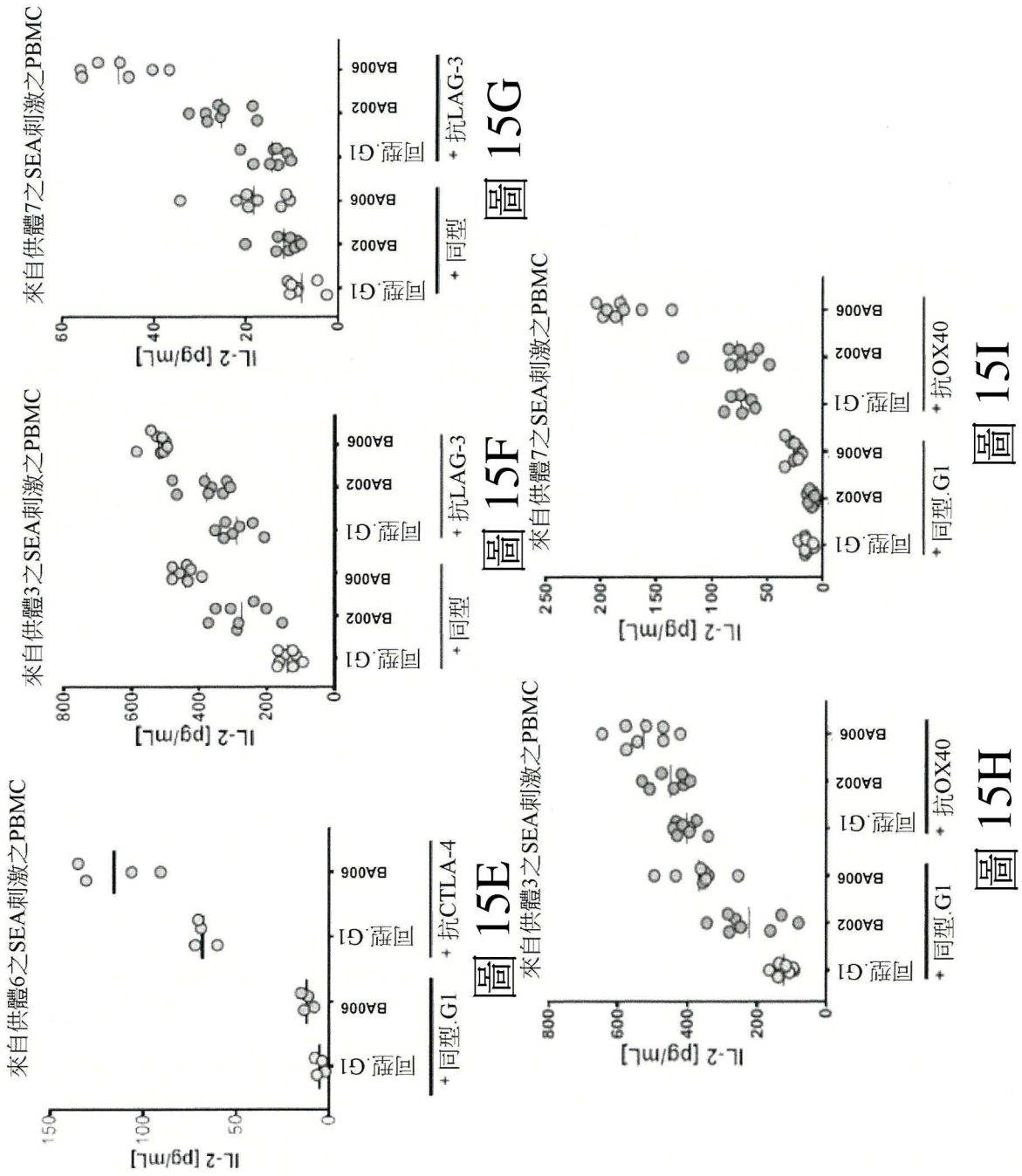


圖 15E 圖 15F 圖 15G

圖 15H 圖 15I

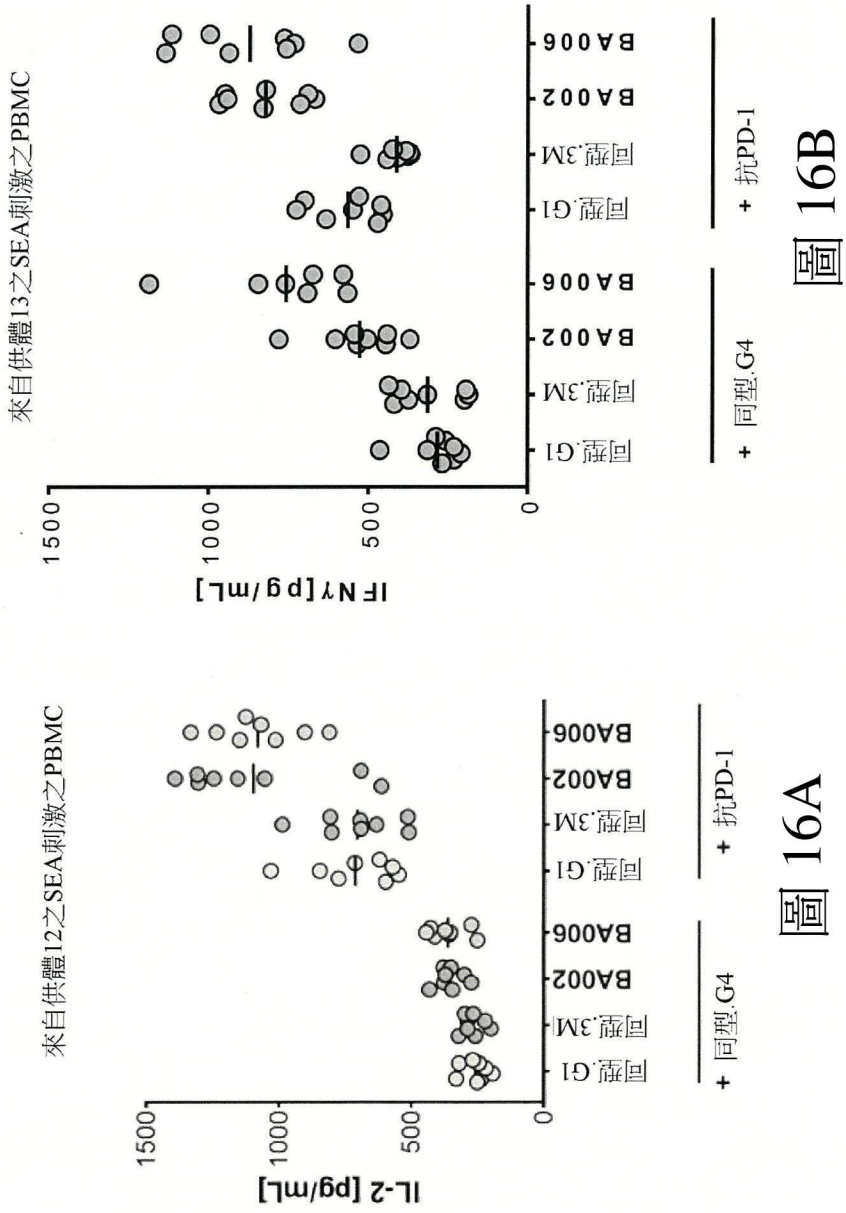

來自供體13之SEA刺激之PBMC
IFNγ [pg/mL]
1500
1000
500
0
同型.G1
同型.3M
BA002
BA006
同型.G1
同型.3M
BA002
BA006
+ 同型.G4
+ 抗PD-1
來自供體12之SEA刺激之PBMC
IL-2 [pg/mL]
1500
1000
500
0
同型.G1
同型.3M
BA002
BA006
同型.G1
同型.3M
BA002
BA006
+ 同型.G4
+ 抗PD-1

圖 16B

圖 16A

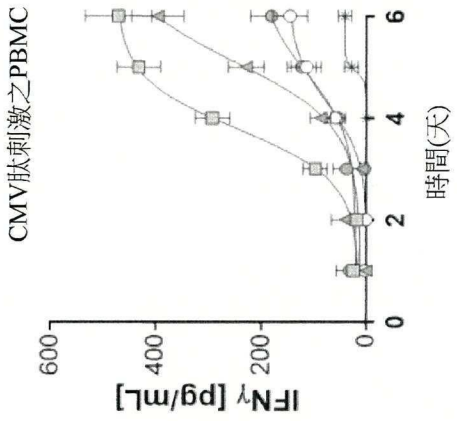

CMV肽刺激之PBMC
BA006
BA002
參考抗體 #7
同型對照
未受刺激(無CMV)
IFNγ [pg/mL]
600
400
200
0
0
2
4
6
時間(天)

圖 17A

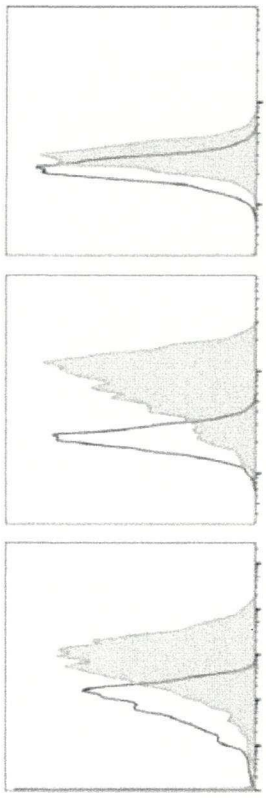

TIGIT-APC
CD226-FITC
CD96-FITC

圖 17B

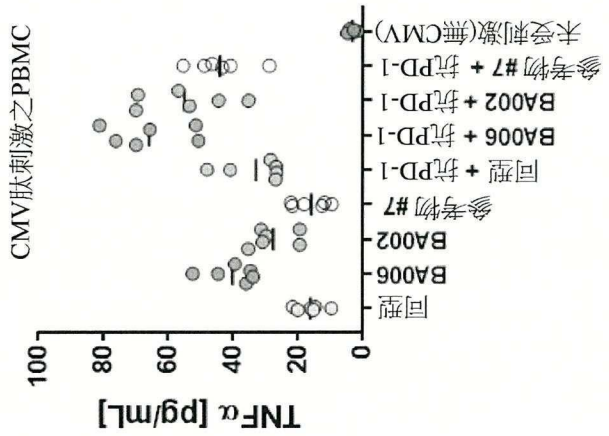

CMV肽刺激之PBMC
TNFα [pg/mL]
0
20
40
60
80
100
同型
BA006
BA002
參考物 #7
同型 + 抗PD-1
BA006 + 抗PD-1
BA002 + 抗PD-1
參考物 #7 + 抗PD-1
未受刺激(無CMV)

圖 17D

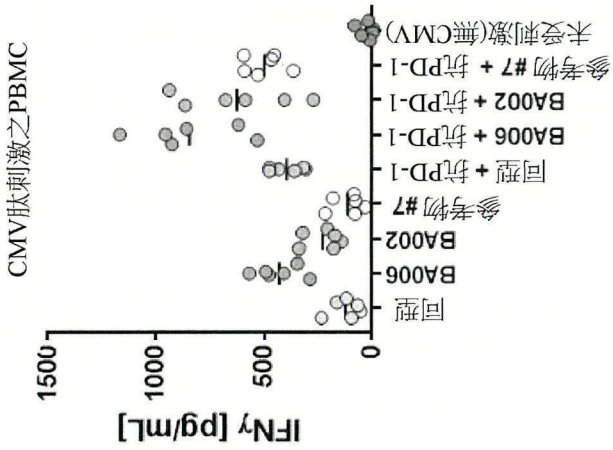

CMV肽刺激之PBMC
IFNγ [pg/mL]
0
500
1000
1500
同型
BA006
BA002
參考物 #7
同型 + 抗PD-1
BA006 + 抗PD-1
BA002 + 抗PD-1
參考物 #7 + 抗PD-1
未受刺激(無CMV)

圖 17C

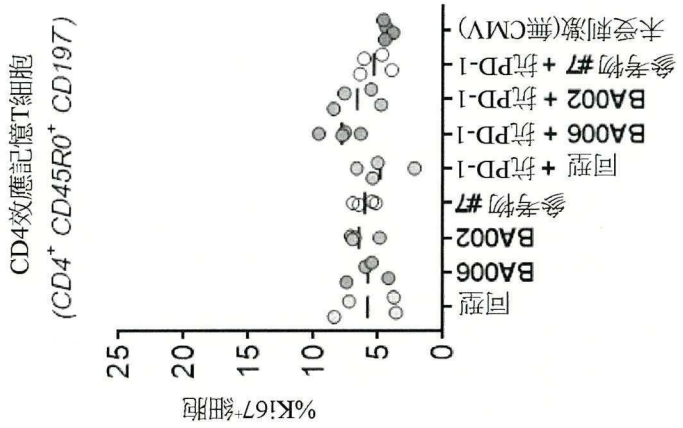

CD4效應記憶T細胞
(CD4+ CD45R0+ CD197)
%Ki67+細胞
25
20
15
10
5
0
同型
BA006
BA002
參考物 #7
同型 + 抗PD-1
BA006 + 抗PD-1
BA002 + 抗PD-1
參考物 #7 + 抗PD-1
未受刺激(無CMV)

圖 17F

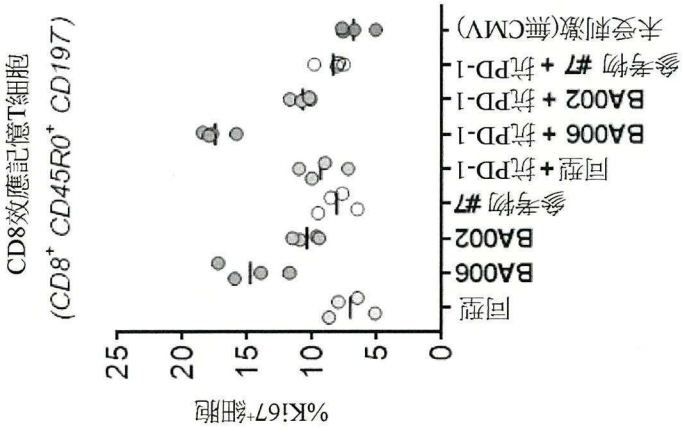

CD8效應記憶T細胞
(CD8+ CD45R0+ CD197)
%Ki67+細胞
25
20
15
10
5
0
同型
BA006
BA002
參考物 #7
同型+抗PD-1
BA006 + 抗PD-1
BA002 + 抗PD-1
參考物 #7 + 抗PD-1
未受刺激(無CMV)

圖 17E

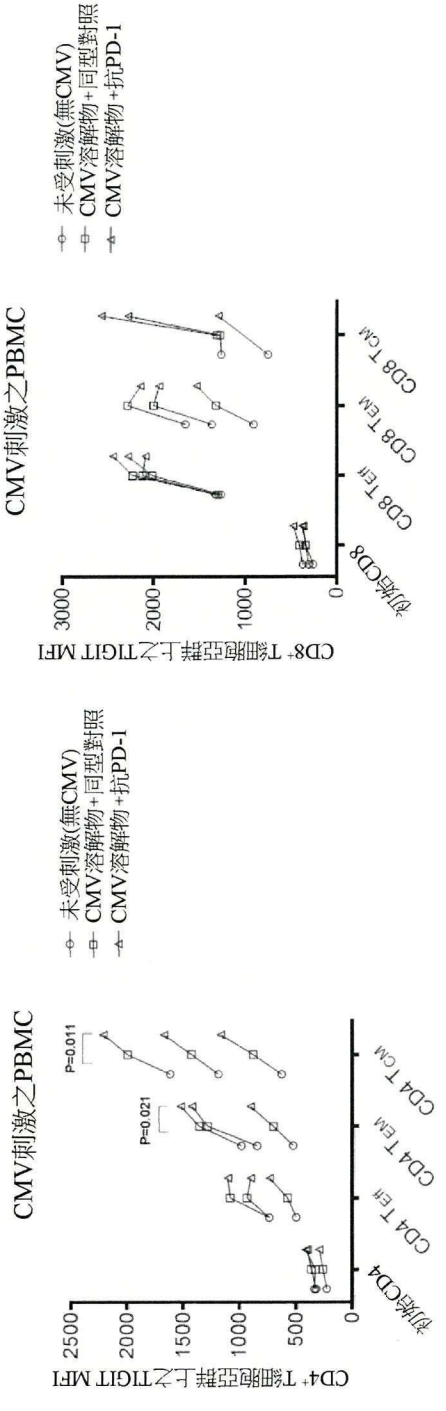

CMV刺激之PBMC
CD4+ T細胞亞群上之TIGIT MFI
2500
2000
1500
1000
500
0
P=0.011
P=0.021
初始CD4
CD4 TEff
CD4 TEm
CD4 TCm
未受刺激(無CMV)
CMV溶解物+同型對照
CMV溶解物+抗PD-1
CMV刺激之PBMC
CD8+ T細胞亞群上之TIGIT MFI
3000
2000
1000
0
初始CD8
CD8 TEff
CD8 TEm
CD8 TCm
未受刺激(無CMV)
CMV溶解物+同型對照
CMV溶解物+抗PD-1

圖 18A

圖 18B

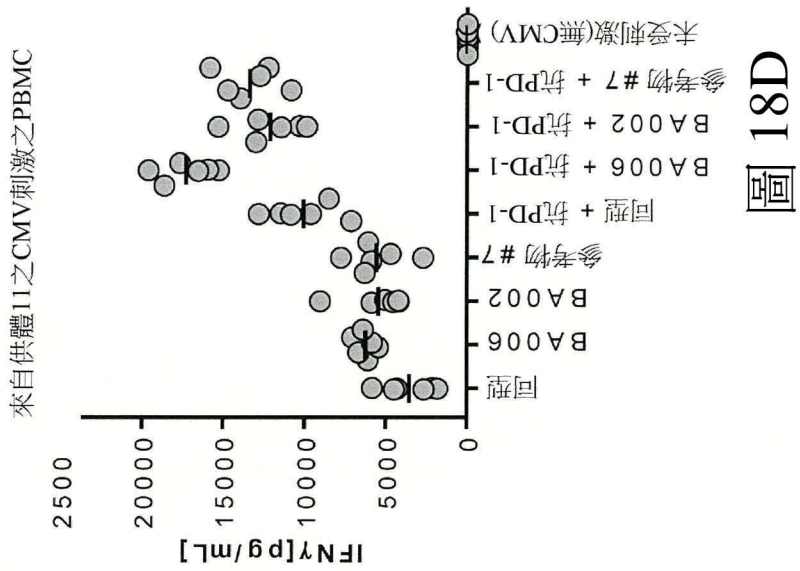

來自供體11之CMV刺激之PBMC
IFNγ [pg/mL]
25000
20000
15000
10000
5000
0
同型
BA006
BA002
參考物 #7
同型 + 抗PD-1
BA006 + 抗PD-1
BA002 + 抗PD-1
參考物 #7 + 抗PD-1
未受刺激(無CMV)

圖 18D

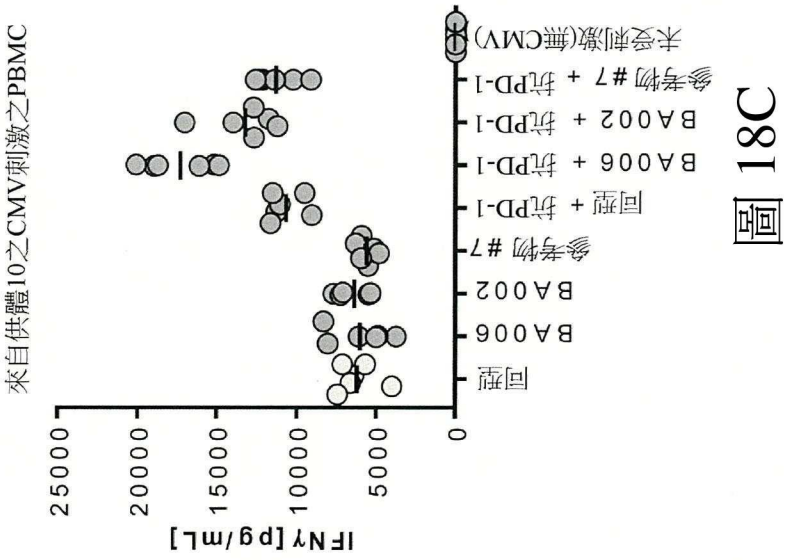

來自供體10之CMV刺激之PBMC
IFNγ [pg/mL]
25000
20000
15000
10000
5000
0
同型
BA006
BA002
參考物 #7
同型 + 抗PD-1
BA006 + 抗PD-1
BA002 + 抗PD-1
參考物 #7 + 抗PD-1
未受刺激(無CMV)

圖 18C

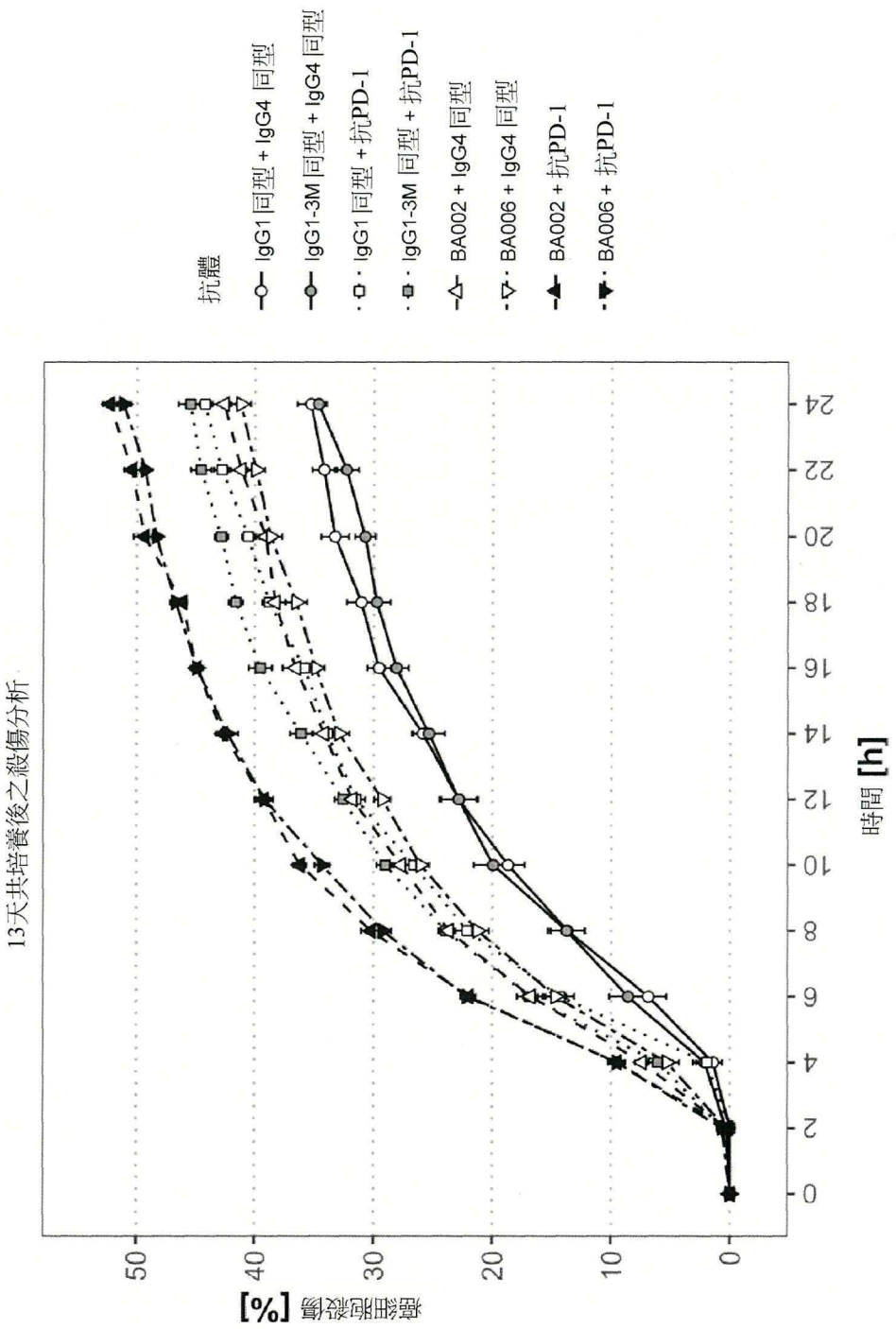

13天共培養後之殺傷分析
癌細胞殺傷 [%]
時間 [h]
抗體
IgG1 同型 + IgG4 同型
IgG1-3M 同型 + IgG4 同型
IgG1 同型 +抗PD-1
IgG1-3M 同型 + 抗PD-1
BA002 + IgG4 同型
BA006 + IgG4 同型
BA002 + 抗PD-1
BA006 + 抗PD-1

圖 19

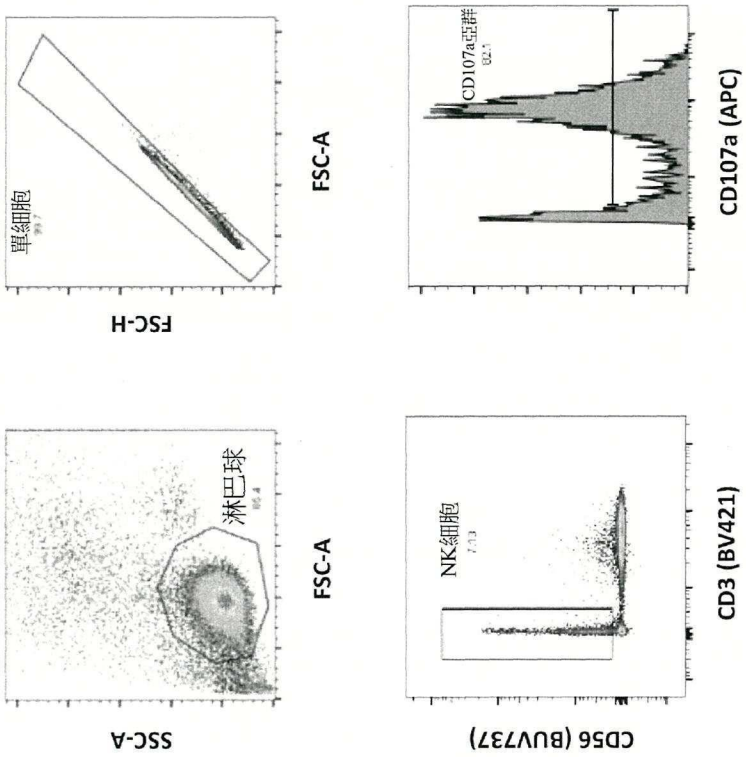

單細胞
FSC-H
FSC-A
CD107a亞群
CD107a (APC)
淋巴球
SSC-A
FSC-A
NK細胞
CD56 (BUV737)
CD3 (BV421)

圖 20A

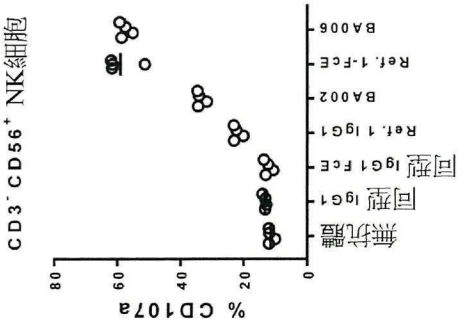


圖 20B

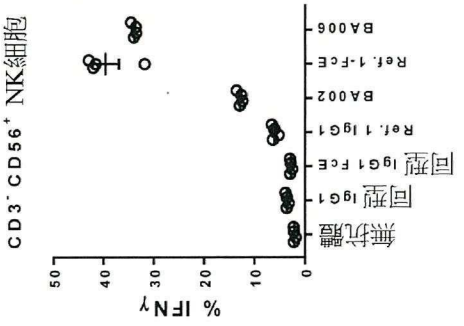


圖 20C

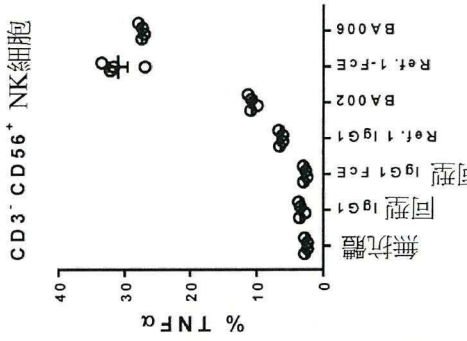


圖 20D

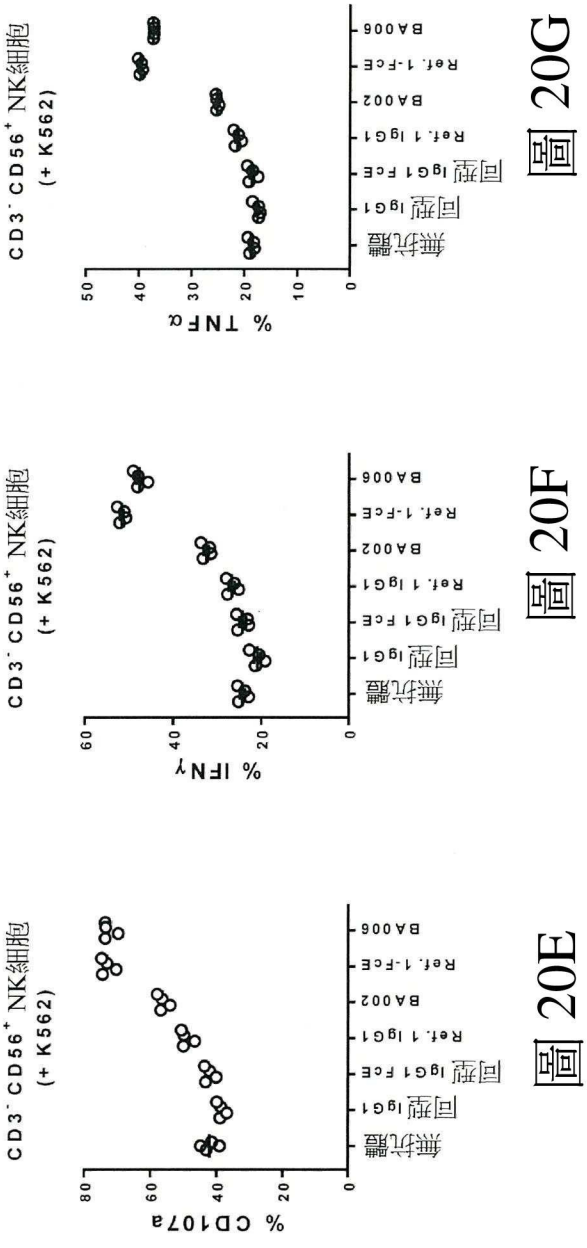


圖 20E 圖 20F 圖 20G

信號肽

智人 MRWCLLLIWAQGLRQAPLASGMMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNWEQQDQ-LLAIC 69

食蟹獼猴 MRWCLFLIWAQGLRQAPLASGMMTGTIETTGNISAKKGGSVILQCHLSSTMAQVTQVNWEQHDHSLLAIR 70

智人 NADLGWHISPSFKDRVAPGPGLGLTLQSLTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHGARFQ 139

食蟹獼猴 NAELGWHIYPAFKDRVAPGPGLGLTLQSLTMNDTGEYFCTYHTYPDGTYRGRIFLEVLESSVAEHSARFQ 140

跨膜結構域

智人 IPLLGAMAATLVVICTAVIVVVALTRKKKALRIHSVEGDLRRKSAGQEEWSPSAPSPPGSCVQAEAAPAG 209

食蟹獼猴 IPLLGAMAMMLVVICIAVIVVVVLARKKKSLRIHSVESGLQRKSTGQEEQIPSAPSPPGSCVQAEAAPAG 210

智人 LCGEQRGEDCAELHDYFNVLSYRSLGNCSFFTETG 244

食蟹獼猴 LCGEQQGDDCAELHDYFNVLSYRSLGSCSFFTETG 245

圖 21

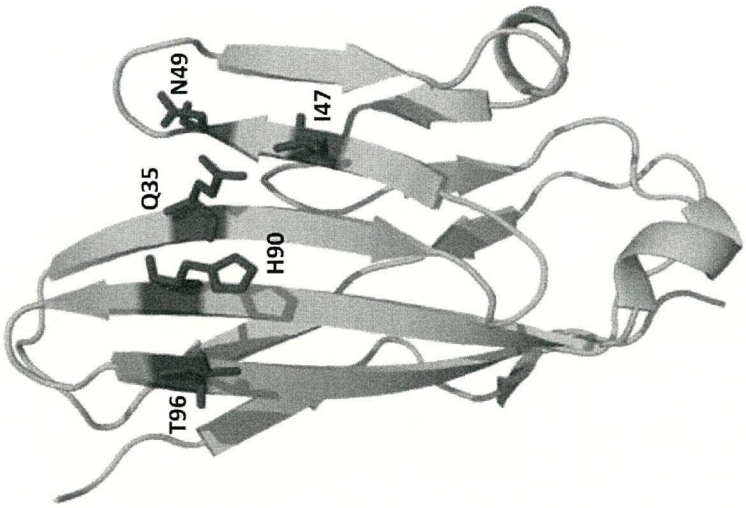

N49
I47
Q35
H90
T96

圖 22B

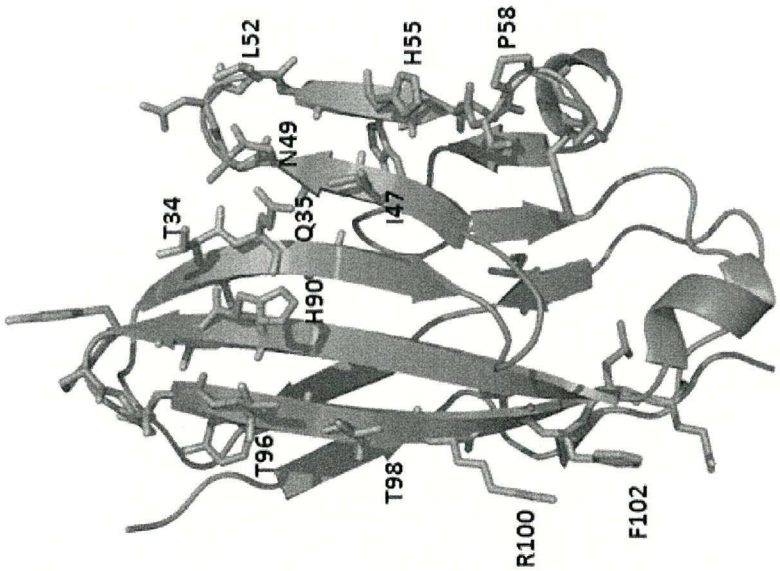

L52
H55
P58
N49
T34
Q35
I47
H90
T96
T98
R100
F102

圖 22A

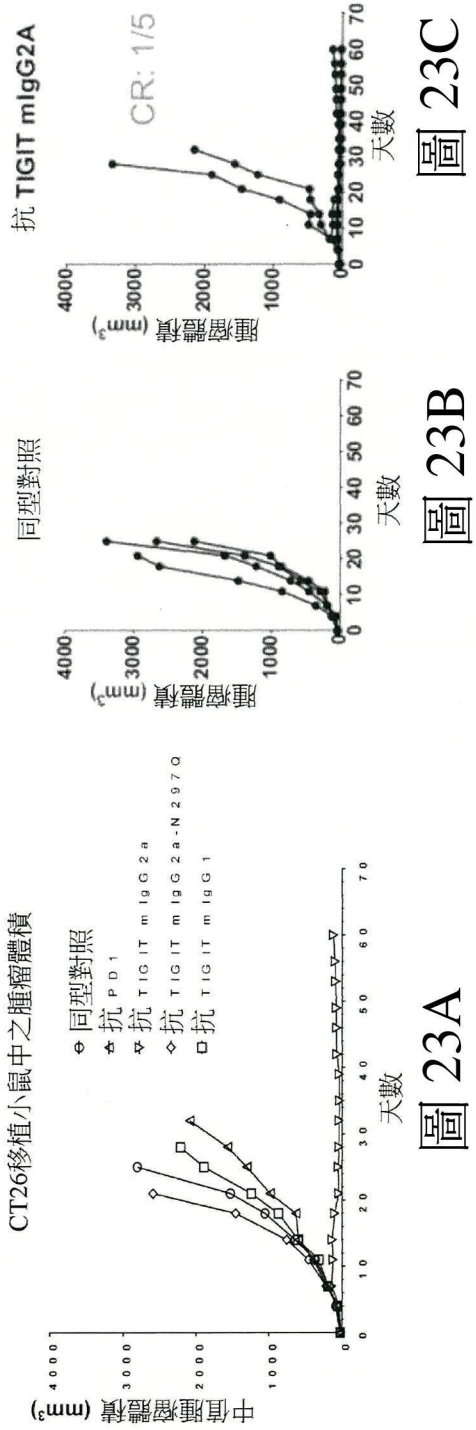


圖 23A

圖 23B

圖 23C

圖 23D

圖 23E

圖 23F

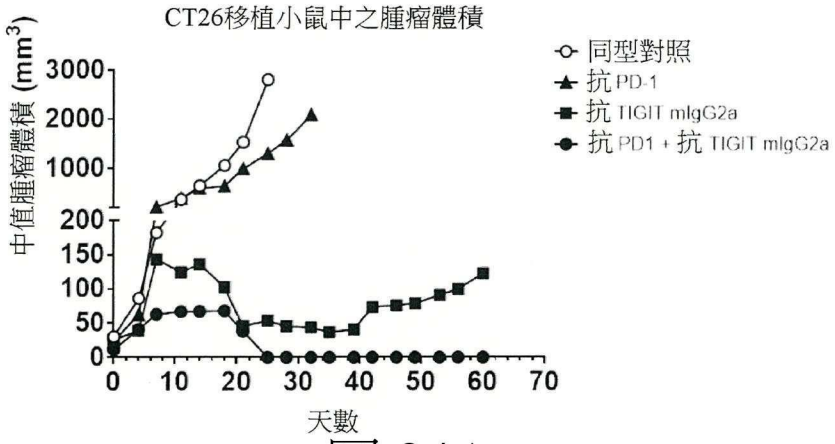

CT26移植小鼠中之腫瘤體積
中值腫瘤體積 (mm3)
3000
2000
1000
200
150
100
50
0
0 10 20 30 40 50 60 70
天數
同型對照
抗PD-1
抗TIGIT mIgG2a
抗PD1 + 抗TIGIT mIgG2a

圖 24A

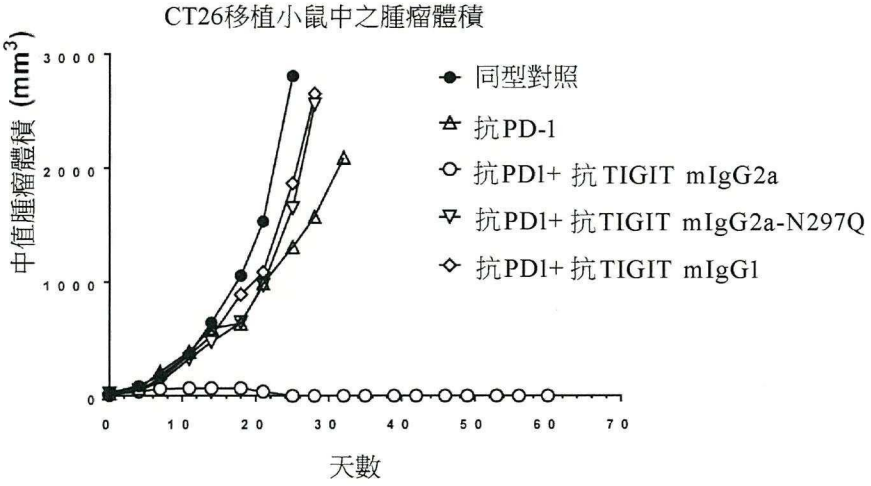

CT26移植小鼠中之腫瘤體積
中值腫瘤體積 (mm3)
3000
2000
1000
0
0 10 20 30 40 50 60 70
天數
同型對照
抗PD-1
抗PD1+ 抗TIGIT mIgG2a
抗PD1+ 抗TIGIT mIgG2a-N297Q
抗PD1+ 抗TIGIT mIgG1

圖 24B

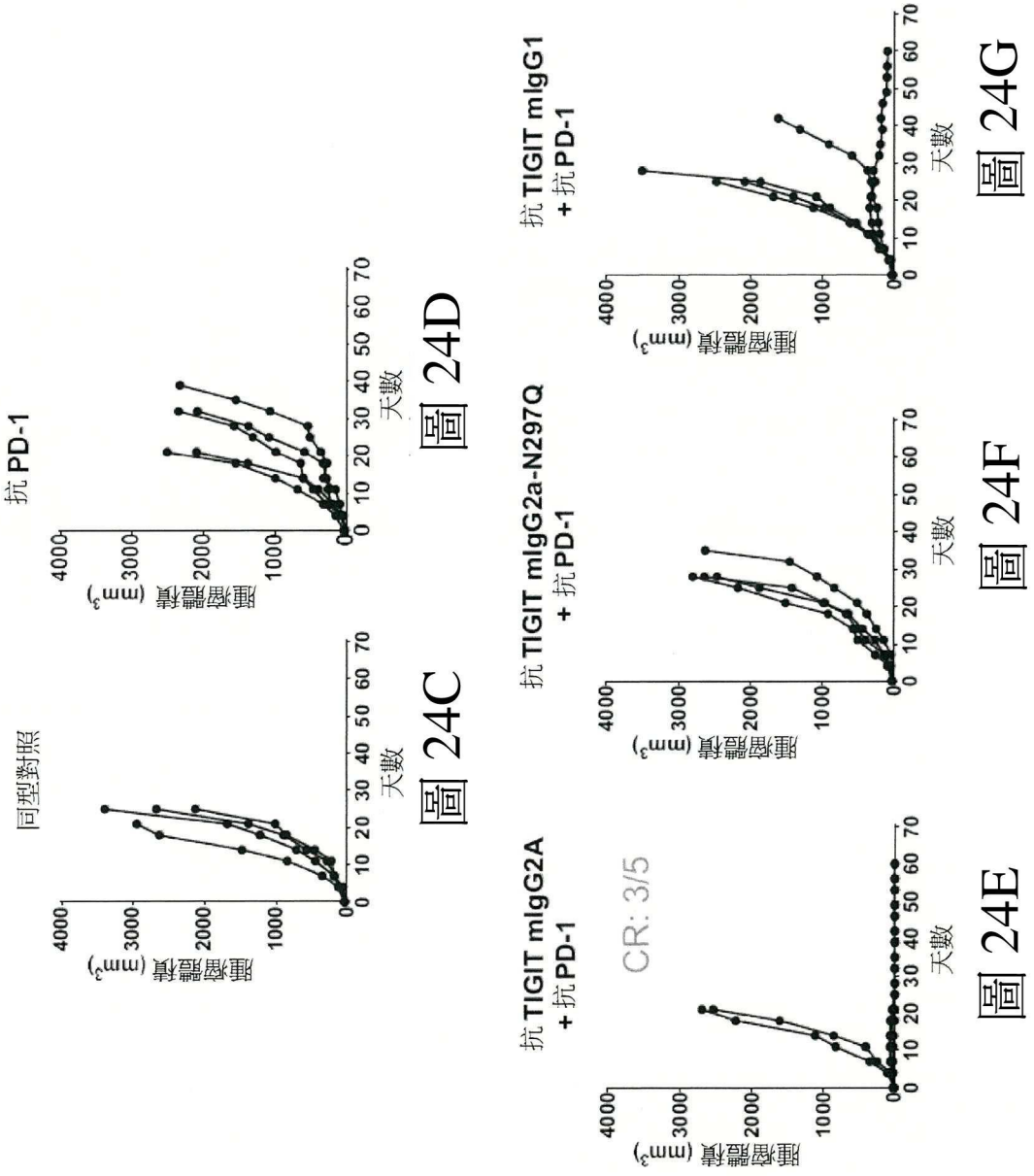


圖 24C 圖 24D

圖 24E 圖 24F 圖 24G

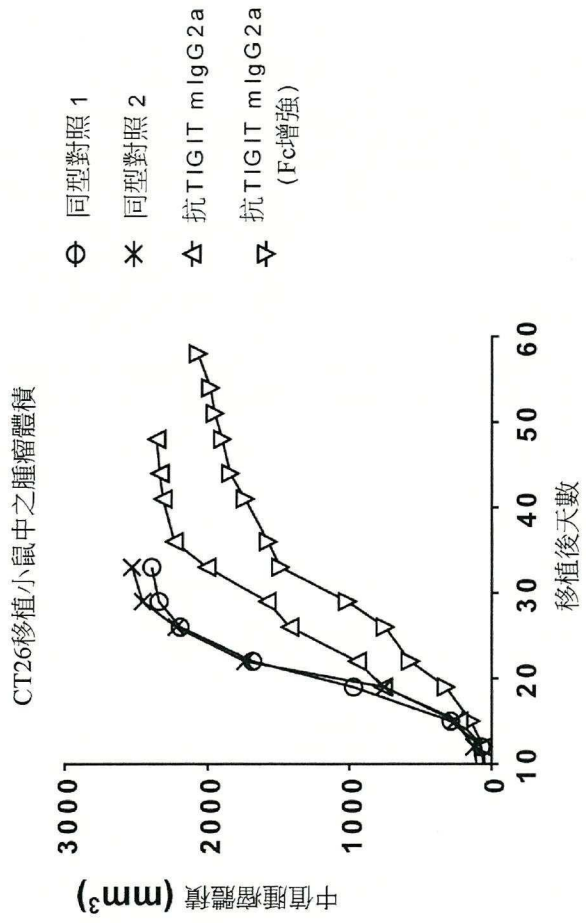

CT26移植小鼠中之腫瘤體積
中值腫瘤體積 (mm³)
3000
2000
1000
0
10
20
30
40
50
60
移植後天數
同型對照 1
同型對照 2
抗TIGIT mIgG2a
抗TIGIT mIgG2a
(Fc增強)

圖 25A

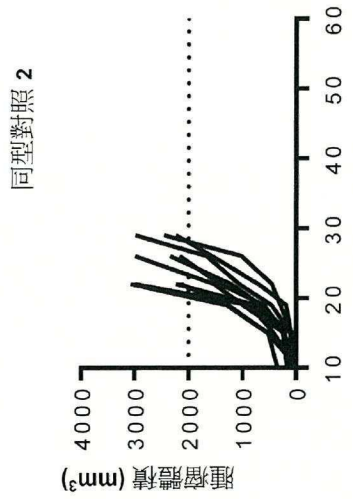


圖 25B

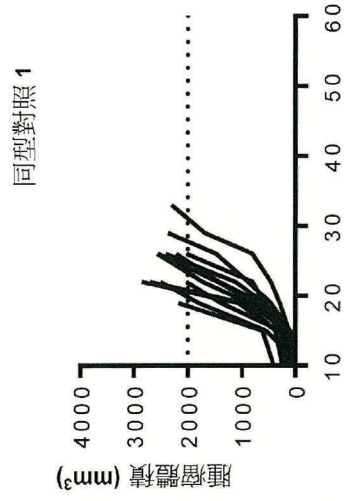


圖 25C

圖 25D

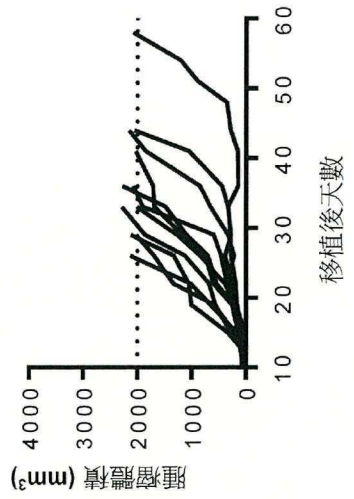


圖 25E

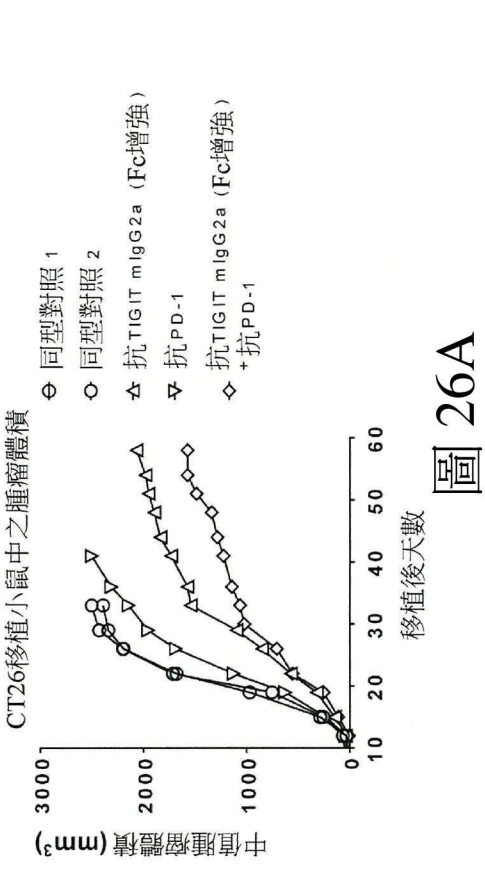

CT26移植小鼠中之腫瘤體積
同型對照 1
同型對照 2
抗TIGIT mIgG2a（Fc增強）
抗PD-1
抗TIGIT mIgG2a（Fc增強）+抗PD-1
中值腫瘤體積 (mm³)
3000
2000
1000
0
10
20
30
40
50
60
移植後天數

圖 26A

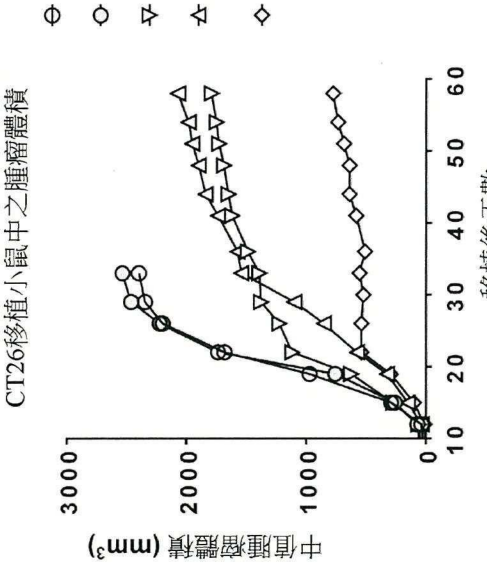

CT26移植小鼠中之腫瘤體積
同型對照 1
同型對照 2
抗CTLA-4
抗TIGIT mIgG2a（Fc增強）
抗TIGIT mIgG2a（Fc增強）+抗CTLA-4
中值腫瘤體積 (mm³)
3000
2000
1000
0
10
20
30
40
50
60
移植後天數

圖 26B

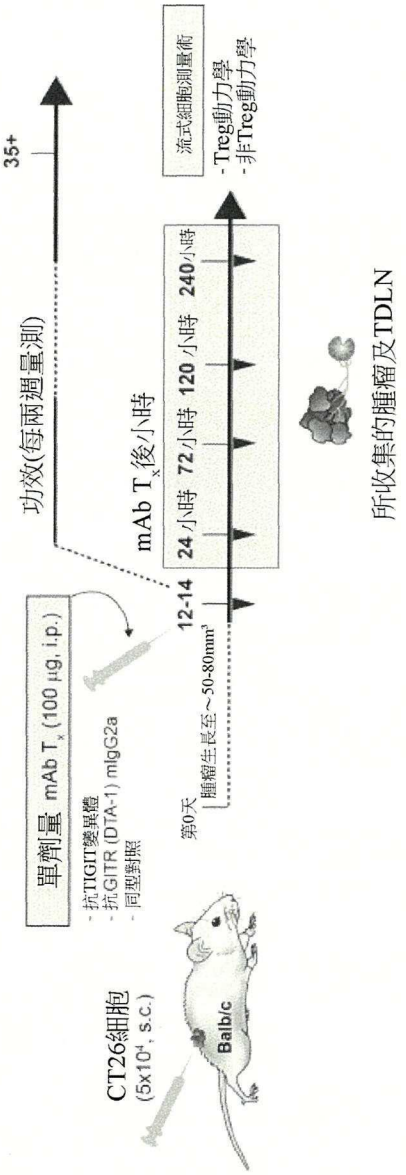


圖 27A

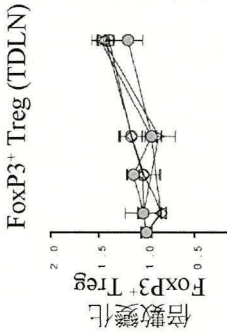


圖 27D

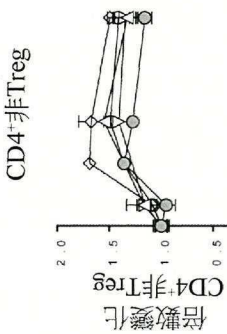


圖 27C

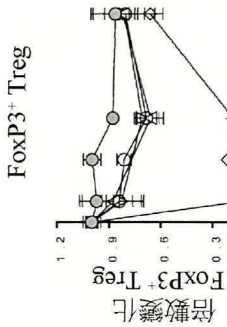


圖 27B

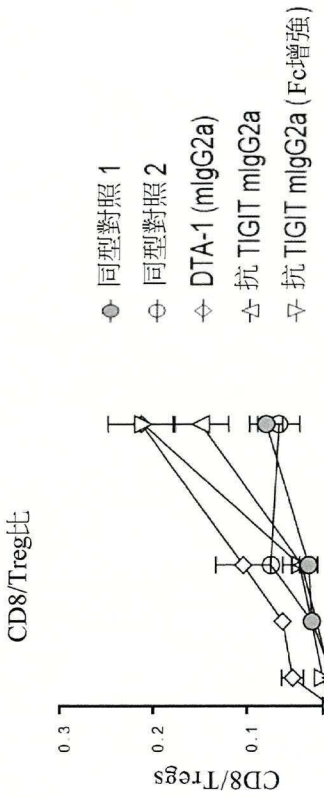

CD8/Treg比
CD8/Tregs
0.3
0.2
0.1
0.0
0
2
4
6
8
10
注射後天數
同型對照 1
同型對照 2
DTA-1 (mIgG2a)
抗 TIGIT mIgG2a
抗 TIGIT mIgG2a (Fc增強)

圖 27F

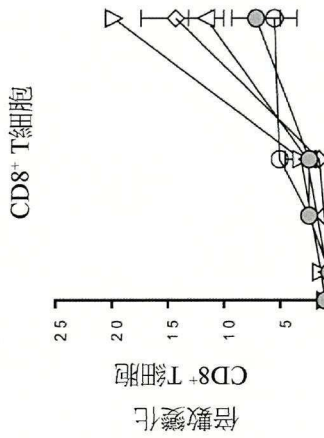

CD8+ T細胞
倍數變化
CD8+ T細胞
25
20
15
10
5
0
0
2
4
6
8
10
注射後天數

圖 27E

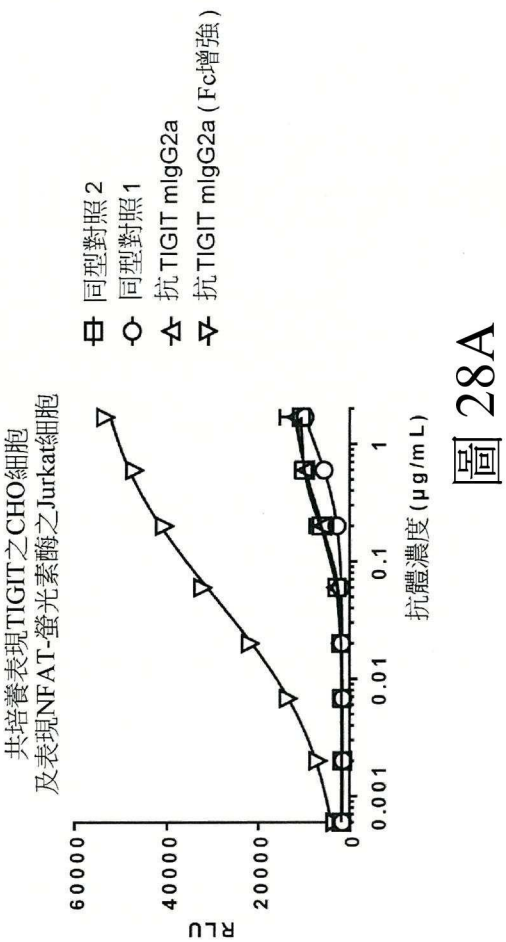


圖 28A

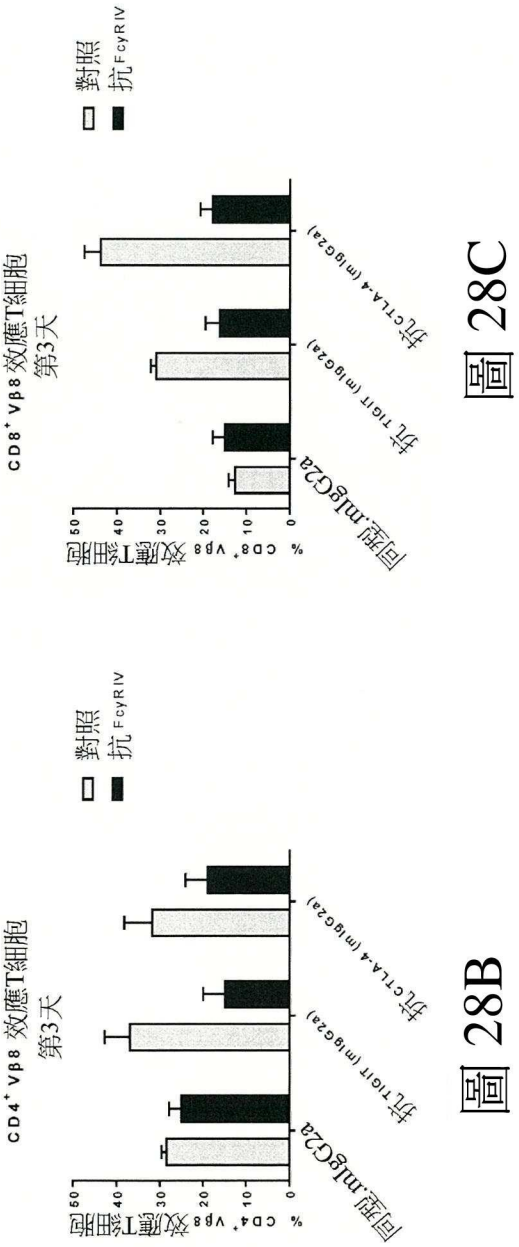


圖 28B

圖 28C